



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2022년 2월

석사학위 논문

# 형광 세포-이미징과 광역학치료를 위한 수용성 BODIPY 염료의 합성

조선대학교 대학원

화학과

임희정

# 형광 세포-이미징과광역학치료를 위한 수용성 BODIPY 염료의 합성

Synthesis of water-soluble BODIPY dyes for  
fluorescence cell-imaging and photodynamic therapy

2022년 2월 25일

조선대학교 대학원

화학과

임희정

# 형광 세포-이미징과 광역학치료를 위한 수용성 BODIPY 염료의 합성

지도교수 김 호 중

이 논문을 이학석사학위신청 논문으로 제출함.

2021년 10월

조선대학교 대학원

화 학 과

임 희 정

## 임희정의 석사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	<u>고문주</u>	(인)
위원	조선대학교	교수	<u>이범규</u>	(인)
위원	조선대학교	교수	<u>김호중</u>	(인)

2021년 12월

조선대학교 대학원

## TABLE OF CONTENTS

---

LIST OF CONTENTS	i
LIST OF SCHEMES	v
LIST OF FIGURES	vi
LIST OF TABLES	x
ABSTRACT	xi

### Chapter I

<u>1. Introduction</u> .....	1
1.1 Application of BODIPY dye and PDT mechanism	1
1.2 Synthesis of BODIPY core and characterizations	4
1.3 Halogenated BODIPY dye	5
<u>2. Experiment</u> .....	6
2.1 Materials	6
2.2 Synthesis	7
2.3 Experiment and characterization of compound 1~11	9
2.3.1 Synthesis of compound 1	9
2.3.2 Synthesis of compound 2	10
2.3.3 Synthesis of compound 3	10
2.3.4 Synthesis of compound 4	11

2.3.5 Synthesis of compound 5	11
2.3.6 Synthesis of compound 6	12
2.3.7 Synthesis of compound 7	12
2.3.8 Synthesis of compound 8	13
2.3.9 Synthesis of compound 9	13
2.3.10 Synthesis of compound 10	14
2.3.11 Synthesis of compound 11	14
<u>3. Results and discussion</u> .....	15
3.1 Theoretical characterizations and analysis	15
3.1.1 PEG(polyethylene glycol)	15
3.1.2 Halogenated BODIPYs	16
3.1.3 Knoevenagel reaction	17
3.1.4 Methylation	18
3.2 Spectroscopic measurements	18
3.2.1 UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra	19
3.2.2 Quantum yield measurements	24
3.3 Photos of compound 9, compound 10, compound 11 under 365nm in different solvents	24
<u>4. Conclusions</u> .....	25
<u>5. Spectrum</u> .....	26
<u>6. References</u> .....	40

## Chapter II

<u>1. Introduction</u> .....	43
<u>2. Experiment</u> .....	44
2.1 Materials	44
2.2 Synthesis	45
2.3 Experimental process of compound 12~19	49
2.3.1 Synthesis of compound 12	49
2.3.2 Synthesis of compound 13	49
2.3.3 Synthesis of compound 14	50
2.3.4 Synthesis of compound 15	50
2.3.5 Synthesis of compound 16	51
2.3.6 Synthesis of compound 17	51
2.3.7 Synthesis of compound 18	52
2.3.8 Synthesis of compound 19	52
<u>3. Results and discussion</u> .....	53
3.1 Theoretical characterizations and analysis	53
3.1.1 Electronic properties of the compounds	53
3.1.2 Suzuki coupling reaction	54
3.1.3 Methylation	55
3.2 Spectroscopic measurements	56
3.2.1 UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra	56
3.2.2 Quantum yield measurements	59



3.3 Photos of compound 15, compound 19 under 365nm in  
different solvents 60

4. Conclusions .....61

5. Spectrum .....62

6. References .....72

## LIST OF SCHEMES

---

- Scheme 1. Synthesis of compound 1
- Scheme 2. Synthesis of compound 2
- Scheme 3. Synthesis of compound 3
- Scheme 4. Synthesis of compound 4
- Scheme 5. Synthesis of compound 5
- Scheme 6. Synthesis of compound 6~8 & compound 9~11
- Scheme 7. Synthesis of compound 12
- Scheme 8. Synthesis of compound 13
- Scheme 9. Synthesis of compound 14
- Scheme 10. Synthesis of compound 15
- Scheme 11. Synthesis of compound 16
- Scheme 12. Synthesis of compound 17
- Scheme 13. Synthesis of compound 18
- Scheme 14. Synthesis of compound 19

## LIST OF FIGURES

---

- Figure 1. Jablonski energy diagram
- Figure 2. Mechanism of photodynamic therapy
- Figure 3. Synthesis of BODIPY core
- Figure 4. A) Molecular structure and B) absorption and emission spectra of 1,3,5,7-tetramethyl-8-phenyl-BODIPY in DMF
- Figure 5. Brominated BODIPY dye
- Figure 6. Structural considerations of the BODIPY core and the schematic modification strategies toward NIR BODIPYs
- Figure 7. Structures of dihalogenated symmetric distyryl BODIPY Photosensitizers for Photodynamic therapy
- Figure 8. Mechanism of Knoevenagel reaction
- Figure 9. (a) Absorption and (b) emission spectra of water-soluble BODIPY dyes H-NI, Br-NI and I-NI in aqueous solution
- Figure 10. UV-Vis spectra of (a) H-NI, (b) Br-NI and (c) I-NI in different solvents

figure 11. Emission spectra of (a) H-NI, (b) Br-NI and (c) I-NI in different solvents

Figure 12. Photos of (a) H-NI, (b) Br-NI, (c) I-NI under UV illumination (365nm) in Photos of (a) H-NI, (b) Br-NI, (c) I-NI under UV illumination (365nm) in water, ethanol, MC, THF

Figure 13.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 1

Figure 14.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 2

Figure 15.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 3

Figure 16.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 4

Figure 17.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 5

Figure 18.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 6

Figure 19.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 7

Figure 20.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 8

Figure 21.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 9

Figure 22.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 10

Figure 23.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 11

Figure 24.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 9

Figure 25.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 10

Figure 26.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 11

Figure 27. Overview of the methods of direct derivatization of the BODIPY core

Figure 28. UV-Vis absorption spectra of (a)  $\text{OCH}_3$ -NI and (b) benzene-NI in different solvents

Figure 29. Emission spectra of (a)  $\text{OCH}_3$ -NI and (b) benzene-NI in different solvents

Figure 30. Photos of (a)  $\text{OCH}_3$ -NI, (b) benzene-NI under UV illumination (365nm) in Photos of (a) H-NI, (b) Br-NI, (c) I-NI under UV illumination (365nm) in water, ethanol, MC, THF

Figure 31.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 12

Figure 32.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 13

Figure 33.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 14

Figure 34.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 15

Figure 35.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 16

Figure 36.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 17

Figure 37.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 18

Figure 38.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 19

Figure 39.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 15

Figure 40.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 19

## LIST OF TABLES

---

Table 1. Absorption and emission wavelength of compound 9 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

Table 2. Absorption and emission wavelength of compound 10 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

Table 3. Absorption and emission wavelength of compound 11 (Excitation and emission slit = 10nm, 10nm)

Table 4. Quantum yield of compound 9, compound 10, compound 11 in ethanol and water

Table 5. Absorption and emission wavelength of compound 15 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

Table 6. Absorption and emission wavelength of compound 19 (Excitation and emission slit = 10nm, 10nm)

Table 7. Quantum yield of compound 15, compound 19 in ethanol and water

## ABSTRACT

### Synthesis of water-soluble BODIPY dyes for fluorescence cell-imaging and photodynamic therapy

Lim HeeJung

Advisor : Prof. Kim, Ho-Joong, Ph.D.

Department of Chemistry

Graduate School of Chosun University

Bio-imaging has been developed and considered importantly in medical field. Fluorescent probe is a useful tool for monitoring targets and bioprocess in real-time. BODIPY dye is also fluorescent, and used in biological application for fluorescence cell-imaging and photodynamic therapy as a photosensitizer. Photosensitizers with low water solubility form aggregation, and decrease photodynamic efficiency. Therefore, we synthesized water-soluble BODIPY dyes. In order to optimize photodynamic efficiency and improve water solubility, hydrophilic polyethylene glycol(PEG) was chemically bonded. Because of the binding with PEG, the BODIPY dye have high cell permeability and bio-stability. We substituted halogen atom at the 2,6-position of the BODIPY dye and consequently, the singlet oxygen generation efficiency was increased by the heavy atom effect. And the styryl substituent was substituted via Knoevenagel reaction and the light absorption in near-infrared was induced. After methylation, the quaternary ammonium salt compounds had mitochondrial targeting capability and increased water solubility.



# Chapter I

## 1. Introduction

### 1.1 Application of BODIPY dye and PDT mechanism

이온 및 생체 분자를 탐지하기 위한 fluorescence probe의 개발 및 응용은 화학 및 생물학적 시스템의 이해에 큰 기여를 해왔다. 생체 분자의 형광 세포-이미징(fluorescence cell-imaging of biomolecules)은 자연 환경에서 실시간으로 표적 종을 모니터링하고 분석하는 강력한 도구로 관심을 받고 있다. 이 접근법은 표적 종에 대한 가시적 정보를 제공하며 고감도, 다양한 탐침방법, 그리고 비파괴 세포 이미징 등의 많은 장점을 가지고 있다.[1]

BODIPY(4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene) dye는 소기관 표적 이미징 분야와 광역학 치료(photodynamic therapy, PDT)에 활용되어 큰 잠재력을 보여 주었으며, 많은 연구가 이루어져 왔다. BODIPY dye의 뛰어난 광물리학적 특성으로는 선명한 방출, 높은 분자 흡광 계수, 높은 형광 양자 수율과 광안정성 등이 있다.[2, 3] 또한 감광제(photosensitizer, PS)로 작용하여 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)을 생성할 수 있기 때문에 광역학 치료(Photodynamic therapy, PDT)에 활용될 수 있다. 광역학 치료(PDT)의 장점으로는 수술적 외상과 부작용의 최소화, 반복 가능한 치료, 종양 세포 선택성 등이 있으며 이에 많은 연구가 진행되고 있다.[4]

광역학 치료(PDT)는 활성산소종을 생성시킴으로써 암세포를 사멸시키는 비침습성 치료법이며, 다음의 세 개의 필수적인 구성 요소가 필요하다.

- ① 감광제(photosensitizer, PS)
- ② 광원(light source)
- ③ 산소(oxygen)

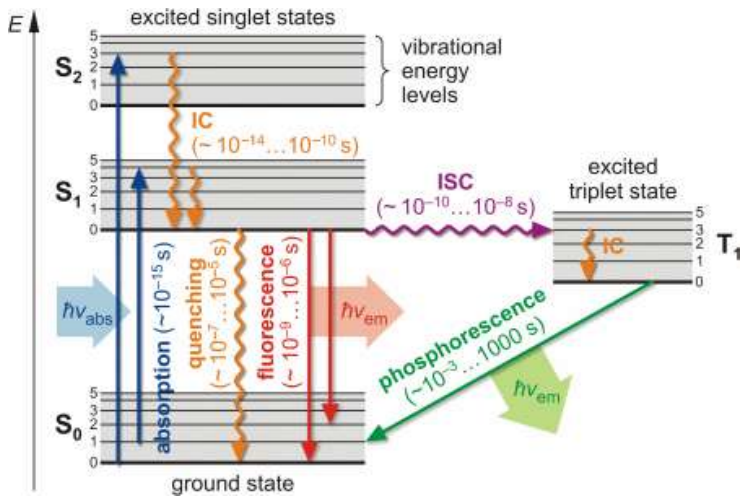


Figure 1. Jablonski energy diagram

Figure taken from diploma thesis of Steve Pawlizak, 2009.

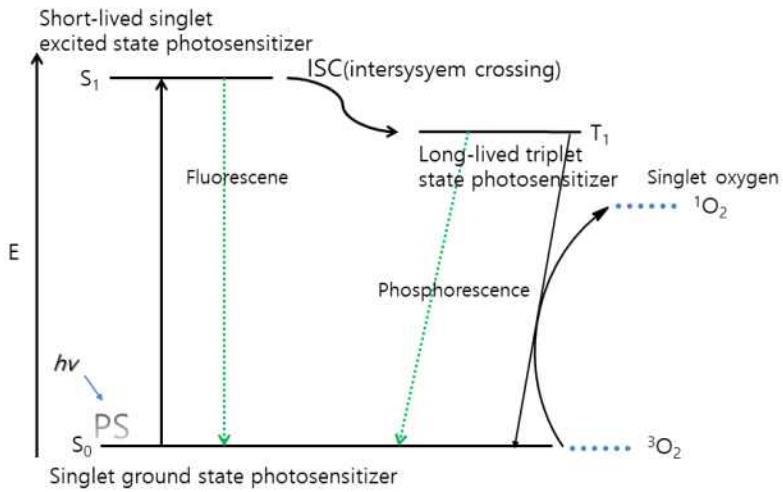


Figure 2. Mechanism of photodynamic therapy

감광제(photosensitizer, PS)는 빛에너지를 흡수하면 바닥 상태(ground state)의 전자를 들뜬 단일항 상태(singlet excited state)로 올린다. Intersystem crossing(ISC)에 의해 감광제는 들뜬 삼중항 상태(triplet excited state)로 변환된다. 수명이 연장된 삼중항 상태의 감광제(triplet state photosensitizer, <sup>3</sup>PS)는 바닥 상태의 산소(ground state oxygen, <sup>3</sup>O<sub>2</sub>)와 만나 두 가지 유형의 감광 반응을 한다. 감광 반응의 유형 I 에서는 electron transfer에 의해 라디칼 음이온이 생성되고, 유형 II 에서는 triplet-singlet energy transfer에 의해 단일항 산소(singlet oxygen, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>)가 생성된다.[5] 삼중항 산소(<sup>3</sup>O<sub>2</sub>)의 감광 반응에 의해 생성된 단일항 산소는 종양을 파괴하고 치료 효과를 나타낸다.

Red/near-infrared dye는 LEDs(light-emitting devices), optical communications, dye lasers, 그리고 bio-imaging 등에 응용되어 널리 사용되고 있다.[6] 바이오 라벨링, 바이오 이미징, 형광 센서 등으로 활용되는 근적외선 형광 염료는 생체 조직에 최소한의 광손상을 입히고, 조직에 깊게 침투하는 등 많은 이점을 지닌다.

광역학 치료(PDT)에 감광제로 사용될 수 있는 BODIPY dye는 현재 장파장에서의 흡수 효율이 부족하고, 응집으로 인해서 생체 내에서 세포 흡수가 감소하는 등의 제한점이 존재한다.[7] 장파장 광원이 선호되는 것을 고려하여 광역학 치료 과정에서 투과성을 늘리고자, BODIPY dye의 변형이 많이 시도되었다.[8]

근적외선(Near-infrared, NIR) 영역에서 흡수되는 BODIPY dye는 광역학 치료(PDT)에 적합한 감광제이고, 전자기 스펙트럼의 therapeutic window라고 불리는 600~800nm 범위의 파장에서 조직 침투 최대치를 나타낸다.

## 1.2 Synthesis of BODIPY core and characterizations

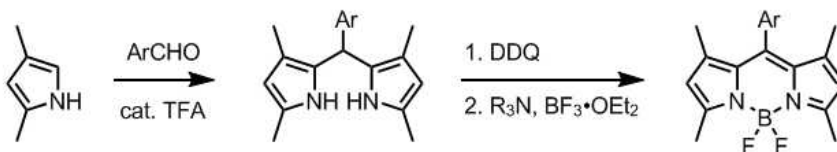


Figure 3. Synthesis of BODIPY core

Pyrrole과 acid chloride 사이의 one-pot condensation reaction에 의한 borylation 후에 BODIPY(Boron dipyrromethene) core가 생성된다.

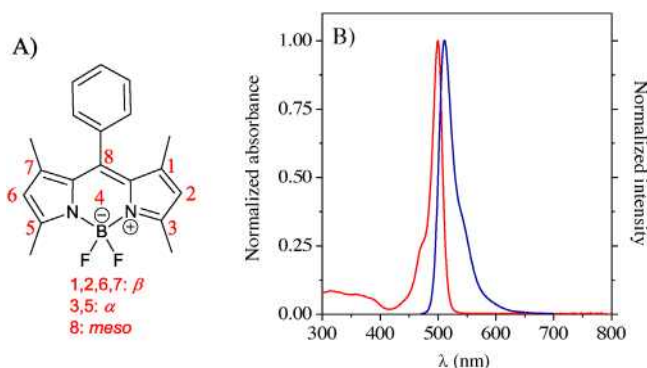


Figure 4. A) Molecular structure and B) absorption and emission spectra of 1,3,5,7-tetramethyl-8-phenyl-BODIPY in DMF [9]

전형적으로 BODIPY core의 meso 위치에 벤젠 고리가 결합된 BODIPY dye의 합성이 많이 이루어진다. BODIPY core는 좋은 반응성과 화학적 다기능성을 가지고 있기 때문에 여러 작용기의 도입을 통해 다양한 특성을 지닌 새로운 화합물을 합성할 수 있다. [9]

BODIPY dye가 갖는 높은 형광 양자 수율과 스핀 금지 전이에 의하여 일반적인 BODIPY는 singlet excited state photosensitizer( $S_1$ )에서 triplet state photosensitizer( $T_1$ )로의 전이가 어렵다. PDT에서 광역학 작용을 활성화시키고, triplet state photosensitizer( $^3PS$ )의 형성을 증가시키기 위한

많은 합성 방법들이 보고되고 있다.

### 1.3 Halogenated BODIPY dye

형광(fluorescence)과 다르게 장시간 지속되는 인광(phosphorescence)은 스핀-궤도 결합을 통해서 단일항 상태(S)→삼중항 상태(T)와 같이 스핀 다중도가 다른 전자 상태 사이에 일어난다. 다른 스핀 다중도 상태로 전이가 일어날 때를 ISC(Intersystem crossing, 계간 교차)라 한다.

