MŰEGYETEM 1782
Szerves Kémia és Technológia Tanszék

2014

Makrociklusos és analóg szerkezetű receptorok szintézise, molekuláris felismerőképességük vizsgálata

PhD értekezés

Készítette:

Czirok János Balázs

okleveles vegyészmérnök

Témavezető:

Dr. Bitter István

egyetemi tanár

Tartalom

Tartalom 0

Köszönetnyilvánítás 4

Jelölések és rövidítések jegyzéke 6

1. Bevezetés 8

1.1. Molekuláris felismerés 9

1.2. Click kémia 9

2. Nukleozid-foszfát receptorok 12

2.1. Bevezetés, nukleozid-foszfátok 12

2.2. Irodalmi előzmények: Szintetikus nukleotid-receptorok 13

Fluoreszcencián alapuló detektálás, az 1,8-naftálimid fluoroforok tulajdonságai, a fluoreszcenciakioltás és -visszanyerés mechanizmusa 21

2.3. Új, imidazólium/triazol receptorelemeket tartalmazó nukleotidszenzorok 22

A **2-22** receptor szintézise [S1] 23

A **2-23** célmolekula szintézise [S1] 24

A **2-24** célmolekula előállítása [S1] 26

A **2-25** receptorjelölt szintézise 27

A **2-26** receptor szintézise 28

A **2-27** „egykarú” molekula szintézise [S1] 29

2.4. Spektroszkópiai vizsgálatok 29

A **2-22**, **2-23**, és **2-24** szenzorok nukleozidfoszfát-felismerőképessége [S1] 29

A **2-25** ligandum spektroszkópiai vizsgálata 36

A **2-26** ligandum spektroszkópiai vizsgálata 37

A **2-27** ligandum spektroszkópiai vizsgálata, **2-24** ATP komplexének feltételezett szerkezete [S1] 43

Összefoglalás 45

3. Triazolo-kalix[4]arén alapú ionoforok 46

3.1. Bevezetés és célkitűzések 46

3.2. A kalixarénekről 46

3.3. Kalix[4]arén alapú ionoforok az irodalomban 48

Triazolo-kalix[4]arén ionoforok 49

3.4. Új triazolo-kalix[4]arén ionoforok [S2] 49

Szintézis 49

Elektroanalitikai (potenciometriás) szelektivitásvizsgálatok 52

Tömegspektroszkópiás szelektivitásvizsgálatok 55

Összefoglalás 57

4. Kalix[4]arének „oxigén-a-gyűrűn-át” (*O*-through-the-annulus) típusú konformációváltása 59

4.1. Kalix[4]arének konformációi 59

4.2. Konformációs átalakulások 60

4.3. Egy váratlan konformációváltás – a propargil csoport *O-through-the-annulus* rotációja [S3] 63

Kinetikai és termodinamikai vizsgálatok 69

A konformációváltás kinetikai és termodinamika paramétereinek számítása 72

Összefoglalás 74

5. BINOL-koronaéter alapú királis katalizátorok 75

5.1. Bevezetés, célkitűzés 75

5.2. Irodalmi előzmények 76

A BINOL és származékai 76

BINOL alapú koronaéterek 76

Az aminofoszfonsavak jelentősége 77

Aminofoszfonsavak előállítása 77

5.3. Új BINOL alapú azakoronaéterek szintézise [S4, S5] 78

A katalizátorhatás vizsgálata, a szerkezet optimálása 79

Összefoglalás 82

6. Kísérleti rész 83

6.1. α-Naftil fluorofort tartalmazó modellvegyület (**2-37**) szintézise 83

α-Azidometilnaftalin (**2-33**) 83

4-Hidroximetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (**2-34**) 83
4-Brómmetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (**2-35**) 84
A **2-37** célmolekula 84
6.2. A **2-25** receptormolekula szintézise 85
A **2-44** intermedier előállítása 85
A **2-25** célmolekula 85
6.3. **2-26** receptormolekula szintézise 86
A **2-45** intermedier előállítása 86
A **2-26** célmolekula 86
6.4. Kiegészítő HRMS adatok S1-hez 87
3-3 Ionofor HRMS felvétele 87
3-4 Ionofor HRMS felvétele 87
Tézisek 88
Publikációs lista 90
Folyóirat cikkek 90
Konferencia előadások és kivonatok 90
Konferencia poszterek 91
Az értekezés témájához nem kapcsolódó konferencia előadások 91
Nyilatkozat 92
Irodalomjegyzék 93

Köszönetnyilvánítás

Mindenki más előtt Istent illeti a hála.

Őutána témavezetőmnek, Dr. Bitter István professzornak szeretnék köszönetet mondani, amiért elvállalta témavezetésemet. Rengeteget tanultam tőle a közös munka évei alatt.

Hálás vagyok Dr. Keglevich Györgynek, tanszékvezetőmnek, hogy graduális tanulmányaim befejezésével meggyőzött, hogy ebben a szakmában maradjak és szerezzek doktori fokozatot, és egyengette sokszor rögös utamat.

Kollégáim és hallgatóim közül elsőként Bojtár Márton közreműködéséért szeretnék hálát mondani. Marci tehetsége, elhivatottsága, szorgalma nélkül a dolgozat egyik fejezetét képző munka nem, vagy nem ilyen minőségben készült volna el.

Török Ildikónak is köszönöm szeretetét, gondoskodását, munkáját.

A leginspirálóbb szakmai beszélgetéseket talán Dr. Gyurcsányi E. Róbert tanár úrral folytattam. Ezek jelentősen szélesítették szakmai látókörömet. A vele való beszélgetések után mindig újra az „első szerelem” lelkesedése kerített hatalmába a kémiai kutatás iránt. Ugyancsak nagyon inspiráló volt Marosi György professzor személye, aki sokmindenben támogatott is, köszönet érte!

Barátaim és kollegáim közül Tarcsay Ákos segítségét köszönöm külön is, beszélgetéseinket, hűségét, példamutatását, fáradtságot nem ismerő munkáját, amivel a kalixarének konformációváltását számolgatta. Hasonló okokból vagyok hálás Pham Truong Sonnak is.

Hálás vagyok többi kollegám és hallgatóm segítségéért, közreműködéséért is, ők: Dr. Tóth Klára és Dr. Huszthy Péter akadémikusok, Dr. Kubinyi Miklós, Dr. Nyulászi László professzorok, Dr. Jászay Zsuzsa, Dr. Kele Péter, Dr. Drahos László, Dr. Balázs László, Dr. Simon András, Dr. Baranyai Péter, Dr. Révész Ágnes, Jágerszki Gyula, Szolnoki Bea, Kőszegi Éva, Hessz Dóra, Tolnai Bernadett, Juhász István, Rusz Máté, Kószó Bence, Kollár Karolina, Kiss Erzsébet.

Köszönöm továbbá jelenlegi főnökeimnek, Dr. Fráter György professzornak és Dr. Ondi Leventének, hogy mindenben segítették doktori értekezésem és egyéb doktorjelölti kötelezettségeim befejezését.

Köszönöm családomnak és különösen édesanyámnak, hogy felnevelt és szeretett, és lehetővé tette számomra, hogy (majdnem) húsz évig tanuljak.

Köszönöm barátaimnak, amit csak köszönhetek, hogy itt lehetek, és hogy önmagam lehetek.

És köszönöm Neked, hogy mellettem voltál, és köszönöm Neked, hogy mellettem vagy.

Végezetül köszönöm az OTKA, a Richter Gedeon Centenáriumi Alapítvány és a Társadalmi Megújulás Operatív Projekt (TÁMOP 4.2.4.A/1-11-1-2012-0001) munkámhoz nyújtott anyagi támogatását.

Jelölések és rövidítések jegyzéke

Megjegyzés: A molekulák számozása két részből áll. Az első számjegy a fejezetszámot mutatja. Egy fejezeten belül a molekulákat folyószámozással, megjelenési sorrendben sorszámoztam, ami fejezetenként 1-ről újraindult. Az irodalmi hivatkozások közül a saját közleményeinkre szögletes zárójelben (pl. [S1]) hivatkozunk. Ezek közül az S1-S5 folyóirat cikkek az értekezéshez csatolva megtalálhatóak.

Rövidítések:

ADP: Adenozin-5'-difoszfát

AMP: Adenozin-5'-monofoszfát

ATP: Adenozin-5'-trifoszfát

BINOL: 1,1'-Bi-2-naftol

Bn: benzilcsoport

Dr: Diasztereomer-arány

DKM: Diklórmetán

DOS: Dioktil-szebacát, PVC lágyító

Ee: Enantiomerfelesleg

ESI-MS: Electon spray ionization mass spectroscopy; egy lágy ionozációs technikájú tömegspekroszkópiás módszer

Flu: fluoreszcens jelzőcsoport

FS: Fluoreszcencia spektroszkópia

GMP: Guanozin-5'-monofoszfát

GTP: Guanozin-5'-trifoszfát

HEPES: *N*-(2-hidroxietil)piperazin-*N'*-(2-etánszulfonsav)

Im^+: imidazólium kation

LAH: Lítium-tetrahidro-aluminát (régiesen: lítium-alumínium-hidrid)

oNPOE: *orto*-Nitrofenil-oktil-éter, PVC lágyító

PTC: Fázistranszfer katalízis (Phase Transfer Catalysis)

SP: Molekuláris távtartó (spacer, linker)

TBAF: Tetrabutilammónium-fluorid

TBAB: Tetrabutilammónium-bromid

^{t}Bu: *terc*-butilcsoport

TR: 1,2,3-triazol-1-il csoport

UTP: Uridin-5'-trifoszfát

UV/VIS: ultraibolya/látható fény vagy spektroszkópia

1. Bevezetés

Az elmúlt évtizedek során a szerves kémiából más, interdiszciplináris területek aktív részvételével kialakult és dinamikusan fejlődik egy önálló, gyakorlati felhasználások szempontjából is fontos eredményeket felmutató tudományág, a *szupramolekuláris kémia*, amely két vagy több molekulából álló önszerveződő rendszerek kölcsönhatásainak természetét tanulmányozza, azaz molekuláris felismeréssel foglalkozik. A molekuláris felismerés, amely végsősoron az élet elengedhetetlen feltétele (l. később), a szintetikus receptorok kutatásának is az alapját képezi. A létrehozott mesterséges szenzorok (érzékelő molekulák) teret nyitnak az élő szervezetek megismerésére azáltal, hogy lehetővé teszik ionok és molekulák különböző mátrixokban való vizsgálatát, minőségi és mennyiségi meghatározását.

A kalixarénkémiának és a szenzormolekulák kutatásának több évtizedes hagyománya van a BME Szerves Kémia és Technológia Tanszéken *Bitter István* professzor csoportjában. Ebbe a munkába kapcsolódtam be 2008 őszén PhD tanulmányaim kezdetén.

Munkám során különböző, molekuláris felismerésre képes nyíltláncú vagy makrociklusos gazdamolekulákat állítottunk elő, melyek képesek különböző vendégek, pl. biológiai szempontból fontos ionok (fémionok, anionok, köztük nukleotidok) felismerésére, ezen keresztül pedig meghatározására. A molekuláris felismerés követésére alkalmazott analitikai módszerek esetünkben a fluoreszcencia, UV/VIS, NMR és tömegspektroszkópia, valamint elektroanalitika voltak. Az értekezés hat fő fejezetből áll. A bevezetést követő két fejezetben bemutatott szenzorok közös vonása, hogy a koordinációs szféra részeként tartalmazzák a click reakcióval előállított 1,2,3-triazol heterociklust. Ezután a negyedik fejezetben egy, a kalix[4]arén alapú receptormolekulák szintézise közben felismert új konformációváltást ismertetünk. Végül az ötödik fejezetben egy BINOL alapú, királis koronaétercsalád szintéziséről, valamint aszimmetrikus Michael-addició katalizátoraiként alkalmazott enantiomer felismerőképességét bemutató eredményekről számolunk be.

Minthogy kutatómunkám három, kémiailag különböző molekulakört ölel fel, az ezekhez szorosan kapcsolódó irodalmi előzményeket az adott fejezet tárgyalásakor, míg a közös alapismereteket az 1.1. és 1.2. pontokban mutatjuk be.

1.1. Molekuláris felismerés

A molekuláris felismerésként ismert jelenség a természet alapvető rendező elve, ilyen értelemben az élet „létrehozója és fenntartója”. Mi sem bizonyítja ezt jobban, mint hogy az élethez nélkülözhetetlenül szükséges folyamatok, a reprodukció, metabolizmus, információ átadás/áramlás mind molekuláris felismerésen, molekulák közötti szelektív kölcsönhatásokon alapulnak.

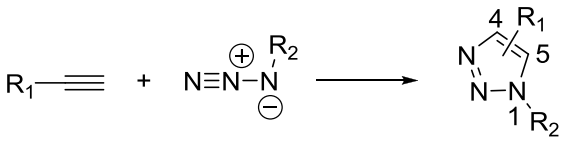
A fogalom pontos definíciója szerint a molekuláris felismerés az a jelenség, melynek során két vagy több molekula az őket körülvevő molekulahalmazból szelektíven kiválasztja egymást, és kölcsönhatást létesítenek. Ez lehetséges elektromosan semleges molekulák, illetve ionok között is; míg az első esetben a másodrendű kötőerőké a fő szerep, utóbbiban a Coulomb-féle vonzás a legfontosabb kölcsönhatás.[1]

A molekuláris felismerés egyik fajtája az enantiomer felismerés. Ennek következménye, hogy a természetben szinte kizárólag D-cukrok, illetve L-aminosavak fordulnak elő. Az enantiomer felismerés fontos alkalmazási lehetősége a királis katalízis. Az ilyen irányú kutatásoknak ugyancsak évtizedes hagyománya van tanszékünkön, melynek keretében különböző aszimmetrikus reakciók vizsgálatára került sor. Ezek egyikében alkalmazott katalizátorok választékát most egy új vegyületcsaláddal, a BINOL alapú királis katalizátorokkal bővítettük.

1.2. Click kémia

A XXI. század preparatív szerves kémikusának újabb és újabb szintéziseket, módszereket, sőt kémiai filozófiákat, megközelítésmódokat kell kifejlesztenie, és akár ipari méretekben is alkalmaznia, hogy meg tudjon felelni a kor egyre komolyabb kihívásainak a termékek tisztasága, gazdaságossága, környezeti terhelése szempontjából. Az egyik lehetséges választ ezekre a kihívásokra az ezredfordulón a Nobel-díjas *K. Barry Sharpless* fogalmazta meg, és koncepciójának a click kémia nevet adta.[2] Eszerint a „jövő szintézisének” megtervezésekor a természetet, „a legnagyobb vegyészt” érdemes utánoznunk, „aki” termékeit veszélytelen oldószerben (vízben) nagy (kemo-, regio-, sztereo-) szelektivitással és termeléssel, veszélytelen vagy nem-mérgező kiinduló anyagokból állítja elő melléktermékek keletkezése nélkül. Ráadásul mindez elképesztő változatosságban meglepően kevés kismolekula variálásával, köztük szén-heteroatom kötések kialakításán keresztül történik. *Sharpless* szerint a jövő gyógyszerkémiájának csupán néhány, a fenti kritériumoknak eleget tevő, nagy termodinamikai hajtóerővel bíró reakcióra van szüksége.

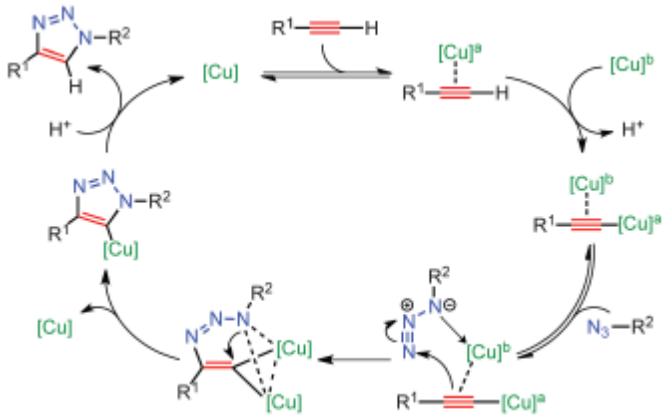
A *Diels-Alder* cikloaddíció a fenti kritériumoknak jól megfelel, azonban a click kémia leggyakorabban idézett példája mégsem ez, hanem az azidok és alkinok között lejátszódó Huisgen-féle 1,3-dipoláris cikloaddíció réz(I)-ionok által katalizált sztereoszelektív változata, mely módszert mi is felhasználtuk új receptorok előállítására irányuló kutatásaink során 1,2,3-triazolok szintézisére. A reakciót valójában *A. Michael* fedezte fel még 1893-ban, majd az 1950-es és '70-es évek között *R. Huisgen* és munkatársai vizsgálták ezt az átalakítást is más 1,3-dipoláris cikloaddíciókkal együtt.[3] A reakcióban egy azid és egy alkin termikus cikloaddíciója révén 1,2,3-triazol keletkezik (1. ábra).



1. ábra: Azid-alkin *Huisgen*-féle cikloaddíció

A termikus reakcióval a probléma az, hogy általában az 1,4- és 1,5-diszubsztituált izomerek elegyét kapjuk. Ez elkerülhető - az egymástól függetlenül két csoport által is felfedezett - réz(I)-katalízis alkalmazásával (rézkatalizált azid-alkin cikloaddíció, nevének rövidítéséből CuAAC), melyben kizárólag 1,4-diszubsztituált-1,2,3-triazolok keletkeznek[4] (lehetőség van a regioizomer 1,5-diszubsztituált termék előállítására is ruténium alapú katalizátorokkal[5], ilyenkor a reakciót RuAAC-nak is szokták nevezni).

A rézkatalízis teljesen megváltoztatja a termikus reakció lefolyását. A mechanizmusra az elmúlt másfél évtizedben több feltételezés is született.[6,7] A jelenleg elfogadott mechanizmust 2013-ban publikálták, és két réziont tartalmazó intermediert feltételez (2. ábra).[8]

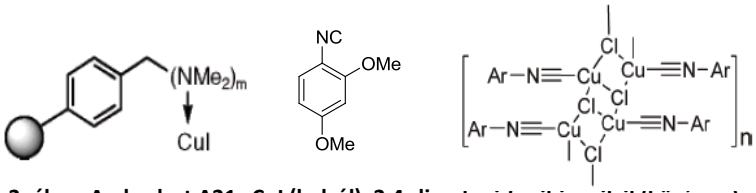


2. ábra: A click reakció mechanizmusa

A cikloaddíció rendkívül széleskörűen használható, általában tolerálja a molekula egyéb funkciós csoportjait (ortogonális, vagyis nincs szükség védőcsoportokra), a már említett regioszelektivitáson kívül előnye, hogy széles pH-tartományban, többféle oldószerben (gyakran vízben is vagy oldószer nélkül is) végbemegy. Katalizátorként gyakran közvetlenül réz(I) sókat használnak. Sokszor a Cu^+ iont $CuSO_4$-ból nátrium-aszkorbáttal *in situ* állítják elő, máskor egyszerűen egy rézdrótot tesznek az oldatba, és a hozzáadott Cu^{2+} vagy akár a drót felületén jelenlevő patina is elegendő, hogy szinproporción keresztül Cu(I) forrás legyen. Ezeket és további gyakran használt, ill. különlegesebb katalizátorrendszereket áttekintő összefoglaló közlemények is születtek.[7,9] Számos esetben bázisokat (Hünig-bázist, DBU-t, aszkorbátok) is adnak a reakcióhoz, hogy elősegítsék a réz-acetilid keletkezését. Olykor a zárólépés megkönnyítésére valamilyen protonforrást alkalmaznak.

A réz(I) katalízis hátránya, hogy ez az ion toxikus és nem túl stabilis, redukálószerek távollétében könnyen oxidálódhat inaktív réz(II)-vé. Ennek kiküszöbölésére többféle komplexképző ligandumot is kifejlesztettek. Ezeknek számos előnye van: növelik a katalizáló ion stabilitását és aktivitását, olykor a réz(I)-ion káros hatásait is csökkentik, vagy lehetővé teszik a katalizátor visszaforgatását.[10,11,12,13] Az általunk használt katalizátorrendszereket az irodalomban leírták: A *Girard* és munkatársai által vizsgált katalizátor egy ioncserélő gyanta (Amberlyst A21) réz(I)-jodid komplexe.[11,12] A polimer aminocsoportjai koordinálják a Cu^+ ionkat (3. ábra, balról), és egyúttal bázisként is szolgálnak a click reakcióhoz. Ez a katalizátor viszonylag stabil, nagy aktivitású és visszaforgatható. Amikor használata nem vezetett eredményre, figyelmünk egy újonnan leírt és még aktívabb rendszer felé fordult. A módszer lényegében a CuCl 2,4-dimetoxi-fenil-izocianiddal (3. ábra, középen és jobbra) alkotott stabilis komplexe által katalizált click reakció,[13] amit „on water”[a] körülmények között[14] valósítottak meg.

[a] „On water” reakciónak hívjuk az olyan szerves kémiai reakciókat, ahol a reagenseknek legalább egy része nem oldódik vízben, mégis ezek a reakciók sokkal gyorsabban mennek végbe víz jelenlétében, mint oldószer nélkül vagy szerves oldószerben homogén fázisban. A negatív aktiválási térfogattal járó reakciókra jellemző jelenség oka még nem teljesen feltárt, valószínűleg egy, a hidrogénkötésekkel összefüggő határfelületi jelenségről van szó.



3. ábra: Amberlyst A21 · CuI (balról), 2,4-dimetoxi-fenil-izonitril (középen) és CuCl komplexe (jobbról)

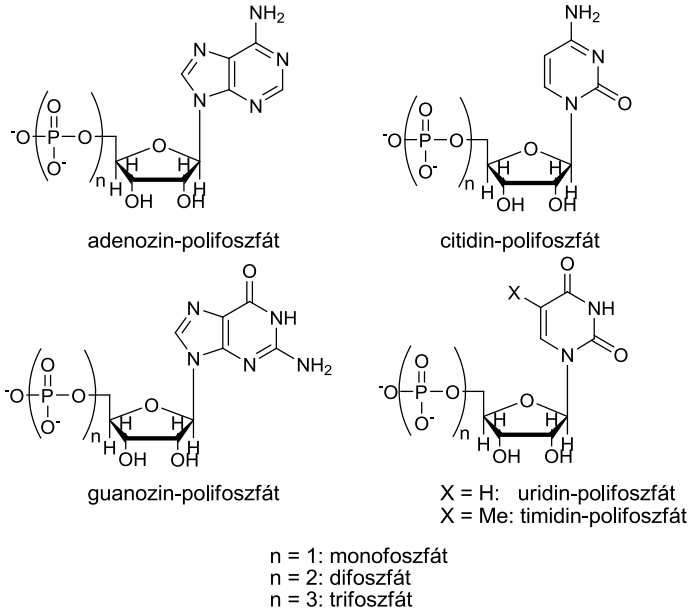
2. Nukleozid-foszfát receptorok

2.1. Bevezetés, nukleozid-foszfátok

A szupramolekuláris kémián, illetve a molekuláris felismeréssel foglalkozó kutatásokon belül fontos terület az anionfelismerő rendszerek fejlesztése,[15] mivel a szerves molekulák a biológiai rendszerekben gyakran anionos formában vannak jelen. Közülük kiemelkedő fontosságúak a nukleozid-foszfátok, más néven nukleotidok. Ebben a fejezetben hat ebből a célból szintetizált molekulát mutatunk be.

A nukleotidokat a természetben betöltött sokrétű és alapvető szerepük miatt az élet építőköveinek is nevezhetjük. Közülük legjelentősebbek talán az adenozin-5'-trifoszfát (ATP), illetve a guanozin-5'-trifoszfát (GTP).

A nukleozidok nukleinbázisból (röviden: bázis) és hozzá béta-glikozidos kötéssel kapcsolt *D*-ribózból vagy dezoxi-*D*-ribózból álló molekulák (4. ábra). A nukleozid-foszfátokat nukleotidoknak is nevezik. Ezek a vegyületek egymással összekapcsolódva hozzák létre az élet alapvető makromolekuláit, a nukleinsavakat: az RNS-t (ebben a cukoregység *D*-ribóz) és DNS-t (a cukoregység dezoxi-*D*-ribóz). Maguk a különálló nukleotid egységek is nélkülözhetetlenek a sejtek metabolikus folyamataiban, a sejtek közötti kommunikációban, valamint fontos koenzimek a fehérjék által biokatalizált reakciókban.



4. ábra: A legfontosabb nukleozid-foszfátok

Az egyik legfontosabb nukleotid az ATP, amelyet 1929-ben *Karl Lohmann* fedezett fel, a vegyület energiaszállító szerepére *Fritz Albert Lipmann* derített fényt 1939 és 1941 között.[16] Az ATP egyik esszenciális feladata a sejtek endergonikus (energiát igénylő) folyamatainak (pl. a DNS felépítése, a sejtek osztódása vagy a transzportfolyamatok egy része) energiaellátása, ami az ATP hidrolízisekor felszabaduló energiának köszönhető. Az egy foszfátcsoport lehasadásával járó (ATP→ADP+P) biokatalizált reakcióban ΔG = -31 kJ/mol, míg a pirofoszfát lehasadásakor (ATP→AMP+PP_i) ΔG = -46 kJ/mol energia szabadul fel. A bevezetőben említett molekuláris felismerés jó példája a kináz enzimek működése, amelynek során ATP-hez kötődve specifikusan katalizálják proteinek egyes aminosav egységeinek foszforilációját. Az ATP-nek ezen kívül információ-továbbítási szerepe is van, mind a sejten belül, mind azon kívül.

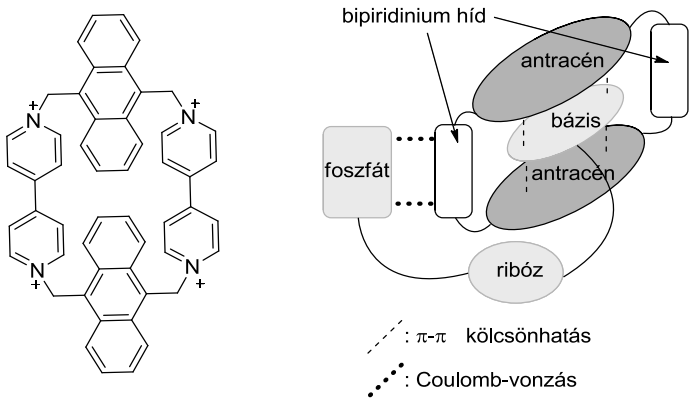
A GTP a nukleinsav szintézisek egyik szubsztrátja, biztosítja a fehérjeszintézishez szükséges energia egy részét, és fontos sejten belüli szabályozó szerepe is van.

2.2. Irodalmi előzmények: Szintetikus nukleotid-receptorok

Bár rendelkezésre áll néhány érzékeny és szelektív módszer a nukleotidok meghatározására - ilyenek pl. a HPLC, a kapilláris elektroforézis, az enzimalapú,

elektrokémiai, vagy éppen a tömegspektroszkópiás módszerek - komoly problémát okoz e komplikált műszerek működtetése egy olyan bonyolult mátrixban, mint egy élő rendszer. Az olyan szenzorok, amelyek fluoreszcenciás viselkedése a vizsgálandó molekula hatására megváltozik, nagyon vonzóak az egyszerűségük, valamint az *in vivo* és *in vitro* alkalmazhatóságuk miatt.[17]

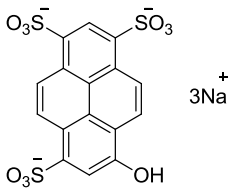
Az ismert fluoreszcens ATP-receptorok egy része szerkezetét tekintve a ciklofán típusú molekulák közé tartozik. A ciklofánok egy vagy több aromás egységet és metiléncsoportokat tartalmazó makrociklusok.[18] A **2-1** ciklofán (5. ábra), egy ATP-szelektív szenzor,[19] amelynek elektronban gazdag aromás egységeit két kationos bipiridínium „híd" köti össze. Az antracén és adenin molekularészek π–π kölcsönhatás (π–π *stacking*) révén egy ún. szendvics-komplexet alkotnak, míg a trifoszfát anion a bipiridínium kationnal a Coulomb-vonzás következtében alakít ki ionos kölcsönhatást (5. ábra). A komplex képződésére utal az ATP hatására létrejövő UV/VIS abszorbancia csökkenés, ami a többi adenozin-5'-foszfát hozzáadására nem következik be. A molekuláris felismerést ezen kívül ciklusos voltammetriával és NMR-vizsgálattal is bizonyították. A szenzor hátránya az UV/VIS mérés kis érzékenysége; a nagy érzékenységű fluoreszcencia spektroszkópia a molekula csekély kvantumhasznosítási tényezője miatt itt nem használható.



5. ábra: 2-1 Molekula (balra) és a komplex vázlatos felépítése (jobbra)

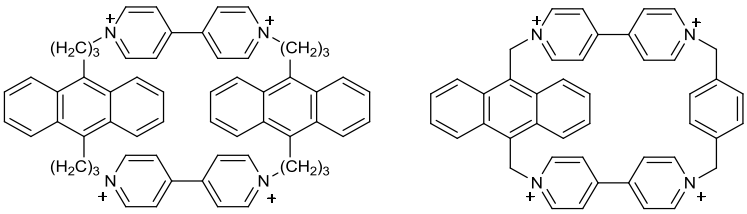
Ramaiah és munkatársai később ugyanezt a receptort egy fluoreszcens festékkel (HPTS, 8-hidroxi-1,3,6-pirén-triszulfonát, 6. ábra) együtt használva GTP-szelektív szupramolekuláris *turn-on* szenzort hoztak létre a kompetitív komplexképzés révén.[20] A FID-nek (*fluorescence indicator displacement*) nevezett módszer lényege, hogy ha az oldat nem tartalmaz GTP-t, a szenzor és a festékmolekula közötti komplexképzés miatt nagyon gyenge a fluoreszcencia. A GTP viszont kiszorítja a szenzor makrogyűrűjéből a fluoreszcens festékmolekulát, amely

így szabaddá válva rendkívül erős fluoreszcenciát mutat. Hasonló, bár kisebb intenzitású hatást vált ki az ATP is.



6. ábra: HPTS

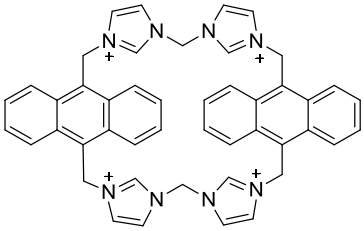
Azóta több, hasonló elven működő ciklofánt állítottak elő,[21,22,23] amelyek **2-1**-hez hasonló, HPTS jelenlétében fluoreszcenciásan észlelhető GTP szelektivitást mutatnak, azonban érzékenységük kisebb, **2-2** esetében a nagyobb kavitás, **2-3** esetében a kisebb aromás felület miatt (7. ábra).



7. ábra: 2-2 (Balra) és 2-3 (jobbra) szenzorok

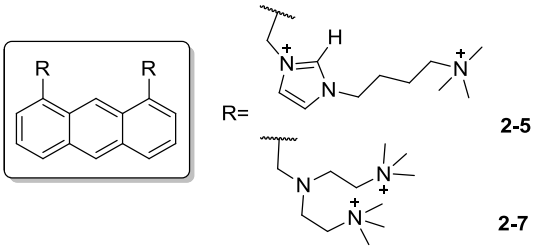
2011 szeptemberében jelent meg az a publikáció[23], amelyben *Kim* és munkatársai **2-1-**hez hasonló, azonban a bipiridínium viologén[b] helyett 1,1'-metilén-*bisz*(imidazol-3-ium) egységeket tartalmazó *on-off* szenzor (**2-4**, 8. ábra) előállításáról számolnak be. A fluoreszcencia spektroszkópiás mérések alapján a molekula a nukleozid-foszfátok között GTP-, az anionokra pedig jodidion-szelektivitást mutat. A kétfunkciós szenzor működése a vendég és a gazda között fellépő CHEQ (*chelation-enhanced fluorescence quenching*) effektuson alapszik, vagyis a vendégmolekulák hatására jelentős fluoreszcenciakioltás jön létre.

[b] Az *N,N*'-diszubsztituált 4,4'-bipiridínium sókat nevezzük viologéneknek. A név arra utal, hogy ezek a vegyületek könnyen redukálhatók gyökkationná, ami intenzív kékes violás színű (l. később).



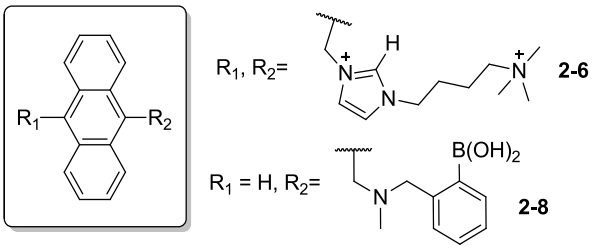
8. ábra: 2-4 Szenzor

Az eddig említett ciklofánok szerkezetétől eltérő, külön csoportot alkotnak a nyíltláncú **2-5** – **2-6** receptorok. A *Yoon* és munkatársai által leírt **2-5** – **2-8** molekulák 1,8-, illetve 9,10-diszubsztituált antracének, ahol az aromás rendszer - a fentiekhez hasonlóan – a nukleotid bázisával lép kölcsönhatásba.[17] A **2-5** és **2-8** molekulák karonként egy, a foszfáttal hidrogénkötést létesíteni képes imidazólium egységet tartalmaznak, valamint a láncvégeken egy kationos ammóniumcsoport van, ami elektrosztatikus vonzáson alapuló kölcsönhatást létesít az anionos vendégmolekulákkal. A **2-7** szenzor csak ammóniumcsoportot, a **2-8** molekula pedig egy boronsavegységet tartalmaz, ami a ribóz komplexálására képes[24] (a szerkezeteket ld. 9. ábra és 10. ábra), mivel a boronsav poliolokkal könnyen és reverzibilisen képez ciklikus észtereket.[25]



9. ábra: 1,8-Diszubsztituált antracén alapú receptorok

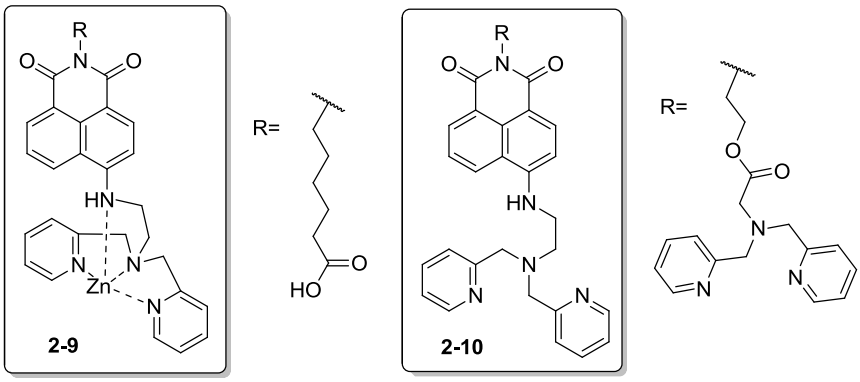
Az 1,8-helyzetben imidazóliumszármazékkal diszubsztituált **2-5** molekula GTP-vel képezi a legerősebb komplexet (a kölcsönhatás következménye a fluoreszcencia kioltása), ATP hatására pedig fluoreszcencianövekedés tapasztalható. Míg **2-6** molekula ATP-vel való kölcsönhatása jelentős, **2-7** leginkább a GTP okozta fluoreszcenciacsökkenést mutatja, ezen kívül ATP-vel és CTP-vel is képez komplexet. A boronsav-tartalmú **2-8** szenzor az összes adenozin-5'-foszfáttal és GTP-vel is képes komplexképzésre, mérsékelt szelektivitással az AMP-vel szemben.



