

**Konjugálható fluoreszcens festékanyagok
tervezése, szintézise és alkalmazása**

Doktori (Ph.D.) értekezés

Hlogyik Tamás

Témavezető:

Dr. Mernyák Erzsébet

egyetemi docens



Szegedi Tudományegyetem

TTIK Molekuláris és Analitikai Kémiai Tanszék

GYTK Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziai Intézet

SZTE Kémia Doktori Iskola

Szeged

2026

Tartalomjegyzék

Tartalom

1. Bevezetés	4
2. Irodalmi előzmények	6
2.1. Kémiai előzmények.....	6
2.1.1. Szintézisek mikrohullámú körülmények között.....	6
2.1.2. C–C keresztkapcsolási reakciók.....	7
2.1.3. Vilsmeier-Haack reakció.....	10
2.1.4. 1,3-dipoláris cikloaddíciók.....	12
2.1.5. Rozamin-típusú festékek előállítási és átalakítási lehetőségei.....	14
2.1.6. Bór-indacén alapvázaz vegyületcsalád.....	19
2.2. Biológiai előzmények.....	24
2.2.1. Fotodinámiás terápia.....	24
2.2.2. Az ösztrogének fluoreszcens jelölése.....	28
2.2.3. Ekdiszteroidok.....	31
3. Célkitűzések	32
4. Kísérleti eredmények	33
4.1. A fluorofórok előállítása.....	33
4.1.1. BODIPY alapvázaz konjugálható származékok előállítása.....	33
4.1.2. Aza-BODIPY alapvázaz származékok előállítása.....	35
4.1.3. Rozamin származékok előállítása.....	48
4.2. Biomolekulák fluoreszcens jelölése.....	50
4.2.1. Az E2 átalakításai és <i>in vitro</i> biológiai vizsgálatai.....	50
4.3. A fluorofórok és konjugátumaik spektroszkópai vizsgálata.....	59
4.4. Vörösemittáló molekulák felhasználása fotodinámiás terápiában.....	65
5. Kísérleti rész	66
5.1. Általános kísérleti rész.....	66
5.2. Részletes kísérleti rész.....	67
6. Összefoglalás	77
7. Summary	83
8. Irodalomjegyzék	89
9. A doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények és prezentációk listája	97
10. Köszönetnyilvánítás	98
11. Mellékletek	100

Rövidítések jegyzéke

aBOD	<i>aza</i> -BODIPY
BA	benzaldehyd
BODIPY	4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacén
CuAAC	réz(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció
DDQ	5,6-diciano-2,3-diklór-1,4-benzokinon
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropil-etilamin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
E2	17 β -ösztradiol
ER	ösztrógen receptor
hER α	humán ösztrógen receptor α
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely két nem közvetlenül kötésben lévő különböző mag közötti kölcsönhatást mutatja
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely két közvetlenül kötésben lévő különböző mag közötti kölcsönhatást mutatja
IC ₅₀	az az inhibitor koncentráció, amely az enzim aktivitást 50%-ra csökkenti
MH	mikrohullám
NBS	<i>N</i> -brómszukcinimid
NIS	<i>N</i> -jódszukcinimid
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely a magok téren keresztüli kölcsönhatásán alapul
Pd(dba) ₂	<i>bisz</i> -dibenzilidénaceton-palládium(0)
Pd(OAc) ₂	palládium(II)-acetát
Pd(PPh ₃) ₄	<i>tetrakis</i> -trifenilfoszfán-palládium(0)
Pd ₂ (dba) ₃	<i>tris</i> -dibenzilidénaceton-palládium(0)
Pd ₂ (PPh ₃) ₂ Cl ₂	<i>bisz</i> -trifenilfoszfán-palládium(II)-klorid
PDT	fotodinámiás terápia

PPh ₃	trifenilfoszfán
PPTS	piridínium- <i>para</i> -toluolszulfonsav
PS	fényérzékenyítő anyag
PTSA	<i>p</i> -toluolszulfonsav
ROS	reaktív oxigénrészecskék
Sphos	2-diciklohexilfoszfino-2',6'-dimetoxibifenil
TFA	trifluorecetsav
TFAB	<i>aza</i> -BODIPY tetrafenil származéka
THF	tetrahidrofurán
TMS	trimetilszilil
TMSA	trimetilszilil-acetilén
VH	Vilsmeier-Haack
VRK	vékonyréteg kromatográfia
Xphos	2-diciklohexilfoszfino-2',4',6'-triizopropilbifenil

1. Bevezetés

A biológiai rendszerekben zajló biokémiai folyamatok feltérképezése és megértése alapvető jelentőségű az orvosi biológiában és a gyógyszerkémiaiában. E tudományterületek, amelyek a kémia és biológia határán helyezkednek el, jelentős mértékben támaszkodnak az olyan képalkotó módszerekre, melyekkel a fenti folyamatok molekuláris szinten megfigyelhetők és elemezhetők.¹ A különféle jelölési eljárások és képalkotó technikák, például a radioizotópos vagy fluoreszcens jelölés lehetővé teszik biomolekulák vagy gyógyszerhatóanyagok kölcsönhatásainak, mozgásának és mennyiségének vizsgálatát a biológiai rendszerben.² A radioizotóppal történő nyomjelzéses módszer³ az eredetivel (kémiaiilag) azonos atomok vagy csoportok alkalmazása révén általában érzékeny és megbízható detektálást biztosít anélkül, hogy jelentősen befolyásolná a vizsgált molekula biológiai viselkedését. Ugyanakkor a radioaktív izotópok alkalmazása jelentős hátrányokkal jár: még alacsony dózisban is veszélyesek lehetnek, különösen, ha az izotóp más, biológiailag aktív molekulákba épül be. Az ártalmatlanításuk is bonyolult és költséges, ami környezeti kockázatot jelenthet. Ezen módszerek használatát tovább nehezíti, hogy bonyolult előkészítést, speciális berendezéseket és engedélyeket igényelnek.⁴ Mindezek alapján egyre inkább előnyben részesítik az alternatív, például fluoreszcens jelölési technikákat. Ez utóbbi eljárás azonban számos kihívást rejt a szerves és gyógyszerkémikus szakemberek számára. Kiemelten fontos a megfelelő optikai, kémiai és biológiai tulajdonságokkal rendelkező fluoreszcens festék kiválasztása, annak hatékony előállítása, olyan funkciós csoportokkal való ellátása, amelyek egy későbbi konjugálást, a biológiailag aktív vegyülethez vagy a gyógyszerhatóanyaghoz való kapcsolást lehetővé teszik. A jelölendő vegyületen olyan molekuláris részlet kialakítása és kiválasztása a cél, amelyen való konjugálás várhatóan nem befolyásolja az eredeti biológiai hatást. Ez különösen akkor kockázatos, ha a jelölendő és a jelölő molekula összemérhető méretű. Azonban nemcsak a méret, hanem egyéb paraméterek is meghatározó szerepet játszhatnak a jelölés sikerességében.

Munkánk során olyan fluoreszcens festékanyagok előállításával foglalkoztunk, amelyek különböző optikai, kémiai és biológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, és számos továbbalakítási lehetőséget nyújtanak. Nemcsak biológiailag aktív vegyületek jelölésére, detektálhatóvá, megfigyelhetővé tételére terveztük azokat, hanem kettős céllal: diagnosztikumként és terapeutikumként, ún. teranosztikumként is. Külön figyelmet fordítottunk a szakirodalomban leírt eljárások finomítására, javítására, a konjugálható csoportok beépítésének ésszerűsítésére. Ehhez kutatócsoportunk átmenetifém-katalizált és mikrohullámmal történő szintézisekben nyert tapasztalatait vettük alapul. Együttműködő

partnereink segítségével vizsgáltuk az újonnan előállított teranosztikumok és konjugátumok biológiai viselkedését, és esetenként magyarázatot adtunk a tesztvegyület célfehérjéhez mutatott kötődési mintázatára.

2. Irodalmi előzmények

2.1. Kémiai előzmények

2.1.1. Szintézisek mikrohullámú körülmények között

A mikrohullámú (MH) technika bevezetése új utat nyitott meg a szerves kémiai szintézismódszerekben. Alkalmazásával lényegesen rövidebb reakcióidők mellett jobb hozamokat lehet elérni, mint a hagyományos eljárásokkal (például olajfürdőben vagy főzőlapon történő melegítéssel). A szintézisek a gyors, célzott és egyenletes felmelegítés miatt (az energia közvetlenül a molekulák rotációs átmeneteire adódik át) kevesebb melléktermék, így kevesebb veszélyes anyag termelődésével járnak, ez pedig közvetve a szelektivitás növekedéséhez vezet. Mindezek megkönnyítik a termékek tisztítását, és a szükséges oldószer mennyiségét is nagymértékben lecsökkentik.^{5,6}

A mikrohullámú sugárzás az elektromágneses spektrum rádiófrekvenciás és infravörös tartománya közé esik (300–300 000 MHz) és közvetlenül a molekulákat gerjeszti, ezt a jelenséget „molekuláris fűtésnek” nevezzük. A gyorsan változó elektromos tér miatt a mágneses dipólusok oszcillálnak, mivel a pólusok minden ciklusban megváltoztatják irányultságukat, így folyamatos forgásba jönnek. Az ionok szintén oda-vissza mozognak, és ütközéseikkel energiát veszítenek. Mindez belső súrlódást okoz, amely hővé alakul, így a rendszer gyors felmelegedést mutat. A hagyományos konvekciós hőátadással szemben ez célzottabb és gyorsabb reakciókat tesz lehetővé, és gyakran oldószermentes környezetben is hatékony, amely szintén előny zöld kémiai szempontból.^{7,8}

Az anyagok mikrohullámra adott válaszreakcióját legnagyobb mértékben dielektromos tulajdonságaik, illetve veszteségi tényezőjük ($\tan\delta$) befolyásolja. A vegyületek ennek alapján három csoportba sorolhatók:

- magas abszorpciójú oldószerek, például etilén-glikol, etanol, metanol, DMSO;
- közepes abszorpciójú oldószerek, mint a diklórbenzol, víz, DMF;
- gyenge abszorpciójú oldószerek, például toluol, diklórmétán vagy hexán.⁹

A megfelelő oldószer kiválasztása tehát kulcsfontosságú a reakció hatékonysága és a melegítés sebessége szempontjából.

Laboratóriumi hatékonysága ellenére az ipari léptékű alkalmazás során jelentős kihívások merülnek fel, különösen a méretnöveléssel kapcsolatban. A szabványos frekvenciájú (2450 MHz) mikrohullámú berendezések mérete nem növelhető szabadon, részben a magnetron (amely az elektromos energiát mikrohullámú sugárzássá alakítja) kialakítása, részben a készülékek anyaghasználata (pl. boroszilikát, poli-tetrafluoretilén) miatt, melyek jelentősen megdrágítják a reakcióedényt.¹⁰ A modern mikrohullámú készülékek

tartalmaznak mikrohullámú üreget, mágneses keverőt, IR- vagy száloptikás hőmérsékletérzékelőt, nyomásszabályozó rendszert és szoftvert is, amely képes automatikusan szabályozni a MH teljesítményt. Bár többmintás rendszerek (pl. 6–12 párhuzamos reakcióval) is léteznek, ezek sem jelentik a valódi ipari áttörést. A jövő szempontjából az egyik legígéretesebb irány a folyamatos üzemű (flow) mikrohullámú rendszerek fejlesztése.¹¹

MAOS (Microwave-Assisted Organic Synthesis) eljárás alkalmazásával olyan reakcióutak is hatékonyan megvalósíthatók, amelyek mikrohullámú besugárzás hiányában csak lassabban vagy alacsonyabb hozammal mennének végbe.¹¹⁻¹³ Ezeknek a reakcióknak az előnyeit széles körben használják a szerves szintézisekben: a fémorganikus kémiában, heterociklusok szintézisének, a szilárdfázisú peptidszintézisben, vagy különböző redukációs eljárásoknál (például telítetlen kötések hidrogénezésekor).¹⁴⁻¹⁷

2.1.2. C–C keresztkapcsolási reakciók

A keresztkapcsolási reakcióknak igen jelentős szerepük van a különböző szintézismódszerekben, különösen a modern szerves és gyógyszerkémia területén. Jelentőségüket az adja, hogy lehetővé teszik olyan szén–szén, vagy szén–heteroatom kapcsolását, melyeket korábban csak erőlyes körülmények között lehetett kivitelezni. Általánosságban elmondható, hogy a keresztkapcsolási reakciók rövidebb szintézisek mellett nagyobb kemo- és regioszelektivitást biztosítanak¹⁸, valamint nem csupán kismolekulák szintézisére alkalmasak, a reakciókörülmények kiterjeszthetők nagyobb molekulákra is.¹⁹ A palládium-katalizált keresztkapcsolási reakciók kidolgozásáért 2010-ben Heck, Suzuki és Negishi megosztott kémiai Nobel-díjat kaptak.²⁰

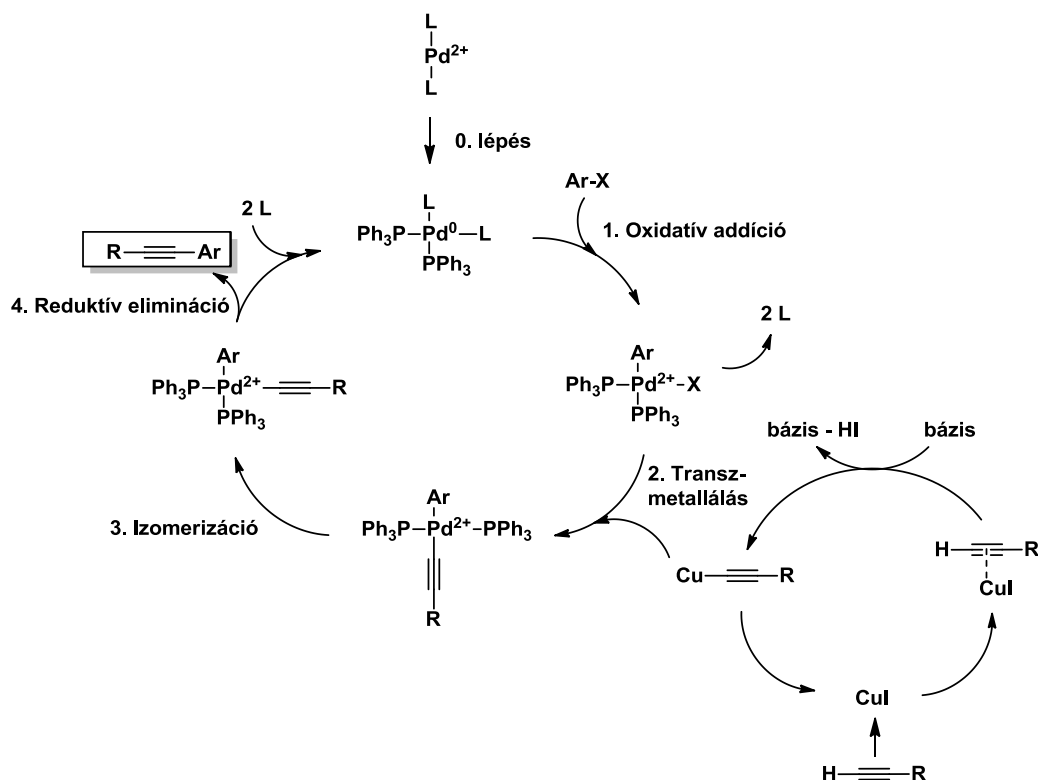
Aril-halogenidek keresztkapcsolási reakciókban vehetnek részt megfelelő katalizátor jelenlétében. Az alkalmazott átmenetifém minősége alapján többféle kapcsolási módszert különböztethetünk meg: a Suzuki – Miyaura kapcsolás bórt, a Sonogashira réz(I) iont, a Stille ónt, a Negishi cinket, a Hiyama szilíciumot, és a Kharasch kapcsolás magnéziumot alkalmaz.²¹

A keresztkapcsolási reakciókhoz többféle átmenetifém-katalizátort alkalmaznak, de messze a palládium-alapú rendszerek terjedtek el legjobban, nagy aktivitásuk és szubsztráttűrésük miatt, míg alternatívaként egyre gyakrabban vizsgálják a nikkel és más átmenetifém katalizátorokat.²²⁻²⁴ Széleskörűen alkalmazottak a fémet (0) oxidációs állapotban tartalmazó Pd(dba)₂, Pd₂(dba)₃ vagy Pd(PPh₃)₄ katalizátorok. Mivel ezek a komplexek érzékenyek a fényre és a nedvességre, így jobb választás lehet a Pd(II)-acetát vagy a

bisz(trifenilfoszfin)palládium-diklorid, a könnyebb kezelhetőség okán.^{25,26} Gyakorlati alternatívát kínál a hordozóra felvitt palládium: Novák és mtsai²⁷ kimutatták, hogy megfelelő oldószerválasztás mellett a Pd/csontszén hatékony katalizátora az aril-bromidok Sonogashira-kapcsolásának. Megfigyeléseik szerint a reakció közben részben kioldódó palládium a folyamat végén visszacsapódik a szénhordozóra („leaching-redeposition”), így a rendszer heterogénként viselkedik. Előnye a könnyű szűrhetőség, vagyis tisztíthatóság. A Pd-katalizátorok hátránya, hogy felhalmozódhatnak élő szervezetekben, és a fém biológiai sorsa (felvétel, megoszlás, kiürülés) még nem teljesen tisztázott.²⁸ A platinafémek további tagjainak katalizátorként való felhasználása sem mindig megoldható, mert a legtöbb átmenetifémnél drágábbak, és ritkább előfordulásuk miatt hosszú távú utánpótlásuk egyre nagyobb kihívást jelent.²⁹

A keresztkapcsolási reakciókban gyakran alkalmaznak foszfor-alapú vagy nitrogéntartalmú heterociklusos karbén ligandumokat, melyek elősegíthetik a reakciók lejátszódását.^{30,31} Ezek a ligandumok elősegítik az olyan alapvető lépéseket, mint az oxidatív addíció, a transzmetallálás és/vagy a reduktív elimináció. Az *N*-heterociklusos karbén ligandumok például erős σ -donor tulajdonságuk miatt növelik a palládium- vagy nikkell-komplexek elektronsűrűségét, ami a transzmetallálási lépést segíti elő a fémközpont nukleofilabbá válásával. Ugyanakkor stabilizálják a reakcióban keletkező kationos intermediereket, mert könnyebben tudják eloszlatni a töltést a fém–ligandum rendszerben, így csökkentve az egyes atomokra jutó töltéssűrűséget.³² A foszfin típusú ligandumok, például a PPh_3 , közepes erősségű donorok, amelyek optimális egyensúlyt biztosítanak az elektronikus és a szterikus hatások között: elegendő elektronsűrűséget adnak a fémnek az aktiváláshoz, miközben nagy térbeli kiterjedésük segít megelőzni a katalizátor dezaktiválódását vagy oligomerizációját.³³ Az oxidatív addíciós lépésben, elektronban gazdag fémkomplex esetén a gyengébb távozó csoportok (például alkoholátok) is aktiválhatók, míg elektronhiányos központ esetén csak a jó távozó csoportok (bróm, jód, tozilátok) lépnek ki könnyen. A távozó csoport jelleg alapvetően a kötés polarizálhatóságától és az anion stabilitásától függ. A jó távozó csoportok, például a halogenidek ($\text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$) és a szulfonátok (tozilát, mezilát) stabil, delokalizált aniont képeznek, így könnyen elhagyják a szubsztrátot, gyorsítva a katalitikus ciklust. Gyengébb távozó csoportok kevésbé stabil aniont alkotnak, ezért lassabban lépnek ki, és gyakran előzetes aktiválást igényelnek.³⁴ Ezen okok miatt a ligandum kiválasztása szorosan összefügg a távozó csoportok reaktivitásával és a katalitikus ciklus sebességével.

A Sonogashira-típusú keresztkapcsolási reakciók során az aril-halogenidek terminális acetilénekkel reagálnak, melynek során C(sp) hibridpályából származó kötés jön létre. Ezek az új kötések létrehozhatók Pd(0) katalízissal, CuI és bázis jelenlétében. Ez utóbbi az alkint deprotonálja és *in situ* Cu-acetilid képződik, amely a transzmetallálás majd a redukatív elimináció után a kapcsolt termék kialakulásához vezet.³⁵ A tandem Sonogashira stratégia, amelyben egy védett terminális acetilén aril-halogeniddel történő első Pd/Cu-katalizált kapcsolása után a védőcsoportot erős bázissal lehasítják, majd egy második aril-halogeniddel végzett Sonogashira-lépéssel közvetlenül a diaril-alkin áll elő. Ez a kétlépcsős, de „one-pot” megoldás kevesebb tisztítást és gyors méretnövelést tesz lehetővé.³⁶ A Sonogashira-kapcsolás feltételezett mechanizmusa az 1. ábrán látható, mely során első lépésként aril, heteroaril vagy vinil halogenidek és terminális acetilének közötti reakcióban, oxidatív addícióval *transz*-Pd(II)-X komplex képződik. Kiindulási katalizátortípustól függően 0. lépésként a palládium redukálására lehet szükség, hogy aktív, 0-ás oxidációs számú állapotába kerüljön. Az oxidatív addíció során fém–szén kötés alakul ki, és a Pd oxidációs száma 2-vel nő. A katalitikus mennyiségű réz(I)-halogenid segédkatalizátor *in situ* π -komplexet alakít ki az acetilénnel, így kialakul annak aktivált formája (Sonogashira – Hagihara kapcsolat). Harmadik lépésben az így kialakult réz-acetilid a transzmetallálás során *transz*-ariletinil-palládium-komplexet képez, mely tovább alakul annak *cisz* formájába az izomerizáció folyamán. Utolsó lépésben redukatív eliminációval kilép a kívánt acetilén származék, és a palládium aktív formájából visszaoxidálódik II-es oxidációs állapotába.^{35,37,38}



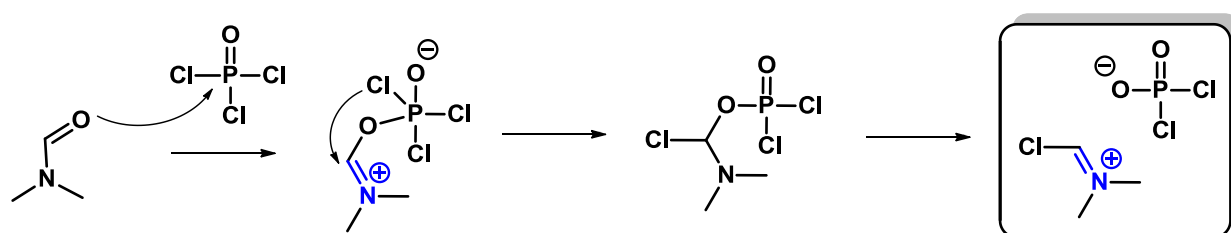
1. ábra A Sonogashira-Hagihara keresztkapcsolási reakció feltételezett mechanizmusa

Rézmentes Sonogashira reakciókra is található példa az irodalomban. Wang és mtsai³⁹ vizes közegű reakciókat végeztek K_2PdCl_4 katalizátorral, $n-Bu_4N^+OH^-$ bázist és SPhos ligandumot alkalmazva, így viszonylag enyhe körülmények között tudták végrehajtani a keresztkapcsolást 5-bróm-2-dezoxiuridin nukleobázison. Hasonló reakciókat végeztek Thomas és mtsai⁴⁰, akik különböző jódarileket és 1,3,5-trietilbenzolt reagáltattak $Pd(PPh_3)_4$ katalizátorral. A rézmentes Sonogashira reakciók elsősorban speciális, erősebben koordinálódó Pd-ligandumok révén működhetnek, amelyek hatékonyabban stabilizálják az átmeneti állapotokat és aktiválják az acetilént. Gyakran erősebb bázist és poláris, protikus oldószert is használnak, ami tovább segíti a deprotonálódást. A rézmentes rendszerek előnye, hogy tisztább terméket adnak (egyszerűbb tisztítani) és környezetbarátabbak. Hátrányuk viszont, hogy drágább ligandumokat igényelnek, amelyek nem mindig elérhetőek, és bizonyos szubsztrátoknál lassabban, vagy egyáltalán nem működik a reakció.

2.1.3. Vilsmeier-Haack reakció

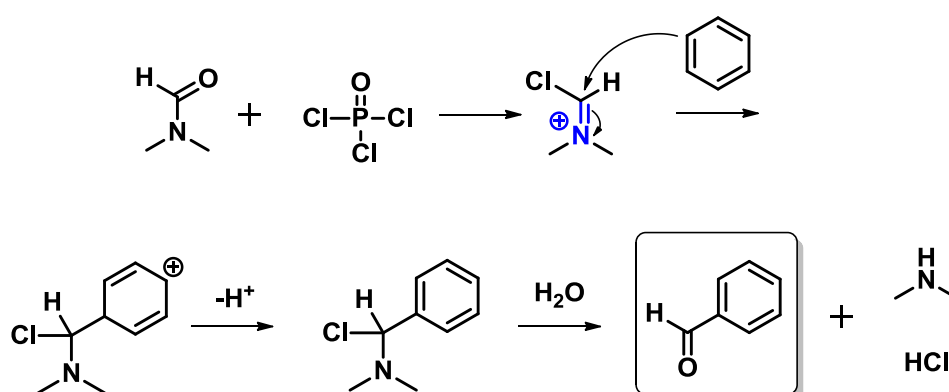
Ez a reakciótípus számos heterociklus szintézisében és funkcionálizálásában szerepet játszik. A Vilsmeier-Haack reakciót⁴¹ leginkább karbo- vagy heterociklusos aromás vegyületek, alkének, aktív metil vagy metilén csoportok formilezésére használják, de

ciklizációra (például hidrazonra történő elektrofil támadásnál), klorinálásra vagy kloroformilezésre is bevált módszer. Oldószerként és reagensként *tercier* amidokat használnak, leggyakrabban DMF-et, de beszámoltak már *N,N*-dimetil-acetamid, *N,N*-dimetil-benzamid, dikarboxipiperazin vagy *N*-metil-formanilid használatáról. A reakciót szervetlen savklorid katalizálja, ami legtöbbször POCl₃, PCl₃, vagy SOCl₂, de szerves savkloridok alkalmazására is található példa (oxalil-klorid).^{42,43} Egy sokféleképpen kivitelezhető reakciótípusról van szó, melynek azonban kulcslépése a Vilsmeier-Haack (VH) reagens előállítása. Kezdeti lépéseként az amid és oxiklorid reagáltatásával *in situ* felszabaduló kloridion az amid karbonil szénatomjához kapcsolódva klórimínium iont alakít ki (2. ábra).



2. ábra A Vilsmeier reagens kialakulásának képződési mechanizmusa

Az így kialakult VH reagens elektrofil aromás szubsztitúcióban reagál a szubsztráttal. A reakció során egy α -klóramin alakul ki, amely a vizes feldolgozás során gyorsan elhidrolizál, aldehidet eredményezve (3. ábra).

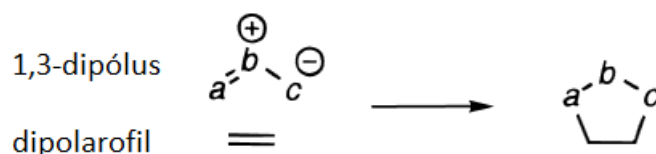


3. ábra. A Vilsmeier-Haack reakció sémája

A VH reagens kialakításához alacsony hőmérséklet szükséges, utána általában 24 órás forralás következik. NaHCO₃-tal való semlegesítés és víz hozzáadása után a kialakul a nyers termék.⁴⁴

2.1.4. 1,3-dipoláris cikloaddíciók

A heterociklusos kémiában fontos szerepet játszanak az 1,3-dipoláris cikloaddíciók⁴⁵, amelyek egyetlen lépésben lehetővé teszik öttagú gyűrűk szintézisét (4. ábra).

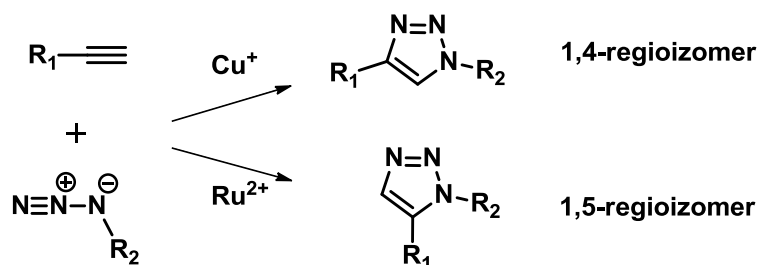


4. ábra Öttagú gyűrű kialakítása 1,3-dipólus és dipolarofil reakciójával⁴⁶

A szerves kémiai szintézisekben széles körben alkalmazzák a különböző azidokat 1,3-dipólusként, mivel hatékony építőelemként szolgálnak.⁴⁷ Ezek megfelelő körülmények között stabilis, de nagy reakciókészségű vegyületek, érzékenyek lehetnek a levegő víztartalmára, melegítésre pedig N₂ veszteség közben, robbanásszerűen bomlanak.⁴⁸ Előállításukra többféle reakcióút is ismert, de leggyakrabban nukleofil szubsztitúcióval történik. Klasszikus megközelítés az alkil-halogenidek nukleofil szubsztitúciós reakciója nátrium- vagy kálium-aziddal (NaN₃, KN₃) poláris aprotikus oldószerben (például DMF-ben vagy DMSO-ban). Másik gyakori út az alkil-tozilátok vagy más jó távozó csoportok átalakítása azid származékká. Egyes esetekben alkil-szulfátokból vagy triflátszármazékokból is szintetizálhatók alkil-azidok, különösen szterikusan gátolt szubsztrátoknál.^{49,50} Az azidoknak alkinekként, mint dipolarofilekkel való cikloaddíciója a legjelentősebb reakcióút a triazol szerkezet kiépítésében⁵¹, mely reakciókat munkánk során is sok esetben alkalmaztuk.

Az 1,2,3-triazolok szintén intenzíven kutatott és népszerű szerkezetek, a monociklusos 1*H*-izomerek például széles körben elterjedt szerkezeti elemek a gyógyszerhatóanyagokban⁵², de a szerves kémikusok körében is gyakorta alkalmazzák kedvező tulajdonságaik és előállításuk zöld kémiai megvalósíthatósága miatt. Az öttagú aromás triazol gyűrűben sp² hibridállapotú atomok vannak jelen (3 nitrogén és 2 szénatom), valamint 6 delokalizált π-elektron. Először 1960-ban szintetizáltak 1,2,3-triazol származékokat Huisgen és mtsai.⁵³ A reakció 80–120 °C -on játszódott le, és kétféle terméket, 1,4- és 1,5- regioizomereket eredményezett. A folyamat tehát nem volt regioszelektív, és a lejátszatásához magas hőmérsékletre volt szükség. Az alacsony regioszelektivitás ellenére a reakció mégis gyakran az érdeklődés középpontjába került, mivel az azid és alkin funkciós csoportokat könnyen be lehetett építeni akár nagymolekulákba is (pl. nukleotidok, fehérjék, különböző biológiailag

aktív anyagok), így azok hatékonyan összekapcsolhatóvá, módosíthatóvá, váltak.⁵⁴ 2002-ben egymástól függetlenül fedezte fel két kutatócsoport, Sharpless-Folkin⁵⁵ és Meldal⁵⁶ a réz(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíciót (CuAAC). Nyomnyi mennyiségű CuI katalizátor hozzáadásával a terminális alkin funkciót tartalmazó molekulákkal és a megfelelő reakciópartnerrel sikerült a hatásfokot 10^7 –szeresére növelni a katalizátortmentes körülményekhez képest, valamint elérni, hogy szelektíven csak 1,4-diszubsztituált triazol gyűrűt tartalmazó származékok képződjenek. Később fedezték fel, hogy a ruténium-katalizált, hasonló reakciókban csak 1,5-diszubsztituált triazolok keletkeznek, de a ruténium magasabb ára miatt ez a módszer kevésbé elterjedt. A RuAAC-t nukleinsavak 1,5-triazol származékainak előállítására használják, melyekből potenciális antibakteriális gyógyszereket fejlesztenek.⁵⁴

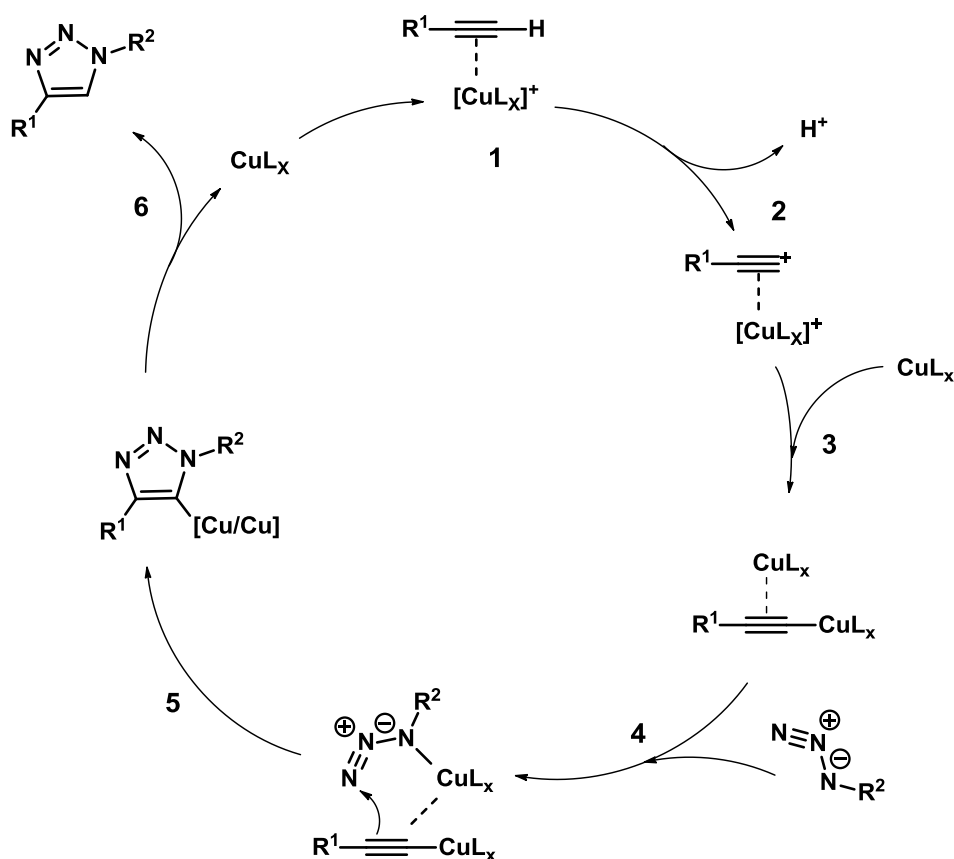


5. ábra Fém-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakciók

2022-ben Sharpless, Meldal és Bertozzi megosztott kémiai Nobel-díjat kaptak a 'klikk'-kémia megteremtéséért, a CuAAC reakció körülményeinek kidolgozásáért, valamint annak bioortogonális megvalósíthatósága miatt.⁵⁷ A 'klikk' kémia ötletét először Sharpless vezette be.⁵⁸ A fogalom olyan kémiai reakciókat jelöl, amelyek jó hozammal és enyhe reakciókörülmények között játszódhatnak le, minimális melléktermék képződésével járnak, a reagensek könnyen hozzáférhetőek, és nagyrészt regioszelektív körülményeket biztosítanak. Az elmúlt években nagyszámú kutatás irányult ezen reakciók szerepére az orvosi képalkotó technikáknál és a gyógyszerkémiaiban.⁵⁹

A továbbiakban az elterjedtebb, és kutatócsoportunkban is széleskörűen alkalmazott CuAAC reakciót fogjuk áttekinteni. Többféle mechanizmus-javaslat található a szakirodalomban, de ezek főként számítási kémiai módszereken alapulnak, és nem tisztázott minden részlet. Az általánosan elfogadottak szerint a reakció kezdeti lépéseként a réz(I)-komplex, mint elektrofil támadó részecske, koordinálódik a terminális alkin hármass kötéséhez és kialakít vele egy π -komplexet (1). Ezáltal az alkin pKa értéke lecsökken, ezért vizes közegben könnyen deprotonálódhat bázis jelenléte nélkül is, és réz-acetilid (2-3) képződik. Az

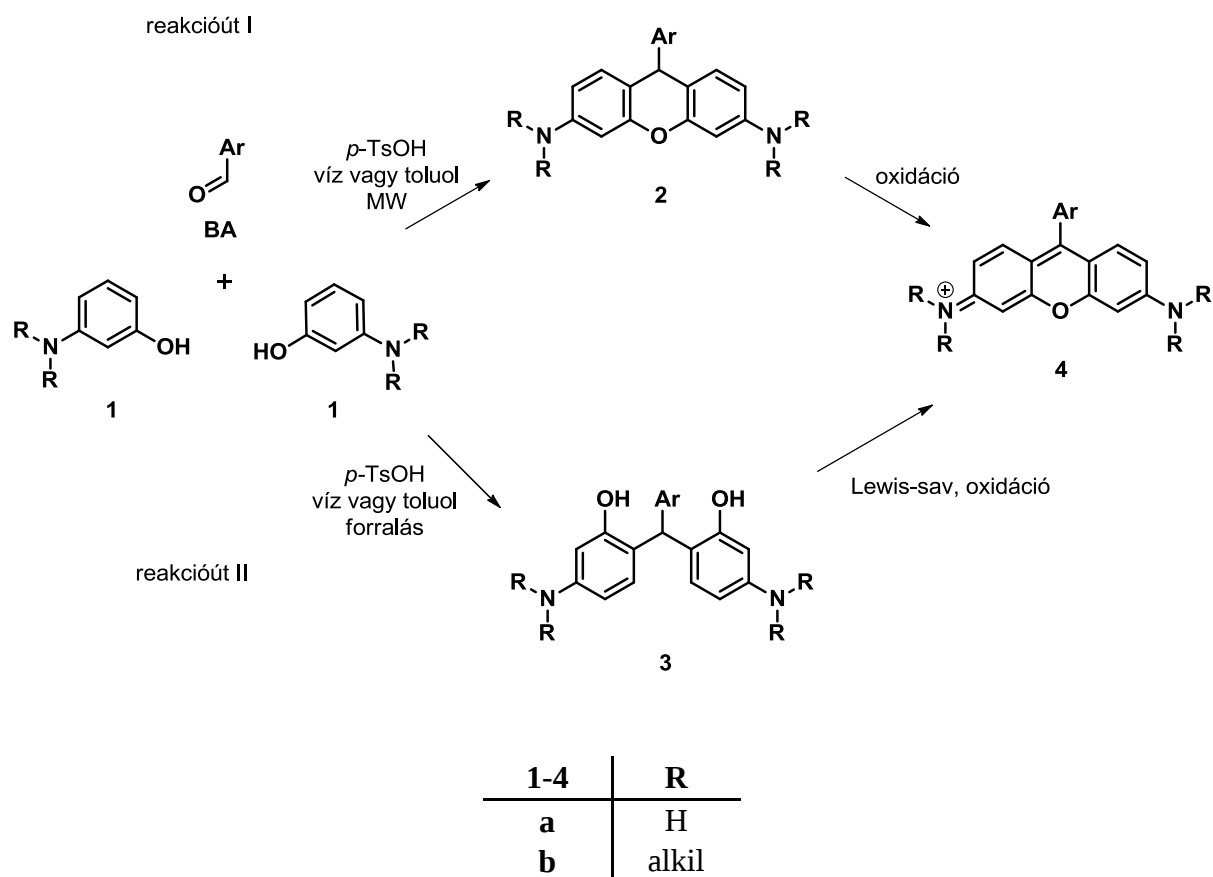
azid funkció aktiválása a fémionhoz koordinálódva történik meg, egy átmeneti terméket képezve (4). A kötések átrendeződése eredményezi az öttagú gyűrűt (5), majd a redukzív elimináció során megkapjuk a kívánt 1,4-származékot, és a katalizátor regenerálódik (6) (6. ábra).^{52,60}



6. ábra A CuAAC mechanizmusára javasolt körfolyamat⁶¹

2.1.5. Rozamin-típusú festékek előállítási és átalakítási lehetőségei

A rozaminok előállítására többféle stratégia ismert. Mindkét útvonal aromás aldehid és *meta*-dialkil-aminofenol(ok) savkatalizált kondenzációjára épül, de az oxigénhíd kialakulása kétféleképpen is történhet. Az I. útvonal szerint a savkatalízis hatására kiépül az alapváz, és a második reakciólépésben már csak oxidálódik. A II. útvonal alapján azonban az oxigénhíd nem alakul ki az első lépésben. Oxidálószerként általában klóranilt vagy DDQ-t alkalmaznak, savkatalizátorként pedig leggyakrabban *p*-toluolszulfonsavat vagy propionsavat. Reakcióközegként alkalmas lehet maga a sav is, de gyakran vizet, toluolt vagy 1,2-diklóretánt használnak (7. ábra).^{62,63} Kiemelendő, hogy a savkatalízis és az oxidáció egyaránt melléktermékek képződéséhez vezethet.

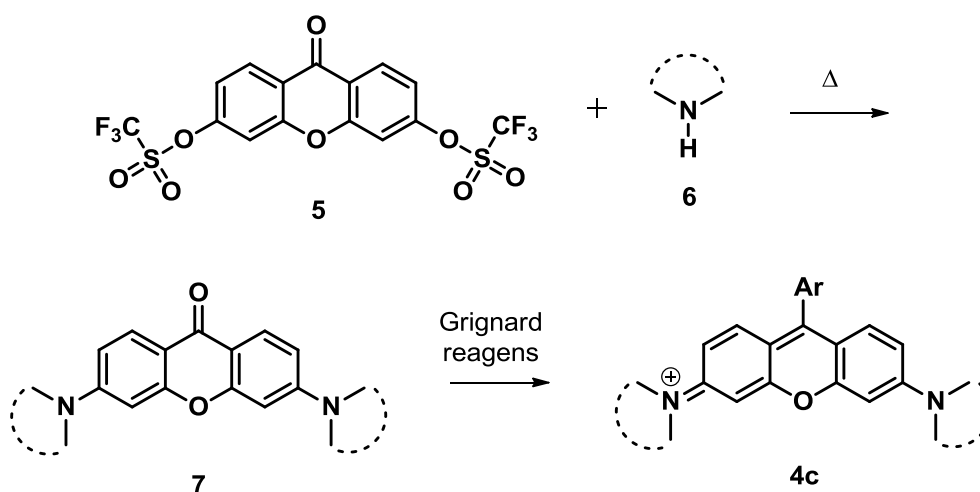


7. ábra Általános aldehyd-fenol kondenzációs stratégiák rozamin alapváz as vegyületek előállítására

Kutatócsoportunk a közelmúltban kidolgozott egy olyan hatékony módszert rozaminok szintézisére, amely nem alkalmaz savkatalizátort a kondenzáció megvalósítására.⁶⁴ A *meta*-dialkil-aminofenolokat heteroaromás aldehidekkel reagáltatták mikrohullámú reaktorban, toluol oldószerben, 150 °C-on, 30 percig. Az alapváz kialakítását követően az oxidációs lépés hatékonyságán és szelektivitásán is sikerült javítaniuk, a kinon-típusú oxidálószerrel jég-hűtés mellett adagolva. Megállapították, hogy a reakciókörülmények kismértékű változtatása is jelentős előrelépést jelenthet a hatékonyság szempontjából. A savkatalizátor elhagyása és az oxidálószer kontrollált körülmények között való adagolása jelentősen javította az eljárás szelektivitását.

Egy másik szintézisútvonal a könnyen előállítható xanton-ditriplát gyűrűs aminokkal végzett S_NAr reakciójára épül (8. ábra). Ezt követően lítiumorganikus vagy Grignard-reagensek addíciója, majd protonálás és dehidratáció vezet a rozamin festékekhez. A módszert sikeresen alkalmazták mind oldatban, mind szilárd fázison, ugyanakkor a gyakorlati megvalósítás során

preparatív nehézségek jelentkeztek (alacsony hozamok, polimerizációs melléktermékek, erős savak, magas nyomás és hőmérséklet alkalmazásának szükségessége).^{65,66}

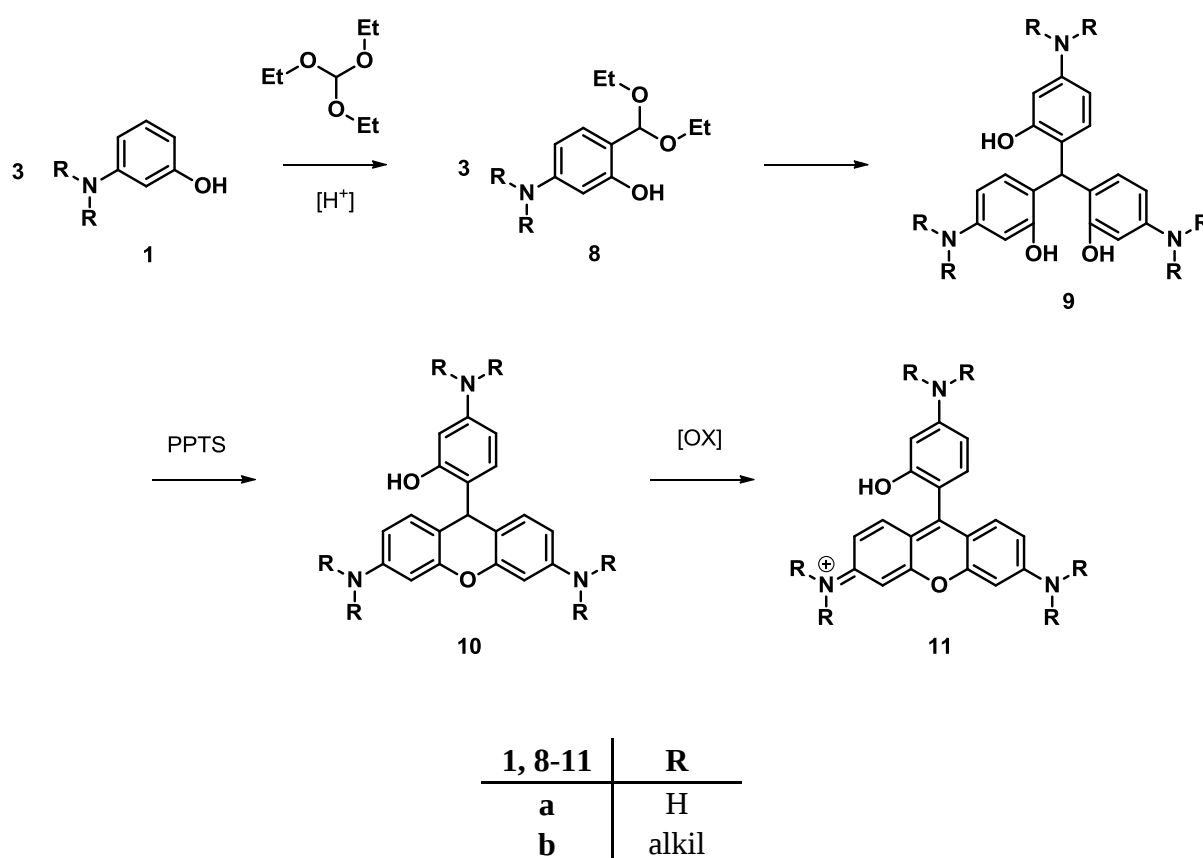


8. ábra Rozamin származékok előállítása xanton ditriflátból

A fentiek alapján látható, hogy a rozamin-típusú festékek előállítására többféle szintézismódszer ismert, azonban egyes eljárások alacsony hozammal, nehézkesen valósíthatók meg. Emiatt különösen indokolt a szintetikus eljárások továbbfejlesztése és hatékonyabb módszerek bevezetése. Amennyiben adott szubsztituensek beépítése is cél a szintézis során, alapos megfontolást igényel a reakciókörülmények kiválasztása. A rozamin-típusú vegyületek posztfunkcionalizálásának lehetőségei korlátozottak, többek között az „anilin”-típusú gyűrűk érzékenysége miatt.

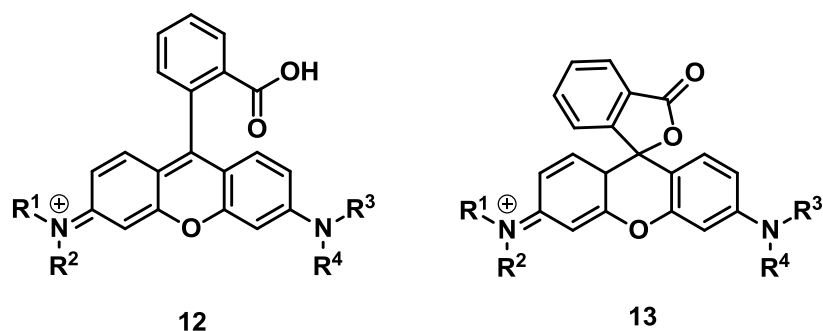
A fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező rozamin származékok lehetőséget kínálnak gyógyszerhatóanyaghoz vagy biomolekulához való konjugálásra. Ezenkívül pH-függő fluoreszcenciát mutatnak, így a sejten belüli pH-változások érzékeny detektálására is alkalmazhatók.^{67,68} Fenolos OH-val rendelkező származékok szintézisére viszonylag kevés szakirodalmi eljárást ismert, feltételezhetően a vegyületek oxidációra és savkatalízisre való nagyobb érzékenysége miatt. Yang és mtsai⁶⁹ 4-hidroxibenzaldehidet és kétszeres mennyiségű 3-dietilamino-fenolt oldottak propionsavban, és *p*-toluolszulfonsav katalizátor jelenlétében, N_2 atmoszféra alatt kevertették a reakcióelegyet $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, egy éjszakán át. Klóranillal történő oxidáció után mindössze 14 %-os hozamot sikerült elérniük. Andresen és mtsai⁶⁸ hasonló reakcióstratégia szerint, a körülmények változtatásával ($80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő kevertetés, 1 napig tartó oxidáció) valamivel jobb, 30% körüli hozamokat értek el. Despras és mtsai vörös tartományba való kiterjesztése érdekében a konjugált alapváz méretét julolidin

részletek beépítésével növelték meg.⁷⁰ Jiao és mtsai⁷¹ 4-brómbenzaldehidet reagáltattak 7-hidroxi-*N*-metil-2,2,4-trimetil-1,2-dihidrokinolin vegyülettel, és viszonylag jó hozamot sikerült elérniük (53%). Egy másik megközelítés szerint Sun és mtsai 3 ekvivalens *m*-dialkilamino-fenolt trialkil-ortoformiáttal reagáltattak, PPTS katalizátor mellett, N₂ atmoszférában, 12 órán keresztül forralva a reakcióelegyet.⁶⁷ Az ortoészter három jó távozó csoportjának jelenléte lehetővé tette a háromszoros szubsztitúciót, így három azonos egységet tartalmazó rozamin váz alakult ki (9. ábra). Ezzel az eljárással azonban nem alakítható ki olyan vegyület, amely a xantén alapvázon és a 9-es helyzetben különböző alegységeket tartalmazna.



9. ábra Fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó rozamin származékok előállítása, R: alkil

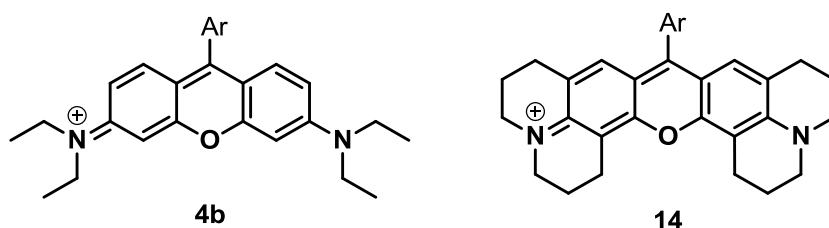
A rodamin alapváz, a karboxilcsoport jelenlétének köszönhetően, a közeg pH-jától függően semleges vagy bázikus körülmények között spirolakton formába záródik (10. ábra), így a fluoreszcencia-intenzitása jelentősen csökken. Protonált állapotban azonban a fluoreszcencia intenzitás számottevően megnő. E tulajdonságuk lehetővé teszi pH érzékeny, „ki-be kapcsolható” fluoreszcens festékként, illetve más, környezetfüggő jelzőmolekulaként való alkalmazásukat.^{72,73}



12, 13	R
a	H
b	alkil

10. ábra Rodamin-típusú festékmolekula (A), és annak spirolakton szerkezete (B), R: alkil csoportok

Mindezekkel összhangban többféle, ígéretes rozamin és rodamin festéket alkalmaznak különféle felhasználási területeken. Rozamin alapú kemoszenzorok használatosak Ag^+ -ionok detektálására⁷⁴, de Hg^{+75} vagy NO_2 ⁷⁶ detektálására is alkalmasak lehetnek. Andresen és mtsai⁶⁸ olyan rozamin származékot szintetizáltak, amelynél a fenol gyűrű brómozása befolyásolta a fluoreszcencia pH-érzékenységet, valószínűsíthetően a fenol pKa-értékének megváltoztatásán keresztül. További fontos szempont, hogy a xantén váz merevítése (julolidin részletek beépítésével) növelte a kvantumhatásfokot és a gerjesztett állapot élettartamát azáltal, hogy gátolta a nem-sugárzó lecsengési folyamatokat.



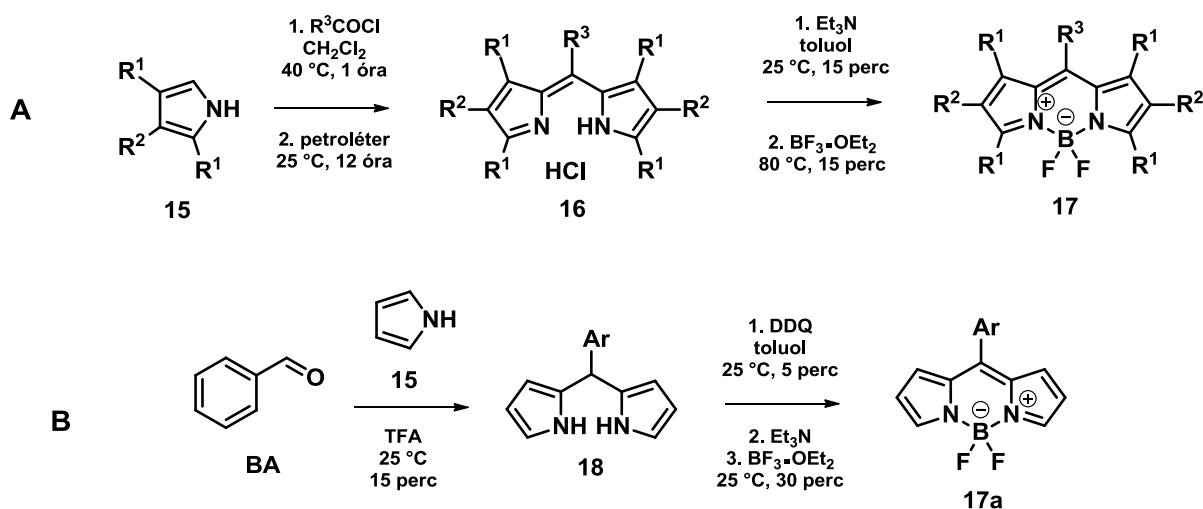
11. ábra Rozamin festék hidroxil N,N -dietil⁶⁷ (A) és julolidin származéka^{68,70} (B)

A rozamin és a rodamin származékok széleskörű alkalmazási lehetőségei miatt kiemelt kutatási területet jelent új, hatékony szintetikus eljárások kidolgozása ezen alapvázakra, továbbá a festékek posztfunkcionalizálási lehetőségeinek tanulmányozása.

2.1.6. Bór-indacén alapvázak vegyületcsalád

A 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacén (BODIPY) vegyületek az egyik leggyakrabban alkalmazott fluoreszcens festék család, kiváló fotofizikai, kémiai és biológiai tulajdonságaiknak köszönhetően.⁷⁷ Az első BODIPY-t 1968-ban fedezte fel Treibs és Kreuzer⁷⁸, de a mai napig folyamatosan a figyelem középpontjában állnak. Alapvázuk előállítására ma már többféle reakcióstratégia ismert, de jelen munkában két alapvető stratégiát ismertettünk.⁷⁹

Az egyik eljárás (A) szerint a pirrolt karbonsav-halogeniddal reagáltatva dipirrometén hidroklorid keletkezik, amelyet izolálás nélkül alakítanak tovább a komplexálási reakciólépésben a kívánt céltermékké.⁸⁰ A másik módszer szerint (B) a pirrol aldehiddel reagál savkatalizátor jelenlétében. A következő lépés a dipirrometán oxidációja, majd következik a komplexálás. (12. ábra).^{80,81} Savkatalízis hatására, a pirrol acidofób jellege miatt, oligo- vagy polimerizáció játszódhat le. Ennek kiküszöbölésére a szubsztituálatlan pirrolt nagy feleslegben alkalmazzák, vagy szubsztituált származékait viszik reakcióba, amelyek azonban jóval drágábbak. Az oxidáció során is keletkeznek melléktermékek, amelyek képződése az A-stratégia alkalmazásával elkerülhető.



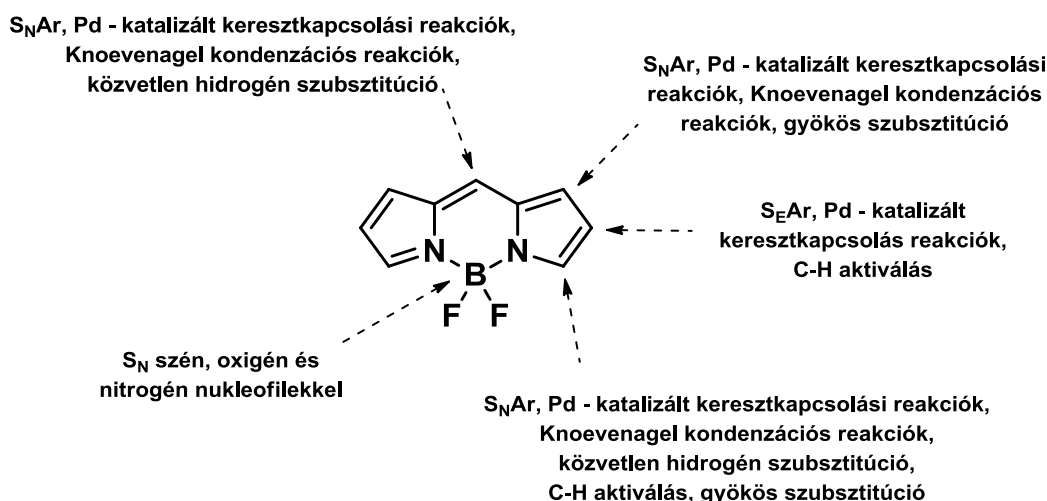
16, 17	R ¹	R ²	R ³
a	H	H	H
b	alkil	H	alkil
c	aril	H	H
d	alkil	H	aril

12. ábra BODIPY alapváz kiépítése pirrol – savhalogenid (A) és pirrol – aldehid (B) reakcióstratégiával

Több példa is ismert a szakirodalomban mikrohullámú energiaközlés alkalmazására BODIPY festékek szintéziséhez. A pirrometén szerkezet kialakításában sikerült rövidebb idő alatt, kevesebb melléktermék képződése mellett és alacsonyabb hőfokon magasabb hozamot elérni, mint hagyományos fűtéssel⁸², emellett az alapváz teljes szintézisében a savklorid–pirrol stratégia mikrohullámú körülmények közti lejátszatása is jelentős hozamnövekedést eredményezett.^{83,84}

Amennyiben olyan BODIPY származék előállítása a cél, amely konjugálásra alkalmas funkciós csoportot tartalmaz, célszerű két megközelítést megfontolni attól függően, hogy a beépítendő csoportok mennyire érzékenyek a reakciókörülményekre. Az egyik módszer szerint a funkciós csoportok védett vagy védetlen formában már a reaktánsokban jelen vannak, a másik lehetőség pedig a posztfunkcionalizálás, melynél a szükséges csoportokat később, az alapváz kialakítása után kapcsoljuk hozzá a szerkezethez. Mindkét megközelítésnek lehetnek előnyei és kihívásai, így a választás mindig a reakciókörülmények és az új, bevezetni kívánt funkciós csoportok minősége alapján történik.

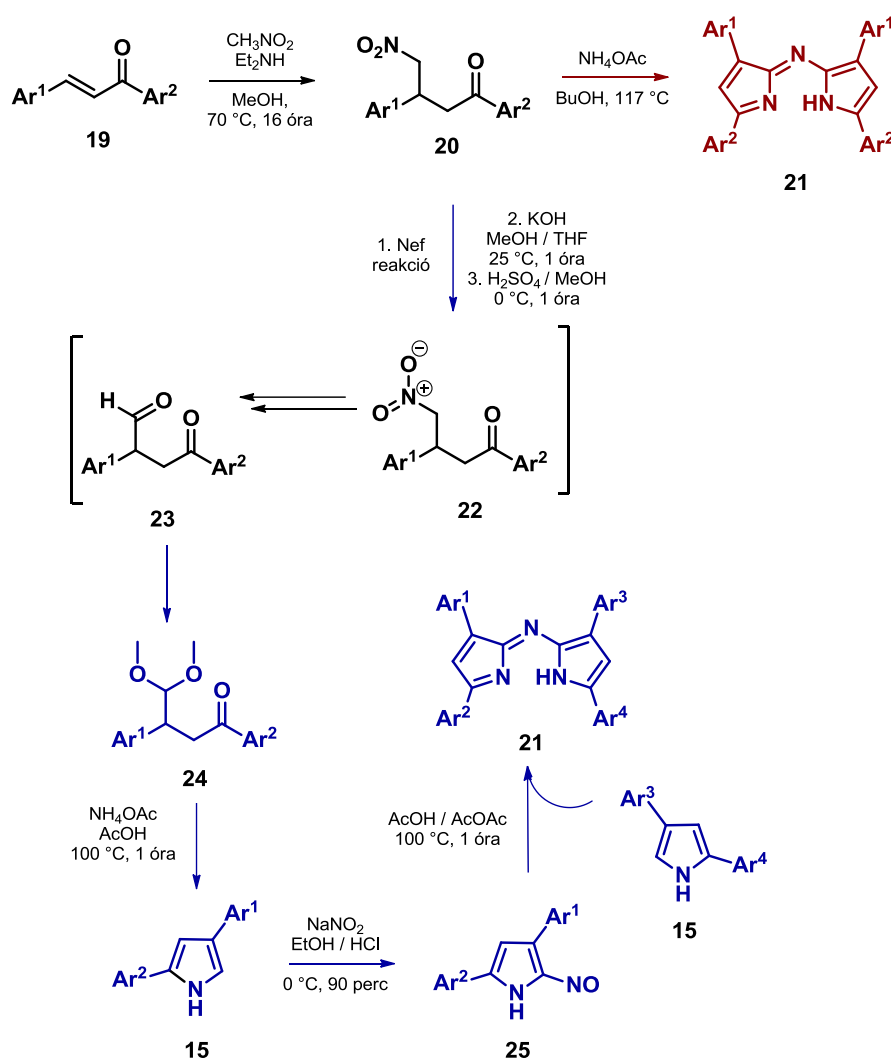
A BODIPY alapváz posztfunkcionalizálása többféle átalakítással is megvalósítható attól függően, hogy a módosítás a molekula mely részét érinti. A származékképzés általában a pirrolgyűrű szénatomjain, a központi (*mezo*) szénatomon, illetve a bóratomon történik (13. ábra).⁸⁵ Gyakori átalakítás a pirrolgyűrűk metilcsoportjain aromás aldehidekkel végrehajtott Knoevenagel-kondenzáció, amely általában a konjugált kettős kötésű rendszer kiterjesztésére irányul. Elterjedtek a pirrolgyűrűk szubsztitúciós reakciói, valamint a bórhoz kötött fluoratomok nukleofil cseréje is. Több reakció közvetlenül lehetővé teszi egyes hidrogénatomok helyettesítését; ilyenek például az elektrofil aromás szubsztitúció (S_EAr), az oxidálószer nélküli nukleofil szubsztitúció és az oxidatív nukleofil szubsztitúció. További jelentős átalakítások az átmenetifém-katalizált keresztkapcsolási reakciók. Ezek kiindulhatnak előzetesen halogénezett vagy szulfonált BODIPY-származékokból, de megvalósíthatók közvetlen C–H aktiválással is.⁸⁵ A pirrolgyűrűk szelektív posztfunkcionalizálásában fontos szerepet játszik a formilezés. Jiao és mtsai⁸⁶ VH-formilezési reakciókat végeztek a BODIPY alapváz egyik pirrolgyűrűjén, és a monoformil származék egy fontos köztiterméként szerepelt a további átalakításaikban. Palao-Utiel és mtsai⁸⁷ *mezo* helyzetben történő funkcionálizálást is végrehajtottak. A számos posztfunkcionalizálási lehetőség révén a BODIPY festékek szerkezete széleskörűen módosítható, így azok különböző alkalmazási célokhoz, például fluoreszcens jelöléshez vagy fotodinamias terápiahoz igazíthatók (13. ábra).



13. ábra A BODIPY-alapváz posztfunkcionalizálási lehetőségei⁸⁵

A BODIPY festékeknek ígéretes tulajdonságaik mellett egy jelentős hátrányuk, hogy viszonylag alacsonyak az abszorpciós és emissziós hullámhosszaik, ami jelentősen korlátozhatja alkalmazásukat.⁷⁷ A 8-*aza* megfelelőikben, ahol az alapvázon a C–8 atomot formálisan nitrogénre cseréljük, a BODIPY színezékek kedvező tulajdonságainak megtartásával elérhetjük, hogy jelentősen növekedjenek az abszorpciós és emissziós maximumok, elérve akár a NIR tartományt is. Az *aza*-BODIPY alapváz (aBOD) vegyületeket 2002-ben szintetizálták először O'Shea és mtsai.⁸⁸ Az alapváz szintézisére az egyik legismertebb és leggyakrabban alkalmazott eljárás is az ő nevükhöz fűződik, de több kutatócsoport is foglalkozott már szimmetrikus származékok előállításával (14. ábra).⁸⁹⁻⁹¹ Ez a módszer kalkon szintézissel indul, majd nitrometánnal történő Michael-addícióval folytatódik, amit ammóniumsó (leggyakrabban ammónium-formiát vagy -acetát) jelenlétében végzett ciklizáció (formailag dimerizáció) követ. Végül bór-trifluorid-éteráttal történik a komplexképzés. A módszer egyszerűsége és enyhe reakciókörülményei ellenére a hozamok általában alacsonyak, legfőképp a dimerizációs lépés rossz hatékonysága miatt, amely a teljes reakciósor leggyengébb pontja. A legjobb eredmények is csak 40–50 % közötti hozamot mutatnak. Jameson és mtsai⁹² az *aza*-híd kialakítását mikrohullámú besugárzással valósították meg, és ammónium-acetát felhasználásával, 2,2,2-trifluoetanol oldószerben, 70 °C-on, 47%-os hozamot értek el. Hasonló hatékonyságot értek el Gut és mtsai⁹³ is, akik karbamidot alkalmaztak nitrogénforrásként, ecetsavas közegben végezték a szintézist, és mikrohullámú reaktorban 140 °C-ig emelték a hőmérsékletet.

Aszimmetrikus aBOD származékok előállításához egy a fentnél többlépéses megközelítés alkalmazása szükséges.^{94,95} Ehhez első lépésben a nitrometil származékból Nef-reakció végrehajtásával aldehidet képeznek, majd az aldehid metanollal reagáltatva kialakul egy dimetil-acetál.⁹⁶ Az acetál ammónia hatására bekövetkező gyűrűzárási reakciója szolgáltatja az egyik pirrol reaktánst. Ezt a pirrolt nitrozálják, és a nitrozo származékot reagáltatják egy megfelelően megválasztott másik pirrol reakciópartnerrel. Ezáltal kialakul az *aza*-híd, és egy különböző szubsztituáltságú pirrolgyűrűket tartalmazó származék képződik.



19-25	Ar ¹	Ar ²	Ar ³	Ar ⁴
a	Ph	Ph	Ph	Ph

14. ábra aBOD előállításának szintézisútvonalai, pirossal jelölt útvonal: szimmetrikus származékok előállítása dimerizációval, kékkel jelölt útvonal: aszimmetrikus származékok előállítása pirrol szintézisen és nitrozálásán keresztül

Ezzel szemben Carreira módszere⁹⁴ azon alapul, hogy a nitrozálás, majd a bór-trifluorid éteráttal történő komplexálás körülményei között közvetlen ciklizáció játszódik le egy 2,3,4- és egy 2,4-szubsztituált pirrol között. Ez a módszer valamivel jobb hozamokat eredményez. A harmadik, de legkevésbé hatékony eljárást Lukyanets és mtsai⁹⁷ dolgozták ki. Ez a ftalonitril és aril-magnézium-bromidok Grignard-reakcióján alapul.

Az alapváz kiépítését követően számos lehetőség ismert annak módosítására. Wang és mtsai⁹⁸ a pirrolgyűrűkre fenilcsoportok beépítésével érték el a kibocsátott sugárzás hullámhosszának növekedését. Majumdar és mtsai⁹⁹ fenil helyett naftil csoportokkal fokozták a konjugációt, és a kapott merevebb, sík alkatú szerkezetnek köszönhetően tovább növekedett a kibocsátott sugárzás hullámhossza. Zhang és mtsai¹⁰⁰ pedig először szintetizáltak királis atróp izomereket az egyik pirrolgyűrűre bifenil szubsztituens beépítésével. Az aromás gyűrűk beépítésén túlmenően, a pirrolgyűrűk halogénezése is jelentősen befolyásolja a fotofizikai tulajdonságokat. Az Obloza és mtsai¹⁰¹ által vizsgált bróm származékok erős elektron-donor csoportokat hordoznak, megnövelt szingulett oxigén generációt eredményeztek. Újfajta, és ígéretes megközelítésnek számít ezen a területen a fémorganikus komplexek létrehozása. Jinjin és mtsai¹⁰² olyan, katechol-módosított aBOD származékokat állítottak elő, amelyekkel vas(III)-ionokkal kelátokat képeztek, és a töbhtagú, gyűrűs rendszert hatékonyan alkalmazták fotodinámiás terápiában. A kapott kelátot nanorészecskébe zárva azt találták, hogy az abszorpciós hullámhossz a NIR II tartományba esik (1064 nm), és a fém – ligandum elektronátvitel miatt lecsökken a fluoreszcencia intenzitása, ami kedvező a fototermális / fotodinámiás terápiás alkalmazásokban.

A legújabb fejlesztések közé tartozik a 3,5-bisz-julolidinil-szubsztituált aBOD előállítás, amely a NIR-II tartományban (>1000 nm) működő, aggregáció által okozott kioltási (ACQ, Aggregation-Caused Quenching) tulajdonságot mutató fluorofór. ACQ esetén apoláris festékmolekulák vizes közegben hajlamosak aggregálódni, ami jelentős fluoreszcenciacsökkenést eredményez. Bár ez sok esetben hátrányos, *in vivo* képalkotásnál előnyös is lehet, mivel a fluorofór aggregálódott formája (a keringésben vagy szövetekben) gyengén vagy egyáltalán nem bocsát ki jelet, míg a célzott kötődés vagy nanorészecskébe történő beépülés után az aggregátumok szétválnak, és az emisszió jelentősen fokozódhat. A julolidin egységek ezen kívül növelik a molekula planaritását és erős elektron-donor karakterét, ami az abszorpciós maximumot kb. 850 nm-re tolja ki, míg az emisszió a 950–1300 nm tartományba esik. Ezek a származékok jó fotostabilitással rendelkeznek, és vizes közegben már 40% víztartalom felett teljes fluoreszcencia-kioltást mutatnak, ami csökkenti a nem-specifikus (még kötődés nélküli) háttérjel zavaró hatását.¹⁰³

2.2. Biológiai előzmények

2.2.1. Fotodinámiás terápia

A fény terápias céllal történő felhasználására már az első századi Kína óta vannak törekvések, de az első, jól dokumentált esetek a XVIII.–XIX. századi Franciaországig vezetnek vissza. Megfigyelték, hogy a fénykezelésnek pozitív hatása van a skorbut, a tuberkulózis, a reuma és az izomgyengeség gyógyításában. Niels Finsen dán fizikus 1895-ös tanulmányában¹⁰⁴ értekezett a bányahimlő vörös fénnel való sikeres kezeléséről, amely segítette a hegesedés elkerülését és gyógyulását. A fotodinamika területén elért eredményeiért 1903-ban orvostudományi Nobel-díjat kapott¹⁰⁵. Az eljárás orvosi bevezetése Oscar Raab és Hermann von Tappeiner nevéhez fűződik, akik már az 1900-as évek elején kimutatták, hogy bizonyos fényérzékeny vegyületek fény és oxigén jelenlétében szelektív sejtpusztító hatást fejtenek ki. Von Tappeiner 1904-ben vezette be a „photodynamicus reakció” fogalmát, és elsőként végzett klinikai kísérleteket bőrbetegségek kezelésére fluoreszcens festékek felhasználásával.¹⁰⁶ Ma már a fotodinámiás terápia (PDT) széles körben alkalmazott a különféle betegségek kezelésében. Molekuláris szinten három kulcstényezőtől függ az eredményessége:

- Ideális fényérzékenyítő anyag (PS - Photosensitizer): olyan molekula, amely megfelelő hullámhosszú fénnel besugározva gerjesztődik, és a relaxációjakor leadott energiája reaktív oxigénrészecskéket generál (ROS - Reactive Oxygen Species), mint például szuperoxid gyökion ($O_2^{\cdot-}$), hidroxilgyök ($\cdot OH$) vagy szingulett oxigén (1O_2).
- Megfelelő hullámhosszú fényforrás: elengedhetetlen, hogy a fényforrás abban a tartományban sugározzon, amelyen a PS abszorbeálni tudja az energiáját, ilyenek lehetnek például a különböző lézer fényforrások.
- A sejtekben oldott oxigén: a PDT az oxigén ionizációján / gerjesztésén keresztül fejti ki hatását, különösen a szingulett oxigén generálásán keresztül, mely megtámadja a tumorsejteket és a patogéneket a környezetében. Az oxigénhiányos környezet erősen limitálja a hatékonyságot.¹⁰⁷

A PDT alapvetően háromféle mechanizmus szerint működik. Először is be kell juttatni a PS-t a sejtekbe, majd megfelelő hullámhosszú fénnel gerjeszteni kell. Relaxációkor a többletenergia egy részét fény formájában kisugározza, miközben a PS triplet (T¹) gerjesztett állapotba jut. Ebben a formában képes a környezetben lévő oxigénmolekulákból reaktív oxigén részecskéket (ROS) generálni. Ezek a ROS lépnek kölcsönhatásba a fehérjékkel, a nukleinsavakkal, a lipidekkel vagy egyéb biológiai rendszerekkel, ami a sejtek szerkezeti és funkcionális károsodásához vezethet. A terápias hatás a tumorsejtek vagy a patogén

mikroorganizmusok elpusztításában nyilvánul meg.^{107,108} Az egyik működési mechanizmus szerint a PS T^1 állapota és a patogén szövet között lezajló kölcsönhatás során elektron- vagy hidrogénátadás történik. Ennek eredményeként a PS és a szubsztrát is gyökianionná alakul, vagyis kialakulnak a $PS^{\cdot-}$ és a szubsztrát $^{\cdot-}$ típusú anionok. Ezek a gyökök tovább reagálhatnak oxigénnel, például $O_2^{\cdot-}$ vagy $\cdot OH$ képződéséhez vezetve, amelyek további reakciókat indítanak el, létrehozva egy öngerjesztő folyamatot. Ezt a láncreakciós eseménysort oxidatív stressz néven ismerjük.¹⁰⁹ Másik mechanizmus szerint a PS-en keresztül közvetlenül az oxigénmolekulára adódik át a többletenergia. Az ilyen átvitel akkor következhet be, ha a PS és az oxigénmolekula azonos elektronspinnel rendelkezik. Ennek eredményeként minden esetben reaktív szingulett oxigén keletkezik, mely rendkívül hatékony oxidálószer.¹¹⁰

A harmadik mechanizmus során a T^1 állapotú PS oxigén jelenléte nélkül, közvetlenül a biomolekuláknak (DNS-nek, fehérjéknek, nukleotidoknak) adja át az energiáját. Ez az oxigénfüggetlen útvonal különösen hatékony hipoxiás környezetben, mivel a PS célmolekulákhoz való közvetlen kötődése oxidatív változásokat hoz létre, amelyek önmagukban elég toxikusak lehetnek a sejtek vagy mikroorganizmusok elpusztításához.^{111,112}

A PDT előnyei a nagyfokú (kettős) szelektivitás és a minimálisan invazív jelleg. Kemoterápiás szerekkel vagy radioterápiás módszerekkel összehasonlítva az egészséges sejteket kevésbé károsítja, kevesebb mellékhatással jár, és tumorkiújulásnál bármikor megismételhető a kezelés.¹¹³ A PDT kettős szelektivitásának egyik fő oka az ún. EPR (Enhanced Permeability and Retention) effektus. A gyorsan növekvő tumorokban a kialakuló, új erek szerkezete rendezetlen és hézagos, ami fokozott érfali átjárhatóságot eredményez. Emellett a tumorszövetekben a nyirokelvezetés gyakran elégtelen vagy teljesen hiányzik. Ez a két tényező együttesen lehetővé teszi, hogy a keringésből a PS nagyobb mennyiségben jusson át a tumor intersticiális terébe, majd ott tartósan akkumulálódjon, mivel a csökkent nyirokkeringés lassítja az eltávolítását. Ez különösen jelentős a nagy molekulatömegű vagy nanorészecskés PS-formulációknál, amelyek méretüknél fogva kevésbé tudnak visszajutni a keringésbe. Továbbá, a lézerefény csak a célzott területre fókuszálódik, így ezzel is minimalizálódik a szisztémás toxicitás.^{114,115}

A ROS részecskék felezési ideje a mikromásodperc nagyságrendjébe esik, így az oxidatív stressz kisebb eséllyel terjedhet át a távolabb lévő, egészséges sejtekre. Ha a PDT önmagában nem tudná kifejteni a kívánt hatást, kombinálható más terápiákkal is (kemo- és sugárterápia, immunterápia). Ha a terápiás célpontok különböznek, akkor a kombinációjuk nem kompetitív, és képesek jobb hatást kifejteni az egyedi kezelésekhez képest. Hátrányai közé tartozik viszont, hogy kevés kereskedelmi forgalomban lévő, hatékony PS ismert, és a

terápiában alkalmazott hullámhosszak nagyjából 10 mm-es sugarú körben képesek sejtpusztulást előidézni, ami nem minden esetben elegendő. Ezen kívül ügyelni kell arra, hogy amíg a PS felhalmozódik a célszövetben, a páciens ne legyen kitéve semmilyen fénynek, mert ez aktiválná a vegyületet; valamint a kezelést követően is tartózkodni kell a közvetlen fényforrásoktól, mert időbe telik, míg a PS kiürül. A daganat helye és oxigénellátottsági szintje is olyan paraméterek, melyet előzetesen alaposan fel kell mérni.¹¹⁶

A fentiekből már kitűnik, hogy az ideális PS-t nem könnyű megtalálni, amely elhanyagolható sötét, ugyanakkor magas fény-indukálta toxicitással rendelkezik. Ennek érdekében elengedhetetlen a T¹ állapot minél további fenntartása a hatékony ROS koncentráció kialakulása miatt. Továbbá, a PS-nek intenzív NIR abszorpcióval kell rendelkeznie a sugárzás megfelelő sejtbetárolási képességének elérése érdekében. A PS amfifil karaktere is előnyös. A jó tumorlokalizációs képesség segít elkerülni a mellékhatások kialakulását, így a megfelelő helyen dúsulhat fel és növelheti a terápia hatékonyságát. Végül, a terápiás alkalmazás befejeztével gyorsan ki kell ürülnie a szervezetből.¹¹⁷

Az első generációs PS-ek közé tartoznak a porfirin- és hematoporfirin-származékok, például a porfimer nátrium, amelyet elsőként teszteltek klinikai körülmények között. Ezek a vegyületek hatékony sejtkárosító hatást mutatnak, alacsony sötét toxicitás mellett. Ugyanakkor farmakokinetikai tulajdonságaik miatt lassan ürülnek ki a szervezetből, és nem kizárólag a tumorszövetben halmozódnak fel, ami elhúzódó bőr- és fototoxicitáshoz vezethet. Mivel a vörös tartományból nem abszorbeálják hatékonyan a fényt, ezért viszonylag nagy mennyiségben kell a szervezetbe juttatni, és ez erősen gátat szab biológiai felhasználhatóságuknak is, a pácienseket pedig a kezelés után még 6 hétig óvni kell a napfénytől. A második generációs PS-ek főként porfirin-származékokat, kurkuminoidokat vagy xantén vázas vegyületeket jelölnek, mint például a klorin, bakterioklorin, vagy benzoporfirin. Ezek már 630 nm felett abszorbeálódnak, nagyobb kvantumhasznosítási tényezővel rendelkeznek jobb szingulett oxigén termelés mellett, és a tumorszövetekben is gyorsabban felhalmozódnak, így a kezelés jóval rövidebb és hatékonyabb lehet. Hátrányuk, hogy nincs meg a megfelelő egyensúly a hidrofíll / hidrofób karakter tekintetében: ezek a PS-ek meglehetősen hidrofób rendszerek, ami csökkenti felhasználhatóságukat fiziológiai oldatokban, ez pedig korlátozza klinikai alkalmazhatóságukat. A jelenlegi kutatások többsége a harmadik generációs PS-ek fejlesztésére összpontosít. Ebbe a csoportba tartoznak például az antitest-PS konjugátumok, valamint a liposzómákba, micellákba vagy egyéb nanorészecskébe kapszulázott anyagok. Ezek előnye, hogy magasabb hullámhosszú fényvel is hatékonyan gerjeszthetők, ami mélyebb szöveti penetrációt biztosít, továbbá fokozott

tumorspecificitással rendelkeznek. A szelektivitás további növelése érdekében két fő stratégia alkalmazható: a PS kovalens kapcsolása biomolekulákhoz, például fehérjékhez, nukleinsavakhoz vagy hormonokhoz, amelyek célzottan kötődnek a tumorban túltermelt receptorokhoz; illetve a PS kapszulázása olyan nanorészecske-hordozókba, amelyek aktív vagy passzív célzási mechanizmus révén képesek a beadás helyéről szelektíven eljutni a célszövethez.¹¹⁸⁻¹²⁰

A kellően hatékony PS megtalálásának elengedhetetlen feltétele, hogy a potenciális jelölt az IR tartományban emittáljon. Gallagher¹²¹, Gorman és mtsai¹²² az elsők között állítottak elő olyan nem-porfirin vázas vegyületeket, melyek kellően magas hullámhosszú emisszióval rendelkeznek, ugyanakkor megfelelnek a főbb kritériumoknak. Ha terápiás ROS-képzés és NIR-elnyelés a prioritás, az aBOD-k ideális PDT-anyagok: mélyvörös/közeli-IR sávban abszorbeálóknak, kémiaiilag robusztusnak, könnyen módosítható az alapvázuk és nagy a triplett állapot élettartama. A PDT önálló terápiaként is alkalmazható tumorok kezelésére, a klinikai gyakorlatban azonban gyakran sebészeti kiegészítőként (profilaktikus szerként) használják. Ugyanakkor a módszer fő korlátja, hogy elsősorban felszíni vagy endoszkóppal elérhető tumorsejtek esetén hatékony, míg a mélyen fekvő, nagy kiterjedésű, tömör daganatok kezelésében korlátozott a penetráció és az egyenletes fényeloszlás biztosíthatósága. A túlzott megvilágítás szöveti toxicitást okozhat az egészséges sejteknél is, ezért a fényintenzitás kontrollja kritikus pont.¹⁰⁸ Halogénezéssel vagy dimerizációval nagy kvantumhasznosítás és $^1\text{O}_2$ -hozam érhető el, miközben az emissziós hullámhossz a terápiás ablakban marad. A halogénezett BODIPY vegyületek PDT alkalmazása során a nehézátomok bevezetése - jódozás, brómozás - jelentős növekedést eredményezhet a triplett állapot élettartamában és a szingulett oxigénhozamokban. A terápiás hatékonyság fokozódása mellett azonban zöld kémiai aggályok merülhetnek fel. Ezen kívül a halogének jelenléte megnövekedett sötét toxicitással jár, ami gátat szab a klinikai felhasználhatóságuknak.^{123,124} Hasonló következtetésre jutottak Nguyen és mtsai¹²⁵ is, akik szerint a halogénatomok kedvezően befolyásolják a fotofizikai tulajdonságokat, ugyanakkor nem oldják meg a nem megfelelő vízzoldékonyság problémáját, és felmerülhet a sötét toxicitás növekedésének kockázata is.¹²⁶ Ezért lenne fontos új generációs, halogénatomoktól mentes fényérzékenyítő anyagok kifejlesztése, amelyek megőrzik a kívánt fotodinamiai aktivitást, miközben minimalizálják a sötét toxicitást.¹²⁷ Az utóbbi években megjelentek a nehézátom mentes megközelítések is, amelyek a zöld kémiai elveknek kívánnak jobban megfelelni: például az aBOD alapú kovalens dimer PS-ek önmagukban is hatékony ROS-generálást biztosítanak a távoli és a közép infravörös tartományban, valamint minimalizálják a sötét toxicitást.¹²⁸

Napjainkban is sokat kutatott, megoldandó problémák közé tartozik a vízdékonyság kérdése. Ha az aBOD-k polaritását megfelelő funkciós csoportok beépítésével növeljük, az egyik legjobb elsőgenerációs, PDT-ben használatos vegyületcsalád közé kerülhetnek.^{91,129,130} Ahhoz, hogy az emissziós hullámhossztartományt a vörös felé toljuk, a konjugáció kiterjesztésével érhetünk el jó eredményeket, ez azonban csökkentheti az alapszerkezet hidrofilitását. Megoldást jelenthet erre a problémára vízdékony poláris funkciós csoportok, oldalláncok beépítése, vagy vízdékony nanorészecskék létrehozása. Song és mtsai¹³¹ aszimmetrikus aBOD származékot állítottak elő, amelyet koleszterinhez kapcsolt polietilén-glikol (Chol-PEG2000-NH₂) segítségével kapszuláztak, így önszerveződő nanorészecskéket hoztak létre. Az így kialakított rendszer nemcsak kiváló vízdékonyságot mutatott, hanem széles spektrumú UV-Vis abszorpciót (300–850 nm) és jelentős fotodinamias aktivitást is, különösen antibakteriális alkalmazásban. A nanorészecskék hatékonyan pusztították a *Staphylococcus aureus*, *E. coli* és MRSA törzseket, miközben NIR-besugárzással szabályozható fototoxicitást biztosítottak. A szerzők kiemelik, hogy az amfifil PEG-láncok nemcsak a vízdékonyságot javították, hanem csökkentették a nem specifikus sejtkárosítást, így a rendszer biokompatibilitása is javult.

Egy másik, felmerülő gond a hipoxiás, vagyis oxigénszegény tumorok kezelése (melyeknél az oxigénkoncentráció 1 μ M alatt van). Megfigyelték, hogy PDT során az oxigénkoncentráció rohamosan csökken a sejtekben, illetve a daganatos szövet fő erei is elzáródhatnak, ezért meg kellett változtatni az optimális mennyiségű PS bejuttatását. Egyes esetekben így olyan kiegészítő kezelésekre lehet szükség, mint például a hiperbár oxigénterápia (HBO₂), melynek lényege, hogy a beteg magas nyomás alatt extra oxigént lélegez be, így több jut a szervek szöveteibe, köztük a daganatokba is.¹²⁰

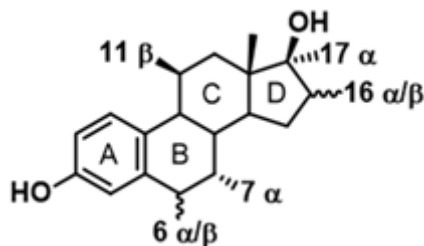
A fentiek alapján az aBOD származékok között több ígéretes PS található a szakirodalomban, azonban ez a terület még számos kutatási lehetőséget kínál, különösen a sötét toxicitástól mentes és/vagy jó vízdékonyságú PS-ek fejlesztése terén.

2.2.2. Az ösztrogének fluoreszcens jelölése

Az ösztrogének fontos szerepet játszanak a hormonfüggő daganatok, mint emlő-, endometriális és petefészekrák kialakulásában. A hormonfüggő daganatok képezik az összes rákos megbetegedés 20%-át világszerte, és több, mint 35 %-át a női daganatos megbetegedéseknek.^{132,133} Az emlőrák a leggyakoribb daganat, míg a petefészekrák jár a legmagasabb halálozási aránnyal. Mivel az emlődaganatok mintegy kétharmada ösztrogén- és/vagy progeszteronfüggő, az ösztrogén receptort (ER) célzó ágensek kiemelt jelentőségűek

az emlőrák terápiájában.¹³⁴ Ilyen stratégiák közé tartoznak a szelektív ER-modulátorok (SERM-ek), mint például a tamoxifen, valamint a szelektív ER-degradátorok (SERD-ek), például a fulvestrant. Az ösztrogének bioszintézisét gátló aromatáz-inhibitorok szintén fontos szerepet játszanak a kezelésben. A diagnózis felállítása és a terápia hatékonyságának értékelése az ösztrogén receptor-státuszon alapul, amely többek között immunhisztokémiai (IHC) módszereket alkalmaz. Bár az IHC jól használható az elsődleges emlőtumorokból származó biopsziás minták ER-expressziójának vizsgálatára, pontossága áttétek esetén csökken. A radioaktívan jelölt, ER-célzott nyomjelzők alkalmazása ígéretes lehet mind a primer, mind a metasztatikus elváltozások nem invazív, klinikai képalkotására; ugyanakkor további jelentős fejlesztésekre van szükség e cél eléréséhez. Nemcsak a radioaktívan, hanem fluoreszcensen jelölt ER-jelzőanyagok is alkalmazhatók. Sejt- és molekuláris szinten nagy térbeli felbontás érhető el fluoreszcens képalkotó eljárásokkal, amennyiben a jelölőanyagok kellően nagy ER-affinitást és szelektivitást hordoznak.

Az ER a szerkezetileg homológ nukleáris transzkripciós faktorok családjának egyik tagja.¹³⁴ A receptorok 12 hélixből és 2 β -lemezből állnak, amelyek 6 szubdomént alkotnak. A szteroid hormon receptorok családján belül az ösztrogén magreceptoroknak két fő altípusa ismert: az ER α és az ER β . E receptorok eltérő élettani funkciókat közvetítenek, és közülük az ER α áll szorosabb kapcsolatban az endokrin aktivitással és az endokrin rendellenességekkel, így többek között az emlőrákkal. Az ER fehérjék elsődleges szerkezete mára jól ismert, és az ER-ligandumkötő domén (ER-LBD) röntgenkrisztallográfiás szerkezetét is meghatározták.¹³⁴ A szteroid és nem-szteroid agonistákat, illetve antagonistákat ligandumként alkalmazó röntgenkrisztallográfiás vizsgálatok feltárták azokat a szerkezet-hatás összefüggéseket, amelyek értelmezése alapvetően meghatározta a korábbi évtizedek kutatásait.¹³⁴ Az ilyen jellegű információk - vagyis a kis molekulák és a megfelelő receptorok közötti interakciók részletes ismerete - kulcsfontosságúak a potenciális molekuláris képalkotó ágensek tervezéséhez, szintéziséhez és értékeléséhez. A x. ábra jól tükrözi azon szerkezet-hatás összefüggéseket, amelyek kiemelten segíthetik az E2 (17 β -ösztradiol) olyan irányú kémiai átalakításait, amelyek az ER-hez jól kötődő származékokat eredményeznek. Kiemelendő, hogy a szakirodalom szerint nem javasolt a fenolos hidroxilcsoport módosítása, helyette a D-gyűrű 17 α és 16 α/β helyeit, vagy a B-gyűrűn való szubsztitúciót javasolják. A C-gyűrű módosításai sem befolyásolják az ösztrogénaktivitást, de az előzőekhez képest kémiaiilag nagyobb kihívást jelent az itt történő szubsztitúció.



15. ábra Az E2-származékok szerkezete és a szakirodalom szerinti főbb támadható helyei

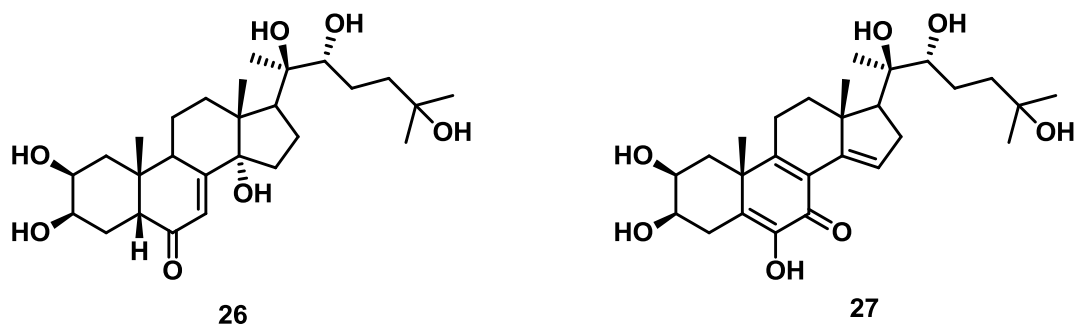
Ennek ellenére az Estradiol glow fantázianevet viselő konjugátum egy a fenolos hidroxilcsoportján éteresített, vörösen fluoreszkáló származék, amelynek a szakirodalom szerint a jelölés ellenére nem változott lényegesen a kémiai és a biológiai viselkedése.¹³⁵ Ez a konjugátum többek között alkalmas ösztrogénkötő fehérjékkel való kölcsönhatási vizsgálatok elvégzésére, az ösztrogének transzportjának tanulmányozására. A szakirodalom azonban nem elemzi a konjugátum pontos hatásmechanizmusát, és konkrét kvantitatív adatokat sem ismertet.

Csak néhány BODIPY-jelölt ösztrogén ismert a szakirodalomban, amelyek főként a C-3, C-7 vagy C-17 pozíciókban konjugáltak, és különböző eljárásokkal készültek, például Sonogashira-kapcsolással vagy CuAAC reakcióval.¹³⁶⁻¹⁴⁰ A legtöbb származék ER-hez való kötődését és ösztrogén aktivitását nem vizsgálták, vagy a kapott adatok messze elmaradnak az E2-re vonatkozóktól. Az egyik közlemény a BODIPY-jelölt ösztrogének szintézisét CuAAC reakcióval valósítja meg, az E1 (öszttron) 3-propargiloxi származékból kiindulva.¹⁴⁰ Ez az eljárás lehetővé tette olyan konjugátumok előállítását, amelyekben a szteroid alapváz és a triazolgyűrű között csupán egy szénatom hosszúságú linker található. A szerzők kiemelték, hogy az újonnan előállított, BODIPY-jelölt E2-t biodegradációs vizsgálatokban alkalmazták egy ösztrogént lebontó baktérium segítségével. Osati és mtsai olyan E2-BODIPY konjugátumokat állítottak elő, amelyek a 17 α -etinil-E2-ből készültek, egy nyolc szénatomos alkil távortartó elemnek a szteroid és a festék közé való beiktatásával. A legjobban kötődő konjugátum esetében az E2-hoz viszonyított relatív kötődési affinitás 16% körülinek adódott (ER α).¹³⁷

A fentiek alapján kiemelt fontosságú kutatási területet képvisel az olyan fluoreszcensen jelölt E2 származékok kifejlesztése, amelyek kedvező optikai, egyben diagnosztikai tulajdonságaik mellett, az ösztrogén aktivitást megtartva alkalmasak sejt és molekuláris szinten, nagy felbontással való biológiai vizsgálatok elvégzésére.

2.2.3. Ekdiszteroidok

Az ekdiszteroidok növényi eredetű rovar vedlési hormonok. Egyik legismertebb képviselőjük a 20-hidroxiiekdizon, amely emlősökben anabolikus és sejtprotektív hatással rendelkezik. Ennek oxidált természetes származéka a kaloniszteron, amely vér-agy gát modellen potens gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatást mutat.^{141,142} Kutatócsoportunk kiemelt figyelmet fordít ezen vegyület biológiai viselkedésének tanulmányozására. A szteroid fluoreszcens jelölése lehetőséget nyújtana szerteágazó biokémiai és mikroszkópiás eljárások végrehajtására. Tudomásunk szerint a szakirodalomban nem ismert fluoreszcens jelölési stratégia a kaloniszteronra. A vegyület szelektív átalakítása felszintetikus szempontból számos kihívást rejt a sok hasonló funkciós csoportja jelenlétének köszönhetően.



16. ábra A 20-hidroxiiekdizon (A) és a kaloniszteron (B) szerkezete

3. Célkitűzések

Az irodalmi előzmények alapján doktori munkám fő céljaként új, különböző optikai, kémiai és biológiai tulajdonságokkal rendelkező fluoreszcens festékanyagok előállítását és azoknak a kiválasztott biológiailag aktív vegyületekhez történő konjugálását tűztük ki. A fluorofórok tervezésénél kiemelt figyelmet fordítottunk azok kémiai módosíthatóságára, továbbá fluoreszcens jelölőanyagként vagy fototeranosztikumként való alkalmazhatóságára. Fontos szempont volt a szakirodalomban leírt eljárások továbbfejlesztése is.

1. Rozamin- és rodamin-típusú festékek szintézise terén célunk volt fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó származékok előállítása, amelyek pH-függő fluoreszcenciájuk révén alkalmasak lehetnek sejten belüli pH-változások detektálására. A szakirodalomban leírt eljárások továbbfejlesztését terveztük a kutatócsoportunk által korábban kidolgozott, savkatalizátormentes, mikrohullámú módszer alkalmazásával.

2. A BODIPY és *aza*-BODIPY alapvázaz vegyületcsalád területén olyan származékok előállítását terveztük, amelyek a zöld vagy a közeli infravörös (NIR) tartományban emittálnak, így az utóbbiak különösen alkalmasak lehetnek PDT felhasználásra. Célunk volt az alapváz posztfunkcionalizálási lehetőségeinek megtervezése, különös tekintettel a VH formilezésre és az átmenetifém-katalizált keresztkapcsolási reakciókra.

3. Az ösztrogének fluoreszcens jelölése terén az E2 olyan pozícióban történő konjugálását tűztük ki célul, amely megőrzi az alapvegyületre jellemző ER-hoz való kötődési affinitást. A jelölést CuAAC reakciókkal, triazol összekötő elem kialakításával vagy Williamson-féle éterszintézissel terveztük megvalósítani. További célunk volt a kaloniszteron fluoreszcens jelölése is annak érdekében, hogy biológiai vizsgálatok elvégzésére alkalmas, jól detektálható származékot nyerjünk.

Az újonnan előállított vegyületek szerkezetének igazolását NMR-spektroszkópiával terveztük megvalósítani.

Az optikai tulajdonságok meghatározását, a számításhoz kémiai és a biológiai vizsgálatokat együttműködő partnerek bevonásával terveztük.

4. Kísérleti eredmények

4.1. A fluorofórok előállítása

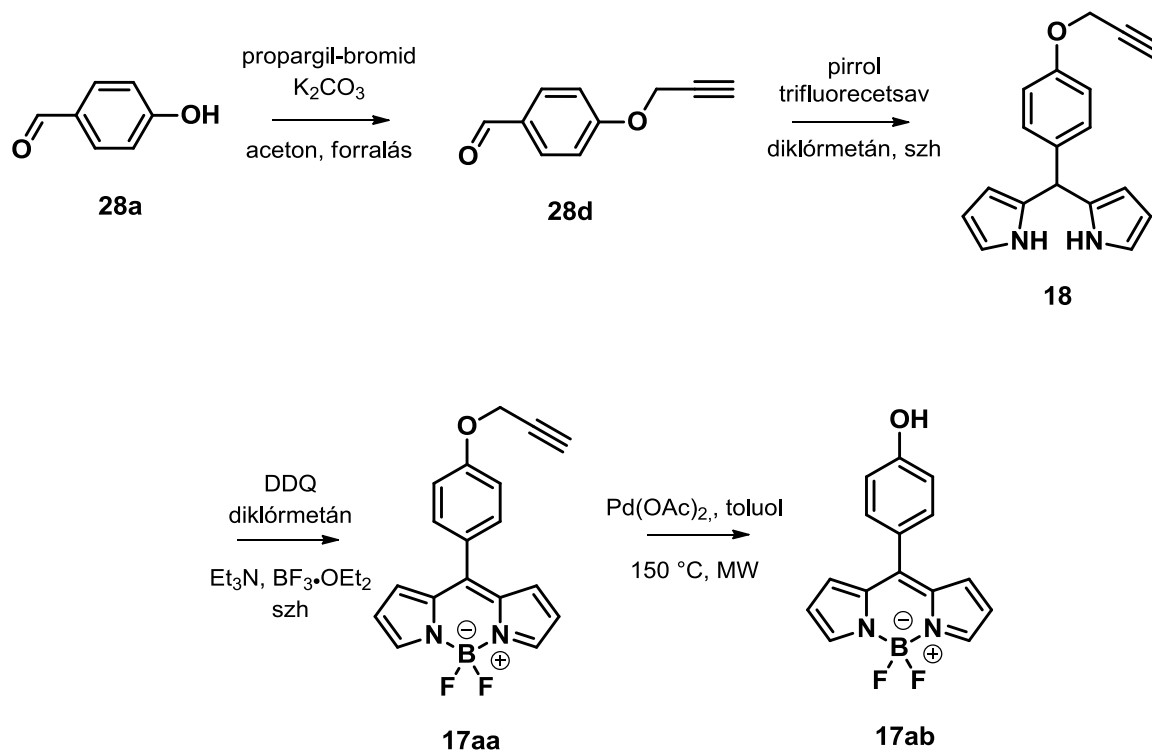
4.1.1. BODIPY alapvázak konjugálható származékok előállítása

A BODIPY alapváz szintézisét többféle reakcióúton is megvalósítottuk.⁸⁰ Célunk olyan, konjugációra alkalmas fluoreszcens festékek előállítása volt, amelyek később különböző, biológiailag aktív molekulákhoz kapcsolhatók. Ennek megfelelően fenolos hidroxil-, propargil vagy azid csoporttal rendelkező vegyületek előállítását valósítottuk meg.

Az aldehid–pirrol reakcióstratégiával egy terminális alkin funkciót tartalmazó (**17aa**) és egy hidroxifenil-BODIPY (**17ab**) származékot állítottunk elő (17. ábra). A propargilcsoport beépítéséhez első lépésben, szubsztrátumként 4-hidroxibenzaldehidet használtunk, melyet propargil-bromiddal, K_2CO_3 bázis jelenlétében, aceton oldószerben éteresítettünk, így már a reakciósor elején kiépítettük a megfelelő, később konjugálható funkciós csoportot. A Williamson-típusú éterképzés eredményeként jó hozammal nyertük a benzaldehid propargiloxi származékát. A terméket tisztítást követően nagy feleslegben alkalmazott pirrollal (legalább 40-szeres mennyiséggel) kondenzációs reakcióba vittük: trifluorecetsav katalizátorral, diklórmetán oldószerben, szobahőmérsékleten, 10 perc alatt játszódott le a reakció. A keletkező dipirrometán intermediert közvetlenül, további tisztítás nélkül alakítottuk tovább: DDQ-val oxidáltuk, majd trietil-amin jelenlétében bór-trifluorid-éteráttal komplexáltuk, így megkapva célvegyületként a BODIPY-alkin származékot (**17aa**). Ezt a módszert korábban kutatócsoportunk már alkalmazta ezen BODIPY-alkin előállítására.¹⁴⁵ A fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező festéket a BODIPY-alkinből állítottuk elő, Pd-katalizátorral hasítva az éterkötést, mikrohullámú körülmények között, toluolban, 150 °C-on, 30 perc alatt. Ez a módszer jobb megoldásnak bizonyult, mintha *p*-hidroxibenzaldehid kiindulási anyagból állítottuk volna elő a vegyületet: a 8-(hidroxifenil)BODIPY vegyület előállítható közvetlenül 4-hidroxibenzaldehid és pirrol reagáltatásával, azonban a reakció a kevesebb lépés ellenére is lényegesen alacsonyabb hozammal megy végbe. Ennek valószínű oka, hogy a hidroxilcsoport jelenléte különböző melléktermékek képződését segíti elő. A palládiummal történő éterhasítás már ismert volt a szakirodalomban¹⁴³, azonban BODIPY alapvázak vegyületeken ismereteink szerint eddig még nem alkalmazták.

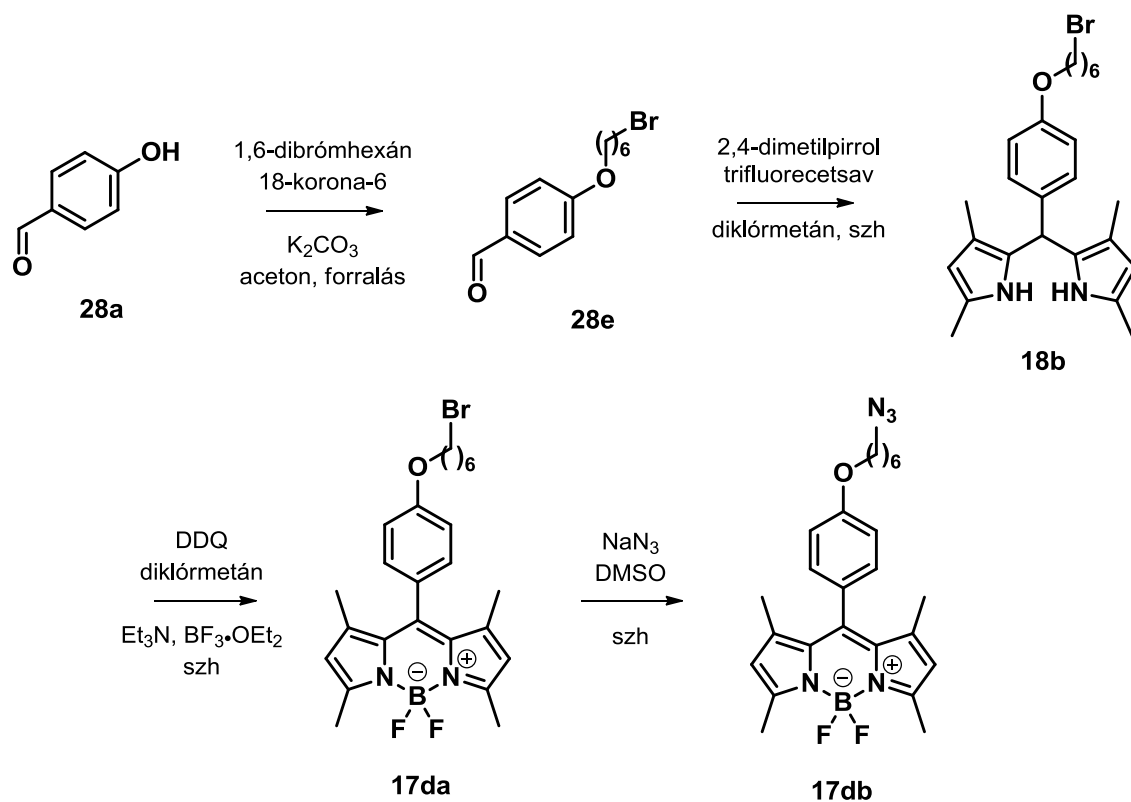
A propargilezett BODIPY a későbbi lépésekben, megfelelő azid reakciópartnerrel, triazol összekötő elem kiépülése mellett kapcsolható, így fluoreszcens jelölőanyagként hasznosítható. A fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó változat másféle konjugációs stratégiát tesz lehetővé: abból kiindulva, többek között, éterszintézissel juthatunk el a kívánt konjugátumhoz, amelyben az éter funkció fiziológiai körülmények között stabil kötést

biztosít. A két előállított BODIPY vegyület a szakirodalomban már leírt szerkezetek,^{85,144} kutatásunk során zöld emittáló fluorofórként szolgáltak az E2 jelölésre, amelynek részletes tárgyalására a 4.2.1. fejezetben kerül sor.



17. ábra Konjugálásra alkalmas BODIPY származékok előállítása¹⁴⁵

A BODIPY-azid előállítását egy olyan benzaldehyd származékból valósítottuk meg, amely hat szénatomos alkil linker tartalmazott. A 4-hidroxibenzaldehydet 1,6-dibrómhexánnal éteresítettük, majd 2 ekvivalens 2,4-dimetilpirrollal (15b) reagáltattuk, TFA katalizátor jelenlétében. A kapott dipirrometánt oxidáltuk (18b), majd komplexáltuk (17da), így jutottunk a kívánt brómalkil-oldalláncot tartalmazó származékhoz. Bróm-azid cserével kaptuk a konjugálásra alkalmas BODIPY-azidot (17db).



18. ábra Konjugálásra alkalmas BODIPY-azid előállítása

Az általunk előállított BODIPY-származékok a szakirodalomban már ismert vegyületek^{85,144-146}, munkánk újdonsága elsősorban a szintézis-módszertani fejlesztésekben áll: mikrohullámú besugárzás bevezetése a kulcslépéseknél, alternatív és rövidebb (esetenként „egyedényes”) útvonalak kidolgozása. A létrehozott zöld emittáló BODIPY alapvázis festékek egyúttal referenciaként szolgálhatnak a későbbiekben előállítandó, vörös vagy infravörös (IR) tartományban emittáló aBOD típusú festékanyagok vizsgálatánál.

4.1.2. Aza-BODIPY alapvázis származékok előállítása

4.1.2.1. Alapvázszintézis-stratégiák

Ebben a fejezetben olyan aBOD származékok előállítását tárgyaljuk, amelyek már az első reakciólépéstől kezdve hordozzák a konjugálásra alkalmas funkciós csoportokat, molekularészleteket. A reakcióstratégiák kidolgozásához kiindulópontként Killoran és mtsai⁸⁸ eljárását vettük alapul.

A tetrafenil származék (**TFAB**) szintéziséen keresztül mutatjuk be, hogy milyen újításokat vezettünk be az eljárásba (19. ábra).^{147,148} Ez a festék egy, a szakirodalomban már ismert és több szempontból jellemzett anyag^{92,149}, amelyet egyrészt referenciaanyagként alkalmaztunk az újonnan szintetizált vegyületek összehasonlító vizsgálataihoz, másrészt kiindulási anyagként is szolgált több, erre épülő szintézisünknel.

Első reakciólépésként kalkon (**19**) előállítás volt a cél, benzaldehidből (**BA**) és acetofenonból (29) kiindulva, nátrium-hidroxid bázis alkalmazásával, metanol oldószerben, szobahőmérsékleten. Második lépésként egy nitrometán reagenssel történő Michael-addíció következett, mely során az α,β -telítetlen oxovegyületre egy nitrometil csoportot építettünk be (20). A reakció enyhén bázikus körülmények között, metanol oldószerben, 60 °C-on, 3 óra alatt, jó hozammal (70–85 %) zajlott le. Az első két reakciólépés összevonására egy szekvenciális „egyedényes” eljárást is kipróbáltunk: a szintézist a fentiekkel azonos körülmények között végzett kalkon előállítással indult, majd közvetlenül a reakcióelegyhez adtuk hozzá a nitrometán reagenst. Ezután 12 órán keresztül forraltuk azt, mert az átalakulás nehezebben ment végbe. Többféle melléktermék keletkezett, valamint a hozamok is alacsonyabbnak bizonyultak (~55 %). Összességében tehát sikerült elkerülnünk az első lépésben nyert reakcióelegy feldolgozását és a nyerstermék tisztítását, de az összhozam szempontjából rosszabb eredményt értünk el a két lépés összevonásával.

Az ezt követő dimerizációs lépés hatékonyságának javításával ma is nagyszámú kutatás foglalkozik, és kutatócsoportunk is jelentős energiát és időt fektetett be a körülmények optimalizálására. Többféle nitrogénforrást, oldószert, savkatalizátort és melegítési körülményt kipróbáltunk (1. táblázat). A jellemzően 1–2 napos, legtöbbször 100 °C feletti hőmérsékleten, vagy nagy reagens felesleggel történő szintéziseket^{95,150-152} sikerült percekre lerövidíteni, és a reakciókörülményeket „zöldíteni”. Nitrogénforrásként karbamidot vagy ammónium-acetátot használtunk, savkatalizátorként ecetsavat vagy citromsavat, oldószerként pedig vizet vagy etanolt, de sikeres szintéziseket vittünk végbe oldószermentes körülmények között is. A tapasztalatok összefoglalása: ammónium-acetáttal etanolban hatékonyabb az átalakulás, mint vízben (1.–4. kísérlet).

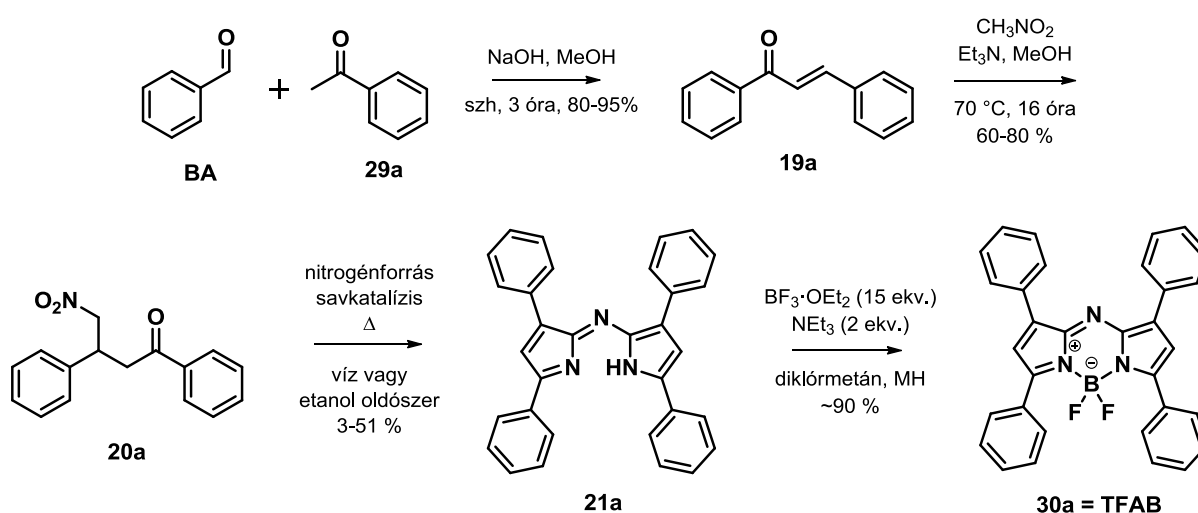
¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, 26, 7075

¹⁴⁸Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. *Org. Biomol. Chem.* **2023**, 21, 6018-6027

Ugyanakkor oldószer nélkül a rövid, kíméletes hevítés adta a legjobb eredményt: 100 °C-on 3 perc alatt 48 %-os hozamot sikerült elérnünk (5. kísérlet). Magasabb hőmérsékleten (6. kísérlet) már jóval szerényebb eredményt kaptunk (8%), itt már valószínűleg elbomlott az anyagunk, vagy ezek a körülmények jobban kedveztek a melléktermékek keletkezésének. Karbamid esetén a savkatalizátor alkalmazása szükséges a reakció lejátszódásához. A vizes közeg kedvez a reakciónak, sőt a legjobb hozamot is így kaptuk: 51 %-ot (16. kísérlet). A hőmérséklet emelése karbamid tartalmú rendszerekben javította a hozamot: ecetsavval EtOH-ban és H₂O-ban 100-ról 150 °C-ra emelve 30 → 40% illetve 32 → 42% -ra növekedett az átalakulás.

Legjobb eredményeinknek tekintjük a percek alatt lezajló, oldószermentes szintézist (5. kísérlet: NH₄OAc, 100 °C, 3 perc, 48%) és a vizes karbamid + citromsav rendszerét (16. kísérlet: 150 °C, 30 perc, 51%), amelyek nemcsak jó hozamot adnak, hanem kifejezetten zöldek is: nincs szerves oldószer, nem toxikus és könnyen hozzáférhető a reagens és a katalizátor, valamint energia- és időhatékony a mikrohullámú besugárzás mellett.

A reakciósor utolsó lépéseként az *aza*-dipirrometén (21) származékot BF₃·OEt₂-tal reagáltattuk szobahőmérsékleten 24 órán át, vagy forralás közben (2–3 óra), gyenge bázis (NEt₃) jelenlétében (19. ábra). Mikrohullámú energiaközléssel sikerült a reakcióhőmérsékletet 110 °C helyett 50 °C-ra csökkenteni, és 30 percre rövidíteni a reakcióidőt. Mikrohullámú kísérleti körülményeket ebben a reakciólépésben csak elvétve találunk a szakirodalomban.¹⁵³ Munkánk során tehát sikeresen javítottunk a TFAB előállításának hatékonyságán, és a további aBOD származékok szintézisének a módosított reakciólépéseket alkalmaztuk.



19. ábra A TFAB szintézise

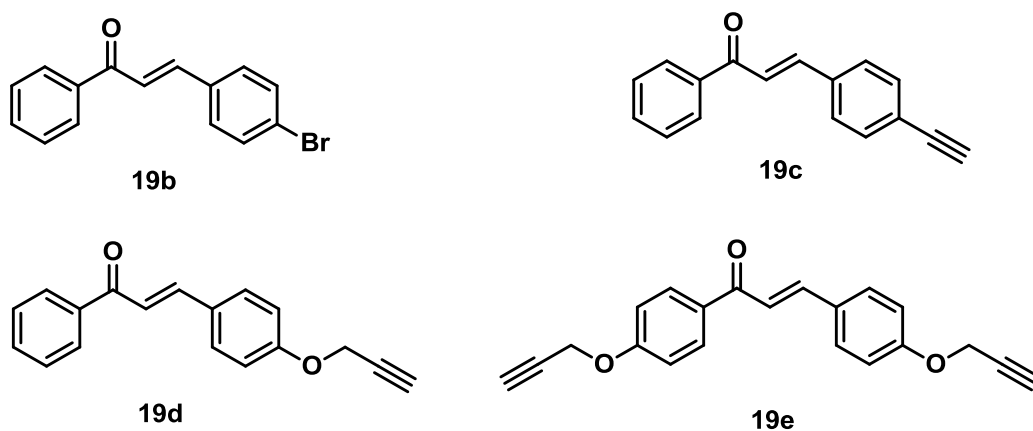
1. táblázat Reakciókörülmények hatása a nitrometil származék dimerizációjára mikrohullámú körülmények között (ES: ecetsav, CS: citromsav)¹⁴⁷

Kísérlet sorszama	Reagens (ekv)	Sav (ekv)	Oldószer	Hőmérséklet (°C)	Reakcióidő (min)	Hozam (%)
1.	NH ₄ OAc (20)	-	etanol	100	30	39
2.	NH ₄ OAc (20)	-	etanol	150	30	33
3.	NH ₄ OAc (20)	-	víz	100	30	18
4.	NH ₄ OAc (20)	-	víz	150	30	20
5.	NH ₄ OAc (20)	-	-	100	3	48
6.	NH ₄ OAc (20)	-	-	150	3	8
7.	karbamid (20)	-	etanol	100	30	-
8.	karbamid (20)	-	etanol	150	30	-
9.	karbamid (20)	ES (10)	etanol	100	30	30
10.	karbamid (20)	ES (10)	etanol	150	30	40
11.	karbamid (20)	ES (10)	víz	100	30	32
12.	karbamid (20)	ES (10)	víz	150	30	42
13.	karbamid (20)	CS (3)	etanol	100	30	35
14.	karbamid (20)	CS (3)	etanol	150	30	40
15.	karbamid (20)	CS (3)	víz	100	30	38
16.	karbamid (20)	CS (3)	víz	150	30	51

A kidolgozott reakciókörülményeket alkalmazva több olyan kalkon származékot is előállítottunk, amelyek a későbbi konjugálási reakciókhoz alkalmas funkciós csoportokat tartalmaznak (20. ábra). A brómatom beépítését 4-brómbenzaldehid alkalmazásával valósítottuk meg (**19b**). A bróm jelenléte palládium-katalizált keresztkapcsolási reakciók végrehajtását teszi lehetővé a későbbiekben kialakított festék alapvázon. A célból, hogy terminális alkin funkcióval rendelkező aBOD származékokat állítsunk elő, etinil vagy propargil funkció bevitelét valósítottuk meg (**19c-e**). Az előbbi Sonogashira kapcsolással építettük be a kalkonba, a 4-brómbenzaldehid trimetilszilil-acetilénnel való reakciójával. Megfigyeltük, hogy a kalkon szintézis körülményei között a szililéter kötés elhasad.

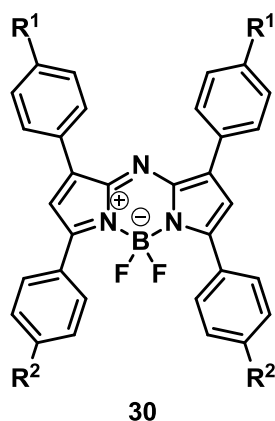
¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075

A propargilcsoportokat a 4-hidroxibenzaldehid és/vagy a 4-hidroxiacetofenon kiindulási anyagok propargil-bromiddal való éteresítésével építettük be a megfelelő kalkonokba.



20. ábra A konjugálható molekularészleteket tartalmazó kalkonok szerkezete

A 20. ábrán feltüntetett kalkonokból a korábban kidolgozott eljárás szerint előállítottuk az aBOD származékokat (21. ábra). Így három olyan vegyületet szintetizáltunk, amelyek két-két szubsztituenst tartalmaznak (**30b-d**), továbbá egyet, amely négy *O*-propargilcsoportot (**30e**).

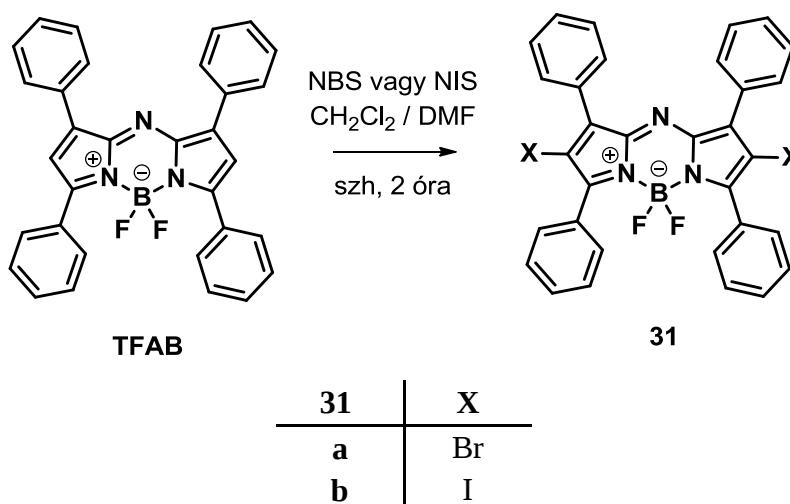


30	R ¹	R ²
TFBA	H	H
b	Br	H
c	—C≡CH	H
d	—O—CH ₂ —C≡CH	H
e	—O—CH ₂ —C≡CH	—O—CH ₂ —C≡CH

21. Ábra Alapvázszintézis-stratégiával előállított aBOD származékok

4.1.2.2. Aza-BODIPY származékok előállítása posztfunkcionalizálással

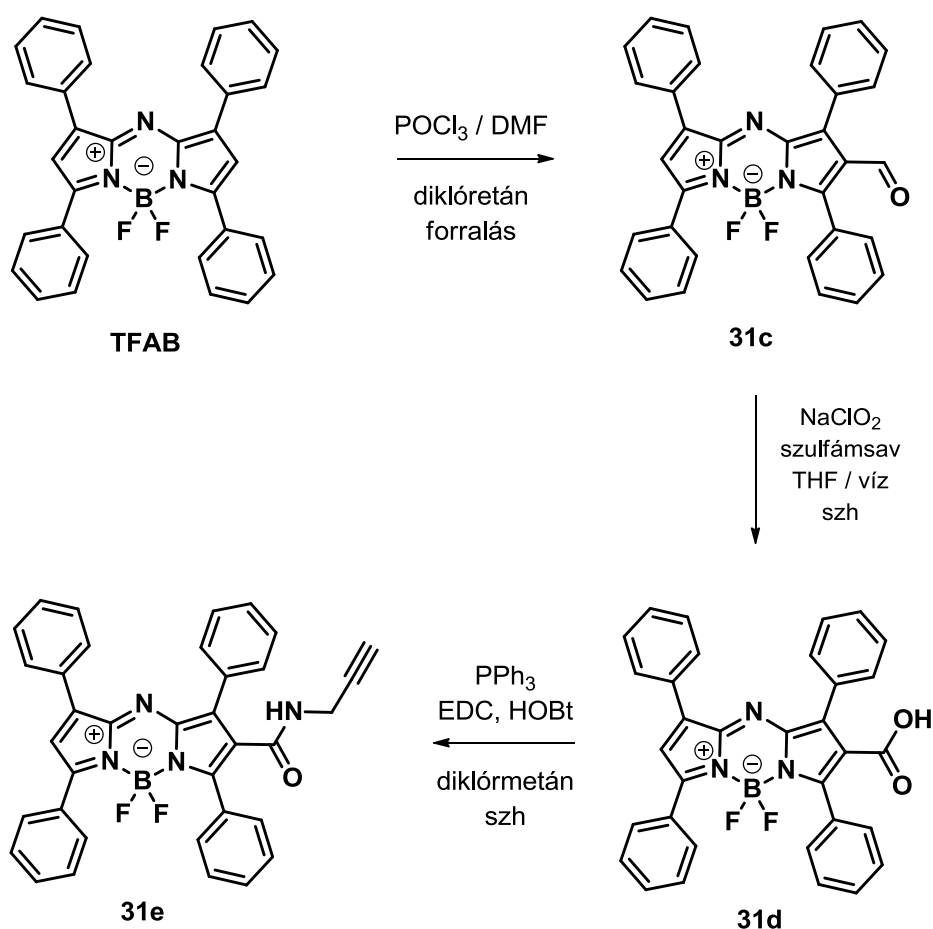
Az alapváz-szintézis stratégiával előállított aBOD származékok közül néhány vegyület célzott posztfunkcionalizálását is elvégeztük. Ehhez többféle eljárást is kidolgoztunk. Nemcsak a pirrolgyűrűkön, hanem az egyes arilcsoportokon is végeztünk átalakításokat. A pirrolgyűrűk elektrofil szubsztitúciós reakciókban való nagy reakciókészségét halogénezési folyamatokban használtuk ki. A tetrafenil származék *N*-jód- vagy *N*-brómszukcinimiddel végrehajtott reakciói *bisz*-halogénezett származékokhoz vezettek (**31a**, **31b**), viszonylag magas hozammal (22. ábra). Ezen eljárás hátránya, hogy nehezen valósítható meg szelektíven, kizárólag egyetlen halogénatom beépítésével. A halogénezett származékok már ismert vegyületek^{89,91,154,155}, de célunk olyan fluorofórok előállítása volt, amelyek későbbi keresztkapcsolási reakciók alapanyagaként szolgálhatnak. Az így kapott aril-halogenidek gyógyszerhatóanyagok és biomolekulák fluoreszcens jelölésére is alkalmazhatók.



22. ábra Halogénezett származékok előállítása

A későbbi, szelektív kapcsolási lehetőség érdekében egy további származékképzést is végrehajtottunk az aBOD alapvázon. Egy terminális alkin funkció bevitele CuAAC vagy Sonogashira-Hagihara típusú kapcsolat végrehajtására ad lehetőséget. Célunk megvalósításához olyan eljárást vettünk alapul, amely a szakirodalomban BODIPY-alapvázak szerkezetek pirrolgyűrűjének átalakításában már bevált.⁸⁶ Vilsmeier-Haack (VH) formilezést hajtottunk végre dimetil-formamid és foszfor(V)-oxiklorid reagensekkel, 1,2-diklóretán oldószerben. Ezzel a módszerrel sikerült szelektíven csak az egyik pirrolgyűrűt módosítanunk az alapvázon (**31c**). Az így kialakított formilcsoportot Pinnick oxidációnak vetettük alá NaClO_2 és szulfámsav reagensekkel, víz-THF oldószerkeverékben. A karboxilcsoport jelenléte

(**31d**) lehetőséget adott savamid kialakításán keresztül egy terminális alkin funkció bevitelére. A következő lépésben EDC/HOBt kapcsoló reagensekkel propargil-amint építettünk be (**31e**, 23. ábra). A későbbi kapcsolási reakcióknál gyakorlati különbséget jelent, ha terminális alkinként etinil vagy propargil származékot állítunk elő. Az előbbi a Sonogashira reakció körülményei között általában jól kapcsolható, az utóbbi viszont Pd-katalízis alatt hajlamos lehet depropargileződésre (lásd 17. ábra).¹⁵⁶ Ezek alapján egy CuAAC kapcsolásnál mindkét származék, míg egy Sonogashira reakciónál inkább az etinilcsoportot tartalmazó vegyület alkalmazása az előnyös.

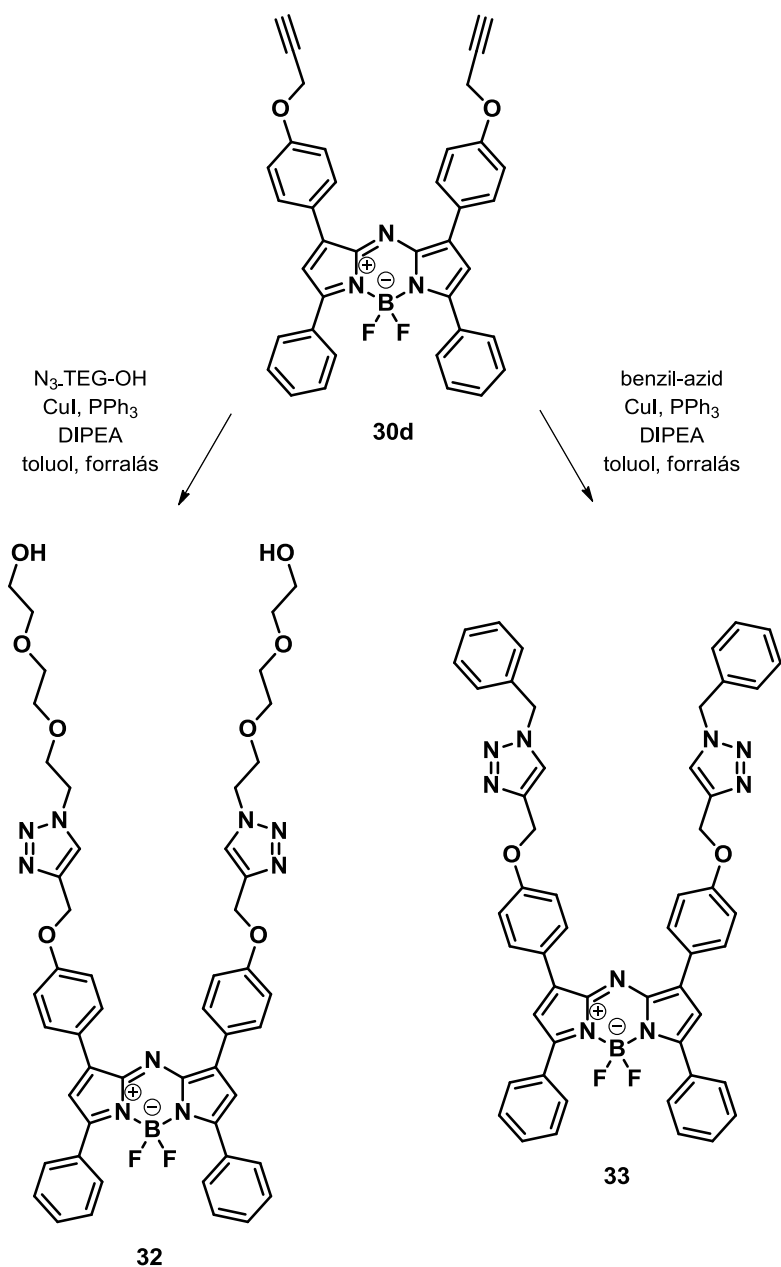


23. ábra A TFAB karboxil és N-propargil származékának előállítása

¹⁵⁶Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, Hlogyik T, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Batta G, Hetényi C, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813

Az újonnan előállított aBOD karbonsav (**31d**) és annak propargilcsoportot tartalmazó amid származéka (**31e**) egyaránt ígéretes lehet gyógyszerhatóanyagok, biomolekulák jelölésére. A karbonsav-forma aktiválást követően észter- és amidképzési reakciók alapját képezheti, a terminális alkin funkciót tartalmazó fluorofór pedig CuAAC és keresztkapcsolási reakciók kiindulási vegyülete lehet.

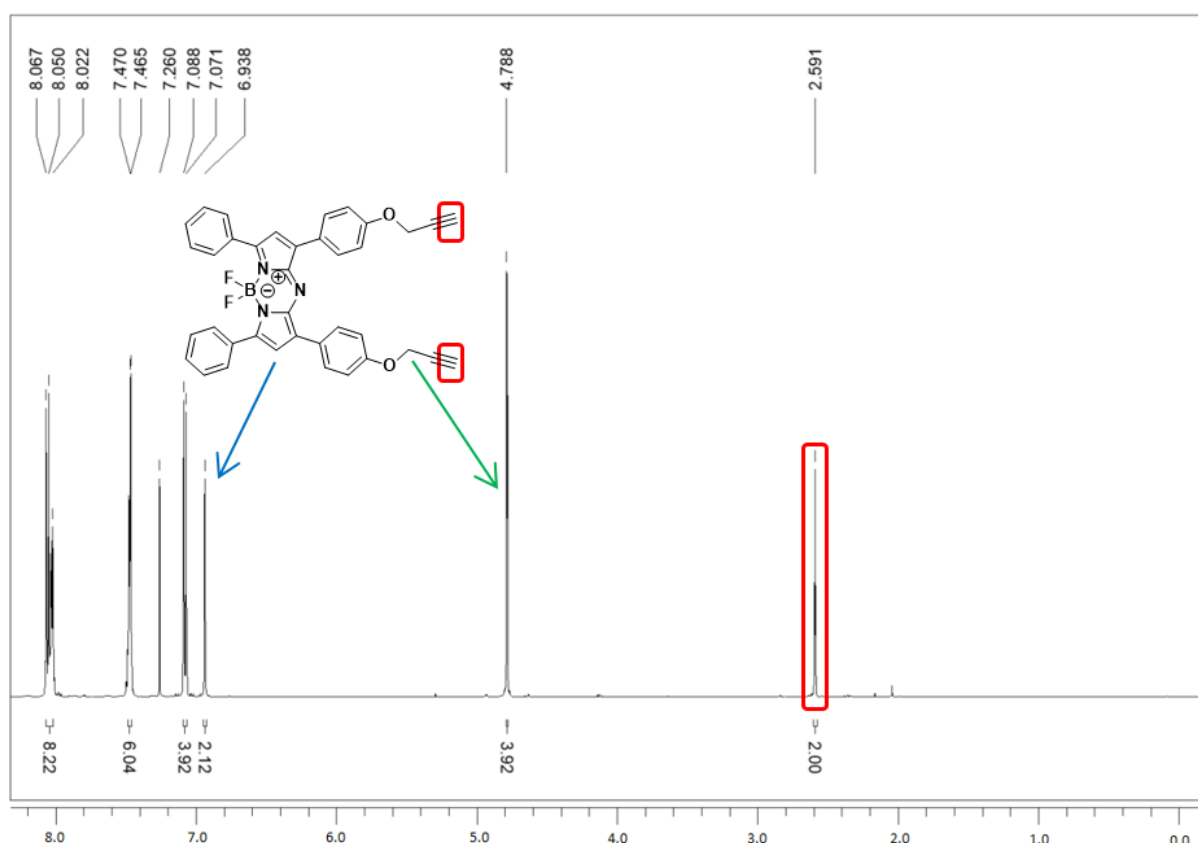
Egy további posztfunkcionalizálás alapját a *bisz*-propargil származék adta (**30d**). Ezt a vegyületet terminális alkinként alkalmaztuk két különböző aziddal való reakcióban. Egyrészt olyan új PS előállítása volt a célunk, amely amfifil oldalláncokkal rendelkezik, emiatt várhatóan nő a vízdékonysága, valamint fokozódik a fényérzékenyítő hatása.¹³¹ Ehhez reakciópartnerként a trietilénglikol azid származékát választottuk, és CuAAC reakciót végeztünk CuI katalizátor és trifenilfoszfán (PPh₃) reagens alkalmazásával. Másrészt benzil-aziddal is végeztünk átalakítást. Választásunkat kutatócsoportunk egy korábbi eredménye indokolta, amely szerint a benziltriazolil molekularészlet daganatellenes hatású szteroidokba való beépítése jelentősen növeli a sejtosztódást gátló aktivitást (24. ábra).¹⁵⁷ A kedvező hatás feltehetően a benziltriazolil származék fokozott sejtbejutási képességnek köszönhető. A reakciót a fent leírtakhoz hasonló módon hajtottuk végre. Mindkét előállított triazol származék új, a szakirodalomban nem ismert vegyület (**32**, **33**). A 4.3.-as fejezetben tárgyaljuk az újonnan előállított vegyületek együttműködésben végrehajtott fotofizikai jellemzését.



24. ábra A bisz-propargil aBOD származék CuAAC reakciói

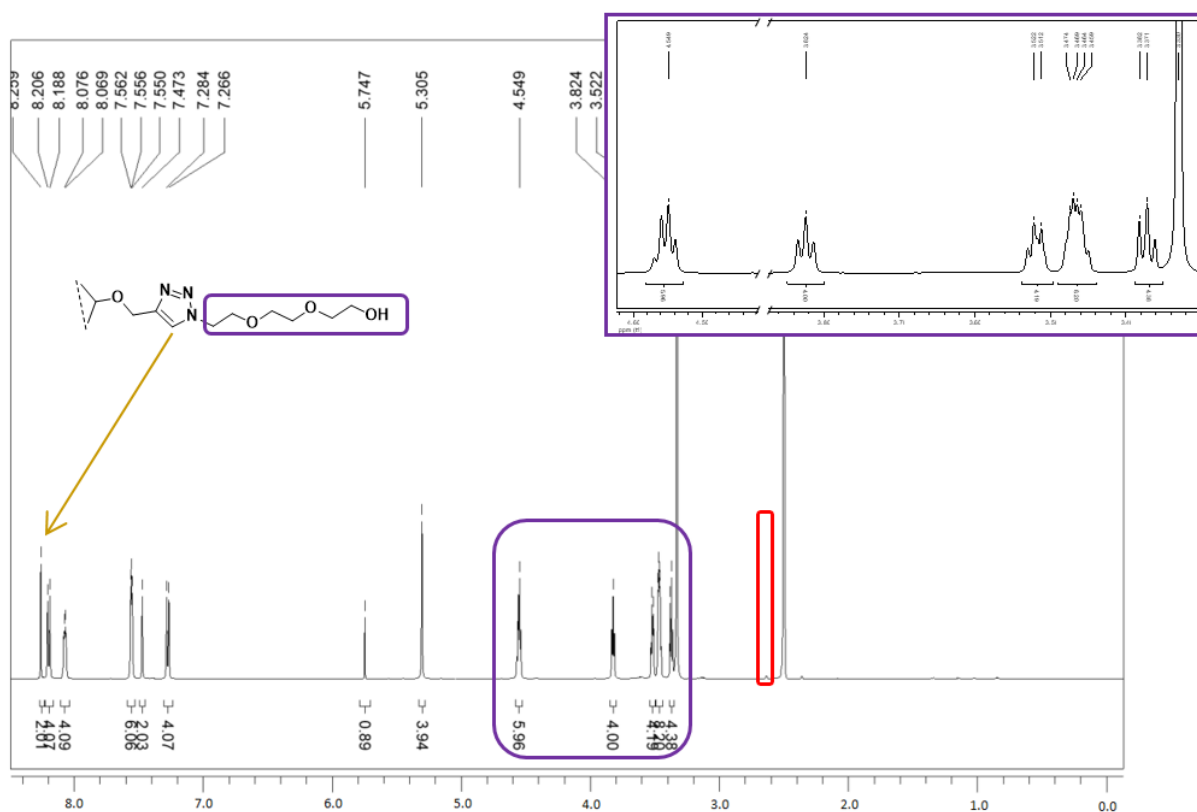
Az előállított vegyületek szerkezetét ^1H -, ^{13}C -NMR spektroszkópiával és HR-MS mérésekkel igazoltuk. A PDT-ben leghatékonyabban (4.4. fejezet) működő trietilén-glikol aBOD származék NMR spektrumait a 25-28. ábrák mutatják be.

A kiindulási TFAB propargil származékánk (**30d**) aromás gyűrűinek protonjai 7,26–8,26 ppm-tartományban jelennek meg, a multiplettek részben átfednek. A pirrolgyűrűk protonjainak jelei ezek közül a legalacsonyabb kémiai eltolódásoknál figyelhetők meg. A propargilcsoport O-CH_2 protonjainak jele 4,78 ppm-nél kétszeres intenzitású szingulettként látható. Az alkin-részlet protonjai 2,59 ppm-nél adnak szingulett jelet.



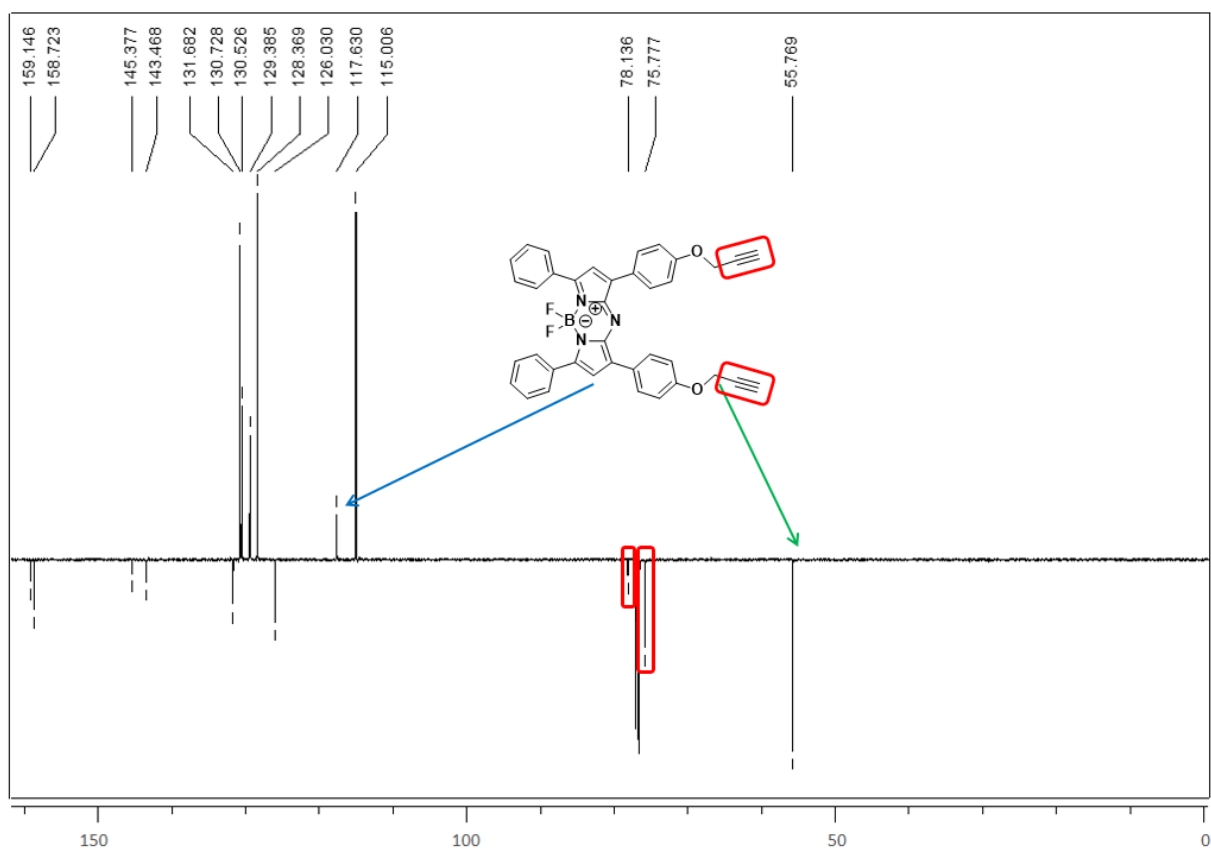
25. ábra A 30d vegyület CDCl₃-ban felvett ¹H-NMR spektruma és hozzárendelt jelei

A 25. ábrán látható (pirossal keretezett) alkin protonok jelei már nem látszódnak a konjugátum spektrumán (26. ábra), de ez még nem feltétlenül jelenti a reakció sikerességét. A célvegyületnél (32) egyrészt az újonnan megjelenő, CuAAC reakció során képződő triazol gyűrű protonjainak szingulettjei utalnak a reakció sikerességére, melyek viszonylag magas, 8,26 kémiai eltolódásnál jelennek meg. Ezeket sárga nyíllal jelöltük és kissé elkülönülnek a többi jeltől. Másrészt a trietilén-glikol oldalláncok O-CH₂ protonjainak multipliettjei is megjelennek ezen a spektrumon, amelyek 3,37–3,82 kémiai eltolódás tartományban figyelhetők meg.

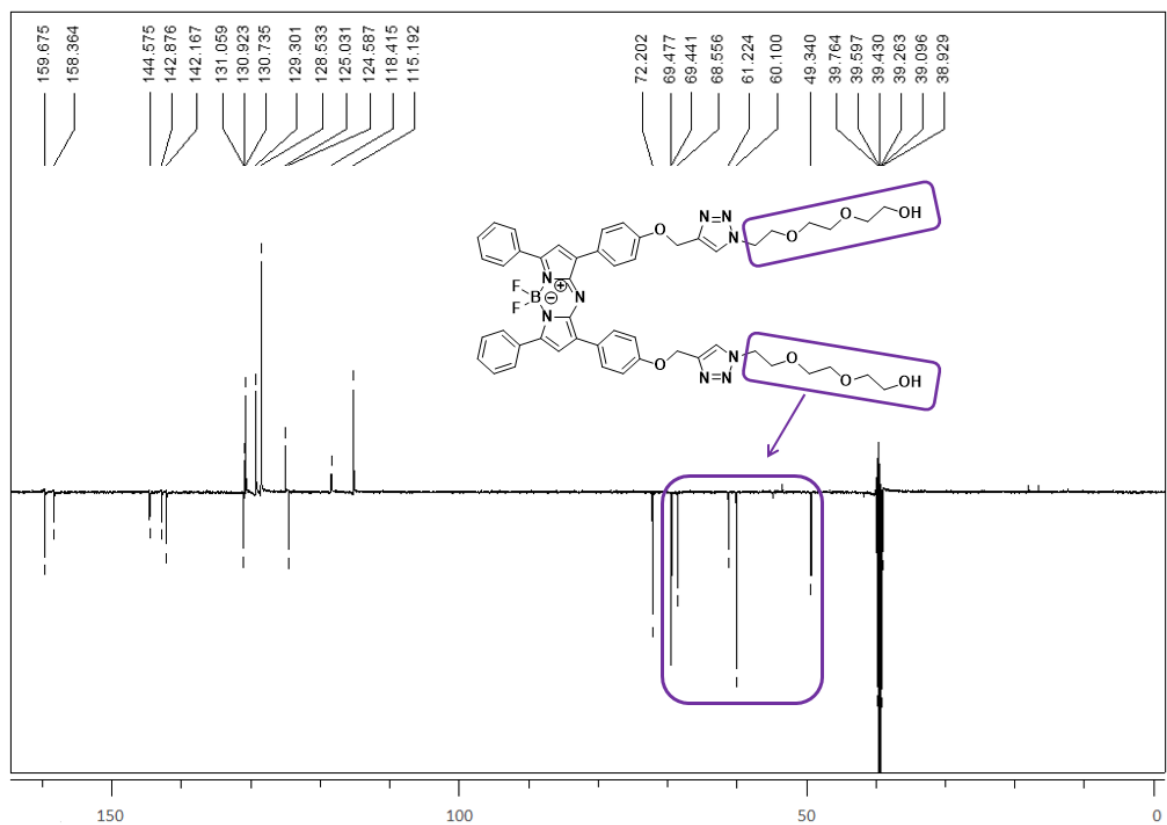


26. ábra A 32-es vegyület DMSO-d₆-ban felvett ¹H-NMR spektruma és a hozzárendelt jelek

A ¹³C-NMR J-mod (csatolási állandó modulált) eljárással felvett spektrumon is jól nyomon követhetők a változások, melyen a primer és terciér szénatomok (-CH₃ és -CH) pozitív, míg a szekunder és kvaterner szénatomok (-CH₂ és -C) negatív csúcsként jelennek meg. Alacsony kémiai eltolódásoknál, 49,34 ppm-től kezdve jelennek meg az oldalláncokhoz tartozó CH₂ csúcsok. Ezt követik a spektrum “aromás tartományában” lévő szénatomok, a fenilcsoportokhoz és az öttagú heterociklusokhoz tartozó CH jelek, 115,2 ppm-től. Negatív csúcsokat adnak a kvaterner szénatomok, melyekből 7 jel látható (14 szénatom), és magasabb kémiai eltolódásoknál, 124,6–159,7 ppm-ig mutatkoznak.



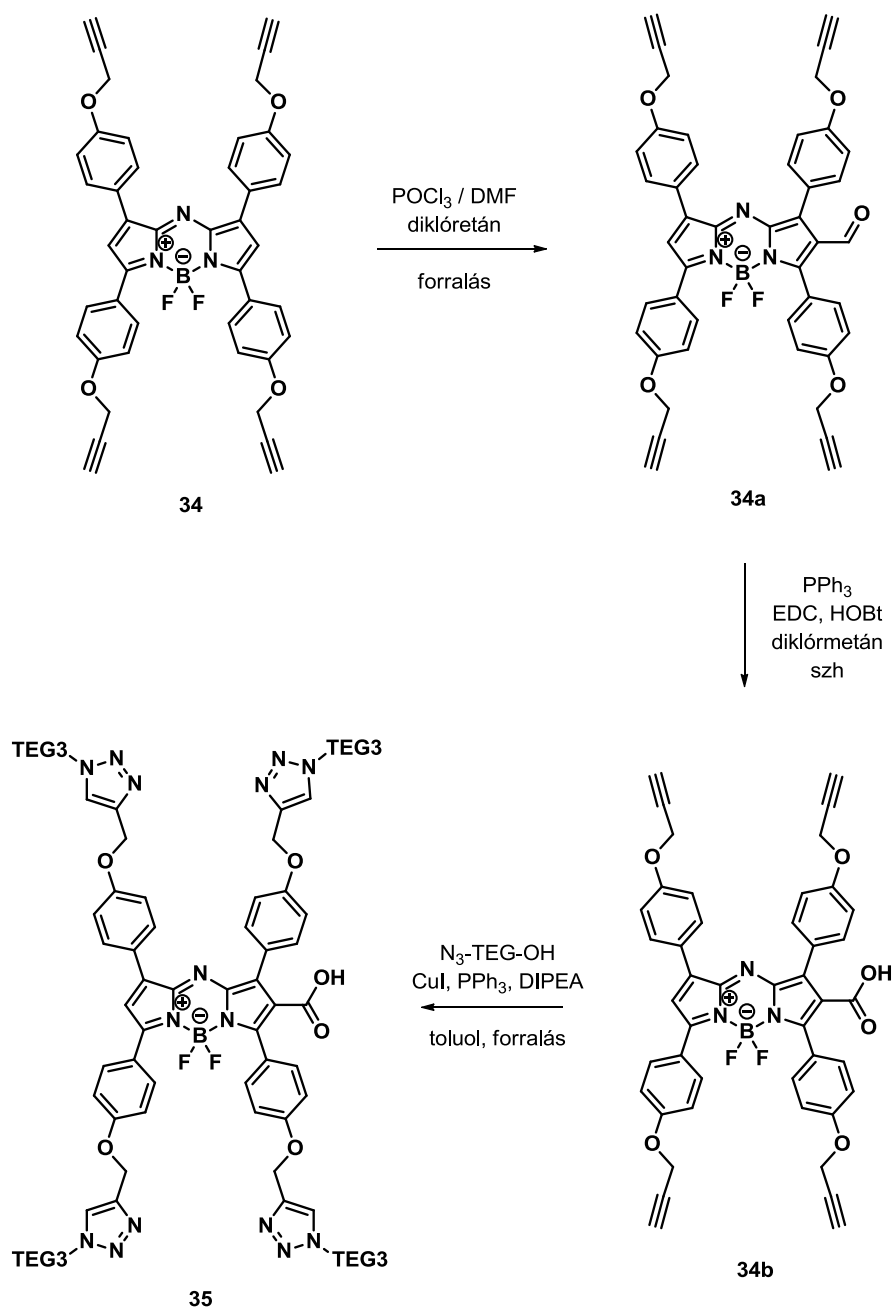
27. ábra A 30d vegyület CDCl_3 -ban felvett ^{13}C -NMR spektruma



28. ábra A 32-es vegyület DMSO-d_6 -ban felvett ^{13}C -NMR spektruma

Mindezek megerősítik, hogy a CuAAC reakció sikeres volt, és a kívánt aBOD származékot állítottuk elő.

A 22. és az 23. ábrán bemutatott posztfunkcionalizálási stratégiákat ötvöztük a *tetra*-propargil származék (**34**) átalakításánál. A 4.1.2.1. fejezetben tárgyalt alapvázsztézis-stratégiával előállított terminális alkin funkciókat tartalmazó vegyületet szelektíven funkcionizáltuk az egyik pirrolgyűrűn (**34a**, **34b**). Ezután négy trietilén-glikol oldalláncot építettünk rá CuAAC eljárással (29. ábra) - az így kapott, négy amfifil oldalláncot tartalmazó festék-karbonsav (**35**) többféle alkalmazási területen is ígéretes lehet. Egyrészt PS-ként tumor fotodinámiában, másrészt jelölő molekulaként. A közeljövőben tervezzük ezen vegyület összehasonlító fotodinámiás vizsgálatát egyéb, PDT-ben *in vitro* vizsgált vegyületeinkkel (4.4. fejezet).



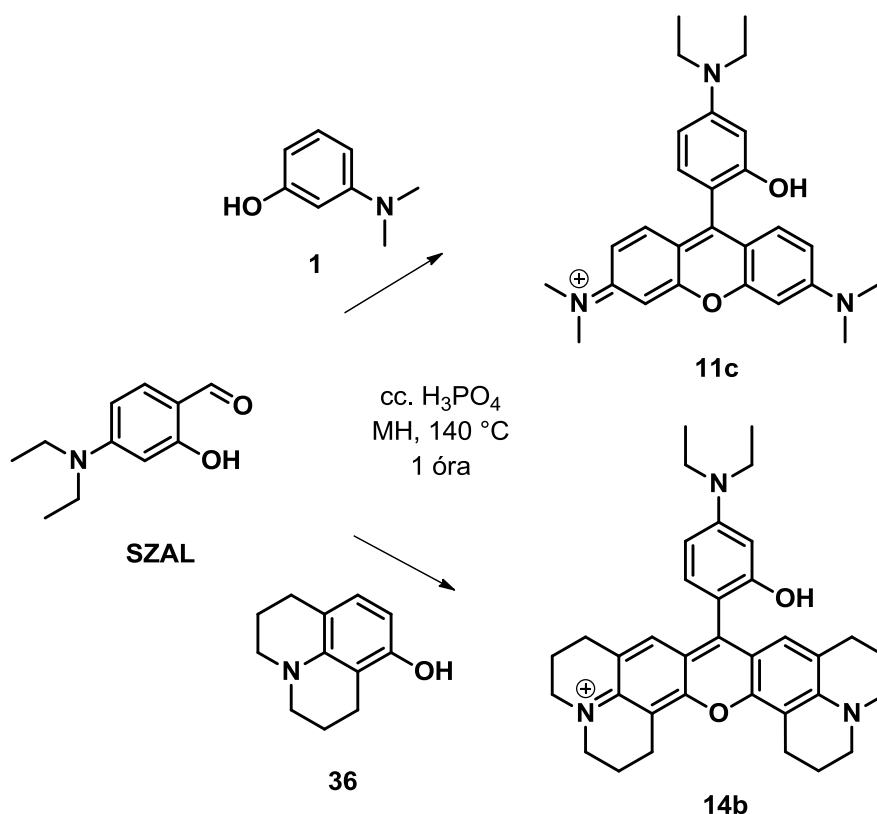
29. ábra A négy TEG-oldalláncot tartalmazó aBOD karbonsav származékának előállítása

4.1.3. Rozamin származékok előállítása

Munkánk során olyan új, 600 nm körül vagy felett emittáló rozamin-típusú festékek előállítását tűztük ki célul, amelyek konjugálásra alkalmas funkciós csoportot is tartalmaznak. Előállítási stratégiánkat olyan kiindulási vegyületre, a szalicilaldehidre alapozunk, amely a formilcsoporthoz képest *orto*-helyzetben hidroxilcsoportot tartalmaz. A szakirodalomban ismertetett eljárásokhoz képest (2.1.5. fejezet) bevezettünk egy újítást, miszerint tömény foszforsavat alkalmaztunk oldószerként. Az ötletet az adta, hogy a szakirodalomban ismert fluoreszcein-típusú festékek előállítására elterjedt eljárás a foszforsavas közegben történő

reakció (MH, 200 °C, 15 perc).¹⁵⁸ Ez alapján a *m*-dimetilamino-fenolt (**1**) és a szalicilaldehidet (SZAL) 140 °C-on forraltuk tömény foszforsavban egy órán át mikrohullámú reaktorban. Az oldatot lehűlés után enyhén meglúgosítottuk, ekkor csapadék kiválást tapasztaltunk. Szűrést követően, a terméket metanollal leoldva a szűrőpapírról, egy oszlopkromatográfiás tisztítási művelet következett, amely eredményeképpen 32 %-os hozammal nyertük a kívánt új vegyületet (**11c**, 30. ábra). A 4.3.-as fejezetben tárgyaljuk az egyik újonnan előállított fluorofór együttműködésben végrehajtott fotofizikai jellemzését.

Egy merevebb alapvázat tartalmazó, magasabb hullámhossz-tartományban emittáló származék előállítása érdekében a következő reakcióban 8-hidroxi-julolidint (**36**) reagáltattunk szalicilaldehiddel. A fentihez hasonló reakciókörülmények között sikeresen előállítottuk az új hidrox-rozamin származékot (**14b**). Azt várjuk, hogy a két új rozamin, delokalizált kationos jellegének köszönhetően daganatellenes és/vagy antibakteriális hatással rendelkezik, ezen kívül biológiailag aktív vegyületek konjugálására is alkalmas lehet.

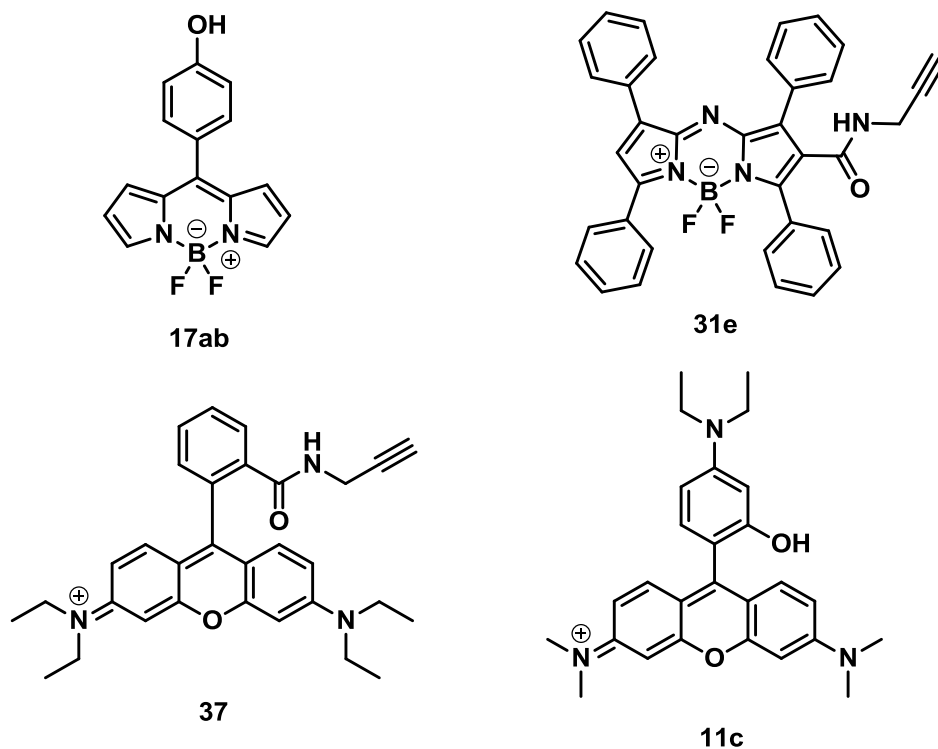


30. ábra Fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező rozamin származékok előállítása

4.2. Biomolekulák fluoreszcens jelölése

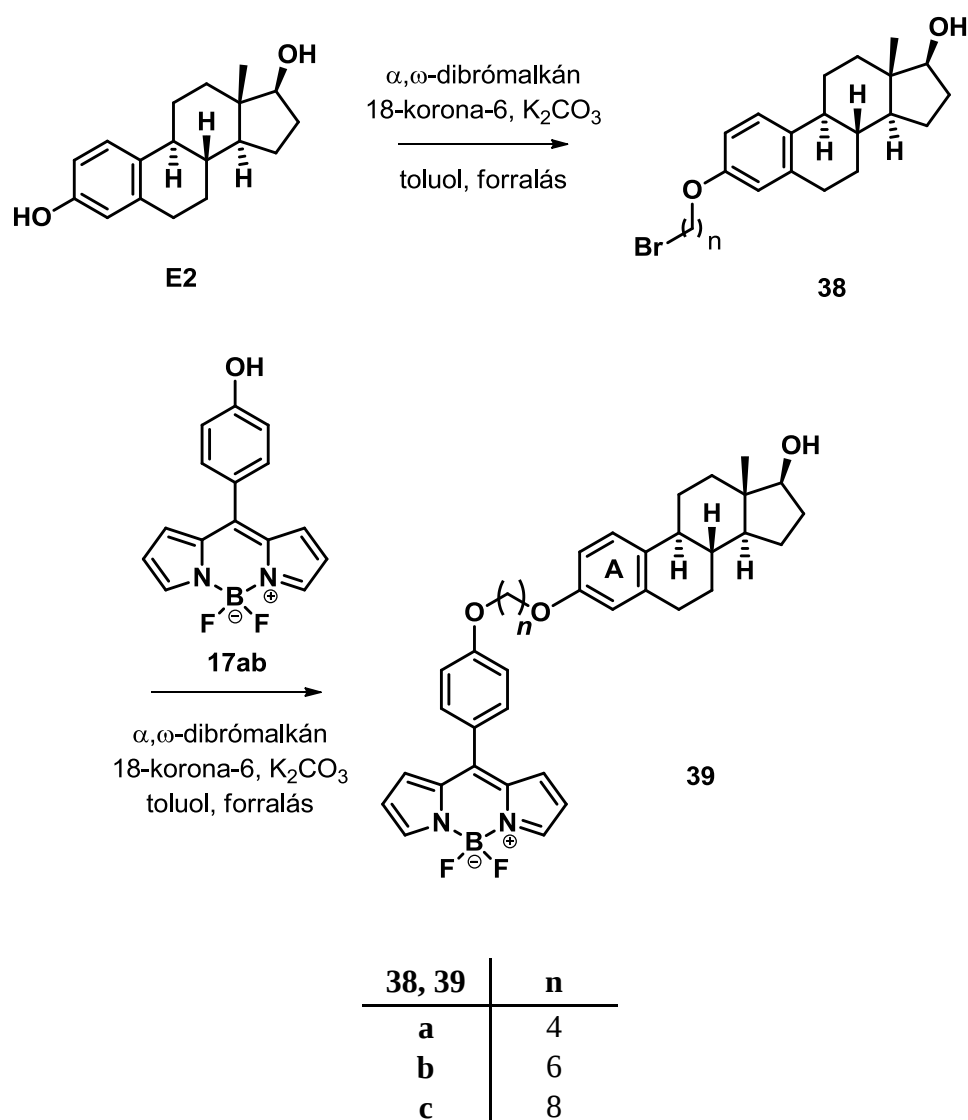
4.2.1. Az E2 átalakításai és *in vitro* biológiai vizsgálatai

A női nemi hormon jelölésére négyféle, eltérő hullámhossz-tartományban emittáló fluorofórt alkalmaztunk (31. ábra). A fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületeket éterképzési, míg a propargil származékot CuAAC reakcióban terveztük a hozzákapcsolni.



31. ábra Az E2 fluoreszcens jelöléséhez kiválasztott fluorofórok

A kapcsolások megvalósításához a szteroid megfelelő átalakítására volt szükség. A 3-as helyzetű hidroxilcsoporton keresztül valósítottuk meg a konjugálásokat, szabad rotációra képes alkil-linker beépítésén keresztül (32. ábra). A szteroid-fenolt háromféle α,ω -dibrómalkánnal reagáltattuk, K_2CO_3 bázis jelenlétében, toluol oldószerben, 18-korona-6 éterrel segítve a kálium ion szerves fázisba való bevitelét. A linkerhossz kiválasztásánál azt vettük alapul, hogy a hormon és a fluorofór távolsága nagymértékben befolyásolhatja a konjugátum biológiai viselkedését, és a szakirodalomban gyakran alkalmazott a hat- vagy a nyolcatomos távoltartó linker konjugálási reakcióit.^{159,160} Az éteresítési reakciók szelektíven, a reaktívabb fenolos hidroxilcsoporton játszódtak le. Ezután újabb éterképzési folyamatokban reagáltattuk a BODIPY (17ab) származékot a brómalkil-oldallánccal ellátott E2 származékokkal (38a-c). Kiváló hozammal nyertük a kívánt, zöld emittáló fluorofórral jelölt E2 származékokat (39a-c).

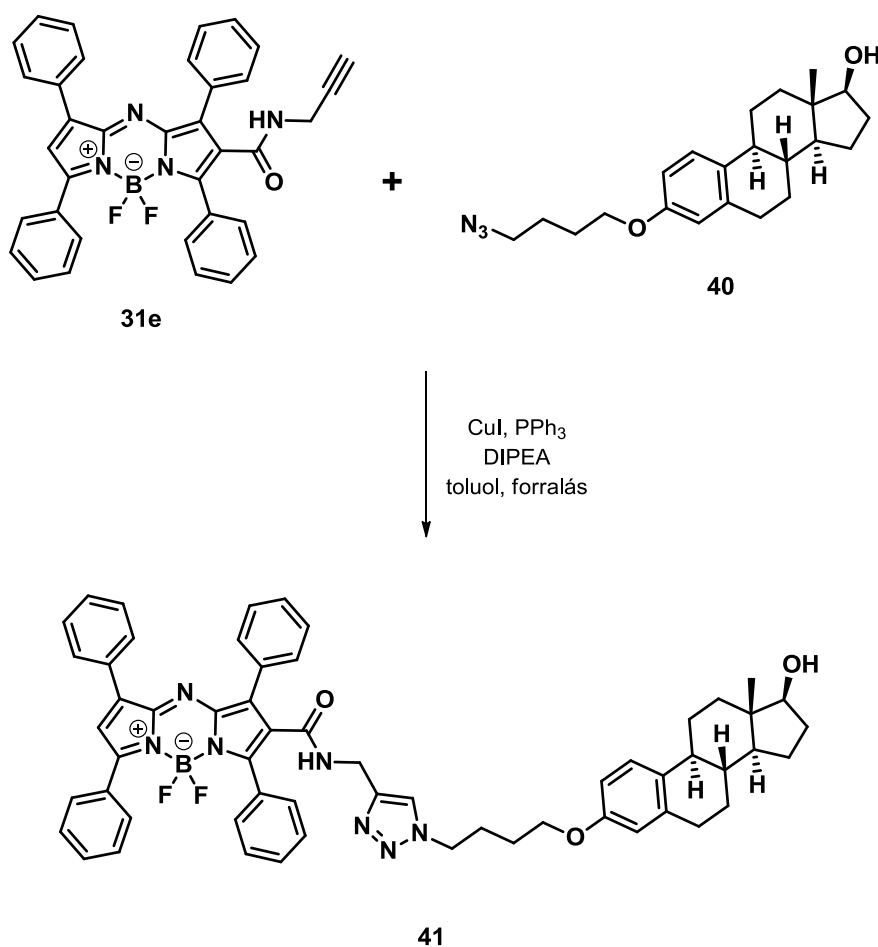


32. ábra Az E2 BODIPY-vel való jelölése a fenolos hidroxilcsoporton keresztül

A fenti ígéretes eredményekre alapozva nemcsak zöld, hanem vörös emittáló festékkel való jelölést is megvalósítottunk.¹⁴⁷ A különböző hullámhossz-tartományban emittáló jelölt ösztrogén más-más biológiai felhasználhatóságot tesz lehetővé. Az elektromágneses spektrum két legkeresettebb színe a zöld és a vörös, amelyek számos kutatási területen széleskörű alkalmazásra találtak.¹⁵⁹

¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075

Az orvosbiológiai képalkotás rendszerint több szín egyidejű használatát igényli a kolokalizációs kísérletek elvégzéséhez, ugyanakkor elengedhetetlen a sejtek autofluoreszcenciájának kiküszöbölése is a mikroszkópos vizsgálatok során. A fenti kutatásban legjobban teljesítő, négyszénatomos linkert tartalmazó azidot (**40**)¹⁴⁷ CuACC reakcióba vittük a propargilcsoportot tartalmazó aBOD alkinnel (**31e**). A CuAAC kapcsolást toluolban valósítottuk meg, forralás mellett, PPh₃ segédreagens és CuI katalizátor jelenlétében, 65 %-os hozammal (33. ábra).



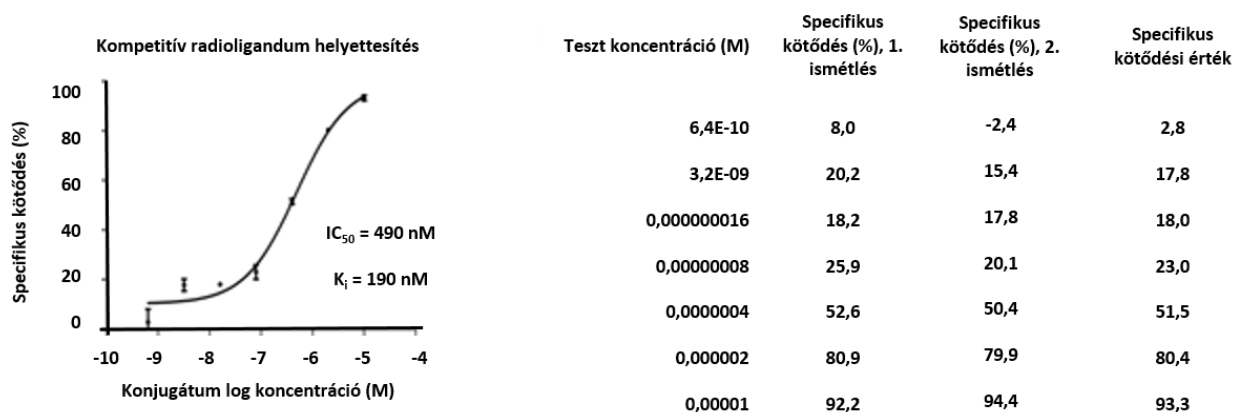
33. ábra Az E2 aBOD-vel való jelölése a fenolos hidroxilcsoporton keresztül

¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075

Az újonnan előállított fluorofór-E2 konjugátumok ösztrogén aktivitását *in vitro* többféle eljárással vizsgáltuk két kutatócsoporttal együttműködve.^{147,156} A zöld emittáló származékok (**39a-c**) jelentősen fokozták az ER-pozitív MCF-7 emlőkarcinóma sejtek osztódását, szemben az ER-negatív SKBR-3 sejtekével. A legpotensebb származéknak a négyszénatomos alkil-linkert tartalmazó vegyület bizonyult (**39a**), amely dózisfüggő ER-transzkripció aktivitást indukált duális luciferáz modellben, továbbá fokozta a progeszteron receptor expresszióját, ezzel is igazolva az ösztrogén aktivitását. Mikroszkópiás eljárással igazoltuk a konjugátum citoszolban és sejtmagban való lokalizációját is. Az ER α -val való közvetlen interakciót kompetitív radioligand kötődési vizsgálattal igazoltuk, amely szerint a konjugátum (**39a**) specifikus kötődést mutat a humán ER α E2-kötőhelyéhez, szubmikromólos tartományba eső IC₅₀- és K_i-értékekkel (34. ábra). Tudomásunk szerint kutatócsoportunk közölte az első közvetlen bizonyítékot a szakirodalomban¹⁵⁶ arra vonatkozóan, hogy egy a 3-as hidroxilcsoporton fluoreszcensen jelölt ösztrogén a hER α E2-kötőhelyéhez specifikusan kötődik. A szakirodalom egyértelműen hangsúlyozza, hogy a fenolos hidroxilcsoport jelenléte elengedhetetlen a receptorkötődéshez.¹³⁴ A fentiek alapján kijelenthetjük, hogy a 3-as hidroxilcsoporton négyszénatomos alkil linker beépítésével, éterkötéssel keresztül fluoreszcensen jelölt E2 (**39a**), ösztrogén aktivitását megtartva olyan biológiai vizsgálatok alapját képezheti, amelyekhez jól detektálható ösztrogének szükségesek. Kutatásunk az ösztrogén hormonok változatos biológiai hatásmechanizmus-feltárásának is kiváló alapja lehet.

¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075

¹⁵⁶Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, Hlogyik T, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Batta G, Hetényi C, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813



34. ábra Az **39a** konjugátum specifikus kötődése a hER α -hoz, [3H]-E2 radioligand assay-vel mérve (Eurofins, Cerep). A specifikus kötődést a ligand kötődéséhez viszonyítva %-ban adtuk meg.

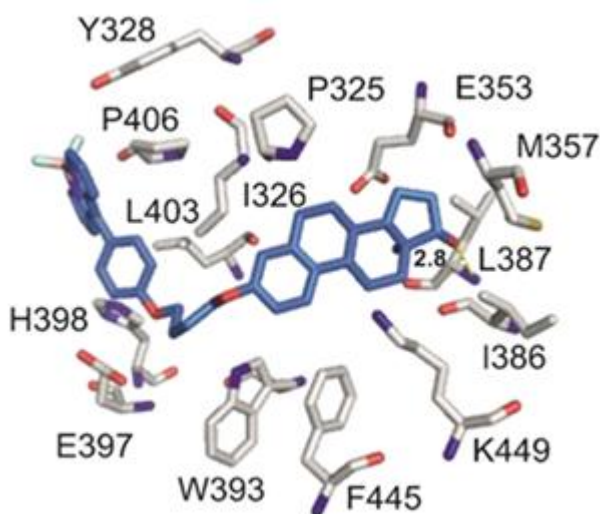
A zöld és a vörös emittáló konjugátumok jól kiegészítik egymást. A magasabb hullámhosszon emittáló vegyület - mélyebb szöveti penetrációjának köszönhetően - alapjául szolgálhat élő sejt képzési technikák fejlesztéséhez, melyek nagy térbeli és időbeli felbontású képzést tesznek lehetővé. A vörös emittáló vegyület (**41**) biológiai vizsgálatait együttműködésben végeztük az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével, valamint az SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszékével.¹⁴⁸ Az újonnan előállított fluoreszcens konjugátum jelentős ösztrogén hatását transzkripciós luciferáz-assay segítségével igazoltuk. Annak ellenére, hogy az E2 molekulához egy jóval nagyobb méretű és szerkezetileg eltérő festéket kapcsolunk, mint a korábbiakban¹⁵⁶, az így kapott származék is megtartotta ösztrogén aktivitását. A konjugátum sejtkompartmentekben való eloszlását fluoreszcens konfokális mikroszkópiával vizsgáltuk az ER-pozitív T-47D sejtvonalon. A vörös fluoreszcencia nemcsak a citoszolban, hanem a sejtmagban is megfigyelhető volt.

¹⁴⁸Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem. **2023**, 21, 6018-6027

¹⁵⁶Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, Hlogyik T, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Batta G, Hetényi C, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813

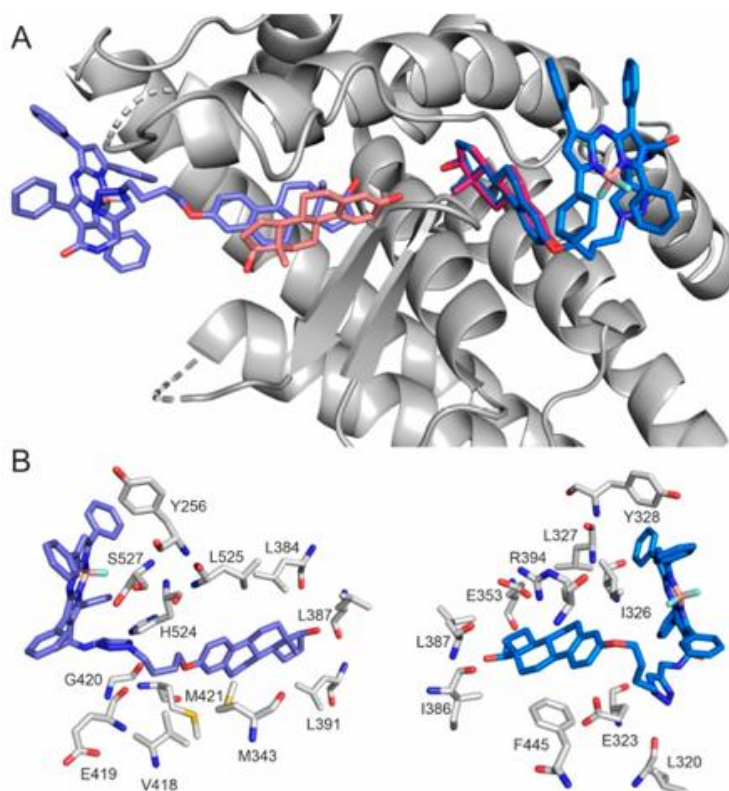
A konjugátumok kötődési módját a humán ER α ligandkötő doménjének két kötőhelyén (ABS és CBS) a PTE ÁOK Farmakoinformatikai Tanszékén Dr. Hetényi Csaba kutatócsoportjával együttműködve, molekuláris dokkolással vizsgáltuk.

A dokkolási eredmények alapján mindkét fluoreszcensen jelölt E2 (**39a**, **41**) képes elfoglalni a megfelelő kötőhelyeket, azonban a kötődési geometriájuk eltérő. A BODIPY–E2 a szterán vázán keresztül mindkét kötőhelyen a szabad E2-höz hasonló konformációt vett fel, azaz a szteránváz orientációja és a kölcsönhatások mintázata az E2 referenciához jól illeszkedett az ABS-ben és a CBS-ben egyaránt (35. ábra).



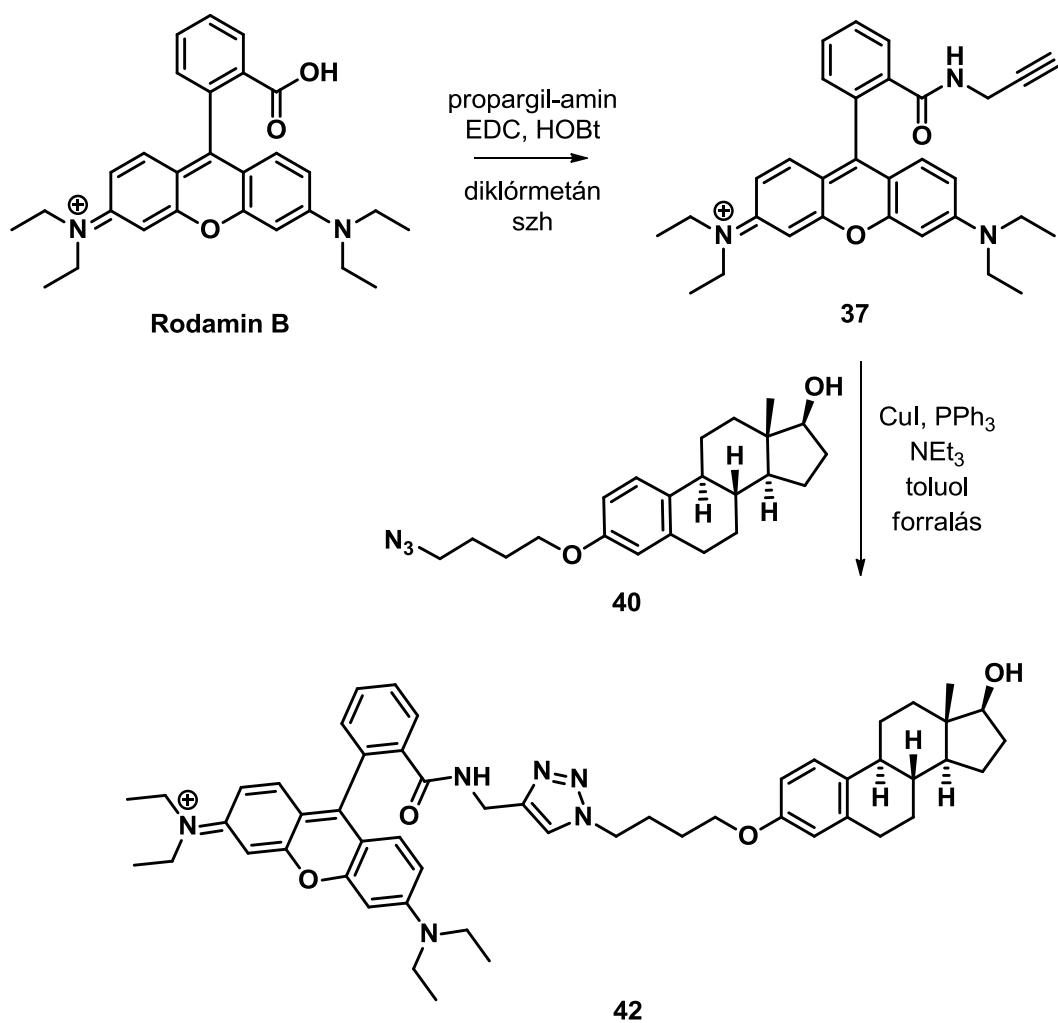
35. ábra A **39a** konjugátum kötődése és konformációja az ABS és a CBS kötőhelyeken

Az aBOD–E2 konjugátum a fluorofór nagyobb mérete ellenére az ABS-ben megfelelően átfed az E2-vel, viszont a CBS-ben, a zseb zártabb jellege miatt, az „A”-gyűrű pozíciója felcserélődött a „D”-gyűrűjével, emiatt a C-3-O molekularészlet nem tudta kialakítani a megfelelő hidrogénkötéseket (36. ábra).



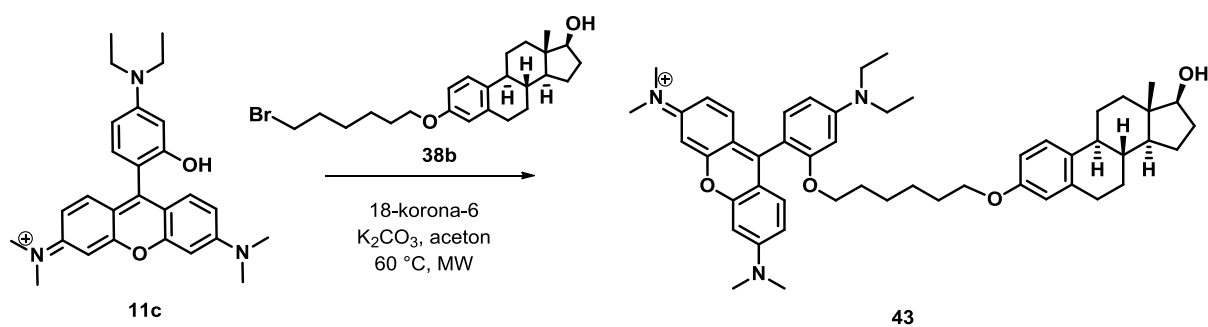
36. ábra A: aBOD-val jelölt E2 (**41**, kék) és a jelöletlen E2 (lila) kötődése a CBS-en (balra) és az ABS-en (jobbra). B: A konjugátum (**41**) kötődése és konformációja a receptoron, közelebből

A zöld vagy vörös emittáló BODIPY festékekkel való jelölést követően rodamin és rozamin származékot is kapcsoltunk (**11c**, **37**) az E2-höz annak érdekében, hogy köztes hullámhosszon emittáló, más tulajdonságokat hordozó, jelölt ösztrogéneket kapjunk. Szintézisstratégiáinkat az előzőekhez hasonlóan terveztük meg: a fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező festéket éteresítéssel, míg a propargil származékot CuAAC reakcióval terveztük kapcsolni. Ez utóbbi végrehajtásához szükségünk volt a rodamin festék propargil származékára. Kiindulási vegyületként a kereskedelmi forgalomban jól hozzáférhető Rodamin B-ből indultunk ki. A festék-karbonsavat EDC és HOBt kapcsoló reagensek alkalmazásával propargil-aminnal reagáltattunk, a terméket (**37**) 30 %-os hozammal nyertük. A CuAAC reakció már magasabb, 66 %-os hozammal eredményezte az adott körülmények között spirociklussá záródó célvegyületet (**42**).



37. ábra Rodamin festékkal jelölt, 4 szénatomot tartalmazó linkerrel ellátott E2 előállítása

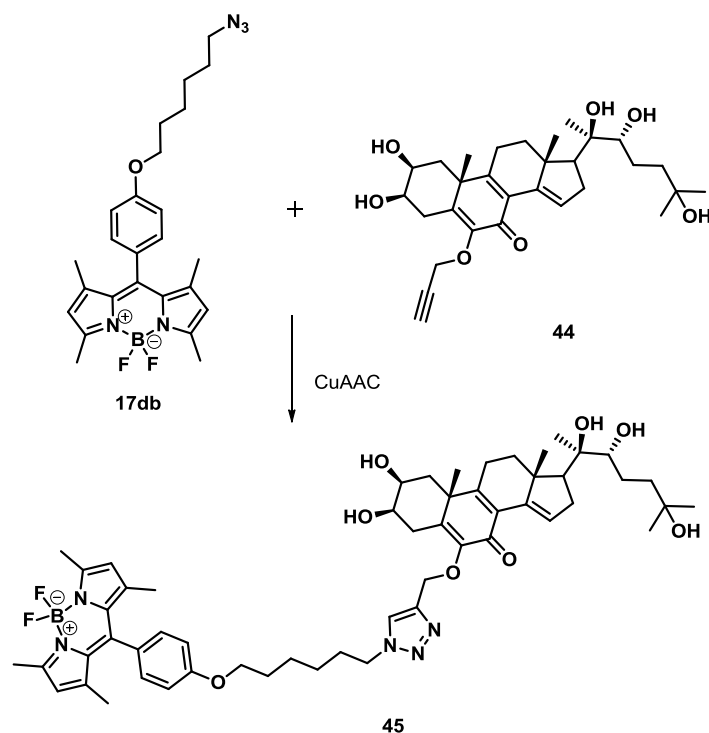
Az újonnan előállított, fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó rozamint (**11c**) éterkötéssel kapcsoltuk az E2-höz (38. ábra) a fentiekben ismertetett körülmények között (32. ábra).



38. ábra A rozamin-E2 konjugátum előállítása

A fluoreszcensen jelölt konjugátumot (**43**) ösztrogén-aktivitási vizsgálatnak vetettük alá együttműködésben, az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében, a T47D-KBluc riporter sejtvonalon. A konjugátum koncentrációfüggő ER-aktivációt váltott ki, az E2-hez viszonyított relatív luciferáz-jel alapján szubmikromólos hatástartományban ($IC_{50} = 328$ nM-os értékkel).

Nemcsak az E2 mint női nemi hormon, hanem a kaloniszteron (**27**) fluoreszcens jelölésére is kidolgoztunk egy eljárást. A vegyület enolos hidroxilcsoportja lényegesen eltérő reaktivitást mutat a többi, alkoholos OH-hoz képest. Ezt kihasználva szelektív reakciók hajthatók végre az alapvegyületen. Olyan jelölési stratégiát terveztünk, amely az enol-jellegre alapoz, és a kutatócsoportban elérhető félszintetikus 6-O-propargil származékot (**44**) terminális alkinként alkalmazva, CuAAC reakció végrehajtását terveztük, szabadon rotáló távoltartó elem közbeiktatásával. Sikeresen végrehajtottuk a konjugációt egy olyan zöld emittáló BODIPY azid származékkal, amely hat szénatomos alkil linkert tartalmaz (**17db**). A kapcsolás jó hozammal (65 %) szolgáltatta a kívánt konjugátumot (**45**, 39. ábra). Együttműködésben tervezzük a céltermék arra irányuló biológiai vizsgálatát, hogy a jelöléssel megtartotta-e a természetes eredetű vegyület a biológiai aktivitását. Amennyiben a jelölt vegyület megtartotta az eredeti biológiai aktivitást, a konjugátum nagymértékben segítheti a kaloniszteron ígéretes biológiai viselkedésének feltérképezését.



39. ábra A kaloniszteron propargil származékának jelölése fluoreszcens molekulával

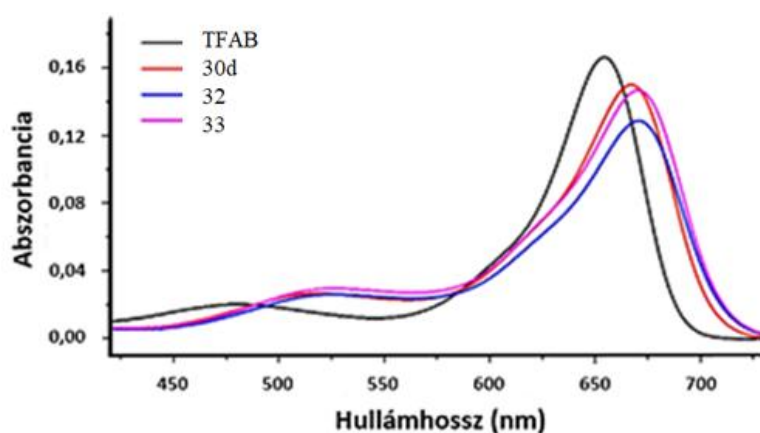
4.3. A fluorofórok és konjugátumaik spektroszkópai vizsgálata

Az UV-VIS és fluoreszcencia spektroszkópai vizsgálatokat és a fluoreszcencia kvantumhatásfok meghatározását a Pécsi Tudományegyetem Laboratóriumi Medicina Intézetének munkatársával, Dr. Poór Miklóssal és a Kísérleti Fizika Tanszékről Dr. Erostyák Jánossal együttműködésben végeztük.

A 2. táblázat és a 40. ábra az aBOD származékok UV-látható és fluoreszcencia spektroszkópai jellemzőit mutatják. Az adatokból kitűnik, hogy a **TFAB** mutatja a legalacsonyabb abszorpciós és fluoreszcencia emissziós hullámhossz-maximumokat (a vörös tartományban), míg a két triazol származék emissziós hullámhossz-maximuma már 700 nm fölé tolódik. A legintenzívebb abszorpciót és emissziót a **TFAB** mutatta a vizsgált körülmények között.

2. táblázat a TFAB, 30d, 32 és 33-as vegyületek főbb UV-VIS és fluoreszcencia spektroszkópai tulajdonságai DMF-ben (λ_{absz} : abszorpciós hullámhossz maximum, λ_{em} : emissziós hullámhossz maximum, $\Delta\lambda$: Stokes-eltolódás, ϵ_{max} : moláris abszorpciós koefficiens)¹⁴⁸

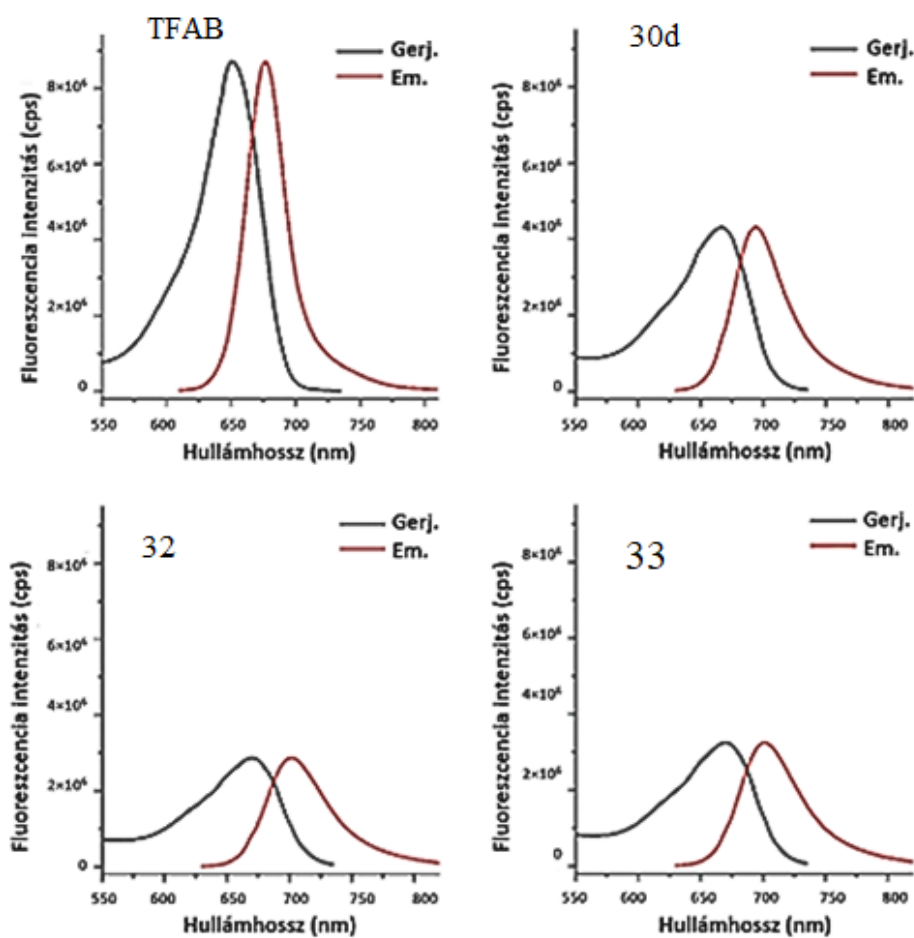
Vegyület	TFAB	30d	32	33
Oldószer	DMF	DMF	DMF	DMF
λ_{absz} [nm]	654	667	670	670
λ_{em} [nm]	676	693	701	701
$\Delta\lambda$ [nm]	22	26	31	31
ϵ_{max} [M ⁻¹ cm ⁻¹] ($\pm$ SD)	81987 ($\pm$ 7394)	74435 ($\pm$ 4023)	64505 ($\pm$ 5206)	73825 ($\pm$ 5586)



40. ábra A TFAB, 30d, 32 és 33 vegyületek (2 μ M) abszorpciós spektrumai DMF-ben¹⁴⁸

Az abszorpciós és fluoreszcencia emissziós spektrumok felvételével határoztuk meg az általános spektroszkópai tulajdonságokat: az abszorpciós hullámhossz maximumot ($\lambda_{\text{absz(max)}}$), a moláris extinkciós koefficiens (ϵ) és a fluoreszcencia emissziós hullámhossz maximumot ($\lambda_{\text{em(max)}}$). A gerjesztési és emissziós maximumok különbsége az ún. Stokes-eltolódás ($\Delta\lambda$), ami abból adódik, hogy az emittált fény energiája alacsonyabb a gerjesztő fény energiájához viszonyítva, így a kibocsátott fény frekvenciája alacsonyabb és hullámhossza magasabb a gerjesztő fényénél. A négy vizsgált származék közül a **TFAB** abszorbanciája volt a legmagasabb, abszorpciós maximumát 654 nm-en figyeltük meg (41. ábra).

¹⁴⁸Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem. **2023**, 21, 6018-6027

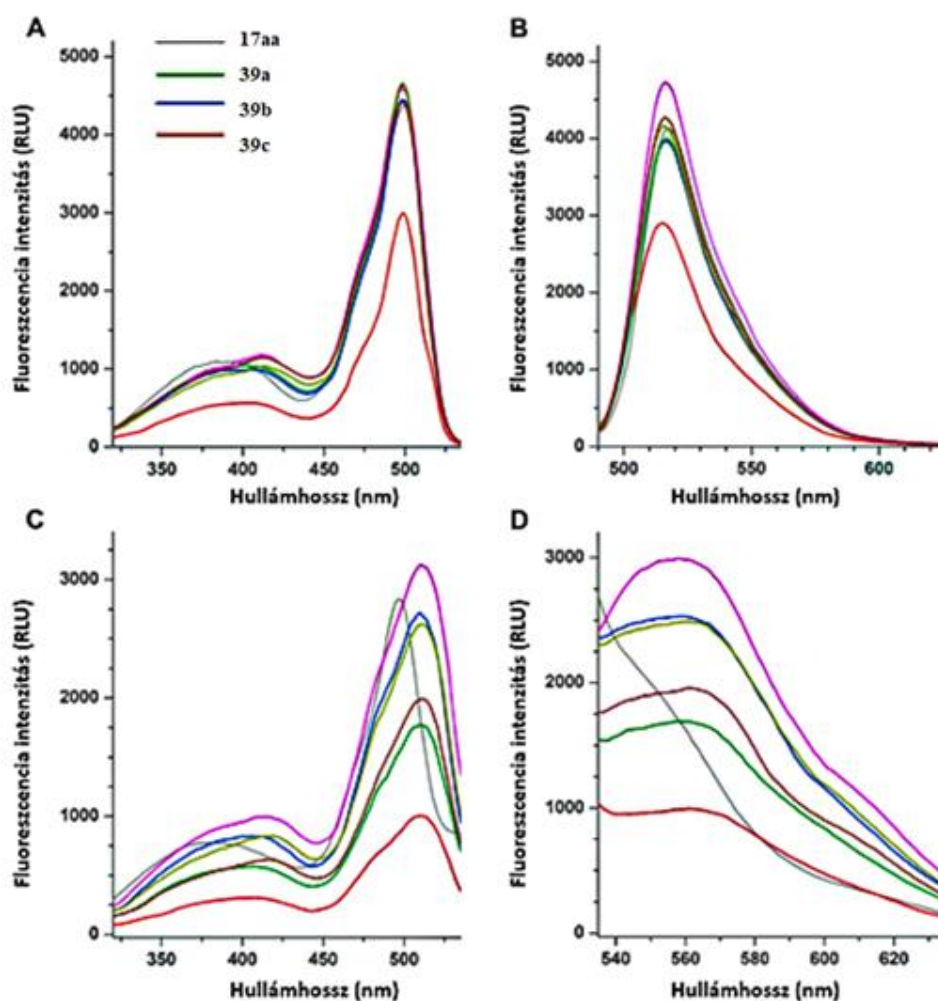


41. ábra A **TFAB**, **30d**, **32** és **33** vegyületek (2 μM) emissziós spektrumai DMF-ben¹⁴⁸

A többi vegyület abszorpciós maximuma ennél magasabb hullámhossz tartományban (667–670 nm) jelent meg. Az emissziós maximumokat 676–701 nm között határoztuk meg (3. táblázat). DMF-ben a **TFAB** mutatta a legerősebb fluoreszcenciát. A spektrumok közelítő becslést adhatnak a vegyületek PDT-ben való alkalmazhatóságára is. Egyrészt abszorpciójuk a terápiás ablakba esik, másfelől a fluoreszcencia intenzitás csökkenése (különösen a **32**-es vegyületnél) utalhat rá, hogy a **TFAB**-hoz képest a gerjesztett populáció inkább T^1 állapotba kerül át, ami $^1\text{O}_2$ termelődéséhez vezet.

¹⁴⁸Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem. **2023**, 21, 6018-6027

Az 42. ábra a zöld hullámhossztartományban emittáló BODIPY–E2 konjugátumok gerjesztési és emissziós spektrumait hasonlítja össze két különböző oldószerben.



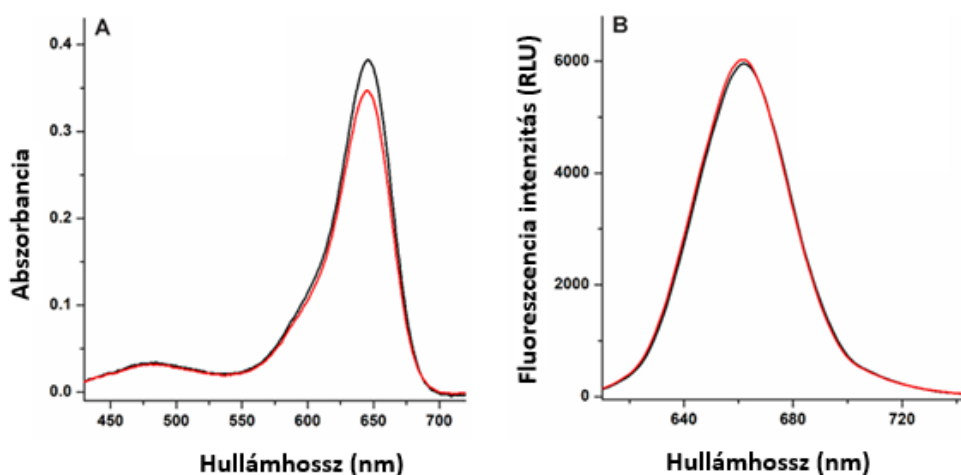
42. ábra A propargilezett BODIPY származék (**17aa**) és a különböző hosszúságú linkereket tartalmazó BODIPY–E2 konjugátumok (**39a–c**) fluoreszcencia gerjesztési (A, C) és emissziós (B, D) spektrumai 10 μM -os koncentrációknál. A felső paneleken a DMF-ben, az alsó paneleken a nátrium-foszfát pufferben (0,05 M, pH 7,4) felvett spektrumok vannak feltüntetve¹⁵⁶

A DMF-ben mért spektrumok esetében a gerjesztési maximum 498 nm, míg az emissziós maximum 515 nm környékén látszik (42. ábra).

¹⁵⁶Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, Hlogyik T, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Batta G, Hetényi C, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813

A vegyületek fluoreszcencia emissziós intenzitásai között kisebb-nagyobb különbségek figyelhetők meg, a 8 szénatomos linkert tartalmazó BODIPY-éter származék E2-konjugátuma (**39c**) mutatta a leggyengébb emissziós jelet. Foszfát pufferben (pH 7,4) ezek az értékek 510/560 nm-re tolódtak, amit a poláris közeg hatására bekövetkező batokróm eltolódás okozhat. A pufferben tapasztalt vöröseltolódás, a fluoreszcencia intenzitások jelentős csökkenése, valamint a gerjesztési és emissziós rések változása (DMF-ben 5 nm, foszfát pufferben 10 nm) alapján a konjugátumok polaritásérzékeny emissziójával rendelkeznek. Ez alapján a rövid, 4 szénatomos linkerrel rendelkező konjugátumok intenzívebb emissziós jelet mutatnak, különösen a triazol összekötő elemet tartalmazó származék. A **17aa** vegyület esetében nagyobb mértékű fényszórást tapasztaltunk, mint a többi származéknál (42. ábra, D panel), ami magyarázza az emissziós spektrumának eltérő alakját. Mivel a Rayleigh-szórás a vegyület saját jeléhez viszonyítva elég magas (ezt okozhatja a molekulák aggregációja a vizes közegben, így nem kaptunk szép tiszta spektrumot ennél a vegyületnél).

Az 43. ábra az aBOD alkin-származék (**31e**), valamint az aBOD–E2 konjugátum (**41**) abszorpciós és emissziós spektrumait szemlélteti. Mindkét vegyület esetében 645 nm-en figyeltük meg az abszorpciós maximumokat, továbbá a fluoreszcencia emissziós maximumaik (664/663 nm) és kvantumhatásfok értékeik ($\approx 18\%$) is hasonlóak voltak. Így ilyen tekintetben nem tapasztaltunk jelentős eltéréseket e két vegyület között.

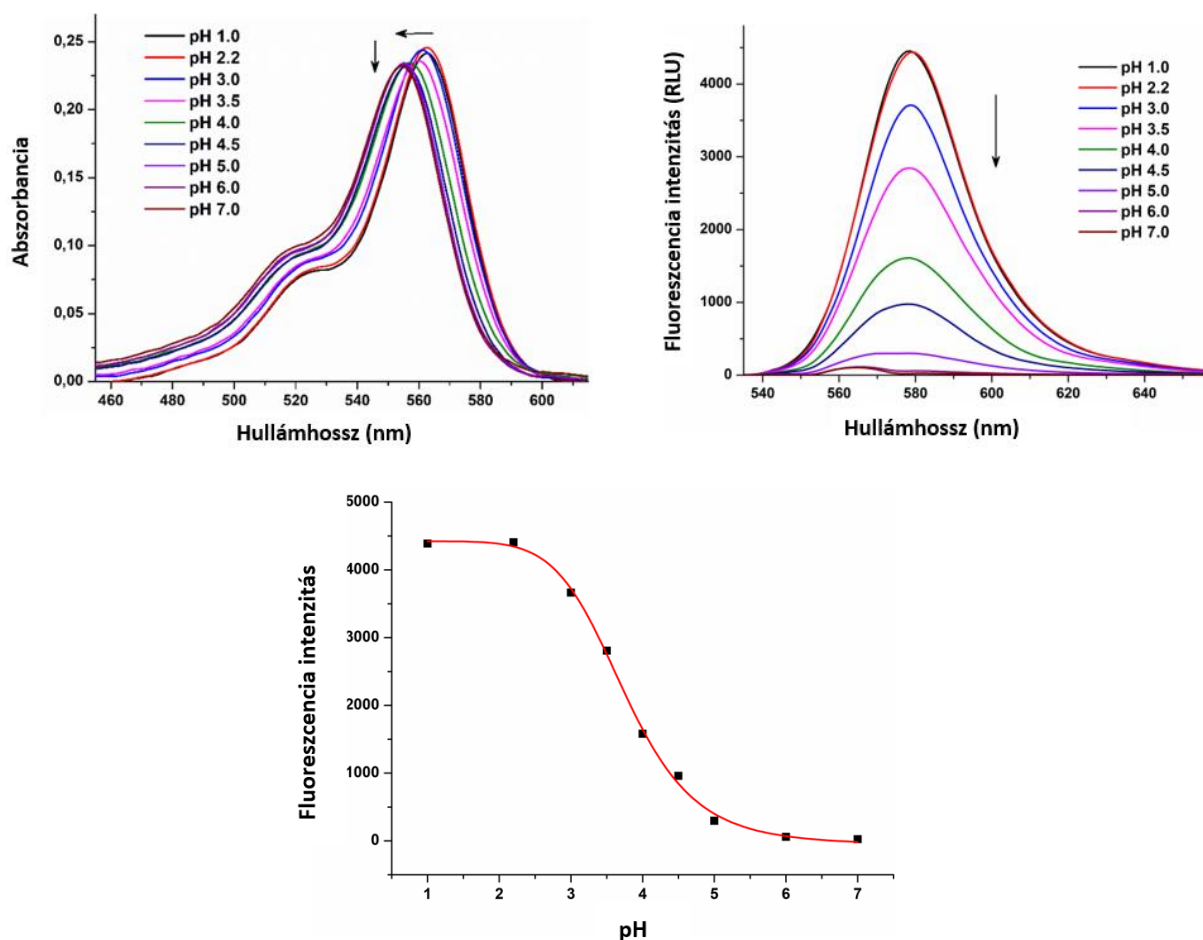


43. ábra A **TFAB** vegyület (fekete) és E2-vel alkotott konjugátumának (**41**, piros) abszorpciós (A) és emissziós (B) spektrumai DMSO-ban¹⁴⁷

¹⁴⁷Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075

Az 44. ábra a szabad, fenolos –OH-val rendelkező rozamin származék (**11c**) UV-VIS és fluoreszcencia emissziós spektrumait prezentálja különböző McIlvaine (citrát-foszfát) pufferekben.

A festék fluoreszcencia spektroszkópiai viselkedése erős pH-függést mutat: savas közegben a fluoreszcencia intenzitása nagy, majd a pH növekedésével fokozatosan csökken, és pH 6 körül gyakorlatilag megszűnik a jel.



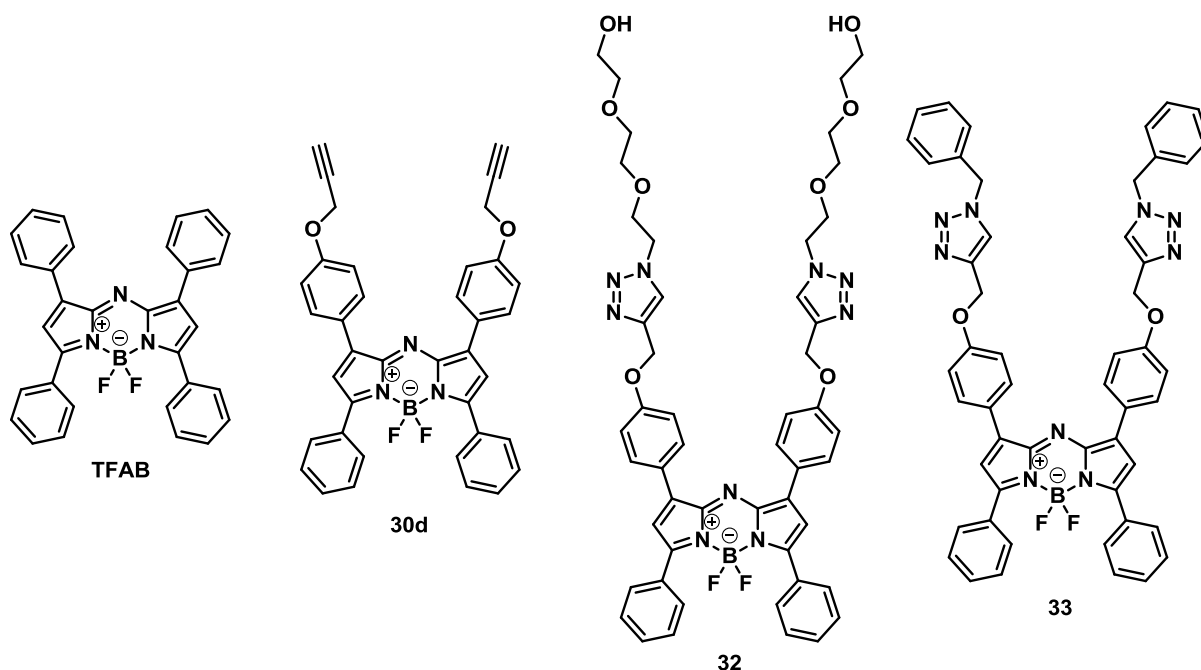
44. ábra A rozamin származék (**11c**) abszorpciós (bal felső panel) és fluoreszcencia emissziós (jobb felső panel) spektrumai 0,1 M-os sósav oldatban (pH 1,0) és McIlvaine pufferekben (pH 2,2–7,0). A fluoreszcenciás jel ($\lambda_{\text{ex}} = 563 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 580 \text{ nm}$) változása a pH függvényében (alsó panel).

Az abszorpciós görbéken csak mérsékelt jelcsökkenést és enyhe kék eltolódást tapasztaltunk a pH emelkedésével. Ezzel szemben az emissziós intenzitások markáns csökkenése figyelhető meg a pH függvényében, miközben az emissziós hullámhossz maximum nem mutatott jelentős változást. A fluoreszcencia pH 6 körül már nagymértékben lecsökken, utána nem

tapasztható további, releváns változás. Az adatok alapján szigmoid illesztéssel határoztuk meg a vegyület savi disszociációs állandóját: $pK_a = 3,75$. Egy korábban már hivatkozott tanulmányban, hasonló szerkezetű rozamin vegyületre 4,73-as pK_a értéket mértek.⁶⁷

4.4. Vörösemittáló molekulák felhasználása fotodinámiás terápiában

A Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézettel együttműködésben vizsgáltunk a kiválasztott aBOD vegyületek fotodinámiás daganatellenes hatását az A431 humán bőrlaphám-karcinóma sejtvonalon (45. és 46. ábra).¹⁴⁸

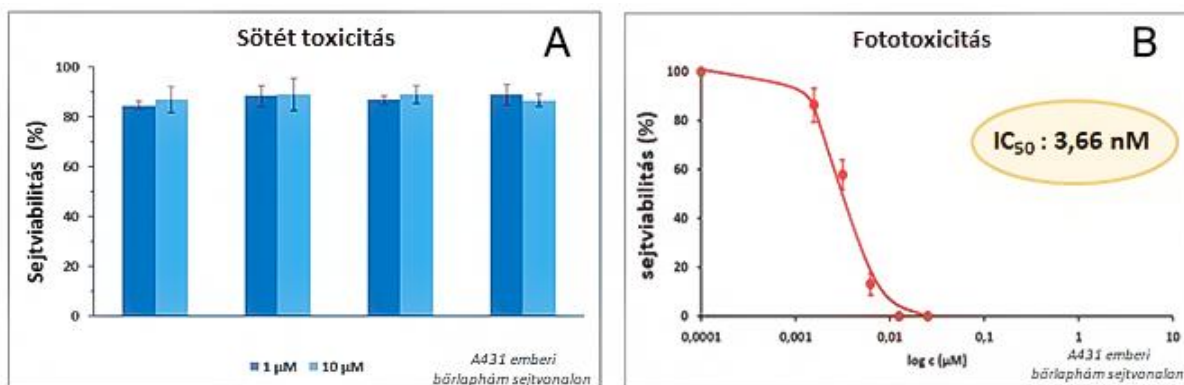


45. ábra A PDT-re kiválasztott vegyületek szerkezete

Egyik tesztvegyület sem mutatott jelentős sötét toxicitást még 10 mikromólos tesztkoncentrációban sem.

¹⁴⁸Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem. **2023**, 21, 6018-602

Az *in vitro* fotodinámiás aktivitás azonban a szerkezettől függően változott: a trietilén-glikol oldalláncokat tartalmazó származék (32) kiemelkedően teljesített, alacsony nanomólos IC_{50} -értékkel. Munkánk jelentőségét az adja, hogy az általunk kifejlesztett bisz-triazolil-TEG származék ígéretes PS lehet egyéb fotodinámiás alkalmazásokban is. Ezen PS más tumorsejtvonalakon való kipróbálása, illetve szerkezetmódosítása, és kombinált kemo-fotodinámiás terápiában való vizsgálata folyamatban van.



46. ábra A TFAB és származékainak (30d, 32, 33) *in vitro* mért sötét toxicitása (A), és a PDT-ben leghatékonyabb vegyület (32) fényindukált toxicitása (B)¹⁴

5. Kísérleti rész

5.1. Általános kísérleti rész

Az olvadáspontokat Kofler-blokkon mértük, korrekció nélkül. A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük: szilikagél 60 F254; vastagsága 0,2 mm (Merck); az előhívást jóddal vagy UV-vel (365 vagy 254 nm) végeztük, melyet 5% foszformolibdénsav 50% vizes foszforsavas elegyével való lefújás, majd azt követő 10 perces 100–120 °C-on történő melegítés előzött meg.

Az R_f -értékeket a következő oldószer-rendszerekben határoztuk meg: (A) 30/70 EtOAc/hexán, (B) 25/75 EtOAc/hexán, (C) 50/50 diklórmétán/hexán, (D) 60/40 diklórmétán/hexán, (E) 10/90 metanol/diklórmétán, (F) 5/95 metanol/diklórmétán, (G) 5/95 EtOAc/diklórmétán, (H) 10/90 EtOAc/hexán, (I) 2/98 EtOAc/diklórmétán, (J) 45/55 diklórmétán/hexán, (K) 75/25 diklórmétán/hexán, (L) 25/75 metanol/diklórmétán, (M) 50/50 EtOAc/diklórmétán.

A reakciótermékek elválasztása, illetve tisztítása 40–63 μm szemcseméretű Kieselgel 60 (Merck) álló fázissal töltött oszlopon történt.

Az oszlopkromatográfiás tisztításokat a következő eluens-összetételekkel végeztük: (a) 20:80 diklórmétán/hexán, (b) 25:75 diklórmétán/hexán, (c) 30:70 diklórmétán/hexán, (d) 35:65 diklórmétán/hexán, (e) 80:20 diklórmétán/hexán, (f) 1:99 EtOAc/hexán, (g) 5:95 EtOAc/hexán, (h) 10:90 EtOAc/hexán, (i) 20:80 EtOAc/hexán, (j) 2:98 EtOAc/diklórmétán, (k) 3:97 metanol/diklórmétán, (l) diklórmétán, (m) 5:95 metanol/diklórmétán, (n) 10:90 metanol/diklórmétán, (o) 1:99 metanol/diklórmétán, (p) 20:80 metanol/diklórmétán.

A mikrohullámú reakciókat CEM Discover SP vagy Anton Paar Monowave 400 készülékkel végeztük. Az ^1H -NMR spektrumok felvétele Bruker DRX-500 készülékkel történt 500 MHz-en, belső standardként Me_4Si -t, oldószerként pedig CDCl_3 -ot használva (az egyéb oldószereket a megfelelő adatoknál jelöltük). ^{13}C -NMR spektrumok felvétele ugyanezen a készüléken történt 125 MHz-en, azonos körülmények között.

A minták tömegspektrumait 100–1100 m/z tartományban rögzítettük Q Exactive Plus kvadrupól-orbitrap tömegspektrométeren (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), melyet előmelegített electrospray-ionizációs forrással (HESI) szereltek fel. A méréseket pozitív és negatív ion módban, áramlásos-injekciós tömegspektrometriával végeztük; a mozgó fázis 50%-os vizes acetonitril volt, amely 0,1% (v/v) hangyasavat tartalmazott, az áramlási sebesség 0,3 mL/perc. Mintáinkból 5 μL -es adagokat injektáltunk. Az ESI kapilláris feszültségét 3,5 kV-ra állítottuk, a porlasztógáz pedig nitrogén volt.

5.2. Részletes kísérleti rész

5.2.1. A BODIPY-szintézishez felhasznált aromás aldehidek előállítása

5.2.1.1. A 4-hidroxibenzaldehyd propargilezése

A 4-hidroxibenzaldehydet (**28a**; 10 g; 82 mmol) feloldottunk 20 mL acetonban. Vízmentes K_2CO_3 -ot (45 g; 328 mmol) és 18-korona-6 étert (2,2 g; 8,2 mmol) adtunk hozzá, majd propargil-bromidot (9,1 mL; 120 mmol) csepegtettünk az elegybe. A reakcióelegyet 24 órán át forraltuk, celliten leszűrtük, a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (e) eluenssel.

5.2.1.2. A 4-hidroxibenzaldehyd reakciója 1,6-dibrómhexánnal

A 4-hidroxibenzaldehydet (**28a**; 2,0 g; 16,4 mmol) feloldottunk 10 mL toluolban. Vízmentes K_2CO_3 -ot (9,0 g; 65,6 mmol) és 18-korona-6 étert (433 mg; 1,64 mmol) adtunk hozzá, majd 1,6-dibrómhexánt (1,86 mL; 24,6 mmol) csepegtettünk az elegybe. A reakcióelegyet 24 órán át forraltuk, celliten leszűrtük, a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (g) eluenssel.

5.2.2. BODIPY származékok előállításának általános leírása

A megfelelő aldehidet 10 mL diklórmetánban oldottunk, hozzáadtuk a pirrolt (**15a**; 40 ekv.), vagy a 2,4-dimetilpirrolt (**15b**; 2 ekv.), és katalitikus mennyiségű trifluorecetsavat (0,01 ekv.) csepegtettünk az oldatba. N₂ atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertettük 1 percig. Az elegyet 50 ml CH₂Cl₂-nal elhígítottuk, 0,1 M-os NaOH-oldattal mostuk, a szerves fázist izzított Na₂SO₄-on szárítottuk, majd bepároltuk. A vákuumbepárlás során az elreagálatlan pirrol nagy része is távozott. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk alufóliával bevont oszlopon, 20/80/1 EtOAc/hexán/Et₃N elegyének alkalmazásával. A kinyert dipirrometánt (**18**) 10 mL vízmentes CH₂Cl₂-ban oldottuk fel, és hozzáadtuk a DDQ-t (1 ekv.). Szobahőmérsékleten történő 1 órás kevertetés után hozzácsepegtettük a reakcióelegyhez a BF₃·OEt₂ 48 %-os diklórmetános oldatát (4 ekv.) és trietil-amint (2 ekv.), majd további 4 órán át kevertettük N₂ atmoszféra alatt. A reakciót 25 ml telített NaHCO₃ oldat hozzáadásával állítottuk le. A szerves fázist elválasztottuk és izzított Na₂SO₄-on szárítottuk. Bepárlás után a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.2.1. A BODIPY-alkin (**17aa**) előállítása

A terméket az 5.2.2. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 5 g (31,6 mmol) **28d** vegyületet és 9,0 mL pirrolt használtunk (**15a**; 1,29 mol). Katalizátorként 0,024 mL (0,3 mmol) trifluorecetsavat, oxidálószerként 7,2 g DDQ-t (31,6 mmol) adtunk az oldathoz. 8,8 mL (63,2 mmol) NEt₃ bázis jelenlétében 3,1 mL (126,4 mmol) BF₃·OEt₂ -al komplexáltuk, a nyersterméket az (i) eluenssel, oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.2.2. BODIPY hidroxilált származék (**17ab**) előállítása

A BODIPY-alkint (**17aa**; 322 mg; 1,0 mmol) 5 mL toluolban oldottuk, majd katalitikus mennyiségű Pd(OAc)₂ -ot (11,2 mg; 0,05 mmol) adtunk hozzá. Mikrohullámú reaktorban, 150 °C-on kevertettük fél órát, bepároltuk, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (j) eluenssel.

5.2.2.3. 1,3,5,7-tetrametil-BODIPY brómszármazékának (**17da**) előállítása

A terméket az 5.2.2. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 2,33 g (8,2 mmol) **28e** vegyületet és 1,7 mL 2,4-dimetilpirrolt (**15b**; 16,4 mmol) használtunk. Katalizátorként 6 µL (0,07 mmol) trifluorecetsavat, oxidálószerként 1,86 g DDQ-t (8,2 mmol) adtunk az oldathoz. 2,28 mL (16,4 mmol) NEt₃ bázis jelenlétében 0,8 mL (32,8 mmol) BF₃·OEt₂ -al komplexáltuk, a nyersterméket a (h) eluenssel, oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.2.4. 1,3,5,7-tetrametil-BODIPY azid származékának (**17db**) előállítása

A **17da** vegyületet (900 mg; 1,80 mmol) 10 mL DMSO-ban oldottuk, NaN_3 -ot (117 mg; 1,80 mmol) adtunk hozzá, és szobahőmérsékleten 3 órán át kevertettük. A reakcióelegyet vízre öntöttük, 5×20 mL diklórmétánnal extraháltuk, az egyesített szerves fázist vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (h) eluenssel.

5.2.3. Aza-BODIPY-szintézishez felhasznált aromás vegyületek előállítása

5.2.3.1. A 4-brómbenzaldehyd TMSA-val való Sonogashira kapcsolása

4-brómbenzaldehyd (**28b**; 1,0 g; 5,4 mmol) kiindulási vegyületet 8 mL THF-ben oldottunk, CuI -ot (26 mg; 0,15 mmol), majd N_2 atmoszféra alatt $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ -et (312 mg; 0,27 mmol) és NEt_3 -t (1,5 mL; 10,8 mmol) adtunk hozzá, majd TMSA-t (0,75 mL; 5,4 mmol) csepegtettünk hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 4 órán át kevertettük, celliten leszűrtük, a nyersterméket pedig oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (f) eluenssel.

5.2.3.2. A 4-hidroxi-acetofenon propargilezése

A 4-hidroxi-acetofenont (**29a**; 5 g; 36,8 mmol) feloldottunk 20 mL acetonban. Vízmentes K_2CO_3 -ot (20,3 g; 147 mmol) és 18-korona-6 étert (980 mg; 3,7 mmol) adtunk hozzá, majd propargil-bromidot (4,2 mL; 55 mmol) csepegtettünk az elegybe. A reakcióelegyet 24 órán át forraltuk, celliten leszűrtük, a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (e) eluenssel.

5.2.4. Kalkon származékok általános előállítása (19a-e)

Benzaldehydet (1 ekv.) metanolban oldottunk, és NaOH -ot (2 ekv.) adagoltunk hozzá. 10 percig előkevertettük szobahőmérsékleten, hozzáadtunk acetofenont (1 ekv.), a reakcióelegyet további két órán át kevertettük szobahőmérsékleten. Az oldószert lepároltuk, a visszamaradó, szilárd anyagot diklórmétánnal vagy EtOAc -al extraháltuk, majd a szerves fázist vízzel semleges pH értékig mostuk. Az egyesített szerves fázist ezután vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.5. Nitrovegyületek általános előállítása (20a-e)

5.2.5.1. Kalkon származékokból: A kalkont (1 ekv.) metanolban oldottuk, és NaOH -ot (0,2 ekv.) adtunk hozzá. Ezt követően nitrometánt (5 ekv.) csepegtettünk a reakcióelegyhez, és 60°C -on 3 órát kevertettük. Az oldószert lepároltuk, a visszamaradó, olajos anyagot vízzel elhígítottuk, EtOAc -al extraháltuk, majd a szerves fázist telített NaCl -oldattal mostuk. Az

egyesített szerves fázist ezután izzított Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.5.2. „Egyedényes” szintézissel: benzaldehidet (1 ekv.) metanolban oldottunk, és NaOH-ot (2 ekv.) adagoltunk hozzá. 10 percig előkevertettük szobahőmérsékleten, hozzáadtunk acetofenont (1 ekv.), a reakcióelegyet további két órán át kevertettük szobahőmérsékleten. Ezt követően nitrometánt (5 ekv.) csepegtettünk a reakcióelegyhez, és 60 °C-on 12 órát kevertettük. Az oldószert lepároltuk, a visszamaradó, olajos anyagot vízzel elhígítottuk, EtOAc-al extraháltuk, majd a szerves fázist telített NaCl-oldattal mostuk. Az egyesített szerves fázist ezután izzított Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.6. Aza-dipirrometén származékok általános előállítása

5.2.6.a. A megfelelő nitrovegyülethez ammónium-acetátot (20 ekv.) adtunk. Ezt követően ecetsav (10 ekv.), citromsav (3 ekv.) katalízissel vagy savkatalizátor nélkül kevertettük mikrohullámú besugárzás mellett, etanol, víz oldószerben, vagy olvadékfázisban, 100–150 °C-on 3–30 percig. Miután az elegy szobahőmérsékletre hűlt, szűrőpapíron leszűrtük és átmostuk 2×10 mL hideg etanollal. A visszamaradó, szilárd anyagot vízben felfuszpendáltuk, majd 3×20 mL diklórmétánnal extraháltuk. Az egyesített szerves fázist vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.6.b. A megfelelő nitrovegyülethez (**20**) karbamidot (20 ekv.) adtunk. Ezt követően ecetsav (10 ekv.) vagy citromsav (3 ekv.) katalízissel kevertettük mikrohullámú besugárzás mellett, etanol vagy víz oldószerben, 100–150 °C-on 30 percig. Miután az elegy szobahőmérsékletre hűlt, szűrőpapíron leszűrtük és átmostuk 2×10 mL hideg etanollal. A visszamaradó, szilárd anyagot vízben felfuszpendáltuk, majd 3×20 mL diklórmétánnal extraháltuk. Az egyesített szerves fázist vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.6.1. 1,3,7,5-Tetrafenil-aza-dipirrometén (**21a**) előállítása

A terméket az 5.2.6.b. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1,5 g nitrovegyületet (**20a**; 5,6 mmol) 6,6 g karbamidot (112 mmol) és 3,5 mL ecetsavat adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (a) eluenssel.

5.2.6.2. A **21a** vegyület brómszármazékának (**21b**) előállítása

A terméket az 5.2.6.a. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1,46 g nitrovegyületet (**20b**; 4,2 mmol) használtunk fel, 20 mL etanolban oldottuk, majd 22 g NH₄OAc –ot (84 mmol) adtunk hozzá. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (a) eluenssel.

5.2.6.3. A **21a** vegyület etinil származékának (**21c**) előállítása

A terméket az 5.2.6.a. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1,35 g nitrovegyületet (**20c**; 4,6 mmol) használtunk fel, 20 mL etanolban oldottuk, majd 24 g NH₄OAc –ot (92 mmol) adtunk hozzá. A nyersterméket további tisztítás nélkül vittük a következő reakcióba.

5.2.6.4. A **21a** vegyület *bisz*-propargil származékának (**21d**) előállítása

A terméket az 5.2.6.a. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1,29 g nitrovegyületet (**20d**; 4,0 mmol) használtunk fel, 20 mL vízben oldottuk, majd 20,8 g NH₄OAc –ot (80 mmol) adtunk hozzá. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.6.5. A **21a** vegyület *tetra*-propargil származékának (**21e**) előállítása

A terméket az 5.2.6.a. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1,17 g nitrovegyületet (**20e**; 3,1 mmol) használtunk fel, 20 mL vízben oldottuk, majd 16,2 g NH₄OAc –ot (62 mmol) adtunk hozzá. A nyersterméket további tisztítás nélkül vittük a következő reakcióba.

5.2.7. *Aza*-dipirrometén származékok komplexálásának általános leírása

A megfelelő *aza*-dipirrometén (**21**) 10 mL-es toluolos oldatához trietil-amin (10 ekv.) bázist adtunk. A reakcióelegyet 15 percig kevertettük szobahőmérsékleten, majd BF₃•OEt₂ 48 %-os diklórmetános oldatát (15 ekv.) csepegtettük hozzá. Az elegyet mikrohullámú reaktorban, 50 °C-on, 30 percen át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, vízre öntöttük, 3×20 mL toluóllal extraháltuk, majd az egyesített szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, és bepároltuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.7.1. **TFAB** előállítása

A terméket az 5.2.7. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. Az *aza*-dipirrometén vegyülethez (**21a**; 641 mg; 1,43 mmol) 2,0 mL trietil-amin (14,3 mmol) bázist és 2,6 mL (21,45 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.7.2. A **TFAB** brómszármazékának (**30b**) előállítása

A terméket az 5.2.7. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. Az *aza*-dipirrometén származékhoz (**21b**; 610 mg; 1,0 mmol) 1,4 mL trietil-amin (10 mmol) bázist és 1,9 mL (15 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.7.3. A **TFAB** etinil származékának (**30c**) előállítása

A terméket az 5.2.7. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. Az *aza*-dipirrometén származékhoz (**21c**; 550 mg; 1,1 mmol) 1,5 mL trietil-amin (11 mmol) bázist és 2,0 mL (16,5 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.7.4. A **TFAB** bisz-propargil származékának (**30d**) előállítása

A terméket az 5.2.7. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. Az *aza*-dipirrometén származékhoz (**21d**, 535 mg; 0,96 mmol) 1,3 mL trietil-amin (9,6 mmol) bázist és 1,8 mL (14,4 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (c) eluenssel.

5.2.7.5. A **TFAB** tetra-propargil származékának (**30e**) előállítása

A terméket az 5.2.7. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. Az *aza*-dipirrometén származékhoz (**21e**; 495 mg; 0,74 mmol) 1,0 mL trietil-amin (7,4 mmol) bázist és 1,4 mL (11,1 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot adtunk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (c) eluenssel.

5.2.8. *Aza*-BODIPY származékok előállítása posztfunkcionalizálással

5.2.8.1. A **TFAB** brómozása a pirrolgyűrűkön (**31a**)

A **TFAB**-t (75 mg; 0,15 mmol) 3 mL diklórmétánban oldottuk. N-brómszukcinimidet (107 mg; 0,6 mmol) külön feloldottunk 3 mL diklórmétánban, és 5 perc kevertetés után az oldatot

hozzácepegtettük a TFAB-t tartalmazó elegyhez. Ezután 2 órán át kevertettük szobahőmérsékleten, bepároltuk, végül oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.8.2. A TFAB jódozása a pirrolgyűrűkön (31b)

A TFAB-t (75 mg; 0,15 mmol) 3 mL diklórmétánban oldottuk. N-jódszukcinimidet (135 mg; 0,6 mmol) külön feloldottunk 3 mL diklórmétánban, és 5 perc kevertetés után az oldatot hozzácepegtettük a TFAB-t tartalmazó elegyhez. Ezután 2 órán át kevertettük szobahőmérsékleten, bepároltuk, végül oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (b) eluenssel.

5.2.8.3. A TFAB és tetra-propargil származékának (34) formilezése (31c, 34a)

3 mL Foszfor(V)-oxikloridot és 3 mL dimetil-formamidot elegyítettünk, és 5 percig kevertettük 0 °C-on, majd 30 percig szobahőmérsékleten. Ehhez hozzácepegtettük a 34-es (140 mg; 0,2 mmol) vagy a TFAB (516 mg; 1,04 mmol) vegyület 6 mL-es 1,2-diklóretános oldatát, a reakcióelegyet 70 °C-on további 24 órán át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, 0 °C-os, telített NaHCO₃ oldatba csepegtettük, és tovább kevertettük még egy órán át. A reakcióelegyet 3×10 mL diklórmétánnal extraháltuk, majd az egyesített szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és bepároltuk. A nyerstermékeket további tisztítás nélkül alakítottuk tovább.

5.2.8.4. A 31c és a 34a vegyületek oxidálása (31d, 34b)

A 31c (108 mg; 0,15 mmol) vagy a 34a (463 mg; 0,88 mmol) vegyületet 45 mL THF/15 mL víz elegyében feloldottuk, szulfámsavat (2 ekv.) és NaClO₂-ot (2 ekv.) adtunk hozzá, majd 30 percig kevertettük szobahőmérsékleten. A reakcióelegyet 30 mL EtOAc-al elhígítottuk, telített Na₂S₂O₃ oldatra öntöttük, majd 3×20 mL EtOAc-al extraháltuk. Az egyesített szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, bepároltuk, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (k) eluenssel.

5.2.8.5. A TFAB savamid származékának (31e) előállítása

A 31d (439 mg; 0,81 mmol) vegyületet 3 mL vízmentes diklórmétánban oldottuk, EDC (189 mg; 1,22 mmol) és HOBt (658 mg; 4,87 mmol) reagenseket adtunk hozzá, a reakcióelegyet 10 percig kevertettük szobahőmérsékleten. Ezután propargilamint (77 µL; 1,22 mmol) adtunk hozzá, és újabb 4 órán át kevertettük szobahőmérsékleten. Bepárlás után a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (l) eluenssel.

5.2.8.6. A **TFAB** propargil származékainak (**30d**, **34b**) click reakciói (**32**, **33**, **35**)

A **30d** (303 mg; 0,5 mmol) vagy **34b** (76 mg; 0,1 mmol) vegyületeket toluolban oldottuk fel, CuI (0,1 ekv.) katalizátort és PPh₃ (0,2 ekv.) ligandumot adtunk hozzá. A reakcióelegyhez DIPEA-t (8 ekv.) és N₃-TEG-OH -t (2 ekv. vagy 4 ekv.) vagy benzil-azidot (2 ekv.) adtunk, majd forralás alatt 2 órán át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, lepároltuk az oldószert, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (m) (**32**, **33**) vagy az (n) (**35**) eluenssel.

5.2.9. Rozamin származékok előállításának általános leírása

Szalicilaldehidet (1 ekv.) és a megfelelő fenolvegyületet (2 ekv.) 8 mL tömény foszforsavban, mikrohullámú körülmények között, 140 °C-on, 1 órán át forraltuk. Miután szobahőmérsékletre hűlt, az oldatot lassan adagolva, nagy mennyiségű vízbe öntöttük, és 1 M-os NaOH-oldattal közömbösítettük. A kivált csapadékot leszűrtük, a szűrőpapírról metanollal leoldottuk, vízmentes Na₂SO₄ -on szárítottuk, bepároltuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítottuk.

5.2.9.1. Hidroxilcsoportot hordozó rozamin származék (**11c**) előállítása

A terméket az 5.2.9. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1 g szalicilaldehidet (**SZAL**; 5 mmol) és 1,37 g *meta*-dimetilamino-fenolt (**1**; 10 mmol) használtunk fel. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (m) eluenssel.

5.2.9.2. Julolidin részletek beépítése rozamin alapvázba (**14b**)

A terméket az 5.2.9. általános szintézismódszer alapján állítottuk elő. A reakcióhoz 1 g szalicilaldehidet (**SZAL**; 5 mmol) és 1,89 g 8-hidroxi-julolidint (**36**; 10 mmol) használtunk fel. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (m) eluenssel.

5.2.9.3. Rodamin B savamid származékának (**37**) előállítása

A rodamin B (3,87 g; 10 mmol) vegyületet 50 mL diklórmétánban oldottuk, EDC (2,3 g; 15 mmol) és HOBt (5,4 g; 40 mmol) reagenseket adtunk hozzá, a reakcióelegyet 5 percig kevertettük szobahőmérsékleten. Ezután propargilamint (0,95 mL; 15 mmol) adtunk hozzá, és újabb 4 órán át kevertettük szobahőmérsékleten. Bepárlás után a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk az (o) eluenssel.

5.2.10.1. Az E2 éteresítése (**38a-c**)

E2-t (1 ekv.), K_2CO_3 -ot (4 ekv.) és koronaétert (18-korona-6; 0,076 ekv.) vízmentes toluolban oldottunk, majd 1,4-dibrómbutánt (2 ekv.) vagy 1,6-dibrómhexánt (2 ekv.) vagy 1,8-dibrómoktánt (2 ekv.) csepegtettünk hozzá. A reakcióelegyet 24 órán át kevertettük forralás közben, N_2 atmoszféra alatt. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, 50 mL vizet és 10 mL EtOAc-ot adtunk hozzá, majd szétválasztás után a vizes fázist EtOAc-al extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat Na_2SO_4 -on szárítottuk és bepároltuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (j) eluenssel.

5.2.10.2. Az E2 azid származékának (**40**) előállítása

5 mL vízmentes DMSO-ban oldottunk a **38a** vegyületet (1,0 g; 2,46 mmol), ehhez NaN_3 -ot adtunk (160 mg; 2,46 mmol), a reakcióelegyet 2 órán át kevertettük szobahőmérsékleten, majd 20 mL vízre öntöttük, és 3×20 mL diklórmétánnal extraháltuk. Az egyesített szerves fázist vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, bepároltuk, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (j) eluenssel.

5.2.11. Konjugátumok előállítása

5.2.11.1. BODIPY–E2 (**39a-c**) előállítása

A BODIPY származékot (2; 71 mg; 0,25 mmol) feloldottuk 10 mL acetonban. Vízmentes K_2CO_3 -ot (1,0 mmol), 18-korona-6 étert (0,025 mmol) és az E2 bromid származékait (**38a**, 204 mg; **38b**, 218 mg; **38c**, 232 mg) adtuk hozzá 0,5 mmol-os mennyiségekben. A reakcióelegyeket 24 órán át forraltuk, celliten leszűrtük, a nyerstermékeket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (g) eluenssel.

5.2.11.2. BODIPY–kaloniszteron (**45**) előállítása

A terméket az 5.2.8.6 szintézismódszer (click reakciók) alapján állítottuk elő. A kaloniszteron propargil származékát (**44**; 40 mg; 0,078 mmol) 2 mL toluolban oldottuk fel, katalitikus mennyiségű CuI-t és PPh_3 ligandumot adtunk hozzá. A reakcióelegyhez hozzáadtuk a BODIPY azid származékát (**17db**, 18 mg; 0,039 mol), DIPEA-t (54 μ L; 0,31 mmol) csepegtettünk hozzá, majd forralás alatt 2 órán át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, lepároltuk az oldószert, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (h) eluenssel.

5.2.11.3. Rozamin–E2 (**43**) előállítása

A rozamin származékot (**11c**; 108 mg; 0,25 mmol) feloldottuk 5 mL acetonban. Vízmentes K₂CO₃-ot (138 mg; 1,0 mmol), 18-korona-6 étert (6,7 mg; 0,025 mmol) és az E2 bromid származékát (**38b**; 204 mg; 0,5 mmol) adtuk hozzá. A reakcióelegyet 24 órán át forraltuk, celliten leszűrtük, a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (j) eluenssel.

5.2.11.4. Rodamin–E2 (**42**) előállítása

A terméket az 5.2.8.6 szintézismódszer (click reakciók) alapján állítottuk elő. A rodamin B savamid származékát (**37**; 100 mg; 0,20 mmol) 4 mL toluolban oldottuk fel, CuI (3,8 mg; 0,02 mmol) katalizátort és SPhos (16,4 mg; 0,04 mmol) ligandumot adtunk hozzá. A reakcióelegyhez hozzáadtuk az E2 azid származékát (**40**, 89 mg; 0,24 mmol), DIPEA-t (0,28 mL; 1,6 mmol) csepegtettünk hozzá, majd forralás alatt 2 órán át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, lepároltuk az oldószert, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (p) eluenssel.

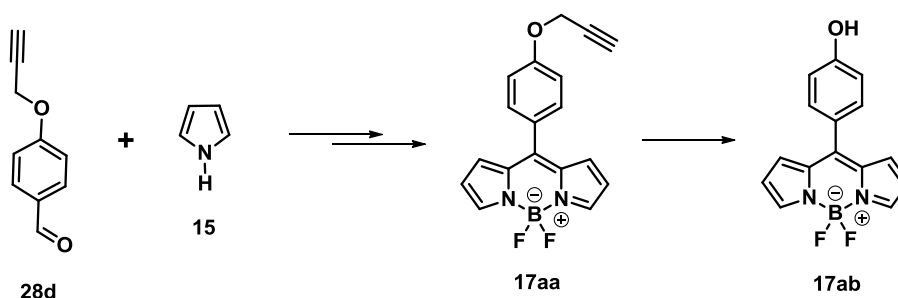
5.2.11.5. Aza-BODIPY–E2 (**41**) előállítása

A terméket az 5.2.8.6 szintézismódszer (click reakciók) alapján állítottuk elő. A **31e** (70 mg; 0,12 mmol) vegyületet 3 mL toluolban oldottuk fel, CuI (2,3 mg; 0,012 mmol) katalizátort és SPhos (10 mg, 0,024 mmol) ligandumot adtunk hozzá. A reakcióelegyhez hozzáadtuk az E2 azid származékát (**40**, 89 mg, 0,24 mmol), DIPEA-t (0,2 mL; 0,96 mmol) csepegtettünk hozzá, majd forralás alatt 2 órán át kevertettük. Miután visszahűlt szobahőmérsékletre, lepároltuk az oldószert, és oszlopkromatográfiával tisztítottuk a (p) eluenssel.

6. Összefoglalás

Kísérleti munkánk első részében olyan BODIPY-típusú fluorofórok előállítását valósítottuk meg, amelyek kétféle alkalmazást is lehetővé tesznek. Kiváló optikai tulajdonságaiknak köszönhetően egyrészt fluoreszcens jelölőanyagként, másrészt pedig fototeranosztikumként használhatók orvosi biológiai területeken.

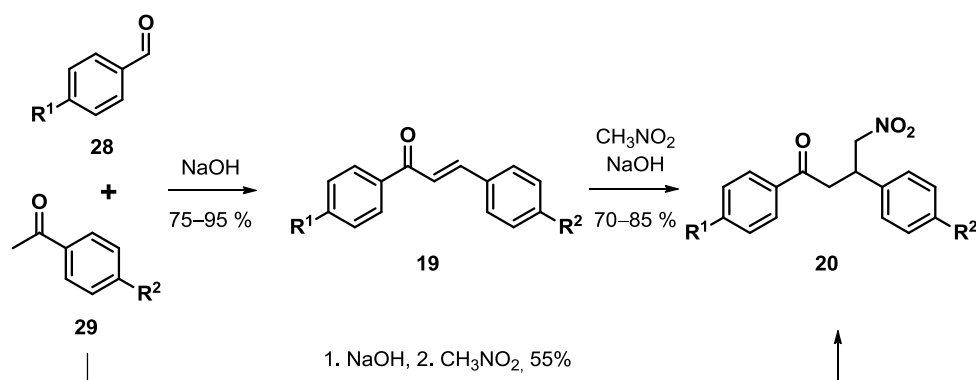
Elsőként konjugálásra alkalmas BODIPY alapvázus vegyületeket állítottunk elő. Az általunk követett, fő szintézisútvonal az aldehid-pirrol kondenzáción alapult, amellyel terminális alkin funkciót hordozó propargil-BODIPY származékot szintetizáltunk (I. ábra). A propargilcsoport beépítését Williamson-féle éterszintézissel valósítottuk meg, 4-hidroxibenzaldehid és propargil-bromid felhasználásával. Ezt nagy feleslegben alkalmazott pirrollal végzett kondenzáció követte, majd oxidáció DDQ-val. Befejező lépésként $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal történő komplexálással nyertük a BODIPY alkin származékát, amely egy konjugálásban részt vevő partner volt a későbbi CuAAC reakcióhoz. A propargilcsoportot mikrohullámú körülmények között, palládium katalízissel lehasítva, előállítottunk egy fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó származékot is (I. ábra). A reakciót toluolban, 150 °C-on, 30 perc alatt végeztük el. A fenti módszer hatékonyabb reakcióstratégiának bizonyult a fenolos hidroxilcsoportot hordozó vegyület előállítására, mint a szabad hidroxilcsoportot tartalmazó benzaldehid származékból kiinduló. Ennek oka az utóbbi oxidációval szemben mutatott érzékenysége lehet. Ezekkel a szintézisekkel két olyan, zöld emittáló, fluoreszcens festéket állítottunk elő, melyek alkalmasak különböző biológiailag aktív vegyületek jelölésére.



I. ábra

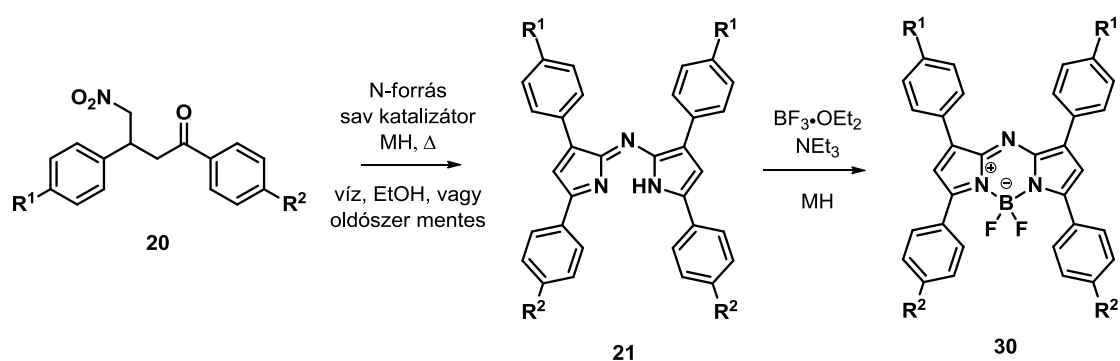
A magasabb hullámhossztartományban (vörös) emittáló aBOD típusú vegyületek alapvázának előállítására egy, a szakirodalomban körüljárt, de nem elég hatékony útvonalat követtünk (II. ábra). Célunk volt az egyes reakciólépések hatékonyságának növelése. A kalkon előállítási (A) és a nitrometánnal való Michael-addíciós (B) reakciólépéseket egymás után, kromatográfiás tisztítás közbeiktatásával, valamint szekvenciális „egyedényes” eljárásban

(A+B) is végrehajtottuk. Az (A+B) módszer kevésbé volt hatékony (15–30 %-kal alacsonyabb hozamot eredményezett, mint az első eljárás), és több melléktermék is képződött. Összességében azonban a két reakciólépés összevonásával sikerült a reakcióidőt és az alkalmazott vegyszerek mennyiségét lecsökkentenünk. A II. és a III. ábra az alapvázsztézis-stratégiánkat foglalja össze, amelynek alapja, hogy a kiindulási anyagok már tartalmazzák azon molekularészleteket, amelyek a későbbi konjugálásokat lehetővé teszik. A brómvegyületek palládiumkatalizált keresztkapcsolási, míg az alkinek Sonogashira és CuAAC reakciók alapanyagai lehetnek.



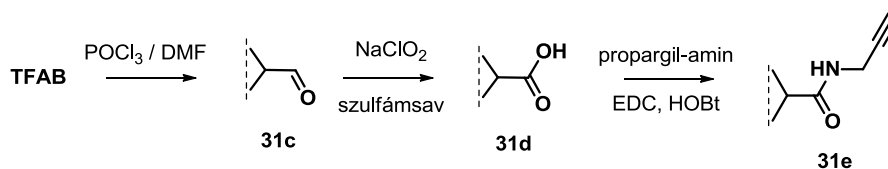
II. ábra

A dimerizációs lépés (III. ábra) a teljes szintézissor leggyengébb pontjának bizonyult, mivel számos melléktermék képződését eredményezi, és alacsony hozammal jár. A hatékonyság javítása érdekében számos különböző reakciókörülményt kipróbáltunk, továbbá mikrohullámú besugárzást is alkalmaztunk. Nitrogénforrásként ammónium-acetátot vagy karbamidot használtunk, savkatalizátorként citromsavat vagy ecetsavat, az oldószert vagy teljesen elhagytuk, vagy vizes, illetve etanolos közegben végeztük el a szintéziseket. Leghatékonyabb eljárásnak a citromsav által katalizált, karbamid reagenssel és víz oldószerben végzett, magas hőmérsékletű mikrohullámú szintézis vált be, mely 51% hozamot eredményezett. Kiemelendő továbbá, hogy az oldószermentes, mikrohullámmal segített ammónium-acetátos reakció 3 perc alatt lejártszódott, szemben a szakirodalomban oldószerben leírt 1–2 napos reakcióidőkkel. Az *aza*-dipirrometén intermedierek $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ reagenssel történő átalakítása NEt_3 bázis jelenlétében, diklórmétán oldószerben 30 perc alatt játszódott le mikrohullámú reaktorban (III. ábra), így ebben a lépésben is jelentős időmegtakarítást értünk el (ezt a reakciót toluolban 110 °C-on, ~1 óra alatt, vagy diklórmétánban szobahőmérsékleten ~24 óra alatt szokták lejátszatni, NEt_3 vagy DIPEA bázis katalizálásával).



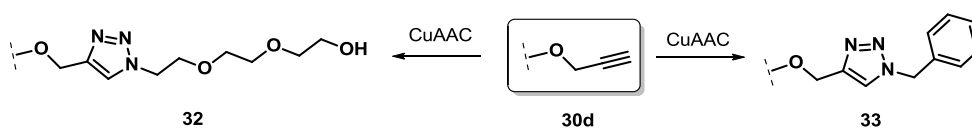
III. ábra

Az alapvázszintézis-stratégiával előállított vegyületek egy részét posztfunkcionalizálással módosítottuk annak érdekében, hogy konjugálásra alkalmas csoportokat építsünk be. A pirrolgyűrűk *N*-brómszukcinimiddel való halogénezése *bisz*-halogénezett származékokat adott, amelyek későbbi Suzuki-Miyaura vagy Sonogashira típusú keresztkapcsolások elvégzésére nyújtanak lehetőséget. Vilsmeier-Haack formilezéssel azonban sikerült a formilcsoportot szelektíven az egyik pirrolgyűrűre beépítenünk, majd Pinnick-oxidációval karboxilcsoporttá alakítanunk. A következő lépésben a karbonsavat EDC/HOBt kapcsoló reagensok felhasználásával, amidképzési reakcióban, propargil-amin beépítésével terminális alkin funkciót hordozó vegyületté alakítottunk tovább (IV. ábra).



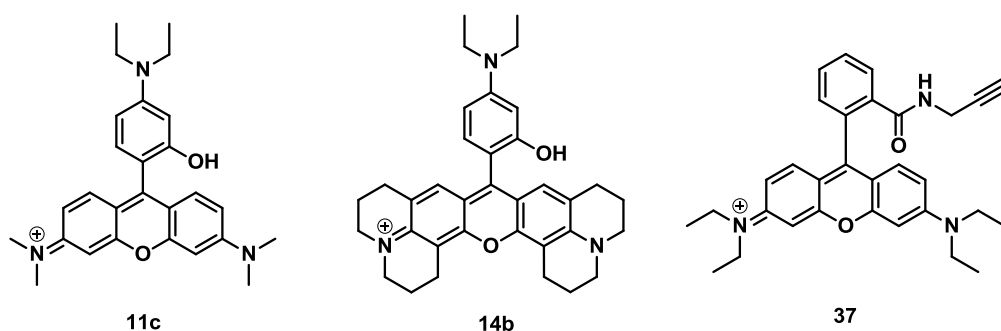
IV. ábra

A korábban alapvázszintézis-stratégiával (III. ábra) előállított *bisz*-propargil aBOD származékot CuAAC reakcióban, a trietilénglikol azid származékával vagy benzil-azid partnerrel kapcsoltuk. Triazol gyűrű közbeiktatásán keresztül amfifil vagy benzil oldalláncokat építettünk be (V. ábra).



V. ábra

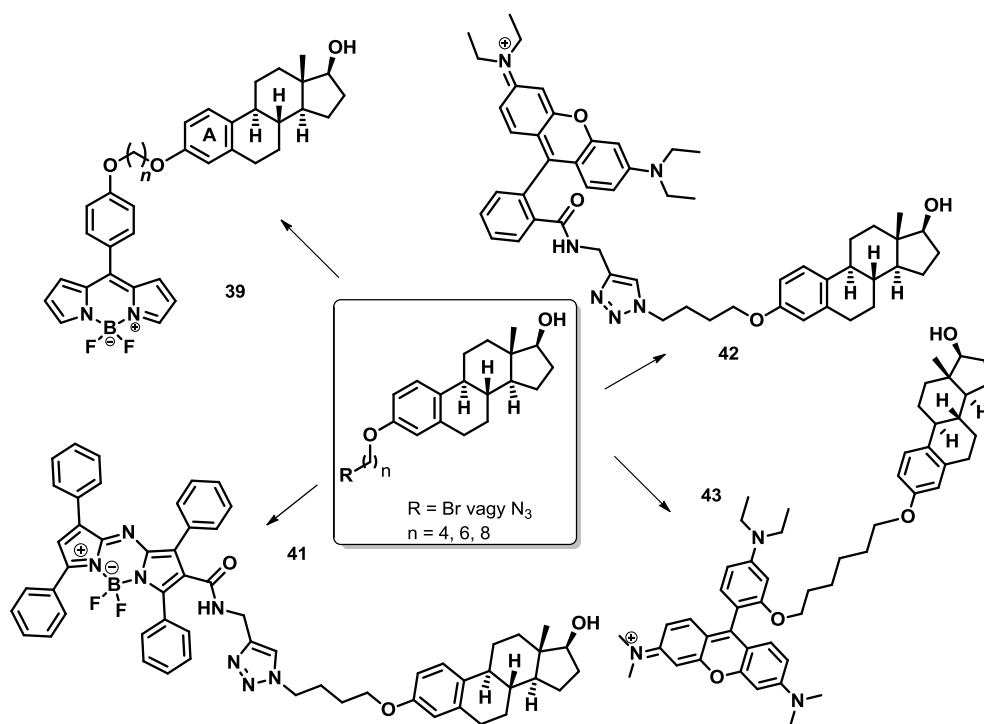
A két új vegyület (25, 26) fotodinámiás tumorterápiában mutatott aktivitását együttműködésben vizsgáltuk. Az **32**-es vegyület elhanyagolható mértékű sötét toxicitás mellett rendkívül hatékony fény indukálta toxicitást mutatott ($IC_{50} = 3,66 \text{ nm}$) az A431 humán bőrlaphám karcinóma sejtvonalon. Mivel a vízóldékonyság növelése kedvezően befolyásolta a PDT-ben mutatott aktivitást, a *tetra*-propargil csoportot tartalmazó származékra is beépítettük az amfifil oldalláncokat, a vegyület PDT-ben való vizsgálata további céljaink között szerepel. A rozamin / rodamin alapvázis származékoknál a fő célunk olyan új fluoreszcens festékek előállítása volt, amelyek a köztes (sárga-narancssárga) hullámhossztartományban emittálnak, alkalmasak további konjugálásra, valamint a későbbiekben pH-szenzorokként is alkalmazhatók. A fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó rozaminokra vonatkozóan új eljárást dolgoztunk ki: 3-(dimetilamino)fenol vagy 8-hidroxi-julolidin és szalicilaldehid kiindulási anyagokból, tömény foszforsav oldószerben, 140°C -on mikrohullámú besugárzással történő forralással, 1 óra alatt, sikeresen állítottuk elő a megfelelő célvegyületeket. A két új rozamin származék, delokalizált kationos jellegük miatt, potenciális daganatellenes vagy antibakteriális aktivitással rendelkezhet. A kereskedelmi forgalomban kapható rodamin B vegyületből kiindulva EDC / HOBt reagensekkel és propargil-aminnal előállítottuk annak savamid származékát, így egy újabb, CuAAC reakcióba vihető festékekkel bővítettük a konjugálható, fluoreszcens jelölőanyagok sorát (VI. ábra).



VI. ábra

Az E2 3-O-pozícióban való fluoreszcens jelölését fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó BODIPY, valamint *N*-propargil aBOD származékkal végeztük, alkil-linkerek beépítésén keresztül. A hidrox-BODIPY-t éterkötéssel, az aBOD alkint pedig CuAAC-reakcióval kapcsoltuk az E2-höz. A konjugátumokat *in vitro* ösztrogénaktivitás vizsgálatoknak vetettük alá együttműködésben. Igazoltuk, hogy a konjugátumok, a fluoreszcens jelölés ellenére,

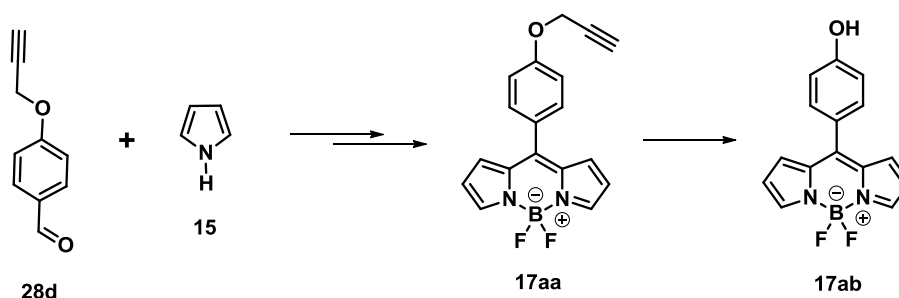
megtartották ösztrogénaktivitásukat, szubmikromólos tartományba eső IC_{50} -értékekkel. Radioligand-kötődési vizsgálattal, elsőként a szakirodalomban igazoltuk, hogy a négy szénatomos linkert tartalmazó BODIPY-E2 éter konjugátum dóziszfüggően képes leszorítani a triciált E2-t a humán $ER\alpha$ ösztrogén kötőhelyéről. Ezen eredményünkkel bizonyítást nyert, hogy a szabad fenolos hidroxilcsoportot nem tartalmazó E2-konjugátum nagy affinitással képes a receptor ösztrogén kötőhelyére kötődni annak ellenére, hogy a szakirodalom szerint ez a hidroxilcsoport elengedhetetlen a vegyület jó kötődése szempontjából. Nemcsak BODIPY, hanem rozamin és rodamin származékokkal is végeztünk jelölést a fenolos hidroxilcsoporton. Az együttműködésben végzett, előzetes biológiai vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy a rozamin konjugátum a fentiekével összemérhető ösztrogénaktivitással rendelkezik, azonban az ennek pontosítására irányuló vizsgálatok még folyamatban vannak. Az újonnan szintetizált E2-BODIPY konjugátumok kiindulópontként szolgálhatnak olyan megfelelő jelöltek kifejlesztéséhez, amelyek alkalmasak az ösztrogénfelvétel, -transzport, -biotranszformáció, valamint a fehérjekötődési tulajdonságok vizsgálatára. E folyamatok megfigyelése nemcsak az ösztrogénhatás szempontjából kiemelt jelentőségű, hanem más biológiai összefüggések - többek között a neuroprotektív mechanizmusok - tekintetében is. Továbbá, a fluoreszcens ösztrogének jó detektálhatósága révén új, jelentős biológiai hatások azonosítására is lehetőség nyílhat. A kutatás során előállított zölden és vörösen fluoreszkáló BODIPY-E2 konjugátumok kiegészítik egymás kémiai terét, mivel a különböző hullámhossztartományokban működő, jelölt ösztrogének eltérő orvosi biológiai alkalmazásokra lehetnek alkalmasak. A nagyobb hullámhosszon emissziót mutató, fluoreszcens konjugátum - mélyebb szöveti penetrációjának köszönhetően - alapul szolgálhat élősejtes képalkotó technikákhoz, magas térbeli és időbeli felbontású képek előállításának lehetőségét kínálva.



VII. ábra

7. Summary

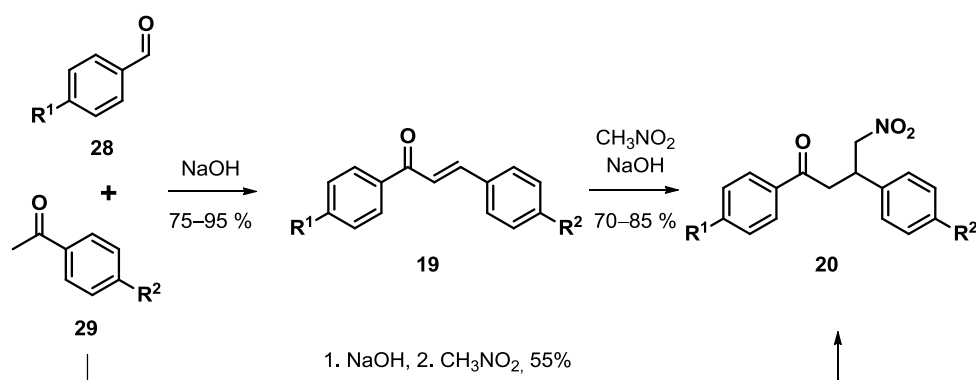
Our experimental work was initiated by the synthesis of BODIPY-type fluorophores suitable for two distinct applications. Owing to their excellent optical properties, these chromophores can serve both as fluorescent labels and as phototheranostic agents in biomedical research. As a first step, we prepared BODIPY derivatives bearing functional groups compatible with subsequent conjugation. The main synthetic pathway we followed was based on the aldehyde-pyrrole condensation, through which we obtained a propargyl-substituted BODIPY derivative carrying a terminal alkyne moiety (Scheme I). Introduction of the propargyl group was accomplished via Williamson ether synthesis using 4-hydroxybenzaldehyde and propargyl bromide. This intermediate was then subjected to condensation with an excess of pyrrole, followed by oxidation with DDQ. In the final step, complexation with $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ afforded the alkyne-functionalized BODIPY derivative, which later served as a coupling partner in CuAAC reactions. By removing the propargyl substituent under microwave conditions in the presence of a palladium catalyst, we also synthesized a derivative containing a free phenolic hydroxyl group (Scheme I). The reaction was carried out in toluene at 150 °C for 30 min. This approach proved to be more effective for obtaining the phenolic compound than using the corresponding benzaldehyde derivative bearing an unprotected hydroxyl group, likely due to the latter's sensitivity toward oxidative conditions. These synthetic routes provided two green-emissive fluorescent dyes suitable for the labelling of various biologically active molecules.



Scheme I

For the preparation of aBOD derivatives emitting in the higher (red) wavelength region, we followed a synthetic route that is well documented in the literature but generally considered inefficient (Scheme II). Our aim was to improve the effectiveness of the individual reaction steps. The chalcone formation (A) and the subsequent Michael addition with nitromethane (B) were carried out either sequentially with chromatographic purification between the steps, or in

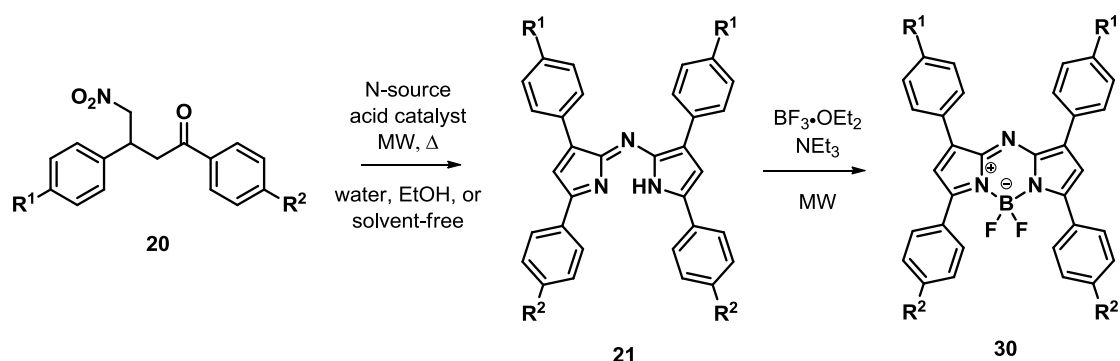
a one-pot sequence (A+B). The one-pot approach proved less efficient, affording yields approximately 15–30 % lower than those obtained by the stepwise method, and it also resulted in the formation of several side products. Nevertheless, merging the two reaction steps reduced both the reaction time and the amount of reagents required. Schemes II and III summarize the synthetic strategy applied for constructing the aBOD core. This approach relied on the use of starting materials already bearing those structural elements that allow subsequent conjugation steps. The bromine substituents serve as suitable handles for palladium-catalyzed cross-coupling reactions, while the alkyne moieties can participate in Sonogashira or CuAAC reactions.



Scheme II

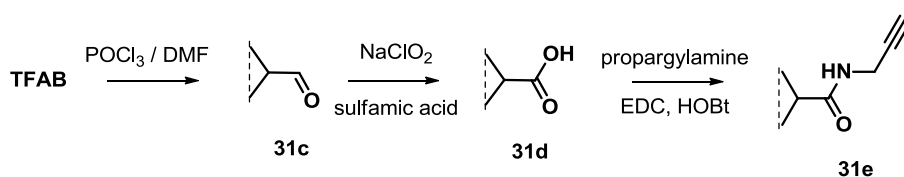
The dimerization step (Scheme III) proved to be the weakest point of the entire synthetic sequence, as it led to the formation of numerous side products and generally resulted in low yields. To improve its efficiency, we examined a wide range of reaction conditions and also applied microwave irradiation. Ammonium acetate or urea was used as the nitrogen source, while citric acid or acetic acid served as the acid catalyst. The reactions were performed either in the absence of solvent or in aqueous or ethanolic media. The most efficient procedure was the citric acid-catalyzed microwave-assisted reaction employing urea as the reagent in water as the solvent at elevated temperature, which afforded the desired product in 51% yield. It is also noteworthy that the solvent-free, microwave-assisted transformation with ammonium acetate was completed within 3 min, in contrast to the 1–2 day reaction times reported in the literature for analogous reactions carried out in solution. Transformation of the *aza*-dipyrromethene intermediates with BF₃·OEt₂ in the presence of NEt₃ as base proceeded within 30 min under microwave irradiation in dichloromethane (Scheme III), leading to a substantial reduction in reaction time. In comparison, this step is typically carried out in toluene at 110

°C for approximately 1 h, or in dichloromethane at room temperature for around 24 h, catalyzed by NEt_3 or DIPEA.



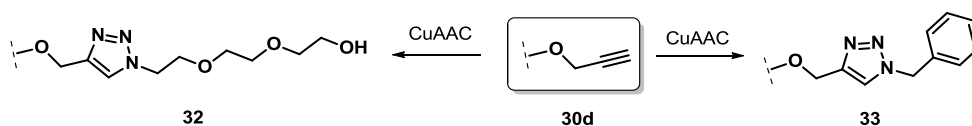
Scheme III

Several of the compounds obtained through the core-synthesis strategy were further modified by postfunctionalization in order to introduce groups suitable for subsequent conjugation. Halogenation of the pyrrole rings with *N*-bromosuccinimide afforded bis-halogenated derivatives, which provide suitable platforms for later Suzuki-Miyaura or Sonogashira cross-coupling reactions. Selective introduction of a formyl group onto one of the pyrrole rings was achieved by Vilsmeier-Haack formylation, followed by its oxidation to the corresponding carboxylic acid via a Pinnick oxidation. In the next step, the carboxyl group was transformed into a terminal alkyne-bearing derivative through an amide-forming reaction with propargylamine, employing EDC/HOBt coupling reagents (Scheme IV).



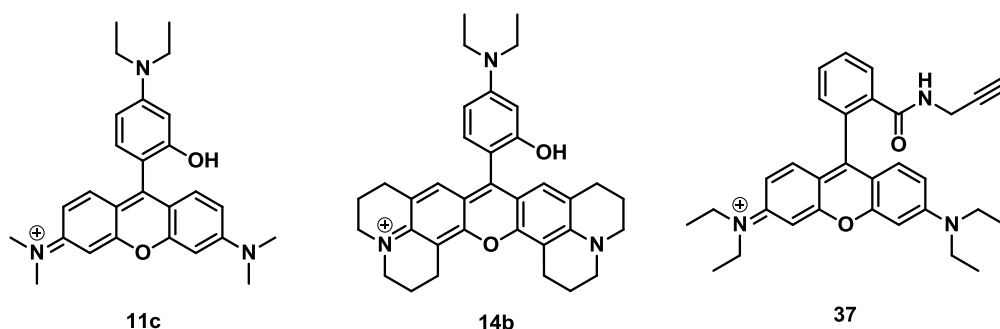
Scheme IV

The *bis*-propargyl aBOD derivative obtained previously via the core-synthesis strategy (Scheme III) was subjected to CuAAC reactions using either a triethylene glycol azide derivative or benzyl azide as the reaction partner. Through the introduction of a triazole linker, amphiphilic or benzyl side chains were incorporated into the molecules (Scheme V).



Scheme V

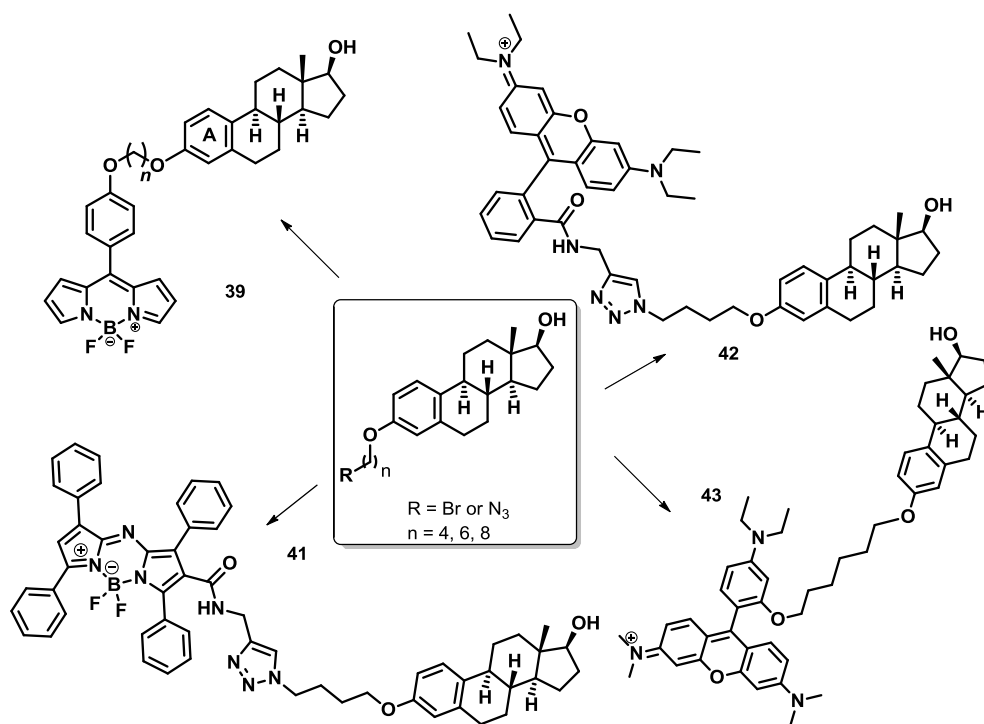
The photodynamic anticancer activity of the two newly synthesized compounds (25, 26) was examined in collaboration with our partners. Compound **32** exhibited negligible dark toxicity while showing remarkably potent light-induced cytotoxicity ($\text{IC}_{50} = 3.66 \text{ nM}$) against the A431 human epidermoid carcinoma cell line. Since improved aqueous solubility had a beneficial impact on the PDT performance, amphiphilic side chains were also introduced into the tetra-propargyl derivative. Evaluation of this compound in PDT is among our future objectives. For the rosamine / rhodamine-based derivatives, our primary aim was the synthesis of new fluorescent dyes emitting in the intermediate (yellow-orange) spectral range, suitable for further bioconjugation and potentially applicable as pH sensors. For phenolic rosamines, we developed a new synthetic procedure: starting from 3-(dimethylamino)phenol or 8-hydroxyjulolidine and salicylaldehyde, the desired target compounds were successfully obtained by microwave-assisted heating in concentrated phosphoric acid at 140°C under reflux conditions within 1 h. Due to their delocalized cationic character, the two new rosamine derivatives may possess potential anticancer or antibacterial activity. Furthermore, starting from commercially available rhodamine B, we prepared its corresponding carboxamide derivative by reaction with propargylamine using EDC/HOBt coupling reagents, thereby expanding the range of alkyne-functionalized fluorescent dyes suitable for CuAAC conjugation (Scheme VI).



Scheme VI

Fluorescent labelling of E2 at the 3-O position was achieved using a phenolic BODIPY derivative and an *N*-propargyl aBOD analogue, introduced through alkyl linkers. The

hydroxy-BODIPY was attached to E2 via an ether linkage, whereas the aBOD alkyne was coupled through a CuAAC reaction. The resulting conjugates were subjected to in vitro estrogen-activity assays in collaboration with our partners. We demonstrated that, despite the fluorescent modification, the conjugates retained their estrogenic activity, exhibiting IC₅₀ values in the submicromolar range. Using radioligand-binding experiments, we were the first to show that the BODIPY-E2 ether conjugate containing a four-carbon linker can displace tritiated E2 from the human ER α estrogen-binding site in a dose-dependent manner. This finding confirms that an E2 conjugate lacking the free phenolic hydroxyl group can still bind to the receptor with high affinity, despite literature reports asserting that this hydroxyl group is essential for effective receptor binding. In addition to BODIPY derivatives, rosamine and rhodamine fluorophores were also conjugated at the phenolic hydroxyl position. Preliminary biological data from our collaborative studies indicate that the rosamine conjugate exhibits estrogenic activity comparable to the compounds described above, although further experiments are underway to clarify this in detail. The newly synthesized E2-BODIPY conjugates may serve as starting points for the development of suitable probes for investigating estrogen uptake, transport, biotransformation, and protein-binding properties. Monitoring these processes is of central importance not only for understanding estrogen action but also for elucidating other biologically relevant mechanisms, including neuroprotective pathways. Furthermore, the excellent detectability of fluorescent estrogens may enable the identification of previously unrecognized biological effects. The green- and red-emitting BODIPY-E2 conjugates synthesized during this work complement each other chemically, as fluorescent estrogens operating in different spectral regions may be suited to distinct biomedical applications. Owing to its deeper tissue penetration, the longer-wavelength-emitting conjugate may serve as a basis for advanced live-cell imaging techniques, offering the possibility of acquiring images with high spatial and temporal resolution.



Scheme VII

8. Irodalomjegyzék

- [1] Jun J V, Chenoweth D M, Petersson E J. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, 18(30), 5747-5763
- [2] Xu W, Zeng Z, Jiang J H, Yuan L. *Angew. Chem.* **2016**, 55(44), 13658-13699
- [3] Holtzhauer M. Radioactive Labeling. In: *Basic Methods for the Biochemical Lab.* Springer, Berlin, Heidelberg, **2006**, 181-189. DOI: 10.1007/3-540-32786-X_6
- [4] Pellico J, Gawne PJ, de Rosales RTM. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50, 3355-3423
- [5] Brett A. Roberts, Christopher R. Strauss. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38(8), 653-661
- [6] Hayes B L. Recent advances in microwave-assisted synthesis. *Aldrichimica Acta* **2004**, 37(2), 66-77
- [7] C. Oliver Kappe. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(46), 6250-6284
- [8] Sun J, Wang W, Yue Q. *Materials.* **2016**, 9(4), 231
- [9] Hayes, B.L. *Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light.* CEM Publishing, Matthews, NC, **2002**. ISBN 0-9722229-0-1
- [10] E. Bálint, G. Keglevich. *Milestones in Microwave Chemistry.* Springer, **2016**, p. 1
- [11] E. Bálint, Á. Tajti, G. Keglevich. *Materials* **2019**, 12, 788
- [12] Appukkuttan P, van der Eycken E. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1133
- [13] Caddick S, Fitzmaurice R. *Tetrahedron.* **2009**, 65, 3325
- [14] Matias I A S, Ribeiro A P C, Martins L M D R S. *Processes* **2024**, 12(7), 1351
- [15] Pedersen S L, Tofteng A P, Malik L, Jensen K J. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 1826-1844
- [16] J Tierney, P Lidström. *Microwave Assisted Organic Synthesis.* **2009**
- [17] Huszár B, Mucsi Z, Keglevich Gy. *J. Org. Chem.* **2023**, 88(16), 11980-11991
- [18] Nasrollahzadeh M, Sajjadi M, Shokouhimehr M, Varma R.S. *Coord. Chem. Rev.* **2019**, 397, 54-75
- [19] Ashraf M, Ahmad M S, Inomata Y, Ullah N, Tahir M N, Kida T. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, 476, 214928
- [20] Van Noorden, R. Clever coupling catalysts lauded by chemistry Nobel. *Nature* 2010. <https://www.nature.com/articles/news.2010.511>
- [21] Timári G. Keresztkapcsolási reakciók gyógyszerkémiail alkalmazásai. *Magyar Kémiai Folyóirat* **2005**, 111(4), 177-184.
- [22] Chernyshev V M, Ananikov V P. *ACS Catal.* **2022**, 12(2), 1180-1200
- [23] Hazari N, Melvin P R, Mohadjer Beromi M. *Nat. Rev. Chem.* **2017**, 1, 0025
- [24] Das P, Liner W. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, 311, 1-23
- [25] McCarthy S, Braddock D C, Wilton-Ely J D E T. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, 442, 213925

- [26] Ansari T N, Sharma S, Hazra S, Jasinski J B, Wilson A J, Hicks F, Leahy D, Handa S. ACS Au. **2021**, 1(9), 1506-1513
- [27] Novák Z, Szabó A, Répási J, Kotschy A. J. Org. Chem. **2003**, 68(8), 3327-3329
- [28] Sures B, Singer C, Zimmermann S. Biological Effects of Palladium. Springer Nature. **2006**, 489-499
- [29] Hughes A E, Haque N, Northey S A, Giddey S. Resour. **2021**, 10, 93
- [30] Gaillard S, Reanaud J-L. Dalton Trans. **2013**, 42, 7255-7270
- [31] Hon M L, Chun-Chin L, Pi-Yun C. Curr. Org. Chem. **2007**, 17, 1491-1524
- [32] D'Alterio M C, Casals-Cruanas È, Tzouras N V, Talarico G, Nolan S P, Poater A. Chem. Eur. J. **2021**, 27, 13481-13493
- [33] Gaur P, Yamajala K D B, Banerjee S. New J. Chem. **2017**, 41, 6523-6529
- [34] Slagt V F, de Vries A H M, de Vries J G, Kellogg R M. Org. Process Res. Dev. **2010**, 14(1), 12-25
- [35] Sonogashira K, Tohda Y, Hagihara N. Tetrahedron Lett. **1975**, 50(16), 4467-4470
- [36] Novák Z, Nemes P, Kotschy A. Org. Lett. **2004**, 6(26), 4917-4920
- [37] Beller M, Bolm C (Eds.). Transition Metals for Organic Synthesis. Wiley-VCH, Weinheim, 2nd edn, 2004.
- [38] Liang, L, Astru, D. Coord. Chem. Rev. **2011**, 255, 2933
- [39] Wang S, Gao Y, Shen S, Wen H, Cui H. Molecules. **2018**, 23, 154
- [40] Trunk M, Herrmann A, Bildirir H, Yassin A, Schmidt J, Thomas A. Chem.-Eur. J. **2016**, 22, 7179-7183
- [41] Vilsmeier A, Haack A. Eur. J. Inorg. Chem. **1927**, 60(1), 119-122. 10.1002/cber.19270600118
- [42] Abdelhamid I A, Shaaban M R, Elwahy A H M. Adv. Heterocycl. Chem. **2022**, 136, 171-223
- [43] Su W, Weng Y, Jiang L, Yang Y, Zhao L, Chen Z, Li Z, Li J. Org. Prep. Proced. Int. **2010**, 42(6), 503-555
- [44] Marson C M. **1994**. Synthesis Using Vilsmeier Reagents
- [45] Huisgen R. Proc. Chem. Soc. 1961, 357
- [46] Gothelf K V, Jørgensen K A. Chem. Rev. **1998**, 98, 863
- [47] Nayl A A, Ali A A, Arafa W A A, Ahmed I M, Abd-Elhamid A I, El-Fakharany E M, Abdelgawad M A, Tawfeek H M, Bräse S. Molecules **2022**, 27(12), 3716
- [48] Treitler D S, Leung S. J. Org. Chem. **2022**, 87(17), 11293-11295

- [49] Bräse S, Gil C, Knepper K, Zimmermann V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 5188-5240
- [50] Gavenonis J, Tilley T D. *Organometallics*. **2002**, 21, 5549-5563
- [51] Pellissier H. *Tetrahedron*. **2007**, 63(16), 3235-3285
- [52] Vala D P, Vala R M Patel H M. *ACS Omega*. **2022**, 7(42), 36945-36987
- [53] Huisgen R. *Angew. Chem.* **1963**, 2(10), 565-598
- [54] Fantoni N Z, El-Sagheer A H, Brown T. *Chem. Rev.* **2021**, 121(12), 7122-7154
- [55] Rostovtsev V V, Green L G, Fokin V V, Sharpless K B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596-2599
- [56] Tornøe C W, Christensen C, Meldal M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67(9), 3057-3064
- [57] Brown T, Nordén B. *Q. Rev. Biophys. Nobel Prize 2022 to Sharpless, Meldal, Bertozzi Click Chemistry - molecular lego.* **2022**, 55
- [58] Kolb H C, Finn M G, Sharpless K B. *Angew. Chem.* **2001**, 40, 2004-2021
- [59] Kaur J, Saxena M, Rishi N. *Bioconjugate Chem.* **2021**, 32(8), 1455-1471
- [60] Himo F, Lovell T, Hilgraf R, Rostovtsev V V, Noodleman L, Sharpless K B, Fokin V V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127(1), 210- 216
- [61] González-Lainez M, Gallegos M, Munarriz J, Azpiroz R, Passarelli V, Jiménez M V, Pérez-Torrente J J. *Organometallics* **2022**, 41(15), 2154-2169
- [62] Leite A, Cunha-Silva L, Silva D, Lobo Ferreira A I M C, Santos L M N B F, Cardoso I C S, Silva V L M, Rangel M, Silva A M G. *Chem. Eur. J.* **2019**, 25(66), 15073-15082
- [63] Wu L, Burgess K. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8711-8718
- [64] Bakos É, Ágoston H, Ignácz R, Hunyadi A, Poór M, Erostyák J, Kele Z, Özvegy-Laczka C, Mernyák E. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, 26(4), 1482
- [65] Arambula C, Rodrigues J, Koh J J, Woydziak Z R. *J. Org. Chem.* **2021**, 86(24), 17856-17865
- [66] Lim, S.H.; Wu, L.; Burgess, K.; Lee, H.B. *Anticancer Drugs* **2009**, 20, 461-468
- [67] Sun R, Liu X-D, Zhan X, Lu J-M, Xu Y-J, Ge J-F. *Sens. Actuators B Chem.* **2014**, 201, 426-432
- [68] Andresen E, Radunz S, Resch-Genger U. *New J. Chem.* **2021**, 45, 13934-13940
- [69] Yang L, Niu J, Zhan Y, Xu Y, Sun R, Ge J. *Chin. J. Chem.* **2018**, 36(1), 42-46
- [70] Despras G, Zamaleeva A I, Dardevet L, Tisseyre C, Magalhaes J G, Garner C, De Waard M, Amigorena S, Feltz A, Mallet J M, Collot M. *Chem. Sci.* **2015**, 6, 5928-5937
- [71] Jiao G S, Castro J C, Thoresen L H, Burgess K. *Org. Lett.* **2003**, 5, 3675-3677

- [72] Liu L, Guo P, Chai L, Shi Q, Xu B, Yuan J, Wang X, Shi X, Zhang W. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, 194, 498-502
- [73] Zhang Y, Xia S, Fang M, Mazi W, Zeng Y, Johnston T, Pap A, Luck R, Liu H. *Chem. Commun.* **2018**, 54(55), 7625-7628
- [74] Iyoshi S, Taki M, Yamamoto Y. *Inorg. Chem.* **2008**, 47(10), 3946-3948
- [75] Taki M, Akaoka K, Iyoshi S, Yamamoto Y. *Inorg. Chem.* **2012**, 51(24), 13075-13077
- [76] Guillén M G, Suárez B, Roales J, Gámez F, Vargas A P, Moscoso F G, Lopes-Costa T, Queirós C, Silva A M G, Pedrosa J M. *J. Sens.* **2018**, 2018, 7954839
- [77] Kowada K, Maeda H, Kikuchi H. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44 , 4953-4972
- [78] Treibs A, Kreuzer F-H., *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 718, 208-223
- [79] Nascimento BF, Lopes SM, Pineiro M, Pinho e Melo TMV. *Molecules* **2019**, 24(23), 4348
- [80] Loudet A, Burgess K. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4891
- [81] Wagner R W, Lindsey J S. *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 1373
- [82] Mhlongo N Z, Ebenhan T, Driver C H S, Maguire G E M, Kruger H G, Govender T, Naicker T. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, 18, 7876-7883
- [83] A D a Lama, JP Sestelo, L A Sarandeses, M M Martínez. *Org. Biomol. Chem.* **2022**. 20, 9132-9137
- [84] Segovia-Pérez R, Ibarra-Rodríguez M, Muñoz-Flores B M, Jiménez-Pérez V M. *Dyes Pigm.* **2025**, 239, 112740
- [85] Boens N, Verbelen B, Ortiz M.J, Jiao L, Dehaen W. *Coord. Chem. Rev.* **2019**, 399, 213024.
- [86] Jiao L, Yu C, Li J, Wang Z, Wu M, Hao E. *J. Org. Chem.* **2009**, 74(19), 7525-7528
- [87] Palao-Utiel E, Montalvillo-Jiménez L, Esnal I, Prieto-Montero, R, Agarrabeitia A R, García-Moreno I, Banuelos J, López-Arbeola I, de la Moya S, Ortiz M J. *Dyes Pigm.* **2017**, 141, 286-298
- [88] Killoran J, Allen L, Gallagher J F, Gallagher W M, O'Shea D F. *Chem. Commun.* **2002**, 17, 1862-1863
- [89] Shi Z, Han X, Hu W, Bai H, Peng B, Ji L, Fan Q, Li L, Huang W. *Chem. Soc. Rev.* **2020**, 49, 7533-7567
- [90] Yuan G, O'Shea D F. *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, 45, 3846-3864
- [91] Kaur M, Janaagal A, Balsukuri N, Gupta I. *Coord. Chem. Rev.* **2024**, 498, 215428
- [92] Jameson LP, Dzyuba SV. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 1732-1735
- [93] Gut A, Łapok Ł, Jamróz D, Nowakowska M. *Asian J. Org. Chem.* **2017**, 6, 207-223

- [94] Zhao W, Carreira EM. Chem. Eur. J., **2006**, 12, 7254-7263
- [95] Hall M J, McDonnell S O, Killoran J, O'Shea D F. J. Org. Chem. **2005**, 70(14), 5571-5578
- [96] Nef J U. Ueber die Constitution der Salze der Nitroparaffine. Justus Liebigs Ann. Chem. **1894**, 280, 263-291
- [97] Donyagina V.F, Shimizu S, Kobayashi N, Lukyanets E.A. Tetrahedron Lett. **2008**, 49, 6152-6154
- [98] Wang J, Yu C, Hao E, Jiao L. Coord. Chem. Rev. **2022**, 470, 214709
- [99] Majumdar P, Mack J, Nyokong T. RSC Advances. **2015**, 5(95), 78253-78258
- [100] Zhang L, Zhao L, Wang K, Jiang J. Dyes and Pigments **2016**, 134, 427-433
- [101] Obłóza M, Łapok Ł, Pedziński T, Nowakowska M. A Beneficial Effect of Bromination on the Photophysical and Photochemical Properties of Aza-BODIPY Dyes with Electron-Donating Groups. Chem. Eur. J. **2019**, 25(62), 13964-13975
- [102] Jinjin Z, Yaojun L, Minling J, Huayu Q, Yang Li, Meier G, Shouchun Y. ACS Biomater. Sci. Eng. **2023**, 9(2), 821-830
- [103] Liu C et al. Acta Pharm. Sin. B. **2024**, 14(7), 3155-3168
- [104] Finsen NR. Br. Med. J. **1895**, 2, 1412-1414
- [105] Finsen NR. Nobel Prize in Physiology or Medicine 1903. NobelPrize.org. **1903**
- [106] Freund K B, Sarraf D, Mieler W F, Yannuzzi L A. The Retinal Atlas. Elsevier, **2016**
- [107] Aebischer D, Szpara J, Bartushik-Aebischer D. Int. J. Mol. Sci. **2024**, 25, 8258
- [108] Zhao W, Wang L, Zhang M, Liu Z, Wu C, Pan X, Huang Z, Lu C, Quan G. MedComm. **2024**, 5
- [109] Wang X, Peng J, Meng C, Feng F. Chem. Sci. **2024**, 15, 12234-12257
- [110] Juzeniene A, Moan J. Photodiagnosis Photodyn. Ther. **2007**, 4, 3-11
- [111] Zhang Z, Huang H. Sci. China Chem. **2022**, 65, 834-835
- [112] Correia JH, Rodrigues JA, Pimenta S, Dong T, Yang Z. Pharmaceutics. **2024**, 16, 63
- [113] Chen D, Tang Q, Zou J, Yang X, Huang W, Zhang Q, Shao J, Dong X. pH-Responsive PEG–Doxorubicin-Encapsulated aza-BODIPY Nanotheranostic Agent for Imaging-Guided Synergistic Cancer Therapy. Adv. Healthcare Mater. **2018**, 1701272
- [114] Wu J. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application. J. Pers. Med. 2021, 11, 771.
- [115] Mazurek M, Lichti CF, Larsson DGJ, Vogel-Ciernia A, Zwicker J, Starck SR. Int. J. Mol. Sci. **2022**, 23, 926
- [116] Lima E, Reis L V. Molecules. **2023**, 28, 5092

- [117] Chen D, Zhong Z, Ma Q, Shao J, Huang W, Dong X. ACS Appl. Mater. Interfaces **2020**, *12*, 26914-26925
- [118] Bartusik-Aebischer D, Woźnicki P, Dynarowicz K, Aebischer D. Brain Sci. **2023**, *13*, 1299
- [119] Lucky, S. S., Soo, K. C., & Zhang, Y. Chem. Rev. **2015**, *115*(4), 1990-2042
- [120] Gunaydin G, Gedik M E, Ayan S. Front. Chem. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status. **2021**, *9*
- [121] Gallagher W M, Allen L T, O'Shea C, Kenna T, Hall M, Gorman A, Killoran J, O'Shea D F. Br. J. Cancer. **2005**, *92*(9), 1702-1710
- [122] Gorman, A., Killoran, J., O'Shea, C., Kenna, T., Gallagher, W. M., & O'Shea, D. F. J. Am. Chem. Soc. **2004**, *126*(34), 10619-10631
- [123] Zou J, Yin Z, Ding K, Tang Q, Li J, Si W, Shao J, Zhang Q, Huang W, Dong X. ACS Appl. Mater. Interfaces. **2017**, *9*, 32475-32481
- [124] Kim H S, Rha H, Izadyar M, Chanmungkalakul S, Huang H, Kang Y Y, Ka J W, Xu Y, Li M, Liu X, Kim J S. Chem. Sci. **2025**, *16*, 14485-14495
- [125] Nguyen V-N, Yan Y, Zhao J, Yoon J. Acc. Chem. Res. **2021**, *54*, 207-220
- [126] Ming L, Li C. ChemPlusChem. **2020**, *85*, 948-957
- [127] Muangsopa P, Yong G Y, Thathong Y, Kampaengsri S, Chansaenpak K, Saetiew J, Khrootkaew T, Jantasin A, Meemon P, Sukwattanasinitt M, Kue C S, Kamkaew A. Heavy-Atom-Free aza-BODIPY Polymeric Nanoparticles for Photodynamic Therapy. ACS Appl. Bio Mater. **2025**, *8*(9), 7842-7854
- [128] Soler-Beatty J, Avellanal-Zaballa E, Durán-Sampedro G, Garcia-Fernandez A, Agarrabeitia AR, Bañuelos J, Mañez RM, Ortiz MJ. Mater. Adv. **2025**, *6*, 860-869
- [129] Dutta D, Nair R R, Mangalath S, Nair S A, Joseph J, Gogoi P, Ramaiah D. ACS Omega **2023**, *8*(29), 26180-26190
- [130] Pewklang T, Chansaenpak K, Bakar N A, Lai R Y, Kue C S, Kamkaew A. Front. Chem. **2022**, *10*, 1015883
- [131] Lei B, Pan H, Zhang Y, Ren X-K, Chen Z. Org. Biomol. Chem. **2021**, *19*, 6108-6114
- [132] Lanišnik Rižner T, Romano A. Front. Pharmacol. **2023**, *14*, 1155558
- [133] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. CA Cancer J. Clin. **2021**, *71*, 209-249
- [134] Gajadeera N, Hanson RN. Steroids, **2019**, *144*, 30-46
- [135] Jirikowski, G.F.; Reimar, K. Steroid-Styrylfarbstoff-Konjugate Zur Simulation und Direkten Lichtoptischen Detektion des Verhaltens von Steroiden im Lebenden Biologischen

Gewebe und in Gegenwart von Steroidbindenden Proteinen. Patent DE 102010027016A1, 12 January 2012

- [136] Osati S, Ali H, van Lier JE. J. Porphyr. Phthalocyanines **2016**, 20, 61-75
- [137] Osati S, Ali H, Marques F, Paquette M, Beaudoin S, Guerin B, Leyton JV, van Lier JE. Bioorg. Med. Chem. Lett. **2017**, 27(3), 443-446
- [138] Martínez-Bourget D, Rocha E, Labra-Vázquez P, Santillan R, Ortiz-López B, Ortiz-Navarrete V, Maraval V, Chauvin R, Farfán N. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. **2022**, 283, 121704.
- [139] Langhals H, Obermeier A. Eur. J. Org. Chem. **2008**, 36, 6144-6151
- [140] Felion C, Lopez-Gonzalez R, Sewell AL, Marquez R, Gauchotte-Lindsay C. ACS Omega. **2022**, 7(45), 41284-41295
- [141] Osman A AM, Laczkó D, Vágvölgyi M, Seres-Bokor A, Sztojckov-Ivanov A, Kemény KK, Hunyadi A, Ducza E. Heliyon. **2025**, 11(3): e42435
- [142] Hunyadi A. Serratula wolffii, as a promising source of ecdysteroids. Doktori értekezés, Szegedi Tudományegyetem, 2006
- [143] Pal M, Parasuraman K, Yeleswarapu K R. Org. Lett. **2003**, 5(3), 349-352
- [144] Rohand T, Dolusic E, Ngo T H, Maes W, Dehaen W. Arkivoc **2007**, (10), 307-324
- [145] Bacsa I, Konc C, Orosz A B, Kecskeméti G, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Mernyák E. Molecules **2018**, 23(4), 821
- [146] Farfan-Paredes M, Gonzalez-Antonio O, Tahuilan-Anguiano D E, Peon J, Ariza A, Lacroix P G, Santillan R, Farfan N. New J. Chem. **2020**, 44, 19459-19471
- [147] Hlogyik T, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi C, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26, 7075
- [148] Hlogyik T, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem. **2023**, 21, 6018-6027
- [149] Xu Y, Zhao M, Zou L, Wu L, Xie M, Yang T, Liu S, Huang W, Zhao Q. ACS Appl. Mater. Interfaces **2018**, 10, 44324-44335
- [150] Sharma R, Maragani R, Misra R. J. Organomet. Chem. **2016**, 825-826, 8-14
- [151] Loudet A, Bandichhor R, Wu L, Burgess K. Tetrahedron **2008**, 64(17), 3642-3654
- [152] Bourgès A C, Garre M, Wu D, O'Shea D F. Membranes **2025**, 15(1), 9
- [153] McKeown G R, Manion J G, Lough A J, Seferos D S. Chem. Commun. **2018**, 54, 8893-8896
- [154] Yadav B, Ravikanth M. Synlett. **2024**, 35(1), 55-83
- [155] Shamova L I, Zatsikha Y V, Nemykin V N. Dalton Trans. **2021**, 50(5), 1569-1593

- [156] Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, Hlogyik T, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka C, Batta G, Hetényi C, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813
- [157] Szabó J, Pataki Z, Wölfling J, Schneider G, Bózsity N, Minorics R, Zupkó I, Mernyák E. Steroids. **2016**, 113, 14-21
- [158] Hilderbrand S A, Weissleder R. Tetrahedron Lett. **2007**, 48(25), 4383-4385
- [159] Oliveira E, Bértolo E, Núñez C, Pilla V, Santos H M, Fernández-Lodeiro J, Fernández-Lodeiro A, Djafari J, Capelo J L, Lodeiro C. ChemistryOpen **2018**, 7, 9-52
- [160] Boivin RP, Luu-The V, Lachance R, Labrie F, Poirier D. J. Med. Chem. **2000**, 43(23), 4465-4478
- [161] EG: Caldwell JD, Jirikowski GF. Steroids 2014, 81, 13-16.

9. A doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények és prezentációk listája

Közlemények

1. **Hlogyik T**, Laczkó-Rigó R, Bakos É, Poór M, Kele Z, Özvegy-Laczka Cs, Mernyák E. Org. Biomol. Chem., **2023**, 21, 6018–6027. IF: 2,9
2. Peřina M, Börzsei R, Ágoston H, **Hlogyik T**, Poór M, Rigó R, Özvegy-Laczka Cs, Batta G, Hetényi Cs, Vojáčková V, Jorda R, Mernyák E. Eur. J. Pharm. Sci. **2024**, 199, 106813. IF: 4.7
3. **Hlogyik T**, Bózsity N, Börzsei R, Kovács B, Labos P, Hetényi Cs, Kiricsi M, Huliák I, Kele Z, Poór M, Erostyák J, Hunyadi A, Zupkó I, Mernyák E. Int. J. Mol. Sci. **2025**, 26(15), 7075. IF: 4,9

Összesített impakt faktor: 12,5

Előadások

1. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – Biomolekulák zöld- vagy vörös-emittáló fluorofórral való jelölése – XLVIII. Kémiai előadói napok, Szeged, 2025.10.27-29.
2. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – Aza-BODIPY típusú fényérzékenyítő anyagok szintézise – XLVI. Kémiai előadói napok, Szeged, 2023.10.17-19. Teljes terjedelmű konferenciakiadvány (ISBN 978-615-6018-22-9, 64. oldal)
3. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – Vörös emittáló fluorofórok szintézise és fotodinámiás alkalmazhatóságuk – Ifjú Szerves Kémikusok Előadójelentése, 2023.05.09.
4. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – BODIPY-típusú fluorofórok etinil-származékainak szintézise és konjugálása – Ifjú Szerves Kémikusok Előadójelentése, 2022.05.18.

Poszterek

1. **Tamás Hlogyik**, Máté Vágvolgyi, Labos Péter, Noémi Bózsity, István Zupkó, Attila Hunyadi, Erzsébet Mernyák – Novel Fluorescent-labeled estradiol derivatives. 30th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged, 2024.10.7-8.
2. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – Fluoreszcensen jelölt 17 β -ösztadiol származékok előállítása – Vegyészkonferencia, Eger, 2024.06.10-12.
3. **Hlogyik Tamás**, Mernyák Erzsébet – Biomolekulák konjugálására alkalmas aza-BODIPY típusú fluorofórok szintézise – Vegyészkonferencia, Eger, 2022.06.15-17.
4. **Tamás Hlogyik**, Erzsébet Mernyák – Synthesis of red-emitting fluorophores - 28th International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged, 2022.11.14-15. Teljes terjedelmű konferenciakiadvány (ISBN 978-963-306-904-2, 170-173. oldal).

10. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Mernyák Erzsébetnek felbecsülhetetlen értékű szakmai iránymutatását. Továbbá, hogy fáradtságot nem ismerve mindvégig támogatott, terelgetett 4 éves PhD-s pályafutásom alatt, hálás vagyok a végtelen türelméért, valamint hogy saját példáin keresztül ösztönzött és inspirált engem. Végül, de nem utolsó sorban azért is, mert mindvégig biztosította kutatásaim feltételeit.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Wölfling János tanszékvezető egyetemi tanárnak és az SZTE Kémia Doktori Iskolának a kutatási helyem biztosításáért a Molekuláris és Analitikai Kémiai Tanszéken. Külön köszönet illeti Prof. Dr. Hunyadi Attilát, az SZTE Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziai Intézet vezetőjét is, aki szintén kutatási helyet biztosított nekem az intézet laborjaiban, továbbá oldószerekkel és különböző eszközökkel járult hozzá kutatásaim befejezéséhez.

Köszönettel tartozom együttműködő partnereinknek:

Dr. Özvegy-Laczka Csillának és Rigó Rékának a Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézetétől a biológiai hatástani vizsgálatok elvégzéséért.

Dr. Bózsity-Faragó Noéminek és Labos Péternek az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetétől az *in vitro* enzimaktivitás vizsgálatok elvégzéséért.

Dr. Radek Jorda-nak és kutatócsoportjának a csehországi Palacký Egyetem Természettudományi Kar, Kísérleti Biológiai Tanszékéről a radioligand kötődési vizsgálatok elvégzéséért.

Dr. Kiricsi Mónikának és Dr. Huliák Ildikónak az SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszékéről a fluoreszcens konfokális mikroszkópiás vizsgálatokért.

Dr. Hetényi Csabának a Pécsi Tudományegyetem, Farmakoinformatikai Tanszékéről a számításhoz kémiai modellezések elvégzéséért.

Dr. Kele Zoltánnak az SZTE Orvosi Vegytani Intézetétől a tömegspektrumok felvételéért.

Dr. Erostyák Jánosnak a Pécsi Tudományegyetem, Kísérleti Fizika Tanszékéről a kvantumhatásfok meghatározásáért.

Dr. Poór Miklósnak a Pécsi Tudományegyetem, Laboratóriumi Medicina Intézetétől az abszorpciós és fluoreszcencia spektrumok felvételéért, valamint rendkívül hasznos tanácsaiért és önzetlen segítségéért!

Hálával tartozom Kutatócsoportunk minden tagjának, hogy időnként kizökkentettek és a helyes irányba terelgettek, vagy csak elvittek kávézni: Ignác Rebekának, Kovács Benjáminnak, Szekeres Renátónak, Ágoston Henriettának és Traj Péternek. Az irodai / labori jó hangulatért pedig a közvetlen kollégáknak, Gonda Tímeának, Szőri Kornélnak, Paizs

Melindának és Vass Máténak. További barátaimnak pedig azt, hogy biztosították a végzéshez elengedhetetlen péntekenkénti rendszerfrissítéseket!

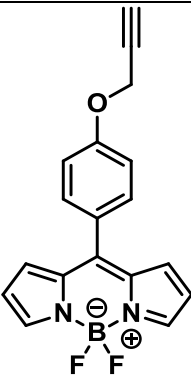
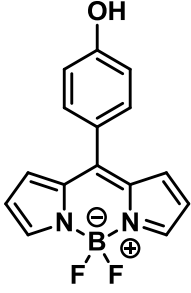
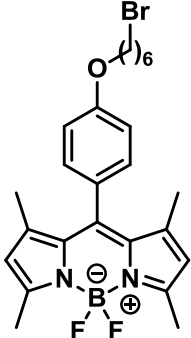
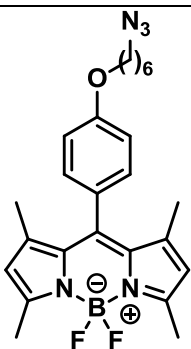
Végül, de nem utolsó sorban külön köszönöm Családomnak is megértésüket és türelmüket, valamint hogy tanulmányaim során folyamatos támogatást nyújtottak.

Köszönjük a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) SNN 139323 támogatását.

11. Mellékletek

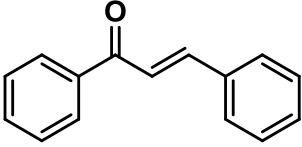
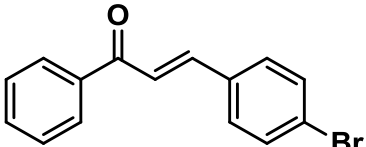
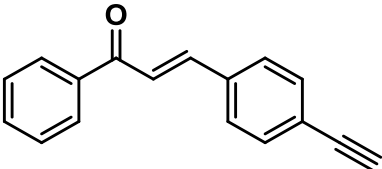
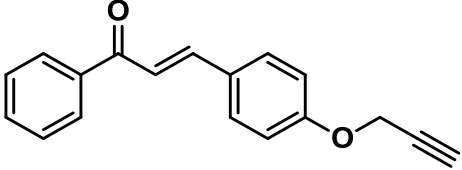
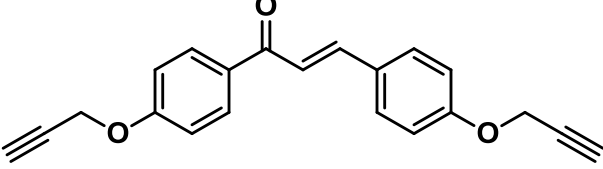
I. Összefoglaló táblázat

BODIPY vegyületek fizikai adatai

Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	17aa	78	147–150	0,46 ^k	C ₁₈ H ₁₃ BF ₂ N ₂ O (322,1)
	17ab	92	149,5–150,9	0,40 ⁱ	C ₁₅ H ₁₁ BF ₂ N ₂ O (284,1)
	17da	70	-	0,40 ^h	C ₂₅ H ₃₀ BBrF ₂ N ₂ O (502,2)
	17db	94	-	0,40 ^h	C ₂₅ H ₃₀ BF ₂ N ₅ O (465,3)

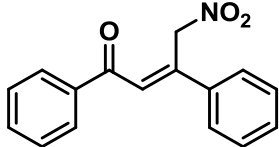
II. Összefoglaló táblázat

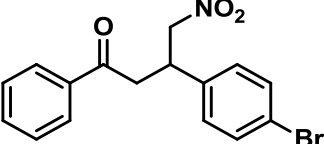
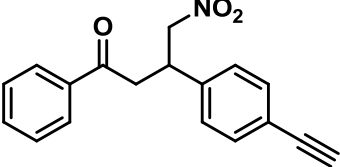
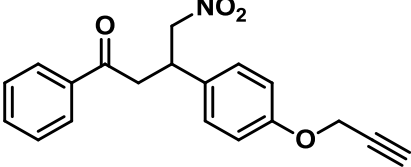
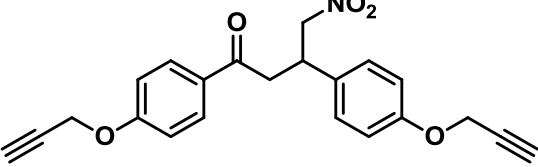
Kalkonok fizikai adatai

Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	19a	90	55,0–57,0	0,64 ^a	C ₁₅ H ₁₂ O (208,1)
	19b	65	117,0–119,0	0,64 ^b	C ₁₅ H ₁₁ BrO (286,0)
	19c	80	-	0,65 ^b	C ₁₇ H ₁₂ O (232,1)
	19d	85	63,3–65,1	0,60 ^b	C ₁₈ H ₁₄ O ₂ (262,1)
	19e	80	-	0,55 ^b	C ₂₁ H ₁₆ O ₃ (316,1)

III. Összefoglaló táblázat

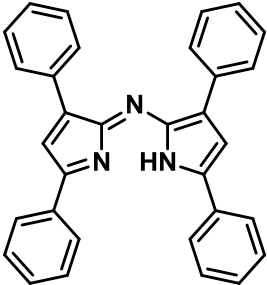
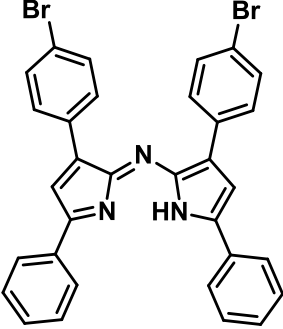
Nitrovegyületek fizikai adatai

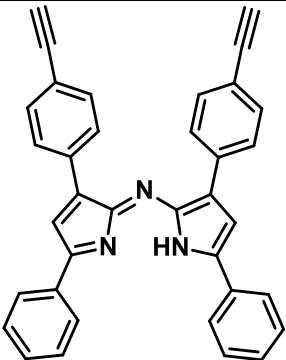
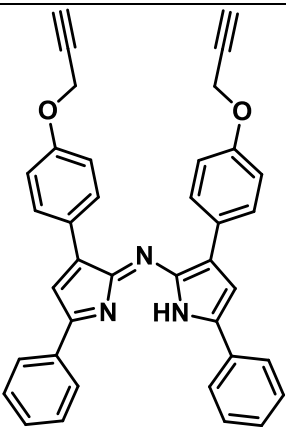
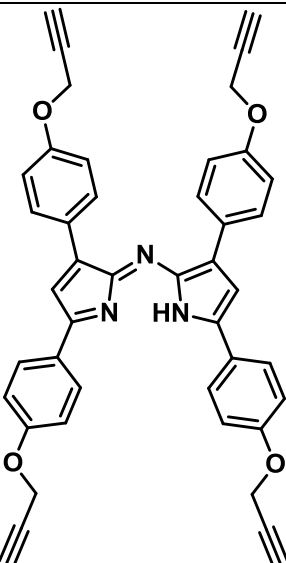
Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	20a	82	68,5–69,4	0,55 ^a	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃ (267,1)

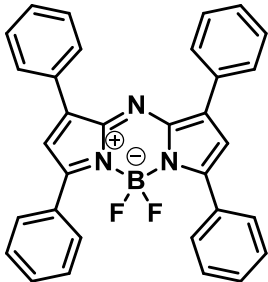
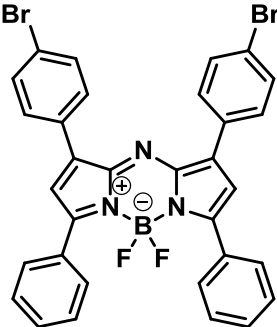
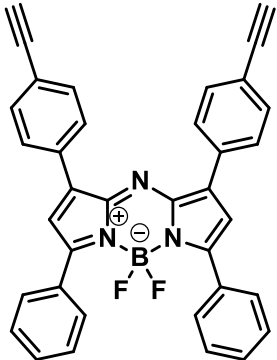
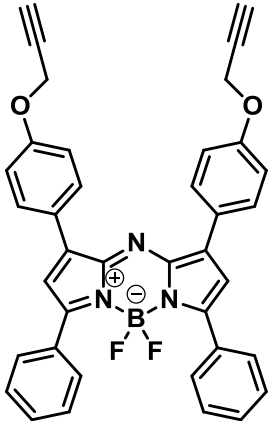
	20b	86	-	0,55 ^a	C ₁₆ H ₁₄ BrNO ₃ (347,0)
	20c	-	-	0,52 ^a	C ₁₈ H ₁₅ NO ₃ (293,1)
	20d	83	olaj	0,50 ^a	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄ (323,1)
	20e	-	olaj	0,48 ^a	C ₂₂ H ₁₉ O ₅ (377,1)

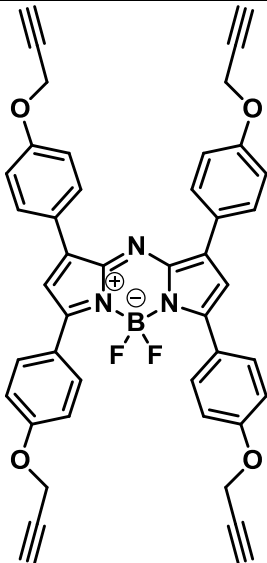
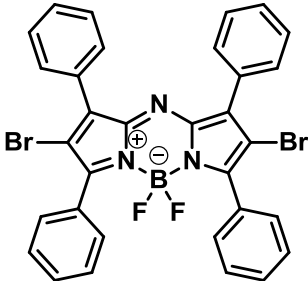
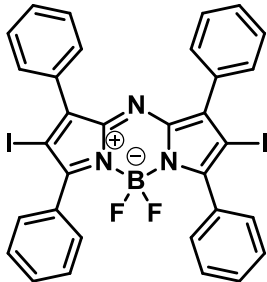
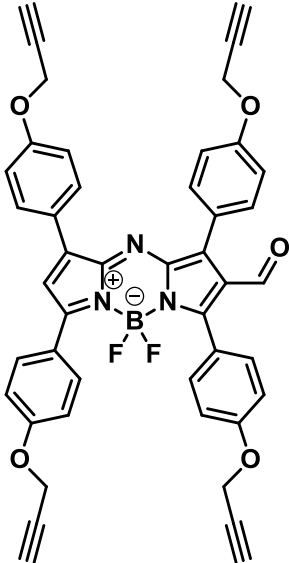
IV. Összefoglaló táblázat

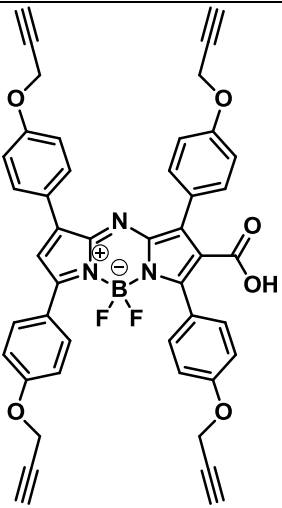
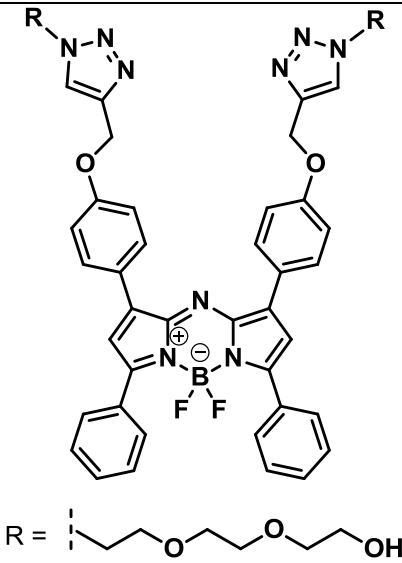
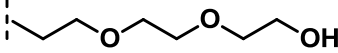
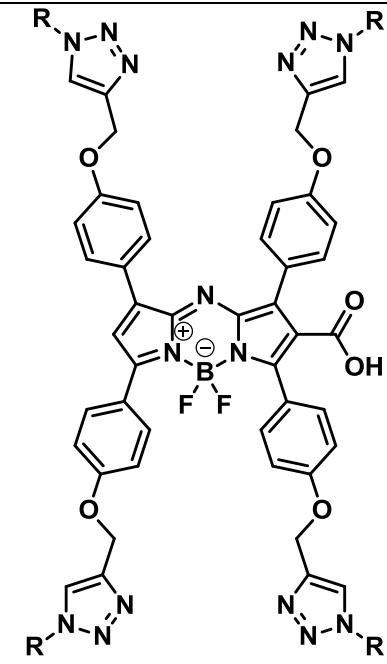
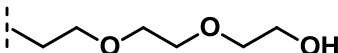
Dipirrometének és *aza*-BODIPY-k fizikai adatai

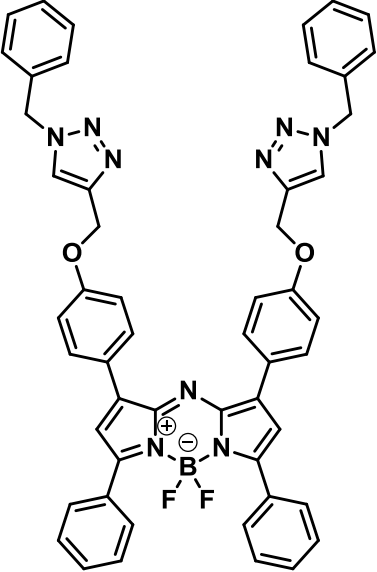
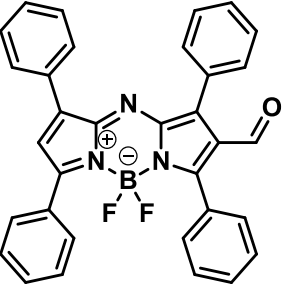
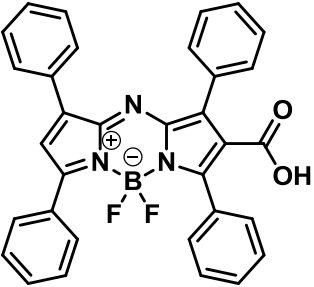
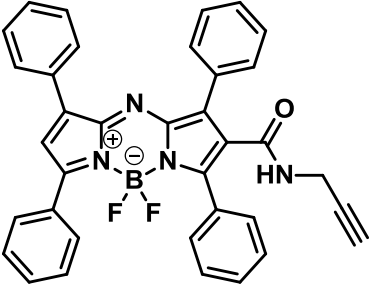
Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	21a	39	287,3–290,8	0,55 ^c	C ₃₂ H ₂₃ N ₃ (449,2)
	21b	28	-	0,53 ^D	C ₃₂ H ₂₁ Br ₂ N ₃ (605,0)

	21c	36	-	0,60 ^J	C ₃₆ H ₂₃ N ₃ (497,2)
	21d	38	234,8–236,4	0,65 ^k	C ₃₈ H ₂₇ N ₃ O ₂ (557,2)
	21e	-	-	0,41 ^k	C ₄₄ H ₃₁ N ₃ O ₄ (665,2)

Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	TFAB	95	221,5–224,8	0,50 ^c	C ₃₂ H ₂₂ BF ₂ N ₃ (497,2)
	30b	91	-	0,48 ^D	C ₃₂ H ₂₀ Br ₂ F ₂ N ₃ (653,0)
	30c	90	-	0,55 ^J	C ₃₆ H ₂₂ BF ₂ N ₃ (545,2)
	30d	92	183,5–187,0	0,24 ^d	C ₃₈ H ₂₆ BF ₂ N ₃ O ₂ (605,2)

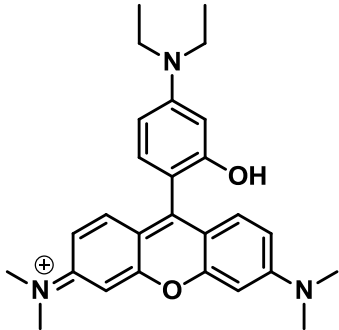
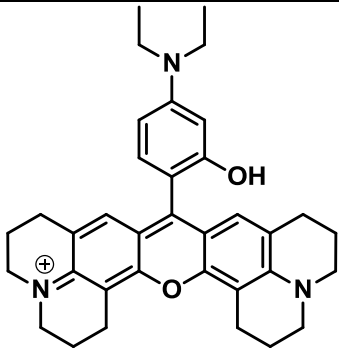
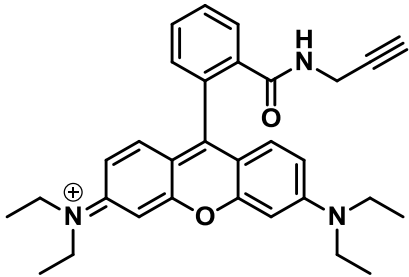
	34	85	178,0–180,2	0,44 ^k	C ₄₄ H ₃₀ BF ₂ N ₃ O ₄ (713,2)
	31a	96	-	0,54 ^c	C ₃₂ H ₂₀ BBr ₂ F ₂ N ₃ (653,0)
	31b	95	-	0,52 ^c	C ₃₂ H ₂₀ BI ₂ F ₂ N ₃ (749,0)
	34a	-	-	0,62 ^f	C ₄₄ H ₃₀ BF ₂ N ₃ O ₄ (741,2)

	34b	76	-	0,50 ^F	C ₅₂ H ₄₁ BF ₂ N ₉ O ₂ (757,2)
 R = 	32	50	42,6–43,5	0,60 ^E	C ₅₀ H ₅₂ BF ₂ N ₉ O ₈ (955,4)
 R = 	35	42	-	0,52 ^L	C ₆₉ H ₈₂ BF ₂ N ₁₅ O ₁₈ (1457,6)

	33	54	222,2–223,8 -	0,69 ^F	C ₅₀ H ₄₀ BF ₂ N ₉ O ₂ (871,3)
	31c	-	-	0,45 ^E	C ₃₃ H ₂₂ BF ₂ N ₂ O (525,2)
	31d	92	254,3–258,1	0,60 ^E	C ₃₃ H ₂₂ BF ₂ N ₃ O ₂ (541,2)
	31e	92	260,2–263,4	0,90 ^F	C ₃₆ H ₂₅ BF ₂ N ₄ O (578,2)

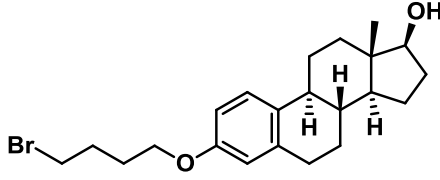
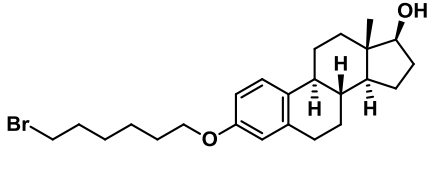
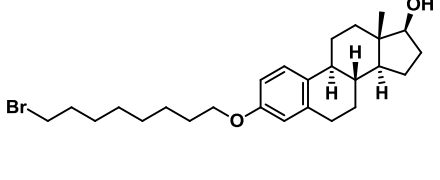
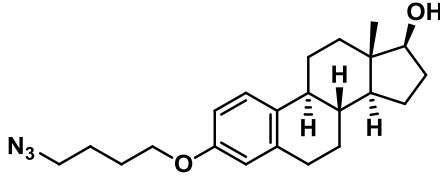
V. Összefoglaló táblázat

Rodamin és rozamin származékok fizikai adatai

Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	11c	32	193,2– 195,4	0,35 ^E	C ₂₇ H ₃₂ N ₃ O ₂ ⁺ (430,2)
	14b	30	-	0,45 ^E	C ₃₅ H ₄₀ N ₃ O ₂ ⁺ (534,3)
	37	30	-	0,40 ^G	C ₃₁ H ₃₄ N ₃ O ₂ ⁺ (480,3)

VI. Összefoglaló táblázat

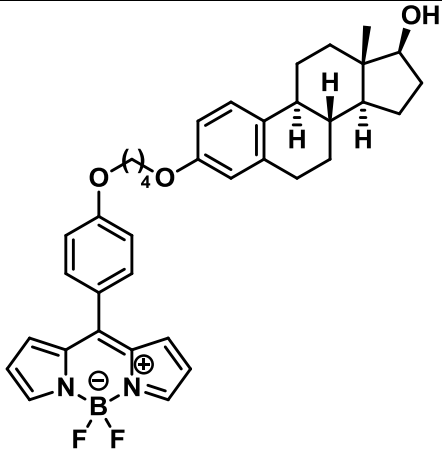
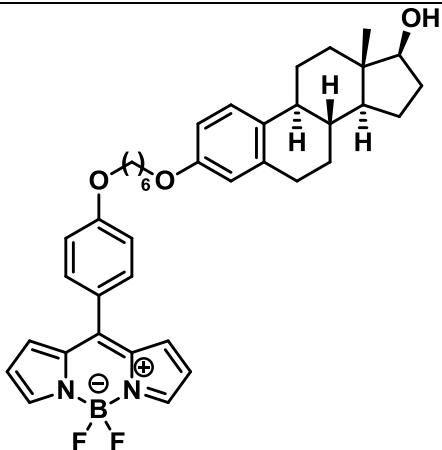
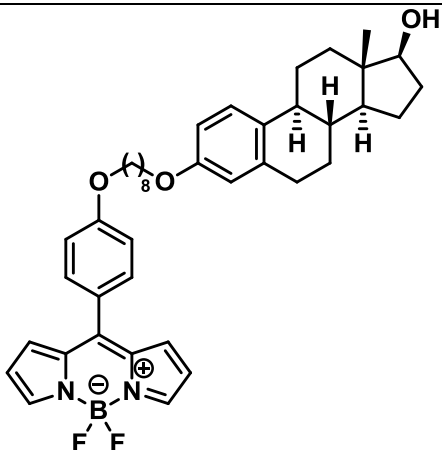
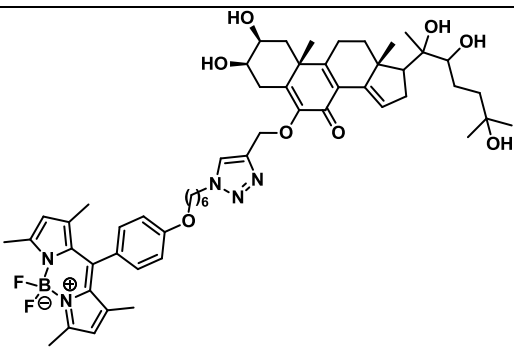
E2 származékok fizikai adatai

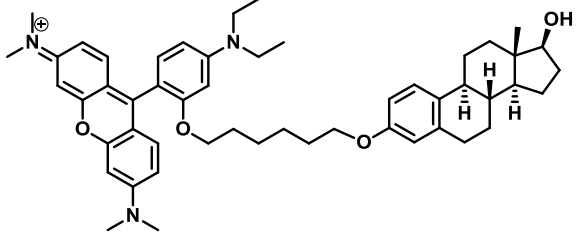
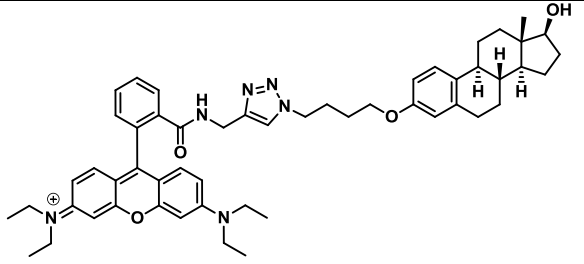
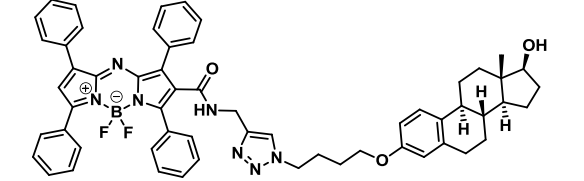
Termék	Jele	Hozam [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)
	38a	96	104,4–105,0	0,41 ^G	C ₂₂ H ₃₁ BrO ₂ (406,2)
	38b	95	55,2–56,2	0,43 ^G	C ₂₄ H ₃₅ BrO ₂ (434,2)
	38c	93	62,3–63,0	0,50 ^G	C ₂₆ H ₃₉ BrO ₂ (462,2)
	40	92	66,2–67,4	0,47 ^A	C ₂₂ H ₃₁ N ₃ O ₂ (369,2)

VII. Összefoglaló táblázat

Konjugátumok fizikai adatai

Termék	Jele	Hoz am [%]	O. p. [°C]	R _f	Összegképlet (Mr)

	39a	91	83,6–84,0	0,51 ^G	C ₃₇ H ₄₁ BF ₂ N ₂ O ₃ (610,3)
	39b	90	57,2–58,2	0,53 ^G	C ₃₉ H ₄₅ BF ₂ N ₂ O ₃ (638,4)
	39c	92	48,1–51,0	0,58 ^G	C ₄₁ H ₄₉ BF ₂ N ₂ O ₃ (666,4)
	45	84	65,0–66,2	0,45 ^B	C ₅₅ H ₇₂ BF ₂ N ₅ O ₈ (979,5)

	43	86	-	0,20 ^E	C ₅₁ H ₆₆ N ₃ O ₄ ⁺ (784,5)
	42	66	-	0,25 ^M	C ₅₃ H ₆₅ N ₆ O ₄ ⁺ (849,5)
	41	90	205,9–208,0	0,45 ^F	C ₅₈ H ₅₆ BF ₂ N ₇ O ₃ (947,4)

A vegyületek NMR és MS adatai

28d

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Lermontova S A, Grigoryev I S, Peskova N N, Balalaeva I V, Boyarskii V P, Klapshina L G. Russ. J. Gen. Chem. **2018**, 88(11), 2339-2346.)

28e

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Pan L F, Wang X B, Xie S S, Li S Y, Kong L Y. Med. Chem. Commun. **2014**, 5, 609-616.)

17aa

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Saravanan V, Ganesan S, RaJakumar P. RSC Adv. **2020**, 10, 18390-18399.)

17ab

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Farfan-Paredes M, Gonzalez-Antonio O, Tahuilan-Anguiano D E, Peon J, Ariza A, Lacroix P g; Santillan R, Farfan N. New J. Chem., **2020**, 44, 19459-19471.)

17da

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Tang L, Lin D, Rehmat N, Lu M, Mahmood Z, Liang H, Li M, Zhao Z, Huo Y, Ji S. Dyes Pigments, **2023**, 217, 111392.)

17db

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Jin M, Ji X, Stoika R, Liu K, Wang L, Song Y. Bioorg. Chem., **2020**, 101, 104021.)

19a

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Li J T, Yang W Z, Wang S X, Li S H, Li T S. Ultrason. Sonochem. **2002**, 9, 237-239.; Alonso C A M, Candeias N R, Simão D P, Trindade A F, Coelho J A S, Tan B, Franzén R. Comprehensive Organic Chemistry Experiments for the Laboratory Classroom. RSC, Cambridge, **2016**.)

19b

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Prabu S, Nagalakshmi R, Srinivasan P. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. **2013**, 103, 45-52.)

19c

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Adinarayana Reddy R, Krishna Reddy V, Mahesh B, Ram B, Balram B. World J. Pharm. Res. **2016**, 5(1), 927–936.)

19d

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Niu C, Li g; Tuerxuntayi A, Aisa H A. Chin. J. Chem. 2015, 33, 486-494.; Singh g; Singh J, Mangat S S, Arora A. RSC Adv. **2014**, 4, 60853-60865.)

20a

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Jameson L P, Dzyuba S V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 1732-1735.).

20b

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Priefer R, Griffith J R, Ludwig J N, Skelhorne-Grosse G, Greene R S. *Lett. Org. Chem.* **2011**, 8, 368-373.

20d

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3,45–3,57 (átfedő multiplettek, 3H, CH_2 és $\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,01 (m, 1H), 4,75 (d, J = 4,7 Hz, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2$); 4,82 (dd, 1H, J = 12,8 Hz, J = 5,7 Hz, 1H); 4,95 (dd, 1H, J = 12,8 Hz, J = 9,7 Hz, 1H); 6,92 (d, J = 7,3 Hz, 2H); 7,31 (d, J = 7,3 Hz, 2H); 7,51 (t, J = 7,6 Hz, 2H); 7,63 (t, J = 7,6 Hz, 1H); 7,93 (d, J = 7,6 Hz, 2H). ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 197,4 ($\text{C}=\text{O}$); 156,2 (C); 136,3 (C); 133,3 (CH); 132,4 (C); 128,7 ($2\times\text{CH}$); 128,6 ($2\times\text{CH}$); 127,8 ($2\times\text{CH}$); 114,6 ($2\times\text{CH}$); 79,7 és 79,2 és 78,0 (CH_2 és $\text{C}\equiv\text{CH}$); 55,2 (CH_2); 41,2 (CH_2); 38,4 (CH). ESI-HRMS: m/z : 346,10547 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4 + \text{Na}^+$ számított: 346,10498 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$).

21a

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Jameson L P, Dzyuba S V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 1732-1735.).

21b

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Gorman A, Killoran J, O'Shea C, Kenna T, Gallagher W M, O'Shea D F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(34), 10619-10631.)

21d

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3,61 (s, 2H, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,91 (d, J = 2,1 Hz, $2\times\text{OCH}_2$); 7,12 (d, J = 7,1 Hz, 4H); 7,54 (t, J = 7,5 Hz, 2H); 7,58 (s, 2H); 7,62 (t, J = 7,5 Hz, 4H); 8,07 (átfedő multiplettek, 8H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 157,3 ($2\times\text{C}$); 154,9 ($2\times\text{C}$); 148,7 ($2\times\text{C}$); 141,2 ($2\times\text{C}$); 131,3 ($2\times\text{C}$); 130,4 ($2\times\text{CH}$); 129,8 ($4\times\text{CH}$); 129,3 ($4\times\text{CH}$); 126,5 ($4\times\text{CH}$); 126,4 ($2\times\text{C}$); 114,8 ($4\times\text{CH}$); 114,6 ($2\times\text{CH}$); 79,1 és 78,2 ($2\times\text{C}\equiv\text{CH}$); 55,4 ($2\times\text{OCH}_2$). ESI-HRMS: m/z : 558,21836 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}^+$ számított: 58,21761 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$).

TFAB

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Jameson L P, Dzyuba S V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2013, 23, 1732–1735; Xu Y, Zhao M, Zou L, Wu L, Xie M, Yang T, Liu S, Huang W, Zhao Q. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10, 44324-44335).

31a

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Gorman A, Killoran J, O'Shea C, Kenna T, Gallagher W M, O'Shea D F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(34), 10619-10631.)

31b

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Sharma R, Maragani R, Misra R. *J. Organomet. Chem.* **2016**, 825-826, 8-14.)

30b

Az adatok megegyeznek a szakirodalomban lévő adatokkal (Gorman A, Killoran J, O'Shea C, Kenna T, Gallagher W M, O'Shea D F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(34), 10619-10631.)

30c

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3,25 (s, 2H, C≡CH); 7,05 (s, 2H); 7,48–7,52 (átfedő multiplettek, 6H); 7,58–7,61 (átfedő multiplettek, 6H); 8,01–8,05 (átfedő multiplettek, 6H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 160,3 (2×C); 146,1 (2×C); 143,6 (2×C); 133,1 (2×C); 132,9 (4×CH); 131,9 (2×C); 131,6 (2×CH); 130,1 (2×CH); 129,6 (4×CH); 129,2 (4×CH); 123,8 (2×C); 119,9 (2×CH); 75,9 (2≡CH).

30d

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2,59 (s, 2H, C≡CH); 4,78 (d, *J* = 2,4 Hz, 2×OCH₂); 6,94 (s, 2H); 7,08 (d, *J* = 7,1 Hz, 4H); 7,47–7,49 (átfedő multiplettek, 6H); 8,02–8,07 (átfedő multiplettek, 8H). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 159,3 (2×C); 158,9 (2×C); 145,5 (2×C); 143,6 (2×C); 131,8 (2×C); 130,9 (4×CH); 130,7 (2×CH); 129,5 (4×CH); 128,5 (4×CH); 126,2 (2×C); 117,8 (2×CH); 115,2 (4×H); 78,3 és 75,9 (2≡CH); 55,9 (2×OCH₂). ESI-HRMS: *m/z*: 606,21601 [M + H]⁺ (C₃₈H₂₆BF₂N₃O₂ + H⁺ számított 606,21589 [M + H]⁺).

34

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3,61 (t, J = 2,25 Hz, 2H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,63 (t, J = 2,25 Hz, 2H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$); 4,93–4,95 (d, J = 2,4 Hz, 4 $\times$ OCH $_2$); 7,17–7,18; 7,49 (s, 2H); (átfedő multiplettek, 8H); 8,13–8,17 (átfedő multiplettek, 8H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 159,7 (2 $\times$ C); 159,6 (2 $\times$ C); 157,2 (2 $\times$ C); 144,4 (2 $\times$ C); 141,9 (2 $\times$ C); 131,5 (4 $\times$ CH); 130,6 (4 $\times$ CH); 125,2 (2 $\times$ C); 124,1 (2 $\times$ C); 118,4 (2 $\times$ CH); 115,3 (4 $\times$ CH); 115,2 (4 $\times$ CH); 79,1 (2 $\equiv$ CH); 78,9 (2 $\equiv$ CH); 55,8 (2 $\times$ OCH $_2$); 55,7 (2 $\times$ OCH $_2$).

34b

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3,59–3,66 (átfedő multiplettek, 4H); 4,88–4,98 (átfedő multiplettek, 4 $\times$ OCH $_2$); 7,09 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,14 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,16–7,22 (átfedő multiplettek, 5H); 7,58 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,73 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 8,19–8,23 (átfedő multiplettek, 4H); 9,55 (s, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 165,8 (2 $\times$ C); 160,9 (1 $\times$ C); 159,1 (2 $\times$ C); 158,3 (2 $\times$ C); 158,1 (2 $\times$ C); 132,5 (2 $\times$ CH); 131,8 (3 $\times$ CH); 131,0 (4 $\times$ CH); 124,5 (2 $\times$ C); 124,2 (2 $\times$ C); 123,9 (1 $\times$ C); 122,7 (1 $\times$ C); 115,3 (4 $\times$ CH); 114,4 (2 $\times$ CH); 113,9 (2 $\times$ CH); 79,1 (2 $\equiv$ CH); 78,0 (2 $\equiv$ CH); 55,8 (2 $\times$ OCH $_2$); 55,4 (2 $\times$ OCH $_2$).

32

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 3,37 (t, J = 5,2 Hz, 4H); 3,45–3,48 (átfedő multiplettek, 8H); 3,51–3,53 (átfedő multiplettek, 4H); 3,82 (t, J = 5,2 Hz, 4H); 4,54–4,57 (átfedő multiplettek, 6H); 5,31 (s, 4H); 7,27 (d, J = 8,8 Hz, 4H); 7,47 (s, 2H); 7,55–7,57 (átfedő multiplettek, 6H); 8,06–8,08 (átfedő multiplettek, 4H); 8,19 (d, J = 8,8 Hz, 4H); 8,26 (s, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 159,7 (2 $\times$ C); 158,4 (2 $\times$ C); 144,6 (2 $\times$ C); 142,9 (2 $\times$ C); 142,2 (2 $\times$ C); 131,1 (2 $\times$ C); 130,9 (2 $\times$ CH); 130,7 (4 $\times$ CH); 129,3 (4 $\times$ CH); 128,5 (4 $\times$ CH); 125,0 (2 $\times$ C); 124,6 (2 $\times$ C); 118,4 (2 $\times$ CH); 115,2 (4 $\times$ CH); 72,2 (2 $\times$ CH $_2$); 69,5 (2 $\times$ CH $_2$); 69,4 (2 $\times$ CH $_2$); 68,6 (2 $\times$ CH $_2$); 61,2 (2 $\times$ CH $_2$); 60,1 (2 $\times$ CH $_2$); 49,3 (2 $\times$ CH $_2$). ESI-HRMS: m/z : 978,39006 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ($\text{C}_{50}\text{H}_{52}\text{BF}_2\text{N}_9\text{O}_8 + \text{Na}^+$ számított 978,38922 $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

35

^1H : a spektrum nehezen értékelhető, a Jelek nagyon kiszélesedtek a minta rossz oldhatósága miatt lehet. ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 167,4 (COOH); 160,3 és 159,7 és 159,2 (2 $\times$ C): 4xC-4'; 142,4 és 142,2 és 142,1 és 142,0: 4xC-1"; 132,1 és 130,9 és 125,0 és 124,9 és 124,8 és 114,9 és 114,8 és 114,2 és 113,8: 21xCH; 72,2 és 69,4 és 68,5 és 60,1 és 49,3: 14xOCH $_2$ és 4xNCH $_2$.

33

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 5,29 (s, 4H); 5,62 (s, 4H); 7,26 (d; J = 8,9 Hz, 4H); 7,31–7,38 (átfedő multiplettek, 10H); 7,48 (s, 2H); 7,55–7,57 (átfedő multiplettek, 6H); 8,07 (m, 4H); 8,19 (d, J = 8,9 Hz, 4H); 8,33 (s, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ [ppm] = 159,6 (2 $\times$ C); 158,3 (2 $\times$ C); 144,5 (2 $\times$ C); 142,8 (2 $\times$ C); 142,6 (2 $\times$ C); 135,7 (2 $\times$ C); 131,0 (2 $\times$ C); 130,8 (2 $\times$ CH); 130,6 (4 $\times$ CH); 129,2 (4 $\times$ CH); 128,5 (4 $\times$ CH); 128,4 (4 $\times$ CH); 127,9 (2 $\times$ CH); 127,7 (4 $\times$ CH); 124,6 (2 $\times$ CH); 124,4 (2 $\times$ C); 118,3 (2 $\times$ CH); 115,1 (4 $\times$ CH); 61,2 (2 $\times$ CH $_2$); 52,7 (2 $\times$ CH $_2$). ESI-HRMS: m/z : 872,34405 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{52}\text{H}_{40}\text{BF}_2\text{N}_9\text{O}_2 + \text{H}^+$ számított 872,34389 $[\text{M} + \text{H}]^+$).

31d

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 7.49–7.63 (átfedő multiplettek, 15H); 7.76–7.79 (átfedő multiplettek, 3H); 8.11–8.18 (átfedő multiplettek, 4H); 12.88 (s, OH). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ [ppm] = 165.1 (COOH); 163.9 (1 $\times$ C); 154.5 (1 $\times$ C); 147.2 (1 $\times$ C); 145.8 (2 $\times$ C); 141.5 (1 $\times$ C); 140.5 (1 $\times$ C); 132.4 (1 $\times$ CH); 130.9 (1 $\times$ C); 130.7 (1 $\times$ C); 130.4 (2 $\times$ CH); 130.0 (1 $\times$ CH); 129.7 (1 $\times$ CH); 129.3 (2 $\times$ CH); 129.1 (2 $\times$ CH); 128.7 (4 $\times$ CH); 127.8 (2 $\times$ CH); 127.6 (2 $\times$ CH); 122.1 (1 $\times$ CH). ESI-HRMS: m/z : 542,18479 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{33}\text{H}_{22}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}^+$ számított 542,18521 $[\text{M} + \text{H}]^+$).

31e

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2,09 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$); 3,96 (m, 2H, NCH_2); 5,53 (t, J = 5,0 Hz, NH); 7,14 (s, 1H), 7,43–7,51 (átfedő multiplettek, 12H); 7,77–7,83 (átfedő multiplettek, 4H); 8,03–8,07 (átfedő multiplettek, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ [ppm] = 164,1 (CONH); 163,8 (1 $\times$ C); 155,2 (1 $\times$ C); 147,9 (1 $\times$ C); 146,5 (2 $\times$ C); 142,7 (1 $\times$ C); 141,0 (1 $\times$ C); 132,0 (1 $\times$ CH); 131,5 (1 $\times$ C); 131,2 (1 $\times$ C); 130,9 (2 $\times$ CH); 130,7 (1 $\times$ C); 130,4 (1 $\times$ C); 130,3 (1 $\times$ CH); 130,2 (1 $\times$ CH); 129,9 (1 $\times$ CH); 129,8 (1 $\times$ CH); 129,5 (3 $\times$ CH); 128,8 (2 $\times$ CH); 78,8 és 71,8 ($\text{C}\equiv\text{CH}$); 29,5 (NCH_2). ESI-HRMS: m/z : 579,21708 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{36}\text{H}_{25}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O} + \text{H}^+$ számított 579,21685 $[\text{M} + \text{H}]^+$).

11c

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 1,22 (t, J = 9,4 Hz, 6H); 3,01 (s, 6H); 3,26 (s, 6H); 3,65 (m, J = 7,0 Hz, 4H); 6,41 (s, 1H); 6,47 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 6,90 (s, 2H); 7,06 (d, J = 8,6 Hz, 1H); 7,11–7,16 (átfedő multiplettek, 2H); 7,45 (d, J = 9,5 Hz, 2H); 9,78 (s, 1H). ^{13}C

NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ [ppm] = 157,5 (1×C); 157,1 (2×C); 156,7 (1×C); 156,1 (1×C); 155,0 (1×C); 153,3 (1×C); 132,8 (2×CH); 132,3 (2×CH); 129,8 (1×CH); 129,6 (1×CH); 114,0 (2×CH); 113,3 (1×C); 113,2 (1×C); 106,7 (1×C); 104,0 (1×CH₃); 99,0 (1×CH₃); 96,1 (1×CH₃); 95,8 (1×CH₃); 45,3 (2×CH₂); 12,6 (2×CH₃).

14b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,21 (t, J = 6,7 Hz, 6H); 1,85–2,02 (átfedő multiplettek, 6H); 2,83 (t, J = 6,35 Hz, 2H); 2,95 (t, J = 6,35 Hz, 2H); 3,48–3,66 (átfedő multiplettek, 10H); 6,96 (s, 1H); 7,12 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 7,46 (s, 1H); 7,81 (d, J = 9,2 Hz, 1H); 8,53 (s, 1H); 10,19 (s, 1H). ¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃): δ [ppm] = 157,0 (1×C); 154,6 (1×C); 152,1 (1×C); 143,7 (2×CH); 132,7 (2×CH); 128,4 (2×CH); 124,3 (2×C); 114,0 (1×C); 113,4 (2×CH); 112,5 (1×C); 104,8 (2×C); 95,9 (2×CH); 50,6 (2×CH₂); 50,1 (2×CH₂); 44,9 (2×CH₂); 26,6 (2×CH₂); 19,9 (2×CH₂); 19,1 (2×CH₂); 18,8 (2×CH₂); 12,4 (2×CH₃).

37

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,16 (t, J = 7,0 Hz, 12H); 1,60 (s, 1H); 1,75 (s, 1H); 3,32–3,36 (m, 8H); 3,95 (s, 2H); 6,27 (d, J = 8,0 Hz, 2H); 6,39 (s, 2H); 6,46 (d, J = 8,0 Hz, 2H); 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 7,44 (t, J = 3,7 Hz, 2H); 7,92 (dd, J = 8,0 Hz, 1H). ¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃): δ [ppm] = 168,0 (2×C); 154,3 (1×C); 154,1 (2×C); 149,5 (2×C); 133,2 (1×CH); 131,0 (1×C); 129,7 (2×C); 128,6 (1×CH); 124,4 (2×CH); 123,6 (1×CH); 108,6 (1×CH); 105,7 (1×C); 98,4 (2×CH); 78,9 és 70,6 (C≡C); 44,9 (4×CH₂); 29,1 (1×CH₂); 13,1 (4×CH₃).

38a

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,78 (s, 3H, 18-H₃); 2,84 (m, 2H, 6-H₂); 3,48 (t, 2H, J = 6,6 Hz, Br-CH₂); 3,73 (t, 1H, J = 8,6 Hz, 17-H); 3,96 (t, 2H, J = 6,0 Hz, O-CH₂); 6,62 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H). ¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃) δ [ppm] = 11,0 (C-18); 23,1; 26,3; 27,3; 27,9; 29,5; 29,8; 30,6; 33,5; 36,7; 38,8; 43,2 (C-13); 43,9; 50,0; 66,7 (O-CH₂); 81,9 (C-17); 111,9 (C-2); 114,4 (C-4); 126,3 (C-1); 132,7 (C-10); 138,0 (C-5); 156,7 (C-3).

38b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,78 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,42 (t, 2H, J = 6,8 Hz, Br-CH₂); 3,72 (t, 1H, J = 8,5 Hz, 17-H); 3,92 (t, 2H, J = 6,4 Hz, O-CH₂); 6,62 (d,

1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,70 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ [ppm] = 11,1 (C-18); 23,1; 25,3; 26,3; 27,3; 27,9; 29,2; 29,8; 30,6; 32,7; 33,9; 36,7; 38,9; 43,3 (C-13); 43,9; 50,0; 67,6 (O-CH₂); 81,9 (C-17); 112,0 (C-2); 114,5 (C-4); 126,3 (C-1); 132,5 (C-10); 137,9 (C-5); 156,9 (C-3).

38c

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0,78 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,41 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, Br-CH₂); 3,73 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, 17-H); 3,92 (t, 2H, $J = 6,5$ Hz, O-CH₂); 6,63 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,70 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ [ppm] = 11,0 (C-18); 23,1; 25,9; 26,3; 27,2; 28,1; 28,7; 29,2; 29,3; 29,8; 30,6; 32,8; 34,0; 36,7; 38,8; 43,2 (C-13); 43,9; 50,0; 67,8 (O-CH₂); 81,9 (C-17); 112,0 (C-2); 114,5 (C-4); 126,3 (C-1); 132,4 (C-10); 137,9 (C-5); 156,9 (C-3).

40

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0,78 (s, 3H, 18-H₃); 2,84 (m, 2H, 6-H₂); 3,35 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, N-CH₂); 3,73 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz, 17-H); 3,96 (t, 2H, $J = 5,7$ Hz, O-CH₂); 6,62 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C NMR δ (ppm): 11,0 (C-18); 23,1; 25,8; 26,3; 26,5; 27,2; 29,8; 30,6; 36,7; 38,8; 43,2 (C-13); 43,9; 50,0; 51,2; 67,0 (O-CH₂); 81,9 (C-17); 111,9 (C-2); 114,4 (C-4); 126,3 (C-1); 132,7 (C-10); 138,0 (C-5); 156,7 (C-3).

39a

^1H -NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 0,66 (s, 3H, 18-H₃); 2,76 (m, 2H, 6-H₂); 3,51 (m, 1H, 17-H); 4,00 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, O-CH₂); 4,17 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, BODIPY-O-CH₂); 6,62 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,69 (átfedő multiplettek, 3H); 7,06 (m, 2H); 7,15 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, 1-H); 7,17 (m, 2H); 7,63 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz); 8,10 (s, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO-d_6) δ [ppm] = 11,2 (C-18); 22,7; 25,2; 25,3; 25,9; 26,8; 29,1; 29,8; 36,5; 38,5; 42,7 (C-13); 43,5; 49,4; 66,8; 67,5; 79,9 (C-17); 111,9 (C-4); 114,0 (C-2); 114,7 (2C); 118,9 (2C); 125,2 (2C); 126,0 (C-1); 131,5 (2C); 132,0 (C-10); 132,6 (2C); 133,9; 137,3 (C-5); 143,8 (2C); 147,0; 156,3 (C-3); 161,4.

39b

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,65 (s, 3H, 18- H_3); 2,74 (m, 2H, 6- H_2); 3,50 (m, 1H, 17-H); 3,92 (t, 2H, $J = 6,43$ Hz, O- CH_2); 4,11 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, BODIPY-O- CH_2); 6,59 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,65 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 6,69 (m, 2H); 7,06 (m, 2H); 7,14 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,16 (d, 2H, $J = 8,6$); 7,63 (m, 2H); 8,10 (s, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ [ppm] = 11,1(C-18); 22,7; 25,1 (2C); 25,2; 25,9; 26,8; 28,5; 28,6; 29,2; 29,8; 36,5; 38,5; 42,7 (C-13); 43,4; 49,4; 67,0; 67,7; 79,9 (C-17); 111,8 (C-4); 114,0 (C-2); 114,7 (2C); 118,9 (2C); 125,2 (2C); 126,0 (C-1); 131,5 (2C); 132,0 (C-10); 132,6 (2C); 133,9; 137,3 (C-5); 143,8 (2C); 146,9; 156,3 (C-3); 161,4.

39c

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,65 (s, 3H, 18- H_3); 2,74 (m, 2H, 6- H_2); 3,50 (m, 1H, 17-H); 3,89 (t, 2H, $J = 6,43$ Hz, O- CH_2); 4,10 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, BODIPY-O- CH_2); 6,58 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,65 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 6,68 (m, 2H); 7,06 (m, 2H); 7,13 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,16 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz); 7,62 (m, 2H); 8,10 (s, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ [ppm] = 11,2 (C-18); 22,7; 25,2; 25,3; 25,9; 26,8; 28,4; 25,5 (2C); 28,6; 29,1; 29,8; 36,5; 38,5; 42,7 (C-13); 43,5; 49,4; 67,1; 67,8; 79,9 (C-17); 111,9 (C-4); 114,0 (C-2); 114,7 (2C); 118,9 (2C); 125,2 (2C); 126,0 (C-1); 131,3 (2C); 132,0 (C-10); 132,6 (2C); 133,9; 137,3 (C-5); 143,8 (2C); 147,0; 156,3 (C-3); 161,4.

45

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 0,99 (s, 3H); 1,06 (d, 6H, $J = 12,2$ Hz); 1,09–1,49 (átfedő multiplettek, 23H); 1,62–1,77 (átfedő multiplettek, 3H); 1,78–1,87 (átfedő multiplettek, 3H); 2,07–2,28 (átfedő multiplettek, 5H); 2,44 (s, 6H); 3,04 (s, 1H); 3,17 (d, 2H, $J = 5,05$ Hz); 3,66 (s, 1H); 3,75 (s, 1H); 4,00 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz); 4,07 (s, 1H); 4,34–4,37 (átfedő multiplettek, 3H); 4,59 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz); 4,79 (d, 1H, $J = 5,95$ Hz); 4,88 (d, 1H, $J = 12,05$ Hz); 4,97 (d, 1H, $J = 12,05$ Hz); 6,16 (s, 2H); 6,77 (s, 1H); 7,08 (d, 2H, $J = 8,45$ Hz); 7,22 (d, 2H, $J = 8,45$ Hz); 8,12 (s, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6): δ [ppm] = 180,3 (1×C); 162,0 (1×C); 159,6 (1×C); 154,9 (1×C); 148,8 (1×C); 145,0 (1×C); 143,2 (2×C); 142,5 (1×C); 141,4 (1×C); 131,2 (1×C); 129,4 (2×CH); 126,6 (1×CH); 126,1 (2×C); 124,9 (2×C); 124,7 (1×CH); 121,6 (1×CH); 115,5 (2×CH); 76,9 (1×CH); 75,3 (2×CH₂); 72,2 (1×CH); 69,0 (2×CH₂); 68,1 (1×CH); 67,9 (1×CH₂); 64,1 (1×CH₂); 54,9 (1×CH); 49,5 (1×CH₂); 46,5 (1×CH₂); 41,9 (2×CH₂); 41,7 (1×CH₂); 41,2 (1×CH₂); 36,3 (1×CH₂); 31,7 (1×CH₂); 30,2 (1×CH); 30,0 (1×CH₂); 29,3 (1×CH); 28,7 (1×CH₂); 27,5 (1×CH₂); 27,4 (1×CH); 26,3

(1×CH₂); 26,0 (2×CH₂); 25,3 (2×CH₂); 23,9 (1×CH₂); 20,4 (1×CH); 18,1 (1×CH); 14,5 (1×CH).

43

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 0,67 (s, 3H); 1,04 (d, *J* = 6,1 Hz, 4H); 1,14–1,55 (átfedő multiplettek, 21H); 1,82–1,89 (átfedő multiplettek, 2H); 2,69–2,73 (átfedő multiplettek, 2H); 3,07 (s, 6H); 3,23 (s, 6H); 3,59–3,66 (átfedő multiplettek, 6H); 4,06 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 4,26 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H); 4,43 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H); 6,42 (s, 1H); 6,46 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 6,51–6,57 (átfedő multiplettek, 2H); 6,85–6,88 (átfedő multiplettek, 2H); 7,06–7,13 (átfedő multiplettek, 4H); 7,40 (d, *J* = 9,5 Hz, 2H). ¹³C NMR (125 MHz; DMSO-d₆): δ [ppm] = 157,8 (1×C); 157,7 (1×C); 157,4 (1×C); 157,1 (1×C); 157,0 (1×C); 156,7 (1×C); 155,4 (1×C); 153,9 (1×C); 137,8 (1×C); 132,9 (1×CH); 132,7 (1×C); 132,6 (1×CH); 113,7 (1×C); 114,6 (2×CH); 114,5 (1×CH); 113,6 (1×C); 108,3 (1×C); 126,5 (2×CH); 112,6 (1×CH); 105,0 (1×CH); 97,1 (1×CH); 96,5 (1×CH); 96,2 (1×CH); 80,5 (1×CH); 68,1 (1×CH₂); 67,2 (1×CH); 50,1 (2×CH₃); 45,7 (1×CH₃); 44,0 (2×CH); 43,3 (1×CH); 39,1 (3×CH₃); 37,1 (1×CH₂); 30,4 (1×CH₂); 29,7 (1×CH₂); 27,3 (1×CH₂); 26,6 (1×CH₂); 26,0 (1×CH₃); 25,8 (1×CH₂); 25,5 (1×C); 23,3 (1×CH₂); 12,9 (1×CH₃); 11,7 (1×CH₃).

42

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 0,63 (s, 3H); 1,05 (t, *J* = 7,0 Hz, 12H); 1,16–1,19 (átfedő multiplettek, 6H); 1,54–1,59 (átfedő multiplettek, 3H); 1,76–1,78 (átfedő multiplettek, 3H); 1,99 (s, 5H); 3,25–3,29 (átfedő multiplettek, 8H); 3,87 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H); 4,02 (dd, *J* = 7,1 Hz, 3H); 4,13 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H); 4,24 (s, 2H); 4,47 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H); 6,21 (t, *J* = 8,9 Hz, 4H); 6,31 (s, 2H); 6,55 (s, 1H); 6,61 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H); 7,01 (t, *J* = 3,6 Hz, 1H); 7,12 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 7,31 (s, 1H); 7,49–7,53 (átfedő multiplettek, 2H); 7,82 (t, *J* = 3,6 Hz, 1H); 8,08 (s, 1H). ¹³C NMR (125 MHz; DMSO-d₆): δ [ppm] = 166,9 (1×C); 156,5 (1×C); 153,7 (1×C); 152,9 (2×C); 148,5 (3×C); 137,6 (1×C); 133,0 (1×CH); 132,5 (1×C); 130,4 (1×C); 128,7 (2×CH); 126,4 (1×CH); 123,9 (1×CH); 122,7 (1×CH); 114,3 (2×CH); 112,2 (2×CH); 108,1 (2×CH); 104,9 (2×C); 97,4 (1×CH₃); 80,3 (1×CH₃); 66,7 (1×CH₂); 64,3 (1×CH₂); 60,0 (1×CH₂); 49,7 (1×CH₃); 48,9 (1×CH₂); 43,9 (2×CH₂); 43,7 (1×CH₃); 38,8 (1×CH₃); 36,8 (1×CH₂); 34,9 (1×CH₂); 30,1 (1×CH₂); 29,4 (1×CH₂); 27,1 (1×CH₂); 26,6 (1×CH₂); 26,3 (1×CH₂); 25,8 (1×CH₂); 23,0 (1×CH₂); 20,1 (1×CH₃); 14,3 (2×CH₃); 12,6 (4×CH₂); 11,4 (1×CH₃).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0,77 (s, 3H, 18-H₃); 2,82–2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,71 (t, 1H, J = 8,4 Hz, 17-H); 3,93 (m, 2H) és 4,36–4,45 (átfedő multiplettek, 4H): OCH_2 és $2\times\text{NCH}_2$, 6,05 (s, 1H, NH); 6,60 (s, 1H, 4-H); 6,67 (d, 1H, J = 8,5 Hz, 2-H); 7,12 (s, 1H); 7,18 (d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); 7,39–7,52 (átfedő multiplettek, 13H); 7,75–7,77 (átfedő multiplettek, 4H); 8,02–8,06 (átfedő multiplettek, 4H), $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz; CDCl_3) δ [ppm] = 164,6 (CONH); 163,7 (1 $\times$ C); 156,6 (C-3); 154,8 (1 $\times$ C); 147,6 (1 $\times$ C); 146,3 (2 $\times$ C); 142,7 (1 $\times$ C); 140,7 (1 $\times$ C); 138,1 (1 $\times$ C); 133,0 (1 $\times$ C); 131,9 (1 $\times$ CH); 131,5 (1 $\times$ C); 131,0 (1 $\times$ C); 130,8 (2 $\times$ CH); 130,7 (1 $\times$ C); 130,5 (1 $\times$ C); 130,2 (1 $\times$ CH); 130,1 (1 $\times$ CH); 129,9 (2 $\times$ CH); 129,8 (2 $\times$ CH); 129,4 (3 $\times$ CH); 128,8 (2 $\times$ CH); 128,7 (2 $\times$ CH); 128,2 (2 $\times$ CH); 128,0 (2 $\times$ CH); 127,0 (1 $\times$ C); 126,4 (1 $\times$ CH); 120,4 (1 $\times$ CH); 114,4 (1 $\times$ CH); 111,9 (1 $\times$ CH); 81,8 (C-17); 66,7 (OCH_2); 50,2 (1 $\times$ CH₂); 50,0 (1 $\times$ CH); 43,9 (1 $\times$ CH); 43,3 (C-13); 38,8 (1 $\times$ CH); 36,6 (1 $\times$ CH₂); 35,1 (1 $\times$ CH₂); 30,6 (1 $\times$ CH₂); 29,8 (1 $\times$ CH₂); 27,2 (1 $\times$ CH₂); 26,3 (2 $\times$ CH₂); 23,0 (1 $\times$ CH₂); 10,94 (13-CH₃), ESI-HRMS: m/z : 948,45606 $[\text{M} + \text{H}]^+$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{56}\text{BF}_2\text{N}_7\text{O}_3 + \text{H}^+$ számított 948,45848 $[\text{M} + \text{H}]^+$).