ISC를 증가시킴으로써 singlet oxygen 생성 효율을 증가시키는 방법 중 하나는 할로젠화를 통한 무거운 원자의 결합이다. BODIPY dye에 bromine 또는 iodine 원자의 공유 결합은 spin-orbit coupling을 촉진시키고, ISC를 증가시킨다.[10]

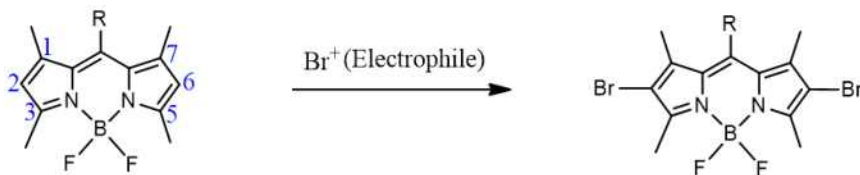


Figure 5. Brominated BODIPY dye

BODIPY dye에 Br, I 등을 붙이는 할로젠화 반응은 친전자성 치환 반응으로 진행된다. 전자가 풍부한 BODIPY가 친핵체로, 전자가 부족한 Br, I이 친전자체로 작용하며, EDG(Electron Donating Group)가 있을 때 벤젠 내 전자가 풍부해져서 반응성이 증가한다.

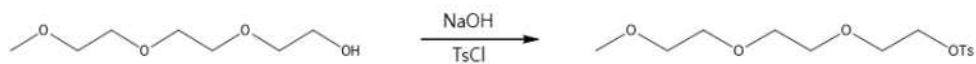
첨가 후 제거 반응 메커니즘을 거쳐 BODIPY dye의 1,3,5,7-위치의 탄소에서 부분적인 양전하를 띠므로, BODIPY dye의 2,6-위치에서 친전자성 치환 반응이 일어난다.

## 2. Experiment

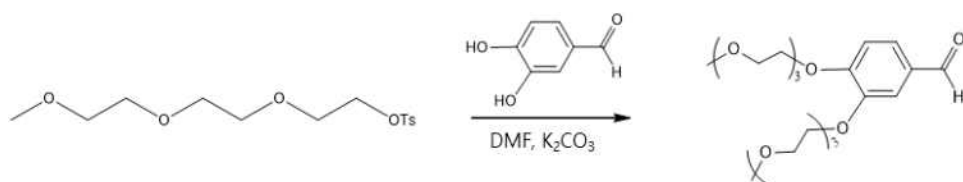
### 2.1 Materials

실험 과정의 반응들은 아르곤 기체 하에서 진행되었다. Triethylene glycol monomethyl ether(DAEJUNG), Sodium hydroxide(DAEJUNG), p-Toluenesulfonyl chloride(DAEJUNG), 3,4-Dihydroxybenzaldehyde(TCI), 2,4-Dimethylpyrrole(ACROS), p-Chloranil(Alfa Aesar), Triethylamine(DAEJUNG), Boron trifluoride diethyletherate(Aldrich), N-Bromosuccinimide(TCI), N-Iodosuccinimide(TCI), Piperidine(ACROS), Acetic acid(DAEJUNG), 4-(Dimethylamino)benzaldehyde(SIGMA), Iodomethane(DAEJUNG)을 구매하여 실험에 사용하였다. 합성 과정에서 얻은 compound의 구조 분석은 Bruker AC-300 Spectrometer( $^1\text{H-NMR}$ , 300MHz), Bruker AVANCE III HD-400 Spectrometer( $^{13}\text{C-NMR}$ , 400MHz)를 통해 얻었다. NMR 용매 Chloroform-d는 Cambridge Isotope Laboratories, Inc에서 구매하여 사용하였으며, NMR peak의 화학적 이동은 part per million ( $\delta$  ppm)으로 얻었다.

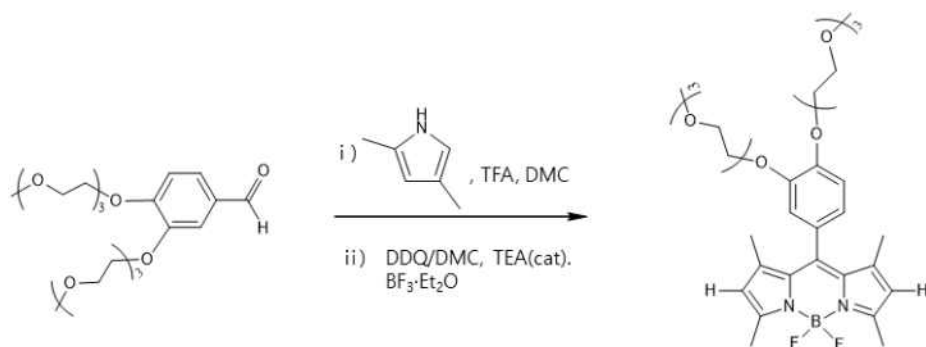
## 2.2 Synthesis



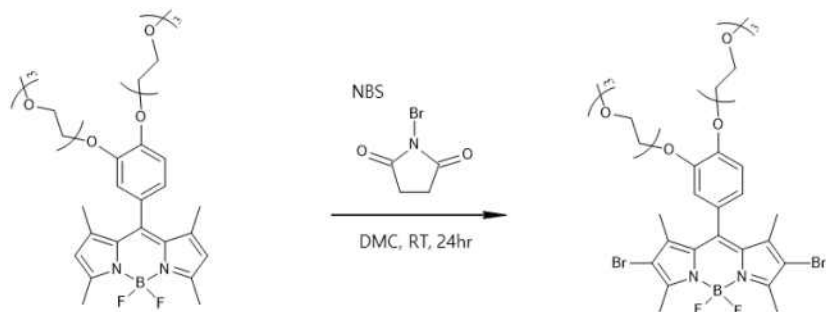
Scheme 1. Synthesis of compound 1



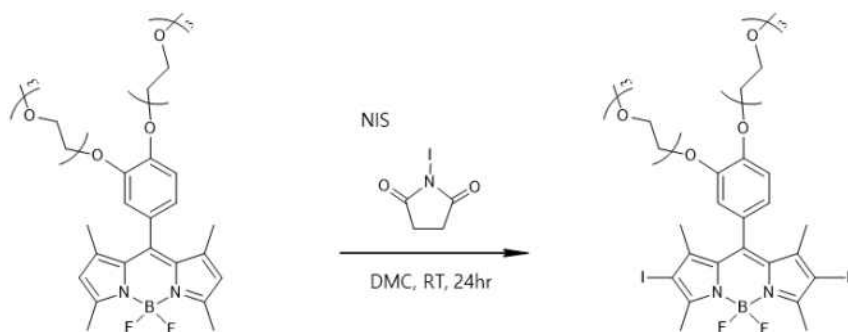
Scheme 2. Synthesis of compound 2



Scheme 3. Synthesis of compound 3

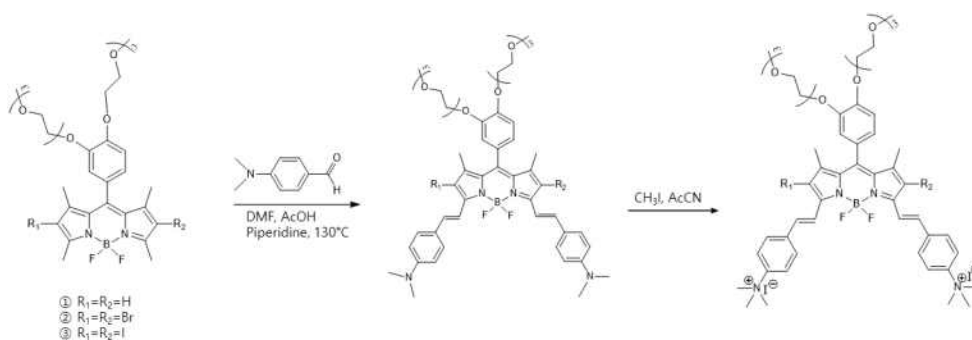


Scheme 4. Synthesis of compound 4



Scheme 5. Synthesis of compound 5





Scheme 6. Synthesis of compounds 6~8 (compound 6 :  $R_1 = R_2 = H$ , compound 7 :  $R_1 = R_2 = Br$ , compound 8 :  $R_1 = R_2 = I$ ) & compounds 9~11 (compound 9 :  $R_1 = R_2 = H$ , compound 10 :  $R_1 = R_2 = Br$ , compound 11 :  $R_1 = R_2 = I$ )

## 2.3 Experimental process of compound 1~11

### 2.3.1 Synthesis of compound 1

Triethylene glycol methyl ether (5.0g, 0.0305mol)을 THF/H<sub>2</sub>O(1:1) 90mL에 녹이고, 이 용액에 NaOH(2.4968g, 0.0624mol)을 상온에서 첨가하였다. 혼합물은 ice-bath에 식혀진 후, Tetrahydrofuran 80mL에 p-Toluenesulfonyl chloride(7.2557g, 0.0381mol)을 녹인 용액을 dropwise로 첨가하였다. 0°C에서 12시간 동안 교반시켰고 반응이 끝난 뒤에 Tetrahydrofuran를 제거하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/EA(50:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 1을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 74.8% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 1을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 5.97 (d, 2H), 5.54 (d, 2H), 2.34 (t, 2H), 1.86 (t, 2H), 1.77 (m, 6H), 1.70 (t, 2H), 1.52 (s, 3H), 0.61 (s, 3H).

### 2.3.2 Synthesis of compound 2

Compound 1(3.4g, 0.0107mol)을 N,N-Dimethylformamide 70mL에 녹인 후 3,4-Dihydroxy benzaldehyde(0.59g, 0.0043mol) 와 Potassium carbonate(4.7227g, 0.0342mol)을 넣고 교반시켰다. Reflux condenser을 설치하고 90°C에서 15시간 동안 반응시켰다. 상온으로 식힌 후 N,N-Dimethylformamide를 제거하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/EA(25:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 2를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 64.72% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 2를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 9.84 (s, 1H), 7.47 (t, 2H), 7.04 (d, 1H), 4.24 (m, 4H), 3.88 (t, 4H), 3.77 (t, 4H), 3.66 (t, 8H), 3.55 (t, 4H), 3.37 (s, 6H).

### 2.3.3 Synthesis of compound 3

Distilled dichloromethane 120mL에 compound 2(0.65g, 0.0026mol)을 녹이고 2,4-Dimethyl pyrrole(0.5107g, 0.0054mol)을 넣고 교반시켰다. Trifluoroacetic acid 1~2방울을 상온에서 첨가한 후 12시간 동안 반응시켰다. 이 용액에 p-Chloranil(1.3199g, 0.0054mol)을 넣고 30분 동안 교반시켰다. Ice-bath에서 식힌 후 Triethylamine(5.1732g, 0.0511mol)을 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에 BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>(Boron trifluoride diethyl etherate)을 dropwise로 첨가하였다. 0°C에서 10시간 동안 반응시킨 후 상온이 되게 하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx/EA(3:1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 3을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 22.73% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 3을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.01 (d, 1H), 6.85 (t, 2H), 5.98 (s, 2H), 4.22 (t, 2H), 4.13 (t, 2H), 3.92 (t, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.67 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 2.55 (s, 6H), 1.46 (s, 6H).

### 2.3.4 Synthesis of compound 4

Distilled dichloromethane 100mL에 compound 3(0.15g, 0.2313mmol)을 넣고 교반시켰다. 이 용액에 N-Bromosuccinimide(0.0988g, 0.5551mmol)을 첨가한 후 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 4를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 60.87% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 4를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.01 (d, 1H), 6.80 (t, 2H), 4.22 (t, 2H), 4.13 (t, 2H), 3.92 (t, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.66 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 2.60 (s, 6H), 1.46 (s, 6H).

### 2.3.5 Synthesis of compound 5

Distilled dichloromethane 100mL에 compound 3(0.16g, 0.2467mmol)을 넣고 교반시켰다. 이 용액에 N-Iodosuccinimide(0.1332g, 0.5921mmol)를 첨가한 후 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 5를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 72.73% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 5를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.01 (d, 1H), 6.81 (t, 2H), 4.22 (t, 2H), 4.14 (t, 2H), 3.93 (t, 2H), 3.88 (t, 2H), 3.66 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 2.60 (s, 6H), 1.46 (s, 6H).

### 2.3.6 Synthesis of compound 6

N,N-Dimethylformamide 10mL에 compound 3(0.16g, 0.2467mmol)와 4-(Dimethylamino)benzaldehyde(0.0883g, 0.5921mmol)을 넣고 용해시켰다. 상온에서 교반시키면서 acetic acid 0.2mL를 dropwise로 첨가하였다. 10분 후에 piperidine 0.3mL를 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에 Reflux condenser를 설치하고 120~130℃의 온도에서 6시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 상온으로 식히고 N,N-Dimethylformamide를 제거하였다. 소량의 Dichloromethane와 과량의 Hexane을 사용하여 재결정하였고, 침전을 분리하여 얻어냈다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(40:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 6을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 27.67% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 6을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.52 (d, 4H), 7.24 (d, 1H), 7.01 (d, 2H), 6.87 (m, 4H), 6.70 (m, 4H), 5.98 (s, 2H), 4.23 (t, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.92 (t, 2H), 3.86 (t, 2H), 3.66 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 3.03 (s, 12H), 1.51 (s, 6H).

### 2.3.7 Synthesis of compound 7

N,N-Dimethylformamide 10mL에 compound 4(0.14g, 0.1736mmol)와 4-(Dimethylamino)benzaldehyde(0.0883g, 0.5921mmol)을 넣고 용해시켰다. 상온에서 교반시키면서 acetic acid 0.2mL를 dropwise로 첨가하였다. 10분 후에 piperidine 0.3mL를 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에 Reflux condenser를 설치하고 120~130℃의 온도에서 6시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 상온으로 식히고 N,N-Dimethylformamide를 제거하였다. 소량의 Dichloromethane와 과량의 Hexane을 사용하여 재결정하였고, 침전을 분리하여 얻어냈다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(40:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 7을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 21.56% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 7을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.53 (d, 4H), 7.23 (d, 1H), 7.00 (d, 2H), 6.85 (m, 4H), 6.70 (m, 4H), 4.23 (t, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.94 (t, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.66 (m,

20H), 3.40 (d, 6H), 3.05 (s, 12H), 1.50 (s, 6H).

### 2.3.8 Synthesis of compound 8

N,N-Dimethylformamide 10mL에 compound 5(0.16g, 0.1777mmol)와 4-(Dimethylamino)benzaldehyde(0.0636g, 0.4265mmol)을 넣고 용해시켰다. 상온에서 교반시키면서 acetic acid 0.2mL를 dropwise로 첨가하였다. 10분 후에 piperidine 0.3mL를 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에 Reflux condenser를 설치하고 120~130℃의 온도에서 6시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 상온으로 식히고 N,N-Dimethylformamide를 제거하였다. 소량의 Dichloromethane와 과량의 Hexane을 사용하여 재결정하였고, 침전을 분리하여 얻어냈다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(40:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 8을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 21.67% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 8을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.53 (d, 4H), 7.23 (d, 1H), 7.00 (d, 2H), 6.85 (m, 4H), 6.70 (m, 4H), 4.23 (t, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.94 (t, 2H), 3.87 (t, 2H), 3.66 (m, 20H), 3.40 (d, 6H), 3.05 (s, 12H), 1.52 (s, 6H).

### 2.3.9 Synthesis of compound 9

Acetonitrile 20mL에 compound 6을 용해시키고, Iodomethane 2mL를 넣고 2 일 동안 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용매 Acetonitrile을 제거시켰다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(35:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 9를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 63.63% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 9를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.87 (d, 4H), 7.65 (d, 4H), 7.18 (d, 1H), 7.03 (d, 2H), 6.87 (m, 4H), 6.07 (s, 2H), 4.23 (t, 2H), 4.15 (t, 2H), 3.95 (m, 22H), 3.66 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 1.52 (s, 6H).

### 2.3.10 Synthesis of compound 10

Acetonitrile 20mL에 compound 7을 용해시키고, Iodomethane 2mL를 넣고 2 일 동안 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용매 Acetonitrile을 제거시켰다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(35:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 10을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 50.43% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 10을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.96 (d, 4H), 7.65 (d, 4H), 7.24 (d, 1H), 7.02 (d, 2H), 6.83 (m, 4H), 4.24 (t, 2H), 4.16 (t, 2H), 3.97 (m, 22H), 3.67 (m, 20H), 3.40 (d, 6H), 1.50 (s, 6H).

### 2.3.11 Synthesis of compound 11

Acetonitrile 20mL에 compound 8을 용해시키고, Iodomethane 2mL를 넣고 2 일 동안 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용매 Acetonitrile을 제거시켰다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(35:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 11을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 53.62% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 11을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.98 (d, 4H), 7.68 (d, 4H), 7.25 (d, 1H), 7.03 (d, 2H), 6.84 (m, 4H), 4.24 (t, 2H), 4.14 (t, 2H), 3.94 (m, 22H), 3.66 (m, 20H), 3.39 (d, 6H), 1.53 (s, 6H).

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Theoretical characterizations and analysis

##### 3.1.1 PEG(polyethylene glycol)

PEG(polyethylene glycol)는 독성이 낮으며 안정성이 있고, 생체적합성이 뛰어나기 때문에 생체의학 분야에서 널리 응용되고 있다. 물과 유기 용매인 Dichloromethane, Ethanol, Toluene 등에 모두 잘 녹기 때문에 소수성의 염료에 화학적으로 결합되어 유용하게 사용된다.[11]

또한 PEG는 세포 침투성과 수용성이 강하다는 장점이 있다. 따라서 BODIPY dye와 친수성 PEG chain의 결합으로 염료의 친수성, 세포 투과성, 생체적합성이 향상된다. Fluorescence cell-imaging과 PDT에 사용되는 다양한 BODIPY 유도체들이 있다.

