

Tudományos Diákköri Dolgozat

FAJKA LILLA

Fotoaktiválható fragmensek előállítása és gyógyszerkémiail alkalmazása

Témavezetők:

Orgován Zoltán

Tudományos segédmunkatárs

HUN-REN TTK Gyógyszerkémiail Kutatócsoport

Ábrányi-Balogh Péter

Tudományos főmunkatárs

HUN-REN TTK Gyógyszerkémiail Kutatócsoport



Eötvös Loránd Tudományegyetem

Természettudományi Kar

Budapest, 2024.

Tartalom

I.	Bevezetés	3
II.	Irodalmi áttekintés	4
II.1	Fragments alapú gyógyszertervezés	4
II.1.1	A találatok azonosítása az FBDD során	4
II.2	Vegyülettárak összetételének optimalizálása	5
II.3	Fragments- fehérje kölcsönhatások új megközelítésű észlelése.....	6
II.3.1	Egy fotoaktív vegyülettár [PhotoAffinity Bits (PhaBits)] bemutatása.....	6
II.3.2	Fotoaktív vegyülettár szűrése.....	7
II.3.3	Fotoaktív vegyülettár előnyei.....	8
II.4	Fotokatalizátor használata a jelölési hatékonyság növelése érdekében	8
II.5	A Signal transducer and activator of transcription (STAT) fehérjecsalád	9
II.6	A STAT5 szerkezete és szerepe	9
III.	Célkitűzések	11
IV.	Saját eredmények	12
IV.1.1	Vegyülettár előállítása	12
IV.1.2	A photoSpotXplorer könyvtár vizsgálata STAT5B fehérje N-terminális doménjén.....	14
IV.1.3	Fotokatalizátor használata a jelerősség növelésében	16
IV.1.4	L02E-biotin előállítása.....	19
V.	Összegzés	21
VI.	Kísérleti leírás	23
VII.	Rövidítésjegyzék	27
VIII.	Köszönetnyilvánítás	28
IX.	Irodalomjegyzék.....	29
X.	Melléklet.....	31

I. Bevezetés

A gyógyszeripar napjaink egyik vezető iparága, és a gyógyszerkutatás folyamatos fejlődésen megy keresztül. A gyógyszerek felfedezésének változatos módszerei lehetnek, mint például a természetes hatóanyagok átalakítása, vagy a nagy áteresztőképességű szűrések (high-throughput screening, (HTS)) módszere, amely során nagy tagszámú (10^3 - 10^6) vegyülettárak szűrése történik különböző fehérjecélpontok ellen, akár elméleti kémiai számításos módszerekkel vagy kísérletek során. A véletlenszerű szűréssel ellentétben a leghatékonyabbnak a racionális gyógyszertervezés bizonyult, amely során ismert vagy ismeretlen fehérjecélpontokra terveznek molekulákat különböző megközelítésekkel.^[1] A modern technológiák és a nagymértékű fejlődés ellenére is még a humán proteóma csupán 3%-a rendelkezik forgalomba hozott gyógyszerrel, és 6%-a rendelkezik ligandummal, amelyek még nem elfogadott gyógyszerhatóanyagok.^[2] Ennek oka az, hogy az emberi fehérjék körülbelül 40%-a még nem vált kutatási célponttá, illetve a vizsgált fehérjecélpontok még ismeretlen vagy nehezen támadható kötőhelyekkel is rendelkeznek.^[2] Így jelenleg is nagy hangsúlyt fektet a gyógyszerkutatás olyan vegyületek és módszerek tervezésére, amelyek során új, kihívásokkal járó fehérjecélpontokat lehet feltérképezni.

A dolgozatom során bemutatom a fragmens alapú gyógyszertervezést és annak kihívásait, illetve egy leukémiás folyamatokban résztvevő fehérjét, a STAT5B transzkripciós faktort. Ezután rátérek a kutatómunkám során előállított fotoaktiválható vegyülettárra és annak szűrésére a STAT5B N-terminális doménje ellen. Végül egy a kovalens fehérjejelölés hatékonyságát javító módszert, az irídium fotokatalizátorral való jelölést szeretném ismertetni.

II. Irodalmi áttekintés

II.1 Fragmens alapú gyógyszertervezés

A 21. században a gyógyszerkutatás nagymértékben fejlődött, új trendek alakultak ki, ilyen például a fragmens alapú gyógyszerkutatás (Fragment-based drug discovery (FBDD)). Az FBDD olyan kis molekulatömegű ligandumokat (~150 Da) azonosít, amelyek biológiailag fontos makromolekulákhoz kötődnek. A nagy áteresztőképességű szűréssel (HTS) összehasonlítva a fragmens alapú megközelítés kevesebb vegyület szűrését igényli (nagyságrendileg 10^6 a 10^3 ellenében), és a szűrési találatok alacsonyabb kezdeti hatékonysága ellenére hatékonyabb és eredményesebb optimalizálást eredményezhet.^[1 3]

A fragmens alapú megközelítés során kis molekulatömegű, hidrofil molekulákból álló vegyülettárakat terveznek. Első fázisú klinikai vizsgálatok során a gyógyszerjelöltek lemorzsolódása általában a nagy molekulatömeg és a nagy lipofilitás miatt történik, amelyek befolyásolják a farmakokinetikai tulajdonságokat. Mivel a fent említett két tulajdonság nő a gyógyszerkémiai optimalizálások során, így célszerű kisebb és hidrofilebb molekulákból kiindulni.^[4]

A ligandum-fehérje kölcsönhatások modellezése során megmutatták, hogy a fragmensek nagyobb találati arányt adnak, mint az összetettebb molekulák. Ennek oka, hogy a komplexebb molekulák esetében nagyobb a valószínűsége annak, hogy a ligandum és fehérje nem optimális kölcsönhatások vagy ütközések révén hibásan illeszkedik egymáshoz. Ezzel szemben a kisebb molekulák alkalmasabbak arra, hogy jobban feltérképezzék az adott fehérje kötőzsebeit. Valamin néhány ezer kisebb molekulából álló (≤ 16 nehéz atomot tartalmazó) vegyülettár szűrése jobban lefedi a kémiai teret, mint néhány millió nagyobb molekulából (≤ 36 nehézatomot tartalmazó) álló.^[4]

Bár a kezdeti fragmensek kis méretük miatt kis kötődési affinitással rendelkeznek, könnyen optimalizálhatóak vezérmolekulákká, amelyek már hatékonyabbnak bizonyulnak.^[3]

II.1.1 A találatok azonosítása az FBDD során

Hagyományosan a fragmens-fehérje kölcsönhatások azonosítására biofizikai módszereket használnak, mint például NMR spektroszkópiát, izotermális titrálási kalorimetriát és a felületi plazmon rezonanciát. A FBDD során a fragmensek általában gyenge kölcsönhatásokat alakítanak ki a vizsgált biológiai célponttal. Ebből fakadóan a találatok észlelése kihívásokkal járhat, a gyenge kölcsönhatások

észleléséhez nagy érzékenységű módszerekre van szükség, amely azt vonja maga után, hogy általában ezekhez a módszerekhez speciális eszközpark, informatikai háttér és nagy anyagigény szükséges.^[3]

A felsorolt okok miatt, az elmúlt években elterjedt az elektrofil (kovalensen kötődő) vegyülettárak használata, amely egy új és hatékony módszerré vált a találatok detektálásának elősegítésében. Ezen vegyülettárak olyan elektrofil fragmensekből állnak, amelyek kovalens kötést tudnak kialakítani a biológiai célpontokkal. Az elektrofil fragmensek a fehérjék nukleofil tulajdonságú aminosavait (például cisztein, lizin, szerin) tudják megtámadni. Az így kialakult ligandum-fehérje komplexet már folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometria (LC-MS) segítségével is be lehet azonosítani, amely egy gyors és megbízható módszer.

Ciszteint támadó elektrofil fragmenseket már sikeresen azonosítottak és optimaláltak többféle fehérje célpont esetében. Ezeket a vegyülettárakat olyan fehérjék esetében lehet használni, amelyek kötőhelye közelében támadható cisztein is megtalálható.^[5,6] Emiatt a biológiai célpontok csak egy része vizsgálható ilyen elektrofilekkel, így érdemes más aminosavakat vagy többféle aminosavat is támadó vegyülettárakat is előállítani, hogy bővüljön a támadható fehérjék csoportja. Erre használhatók például a fotoaktiválható, karbén intermedierek keresztül reagáló kovalens kötőelemek.^[7]

II.2 Vegyülettárak összetételének optimalizálása

A fragmens alapú megközelítés egyik kihívása olyan összetételű vegyülettárak tervezése, amelyek minél inkább változatosak és lefedik a kémiai teret. Ezen ok miatt szükség van a vegyületek összeválogatásának optimalizálására. A Novartis fragmens szűrései azt mutatták, hogy a vizsgált fragmensek 63%-a egyetlen célponttal sem mutatott aktivitást, míg a találatok egy része több fehérje kötőhellyel is alakított ki kölcsönhatásokat.^[8] Továbbá egy másik kutatás során megmutatták, hogy a Protein Data Bank (PDB) ligandum-fehérje komplexeiben található fragmensek 20%-a további fehérjékkel is alakít ki kölcsönhatást.^[9]

A kutatócsoportban korábban megalkottak egy tervezési protokollt, a SpotXplorert, amely segítségével olyan vegyülettárakat lehet létrehozni, amelyek nagy lefedettséggel és változatossággal reprezentálják a fragmens-fehérje kölcsönhatásban résztvevő farmakofór tulajdonságokat. A farmakofórok a molekula olyan térbeli és elektromos tulajdonságú szerkezeti elemei, amelyek lehetővé teszik a kölcsönhatás kialakítást egy biológia célponttal, amely eredményeként a biológiai aktivitás megváltozik.^[10] A PDB-ben szereplő fragmens-fehérje komplexek kölcsönhatásainak vizsgálatából fragmens farmakofórokat származtattak. Majd olyan farmakofórok csoportját határozták meg, amely lefedi az ismert

kötőhelyek sokszínűségét, és ezek alapján egy kis tagszámú, de hatékony vegyülettárat terveztek, a SpotXplorer0-t. A 96 tagú vegyülettárat – olyan fehérje célpontokkal, amelyeknek már van ismert liganduma, illetve új, kihívást jelentő fehérjékkel is – validálták biokémiai és röntgendiffrakciós módszerekkel, amely során bebizonyosodott, hogy a vegyülettár megfelelő kiindulópontnak tekinthető új vagy kihívást keltő biológia célpontokra.^[11]

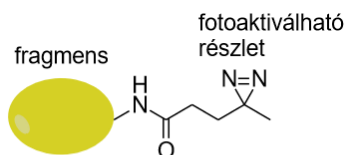
II.3 Fragmens- fehérje kölcsönhatások új megközelítésű észlelése

Azért, hogy a fehérje célpontok szélesebb köre is támadható legyen, új módszerekre van szükség. Ilyen a fotoaffinitáson alapuló jelölés (PAL), amelynek során fotoaktív molekuláris szerkezet által létrehozott kovalens kötés alkalmassá teszi a gyenge fragmens-fehérje kölcsönhatások kimutatását, akár élő sejtben is.^[12,13] PAL használata elterjedt biomolekulák kölcsönhatásainak, például fehérje-fehérje kölcsönhatások vizsgálatára. Különböző fotoaktív csoportokat alkalmaznak, többek között benzofenonokat, aril-azidokat és diazirineket. Az utóbbi bizonyul a leginkább alkalmasnak, kis mérete, stabilitása és kialakuló karbén nagy reaktivitása miatt.^[14,15]

II.3.1 Egy fotoaktív vegyülettár [PhotoAffinity Bits (PhaBits)] bemutatása

A GSK létrehozott egy fotoaffinitáson alapuló fragmens vegyülettárat, a PhaBit-eket (PhotoAffinity Bits). A fotoaktív jelölés két lépésből áll: először a fragmens és fehérje kötőhelye között nem kovalens, reverzibilis kölcsönhatás alakul ki, majd bizonyos hullámhosszú (UV) fénnel való besugárzás hatására a fotoaktív csoportból kialakuló karbén pillanatszerűen kötést alakít ki a kötőhely közelében található aminosavval vagy kioltódik, vízzel elreagál. Így a fotokapcsolás a reverzibilis kölcsönhatás „lefényképezéséhez” hasonlítható, a kovalens kötés kialakítása pillanatszerű. A találatok észleléséhez már nincs szükség nagy erőforrásokat igénylő módszerekre, hanem azok LC-MS segítségével is detektálhatóak.

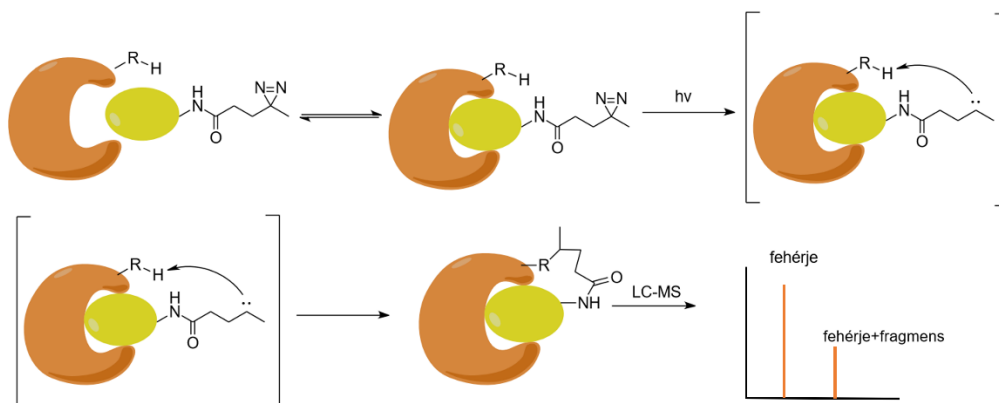
A PhaBit vegyülettár elemei olyan amino csoporttal rendelkező fragmensek, amelyek moláris tömege kisebb, mint 200 Da, és nem több, mint 2 aromás gyűrűt, 4 hidrogén kötés donort, illetve akceptort és 15 nehézatomot tartalmaznak. Ehhez egy kisméretű diazirin fotoaktív csoport kapcsolódik amid kötéssel keresztül (1. ábra). A rövid szénlánc a kötőelem-fehérje kötés zavaró hatásainak kiküszöbölésére szolgál.^[7] A kötőelem (warhead) olyan reaktív elektrofil funkció csoportot jelent, amely a fehérje nukleofil tulajdonságú aminosav oldalláncaival kovalens kötést tud kialakítani.^[16]



1. ábra – A fotoaktív vegyületek általános felépítése^[7]

II.3.2 Fotoaktív vegyülettár szűrése

A vegyülettár hat különböző fehérjén került leszűrésre, amely során 10 percig 302 nm hullámhosszú UV fénnel világították be a mintákat. A találatokat LC-MS használatával azonosították, ekkor a tömegspektrumban a fragmens-fehérje komplex tömege ($M_{\text{fehérje}} + M_{\text{fragmens}} - M_{\text{N}_2}$) jelent meg.^[7] (2. ábra)



2. ábra – A szűrés folyamatának bemutatása^[7]

A hagyományos elektrofil fragmens szűrések nem szelektív találatokat is eredményezhetnek. Ennek okozói lehetnek a nem specifikus kölcsönhatások vagy a kötőelem hosszú élettartama, amely azt eredményezheti, hogy a ligandum nem csak a kötőhely közelében alakít ki kovalens kötést a fehérjével. A PhaBit-ek esetében a warhead, a diazirin csoportból kialakuló karbén, rövid életű és általában csak 1-5 százalékban okoz kapcsolást. A kapcsolások aránya a kutatócsoport tapasztalatai szerint változatos volt, különböző fehérjékre más-más gyakorisággal fordult elő. Összességében alacsonynak bizonyult, amely a diazirin részlet nem megfelelő térbeli helyzetéből és gyors kioltódásból adódhatott.^[7]

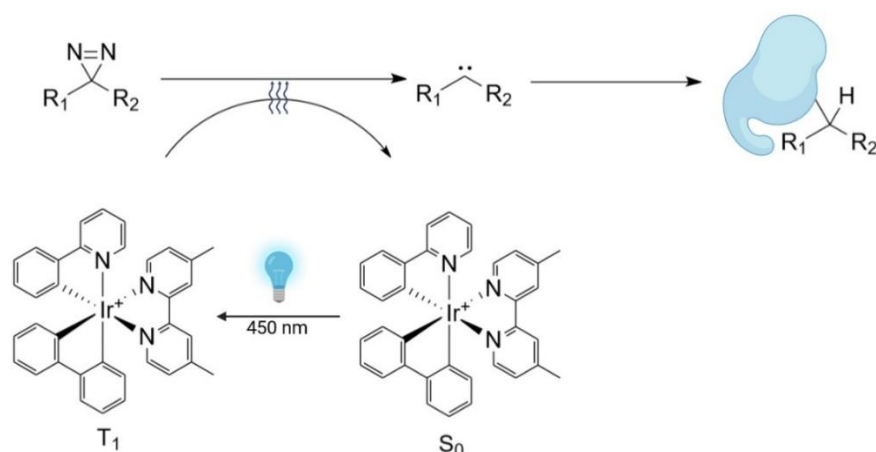
II.3.3 Fotoaktív vegyülettár előnyei

A fotoaktív fragmensekkel azon fehérjéket is lehetséges támadni, amelyek olyan kötőhelyet tartalmaznak, amelynek közelében nem található támadható cisztein. Továbbá a találatok közvetlenül detektálhatóak LC-MS segítségével, biofizikai vagy biokémiai teszt optimalizálás nélkül, ellentétben a többi fragmens szűréssel. Az így leszűrt fragmenskönyvtár találatai ezt követően tovább optimalizálhatóak gyógyszeryszerű molekulákká, a fotoaktív részlet nélkül. Emellett a fotoaktív kapcsolás segítségével a kötőhelyek meghatározására is lehetőség adódik. A fotoaktív vegyülettárak ezen tulajdonsága különösen fontos az olyan fehérjék esetében, amelyek kötőhelyeit még nem sikerült meghatározni. A találattal rendelkező fehérjemintákat emésztik kisebb peptidekre, majd LC-MS/MS segítségével meg lehet állapítani, hogy melyik aminosavhoz kötött a kismolekula.^[7]

II.4 Fotokatalizátor használata a jelölési hatékonyság növelése érdekében

A fotoaktivitáson alapuló jelölések hatékonysága alacsonynak adódhat, ugyanis az UV fény által gerjesztett diazirinből keletkezett karbén nagy része nem a célponttal, hanem a vízzel reagál el.^[15] A jelerősség növelése érdekében fotokatalizátorokat lehet használni. Olyan biokompatibilis irídium katalizátort alkottak meg, amely vizes közegben alkalmas diazirin csoportot tartalmazó molekulát gerjeszteni Dexter energiatranszferen keresztül. Ezt a módszert biomolekulák kölcsönhatásának vizsgálatára fejlesztették ki, de sikeresen működött ligandum-fehérje kölcsönhatások esetében is.^[17,18]

Az irídium fotokatalizátort a biológiai célpontokhoz kapcsolják, majd diazirin részlettel ellátott molekulát adnak hozzá. Kék LED fénnel világítják be, amely a fotokatalizátort gerjeszti, de a diazirint nem. Az eredeti diazirinnel történő fotoaffinitáson alapuló szűrésekhez képest, ahol UV fény szükséges a minták bevilágításához, a látható fénytartományban való bevilágítás olyan fehérjék esetén is alkalmazható, amelyek UV fény hatására denaturálódnak. A gerjesztett fotokatalizátor energiát ad át a közelében található diazirinnek, amelyből karbén keletkezik, és a katalizátor újra alapállapotba kerül. (3. ábra) Így csak azon diazirinek reagálnak el, amelyek közvetlenül a fehérje közelében találhatók (1 nm távolságon belül). Továbbá a bevilágítás időtartama alatt a fotokatalizátor többször is gerjesztődik, amely több jelölési eseményt is eredményezhet, így növelve a jelerősséget. Emiatt a bevilágítás időtartamának növelésével a jelerősség is megnőhet.^[17,18]



3. ábra – Iridium fotokatalizátor működése

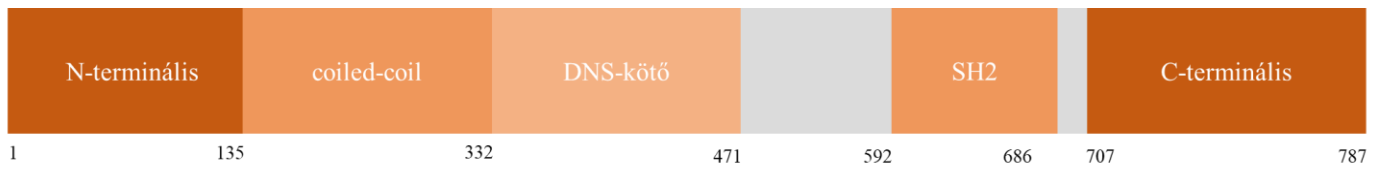
II.5 A Signal transducer and activator of transcription (STAT) fehérjecsald

A Janus kináz - jelátvivő és transzkripciós aktivátor (JAK-STAT) útvonal a számos rákos folyamat kialakulásában résztvevő jelátviteli útvonal egyike, amely szabályozza sejt túlélését, differenciálódását és anyagcseréjét, illetve szerepe van az immunválasz és kromatin átrendeződés alakításában.^[19] Négy JAK kinázt (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) és hét STAT transzkripciós faktort (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6) különböztetnek meg. A hét STAT fehérje különböző feladatokat lát el, ezek közül a STAT3 és STAT5 fehérjék fontos célpontok a rákkutatásban. A folyamatos hiperaktivációjuk – amit mutáció vagy fokozott jelátvitel okoz – elősegíti a tumorsejtek növekedését és túlélését, így részt vesznek rákos folyamatokban, többek között leukémia és melanóma kialakulásában.^[20] A jelátviteli útvonalban a STAT3/5 fehérjéket foszforiláló kinázokat gátló inhibitorok már léteznek, és gyógyszerként alkalmazzák, azonban ezek sok esetben rezisztenciát okozhatnak. Ennek kiküszöbölésére megoldást nyújthat a STAT3/5 fehérjék célpontként való kutatása és közvetlen inhibitorok keresése.^[21]

II.6 A STAT5 szerkezete és szerepe

A STAT3/5 fehérjék aktivált formájukat foszforiláció során érik el, amely során dimer forma keletkezik, azonban a fehérjék funkciói nem korlátozódnak ehhez a formához.^[22] A STAT5A és B, hasonlóképpen a többi STAT-hoz, 5 doménből épül fel: N-terminális, coiled-coil, DNS-kötő, SH2 (Src homology 2) és C-terminális. (4. ábra) Az SH2 domén kitüntetett szerepet kapott a kutatások során, ugyanis ezen keresztül alakul ki a STAT5B dimer formája, amely a DNS-hez kötődve elősegíti a transzkripciót. Azonban tetramer is létre tud jönni az N-terminálison keresztül, amely más gének expresszióját válthatja

ki. Emellett az *N*-terminálisnak szerepe van a fehérje receptorokhoz való kötésében is. Kutatások során bizonyossá vált, hogy az *N*-terminális szükséges a leukémia kialakulásának folyamataiban, így új biológiai célponttá válhat a gyógyszerkutatásban. Az SH2 doménnel ellentétben, amelyhez már több inhibítort is leírtak, az *N*-terminálisnak még nem ismert liganduma.^[23]



4. ábra – *A STAT5B doménjei*

III. Célkitűzések

Tudományos diákköri munkám célja egy olyan elektrofil vegyülettár előállítása volt, amely hatékonyan alkalmazható ismeretlen, új fehérjecélpontok ellen. A tervezett 100 tagú vegyülettár két megközelítési módszert, a SpotXplorer farmakofór tulajdonságokon alapuló fragmens-optimalást és a detektálást megkönnyítő, fotoaktív warhead használatát ötvözi.

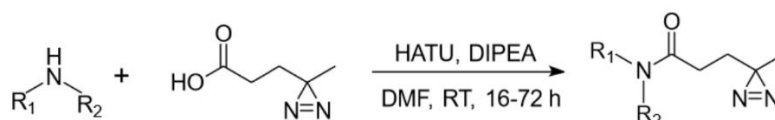
A vegyületeket általánosan egy farmakofór tulajdonságokkal rendelkező amin és egy fotoaktív diazirint tartalmazó karbonsav kapcsolásával terveztem előállítani. Az így létrejött vegyülettárat új, kihívást jelentő fehérjecélpontok ellen terveztük tesztelni, mint például a leukémiás folyamatokban résztvevő STAT5B. A fehérje *N*-terminálisa megfelelő célpontnak bizonyulhat, és a jelenlegi adatok szerint még nem rendelkezik kismolekulás inhibitorokkal.

A fentiek felül a jelölés hatékonyságának növelését is terveztem, ehhez irídium fotokatalizátort használtam, amely megnöveli a fotoaktiválás és így a jelölés mértékét. A kapott találatokat további analitikai és biológiai mérésekkel lehet vizsgálni, amely során megállapítható a kötőhely, illetve bebizonyítható, hogy a kapott találatok biológiai aktivitással rendelkeznek.

IV. Saját eredmények

IV.1.1 Vegyülettár előállítása

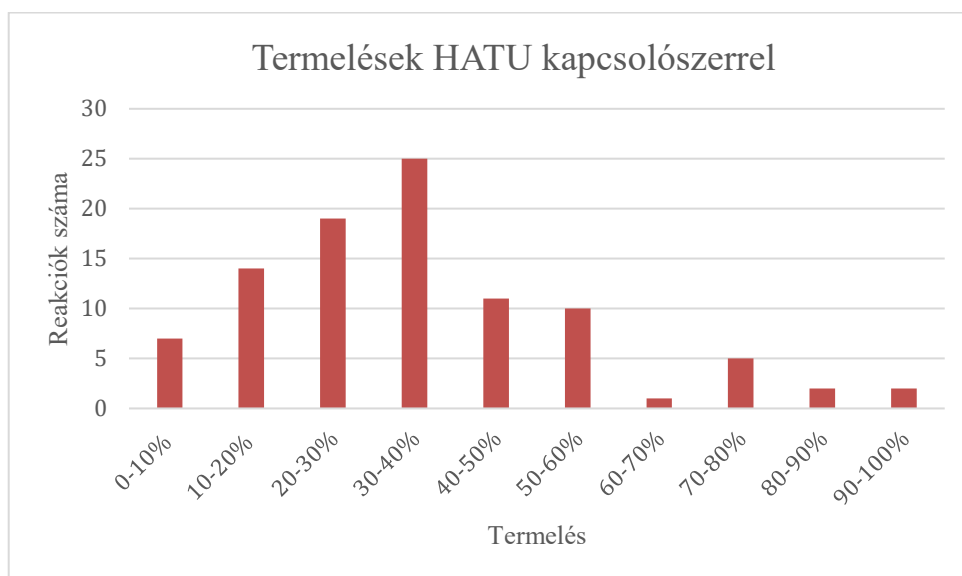
A fotoaktiválható fragmensek és a SpotXplorer megközelítés egyesítése céljából egy 100 molekulából álló vegyülettárat (photoSpotXplorer) állítottam elő egy általános eljárás segítségével. A vegyületek egy farmakofór és egy fotoaktiválható kötőelem részletből állnak. A farmakofór részlet a Spotplorer0 vegyülettár fragmenseit, a kötőelem pedig a fotoaktiválható diazirin részletet tartalmazza. A két részlet amidkötéssel kapcsolódik. A primer aminokat 3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il) propánsavval reagáltattam 1-[bisz(dimetilamino)metilén] -1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*] piridínium 3-oxid hexafluorofoszfát (HATU) kapcsolószer és *N*, *N*-diizopropil-etil-amin (DIPEA) használatával. A reakciókat LC-MS-sel követtem, általában 16-72 óra közötti reakcióidő alatt keletkezett termék teljes vagy már elfogadható konverzióval. (5. ábra)



5. ábra: A vegyülettár általános előállítása

A termékek kódja a szűréshez használt lemezen (plate) való helyzetükből származik. Azon reakciók (**L07**, **G01**, **L04**, **F02**, **H03**, **K05**, **J04**) esetében, amely során 72 óra alatt sem keletkezett megfelelő mennyiségű termék, további reagenst adtam hozzá, az eredeti anyagmennyiséggel megegyező mennyiségű diazirint és HATU kapcsolószerrel.

A reakciók termelése változatos volt, amelyet az 6. ábra mutat.

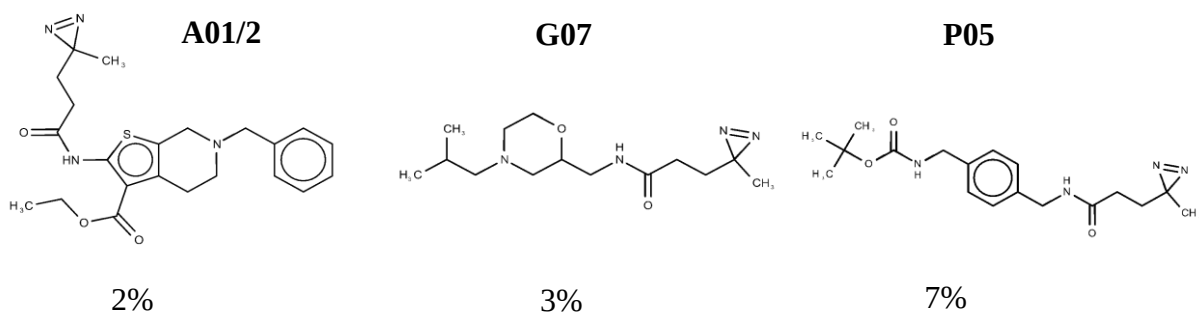


6. ábra: A reakciók termelése HATU kapcsolószer használata esetén

Három amin (**A01/2**, **G07**, **P05**) esetében a fenti eljárás segítségével nem keletkezett termék, ezek közül az **A01/2** előállítására több reakciót is végeztem. Először az eredeti recepthez képest háromszoros mennyiségű (3,6 ekv diazirin és HATU, 12 ekv DIPEA) reagenst adtam hozzá, azonban hat nap után sem volt észlelhető átalakulás. Ezután egy új kapcsolószerrel végeztem reakciókat. A laboratóriumunkban elérhető 2-(1*H*-benzotriazol-1-il) -1,1,3,3-tetrametilamínium tetrafluoroborát (TBTU) szintén hatékony kapcsolószer. A HATU-hoz hasonlóan ebben az esetben is 1,2 ekvivalens diazirint és kapcsolószer, illetve 4 ekvivalens DIPEA-t használtam. A reakció során nem keletkezett termék. A harmadik reakció körülményeit úgy változtattam, hogy kétszeres mennyiségű reagenst használtam. Ebben az esetben már kis mértékű átalakulás történt, azonban a terméket nem tudtam izolálni. A reakciót megismételtem nagyobb mennyiségű (150 mg) aminből, amely során sikerült tiszta terméket előállítani, bár alacsony termeléssel (2%).

A további két amin esetében (**G07**, **P05**), amelyeket HATU kapcsolószerrel nem sikerült előállítanom, az **A01/2** aminhoz használt TBTU reagenssel végeztem reakciókat. Mindkét amin 1,2 ekvivalens diazirint és kapcsolószer, 4 ekvivalens DIPEA-t adtam, és 72 óra reakcióidő elteltével sikerült terméket izolálni, szintén alacsony termeléssel (3% és 7 %). A 7. ábrán szerepel a TBTU-val előállított termékek és a reakciók termelése.

Fontosnak tartom megjegyezni, hogy a reakciók és a hozamok a legtöbb esetben még optimalizálhatóak lennének, ám kutatómunkám célja egyelőre csak egy kis mennyiségű, teszteléshez elegendő termék izolálása volt.



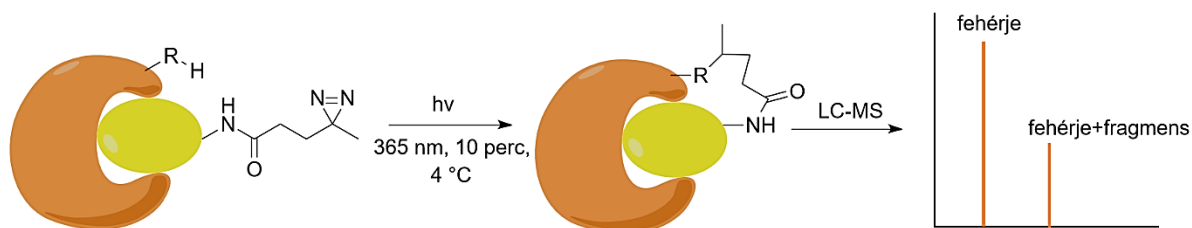
7. ábra: TBTU kapcsolószerrel előállított termékek

IV.1.2 A photoSpotXplorer könyvtár vizsgálata STAT5B fehérje N-terminális doménjén

A photoSpotXplorer vegyülettár szűrését a STAT5B N-terminális doménje (STAT5B-NTD) ellen végeztük el, mert a fehérje ezen doménjéhez még nem írtak le kismolekulás inhibitor, illetve leukémiához köthető szerepét igazolták.

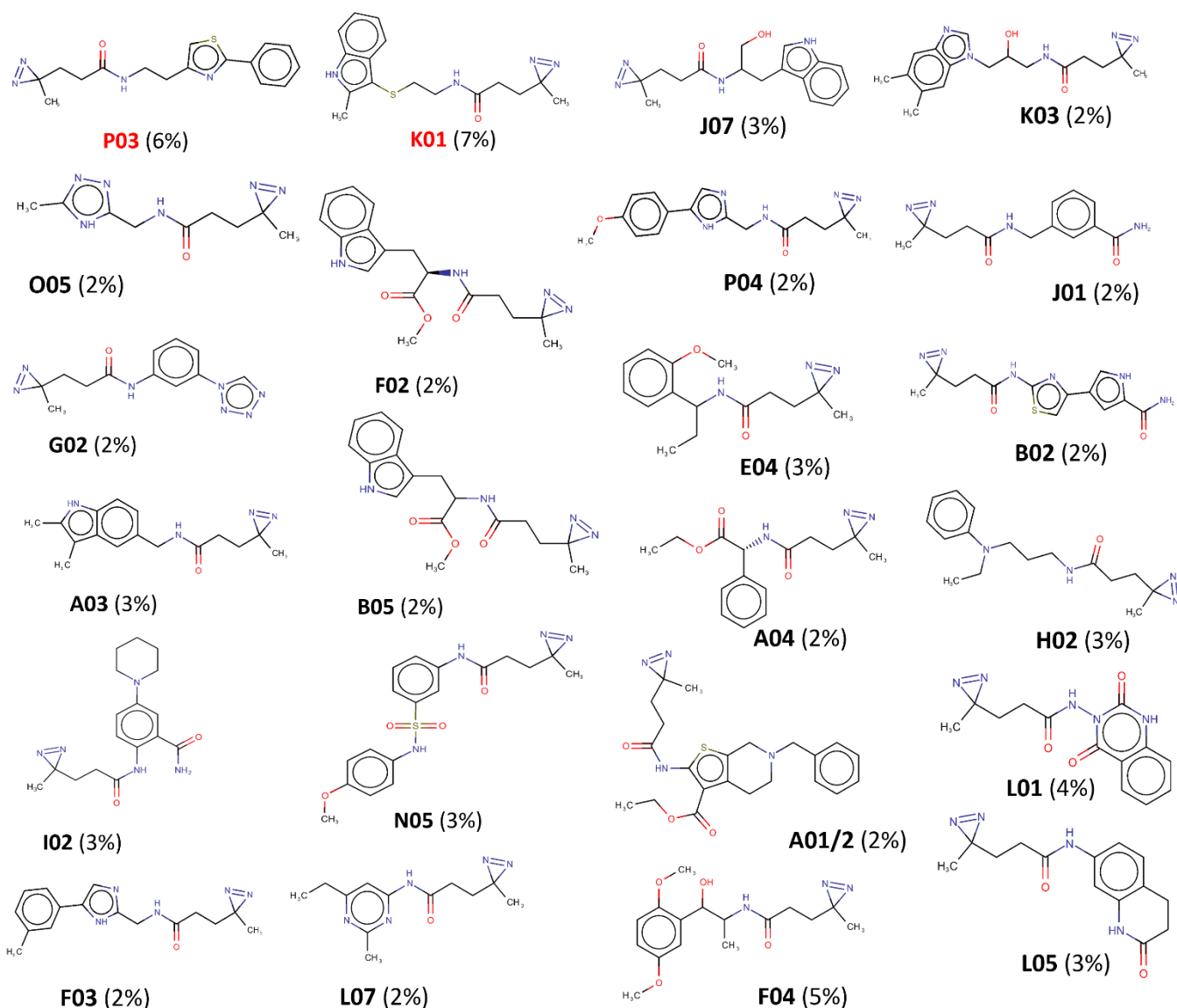
A vegyülettár szűrése előtt próbajelölést végeztünk, amely során szobahőmérsékleten, vagy 4 °C-on 10 percig világítottuk be UV fénnel (365 nm) a referencia mintát, amely csak fehérjét tartalmazott, illetve egy kismolekulával ellátott mintát. A mintákat UPLC-MS módszerrel vizsgálták, amely során azt az eredményt kaptuk, hogy a fehérje nem bomlik el UV fény hatására, illetve a jelölés megtörtént 4 °C-on, viszont szobahőmérsékleten nem. A továbbiakban tehát 4 °C-on végeztük a jelöléseket.

A vegyülettár szűrése ezt követően lemezen történt, a STAT5B-NTD oldatához adtuk a kismolekulák oldatát, majd egy óráig inkubáltuk sötétben, szobahőmérsékleten. A bevilágítás a fenti körülmények között, 4 °C-on történt, a mintákat UPLC-MS mérésre küldtük (8. ábra).



8. ábra: A fotoaktiválható vegyülettár szűrésének folyamata

A kapott spektrumban a találatok a ($M_{\text{fehérje}} + M_{\text{fragmens}} - M_{N_2}$) tömeggel jelennek meg. Az eredményeket a következő csoportba lehet sorolni: erős jelölés (>5% jelölés), gyenge (1-5% jelölés), többszörös jelölés, oxidálódott minták (több csúcs, vagy $M_{\text{fehérje}} + 16$ m/z), illetve az 1% alatti jelöléseket nem tekintettük találatnak. A szűrés során 22 gyenge és 2 erős találatot azonosítottunk, amelyeket a 9. ábra mutat.

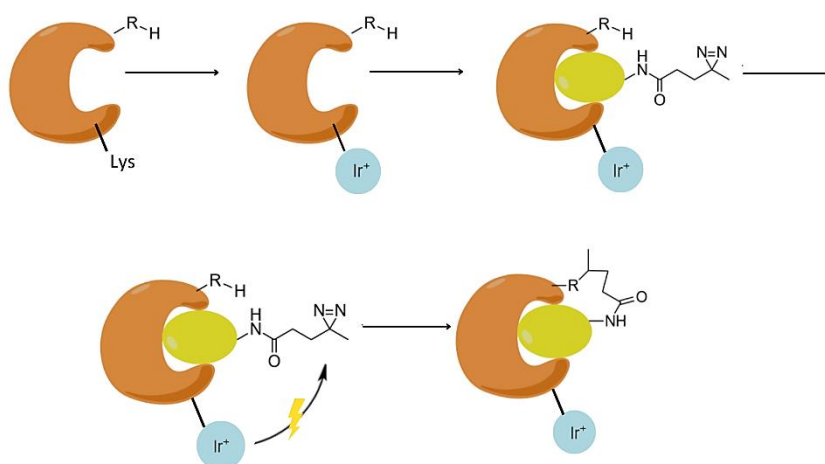


9. ábra: A jelölés során kapott 24 találat szerkezete és a jelölés hatékonysága, pirossal kiemelve a két legjobb találat (P03, K01)

IV.1.3 Fotokatalizátor használata a jelerősség növelésében

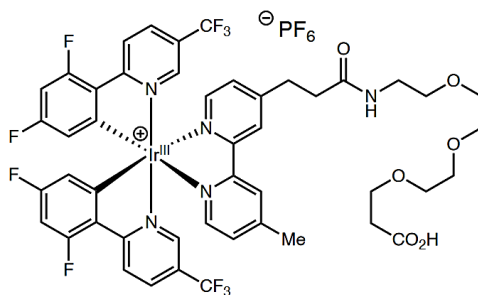
A fent bemutatott eredmények alapján a jelölés hatékonysága nagyrészt 1-5% közé vagy 5% környékére esik. Az alacsony konverzió oka a diazirinből kialakuló karbén rövid élettartama. A jelölés hatékonyságának növelését el lehet érni más fotoaktiválható kötőelemek használatával, azonban vízben való stabilitásuk alacsonyabb.^[24] A munkám során a jelerősség növelése érdekében a szűrést fotokatalizátor használatával ismételtük meg. A jelölés mértékének növelése további találatokat eredményezhet, illetve segíti az találatok azonosítását hétköznapi érzékenységű műszerek esetén.

A fotokatalizátorral történő jelölés során egy irídium katalizátort kapcsoltunk a fehérjére egy lizin specifikus kovalens kötőelem segítségével (NHS-észter), majd csak ezután adtuk hozzá a vegyülettár oldatait. Ebben az esetben is először létrejönnek a fragmens-fehérje reverzibilis kölcsönhatások, majd az inkubációs idő letelte után bevilágítjuk az oldatot. Azonban ezúttal 450 nm-en, amely a diazirint nem aktiválja, viszont a fotokatalizátort igen. A gerjesztett fotokatalizátor Dexter energiatranszferrel keresztül aktiválja a fehérje közelében található diazirin részletet, amely kovalensen köt a fehérjéhez.^[18] (10. ábra)



10. ábra: Szűrés folyamata fotokatalizátor használata mellett

Fotokatalizált jelölésre már sikeresen alkalmazott irídium fotokatalizátorból (dMebpy)^[18] indultunk ki, amelyből G2 irídium katalizátort^[18] állítottunk elő, de az ezzel történő STAT5B-NTD jelölés nem sikerült, valószínűleg a rövid propánsav linker miatt. Ezután a hosszabb linkerrel rendelkező Ir-G2-PEG3-CO₂H (11. ábra) származékot állítottuk elő, amelyet már sikeresen hozzá tudtunk kapcsolni a STAT5B-NTD-hez BOP (benzotriazol-1-iloxitrisz(dimetilamino)foszfónium-hexafluorofoszfát) reagens használatával.



11. ábra: Ir-G2-PEG3-CO₂H fotokatalizátor^[18]

A fotokatalizátorral kapcsolt STAT5B-NTD oldathoz adtuk a vegyülettár oldatait, majd egy órás inkubálás után 10 percig 4 °C-on, kék LED- fénnel (450 nm) bevilágítottuk az oldatokat tartalmazó lemezt. A bevilágított oldatokat szintén UPLC-MS mérésre küldtük.

Az MS mérés megmutatta, hogy a jelölés hatékonysága megnőtt, körülbelül kétszer annyi fragmens esetén volt 1-5% között a jelölés, az erős találatok (>5%) száma pedig körülbelül a kilencszeresére nőtt. (1.táblázat)

1. táblázat: A fotokatalizátor nélkül illetve a fotokatalizátorral történt jelölés során kapott találatok összehasonlítása

Találat besorolása	Fotokatalizátor nélkül	Fotokatalizátorral
<1%	74	40
1-5%	22	36
>5%	2	17
Oxidáció/ más reakció	2	7

Az eredeti 24 találat (22 gyenge és 2 erős találat) konverzióját a 2. táblázat foglalja össze. Nyolc esetben csökkent és négy esetben változatlan maradt a jelölés hatékonysága. Tizenkettő fragmens esetén pedig megnőtt a konverzió, hét esetben többszörösére nőtt. Hat eredetileg gyenge találat a második jelölés során 5 % feletti konverziót mutatott. Az eredetileg erős találatnak besorolt **K01** és **P03** a megismételt jelölés során is erős találatnak minősültek.

2. táblázat: Az eredeti 24 találat jelölése a fotokatalizátorral végzett mérés során. A kiemelt fragmensek esetében nőtt (sötét narancs) vagy nem változott (világos narancs) a jelölés konverziója.

Fragmens	Jelölés konverziója fotokatalizátor nélkül (%)	Jelölés konverziója fotokatalizátorral (%)
----------	---	---

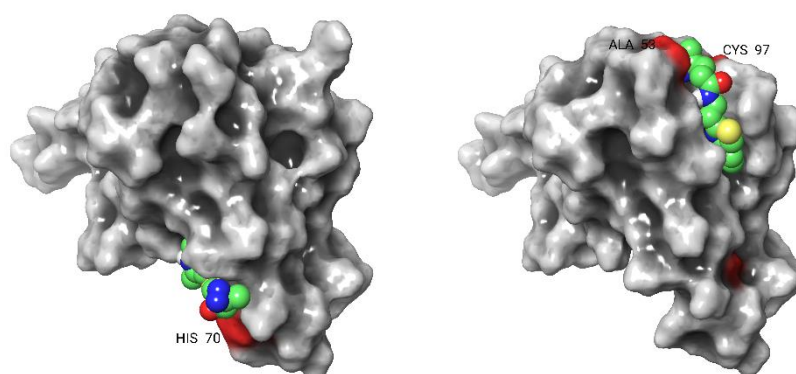
A01/2	2	0
A03	3	13
A04	2	2
B02	2	3
B05	2	8
E04	3	2
F02	2	5
F03	2	2
F04	5	elimináció
G02	2	18
H02	1	1
I02	3	10
J01	1	0,5
J07	3	2
K01	7	11
K03	2	3
L01	4	1
L05	3	1
L07	2	3
N05	3	8
O05	2	0,5
P03	6	6
P04	2	más reakció

A fotokatalizátorral végzett jelölés során 17 erős és 36 gyenge találatot kaptunk. Az erős találatok csaknem kétharmada (11 db) az első jelölés során is találatnak bizonyult. A 36 gyenge találat esetében pedig 23 esetben már az első jelölés során is 1-5 % közötti konverziót kaptunk.

Fotokatalizátor használata mellett esetenként nem csak jelölés, hanem valamilyen más reakció is lejátszódott. Hat esetben (**A07, A08P, F07, J02, M01, P05**) a fragmens jelölt a fehérjén, de azt oxidálta is a jelölés során. Ezek közül két fragmens (**F07, M01**) már az első mérés során a magas konverzió (20%, 75%) mellett oxidálta a STAT5B-NTD-t. Továbbá az **F04** fragmens az első jelölés során 5%-os hatékonysággal jelölt, a második jelölés során azonban vízelimináció történt.

A két legjobb találat (**P03, K01**) esetében, amelyek a fotokatalizátor használata nélkül is több mint 5%-os jelölést mutattak, és nem oxidálták a fehérjét, további méréseket végeztek a kötőhely meghatározására, először emésztéses MS/MS mérést végezve, ezt követően pedig ligandum-dokkolást alkalmazva. A kapott kötőhely közel van a STAT5B-NTD dimerizációs részletéhez, ezért feltételezhetjük, hogy a találatok megakadályozhatják az *N*-terminális doménen keresztüli dimerizációt. (12. ábra) Ezenkívül a két fragmenst a fotoaktív részlet nélkül is vizsgálták a fehérjével, és mikroszkópos termoforézis mérésekkel sikerült detektálni a létrejövő fragmens-fehérje kölcsönhatásokat. Két leukémiás sejtvonalon is

tesztelték a **P03** és **K01** hatását, amely tovább igazolta, hogy ezek a fragmensek jó kiindulási pontként szolgálnak a további fejlesztésre.



12. ábra: A **K01** és **P03** dokkolása

IV.1.4 L02E-biotin előállítása

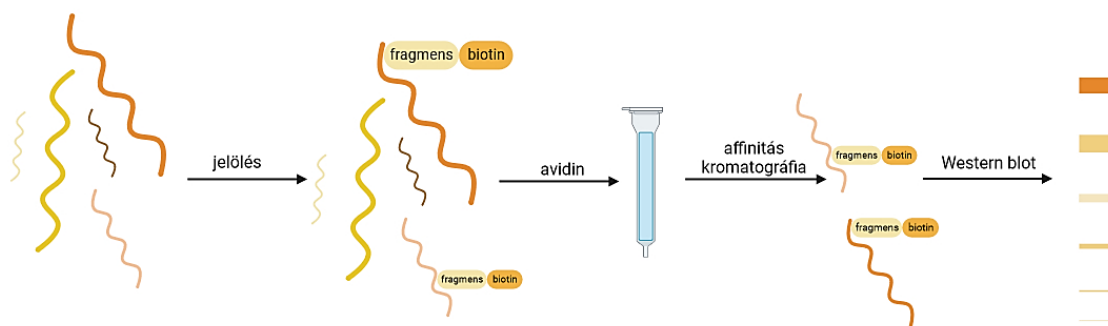
A fent említett vegyülettárat egy másik fehérje célpont, a KRas^{G12D} fehérje ellen is alkalmaztuk. A kutatócsoport által végzett jelölés során több találat is született, ezek közül az L02 fragmenssel további méréseket terveztünk elvégezni. Ezért a továbbiakban előállítottam az L02 biotinnal kapcsolt származékát is. Ezt a származékot sejtlizátum jelölésre terveztük felhasználni annak érdekében, hogy megmutassuk, nem csak az izolált fehérjét, hanem a biológiai környezetet minél jobban közelítő közegben található célpontot is jelöljük. A rákos sejtvonalból származó sejtlizátum tartalmazza a STAT5B fehérjét, és jelölés során szeretnénk bizonyítani, hogy a lizátumban is megtalálja a kötőhelyet. A fotoaktív jelölés során ugyanúgy kialakulhat a kovalens kötés a fragmens és fehérjék között. A jelölt fehérjéket a lizátumból affinitás kromatográfiával lehet elválasztani, amelyek a biotin részlet segítségével kötődnek egy avidinnel töltött oszlopon. Az elválasztott fehérjéket tömegspektrometriával és Western blot futtatással lehet vizsgálni. (13. ábra)

Az L02E előállításához először egy acilezést végeztem, amely során egy alkinil csoportot tartalmazó diazirint, 3-(3-(but-3-in-1-il)-3H-diazirin-3-il) propánsavat használtam. A reakciókörülmények megegyeztek a vegyülettár előállításához alkalmazott általános recepttel. A terméket kromatográfiás eljárással tisztítottam, a kapott tiszta termék 8,3 mg (25%) volt.

Ezt követően a biotinált molekulát rézkatalizált klikk reakcióval állítottam elő, amely során az előző lépésben előállított L02E-hez 1 ekvivalens azid-PEG3 linkerrel ellátott biotint, illetve kristályvizes réz-

szulfátot és nátrium-aszkorbátot adtam, és a reakciót szobahőmérsékleten, sötétben kevertetem 40 percig. A reakciót LC-MS-sel követtem, amely során bebizonyosodott, hogy 1 óra alatt a reakció végbement. A kapott terméket szintén kromatográfiás eljárással tisztítottam, és 1,3 mg (9%) tiszta terméket kaptam.

Az előállított biotinált L02E fragmenst későbbi lizátum jelölésekre fogjuk felhasználni, illetve a K01 és P03 fragmensek esetén is szeretnénk biotinált vegyületet előállítani és lizátum jelölésekre használni.



13. ábra: Lizátum jelölés folyamata

V. Összegzés

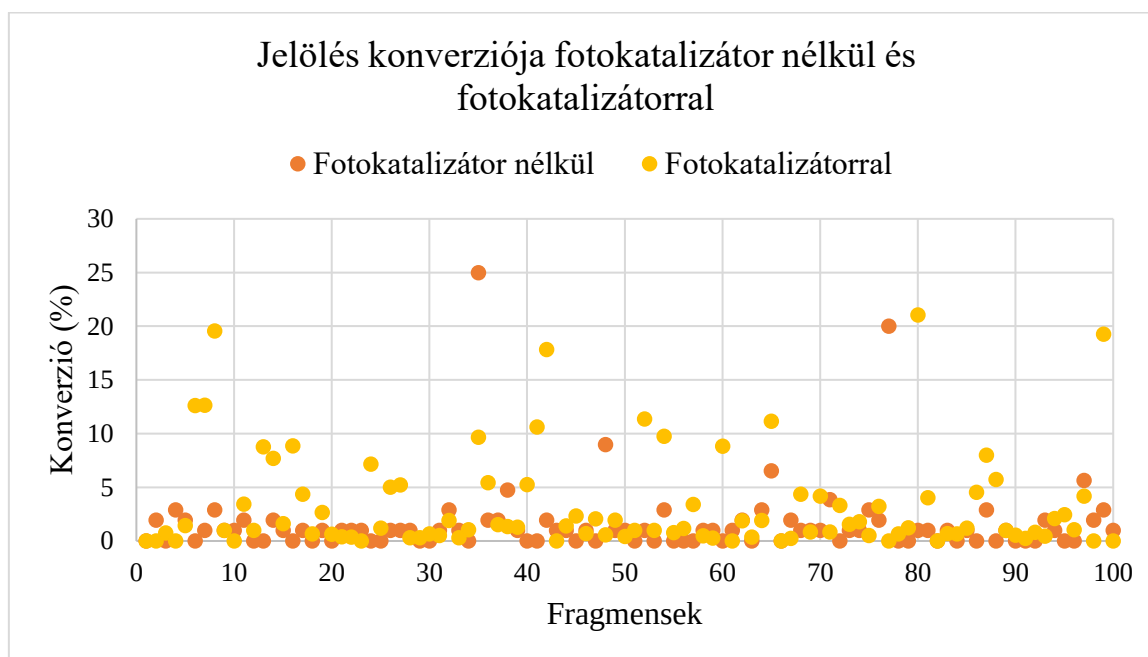
Tudományos diákköri munkám során előállítottam egy 100 tagú vegyülettárat, amely ötvözi a SpotXplorer fragmens optimálás módszerét és a fotoaktiválható fragmens megközelítést. Az ismert farmakofór tulajdonságokat jelentősen kisebb számú fragmens méretű molekula fedi le a fragmens optimálás segítségével, mint a hagyományos fragmens vegyülettárak esetében. A fotoaktív kötőelem segítségével a találatok azonosítása LC-MS-sel is megvalósulhatott, illetve más elektrofil vegyülettárakkal ellentétben, magas proteóma lefedettség el rendelkezik, olyan fehérjecélpontok esetében is alkalmazható, amelyeknek nincs támadható, nukleofil oldalláncú aminosav a kötőhely közelében.

A vegyülettár előállítása után egy fehérjecélponttal, a STAT5 *N*-terminális doménnel végeztünk jelöléseket, amely során 24 találatot kaptunk, ezek közül két fragmens esetében volt 5% feletti jelölés. Az alacsony jelerősség miatt a jelöléseket egy irídium fotokatalizátor jelenlétében is megismételtük. A diazirin részlet aktiválása során keletkezett karbén rövid élettartama miatt általában a fotoaktív jelölések konverziója alacsony, amelyet a fotokatalizátor használata jelentősen megnövelt. A gyenge és erős találatok száma is többszöröződött, 17 esetben is 5% felettinek adódott. (14. ábra)

Két fragmens találat esetében (**K01**, **P03**) analitikai és biológiai mérések bebizonyították, hogy jó kiindulópontjai lehetnek a további fragmens optimálásra. Az eddig ligandumokkal nem rendelkező STAT5B *N*-terminális domén esetén sikerült kismolekulákat találni, amelyek a domén azon részletéhez kötődnek, amely fontos szerepet játszik a dimer kialakulásában.

A munkám során egy olyan módszert sikerült fejleszteni, amellyel a fotoaktiválhatóságon alapuló módszer érzékenységet javítottam, illetve hatékonyan alkalmazható ismeretlen, új fehérjecélpontok ellen, kötőhelyeinek feltérképezésére illetve tovább optimálható fragmensek.

A kapott találatok eredményességéből kiindulva, a jövőben szeretnénk más, kihívásokkal járó fehérjecélpontokra is kiterjeszteni a vegyülettár szűrését.



14. ábra: A fotokatalizátor jelenlétében és anélkül végzett jelölések összehasonlítása vegyületenként

VI. Kísérleti leírás

Az alkalmazott analitikai vizsgálatokat az alábbi módszerekkel végeztük el.

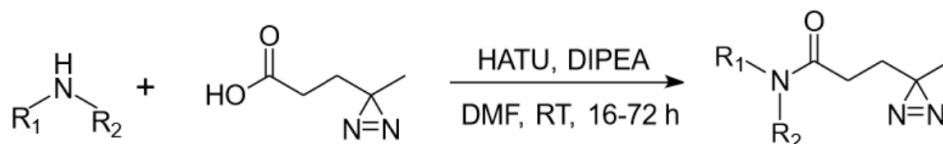
Az ^1H NMR spektrumokat Varian Unity Inova 500 és Bruker Avance III spektrométeren vettük fel szobahőmérsékleten (500 és 700 MHz), DMSO- d_6 vagy CDCl_3 oldószert használva. A kémiai eltolódások (δ) milliomodrásban (ppm), a csatolási állandók (J) Hertzben (Hz) vannak megadva.

A HPLC-MS méréseket Shimadzu LC-MS-2020 eszközön végeztük el, amely Reprospher-100 C18 (5 μm ; 100 $\times$ 3 mm) oszloppal, pozitív-negatív kettős ionforrással (DUIS $\pm$) és kvadрупól MS analizátorral (m/z 50-1000 közötti tartománnyal) rendelkezik. A mintákat a következő gradiens elúcióval vizsgáltuk. Az áramlási sebesség 1 ml/perc volt, acetonitril (0,1 % HCOOH) kezdeti aránya 5% volt vízben (0,1 % HCOOH). Lineáris gradiens során 1 perc alatt 100%-ra nőtt az acetonitril (0,1 % HCOOH) aránya, majd a 3,5 percig állandó maradt, és 1 perc alatt csökkent 5%-ra. Az oszlopot szobahőmérsékleten tartottuk és az injektált térfogat 1-15 μl között volt. A termékek tisztaságát HPLC-vel, 254 nm-en UV-detektálással vizsgáltuk.

A termékek szerkezete, termelése és a részletes analitikai adatok a Mellékletben találhatóak meg.

A fotoaktíválható vegyülettár általános szintézise

3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il) propánsavat (16,7 μl , 0,18 mmol, 1,2 ekv) 1 ml *N,N*-dimetilformamidban (DMF) oldottam, ehhez 1-[bisz(dimetilamino)metilén]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridínium 3-oxid hexafluorfoszfátot (HATU, 68,4 mg, 0,18 mmol, 1,2 ekv) és *N,N*-diizopropil-etil-amin (DIPEA, 627 μl , 0,6 mmol, 4 ekv) adtam. A reakcióelegyet 15 percig, szobahőmérsékleten és sötétben (alufóliával lefedve) kevertettem, majd 0,15 mmol (1 ekv) amin adtam hozzá. Ezután szintén szobahőmérsékleten és lefedve kevertettem 16-72 óráig, a reakciót LC-MS-sel követtem. (15. ábra)



15. ábra: A vegyületek általános előállítása

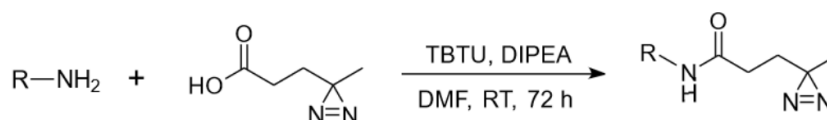
A reakcióelegyhez 1 ml tömény NH_4Cl -oldatot adtam, majd kétszer 5 ml etil-acetáttal extraháltam, a szerves fázishoz vízmentes Na_2SO_4 szárítószert adtam. Ezután leszűrtem, rotációs vákuumbepárlón

bepároltam. A kapott nyerste­r­méket kromatográfiás eljárással (preparatív nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (prep-HPLC)) tisztítottam, acetonitril (0,1% HCOOH) és víz (0,1% HCOOH) eluenst alkalmazva, amely során az acetonitril aránya 5% térfogatszázalékról 100% térfogatszázalékra 15 perc alatt változott. A terméket az oldószer bepárlásával kaptam meg.

