



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

OTDK-DOLGOZAT

**FLUORESzcENS NUKLEOZID-POLIFOSZFÁT RECEPTOROK
SZINTÉZISE ÉS VIZSGÁLATA**

Készítette:

Bojtár Márton

vegyésszmérnök MSc hallgató

Témavezető:

Dr. Bitter István

ny. egyetemi tanár

Konzulens:

Czirok János Balázs

tudományos segédmunkatárs

Dr. Baranyai Péter

tudományos munkatárs

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőmnek, **Dr. Bitter Istvánnak**, konzulenseimnek, **Czirok János Balázsnak** és **Dr. Baranyai Péternek**, akik segítettek a munkámban és fontos tanácsokkal láttak el. Mind a szintézisekben, mind a mérésekben hasznosan irányították munkámat.

Köszönöm **Dr. Kubinyi Miklósnak**, aki bevezetett a tudományos munkába, és összekapcsolta számomra a szerves kémiát a spektroszkópiával.

Köszönöm **Török Ildikónak** a segítséget a laborban, valamint a kiindulóanyagok előállítását, ami nélkül nagyon elhúzódott volna a kutatás.

Köszönöm **Dr. Drahos Lászlónak** a tömegspektroszkópiás méréseket, valamint a **Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéknek** az NMR-felvételeket.

TARTALOMJEGYZÉK

1.	RÖVIDÍTÉS- ÉS JELÖLÉSJEGYZÉK	5
2.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	6
3.	IRODALMI RÉSZ	9
3.1.	Nukleozid-polifoszfátok	9
3.2.	Szintetikus nukleotid-receptorok	10
3.3.	A click reakció	18
3.4.	1,8-Naftálimid fluoroforok fluoreszcenciás tulajdonságai, felhasználásuk	20
4.	ELMÉLETI RÉSZ	22
4.1.	Az 1 típusú receptorok szintézise	22
4.1.1.	1,1'-((2,3,5,6-Tetrametil-1,4-fenilén)bisz(metilén))biszimidazol (1-13)	23
4.1.2.	Célmolekulák (1)	23
4.1.3.	Az 1b és 1c molekulákhoz szükséges halogénvegyületek (1b-20 és 1c-20 előállítása)	25
4.2.	A 2 célmolekula szintézise	26
4.3.	A 3 célmolekula szintézise	28
4.4.	Előzetes spektroszkópiás mérések	29
4.5.	Spektroszkópiás mérések puffertolt közegben	32
4.6.	Előzetes NMR-vizsgálatok	37
4.6.1.	Nukleotidok komplexképzésének vizsgálata	37
4.6.2.	Anionok komplexképzésének vizsgálata	39
5.	TOVÁBBI TERVEK	40
6.	KÍSÉRLETI RÉSZ	42
6.1.	Alkalmazott anyagok és vizsgálati módszerek	42
6.2.	Szintézisek	43
6.2.1.	Amberlyst A21.Cul katalizátor	43
6.2.2.	1-Azidometilnaftalin (1a-21)	44
6.2.3.	4-Hidroximetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (1a-22)	44
6.2.4.	4-Brómmetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (1a-23)	45
6.2.5.	1a Célmolekula	45

6.2.6.	9-Azidometilantracén (1b-21)	46
6.2.7.	1-(Antracén-9-ilmetil)-4-hidroximetil-1,2,3-triazol (1b-22)	46
6.2.8.	1-(Antracén-9-ilmetil)-4-brómmetil-1,2,3-triazol (1b-23)	47
6.2.9.	1b Célmolekula	48
6.2.10.	9- <i>N</i> -2-Brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-20)	48
6.2.11.	9- <i>N</i> -2-Azidoetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-21)	49
6.2.12.	9- <i>N</i> -(2-(4-(Hidroximetil)-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-22)	49
6.2.13.	9- <i>N</i> -(2-(4-(Brómmetil)-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-23)	50
6.2.14.	1c Célmolekula	51
6.2.15.	2 Célmolekula	52
6.2.16.	3 Célmolekula	53
6.2.17.	1a Célmolekula anioncseréje hexafluorofoszfátra (1a-PF₆⁻)	54
6.3.	Fluoreszcencia spektroszkópiás mérések	54
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	55
8.	IRODALOMJEGYZÉK	56
	MELLÉKLETEK	60
1.	Az 1b receptormolekula fluoreszcencia spektrumai	60
2.	Az 1c receptormolekula fluoreszcencia spektrumai	61
3.	A 3 receptormolekula fluoreszcencia spektrumai	62

1. RÖVIDÍTÉS- ÉS JELÖLÉSJEGYZÉK

ADP:	adenozin-5'-difoszfát
AMP:	adenozin-5'-monofoszfát
ATP:	adenozin-5'-trifoszfát
CTP:	citidin-5'-trifoszfát
DKM:	diklórmétán
DMSO:	dimetil-szulfoxid
eq.	ekvivalens
EtOAc:	etil-acetát
GMP:	guanozin-5'-monofoszfát
GTP:	guanozin-5'-trifoszfát
λ_{ex} :	gerjesztési hullámhossz
λ_{max} :	fluoreszcencia maximum hullámhossza
THF:	tetrahidrofurán
UTP:	uridin-5'-trifoszfát
VRK:	vékonyréteg-kromatográfia

2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

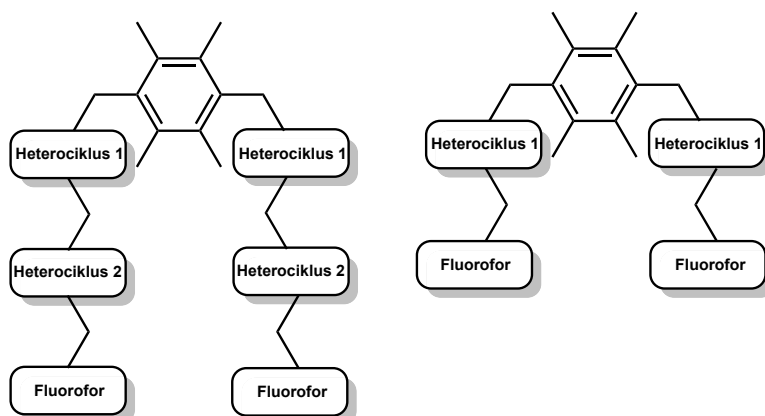
Az elmúlt évtizedek során a szerves kémiából más, interdiszciplináris tudományok aktív részvételével kialakult és dinamikusán fejlődik egy önálló, gyakorlati felhasználások szempontjából is sokat ígérő tudomány, a szupramolekuláris kémia, amely két vagy több molekulából álló önszerveződő rendszerek kölcsönhatásainak természetét tanulmányozza, azaz molekuláris felismeréssel foglalkozik. Ez a biológiai rendszerekben rendkívül jelentős esemény, melynek során leegyszerűsítve egy molekula (host, gazda vagy receptor) egy molekulahalmazból szelektíven kiválaszt egy másik molekulát (guest, vagyis vendég), és vele kölcsönhatásba lép, komplexet képez. Molekuláris felismerés lehetséges elektromosan semleges molekulák, illetve ionok között is; míg az első esetben a másodrendű kötőerőké a fő szerep, utóbbi esetben a Coulomb-féle vonzás a legfontosabb kölcsönhatás [1].

A molekuláris felismerés, amely végsősoron az élet elengedhetetlen feltétele, a szintetikus receptorok kutatásának is az alapját képezi. Az így létrehozott mesterséges szenzorok lehetőséget nyújtanak az élő szervezetek megismerésére azáltal, hogy lehetővé teszik ionok és molekulák különböző mátrixokban való vizsgálatát, minőségi és mennyiségi meghatározását.

E fontos területen az anion-felismerő rendszerek fejlesztése manapság meglehetősen széles teret nyert [2], mivel a szerves molekulák a biológiai rendszerekben nagyon gyakran anionos formában vannak jelen. A szervezetben jelenlévő anionok közül kiemelkedő fontosságúak a nukleozid-foszfátok. Ezeket a természetben betöltött sokrétű és alapvető szerepük miatt az élet létfontosságú egységeinek is nevezhetjük. Közülük az egyik legjelentősebb az adenzin-5'-trifoszfát (ATP).

Kutatásom célja az ATP, illetve más nukleozid-polifoszfátokra szelektív fluoreszcens receptormolekulák szintézise és vizsgálata irodalmi analógiák alapján [3], [4]. Rendkívül fontos az ADP és ATP egyértelmű megkülönböztetése, tekintettel arra, hogy az élő szervezetek működéséhez szükséges kémiai folyamatok energiaigényét közvetlenül az ATP hidrolízise fedezi, amiben általában ADP keletkezik.

A tervezett szenzorok felépítésüket tekintve egy megfelelő spacerrel összekötött (ez jelen esetben egy 1,4-diszubsztituált durol egység) két, öttagú N-heterociklus(oka)t tartalmazó receptorrészből állnak, amelyekhez egy terminális fluorofor jelzőcsoport kapcsolódik. Az elkészült gazdamolekulák komplexképző tulajdonságait fluoreszcencia spektroszkópiás módszerrel vizsgáltam ATP, ADP, AMP és GMP vendégmolekulákkal szemben. Előzetes kísérleteket is végeztem az anion-felismerés NMR-spektroszkópiás vizsgálatára.



1.1. ábra – a tervezett receptorok (1 és 2 balra, 3 jobbra) vázlatos felépítése

Név	Heterociklus 1	Heterociklus 2	Fluorofor
1a			
1b			
1c			
2			
3		-	

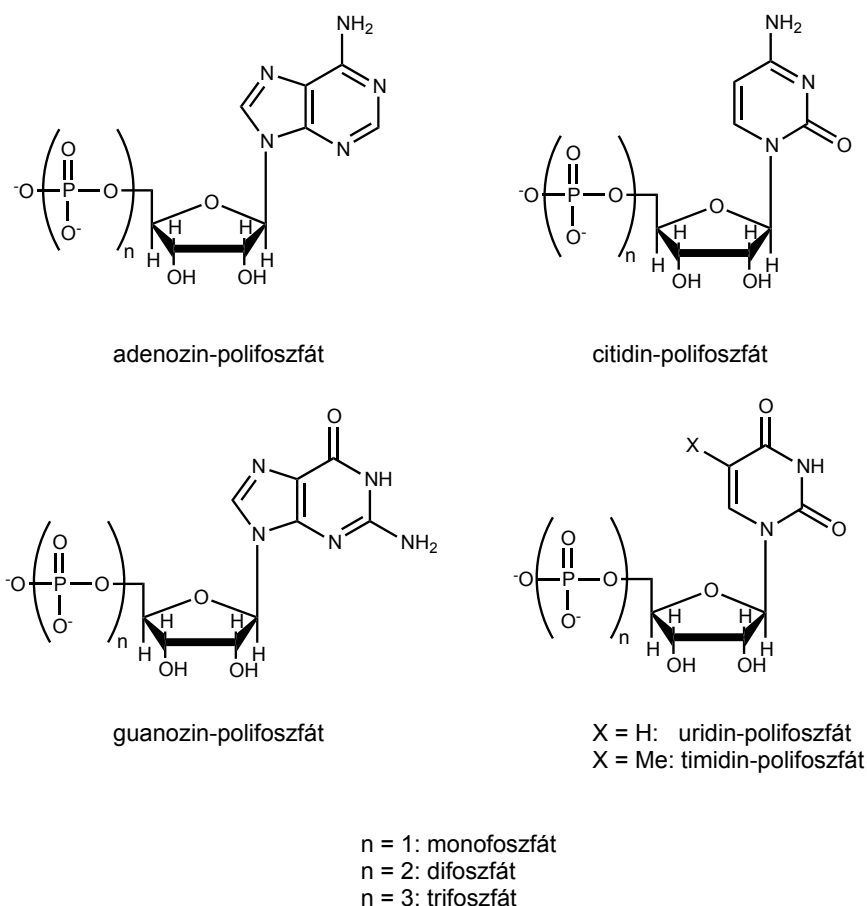
1.1. táblázat – a tervezett receptorok alegységeinek szerkezete

Technikai megjegyzés: a dolgozatban előforduló molekulák számozása helyenként eltér a szokásostól, mivel sok esetben nem lineárisan történt az előállításuk. A célmolekulák jelölése egy számból, és esetenként egy betűből áll. A szintézisek során előállított intermediereket az adott célmolekula számával, majd kötőjellel összekötve két másik számmal jelöltem, ahol az első az Y-szintézis ágát, a második pedig a sorszámát jelenti a reakciósorban. A közös prekurzoroknál természetesen csak egy szám szerepel.

3. IRODALMI RÉSZ

3.1. Nukleozid-polifoszfátok

A nukleozidok nukleobázisból (röviden: bázis) és egy béta-glikozidos kötással összekapcsolt D-ribózból vagy dezoxi-D-ribózból álló molekulák. Biológiailag jelentős polifoszfátjaik közül a legfontosabbak felépítése a 3.1.1. ábrán látható:



3.1.1. ábra – a legfontosabb nukleozid-polifoszfátok

A nukleozid-polifoszfát egységeket nukleotidoknak hívjuk. Ezek a vegyületek egymással összekapcsolódva hozzák létre az élet alapvető makromolekuláit, a nukleinsavakat: az RNS-t és (amennyiben a 2'-helyzetű hidroxilcsoportot hidrogén, vagyis a cukoregység D-ribózt dezoxi-D-ribóz helyettesíti) a DNS-t. Maguk a különálló nukleotid egységek is nélkülözhetetlenek a sejtek metabolikus

folyamataiban, a sejtek közötti kommunikációban, valamint fontos koenzimek a fehérjék által biokatalizált reakciókban.

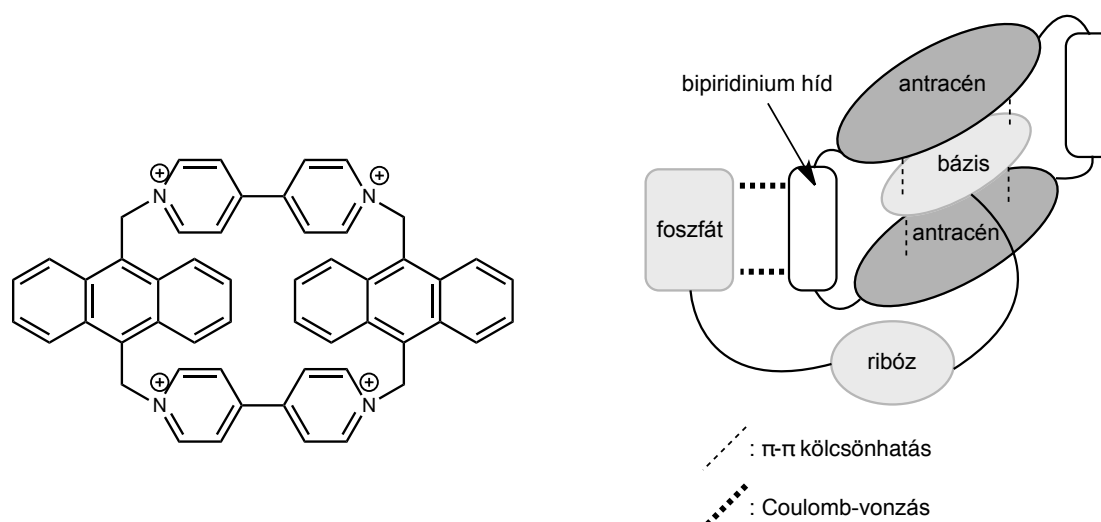
A szabad nukleotidok közül az egyik legfontosabb az ATP. A molekulát 1929-ben fedezte fel egy német kémikus, *Karl Lohmann*, a vegyület energiatranszfer szerepére *Fritz Albert Lipmann* derített fényt 1939 és 1941 között [5]. Az ATP egyik legfontosabb feladata a sejtek endergonikus folyamatainak energiaellátása. Ezen reakciók végbemenetele az ATP hidrolízise során felszabaduló energiának köszönhető. Az ATP egy foszfátcsoportjának hidrolízise során ADP keletkezik, a biokatalizált reakciót kísérő szabadentalpia-változás $-30,5$ kJ/mol. Amennyiben az enzimatis körülmények között két foszfátcsoport (pirofoszfát) hidrolizál el, AMP keletkezik, az így felszabaduló szabadentalpia $45,6$ kJ/mol [6]. A legtöbb energiaigényes folyamatot ez a reakció működteti, ilyenek a makromolekulák (pl. DNS) felépítése, a sejtek osztódása vagy a transzportfolyamatok egy része. A bevezetőben említett molekuláris felismerés jó példája egyes fehérjék, pl. a kináz enzimek ATP-hez való kötődése. Ezek az enzimek a nagyenergiájú donorokról, mint az ATP, foszfátcsoportot visznek be az adott, a fehérjére specifikus szubsztrátokra. Ez a folyamat a foszforiláció. Az ATP-nek ezen kívül információtovábbítási szerepe is van, mind a sejten belül, mind azon kívül. A GTP az RNS-szintézisében és a citrátciklusban is részt vesz, valamint ez a molekula biztosítja a fehérjeszintézishez szükséges energiát.

3.2. Szintetikus nukleotid-receptorok

Bár rendelkezésre áll néhány érzékeny és szelektív módszer a nukleotidok meghatározására - ilyenek pl. a HPLC, a kapilláris elektroforézis, az enzimalapú, elektrokémiai vagy éppen a tömegspektroszkópiás módszerek - még mindig komoly problémát okoz e komplikált műszerek működtetése egy olyan bonyolult mátrixban, mint egy élő rendszer. Az olyan szenzorok, amelyek fluoreszcenciás viselkedése a vizsgálandó molekula hatására megváltozik, nagyon vonzóak az egyszerűségük, valamint az *in vivo* és *in vitro* alkalmazhatóságuk miatt [7].

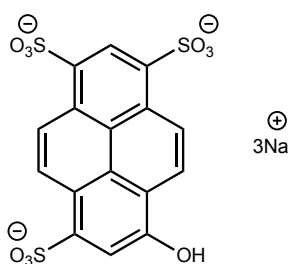
Az ismert fluoreszcens ATP-receptorok képviselőinek egy része szerkezetét tekintve a ciklofán-típusú molekulák közé tartozik. A ciklofánok egy vagy több aromás egységet és metilénsoportokat tartalmazó makrociklusok [8]. A 3.2.1. ábrán

látható **4a** ciklofán, amely ATP-szelektív szenzor [9]. A molekula két, elektronban gazdag aromás részt tartalmaz, ezeket két kationos, ugyancsak aromás „híd” köti össze egymással. Az antracén és adenin molekularészek π - π kölcsönhatás (π - π *stacking*) révén egy ún. szendvics-komplexet alkotnak, míg az ATP trifoszfát egysége a bipyridinium kationnal a Coulomb-vonzás következtében alakít ki ionos kölcsönhatást (ld. 3.2.1. ábra). A komplex képződésére bizonyították az ATP hatására létrejövő UV/VIS abszorbancia csökkenés, ami a többi adenosin-5'-polifoszfáttal nem következik be. A molekuláris felismerést ezen kívül voltammetriával és NMR-vizsgálattal is bizonyították. A szenzor hátránya az UV/VIS mérés kis érzékenysége, a fluoreszcencia spektroszkópia a molekula csekély kvantumhasznosítási tényezője miatt itt nem használható.



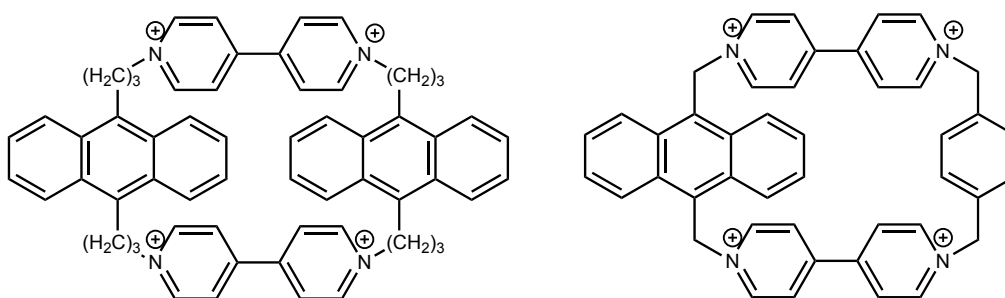
3.2.1. ábra – **4a** molekula (balra) és a komplex vázlatos felépítése (jobbra) [9]

Ramaiah és munkatársai későbbi munkájuk során ugyanezt a receptort egy fluoreszcens festékkel (HPTS, 8-hidroxi-1,3,6-pirén-triszulfonát, ld. 3.2.2. ábra) együtt használva GTP-szelektív szupramolekuláris *off-on* (másnéven *turn-on*) szenzort hoztak létre a kompetitív komplexképzés révén [10]. A FID-nek (*fluorescence indicator displacement*) elnevezett módszer lényege, hogy ha az oldat nem tartalmaz GTP-t, a szenzor és a festékmolekula közötti komplexképzés miatt nagyon gyenge a fluoreszcencia. GTP jelenlétében a GTP kiszorítja a szenzor makrogyűrűjéből a fluoreszcens festékmolekulát, amely így szabadná válva rendkívül erős fluoreszcenciát mutat. Hasonló, bár kisebb intenzitású hatást vált ki az ATP is.