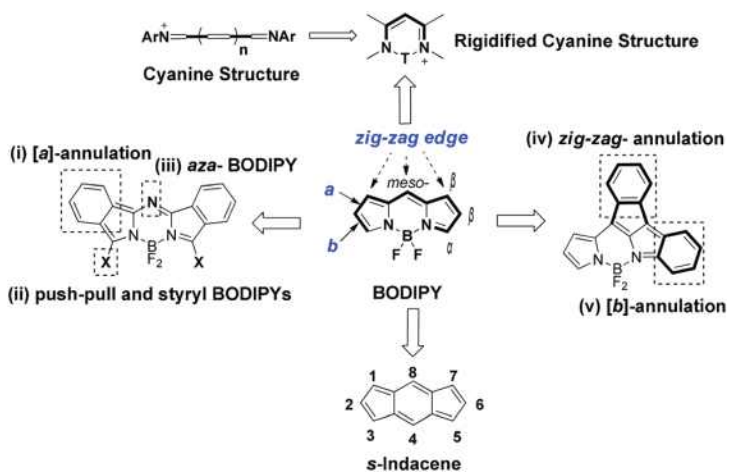


Figure 6. Structural considerations of the BODIPY core and the schematic modification strategies toward NIR BODIPYs.[12]

### 3.1.2 Halogenated BODIPYs

Dichloromethane를 용매로 사용하고, Triethylene glycol이 결합된 BODIPY의 2,6-위치에 할로젠 원자(Br, I)를 결합시켜 Bromination 반응과 Iodination 반응을 진행할 수 있다.

단일항 상태(S)→삼중항 상태(T)의 전이와 같이 스핀 다중도가 반전되는 전이를 스핀 금지 전이(spin forbidden transition)라고 하는데, 이러한 스핀 다중도에 따른 선택 규칙이 적용되지 않고 무거운 원자에 의해 스핀 금지 정도가 완화되는 효과가 중원자 효과(heavy atom effect)이다. Bromine 또는 Iodine 등과 같은 할로젠 원자가 BODIPY dye에 결합되면, 중원자 효과에 의해 단일항 상태(S)→삼중항 상태(T)로의 전이(Singlet-to-triplet intersystem crossing, ISC)가 증가하는 현상을 보인다.[13]

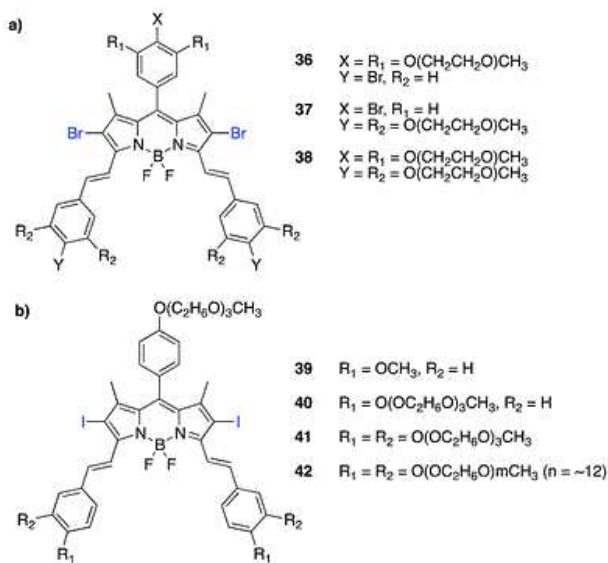


Figure 7. Structures of dihalogenated symmetric distyryl BODIPY Photosensitizers for Photodynamic therapy.[14]



### 3.1.3 Knoevenagel reaction

특정 파장의 빛을 조사할 때 치료 효과를 보이는 감광제로 활용되는 BODIPY dye의 흡수 파장은 가시광선에서 근적외선까지 조절이 가능하다. BODIPY dye가 NIR(Near-infrared) 파장대에서 빛을 흡수 및 방출하기 위해서 Knoevenagel condensation reaction을 적용시켰다. Knoevenagel reaction은 acetic acid 존재 하에서 촉매 piperidine은 Benzaldehyde를 공격하고 carbinolamine 중간체를 거쳐 Iminium ion이 형성되게 만든다. BODIPY dye의 pyrrolic 위치에서 친핵성 공격이 일어나고 강한 전자 공여 그룹(Strongly electron-donating group)인 Dimethylaniline기가 치환된다. 결과적으로 Knoevenagel reaction으로 BODIPY dye의 3,5-위치에 styryl 치환체를 결합시켜  $\pi$ -conjugation system을 확장시키고 장파장으로의 이동(Red-shift)을 유도하였다.

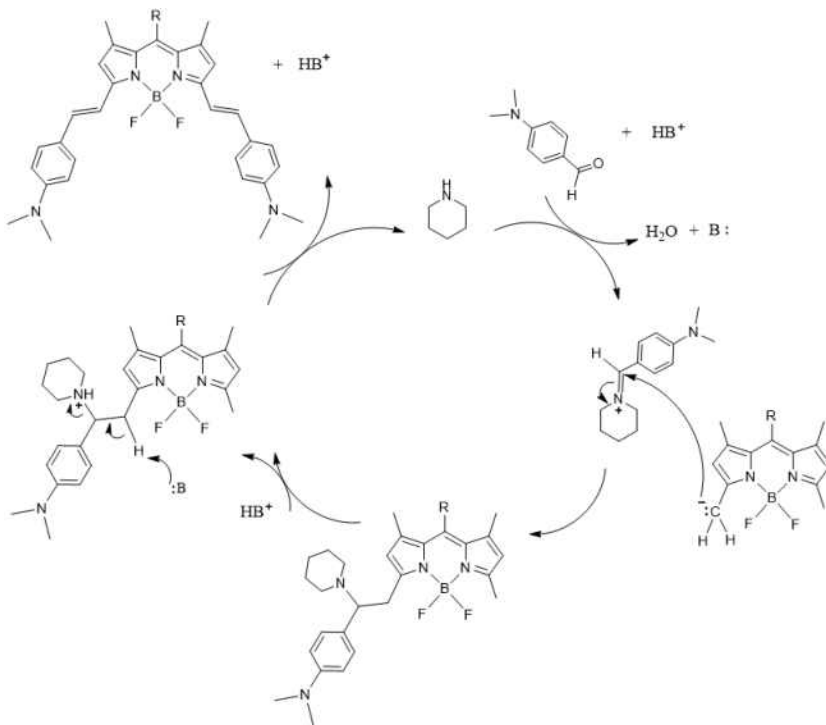


Figure 8. Mechanism of Knoevenagel reaction

### 3.1.4 Methylation

Acetonitrile을 용매로 사용하고, Iodomethane을 넣고 2일 동안 반응시키면 이온성인 4차 암모늄 화합물을 얻을 수 있다.

효율적인 광역학 치료(PDT)를 위해서 미토콘드리아를 표적 기관으로 삼았다. Methylation을 통해 얻을 수 있는 4차 암모늄 화합물의 양전하는 PDT에서 일어나는 Mitochondria-photosensitization에 있어 중요한 요소로 작용한다.[15] 또한 Methylation 후 생성되는 4차 암모늄 염의 양전하, 그리고 양극성 성질로 인해 PDI(Photodynamic inactivation)에서 미생물의 광역학 활동에 쓰이기도 한다.[16]

## 3.2 Spectroscopic measurements

UV-Vis absorption은 UH5300 UV/VIS Spectrophotometer로 측정하여 얻었고, Fluorescence intensity는 F-700FL Fluorescence Spectrophotometer로 측정하여 얻었다. 용매는 H<sub>2</sub>O, Ethanol, MC, THF를 사용하였으며, 농도는 15 $\mu$ M로 측정하였다. 양자 수율(Fluorescence quantum yield,  $\Phi_f$ )은 HAMAMATSU PHOTONICS K.K 사의 ABSOLUTE PL QUANTUM YIELD SPECTROMETER C11347을 사용하여 측정하였다.

### 3.2.1 UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra

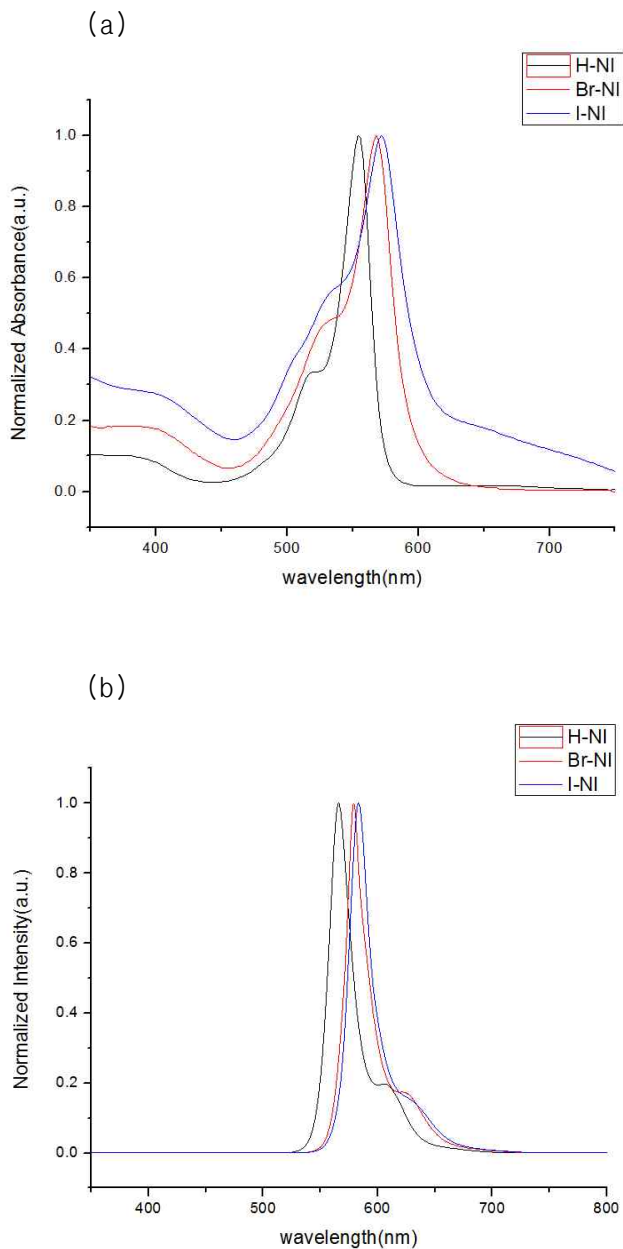
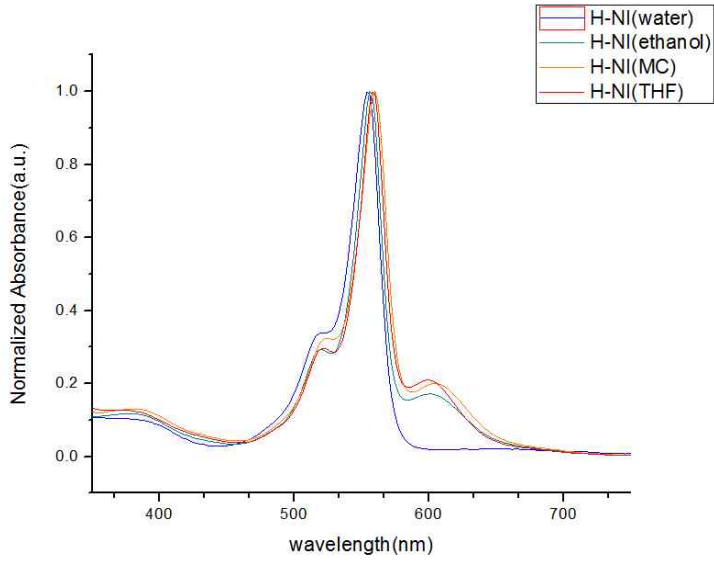
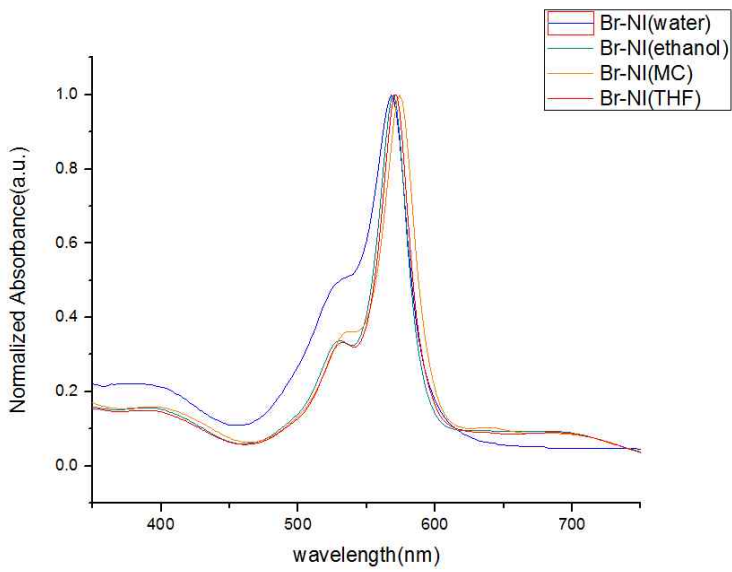


Figure 9. (a) Absorption and (b) emission spectra of water-soluble BODIPY dyes H-NI, Br-NI and I-NI in aqueous solution

(a)



(b)



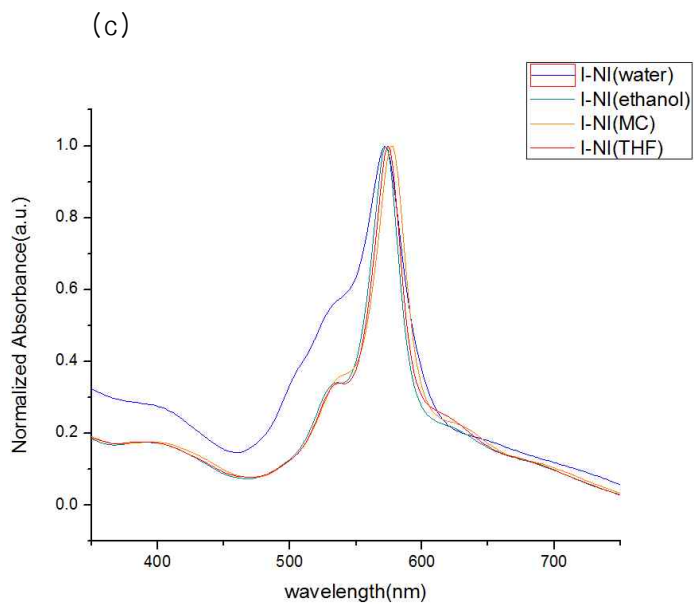
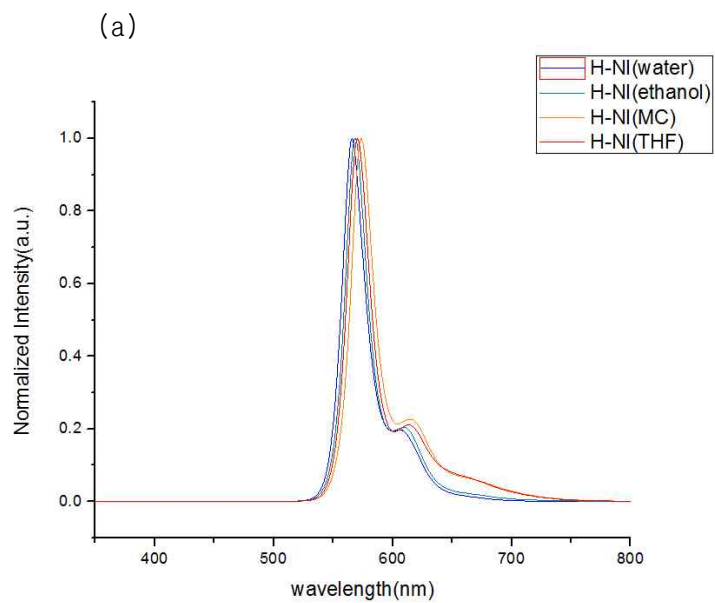


Figure 10. UV-Vis absorption spectra of (a) H-NI, (b) Br-NI and (c) I-NI in different solvents



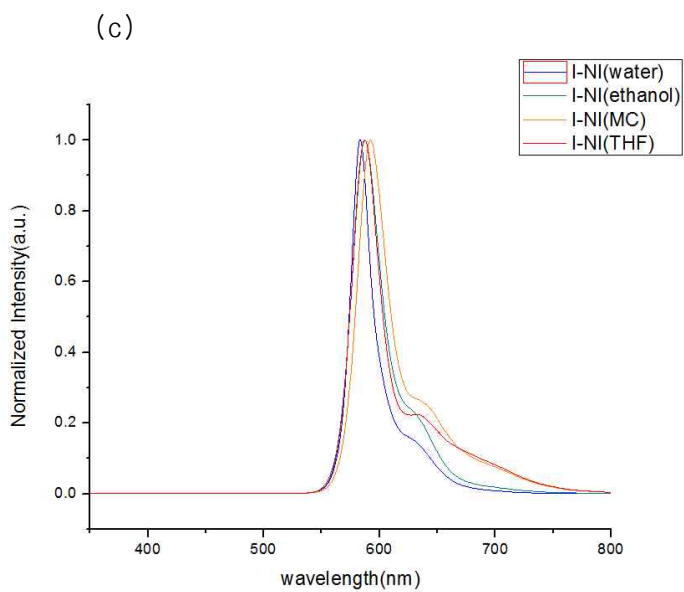
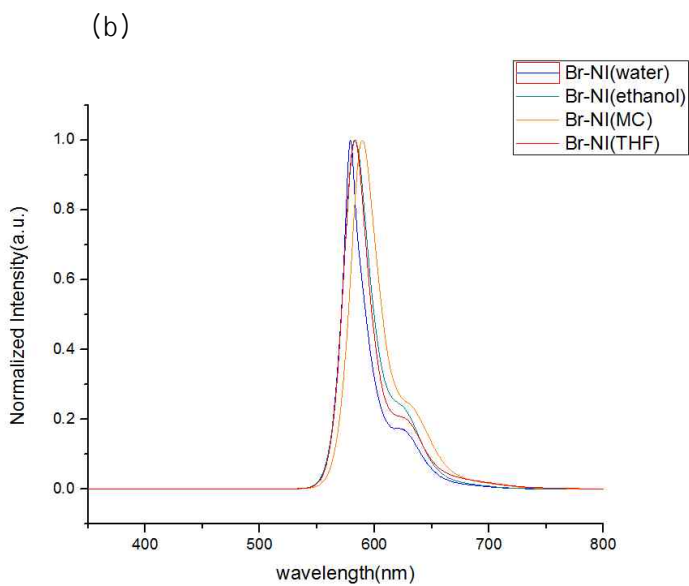


Figure 11. Emission spectra of (a) H-NI, (b) Br-NI and (c) I-NI in different solvents

<H-NI>

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)
H <sub>2</sub> O	554nm	566nm
Ethanol	556nm	568.6nm
MC	560nm	573.4nm
THF	558nm	570.6nm

Table 1. Absorption and emission wavelength of compound 9 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

<Br-NI>

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)
H <sub>2</sub> O	568nm	578.8nm
Ethanol	570nm	583nm
MC	574nm	589.4nm
THF	570nm	583nm

Table 2. Absorption and emission wavelength of compound 10 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

<I-NI>

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)
H <sub>2</sub> O	572nm	582.6nm
Ethanol	572nm	587.2nm
MC	578nm	592nm
THF	574nm	587.2nm

Table 3. Absorption and emission wavelength of compound 11 (Excitation and emission slit = 10nm, 10nm)

BODIPY는 양쪽성 이온이지만 소수성 특성을 더 지니기 때문에 수용액에서 dimers, oligomers 또는 aggregates를 형성하는 경향이 있다. 따라서 용매가 물일 때 aggregate 또는 excimer formation으로 인해 발생하는 fluorescence quenching 현상을 관찰할 수 있다.[17]

### 3.2.2 Quantum yield measurements

	$\Phi_f(\%)(\text{Ethanol})$	$\Phi_f(\%)(\text{H}_2\text{O})$
H-NI	35.9	5.8
Br-NI	17.8	1.4
I-NI	5	1.1

Table 4. Quantum yield of compound 9, compound 10, compound 11 in ethanol and water

### 3.3 Photos of compound 9, compound 10, compound 11 under 365nm in different solvents

UV lamp는 TN04LC 254nm/365 UV lamp를 사용하였으며, 용매는 H<sub>2</sub>O, Ethanol, MC, THF 를 사용하였다.

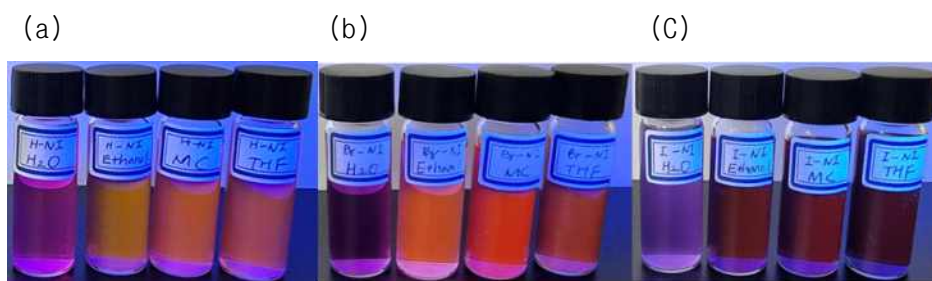


Figure 12. Photos of (a) H-NI, (b) Br-NI, (c) I-NI under UV illumination (365nm) in water, ethanol, MC, THF

Final compound인 H-NI, Br-NI, I-NI를 물(H<sub>2</sub>O)과 유기용매인 Ethanol, MC, THF에 녹인 후 365nm 파장에서 UV lamp를 비추었을 때 형광이 나타나는 모습이다.



## 4. Conclusions

형광 세포-이미징 (fluorescence cell-imaging)과 광역학 치료 (Photodynamic therapy, PDT)에 쓰이는 excited triplet state photosensitizer ( $^3PS$ )는 생물학적인 응용을 위해 물에 대한 우수한 용해도와 높은 세포 흡수 능력이 요구된다. 낮은 수용성을 지니는 감광제는 응집체를 형성하고 광역학 효율이 낮아지게 되며 표적 환경에서 치료 효과를 감소시킨다. 따라서 분자의 구조적 변형을 통해 수용성과 세포 투과성을 증가시키는 합성 전략이 필요하다. 감광제의 효율을 최적화시키고 선택성을 향상시키기 위하여 본 연구에서는 친수성의 PEG (polyethylene glycol)가 결합된 PEGylated distyryl BODIPY dye를 합성하였다. 높은 친수성과 세포 투과성, 생체안정성을 가지는 PEG의 결합으로 수용성을 증가시켰다. BODIPY dye의 Intersystem crossing (ISC) 전이를 증대시키기 위하여 2,6-위치에 할로젠 원자 (Br, I)를 치환시켰다. 할로젠 원자가 도입된 BODIPY dye는 중원자 효과로 인해 단일항 산소 생성 효율이 증가하였다. 또한, Knoevenagel condensation reaction으로 styryl 기를 치환시켰고, 그 결과  $\pi$ -conjugation system의 확장으로 근적외선에서의 흡수를 유도하였다.  $H_2O$ , Ethanol, Dichloromethane, THF 용매를 사용하여 분광학적 특성을 분석하였고 600nm 부근에서 BODIPY dye의 빛 흡수와 방출이 나타났다. Methylation을 통해 얻어지는 이온성인 4차 암모늄 염 화합물은 미토콘드리아 표적화를 가능하게 하였고 또한, 수용성을 향상시켰다.

## 5. Spectrum

$^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectroscopy

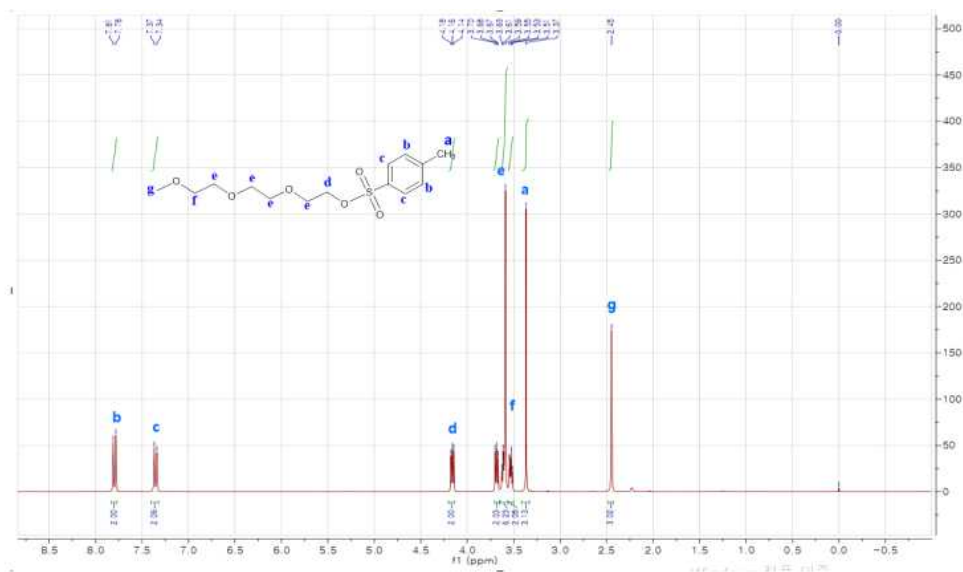


Figure 13.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 1

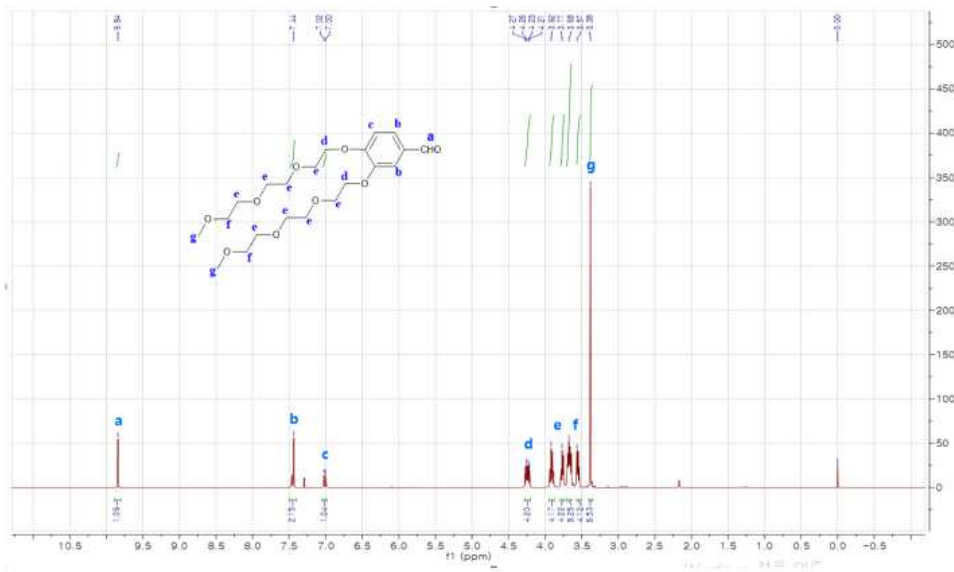


Figure 14.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 2

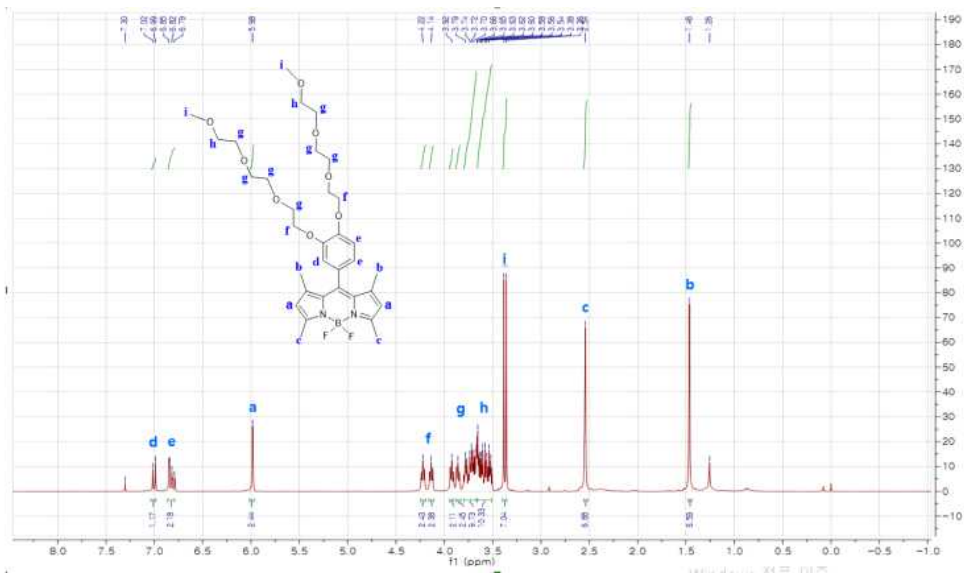


Figure 15.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 3

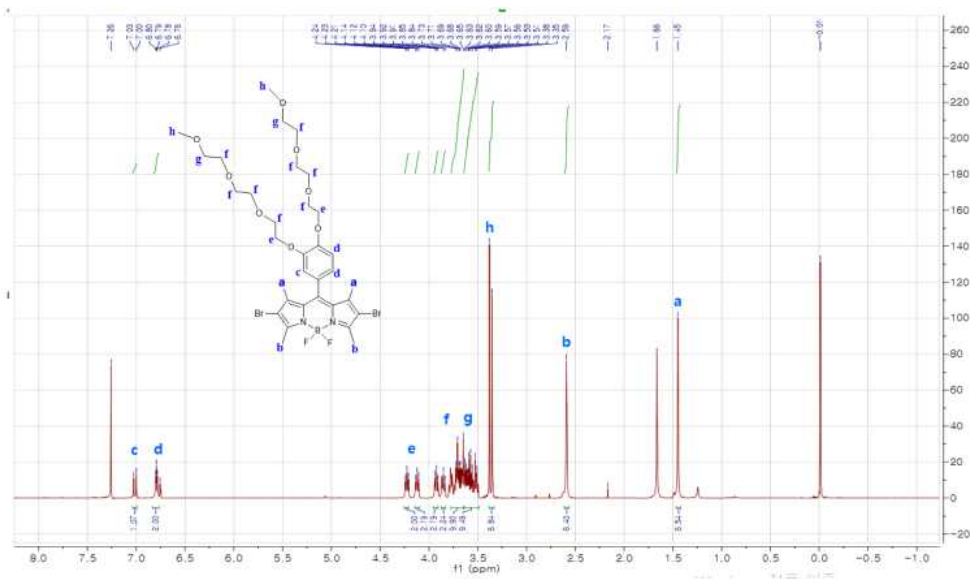


Figure 16.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 4

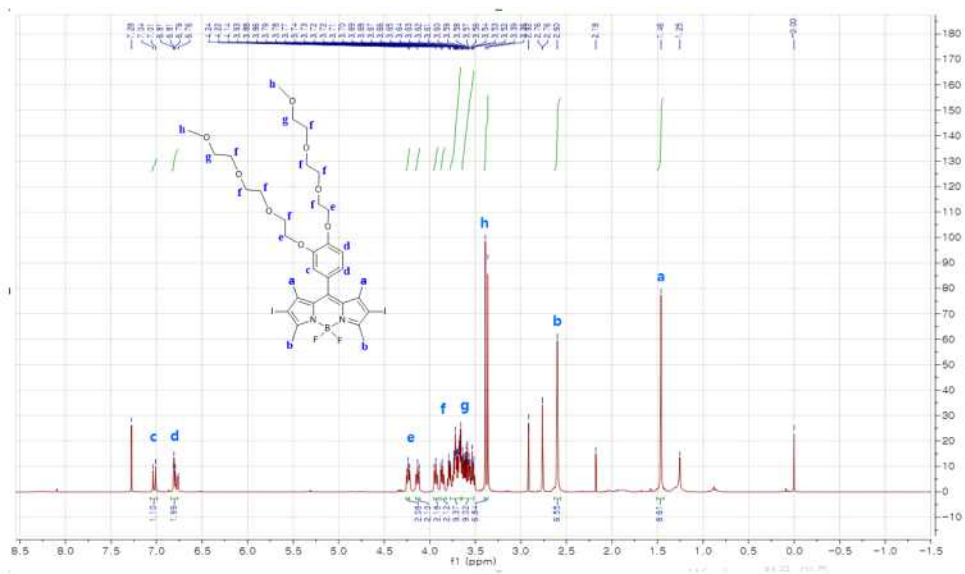


Figure 17.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 5

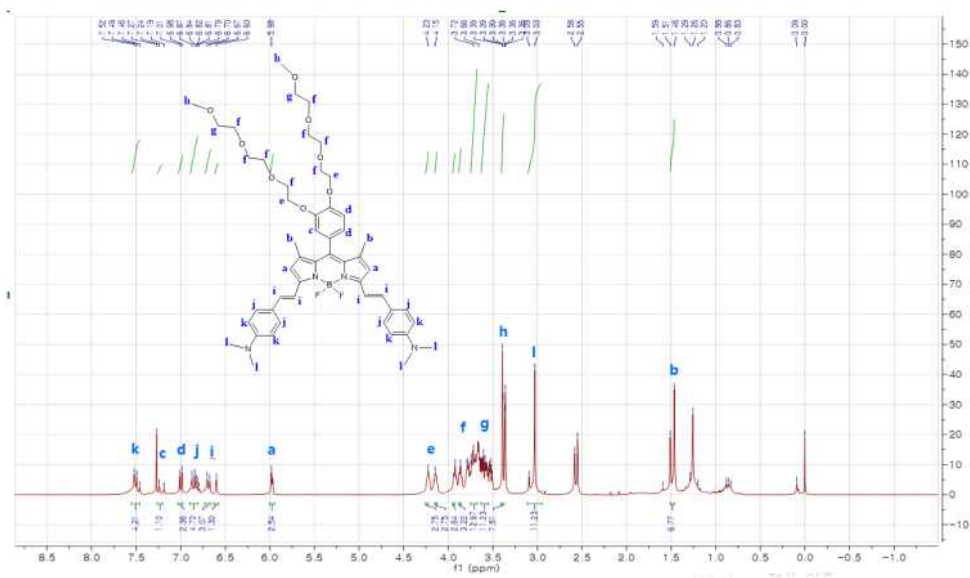


Figure 18.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 6

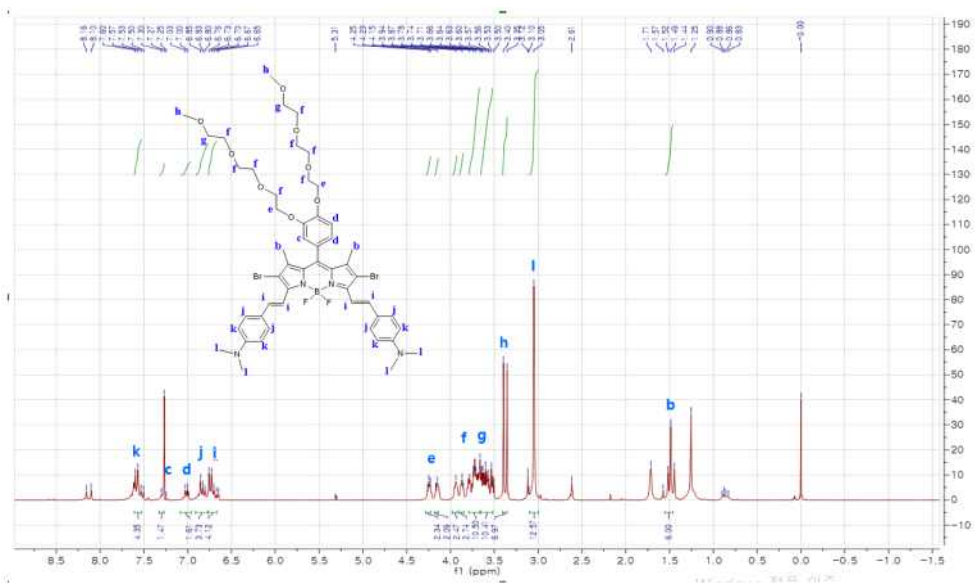


Figure 19.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 7



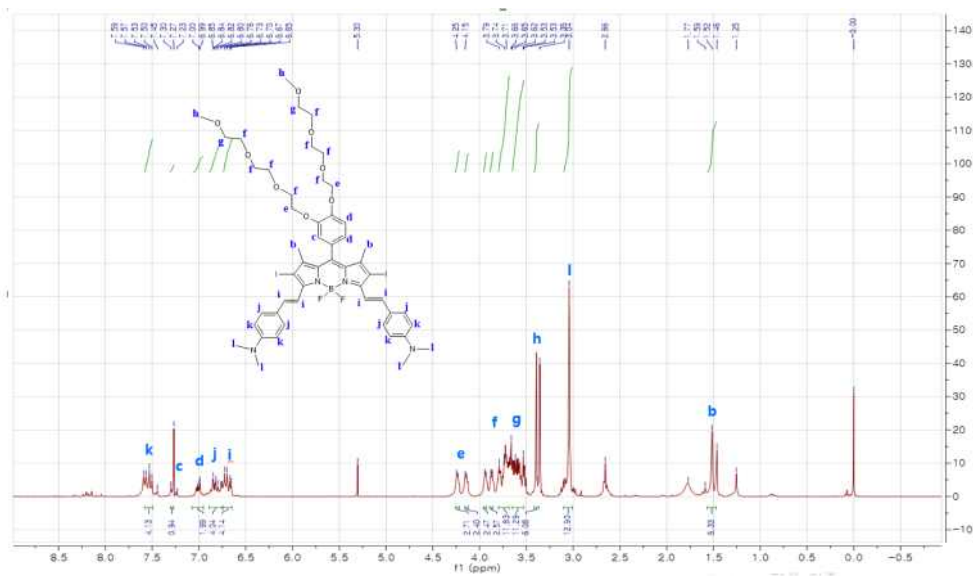


Figure 20.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 8

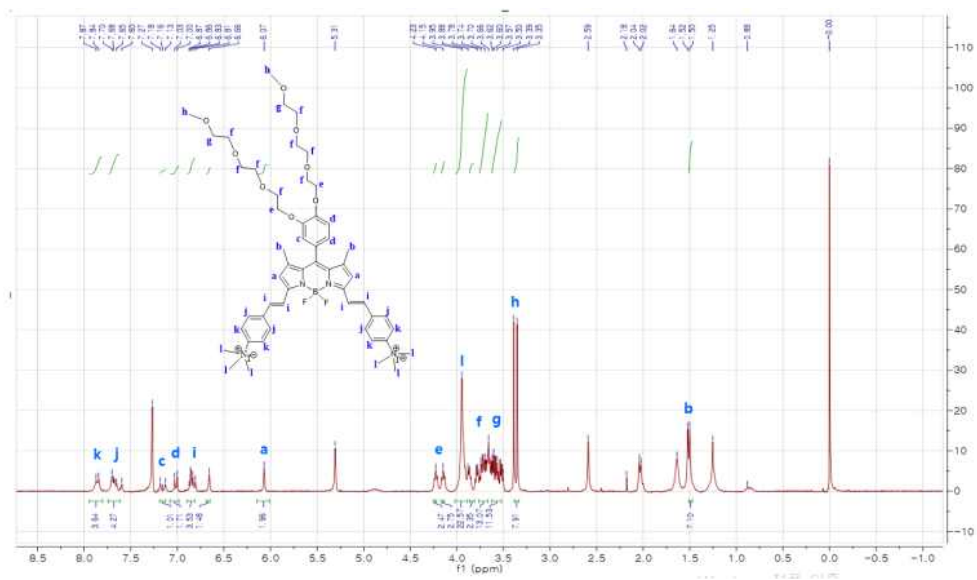


Figure 21.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 9

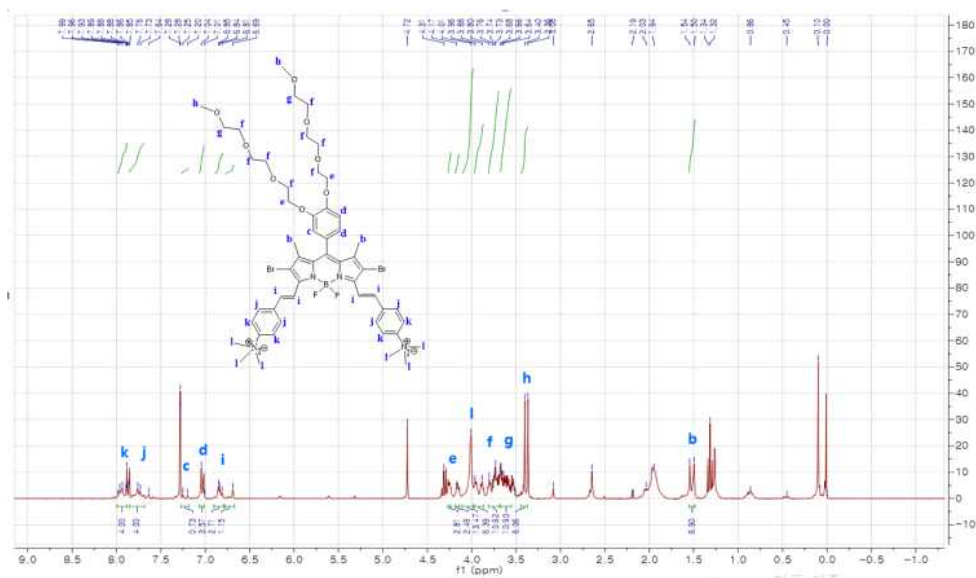


Figure 22.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 10

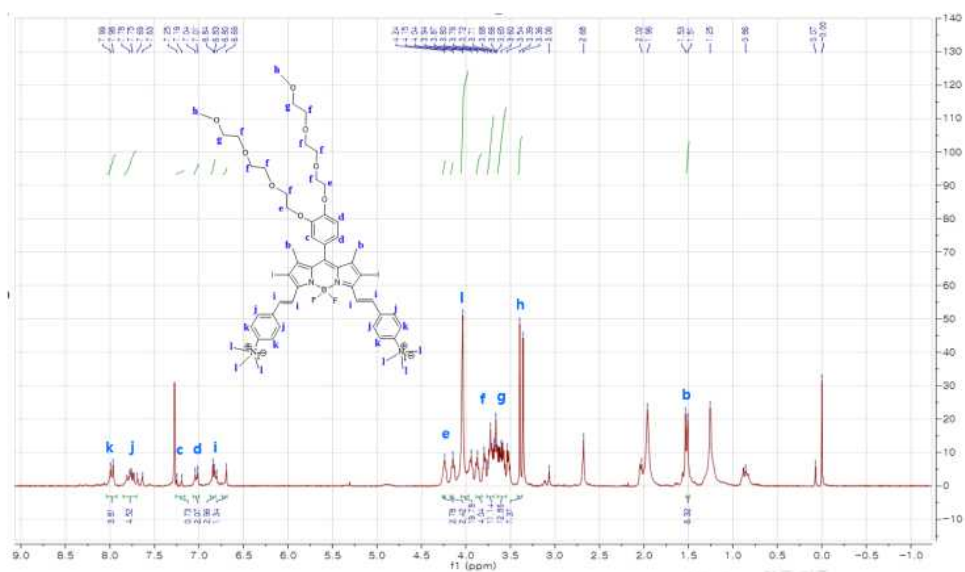


Figure 23.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 11

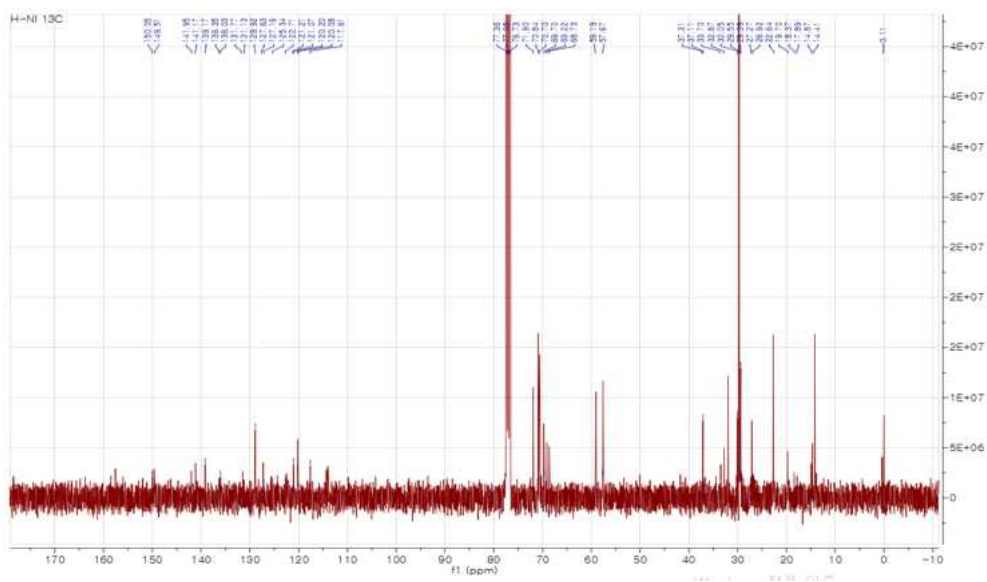


Figure 24.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 9

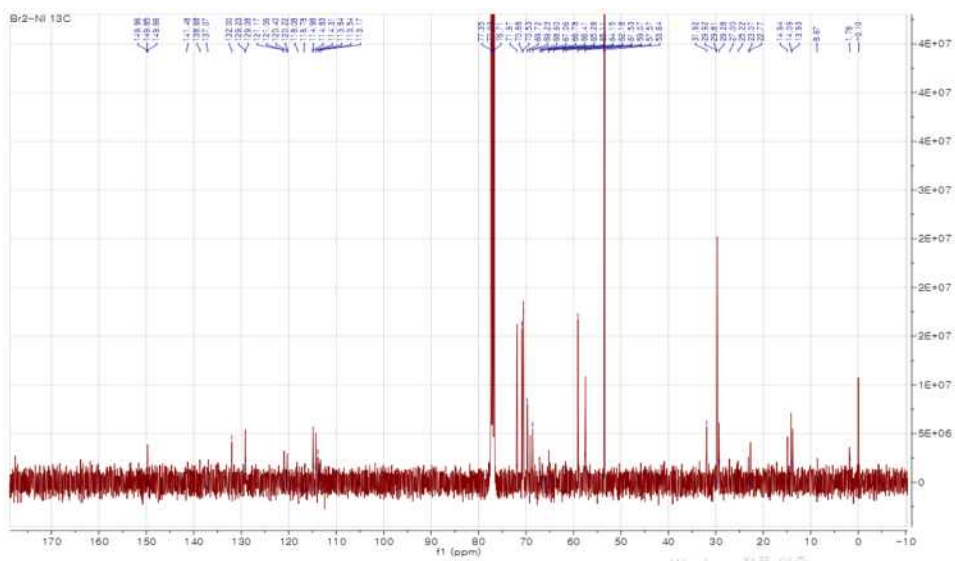


Figure 25.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 10

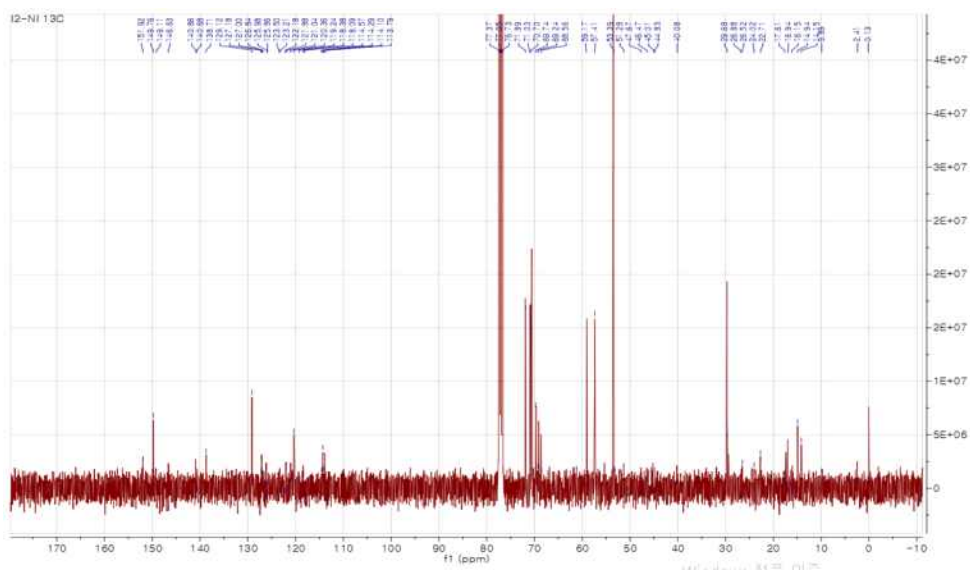


Figure 26.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 11

## 6. References

- [1] Roopa, R., Kumar, N., Bhalla, V., & Kumar, M. (2015). Development and sensing applications of fluorescent motifs within the mitochondrial environment. *Chemical Communications*, 51(86), 15614-15628.
- [2] Ulrich, G., Ziesel, R., & Harriman, A. (2008). The Chemistry of Fluorescent Bodipy Dyes: Versatility Unsurpassed. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(7), 1184-1201.
- [3] Loudet, A., & Burgess, K. (2007). BODIPY dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties. *Chemical reviews*, 107(11), 4891-4932.
- [4] Agazzi, M. L., Ballatore, M. B., Durantini, A. M., Durantini, E. N., & Tome, A. C. (2019). BODIPYs in antitumoral and antimicrobial photodynamic therapy: An integrating review. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 40, 21-48.
- [5] Gibbs, J. H., Zhou, Z., Kessel, D., Fronczek, F. R., Pakhomova, S., & Vicente, M. G. H. (2015). Synthesis, spectroscopic, and in vitro investigations of 2,6-diiodo-BODIPYs with PDT and bioimaging applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 145, 35-47.
- [6] Kajiwara, Y., Nagai, A., & Chujo, Y. (2011). Red/Near-Infrared Light-Emitting Organic-Inorganic Hybrids Doped with Covalently Bound Boron Dipyrromethene (BODIPY) Dyes via Microwave-Assisted One-Pot Process. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 84(5), 471-481.



[7] Dolmans, D. E., Kadambi, A., Hill, J. S., Flores, K. R., Gerber, J. N., Walker, J. P., ... & Fukumura, D. (2002). Targeting tumor vasculature and cancer cells in orthotopic breast tumor by fractionated photosensitizer dosing photodynamic therapy. *Cancer research*, 62(15), 4289-4294.

[8] Kang, H., Si, Y., Liu, Y., Zhang, X., Zhang, W., Zhao, Y., ... & Liu, Z. (2018). Photophysical/chemistry properties of distyryl-BODIPY derivatives: An experimental and density functional theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 122(25), 5574-5579.

[9] Agazzi, M. L., Ballatore, M. B., Durantini, A. M., Durantini, E. N., & Tome, A. C. (2019). BODIPYs in antitumoral and antimicrobial photodynamic therapy: An integrating review. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 40, 21-48.

[10] Tang, C., Hu, P., Ma, E., Huang, M., & Zheng, Q. (2015). Heavy atom enhanced generation of singlet oxygen in novel indenofluorene-based two-photon absorbing chromophores for photodynamic therapy. *Dyes and Pigments*, 117, 7-15. doi:10.1016/j.dyepig.2015.01.019

[11] Bahmanpour, A. H., Navaei, T., & Ahadi, F. (2020). Pulmonary system responses to biomaterials. In *Handbook of Biomaterials Biocompatibility* (pp. 653-665). Woodhead Publishing.

[12] Ni, Y., & Wu, J. (2014). Far-red and near infrared BODIPY dyes: synthesis and applications for fluorescent pH probes and bio-imaging. *Organic & biomolecular chemistry*, 12(23), 3774-3791.

[13] Bassan, E., Gualandi, A., Cozzi, P. G., & Ceroni, P. (2021). Design of BODIPY dyes as triplet photosensitizers: electronic properties tailored for solar energy conversion, photoredox catalysis and photodynamic therapy. *Chemical Science*, 12(19), 6607–6628.

[14] Awuah, S. G., & You, Y. (2012). Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy. *Rsc Advances*, 2(30), 11169–11183.

[15] Pawlicki, M., Collins, H. A., Denning, R. G., & Anderson, H. L. (2009). Two-Photon Absorption and the Design of Two-Photon Dyes. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(18), 3244–3266.

[16] Li, Z., Yang, X., Liu, H., Yang, X., Shan, Y., Xu, X., ... & Song, Z. (2019). Dual-functional antimicrobial coating based on a quaternary ammonium salt from rosin acid with in vitro and in vivo antimicrobial and antifouling properties. *Chemical Engineering Journal*, 374, 564–575.

[17] Descalzo, A. B., Ashokkumar, P., Shen, Z., & Rurack, K. (2019). On the Aggregation Behaviour and Spectroscopic Properties of Alkylated and Annelated BoronDipyrromethene (BODIPY) Dyes in Aqueous Solution.

## Chapter II

### 1. Introduction

세포 내 중요한 소기관의 일종인 미토콘드리아는 에너지 물질 대사와 세포 사멸과 관련이 있다. 세포 에너지를 공급하는 것 외에도 미토콘드리아는 칼슘 이온 저장 및 신호 전달, 막 전위 조절, 스테로이드 합성 등과 같은 많은 생리학적으로 중요한 과정에 참여한다.[1] 암세포의 특징인 Constitutive glycolysis에 대한 기여, 암의 대사 조절제, 치료법 등 암세포에서 미토콘드리아는 주요한 기능을 나타내기 때문에 미토콘드리아를 표적으로 하는 연구는 중요하게 여겨져왔다.[2] 본 연구에서는 유용하게 많이 쓰이는 Fluorescent mitochondrial probes 중 Pyridinium group이 포함된 BODIPY dye를 합성하였다. 미토콘드리아는 음의 막전위를 가지므로 Pyridinium 양전하를 이용해 미토콘드리아를 선택적으로 탐지할 수 있다.[3] Quaternary ammonium salt compound의 일종인 Quaternized pyridine이 Mitochondria-targeted moiety로서 역할을 하게 되며, 또한 우수한 막 투과성을 부여할 수 있다.[4]

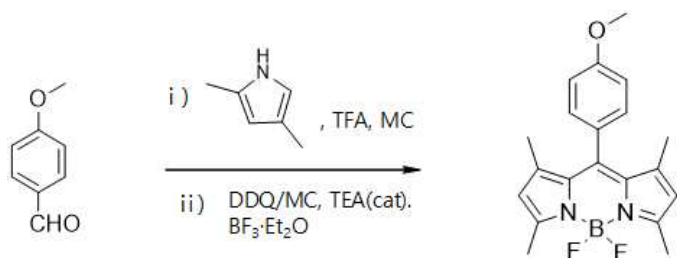
광역학적으로 활성화되어 형광 세포-이미징(fluorescence cell-imaging)과 광역학 치료(PDT, Photodynamic therapy)에서 감광제(PS, Photosensitizer)로 쓰일 수 있는 BODIPY(Boron dipyrromethene) dye의 합성 방법은 상대적으로 간단해야 한다. 그리고 쉽게 이용 가능한 출발 물질을 사용하여 많은 양의 생성물을 합성할 수 있어야 한다.[5] 따라서 쉽고 간단하며 경제적인 합성 경로를 통해 PDT와 cell-imaging에 쓰일 수 있는 BODIPY dye를 합성하는 전략이 필요하다. 본 연구에서는 분광학적 특성에 따른 비교를 위해 BODIPY core에 anisole과 benzene의 서로 다른 치환기를 결합시켰다. 합성된 BODIPY dye에서 phenyl기의 para 위치에  $-OCH_3$ ,  $-H$ 의 다른 치환기로 인해 달라지는 광물리적 특성을 분석하였다. 할로젠화되지 않은 Heavy atom free BODIPY dye가 가지는 감광제(PS)와 형광 물질(Fluorophore)로서의 두 가지 기능을 확인하였고, 분광학적 데이터를 얻었다.

## 2. Experiment

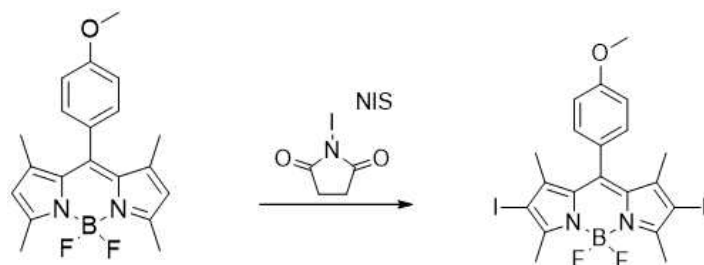
### 2.1 Materials

실험 과정의 반응들은 아르곤 기체 하에서 진행되었다. 2,4-Dimethylpyrrole(ACROS), p-Anisaldehyde(TCI), Benzaldehyde(DAEJUNG), 4-Nitrobenzaldehyde(Alfa Aesar), p-Chloranil(Alfa Aesar), Triethylamine(DAEJUNG), Boron trifluoride diethyletherate(Aldrich), N-Iodosuccinimide(TCI), 4-Pyridylboronic acid(TCI), Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(TCI), Iodomethane(DAEJUNG)을 구매하여 실험에 사용하였다. 합성 과정에서 얻은 compound의 구조 분석은 Bruker AC-300 Spectrometer( $^1\text{H-NMR}$ , 300MHz), Bruker AVANCE III HD-400 Spectrometer( $^{13}\text{C-NMR}$ , 400MHz)를 통해 얻었다. NMR 용매 Chloroform-d는 Cambridge Isotope Laboratories, Inc에서 구매하여 사용하였으며, NMR peak의 화학적 이동은 part per million ( $\delta$  ppm)으로 얻었다.

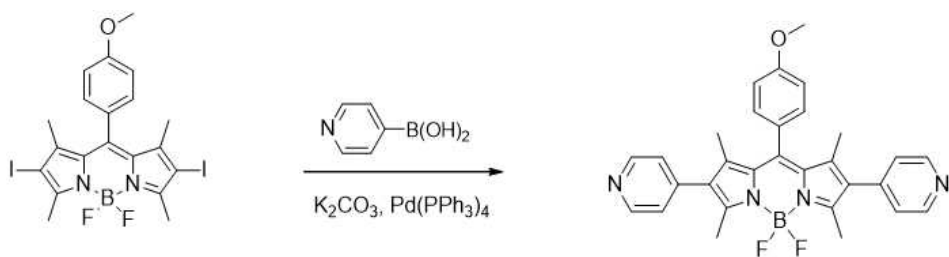
## 2.2 Synthesis



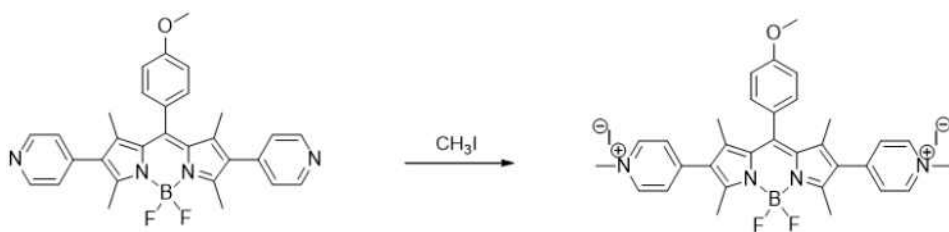
Scheme 7. Synthesis of compound 12



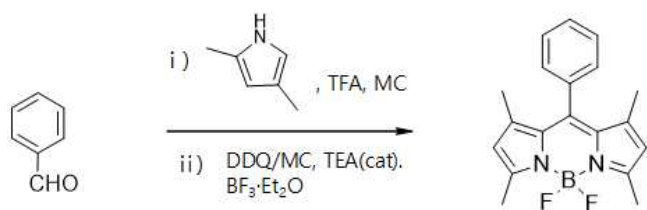
Scheme 8. Synthesis of compound 13



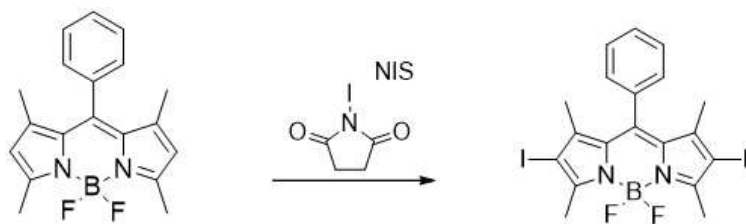
Scheme 9. Synthesis of compound 14



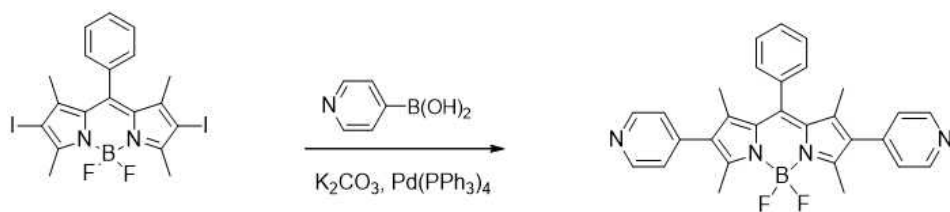
Scheme 10. Synthesis of compound 15



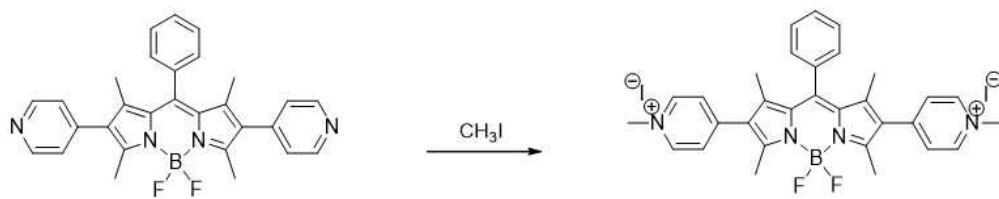
Scheme 11. Synthesis of compound 16



Scheme 12. Synthesis of compound 17



Scheme 13. Synthesis of compound 18



Scheme 14. Synthesis of compound 19



## 2.3 Experimental process of compound 12~19

### 2.3.1 Synthesis of compound 12

Distilled dichloromethane 120mL에 p-Anisaldehyde(0.8169g, 0.006mol)을 녹이고 2,4-Dimethyl pyrrole(1.2g, 0.0126mol)을 넣고 교반시켰다. Trifluoroacetic acid 1~2방울을 상온에서 첨가한 후 12시간 동안 반응시켰다. 이 용액에 p-Chloranil(3.0981g, 0.0126mol)을 넣고 30분 동안 교반시켰다. Ice-bath에서 식힌 후 Triethylamine(12.14g, 0.12mol)을 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (Boron trifluoride diethyl etherate)을 dropwise로 첨가하였다. 0°C에서 10시간 동안 반응시킨 후 상온이 되게 하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(2:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 12를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 34.51% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 12를 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.14(d, 2H), 7.02(d, 2H), 5.97(s, 2H), 3.86(s, 3H), 2.54(s, 6H), 1.40(s, 6H).

### 2.3.2 Synthesis of compound 13

Distilled dichloromethane 100mL에 compound 12(0.45g, 0.0014mmol)를 넣고 교반시켰다. 이 용액에 N-Iodosuccinimide(0.6029g, 0.0034mmol)을 첨가한 후 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 13을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 64.53% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 13을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.13(d, 2H), 7.05(d, 2H), 3.89(s, 3H), 2.60(s, 6H), 1.43(s, 6H).

### 2.3.3 Synthesis of compound 14

Compound 13(0.2g, 0.3906mmol)과 4-Pyridylboronic acid(0.12g, 0.9765mmol)을 넣고 용매 THF/H<sub>2</sub>O(6:1)로 녹였다. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.5291g, 3.8279mmol), Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0.018g, 0.0156mmol)을 넣고 80°C에서 10시간 동안 Reflux 시킨 후 상온이 되게 하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx/EA(3.5:1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 14를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 26.12% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 14를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.20(d, 4H), 7.11(t, 2H), 7.05(t, 2H), 3.89(s, 3H), 2.54(s, 6H), 1.38(s, 6H).

### 2.3.4 Synthesis of compound 15

Acetonitrile 20mL에 compound 14를 용해시키고, Iodomethane 2mL를 넣고 2일 동안 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용매 Acetonitrile을 제거시켰다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(35:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 15를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 64.43% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 15를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 9.17(d, 4H), 7.76(d, 4H), 7.18(d, 2H), 7.09(d, 2H), 4.63(s, 6H), 3.91(s, 3H), 2.62(s, 6H), 1.49(s, 6H).

### 2.3.5 Synthesis of compound 16

Distilled dichloromethane 120mL에 Benzaldehyde(0.2549g, 2.4025mmol)를 녹이고 2,4-Dimethyl pyrrole(0.48g, 5.0452mmol)을 넣고 교반시켰다. Trifluoroacetic acid 1~2방울을 상온에서 첨가한 후 12시간 동안 반응시켰다. 이 용액에 p-Chloranil(1.2405g, 5.0452mmol)을 넣고 30분 동안 교반시켰다. Ice-bath에서 식힌 후 Triethylamine(4.8672g, 0.0481mol)을 dropwise로 첨가하였다. 30분 후에  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (Boron trifluoride diethyl etherate)을 dropwise로 첨가하였다. 0°C에서 10시간 동안 반응시킨 후 상온이 되게 하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(2:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 16을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 30.75% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 16을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.48(t, 3H), 7.29(t, 2H), 5.98(s, 2H), 2.56(s, 6H), 1.37(s, 6H).

### 2.3.6 Synthesis of compound 17

Distilled dichloromethane 100mL에 compound 16(0.09g, 0.2776mmol)을 넣고 교반시켰다. 이 용액에 N-Iodosuccinimide(0.1235g, 0.694mmol)을 첨가한 후 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx(1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 17을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 65.12% 였다.

$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy로 compound 17을 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.53(t, 3H), 7.25(t, 2H), 2.61(s, 6H), 1.36(s, 6H).

### 2.3.7 Synthesis of compound 18

Compound 17(0.09g, 0.3906mmol)과 4-Pyridylboronic acid(0.0638g, 0.5188mmol)을 넣고 용매 THF/H<sub>2</sub>O(6:1)로 녹였다. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.2810g, 2.0335mmol), Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0.0096g, 0.0083mmol)을 넣고 80℃에서 10시간 동안 reflux 시킨 후 상온이 되게 하였다. Dichloromethane와 물을 이용해 추출한 후 컬럼 크로마토그래피로 MC/Hx/EA(3.5:1:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 18을 분리하여 얻어냈고, 수득률은 27.24% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 18을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.63(t, 4H), 7.53(t, 4H), 7.32(d, 3H), 7.11(d, 2H), 2.55(s, 6H), 1.32(s, 6H).

### 2.3.8 Synthesis of compound 19

Acetonitrile 20mL에 compound 18을 용해시키고, Iodomethane 2mL를 넣고 2일 동안 교반시켰다. 반응이 끝난 후 용매 Acetonitrile을 제거시켰다. 컬럼 크로마토그래피로 MC/MeOH(35:1) 비율의 용매를 사용하여 compound 19를 분리하여 얻어냈고, 수득률은 62.17% 였다.

<sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy로 compound 19를 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 9.20(t, 4H), 7.75(t, 4H), 7.57(d, 3H), 7.30(d, 2H), 4.63(s, 6H), 2.63(s, 6H), 1.42(s, 6H).

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Theoretical characterizations and analysis

##### 3.1.1 Electronic properties of the compounds

Electron-donating group인  $-OCH_3$ 기를 BODIPY dye의 meso-phenyl 위치에 도입시키고 phenyl기에 methoxy group이 없을 때와 비교할 수 있다.  $-OCH_3$ 기를 phenyl기의 para 위치에 치환시켰을 때, BODIPY dye의 meso 위치에 치환된 Anisole과 BODIPY core는 electron donor-acceptor pair를 이루었고, 그것은  $S_1(^1PS, \text{singlet excited state photosensitizer})$ 으로부터 PET(Photoinduced electron transfer, 광유발 전자 전달) 현상을 이끌었다. PET 현상은 분자 궤도 함수(Molecular orbital theory)에 의해 설명될 수 있다. Fluorescence의 HOMO(Highest Occupied Molecular Orbital)와 LUMO(Lowest Unoccupied Molecular Orbital)가 존재한다고 할 때 fluorescence에 붙어 있는 chemical switch의 HOMO level이  $S_1$  state fluorescence의 HOMO와 LUMO level 사이에 존재할 때, chemical switch의 HOMO에 있던 전자의 이동으로 소광 현상이 나타나는 것을 PET 현상이라고 한다. PET process는 ions, pH, carbohydrates, phosphates 등을 통해서 조절된다.

BODIPY dye의 구조적인 변형에 의해 chemical switch의 HOMO level을  $S_1$  state fluorescence의 HOMO level보다 낮춰주어 전자의 흐름을 막히게 하면, PET 현상이 감소되면서 형광을 turn on 시킬 수 있다.[6]

BODIPY dye의 phenyl기의 para 위치에 electron donating group인  $-OCH_3$ 기의 치환 결과, Anisole이 BODIPY core에 전자를 주는 electron donor로서 역할을 하며, PET process로 인한 증가된 분자 내 fluorescence quenching을 이끌었다. PET 현상과 singlet oxygen 생성 능력은 관계가 있으며, singlet oxygen quantum yield는 PET process의 switch를 on/off 시켜서 조절될 수 있다.[7] Singlet oxygen quantum yield는 ISC(Intersystem crossing) 효율과 직접적인 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 보통 PET과 ISC는 서로 경쟁

적이고, PET의 억제를 통해 ISC 효율을 상당히 증가시킬 수 있다.[8]

### 3.1.2 Suzuki coupling reaction

Palladium-catalyzed coupling reaction은 현대 화학에서 C-C 결합의 합성에 있어 중요한 도구가 되고 있다. 이 반응은 의약품 중간체, 고분자 기능성 물질, 살충제, 염료 및 유기 전기발광 재료에 널리 적용된다. 특히, 현재 의약 화학에서 60% 이상의 C-C 결합 형성 과정은 Suzuki cross-coupling reaction을 사용하여 수행되고 있는데, 그 이유는 낮은 독성, 효율적이고 좋은 작용기 내성, 그리고 온화한 반응 조건 때문이다.[9]

Suzuki coupling reaction은 팔라듐 촉매 존재하에 organoboronic acid와 halides 사이에 일어나는 cross coupling 반응이다. 주로 aryl-/vinyl-boronic acid 와 aryl-/vinyl-halides 사이의 반응을 통해 carbon-carbon 결합을 형성한다.[10] 반응에 다양한 boronic acids를 사용할 수 있고, halide 또는 pseudohalide의 반응성 순서는  $R-I > R-OTf > R-Br > R-Cl$ 이다.[11]

Pyridine을 Suzuki coupling reaction을 통해 연결시키기 위해 팔라듐 촉매와 4-Pyridylboronic acid를 사용하였고, 적합한 염기로는  $K_2CO_3$ 를 사용하였다.