10. ábra: 9,10-Diszubsztituált-antracén receptorok

Moro és munkatársai az 1,8-naftálimid fluoroforral jelzett **2-9** Zn(II)-komplex (11. ábra) jelentős ATP és ADP szelektivitásáról számoltak be többféle, biológiai rendszerben előforduló anionnal (pl. citrát, foszfát stb.) szemben.[26]

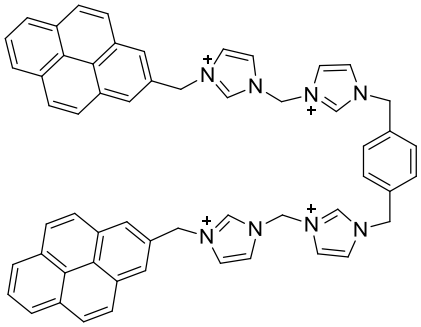
A **2-9** molekulát továbbfejlesztve pirofoszfát-szelektív, két dipikolilamin-egységet tartalmazó anionreceptort állítottak elő (**2-10**).[27] A gyengén fluoreszkáló **2-10**–ből két ekvivalens Zn^{2+} hatására képződő komplex nagy fluoreszcenciaintenzitás-növekedést mutat, amit a pirofoszfátion kiolt. Bár ez a szenzor nem a nukleotidokat érzékeli közvetlenül, mégis hasonló biológiai alkalmazhatósága van, mivel a pirofoszfát anionok a sejtfolyamatokban fontos szerepet játszanak, valamint a nukleotidok reakcióiban is részt vesznek.



11. ábra: 2-9 (Balról) és 2-10 (jobbról) naftálimid alapú szenzormolekulák

A következőkben ismertetett receptorok egy *spacer* részből, valamint az ehhez kapcsolódó, a komplexálásért felelős karoból állnak. Ezekben a karokban egy vagy két, a hidrogénkötést donáló heterociklus, valamint egy terminális fluorofor található. *Kim* és *Yoon* kutatócsoportja állította elő a **2-11** „kétkarú” podánst, ahol a spacer egy *p*-xililén egység, a heterociklusok imidazólium kationok, a fluoroforok

pedig pirén gyűrűk (12. ábra).[28] A receptor működésének alapja az excimer[c] hatás.[29] Az emissziós fluoreszcencia spektrumban 375 nm-nél a monomer, 487 nm-nél pedig a pirén-pirén excimer csúcs található. Az ATP-vel alkotott komplex esetén a két nagyfelületű poliaromás rendszer és az adenin között π–π kölcsönhatás jön létre, vagyis a bázis π-elektronokban szegény gyűrűje a két, π-elektronokban gazdag kondenzált aromás gyűrű közé kerül, míg GTP és más nukleozid-trifoszfátok esetén a bázis csak az aromás „szendvicsen" kívül tud elhelyezkedni. Ez jól látható a fluoreszcencia spektrumokon: a szeparáció miatt a monomer hullámhosszon jelentős intenzitásnövekedés csak az ATP-vel figyelhető meg, a többi nukleozid-trifoszfáttal csak az excimer csúcs fokozatos kioltása látszik. A szenzor szelektivitása ADP-vel és AMP-vel szemben is figyelemreméltó, ebben az esetben a detektálás alapja a két hullámhosszon (monomer és excimer) mért intenzitás eltérő hányadosa.

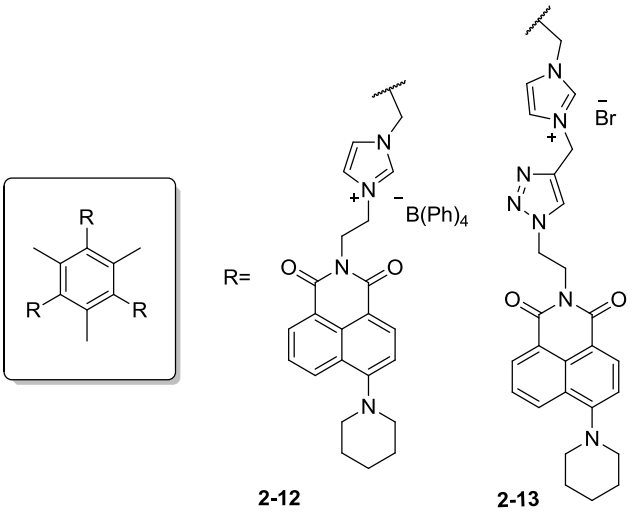


12. ábra: 2-11 „Kétkarú" ligandum

Duan és munkatársai írták le a **2-12** és **2-13** „háromkarú" podánsokat (13. ábra).[30] Fotokémiai viselkedésük a **2-1** receptor HPTS-komplexéhez hasonló: szelektív *turn-on* fluoreszcenciát mutatnak bizonyos nukleotidokkal szemben - bár a működésük a korábban említett szenzortól teljesen eltér, ugyanis itt nem egy fluoreszcens festék „felszabadulása", hanem közvetlenül a komplexképzés okozza a fluoreszcenciaintenzitás-növekedését.

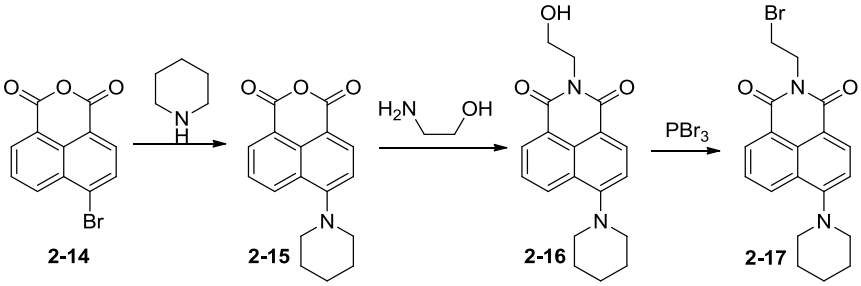
A receptorokat az összes fontosabb nukleotiddal vizsgálták, ami alapján a **2-12** molekula az ADP-vel, a **2-13** pedig az ATP-vel, illetve kisebb mértékben a GTP-vel és az UTP-vel képzett fluoreszcenciásan kimutatható komplexet. Az ATP **2-13** vizes oldatában mintegy 14-szeres intenzitásnövekedést okozott.

[c] Az excimer egy rövid (tipikusan nanoszekundum) életidejű dimer forma, melyben legalább az egyik résztvevő gerjesztett állapotú. Ehhez az állapothoz egy, a monomernél hosszabb hullámhosszú emissziós sáv tartozik.



13. ábra: 2-12 És 2-13 „háromkarú” podánsok

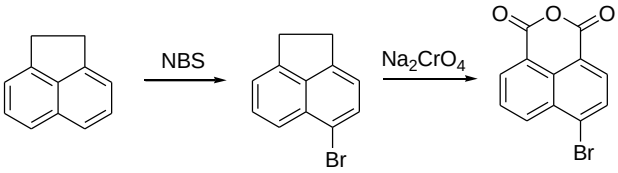
Mivel ezekhez a molekulákhoz hasonlókat terveztünk, célszerű bemutatni a szintézisüket (14-16. ábra), amelynek kiindulóanyaga a kereskedelemben is kapható 4-bróm-1,8-naftálsav-anhidrid (**2-14**).[d] Ebből alakították ki három szubsztitúciós lépésben **2-17** *N*-brómetil-4-(piperidin-1-il)-1,8-naftálimidet, mely a két receptormolekula közös fluorofor-prekurzora.



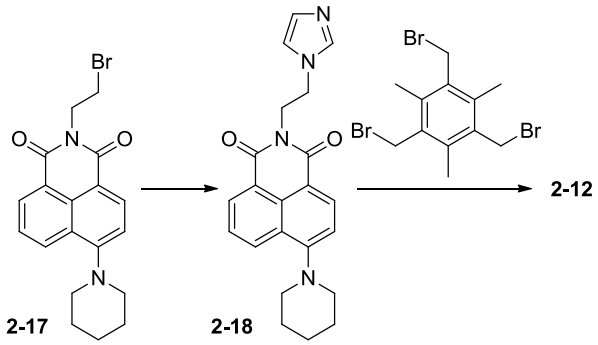
14. ábra: 2-18 És 2-19 irodalmi szintézisének első három lépése

A **2-12** receptormolekula előállítása során **2-17**-et absz. THF-ben, K_2CO_3 jelenlétében imidazollal reagáltatták, majd a kapott **2-18** származékot

[d] A **2-20** előállítható acenafténből NBS-es brómozással, majd nátrium-dikromátos oxidációval: Prickett, M. P.; Singh, G.; Vankayalapati, H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2987.

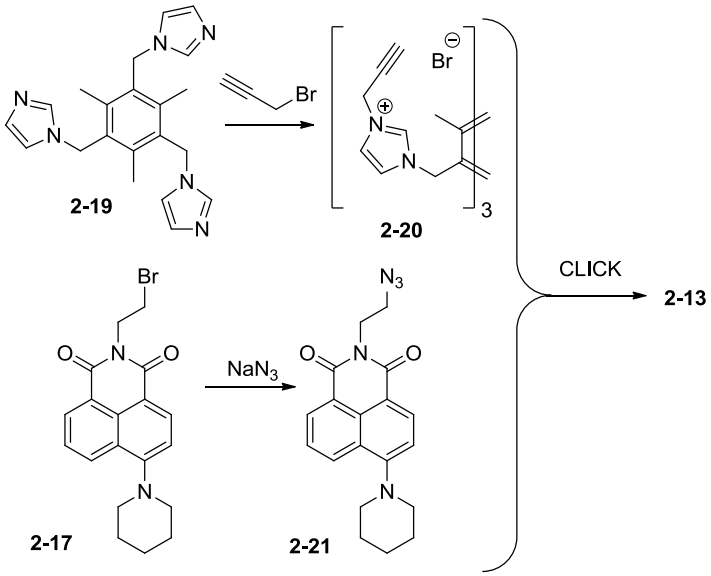


oszlopkromatográfiás tisztítás után alkilezték 1,3,5-*trisz*(brómmetil)-2,4,6-trimetilbenzol trifunkciós alkilezőszerrel, kloroformban, forráshőmérsékleten. Az anioncserét nátrium-tetrafenil-boronáttal végezték metanolban.



15. ábra: 2-18 Szintézise

A **2-13** - a komplexképzésért felelős karokban heterociklusként az imidazol mellett egy 1,2,3-triazolt is tartalmazó - gazdamolekula szintézisében az első lépés egy *N*-propargilezési reakció volt, a kiindulási **2-19** *trisz*(imidazol)-származék előállítását korábban már leírták.[31] Az acetonitrilben végbemenő reakció során az oldószerből kivált a propargilezett **2-20** *trisz*(propargilimidazólium) só, amelynek click reakciója **2-21** aziddal (THF, CuI, reflux) szolgáltatta **2-13** célmolekulát (16. ábra)



16. ábra: 2-13 Szintézise

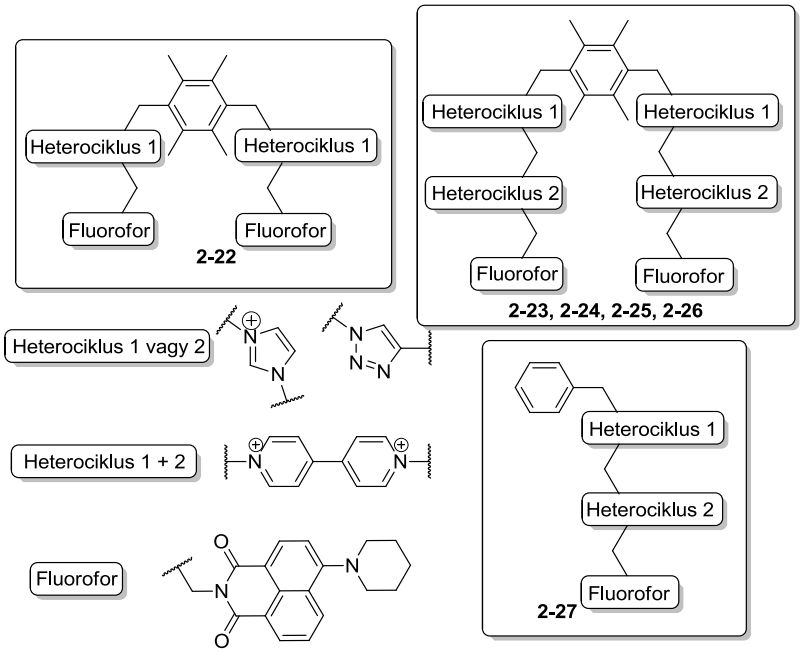
Fluoreszcencián alapuló detektálás, az 1,8-naftálimid fluoroforok tulajdonságai, a fluoreszcenciakioltás és -visszanyerés mechanizmusa

A fluoreszcencia spektroszkópiás érzékelés hátterében különböző fotofizikai jelenségek állhatnak, pl. a már említett excimer hatás, ezen kívül lehetséges, hogy valamilyen töltéstranszfer áll a jelenség hátterében; a leggyakrabban a kemoszenzorok működése azonban az elektrontranszferen, főként fotoindukált elektrontranszferen alapul (PET). Ebben az utóbbi esetben az elektrontranszfer következménye a fluoreszcenciakioltás, ha pedig az elektrontranszfert valami (pl. komplexképzés) gátolja vagy csökkenti, akkor a fluoreszcenciát visszanyerjük. Az érzékelés a PET szenzorok esetén tehát a fluoreszcenciaintenzitás megváltozásán alapul. Az excimer hatás esetén egy új csúcs megjelenése vagy eltűnése, töltéstranszfer (pl. molekulán belüli, ún. *internal charge transfer*, ICT) esetén pedig a fluoreszcenciás maximum kék- vagy vöröseltolódása tapasztalható.[32]

Mivel 1,8-naftálimid fluoreszcens markert tartalmazó receptorok szintézisét terveztük, az alábbiakban rövid áttekintést adunk e fluorofor csoport jellemző tulajdonságairól. Ez a kromofor a látható fény tartományban abszorbeál és emittál, jó a fotostabilitása és a kvantumhasznosítási tényezője.[33,34]

A 4-amino-naftálimidek alapállapota a fluorofor egy HOMO pályájának gerjesztésekor egy kevéssé töltésszeparált lokálisan gerjesztett állapottá alakul, ami fluoreszcens. Ebből a 4-es helyzethez kapcsolódó amino-nitrogénatom elektron-transzferje révén létrejön egy töltésszeparált állapot, amely *push-pull* természetű (amit az elektronküldő amin és az elektronvonzó imid, valamint a hozzá spaceren keresztül kapcsolódó kationos receptorrész okoz), és ahol a 4-es (amino) nitogénatom pozitív töltésű, míg a dikarboximid rész negatív töltést hordoz. Ilyenkor az elektrontranszfer mértékétől függően fluoreszcenciacsökkenés vagy kioltás lép fel (PET). Ha ez a (4→9) irányú PET gátolt, akkor a fluoreszcenciát visszanyerjük.[35] A negatív töltésű foszfátokkal történő komplexképzés révén csökken a gerjesztett állapot *push-pull* karaktere, ez vezet a komplexképzést kísérő fluoreszcencia-visszanyeréshez.

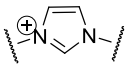
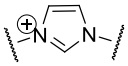
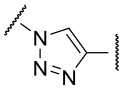
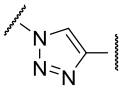
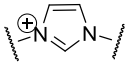
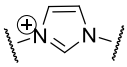
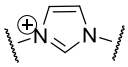
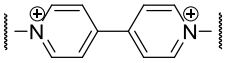
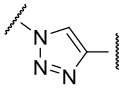
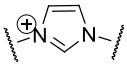
2.3. Új, imidazólium/triazol receptorelemeket tartalmazó nukleotidszenzorok



17. ábra: A tervezett szenzormolekulák sémája

Kutatásunk célja az ATP-re és GTP-re, illetve más nukleozid-foszfátokra szelektív fluoreszcens receptormolekulák szintézise és vizsgálata irodalmi analógiák alapján. Az általunk szintetizálni kívánt **2-22**, **2-23** és **2-24** receptorok szerkezete hasonló *Duan* és mtsai által leírt gazdamolekulákéhoz,[30] különbség a karok számában (és így a spacerben) van. A **2-25** és **2-26** molekulákba más podáns- és ciklofán alapú receptorok[28,30] heterociklusos elemeit terveztük beépíteni (17. ábra).

Munkánk során vizsgálni kívántuk, hogy milyen hatással van a komplexképzésért felelős karok száma, ezen belül a heterociklusok száma és minősége a nukleozid-foszfát preferenciára. A tervezett szenzorok tehát podáns típusúak (nyíltláncúak) felépítésüket tekintve egy vagy két, a komplexképzésért felelős karból és a közöttük elhelyezkedő spacerből (SP) állnak, amely molekuláinkban egy 1,4-diszubsztituált durol (2,3,5,6-tetrametilbenzol) egység volt. A karokat metiléncsoportokkal összekapcsolt öttagú *N*-heterociklus(ok), ill. egy esetben 4,4'-bipiridínium egység alkotják, ezekhez terminális fluorofor (Flu) jelzőcsoport kapcsolódik (sematikusan: (**Flu-Het1-Het2)$_2$SP**).

Név	Heterociklus 1	Heterociklus 2
2-22		-
2-23		
2-24		
2-25		
2-26		
2-27		

1. táblázat: Az előállított receptorok szerkezete a 17. ábra jelöléseivel

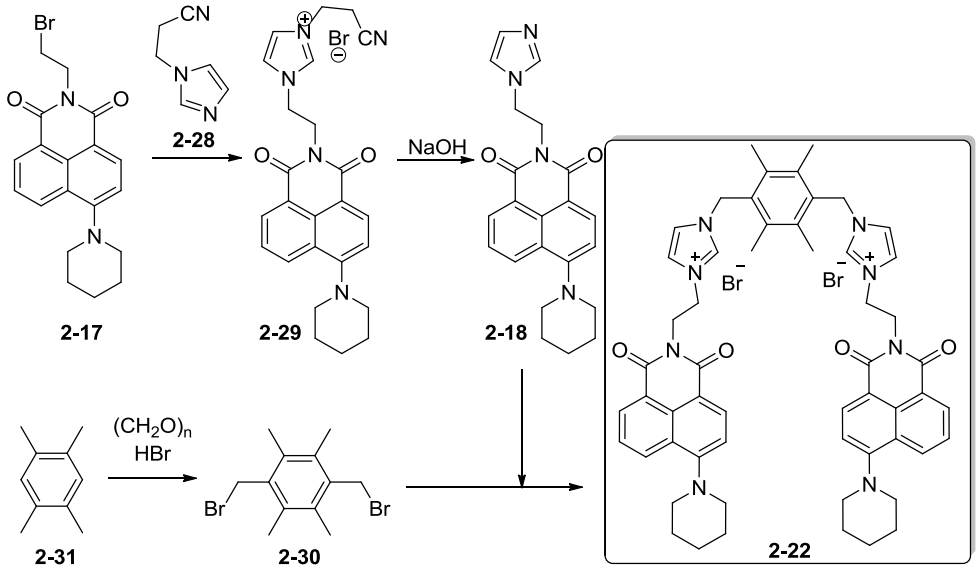
Az elkészült gazdamolekulák komplexképző tulajdonságait fluoreszcencia spektroszkópiás módszerrel vizsgáltuk GTP, ATP, ADP, AMP és GMP és pirofoszfátion vendégmolekulákkal[e] szemben. Néhány esetben a komplexképzés NMR-spektroszkópiás vizsgálatára is sor került.

A 2-22 receptor szintézise [S1]

A **2-22** kiindulóanyagának szintézisében többnyire követtük *Duan* módszerét,[30] de figyelembe vettünk más leírást is (18. ábra).[36] Így a **2-18** 2-(*N*-imidazoliletil)-naftálimid intermediert új úton állítottuk elő a kutatócsoportban korábban kifejlesztett, ciánetil védőcsoportot alkalmazó eljárás szerint.[37] Ez a módszer ugyan eggyel megnöveli a lépések számát, azonban kromatográfiás tisztításra nincs szükség, ami jelentős termelésjavuláshoz vezetett.

[e] Itt a vendégmolekula szót tágabb értelemben, töltéssel rendelkező kémiai részecskékre (ionok) is kiterjesztve használjuk.

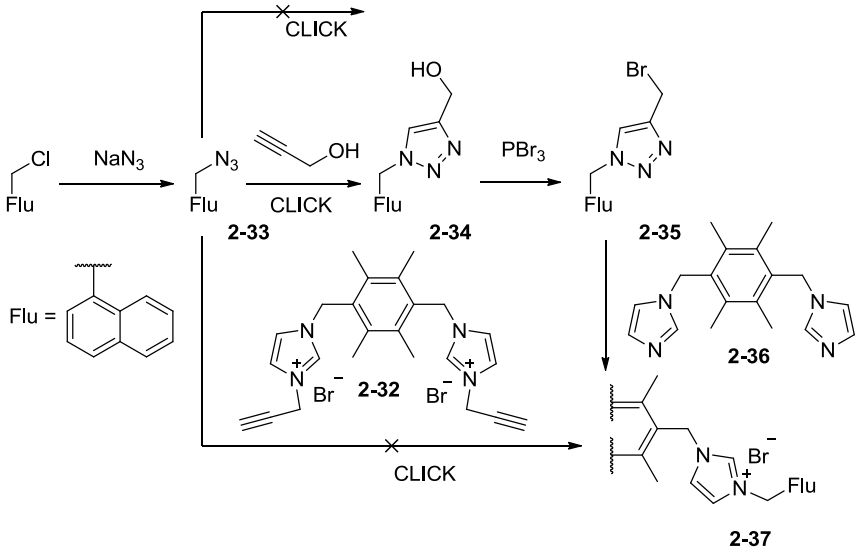
Első lépés a **2-28** *N*-cianoetil-imidazol alkilezése acetonitrilben, reflux hőmérsékleten **2-17** brómvegyülettel. Az elegyből kiváló ionos **2-29** terméket szűrve, majd vízben oldva a védőcsoportot NaOH vizes oldatával távolítottuk el (retro-Michael reakció), megkapva **2-18** intermediert. A zárólépéshez szükséges **2-30** bifunkciós alkilezőszer előállítása durolból (1,2,4,5,-tetrametil-benzol, **2-31**) történt irodalmi leírás szerint jégecetes hidrogén-bromid oldattal és paraformaldehiddel.[38] Ezután **2-18** imidazolszármazék kvaternerezését **2-30** brómvegyülettel acetonitrilben, reflux hőmérsékleten végeztük. A **2-22** céltermék dibromid sóként kivált a reakcióelegyből, további tisztítást nem igényelt.



18. ábra: A 2-22 receptormolekula szintézisútja

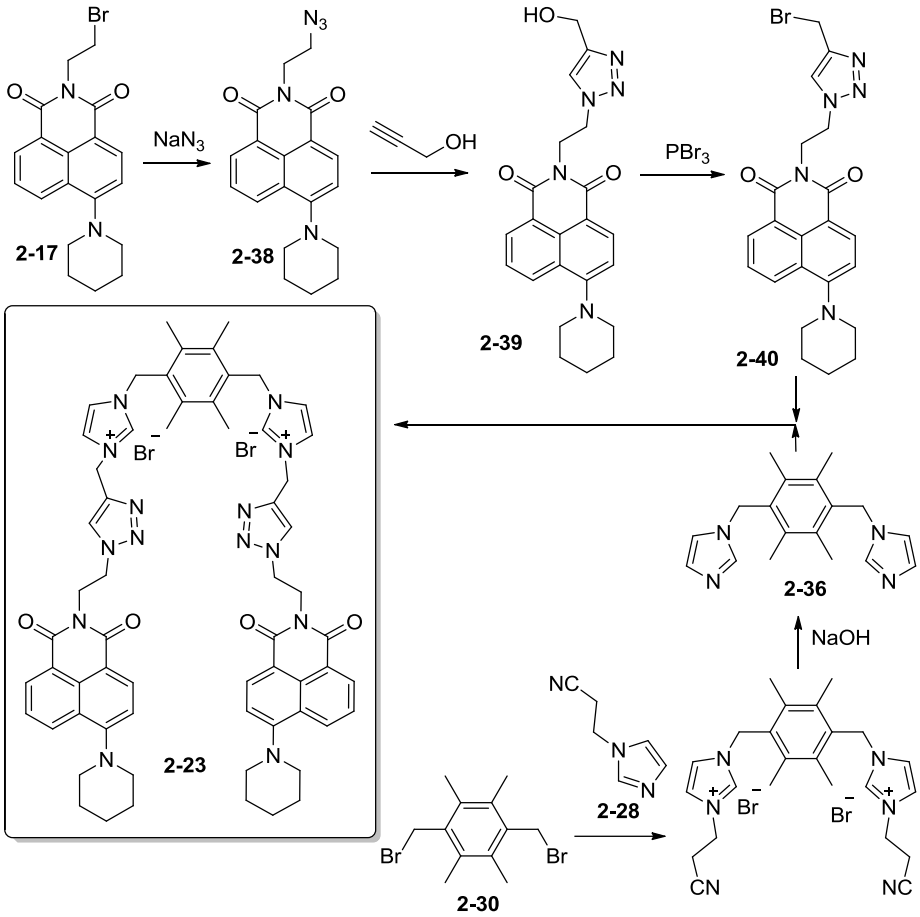
A 2-23 célmolekula szintézise [S1]

A célmolekula szintézisét megelőzően előkísérleteket végeztünk egy, a naftálimidnél egyszerűbb és olcsóbb, α-naftil fluorofort tartalmazó, egyébként analóg szerkezetű molekula (**2-37**) előállítására (19. ábra, Flu = 1-naftil). Azt tapasztaltuk, hogy a **2-33** α-azidometilnaftalin click reakciója sem propargil-bromiddal, sem **2-32** ionos *bisz*acetilénnel nem volt sikeres, egyedül propargil-alkohollal sikerült a megfelelő triazolszármazékot (**2-34**) kialakítani, így eszerint valósítottuk meg **2-23** szintézisét (20. ábra) is.



19. ábra: Szintézisút keresése 2-23 célmolekulához (2-37 előállítása)

A 2-brómetil-naftálimidet (**2-17**) aziddá alakítottuk (**2-38**), amit Amberlyst A21 · CuI katalizátor jelenlétében click reakcióba vittük propargil-alkohollal. A **2-39** termék terminális hidroxilcsoportját brómra cseréltük PBr_3-dal, majd a kapott **2-40** alkilezőszerrel sikeresen kvaternereztük a durol *bisz*(metilén)-imidazol származékát (**2-36**, melyet **2-30** *bisz*(brómmetil)-durolból a már ismertetett kétlépéses módszerrel állítottunk elő). A **2-23** célvegyület dibromid só formájában tisztán kivált az acetonitriles reakcióelegyből.

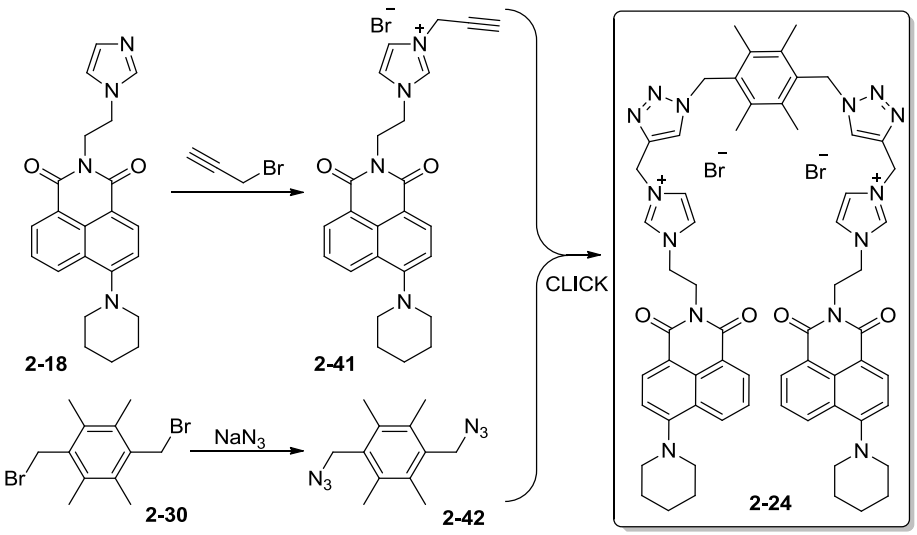


20. ábra: 2-23 Szintézise

A 2-24 célmolekula előállítása [S1]

A **2-24**-ben a kationos imidazólium heterociklus a fluoroforhoz, míg a triazolcsoport a spacer durolhoz kapcsolódik, vagyis **2-23**-hoz képest a két heterociklus fordított helyzetben van.

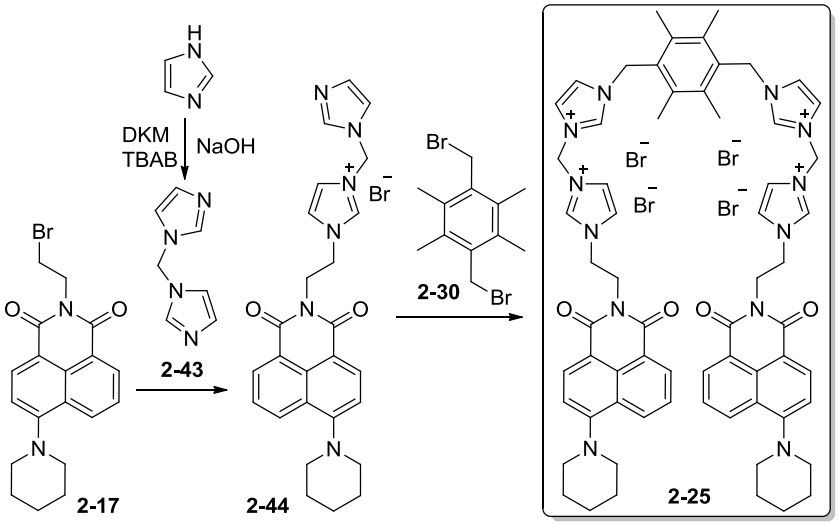
A szintézist **2-41** propargil-imidazólium só és a **2-42** diazid Huisgen-Sharpless cikloaddíciójával kíséreltük meg (21. ábra). A click reakció THF-ben réz(II)-szulfát és nátrium-aszkorbát katalizátorrendszer jelenlétében csak részben játszódott le. A termék NMR spektruma szerint az acetonos kristályosítást követő oszlopkromatográfiás elválasztás (eluens: kloroform-metanol = 7:3) után is kb. 60 mol% **2-41** kiindulóanyagot tartalmazott. Ezután a már ismertetett 2,4-dimetoxi-fenil-izocianid CuCl komplexéből álló (3. ábra)[13] katalizátort próbáltunk ki.



21. ábra: 2-24 Célmolekula szintézise

Bár a reakciót az azid (**2-42**) feleslegével végeztük, a termékben nem jelent meg a „félkarú” intermedier. A terméket acetonitriles mosással tisztítottuk, így tisztán kaptuk **2-24** receptormolekula dibromid sóját.

A 2-25 receptorjelölt szintézise



22. ábra: 2-25 *bisz*(Imidazólium) típusú receptor szintézise

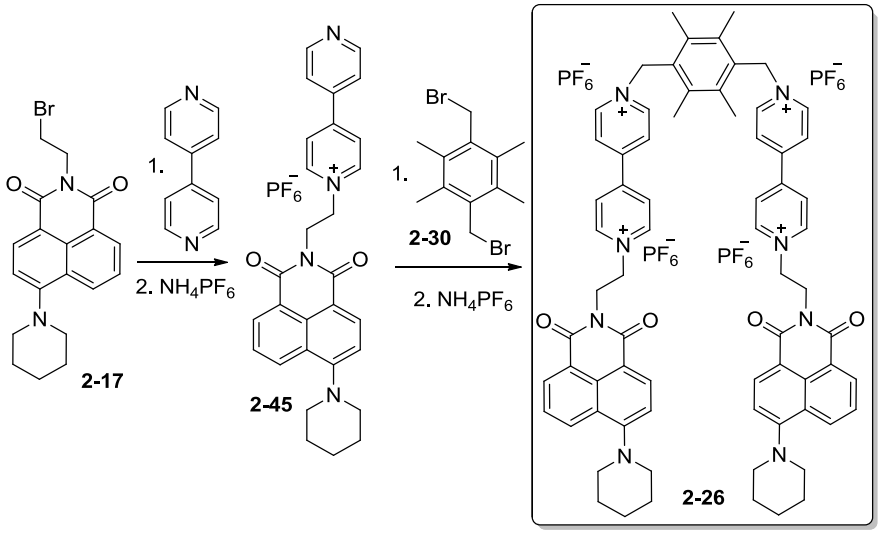
Míg **2-23** és **2-24** karonként két különböző heterociklust tartalmazott, és közülük csak az egyiknek volt pozitív töltése, addig a következő molekulákban karonként két azonos heterociklusos kation van. A **2-25** receptor esetén ez két

imidazóliumcsoportot jelent. Ilyen komplexképző részt tartalmazó podáns csak egy található a szakirodalomban (**2-11**), amelyben azonban pirén a fluorofor jelzőcsoport.[28]

A kiinduló anyagok a **2-43** metilén-*bisz*(imidazol)[39] és a naftálimid brómetil-származéka (**2-17**), melyeket acetonitrilben reagáltatva a **2-44** termék tisztán kivált a reakcióelegyből. A zárólépésben **2-44** és **2-30** 1,4-*bisz*(brómmetil)durol sztöchiometrikus elegyét acetonitrilben forraltuk egy napig. Az oldószer bepárlása után tisztán kaptuk **2-25** receptor tetrabromid sóját (22. ábra).