3.2.2. ábra – HPTS

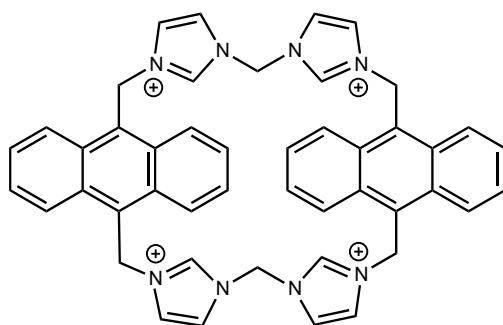
Azóta számos hasonló elven működő ciklofánt állítottak elő, melyek különböző vendégmolekulákkal képesek „molekuláris kapszulák” létrehozására [11], [12], [13]. A cikkekben említett **5** és **6** molekulák **4**-hez hasonlóan GTP-felismeréssel rendelkeznek, ami HPTS jelenlétében fluoreszcenciásan észlelhető, azonban érzékenységük kisebb, **5** esetében a nagyobb kavitás, **6** esetében a kisebb aromás felület miatt (3.2.3 ábra).



3.2.3. ábra – **5** (balra) és **6** (jobbra) szenzorok

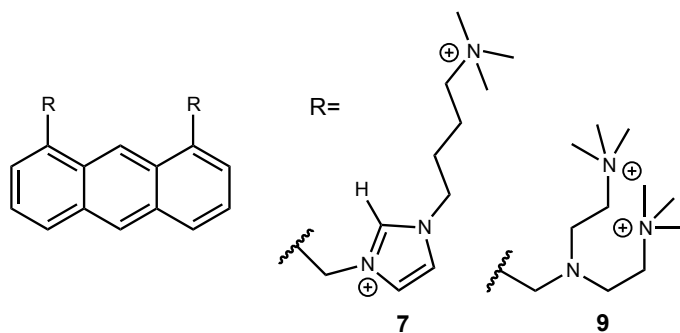
2011 szeptemberében jelent meg egy publikáció [13], amiben *Kim* és munkatársai **4a**-hoz hasonló, azonban a bipyridinium viologén helyett 1,1'-metilén-bisz(imidazol-3-ium) egységeket tartalmazó *off-on* szenzor (**4b**) előállításáról számolnak be¹. A fluoreszcencia spektroszkópiás mérések alapján a molekula a nukleozid-polifoszfátok között GTP-, az anionok között pedig jodidion-szelektivitást mutat. A kétfunkciós szenzor működése a vendég és a gazda között fellépő CHEQ (*chelation-enhanced fluorescence quenching*) effektuson alapszik [14], vagyis a vendégmolekulák hatására jelentős fluoreszcencia-kioltás jön létre.

¹ Ezt a molekulát mi is terveztük előállítani, melyhez a szintézis kiindulási anyagát, a 9,10-bisz(brómmetil)-antracént elkészítettem.

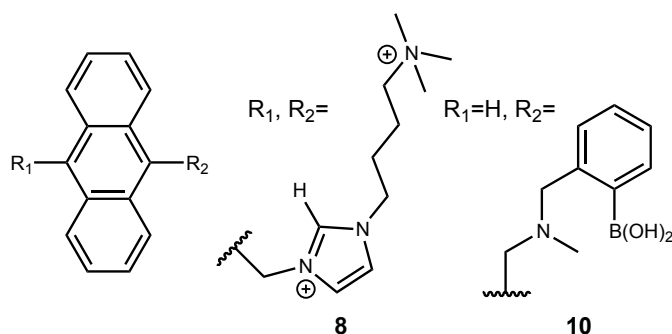


3.2.4. ábra – **4b** szenzor

Az eddig említett ciklofánoktól szerkezetüket tekintve külön csoportot alkotnak a nyílt láncú **7-15** podáns-típusú receptorok. A *Yoon* és munkatársai által leírt **7-10** molekulák 1,8-, illetve 9,10-diszubsztituált antracének, mely aromás rendszer a nukleotid bázisával lép kölcsönhatásba [7]. A **7** és **8** molekulák karonként egy, a foszfáttal hidrogénkötést létesíteni képes imidazolium-egységet tartalmaznak, valamint a láncvégeken egy kationos ammóniumcsoport van, ami elektrosztatikus vonzáson alapuló kölcsönhatást létesít az anionos vendégmolekulákkal. A **9** szenzor csak ammóniumcsoportot tartalmaz, a **10** molekula pedig egy boronsavegységet, ami a ribóz komplexálására képes [15] (a szerkezeteket ld. 3.2.5-6. ábra), mivel a boronsav poliolokkal könnyen és reverzibilisen képez ciklikus észtereket [16].



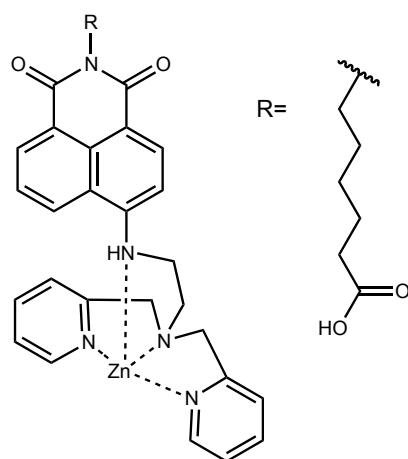
3.2.5. ábra – **7** és **9** molekulák



3.2.6. ábra – **8** és **10** molekulák

Az 1,8-helyzetben imidazolium-származékkal diszubsztituált **7** molekula GTP-vel képezi a legerősebb komplexet (a kölcsönhatás következménye a fluoreszcencia kioltás), ATP hatására pedig fluoreszcencia-növekedés tapasztalható. Míg **8** molekula ATP-vel való kölcsönhatása jelentős, **9** leginkább a GTP okozta fluoreszcencia-csökkenést mutatja, ezen kívül ATP-vel és CTP-vel is képez komplexet. A boronsav-tartalmú **10** szenzor az összes adenzin-5'-polifoszfáttal és GTP-vel is képes komplexképzésre, mérsékelt szelektivitással az AMP-vel szemben.

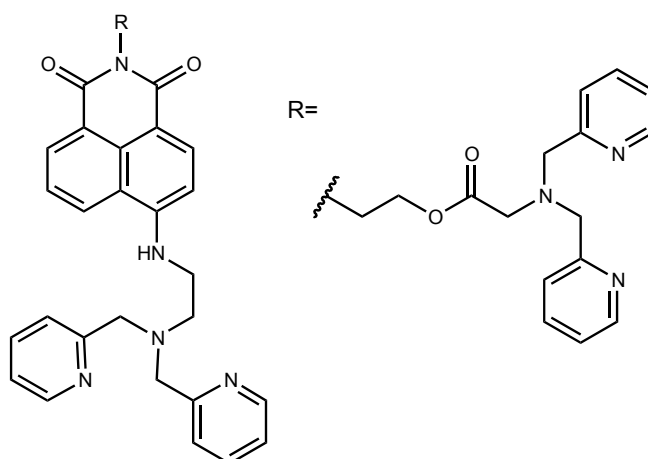
Moro és munkatársai a naftálimid fluoroforral jelzett **11** Zn(II)-komplexet állították elő [17], amely jelentős ATP és ADP szelektivitással bír többféle biológiai rendszerben előforduló anionnal (pl. citrát, foszfát, stb.) szemben.



3.2.7. ábra – **11** szenzormolekula

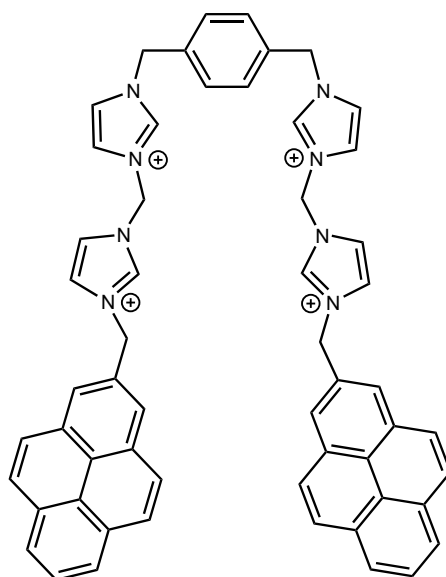
A **11** molekulát továbbfejlesztve pirofoszfát-szelektív, két dipikolilamin-egységet tartalmazó anionreceptort állítottak elő (**12**) [18]. A gyengén fluoreszkáló **12**-ből két ekvivalens Zn^{2+} hatására képződő komplex nagy fluoreszcencia-

intenzitásnövekedést mutat, amit a pirofoszfátion anion kiolt. Bár ez a szenzor nem a nukleotidokat érzékeli közvetlenül, mégis hasonló biológiai alkalmazhatósága van, mivel a pirofoszfát anionok a sejtfolyamatokban fontos szerepet játszanak, valamint a nukleotidok reakcióiban is részt vesznek.



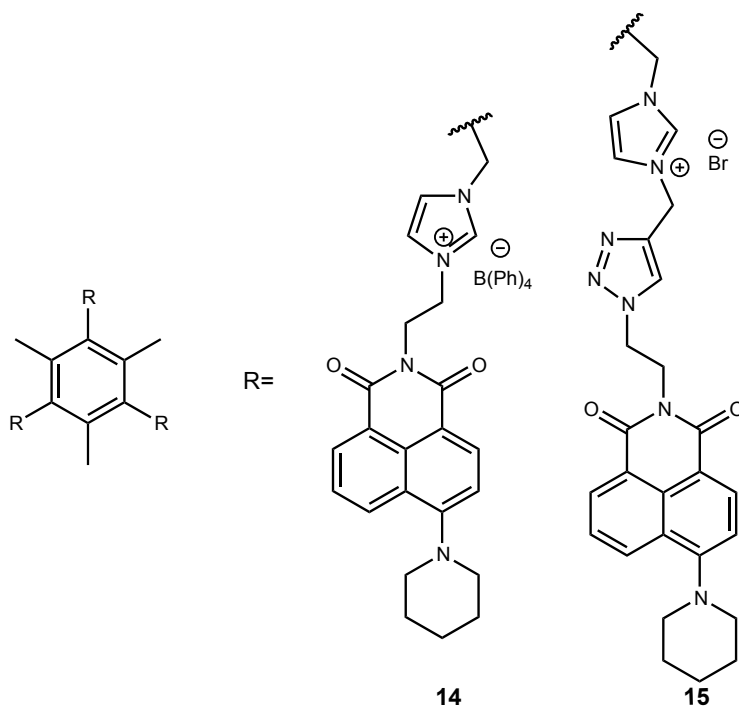
3.2.8. ábra – **12** szenzormolekula

A következő típusú receptorok egy spacer részből, valamint az ehhez kapcsolódó, a komplexálásért felelős karokból-egyenként egy vagy két, a hidrogénkötést donáló heterociklus- és egy fluorofor egységből állnak. *Kim* és *Yoon* kutatócsoportja állította elő a **13** „kétkarú” podánst, ahol a spacer egy *p*-xililén gyűrű, a heterociklusok imidazolium kationok, a fluoroforok pedig pirén gyűrűk [4]. A receptor működésének alapja az excimer hatás [19]. Az emissziós fluoreszcencia spektrumban 375 nm-nél a monomer, 487 nm-nél pedig a pirén-pirén excimer csúcsa található. Az ATP-vel alkotott komplex esetén a két nagyfelületű poliaromás rendszer és az adenin között π - π kölcsönhatás jön létre, vagyis a bázis π -elektronokban szegény gyűrűje a két, π -elektronokban gazdag kondenzált aromás gyűrű közé kerül, míg GTP és más nukleozid-trifoszfátok esetén a bázis csak az aromás „szendvicsen” kívül tud elhelyezkedni. Ez jól látható a fluoreszcencia spektrumokon: a szeparáció miatt a monomer hullámhosszon jelentős intenzitásnövekedés csak az ATP-vel figyelhető meg, a többi nukleozid-trifoszfáttal csak kioltás látszik az excimer csúcsnál. A szenzor szelektivitása ADP-vel és AMP-vel szemben is figyelemreméltó, ebben az esetben a detektálás alapja a két hullámhosszon (monomer és excimer) mért intenzitás eltérő hányadosa.



3.2.9. ábra – **13** receptormolekula

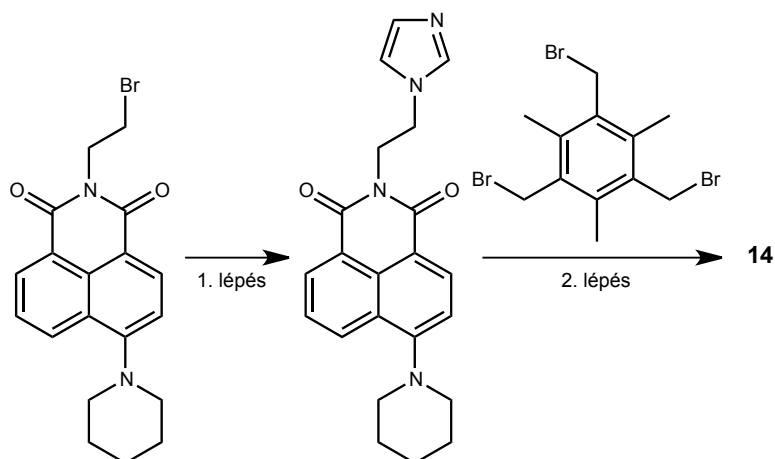
Duan és munkatársai írták le a **14** és **15** „háromkarú” podánsokat [3]. Fotokémiai viselkedésük a **4** receptor HPTS-komplexéhez hasonló, szelektív *turn-on* fluoreszcenciát mutatnak bizonyos nukleotidokkal szemben - bár a működésük a korábban említett szenzortól teljesen eltér, ugyanis itt nem egy fluoreszcens festék „felszabadulása” okozza a fluoreszcencia intenzitás növekedését.



3.2.10. ábra – **14** és **15** szenzormolekula

A receptorokat az összes fontosabb nukleotiddal vizsgálták, ami alapján a **14** molekula ADP-vel, a **15** pedig ATP-vel, illetve kisebb mértékben GTP-vel és UTP-vel képzett fluoreszcenciásan kimutatható komplexet. Az ATP **15** vizes oldatában mintegy 14-szeres intenzitásnövekedést okozott.

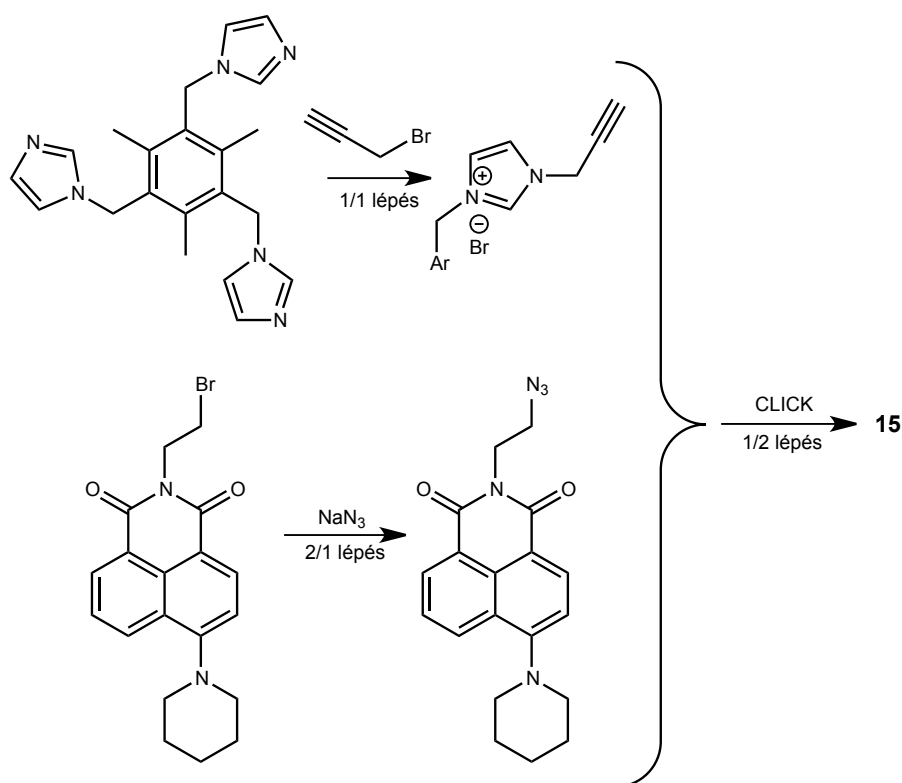
Mivel ezekhez a molekulákhoz hasonlókat terveztünk, célszerű bemutatni a szintézisüket, amelyek a 3.2.11. és 3.2.12. ábrákon láthatók.



3.2.11. ábra – **14** szenzormolekula szintézise

A **14** receptormolekula előállításának **1. lépésében** az *N*-brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimidet² absz. THF-ben, K₂CO₃ jelenlétében imidazollal reagáltatták, majd a kapott származékot a **2. lépésben** alkilezték 1,3,5-trisz(brómmetil)-2,4,6-trimetilbenzol trifunkciós alkilezőszerrel, kloroformban, reflux hőmérsékleten. Az anioncserét nátrium-tetrafenil-boronáttal végezték metanolban.

² Ezt a fluoreszcens prekuzort mi is előállítottuk, szintézise az Elméleti részben kerül ismertetésre.



3.2.12. ábra – **15** szenzormolekula szintézise

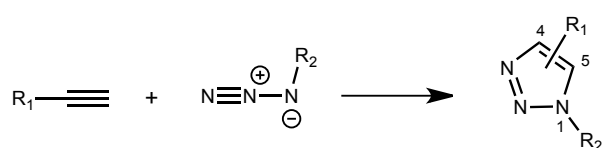
A **15**-a komplexképzésért felelős karokban heterociklusként az imidazol mellett 1,2,3-triazolt is tartalmazó- gazdamolekula szintézisében az **1/1. lépés** egy N-propargilezési reakció volt, a kiindulási trisz-imidazol-származék előállítását korábban már leírták [20]. Az acetonitrilben végbemenő reakció során az oldószerből kivált a propargilezett, ionos karakterű termék. A **2/1. lépésben** nátrium-aziddal reagáltatták az N-brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimidet, a szubsztitúciót etanolban végezték. A **15** célmolekulát a 3.3. fejezetben részletesen ismertetett click reakcióval állították elő a megfelelő azid- és alkinszármazékból, THF-ban, réz(I)-jodid katalizátor mellett.

3.3 A click reakció

A click kémia filozófiát 2001-ben vezette be a szerves kémiába *K. Barry Sharpless* [21], ugyanabban az évben, amikor Nobel-díját is átvette. A felfogás lényege, hogy a jövő szerves kémikusának a természetet kell utánoznia szintézise megtervezésekor, vagyis kis egységek összekapcsolásával gyorsan és megbízhatóan kell előállítania a kívánt terméket, nagy atomhatékonysággal,

veszélyes melléktermékek keletkezése nélkül, nagy szelektivitással és jó termeléssel. A Diels-Alder cikloaddíció például jól megfelel ezeknek a kritériumoknak. A legismertebb click kémia-beli reakció mégsem ez, hanem az azidok és alkinok között végbemenő, *Huisgen* által felfedezett, majd *Sharpless* által továbbfejlesztett cikloaddíció. Ezt szokás a szakirodalomban click reakció néven említeni, és ezt az átalakítást én is felhasználtam munkám során triazolcsoportok szintézisére.

A reakciót valójában *A. Michael* fedezte fel még 1893-ban, majd később *Rolf Huisgen* 1961-ben foglalkozott komolyabban a témával [22]. A reakció során egy azid és egy alkin termikus addíciója révén 1,2,3-triazol keletkezik (ld. 3.3.1. ábra).

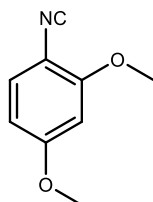


3.3.1. ábra – az azid-alkin Huisgen cikloaddíció

A probléma a reakcióval az, hogy termikus körülmények között általában izomerelegy (1,4- és 1,5-diszubsztituált termékek) keletkezik. Ennek megoldása volt 2002-ben, a szintén *Sharpless*-nek tulajdonítható réz(I)-katalízis alkalmazása [23] (rézkatalizált azid-alkin cikloaddíció, nevének rövidítéséből CuAAC). Az olykor vizes közegben is lejátszódó, a végbemenetelhez általában megfelelő bázist is igénylő reakció terméke tisztán az 1,4-diszubsztituált-1,2,3-triazol-származék. A reakció mechanizmusának első lépéseként a bázis lehasítja az alkin savas protonját, ami a jelenlévő Cu^+ -ionnal egy réz-acetilid intermediert alkot [24]. Az átmeneti állapotban a komplex két rézatomot tartalmaz [25]. Az aziddal egy gyűrűs réz-azid-acetilid komplex jön létre, amely a későbbiekben hozza létre az öttagú triazolgyűrűt. A végső lépés a protonálás (a protonforrás a konjugált sav).