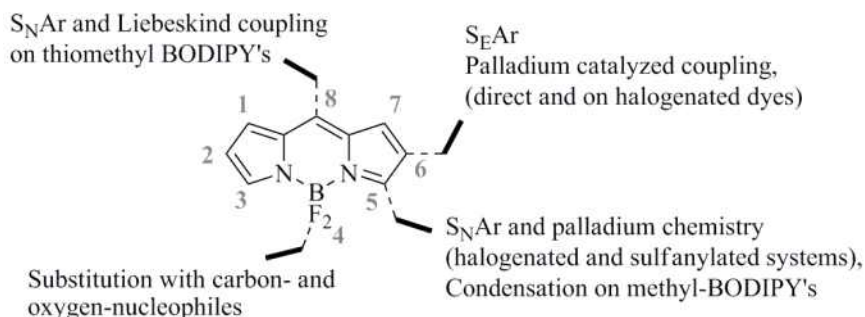


Figure 27. Overview of the methods of direct derivatization of the BODIPY core. [12]

### 3.1.3 Methylation

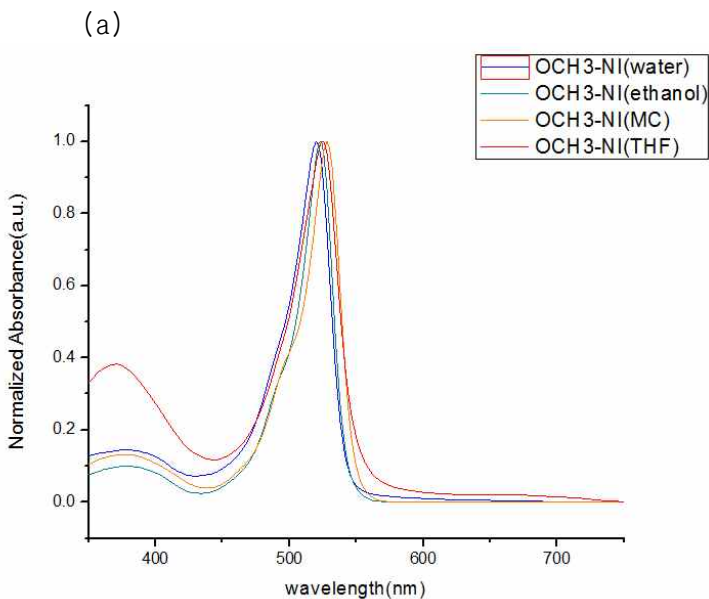
Pyridinium salt는 항암, 항균, 생리활성 작용을 하는 것으로 알려져 있으며, 유전자 전달과 관련된 재료 과학 또는 생물학적인 적용이 가능하다. [13] 미토콘드리아는 광역학 치료(PDT)에 쓰이는 많은 감광제(PS, Photosensitizer)에 있어서 중요한 세포 내 표적 기관이다. 2개의 Pyridine 에 Methylation 반응을 진행시켜 생성된 4차 암모늄 양이온은 미토콘드리아 표적화를 가능하게 하고, 생물학적 탐지 및 생물학적 분석에서 fluorescent probe 역할을 한다.

Methylation을 통해 생성된 ionic moiety는 미토콘드리아를 효과적으로 표적화하는 기능과 수용성 환경에서 향상된 친수성을 나타낸다.

### 3.2 Spectroscopic measurements

UV-Vis absorption은 UH5300 UV/VIS Spectrophotometer로 측정하여 얻었고, Fluorescence intensity는 F-700FL Fluorescence Spectrophotometer로 측정하여 얻었다. 용매는 H<sub>2</sub>O, Ethanol, MC, THF를 사용하였으며, 농도는 15 $\mu$ M로 측정하였다. 양자 수율(Fluorescence quantum yield,  $\Phi_f$ )은 HAMAMATSU PHOTONICS K.K 사의 ABSOLUTE PL QUANTUM YIELD SPECTROMETER C11347을 사용하여 측정하였다.

#### 3.2.1 UV-Vis absorption and fluorescence emission spectra





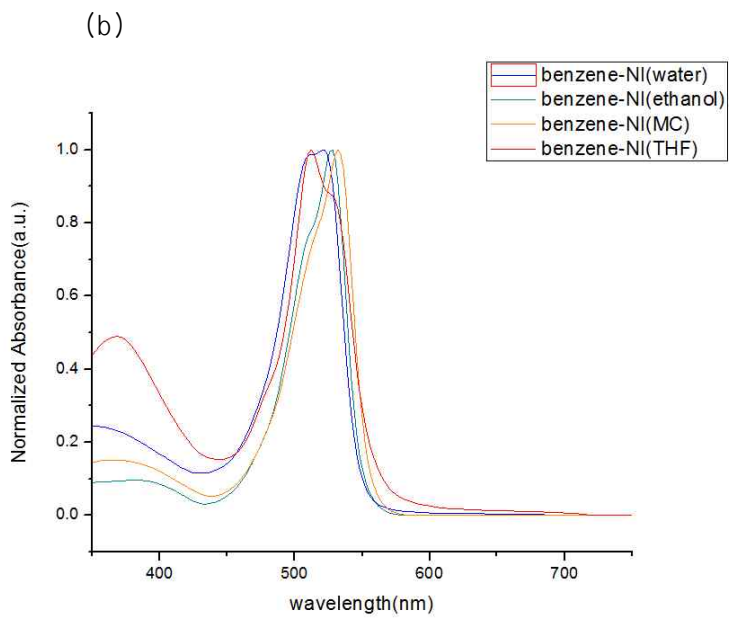
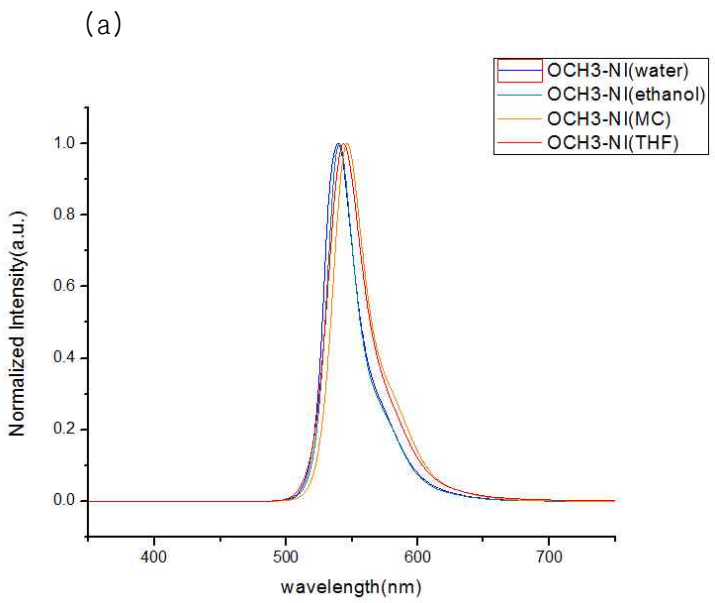


Figure 28. UV-Vis absorption spectra of (a)  $\text{OCH}_3\text{-Ni}$  and (b) benzene-Ni in different solvents



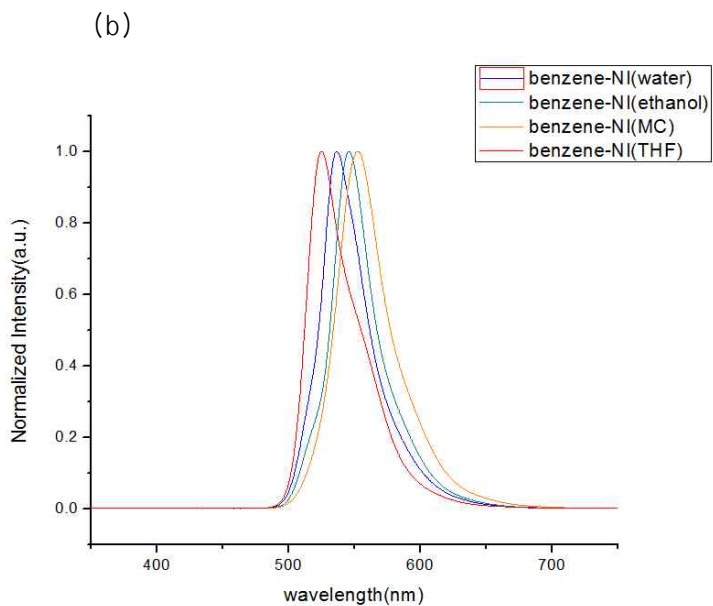


Figure 29. Emission spectra of (a)  $\text{OCH}_3\text{-NI}$  and (b) benzene-NI in different solvents

< $\text{OCH}_3\text{-NI}$ >

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)
$\text{H}_2\text{O}$	520nm	540nm
Ethanol	524nm	541nm
MC	528nm	546nm
THF	524nm	544nm

Table 5. Absorption and emission wavelength of compound 15 (Excitation and emission slit = 5nm, 10nm)

<benzene-NI>

	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)
H <sub>2</sub> O	522nm	537nm
Ethanol	528nm	546nm
MC	532nm	552nm
THF	512nm	525nm

Table 6. Absorption and emission wavelength of compound 19 (Excitation and emission slit = 10nm, 10nm)

### 3.2.2 Quantum yield measurements

	$\Phi_f$ (%)(Ethanol)	$\Phi_f$ (%)(H <sub>2</sub> O)
OCH <sub>3</sub> -NI	12.7	0.8
benzene-NI	9	0.6

Table 7. Quantum yield of compound 15, compound 19 in ethanol and water

### 3.3 Photos of compound 15, compound 19 under 365nm in different solvents

UV lamp는 TN04LC 254nm/365 UV lamp를 사용하였으며, 용매는 H<sub>2</sub>O, Ethanol, MC, THF 를 사용하였다.

(a)

(b)

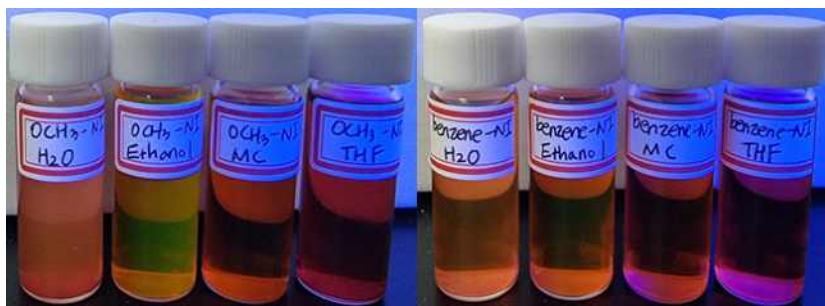


Figure 30. Photos of (a) OCH<sub>3</sub>-NI, (b) benzene-NI under UV illumination (365nm) in water, ethanol, MC, THF

Final compound인 OCH<sub>3</sub>-NI, benzene-NI를 물(H<sub>2</sub>O)과 유기용매인 Ethanol, MC, THF에 녹인 후 365nm 파장에서 UV lamp를 비추었을 때 형광이 나타나는 모습이다.

## 4. Conclusions

Heavy atom free BODIPY dyes를 합성하여 분광학적 데이터를 얻고 치환기의 변화에 따른 전기적인 특성을 분석하였다. BODIPY dye의 meso 위치에 치환된 Anisole과 BODIPY core는 electron donor-acceptor pair를 이루었고, Anisole은 electron donor로 작용하였다. Meso 위치에 존재하는 치환기가 EDG(Electron donating group)일 때 PET(광유도 전자 전달, Photoinduced electron transfer) 현상이 나타나고, 이것은 triplet states에 quenching intersystem crossing 작용을 하여 ISC(Intersystem crossing)와 경쟁적인 요소가 된다. 따라서 PET process의 억제를 통해 triplet excited state의 형성을 증가시킬 수 있고, 이것은 형광을 감소시키지 않으면서 단일항 산소 (singlet oxygen,  $^1O_2$ )의 생성을 증가시킨다.[16]

Methylation을 통해 Final compounds를 이온성 화합물로 변형시켰고, BODIPY dye의 meso 위치에 EDG(electron donating group)가 존재할 때 양자 수율이 증가하는 결과를 보였다. BODIPY dye에서 양 말단에 연결된 Pyridinium은 수용성을 증대시켰고, 미토콘드리아를 특이적으로 표적화하는 기능을 가졌다.

## 5. Spectrum

$^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectroscopy

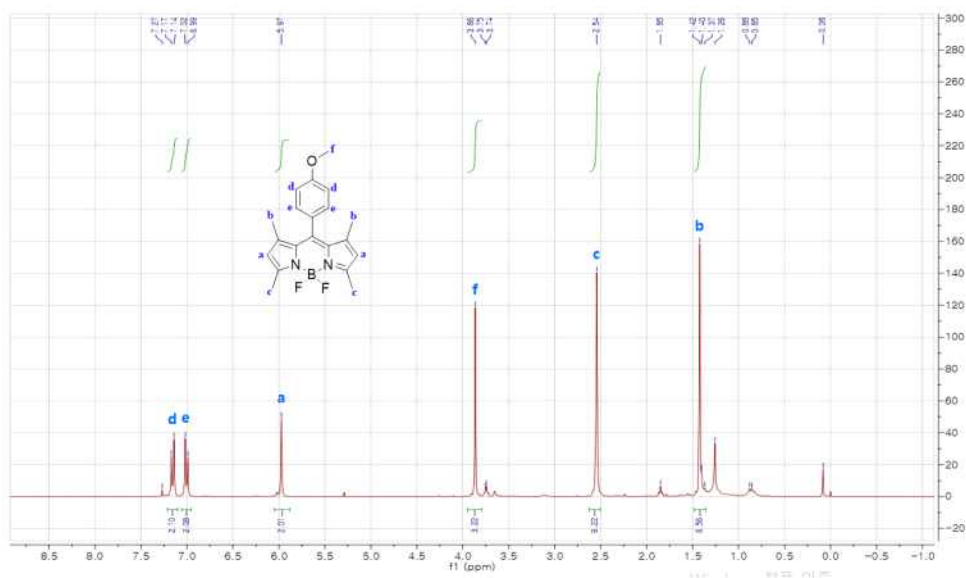


Figure 31.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 12

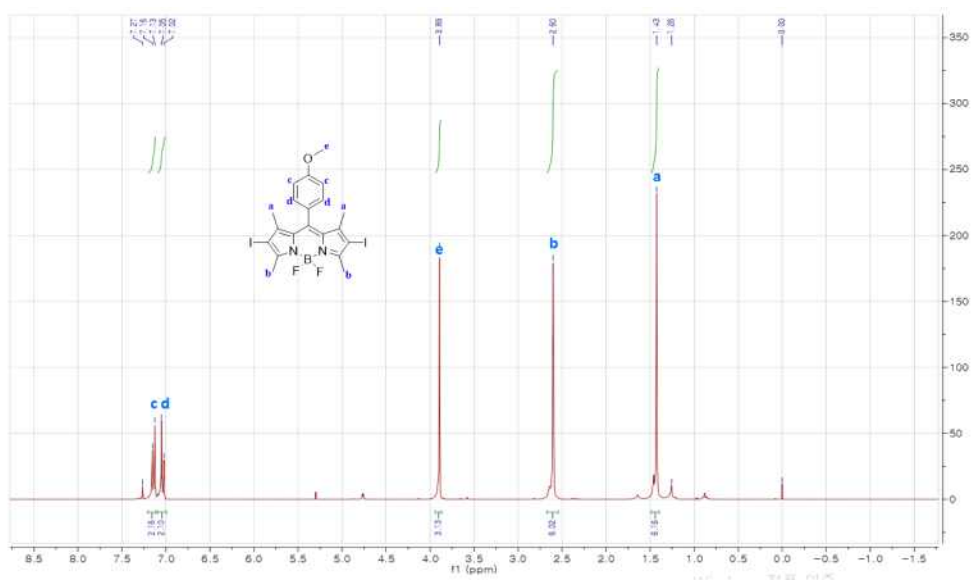


Figure 32.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 13

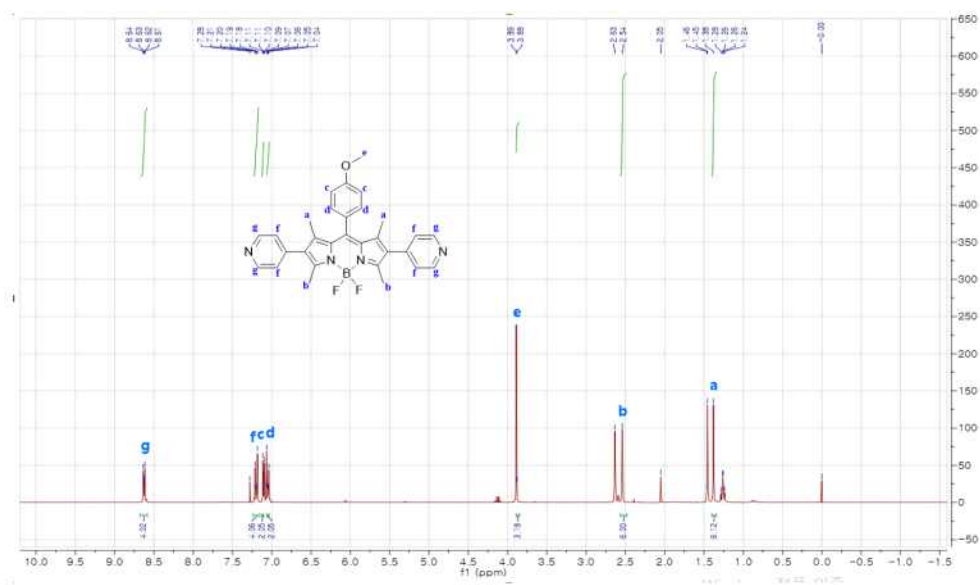


Figure 33.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 14



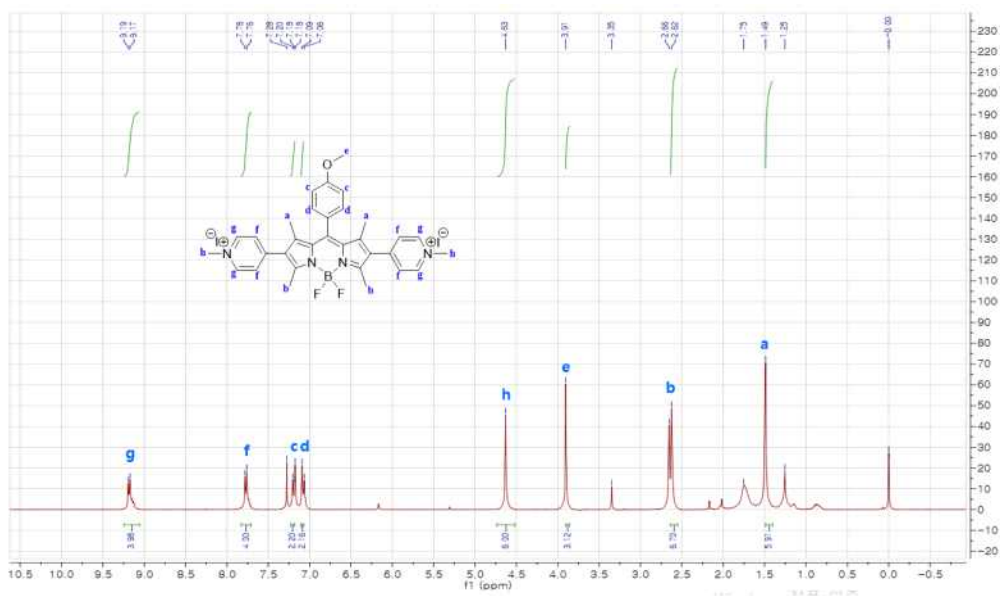


Figure 34.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 15

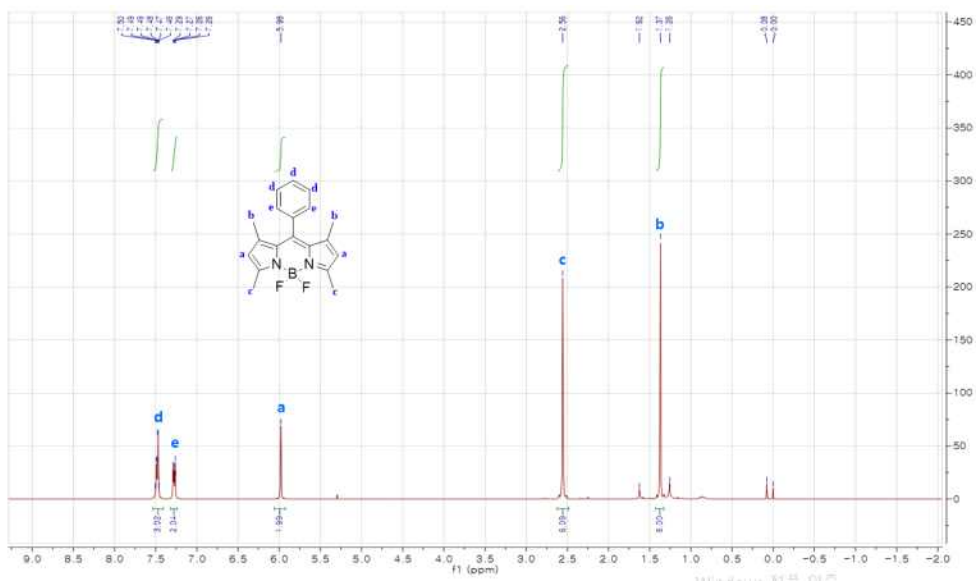


Figure 35.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 16

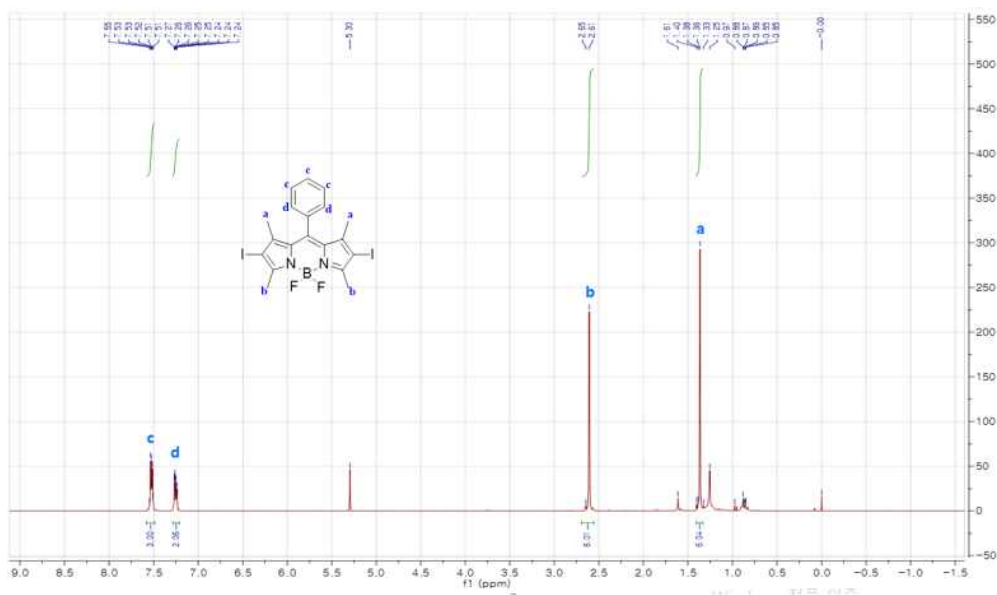


Figure 36.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 17

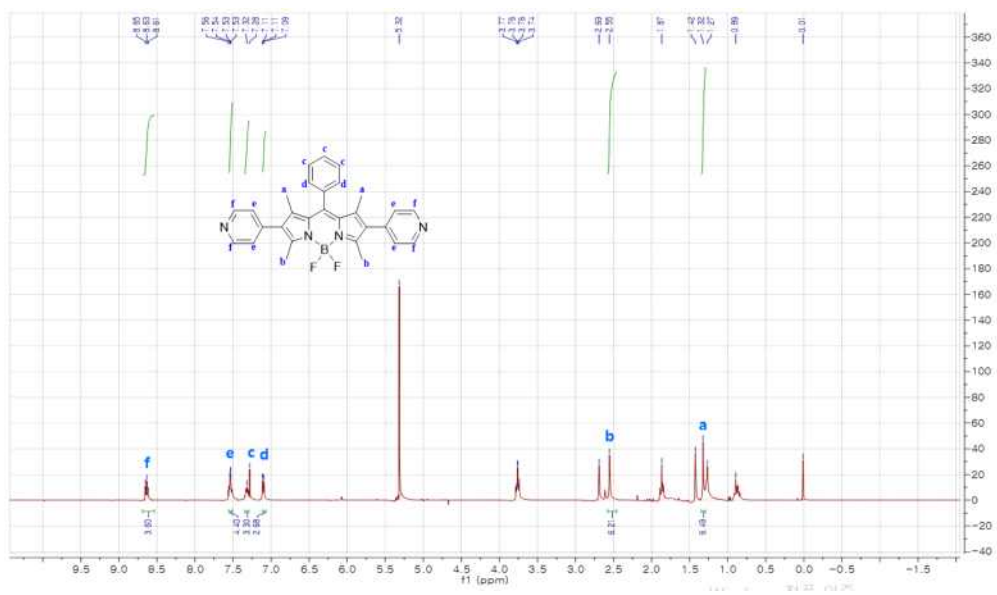


Figure 37.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 18

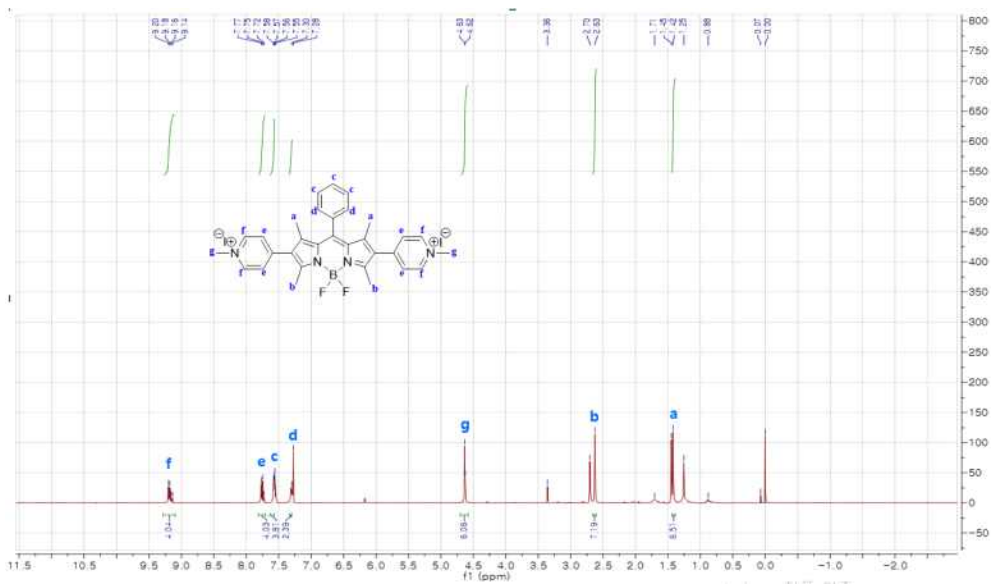


Figure 38.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 19

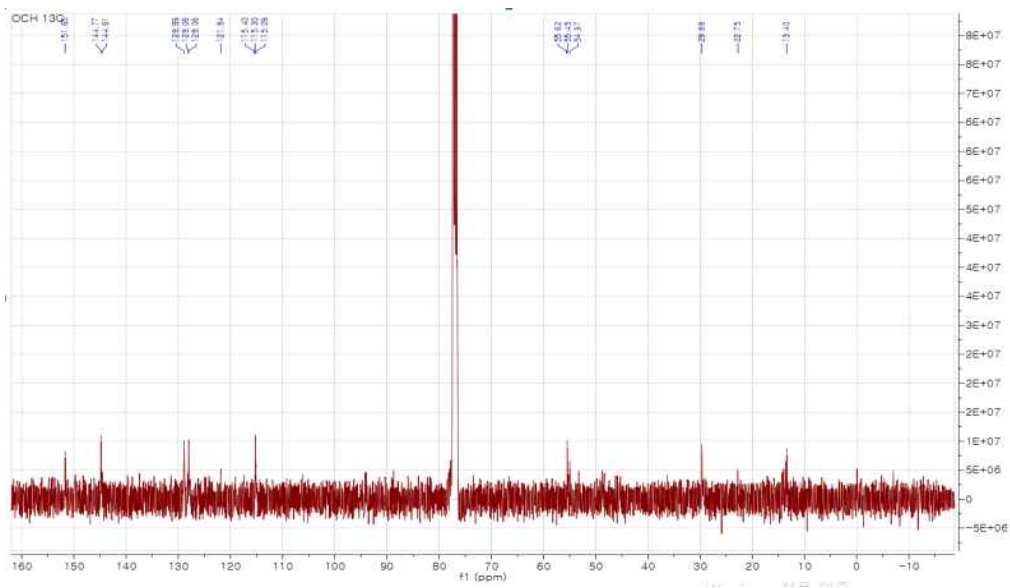


Figure 39.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 15

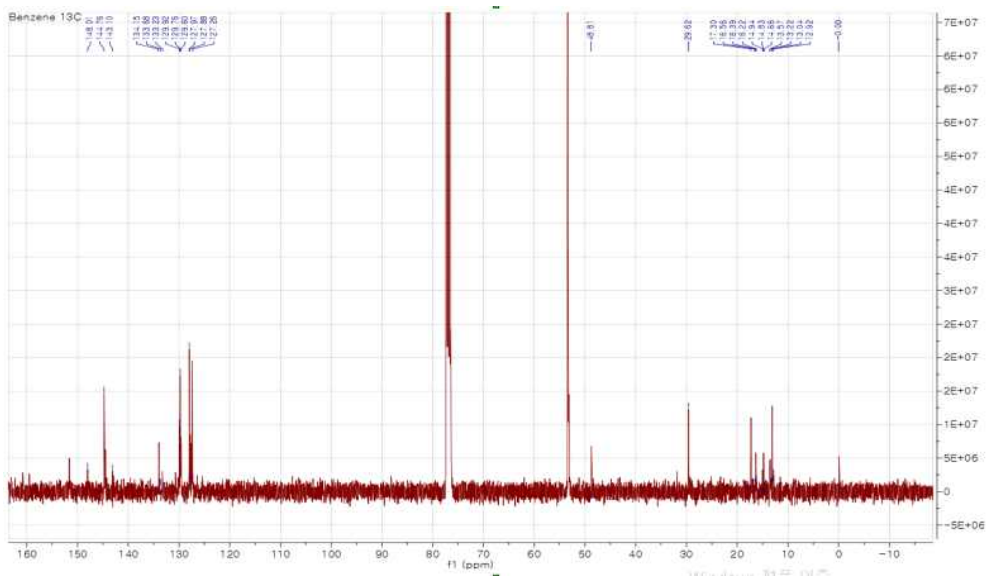


Figure 40. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of compound 19

## 6. References

[1] Grasso, D., Zampieri, L. X., Capeloa, T., Van de Velde, J. A., & Sonveaux, P. (2020). Mitochondria in cancer. *Cell stress*, 4(6), 114.

[2] Rovira, A., Pujals, M., Gandioso, A., López-Corrales, M., Bosch, M., & Marchán, V. (2020). Modulating Photostability and Mitochondria Selectivity in Far-Red/NIR Emitting Coumarin Fluorophores through Replacement of Pyridinium by Pyrimidinium. *The Journal of Organic Chemistry*.

[3] Zielonka, J., Sikora, A., Pi?ta, J., Zielonka, M., Cheng, G., & Kalyanaraman, B. (2018). Targeting redox-active pyridinium cations to mitochondria to inhibit proliferation of colon cancer cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 128, S78.

[4] Shen, Y., Dai, L., Zhang, Y., Li, H., Chen, Y., & Zhang, C. (2020). A novel pyridinium-based fluorescent probe for ratiometric detection of peroxynitrite in mitochondria. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 228, 117762.

[5] Castano, A. P., Demidova, T. N., & Hamblin, M. R. (2004). Mechanisms in photodynamic therapy: part one?photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 1(4), 279-293.

[6] 김은하. (2011). (A) study of full-color tunable and predictable fluorescent core skeleton, 1, 2-Dihydropyrrolo [3, 4-b] indolizin-3-one (Seoul-Fluor) (Doctoral dissertation, 서울대학교 대학원).



[7] Wu, W., Shao, X., Zhao, J., & Wu, M. (2017). Controllable Photodynamic Therapy Implemented by Regulating Singlet Oxygen Efficiency. *Advanced Science*, 4(7), 1700113.

[8] Hu, W., Zhang, X.-F., Lu, X., Lan, S., Tian, D., Li, T., ... Zhang, J. (2018). Attaching electron donating groups on the meso -phenyl and meso -naphthyl make aryl substituted BODIPYs act as good photosensitizer for singlet oxygen formation. *Journal of Luminescence*, 194, 185-192.

[9] Wang, Y., Liu, Y., Luo, J., Qi, H., Li, X., Nin, M., ... & Cao, Y. (2011). Metallomesogens based on platinum (II) complexes: synthesis, luminescence and polarized emission. *Dalton Transactions*, 40(18), 5046-5051.

[10] Shaikh, T. M., Weng, C.-M., & Hong, F.-E. (2012). Secondary phosphine oxides: Versatile ligands in transition metal-catalyzed cross-coupling reactions. *Coordination Chemistry Reviews*, 256(9-10), 771-803.

[11] Zhou, Z., Zhang, Y., Xia, W., Chen, H., Liang, H., He, X., ... Qiu, L. (2016). Palladium-Catalyzed Suzuki-Miyaura Coupling Reactions of Boronic Acid Derivatives with Aryl Chlorides. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 5(10), 1260-1268.

[12] Leen, V., Miscoria, D., Yin, S., Filarowski, A., Molisho Ngongo, J., Van der Auweraer, M., ... & Dehaen, W. (2011). 1, 7-Disubstituted boron dipyrromethene (BODIPY) dyes: synthesis and spectroscopic

properties. *The Journal of organic chemistry*, 76(20), 8168-8176.

[13] Sowmiah, S., Esperanca, J. M. S. S., Rebelo, L. P. N., & Afonso, C. A. M. (2018). Pyridinium salts: from synthesis to reactivity and applications. *Organic Chemistry Frontiers*, 5(3), 453-493.

[14] Kamkaew, A., Lim, S. H., Lee, H. B., Kiew, L. V., Chung, L. Y., & Burgess, K. (2013). BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.*, 42(1), 77-88.