

ELTE | TTK

Rodaminok új megvilágításban: kiemelkedően hatékony fotolabilis vegyületek szintézise és vizsgálata

TDK dolgozat

Készítette: **Benedikti Anna**

III. évfolyamos kémia BSc hallgató

Témavezető:

Dr. Bojtár Márton

tudományos munkatárs

Konzulens:

Molnár Tibor Ákos

doktorandusz

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont Szerves Kémiai Intézet

Kémiai Biológia Kutatócsoport 2024.

**HUN
REN**



Lezárva: 2024. december 31.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Bojtár Mártonnak és konzulensemnek, Molnár Tibor Ákosnak a szintetikus munkában és a mérések kivitelezésében nyújtott segítségért, valamint a szakmai iránymutatásért.

Köszönöm Dr. Kele Péternek, amiért lehetőséget adott arra, hogy a Természettudományi Kutatóközpont Kémiai Biológia Kutatócsoportjában végezhessem a kutatómunkámat.

Köszönöm továbbá a kutatócsoport minden tagjának a segítséget, amelyet a kutatómunka során nyújtottak számomra.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítésjegyzék.....	2
2. Bevezetés	3
3. Irodalmi áttekintés	5
3.1. Fotolabilis védőcsoportok főbb jellemzői	5
3.2. Jelentős fotolabilis vegyületek a kémiai biológiában.....	7
3.3. Xanténvázas vegyületek: a fluorofóroktól a fotolabilis vegyületekig.....	9
3.3.1. Szerkezeti tulajdonságok.....	9
3.3.2. Xanténvázas fotolabilis védőcsoportok.....	13
4. Célkitűzések	16
5. Eredmények és kiértékelésük.....	17
5.1. Célvegyületek előállítása.....	17
5.1.1. X ₅₉₀ és X ₅₆₅ célvegyületek szintézise – 2'-CH ₃ származékok	18
5.1.2. X _{600-H} és X _{575-H} célvegyületek szintézise – 2'-H származékok	21
5.2. Fotolízis kísérletek	24
6. Összefoglalás, további tervek	31
7. Alkalmazott eszközök és anyagok	33
8. Szintézisek részletes leírása	34
9. Irodalomjegyzék	47

1. Rövidítésjegyzék

$[M+nH]^{n+}$ – n -szeresen protonált molekula

DCM – diklórmétán

DDQ – 5,6-diciano-2,3-diklór-1,4-benzokinon

DPC – dipiridil-karbonát

DSC - N,N' -diszukcinimid-karbonát

ESI-MS - elektrospray ionizációs tömegspektrometria

EtOH – etanol

i-PrOH – izopropanol

M – mol/dm³

m/z – adott ion atomi tömegegységre vonatkoztatott tömegének és töltésszámnak hányadosa

MeCN – acetonitril

MeOH – metanol

Mo – morfolin

MOM - metoximetil

MsOH – metánszulfonsav

NIR - közeli infravörös

on – egy éjszakán át tartó reakció („*overnight*”)

PAA – fenil-ecetsav

Ph-PP – *N*-fenilpiperazin

PPG - fotolabilis védőcsoport („*photoremovable protecting group*”)

p-Tol – *p*-tolil

rt. – szobahőmérséklet („*room temperature*”)

TEA – trietil-amin

tert-BuLi – *tert*-butil-lítium

TFA – trifluoecetsav

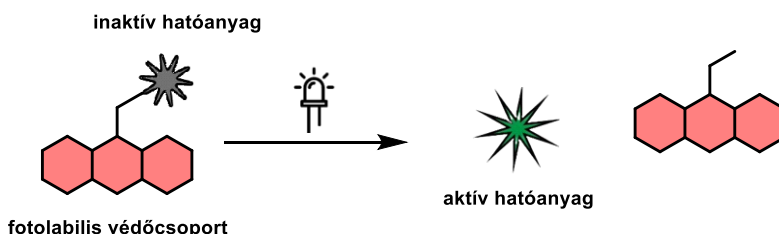
TFE – 2,2,2-trifluoretanol

THF – tetrahidrofurán

VNA - *N*-vanillil-nonanoilamid

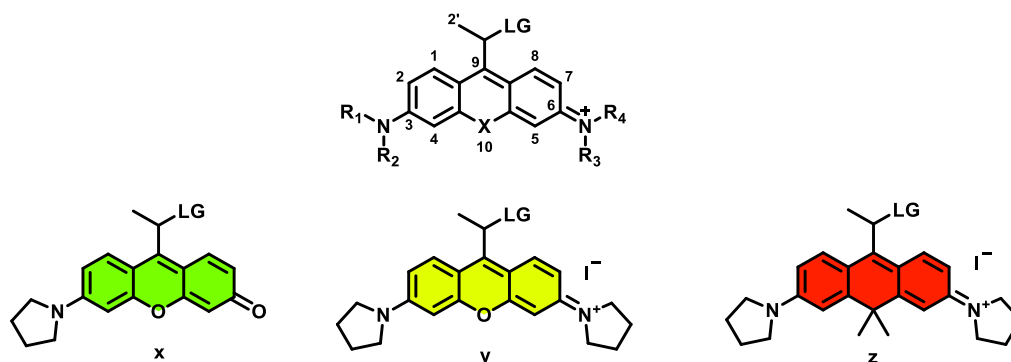
2. Bevezetés

A fotolabilis védőcsoportok jelentősége, hogy fénnel térben és időben szabályozhatók, ezáltal lehetővé teszik a célzott hatóanyagleadást biológiai rendszerekben. Alkalmazásukkal a hatóanyagok biológiai aktivitása jelentősen csökkenthető, majd megfelelő hullámhosszúságú fény hatására a fotolabilis molekularész lehasadásával újra aktiválható. (1. ábra)



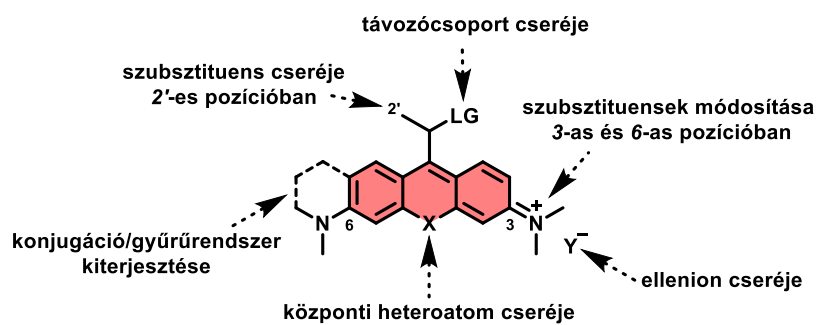
1. ábra. Fotolabilis védőcsoportoz kötött hatóanyag felszabadítása látható fénnel

Az utóbbi évtizedek kutatásainak célja olyan fotoaktiválható csoportok fejlesztése volt, amelyek látható és közeli-infravörös fényre érzékenyek, így szélesítve alkalmazhatóságukat a kémiai biológiában. A látható fényre aktiválható védőcsoportok közül kiemelném a xanténvázis vegyületeket, melyek alkalmazása népszerű fluoreszcens festékekben, mind kiváló vízoldhatóságuk, stabilitásuk és nagy kvantumhasznosítási tényezőjük miatt. Kutatócsoportunk munkatársai kiterjesztették a fotolabilis védőcsoportok körét xanténvázis kromofórokra. Az új rodamin-analógok (2. ábra) besugárzásával sikeresen felszabadítható karbonsav, fenol és szekunder amin, valamint két védőcsoportot (y, z) kemoterápiás szerrel összekapcsolva olyan konjugátumokhoz jutottak, melyek kiemelkedő, fényre aktiválható toxicitást mutattak. (1)



2. ábra. Az ábrán a xanténvázis fotolabilis védőcsoportok általános szerkezete (LG = távozócsoport) és számozása és a kutatócsoportunk munkatársai által előállított rodol- (x), illetve rodamin-analógok (y, z) szerkezete látható

Kutatómunkám során ebbe a témába kapcsolódtam be, a célom a rodamin-analógok továbbfejlesztése, valamint a stabilitás szerkezetfüggő vizsgálata volt. A fotolabilis vegyületek fejlesztésére a 3. ábrán látható stratégiák alkalmazhatók. (2)



3. ábra. Átalakítási lehetőségek a rodamin-analóg fotolabilis védőcsoportoknál

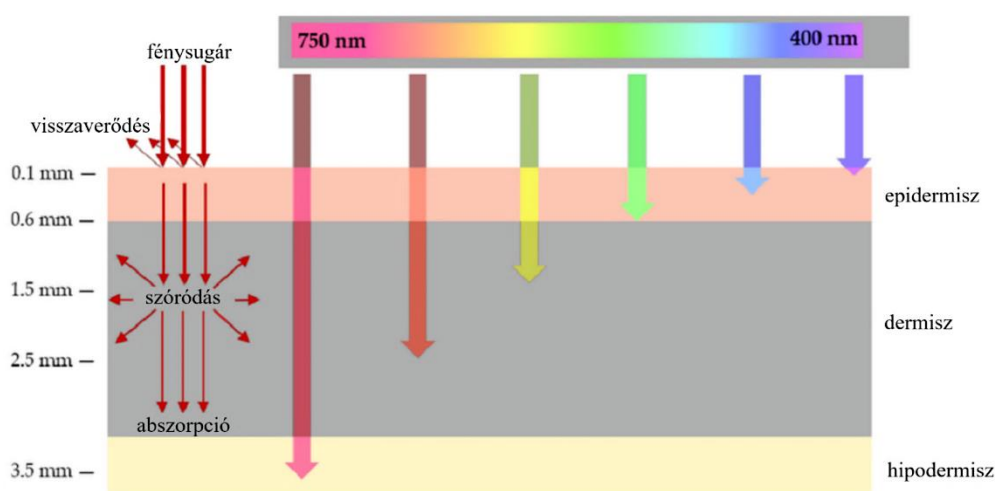
A munkám az alapváz olyan szerkezeti módosítására irányult, melyben az eredeti, X = O (2. ábra; y) xanténváz as fotolabilis vegyületet további kondenzált gyűrűrendszerekkel bővítem ki. Ezzel a céloom egyrészt vöröselölt vegyületek előállítása, valamint a stabilitás növelése és a 2'-metil szubsztitúció elhagyása volt, potenciálisan utat nyitva új távozócsoportok kialakítására.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Fotolabilis védőcsoportok főbb jellemzői

A fotolabilis, másnéven fotoaktiválható védőcsoportok (photoremovable protecting group, PPG, photocage) olyan molekularészletek, amelyek kovalens vagy koordinatív kötéssel kapcsolódnak egy másik molekulához („payload”). Az abszorpciós sajátosságainak megfelelően ultraibolya (UV), látható vagy közeli-infravörös fény hatására a kötés szelektíven elhasad (fotolízis) és a molekula felszabadul. (3) Alkalmazásukkal lehetőség nyílik különféle vegyületek térben és időben szabályozható aktiválásra, ami például célzott hatóanyagleadásban lehet kulcsfontosságú. A photocage-ek megfelelő funkciós csoporton keresztül kapcsolódva képesek jelentősen csökkenteni a hatóanyagok biológiai aktivitását. Amikor a PPG-hatóanyag konjugátumot a megfelelő hullámhosszúságú fény éri, a fotolabilis kötés hasadásával a biológiai aktivitás visszanyerhető. Ilyen hatóanyag lehet kismolekulás gyógyszerhatóanyag, biomolekula, vagy valamilyen sejten belüli hírvivő, mint például a kalcium, neurotranszmitterek, inozitok, nukleotidok, peptidek, enzimek, vagy akár mRNA és DNS. (4) (5) (6)

Az első fotolabilis molekulák kizárólag UV-fénnyel voltak aktiválhatók, azonban ez a tartomány alacsony szöveti áthatolóképességgel rendelkezik és potenciálisan sejtkárosító hatású is lehet. A fény áthatolását a biológiai szövetek inhomogenitása, a víz, a zsír, a vér és az oxigén jelenléte korlátozhatja. A 600 nm-es hullámhosszúságú fény például 2-3 mm mélységig hatol az emberi szövetekben, míg 300 nm-es UV sugárzás csak 6 μm mélységig. (7) (4. ábra)



4. ábra. A fény áthatolóképessége szöveten (8)

Az új fejlesztések egyik célja tehát, hogy a fotolabilis védőcsoportok abszorpciós maximumát eltolják a vörös/közeli-infravörös (NIR) tartományba. Ebben a tartományban kisebb a biomolekulák elnyelése, melyből adódóan a fény áthatolóképessége jobb. (9) A fejlesztések másik iránya a vöröseltolás mellett jó kvantumhasznosítási tényezővel rendelkező és stabil vegyületek előállítására irányul, valamint a célvegyületekhez kapcsolt funkciós csoportok palettájának bővítésére. Az irodalomban leírt fotolabilis védőcsoportokhoz leggyakrabban alkohol, fenol, karbonsav, amin vagy foszforsav funkciós csoportok kapcsolódnak éterként, karbonátként, karbamátként vagy foszfátként, mely számottevően befolyásolja a fotolízis hatékonyságát. (10) A fotolabilis védőcsoport felhasználási céljától függően a célmolekula kívánt tulajdonságai változóak lehetnek. Általánosságban megfogalmazható öt alapkritérium egy photocage tulajdonságait illetően:

1. A gerjesztési hullámhosszon más molekulák ne nyeljenek el a rendszerben.
2. Fontos, hogy sötétben stabil legyen.
3. Oldhatónak kell lennie a célnak megfelelő közegben. Amennyiben a felhasználási megköveteli, kritérium lehet, hogy a fotolabilis védőcsoport átjusson biológiai gáton.
4. A bomlástermékek biokompatibilisek legyenek.
5. A felszabadítás folyamata detektálható legyen. (11)

A fotolízis hatékonyságának leírására általánosan használt fotokémiai kvantumhasznosítási tényező (ϕ_u ; ahol u = „uncaging”, azaz felszabadítás) megegyezik a fotokémiai események (u) anyagmennyiségének és a photocage által elnyelt fotonok (p) anyagmennyiségének hányadával (I.). Mindkét mennyiség (n_u, n_p) dimenzióját molban vagy einsteinben (1 einstein = 1 mol foton) szokás kifejezni. Ebből adódóan a kvantumhasznosítási tényező dimenziója egységnyi. (12)

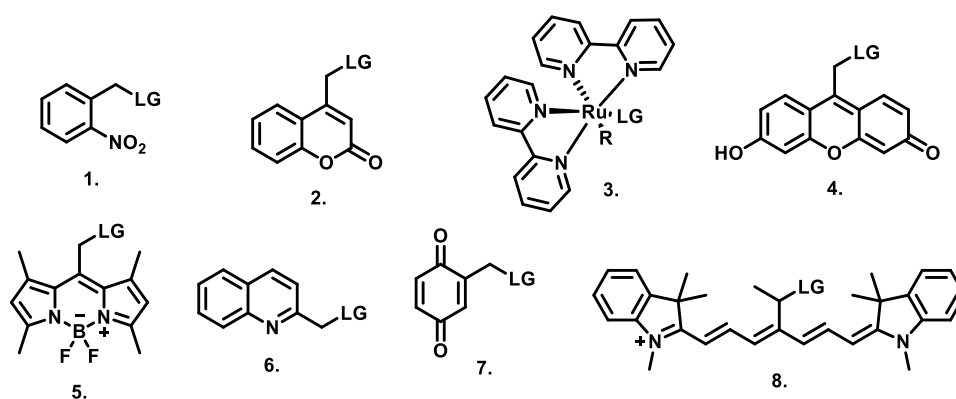
$$\phi_u = \frac{n_u}{n_p} \quad (I.)$$

A felszabadulás hatékonyságának értelmezéséhez a kvantumhasznosítási tényező mellett szükséges a moláris abszorpciós együttható fogalmát is definiálni. A moláris abszorpciós együttható ($\epsilon(\lambda)$) megmutatja, hogy egy adott anyag milyen mértékben nyeli el a fényt adott hullámhosszon. (3) A moláris abszorpciós együttható és a kvantumhasznosítási tényező szorzata ($\epsilon(\lambda) \cdot \phi_u$) határozza meg a felszabadulás hatékonyságát. (11)

3.2. Jelentős fotolabilis vegyületek a kémiai biológiában

1962-ben jelent meg az irodalomban az első fotolabilis védőcsoport, amelyet Baltrop és Schofield fejlesztettek ki. Kutatásukban bemutatták, hogy UV-fénnyel történő besugárzáskor glicin szabadul fel *N*-benzilglicinből. A termékek izolálásával bizonyították, hogy a fotoreakció során a benzil-oxigén kötés hasad. (13) A későbbiekben előtérbe került a photocage-ek alkalmazása a kémiai biológiában. 1978-ban Kaplan és munkatársai fotolabilis védőcsoportokkal blokkolták az ATP működését sejtekben, amely UV-fénnyel való besugárzás hatására visszanyerte aktív formáját. (14)

A fotolabilis védőcsoportok alapvázuk alapján csoportosíthatóak, mint például *o*-nitrobenzil-, kumarin-, ruténium komplex-, xantén-, BODIPY-, kinolin-, kinon- és cianin származékok. (5. ábra) (15) (16)



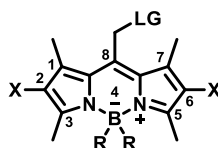
5. ábra. PPG-k csoportosítása alapváz szerint: 1. *o*-nitrobenzil-, 2. kumarin-, 3. ruténium komplex-, 4. xantén-, 5. BODIPY- 6. kinolin-, 7. kinon-, 8. cianin (Cy7) származékok (15) (16)

Az *o*-nitrobenzil származékok (5. ábra, 1.) UV fény hatására aktiválódnak, fotolízisük során toxikus melléktermékek képződnek (pl. nitrobenzaldehyd). A legújabb kutatásokban poláris funkciós csoportok segítségével előállították az *o*-nitrobenzil fotolabilis védőcsoportok vízben oldódó változatait. A photocage-ek felszabadítását sikeresen nyomon követték *in vitro* körülmények között. (17)

Az első kumarin-alapú fotolabilis védőcsoport (5. ábra, 2.) Givens és Matuszewski nevéhez köthető. 1984-ben 360 nm hullámhosszú fény alkalmazásával foszfát-észtert hasítottak le a 7-metoxikumarinból. (18) A kumarin-alapú PPG-k kiemelkedő jelentőséggel bírnak a kémiai biológiai terén. Abszorpciós maximumuk a szubsztituensektől függően általában az UV tartományba esik, de a váz további módosításával nagyobb hullámhossz felé is eltolható. Kutatócsoportunkban korábban a kumarin-alapváz 3-as pozíciójába elektronszívó heteroaromás szubsztituenseket építettek be, a π -konjugáció ilyen módon történő

kiterjesztésével zöld fénnel aktiválható (>500 nm) photocage-eket állítottak elő. (19) A kumarinvázis fotolabilis védőcsoportok hatékonyan felszabadíthatók, megfelelő sötétstabilitással rendelkeznek, és a fotolízis kinetikájuk is gyors. További előnyük, hogy érzékenyen reagálnak a többfotonos gerjesztésre, így megfelelő lézerekkel közeli-infravörös fény alkalmazásával kétfotonos módszerrel gerjeszthetők, melynek számottevő jelentősége van az idegtudományok területén. (20) A vörös fénnel (>600 nm, egyfotonos gerjesztés) aktiválható kumarin-alapú photocage-ek tervezése komoly kihívást jelent, a jelenlegi kutatások még nem hoztak sikeres eredményt szintézisükre, ami korlátozza a vegyületek komplex biológiai rendszerekben történő alkalmazását.