A cikloaddíció rendkívül széleskörűen használható, a már említett regioszelektivitáson kívül előnye, hogy széles pH-tartományban működik, többféle oldószerben, magas kemoselektivitással, vagyis a többi funkciós csoport jelenléte nem zavarja a végbemenetelét. Katalizátorként leggyakrabban réz(I)-jodidot, bázisként Hünig-bázist használnak. Sokszor alkalmazott módszer a Cu^+ *in situ* előállítása, ezt $CuSO_4$ -ból nátrium-aszkorbáttal végzik, ebben az esetben a bázis az aszkorbinsav sója.

A reakció hátránya, hogy a réz(I)-ion toxikus és nem túl stabilis, redukálószeres távollétében könnyedén oxidálódhat réz(II)-vé. Ennek kiküszöbölésére többféle komplexképző ligandumot fejlesztettek ki [26], [27], [28], [29]. Az általunk használt katalizátorrendszereket az irodalomban leírták [28], [29]. A *Girard* és munkatársai által vizsgált katalizátor egy ioncserélő gyanta (Amberlyst A21) réz(I)-jodid komplexéből áll [28]. A polimer aminocsoportjai komplexálják a Cu^+ -ionkat, és egyúttal bázisként is szolgálnak a click reakcióhoz. Ez a katalizátor stabil, nagy aktivitású és újrahasznosítható. Amikor a fenti katalizátor használata nem vezetett eredményre, egy újonnan leírt és még aktívabb rendszert használtunk [29]. A módszer lényegében „on water” körülmények között megvalósított, a CuCl 2,4-dimetoxi-fenil-izocianiddal (3.3.2. ábra) alkotott stabilis komplexe által katalizált click reakció.



3.3.2. ábra – 2,4-dimetoxi-fenil-izocianid

3.4. 1,8-Naftálimid fluoroforok fluoreszcenciás tulajdonságai, felhasználásuk

Minthogy 1,8-naftálimid fluoreszcens markert tartalmazó receptorok szintézisét terveztük, az ide tartozó irodalmi előzmények bemutatását követően, az alábbiakban rövid áttekintést adok e molekulakör jellemző tulajdonságairól.

Az ionok detektálására képes optikai szenzorok körében az ICT (*internal charge transfer*, molekulán belüli töltésátvitel) gerjesztett állapotú 4-amino-1,8-naftálimid kromofor nagy népszerűsége tett szert. Ez a kromofor a látható fény tartományban abszorbeál és emittál, jó a fotostabilitása és a kvantumhasznosítási tényezője [30]. Különösen fontos szerepet játszik a fluorofor-spacer (1-2 CH_2)-receptor típusú PET (*photoinduced electron-transfer*, fotoindukált elektrontranszfer) szenzorok tervezése és előállítása terén [30], [31]. Az esetek többségében a receptor egység a naftálimid- 4-amino csoportjához kapcsolódik, s minthogy az ICT gerjesztett állapot *push-pull* természetű (amit az elektronküldő amin és az

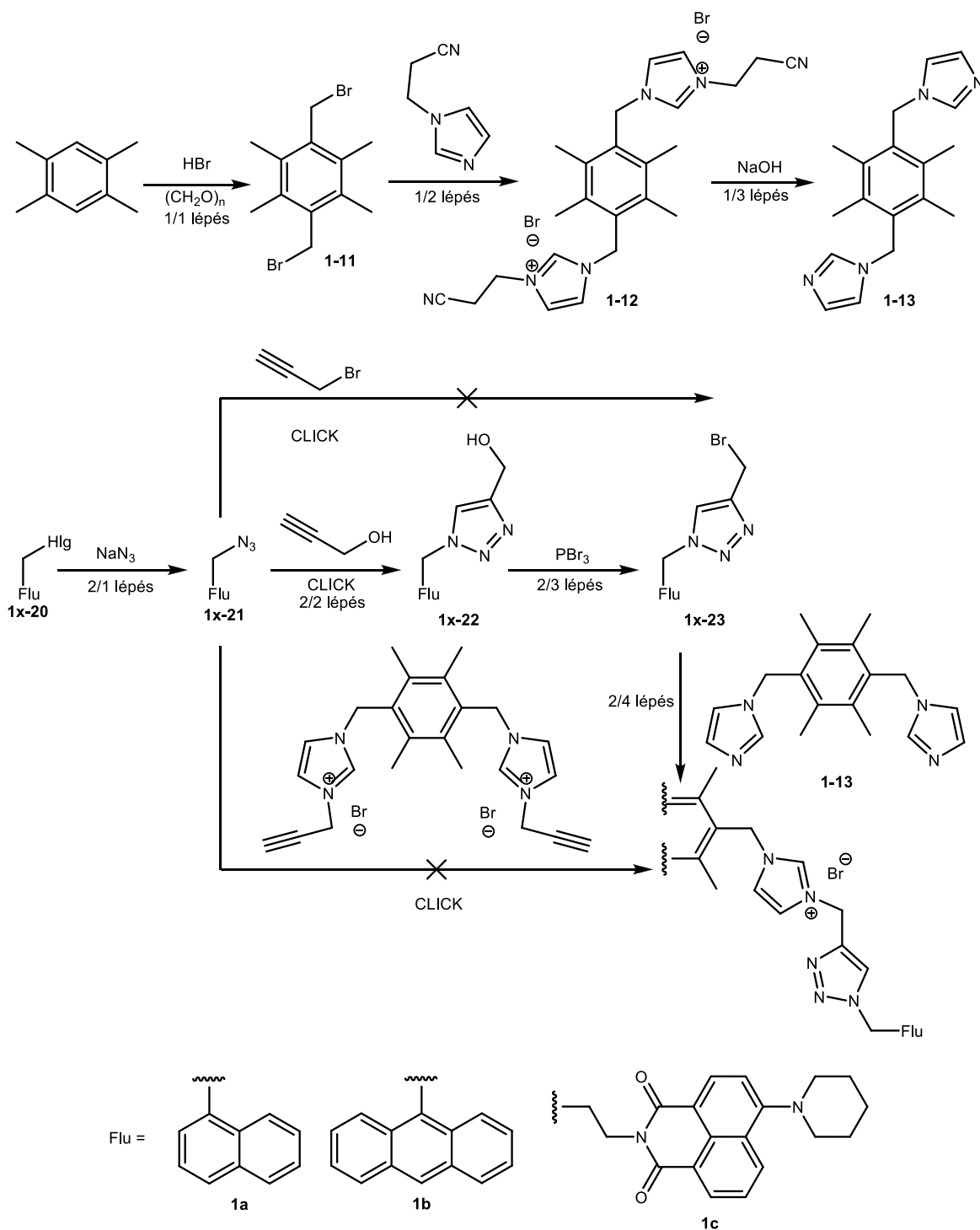
elektronvonzó imid okoz), ez a töltések szétválását eredményezi. Ez a folyamat vezet a fluoreszcencia részleges vagy teljes kioltásához (*PET quenching*), ha a receptor-szubsztrát komplex gazdagabb elektronokban, mint a szabad receptor (*on-off* szenzor). Fordított esetben a komplexképzés fluoreszcencia növekedéssel jár (*off-on* szenzor).

A fluoreszcencia kioltás- és visszanyerés mechanizmusa

A 4-amino-naftálimidek alapállapota (*g*) a fluorofor egy HOMO pályájának gerjesztésekor egy kevésbé töltésszeparált lokálisan gerjesztett állapottá (*e*) alakul, ami fluoreszcens. Ebből az amino-nitrogén atom elektron-transzferje révén létrejön egy töltésszeparált állapot (*e_{CT}*), ahol a nitrogén atom pozitív töltésű, míg a dikarboximid rész negatív töltést hordoz és az elektron transzfer mértékétől függően fluoreszcencia csökkenés vagy kioltás lép fel (PET). Ha ez a (4→9) irányú PET gátolt, akkor a fluoreszcenciát visszanyerjük [32]. Sokáig úgy vélték, hogy a PET egyirányú (4→9), vagyis ha egy elektronban gazdag csoport az imid 9-N-atomjához kapcsolódik, a PET kioltás nem lép fel. Ma már van példa a fluoreszcencia másik irányú (9→4) PET kioltására is [33].

4. ELMÉLETI RÉSZ

4.1. Az 1 típusú receptorkok szintézise



4.1.1. ábra – 1 típusú szenzormolekulák előállításának áttekintése (a számozásban szereplő x lehet a, b vagy c, a fluorofór egységektől függően)

4.1.1. 1,1'-((2,3,5,6-Tetrametil-1,4-fenilén)bisz(metilén))biszimidazol (1-13) szintézise

Az ebben a pontban ismertetett reakciókat nem én végeztem el, az **1-13** származékot készen kaptam témavezetőmtől. Ennek ellenére a szintézisek átláthatósága és érthetősége érdekében célszerű, hogy ezek is szerepeljenek a dolgozatban.

Az első reakció (**1/1. lépés**) **1-11** bifunkciós alkilezőszer előállítása. Ez a kereskedelembe kapható durolból (1,2,4,5,-tetrametil-benzol) történt jégecetes hidrogén-bromid oldattal, paraformaldehiddel jégecetben, annak forráspontján [34]. Az **1/2. lépés** volt az 1-es helyzetű nitrogénen cianoetil védőcsoportot tartalmazó imidazol N-alkilezése acetonitrilben, reflux hőmérsékleten. Az elegyből kiváló ionos terméket szűrve, majd vízben oldva a védőcsoportot NaOH híg vizes oldatával távolítottuk el (retro-Michael reakció) (**1/3. lépés**), megkapva **1-13** intermediert.

4.1.2. Célmolekulák (1)

Az α -naftil fluorofor csoporttal rendelkező receptor (**1a**) kiindulóanyaga az α -klórmetil-naftalin volt, amely kereskedelmi termék, a 9-antril (**1b**) illetve a 9-N-etil-naftálimid (**1c**) fluorofor csoporttal rendelkező szenzorok esetében pedig a megfelelő brómszármazékokból történt a szintézis, melyek előállítása a 4.1.3. pontban található. Itt jegyzem meg, hogy az **1a** molekula, bár rendelkezik fluoreszcenciás tulajdonságokkal, előállításának elsődleges célja a szintetikus út kifejlesztése volt.

A **2/1. lépésben** az **1x-20** halogénszármazékokat nátrium-aziddal reagáltattam, **1a-20** esetében acetonitrilben [35], **1b-20** [36] és **1c-20** esetében dimetil-szulfoxidban 50°C-on. A szubsztitúció minden esetben könnyen végbement, a feldolgozás után a VRK- és NMR-vizsgálatok alapján mindössze a naftálimid-származékot (**1c-21**) volt szükséges tisztítani, amit megfelelő átkristályosítószer hiányában oszlopkromatográfiásan végeztem DKM-aceton 95:5 arányú elegyével. Mivel az eluens kitűnően elválasztotta a megfelelő terméket a szennyezőjétől, a módszerhez képest jó termeléssel sikerült előállítani az **1c-21** azidot (a termeléseket a Kísérleti részben közlöm).

A következő lépésben már közvetlenül **1a** célmolekula előállítását szerettem volna megvalósítani, azonban (ld. 4.1.1. ábra alsó szintézisút) ez megghiúsult, így **1b**

és **1c** molekulákat már nem is kíséreltem meg így szintetizálni. Az **1/2. lépésben** kapott, két imidazol heterociklust tartalmazó molekula propargilezett származékával a click reakciót többféle katalizátorrendszer jelenlétében is megpróbáltam megvalósítani, azonban többféle feldolgozási kísérlet után a terméket egyszer sem sikerült izolálni. A kipróbált katalizátorok: réz(I)-jodid, THF-ban reflux hőmérsékleten ([3] leírásához hasonlóan), Amberlyst A21·CuI katalizátor diklórmétánban, valamint diklórmétán és metanol elegyében szobahőmérsékleten. A reagensek mólarányának változtatásával is próbálkoztam, azonban feltételezhető, hogy (amennyiben a reakció legalább részben végbemegy) az azidot minor komponensnek véve a reakcióban „félkarú”, vagyis csak egy triazol egységet tartalmazó „félkész” termék is keletkezik. A propargilvegyületet minor komponensként használva, a másik kiindulóanyagot nagyvákuumban kidesztillálva sem kapható meg a tiszta termék.

Nem volt járható út a propargil-bromiddal megkísérelt click reakció sem, ebben az esetben nem találtam termékre utaló foltot a VRK-vizsgálat során. Ez összhangban van azzal az irodalmi tapasztalattal, hogy míg propargil-alkohollal megvalósított click reakciókat szép számmal találunk leírva, addig propargil-bromiddal megvalósított Huisgen-Sharpless cikloaddícióról eddig jóformán senki sem számolt be [28], [37], [38].

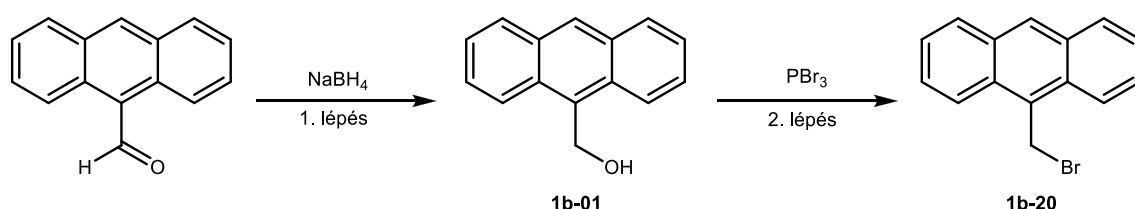
A következő alternatív szintézisút volt a brómmetil-triazol-származékok (**1x-23**) közvetett előállítás. Először (**2/2. lépés**) propargil-alkohollal reagáltattam az **1x-21** azidvegyületeket Amberlyst A21·CuI katalizátor jelenlétében, diklórmétánban szobahőmérsékleten. A reakciók jól mentek, csak a naftil-származéknál (**1a-22**) volt szükség oszlopkromatográfiás tisztításra a VRK- és NMR-vizsgálatok alapján (eluens: DKM-metanol 95:5). Ezután (**2/3. lépés**) foszfor-tribromiddal végeztem a hidroxilcsoportok cseréjét brómra. A reakciókat diklórmétánban, szobahőmérsékleten végeztem, feltételezve, hogy a triazol egységhez kapcsolódó hidroximetil csoport a benzilhez hasonló reaktivitású. A szubsztitúciók könnyen és gyorsan végbementek.

A célmolekulák (**1x**) előállításának utolsó lépése az **1/2. lépésben** kapott bisz-imidazol-származék (**1-13**) kétszeres N-alkilezése volt (**2/4. lépés**). Ezt acetonitrilben, reflux hőmérsékleten végeztem, az alkilezőszer kis feleslege mellett (az „egykarú” származék keletkezésének elkerülése miatt). Az oldószerből tisztán kivált mindhárom termék, ezért azok semmiféle további tisztítást nem igényeltek.

Az acetonitrilben végzett, anionfelismerést vizsgáló előzetes NMR-analízis céljából (ld. 4.6. fejezet) **1a** molekula bromid anionját hexafluorofoszfátra cseréltem (**1a-PF₆⁻**). Az ioncsere kivitelezése egyszerű volt, az **1a** szenzort feloldottam DMSO-ban, majd tízszeres mennyiségű ammónium-hexafluorofoszfát telített vizes oldatát csepegtettem hozzá, végül vízzel kicsaptam a terméket. A termék oldhatósága acetonitrilben lényegesen jobb volt, mint **1a** bromid sóé.

4.1.3. Az **1b** és **1c** molekulákhoz szükséges halogénvegyületek szintézise (**1b-20** és **1c-20** előállítása)

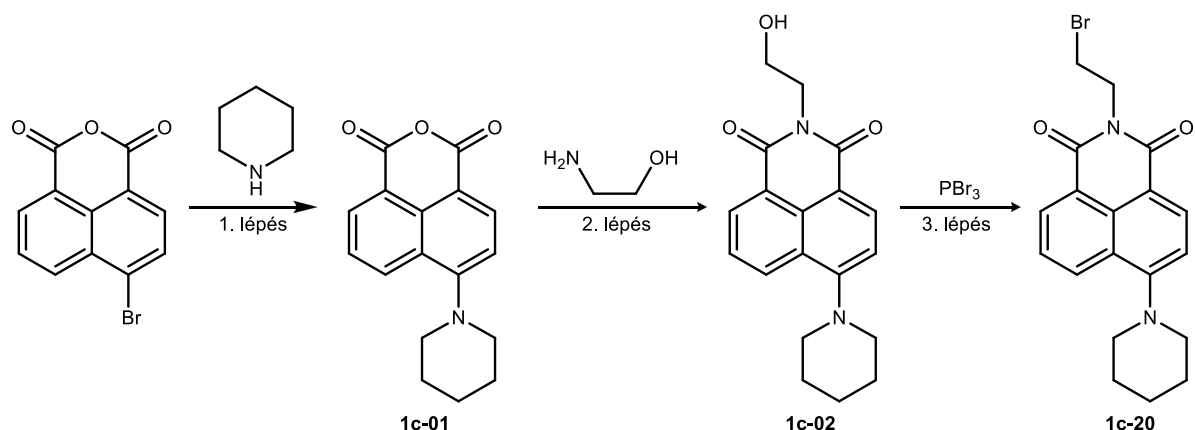
Az **1a** molekulához vezető úton nem volt szükség az α -klórmetyl-naftalin (**1a-20**) előállításra, mivel az rendelkezésre állt. Az **1b** molekulánál használt 9-brómmetyl-antracént, illetve a naftálimid-származékot készen kaptam, akárcsak az **1-13** molekulát, azonban ezeknél is közlöm az előállításokat a teljes szintézisút láthatósága érdekében. A halogénszármazékokat az irodalomban leírt módszerek alapján két (**1b-20**, [36]), illetve három (**1c-20**, [3]) lépésben állítottuk elő. Az antracénvegyület előállítása:



4.1.3.1. ábra – A 9-brómmetyl-antracén (**1b-20**) előállítása

A kiinduló 9-antraldehydet, mely a kereskedelemben hozzáférhető, etanolban nátrium-borohidriddel redukáltuk (**1. lépés**), majd foszfor-tribromiddal, toluolos közegben készítettük el az **1b** molekula kiindulóanyagát (**1b-20**).

Az **1c-20** naftálimid-származék előállítása a 4.1.3.2. ábrán látható.

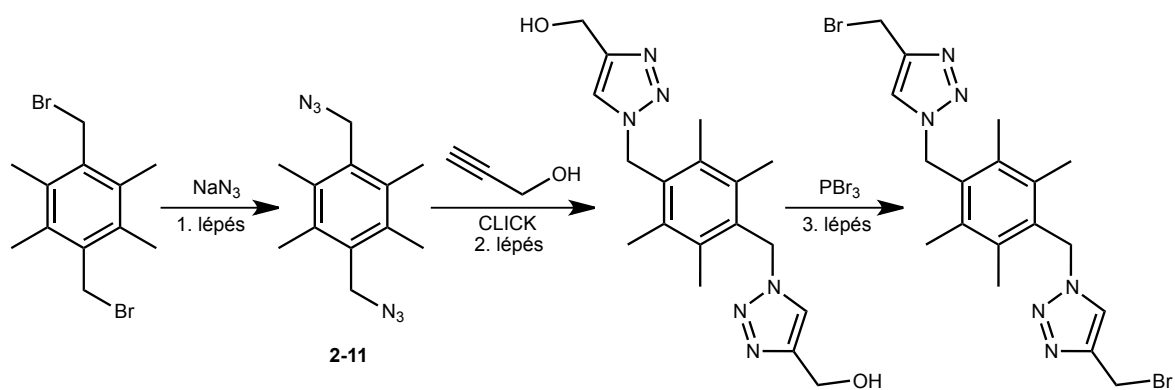


4.1.3.2. ábra – A 9-*N*-brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (**1c-20**) előállítása

A kiindulási vegyület a kereskedelemben kapható 4-bróm-naftálsavanhidrid, amelyet az **1. lépésben** piperidinnel reagáltattunk klórbenzolban forráshőmérsékleten [39]. A nyersterméket izopropanolból átkristályosítva kaptuk meg a tiszta **1c-01**-et. A következő reakcióban (**2. lépés**) a savanhidridből imidet képeztünk etanolaminnal, az oldószer (etanol) forráspontján. A **3. lépés** a hidroxilcsoport brómra történő szubsztitúciója volt foszfor-tribromiddal, refluxáló kloroformban (**1c-20**).

4.2. A 2 célmolekula szintézise

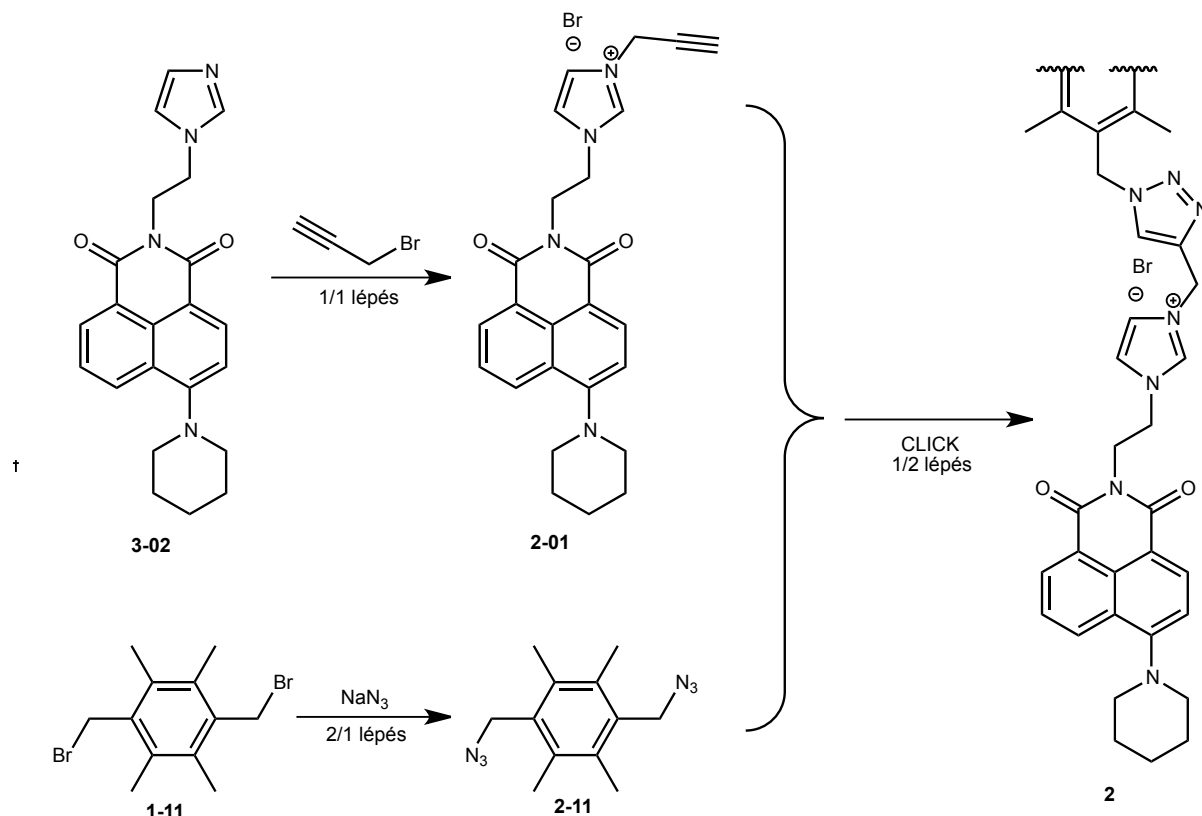
A **2** receptorjelölt szerkezeti különbsége a már bemutatott **1c** molekulához képest az, hogy a kationos (imidazólium) heterociklus ennél a receptornál a fluoroform egységhez, míg a triazol csoport a spacer durolhoz kapcsolódik karonként egy metilénhíddal, vagyis a két heterociklust **2** fordított helyzetben tartalmazza az **1** típushoz képest. Többféle előállítást kíséreltünk meg. Az **1** típusú receptoroknál tapasztaltak miatt először igyekeztem elkerülni a **2-01** ionos propargilvegyület click reakcióját, ezért a 4.2.1. ábrán látható út szerint jártam el.



4.2.1. ábra – **2** molekula tervezett szintézisének első három lépése

A tervezett szintézis azonban megghiúsult, mert a 3. lépést a bisz-hidroximetil származék oldhatatlansága miatt egyelőre nem sikerült megvalósítani.

Végül **2** előállítását a **2-01** ionos propargilvegyület és a **2-11** diazid Huisgen-Sharpless cikloaddíciójával kíséreltük meg (4.2.2 ábra).



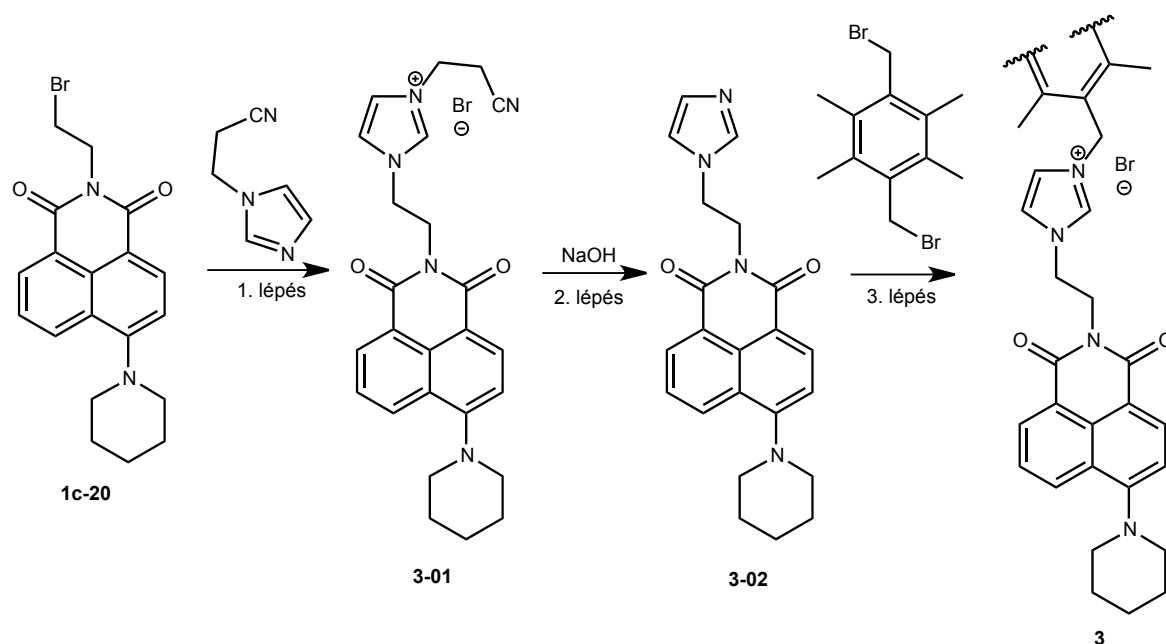
4.2.2. ábra – **2** molekula előállítása

A **3-02** molekula előállítása a 4.3. fejezetben található. Az **1/1. lépésben** propargil-bromiddal, acetonitrilben, reflux hőmérsékleten képeztük a **2-01**

származékot, amit a **2/1. lépésben** az **1-11** vegyületből DMF-ban, nátrium-aziddal képzett azid-származékkal (**2-11**) reagáltattunk réz(II)-szulfát és nátrium-aszkorbát katalizátorrendszerrel, THF-ban szobahőmérsékleten. Acetonos kristályosítás után sem lett tiszta a termék, valamint az oszlopkromatográfiás elválasztás (eluens: kloroform-metanol 7:3) után az anyag NMR-vizsgálat alapján kb. 60 mol% **2-01** kiindulóanyagot tartalmazott. Ezután egy másik click katalizátort próbáltunk ki, ami az Irodalmi részben említett, a 3.3.2. ábrán látható 2,4-dimetoxi-fenil-izocianid CuCl komplexe [29] volt.

A reakciót az azid-származék (**2-11**) feleslegével végeztük, a termékben azonban nem jelent meg a „félkarú” származék. A katalizátort az irodalomban megtalálható módszer szerint, „on-water” körülmények között használtuk, a terméket acetonitriles mosással tisztítottuk, így tisztán kaptuk **2** receptormolekulát.

4.3. A 3 célmolekula szintézise



4.3.1. ábra – **3** szenzormolekula szintézisének áttekintése

A **3** molekula karonként mindössze egy imidazolium heterociklust tartalmaz, ezért a szintézis során nem volt szükség click reakcióra. A **3-02** molekulát készen kaptam, aminek az előállítása (hasonlóan a többi egyszeresen N-alkilezett imidazol-származékhoz) **1c-20** kiindulóanyagból (ennek az előállítását ld. fentebb) két lépésben történt.

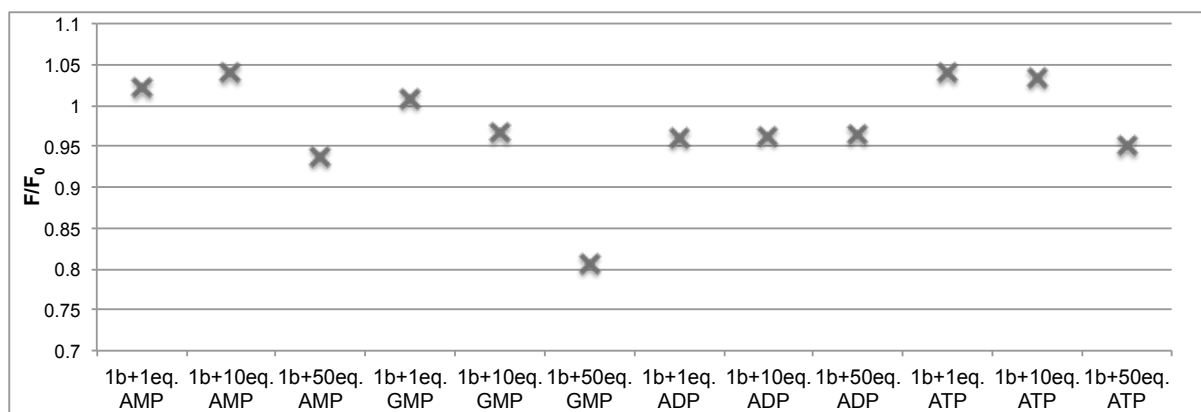
Az **1. lépés** az *N*-cianoetil-imidazol *N*-alkilezése **3-02** halogénvegyülettel acetonitrilben, reflux hőmérsékleten. A védőcsoport eltávolítása vizes nátrium-hidroxiddal történt szobahőmérsékleten (**2. lépés**).

Ezután a már korábban is felhasznált 1,4-bisz-brómmetil-durol (**1-11**) bifunkciós alkilezőszerrel, acetonitrilben, reflux hőmérsékleten végeztem **3-02** kvaternerezését (**3. lépés**). A dibromid-só itt is kivált a reakcióelegyből az **1** típusú molekulákhoz hasonlóan.

4.4. Előzetes spektroszkópiás mérések

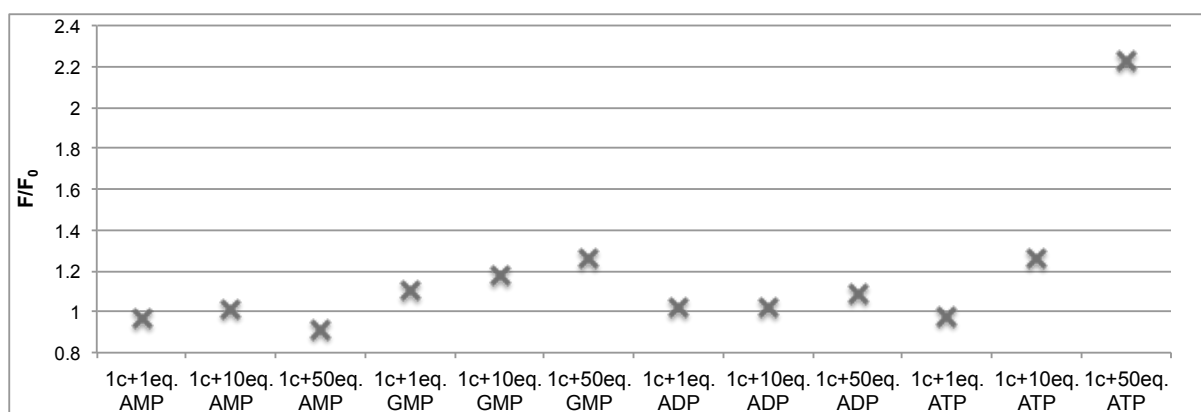
Az előzetes fluoreszcencia spektroszkópiás méréseket a pH beállítása nélkül végeztem el a szenzormolekulák és a nukleozid-foszfátok vizes oldatában, a vendégmolekulák ekvivalens, valamint tízszeres és ötvenszeres mennyiségével. Természetesen a desztillált vizes közeg nem azonos az élő szervezetekben megtalálható homeosztatisz környezettel, ezért a méréseket megismételtem pufferolt közegben (ld. következő fejezet). Itt szükséges megjegyezni, hogy a kereskedelemből beszerzett és a vizsgálatok során használt nukleozid-foszfátok egyike a megfelelő szabad sav (AMP), a többi pedig dinátriumsó (GMP, ADP, ATP) formájában volt jelen.

A tiszta desztillált vizes közegben végzett előkísérletek során **1b**, **1c** és **3** molekulák ATP, ADP, AMP és GMP vendégmolekulák hozzáadásának hatására bekövetkező spektrális változásait figyeltem. A mérések pontos kivitelezése a Kísérleti részben, a spektrumok a Mellékletben találhatók. Itt a gyorsabb áttekinthetőség kedvéért csak a normált emissziós spektrumok (gerjesztési hullámhossz: λ_{ex}) fluoreszcencia-intenzitás változása (F/F_0) szerepel a maximális intenzitáshoz tartozó hullámhossznál (λ_{max}), minden egyes gazda-vendég kombináció esetén.



4.4.1. ábra – **1b** molekula fluoreszcencia-inenzitálásának változása. λ_{ex} : 340 nm; λ_{max} : 415 nm. A receptor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³

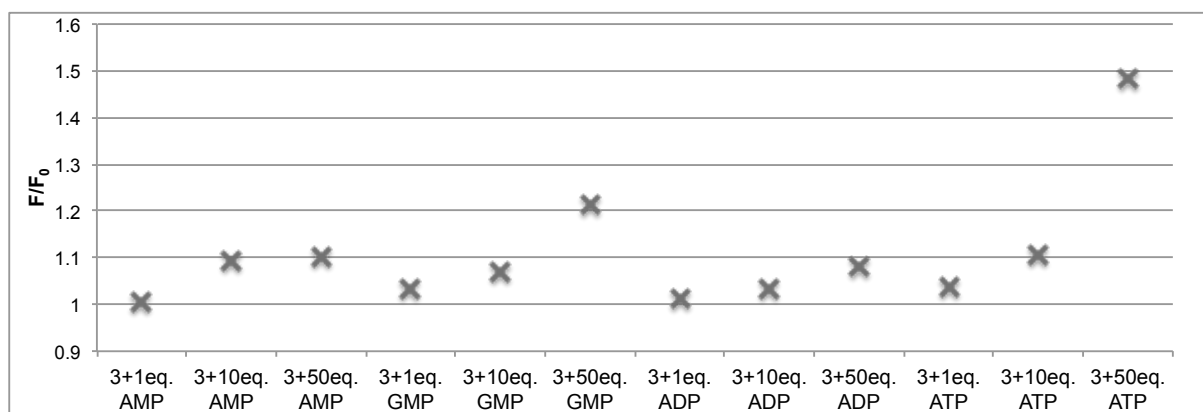
A 4.4.1. ábrán látható, hogy az **1b** molekula tervezett ATP-felismerése nem történik meg, vagyis nincs fluoreszcenciásan kimutatható komplexképzés. Érdekes azonban, hogy GMP hatására 20%-os fluoreszcencia-csökkenés tapasztalható.



4.4.2. ábra – **1c** molekula fluoreszcencia-inenzitálásának változása. λ_{ex} : 400 nm; λ_{max} : 559 nm. A receptor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³

Az 4.4.2. ábrán az **1c** molekula 559 nm-en, vagyis az 1,8-naftálimid emissziós sávjánál [40] mért intenzitásváltozásai láthatók a különböző vendégmolekulák hatására. Itt fontos megjegyezni, hogy a naftálimid-fluorofór egységeket tartalmazó molekulák, bár szerves oldószerekben (különösen pl. diklórmétánban) rendkívül erős

fluoreszcenciát mutatnak, vízben ez nagyon lecsökken³, aminek a magyarázatáról később még lesz szó. A [3] irodalmi tapasztalatok alapján jelen esetben a komplexképzés hatására bekövetkező intenzitásnövekedést vártunk el, ami láthatóan meg is történt. Bár az említett közlemény ennél jóval nagyobb effektusról számolt be, esetünkben is jelentős, több mint kétszeres a növekedés a nagy ATP-felesleg hatására. **Jól látható, hogy a receptor fluoreszcencia-intenzitása szelektíven, a négy vizsgált vendégmolekula közül csak az ATP hatására nő meg, ami a bevezetőben megfogalmazott célkitűzésnek eleget tesz.** A fluoreszcenciás módszerrel kimutatható komplexképzéshez nagy ATP-felesleg szükséges desztillált vízben.



4.4.3. ábra – **3** molekula fluoreszcencia-intenzitásának változása. λ_{ex} : 400 nm; λ_{max} : 568 nm. A receptor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³

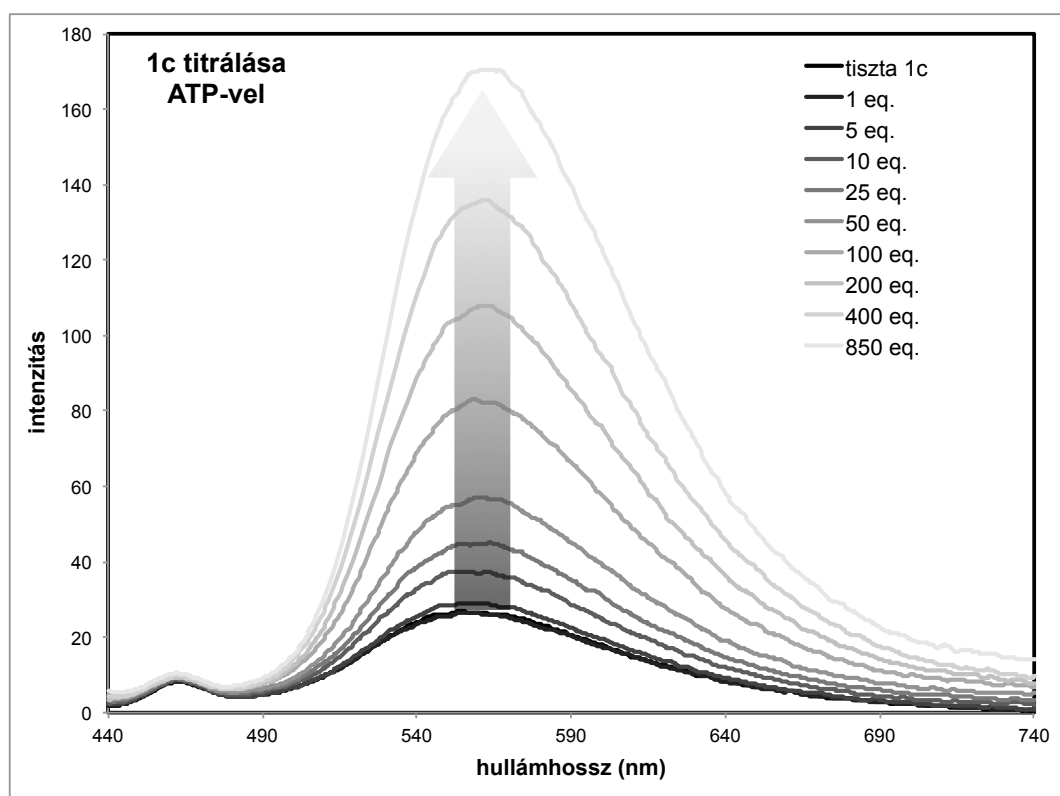
A 4.4.3. ábrán látható a **3** molekula előzőekhez hasonló diagramja. A tervezett AMP-komplexképzés nem mutatható ki, azonban nagy feleslegű ATP hatására mintegy másfélszeres, míg GMP hatására gyenge intenzitásnövekedés tapasztalható.

³ ez könnyedén okozhat téves értelmezést, abban az esetben, ha a nukleozid-foszfát törzsoldat szennyeződött, és így saját fluoreszcenciával rendelkezik, ami - bár nagyon gyenge intenzitású - hozzáadódik a komplexképzés vizsgálatokor mért intenzitáshoz. Ez különösen igaz a nagy felesleg használatokor, ezért a tiszta vendégmolekula-oldatokat külön lemértem, és amennyiben az oldat fluoreszkált, a λ_{max} -nál érzékelt intenzitását (a koncentrációnak megfelelő arányban) kivontam a komplexképzés vizsgálatokor mért intenzitásból.

4.5. Spektroszkópiás mérések pufferolt közegben

Az előzetes mérések alapján **1c** molekulát találtam további vizsgálatra alkalmasnak, ezért ezt, valamint a később elkészült **2** receptort (ezzel nem álltak rendelkezésre előzetes adatok) vizsgáltam meg a négy nukleotiddal. Pufferként $0,01 \text{ mol/dm}^3$ HEPES / $0,01 \text{ mol/dm}^3$ HEPES-Na-sót (*N*-(2-hidroxietyl)piperazin-*N'*-(2-etánszulfonsav), [41]) használtam (pH 7,5).

