

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME)

Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar (VBK)

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

N-B-OH egységet tartalmazó fluoreszcens policiklusos azaborin kromofórok előállítása és spektroszkópiai vizsgálata

Országos tudományos diákköri dolgozat

Készítette: Petrilla Brigitta

Külső témavezető: Csomos Attila

Femtonics Ltd.

PhD-hallgató

Külső témavezető: Dr. Mucsi Zoltán

Femtonics Ltd.

Vezető kutató

Belső témavezető: Dr. Kupai József Attila

BME VBK, Szerves Kémia és Technológia Tanszék

habil. egyetemi docens

Utolsó módosítás: 2024. 05. 22.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőimnek, Csomos Attilának és Dr. Kupai Józsefnek támogatásukért, iránymutatásukért, melyekkel munkámat segítették, illetve szakmai tanácsaikért, amikkel megkönnyítették a szintézisek és a mérések kivitelezését.

Köszönöm Dr. Mucsi Zoltánnak, a Femtonics Ltd. Kémia Osztály Vezetőjének, hogy kutatómunkámat a Kémia Osztály laboratóriumában végezhettem. Köszönet illeti a laboratórium kollégáit, Cseri Leventét, Kovács Ervint, Domahidy Farkast, illetve Kontra Bencét a mindennapokban nyújtott támogatásukért, továbbá Dr. Rózsa Balázst és Dr. Katona Gergelyt, a Femtonics Kft. tulajdonosait a kutatás anyagi támogatásáért.

Köszönet illeti Turczel Gábort és Kalydi Esztert az NMR spektrumok felvételéért és asszignációjáért.

Tartalomjegyzék

1.	Rövidítésjegyzék.....	4
2.	Bevezetés.....	6
3.	Irodalmi áttekintés	8
3.1.	A fluoreszcencia és felhasználása a mikroszkópiában	8
3.1.1.	Lézer-indukált fluoreszcencia mikroszkópia.....	9
3.1.2.	A leggyakrabban előforduló fluoreszcens alapvázak	10
3.1.3.	Az ultraibolya és kék spektrális tartományban emittáló fluorofórok	11
3.1.4.	A zöld-sárga spektrális tartományban emittáló fluorofórok.....	12
3.1.5.	A vörös, a távoli vörös és a közeli infravörös spektrális tartományban emittáló fluorofórok	14
3.2.	A GFP-kromofór jelentősége	18
3.3.	Bórtartalmú heterociklusos vegyületek	21
4.	Célkitűzés	26
5.	Eredmények és értékelésük.....	28
5.1.	Szintetikus munka	28
5.1.1.	<i>N</i> fenilimidazolinon előállítása.....	29
5.1.2.	Különbözően szubsztituált imidazolinonok előállítása	29
5.1.3.	Az imidazolinonok összekapcsolása formilfenilboronsav-származékokkal.....	30
5.1.4.	Irodalmi reprodukció – Saint-Louis munkájában leírt példák előállítása.....	34
5.1.5.	Zn^{2+} -szenzorként potenciálisan alkalmazható molekulák előállítása	35
5.2.	Spektroszkópiai vizsgálatok	37
5.2.1.	Abszorpció és emisszió DMSO-ban.....	38
5.2.2.	Abszorpció és emisszió különböző pH-jú vizes pufferoldatokban.....	41
5.2.3.	Az előállított Zn^{2+} -szenzor (88) spektroszkópiai vizsgálata.....	42
6.	Összefoglalás, jövőbeli tervek	48
7.	Kísérletek részletes leírása.....	49
7.1.	Alkalmazott anyagok és készülékek.....	49
7.2.	Kísérletek részletes leírása	51
7.3.	Spektroszkópiai vizsgálatokhoz használt oldatok	67
	Irodalomjegyzék.....	69
	Függelék	73

1. Rövidítésjegyzék

ACQ:	<i>aggregation-caused quenching</i> , aggregáció okozta kioltás
AIE:	<i>aggregation-induced emission</i> , aggregáció által kiváltott emisszió
AIEE:	<i>aggregation-induced emission enhancement</i> , aggregáció által indukált emissziófokozás
BODIPY:	4-bora-3a,4a-diaza-s-indacén
Cbz:	benziloxikarbonil-csoport
DBU:	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-én
DIPEA:	diizopropil-etil-amin
DKM:	diklórmétán
DMF:	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO:	dimetil-szulfoxid
DPA:	2,2'-dipikolil-amin
ϵ :	moláris abszorpciós koefficiens
EGTA:	etilénglikol-bisz(2-aminoetiléter)- <i>N,N,N',N'</i> -tetraecetsav
Et ₂ O:	di-éter
EtOAc:	etil-acetát
EtOH:	etanol
FRET:	<i>Förster resonance energy transfer</i> , Förster-féle rezonáns energiaátadás
GFP:	<i>green fluorescent protein</i> , zöld fluoreszcens fehérje
GFPc:	<i>GFP chromophore</i> , a zöld fluoreszcens fehérje kromofórja
HEPES:	2-(4-(2-hidroxi-1-piperazin-1-yl)etánszulfonsav
His:	hisztidin
HOMO:	<i>highest occupied molecular orbital</i> , legmagasabb betöltött molekulapálya
λ_{abs} :	abszorpciós maximum
λ_{em} :	emissziós maximum
λ_{ex} :	gerjesztési (<i>excitation</i>) maximum
$\Delta\lambda$:	Stokes-eltolódás
LIF:	<i>laser-induced fluorescence microscopy</i> , lézer-indukált fluoreszcencia mikroszkópia
M és N:	mol/dm ³
MeCN:	acetonitril
MeI:	metil-jodid

MeOH:	metanol
NaOAc:	nátrium-acetát
NBS:	<i>N</i> -brómszukcinimid
ON:	<i>overnight</i> , egy éjszakán át
Φ és QY:	<i>quantum yield</i> , kvantumhatékonyság
PET:	<i>photoinduced electron transfer</i> , fotoindukált elektrontranszfer
<i>p</i> -HBDI:	<i>p</i> -hidroxi-benzilidénimidazolinon
POI:	<i>protein of interest</i> , a leíró név és az aminosav szekvencia alapján azonosított
fehérje	
R_F :	retenciós faktor
RT:	<i>room temperature</i> , szobahőmérséklet
Ser:	szerin
TEA:	trietyl-amin
TFA:	trifluorecetsav
THF:	tetrahidrofurán
t_R :	retenciós idő
Trp:	triptofán
Tyr:	tirozin
Zn(OTf) ₂ :	cink-triflát

2. Bevezetés

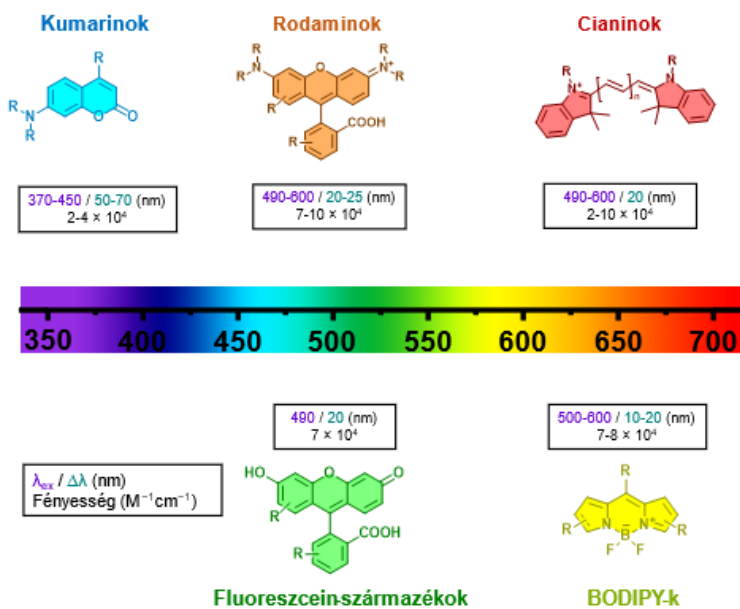
Napjainkban az analitok érzékelésére és nyomon követésére szolgáló fluoreszcens vegyületek nagy érzékenyséjük és alacsony költségük, kis műszerezettségi igényük miatt nagy érdeklődést keltenek a kémia, a biológia és a környezettudomány számára. Mivel a fluoreszcens mikroszkópia a biológia és a gyógyszerkutatás egyik legfontosabb eszközévé vált, egyre nagyobb az igény a fényesebb és hatékonyabb fluoreszcens festékek iránt.¹

A heteroaromás policiklusos vegyületek különösen alkalmasak a fluoreszcencia színének (hullámhosszának) és intenzitásának egyidejű hangolhatósága, testreszabható, reprodukálható szerves kémiai szintézisük miatt, így jól alkalmazhatók kémiai érzékelőkként és fluorofórokként a biológiai képalkotásban.² Bár már eddig is számos fluoreszcens jelzőanyagot fejlesztettek ki, hogy a legkülönbébb sejt folyamatokba betekintést nyerhessünk, az alkalmazott fluorofórok száma igen csekély. A leggyakrabban használt fluorofórok közé tartoznak a kumarinok, rodaminok, fluoreszcein-származékok, BODIPY-k és cianinok (1. ábra). Ezen festékek ugyan már közel optimális tulajdonságokkal rendelkeznek, a többségükre azonban jellemző az elnyelt és a kibocsátott fényük közötti spektrális átfedés. E kis Stokes-eltolódás (az emissziós és a gerjesztési maximum különbsége) miatt az emittált fény nagy része kiszűrésre kerül, annak érdekében, hogy elkerüljék a gerjesztő forrás szóródásából származó jelentős mértékű háttérzavarást. A nagy fényesség és a nagy Stokes-eltolódás egyidejű biztosítása azonban kihívást jelent. A feladat megoldására jó stratégia lehet a meglévő fluorofórok finomhangolása helyett új fluorofórvázak tervezése, amely irányba viszonylag kevés előrelépést mutatott fel a tudomány.^{3,4}

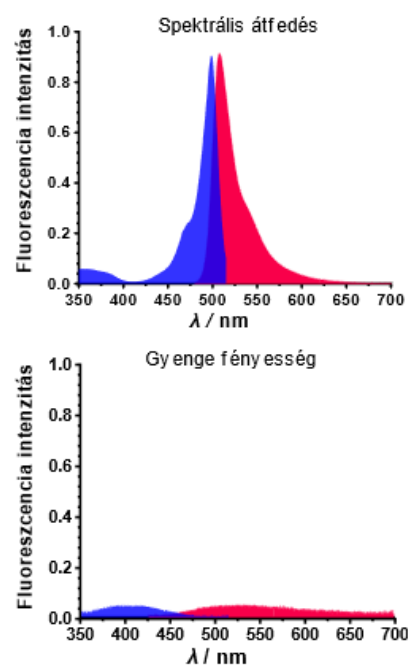
Az utóbbi években a börtartalmú heterociklusos vegyületek iránt egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik. A bóratom különlegessége abból adódik, hogy a többi heteroatomtól eltérően rendelkezik egy üres p-pályával. Ez a tulajdonság jelentősen megváltoztatja a bóratomot tartalmazó vegyületek kémiai sajátosságát, így a börtartalmú heterociklusok széles skálájára számos alkalmazást fejlesztettek már ki a gyógyszerkémia, az anyagtudományok, a katalízis, valamint az optoelektronika területén. Napjainkban az ilyen típusú vegyületek iránti érdeklődés a molekula fluoreszcens tulajdonságához, illetve a fluoreszcencia hangolásának lehetőségeihez kapcsolódik.⁵ Az olyan kémiai tulajdonságok, mint a spektrális jellemzők hangolása és a biológiai hozzáférhetőség miatt jelentős erőfeszítéseket fordítottak új aromás, B–N-tartalmú heterociklusos molekulák szintézisére, amelyek megkönnyíthetik a világításban és a kijelzőtechnikában alkalmazható pszeudoaromás építőelemek létrehozását.⁵ Jelen munkám során olyan mikroszkópiában alkalmazható vegyületek fejlesztését tűztem ki célul, melyek

jelentős Stokes-eltolódással rendelkeznek, valamint fényességük is magas. Ezt újfajta börtartalmú heterociklusos vegyületek előállítása és spektroszkópai vizsgálata révén oldottam meg.

a)



b) Gyakori problémák



1. ábra: **a)**: A legelterjedtebb fluoreszcens alapvázak; **b)**: a fluoreszcencia gyakori problémái.

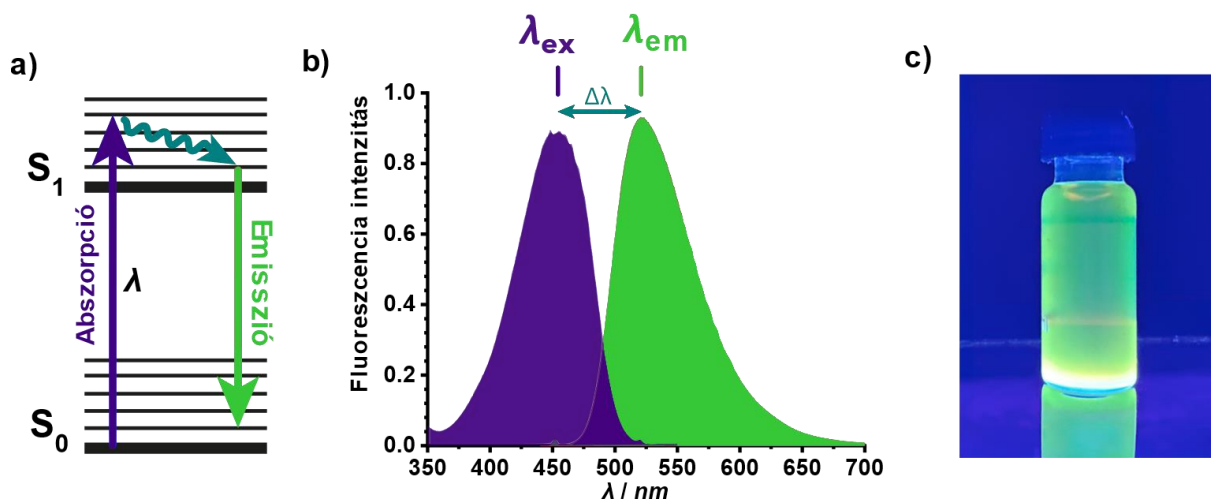
3. Irodalmi áttekintés

3.1. A fluoreszcencia és felhasználása a mikroszkópiában

Az optikai spektroszkópia mindig is egyedülálló eszköz volt a kutatók számára az anyagok alapvető tulajdonságainak feltárására és tanulmányozására az elektromágneses sugárzás és az anyag kölcsönhatásának elemzése révén. A fény atomok vagy molekulák általi abszorpciójának, emissziójának, szórásának és polarizációjának mérése fontos szerkezeti információkat tartalmaz, illetve lehetővé teszi az anyagok tulajdonságainak vizsgálatát és kémiai azonosítását. Azt a folyamatot, amikor a fény vagy elektromágneses sugárzás anyaggal való kölcsönhatását térben képezzük le, képalkotásnak nevezzük, melynek válfajai a mikroszkópiától az orvosi diagnosztikáig széles körben használtak. Munkám középpontjában a mikroszkópia áll alkalmazási célként, mivel a kísérletek a magyar Femtonics Kft.-nél valósultak meg, amely kétfoton-mikroszkópok gyártásával és fejlesztésével foglalkozik. A mikroszkópia a biológia régóta alkalmazott módszere, de napjaink fluoreszcens és lézeres technikái új lehetőségek tárházát nyitották meg a mikroszkópikus világ vizsgálatára. Ma már időben folyamatos képalkotással információt kaphatunk a molekuláris dinamika és a biológiai folyamatok lejátszódásáról. Az első lineáris módszereket, mint például a lineáris abszorpciós és fotolumineszcencia-spektroszkópiát már jóval az első lézer megjelenése előtt alkalmazták az atomos/molekuláris specieszek minőségi és mennyiségi meghatározására, azonban a lézer 1960-as megjelenése óta az optikai spektroszkópia területét forradalmasította a lézerek által kínált rendkívüli intenzitás. A lézer a lineáris módszerek jelhatékonyságának fokozásán túlmenően a nemlineáris optikai spektroszkópiai technikák sokaságát tárta fel, amelyek korábban gyakorlatilag lehetetlenek voltak a hagyományos fényforrások által biztosított nagyon alacsony jelhatékonyság miatt. A sokkal jobb jelhatékonyság és a nagy érzékenységgű detektorok elérhetősége számos ilyen technikát tett hozzáférhetővé a nagysebességű mikroszkópia számára. Így az optikai spektroszkópiai/mikroszkópiai technikák egyedi jellemzőik alapján számos fontos alkalmazást kaptak az anyagtudomány, a biológia, a gyógyszeripar és az orvostudomány területén.⁶ Manapság nem ritka élő állatokon végezni térbeli 3D-s mikroszkópos képalkotást, nagy sebességgel és felbontással. A szuperrezolúciós technikák emellett elhozták a minták igen részletes vizsgálatának a lehetőségét is.⁷

3.1.1. Lézer-indukált fluoreszcencia mikroszkópia

A lézer-indukált fluoreszcencia mikroszkópia (LIF, *laser-induced fluorescence microscopy*) a biológusok körében az egyik leggyakrabban alkalmazott lineáris mikroszkópai technika. Alapelve abban rejlik, hogy a vizsgált anyagot, amely vagy önmagában fluoreszkál, vagy kémiaiilag módosítva fluoreszcenssé válik, esetleg egy fluoreszcens markerhez van kötve, megfelelő hullámhosszú (UV–látható–IR-tartományban) lézersugárral szelektíven gerjesztjük, majd a kibocsátott, hullámhosszában vöröseltolódott fluoreszcenciajel spektrális szűrés után láthatóvá tehető. A folyamat egyszerűsített Jablonski energiaszint diagramja látható az 2. ábrán, ahol egy λ hullámhosszú lézerfoton elnyelése a fluorofór molekulát az első elektronikus gerjesztett állapotba (S_1) hozza. Onnan gyors relaxáció után ugyanannak az elektronállapotnak egyik rezgési szintjére történő átmenet után az alapállapot (S_0) valamelyik rezgési szintjére történő átmenet vöröseltolódott fluoreszcenciajelet ad.⁶



2. ábra: a): Abszorpció és emisszió illusztratív Jablonski diagramja. b): példa egy fluoreszcens spektrumra. Lila: abszorpciós spektrum; zöld: emissziós spektrum. λ_{ex} : gerjesztési maximum, λ_{em} : emissziós maximum, $\Delta\lambda$: Stokes-eltolódás; c): a fluoreszcencia jelensége az általam előállított anyaggal illusztrálva.

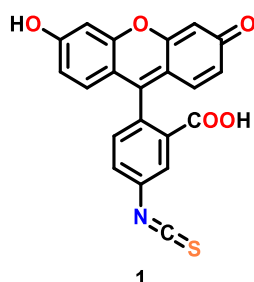
A LIF-mikroszkópia a fluoreszcens anyagok mikroszkópiás vizsgálatára szolgáló technika, mely rendkívül nagy érzékenységet képes nyújtani egy adott minta vizsgálatakor, ami miatt ezen technika egyedülállónak számít a mikroszkópia más formáival összevetve. A mintákat egy szűrőn keresztül vizsgálják, amely képes elnyelni a gerjesztéshez használt rövid hullámhosszú fényt, a fluoreszcens fényt pedig átengedi, ami így a sötét háttér előtt világosnak látszik. Ily módon akár egyetlen fluorofór molekula is azonosítható 10^{11} számú közönséges molekula jelenlétében. A más típusú mikroszkópiás technikákhoz hasonlóan, a fluoreszcens mikroszkópiának is három alapvető fajtája ismert: a mennyiségi, a minőségi és az analitikai. A

kvantitatív fluoreszcencia mikroszkópia annak meghatározását teszi lehetővé, hogy a minta adott térfogatában mennyi található egy bizonyos anyagból. A kvalitatív fluoreszcencia mikroszkópia a morfológiával foglalkozik, valamint az immunológia területén alkalmazzák elterjedten. Az analitikai fluoreszcencia mikroszkópia egy fluorofór jellemzésére irányul, például a gerjesztési és emissziós spektrumok, vagy akár a lecsengési idő, illetve a polarizáció mérésének segítségével. Munkám során én is ezt a módszert alkalmaztam. Minden előnye ellenére a LIF-mikroszkópia egyik fő problémája, hogy a fókuszsík fölötti és alatti életlen fény nem szűrhető ki, ami a jel-zaj viszony romlásával jár, hiszen a fluoreszcens fotonok a gerjesztő fénysugár útjában a teljes mintatérfogaton belül emittálódnak. Ezért a modernebb technika a konfokális mikroszkóp ahol a konfokális sík határozza meg a megfigyelendő képsíkot és a térbeli felbontást. Mivel az első elektronikus gerjesztett állapotba történő átmenethez az egyfoton fluoreszcencia-mikroszkópiában általában látható fényre van szükség; ezért a szövetekben a nagy szórás és az abszorpció miatt a behatolási mélység gyenge. Ez a probléma könnyen kiküszöbölhető a nemlináris mikroszkópiával, a kétfoton gerjesztésű fluoreszcencia mikroszkópiával, ahol a közeli infravörös gerjesztő fény használata mélyebb behatolást tesz lehetővé.^{6,8}

3.1.2. A leggyakrabban előforduló fluoreszcens alapvázak

A fluoreszcencia-alapú molekuláris jelzőanyagok már régóta szolgálnak biomolekulák képalkotásának eszközeként. A szintetikus fluorofórral történő fluoreszcens jelölésről először 1942-ben számoltak be, amikor fluoreszcein-izotiocianát (3. ábra, 1) jelölésű *pneumococcus* elleni antitesteket állítottak elő. Az 1980-as évekig a fluoreszcens jelölést főként fixált biológiai minták elemzésére használták. Az elmúlt két évtizedben számos olyan módszert terveztek, amelyek lehetővé tették a fluoreszcens jelzőanyagok élő rendszerekbe történő beillesztését. Erre gyakran használnak genetikailag kifejezett proteineket, melyek a jelölni kívánt területen kifejeződő célfehérje és egy fluoreszcens fehérje genetikai hibridjei. Egyes esetekben azonban az élő rendszerek elemzése megköveteli a kis molekulatömegű fluoreszcens vegyületek használatát a biológiai jelöléshez. Ezen okból kifolyólag kezdtem el magam is ilyen vegyületek fejlesztésével foglalkozni. Egy adott fluorofór felhasználásának lehetősége függ annak fotofizikai (gerjesztési maximum $[\lambda_{ex}]$, emissziós maximum $[\lambda_{em}]$, moláris abszorpciós koefficiens/extinkciós együttható $[\epsilon]$, kvantumhatékonyság $[\Phi]$, a gerjesztett állapot élettartama és a fotostabilitás) és kémiai tulajdonságaitól (reaktivitás, oldhatóság, lipofilitás, pK_a és stabilitás). A moláris abszorpciós koefficiens és a kvantumhatékonyság szorzata ($\epsilon \times \Phi$, fényesség) az az univerzális paraméter, amelyet a vegyület érzékenységeinek meghatározására

használnak a különböző fluorofórok esetében. Ez az érték közvetlenül arányos a fényerősséggel, figyelembe véve a fluorofór nonradiatív relaxációjából származó veszteséget, valamint az elnyelt fény mennyiségét.⁹



3. ábra: A fluoreszcein-izotiocianát

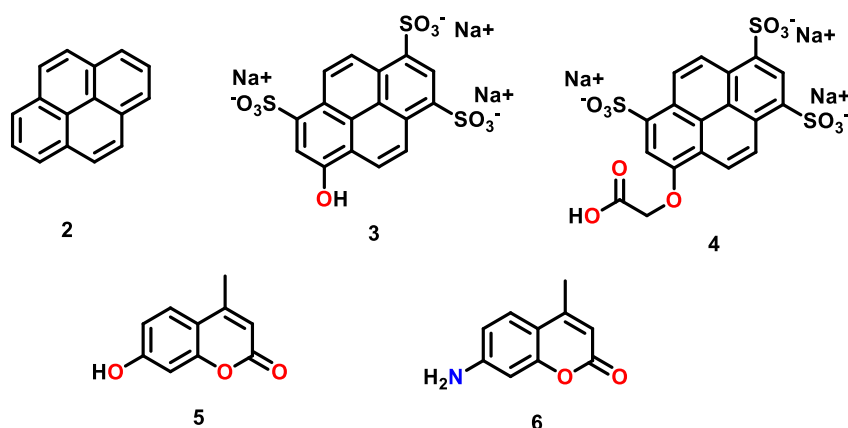
A konjugált váz körüli elektronküldő és elektronszívó csoportok jelenléte elősegítheti az abszorpciós és emissziós spektrum eltolódását. Ha egy festék nagymértékben konjugált π -rendszerű, síkbeli szerkezettel rendelkezik, a molekulák hajlamosak aggregálódni és halmozott $\pi - \pi$ kölcsönhatásokat létrehozni, ami az aggregáció okozta kioltás (ACQ, *aggregation-caused quenching*) nevű jelenségben kioltja az emissziót. Ezzel szemben egyes színezékek, amelyek oldatban nem, vagy rosszul emittálnak, szilárd állapotban az intramolekuláris forgások és torziós rezgések korlátozása miatt erősen sugárzóvá válhatnak, ami az aggregáció által kiváltott emisszió (AIE, *aggregation-induced emission*) vagy aggregáció által indukált emissziófokozás (AIEE, *aggregation-induced emission enhancement*) néven ismert jelenség.¹⁰

3.1.3. Az ultraibolya és kék spektrális tartományban emittáló fluorofórok

Az UV-tartományban elnyelő fluorofórok nagy hátránya, hogy alkalmazásuk élő szervezetekben az UV fény erős károsító hatásai miatt limitált. Emellett nehéz megkülönböztetni ezen markerek fluoreszcenciajeleit a sejtek autofluoreszcenciájától. A pirénszármazékok (4. ábra, 2) egyik klasszikus példái a közeli UV-tartományban emittáló fluorofóroknak: $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 376 \text{ nm}$, magas $\Phi = 0,75$ kvantumhatékonyság, kémiai stabilitás és hosszú fluoreszcencia-élettartam jellemzi őket, ami lehetővé teszi, hogy a fluorofór molekulák az emissziós spektrumban batokrómm eltolódással rendelkező excimereket (*excited dimer*, gerjesztett dimer) képezzenek. A pirének e tulajdonságait a fehérjeszerkezet konformációs változásainak megfigyelésére és egyes fémionok koncentrációjának meghatározására használják. A pirénszármazékokat, például a 8-hidroxi-1,3,6-piréntrisulfátot (4. ábra, 3), röviden piranint pH-indikátorként vagy Cu^+ -ionok érzékelőjeként is használják.¹¹

A 8-karboximetilpiranin származék (4. ábra, 4) fényes és fotostabil, az ibolyántúli tartományban emittáló jelzőként használható sejtes elemek többszínű jelölésére.⁹

A kumarinszármazékokon alapuló fluoreszcens festékeket széles körben alkalmazzák kemoszenzorokként és biomolekulák jelölésére. A kumarin 7-es pozíciójába bevitt, preferáltan elektronküldő szubsztituens a spektrum látható tartományában emittáló fluorofórokat eredményez, amilyen például a 7-hidroxi-4-metilkumarin (4. ábra, 5). Ezt a fluorofórt $\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 450 \text{ nm}$, $\varepsilon = 1,7 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,63$ jellemzi. A 7-hidroxikumarinszármazékok a foszfatáz aktivitás sejten belüli fluoreszcens szenzoraiként működnek; vegyes karbonátjai a lipáz- és az észteráz-aktivitás meghatározására szolgálnak, mivel észter formája sötét, hidrolízis után pedig fluoreszcenciája helyreállítódik. Egy rokon vegyület, a 7-amino-4-metilkumarin (4. ábra, 6) pH > 5-nél a hidroxiszármazékkal azonos spektrális tulajdonságokat mutat.⁹

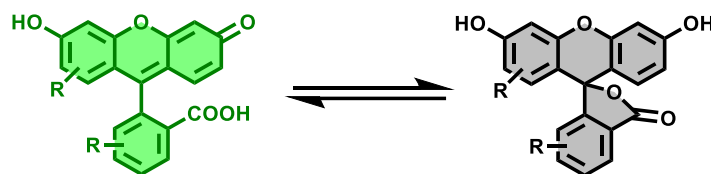


4. ábra: Az UV-tartományban (< 400 nm) emittáló fluorofórok

3.1.4. A zöld-sárga spektrális tartományban emittáló fluorofórok

A fluoreszcein, mely az egyik legismertebb fluorofór, egyedülálló tulajdonságokkal rendelkezik: vizes oldatokban hét prototróp formában létezhet, beleértve a biológiailag legfontosabbakat – a monoanionos és dianionos formákat –, amelyek $pK_a \sim 6,4$ -en alakulnak át. A dianionos forma maximális fluoreszcenciát mutat ($\lambda_{\text{ex}} = 490 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 514 \text{ nm}$, $\varepsilon = 9,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,95$). A fluoreszcein-származékok pH-érzékenységét fluoreszcens pH-indikációra használják fel. Egyéb származékok különböző fémionok érzékelésére alkalmasak, például a Fluo-3 ($\lambda_{\text{ex}} = 506 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$, $\varepsilon = 8,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ és $\Phi = 0,15$), vagy Oregon Green-BAPTA-1 ($\lambda_{\text{ex}} = 493 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 522 \text{ nm}$, $\varepsilon = 7,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ és $\Phi = 0,7$) az élő sejtekben levő kalciumionok koncentrációjának mérésére. A fluoreszcein két egyensúlyi formában létezik: a lakton és a kinoidális formában (5. ábra). A fenilcsoportok

acilezése vagy alkilezése a molekula fluoreszcencia nélküli lakton formában való rögzítését eredményezi, amely számos enzim fluorogén szubsztrátjainak szintézisére használható. A fluoreszcein alapú fluorofóroknak azonban komoly hátrányai is vannak. Jellemző rájuk a nagymértékű *photobleaching* (a fluorofór irreverzibilis fotokémiai károsodása, azaz kifakulása), illetve a kis Stokes-eltolódás.⁹

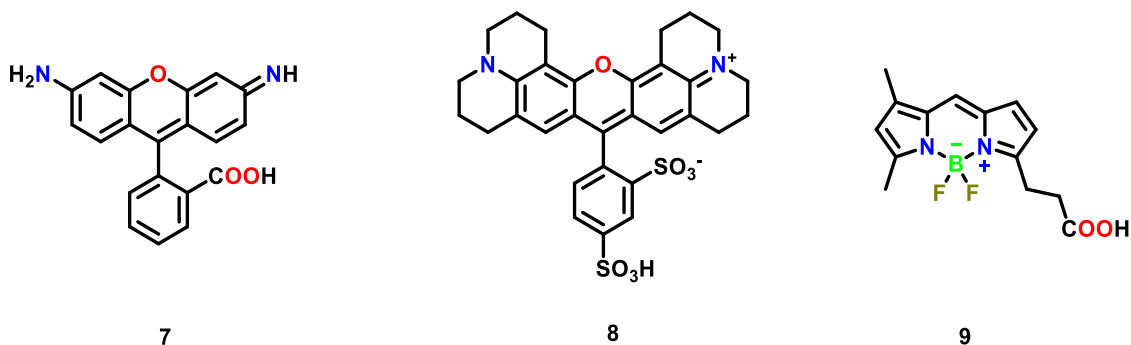


5. ábra: A fluoreszcein két egyensúlyi formája. A bal oldali nyílt forma fluoreszkál, míg a jobb oldali gyűrűs forma nem fluoreszkál.

A zöld tartományban emittáló szintetikus fluorofórok másik csoportja a rodaminszármazékokon alapul, melyekre alacsony Stokes-eltolódás jellemző, illetve gyakran toxikusak is. A rodamin vázába különböző szubsztituensek bevitele lehetővé teszi a spektrális jellemzők hangolását. A legismertebb példa a *rhodamine 110* ($\lambda_{\text{ex}} = 497 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 520 \text{ nm}$, $\epsilon = 7,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,88$; 6. ábra, 7). A négytagú azetidinyűrűk bevitele a két nitrogénatomnál jelentősen növeli a fluorofór kvantumhatékonyságát és fényességét, míg a négy metilcsoport beépítése az N,N' atomoknál a gerjesztési és emissziós maximumokat a vörös hullámhosszú tartomány felé tolja el ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 548/572 nm), de csökkent a fluorofór kvantumhatékonyságát vizes oldatokban ($\Phi = 0,41$). Az aminocsoportok helyett merev gyűrűs rendszereket tartalmazó rodaminokat nagyobb kvantumhatékonyság jellemzi; spektrumuk a magas hullámhossz-tartomány felé tolódik el. Különösen a *sulforhodamine 101*-et (6. ábra, 8) és származékait – a sejtbiológiában leggyakrabban használt fluorofórokat – érzékenyítőként is használják a fotodinamikus terápiában. A fluoreszceinnel együtt a rodaminok a FRET-párok (*Förster resonance energy transfer*, Förster-féle rezonáns energiaátadás) alkotóelemei. A rodamin mindkét aminocsoportjának helyettesítésével nem fluoreszkáló származékokat kaphatunk. Ezt a tulajdonságot fotoaktiválható rodamin-analógok és fluorogén szubsztrátok szintézisének használják ki az enzimkatalízis mechanizmusainak tanulmányozásakor. Ezenkívül a rodaminszármazékokat pH- és egyes fémionok indikátorainak tervezésekor is alkalmazzák.⁹

A széles körben BODIPY néven ismert bórdifluorodipirrometén-alapú vegyületeket fluoreszcens jelölőanyagok szintetizálására használják, többek között az élő sejtekben levő biomolekulák jelölésére. Nagy fotostabilitás és kvantumhatékonyság, semleges töltés, valamint keskeny abszorpciós és emissziós sávok jellemzik őket. A festékek ezen csoportja bizonyos

szubsztituensekkel a kívánt hullámhosszra hangolható. E fluorofórok széles körű alkalmazása azonban korlátozott, mert vízben való oldhatóságuk gyenge. Néhány BODIPY fluorofór a fluoreszceinhez hasonló spektrális tulajdonságokkal rendelkezik, például a BODIPY FL ($\lambda_{\text{ex}} = 505 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 511 \text{ nm}$, $\epsilon = 9,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,94$; 6. ábra, **9**). A BODIPY-k és a későbbiekben még említésre kerülő származékaik hátrányos tulajdonsága a nagyon alacsony Stokes-eltolódás ($\Delta\lambda \sim 10\text{-}20 \text{ nm}$), ebből kifolyólag nagy koncentrációban alkalmazva őket, önkilótoak.



6. ábra: A rhodamine 110 (**7**), a sulforhodamine 101 (**8**) és a BODIPY FL (**9**)

3.1.5. A vörös, a távoli vörös és a közeli infravörös spektrális tartományban emittáló fluorofórok

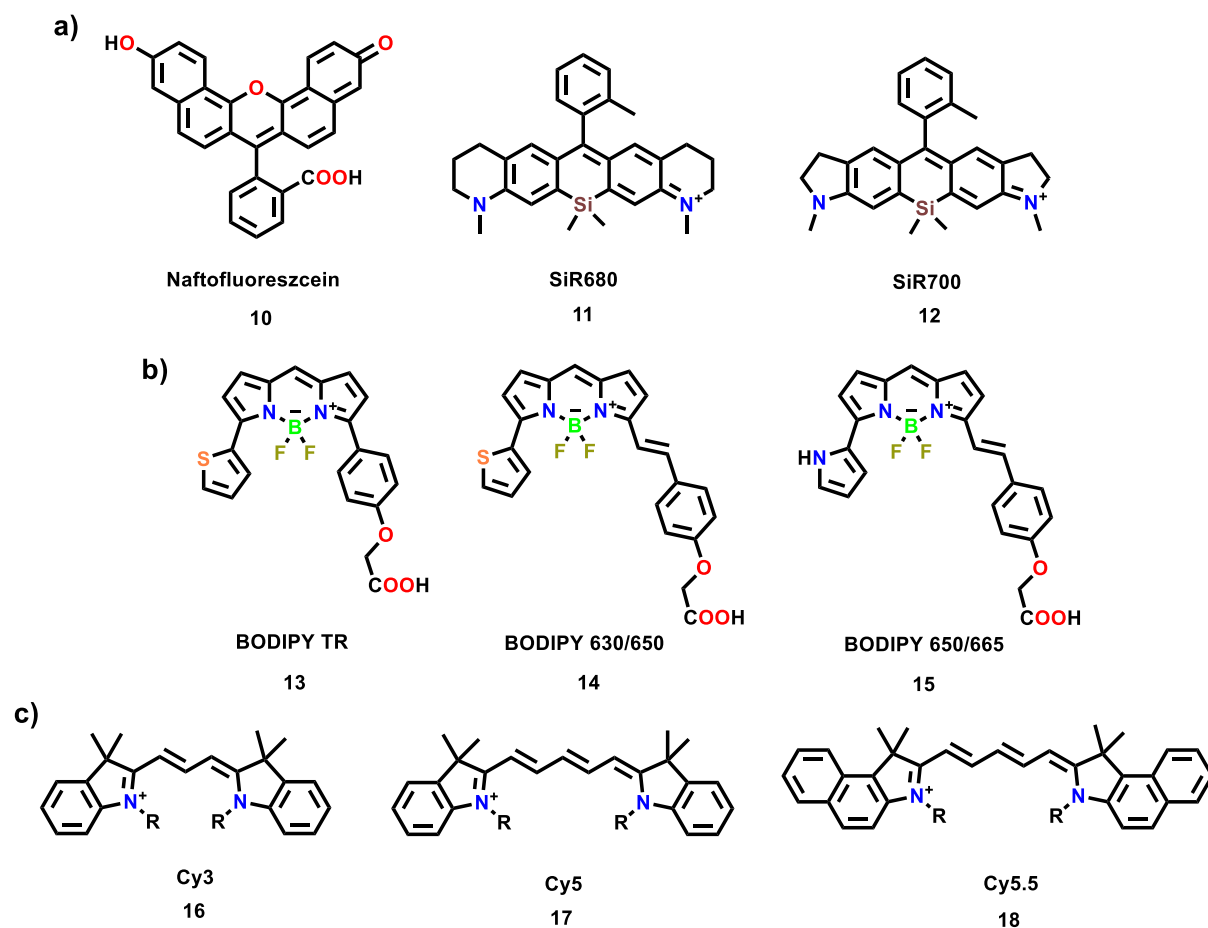
A legnagyobb érdeklődés a távoli vörös és a közeli infravörös spektrumtartományban emittáló fluorofórok iránt mutatkozik, mivel e vegyületek fényt gerjesztő fluoreszcenciája nem káros az élő rendszerekre. Ráadásul az infravörös sugarak sokkal mélyebben képesek behatolni az élő szövetekbe, mint a rövidebb hullámhosszú fény. Ezenkívül a távoli vörös és infravörös fluorofórokat használva a háttér-autofluoreszcencia gyakorlatilag nincs hatással a biomolekulák élő rendszerekben történő képződésére. Az ebbe a csoportba tartozó ismert szintetikus fluorofórok többségének az a jelentős hátránya, hogy vizes oldatokban a fluoreszcencia kvantumhatékonysága alacsony. E csoport fluorofórai közül különös figyelmet érdemes fordítani az aromás gyűrűk hozzákapcsolásával módosított xanténszerkezetű fluoreszcein- és rodaminszármazékokra. Ezek a szubsztituensek a fluoreszcencia spektrumban jelentős batokróm eltolódást okoznak. Az egyik ilyen származék, a naftofluoreszcein (7. ábra, **10**) lúgos közegben sokkal nagyobb hullámhosszon fluoreszkál ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 595/660 \text{ nm}$). Ennek a távoli vörös fluoreszcencia jelölőanyagának minden előnyét ellensúlyozza azonban az a tény, hogy alacsonyabb a moláris abszorpciós koefficiense ($\epsilon = 4,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) és a kvantumhatékonysága ($\Phi = 0,14$). A származékok ezen csoportját sikeresen alkalmazták szenzorként élő sejtekben.⁹

Az elmúlt évtizedben a kutatóknak sikerült olyan rodamin-származékokat előállítani, melyekben a két aromás gyűrűt összekötő oxigénatomot például szilíciumra cserélték. Az ilyen származékokat a szakirodalom szilikorodaminok néven ismeri, melyek nagy előnye, hogy nagyobb hullámhosszon képesek elnyelni, mint a rodaminok, és emellett megmaradtak a rodamin jó tulajdonságai is, mint a nagy vízdoldhatóság, ellenállás a *photobleaching*-gel szemben, illetve a nagy kvantumhatékonyság vizes oldatban. A SiR680 és SiR700 származékokat az alapvázhoz illesztett piperidin- és pirrolidinváz segítségével nyerték (7. ábra, **11** és **12**). Ezen molekulák vizes oldatban mért spektrális tulajdonságaik figyelemre méltóak: SiR680: $\lambda_{\text{ex}} = 674 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 689 \text{ nm}$, $\varepsilon = 1,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,35$; SiR700: $\lambda_{\text{ex}} = 691 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 712 \text{ nm}$, $\varepsilon = 1,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, és $\Phi = 0,12$. Hátránya azonban ezen vegyületeknek – a rodaminokhoz hasonlóan – a mérsékelt Stokes-eltolódás ($\Delta\lambda \sim 20 \text{ nm}$).⁹

Ha a korábban említett BODIPY FL molekulába további aromás szubsztituenst viszünk be, az a vörös és a távoli vörös tartományok felé tolja el az emissziót (BODIPY TR, BODIPY 630/650 és BODIPY 650/665) (7. ábra, **13-15**). A BODIPY-alapú jelzőanyag stabil fluoreszcens marker. Zhang és munkatársai, valamint Yang és munkatársai szintetizáltak azonban olyan fluorofórokat is, amelyeknek az optikai tulajdonságaik fotoaktiválás során vagy biomolekulákhoz való kötődéskor megváltoznak. A semleges töltésű BODIPY képes áthatolni a sejtmembránon; egyes származékai erős lipofil tulajdonságokkal rendelkeznek, ezért főleg a sejten belüli struktúrák membránjaiban halmozódnak fel. Emiatt a citoszólban elhelyezkedő biomolekulák képződéséhez hidrofil részeket tartalmazó, módosított BODIPY-származékokra van szükség. Korábban azt is megemlítettem, hogy a BODIPY-k a kis Stokes-eltolódásból adódóan önkioltásra hajlamosak. Ezt a tulajdonságot Jones és munkatársai arra használták ki, hogy BODIPY színezékekkel jelölt kazein fehérjével különböző proteázokat tudtak nagy érzékenységgel kimutatni. A kazein konjugátumokat úgy jelölték a festékekkel, hogy azok a fehérjében kioltódtak, mivel egymáshoz közel helyezkedtek el, és így nem fluoreszkáló szubsztrátmolekulákhoz jutottak. A proteolitikus enzimekkel történő emésztés során ezekből a molekulákból festékekkel jelölt kisebb peptidek szabadultak fel, amelyekben a festékmolekulák már nem voltak közel, így a módszer alkalmas volt az enzimaktivitás folyamatos követésére. A fluoreszcencia növekedése az enzimaktivitással arányos volt.¹²

A karbocianin színezékek, vagy más néven cianinok, különböző hosszúságú polimetilénláncokat tartalmazó vegyületek, amelyek két nitrogénatom között páratlan számú szénatomot tartalmaznak. Az ismertebb származékok alapszerkezetét a 7. ábra mutatja (7. ábra, **16-18**). E vegyületek szerkezete nagyon hasonlít a látópigment (rodopszin) kromofórhoz. Kihhasználva ezt a tulajdonságot, 2014-ben Yapici és munkatársai egy olyan

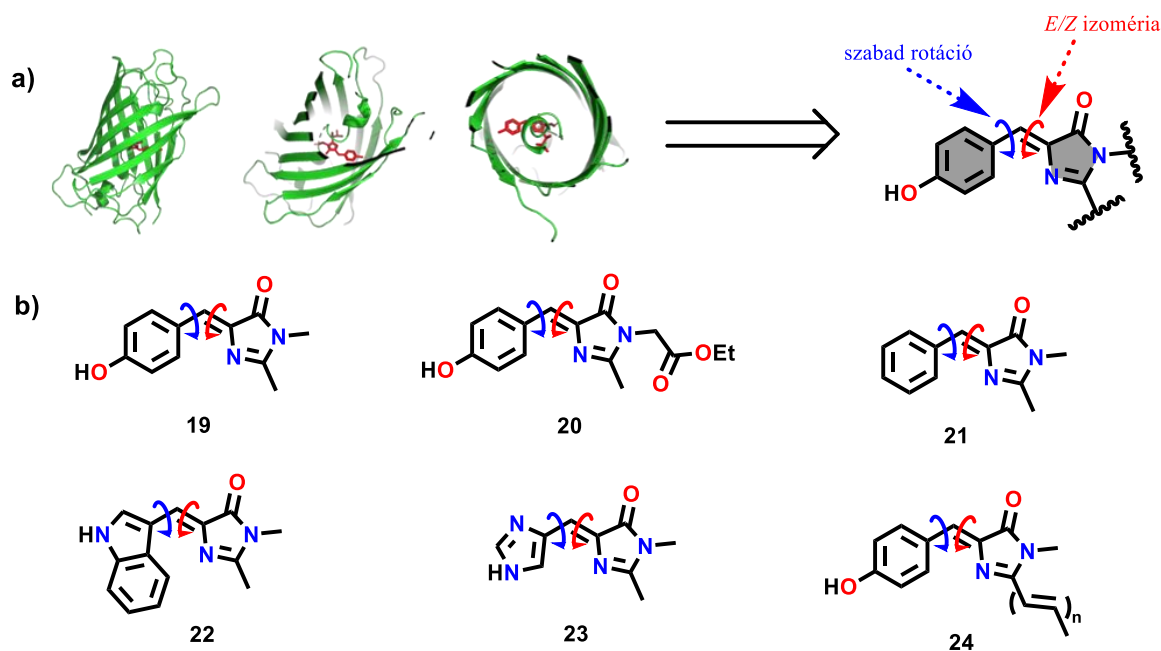
specifikus retinsavkötő fehérjét (CRABPII) kódoló szerkezetet terveztek, amely képes komplexálni a cianin festék egyik fluorogén származékát. Megállapították, hogy az eredeti profluorofórral ellentétben, a komplex fényessége és fluoreszcencia kvantumhatékonysága a távoli vörös tartományban jelentős mértékű, illetve élő *E.coli* baktériumsejtek képkalkotásához is elegendő szelektivitással rendelkezik.¹³ Azokat a jelölőket, amelyeknél csak egy terminális nitrogénatom vesz részt az aromás heterociklusban, hemicianin festékeknek nevezik. A hemicianinokat *in vivo* kísérletekben ratiometrikus fluoreszcens pH-érzékelőként alkalmazzák. A sztreptocianinok azok a cianinmarkerek, amelyekben a terminális töltéshordozó atomok közvetlenül a metilénláncához kapcsolódnak. A cianinokat magas moláris abszorpciós koefficiens (akár $300\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) és egyes vegyületeket nagymértékű vízzoldhatóság és pH-ra nem érzékeny fluoreszcencia jellemez.¹⁴ Az abszorpció és az emisszió eltolható a nagyobb hullámhosszak felé a polimetilénlánc hosszának növelésével vagy a terminális heterociklusos fragmentumok aromás egységgel történő beépítésével. Az előbbi azonban csak a 3-7 metilénegységet tartalmazó vegyületekre igaz, ugyanis ennél több egység esetén a kötések már szeparált π -kötésként viselkednek, ami miatt a konjugáció gyengül. A polimetilén lánc hosszának két szénatommal történő növelése körülbelül 100 nm-rel, míg a benzolgyűrű beépítése a terminális indolrészhez (a vegyület nevét ilyenkor egy „5” jelöléssel látják el, például Cy5.5) hozzávetőlegesen 30 nm-rel tolja el az abszorpciós maximumot.^{9,14}



7. ábra: A vörös tartományban emittáló fluorofórok: **a)**: xanténvázis vegyületek (**10-12**); **b)**: BODIPY-származékok (**13-15**); **c)**: cianinok (**16-18**)

3.2. A GFP-kromofór jelentősége

A zöld fluoreszcens fehérje (GFP, *green fluorescent protein*) az *Aequora Victoria* medúza fénykibocsátó fehérjéje, amely élénkzöld, fluoreszkáló emisszióval rendelkezik. A kémiai Nobel-díjat 2008-ban Osamu Shimomura, Martin Chalfie és Roger Tsien kapták a GFP felfedezésével és izolálásával kapcsolatos munkájukért. Az egyik előnye, hogy a GFP könnyen összekapcsolható az érdeklődésünk tárgyát képező fehérjével (POI, *protein of interest*, a leíró név és az aminosav szekvencia alapján azonosított fehérje) az organizmusok genetikai módosításán keresztül, amely által a kívánt sejtrészekhez lokalizálható, vagy az érdeklődésünket képző proteinek jelölésére használható. A lumineszcenciáért felelős kromofór a *p*-hidroxi-benzilidénimidazolinon (*p*-HBDI), amely a fehérje hajtogatódása során a β -hordó szerkezeten belül alakul ki a Ser-Tyr-Gly tripeptid autokatalitikus dehidratációja révén. Azonban a *p*-HBDI önmagában, oldatban izolálva nem emittál.^{10,15} A GFP-analógok kromofórai hasonló kondenzációs/oxidációs úton jönnek létre más tripeptidekből (például a kék fluoreszcens fehérje, BFP, *blue fluorescent protein*, Ser-His-Gly-ből; cián fluoreszcens fehérje, CFP, *cyan fluorescent protein*, Ser-Trp-Gly-ből). A GFP kromofórait (8. ábra, **19** és **20**)^{10,15} és pontmutánsait (**21** a GFP Y66F mutánsát; **22** a GFP Y66W mutánsát képviselő cián fluoreszcens fehérje; **23** a GFP Y66H mutánsát képviselő kék fluoreszcens fehérje); vagy a természetben előforduló analógokat (**24** a vörös fluoreszcens fehérje, RFP, *red fluorescent protein*) a kutatók sikeresen előállították és tanulmányozták is oldatban. Valamivel rövidebb hullámhosszon fluoreszkálnak, mint a kiindulási fehérjék, illetve rendkívül alacsony a kvantumhatékonyságuk.¹⁵ A kromofórok fluoreszcens emissziójának megszűnését általában a molekula belső forgásai, például az aril-alkén kötés hő hatására bekövetkező rotációja miatti sugárzásmentes átmenetnek tulajdonítják (8. ábra, **kék nyíl**). A benzilidén kettős kötés fotoizomerizációja szintén felelős az emisszió kioltásáért, amely a fluorofórokat az emittáló konformációból (*Z*-izomer) a nem emittáló konformációba (*E*-izomer) alakítja át (8. ábra, **piros nyíl**). Továbbá a vizes közeg poláris jellege a β -hordós fehérjeszerkezetekben lévő apoláris környezethez képest szintén hozzájárulhat a fluoreszcencia-csökkenéshez.^{10,15}



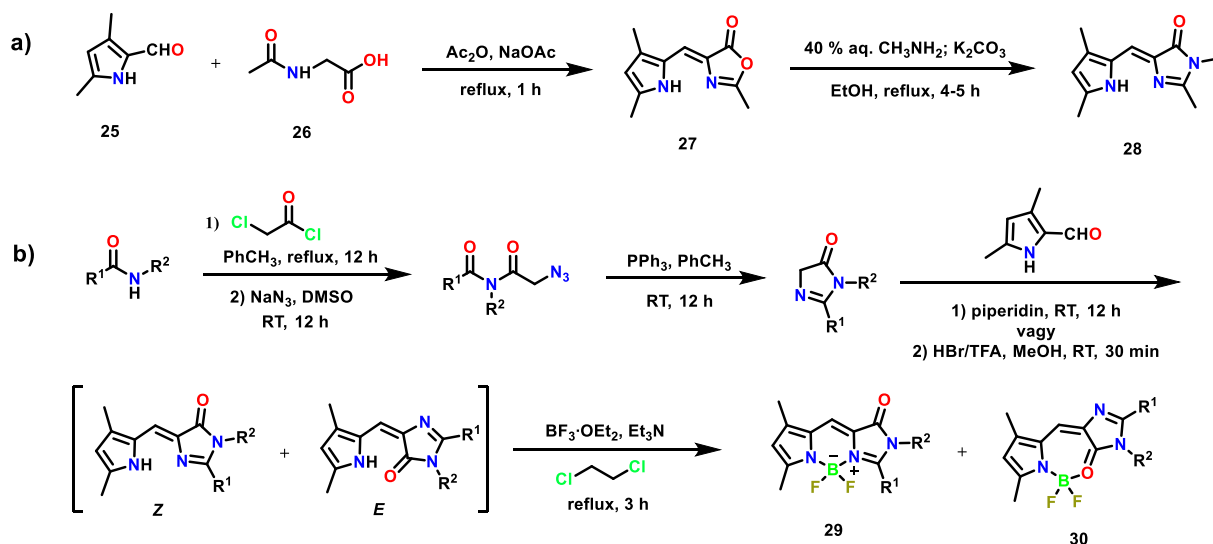
8. ábra: **a)**: A GFP kromofórja kötött és szabad állapotban; **b)**: a GFP kromofórait reprezentáló molekulák (19, 20), ismert pontmutációi (21-23) és a természetben előforduló analóg (24).

A kromofór elhelyezkedése a fehérje β -hordójában blokkolja a kromofór belső forgásait és a szén-szén kettős kötés *E/Z* izomerizációját egy hidrogénkötés-hálózat segítségével (8. ábra). Ez a blokkolás visszaszorítja a sugárzásmentes átmenet valószínűségét, és elősegíti a sugárzás folyamatát, fokozva ezzel a fluoreszcencia emissziót. A GFP-kromofór (GFPc, GFP *chromophore*) emissziós intenzitásának fokozására különböző stratégiákat dolgoztak ki, amelyek különféle eljárásokat és módszereket foglalnak magukban, beleértve a kristályosítást, a makrociklusba való kapszulázást, a fémekkel vagy bórral történő komplexképzést vagy a kémiai módosításokat.¹⁵⁻¹⁸ Emellett a GFPc szerkezetének módosítását is elvégezték, hogy megpróbálják hangolni az emisszió színét.^{10,19}

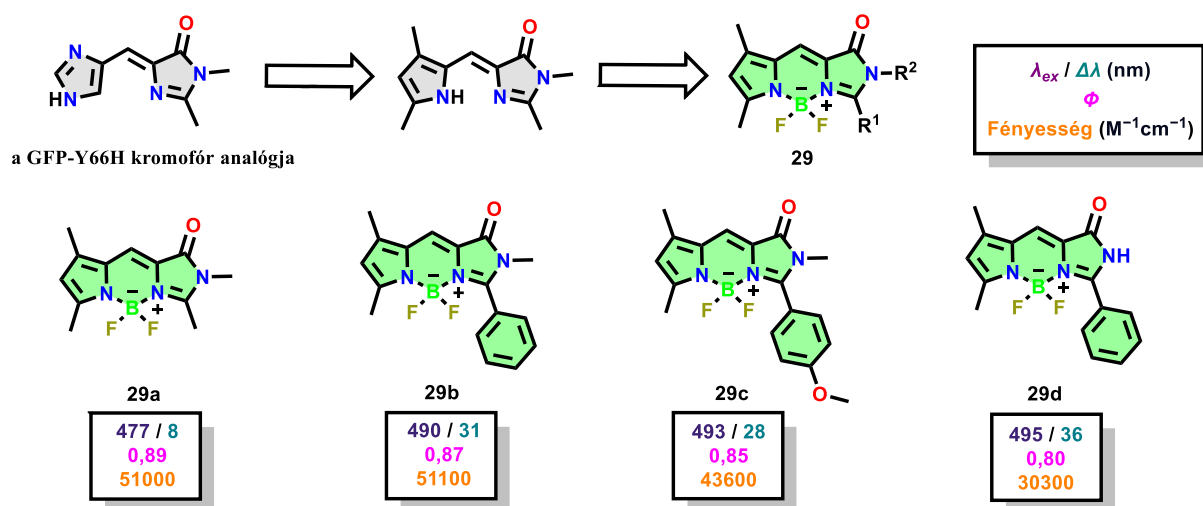
A GFPc-analógok szintézisét illetően két fő stratégiát alkalmaznak széles körben: az Erlenmeyer-azlaktonszintézist (9. ábra, **a**) és a Knoevenagel-kondenzációt (9. ábra, **b** első sor). Az Erlenmeyer-azlaktonszintézis hippursav- vagy acetursav-származékoknak aldehidekkel történő kondenzációján alapul, míg a Knoevenagel-kondenzáció során a két lépésben kialakított imidazolidinon vázat reagáltatják aldehiddel.^{10,15}

2007-ben Wu és Burgess azt vizsgálták, hogy bóratom beépítésével elő lehet állítani a GFP-kromofór erősen fluoreszkáló analógjait. Konceptiójukat és az általuk előállított vegyületek egy részét a 10. ábra mutatja be. Feltételezték, hogy a bóratom beépítése megakadályozza az aril-alkén kötés szabad rotációját, így ezek a kromofór-analógok erősen

fluoreszcensek lehetnek oldatban. Továbbá a **29** célmolekulák szerkezete emlékeztet a BODIPY osztályba tartozó, intenzíven fluoreszkáló festékek szerkezetére. Munkájuk során Knoevenagel-kondenzációval, majd ezt követően bór-trifluorid-éter komplex segítségével állították elő a 10. ábrán látható vegyületeket. Kezdetben úgy gondolták, hogy a szintézis fő kihívása az volt, hogy a Knoevenagel-kondenzáció után keletkező vegyületek hajlamosak *E/Z*-izomerek keverékeként képződni (9. ábra, szögletes zárójel), de később megállapították, hogy ezek az anyagok a reakció körülményei között izomerizálódnak, melyből a **29** és **30** molekulák keletkeznek. Egykristály röntgen analízis segítségével megállapították, hogy az *E*-izomerben a karbonil C=O kötés rövidebb, mint a *Z*-izomer esetén, mivel a **30** molekulában a bóratom közvetlen koordinálódik a karbonil-csoport oxigénatomjával. A spektroszkópai vizsgálatok eredményéből látható, hogy a mindkét pozíciójában metil-szubsztituált **29a** vegyület alacsonyabb gerjesztési hullámhosszal, illetve Stokes-eltolódással rendelkezik, mint a **29b-d** vegyületek az elektronküldő aril-szubsztituens hiánya miatt. Ennek ellenére az előállított GFP-kromofór hibridek kvantumhatékonysága, illetve extinkciós együtthatója, és ebből következően a fényességük kiemelkedően nagynak bizonyult, ahogyan ez a BODIPY fluorofórokra jellemző. Munkásságuk bizonyította, hogy a fehérje β -hordójában kötve a GFP-kromofórok nagyobb kvantumhatékonysággal rendelkeznek.



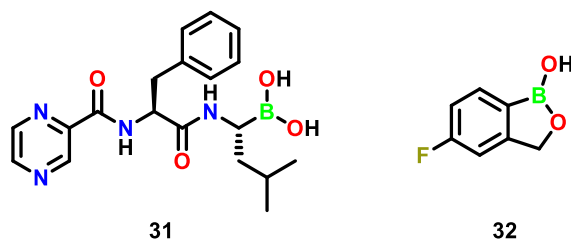
9. ábra: **a)** Erlenmeyer-azlaktonszintézis; **b)** Knoevenagel-kondenzáció, illetve Wu és Burgess munkája



10. ábra: Wu és Burgess által előállított rögzített GFP kromofór analógok és spektroszkópiai jellemzőik MeOH-ban, ami poláris oldószerként jól reprezentálja az élő szervezetet.

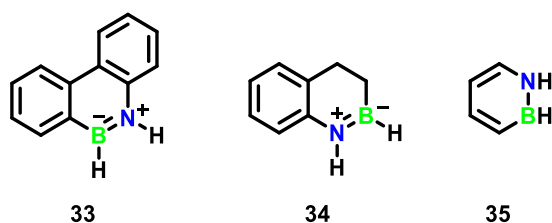
3.3. Bórtartalmú heterociklusos vegyületek

Ha egy hármas koordinációs számú bórcentrumot beépítünk egy policiklusos aromás szénhidrogénbe úgy, hogy az egyik C–C kötést egy izoelektromos B–N kötéssel helyettesítünk, akkor az eredetinel merevebb és planárisabb policiklusos aromás azaborin-vegyületet kapunk.²⁰ Ezekben a vegyületekben a nitrogén π -elektronokat képes donálni a bór üres p-pályájára, kialakítva ezzel egy π -kötést. Elméleti tanulmányok szerint a borazin csökkent aromás jelleggel rendelkezik, a bór és a nitrogén közötti elektronegativitásbeli különbség miatt.^{21,22} Az aromás azaborin-vegyületek olyan fontos tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például megnövekedett fluoreszcencia-intenzitás, termikus és fotokémiai stabilitás, nagy moláris abszorpciós koefficiens, nagy fluoreszcens kvantumhatékonyság, valamint nagy Stokes-eltolódás, illetve hangolható abszorpciós és emissziós spektrum.^{23–26} Ezenkívül a B–N kötés beépítése sajátos aggregációs folyamatokat is kivált a molekulában.²⁷ Ezen anyagok potenciálisan alkalmazhatók molekula-szenzorokként, továbbá szerves fénykibocsátó diódákban (OLED, *organic light-emitting diodes*)^{2,28–30}, szerves mezőhatású tranzisztorokban (OFET, *organic field effect transistors*)^{31–34}, lézeres optikai felvételekben (szilárdtest-lézerekben)^{35–40} és hidrogéntároló anyagokban.⁴¹ A szerves bórvegyületekre a gyógyszerkémiaiában is egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik, ugyanis ezen vegyületek metabolitjainak – főleg a bórsavnak – korlátozott a toxicitása. Ilyen széles körben alkalmazott bórvegyületek például a rákellenes hatású bortezomib (11. ábra, **31**), illetve a helyi gombaellenes hatású tavaborole (11. ábra, **32**).^{42–47}



11. ábra: A bortezomib (31) és a tavaborole (32)

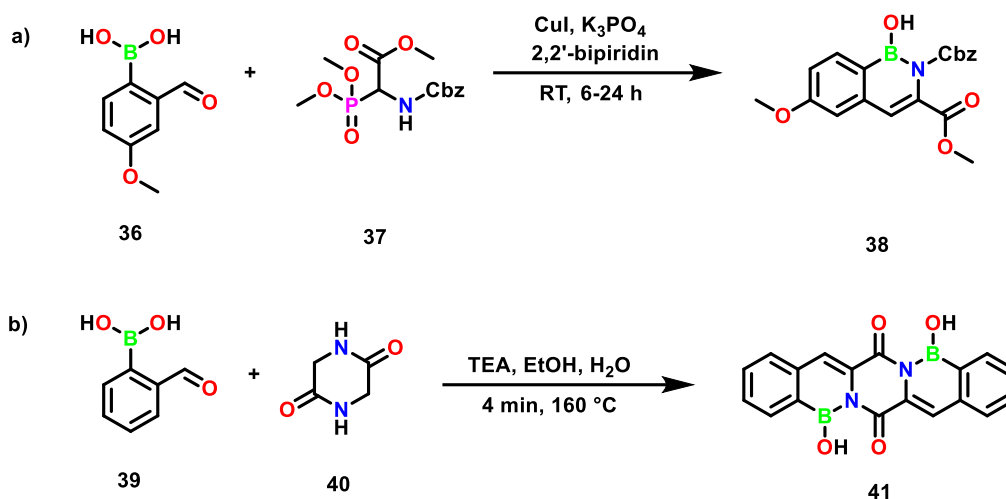
Az aromás azaborin vegyületek kedvező elektronikus és optikai tulajdonságai miatt előnyösek lehetnek a szerves optoelektronikai anyagokban. Deward és munkatársai az 1950-es évek végén szintetizálták az első aromás azaborin-vegyületeket, a 9,10-azaborafenantrént (12. ábra, 33) és az azaboranaftalint (12. ábra, 34).^{48,49} Megállapították, hogy az azaborinok elektrofil aromás szubsztitúción mennek keresztül, illetve nagyfokú rezonancia-stabilitással is rendelkeznek.⁵⁰ 1960-ban előállították az első monociklusos 1,2-azaborint (12. ábra, 35), amelyről megállapították, hogy az aromás azaborángyűrű stabilizálja. 2000-ben Ashe és munkatársai érték el áttörést az 1,2-azaborinok szintézisének optimalizálásában, mely során egy gyűrűzáró metatézis/oxidációs módszert alkalmaztak.⁵¹ A közelmúltban Liu és munkatársai mutatták be az 1,2-azaborinok előállítását a bórhoz kapcsolódó különféle szubsztituensekkel (H, Bu, vinil, feniletinil, NMe₂, SBn, O^tBu és OCH₂COOMe). Ezzel az új módszerrel jó termeléssel állították elő az 1,2-azaborin-származékokat, így a Liu-csoport elkészített egy nagy molekula-könyvtárat ezen vegyületekből.⁵²



12. ábra: A 9,10-azaborafenantrén (33), az azaboranaftalin (34) és az 1,2-azaborin (35)

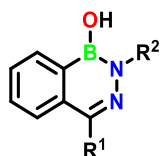
A szakirodalom szerint az aromás azaborinokról (1-hidroxi-2,1-benzo[*c*]-1,2*H*-azaborin) eddig csak néhány közlemény jelent meg. A közölt szerkezetek közül csupán kettő hordoz 3-karboxilát részt.⁵ Ilyen szerkezetű molekuláról először 2015-ben számolt be Choi és Lim, akik egy one-pot Horner-Wadsworth-Emmons olefinálás eredményeként a célmolekula indol-származék helyett a kapott vegyület az *N*-karboxibenzil-1-hidroxi-6-metoxi-2,1-benzo[*c*]-1,2*H*-azaborin-3-karboxilát volt, annak ellenére, hogy a reakciót Cu-katalizált körülmények közt hajtották végre (13. ábra, a).⁵³ Néhány éve Lescure és munkatársai 2-formilfenilboronsavakból állítottak elő policiklusos azaborinokat

mikrohullámú reaktorban (13. ábra, **b**).⁵⁴ Rajtuk kívül még Saint-Louis és munkatársai, valamint Gwynne és munkatársai használták a 2-formilfenilboronsavat kiindulási anyagként azaborinok előállításához.^{55–57} Ezekben a kísérletekben a jellemző nitrogénforrás egy laktám volt.⁵⁴ Ezzel szemben a Lescure-csoport etil-glicinátot és 1-acetil-3-indolinont, a Choi-csoport pedig *N*-Cbz-foszfoniil-glicin-trimetil-észtert használtak nitrogénforrásként.



13. ábra: **a**): Choi és Lim munkája, **b**): Lescure munkája

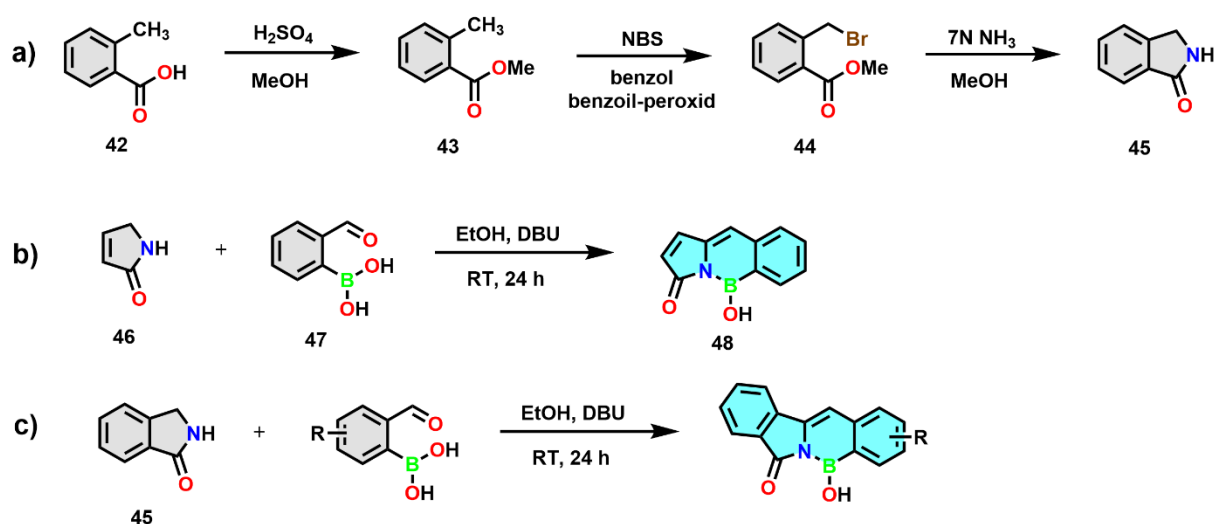
A hármas koordinációjú bórtartalmú heterociklusok Lewis-savas tulajdonsága miatt több kutatócsoport is vizsgálta egyes anionok, például fluorid- és cianidionok optikai érzékelését.⁵⁸ A fluoridion az egyik legfontosabb anion az emberi egészség és a környezetvédelem szempontjából.⁵⁹ A B–N heterociklusok közé tartoznak a hidroxilált azaborinok, ahol az –OH-csoport közvetlenül a gyűrűben levő bórhoz kapcsolódik. Bár ezekben a típusú vegyületekben rejlő lehetőségek még nagyrészt feltáratlanok, és az anionokra reagáló funkcióját szintén nem írták még le az irodalomban. Dewar és Dougherty közlése óta a kutatók az 1-hidroxi-2,3,1-benzodiazaborinokat – az izokinolin B–N izosztereit –, mint biológiailag aktív molekulák előállításának lehetséges útvonalaként vizsgálják (14. ábra).^{60–62}



14. ábra: 1-hidroxi-2,3,1-benzodiazaborinok

A közelmúltban nagy érdeklődés mutatkozott a bórsavakat (HB(OH)₂) vagy boronátésztereket (HB(OR)₂) tartalmazó vegyületek iránt, mint a Suzuki-Miyaura keresztkapcsolási reakció szintonjai, és mint molekuláris szenzorok.⁵⁷ Ezen vegyületeket

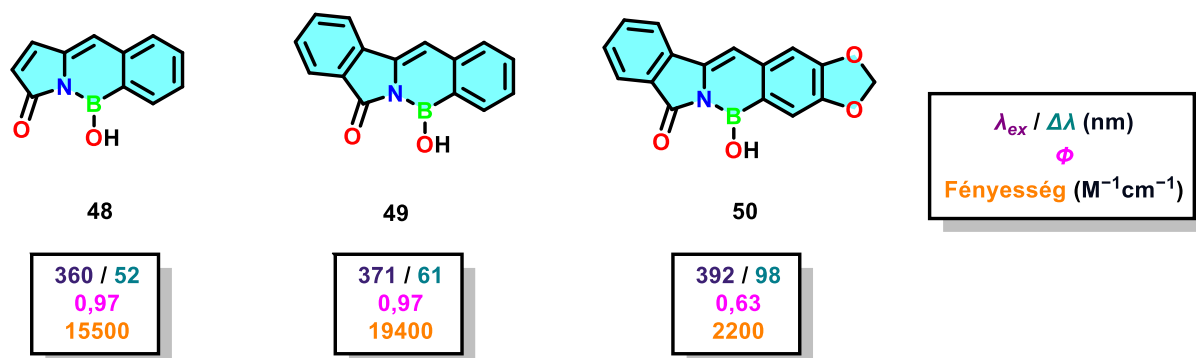
potenciális biológiai aktivitásuk miatt is vizsgálták. Az α -aminosav-származékok például jól ismertek arról, hogy szerin proteáz inhibitorokként működnek. A korábban már említett bortezomib (11. ábra, **31**) egy bórsav dipeptid, amely hatásosan, szelektíven és reverzibilisen gátolja a 26S proteaszómát, és amelyet kifejezetten emberi daganatok terápiájára fejlesztettek ki.⁶³ A Nemzeti Rákkutató Intézetben (*National Cancer Institute*) végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a bortezomib 60 sejtvonalon átlagosan 7 nM-os IC₅₀-értékkel gátolta a daganatos sejtek szaporodását. A bórtartalmú aminosav-származékokat a rák kezelésére szolgáló bórneutron-befogásos terápiában való felhasználásuk szempontjából is vizsgálták.⁶⁴ Sajnálatos módon a bórtartalmú aminosav-származékok előállítása némileg korlátozott a Lewis-savas tulajdonságú bórsav-csoport érzékenysége és számos szintetikus módszerrel való összeférhetlensége miatt.⁵⁷



15. ábra: Saint-Louis munkája: **a)** Izoindolinon előállítása; **b)** Dihidro-pirrol-2-on reakciója formilfenilboronsavval; **c)** Izoindolinon reakciója formilfenilboronsavakkal

2016-ban és 2017-ben Saint-Louis és munkatársai 1,5-dihidro-2*H*-pirrol-2-ont, valamint izoindolinont kapcsoltak különféle 2-formilfenilboronsav-származékokkal (15. ábra, **b** és **c**). Az izoindolinont *o*-toluilsavból kiindulva, egy észteresítést követő aril-metil brómozás utáni gyűrűzárási reakcióval állították elő (15. ábra, **a**). Néhány általuk előállított molekula szerkezete és azok spektroszkópai jellemzői a 16. ábrán láthatók. Egy elektronküldő fenilcsoport bevitele a molekula bal oldalára növeli a HOMO pályaenergíát, valamint a vörös tartomány felé tolja el az abszorpciós hullámhosszat, ahogy ez a **48**, illetve a **49** és **50** vegyületek esetén látható. Továbbá egy metiléndioxi rész beépítése a **49** molekula jobb oldalára szintén vöröseltolt abszorpciós hullámhosszat, illetve megnövekedett HOMO pályaenergíát eredményez. Számítógépes vizsgálataik azt is megmutatták, hogy a bórcentrum üres p-pályája

átlapol a szomszédos π -rendszerrel vagy heteroatommal, mint például az oxigénnel vagy a nitrogénnel, ami a fluoreszcencia intenzitásának növekedéséhez vezet. A nagy kvantumhatékonyságuk ellenére jelen molekulák fényessége nem túl nagy.^{55,56}



16. ábra: Saint-Louis és csoportja által előállított azaborinok és ezek spektroszkópai jellemzői MeCN-ben

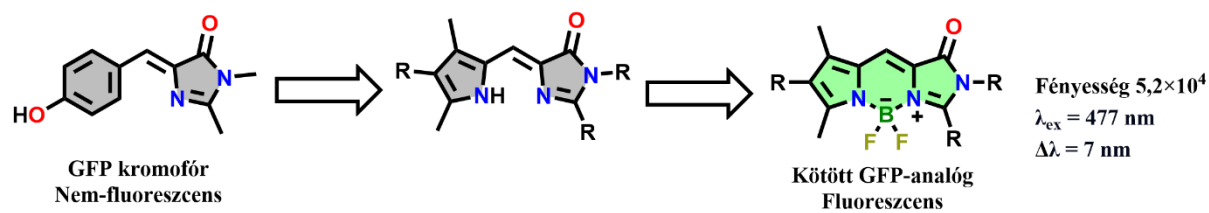
4. Célkitűzés

Új anyagok, fluoreszcens vegyületek és bór alapú gyógyszerek kifejlesztése új szintetikus módszereket igényel. Mindazonáltal a policiklusos π -konjugált azaborin molekulák és származékai továbbra is ritkábbak, mint a nagyszámú C–C-tartalmú, illetve a heterociklusos aromások. Az azaborin vegyületek előállítása általában nagy kihívást jelent, és gyakran többlépéses reakciók, vagy átmeneti fém katalizátor használatát igénylik. Emiatt rendkívül fontos a B–N-tartalmú aromás vegyületek hatékony és egyszerű szintézisének kifejlesztése ezen molekulák alkalmazásához. Az ilyen típusú molekulák emiatt igencsak felkeltették érdeklődésünket, ami a jelen munka koncepciójának (17. ábra) megszületéséhez vezetett. *Burgess* úttörő 2008-as munkája rávilágított, hogy a GFPc konformációs mozgásának permanens gátlásával rendkívül hatékony és fényes zöld fluorofórok állíthatók elő, amelyek tulajdonságaikban emlékeztetnek a BODIPY vázas vegyületekre. Utóbbi nem meglepő, hiszen szerkezetük is hasonlatos. A *Saint-Louis* munkájában bemutatott azaborinok ezzel szemben kevésbé fényesek és a kék tartományban nyelnek el. Munkám inspirációját Koós Katalin, témavezetőm korábbi hallgatójának szakdolgozata adta, amelyben az itt leírtakhoz hasonló azaborinszármazékokat állított elő.⁶⁵ Katalin kutatásából kiderült, hogy 2-formilfenilboronsavak különféle imidazolinonokkal az irodalmi ismertetőben leírt módon Knoevenagel-kondenzációs reakcióban vesznek részt, amelyek GFPc analógokat eredményeznek. Mitöbb, az így kapott intermedier azonnal tovább is alakul, az imidazolinon egyik N-atomja támadja a bórcentrumot, és így zárt GFPc analógok állíthatók elő. Az említett dolgozatban a vegyületek spektroszkópai tulajdonsága nem volt részletesen tanulmányozva, valamint az alapváz imidazolinon-oldalán történő szubsztituáció által okozott különbségek nem képezték a vizsgálat tárgyát. Munkámban célul tűztem ki, hogy az említett vegyülettípus több képviselőjét előállítom, a különféle analógok közül pedig várakozásaim szerint kikerülhetnek fényes, nagy Stokes-eltolódású fluorofórok. Emiatt spektroszkópai tulajdonságaik részletes vizsgálatát is célul tűztem ki, a kapott eredményekből pedig a szerkezet és tulajdonságok közötti összefüggésekre is kíváncsi voltam. Végül legfontosabb célom az volt, hogy a potenciálisan jó tulajdonságokkal rendelkező fluorofórok alapján biológiai felhasználásra próbálom meg gyakorlati hasznú vegyületeket előállítani.

Korábbi kísérletek:

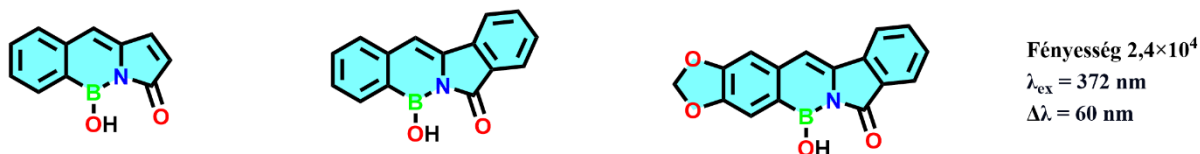
Kötött GFP-kromofórokra alapuló fluoreszcens festékek

Wu, L., Bruggess, K., *JACS* 2008, 130, 4089-4096



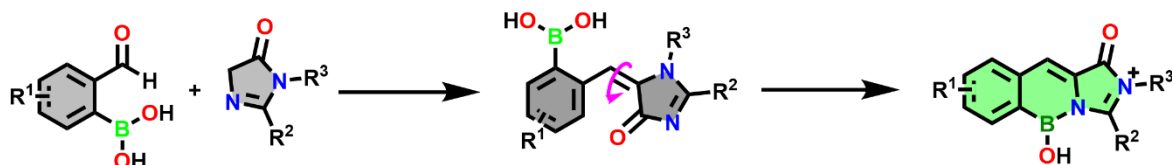
Azaborin-alapú fluorofórok

Saint-Louis, C.J., *et. al.*, *JOC* 2016, 81, 10955-10963



Saját munkám:

GFP-kromofór által inspirált, azaborin heterocikluson alapuló fluorofór

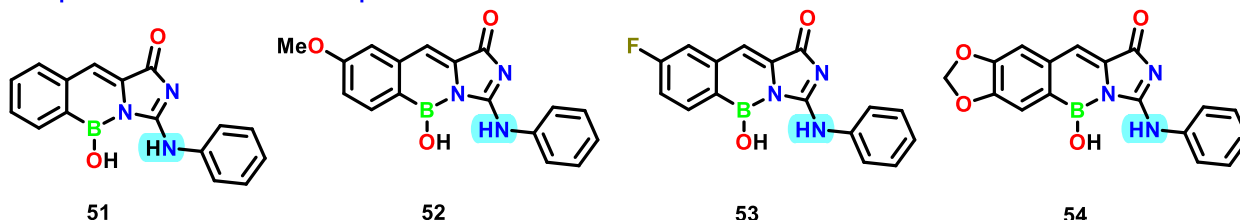


17. ábra: Az irodalmi adatok alapján a kutatómunkám során előzetesen megfogalmazott koncepció.

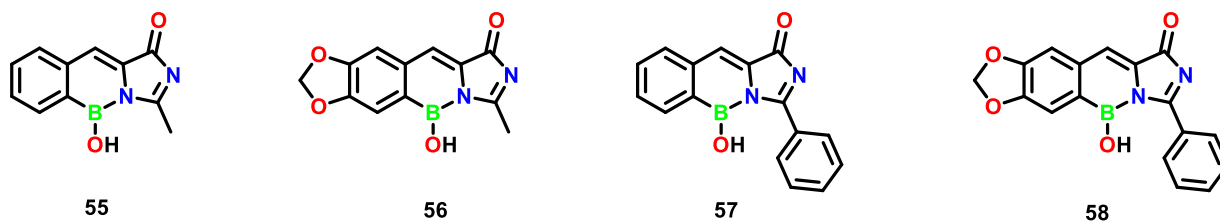
5. Eredmények és értékelésük

A 18. ábra az általam előállítani tervezett vegyületek szerkezetét mutatja. Ezeket attól függően, hogy az imidazolinon gyűrűhöz milyen szubsztituensek kapcsolódnak, három csoportra osztottam. Az 1. csoportba azok a vegyületek tartoznak, ahol a gyűrűhöz egy *N*-fenilcsoport kapcsolódik; a 2. csoportba azok, ahol metil- vagy fenilcsoport kapcsolódik; míg a 3. csoportot azon molekulák alkotják, ahol a metil- vagy fenilszubsztitúció mellett a nem anellációs pontban levő nitrogénhez egy metilcsoport kapcsolódik. Ezek közül azonban csupán 6 molekulánál jutottam el a szintézissor végéig, mivel a többi esetben vagy az intermedierek előállítása, vagy az utolsó lépésben a kapcsolás volt sikertelen. Így a következőkben csak a sikerrel végigvitt vegyületek szintézisét közlöm.

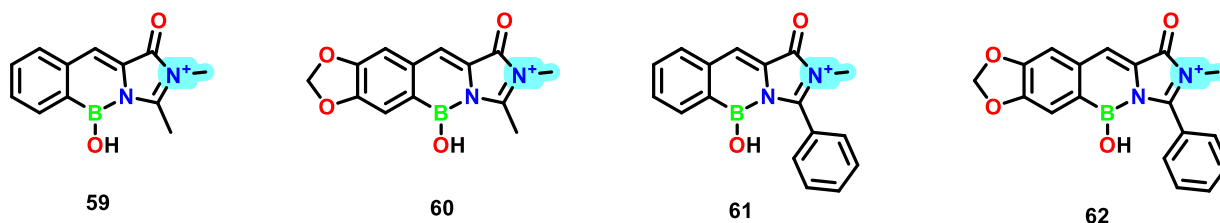
1. csoport: *N*-fenylimidazolinon alapú



2. csoport: alkil/arilimidazolinon alapú



3. csoport: második *N* metil-szubsztituált

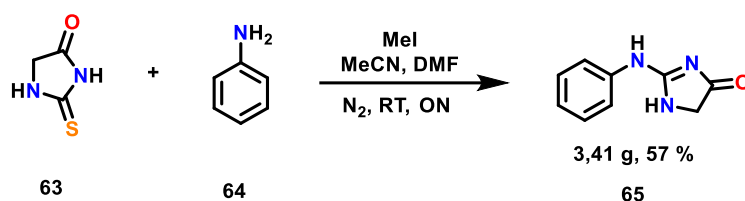


18. ábra: A kutatómunkám során előállítani kívánt molekulák

5.1. Szintetikus munka

A szintézisek során az imidazolinon származékok előállításához kétféle reakciútart alkalmaztam. Ezen vegyületeket ezután kereskedelmi forgalomban kapható szubsztituált formilfenilboronsav-származékokkal kapcsoltam egy Knoevenagel-kondenzációs reakcióban, amely átlagosan 50 %-os termeléssel az előállítani kívánt molekulákhoz vezetett.

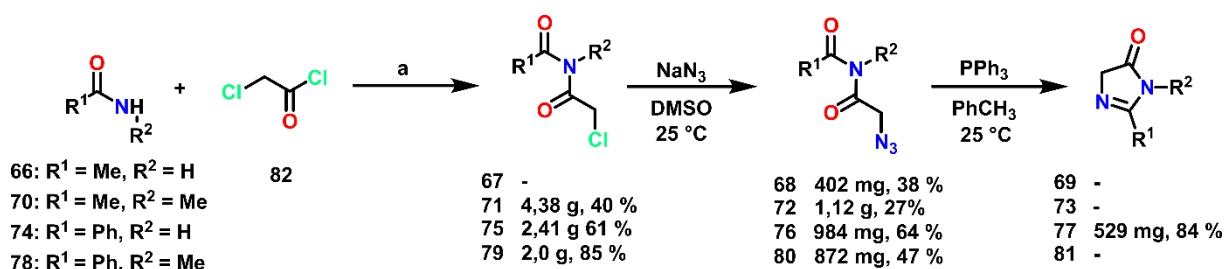
5.1.1. *N* fenilimidazolinon előállítása



19. ábra: A 2-tiohidantoin nukleofil szubsztitúciója anilinnel

Az egyik féle imidazolinon származék előállításához a kereskedelmi forgalomban is olcsón beszerezhető 2-tiohidantoinból indultam ki, a laboratóriumunkban már gyakran alkalmazott módszert alkalmazva.^{18,66} Első lépésként a tiohidantoint feloldottam MeCN-ben és DMF-ben N₂-atmoszféra alatt egy szeptummal ellátott gömblombikban. Ezután hozzáadtam a MeI-et, amivel kialakítottam a molekulán egy jó távozó csoportot, a MeSH-t. A reakcióelegyet egy éjszakán át kevertettem, bepároltam róla az MeCN-t, majd feloldottam még több DMF-ben, és hozzáadtam az anilint. N₂-atmoszféra alatt a reakció néhány óra alatt lejártsódott, és a keletkező végtermék egy világosbarna színű, a metántiol nyomai miatt kellemetlen szagú por lett.

5.1.2. Különbözően szubsztituált imidazolinonok előállítása

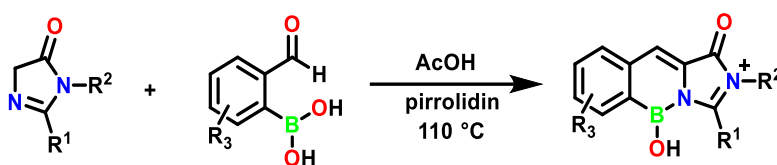


20. ábra: Szubsztituált imidazolinonok szintézise. **a**: **71**: DKM, TEA, RT; **75**: N₂, 110 °C; **79**: toluol, N₂, 110 °C

Az ettől eltérő típusú imidazolinonok előállításához a szakirodalomban leírt stratégiát alkalmaztam.^{15,67} Első lépésként a szubsztituált amidokat reagáltattam klóracetil-kloriddal, szubsztituenstől függően különböző körülmények közt. A **67**^{15,67} molekulát témavezetőmtől készen kaptam. A **71** vegyület esetén a kiindulási *N*-metilacetamidot szobahőmérsékleten feloldottam DKM-ben, TEA jelenlétében, majd a savkloridot cseppenként adtam a reakcióelegyhez az oldat heves forrása miatt. Egy éjszakányi kevertetés után az elegyet az irodalomnak megfelelően feldolgoztam, amiből egy barna olajos anyagot kaptam. A **75** és **79** köztermék esetén inert atmoszférában, 110 °C-on hajtottam végre az acilezést oldószer nélkül vagy toluolban. Az **75** intermedier esetében egy bepárlást követő egyszerű szűréssel, míg a **79**

esetén az oldószer bepárlása után kaptam a várt terméket. A kapott termékeket további tisztítás nélkül vittem át a következő reakciólépéshez, mely során a klórt NaN_3 -dal egy azidcsoportra cseréltem le. Mindegyik reakciót egységesen DMSO-ban, szobahőmérsékleten, inert atmoszféra alatt végeztem. Az acetamid származékoknál a reakció előrehaladását mind LC-MS-en, mind VRK-n nehezen lehetett követni, mivel a klór–azidcsoport csere a retenciósidőket csak igen csekély mértékben módosítja, a vegyületek UV-spektruma keskeny, halvány és megegyező, tömegspektrometriás ionizációjuk pedig alig figyelhető meg rendszerünkön. A **68** molekulát egy extrakciót követően, a **72** és **80** molekulákat flash kromatográfiás tisztítás után, míg a **76** vegyületet jeges vízre öntés utáni egyszerű szűréssel kaptam meg. A reakciósor utolsó lépéseként egy intramolekuláris aza-Wittig gyűrűzárást hajtottam végre szobahőmérsékleten, trifenilfoszfin jelenlétében, toluolban oldva. A melléktermékként keletkező trifenilfoszfin-oxidot sem preparatív HPLC-s, sem flash kromatográfiás tisztítással nem sikerült maradéktalanul eltávolítani a termékek közül. A reakciók előrehaladását az egy- vagy kétszeresen metil-szubsztituált származékok esetén, a kis molekulatömegük miatt ezúttal is nehezen lehetett követni LC-MS-en. A **69**, **73**, valamint **81** molekulák pedig gyakorlatilag nem keletkeztek, mert a későbbi kapcsolási lépések nem vezettek sikerre.

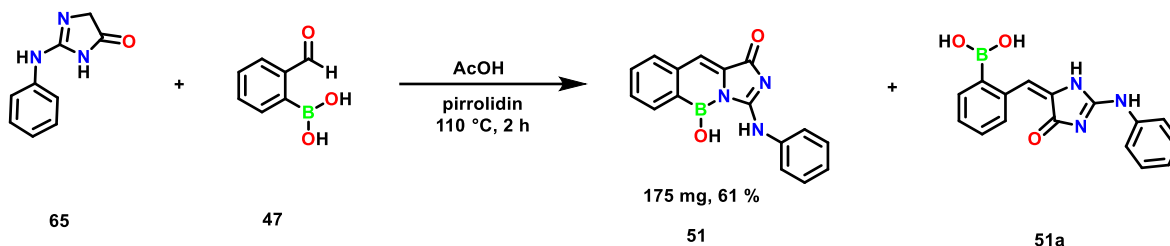
5.1.3. Az imidazolinonok összekapcsolása formilfenilboronsav-származékokkal



21. ábra: Azaborinok előállítása szubsztituált imidazolinonok és formilfenilboronsavak kapcsolásával

Az előzőekben tárgyalt imidazolinon származékokat kereskedelmi forgalomban kapható formilfenilboronsav-származékokkal (**47**, **83-85**) reagáltattam egy Knoevenagel-kondenzáció során. Az **51-54** vegyületek előállítását Koós Katalin, korábbi BME-s gyógyszervegyészmérnök hallgató diplomamunkájában leírtak alapján reprodukáltam.⁶⁵ Kísérletet tettem az **55**, **56**, illetve az **59-62** molekulák előállítására is, de azok sajnálatos módon nem jelentek meg termékként a reakcióelegyben. Így a továbbiakban csak a sikeresen elvégzett kapcsolásokat közlöm.

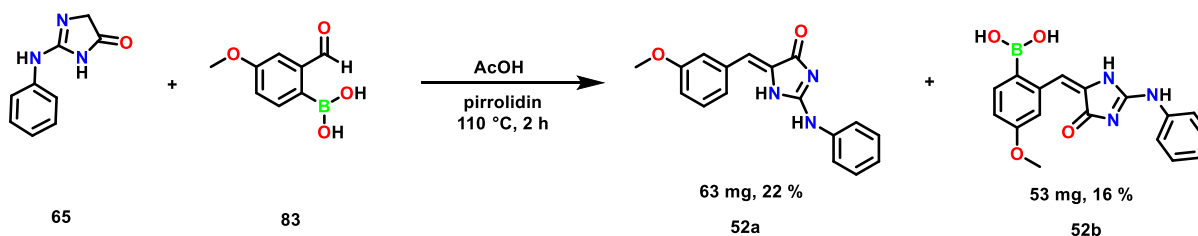
5.1.3.1. 5-Hidroxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on előállítása (**51**)



22. ábra: Az *N*-fenylimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formilfenilboronsavval

Az **51** vegyület előállításához **65** és **47** porkeverékét feloldottam ecetsavban, 1 csepp pirrolidint adtam hozzá, majd 110 °C-ra melegítettem az oldatot, ami idővel narancssárga színűre változott. 2 óra kevertetés után a reakcióelegyből vett LC-MS minta alapján a főtermék mellett a **51a** nyílt láncú melléktermék is keletkezett. Preparatív HPLC-n végzett tisztítás után a kristályosodásnak induló frakciókról bepároltam az MeCN-t, majd a visszamaradó vizes szuszpenziót lehűtöttem 5 °C-ra, és szűrés után vattaszerű, fehér tűkristályos anyagként kaptam meg a kívánt terméket.

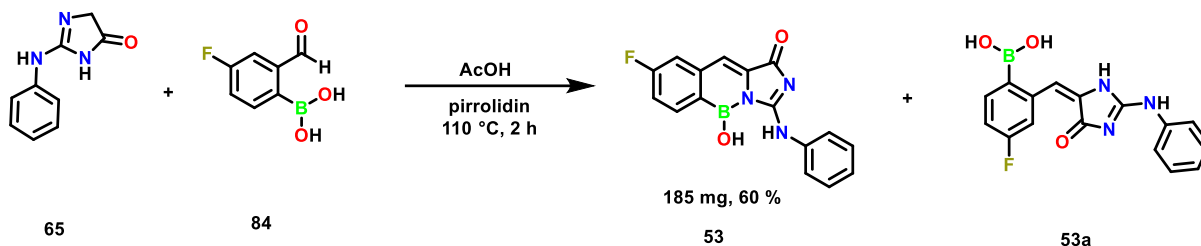
5.1.3.2. 5-Hidroxi-8-metoxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on előállítása (**52**)



23. ábra: Az *N*-fenylimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4-metoxifenilboronsavval

Az **52** molekula szintéziséhez **83** és **65** keverékét ecetsavban oldottam, majd 1 csepp pirrolidint adtam hozzá. A reakcióelegyet 110 °C-ra melegítettem, ami idővel narancssárgává változott. A reakció 2 óra lejátszódott, de az LC-MS szerint nem a kívánt termék keletkezett, ugyanis egyrészt a protodeboronált **52a**, másrészt a nyílt gyűrűs Knoevenagel-addukt **52b** melléktermék képződött. Az elegyet preparatív HPLC-n tisztítottam, és a melléktermékeket tisztán izoláltam fehér (**52a**) és ságra por (**52b**) formájában.

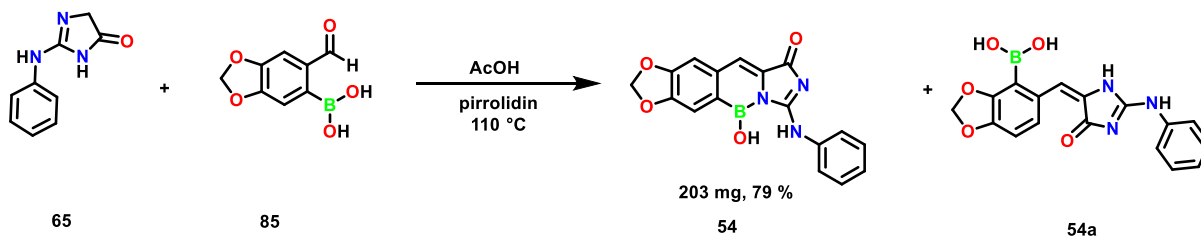
5.1.3.3. 8-Fluor-5-hidroxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5*H*)-on előállítása (**53**)



24. ábra: Az *N*-fenylimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 4-fluor-2-formilfenilboronsavval

A **63** vegyület előállításához az előzőekhez hasonló módon a **84** és **65** vegyület keverékét feloldottam ecetsavban és 1 csepp pirrolidint csepegtettem az oldatba. Ezután 110 °C-ra melegítettem és 2 óráig kevertettem a reakcióelegyet, ami idő alatt a kiindulási anyagok teljes mértékben átalakultak. Preparatív HPLC-n végzett tisztítás után a kristályosodásnak induló frakciókról bepárooltam az MeCN-t, majd a visszamaradó vizes szuszpenziót lehűtöttem 5 °C-ra, és szűrés után fehér kristályos anyag formájában megkaptam a célvegyületet.

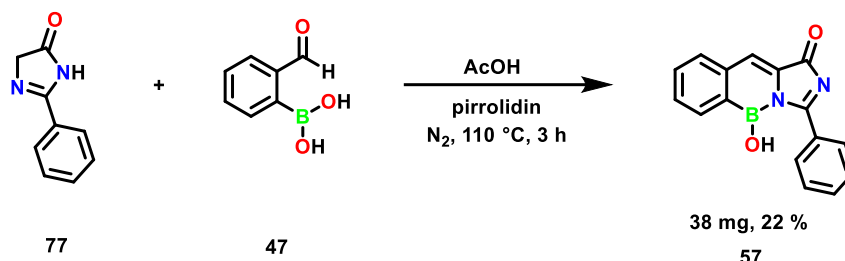
5.1.3.4. 5-Hidroxi-7-(fenilamino)-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5*H*)-on előállítása (**54**)



25. ábra: Az *N*-fenylimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavval

Az **54** céltermék előállításához feloldottam ecetsavban **65** és **85** keverékét, majd az elegyhez 1 csepp pirrolidint adtam, és 110 °C-ra melegítettem. Néhány perc után a reakcióelegy színe narancssárgára változott, és az LC-MS szerint a reakció teljes mértékben lejátszódott, mely a főtermék mellett az **54a** melléktermék képződését is szolgáltatta. Az oldatot jeges vizes fürdőben lehűtöttem, majd szűrés után a kívánt, tiszta terméket fehér szilárd anyag formájában kaptam meg.

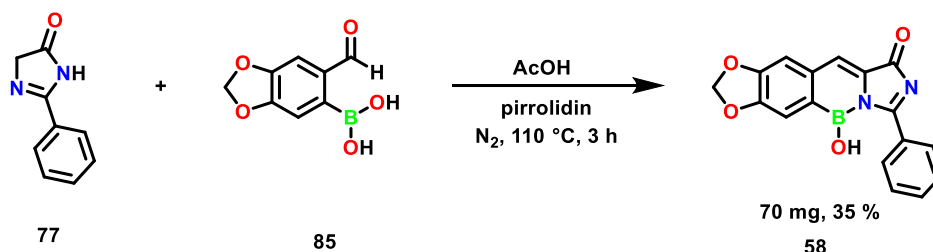
5.1.3.5. 5-hidroxi-3-fenilbenzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5*H*)-on előállítása (57)



26. ábra: A fenilimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formilfenilboronsavval

Az **57** céltermék előállításához **77** és **47** keverékét feloldottam ecetsavban, majd 3 csepp pirrolidint adtam hozzá. Az elegyet N₂-atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem 3 órán át, ami alatt a reagensek teljes mértékben a várt terméké alakultak. A reakcióelegyről bepároltam az ecetsavat, és a visszamaradó anyagot preparatív HPLC-n tisztítottam. Az összegyűjtött frakciókról bepároltam az MeCN-t, majd a vizes oldatot lefagyasztottam és liofilizáltam, ami után a nyersterméket sárga színű por formájában kaptam meg.

5.1.3.6. 5-hidroxi-7-fenil-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5*H*)-on előállítása (58)

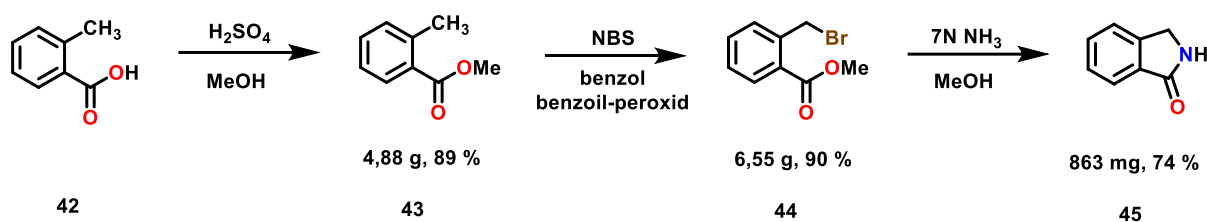


27. ábra: A fenilimidazolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavval

Az **58** vegyület szintéziséhez **77** és **85** porkeverékét feloldottam ecetsavban, és 3 csepp pirrolidint csepegtettem az oldathoz, amelyet ezután 110 °C-ra melegítve, inert atmoszféra alatt kevertettem 3 órán keresztül, amíg a reakció lejártszódot. Ezt követően a reakcióelegyről bepároltam az oldószert, majd preparatív HPLC-n tisztítottam. A kapott frakciókról bepároltam az MeCN-t, majd a vizes oldatot lefagyasztottam és liofilizáltam. A nyersterméket sárga por formájában kaptam meg.

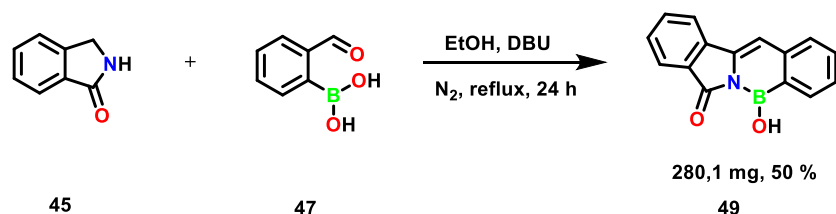
5.1.4. Irodalmi reprodukció – Saint-Louis munkájában leírt példák előállítása

A későbbiekben elvégzett spektroszkópai vizsgálatokhoz Saint-Louis és csoportja által előállított molekulák szintézisét reprodukáltam. Ennek az egyik oka, hogy az általam szintetizált vegyületek spektroszkópai paramétereit össze szerettem volna hasonlítani az általuk mértekkel, másrészt az általuk elvégzett spektroszkópai vizsgálatok eredményei között szerepeltek olyan értékek, amelyek a valóságban a fizika határait feszegetik (például egyes oldószerben néhány vegyület kvantumhatékonysága 1,00, illetve ahhoz közeli értékek voltak).⁵⁵



28. ábra: A kapcsoláshoz szükséges **45** vegyület szintézise egy észteresítéssel, majd egy gyökös brómozáson keresztül

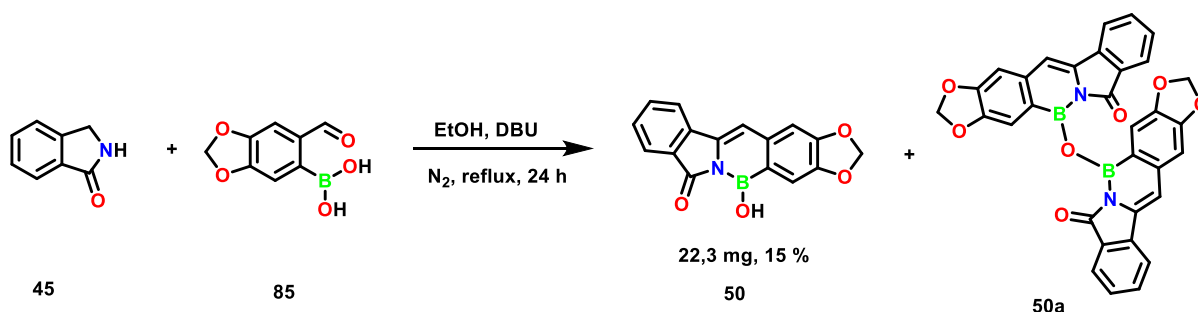
A 28. ábra látható szintézissort az irodalomban leírtnak megfelelően hajtottam végre.⁵⁵ A **43** vegyület előállítása egy egyszerű észteresítési reakció volt, mely jó termeléssel szolgáltatva a kívánt köztterméket. A következő lépésben *N*-brómszukcinimiddel egy gyökös brómszubsztitúciót hajtottam végre benzolban, benzoyl-peroxid katalizátor jelenlétében. A mérgező benzol használatára azért volt szükség, mert toluol esetén a rajta levő metilcsoport is brómozódott volna, ami jelentősen csökkentette volna a termelést. Utolsó lépésként egy NH_3 -s MeOH oldatban végzett gyűrűzárást hajtottam végre, ami a kívánt **45** vegyületet adta. Ezt flash kromatográfon tisztítottam, mely után a terméket fehér porként izoláltam.



29. ábra: Az izoindolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formilfenilboronsavval

Az előzőekben előállított **45** vegyületet ezután ugyanazon irodalomnak megfelelően reagáltattam 2-formilfenilboronsavval. A reakciót vízmentes EtOH-ban, inert atmoszférában és egy nem nukleofil bázis, DBU jelenlétében végeztem. 24 óra refluxáltatás után a lehűtött

reakcióelegyhez 1 M-os HCl-oldatot csepegtettem, mely után a kiváló világossárga színű anyagot leszűrtem, majd szárítottam, ami után tisztán megkaptam a **49** vegyületet.



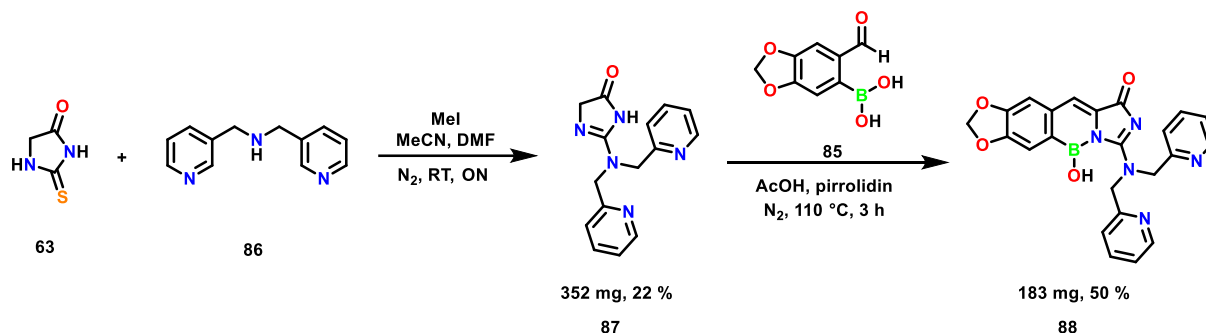
30. ábra: Az izoindolinon Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavval

Az **50** céltermék előállítását az előzőekben tárgyalttal teljesen megegyező módszer szerint végeztem el, csak a kapcsoláshoz 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat használtam. Az **50a** dimert csak MS-en lehetett detektálni, feltehetőleg az ionizációs forrásban képződik. Az irodalomban a **49** vegyületet 65 %-os, míg az **50** vegyületet 20 %-os termeléssel állították elő, így sikerült hasonló hatékonysággal reprodukálni a reakciókat.⁵⁵

5.1.5. Zn²⁺-szenzorként potenciálisan alkalmazható molekulák előállítása

Amint célkitűzéseim közt említettem, a fluorofórok gyakorlati hasznosíthatóságát is kívántam demonstrálni. Ehhez egy biológiai próbát hoztam létre. Kutatócsoportom korábban foglalkozott fluoreszcens Zn²⁺-szenzorok előállításával, melyekből inspirálódva témavezetőmmel az 5.1.1. és az 5.1.3. alfejezetekben ismertetett reakciók felhasználásával, a szerkezetükből fakadóan potenciálisan Zn²⁺-szenzorként alkalmazható molekulákat terveztünk. A molekulák szerkezeteit a későbbiekben tárgyalt spektroszkópai eredményeinkre alapoztuk, amelyek rámutattak, hogy az 1. csoport vegyületei gyengébben fluoreszkálnak a 2. csoportnál, amely oka, feltételezéseink szerint az *N*-fenil csoport nitrogénjének kioltó hatása fotoindukált elektron transzfer jelenségen (PET, *photoinduced electron transfer*) keresztül. Amennyiben az *N*-fenil részletet egy cinkkötő nitrogéntartalmú motívumra cseréljük, a nitrogén elektronküldő tulajdonságát egy Zn²⁺ ion bekötődése tudja szabályozni, ezzel lehetővé téve a fluoreszcens érzékelést.

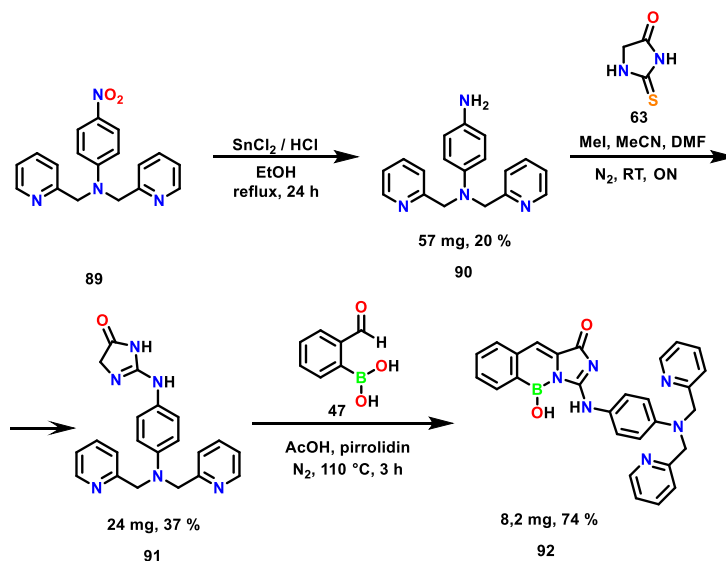
5.1.5.1. 7-(bisz(piridin-2-ilmetil)amino)-5-hidroxi-
[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on
előállítása (88)



31. ábra: A 2-tiohidantoin nukleofil szubsztitúciója 2,2'-dipikolil-aminnal, majd Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavval

Első lépésként a **87** vegyület előállításához 2-tiohidantoint reagáltattam bisz(2-piridilmetil)aminnal az 5.1.1. alfejezetben leírtakkal megegyezően, mely reakcióból a kívánt köztterméket egy erősen viszkózus, barna színű anyagként kaptam meg. Ezt utána csak a metiléndioxi részt tartalmazó formilfenilboronsavval reagáltattam az 5.1.3. alfejezetben ismertettekkel azonos módon, mert a 2-formilfenilboronsavval kapcsolt vegyületet témavezetőm korábban már előállította. A kapott végterméket sárga por formájában izoláltam.

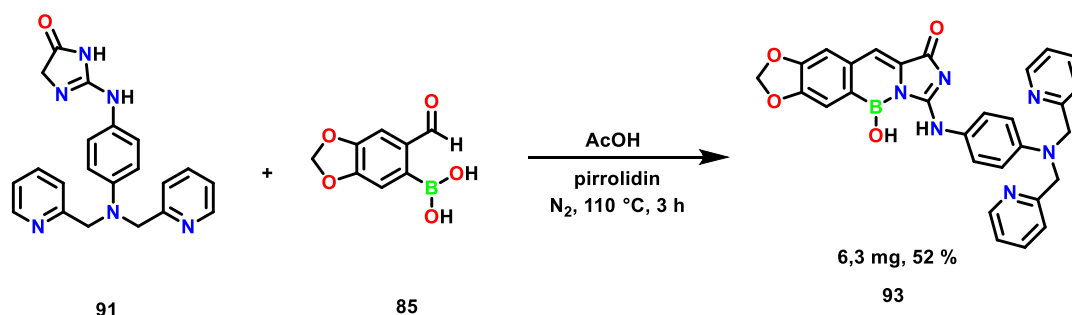
5.1.5.2. 3-((4-(bisz(piridin-2-ilmetil)amino)fenil)amino)-5-
hidroxibenzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on előállítása (92)



32. ábra: A 4-nitro-N,N-bisz(piridin-2-ilmetil)anilin redukciója, majd a 2-tiohidantoin nukleofil szubsztitúciója a közttermékkal, végül a keletkező termék Knoevenagel-kondenzációja 2-formilfenilboronsavval

A **92** célvegyület előállításához első lépésként a témavezetőm által korábban előállított 4-nitro-*N,N*-bisz(piridin-2-ilmetil)anilint az irodalomban leírt módszer alapján a **90** vegyületté redukáltam.¹ Ezt követően az 5.1.1. alfejezetben tárgyalt módon reagáltattam 2-tiohidantoinnal, mely reakcióból preparatív HPLC-s tisztítás után a **91** köztiterméket barna, viszkózus anyagként izoláltam. A kapott anyagmennyiség felét 2-formilfenilboronsavval kapcsoltam az 5.1.3. alfejezetben leírt körülmények közt, melyből a **92** célterméket tisztítás után sárga por formájában kaptam meg.

5.1.5.3. 7-((4-(bisz(piridin-2-ilmetil)amino)fenil)amino)-5-hidroxi-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-*c*]imidazo[5,1-*f*][1,2]azaborinin-9(5*H*)-on előállítása (**93**)



33. ábra: A **91** vegyület Knoevenagel-kondenzációja 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavval

A **91** köztitermék anyagmennyiségének másik felét a metiléndioxi részt tartalmazó formilfenilboronsavval kapcsoltam szintén az 5.1.3. alfejezetben leírt körülményekkel megegyezően. Tisztítás után a **93** célmolekulát sárga porként izoláltam.

5.2. Spektroszkópai vizsgálatok

Az 5.1.3. alfejezetben ismertetett 6 vegyület közül azon ötnek a spektroszkópai vizsgálatát mutatom be, melyek sikerrel az adott reakció várt termékét adták, tehát az **51**, **53**, **54**, **57** és **58** molekulákat. Ezenkívül az 5.1.4. alfejezetben leírt reprodukció vegyületeit (**49**, **50**) is megvizsgáltam, abból a célból, hogy a saját vegyületeimnek legyen egy összehasonlítási alapja. Ugyan az irodalomban is vizsgálták ezeket spektroszkópiailag, de a később tárgyaltakban kitűnik, hogy bizonyos esetekben az irodalmi értékekhez képest jelentős eltérések voltak.

Az abszorpciós, gerjesztési és emissziós spektrumokat három szerves oldószerben vettem fel, vizsgálva a közeg polaritásának hatását: MeOH-ban, DMSO-ban és DKM-ben. A vegyületeket izolált formájukban, valamint deprotonált–protonált formájukban egyaránt vizsgálni kívántam. Ezért a spektrumokat minden esetben felvettem TFA-val savanyított

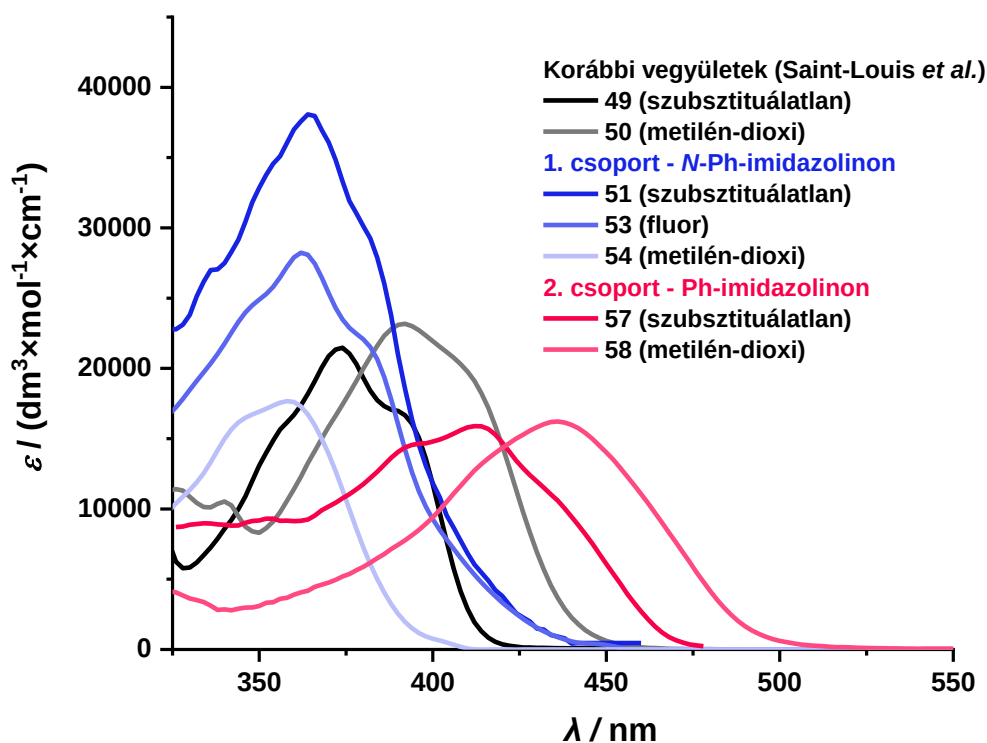
oldószerekben is. A DKM esetében erre nem volt szükség az oldószer bomlásaként keletkező sósav miatt. Itt DIPEA-val lúgosítottam vissza a szabad vegyületek vizsgálatához. Ezenfelül vizsgáltam az abszorpció és emisszió pH-függését különböző pH-jú vizes pufferoldatok segítségével.

A vizsgálatokhoz használt oldatokat az alábbiak szerint készítettem el: 1 mg vegyületből DMSO-ban, 10,0 ml-es mérőlombikba körülbelül 300 μM koncentrációjú törzsoldatot készítettem, melyet a mérésekhez körülbelül 200-szoros hígításban használtam a 2,00 ml végtérfogatú mérőoldathoz. Így minden mérést 10 μl törzsoldatot és 1,99 ml oldószert (szerves vagy vizes) tartalmazó oldatokban végeztem, melyeknek koncentrációja 1-2 μM volt, mely által elkerülhető a belső filter-effektus. A spektrumokat 1 μM koncentrációra normáltam. A TFA-ból vagy a DIPEA-ból 1-1 μl -t adtam a szerves oldószerhez. A pontos térfogatok kiméréséhez automata pipettákat használtam.

Jelen fejezetben csak a DMSO-ban végrehajtott spektroszkópai vizsgálatok eredményét mutatom be, mivel ez egy poláris oldószer, ugyanakkor nem okoz aggregációt az oldhatósági problémák miatt, így jól modellezi a biológiai környezetet. Emellett a vegyületek fluoreszcenciájának pH-függéséről is említést teszek. A többi oldószerben végzett vizsgálatok spektrumait, illetve a legfontosabb spektroszkópai jellemzőket összefoglaló táblázatokat, vegyületenként külön-külön a Függelék tartalmazza.

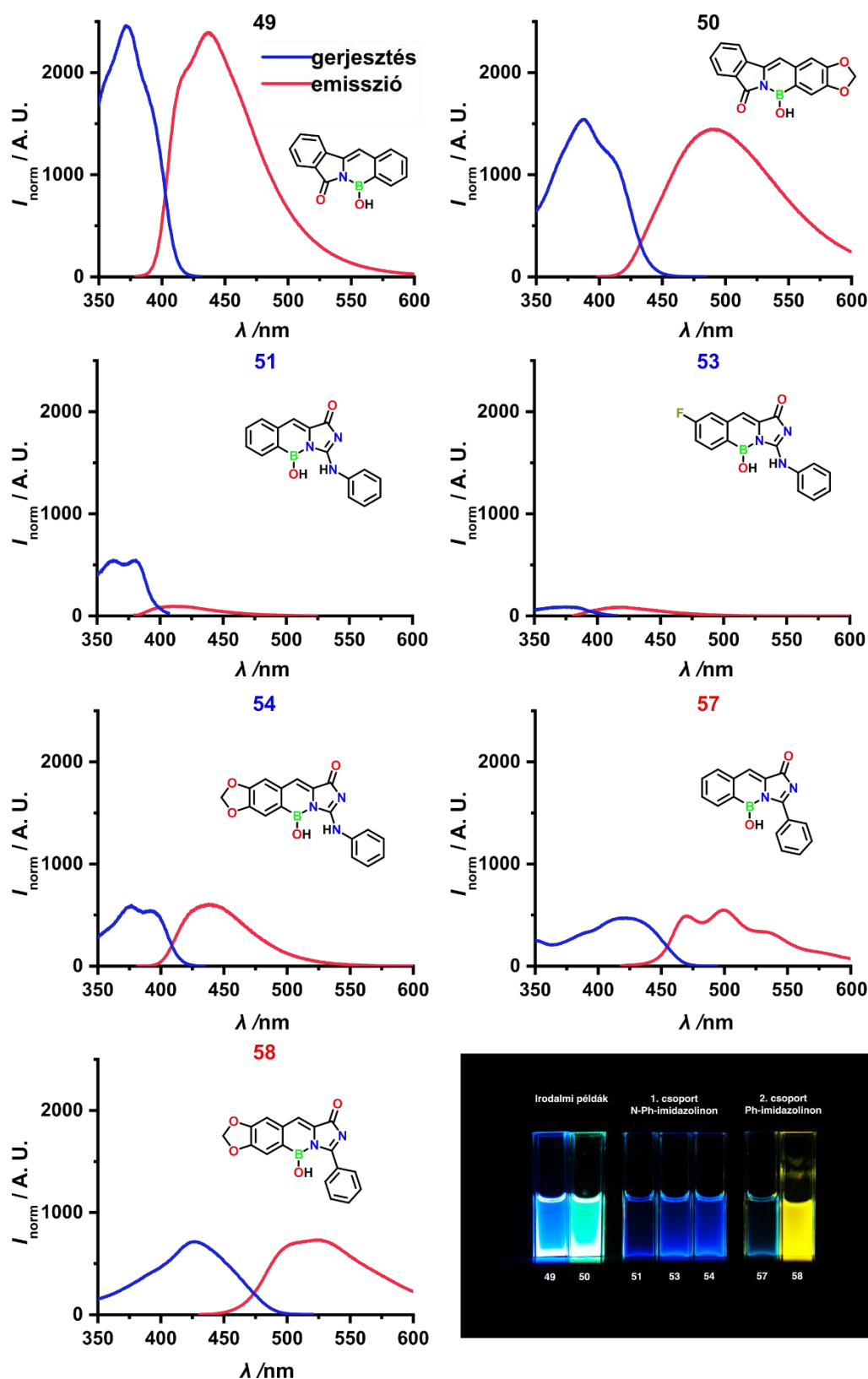
5.2.1. Abszorpció és emisszió DMSO-ban

A 34. ábra a két irodalmi, illetve az öt sikeresen előállított vegyület normált abszorpciós spektrumát mutatja. Összehasonlítva az 1. és 2. csoportbeli vegyületeket, látható, hogy az imidazolinon gyűrűhöz csak fenilcsoportot kapcsolva az elnyelési hullámhossz vörösebb lesz, mint az *N*-fenil részt tartalmazó esetben. Ezenkívül az is megfigyelhető a 2. csoportban, hogy a metiléndioxi részt tartalmazó formilfenilboronsavval kapcsolt vegyület abszorpciós hullámhossza még inkább a vörös tartomány tolódik.



34. ábra: A sikeresen szintetizált irodalmi és új molekulák normált UV-spektrumai DMSO oldószerben

A 35. ábrán a vegyületek gerjesztési és fluoreszcens emissziós spektrumai láthatók, ahol az 1 μM koncentrációra normált fluoreszcencia intenzitást ábrázoltam a hullámhossz függvényében. Ezenkívül az ábrán feltüntettem még a vegyületek DMSO-val készített 400 μM koncentrációjú oldatainak UV-fénnyel történő megvilágításáról készült képet. Az eredményekből látható, hogy a 2. csoportbeli, valamint az **50**-es irodalmi molekulának az emissziós spektrumai a leginkább vörös tartomány felé eltoltak, ahogy ezt az 1. táblázat adatai is mutatják. Az **51** és **53** molekulák praktikusán nem fluoreszkálnak, de az **54** molekula esetén megfigyelhető, hogy a metiléndioxi rész jelentős mértékben hozzájárult a fluoreszcencia intenzitásának növekedéséhez. A legkisebb Stokes-eltolódással az 1. csoport vegyületei rendelkeznek, míg a 2. csoport tagjai és az irodalmi vegyületek közül egyesek akár a $\Delta\lambda \sim 100$ nm értéket is elérik, ami az UV/közeli látható tartományban egyedülállónak számít. Itt érdemes megemlíteni a **49** és **50** vegyületeknek az irodalomban leírt és az általam mért spektroszkópiai jellemzői közti különbségeket. Az irodalmi mérések szerint ugyanis ezen molekuláknak igen gyenge a fényessége, ezzel szemben az általam mért értékek azt mutatják, hogy a szintetizált anyagok közül ezek rendelkeznek a legnagyobb fényességgel. Az irodalmi értékektől való eltérés oka ismeretlen, a jövőben tervezünk kapcsolatba lépni a szerzőkkel, akikkel egy tavaszi konferencián témavezetőm már megismerkedett.



35. ábra: A sikeresen szintetizált molekulák 1 μM koncentrációra normált gerjesztési és emissziós spektrumai DMSO-ban. Jobb alsó sarokban ugyanezen vegyületekből DMSO-val készített 400 μM koncentrációjú oldatok UV-fénnyel megvilágított képe.

A piros színnel jelölt emissziós spektrumok és a táblázat adatai jól mutatják, hogy az **54**, **57**, illetve **58** vegyületek potenciálisan alkalmazhatók mikroszkópiai vizsgálatokra, valamint az összes vegyület közül az **58** az egyetlen, ami nemcsak UV-fényforrással is gerjeszthető, mely az általam itt bemutatott vegyület egyik nagy előnye az irodalmiakhoz képest. Általánosságban DKM-ben erősebb fluoreszcenciát tapasztaltam, viszont ez polaritása miatt kevésbé releváns, míg a MeOH a DMSO-hoz hasonló eredményeket szolgáltatott. A savas oldatok fluoreszcenciája rendre gyengébbnek bizonyult a semleges/enyhén lúgoshoz képest.

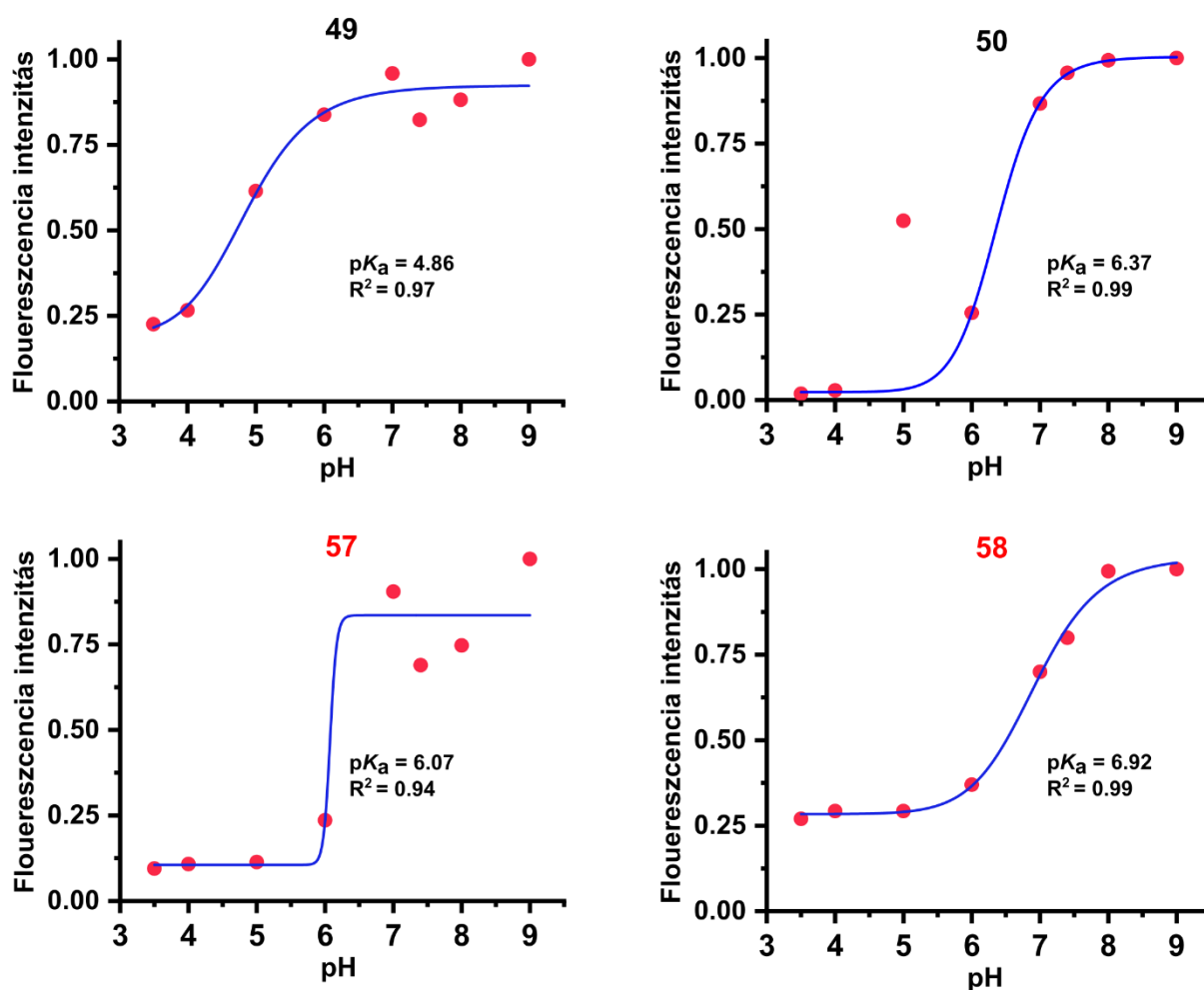
1. táblázat: A sikeresen előállított vegyületek fontosabb spektroszkópiai jellemzői DMSO-ban. Az abszorpciós hullámhossz oszlopának háttérszíne az elnyelt fény színére utal. A Fényesség háttérszíne szintén indikálja a vegyület aktuális fényességét.

Vegyület száma	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
49	374	372	436	64	21468	94	20145
49 ref.	372	372	438	66	29100	12	3492
50	392	388	489	101	23175	75	17460
50 ref.	396	396	500	104	4800	5,0	240
51	365	375	412	37	38331	2,9	1110
53	362	375	421	46	28586	1,7	472
54	371	376	438	62	19725	28	5560
57	412	422	499	77	15892	41	6560
58	436	425	524	99	16219	63	10164

5.2.2. Abszorpció és emisszió különböző pH-jú vizes pufferoldatokban

Molekuláim fluoreszcenciájának megvizsgáltam a pH-függését is vizes pufferoldatok segítségével. A molekulákról egyenként felvett abszorpciós és emissziós spektrumok a Függelékben találhatóak. Az **51** és **53** vegyületeket a szerves oldószerben való nagyon gyenge fluoreszcenciájuk miatt nem vizsgáltam a pH-soron. A 36. ábra a **49**, **50**, **57**, valamint **58** vegyületek normált pH-görbét mutatja. A **49** és **50** vegyület pH-függését az irodalom nem vizsgálta. Az **54** vegyületet ugyan megvizsgáltam a pH-soron, de az eredményeket a gyenge vizes fluoreszcencia miatt hasonló diagramon ábrázolva a kapott pontokra nem lehetett pH-görbét illeszteni, így ezt az ábrán nem tüntettem fel. Az **50** vegyület esetén a pH = 5 értékhez tartozó kiugró pontot az illesztés során nem vettem figyelembe. A pontok ugyan szórnak, de az Origin Pro 2018 program „logistic” függvényével lehetséges telítési görbét illeszteni az adatokra. A diagramokból kitűnik, hogy a molekulák a biológiaiailag leginkább releváns

fiziológias pH-n ($\text{pH} > 6$) már stabilan fluoreszkálnak, azonban savas biológiai környezetben (például a lizoszómában) fluoreszcenciájuk nagy valószínűséggel kioltott lenne. A görbék inflexiós pontjai megadják a molekulák pK_a értékeit, melyeknél megfigyelhető, hogy a metiléndioxi részt tartalmazó vegyületek (50, 58) esetén ezen érték nagyobb lett, mint a nemszubsztituált formilfenilboronsavat tartalmazó vegyületeké (49, 57). Ennek oka feltételezéseink szerint a metiléndioxi-csoport elektronküldő hatása, ami az O–H kötés savasságát gyengíti, ahogyan az a fenolok példáján ismert.



36. ábra: A vegyületek normált fluoreszcencia intenzitásai a pH függvényében. Az 50 vegyület esetén a $\text{pH} = 5$ értékhez tartozó pontot nem vettem figyelembe az illesztés során.

5.2.3. Az előállított Zn^{2+} -szenzor (88) spektroszkópai vizsgálata

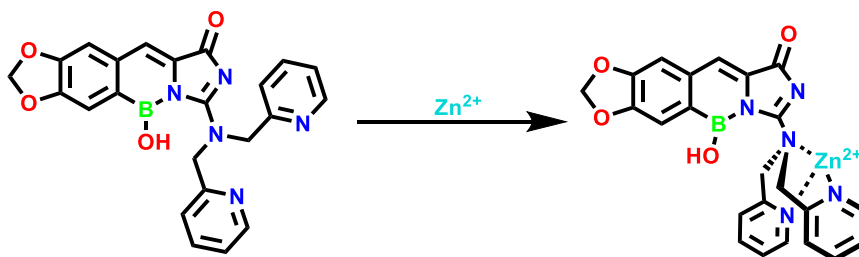
Az 5.1.5. alfejezetben diszkutált három vegyület potenciális Zn^{2+} -szenzorként való alkalmazhatóságát az előzőektől kismértékben eltérő módon vizsgáltam meg. Az abszorpciós és emissziós mérésekhez elsőként két pufferoldatot készítettem. Az egyik egy 1 mM koncentrációban $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ -ot tartalmazó 10 mM-os HEPES-oldat, a másik egy 10 mM-os

koncentrációban EGTA-t tartalmazó 10 mM-os HEPES-oldat volt (az EGTA az esetleges cinkszennyezést eltávolítja a vízből). Mindkét oldat egyforma mennyiségben tartalmazott KCl-ot is az ionerősség beállításához, illetve az oldatok pH-ja 7,4 volt, amit frissen készített cc. NaOH-oldat segítségével állítottam be. A mérésekhez használt oldatokat az alábbiak szerint készítettem el: 1 mg vegyületből DMSO-val, 10,0 ml-es mérőlombikba törzsoldatot készítettem, melyet a mérésekhez 150-szeres hígításban használtam a 3,00 ml végtérfogatú mérőoldathoz. Így minden mérést 20 μ l törzsoldatot és 2,98 ml Zn^{2+} -t vagy EGTA-t tartalmazó pufferoldatban végeztem, hasonlóan 1 μ M körüli festékkoncentrációt beállítva. A mérések során kiderült, hogy egyedül a **88** molekula volt képes Zn^{2+} -t kötni (37. ábra); a **92** és **93** molekula fluoreszcenciája sajnálatos módon nem változott meg Zn^{2+} -tartalmú közegben. A következőkben így csak a **88** molekula spektroszkópai vizsgálatát részletezem, melynek eredményei a 2. táblázatban olvashatók.

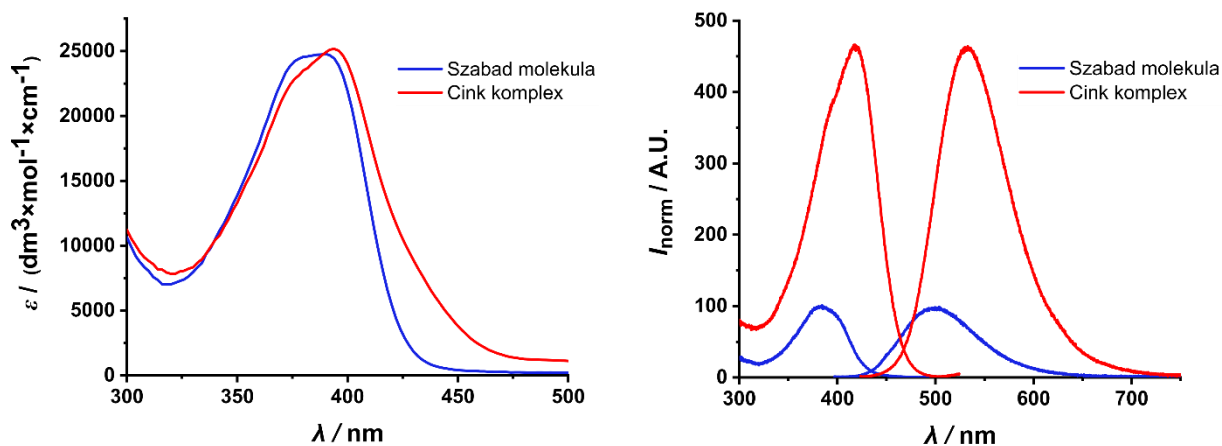
2. táblázat: A **88** molekula spektroszkópai adatai

	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ε [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
Szabad molekula	390	384	496	112	24792	3,7	917
Cink-komplex	394	418	533	115	25163	17	4213

A 38. ábrán a **88** vegyület abszorpciós és emissziós spektrumait tüntettem fel. Az elnyelési spektrumon látható, hogy a vegyület Zn^{2+} -ionnal képzett komplexének UV-elnyelése kissé a vörösebb tartomány felé tolódik, ami az emissziós spektrumon is megmutatkozik. A cink komplex fluoreszcencia intenzitása körülbelül 3,6-szorosára növekedett a szabad molekulához viszonyítva, amit úgy számoltam, hogy a komplex és a szabad molekula maximális fluoreszcencia intenzitásának különbségét elosztottam a szabad molekula fluoreszcencia intenzitásával.



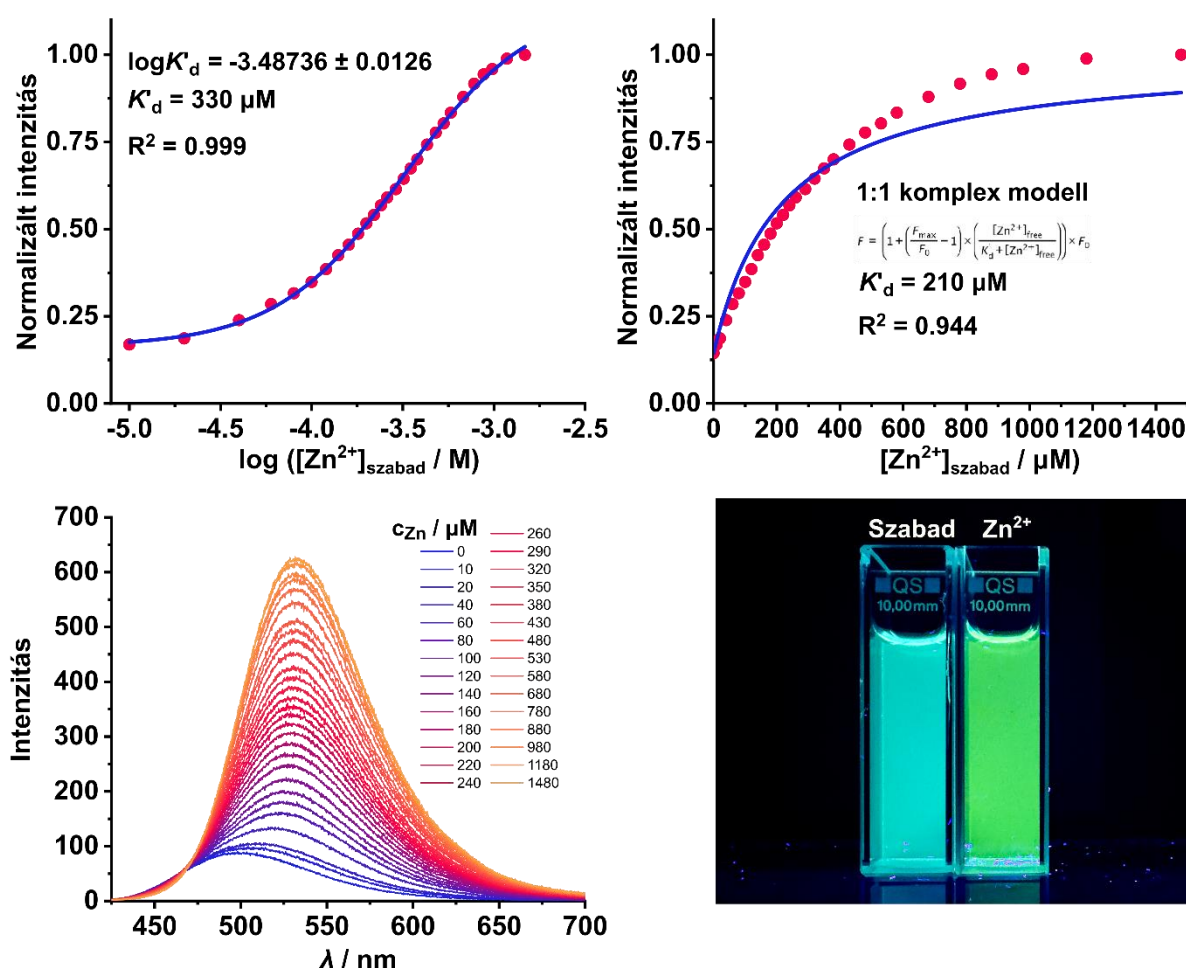
37. ábra: A **88** vegyület feltételezett Zn^{2+} -kötődési mechanizmusa



38. ábra: A **88** molekula és Zn^{2+} -ionnal képzett komplexének normált gerjesztési (bal), valamint emissziós fluoreszcencia spektruma (jobb)

Komplexometriás titrálással meghatároztam a molekula látszólagos Zn^{2+} -ion kötődési állandóját (K'_d). A méréshez elsőként egy 10 mM koncentrációjú, pH = 7,4-es HEPES-oldatot készítettem, melyből 3,0 ml-t egy küvettába mértem, majd ehhez adtam először 14,1 μl -t a **88** vegyület törzsoldatából, és megmértem ennek a fluoreszcenciáját. Ezt követően 1-30 μl -es részletekben adtam az oldathoz 30 mM koncentrációjú $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ -oldatot, folyamatosan növelve a cink-koncentrációt, és figyeltem a fluoreszcencia intenzitásának növekedését. A kis térfogatok hozzáadásából fakadó hígulást elhanyagoltam. Utolsóként 100 μl -t is adtam a cinkes oldatból, de ennél a pontnál az oldat hígulása, illetve az oldatban jelenlevő $\text{Zn}(\text{OH})_2$ aggregációja miatt a fluoreszcencia intenzitása nem növekedett, hanem enyhén csökkent. Így ezt a pontot már nem ábrázoltam. Ezt az is bizonyította, hogy a küvettát UV-fénnyel megvilágítva, az oldat enyhén opaleszkált. A titrálás eredményeit a 39. ábra szemlélteti. Az ábra bal alsó sarkában látható, hogy a cinkion koncentrációjának folyamatos növekedésével a fluoreszcencia is a vörös spektrális tartomány felé tolódott egy bizonyos értékig, ahogy ez a korábbiakban is említésre került. A molekulám kötési állandóját úgy határoztam meg, hogy a titrálásból kapott normált fluoreszcencia intenzitásokat ábrázoltam a szabad Zn^{2+} -koncentráció – ami közelítőleg megegyezik a hozzáadott Zn^{2+} -koncentrációval – logaritmusának függvényében (39. ábra, bal felső diagram). A pontokra egy „Boltzmann Function” nevű, szigmoid jellegű függvényt illesztettem, mely görbe inflexiós pontja megadja a látszólagos kötődési állandójának logaritmusát, melyből a látszólagos kötődési állandó $K'_d = 330 \mu\text{M}$ -nak adódott. Ez az érték az irodalomban leírt Zn^{2+} -szenzorokhoz viszonyítva egyedülállónak számít, ugyanis azoknak a kötődési állandói, különösen a 2,2'-dipikolil-amin egységet tartalmazó vegyületek esetén, nM-os és néhány μM -os dinamikus tartományban vannak.⁶⁸ A

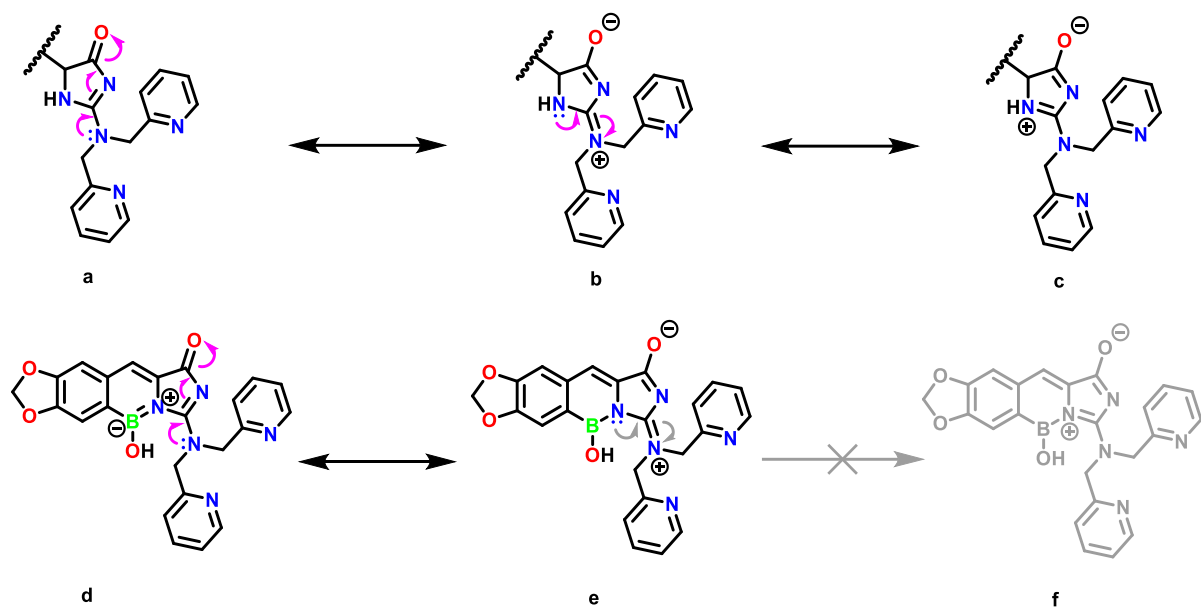
magasabb K'_d érték elsőre rosszabbnak hangzik az olvasó számára, ám fontos kiemelni, hogy a bemutatott szenzor ezáltal egy olyan koncentrációtartományban alkalmazható, ahová a nagyságrendileg kisebb disszociációs állandójú szenzoroknak már nem ér el a dinamikai tartományuk. A normalizált fluoreszcencia intenzitásokat a μM -ban megadott szabad Zn^{2+} -koncentráció függvényében is ábrázoltam, és a kapott pontokra az irodalomban is ismert ún. 1:1 komplex modellnek megfelelő függvényt illesztettem.⁶⁹ A modell feltételezi, hogy egy szenzor molekula egy Zn^{2+} -iont köt meg, és eltekint az olyan lehetőségektől, hogy például két vagy több molekula köt meg egyetlen Zn^{2+} -iont, illetve a $\text{Zn}(\text{OH})_2$ aggregációjából fakadó fluoreszcencia-csökkenést sem veszi figyelembe. Ilyen összetett specieszek képződése lehet az oka annak, hogy az általam mért pontokra ez a modell nem illeszkedik megfelelően.



39. ábra: A **88** vegyület titrálási görbéi. Jobb alsó sarok: a szabad és a komplexált molekula pH = 7,4-es HEPES-es oldatainak UV-fénnyel megvilágított képe

Témavezetőm korábban a **88** vegyülethez nagyon hasonló szerkezetű molekulát állított már elő, azzal a különbséggel, hogy a bőrhez kapcsolódó benzolgyűrű nem tartalmazott

metiléndioxi részt. Annak a vegyületnek a Zn^{2+} kötődési állandója a mM-os nagyságrendbe esett, vagyis a kondenzált gyűrűről lelógó 2,2'-dipikolil-amin (DPA) egység még gyengébben kötötte a cinket. A jelenség magyarázatához a választ először a 2,2'-dipikolil-amin rezonáns határszerkezeteiben kerestem, amit a 40. ábra felső sora mutat. A mezomer határszerkezetekből látható, hogy az oxigén az amidkötésben levő nitrogénnel szomszédos két nitrogénnek a nemkötő elektronpárjait képes elszívni a konjugált kettős kötések keresztül (40. ábra, **b** és **c**). A **b** határszerkezet esetén az oxigén kevésbé szívja maga felé az imidazolinon-gyűrűben levő aminos nitrogén párosítatlan elektronjait, mert a konjugált kötésen keresztül a gyűrűhöz közvetlen kapcsolódó nitrogénről szívja el azokat. Ha az imidazolinon gyűrűben levő, nem amidkötésben részt vevő nitrogénhez egy bóratom kapcsolódik, – mint a **88** vegyület esetén – akkor ez a nitrogén a nemkötő elektronpárját erőteljesen a bóratom üres p-pályájára donálja. Ez a donáció amiatt is kedvezményezett, mert így egy stabil, kondenzált gyűrűs aromás rendszer tud létrejönni. Emiatt lehet a **d** jelű vegyületben a bór-nitrogén kötést kettős kötésként értelmezni. Az **e** határszerkezet esetében az oxigén gyakorlatilag teljes mértékben a pozitív töltésű nitrogéntől szívja el az elektronokat, így ennek a nitrogénnek nem marad párosítatlan elektronpárja, amivel a Zn^{2+} -iont meg tudná kötni. Az **f** jelű határszerkezet amiatt nem tud kialakulni, mert a bór nagyrészt elszívja a szomszédos nitrogén magányos elektronjait, ebből kifolyólag az oxigén teljes mértékben a gyűrűhöz kapcsolódó nitrogén elektronjait vonzza magához. Ha a molekula bal oldalához elektronküldő csoportot tartalmazó egységet illesztünk, mint például jelen esetben egy metiléndioxi részt, akkor ez a bóratomra donál elektronokat. Ennek eredményeképp a bór kevésbé lesz elektronhiányos, ezért kevésbé szívja el a szomszédos nitrogén nemkötő elektronjait. Ebből pedig következik, hogy a metiléndioxi részt tartalmazó **88** vegyület hatékonyabb cink-szenzorként működik (tehát kisebb a kötődési állandója), mint a szubsztituátlan benzolgyűrűt tartalmazó vegyület, ami gyengébben kötötte a Zn^{2+} -t, vagyis nagyobb kötődési állandóval rendelkezett. Ugyancsak ezzel magyarázható, hogy a **88** vegyület kötődési affinitása a cinkhez nagyságrendekkel alacsonyabb a DPA-hoz képest. Az előzőekben tárgyaltak így magyarázatul szolgálhatnak a **49**, **50**, valamint az **57** és **58** molekulák pK_a értékei közti különbségekre is. Továbbá ezek az okok vezettek a **92** és **93** vegyületek előállításához is, mellyel azt a hipotézist szerettem volna alátámasztani, hogy egy *N*-fenil részt tartalmazó dipikolil-amin egységet kapcsolva az imidazolinon vázhoz, a molekulák Zn^{2+} -kötődése erősebb lesz. Sajnálatos módon azonban a spektroszkópiai vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy ezen anyagok nem mutattak választ a Zn^{2+} -ionokra.



40. ábra: A 2,2'-dipikolil-amin részt tartalmazó imidazolinon (felső sor) és a **88** vegyület lehetséges mezomer határszerkezetei (alsó sor)

6. Összefoglalás, jövőbeli tervek

A zöld fluoreszcens protein kromofórajának sztérikus rögzítését a kutatók már több alkalommal is kihasználták hatékony fluorofórok előállítására. Kutatómunkám során az érdeklődésemet a bórtartalmú kromofórok keltették fel, ugyanis korábbi munkák már bizonyították akár a BODIPY-származékok, akár az azaborinok ilyen célú alkalmazását. Célom GFP-kromofórok és bórtartalmú szerves vegyületek hibridjeinek az előállítása, valamint részletes spektroszkópai vizsgálata volt, ugyanis korábbi munkákban a hasonló szerkezetű molekuláknak csupán a szintézisével foglalkoztak. A spektroszkópai vizsgálataim megmutatták, hogy az általam előállított fluorofórok magas Stokes-eltolódással és jó fényességgel rendelkeznek, amiben hasonlítanak az irodalomban leírt rokon vegyületekhez, mitöbb az **58** vegyület abszorpciója és emissziója vörösebb volt a más azaborinoknál. Az előrelépést az jelentette, hogy molekuláimnál sikerült a kék spektrális tartománybeli gerjesztést és zöld tartománybeli fluoreszcenciát elérni. Vegyületeim közül a **88** molekula rendelkezett kiemelkedő tulajdonságokkal, ugyanis ezen új Zn^{2+} -szenzor előállításával sikerült demonstrálnom a kifejlesztett fluorofór gyakorlati alkalmazhatóságát. Másrészt a molekula lehetővé tett egy új tartománybeli Zn^{2+} -érzékelést, mellyel a $10\ \mu\text{M}$ – $1\ \text{mM}$ dinamikus tartományt lehet vizsgálni, amely rendkívül ritka a Zn^{2+} -szenzorok irodalmában. Ezt a jelenséget pedig bizonyos mértékig a vegyület szerkezet-hatás és a spektroszkópai eredmények összefüggéseinek a vizsgálatával sikerült megmagyarázni.

A jövőben olyan, az **58** vegyülettel rokon vegyületek előállítása a célom, ahol a benzolgyűrű egyéb szubsztituenseket tartalmaz, amit többek között halogénszubsztituált boronsavakkal való kapcsolással, illetve a keletkező halogéntartalmú termékek alkil-aminocsoportokra való cseréjével lehetne megvalósítani, ugyanis az aminocsoportok sok esetben elősegítik a fluoreszcencia intenzitásának növekedését. Emellett a molekula jobb oldalán levő fenilimidazolinon részt az irodalomban is ismert jódfenil-tartalmú részre cserélve további funkcionálisítás válna lehetővé. Továbbá a *para* helyzetben karboxi egységet tartalmazó fenilimidazolinon származékhoz egy amint lehetne kapcsolni, és a keletkező amidon keresztül például egy klórhexil-lánccal ún. HALO-tag lingand előállítása lenne lehetséges, mellyel különböző biológiai célvegyületek jelölhetők, amivel később mikroszkópai vizsgálatok is elvégezhetők. Ezenkívül az előállított vegyületek kétfoton keresztmetszetét szeretném kimérni, és nem utolsó sorban a Zn^{2+} -szenzorom szelektivitásának vizsgálatát végezném el.

7. Kísérletek részletes leírása

7.1. Alkalmazott anyagok és készülékek

A vegyületek előállítása során a következő cégektől beszerezhető vegyszereket és eszközöket használtam: Fluorochem, Merck, Sigma-Aldrich, Molar Chemicals, VWR. Előzetes tisztítást egyik esetben sem végeztem.

A reakciók nyomon követéséhez és egyéb HPLC-mérésekhez egy Shimadzu LC-40D XR UPLC-MS rendszert használtam, amely SIL-40C XR automata mintaadagolóval, SPD-M40 fotodiódasoros detektorral, RF-20A XS fluoreszcens detektorral, valamint negatív és pozitív ionizációs üzemmódban működő LCMS-2020 DUIS tömegspektrométerrel volt felszerelve. Az elválasztást Ascentis® Express C18, 2 μ m UHPLC oszlopon (L $\times$ I.D. 5 cm $\times$ 2.1 mm) végeztem, 50 °C-on, amelyet egy CTO-40s oszlopkemence biztosított. Gradiens elúciót alkalmaztam 0,1 V/V% TFA-t tartalmazó vízben (A) és 0,1 V/V% TFA-t tartalmazó MeCN-ben (B), vagy 0,1 m/m% NH_4HCO_3 -ot tartalmazó vízben (A) és MeCN-ben (B).

Az oszlopkromatográfiához egy Interchim puriFlash® XS520Plus készüléket használtam, 0,2 ml / perc áramlási sebességet alkalmazva. A készüléket gyári szilika oszlopokkal használtam, az oszloptöltet mérete a minta tömegének legalább tízszerese volt minden esetben. Amennyiben a minta nem oldódott a gradiens kiindulási elegyében, kis mennyiségű szilikagélre pároltam. Általánosságban gyengébb oldószerből indítottam gradienst, és addig növeltem az erősebb oldószer koncentrációját, ameddig olyan eleggyel eluáltam, amin VRK alapján a várt termék $R_F = 0,3$ -ig futott.

A preparatív HPLC-s elválasztást egy Teledyne ACCQ Prep HP150 készüléken végeztem, egy Phenomenex Gemini 250x50,00 mm oszlopon, 10 μ m belső átmérőjű 110 Å C18 töltettel, melyre a mintát automata injektorral adagoltam. Az áramlási sebesség 250 ml/min volt, a nyomás 300 bar alatt volt tartva. A frakciók detektálása egy 200-800 nm közt működő diódasoros detektorral történt. Gradiens elúciót alkalmaztam, minden vegyületre egyedileg optimált módszerrel. A klasszikus HPLC-hez hasonlóan két módszert használtam. Gradiens elúciót alkalmazva 0,2 V/V% TFA-t tartalmazó vízben (A) és MeCN-ben (B), vagy 0,1 m/m% NH_4HCO_3 -ot tartalmazó vízben (A) és MeCN-ben (B).

A vékonyréteg-kromatográfiához a Merck Kieselgel 60 F254 típusú lapokat használtam. A detektáláshoz UV-lámpát használtam.

A pH pontos kiméréséhez egy VWR® pHenomenal® pH/mV/°C mérőműszert használtam, 3 pontos kalibrációval pH = 4, 7 és 9 értékeknél egy VWR® 221 általános célú elektróddal.

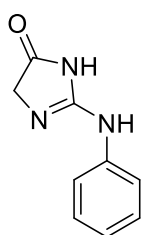
A spektroszkópai méréseket Shimadzu UV-1900i fotométeren és RF-6000 spektrofluorométeren (kvarcküvetta, illetve a pH-soros mérésekhez polimetakrilát küvetta, úthossz: 1,0 cm) végeztem. Az abszorpciós spektrumokat (1 nm résszélesség) „*high speed*” üzemmódban vettem fel, míg a fluoreszcencia spektrumokat 600 nm/min pásztázási sebességgel (3 nm gerjesztési és emissziós résszélesség) mértem. Az UV-Vis spektrumokat a pufferoldatok háttérével korrigáltam a festék törzsoldat kis részleteinek hozzáadása előtt.

Az NMR-spektrumokat Varian Unity INOVA spektrométerekkel vette fel Turczel Gábor, amelyek 400, 500 és 600 MHz-es, ^1H -egyenértékes frekvencián működtek. A spektrumok szobahőmérsékleten lettek felvéve. Az ^1H NMR spektrális hasadási mintázatok jelölései a következők: szingulet (s), dublett (d), triplett (t), kvartett (q), széles (b) és multipliett csúcsok (m). A rezgések kémiai eltolódásainak δ -val jelölt értékeket ppm-ben, a csatolási állandókat (J) Hertz-ben adtam meg. Az egyes rezonanciák DEPT 135 (NOESY) és 2D NMR (COSY, HSQC és HMBC) vizsgálatok alapján lettek hozzárendelve. A mintákból 5-15 mg közti mennyiségeket oldottam fel deuterált oldószerben.

7.2. Kísérletek részletes leírása

A következőkben az általam elvégzett reakciók pontos menete olvasható. Előfordult, hogy egyes molekulákat többször is előállítottam, ez esetben csak a sikeresen elvégzett reakció menetét közöltem.

2-(Fenilamino)-3,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (65)



A vegyületet a laborunkban kidolgozott eljárással állítottam elő.⁶⁶ 4 g (34,4 mmol) 2-tiohidantoint feloldottam 30 ml MeCN-ben, majd kevertetés közben, nitrogén atmoszféra alatt, 1 ml DMF-et adtam az oldathoz. Néhány perc kevertetés után egy részletben, fecskendőn keresztül hozzáadtam 7,5 ml (0,121 mol, 3,5 ekv.) metil-jodidot, majd egy éjszakán át kevertettem nitrogén atmoszféra alatt. Az oldatról bepároltam az MeCN-t, és a visszamaradó anyagot feloldottam nitrogén atmoszféra alatt 25 ml DMF-ben. Pár perc kevertetés után a reakcióelegyhez adtam fecskendőn keresztül 3,7 ml (41,3 mmol, 1,2 ekv.) anilint, amitől az oldat színe mélyebb lett. LC-MS mérés alapján a reakció 2 óra után lejárásodott. Ezután az oldatot jeges vízre öntöttem, majd a kiváló szilárd anyagot leszűrtem, és vákuum szárítószekrényben szárítottam. A nyersterméket világosbarna színű, kellemetlen szagú porként izoláltam.

Termelés: 3,41 g (57 %)

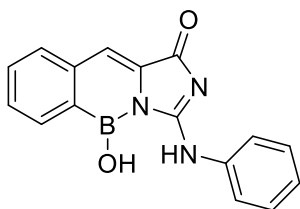
$t_R = 0,27$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 207$ nm

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10,13 – 9,73 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,48 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,32 ($J = 7,8$ Hz, 2H), 7,07 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 3,72 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 139,25, 129,34, 123,84, 120,85, 94,66, 49,41

MS (ESI) számolt érték: $C_9H_9N_3O$ összegképletre: $[M+H]^+ = 176,0818$ m/z, mért: 176 m/z

5-Hidroxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on (51)



175 mg (1,00 mmol) **65**-öt feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 150 mg (1,00 mmol, 1 ekv.) 2-formilfenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem 1 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat feletti gáztérben füst keletkezett, illetve a kiindulási anyagok feloldódása után az oldat színe narancssárgára változott. 110 °C-on kevertetve, a reakció 1 óra alatt lejárásodott. Ezután bepároltam az oldatot, kevés DMSO-ban oldottam a visszamaradó anyagot, majd preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciók összegyűjtésekor a termék elkezdett kikristályosodni. A frakciókat bepároltam, és a vizes szuszpenziót 5 °C-ra hűtöttem, majd a nyersterméket

leszűrtem, amit fehér, vattaszerű kristályos formában kaptam meg. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 175 mg (61 %)

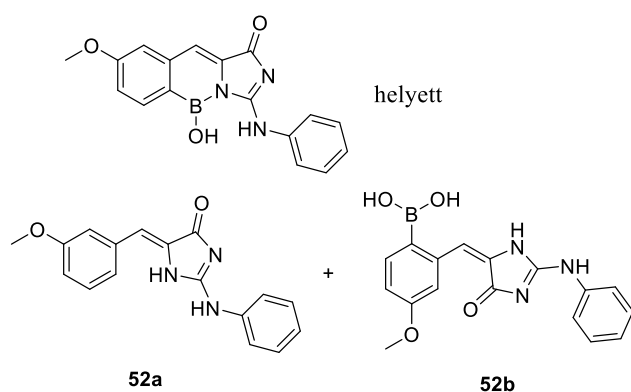
$t_R = 1,97$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 355$ nm

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,48 (s, 1H), 7,72 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 7,29 – 7,19 (m, 4H), 7,07 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,00 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 6,60 (s, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 165,60, 153,78, 141,61, 138,14, 132,58, 129,64, 129,35, 128,94, 128,72, 128,40, 128,11, 126,25, 111,21

MS (ESI) számolt érték: $C_{16}H_{12}BN_3O_2$ összegképletre: $[M+H]^+ = 290,1023$ m/z, mért: 290 m/z

5-Hidroxi-8-metoxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1- f][1,2]azaborinin-1(5H)-on (52), illetve (Z)-5-(3-metoxibenzilidén)-2-(fenilamino)-1,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (52a) és (E)-(4-metoxi-2-((5-oxo-2-(fenilamino)-3,5-dihidro-4H-imidazol-4-ilidén)metil)fenil)boronsav (52b)



175 mg (1,00 mmol) **65**-öt feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 186 mg (1,00 mmol, 1 ekv.) 2-formil-4-metoxifenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem 1 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett, illetve a kiindulási anyagok feloldódása után az oldat színe

narancssárgára változott. 110 °C-on kevertetve, a reakció 1 óra alatt lejártszódott, azonban nem a várt termék keletkezett, hanem 1:1 arányban egy protodeboronált melléktermék és egy nyílt láncú Knoevenagel-addukt. Ezután bepároltam az oldatot, kevés DMSO-ban oldottam a visszamaradó anyagot, majd preparatív HPLC-n TFA-s eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciók összegyűjtésekor a termék elkezdett kikristályosodni. A két melléktermék frakcióit bepároltam, és a vizes szuszpenziókat 5 °C-ra hűtöttem, majd a nyerstermékeket leszűrtem. A **52a** mellékterméket fehér színű, míg a **52b** mellékterméket sárgás színű por formájában izoláltam.

Termelés: **52a**: 63 mg (22 %); **52b**: 53 mg (16 %)

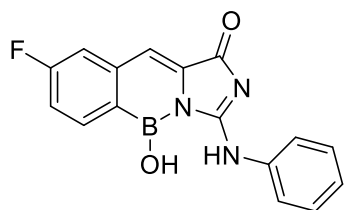
52a: $t_R = 1,97$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 341$ nm; **52b**: $t_R = 2,02$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 350$ nm

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,72 (s, 1H), 9,87 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,84 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,40 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,37 – 7,30 (m, 2H), 7,28 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,06 (tt, J = 7,4, 1,2 Hz, 1H), 6,84 (ddd, J = 8,3, 2,8, 1,0 Hz, 1H), 6,48 (s, 1H), 3,83 (s, 3H). (52a)

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 294,1164$ m/z, mért: 294 m/z (52a)

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{BN}_3\text{O}_4$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 338,1234$ m/z, mért: 338 m/z (52b)

8-Fluor-5-hidroxi-3-(fenilamino)benzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on (53)



175 mg (1,00 mmol) **65**-öt feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 168 mg (1,00 mmol, 1 ekv.) 4-fluoro-2-formilfenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem 1 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett, illetve a kiindulási anyagok feloldódása után az oldat színe narancssárgára változott. 110 °C-on kevertetve, a reakció 2 óra alatt lejátszódott. Ezután bepároltam az oldatot, kevés DMSO-ban oldottam a visszamaradó anyagot, majd preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciók összegyűjtésekor a termék elkezdett kikristályosodni. A frakciókat bepároltam, és a vizes szuszpenziót 5 °C-ra hűtöttem, majd a nyersterméket leszűrtem, amit fehér kristályos formában kaptam meg. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

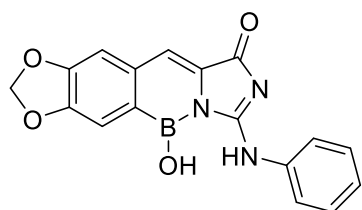
Termelés: 185 mg (60 %)

$t_R = 2,03$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 349$ nm

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,56 (s, 1H), 7,70 (t, J = 7,4 Hz, 1H), 7,14 – 6,97 (m, 6H), 6,74 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,58 (s, 1H)

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BFN}_3\text{O}_2$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 308,0928$ m/z, mért: 308 m/z

5-Hidroxi-7-(fenilamino)-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on (54)



135 mg (0,773 mmol) **65**-öt feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 150 mg (1,00 mmol, 1 ekv.) 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem 1 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett, illetve a kiindulási anyagok feloldódása után az oldat színe narancssárgára

változott. 110 °C-on kevertetve, a reakció néhány perc alatt lejártszódot. Az oldatot jeges vizes fürdőben lehűtöttem, mely hatására fehér szilárd anyagként vált ki a kívánt termék, amit ezután leszűrtem. Az anyalág jelentős mennyiségben tartalmazta a terméket, ezért azt preparatív HPLC-n TFA-s eluensben megtisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, majd liofilizáltam. A nyersterméket fehér porként izoláltam, mely LC-MS és NMR alapján tiszta volt.

Termelés: 203 mg (79 %)

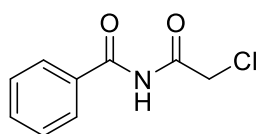
$t_R = 2,02$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 372$ nm

1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 7,13 (d, $J = 8,1$ Hz, 3H), 6,96 (s, 1H), 6,69 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 6,59 (s, 1H), 6,17 (s, 2H), 6,01 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6) δ 151,37, 148,25, 147,93, 145,59, 142,68, 129,62, 129,14, 125,42, 123,08, 121,43, 111,71, 108,93, 102,21, 101,28, 40,58, 40,37, 40,16, 39,96, 39,75, 39,54, 39,33.

MS (ESI) számolt érték: $C_{17}H_{12}BN_3O_4$ összegképletre: $[M+H]^+ = 334,0921$ m/z, mért: 334 m/z

***N*-(2-klóracetil)benzamid (75)¹⁵**



2,5 g (20,6 mmol) benzamidhoz kevertetés közben hozzáadtam 1,7 ml (21,3 mmol, 1,03 ekv.) klóracetil-kloridot, majd 110 °C-ra melegítettem és nitrogén atmoszféra alatt kevertettem. A sárgás színű

oldatot 30 perc kevertetés után fehér szilárd anyag kezdett kiválni. Az oldatot ezután szárazra bepároltam, 3×25 ml dietil-éterrel mostam, és szűrés után fehér porszerű anyagot kaptam. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 2,47 g (61%)

$t_R = 2,98$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 238$ nm

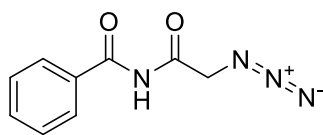
1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 11,41 (s, 1H), 7,96 – 7,92 (m, 2H), 7,68 – 7,62 (tt, $J = 7,1$ Hz, 1,43 Hz, 1H), 7,54 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 4,77 (s, 2H)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 168,84, 166,93, 133,50, 133,01, 129,01, 128,94, 128,65, 127,91, 46,17.

A kapott spektrum összhangban van az irodalomban leírttal.

MS (ESI) számolt érték: $C_9H_8ClNO_2$ összegképletre: $[M+H]^+ = 198,0244$ m/z, mért: 198 m/z

***N*-(2-azidoacetyl)benzamid (76)¹⁵**



1,5 g (7,59 mmol) 75-öt feloldottam 15 ml DMSO-ban, majd kevertetés közben hozzáadtam egy részletben 987 mg (15,2 mmol, 2 ekv.) nátrium-azidot. Nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten kevertettem 4 órát. Ezután az oldatot hideg vízre öntöttem, majd a kiváló szilárd anyagot leszűrtem és csak kevés dietil-éterrel mostam, mert az éter átoldotta az anyagomat az anyalúgba. A fehér szilárd anyagot vákuum szárítószekrényben szárítottam. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 984 mg (64 %)

$t_R = 2,98$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 239$ nm

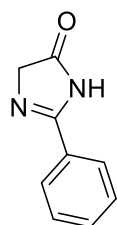
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9,19 (s, 1H), 7,91 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,65 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,54 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 4,60 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 171,03, 165,60, 133,82, 131,55, 129,20, 127,80, 54,27.

A kapott spektrum összhangban van az irodalomban leírttal.

MS (ESI) számolt érték: $C_9H_8N_4O_2$ összegképletre: $[M+H]^+ = 205,0647$ m/z, mért: 205 m/z

2-Fenil-3,5-dihidro-4*H*-imidazol-4-on (77)



800 mg (3,92 mmol) 76-ot feloldottam 30 ml toluolban, majd kevertetés közben hozzáadtam 1,13 g (4,31 mmol, 1,1 ekv.) trifenilfoszfint és nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán át. Bepárlás után egy olajos anyagot kaptam, amit Et_2O -rel mostam, mely után lila színű szilárd anyag vált ki, amit leszűrtem és 10 percig vákuum szárítószekrényben szárítottam. LC-MS alapján tiszta terméket kaptam, amely NMR spektrumában más aromás szennyezőket detektáltunk. A vegyületet ennek ellenére

Termelés: 529 mg (84 %)

$t_R = 0,30$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 252$ nm

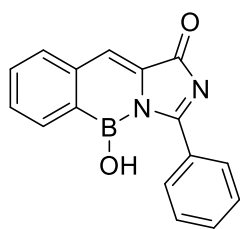
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,81 (s, 1H), 7,95 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,53 (t, $J = 7,7$ Hz, 4H), 4,36 (s, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 132,04, 128,93, 128,47, 126,84.

A kapott spektrum összhangban van az irodalomban leírttal. Néhány ^{13}C csúcs nem volt detektálható.

MS (ESI) számolt érték: $C_9H_8N_2O$ összegképletre: $[M+H]^+ = 161,0637$ m/z, mért: 161 m/z

5-Hidroxi-3-fenilbenzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on (57)



100 mg (0,624 mmol) **77**-et feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 93,6 mg (0,624 mmol, 1 ekv.) 2-formilfenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem még 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem néhány órát. Ezután bepároltam az oldatot, és preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam kétszer az anyagomat, mert az első tisztítás után még nem kaptam teljesen tiszta anyagot az LC-MS szerint. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, és liofilizáltam. A kapott nyers termék narancssárga színű lett. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

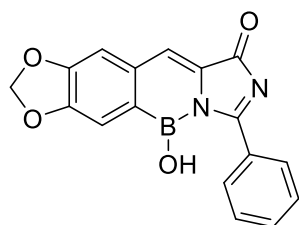
Termelés: 38 mg (22 %)

$t_R = 0,45$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 397$ nm

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,21 – 8,14 (m, 1H), 8,04 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,81 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,51 – 7,31 (m, 6H). ^{13}C NMR felvételéhez a csúcsok kiszélesedtek.

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BN}_2\text{O}_2$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 275,0914$ m/z, mért: 275 m/z

5-Hidroxi-7-fenil-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on (58)



100 mg (0,624 mmol) **77**-et feloldottam 3 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 93,6 mg (0,624 mmol, 1 ekv.) 2-formilfenilboronsavat, és az oldathoz csepegtettem még 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem néhány órát. Ezután bepároltam az oldatot, és preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam az anyagomat. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, és liofilizáltam. A kapott nyers termék sárga színű lett. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 70 mg (35 %)

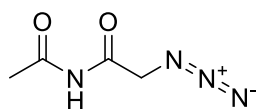
$t_R = 0,82$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 431$ nm

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 8,54 (dd, $J = 8,1, 1,6$ Hz, 2H), 7,78 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,69 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,14 (s, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ 155,23, 151,20, 136,57, 135,23, 134,68, 133,32, 132,80, 131,84, 130,38, 115,28, 113,60, 105,08

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BN}_2\text{O}_4$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 319,0812$ m/z, mért: 319 m/z

N-acetil-2-azidoacetamid (68)



1 g (7,38 mmol) *N*-acetyl-2-klóracetamidot feloldottam 15 ml DMSO-ban, majd kevertetés közben hozzáadtam egy részletben 959 mg (14,8 mmol, 2 ekv.) nátrium-azidot. Nitrogén atmoszféra alatt

szobahőmérsékleten kevertettem egy éjszakán át. Az oldatot hideg vízre öntöttem, de szilárd anyag nem vált ki. Ezután az oldatot 3×20 ml etil-acetáttal extraháltam, vízmentes MgSO₄-on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam. A nyers termék fehér kristályos szilárd anyag. NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 402 mg (38 %)

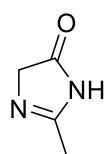
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,96 (s, 1H), 4,25 (d, *J* = 11,2 Hz, 2H), 2,63 (s, 2H), 2,34 (s, 3H)

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170,88, 53,35, 40,81

A kapott spektrum összhangban van az irodalomban leírttal. Néhány ¹³C csúcs nem volt detektálható.

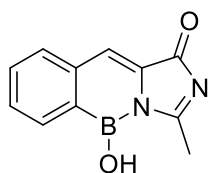
A terméket LC-MS-en nem lehetett követni UV elnyelés és MS ionizáció hiánya miatt.

2-Metil-3,5-dihidro-4*H*-imidazol-4-on (69)



300 mg (2,11 mmol) 68-at feloldottam 11 ml toluolban, majd kevertetés közben hozzáadtam 609 mg (2,32 mmol, 1,1 ekv.) trifenilfoszfint. A kezdetben sárga, majd barna színű elegyet egy éjszakán át kevertettem szobahőmérsékleten, nitrogén atmoszféra alatt. A keletkező terméket a kis móltömege miatt nem lehetett LC-MS-ben detektálni, csak a trifenilfoszfin mennyiségéből, illetve VRK-n lehetett követni a reakció előrehaladását. A reakcióelegyet bepároltam, és a visszamaradó szilárd anyagot MeCN-ben oldottam, majd preparatív HPLC-n tisztítottam TFA-s eluensben. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges acetonban lefagyasztottam, majd liofilizáltam. Az izolált anyag nem a várt termék volt, NMR alapján többkomponensű elegy, ami nem kizárt, hogy tartalmazza a terméket.

5-Hidroxi-3-metilbenzo[c]imidazo[5,1-*f*][1,2]azaborinin-1(5*H*)-on (55)

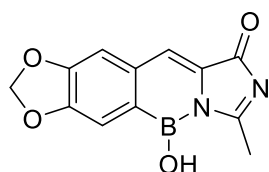


60 mg (0,612 mmol) 69-et feloldottam 2 ml ecetsavban, kevertetés közben hozzáadtam 91,7 mg (0,612 mmol, 1 ekv.) 2-formilfenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem a

reakcióelegyet néhány óráig. A keletkező terméket LC-MS-ben nehezen lehetett detektálni. Az oldatot bepároltam, majd a visszamaradó anyagot feloldottam MeCN-ben és kevés MeOH-ban,

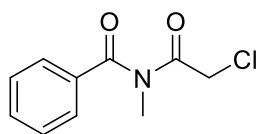
majd preparatív HPLC-n tisztítottam TFA-s eluensben. A célvegyület nem képződött, feltehetően amiatt, hogy a **69** vegyület nem a várt termék volt.

5-Hidroxi-7-metil-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on (**56**)



60 mg (0,612 mmol) **69**-et feloldottam 2 ml ecetsavban, kevertetés közben hozzáadtam 119 mg (0,612 mmol, 1 ekv.) 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem a reakcióelegyet néhány óráig. A keletkező terméket LC-MS-ben nehezen lehetett detektálni. Az oldatot bepároltam, majd a visszamaradó anyagot feloldottam MeCN-ben és kevés MeOH-ban, majd preparatív HPLC-n tisztítottam TFA-s eluensben. A célvegyületet nem lehetett izolálni, feltehetően amiatt, hogy a **69** vegyület nem a várt termék volt.

N-(2-klóracetil)-N-metilbenzamid (**79**)^{15,70}



1,5 g (11,1 mmol) N-metilbenzamidhoz hozzáöntöttem 37 ml toluolt, és szobahőmérsékleten kevertetés közben az oldathoz csepegtettem 970 µl (12,2 mmol, 1,1 ekv.) klóracetil-kloridot. A reakcióelegyet nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem egy éjszakán át. Az oldószer bepárlása után egy barnás-vörös színű olajat kaptam, amit további tisztítás nélkül a következő reakcióban használtam fel.

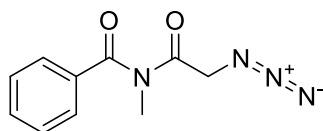
Termelés: 2,0 g (85 %)

$t_R = 3,41$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 239$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.^{15,70}

MS (ESI) számolt érték: C₁₀H₁₀ClNO₂ összegképletre: $[M+H]^+ = 212,0400$ m/z, mért: 212 m/z

N-(2-azidoacetyl)-N-metilbenzamid (**80**)^{15,70}



1,8 g (8,5 mmol) **79**-et feloldottam 17 ml DMSO-ban, majd kevertetés közben hozzáadtam egy részletben 1,11 g (17 mmol, 2 ekv.) nátrium-azidot. A reakcióelegyet nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten egy éjszakán át kevertettem. Az oldatot jeges vízre öntöttem, majd 3×30 ml etil-acetáttal, 20 ml vízzel és végül 20 ml telített NaCl-oldattal extraháltam. Ezután vízmentes MgSO₄-on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam az oldatot, amit ezt követően

flash kromatográfon EtOAc/hexán eluensben tisztítottam. A frakciók bepárlása után nyers termék sárgás-fehér kristályok formájában vált ki.

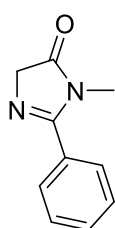
Termelés: 872 mg (47 %)

$t_R = 3,43$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 246$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.^{15,70}

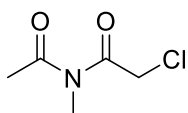
MS (ESI) számolt érték: $C_{10}H_{10}N_4O_2$ összegképletre: $[M+H]^+ = 219,0804$ m/z, mért: 219 m/z

3-Metil-2-fenil-3,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (81)



750 mg **80**-at feloldottam 17 ml toluolban, kevertetés közben hozzáadtam 992 mg (3,78 mmol, 1,1 ekv.) trifenilfoszfint és nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten egy éjszakán át kevertettem. Az oldószer bepárlása után piros színű olajos anyagot kaptam, amiből később a szennyező trifenilfoszfin-oxid elkezdett kikristályosodni. Az anyagomat megpróbáltam dietil-éterben mosni, de VRK szerint az átoldotta a kívánt terméket a szennyezőkkel együtt. Az anyagot flash kromatográfon EtOAc/hexán eluensben tisztítottam. A frakciók bepárlása után nyers terméként piros színű olajos anyagot kaptam, azonban nem a várt terméket sikerült izolálni.

N-acetil-2-klór-N-metilacetamid (71)^{15,70}



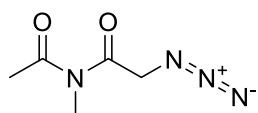
5,3 g (72,5 mmol) *N*-metilacetamidot feloldottam 80 ml DKM-ben, és kevertetés közben hozzáadtam 11,1 ml (79,8 mmol, 1,1 ekv.) trietilamint. Kevertetés közben cseppenként az elegyhez adtam 6,34 ml (79,8 mmol, 1,1 ekv.) klóracetil-kloridot. Az adagolás közben heves forrást tapasztaltam. Az oldatot 2 óráig kevertettem nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten, majd 3×30 ml vízzel mostam választótölcsérben. Az egyesített szerves fázist vízmentes $MgSO_4$ -on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam. Nyers terméknek barna színű olajos anyagot kaptam, melyet további tisztítás nélkül használtam fel a következő vegyület előállításához.

Termelés: 4,38 g (40 %)

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.^{15,70}

A terméket LC-MS-en nem lehetett detektálni a gyenge UV-elnyelés és MS ionizálhatóság miatt.

N-acetil-2-azido-N-metilacetamid (72)^{15,70}



4 g (26,7 mmol) **71**-et feloldottam 52 ml DMSO-ban, majd kevertetés közben hozzáadtam 3,47 g (53,5 mmol, 2 ekv.) nátrium-azidot.

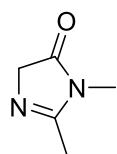
A reakcióelegyet nitrogén atmoszféra alatt szobahőmérsékleten egy éjszakán át kevertettem. Az oldatot jeges vízre öntöttem, majd 3×50 ml etil-acetáttal, 2×30 ml vízzel és végül 30 ml telített NaCl-oldattal extraháltam. Ezután vízmentes MgSO₄-on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam az oldatot, amit ezt követően flash kromatográfon EtOAc/hexán eluensben tisztítottam. A frakciók bepárlása után nyerstermékként sárga színű olajos anyagot kaptam.

Termelés: 1,12 g (27 %)

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.^{15,70}

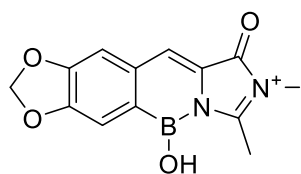
A terméket LC-MS-en nem lehetett követni.

2,3-Dimetil-3,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (73)



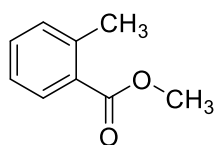
968 mg (6,2 mmol) **72**-t feloldottam 31 ml toluolban, majd kevertetés közben hozzáadtam 1789 mg (6082 mmol, 1,1 ekv.) trifenilfoszfint. Szobahőmérsékleten 3 órán át kevertettem, majd bepároltam az oldatról a toluolt, mely után a szennyező trifenilfoszfin-oxid sárgás kristályok formájában kivált. Az anyagomat flash kromatográfon MeOH/EtOAc eluensben tisztítottam. A frakciók bepárlása után nyerstermékként sárga színű olajos anyagot kaptam, de a nem a várt terméket sikerült izolálni.

5-Hidroxi-7,8-dimetil-9-oxo-5,9-dihidro-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-8-ium (60)



22,1 mg (0,197 mmol) **73**-at feloldottam 2 ml ecetsavban, kevertetés közben hozzáadtam 38,2 mg (0,197 mmol, 1 ekv.) 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem a reakcióelegyet néhány óráig. LC-MS alapján nem képződött a várt termék, feltételezhetően azért, mert a kiindulási imidazolinon (**73**) nem a várt vegyület volt.

Metil-2-metilbenzoát (43)



5 g (36,7 mmol) *o*-toluilsavat feloldottam 130 ml metanolban, majd kevertetés közben 10 csepp 96 %-os kénsavat csepegtettem hozzá, és 3 napig 70 °C-on refluxáltattam az elegyet. A reakció előrehaladását VRK-n követtem. Az oldószer bepárlása után a keletkező termék és a víz két fázisra vált szét. Kevés víz hozzáadására fehér szuszpenzió keletkezett, amit ezután rázóütöcsérben háromszor dietil-éterrel extraháltam. Az egyesített szerves fázist telített NaCl-oldattal mostam, vízmentes MgSO₄-on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam. A nyers termék színtelen, gyümölcsös illatú folyadék lett.

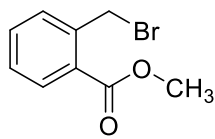
Termelés: 4,88 g (89 %)

$t_R = 3,90$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 279$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.⁵⁵

MS (ESI) számolt érték: C₉H₁₀O₂ összegképletre: $[M+H]^+ = 151,0681$ m/z, mért: 151 m/z

Metil-2-(brómmetil)benzoát (44)



4,78 g (31,8 mmol) **43**-at feloldottam 50 ml benzolban, és kevertetés közben hozzáadtam előbb 6,23 g (35 mmol, 1,1 ekv.) *N*-brómszukcinimidet, majd 139 mg (0,573 mmol, 0,018 ekv.) benzoil-peroxidot. Az elegyet 70 °C-on nitrogén atmoszféra alatt kevertettem 2 napig. Az elegy a színtelen oldószer és sárgás-fehéres szilárd anyag szuszpenziója volt. Miután a reakcióelegy lehűlt szobahőmérsékletre, hűtőben tároltam. A sárgás folyadék mellett fehér kristályok váltak ki, amiket leszűrtem, majd a szűrlet bepárlása után sárga színű olajos anyagot kaptam.

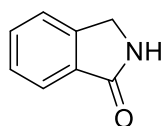
Termelés: 6,55 g (90 %)

$t_R = 4,00$ perc (TFA-s eluens), $\lambda_{abs} = 211$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.⁵⁵

MS (ESI) számolt érték: C₉H₉BrO₂ összegképletre: $[M+H]^+ = 228,9786$ m/z, mért: 229 m/z

Izoindolin-1-on (45)



2 g (8,73 mmol) **44**-hez hozzáadtam 20 ml 7 N metanolos ammónia oldatot, majd szobahőmérsékleten nitrogén atmoszféra alatt kevertettem 24 óráig. Az oldószer bepárlása után piszkosfehér szilárd anyag vált ki. Az anyagomat flash kromatográfon MeOH/DKM eluensben tisztítottam. A frakciók bepárlása után nyerstermékként fehér színű szilárd anyagot kaptam.

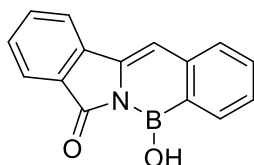
Termelés: 863 mg (74 %)

$t_R = 1,29$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 226$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.⁵⁵

MS (ESI) számolt érték: C_8H_7NO összegképletre: $[M+H]^+ = 134,0528$ m/z, mért: 134 m/z

5-Hidroxibenzo[3,4][1,2]azaborinino[6,1-*a*]izoindol-7(5*H*)-on (49)



300 mg (2,25 mmol) **45**-öt összemértem 338 mg (2,25 mmol, 1 ekv.)

2-formilfenilboronsavval, majd hozzáadtam 10 ml vízmentes etanolt, és nitrogén atmoszféra alatt kevertettem az elegyet. A szilárd anyagok feloldódása után 1,7 ml (11,3 mmol, 5 ekv.) DBU-t adtam az oldathoz,

majd 80 °C-ra melegítettem és továbbra is nitrogén atmoszféra alatt kevertettem a reakcióelegyet 24 óráig. A keletkező narancssárga színű oldatot hagytam szobahőmérsékletre hűlni, majd jeges vizes fürdőbe helyeztem, miközben kevertetés közben 20 ml 1 M-os HCl-oldatot adtam az oldathoz. A HCl-oldat adagolása közben enyhe pezsgést tapasztaltam, miközben sárgás színű szilárd anyag vált ki. 15 perc kevertetés után leszűrtem az oldatot, és a kapott sárgás-fehér szilárd anyagot vákuum szárítószekrényben szárítottam 2 óráig. LC-MS szerint a szárított anyag tartalmazott még szennyezőt, ezért preparatív HPLC-n, NH_4HCO_3 -os eluensben megtisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, és liofilizáltam. A kapott nyertermék fehér színű lett. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

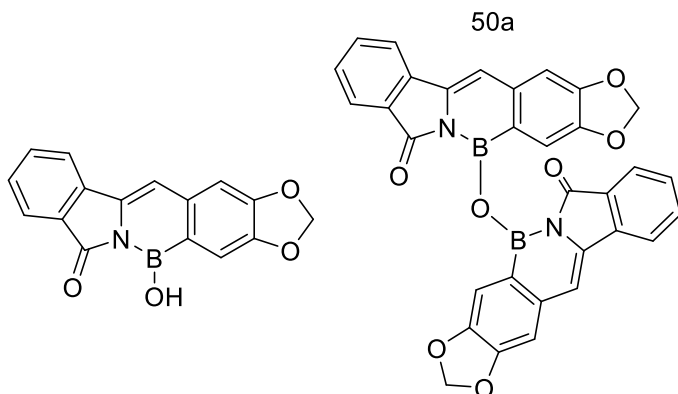
Termelés: 280,1 mg (50 %)

$t_R = 4,38$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{abs} = 372$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.⁵⁵

MS (ESI) számolt érték: $C_{15}H_{10}BNO_2$ összegképletre: $[M+H]^+ = 248,0805$ m/z, mért: 248 m/z

5-Hidroxi-[1,3]dioxolo[4'',5'':4',5']benzo[1',2':3,4][1,2]azaborinino[6,1-*a*]izoindol-7(5*H*)-on (50)



68,7 mg (0,516 mmol) **45**-öt összemértem 100 mg (0,516 mmol, 1 ekv.) 2-formilfenilboronsavval, majd hozzáadtam 5 ml vízmentes etanolt, és nitrogén atmoszféra alatt kevertettem az elegyet. A szilárd anyagok feloldódása után 0,4 ml (2,58 mmol, 5 ekv.) DBU-t adtam az oldathoz, majd

80 °C-ra melegítettem és továbbra is nitrogén atmoszféra alatt kevertettem a reakcióelegyet 24 óráig. A keletkező narancssárga színű oldatot hagytam szobahőmérsékletre hűlni, majd jeges vizes fürdőbe helyeztem, miközben kevertetés közben 10 ml 1 M-os HCl-oldatot adtam az oldathoz. A HCl-oldat adagolása közben enyhe pezsgést tapasztaltam, miközben sárgás színű szilárd anyag vált ki. 15 perc kevertetés után leszűrtem az oldatot, és a kapott sárgás-fehér szilárd anyagot vákuum szárítószekrényben szárítottam 2 óráig. A szárítás előtt vett LC-MS és NMR minta alapján tiszta anyagot kaptam a szűrés után. Az 50a jelű dimer csak MS-en látszódott, az anyavegyülettel megegyező retenciós idővel, csúcsalakkal.

Termelés: 22,3 mg (15 %)

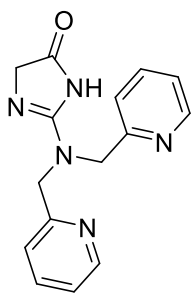
$t_R = 4,90$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 388$ nm

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,73 (dd, $J = 7,4, 1,0$ Hz, 1H), 7,64 (td, $J = 7,5, 1,1$ Hz, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,46 (td, $J = 7,5, 0,9$ Hz, 1H), 6,93 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,05 (s, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 174,88, 151,41, 147,43, 139,05, 137,85, 134,06, 133,68, 129,10, 128,99, 124,81, 124,11, 120,26, 111,73, 107,78, 107,13, 101,36.

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{BNO}_4$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 292,0703$ m/z, mért: 292 m/z; $[\text{2M}+\text{H}]^+ = 565,1300$ m/z, mért: 565 m/z

2-(Bisz(piridin-2-ilmetil)amino)-1,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (87)



650 mg (5,6 mmol) 2-tiohidantoint feloldottam 8 ml MeCN-ben, majd kevertetés közben, nitrogén atmoszféra alatt néhány csepp DMF-et adtam az oldathoz. Ezután egy részletben fecskendőn keresztül hozzáadtam 1,2 ml (19,6 mmol, 3,5 ekv.) metil-jodidot, majd egy éjszakán át kevertettem nitrogén atmoszféra alatt. Az oldatról bepároltam az MeCN-t, és a visszamaradó anyagot feloldottam nitrogén atmoszféra alatt 5 ml DMF-ben, amitől sötét narancssárga színű oldatot kaptam. Pár perc kevertetés után a reakcióelegyhez adtam fecskendőn keresztül 1,1 ml (6,16 mmol, 1,1 ekv.) bisz(2-piridilmetil)amint, amitől az oldat színe mélyebb lett. LC-MS mérés alapján a reakció 4 óra után lejártszódott. Ezután az anyagomat preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, majd liofilizáltam. A liofilizálóról levéve egy folyékony anyagot kaptam, amit a könnyebb kinyerés végett kevés metanolban oldottam, egy kisebb üvegbe átöntöttem, majd ebből bepároltam a metanolt. A visszamaradó anyagot 10 percig vákuum szárítószekrényben szárítottam a metanol nyomok eltávolítása érdekében. Szárítás után erősen viszkózus, sötétbarna színű anyagot kaptam.

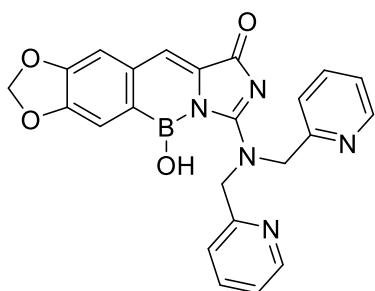
Termelés: 352 mg (22 %)

$t_R = 2,52$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 227$ nm

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 282,1277$ m/z, mért: 282 m/z

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,63 (bs, 2H), 8,41 (bs, 1H), 7,91 (bs, 2H), 7,34 (bs, 4H), 4,82 – 4,63 (bd, $J = 8$ Hz, 4H), 3,85 (s, 2H). A kiszélesedett jelek miatt a ^{13}C spektrumot nem tudtuk rögzíteni. Az ^1H jelek megegyeznek az irodalmi.

7-(Bisz(piridin-2-ilmetil)amino)-5-hidroxi-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on (88)



235 mg (0,835 mmol) **87**-et feloldottam 5 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 162 mg (0,835 mmol, 1 ekv.) 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110°C -on kevertettem a reakcióelegyet 3,5 óráig. Ezután bepároltam az

oldószert, majd a visszamaradó anyagot kevés metanolban oldottam, és preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, majd liofilizáltam. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 183 mg (50 %)

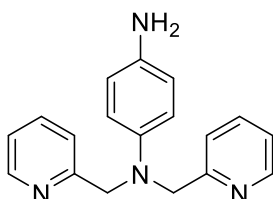
$t_R = 3,07$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 398$ nm

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8,49 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 7,78 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,49 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,34 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 7,13 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,00 (s, 2H), 5,43 (brs, 4H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 178,00, 169,55, 154,73, 148,29, 148,01, 147,18, 139,55, 135,14, 132,85 (br), 132,30, 126,36, 124,02, 112,26, 109,74, 108,40, 101,04, 54,09.

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BN}_5\text{O}_4$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 440,1452$ m/z, mért: 440 m/z

N^1, N^1 -bisz(piridin-2-ilmetil)benzol-1,4-diamin (90)¹



313 mg (0,977 mmol) 4-nitro- N,N -bisz(piridin-2-ilmetil)anilint feloldottam 15 ml etanolban. Eközben 1110 mg (5,86 mmol, 6 ekv.) $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -ból és 7,5 ml cc. HCl -ből oldatot készítettem, amit kevertetés közben hozzáöntöttem az etanolos oldathoz, ami barnás-narancssárga színűvé vált, illetve a sósavas oldat hozzáadása közben enyhe füstölögést is tapasztaltam. A reakcióelegyet 78°C -on refluxáltattam egy éjszakán át, miközben a színe

világosabb lett és az oldat alján csapadék vált ki. Ezután addig adagoltam desztillált vizet a csapadékos oldathoz, amíg az kitisztult, majd 32 %-os NH_3 -oldatot csepegtettem az elegyhez pH 7-8-ig. Az NH_3 adagolása közben fehér füst keletkezett, ami az oldat felszínén egy párnaszerű réteget képzett, valamint az NH_3 mennyiségének növekedésével az oldatban fehér csapadék vált ki, ami kevertetéssel azonban feloldódott. A keverés leállítását követően két fázisú elegyet kaptam: egy sárgás színű oldatban fehér csapadék. Az oldatot háromszor extraháltam etil-acetáttal, és az egyesített szerves fázist vízmentes MgSO_4 -on szárítottam, majd bepároltam. Bepárlás után egy barna viszkózus anyagot kaptam, amit kevés DKM-ben feloldva flash kromatográfon MeOH/DKM eluensben tisztítottam.

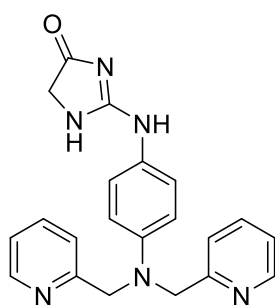
Termelés: 57 mg (20 %)

$t_R = 0,47$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 255$ nm

A termék NMR spektruma megegyezik az irodalomban leírttal.¹

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 291,1531$ m/z, mért: 291 m/z

2-((4-(Bisz(piridin-2-ilmetil)amino)fenil)amino)-1,5-dihidro-4H-imidazol-4-on (91)



Egy Schlenk technikával inertizált szeptummal ellátott mintatartó üvegben 20,4 mg (0,175 mmol) 2-tiohidantoint feloldottam 3 ml vízmentes MeCN-ben, majd kevertetés közben nitrogén atmoszféra alatt néhány csepp vízmentes DMF-et adtam az oldathoz. Ezután egy részletben fecskendőn keresztül hozzáadtam 80 μl (1,23 mmol, 7 ekv.) metil-jodidot, majd egy éjszakán át kevertettem nitrogén atmoszféra alatt. Következő nap az oldatról bepároltam az MeCN-t, és a visszamaradó sárga színű olajos anyagot feloldottam nitrogén atmoszféra alatt 1 ml DMF-ben, amitől sötét narancssárga színű oldatot kaptam. Pár perc kevertetés után a reakcióelegyhez adtam fecskendőn keresztül 56 mg (0,193 mmol, 1,1 ekv.), 1 ml vízmentes DMF-ben oldott **90**-et, amitől az oldat színe mélyebb lett. LC-MS mérés alapján a reakció 4 óra után lejártszódot. Ezután az anyagomat preparatív HPLC-n NH_4HCO_3 -os eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges-acetonos fürdőben fagyasztottam, majd liofilizáltam. A liofilizálóról levéve egy folyékony anyagot kaptam, amit a könnyebb kinyerés végett kevés metanolban oldottam, egy kisebb üvegbe átöntöttem, majd ebből bepároltam a metanolt. A visszamaradó anyagot 10 percig vákuum szárítószekrényben szárítottam a metanol nyomok eltávolítása érdekében. Szárítás után erősen viszkózus, sötétbarna színű anyagot kaptam.

Termelés: 24 mg (37 %)

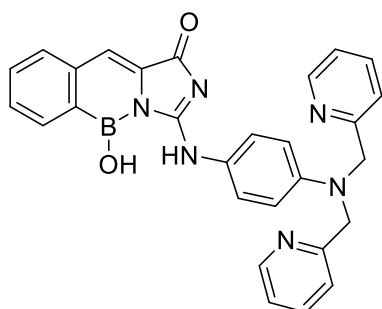
$t_R = 3,24$ perc (NH_4HCO_3 -s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 263$ nm

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 8,10 – 8,07 (m, 2H), 7,27 (td, $J = 7,6, 1,8$ Hz, 2H), 6,83 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 6,81 – 6,77 (m, 2H), 6,63 (s, 2H), 6,16 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,35 (s, 4H), 3,18 (s, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ 186,81, 169,83, 158,96, 149,30, 145,13, 136,79, 126,95, 123,18, 122,17, 121,13, 112,43, 57,08, 49,34.

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 373,1699$ m/z, mért: 373 m/z

3-((4-(Bisz(piridin-2-ilmetil)amino)fenil)amino)-5-hidroxibenzo[c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-1(5H)-on (92)



8,5 mg (0,0228 mmol) **91**-et feloldottam 2 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 5 mg (0,0333 mmol, 1,5 ekv.) 2-formilfenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on kevertettem a sárgás-barna színű reakcióelegyet 2 óráig.

Ezután bepároltam a reakcióelegyről az ecetsavat, majd a visszamaradó anyagot 8 ml MeCN-ben feloldottam és preparatív HPLC-n, TFA-s eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges acetonban lefagyasztottam, majd liofilizáltam. A nyers termék egy sárga színű por lett. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 8,2 mg (74 %)

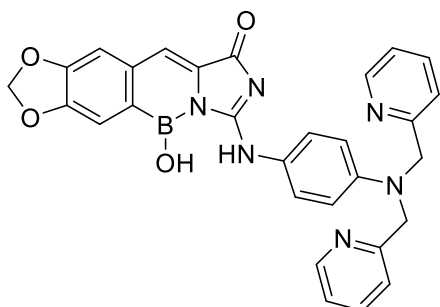
$t_R = 3,26$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{\text{abs}} = 362$ nm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,14 (ddd, $J = 5,4, 1,6, 0,8$ Hz, 2H), 7,53 (td, $J = 7,8, 1,6$ Hz, 2H), 7,16 (dt, $J = 8,3, 1,0$ Hz, 2H), 6,95 (ddd, $J = 7,7, 5,4, 1,2$ Hz, 2H), 6,78 – 6,71 (m, 1H), 6,56 – 6,53 (m, 1H), 6,55 – 6,50 (m, 1H), 6,45 (td, $J = 7,4, 1,5$ Hz, 1H), 6,37 – 6,29 (m, 2H), 6,12 (s, 1H), 5,91 – 5,83 (m, 2H), 4,43 (s, 4H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163,93, 156,43, 153,97, 144,68, 144,10, 143,80, 141,89, 135,42, 130,73, 128,67, 128,49, 128,23, 126,07, 125,63, 124,11, 123,83, 123,57, 117,29, 112,44, 54,67.

MS (ESI) számolt érték: $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{BN}_6\text{O}_2$ összegképletre: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 487,1976$ m/z, mért: 487 m/z

7-((4-(Bisz(piridin-2-ilmetil)amino)fenil)amino)-5-hidroxi-[1,3]dioxolo[4',5':4,5]benzo[1,2-c]imidazo[5,1-f][1,2]azaborinin-9(5H)-on (93)



8,5 mg (0,0228 mmol) **91**-et feloldottam 2 ml ecetsavban, majd kevertetés közben hozzáadtam 5 mg (0,0258 mmol, 1,1 ekv.) 2-formil-4,5-metiléndioxifenilboronsavat, majd az oldathoz csepegtettem 3 csepp pirrolidint, aminek hatására az oldat felett füst keletkezett. Nitrogén atmoszféra alatt 110 °C-on

kevertettem a sárgás-barna színű reakcióelegyet 2 óráig. Ezután bepároltam a reakcióelegyről az ecetsavat, majd a visszamaradó anyagot 8 ml MeCN-ben feloldottam és preparatív HPLC-n, TFA-s eluensben tisztítottam. A megfelelő frakciókat bepároltam, szárazjeges acetonban lefagyasztottam, majd liofilizáltam. A nyers termék egy sárga színű por lett. LC-MS és NMR alapján tiszta terméket kaptam.

Termelés: 6,3 mg (52 %)

$t_R = 3,31$ perc (TFA-s eluens) $\lambda_{abs} = 389$ nm

1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,14 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 7,52 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,16 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 6,95 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 6,36 – 6,30 (m, 2H), 6,20 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 6,07 (s, 1H), 5,91 – 5,85 (m, 2H), 5,16 (s, 2H), 4,43 (s, 4H).

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163,80, 156,47, 153,71, 148,74, 146,37, 144,71, 144,23, 141,73, 140,48, 129,64, 127,15, 125,60, 124,16, 123,77, 123,49, 117,62, 112,45, 109,97, 108,00, 100,02, 54,72.

MS (ESI) számolt érték: $C_{29}H_{23}BN_6O_4$ összegképletre: $[M+H]^+ = 531,1874$ m/z, mért: 531 m/z

7.3. Spektroszkópiai vizsgálatához használt oldatok

A **88**, **92** és **93** vegyület spektroszkópiai vizsgálatához a következő oldatokat készítettem el:

- **Zn-puffer:** 200 ml, 1 mM-os koncentrációban $Zn(OTf)_2$ -ot tartalmazó 10 mM-os HEPES oldat elkészítéséhez feloldottam 72,7 mg $Zn(OTf)_2$ -ot 150 ml ioncserélt vízben egy főzőpohárban, majd hozzáadtam 476 mg HEPES-t és 745 mg KCl-ot. A pH beállításához frissen készített cc. NaOH-oldatot csepegtettem az oldatba, amíg a pH = 7,4-et elértem. Az oldatot ezután egy 200,0 ml-es mérőlombikba öntöttem át, majd ioncserélt vízzel jelíg töltöttem.
- **EGTA-puffer:** 250 ml, 10 mM-os koncentrációban EGTA-t tartalmazó 10 mM-os HEPES oldat elkészítéséhez feloldottam 900 mg EGTA-t 190 ml ioncserélt vízben egy

főzőpohárban, majd hozzáadtam 595 mg HEPES-t és 931 mg KCl-ot. A pH beállításához frissen készített cc. NaOH-oldatot csepegtettem az oldatba, amíg a pH = 7,4-et elértem. Az oldatot ezután egy 250,0 ml-es mérőlombikba öntöttem át, majd ioncserélt vízzel jelig töltöttem.

- **HEPES-puffer:** 200 ml, 10 mM-os HEPES-oldat elkészítéséhez feloldottam 476 mg HEPES-t 150 ml ioncserélt vízben egy főzőpohárban, majd hozzáadtam 745 mg KCl-ot. A pH beállításához frissen készített cc. NaOH-oldatot csepegtettem az oldatba, amíg a pH = 7,4-et elértem. Az oldatot ezután egy 200,0 ml-es mérőlombikba öntöttem át, majd ioncserélt vízzel jelig töltöttem.

Irodalomjegyzék

- (1) Wang, H., Wang, D., Wang, Q., Li, X., Schalley, C. A. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8 (5), 1017–1026.
- (2) Zhu, S., Song, Y., Zhao, X., Shao, J., Zhang, J., Yang, B. *Nano Res.* **2015**, 8 (2), 355–381.
- (3) Grimm, J. B., Xie, L., Casler, J. C., Patel, R., Tkachuk, A. N., Falco, N., Choi, H., Lippincott-Schwartz, J., Brown, T. A., Glick, B. S., Liu, Z., Lavis, L. D. *JACS Au* **2021**, 1 (5), 690–696.
- (4) Chen, H., Liu, L., Qian, K., Liu, H., Wang, Z., Gao, F., Qu, C., Dai, W., Lin, D., Chen, K., Liu, H., Cheng, Z. *Sci. Adv.* **2022**, 8 (32).
- (5) Rasheed, R. T. *Asian J. Chem.* **2015**, 27 (11), 4037–4039.
- (6) Kumar, V., Coluccelli, N., Polli, D. *Coherent Optical Spectroscopy/Microscopy and Applications*, Elsevier Inc., 2018.
- (7) Schermelleh, L., Ferrand, A., Huser, T., Eggeling, C., Sauer, M., Biehlmaier, O., Drummen, G. P. C. *Nat. Cell Biol.* **2019**, 21 (1), 72–84.
- (8) Rost, F. *Fluorescence microscopy, applications*, 3rd ed., Elsevier Ltd., 2016.
- (9) Martynov, V. I., Pakhomov, A. A., Popova, N. V., Deyev, I. E., Petrenko, A. G. *Acta Naturae* **2016**, 8 (4), 33–46.
- (10) Ferreira, J. R. M., Esteves, C. I. C., Marques, M. M. B., Guieu, S. *Molecules* **2023**, 28 (1).
- (11) Saha, T., Sengupta, A., Hazra, P., Talukdar, P. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, 13 (10), 1427–1433.
- (12) Jones, L. J., Upson, R. H., Haugland, R. P., Panchuk-Voloshina, N., Zhou, M., Haugland, R. P. *Anal. Biochem.* **1997**, 251 (2), 144–152.
- (13) Yapici, I., Lee, K. S. S., Berbasova, T., Nosrati, M., Jia, X., Vasileiou, C., Wang, W., Santos, E. M., Geiger, J. H., Borhan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137 (3), 1073–1080.
- (14) Mujumdar, S. R., Mujumdar, R. B., Grant, C. M., Waggoner, A. S. *Bioconjugate Chem.* **1996**, 7 (3), 356–362.
- (15) Wu, L., Burgess, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (12), 4089–4096.
- (16) Li, Y., Shi, L., Qin, L.-X., Qu, L.-L., Jing, C., Lan, M., James, T. D., Long, Y.-T. *Chem. Commun.* **2011**, 47 (15), 4361–4363.
- (17) Baranov, M. S., Lukyanov, K. A., Borissova, A. O., Shamir, J., Kosenkov, D., Slipchenko, L. V., Tolbert, L. M., Yampolsky, I. V., Solntsev, K. M. *J. Am. Chem. Soc.*

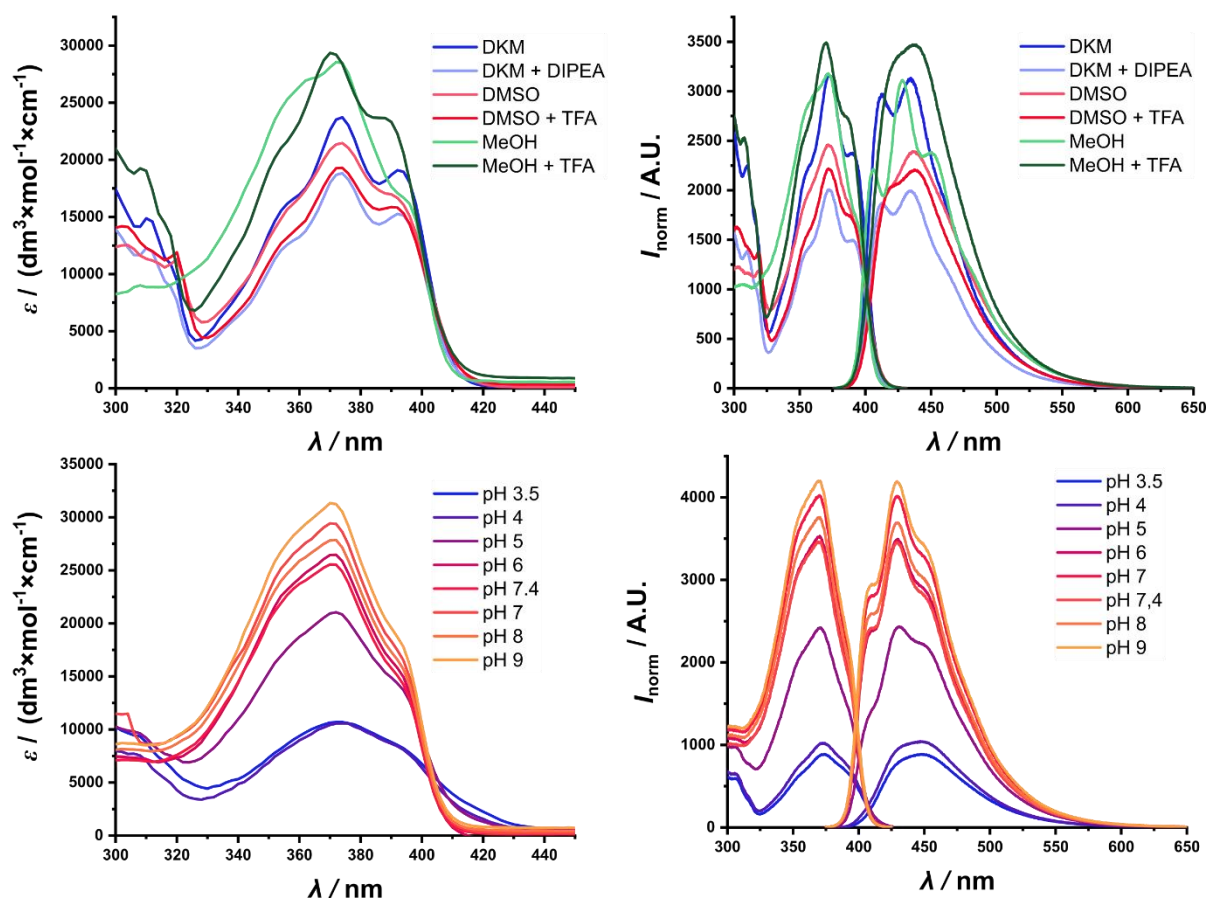
- 2012**, 134 (13), 6025–6032.
- (18) Kovács, E., Cseri, L., Jancsó, A., Terényi, F., Fülöp, A., Rózsa, B., Galbács, G., Mucsi, Z. *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, 2021 (41), 5649–5660.
 - (19) Attila, C., Újfajta fluoreszcens Ca^{2+} szenzormolekulák tervezése, szintézise és vizsgálata, **2019**.
 - (20) Gao, N., Cheng, C., Yu, C., Hao, E., Wang, S., Wang, J., Wei, Y., Mu, X., Jiao, L. *Dalton Trans.* **2014**, 43 (19), 7121–7127.
 - (21) Quinn, M. P., Yao, M. L., Yong, L., Kabalka, G. W. *Synthesis (Stuttg.)*. **2011**, No. 23, 3815–3820.
 - (22) Kiran, B., Phukan, A. K., Jemmis, E. D. *Inorg. Chem.* **2001**, 40 (14), 3615–3618.
 - (23) Frath, D., Massue, J., Ulrich, G., Ziessel, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (9), 2290–2310.
 - (24) Maeda, C., Todaka, T., Ema, T. *Org. Lett.* **2015**, 17 (12), 3090–3093.
 - (25) Kubota, Y., Tanaka, S., Funabiki, K., Matsui, M. *Org. Lett.* **2012**, 14 (17), 4682–4685.
 - (26) Paquin, F., Rivnay, J., Salleo, A., Stingelin, N., Silva, C. *J. Mater. Chem. C* **2015**, 3, 10715–10722.
 - (27) Oh, J. H., Lee, H. W., Mannsfeld, S., Stoltenberg, R. M., Jung, E., Jin, Y. W., Kim, J. M., Yoo, J. B., Bao, Z. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, 106 (15), 6065–6070.
 - (28) Martínez Hardigree, J. F., Katz, H. E. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47 (4), 1369–1377.
 - (29) Yu, Z., Wu, Y., Liao, Q., Zhang, H., Bai, S., Li, H., Xu, Z., Sun, C., Wang, X., Yao, J., Fu, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137 (48), 15105–15111.
 - (30) Shao, A., Xie, Y., Zhu, S., Guo, Z., Zhu, S., Guo, J., Shi, P., James, T. D., Tian, H., Zhu, W. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54 (25), 7275–7280.
 - (31) Jones, B. A., Ahrens, M. J., Yoon, M. H., Facchetti, A., Marks, T. J., Wasielewski, M. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43 (46), 6363–6366.
 - (32) Zhan, X., Tan, Z., Domercq, B., An, Z., Zhang, X., Barlow, S., Li, Y., Zhu, D., Kippelen, B., Marder, S. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129 (23), 7246–7247.
 - (33) Anthony, J. E., Facchetti, A., Heeney, M., Marder, S. R., Zhan, X. *Adv. Mater.* **2010**, 22 (34), 3876–3892.
 - (34) Zhang, Q., Lu, X. feng, Wang, Z. sheng, Zhou, G. *Chem. Res. Chin. Univ.* **2013**, 29 (6), 1083–1088.
 - (35) Mei, J., Leung, N. L. C., Kwok, R. T. K., Lam, J. W. Y., Tang, B. Z. *Chem. Rev.* **2015**, 115 (21), 11718–11940.
 - (36) Fan, J., Hu, M., Zhan, P., Peng, X. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (1), 29–43.

- (37) Yuan, L., Lin, W., Zheng, K., He, L., Huang, W. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (2), 622–661.
- (38) Shen, Y., Shang, Z., Yang, Y., Zhu, S., Qian, X., Shi, P., Zheng, J., Yang, Y. *J. Org. Chem.* **2015**, 80 (11), 5906–5911.
- (39) Lei, Z., Li, X., Li, Y., Luo, X., Zhou, M., Yang, Y. *J. Org. Chem.* **2015**, 80 (22), 11538–11543.
- (40) Chen, J. J., Conron, S. M., Erwin, P., Dimitriou, M., McAlahney, K., Thompson, M. E. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, 7 (1), 662–669.
- (41) Campbell, P. G., Abbey, E. R., Neiner, D., Grant, D. J., Dixon, D. A., Liu, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132 (51), 18048–18050.
- (42) Zhao, P., Nettleton, D. O., Karki, R. G., Zécéri, F. J., Liu, S. Y. *ChemMedChem* **2017**, 12 (5), 358–361.
- (43) Roughley, S. D., Jordan, A. M. *J. Med. Chem.* **2011**, 54 (10), 3451–3479.
- (44) Ito, H., Yumura, K., Saigo, K. *Org. Lett.* **2010**, 12 (15), 3386–3389.
- (45) Lee, H., Fischer, M., Shoichet, B. K., Liu, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138 (37), 12021–12024.
- (46) Liu, L., Marwitz, A. J. V., Matthews, B. W., Liu, S. Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48 (37), 6817–6819.
- (47) Diaz, D. B., Yudin, A. K. *Nat. Chem.* **2017**, 9 (8), 731–742.
- (48) Dewar, M. J. S., Kubba, V. P., Pettit, R. *J. Chem. Soc.* **1958**, 3073 (V), 3073–3076.
- (49) Dewar, M. J. S., Dietz, R. *J. Chem. Soc.* **1958**, No. 2728, 2728–2730.
- (50) M. J. S., D., R., D. *Tetrahedron* **1961**, 15 (1–4), 26–34.
- (51) Ashe, A. J., Fang, X. *Org. Lett.* **2000**, 2 (14), 2089–2091.
- (52) Abbey, E. R., Zakharov, L. N., Liu, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (23), 7250–7252.
- (53) Choi, J. H., Lim, H. J. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13 (18), 5131–5138.
- (54) de Lescure, L. R., Jesse, T., Groziak, M. P., Powers, X. B., Olmstead, M. M. *J. Heterocycl. Chem.* **2019**, 56 (10), 2960–2965.
- (55) Saint-Louis, C. J., Magill, L. L., Wilson, J. A., Schroeder, A. R., Harrell, S. E., Jackson, N. S., Trindell, J. A., Kim, S., Fisch, A. R., Munro, L., Catalano, V. J., Webster, C. E., Vaughan, P. P., Molek, K. S., Schrock, A. K., Huggins, M. T. *J. Org. Chem.* **2016**, 81 (22), 10955–10963.
- (56) Saint-Louis, C. J., Shavnore, R. N., McClinton, C. D. C., Wilson, J. A., Magill, L. L., Brown, B. M., Lamb, R. W., Webster, C. E., Schrock, A. K., Huggins, M. T. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15 (48), 10172–10183.
- (57) Gwynne, E. A., Holt, J. C., Dwan, J. R., Appoh, F. E., Vogels, C. M., Decken, A.,

- Westcott, S. A. *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93 (6), 1093–1100.
- (58) Weber, L., Böhling, L. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, 284 (June 2014), 236–275.
- (59) Yahyavi, H., Kaykhaili, M., Mirmoghaddam, M. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2016**, 46 (2), 106–121.
- (60) Kanichar, D., Roppiyakuda, L., Kosmowska, E., Faust, M. A., Tran, K. P., Chow, F., Buglo, E., Groziak, M. P., Sarina, E. A., Olmstead, M. M., Silva, I., Xu, H. H. *Chem. Biodivers.* **2014**, 11 (9), 1381–1397.
- (61) Dilek, O., Lei, Z., Mukherjee, K., Bane, S. *Chem. Commun.* **2015**, 51 (95), 16992–16995.
- (62) Gillingham, D. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14 (32), 7606–7609.
- (63) Adams, J. **2002**, 8 (4), 49–54.
- (64) Lee, J. D., Ueno, M., Miyajima, Y., Nakamura, H. *Org. Lett.* **2007**, 9 (2), 323–326.
- (65) Katalin, K., Új, kondenzált Leucettine alkaloid analógok szintézise, **2013**.
- (66) Jancsó, A., Kovács, E., Cseri, L., Rózsa, B. J., Galbács, G., Csizmadia, I. G., Mucsi, Z. *Spectrochim. Acta - Part A* **2019**, 218, 161–170.
- (67) Lee, S., Ullah, S., Park, C., Won Lee, H., Kang, D., Yang, J., Akter, J., Park, Y., Chun, P., Moon, H. R. *Bioorganic Med. Chem.* **2019**, 27 (17), 3929–3937.
- (68) Chang, C. J., Lippard, S. J. *Zinc Metalloneurochemistry: Physiology, Pathology, and Probes*, 2006, Vol. 1.
- (69) Fang, L., Crespo-Otero, R., Jones, C. R., Watkinson, M. *Sensors Actuators, B* **2021**, 338 (March), 129850.
- (70) Takeuchi, H., Hagiwara, S., Eguchi, S. *Tetrahedron* **1989**, 45 (20), 6375–6386.

Függelék

49 vegyület spektroszkópai jellemzése



41. ábra: A **49** vegyület abszorpciós (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben (felső sor), illetve különböző pH-jú pufferoldatokban (alsó sor)

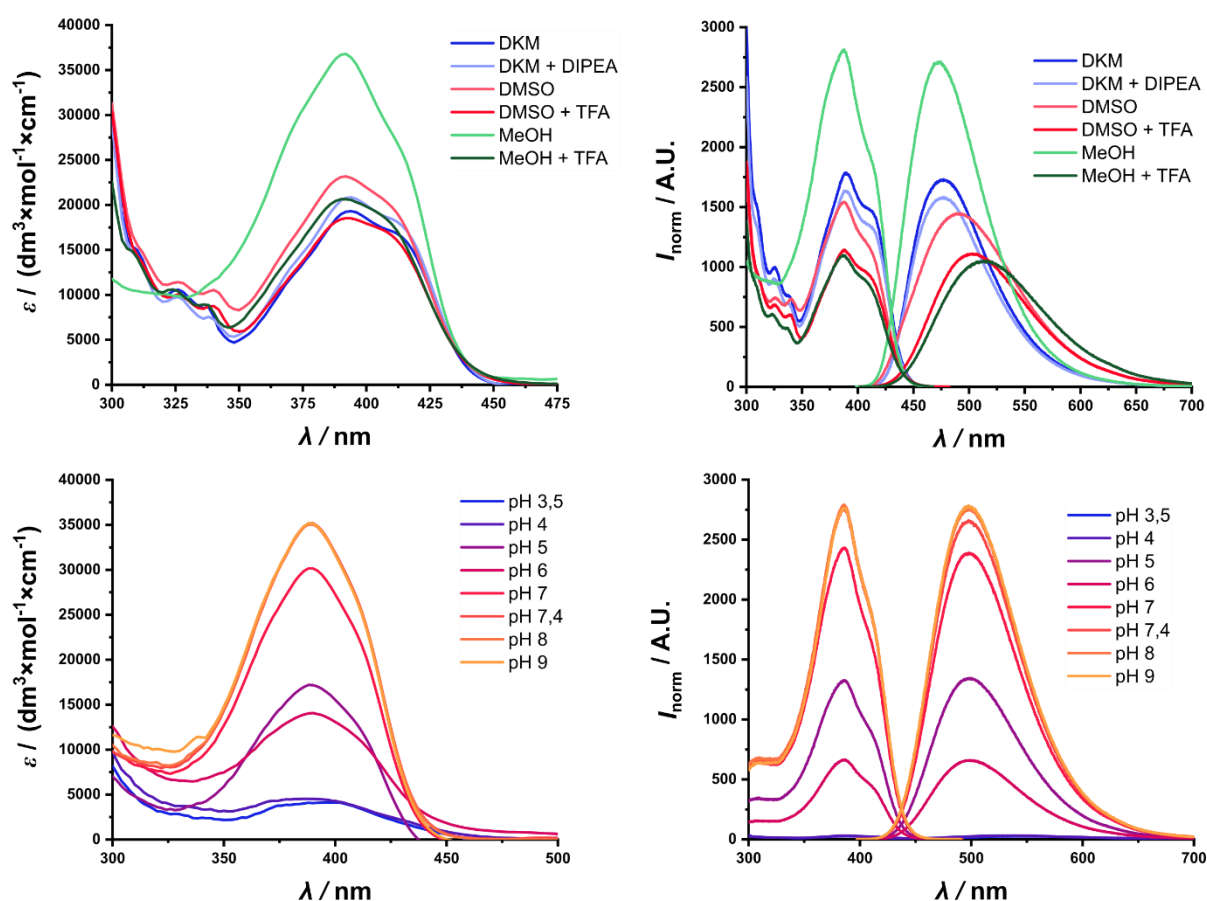
3. táblázat: A **49** vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm³/(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm³/(mol·cm)]
MeOH	372	372	428	56	28557	68	19300
DMSO	374	372	436	64	21468	94	20145
DKM	374	372	435	63	23716	95	22500
MeOH+TFA	370	370	436	66	29335	79	23200
DMSO+TFA	374	372	437	65	19292	93	17857
DKM+DIPEA	374	372	435	63	18823	76	14200
MeOH ref.	372	372	430	58	32200	74	23828
DMSO ref.	372	372	438	66	29100	12	3492

4. táblázat: A 49 vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emisszió}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
3.5	372	374	449	75	10701	59	6261
4	374	372	447	75	10569	70	7390
5	372	371	431	60	21043	81	17100
6	372	370	430	60	26462	88	23300
7	370	370	429	59	29429	90	26600
7.4	370	371	429	58	26959	89	22800
8	372	371	429	58	27861	88	24500
9	370	371	429	58	31340	89	27700

50 vegyület spektroszkópai jellemzése



42. ábra: Az 50 vegyület abszorpció (bal oldal) és emisszió (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben (felső sor), illetve különböző pH-jú pufferoldatokban (alsó sor)

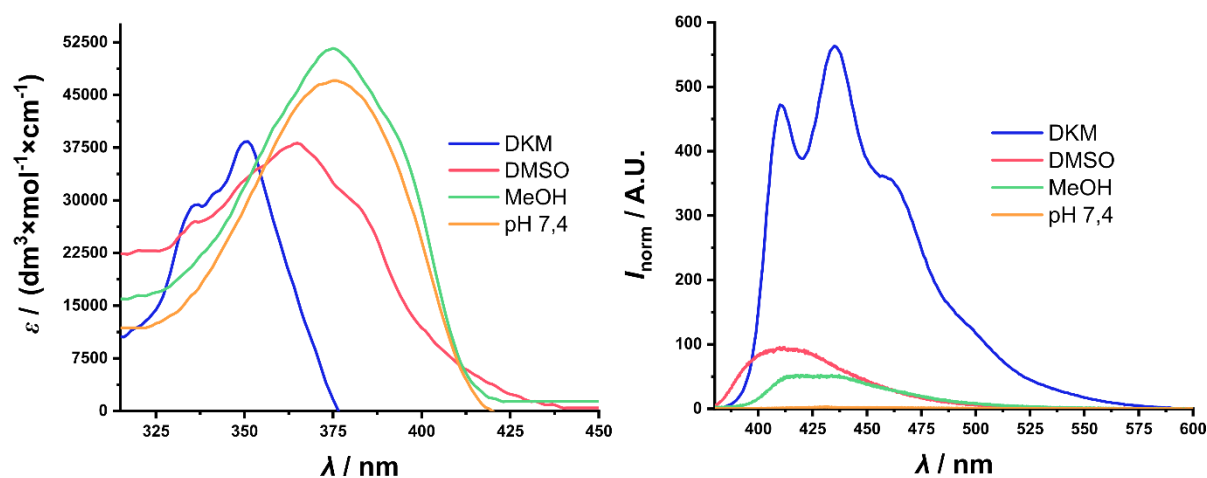
5. táblázat: Az **50** vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emisszió}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ε [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
MeOH	392	388	473	85	36781	56	20500
DMSO	392	388	489	101	23175	75	17460
DKM	394	389	477	88	19298	79	15200
MeOH+TFA	392	387	515	128	20634	53	10900
DMSO+TFA	392	388	502	114	18533	70	13030
DKM+DIPEA	394	389	477	88	20850	67	13900
MeOH ref.	394	394	490	96	7000	57	3990
DMSO ref.	396	396	500	104	4800	5,0	240

6. táblázat: Az **50** vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emisszió}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ε [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
3.5	400	388	548	160	4131	7,3	301
4	386	387	531	144	4525	8,6	388
5	388	385	499	114	17190	68	11700
6	390	387	499	112	14070	42	5880
7	388	386	498	112	30156	69	20700
7.4	390	387	498	111	35183	65	23000
8	388	385	497	112	35043	68	23900
9	388	386	498	112	35183	68	24000

51 vegyület spektroszkópai jellemzése



43. ábra: Az 51 vegyület abszorpciós (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai különböző szerves oldószerekben, illetve pH = 7,4-es HEPES pufferben. A DKM-ben mért fluoreszcencia az oldószer etanol-stabilizálásának köszönhető. Sav / lúg hozzáadására a fluoreszcencia nem változott szemmel láthatóan, emiatt további spektrumokat nem rögzítettem.

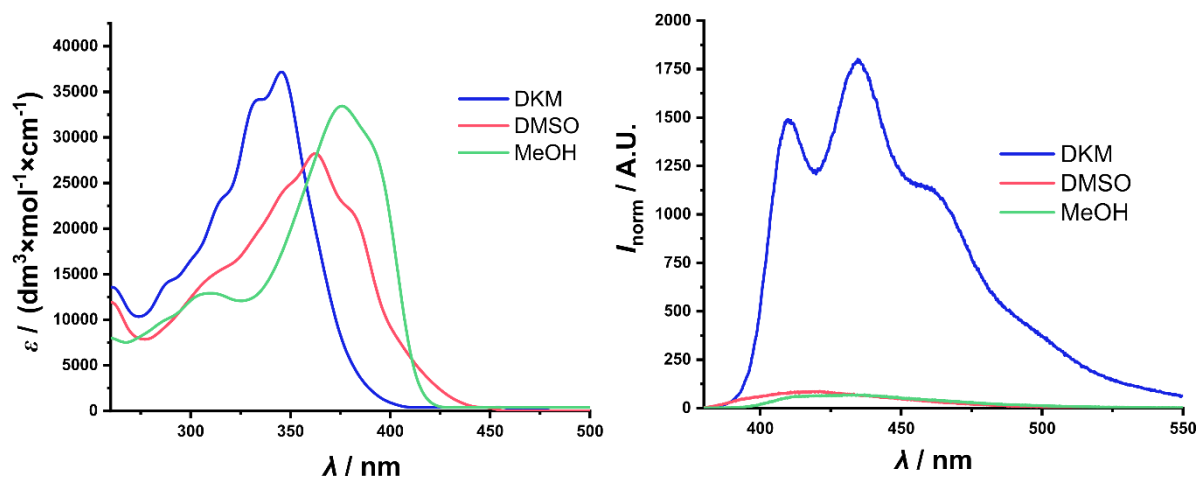
7. táblázat: Az 51 vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm³/(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm³/(mol·cm)]
MeOH	375	375	417	42	51564	1,3	676
DMSO	365	375	412	37	38331	2,9	1110
DKM	351	375	435	60	22816	32	7250

8. táblázat: Az 51 vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm³/(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm³/(mol·cm)]
3.5	373	373	412	39	47001	0,04	19,5
4	373	373	412	39	47457	0,05	22,8
5	373	373	412	39	50651	0,05	27,4
6	373	373	412	39	48826	0,06	27,3
7	375	375	426	51	47001	0,11	54,0
7.4	375	375	431	56	47001	0,06	28,4
8	375	375	412	37	48369	0,19	90,2
9	375	375	412	37	49282	0,13	63,6

53 vegyület spektroszkópai jellemzése

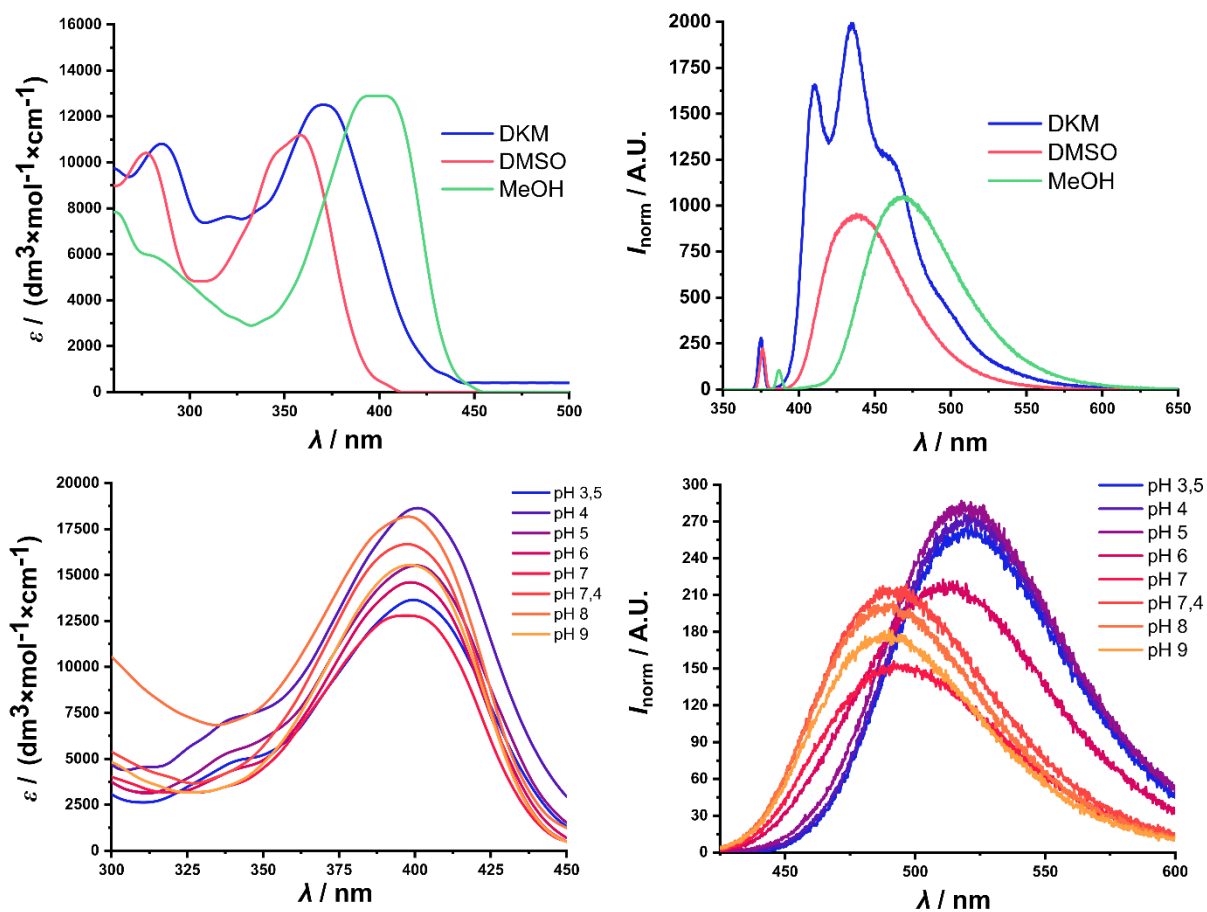


44. ábra: Az 53 vegyület abszorpciós (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben. A DKM-ben mért fluoreszcencia az oldószer etanol-stabilizálásának köszönhető. Sav / lúg hozzáadására a fluoreszcencia nem változott szemmel láthatóan, emiatt további spektrumokat nem rögzítettem.

9. táblázat: Az 53 vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]	QY [%]	Fényesség [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]
MeOH	375	375	432	57	33820	1,2	415
DMSO	362	375	421	46	28586	1,7	472
DKM	346	375	435	60	38249	27	10500

54 vegyület spektroszkópai jellemzése



45. ábra: Az **54** vegyület abszorpciós (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben (felső sor), illetve különböző pH-jú pufferoldatokban (alsó sor)

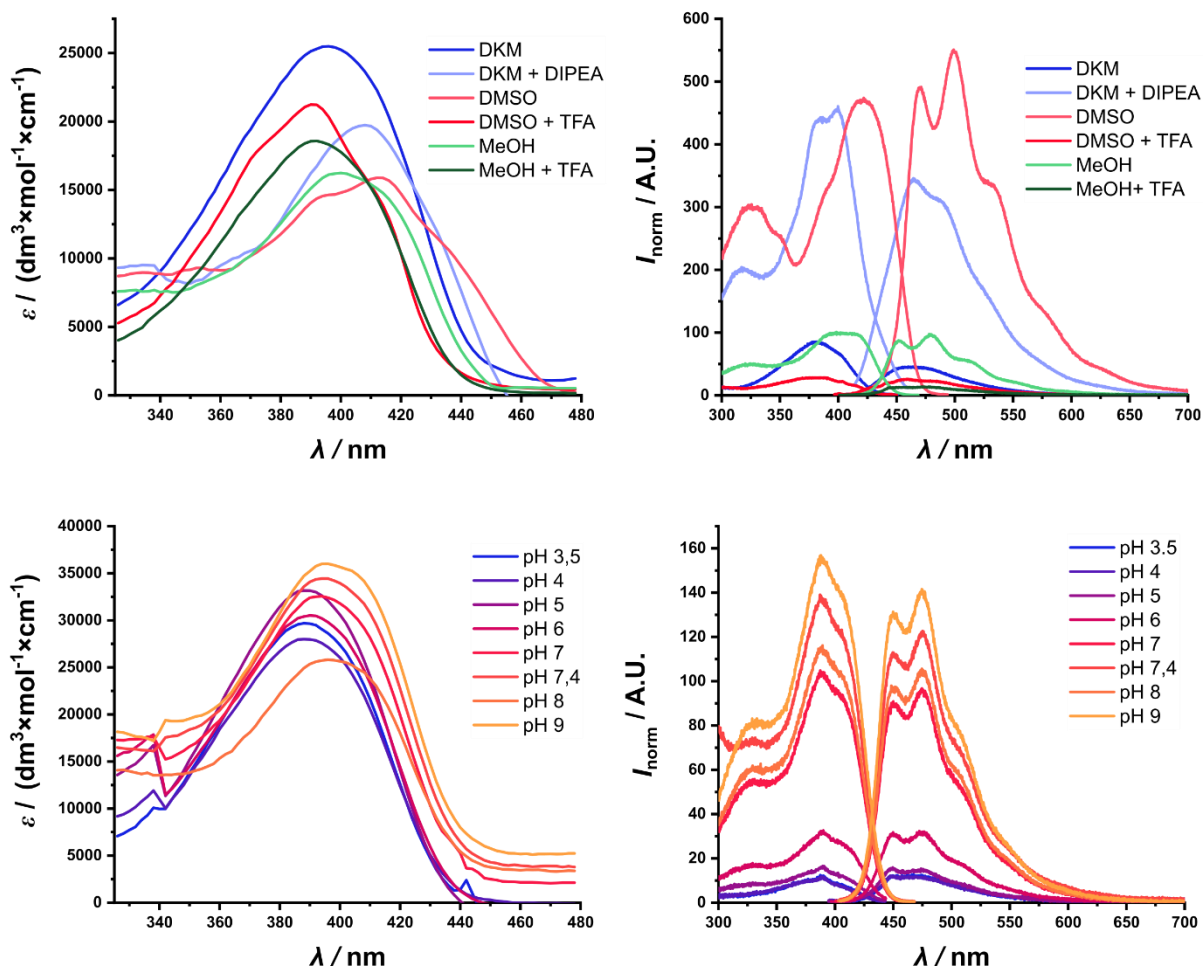
10. táblázat: Az **54** vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]	QY [%]	Fényesség [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]
MeOH	396	396	469	73	20362	35	7090
DMSO	371	376	438	62	19725	28	5560
DKM	364	375	434	59	20362	57	11700

11. táblázat: Az 54 vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
3.5	401	401	520	119	19089	10	1940
4	401	401	520	119	26089	7,9	2060
5	401	401	518	117	21634	10	2160
6	398	398	511	113	20362	8,7	1770
7	397	397	488	91	17817	6,6	1170
7.4	396	396	497	101	23543	6,5	1530
8	398	398	492	94	25452	5,7	1450
9	399	399	490	91	22271	5,7	1280

57 vegyület spektroszkópai jellemzése



46. ábra: Az 57 vegyület abszorpció (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben (felső sor), illetve különböző pH-jú pufferoldatokban (alsó sor)

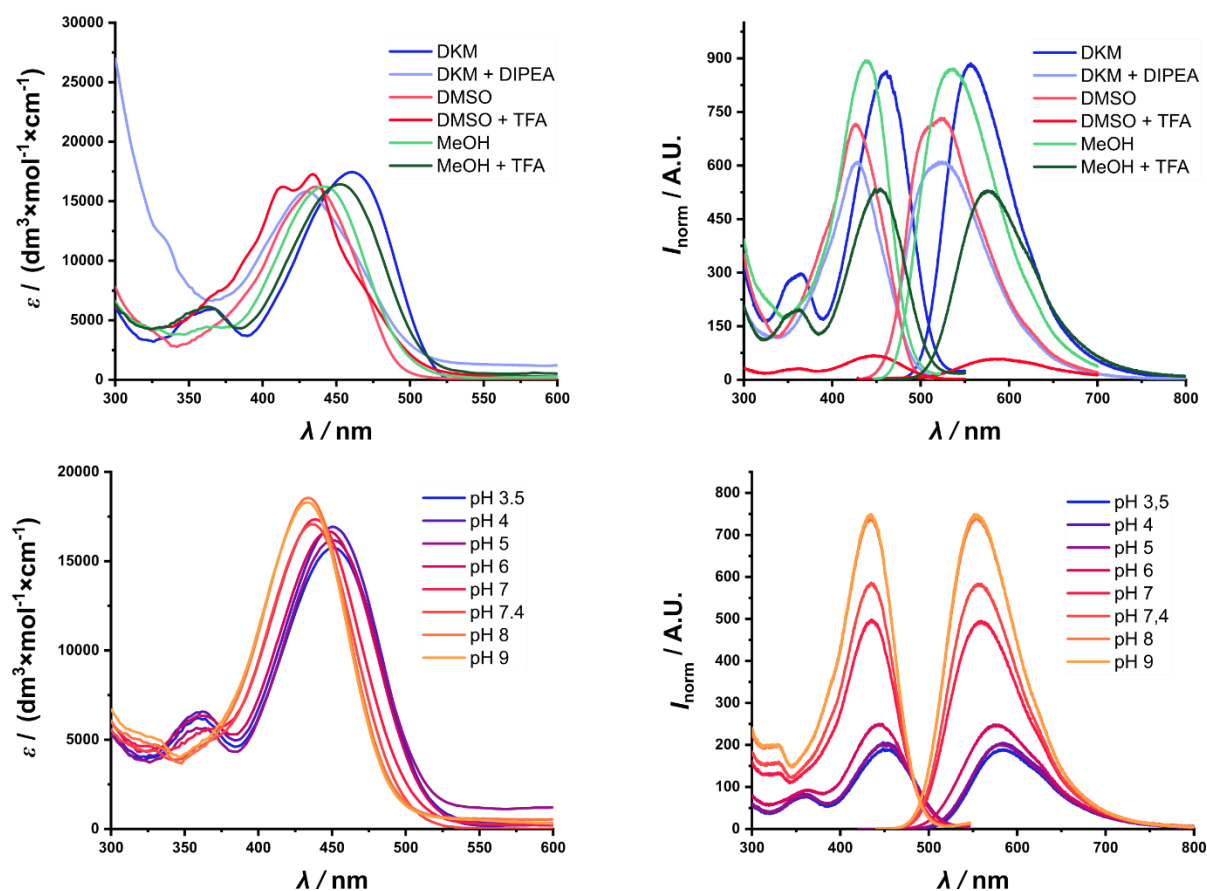
12. táblázat: Az 57 vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emisszió}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
MeOH	400	400	478	78	16239	4,7	768
DMSO	412	422	499	77	15892	41	6560
DKM	396	382	460	78	25492	1,9	473
MeOH+TFA	392	385	460	75	18582	0,7	128
DMSO+TFA	390	389	459	70	21237	1,46	310
DKM+DIPEA	408	400	464	64	19732	20	3890

13. táblázat: Az 57 vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emisszió}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
3.5	388	390	449	59	29686	0,4	114
4	388	389	450	61	27986	0,5	127
5	388	388	450	62	33163	0,4	138
6	390	390	450	60	30516	0,9	285
7	394	389	475	86	32554	2,6	836
7.4	396	387	475	88	34432	2,9	1000
8	396	390	475	85	25821	3,5	905
9	396	388	475	87	36005	3,4	1210

58 vegyület spektroszkópai jellemzése



47. ábra: Az **58** vegyület abszorpciós (bal oldal) és emissziós (jobb oldal) spektrumai szerves oldószerekben (felső sor), illetve különböző pH-jú pufferoldatokban (alsó sor)

14. táblázat: Az **58** vegyület spektroszkópai eredményei szerves oldószerekben

Oldószer	$\lambda_{\text{abszorpciós}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ϵ [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]	QY [%]	Fényesség [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$]
MeOH	442	438	538	100	16235	57	9280
DMSO	436	425	524	99	16219	63	10164
DKM	460	462	557	95	17445	73	12800
MeOH+TFA	452	454	575	121	16429	35	5700
DMSO+TFA	434	445	587	142	17282	5,5	950
DKM+DIPEA	430	430	524	94	15816	52	8220

15. táblázat: Az **58** vegyület spektroszkópai eredményei pH-soron

pH	$\lambda_{\text{abszorpció}}$ [nm]	$\lambda_{\text{gerjesztési}}$ [nm]	$\lambda_{\text{emissziós}}$ [nm]	Stokes-eltolódás [nm]	ε [dm ³ /(mol·cm)]	QY [%]	Fényesség [dm ³ /(mol·cm)]
3.5	450	448	585	137	15754	14	2231
4	450	449	585	136	16925	14	2419
5	450	445	585	140	16165	15	2420
6	448	444	575	131	16669	18	3060
7	438	436	560	124	17344	33	5780
7.4	436	435	555	120	17073	35	6050
8	434	436	552	116	18546	44	8220
9	434	434	551	117	18283	45	8260