A 2-26 receptor szintézise

A **2-26** receptor szerkezete és szintézise **2-25**-tel mutat közeli rokonságot, azonban itt a metilén-*bisz*(imidazólium) részeket 4,4'-bipiridínium viologének helyettesítik. Hasonló szerkezetű podáns típusú nukleotid receptort még nem írtak le.

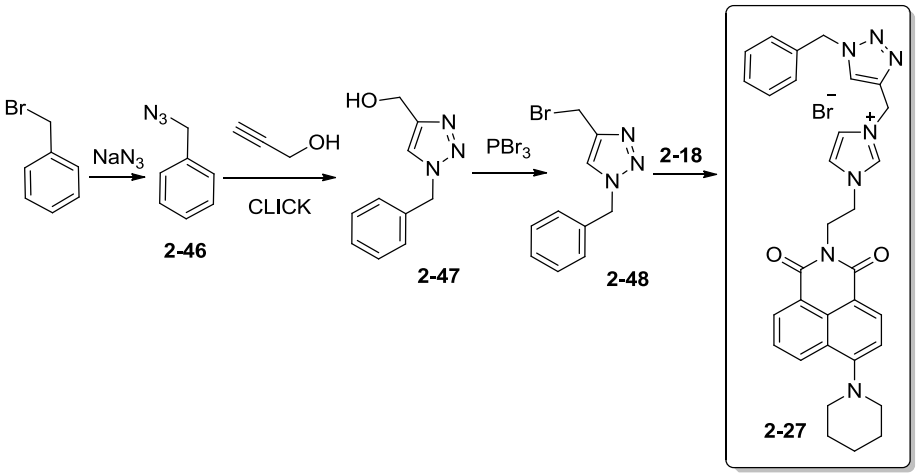


23. ábra: 2-26 Bipiridin alapú receptor szintézise

A szintézissor első lépésében a **2-17** brómvegyülettel a 4,4'-bipiridint monoalkileztük acetonitrilben (23. ábra). A kapott bromid sóval (a **2-45**-tel jelölt képletben PF_6^- helyett Br^- van) azonban az 1,4-*bisz*(brómmetil)durol egy hét alatt sem reagált sem acetonitrilben, sem DMF-ben, ezért az aniont a gyengén koordináló hexafluoro-foszfátra cseréltük. Ezt acetonitrilben forralva **2-30** dibromiddal már könnyen lehetett alkilezni, majd a képződő vegyes sót ismét NH_4PF_6-tal kezeltük, hogy egységes anionú (**2-26**) terméket kapjunk.

A 2-27 „egykarú” molekula szintézise [S1]

Az eddig bemutatott „kétkarú” molekulákkal azt kívántuk tanulmányozni, hogy a nukleozid-foszfát felismerésben milyen változást okoz a komplexképzésért felelős karok számának az irodalomban leírt háromról[30] kettőre való csökkentése, illetve a karon belül a heterociklusok helyének, számának és minőségének változtatása. Kíváncsiak voltunk azonban arra is, hogy a karok számának további csökkentése hogyan befolyásolja a komplexképzést, ezért elkészítettük **2-27** „egykarú” molekulát is, mely a heterociklusok sorrendjének tekintetében **2-24**-gyel mutat szerkezeti rokonságot.



24. ábra: 2-27 „Egykarú" analogon szintézise

A benzil-bromidból induló szintézis (24. ábra) már ismertetett lépésekből áll: először a brómatomot azidcsoportra (**2-46**) cseréltük vizes acetonban.[40] Mivel ez nem reagált **2-41** ionos propargil vegyülettel izonitril · CuCl katalizált click reakcióban, Amberlyst A21 · CuI katalizátor jelentétében propargil-alkohollal végeztük el a cikloaddíciót, a keletkezett **2-47** hidroxilcsoport PBr_3-os reakciója követett. Az így kapott **2-48** reagenssel alkileztük **2-18** naftálimid-imidazolszármazékot, ami a kívánt molekulát (**2-27**) eredményezte.

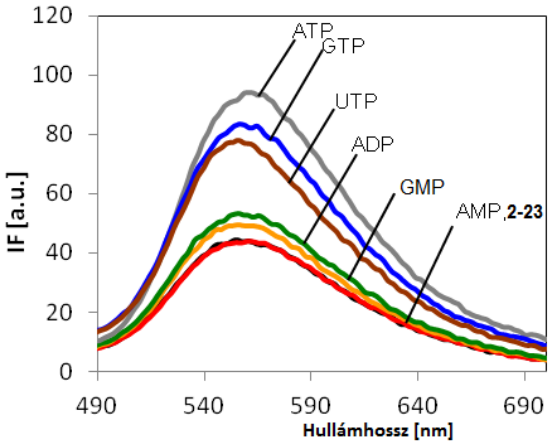
2.4. Spektroszkópiai vizsgálatok

A 2-22, 2-23, és 2-24 szenzorok nukleozidfoszfát-felismerőképessége [S1]

A ligandumok UV/VIS spektrumai a 4-amino-9-alkil-1,8-naftálimidekre jellemző abszorpciós maximumot mutatják vizes oldatban[41]: **2-22** (438 nm, log ε = 3,24), **2-23** (434 nm, log ε = 3,14), **2-24** (433 nm, log ε = 2,99), amelyek nukleozid-foszfátok (AMP, ADP, GMP, ATP, GTP, UTP) hozzáadására gyakorlatilag nem

változtak. A szenzormolekulák HEPES pufferben (*p*H 7,5) 400 nm-en gerjesztve (c = 10^{-5} M) gyenge zöld fluoreszcenciát mutattak, az emissziós maximumokat 563 (**2-22**), 555 (**2-23**), illetve 558 nm-en (**2-24**) észleltük. A **2-22** ligandum fluoreszcenciája nem változott AMP, ADP vagy GTP hozzáadására, míg ötvenszeres GMP, illetve ATP enyhe fluoreszcenciaintenzitás-növekedést okozott, melynek nagysága GMP-re F/F^0 = 1,28; míg ATP-re 1,48 volt. Ebből arra következtethettünk, hogy a karonként egy, összesen két imidazóliumcsoport nem elégséges, hogy megfelelő erősségű kölcsönhatást hozzon létre a vizsgált vendégmolekulákkal. Ez meglepő annak tükrében, hogy a „háromkarú" analogon (**2-12**) esetében nagyon nagy ADP affinitást írtak le[30] (log K = 10,44 bár meg kell jegyezni, hogy ezek a mérések acetonitrilben és nem vizes közegben készültek).

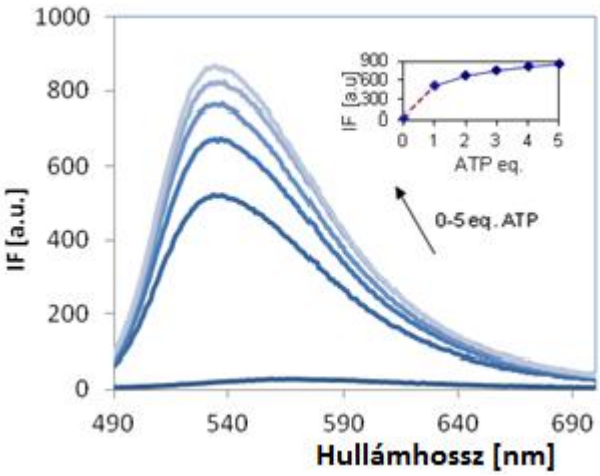
A **2-23** gazdamolekula szelektivitásának vizsgálata során 50 ekvivalens AMP, ADP és GMP hozzáadására érdemleges fluoreszcencianövekedés nem történt, míg ugyanilyen mennyiségű ATP, GTP és UTP már számottevő intenzitásnövekedést (F/F^0) okozott (ATP = 2,2; GTP = 1,9; UTP = 1,7; 25. ábra).



25. ábra: 2-23 Szenzormolekula szelektivitása

A hasonló szerkezetű podánsok és nukleozid-foszfátok kölcsönhatását leíró magyarázatok szerint a komplexképzés a receptor pozitív töltésű részei és a negatív foszfát ionok közötti ionpár, valamint az imidazólium/1,2,3-triazol egységek savas protonjai által létrejövő NC-H⋯(O)P hidrogénhidak stabilizáló hatásán alapul. Mivel **2-23** abszorpciós spektruma nem változik jelentősen a komplexképzés során, a fluoreszcencia növekedése a fluorofor PET-jellegének tulajdonítható. Vagyis a szabad receptor fluoreszcenciája gyenge az erősen töltés-szétválasztott ICT gerjesztett állapota (amit a poláris víz stabilizál) következtében fellépő részleges PET kioltódás miatt. A komplexben viszont a receptorkarokon az elektronsűrűség a

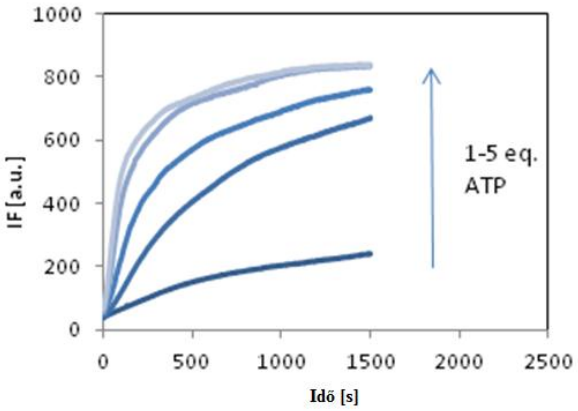
foszfát anionok közelsége miatt nő, tehát gerjesztett állapotban (c_{T1}) a 9-pozíció elektronvonzó hatása s ezzel az ICT *push-pull* karaktere csökken a szabad receptoréhoz képest. Emiatt ennek gyenge fluoreszcenciája a komplexképzéskor megnövekszik (*turn-on* szenzor). A **2-23** receptorkarjaiban található heterociklusok közül a pozitív töltésű imidazólium kationos rész dominál a *push-pull* hatás kiváltásában a triazolgyűrűhöz képest. Emiatt várható, hogy **2-24** esetén, ahol az imidazólium csoportok közelebb helyezkednek el a naftálimid fluoroforhoz, jóval kifejezettebbek lesznek a fent részletezett hatások, a fluoreszcencia visszanyerése és a szenzor *turn-on* jellege is erősebb lesz. A várakozásnak megfelelően, ATP-t adva **2-24**-hez az előzőnél jóval nagyobb fluoreszcencianövekedést tapasztaltunk: már 5 ekvivalens ATP-vel elértük a telítést, ekkor harmincszoros intenzitásnövekedést és 30 nm hipszokróm eltolódást tapasztaltunk (26. ábra).[f]



26. ábra: 2-24 Flureszcencia válasza ATP 0-5 ekvivalens mennyiségére (kis ábra: 550nm-en mért intenzitás)

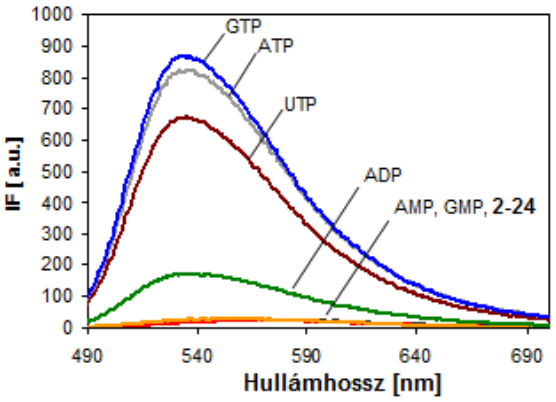
[f] A hipszokróm eltolódás vagy a naftáilid és az adenin közötti aromás π-π kölcsönhatás következménye, de az is elképzelhető, hogy a szenzor ICT jellegéből adódik: az alapállapotnál nagyobb dipólusmomentumú ICT gerjeszett állapot nagyon érzékeny a közeg polaritására: gerjesztett állapotban a negatív töltésű foszfát és az ugyancsak negatívan polározott imidrész közötti destabilizáló taszítás következménye lehet egy ilyen jellegű kékeltolódás. Végül megemlítjük, hogy az is elképzelhető, hogy a fluoreszcencianövekedés nem a PET mechanizmus következménye: vannak egyéb, ugyancsak ICT karakterű szenzorok, amelyekben **2-23** illetve **2-24**-hez analóg módon két kar alakítja ki a receptort, melyekben a vendégmolekula kötődése kimerevíti a szerkezetet, és így lecsökkenti a rezgési/belső konverzióval történő relaxáció lehetőségét a fluoreszcencia javára. (Berryman, O. B.; Sather, A. C.; Rebek, J. Jr. *Org Lett.* **2011**, *13*, 5232. Sandanayake, S. K. R. A.; James, T. D.; Shinkai, S. *Pure & Appl. Chem.*, **1996**, *68*, 1207.)
A jelenség pontos magyarázata csak elméleti számítások útján, illetve származékok vizsgálatával lenne lehetséges.

Az egyensúlyi helyzet (és emissziós maximum) csak lassan alakult ki, azonban 5 ekvivalens ATP esetén mintegy 25 perc után már nem változott tovább a fluoreszcenciaintenzitás (27. ábra).



27. ábra: 2-24 ATP-re adott fluoreszcencia válaszának kinetikája

Ez a szenzor érzékenynek bizonyult a többi nukleozid-trifoszfátra is: öt ekvivalens vendégmolekula ezekben az esetekben is elegendőnek bizonyult a telítéshez – vagyis a fluoreszcencia maximum eléréséhez – ami UTP-vel 25, míg GTP-vel 32-szeres intenzitásnövekedéssel járt (28. ábra). Az ADP ugyanilyen mennyisége sokkal kisebb – mindössze hatszoros növekedésben megnyilvánuló – választ adott, míg a monofoszfátoknak még 100-szoros feleslege sem okozott változást az emissziós spektrumokban.



28. ábra: 2-24 Fluoreszcencia válasza GTP-re, ATP-re, UTP-re és ADP-re (5 ekv.), ill. AMP és GMP-re (100 ekv.)

In vivo körülmények között a szervetlen foszfátion különböző formái zavarhatják a detektálást, ezért a $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} és $P_2O_7^{4-}$ ionokra vonatkozó érzékenységet is megvizsgáltuk. Az 500 ekv. mennyiségű dihidrogén-foszfátion semmilyen, míg ugyanennyi monohidrogén-foszfátion 1,2-szeres intenzitásnövekedést okozott. A pirofoszfátionra érzékenyebben válaszolt **2-24** szenzormolekula: 100x mennyiségére a válasz ötszörös emisszió növekedés volt.

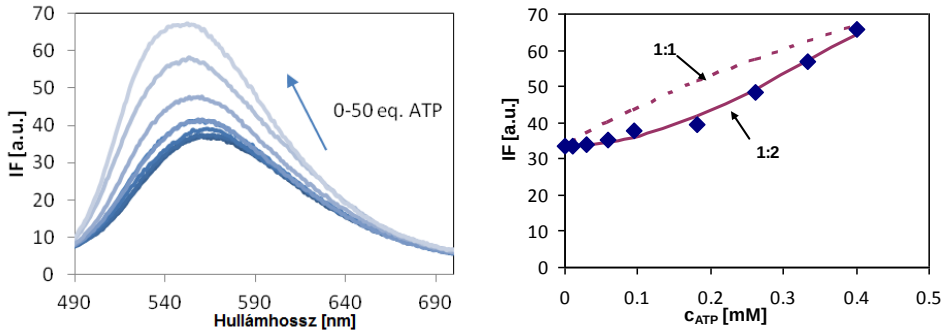
Nemlineáris regresszióval meghatároztuk a komplexképződési állandókat (SPECFIT/32™,[42]) melyek az irodalmi[30] log K = 8,75-nél (**2-13**/ATP) kisebb értékeknek mutatkoztak: log K_{ATP} = 7,51 ± 0,03; illetve log K_{GTP} = 8,32 ± 0,03. Mindhárom komplex (**2-13**/ATP, **2-24**/ATP, **2-24**/GTP) 1:2 sztöchiometriájú volt a titrálási görbe alakja alapján.[g]

Később kiderült, hogy az egyensúlyi helyzet lassú beállásának az volt az oka, hogy **2-24** HEPES-pufferben készített oldatából a nukleotidok hozzáadására szemmel nem látható kolloid csapadék vált ki, amit eleinte nem észleltünk, de 550 nm-en történő fényszórás méréssel detektáltunk. Ez valószínűleg a komplex, amit azonban nem sikerült izolálnunk. Erről a jelenségről **2-13** esetében a szerzők nem tettek említést, talán mert nem tapasztalták vagy nem végeztek fényszórási kísérleteket az oldat homogenitásának ellenőrzésére.

Az oldhatósági problémák miatt a vizes méréseket meg kellett ismételni. Megbízhatóan homogén oldatok készítése szerves oldószer hozzáadását igényelte. A vizsgált koszolvensek közül (etanol, DMSO, acetonitril) az acetonitril oldotta legjobban a komplexet, optimálisnak a HEPES puffer/MeCN = 92:8 tf% oldószerelegyet találtuk. A **2-24** szenzormolekula ebben a közegben ATP-vel titrálva 50 ekv. mennyiségig homogén maradt (29. ábra, balról). A mérési eredmények ebben az oldószerelegyben is 1:2 receptor-ATP sztöchiometriájú komplex keletkezésére utalnak, a nemlineáris szoftveres görbeillesztés által kapott asszociációs állandó log K = 6,38 ± 0,05. Ahogy a 29. ábra jobboldali diagramján látható a kalkulált komplexképződési állandóval jellemezhető 1:2 komplexre számolt intenzitások (folytonos lila vonal) jó egyezést mutatnak a kísérleti adatokkal (kék jelölés). Ezzel szemben, ha 1:1 sztöchiometriát feltételezünk (log K = 3 asszociációs állandóval), akkor a mérési pontok egyáltalán nem illeszkednek a számított titrálási görbére (29. ábra, szaggatott lila vonal). Az 1:2 sztöchiometriára utal a titrálási görbe alakja is.[g] Tehát az irodalomban leírt **2-13** „háromkarú" receptorhoz hasonlóan 1:2 sztöchiometriájú komplexet képzett ATP-vel az általunk

[g] ún. Hill-plot, vagyis a görbének van egy inflexiója

leírt „kétkarú” **2-24** receptor is mind vízben, mind acetonitril-víz közegben. *Job* diagrammal nem tudtuk igazolni a komplex sztöchiometriát, mivel kis koncentrációknál nem volt elég nagy a fluoreszcenciaintenzitás-növekedése, hogy annak maximuma egyértelműen megadja a sztöchiometriát, míg nagyobb koncentrációknál a megjelenő csapadék lehetetlenítette el a mérést.



29. ábra: 2-24 Titrálása ATP-vel koszolvens jelenlétében (balról) és görbeillesztés 550 nm-en (jobbról)

Ebben az oldószerelegyben a többi adenin-nukleotid (ADP, AMP) nem okozott fluoreszcenciás változást, míg a trifoszfátok (UTP, GTP) komplexképzése az ATP-hez hasonlóan írható le. A nemlineáris görbeillesztés tehát egyértelműen az 1:2 komplex képződésére utal ezekben az esetekben is, UTP esetén log K = 6,37 ± 0,06; míg GTP-re log K = 6,5 ± 0,3 érték adódott. Utóbbi esetben a nagyobb hiba a hamarabb megjelenő csapadék miatti kevesebb mérési (és illesztési) pont következménye: ekkor csak 10 ekvivalens GTP koncentrációig lehetett titrálni **2-24** HEPES puffer/acetonitril = 92 : 8 oldószerelegyes oldatát.

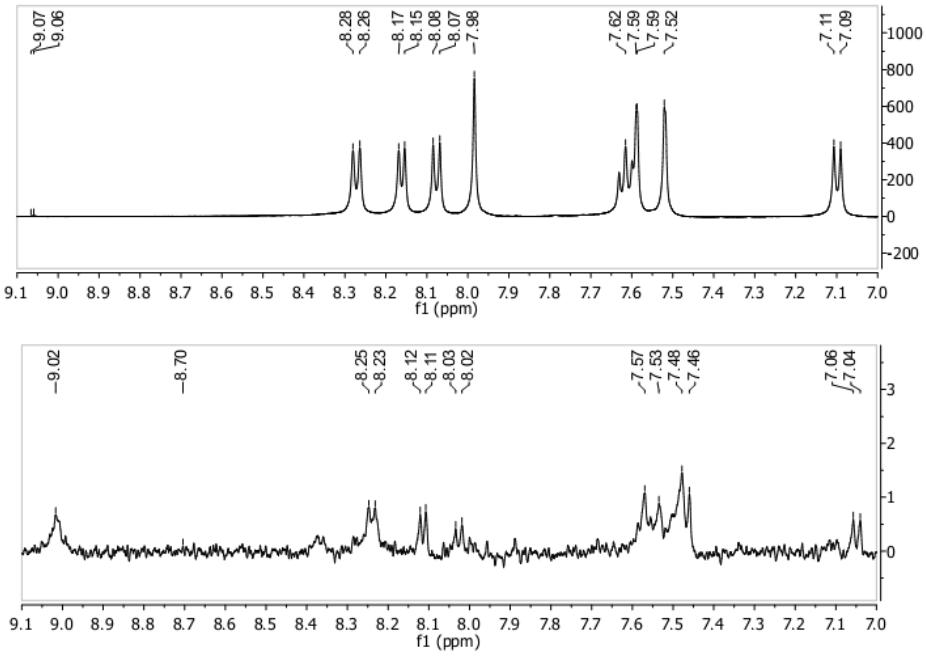
Összegzésként megállapítható, hogy a nukleozid-trifoszfát preferencia nem, de az érzékenység szignifikánsan megnövelhető a heterociklusos egységeknek a komplexképző karon belüli invertálásával, vagyis ha a fluoreszcenciás válasz kiváltásában domináns imidazólium egységet a naftálimid fluoroforhoz közelebb helyezzük el. Ez a tapasztalat az érzékelés PET mechanizmusával is összhangban van. A komplexképző karok számának csökkentése az irodalmi háromról (**2-13**) kettőre (**2-23**) jelentős érzékenységromlással járt, emiatt a komplex sztöchiometriája és az asszociációs állandó nem volt meghatározható. Viszont a heterociklusok „helycseréjével” készített **2-24** molekula az irodalmihoz hasonló érzékenységű, nukleozid-trifoszfátokra szelektív receptornak bizonyult.

NMR spektroszkópia segítségével is megkíséreltünk a komplexképzésre, és főleg a komplexképzésben részt vevő csoportokra vonatkozóan információkat

nyerni, azonban minthogy ez a módszer nagyobb koncentrációtartományokban dolgozik, mint a fluoreszcencia spektroszkópia, komoly oldhatósági nehézségekre számíthattunk.

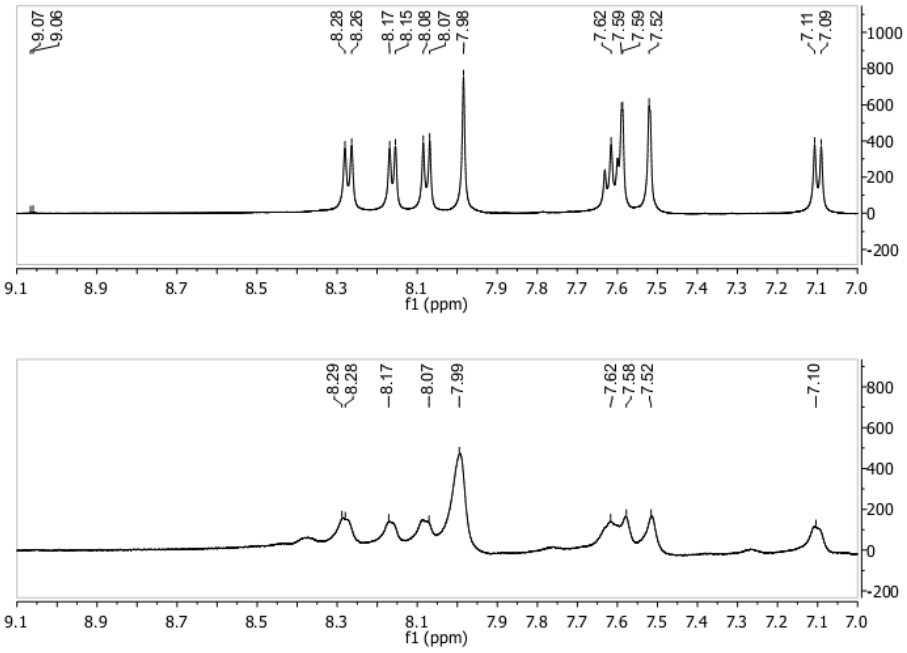
Az oldószerválasztásnál figyelembe kellett venni, hogy mind a nukleotidok, mind a gazdamolekula feloldódjék az adott oldószer(elegy)ben, és még ekkor is felléphet a komplex kiválása, ahogy a fluoreszcencia spektroszkópiás méréseknél tapasztaltuk. Az irodalomban előfordul, hogy más oldószerben veszik fel a gazda-, illetve vendégmolekulák spektrumát, és nem veszik figyelembe, hogy így a vendégmolekulával való titrálás során folyamatosan változik az oldószer összetétele (polaritása és ennek következtében szolvatációs tulajdonságai), ami szintén hozzájárul a kémiai eltolódások megváltozásához.[30]

A választásunk DMSO-d_6/D_2O = 3:1 arányú elegyére esett, amiben 1 mM koncentrációjú oldatot készítettünk **2-24** receptorból, s ehhez két ekvivalens ATP-t, illetve GTP-t adtunk. Előzetes várakozásainknak megfelelően nagymennyiségű csapadék kiválását tapasztaltuk, aminek következtében csak gyenge minőségű NMR spektrumokat sikerült rögzíteni (30. ábra és 31. ábra).



30. ábra: 2-24 Receptor ^{1}H NMR spektrumának részlete, felül: önmagában, alul: ATP hozzáadása után (DMSO-d_6 - D_2O = 3:1)

Ennek ellenére az ATP-vel felvett spektrum tanúsága szerint a naftálimid aromás protonjaihoz tartozó néhány jel eltolódott a nagyobb térerő irányába (-0,03, -0,04 ppm) az aromás rendszerek (naftálimid, adenin) közötti π–π kölcsönhatása következtében. Ezen kívül változás figyelhető meg a triazol és az imidazol egységek protonjainak jeleiben is, amely a foszfátcsoporttal való kölcsönhatásokra utal (30. ábra).



31. ábra: 2-24 Receptor 1H NMR spektrumának részlete, felül: önmagában, alul: GTP hozzáadása után (DMSO-d_6 - D_2O = 3:1)

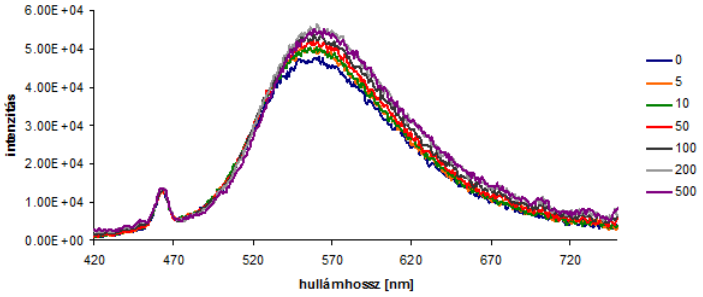
A 2-25 ligandum spektroszkópiai vizsgálata

A **2-25** tetraimidazólium molekula UV/VIS és fluoreszcencia spektrumait HEPES pufferben vettük fel. Az abszorpciós spektrum nem mutat jelentős változás egyik adenin-nukleotid hozzáadására sem (**Hiba! A hivatkozási forrás nem alálható.**).

Az fluoreszcencia spektrumon látható, hogy nagy ATP felesleg hatására is csak kis mértékben nő az intenzitás, valamint az is, hogy a 200 és 500 ekv. ATP feleslegű oldatok spektrumai gyakorlatilag egybeesnek (32. ábra) megerősítve, hogy a **2-25** meglepő módon nem lép kölcsönhatásba ATP-vel.

Az ADP-vel és AMP-vel történő titrálások (a spektrumokat nem mellékelem) ugyancsak negatív eredményt hoztak. Ezek után a guanozin-foszfátok kevéssé reményteljes vizsgálatára már nem is került sor.

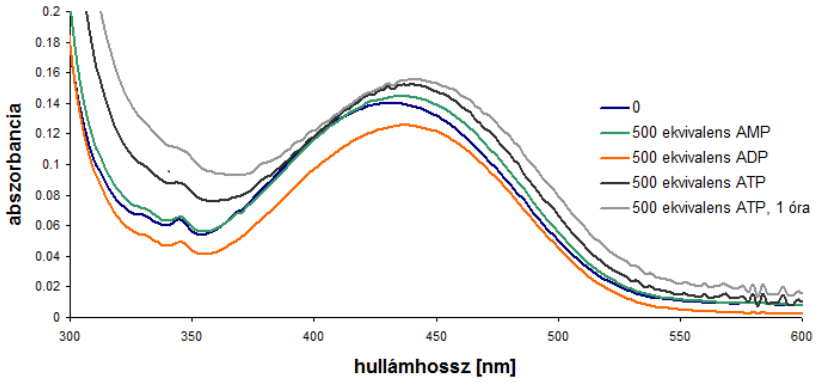
A jelenséget az irodalmi előzmények és saját tapasztalataink alapján egyelőre nem tudjuk értelmezni.



32. ábra: 2-25 Receptormolekula titrálása ATP-vel

A 2-26 ligandum spektroszkópiai vizsgálata

Oldhatósági okokból a mérések ebben az esetben DMSO/HEPES puffer = 1:9 közegben készültek. Abszorpciós spektrumot vettünk fel a **2-26** molekula valamint 500 ekv. AMP-t, ADP-t és ATP-t tartalmazó oldatairól. Az abszorpciós maximumok nem mutatnak érdemleges változást (33. ábra), de ATP hatására megfigyelhető az abszorbancia növekedésének időfüggése, ami már itt is kolloid részecskék kiválására utal.

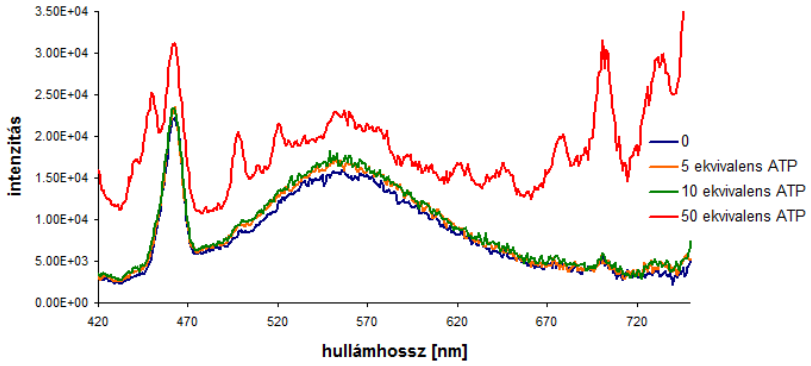


33. ábra: 2-5 Abszorpciós spektrumának változása adenozin-foszfátok hatására

A jelenség még szembetűnőbben mutatkozik a fluoreszcenciás titráláskor, ami már 50 ekv. ATP hozzáadásakor is értékelhetetlen spektrumot ad. (34. ábra).

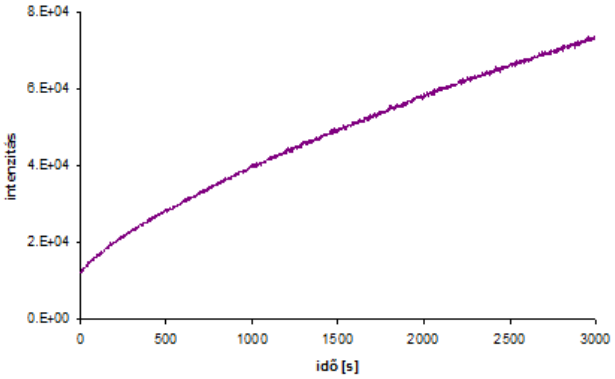
Azonban az 5-10 ekv. ATP hatására fellépő kismértékű emissziónövekedés, még a komplex részleges kiválását figyelembevéve sem jelez érdemleges kölcsönhatást.

Az AMP és ADP jelenlétében felvett titrálási spektrumok ezt a jelenséget ugyan nem mutatják, de hasonlóan negatív eredményt hoztak.



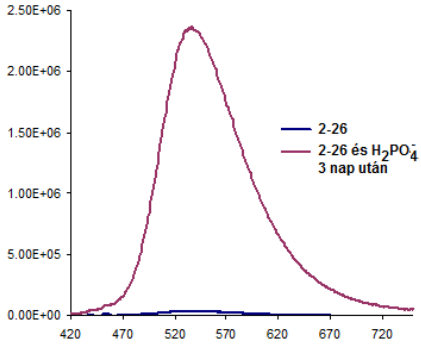
34. ábra: 2-26 Flureszcenciás titrálása ATP-vel

A nukleotidokkal kapott sikertelen kísérletek után teszteltük a receptor optikai válaszait acetonitril oldószerben (**2-26** $(PF_6)_4$ 10^{-5} M) különböző anionok 500 ekvivalens mennyiségű tetrabutilammónium (TBA) sóinak jelenlétében. Felvettük az abszorpciós és emissziós spektrumokat és ahol érdemes volt, vizsgáltuk a komplexképzés időfüggését is. Az abszorpciós spektrumokon látványos változást egyetlen esetben sem tapasztaltunk. Br^-, I^- és NO_3^- hatására a fluoreszcencia spektrumok sem vagy csak alig változtak, jelezve hogy ezekkel az anionokkal nincs kölcsönhatás. Azonban a dihidrogénfoszfát, fluorid és pirofoszfátionok hatására jelentős spektrális változást tapasztaltunk.



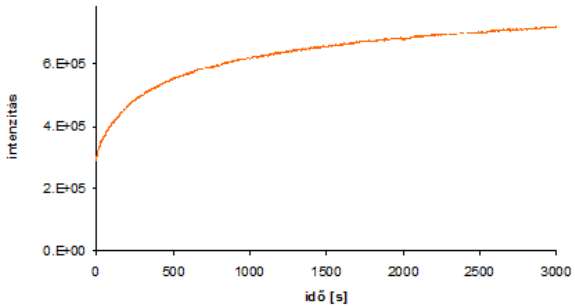
35. ábra: A dihidrogén-foszfáttal való kölcsönhatás kinetikája (első 50 perc)

A $H_2PO_4^-$ jelenlétében történő mérések során az egyensúly 1 óra alatt nem állt be (35. ábra), a 3 nap múlva felvett emissziós spektrum mintegy 60-szoros intenzitásnövekedést mutat (36. ábra). Ezzel párhuzamosan nem tapasztaltunk fényszórást, a komplex csapadék formában történő kiválását.

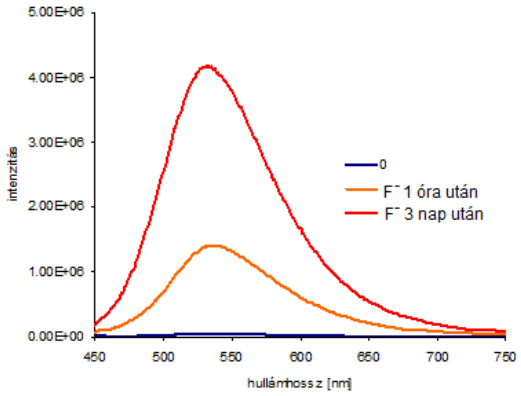


36. ábra: 2-26 Fluoreszcenciaintenzitás-növekedése 3 nap után $H_2PO_4^-$ ion hatására

A F^- jelenlétében történt kinetikai mérések során a fluoreszcencia folyamatosan nőtt, majd 40 perc elteltével már közel konstans intenzitást mértünk (37. ábra). Azonban a későbbi felvételek szerint az intenzitásnövekedés tovább folytatódott: Az 1 óra után felvett emissziós spektrum szerint a komplexnek kb. 36-szor, 3 nap után kb. 110-szer nagyobb az intenzitása, mint a szabad ligandumé (38. ábra). Csapadékkiválást nem észleltünk.

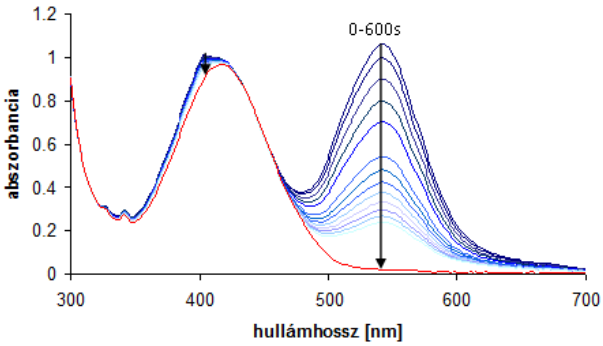


37. ábra: 2-26 és F^- kölcsönhatásának kinetikája

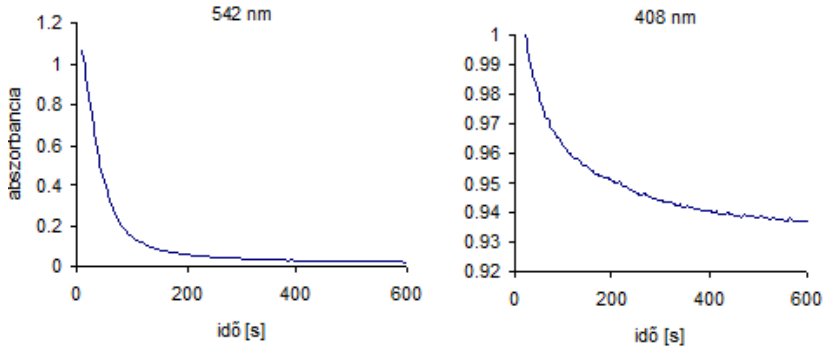


38. ábra: 2-26 és F^- kölcsönhatása egy óra, illetve három nap után

A receptormolekula fluoridionnal összemérve érdekes színreakciót mutatott, az oldat pillanatszerűen vörös árnyalatúvá vált, majd lassan visszatért a szenzorra jellemző sárga szín. A jelenség vizsgálatához **2-26** $5 \cdot 10^{-5}$ M koncentrációjú oldatához 1 ekvivalens TBAF oldatot mértünk 25˚C-on és 1 másodpercenként detektáltuk a spektrumot. Minden 10. mérési pontot ábrázoltuk 70 másodpercig, és utolsó spektrumként a 10 perces állapotot (39. ábra). Megfigyelhető, hogy 542 nm-nél egy intenzív csúcs jelentkezik, ami 600 s alatt gyakorlatilag teljesen eltűnik, visszakapjuk az eredeti abszorpciós spektrumot (a színes molekula 540 nm-en gerjesztve nem emittál). Emellett az is látható, hogy a szabad ligandumhoz tartozó sáv (420 nm) némileg torzul, 408 nm-nél ráül egy másik csúcs, mely az 542 nm-nél található csúcshoz képest lassabban tűnik el (40. ábra).

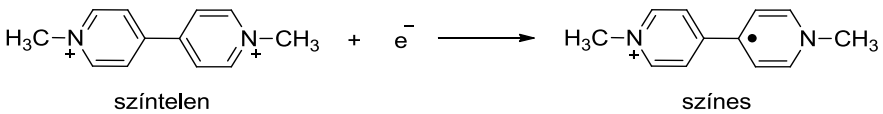


39. ábra: A váratlan színreakció vizsgálata



40. ábra: A két eltűnő csúcs időben változó abszorbanciája

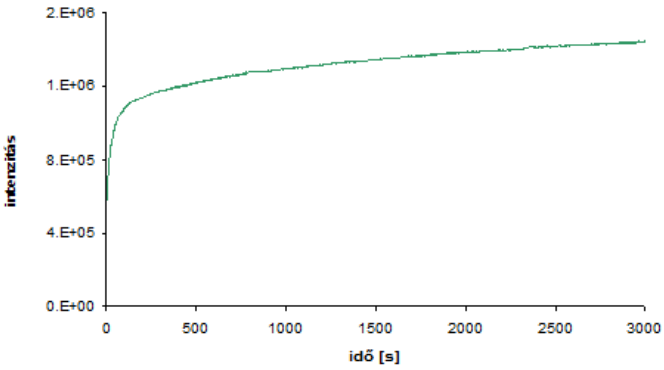
Valószínűsíthetően a jelenség a molekulában lévő bipiridínium egységeknek tulajdonítható. Ismert, hogy ezek a viologének (pl. a legegyszerűbb *N,N*-dimetil-1,4-bipiridínium sók is) redoxi reakciókban elektron akceptorként vesznek részt (41. ábra).



41. ábra: Viologének redukciója gyökkationná

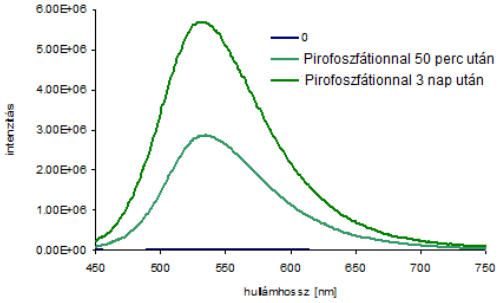
A reakció vizes oldatban is lejátszódik különböző redukálószerekkel, így biológiailag fontos tiolokkal is (pl. cisztein, homocisztein) vagy DMF (MeCN)-ben voltammetriás mérésekkor.[43] A képződő gyökkation abszorpciós sávja az irodalom szerint 600 nm körül van. Fluoridion hatására fellépő hasonló színreakciót egyetlen példa, egy ugyancsak tetrakationos *N,N'*-1,3-propilén-*bisz*(bipiridínium) só esetében tapasztaltak csaknem az általunk mérttel azonos (540 nm) abszorpciós maximummal.[44] CV-UV/VIS méréssel igazolták, hogy ez a speciesz azonos a ciklikus voltammetriás mérés során kapott kételektronos redukció biradikális-dikation termékével vagy ennek π-dimerjével. Minthogy redoxi reakciókban a fluoridion részvételéről nincs ismeretünk, csupán a viszonylag erős bázicitására gyanakodhatunk, mint kiváltó okra. Ennek azonban ellentmond, hogy di-*i*-propilaminnal nincs színreakció[44], ugyanakkor pirofoszfátionnal van (lásd alább). A folyamat mechanizmusa egyelőre tisztázatlan.

A pirofoszfátionok ($P_2O_7^{4-}$) jelenlétében végzett kinetikai mérések során az emisszió gyorsan elér egy magas értéket, ezt követi egy lassú emelkedő szakasz (42. ábra).



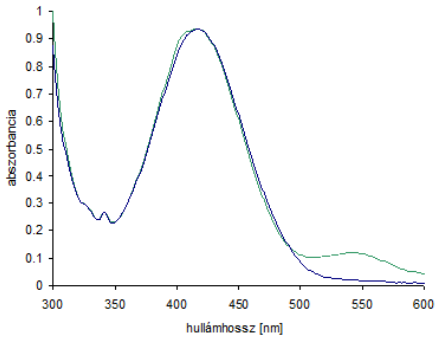
42. ábra: Pirofoszfátion és 2-26 kölcsönhatásának kinetikája

Az emisszió intenzitása 50 perc elteltével 70-szeresére nő, 3 nap után csaknem 150-szeres növekedést tapasztaltunk (43. ábra, megj.: a spektrum korrigálva van, más résszélességgel lett felvéve a detektor védelme miatt). Az oldatban három nap eltelte után sem volt látható csapadék kiválás.



43. ábra: Fluoreszcenciaintenzitás-növekedés 50 perc, illetve 3 nap után

Az abszorpciós spektrum ($5 \cdot 10^{-5}$ M **2-26** oldatban) egy ekvivalens pirofoszfátion hatására a fluoridhoz hasonló színreakciót mutatott, de 542 nm-nél csak egy kis intenzitású csúcs jelentkezik, ami másodperceken belül eltűnt (44. ábra). További só adagolásakor (20 ekvivalens) barna csapadék kiválását tapasztaltunk, ami kisebb koncentrációnál (10^{-5} M + 500 ekvivalens anion) nem jelentkezett.

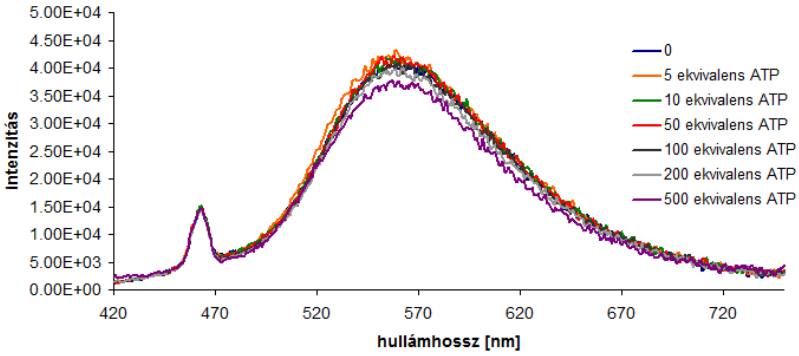


44. ábra: 2-26 Abszorpciós spektruma (kék) és annak változása pirofoszfátion hozzáadására (zöld)

A 2-27 ligandum spektroszkópiai vizsgálata, 2-24 ATP komplexének feltételezett szerkezete [S1]

A **2-27** „egykarú" molekula előállítása főleg elméleti szempontból volt érdekes, nemcsak a karok számának csökkentésére, de **2-24** komplexének geometriájára vonatkozó következtetések miatt.

Megállapítottuk, hogy **2-27** molekula a fluoreszcencia spektrumok alapján nem lép kölcsönhatásba a vizsgált adenozin-foszfátokkal (ATP, ADP, AMP). Ezért közülük csak az ATP-vel végzett titrálás emissziós spektrumait mutatom be (45. ábra).



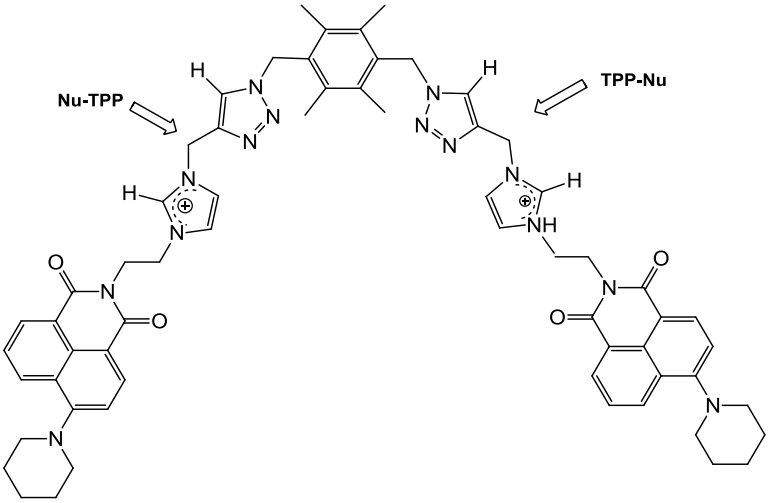
45. ábra: 2-27 ATP-vel való titrálása közben felvett fluoreszcencia spektrumsorozat

A legmarkánsabb nukleozid-trifoszfát receptor **2-24** esetében tapasztalt 2:1 vendég-gazda sztöchiometriájú komplexeinek szerkezetére kétféle geometria vázolható fel:

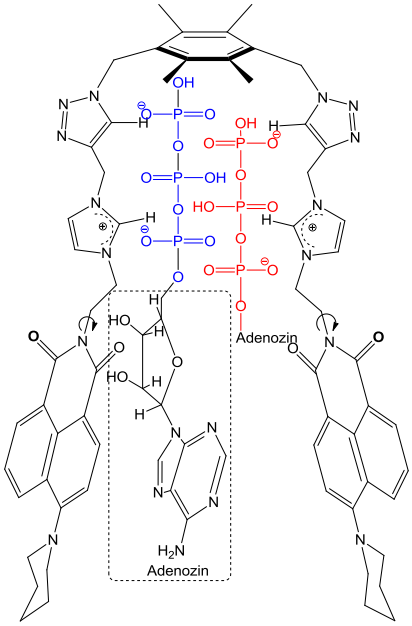
a) a két kar külön-külön egy-egy trifoszfát egységgel lép kölcsönhatásba (*exo*-komplex, 46. ábra),

b) a két kar együttesen koordinál két nukleotidot (*endo*-komplex, 47. ábra).

Mind az az irodalmi tapasztalat, hogy **2-13** a három kar ellenére hasonló 2:1 sztöchiometriával képez komplexet, mind pedig az a tény, hogy az „egykarú” **2-27** nem lép köcsönhatásba nukleotidokkal, az *endo* geometriát (vagy ennek valamilyen változatát) valószínűsíti (47. ábra).



46. ábra: 2-24 Szenzor *exo* nukleozid-trifoszfát (Nu-TPP) komplexének lehetséges szerkezete



47. ábra: 2-24 Szenzor *endo* ATP komplexének lehetséges szerkezete

Összefoglalás

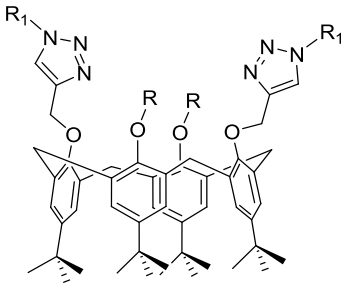
Fluoreszcens 4-amino-1,8-naftálimid alapú „kétkarú”, imidazólium és triazol kötőhelyeket tartalmazó receptormolekulákat állítottunk elő click kémia segítségével, hogy tanulmányozhassuk a komplexképző karok számának, azon belül pedig a heterociklusok sorrendjének a nukleozid-foszfát megkötő képességre gyakorolt hatását. Megállapítottuk, hogy ha a gazdamolekulák kötőhelyeiben a heterociklusok sorrendjét megtartjuk, de a karok számát az irodalomban leírt háromról (**2-12** és **2-13**) kettőre (**2-22** és **2-23**) csökkentjük, az a nukleotid felismerőképesség és/vagy a detektálás érzékenységének romlásával jár. Felismertük viszont, hogy a „kétkarú” analogon is bírhat erős nukleozid-trifoszfát megkötő képességgel, ha a kötőhelyen belül a heterociklusok eredeti sorrendjét felcseréljük. Az így kapott **2-24** gazdamolekula 1:2 sztöchiometriájú, stabil komplexet képez adenozin-, guanozin- és uridin-trifoszfátokkal. Ezekben az esetekben meghatároztuk a komplexképződési állandókat és egy lehetséges geometriát vázoltunk fel a komplexek szerkezetére.

Várakozásunkkal ellentétben a csak egyféle kationos heterociklust (metilén-*bisz*-imidazólium, **2-25**; 4,4’-bipiridínium, **2-26**) tartalmazó potenciális receptor-molekuláink nem bizonyultak használhatónak egyetlen nukleotid detektálására sem. A **2-26** receptorjelölt anionfelismerésre vonatkozó fluoreszcenciás vizsgálatai alapján megállapítottuk, hogy fluorid, pirofoszfát és dihidrogén-foszfátionokkkal való kölcsönhatását az emissziós maximum jelentős növekedése kíséri, de a komplexképzés egyensúlya csak lassan áll be. Fluoridionok hatására az abszorbciós spektrumban érdekes vörös színreakciót detektáltunk (λ_{max} = 542 nm, ezen gerjesztve nem emittál), amely kb. 10 perc alatt megszűnt. Ezt a bipiridínium sók redoxi reakciójakor tapasztalt jelenséget az elektronakceptor viologénből keletkező színes gyökkationnak tulajdonítják. Minthogy bázisokkal nem keletkezik, a fluorid szerepére egyelőre nem találtunk magyarázatot.

3. Triazolo-kalix[4]arén alapú ionoforok

3.1. Bevezetés és célkitűzések

A click kémia a kalixarénkutatók figyelmét is felkeltette, és számos bonyolult konjugátumot, illetve ionoforokat is előállítottak segítségével. Az irodalomban a click reakcióval előállított triazolo-kalix[4]arén ionoforok szinte kivétel nélkül disztálisan[h] diszubsztituáltak, tehát a két szemben levő fenolos hidroxilcsoport szubsztituálatlan. Kutatásunkkal főleg az eddig kevésbé vizsgált tetraszubsztituált, tehát ezekben a helyzetekben is *O*- vagy *N*-donor csoportokat tartalmazó kationoforok szintézisét, szelektivitásvizsgálatát és szerkezet-szelektivitás összefüggéseinek feltárását céloztuk meg. Az általunk ebből a célból tervezett **3-1** – **3-4** szenzormolekulák triazol és karboxamid, illetve észter, míg **3-5** és **3-6** négy triazolcsoportot tartalmaznak a kalixarén alsó peremén (*lower rim*) (48. ábra). Az irodalomban eddig nem írtak le olyan ionszelektív elektródokat sem, melyek aktív komponensei triazolo-kalix[4]arének, így ezen a téren is úttörő lépéseket kívántunk tenni. A triazolcsoportokon található 6-hidroxi-hexil szubsztituens (**3-1**, **3-3** és **3-5** esetén) lehetővé teszi a későbbiek során az ionofor immobilizálását arany nanoszerkezeteken, ami által a korábbiaknál stabilabb szenzorok állíthatók elő.[45] Az etoxikarbonilmetil csoport (**3-2**, **3-4** és **3-6** esetén) pedig donorként részt vehet a vendégion koordinálásában, s így módosíthatja a molekula koordinációs szféráját.



3-1: R = H $R_1 = (CH_2)_6OH$
3-2: R = H $R_1 = CH_2C(O)OEt$
3-3: R = $CH_2C(O)NEt_2$ $R_1 = (CH_2)_6OH$
3-4: R = $CH_2C(O)NEt_2$ $R_1 = CH_2C(O)OEt$
3-5: R = 1-R_1-4-metilén-1,2,3-triazol $R_1 = (CH_2)_6OH$
3-6: R = 1-R_1-4-metilén-1,2,3-triazol $R_1 = CH_2C(O)OEt$

48. ábra: Az általunk tervezett triazolo-kalix[4]arének szerkezete

3.2. A kalixarénekről

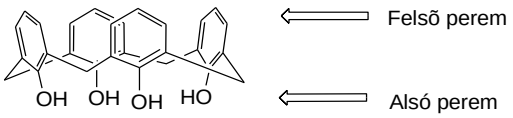
A kalix[n]arének a *meta*-ciklofánok családjába tartozó ciklikus oligomerek, melyek formaldehid és fenolok kondenzációjakor keletkeznek. A molekulacsalád neve a latin-görög eredetű váza (calix) szóból származik, és a molekula alakjára, míg az arén végződés az aromás építőelemekre utal (49. ábra). Különösen a kalix[4]arén

[h] Disztális helyzetűnek nevezzük a kalix[4]arén két egymással „szemben levő”, tehát 1,3-helyzetű aromás gyűrűjét ill. azok helyettesítőit.

származákait használták és kutatták széleskörűen az elmúlt évtizedekben. Komplexkémiai felhasználásuk alapvetően kétrétű:

- vagy a molekula hidrofób, π-elektronokban gazdag kavitása a komplexképzés helye (ún. inklúziós komplexek), a vendégmolekula megkötésében részt vehetnek továbbá a fenolos hidroxilcsoportok,
- vagy a molekula valamelyik peremén alakítják ki a komplexképző csoportokat. Ebben az esetben a kalixarén gyűrű egy merev, előrendezett lipofil vázként funkcionál.

Az általunk következőkben ismertetett gazdamolekulák az utóbbi esetet példázzák.



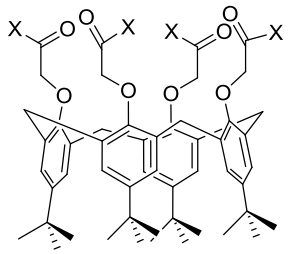
49. ábra: A kalix[4]arén szerkezete és „peremei”

A gazda és a vendégmolekula (lehet semleges vagy töltött pl. fémion vagy akár óniumion is[46]) közötti komplexképzés többféle kölcsönhatáson keresztül alakulhat ki: hidrofób effektus, hidrogénkötés, elektrosztatikus vonzás, π–π, kation-π, CH-π,[47] van der Waals vagy töltéstranszfer kölcsönhatások. Egy komplex keletkezésére egyértelmű és információgazdag bizonyíték, ha röntgendiffrakciós felvételt készítenek róla, ez azonban csak szilárd fázisban lehetséges. Folyadékfázisban is számos módszer használatos a gazda-vendég kölcsönhatás vizsgálatára, így pl. a membránranszport, kétfázisú extrakció, NMR, fluoreszcencia, UV/VIS, illetve tömegspektroszkópia és elektroanalitika. Munkánk során mi az utóbbi két detektálási módszert alkalmaztuk.

A komplex kialakulásában/stabilitásában az egyes komplexképző csoportok száma és minősége, valamint a vendégmolekula mérete, geometriája, kemény-lágy jellege a meghatározó tényezők. Tovább bővíti a lehetőségeket, hogy a kalixaréneknél az egyes fenolos egységeknek a makrogyűrűn való átfordulásával különböző konformerekhez juthatunk, melyek geometriája, és így komplexképző tulajdonsága különböző, tovább növelve ezzel a gazdamolekulák lehetséges változatosságát a kalixarén családon belül (a kalixarének konformációs viszonyairól bővebben a következő fejezetben lesz szó).[48]

3.3. Kalix[4]arén alapú ionoforok az irodalomban

A kalixarénkutatás hajnalán hamar a komplexképző sajátságok vizsgálata került a kutatók figyelmének középpontjába. Előbb a szubsztituálatlan kalixarének, majd az alsó peremen különböző donorcsoportokat tartalmazó származékok komplexkémiai tulajdonságainak vizsgálatával foglalkoztak. Ezek közt elsőként az éterszármazékokat vizsgálták, azonban ezeknél jóval ígéretesebbnek bizonyultak a fenolos oxigéneken keton, észter vagy amidcsoportot tartalmazó **3-7** általános képlettel jellemezhető szenzor/szelektormolekulák (50. ábra).

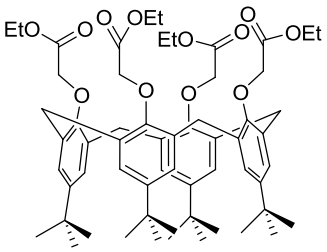


X = alkil, O-alkil vagy N(alkil)$_2$

3-7

50. ábra: Kalix[4]arén *O*-ketonok, észterek és amidok

A **3-7** savszármazékok elsősorban alkáli- és alkáliföldfém-ionokat komplexálnak[49,50], közülük a legismertebb a *tetrakisz*(etoxikarbonilmetil)-kalix[4]arén[51] (51. ábra**),** melyet a Fluka Sodium X® néven kereskedelmi forgalomba is hozott.

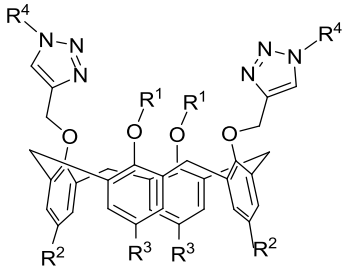


51. ábra: Sodium X®

A **3-7** savamidok a Na^+ ionnal stabilabb, de kisebb szelektivitású komplexeket képeznek, mint az észterek (a K^+ interferál)[52,53], továbbá alkáliföldfém ion megkötő képességük is van.

Triazolo-kalix[4]arén ionoforok

A felfedezése óta eltelt bő egy évtizedben a click reakció a kalixarén kémikusok körében is jelentős érdeklődést váltott ki, és fegyvertáruk gyakran használt eszközévé vált, amikor olyan bonyolult molekulák szintézise volt céljuk, mint a kalixarénnel konjugált szénhidrátok[54], glikoklaszterek[55], vízoldható származékok[56], peptidomimetikumok[57], kavitánsok, nanocsövek és multikalixarének.[58] Az egyszerűbb szerkezetű, triazolcsoportot tartalmazó ionoforokra csak néhány példát említ a szakirodalom. Ezek szinte kivétel nélkül disztálisan diszubsztituált származékok és kromo/fluorogén funkcióval vannak ellátva. E munkánk szempontjából nem releváns publikációk részletes ismertetésétől eltekintek, szerkezetüket és a zömében optikai módszerrel mért ionszelektivitásokat az 52. ábra és a 2. táblázat foglalja össze.



52. ábra: Triazolo-kalix[4]arén ionoforok általános képlete

Ionofor	R^1	R^2	R^3	R^4	Ion	Vizsgálati módszer
3-8	H	H	*p*-metoxifenilazo	Bn	Ca^{2+} és Pb^{2+}	UV/VIS[59]
3-9	H	H	*o*-metoxifenilazo	Bn	Hg^{2+}	UV/VIS[60]
3-10	H	H	*p*-nitrofenilazo	Bn	Ca^{2+} és F^-	UV/VIS[61]
3-11	H	^{t}Bu	^{t}Bu	különbözö 5-metilén-szalicilaldiminek	Zn^{2+}	UV/VIS, FS[62]
3-12	H	^{t}Bu	^{t}Bu	1-pirenilmetil	Cd^{2+} és Zn^{2+}	FS[63]
3-2	H	^{t}Bu	^{t}Bu	$CH_2C(O)OEt$	Cs^+	kétfázisú extrakció[64]
3-13	$CH_2C(O)OMe$	^{t}Bu	^{t}Bu	1-pirenilmetil	I^-	FS[65]

2. táblázat: Az előállított receptorok szerkezete az 53. ábra jelöléseivel

3.4. Új triazolo-kalix[4]arén ionoforok [S2]

Szintézis

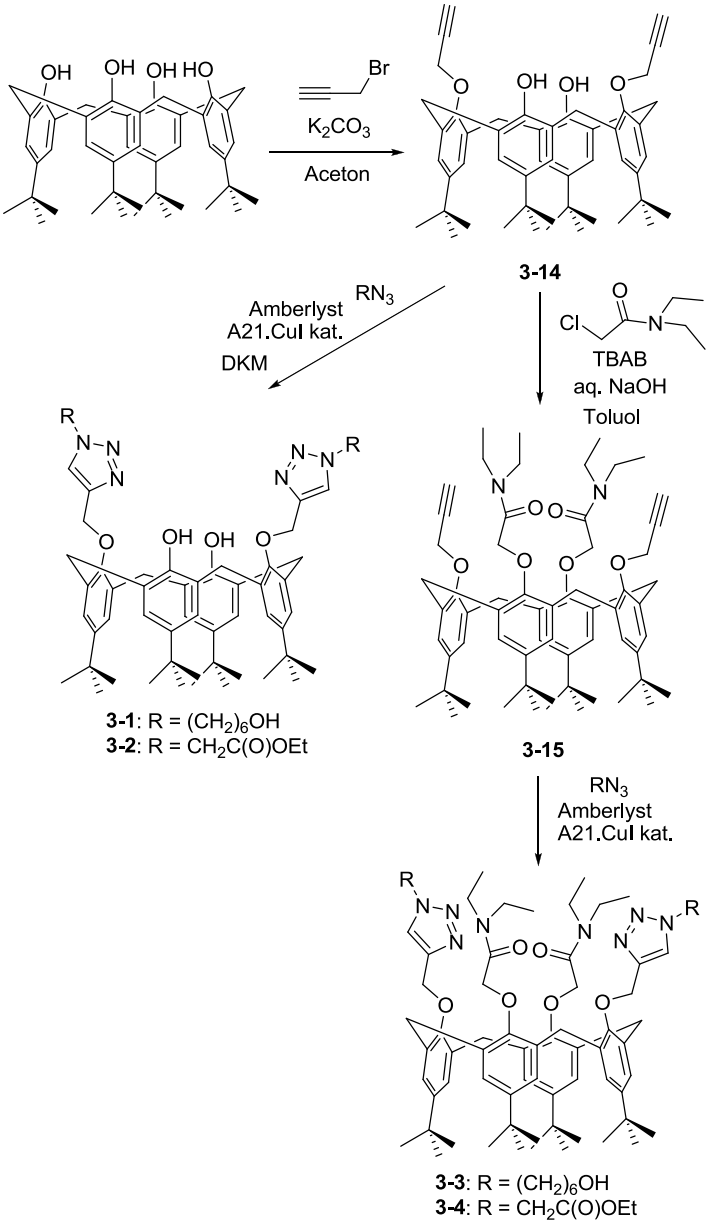
A **3-1** – **3-4** általunk előállított receptorok (55. ábra) közös prekurzora a 25,27-dipropargil-kalix[4]arén (**3-14**). Ez egyszerűen nyerhető a *p*-^{t}Bu-kalix[4]arén kálium-karbonáttal kiváltott disztális dialkilezésével.[66] Itt a szintézisút kétfelé vált: **3-14** dipropargil vegyület click reakciója 6-azido-hexanollal ill. etil-2-azidoacetáttal[67] **3-1** és **3-2** végtermékekhez vezetett. Itt és valamennyi, ebben a fejezetben tárgyalt

click reakcióban a katalizátor a már ismertetett Amberlyst A21 · CuI polimerhordozós katalizátor volt.[12] A click reakciót DKM-ban, szobahőmérsékleten végeztük, a terméket egyszerűen szűréssel választottuk el a katalizátortól.

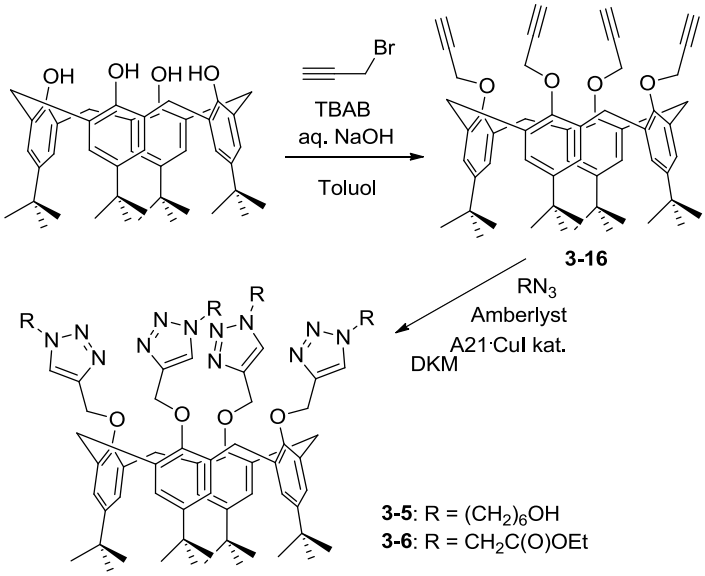
A **3-3** és **3-4** ionoforok szintézissorában a dialkilezési és a click reakció közben egy másik alkilezési lépés is szerepel: ekkor alakítjuk ki a dietilkarbamoilmetil funkciókat a koordinációs szférában. Ezt az irodalomban korábban NaH bázissal végezték,[68] mi azonban az általunk már korábban is használt PTC módszerrel próbálkoztunk. Toluol/40%-os NaOH oldat/TBAB (tetrabutilammónium-bromid) rendszerben szobahőmérsékleten jó termeléssel kaptuk a **3-15** diamid-dipropargil-kalixarén intermediert (53. ábra).

A **3-5** és **3-6** *tetrakisz*-triazol típusú receptorok szintézise ugyancsak két – egy alkilezési és egy click – reakcióból állt. Korábban a szakirodalom[69] a tetra-*O*-propargil-kalix[4]arén (**3-16**) előállítására NaH-et javasolt, ami azonban konformerelegyet[i] eredményez, míg az általunk használt NaOH-os PTC reakcióban tisztán a kónikus **3-16** keletkezett (54. ábra). Érdekességként megjegyezzük, hogy **3-5** szenzormolekula kromatográfiás tisztítása során sikerült nemcsak a szabad ligandumot, hanem annak rézion komplexét is izolálni.

[i] A kalixarének konformációs viszonyairól bővebben ld. 3.4. fejezet.



53. ábra: *Bisz*triazol típusú receptoraink szintézise



54. ábra: *Tetrakisz*-triazol típusú receptorok szintézise

Elektroanalitikai (potenciometriás) szelektivitásvizsgálatok

Az előállított hat ionoforjelöltből PVC membránokat készítettünk különböző lágyítók – oNPOE ill. DOS – és kálium-*tetrakisz*(3,5-*bisz*(trifluormetil)fenil)-borát lipofil anioncserélő só jelenlétében. Ezeket Philips elektródtestbe építettük be, és az Ag/AgCl referenciaelektróddal kialakított cella elektromotoros erejét mérve, különoldatos módszerrel[70] meghatároztuk a logaritmikus ionszelektivitási állandókat (log K^{pot})[j]. Az elektródokat nem kalibráltuk, csupán a kétpontos szelektivitásvizsgálatot végeztük el. A lágyító szelektivitásra gyakorolt hatását is megvizsgáltuk **3-3** és **3-4** alapú szenzorok egy polárisabb (oNPOE) és egy kevésbé poláris lágyítóval (DOS) készült membránváltozata esetében (lásd később).

A potenciometriás mérések szerint öt ligandum az ezüstiont preferálja, de különböző szelektivitásokkal (3. táblázat, a következőkben diagramokkal szemléltetem).

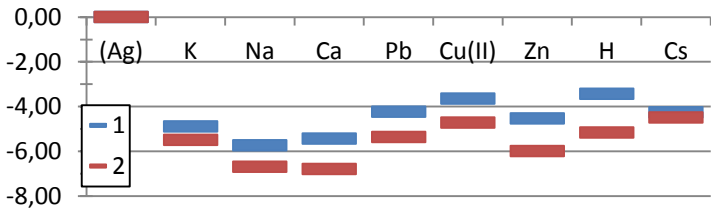
[j] Egy adott ion logaritmikus szelektivitási együtthatója minél nagyobb negatív szám, annál kevésbé zavarja az elsődleges ion (amire log K^{pot} = 0) koncentrációjának mérését.

Ion, *J*	**3-1** (HT_2, OH_2)	**3-2** (ET_2, OH_2)	**3-3** (HT_2, A_2)	**3-4** (ET_2, A_2)	**3-5** (HT_4)	**3-6** (ET_4)
Cs^+	-4,27	-4,49	-8,06	-7,38	-	-
K^+	-4,89	-5,49	-7,89	-7,16	-1,86	-4,15
Na^+	-5,73	-6,70	-4,50	-3,80	-0,91	-2,66
Li^+	-	-	-7,49	-6,88	-	-
Ca^{2+}	-5,43	-6,80	-8,26	-7,57	-1,83	-5,14
Mg^{2+}	-	-	-8,27	-7,58	-	-
Pb^{2+}	-4,24	-5,37	-6,35	-5,95	0,43	-2,83
Cu^{2+}	-3,65	-4,72	-6,65	-6,34	2,21	-0,77
Zn^{2+}	-4,54	-6,00	-8,17	-7,48	-	-
H^+	-3,44	-5,16	-5,49	-6,84	-1,06	-0,67
Ag^+	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

HT: 1-(6-hidroxihexil)-1,2,3-triazol-4-il-metilénoxi; OH: hidroxil; ET: 1-(etoxi-karbonilmetilén)-1,2,3-triazol-4-il-metilénoxi; A: *N,N*-dietilkarbamoilmetilénoxi.

3. táblázat: Potenciometriás Ag^+ ionszelektivitások ($\log K^{pot}_{Ag^+/J}$) oNPOE lágyító mellett

A *bisz*triazolok közül **3-2** szinte minden zavaró ionnal szemben (K^+, Na^+, Cs^+, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, H^+) egy-két nagyságrenddel nagyobb szelektivitást mutatott, mint **3-1** (55. ábra), vagyis ha a triazolhoz kapcsolódó 6-hidroxi-hexilcsoportot etoxikarbonil-metil-csoportra cseréltük. Ennek oka, hogy az észtercsoportok részvételével egy alkalmasabb kötőhely alakul ki az Ag^+ számára.

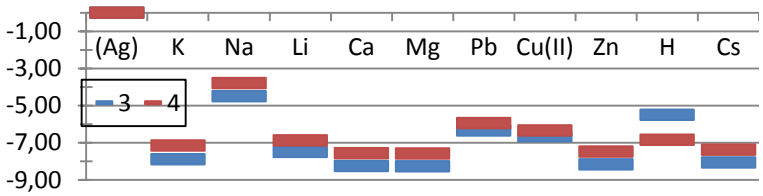


55. ábra: *Bisz*triazolok ezüstszelektivitása ($\log K^{pot}_{Ag/J}$)

A **3-2** molekulát kínai kutatók is előállították, és alkáliionokkal végzett extrakciós kísérletekben céziumszelektivitást tapasztaltak.[64] Az általuk és általunk egyaránt vizsgált ionokra publikált szelektivitási sorrend megegyezik.

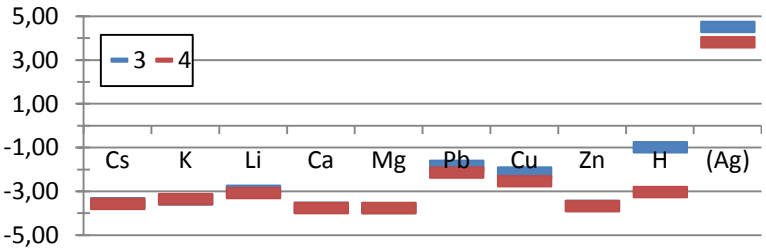
Ha kalix[4]arén két szabad fenolos OH-csoportját további *O*-donor csoportokkal helyettesítettük (**3-1** → **3-3**, illetve **3-2** → **3-4**), az ezüst-ionszelektivitás jelentősen nőtt (56. ábra). Feltételezésünk szerint az új dietilkarbamoilmetil-csoportok jelenléte a koordinációs szférában kettős előnnyel jár: a) egyrészt a karbonilcsoportok (**3-3** és **3-4**-ben) elektronsűrűsége nagyobb, mint a

hidroxilcsoportoké (**3-1** és **3-2**-ben), b) másrészt a donorcsoportok elhelyezkedése is kedvezőbb ebben az esetben (a triazol koordináló *N*-2 atomjától mért távolság kisebb, mint a kalixarén peremén elhelyezkedő hidroxilcsoport esetén), ami egy alkalmasabb koordinációs szférát eredményez az ezüstionok számára. Érdekes, hogy a *bisz*triazol-*bisz*karboxamidok között a hidroxihexil-csoport (**3-3**) cseréje etoxikarbonil-metilre (**3-4**) csökkenti az Ag^+ szelektivitást, szemben a *bisz*triazoloknál tapasztalt tendenciával. Ennek oka az lehet, hogy az észtercsoport nem része a kötőhelynek, viszont csökkenti a triazolcsoport elektrosűrűségét, ami nem kedvez az ezüstionok koordinálásának.



56. ábra: *Bisz*triazol-*bisz*amidok potenciometriás Ag^+ szelektivitása ($logK^{pot}_{Ag/J}$)

Amellett, hogy **3-3** és **3-4** *bisz*triazol-*bisz*amidoknak kiváló ezüstszelektivitása van (legalább 3,5 - 4 nagyságrend különbség az összes zavaró ionnal szemben), egy alternatív alkalmazási lehetőséget is javasolunk, nevezetesen ezek az ionoforok nátrium-ionszelektív elektródok aktív komponensei lehetnek olyan minták esetén, melyek nem tartalmaznak ezüstionokat. A potenciometriás Na^+ szelektivitási adatok alapján állandó pH-jú oldatokban (pl. vér) **3-3** is kiváló jelölt nátrium-ionszelektív elektródok aktív kompensének, de méginkább **3-4**, ahol H^+ interferencia sem lép föl (57. ábra).



57. ábra: A *bisz*triazol-*bisz*amidok Na^+ szelektivitása ($logK^{pot}_{Na/J}$)

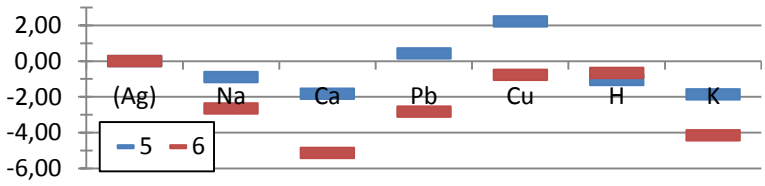
Ez a triazol-ionoforoknál szokatlan jelenség arra késztetett, hogy itt vizsgáljuk meg a PVC membrán lágyítójának az elektródok ionszelektivitására gyakorolt hatását. A különböző polaritású oNPOE és DOS membránok adatai azonban nem mutattak lényeges különbséget (4. táblázat).

3-3		
DOS	Ion	oNPOE
-3,38	K^+	-2,56
-3,76	Ca^{2+}	-3,82
-1,85	Pb^{2+}	-1,87
-2,15	Cu^{2+}	-1,73
-3,55	Cs^+	-3,55
-3,67	Zn^{2+}	-3,67

3-4		
DOS	Ion	oNPOE
-3,36	K^+	-2,31
-3,78	Ca^{2+}	-3,88
-2,15	Pb^{2+}	-2,15
-2,55	Cu^{2+}	-2,55
-3,59	Cs^+	-5,24
-3,69	Zn^{2+}	-4,25

4. táblázat: A lágyító polaritásának a nátrium-ionszelektivitásra ($logK^{pot}_{Na/J}$) gyakorolt hatása

A *tetrakisz*triazolokat vizsgálva **3-5**/**3-1**, illetve **3-6**/**3-2** összehasonlítás azt mutatja, hogy a tetratriazol származékok teljesen vagy jórészt elvesztették az Ag^+ szelektivitást, ami további bizonyítékot szolgáltat arra, hogy egy az Ag^+ számára alkalmas kötőhely kialakításához *O*-donor csoportok (hidroxil vagy karbonil) jelenléte szükséges. Ezek hiányában nem tud stabil Ag^+-komplex kialakulni. Mivel **3-5** receptorban egyáltalán nincsenek ilyen csoportok, az Ag^+ szelektivitás teljesen elveszett, helyette réz(II) az elsődleges ion, a szelektivitási sor második helyén az ólom(II)-ion áll; míg **3-6**-ban, ahol *O*-donor csoport csatlakozik a triazolhoz megmaradt az Ag^+-preferencia, bár jelentős Cu^{2+} és H^+ interferenciával (58. ábra).



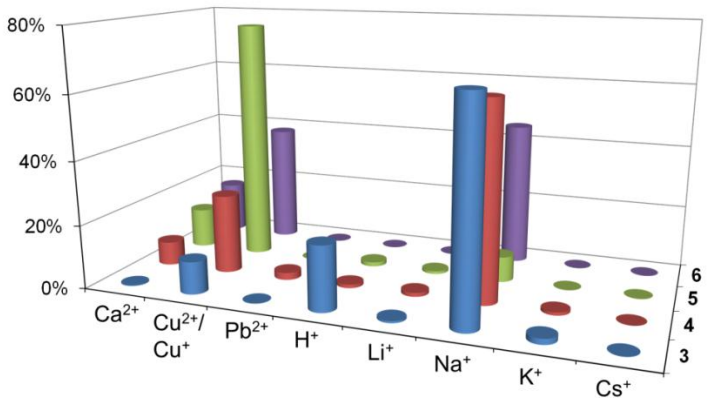
58. ábra: *Tetrakisz*-triazolok ezüstszelektivitás ($logK^{pot}_{Ag/J}$) adatai

Tömegspektroszkópiás szelektivitásvizsgálatok

A tömegspektroszkópia amellett, hogy a molekulatömeg, illetve a szerkezet meghatározásának fontos és rutinszerűen alkalmazott eszköze, lehetőséget nyújt speciális célokra történő felhasználásra, így pl. ionoforok ionpreferenciájának meghatározására is. Korábbi kutatások már megmutatták, hogy mind a FAB, mind az elektrospray ionozációs tömegspektroszkópia alkalmas az ionszelektivitás becslésére,[71] sőt olykor kvantitatív meghatározására is.[72] A módszer legfontosabb előnyei, hogy az általában használt módszerekhez képest (pl. NMR, potenciometria) kevésbé időigényes, és kisebb a mintaigénye is. Ráadásul míg a többi módszer legfeljebb egy vagy két vendégion egyidejű tesztelését teszi lehetővé, kompetitív MS vizsgálatokkal egy sor vendégmolekula/ion egyszerre vizsgálható.

A potenciometriás vizsgálatokkal párhuzamosan tehát tömegspektroszkópiás szelektivitásvizsgálatokat is végeztünk, kíváncsiak voltunk ugyanis, hogy az így kapott preferencia sorrend összevethető-e a potenciometriás adatokkal. A vizsgálatokat kezdetben kloridsókkal, majd az Ag^+ bevonása érdekében nitrátsókkal végeztük.

Azonos koncentrációjú (10^{-5} M) oldatokat készítettünk a potenciometriás vizsgálatokban kiemelkedő szelektivitásúnak bizonyult **3-3**, **3-4**, **3-5** és **3-6** ionoforokból és LiCl, NaCl, KNO_3, CsCl, $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$, $Cu(NO_3)_2{\cdot}3H_2O$ valamint $Pb(NO_3)_2$ sókból. Majdnem minden várt 1:1 gazda:vendég komplexcsúcs észlelhető volt a spektrumokban különböző intenzitásokkal, továbbá Cu^+ ion komplexeket is detektáltunk, holott ez az ion nem volt a hozzáadott ionok között. A réz(I)-ionok két forrásból származhatnak: vagy a vizsgálathoz használt réz(II)-ionok az elektrospray során redukálódtak a készülékben – hasonlóról korábban beszámoltak már az irodalomban[73] - vagy a click reakciót katalizáló réz(I)-ionok maradtak a mintában (a triazolok erős réz(I)-ion megkötőképességgel bírnak).[74] Az eredmények jó egyezést hoztak a potenciometrikus eredményekkel (59. ábra).

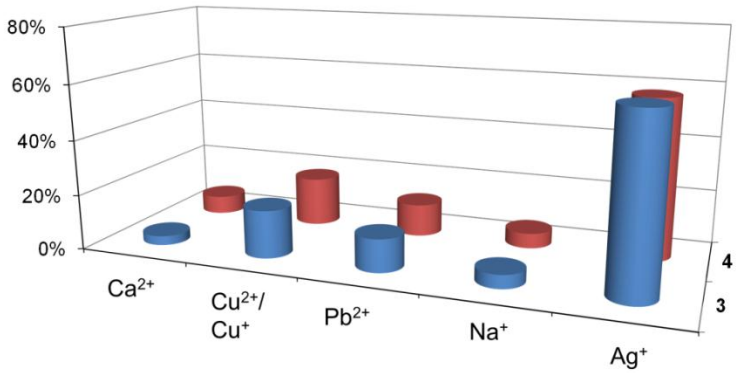


59. ábra: ESI-MS szelektivitások összefoglalása

Az ábrán látható, hogy ezüstionok távollétében *bisz*triazol-*bisz*amidok esetén (**3-3** és **3-4**) a primer ion a nátriumion, sőt még **3-3** potenciometriásan tapasztalt hidrogénion-interferenciája is észlelhető volt. A **3-5** és **3-6** ligandumok primer ionjának itt is a rézion adódott (ezüstion nincs jelen).

A legfontosabb szisztematikus eltérés az elektroanalitikai szelektivitás-sorrendhez képest az, hogy az Pb^{2+} ionok a preferencia sor végén foglalnak helyet, holott a potenciometriás mérésekben az ionoforok, különösen **3-5** mutatnak Pb^{2+} affinitást is. Ennek a különös jelenségnek az oka egyelőre nem tisztázott.

Egy másik mérési sorozatban a potenciometriásan már Ag^+-szelektívnek bizonyult **3-3** és **3-4** gazdamolekulákat vizsgáltuk Ag^+, Na^+, Cu^{2+}, Pb^{2+} és Ca^{2+} ionok jelenlétében. Az eredményekből ismét jól látszik (60. ábra), hogy a két módszer hasonló eredményt szolgáltat, azaz az elsődleges ion az ezüst. Az, hogy a második legintenzívebb csúcs nem a Na^+-hoz, hanem a rézionhoz, ill. a harmadik az ólomionhoz tartozik, valószínűleg annak a folyománya, hogy utóbbiaknak 2+ töltésük van, míg a kompetitív ESI-MS módszerrel elsősorban azonos töltésű ionokra várható igazán megbízható eredmény.



60. ábra: 3-3 és 3-4 ESI-MS Ag^+ szelektivitása

Összegezve megállapíthatjuk, hogy az ESI-MS módszer jól használható kalixarén-ionoforok szelektivitásának gyors, sok fémionra vonatkozó szimultán meghatározására, különösen akkor, ha azonos töltésállapotú ionokra vonatkozó preferenciákat vetünk össze egymással.

Összefoglalás

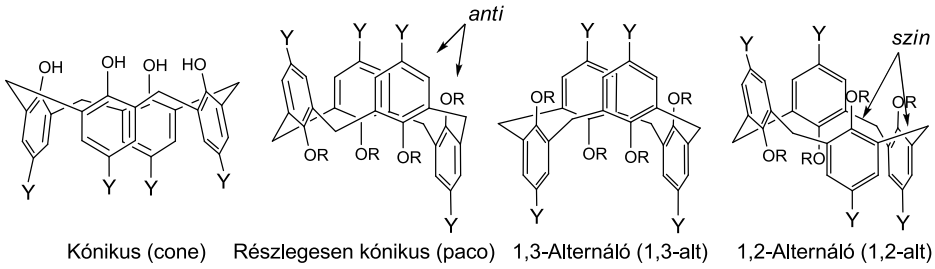
Hat, az alsó peremén különböző *O*-donor csoportokat tartalmazó kónikus triazolo-kalix[4]arén ionofort szintetizáltunk, melyek közül négy tetraszubsztituált volt. Az utóbbiakra eddig csak elvétve volt található példa az irodalomban. Vizsgáltuk szelektivitásukat egy sor egyszeresen, illetve kétszeresen töltött fémionnal szemben, kompetitív ESI-MS és elektroanalitikai módszerekkel. Utóbbi esetben PVC membránelektródokat készítettünk az ionoforokból, és különoldatos módszerrel határoztuk meg a potenciometriás ionszelektivitási együtthatókat. Megállapítottuk, hogy milyen csoportok jelenléte szükséges a koordinációs szférában ezüst-, illetve réz-ionszelektivitás eléréséhez. Mindkét ion koncentrációjának meghatározása környezeti analitikai szempontból fontos.[75] A diszubsztituált **3-1** és **3-2** triazolo-kalix[4]arének kiváló ezüstszelektivitással bírtak a

vizsgált kilenc ion közül. Ha a két szabad fenolos hidroxilcsoportot karboxamiddal helyettesítjük (**3-3** és **3-4**), tovább csökken a többi ion zavarása, és nő az ezüst-szelektivitás. Ennek hangsúlyozása mellett rámutattunk, hogy ezek a molekulák, és különösen **3-4**, ahol nem lép fel hidrogénion-interferencia, kiváló aktív komponensei lehetnek nátrium-ionszelektív elektródoknak olyan minták esetén, amelyek nem tartalmaznak ezüstiont. Megállapítottuk, hogy ha a koordinációs szféra csak triazol donorcsoportokat tartalmaz (**3-5** és **3-6**) megszűnik az ezüst-ionszelektivitás, helyette réz- és ólom-ionszelektivitás, illetve zavarás lép fel, igazolva, hogy az ezüstion megkötéséhez *O*-donor jelenléte is szükséges. A két független vizsgálati módszer eredményei, az ólomionra vontakozóak kivételével, jó egyezést mutatnak.

4. Kalix[4]arének „oxigén-a-gyűrűn-át” (*O*-through-the-annulus) típusú konformációváltása

4.1. Kalix[4]arének konformációi

A kalixarének konformációs szabadsági fok szempontjából az 1. és 2. generációs „szupramolekulák”, vagyis a ciklodextrinek és a koronaéterek között helyezkednek el.[76,77,78] A kalix[4]arének esetében a fenolegységek egymáshoz viszonyított relatív orientációja szerint összesen négy alapkonformáció képzelhető el (61. ábra).



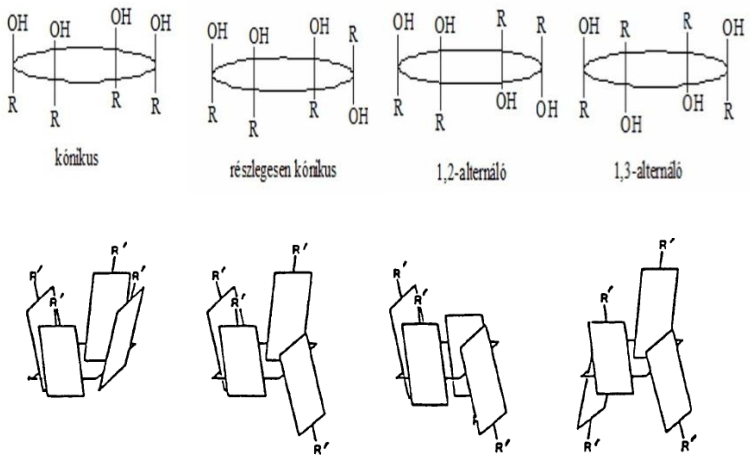
61. ábra: Kalix[4]arén konformációk, *szin* és *anti* orientációjú fenolos egységek

A szubsztituálatlan kalix[4]arén molekula konformációja kónikus, amit az egyirányba mutató négy fenolos hidroxilcsoport erős, cirkuláris hidrogénkötései rögzítenek.[k] Amennyiben a fenolos hidroxilcsoportokat részlegesen vagy teljesen alkilezzük vagy acilezzük, akkor a H-kötések konformációt rögzítő hatása csökken vagy megszűnik. Ilymódon a kónikus mellett részlegesen kónikus, 1,3-alternáló és 1,2-alternáló konformerek keletkezhetnek (61. ábra). Ha az acielző/alkilező szubsztituensek egy bizonyos mérethatárnál nagyobb térkitöltésűek, akkor már nem férnek át a kalixarén üregén, még magasabb hőmérsékleten is stabilis konformerekhez jutunk, mivel a gátolt rotáció miatt nincs lehetőség az egymásba alakulásukra (izomerizációra).[76,77,78,79,80]

A kalix[4]arének konformerei az NMR spektrum segítségével egyértelműen megkülönböztethetőek egymástól a jelek multiplicitása, száma és kémiai eltolódása

[k] „A nagyobb (6, 8, stb) gyűrűtagszámú kalixarének szerkezetére a konformációs mobilitás jellemző, ami a metilén hidaknak a σ-kötés mentén történő szabad rotációjából ered. Emiatt az alapmolekulák mindig különböző konformerek elegyei, amelyek nehezen különböztethetők meg, mert a konformációs mozgás gyorsabb, mint az NMR időskála. Ha a fenolos OH-csoportokat alkil- vagy acil szubsztituensekkel helyettesítjük, akkor is konformerek elegyét kaphatjuk, mivel még nagy térkitöltésű helyettesítők esetén is lehetőség van az aromás egységeknek a gyűrű síkján keresztül történő átfordulására.” (Idézet Grün Alajos PhD értekezéséből, BME Szerves Kémiai Technológia Tanszék, 1999)

alapján. *O*-Diszubsztituált származékok esetén a regioizomereket proximális (1,2-diszubsztituált) és disztális (1,3-diszubsztituált) jelzőkkel különböztetik meg, a szomszédos fenolgyűrűk relatív orientációját *szin* (azonos térfélen) és *anti* (ellenkező térfélen) előtagokkal jelzik (62. ábra).[77,78,80]

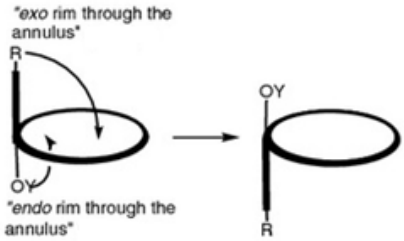


62. ábra: Kalix[4]arén konformerek sematikus ábrázolási lehetőségei[78,81]

4.2. Konformációs átalakulások

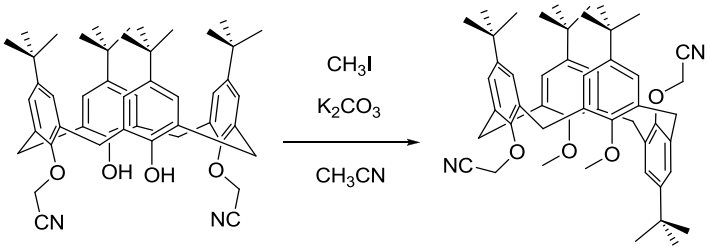
A konformerek az egyes fenolos csoportoknak a makrogyűrűn való átfordulásával egymásba alakulhatnak, amire két mechanizmus képzelhető el: vagy az átforduló fenolcsoport *p*-szubsztitense („*p*-szubsztituens a gyűrűn (kavitáson) át", angolul: „*upper rim/exo rim through the annulus*") vagy az oxigén felőli része („*O*-szubsztituens a gyűrűn (kavitáson) át", angolul: „*lower rim/endo rim through the annulus*") hatol át a makrociklus üregén (63. ábra). A két mechanizmus eredményében nem, csak átmeneti állapotában különbözik. Míg előbbi csak a nagyobb gyűrűtagszámú kalixaréneknél, az *O*-szubsztituens átfordulásával megvalósuló inverzió már kalix[4]arének esetén is megfigyelhető, ha az oxigénen található helyettesítő csoport nem túlságosan nagyméretű.[82]

1991-ben *Shinkai*, a kalixarénkémia egyik legismertebb kutatója, szisztematikusan vizsgálta a kalix[4]arén alkilezését többek között abból a célból, hogy az *O-through-the-annulus* típusú konformációváltás alkilcsoportokra vonatkozó mérethatárát meghatározza. Ő állapította meg azt az azóta általánosan elfogadott szabályt, hogy míg a konformációváltás *O*-etilcsoportok esetén még megengedett, *O*-propilcsoporttal már magasabb hőmérsékleten sem játszódik le.[78] Ha ezt a mérethatárt tovább kívánjuk finomítani, ki kell lépnünk az alkilcsoportok köréből.



63. ábra: A konformációváltás két lehetséges mechanizmusa (forrás: 82b)

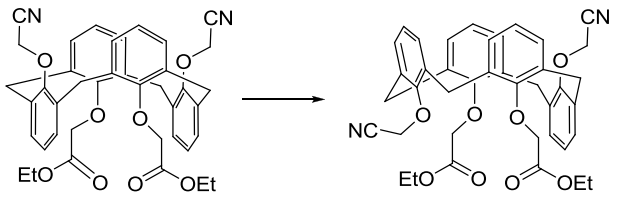
Méretét tekintve az etil és a propilcsoport között helyezkedik el a cianometilcsoport. Francia kutatók erről a csoportról már 1993-ban kimutatták, hogy „átfér" a kalix[4]arén kavitásán.[83] A véletlen felfedezés úgy történt, hogy (kónikus) disztális *bisz*(cianometil)-kalix[4]arént metileztek, és egy cianometil-részlegesen kónikus konformer keletkezését tapasztalták. Így míg a két cianometilcsoport a kiinduló anyagban *szin* helyzetű volt, addig a termékben *anti* orientációjú, vagyis a metilezéskor a cianometilcsoporttal szubsztitált fenoléter átfordult a kalix[4]arén gyűrűn (64. ábra).



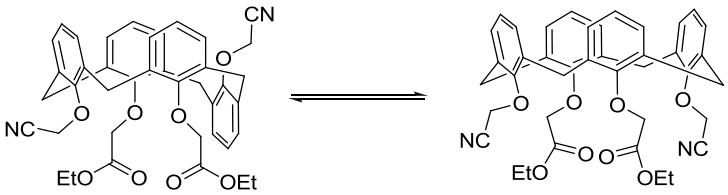
64. ábra: A cianometilcsoport mint mérethatár felfedezése

A cianometil azóta is az ismert legnagyobb csoport, ami képes a kalix[4]arén alsó peremén az *O-through the annulus* konformációváltásra. Ezt az első felfedezést csaknem teljesen elfelejtették, csak *Gutsche* emlékezik meg róla egyik monográfiájában.[82a] A cianometil-csoport konformációs mobilitásának „újrafelfedezői" 1999-ben a *bisz*(cianometil)-*bisz*(etoxikarbonilmetil)-kalix[4]arén konformereinek egymásba alakulásáról számoltak be (65. ábra). A folyamat szobahőmérsékleten lassan, míg a kiinduló 1,3-alternáló konformer olvadáspontján (131 °C) pillanatszerűen játszódik le.[84]

Ugyanez a kutatócsoport később leírta[85] a részlegesen kónikus konformer további konformációváltását is, mely a második cianometilcsoport átfordulásával valósult meg (66. ábra).

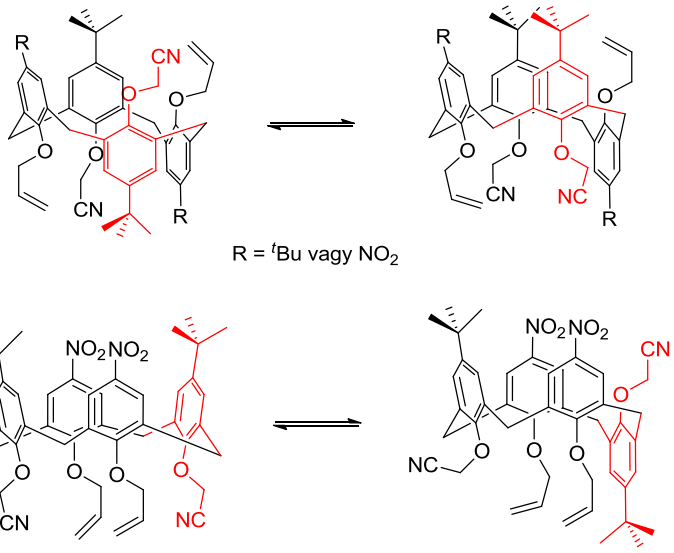


65. ábra: A kalix[4]arén cianometil-származékának konformációváltása



66. ábra: Egyensúlyi részlegesen kónikus – kónikus izomerizáció a cianometilcsoport átfordulásával

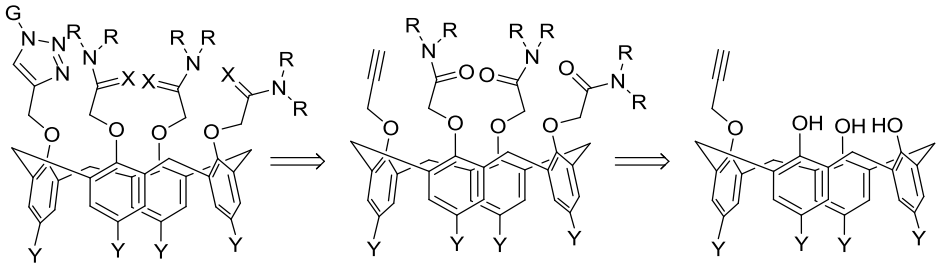
Böhmer munkatársaival *p*-nitro-kalix[4]arén-származékokat szintetizált; azonban meglepetésükre ezek a felső peremen nitro-, az alsón cianometil-csoportot tartalmazó származékok konformációsan instabilnak bizonyultak. Szintézisük során ők is 1,3-*bisz*(cianometil)-kalix[4]arént peralkileztek, és szintén a cianometilcsoportot viselő fenolegység átfordulását tapasztalták az alkilezés (esetükben allilezés) körülményei között.[86] Az általuk vizsgált három – a cianometoxi-fenil-csoport inverziójával megvalósuló - konformációs egyensúly (67. ábra) termodinamikai jellemezése NMR spektroszkópiával történt.



67. ábra: Diallil-*bisz*(cianometil)-kalix[4]arének konformációs egyensúlyai

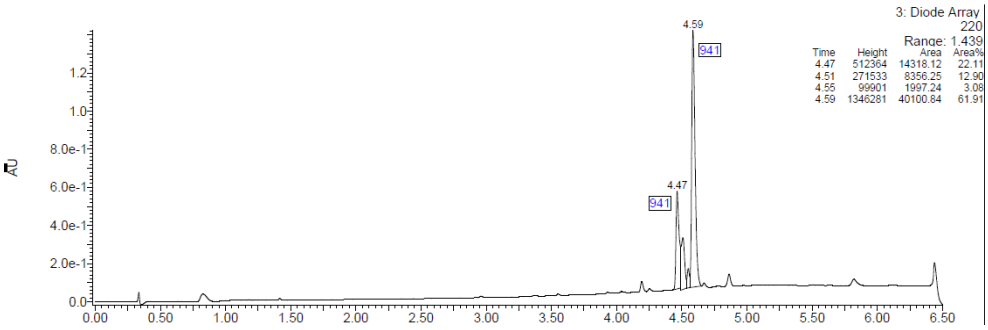
4.3. Egy váratlan konformációváltás – a propargil csoport *O-through-the-annulus* rotációja [S3]

Az előző fejezetben bemutatott szimmetrikus kalix[4]rén-triazol/karboxamid molekulák (**3-3** és **3-4**) szerkezet-ionszelektivitás viszonyainak felderítése után olyan ionoforokat is elő kívántunk állítani, amelyek koordinációs szférájukban három savamid és egy triazolcsoportot tartalmaznak. Az előzőekből következik, hogy ezeknek a tervezett ionoforoknak a prekurzorai a monopropargil-kalix[4]arén-trikarboxamidok lehetnek (68. ábra).



68. ábra: A monotriazol-trikarboxamid-kalixarének intermediere

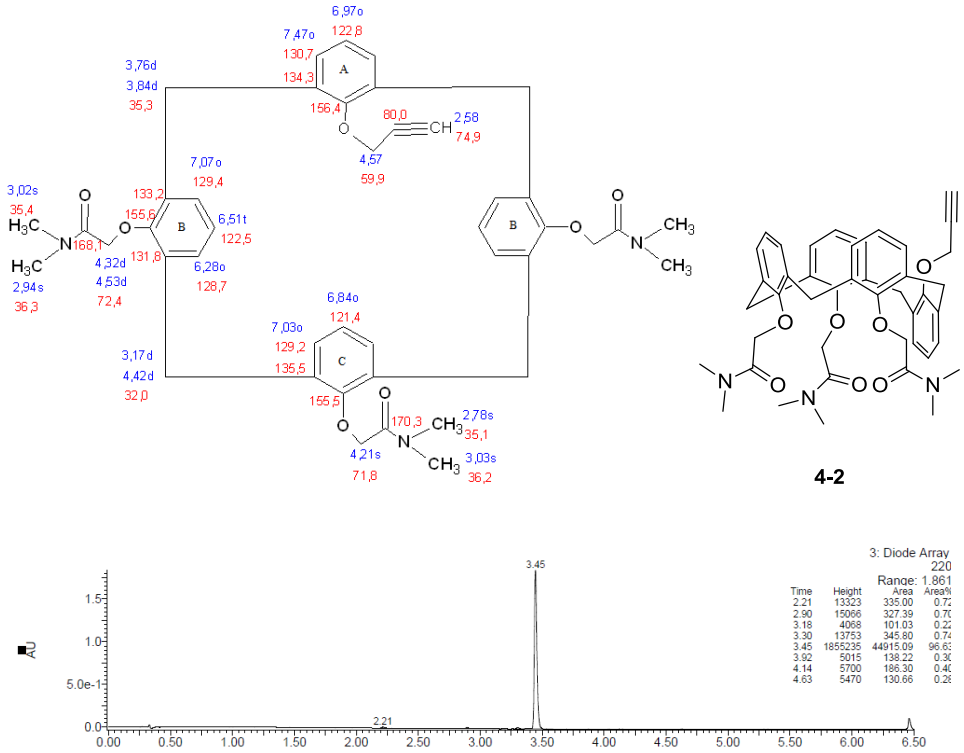
A szintézis során a kalix[4]arén monopropargil étereit (Y = H, ^{t}Bu) 2-klór-*N,N*-dimetilacetamiddal peralkileztük cézium-karbonát bázis jelenlétében, acetonitrilben. A reakció mindkét esetben többkomponensű elegyhez vezetett, a komponensek molekulatömege a tömegspektrumok tanúsága szerint megegyezett egymással és a várt termék molekulatömegével, tehát konformációs izomerek keverékét kaptuk (69. ábra). Az egyes konformerek HPLC segítségével megkülönböztethetőek voltak, azonban kromatográfiás elkülönítésük nehézkesnek bizonyult, és csak részben volt sikeres. Így végül öt izomert tudtunk izolálni: hármat az Y = ^{t}Bu sorozatból és kettőt az Y = H esetben.



69. ábra: *p*-^{t}Bu-monopropargil- kalix[4]arén-trikarboxamid nyers termék - konformerelegy

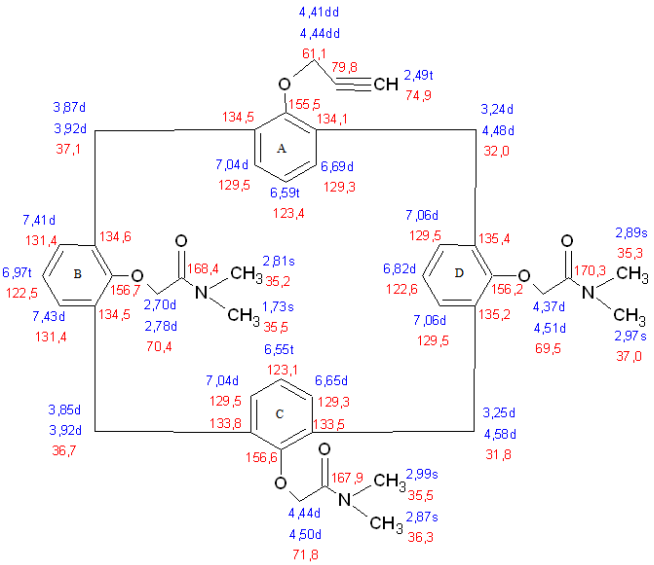
Az öt izolált izomer közül három részlegesen kónikus, egy kónikus és egy 1,2-alternáló konformációjúnak bizonyult a többdimenziós NMR-rel végzett szerkezetmeghatározás alapján. A szerkezetmeghatározás részletezését mellőzzük, azonban az asszignációk és a kromatogramok a következő ábrákon láthatóak. Az Y = H esetben azonosított két részlegesen kónikus konformerben a propargilcsoportot viselő (**4-2**, t_R = 3,45 min, 70. ábra), illetve a vele szomszédos helyzetű aromás egység *anti* térállású (**4-1**, t_R = 2,89 min, 71. ábra).

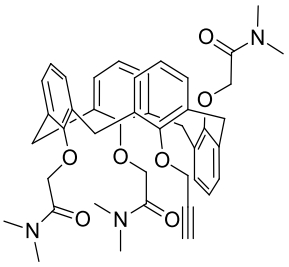
Az Y = ^{t}Bu esetben a kónikus (**4-3**, t_R = 4,51 min, 72. ábra), az 1,2-alternáló (**4-4**, t_R = 4,59 min[l], 73. ábra) és a **4-1**-gyel analóg szerkezetű részlegesen kónikus (**4-5**, t_R = 4,46 min, 74. ábra) izomereket tudtuk izolálni, és szerkezetüket meghatározni.



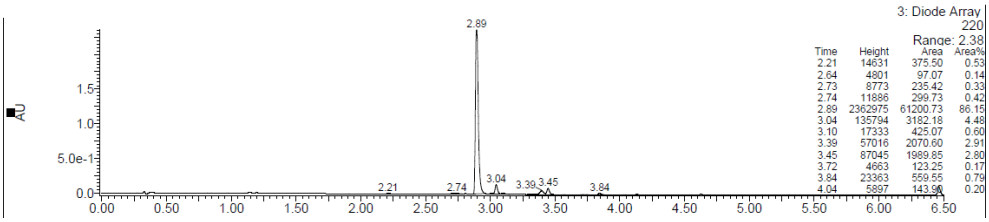
70. ábra: 4-2 részlegesen kónikus konformer

[l] Kromatogram nem áll rendelkezésre (ennek okát l. később).

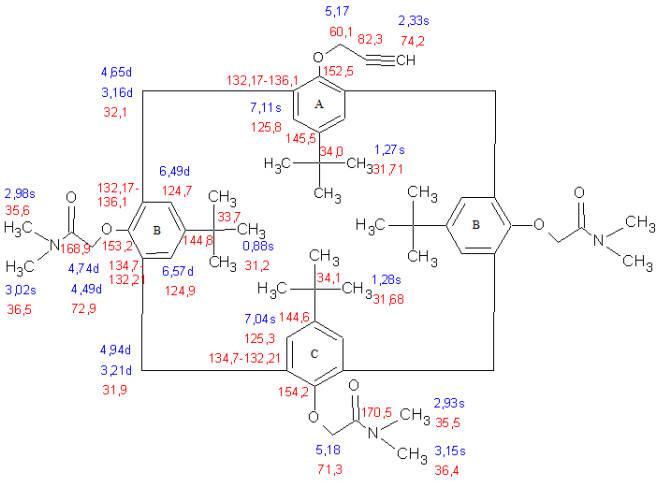


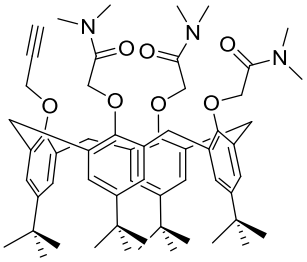


4-1

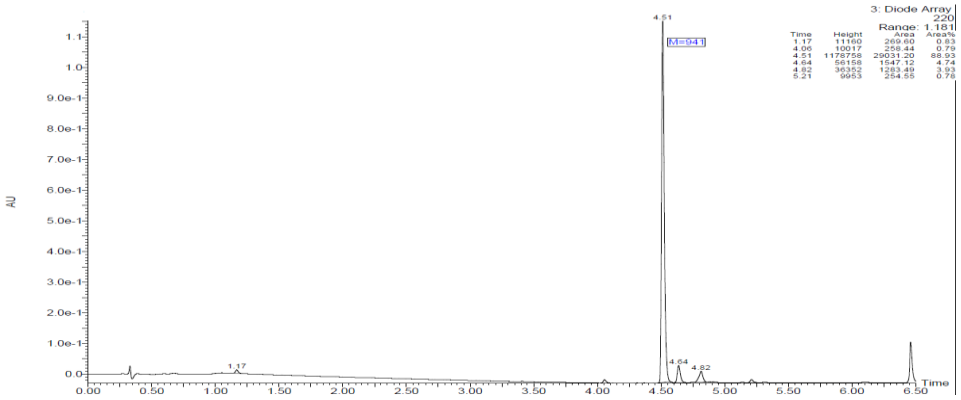


71. ábra: 4-1 részlegesen kónikus konformer

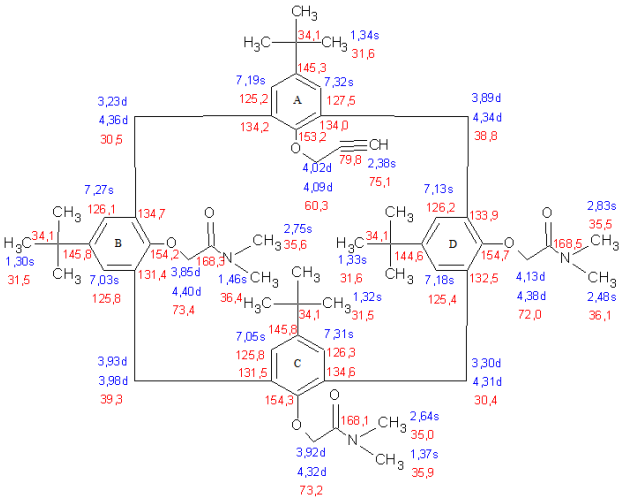


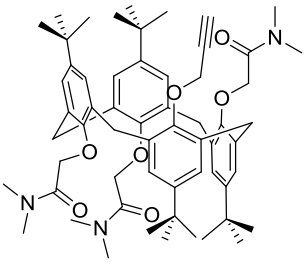


4-3



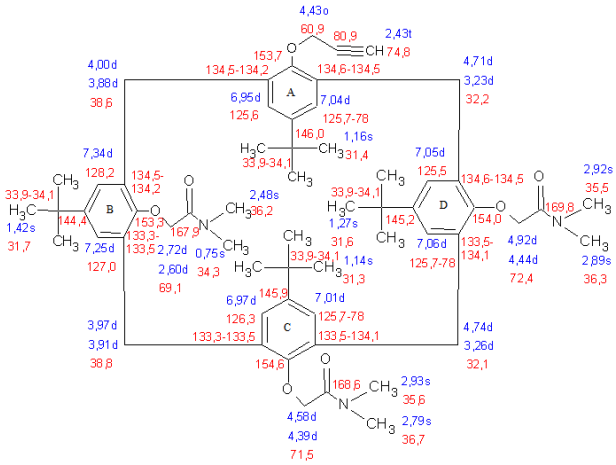
72. ábra: A kónikus 4-3 NMR jelhozzárendelései

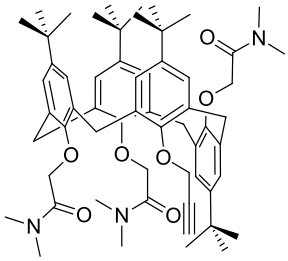




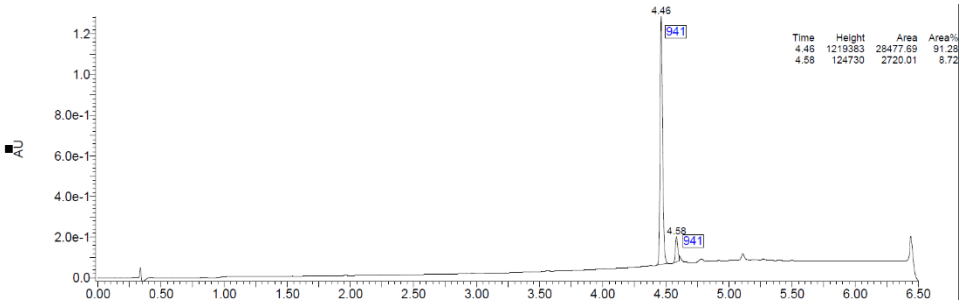
4-4

73. ábra: Az 1,2-alternáló 4-4 NMR asszignációja



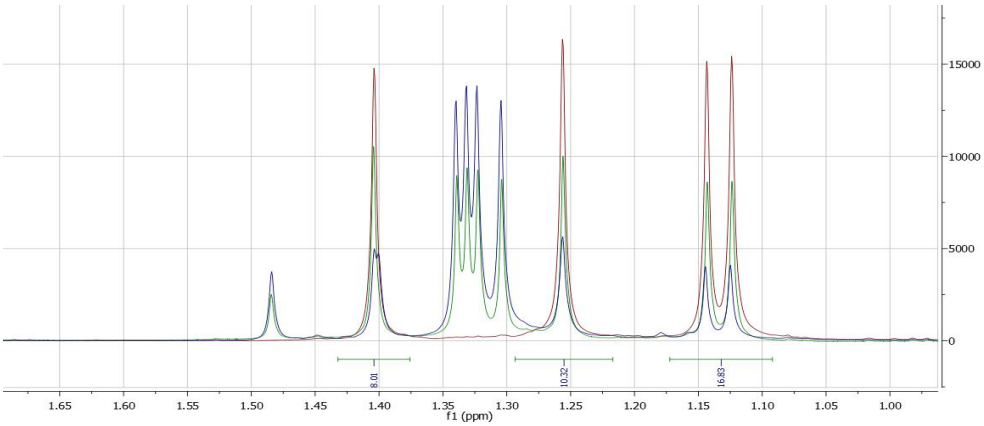


4-5



74. ábra: 4-5 Részlegesen kónikus konformer NMR kémiai eltolódásai

A **4-5** minta ^{1}H NMR spektruma $CDCl_3$ oldatban szobahőmérsékletű állás közben jelentős változásokat mutatott. A megjelenő és lassan növekvő új ^{t}Bu jelek megegyeztek **4-4** konformer megfelelő szignáljaival (75. ábra).

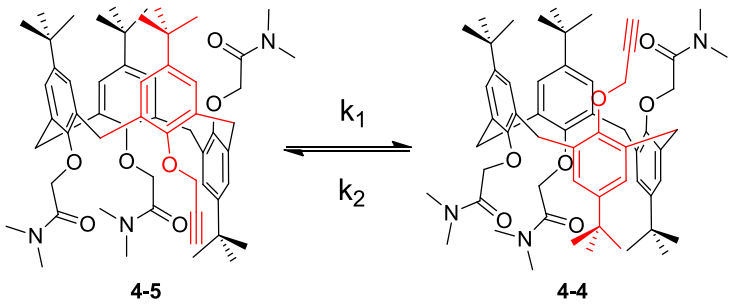


75. ábra: A 4-5 mintán $CDCl_3$-ban lejátszódott ^{1}H NMR spektrális változások a vizsgálat 0. (piros), 45. (zöld) és 105. napján (kék)

Az, hogy **4-5** részlegesen kónikus konformer lassan **4-4** 1,2-alternálóvá alakult, azt jelenti, hogy a propargilcsoportot viselő fenoléter orientációt vált („átfordul”), már szobahőmérsékleten is. Néhány kémiailag valószínűtlen esemény kizárása után, melyek:

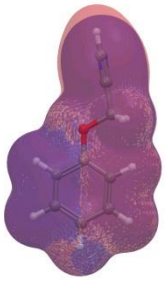
- az éteres kötés elhasadása, majd a konformációváltást követő újrakeletkezése[86],
- a *para*-szubsztituensnek a gyűrűn át megvalósuló konformációváltása, mely a kalix[4]arének körében tiltott (még *para*-H esetén is, **4-5** pedig *p*-^{t}Bu-csoportot tartalmaz)[82],
- illetve a nagy térigényű dimetilkarbamoilmetil-csoport rotációja,

csak egy lehetséges magyarázatot adhatunk a tapasztaltakra, mégpedig a propargilcsoport gyűrűn való áthatolásával megvalósult konformációváltást (76. ábra).



76. ábra: A propargilcsoport átfordulásával megvalósuló konformációváltás

Méretét tekintve a propargilcsoport a cianometil-csoportnál némileg nagyobb, ez egyszerűen demonstrálható, ha ábrázoljuk a megfelelő “monomer egységek”, vagyis a propargil-fenil-éter (77. ábra, rózsaszín) és a fenoxiacetonitril (lila) MPW1K6-31G** báziskészlettel számolt[87] 0,001 electron/bohr^3 elektronsűrűséghez tartozó felszínét. Ez viszont azt jelenti, hogy a kalix[4]arén éterek körében az *O*-szubsztitensek megengedett rotációjára vonatkozó eddigi mérethatárt (etil, cianometil) sikerült kiterjeszteni a propargilcsoportra.

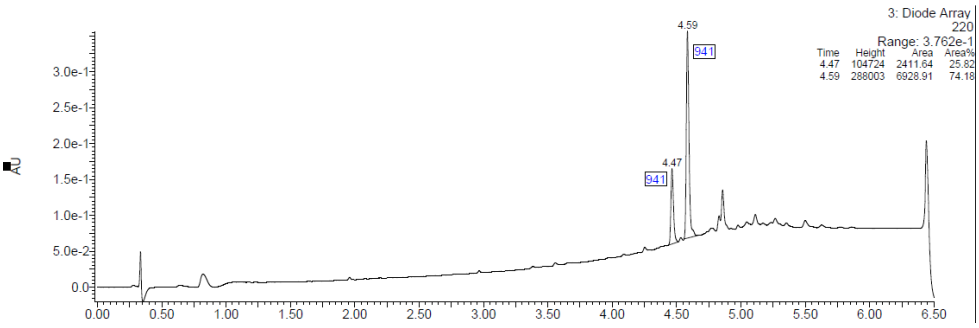


77. ábra: Propargil-fenil-éter (rózsaszín) és fenoxi-acetonitril (lila) méretének összevetése

Kinetikai és termodinamikai vizsgálatok

Az újonnan felismert konformációváltozást ^{1}H NMR-spektroszkópia segítségével vizsgáltuk $CDCl_3$ és DMSO-d_6 oldószerekben. A konformerek relatív koncentrációját a viszonylag jól elkülönülő és legkedvezőbb jel/zaj viszonyú ^{t}Bu-jelek integráljából állapítottuk meg: a **4-4** 1,2-alternáló konformer négy jele egymáshoz közel 1,30; *1,32; 1,33* és *1,34* ppm között található, míg a **4-5** részlegesen kónikus konformer jelei *1,14; 1,16*; 1,27 és 1,42 ppm kémiai eltolódásnál jelentek meg (az integrálásra használt jelek *dőlten* vannak feltüntetve).

Az egyensúlyi összetételt tömegspektroszkópiásan is igazoltuk, melyből az egyensúlyi állandó $K = \frac{[4-4(1,2-alt]}{[(4-5(paco)]} = \frac{k_1}{k_2}$ = 3,8-nak adódik szobahőmérsékleten. Az eredetileg egységes konformációjú **4-4** 1,2-alternáló konformer folyadék kromatogramja alapján egyensúlyi eleggyé izomerizált a mérés körülményei között és ideje alatt (78. ábra).



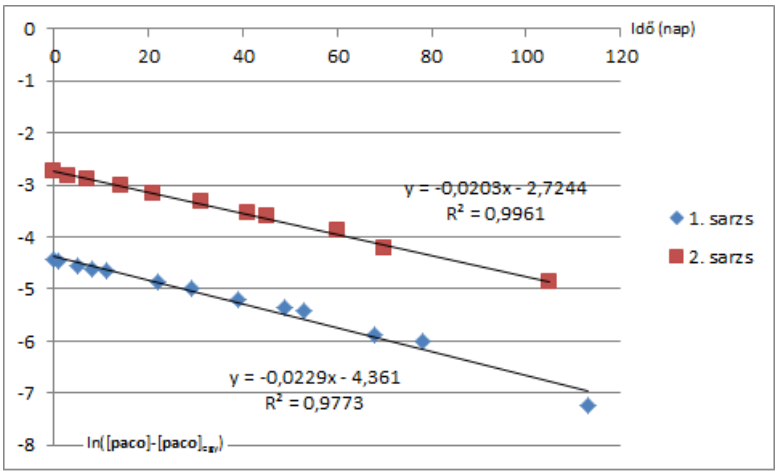
78. ábra: 4-4 és 4-5 egyensúlyi elegyének folyadék kromatogramja

Vizsgáltuk az egyensúly hőmérsékletfüggését is $CDCl_3$-ban: a bombacsőben 55°C-on, illetve 75°C-on 3 napig tartott mintákban a szobahőmérsékleten mérttel azonos egyensúlyi összetételt tapasztaltunk. Ez azt mutatja, hogy az egyensúlyi

állandó nagysága nem függ a hőmérséklettől[m], vagyis a *van't Hoff*-egyenlet értelmében,[88] a konformációváltást kísérő entalpiaváltozás ΔH≈0. Hasonló következtetésre jutottak a cianometil-csoport konformációváltásának vizsgálatakor is.[86]

Az egyensúly szobahőmérsékleten 3-5 hónap alatt állt be (ekkor nem változott tovább a konformerek aránya), ezalatt több NMR felvételt is készítettünk, hogy meghatározhassuk a reakciósebességi együtthatókat: a kinetikai mérések adataiból az aktuális és az egyensúlyi koncentrációk különbségének logaritmusát, vagyis ln([**4-5**]-[**4-5**]$_{egy}$)-t, ábrázoltam az idő függvényében, és az így kapott egyenes meredekségéből ($-(k_1+k_2)$)[88] az egyensúlyi állandó ($K = k_1/k_2$) ismeretében k_1 és k_2 számítható volt.

Két párhuzamos mérést végeztünk a **4-5** részlegesen kónikus konformerből kiindulva. Ezek átlagaként a sebességi együtthatók: $k_1 = 1{,}7 \cdot 10^{-2}$ nap^{-1}, illetve $k_2 = 4{,}5 \cdot 10^{-3}$ nap^{-1} $CDCl_3$-ban (79. ábra). Fontos hangsúlyozni, hogy az extrém hosszú reakcióidők alatt a körülmények némileg változtak, ezért a fenti kinetikai adatokat inkább közelítésnek, semmint pontos értéknek tartjuk.

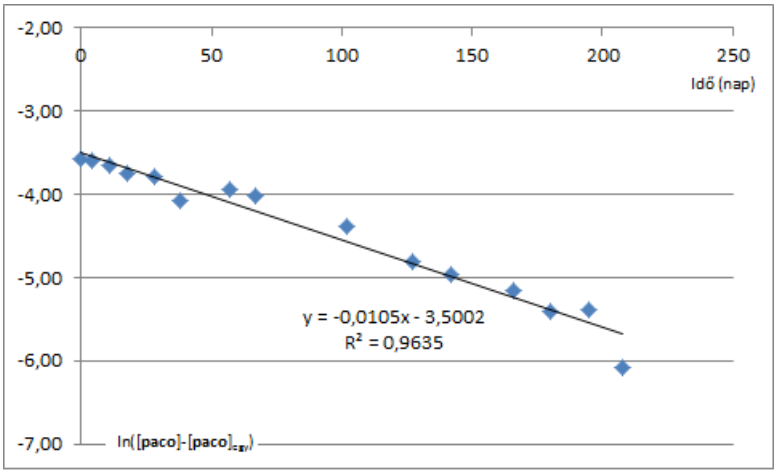


79. ábra: A 4-5 részlegesen kónikus konformerből kiinduló konformációváltás kinetikája $CDCl_3$-ban

Ugyanezt a konformációs inverziót DMSO-d_6-ban is tanulmányoztuk. Ebben az oldószerben mintegy 8-9 hónapra volt szükség az egyensúlyi helyzet eléréséhez. A konformerarány meghatározása a fentiekhez hasonlóan a ^{t}Bu jelek alapján történt (részlegesen kónikus: *1,05; 1,07;* 1,25; *1,37* ppm-nél, az 1,2-alternáló: 1,26; 1,28;

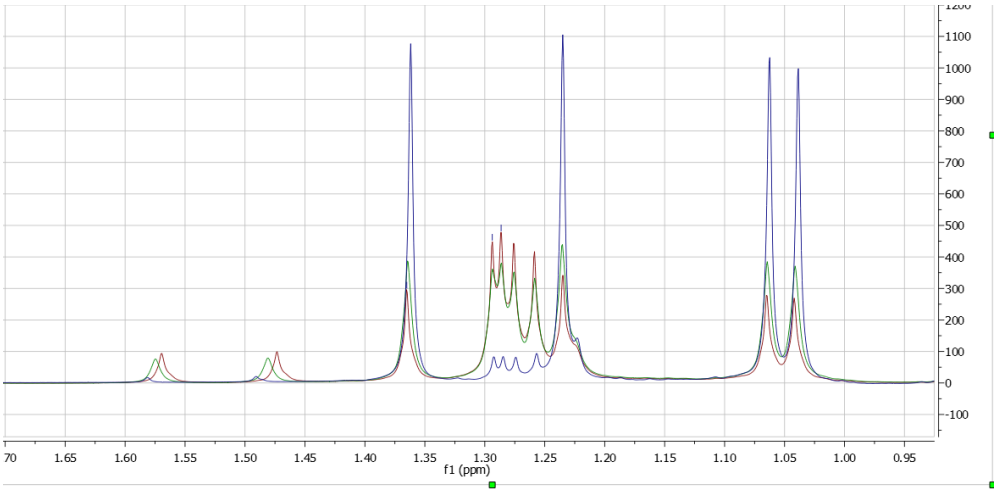
[m] Elképzelhető az is, hogy a lehűlés, mintakészítés és mérés alatt beállt a szobahőmérsékletre jellemző egyensúlyi állapot.

1,29; 1,30 ppm-nél, *dőlten* a konformerarány meghatározására használt jelek). Az egyensúlyi helyzetet 55% 1,2-alternáló (**4-4**) és 45% részlegesen kónikus (**4-5**) konformer jellemezte, így K = 1,2 szobahőmérsékleten. A hozzá tartozó sebességi együtthatók értéke pedig $k_1 = 5{,}7 \cdot 10^{-3}$ nap^{-1}, illetve $k_2 = 4{,}8 \cdot 10^{-3}$ nap^{-1} (80. ábra).



80. ábra: A 4-5 részl. kónikus konformerből kiinduló konformációváltás kinetikája DMSO-d_6-ban

A 81. ábra DMSO-d_6-ban mutatja a ^{t}Bu-jelek időbeli változását a mintakészítés után (0), a 102. és 208. napon (ekkor már az egyensúly beállt).



81. ábra: 4-4 és 4-5 ^{t}Bu jeleinek időbeli változása DMSO-d_6-os oldatban a vizsgálat 0. (kék), 102. (zöld) és 208. napján (piros)

Hosszabb idő elteltével ugyan kismértékű változást tapasztaltunk a mobilis **4-5**-tel (Y = ^{t}Bu) analóg **4-1** (Y = H) részlegesen kónikus konformer NMR

spektrumában is, azonban a jellegzetes és jól elkülönülő, jó jel/zaj viszonyú *terc*-butilcsoportok hiányában, valamint a folyamat nagyon kicsiny sebessége miatt az átalakulás követése és jellemzése nem volt lehetséges. Ezt a megfigyelést nagyon meglepőnek találtuk, ezért elméleti számításokkal magyarázatot kerestünk a két molekula konformációs mozgékonysága közötti különbségre.

A **4-2** (Y = H) részlegesen kónikus és **4-3** (Y = ^{t}Bu) kónikus molekulák spektrumában még hosszabb idő után sem tapasztatunk semmilyen változást.

A konformációváltás kinetikai és termodinamika paramétereinek számítása

Az újonnan megfigyelt konformációs inverziót elméleti számításokkal is vizsgáltuk. Ezek célja elsősorban az volt, hogy igazoljuk a kalixarén felső peremén levő szubsztituens (^{t}Bu csoport vagy H atom) hatását az izomerizációra, továbbá hogy az észlelt oldószerfüggést megpróbáljuk magyarázni. Kerestük továbbá az átforduláshoz tartozó lehetséges átmeneti állapotot is.

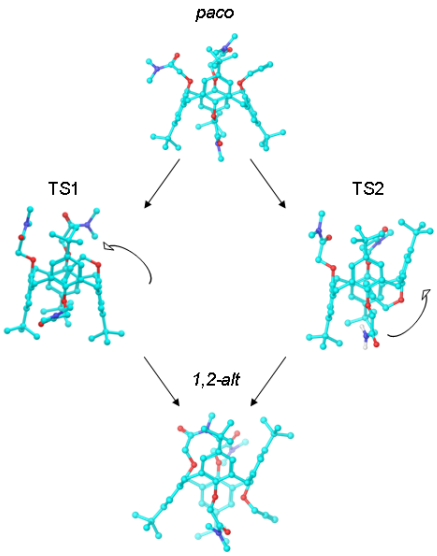
Feltételeztük, hogy a folyamat kétlépéses, és a két elemi lépés sorrendjétől függően két reakcióút képzelhető el két átmeneti állapottal:

A. A propargilcsoport behatol a kalixarén üregébe (1. lépés), az átmeneti állapotban az üregben tartózkodik, ezalatt a fenolos rész még a kiindulási részlegesen kónikus konformációnak megfelelő irányítottságú („TS1”, 82. ábra), majd második lépésként az aromás egység rotációjával alakul ki az 1,2-alternáló szerkezetet.

B. A két lépés sorrendje fordított. Előbb az aromás gyűrű fordul át (a kalixarénen kívül, 1. lépés) „maga után húzva” a propargilcsoportot (2. lépés). Az átmeneti állapotban („TS2”, 82. ábra) a propargilcsoport még a kalixarén üregében található, míg a hozzá kapcsolódó fenolos rész már a végállapotra jellemző orientációjú.

Természetesen mindkét fent leírt mechanizmus az alsó perem szubsztituensének a gyűrűn való áthatolásával valósul meg, csupán az elemi események sorrendjében különbözik.

A TS1 átmeneti állapottal jellemezhető (A) reakcióút a számítások szerint mindkét *para*-szubsztituens (H és ^{t}Bu) esetén energetikailag kedvezőbb, továbbá csak egy imaginárius frekvenciája van, mely a propargilcsoport terminális hidrogénatomjának a gyűrűn való penetrációjához tartozik, így ezt a reakcióutat valószínűsítjük.



82. ábra: A konformációváltás feltételezett átmeneti állapotai

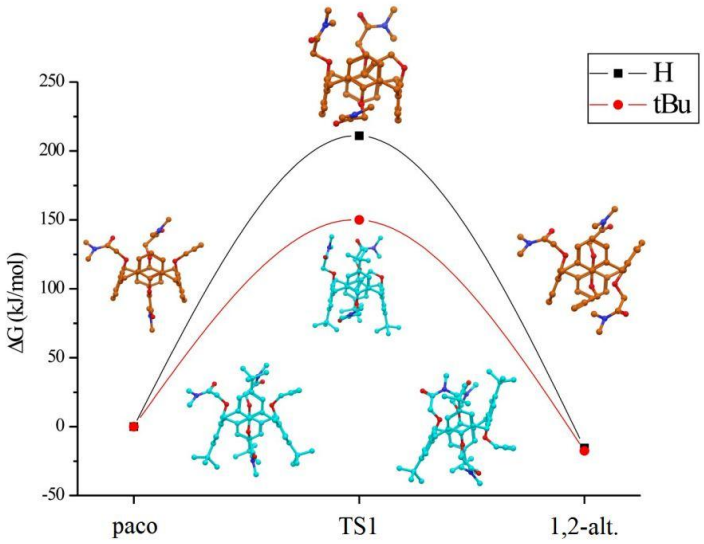
A konformációváltáshoz tartozó aktiválási szabadentalpia 150 kJ/mol **4-4** és **4-5** között, míg a *para*-H analogonra 211 kJ/mol[n], ami az *Arrhenius*-egyenlet értelmében magyarázza ennek jóval lassabb konformációs átalakulását.

Mindkét esetben az 1,2-alternáló konformer a kisebb energiájú (83. ábra). Az átalakulást kísérő szabadentalpia nyereség **4-1**-re (*para*-H) 16 kJ/mol, míg **4-5** esetén (*para*-^{t}Bu) 18 kJ/mol. Ezek az értékek azonban gázfázisra (vákuumra) vonatkoznak, a valósághű modellezés érdekében érdemes a szolvatációt is figyelembe venni, amire a Poisson-Boltzmann-közelítést alkalmaztuk.

A *p*-^{t}Bu szubsztituált származékok körében mindkét vizsgált oldószerben (kloroform, illetve dimetil-szulfoxid) a **4-5** részlegesen kónikus konformernek alacsonyabb a szolvatációs energiája, mint a **4-4** 1,2-alternálóé. A gázfázisú- és a szolvatációs energiák együttes figyelembe vételével megállapítható, hogy mind DMSO-ban mind kloroformban az 1,2-alternáló konformer az energetikailag némileg kedvezőbb, amit a számított szabadentalpia különbségek jól mutatnak: kloroformban -9 kJ/mol, DMSO-ban -2 kJ/mol. Ezek az adatok összhangban vannak

[n] A megadott termokémiai jellemzők számítása MPW1K6-31G** bázissal történt. Előzőleg beláttuk, hogy a bázis méretének (tesztelt bázisok: 6-31G**, 6-31G**+, 6-31G**++) nincs jelentős hatása az eredményre, amit más kvantumkémiai módszerrel (*DFT*: MPW1K, MPW1PW91, BLYP, B3LYP, X3LYP, M06-2X; *ab initio:* LMP2) is megerősítettünk.

azzal a kísérleti tapasztalattal, miszerint az egyensúlyi állandó mindkét oldószerben egynél nagyobb érték; de kisebb DMSO-ban, mint kloroformban.



83. ábra: A konformációváltást kísérő (számított) szabadentalpia változások

A **4-1** (Y = H) molekulával nem volt lehetőség az elméleti adatok kísérleti alátámasztására a lassú inverzió miatt. Azonban a számítások (Δ G = - 2 kJ/mol $CHCl_3$-ban és 6 kJ/mol DMSO-ban) itt is hasonló oldószerhatásra utalnak, de emellett rámutatnak az izomerizáció – előzőhöz képest – kisebb energianyereségére, valamint nagyobb aktiválási gátjára.

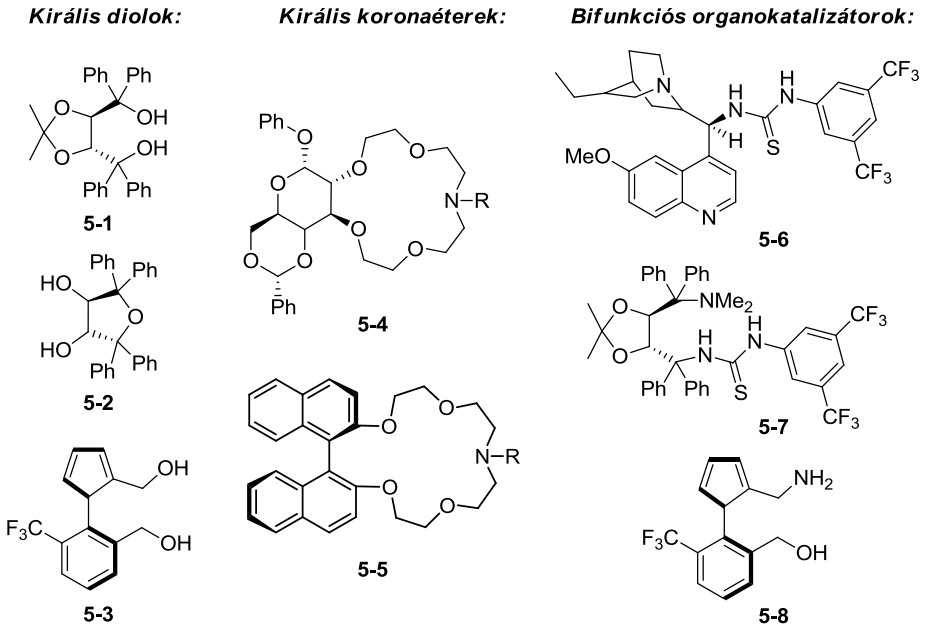
Összefoglalás

Sikerült kiterjesztenünk a kalix[4]arének „oxigén-a-kavitáson-át" típusú konformációs inverziójára vonatkozó húsz éve fennálló mérethatárt. A propargilcsoport konformációs mobilitását, a részlegesen kónikus - 1,2-alternáló konformerek közötti egyensúly szubsztituens és oldószerfüggését NMR spektroszkópiával tanulmányoztuk, és elméleti számításokkal is alátámasztottuk.

5. BINOL-koronaéter alapú királis katalizátorok

5.1. Bevezetés, célkitűzés

Tanszékünkön évtizedek óta foglalkoznak királis (szénhidrátalapú és szintetikus) koronaéterek előállításával, és széleskörű felhasználási lehetőségeik feltárásával. Ennek részeként, de ettől függetlenül is kiterjedt kutatás folyik a homogén aszimmetrikus katalízisek terén, amelynek egy fontos területe a biológiailag aktív, királis aminofoszfonsavak szintézise új, szelektív módszerekkel. Ezeknek a korábban nem ismert szintézisutaknak intermedierei olyan királis, védett aminofoszfonsav-származékok, amelyek aszimmetrikus Michael-addícióval állíthatóak elő, ahol az aszimmetrikus indukciót három különböző elven működő katalizátorcsaláddal: királis diolokkal (**5-1**, **5-2, 5-3**), királis aza-koronaéterekkel (**5-4** és **5-5**) és bifunkciós organokatalizátorokkal (**5-6**, **5-7**, **5-8**) hozzák létre (84. ábra). *Jászay Zsuzsa* csoportjának e nagy volumenű munkájához az egyik királis koronaéter család, a BINOL alapú **5-5** katalizátorok szintézisével járultunk hozzá.

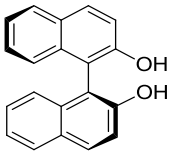


84. ábra: A C-C kötés kialakítására alkalmazott Michael-addíció királis katalizátorai

5.2. Irodalmi előzmények

A BINOL és származékai

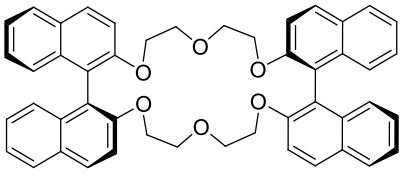
A BINOL (1,1'-bi-2-naftol, 85. ábra) különböző származékainak a királis felismerési folyamatokban évtizedek óta jelentős szerepe van mint királis katalizátorok, mediátorok vagy komplexképzők.[89,90,91] A BINOL ezt a népszerűségét egyszerű előállíthatóságán felül annak köszönheti, hogy szintetikusan sokoldalúan és könnyen módosítható mind a fenolos hidroxilcsoportokon, mind az aromás gyűrűn.[90,91] Az előállítás pl. oxidatív kapcsolással történhet, Cu(II)[92] vagy Fe(III)[93] sók jelenlétében. Az optikailag aktív formát vagy királis segédanyag segítségével állítják elő[92] vagy a racém vegyületet reszolválják.[94] A molekula kiralitása atropizoméria következménye, a két naftalin gyűrűt összekötő C-C kötés mentén gátolt rotáció az oka. A szintetikus módosítások alatt főleg brómozási,[95] litiálási, formilezési,[96] illetve redukciós[97] átalakításokat értünk, melyekkel a BINOL család számos képviselőjének intermediere előállítható.



85. ábra: Az (*S*)-BINOL molekula térszerkezete

BINOL alapú koronaéterek

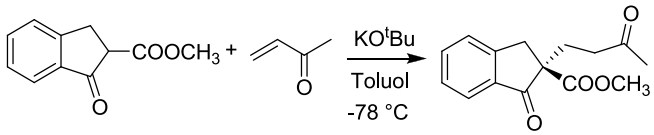
Az *O,O*-ciklikus BINOL-származékok a királis gazdamolekulák egy rendkívül fontos csoportja.[98] Eklatáns példája ennek az (*S,S*)-*bisz*(1,1'-bi-2-nafto)-22-korona-6-éter (86. ábra), mely az egyik első szintetikus királis makrociklus volt. Ez a gazdamolekula hatékonyan képes különbséget tenni szerves ammóniumsók enantiomerjei között; felfedezője, *Cram* pedig munkájáért Nobel-díjat kapott 1987-ben.[99]



86. ábra: Az első szintetikus királis makrociklus - *Cram* koronája

Fordulópontot jelentett, amikor 1981-ben ugyancsak *Cram* és munkatársai ugyanezt a koronavegyületet sikeresen alkalmazták fázistranszfer katalizátorként egy aszimmetrikus reakcióban.[100,101] A ciklusos észter szubsztrátum metil-vinil-

ketonra történő Michael-addícióját 4 mol% királis BINOL-katalizátor jelenlétében 99%-os enantiomerfelesleggel valósították meg (87. ábra).



87. ábra: Az első koronaéter-katalizált aszimmetrikus szintézis

Bár a királis koronaétereket és a BINOL egyéb származékait azóta is széleskörűen kutatják, érdekes módon a BINOL alapú koronaéterekre kevés figyelmet fordítottak, mindössze néhány nagyobb gyűrűtagszámú származékot és kalixarén-konjugátumot írtak le az elmúlt 40 év alatt.[102,103] Azakoronaéter-származékaik családja sem sokkal népesebb, a *N*-atomon szubsztituálatlan alapvegyületen kívül csak néhány fotokróm, illetve fluoreszcens származék bukkant fel az irodalomban.[104] Ezeket a molekulákat azonban nem használták királis katalizátorként, ezen a területen munkánk tehát úttörő volt.

Az aminofoszfonsavak jelentősége

A természetes aminosavak biológiai jelentőségének következtében szintetikus analogonjaik is széleskörű kutatások tárgyai lettek. Utóbbiak közül valók az aminofoszfonsavak, melyek az amino(karbon)savakból a karboxilcsoport foszfonsav részre való cseréjével vezethetők le. Számos különböző biológiai hatású származékát írták le: van köztük növényvédő gombaellenes és gyomirtó szer,[105] HIV proteáz inhibítor,[106] vérnyomáscsökkentő,[107] baktérium-,[108] vírus-[109] és rákellenes szer.[110]

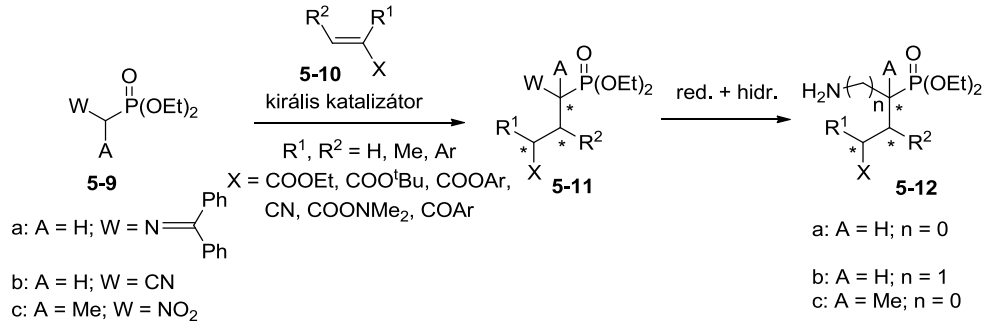
Aminofoszfonsavak előállítása

Az aminofoszfonsavak és származékaik enantiomertiszta előállítására leggyakrabban használt szintézisstratégiák[111] közül itt csak a tanszéken királis katalizátorokkal korábban elért eredményeket ismertetem, mint a munkám közvetlen előzményeit (88. ábra).

A katalizátorokban a kiralitást hordozó csoport egyrészt a természetben előforduló L-borkősav (ill. az abból előállítható (*R,R*)-TADDOL), a D-glükóz és a cinkona alkaloidok családjába tartozó kinin; másrészt a szintetikus atropizomerek közül az *N*-fenil-pirrolszármazékok voltak (84. ábra).

α-Aminofoszfonátok előállítása védett foszfoglicinből (**5-9a**) NaO^{t}Bu jelenlétében történik a Michael-donor csekély CH-savassága (pK ≈ 23) miatt. A királis diolkatalizátorok csak az **5-10** akril-észterek reakcióját katalizálják jó vagy közepes

szelektivitással. A legnagyobb szelektivitást az ún. „fordított TADDOL-lal” (**5-2**, ee 96%) érték el, kevésbé volt szelektív a TADDOL (**5-1**, ee: 72%) és az *N*-fenil-pirrolszármazék (**5-3**, ee: 58%). Ezekben a kísérletekben a legjobb eredményt adó Michael-akceptor a *terc*-butil-akrilát volt.[112] A cukoralapú koronaéterek mindegyik **5-10** Michael-akceptorra való addíciót katalizálják, de jó diasztereo- és enantioszelektivitást csak nitrilekkel (**5-10**, X = CN) tapasztaltak (legjobb eredményt a 2-metoxi, illetve 3,4-dimetoxi-feniletil lariátkart[o] tartalmazó cukoralapú koronaéterekkel sikerült elérni).[113]



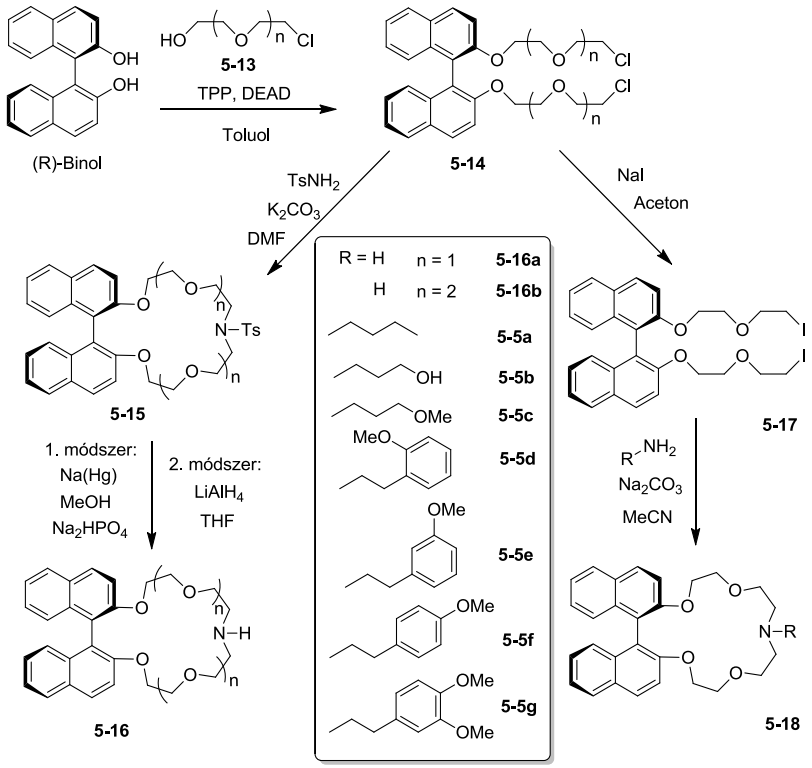
88. ábra: A tanszékünkön kidolgozott szintetikus megközelítés

5.3. Új BINOL alapú azakoronaéterek szintézise [S4, S5]

Célunk olyan koronaéter katalizátorok szintézise volt, amelyek egyrészt új királis egységet, másrészt a cukoralapú koronaéterekéhez hasonló lariátkart tartalmaznak. A királis építőelem és egyben a szintézis kiindulóanyaga az *(R)*-BINOL volt, melyet első lépésben *Mitsunobu* körümények között alkileztünk a kutatócsoportunkban korábban kidolgozott módszer szerint.[114]

Elsőként a gyűrű méretét szándékoztuk optimálni, ehhez két különböző méretű aza-koronaétert (**5-16**) szintetizáltunk. A gyűrű mérete a *Mitsunobu*-reakcióban dől el, **5-13** klórhidrin lánchosszától függ. Az **5-14** diklórvegyületeket (n = 1 vagy 2) *p*-toluolszulfonamiddal gyűrűbe zártuk, majd eltávolítottuk az *N*-tozilcsoportot. Utóbbi reakcióra két különböző módszert is alkalmaztunk: vagy nátrium amalgámmal vagy LAH-del redukáltuk **5-15** vegyületeket (89. ábra).[115]

[o] Lariátéterek az olyan azakoronák, amelyeken a nitrogénatomhoz egy (terminális heteroatomot tartalmazó) oldalkar is kapcsolódik, amely a makrociklus fölé visszahajolva mintegy lasszóként részt vehet a vendégion koordinálásában.

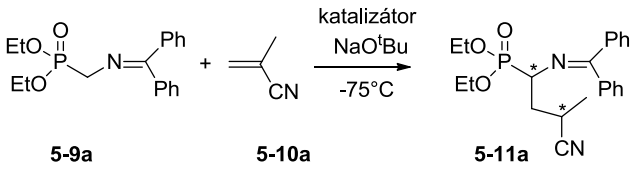


89. ábra: A koronaéterek szintézisének összefoglalása

A katalizátorhatás vizsgálata, a szerkezet optimálása

A katalitikus kísérleteket *Jászay Zsuzsa* csoportjában *Pham Truong Son* végezte, mégis ismertetem ezt a munkát is, mivel az optimálás lépései csak ezen keresztül érthetők meg.

A tesztreakció, amivel optimáltuk a koronaéter szerkezetét, egy Michael-addíció volt (90. ábra): *N*-en védőcsoportot tartalmazó aminometilénfoszfonát (**5-9a**) és metakril-nitril (**5-10a**) reakciója toluolban, -75°C-on, 1,5 ekvivalens nátrium-*terc*-butoxid és 10 mol% koronaéter katalizátor jelenlétében.



90. ábra: A BINOL-koronaéter szerkezetének optimálásához használt modellreakció

Az ee értékeket királis állófázisú HPLC, míg a dr értékeket ^{31}P NMR alapján határoztuk meg.

Ez a reakció egyértelműen megmutatta, hogy melyik gyűrűméret az alkalmasabb katalizátor. Míg a termelések megegyeztek mind **5-16a** korona-5, mind **5-16b** korona-6 éterrel katalizált addícióban, addig az ee értékekben jelentős különbség mutatkozott: a kisebb gyűrű 44%, a nagyobb csak 8%-os ee-t tudott kiváltani a major diasztereomerre. A jelenség magyarázatát a reakció mechanizmusa adja meg: a fémion a koronaéterrel komplexet képez, ennek az ellenionja a foszfonátszármazékból erős bázis hatására keletkező karbanion. A nagyobb gyűrű kevésbé erős komplexet képez a nátriumionnal, így az általa biztosított királis környezet is kevésbé stabil, flexibilisebb, ami kisebb enantiomer diszkriminációt eredményez.

Az eredményeket felhasználva a kisebb gyűrűs aza koronaéteren (**5-16a**) helyeztünk el különböző lariát karokat, ehhez azonban a szintézis módosítására volt szükség: az **5-14** diklórszármazék terminális halogénatomjait jódra cseréltük, majd **5-17** dijodidokból a megfelelő oldalkart tartalmazó primer aminokkal egy sorozat aza-korona-5 étert (**5-18**) állítottunk elő (89. ábra). Az ezekkel elért ee/dr értékeket a 5. táblázatban tüntettük fel.

Molekula	*N*-szubsztituens	Konver-zió[a] (%)	Termelés[b] (%)	Dr[c] (anti/szin)	Ee[c] (%)
5-16a	H	89	78	74/26	44/22
5-16b	H	87	75	58/42	8/7
5-5a	Bu	81	72	55/45	32/19
5-5b	$(CH_2)_3OH$	30	23	58/42	87/17
5-5c	$(CH_2)_3OMe$	94	85	88/12	84/77
5-5d	$(CH_2)_2$(*o*-MeOPh)	96	87	83/17	86/67
5-5e	$(CH_2)_2$(*m*-MeOPh)	93	81	92/8	94/35
5-5f	$(CH_2)_2$(*p*-MeOPh)	92	81	93/7	94/51
5-5g	$(CH_2)_2$(*3,4*-diMeOPh)	94	86	>99/<1	96/46

Jelmagyarázat: [a] ^{31}P NMR alapján, [b] izolált termelések (oszlopkromatográfiás tisztítást követően), [c] királis HPLC alapján

5. táblázat: A BINOL alapú koronaéter katalizátor szerkezetének optimálása

Az *N*-butil oldallánc (**5-5a**), amely nem tartalmaz heteroatomot, nem tud hozzájárulni a nátriumion stabilizálásához a makrociklusban, így hasonlóan kis enantioszelektivitást (32%) váltott ki, mint az oldalkart nem tartalmazó molekula (**5-16a**). A 3-hidroxipropil-csoport hatására (**5-5b**) az egyik diasztereomerre ugyan jelentősen megnőtt enantioszelektivitás (87%), azonban a konverzió (30%) romlott, és a diasztereomer arány is közel 1:1 maradt. A konverzió csökkenése valószínűleg

a katalizátor toluolban való csekély oldhatóságának a következménye: ha a láncvégi hidroxilcsoportot metoxira cseréljük (**5-5c**), akkor mind a konverzió (94%), mind a disztereomer arány (88:12) az eddigi legmagasabb értéket éri el, mialatt az enantioszelektivitás nemcsak a major disztereomerre magas (84%), hanem a minorra is jelentősen megnőtt (17%→ 77%).

Mivel korábban a szénhidrát alapú koronaéter katalizátorokban (**5-4**) az aromás egységet tartalmazó lariátkarok jó eredményeket mutattak[113], ezért analóg szerkezetű molekulák szintézisével folytattuk az oldalkar optimálását. A makrociklus nitrogénjén *orto*-metoxi-feniletil csoportot tartalmazó molekula (**5-5d**) aktivitása és szelektivitása kb. megegyezett az alifás **5-5c** teljesítményével. Ha a metoxicsoportot *meta*- és/vagy *para*- helyzetbe helyeztük (*meta*: **5-5e**, *para*: **5-5f**, *meta* és *para* (3,4-dimetoxi): **5-5g**) a diasztereomer arány és a major disztereomer enantiomerfeleslege tovább nőtt. Az **5-5c**, **d**, **e**, **f**, **g** katalizátorok által kiváltott konverziók a mérési hibahatáron belül azonosaknak tekinthetők (92-96%).

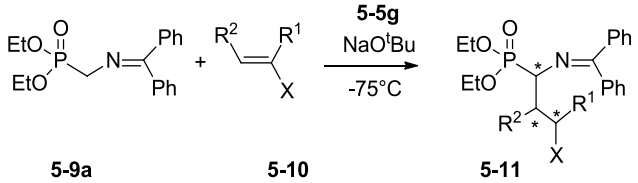
A legmagasabb diasztereomer arányt és enenatiomer felesleget kiváltó **5-5g** katalizátor jelenlétében vizsgáltuk az eredmények oldószerfüggését és a katalizátor mennyiségének csökkenthetőségét.

Legjobb oldószernek egyértelműen a toluol bizonyult, xilol izomerelegyben is jó, bár gyengébb eredményt kaptunk. A polárisabb oldószerekben – acetonitril, tetrahidrofurán, diklórmetán– jó konverzió és termelés értékek mellett a szelektivitás szinte teljes elvesztését tapasztaltuk.

A katalizátor mennyiségét 10 mol%-ról 5, illetve 3 mol%-ra csökkentve mind a konverzió/termelés, mind a szelektivitás romlott. Bár az optimális 10 mol% igen magas értéknek számít, ezen javít, hogy a katalizátor a reakcióelegyből oszlopkromatográfiásan visszanyerhető.

A legsikeresebb **5-5g** koronaétert további Michael-addíciókban is teszteltük. Ezeket a reakciókat toluol oldószerben 10 mol% katalizátor jelenlétében hajtottuk végre (91. ábra).

A Michael-akceptorok körének kiterjeszthetőségét vizsgálva megállapítottuk, hogy a különböző akrilszármazékok közül legnagyobb enantioszelektivitás a nitrilekkel érhető el, az amid és észter funkciós csoportot tartalmazó szubsztrátumok gyengébb eredményeket adnak.



91. ábra: A további tesztreakciók sémája

Szubsztrát	R^1	R^2	X	Konverzió[a] (%)	Term.[b] (%)	Dr[c] (anti/szin)	Ee[c] (%)
5-10b	H	H	COO^{t}Bu	100	92	-	21 (*S*)[d]
5-10c	Me	H	COO^{t}Bu	86	80	68/32	33/31
5-10d	H	H	$CONMe_2$	100	93	-	44
5-10e	H	H	CN	87	75	-	95 (*S*)[d]
5-10f	H	Ph	CN	100	91	89/11	71/38

A jelmagyarázatokért lásd az 5. táblázat magyarázatát! [d] Az abszolút konfiguráció meghatározását l. lentebb, ill. a 113-as referenciában.

6. táblázat: További Michael-típusú tesztreakciók eredményei 5-5g jelenlétében

A részletek ismertetése nélkül megemlítjük, hogy három termék esetében az abszolút konfigurációt is meghatározták: mivel (*S*)-**5-11b** az irodalomban leírt[113], a CD spektrumaik hasonlósága miatt **5-11e** abszolút konfigurációja szintén „*S*”. A két szeterocentrumú **5-11a** abszolút konfigurációját az egyes sztereoizomerek kvantumkémiai módszerekkel számított CD spektrumainak a tényleges spektrummal való összevetése útján határozták meg, és (*1S,3R*)-nek találták.

Összefoglalás

Az általunk szintetizált és az irodalomban leírt koronaéterek katalitikus tulajdonságainak összevetése alapján az a következtetés vonható le, hogy a tesztreakciók kimenetelére elsősorban a koronaéter oldalkarjának hosszúsága és a láncvégi csoportok jellege bír jelentős hatással. Munkánk eredményeként kiderült, hogy a makrociklus *N*-atomjától 5–6 szénatom távolságra levő, metoxicsoportot tartalmazó származékok adják a legjobb eredményt. Ennek valószínű oka, hogy ezekben az esetekben a koronaéter gyűrű fölé visszahajló kar révén háromdimenziós kötőhely alakul ki a nátriumion számára, ami stabilizálja a koronaéter-nátriumion komplexet. Azonos oldallánc esetén a *D*-glükóz-, valamint az (*R*)-BINOL alapú koronaéterek aktivitása hasonló, azonban utóbbiak szelektivitása felülmúlja a cukoralapú analogonokét a vizsgált Michael-addíciókban.

6. Kísérleti rész

A legtöbb kísérlet részletes leírása megtalálható a doktori értekezéshez csatolt közleményekben. Itt csupán azokat ismertetem, amelyek nem szerepelnek ezekben a publikációkban.

A reakciók előrehaladásának követésére vékonyréteg-kromatográfiát (Merck 60 F254 szilikagél lapok) alkalmaztunk. Az oszlopkromatográfiás tisztítást atmoszférikus nyomású elúcióval, Kieselgel 60 tölteten végeztük. A vegyületek szerkezetét ^{1}H, esetenként ^{13}C NMR vizsgálattal igazoltuk (Bruker Avance DRX-500, illetve Bruker Avance AV-300), a molekulák egy részéről nagyfelbontású tömegspektrum is készült (Waters Q-TOF Premier tömegspektrométer, pozitív ion-mód, elektrospray ionizáció).

A reagenseket és az oldószereket kereskedelemből szereztük be, és többnyire további tisztítás nélkül használtuk.

6.1. α-Naftil fluorofort tartalmazó modellvegyület (2-37) szintézise

α-Azidometilnaftalin (2-33)[116]

1-Klórmetilnaftalint (8,83 g, 50,0 mmol) és NaN_3-ot (4,88 g, 75,0 mmol) 40 ml acetonitrilben 18 órán át forráshőmérsékleten kevertük. A reakció végén a reakcióelegyet bepároltuk, a maradékhoz 100 ml vizet adtunk, amit háromszor 120 ml dietil-éterrel extraháltunk. Az egyesített szerves fázist ezután háromszor 100 ml vízzel mostuk, $MgSO_4$-on szárítottuk, szűrtük, bepároltuk. A **2-33** azid VRK (eluens: hexán-EtOAc 95:5) és NMR alapján tiszta.

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

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ (ppm) 8,07 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,94 (d, *J* = 8 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,91 (d, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,62 (t, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,58 (t, *J* = 7 Hz, 1H, Ar-*H*); 7,52-7,48 (m, 2H, 2 Ar-*H*); 4,80 (s, 2H, -CH_2-).

4-Hidroximetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (2-34)

A **2-33** azid (0,49 g, 2,48 mmol) és 0,14 g Amberlyst A21 · CuI katalizátort 5 ml absz. DKM-os elegyéhez argon alatt 0,131 ml (0,127 g, 2,26 mmol) propargil-alkohol absz. DKM-os oldatát (5 ml) adtuk, majd 18 órás szobahőmérsékletű kevertetés után az oldószert ledesztilláltuk. A maradékot metanolban feloldottuk és a katalizátorgyanta kiszűrése után bepároltuk. A nyers terméket

oszlopkromatográfiásan tisztítva (DKM-metanol 95:5) kaptuk a tiszta **2-34** hidroxivegyületet.

Termelés: 0,45 g (1,88 mmol, 76%) fehér szilárd anyag.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ (ppm) 7,96-7,94 (m, 1H, Ar_{naftil}-*H*); 7,90-7,88 (m, 2H, 2Ar_{naftil}-*H*); 7,53-7,49 (m, 2H, 2 Ar_{naftil}-*H*); 7,48-7,42 (m, 2H, 2Ar_{naftil}-*H*); 7,30 (s, 1H, $Ar_{triazol}$-*H*); 5,95 (s, 2H, Ar_{naftil}-CH_2-$Ar_{triazol}$); 4,67 (d, *J* = 5,5 Hz, 2H, $Ar_{triazol}$-CH_2-OH); 2,80 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H, -O*H*).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 Hz) δ (ppm) 133,9; 131,1; 130,1; 129,7; 128,9; 128,0; 127,3; 126,4; 125,3; 122,8; 121,5; 56,5; 52,3.

4-Brómmetil-1-(naft-1-ilmetil)-1,2,3-triazol (2-35)

A **2-34** hidroxivegyület (0,22 g, 0,92 mmol) 30 ml absz. DKM-os oldatához 0,174 ml (0,50 g, 1,84 mmol) foszfor-tribromidot adtunk. A kiindulási anyag elfogyása után (20 ó, VRK) után jeges hűtés mellett 30 ml vizet, majd 15 ml víztelített $NaHCO_3$-oldat 1:1 elegyét csepegtettünk a reakcióelegyhez. A fázisokat elválasztottuk, a szerves fázist 30 ml vízzel mostuk, $MgSO_4$-tal szárítottuk, szűrtem, majd az oldószert bepároltuk. A nyerstermék további tisztítást nem igényelt.

Termelés: 0,26 g (0,86 mmol, 94%) fehér szilárd anyag.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ (ppm) 7,95-7,90 (m, 3H, 3Ar_{naftil}-*H*); 7,54-7,53 (m, 2H, 2Ar_{naftil}-*H*); 7,51-7,45 (m, 2H, 2Ar_{naftil}-*H*); 7,34 (s, 1H, $Ar_{triazol}$-*H*); 5,97 (s, 2H, Ar_{naftil}-CH_2-$Ar_{triazol}$); 4,47 (s, 2H, -CH_2-Br).

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

A 2-37 célmolekula

A **2-35** alkilezőszer (0,24 g, 0,79 mmol) és **2-36** (0,11 g, 0,38 mmol) acetonitriles (12 ml) oldatát 19 órán át keverés közben forraltuk. A kivált csapadékot hidegen leszűrtük, hideg acetonitrillel mostuk és szárítottuk.

Termelés: 0,26 g (0,29 mmol, 76%)

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ (ppm) 9,65 (s, 2H, 2$Ar_{imidazólium}$-*H*, N-ek közötti); 8,34 (s, 2H, 2Ar-*H*); 7,94-7,92 (m, 2H, 2Ar-*H*); 7,87 (s, 2H, 2Ar-*H*); 7,86-7,83 (m, 4H, 4Ar-*H*); 7,50-7,48 (m, 6H, 6Ar-*H*); 7,41-7,35 (m, 4H, 4Ar_{naftil}-*H*); 5,92 (s, 4H, 4Ar_{naftil}-CH_2-$Ar_{triazol}$); 5,67 (s, 4H, 2$N_{imidazol}$-CH_2-); 5,62 (s, 4H, 2$N'_{imidazol}$-CH_2-); 2,07 (s, 12H, 4Ar-CH_3).

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

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

6.2. A 2-25 receptormolekula szintézise

A 2-44 intermedier előállítása

A **2-43** (570 mg, 3,87 mmol, 3 ekv.) 40 ml acetonitriles oldatához 500 mg (1,29 mmol) **2-17** brómvegyületet adtunk és 22 órán át forraltuk (VRK alapján nem maradt kiindulóanyag). Ezután a reakcióelegyet hűtőbe raktuk, ahol kikristályosodott a termék, melyet szűrtünk, mostunk acetonitrillel, megkapva a teljesen tiszta terméket.

Termelés: 0,48 g (70%) narancssárga szilárd anyag.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ (ppm) 9,46 (s, 1H, $Ar_{imidazólium}$-*H*), 8,43 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, Ar-*H*), 8,36 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, Ar-*H*), 8,28 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, Ar-*H*), 7,89 (m, 3H, $Ar_{imidazólium}$-*H* + $Ar_{imidazol}$-*H*), 7,82 (t, *J* = 8 Hz, 1H, Ar-*H*), 7,32 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-*H*), 7,25 (s, 1H, $Ar_{imidazol}$-*H*), 6,95 (s, 1H, $Ar_{imidazol}$-*H*), 6,40 (s, 2H, $Ar_{imidazol}$-C*H*$_2$), 4,57 (br s, 2H, C*H*$_2$), 4,43 (br s, 2H, C*H*$_2$), 3,21 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-C*H*$_2$), 1,83 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-CH_2C*H*$_2$), 1,67 (br s, 2H, $N_{piperidin}$-CH_2 CH_2C*H*$_2$).

^{13}C NMR (DMSO-d_6, 75 MHz) δ (ppm) 163,7; 163,1; 156,9; 137,5; 137,1; 132,4; 130,8; 130,7; 129,5; 129,3; 125,7; 125,3; 123,9; 122,1; 121,5; 118,9; 114,8; 114,4; 56,6; 53,9; 48,1; 25,6; 23,7.

A 2-25 célmolekula

A sztöchiometrikus dialkilezési reakcióban 152,1 mg (0,285 mmol) **2-44**-hez addig adtunk acetonitrilt (összesen 45 ml), amíg az ionos vegyület fel nem oldódott a forró oldószerben. Ezután adagoltuk a 45,8 mg (0,143 mmol) **2-30** *bisz*(brómmetil)durol 5 ml-es acetonitriles oldatát, majd az elegyet 24 órán keresztül forraltuk. Mivel nem tapasztaltunk csapadékképződést, az oldószert bepároltuk.

Termelés: 0,198 mg (kvant.) narancssárga szilárd anyag.

^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ (ppm) 9,87 (s, 2H, $Ar_{imidazólium}$-*H*), 9,58 (s, 2H, $Ar_{imidazólium}$-*H*), 8,38 (d, *J* = 8,5 Hz, 2HAr), 8,32 (d, *J* = 7,2 Hz, 2HAr), 8,23 (s, 2H, $Ar_{imidazólium}$-*H*) 8,22 (d, *J* = 8,3 Hz, 2HAr), 8,06 (br s, 2H, $Ar_{imidazólium}$-*H*), 7,98 (br s, 2H,

$Ar_{imidazólium}$-*H*), 7,93 (br s, 2H, $Ar_{imidazólium}$-*H*), 7,79 (t, *J* = 8 Hz, 2H, Ar-*H*), 7,29 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-*H*), 6,78 (s, 4H, $Ar_{imidazolólium}$-CH_2), 5,63 (s, 4H, Ar_{durol}- CH_2), 4,61 (br s, 4H, CH_2), 4,41 (br s, 4H, CH_2), 3,19 (br s, 8H, $N_{piperidin}$-CH_2), 2,22 (s, 12H, Ar_{durol} -CH_3), 1,81 (br s, 8H, $N_{piperidin}$-CH_2CH_2), 1,66 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-CH_2 CH_2CH_2).

MS: m/z 1311,3223 $(MBr_3)^+$, 615,1990 $(MBr_2)^{2+}$

6.3. 2-26 receptormolekula szintézise

A 2-45 intermedier előállítása

Száraz acetonitrilbe (60 ml) bemértünk 0,48 g (3,12 mmol, 3 ekv.) 4,4'-bipiridint, 0,40 g (1,04 mmol) **2-17**-t és az elegyet 6 napon keresztül forraltuk. A reakció lejátszódását követően a szobahőmérsékleten kiváló terméket szűrtük, hideg acetonitrillel mostuk. A termelés növelésének érdekében az anyalúgot bepároltuk az eredeti térfogat negyedére, a kiváló anyagot szűrtük, mostuk hideg acetonitrillel. Az így kinyert anyagot egyesítettük az első frakcióval.

Termelés: 0,47 g (83%) narancssárga szilárd bromid só.

A következő lépésben végrehajtottuk a bromidok cseréjét hexafluoro-foszfát anionra (mivel a termék előállítása nem sikerült a bromid sóból). Feloldottunk 0,25 g (0,46 mmol) bromid sót 25 ml DMSO-víz 1:1 arányú elegyében. Ehhez hozzáadtunk 4 ml 4,6 M ammónium-hexafluoro-foszfát oldatot (40 ekvivalens). A kiváló narancsszínű csapadékot (**2-45**) szűrtük, mostuk vízzel, majd infralámpa alatt szárítottuk.

Termelés (anioncsere/teljes): 0,14 g (50%/42%) narancssárga szilárd anyag.

^{1}H NMR (aceton-d_6, 500 MHz) δ (ppm) 9,40 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H, $Ar_{piridínium}$-*H*), 8,86 (d, *J* = 5,7 Hz, 2H, $Ar_{piridínium}$-*H*), 8,62 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H, $Ar_{piridin}$-*H*), 8,49 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-*H*), 8,41 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H, Ar-*H*), 8,31 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, Ar-*H*), 7,97 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H, $Ar_{piridin}$-*H*), 7,76 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, Ar-*H*), 7,28 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, Ar-*H*), 5,26 (t, *J* = 5 Hz, 2H, CH_2), 4,86 (t, *J* = 5 Hz, 2H, CH_2), 3,26 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-CH_2), 1,88 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-CH_2CH_2), 1,72 (br s, 2H, $N_{piperidin}$-CH_2CH_2CH_2).

A 2-26 célmolekula

Az első kvaternerezési lépésben bemértünk 99,4 mg (0,163 mmol) **2-45** és 26,1 mg (0,0815 mmol) **2-30** vegyületet 5 ml acetonitrilbe, amit 24 órán keresztül forraltunk. A kiváló, feltehetően nem egységes anionú terméket szűrtük, acetonitrillel mostuk.

Termelés: 0,10 g (79%) narancssárga szilárd anyag.

A következő lépésben végeztük el az anionok egységesítését hexafluoro-foszfátra. A vegyes anionú terméket feloldottuk minimális mennyiségű (2 ml) DMSO-metanol 1:1 arányú keverékében, majd az oldathoz 0,71 ml 4,6 mol/l koncentrációjú ammónium-hexafluoro-foszfát vizes oldatát adtuk (50 ekvivalens). A narancsszínű csapadékot szűrtük, vízzel mostuk, infralámpa alatt szárítottuk.

Termelés (anioncsere/teljes): 0,10 g (92%/73%) narancssárga szilárd anyag.

^{1}H NMR (aceton-d_6, 500 MHz) δ (ppm) 9,58 (d, *J* = 6,5 Hz, 4H, $Ar_{piridínium}$-*H*), 9,15 (d, *J* = 6,4 Hz, 4H, $Ar_{piridínium}$-*H*), 8,74-8,72 (m, 8H, $Ar_{piridínium}$-*H*), 8,52 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-*H*), 8,43 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, Ar-*H*), 8,34 (d, *J* = 8,1 Hz, 2HAr), 7,79 (t, *J* = 8,1 Hz, 2H, Ar-*H*), 7,31 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, Ar-*H*), 6,45 (s, 4H, Ar_{durol}-CH_2) 5,33 (br s, 4H, CH_2), 4,89 (br s, 4H, CH_2), 3,27 (br s, 8H, $N_{piperidin}$-CH_2), 1,88 (br s, 8H, $N_{piperidin}$-CH_2CH_2), 1,72 (br s, 4H, $N_{piperidin}$-CH_2CH_2CH_2).

^{13}C NMR (DMSO-d_3, 75 MHz) δ (ppm) 163,9; 163,2; 156,9; 152,3; 151,0; 146,0; 140,4; 132,4; 130,9; 130,7; 125,7; 125,3; 124,8; 121,7; 114,8; 114,4; 59,5; 53,9; 25,6; 23,7.

HRMS m/z 688,2414 $(M(PF_6)_2)^{2+}$, 1521,6636 $(M(PF_6)_3)^{+}$.

6.4. Kiegészítő HRMS adatok S1-hez

3-3 Ionofor HRMS felvétele

A spektrumban mind a szabad ionofor (m/z 1180,7760), mind a Na^+ komplex (m/z 1203,7576) megjelent.

3-4 Ionofor HRMS felvétele

A spektrumban a Na^+ komplex (m/z 1175,6527) megjelent.

Tézisek

1. Három új, fluoreszcens aminonaftálimid alapú „kétkarú”, kötőhelyként imidazólium- és triazolcsoportokat tartalmazó receptormolekulát állítottunk elő click reakcióval. Megállapítottuk, hogy ha a receptorok kötőhelyén a Flu-TR-Im$^+$ sorrendet megtartjuk, de a karok számát az irodalomban leírt háromról kettőre csökkentjük (**2-23**), a nukleozid-foszfát detektálás szelektivitása és érzékenysége csökken vagy elvész. Igazoltuk, hogy a „kétkarú” analogonnak is erős nukleozid-trifoszfát megkötő képessége van, ha a karokon belül a heterociklusok sorrendjét felcseréljük (Flu-Im$^+$-TR). Meghatároztuk **2-24** receptor 1:2 sztöchiometriájú ATP, GTP és UTP komplexeinek asszociációs állandóit és javaslatot tettünk a komplexek szerkezetére is. Megállapítottuk, hogy a receptor-szubsztrát komplex gyenge oldhatósága miatt a vizes pufferhez szerves koszolvens hozzáadása szükséges. [S1]

2. Click reakcióval öt új és egy az irodalomban leírt triazolo-kalix[4]arén ionofort állítottunk elő, amelyek *O*-donor csoportokat is tartalmaznak a kalix[4]arén váz alsó peremén, illetve a triazolcsoportokon. Ionszelektivitásukat potenciometria és kompetitív tömegspektroszkópia segítségével határoztuk meg, melyeket eddig nem használtak a molekulakörben erre a célra. Kiemelendő **3-1, 3-2, 3-3, 3-4** ligandumokból készített PVC membránelektródok kiváló Ag^+ szelektivitása. Javaslatot tettünk a jelentős Na^+ szelektivitású **3-3** és különösen **3-4** alapú elektródok felhasználására olyan minták analízisében, amelyek nem tartalmaznak ezüstiont. [S2]

3. Kiterjesztettük a kalix[4]arének „oxigén-a-kavitáson-át” (*O-through-the-annulus*) típusú konformációs inverziójára vonatkozó húsz éve ismert mobilitási mérethatárt a propargilcsoportra. NMR mérésekkel meghatároztuk egyes propargil-kalix[4]arén-trikarboxamidok részlegesen kónikus/1,3-alternáló konformációváltásának egyensúlyi- és sebességi állandóit, az oldószer és az aromás egységek *p*-^{t}Bu szubsztituensének hatását az izomerizációra. Kísérleti eredményeinket számításos módszerekkel is alátámasztottuk. [S3]

4. BINOL alapú királis azakoronaétereket szintetizáltunk, és használtunk elsőként aminometilén-foszfonát és különböző akrilszármazékok közötti, NaO^{t}Bu által kiváltott Michael-addíció katalizátoraiként. Optimalizáltuk a

koronaéter gyűrűméretét, és az oldalláncot: megállapítottuk, hogy a legnagyobb enantioszelektivitás (90-99%) az *N*-2,4-dimetoxifenil-etil oldalláncot tartalmazó (*R*)-BINOL-azakorona-5-éterrel (**5-5g**) érhető el toluol oldószerben, 10 mol% katalizátor jelenlétében. [S4, S5]

Publikációs lista

Folyóirat cikkek

S1 Czirok, J. B.; Bojtár, M.; Baranyai, P.; Drahos, L.; Hessz, D.; Kubinyi, M.; Bitter, I.: Aminonaphthalimide-based dipodal imidazolium/triazole receptors for fluorescent sensing of GTP and ATP, *Sensors and Actuators B Chemical* **2013**, *182*, 280. DOI: 10.1016/j.snb.2013.02.046 IF: 3,535

S2 Czirok, J. B.; Jágerszki, Gy.; Tóth, K.; Révész, Á.; Drahos, L.; Bitter, I.: Click Synthesis of Triazole-linked Calix[4]arene Ionophores. Potentiometric and ESI-MS Screening of Ion-selectivity, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2014**, *78*, 207. DOI: 10.1007/s10847-013-0289-y IF: 1,399

S3 Czirok, J. B.; Tarcsay, Á.; Mezei, P. D.; Simon, A.; Balázs; L.; Bitter, I.: Conformational properties of propargyloxycalix[4]arene tricarboxamides. NMR and DFT studies on the *O*-through-the-annulus rotation, *Supramolecular Chemistry*, **2014**. (nyomdában) DOI: 10.1080/10610278.2013.860229 IF: 1,546

S4 Truong Son Pham; Czirok, J. B.; Balázs, L.; Pál, K.; Kubinyi, M.; Bitter, I.; Jászay, Zs.: BINOL-based azacrown ether catalyzed enantioselective Michael addition: asymmetric synthesis of α-aminophosphonates, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 480. DOI: 10.1016/j.tetasy.2011.02.002 IF: 2,652

S5 Pham Truong Son; Gönczi Katalin; Czirok János Balázs; Sólyom Szabolcs: Új királis katalizátorok alkalmazása aminofoszfonsavak sztereoszelektív szintézisében, *Magyar Kémikusok Lapja*, **2011**, *66*, 51.

Konferencia előadások és kivonatok

S6 Czirok János Balázs: Kalixarén- és koronaéter alapú ionoforok szintézise és alkalmazása; Oláh György Doktori Iskola Konferenciája, Budapest, 2011.

S7 Bojtár Márton, Czirok János Balázs, Baranyai Péter, Kubinyi Miklós, Bitter István: Fluoreszcens nukleozid-polifoszfát-receptorok szintézise és vizsgálata; Kémiai Előadói Napok, Szeged, 2011.

S8 Czirok János Balázs, Tarcsay Ákos, Mezei Pál Dániel, Simon András, Balázs László, Bitter István: *O*-Propargil-kalix[4]arén trikarboxamidok konformációs tulajdonságai; Kémiai Előadói Napok, Szeged, 2013.

Konferencia poszterek

S9 Czirok, J. B.; Juhász, I.; Simon, A.; Jágerszki, Gy.; Gyurcsányi, E. R.; Bitter, I.: Synthesis, characterization and potentiometric evaluation of triazole-modified calix[4]arene ionophores; 'Mátrafüred 2011' International Conference on Electrochemical Sensors, Dobogókő, 2011.

S10 Czirok, J. B.; Bojtár, M.; Drahos, L.; Baranyai, P.; Kubinyi, M.; Bitter, I.: Synthesis of methylene-bis(imidazolium/1,2,3-triazole) podands for fluorescent detection of nucleoside polyphosphates, 4th European Conference on Chemistry for Life Sciences, Budapest, 2011.

S11 Czirok, J. B.; Tarcsay, Á.; Mezei, P. D.; Simon, A.; Bitter, I.: Size matters: Conformational conversion of *O*-propargyl-calix[4]arene derivatives. Balticum Organicum Syntheticum. Tallin, 2012.

S12 Czirok, J. B.; Juhász, I.; Mezei, P. D.; Simon, A.; Jágerszki, Gy.; Gyurcsányi, E. R.; Drahos, L.; Bitter, I.: Synthesis and potentiometric evaluation of triazole-linked calix[4]arene ionophores. 4th EuCheMS Chemistry Congress. Prága, 2012.

S13 Czirok János Balázs, Pham Truong Son, Bitter István, Jászay Zsuzsa: Új, (R)-1,1'-bi-2-nafto-azakoronaéterek előállítása és alkalmazása aszimmetrikus Michael-addíciókban. Oláh György Doktori Iskola Konferenciája. Budapest, 2011.

Az értekezés témájához nem kapcsolódó konferencia előadások

S14 Czirok János Balázs, Bojtár Márton, Tolnai Bernadett, Gyurcsányi E. Róbert, Bitter István: Kalix[4]korona K^+-ionofor „click" immobilizálása PVC membránban potenciometriás szenzor fejlesztéséhez; Kémiai Előadói Napok, Szeged, 2012.

S15 Czirok, J. B.; Bojtár, M.; Jágerszki, Gy.; Őri, Zs.; Nagy, G.; Bitter, I.: Click immobilization of calix[4]arene ionophores on azide-modified PVC matrices. XVth Conference on Heterocycles in Bio-Organic Chemistry. Riga, 2013.

S16 Czirok János Balázs, Tóth Flórián, Ondi Levente, Richard R. Schrock: Új típusú Mo-alapú metatézis katalizátorok. Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése. Balatonszemes, 2013.

Nyilatkozat

Alulírott Czirok János Balázs kijelentem, hogy ezt a doktori értekezést magam készítettem, és abban csak a megadott forrásokat használtam fel. Minden olyan részt, amelyet szó szerint, vagy azonos tartalomban, de átfogalmazva más forrásból átvettem, egyértelműen, a forrás megadásával megjelöltem.

Az UV/Vis és fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálatokat Bojtár Márton, Dr. Baranyai Péter, Hessz Dóra és Dr. Kubinyi Miklós végezte és értékelte. Az elektroanalitikai mérések Jágerszki Gyula, Kollár Karolina és a saját munkám, értékelésükhöz Dr. Tóth Klára és Dr. Gyurcsányi E. Róbert nyujtott segítséget. A tömegspektroszkópiás vizsgálatokat Dr. Révész Ágnes, Dr. Drahos László és Dr. Balázs László, míg az elméleti számításokat Tarcsay Ákos, Pál Krisztina és Dr. Kubinyi Miklós végezték. Az NMR méréseket Mezei Pál Dániel, Dr. Simon András és Kiss Erzsébet végezte, kiértékelésük Mezei Pál Dániel, Dr. Simon András és a saját munkám.

Az értekezés 2. fejezetében ismertetett szintetikus munka egy részét Bojtár Márton végezte, akinek TDK, szakdolgozat és diplomamunka konzulense voltam. Az 5. fejezetben az általam szintetizált katalizátorok minősítésére szolgáló aszimmetrikus tesztreakciók kivitelezése Pham Truong Son munkája.

Budapest, 2014. május 31.

Czirok János Balázs

Irodalomjegyzék

[1] Katsuhiko, A.; Toyoki, K. Supramolecular Chemistry: Fundamentals and Applications, *Springer,* **2006**

[2] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.

[3] Huisgen, R. *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 357.

[4] (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2002**, *41*, 2596. (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.

[5] B. C. Boren, S. Narayan, L. K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V. V. Fokin, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 8923.

[6] (a) Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 210. (b) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51.

[7] Hein, J. E.; Fokin, V. V. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1302.

[8] Worrell, B. T., Malik, J. A., Fokin, V. V.

[9] (a) M.Meldal, M.; Tornoe, C. W. *Chem. Rev.,* **2008**, *108*, 2952. (b) Folyamatosan frissül Fokin honlapja a CuAAC során alkalmazott reakciókörülményekről és a CuAAC alkalmazásairól: http://www.scripps.edu/chem/fokin/cuaac.

[10] Moses, J. E.; Moorhouse, A. D. *Chem. Soc. Rev*., **2007**, *36*, 1249.

[11] Golas, P. L.; Tsarevsky, N. V.; Sumerlin, B. S.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules*, **2006**, *39*, 6451.

[12] Girard, C.; Önen, E.; Aufort, M.; Beauvière, S.; Samson, E; Herscovici, J. *Org. Lett.,* **2006**, *8*, 1689.

[13] Liu, M.; Reiser, O. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 1102.

[14] (a) Shapiro, N.; Vigalok, A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 2849. (b) Chanda, A.; Fokin, V.V. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 725.

[15] Gale, P. A. „Anion Recognition in Supramolecular Chemistry", *Springer,* **2010**

[16] Meyerhof, O. *N. Engl. J. Med.,* **1939**, *220,* 49.

[17] Kim, H. N.; Moon, J. H.; Kim, S. K.; Kwon, J. Y.; Jang, Y. J.; Lee, J. Y.; Yoon, J. *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 3805.

[18] Allinger, N. L.; Walter, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 9267.

[19] Neelakandan, P. P.; Hariharan, M.; Ramaiah, D. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 5765.

[20] Neelakandan, P. P.; Hariharan, M.; Ramaiah, D. *J. Am. Chem. Soc.,* **2006**, *128*, 11334.

[21] Ramaiah, D.; Neelakandan, P. P.; Nair, A. K.; Avirah, R. R. *Chem. Soc. Rev.,* **2010**, *39*, 4158.

[22] Neelakandan, P. P.; Nandajan, P. C.; Subymol, B.; Ramaiah, D. *Org. Biomol. Chem*., **2011**, *9*, 1021.

[23] Ahmed, N.; Shirinfar, B.; Geronimo, I.; Kim, K. S. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 5476.

[24] Yasumasa Kanekiyo, Ryuichi Naganawa, Hiroaki Tao *Chem. Commun.*, **2004**, 1006.

[25] Lorand, J. P.; Edwards, J. O. *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 769.

[26] Moro, A. J.; Cywinski, P. J.; Körsten, S.; Mohrac, G. J. *Chem. Commun*., **2010**, *46*, 1085.

[27] Zhang, J. F.; Kim, S.; Han, J. H.; Lee, S. J.; Pradhan, T.; Cao, Q. Y.; Lee, S. J.; Kang, C.; Kim, J. S. *Org. Lett.,* **2011**, *13*, 5294.

[28] Xu, Z.; Singh, N. J.; Lim, J.; Pan, J; Kim, H. N.; Park, S; Kim, K. S.; Yoon, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 15528.

[29] Birks, J. B. *Rep. Prog. Phys.*, **1975**, *38*, 903.

[30] Wang, D.; Zhang, X.; He, C.; Duan, C. *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 2923.

[31] Liu, H. K.; Sun, W. Y.; Zhu, H. L.; Yu, K. B.; Tang, W. X. *Inorg. Chim. Acta*. **1999**, 129.

[32] Wu, J.; Liu, W.; Ge, J.; Zhanga, H.; Wang, P. *Chem. Soc. Rev*. **2011**, *40*, 3483.
[33] Gunnlaugsson, T.; Glynn, M.; Tocci, G. M.; Kruger, P. E.; Pfeffer, F. M. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 3094.
[34] de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaugsson, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515.
[35]Ji Qin Gao; Marcus, R. A. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1956.
[36] Kupriyan, D.G.; Anikin, V. F.; Merz, A.; Pantsenker, L. D. *Russ. J. Org. Chem.,* **2004**, *40*, 699.
[37] Bitter, I.; Török, Zs.; Csokai, V.; Grün, A.; Balázs, B.; Tóth, G.; Keserű, Gy. M.; Kovári, Z.; Czugler, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2861.
[38] van der Made, A. W.; van der Made, R. H. *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 1262.
[39] Papini, G.; Pellei, M.; Gioia Lobbia, G.; Burini, A.; Santini, C. *Dalton Trans.*, **2009** , *35*, 6985.
[40] Campbell-Verduyna, L.; Elsinga, P. H.; Mirfeizi, L.; Dierckx, R. A.; Feringa, B.L. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3461.
[41] Jacquemin, D.; Perpcte, E. A.; Scalmani, G.; Ciofini, I.; Peltier, C.; Adamo, C. *Chem. Phys.* **2010**, *372*, 61.
[42] Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbühler, A. D. *Talanta* **1985**, *32*, 257.
[43] (a) Zhao, R.; Lind, J.; Merbnyi, G.; Eriksen, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12010. (b) Wang, W.; Rusin, O.; Xu, X.; Kim, K. K.; Escobedo, J. O.; Fakayode, S. O.; Fletcher, K. A.; Lowry, M.; Schowalter, C. M.; Lawrence, C. M.; Fronczek, F. R.; Warner, I. M.; Strongin, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15949. (c) Wang, D.; Crowe, W. E.; Strongin, R. M.; Sibrian-Vazquez, M. *Chem. Commun.* **2009**, 1876.
[44] Kannappan, R.; Moutet, J. C.; Bucher, C.; Pellet-Rostaing, S.; Milet, A.; Saint-Aman, E.; Oltean, M.; Lemaire, M.; Metay, E.; Chaix, C. *New. J. Chem.* **2010**, *34*, 1373.
[45] (a) Jágerszki, G., Grün, A., Bitter, I., Tóth, K., Gyurcsányi, E.R. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 607. (b) Jágerszki, G., Takács, Á ., Bitter, I., Gyurcsányi, E.R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 1.
[46] Gutsche, C. D. *Calixarenes: An Introduction* 2. kiadás, Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2008, p 171-172.
[47] Takahashi, H.; Tsuboyama, S.; Umezawa, Y.; Honda, K.; Nishio, M. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6185.
[48] Ikeda, A. and Shinkai, S. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1713.
[49] (a) Arnaud-Neu, F.; Collins, E. M.; Deasy, M.; Ferguson, G.; Harris, S. J.; Kaitner, B.; Lough, A. J.; McKervey, M. A.; Marques, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8681. (b) Arnaud-Neu, F.; Barrett, G.; Cremin, C.; Deasy, M.; Ferguson, G.; Harris, S. J.; Lough, A. J.; Guerra, L.; McKervey, M. A.; Schwinghyphen, M. J.; Schwinte, W. and P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1992**, 1119.
[50] Iwamoto, K.; Shinkai, S. *J. Org. Chem*. **1992**, *57*, 7066.
[51] http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/71747?lang=hu&region=HU
[52] (a) Arnaud-Neu, F.; Fanni, S.; Guerra, L.; McGregor, W.; Ziat, K.; Schwing-Weill, M.-J.; Barrett, G.; McKervey, M. A.; Marrs, D.; Seward, E. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2* **1995**, 113. (b) Arduini, A.; Ghidini, E.; Pochini, A.; Ungaro, R.; Andreetti, G. D.; Calestani, G.; Ugozzoli, F. *J. Inclusion Phenom.* **1988**, *6*, 119.
[53] (a) Arnaud-Neu, F.; Barrett, G.; Fanni, S.; Marrs, D.; McGregor, W.; McKervey, M. A.; Schwing-Weill, M.-J.; Vetrogon, V.; Wechsler, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2* **1995**, 453. (b) Arnaud-Neu, F.; Schwing-Weill, M.-J.; Ziat, K.; Cremin, S.; Harris, S. J.; McKervey, M. A. *New J. Chem.* **1991**, *15*, 33. (c) Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Leeson, P. B.; Ogden, M. L. *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.* **1995**, 1273. (d) Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Kan, M.; Leeson, P. B.; Ogden, M. L.; Williams, G. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 2202. (e) Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Grieve, A.;

Kan, M.; Leeson, P. B.; Nicholson, G.; Ogden, M. L.; Williams, G. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 1117. (f) Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Leeson, P. B.; Ogden, M. L. *Inorg. Chem. Acta* **1996**, *246*, 133.
[54] Cecioni, S.; Lalor, R.; Blanchard, B.; Praly, J-P.; Imberty, A.; Matthews, S. E.; Vidal, S. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 13232.
[55] (a) Galante, E.; Geraci, C.; Sciuto, S.; Campo, V. L.; Carvalho, I.; Sesti-Costa, R.; Guedes, P. M. M.; Silva, J. S.; Hill, L.; Nepogodiev, S. A.; Field, R. A. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5902. (b) Fiore, M.; Chambery, A.; Marra, A.; Dondoni, A. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3910.
[56] Garska, B.; Tabatabai, M.; Ritter, H. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 784.
[57] Chen, X.;Dings, R. P. M.; Nesmelova, I.; Debbert, S.; Haseman, J. R.; Maxwell, J.; Hoye, T. R.; Mayo, K. H. *J. Med. Chem.* **2006,** *49,* 7754.
[58] Morales-Sanfrutos, J.; Ortega-Muñoz, M.; Lopez-Jaramillo, J.; Hernandez-Mateo, F.; Santoyo-Gonzalez, F. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7768.
[59] Chang, K.-C., Su, I.-H., Lee, G.-H., Chung, W.-S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7274.
[60] Wang, N. J., Sun, C. M., Chung, W.-S. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 8131.
[61] Chang, K.-C., Su, I.-H., Wang, Y.-Y., Chung, W.-S. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *24*, 4700.
[62] (a) Pathak, R. K., Dikundwar, A. G., Row, T. N. G., Rao, C. P. *Chem. Commun*. **2010**, *46*, 4345. (b) Pathak, R. K., Hinge, V. K., Mondal, M., Rao, C. P. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10039.
[63] Park, S. Y., Yoon, J. H., Hong, C. S., Souane, R., Kim, J. S., Matthews, S. E., Vicens, J. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8212.
[64] Li, H., Zhan, J., Chen, M., Tian, D., Zou, Z. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, *66*, 43.
[65] Kim, J. S., Park, S. Y., Kim, S. H., Thuery, P., Souane, R., Matthews, S. E., Vicens, J. *Bull. Korean Chem. Soc*. **2010**, *31*, 624.
[66] Asfari, Z.; Bilyk, A.; Bond, C.; Harrowfield, J. M.; Koutsantonis, G. A.; Lengkeek, N.; Mocerino, M.; Skelton, B. W.; Sobolev, A. N.; Strano, S.; Vicens, J.; White, A. H. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 387.
[67] (a) Malkoch, M.; Schleicher, K.; Drockenmuller, E.; Hawker, C. J.; Russell , T. P.; Wu, P.; Fokin, V. V. *Macromolecules* **2005**, *38*, 3663. (b) Sá, M. M.; Ramos, M. D.; Fernandesm, L. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11652.
[68] Calestani, G.; Ugozzoli, F.; Arduini, A.; Ghidini, E.; Ungaro, R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987** , *5*, 344.
[69] Ryu, E.-H.; Zhao, Y. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1035.
[70] Umezawa, Y.; Bühlmann, P.; Umezawa, K.; Tohda, K.; Amemiya, S. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1851. (Technical Report)
[71] (a) Di Marco, V. B.; Bombi, G. G. *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 347.
(b) Daniel, J. M.; Friess, S. D.; Rajagopalan, S.; Wendt, S.; Zenobi, R. *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, *216*, 1.
(c) Veenstra, T. D. *Biophys. Chem.* **1999**, *79*, 63.
(d) Brodbelt, J. S. *J. Mass Spectrom.* **2000**, *200*, 57.
(e) Loo, J. A. *Mass Spectrom. Rev.* **1997**, *16*, 1.
(f) Wang, K.; Gokel, G. W. *Pure & Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1267.
[72] (a) Leize, E.; Jaffrezic, A.; Van Dorsselaer, A. *J. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 537.
(b) Blair, S. M.; Kempen, E. C.; Brodbelt, J. S. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1998**, *9*, 1049.
(c) Rosu, F.; De Pauw, E; Gabelica, V. *Biochimie* **2008**, *90*, 1074.
(d) Rosu, F.; Gabelica, V.; Claude, H.; De Pauw, E. *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, e82.
(e) Wang, W.; Kitova, E. N.; Klassen, J. S. *Anal. Chem.* **2003,** *75*, 4945.
(f) Révész, Á.; Schröder, D.; Svec, J.; Wimmerova, M.; Sindelar, V. *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 11378.

[73] Schröder, D.; Weiske, T.; Schwarz, H. *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, *219*, 729.

[74] Özcubukcu, S.; Ozkal, E.; Jimeno, C.; Pericás, M. A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4680.

[75] Szigeti, Zs.; Bitter, I.; Tóth, K.; Latkoczy, C.; Fliegel, D.J.; Günther, D.; Pretsch, E. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *532*, 129.

[76] (a) Gutsche, C. D.; Iqbal, M.; Nam, K. S.; See, K.; Alam, I. *Pure Appl. Chem*. **1988**, *60*, 483. (b) Gutsche, C. D. In *Host Guest Complex ChemistrylMacrocycles*; Springer-Verlag: Berlin, 1985; p 375. (c) Gutsche, C. D. in *Calixarenes*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1989. (d) Shinkai, S. *Pure Appl. Chem.* **1986**, *58*, 1523. (e) Shinkai, S. *Bioorg. Chem. Front.* **1990**, *1*, 161.

[77] (a) Gutsche, C. D. *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 161. (b) Gutsche, C. D. In *Synthesis of Macrocycles: The Design of Selective Complexing Agents*; Izatt, R. M., Chiristensen, J. J. Eds.; John Wiley & Sons: New York, 1987; p 93.

[78] Iwamoto, K.; Araki, K.; Shinkai, S. *J. Org. Chem*. **1991**, *56*, 4955.

[79] (a) Gutsche, C. D.; Dhawan, B.; Levine, J. A.; No, K. H.; Bauer, L. J. *Tetrahedron* **1983**, *39*, 409. (b) Gutsche, C. D.; Bauer, L. J. *J. Am. Chem. Soc* **1986**, *107*, 6059. (c) Bocchi, V.; Foina, D.; Pochini, A.; Ungaro, U. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 373. (d) Araki, K.; Iwamoto, K.; Shinkai, S.; Matsuda, T. *Chem. Lett.* **1989**, 1747. (e) Shinkai, S.; Otauka, T.; Fujimoto, K.; Matsuda, T. *Chem. Lett.* **1990**, 835.

[80] Iqbal, M.; Mangiafico, T.; Gutsche, C. D. *Tetrahedron* **1987**, *43,* 4917.

[81] Grün Alajos: Kalix[4]arén ionoforok szintézise (PhD értekezés), BME Szerves Kémiai Technológia Tanszék, 1999, Budapest.

[82] (a) Gutsche, C. D. *Calixarenes: Revisited* Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1998, p 69. (b) Gutsche, C. D. *Calixarenes: An Introduction,* 2. kiadás, Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2008, p 101. (Mindkét könyv részletei elérhetőek online a GoogleBooks-on keresztül.)

[83] Guelzim, A.; Khrifi, S.; Baert, F.; Loeber, C.; Asfari, Z.; Matt, D.; Vicens, J. *Acta Crystallogr*. **1993**, *C49*, 72.

[84] Kang, S. O.; Chun, K. C. Nam *Bull. Korean Chem. Soc.* **2000**, 21, 167.

[85] Nam, K. C.; Kang, S. O.; Ki, Y. J. *Supramolecular Chemistry*, **2002**, *14*, 503.

[86] Danila, C.; Böhmer, V.; Bolte, M. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3,* 3508.

[87] Jaguar v7.8 [Jaguar, version 7.8, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2011.].

[88] Atkins, P.; Paula, J. de *Atkins' Physical chemistry.* 8th ed., W. H. Freeman and Company, New York, 2006.

[89] Brunel, J. M. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 857. Update 1: *Chem. Rev.* **2007**, *107*, PR1–PR45

[90] Chen, Y.; Yakta, S.; Yudin, A. K. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3155.

[91] Kočovsky, P.; Viskočil, Š.; Smrčina, M. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3213.

[92] Brussee, J.; Jansen A. C. A. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3261.

[93] Tavana, M.; Montazeri, N.; Imanzadeh, G. *Asian J. Chem.* **2011**, *23*, 3097.

[94] Cai, D.; Hughes, D. L.; Verhoeven, T. R.; Reider, P. J. in *Organic Syntheses Coll.* Vol. 10, p. 93; Vol. 76, p. 1.

[95] Kameda, M.; Maruoka, K.; Ooi, T. *J. Am. Chem. Soc.,* **2003**, *125*, 5139.

[96] Park, Y. S.; Grove, C. I.; Gonzalez-Lopez, M.; Urgaonkar, S.; Fettinger, J. C.; Shaw, J. T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 3730.

[97] Korostylev, A.; Tararov, V. I.; Fischer, C.; Monsees, A.; Boerner, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3220.

[98] Izatt, R. M.; Zhu, C. Y.; Huszthy, P.; Bradshaw, J. S. Enantiomeric Recognition in Macrocycle-Primary Ammonium Cation System In *Crown Compounds: Toward Future Applications*; Cooper, S. R., Ed.; VCH: New York, 1992. Chapter 12.

[99] Kyba, E. B.; Koga, K.; Sousa, L. R.; Siegel, M. G.; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 2692.
[100] Cram, D. J.; Sogah, G. D. Y. *J. Chem. Soc. Chem. Commun*. **1981**, 625.
[101] Cram, D. J.; Sogah, G. D. Y. *J. Am. Chem. Soc*. **1985**, *107*, 8301.
[102] Kubo, Y. *Synlett* **1999**, 161.
[103] Bitter, I.; Kőszegi, É.; Grün, A.; Bakó, P.; Pál, K.; Grofcsik, A.; Kubinyi, M.; Balázs, B.; Tóth, G. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1025.
[104] Kim, K.S.; Jun, E.J.; Kim, S.K.; Choi, H.J.; Yoo, J.; Lee, C-H.; Hyun, M.H.; Yoon, J. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2481.
[105] Grossbard, E.; Atkinson, D. (Eds.): *The Herbicide Glyphosate*, Butterworth, London, **1985**.
[106] Abdel-Meguid, S. S.; Zhao, B.; Murthy, K. H. M.; Winborne, E.; Choi, J. K.; DesJarlais, R. L.; Minnich, M. D.; Culp, J. S.; Debouck, C. *Biochemistry* **1993**, *32*, 7972.
[107] Rozenfeld, R.; Iturrioz, X.; Okada, M.; Maigret, B.; Llorens-Cortes, C. *Biochemistry* **2003**, *42*, 14785.
[108] Atherton, F. R.; Hassall, C. H.; Lambert, R. W. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 29.
[109] Xu, Y.; Yan, K.; Song, B.; Yang, G. S.; Xue, W.; Hu, D.; Lu, P.; Ouyang, G.; Jin, L.; Chen,, Z. *Molecules* **2006**, *11*, 666.
[110] Boojamra, C. G. *et al.* US Patent No.US7452901 B2 2008.nov.18.
[111] Pham Truong Son előkészületben levő PhD értekezése, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék
[112] Jászay, Zs.; Németh, G.; Pham, T. S.; Petneházy, I.; Grün A.; Tőke, L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 3837.
[113] Jászay, Zs.; Pham, T. S.; Németh, G.; Bakó, P.; Petneházy, I.; Tőke, L. *Synlett* **2009**, 1429.
[114] Grün, A.; Kőszegi, É.; Bitter, I. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5041.
[115] Kim, K. S.; Jun, E. J.; Kim, S. K.; Choi, H. J.; Yoo, J.; Lee, C-H.; Hyun, M. H.; Yoon, J. *Tetrahedron Lett*. **2007**, *48*, 2481.
[116] Lamani, M.; Prabhu, K. R. *Angew. Chem., Int. Ed.,* **2010**, *49*, 6622.