A mérési körülmények megegyeztek az előzetessel, vagyis az emissziós spektrumok gerjesztési hullámhossza 400 nm volt, a szenzorok koncentrációja pedig minden esetben 10^{-5} mol/dm^3 . Az **1c** receptor viselkedése teljes mértékben megegyezik az előzetes mérések során tapasztalttal, ezért itt csak az ATP-vel végzett titrálást közlöm. Ez az eredmény is arra utal, hogy előzetes mérések kivitelezésére a nempufferelt közeg is megfelel, abból releváns következtetés vonható le a receptor pufferben való viselkedésére vonatkozóan. A mérést a szenzor koncentrációjának állandóan tartása mellett végeztem. Az ATP koncentrációt 10^{-5} mol/dm^3 (1 ekvivalens)- $8,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ (850 ekvivalens) között változtattam.

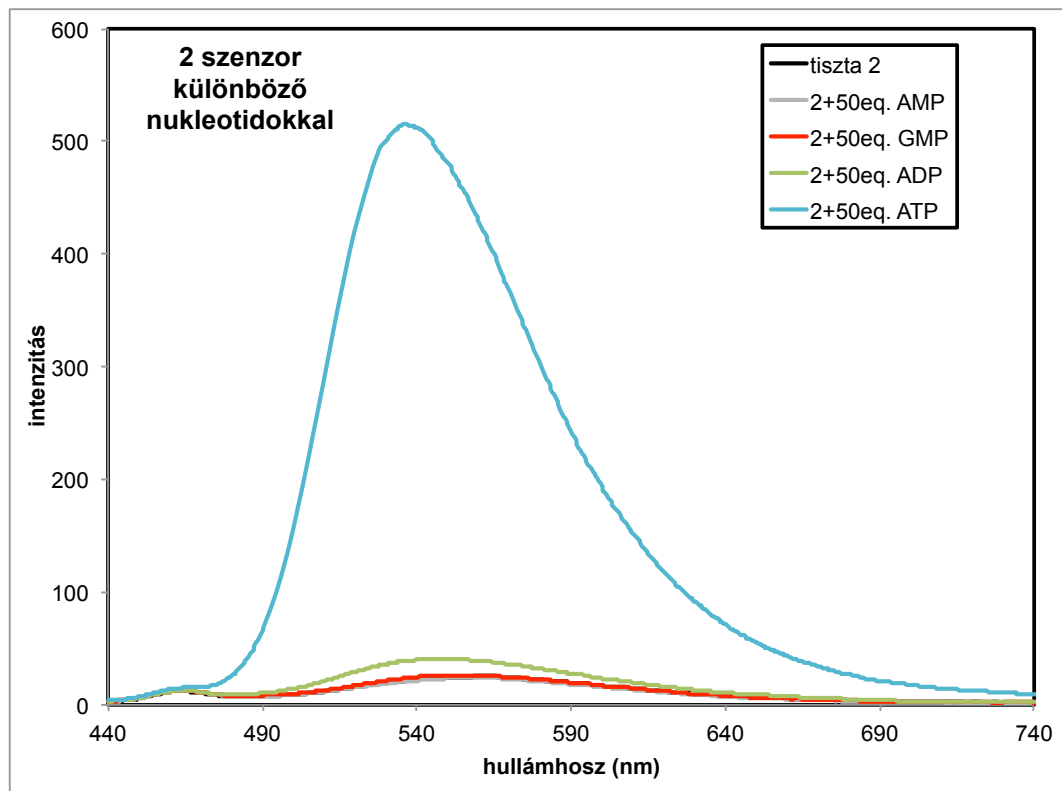


4.5.1. ábra – **1c** szenzor titrálási görbéje ATP-vel
szenzor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm^3 ; $\lambda_{\text{ex}} = 400 \text{ nm}$

A spektrumsorozat alapján elmondható, hogy nagy feleslegű ATP hatására majdnem tízszeres intenzitásnövekedés figyelhető meg. A keletkező komplex nem túl erős, mivel az intenzitásnövekedés még a majdnem ezerszeres mennyiségű ATP hatására sem érte el a maximumot.

Az egyensúlyi állandót a Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszéken számítottuk ki a SPECFIT/32™ szoftver segítségével, ami a titrálási görbe alapján nemlineáris paraméter-bebecsléssel határozza meg $\log K$ értékét. Az így kapott érték 1:1 komplexet feltételezve: $\log K = 2,60 \pm 0,03$. Amennyiben a [3] közlemény alapján 1:2 (szenzor-ATP) komplexet tételezünk fel, az érték: $\log K = 5,67 \pm 0,08$, azonban így nagyobb hibát kapunk az illesztés során, ezért valószínűsíthetően 1:1 sztöchiometriájú szupramolekula képződik.

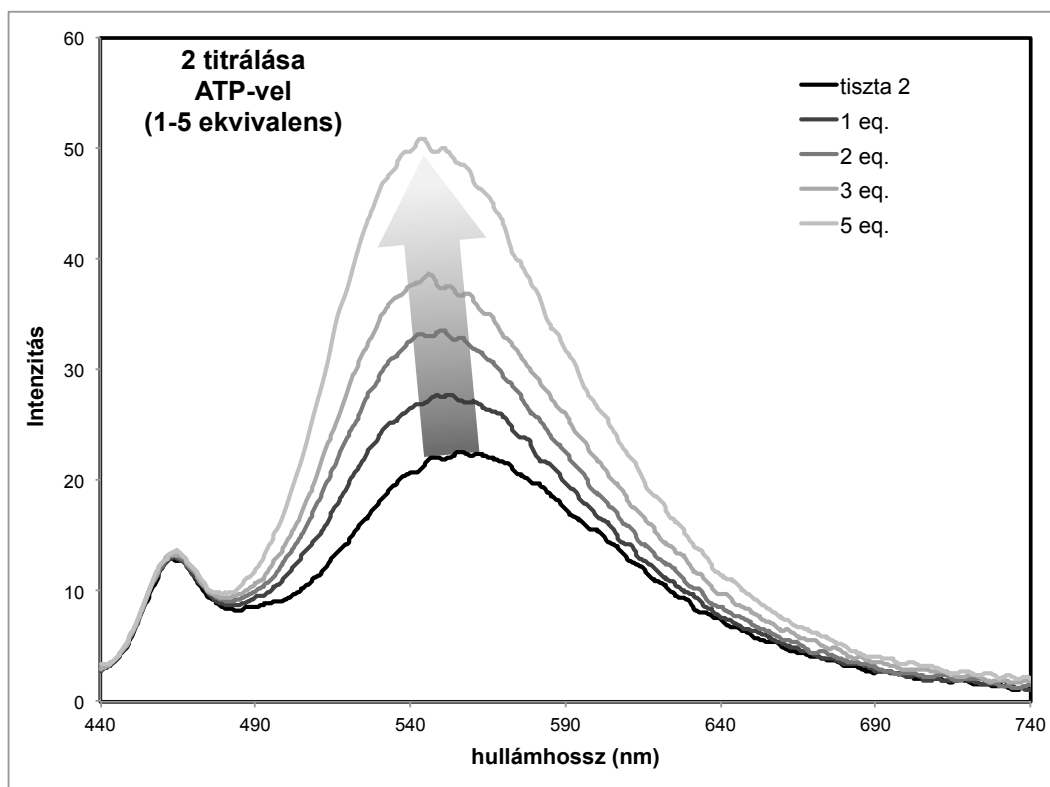
A heterociklusokat a karokon belül fordított sorrendben tartalmazó **2** szenzor esetén először a szelektivitást vizsgáltam, az előzetes mérések tapasztalatai alapján 50-szeres ($5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³) mennyiségű vendégmolekulákkal mértem össze. A nagyon intenzív hatás miatt itt a teljes spektrumot mutatom be (4.5.2. ábra).



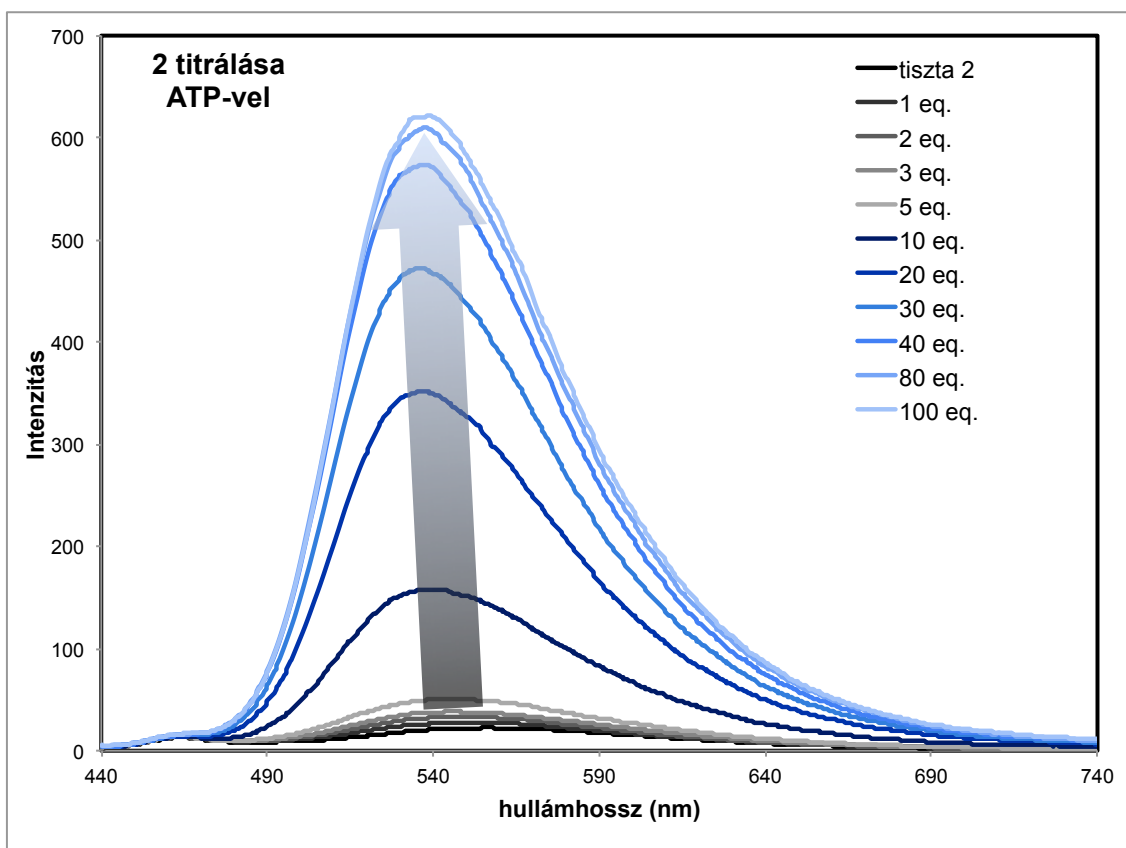
4.5.2 ábra – **2** szenzor különböző vendégmolekulákkal
szenzor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³; $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm

Mint látható, a **2** receptor a négy vizsgált vendégmolekula közül ATP-szelektív *turn-on* fluoreszcenciával rendelkezik, vagyis a szenzor önmagában gyenge fluoreszcenciáját az ATP „bekapcsolja”, és rendkívül intenzív emissziós sávot ad. Az intenzitás-növekedés mellett egy hipszokróm eltolódás is megfigyelhető, ami **1c** esetében nem tapasztalható. Az ADP hatására is növekszik az intenzitás, az ATP-komplex spektrumának emissziós maximumánál (537 nm) nézve ez 80%-os növekedés. Ugyanezen hullámhosszon ATP hatására 2300%-os intenzitás-növekedés látszik. A **2** ligandum ATP szelektivitásának valódi értékét a legnagyobb konkurrens GTP-vel végzett kísérletek fogják kideríteni. Ezekre a vizsgálatokra a GTP hiánya miatt csak a későbbiekben kerül sor.

Az ATP-vel történő titrálást szintén állandó szenzorkoncentráció mellett végeztem, a vendégmolekula koncentrációja 10^{-5} mol/dm³-től (1 ekvivalens) 10^{-3} mol/dm³-ig (100 ekvivalens) változott. Mivel már egyszeres mennyiségű ATP is növekedést okozott, a titrálási görbe kis koncentráció-tartományú részét is bemutatom a 4.5.3. ábrán.



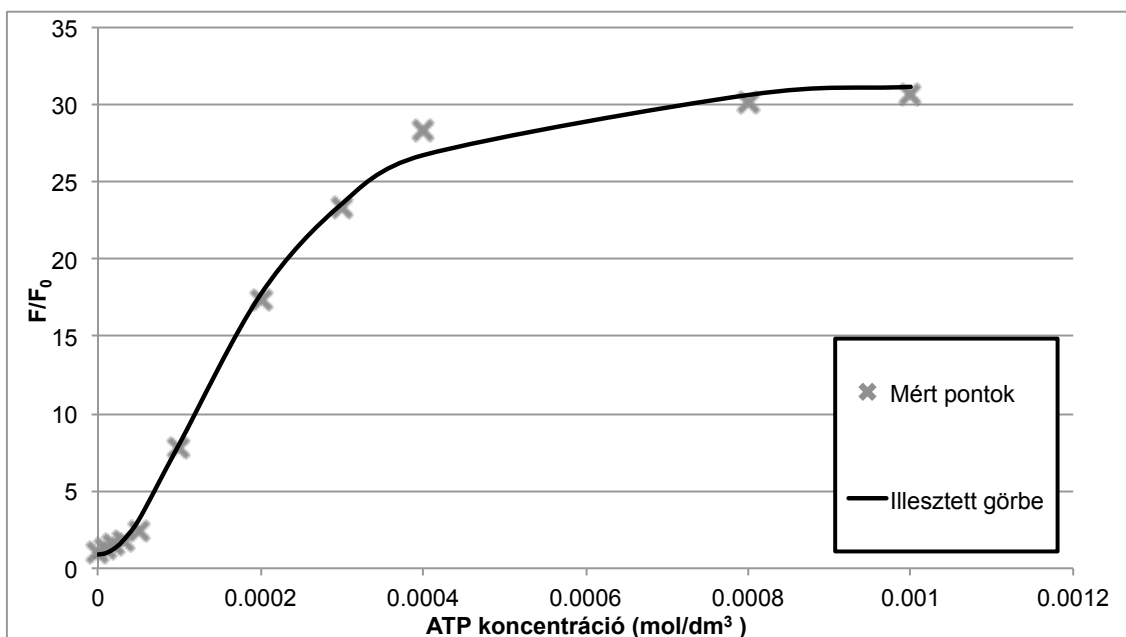
4.5.3. ábra – **2** szenzor titrálási görbéje ATP-vel, kis koncentráció-tartományban
szenzor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³; $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm



4.5.4. ábra – **2** szenzor titrálási görbéje ATP-vel, a teljes koncentráció-tartományban
szenzor koncentráció: 10^{-5} mol/dm³; $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm

A titrálási görbe 100-szoros ATP-mennyiség esetén éri el a telítést. A hipszokróm eltolódás ekkor igen jelentős. A 10^{-3} mol/dm³-es vendég-koncentráció esetén a fluoreszcencia az eredeti 30,3-szorosa (540 nm-en, az eltolódás miatt), amit szabad szemmel is látni lehet.

Az itt kapott egyensúlyi állandó logaritmusát 1:1 komplexet feltételezve: $\log K = 3,59 \pm 0,08$, 1:2 (szenzor-ATP) komplexszel számolva: $\log K = 7,51 \pm 0,03$. A hiba az utóbbi esetben kisebb, ezért valószínűbb az 1:2 komplex. Ha az azonos sztöchiometriához tartozó $\log K$ értékeket nézzük, az biztosan elmondható, hogy **2** szenzor sokkal erősebb komplexképző, mint **1c**. A **15** háromkarú molekula szintén 1:2 komplexének $\log K$ értéke 8,75 volt [3]. Az 537 nm-hez tartozó fluoreszcencia-intenzitás változása a szenzor eredeti fluoreszcenciájához képest (F/F_0) és a program által illesztett görbe látható a 4.5.5. ábrán.



4.5.5. ábra – **2** szenzor fluoreszcencia-intenzitás változása az ATP-koncentráció függvényében, és az ezekre a pontokra illesztett görbe
szenzor koncentráció: 10^{-5} mol/dm³; $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm; $\lambda_{\text{max}} = 537$ nm

A kis ATP-koncentrációtartományban megfigyelhető lineáris intenzitásnövekedés mért pontjaira egyenest illesztettem. Az egyenes egyenletéből kiderül, hogy a $3,4 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ koncentrációjú, tehát körülbelül három és félszeres mennyiségű ATP-vel képzett komplex fluoreszcencia-intenzitása egyezik meg az $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³, vagyis ötvenszeres mennyiségű ADP-vel képzett szupramolekula intenzitásával. Ez alapján több, mint egy nagyságrenddel szelektívebb a szenzor ATP-re, mint ADP-re⁴.

Az 1c és 2 komplexképzését kísérő fluoreszcencia-változás értelmezése

A hasonló szerkezetű podánsok és nukleozid-polifoszfátok kölcsönhatását leíró magyarázatok szerint a komplexképzés a receptor pozitív töltésű részei és a negatív foszfát ionok közötti ionpár valamint az imidazol/1,2,3-triazol egységek mozgékony CH protonjai által létrejövő H-kötések stabilizáló hatásán alapul. Ebben az esetben a komplexben a receptorkarok elektronsűrűsége nő, tehát gerjesztett állapotban (c_{T1}) a 9-pozíció elektronvonzó hatása s ezzel az ICT *push-pull* karaktere csökken a szabad receptoréhoz képest. Emiatt ennek gyenge fluoreszcenciája a

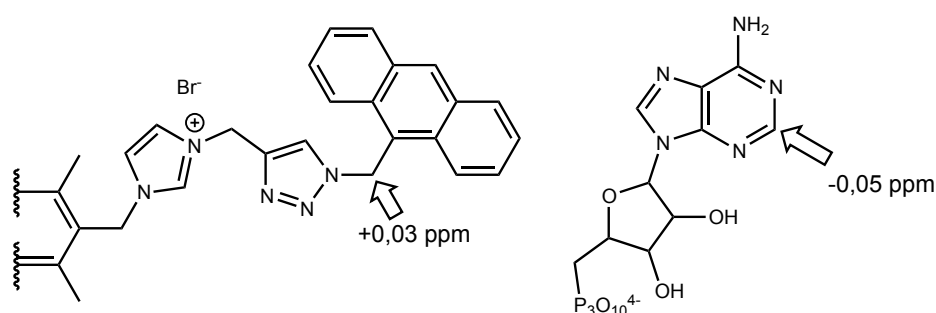
⁴ Természetesen ezt az egyszerű becslést rendkívül nagy hiba terheli, a pontos érték meghatározásához ADP-vel is el kell végezni a titrálást.

komplexxépzéskor megnövekszik (*turn-on* szenzor). Az **1c** és **2** között az utóbbi javára mutató jelentős fluoreszcencia-növekmény különbséget az okozza, hogy a push-pull hatást dominánsan kiváltó imidazolium csoportot a fluorofortól csak két CH₂ választja el, míg **1c**-ben ez jóval távolabb helyezkedik el. Így **2** és az ATP kölcsönhatásakor fellépő *push-pull* effektus csökkenésének és ezzel összefüggésben a PET kioltásnak a mértéke is jóval nagyobb, mint **1c** esetében.

4.6. Előzetes NMR-vizsgálatok

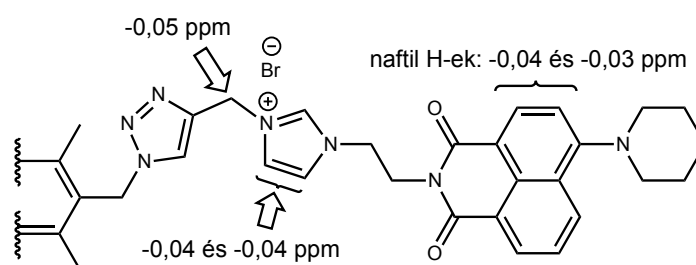
4.6.1. Nukleotidok komplexképzésének vizsgálata

Az NMR-spektroszkópiás mérések nehézségét a megfelelő, a gazda- és vendégmolekulát egyaránt feloldani képes oldószer, illetve oldószer-keverék megtalálása jelentette, ez sok esetben nem sikerült. Az antracén fluorofor csoportot tartalmazó **1b** molekula és ATP esetén a DMSO-D₂O 1:1 arányú keveréke bizonyult alkalmasnak. A DMSO nem túl előnyös a komplexképzési vizsgálatokban az erős szolvatálóképessége miatt, de a szenzormolekula nehézvízben nagyon rosszul oldódik. Sajnos az imidazolium viszonylag savas protonjának a jele nehézvízben eltűnik, valamint az aromás jelek egyszerű ¹H-NMR spektrum alapján nem rendelhetők hozzá az aromás protonokhoz. A spektrum megfejtésekor két egyértelműen hozzárendelhető jeleltolódást tapasztaltunk, ezek a 4.6.1.1. ábrán láthatók.