Átlagos termelés 39,3 % lett.

TBTU kapcsolószer használata

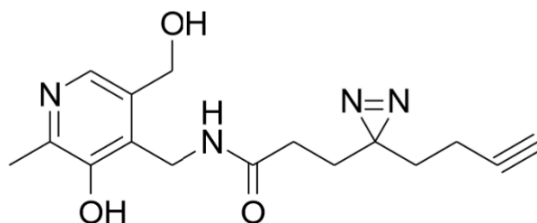
3-(3-Metil-3*H*-diazirin-3-il) propánsavat (16,7 µl 0,18 mmol, 1,2 ekv) 1 ml DMF-ban oldottam, ehhez TBTU-t (57,8 mg, 0,18 mmol, 1,2 ekv) és DIPEA-t (627 µl, 0,6 mmol, 4 ekv) adtam. A reakcióelegyet 15 percig, szobahőmérsékleten és sötétben (alufóliával lefedve) kevertettem, majd 0,15 mmol (1 ekv) amin adtam hozzá. Ezután szintén szobahőmérsékleten és lefedve kevertettem 16-72 óráig, a reakciót LC-MS-sel követtem. (16. ábra)



16. ábra: A vegyületek előállítása TBTU kapcsolószerrel

A reakcióelegyhez 1 ml tömény NH₄Cl-oldatot adtam, majd kétszer 5 ml etil-acetáttal extraháltam, a szerves fázishoz vízmentes Na₂SO₄ szárítószert adtam. Ezután leszűrtem, majd rotációs vákuumbepárlón bepároltam. A kapott nyerste­r­méket kromatográfiás eljárással (preparatív HPLC)) tisztítottam, acetonitril (0,1% HCOOH) és víz (0,1% HCOOH) eluenst alkalmazva, amely során az acetonitril aránya 5% térfogatszázalékról 100% térfogatszázalékra 15 perc alatt változott. A terméket az oldószer bepárlásával kaptam meg. Átlagos termelés: 4%

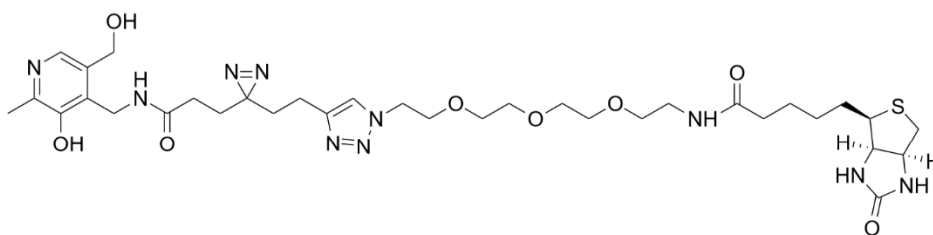
L02E előállítás



3-(3-(But-3-en-1-yl) -3*H*-diazirin-3-yl) propánsavat (11,1 μ l 0,12 mmol, 1,2 ekv) 1 ml DMF-ban oldottam, ehhez HATU-t (45,6 mg, 0,12 mmol, 1,2 ekv) és DIPEA-t (418 μ l, 0,4 mmol, 4 ekv) adtam. A reakcióelegyet 15 percig, szobahőmérsékleten és sötétben (alufóliával lefedve) kevertetem, majd 0,1 mmol (1 ekv) amint adtam hozzá. Ezután szintén szobahőmérsékleten és lefedve kevertetem 72 óráig, a reakciót LC-MS-sel követtem.

A kapott nyersterméket kromatográfiás eljárással (preparatív HPLC)) tisztítottam, acetonitril (0,1% HCOOH) és víz (0,1% HCOOH) eluenst alkalmazva, amely során az acetonitril aránya 5% térfogatszázalékról 100% térfogatszázalékra 15 perc alatt változott. A terméket az oldószer bepárlásával kaptam meg. Termelés: 8,3 mg (25%)

L02E-PEG3-biotin előállítása



8,3 mg L02E-t (0,026 mmol, 1 ekv) 0,5 ml DMF-ban és 0,5 ml vízben oldottam. Ehhez 6,54 mg (0,026 mmol, 1 ekv) kristályvizes réz-szulfátot, 5,19 mg (0,026 mmol, 1 ekv) nátrium-aszkorbátot és 11,7 mg (0,026 mmol, 1 ekv) azid- PEG3-biotint adtam. Ezután 40 percig szobahőmérsékleten, lefedve kevertetem, a reakciót LC-MS-sel követtem. A kapott nyersterméket kromatográfiás eljárással (prep-HPLC) tisztítottam, acetonitril (0,1% HCOOH) és víz (0,1% HCOOH) eluenst alkalmazva, amely során az acetonitril aránya 5% térfogatszázalékról 100% térfogatszázalékra 15 perc alatt változott. A terméket az oldószer bepárlásával kaptam meg. Termelés: 1,3 mg (9%).

STAT5B N-terminális doménnel való szűrés

Minden tisztított vegyületekből 100 mM koncentrációjú oldatot készítettünk dimetil-szulfoxiddal (DMSO). Egy lemezen a 15 µl STAT5B N-terminális domén oldatához (7 µM) 0,17 µl oldatot adtunk, majd 1 óráig inkubáltuk szobahőmérsékleten sötétben. Ezután UV lámpával (365 nm) 10 percig bevilágítottuk a lemezt 4 °C-on. A bevilágított oldatokból 20 µl mértünk ki, amelyet LC-MS mérésre küldtünk.

STAT5B N-terminális doménnel való szűrés fotokatalizátor használatával

1,4 µl fotokatalizátorhoz ([Ir(dFCF3ppy)₂(dMebpy)]PF₆, 1,4 mM DMSO-ban, 10 eq)) 1,5 µl kapcsolószert (0,75 µl, 5,6 mM 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC) (20 eq) + 0,75 µl 4,2 mM N-hidroxisukcinimid (NHS)) és 1,5 µl 2,1 mM (15 eq) (benzotriazol-1-iloxi) trisz(dimetilamino)foszfónium hexafluorofoszfát (BOP) adtunk és 30 percig sötétben kevertettük szobahőmérsékleten.^[18] Ehhez 30 µl STAT5B-NTD oldatot (7 µM) adtunk, amelyet 37 °C-on 1 óráig sötétben inkubáltunk. Ezután egy lemezen a vegyületek törzsoldatából (100 mM DMSO) 0,14 µl-t adtunk, amely 1 óráig sötétben inkubáltunk. Majd LED lámpával (7,6Vx0A) kék fénnel (450 nm) világítottuk be 10 percig 4 °C-on. A bevilágított oldatokból 20 µl mértünk ki, amelyet LC-MS mérésre küldtünk.

VII. Rövidítésjegyzék

BOP	(benzotriazol-1-iloxi) trisz(dimetilamino)foszfónium hexafluorofoszfát
DIPEA	<i>N, N</i> -diizopropil-etil-amin
DMF	<i>N, N</i> -dimetil-formamid
DMSO	dimetil-szulfoxid
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid
FBDD	Fragment based drug discovery
HATU	1-[bisz(dimetilamino)metilén] -1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>] piridínium 3-oxid hexafluorofoszfát
HTS	high throughput screening – nagy áteresztőképességű szűrés
JAK	Janus kináz
LC-MS/MS	folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria
NHS	<i>N</i> -hidroxiszukcinimid
PDB	Protein Data Bank
PEG3	3 egységből álló polietilén-glikol
PhaBits	PhotoAffinity Bits
SH2	Src homology 2
STAT	Signal transducer and activator of transcription
STAT5B	Signal transducer and activator of transcription 5B
TBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-il) -1,1,3,3-tetrametilamínium tetrafluoroborát

VIII. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Orgován Zoltánnak és Ábrányi-Balogh Péternek a rengeteg segítségért és tanácsért, illetve Keserű György Miklósnak a kutatási lehetőség biztosításáért. Köszönettel tartozom a kutatócsoport minden tagjának, különösképpen Péczka Nikolettnek, továbbá szeretném megemlíteni a Waters Kft. dolgozóját, Márton Andrást, aki a tömegspektrometriai méréseket végezte.

IX. Irodalomjegyzék

- [1] Irini Doytchinova, *Molecules*. **2022**, 27, 1496.
- [2] T. I. Oprea, C. G. Bologa, S. Brunak, A. Campbell, G. N. Gan, A. Gaulton, S. M. Gomez, R. Guha, A. Hersey, J. Holmes, A. Jadhav, L. J. Jensen, G. L. Johnson, A. Karlson, A. R. Leach, A. Ma'ayan 10, A. Malovannaya, S. Mani, S. L. Mathias, D. Westergaard, J. J. Yang, G. Zahoránszky-Köhalmi, *Nat Rev Drug Discov*. **2018**, 17, 317-332.
- [3] C. W. Murray, D. C. Rees, *Nat Chem* **2009**, 1, 187–192.
- [4] Keserű György, **2015**, A gyógyszerkutatás kémiája, Budapest, Akadémiai Kiadó
- [5] A. Tuley, W. Fast, *Biochemistry* **2018**, 57, 3326–3337.
- [6] K. Chen, L. Kurgan, *PLoS One* **2009**, 4, e4473.
- [7] E. K. Grant, D. J. Fallon, M. M. Hann, K. G. M. Fantom, C. Quinn, F. Zappacosta, R. S. Annan, C. wa Chung, P. Bamborough, D. P. Dixon, P. Stacey, D. House, V. K. Patel, N. C. O. Tomkinson, J. T. Bush, *Angew Chem Int Ed Engl*. **2020**, 59, 21096-21105.
- [8] P. S. Kutchukian, A. M. Wassermann, M. K. Lindvall, S. K. Wright, J. Ottl, J. Jacob, C. Scheufler, A. Marzinzik, N. Brooijmans, M. Glick, *SLAS Discovery* **2015**, 20, 588–596.
- [9] M. N. Drwal, G. Bret, E. Kellenberger, *Mol Inform* **2017**, 36, 10.1002/minf.201700042.
- [10] C. G. Wermuth, C. R. Ganellin, P. Lindberg, L. A. Mitscher, *Pure Appl. Chem.*, **1998**, 70, 1129–1143.
- [11] D. Bajusz, W. S. Wade, G. Satała, A. J. Bojarski, J. Ilaš, J. Ebner, F. Grebien, H. Papp, F. Jakab, A. Douangamath, D. Fearon, F. von Delft, M. Schuller, I. Ahel, A. Wakefield, S. Vajda, J. Gerencsér, P. Pallai, G. M. Keserű, *Nat Commun* **2021**, 12, 3201.
- [12] D. Korovesis, H. A. Beard, C. Mérillat, S. H. L. Verhelst, *Chembiochem*. **2021**, 22, 2206-2218.
- [13] C. G. Parker, A. Galmozzi, Y. Wang, B. E. Correia, K. Sasaki, C. M. Joslyn, A. S. Kim, C. L. Cavallaro, R. M. Lawrence, S. R. Johnson, I. Narvaiza, E. Saez, B. F. Cravatt, *Cell* **2017**, 168, 527-541.e29.

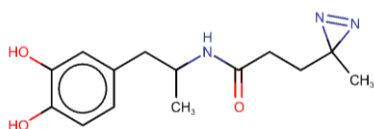
- [14] E. Resnick, A. Bradley, J. Gan, A. Douangamath, T. Krojer, R. Sethi, P. P. Geurink, A. Aimon, G. Amitai, D. Bellini, J. Bennett, M. Fairhead, O. Fedorov, R. Gabizon, J. Gan, J. Guo, A. Plotnikov, N. Reznik, G. F. Ruda, L. Díaz-Sáez, V. M. Straub, T. Szommer, S. Velupillai, D. Zaidman, Y. Zhang, A. R. Coker, C. G. Dowson, H. M. Barr, C. Wang, K. V. M. Huber, P. E. Brennan, H. Ovaa, F. von Delft, N. London, *J Am Chem Soc* **2019**, *141*, 8951–8968.
- [15] J. Park, M. Koh, J. Y. Koo, S. Lee, S. B. Park, *ACS Chem Biol* **2016**, *11*, 44-52.
- [16] N. V. Mehta, M. S. Degani, *Drug Discov Today* **2023**, *28*, 103799.
- [17] J. B. Geri, J. V. Oakley, T. Reyes-Robles, T. Wang, S. J. McCarver, C. H. White, F. P. Rodriguez-Rivera, D. L. Parker, E. C. Hett, O. O. Fadeyi, R. C. Oslund, D. W. C. MacMillan, *Science (1979)* **2020**, *367*, 1091–1097.
- [18] A. D. Trowbridge, C. P. Seath, F. P. Rodriguez-Rivera, B. X. Li, B. E. Dul, A. G. Schwaid, B. F. Buksh, J. B. Geri, J. V. Oakley, O. O. Fadeyi, R. C. Oslund, K. A. Ryu, C. White, T. Reyes-Robles, P. Tawa, D. L. Parker, D. W. C. MacMillan, *Proc Natl Acad Sci USA* **2022**, *119*.
- [19] B. Wingelhofer, H. A. Neubauer, P. Valent, X. Han, S. N. Constantinescu, P. T. Gunning, M. Müller, R. Moriggl, *Leukemia* **2018**, *32*, 1713–1726.
- [20] H. Yu, R. Jove, *Nat Rev Cancer* **2004**, *4*, 97–105.
- [21] A. Berger, V. Sexl, P. Valent, R. Moriggl, *Oncotarget* **2014**, *5*, 9564–9576.
- [22] A. Orlova, C. Wagner, E. D. De Araujo, D. Bajusz, H. A. Neubauer, M. Herling, P. T. Gunning, G. M. Keserü, R. Moriggl, *Cancers (Basel)* **2019**, *11*, 1930.
- [23] R. Moriggl, V. Sexl, L. Kenner, C. Duntsch, K. Stangl, S. Gingras, A. Hoffmeyer, A. Bauer, R. Piekorz, D. Wang, K. D. Bunting, E. F. Wagner, K. Sonneck, P. Valent, J. N. Ihle, H. Beug, *Cancer Cell* **2005**, *7*, 87–99.
- [24] K. E. Gilbert, A. Vuorinen, A. Aatkar, P. Pogány, J. Pettinger, E. K. Grant, J. M. Kirkpatrick, K. Rittinger, D. House, G. A. Burley, J. T. Bush, *ACS Chem Biol* **2023**, *18*, 285–295.

X. Melléklet

A termékek szerkezete, termelése és részletes analitikai adatai:

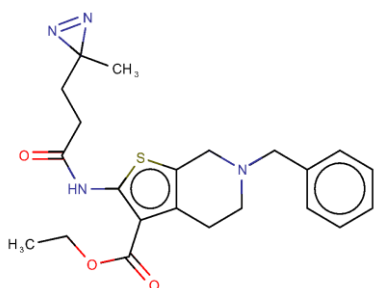
A termékek kódja a lemezen való pozíciójukból származik.

A01/1:



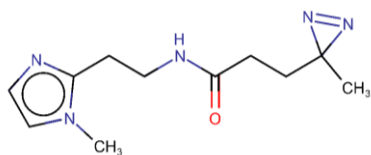
N-(1-(3,4-dihydroxyfenil) propan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,045 mmol, 12,5 mg, 45%) fehér szilár anyag. ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,89 - 1,03 (m, 6 H), 1,52 (br t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 1,88 - 1,96 (m, 2 H), 2,33 - 2,38 (m, 1 H), 2,55 - 2,60 (m, 1 H), 3,79 - 3,88 (m, 1 H), 6,39 - 6,43 (m, 1 H), 6,54 - 6,57 (s, 1 H), 6,59 - 6,63 (m, 1 H), 7,71 - 7,76 (m, 1 H), 8,60 - 8,63 (br s, 1 H), 8,69 - 8,72 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,73$ perc, 97% by UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 278,1505; $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$.

A01/2:



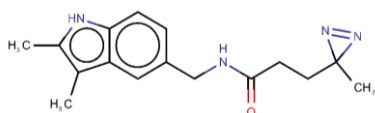
etil-6-benzil-2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)-4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-*c*]piridin-3-karboxilát (0,0045 mmol, 1,5 mg, 2%), piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,88 - 1,03 (s, 3 H), 1,31 (br t, $J = 6,99$ Hz, 2 H), 1,69 (br t, $J = 7,42$ Hz, 2 H), 2,46 (br t, $J = 7,42$ Hz, 2 H), 2,68 (br t, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 2,73 - 2,81 (m, 3 H), 3,49 (br s, 2 H), 3,64 - 3,67 (s, 2 H), 4,26 - 4,31 (m, 2 H), 7,25 - 7,30 (m, 1 H), 7,34 (br d, $J = 4,24$ Hz, 4 H), 8,47 - 8,50 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,77$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 427,1803; $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$.

A02:



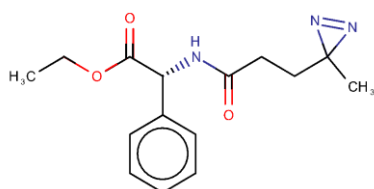
N-(2-(1-metil-1*H*-imidazol-2-il) etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,062 mmol, 11,5 mg, 33%), sárga szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,94 (s, 3 H), 1,51 (dd, $J = 8,48$, 7,21 Hz, 2 H), 1,89 - 1,97 (m, 2 H), 3,05 (t, $J = 6,47$ Hz, 2 H), 3,41 (q, $J = 6,46$ Hz, 2 H), 3,75 (s, 3 H), 7,47 - 7,49 (m, 1 H), 7,50 - 7,53 (m, 1 H), 8,07 - 8,12 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,45$ perc, 90% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 236,1511; $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

A03:



N-((2,3-dimetil-1*H*-indol-5-il) metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,058 mmol, 16,3 mg, 49%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,89 - 1,00 (s, 3 H), 1,49 - 1,64 (m, 2 H), 1,92 - 2,08 (m, 2 H), 2,12 (br s, 3 H), 2,20 - 2,34 (s, 3 H), 4,30 (br d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 6,89 (br d, $J = 8,05$ Hz, 1 H), 7,12 - 7,17 (m, 1 H), 7,22 - 7,26 (s, 1 H), 8,19 - 8,30 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,01$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$: 285,1715; $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}$.

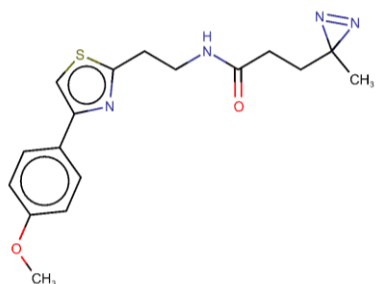
A04:



Etil 2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il) propánamido)-2-fenilacetát (0,135 mmol, 39 mg, 90%) piszkos fehér kristályos anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,90 - 0,98 (s, 3 H), 1,55 (d, $J = 7,58$ Hz, 2 H),

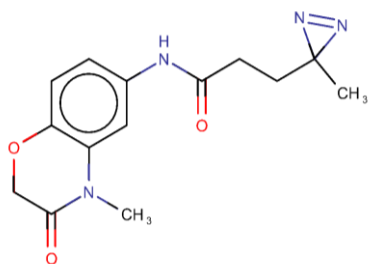
2,06 - 2,15 (m, 2 H), 2,27 - 2,30 (s, 3 H), 3,59 - 3,61 (s, 3 H), 5,32 - 5,35 (m, 1 H), 7,19 (br d, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 7,22 - 7,30 (m, 2 H), 8,67 - 8,71 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,04$ perc, 87% by UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 290,1503; $C_{15}H_{20}N_3O_3$.

A05:



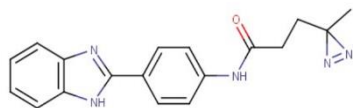
N-2-(4-(4-metoxifenil)-5*H*-1 λ^4 -tiazol-2-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid, (0,144 mmol, 22,5 mg, 45%) fehér szilárd anyag. LC-MS: $t_R = 0,54$ perc, 90% UV 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,03 (s, 3 H), 1,73-1,82 (m, 2 H), 1,99 - 2,06 (m, 2 H), 3,20 - 3,27 (m, 2 H), 3,72 - 3,80 (m, 2 H), 3,87 (s, 3 H), 6,46 (s, 1 H), 7,00 (t, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 7,2-7,31 (m, 1 H) 7,83 (t, $J = 7,4$ Hz, 2 H); LC-MS: $t_R = 1,04$ perc, 87% by UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 344,1307; $C_{17}H_{20}N_4O_2S$.

A07:



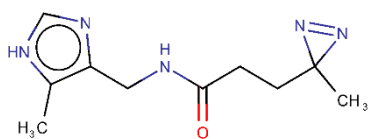
N-(4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,114 mmol, 33,3 mg, 49%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,03 (s, 3 H), 1,66 - 1,72 (m, 2 H), 2,17 - 2,22 (m, 2 H), 3,21 - 3,26 (s, 3 H), 4,58 - 4,62 (s, 2 H), 6,91 - 6,96 (m, 1 H), 7,11 - 7,18 (m, 1 H), 7,44 - 7,49 (s, 1 H), 9,93 - 9,98 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,84$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 289,1301; $C_{14}H_{17}N_4O_3$.

A08P:



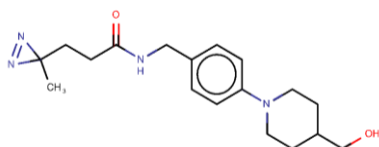
(*N*-(4-(1*H*-1,3-benzodiazol-2-yl)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,1346 mmol, 18,2 mg, 38%), fehér kristályos anyag. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,95 (s, 3H), 1,58 - 1,84 (m, 2H), 2,02-2,23 (m, 2H), 6,88-7,15 (m, 2H), 7,18-7,47 (m, 2H), 7,47-7,77 (m, 2H), 7,84 - 8,27 (m, 2H), 9,34 (s, 1H), 12,21 (s, 1H). LC-MS: : t_R = 0,49 perc, 99% UV HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 320,1435; $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

B01/1:



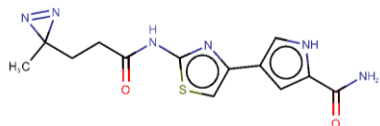
N-((5-metil-1*H*-imidazol-4-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,029 mmol, 6,5 mg, 16%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,92 - 1,02 (s, 3 H), 1,52 - 1,61 (m, 2 H), 1,91 - 2,02 (m, 2 H), 2,14 (s, 3 H), 4,09 - 4,16 (m, 2 H), 7,66 - 7,71 (m, 1 H), 8,05 - 8,11 (s, 1 H); LC-MS: t_R = 1,19 perc, 95% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 222,1354; $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}$.

B01/2:



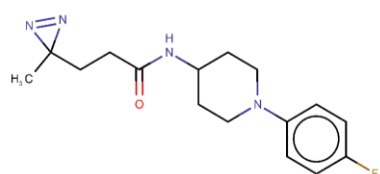
N-(4-(4-(hidroximetil)piperidin-1-il)benzil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,011 mmol, 3,6 mg, 10%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,16 - 1,24 (m, 4 H), 1,47 - 1,52 (m, 1 H), 1,56 - 1,60 (m, 2 H), 1,98 - 2,02 (m, 2 H), 2,53 - 2,62 (m, 4 H), 3,25 - 3,29 (m, 2 H), 4,11 - 4,15 (m, 2 H), 6,85 (d, J = 8,90 Hz, 2 H), 7,07 (d, J = 8,90 Hz, 2 H), 8,22 - 8,27 (m, 1 H), 8,40 - 8,43 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,42 perc, 84,7% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 331,2134; $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_2$.

B02



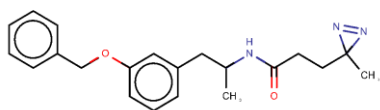
4-(2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid)thiazol-4-il)-1*H*-pirrol-2-karboxamid (0,048 mmol, 11,1 mg, 24%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,04 - 1,07 (s, 3 H), 1,58 - 1,67 (m, 2 H), 2,25 (td, $J = 7,79, 2,75$ Hz, 2 H), 7,91 - 7,98 (m, 1 H), 10,53 - 10,61 (s, 1 H), 11,59 - 11,67 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,79$ perc, 86% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 319,0977; $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$.

B03:

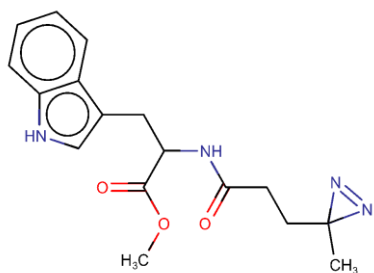


N-(1-(4-fluorofenil)piperidin-4-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,027 mmol, 8,3 mg, 18%) sárga kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,96 - 0,98 (s, 3 H), 1,43 - 1,51 (m, 2 H), 1,54 - 1,58 (m, 2 H), 1,78 - 1,83 (m, 2 H), 1,94 - 1,98 (m, 2 H), 2,69 - 2,75 (m, 2 H), 3,48 - 3,53 (m, 2 H), 3,66 - 3,70 (m, 1 H), 6,92 - 6,95 (m, 2 H), 6,99 - 7,03 (m, 2 H), 7,87 - 7,92 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,7$ perc, 90% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 305,1777; $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OF}$.

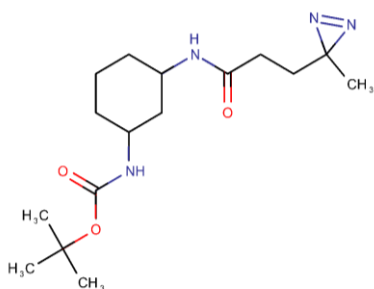
B04:



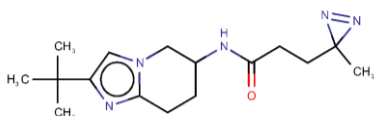
N-(1-(3-(benziloxi)fenil)propan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,064 mmol, 22,5 mg, 62%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,92 (s, 3 H), 0,99 (d, $J = 6,78$ Hz, 3 H), 1,47 - 1,51 (m, 2 H), 1,88 - 1,93 (m, 2 H), 2,54 - 2,59 (m, 1 H), 2,65 - 2,71 (m, 1 H), 3,90 - 3,98 (m, 1 H), 5,05 (s, 2 H), 6,75 - 6,78 (m, 1 H), 6,80 - 6,84 (m, 2 H), 7,17 (s, 1 H), 7,30 - 7,34 (m, 1 H), 7,38 (s, 2 H), 7,41 - 7,44 (m, 2 H), 7,81 - 7,85 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,25$ perc, 87% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 352,2025; $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$.

B05:

(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propanoil)triptofanát (0,020 mmol, 6,5 mg, 17%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,92 (s, 3 H), 1,42 - 1,53 (m, 4 H), 1,98 - 2,03 (m, 2 H), 3,57 (s, 3 H), 4,48 - 4,53 (m, 1 H), 6,97 - 7,01 (m, 1 H), 7,05 - 7,09 (m, 1 H), 7,14 (d, $J = 2,12$ Hz, 1 H), 7,33 (s, 1 H), 7,46 - 7,49 (m, 1 H), 8,32 - 8,37 (m, 1 H), 10,80 - 10,84 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,98$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 329,1613; $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$.

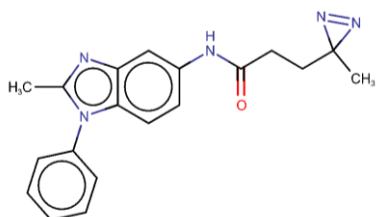
B07:

tert-butil (3-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)ciklohexil karbamát (0,236 mmol, 26,6 mg, 35%), fehér kristályos anyag. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,04 (s, 3H), 1,27 (s, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,54-1,64 (m, 3H), 1,65-1,87 (m, 6H), 1,89-2,12 (m, 4H), 3,82 (s, 1H), 4,56 (s, 1H), LC-MS: $t_R = 0,51$ perc, 95% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 325,2162; $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_3$.

B08:

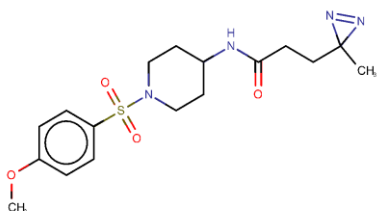
N-(2-(tercbutil)-5,6,7,8-tetrahydroimidazo[1,2-*a*]piridin-6-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,041 mmol, 12,5 mg, 23%) piszkos fehér szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,98 (s, 3 H), 1,17 (s, 9 H), 1,54 - 1,62 (m, 2 H), 1,85 (td, *J* = 13,78, 8,05 Hz, 2 H), 2,01 (m, 2 H), 3,65 (br dd, *J* = 12,29, 6,78 Hz, 2 H), 4,05 (br dd, *J* = 12,50, 4,87 Hz, 2 H), 4,16 (br s, 1 H), 6,64 (s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,49 perc, 99% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺, 304,2137; C₁₆H₂₆N₅O.

C01:

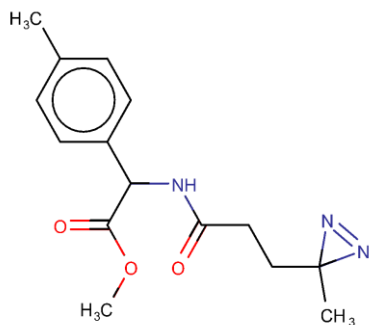


N-(2-metil-1-fenil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,107 mmol, 35,8 mg, 75%) sárga kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,04 (s, 3 H), 1,23 - 1,29 (m, 1 H), 1,71 (br t, *J* = 7,52 Hz, 2 H), 2,20 - 2,25 (m, 2 H), 2,42 (s, 3 H), 7,04 - 7,07 (m, 1 H), 7,30 - 7,33 (m, 1 H), 7,52 - 7,55 (m, 2 H), 7,55 - 7,58 (m, 1 H), 7,62 - 7,67 (m, 2 H), 7,95 - 7,98 (m, 1 H), 9,91 - 9,94 (br s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,65 perc, 96% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺, 334,1667; C₁₉H₂₀N₅O.

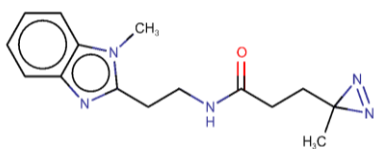
C02:



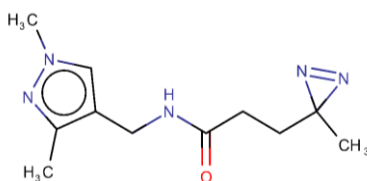
N-(1-((4-metoxifenil)sulfonil)piperidin-4-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,045 mmol, 17,1 mg, 45%) fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,94 (s, 3 H), 1,36 - 1,44 (m, 1 H), 1,52 (t, *J* = 7,42 Hz, 2 H), 1,74 - 1,81 (m, 4 H), 1,91 (t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 2,38 - 2,45 (m, 4 H), 3,84 (s, 3 H), 7,15 (d, *J* = 8,90 Hz, 2 H), 7,66 (d, *J* = 8,90 Hz, 2 H), 7,84 - 7,88 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,97 perc, 90% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 381,1596; C₁₇H₂₅N₄O₄S.

C03:

metil 2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)-2-(p-tolil)acetát (0,019 mmol, 5,5 mg, 16%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,90 - 0,98 (s, 3 H), 1,55 (d, J = 7,58 Hz, 2 H), 2,06 - 2,15 (m, 2 H), 2,27 - 2,30 (s, 3 H), 3,59 - 3,61 (s, 3 H), 5,32 - 5,35 (m, 1 H), 7,19 (br d, J = 8,05 Hz, 2 H), 7,22 - 7,30 (m, 2 H), 8,67 - 8,71 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 1,04 perc, 87% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 290,1504; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$.

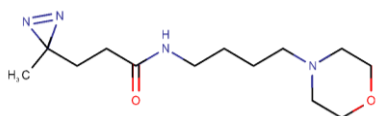
C04:

N-(2-(1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,056 mmol, 15,9 mg, 27,3%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,91 - 0,96 (m, 3 H), 1,49 - 1,56 (m, 2 H), 1,91 - 1,98 (m, 2 H), 3,06 (t, J = 7,21 Hz, 2 H), 3,57 - 3,71 (m, 2 H), 3,73 - 3,82 (s, 3 H), 7,22 - 7,30 (m, 2 H), 7,54 - 7,62 (m, 2 H), 8,05 - 8,12 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,44 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$, 286,1667; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}$.

C05:

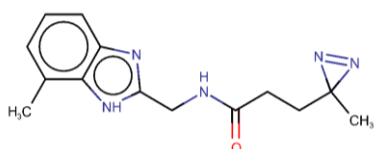
N-((1,3-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,015 mmol, 3,6 mg, 15%) sárga kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,91 - 0,98 (s, 3 H), 1,56 (t, *J* = 7,84 Hz, 2 H), 1,96 (t, *J* = 7,84 Hz, 2 H), 2,07 (s, 3 H), 3,68 (s, 3 H), 4,01 (d, *J* = 5,51 Hz, 2 H), 7,42 (s, 1 H), 8,02 (br s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,61 perc, 96% NMR, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 236,1511; C₁₁H₁₈N₅O.

C07:



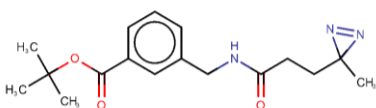
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(4-morfolinobutil)propánamid (0,024 mmol, 6,4 mg, 11%) piszkos fehér szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,94 - 1,03 (m, 3 H), 1,36 - 1,43 (m, 2 H), 1,53 - 1,59 (m, 2 H), 1,91 - 1,97 (m, 2 H), 2,22 - 2,34 (m, 6 H), 2,51 (s, 2 H), 3,01 - 3,05 (m, 2 H), 3,54 - 3,57 (m, 4 H); LC-MS: *t*_R = 0,41 perc, 85,8% NMR, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 269,1977; C₁₃H₂₅N₄O₂.

D01:



N-((7-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,013 mmol, 3,5 mg, 7%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,01 (s, 3 H), 1,59 - 1,65 (m, 2 H), 2,06 - 2,14 (m, 2 H), 2,48 - 2,50 (s, 3 H), 4,46 - 4,50 (m, 2 H), 6,92 - 6,97 (m, 1 H), 7,01 - 7,07 (m, 1 H), 7,27 - 7,33 (m, 1 H), 8,14 - 8,24 (br s, 1 H), 8,48 - 8,54 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,49 perc, 98% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 272,1511; C₁₄H₁₈N₅O.

D02:



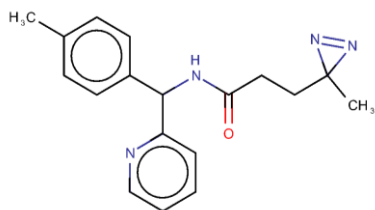
terc-butil 3-((3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)metil)benzoát (0,040 mmol, 31 mg, 41%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,53 (s, 9 H), 1,59 - 1,63 (m, 2 H), 2,04 (d, J = 8,05 Hz, 2 H), 4,30 (d, J = 5,93 Hz, 2 H), 7,42 - 7,45 (m, 1 H), 7,48 - 7,50 (m, 1 H), 7,75 - 7,78 (m, 2 H), 8,44 - 8,49 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 1,15 perc, 86% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 318,1817; $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3$.

D03P:



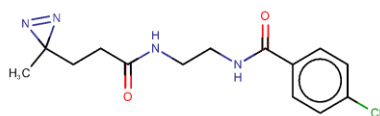
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(metilszulfonamido)fenil)-propánamid, (0,135 mmol, 23,8 mg, 60%), fehér kristályos anyag. ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,00 (s, 3H), 1,79 (dd, J = 8,5, 6,8 Hz, 2H), 2,02 (dd, J = 8,6, 6,7 Hz, 2H), 3,09 (s, 3H), 4,42 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 6,24 (s, 1H), 7,16 (t, J = 7,5Hz, 1H), 7,27 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,35 (t, J = 7,7Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,1Hz, 1H), 9,14 (s, 1H), LC-MS: t_R = 0,41 perc, 97% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 297,0949; $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$.

D04:



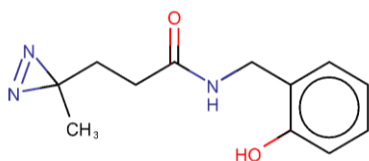
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(piridin-2-il(p-tolil)metil)propánamid (0,040 mmol, 12,2 mg, 27%) piszkos fehér kristály, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,95 (s, 3 H), 1,55 - 1,59 (m, 2 H), 2,12 - 2,17 (m, 2 H), 2,23 (s, 3 H), 6,06 - 6,09 (m, 1 H), 7,09 (d, J = 8,05 Hz, 2 H), 7,17 (d, J = 8,05 Hz, 2 H), 7,23 - 7,27 (m, 1 H), 7,42 (m, 1 H), 7,75 (d, J = 2,12 Hz, 1 H), 8,47 - 8,50 (m, 1 H), 8,76 - 8,80 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,94 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 309,1715; $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}$.

D05:



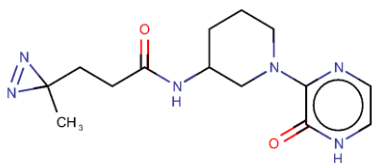
4-kloro-*N*-(2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)etil)benzamid (0,076 mmol, 23,5 mg, 58%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,93 - 1,00 (s, 3 H), 1,56 (br t, $J = 7,84$ Hz, 2 H), 1,97 (t, $J = 7,84$ Hz, 2 H), 3,17 - 3,26 (m, 2 H), 3,31 (q, $J = 6,36$ Hz, 2 H), 7,51 - 7,56 (m, 2 H), 7,80 - 7,87 (m, 2 H), 7,96 - 8,00 (m, 1 H), 8,51 - 8,55 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,89$ perc, 98% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 309,1118; $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}$.

D07:



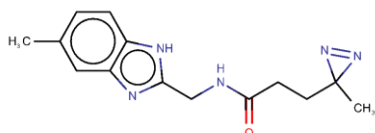
N-(2-hidroxibenzil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid 21(0,039 mmol, 9,2 mg, 26%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,56 - 1,63 (m, 2 H), 2,03 - 2,09 (m, 2 H), 4,18 (d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 6,73 - 6,80 (m, 2 H), 7,04 - 7,11 (m, 2 H), 8,28 (br t, $J = 5,51$ Hz, 2 H); LC-MS: $t_R = 0,86$ perc, 88% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 234,1242; $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2$.

E01:



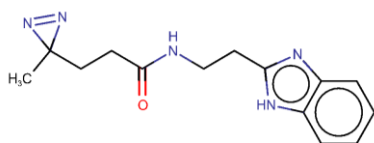
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(1-(3-oxo-3,4-dihidropirazin-2-il)piperidin-3-il)propánamid (0,0545 mmol, 16,6 mg, 40%) as an yellow solid, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 - 1,01 (s, 3 H), 1,55 - 1,60 (m, 2 H), 1,94 - 2,00 (m, 2 H), 2,17 - 2,21 (m, 4 H), 2,32 - 2,36 (m, 4 H), 2,90 (br dd, $J = 19,07$, 11,00 Hz, 1 H), 7,77 - 7,84 (m, 2 H); LC-MS: $t_R = 0,59$ perc, 98% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 305,1725; $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$.

E02:



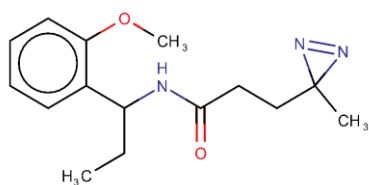
N-((5-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,017 mmol, 46 mg, 10%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,00 (s, 3 H), 1,59 - 1,66 (m, 2 H), 2,08 - 2,15 (m, 2 H), 2,53 (s, 3 H), 4,45 (br d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 6,96 – 7,01 (m, 1 H), 7,23 – 7,36 (s, 1 H), 7,37 (br d, $J = 8,05$ Hz, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 8,50 (br t, $J = 5,51$ Hz, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,49$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 272,1511; $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

E03:



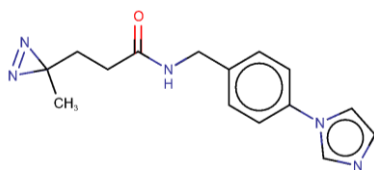
N-(2-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,029 mmol, 7,8 mg, 15%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,93 - 0,95 (s, 3 H), 1,22 - 1,29 (m, 2 H), 1,54 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 1,95 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 3,07 (t, $J = 6,97$ Hz, 2 H), 7,30 (dd, $J = 6,05$, 3,12 Hz, 2 H), 7,60 (dd, $J = 5,87$, 2,93 Hz, 2 H), 8,07 - 8,13 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,41$ perc, 97% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 272,1511; $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

E04:



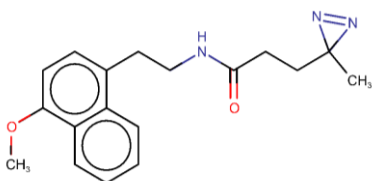
N-(1-(2-methoxyfenil)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,044 mmol, 12,1 mg, 32%) fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,83 (t, $J = 7,21$ Hz, 3 H), 0,95 - 0,97 (s, 3 H), 1,48 - 1,66 (m, 4 H), 1,99 - 2,09 (m, 2 H), 3,79 (s, 3 H), 5,04 (td, $J = 8,69, 5,09$ Hz, 1 H), 6,90 (t, $J = 7,42$ Hz, 1 H), 6,95 (d, $J = 8,05$ Hz, 1 H), 7,17 - 7,30 (m, 2 H), 8,10 - 8,20 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,08$ perc, 96% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 276,1712; $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$.

E05:



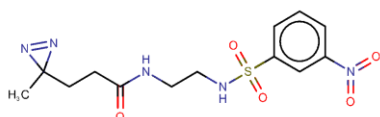
N-(4-(1*H*-imidazol-1-il)benzil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,056 mmol, 15,9 mg, 28%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,94 - 1,00 (s, 3 H), 1,62 (br t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,06 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 4,30 (br d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 7,09 - 7,24 (s, 1 H), 7,39 (br d, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 7,57 - 7,64 (m, 2 H), 7,69 - 7,84 (m, 1 H), 8,23 (s, 1 H), 8,39 - 8,50 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,39$ perc, 99% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 284,1511; $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

E07:



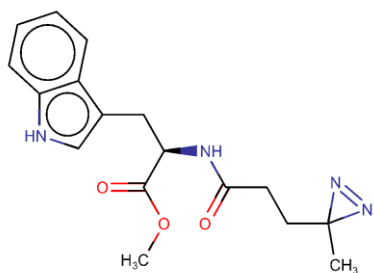
N-(2-(4-metoxinaftalén-1-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,144 mmol, 17,9 mg, 40%) fehér kristályos anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,54 - 1,58 (m, 2 H), 1,93 - 1,98 (m, 2 H), 3,06 - 3,10 (m, 2 H), 3,29 - 3,34 (m, 2 H), 3,92 - 3,94 (s, 3 H), 6,86 - 6,89 (m, 1 H), 7,25 - 7,28 (m, 1 H), 7,48 - 7,52 (m, 1 H), 7,55 - 7,59 (m, 1 H), 8,02 - 8,06 (m, 1 H), 8,07 - 8,10 (m, 1 H), 8,15 - 8,20 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 1,16 perc, 100% by UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 284,1651; $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$.

F01:



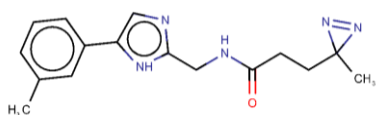
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-((3-nitrofenil)sulfonamido)etil)propánamid (0,057 mmol, 20,1 mg, 28%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,95 (s, 3 H), 1,46 - 1,61 (m, 2 H), 1,86 - 1,92 (m, 2 H), 2,84 (q, J = 6,36 Hz, 2 H), 3,07 (q, J = 6,36 Hz, 2 H), 7,85 - 7,97 (m, 2 H), 8,03 (br t, J = 5,72 Hz, 1 H), 8,19 - 8,33 (m, 1 H), 8,47 - 8,60 (m, 2 H); LC-S: t_R = 0,88 perc, 93% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 356,1028; $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$.

F02:



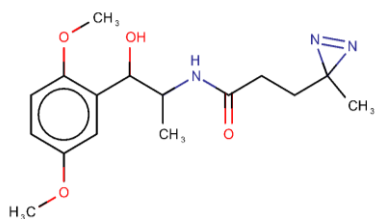
(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propanoil)-*D*-triptofanát (0,018 mmol, 5,8 mg, 18%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,91 (s, 3 H), 1,42 - 1,52 (m, 2 H), 1,97 - 2,04 (m, 2 H), 2,99 - 3,06 (m, 1 H), 3,10 - 3,19 (m, 1 H), 3,57 (s, 3 H), 4,48 - 4,52 (m, 1 H), 6,99 (m, 1 H), 7,05 - 7,09 (m, 1 H), 7,13 - 7,15 (s, 1 H), 7,32 - 7,36 (m, 1 H), 7,46 - 7,49 (m, 1 H), 8,33 - 8,36 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,98 perc, 85% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 329,1613; $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$.

F03:



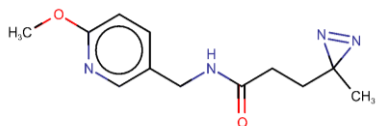
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-((5-(*m*-tolil)-1*H*-imidazol-2-il)metil)propánamid (0,024 mmol, 7,2 mg, 24%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,94 - 1,04 (s, 3 H), 1,52 - 1,65 (m, 2 H), 2,00 - 2,10 (m, 2 H), 2,31 (s, 3 H), 4,32 (d, J = 5,51 Hz, 2 H), 7,02 (br d, J = 7,40 Hz, 1 H), 7,23 (br t, J = 7,40 Hz, 1 H), 7,47 (m, 2 H), 7,55 (br s, 1 H), 8,38 (br t, J = 5,51 Hz, 1 H); LC-MS: t_R = 0,58 perc, 97% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$:298,1667; $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}$.

F04:



N-(1-(2,5-dimethoxifenil)-1-hidroxiopropan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,040 mmol, 12,7 mg, 34%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,84 (d, J = 6,60 Hz, 3 H), 0,91 - 0,98 (s, 3 H), 1,45 - 1,53 (m, 2 H), 1,97 (br dd, J = 16,87, 8,07 Hz, 2 H), 3,67 - 3,69 (s, 3 H), 3,70 - 3,73 (s, 3 H), 4,82 (br t, J = 4,40 Hz, 1 H), 5,19 - 5,36 (m, 1 H), 6,74 - 6,78 (m, 1 H), 6,86 (br d, J = 8,80 Hz, 1 H), 6,94 - 6,99 (s, 1 H), 7,61 (br d, J = 8,44 Hz, 1 H); LC-MS: t_R = 0,86 perc, 93% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$, 322,1766; $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4$.

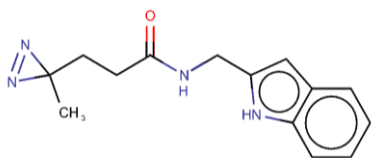
F05:



N-((6-methoxipiridin-3-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,139 mmol, 34,4 mg, 77%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,96 (s, 3 H), 1,56 - 1,62 (m, 2 H), 1,98 - 2,03 (m, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 4,18 - 4,21 (m, 2 H), 6,84 - 6,86 (m, 1 H), 7,65 - 7,67 (m, 1 H), 8,05 -

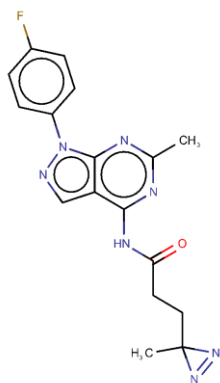
8,07 (s, 1 H), 8,35 - 8,39 (t, 1 H); LC-MS: t_R = 0,72 perc, 87% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 249,1351; $C_{12}H_{17}N_4O_2$.

F07:



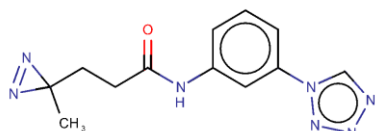
N-((1*H*-indol-2-yl)methyl)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,080 mmol, 20,6 mg, 34%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 0,93 - 1,01 (s, 3 H), 1,53 - 1,64 (m, 2 H), 2,07 (t, J = 7,84 Hz, 2 H), 4,40 (br d, J = 5,51 Hz, 2 H), 6,24 - 6,27 (s, 1 H), 6,94 (m, 1 H), 7,03 (br t, J = 7,42 Hz, 1 H), 7,32 (br dd, J = 8,05, 0,85 Hz, 1 H), 7,37 - 7,49 (m, 1 H), 8,32 - 8,39 (br s, 1 H), 10,84 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,98 perc, 88% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 257,1402; $C_{14}H_{17}N_4O$.

G01:



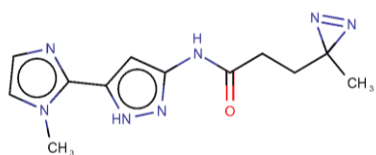
N-(1-(4-fluorofenil)-6-metil-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,030 mmol, 10,6 mg, 24%) sárga kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,01 - 1,09 (s, 3 H), 1,76 (br t, J = 7,42 Hz, 2 H), 2,37 - 2,53 (m, 2 H), 2,60 - 2,66 (s, 3 H), 8,19 (br dd, J = 9,11, 4,87 Hz, 4 H), 8,60 - 8,64 (s, 1 H), 11,28 - 11,41 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 1,26 perc, 99% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 354,1478; $C_{17}H_{17}N_7OF$.

G02:



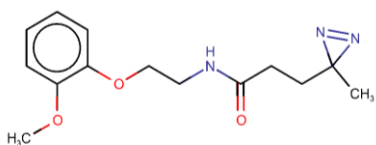
N-(3-(1*H*-tetrazol-1-yl)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,017 mmol, 4,5 mg, 7%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,04 (s, 3 H), 1,72 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,27 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 7,55 - 7,64 (m, 3 H), 7,64 - 7,69 (m, 1 H), 8,27 (s, 1 H), 10,05 - 10,09 (s, 1 H), 10,33 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,85$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 272,1259; $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_7\text{O}$.

G03:



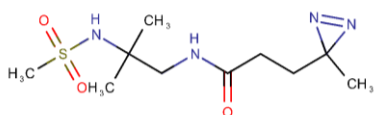
N-(5-(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol-3-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,10 mmol, 27,4 mg, 51%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,01 - 1,06 (s, 3 H), 1,60 - 1,73 (m, 2 H), 2,23 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 3,81 (br s, 3 H), 6,93 - 7,04 (m, 1 H), 7,19 - 7,34 (m, 1 H), 8,42 - 8,49 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,4$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 274,1416; $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_7\text{O}$.

G04:



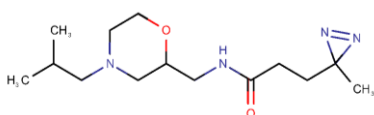
N-(2-(2-metoxifenoxi)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,099 mmol, 27,4 mg, 27%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,98 (s, 3 H), 1,53 - 1,60 (m, 2 H), 1,99 - 2,04 (m, 2 H), 3,73 - 3,77 (s, 3 H), 3,96 (br t, $J = 5,87$ Hz, 2 H), 4,11 - 4,16 (m, 2 H), 6,85 - 6,99 (m, 4 H), 8,13 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,9$ perc, 84% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 278,1504; $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$.

G05:



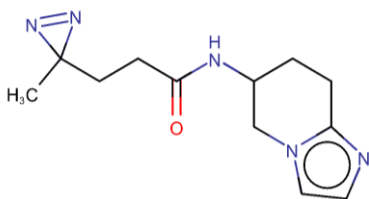
N-(2-metil-2-(metilszulfonamido)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,096 mmol, 26,6 mg, 53%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,00 (s, 3 H), 1,21 (s, 6 H), 1,53 - 1,67 (m, 2 H), 2,00 - 2,06 (m, 2 H), 2,96 (s, 3 H), 3,17 (br d, $J = 6,24$ Hz, 2 H), 6,78 (s, 1 H), 7,80 - 7,89 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,64$ perc, 85% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 277,1256; $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$.

G07:

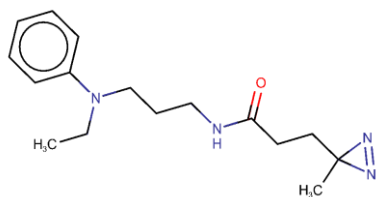


N-((4-izobutilmorfolin-2-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,00435 mmol, 1,3 mg, 3%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,85 - 0,92 (m, 6 H), 0,98 (s, 3 H), 1,25 (m, 7 H), 1,55 - 1,59 (m, 2 H), 1,97 - 2,02 (m, 2 H), 3,08 - 3,18 (m, 3 H), 3,83 - 3,91 (m, 2 H), 8,00 - 8,06 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,37$ perc, 84,5% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 283,2134; $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_2$.

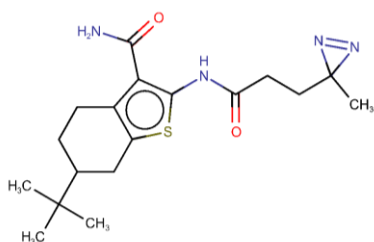
H01:



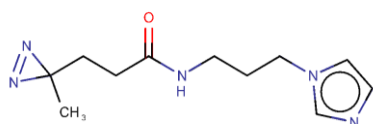
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-il)propánamid (0,025 mmol, 6,2 mg, 14%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 - 0,99 (m, 3 H), 1,55 - 1,62 (m, 2 H), 1,83 - 1,92 (m, 2 H), 2,02 (m, 2 H), 2,72 - 2,79 (m, 1 H), 2,82 - 2,90 (m, 1 H), 3,72 (br dd, $J = 12,29, 6,78$ Hz, 1 H), 4,12 (br dd, $J = 12,29, 4,66$ Hz, 1 H), 4,15 - 4,21 (m, 1 H), 6,80 - 6,82 (m, 1 H), 6,96 - 6,98 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,04$ perc, 86% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 248,1511; $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}$.

H02:

N-(3-(etil(fenil)amino)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,012 mmol, 3,6 mg, 9%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,99 (s, 3 H), 1,05 (td, $J = 6,99$, 1,70 Hz, 3 H), 1,57 - 1,61 (m, 2 H), 1,62 - 1,68 (m, 2 H), 1,97 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 3,09 (q, $J = 5,93$ Hz, 2 H), 3,17 - 3,27 (m, 2 H), 3,27 - 3,37 (m, 2 H), 6,51 - 6,59 (m, 1 H), 6,64 (br d, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 7,12 (br t, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 7,92 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,54$ perc, 83% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 289,2028; $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$.

H03:

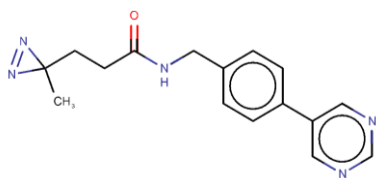
6-(terc-butyl)-2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofén-3-karboxamid (0,074 mmol, 27 mg, 31%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,92 (s, 9 H), 0,95 - 1,10 (s, 3 H), 1,42 (br d, $J = 2,97$ Hz, 2 H), 1,67 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 1,97 (br s, 2 H), 2,32 - 2,39 (m, 3 H), 2,65 (br dd, $J = 16,11$, 4,66 Hz, 2 H); LC-MS: $t_R = 1,34$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 363,1854; $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$.

H04:

N-(3-(1*H*-imidazol-1-il)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,077 mmol, 18 mg, 32%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,95 - 0,99 (s, 3 H), 1,59 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 1,82 (quin, $J = 6,94$ Hz, 2 H), 1,96 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,92 - 3,05 (m, 2 H), 3,97 (t, $J = 6,94$ Hz, 2 H).

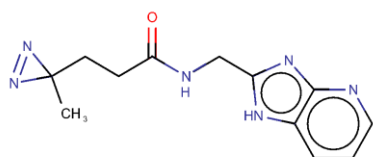
H), 6,89 (s, 1 H), 7,17 (s, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,92 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,04$ perc, 95% NMR, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 236,1511; $C_{11}H_{18}N_5O$.

H07:



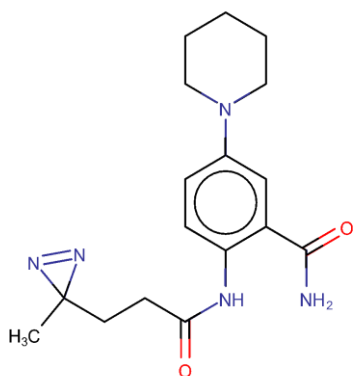
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(4-(pirimidin-5-il)benzil)propánamid (0,033 mmol, 9,8 mg, 33%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 0,99 (s, 3 H), 1,62 (m, 2 H), 2,06 (m, 2 H), 4,32 (d, $J = 5,93$ Hz, 2 H), 7,41 (d, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 7,75 (d, $J = 8,05$ Hz, 2 H), 8,44 - 8,49 (s, 1 H), 9,10 (s, 2 H), 9,15 - 9,16 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,78$ perc, 90% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 296,1511; $C_{16}H_{18}N_5O$.

I01:



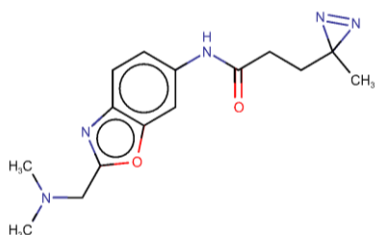
N-((1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,094 mmol, 24,2 mg, 48%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 0,95 - 1,04 (s, 3 H), 1,58 - 1,68 (m, 2 H), 2,08 - 2,16 (m, 2 H), 4,50 (d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 7,18 - 7,22 (m, 1 H), 7,88 - 7,92 (m, 1 H), 8,22 - 8,31 (m, 2 H), 8,52 - 8,56 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,42$ perc, 98% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 259,1307; $C_{12}H_{15}N_6O$.

I02:



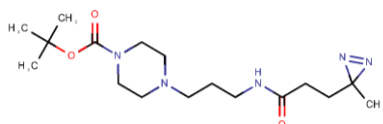
2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)-5-(piperidin-1-il)benzamid (0,084 mmol, 27,8 mg, 43%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,02 (s, 3 H), 1,49 - 1,56 (m, 2 H), 1,63 - 1,71 (m, 6 H), 2,17 - 2,22 (m, 2 H), 2,80 - 2,85 (m, 4 H), 7,19 - 7,24 (m, 1 H), 7,48 - 7,56 (s, 1 H), 7,70 - 7,77 (m, 1 H), 7,98 - 8,02 (s, 1 H), 9,08 - 9,15 (s, 1 H), 9,94 - 10,00 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,57 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$, 330,193; $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2$.

I03P:



3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(pirrolidin-1-il)metil)benzo[d]oxazol-5-il)propánamid, (0,135 mmol, 8,9 mg, 20%), fehér kristályos anyag, ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,01 (s, 3H), 1,62-1,68 (m, 2H), 1,71-1,79 (m, 2H), 2,94 (s, 6H), 4,65 (s, 2H), 4,77 (s, 2H), 6,29-6,35 (m, 2H), 6,66 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), LC-MS: t_R = 0,98 perc, 100% UV HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$, 302,1528; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2$.

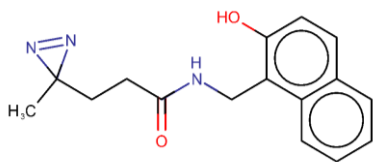
I04:



tert-butil-4-(3-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)propil)piperazin-1-karboxalát, (0,188 mmol, 6,9 mg, 10%), fehér kristályos anyag, ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,95 (s, 3H), 1,41 (s, 9H), 1,61-1,69

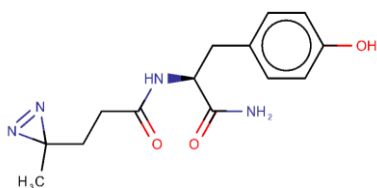
(m, 2H), 1,69-1,77 (m, 2H), 1,92-2,00 (m, 2H), 2,38 (q, $J=7,2$ Hz, 6H), 2,74 (t, $J=6,8$ Hz, 4H) 3,41 (t, $J=4,8$ Hz, 4H), LC-MS: $t_R = 0,29$ perc, 98% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 355,2421; $C_{17}H_{32}N_5O_3$.

I05:



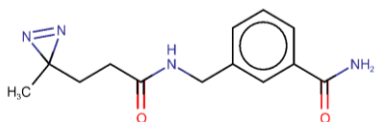
N-((2-hidroksinaftalén-1-il) metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid, (0,196 mmol, 42,7 mg, 77%), piszkos fehér kristályos anyag, 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 0,93 (s, 3H), 1,68-1,78 (m, 2H), 1,96-2,06 (m, 2H), 4,70-4,87 (m, 2H), 6,47 (s, 1H), 7,16-7,40 (m, 2H), 7,46-7,54 (m, 1H), 7,69-7,85 (m, 3H), 9,72 (s, 1H), LC-MS: $t_R = 0,55$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 285,1321; $C_{16}H_{18}N_3O_2$.

I07:



(*S*)-*N*-(1-amino-3-(4-hidroxifenil)-1-oxopropan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,073 mmol, 21,2 mg, 31%) fehér szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,04 (s, 3 H), 1,72 (br t, $J = 7,34$ Hz, 2 H), 2,26 (br t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 3,47 (dd, $J=7,6$; 5,4 Hz, 1H) 4,52 (s, 2H), 7,53 - 7,69 (m, 4 H), 8,24 - 8,30 (br s, 1 H), 10,04 - 10,09 (br s, 2 H), 10,30 - 10,37 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,59$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 291,1457; $C_{14}H_{19}N_4O_3$.

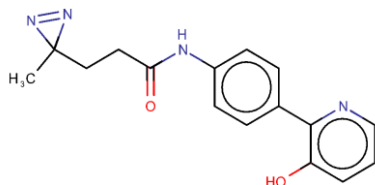
J01:



3-((3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propanamido)metil)benzamid (0,046 mmol, 11,9 mg, 7%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 0,99 (s, 3 H), 1,61 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H),

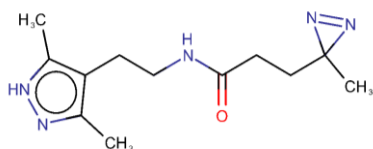
2,06 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 4,30 (d, $J = 5,87$ Hz, 2 H), 7,33 (br s, 1 H), 7,36 - 7,47 (m, 2 H), 7,70 - 7,82 (m, 2 H), 7,95 (br s, 1 H), 8,41 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,62$ perc, 94% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$, 261,1351; $C_{13}H_{17}N_4O_2$.

J02:



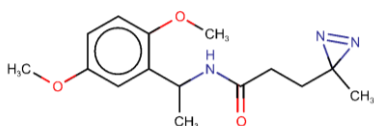
N-(4-(3-hidroxipiridin-2-il)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,054 mmol, 16 mg, 34%) piszkos fehér szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,02 - 1,06 (s, 3 H), 1,67 - 1,74 (m, 2 H), 2,21 - 2,27 (m, 2 H), 7,14 - 7,18 (m, 1 H), 7,28 - 7,32 (m, 1 H), 7,63 (br d, $J = 8,44$ Hz, 2 H), 7,97 - 8,01 (m, 2 H), 8,11 - 8,14 (m, 1 H), 10,01 - 10,04 (s, 1 H), 10,10 - 10,13 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,52$ perc, 98% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 297,1351; $C_{16}H_{17}N_4O_2$.

J03:



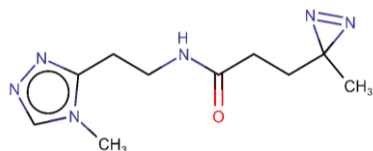
N-(2-(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-4-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,047 mmol, 11,8 mg, 25%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,98 (s, 3 H), 1,53 - 1,57 (m, 2 H), 1,94 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 2,08 (s, 6 H), 2,40 (t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 3,01 - 3,09 (m, 2 H), 7,87 - 7,94 (m, 1 H), 8,14 - 8,25 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,41$ perc, 87% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 250,1667; $C_{12}H_{20}N_5O$.

J04:



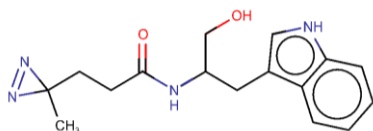
N-(1-(2,5-dimetoxifenil)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,016 mmol, 4,7 mg, 10%) fehér kristályos szilárd anyag ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,22 (br d, *J*=6,97 Hz, 3 H), 1,56 (br d, *J* = 1,83 Hz, 2 H), 2,02 (br d, *J* = 1,83 Hz, 2 H), 3,39 (m, 1 H), 3,69 (s, 3 H), 3,71 - 3,86 (s, 3 H), 6,72 - 6,90 (m, 3 H), 8,20 - 8,25 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 1,00 perc, 93% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 292,1661; C₁₅H₂₂N₃O₃.

J05:



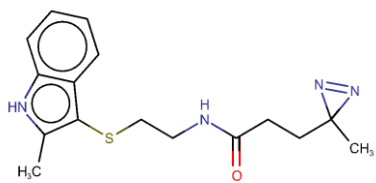
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(4-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)etil)propánamid (0,023 mmol, 5,5 mg, 20%) fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,95 - 0,97 (s, 3 H), 1,52 - 1,56 (m, 2 H), 1,93 - 1,97 (m, 2 H), 2,83 - 2,86 (m, 2 H), 3,38 - 3,43 (m, 2 H), 3,58 - 3,60 (s, 3 H), 8,02 - 8,07 (br s, 1 H), 8,38 - 8,41 (s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,39 perc, 85% NMR, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 237,1463; C₁₀H₁₇N₆O.

J07:



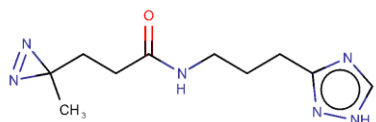
N-(1-hidroxi-3-(1*H*-indol-3-il)propan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,065 mmol, 19,4 mg, 47%) fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,95 (s, 3 H), 1,51 (br t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 1,96 (td, *J* = 7,64, 2,97 Hz, 2 H), 2,74 (br dd, *J* = 14,41, 7,21 Hz, 2 H), 2,91 (br dd, *J* = 14,41, 6,36 Hz, 2 H), 3,97 (br dd, *J* = 13,35, 6,57 Hz, 1 H), 6,97 (br t, *J* = 7,42 Hz, 1 H), 7,05 (br t, *J* = 7,42 Hz, 1 H), 7,08 - 7,24 (s, 1 H), 7,32 (br d, *J* = 8,05 Hz, 1 H), 7,59 (br d, *J* = 7,63 Hz, 1 H), 7,70 (br d, *J* = 8,05 Hz, 1 H), 10,70 - 10,77 (br s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,81 perc, 100% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 301,1664; C₁₆H₂₀N₄O₂.

K01:



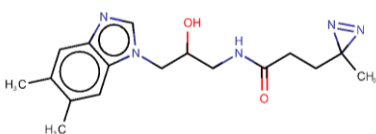
N-(2-((2-metil-1*H*-indol-3-il)tio)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,054 mmol, 17 mg, 30%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,94 (s, 3 H), 1,49 - 1,53 (m, 2 H), 1,89 - 1,93 (m, 2 H), 2,43 - 2,45 (s, 3 H), 2,59 - 2,62 (m, 2 H), 3,05 - 3,10 (m, 2 H), 7,02 - 7,08 (m, 2 H), 7,30 - 7,32 (m, 1 H), 7,49 - 7,52 (m, 1 H), 7,91 - 7,95 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 1,07 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 317,1436; $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{OS}$.

K02:

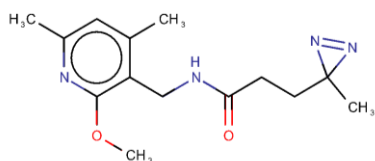


N-(3-(1*H*-1,2,4-triazol-3-il)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)proánamid (0,056 mmol, 13,3 mg, 41%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 - 1,01 (s, 3 H), 1,57 (br t, J = 7,70 Hz, 2 H) 1,79, (dt, J = 14,58, 7,20 Hz, 2 H), 1,96 (br t, J = 7,70 Hz, 2 H), 2,70 (br t, J = 7,70 Hz, 2 H), 3,05 - 3,12 (m, 2 H), 7,90 - 7,97 (m, 1 H), 8,12 - 8,24 (m, 2 H); LC-MS: t_R = 0,46 perc, 87% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 237,1463, $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}$.

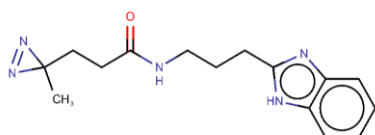
K03:



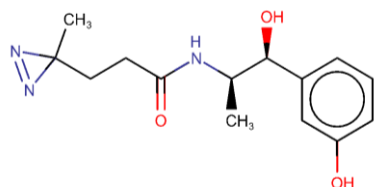
N-(3-(5,6-dimetil-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)-2-hidroxipropil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,020 mmol, 6,7 mg, 51%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,99 - 1,02 (s, 3 H), 1,59 - 1,63 (m, 2 H), 2,01 - 2,06 (m, 2 H), 2,29 - 2,31 (s, 3 H), 2,32 - 2,34 (s, 3 H), 3,83 - 3,87 (m, 1 H), 4,00 - 4,06 (m, 2 H), 4,20 - 4,25 (m, 2 H), 7,32 - 7,34 (s, 1 H), 7,39 - 7,42 (s, 1 H), 7,98 - 8,00 (s, 1 H), 8,02 - 8,05 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,53 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 330,193, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2$.

K04:

N-((2-methoxy-4,6-dimetilpiridin-3-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,104 mmol, 28,8 mg, 69%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,93 - 0,97 (s, 3 H), 1,51 - 1,57 (m, 2 H), 1,93 - 1,98 (m, 2 H), 2,24 (s, 3 H), 2,28 - 2,41 (s, 3 H), 3,81 - 3,85 (s, 3 H), 4,16 - 4,22 (m, 2 H), 6,65 - 6,70 (s, 1 H), 7,81 - 7,88 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,96 perc, 97% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 277,1664; $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_2$.

K05:

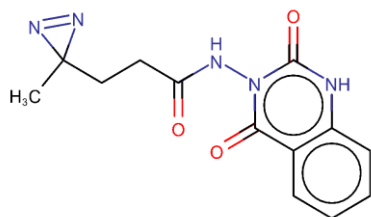
N-(3-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)propil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,048 mmol, 13,7 mg, 20%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,93 - 1,03 (s, 3 H), 1,51 - 1,59 (m, 2 H), 1,85 - 2,01 (m, 4 H), 2,77 - 2,87 (m, 2 H), 3,10 - 3,16 (m, 2 H), 7,14 - 7,18 (m, 2 H), 7,47 - 7,51 (m, 2 H), 7,95 - 8,00 (s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,45 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 286,1667; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}$.

K07:

N-(1-(3,4-dihidroxifenil)propan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,141 mmol, 39 mg, 90%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,89 - 1,03 (m, 6 H), 1,52 (br t, J = 7,70

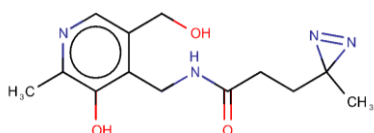
Hz, 2 H), 1,88 - 1,96 (m, 2 H), 2,33 - 2,38 (m, 1 H), 2,55 - 2,60 (m, 1 H), 3,79 - 3,88 (m, 1 H), 6,39 - 6,43 (m, 1 H), 6,54 - 6,57 (s, 1 H), 6,59 - 6,63 (m, 1 H), 7,71 - 7,76 (m, 1 H), 8,60 - 8,63 (br s, 1 H), 8,69 - 8,72 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,73 perc, 97% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 278,1504; $C_{14}H_{20}N_3O_3$.

L01:



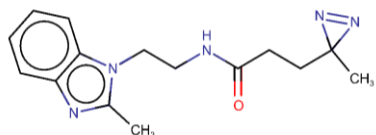
N-(2,4-dioxo-1,4-dihidrokinazolin-3(2*H*)-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,072 mmol, 20,6 mg, 38%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,05 (s, 3 H), 1,54 - 1,67 (m, 2 H), 2,21 - 2,27 (m, 2 H), 7,21 - 7,28 (m, 4 H), 10,58 - 10,62 (s, 1 H), 11,62 - 11,65 (s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,67 perc, 87% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 288,1096; $C_{13}H_{14}N_5O_3$.

L02:



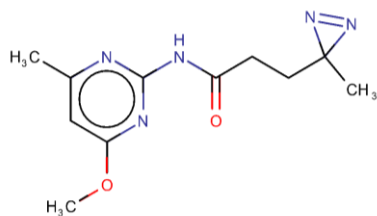
N-((3-hidroxi-5-(hidroximetil)-2-metilpiridin-4-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,031 mmol, 8,7 mg, 76%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,94 - 0,96 (s, 3 H), 1,54 - 1,60 (m, 2 H), 2,03 - 2,10 (m, 2 H), 2,32 - 2,36 (s, 3 H), 4,25 - 4,30 (m, 2 H), 4,54 - 4,58 (m, 2 H), 7,89 - 7,93 (s, 1 H), 8,13 - 8,26 (br s, 1 H), 8,78 - 8,86 (m, 1 H), 9,93 - 10,07 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,4 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 279,1457; $C_{13}H_{19}N_4O_3$.

L03:



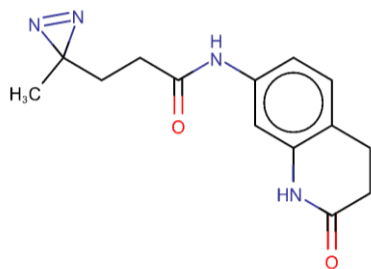
N-(2-(2-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,074 mmol, 21 mg, 38%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,93 (s, 3 H), 1,33 - 1,50 (m, 2 H), 1,85 (br t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 2,53 - 2,59 (s, 3 H), 3,29 - 3,47 (m, 2 H), 4,26 (br t, $J = 5,87$ Hz, 2 H), 7,10 - 7,28 (m, 2 H), 7,54 (br dd, $J = 16,87, 8,07$ Hz, 2 H), 8,06 (br t, $J = 5,87$ Hz, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,41$ perc, 95% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 286,1667; $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}$.

L04:



N-(4-metoxi-6-metilpirimidin-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,017 mmol, 4,2 mg, 7%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,99 - 1,06 (s, 3 H), 1,66 (m, 2 H), 2,30 (s, 3 H), 2,45 (m, 2 H), 3,84 - 3,92 (s, 3 H), 6,45 (br s, 1 H), 10,28 - 10,34 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,66$ perc, 90% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 250,13039; $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_2$.

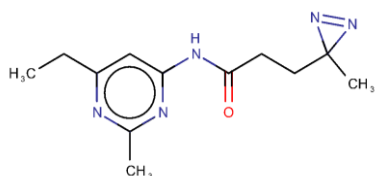
L05:



3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-oxo-1,2,3,4-tetrahidrokinolin-7-il)propánamid (0,072 mmol, 19,7 mg, 31%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,01 (s, 3 H), 1,66 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 2,18 (t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 2,41 (t, $J = 7,70$ Hz, 2 H), 2,79 (t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 7,01 -

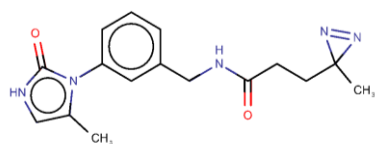
7,11 (m, 2 H), 7,22 (s, 1 H), 9,88 (s, 1 H), 10,08 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,77$ perc, 97% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 273,1351; $C_{14}H_{17}N_4O_2$.

L07:



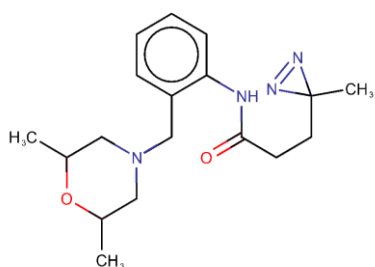
N-(6-etil-2-metilpirimidin-4-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,069 mmol, 37 mg, 37%) fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,01 (s, 3 H), 1,16 - 1,22 (m, 3 H), 1,64 - 1,69 (m, 2 H), 2,31 (br t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 2,46 - 2,49 (s, 3 H), 2,61 - 2,68 (m, 2 H), 7,71 - 7,79 (s, 1 H), 10,72 - 10,77 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,63$ perc, 97% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 248,1511; $C_{12}H_{18}N_5O$.

M01:



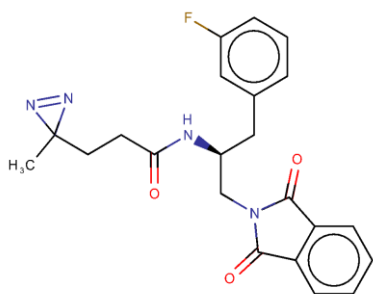
N-(3-(5-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazol-1-il)benzil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,042 mmol, 13,2 mg, 29%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, 1H NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 0,94 - 0,99 (s, 3 H), 1,49 - 1,63 (m, 2 H), 1,85 (s, 3 H), 2,05 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 4,31 (br d, $J = 5,93$ Hz, 2 H), 6,25 (s, 1 H), 7,13 - 7,21 (m, 1 H), 7,21 - 7,32 (m, 1 H), 7,41 (t, $J = 7,63$ Hz, 1 H), 8,43 (br s, 1 H), 9,88 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,72$ perc, 96% UV, HRMS m/z : $[M + H]^+$ 314,1617; $C_{16}H_{20}N_5O_2$.

M02:



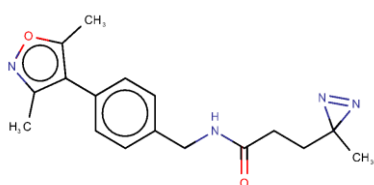
N-(2-((2,6-dimetilmorfolino)metil)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,025 mmol, 8,2 mg, 18%) fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,99 - 1,07 (m, 9 H), 1,68 - 1,74 (m, 2 H), 2,22 (br t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 2,68 (br d, *J* = 10,60 Hz, 4 H), 3,56 (s, 2 H), 3,58 - 3,66 (m, 2 H), 7,04 (m, 1 H), 7,21 - 7,32 (m, 2 H), 7,96 - 7,99 (m, 1 H), 10,39 - 10,43 (br s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,54 perc, 98% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 331,2134; C₁₈H₂₇N₄O₂.

M03:



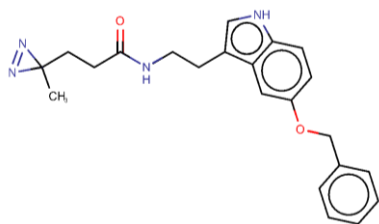
(*S*)-*N*-(1-(1,3-dioxoizoidolin-2-il)-3-(3-fluorofenil)propan-2-il)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,060 mmol, 18 mg, 34%) sárga kristályok, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,78 (s, 2 H), 1,25 (td, *J* = 7,79, 4,95 Hz, 3 H), 1,75 (br t, *J* = 7,70 Hz, 3 H), 2,68 (br dd, *J* = 13,94, 9,90 Hz, 1 H), 2,91 (br dd, *J* = 13,94, 4,77 Hz, 2 H), 3,52 - 3,71 (m, 5 H), 4,26 - 4,35 (m, 1 H), 6,95 - 7,00 (m, 1 H), 7,04 - 7,08 (m, 2 H), 7,25 - 7,30 (m, 1 H), 7,80 - 7,87 (m, 3 H), 7,88 - 7,93 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 1,11 perc, 95% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 409,1675; C₂₂H₂₂N₄O₃F.

M04:



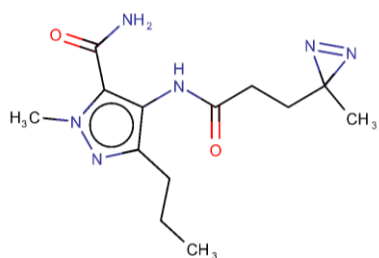
N-(4-(3,5-dimetilizoxazol-4-il)benzil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,162 mmol, 19,4 mg, 93%) fehér kristályos szilárd anyag, ¹H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,98 (s, 3 H), 1,60 - 1,64 (m, 2 H), 2,04 - 2,08 (m, 2 H), 2,19 (s, 3 H), 2,37 (s, 3 H), 4,30 (d, *J* = 5,93 Hz, 2 H), 7,30 - 7,36 (m, 4 H), 8,40 - 8,46 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,99 perc, 84,8% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 313,1664; C₁₇H₂₁N₄O₂.

M05:



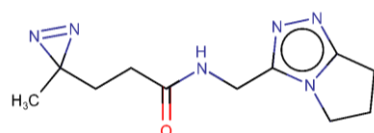
N-(2-(5-(benziloxy)-1*H*-indol-3-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,065 mmol, 24,4 mg, 36%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,56 (br t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 1,96 (br t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,77 (br t, $J = 7,21$ Hz, 2 H), 3,26 - 3,34 (m, 2 H), 5,08 (s, 2 H), 6,79 (br dd, $J = 8,69, 2,33$ Hz, 1 H), 7,09 (br s, 1 H), 7,12 (br s, 1 H), 7,23 (br d, $J = 8,48$ Hz, 1 H), 7,29 - 7,34 (m, 1 H), 7,39 (br t, $J = 7,42$ Hz, 2 H), 7,48 (br d, $J = 7,21$ Hz, 2 H), 7,93 - 7,99 (m, 1 H), 10,59 - 10,64 (m, 1 H); LC-MS: $t_R = 1,16$ perc, 96% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 377,1977; $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_2$.

M07:



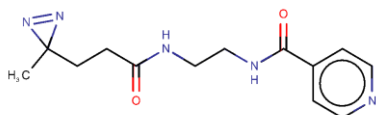
1-metil-4-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)-3-propil-1*H*-pirazol-5-karboxamid (0,055 mmol, 16,2 mg, 55%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,87 (br t, $J = 7,52$ Hz, 3 H), 1,03 (s, 3 H), 1,53 (br d, $J = 7,34$ Hz, 2 H), 1,60 - 1,72 (m, 2 H), 2,20 (br t, $J = 7,52$ Hz, 2 H), 2,29 - 2,45 (m, 2 H), 3,85 - 3,89 (s, 3 H), 7,12 - 7,23 (br s, 1 H), 7,67 - 7,75 (br s, 1 H), 9,28 (s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,73$ perc, 85% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 293,1725; $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$.

N01:



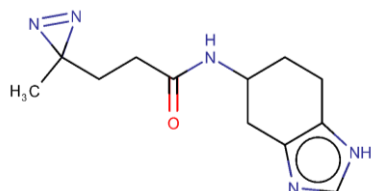
N-((6,7-dihidro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,2,4]triazol-3-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,176 mmol, 8,8 mg, 18%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,93 - 1,00 (s, 3 H), 1,59 (br t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 2,01 - 2,05 (m, 2 H), 2,59 - 2,72 (m, 2 H), 2,81 (br t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 3,90 - 3,94 (m, 2 H), 4,34 - 4,37 (m, 2 H), 8,46 - 8,50 (m, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,42 perc, 87% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 249,1463; C₁₁H₁₇N₆O.

N02:



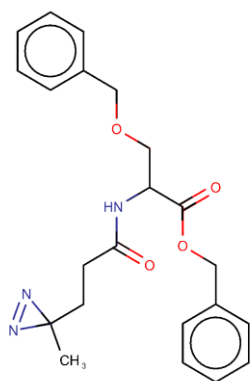
N-(2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)etil)izonikotinamid (0,087 mmol, 24 mg, 89%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,94 - 1,00 (s, 3 H), 1,53 - 1,59 (m, 2 H), 1,97 (t, *J* = 7,84 Hz, 2 H), 3,23 (q, *J* = 6,36 Hz, 2 H), 3,28 - 3,37 (m, 2 H), 7,71 - 7,77 (m, 2 H), 7,99 (br t, *J* = 5,30 Hz, 1 H), 8,70 - 8,80 (m, 3 H); LC-MS: *t*_R = 0,45 perc, 99% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 276,146; C₁₃H₁₈N₅O₂.

N03:



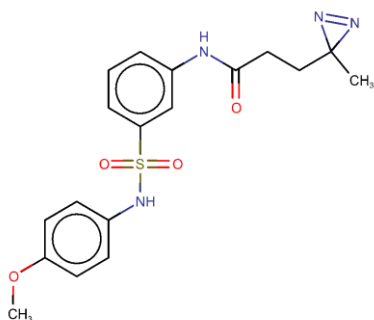
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(4,5,6,7-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)propánamid (0,120 mmol, 30 mg, 58%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,57 (t, *J* = 7,63 Hz, 2 H), 1,98 (t, *J* = 7,42 Hz, 2 H), 2,33 - 2,42 (m, 1 H), 2,55 (br d, *J* = 5,51 Hz, 4 H), 2,71 - 2,78 (m, 1 H), 3,93 - 4,02 (m, 1 H), 7,49 (s, 1 H); LC-MS: *t*_R = 0,32 perc, 86,4% UV, HRMS *m/z*: [M + H]⁺ 248,1511; C₁₂H₁₈N₅O.

N04:



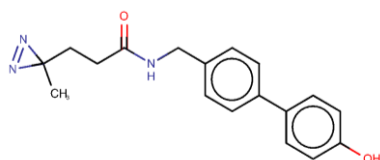
O-benzil-*N*-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propanoil)szerinát (0,037 mmol, 14,6 mg, 37%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 (s, 3 H), 1,48 - 1,58 (m, 2 H), 2,06 - 2,13 (m, 2 H), 3,62 - 3,66 (m, 1 H), 3,74 - 3,79 (m, 1 H), 4,42 - 4,51 (m, 2 H), 4,59 - 4,63 (m, 1 H), 5,09 - 5,17 (m, 2 H), 7,24 - 7,35 (m, 10 H), 8,43 - 8,48 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 1,25 perc, 84,6% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 396,1923; $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4$.

N05:



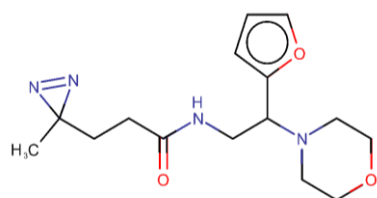
N-(3-(*N*-(4-metoxifenil)sulfamoil)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,022 mmol, 8,5 mg, 15%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,02 (s, 3 H), 1,68 (t, J = 7,64 Hz, 2 H), 2,22 (t, J = 7,64 Hz, 2 H), 3,66 - 3,67 (s, 3 H), 6,75 - 6,85 (m, 2 H), 6,93 - 7,04 (m, 2 H), 7,33 (br d, J = 7,70 Hz, 1 H), 7,45 (br t, J = 8,07 Hz, 1 H), 7,69 (br d, J = 8,07 Hz, 1 H), 8,07 - 8,13 (s, 1 H); LC-MS: t_R = 1,04 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 389,1283; $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$.

N07:



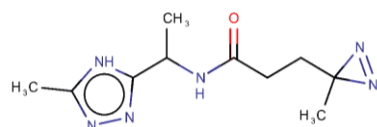
N-((4'-hidroxi-[1,1'-bifenil]-4-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,076 mmol, 23,5 mg, 36%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,00 (s, 3 H), 1,62 (dd, J = 8,48, 7,21 Hz, 2 H), 2,05 (dd, J = 8,48, 7,21 Hz, 2 H), 4,28 (d, J = 5,93 Hz, 2 H), 6,83 - 6,85 (m, 2 H), 7,29 (d, J = 8,05 Hz, 2 H), 7,36 - 7,50 (m, 2 H), 7,50 - 7,57 (m, 2 H), 8,36 (m, 1 H), 9,51 - 9,62 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,95 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 310,1555; $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$.

O01:

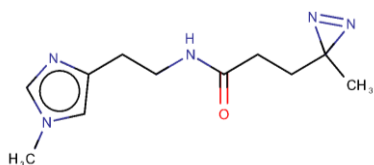


N-(2-(furan-2-il)-2-morfolinoetil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,058 mmol, 18,2 mg, 30%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 - 1,01 (s, 3 H), 1,62 (br t, J = 7,52 Hz, 2 H), 2,02 - 2,08 (m, 2 H), 2,19 - 2,26 (m, 4 H), 2,35 - 2,41 (m, 4 H), 3,11 - 3,17 (m, 1 H), 4,30 - 4,34 (m, 2 H), 7,15 - 7,28 (m, 2 H), 7,42 (br t, J = 7,70 Hz, 1 H), 8,38 - 8,44 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,41 perc, 99% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 307,1770; $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_3$.

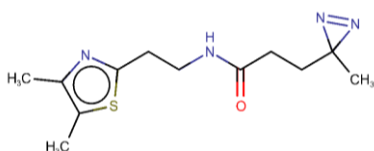
O02:



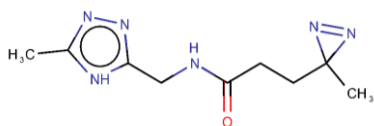
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(1-(5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)etil)propánamid (0,056 mmol, 13,3 mg, 28%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,98 (s, 3 H), 1,36 (d, J = 6,97 Hz, 3 H), 1,55 (t, J = 7,89 Hz, 2 H), 1,99 - 2,06 (m, 2 H), 2,30 (s, 3 H), 4,97 (quin, J = 7,24 Hz, 1 H), 8,29 (br d, J = 8,07 Hz, 1 H); LC-MS: t_R = 0,46 perc, 85% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 237,1463; $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}$.

O03:

N-(2-(1-metil-1*H*-imidazol-4-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,078 mmol, 18,3 mg, 51%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,91 - 1,00 (s, 3 H), 1,56 (br t, J = 7,63 Hz, 2 H), 1,95 (br t, J = 7,63 Hz, 2 H), 2,68 (br t, J = 7,21 Hz, 2 H), 3,24 - 3,40 (m, 2 H), 3,73 (s, 3 H), 7,20 - 7,26 (s, 1 H), 7,92 - 7,98 (br s, 1 H), 8,39 - 8,45 (s, 1 H); LC-MS: t_R = 1,8 perc, 90% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 236,1511; $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}$.

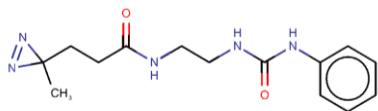
O04:

N-(2-(4,5-dimetiltiazol-2-il)etil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,043 mmol, 11,5 mg, 33%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,93 - 0,99 (s, 3 H), 1,55 (t, J = 7,63 Hz, 2 H), 1,90 - 2,00 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 2,24 - 2,33 (s, 3 H), 2,96 (t, J = 6,99 Hz, 2 H), 3,26 - 3,42 (m, 2 H), 8,00 - 8,08 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,67 perc, 98% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 267,1280; $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{OS}$.

O05:

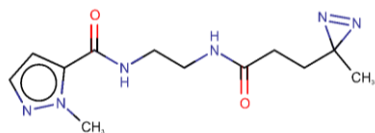
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-((5-metil-4*H*-1,2,4-triazol-3-il)metil)propánamid (0,069 mmol, 15,5 mg, 51%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,95 - 1,00 (s, 3 H), 1,56 (br t, J = 7,84 Hz, 2 H), 1,99 - 2,06 (m, 2 H), 2,27 (br s, 3 H), 4,18 - 4,29 (m, 2 H); LC-MS: t_R = 0,43 perc, 86% NMR, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 223,1307; $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}$.

O07:



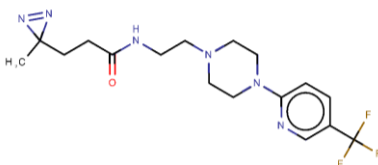
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(3-fenilureido)etil)propánamid (0,056 mmol, 16,3 mg, 56%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,53 - 1,61 (m, 2 H), 1,93 - 2,00 (m, 2 H), 3,09 - 3,17 (m, 4 H), 6,09 - 6,16 (br s, 1 H), 6,85 - 6,93 (m, 1 H), 7,18 - 7,26 (m, 2 H), 7,33 - 7,40 (m, 2 H), 7,91 - 8,00 (br s, 1 H), 8,48 - 8,54 (br s, 1 H); LC-MS: t_R = 0,77 perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 290,1617; $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2$.

P01:



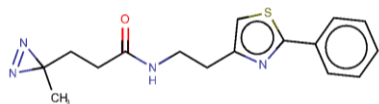
1-metil-*N*-(2-(3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamido)etil)-1*H*-pirazol-5-karboxamid (0,089 mmol, 21,3 mg, 49%) piszkos fehér szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,93 - 1,01 (m, 3 H), 1,52 - 1,59 (m, 2 H), 1,91 - 1,99 (m, 2 H), 3,15 - 3,23 (m, 2 H), 3,26 (q, J = 6,08 Hz, 2 H), 3,99 - 4,07 (s, 3 H), 6,76 - 6,80 (m, 1 H), 7,42 - 7,45 (m, 1 H), 7,95 - 8,00 (m, 1 H), 8,40 - 8,45 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,62 perc, 96% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 279,1569; $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_2$.

P02:



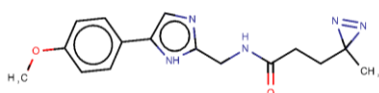
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(4-(5-(trifluorometil)piridin-2-il)piperazin-1-il)etil)propánamid (0,05 mmol, 19,4 mg, 47%) sárga kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,97 (s, 3 H), 1,53 - 1,58 (m, 2 H), 1,95 - 2,00 (m, 2 H), 2,37 - 2,41 (m, 2 H), 2,44 - 2,48 (m, 4 H), 2,51 (m, 4 H), 3,16 - 3,22 (m, 2 H), 6,91 - 6,94 (m, 1 H), 7,74 - 7,78 (m, 1 H), 7,83 - 7,87 (m, 1 H), 8,36 - 8,39 (m, 1 H); LC-MS: t_R = 0,63 perc, 89% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 385,1963; $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{OF}_3$.

P03:



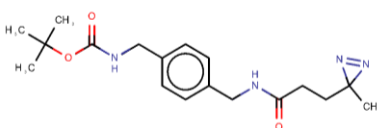
3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)-*N*-(2-(2-feniltiazol-4-il)etil)propánamid (0,058 mmol, 18,2 mg, 30%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,91 - 1,00 (s, 3 H), 1,52 - 1,58 (m, 2 H), 1,96 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,90 (br t, $J = 6,90$ Hz, 2 H), 3,60 (br dd, $J = 6,90, 3,60$ Hz, 2 H), 7,36 (s, 1 H), 7,45 - 7,55 (m, 3 H), 7,89 - 7,96 (m, 2 H); LC-MS: $t_R = 1,06$ perc, 95% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 315,1278; $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{OS}$.

P04:



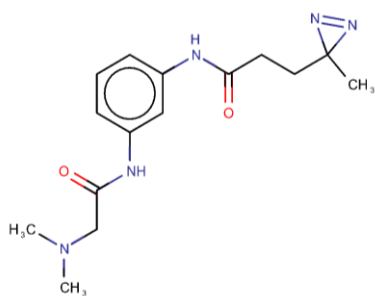
N-((5-(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-2-il)metil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,042 mmol, 13,1 mg, 36%) piszkos fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,96 - 1,01 (s, 3 H), 1,60 (t, $J = 7,84$ Hz, 2 H), 2,02 - 2,10 (m, 2 H), 3,73 - 3,77 (s, 3 H), 4,30 (d, $J = 5,51$ Hz, 2 H), 6,92 (d, $J = 8,70$ Hz, 2 H), 7,33 (s, 1 H), 7,63 (br d, $J = 8,70$ Hz, 2 H), 8,35 (br t, $J = 5,51$ Hz, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,54$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 314,1617; $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2$.

P05:



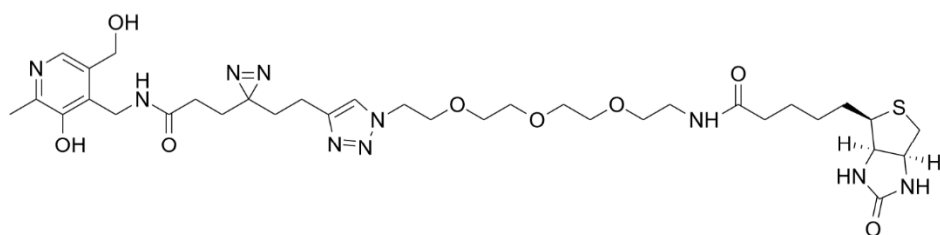
tert-butil-4-((3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il) propánamido) metil) benzil) karbamát (0,202 mmol, 315 mg, 45%), piszkos fehér kristályos anyag, ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,05 (s, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,86 - 1,76 (m, 2H), 2,08-1,97 (m, 2H), 4,31 (d, $J=7,7$ Hz, 2H), 4,44 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 4,84 (s, 1H), 5,68 (s, 1H), 7,40 - 7,22 (m, 4H), LC-MS: $t_R = 0,61$ perc, 90% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 347,2015; $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_3$.

P07:



N-(3-(2-(dimetilamino)acetamido)fenil)-3-(3-metil-3*H*-diazirin-3-il)propánamid (0,018 mmol, 5,4 mg, 7%) fehér kristályos szilárd anyag, ^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1,03 (s, 3 H), 1,68 (t, $J = 7,63$ Hz, 2 H), 2,21 (br t, $J = 7,64$ Hz, 2 H), 2,25 - 2,34 (s, 6 H), 3,06 (s, 2 H), 7,18 - 7,22 (m, 1 H), 7,25 - 7,32 (m, 2 H), 7,93 - 7,96 (s, 1 H), 9,65 - 9,69 (br s, 1 H), 9,91 - 9,94 (br s, 1 H); LC-MS: $t_R = 0,44$ perc, 100% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 304,1773, $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2$.

L02E-biotin:



N-(2-(2-(2-(2-(5-(2-(3-(3-(((3-hidroxi-5-(hidroximetil)-2-metilpiridin-4-il)metil)amino)-3-oxopropil)-3*H*-diazirin-3-il)etil)-4*H*-1,2,3 λ^4 -triazol-3-il)etoxi)etoxi)etoxi)etil)-4-(2-oxohexahidro-1*H*-tieno[3,4,d]imidazol-4-il)butánamid, (0,026 mmol, 1,3 mg, 9%), fehér kristályos anyag. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8,81 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 8,27 (br,s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,79-7,77 (m,1H), 6,38 (s, 1H), 6,33 (s, 1H), 4,56 (s, 2H), 4,46 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 4,33-4,23 (m, 2H), 4,16 – 4,10 (m, 1H), 3,78 (t, $J = 5,3$ Hz, 4H), 3,52-3,49 (m, 1H), 3,47 (s, 2H), 3,40 (t, $J=6,0$ Hz, 2H), 3,18 (q, $J = 5,9$ Hz, 4H), 2,29 (s,1H), 3,10 (q, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,82 (dd, $J = 12,4, 5,1$ Hz, 1H), 2,62 – 2,53 (m, 1H), 2,42 – 2,34 (m, 2H), 2,33 (s, 3H), 2,06 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,00 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 1,70 (dd, $J = 9,1, 6,9$ Hz, 2H), 1,63 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 1,54 – 1,42 (m, 2H), 1,34-1,26 (m, 1H), LC-MS: $t_R = 0,31$ perc, 99% UV, HRMS m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ 761,3691; $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_{10}\text{O}_8\text{S}$.