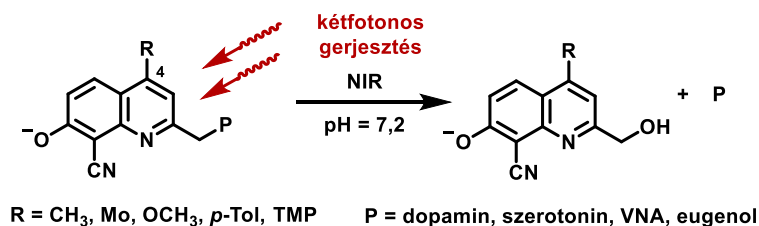
A BODIPY–alapú fotolabilis védőcsoportok (5. ábra, 5.) intenzív, keskeny abszorpciós sávval és magas fotostabilitással rendelkeznek. A származékokat elsőként Winter és munkatársai alkalmazták karbonsav felszabadítására zöld fénnel *in vitro* körülmények között. (21) Későbbiekben több, mint 30 származékon vizsgálták, hogyan befolyásolja a felszabadulás hatékonyságát, ha halogéneket vezetnek be a 2-es és 6-os pozícióba, módosítják a bór szubsztituenseit (pl. metilcsoportra), valamint változtatják a távozócsoportot. (22) (6. ábra)



6. ábra. BODIPY származékok módosítása és az alapváz számozása

A nagyobb rendszámú halogének (bróm, jód) beépítésével a nehézatomból eredő hatás miatt a triplett állapot kedvezményezett, ami javítja a távozócsoport felszabadulásának hatékonyságát. Emellett a bór szubsztituenseinek (R) fluorról metilcsoportra történő cseréje is jelentős fotokémiai hatékonyágnövekedéssel járt. A kétféle stratégia együttes alkalmazása során a halogének elektronegativitása növeli a bór (B-R₂) elektrofil jellegét, ami érzékenyebbé teszi a vegyületet nukleofil támadásokra, így a távozócsoport sötétben is felszabadulhat. (20)

A kinolin–alapú fotolabilis védőcsoportok (5. ábra, 6.) olyan molekulák, amelyek látható és közeli-infravörös tartományban is aktiválhatók kétfotonos gerjesztést alkalmazva. Dore és munkatársai kinolin kromofór 4-es pozíciójába elektronküldő szubsztituensek beépítésével fenol felszabadítására képes fotolabilis védőcsoportokat terveztek. (7. ábra) Az alkalmazott „payload”-ok; dopamin, szerotonin, VNA, eugenol; vizsgálhatók a jelátviteli mechanizmusok és a neurotranszmitterek üzenetszállító szerepe. Kutatásukban például vizsgálták a dopamint, melynek kulcsfontosságú szerepe van olyan degeneratív idegrendszeri betegségekben, mint a Parkinson-kór. (23)



7. ábra. Kiemelkedően hatékony, fenol (P) felszabadítására képes kinolin-alapú fotolabilis védőcsoportok kétfotonos gerjesztése NIR tartományban (23)

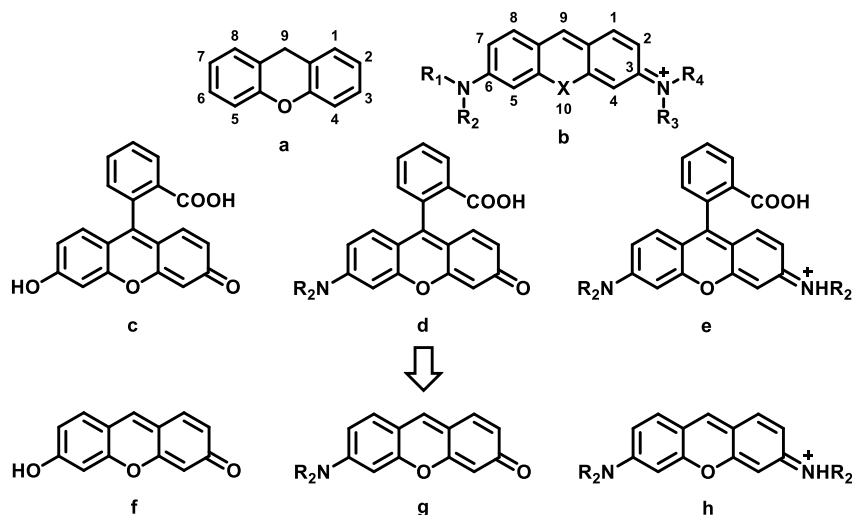
A cianin származékok (5. ábra 8.) fontos szerepet töltenek be optikai képalkotásban és célzott hatóanyagleadásban. Fotolabilis védőcsoportként először Schnermann és munkatársai használták. Munkájukban olyan cianinokat állítottak elő, melyek egy fotooxidatív lépést követően képesek voltak különféle aminok leadására. Bár a gerjesztési hullámhosszuk már a NIR tartományban található (800 nm), a fotooxidációs mechanizmus miatt szükséges oxigén jelenléte, valamint a hatóanyagok felszabadítása lényegesen lassabb a korábban bemutatott csoportokhoz képest. (24) Ennek ellenére két úttörő munkájukban fotoaktiválható antitest-hatóanyag konjugátumokat hoztak létre, melyek hatását *in vivo* is vizsgálták tumor xenograft modelleken. (25) Az elmúlt években Szymanski és Feringa kifejlesztettek egy új Cy7 származékot, mely hatékonyan reagál közeli-infravörös tartományú fényre. A tervezést számítógépes modellezéssel végezték, hogy a vegyület megőrizze biokompatibilitását és vízoldhatóságát. A photocage különösen ígéretes klinikai felhasználásra, mivel aktiválása oxigénfüggetlen, így alacsony oxigénkoncentrációjú (hipoxiás) daganatos szövetekben is alkalmazható. (26) Štacko és munkatársai nem sokkal ezután írtak le hasonló szerkezetű, heterolitikus kötésfelhasadásra képes cianin-alapú fotolabilis vegyületeket. A vegyületek kvantumhasznosítási tényezője ugyan alacsony, azonban képesek alkoholokat, fenolokat, aminokat és tiolokat felszabadítani vizes közegben NIR fény hatására. (16)

3.3.Xanténvázas vegyületek: a fluorofóroktól a fotolabilis vegyületekig

3.3.1. Szerkezeti tulajdonságok

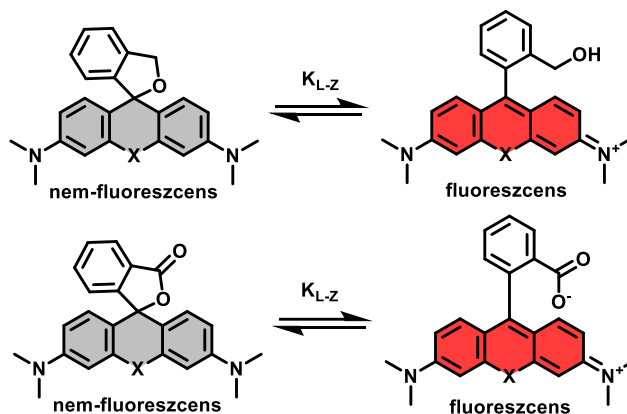
A xanténváz központi gyűrűjét egy pirán heterociklusos gyűrű adja, melyhez két oldalról benzolgyűrűk kapcsolódnak. (27) A xanténvázas vegyületek a fluoreszcens festékek osztályába tartozó háromgyűrűs molekulák, ide sorolhatók például a rodamin, a fluorescein, és a rodol. A festékek 9-es pozícióban karboxifenil-részletet tartalmaznak, mely ugyan nem része a konjugációnak, azonban blokkolja az egyébként elektrofil pozíciót a nukleofilekkel szemben, így egy stabilabb vegyületet eredményez. A rodaminok, melyek karboxifenilrészletet tartalmaznak pH-, illetve polaritásérzékeny vegyületek és szerkezetileg csak az alapváz 3-as és

6-os pozíciójában elhelyezkedő szubsztituensekben különböznek. A 9-es pozícióban aromás részletet nem tartalmazó származékokat hidroxifluoron-, aminofluoron- és pironinvázas vegyületeknek nevezzük. (8. ábra).



8. ábra. Az ábrán a xantén-alapváz szerkezete és számozása (a), pironin-váz szerkezete és számozása (b), 9-es pozícióban karboxifenilrészletet tartalmazó fluorescein (c), rodol (d) és rodamin (e) fluoreszcens festékek szerkezete és hidroxifluoron (f), aminofluoron (g) és pironin (h) alapváz szerkezete látható (2)

A rodamin és ezzel analóg festékeknél megfigyelhető a fluoreszcens forma és egy szintelen (leuko-) forma egyensúlya. A leuko-forma (heterociklusos spiro-forma) úgy alakul ki, hogy a felső gyűrűn található nukleofil karakterű funkciós csoport (pl. COO^- , OH) az alapváz 9-es pozíciójába támad és egy gyűrűs rendszerré zár be. (9. ábra) (28)



9. ábra. Rodaminszármazékok „nyitott” és „zárt” formája közötti egyensúly

A nem-fluoreszcens „zárt” heterociklusos spiro-forma és a fluoreszcens „nyitott” (iker)ionos forma között dinamikus egyensúly áll fent. (9. ábra) A formák egymásba alakulását (spirociklizáció) leíró egyensúlyi állandó értéke függ az oldószer hidrogén-akceptor

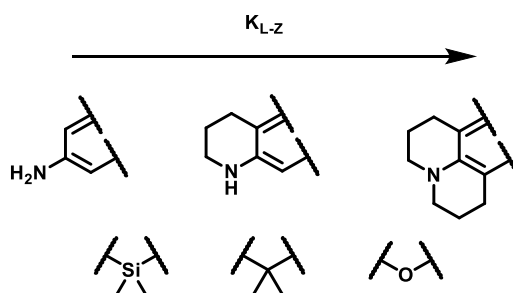
tulajdonságától, illetve dielektromos állandójától. Az egyensúlyt befolyásolja még a hőmérséklet, a pH, illetve a minta koncentrációja. (29)

$$K_{L-Z} = \frac{[Z]}{[L]} \quad (2.)$$

A 2. egyenletben szereplő [Z] leírja a „nyitott” (ikerionos, „*zwitterionic*”) forma-, az [L] (színtelen, *leuko*) pedig a „zárt” forma százalékos arányát a mintában (3.). (30)

$$[L] = 1 - [Z] \quad (3.)$$

A K_{L-Z} erősen függ a központi atomtól vagy szubsztituenstől, illetve 3-as és 6-os pozícióban elhelyezkedő, úgynevezett auxokrómok tulajdonságaitól (10. ábra). Az auxokróm egy olyan atom vagy csoport, amely a kromofórhoz kapcsolódva módosítja annak abszorpciós tulajdonságait. (3) Ilyen, elektronküldő sajátsággal rendelkező csoportok lehetnek az amino, a tetrahidrokinolin és a julolidin. A felsorolt auxokrómok elektronküldő tulajdonsága fokozatosan nő, ezzel az egyensúly az ionos „nyitott” szerkezet felé billen. (31)



10. ábra. A központi atom vagy csoport, illetve a 3-as és 6-os pozícióban elhelyezkedő auxokróm hatása az K_{L-Z} egyensúlyi állandóra (31)

A festékek abszorpciós és emissziós maximumának eltolására számos stratégia született, melyek felhasználhatók fotolabilis védőcsoportok tervezése során is. A vöröseltolás kulcsfontosságú stratégiai részben átlapolnak a spirociklizáció egyensúlyának eltolási lehetőségeivel: **1)** π -konjugáció kiterjesztése, **2)** a központi heteroatom cseréje a 10-es pozícióban és **3)** a szubsztituensek módosítása 3-as és 6-as pozícióban (8. ábra). A szerkezeti módosítások változó mértékű batokróm (vörös-) eltolódáshoz vezetnek. (2) (3)

1) π -konjugáció kiterjesztése:

2023-ban Liu és munkatársai π -konjugáció kiterjesztési módszert ismertettek, amely egyfoton-emissziós rodaminokból, kétfoton-emissziós rodamin-analógokat eredményezett. A váz kiterjesztését a pirán gyűrűhöz kapcsolódó benzol gyűrűkön (8. ábra) folytatták. (32) Ugyanezen évben tanulmány született a fuzionált benzolgyűrűt tartalmazó

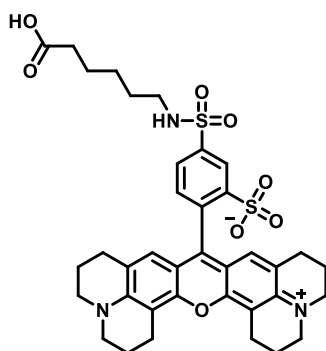
rodaminszármazékokról, az úgynevezett benzorodamin festékekről. A kapcsolódó benzolgyűrű helyzetének függvényében, tárgyalhatunk lineáris és hajlított benzorodaminokról. Ezen szerkezetek jelentős vöröseltolódást mutatnak. (2) A π -konjugáció kiterjesztésére továbbá alkalmazták az amino csoport alkilezését, valamint más fluorofórokkal történő hibridizációt. A hibrid rodamin festékek különösen elterjedtek a kémiai biológiában, mivel magas kvantumhozamuk, jó stabilitásuk és alacsony molekulatömegük kiváló tulajdonságokat nyújtanak. (33)

2) központi heteroatom cseréje:

A xantén-típusú festékek központi heteroatomjának cseréje kulcsfontosságú lehet a festékek tervezésében (8. ábra). Lavis és munkatársai azt vizsgálták, a központi oxigénatom cseréje $C(CH_3)_2$ vagy $Si(CH_3)_2$ csoportra hogyan befolyásolja a festék abszorpciós maximumát, valamint a K_L -z egyensúlyi állandót. Vizsgálatok során vöröseltolódást tapasztaltak egyre nagyobb elektronegativitású atomot tartalmazó csoport beépítésével, a jelenség az egyensúlyi állandó csökkenésével járt (10. ábra, alsó sor). (28)

3) szubsztituensek módosítása 3-as és 6-as pozícióban:

A xanténvázis vegyületek 3-as és 6-os szubsztituensei (8. ábra) elektronküldő csoportként működnek, stabilizálva ezzel az alapváz π -konjugációját. A fluoreszcein vázzal rendelkező vegyületek gerjesztési hullámhossza a legalacsonyabb, míg a rodol és rodamin esetében batokróm eltolódás figyelhető meg. Az elektronküldő effektus összehasonlítására jó példa a Rodamin 123 ($-NH_2$), a Rodamin 6G ($-NH_2$) és a rodamin B ($-NEt_2$) vegyületek. Utóbbiakban nitrogénatom etil-szubsztitúciójával elektronküldő csoportot vezetünk be, így a vegyületek emissziós maximuma batokróm eltolódást mutat: 532 nm-ről 553 nm-re, majd 576 nm-re (az oldószer etanol), vagyis a jobb elektronküldő csoportok elősegítik a rodamin festékek batokróm eltolódását. (2) Az auxokrómok julolidinre való cseréje során, tehát a nitrogénatomok gyűrűbe zárásának következményeként további vöröseltolódás figyelhető meg. A jelenségre kiváló példa a Texas Red-X (11. ábra) julolidinnel kiterjesztett fluoreszcens festék, melynek abszorpciós maximuma 595 nm. (34)

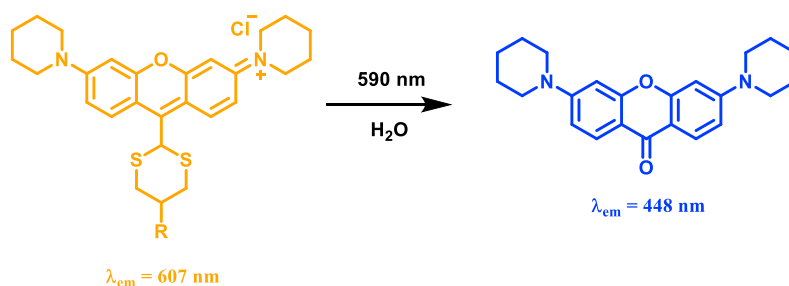


11. ábra. Texas Red-X fluoreszcens festék szerkezete (34)

A Texas-Red típusú fluoreszcens festékek remekül alkalmazhatók sejten belüli Ca^{2+} érzékelésére. A kalcium ionok (Ca^{2+}) számos fiziológiai folyamatban másodlagos hírvivőként szerepelnek, legyen szó jelátvitelről az idegrendszerben, vagy akár izomösszehúzódásról. A jelvivő kötődési hajlama a jelfogóhoz lehet gyenge (low-affinity) és erős (high-affinity), utóbbival meghatározható a Ca^{2+} mennyisége a citoszolban. (35)

3.3.2. Xanténvázaz fotolabilis védőcsoportok

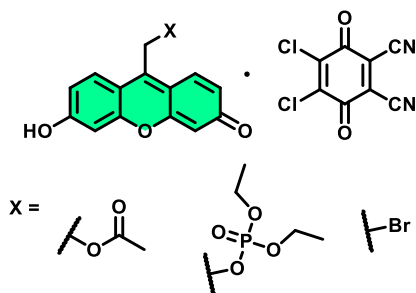
A xanténvázaz fotolabilis vegyületekben rejlő potenciált először Klán, Wirz és munkatársaik ismerték fel 2012-ben. Munkájuk során egy új pironinszármazékot állítottak elő, melyet sárga fénnel besugározva szén-szén kötés hasadást tapasztaltak (12. ábra). A kiindulási vegyület és a végtermék jellegzetes fluoreszcenciájából adódóan a reakció nyomon követhető. (36)



12. ábra. Fluoreszcens pironinszármazék fotolízise (36)

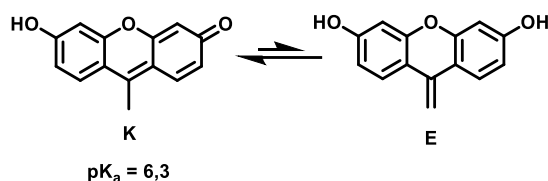
Későbbi úttörő kutatásukban szintézisutat dolgoztak ki egy fluoreszcein-analóg photocage megalkotására. A többlépcsős szintézisben a 9-metilxanténium származék oxidációja ugyan nehéz feladatnak bizonyult, végül a vázat sikeresen oxidálták DDQ-val, így létrejött egy töltés-transzfer komplex. (13. ábra) A célmolekulák meglehetősen jó sötétstabilitással rendelkeznek és hatékonyan bomlanak fényre ($\phi_x \leq 2,4\%$), fotolízisük során sikeresen felszabadítható dietil-foszfát, acetát és bromid vizes közegben. A foszfátpufferben

(pH = 7) oldott komplexek abszorpciós maximuma ~528 nm (X = -OC(O)CH₃), 522 nm (X = -OP(O)(OCH₂CH₃)₂) és 519 nm (X = -Br) hullámhosszúságú.