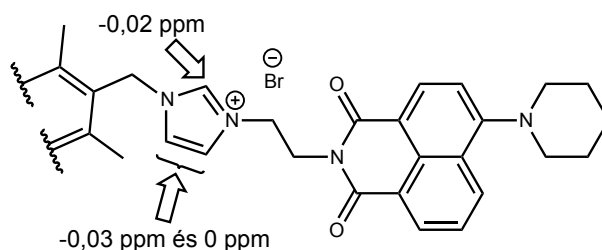
4.6.1.1. ábra – **1b** szenzor és ATP kölcsönhatása következtében fellépő jeleltolódások

A fluoreszcenciás mérések bizonyították **2** és az ATP erős komplexképzését, ezért fontosnak láttam a két molekula közötti kölcsönhatást NMR-spektroszkópián is vizsgálni. Az oldószer ebben az esetben DMSO-D₂O 3:1 arányú keveréke volt, amiből azonban anyag kiválását tapasztaltam. Az NMR-felvétel ennek ellenére értékelhető, a szenzor egyes hidrogénjeinek jeleltolódásai a 4.6.1.2. ábrán láthatók. Szembetűnő, hogy a komplex spektrumában megjelenik az imidazolium heterociklus nitrogének közötti szénatomjához kapcsolódó hidrogén jele, ami a receptor ATP-nélküli felvételében nem emelkedik ki az alapvonalból.



4.6.1.2. ábra – **2** szenzor és az ATP kölcsönhatása következtében fellépő jeleltolódások

A további mérések során az AMP és **3** szenzor komplexképzését vizsgáltam. Itt jóval egyszerűbb volt a helyzet, mivel DMSO-ban (ezekben a fejezetekben a DMSO természetesen DMSO-*d*₆ NMR oldószert jelent) a vendég- és gazdamolekula is oldódott. Az AMP és **3** összemérésekor létrejövő jeleltolódások egy része a 4.6.1.3. ábrán láthatók. A naftálimid aromás hidrogénjeinél is megfigyelhető +0,01/+0,02 ppm eltolódás, az AMP-nél azonban nem.



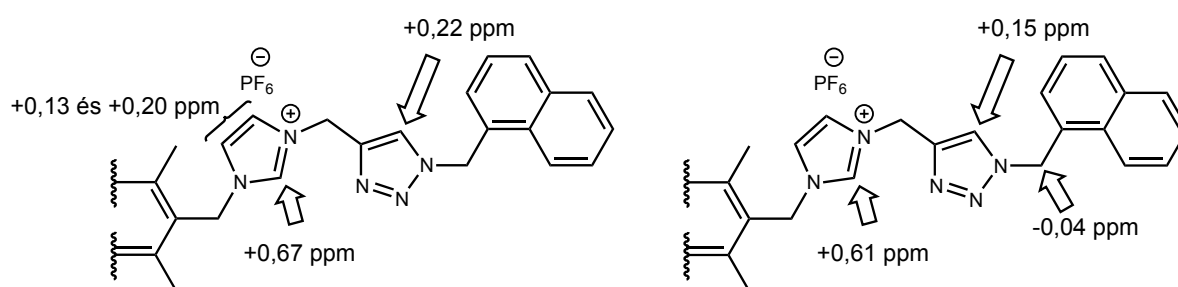
4.6.1.3. ábra – AMP és **3** kölcsönhatása következtében fellépő jeleltolódások

A vizsgálatot GMP-vel is elvégeztem, itt azonban DMSO-D₂O 1:1 arányú keveréke volt a közös oldat oldószere. A jelentős mértékű eltolódásokból (néhány

tized ppm) ebben az esetben nem következik a komplex létrejötte, mivel azok az oldószer megváltoztatásának tudhatók be (a referencia a fentiekhez hasonlóan **3** DMSO-s oldata volt). Meg kell jegyezni, hogy utóbbi problémáról a szakirodalom egy része nem vesz tudomást, vagyis abban az esetben is, amikor a referencia és a közös oldatok oldószere eltérő, a tapasztalt kémiai eltolódás különbségeket a komplexképződés bizonyítékaként interpretálja [3].

4.6.2. Anionok komplexképzésének vizsgálata

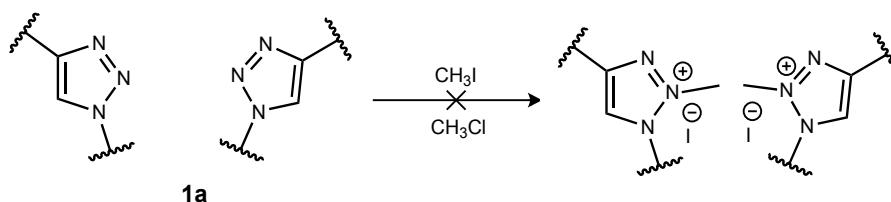
Az anionokkal végzett vizsgálatok ötletét az adta, hogy az irodalomban számos imidazolium-alapú anionfelismerő molekula található [42]. Az NMR-vizsgálatot először dihidrogén-foszfát anionnal szerettem volna elvégezni **1a-PF₆⁻** molekulával. Ilyen vizsgálatok esetén a vizsgálni kívánt anionok tetrabutil-ammónium sóit használják vendégmolekulaként, mivel ezek oldódnak deutero-acetonitrilben. Az anioncsere miatt az **1a** szenzor szintén oldódik deutero-acetonitrilben, ami azonban nem mondható el **1a** tetrabutil-ammónium-dihidrogénfoszfát sójáról, mely egy része kivált az oldószerből. Ennek ellenére a néhány tized ppm-es jeleltolódások leolvashatók voltak. A másik vizsgálni kívánt anion a fluorid volt, melyhez a laboratóriumban rendelkezésre állt tetrabutil-ammónium-fluorid, amivel elvégezve a vizsgálatot szintén komoly jeleltolódásokat tapasztaltam. Ezeket a 4.6.2.1. ábrán ábrázoltam.



4.6.2.1. ábra – **1a-PF₆⁻** anionok hatására bekövetkező jeleltolódásai (anionok: bal: $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{H}_2\text{PO}_4^-$, jobb: $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$)

5. TOVÁBBI TERVEK

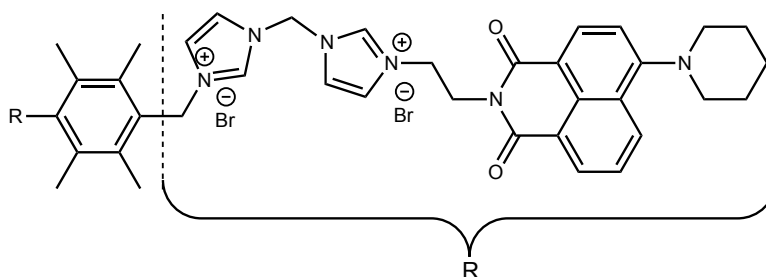
A további tervekben először az **1** típusú szenzorok karonként egy-egy triazol-nitrogénjének kvaternerezése szerepel. Az így létrejött tetrakationos szenzormolekula **1c**-nél vélhetően jobb komplexépzési sajátságokkal fog rendelkezni. A metilezést már meg is kíséreltem nagy feleslegű metil-jodiddal, kloroformban reflux hőmérsékleten, azonban az ^1H -NMR vizsgálatok alapján a többnapos reakcióidő után még nem ment végbe a reakció. Ezt célszerű lenne irodalmi analógiák alapján metilezőszerrel, például metil-toziláttal, trimetil-oxónium-tetrafluoroboráttal, vagy trifluor-metánszulfonsav-metilészterrel elvégezni.



5.1. ábra – **1a** meghiúsult kvaternerezési kísérlete

A fluoreszcenciás mérések komplexképzési vizsgálatait célszerű lenne további NMR-spektroszkópiás mérések segítségével alátámasztani például **1c** esetében, azonban az előző fejezetben említett oldószer-problémák jelentősen megnehezítik az ezirányú kísérleteket. Érdeemes lenne kiterjeszteni a szenzormolekulák szelektivitásvizsgálatát az eddig nem vizsgált trifoszfátokra (GTP, UTP és CTP) is. Mivel ezek a receptorok rendkívül ígéretesek, biológiai hasznosíthatóságát is fontos lenne megvizsgálni, [3] és [4] publikációkhoz hasonlóan.

A későbbi terveinkben van további receptorjelöltek, az **1c**, **2** és az Irodalmi részben szereplő **13** molekulákhoz hasonló **16** szintetizálása.



5.2. ábra – a tervezett **16** szenzormolekula

Célszerű további anion-felismerési vizsgálatokat végezni, mind NMR-, mind fluoreszcencia spektroszkópián, ugyanis az élő szervezetekben való alkalmazhatóság feltétele az, hogy a többi anion mellett is kimutatható legyen az ATP.

6. KÍSÉRLETI RÉSZ

6.1. Alkalmazott anyagok és vizsgálati módszerek

A kiindulási anyagokat részben a kereskedelemből szereztem be, részben készen kaptam. A készen kapott vegyületek szintézisei, mint ahogyan az Elméleti részben is említettem, szintén szerepelnek a dolgozatban, azonban a pontos előállításokat ebben a fejezetben nem tüntetem fel. A vendégmolekulák pontos neve, zárójelben a vegyszer forgalmazója:

- AMP: adenzin-5'-monofoszforsav-monohidrát (Alfa Aesar)
- GMP: guanozin-5'-monofoszforsav-dinátriumsó (Sigma)
- ADP: adenzin-5'-difoszforsav-dinátriumsó (Alfa Aesar)
- ATP: adenzin-5'-trifoszforsav-dinátriumsó-hidrát (Alfa Aesar)

Az abszolút oldószerek használata minden esetben fel van tüntetve, ezek előállítását az ismert módszerek szerint végeztük. A szintézisekben víz használata esetén mindig ioncserélt vizet alkalmaztam.

Az analitikai módszerek közül a reakciók előrehaladásának követésére vékonyréteg-kromatográfiát alkalmaztam, amihez Merck 60 F254 szilikagél lapokat használtam. Az új vegyületek, illetve esetenként a már korábban szintetizált anyagok szerkezetét ^1H -, esetenként ^{13}C -NMR vizsgálattal igazoltuk, a molekulák egy részéről nagyfelbontású tömegspektrum, valamint IR-spektrum is készült. Az irodalomban már leírt molekulák reprodukciójának sikerességét általában olvadáspont-méréssel ellenőriztük. Az NMR-vizsgálatokat az Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén végezték Bruker Avance DRX-500 illetve Bruker Avance AV-300 készülékekkel. A vizsgálatnál használt deuterált oldószer minden esetben fel van tüntetve. Itt fontos megjegyezni, hogy (ez különösen a célmolekulákra igaz) az anyagok egy része rendkívül rosszul oldódott szerves oldószerekben, ezért bizonyos esetekben, ahol a megfelelő vizsgálathoz viszonylag tömény oldat kellett (pl. ^{13}C -NMR) eltekintettem az adott analitikai módszertől.

Az anyagok tisztítása minden előállításnál szerepel. Ismert átkristályosítási módszer esetében átkristályosítással, oldhatósági viszonyok ismeretében oldószeres mosással, digerálással történtek. Amennyiben ezek nem vezettek

eredményre, oszlopkromatográfiás módszert használtam, az eluens oldószerkeverék minden esetben meg van nevezve, az elválasztáshoz Kieselgel 60 töltetet alkalmaztam.

A receptorok fluoreszcenciás méréséhez Perkin-Elmer LS 50B készüléket használtam, a mérések pontos kivitelezése, a koncentrációk, hullámhosszak, és egyéb beállítások a 6.3. fejezetben találhatók, a spektrumok a Mellékletben szerepelnek. Az MS spektrumok felvétele az MTA-Kémiai Kutatóközpontban történt Waters gyártmányú Q-TOF Premier típusú készülékkel, pozitív elektroporlasztásos ionizációt alkalmazva.

6.2. Szintézisek

Ebben a fejezetben az összes általam végzett előállítás pontos menete szerepel. A számozás sorrendje helyett célmolekulánként, lépésről lépésre szerepelnek az előállítások. A nem általam szintetizált vegyületek jellemző adatai (pl. NMR, MS) általában nem szerepelnek a dolgozatban.

6.2.1. Amberlyst A21·Cul katalizátor [28]

Amberlyst A21 gyantát (5,00 g) háromszor fél órán át áztattam 25 ml absz. metanolban, háromszor 25 ml absz. kloroformban háromszor 25 ml absz. DKM-ban. A megtisztított gyantát szárítópisztolyban szárítottam egy éjszakán át, a száraz gyanta tömege 1,61 g volt (a tömegveszteséget növelte az, hogy az anyag nagyon nehezen kezelhető, sztatikusan könnyen feltöltődő). Az előkészített gyantát ezután 0,613 g réz(I)-jodiddal, 50 ml absz. acetonitrilben 3 napig óvatosan kevertettem. A terméket kiszűrése után kétszer 15 ml absz. acetonitrillel, majd kétszer 15 ml absz. DKM-nal mostam, szárítópisztolyban szárítottam. Az anyagot exszikátorban tároltam. A katalizátort további tisztítások és vizsgálatok nélkül használtuk fel. Az irodalom tanúsága szerint az ily módon elkészített katalizátor réz(I)-jodid tartalma 1,23 mmol/g katalizátor [28].

6.2.2. 1-Azidometilnaftalin (1a-21) [35]

Összemérttem 8,83 g (50,0 mmol) 1-klórmetylinaftalint, 4,88 g (75,0 mmol) nátrium-azidot 40 ml acetonitrilben, majd 18 órán keresztül reflux hőmérsékleten kevertettem. A reakció végén az elegyet bepároltam, 100 ml vizet adtam hozzá, amit háromszor 120 ml dietil-éterrel extraháltam. A szerves fázist ezután háromszor 100 ml vízzel mostam, MgSO₄-tal szárítottam, szűrtem, végül bepároltam megkapva a sárgás színű, a VRK (eluens: hexán-EtOAc 95:5) és NMR alapján tiszta folyadékot.

Termelés: 7,74 g (39,2 mmol, 78%; irodalmi: 80%)

¹H-NMR: (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,94 (d, *J* = 8 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,91 (d, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,62 (t, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,58 (t, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,52-7,48 (m, 2H, 2 Ar-*H*); 4,80 (s, 2H, -CH₂-) ([35]-től kalibrációs hiba miatt enyhén eltér)

6.2.3. 4-Hidroximetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (1a-22)

A 0,49 g (2,48 mmol) **1a-21** azidvegyület 5 ml absz. DKM oldatához, ami már tartalmazta a 0,14 g Amberlyst A21·CuI katalizátort, argon alatt 0,131 ml (0,127 g, 2,26 mmol) propargil-alkohol szintén 5 ml-es absz. DKM-os oldatát csepegtettem. A reakcióelegyet argonnal öblítettem, megakadályozva a katalizátor oxidációját. 18 óra után az elegy jellegzetes propargil-alkohol szaga teljesen eltűnt (VRK vizsgálattal nem mutatható ki a minor propargil-alkohol, csak az eleve feleslegben alkalmazott **1a-21** azidvegyület). A reakciót leállítottam, az oldószert ledesztilláltam. A maradék szilárd anyag (benne a termékkel, a kiindulóvegyülettel és a katalizátorszemcsékkel) egy részét metanolban feloldottam, leszűrtem, ezzel megszabadulva a katalizátortorgyantától. A kapott anyalúg erősen zöld színű volt, feltehetően a réz(I)-ionok levegővel történő érintkezése miatt keletkező réz(II)-ionoktól. Az oldatot bepároltam, a nyers termék **1a-21** azidvegyület-tartalma miatt oszlopkromatográfiás tisztítás mellett döntöttem. Eluensként DKM-metanol 95:5 elegyet használva a terméket sikerült teljesen elválasztani a kiindulóanyagtól, megkapva a tiszta **1a-22** hidroxivegyületet.

Termelés: 0,45 g (1,88 mmol, 76%)

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7,96-7,94 (m, 1H, $\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,90-7,88 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,53-7,49 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,48-7,42 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,30 (s, 1H, $\text{Ar}_{\text{triazol-H}}$); 5,95 (s, 2H, $\text{Ar}_{\text{naftil-CH}_2\text{-Ar}_{\text{triazol}}}$); 4,67 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H, $\text{Ar}_{\text{triazol-CH}_2\text{-OH}}$); 2,80 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H, $-\text{OH}$)

6.2.4. 4-Brómmetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (1a-23)

Feloldottam 0,22 g (0,92 mmol) **1a-22** vegyületet 30 ml absz. DKM-ban, majd hozzácsepegtettem 0,174 ml (0,50 g, 1,84 mmol) foszfor-tribromidot. A reakciót VRK-val követve 20 órás reakcióidő után fogyott el teljesen a kiindulóanyag. 20 óra után jeges hűtés mellett 30 ml vizet adagoltam az elegyhez, majd 15 ml víz-telített NaHCO_3 -oldat 1:1 elegyét csepegtettem a lombik tartalmához. A fázisokat elválasztottam, a szerves fázist 30 ml vízzel mostam, MgSO_4 -on szárítottam, szűrtem, majd az oldószert bepároltam.

Termelés: 0,26 g (0,86 mmol, 94%)

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7,95-7,90 (m, 3H, $3\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,54-7,53 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,51-7,45 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 7,34 (s, 1H, $\text{Ar}_{\text{triazol-H}}$); 5,97 (s, 2H, $\text{Ar}_{\text{naftil-CH}_2\text{-Ar}_{\text{triazol}}}$); 4,47 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{-Br}$)

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 75 Hz) δ (ppm) 124,4; 113,6; 110,7; 109,8; 109,0; 108,6; 107,7; 107,0; 106,1; 105,0; 102,4; 102,2; 32,1

6.2.5. 1a Célmolekula

Az **1a-23** alkilezőszert (0,24 g, 0,79 mmol) és 0,11 g (0,38 mmol) **1-13** készen kapott bisz-imidazol származékot feloldottam 12 ml acetonitrilben. Az elegyet 19 órán át reflux hőmérsékleten kevertettem, majd leállítottam. Az ionos célvegyület kivált az oldószerből, a csapadékot leszűrtem, acetonitrillel mostam és szárítottam.

Termelés: 0,26 g (0,29 mmol, 76%)

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 9,65 (s, 2H, $2\text{Ar}_{\text{imidazólium-H}}$, N-ek közötti); 8,34 (s, 2H, 2Ar-H); 7,94-7,92 (m, 2H, 2Ar-H); 7,87 (s, 2H, 2Ar-H); 7,86-7,83 (m, 4H, 4Ar-H); 7,50-7,48 (m, 6H, 6Ar-H); 7,41-7,35 (m, 4H, $4\text{Ar}_{\text{naftil-H}}$); 5,92 (s, 4H, $4\text{Ar}_{\text{naftil-CH}_2\text{-Ar}_{\text{triazol}}}$); 5,67 (s, 4H, $2\text{N}_{\text{imidazol-CH}_2^-}$); 5,62 (s, 4H, $2\text{N}'_{\text{imidazol-CH}_2^-}$); 2,07 (s, 12H, 4Ar-CH_3)

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm) 119,9; 115,4; 113,4; 110,5; 109,6; 109,3; 109,0; 108,5; 107,5; 106,9; 106,0; 105,0; 103,9; 103,3; 102,3; 101,7; 32,0; 29,0; 23,4

MS: A spektrumban protonált molekulaion nem látható. A várt szerkezetnek megfelelő $[\text{M}-\text{Br}]^+$ (m/z 817) és $[\text{M}-2\text{Br}]^{2+}$ (m/z 369) ionok észlelhetők intenzíven a spektrumban. Elméleti tömeg: 817,3090; Mért tömeg: 817,3105

6.2.6. 9-Azidometilantracén (1b-21) [36]

Az **1b-20** vegyületet (0,78 g, 2,88 mmol) és a hozzáadott nátrium-azidot (0,26 g, 4,03 mmol) 20 ml DMSO-ban 50°C-on kevertetem 21 órát. Az elegyet ezután 30 ml vízre öntöttem, amitől sárgásfehér anyag vált ki. A szuszpenziót háromszor 30 ml etil-acetáttal extraháltam, majd az egyesített szerves fázist tömény sóoldattal kiráztam. A fázisok elválasztását követően a szerves fázist MgSO_4 -on szárítottam, szűrtem, az oldószert ledesztilláltam. A sárgás kristályokat vákuumszáritópisztolyban szárítottam.

Termelés: 0,55 g (2,36 mmol, 82%; irodalmi: 100%)

^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) 8,50 (s, 1H, 9-Ar-H); 8,29 (d, J = 9 Hz, 2H, 2Ar-H); 8,04 (d, J = 8,5 Hz, 2H, 2Ar-H); 7,59 (t, J = 7,5 Hz, 2H, 2Ar-H); 7,50 (t, J = 7,5 Hz, 2H, 2Ar-H); 5,32 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$)

6.2.7. 1-(Antracén-9-ilmetil)-4-hidroximetil-1,2,3-triazol (1b-22)

absz. DKM-ba (5 ml) bemértem 0,55 g (2,36 mmol) **1b-21** azidszármazékot és 0,1 g Amberlyst A21-CuI katalizátort (az **6.2.6** recepthez képest itt frissebb katalizátort használtam, ezért ennyi is elegendő volt a reakció teljes lejátszódásához). Ehhez csepegtettem hozzá argon alatt 0,146 g (2,60 mmol) propargil-alkoholt⁵ 5 ml absz. DKM-ban. A reakció argon atmoszférában, szobahőmérsékleten játszódott le. 22,5 óra után a VRK-vizsgálatok alapján elfogyott a kiindulóanyag, ezért feldolgoztam a reakciót. Az oldószer ledesztillálása után a szilárd keverékhez metanolt adtam, leszűrtem, majd három órán keresztül

⁵ Mint látható, itt az alkin komponens került feleslegbe. Emiatt nem volt szükség az oszlopkromatográfiás tisztításra, mint **1a-22** esetében, ahol a propargil-alkohol volt a minor komponens.

vákuumban bepároltam az elegyet (a propargil-alkohol forráspontja légköri nyomáson 114-115°C). A VRK-vizsgálat (eluens: DKM-metanol 95:5) alapján is tiszta vegyület további tisztítást nem igényelt ⁶ (ellentétben az **1a-22** naftalinszármazékkal).

Termelés: 0,61 g (2,11 mmol, 89%)

¹H-NMR: (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ (ppm) 8,74 (s, 1H, 9-Ar_{antril}-H); 8,62 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 8,17 (d, *J* = 8 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 7,73 (s, 1H, Ar_{triazol}-H); 7,66 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 7,59 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 6,63 (s, 2H, Ar_{antril}-CH₂-Ar_{triazol}); 5,01 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H, -OH); 4,38 (d, *J* = 5,7 Hz, 2H, -CH₂-OH);

¹³C-NMR: (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ (ppm) 148,0; 131,0; 130,3; 129,1; 127,1; 125,9; 125,4; 124,0; 122,1; 54,9; 45,3

6.2.8. 1-(Antracén-9-ilmetil)-4-brómmetil-1,2,3-triazol (**1b-23**)

Az **1b-22** vegyületet (0,60 g, 1,71 mmol) feloldottam 120 ml absz. DKM-ban (nagyon nehezen oldódott), majd hozzácepegtettem 0,39 ml (1,12 g, 4,16 mmol) foszfor-tribromidot. Szobahőmérsékleten 15 órát kevertetve a VRK-vizsgálat alapján elfogyott a kiindulóanyag. A feldolgozás során jeges hűtés mellett 25 ml vizet, majd 50 ml víz-telített NaHCO₃-oldat 1:1 arányú keverékét adtam az elegyhez. A vizes fázist 40 ml DKM-nal extraháltam. A szárítást (MgSO₄) követően az oldószer ledesztillálása utáni tömeg 0,78 g volt, ami több, mint 100%-os termelésnek felelne meg, ezért feltételeztem, hogy a termék nem a kívánt vegyület. A barnás színű szilárd anyagot 150 ml DKM-ban oldottam, majd 50 ml vízzel, 50 ml telített NaHCO₃-oldattal, végül újra 50 ml vízzel kiráztam. A szárítást és oldószer-desztillációt követően megkaptam a sárga színű, tiszta **1b-23**-mat.

Termelés: 0,59 g (1,68 mmol, 81%)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8,59 (s, 1H, 9-Ar_{antril}-H); 8,28 (d, *J* = 9 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 8,08 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 7,61 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 7,56 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, 2Ar_{antril}-H); 7,13 (s, 1H, Ar_{triazol}-H); 6,52 (s, 2H, Ar_{antril}-CH₂-Ar_{triazol}); 4,38 (s, 2H, -CH₂-Br);

⁶ Az antracénvegyületek jellegzetessége a nagy UV-aktivitás. Emiatt a VRK-vizsgálatok eredménye (mivel az elhanyagolható mennyiségű szennyező is erős foltot mutat) általában nem informatív.

^{13}C -NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) 144,8; 131,7; 131,0; 130,3; 129,8; 128,0; 125,7; 123,6; 123,0; 122,4; 46,8; 21,8

6.2.9. 1b Célmolekula

Acetonitrilben (32 ml) feloldottam 0,57 g (1,62 mmol) **1b-23**-mat és 0,23 g (0,77 mmol) **1-13**-mat. Az elegyet reflux hőmérsékleten kevertetve egy óra után sárgás anyag vált ki, a VRK alapján 3 óra után teljesen elfogyott a **1-13** kiindulóanyag. A csapadékot kiszűrtem, acetonitrillel mostam és szárítottam.

Termelés: 0,50 g (0,50 mmol, 65%)

^1H -NMR: (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ (ppm) 9,12 (s, 2H, 2Ar_{imidazól}^{ium}-H, N-ek közötti); 8,75 (s, 2H, 2Ar_{antril}-H); 8,58 (d, *J* = 9 Hz, 4H, 4Ar_{antril}-H); 8,16 (d, *J* = 9 Hz, 4H, 4Ar_{antril}-H); 8,14 (s, 2H, 2Ar_{triazol}-H); 7,69-7,55 (m, 12H, 12Ar-H); 6,68 (s, 4H, 2Ar_{antril}-CH₂-Ar_{triazol}); 5,51 (s, 4H, 2N_{imidazol}-CH₂-); 5,45 (s, 4H, 2N'_{imidazol}-CH₂-); 2,14 (s, 12H, 4Ar-CH₃)

^{13}C -NMR: (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ (ppm) 141,1; 136,2; 135,7; 131,5; 131,1; 130,8; 129,8; 129,7; 127,7; 125,9; 124,7; 124,4; 123,1; 123,0; 48,5; 46,3; 44,0; 17,0

MS: A spektrumban protonált molekulaion nem látható. A várt szerkezetnek megfelelő [M-Br]⁺ (*m/z* 917) és [M-2Br]²⁺ (*m/z* 419) ionok észlelhetők intenzíven a spektrumban. Elméleti tömeg: 917,3403; Mért tömeg: 917,3411;

Oldhatóság vízben: 10⁻⁴ mol/dm³

6.2.10. N-Brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-20)

Foszfor-tribromidot (1,2 ml, 3,46 g, 12,8 mmol) csepegtettem 0,80 g (2,47 mmol) **1c-02** 20 ml-es kloroform oldatához, majd 4 órán keresztül forraltam az elegyet. A reakció lejátszódása után jeges hűtés mellett 20 ml vizet adtam az oldathoz, majd kétszer 20 ml DKM-nal extraháltam a vizes fázist. A szerves fázist nátrium-szulfáton szárítottam és bepároltam. A kloroform mellőzése érdekében a reakciót elvégeztem DKM-ban, forrponton is, az NMR-vizsgálatok alapján az anyag 10-15% szennyezőt tartalmazott, ezért oszlopkromatográfiás tisztítást kellett alkalmazni (eluens: DKM-metanol 95:5), míg a kloroformban végzett reakció tiszta terméket adott.

Termelés: 0,92 g (2,38 mmol, 96%)

^1H -NMR (CDCl₃, 300 MHz): a spektrum megegyezik a [3]-ban közölttel

6.2.11. 9-*N*-Azidoetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-21)

Összemértem 0,50 g (1,29 mmol) **1c-20** brómvegyületet és 0,126 g (1,94 mmol) nátrium-azidot 20 ml DMSO-ban. Az elegyet 60°C-on 4 órát kevertetve a kiindulóanyag a VRK-vizsgálat alapján elfogyott, ezért feldolgoztam a reakcióelegyet. A sárga oldathoz 30 ml vizet adtam, majd háromszor 25 ml etil-acetáttal extraháltam. A szerves fázist kétszer 30 ml vízzel, majd 30 ml tömény sóoldattal mostam a maradék DMSO extrahálása céljából. A szárítást (MgSO₄) és oldószer-desztillációt követően kaptam meg a nyers narancsszínű terméket, amely azonban a VRK-vizsgálat alapján kétkomponensű volt. A tisztításhoz az oszlopkromatográfiás módszert választottam, ugyanis a használt eluensben (DKM-aceton 95:5) a termék a frontra, a szennyező pedig a start környékére futott a VRK-lapon.

Termelés: 0,30 g (8,59 mmol, 67%)

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz): a spektrum megegyezik a [3]-ban közölttel

6.2.12. 9-*N*-(2-(4-(Hidroximetil)-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-22)

Az előállításkor az előzőekhez hasonlóan jártam el. A kizzított, argonnal öblített lombikba bemértem 0,1 g Amberlyst A21·CuI katalizátort, 0,27 g (0,77 mmol) **1c-21** azidvegyületet és 4 ml absz. DKM-t. Ehhez csepegtettem 0,046 ml (0,048 g, 0,85 mmol) propargil-alkohol 4 ml-es absz. DKM-os oldatát. A reakció argon atmoszférában, szobahőmérsékleten zajlott. A teljes reakcióidő 18 óra volt. A termék kivált az elegyből, ezért néhány ml metanolt adtam a szuszpenzióhoz, amitől az kitisztult, így a katalizátort ki lehetett szűrni. Az oldószert hosszan desztilláltam az elreagálatlan propargil-alkohol miatt, megkapva a teljesen tiszta intermediert.

Termelés: 0,29 g (0,72 mmol, 93%)

¹H-NMR: (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8,50 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, Ar_{naftil}-H); 8,42 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, Ar_{naftil}-H); 8,39 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, Ar_{naftil}-H); 7,69 (s, 1H, Ar_{triazol}-H); 7,65 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H, 6-Ar_{naftil}-H); 7,15 (d, *J* = 8,1 Hz, Ar_{naftil}-H); 4,77-4,73 (m, 4H, N-CH₂-CH₂-N); 4,67-4,63 (m, 2H, -CH₂-OH); 3,23 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H, 2N_{piperidin}-CH₂-); 2,54 (s, 1H, -OH); 1,92-1,85 (m, 4H, -CH₂-, piperidin 3-mas helyzet); 1,76-1,71 (m, 2H, -CH₂-, piperidin 4-es helyzet)

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 75MHz) δ (ppm) 164,4, 163,8, 157,8, 133,1, 131,4, 131,2, 130,1, 126,2, 125,4, 122,4, 115,0, 114,7, 56,7, 54,5, 48,0, 39,5, 26,2, 24,3

IR: (KBr , cm^{-1}) 3649, 3311, 2933, 1698, 1653, 1592, 1576, 1375, 1253, 1021, 783, 759, 419

Op.: 195-197°C

HRMS: A várt szerkezetnek megfelelő protonált molekulaion érzékelhető a spektrumban: m/z számított: 406.1879, mért: 406.1882

6.2.13. 9-*N*-(2-(4-(Brómmetil)-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimid (1c-23)

Az **1c-22** hidroxivegyület (0,27 g, 0,67 mmol) 30 ml absz. DKM-os oldatához jeges hűtés mellett 0,125 ml (0,36 g, 1,34 mmol) foszfor-tribromidot csepegtettem. A kiindulóanyag már egy óra szobahőmérsékletű kevertetés után elfogyott, ezért a reakciót feldolgoztam. Jeges hűtés mellett 25 ml vizet, majd 20 ml víz-telített NaHCO_3 -oldat 1:1 keverékét adtam az elegyhez. A vizes fázist kétszer 20 ml DKM-nal extraháltam, majd a szerves fázist megszáritottam (MgSO_4 szárítószeren) és bepároltam. A kapott gumiszerű anyagot felhasználtam a következő reakcióban. A későbbi ^1H -NMR-vizsgálat alapján azonban nem volt megfelelő az anyag, bár a VRK-analízis szerint egyfoltos, tiszta volt, az NMR azonban egy feltehetően foszforetilészter-származék szennyezőt mutatott ki. Mindezek ellenére a következő lépésben megfelelő terméket kaptam. Itt a későbbiek során foszforészter-szennyezés nélkül előállított termék spektroszkópai adatai szerepelnek.

Termelés: 0,31 g (0,66 mmol, 99%)

^1H -NMR: (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) 8,48 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, $\text{Ar}_{\text{naftil}}\text{-H}$); 8,42-8,36 (m, 2H, $2\text{Ar}_{\text{naftil}}\text{-H}$); 7,73 (s, 1H, $\text{Ar}_{\text{triazol}}\text{-H}$); 7,64 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H, $\text{Ar}_{\text{naftil}}\text{-H}$); 7,15 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, $\text{Ar}_{\text{naftil}}\text{-H}$); 4,74 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$); 4,65 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$); 4,53 (s, 2H, $\text{Ar}_{\text{triazol}}\text{-CH}_2\text{-}$); 3,23 (t, $J = 5,1$ Hz, 4H, $2\text{N}_{\text{piperidin}}\text{-CH}_2\text{-}$); 1,89 (br s, 4H, 2 $\text{-CH}_2\text{-}$, piperidin 3-mas helyzet); 1,73 (br s, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$, piperidin 4-es helyzet)

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 75MHz) δ (ppm) 164,2, 163,6, 157,5, 144,6, 133,0, 131,3, 131,1, 130,0, 126,1, 125,3, 123,4, 122,3, 115,0, 114,7, 54,5, 48,0, 39,3, 29,6, 26,1, 24,2, 21,7

IR (KBr, cm^{-1}) 2931, 2852, 1695, 1654, 1588, 1515, 1451, 1387, 1352, 1236, 1154, 1133, 1081, 1027, 991, 920, 865, 784, 759, 734, 458, 420.

Op.: 123-125°C (bomlás)

MS: A várt vegyület Na-adduktja figyelhető meg 490,0 m/z-nél a bróm karakterisztikus izotóp-eloszlásával

6.2.14. 1c Célmolekula

Egy lombikban összemértem 0,28 g (0,60 mmol) **1c-23**-mat és 0,084 g (0,286 mmol) **1-13** vegyületet 15 ml acetonitrilben. Az elegyet 24 órán keresztül kevertetem reflux hőmérsékleten, majd a kiváló sárga csapadékot szűrtem, acetonitrillel mostam, megkapva a VRK-vizsgálat és NMR analízis alapján tiszta anyagot.

Termelés: 0,27 g (0,22 mmol, 79%)

^1H -NMR: (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (ppm) 9,12 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-H, N-ek közötti); 8,39 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,36 (s, 2H, 2Ar_{triazol}-H); 8,35 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,27 (d, $J = 8$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,77 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,67 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,57 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,27 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 5,57 (s, 4H, 2N_{imidazol}-CH₂); 5,49 (s, 4H, 2N'_{imidazol}-CH₂); 4,73 (t, $J = 6$ Hz, 4H, N-CH₂-CH₂-N); 4,44 (t, $J = 5,5$ Hz, 4H, 2N-CH₂-CH₂-N); 3,20 (br s, 8H, 4N_{piperidin}-CH₂); 2,24 (s, 12H, Ar-CH₃); 1,81 (br s, 8H, 4 -CH₂, piperidin 3-mas helyzet); 1,66 (br s, 4H, 2 -CH₂, piperidin 4-es helyzet)

^{13}C -NMR: (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 163,6, 163,0, 157,03, 140,1, 135,7, 135,4, 132,5, 131,0, 130,8, 129,4, 125,9, 125,6, 125,5, 122,6, 122,6, 122,3, 122,2, 115,0, 114,5, 54,1, 48,1, 47,7, 43,6, 39,5, 25,8, 23,9, 16,6

IR: (KBr, cm^{-1}) 3854, 3735, 3675, 3649, 2931, 2853, 1690, 1651, 1586, 1516, 1384, 1352, 1236, 1155, 784, 760

MS: A várt szerkezetű molekula kétszeres töltésű ionként (m/z 535) ill. [M-Br]⁺ ionként észlelhető a tömegspektrumban. Elméleti tömeg: 1149,4575; Mért tömeg: 1149,4564

UV-VIS: $\lambda_{\text{max}} = 434$ nm ($\log \varepsilon = 3,14$, vizes oldat)

Op.: 233°C (bomlás)

Oldhatóság vízben: $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³

6.2.15. 2 Célmolekula

A szenzor szintézisének utolsó lépése igen nehezen ment. Első kísérletünkben bemértünk 0,30 g (0,61 mmol) **2-01** propargilvegyületet, 0,08 g (0,37 mmol) **2-11** azidvegyületet, 2 ml 0,05 mol/dm³ koncentrációjú (0,1 mmol) réz(II)-szulfátot, 2 ml 0,1 mol/dm³-es (0,2 mmol) nátrium-aszkorbátot és 20 ml THF-et. Az elegyet 72 órán át kevertettük szobahőmérsékleten, ezután az oldószert bepároltuk. A terméket acetontól kristályosítottuk, majd kloroform-metanol 7:3 eluensben oszlopkromatográfián próbáltuk tisztítani. A kinyert 0,17 g anyag az ¹H-NMR vizsgálatok alapján 60 mol% kiindulóanyagot és 40 mol% terméket tartalmazott, ami 0,13 mmol kiindulóanyagnak felel meg.

A következő kísérletben más katalizátort használtunk. Bemértünk 16 mg (0,065 mmol) **2-11** azidvegyületet, 3,5 mg (0,013 mmol) 2,4-dimetoxi-fenil-izocianid·CuCl katalizátort és 0,5 ml vizet. Az on-water reakcióelegyet 21 óráig kevertettük, szűrtük, azonban az NMR-spektrum alapján a konverzió továbbra sem növekedett számottevően. Ezután nagyobb feleslegű reagenseket használtunk, 41 mg (0,168 mmol) **2-11** azidvegyületet és 17 mg (0,065 mmol) katalizátort 0,5 ml vízben. A reakció végén - egy hét után - a szilárd anyagot szűrtük, vízzel, majd kétszer 5 ml acetonitrillel mostuk. A szárítás után megkaptuk az ¹H-NMR-vizsgálat alapján tiszta anyagot.

Termelés: 0,15 g (0,12 mmol, 39%, végső)

¹H-NMR: (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ (ppm) 9,32 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-H, N-ek közötti); 8,41 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,35 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,26 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,02 (s, 2H, 2Ar_{triazol}-H); 7,82 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,78 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,70 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,28 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 5,67 (s, 4H, 2 triazol-CH₂); 5,42 (s, 4H, 2 triazol-CH₂); 4,53 (br s, 4H, 2N-CH₂-CH₂-N); 4,42 (t, 4H, 2N-CH₂-CH₂-N); 3,20 (br s, 8H, 4N_{piperidin}-CH₂); 2,24 (s, 12H, Ar-CH₃); 1,82 (br s, 8H, 4 -CH₂-, piperidin 3-mas helyzet); 1,67 (br s, 4H, 4 -CH₂-, piperidin 4-es helyzet)

¹³C-NMR: (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ (ppm) 163,8, 163,2, 156,9, 140,3, 136,7, 134,5, 132,4, 131,9, 130,7, 125,8, 125,4, 124,1, 123,5, 122,4, 122,3, 114,9, 114,7, 54,0, 48,8, 47,9, 43,6, 25,7, 23,8, 16,5

IR (KBr, cm⁻¹) 3854, 3735, 3649, 3064, 2928, 2851, 1697, 1646, 1591, 1515, 1387, 1351, 1238, 783, 760.

MS: A várt szerkezetű molekula kétszeres töltésű ionként (m/z 535) ill. $[M-Br]^+$ ionként észlelhető a tömegspektrumban. Elméleti tömeg: 1149,4575; Mért tömeg: 1149,4568

UV-VIS: $\lambda_{\max} = 433$ nm ($\log \varepsilon = 2,99$, vizes oldat)

Op.: 232°C (bomlás)

Oldhatóság vízben: $2 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ (ultrahang alkalmazásával)

6.2.16. 3 Célmolekula

A reakciót a többi célmolekula szintizálásához hasonlóan végeztem. Összemértem 0,412 g (1,10 mmol) előzőleg elkészített **3-02**-t és 0,135 g (0,423 mmol) **1-11** diszubsztituált durolszármazékot 30 ml acetonitrilben. Az elegyet 20 órán keresztül reflux hőmérsékleten kevertetem, majd a kiváló terméket háromszor mostam acetonnitrillel, vákuumszárítópisztolyban szárítottam.

Termelés: 0,30 g (0,28 mmol, 66%)

¹H-NMR: (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ (ppm) 8,91 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-H, N-ek közötti); 8,40 (d, $J = 8$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,37 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 8,28 (d, $J = 8$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,84 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,81 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,45 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-CH); 7,30 (d, $J = 8$ Hz, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 5,40 (s, 4H, 2N_{imidazol}-CH₂-Ar); 4,51 (br s, 4H, 2N-CH₂-CH₂-N); 4,40 (br s, 4H, N-CH₂-CH₂-N); 3,20 (br s, 8H, 4N_{piperidin}-CH₂-); 2,01 (s, 12H, Ar-CH₃); 1,82 (br s, 8H, -CH₂-, piperidin 3-mas helyzet); 1,66 (br s, H, -CH₂-, piperidin 4-es helyzet)

¹³C-NMR: (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ (ppm) 163,7; 163,1; 156,9; 135,9; 135,1; 132,4; 130,8; 130,7; 130,3; 129,3; 125,8; 125,4; 123,6; 122,2; 122,0; 114,9; 114,5; 54,0; 48,0; 47,9; 25,7; 23,8; 16,1

IR: (KBr, cm⁻¹) 3137, 3071, 2942, 2885, 1690, 1647, 1587, 1517, 1382, 1349, 1154, 788, 760.

MS: A spektrumban protonált molekulaion nem látható. A várt szerkezetnek megfelelő $[M-Br]^+$ (m/z 987) és $[M-2Br]^{2+}$ (m/z 454) ionok észlelhetők intenzíven a spektrumban. Elméleti tömeg: 987,3921; Mért tömeg: 987,3941

UV-VIS: $\lambda_{\max} = 438$ nm ($\log \varepsilon = 3,34$, vizes oldat)

Op.: 284°C (bomlás)

Oldhatóság vízben: 10^{-4} mol/dm³

6.2.17. 1a Célmolekula anioncseréje hexafluorofoszfátra (1a-PF₆⁻)

Feloldottam 0,08 g (0,089 mmol) **1a**-t 2 ml DMSO-ban, ehhez 0,39 ml 75 g/100 ml töménységű NH₄PF₆ oldatot csepegtettem (1,78 mmol). Mivel nem történt csapadékkiválás, további 2 ml vizet adtam az elegyhez. Az így keletkezett fehér csapadékot szűrtem, vízzel mostam, majd vákuumszáritópisztolyban szárítottam.

Termelés: 0,07 g (0,068 mmol, 76%)

¹H-NMR: (CD₃CN, 500 MHz) δ (ppm) 8,23 (s, 2H, 2Ar_{imidazólium}-H, N-ek közötti); 8,08 (m, 2H, 2Ar-H); 7,96-7,94 (m, 4H, 4Ar-H); 7,83 (s, 2H, 2Ar_{triazol}-H); 7,56 (t, *J* = 3,5 Hz, 4H, 4Ar-H); 7,51 (t, 2H, 2Ar_{naftil}-H); 7,44 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H, 2Ar-H); 7,38 (s, 2H, 2Ar-H); 7,20 (s, 2H, 2Ar-H); 6,02 (s, 4H, 4Ar_{naftil}-CH₂-Ar_{triazol}); 5,42 (s, 4H, 2N_{imidazol}-CH₂); 5,29 (s, 4H, 2N'_{imidazol}-CH₂); 2,16 (s, 12H, 4Ar-CH₃)

6.3. Fluoreszcencia spektroszkópiás mérések

Az előzetes emissziós fluoreszcencia spektroszkópiás mérések során először a receptormolekula, majd a receptormolekula és vendégmolekula adott koncentrációjú desztillált vizes oldatát mértem le. A pH nem volt szabályozva. A méréseket megelőzően a vegyületek UV-látható abszorpciós spektrumait is lemértem, ezek közlését nem tartom szükségesnek, mivel azok csak a fluoreszcencia-mérések előkészítése céljából történtek. A gerjesztési fluoreszcencia spektrumok közlésétől szintén eltekintek, csak az emissziós diagramok szerepelnek a Mellékletben. A mérésekhez 1,00 x 1,00 cm-es kvarcküvettát használtam. A küvettába 2,000 ml oldatot töltöttem minden esetben, automata pipettával adagolva a pontos mennyiségeket a megfelelő törzsoldatokból, illetve desztillált vízből.

A pufferelt közegben történő mérésekhez 0,02 mol/dm³ HEPES és 0,01 mol/dm³ NaOH oldatot készítettem. Az erős bázis a szulfonsavval Na-sót képezve alakítja ki a puffert, melynek pH-ja 7,5 lett. A mérésekhez szükséges törzsoldatokat, valamint a hígításokat is ebben az oldatban végeztem. A szenzorok beoldódását ultrahangos készülékkel segítetttem elő. A titrálások során a szenzor koncentrációja állandó volt. A további adatok megegyeznek az előzetes mérésekével.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A tudományos diákköri munkám során, 5 új, a szakirodalomban eddig nem szereplő fluoreszcens nukleozid-polifoszfát receptorjelöltet szintetizáltam. Az elkészült anyagok szerkezetének igazolása NMR-rel és esetenként nagyfelbontású tömegspektroszkópiával történt. A kidolgozott szintézisek általában egyszerűen reprodukálhatók, a lépések **2** molekula előállításán kívül jó termeléssel mentek, sokszor a további tisztítási műveletek is szükségtelenek voltak. Bár a célmolekulák oldhatósága önmagában gyenge, a fluoreszcencia spektroszkópiás mérésekhez szükséges vizes oldatok elkészíthetők. Míg **1a**-t a szintézisút kifejlesztése érdekében állítottam elő, **1b**, **1c**, **2** és **3** szenzorok komplexképzési sajátosságait fluoreszcencia spektroszkópiával megvizsgáltam AMP, ADP, ATP és GMP vendégmolekulákkal részben desztillált vizes, részben pufferolt közegben.

Az **1b** receptor komplexképzésére semmilyen jelet nem tapasztaltam, **1c** azonban az elvárásoknak megfelelően szelektív ATP-felismeréssel bír, ami fluoreszcencián könnyedén kimutatható mind pufferelt, mind desztillált vizes közegben. A komplex egyensúlyi állandóját a kimért titrálási görbék alapján a Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszéken görbeillesztéssel határoztuk meg.

Az **1c** szenzorhoz hasonló **2** molekula ATP-szelektív *turn-on* fluoreszcenciával bír, már kis feleslegű vendégmolekula-koncentráció esetén is észlelhető fluoreszcencia-választ ad, ami a receptor biológiai alkalmazhatóságát is lehetővé teszi. A létrejövő szenzor-ATP komplex egyensúlyi állandóját ebben az esetben is kiszámoltuk a fluoreszcenciás titrálás alapján.

Az előzetes várakozások szerinti fluoreszcenciás AMP-felismerés **3** esetében nem történt meg, a karonként egy heterociklust tartalmazó molekula komplexképzésére nem utalt semmilyen jel.

Az előzetes NMR-spektroszkópiás mérések során **1b** és az ATP, valamint **3** és az AMP vizsgálatát végeztem el, gyenge jeletolódást tapasztalva. Az **1a-PF₆⁻** molekula anionfelismerő képességét tetrabutil-ammónium-fluoriddal vizsgáltam, az ¹H-NMR spektrumban jelentős jeletolódások bizonyították a komplexálódást.

A kutatás eddigi eredményeként két új, fiziológiás pH-n működő, ATP szenzort állítottam elő, melyek szelektivitását ADP, AMP és GMP konkurrens mellett fluoreszcencia spektroszkópián igazoltam.

8. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Katsuhiko, A.; Toyoki, K. „Supramolecular Chemistry: Fundamentals and Applications”, *Springer*, **2006**
- [2] Gale, P. A. „Anion Recognition in Supramolecular Chemistry”, *Springer*, **2010**
- [3] Wang, D.; Zhang, X.; He, C.; Duan, C. *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, 8, 2923.
- [4] Xu, Z.; Singh, N. J.; Lim, J.; Pan, J.; Kim, H. N.; Park, S.; Kim, K. S.; Yoon, J. J. *Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 15528.
- [5] Meyerhof, O. N. *Engl. J. Med.*, **1939**, 220, 49.
- [6] Gajewski, E.; Steckler, D; Goldberg, R. *J. Biol. Chem.*, **1986**, 261, 12733.
- [7] Kim, H. N.; Moon, J. H.; Kim, S. K.; Kwon, J. Y.; Jang, Y. J.; Lee, J. Y.; Yoon, J. J. *Org. Chem.*, **2011**, 76, 3805.
- [8] Allinger, N. L.; Walter, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 9267.
- [9] Neelakandan, P. P.; Hariharan, M.; Ramaiah, D. *Org. Lett.*, **2005**, 7, 5765.
- [10] Neelakandan, P. P.; Hariharan, M.; Ramaiah, D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 11334.
- [11] Ramaiah, D.; Neelakandan, P. P.; Nair, A. K.; Avirah, R. R. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 4158.
- [12] Neelakandan, P. P.; Nandajan, P. C.; Subymol, B.; Ramaiah, D. *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 1021.
- [13] Ahmed, N.; Shirinfar, B.; Geronimo, I.; Kim, K. S. *Org. Lett.*, **2011**, 13, 5476.

- [14] Kwon, J. Y.; Singh, N. J.; Kim, H. N.; Kim, S. K.; Kim, K. S.; Yoon, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 8892.
- [15] Yasumasa Kanekiyo, Ryuichi Naganawa, Hiroaki Tao *Chem. Commun.*, **2004**, 1006.
- [16] Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 769.
- [17] Moro, A. J.; Cywinski, P. J.; Körsten, S.; Mohrac, G. J. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 1085.
- [18] Zhang, J. F.; Kim, S.; Han, J. H.; Lee, S. J.; Pradhan, T.; Cao, Q. Y.; Lee, S. J.; Kang, C.; Kim, J. S. *Organic Letters*, **2011**, *13*, 5294.
- [19] Birks, J. B. *Rep. Prog. Phys.*, **1975**, *38*, 903.
- [20] Liu, H. K.; Sun, W. Y.; Zhu, H. L.; Yu, K. B.; Tang, W. X. *Inorg. Chim. Acta.* **1999**, 129.
- [21] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 2004.
- [22] Huisgen, R. *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 357.
- [23] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 2596.
- [24] Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 210.
- [25] Bock, V. D.; Hiemstra, H.; Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51.

- [26] Golas, P. L.; Tsarevsky, N. V.; Sumerlin, B. S.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules*, **2006**, 39, 6451.
- [27] Moses, J. E.; Moorhouse, A. D. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 1249.
- [28] Girard, C.; Önen, E.; Aufort, M.; Beauvière, S.; Samson, E; Herscovici, J. *Org. Lett.*, **2006**, 8, 1689.
- [29] Liu, M.; Reiser, O. *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1102.
- [30] Gunnlaugsson, T.; Glynn, M.; Tocci, G. M.; Kruger, P. E.; Pfeffer, F. M. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250, 3094.
- [31] de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaugsson, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1515.
- [32] Ji Quin Gao; Marcus, R. A. *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106, 1956
- [33] Veale, E. B.; Gunnlaugsson, T. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8073.
- [34] Van der Made, A. W.; Van der Made, R. H. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 1262.
- [35] Lamani, M.; Prabhu, K. R. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 6622.
- [36] Lan, P.; Berta, D.; Porco, J. A.; South, M. S.; Parlow, J. J. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 9678.
- [37] Li, P.; Wang, L.; Zhang, Y. *Tetrahedron*, **2008**, 64, 10825.
- [38] Ortega-Muñoz, M.; Perez-Balderas, F.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernandez-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-Gonzalez, F. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 15, 2454.
- [39] Kupriyan, D.G.; Anikin, V.F.; Merz, A.; Pantsenker, L.D. *Russ. J. Org. Chem.*, **2004**, 40, 699.

[40] Juris, A.; Balzani, V.; Barigelletti, F.; Campagna, S.; Belser, P.; Vonzelewsky, A. *Coord. Chem. Rev.*, **1988**, *84*, 85.

[41] Feng, D.; Koch, W. F.; Wu, Y. C. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1400.

[42] (a). Kang et al. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5443.; (b) J. Yoon et al. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2083. és **2004**, *6*, 4655.; (c) J. Yoon et al. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6402.

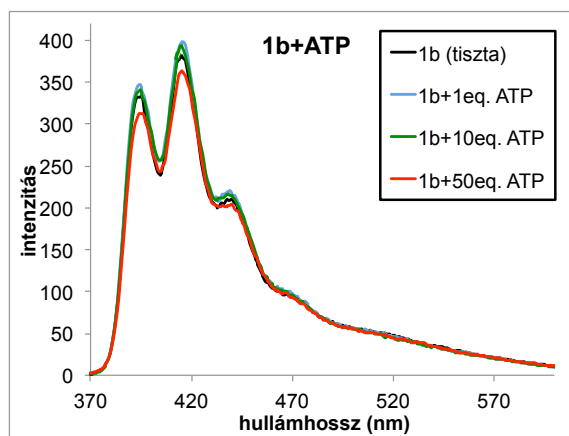
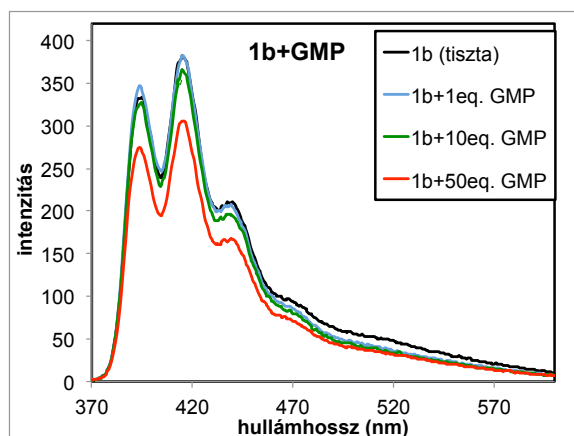
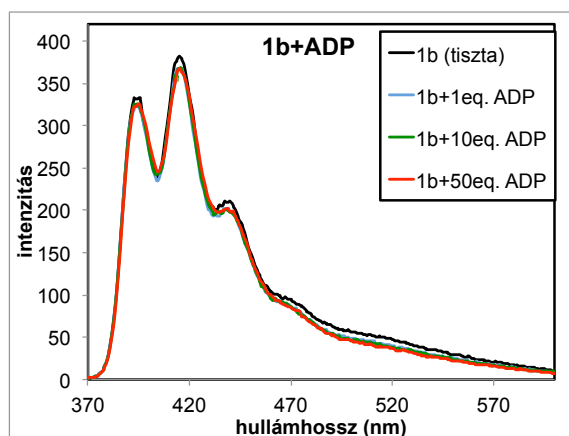
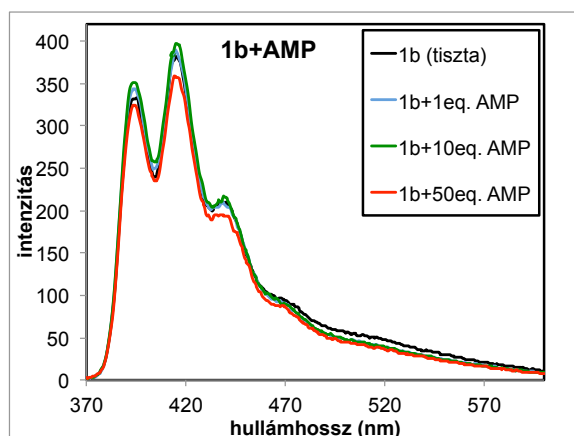
MELLÉKLETEK

1. Az 1b receptormolekula fluoreszcencia spektrumai

Az **1b** szenzor UV/VIS abszorbanca mérések alapján vizes oldatban nem stabil, ugyanis néhány nap után megváltozott az elnyelési spektrum, ezért mindig friss oldattal dolgoztam. A nem látszó görbék egymás alatt vannak.

A szenzor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³; a vendégmolekulák koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³ (1 eq.), 10^{-4} mol/dm³ (10 eq.), $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ (50 eq.). $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm

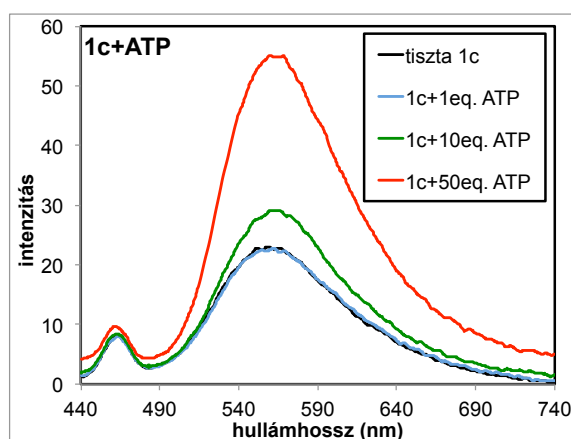
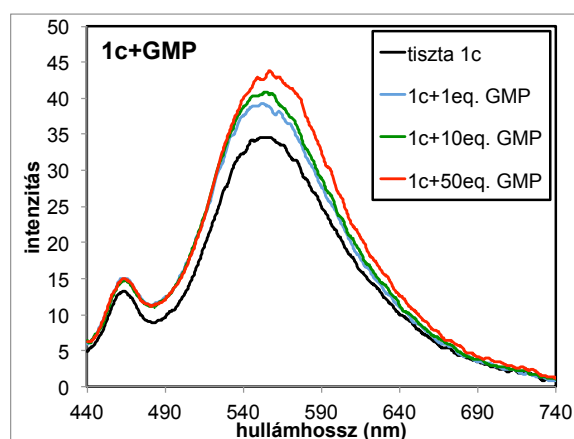
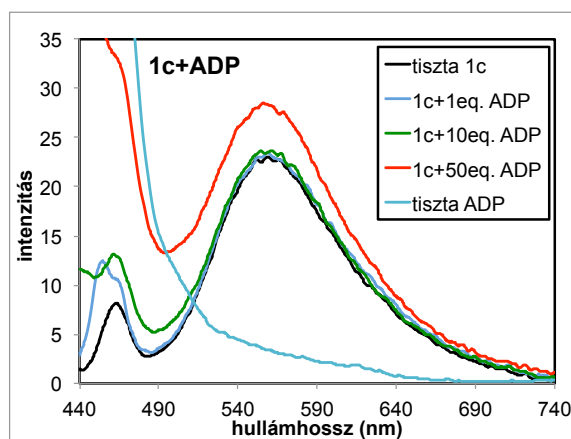
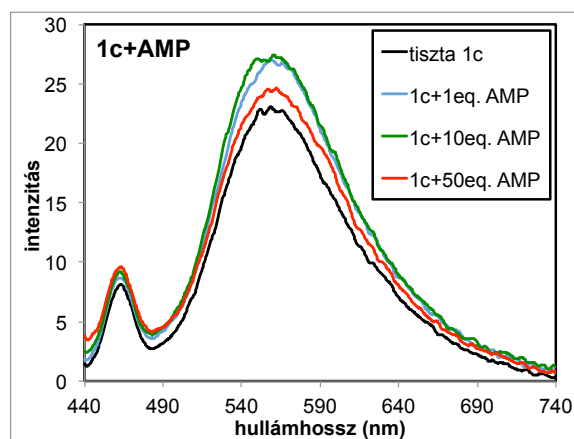
A spektrumok:

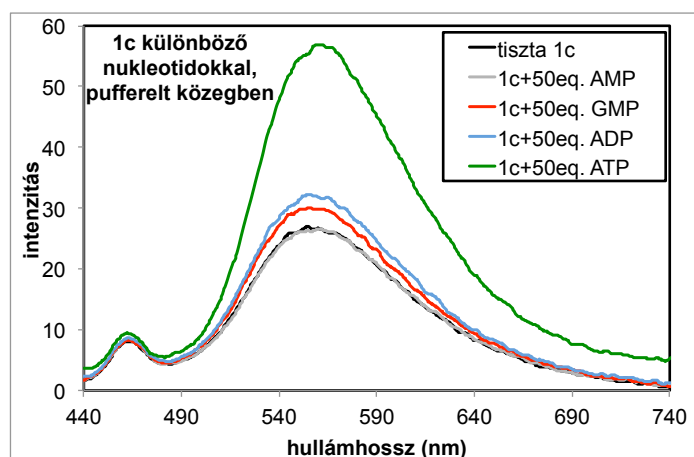


2. Az 1c receptormolekula fluoreszcencia spektrumai

Az elméleti részben már említettem, hogy a naftálimid-származék szenzorok igen gyenge fluoreszcenciát mutatnak vízben. A spektrumokon 460 nm körüli gyenge jel a víz Raman-szórása, ami normális emisszió esetén nem látszana a spektrumon, esetünkben azonban az alacsony fluoreszcencia-intenzitás miatt nem olvad bele az alapvonalba. A negyedik diagramnál az ADP-törzsoldat szennyeződött. Az ötödik diagramon a pufferben végzett mérés spektrumai láthatók.

A receptor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³; a vendégmolekulák koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³ (1 eq.), 10^{-4} mol/dm³ (10 eq.), $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ (50 eq.). A jobb felső (1c+ADP) diagramon az ADP koncentrációja: $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³. $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm
A spektrumok:





3. A 3 receptormolekula fluoreszcencia spektrumai

A szenzor koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³; a vendégmolekulák koncentrációja: 10^{-5} mol/dm³ (1 eq.), 10^{-4} mol/dm³ (10 eq.), $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ (50 eq.). $\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm

A spektrumok:

