



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szerves Kémiai Tanszék

TDK dolgozat

**BODIPY monomerek, dimerek és biomolekula
konjugátumok szintézise**

KÉSZÍTETTE:

Tamási Zita

Kémia BSc

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Mernyák Erzsébet

egyetemi adjunktus

Szeged

2023

Tartalom

1. BEVEZETÉS.....	1
2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK.....	2
2.1. A diákköri munkám során alkalmazott reakciótipusok áttekintése.....	2
2.1.1. 1,3-Dipoláris cikloaddíció – klikk-kémia.....	2
2.1.2. Sonogashira keresztkapcsolás	4
2.1.3. Vilsmeier-Haack reakció.....	6
2.2. BODIPY monomerek és dimerek szintézise, valamint továbbalakítási lehetőségeik.....	6
2.3. Szerves kémiai reakciók mikrohullámú térben.....	13
2.4. Ösztrogének és nukleozidok fluoreszcens jelölése	14
2.5. Fotodinamikus terápia.....	17
3. CÉLKITŰZÉSEK	19
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA	22
4.1. BODIPY monomerek szintézise	22
4.1.1. Aldehid – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében	22
4.1.2. Karbonsav-klorid – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében	26
4.1.3. Karbonsav-anhidrid – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében ..	27
4.1.4. Ortoészter – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében.....	28
4.1.5. Hidrofil oldallánccal rendelkező, konjugálásra alkalmas BODIPY származék szintézise.....	29
4.2. BODIPY dimerek előállítása	31
4.2.1. Homodimer szintézise FeCl_3 katalizált reakcióban.....	31
4.2.2. BODIPY dimer szintézise palládium katalizált Sonogashira keresztkapcsolási reakcióban..	33
4.3. Ösztradiol- és nukleozid-BODIPY konjugátum előállítása	33
4.4. Az előállított BODIPY származékok abszorpció és emissziós spektrumai	42
4.5. Az előállított BODIPY származékok (4c, 4h, 16, 18, 19) sötét toxicitása.....	42
5. KÍSÉRLETI RÉSZ	43
5.1. Általános kísérleti rész.....	43
5.2. Részletes kísérleti rész	44
6. ÖSSZEFOGLALÁS	49
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	50
8. MELLÉKLET – NMR adatok.....	51
9. IRODALOMJEGYZÉK	57

Rövidítések jegyzéke

ACN	acetonitril
BF ₃ .OEt ₂	bór-trifluorid-dietil-éterát
CDCl ₃	deuterált kloroform
DMF	dimetilformamid
CuAAC	Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció
DDQ	2,3-diklór-5,6-diciano-1,4-benzokinon
DIPEA	<i>N,N</i> -Diizopropil-etilamin
DMSO-d ₆	deuterált dimetil-szulfoxid
E2	17β-ösztradiol
ER	ösztrogén magreceptor
ISC	külső konverzió
NEt ₃	trietyl-amin
NHS-észter	<i>N</i> -hidroxi-szukcinimid észter
PBS	foszfátpuffer
Pd(PPh ₃) ₄	tetrakisz-trifenilfoszfán-palládium(0)
POCl ₃	foszforil-klorid
P(Ph) ₃	trifenilfoszfán
PS	fényérzékenyítő anyag
S ₀	szingulett alapállapot
S ₁	szingulett gerjesztett állapot
szh	szobahőmérséklet
T ₁	triplett állapot
TBAF	tetrabutylammónium-fluorid
TEG	trietylén-glikol
THF	tetrahidrofurán
TMSA	trimetilszilil-acetilén
dU	dezoxi-uridin

1. BEVEZETÉS

Az utóbbi évtizedekben egyre növekvő figyelem irányul az 1968-ban felfedezett, a difluor-bórindacén családba tartozó, BODIPY fluoreszcens festékekre. Ezek az ultraibolya tartományban erősen abszorbeáló festékek éles fluoreszcens csúcsokat emittálnak, magas kvantumhatásfokkal. A különböző BODIPY festék származékokat kezdetben csak bioaktív ligandumok fluoreszcens jelölésére alkalmazták, napjainkra azonban már szerteágazó felhasználási területük van, amely a szenzorikai alkalmazásoktól kezdve, az orvosi biológiai képalkotó eljárásokon túl, az optoelektronikai eszközök fejlesztését is magába foglalja. Alkalmazásuk során különösen előnyös, hogy nem érzékenyek környezetük polaritására és pH-jára, ezáltal fiziológiai körülmények között kiemelten stabilisak. A BODIPY fluorofórok alapváza kémiaiilag könnyen módosítható, mely lehetőséget biztosít az optikai jellemzők célzott befolyásolására, valamint a későbbi konjugálásra, összekapcsolásra alkalmas funkcionális csoportok beépítésére.

Újabban, egyes átmenetifém komplexek kiváló fényérzékenyítő alternatíváiként tartjuk számon a BODIPY származékokat. Az utóbbi néhány évben előtérbe került a BODIPY dimerek fotodinámiai terápiaiban, daganatellenes szerként való alkalmazhatóságának vizsgálata. Ezen szelektív terápiás eljárásnál kiemelten fontos, hogy az alkalmazott PS fototoxicitása mellett jelentősen háttérbe szoruljon annak fény távollétében mutatott, vagyis sötét toxicitása. A szakirodalom szerint egyes BODIPY monomerek, de különösen a dimerek kiválóan alkalmasak lehetnek erre a célra. A kémiai szerkezet, a fotofizikai és a biológiai tulajdonságok közötti összefüggések meghatározása jelentősen hozzájárulhat a későbbi, fotodinámiai terápiaiban szelektíven és hatékonyan működő festékek célzott kifejlesztéséhez.

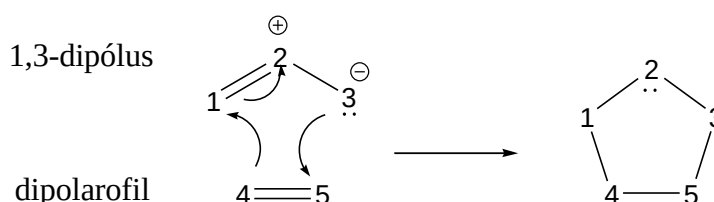
Az utóbbi években ugrásszerűen megnövekedett az igény az újgenerációs, biológiai és orvosi diagnosztikai eljárásokban széleskörűen alkalmazható fluorofórokra. Kutatómunkánk során ennek az igénynek igyekeztünk megfelelni különböző BODIPY festékek hatékony, lehetőleg környezetbarát szintézisével.

2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK

2.1. A diákköri munkám során alkalmazott reakciótípusok áttekintése

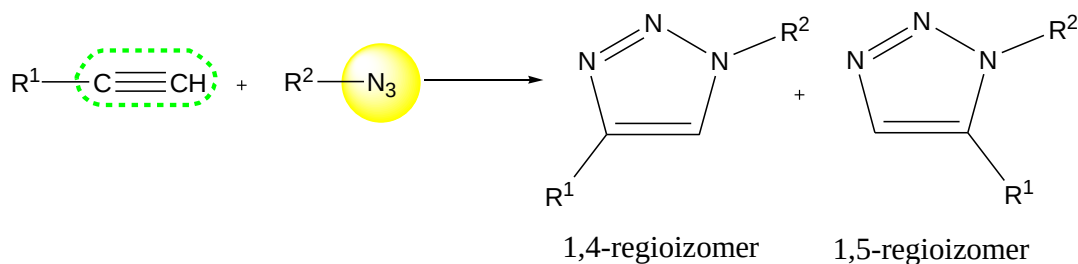
2.1.1. 1,3-Dipoláris cikloaddíció – klikk-kémia

Heterociklusos vegyületek előállítására gyakran alkalmazzák az 1,3-dipoláris cikloaddíciót, amely során az 1,3-dipólus egy többszörös kötésű rendszerrel, a dipolarofillel, 1,3-cikloaddícióban vesz részt (1. ábra).¹



1. ábra: Az 1,3-dipólus és a dipolarofil reakciója

Mivel az ismert 1,3-dipólusok jelentős része nem stabilis molekula, azokat a reakcióelegyben *in situ* állítják elő. A szerves azidok mint 1,3-dipólusok stabilis vegyületek, viszont használatuknak gátat szab, hogy melegítésre nitrogén molekula kilépésével robbanásszerűen bomlanak. Huisgen és munkatársai már az 1960-as években tanulmányozták a terminális alkinek azidokkal történő dipoláris cikloaddícióját (2. ábra).² A folyamat során az acetilén mint dipolarofil, az azid dipólussal reagálva [3+2] cikloaddíció következtében triazolt eredményez. A reakció 80–120 °C-on, vagyis viszonylag magas hőmérsékleten játszódik le, és 1,4-, illetve 1,5-regioizomerek közel azonos arányú keverékét szolgáltatja.³ Katalizátor alkalmazása nélkül tehát nem regioselektív a folyamat.



2. ábra: Azid-alkin cikloaddíció

Sharpless, Meldal és Bertozzi 2022-ben megosztott kémiai Nobel-díjat kapott a klikk kémia megteremtésért, a Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakció kidolgozásáért, valamint ezen eljárás bioortogonális megvalósíthatóságának kidolgozásáért.⁴ A klikk-reakció során két molekularész kapcsolható össze könnyen kivitelezhető módon, nagy szelektivitással, magas hozammal, enyhe reakciókörülmények között, kevés melléktermék képződése közben vagy melléktermék nélkül. További cél, hogy számos oldószer alkalmazható legyen, akár a víz is. Ezen célok mindegyikének megfelel a leggyakrabban alkalmazott klikk-reakció, vagyis a Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció (CuAAC). A reakció előnye, hogy sokféle Cu(I)-forrással végbemegy, vizes közegben is kiválóan lejátsszódik, valamint széleskörűen alkalmazható, mivel a kapcsolás számos különböző funkciós csoport mellett elvégezhető, annak érintése nélkül.^{5,6}

A megfelelő lejátsszódáshoz a Cu(I)-ionok elegendően nagy koncentrációja szükséges, mely számos eljárással elérhető.⁶ Lehetséges prokatalizátor alkalmazása, így a Cu(I)-ionok *in situ* előállíthatók pl. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -ból, redukálószer (nátrium-aszkorbát) segítségével. További módszer a CuI, CuBr vagy CuOAc és bázis vagy amin ligandum alkalmazása redukálószerrel egyidejűleg, valamint lehetséges rézdrót, -huzal, -por vagy nanorészecskék felhasználása is, melyek felületén Cu(II)-sóval történő oxidációval juthatunk Cu(I)-ionokhoz. Mivel a Cu(I)-ionok nagy koncentrációjának hiányában a CuAAC szobahőmérsékleten lassú folyamat, mely a biokonjugáció során nem megengedett, a gyorsító ligandumok használata elengedhetetlen, ugyanis alkalmazásuk jelentősen növelheti a reakciósebességet. Használható többfogú N-donor segédanyag, bizonyos karboxilátok vagy katalitikus mennyiségben foszfán-alapú ligandumok.⁶

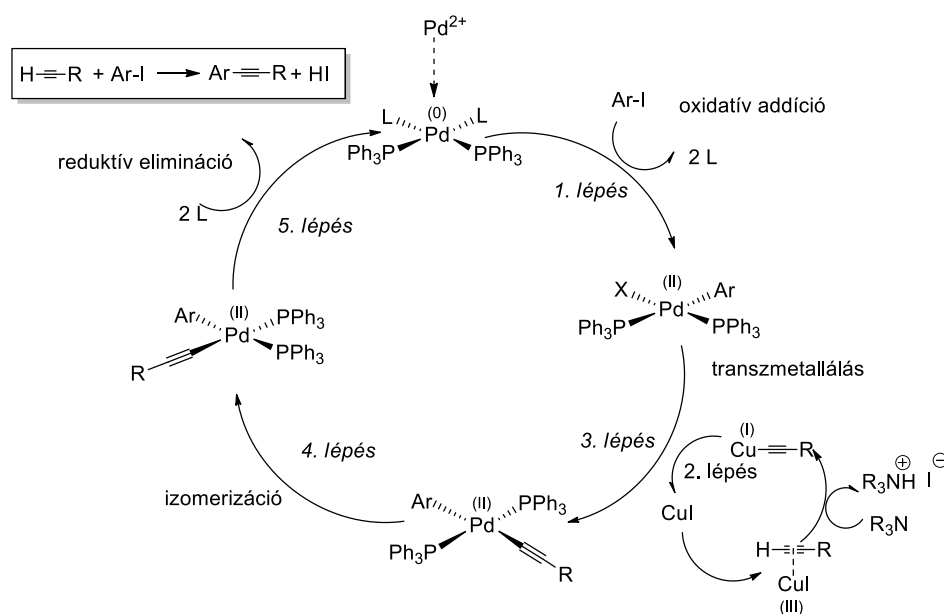
CuAAC reakció esetében fontos tényező a szubsztrátum oldhatósága, valamint a reakciópartnerek reaktivitása. Moladner kutatásai alapján az alkinek szempontjából az α -karbonil szénatom jelenléte növeli a reaktivitást.⁶ Sharpless és kutatócsoportja megállapította, hogy terminális alkinekből jódalkin előállításával a reakciókészség nagymértékben megnövelhető.⁴ Matyjaszewski kutatócsoportja vizsgálta az azidok reaktivitását, és megállapították, hogy az elektronszívó csoporttal rendelkező és a kevésbé térgátolt azidok a reaktívabbak.

A felhasználható oldószerek skálája széles, az apoláristól egészen a vízig terjed.⁶ Az oldószer megfelelő megválasztása a reakciópartnerek és a Cu(I)-katalizátor szolvatálásában kulcsfontosságú. Meldal és Tornoe vizsgálták különböző oldószerek és oldószer-elegyek hatását a reakcióra.⁶ A poláris oldószer a heterociklus-képződés lépésének kedvez, erősen

koordinálódó oldószer azonban lassítja vagy gátolja a fém-szubsztrátum reakciót. CuBr további ligandumok nélküli alkalmazásakor a DMF oldószer használata ideális lehet, míg, ha poliamin-ligandummal segítjük a folyamatot, a toluol lehet a megfelelő választás, ugyanis kiválóan oldja a katalizátort és a szubsztrátumot is anélkül, hogy gátolná a koordinációt.⁶

2.1.2. Sonogashira keresztkapcsolás

Az új szén-szén vagy szén-heteroatom kötés létrehozására alkalmas, átmenetifémek által katalizált keresztkapcsolási reakciók nagy jelentőségüket annak köszönhetik, hogy enyhe reakciókörülmények között, gyorsan és szelektíven mennek végbe. A palládiumorganikus vegyületek katalizálta keresztkapcsolási reakciók felfedezéséért 2010-ben Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi és Akira Suzuki Nobel-díjban részesültek.⁷ Ezen eljárásokkal olyan reakciók is megvalósíthatóvá váltak, amelyek korábban nem játszódtak le, vagy csak nagyon extrém körülmények között. Ezek a reakciók szerves halogénvegyületekből indulnak ki (R-X, ahol R: aril-, heteroaril-, vinil- vagy alkinil-). Az első lépés az oxidatív addíció, amely során *transz*-R-Pd(II)-X komplex képződik. A komplex a transzmetallálás során egy fémorganikus vegyülettel (R'-M) lép reakcióba, és egy *transz*-R-Pd(II)-R' komplex alakul ki (3. ábra). Ezután következik az izomerizáció és a redukzív elimináció, amikor egy új szén-szén kötés alakul ki a létrejövő komplex koordinációs szférájában. Közben az aktív Pd(0) katalizátor regenerálódik. A leggyakrabban használt katalizátor a palládium (Pd), ugyanis változatos szerkezetű reaktánsokkal alkalmazható. Aril- vagy vinil-halogenidek terminális alkinekkal Sonogashira kapcsolási reakcióba vihetők, ezzel egy új C-C kötést kialakítva közöttük. A kapcsolás végrehajtható sztöchiometrikus mennyiségű alkinil-fém reagensekkel, acetilének magnézium-, cink-, ón- vagy bórszármazékaival.⁸ Sonogashira-Hagihara kapcsolat során a réz segédkatalizátor jelenlétében az acetilénből *in situ* képződik annak reaktív származéka, elősegítve ezzel a reakció lejátszódását.⁹⁸



3. ábra: A Sonogashira kapcsolás feltételezett mechanizmusa

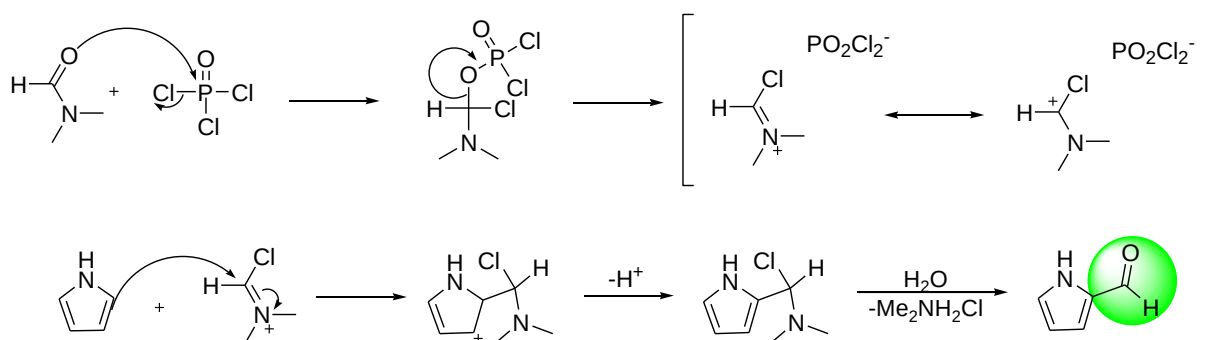
A Sonogashira kapcsolás mechanizmusa jelenleg nem teljesen tisztázott, mivel függhet a Pd/ligandum/szubsztrát kombinációtól is.¹⁰ A fém megfelelő vegyületének alkalmazásával vagy *in situ* módon, a Pd prekatalizátor +2-es oxidációs állapotú sójából előállítható a katalizátor aktív formája, mely a (0) oxidációs állapotú fém. A reakció első lépésében az elektrofil reagens oxidatív addícióval a Pd-komplekre kerül, így a Pd formálisan beékelődik a szén-halogén kötés közé. Ezt a lépést gyorsíthatja poláris oldószer használata, elektronban gazdag foszfán ligandumok alkalmazása, valamint elektronvonzó csoport jelenléte aromás vegyületen.¹ Ezután a katalitikus mennyiségben jelenlévő Cu(I)-ion π -kompleket alakít ki az acetilén származékkal, melynek következtében az acetilén savas karaktere megnövekszik, így az alkalmazott bázis hatására réz-acetilid keletkezik. A harmadik lépésben az acetilid transzmetallálódik és egy ariletinil-palládium-komplex képződik. Ezután a *transz*-komplex *cisz*-komplexszé izomerizálódik, melyből reductív eliminációval képződik a kívánt acetilén származék.

Kiemelt katalizátorforrások a $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ vagy a $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, mivel ezek a vegyületek levegőre és fényre kevésbé érzékenyek, valamint könnyen redukálhatók. A Pd bevihető (0) oxidációs állapotában is, $\text{Pd}(\text{dba})_2$, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ vagy $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ formában, de ezek a komplexek a nedvességre és a levegőre is érzékenyebbek. A ligandumok jelentős befolyással vannak a katalizátor aktivitására, a nagy térkitöltésű ligandumok gyorsítják az oxidatív addíciót és a reductív eliminációt.

A Sonogashira kapcsolás nyújtotta C(sp)–C(sp²) kötés kialakítás lehetőségét széleskörűen alkalmazzák a szerves és gyógyszerkémikusok. Ez a reakció alkalmas biomolekulák konjugátumainak szintézisére, potenciális gyógyszerjelöltek előállítására és funkcionálisítására.

2.1.3. Vilsmeier-Haack reakció

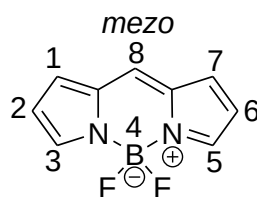
Egy aromás karbo- vagy heterociklus formilezése számos továbbalakítási lehetőséget biztosít a szerves szintézisek során. A Vilsmeier-Haack reakcióban egy szubsztituált amid reagál a foszforil-kloriddal, miközben kloridion szabadul fel (4. ábra).¹² Kialakul egy klórimmínium ion, amely elektrofil reagensként támad az aromás gyűrűre. A pirrol esetében a 2-es helyzetű szénatomon következik be az elektrofil támadás. Az aldehid hidrolízis következtében alakul ki.



4. ábra: A pirrol formilezése Vilsmeier-Haack reakcióval

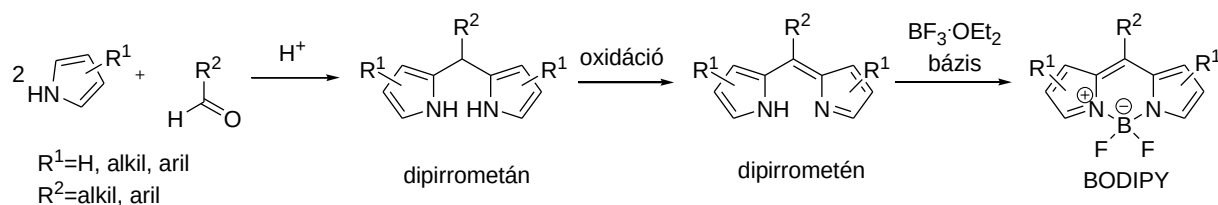
2.2. BODIPY monomerek és dimerek szintézise, valamint továbbalakítási lehetőségeik

Az első BODIPY festékmolekula szintézisét 1968-ban Treibs és Kreuzer valósította meg.¹³ A szintézissor első lépése a BODIPY alapvázát képező dipirrometán előállítása, mely több stratégiát követve is megvalósítható.¹⁴



5. ábra: A 4,4-difluór-4-bór-3a,4a-s-indacén (BODIPY) alapváza

Az egyik lehetséges szintézismódszer (I.) pirrol és aldehid savkatalizált kondenzációján alapul. (6. ábra) A keletkező dipirrometánt, instabilitása, fény-, illetve savérzékenysége miatt ajánlott azonnal oxidálni, mely megvalósulhat 2,3-diklór-5,6-diciano-1,4-benzokinon (DDQ) vagy 2,3,5,6-tetraklór-1,4-benzokinon (*p*-kloranil) felhasználásával. A szintézis utolsó lépése a dipirrometén komplexálása $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, valamint bázis alkalmazásával.^{13,14} A pirrol szubsztituáltsága nagymértékben befolyásolja a szintézisek sikerességét, hozamát. Egyes pirrol származékok savérzékenysége miatt a reakciókörülmények kiválasztásának egyik fontos szempontja a savkatalizátor minősége és mennyisége. A szubsztituátlan pirrol közel 40-szeres feleslege szükséges ahhoz, hogy a dipirrometán jó hozammal képződjön. Ez utóbbi származék tisztítását szekunder amint tartalmazó eluenssel, a kromatografáló oszlopot fénytől védve (alufóliával való bevonással) érdemes végezni.¹³ Ezzel szemben, a 2,4-diszubsztituált pirrolok alkalmazása kisebb körülmekintést igényel. A dipirrometán hozzáférhetőségét az alkalmazott pirrol származék ára is nagymértékben befolyásolja, ugyanis egyes reagensek, mint pl. a 2,4-difenilpirrol ára sokkal magasabb, mint dialkil változataié.¹⁵



6. ábra BODIPY szintézis aril-aldehidből kiindulva (I.)

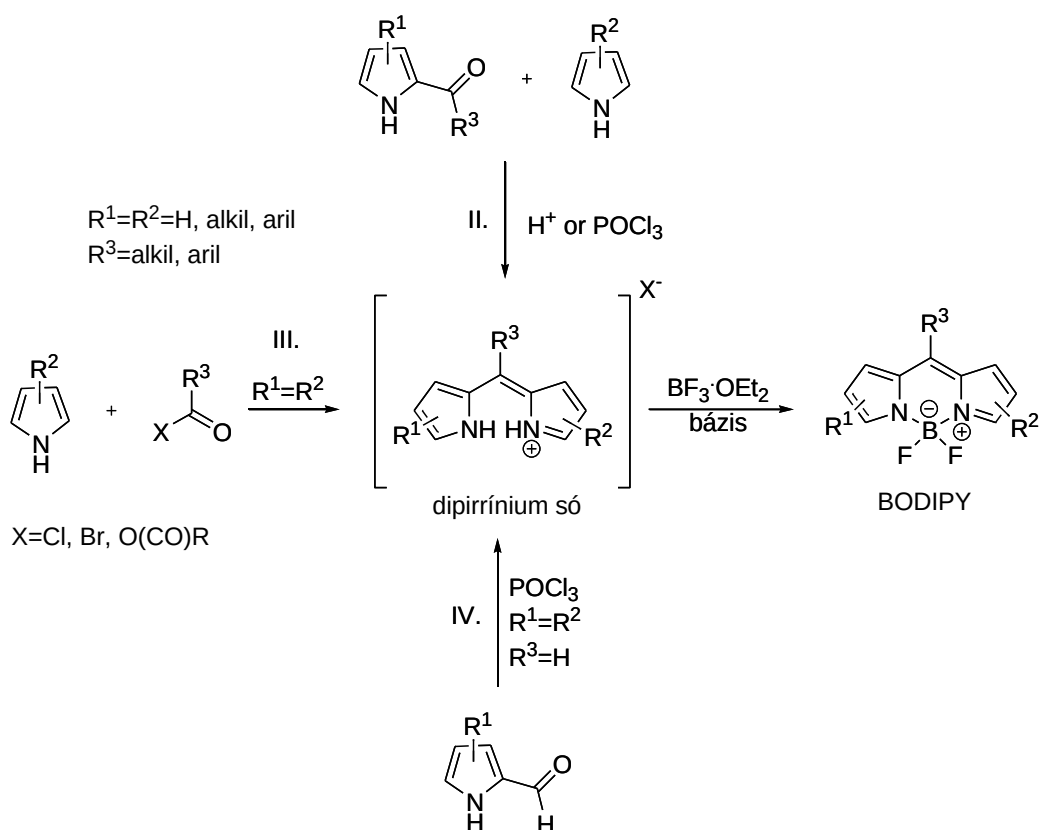
A szakirodalomban ismertett BODIPY származékok szerkezeti diverzitása azok *mezo*-helyzetben való széleskörű átalakíthatóságának köszönhető.¹⁵ A kereskedelmi forgalomban számos aromás aldehid olcsón hozzáférhető, így az I. szintézis-stratégia lehetőséget biztosít

aromás gyűrűknek a *mezo*-pozíciójú szénatomra történő bevezetésére, ezáltal különböző *mezo*-aril-szubsztituált BODIPY származékok előállítására.¹⁵ A szintézis megvalósítható a reakciólépések egymás utáni végrehajtásával, a közttermékek tisztításával, valamint úgynevezett „one-pot”, egyedényes eljárással is.^{15,16} Az egyedényes (one-pot) eljárások olyan hatékony szintetikus módszerek, amelyek során az egymást követő reakciólépések egy reakciótérben játszódnak le, a közttermékek izolálása nélkül.¹⁶ Kivitelezhetők szekvenciálisan, vagy tandem módon. A szekvenciális szintézis során az egyes intermedierek továbbalakításához reagens hozzáadása szükséges, vagy adott reakciókörülmény megváltoztatása. A tandem módszer során nincs szükség további adalékanyagok hozzáadására az egyes reakciólépések lejátszódásához.¹⁶ A reakcióutak megtervezésénél fontos szempont lehet annak mérlegelése, hogy mennyi idő- és energiabefektetést igényelnek a különböző stratégiák. A minél magasabb összhozamra való törekvés azonban előtérbe kerülhet az egyéb szempontok mellett.

A II. szintézis stratégia acil-pirrol és pirrol savkatalizált kondenzációján alapul (7. ábra).^{14,15} Az így keletkező dipirrínium-só bázis hatására történő deprotonálását, majd a dipirrometén komplexálását követően kialakul a BODIPY festékmolekula.¹⁴⁻¹⁷ Ezen stratégia előnye, hogy aszimmetrikus BODIPY termék szintézisét is lehetővé teszi.¹⁸

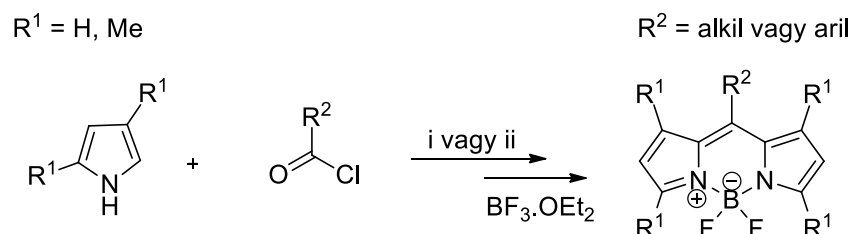
A III. stratégia során a 2-es helyzetben szubsztituátlan pirrol karbonsav-kloriddal, -bromiddal, anhidriddel, valamint ortoészterrel való reakcióban alakítja ki a kívánt dipirrometént.¹⁹⁻²² Kiemelendő, hogy ebben az esetben nincs szükség oxidációs lépés beiktatására. A komplexálás második lépésként megvalósulhat, így egy reakciólépés kihagyásával alakítható ki a kívánt festékmolekula. Az összhozam tekintetében nagy előnnyel járhat, ha az oxidáló szerrel való kezelés kihagyható, ugyanis ez a reakciólépés sok melléktermék képződéséhez vezethet.

Ismeretes továbbá egy olyan eljárás is (IV.), amely során, Burgess és Wu kísérletei alapján, pirrol-2-karbaldehyd származékok foszforil-klorid jelenlétében alakulnak dipirrínium-sóvá.²³ A só bázissal való kezelése, valamint $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -vel történő komplexálása szimmetrikus BODIPY molekulát eredményez.



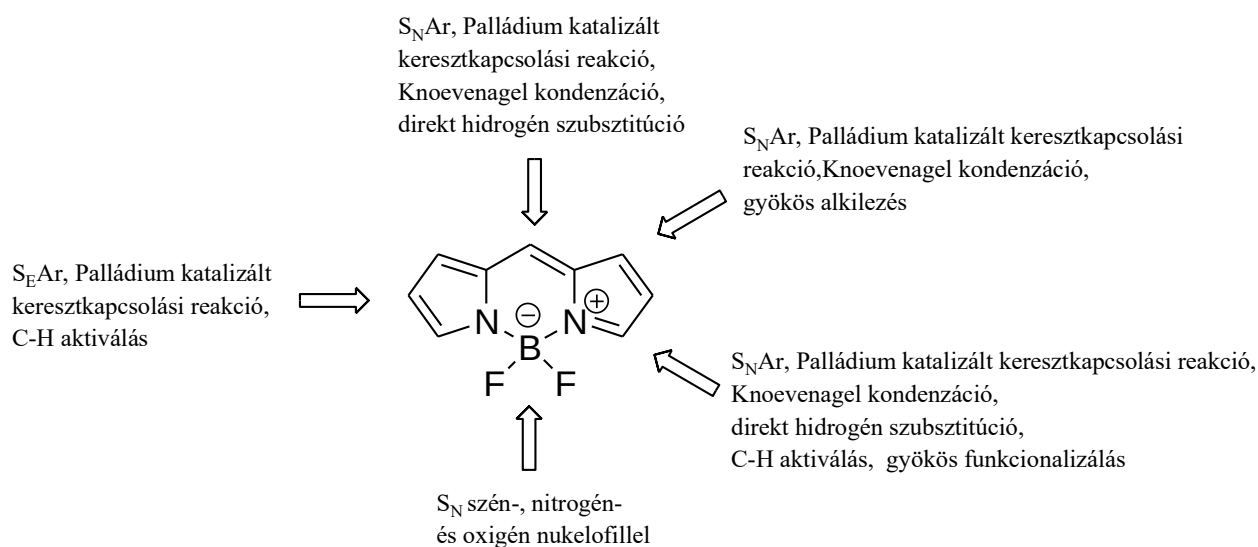
7. ábra: BODIPY szintézis stratégiák

2022-ben jelent meg Da Lama és munkatársainak közleménye, amelyben savklorid–pirrol stratégiát alkalmazva vizsgálták a mikrohullámú besugárzás hatását a BODIPY szintézisre (8. ábra).²⁴ Kísérleteik során arra jutottak, hogy tandem egyedényes eljárással és mikrohullámú technika alkalmazásával, valamint az alkalmazott bázis megfelelő megválasztásával mind a reakcióidő, mind a reakció hőmérséklete nagymértékben lecsökkenthető, a reakció hozamának növekedése mellett. Nem vizsgálták azonban az aril-aldehidből, savanhidridből vagy ortoészterből kiinduló szintézisek mikrohullám alkalmazásával való megvalósíthatóságát.



8. ábra: A Da Lama és munkatársai által tanulmányozott modellreakció:²⁴ (i) kétlépéses eljárás, DIPEA bázis, hagyományos forralás, 2 óra, (ii) tandem egyedényes eljárás, Et_3N bázis, MW besugárzás, 40–80°C, 15 perc.

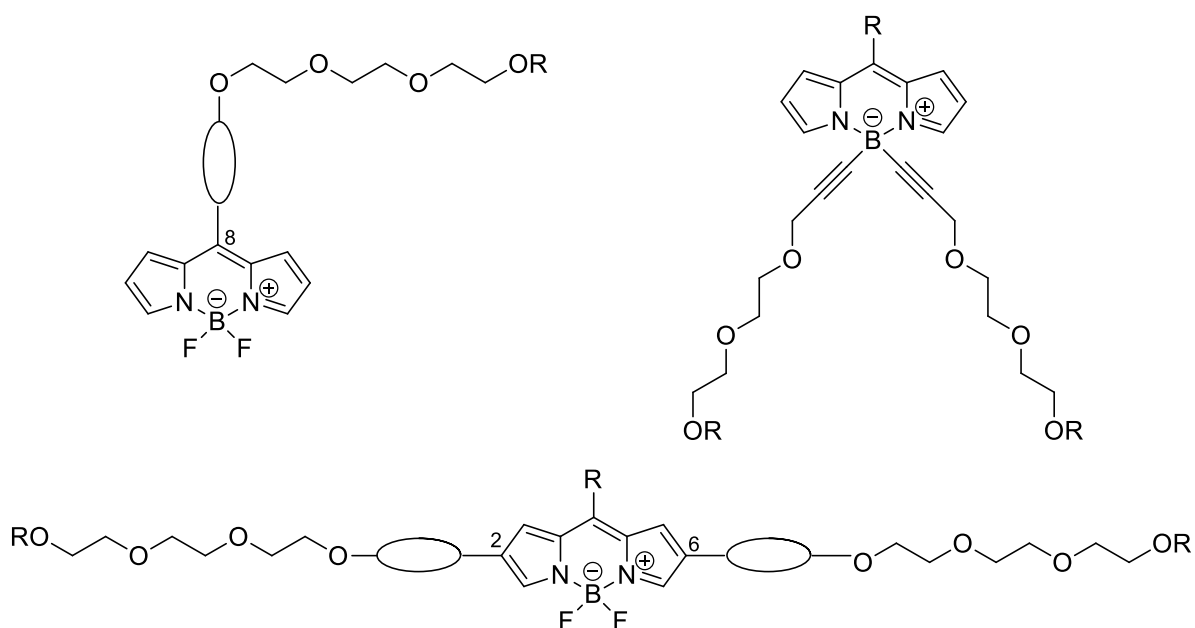
A BODIPY alapváz, annak kialakítását követően, számos további átalakítási lehetőséget biztosít.¹⁵ Heteroaromás jellegének köszönhetően, adott pozíciókban nemcsak elektrofil, hanem nukleofil szubsztitúciós átalakítások is megvalósíthatók. Palládium-katalizált C–C és/vagy C–heteroatom kapcsolási reakciók több szénatomon is lejátszódhatnak, azonban ezek szükségessé tehetik az alapváz előzetes halogénezését. Ennek elkerülésére célszerű inkább C–H aktiválással szubsztituálni a vázat. A börtartalmú molekularészleten nukleofil szubsztitúciós átalakításokkal B–C, B–N és B–O kötések alakíthatók ki. A posztfunkcionalizálás különböző lehetőségeit az 9. ábra foglalja össze. A festékmolekulák vízzoldékonyságának növelése, biomolekulákhoz történő kapcsolása, valamint a BODIPY dimerek szintézise megköveteli az molekula alapvázán a különböző konjugálható funkciós csoportok jelenlétét. A számos posztfunkcionalizálási lehetőségnek köszönhetően változatos, különböző funkciós csoportokkal ellátott BODIPY festékeket találunk a szakirodalomban.^{6,15} Az alkalmazási területnek megfelelő festékmolekula szintézise gondos, aprólékos tervezést igényel. Figyelembe kell venni az egyes lépések megvalósíthatóságát, körülményeit, valamint a kialakítandó és a már meglévő funkciós csoportok érzékenységét.



9. ábra: A BODIPY alapváz továbbalakítási lehetőségei

A BODIPY festékek biológiai és orvosi célokra történő felhasználásakor előnyös a származékok megfelelő vízzoldékonysága.^{25,26} Hidrofil oldalláncok, funkciós csoportok beépítésének jellemző stratégiái az oligo(etilén-glikol),²⁶ az *N,N*-bisz(2-hidroxi-etil)amin, az ammónium csoport, egy szénhidrát, egy nukleotid vagy egy szulfonsav konjugálása a BODIPY festékre.²⁷⁻³⁵ A BODIPY származék fluorid ionja etinil-trietilén-glikol-metil-éterrel való

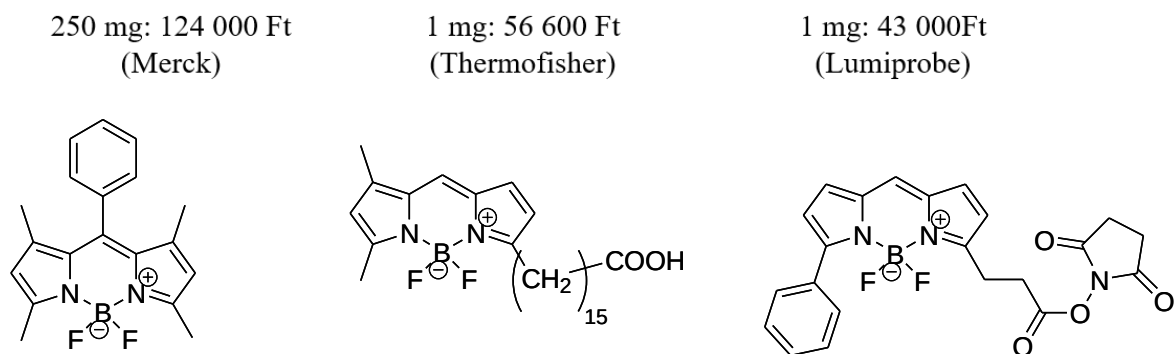
Grignard-reakcióban lecserélhető, így növelve a festék vízdékonyságát.²⁵ További lehetőség a BODIPY vízdékonyságának növelésére, a *mezo*-helyzetben (8-as szénatomon) vagy a 2-es és a 6-os szénatomon jódozott BODIPY származékok palládium-katalizált Sonogashira keresztkapcsolási reakciója a terminális alkinként alkalmazott etinil-trietilén-glikol-metil-éterrel (10. ábra).²⁵ A semleges, vízdéható festékek számos előnnyel rendelkeznek az ionos analogonjaikhoz képest. Egy semleges, vízdéható BODIPY feltételezhetően kevésbé mutat nem specifikus kölcsönhatásokat fehérjékkel, vagy egyéb biomolekulákkal. A hidrofíli linker beépítése elősegítheti a festék nanorészecske hordozókkal, vagy biomarker vektorokkal való további átalakításait.



10. ábra: Hidrofíli trietilén-glikol oldalláncot tartalmazó BODIPY származékok

Az 11. ábra három kiválasztott, kereskedelmi forgalomban kapható BODIPY fluorofór szerkezeti képletét és hozzávetőleges árát mutatja.³⁶⁻³⁸ Az első egy egyszerű, lipofíli, konjugálható csoportot nem tartalmazó származék. Ahhoz, hogy biomolekulához vagy más vegyülethez kapcsolható legyen, további átalakításokra van szükség. A második egy karboxilcsoportot tartalmaz, 15 szénatomos linkeren keresztül. Az ára jóval magasabb az előbbi származékénál. Egy ilyen BODIPY-karbonsav értékes intermediér lehet. Hátránya azonban, hogy ha konjugálás előtt pl. aktív észterre alakítják, legalább néhány tíz mg anyag megvásárlására lehet szükség. A harmadik származék már egy aktív észter, de túl rövid a linker a karbonil szénatom és az alapváz között, ez nem minden esetben előnyös.

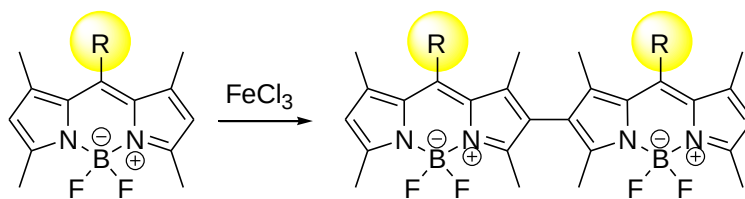
A fentiek jól szemléltetik, hogy kiemelt jelentőségű lenne olyan eljárások kidolgozása, amelyek a lehető legkevesebb lépésben, magas hozammal szolgáltatják a jó optikai tulajdonságokkal rendelkező, számos területen alkalmazható, konjugálható BODIPY fluorofórokat.



11. ábra: Kiválasztott, kereskedelmi forgalomban kapható BODIPY fluorofórok szerkezeti képlete és a hozzávetőleges áruk

A BODIPY-dimerek kutatása az utóbbi néhány évben került előtérbe, kedvező optikai és biológiai tulajdonságaiknak köszönhetően.³⁹⁻⁴¹ A szakirodalom homo- és heterodimerek szintézisééről egyaránt beszámol. Egyes ortogonális származékok kiemelt figyelmet kapnak, ugyanis egyedi tulajdonságaiknak köszönhetően, kiváló PS-ek lehetnek, orvosbiológiai alkalmazásokban.⁴⁰

A homodimerek szintézisét vas(III)-klorid katalizált oxidatív kapcsolással végzik. A FeCl₃ erős Lewis-savként a Lewis-bázisokkal adduktumokat képez, ezáltal aktiválja az egyes szerves szubsztrátumokat.^{39,42} Enyhe oxidálószerként széleskörű alkalmazást nyert az iparban is, többek között a vízkezelésben vagy a nyomdaiparban. BODIPY származékok pirrol-gyűrűinek 2-es pozícióban való összekapcsolására is kiválóan alkalmas (12. ábra).³⁹ Gyakran alkalmazzák diklórmetán, vagy metanol oldószerben. A 2,4-diszubsztituált pirrolból kialakított BODIPY származékok alkalmazásával elérhető, hogy a monomerek kizárólag a 2-es pozícióban kapcsolódjanak össze. Ezen kapcsolási módszer hátránya, hogy a reakcióban nem csak dimerek, hanem több BODIPY monomer összekapcsolódásával oligomerek is keletkeznek, így a szintézis hozama igen alacsony, 30% alatti. Homodimerek kialakíthatók az alegységek *mezo*-helyzetben való összekapcsolásával is. Erre kiváló lehetőséget kínálnak az átmenetifém katalizált keresztkapcsolási reakciók.



12. ábra: Homodimer szintézise FeCl_3 -katalizált oxidatív kapcsolással³⁹

Nemcsak két BODIPY-alegység, hanem egy BODIPY és egy vagy több másik fluorofór összekapcsolásával is nyerhetünk értékes konjugátumokat.⁴³ Amennyiben egy megfelelő, alacsonyabb hullámhosszon gerjeszthető és emittáló BODIPY és egy magasabb hullámhosszon gerjeszthető és emittáló Rodamin és/vagy *aza*-BODIPY származékot kovalensen összekapcsolunk, az első egység energiadonorként, a második pedig akzeptorként viselkedhet. A köztük megvalósuló Förster rezonancia energia transzfer (FRET) lehetővé teszi a dimer fluoreszcens szenzorként vagy képalkotó eljárásban való alkalmazását.⁴³ A megfelelő konjugálható funkciós csoportok számtalan lehetőséget kínálnak több fluorofór egység összekapcsolására is. A BODIPY származékok *mezo*-helyzetben vagy a pirrol-gyűrűn való széleskörű átalakíthatóságának köszönhetően különböző átmenetifém katalizált reakciókban multikromofórrá alakíthatók.

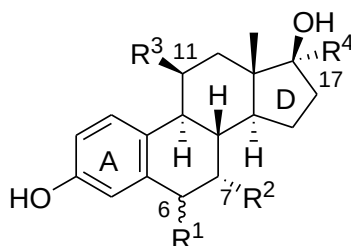
2.3. Szerves kémiai reakciók mikrohullámú térben

Az elmúlt három évtizedben a mikrohullámú technika (MW) alkalmazása széleskörben elterjedt, és hangsúlyos fejlődést eredményezett a szerves kémiában.⁴⁴ A mikrohullámú reaktorok használatának számos előnye van: alkalmazásukkal lecsökkenthető a reakcióidő, a mellékreakciók háttérbe szoríthatók, ezáltal a javítható a kemoszelektivitás. Előfordulnak olyan esetek is, amikor egy kémiai reakció hagyományos melegítés hatására nem, vagy csak nagyon nehezen megy végbe és csak mikrohullámú besugárzás következtében játszódik le. Mindezek mellett arra is van példa, hogy mikrohullámú besugárzás használatakor elhagyhatók a katalizátorok vagy a katalizátor rendszerek leegyszerűsíthetők. Bár a mikrohullámú technika előnyeinek oka a mai napig vitatott, egyetértés látszik kialakulni abban, hogy a reakciósebesség-gyorsító eredmény termikus hatásoknak köszönhető.⁴⁵ Magyarázatot az a jelenség adhat, hogy a reakcióelegy belsejében statisztikusan előforduló, ún. helyi túlmelegedések alakulnak ki, melyek sebességnövekedést okoznak. A lokális túlmelegedési

pontokon akár 50 °C-kal magasabb hőmérséklet jöhet létre az átlagos hőmérsékletnél. Ezek a túlmelegedési területek csak nano-méretűek, így a mérésük önmagukban lehetetlen feladat, de több helyi túlmelegedés összességében már hatással lehet a reakció lejátszódására. Ez a technika az átmenetifém-katalizált keresztkapcsolási reakciók körében is egyre nagyobb teret hódít.⁴⁶

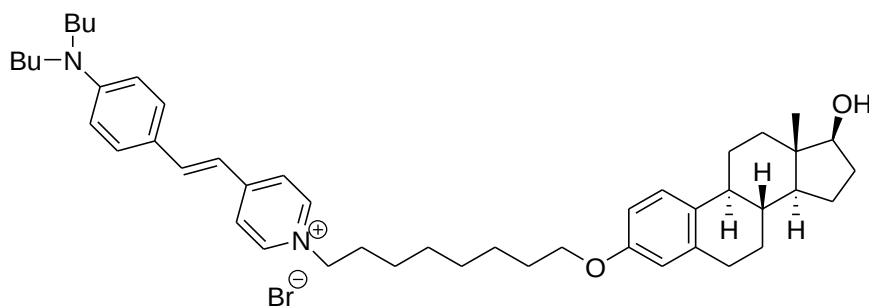
2.4. Ösztrogének és nukleozidok fluoreszcens jelölése

Napjainkban az emlődaganat az egyik leggyakoribb halálozási ok a nők körében. Az emlődaganatok többsége ösztrogénfüggő, ezért a kezelésére alkalmazott gyógyszerhatóanyagok nagy része az ösztrogén magreceptorokon (ER) keresztül fejti ki hatását.⁴⁷ A 17 β -ösztradiol (E2) a legaktívabb női nemi hormon, amely nemcsak a másodlagos nemi jellegek kifejlődéséért felelős, hanem számos egyéb szerepet is játszik a szervezetben.⁴⁸ A túltermelődése stimulálja a hormonfüggő daganatos sejtek osztódását.⁴⁹ Az ösztrogének főleg a petefészkekben és a méhlepényben termelődnek, de szintézisük az agyban is zajlik. Az E2 tehát nemcsak női nemi hormonnak, hanem neuroszteroidnak is tekinthető, és neuroprotektív szerepet is tulajdonítanak neki.⁵⁰ Az E2 fontos biológiai funkcióit tekintve kiemelt figyelmet fordítanak a vegyület biológiai hatásmechanizmusainak vizsgálatára. Annak érdekében, hogy megfigyelhessük a receptorokkal, enzimekkel mutatott kölcsönhatásait, elengedhetetlen a molekula jelölése. Manapság a radioizotópos nyomjelzést egyre inkább a fluoreszcencia mérésén alapuló eljárások váltják fel. A fluoreszcens képalkotó eljárások nagy térbeli felbontást tesznek lehetővé sejt szinten, amennyiben nagy ER affinitás és szelektivitás valósul meg. Hanson és munkatársai a 2019-es összefoglaló közleményükben ismertették, hogy az E2 mely szénatomjain (C-6, C-7, C-11 és C-17), és milyen pozíciókban valósítható meg olyan fluoreszcens jelölés, amely nem csökkenti lényegesen a konjugátum ösztrogén magreceptorokhoz mutatott affinitását (13. ábra).⁵¹ Nagyméretű csoportok beépítése csak a 7 α - és a 11 β -pozíciókban megengedett.



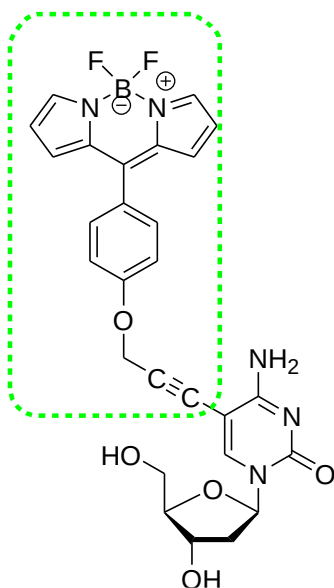
13. ábra: Az E2 fluoreszcens jelölés szempontjából kiemelt pozíciói (C-6, C-7, C-11 és C-17)

A szakirodalom szerint az E2 molekula két oxigéntartalmú funkciós csoportja elengedhetetlen a receptorkötődéshez,⁵¹ így az alkoholos és a fenolos hidroxilcsoport átalakítása nem célszerű. Az Estradiol glow (EG) fantázianevet viselő konjugátum azonban egy fenolos hidroxilcsoporton módosított származék, amely igazoltan „megfesti” az ER pozitív MCF-7 emlőkarcinóma sejtek magját (14. ábra).⁵² Az EG egy távoltartó elemen (linker) keresztül tartalmazza a konjugált kettős kötésű, „jelölő” molekularészletet. Az EG a kereskedelmi forgalomban kapható fluoreszcens ösztrogén, de olyan magas áron, ami az alap kutatás számára alig hozzáférhető.⁵³ Az EG pontos hatásmechanizmusa nem tisztázott. Annak figyelembevételével, hogy az E2, szerteágazó biológiai szerepének köszönhetően, számos orvosi biológiai terület jelentős vizsgálati célpontja, kiemelten fontos annak megfelelő stratégiával való fluoreszcens jelölése. Annak érdekében, hogy minél pontosabb összefüggést állapíthassunk meg az E2 biológiai hatásmechanizmusára vonatkozóan, újabb, nagy ER-affinitással rendelkező, fluoreszcensen jelölt származékok előállítására és tanulmányozására van szükség.



14. ábra: Az Estradiol glow (EG) szerkezete

A fluoreszcensen jelölt DNS molekulákat széleskörűen alkalmazza a kémiai, a molekuláris és a sejtbiológia; valamint a biotechnológia és az anyagtudomány.⁵⁴⁻⁵⁶ Fluoreszcens 2'-dezoxiribonukleozid-trifoszfátokat (dNTPk) alkalmaznak az élő sejtek intracelluláris DNS-ének jelölésére és a kromatin dinamikájának fluoreszcens mikroszkópiával való vizsgálatára is. A fluoreszcens dNTPk többsége cianin vagy fluoreszcein alapú festékeket tartalmaz, amelyek számos hátrányos tulajdonsággal rendelkeznek. Napjainkban egyre növekvő igény mutatkozik olyan nukleozid vagy nukleotid jelölési eljárások kidolgozására, amelyek fotostabil, elektroneutrális fluorofórokat tartalmaznak. Dziuba és munkatársai megvalósították a dezoxi-adenin (dA) és a dezoxi-citidin (dC) propargilezett BODIPY származékkal való fluoreszcens jelölését (15. ábra).⁵⁷ Közvetlen kapcsolatot alakítottak ki a két alegység között, linker beépítése nélkül. A kapott konjugátumok trifoszfát-származékai kiváló szubsztrátumnak bizonyultak polimeráz láncreakciókban. Az alkalmazott DNS-polimerázok sikeresen beépítették a konjugátumokat a DNS-láncba. Annak érdekében, hogy pontos összefüggéseket állapíthassunk meg a szerkezet és a biológiai rendszerben való viselkedés között, új konjugátumok szintézisére van szükség, amelyek különböző fluorofórokat, kapcsoló elemeket és linkereket tartalmaznak. Előnyös lehet a hidrofíl-oldallánccal rendelkező festékek beépítése.



15. ábra: A Dziuba és munkatársai által előállított, egy kiválasztott BODIPY–dC szerkezete⁵⁷

2.5. Fotodinámiás terápia

A fotodinámiás terápia egy ígéretes, noninvazív, többek között daganatok kezelésére alkalmas módszer.^{58,59} Szükséges hozzá egy fényérzékenyítő anyag (angolul photosensitizer, PS) és a megfelelő hullámhosszú fény, oxigéndús környezetben. A megfelelően megválasztott PS a fényt abszorbeálva reaktív, citotoxikus oxigéngyököket képes generálni, melyek alkalmasak a rosszindulatú tumorsejtek elpusztítására.⁶⁰

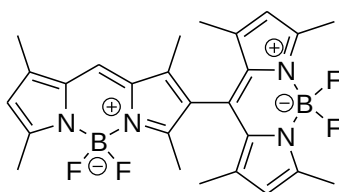
Az alapállapotú (S_0) PS a megfelelő hullámhosszúságú fény abszorbeálásával szingulett gerjesztett állapotba (S_1) kerül, majd ezután spinváltó átmenet (ISC) következtében triplett állapotba (T_1) jutva a felesleges energiát a környezetében lévő molekuláknak adja át. Relaxáció során az emittált energia a környező alapállapotú oxigénmolekulák gerjesztésére fordítódik, így reaktív oxigéngyökök és szingulett oxigén keletkeznek. A reaktív oxigénrészecskék, mint például a szuperoxid anionok vagy hidroxil-gyökök, többféle különböző hatásmechanizmus révén idézhetik elő a rosszindulatú tumorsejt halálát. Lehetséges a tumorsejtek közvetlen elpusztítása, a tumorsejteket körülvevő érhálózat károsítása, valamint a fotodinámiás terápia kiválthat immunválaszt is. Ezen három hatásmechanizmus akár egyszerre, párhuzamosan is felléphet a terápia alkalmazásakor, ezzel megnövelve a tumorsejtek pusztításának hatékonyságát.⁶¹

A fotodinámiás terápiában alkalmazható PS-ekkel szemben számos követelményt támasztanak. Az egyik legfontosabb kritérium az alacsony sötét citotoxicitás, azaz a PS csak a megfelelő hullámhosszon való gerjesztést követően fejtsse ki a daganatos sejteket károsító hatását. Annak érdekében, hogy a kezelés után könnyen eltávolítható legyen, *in vivo* stabilitása legyen viszonylag alacsony. További elvárás a megfelelő mértékű vízoldhatóság, a fotostabilitás, valamint a sejtmembránon való áthatolóképeség.⁶¹

A szakirodalom szerint egyes BODIPY fluorofórok kiváló PS-ek lehetnek, többek között magas abszorpciós együtthatójuknak és kitűnő fotostabilitásuknak köszönhetően.⁶² Fotodinámiás alkalmazás szempontjából előnyös tulajdonságaik továbbá, hogy optikai tulajdonságaik általában függetlenek a pH-tól, kisméretűek, és lipofil vegyületek. A BODIPY alapváz szelektív módosításával akár célzottan változtathatók a fotofizikai tulajdonságok, és ezáltal a biológiai hatás is. Halogénatom jelenléte a BODIPY molekulában jelentősen növeli a $T_1 \rightarrow S_0$ átmenetet (ISC, külső konverzió), ezzel egyidejűleg a reaktív oxigéngyökök előállításának hatékonyságát is, végső soron a daganatellenes hatást. A halogénezett BODIPY-alapú PS-ek

azonban gerjesztés nélkül is viszonylag magas citotoxicitást mutatnak (magas sötét toxicitás).⁶³ Ez utóbbi kiküszöbölhető halogénmentes ortogonális BODIPY dimerek alkalmazásával.⁶⁴⁻⁶⁶ Egyes dimerek esetében is nagy hatékonysággal valósul meg külső konverzió során a $T_1 \rightarrow S_0$ átmenet, de nagy előnyük, hogy gerjesztés nélkül nem fejtenek ki jelentős daganatellenes hatást (alacsony sötét toxicitás).

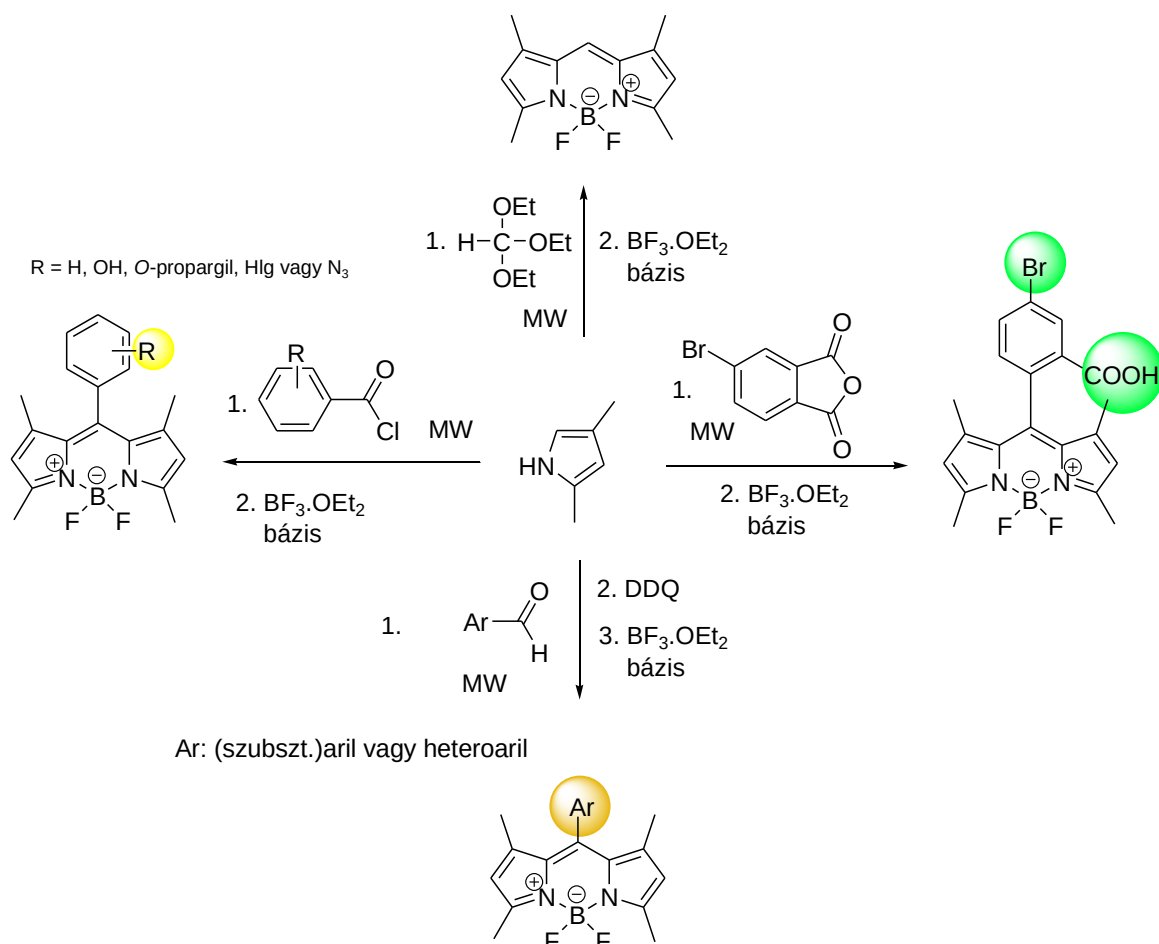
Epelde-Elezcano és munkatársai a közelmúltban igazolták, hogy a 16. ábrán bemutatott dimer hatékonyan bejut a HeLa méhnyak tumorsejtekbe, és nanomólos koncentrációban fejti ki fototoxikus hatását, magas foto- és sötét toxicitási aránnyal.⁴⁰ A BODIPY dimerek fototoxicitása szorosan összefügg a fotofizikai kulcs paramétereikkel, nevezetesen az abszorpciós koefficienssel és a szingulett oxigén generálásának képességével. Ezek alapján, a BODIPY dimerek fotofizikai tanulmányozása és jellemzése elengedhetetlen ahhoz, hogy megértsük a kapcsolatot a szerkezetük és a terápiás hatékonyságuk között. A megfelelő szerkezet-hatás összefüggések megállapítása fontos információkat szolgáltat a további, egyre hatékonyabb és szelektívebb PS-ek tervezéséhez.



16. ábra: Egy ortogonális-típusú BODIPY dimer PS szerkezete

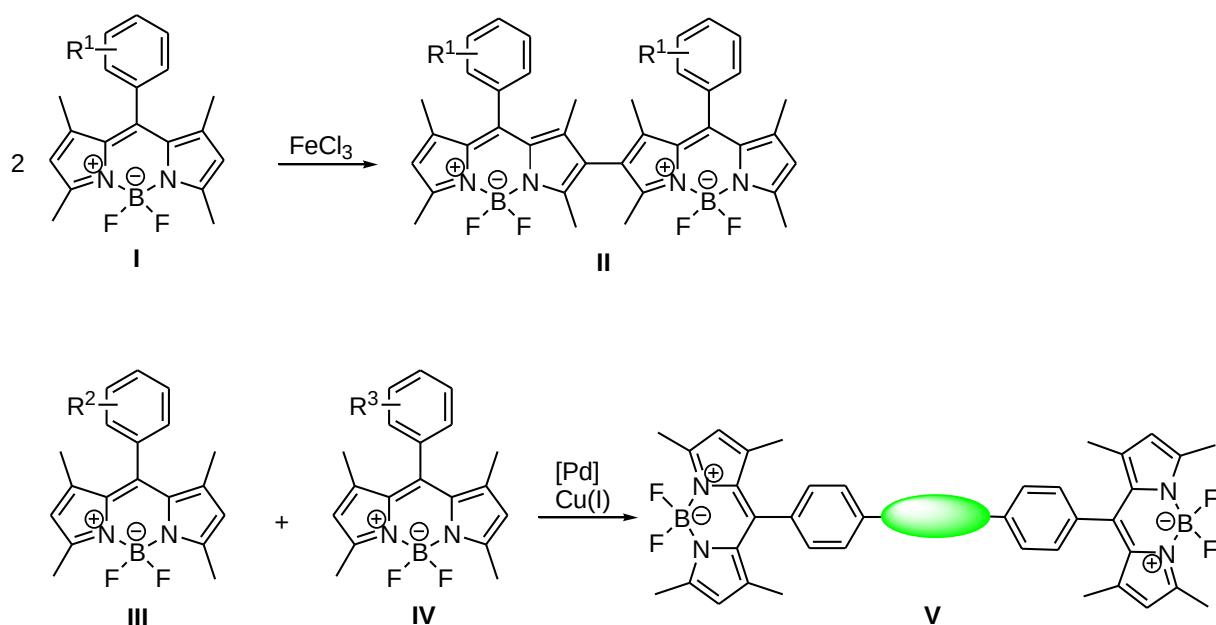
3. CÉLKITŰZÉSEK

Az irodalmi előzmények alapján célul tűztük ki olyan BODIPY festékek szintézisét, melyek későbbi konjugálásra alkalmas funkciós csoportot tartalmaznak. A szintéziseket a zöld kémia alapelveinek megfelelően, környezetbarát módon, mikrohullámú besugárzás alkalmazásával, az adalékanyagok mennyiségének és a reakciólépések számának csökkentésével terveztük végrehajtani. Célunk volt a BODIPY alapváz szintézisének aldehid, karbonsav-klorid, ortoészter, valamint savanhidrid karbonilvegyületek alkalmazásával történő megvalósítása (17. ábra). A későbbi konjugálás, összekapcsolás lehetőségét biztosító funkciós csoportok a megfelelően megválasztott, szubsztituált karbonilvegyület alkalmazásával, vagy utólag is beépíthetők. További célunk volt a BODIPY alapvázon lévő funkciós csoportok átalakítása oly módon, hogy trietilén-glikol molekularészlet beépítésével hidrofil oldalláncot tartalmazó BODIPY származékhoz jussunk. A karbo- és a heterociklusos gyűrűkön is terveztünk átalakításokat.



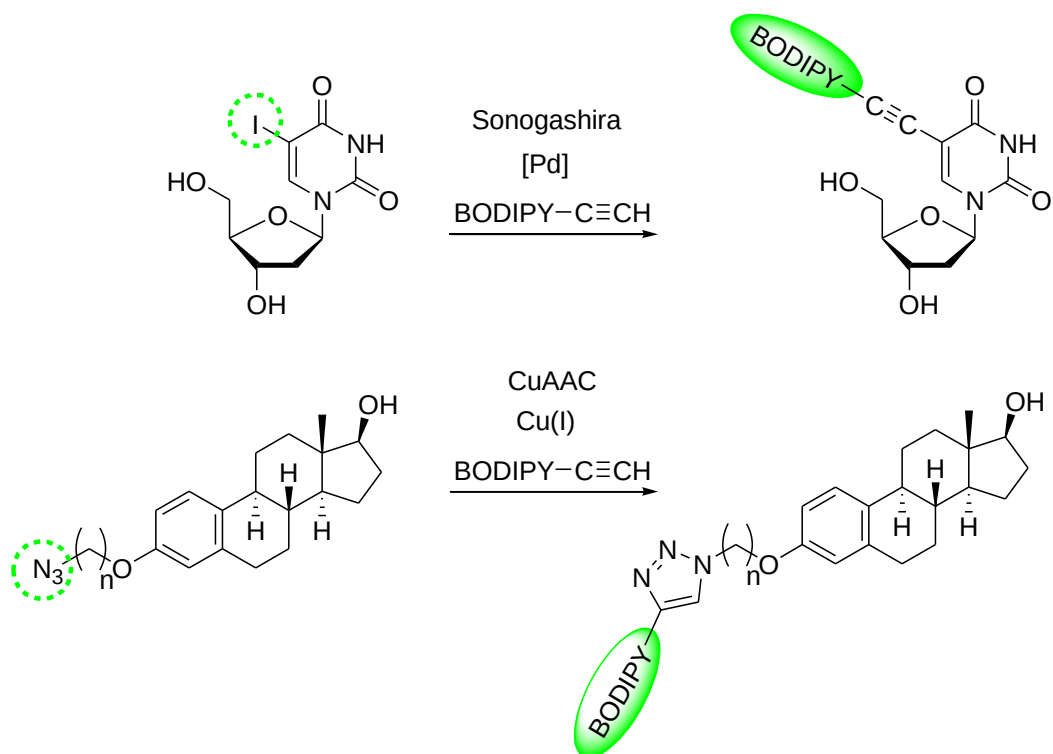
17. ábra: A tervezett BODIPY alapváz szintézisutak

Célul tűztük ki továbbá BODIPY homo- és heterodimerek (**II** és **V**) szintézisét átmenetifém katalizált reakciókban (18. ábra). A monomer egységek (**I** és **I** vagy **III** és **IV**) összekapcsolását nemcsak a pirrol-gyűrűkön keresztül, hanem a *mezo*-helyzetű arilcsoportok által is terveztük.



18. ábra: A BODIPY dimerek (**II** és **V**) tervezett előállítási stratégiái

Egy-egy kiválasztott nukleozid vagy öszttron származék jelölését is terveztük az általunk előállított fluorofórokkal (19. ábra).



19. ábra: Nukleozid és ösztradiol származék fluoreszcens jelölése

Az ELKH Enzimológiai Intézetében, Dr. Laczka Csilla kutatócsoportjával együttműködésben, terveztük az újonnan előállított BODIPY származékok optikai tulajdonságainak, valamint fotodinámiás terápiában való alkalmazhatóságának vizsgálatát.

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA

4.1. BODIPY monomerek szintézise

A BODIPY alapváz szintézisét két, gondosan megválasztott, alegység összekapcsolásával, különböző szintézis stratégiák mentén valósítottuk meg. A karbonil reakciópartner oxidációs állapotától függően, az alegységek kondenzációját követően, oxidációt hajtottunk végre, majd utolsó lépésként a kívánt terméket $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal történő komplexálás útján értük el. A következő fejezetekben bemutatjuk, hogy mely stratégiák alkalmazásával állítottunk elő különböző BODIPY származékokat.

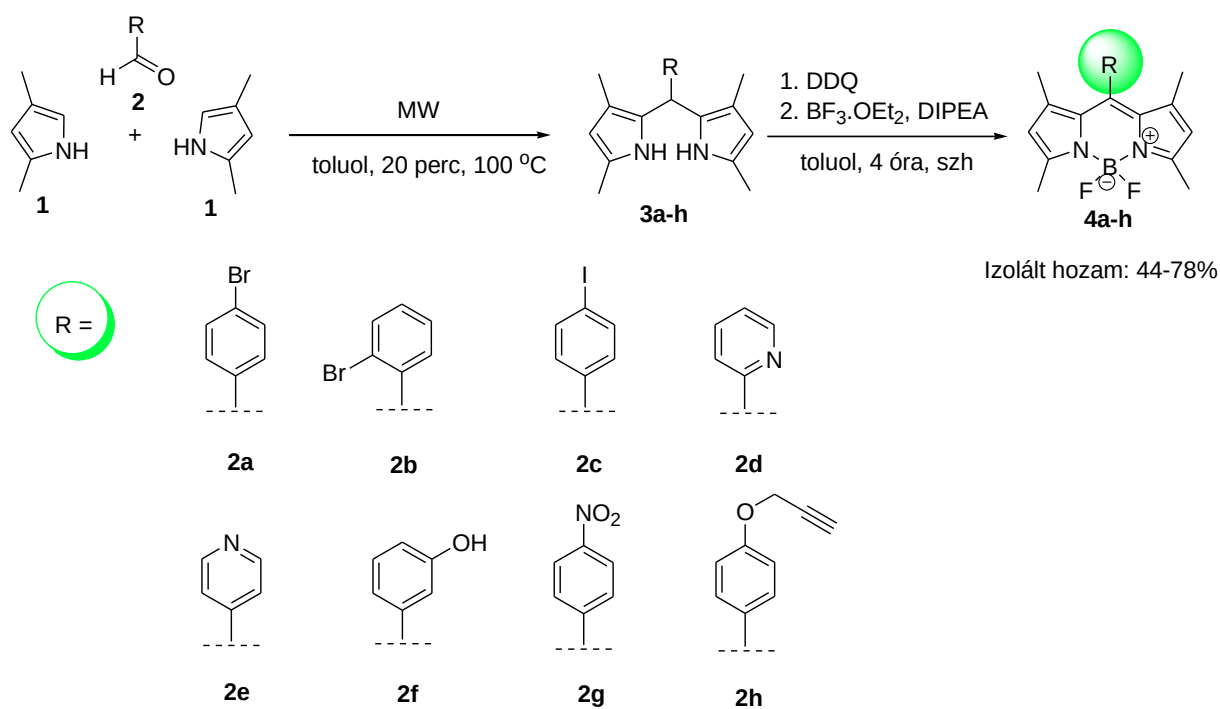
4.1.1. Aldehyd – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében

Mezo-aril-szubsztituált BODIPY származékok előállítását diszubsztituált pirrolból és különböző helyzetben szubsztituált aromás aldehidekből kiindulva végeztük. (19. ábra) Annak érdekében, hogy a festékek szintézisét minél hatékonyabban valósítsuk meg, a reakció kezdeti lépésében mikrohullámú besugárzást alkalmaztunk. A mikrohullámú technika alkalmazásának köszönhetően, a szakirodalomban tárgyalt szintézis stratégiáktól eltérve,^{6,15} a savkatalizátort elhagyhattuk, és a reakcióidőt lecsökkenthetjük, mindössze 20 percre.

A szintézissor első lépésében a 2,4-dimetil-pirrol (**1**) aromás, szubsztituált aril- vagy heteroaril-aldehyddel (**2a–h**) való kondenzációját hajtottuk végre (20. ábra). A szubsztituátlan pirrollal ellentétben, a diszubsztituált pirrol alkalmazása lehetővé tette, hogy elkerüljük a pirrol negyvenszeres feleslegben való használatát. A pirrol-gyűrűn elhelyezkedő metilcsoportok további előnyös átalakítási lehetőséget is nyújtanak. Az aromás aldehyd reakciópartner megválasztásakor célunk volt, hogy az aromás gyűrűn elhelyezkedő szubsztituensek további módosítást nem igényelve, vagy különböző reakcióban átalakítva alkalmasak legyenek későbbi konjugálásra, akár biomolekulákkal, akár egyéb vegyületekkel. A reakciót toluol oldószerben, 20 perc alatt, 100 °C hőmérsékleten, mikrohullámú besugárzással hajtottuk végre. Az első lépésben keletkező, fényre érzékeny, instabil dipirrometán származékot (**3a–h**) szobahőmérsékleten, kevertetés mellett, DDQ oxidálószerrel oxidáltuk, majd a keletkező

dipirrometén származékot 4 órán át, szobahőmérsékleten való kevertetés mellett $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal komplexáltuk, DIPEA bázis jelenlétében.

A szintézis lépéseit két különböző módszerrel is végrehajtottuk. Elsőként, az úgynevezett „one-pot”, vagyis egyedényes eljárásnak megfelelően, a reakció első lépésében keletkező dipirrometánt (**3a–h**) azonnal oxidáltuk, így kialakítva a megfelelő dipirrometén származékot, amelyet feldolgozás nélkül komplexáltunk, így jutva a kívánt termékhez (**4a–h**). A szekvenciális egyedényes eljárásban tehát az első reakciólépésben a pirrol és az aldehid partner vett részt, toluol oldószer jelenlétében, majd a mikrohullámú besugárzást követően oxidálószerrel adtuk a reakcióelegyhez. Az oxidáció lejátszódása után következett a bázis és a Lewis-sav hozzáadása. A második stratégia szerint, a szintézis első lépésében keletkező dipirrometánt (**3a–h**) bepárlást követően oszlopkromatográfiával tisztítottuk, majd ezután oxidáltuk, és a dipirrometént komplexáltuk. A két stratégia összehozam szempontjából különbözik, az utóbbi kb. 10%-kal hatékonyabb. Mérlegelendő azonban, hogy érdemes-e egy oszlopkromatográfiás tisztítást beiktatni, amely viszonylag sok eluens felhasználását igényli, nagy munkaidő ráfordítással. A céltermékek 44–78%-os izolált hozammal képződtek. Ez összemérhető a szakirodalomban 2022-ben közzétett, savklorid-pirrol stratégiát alkalmazó egyedényes eljárásával,²⁴ azonban jóval magasabb a korábban ismertetett, aldehid-pirrol stratégián alapuló, savkatalizált eljárásokéval.¹⁷ Egy ekkora vegyületkönyvtár szintézisénel nem tudtunk egyértelmű összefüggéseket megállapítani a *mezo*-helyzetű szubsztituens minősége és a szintézis hatékonysága között.



20. ábra: BODIPY monomerek szintézise (**4a-4h**) aromás aldehidekből kiindulva

A 21. ábra a **4h**-jelű vegyület diklórmétános oldatáról készült.

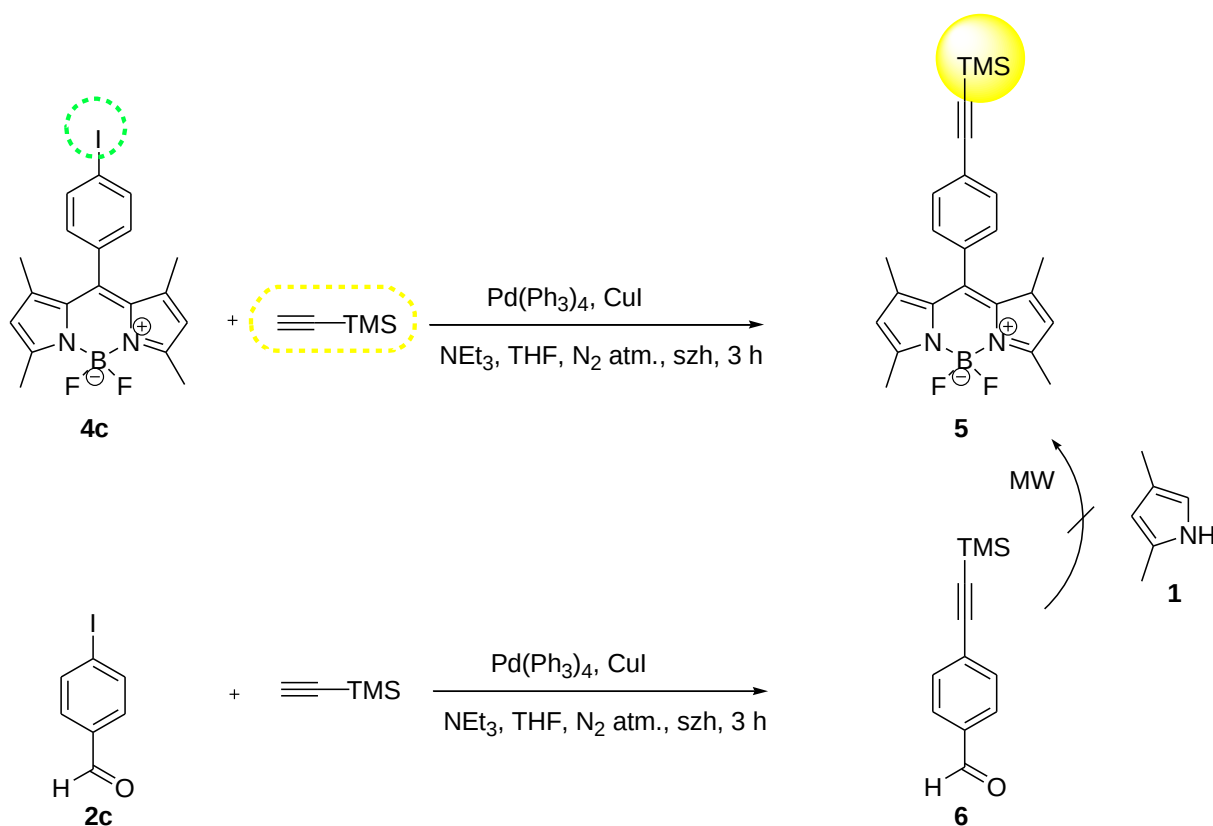


21. ábra: A **4h** BODIPY monomer diklórmétán oldószerben készült oldata

A keletkező BODIPY festéket (**4a-h**) mindkét eljárás végén oszlopkromatográfiával tisztítottuk, szerkezetének igazolását pedig ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópiával végeztük. Az előállított monomerek többsége ismert a szakirodalomban,⁶⁷⁻⁷³ azonban számunkra mindegyik

értékes lehet, ugyanis fontos továbbalakítási lehetőségeket rejtenek, valamint önmagukban is ígéretes PS-ek lehetnek. Az aril-halogenidek (**4a**, **4b**, **4c**) kiváló szubsztrátumai lehetnek átmenetifém-katalizált keresztkapcsolási reakcióknak. A halogén helyzete nagymértékben befolyásolhatja az átalakítások lefutását, valamint a konjugált származékok biológiai viselkedését. A propargil származék (**4h**) nemcsak CuAAC reakciók, hanem Sonogashira-kapcsolás végrehajtásához is megfelelő. A heterociklusos származékok (**4d**, **4e**) biológiai szempontból lehetnek jelentősek. Tervezzük az általunk előállított BODIPY származékok (**4a–h**) fotodinámiai terápiában való kipróbálását együtműködésben, különböző daganatos sejtvonalakon. A szakirodalomban ugyanis kevés információ található a BODIPY monomerek ilyen irányú szerkezet-hatás összefüggéseire vonatkozóan.⁶⁷⁻⁷³ A vizsgált daganatos sejtvonalak száma is korlátozott.

A BODIPY alapvázon jelenlévő trimetilszilil-etinil csoport számos reakcióban továbbalakítható, biztosítva a későbbi konjugálás lehetőségét. A következőkben a trimetilszilil-etinil csoport kialakítását a jódaril származékból (**4c**) kiindulva végeztük, palládium katalizált Sonogashira keresztkapcsolással (22. ábra). Reagensként trimetilszilil-acetilént, katalizátorként Pd(PPh₃)₄-t, kokatalizátorként CuI-ot alkalmaztunk, THF oldószerben, nitrogén atmoszféra alatt, NEt₃ jelenlétében. A keletkező trimetilszilil-etinil származékot (**5**)⁷⁴ oszlopkromatográfiával tisztítottuk. A célvegyület (**5**) előállítását megkíséreltük egy másik reakcióúton is. A 4-jód-benzaldehidet (**4c**) trimetilszilil-acetilénnel reagáltattuk Sonogashira kapcsolatban, majd a kapott aldehidet a fent leírt aldehid-pirrol stratégia szerint alakítottuk át szekvenciális egyedényes eljárásban. Ezzel a módszerrel nem tudtuk izolálni a kívánt festéket. A vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy sok melléktermék képződött, így ezt a stratégiát elvetettük. A szakirodalomban az általunk 5-ös jelöléssel ellátott vegyületet többféleképpen is előállították. Egyes kutatók az aldehid reakciópartneren végezték a Sonogashira keresztkapcsolást,⁷⁵ míg mások a kész jódaril-BODIPY-n alakították ki a trimetilszilil-etinil molekularészletet.⁷⁴ Mindkét stratégiánál ugyanazt a Pd-katalizátort, a Pd(PPh₃)₂Cl₂-t alkalmazták általában 60 °C-ra melegítve a reakcióelegyet. Munkánk során mi másik eljárást dolgoztunk ki, amely során Pd(PPh₃)₄ katalizátor mellett, szobahőmérsékleten hatékonyan lejátszódik a reakció (hozam: 77%).

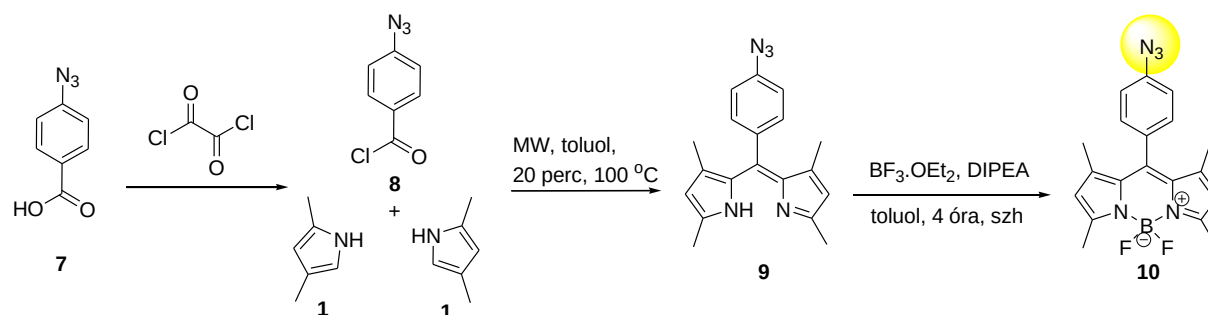


22. ábra: Trimetilszilil-etinil szubsztituált BODIPY származék (**5**) előállítása

4.1.2. Karbonsav-klorid – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében

Azid funkciós csoport jelenléte a BODIPY alapvázon számos lehetőséget biztosít a BODIPY származék konjugálására Cu(I)-katalizált azid-alkin klikk reakció végrehajtásával. Ebből a célból valósítottuk meg a **10**-es jelű azido-BODIPY származék⁷⁶⁻⁷⁸ előállítását. Kiindulási anyagként a 4-azido-benzoésavat (**7**) választottuk, mert így elkerülhettük a későbbi oxidációs reakciólépést (23. ábra). A kismolekulájú szerves azidokkal való munka nagy körütekintést igényel azok robbanékonysága miatt. A szintézis első lépésében *in situ* állítottuk elő a savkloridot, a 4-azido-benzoésav (**7**) oxalil-kloriddal való reakciójában. Ezután következett a kondenzációs lépés a 2,4-dimetil-pirrollal (**1**), amelyet toluol oldószerben, 30 perc alatt, 50 °C hőmérsékleten, mikrohullámú besugárzással végeztünk. A keletkező dipirrometén származékot (**9**) ezután $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal komplexáltuk, DIPEA bázis jelenlétében. A célterméket (**10**) etil-acetátos extrakciót és bepárlást követően oszlopkromatográfiával tisztítottuk. Ezt a vegyületet (**10**) korábban 4-nitro-benzaldehid és diszubsztituált pirrol reakciójával állították

elő, 3 reakciólépésben. A nitrocsoport hidrazinnal való redukcióját követően diazotálást végeztek nátrium-aziddal.⁷⁸ Ezt a töblépéses reakciósort sikerült egy lépésre lecsökkentenünk. Egy másik szakirodalmi forrás szerint 4-azido-benzoészav-kloridból kiindulva végezték a szintézist, de a dipirrometén képzése egy éjszakán át zajlott, szobahőmérsékleten történő keveréssel (hozam: 14,6%).⁷⁷ Mikrohullám alkalmazásával, az általunk kifejlesztett eljárással, sikerült a reakcióidőt jelentősen, 30 percre csökkentenünk. Az általunk izolált hozam 35% volt.

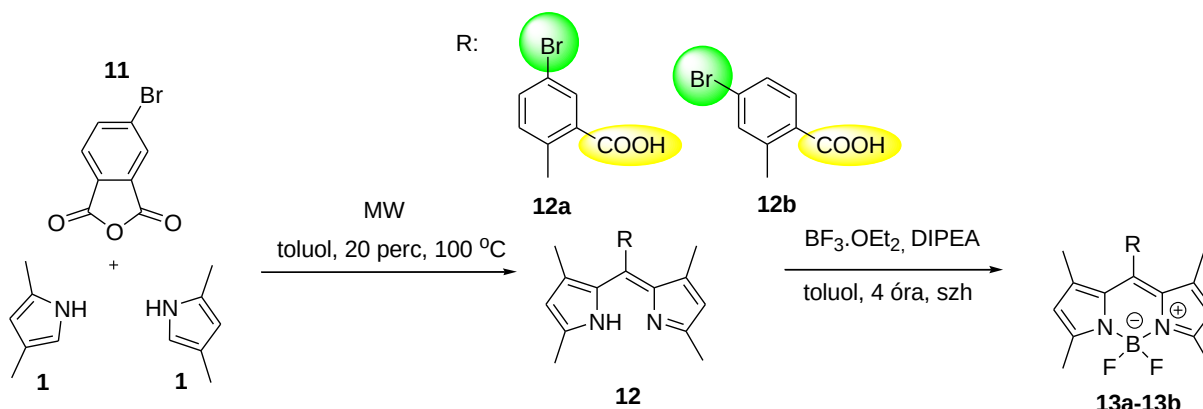


23. ábra: Az azido-BODIPY (**10**) előállítása

4.1.3. Karbonsav-anhidrid – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében

Karbonsav-anhidriddel is végeztünk mikrohullámmal segített BODIPY szintézist. Olyan anhidridet (**11**) választottunk reagensként, amely egy viszonylag jó távozó csoportot tartalmaz az aromás gyűrűn. Ennek a későbbi, átmenetifém-katalizált konjugálási reakciónál lehet nagy jelentősége, továbbá a halogén jelenléte a vegyületben kedvezően befolyásolhatja annak biológiai hatását. A 2,4-dimetil-pirrol (**1**) 4-bróm-ftálsav-anhidriddel (**11**) való kondenzációját toluol oldószerben valósítottuk meg, 20 percen át tartó mikrohullámú besugárzással, 100 °C hőmérsékleten (24. ábra). A kialakult új dipirrometén származékot (**12a,b**) BF₃·OEt₂-tal komplexáltuk, DIPEA bázis jelenlétében. A nyers terméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk. Két regioizomer képződését tapasztaltuk, 5 : 4 arányban. Wang és munkatársai ftálsav-anhidriddel képeztek karboxi-BODIPY származékot.⁷⁹ Az általuk előállított festék, a karboxilcsoporton kívül nem tartalmaz későbbi átalakításra, konjugálásra alkalmas csoportot. A dipirrometén képzést acetonitril közegben, 8 órán át, 60 °C-on végezték. Az általunk

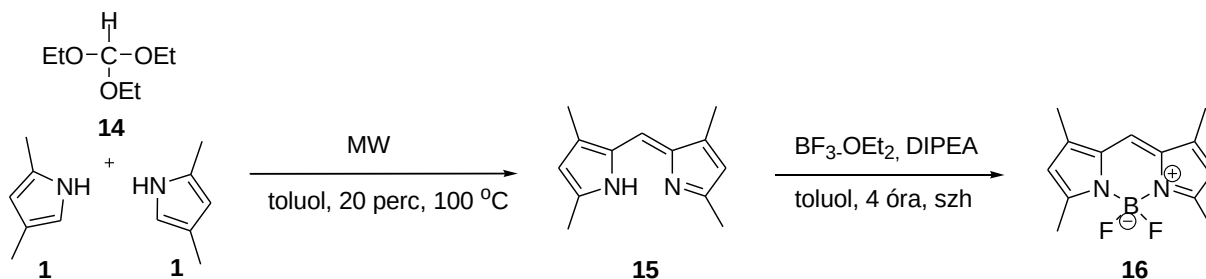
kidolgozott eljárással lényegesen rövidebb reakcióidő alatt ment végbe az átalakulás, hasonló hozammal.



24. ábra: A **13a** és a **13b** BODIPY monomerek szintézise karbonsav-anhidridből kiindulva

4.1.4. Ortoészter – pirrol stratégia alkalmazása a BODIPY származékok szintézisében

BODIPY monomerek szintézisét trietil-ortoformiátból (**14**) kiindulva is megvalósítottuk (25. ábra). A trietil-ortoformiát (**14**) 2,4-dimetil-pirrollal (**1**) való kondenzációját mikrohullámú besugárzás segítségével valósítottuk meg. A reakció toluol oldószerben, 100 °C hőmérsékleten, 20 perc alatt játszódott le. A keletkező dipirrometén származékot (**15**) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal komplexáltuk, DIPEA bázis jelenlétében. A komplexálás 4 óra alatt, szobahőmérsékleten való kevertetés mellett ment végbe, 32%-os izolált hozammal. Ezt a BODIPY-t több kutatócsoport formilezett pirrol származékból, POCl_3 hozzáadásával, több órán át szobahőmérsékleten való kevertetéssel állították elő, alacsony, 30% alatti hozammal.⁸⁰⁻⁸² Mások savkatalízist alkalmaztak a dipirrometén szintézisénél.⁸³ A mi mikrohullámú eljárásunk előnyeként kiemelhető, hogy nem igényli sem a pirrol előzetes funkcionálizálását, sem segédreagensek, katalizátorok alkalmazását. A *mezo*-helyzetben hidrogént tartalmazó festék kiváló alapanyagként szolgálhat átmenetifém katalizált C–H aktiválási reakciók végrehajtásához.

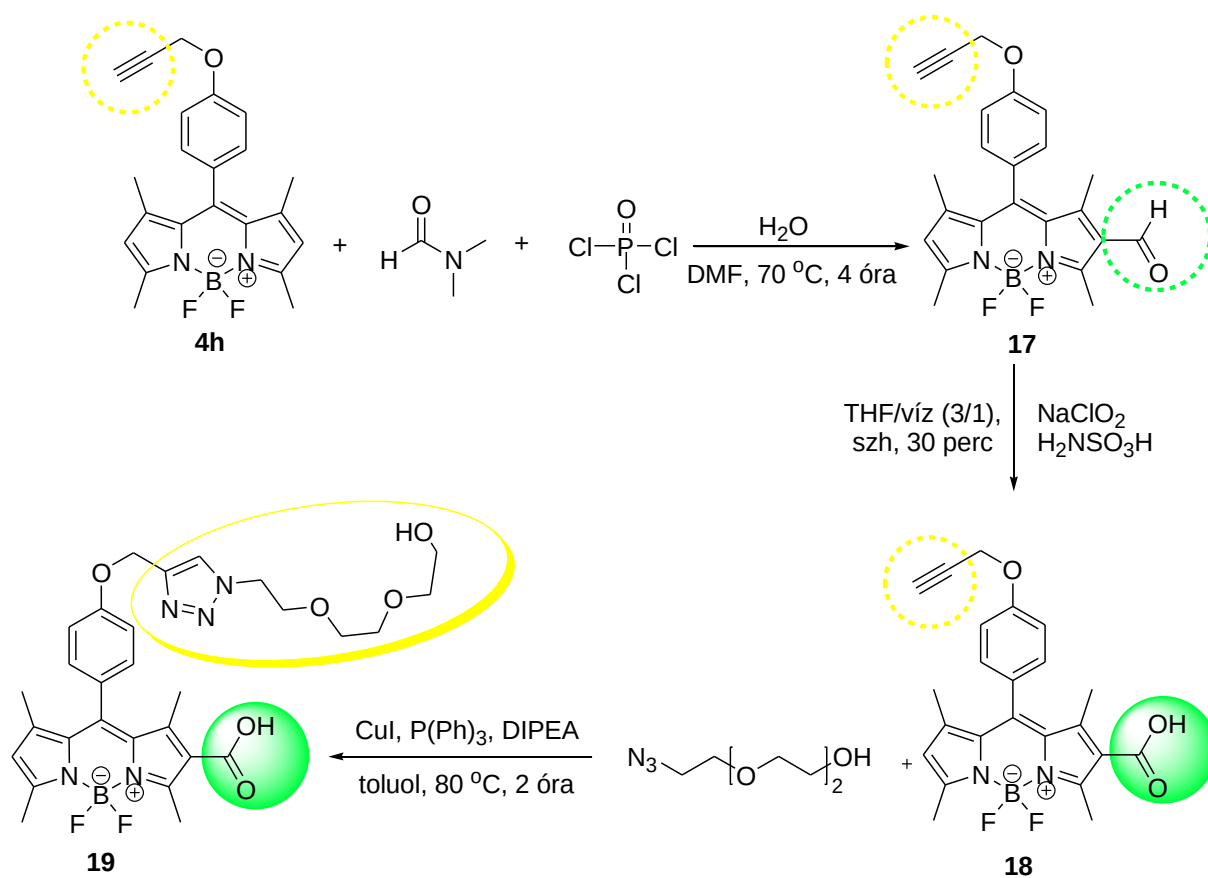


25. ábra: A **16**-os jelű BODIPY monomer szintézise ortoészterből kiindulva

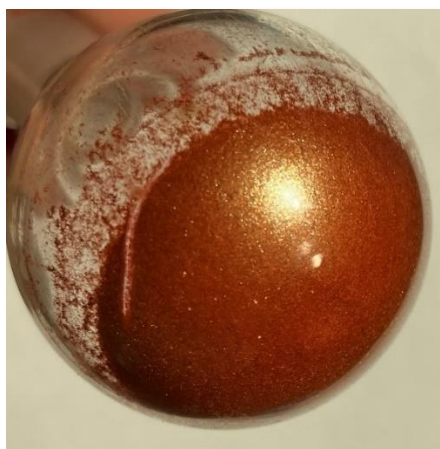
4.1.5. Hidrofil oldallánccal rendelkező, konjugálásra alkalmas BODIPY származék szintézise

Ebben a fejezetben olyan új BODIPY származék szintézisét tárgyaljuk, amely egy karboxilcsoporttal és egy hidrofil oldallánccal rendelkezik. A célvegyület előállításához vezető reakciósor megtervezése különös körülményt igényelt. Az egyes funkciós csoportok érzékenységét figyelembe véve, kiindulási vegyületként a propargilezett származékot (**4h**) választottuk (26. ábra). A pirrol gyűrű formilezését Vilsmeier-Haack reakcióban valósítottunk meg. Ebben a reakciólépésben a foszforil-klorid és DMF elegyét 30 percen át előkevertettük, majd a BODIPY származék (**4h**) diklórmetános oldatát lassan adagoltuk a reakcióelegyhez. A reakcióelegyet 70 °C hőmérsékleten, 4 órán át kevertettük, majd feldolgoztuk azt, és oszlopkromatográfiának vetettük alá. A formilezés szelektíven játszódott le, monoformil származékot (**17**) eredményezve. Ez összhangban van a szakirodalomban leírt, egyéb BODIPY festékeknel alkalmazott eljárásokkal.⁸⁴ A formilcsoport karboxilcsoporttá történő oxidálását szulfámsav és nátrium-klorit hozzáadásával valósítottuk meg, THF oldószerben, a szakirodalomban ismertetett eljárás alapján.⁸⁵ A reakció szobahőmérsékleten, 30 perc alatt lejátszódott. Kiváló hozammal nyertük a kívánt, új BODIPY-karbonsavat (**18**), kevés melléktermék képződése közben. A propargil- és karboxilcsoportot tartalmazó új BODIPY származék (**18**) kulcs intermediereként szolgál, hiszen két olyan funkciós csoportot tartalmaz, amelyek számos további átalakítási lehetőséget biztosítanak. Annak érdekében, hogy hidrofil oldalláncot építsünk a festékre, CuAAC reakciót végeztünk, TEG származékot alkalmazva azidként. A klikk reakciót CuI-katalizátor, PPh₃ ligandum és DIPEA bázis jelenlétében, toluol oldószerben, 2 órán át történő forralással hajtottuk végre. A céltermék (**19**) jó izolált összhozammal képződött (**4h** → **19**: 39%). A **19** jelű BODIPY, hidrofil oldalláncának, és

karboxilcsoportjának köszönhetően széleskörűen alkalmazható konjugálási reakciókban. A 26-os ábra a **18** jelű vegyületet mutatja, amely vöröses színű, csillogó, kristályos anyag.

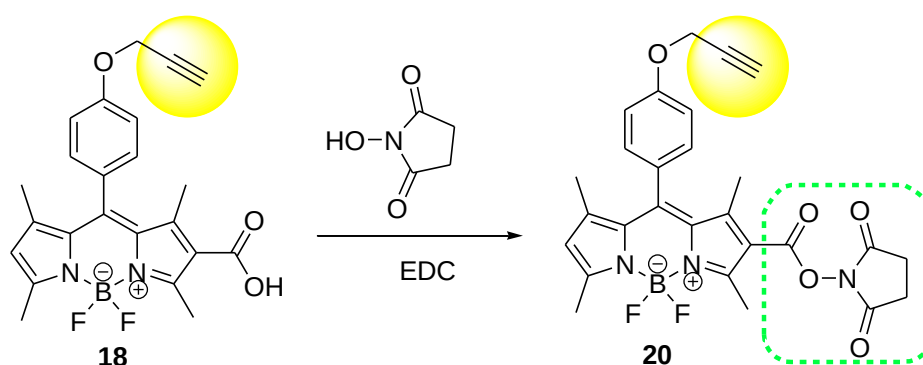


26. ábra: Hidrofil oldallánccal rendelkező BODIPY-karbonsav (**19**) szintézise



27. ábra: A **18**-as BODIPY származék

Az **17** jelű vegyületet nemcsak CuAAC reakciók szubsztrátumaként kívántuk alkalmazni, hanem azt aktív észterré is alakítottuk. A kereskedelembe számos fluorofór NHS-észter formájában kerül forgalomba, és az aktív észter ára általában sokszorosa a karbonsav származékának. Ez is utal arra, hogy az NHS-észterek értékes intermedierek lehetnek. Munkánk során a **18**-as karbonsav származékot DMF oldószerben, EDC kapcsoló reagens hozzáadásával, 24 órás reakcióidővel reagáltattuk *N*-hidroxi-szukcinimiddel, 72%-os izolált hozammal (28. ábra). Az így nyert új BODIPY-NHS-észter (**20**) nukleofil jellegű funkcióval rendelkező vegyületekhez kapcsolható. Ezáltal, többek között, hidroxilcsoportot vagy aminocsoportot hordozó biomolekulák, vagy másik festék konjugálására lehet alkalmas. A konjugátum kialakítását követően, a propargilcsoportra beépíthető a TEG-oldallánc is, ezzel növelve a vegyület hidrofíl jellegét.



28. ábra: Aktív észter (**20**) szintézise

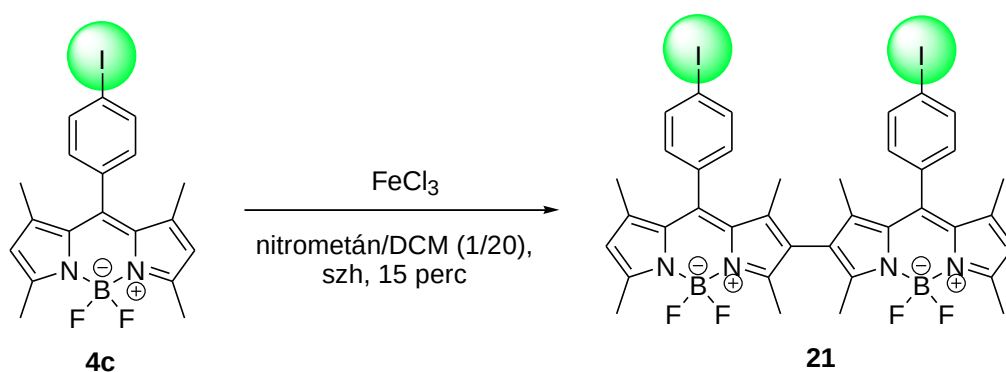
4.2. BODIPY dimerek előállítása

4.2.1. Homodimer szintézise FeCl_3 katalizált reakcióban

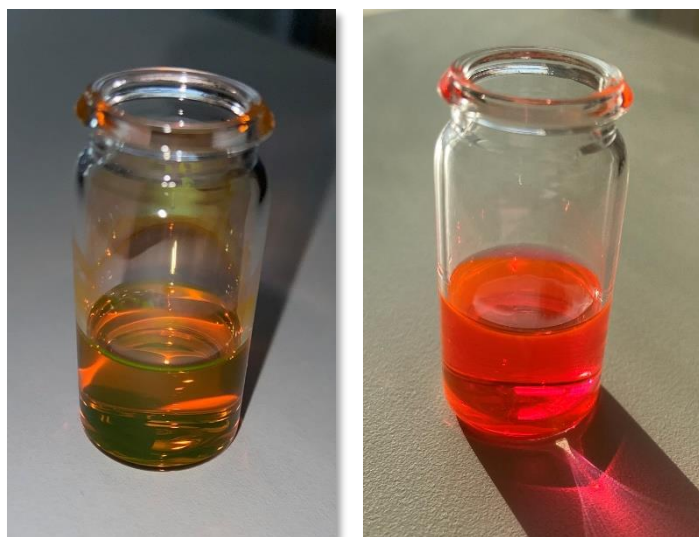
A **4.1. fejezetben** előállított BODIPY monomerek alkalmasak lehetnek ígéretes, dimer-jellegű PS-ek előállítására. Egyes BODIPY dimerek, Potenciálisan szelektív PS előállítása céljából elsőként egy új homodimer szintézisét valósítottuk meg, FeCl_3 katalizátor alkalmazásával.

A kiindulási BODIPY monomer származék megválasztásakor figyelembe vettük, hogy az alapváz tartalmazzon későbbi továbbalakításra, konjugálásra alkalmas csoportot. Mindezek

alapján a 4'-jódifenil származékot (**4c**) választottuk a dimerképzés alapjául. A szintézis során a 6 ekvivalens FeCl_3 katalizátort nitrometán oldószerben oldottuk, majd az oldatot a jód-BODIPY diklórmétános oldatához csepegtettük (29. ábra). A reakció 15 perc alatt lezajszódott. A homodimert (**21**) alacsony, 20% alatti hozammal kaptuk, ami arra vezethető vissza, hogy a reakcióban nemcsak dimerek, hanem oligomerek is képződhetnek. A jódaril molekularészletek biztosítják a későbbi konjugálás lehetőségét. A dimer ortogonalitása egyedi fotofizikai, és ezzel összefüggésben biológiai tulajdonságokat eredményezhet. Ez utóbbiak vizsgálata együttműködésben folyamatban van.



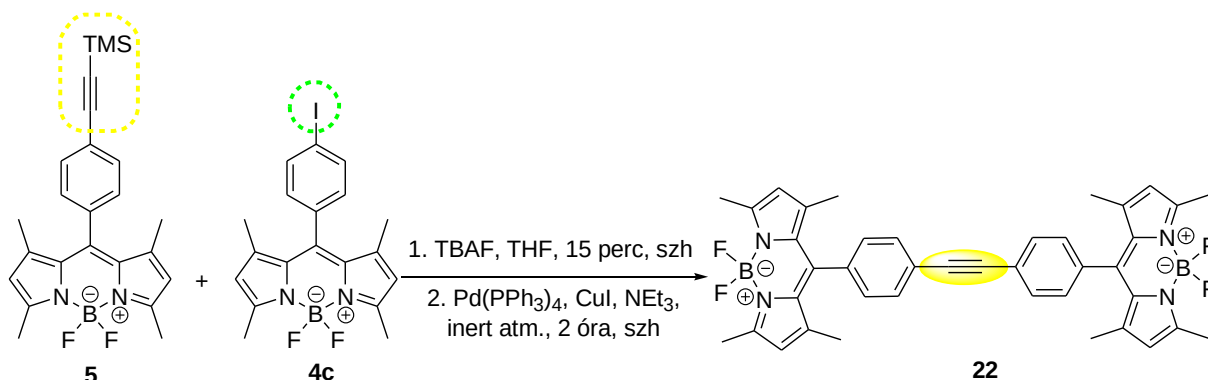
29. ábra: A **21**-es jelű BODIPY homodimer szintézise FeCl_3 katalizált reakcióban



30. ábra: A **4c** és a **21** BODIPY származékok diklórmétánban oldva

4.2.2. BODIPY dimer szintézise palládium katalizált Sonogashira keresztkapcsolási reakcióban

Munkánk során palládium katalízissal is megvalósítottuk a dimerszintézist. A Sonogashira reakciót jód- és trimetilszilil-etinil-BODIPY (**4c** és **5**) reakciópartnerekkel végeztük (31. ábra). Kétféle eljárást is kipróbáltunk. Az első szerint a TMS-védőcsoport hasítását *in situ* végeztük, TBAF hozzáadásával, kutatócsoportunk korábbi tapasztalatai alapján.⁸⁶ Ezzel a módszerrel nem sikerült a két egységet összekapcsolnunk. A másik eljárás szerint a TMS-védőcsoportot TBAF hozzáadásával, THF oldószerben, szobahőmérsékleten végeztük. A hasítás 15 perc alatt lejártszódott. A reakcióelegyet vízreöntöttük, extraháltuk. Bepárlást követően, a nyers termékből kiindulva, Sonogashira keresztkapcsolási reakciót hajtottunk végre, katalizátorként Pd(PPh₃)₄ használva, CuI segédkatalizátor és NEt₃ bázis jelenlétében. A reakció két óra alatt lejártszódott szobahőmérsékleten. A keletkezett új dimer (**22**) kiterjedt, konjugált π -elektronrendszert tartalmaz. Ez befolyásolhatja a vegyület optikai és biológiai tulajdonságait, amelyek meghatározása együttműködés keretében folyamatban van.

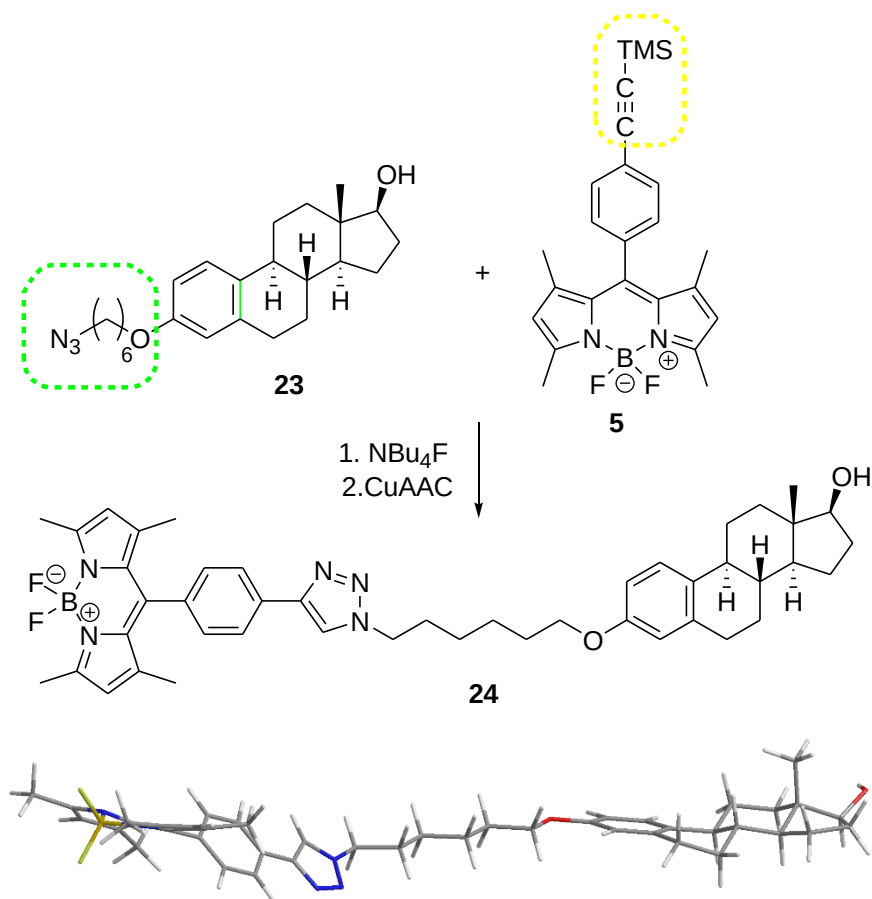


31. ábra: Új BODIPY dimer (**22**) szintézise palládium katalizált Sonogashira keresztkapcsolási reakcióban

4.3. Ösztradiol- és nukleozid-BODIPY konjugátum előállítása

Kísérleti munkánk utolsó szakaszában egy-egy kiválasztott biomolekula fluoreszcens jelölését is elvégeztük. A kutatócsoportunkban korábban előállított E2 származék (**23**) a fenolos hidroxilcsoportján hat szénatomos alkil linkert tartalmaz, amely végén azid funkció található.

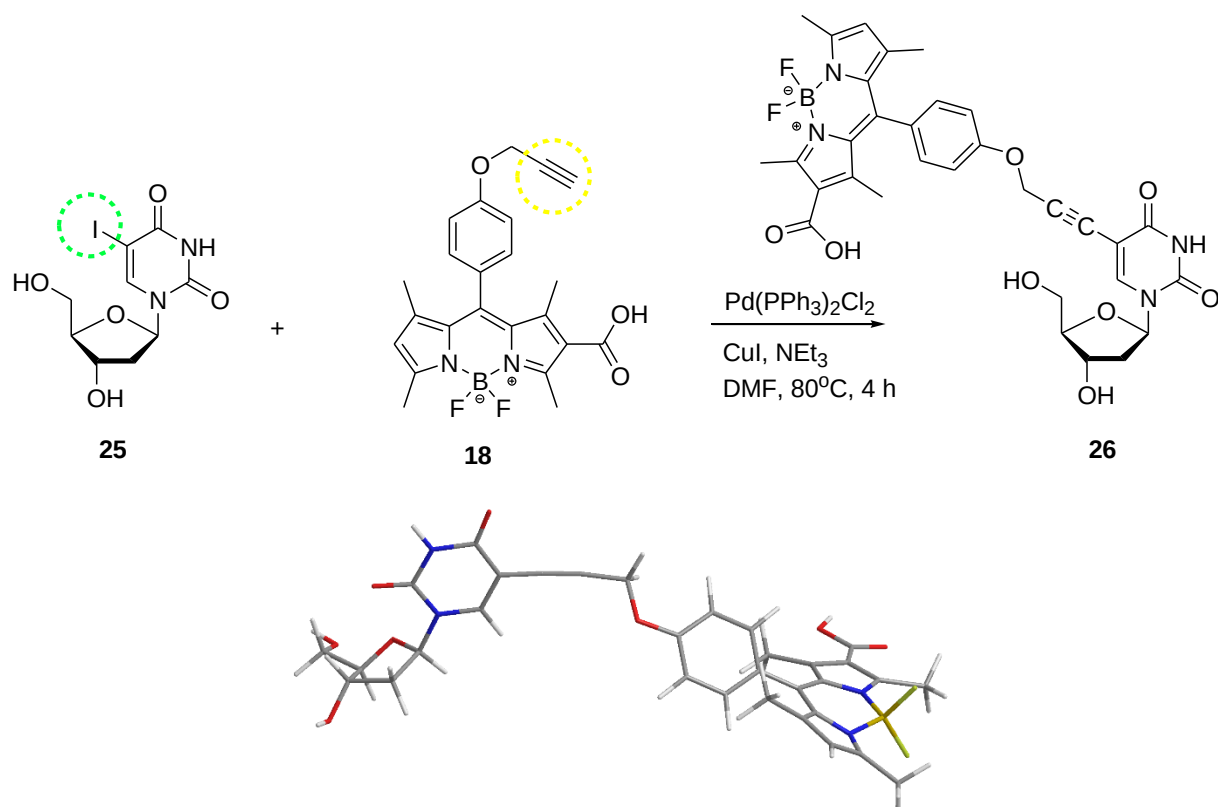
Ehhez konjugáltuk az 5-ös jelű etinil-BODIPY származékot (32. ábra). Megpróbáltuk *in situ* hasítani a trimetilszilil csoportot, majd utána végrehajtani a CuAAC reakciót, de a vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat során alig tapasztaltunk átalakulást. Ezután stratégiát változtattunk, és először THF oldószerben szobahőmérsékleten hozzáadtuk az 5-ös vegyülethez a TBAF THF-es oldatát, 15 perces után feldolgoztuk a reakcióelegyet, majd a nyersterméket toluolban oldottuk, és elvégeztük a CuAAC reakciót CuI katalizátor és PPh₃ ligandum alkalmazásával. A konjugálást kiváló, 90% feletti hozammal sikerült megvalósítanunk. Az így nyert BODIPY-ösztadiol konjugátum (**24**) biológiai hatásvizsgálata folyamatban van. Azt várjuk, hogy a **24**-es konjugátum az EG-hez hasonlóan jó affinitást mutat az ösztrogén magreceptorokhoz, és fluoreszcencia mérésén alapuló biológiai vizsgálatok ígéretes jelöltje lehet.



32. ábra: Az E2 fluoreszcens jelölése és a **24**-es jelű konjugátum Chem3D programmal energiaminimalizált szerkezete

Nemcsak női nemi hormon származék, hanem egy nukleozid (**25**) fluoreszcens jelölését is megvalósítottuk (33. ábra). Olyan BODIPY-t (**18**) választottunk erre a célra, amely nemcsak C(sp)–C(sp²) kapcsolat végrehajtására alkalmas funkciós csoportot tartalmaz, hanem egy

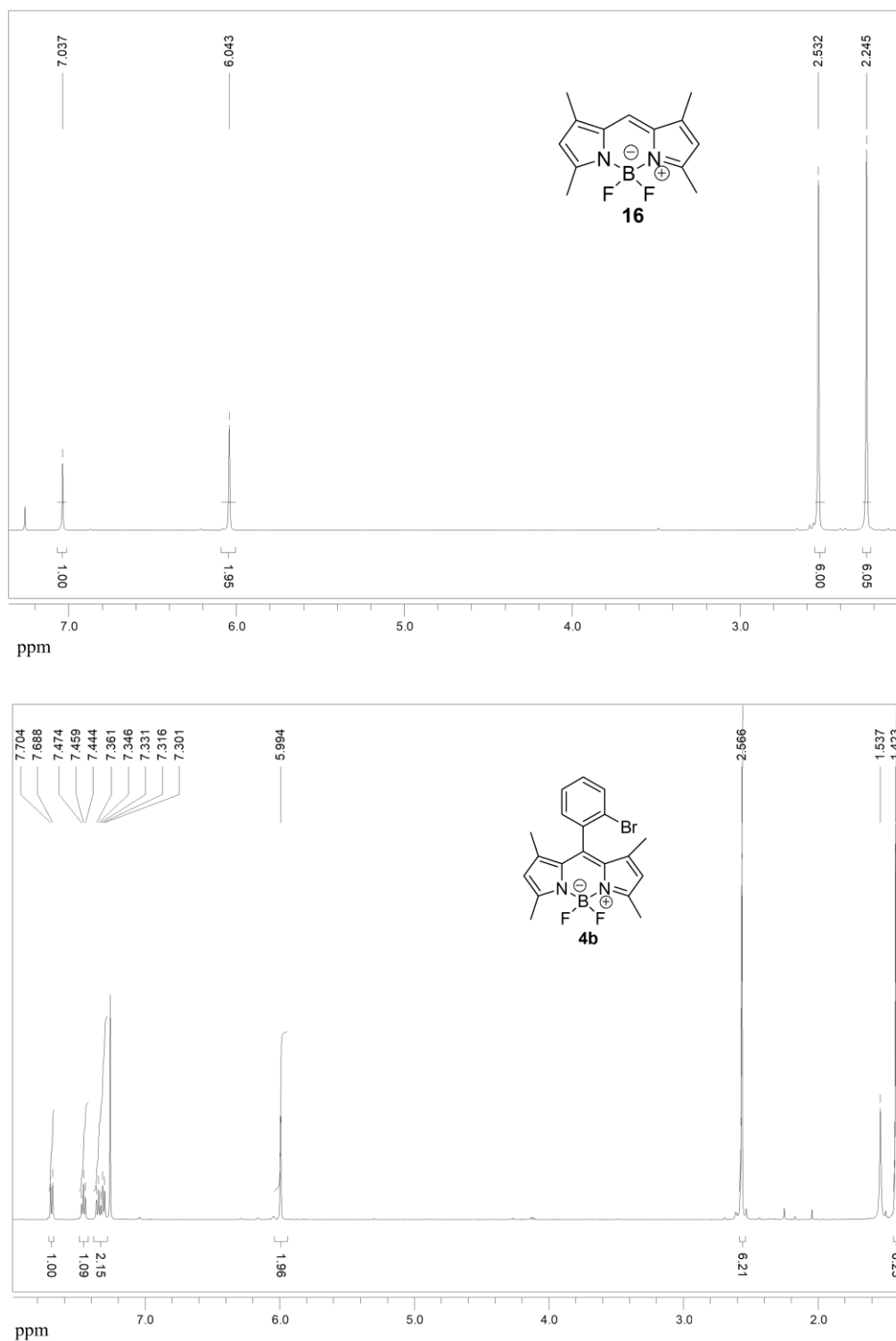
karboxilcsoportot is, amely számos továbbalakítási lehetőséget biztosít. Az 5-jód-dU (**25**) aril-jodidként viselkedik, és kiválóan alkalmas Sonogashira kapcsolás végrehajtására. A BODIPY-alkin (**18**) azonban propargilcsoportot tartalmaz, amely kutatócsoportunk korábbi tapasztalatai alapján, palládium katalizátor alkalmazásakor, adott körülmények között depropargileződhet. A $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ katalizátorként való alkalmazása azonban nem eredményezett fenoléterhasítást, a kapcsolat jó hozammal megvalósítható volt. További terveink közé tartozik a nukleozid linkeren keresztül történő konjugálása, továbbá hidrofíll oldallánc beépítése a konjugátum BODIPY molekularészletének karboxilcsoportjára.



33. ábra: Nukleozid fluoreszcens jelölése és a **26**-os jelű konjugátum Chem3D programmal energiaminimalizált szerkezete

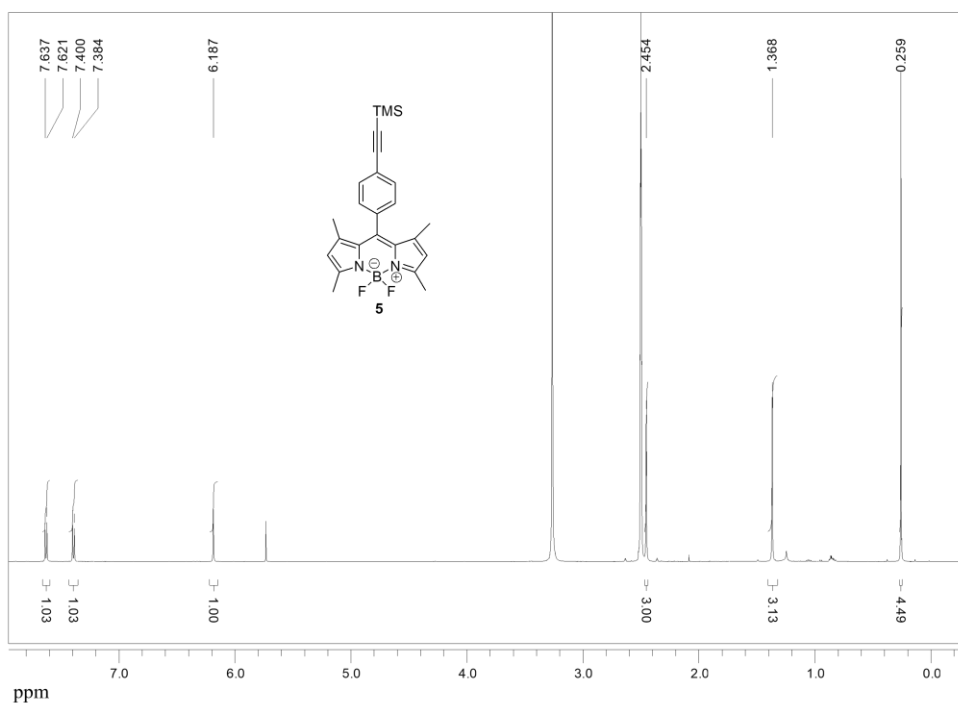
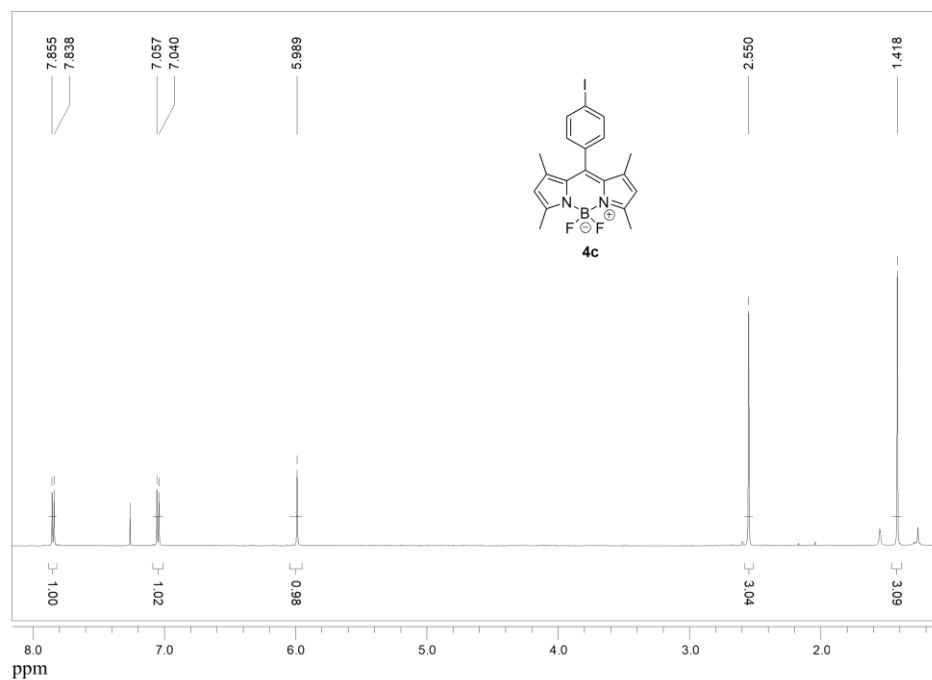
Az előállított vegyületek szerkezetét NMR-spektroszkópiával igazoltuk. Az 34. ábra két ^1H -NMR spektrumot mutat, a felső egy olyan BODIPY-származékról készült, amely *mezo*-helyzetben hidrogént, az alsó pedig 2-brómfenil csoportot tartalmaz. Mindkét spektrumon 6 ppm körül jelentkezik a két pirrol-gyűrű egy-egy protonja, azonos kémiai eltolódásnál. A pirrol-gyűrűk metilcsoportjaihoz tartozó, hatos intenzitású szingulettek 3 ppm alatt találhatók. Az aromás tartományban a **16** jelű vegyületnek egy szingulett jele mutatkozik, amely a *mezo*-

helyzetű hidrogénhez rendelhető. Ezzel szemben, a **4b** vegyületnél 7 ppm felett 4 proton jele látható, ezek a *mezo*-(2-brómfenil) csoport hidrogénjeihez rendelhetők. Mivel a fenilcsoport 2-es helyzetben szubsztituált, minden hidrogén külön jelként mutatkozik, jellemző finomszerkezettel.



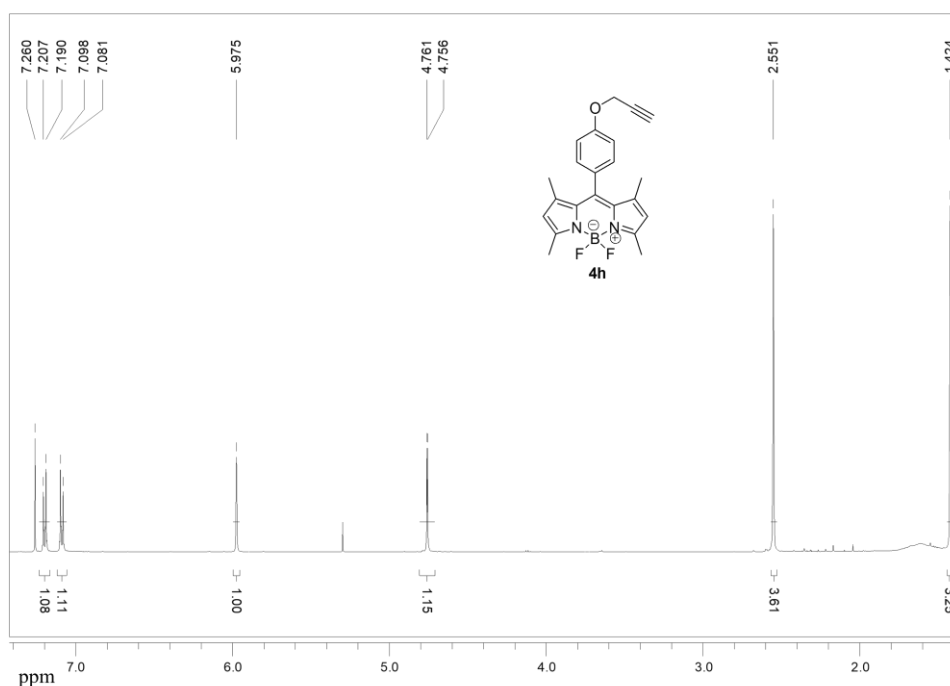
34. ábra: **16** és **4b** BODIPY származékok ^1H NMR spektruma

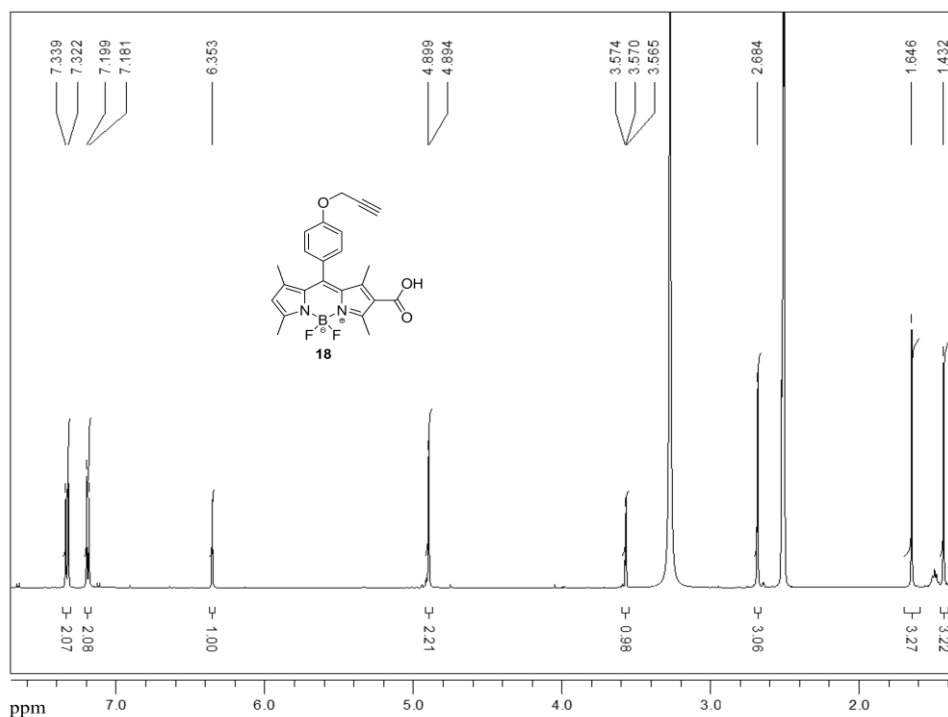
Az 35. ábra a jódfenil-BODIPY és az abból előállított trimetilszilil származék ^1H -NMR spektrumát mutatja. Az aromás tartomány és a metilcsoportok jelei hasonló jelalakokkal és kémiai eltolódással mutatkoznak, azonban az 5-ös jelű vegyület spektrumán 1 ppm alatt látható egy 9-es intenzitású szingulett, amely igazolja a trimetilszilil csoport beépülését a molekulába.



35. ábra: A **4c** és a **5** BODIPY származékok ^1H NMR spektruma

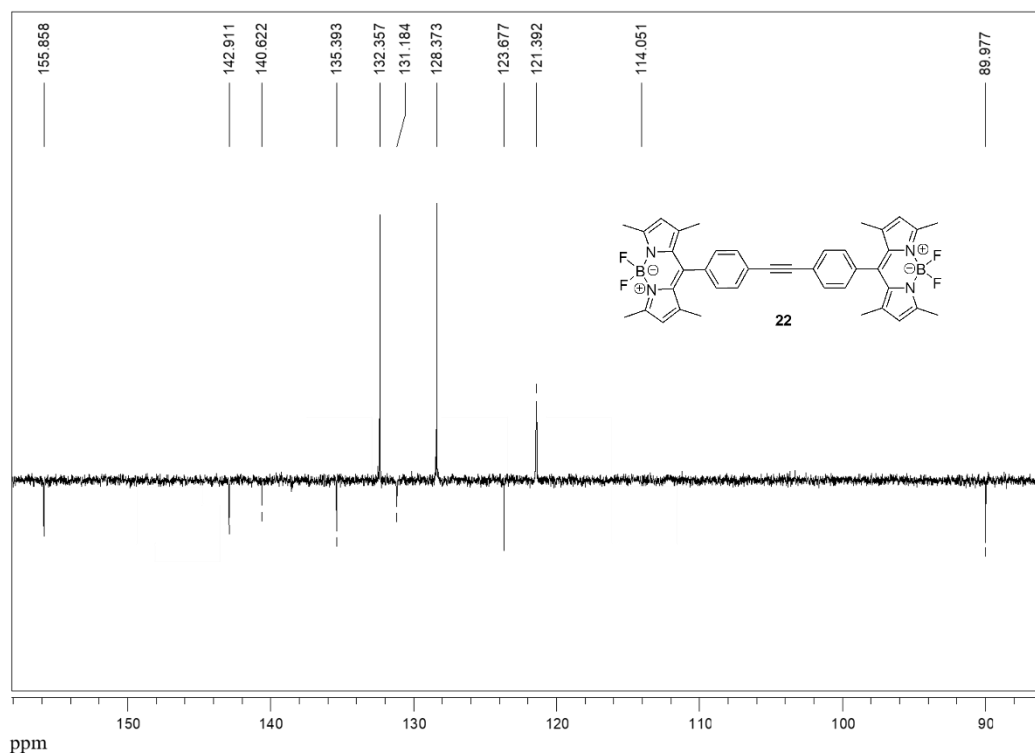
Az **4h** ^1H -NMR spektrumán 6 ppm körül jelenik meg a két pirrol-gyűrű egy-egy hidrogénjének egybeeső szingulettje, továbbá a propargilcsoport beépítéséből eredő OCH_2 metilencsoport dupla intenzitású szingulettje. A **4h**-ból előállított **18** spektrumán viszont az előbb említett két jel intenzitásaránya 1:2, utalva arra, hogy egyik pirrol-hidrogént eltávolítottuk a gyűrűről. Ez az arány igazolja, hogy csak egyszeres szubsztitúció történt. A **18**-as jelű vegyület DMSO- d_6 -ban felvett spektrumán 3 és 4 ppm között megjelent a propargilcsoport sp-hibridállapotú szénatomján levő proton jele, triplett alakban. A metilencsoport hidrogénjei által okozott csatolás miatt hasadt fel a $\text{C}\equiv\text{CH}$ jele.





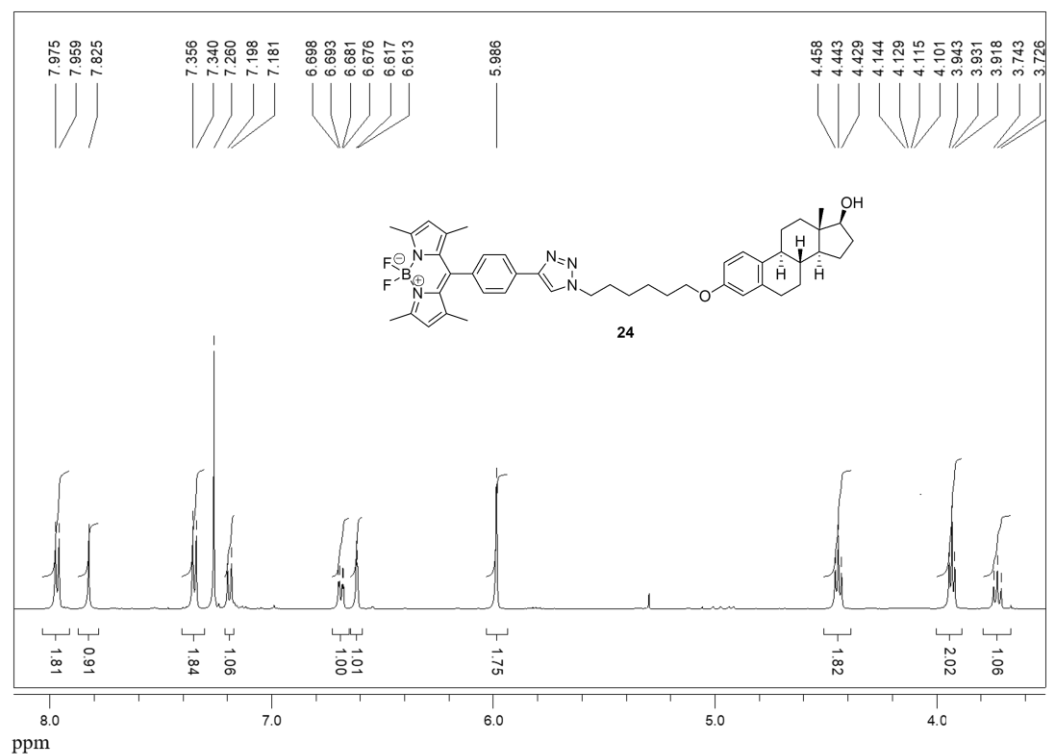
36. ábra: **4h** és **18** BODIPY származékok ^1H NMR spektruma

Az 22-es jelű BODIPY ^{13}C -NMR JMOD spektrumának egy részletét mutatja a 37. ábra. A JMOD spektrumban az alapvonal feletti térfélen jelentkeznek a primer és a tercier szénatomok, míg alatta a szekunder és kvaterner szénatomok jelei. A két sp-hibridállapotú szénatom jele egybeesik, közel 90 ppm-nél. A pirrol-gyűrűk 4 db CH-jele azonos kémiai eltolódásnál (121.4 ppm) látható. A fenilcsoportok 4-4 CH-jele két jelcsoportban, 132.4 és 128. 4 ppm-nél mutatkozik. A JMOD spektrum alsó tartományában 6 db jel látható, ezek a kvaterner szénatomokhoz (2×6 db) rendelhetők.



37. ábra: A 22-es jelű BODIPY dimer ^1H NMR spektruma

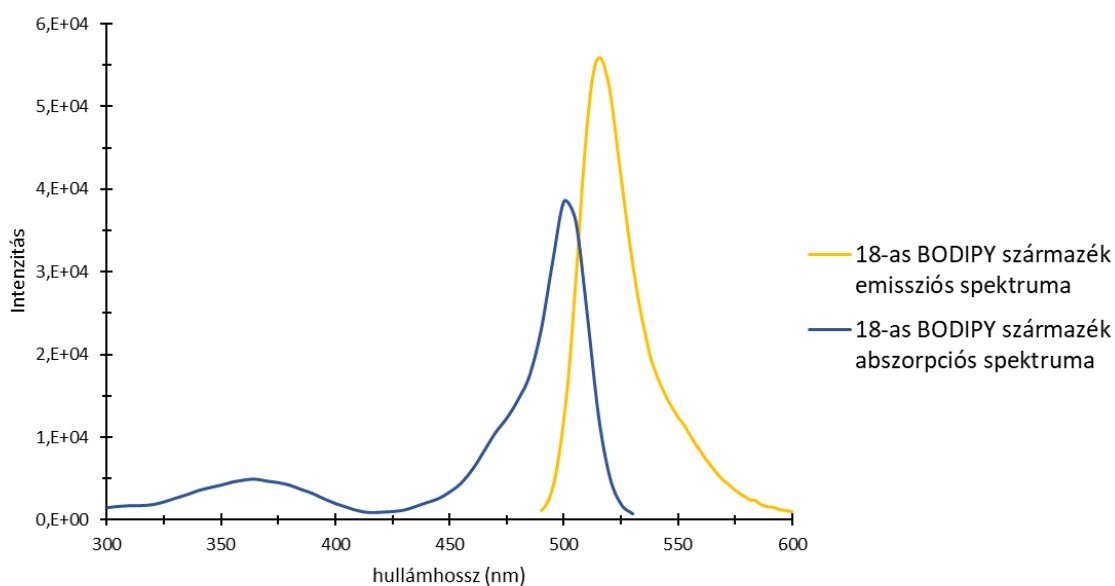
A **24** ^1H -NMR spektrumának részletét mutatja a 38. ábra. 3 és 4 ppm között, triplettként jelentkezik a 17-es szénatomon levő proton jele, a 17α -elhelyezkedésre jellemző csatolási állandóval. 3,8 és 4,5 ppm között két multiplett található, amelyek a linkerben elhelyezkedő *N* CH_2 -höz és *O*- CH_2 -höz rendelhetők. 6 ppm-nél szingulettként, kétszeres intenzitással látható a két pirrol-gyűrű 1-1 aromás hidrogénje. A 6 ppm feletti tartományban mutatkozik a 7 db karbociklusos aromás gyűrűhöz tartozó proton multiplettje, valamint a triazol-gyűrű $\text{C}=\text{CH}$ protonja, szingulettként. Mindezek utalnak a konjugáció sikerességére.



38. ábra: A **24**-es jelű konjugátum ^1H NMR spektruma

4.4. Az előállított BODIPY származékok abszorpciós és emissziós spektrumai

Az ELKH Enzimológiai Intézetében, Dr. Laczka Csilla kutatócsoportjával együttműködésben, Dr. Laczkó-Rigó Réka meghatározta a **18**-as jelű BODIPY-származék gerjesztési és emissziós spektrumát. A 39. ábrán látható, hogy az emissziós és gerjesztési maximum az 500–520 nm tartományba esik, viszonylag kis Stokes-eltolódással. A többi BODIPY-származék optikai adatainak meghatározása folyamatban van.



39. ábra: A **18**-as jelű BODIPY származék emissziós és abszorpciós spektruma (a **18**-as jelű vegyület 1 μ M-os DMSO-s oldatát PBS-ben hígították)

4.5. Az előállított BODIPY származékok (4c, 4h, 16, 18, 19) sötét toxicitása

Dr. Laczkó-Rigó Réka vizsgálta egyes kiválasztott BODIPY-származékok sötét toxicitását az A431-jelű, bőrlaphám daganatos sejtvonalon. Egyelőre csak részeredmények állnak rendelkezésünkre, de ezek alapján már kijelenthető, hogy egyik vegyület sem befolyásolta lényegesen a daganatos sejtek osztódását a vizsgált körülmények között (120 h kezelést követően). Ezek ígéretes részeredmények, ugyanis amennyiben gerjesztés hatására az előállított BODIPY-származékok jelentős sejtosztódás-gátlást idéznek elő, a tesztvegyületek értékes, magas szelektivitású PS-ek lehetnek. A fotodinamias hatás vizsgálata folyamatban van.

5. KÍSÉRLETI RÉSZ

5.1. Általános kísérleti rész

A mikrohullámú reakciókat egy CEM, Discover SP készülékben hajtottuk végre, a hőmérséklet állandó értéken való tartásával, dinamikusan változó besugárzó teljesítménnyel. A reakciótermékek tisztítása és elválasztása során oszlopot 40-63 μm szemcseméretű Kieselgel 60 (MERCK) álló fázissal töltöttük. Az oszlopkromatográfiás tisztításnál alkalmazott eluensek: A: 5% etil-acetát/ 95% hexán, B: 15% etil-acetát/ 85% hexán, C: 30% etil-acetát/ 70% hexán, D: 70% etil-acetát/ 30% hexán. E: diklórmétán, F: 1% metil-alkohol/ 99% diklórmétán. A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük, melyhez 0,2 mm vastagságú Kieselgel 60 (MERCK) lapokat használtunk. A vékonyréteg kromatográfiánál alkalmazott eluensek: G: 20% etil-acetát/ 80% hexán, H: 30% etil-acetát/ 70% diklórmétán, I: 50% etil-acetát/ 50% diklórmétán, J: 5% metanol/ 95% diklórmétán, K: 20% etil-acetát/ 80% diklórmétán. A kromatogramokat pár perces 100–120 °C-on történő melegítéssel hívtuk elő majd a foltokat 254 vagy 365 nm hullámhosszúságú UV-fényben észleltük. A ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumok felvétele Bruker DRX-500 vagy Bruker Ascend 500 készülékkel történt, rendre 500 MHz-en és 125 MHz-en, CDCl_3 vagy DMSO-d_6 -ban oldószerben TMS-t alkalmazva belső standardként.

5.2. Részletes kísérleti rész

BODIPY származékok szintézise aldehid – pirrol stratégia alkalmazásával (4a-4h)

1 mmol aldehidet és 0,2 mL (2 mmol) 2,4-dimetil-pirrolt oldunk 3 mL toluolban. Ezt követően 5 percig előmelegítjük keverés mellett a mikrohullámú reaktorban a reakcióelegyet 100 °C-ra, majd 20 percen át ezen a hőmérsékleten tartjuk. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A reakcióelegyhez ezt követően 227 mg (1 mmol) DDQ oxidálószerrel adunk, majd további 1 órán át kevertetjük, ezután 1 mmol (1 mL) DIPEA-t, valamint lassan, cseppenként 1 mL (1 mmol) BF₃·OEt₂-t adagolunk hozzá. A 4 órás reakcióidő letelte után a reakcióelegyet telített NaHCO₃ vizes oldatára öntjük, majd diklórmetánnal extraháljuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyersterméket oszlopkromatográfián tisztítjuk.

4a: A eluens, R_f = 0,68^G, izolált hozam: 65%.

4b: A eluens; R_f = 0,56^G, izolált hozam: 70%.

4c: A eluens; R_f = 0,50^G, izolált hozam: 68%.

4d: C eluens; R_f = 0,80^H, izolált hozam: 71%.

4e: D eluens; R_f = 0,59^I, izolált hozam: 78%.

4f: E eluens; R_f = 0,30^G, izolált hozam: 44%.

4h: B eluens; R_f = 0,45^G, izolált hozam: 72%.

Trimetilszilil-etinil szubsztituált BODIPY származék (5) előállítása

225 mg (0,5 mmol) indulási BODIPY származékot (**4c**) 10 mL absz. THF-ben oldunk, majd az oldathoz hozzáadunk 5 mg (0,026 mmol) CuI-t, 30 mg (0,026 mmol) Pd(PPh₃)₄-et, 1 mL (0,007 mmol) NEt₃-t, valamint 0,1 mL (0,7 mmol) TMSA-t. A reakcióelegyet ezután 5 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük, nitrogén atmoszféra alatt. A reakcióelegyet ezután bepároljuk, a nyersterméket oszlopkromatográfián^C tisztítjuk. R_f = 0,80^E. Izolált hozam: 77%.

A 10-es jelű BODIPY származék szintézise

0,13 mL (1,5 mmol) oxalil kloridot és DMF-ot (3 csepp) adunk 163 mg (1 mmol) 4-azido-benzoésav (7) diklórmétanos (10 mL) oldatához. A reakcióelegyet három órán át, szobahőmérsékleten kevertetjük, majd bepároljuk. Ezt követően feloldjuk 3 mL toluolban, és az elegyhez 0,2 mL (2 mmol) 2,4-dimetil-pirrolt (1) adunk. Ezt követően 5 percig előmelegítjük keverés mellett a mikrohullámú reaktorban a reakcióelegyet 100 °C-ra, majd 20 percen át ezen a hőmérsékleten tartjuk. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A reakcióelegyhez ezt követően 227 mg (1 mmol) DDQ oxidálószerrel adunk, majd további 1 órán át kevertetjük, ezután 1 mmol (1 mL) DIPEA-t, valamint lassan, cseppenként 1 mL (1 mmol) BF₃·OEt₂-t adagolunk hozzá. A 4 órás reakcióidő letelte után a reakcióelegyet telített NaHCO₃ vizes oldatára öntjük, majd diklórmétánnal extraháljuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan^A tisztítjuk. R_f = 0,61^G. Izolált hozam: 35%.

A 13a-13b, valamint a 16 számú BODIPY származékok előállítása

0,17 mL (1 mmol) trietil-ortoformiátot (14) vagy 227 mg (1 mmol) 4-bróm-ftálsavanhidridet (11) és 0,3 mL (3 mmol) 2,4-dimetil-pirrolt (1) oldunk 3 mL toluolban. Ezt követően 5 percig előmelegítjük keverés mellett a mikrohullámú reaktorban a reakcióelegyet 100 °C-ra, majd 20 percen át ezen a hőmérsékleten tartjuk. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A reakcióelegyhez ezt követően 1 mmol (1 mL) DIPEA-t, valamint lassan, cseppenként 1 mL (1 mmol) BF₃·OEt₂-t adagolunk. A 4 órás reakcióidő letelte után a reakcióelegyet telített NaHCO₃ vizes oldatára öntjük, majd diklórmétánnal extraháljuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan tisztítjuk.

13a és 13b: B eluens; izolált hozam (a két regioizomer keveréke): 32%.

16: B eluens; R_f = 0,49^G, izolált hozam: 32%.

A 17-es számú BODIPY származék előállítása

Jeges hűtés és kevertetés mellett 18,6 mL (0,2 mmol) POCl₃-ot elegyítünk 18,6 mL (0,24 mmol) DMF-dal, majd az elegyet nitrogén atmoszféra alatt, 5 percen keresztül, jégfürdőben, majd

további 30 percen át jégfürdő nélkül kevertetjük. Ezt követően 378 mg (1 mmol) kiindulási BODIPY festék (**4h**) 5 mL diklórmetános oldatát adjuk hozzá a reakcióelegyhez, melyet 4 órán keresztül, 70 °C hőmérsékleten kevertetünk nitrogén atmoszféra alatt, ez idő alatt a reakció lejátszódik. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. Az elegyet ezután kis mennyiségekben, lassan, telített NaHCO₃ vizes oldatára öntjük, majd diklórmetánnal extraháljuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk.

A 18-as számú BODIPY származék előállítása

406 mg (1 mmol) kiindulási BODIPY származékot (**17**) feloldunk 286 mL (3,5 mmol) THF és 96 mL (5,3 mmol) elegyében, majd sorra hozzáadunk 194 mg (2 mmol) szulfámsavat, valamint 180,9 mg (2 mmol) nátrium-kloridot. A reakcióelegyet ezt követően 30 percen át, nitrogén atmoszféra alatt kevertetjük szobahőmérsékleten, ez idő alatt a reakció lejátszódik. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A reakcióelegyet nátrium-tioszulfát vizes oldatára öntjük, majd etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan^B tisztítjuk. $R_f = 0,65^I$. Izolált hozam: 72%.

A 19-es számú BODIPY származék előállítása

423 mg (1 mmol) BODIPY származékot (**18**) toluolban oldunk, majd rendre hozzáadunk 219 mg (1 mmol) trietilén-glikol-azidot, 25 mg (0,13 mmol) CuI-ot, 48,2 mg (0,18 mmol) P(Ph)₃-t, valamint 0,5 mL DIPEA bázist, majd az elegyet két órán keresztül, nitrogén atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertetjük. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan^F tisztítjuk. $R_f = 0,30^J$. Izolált hozam: 88%.

A 21-es számú BODIPY homodimer előállítása

450 mg (1 mmol) **4c**. BODIPY származékot diklórmetánban oldunk, majd szobahőmérsékleten, nitrogén atmoszféra alatt kevertetve az oldatot, cseppenként hozzáadagoljuk 973 mg (6 mmol) FeCl₃ nitrometános oldatát. A reakcióelegyet 15 percen át kevertetjük, majd 100 mL vizet öntünk hozzá, ezt követően, további 1 órán át kevertetjük szobahőmérsékleten. A reakció

lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A reakcióelegyet diklórmetánnal extraháljuk, majd a szerves fázist vízzel mossuk, ezt követően nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyerterméket oszlopkromatográfiásan^A tisztítjuk. $R_f = 0,61^G$. Izolált hozam: 19%

Az 5-ös számú BODIPY származékról a TMS lehasítása

420 mg (1 mmol) BODIPY származékot (5) THF-ban oldunk, majd hozzáadunk 1 mL (0,001 mmol) TBAF-ot. Az elegyet ezt követően 15 percen keresztül, nitrogén atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertetjük, majd dietil-éterrel extraháljuk, ezt követően bepároljuk. Hozam: 85%.

A 22-es számú BODIPY dimer szintézise

450 mg (1 mmol) BODIPY származékot (4c) feloldunk THF-ban, majd kevertetés mellett rendre hozzáadunk 61 mg (0,053 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ -ot, 14 mg (0,074 mmol) CuI-ot, 2,1 mL NEt_3 -t, valamint 450 mg (1 mmol) 5 -ös számú BODIPY származékot. A reakcióelegyet nitrogén atmoszféra alatt, 2 órán keresztül, szobahőmérsékleten kevertetjük, ez idő alatt a reakció lejátszódik. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. Az elegyhez hozzáadunk 10 mL vizet, ezt követően extraháljuk etil-acetáttal. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyerterméket oszlopkromatográfiásan^A tisztítjuk. $R_f = 0,41^G$. Izolált hozam: 77%.

A 20-as számú BODIPY származék előállítása

422 mg (1 mmol) BODIPY származékot (18) feloldunk DMF-ban, majd nitrogén atmoszféra alatti kevertetés mellett hozzáadunk 230 mg (2 mmol) *N*-hidroxi-szukcinimidet, majd 310 mg (2 mmol) 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimidet. Ezt követően a reakcióelegyet nitrogén atmoszféra alatt, 4 órán keresztül, szobahőmérsékleten kevertetjük. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. Bepárlással eltávolítjuk a DMF-ot, majd a diklórmetánban feloldott anyagot 1 mol/dm³ koncentrációjú sósav-oldattal, vízzel, majd sóoldattal mossuk. A szerves fázist izzított nátrium-szulfáton szárítjuk, és bepároljuk. A nyerterméket oszlopkromatográfiásan^C tisztítjuk. $R_f = 0,82^K$. Izolált hozam: 72%.

A 24-es számú BODIPY-E2 konjugátum előállítása

174 mg (0,5 mmol). etinil-BODIPY származékot (az 5-ös jelű vegyület TMS-hasítással nyert származéka) toluolban oldunk, majd rendre hozzáadunk 197 mg (0,5 mmol) ösztradiol-azidot (**23**), 12,5 mg (0,065 mmol) CuI-ot, 24 mg (0,09 mmol) P(Ph)₃-t, valamint 0,25 mL DIPEA bázist, majd az elegyet két órán keresztül, nitrogén atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertetjük. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával ellenőrizzük. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan^C tisztítjuk. $R_f = 0,73^K$. Izolált hozam: 91%.

A 26-os számú BODIPY-nukleozid konjugátum előállítása

211 mg (0,5 mmol) **18**-as BODIPY származékot, 149 mg (0,42 mmol) **25**-ös nukleozidot, 5,2 mg (5% mol) CuI-ot, 18 mg (5% mol) Pd(PPh₃)₂Cl₂-ot 5 mL DMF-ben oldunk, és hozzáadunk 172 µL (1,25 mmol) NEt₃ bázist. A reakcióelegyet 80°C-on, 4 órán át kevertetjük. Bepárlás után oszlopkromatográfiát végzünk, 1% metanol/99% diklórmetán → 10% metanol/90% diklórmetán eluens alkalmazásával. $R_f = 0,32$ (10% metanol/ 90% diklórmetán). Izolált hozam: 62%.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Tudományos diákköri munkám során sikeresen előállítottunk számos különböző BODIPY fluorofór származékot, 2,4-dimetilpirrolból (**1**) és különböző karbonilvegyületekből kiindulva, négy eltérő stratégia alkalmazásával. A szintézis végrehajtására a reakciólépések számát és az adalékanyagok mennyiségét csökkentve, mikrohullámmal segített és egyedényes módszereket fejlesztettünk ki. A későbbi konjugálás, összekapcsolás lehetőségét biztosító funkciós csoportokat a megfelelően megválasztott szubsztituált karbonilvegyület alkalmazásával, vagy utólag építettük be. Az **19**-es jelű BODIPY származék szintézisével sikeresen végrehajtottuk hidrofil trietilén-glikol molekularészlet beépítését a BODIPY alapvázra. A propargilcsoportot tartalmazó BODIPY-karbonsavból (**18**) aktív észtert képeztünk (**20**), így olyan kulcs intermedierhez jutottunk, amely számos kedvező további átalakítási lehetőséget biztosít. Ezt követően elvégeztük a BODIPY dimerek szintézisét (**21** és **20**), vas-klorid katalizált reakcióban, valamint palládium katalizált Sonogashira keresztkapcsolási reakcióban. Két kiválasztott biomolekula, egy ösztradiol származék (**23**) és egy nukleozid (**25**) fluoreszcens jelölését is megvalósítottuk.

Az ELKH Enzimológiai Intézetében, Dr. Laczka Csilla kutatócsoportjával együttműködésben, vizsgáljuk az általunk előállított BODIPY származékok optikai tulajdonságait, valamint fotodinámiás terápiában való alkalmazhatóságát.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával tartozom témavezetőmnek, Dr. Mernyák Erzsébet egyetemi adjunktusnak, aki egyetemi tanulmányaim megkezdése óta támogat és motivál.

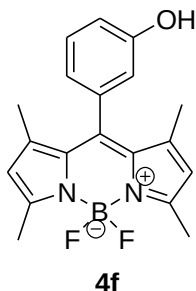
Köszönöm az optikai adatok meghatározását és a sötét toxicitási vizsgálatok elvégzését az ELKH Enzimológiai intézetében, Dr. Laczka Csillának és Dr. Rigó Rékának.

Köszönöm Dr. Kovács Lajosnak és Dr. Kupihár Zoltánnak, hogy biztosította számomra az 5-jód-dU-t.

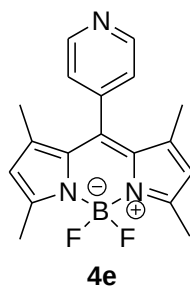
Továbbá köszönettel tartozom Ágoston Henriettának és Hlogyik Tamásnak, kutatócsoportunk tagjainak, amiért bármikor fordulhattam hozzájuk kérdéseimmel.

Köszönjük az OTKA NKFIH SNN 139323 támogatását.

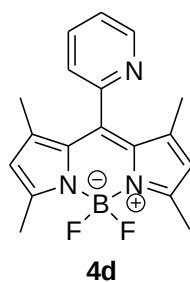
8. MELLÉKLET – NMR adatok



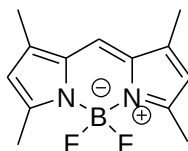
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,47 (s, 6H); 2,55 (s, 6H); 6,0 (s, 2H); 6,8 (s, 1H); 6,9 (d, 1H, $J=6,8$ Hz); 6,9 (d, 1H, $J=6,8$ Hz); 7,4 (t, 1H, $J=7,4$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁷¹



^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,41 (s, 6H); 2,56 (s, 6H); 6,01 (s, 2H); 7,26 (s, 2H); 8,81 (s, 2H). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁷⁰



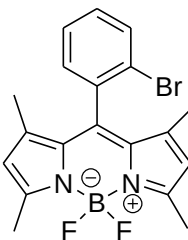
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,31 (s, 6H); 2,55 (s, 6H); 6,0 (s, 2H); 7,40-7,42 (átfedő multiplett, 2H); 7,83 (t, 1H, $J=7,7$ Hz); 8,78 (d, 1H, $J=4,7$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁶⁹



16

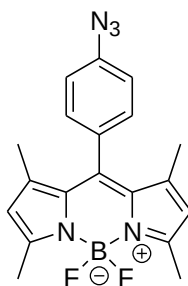
^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 2,25 (s, 6H); 2,53 (s, 6H); 6,04 (s, 2H); 7,04 (s, 1H).

A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁸²



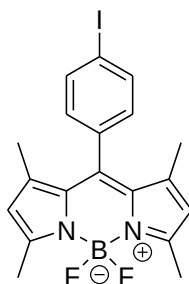
4b

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,42 (s, 6H); 2,57 (s, 6H); 6,0 (s, 2H); 7,31 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz); 7,35 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz); 7,46 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz); 7,69 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz). Új vegyület.



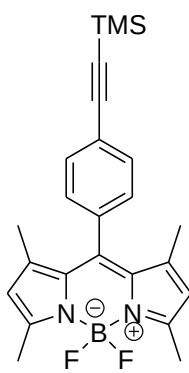
10

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,42 (s, 6H); 2,55 (s, 6H); 6,0 (s, 2H); 7,16 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz); 7,27 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁷⁷



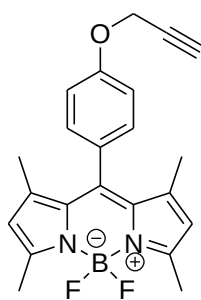
4c

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,42 (s, 6H); 2,55 (s, 6H); 6,0 (s, 2H); 7,05 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz); 7,841 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁶⁸



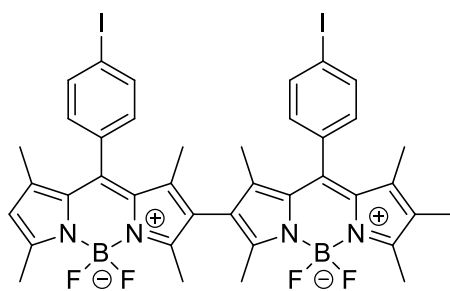
5

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0,26 (s, 9H); 1,37 (s, 6H); 2,45 (s, 6H); 6,19 (s, 2H); 7,39 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz); 7,63 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁷⁴



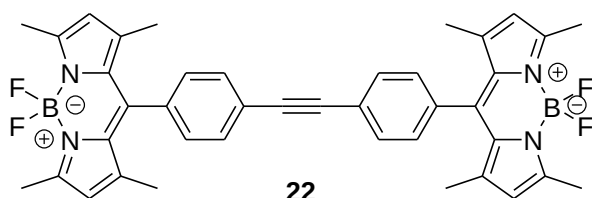
4h

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,42 (s, 6H); 2,55 (s, 6H); 4,76 (d, 2H); 6,0 (s, 2H); 7,09 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz); 7,20 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz). A vegyület fizikai adatai megegyeznek a szakirodalomban ismertetett adatokkal.⁷³



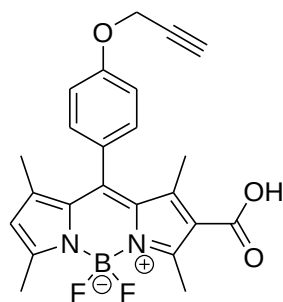
21

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,17 (s, 6H); 1,43 (s, 6H); 2,34 (s, 6H); 2,56 (s, 6H); 6,01 (s, 2H); 7,04 (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, $J = 1,7$ Hz); 7,09 (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, $J = 1,7$ Hz); 7,82 (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, $J = 1,7$ Hz); 7,86 (dd, 2H, $J = 7,9$ Hz, $J = 1,7$ Hz). Új vegyület.



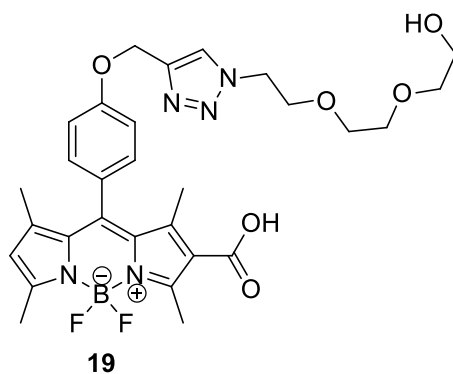
22

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,44 (s, 12H); 2,57 (s, 12H); 6,00 (s, 4H); 7,32 (d, 4H, $J = 7,4$ Hz); 7,70 (d, 4H, $J = 7,4$ Hz). Új vegyület.

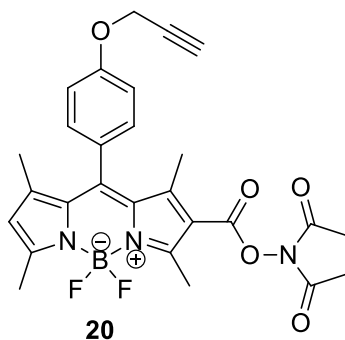


18

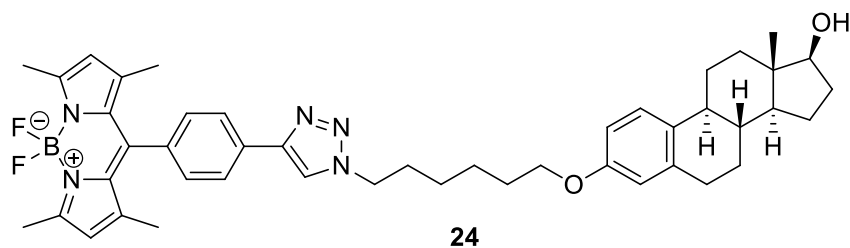
^1H NMR (DMSO-d_6) δ (ppm): 1,43 (s, 3H); 1,65 (s, 3H); 2,51 (s, 3H); 2,68 (s, 3H); 3,57 (m, 1H); 4,90 (d, 2H); 6,35 (s, 1H); 7,19 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz); 7,33 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz). Új vegyület.



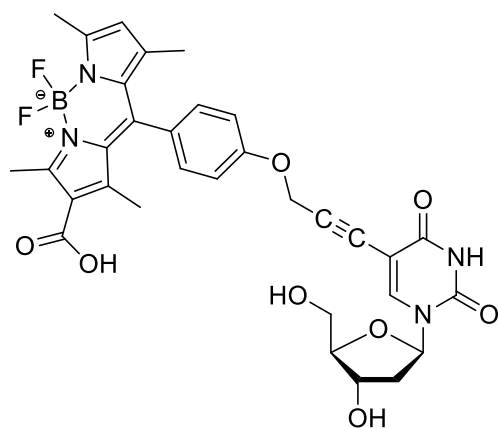
^1H NMR (DMSO-d_6) δ (ppm): 1,45 (s, 3H); 1,68 (s, 3H); 2,59 (s, 3H); 2,82 (s, 3H); 3, 58–3,77 (átfedő multiplettek, 8H); 4,60 (m, 3H); 5,28 (s, 2H); 6,10 (s, 1H); 7,15 (m, 4H); 7,85 (s, 1H). Új vegyület.



^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 1,48 (s, 3H); 1,70 (s, 3H); 2,56 (s, 1H); 2,62 (s, 3H); 2,85 (átfedő multiplettek, 7H); 4,78 (s, 2H); 6,16 (s, 1H); 7,12 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz); 7,19 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz). Új vegyület.



^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0,77 (s, 3H); 1,45 (s, 6H); 2,56 (s, 6H); 2,85 (m, 2H); 3,73 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz); 3,93 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz); 4,44 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz); 6,00 (s, 2H); 6,62 (d, 1H, $J = 2,6$ Hz); 6,69 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 8,6$ Hz); 7,19 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz); 7,35 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 7,96 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz); 7,83 (s, 1H). Új vegyület.



26

^1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm): 1,41 (s, 3H); 1,64 (s, 3H); 2,51 (s, 3H); 2,67 (s, 3H); 4,40–4,45 (átfedő multiplettek, 4H); 5,07 (s, 2H); 6,10 (t, 1H, $J = 6,6$ Hz), 6,34 (s, 1H); 7,20 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz); 7,31 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz); 8,28 (s, 1H). Új vegyület.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Liang, L., Astruc, D., *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 2933.
2. Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 565.
3. Lőrinc Krisztián Viktor, PhD-értekezés, Eötvös Loránd Tudományegyetem, **2011**
4. www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/prize-announcement/ (2022.11.08)
5. Nambara, T.; Kudo, T., *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, 20, 2156.
6. Meldal, M., Tornøe, C. W., *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2952.
7. Johansson Seechurn CC, Kitching MO, Colacot TJ, Snieckus V., *Angew Chem Int Ed Engl.* **2012**, 51(21), 5062-5085.
8. *Transition Metals for Organic Synthesis*, ed.M. Beller and C. Bolm, Wiley-VCH, Weinheim, 2nd edn, 2004.
9. Sonogashira K., Tohda Y., Hagihara N., *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4467.
10. Chinchilla R, Nájera C., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 5084.
11. Chinchilla R., Najera C., *Chem. rev.* **2007**, 107(3), 874–922.
12. Jiao L., Yu C., Li J., Wang Z., Wu M., Hao E., *J Org Chem.* 2009, 74(19), 7525-7528.
13. Treibs A., Kreuzer F. -H., *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 718, 208–223.
14. Wood T.E., Thompson A., *Chem. Rev.* **2007**, 107, 1831–1861.
15. Boens N., Verbelen B., Ortiz M. J., Jiao L., Dehaen W., *Coord. Chem. Rev.* **2019**, 399, 213024.
16. Hayashi Y., *Chem. Sci.* **2016**, 7, 866–880.
17. Loudet A., Burgess K., *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4891–4932.
18. Zhao C., An J., Zhou L., Fei Q., Wang F., Tan J., Shi B., Wang R., Guo Z., Zhu W., *Chem. Commun.* **2016**, 52, 2075–2078
19. Li T., Gu W., Yu C., Lv X., Wang H., Hao E., Jiao L., *Chin. J. Chem.* **2016**, 34, 989–996.
20. Xie R., Yi Y., He Y., Liu X., Liu Z., *Tetrahedron* **2013**, 69, 8541–8546.
21. Li Z., Mintzer E., Bittman R., *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 1718–1721.
22. Yakubovskiy V.P., Shandura M.P., Kovtun Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3237– 3243.
23. Wu L., Burgess K., *Chem. Commun.* **2008**, 44, 4933–4935.
24. Da Lama A., Pérez Sestelo J., Sarandeses L. A., Martínez M. M., *Org Biomol Chem.* **2022**, 20, 9132-9137.

25. Zhu S., Zhang J., Vegesna G., Luo F.T., Green S.A., Liu H., *Org Lett.* **2011**, 13(3), 438-441.
26. Kim B., Sui B., Yue X., Tang S., Tichy M. G., Belfield K. D., *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 1, 25-28.
27. Atilgan S., Ozdemir T., Akkaya, E. U., *Org. Lett.* **2008**, 10, 4065.
28. Jiao L. J., Li J. L., Zhang S. Z., Wei C., Hao E. H., *New J. Chem.* **2009**, 33, 1888.
29. Yen V. H., Micouin L., Ronet C., Gachelin G., Bonin M., *ChemBioChem* 2003, 4, 27.
30. Giessler, K., Griesser, H., Gohringer, D., Sabirov, T., Richert, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3611.
31. Dilek O., Bane S. L., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 6911.
32. Dodani S. C., He Q., Chang C. J. J., *Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 18020.
33. Niu S. L., Ulrich G., Retailleau P., Harrowfield J., Ziessel R., *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 3840.
34. Niu S. L., Ulrich G., Ziessel R., Kiss A., Renard P. Y., Romieu A., *Org. Lett.* **2009**, 11, 2049.
35. Li L. L., Han J. Y., Nguyen B., Burgess K. J., *Org. Chem.* **2008**, 73, 1963
36. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/D3821> (2022.11.08)
37. <https://www.sigmaaldrich.com/HU/en/product/aldrich/793728> (2022.11.08)
38. <https://www.lumiprobe.com/p/bdp-r6g-nhs-ester> (2022.11.08)
39. Tian D., Pan H., Zhang Y., Ren X. K. Chen, Z., *Tetrahedron Lett.* **2021**, 76, 153216.
40. Epelde-Elezcano N., Palao E., Manzano H., Prieto-Castañeda A., Agarrabeitia A. R., Tabero A., Villanueva A., de la Moya S., López-Arbeloa Í., Martínez-Martínez V., Ortiz M. J., *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 4837.
41. Bassan E., Gualandi A., Cozzi P. G., Ceroni P. *Chem. sci.*, **2021**, 12(19), 6607–6628.
42. Sarhan A. A., Bolm C., *Chem Soc Rev.* **2009**, 38(9), 2730-2744.
43. Rani K, Sengupta S., *Chem Sci.* **2021**, 12(47), 15533-15542.
44. de la Hoz A., Díaz-Ortiz A., Moreno, A., *Chem. Soc. rev.*, **2005**, 34(2), 164–178.
45. Bana P., Greiner I. In *Milestones in Microwave Chemistry – SpringerBriefs in Molecular Science*; Keglevich, G., Ed.; Springer: Switzerland **2016**, 4, 77–110.
46. Mehta V. P., Van der Eycken E. V., *Chem. Soc. rev.*, **2011**, 40(10), 4925–4936.
47. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A., *Cancer statistics* **2018**, 68(1), 7-30.
48. Miller W. L., Auchus R. J., *Endocr Rev.* **2011**, 32(1), 81-151
49. Gupta A., Kumar B. S., Negi A. S., *J Steroid Biochem Mol Biol.* **2013**, 137, 242-270.

50. Azcoitia I., Arevalo M. A., De Nicola A. F., Garcia-Segura L. M., *Trends Endocrinol Metab.* **2011**, 22(12), 467-473.
51. Gajadeera N., Hanson R. N., *Steroids.* **2019**, 144, 30-46.
52. Jirikowski G. F., Reimar K., *Proteinen. DE* 102010027016A1.
53. <https://www.jenabioscience.com/probes-epigenetics/cell-labeling/fluorescent-hormones/pr-958-estradiol-glow> (2022.11.08.)
54. Sinkeldam R. W., Greco N. J., Tor Y., *Chem Rev.* **2010**, 110(5), 2579-2619.
55. Su X., Xiao X., Zhang C., Zhao M., *Appl Spectrosc.* **2012**, 66(11), 1249-1262.
56. Wang K., Huang J., Yang X., He X., Liu J., *Analyst.* **2013**, 138(1), 62-71.
57. Dziuba D., Pohl R., Hocek M., *Bioconjug Chem.* **2014**, 25(11), 1984-1995.
58. Li X., Lee S., Yoon, J., *Chem. Soc. Rev.* **2018**, 47, 1174– 1188.
59. Li X., Kwon N., Guo T., Liu Z., Yoon J., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, 57, 11522–11531.
60. Halliwell B., *Trends Pharmacol. Sci.* **2011**, 32, 125–130.
61. Agostinis P., Berg K., Cengel K. A., Foster T. H., Girotti A. W., Gollnick S. O., Hahn S. M., Hamblin M. R., Juzeniene A., Kessel D., *Cancer J. Clin.* **2011**, 61, 250–281.
62. Prieto-Montero R., Prieto-Castañeda A., Sola-Llano R., Agarrabeitia A. R., García-Fresnadillo D., López-Arbeloa I., Villanueva A., Ortiz M. J., de la Moya S., Martínez-Martínez V., *Photochem photobiol.*, **2020**, 96(3), 458–477.
63. Duman S., Cakmak Y., Kolemen S., Akkaya E. U., Dede Y., *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 4516–4527.
64. Cakmak Y., Kolemen S., Duman S., Dede Y., Dolen Y., Kilic B., Kostereli Z., Yildirim L. T., Dogan A. L., Guc D., Akkaya E. U., *Angew. Chem.* **2011**, 123, 12143–12147.
65. Chen H. C., Bi Q. R., Yao Y. R., Tan N. H., *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 4351.
66. Zhang X., Yang X. D., *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 9050–9055.
67. Zhang X., Zhang, H. S., *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* **2005**, 61(6), 1045–1049.
68. Lim S. H., Thivierge C., Nowak-Sliwinska P., Han J., van den Bergh H., Wagnières G., Burgess K., Lee H. B., *J. Med. Chem.* **2010**, 53(7), 2865–2874.
69. Zhang S., W T., Fan J., Li Z., Jiang N., Wang J., Dou B., Sun S., Song F., Peng X., *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11(4), 555–558.
70. Yurt M. N. Z., Cakmak Y., Tekin G., Karakurt S., Erbas-Cakmak S., *ACS Omega.* **2019**, 4(7), 12293–12299.

71. Banfi S., Caruso E., Zaza S., Mancini M., Gariboldi M. B., Monti E., *J. Photochem. Photobiol. B.* **2012**, 114, 52–60.
72. Imahori H., Norieda H., Yamada H., Nishimura Y., Yamazaki I., Sakata Y., Fukuzumi S., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123(1), 100–110.
73. Ke M. R., Yeung S. L., Ng D. K., Fong W. P., Lo P. C., *J. Med. Chem.* **2013**, 56(21), 8475–8483.
74. Flores J. R., Castruita-De León G., Turlakov G., Arias E., Moggio I., Montemayor S. M., Torres R., Ledezma R., Ziolo R. F., González-Torres J., *Chem.* **2021**, 27(7), 2493–2505.
75. Meares A., Satraitis A., Santhanam N., Yu Z., Ptaszek M., *J. Org. Chem.* **2015**, 80(8), 3858–3869.
76. Fedeli S., Paoli, P. Brandi, A. Venturini, L. Giambastiani, G. Tuci, G., Cicchi, S., *Chemistry* **2015**, 21(43), 15349–15353.
77. Leonardi M. J., Topka M. R., Dinolfo P. H., *Inorg. Chem.* **2012**, 51(24), 13114–13122.
78. Jose J., Ueno Y., Castro J. C., Li L., Burgess K., *Tetrahedron lett.* **2012**, 50(47), 6442–6445.
79. Wang D., Fan J., Gao X., Wang B., Sun S., Peng X., *J. Org. Chem.* **2009**, 74(20), 7675–7683.
80. Greene L. E., Godin R., Cosa G., *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138(35), 11327–11334.
81. Wen H., Cui, Q. Meng H., Lai F., Wang S., Zhang X., Chen X., Cui H., Yin D., *Analyst.* **2016**, 141(13), 4010–4013.
82. Wu L., Burgess, K., *Chem. Commun.* **2008**, (40), 4933–4935.
83. Huynh A. M., Menges J., Vester M., Dier T., Huch V., Volmer D. A., Jung G., *Chemphyschem.* **2016**, 17(3), 433–442.
84. Jiao L., Yu C., Li J., Wang Z., Wu M., Hao E., *J Org. Chem.* **2009**, 74(19), 7525–7528.
85. Loredó A., Tang J., Wang L., Wu K. L., Peng Z., Xiao H., *Chem. Sci.* **2020**, 11(17), 4410–4415.
86. Bacsa I., Konc C., Orosz A. B., Kecskeméti G., Rigó R., Özvegy-Laczka C., Mernyák, E., *Molecules.* **2018**, 23(4), 821.