13. ábra. A szintetizált DDQ-komplexek szerkezete (37)

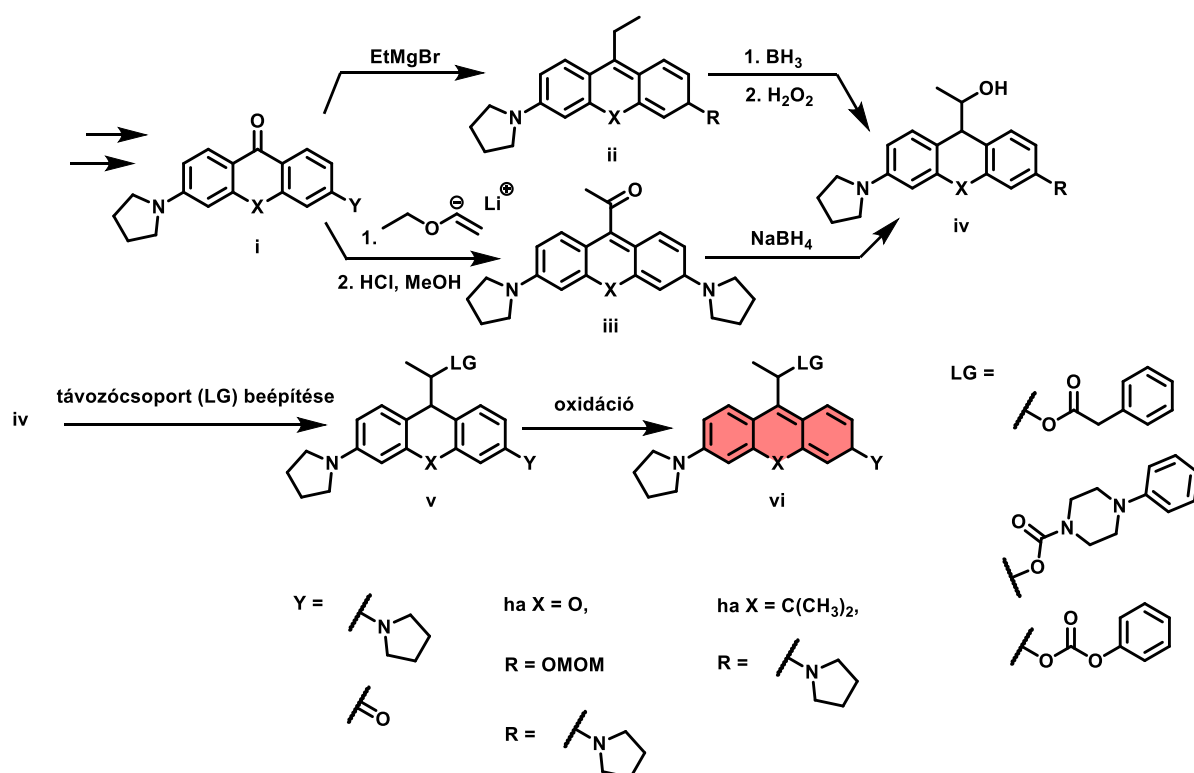
Klán és munkatársai továbbá a kromofór savi disszociációs állandóját is meghatározták titrálással. A mérések során pH-, illetve oldószerfüggő „keto” és „enol” forma közti tautomerizációt tapasztaltak. A 9-metilxanténium váz pH-függő szerkezetvizsgálatakor azt tapasztalták, hogy a semleges szerkezet és anion esetében a „keto” forma dominál. (14. ábra) A tautomerizáció oldószerfüggését számos közegben vizsgálták, melyek közül kiemelném a hidrogén-kötés akceptor DMSO oldószer alkalmazását. Ilyen körülmények között az egyensúly az „enol” forma felé billen. (37)



14. ábra. Semleges 9-metilxantén származék domináns (K = "keto") és a kevésbé domináns (E = "enol") szerkezete (37)

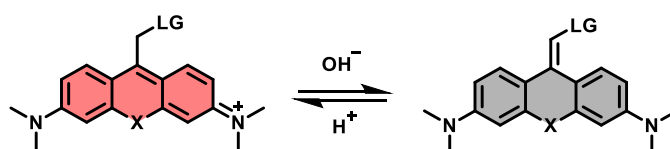
A xanténvázas vegyületek ezt követően háttérbe szorultak, jó pár évig nem született újabb eredmény ezen a területen. Kutatócsoportunkban néhány éve kezdtek foglalkozni fejlesztésükkel, az általuk tervezett és sikeresen előállított rodamin-analógok vízoldhatók, alacsony molekulatömeggel rendelkeznek, 540-640 nm hullámhosszúságú tartományban gerjeszthetők és kiváló fotokémiai kvantumhasznosítási tényezővel rendelkeznek. Az új photocage-ek segítségével képesek voltak karbonsavak, aminok és fenolok hatékony felszabadítására zöld, sárga és vörös fénnel. Kutatócsoportunk tagjai emellett megmutatták a vegyületek alkalmazhatóságát fotoaktiválható kemoterápiában is. Az SN-38 egy kamptotecin-származék topoizomeráz I inhibitor, melynek citotoxicitását az új fotolabilis védőcsoportokkal (2. ábra; **y**, **z**) jelentősen tudták blokkolni. A sejtes kísérletek szerint a **y**-SN-38 főként a mitokondriumban, a **z**-SN-38 pedig a lizoszómákban lokalizálódik és sárga, valamint vörös fény besugárzásával sikerült visszanyerni a szer eredeti hatását. (1)

A védőcsoportok általános szintézisútjának első kulcsfontosságú köztiterméke a xanton (i), melynek karbonil szénatomja nukleofilekkel könnyen támadható. Fémorganikus reakciókkal a szénatom elektrofilicitását kihasználva a váz 9-es pozíciójában szubsztituált intermediert szintetizáltak (ii, iii). Az így előállított vegyületekből kialakították a benzilhelyzetű hidroxilcsoportot tartalmazó kulcsintermediereket (iv). Ezt követően a vegyület hidroxilcsoportjára távozócsoportot kapcsoltak észter-, karbonát-, illetve karbamátkötésen keresztül (v). Az utolsó lépésben, oxidációval fényre érzékeny xanténvázasként állítottak elő (vi). (15. ábra) (1)



15. ábra. Rodamin-analógok előállításakor keletkező intermedierek és az általános szintézisút (1)

Az eredeti szintézisterv szerint a célvegyületek nem tartalmaztak szubsztituenst a 2'-es pozícióban, az így előállított molekulák spontán deprotonálódásával vagy tautomerizációjával megjelent egy színtelen melléktermék, a vegyület „exo” formája. (16. ábra)

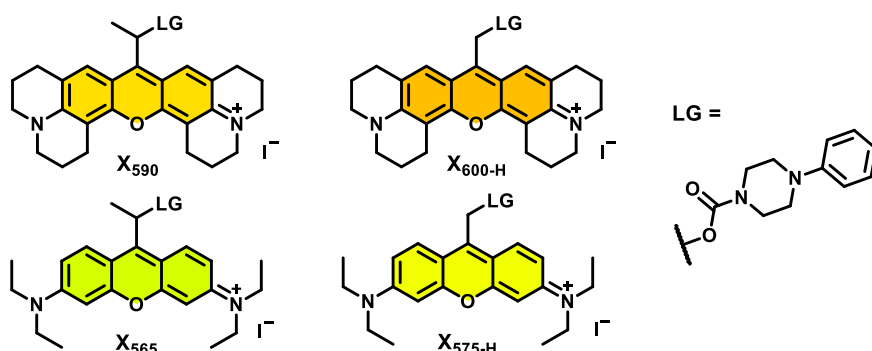


16. ábra. Deprotonálódás hatására megjelenő „exo” forma

A melléktermék visszaszorítása érdekében egy kulcsfontosságú metilcsoportot építettek be a 2'-es pozícióba, mely biztosította a végtermékek stabilitását.

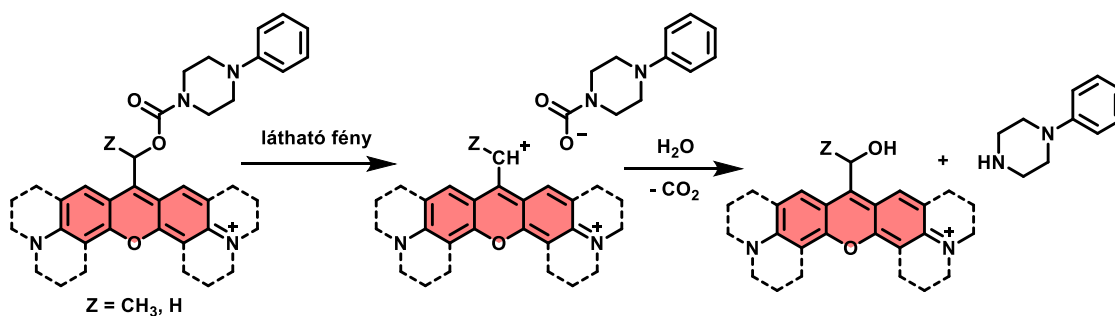
4. Célkitűzések

A munkám célja olyan vöröseltolt xanténvázias fotolabilis vegyületek előállítása és vizsgálata volt, melyekben a 3-as és 6-os pozíciókban lévő nitrogénatomok a Texas Red-hez (11. ábra) hasonlóan többgyűrűs rendszereket alkotnak. Azt is vizsgáltam, hogy elég stabil-e a julolidinnel kiterjesztett váz ahhoz, hogy 2'-es pozícióban elhagyható legyen a plusz metilcsoport a szintelen, „exo” forma megjelenése nélkül. Amennyiben sikeres a szintézis, új funkciós csoportok (pl. primer aminok, fenolok éterként, szulfonamidok) kapcsolására, illetve további hatóanyagok felszabadítására adódik lehetőség. A célvegyületek mellé olyan referencia-vegyületeket is előállítottam, melyek dietilamino-szubsztituensekkel rendelkeznek, így vizsgálható a vöröseltolási stratégia és a stabilitás szerkezetfüggése. (17. ábra)



17. ábra. Xanténvázias célvegyületek, illetve referencia-vegyületek szerkezete

A fotolabilis védőcsoportok nevezékét a kutatócsoportunk munkatársai alkották, annak érdekében, hogy a vegyületek tárgyalása egyszerű legyen (X_{Y-Z} , ahol X = xantén; Y = $\lambda_{\max}$ és amennyiben nem tartalmaz 2'-metil szubsztituenst, Z = H). (17. ábra)



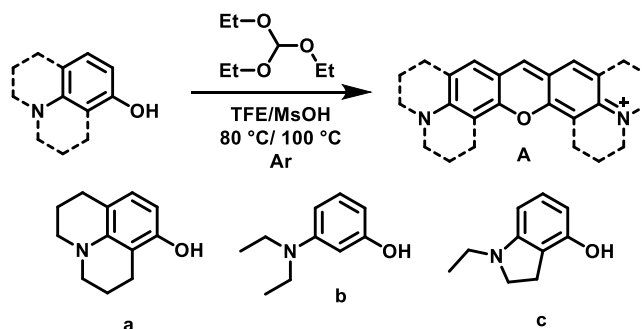
18. ábra. A fotolízis várható mechanizmusa

A szerkezeti módosítások további kiemelt fontosságú célja, hogy a photocage-ek hatékonyan bomoljanak fény hatására. A tervezett célvegyületekben fiziológiás körülmények között is stabil karbamát kötésen keresztül kapcsolódik a távozócsoport, a fotolízis várható mechanizmusa a 18. ábrán látható.

5. Eredmények és kiértékelésük

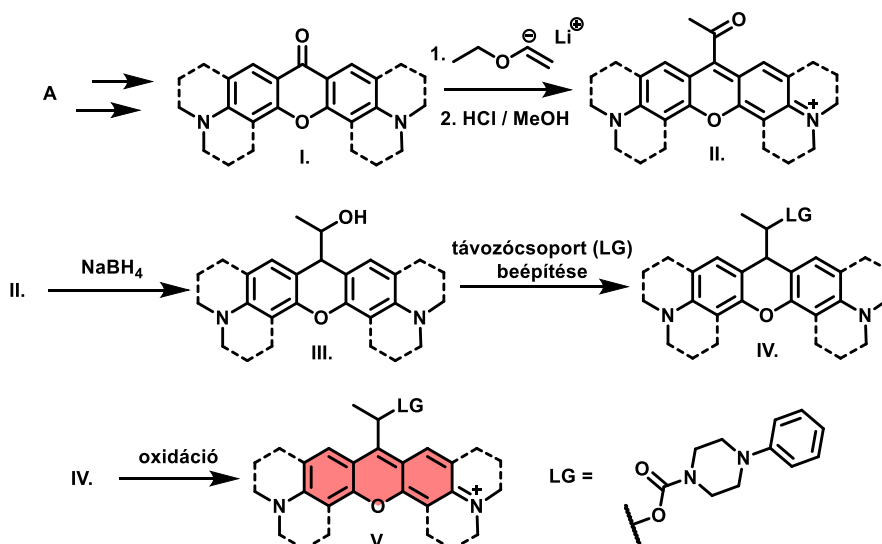
5.1. Célvegyületek előállítása

A 2'-metil xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok szintézisét a korábbiakban csoportunkban publikált általános szintézisút alapján terveztük (19. ábra). (1) Elsőként kialakítottam a pironinvázat (A).



19. ábra. Próbareakciók a pironinváz kialakítására

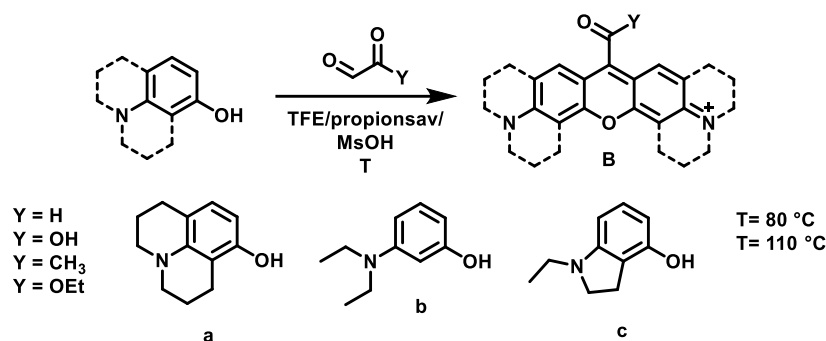
A pironinszármazékokból előállítottam a rodaminváz festékek alapját is képző xantonokat (I.) (38), melyek karbonil szénatomja nukleofilekkel könnyen támadható. (20. ábra) A következő lépésben acilcsoportot építettem be a 9-es pozícióba „umpolung” stratégia szerint, vagyis olyan reakciósorozatot alkalmaztam, ami az elektrofil karbonil szénatom formális acilezését eredményezte egy acil-anion szintézis ekvivalens segítségével.



20. ábra. Általános szintézisút továbbfejlesztett, 2'-CH₃ xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok előállítására (LG = távozócsoport) (1)

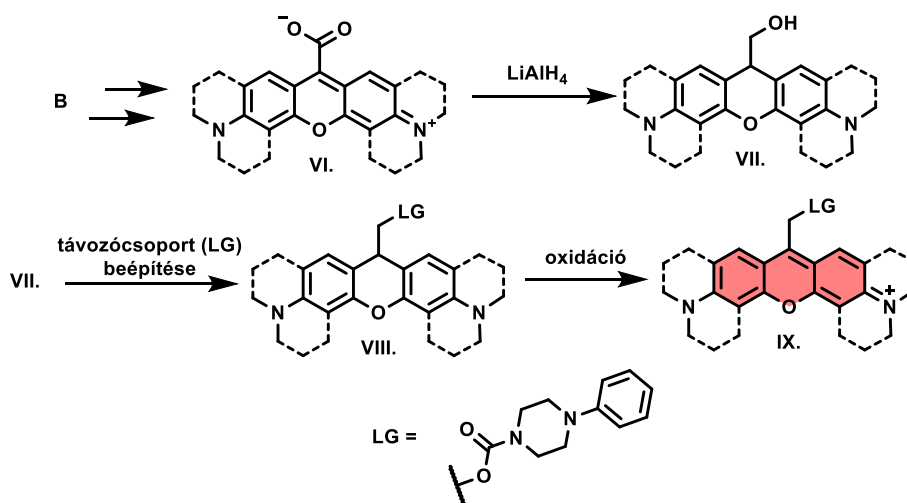
A ketont (II.) NaBH₄-del redukáltam (III.) szekunder alkohollá, majd karbamátkötésen keresztül beépíttem a szekunder amin távozócsoportot (IV.). A vázat klóranillal oxidáltam, majd HI oldat hozzáadásával kicseréltem az elleniont (V.). (20. ábra)

A 2'-H xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok szintézisének első fontos intermediere a 9-es pozícióban karboxilcsoportot tartalmazó vegyület (VI.). Számos próbareakciót végeztem a vegyület (B) előállítására és azt találtam, hogy nincs általános eljárás. (21. ábra) A kondenzációs lépések sikeressége függ a kiindulási alkohol (a,b,c) *N*-atom szubsztituenseitől, valamint a használt glioxál-származékoktól.



21. ábra. Próbareakciók a 9-es pozícióban szubsztituált pironinváz kialakítására

A karbonsavat LiAlH_4 -del redukálva kialakítható a primer alkohol (VII.), melyből az eddigiekben is alkalmazott lépésekkel szintetizálható a fotolabilis célvegyület. A primer alkohol reaktívabb, mint a szekunder alkohol, így gyorsabb az aktiválási lépés és a távozócsoport kapcsolása. (22. ábra)



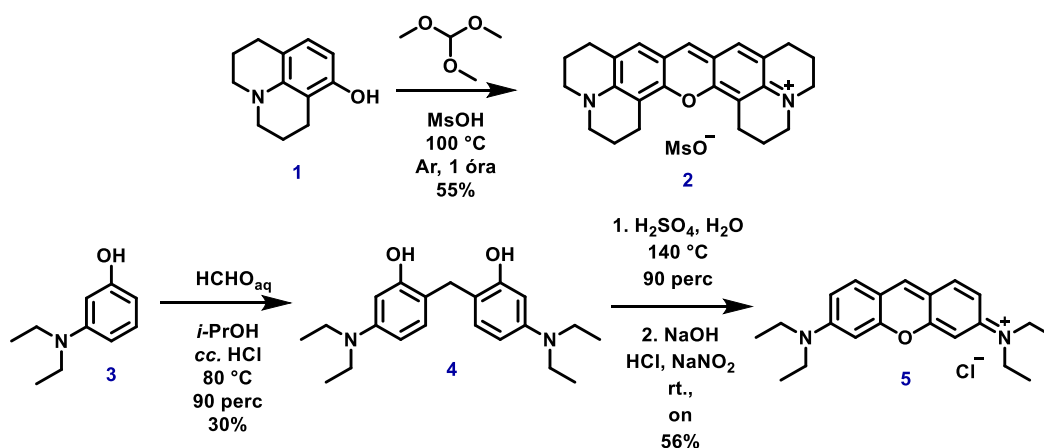
22. ábra . Általános szintézisút továbbfejlesztett, 2'-H xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok előállítására (LG = távozócsoport)

5.1.1. X₅₉₀ és X₅₆₅ célvegyületek szintézise – 2'-CH₃ származékok

Julolidinnel kiterjesztett és bisz-dietilamino-xanton szintézise

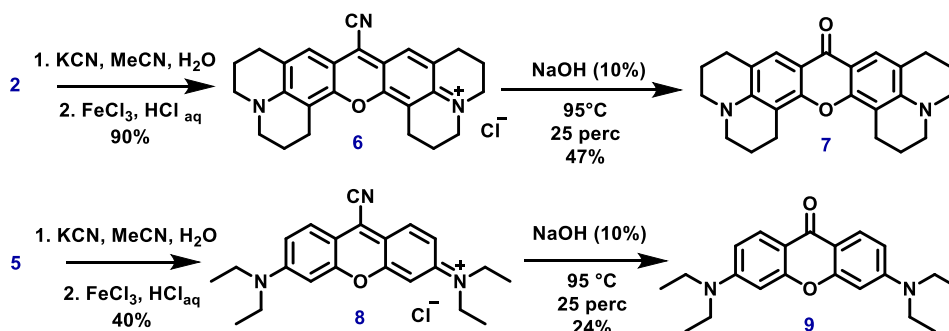
A fotolabilis védőcsoportok előállítását a pironin alapváz szintézisével kezdtem. A próbareakciók során bebizonyosodott, hogy az alapváz előállítására nincs általános eljárás, a reakció sikeressége függ a szubsztitúciós mintázattól. A julolidinnel kiterjesztett alapváz (2)

előállításához 8-hidroxi-julolidint (**1**) reagáltattam trimetil-ortoformiáttal inert atmoszféra alatt. A reakció 100°C-os olajfürdőn, metánszulfonsav jelenlétében 1 óra alatt lezajszódott. A dietilamino-szubsztituált referenciavegyület (**5**) előállítására ezek a körülmények nem alkalmasak, így az irodalomból ismert módon alakítottam ki a pironin-alapvázat. (39) A 3-dietilaminofenolt (**3**) 36%-os formaldehiddel forraltam savas körülmények között *i*-PrOH-ban. A sikeres összekapcsolást követően kialakítottam a központi pirán gyűrűt, ehhez a **4**-es számú vegyületet tisztítás nélkül kénsavban forraltam 90 percen keresztül, majd a xanténvázat NaNO₂-tel oxidáltam cc. sósav jelenlétében lila színű xanténiummá. (40) (23. ábra)



23. ábra. Julolidinnel kiterjesztett-, és bisz-dietilamino-pironin alapváz szintézise

Az előállított **2**-es és **5**-ös számú vegyületeket MeCN és víz elegyében oldottam, majd a váz 9-es elektrofil pozíciójába beépítettem egy cianocsoportot. A reakcióelegyhez KCN-ot adtam és 15 percen át kevertettem, majd FeCl₃-oldatot csepegtettem hozzá. (41) A cianid addíciót követően a Fe(III) ionok biztosították a váz oxidációját a festékekké. A cianocsoport elektronszívó tulajdonsága miatt a vegyület abszorpciós maximuma eltolódik (pl. a **6**-os számú vegyület, mely rodamin 800 néven ismert abszorpciós maximuma $\lambda_{\max} = 682$ nm (42), az előállított vegyület mért értéke $\lambda_{\max} = 683$ nm). (24. ábra)

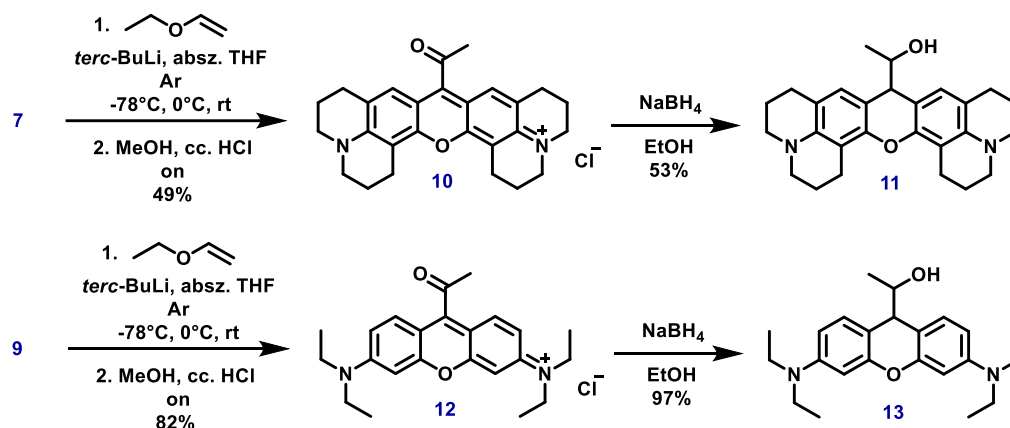


24. ábra. Julolidinnel kiterjesztett-, és bisz-dietilamino-xanton szintézise

A julolidinnel kiterjesztett (7) és a biszdiethylamino-xantont (9) a 6-os és 8-as számú vegyületek hidrolízisével állítottam elő, ennek során a vegyületeket 10%-os NaOH-oldatban, nagyjából fél órán át 95°C-on kevertetem. (38) (24. ábra)

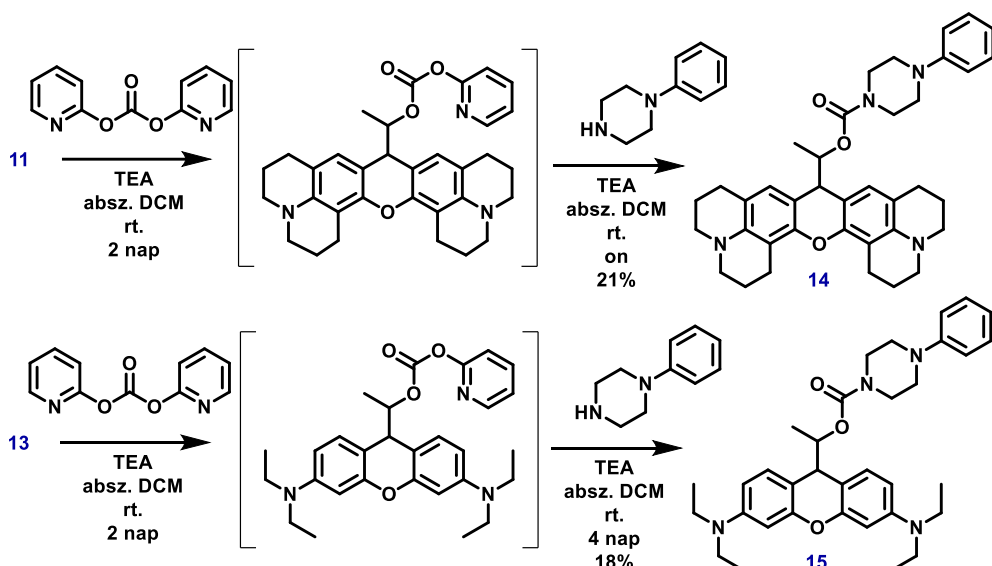
X₅₉₀ és X₅₆₅ fotolabilis védőcsoportok szintézise

A 7-es, illetve 9-es számú vegyületekből acil-pironinokat állítottam elő, a csoport korábban bemutatott „*umpolung*” szintézisstratégiája alapján. Ezt úgy értem el, hogy inert atmoszféra alatt, -78 °C-on, etil-viniléterhez *tert*-butil-lítiumot adtam abszolút THF oldószerben, majd a reakcióelegyet elszíntelenedésig jeges-vizes fürdőre helyeztem. A folyamat nagyjából 5 percet vesz igénybe, az esetlegesen megmaradt *t*Bu-Li ekkor elbomlik és az oldatban csak a szükséges fémorganikus reagens, az etil-viniléter lítium marad. Ezt követően az elegyet ismét -78 °C-ra hűtöttem, majd hozzáadtam a xantonszármazék vízmentes THF-os oldatát. A reakcióelegyet 1 órán át szobahőmérsékleten kevertetem, majd a köztterméket cc. sósavval hidrolizáltam. Az előállított acil-pironinszármazékokat (10-es, illetve 12-es számú ketonok) etanolban oldottam és NaBH₄-del redukálva a kulcsintermedier szekunder alkoholokká alakítottam. (25. ábra)



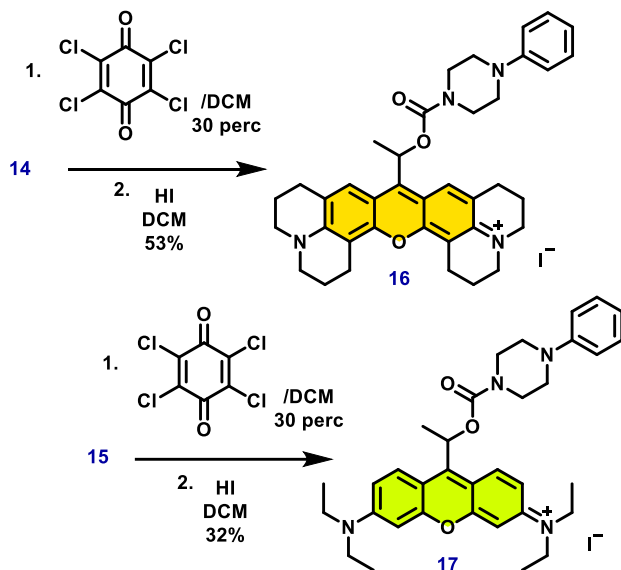
25. ábra. Julolidinnel kiterjesztett-, és bisz-dietilamino-xanténvázás szekunder alkohol szintézise

A szekunder alkoholokat DCM-ban oldottam és DPC-tal aktiváltam, trietil-amin jelenlétében két napon át szobahőmérsékleten. A kutatócsoportunk munkatársai a korábbi szintézisek során DSC-tal aktiválták az alkoholt, azonban a reakcióidő így hosszabb volt. A DPC egy egyszerűen szintetizálható vegyület, melynek alkalmazásával ideális esetben 1-2 napon belül lejátszódik az aktiválás. A közttermékeket DCM-ban oldottam, majd beépítettem a fenilpiperazin távozócsoportot karbamátkötésen keresztül. (26. ábra) A reakcióelegyet egy éjszakán keresztül kevertetem szobahőmérsékleten, majd fordított flash kromatográfiás módszerrel tisztítottam módosított (C18) szilikagéllal feltöltött oszlopon. A tisztítást szükséges fordított fázison végezni, ugyanis a termék normál fázison csak nagy veszteségekkel izolálható.



26. ábra. Fenilpiperazin távozócsoport beépítése

Az izolált **14**-es, illetve **15**-ös számú vegyületet *para*-klóranillal oxidáltam. A kialakuló bázikus ellenion a korábbi tapasztalatok alapján kedvez az „exo” forma kialakulásának, emiatt anioncserére van szükség. Az oxidált vegyületeket sötétben 1-2 ml DCM-ban oldottam, majd 7,5 M-os hidrogén-jodid-oldatot adagolva kicseréltem az elleniont. A **16**-os, illetve **17**-es számú photocage-eket rögtön tisztítottam flash kromatográfiás eljárással. (27. ábra)



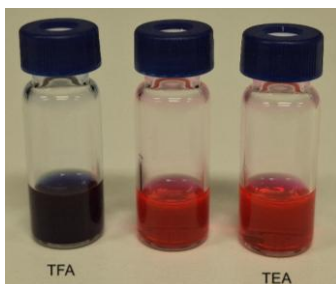
27. ábra. X₅₉₀ és X₅₆₅ fotolabilis védőcsoportok szintézise

5.1.2. X_{600-H} és X_{575-H} célvegyületek szintézise – 2'-H származékok

Julolidinnel kiterjesztett és biszdietilmino-xanténvázaz primer alkoholok szintézise

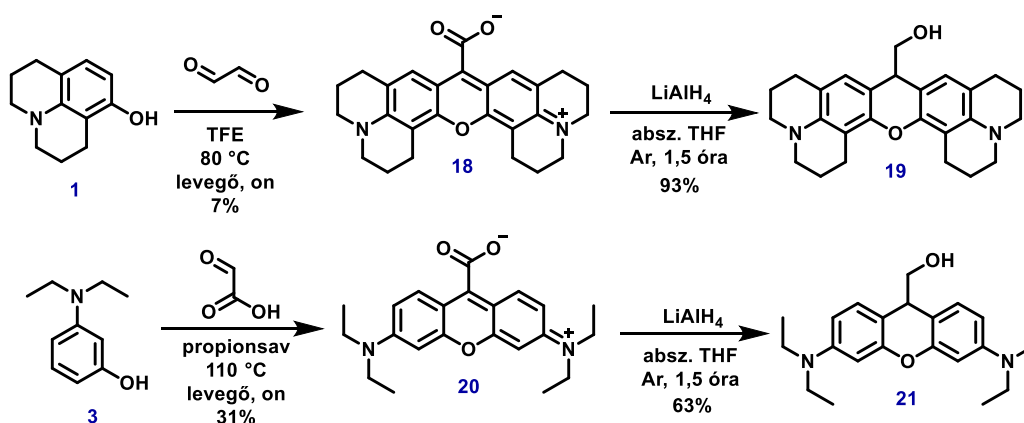
A fotolabilis védőcsoportok szintézisét 9-es pozícióban karboxilcsoport beépítésével kezdtem. A próbareakciók alapján a váz kialakításának sikeressége nagyban függ a

szubsztitúciós mintázattól. A kereskedelemben kapható 8-hidroxijulolidin (**1**) és 40%-os glioxál-oldat reakciójával előállítható a julolidinnel kiterjesztett 9-karboxipironin (**18**). A reakcióelegyet két éjszakán keresztül keverttem 80 °C-on TFE oldószerben, mely során a váz levegőn oxidálódott. A **18**-as számú vegyület előállítása ugyan sok melléktermék képződésével jár és tisztítása időigényes, a kondenzációs lépés mégis kulcsfontosságú a szintézis során. A vegyület érdekessége, hogy savas körülmények között színe kék, karboxilát protonálódása miatt, így akár pH-szenzorként is alkalmazható. (28. ábra)



28. ábra. Julolidinnel kiterjesztett 9-karboxipironin (**18**) savas, semleges, illetve bázikus közegben

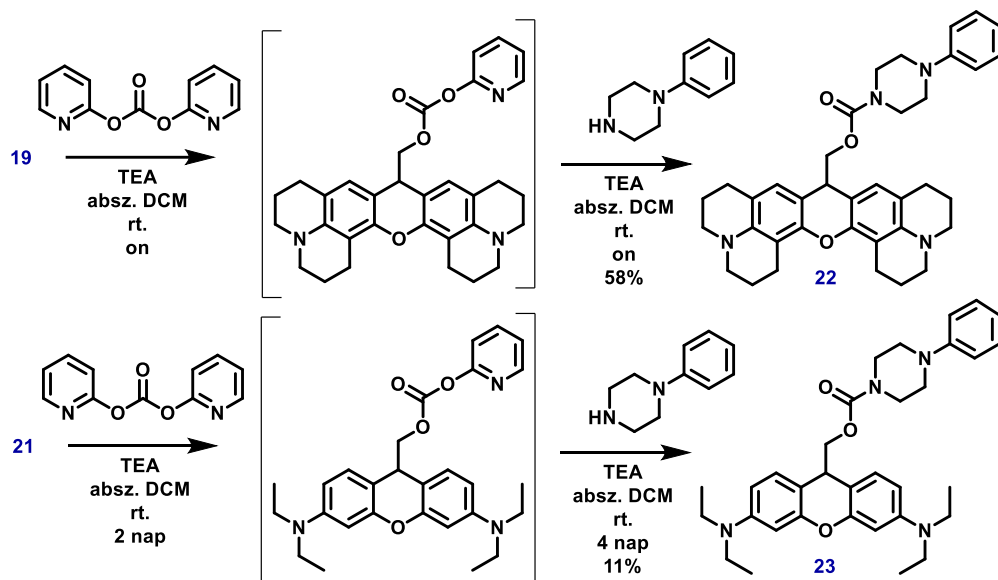
A 2'-CH₃ származékok szintézisében 4 lépéssel állítható elő az alkohol előállítására használt intermediér, míg a 2'-H származékok esetében egy lépéssel. Ugyanezen körülmények a referenciavegyület prekursorának előállítására nem használhatók. A dietil-szubsztituált 9-karboxipironin (**20**) szintéziséhez két molekula 3-dietilaminofenolt kapcsoltam össze glioxálsav monohidrát segítségével. A kiindulási anyagot propionsavban oldottam és 110 °C-on keverttem egy éjszakán át. A reakcióelegyet bepároltam és oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottam. A **18**-as és **20**-as számú karbonsavat inert atmoszféra alatt abszolút THF-ban oldottam, majd 4 ekvivalens 2 M-os LiAlH₄ THF-os oldatával redukáltam a xanténium vázat és a karboxilcsoportot primer alkohollá. (29. ábra)



29. ábra. Julolidinnel kiterjesztett-, és biszdiethylmino-xanténvázak primer alkoholok szintézise

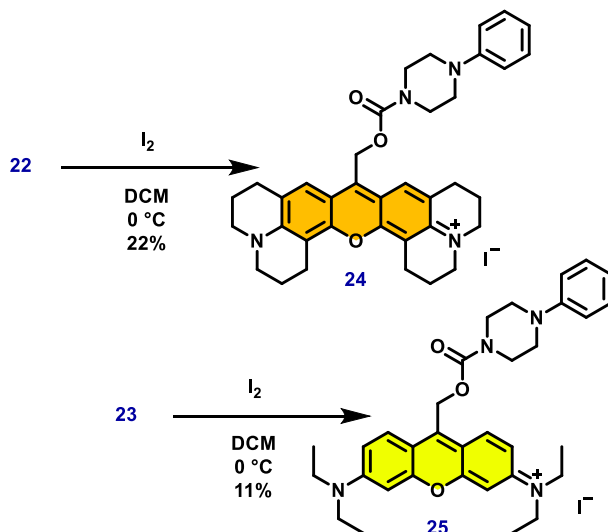
X_{600-H} és X_{575-H} fotolabilis védőcsoportok szintézise

A primer alkohol aktiválását és fenilpiperazin kapcsolását az X₅₉₀ és X₅₆₅ fotolabilis védőcsoportok szintézise szerint végeztem. (30. ábra)



30. ábra. Fenilpiperazin távozócsoport beépítése

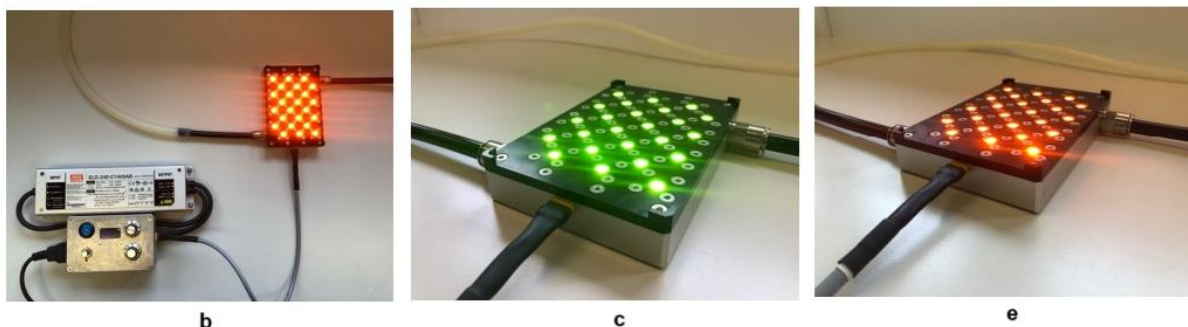
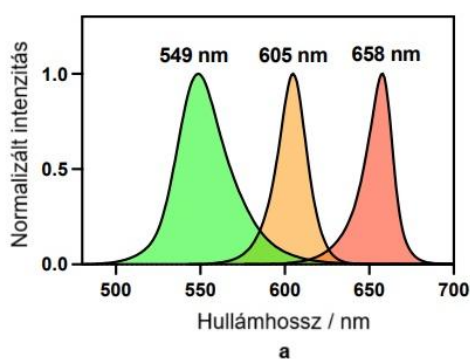
Az 22-es, illetve 23-as számú vegyületek sztöchiometrikus mennyiségű jóddal oxidálhatók, így a X₅₉₀ és X₅₆₅ vegyületekkel ellentétben nincs szükség ellenioncserére, továbbá a reakció pillanatszerű. A jodid ellenion jó stabilitást biztosít a végtermék számára, megakadályozza az „exo” forma képződését, valamint biokompatibilis. Az oxidált photocage-eket rögtön tisztítottam flash kromatográfiás eljárással. (31. ábra)



31. ábra. X_{600-H} és X_{575-H} szintézise

5.2. Fotolízis kísérletek

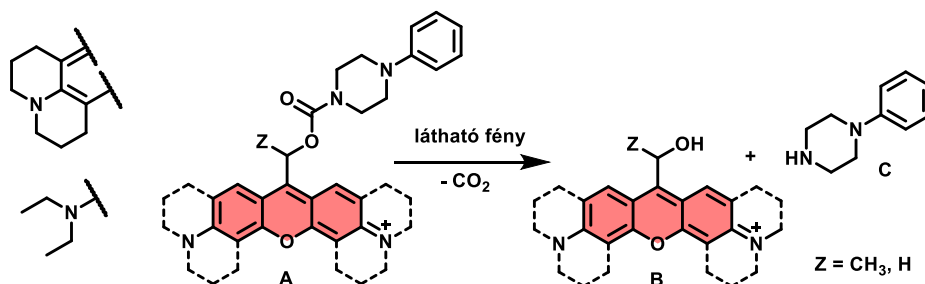
A távozócsoportok felszabadításához („*uncaging*” kísérlet) a kutatócsoportunkban használt, sejtes kísérletekhez gyártott zöld és narancssárga fényű LED-panelet használtam. A vegyületek abszorpciós maximumához választottam a megfelelő hullámhossztartományú fényforrást (zöld LED maximális emissziós hullámhossza 549 nm, a narancssárga LED-é 605 nm). A LED-ek névleges bemeneti teljesítménye 4 W, a fényintenzitás, valamint a besugárzás időtartama szabályozható. Abban az esetben, ha a fotolízis hosszabb bevilágítási időtartamot igényel, a LED-ek túlmelegedése vízhűtéssel, illetve időzített szünettel (X565 fotolabilis védőcsoport esetében 30 másodperc) megakadályozható. (32. ábra)



32. ábra. Az ábrán látható a LED-ek emissziós spektrumai (a), méréshez összeállított LED-panel (b) és a zöld (c), illetve narancssárga színű LED (e) (1)

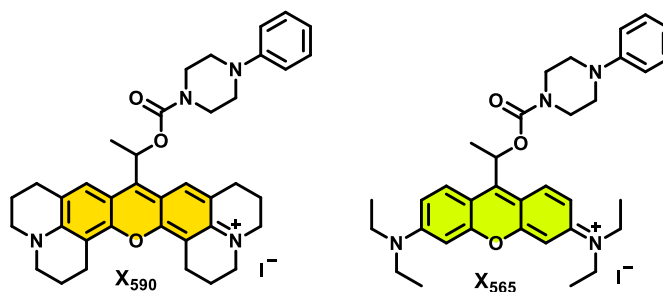
A vizsgálandó vegyületekből 1 mM-os törzsoldatot készítettem acetonitril oldószerben, majd HPLC tisztaságú vízzel 0,1 mM-ra hígítva két mintát készítettem. Az egyik mintát bevilágítottam megfelelő időtartamokra és a fenilpiperazin felszabadulását (33. ábra) HPLC-MS készüléken vizsgáltam. A kromatogramokat a fotolabilis védőcsoport (A), illetve a távozócsoport (C) abszorpciós maximumán ábrázoltam (35.-, 36.-, 38.-, illetve 39. ábra), emellett a kromatogram csúcsait integráltam a fotolabilis védőcsoport maximális abszorpciós hullámhosszán és kiszámoltam a kiindulási photocage százalékos arányát a mintában a besugárzási idő függvényében. A narancssárga (43. ábra) és a zöld (44. ábra) színű fénnel bevilágított mintákat egy ábrán jelöltem. A másik mintán sötétstabilitási vizsgálatokat végeztem, mely során fénytől védett helyen tartottam azt és adott időközönként (1-2 óra –

48 óra) HPLC-MS készüléken vizsgáltam a spontán hidrolízis és a melléktermékek képződésének mértékét. (40. ábra)



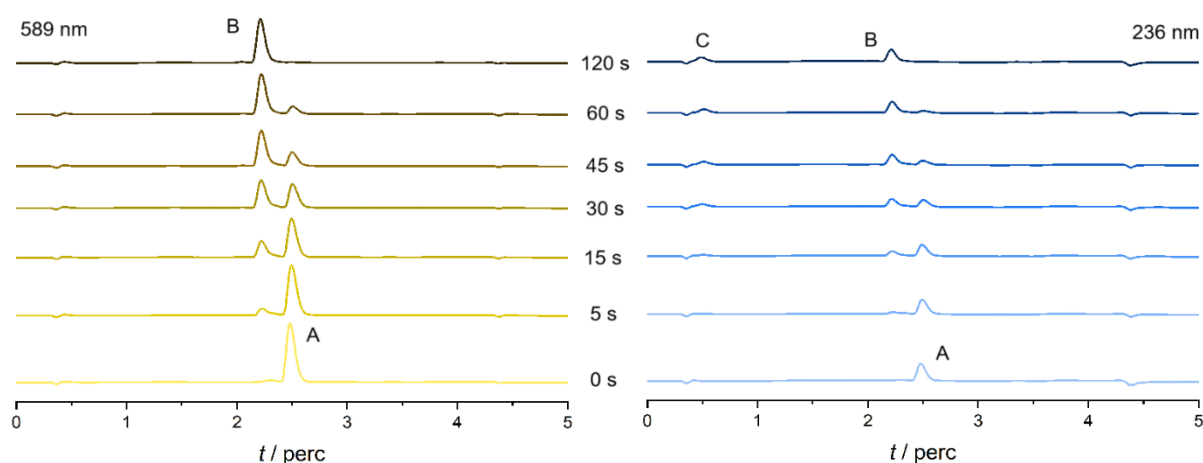
33. ábra. A kiindulási fotolabilis védőcsoport (A) és fotolízis során felszabaduló fenilpiperazin (C), valamint a visszamaradó alkohol (B) szerkezete.

X₅₉₀ és X₅₆₅ célvegyületek fotolízise és sötétstabilitása – 2'-CH₃ származékok



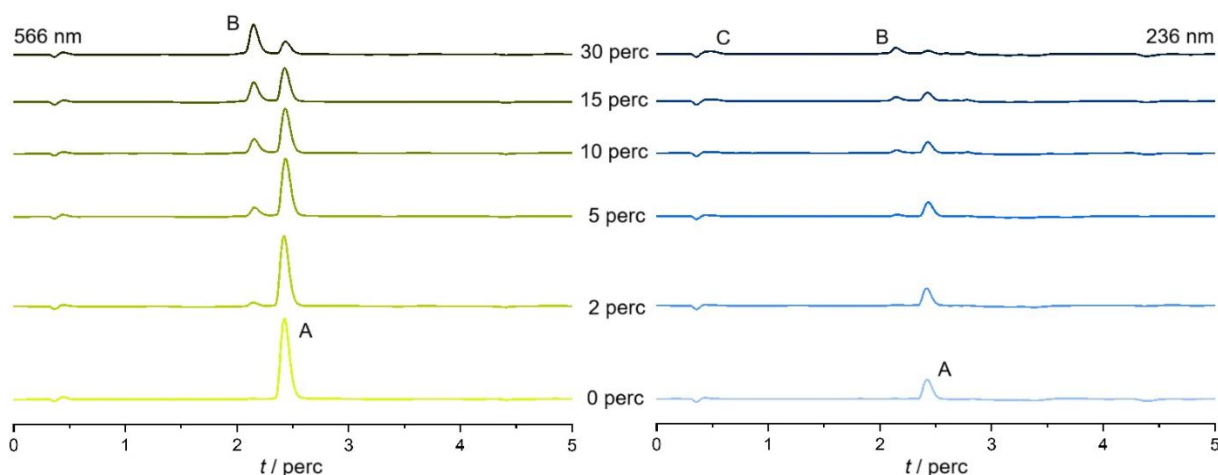
34. ábra. 2'-CH₃ származékok szerkezete

Az X₅₉₀ fotolabilis védőcsoportot (35. ábra; A) narancssárga színű fénnel világítottam be összesen 120 másodpercen keresztül, az „uncaging” kísérlet végére a fotolabilis vegyület szinte teljesen elbomlott. A kromatogramokon két új csúcs jelent meg 0,49 és 2,21 percnél (*t*).



35. ábra. X₅₉₀ fotolízisének kromatogramjai 589 nm-en ($\lambda_{\max}$ X₅₉₀) és 236 nm-en ($\lambda_{\max}$ LG) (A, B, C szerkezete 33. ábrán látható, *t* = retenciós idő)

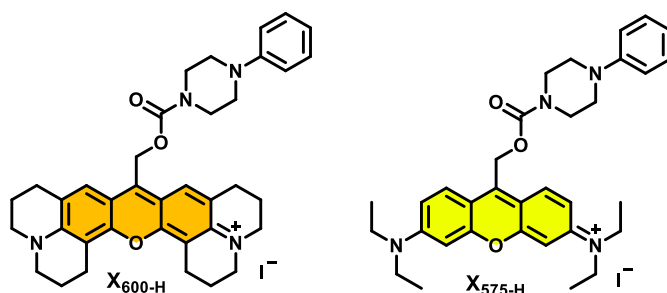
A tömegspektrum alapján az előbbi a felszabaduló fenilpiperazin (35. ábra; C) ($[M + H]^+$ mért (m/z): 163), mely igen rosszul detektálható, az utóbbi a fotolabilis védőcsoportból visszamaradó alkohol (35. ábra; B) ($[M]^+$ mért (m/z): 415). A fénytől védett mintán mért kromatogramokon analízisekor nem tapasztaltam melléktermékképződést. Illetve a csúcsintegrál (40. ábra; 24 óra után 90%) alapján a vegyület stabil. A vegyület önmagában nem bomlott, mélyhűtőben tartva több hónap után sem képződött melléktermék.



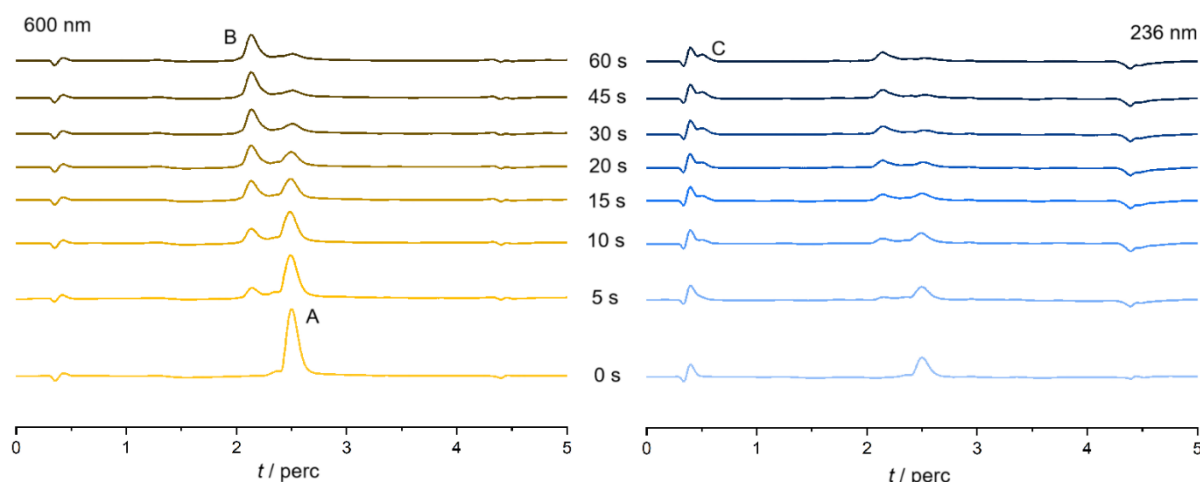
36. ábra. X₅₆₅ fotolízisének kromatogramjai 566 nm-en ($\lambda_{\max}$ X₅₆₅) és 236 nm-en ($\lambda_{\max}$ LG) (A, B, C szerkezete 33. ábrán látható, t = retenciós idő)

Az X₅₆₅ fotolabilis védőcsoportot (36. ábra; A) zöld színű fénnel világítottam be, a kísérlet végére megmaradt a kiindulási vegyület 18%-a. A dietil-származék lényegesen lassabban bomlott el fény hatására, mint az X₅₉₀ vegyület. A mintát összesen 30 percen keresztül világítottam be, 15 perc bevilágítás után melléktermékek képződését is tapasztaltam. A kromatogramokon két új csúcs jelent meg 0,49 és 2,15 percnél (t), az előbbi a felszabaduló fenilpiperazin (36. ábra; C) és az utóbbi a fotolabilis védőcsoportból visszamaradó alkohol (36. ábra; B) ($[M]^+$ mért (m/z): 367). A fénytől védett mintán mért kromatogramokat kiértékelve azt tapasztaltam, hogy nem képződik melléktermék és a csúcsintegrál alapján 24 óra elteltével a photocage 85%-a jelen van a mintában. (40. ábra)

X_{600-H} és X_{575-H} célvegyületek fotolízise és sötétstabilitása – 2'-H származékok

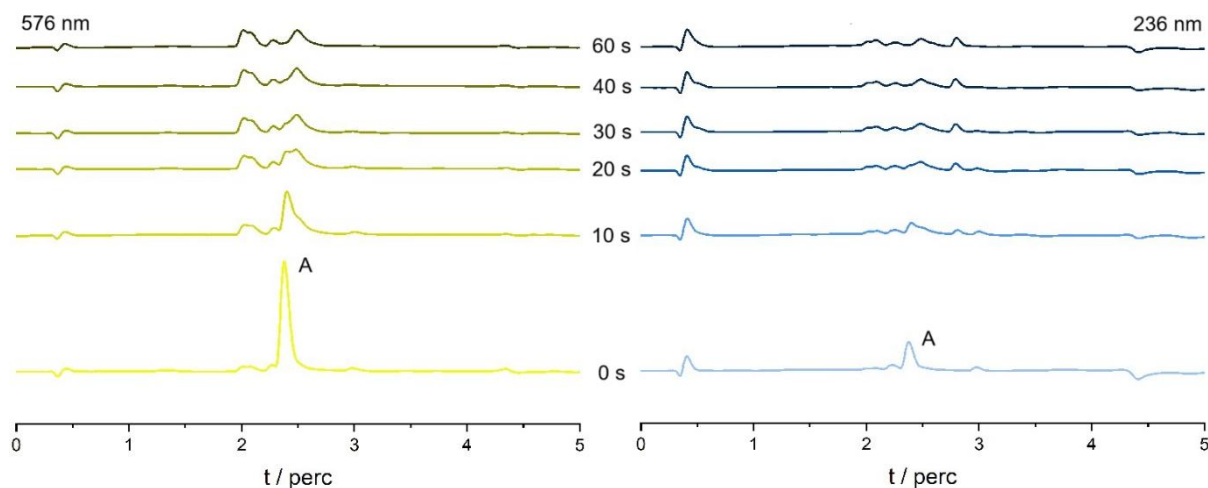


37. ábra. 2'-H származékok szerkezete



38. ábra. X_{600-H} fotolízisének kromatogramjai 600 nm-en ($\lambda_{\max} X_{600-H}$) és 236 nm-en ($\lambda_{\max} LG$) (A, B, C szerkezete 33. ábrán látható, t = retenció idő)

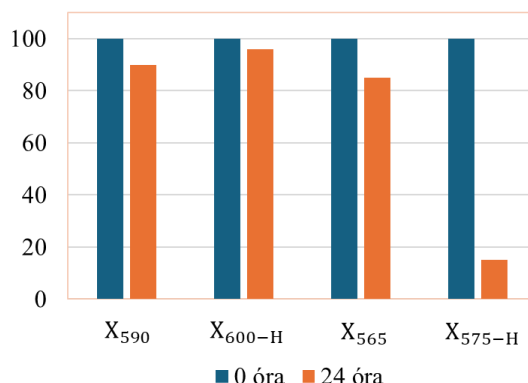
Az X_{600-H} fotolabilis védőcsoportot (38. ábra; A) narancssárga színű fénnel világítottam be összesen 60 másodpercen keresztül, az „uncaging” kísérlet végére a fotolabilis vegyület szinte teljesen elbomlott. A spektrumon két új csúcs jelent meg 0,49 és 2,14 percnél (t). A tömegspektrum alapján az előbbi a felszabaduló fenilpiperazin (38. ábra; C) és az utóbbi a fotolabilis védőcsoportból visszamaradó alkohol (38. ábra; B) ($[M]^+$ mért (m/z): 401). A fénytől védett mintán mért kromatogramokon nem jelenik meg új csúcs, tehát nem képződik melléktermék. A csúcsintegrál alapján a vegyület stabil (40. ábra; 24 óra elteltével a minta 96% photocage) Szárazon, hűtőben tartva több hónap után sem képződött melléktermék.



39. ábra. X_{575-H} fotolízisének kromatogramjai 576 nm-en ($\lambda_{\max} X_{575-H}$) és 236 nm-en ($\lambda_{\max} LG$) (A, B, C szerkezete 33. ábrán látható, t = retenció idő)

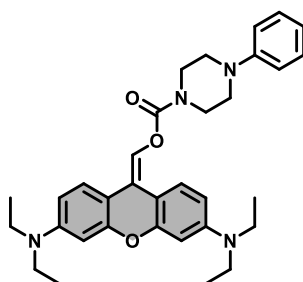
Az X_{575-H} fotolabilis védőcsoportot (39. ábra; A) zöld színű fénnel világítottam be, összesen 60 másodpercen keresztül, az „uncaging” kísérlet során szabadult fel minimális fenilpiperazin (ez az ábrán nem látható, csak az ion kromatogramokban), mellette azonban

rengeteg melléktermék képződött. A fénytől védett mintán mért kromatogramok alapján a vegyület bomlik, a photocage 24 óra elteltével 15%-ban van jelen a mintában. (40. ábra)



40. ábra. Fénytől védett fotolabilis védőcsoportok sötétstabilitása

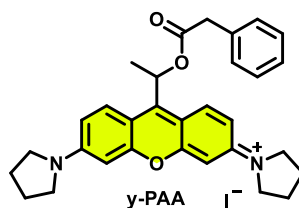
A fénytől védett minták analízise során, a fotolabilis védőcsoportok kiindulási és 24 órával későbbi arányát a csúcshintegrálok alapján számítottam ki ($\lambda_{\max}$ hullámhosszon). A melléktermékek vizsgálatakor azt tapasztaltam, hogy az X_{575-H} számos melléktermék keletkezik, 45 perc elteltével megjelenik a feltételezett „exo” forma. (41. ábra)



41. ábra. X_{575-H} fotolízise során feltételezhetően megjelenő „exo” forma szerkezete

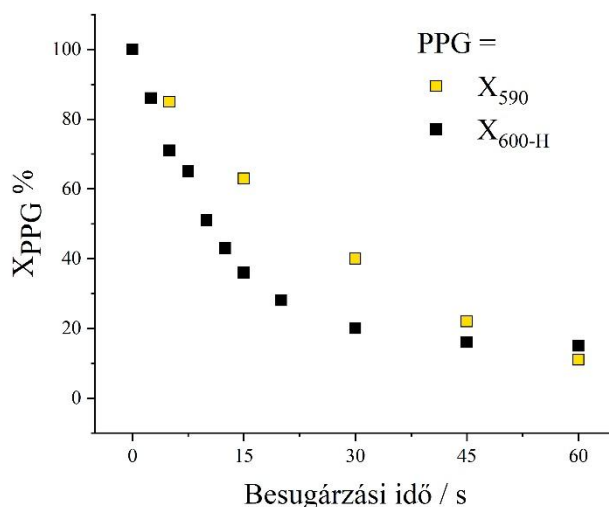
Az X₅₉₀ és X_{600-H} százalékos aránya narancssárga fénnel bevilágított mintákban

A 43. ábrán látható, hogy az X_{600-H} hatékonyabban bomlik fény hatására, mint az X₅₉₀, ezt igazolja a fotolabilis vegyületek bomlásának kvantumhasznosítási tényezője. A dolgozatomban egyelőre csak a bomlás során mért értékeket határoztam meg, a kísérletek megismétlésével egy hosszabb HPLC módszer segítségével azonban a jóval relevánsabb felszabadulási kvantumhasznosítási tényezők is meghatározhatók lesznek. A ϕ_u értékét úgy számítottam ki, hogy a besugárzási idő függvényében (t / s) még linearitást mutató pontokra egyenest illesztettem. A kapott egyenes meredekségét összehasonlítottam a kutatócsoportunkban korábban előállított, narancssárga színű fénnel bevilágított fotolabilis védőcsoport (42. ábra; y-PAA) meredekség értékével. (43)



42. ábra. Kvantumhasznosítási tényező becsléséhez használt vegyület

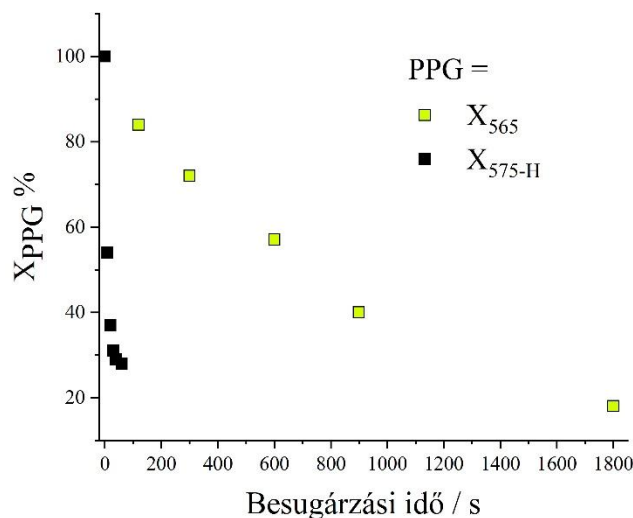
A módszerrel egy becsült ϕ_u értéket kaptam. A becslés során fotolabilis vegyületek abszorbancia átlapolását 100%-nak vettem a LED emisszióján. (1) A fotolabilis vegyületek becsült kvantumhasznosítási tényezői 5% (**X₅₉₀**), illetve 11% (**X_{600-H}**).



43. ábra. Az **X₅₉₀** és **X_{600-H}** százalékos aránya narancssárga fénnel bevilágított mintákban a besugárzási idő függvényében

A **X₅₆₅** és **X_{575-H}** százalékos aránya zöld fénnel bevilágított mintákban

A „*uncaging*” kísérlet során tapasztaltam, hogy a **X_{575-H}** sokkal hatékonyabban bomlik fény hatására, mint az **X₅₆₅**. (44. ábra)

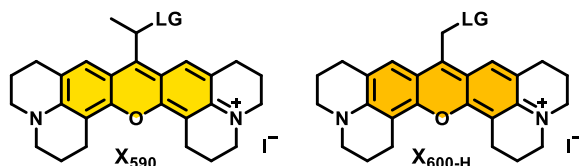


44. ábra. Az **X₅₆₅** százalékos aránya a besugárzási idő függvényében

Az **X575-H** esetében azonban nem lehet meghatározni a kvantumhasznosítási tényező értékét, ugyanis a vegyület önmagában is bomlásnak indul, így nem egyértelmű fényre bomlásának mértéke, valamint a felszabadult fenilpiperazin mennyisége is minimális. Az **X565** fotolabilis vegyület ϕ_u értékét az **X590-**, és **X600-H**-nál leírtak alapján számítottam ki, ez esetben a referencia (*40. ábra; y-PAA*) ugyanaz, zöld színű fénnel bevilágítva. (43) A becslés során fotolabilis vegyületek abszorbancia átlapolását 100%-nak vettem a LED emisszióján. (1) A **44. ábrán** látható az **X565** bomlása fény hatására, a fotolabilis vegyület kvantumhasznosítási tényezője 0,2%.

6. Összefoglalás, további tervek

Munkám célja a kutatócsoportunk munkatársai által korábban előállított rodamin-analógok (2. ábra; **x**, **y**, és **z** fotolabilis vegyületek) továbbfejlesztése, valamint a stabilitás szerkezetfüggő vizsgálata volt. A célvegyületek vöröseltolása, valamint stabilitásának növelése érdekében 3-as és 6-os pozícióba elektronküldő tulajdonságú julolidin csoportotokat építettem be a xanténvázba, mely szerkezetmódosítás a fluoreszcens festékek esetében számottevően eltolta az egyensúlyt az ionos „nyitott” szerkezet felé. (45. ábra) (31)



45. ábra. A julolidinnel kiterjesztett célvegyületek szerkezete (X₅₉₀, X_{600-H})

Egyedi szintézisstratégiát alkalmaztam a 2'-metil (20. ábra), illetve a 2'-H xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok (22. ábra) előállítására. A sikeresen előállított vegyületeken fotolízis kísérleteket és sötétstabilitási teszteket végeztem a julolidin váz kiterjesztésének, valamint a szubsztituátsági mintázat (2'-Z) elemzése céljából. A vizsgálatok eredményei alapján a julolidin szubsztituens olyan mértékben stabilizálta a vázat, hogy 2'-es pozícióban elhagyható a plusz metilcsoport a szintelen, „exo” forma megjelenése nélkül (X_{600-H}). Emellett a többgyűrűs rendszerek esetében számottevő vöröseltolódást tapasztaltam az eredeti xanténiumszármazék (42. ábra; **y-PAA**) 570 nm-es abszorpciós maximumához képest. Növekedést tapasztaltam továbbá a fotokémiai kvantumhasznosítási tényezőben is (X_{600-H}: 11% valamint X₅₉₀: 5%, az eredeti vegyület (42. ábra; **y-PAA**): 1,5%).

A julolidin auxokróm alkalmazásának előnyét továbbá dietilamino-auxokrómot tartalmazó referenciavegyületeket is előállításával (X_{575-H}, X₅₆₅) igazoltam, ezek a rodamin B fluorofór analógjai. A xanténiumváz kiterjesztése a 2'-H xanténium-alapú fotolabilis védőcsoportok esetében a leglátványosabb. Amíg a julolidin-szubsztituált photocage (X_{600-H}) vizes közegben is stabil és fény hatására hatékonyan bomlik, addig a dietilamino-szubsztituált (X_{575-H}) referencia-vegyület fény nélkül is bomlékony és sötétstabilitási vizsgálatokor megjelenik az „exo” forma. Egy plusz metilcsoport beépítésével a 2'-es pozícióba sikeresen előállítható stabil dietilamino-szubsztituált származék is (X₅₆₅), azonban az előállított fotolabilis vegyület nagyon lassan bomlik fény hatására ($\phi_u = 0,2\%$) a julolidinnel kiterjesztett photocage-hez (X₅₉₀) és az eredeti, pirrolidin auxokrómot tartalmazó vegyülethez képest is.

Munkám egyik legfontosabb eredménye az X_{600-H} fotolabilis védőcsoport előállítása és vizsgálata volt. A 2'-H származék az eredeti vegyületekhez képest vöröseltolt, öt lépésben

szintetizálható, stabil, jó a vízdékonysága és kiemelkedő hatékonysággal bomlik fény hatására. A photocage (primer alkohol) hidroxil csoportján keresztül várhatóan új funkciós csoportok beépítését tudjuk majd megvalósítani (pl. primer aminok, fenolok, szulfonamidok), lehetővé téve további hatóanyagok kiemelkedően hatékony felszabadítását.

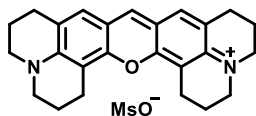
7. Alkalmazott eszközök és anyagok

A felhasznált vegyszerek és oldószerek kereskedelmi forgalomban kaphatók (Alfa Aesar, Fluka, Fluorochem, Merck, Molar Chemicals, Reanal, Sigma-Aldrich). A reakciók előrehaladását vékonyréteg-kromatográfiával és HPLC-MS mérésekkel követtem nyomon. A termékek tisztítását oszlopkromatográfiás eljárással, normál-, valamint fordított fázisú flash kromatográfiával, illetve preparatív HPLC-n végeztem. A szerkezetmeghatározást NMR spektroszkópiával végeztük.

A VRK vizsgálatokhoz Kieselgel 60 F254 VRK lapokat (Merck) használtam, a termékeket UV-lámpa alatt, 254 és 365 nm-en detektáltam. A HPLC-MS méréseket Shimadzu LC-MS-2020 készüléken végeztem (eluens: MeCN/H₂O, 0,1% HCOOH), a detektálást UV-Vis diódasoros detektor és ESI-MS műszer (kvadrupol analizátor) végzi. Az oszlopkromatográfiás tisztításhoz Zeochem szilikagél (0,06–0,2 mm) használtam. A flash kromatográfiás elválasztásokat Teledyne Isco CombiFlash® Rf+ készülékkel végeztem. Az NMR spektrumok felvétele Varian Inova 300-, illetve 500 MHz spektrométeren történt. A kémiai eltolódásokat (δ) ppm-ben (referencia: oldószer jele), a csatolási állandókat (J) Hz-ben adtuk meg. A felhasadások rövidítése: s (szingulett), d (dublett), dd (dupla dublett), t (triplett), q (kvartett), qv (kvintett), m (multiplett), br (széles). A spektrumok kiértékeléséhez a MestreNova programot használtuk.

8. Szintézisek részletes leírása

2. Bisz(julolidin)-pironin mezilát (44)



Bemértem 1,50 g 8-hidroxijulolidint (**1**) (7,93 mmol) egy 25 ml-es gömblombikba, majd hozzáadtam 5,2 ml trimetil-ortoformiátot (47,6 mmol, 6,0 ekv.) és 3,1 ml metánszulfonsavat (47,6 mmol). A reakcióelegyet 100 °C-on, 1 órán át kevertettem inert atmoszféra alatt.

A reakció végén a kapott elegyet háromszor extraháltam DCM-nal. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. Oszlopkromatográfiával tisztítottam fokozatosan növelve az eluens polaritását (100% DCM → DCM:MeOH, 9:1). NMR és LC-MS alapján tiszta, lila színű kristályos terméket kaptam oldatban intenzív fluoreszcenciával.

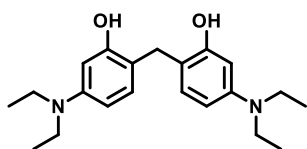
Termelés: 1,01 g (55%)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,28 (s; 1H; 9-ArH); 7,35 (s; 2H; 1,8-ArH); 3,49 (br s; 8H; N-CH₂); 2,83 (t; *J* = 6,3 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,79 (t; *J* = 6,0 Hz; 4H, Ar-CH₂); 2,30 (s; 3H, CH₃-SO₃⁻); 1,98 – 1,89 (m; 8H CH₂-CH₂-CH₂), ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 186,2; 151,4; 150,9; 142,4; 127,8; 123,3; 112,8; 104,6; 50,3; 49,8; 26,7; 20,1; 19,1; 19,0.

ESI-MS: C₂₅H₂₇N₂O⁺ számított [*M*]⁺ (*m/z*): 371 mért (*m/z*): 371

λ_{max} = 575 nm

4. 6,6'-Metilénbisz(3-(dietilamino)fenol) (39)



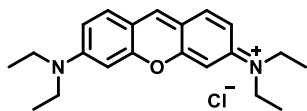
Bemértem 2,13 g 3-dietilaminofenolt (**3**) (12,9 mmol) egy 25 ml-es gömblombikba, majd hozzáadtam 6,0 ml *i*-PrOH-t és kevertetni kezdtem. Az elegyhez 0,71 ml cc. sósavat (23,1 mmol) és 0,51 ml 36%-os formaldehidet (18,5 mmol, 1,4 ekv.) adtam és olajfürdőn,

80 °C-on 1,5 órán keresztül kevertettem. Háromszor extraháltam DCM-nal, majd vízzel mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. VRK alapján a reakció sikeres volt. Az anyagot további tisztítás nélkül használtam a következő reakcióban. Sárgás színű kristályos anyag.

Termelés: 647 mg (30%)

VRK (Hexán:Etil-acetát, 1:1): R_{f,3} = 0,68; R_{f,4} = 0,45

5. N-(6-(dietilamino)-3H-xantén-3-ilidén)-N-etiletánamínium klorid (39)



Jeges-vizes fürdőn hígított kénsav oldatot készítettem egy 50 ml-es gömblombikban, 0,18 ml desztillált vízbe 1,75 ml cc. kénsavat mértem. Hozzáadtam 647 mg **4**-et és 140 °C-on 1,5 órán keresztül

kevertettem. Az idő leteltével jeges-vizes fürdőre helyeztem a reakcióelegyet, jéggel hígítottam és cc. NaOH-dal beállítottam a pH-t 9–10 közé. A reakcióelegyhez 5,0 ml cc. sósavat adtam és 261 mg (3,78 mmol, 2,1 ekv.) NaNO₂-et. A reakcióelegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertettem. Háromszor extraháltam DCM-nal, majd vízzel mostam. MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Lila kristályos anyag.

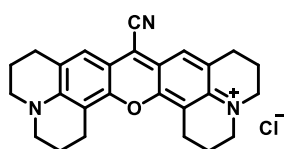
Termelés: 286 mg (42%)

¹H NMR (500 MHz; DMSO-*d*₆) δ 8,73 (s; 1H; 9-ArH); 7,85 (d; *J* = 9,3 Hz; 2H; 1,8-ArH); 7,19 (d; *J* = 9,4 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,88 (s; 2H; 4,5-ArH); 5,75 (s; 2H; CH₂Cl₂); 3,66 (q; *J* = 7,3 Hz; 8H; N-CH₂); 1,22 (t; *J* = 7,1 Hz; 12H; N-CH₂-CH₃) 13C NMR (126 MHz; DMSO-*d*₆) δ 157,4; 155,5; 133,5; 114,2; 113,6; 95,7; 54,8; 45,3; 12,4.

ESI-MS: C₂₁H₂₇N₂O⁺ számított [*M*]⁺ (*m/z*): 323 mért (*m/z*): 323

λ_{max} = 554 nm

6. Rodamin 800 (klorid) (41)



Bemértem 1,01 g **2**-es számú anyagot (2,17 mmol) egy 250 ml-es kétnyakú lombikba és feloldottam 60 ml acetonitrilben és 30 ml vízben. Csepegtetőtölcsért és elnyeletőt (10%-os NaOH és víz) szereltem rá. Kimértem 0,406 g KCN-ot (6,23 mmol, 2,3 ekv.), melyet 12 ml vizet tartalmazó üvegcsébe zártam, majd az elegyhez adtam. 15 perc elteltével hozzácsepegtettem számított mennyiségű FeCl₃ oldatot (3,66 g, 13,55 mmol, 5,0 ekv. FeCl₃ · 6 H₂O, 4,0 ml 2 M sósav, 12 ml víz). Az elegyet további 25 percen keresztül kevertettem, majd NaHCO₃-t adtam hozzá és háromszor extraháltam DCM-nal. MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Sötétkék kristályos anyag.

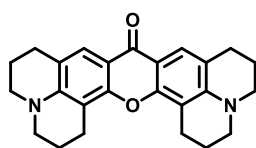
Termelés: 0,835 g (90%)

¹H NMR (500 MHz; CDCl₃) δ 7,35 (s; 2H; 1,8-ArH); 3,80 – 3,55 (m; 8H; N-CH₂); 3,07 – 2,93 (m; 8H; Ar-CH₂); 2,19 – 2,03 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: C₂₆H₂₆N₃O⁺ számított [*M*]⁺ (*m/z*): 396 mért (*m/z*): 396

λ_{max} = 683 nm

7. Bisz(julolidin)-9H-xantén-9-on (38)



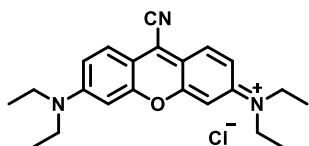
Bemértem 0,835 g **6**-os számú anyagot egy 100 ml-es gömblombikba és feloldottam 67 ml 10%-os NaOH oldatban, majd 95 °C-os olajfürdőn kevertettem 50 percen keresztül. A hidrolízis lejárásának követően az elegyet szobahőmérsékletre hűtöttem és háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam és bepároltam.

Flash kromatográfia segítségével tisztítottam (eluens DCM:MeOH, 20:1). LC-MS alapján a termék tiszta. Sárga szilárd anyag.

Termelés: 354 mg (47%)

ESI-MS: $C_{25}H_{27}N_2O_2^+$ számított $[M + H]^+$ (m/z): 387 mért (m/z): 387

8. *N*-(9-ciano-6-(diethylamino)-3*H*-xantén-3-ilidén)-*N*-etiletánamínium klorid



Bemértem 226 mg **5**-ös számú anyagot (0,630 mmol) egy 50 ml-es kétnyakú lombikba és feloldottam 12 ml acetonitrilben és 6,0 ml vízben. Csepegtetőtölcsért és elnyeletőt (10%-os NaOH és víz) szereltem rá. Kimértem 105 mg KCN-ot (1,61 mmol, 2,6 ekv.),

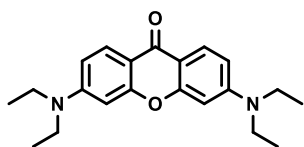
melyet 2,4 ml vizet tartalmazó üvegcsébe zártam, majd az elegyhez adtam. 15 perc elteltével hozzácsepegtettem (kb. 15 perc) számított mennyiségű $FeCl_3$ oldatot (944 mg, 3,50 mmol, 5,0 ekv. $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$, 0,80 ml 2 M sósav, 2,4 ml víz). Az elegyet további 20 percen keresztül kevertettem, majd $NaHCO_3$ -t adtam hozzá és háromszor extraháltam DCM-nal. $MgSO_4$ -on szárítottam és bepároltam. LC-MS alapján a termék tiszta. A terméket további karakterizálás nélkül azonnal felhasználtam a következő lépésben. Zöld szilárd anyag.

Termelés: 96 mg (40%)

ESI-MS: $C_{22}H_{26}N_3O^+$ számított $[M]^+$ (m/z): 348 mért (m/z): 348

$\lambda_{max} = 661 \text{ nm}$

9. 3,6-Bisz(diethylamino)-9*H*-xantén-9-on



Egy 10 ml-es gömblombikba 96 mg **8**-as számú anyagot (249 μmol) feloldottam 8,0 ml 10%-os NaOH oldatban. A reakcióelegyet 25 percen 95 °C-on kevertettem. A hidrolízis lejátszódását követően

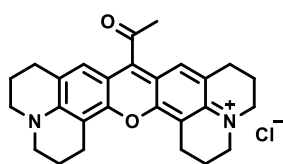
az elegyet szobahőmérsékletre hűtöttem és háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam. A szerves fázist $MgSO_4$ -on szárítottam, majd bepároltam. Flash kromatográfiával tisztítottam (eluens: DCM:MeOH, 9:1). NMR (diasztereotóp hidrogének) és LC-MS alapján a termék tiszta. Sárga szilárd anyag.

Termelés: 20 mg (24%)

1H NMR (500 MHz; $CDCl_3$) δ 8,09 (d; $J = 9,0 \text{ Hz}$; 2H; 1,8-ArH); 6,64 (dd; $J = 9,0$; 2,5 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,44 (d; $J = 2,4 \text{ Hz}$; 2H; 4,5-ArH); 3,44 (q; $J = 7,1 \text{ Hz}$; 8H; N- CH_2); 1,23 (t; $J = 7,1 \text{ Hz}$; 12H; N- CH_2 - CH_3).

ESI-MS: $C_{21}H_{27}N_2O_2^+$ számított $[M + H]^+$ (m/z): 339 mért (m/z): 339

10. 9-Acetil-bisz(julolidin)-pironin klorid



Bemértem 186 μl etil-vinil-étert (1,94 mmol, 7,5 ekv.) és 4,0 ml abszolút THF-t egy teljes éjszakán át szárított 25 ml-es lombikba inert atmoszféra alatt. A reakcióelegyet -78°C -os szárazjeges-acetonos fürdőre helyeztem. Hozzácsepegtettem 0,76 ml 1,7 M-os *tert*-BuLi pentános oldatát és 20 percig kevertettem. A reakcióelegyet jeges-vizes fürdőre helyeztem, míg elszíntelenedett (kb. 5 perc), majd ismét -78°C -os fürdőre helyeztem. 100 mg **7**-es anyagot (259 μmol) 6,0 ml abszolút THF-ban oldottam inert atmoszféra alatt és a már visszahűlt elegyhez adagoltam. Nagyjából 20 percig kevertettem így, majd további 1 órán keresztül szobahőmérsékleten. Ezt követően óvatosan annyi MeOH/NH₄Cl oldatot adtam hozzá, amíg a gázképződés megszűnt. A reakcióelegyet háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam és MgSO₄-on szárítottam. Miután bepároltam, 10 ml metanolban és 1,0 ml cc. sósavban oldottam és kevertettem egy éjszakán át. A reakcióelegyet ötször extraháltam DCM-nal, majd vízzel mostam. A terméket fordított fázisú (C18) flash kromatográfia segítségével tisztítottam (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA). NMR és LC-MS alapján a termék tiszta, rózsaszín szilárd anyag.

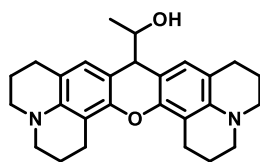
Termelés: 57 mg (49%)

¹H NMR (500 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 7,03 (s; 2H; 1,8-ArH); 3,52 – 3,45 (m; 8H; N-CH₂); 2,94 (t; J = 6,4 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,80 (t; J = 6,2 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,66 (s; 3H; 2'-CH₃); 2,01 (p; J = 6,3 Hz; 4H; CH₂-CH₂-CH₂); 1,98 – 1,92 (m; 4H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: C₂₇H₂₉N₂O₂⁺ számított $[M]^+$ (m/z): 413 mért (m/z): 413

λ_{max} = 592 nm

11. Bisz(julolidin)-9H-xantén-9-il)etan-1-ol



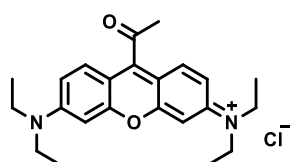
Egy 10 ml-es gömblombikba bemértem 57 mg **10**-es számú anyagot (127 μmol), majd nagyvákuumon szárítottam. Feloldottam 7,0 ml etanolban oldottam és 52 mg NaBH₄-et (1,38 mmol, 11 ekv.) adtam hozzá. A reakcióelegyet 1 órán át kevertettem szobahőmérsékleten, majd vizet adtam hozzá és háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. A nyerstermék vizes maradt, ezért még egyszer extraháltam ugyanolyan körülmények között, majd bepároltam. NMR (diasztereotróp hidrogének) és LC-MS alapján a termék tiszta. Halványlila szilárd anyag.

Termelés: 46 mg (87%)

^1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 6,65 (s; 1H; 1-ArH); 6,60 (s; 1H; 8-ArH); 3,65 (t; $J = 5,9$ Hz; 1H; 9-ArH); 3,55 (d; $J = 5,1$ Hz; 1H; 9-Ar-CH₂); 3,13 – 3,01 (m; 8H; N-CH₂); 2,78 (td; $J = 6,7$ Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,69 (td; $J = 6,6$ Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,00 – 1,85 (m; 8H, CH₂-CH₂-CH₂); 0,80 (d; $J = 6,3$ Hz; 3H; 2'-CH₃).

ESI-MS: C₂₇H₃₃N₂O₂⁺ számított $[M + H]^+$ (m/z): 417 mért (m/z): 417

12. *N*-(9-acetil-6-(diethylamino)-3*H*-xantén-3-ilidén)-*N*-etiletánamínium klorid



Bemértem 81 μl etil-vinil-étert (0,84 mmol) egy 10 ml-es alaposan kiszárított gömblombikba és hozzáadtam 2,5 ml abszolút THF-t. A reakcióelegyet -78 °C-os acetonos-szárazjeges fürdőre helyeztem.

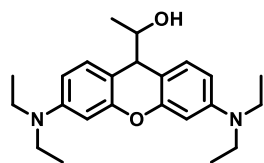
Hozzáadtam 0,33 ml 1,7 M-os *tert*-BuLi pentános oldatát (0,562 mmol) és 20 percen át kevertettem. A reakcióelegyet jeges-vizes fürdőre helyeztem, míg elszíntelenedett (kb. 5 perc), majd ismét -78 °C-os fürdőre helyeztem. 38 mg **9**-es számú anyagot (112 μmol) 3,0 ml abszolút THF-ban oldottam inert atmoszféra alatt és a már visszahűlt elegyhez adagoltam. Nagyjából 20 percig kevertettem így, majd további 1 órán keresztül szobahőmérsékleten. Ezt követően óvatosan annyi MeOH/NH₄Cl oldatot adtam hozzá, amíg a gázképződés megszűnt. A reakcióelegyet háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam és MgSO₄-on szárítottam. Miután bepároltam, 4,0 ml metanolban és 0,4 ml cc. sósavban oldottam és kevertettem egy éjszakán át. A reakcióelegyet ötször extraháltam DCM-nal és vízzel mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, majd bepároltam. A terméket fordított fázisú (C18) flash kromatográfia segítségével tisztítottam (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA). DCM-nal extraháltam, MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Lila szilárd anyag.

Termelés: 37 mg (82%)

^1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 7,51 (d; $J = 9,5$ Hz; 2H; 1,8-ArH); 7,11 (dd; $J = 9,5$; 2,5 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,83 (d; $J = 2,5$ Hz; 2H; 4,5-ArH); 3,66 (q; $J = 7,2$ Hz; 8H; N-CH₂); 2,73 (s; 3H; 2'-CH₃); 1,28 (t; $J = 7,1$ Hz; 12H; N-CH₂-CH₃).

ESI-MS: C₂₃H₂₉N₂O₂⁺ számított $[M]^+$ (m/z): 365 mért (m/z): 365

13. 1-(3,6-Bisz(diethylamino)-9*H*-xantén-9-il)etan-1-ol



Bemértem 37 mg **12**-es számú anyagot (92 μmol) egy 10 ml-es gömblombikba, majd nagyvákuumon szárítottam. Feloldottam 5,0 ml etanolban és 35 mg NaBH₄-et (92 μmol , 10 ekv.) adtam hozzá. A reakcióelegyet 1 órán át kevertettem szobahőmérsékleten, majd vizet adtam hozzá és háromszor extraháltam DCM-nal, majd telített vizes sóoldattal mostam. A szerves

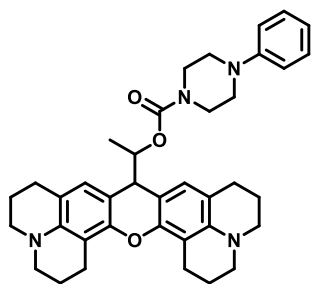
fázist MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR (diasztereotóp hidrogének) és LC-MS alapján a termék tiszta, halványlila szilárd anyag.

Termelés: 33 mg (97%)

¹H NMR (300 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 7,09 (d; *J* = 8,5 Hz; 1H; *l*-ArH); 7,03 (d; *J* = 8,5 Hz; 1H; 8-ArH); 6,44 (dt; 2H; 2,7-ArH); 6,32 (s; 1H; 4-ArH); 6,31 (s; 1H; 5-ArH); 3,80 – 3,70 (m; 2H; 9-ArH; 9-Ar-CH); 3,42 – 3,27 (m; 8H; N-CH₂); 1,19 – 1,07 (m; 12H; N-CH₂-CH₃); 0,80 (d; *J* = 6,1 Hz; 3H; 2'-CH₃).

ESI-MS: C₂₃H₃₄N₂O₂²⁺ számított [*M* + H]⁺ (*m/z*): 185 mért (*m/z*): 185

14. 1-Bisz(julolidin)-9H-xantén-9-il)etil-4-fenilpiperazin-1-karboxilát



Egy 10 ml-es gömblombikba bemértem 46 mg **11**-es számú anyagot (110 μmol) és 3,5 ml amilénnel stabilizált DCM-ban oldottam. Hozzáadtam 29 mg DPC-ot (133 μmol, 1,2 ekv.) és 23 μl TEA-t (165 μmol, 1,5 ekv.) és egy éjszakán át kevertettem szobahőmérsékleten. NaHCO₃-ot adtam hozzá és háromszor

extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. MgSO₄-on szárítottam és a szerves fázist és bepároltam. LC-MS alapján a DPC elfogyott, maradt kiindulási anyag és keletkezett 2-hidroxipiridin. Ugyanolyan körülmények között ismét feltettem a reakciót egy éjszakára és feldolgoztam. Az aktivált terméket (vegyes karbonát) további tisztítás nélkül bemértem egy 10 ml-es gömblombikba majd feloldottam 4 ml amilénes DCM-ban és hozzáadtam 25 μl *N*-fenilpiperazin-t (165 μmol, 1,5 ekv.) és 31 μl TEA-t (220 μmol, 2 ekv.). A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán keresztül, ezután 10%-os citromsavat adtam hozzá és háromszor extraháltam DCM-nal. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, majd bepároltam. A terméket fordított fázisú (C18) flash kromatográfia segítségével tisztítottam (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA), DCM-nal extraháltam, majd MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR (diasztereotóp hidrogének) és LC-MS alapján a termék tiszta, halványlila szilárd anyag.

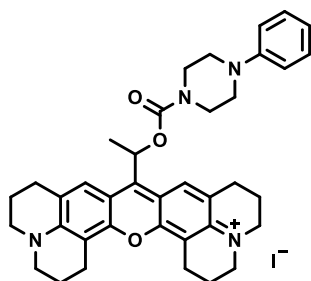
Termelés: 14 mg (21%)

¹H NMR (500 MHz; CDCl₃) δ 7,29 (t; *J* = 7,8 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 6,95 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,90 (t; *J* = 7,3 Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,71 (s; 1H; *l*-ArH); 6,56 (s; 1H; 8-ArH); 4,94 – 4,89 (m; 1H; 9-CH); 4,68 (d; *J* = 4,2 Hz; 1H; 9-H); 3,69 – 3,61 (m; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,19 – 3,13 (m; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,12 – 3,02 (m; 8H; N-CH₂); 2,88 – 2,76 (m; 4H; Ar-CH₂); 2,76 – 2,64 (m; 4H; Ar-CH₂); 2,04 – 1,93 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂); 0,96 (d; *J* = 6,4 Hz; 3H; 2'-CH₃).

ESI-MS: $C_{38}H_{46}N_4O_3^{2+}$ számított $[M + 2 H]^{2+}$ (m/z): 302 mért (m/z): 302

15. *X₅₉₀-fenilpiperazin-karbamát (jodid)*

Bemértem 14 mg (23 μ mol) **12**-es számú anyagot egy 10 ml-es gömblombikba és feloldottam 1,0 ml DCM- ban. Sötétben (alufólia) hozzáadtam 7,4 mg *p*-klóranilt (30 μ mol, 1,3 ekv.)



Areakcióelegyet fél órán át kevertettem, LC-MS alapján az oxidáció sikeresnek bizonyult, a terméket közvetlenül flash kromatográfiás módszerrel tisztítottam (eluens: DCM:MeOH, 9:1). Bepárlást követően elvégeztem az ellenioncserét 7,5 M-os HI oldattal. A HI-oldatot előzőleg tributil-foszfát DCM-os oldatával extraháltam, így elválasztva a I_2 szennyezőt a reagenstől. Kimértem 1,4 μ l 7,5 M-os

HI oldatot (1,0 ekv) és a reakcióelegyhez adtam, majd a terméket rögtön tisztítottam flash kromatográfiás módszerrel (eluens: DCM:MeOH, 9:1). A frakciókat, melyek csak a célvegyületet tartalmazták bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Rózsaszín szilárd anyag.

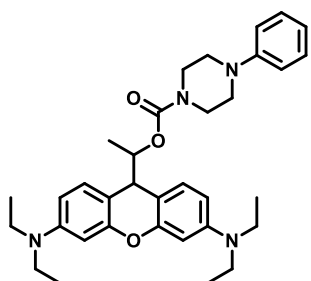
Termelés: 12 mg (71%)

1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 7,84 (s; 2H; *l*,8-ArH); 7,25 (t; J = 7,9 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 6,94 (d; J = 8,2 Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,85 (t; J = 7,3 Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,49 (q; J = 7,1 Hz; 1H; 9-Ar-CH); 3,86 – 3,23 (m; 8H; N-CH₂ (PP)); 3,48 (t; J = 5,7 Hz; 8H; N-CH₂); 3,00 – 2,81 (m; 8H; Ar-CH₂); 2,07 – 1,91 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂); 1,81 (d; J = 7,0 Hz; 3H; 2'-CH₃).

ESI-MS: $C_{38}H_{43}N_4O_3^+$ számított $[M]^+$ (m/z): 603 mért (m/z): 603; $C_{38}H_{44}N_4O_3^{2+}$ számított $[M + H]^{2+}$ (m/z): 302 mért (m/z): 302

λ_{max} = 590 nm

16. *1-(3,6-Bisz(dietilamino)-9H-xantén-9-il)etil-1-karboxi-4-fenilpiperazin*



Egy 10 ml-es gömblombikba bemértem 33 mg **13**-as számú anyagot (90 μ mol) és 4 ml amilénnel stabilizált DCM-ban oldottam. Hozzáadtam 23 mg DPC-ot (108 μ mol, 1,2 ekv.) és 19 μ l TEA-t (134 μ mol, 1,5 ekv.) és egy éjszakán át kevertettem szobahőmérsékleten. NaHCO₃-ot adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. MgSO₄-on szárítottam

és a szerves fázist és bepároltam. Az aktivált terméket (vegyes karbonát) további tisztítás nélkül bemértem egy 10 ml-es gömblombikba majd feloldottam 4 ml amilénes DCM-ban és

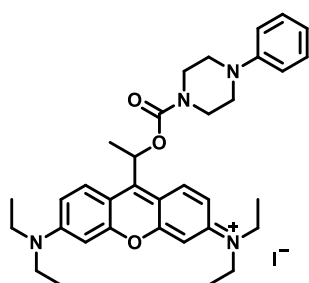
hozzáadtam 20 µl *N*-fenilpiperazin-t (134 µmol, 1,5 ekv.) és 25 µl TEA-t (220 µmol, 2 ekv.). A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán keresztül, ezután 10%-os citromsavat adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, majd bepároltam. Fordított flash kromatográfia segítségével tisztítottam (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA), DCM-nal extraháltam, MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. NMR (diasztereotóp hidrogének) és LC-MS alapján a termék tiszta. Halványlila szilárd anyag.

Termelés: 9,0 mg (18%)

¹H NMR (300 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 7,25 (t; *J* = 8,0 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 7,13 – 7,00 (m; 2H; *l*,8-ArH); 6,95 (d; *J* = 8,2 Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,85 (t; *J* = 7,2 Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,46 (dd; *J* = 8,6; 2,6 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,33 (dd; *J* = 2,6 Hz; 2H; 4,5-ArH); 4,90 – 4,76 (m; 1H; 9-CH); 3,97 (d; *J* = 3,9 Hz; 1H; 9-H); 3,69 – 3,41 (m; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,34 (p; *J* = 6,9 Hz; 8H; N-CH₂); 3,15 – 2,95 (m; 4H; N-CH₂; (PP)); 1,12 (q; *J* = 7,0 Hz; 12H; N-CH₂-CH₃); 0,95 (d; *J* = 7,9 Hz; 3H; 2'-CH₃).

ESI-MS: C₃₄H₄₅N₄O₃⁺ számított [*M* + H]⁺ (*m/z*): 557 mért (*m/z*): 557; C₃₄H₄₆N₄O₃²⁺ számított [*M* + H]⁺ (*m/z*): 279 mért (*m/z*): 279

17. X₅₆₅-fenilpiperazin-karbamát (jodid)



Bemértem 9,0 mg **14**-es számú anyagot (16 µmol) egy 10 ml-es gömblombikba és feloldottam 1,0 ml DCM-ban. Sötétben (alufólia) hozzáadtam 5,2 mg *p*-klóranilt (21 µmol, 1,3 ekv.) A reakcióelegyet fél órán át kevertettem, majd flash kromatográfias módszerrel tisztítottam (eluens: DCM:MeOH, 9:1). Bepárlást követően elvégeztem az ellenioncserét 7,5 M-os HI-dal. A HI-oldatot tributilfoszfáttal extraháltam, így a I₂ átkerült a szerves fázisba. Kimértem 1,4 µl 7,5 M-os HI oldatot (1,0 ekv) és a reakcióelegyhez adtam, majd a terméket rögtön tisztítottam flash kromatográfias módszerrel (eluens: DCM:MeOH, 9:1). A frakciókat, melyek csak a célvegyületet tartalmazták bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Lila szilárd anyag.

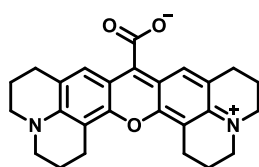
Termelés: 12 mg (71%)

¹H NMR (300 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 8,27 (d; *J* = 9,7 Hz; 2H; *l*,8-ArH); 7,25 (t; *J* = 7,9 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 7,12 (dd; *J* = 9,8; 2,6 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,97 – 6,91 (m; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,89 – 6,81 (m; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,76 (d; *J* = 2,5 Hz; 2H; 4,5-ArH); 6,56 (q; *J* = 7,1 Hz; 1H; 9-Ar-CH); 3,63 (q; *J* = 7,2 Hz; 8H; N-CH₂); 3,93 – 2,83 (m; 8H; N-CH₂ (PP)); 1,83 (d; *J* = 7,0 Hz; 3H; 2'-CH₃); 1,26 (t; *J* = 7,1 Hz; 12H; N-CH₂-CH₃).

ESI-MS: $C_{34}H_{43}N_4O_3^+$ számított $[M]^+$ (m/z): 555 mért (m/z): 555; $C_{34}H_{44}N_4O_3^{2+}$ számított $[M + H]^{2+}$: 278 mért (m/z): 278

$\lambda_{\max} = 565 \text{ nm}$

18. 9-Karboxilát-bisz(julolidin)-pironin



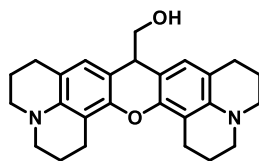
Bemértem 1,02 g 3-hidroxijulolidint (**1**) (5,41 mmol) egy 10 ml-es gömblombikba, majd feloldottam 4,0 ml TFE-ban. Hozzáadtam 0,31 ml 40%-os glioxál-oldatot (2,71 mmol, 0,5 ekv.) és két éjszakán át kevertettem 80 °C-os olajfürdőn. Számos melléktermék képződött, a terméket oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottam (eluens DCM: MeOH, 8,5:1,5). NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Rózsaszín szilárd anyag.

Termelés: 76 mg (7%)

^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 7,28 (s; 2H; 1,8-ArH); 3,49 – 3,43 (m; 8H; N-CH₂); 2,91 (t; $J = 6,3 \text{ Hz}$; 4H; Ar-CH₂); 2,78 (t; $J = 6,2 \text{ Hz}$; 4H; Ar-CH₂); 2,00 – 1,86 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: $C_{26}H_{27}N_2O_3^+$ számított $[M]^+$ (m/z): 415 mért (m/z): 415

19. Bisz(julolidin)-9H-xantén-9-il)metanol



Egy 10 ml-es szárított, N₂-nel öblített gömblombikba bemértem 113 mg **18**-as számú anyagot (234 μmol). Hozzáadtam 4,0 ml abszolút THF-t és 0,47 ml 2 M-os LiAlH₄ THF-os oldatát (935 μmol , 4 ekv.) Inert atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertettem 1,5 órán keresztül, majd jeges-fürdőre helyeztem. Annyi MeOH-t adtam hozzá, míg a gázképződés megszűnt. A reakcióelegyhez telített K-Na-tartarát oldatot adtam, négyszer extraháltam DCM-nal, majd vízzel mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, celiten szűrtem és bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. Halványlila szilárd anyag.

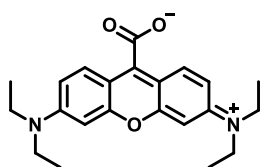
Termelés: 88 mg (93%)

^1H NMR (500 MHz; CDCl₃) δ 6,66 (s; 1H; 1,8-ArH); 3,72 (t; 1H; $J = 6,5 \text{ Hz}$; 9-H); 3,58 (d; $J = 6,4 \text{ Hz}$; 1H; 9-CH₂); 3,12 – 3,05 (m; 8H; N-CH₂); 2,73 (t; $J = 6,6 \text{ Hz}$; 8H; Ar-CH₂); 2,04 – 1,94 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: $C_{26}H_{31}N_2O_2^+$ számított $[M + H]^+$ (m/z): 403 mért (m/z): 403; $C_{26}H_{32}N_2O_2^{2+}$ számított $[M + 2 H]^{2+}$: 202 mért (m/z): 202

20. N-(9-karboxilát-6-(diethylamino)-3H-xantén-3-ilidén)-N-etiletánamínium

Bemértem 2,54 g 3-dietilaminofenolt (**3**) (15,4 mmol) egy 50 ml-es gömblombikba és feloldottam 30 ml propionsavban. Hozzáadtam 699 mg glioxálsav monohidrátot (7,59 mmol,



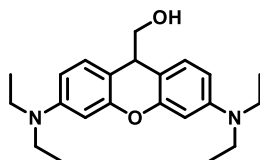
0,5 ekv.) és 110 °C-on kevertettem egy éjszakán át. A reakcióelegyet bepároltam, majd nagyvákuumon szárítottam. Oszlopkromatográfiával tisztítottam (eluens: DCM: MeOH, 95:5, + 0,1% TFA). NMR és LC-MS alapján a termék tiszta lila szilárd anyag.

Termelés: 883 mg (31%)

^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 7,70 (d; J = 9,3 Hz; 2H; 2,7-ArH); 7,23 (d; J = 9,4 Hz; 2H; 1,8-ArH); 6,91 (s; 2H; 4,5-ArH); 3,66 (q; J = 7,0 Hz; 8H; N-CH₂); 1,22 (t; J = 6,9 Hz; 12H; N-CH₂-CH₃). ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 203,97; 184,29; 157,65; 155,24; 130,88; 114,76; 108,94; 96,13; 45,34; 12,37.

ESI-MS: C₂₂H₂₇N₂O₃⁺ számított [M]⁺ (m/z): 367 mért (m/z): 367

21. (3,6-Bisz(dietilamino)-9H-xantén-9-il)metanol



Egy 10 ml-es szárított, N₂-nel öblített gömblombikba bemértem 65 mg **20**-as számú anyagot (135 μmol). Hozzáadtam 3,0 ml abszolút THF-t és 0,34 ml 2 M-os LiAlH₄ THF-os oldatát (675 μmol , 5 ekv.) Inert atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán át.

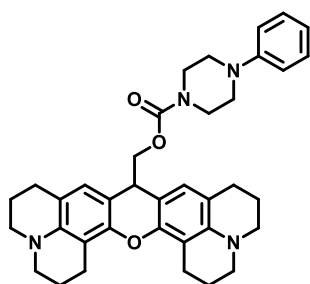
Jeges-fürdőre helyeztem és annyi MeOH-t adtam hozzá, míg a gázképződés megszűnt. A reakcióelegyhez telített K-Na-tartarát oldatot adtam, háromszor extraháltam DCM-nal, majd vízzel mostam. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, celiten szűrtem és bepároltam. NMR (diasztereotóp hidrogének) és LC-MS alapján a termék mellett megfigyelhető szennyező, melytől a következő lépésekben választottam el. A termék halványlila színű szilárd anyag.

Termelés: 30 mg (63%)

^1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 7,08 (d; J = 8,5 Hz; 2H; 1,8-ArH); 6,44 (dd; J = 8,5; 2,6 Hz; 1H; 2,7-ArH); 6,30 (d; J = 2,6 Hz; 1H; 4,5-ArH); 3,76 (t; 1H; 9-H); 3,52 (d; J = 5,8 Hz; 2H; 9-CH₂); 3,35 (q; J = 7,0 Hz; 8H; N-CH₂); 1,13 (t; J = 7,0 Hz; 12H; N-CH₂-CH₃).

ESI-MS: C₂₂H₃₂N₂O₂²⁺ számított [M + 2 H]⁺ (m/z): 178 mért (m/z): 178

22. Bisz(julolidin)-9H-xantén-9-il)metil-4-fenilpiperazin-1-karboxilát



10 ml-es gömblombikba bemértem 88 mg **19**-es számú anyagot (217 μmol) és 5 ml amilénnel stabilizált DCM-ban oldottam. Hozzáadtam 71 mg DPC-ot (326 μmol , 1,5 ekv.) és 55 μl TEA-t (391 μmol , 1,8 ekv.) és egy éjszakán át kevertettem szobahőmérsékleten, majd NaHCO₃-ot adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. A szerves fázist

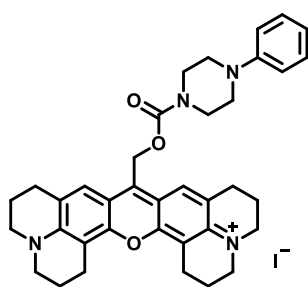
MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. Az aktivált terméket (vegyes karbonát), további tisztítás nélkül, feloldottam 5,0 ml amilénnel stabilizált DCM-ban, majd 50 µl *N*-fenilpiperazint (326 µmol, 1,5 ekv.) és 61 µl TEA-t (435 µmol, 2 ekv.) adtam hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán keresztül, majd vizet adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, majd bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék mellett megfigyelhető egy szennyező, melytől a következő lépés után tisztítással elválasztottam. A termék halványlila színű szilárd anyag.

Termelés: 74,8 mg (58%)

¹H NMR (500 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 7,25 (t; *J* = 8,0 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 6,94 (d; *J* = 8,2 Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,85 (t; *J* = 7,0 Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,67 – 6,61 (m; 2H; *l*,8-ArH); 4,08 – 4,04 (m; 1H; 9-H); 3,99 (d; *J* = 5,5 Hz; 2H; 9-CH₂); 3,47 (t; *J* = 5,5 Hz; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,13 – 3,00 (m; 12H; N-CH₂(PP); N-CH₂); 2,79 (t; *J* = 6,6 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,68 (t; *J* = 6,5 Hz; 4H; Ar-CH₂); 1,96 – 1,91 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: C₃₇H₄₄N₄O₃²⁺ számított [M + 2 H]²⁺ (*m/z*): 296 mért (*m/z*): 296

23. X₆₀₀-H-fenilpiperazin-karbamát (jodid)



Bemértem 63,8 mg (108 µmol) **22**-es számú anyagot egy 10 ml-es gömblombikba és feloldottam 4,0 ml DCM-ban és jeges-vizes fürdőre helyeztem. Törzsoldatot készítettem nagyjából 2 ekvivalens I₂-ból és DCM-ból. A reakcióelegyhez sötétben (alufólia) 0,9 ekvivalens I₂-os törzsoldatot (97,8 µmol) adtam, majd azonnal tisztítottam flash kromatográfiás módszerrel (eluens: DCM:MeOH, 9:1). A frakciókat, melyek csak a célvegyületet tartalmazták bepároltam. NMR és LC-MS alapján a termék tiszta. A termék rózsaszín szilárd anyag.

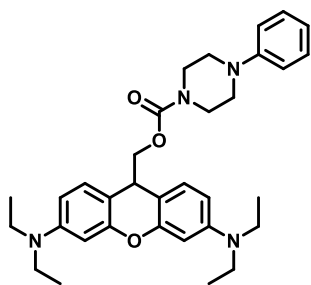
Termelés: 17 mg (22%)

¹H NMR (500 MHz; Acetonitril-*d*₃) δ 7,68 (s; 2H; *l*,8-ArH); 7,23 (t; *J* = 8,5 Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 6,91 (d; *J* = 8,2 Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,84 (t; *J* = 7,3 Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 5,60 (s; 2H; 9-Ar-CH₂); 3,67 – 3,34 (m; 12H; N-CH₂(PP); N-CH₂); 3,10 – 3,01 (m; 4H; N-CH₂(PP)); 2,95 (t; *J* = 6,4 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,86 (t; *J* = 6,3 Hz; 4H; Ar-CH₂); 2,05 – 1,96 (m; 8H; CH₂-CH₂-CH₂).

ESI-MS: C₃₇H₄₁N₄O₃⁺ számított [M]⁺ (*m/z*): 589 mért (*m/z*): 589; C₃₇H₄₂N₄O₃²⁺ számított [M + H]²⁺ (*m/z*): 295 mért (*m/z*): 295

λ_{max} = 600 nm

24. (3,6-Bisz(dietilamino)-9H-xantén-9-il)metil-4-fenilpiperazin-1-karboxilát



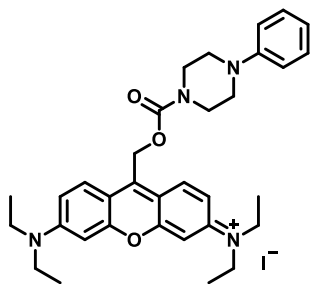
Bemértem 180 mg **21**-es számú anyagot (508 μmol) egy 10 ml-es gömblombikba és 5,0 ml amilénnel stabilizált DCM-ban oldottam. Hozzáadtam 220 mg DPC-ot (1,02 mmol, 2 ekv.) és 106 μl TEA-t (762 μmol , 1,5 ekv.), a reakcióelegyet egy éjszakán át kevertettem szobahőmérsékleten. NaHCO_3 -ot adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal. MgSO_4 -on szárítottam a szerves fázist és bepároltam. Az aktivált terméket (vegyes karbonát) további tisztítás nélkül bemértem egy 10 ml-es gömblombikba és feloldottam 6,0 ml amilénnel stabilizált DCM-ban, majd 116 μl *N*-fenilpiperazint (762 μmol , 1,5 ekv.) és 142 μl TEA-t (1,02 mmol, 2 ekv.) adtam hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán keresztül, majd vizet adtam hozzá és háromszor extraháltam amilénnel stabilizált DCM-nal, a szerves fázist MgSO_4 -on szárítottam, majd bepároltam. Fordított flash kromatográfia segítségével tisztítottam (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA). A tisztítás nem sikerült, ezért újra elvégeztem a tisztítást preparatív HPLC-vel (95:5, víz:MeCN + 0,1% TFA, MeCN + 0,1% TFA). NMR és LC-MS alapján a termék tiszta, halványlila színű anyag.

Termelés: 31 mg (11%)

^1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 7,22 (t; $J = 8,2$ Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 7,08 (d; $J = 8,5$ Hz; 2H; *l*,8-ArH); 6,93 (d; $J = 8,2$ Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,81 (t; $J = 7,3$ Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,44 – 6,39 (m; 3H; 9-H; 9-CH₂); 6,30 (d; $J = 2,6$ Hz; 2H; 2,7-ArH); 4,07 – 3,98 (m; 2H; 4,5-ArH); 3,48 – 3,40 (m; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,35 – 3,29 (m; $J = 7,0$ Hz 8H; N-CH₂); 3,02 (t; $J = 5,1$ Hz; 4H; N-CH₂ (PP)); 1,07 (t; $J = 7,0$ Hz; 12H; N-CH₂-CH₃).

ESI-MS: $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_3^{2+}$ számított $[\text{M} + 2 \text{H}]^{2+}$ (m/z): 272 mért (m/z): 272

25. X_{575-H}-fenilpiperazin-karbamát (jodid)



Bemértem 31 mg **24**-es számú anyagot (57 μmol) egy 10 ml-es gömblombikba és feloldottam 1,0 ml DCM-ban, majd jeges-vizes fürdőre helyeztem. Törzsoldatot készítettem nagyjából 2 ekvivalens I_2 -ból DCM-ban. A reakcióelegyhez sötétben (alufólia) 1 ekvivalens I_2 -os törzsoldatot (57 μmol) adtam, majd azonnal tisztítottam flash kromatográfiás módszerrel (eluens: DCM:MeOH, 9:1). A frakciókat, melyek csak a célvegyületet tartalmazták bepároltam. NMR és LC-MS alapján a

termék tiszta, azonban a stabilitása nagyon rossznak bizonyult, gyorsan bomlott. Lila szilárd anyag.

Termelés: 4 mg (11%)

^1H NMR (500 MHz; Acetonitril- d_3) δ 8,14 (d; $J = 9,7$ Hz; 2H; *l,8*-ArH); 7,24 (t; $J = 8,0$ Hz; 2H; *m*-ArH(Ph)); 7,15 (dd; $J = 9,7$; 2,6 Hz; 2H; 2,7-ArH); 6,91 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H; *o*-ArH(Ph)); 6,84 (t; $J = 7,1$ Hz; 1H; *p*-ArH(Ph)); 6,78 (d; $J = 2,5$ Hz; 2H; 4,5-ArH); 5,71 (s; 2H; 9-Ar-CH₂); 3,65 (q; $J = 7,1$ Hz; 8H; N-CH₂); 3,53 (t; $J = 5,2$ Hz; 4H; N-CH₂ (PP)); 3,03 (t; $J = 5,1$ Hz; 4H; N-CH₂ (PP)); 1,28 (t; $J = 7,1$ Hz; 12H; N-CH₂-CH₃).

ESI-MS: C₃₃H₄₁N₄O₃⁺ számított $[\text{M}]^+$ (m/z): 541 mért (m/z): 541; C₃₃H₄₂N₄O₃²⁺ számított $[\text{M} + \text{H}]^{2+}$: 271 mért (m/z): 271

$\lambda_{\text{max}} = 576$ nm

9. Irodalomjegyzék

- (1) Egyed, A., Németh, K., Molnár, T. Á., Kállay, M., Kele, P., Bojtár, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(7), 4026-4034. doi: 10.1021/jacs.2c11499.
- (2) Dai, M., Yang, Y. J., Sarkar, S., Ahn, K. H. *Chem. Soc. Rev.* **2023**, 52, 6344–6358. doi: 10.1039/d3cs00475a.
- (3) Braslavsky, S. E. *Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006)*. Braslavsky, S. E. **2007**, *Pure Appl. Chem.*, 293-465. doi: 10.1351/pac200779030293.
- (4) Davies, E., *Nat. Methods*, **2007**, 4(8), 619-628. doi: 10.1038/nmeth1072.
- (5) F. P., van Dülmen, M., Špaček, P., Hüwel, S., Rentmeister, A., *Nat. Chem.*, **2022**, 14(8), 905-913. doi: 10.1038/s41557-022-00972-7.
- (6) Becker, Y., Unger, E., Fichte, M. A., Gacek, D. A., Dreuw, A., Wachtveitl, J., Heckel, A., *Chem. Sci.*, **2018**, 9(10), 2797-2802.
- (7) Meinhardt, M., Krebs, R., Anders, A., Heinrich, U., Tronnier, H. *J. Biomed. Opt.*, **2008**, 13(4), 044030-044030. doi: 10.1117/1.2957970.
- (8) Rodrigues, J. A., Correia, J. H., *Cells*, **2022**, 11(24), 3995. doi: 10.3390/cells11243995.
- (9) Štacko, P., Solomek, T., *Chimia*, **2021**, 75(10) 873-881. doi: 10.2533/chimia.2021.873.
- (10) Li, H., Wang, J., Jiao, L., Hao, E. *Chem. Commun.*, **2024**, 60(45), 5770-5789. doi:10.1039/d4cc01412j.
- (11) Klán, P., Solomek, T., Bochet, C. G., Blanc, A., Givens, R., Rubina, M., Wirz, J. *Chem. Rev.*, **2013**, 119-191. doi: 10.1021/cr300177k.
- (12) Klán, P., Wirz, J. *Photochemistry of organic compounds*. s.l. : Wiley Publication, **2009**.
- (13) Barltrop, J. A., Schofield, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 697-699. doi:10.1016/s0040-4039(00)70935-x .
- (14) Kaplan, J. H., Forbush, B., Hoffman, J. F., *Biochemistry*, **1978**, 1929–1935. doi: 10.1021/bi00603a020.
- (15) Li, Y., Wang, M., Wang, F., Lu, S., Chen, X., *ACS Smart Mol.*, **2023**, 1-14. doi: 10.1002/smo.20220003.
- (16) Russo, M., Janeková, H., Meier, D., Generali, M., Stacko, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2024**, 146(12), 8417-8424. doi: 10.1021/jacs.3c14197.
- (17) E. Abou Nakad, F. Bolze and A. Specht., *Org. Biomol. Chem.*, **2018**, 16, 6115-6122. doi: 10.1039/c8ob01330f.

- (18) Givens, R. S., Matuszewski, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 6467-6876. doi: 10.1021/ja00334a075.
- (19) Bojtár, M., Kormos, A., Kis-Petik, K., Kellermayer, M., Kele, P., *Org. Lett.*, **2019**, 21(23), 9410-9414. doi: 10.1021/acs.orglett.9b03624.
- (20) Weinstein, R., Slanina, T., Kand, D., Klán, P., *Chem. Rev.*, **2020**, 120(24), 13135-13272. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00663.
- (21) Goswami, P. P., Syed, A., Beck, C. L., Albright, T. R., Mahoney, K. M., Unash, R., Winter, A. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137(11), 3783-3786 doi: 10.1021/jacs.5b01297.
- (22) Slanina, T., Shrestha, P., Palao, E., Kand, D., Peterson, J. A., Dutton, A. S., Klan, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139(42), 15168-15175. doi: 10.1021/jacs.7b08532.
- (23) Asad, N., Deodato, D., Asad, N., Gore, S., Dore, T. M. **2023**, *ACS Chem. Neurosci.*, 14(23), 4163-4175. doi: 10.1021/acchemneuro.3c00552.
- (24) Nani, R. R., Gorka, A. P., Nagaya, T., Yamamoto, T., Ivanic, J., Kobayashi, H., & Schnermann, M. J., *ACS Central Sci.*, **2017** 3(4), 329-337. doi: 10.1021/acscentsci.7b00026.
- (25) Nani, R. R., Gorka, A. P., Nagaya, T., Kobayashi, H., Schnermann, M. J., *Ang. Chemie* **2015**, 54(46), 13635. doi: 10.1002/anie.201507391.
- (26) Alachouzos, G., Schulte, A. M., Mondal, A., Szymanski, W., Feringa, B. L., *Ang. Chemie*, **2022**, 134(27), e202201308. doi: 10.1002/anie.202201308.
- (27) Shabir, G., Saeed, A., Ali Channar, P., *Mini-Rev. Org. Chem.*, **2018**, 15(3), 166-197. doi: 10.2174/1570193X14666170518130008.
- (28) Grimm, J. B., Muthusamy, A. K., Liang, Y., Brown, T. A., Lemon, W. C., Patel, R., Lavis, L. D., *Nat. Methods*, **2017**, 14(10), 987-994. doi: 10.1038/nmeth.4403.
- (29) Kozma, E., & Kele, P. *Org. Biom. Chem.* **2019**, 17(2), 215-233. doi: 10.1039/C8OB02711K.
- (30) Hinckley, D. A., Seybold, P. G., *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Spectr.*, **1988**, 44(10), 1053–1059. doi:10.1016/0584-8539(88)80227-7.
- (31) Grimm, J. B., Tkachuk, A. N., Patel, R., Hennigan, S. T., Gutu, A., Dong, P., Lavis, L. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145(42), 23000-23013. doi: 10.1021/jacs.3c05273.
- (32) Wu, X., Gao, Y., Chi, W., Wang, C., Xu, Z., Liu, X., *Mater. Chem. Front.*, **2023**, 7(6), 1137-1145. doi: 10.1039/d2qm01351g.
- (33) Wang, L., Du, W., Hu, Z., Uvdal, K., Li, L., Huang, W. *Angew. Chemie Int. Ed.*, **2019**, 58(40), 14026-14043. doi: 10.1002/anie.201901061.

- (34) Lefevre, C., Kang, H. C., Haugland, R. P., Malekzadeh, N., Arttamangkul, S., Haugland, R. P., *Bioconjugate Chem.*, **1996**, 7(4), 482-489. doi: 10.1021/bc960034p.
- (35) Paredes, R. M., Etzler, J. C., Watts, L. T., Zheng, W., Lechleiter, J. D., *Methods*, 2008, 46(3), 143-151. doi: 10.1016/j.ymeth.2008.09.025.
- (36) Stacko, P., Sebej, P., Veetil, A. T., Klán, P., *Org. Lett.*, **2012**, 14(18), 4918-4921. doi: 10.1021/ol302244f.
- (37) Sebej, P., Wintner, J., Müller, P., Slanina, T., Al Anshori, J., Antony, L. A. P., Klán, P., Wirz, J. *The J. Org. Chem.*, **2013**, 78(5), 1833-1843. doi: 10.1021/jo301455n.
- (38) Bucevičius, J., Gerasimaitė, R., Kiszka, K. A., Pradhan, S., Kostiuk, G., Koenen, T., Lukinavičius, G., *Nat. Commun.*, **2023**, 14(1), 1306. doi: 10.1038/s41467-023-36913-2.
- (39) *WO2010/67078 A2*. **2010**, 64-65; 70-71.
- (40) Biehringer, J., *J. Prakt. Chem.*, **1896**, 54(1), 217-258.
- (41) Fujioka, H., Shou, J., Kojima, R., Urano, Y., Ozeki, Y., Kamiya, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(49), 20701-20707.
- (42) Alessi, A., Salvalaggio, M., Ruzzon, G., *J. Lumin.*, **2013**, 134, 385-389. doi: 10.1016/j.jlumin.2012.08.017.
- (43) Egyed, A., *Xanténvázas fotorezponzív rendszerek*, **2023**, doktori értekezés.
- (44) Butkevich, A. N., Sednev, M. V., Shojaei, H., Belov, V. N., Hell, S. W., *Org. Lett.*, **2018**, 20(4), 1261-1264. doi: 10.1021/acs.orglett.8b00270.
- (45) Dunlop, D., Horváth, P., Klán, P., Slanina, T., Šebej, P., *Chem. Eur. J.*, **2024**, 30(19). doi: 10.1002/chem.202400024.
- (46) Stephenson, C. J., Shimizu, K. D. *Org. Biom. Chem.*, **2010**, 8(5), 1027-1032. doi: 10.1039/b918823a.
- (47) Fujioka, H., Shou, J., Kojima, R., Urano, Y., Ozeki, Y., Kamiya, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142(49), 20701-20707. doi: 10.1021/jacs.0c09200.