

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Aktivovatelné fotosenzitizéry na bázi BODIPY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Tomáš Hájek
Studijní obor: Chemie
Vedoucí práce: Mgr. Martin Porubský, Ph.D.

Olomouc 2022

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Tomáš Hájek
Název práce:	Aktivovatelné fotosenzitizéry na bázi BODIPY
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra organické chemie
Vedoucí práce:	Mgr. Martin Porubský, Ph.D.
Rok obhajoby:	2022
Abstrakt:	<p>Tato bakalářské práce se zaměřuje na vývoj nových aktivovatelných systémů na bázi BODIPY pro fotodynamickou terapii. Podařilo se připravit fototosenzitizér s azidovou skupinou, který v přítomnosti dibenzocyklooktynu podléhá 1,3-dipolární cykloadici. Vzniklý triazol poskytuje šestinásobný nárůst kvantového výtěžku singletového kyslíku oproti téměř nefosforeskujícímu výchozímu azidu. Důvodem je snížení energie HOMO arylového zbytku, které omezuje fotoindukovaný přenos elektronu probíhající mezi ním a jádrem BODIPY.</p>
Klíčová slova:	BODIPY, fotodynamická terapie, fotosenzitizér, bioorthogonal, azid, triazol
Počet stran:	109
Počet příloh:	1
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's name and surname:	Tomáš Hájek
Title:	Activatable photosensitizers based on BODIPY
Type of thesis:	Bachelor's
Department:	Department of Organic Chemistry
Supervisor:	Mgr. Martin Porubský, Ph.D.
The year of presentation:	2022
Abstract:	<p>This bachelor thesis is focused on the development of new activatable systems based on BODIPY for photodynamic therapy. An azide group photosensitizer has been prepared which undergoes 1,3-dipolar cycloaddition in the presence of dibenzocyclooctyne. The resulting triazole gives a six-fold increase of the singlet oxygen quantum yield over the almost non-phosphorescent azide. The reason is the reduction of the energy of the HOMO aryl moiety, which limits the photoinduced electron transfer taking place between it and the BODIPY core.</p>
Keywords:	BODIPY, photodynamic therapy, photosensitizer, bioorthogonal, azide, triazole
Number of pages:	109
Number of appendixes	1
Language:	Czech

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.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne 9.5. 2022

Tomáš Hájek

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat Mgr. Martinovi Porubskému, Ph.D. za možnost účastnit se na tomto zajímavém projektu, jeho čas a trpělivost. Dále děkuji všem členům výzkumné skupiny prof. RNDr. Jana Hlaváče, Ph.D. za příjemnou atmosféru v laboratoři.

Poděkování patří také mé rodině, díky které je mi studium umožněno. V neposlední řadě děkuji všem svým přátelům za jejich pomoc a motivaci nejen při studiu.

Seznam zkratek

Ac ₂ O	anhydrid kyseliny octové
AcCl	acetylchlorid
AcOH	kyselina octová
BAA	kyselina bromoctová
BODIPY	4,4-difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen
Ce ₆	Chlorin <i>e</i> ₆
Cys	cystein
DBB	1,2-dibenzoyl benzen
DCM	dichlormethan
DDQ	2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinon
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNBS	2,4-dinitrobenzensulfonyl
DPBF	1,3-difenylobenzofuranu
Et ₂ O	diethylether
EtOAc	ethylacetát
FRET	Försterův rezonanční přenos energie
GSH	glutathion
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital
iEDDA	inverzní elektron-deficitní Diels-Alderova
ISC	mezisystémová konverze
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol

NIR	blízká infračervená
NIS	N-jodsukcinimid
PDT	fotodynamická terapie
PeT	fotoindukovaný přenos energie
Pip	piperidin
PS	fotosenzitizér/fotosenzitizéry
r.t.	pokojová teplota
ROS	reaktivní formy kyslíku
RVO	rotační vakuová odparka
SPAAC	napětím podporovaná azido-alkynová cykloadice
SPSAC	napětím podporovaná sydnone-alkynová cykloadice
<i>t</i> -BuOK	terc-Butoxid draselný
<i>t</i> -BuONO	terc-Butylnitrit
TEA	trimethylamin
TFA	kyselina trifluoroctová
TFAA	anhydrid kyseliny trifluoroctové
THF	tetrahydrofuran
TMSN ₃	trimethylsilylazid
Tol	toluen
HOBt	hydroxybenzotriazol
EDC	ethyl(dimethylaminopropyl)karbodiimid
DCC	N,N'-Dicyklohexylkarbodiimid
DIPEA	N,N-Diisopropylethylamine
MF	mobilní fáze

Obsah

1	Teoretická část	12
1.1	Fotodynamická terapie	12
1.1.1	Mechanismus fotodynamické terapie.....	12
1.1.2	Imunitní reakce	13
1.1.3	Kyslík.....	13
1.1.4	Záření	13
1.1.5	Výhody a nevýhody PDT.....	14
1.2	Fotosenzitizér	14
1.2.1	Ideální fotosenzitizér.....	16
1.3	BODIPY	17
1.3.1	Obecné vlastnosti BODIPY.....	17
1.3.2	Syntéza BODIPY	17
1.3.3	Strukturní úpravy BODIPY	19
1.4	Strategie ke zvýšení selektivity PDT	20
1.4.1	Aktivovatelné systémy	21
1.4.2	Cílicí ligandy.....	23
1.4.3	Bioortogonální reakce	26
2	Výsledky a diskuse.....	28
2.1	DBCO-Ac.....	28
2.2	BODIPY se sydnony	31
2.2.1	Syntéza	32
2.2.2	Měření spektrálních vlastností.....	35
2.3	BODIPY s -N ₃ skupinou	37
2.3.1	Syntéza	38
2.3.2	Měření spektrálních vlastností.....	41
3	Experimentální část.....	44
3.1	Dibenzocyklooktyn	45
3.2	BODIPY se sydnony	50
3.2.1	BODIPY -OH	50
3.2.2	Sydnon.....	52
3.2.3	Esterifikační reakce	53
3.2.4	Jodace.....	55
3.2.5	Reakce s DBCO-Ac	57
3.3	BODIPY s -N ₃ skupinou	57

3.3.1	Nitroaldehydy.....	58
3.3.2	BODIPY -NO ₂	59
3.3.3	Redukce -NO ₂ skupiny	61
3.3.4	BODIPY -N ₃	63
3.3.5	Jodace.....	65
3.3.6	Reakce s DBCO-Ac	67
3.3.7	NIR BODIPY.....	68
	Závěr.....	72
	Seznam použité literatury.....	73
	Přílohy	80

Úvod

Fotodynamická terapie je klinicky schválená metoda pro léčbu nejen nádorových onemocnění.[1] Nabízí několik výhod oproti konvenčním léčbám pro svůj neinvazivní charakter, minimální vedlejší účinky a možnost opakované léčby bez vyvolání rezistence.[2] Je založena na fotochemické reakce mezi světlem aktivovatelnou molekulou tzv. fotosenzitizérem, zářením a molekulárním kyslíkem. Výsledkem je produkce singletového kyslíku a jiných reaktivních forem kyslíku.

Moderní fotodynamická terapie se zaměřuje na zlepšení selektivity léčby. Toho lze dosáhnout inkorporací cílících ligandů do struktury fotosenzitizérů. Především je ale snaha vyvinout aktivovatelné systémy, které produkují singletový kyslík pouze v místě určení. Na rozmezí těchto dvou strategií pro zlepšení selektivity stojí využití bioortogonálních reakcí. Ty spočívají v rychlé reakci mezi fotosenzitizérem a molekulou s komplementární bioortogonální funkční skupinou. Jedna z těchto látek pak nese cílící ligand, aby k reakci docházelo pouze v požadovaném místě. Typickým příkladem takové reakce je pnutí podpořená azid-alkynová cykloadice.

První fotosenzitizéry byly na bázi porfyrinu a jemu příbuzných látkách. Dnes jsou hojně využívány například deriváty fluorescenční značky BODIPY. Jejich snadná modifikovatelnost umožňuje připravit pestrou škálu látek s požadovanými vlastnostmi. I kvůli tomu byly sloučeniny tohoto typu zvoleny pro tuto práci.

Cíle práce

Cílem této práce je příprava aktivovatelých fotosenzitizérů na bázi fluorescenční značky BODIPY. Byly navrženy dva systémy, které jsou oba aktivovány bioortogonální reakcí s díbenzocyklooktynem. První z nich nesl ve své struktuře jednotku sydnou, jejichž schopnost zhášet fluorescenci byla dříve demonstrována na kumarínech.[3] Druhým typem systému bylo BODIPY s azidovou skupinou, v jehož struktuře dochází k výměně elektronu, což způsobuje deaktivaci fluorescence. Po dokončení syntézy byly u finálních látek změřeny spektrální vlastnosti a výsledky vyhodnoceny.

Dílčí cíle práce:

- Vypracování literární rešerše na dané téma
- Syntéza navržených systémů
- Charakterizace připravených látek

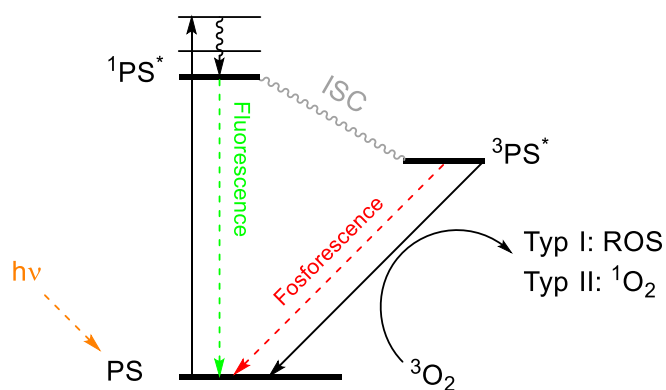
1 Teoretická část

1.1 Fotodynamická terapie

Vědci i onkologové po celém světě si kladou za dlouhodobý cíl minimalizovat nežádoucí účinky léčby nádorových onemocnění a zlepšit tak kvalitu života pacientů. Světlo je používáno pro léčbu již více než tři tisíce let.[4] Egypťské, Indické a Čínské civilizace jej využívaly při uzdravování mnoha chorob včetně vitiliga, křivice nebo lupenky.[5] Počátky fotodynamické terapie (PDT) sahají do roku 1900, kdy O. Rabb's pozoroval, že působení společné akridinu a světla je pro trepky toxické.[6] Následné experimenty zkoumající kombinace látek a světla vedly ke vzniku moderní PDT.

1.1.1 Mechanismus fotodynamické terapie

PDT je založena na fotochemické reakci mezi třemi komponentami: (i) světlem aktivovanou molekulou tzv. fotosenzitizer (PS), (ii) vhodným zářením a (iii) molekulárním kyslíkem. Při vzájemné interakci těchto tří složek dochází k tvorbě singletového kyslíku a jiných reaktivních forem kyslíku (ROS) dvěma různými mechanismy (**Obr. 1**).[7] V případě prvního typu mechanismu Typ I, který je upřednostňován v polárním prostředí a v přítomnosti redukčních činidel, PS ozářený světlem podléhá mezisystémové konverzi (ISC) a tvoří excitovaný tripletový stav.[8], [9] Poté přenese elektron na organický substrát přítomný v buňce za vzniku volného radikálu, který reakcí s molekulárním kyslíkem produkuje hydroxylový radikál, superoxidový anion, nebo jiné ROS způsobující oxidativní stres. Při druhém mechanismu Typ II PS v excitovaném tripletovém stavu interaguje přímo s molekulárním kyslíkem za tvorby vysoce reaktivního singletového kyslíku, který je zodpovědný za poškození okolních tkání. Buněčná smrt je potom zapříčiněna působením singletového kyslíku na lipidy, proteiny a nukleové kyseliny.



Obr. 1: Jablonskeho diagram zobrazující mechanismus PDT

1.1.2 Imunitní reakce

Způsob buněčné smrti (nekróza nebo apoptóza) se odvíjí od umístění PS v buňce, typu buňky, koncentraci PS a koncentraci kyslíku.[10], [11] Pokud se PS nachází v mitochondriích či endoplazmatickém retikulu, pak je upřednostněna apoptóza. Zatímco PS v lyzozomech a plazmatické membráně má za následek především nekrózu. [12] Při PDT dochází k oběma zmíněným mechanismům (Typ I, Typ II) a druhům buněčné smrti, což způsobuje aktivaci imunitního systému.[13] Tím PDT překonává většinu obvyklých léčeb nádorových onemocnění, které jsou naopak imunosupresivní. Například u běžně používané chemoterapie nebo ionizujícího záření je dobře znám negativní účinek na kostní dřeň, která je zdrojem buněk imunitního systému. Avšak nutno podotknout, že v malých dávkách mohou mít i tyto druhy léčby imunostimulační charakter.[14], [15]

Mnoho studií se zabývalo vztahem mezi typem buněčné smrti a účinností vyvolání imunitní reakci. Některé ukazují, že apoptóza je efektivnější v aktivaci imunitního systému.[16] Naproti tomu další naznačují, že nekróza by měla být účinnější, protože v jejím důsledku se cytosol buňky dostává přes poškozenou plazmatickou membránu do mezibuněčného prostoru, kde vyvolává zánětlivou odpověď.[17] To může vést k nalákání leukocytů k nádorovým buňkám a k nahromadění antigenu.[10]

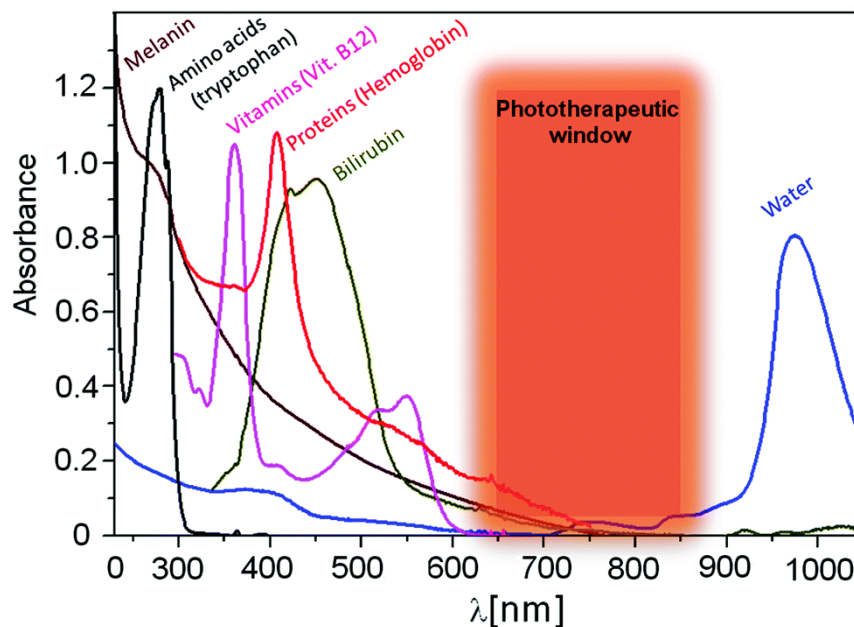
1.1.3 Kyslík

Molekulární kyslík je jednou ze tří komponent potřebných pro PDT. V nádorech je ovšem jeho koncentrace nižší než ve zdravých tkáních. [18] Tento stav je označován jako hypoxie. [19] Jak bude ukázáno později, hypoxické prostředí ovšem nemusí představovat pouze překážku, ale lze ji využít k cílení na nádorové buňky a zlepšení selektivity PDT. Nevýhodou singletového kyslíku je jeho relativně krátká životnost v buňce, která činí pouze jednotky μs ($\sim 4 \mu\text{s}$). Od té se odvíjí malá vzdálenost difuze pohybující se v řádu stovek nm ($\sim 300 \text{ nm}$).[20] Životnost hydroxylového radikálu je však ještě kratší a to pouze 1 ns.[21]

1.1.4 Záření

Volba vhodného zdroje světla pro PDT záleží především na absorpčních vlastnostech použitého PS. Ta je ovlivnitelná strukturou daného PS a zpravidla je snaha o absorpci v blízké infračervené oblasti (NIR), protože lidským tělem lépe prostupuje světlo o vyšších vlnových délkách (červené světlo), než světlo z oblasti nižších vlnových délek (modré světlo).[22] Rozmezí vlnových délek záření s nejvyšší penetrací do tkání se

nazývá tzv. optické (fototerapeutické) okno a nachází přibližně v oblasti 650 nm až 850 nm (**Obr. 2.**). Záření o vlnových délkách nižších než 650 nm je pohlcováno chromofory vyskytujícími se v lidském těle jako hemoglobin nebo melanin. Záření o vlnových délkách přes 900 nm je absorbováno vodou.



Obr. 2: Fototerapeutické okno pro PDT [23]

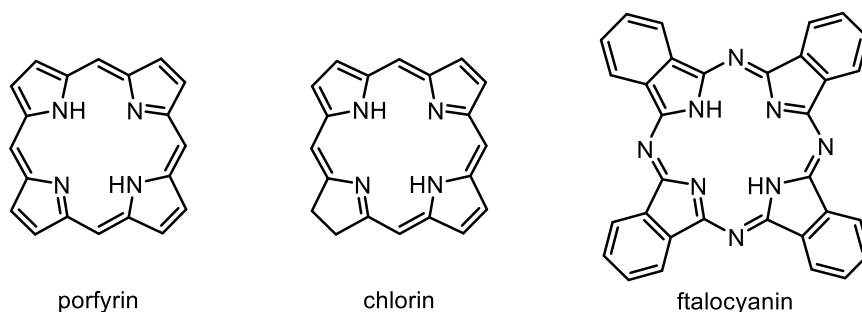
Prvními používanými zdroji záření byly běžné lampy s filtrem upravujícím vlnovou délku, které vyzařují nekoherentní světlo. Takové záření se dnes využívá především v dermatologii.[24] Nejrozšířenějším světelnými zdroji v PDT jsou lasery pro jejich koherentní a monochromatické záření. Běžně používaným laserem je argonový laser upravitelný na požadovanou vlnovou délku pro určitý PS. Výkon takových argonových laserů se pohybuje v rozmezí 15–20 W v závislosti na konkrétním modelu.[25] Tyto systémy jsou ovšem drahé, náročné na údržbu. V poslední době bývají nahrazovány polovodičovými laserovými diodami, jejichž výhodami jsou relativně nízká cena a menší rozměr. Avšak vlnová délka jejich záření není libovolně nastavitelná, proto pro konkrétní PS musí být použita konkrétní laserová dioda.[26]

1.1.5 Výhody a nevýhody PDT

PDT nachází potenciál především v léčbě nádorových onemocnění. Nabízí několik výhod oproti běžným léčbám pro svůj neinvazivní charakter, minimální vedlejší účinky, možnost opakované léčby bez vyvolání rezistence.[2] PDT je limitována svou špatnou selektivitou, což vede k poškození zdravých buněk singletovým kyslíkem.

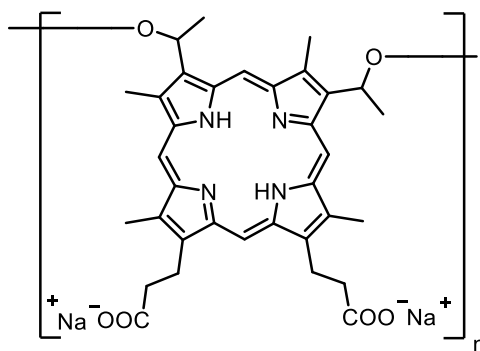
1.2 Fotosenzitizér

Světlem aktivovatelná látka, která v přítomnosti molekulárního kyslíku produkuje ROS se označuje jako PS. Mezi prvně používané PS patřily porfyriny a jim příbuzné sloučeniny jako chloriny nebo ftalocyaniny (**Obr. 3**). Tyto látky jsou vysoce konjugované a absorbují světlo ve viditelné oblasti elektromagnetického záření.



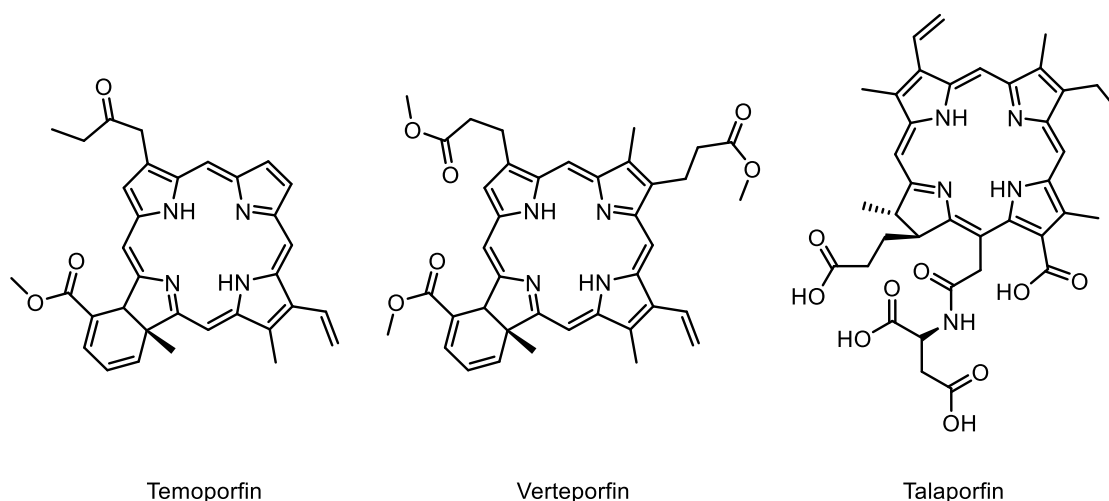
Obr. 3: Porfyrin a jemu příbuzné látky

Jedním z prvních schválených PS pro léčbu rakoviny jícnu, plic a močového měchýře byl porfimer sodný (Photofrin®, **Obr. 4**).[27] Jedná se o směs oligomerů tvořených porfyrinovými jednotkami propojenými estery a ethery. Je aktivován světlem o vlnové délce přibližně 630 nm, avšak poskytuje slabou absorpci, kvůli čemuž jsou vyžadovány jeho vysoké dávky (v řádech $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Další nevýhodou je nízká rozpustnost ve vodném prostředí, kde vytváří sraženiny s nízkou terapeutickou účinností.[28]



Obr. 4: Porfimer sodný

Mezi klinicky schválené PS na bázi chlorinu patří temoporfin (Foscan®, **Obr. 5**), verteporfin (Visudyne®, **Obr. 5**) nebo talaporfin (Laserphyrin®, **Obr. 5**). Výhoda temoporfinu a verteporfinu ve srovnání s porfimerem sodným je patrná z **Tab I**, která poskytuje základní fyzikální veličiny a schválená klinická použití vybraných PS. Jejich vyšší vlnová délka aktivace a vysoké molární absorpční koeficienty mají za následek širší možnost využití a menší podráždění kůže po terapii.[29], [30] Problém se srážlivostí u nich však přetrvává.[31] Nevýhodou talaporfinou je jeho malá fotostabilita, která vede ke snížení účinnosti PDT.



Obr. 5: Vybrané klinicky schválené PS

Tab I: Spektroskopické, fyzikálněchemické vlastnosti a oblasti použití vybraných klinicky schválených PS

Fotosenzitizér	λ_{abs} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Φ_{Δ}	Klinicky schválena léčba nádorového onemocnění
Porfimer sodný	630 ^c	3000 ^c	0.25 ^c	Plice, jícen, močový měchýř
Temoporfin	650 ^a	39000 ^a	0.31 ^b	Hlava, krk, plíce
Vertoporfin	692 ^b	13500 ^b	0.82 ^c	Slinivka břišní, kůže
Talaporfin	654 ^b	40000 ^b	0.77 ^d	Slinivka břišní, játra

a – v EtOH, b – v PBS, c – v PB, d – v D₂O, reference: [32]–[34]

1.2.1 Ideální fotosenzitizér

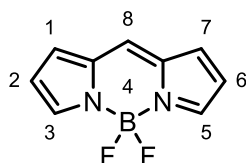
Vytyčením požadovaných a nežádoucích vlastností lze dojít k charakterizaci ideálního PS pro nádorová onemocnění. Takový PS by se měl správně akumulovat v nádorových tkáních a být proto dostatečně lipofilní případně hydrofilní. Jeho absorpční maximum by mělo nabývat hodnot vlnových délek v rozmezí 650 nm až 850 nm, aby byla zajištěna vysoká prostupnost použitého záření lidským tělem. Při ozařování by mělo být dosaženo dostatečně efektivní ISC ze singletového stavu do tripletového, která je příčinou tvorby singletového kyslíku a ROS. Zároveň by nemělo docházet k fotodegradaci, při kterém PS ztrácí schopnost absorbovat, respektive emitovat světlo. Naopak pokud PS není cíleně ozařován, měl by vykazovat nízkou toxicitu. Měla by k němu vést snadná syntéza s vysokou výtěžností. Nakonec by ideální PS měl být aktivní

jen v určeném místě a způsobovat tak minimální vedlejší účinky jako fotosenzitivitu kůže nebo bolest po provedení ozařování.[35]

1.3 BODIPY

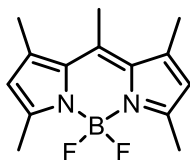
1.3.1 Obecné vlastnosti BODIPY

PS nemusí být pouze na bázi porfyrinu a jemu příbuzných látek. Využívané jsou mimo jiných například deriváty BODIPY (4,4-difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen, **Obr. 6**).



Obr. 6: Obecná struktura BODIPY

Mezi nejpodstatnější vlastnosti těchto látek patří vysoké absorpční koeficienty, vysoké kvantové výtěžky fluorescence, absorpce a emise v oblasti viditelného záření, chemická a fotochemická stabilita, snadná modifikovatelnost jejich struktury a dobrá rozpustnost v organických rozpouštědlech.[36] Pro demonstraci jsou konkrétní hodnoty jednotlivých veličin měřených v pro látku **1** uvedeny na **Obr. 7**. [37]



1

$$\begin{aligned}\Phi_f &= 0.95, \text{ MeOH} \\ \varepsilon &= 8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \lambda_{\text{abs}} &= 492 \text{ nm} \\ \lambda_{\text{emi}} &= 504 \text{ nm}\end{aligned}$$

Obr. 7: Spektrální vlastnosti BODIPY **1**

1.3.2 Syntéza BODIPY

Syntéza BODIPY vycházející z pyrrolů a aldehydu probíhá ve třech krocích (**Schéma 1a**). Prvně se kyselou katalyzovanou kondenzační reakcí s aldehydem vytvoří můstek mezi pyrroly. Následuje oxidační krok pomocí dichlor-dikyano-benzochinonu DDQ nebo *p*-chloranilu a komplexace $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ v přítomnosti báze např. terciárního aminu. Mimo aldehydů lze při kondenzaci použít také chloridy kyselin (**Schéma 1b**) [38] případně jejich anhydridy (**Schéma 1c**). [39] Tyto metody se běžně používají pro přípravu symetrických BODIPY. Syntéza nesymetrických BODIPY vyžaduje odlišný přístup.

Obecně se vychází z přípravy ketopyrrolu nebo pyrrolkarboxaldehydu, který se dále kondenzuje s dalším pyrrolem v přítomnosti Lewisovy kyseliny (**Schéma 1d**). [40]

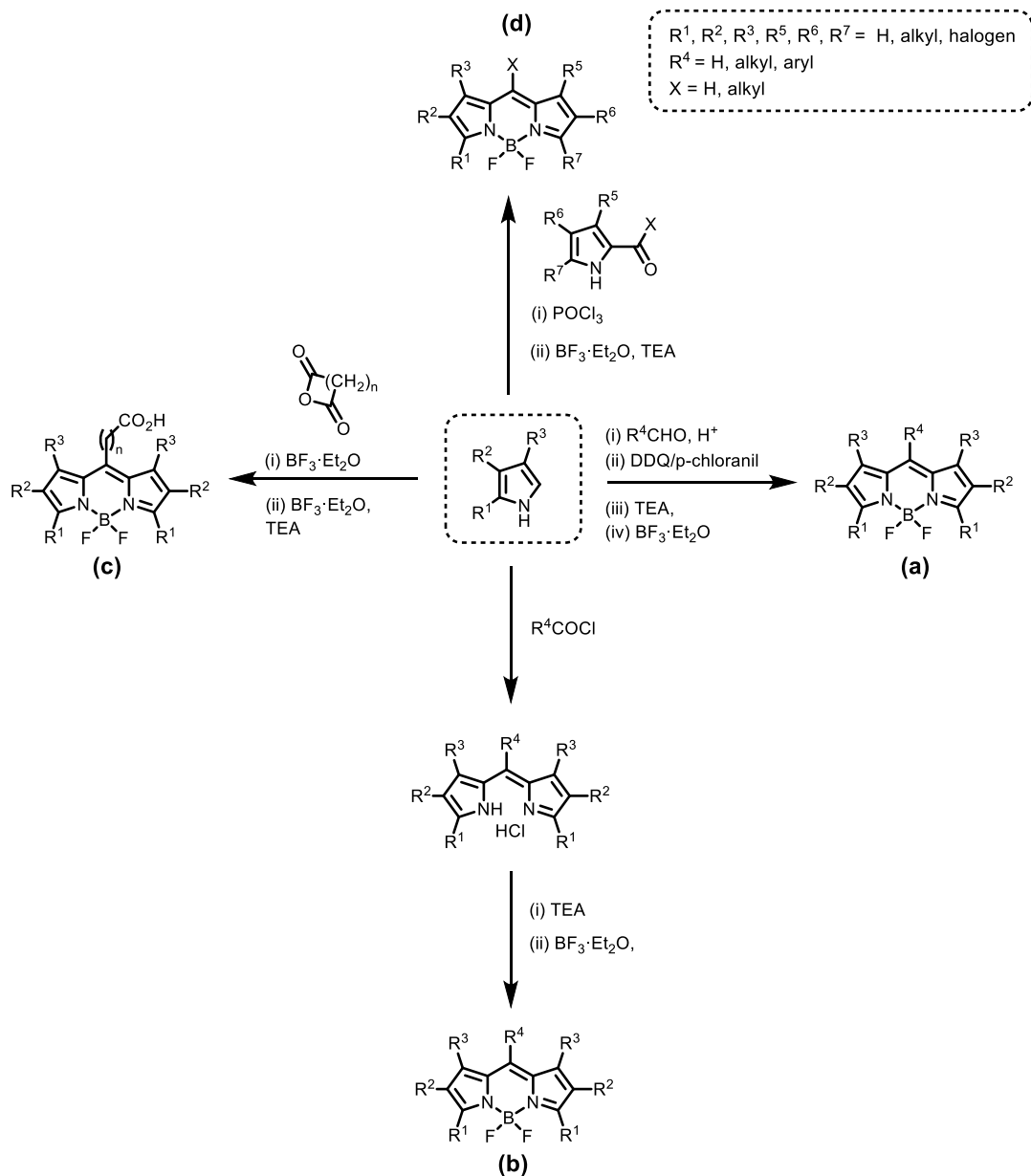
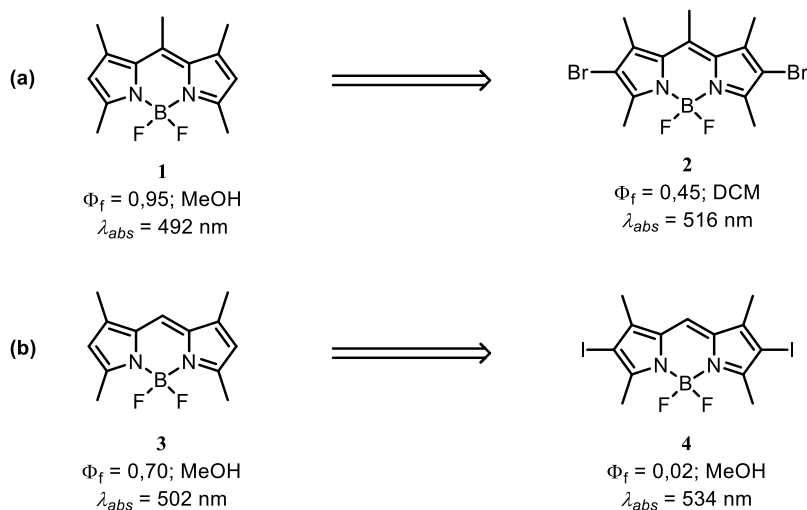


Schéma 1: Možnosti přípravy BODIPY

1.3.3 Strukturní úpravy BODIPY

Pro PDT je produkce singletového kyslíku přes tripletový stav PS klíčová. BODIPY však při absorpci světla preferuje zůstat v excitovaném singletovém stavu a přebytečnou energii vyzářit fluorescencí. Zavedení těžkých atomů (především Br, I) podpoří spin-orbitální interakci, což usnadní ISC a zvýší kvantový výtěžek singletového kyslíku Φ_{Δ} . [41] Tento efekt se označuje jako tzv. efekt těžkých atomů. Inkorporace halogenů má vliv také na absorpční i emisní spektrum látky a většinou vede k bathochromním posunům.

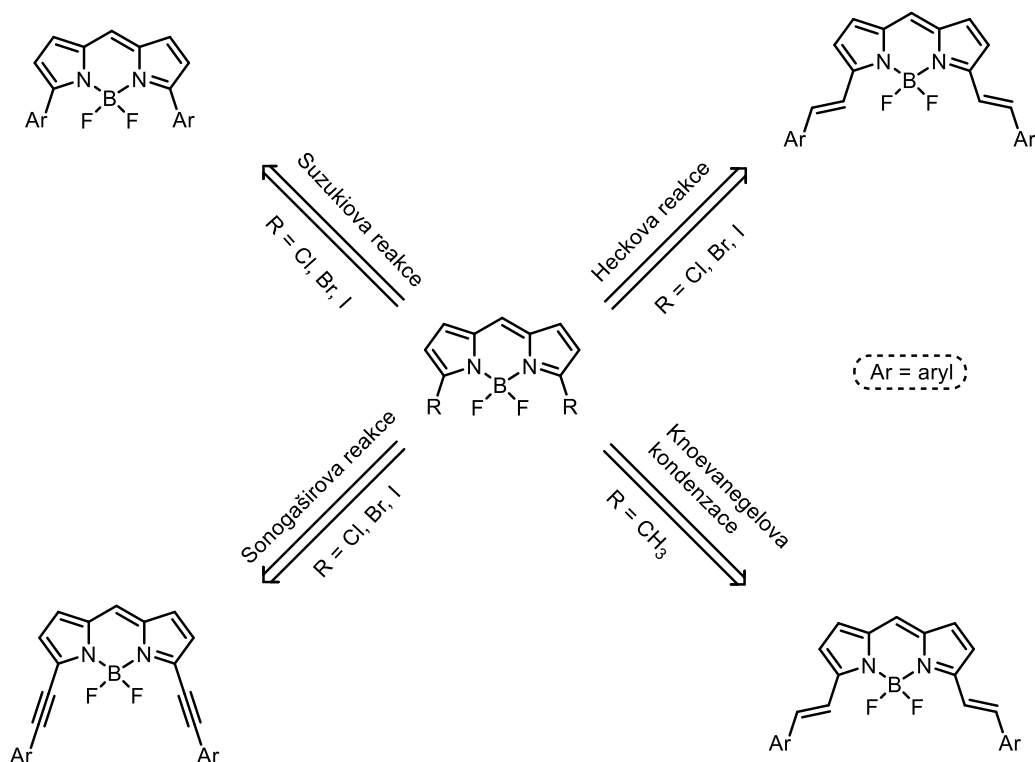
Protože je jod těžším atomem než brom, výrazněji ovlivňuje přechod PS do tripletového stavu, a tedy snižuje kvantový výtěžek fluorescence Φ_f . To lze demonstrovat na srovnání změn Φ_f látek **2** a **4** s jejich ekvivalenty bez halogenů **1**, respektive **3**. U dvojice látek **1** a **2** lze pozorovat výrazně menší pokles Φ_f než u **3** a **4**. Zavedením atomů bromu se hodnota Φ_f zmenšil na polovinu původní hodnoty (**Obr. 8a**). [38] Oproti tomu jodace způsobila pokles Φ_f o jeden řád. (**Obr. 8b**) [42].



Obr. 8: Vliv zavedení těžkých atomů do struktury BODIPY na Φ_f

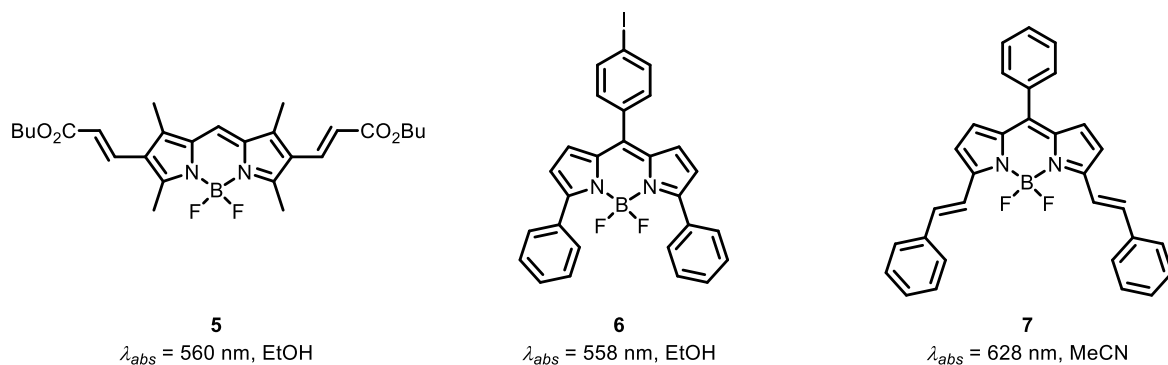
Pro maximální účinnost PS je důležitá poloha absorpčního maxima. To by se mělo ideálně nacházet v rozmezí vlnových délek 650-850 nm. I když zavedení těžkých atomů způsobuje červený posun, vlnová délka absorpčního maxima λ_{abs} nedosahuje optimálních hodnot. Proto jsou k vyvolání bathochromního posunu využívány jiné modifikace jádra BODIPY, které spočívají v prodloužení konjugovaného systému látky (**Obr. 9**). Toho lze dosáhnout například zavedením alkenových, alkynových nebo arylových zbytků cross-

couplingovými reakcemi (Suzukiova reakce, Heckova reakce, Sonogashirova reakce apod.).[43] Často využívanou reakcí je Knoevenagelova kondenzace, která je proveditelná díky kyselému charakteru methylových vodíků v polohách 3- a 5-.[44] Kromě post-modifikací je možností i syntéza BODIPY z již přizpůsobeného pyrrolo.[45]



Obr. 9: Možnosti rozšíření konjugovaného systému BODIPY

Účinnost jednotlivých strukturálních úprav naznačuje **Obr. 10**. Ve srovnání s **3** zavedení alkenového zbytku s elektronakceptorní skupinou do poloh 2- a 6- zvýšilo λ_{abs} látky **5** přibližně o 58 nm.[46] Látky **6** a **7** obsahující dvě fenylové nebo dvě styrylové jednotky v polohách 3- a 5- dosahují hodnot λ_{abs} 558 nm, respektive 628 nm.[47], [48]



Obr. 10: Vybrané látky s různými strukturálními úpravami pro zvýšení λ_{abs}

1.4 Strategie ke zvýšení selektivity PDT

1.4.1 Aktivovatelné systémy

Jak již bylo zmíněno dříve, nevýhodou PDT je její špatná selektivita. Jednou z možností, jak zabránit poškozování zdravých buněk jsou aktivovatelné systémy. Ty jsou navrženy tak, aby produkovaly singletový kyslík přímo v cílené tkáni a ve zdravých buňkách zůstaly neaktivní. K tomu lze využít specifického mikroprostředí cílené tkáně. V případě cílení na rakovinné buňky tak lze využít pH, thioxy glutathion (GSH) a cystein (Cys), hypoxické prostředí, případně zvýšené exprese některých enzymů. Mezi jednotlivé mechanismy deaktivace patří: (i) fotoindukovaný přenos elektronu (PeT), (ii) Försterův rezonanční přenos energie (FRET) a (iii) sebezchášení. Při PeT dochází k přenosu elektronu mezi PS a k němu kovalentně vázanou molekulou. Po aktivaci již přenos neprobíhá a vzniká singletový kyslík. FRET je přenos energie mezi PS (donor) a chromoforem (akceptorem) připojeným linkerem. Aktivace poté spočívá v rozštěpení tohoto linkeru, po kterém jsou molekuly příliš vzdálené a FRET neprobíhá. Pokud jsou molekuly PS příliš blízko, dochází k přímé interakci jejich excitovaných stavů a tzv. sebezchášení. Po vzdálení molekul je PS opět aktivní.[49]

pH

Je prokázáno, že mikroprostředí rakovinových buněk je kyselější než mikroprostředí zdravých buněk.[50] Těto skutečnosti lze využít pro aktivaci PS. Shane a spol. připravili aza-BODIPY **8** (Schéma 2), které v kyselém prostředí vykazuje desetkrát vyšší Φ_{Δ} . **8** nese aminové skupiny jejichž hodnota pK_a činí 6,6 a po jejich protonizaci dojde k přerušení PeT a tedy k aktivaci PS.[51]

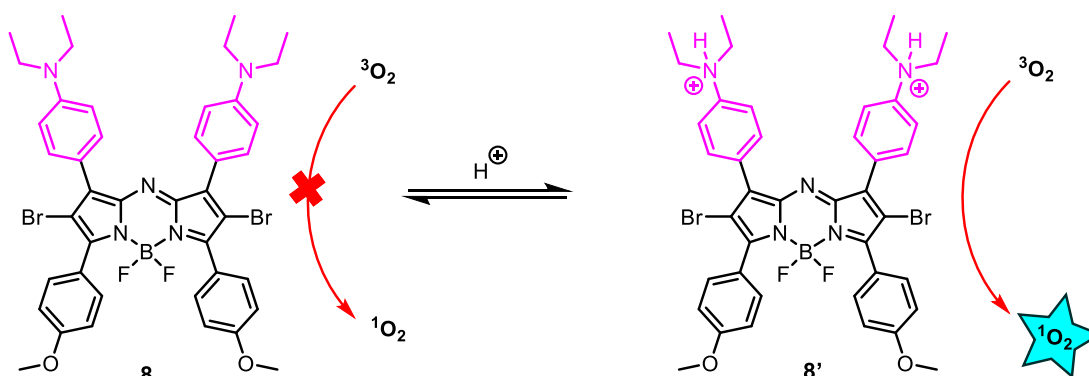


Schéma 2: Aktivace látky **8** v kyselém pH

Podobně Tian a spol. připravili aza-BODIPY **9** (Schéma 3) uzavřené v cRGD nanomicelle pro lepší rozpustnost a akumulaci v nádorových buňkách. **9'** v kyselém prostředí poskytuje Φ_{Δ} jedenáctkrát vyšší než **9** při fyziologickém pH (~7,4). Konkrétně

se hodnota Φ_{Δ} 0,05 při pH 7,4 zvýšila na 0,56 při pH 5. Tento systém je zároveň schopný i fluorescence, čehož je možné využít jako zobrazovací metodu. Takovou látku tedy lze využít v teranostice tzn. spojení diagnostiky a léčby.[52]

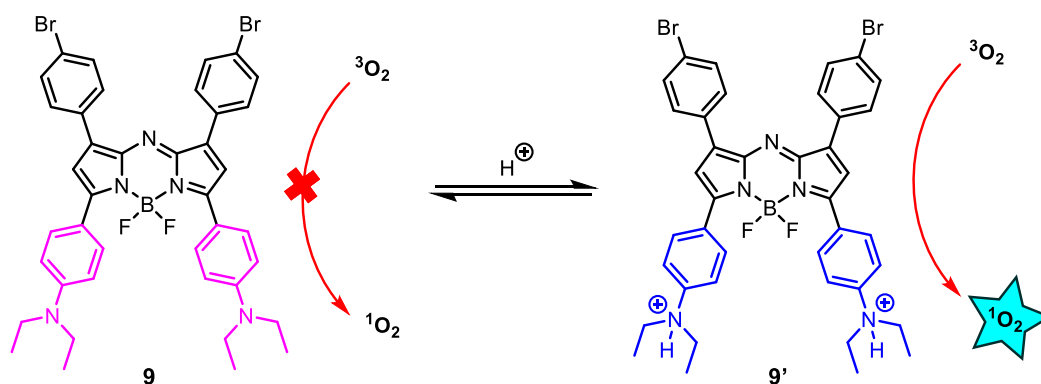


Schéma 3: Aktivace látky **9** v kyselém pH

GSH

Dalším využitelnou charakteristikou nádorových buněk je zvýšená koncentrace thiolů např. GSH, čehož se často využívá ke štěpení linkerů s disulfidickými můstky.[53] Turan a spol. připravili BODIPY **10** (Schéma 4) s 2,4-dinitrobenzonsulfonylovou jednotkou (DNBS) schopnou zhášet fluorescenci/fosforescenci.[54] V přítomnosti GSH je DNBS odštěpeno a PS je aktivní.

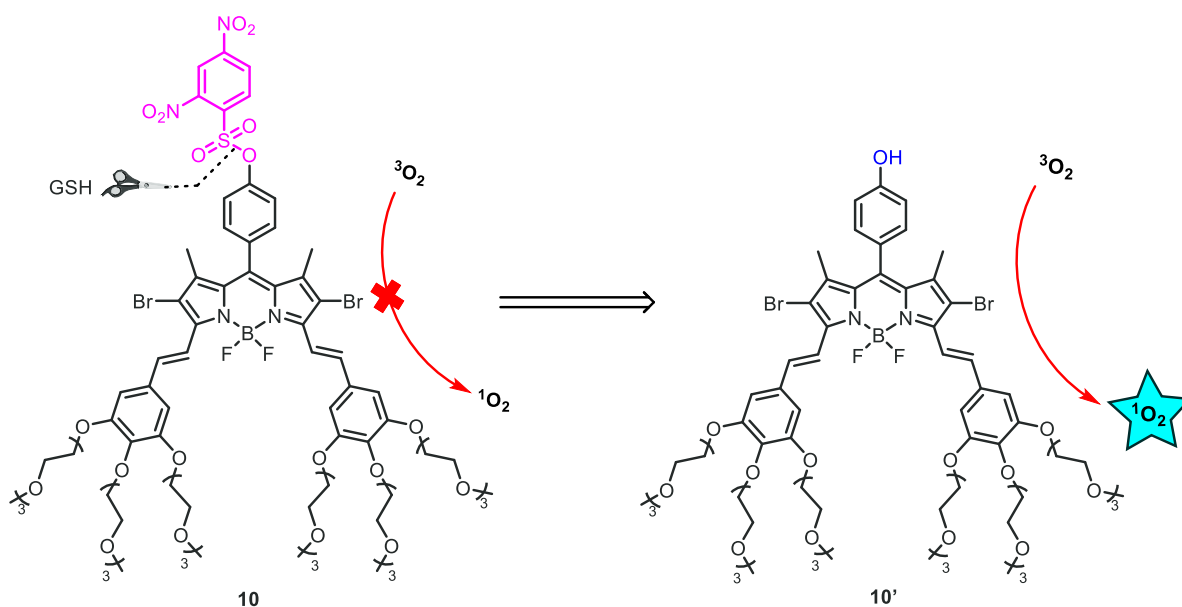


Schéma 4: Aktivace látky **10** v přítomnosti GSH

Hypoxie

I když je molekulární kyslík jednou ze tří základních komponent PDT a v mikroprostředí je jeho koncentrace snížena, nemusí to znamenat jenom překážku. Pia a spol. připravili selenorhodamin **11** (Schéma 5) obsahující azo vazbu (-N=N-), která potlačuje ISC.[55] Tato vazba je v hypoxickém prostředí za přítomnosti redukčních činidel štěpena a produkt **11'** této reakce poté vykazuje osmnáctkrát vyšší Φ_{Δ} .

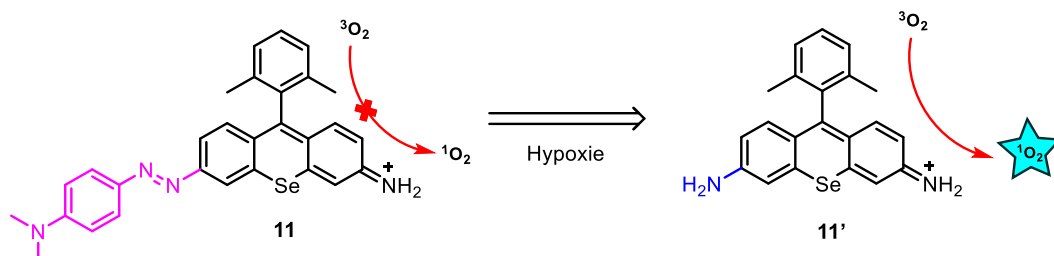


Schéma 5: Aktivace látky **11** v hypoxickém prostředí

Xu a spol. připravili PS **12** (Schéma 6) na bázi heptamethinu aminocyaninu, jehož schopnost generovat singletový kyslík je zhasena nitroskupinou. Ta ovšem v hypoxickém prostředí a v přítomnosti nitroreduktázy, jejíž exprese je v nádorových buňkách zvýšena, podléhá redukcí.[56]

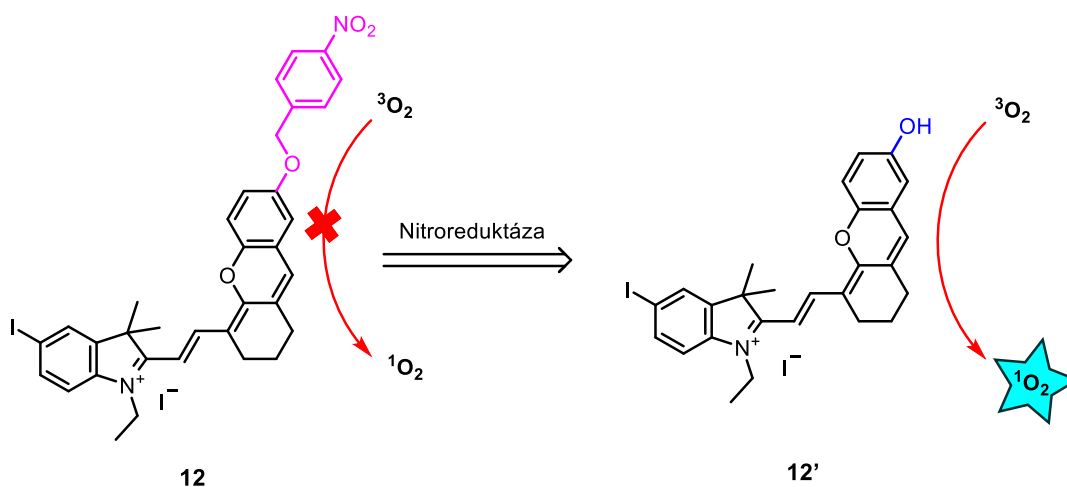


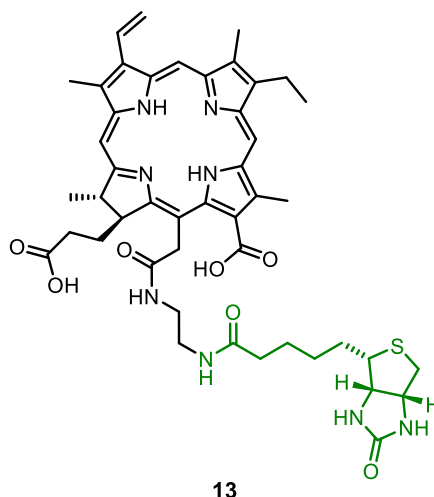
Schéma 6: Aktivace látky **12** nitroreduktázou

1.4.2 Cílicí ligandy

Jiným způsobem, jak zlepšit selektivitu PDT je zajištění přednostní akumulace PS v nádorových buňkách. Toho lze dosáhnout spojením PS s cílicím ligandem, který interaguje s receptory cílené buňky. Tímto ligandem může být například biotin, kyselina listová, proteiny, sacharidy, protilátky aj.

Biotin

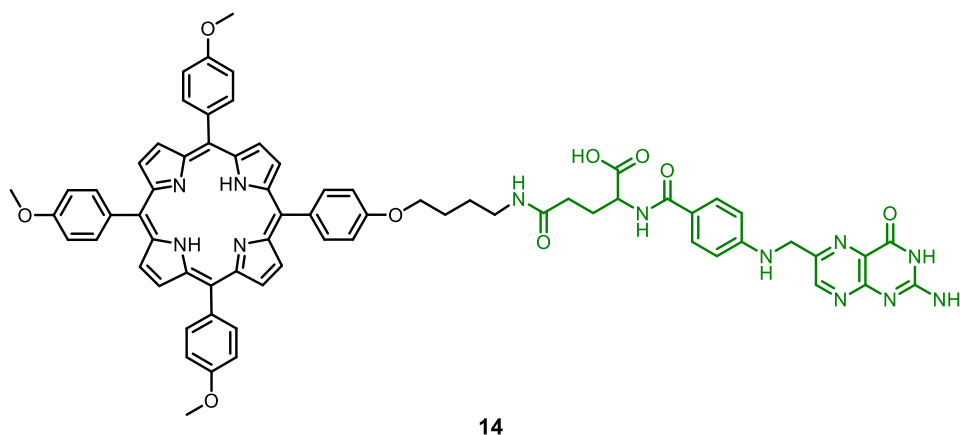
Biotin je nezbytný pro růst buněk. Pro nádorové buňky je pak klíčové jeho velké množství pro rychlé množení.[57] Proto je exprese receptorů biotinu na povrchu nádorových buněk zvýšena a lze jich využít k cílení PDT. Liu a spol. připravili chlorinový PS **13** (Obr. 11). Jedná se o upravenou strukturu klinicky schváleného Chlorinu e_6 (Ce_6), do kterého je zavedena molekula biotinu.[58] To vede ke zlepšené akumulaci v HeLa buňkách než u Ce_6 , za současného zachování vysoké účinnosti generování singletového kyslíku. Výsledkem je potom zvýšena protinádorová účinnost.



Obr. 11: Konjugát chlorin – biotin **13**

Kyselina listová

Kyselina listová patří mezi vitaminy na bázi pterinu, které jsou základem pro biosyntézu nukleotidů. Receptory kyseliny listové většiny rakovinových buněk vykazují zvýšenou expresi na rozdíl od zdravých buněk, u kterých jsou špatně dostupné.[59] Li a spol. připravili PS **14** (Obr. 12) na bázi porfyrinu s připojenou kyselinou listovou. Ve srovnání s jejím ekvivalentem bez kyseliny listové, **14** vykazuje třicet pětkrát vyšší vychytávání HeLa buňkami.[60]

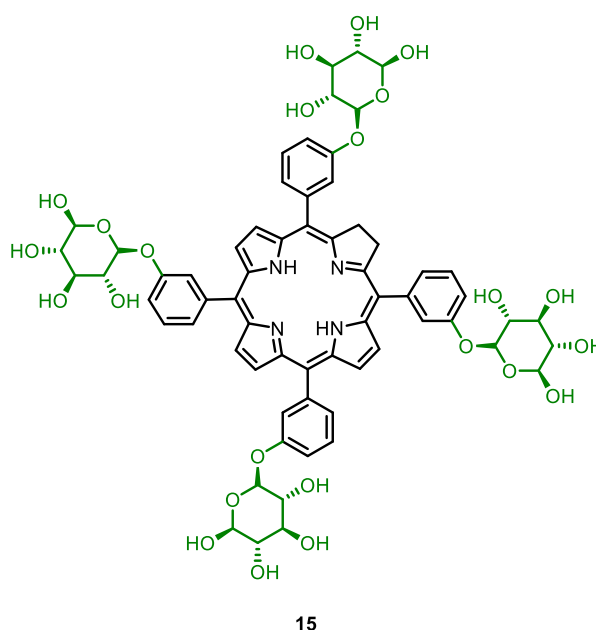


14

Obr. 12: Konjugát porfyrin – kyselina listová **14**

Sacharidy

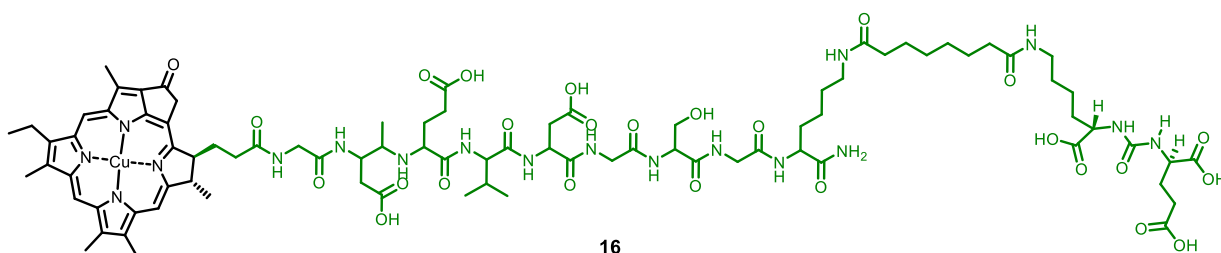
Inkorporace cukerné složky do struktury PS nemá za následek pouze zvýšení akumulace v nádorových buňkách, ale také zlepšení rozpustnosti ve vodném prostředí. Hirohara a spol. připravili chlorinový PS **15** (Obr. 13) se čtyřmi glukozovými jednotkami.[61] I když tato modifikace neměla příliš velký vliv na schopnost penetrovat do buněk, způsobila vysoký nárůst cytotoxicity.



Obr. 13: Konjugát chlorin – glukóza **15**

Peptidy

Výhoda cílicích peptidů spočívá v jejich malé molekulové hmotnosti a snadné syntéze. Účinné jsou kvůli zvýšené expresi některé receptorů enzymů. Harmatys a spol. připravili PS **16** (Obr. 14) s peptidickým řetězcem cílicím konkrétně na prostatický specifický membránový antigen.[62] Jedná se o transmembránový glykoprotein, jehož exprese je zvýšena při rakovině prostaty. Látka **16** vykazuje vysokou selektivitu a poměr výskytu v nádoru a zdravých buněk 10:1.



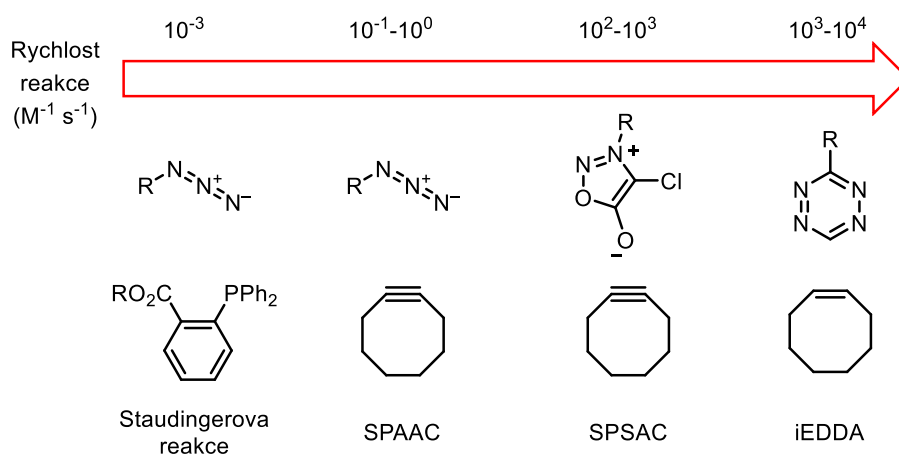
Obr. 14: Konjugát porfyrin – peptid **16**

Protilátky

I když nízkomolekulární PS se snadno vstřebávají do buněk, jejich krátká doba strávená v nich vyžaduje opakované dávky.[63] Oproti tomu PS spojené s protilátkami vykazují dlouhé setrvání v krevním oběhu, ale špatnou penetraci do tkání, kvůli vysokým molekulovým hmotnostem.[64] Zhu a spol. vyvinuli systém PS Ce_6 spojeného s protilátkou cílící na imunitní kontrolní bod B7-H3 nemalobuněčného plicního karcinomu.[65] Takovýto konjugát zlepšil kromě selektivity také rozpustnost ve vodním prostředí a celkovou účinnost PDT ve srovnání s běžným Ce_6 .

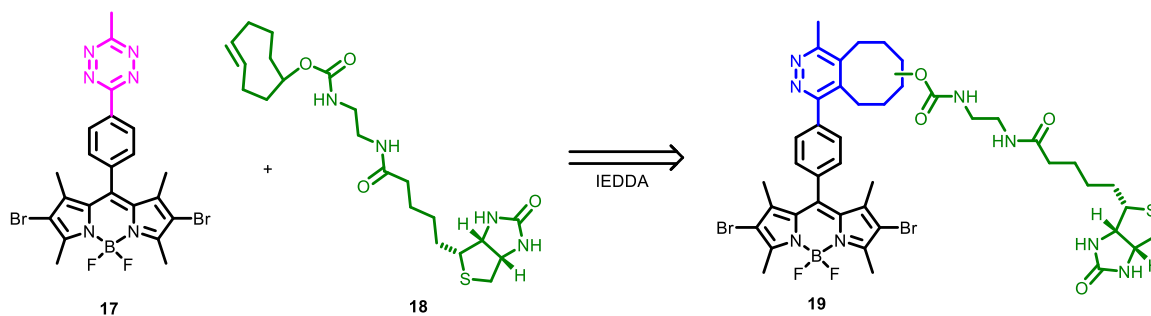
1.4.3 Bioortogonální reakce

Možnost provádět chemické reakce v živých systémech poskytla nový pohled na fungování buněk. Obor bioortogonální chemie se vyvinul z původní aplikace značení a zobrazování biomolekul do ceněné metody studia a modifikace složitých molekulárních interakcí nebo návrhu terapeutických biokonjugátů nové generace.[66]–[68] Biotrogonální reakce jsou tedy organické reakce, které mohou probíhat v biologické systémech a jsou s nimi kompatibilní. Je nezbytné, aby reakce byla rychlá, specifická a s vysokou výtěžností. Kromě již zmíněných využití lze biortogonální reakce uplatnit i k vývoji tzv. OFF-ON PS. Aplikace těchto systémů potom probíhá ve dvou krocích. Prvně je organická molekula s bioortogonální funkční skupinou nashromážděna v požadované tkáni díky cílicímu ligandu (biotin, kyselina listová aj.). Následuje zavedení deaktivovaného PS (PeT, FRET aj.), který nese komplementární funkční skupinu. Po reakci dojde k přerušení zhášecího mechanismu a aktivaci PS. Reakce může probíhat různými mechanismy v závislosti na interagujících funkčních skupinách. Reakční rychlost se pak odvíjí od daného mechanismu (**Obr. 15**).[69] Typickými reakcemi jsou např. Staundingerova reakce, napětím podporovaná azido-alkynová (SPAAC) nebo sydnone-alkynová cykloadice (SPSAC), inverzní elektron-deficitní Diels-Alderova reakce mezi tetrazinem a alkenem/alkynem (iEDDA).



Obr. 15: Srovnání rychlostí bioortogonálních reakcí

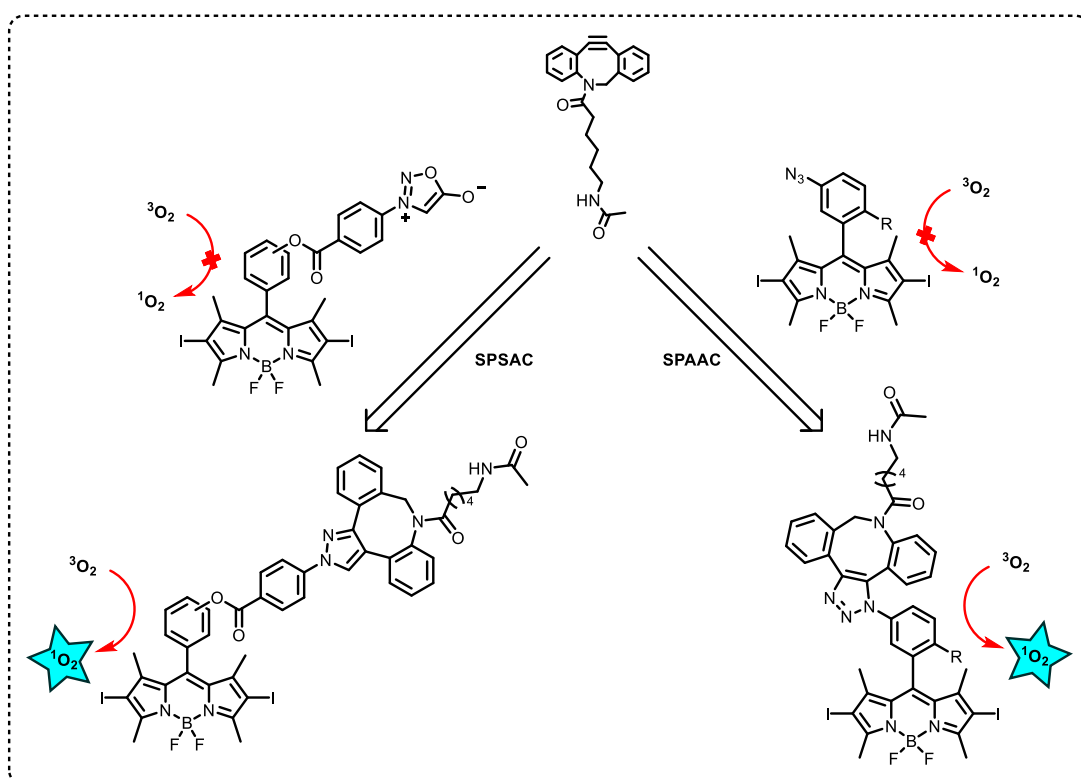
Zhou a spol. nedávno (2020) připravili BODIPY **17** se zhášejícím tetrazinovým substituentem.[70] Ten byl aktivován *trans*-cyklooktenolem s biotinovou jednotkou **18** ve smyslu iEDDA za vzniku **19** (Obr. 16). Výsledkem je patnácti násobné zvýšení Φ_f a nárůst cytotoxicity (IC₅₀).



Obr. 16: Schéma aktivace látky **17** bioortogonální reakcí

2 Výsledky a diskuse

Cílem této práce bylo připravit aktivovatelné PS na bázi BODIPY. Byly navrženy dva typy systémů, oba aktivovatelné bioortogonální reakcí (**Obr. 17**). V této kapitole bude postupně popsána syntéza jednotlivých systémů a zhodnoceny výsledky měření jejich spektroskopických vlastností. První kapitola je věnována přípravě dibenzocyklooktynu, který byl použit jako dipolarofil v 1,3-dipolárních cykloadičních reakcích. Další část popisuje systémy BODIPY nesoucí jednotku sydnonu. Následuje kapitola o systémech BODIPY s azidovou skupinou.



Obr. 17: Navržené typy BODIPY aktivovatelné bioortogonální

2.1 DBCO-Ac

Oba typy navržených systémů jsou aktivovatelné bioortogonální reakcí. Jako druhá reakční komponenta pro tyto reakce byl zvolen dibenzocyklooktyn **DBCO-Ac**, který reaguje ve smyslu 1,3-dipolární cykloadice s 1,3-dipóly. Výhodou této látky je její syntetická dostupnost, stabilita ve vodním prostředí a na vzduchu a také rychlost cykloadiční reakce.

Syntéza **DBCO-Ac** je mimo posledního acetylačního kroku popsána.[71] Vychází z komerčně dostupného dibenzosuberenu **20**, který byl převeden nukleofilní adicí

hydroxylaminu na oxim **21** (Schéma 7). Následný Beckmannův přesmyk v TFA vedl k amidu **22** (Schéma 7).

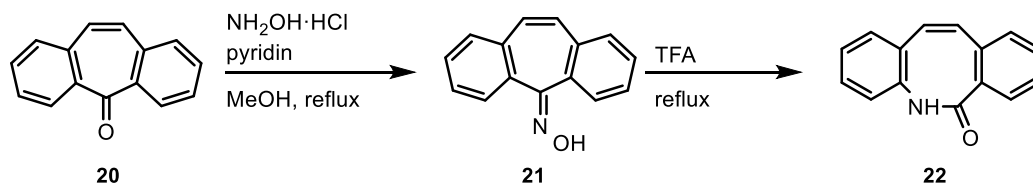


Schéma 7: Příprava látky **22**

Následoval redukční krok na amin **23** pomocí LiAlH_4 (Schéma 8).

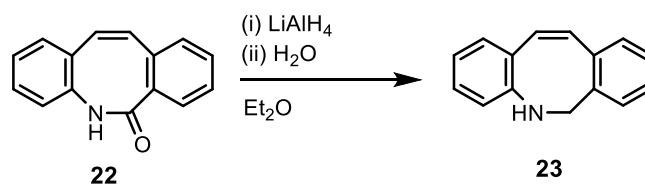


Schéma 8: Příprava látky **23**

Dále bylo nutné připravit linkr **26**, který byl následně připojen na **23**. Jeho příprava vychází z ϵ -aminokapronové kyseliny **24**, na jejíž aminovou skupinu byla v prvním kroku navázána trifluoracetylová chránící skupina pomocí TFAA (Schéma 9). Průběh reakce byl sledován pomocí důkazové reakce s roztokem ninhydrinu, se kterým výchozí látka na rozdíl od produktu **25** poskytuje pozitivní reakci. Následně byla kyselina **25** převedena na acylchlorid **26** reakcí s oxalychloridem za přítomnosti katalytického množství DMF (Schéma 9).

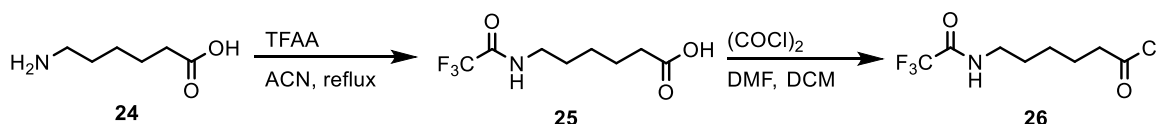


Schéma 9: Příprava látky **26**

Následujícím krokem byla nukleofilní acylová substituce **23** s chloridem karboxylové kyseliny **26** za přítomnosti báze pyridinu (Schéma 10). Vzniklý produkt **27** v další reakci reagoval s postupně přidávaným Br_2 , dokud reakce neproběhla kvantitativně za tvorby **28** (Schéma 10). Následoval krok eliminační vedoucí k tvorbě **29** s trojnou vazbou vyžadovanou pro pozdější cykloadiční reakce. V reakci byl použit jako báze $t\text{-BuOK}$ (Schéma 10).

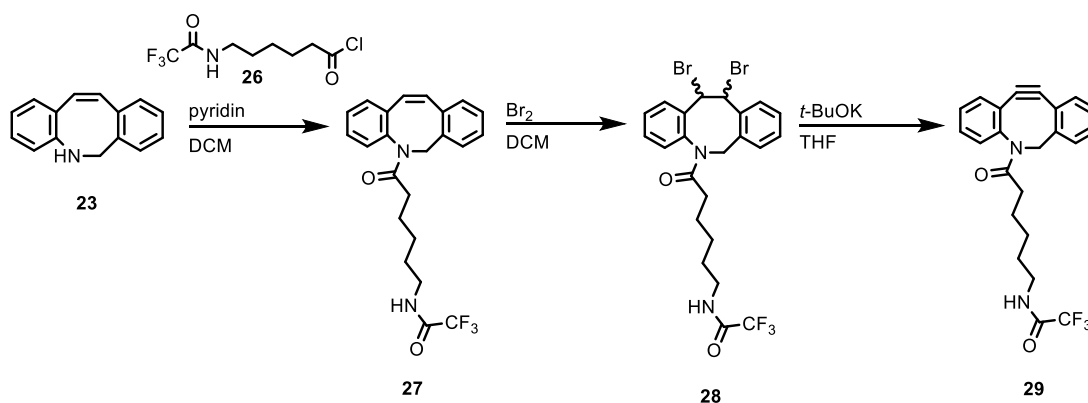


Schéma 10: Příprava látky 29

Odchránění aminové skupiny bylo provedeno v bazickém prostředí K_2CO_3 (**Schéma 11**). Vzniklý produkt **30** je na vzduchu nestabilní a je potřeba jej uchovávat při $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

Původně bylo zamýšleno na aminovou skupinu **30** navázat jednotku biotinu. Ovšem z časových důvodů a pro snadnější manipulaci byla provedena pouze acetylace, které postačuje k ověření konceptu. Reakce byla provedena acetylchloridem a vedla k požadovanému produktu **DBCO-Ac** dále využitého v cykloadičních reakcích (**Schéma 11**).

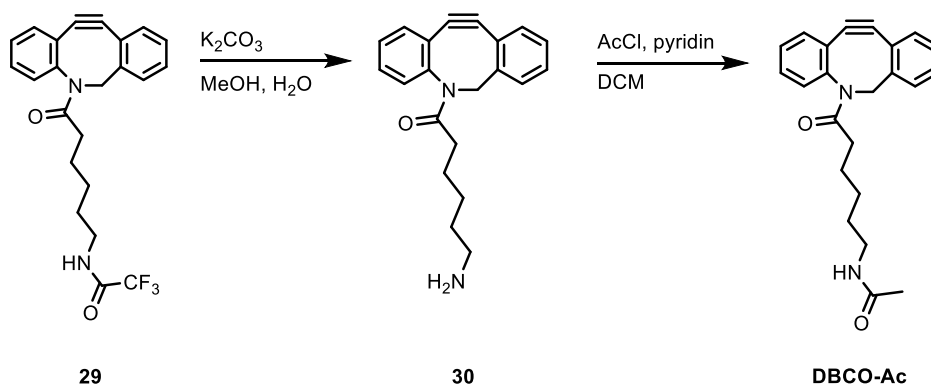
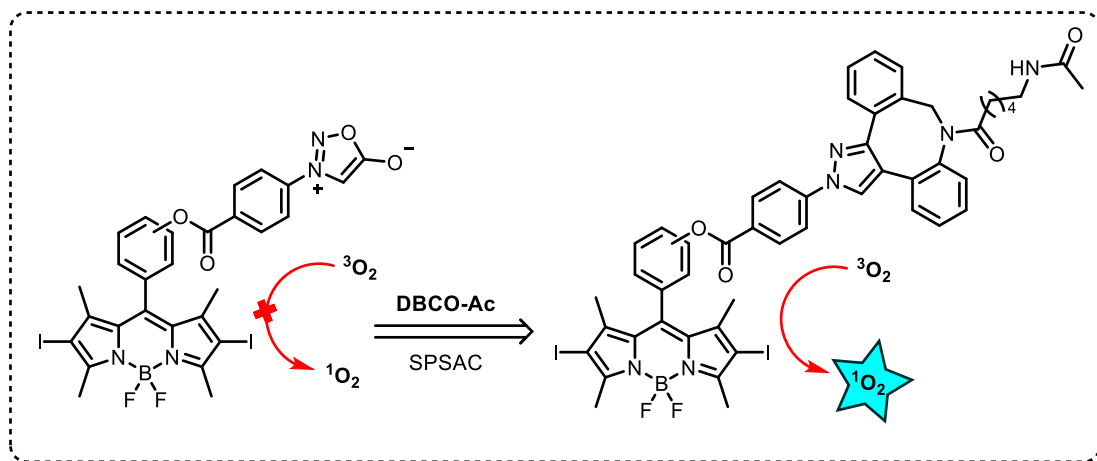


Schéma 11: Příprava látky DBCO-Ac

2.2 BODIPY se sydnony

Prvně připraveným a zkoumaným systémem byl PS se sydnonovou jednotkou. Sydnony jsou meziiontové sloučeniny, které mohou reagovat s alkyny cykloadiční reakcí (SPSAC, **Obr. 18**) za tvorby pyrazolu a oxidu uhličitého.[72], [73] Jejich schopnost zhasět fluorescenci byla dříve demonstrována na kumarínech.[74] Proto byla navržena série tří BODIPY s fenylovou substitucí v poloze 8-. Ta nese v polohách ortho-, meta-, respektive para sydnonovou jednotku na dalším benzenovém jádře.



Obr. 18: Aktivace BODIPY se sydnonem pomocí **DBCO-Ac**

Syntéza byla založena na přípravě BODIPY s fenolickou skupinou a sydnonu na benzenovém jádře s karboxylovou kyselinou. Tyto dvě molekuly poté byly spojeny esterifikační reakcí (**Schéma 12**).

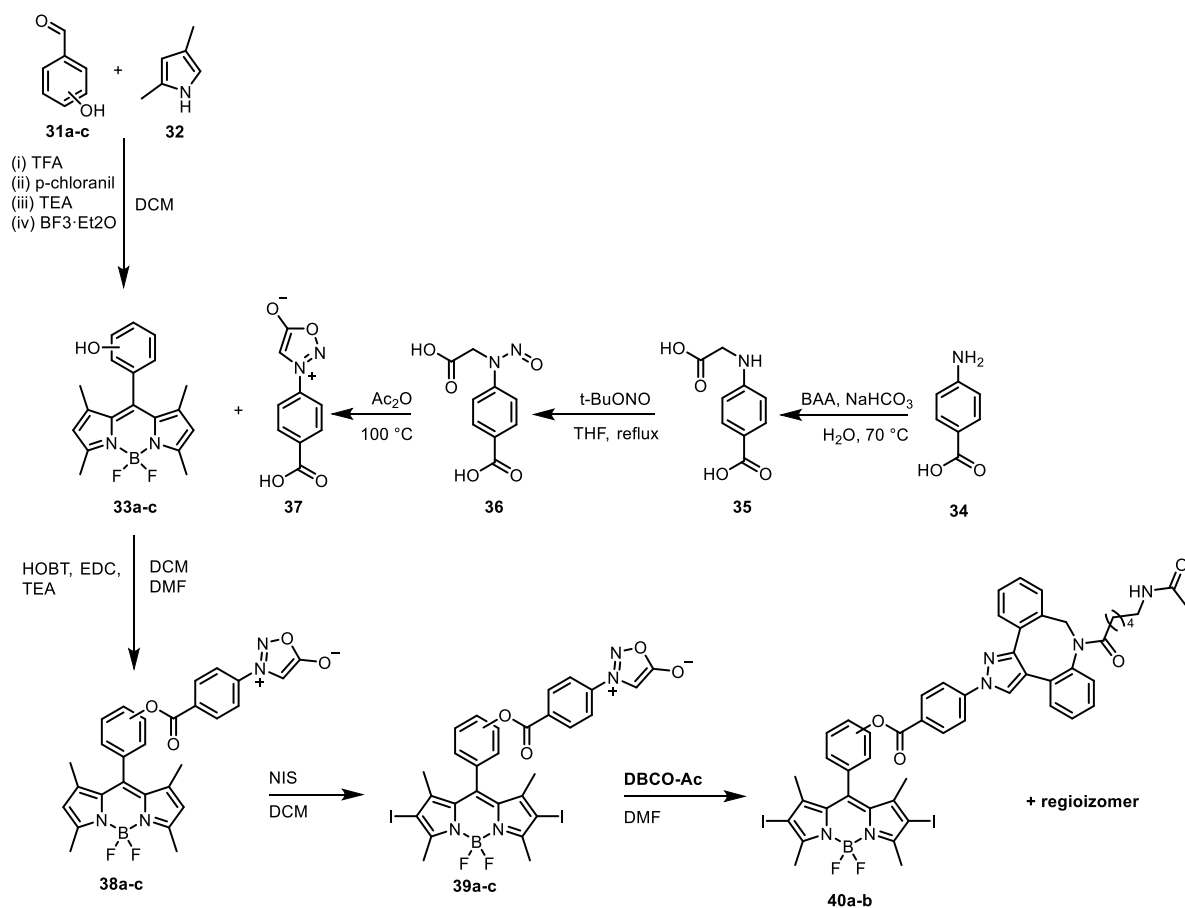


Schéma 12: Syntetický plán vedoucí k látkám **40a-b**

2.2.1 Syntéza

Příprava BODIPY **33a-c** byla provedena one-pot reakcí vycházející z hydroxybenzaldehydů **31a-c** (Schéma 13). Ta probíhala ve třech krocích – kondenzaci s dimethylpyrrolem **32**, oxidací *p*-chloranilem a komplexací s BF₃·Et₂O.

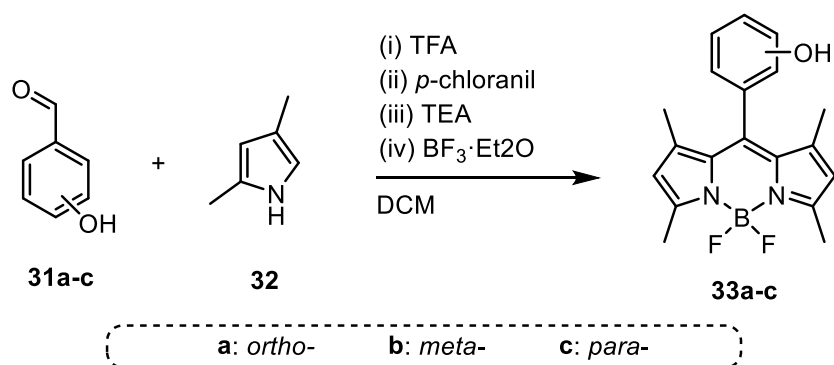


Schéma 13: Příprava látek **33a-c**

Sydnon **37** byl připraven třemi reakcemi (Schéma 14). Prvně byla kyselina **32** alkylována kyselinou bromoctovou za vzniku **33**. Následovala nitrosace *terc*-

Butylnitrem vedoucí k **34** a nakonec cyklodehydratační krok v acetanhydridu (Schéma 8).

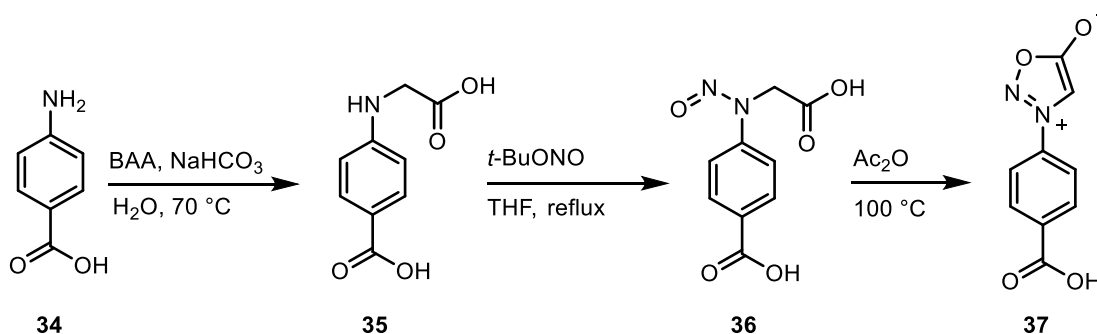


Schéma 14: Příprava sydnonu **37**

Při esterifikační reakci (Schéma 15) nastal problém, kdy nevznikal požadovaný produkt a zároveň docházelo k postupnému rozkladu výchozích látek. Pravděpodobným důvodem nereaktivita fenolické skupiny mohla být nedostatečná nukleofilita -OH skupiny. Ovšem při optimalizaci bylo zjištěno, že změna couplingového činidla nebo báze neměla na výtěžnost vliv (Tab II). Klíčová se ukázala volba rozpouštědla, kdy pouze kombinace DCM a DMF vedla k požadovaným produktům **38a-c**. Dále bylo nutné zkrátit reakční čas, protože příliš dlouhým mícháním docházelo k rozkladu produktu.

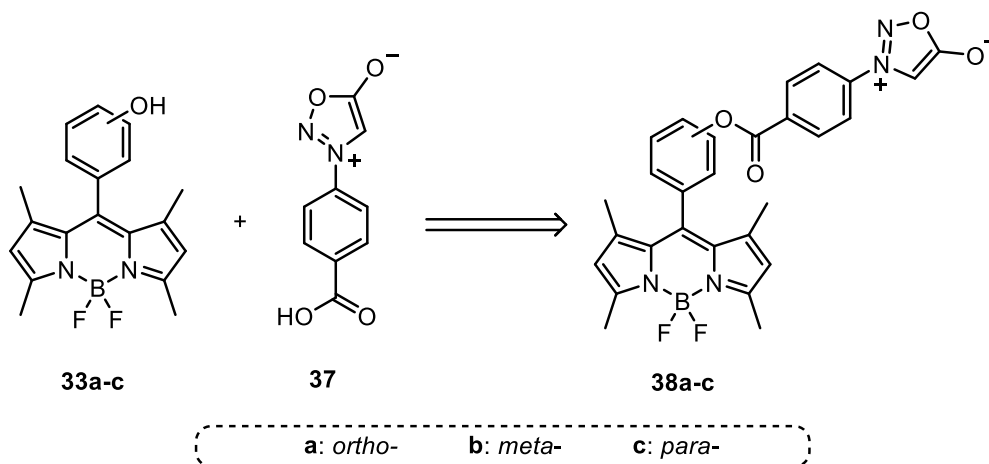
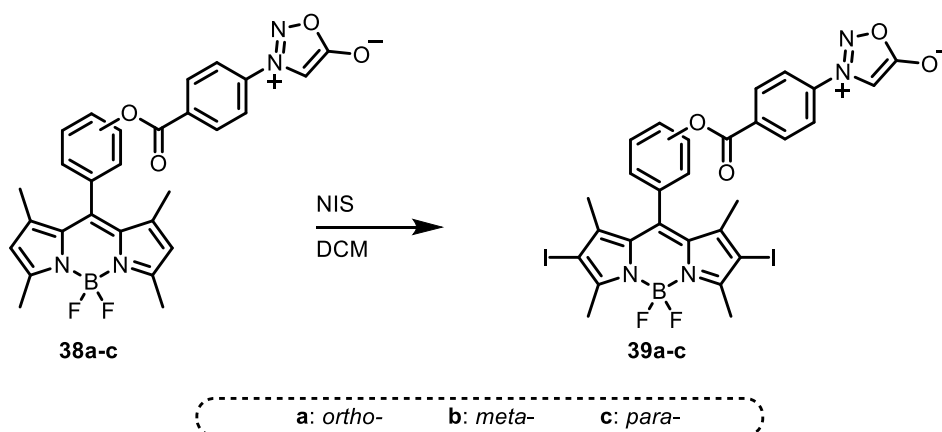


Schéma 15: Ester couplingová reakce BODIPY **33a-c** se sydnonem **37**

Tab II: Optimalizace esterifikační reakce BODIPY **33a-c** se sydnonem **37**

Činidlo	Rozpouštědlo	Čas (h)	Teplota	Výtěžnost (%)
HOBt, EDC, TEA	DCM	16	r.t.	0
HOBt, EDC, TEA	DMF	16	r.t.	0
DMAP, DCC, TEA	DCM	16	r.t.	0
DMAP, DCC, TEA,	DMF	16	r.t.	0
TATU, DIPEA	DMF	16	r.t.	0
HOBt, EDC TEA	DCM : DMF 1 : 1	3	r.t.	19

Následovala jodace pomocí NIS do poloh 2- a 6- pro podpoření ISC vedoucí k produktům **39a-c** (Schéma 16). Potenciální produkt jodace na jádře sydnonu se při zvolených podmínkách (2 ekv NIS) neobjevil a vyizolován byl jenom produkt regioselektivní jodace **39**.

**Schéma 16:** Příprava látek **39a-c**

Posledním krokem byla 1,3-dipolární cykloadice látek **39a-c** s **DBCO-Ac** v DMF. Po této reakci byly izolovány pouze BODIPY se substitucí v *ortho*- a *meta*- polohách **40a** a **40b** (Schéma 17). *Para*- izomer byl připraven pouze v malém množství s neuspokojivou čistotou. Všechny produkty byly izolovány jako směs regioizomerů.

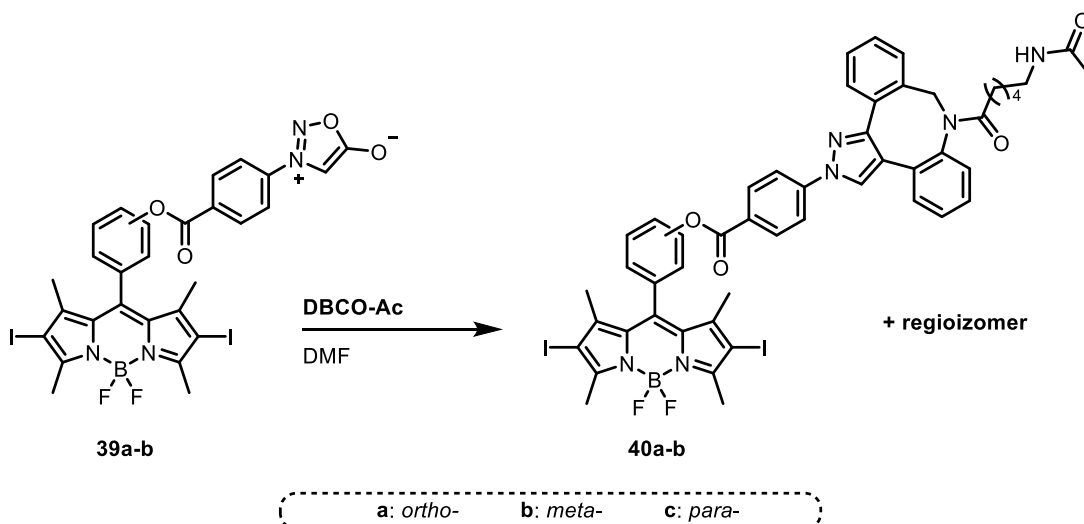


Schéma 17: Příprava látek **40a-b**

2.2.2 Měření spektrálních vlastností

Po syntéze byly u finálních produktů měřeny vybrané spektroskopické vlastnosti. Výsledky měření jsou uvedeny v **Tab. III**. Kvantový výtěžek tripletového stavu Φ_{Δ} byly určeny z fotodegradace a snížení absorbance 1,3-difenylišobenzofuranu (DPBF). Ten se v přítomnosti singletového kyslíku rozkládá na endoperoxid a následně na 1,2-dibenzoyl benzen (DBB) (**Schéma 18**). Jako standard byla použita bengálská růžová ($\Phi_{\Delta} = 0.76$ v MeOH).

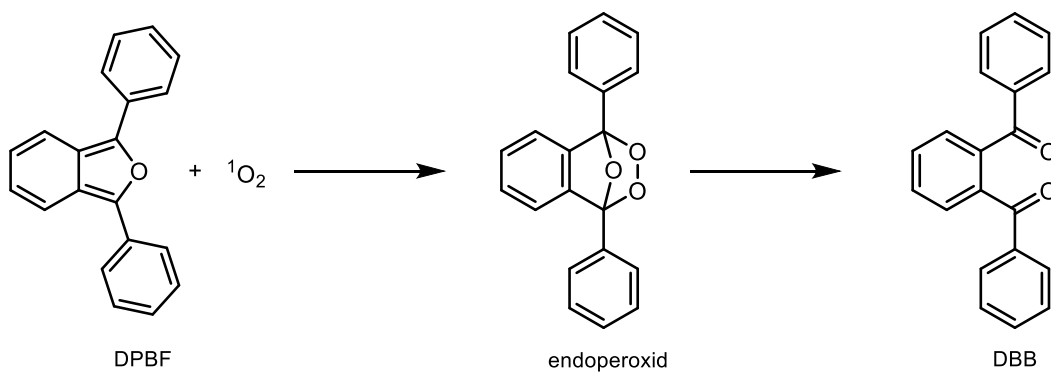


Schéma 18: Degradace DPBF singletovým kyslíkem

Tab III: Spektroskopické vlastnosti připravených látek

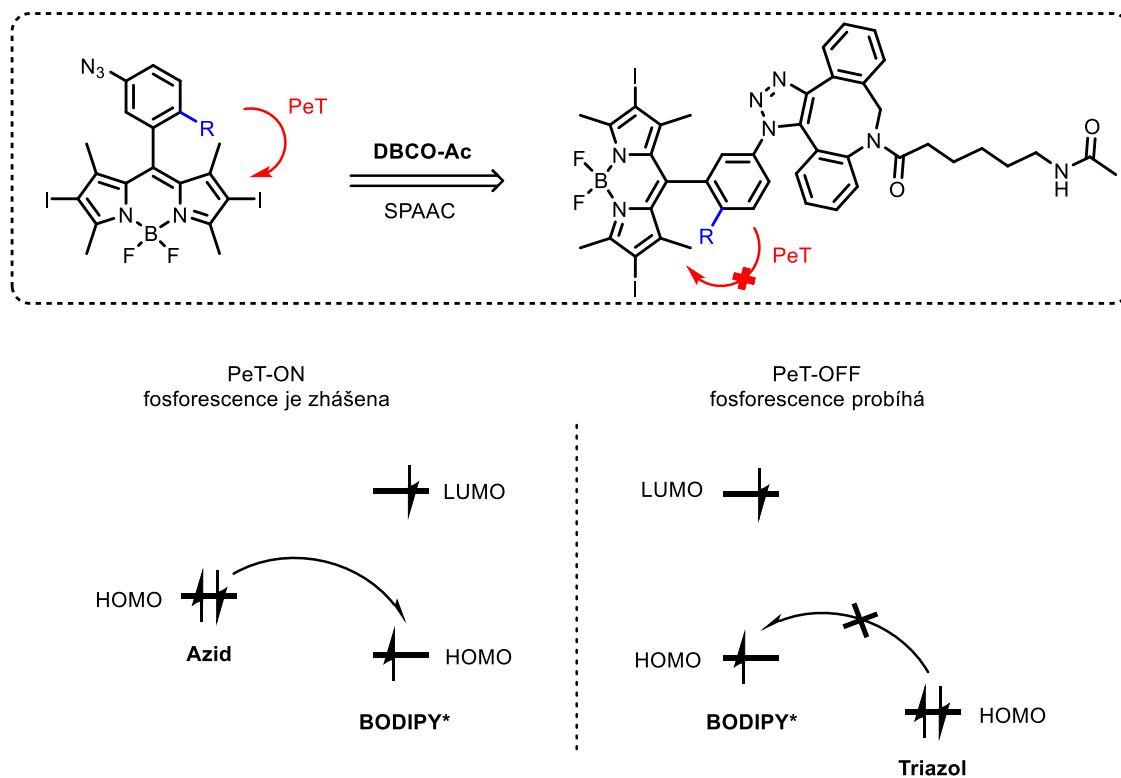
Látka	λ_{abs} (nm) ^a	Φ_{Δ} ^a
39a	537	1.169
40a	537	1.067
39b	532	1.015
40b	532	1.230
39c	532	1.114

^a měřeno v MeOH

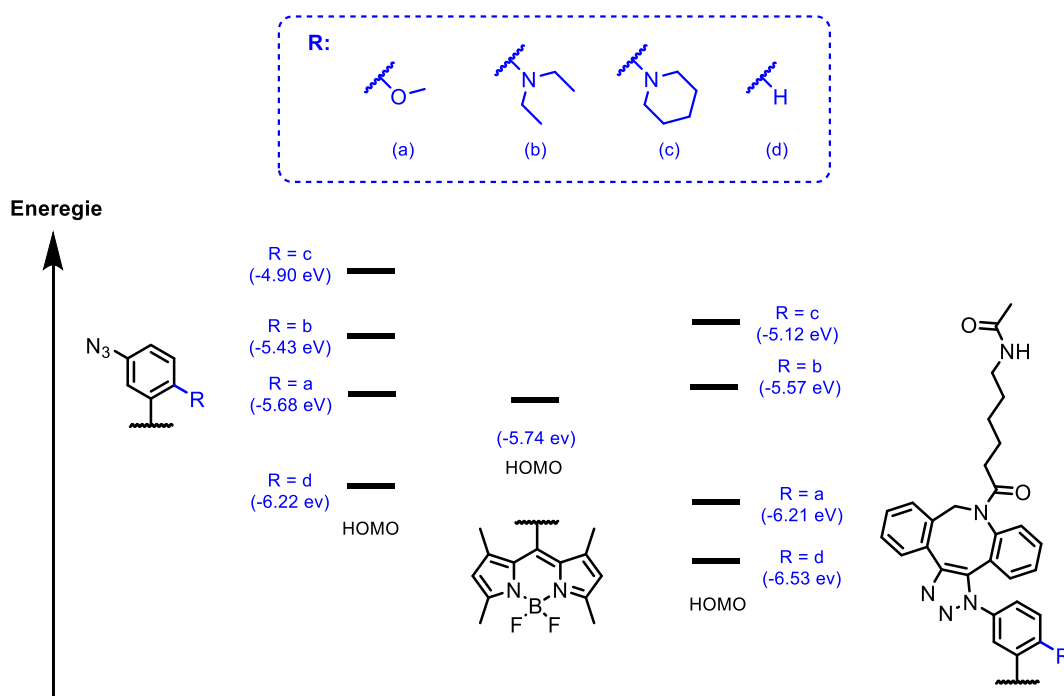
Tab III naznačuje, že po cykloadiční reakci nedochází k aktivaci. V naměřených datech není jednoznačný trend, který by ukazoval, že po reakci s **DBCO-Ac** narůstá Φ_{Δ} . To znamená, že jednotka sydnou nezháší fosforescenci a připravené látky **39a-c** nelze považovat za aktivovatelné systémy. Možným důvodem je přílišná vzdálenost sydnou od jádra BODIPY. V tom případě by se jako řešení nabízelo připravit BODIPY, které by mělo jednotku sydnou pouze na jednom benzenovém kruhu nebo případně přímo na jádře BODIPY v poloze 2- nebo 6-.

2.3 BODIPY s -N₃ skupinou

Druhý navržený typ systému byl založený na zhášení fluorescence/fosforescence pomocí PeT probíhající mezi arylovým zbytkem (donorem) a samotným jádrem BODIPY v excitovaném stavu (akceptorem). Záměrem bylo, aby energie HOMO arylu s azidovou skupinou v meta- poloze byla vyšší než energie HOMO jádra BODIPY. Tehdy by docházelo k přesunu elektronu a fluorescence/fosforescence by byla zhášena. Po reakci azidové skupiny s **DBCO-Ac** ve smyslu SPAAC za vzniku triazolu by došlo k takovému snížení energie HOMO arylu, kdy by PeT neprobíhal a PS by produkoval singletový kyslík (**Obr. 19**). Pro představu byly provedeny výpočty energií HOMO v softwaru Gaussian 09W pro čtyři substituenty s různými elektrondonorními skupinami.[75] Z důvodu limitace programu a možností provádět výpočty jenom pro molekuly obsahující atomy po krypton byla zavedena aproximace, kdy energie jádra BODIPY byla vypočtena pro systém bez jódů a lze očekávat, že ve skutečnosti bude energie vyšší. Podle **Obr. 20**. lze předpokládat, že PeT bude probíhat v systémech s aminovými substituenty, protože dosahují dostatečně vysokých energií HOMO. U systému s -OMe substitucí není výsledek jednoznačný, ovšem vzhledem k nízkému rozdílu energií mezi arylovým zbytkem a jádrem BODIPY a již zmíněné aproximaci nelze PeT očekávat. Systém bez substituce pak vykazuje příliš nízkou energii.



Obr. 19: Mechanismus PeT při aktivaci BODIPY s -N₃ skupinou pomocí **DBCO-Ac**



Obr. 20: Diagram zobrazující hodnoty energií HOMO vybraných substitucí arylového zbytku a BODIPY

2.3.1 Syntéza

Syntéza vycházela z nitrobenzaldehydů **41** a **42**, které byly modifikovány požadovanými substituenty za vzniku **43a-b** (Schéma 19). Nitrobenzaldehyd **43d** bez substituce je komerčně dostupný a nemusel být připravován.

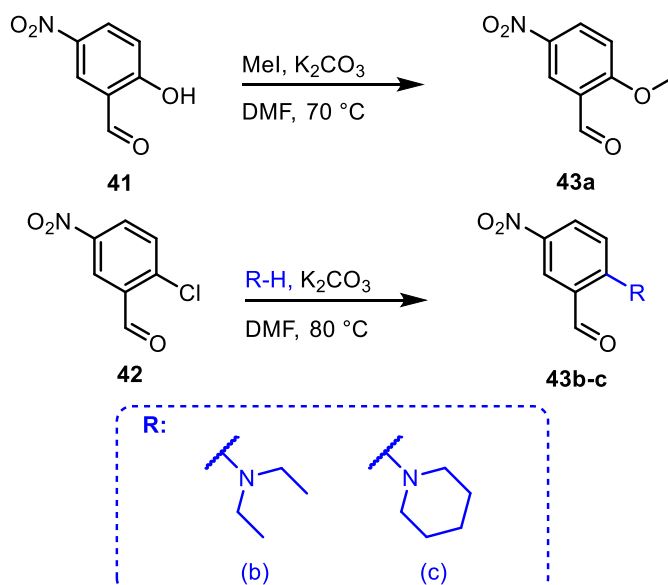


Schéma 19: Příprava látek **43a-c**

BODIPY **44a-d** poté byly připraveny obdobnou one-pot reakcí s 2,4-dimethylpyrrolem jako u předešlých systémů (Schéma 20). Následovala redukce $-\text{NO}_2$ na $-\text{NH}_2$ pomocí paladia na aktivním uhlí s použitím hydrazinu jako donoru vodíku za vznik **45a-d** (Schéma 20). Amino skupina byla dále převedena na skupinu azidovou v přítomnosti *tert*-Butylnitritu a trimethylsilylazidu za vzniku **46a-d** (Schéma 20). Jodací pomocí NIS byly připraveny systémy **47a-d** (Schéma 20). Posledním krokem byla 1,3-dipolární cykloadice s **DBCO-Ac** v DMF za vzniku dvou regioizomerů látek **48a-d** (Schéma 20).

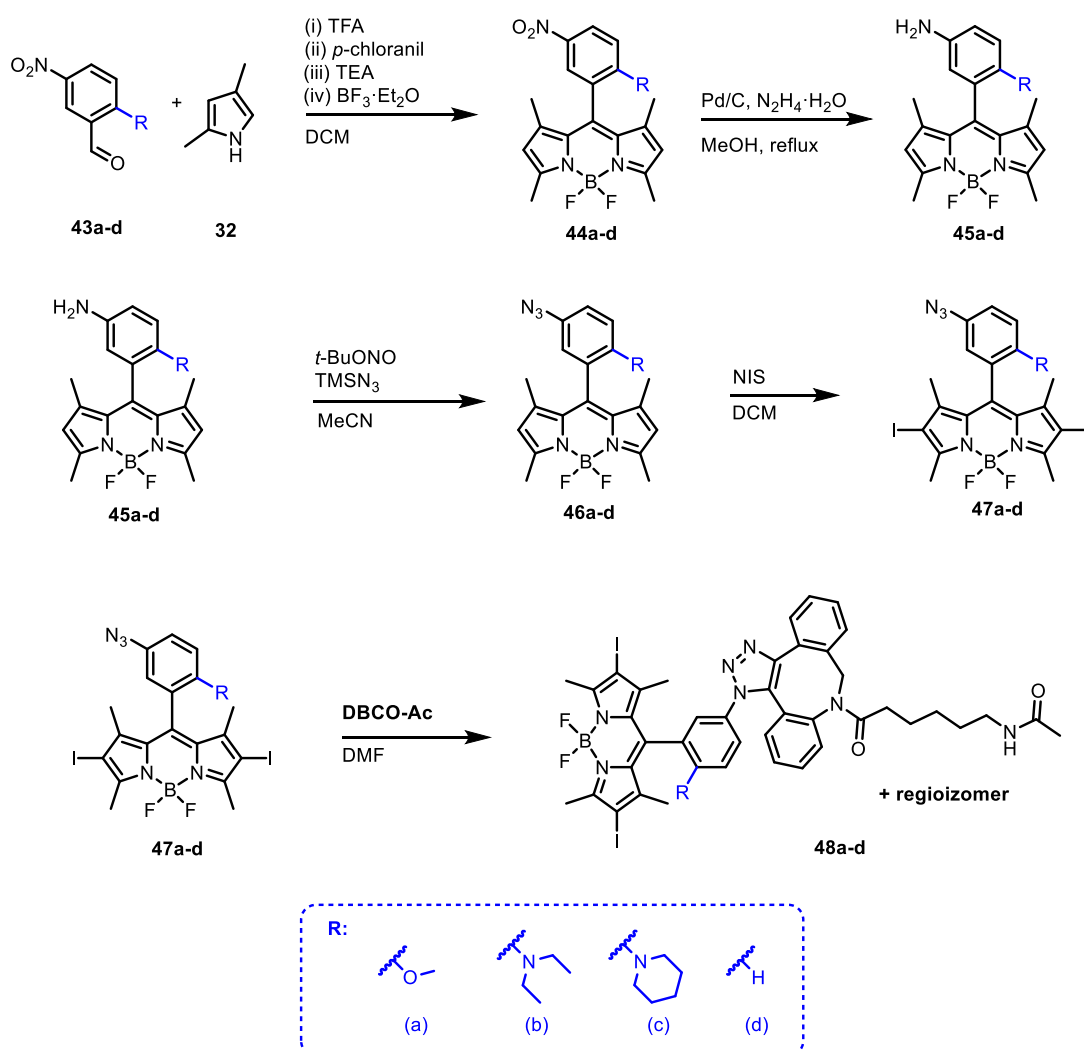


Schéma 20: Příprava látek **48a-d**

Dále bylo v úmyslu připravit látky s rozšířeným konjugovaným systémem pro absorpci záření v NIR oblasti. Pro tento účel byla zvolena Knoevenagelova kondenzace s benzaldehydem **51**, který nese dva polyethylenglykolové řetězce. Reakce proto kromě bathochromního posunu poskytne i lepší rozpustnost a hydrofilicitu. Při přípravě **51** reagoval dihydroxybenzaldehyd **49** a tosyl **50** nesoucí triethylenglykolový řetězec (Schéma 21).

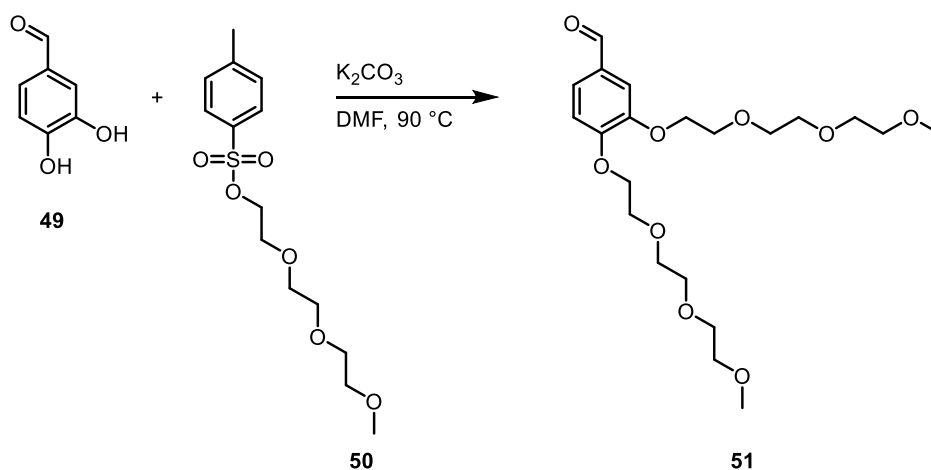


Schéma 21: Příprava látky **47**

Kondenzace byla provedena pouze s látkami **47a** a **47d** z důvodu malé výtěžnosti a nedostatku výchozího materiálu. Ovšem pouze **52d** se podařilo vyizolovat v dostatečném množství. Reakce probíhá za použití piperidinu a kyseliny octové v toluenu. Následovala opět aktivace s **DBCO-Ac** za vzniku **53d** (Schéma 22).

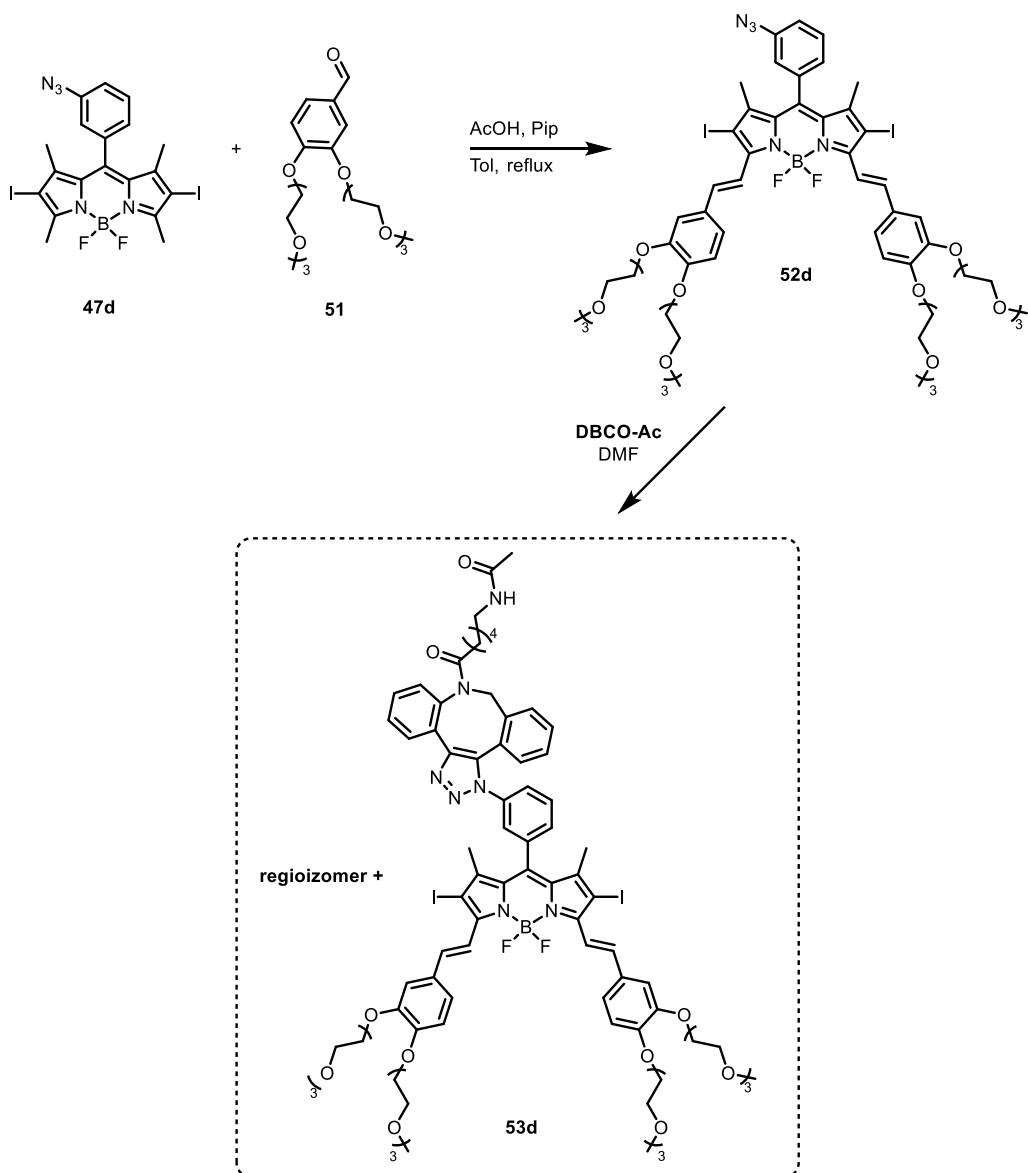


Schéma 22: Příprava látky 53d

2.3.2 Měření spektrálních vlastností

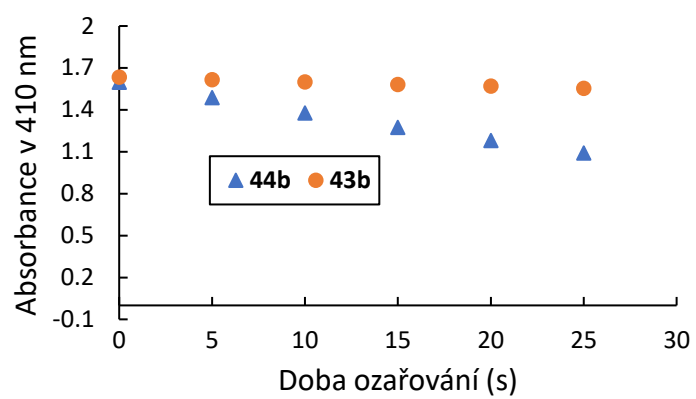
Po syntéze byly u finálních produktů stanoveny vybrané spektroskopické vlastnosti. Výsledky měření jsou uvedeny v **Tab. IV**. Pro látky absorbující v NIR oblasti byla jako standard použita methylenová modř ($\Phi_{\Delta} = 0.57$ v DCM) a pro látky absorbující ve viditelné oblasti bengálská růžová ($\Phi_{\Delta} = 0.76$ v MeOH).

Tab IV: Spektroskopické vlastnosti připravených látek

Látka	λ_{abs} (nm) ^a	ϵ (10 ⁴ M ⁻¹ cm ⁻¹) ^a	Φ_{f} ^a	Φ_{Δ} ^a	Změna Φ_{Δ} po aktivaci (48 Φ_{Δ} / 47 Φ_{Δ})
47a	535	7.1	0.024	0.974	0.93
48a	537	5.9	0.019	0.909	
47b	540	6.1	0.000	0.082	6.49
48b	543	3.8	0.000	0.532	
47c	542	4.8	0.000	0.093	3.89
48c	545	4.6	0.002	0.362	
47d	533	6.3	0.012	0.841	0.89
48d	535	5.8	0.007	0.751	
52d	662	3.2	–	0.700	0.89
53d	667	3.1	–	0.626	

^a měřeno v MeOH

Experimentální data korespondují s výpočty energií HOMO, které naznačovaly, že pouze aryly s amidovými substituenty dosahují dostatečné energie pro PeT. Pouze azidy **47b** a **47c** vykazují snížený Φ_{Δ} ve srovnání s jejich triazolovými ekvivalenty **48b** a **48c**. Účinnější z těchto dvou látek se ukázala **47b**. **47c** má sice jen nepatrně vyšší Φ_{Δ} , ovšem po aktivaci dojde pouze k čtyřnásobnému zvýšení Φ_{Δ} . Energie jeho arylového zbytku je zřejmě příliš vysoká, a proto i po aktivaci stálého probíhá PeT. Energie arylu **47b** se zdá být ideální, protože **48b** poskytuje více než šestnásobný nárůst Φ_{Δ} (**Obr. 21**). Na druhou stranu u **47b** ani **48b** nebyla detekována žádná fluorescence, zatímco **48d** poskytuje nárůst Φ_{f} oproti **47d**. BODIPY **47a** a **47d** nevykazují náznak aktivace. Naopak po cykloadiční reakci se jejich Φ_{Δ} i Φ_{f} dokonce mírně snížila. **52d** nelze porovnat s ostatními látkami, jelikož její Φ_{Δ} byl počítán pro odlišný standard. Ovšem stejně jako její ekvivalent bez rozšířeného konjugovaného systému **47d**, vykazuje po aktivaci nižší Φ_{Δ} . Podobný trend byl pozorován u Φ_{f} . U všech azidů byl pozorován stejný trend mírného nárůstu λ_{abs} po reakci s **DBCO-Ac**.



Obr. 21: Srovnání fotodegradace DPBF v přítomnosti **47b**, respektive **48b**

3 Experimentální část

HRMS analýza byla provedena na systému tvořeném kapalinovým chromatografem (Dionex UltiMate 3000, Thermo Fischer Scientific, MA, USA) a hmotnostním spektrometrem Exactive Plus Orbitrap high-resolution (Thermo Fischer Scientific, MA, USA). Jako ionizační zdroj byl použit elektrosprej. Snímání spekter: kladný i záporný mód v rozsahu 250-1500 m/z nebo 750-2000. Chromatografická separace byla provedena na koloně Phenomenex Gemini (C18, 50 x 2 mm, 3 μm částice), při izokratické eluci, MF: 80 % ACN a 20 % pufru (0,01M octan amonný). Vzorky byly připraveny rozpuštěním látek v počáteční mobilní fázi.

LC-MS analýzy byly provedeny na systému UHPLC-MS (Waters) složeného z UHPLC chromatografu Acquity s PDA detektorem a hmotnostního spektrometru s kvadrupólem. Byla použita Nucleodur Gravity C18 kolona (rozměry 1,8 μm , 2,1 x 50 mm) při 30 °C a rychlosti průtoku 600 $\mu\text{l}/\text{min}$. Mobilní fáze byla (A) 0,1% octan amonný ve vodě a (B) 0,1% octan amonný v acetonitrilu, lineárně naprogramovaná od 10 do 80 % B po 2,5 minuty, udržováno po dobu 1 minuty. Kolona byla reekvilibrována pomocí 10% roztoku B po dobu 1 minuty. ESI zdroj operoval pod proudem 5 μA s odpařovací teplotou 350 °C a kapilární teplotou 200 °C

^1H a ^{13}C NMR spektra byla měřena na dvou přístrojích. JEOL ECA400II (400 MHz) a JEOL ECX-500 (500 MHz) Všechna NMR spektra byla pořízena za laboratorní teploty (21 °C) v rozpouštědlech CDCl_3 a DMSO-d_6 . ^1H a ^{13}C signály byly kalibrovány na signál těchto rozpouštědel. Chemické posuny δ jsou uvedeny v ppm (parts per million) a interakční konstanty (J) v hertzech (Hz).

Fluorescence byla měřena na fluorescenčním spektrometru Varian Cary Eclipse, štěrbinu 5 nm. Měření absorbance bylo prováděno UV/VIS spektrometru Cary 300 (UV111M031, Agilent).

Kvantové výtěžky tripletového stavu Φ_{Δ} byly určeny metodou fotodegradace DPBF.[76] Jako standard byla použita bengálská růžová ($\Phi_{\Delta} = 0.76$ v MeOH) a methylenová modř ($\Phi_{\Delta} = 0.57$ v DCM). Do kyvety s MeOH bylo přidáno tolik vzorku, aby absorbance dosahovala hodnot 0.1-0.15. Poté byl přidáno takové množství DPBF, aby absorbance dosahovala hodnoty přibližně 1.5. Kyveta pak byla vystavena světlu o vlnové délce 540 nm nebo 640 nm v maximu. Intenzita záření byla určena luxmetrem

Thorlabs (PM160) na hodnoty $3.70 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ respektive $2.64 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$. Doba ozařování činila 5 s. Kvantový výtěžek Φ_{Δ} byl vypočten z následující rovnice:

$$\Phi_{\Delta vz} = \Phi_{\Delta std} \frac{m_{vz} F_{std}}{m_{std} F_{vz}}$$

Kde „vz“ znamená měřený vzorek, „std“ referentní látka, „m“ je směrnice regresní přímky závislosti absorbance DPBF při 410 nm na době ozařování, „F“ je korekční faktor absorbance, který lze vypočítat jako $10^{-O.D}$, „O.D.“ je absorbance roztoku v jeho absorpčním maximu.

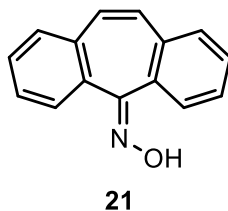
Kvantové výtěžky fluorescence Φ_f byly určeny za použití standardu fluoresceinu ($\Phi_f = 0.925$ v 1 M NaOH). Kvantový výtěžek Φ_f byly vypočteny z následující rovnice:

$$\Phi_{f vz} = \Phi_{f std} \frac{m_{vz} \eta_{vz}^2}{m_{std} \eta_{std}^2}$$

Kde „vz“ znamená měřený vzorek, „std“ referentní látka, „m“ je směrnice regresní přímky závislosti intenzity fluorescence na absorbanci, „ η “ je refrakční index.

3.1 Dibenzocyklooktyn

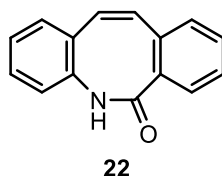
Příprava látky **21**:



Komerčně dostupný dibenzosuberanon (3 g, 0,015 mol) **20** byl rozpuštěn v 15 ml MeOH. Poté bylo přidáno 25 ml pyridinu a $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (1.22 ml, 0.029 mol). Reakce byla míchána při refluxu 16 h. Poté byla reakční směs ponechána vychladnout, bylo přidáno 150 ml Et_2O a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O , 1x 30ml 1M-HCl. Organický fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **21** byl získán ve výtěžku 84 %. V další reakci byl použit bez čištění.

MS (ESI) vypočtené m/z pro $[\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}] + \text{H}^+$: 222.0913, nalezeno 222.01

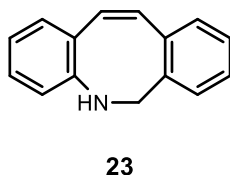
Příprava látek **22**:



K látce **21** (3 g, 0.014 mol) bylo přidáno 30 ml TFA. Reakce byla míchána při refluxu 16 h. Poté byla reakční směs ponechána vychladnout, byla vylita na led a vzniklá sraženina byla odsána. Surový produkt **22** byl dosušen na RVO a získán ve výtěžku 89 %. V další reakci byl použit bez čištění.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.83 (s, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 2H), 7.27 – 7.20 (m, 2H), 7.17 – 7.08 (m, 4H), 7.00 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H).

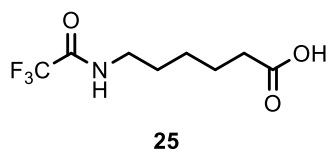
Příprava látky **23**:



K látce **22** (2 g, 0.009 mol) bylo přidáno 100 ml Et_2O . Za chlazení ledem a pod dusíkovou atmosférou bylo po kapkách přidáno 2M- LiAlH_4 v THF (10 ml, 0.020 mol). Reakce byla míchána 4 dny. Poté bylo přidáno několik kapek vody pro rozložení nezreagovaného LiAlH_4 . K vzniklé směsi bylo přidáno 150 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **23** byl získán ve výtěžku 78 %. V další reakci byl použit bez čištění.

MS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}] + \text{H}^+$: 208.1121, nalezeno 208.03.

Příprava látky **25**:

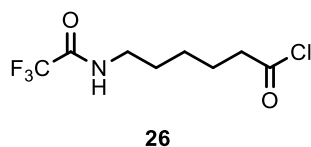


6-aminohexanová kyselina **24** (2 g, 0.015 mol) byla rozpuštěna ve 20 ml ACN. Dále byl přidán TFAA (4.24 ml, 0.030 mol). Reakce byla míchána při refluxu. Její průběh byl sledován důkazovým činidlem 5% roztokem ninhydrinu v *t*-butylalkoholu, který s výchozí látkou reaguje za vzniku fialového produktu. Po 3 h byl ACN a TFAA odpařen

na RVO. Poté bylo přidáno 150 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **25** byl získán ve výtěžku 89 %. V další reakci byl použit bez čištění.

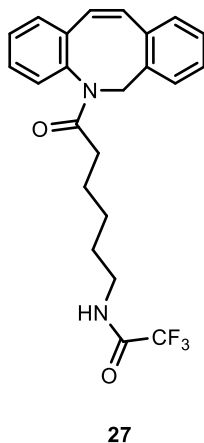
¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9.37 (s, 1H), 3.19 – 3.13 (m, *J* = 13.1, 6.8 Hz, 2H), 2.22 – 2.16 (m, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.52 – 1.45 (m, 4H), 1.30 – 1.22 (m, 2H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 174.35, 155.99, 117.12, 114.83, 33.49, 27.92, 25.67, 24.04.

Příprava látky **26**:



K **25** (3 g, 0.012 mol) bylo přidáno 80 ml DCM, (COCl)₂ (5 ml, 0.058 mol) a 1 kapka DMF. Reakce byla míchána 3 hodiny pod dusíkové atmosférou. Poté byla vzniklá HCl odfoukána dusíkem a následně DCM odpařeno na RVO. Surový produkt **26** byl získán ve výtěžku 80 %. V další reakci byl použit bez čištění.

Příprava látky **27**:

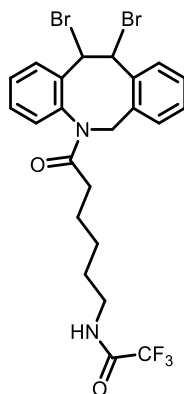


K **23** (1.2 g, 0.006 mol) bylo přidáno 30 ml DCM a 1.4 ml pyridinu. Za stálého míchání bylo po kapkách přidáváno **26** (1.5 g, 0.006 mol). Reakce byla míchána 2 h. Poté bylo přidáno 100 ml DCM a byla provedena extrakce 1x 30 ml 1M-NaOH, 3x 50 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **27** byl získán ve výtěžku 50 %. V další reakci byl použit bez čištění.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.33 – 7.26 (m, 4H), 7.18 – 7.13 (m, 4H), 6.77 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 5.46 (d, *J* = 14.9 Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 14.9

Hz, 1H), 3.30 – 3.18 (m, 2H), 2.08 – 2.02 (m, 1H), 1.93 – 1.85 (m, 1H), 1.53 – 1.42 (m, 2H), 1.42 – 1.36 (m, 2H), 1.16 – 1.05 (m, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 172.74, 141.28, 136.20, 135.91, 135.00, 132.63, 132.40, 131.76, 130.71, 128.59, 128.24, 128.08, 127.50, 127.29, 127.22, 54.87, 39.56, 34.30, 28.13, 25.90, 24.03. MS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2]+\text{H}^+$: 417.1784, nalezeno 417.12.

Příprava látky **28**:

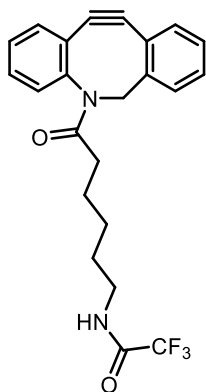


28

K **27** (0.89 g, 0.002 mol) bylo přidáno 30 ml DCM. Za stálého míchání bylo po kapkách přidáno 0.055 ml (0.001 mol) Br_2 . Po 1 h bylo přidáno dalších 0.055 ml. Tento krok byl opakován celkem čtyřikrát a celkově tedy bylo přidáno 0.220 ml Br_2 . Poté bylo DCM odpařeno na RVO. Surový produkt **28** byl získán ve výtěžku 99 %. V další reakci byl použit bez čištění.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.74 – 7.60 (m, 1H), 7.24 – 6.82 (m, 7H), 5.85 (dd, $J = 46.0, 12.4$ Hz, 1H), 5.19 (dd, $J = 38.9, 9.7$ Hz, 1H), 3.39 – 3.32 (m, 2H), 2.39 – 2.27 (m, 1H), 2.16 – 2.03 (m, 1H), 1.75 – 1.63 (m, 2H), 1.59 – 1.50 (m, 2H), 1.38 – 1.26 (m, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 173.49, 172.69, 139.93, 138.31, 137.31, 137.21, 133.66, 133.00, 132.33, 130.94, 130.66, 130.59, 129.99, 129.81, 129.78, 129.64, 129.61, 129.30, 129.22, 129.13, 129.05, 128.96, 128.76, 128.65, 60.32, 55.69, 52.60, 39.58, 35.64, 28.61, 26.26, 24.23. MS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2]+\text{H}^+$: 575,0151, nalezeno 575.78.

Příprava látky **29**:

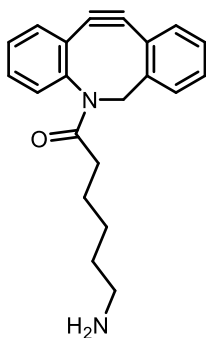


29

K **28** (1.14 g, 0.002 mol) bylo přidáno 20 ml THF. Dál byl přidán *t*-BuOK (1 g, 0.009 mol). Reakce byla míchána 6 h. Poté bylo přidáno 100 ml Et₂O a byla provedena extrakce 3x 50 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **29** byl získán ve výtěžku 90 %. V další reakci byl použit bez čištění.

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 173.53, 151.92, 148.11, 132.60, 129.10, 128.56, 128.44, 128.26, 127.92, 127.29, 125.50, 60.53, 55.47, 39.71, 34.49, 27.97, 25.84, 24.31, 21.17, 14.33. MS (ESI): vypočtené m/z pro [C₂₃H₂₁F₃N₂O₂]+H⁺: 415.1628, nalezeno 415.05.

Příprava látky **30**:

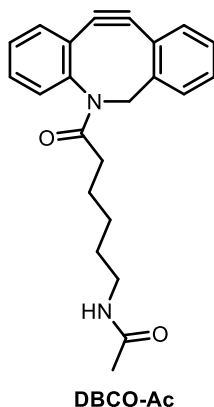


30

K **29** (0.8 g 0.002 mol) bylo přidáno 9 ml MeOH a 3 ml H₂O. Dále bylo přidáno K₂CO₃ (534 mg, 0.004 mol). Reakce byla míchána 16 h. Poté bylo přidáno 100 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 50 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt **30** byl získán ve výtěžku 65 %. V další reakci byl použit bez čištění.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.40 – 7.33 (m, $J = 3.8$, 3.0, 1.4 Hz, 4H), 7.22 – 7.04 (m, 4H), 5.15 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 3.64 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H), 2.58 – 2.47 (m, 2H), 2.22 – 2.14 (m, 1H), 2.01 – 1.87 (m, 2H), 1.41 – 1.36 (m, 2H), 1.26 – 1.21 (m, 2H), 1.06 – 0.95 (m, 2H).

Příprava látky **DBCO-Ac**:



K **30** (0.2 g, 0.630 mmol) bylo přidáno 6 ml DCM a 0.12 ml pyridinu. Dále bylo za stálého míchání po kapkách přidán acetylchlorid (0.052 ml, 0.764 mmol). Reakce byla míchána 2 h. Poté bylo přidáno 50 ml DCM a byla provedena extrakce 3x 25 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Produkt **DBCO-Ac** byl získán ve výtěžku 65 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.67 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.40 – 7.24 (m, 7H), 7.10 – 7.05 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 3.63 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 3.20 – 2.99 (m, 2H), 2.17 (dt, $J = 15.1$, 6.9 Hz, 1H), 1.92 – 1.89 (m, 1H), 1.88 (s, 3H), 1.40 – 1.35 (m, 2H), 1.23 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.08 – 0.91 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 173.48, 170.04, 152.01, 148.23, 132.50, 129.08, 128.51, 128.39, 128.14, 127.83, 127.22, 125.50, 123.21, 122.65, 115.16, 108.04, 55.41, 39.35, 34.66, 28.87, 26.10, 24.76, 23.42.

3.2 BODIPY se sydnony

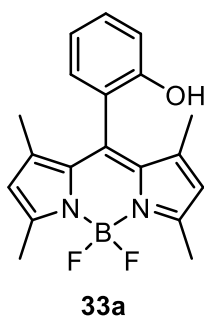
3.2.1 BODIPY -OH

Obecná příprava látek **33a-c**:

Hydroxybenzaldehyd **31a-c** (0.44 ml, 4.46 mmol) byl rozpuštěn v 65 ml DCM. K roztoku byl následně přidán 2,4-dimethyl-1H-pyrrole **32** (0.91 ml, 8.92 mmol) a katalytické množství TFA. Směs se nechala 1 h míchat pod dusíkovou atmosférou. Poté byl pomalu přidán *p*-chloranil (2.19, 8.92 mmol). Po další hodině byl přidán TEA (4.97

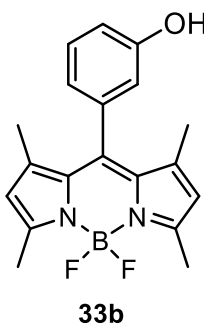
ml, 35.68 mmol) a následně po 5 minutách byl po kapkách přidáván $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (4.96 ml, 40.14 mmol). Reakce byla dále míchána 16 h. Poté byl znovu přidán TEA (4.97 ml, 35.68 mmol) a následně po 5 minutách byl po kapkách přidáván $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (4.96 ml, 40.14 mmol). Reakce byla dále míchána 1 h. Následně bylo k reakční směsi přidáno 200 ml Et_2O a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM).

Látka **33a**:



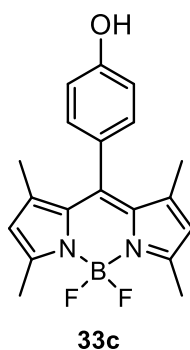
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39 – 7.34 (m, $J = 8.2, 7.3, 1.8$ Hz, 1H), 7.13 – 7.10 (m, 1H), 7.08 – 6.99 (m, 2H), 6.00 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.50 (s, 6H). **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}]\text{-H}^+$: 339.1486, nalezeno 338.88. **Výtěžek**: 65 %

Látka **33b**:



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7.41 – 7.30 (m, 1H), 6.97 – 6.87 (m, $J = 8.3, 2.5, 0.9$ Hz, 1H), 6.78 – 6.64 (m, 2H), 6.17 (s, 2H), 2.44 (s, 6H), 1.44 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, DMSO-d_6) δ 158.23, 154.73, 144.04, 142.68, 135.02, 130.57, 130.49, 121.25, 120.68, 118.01, 116.10, 114.35, 14.18, 13.77. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}]\text{-H}^+$: 339.1486, nalezeno 338.95. **Výtěžek**: 41 %

Příprava látky **33c**:

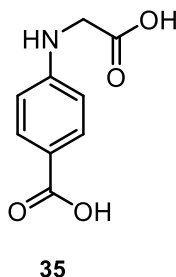


MS (ESI): vypočtené m/z pro $[C_{19}H_{19}BF_2N_2O]-H^+$: 339.1486, nalezeno 338.92.

Výtěžek: 39 %

3.2.2 Sydnon

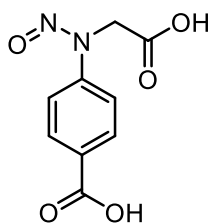
Příprava látky **35**:



Kyselina 4-aminobenzoová **34** (2 g, 14.58 mmol) byla rozpuštěna v 15 ml DMF. Poté byla přidána kyselina bromoctová (2 g, 14.58 mmol) a $NaHCO_3$ (3.7 g, 43.74 mmol). Reakční směs byla míchána 16 h při 70 °C. Poté byla směs okyselena na pH 3 avzniklá sraženina byla odsána, promyta MeOH a vysušena na RVO. Surový produkt **33** byl získán ve výtěžku 97 %.

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.67 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.87 (s, 1H). **^{13}C NMR** (126 MHz, DMSO- d_6) δ 172.04, 167.45, 152.10, 131.01, 117.64, 111.14, 44.16. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[C_9H_9NO_4]-H^+$: 194.0459, nalezeno 193.90.

Příprava látky **36**:

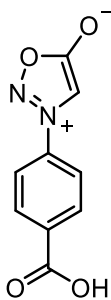


36

Látka **35** (1.82 g, 9.33 mmol) byla rozpuštěna v 35 ml THF. Poté byl přidán *t*-Butylnitrite (2.22 ml, 18.66 mmol) a reakční směs byla míchána 3 h při refluxu. Následně bylo THF odpařeno na RVO. Surový produkt **36** byl získán ve výtěžku 99 %.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.08 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.81 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) δ 167.55, 167.12, 145.01, 131.26, 129.90, 119.49, 46.74. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_5]^- \text{H}^+$: 223.0360, nalezeno 222.98.

Příprava látky **37**:



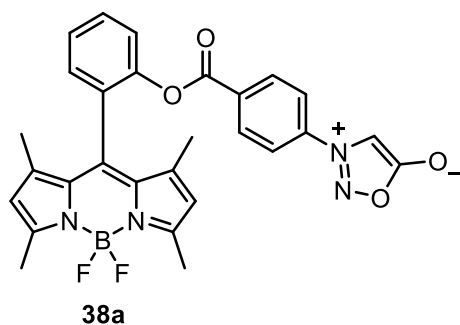
37

K látce **36** (0.9 g, 4 mmol) byl přidáno 25 ml Ac_2O . Reakční směs byla míchána 1 h při 100 °C. Poté byla reakční směs odpařena na RVO do sucha a triturována MeOH a *t*-Butylmethyletherem a MeOH. Surový produkt **37** byl získán ve výtěžku 55 %.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.86 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) δ 168.96, 166.48, 137.85, 134.81, 131.55, 122.39, 95.76. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4]^- \text{H}^+$: 205.0255, nalezeno 204.95.

3.2.3 Esterifikační reakce

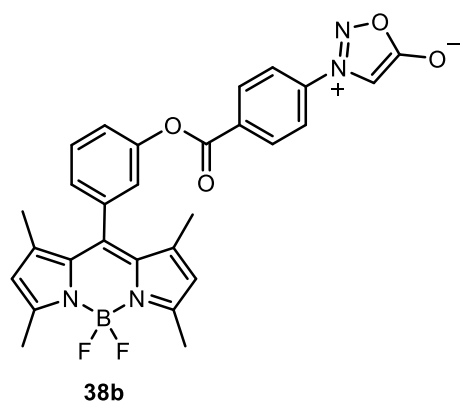
Příprava látky **38a**:



K látce **33a** (100 mg, 0.294 mmol) bylo přidáno 2 ml DCM a 2 ml DMF. Dále bylo přidáno HOBt (59 mg, 0,441 mmol), EDC (64 mg, 0.441 mmol), sydnon **37** (67 mg, 0.323 mmol) a TEA (123 μ l, 0.882 mmol). Reakční směs byla míchána 3 h. Poté bylo přidáno 50 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 25 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:EtOAc, 19:1). Produkt **38a** byl získán ve výtěžku 19 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04 – 7.99 (m, 2H), 7.76 – 7.72 (m, 2H), 7.63 – 7.57 (m, 2H), 7.48 – 7.40 (m, 2H), 6.76 (s, 1H), 5.98 (s, 2H), 2.50 (s, 6H), 1.53 (s, 6H).
¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 168.78, 162.55, 156.22, 147.92, 143.03, 132.92, 132.12, 131.22, 130.79, 130.16, 127.76, 127.21, 123.45, 121.73, 93.86, 60.53, 14.78, 14.33, 14.17. MS (ESI): vypočtené m/z pro [C₂₈H₂₃BF₂N₄O₄]+H: 529.1853, nalezeno 529.00.

Příprava látky **38b**:

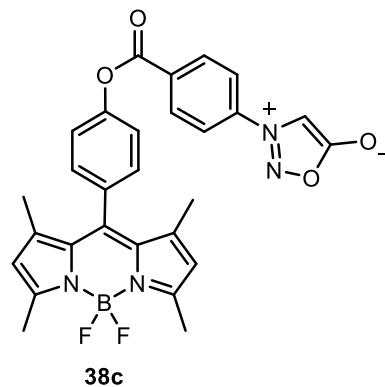


K látce **33b** (100 mg, 0.294 mmol) bylo přidáno 2 ml DCM a 2 ml DMF. Dále bylo přidáno HOBt (59 mg, 0,441 mmol), EDC (64 mg, 0.441 mmol), Syd (67 mg, 0.323 mmol) a TEA (123 μ l, 0.882 mmol). Reakční směs byla míchána 3 h. Poté bylo přidáno 50 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 25 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena

Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: $\text{DCM}:\text{EtOAc}$, 19:1). Produkt **38b** byl získán ve výtěžku 19 %.

MS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_4]+\text{H}$: 529.1853, nalezeno 529.15.

Příprava látky **38c**:



K látce **33c** (100 mg, 0.294 mmol) bylo přidáno 2 ml DCM a 2 ml DMF . Dále bylo přidáno HOBT (59 mg, 0.441 mmol), EDC (64 mg, 0.441 mmol), Syd (67 mg, 0.323 mmol) a TEA (123 μl , 0.882 mmol). Reakční směs byla míchána 3 h. Poté bylo přidáno 50 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3×25 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: $\text{DCM}:\text{EtOAc}$, 19:1). Produkt **38c** byl získán ve výtěžku 15 %.

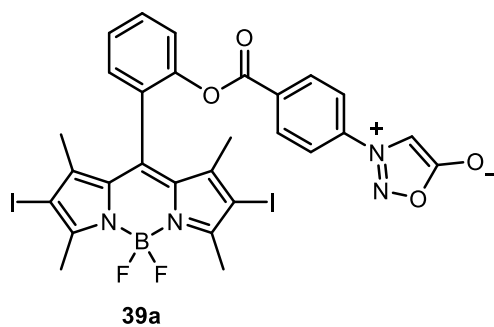
MS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_4]+\text{H}$: 529.1853, nalezeno 529.18.

3.2.4 Jodace

Obecná příprava látek **39a-c**:

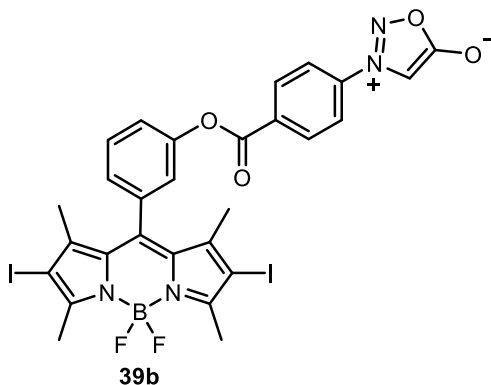
K látce **38a-c** (19 mg, 0.036 mmol) bylo přidáno 1.5 ml DCM a NIS (18 mg, 0.079 mmol). Reakce byla míchána 1 h. Poté bylo přidáno 50 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3×25 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: $\text{DCM}:\text{EtOAc}$, 1:1).

Látka **39a**:



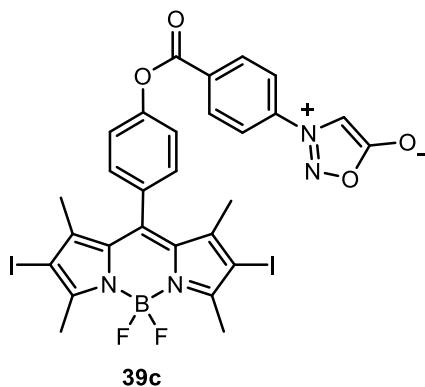
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.68 – 7.60 (m, *J* = 7.3, 1.4 Hz, 2H), 7.48 – 7.35 (m, *J* = 7.6, 1.5 Hz, 2H), 6.74 (s, 1H), 2.60 (s, 6H), 1.55 (s, 6H). **HRMS**: (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₈H₂₁BF₂N₄O₄]+H: 780.9786, nalezeno 780.9797. **Výtěžek**: 38 %.

Látka **39b**:



MS (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₈H₂₁BF₂I₂N₄O₄]+H: 780,9786, nalezeno 781.01.
Výtěžek: 47 %.

Látka **39c**:



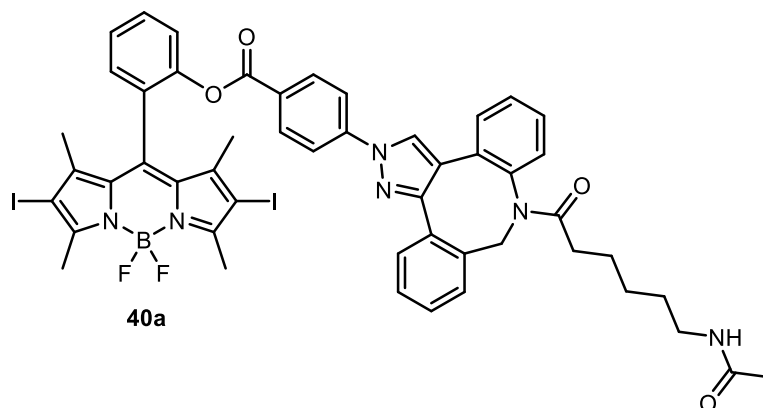
MS (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₈H₂₁BF₂I₂N₄O₄]+H: 780,9786, nalezeno 781.00.
Výtěžek: 12%.

3.2.5 Reakce s DBCO-Ac

Obecná příprava látek **40a-b**:

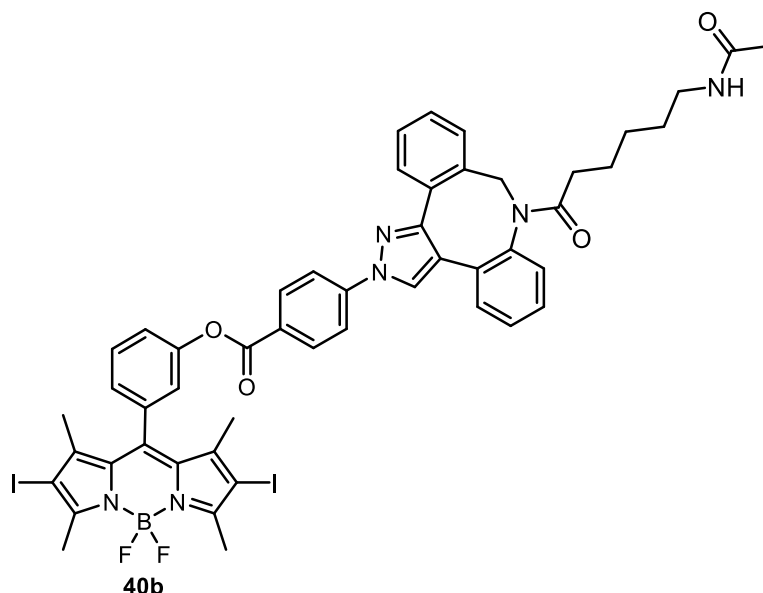
K látce **39a** (25 mg, 0.032 mmol) bylo přidáno 0.5 ml DMF a **DBCO-Ac** (12 mg, 0.032 mmol). Reakce byla míchána 16 h. Poté bylo DMF odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:MeOH, 25:1).

Látka **40a**:



HRMS (ESI): vypočtené m/z pro [C₂₈H₂₁BF₂I₂N₄O₄]+H: 1097.1726, nalezeno 1097.1749. **Výtěžek**: 12%

Látka **40b**:

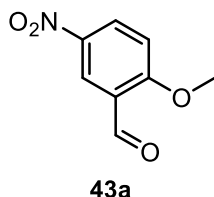


Výtěžek: 18 %

3.3 BODIPY s -N₃ skupinou

3.3.1 Nitroaldehydy

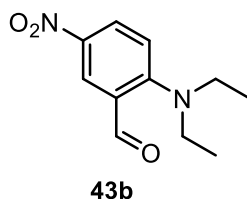
Příprava látky **43a**:



2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyde **41** (5 g, 0.028 mol) byl rozpuštěn ve 20 ml DMF. Dále byl přidán CH₃I (4.31 mg, 0.030 mol) a K₂CO₃ (8.28 g, 0.06 mol). Reakce byla míchána 16 h při 70 °C. Po vychladnutí bylo přidáno 200 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:HEX, 2:1). Produkt **43a** byl získán ve výtěžku 84%.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 10.44 (s, 1H), 8.68 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.47 – 8.40 (m, *J* = 9.2, 2.9 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.08 (s, 3H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 187.62, 165.66, 141.79, 130.78, 124.76, 112.37, 56.86.

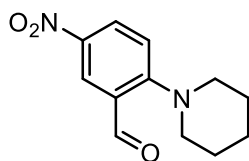
Příprava látky **43b**:



2-chloro-5-nitrobenzaldehyde **42** (1 g, 5.38 mmol) byl rozpuštěn ve 25 ml DMF. Dále byl přidán diethylaminu (0.6 ml, 5.92 mmol) a K₂CO₃ (0.9 g, 6.45 mmol). Reakce byla míchána 1 h při 80 °C. Po vychladnutí bylo přidáno 200 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:HEX, 2:1). Produkt **43b** byl získán ve výtěžku 71 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.02 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.22 (dd, *J* = 9.3, 2.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 3.45 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 188.51, 156.90, 139.60, 128.75, 128.59, 125.53, 118.26, 48.13, 12.72. MS (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₁₁H₁₄N₂O₃]+H⁺ : 223.1077, nalezeno 223.17.

Příprava látky **43c**:



43c

2-chloro-5-nitrobenzaldehyde (1 g, 5.38 mmol) bylo rozpuštěno ve 25 ml DMF. Dále byl přidán Pip (0.58 ml, 5.92 mmol) a K_2CO_3 (0.9 g, 6.45 mmol). Reakce byla míchána 1 h při 80 °C. Poté bylo přidáno 200 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM:HEX, 2:1). Produkt **43c** byl získán ve výtěžku 85 %.

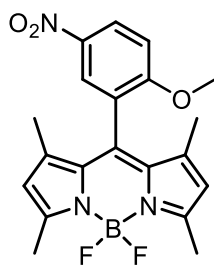
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.05 (s, 1H), 8.60 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 8.25 (dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.33 – 3.27 (m, 4H), 1.83 – 1.66 (m, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 188.66, 159.07, 140.54, 129.30, 127.89, 125.93, 118.30, 54.77, 26.00, 23.89. MS (ESI): vypočtené m/z pro $[C_{12}H_{14}N_2O_3]+H^+$:235.1077, nalezeno 235.13.

3.3.2 BODIPY -NO₂

Obecná příprava látek **44a-d**:

Látka **43a-d** (0.95 g, 5.25 mmol) byla rozpuštěn v 70 ml DCM. K roztoku byl následně přidán 2,4-dimethyl-1H-pyrrole (1.1 ml, 10.5 mmol) a katalytické množství TFA. Směs se nechala míchat 2 h pod dusíkovou atmosférou. Poté byl pomalu přidán *p*-chloranil (2.59 g, 10.5 mmol). Po další hodině byl přidán TEA (5.87 ml, 42.08 mmol) a následně po 5 minutách byl po kapkách přidáván $BF_3 \cdot Et_2O$ (5.85 ml, 47.34 mmol). Reakce byla dále míchána 16 h. Poté byl znovu přidán TEA (5.87 ml, 42.08 mmol) a následně po 5 minutách byl po kapkách přidáván $BF_3 \cdot Et_2O$ (5.85 ml, 47.34 mmol). Reakce byla dále míchána 1 h. Následně bylo k reakční směsi přidáno 200 ml Et_2O a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM).

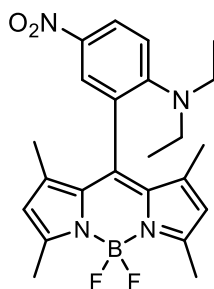
Látka **44a**:



44a

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.39 (dd, *J* = 9.1, 2.8 Hz, 2H), 8.14 (d, *J* = 2.8 Hz, 2H), 7.11 – 7.08 (m, 2H), 6.00 (s, 4H), 3.91 (s, 6H), 2.56 (s, 12H), 1.48 – 1.40 (m, *J* = 4.2 Hz, 13H). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 161.92, 156.32, 142.03, 135.15, 131.26, 127.09, 126.18, 125.05, 121.65, 111.12, 60.54, 56.82, 14.80, 14.40. **MS** (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₀H₂₀BF₂N₃O₃]+H⁺: 400.1639, nalezeno 400.21. **Výtěžek**: 46%

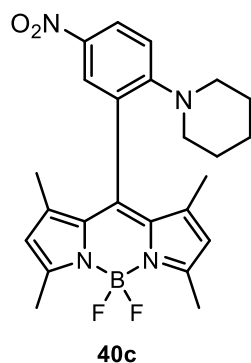
Látka **44b**:



44b

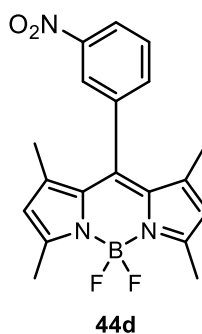
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22 – 8.10 (m, *J* = 9.5, 2.9 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.03 (s, 2H), 3.42 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 2.56 (s, 6H), 1.59 (s, 6H), 1.41 – 1.07 (m, 4H), 1.02 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 156.35, 152.98, 142.38, 139.74, 138.29, 131.39, 128.44, 126.25, 121.80, 119.76, 114.91, 45.42, 14.81, 12.52. **MS** (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₃H₂₇BF₂N₄O₂]-H⁺: 439.2122, nalezeno 439.18. **Výtěžek**: 46 %.

Látka **44c**:



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.27 – 8.12 (m, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.02 (s, 2H), 3.28 – 3.21 (m, 4H), 2.57 (s, 6H), 1.56 (s, 6H), 1.51 – 1.38 (m, 6H). **MS** (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₄H₂₇BF₂N₄O₂]-H⁺: 451.2122, nalezeno 451.18. **Výtěžek:** 43 %

Příprava látky **44d**:



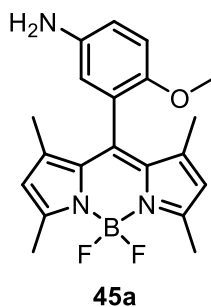
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.46 – 8.31 (m, *J* = 8.0, 2.3, 1.4 Hz, 1H), 8.29 – 8.16 (m, *J* = 2.2, 1.6, 0.5 Hz, 1H), 7.83 – 7.59 (m, 2H), 6.02 (s, 2H), 2.57 (s, 6H), 1.36 (s, 6H). **MS** (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₁₉H₁₈BF₂N₃O₂]-H⁺: 368.1387, nalezeno 368.15. **Výtěžek:** 56 %

3.3.3 Redukce -NO₂ skupiny

Obecná příprava látek **45a-d**:

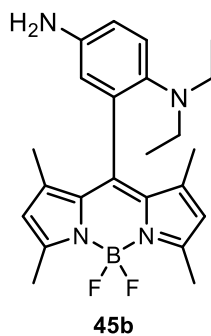
Látka **44a-d** (0.750 g, 1.875 mmol) byla rozpuštěna v 50 ml MeOH. Poté byl přidán Pd/C (100 mg) a N₂H₄·H₂O (1 ml). Reakce byla míchána 16 h při refluxu. Následně byla reakční směs ponechána vychladnout, přefiltrována a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM).

Látka **45a**:



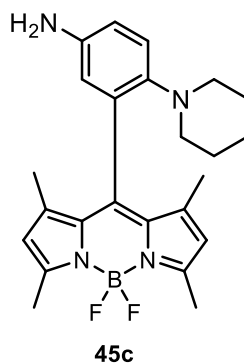
^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.72 – 6.68 (m, $J = 8.7$, 2.8 Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.13 (s, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.43 (s, 6H), 1.52 (s, 6H). **^{13}C NMR** (126 MHz, DMSO) δ 191.71, 184.18, 181.17, 179.95, 177.72, 168.41, 160.36, 158.43, 153.45, 151.72, 150.72, 93.38, 51.79, 51.01. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}]\text{-H}^+$: 368.1751, nalezeno 368.17. **Výtěžek:** 45 %

Látka **45b**:



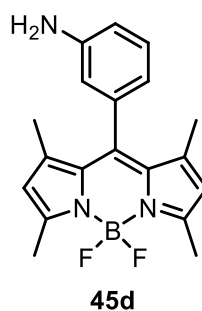
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.92 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.75 – 6.68 (m, $J = 8.5$, 2.8 Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 5.95 (s, 2H), 2.91 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.55 (s, 6H), 1.57 (s, 6H), 0.86 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR** (101 MHz, CDCl_3) δ 154.63, 142.61, 142.42, 141.95, 141.81, 130.98, 123.86, 120.84, 116.74, 116.42, 91.75, 45.83, 14.74, 14.52, 12.06. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BF}_2\text{N}_4]\text{-H}^+$: 409.2381, nalezeno 409.21. **Výtěžek:** 89 %

Látka **45c**:



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 6.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.76 – 6.69 (m, $J = 8.5$, 2.8 Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 5.95 (s, 2H), 2.78 (s, 4H), 2.55 (s, 6H), 1.56 (s, 6H), 1.36 (s, 6H). **$^{13}\text{C NMR}$** (101 MHz, CDCl_3) δ 154.58, 143.69, 142.54, 142.26, 141.85, 131.61, 130.84, 121.57, 120.79, 116.79, 116.60, 53.61, 26.67, 24.39, 14.77, 14.51. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{BF}_2\text{N}_4]\text{-H}^+$: 421.2381, nalezeno 421.20. **Výtěžek**: 50%

Látka **45d**:



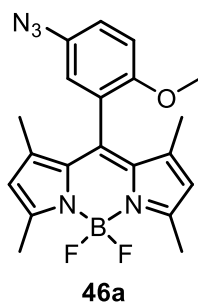
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.26 – 7.21 (m, 1H), 6.79 – 6.71 (m, $J = 8.1$, 2.4, 1.0 Hz, 1H), 6.67 – 6.62 (m, $J = 7.5$, 1.5, 1.0 Hz, 1H), 6.59 – 6.56 (m, 1H), 5.97 (s, 2H), 2.54 (s, 6H), 1.52 (s, 6H). **$^{13}\text{C NMR}$** (101 MHz, CDCl_3) δ 147.37, 136.06, 130.27, 121.15, 118.02, 115.45, 114.36, 91.62, 29.84, 14.69, 14.67, 14.43, 14.25. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{BF}_2\text{N}_3]\text{-H}^+$: 338.1646, nalezeno 338.19. **Výtěžek**: 84 %

3.3.4 BODIPY - N_3

Obecná příprava látek **46a-d**:

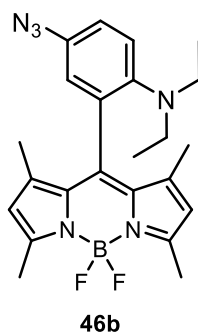
Látka **45a-d** (200 mg, 0.542 mmol) byla rozpuštěna v 3 ml MeCN. Následně byl přidán *t*-BuONO (0.097 ml, 0.813 mmol) a TMSN_3 (0.086 ml, 0.650 mmol). Reakce byla míchána 3 h. Poté byl MeCN odpařen na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM:HEX, 4:1).

Látka **46a**:



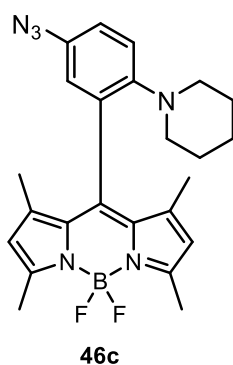
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.14 – 7.08 (m, 1H), 6.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 5.98 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.55 (s, 6H), 1.48 (s, 6H). **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3) δ 155.55, 153.95, 142.42, 137.22, 133.70, 131.37, 125.47, 121.16, 120.83, 120.42, 112.60, 56.13, 14.68, 14.04. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BF}_2\text{N}_5\text{O}]+\text{H}^+$: 396.1802, nalezeno 396.26. **Výtěžek:** 65 %

Příprava látky **46b**:



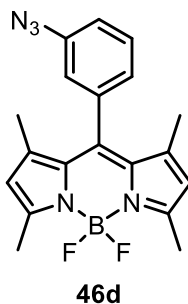
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 4H), 6.82 – 6.76 (m, $J = 1.9$, 1.1 Hz, 2H), 5.98 (s, 4H), 3.07 (q, $J = 7.0$ Hz, 8H), 2.56 (s, 13H), 1.54 (s, 12H), 0.91 (t, $J = 7.0$ Hz, 12H). **$^{13}\text{C NMR}$** (126 MHz, CDCl_3) δ 155.45, 147.04, 142.44, 140.64, 133.29, 131.38, 128.94, 122.09, 121.30, 121.18, 120.27, 45.42, 14.80, 14.58, 12.22. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BF}_2\text{N}_6]-\text{H}^+$: 435.2286, nalezeno 435.20. **Výtěžek:** 95%

Látka **46c**:



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.07 – 7.01 (m, 2H), 6.81 – 6.79 (m, $J = 2.4, 0.6$ Hz, 1H), 5.98 (s, 2H), 2.96 – 2.89 (m, $J = 5.2$ Hz, 4H), 2.56 (s, 6H), 1.52 (s, 6H), 1.40 (d, $J = 1.2$ Hz, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 155.36, 148.97, 142.33, 140.03, 134.21, 131.25, 130.22, 121.19, 120.85, 120.66, 52.88, 26.41, 24.25, 14.82, 14.60. **Výtěžek:** 94 %

Příprava látky **46d**:



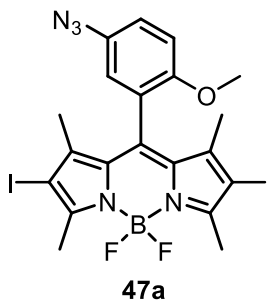
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.51 – 7.46 (m, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.17 – 7.07 (m, 2H), 7.00 – 6.95 (m, 1H), 6.00 (s, 2H), 2.56 (s, 6H), 1.43 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 156.09, 143.04, 141.48, 140.16, 136.97, 131.28, 130.81, 124.78, 121.58, 119.56, 118.95, 14.75, 14.62. **MS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{BF}_2\text{N}_5]^+\text{H}^+$: 366.1696, nalezeno 366.24. **Výtěžek:** 80 %

3.3.5 Jodace

Obecná příprava látek **47a-d**:

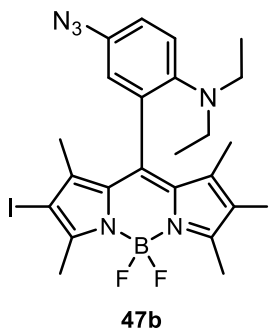
Látka **46a** (60 mg, 0.152 mmol) byla rozpuštěna v 3 ml DCM. Dále byl pomalu přidán NIS (74 mg, 0.333 mmol). Reakce byla míchána 1 h. Následně bylo k reakční směsi přidáno 50 ml Et_2O a byla provedena extrakce 3x 25 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM:HEX, 2:1).

Látka **47a**:



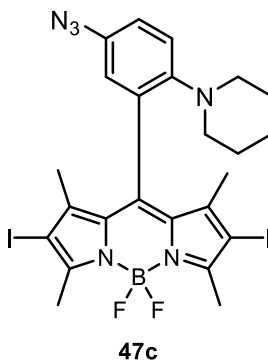
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.18 – 7.13 (m, *J* = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.64 (s, 6H), 1.50 (s, 6H). **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 156.90, 153.83, 144.74, 137.15, 134.15, 131.31, 125.20, 121.45, 120.19, 112.84, 85.74, 56.28, 16.62, 16.20. **HRMS** (ESI) vypočtené *m/z* pro [C₂₀H₁₈BF₂I₂N₅O]+H⁺: 647.9735, nalezeno 647.9738. **Výtěžek:** 55 %

Látka **47b**:



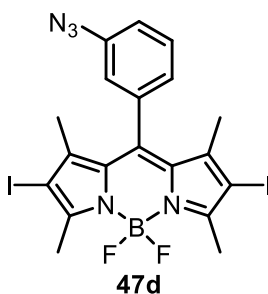
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.11 – 7.01 (m, 2H), 6.78 – 6.71 (m, 1H), 3.04 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 2.65 (s, 6H), 1.56 (s, 6H), 0.90 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). **HRMS** (ESI) vypočtené *m/z* pro [C₂₃H₂₅BF₂I₂N₆]+H⁺: 689.0364, nalezeno 689.0372. **Výtěžek:** 64%

Látka **47c**:



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.13 – 7.05 (m, *J* = 9.4, 6.9 Hz, 2H), 6.74 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 2.99 – 2.78 (m, 4H), 2.65 (s, 6H), 1.54 (s, 6H), 1.38 (d, *J* = 8.0 Hz, 6H). **¹³C NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 156.64, 148.89, 144.58, 139.83, 134.72, 131.12, 129.97, 121.60, 121.25, 120.63, 85.70, 53.01, 31.73, 26.34, 24.13, 22.79, 17.25, 16.24, 14.26. **HRMS** (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₂₄H₂₅BF₂I₂N₆]+H⁺: 701.0364, nalezeno 701.0362. **Výtěžek:** 16 %

Příprava látky **47d**:



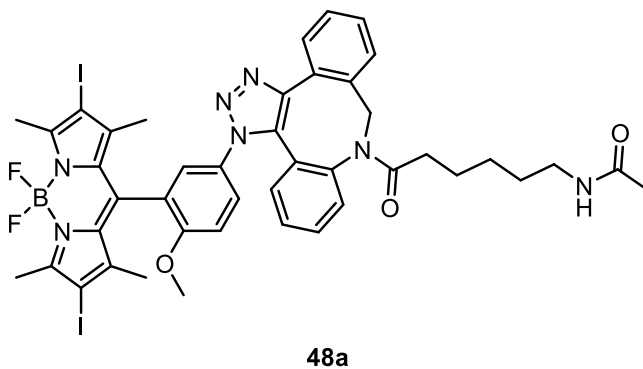
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.55 – 7.49 (m, $J = 7.8, 0.4$ Hz, 1H), 7.23 – 7.19 (m, $J = 8.1, 2.3, 1.0$ Hz, 1H), 7.08 – 7.04 (m, $J = 7.6, 1.5, 1.0$ Hz, 1H), 6.97 – 6.92 (m, 1H), 2.64 (s, 6H), 1.45 (s, 6H). **HRMS** (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{BF}_2\text{I}_2\text{N}_5]\text{-H}^+$: 615.9472, nalezeno 615.9489. **Výtěžek**: 98 %

3.3.6 Reakce s DBCO-Ac

Obecná příprava látek **48a-d**:

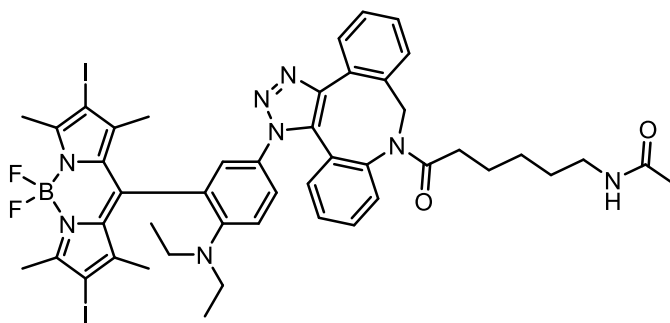
K látce **47a** (30 mg, 0.046 mmol) bylo přidáno 0.5 ml DMF a **DBCO-Ac** (20 mg, 0.046 mmol). Reakce byla míchána 16 h. Poté bylo DMF odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: DCM:MeOH, 20:1).

Látka **48a**:



HRMS (ESI): vypočtené m/z pro $[\text{C}_{43}\text{H}_{42}\text{BF}_2\text{I}_2\text{N}_7\text{O}_3]\text{+H}$: 1008.1572, nalezeno 1008.1597. **Výtěžek**: 32 %

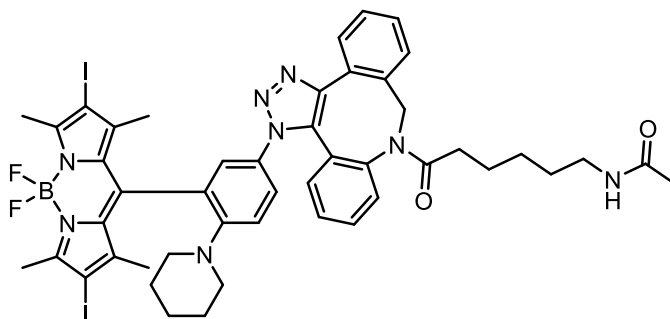
Příprava látky **48b**:



48b

HRMS (ESI): vypočtené m/z pro $[C_{46}H_{49}BF_2I_2N_8O_2]+H$: 1049.2202, nalezeno 1049.2220. **Výtěžek**: 40 %

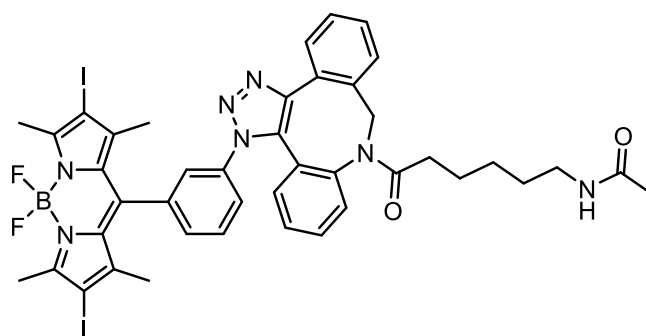
Látka **48c**:



48c

HRMS (ESI): vypočtené m/z pro $[C_{47}H_{49}BF_2I_2N_8O_2]+H$: 1061.2202, nalezeno 1061.2234. **Výtěžek**: 15 %

Látka **48d**:

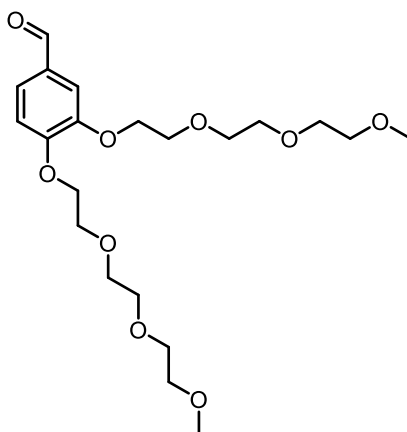


48d

HRMS (ESI): vypočtené m/z pro $[C_{42}H_{40}BF_2I_2N_7O_2]+H$: 978.1467, nalezeno 978.1492. **Výtěžek**: 16%

3.3.7 NIR BODIPY

Příprava látky **51**:

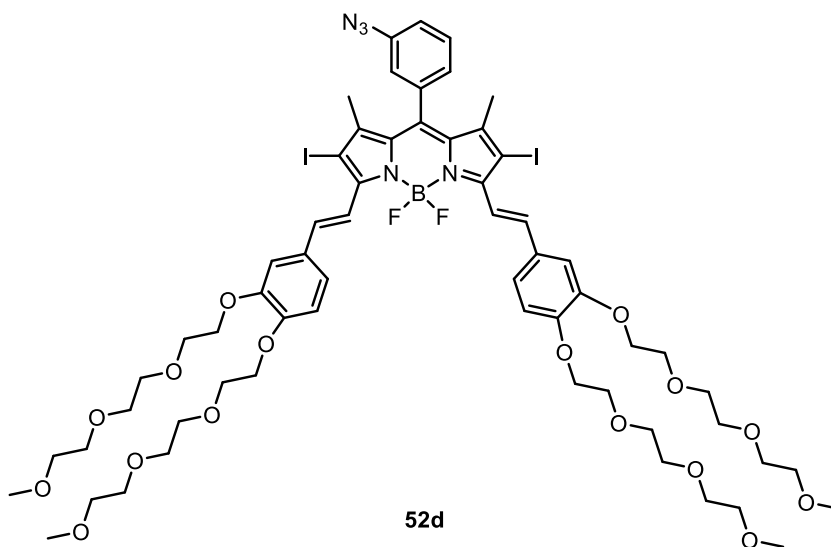


51

Látka **49** (0.591 g, 4.28 mmol) byla rozpuštěna ve 20 ml DMF. Dále byla přidána látka **50** (3 g, 9.43 mmol) a K_2CO_3 (2.3 g, 17.2 mmol). Reakční směs byla míchána 16 h při 90 °C. Po vychladnutí bylo přidáno 200 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 100 ml H_2O . Organická fáze byla vysušena Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO_2 , MF: EtOAc).

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.83 (s, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.22 (dd, $J = 5.3, 4.0$ Hz, 2H), 4.17 (dd, $J = 5.3, 4.0$ Hz, 2H), 3.80 – 3.75 (m, 4H), 3.63 – 3.60 (m, 4H), 3.54 – 3.50 (m, 8H), 3.42 (dd, $J = 5.7, 3.8$ Hz, 4H), 3.23 (s, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 191.30, 153.74, 148.47, 129.75, 125.85, 112.83, 111.95, 71.26, 70.04, 70.02, 69.82, 69.57, 68.82, 68.69, 68.38, 68.31, 58.00, 39.69, 39.52, 39.35. **Výtěžek:** 65 %

Příprava látky **52d**:

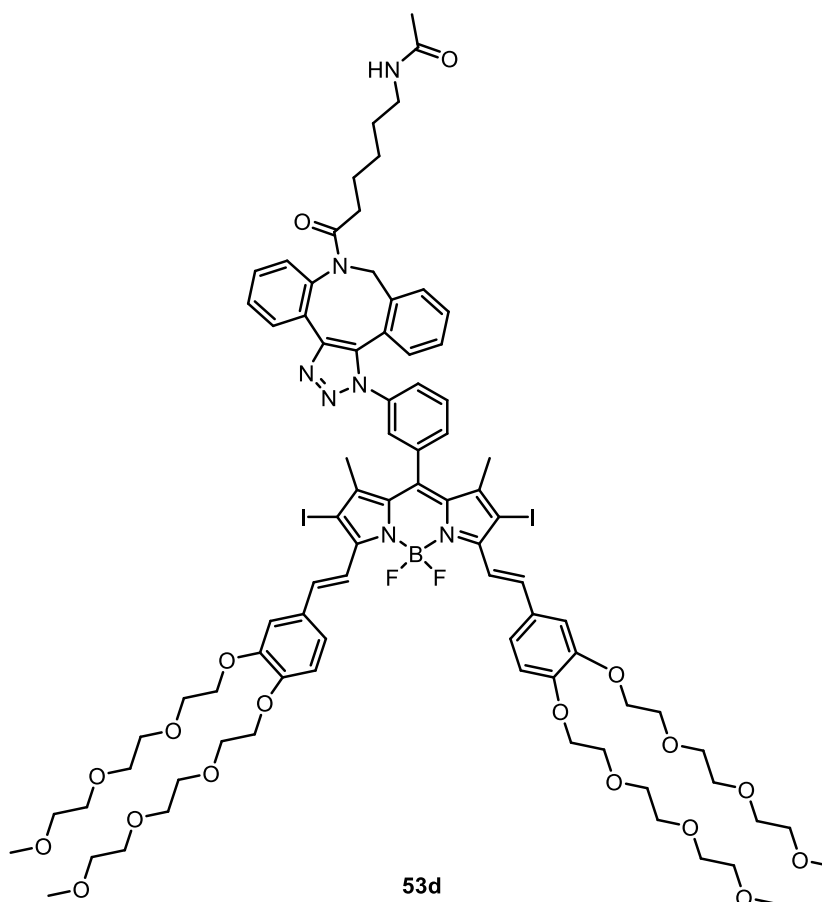


52d

Látka **47d** (100 mg, 0.162 mmol) byla rozpuštěna v 13 ml Tol. Dále byla přidána látka **51** (204 mg, 0.474 mmol), 0.6 ml piperidinu a 0.6 ml AcOH. Reakce byla míchána 16 h při refluxu. Poté byl na RVO z reakční směsi odpařen toluen. Následně bylo přidáno 100 ml EtOAc a byla provedena extrakce 3x 50 ml H₂O. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:MeOH, 100:3). Produkt **52d** byl získán ve výtěžku 22 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 – 7.26 (m, 3H), 7.23 – 7.19 (m, *J* = 8.2, 2.3, 0.9 Hz, 2H), 7.11 – 7.08 (m, 2H), 4.24 – 4.21 (m, *J* = 5.0, 3.4 Hz, 12H), 3.90 – 3.87 (m, *J* = 4.9, 2.3 Hz, 12H), 3.76 – 3.74 (m, *J* = 4.6, 2.1 Hz, 12H), 3.68 – 3.62 (m, 35H), 3.56 – 3.52 (m, *J* = 7.3, 3.8, 1.9 Hz, 15H), 3.37 (s, 9H), 3.35 (s, 9H), 1.51 (s, 9H). HRMS (ESI): vypočtené *m/z* pro [C₆₁H₈₀BF₂I₂N₅O₁₆]-H⁺: 1440.3667, nalezeno 1440.3692.

Příprava látky **53d**:



Látka **52d** (20 mg, 0.014 mmol) byla rozpuštěna ve 0.5 ml DMF. Následně bylo přidáno **DBCO-Ac** (6 mg, 0.014 mmol). Reakce byla míchána 16 h. Poté bylo DMF

odpařeno na RVO. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂, MF: DCM:MeOH, 25:1). Produkt **53d** byl získán ve výtěžku 27 %.

HRMS (ESI): vypočtené m/z pro [C₈₄H₁₀₄BF₂I₂N₇O₁₈]+H: 1800.5505, nalezeno 1800.5525.

Závěr

Předložená bakalářská práce se zabývá přípravou aktivovatelných fotosenzitizérů na bázi fluorescenční značky BODIPY.

Teoretická část byla zaměřena na představení základních principů PDT a její využití. Následně byly probírány typy fotosenzitizérů a jejich klinickém použití. Dále byly diskutovány sloučeniny BODIPY, jejich vlastnosti, syntéza a strukturní modifikace. Nakonec byla pozornost věnována možnostem zlepšení selektivity PDT aktivovatelnými systémy nebo cílicími ligandy.

Diskusní část se zabírala přípravě aktivovatelných systémů bioortogonální reakcí. Prvně byla popsána syntéza **DBCO-Ac** jakožto druhá reakční komponenta v těchto reakcích. Následující část se věnovala přípravě systémů BODIPY se sydnonovou jednotkou a poté měřením jejich Φ_{Δ} . Měření přineslo výsledek, že po aktivaci látek **39a** a **39b** za vzniku pyrazolů **40a** a **40b** nedochází ke zvýšení Φ_{Δ} . Tedy nelze hovořit o aktivovatelných PS.

Druhým připraveným typem systému bylo BODIPY s azidovou skupinou. Zhášení fluorescence a fosforescence těchto systémů spočívalo v světle indukovaném transferu elektronu (PeT) probíhající mezi arylovým zbytkem a jádrem BODIPY. Po cykloadiční reakci s **DBCO-Ac** za tvorby triazolu pak mělo dojít k přerušení PeT. Celkem byly navrženy čtyři systémy s různou elektrodonorní skupinou **47a-d**, jejichž energie HOMO byla vypočtena v programu Gaussian 09W. U látky **47d** bylo navíc provedeno rozšíření konjugovaného systému pro zvýšení absorpce do NIR oblasti. Následně proběhlo měření jejich Φ_f a Φ_{Δ} . Nejvyšší nárůst Φ_{Δ} byl zaznamenán u dvojice **47b** a **48b**, kdy došlo k více než šestinásobnému zvýšení. Druhou úspěšnou dvojicí byly látky **47c** a **48c**. I když zde se Φ_{Δ} zvýšil pouze čtyřnásobně, docházelo také k aktivaci fluorescence na rozdíl od **47b** a **48b**. Ostatní látky nejevily náznak aktivace.

Seznam použité literatury

- [1] A. Kawczyk-Krupka, A. M. Bugaj, M. Potempa, K. Wasilewska, W. Latos, and A. Sieroń, “Vascular-targeted photodynamic therapy in the treatment of neovascular age-related macular degeneration: Clinical perspectives,” *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 12, no. 2. Elsevier B.V., pp. 161–175, Jun. 01, 2015.
- [2] B. C. Wilson and M. S. Patterson, “The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 53, no. 9. May 07, 2008.
- [3] E. Decuypère *et al.*, “Sydnone-coumarins as clickable turn-on fluorescent sensors for molecular imaging,” *Chemical Communications*, vol. 54, no. 76, pp. 10758–10761, 2018,
- [4] M. D. Daniell and J. S. Hill, “A HISTORY OF PHOTODYNAMIC THERAPY,” 1991.
- [5] J. Spikes, “THE HISTORICAL DEVELOPMENT OF IDEAS ON APPLICATIONS OF PHOTOSENSITIZED REACTIONS IN THE HEALTH SCIENCES INTRODUCTION.”
- [6] S. Yano *et al.*, “Current states and future views in photodynamic therapy,” *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, vol. 12, no. 1. pp. 46–67, Mar. 2011.
- [7] I. O. L. Bacellar, T. M. Tsubone, C. Pavani, and M. S. Baptista, “Photodynamic efficiency: From molecular photochemistry to cell death,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 9. MDPI AG, pp. 20523–20559, Aug. 31, 2015.
- [8] P. Agostinis *et al.*, “Photodynamic therapy of cancer: An update,” *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 61, no. 4, pp. 250–281, Jul. 2011,
- [9] D. W. Felsher, “Cancer revoked: Oncogenes as therapeutic targets,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, no. 5. pp. 375–380, May 2003.
- [10] A. P. Castano, P. Mroz, and M. R. Hamblin, “Photodynamic therapy and anti-tumour immunity,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 6, no. 7. pp. 535–545, Jul. 2006.
- [11] N. L. Oleinick, R. L. Morris, and I. Belichenko, “The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: What, where, why, and how,” *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 1, no. 1. pp. 1–21, Jan. 01, 2002.
- [12] J. F. Lovell, T. W. B. Liu, J. Chen, and G. Zheng, “Activatable photosensitizers for imaging and therapy,” *Chemical Reviews*, vol. 110, no. 5, pp. 2839–2857, May 2010,

- [13] N. L. Oleinick, R. L. Morris, and I. Belichenko, "The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: What, where, why, and how," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 1, no. 1. pp. 1–21, Jan. 01, 2002.
- [14] A. A. Lugade, J. P. Moran, S. A. Gerber, R. C. Rose, J. G. Frelinger, and E. M. Lord, "Local Radiation Therapy of B16 Melanoma Tumors Increases the Generation of Tumor Antigen-Specific Effector Cells That Traffic to the Tumor," *The Journal of Immunology*, vol. 174, no. 12, pp. 7516–7523, Jun. 2005,
- [15] E. J. Friedman, "Immune Modulation by Ionizing Radiation and its Implications for Cancer Immunotherapy," 2002.
- [16] S. R. Scheffer *et al.*, "Apoptotic, but not necrotic, tumor cell vaccines induce a potent immune response in vivo," *International Journal of Cancer*, vol. 103, no. 2, pp. 205–211, Jan. 2003,
- [17] A. Melcher, M. Gough, S. Todryk, and R. Vile, "Apoptosis or necrosis for tumor immunotherapy: What's in a name?," *Journal of Molecular Medicine*, vol. 77, no. 12. Springer Verlag, pp. 824–833, 1999.
- [18] R. H. Thomlinson and L. H. Gray, "THE HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SOME HUMAN LUNG CANCERS AND THE POSSIBLE IMPLICATIONS FOR RADIO-THERAPY."
- [19] M. Huo, L. Wang, L. Zhang, C. Wei, Y. Chen, and J. Shi, "Photosynthetic Tumor Oxygenation by Photosensitizer-Containing Cyanobacteria for Enhanced Photodynamic Therapy," *Angewandte Chemie*, vol. 132, no. 5, pp. 1922–1929, Jan. 2020,
- [20] E. Skovsen, J. W. Snyder, J. D. C. Lambert, and P. R. Ogilby, "Lifetime and diffusion of singlet oxygen in a cell," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 109, no. 18, pp. 8570–8573, May 2005,
- [21] J. C. Liao, J. Roidert, and D. G. Jay, "Chromophore-assisted laser inactivation of proteins is mediated by the photogeneration of free radicals," 1994.
- [22] J. v. Frangioni, "In vivo near-infrared fluorescence imaging," *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 7, no. 5. Elsevier Ltd, pp. 626–634, 2003.
- [23] J. M. Dąbrowski and L. G. Arnaut, "Photodynamic therapy (PDT) of cancer: From local to systemic treatment," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 14, no. 10. Royal Society of Chemistry, pp. 1765–1780, Jul. 06, 2015.
- [24] C. A. Morton, C. Whitehurst, J. H. McColl, J. v Moore, and R. M. MacKie, "Photodynamic Therapy for Large or Multiple Patches of Bowen Disease and Basal Cell Carcinoma."

- [25] T. S. Mang, "Lasers and light sources for PDT: Past, present and future," *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 1, no. 1, pp. 43–48, 2004,
- [26] D. Mitton and R. Ackroyd, "A brief overview of photodynamic therapy in Europe," *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 5, no. 2, pp. 103–111, Jun. 2008,
- [27] A. B. Ormond and H. S. Freeman, "Dye sensitizers for photodynamic therapy," *Materials*, vol. 6, no. 3. pp. 817–840, 2013.
- [28] C. Tanielian, C. Schweitzer, R. Mechin, and C. Wolff, "Original Contribution QUANTUM YIELD OF SINGLET OXYGEN PRODUCTION BY MONOMERIC AND AGGREGATED FORMS OF HEMATOPORPHYRIN DERIVATIVE," 2001.
- [29] M. O. Senge and J. C. Brandt, "Temoporfin (Foscan®, 5,10,15,20-Tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin) - A second-generation photosensitizer," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 87, no. 6. pp. 1240–1296, Nov. 2011.
- [30] J.-M. Houle and A. Strong, "Clinical Pharmacokinetics of Verteporfin," 2002.
- [31] T. Kiesslich, J. Berlanda, K. Plaetzer, B. Krammer, and F. Berr, "Comparative characterization of the efficiency and cellular pharmacokinetics of Foscan®- and Foslip®-based photodynamic treatment in human biliary tract cancer cell lines," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 6, no. 6, pp. 619–627, 2007,
- [32] J. M. Fernandez, M. D. Bilgin, and L. I. Grossweiner, "Singlet oxygen generation by photodynamic agents," 1997.
- [33] J. D. Spikes and C. Bommer, "Photosensitizing properties of mono+aspartyl chlorin es (NPe6): a candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors," 1993.
- [34] A. Kamkaew, S. H. Lim, H. B. Lee, L. V. Kiew, L. Y. Chung, and K. Burgess, "BODIPY dyes in photodynamic therapy," *Chemical Society Reviews*, vol. 42, no. 1, pp. 77–88, Dec. 2013,
- [35] M. J. Garland, C. M. Cassidy, D. Woolfson, and R. F. Donnelly, "Designing photosensitizers for photodynamic therapy: Strategies, challenges and promising developments," *Future Medicinal Chemistry*, vol. 1, no. 4. pp. 667–691, Jul. 2009.
- [36] von Alfred Treibs and F.-H. Kreuzer, "Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen," 1968.
- [37] F. López Arbeloa, J. Bañuelos, V. Martínez, T. Arbeloa, and I. López Arbeloa, "Structural, photophysical and lasing properties of pyrromethene

- dyes,” *International Reviews in Physical Chemistry*, vol. 24, no. 2, pp. 339–374, Apr. 2005,
- [38] M. Shah *et al.*, “Pyrromethene-BF₃ Complexes as Laser Dyes:1,” 1990.
- [39] Z. Li, E. Mintzer, and R. Bittman, “First synthesis of free cholesterol-BODIPY conjugates,” *Journal of Organic Chemistry*, vol. 71, no. 4, pp. 1718–1721, Feb. 2006,
- [40] C. Tahtaoui *et al.*, “Convenient method to access new 4,4-dialkoxy- and 4,4-diaryloxy-diaza-s-indacene dyes: Synthesis and spectroscopic evaluation,” *Journal of Organic Chemistry*, vol. 72, no. 1, pp. 269–272, Jan. 2007,
- [41] S. G. Awuah and Y. You, “Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy,” *RSC Advances*, vol. 2, no. 30, pp. 11169–11183, Nov. 28, 2012.
- [42] T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa, and T. Nagano, “Highly efficient and photostable photosensitizer based on BODIPY chromophore,” *J Am Chem Soc*, vol. 127, no. 35, pp. 12162–12163, Sep. 2005,
- [43] T. Rohand, W. Qin, N. Boens, and W. Dehaen, “Palladium-catalyzed coupling reactions for the functionalization of BODIPY dyes with fluorescence spanning the visible spectrum,” *European Journal of Organic Chemistry*, no. 20, pp. 4658–4663, Oct. 2006,
- [44] Z. Dost, S. Atilgan, and E. U. Akkaya, “Distyryl-boradiazaindacenes: facile synthesis of novel near IR emitting fluorophores,” *Tetrahedron*, vol. 62, no. 36, pp. 8484–8488, Sep. 2006,
- [45] A. Burghart *et al.*, “3,5-diaryl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes: Synthesis, spectroscopic, electrochemical, and structural properties,” *Journal of Organic Chemistry*, vol. 64, no. 21, pp. 7813–7819, Oct. 1999,
- [46] C. Thivierge, R. Bandichhor, and K. Burgess, “Spectral dispersion and water solubilization of BODIPY dyes via palladium-catalyzed C-H functionalization,” *Organic Letters*, vol. 9, no. 11, pp. 2135–2138, May 2007,
- [47] K. Rurack, M. Kollmannsberger, and J. Daub, “A highly efficient sensor molecule emitting in the near infrared (NIR): 3,5-distyryl-8-(p-dimethylaminophenyl)-difluoroboradiazas-indacene,” *New Journal of Chemistry*, vol. 25, no. 2, pp. 289–292, 2001,
- [48] A. Burghart *et al.*, “3,5-diaryl-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes: Synthesis, spectroscopic, electrochemical, and structural properties,” *Journal of Organic Chemistry*, vol. 64, no. 21, pp. 7813–7819, Oct. 1999,

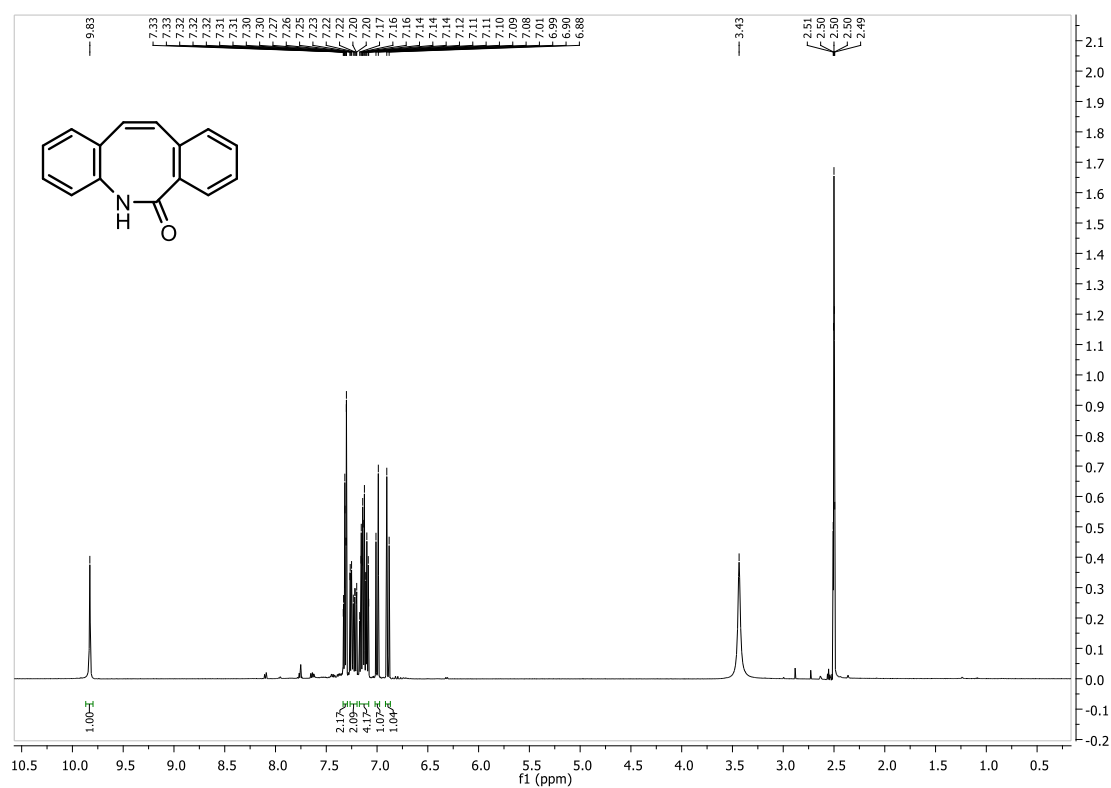
- [49] P. Crisalli and E. T. Kool, "Multi-path quenchers: Efficient quenching of common fluorophores," *Bioconjugate Chemistry*, vol. 22, no. 11, pp. 2345–2354, Nov. 2011,
- [50] J. L. Wike-Hooley, J. Haveman, and H. S. Reinhold, "The relevance of tumour pH to the treatment of malignant disease," 1984.
- [51] S. O. McDonnell, M. J. Hall, L. T. Allen, A. Byrne, W. M. Gallagher, and D. F. O'Shea, "Supramolecular photonic therapeutic agents," *J Am Chem Soc*, vol. 127, no. 47, pp. 16360–16361, Nov. 2005,
- [52] J. Tian, J. Zhou, Z. Shen, L. Ding, J. S. Yu, and H. Ju, "A pH-activatable and aniline-substituted photosensitizer for near-infrared cancer theranostics," *Chemical Science*, vol. 6, no. 10, pp. 5969–5977, Jul. 2015,
- [53] M. P. Gamcsik, M. S. Kasibhatla, S. D. Teeter, and O. M. Colvin, "Glutathione levels in human tumors," *Biomarkers*, vol. 17, no. 8, pp. 671–691, Dec. 2012.
- [54] I. S. Turan, F. P. Cakmak, D. C. Yildirim, R. Cetin-Atalay, and E. U. Akkaya, "Near-IR absorbing BODIPY derivatives as glutathione-activated photosensitizers for selective photodynamic action," *Chemistry - A European Journal*, vol. 20, no. 49, pp. 16088–16092, Jan. 2014,
- [55] W. Piao *et al.*, "Development of an azo-based photosensitizer activated under mild hypoxia for photodynamic therapy," *J Am Chem Soc*, vol. 139, no. 39, pp. 13713–13719, Oct. 2017,
- [56] F. Xu *et al.*, "Hypoxia-activated NIR photosensitizer anchoring in the mitochondria for photodynamic therapy," *Chemical Science*, vol. 10, no. 45, pp. 10586–10594, 2019,
- [57] C. S. Kue, A. Kamkaew, K. Burgess, L. v. Kiew, L. Y. Chung, and H. B. Lee, "Small Molecules for Active Targeting in Cancer," *Medicinal Research Reviews*, vol. 36, no. 3, pp. 494–575, May 2016,
- [58] W. Liu *et al.*, "Chlorin e6-biotin conjugates for tumor-targeting photodynamic therapy," *Molecules*, vol. 26, no. 23, Dec. 2021,
- [59] D. Li, D. Wang, J. Diao, and J. L. Burn, "Folate receptor mediated targeted delivery of porphyrin photosensitizer," *Chemistry Letters*, vol. 38, no. 12, pp. 1158–1159, 2009,
- [60] M. R. Ke, S. L. Yeung, D. K. P. Ng, W. P. Fong, and P. C. Lo, "Preparation and in vitro photodynamic activities of folate-conjugated distyryl boron dipyrromethene based photosensitizers," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 56, no. 21, pp. 8475–8483, Nov. 2013,
- [61] S. Hirohara *et al.*, "Cellular uptake and photocytotoxicity of glycoconjugated chlorins in HeLa cells," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 78, no. 1, pp. 7–15, Jan. 2005,

- [62] K. M. Harmatys *et al.*, “Tuning Pharmacokinetics to Improve Tumor Accumulation of a Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Phototheranostic Agent,” *Bioconjugate Chemistry*, vol. 29, no. 11, pp. 3746–3756, Nov. 2018,
- [63] R. Watanabe *et al.*, “Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: Are antibody fragments as effective as antibodies?,” *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 56, no. 1, pp. 140–144, Jan. 2015,
- [64] A. I. Minchinton and I. F. Tannock, “Drug penetration in solid tumours,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 6, no. 8, pp. 583–592, Aug. 2006.
- [65] L. Zhu *et al.*, “Targeting immune checkpoint B7-H3 antibody-chlorin e6 bioconjugates for spectroscopic photoacoustic imaging and photodynamic therapy,” *Chemical Communications*, vol. 55, no. 95, pp. 14255–14258, 2019,
- [66] E. Saxon and C. R. Bertozzi, “Cell surface engineering by a modified Staudinger reaction,” *Science (1979)*, vol. 287, no. 5460, pp. 2007–2010, Mar. 2000,
- [67] D. R. Spiciarich *et al.*, “Bioorthogonal Labeling of Human Prostate Cancer Tissue Slice Cultures for Glycoproteomics,” *Angewandte Chemie*, vol. 129, no. 31, pp. 9120–9125, Jul. 2017,
- [68] B. Oller-Salvia, G. Kym, and J. W. Chin, “Rapid and Efficient Generation of Stable Antibody-Drug Conjugates via an Encoded Cyclopropene and an Inverse-Electron-Demand Diels-Alder Reaction,” *Angewandte Chemie*, vol. 130, no. 11, pp. 2881–2884, Mar. 2018,
- [69] M. Richard *et al.*, “New fluorine-18 pretargeting PET imaging by bioorthogonal chlorosydnone-cycloalkyne click reaction,” *Chemical Communications*, vol. 55, no. 70, pp. 10400–10403, 2019,
- [70] Y. Zhou, R. C. H. Wong, G. Dai, and D. K. P. Ng, “A bioorthogonally activatable photosensitizer for site-specific photodynamic therapy,” *Chemical Communications*, vol. 56, no. 7, pp. 1078–1081, 2020,
- [71] A. Kuzmin, A. Poloukhine, M. A. Wolfert, and V. v. Popik, “Surface functionalization using catalyst-free azide-alkyne cycloaddition,” *Bioconjugate Chemistry*, vol. 21, no. 11, pp. 2076–2085, Nov. 2010,
- [72] “mesoionic compounds,” in *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), 2008.
- [73] D. L. Browne, M. D. Helm, A. Plant, and J. P. A. Harrity, “A sydnone cycloaddition route to pyrazole boronic esters,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 46, no. 45, pp. 8656–8658, 2007,

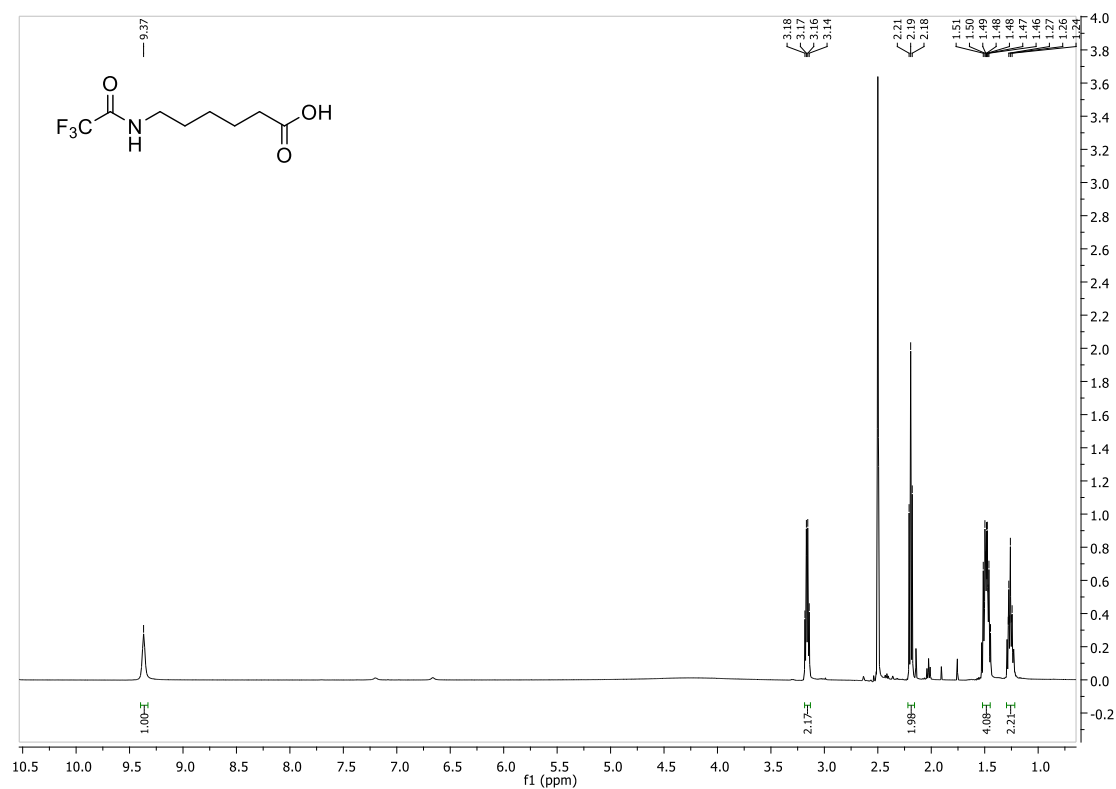
- [74] C. Favre and F. Friscourt, "Fluorogenic Sydnone-Modified Coumarins Switched-On by Copper-Free Click Chemistry," *Organic Letters*, vol. 20, no. 14, pp. 4213–4217, Jul. 2018,
- [75] J. J. Shie, Y. C. Liu, Y. M. Lee, C. Lim, J. M. Fang, and C. H. Wong, "An azido-BODIPY probe for glycosylation: Initiation of strong fluorescence upon triazole formation," *J Am Chem Soc*, vol. 136, no. 28, pp. 9953–9961, Jul. 2014,
- [76] M. C. Derosa and R. J. Crutchley, "Photosensitized singlet oxygen and its applications," 2002.

Přílohy

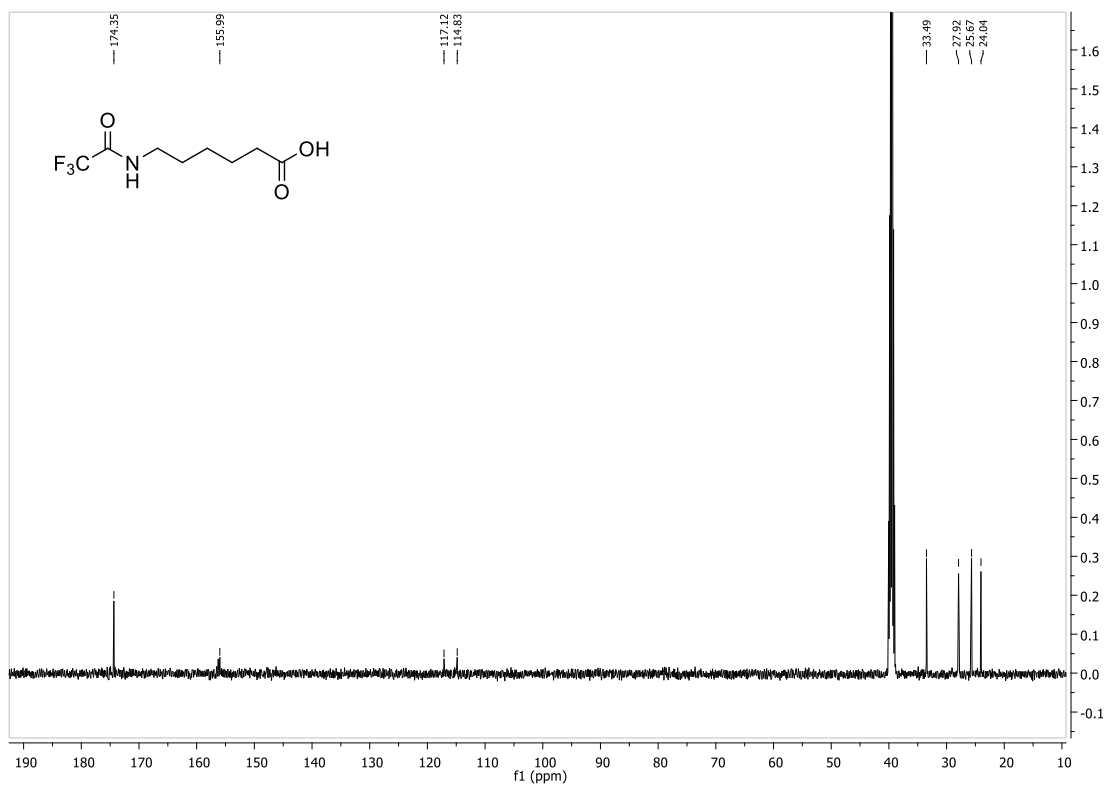
^1H NMR látky 22



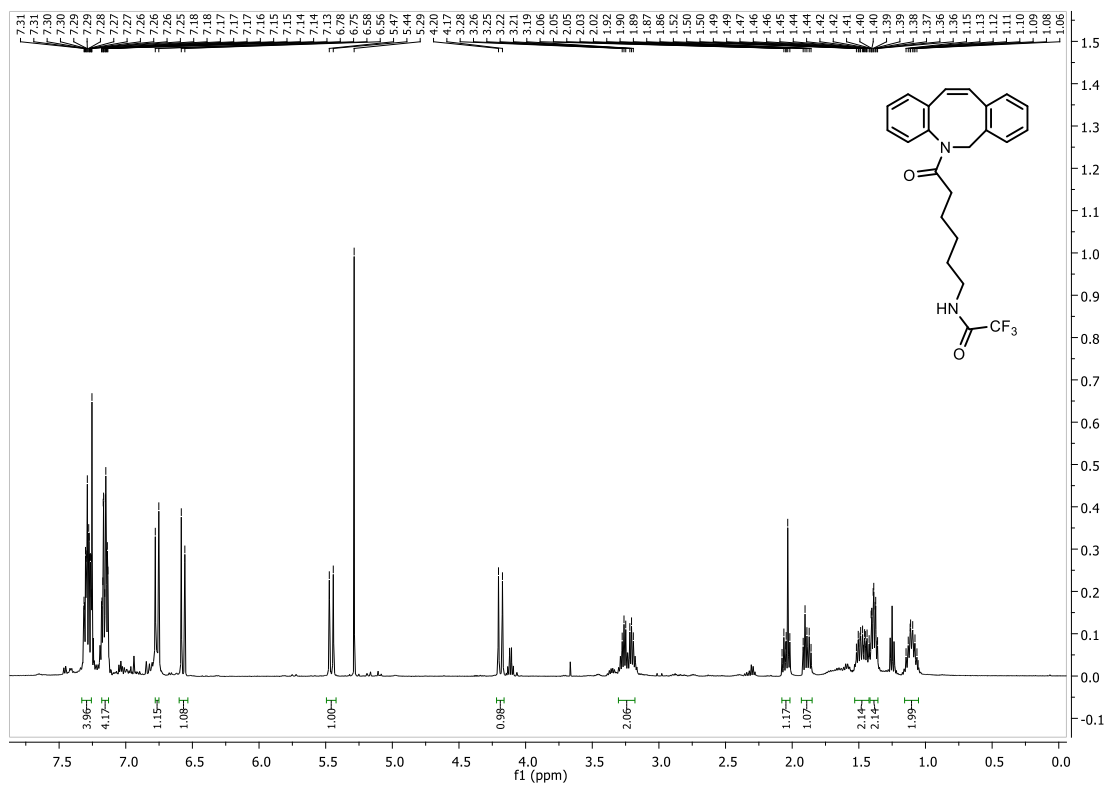
^1H NMR látky 25



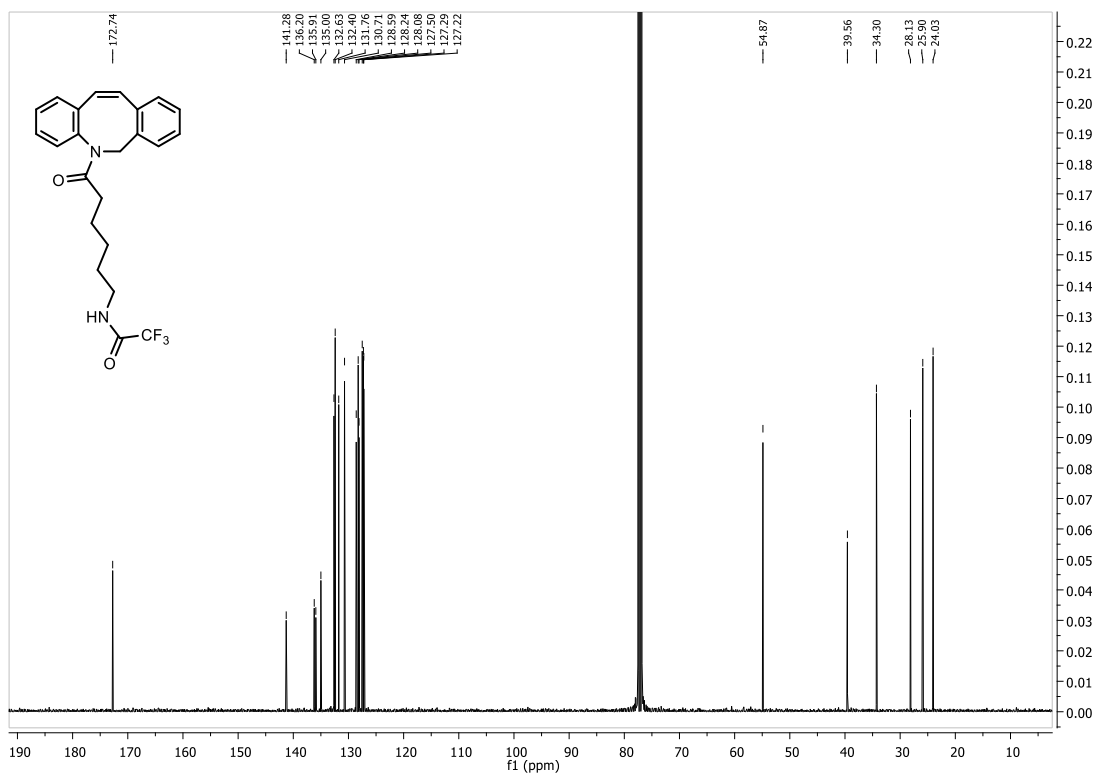
^{13}C NMR spektrum látky **25**:



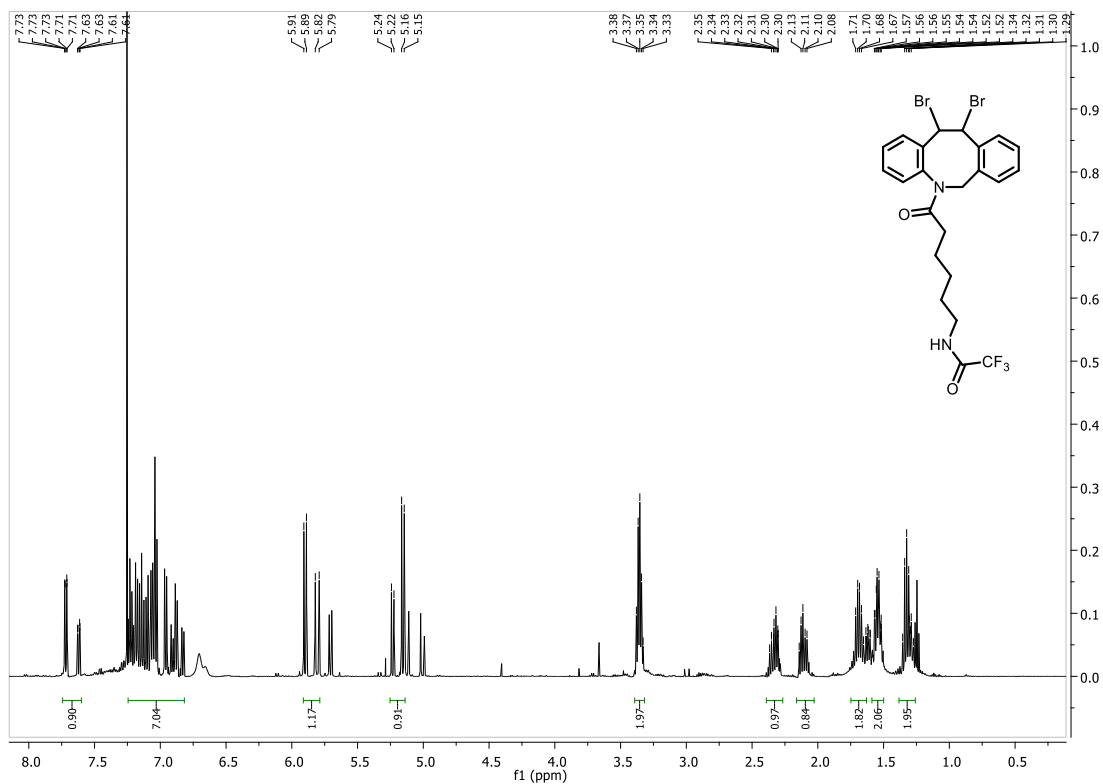
^1H NMR látky **27**



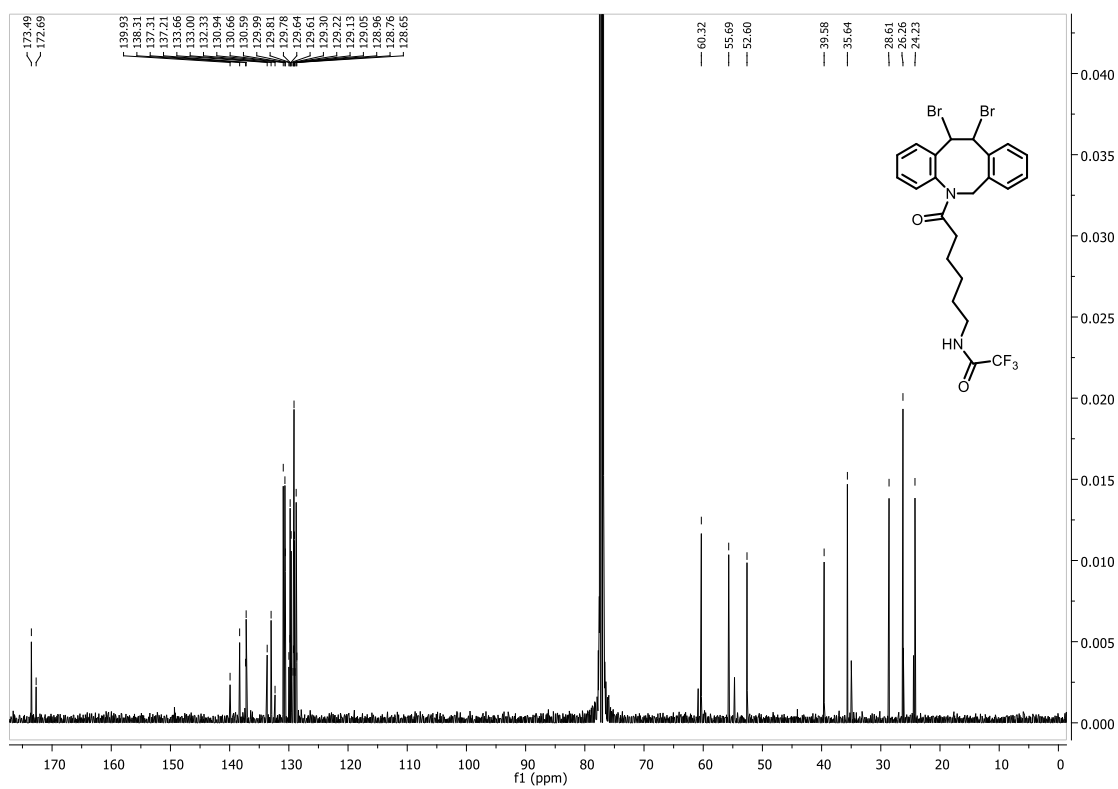
^{13}C NMR spektrum látky **27**



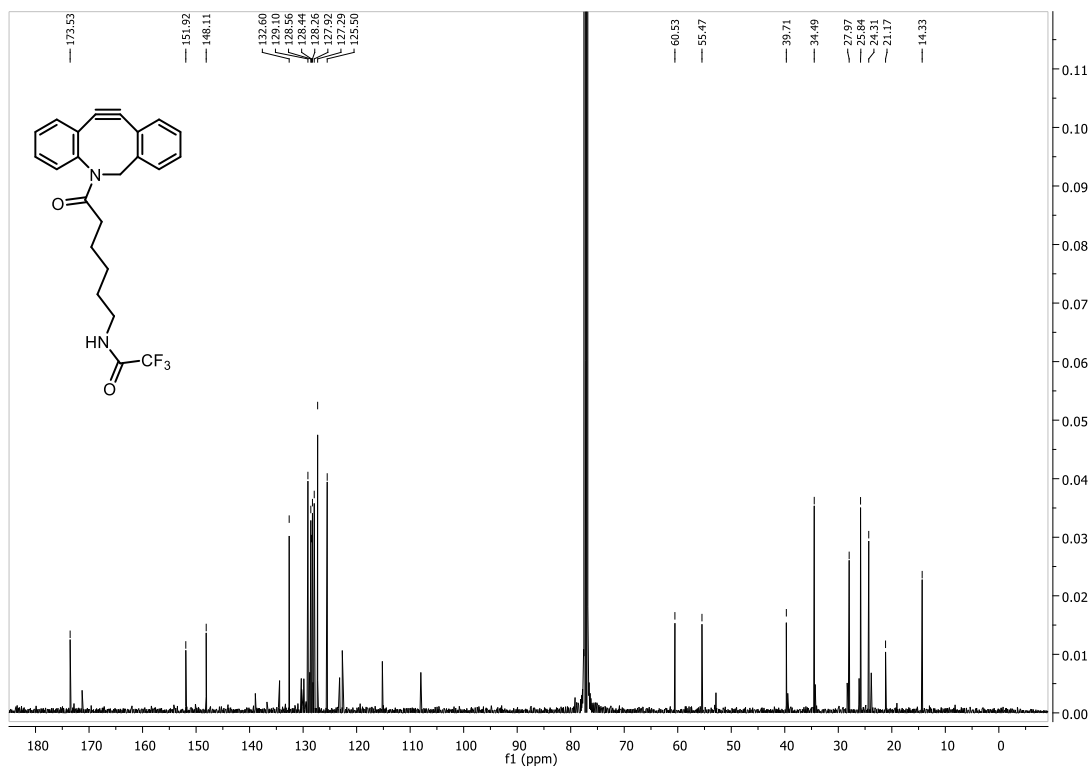
^1H NMR spektrum látky **28**



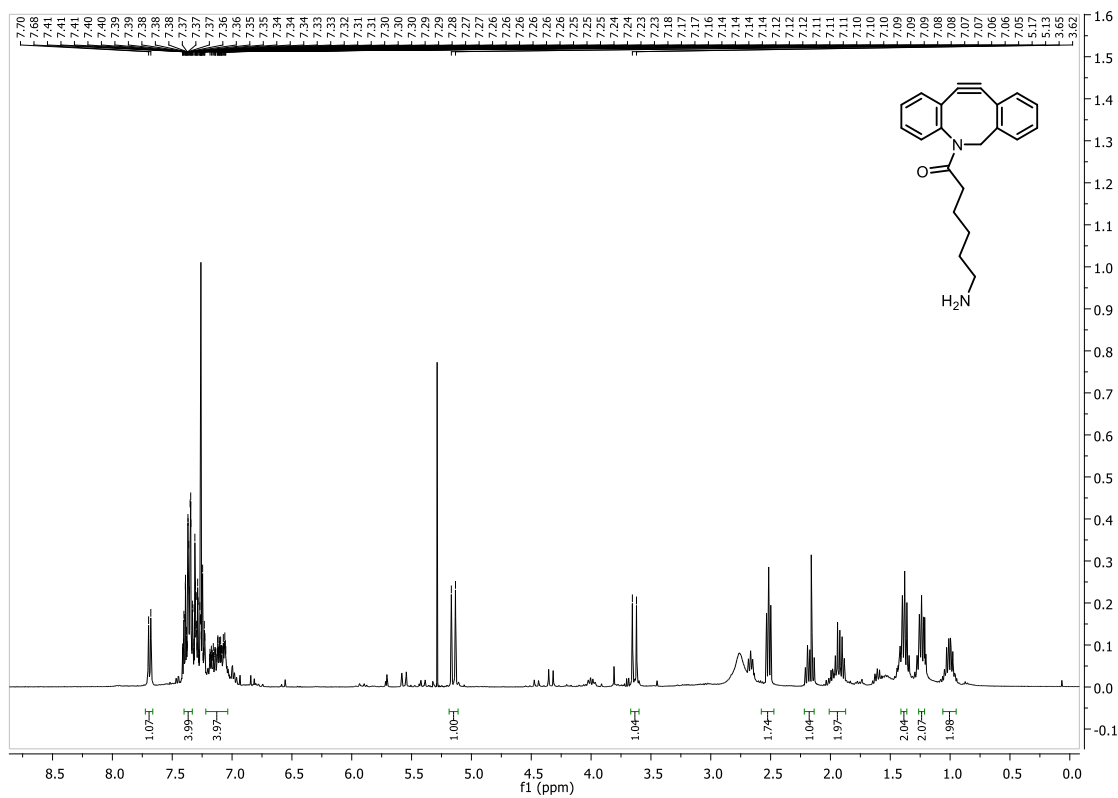
^{13}C NMR spektrum látky 28



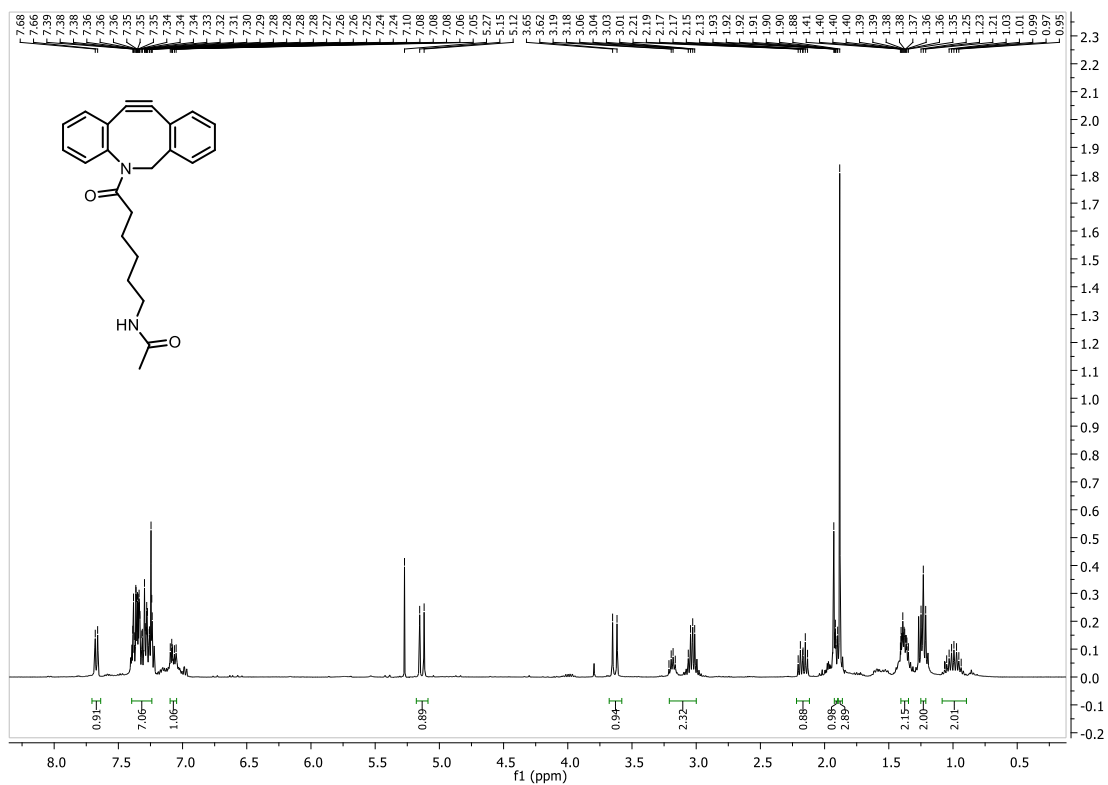
^{13}C NMR spektrum látky 29



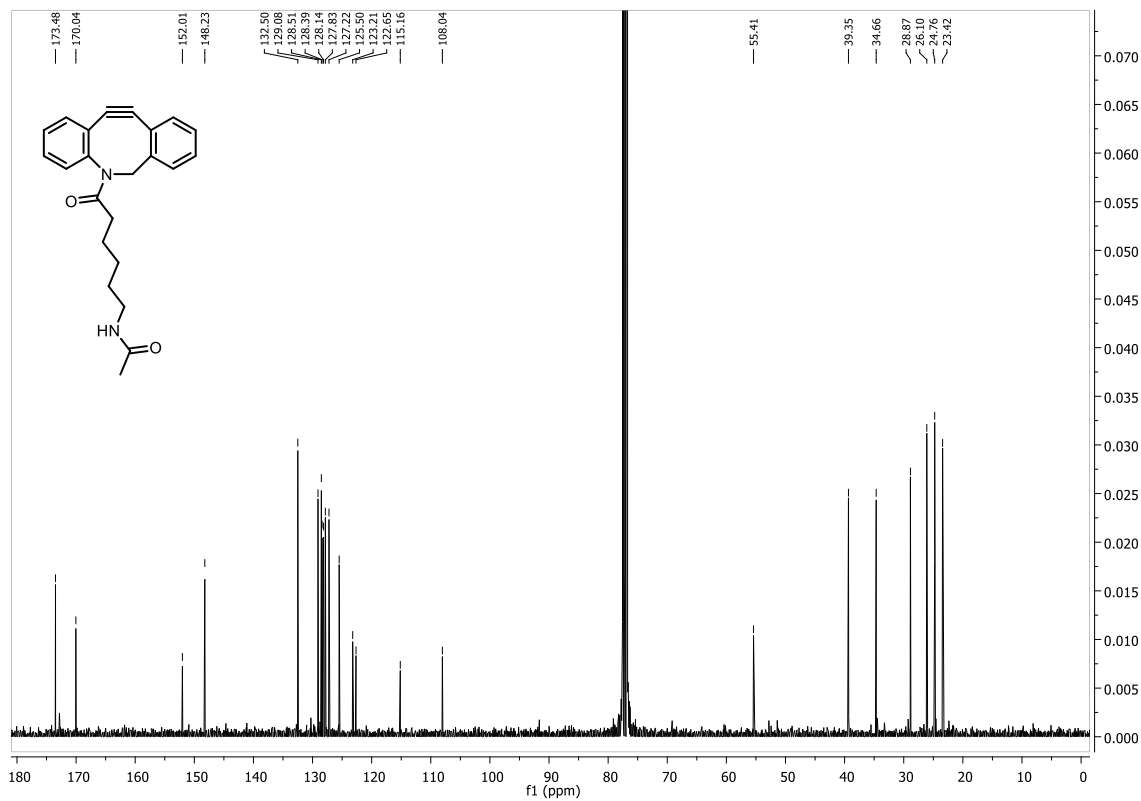
¹H NMR spektrum látky **30**



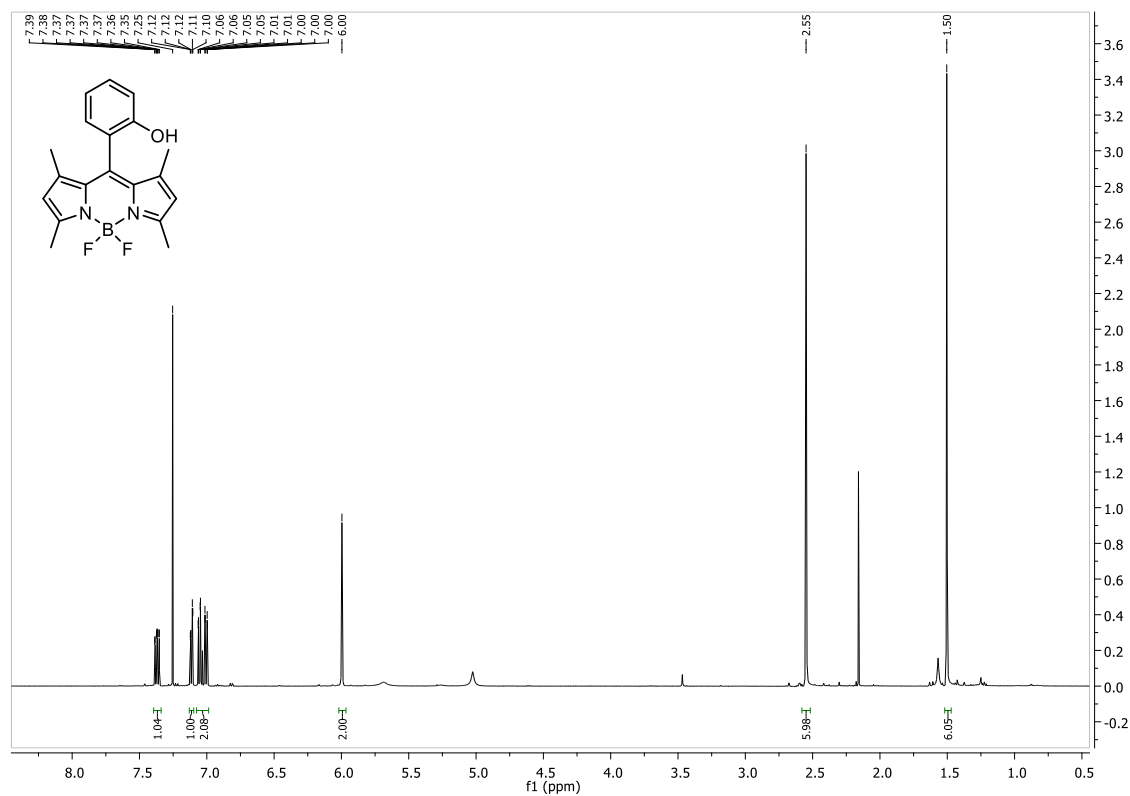
¹H NMR spektrum látky **DBCO-Ac**



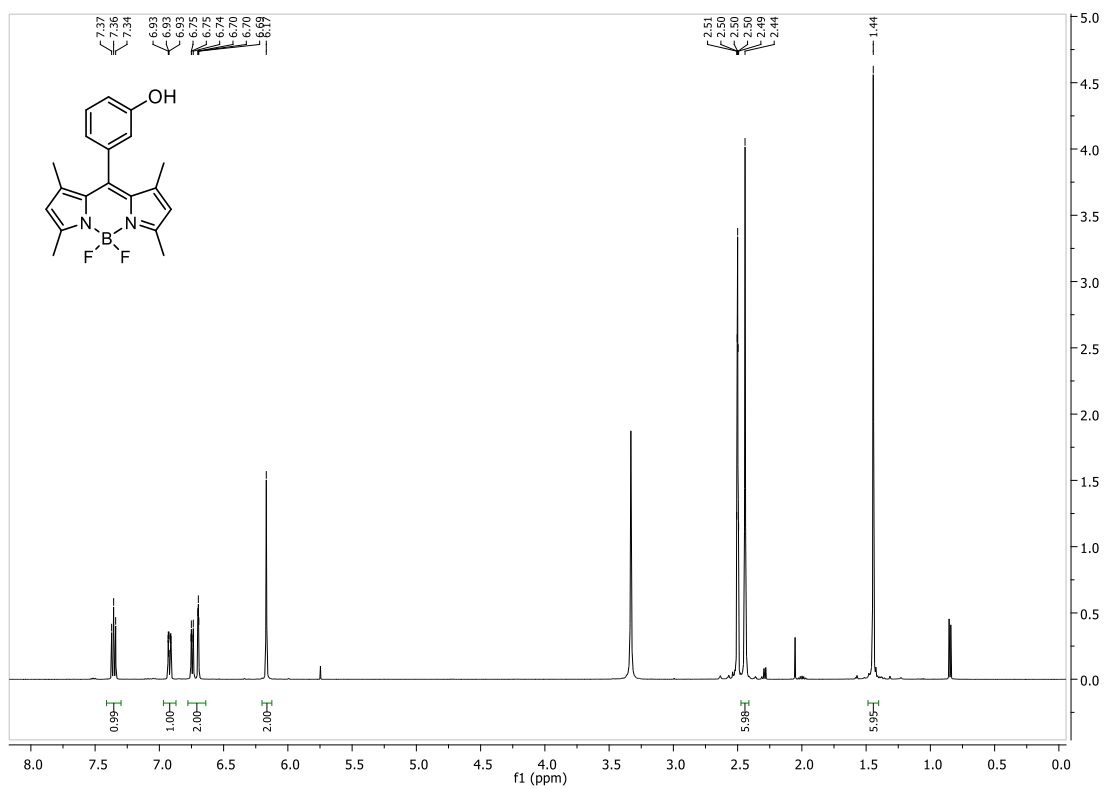
^{13}C NMR spektrum látky **DBCO-Ac**



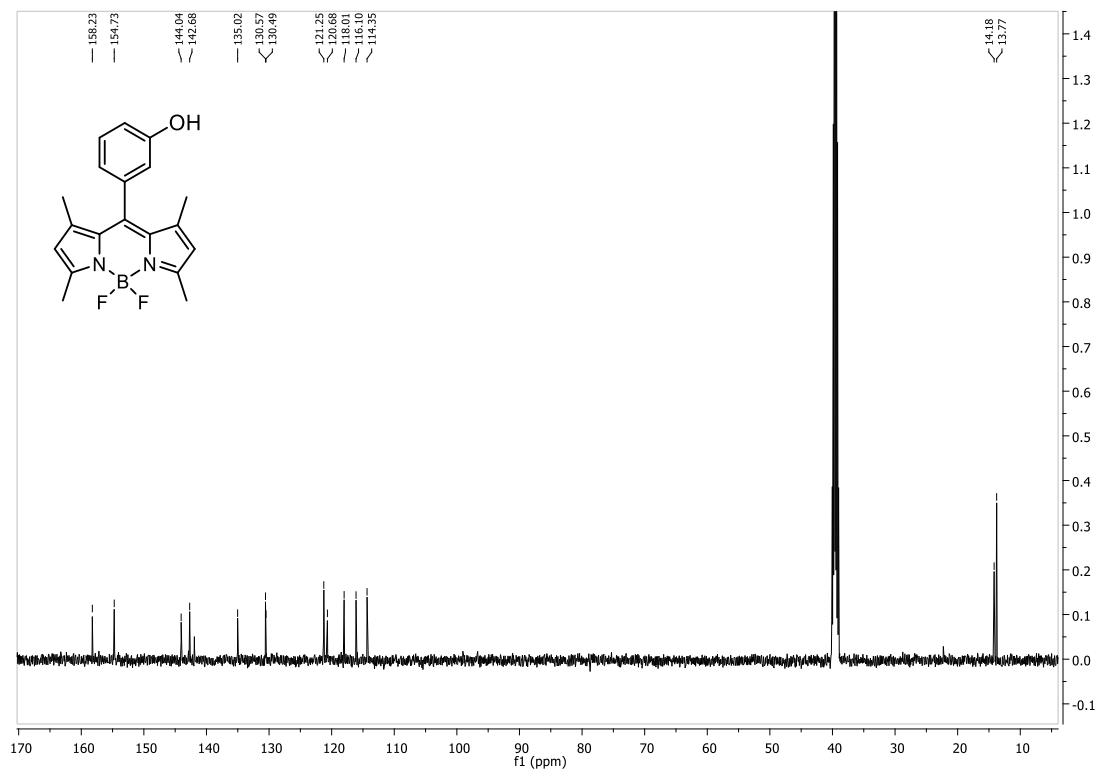
^1H NMR spektrum látky **33a**



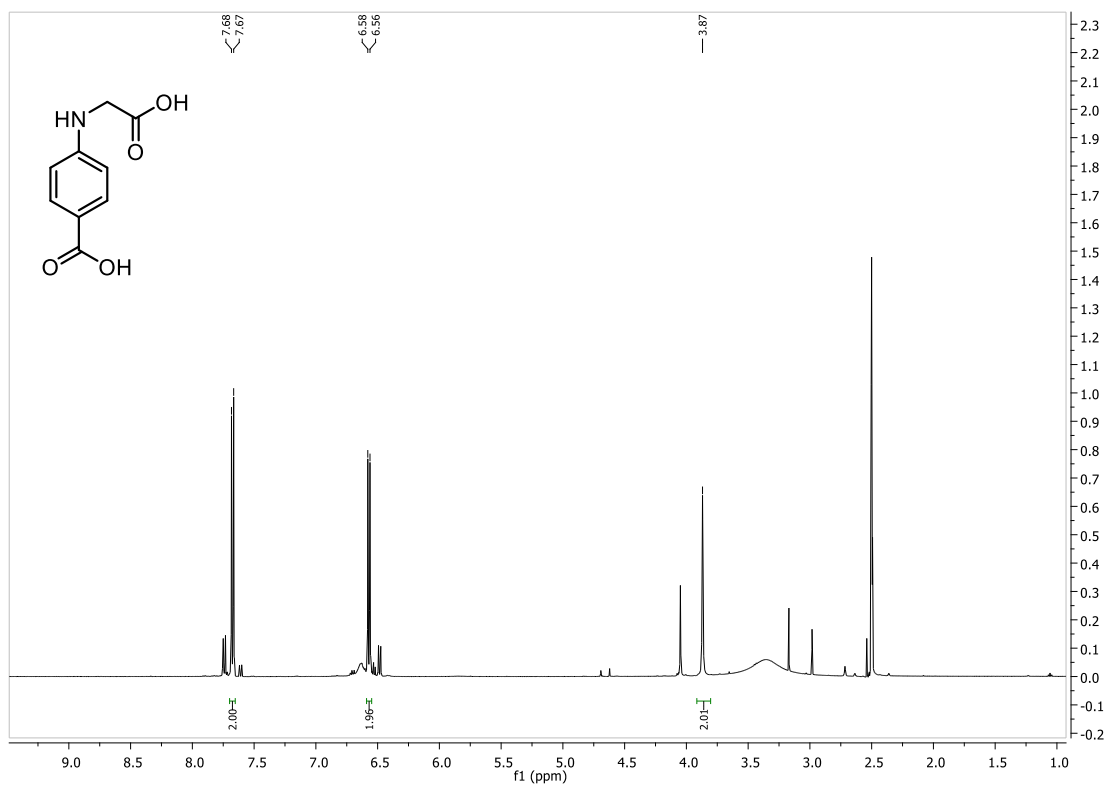
^1H NMR spektrum látky **33b**



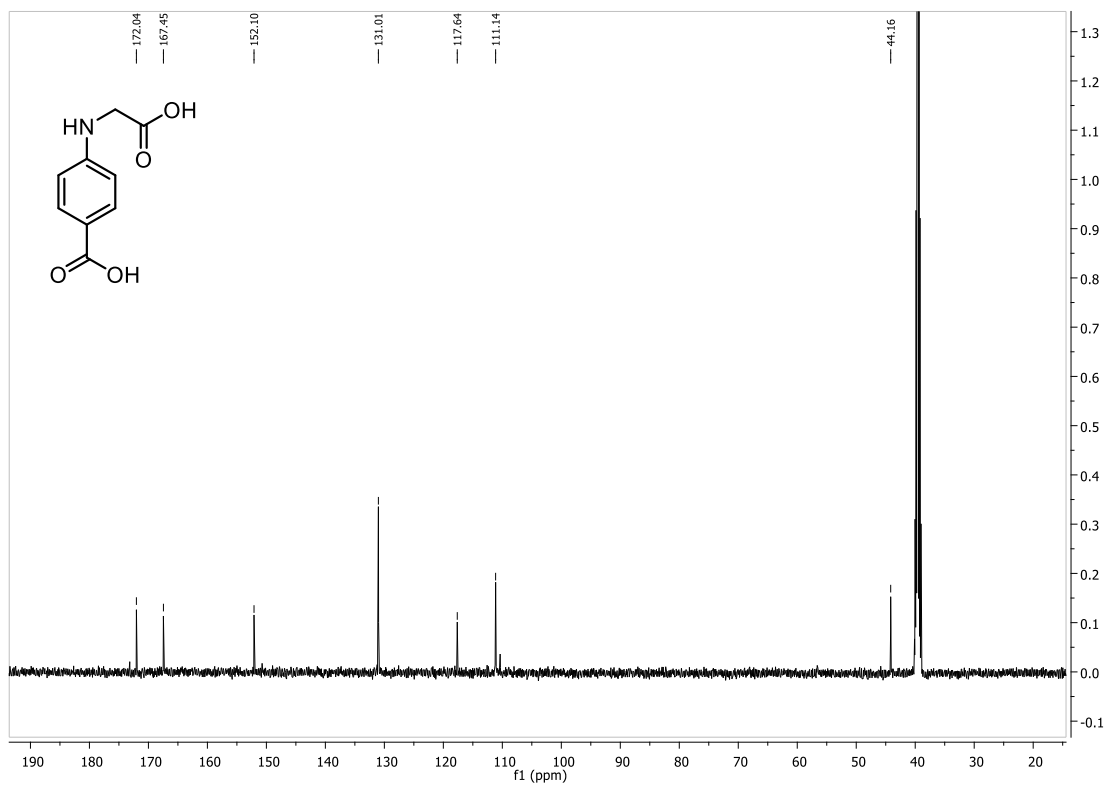
^{13}C NMR spektrum látky **33b**



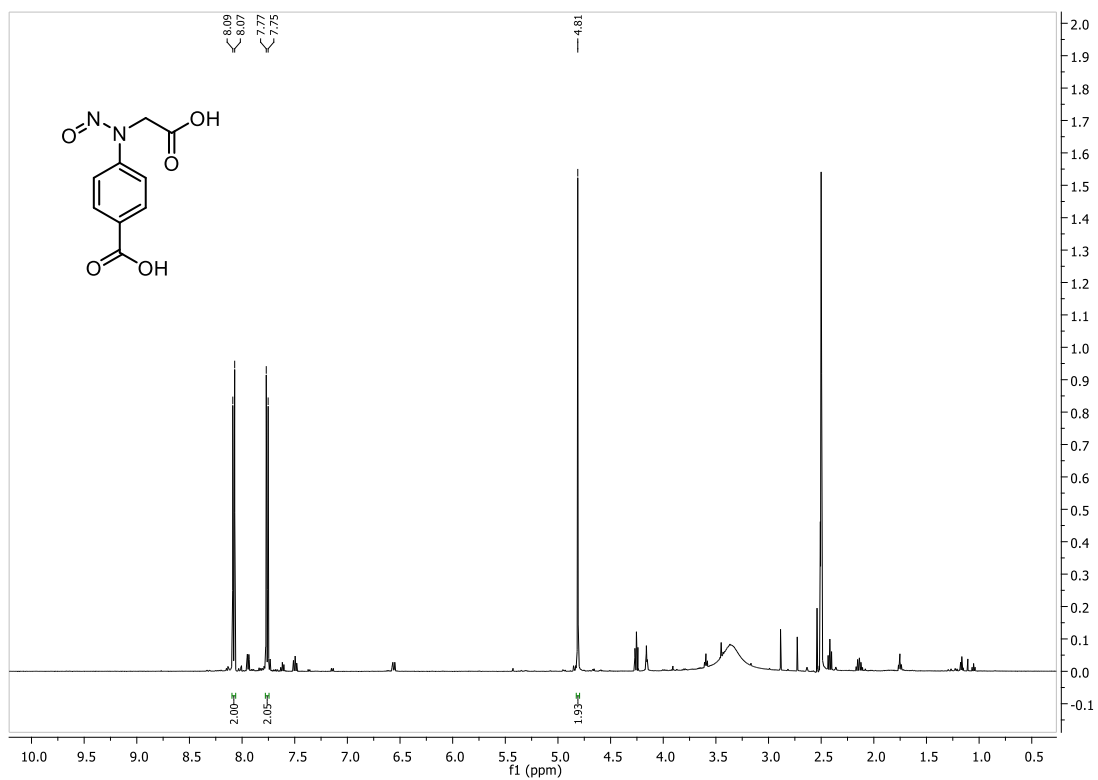
^1H NMR spektrum látky **35**:



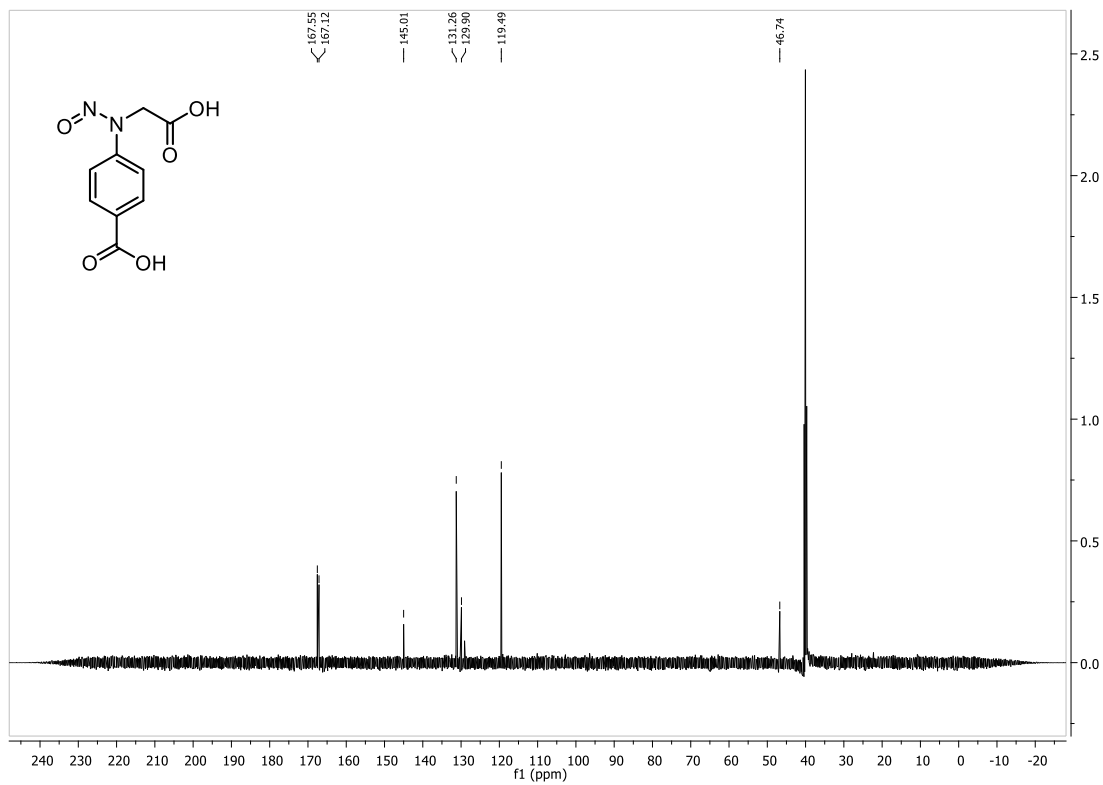
^{13}C NMR spektrum látky **35**:



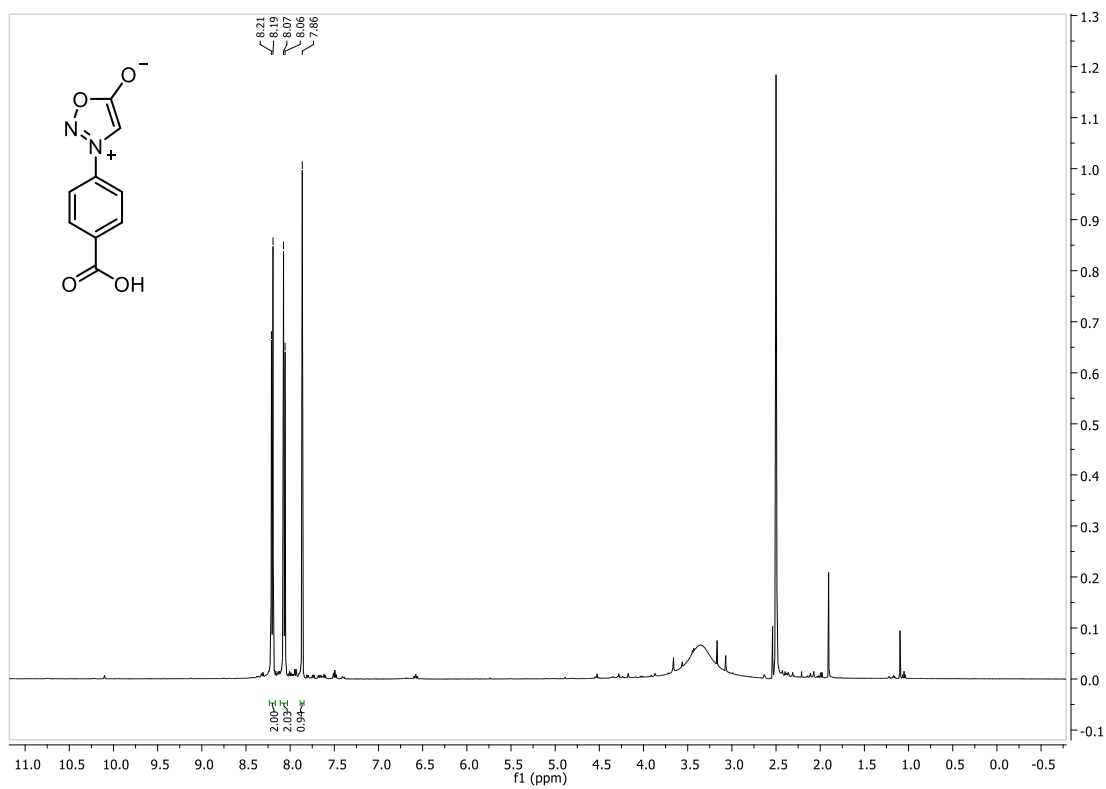
^1H NMR spektrum látky **36**:



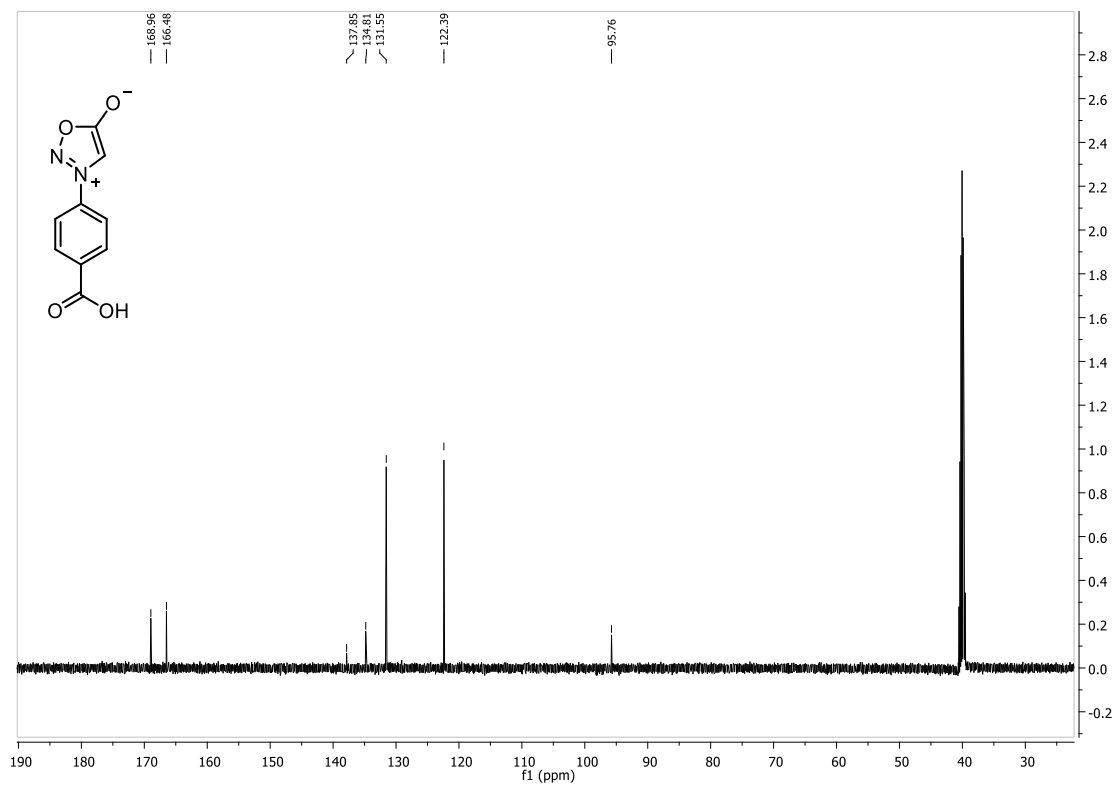
^{13}C NMR spektrum látky **36**:



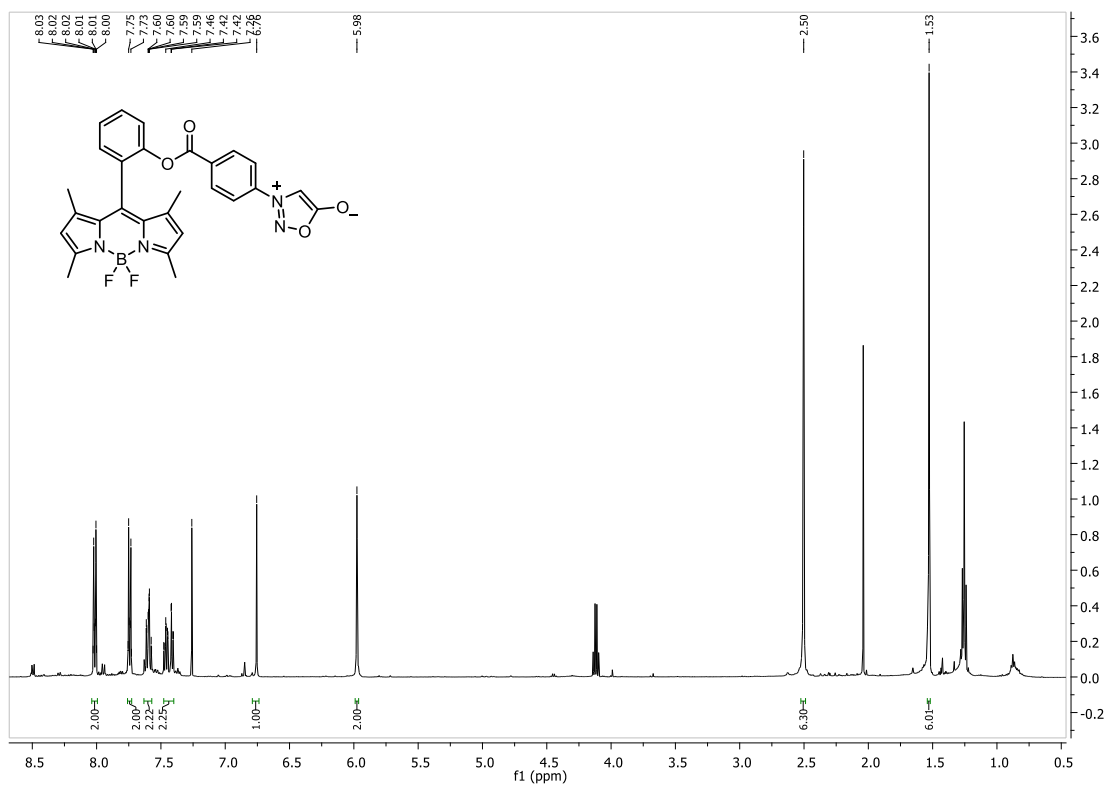
^1H NMR spektrum látky **37**:



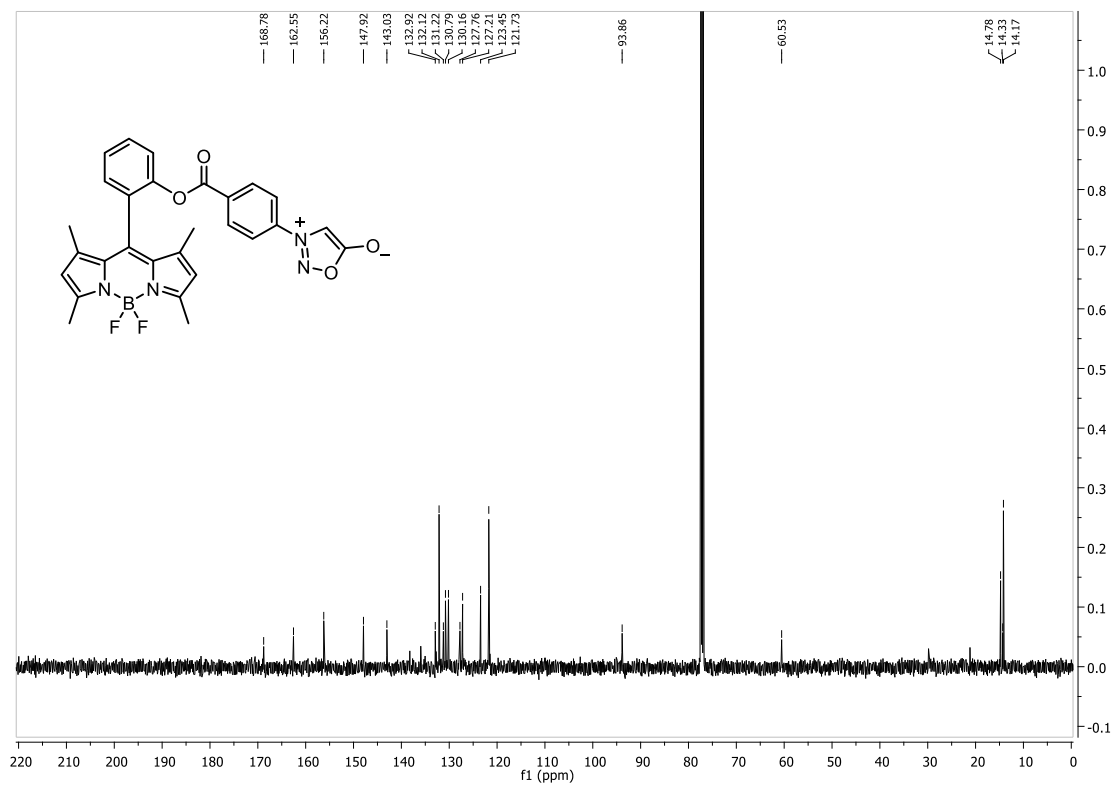
^{13}C NMR spektrum látky **37**:



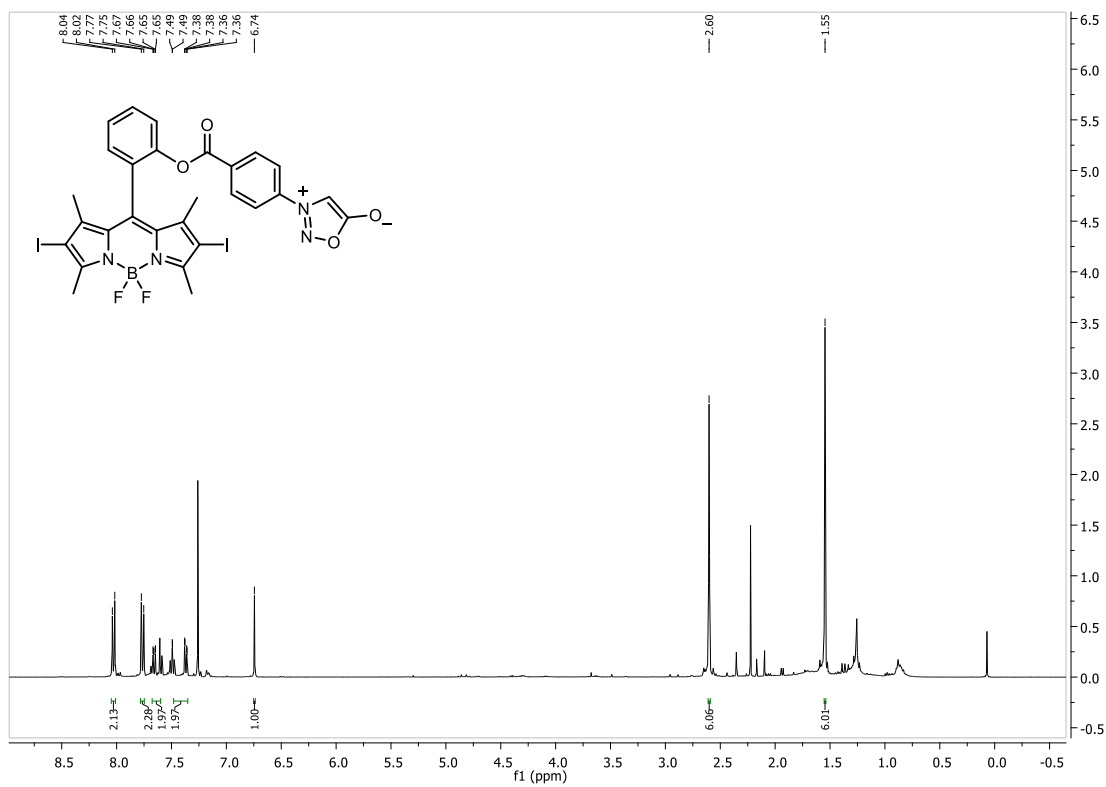
¹H NMR spektrum látky **38a**:



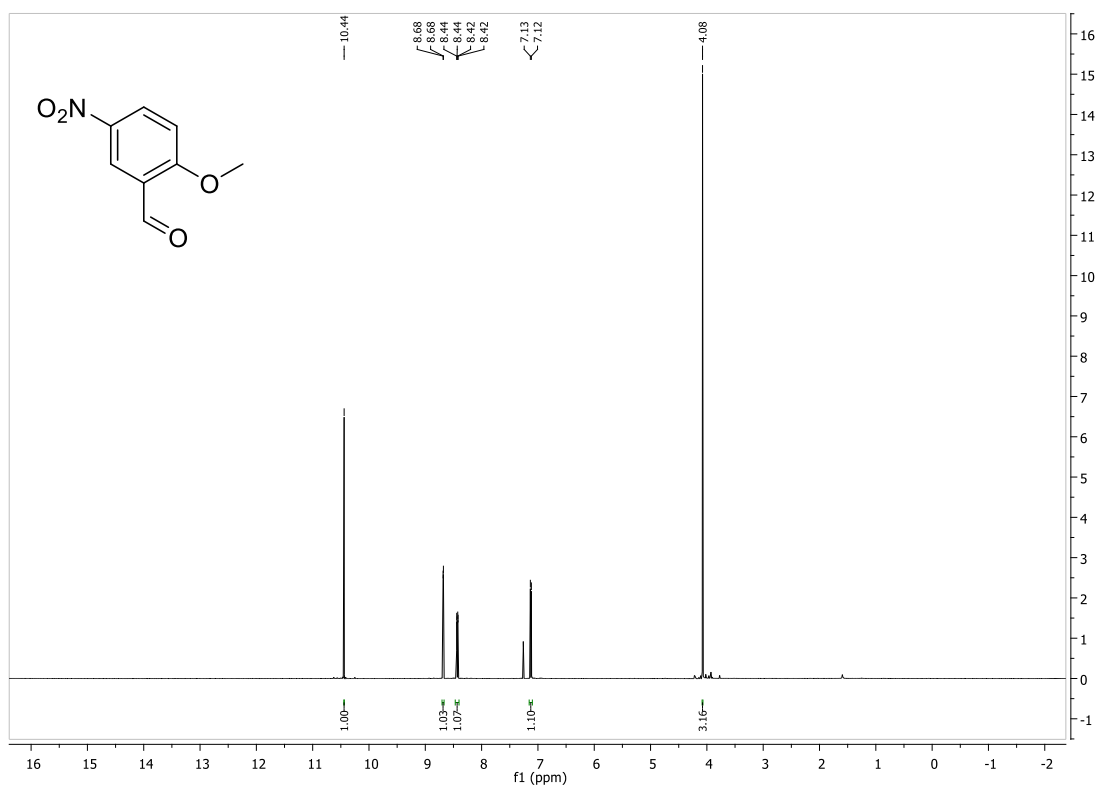
¹³C NMR spektrum látky **38a**:



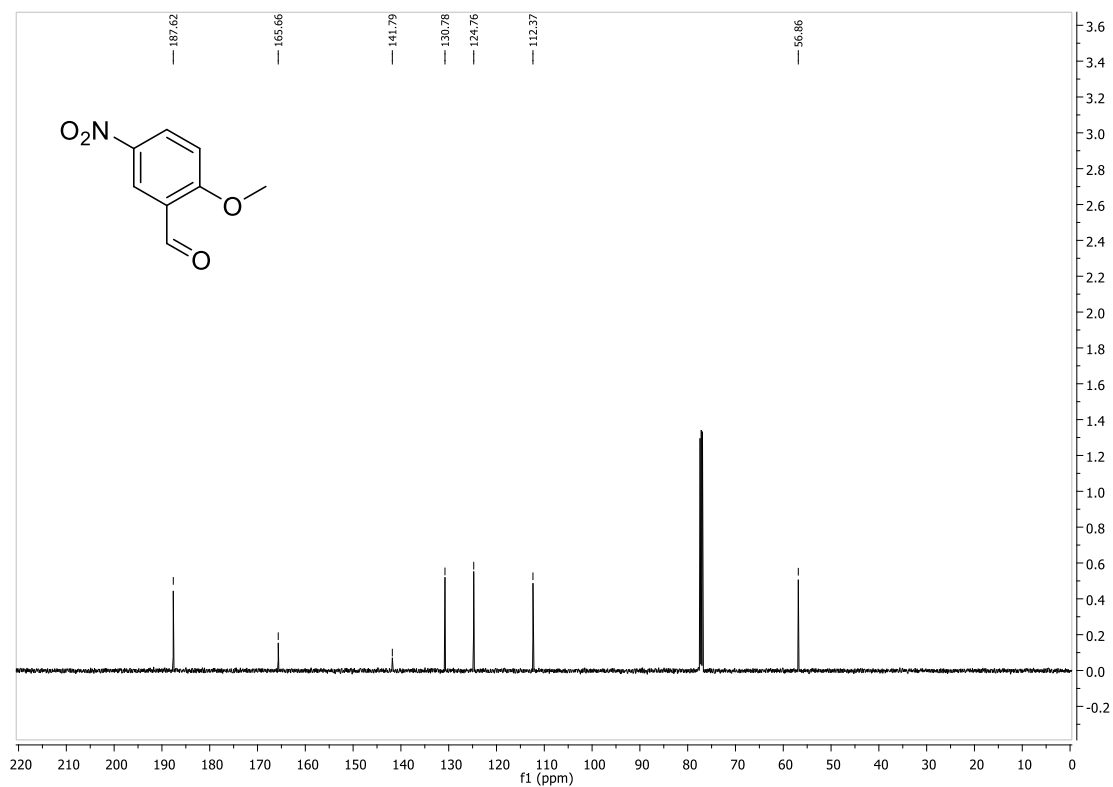
^1H NMR spektrum látky **39a**:



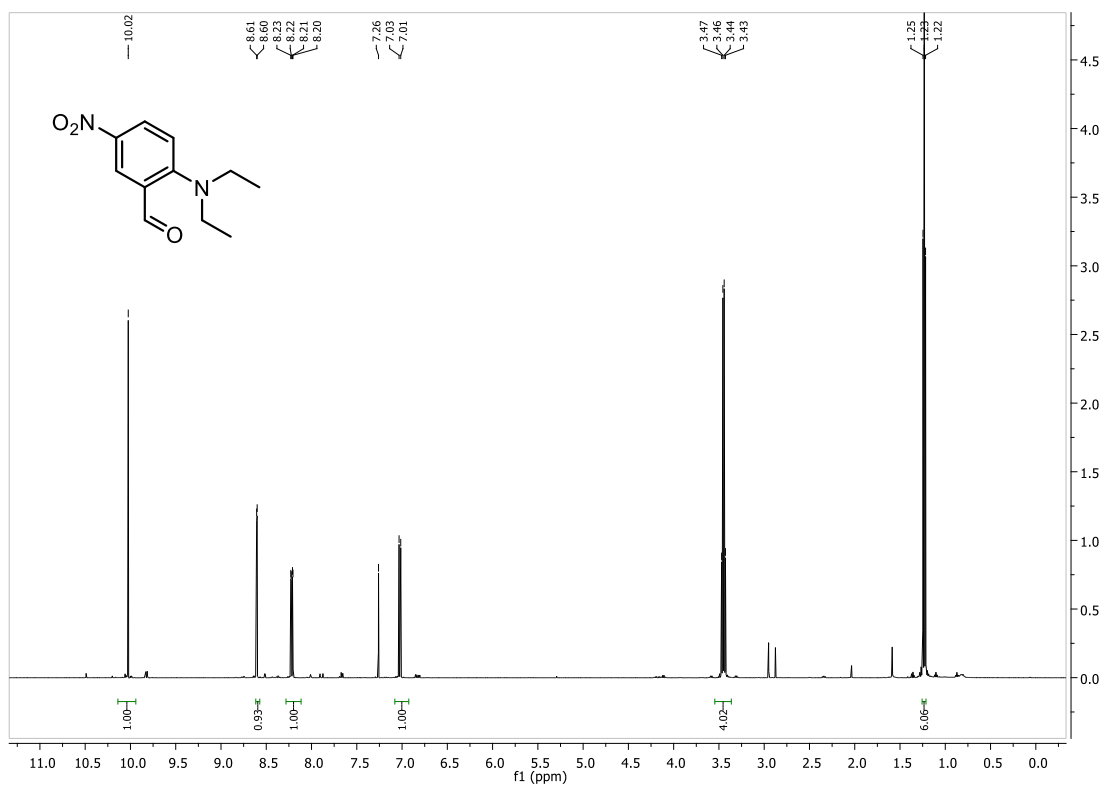
^1H NMR spektrum látky **43a**:



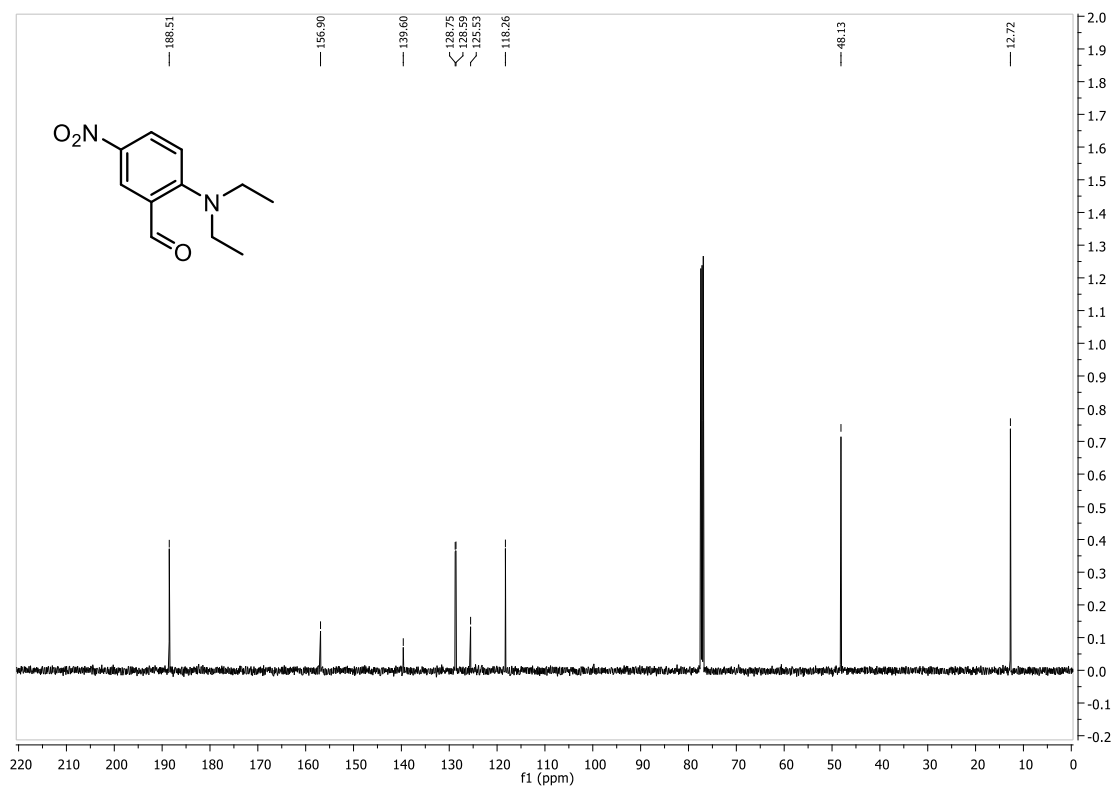
^{13}C NMR spektrum látky **43a**:



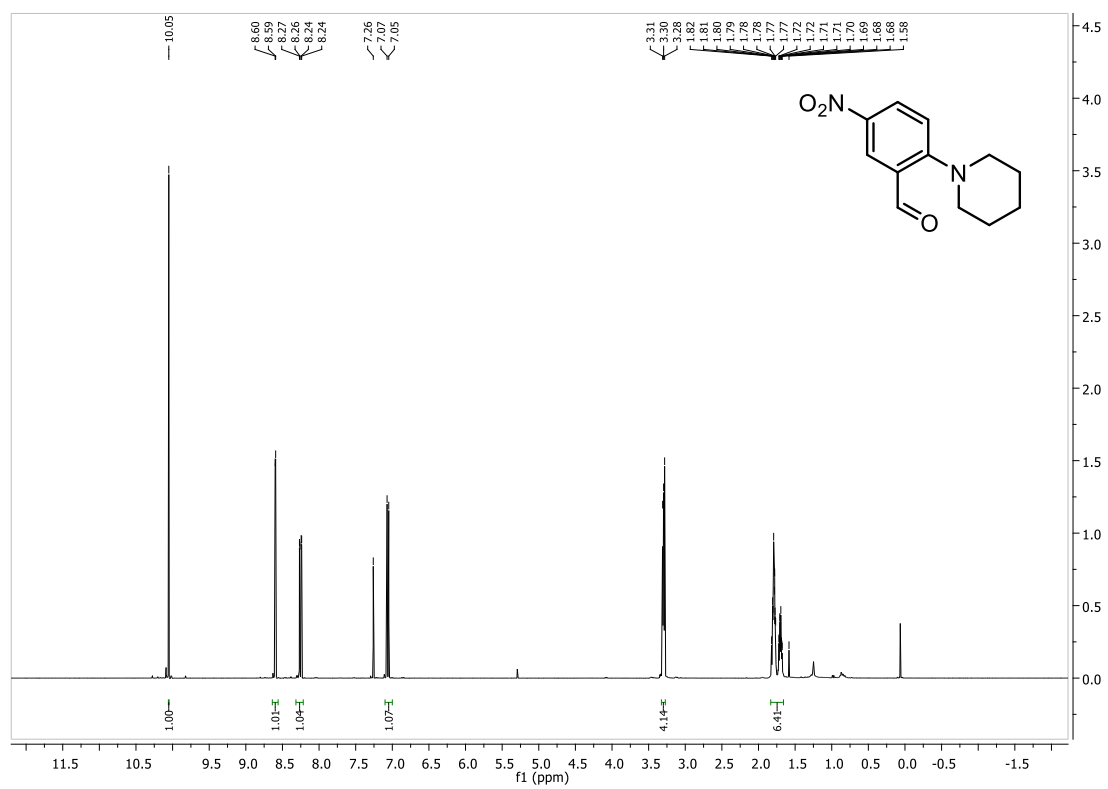
^1H NMR spektrum látky **43b**:



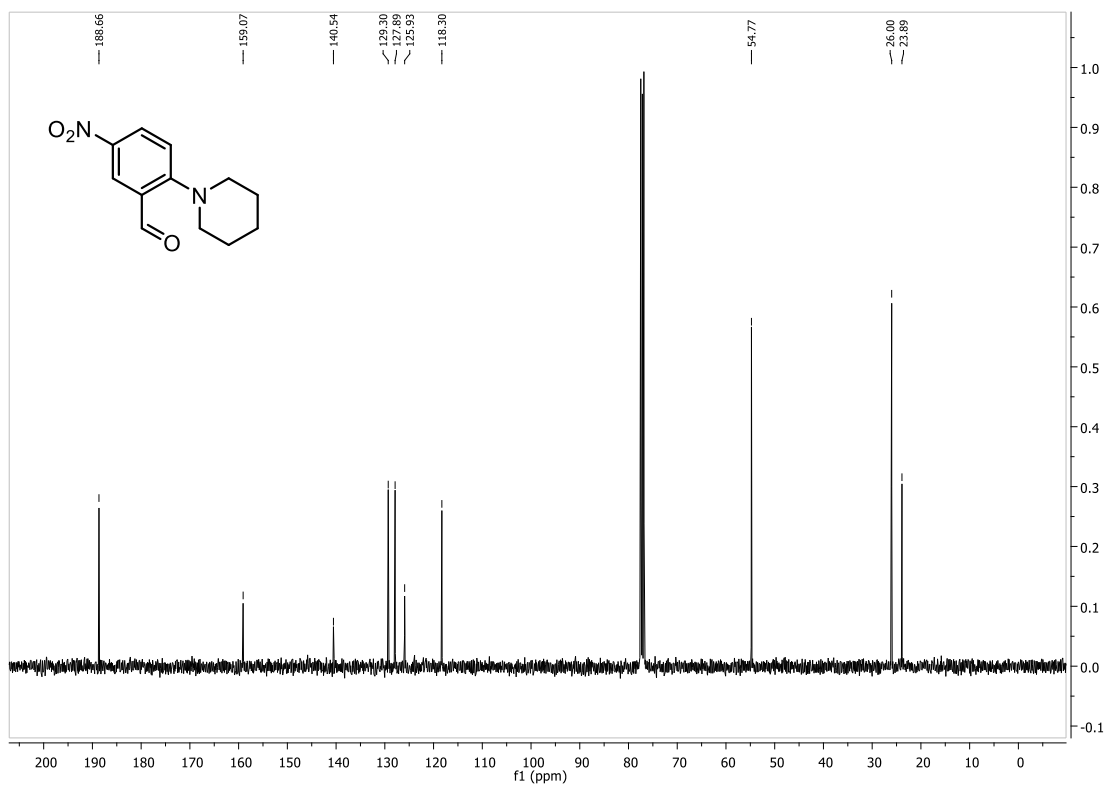
^{13}C NMR spektrum látky **43b**:



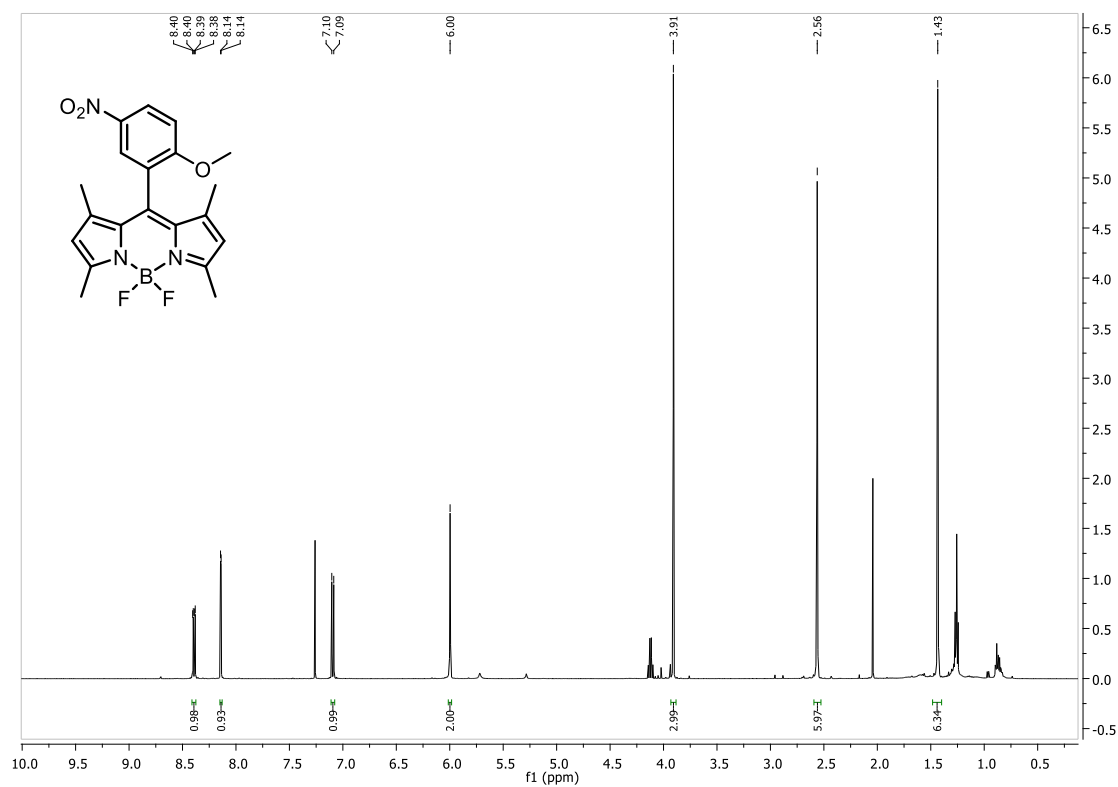
^1H NMR spektrum látky **43c**:



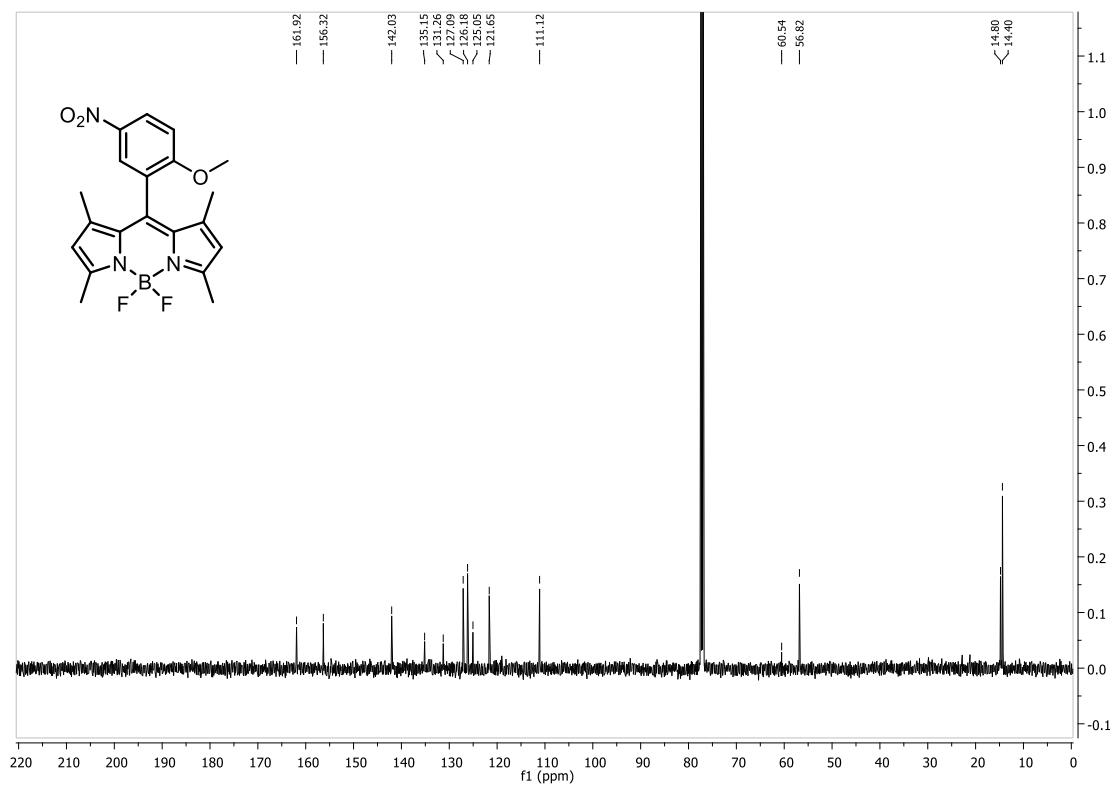
^{13}C NMR spektrum látky **43c**:



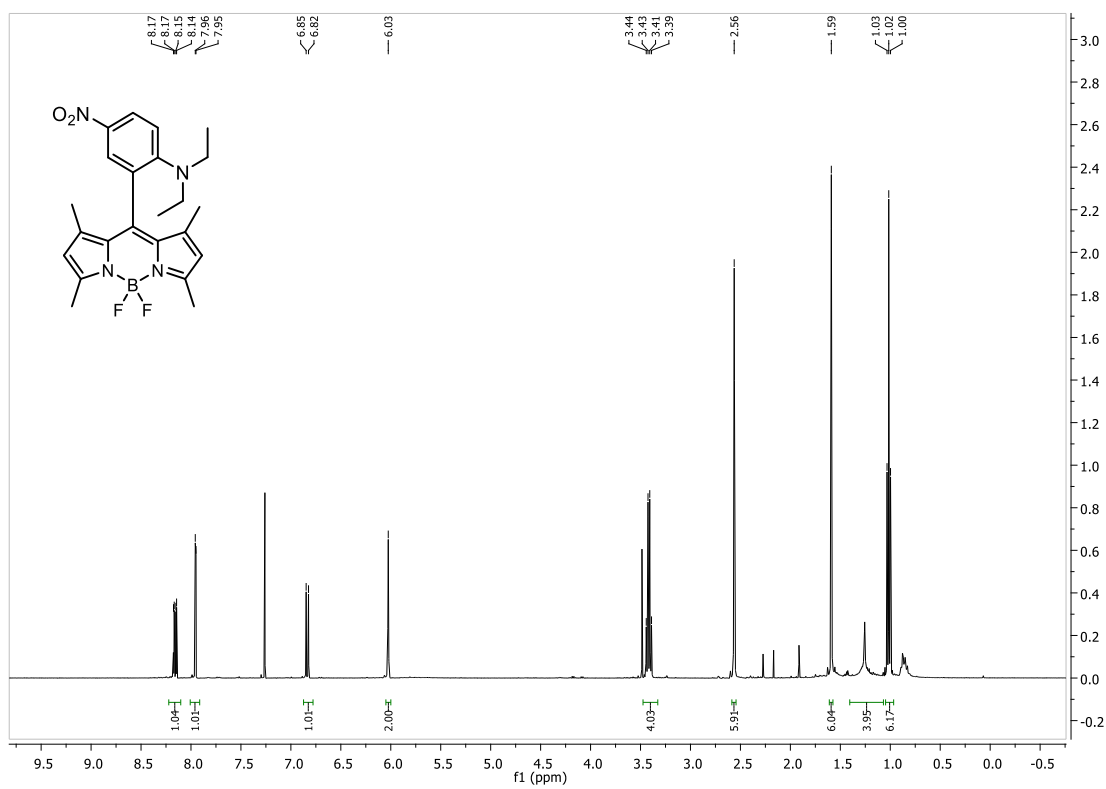
^1H NMR spektrum látky **44a**:



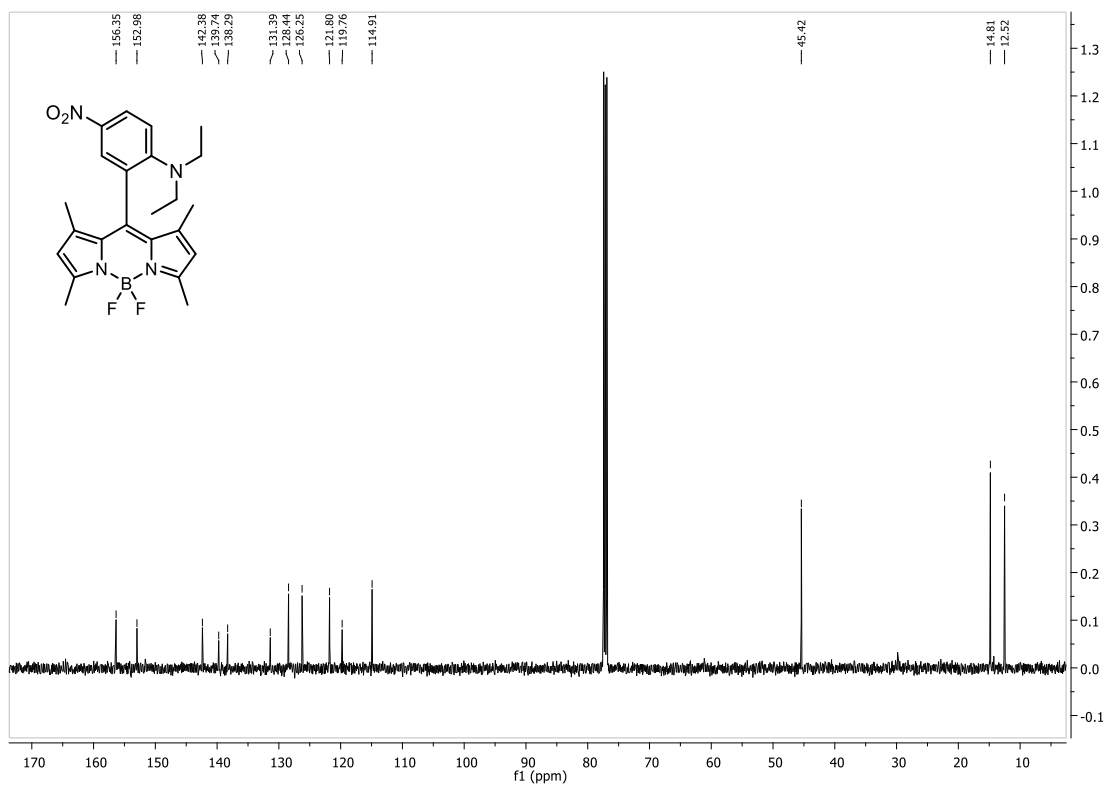
^{13}C NMR spektrum látky **44a**:



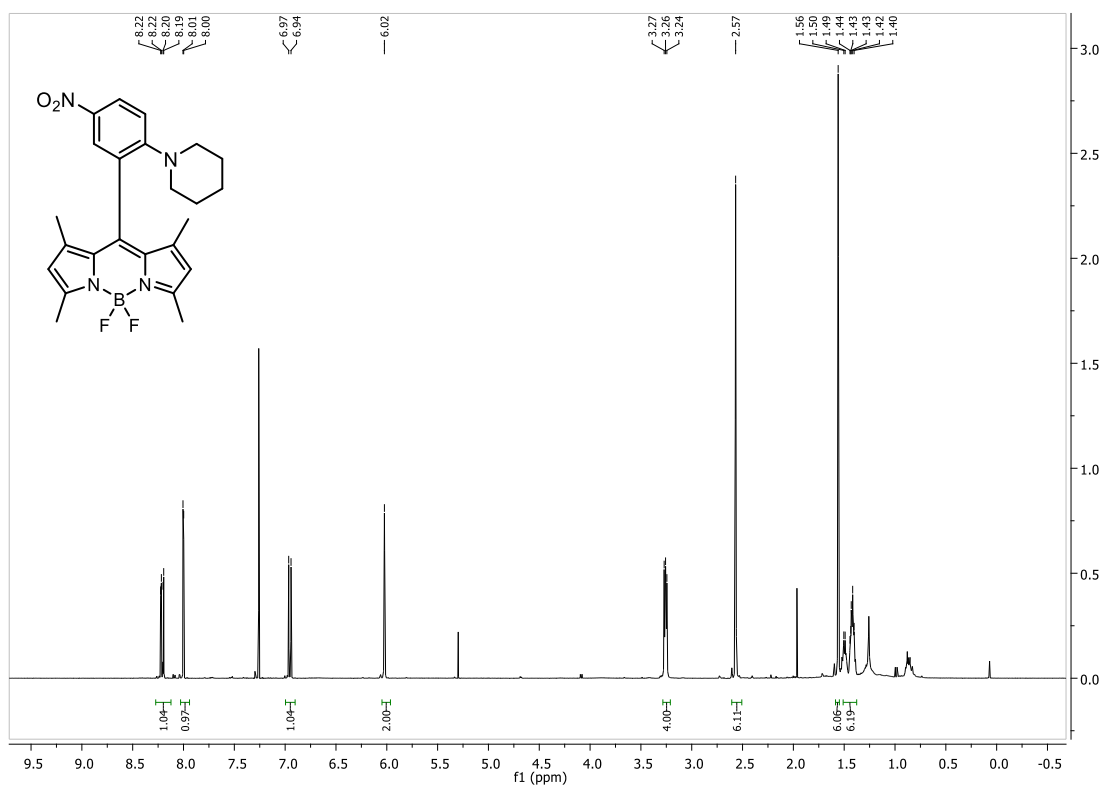
^1H NMR spektrum látky **44b**:



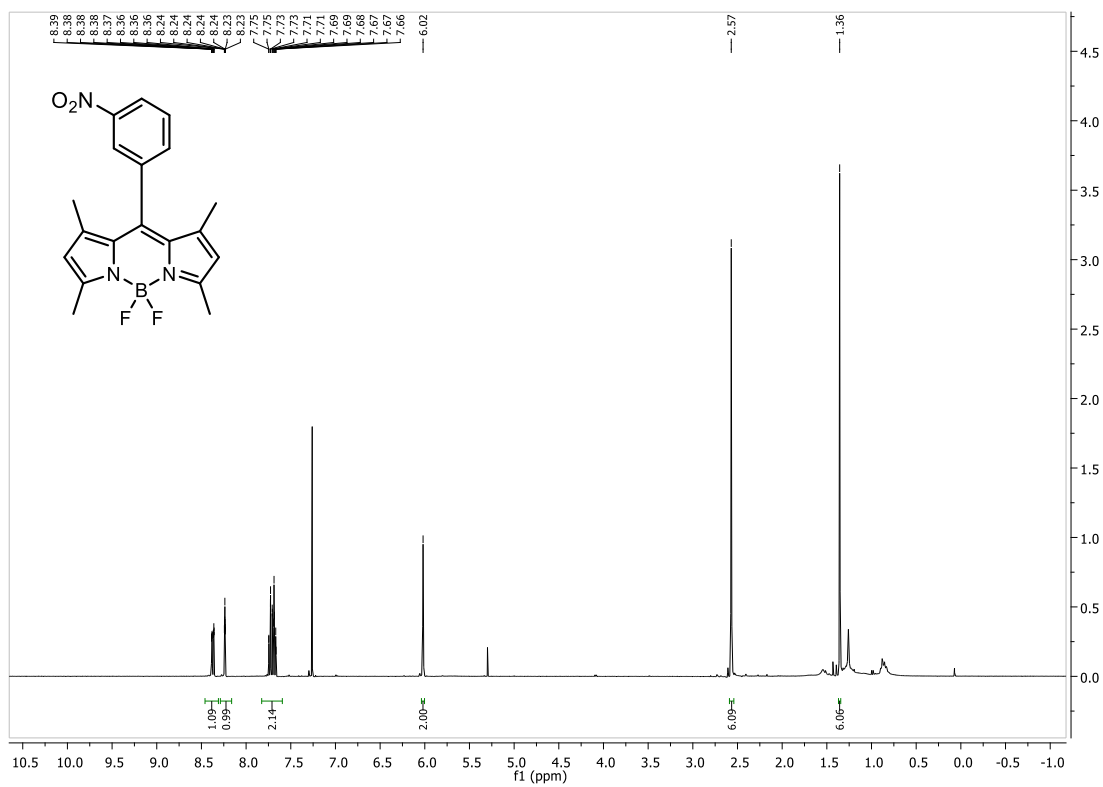
^{13}C NMR spektrum látky **44b**:



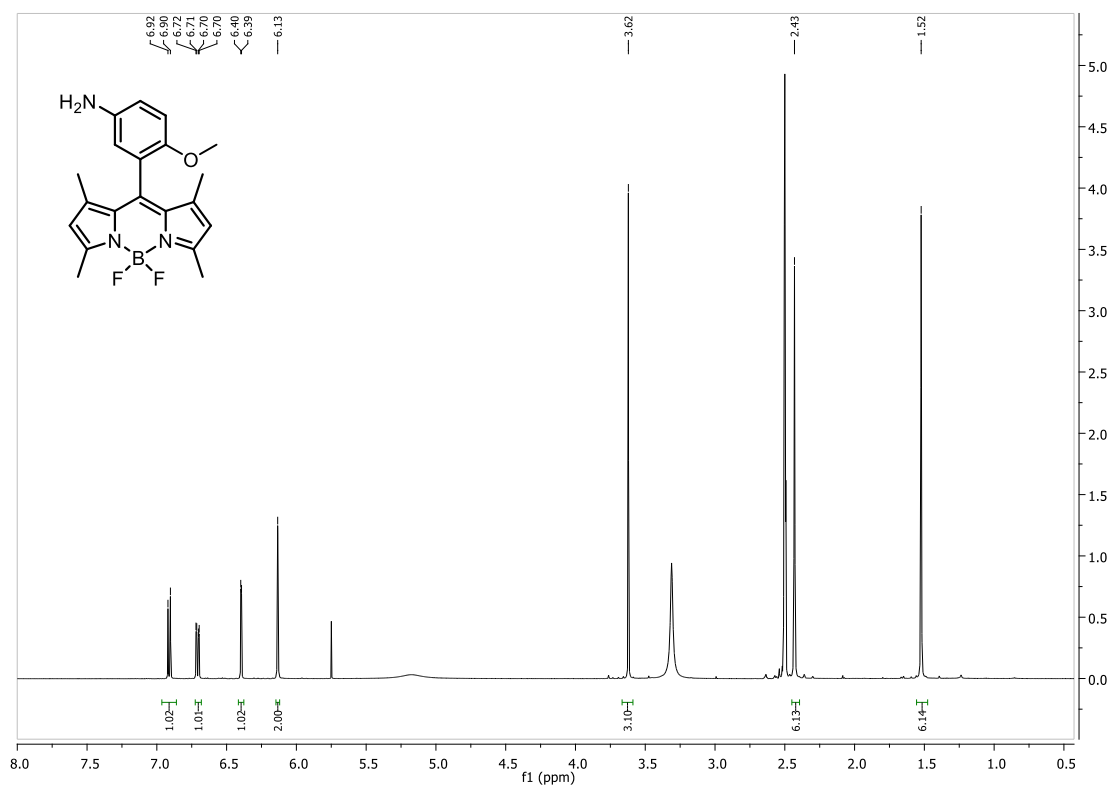
^1H NMR spektrum látky **44c**:



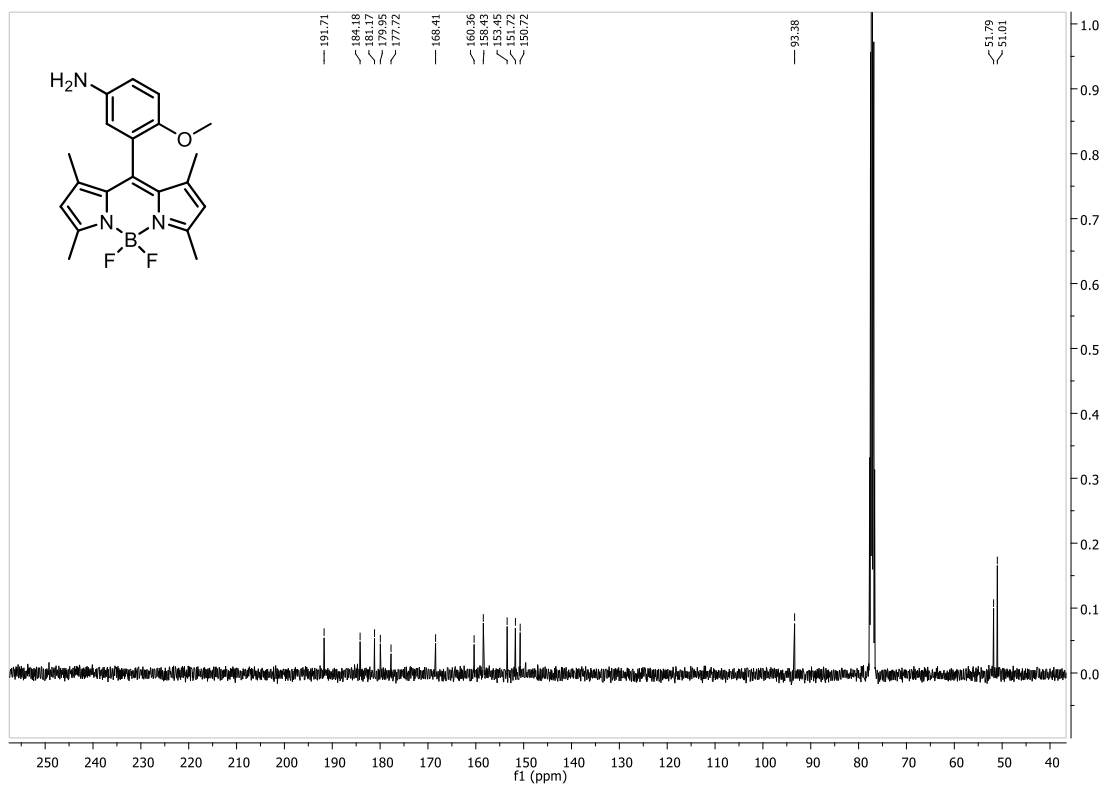
^1H NMR spektrum látky **44d**:



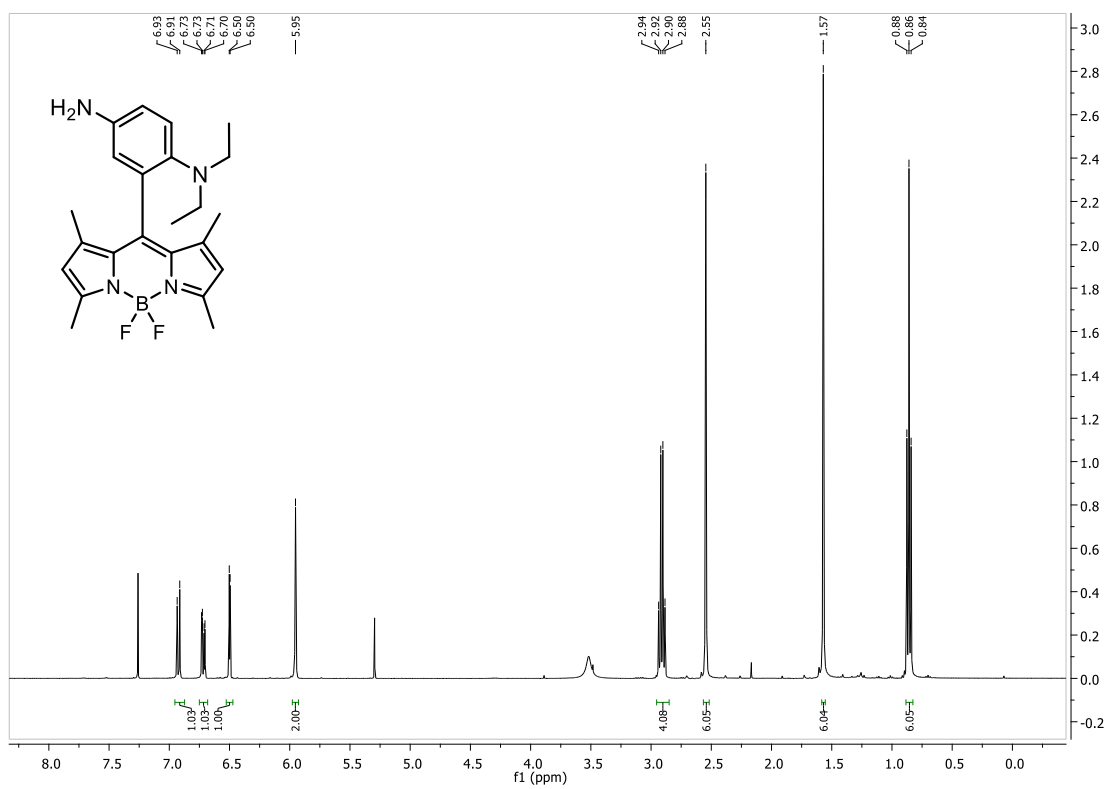
^1H NMR spektrum látky **45a**:



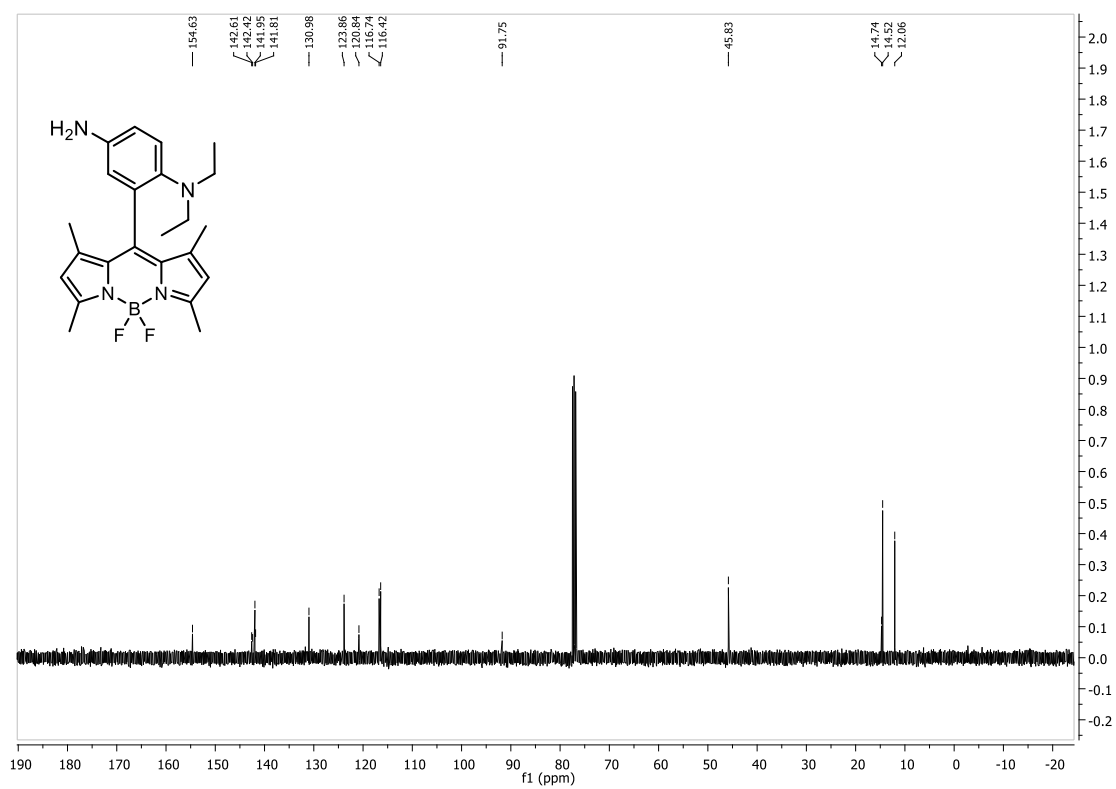
^{13}C NMR spektrum látky **45a**:



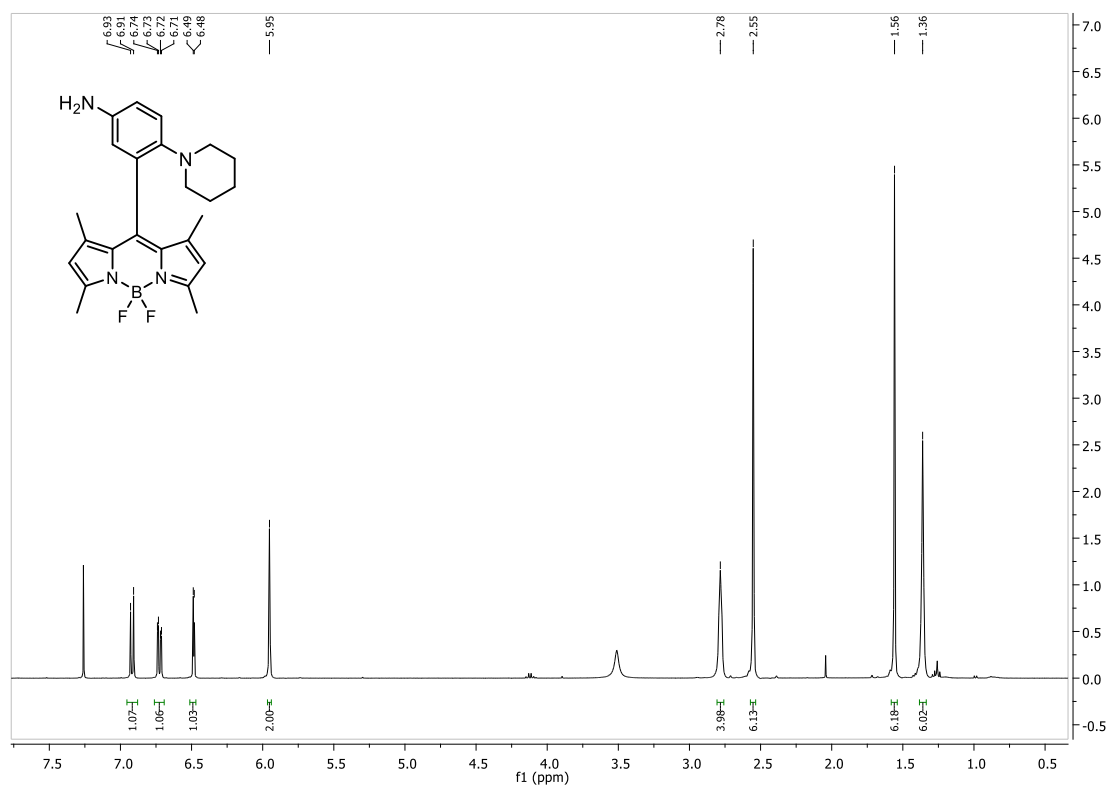
^1H NMR spektrum látky **45b**:



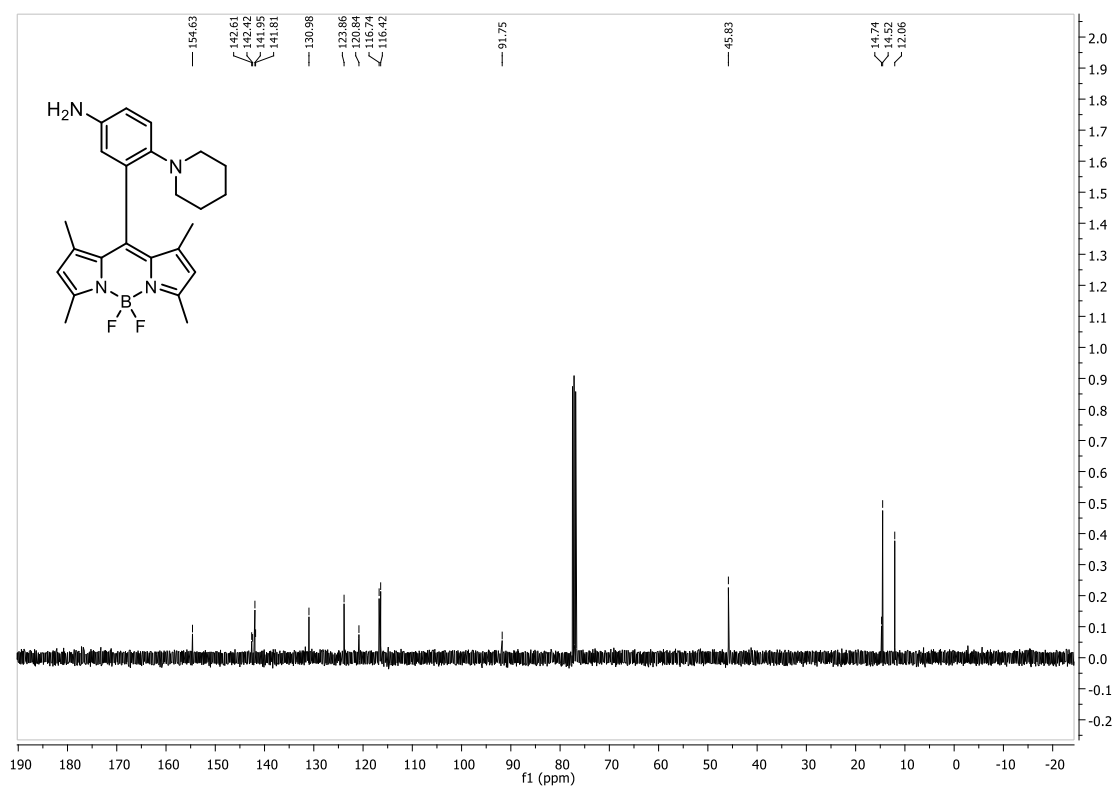
^{13}C NMR spektrum látky **45b**:



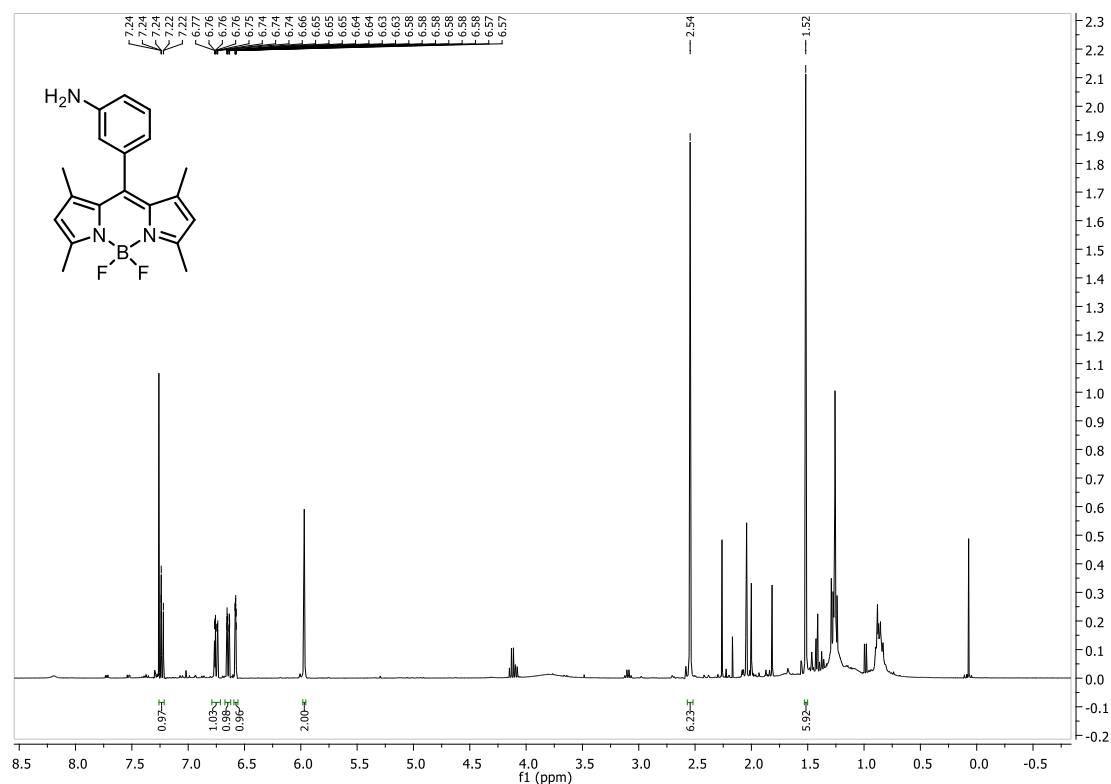
^1H NMR spektrum látky **45c**:



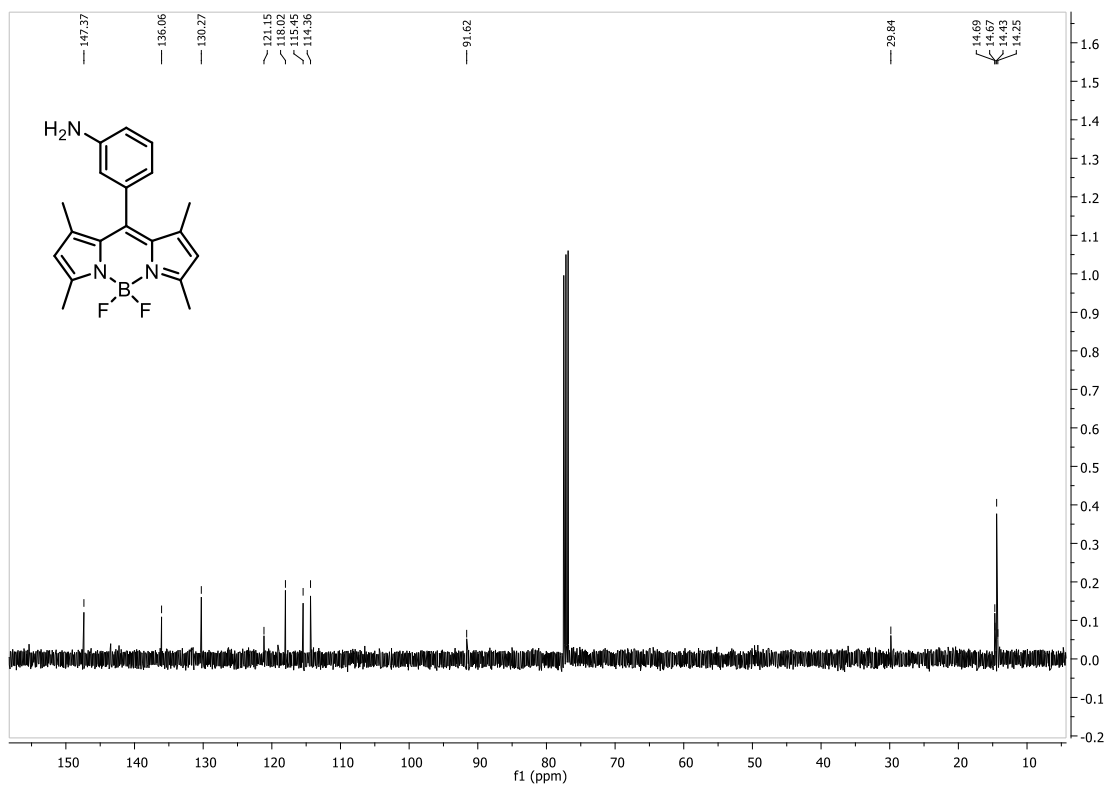
^{13}C NMR spektrum látky **45c**:



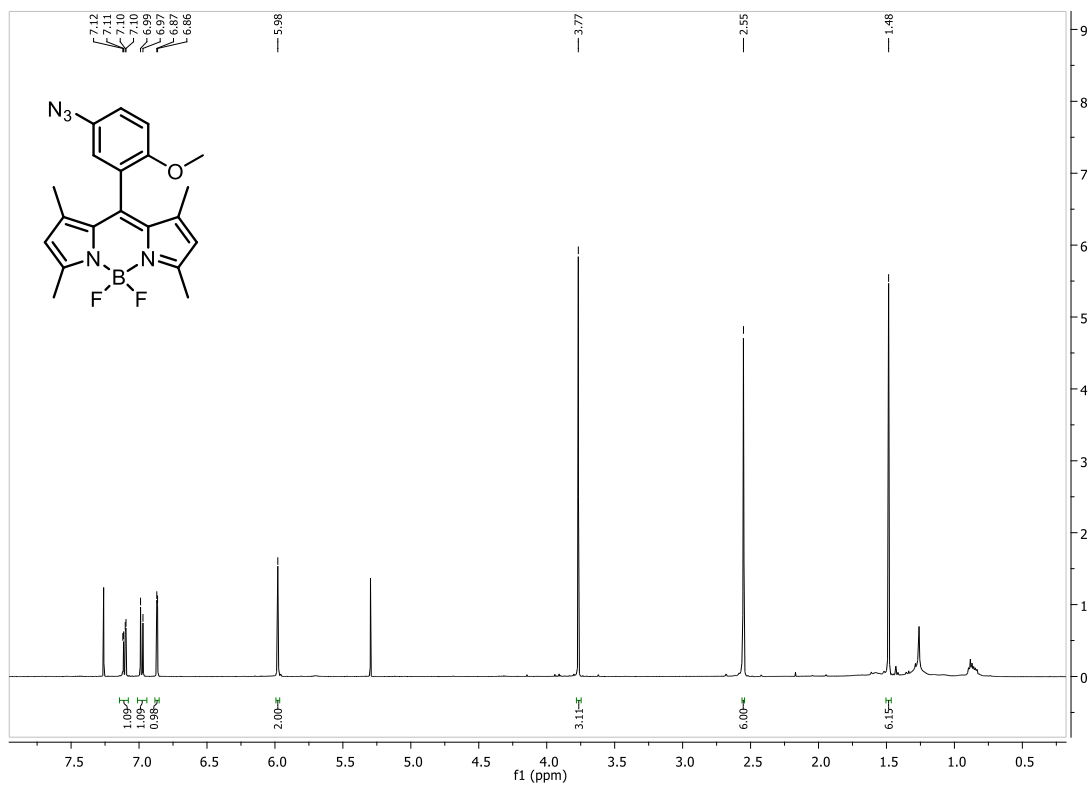
^1H NMR spektrum látky **45d**:



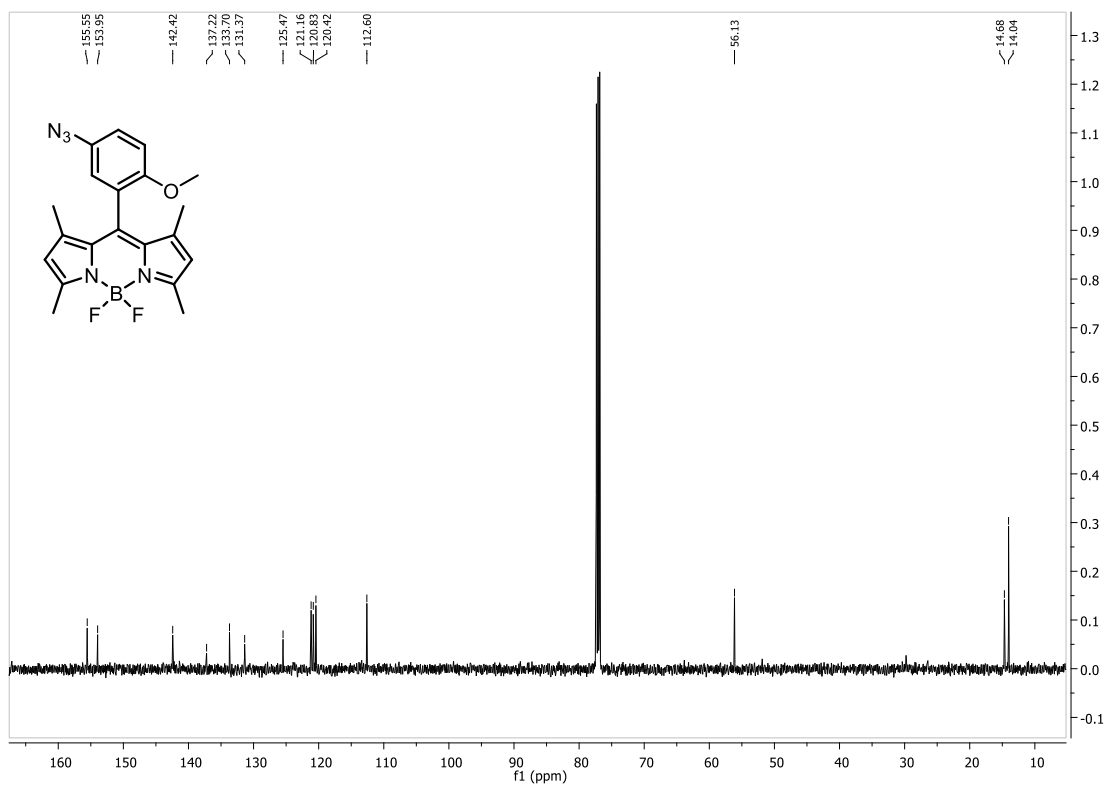
^{13}C NMR spektrum látky **45d**:



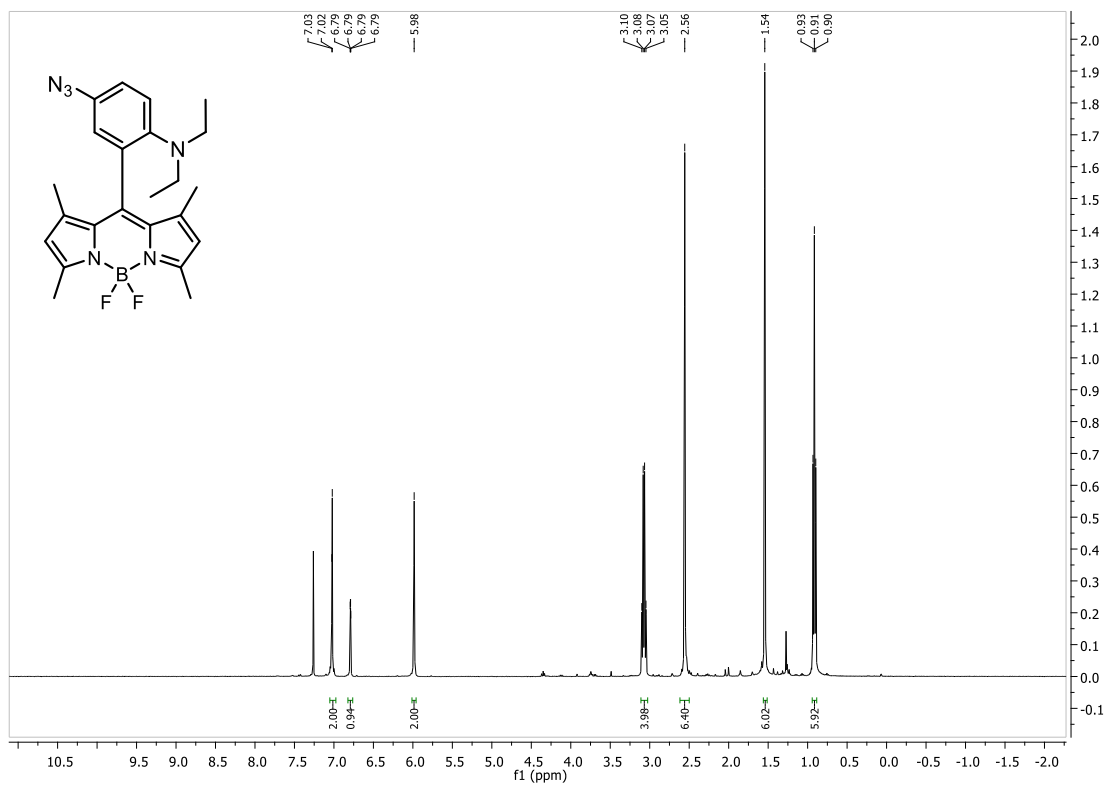
^1H NMR spektrum látky **46a**:



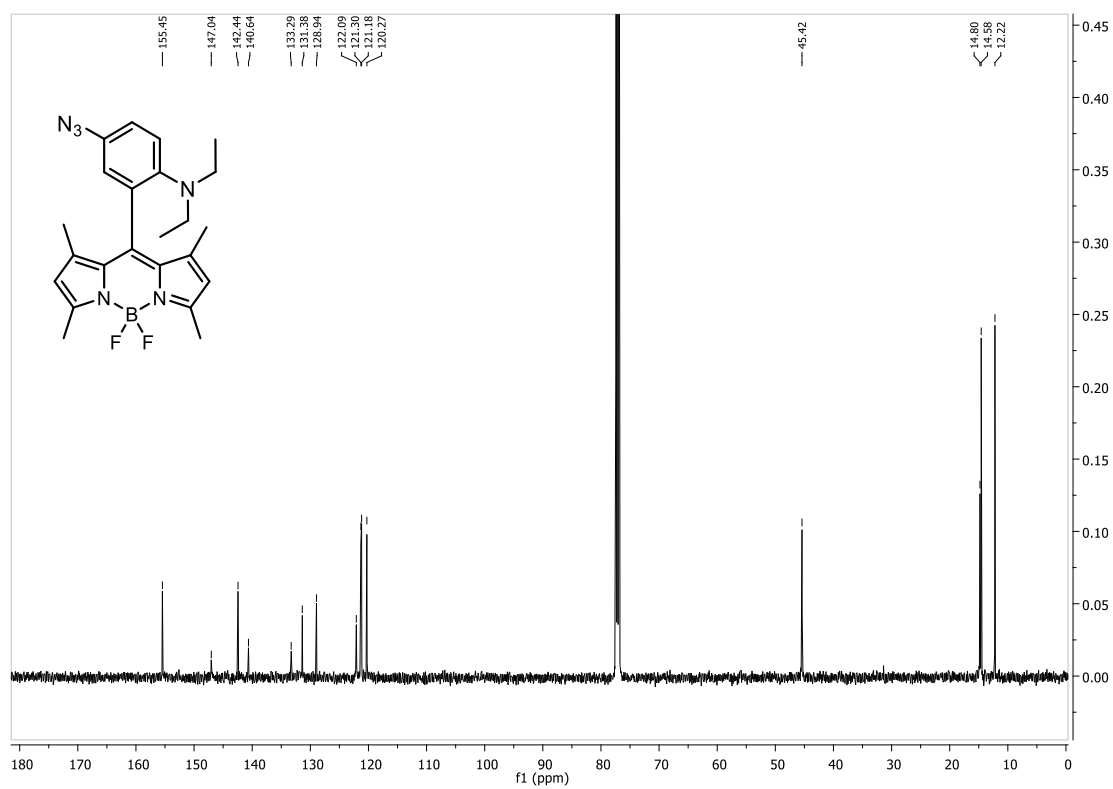
^{13}C NMR spektrum látky **46a**:



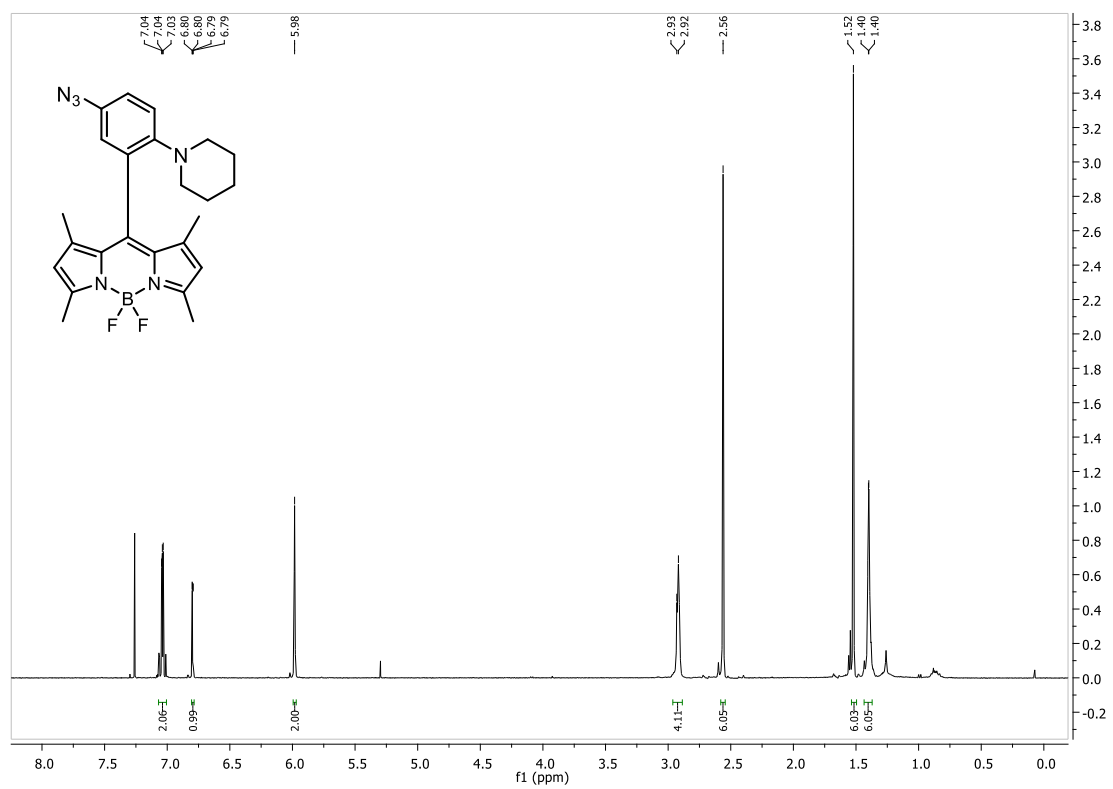
^1H NMR spektrum látky **46b**:



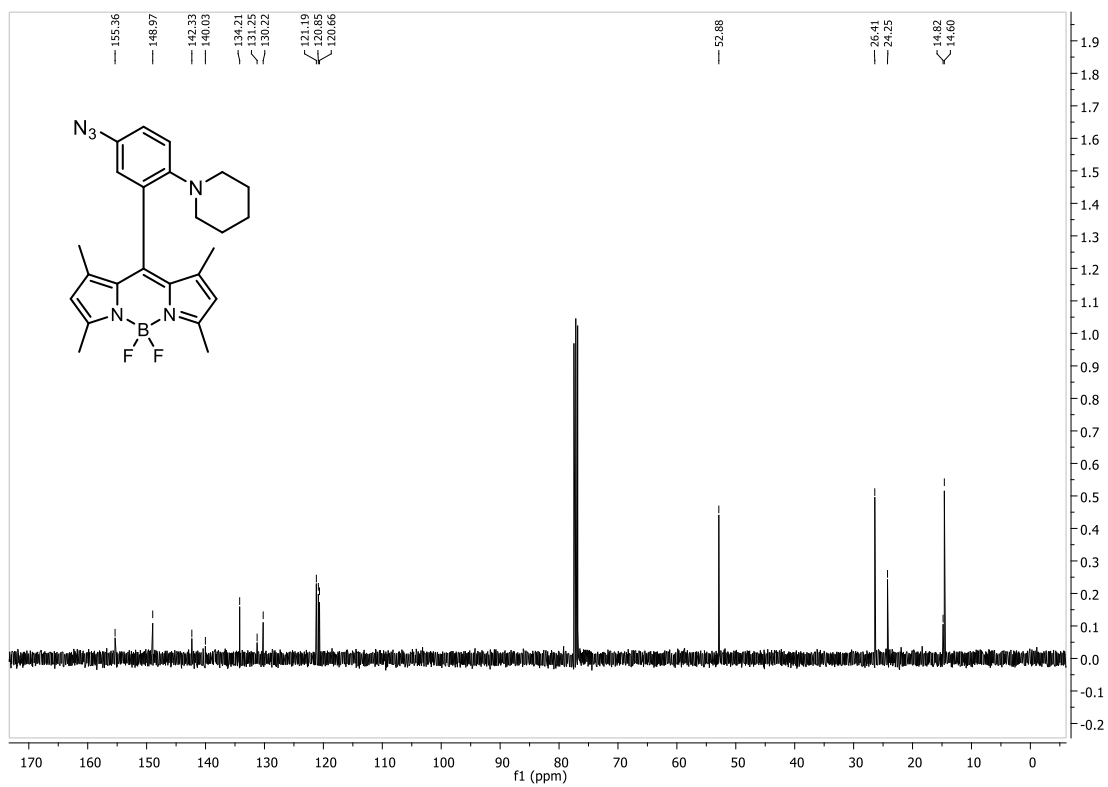
^{13}C NMR spektrum látky **46b**:



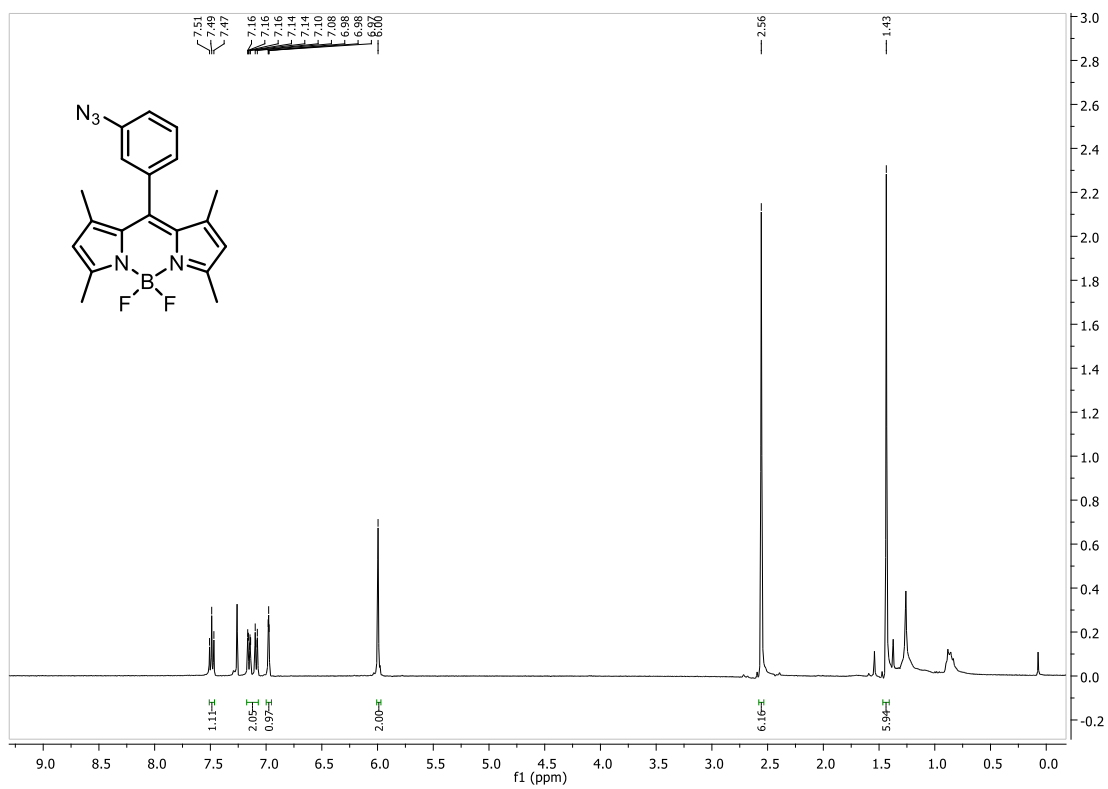
^1H NMR spektrum látky **46c**:



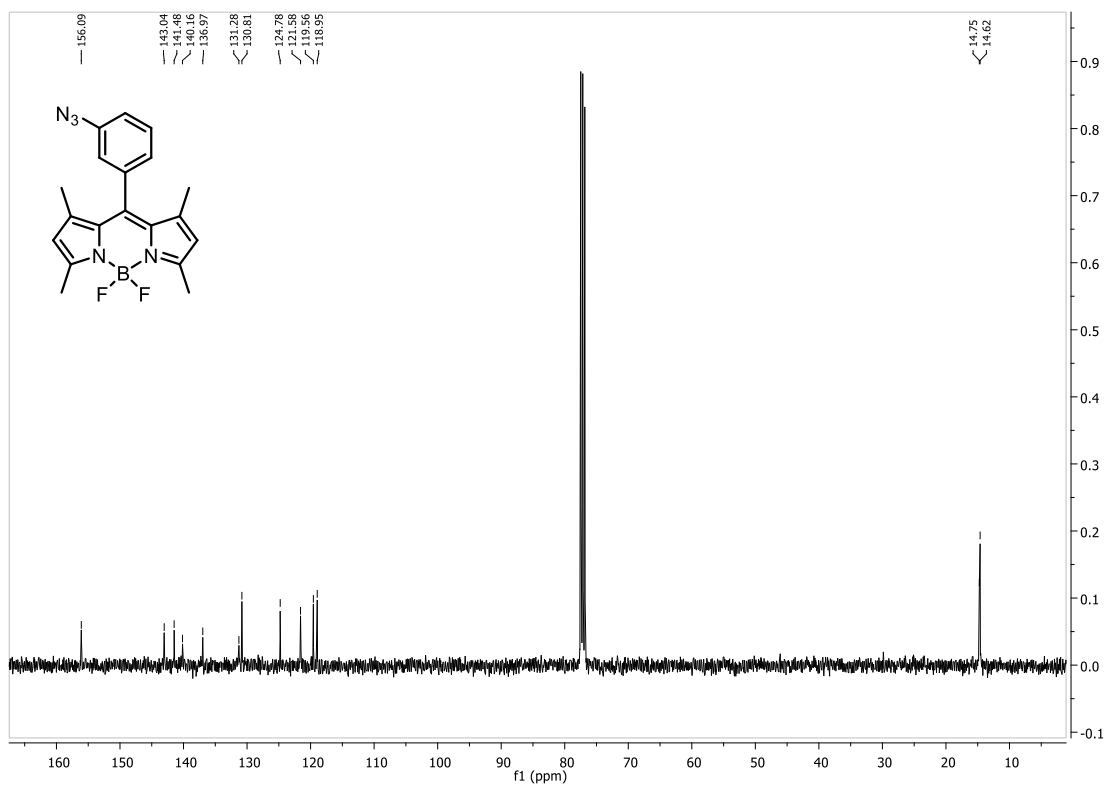
^{13}C NMR spektrum látky **46c**:



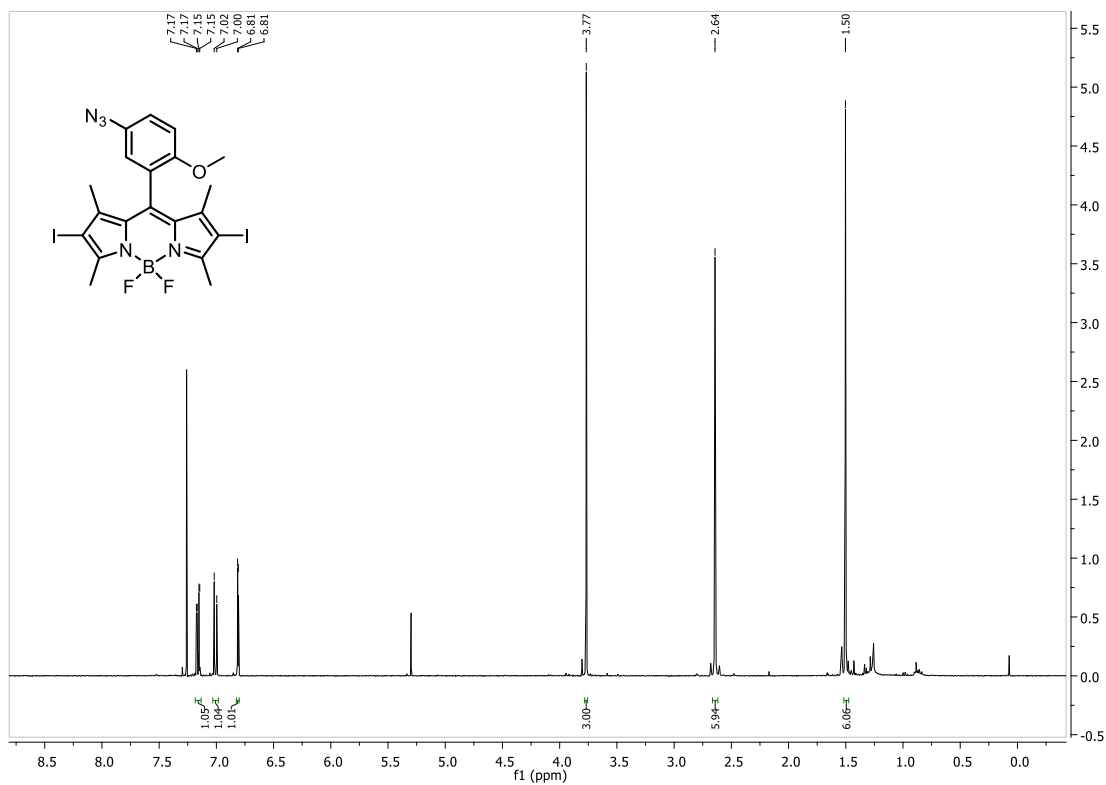
^1H NMR spektrum látky **46d**:



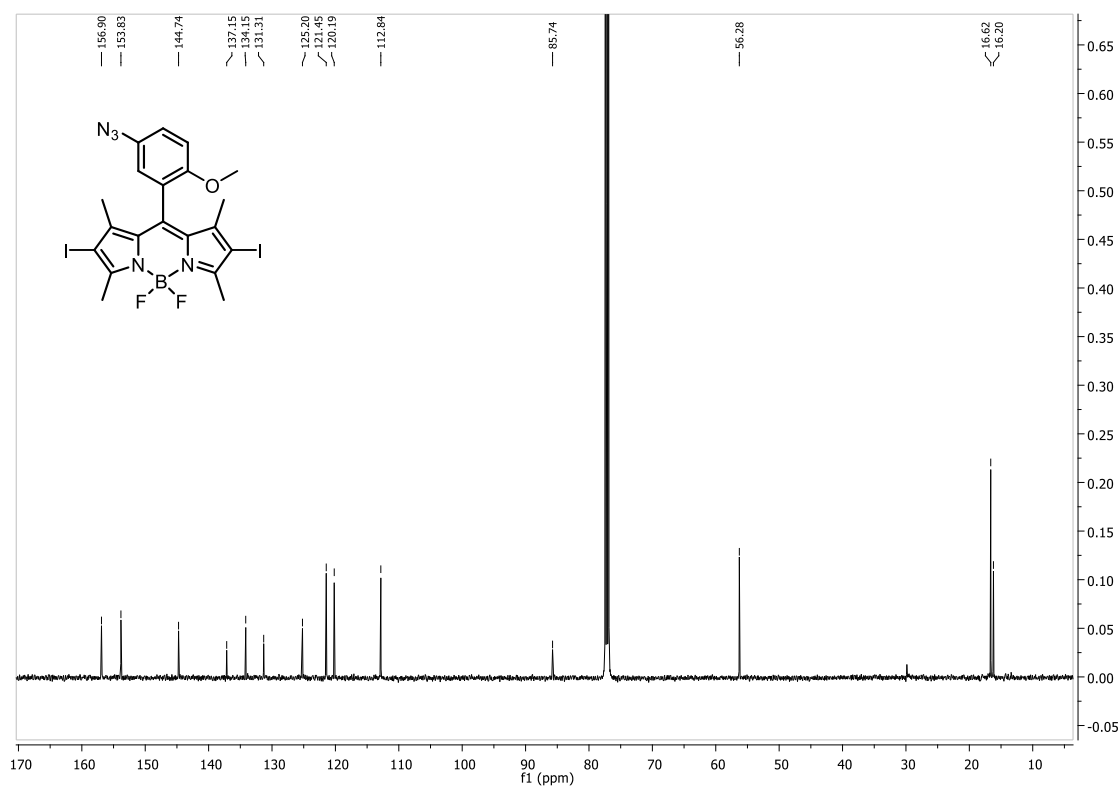
^{13}C NMR spektrum látky **46d**:



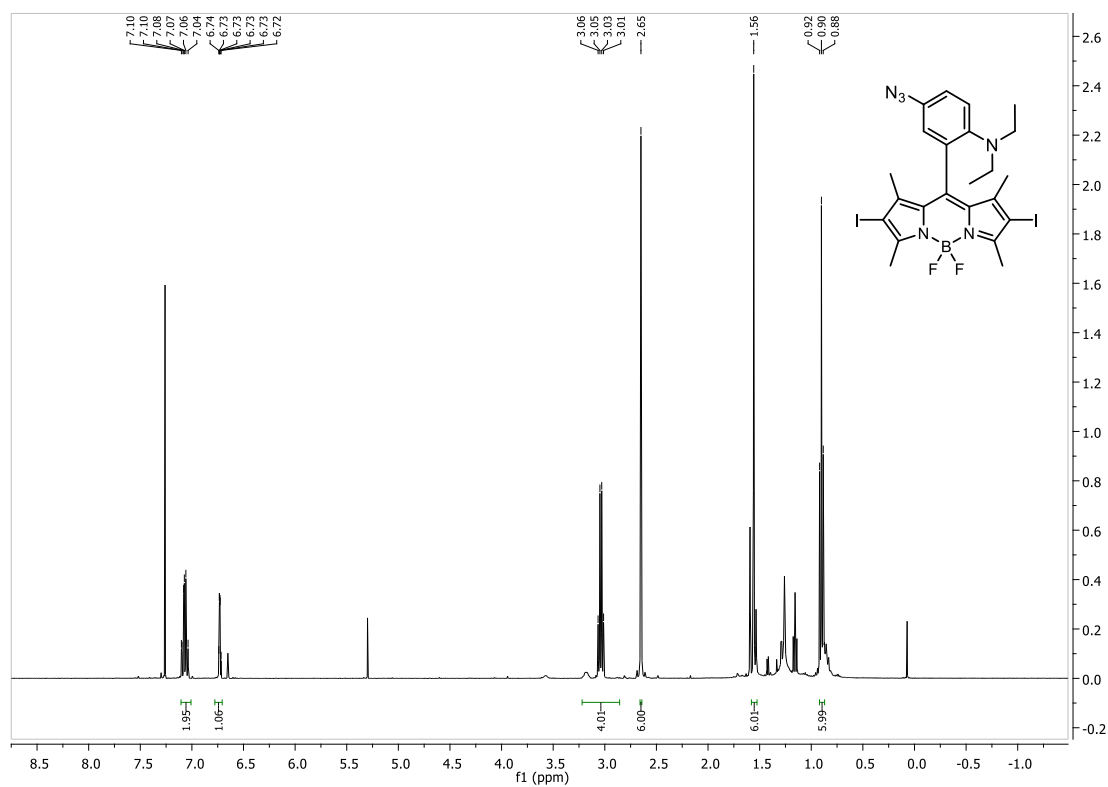
^1H NMR spektrum látky **47a**:



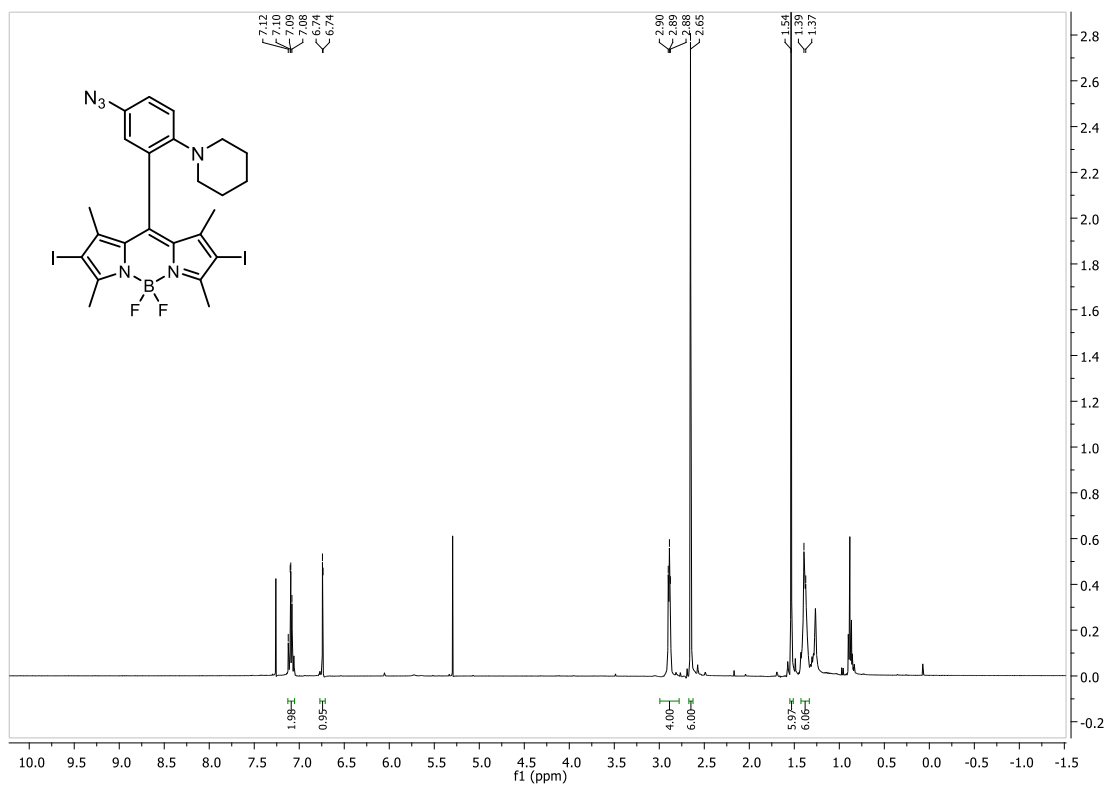
^{13}C NMR spektrum látky **47a**:



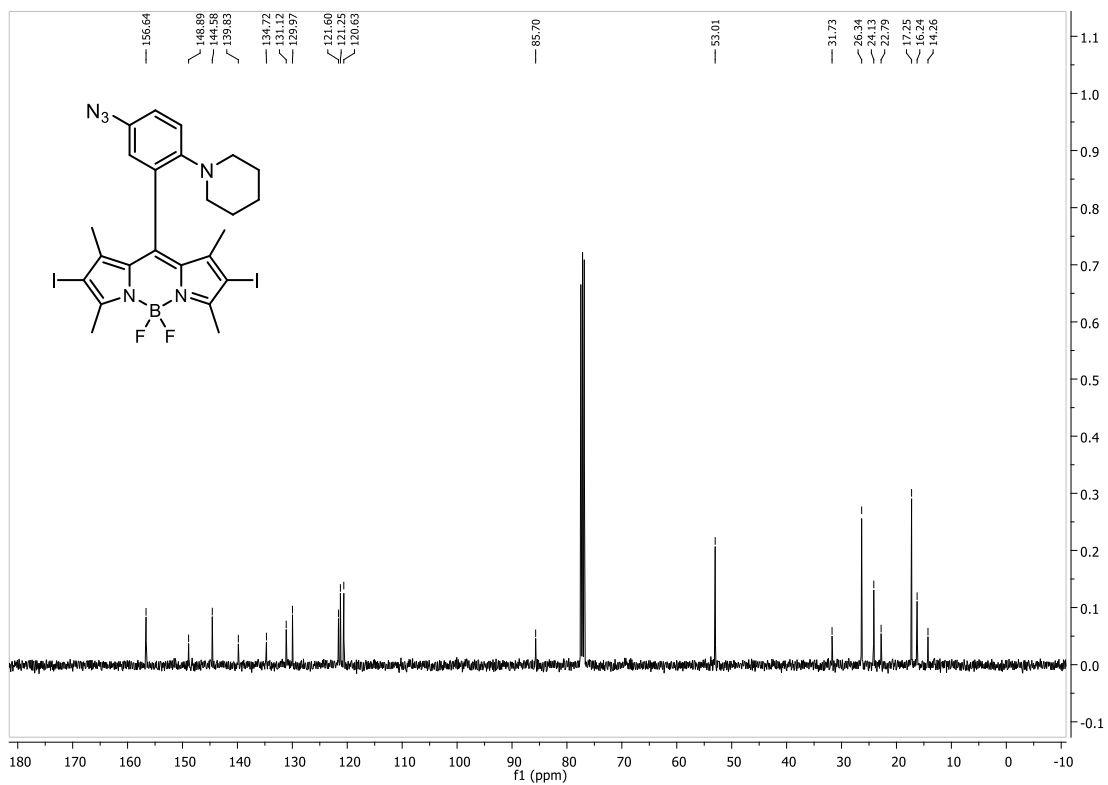
^1H NMR spektrum látky **47b**:



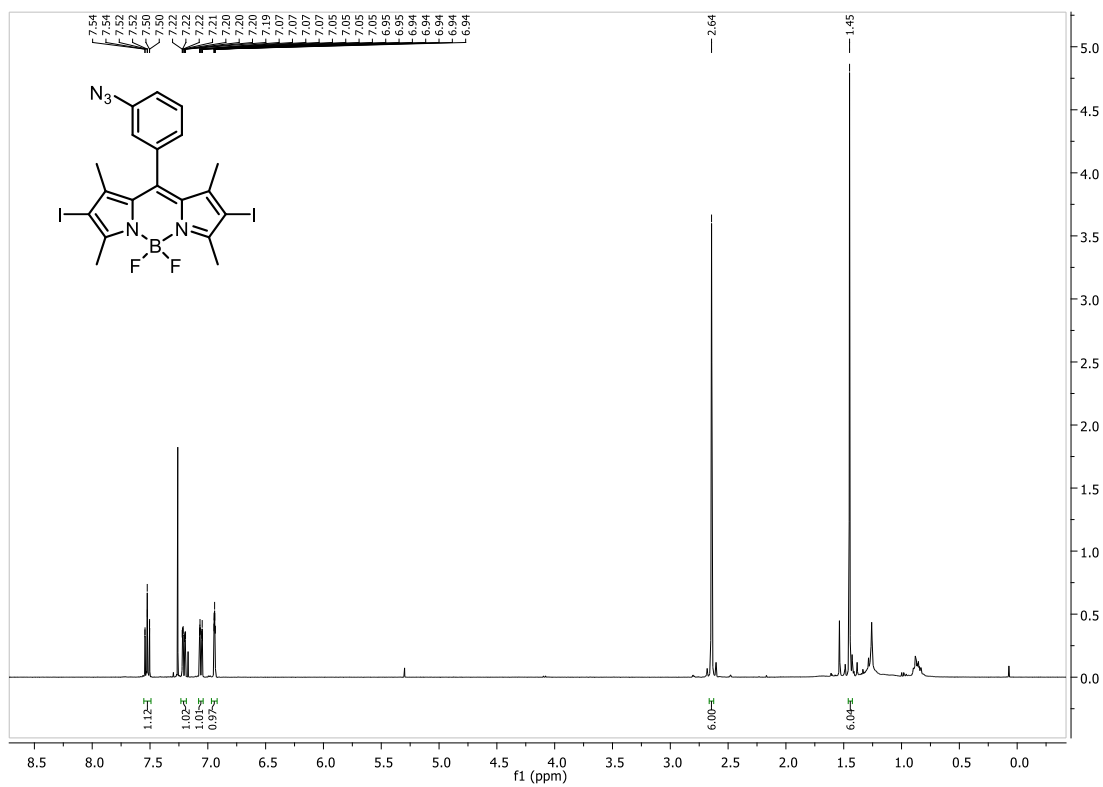
^1H NMR spektrum látky **47c**:



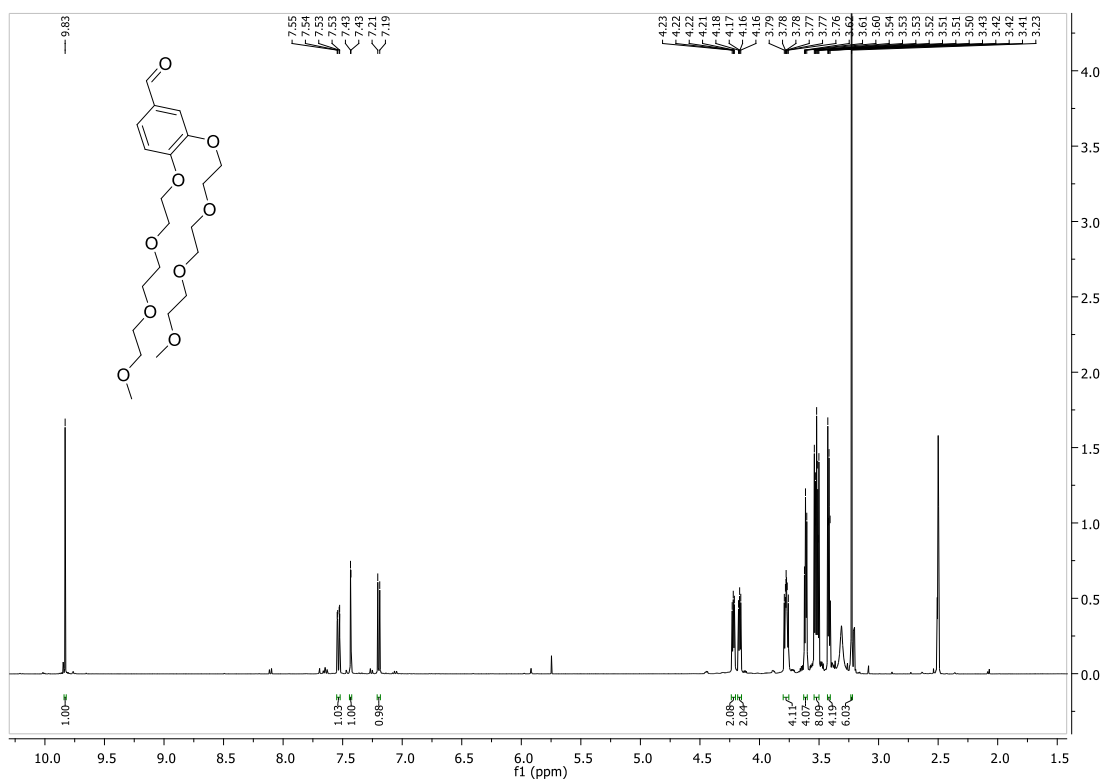
^{13}C NMR spektrum látky **47c**:



^1H NMR spektrum látky **47d**:



^1H NMR spektrum látky **51**:



^{13}C NMR spektrum látky **51**:

