

—— Tudományos Diákköri Dolgozat ——

SEBŐ ANNA

Kék tartományban emittáló Luciferin származékok szintézise

Témavezető: Dr. Kele Péter
MTA-TTK, Szerves Kémiai Intézet



—— Eötvös Loránd Tudományegyetem ——
—— Természettudományi Kar ——

— Budapest, 2013 —

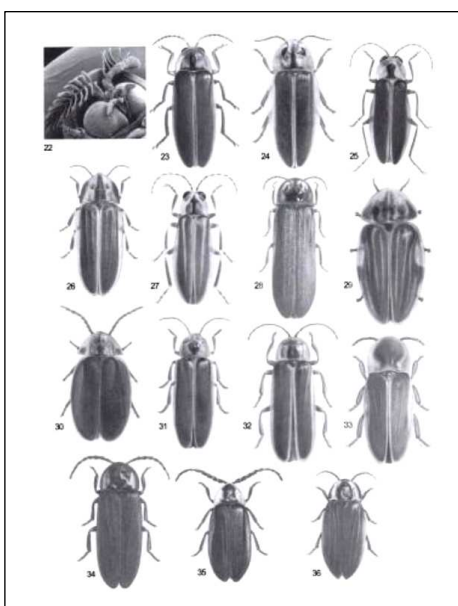
Tartalomjegyzék

1. Bevezető	3
2. Elméleti bevezetés	5
2.1. Biolumineszcencia.....	5
2.2. Luciferin-luciferáz	6
2.3. Luciferinszármazékok.....	8
3. Célkitűzések.....	9
4. Saját eredmények	10
4.1 Rövidítések.....	10
4.2. Szintézisek	11
4.3. Fluoreszcens vizsgálatok	13
5. Kísérleti rész	15
5.1. Általános rész	15
5.2. Vegyületek szintézise	15
6. Összefoglalás, távlati tervek	19
7. Köszönetnyilvánítás	20
8. Irodalomjegyzék	21
9. Ábrajegyzék	22

1. Bevezető

Az élőlényekben biokémiai reakció hatására történő fénykibocsátást biolumineszcenciának nevezzük. A természetben ez a jelenség több élőhelyen és több rendszertani csoportban is előfordul. Találunk világító fajokat a tengeri halak, medúzák, eukarióta egysejtűek, baktériumok, de a szárazföldi gombák vagy a rovarok körében is. Ebbe az utóbbi csoportba tartoznak a mindenki által ismert és tudományosan (kémijukat és zoológiájukat tekintve is) sokat kutatott

szentjánosbogár-félék családja (*Lampyridae*) [1] (1 ábra).



1. ábra Észak-Amerikai *Lampyridae* fajok

A biolumineszcencia jelenségének alapja minden esetben egy olyan biokémiai folyamat, amely során a gyűjtőnevükön luciferineknek nevezett vegyületek katalitikus oxidációja következik be. A folyamatot katalizáló enzimeket nevezik luciferázoknak.

Munkám során céлом az volt, hogy ezekhez a természetben is előforduló luciferinekhez hasonló mesterséges származékokat

állítsak elő. A szintetizált termék natív vegyülettől való eltérésének az szab határt, hogy a felhasználhatóság miatt fontos követelmény, hogy az előállított vegyület a természetes luciferáz enzimnek szubsztrátja legyen.

Kémiailag az eddig leggyakrabban tanulmányozott rendszer egy észak-amerikai szentjánosbogár faj, a közönséges északi szentjánosbogár (*Photinus pyralis* L. 1767.) luciferin-luciferáz rendszere. Munkám során olyan luciferin szintézisét kívánom megoldani, amely ennek a fajnak a luciferáz enzimjével aktiválható. Munkám újszerűsége, hogy az irodalomban eddig közölt származékok nagy része a természetes luciferin biolumineszcenciájának a vörös tartomány felé történő eltolódását eredményezték.

Általában véve a luciferineknek, így az általam előállított vegyületeknek is az ad nagy molekuláris biológiai jelentőséget, hogy az ily módon történő fluoreszcens jelölésnek számos előnye van, a fényvel való gerjesztésen alapuló, fluoreszcens módszerrel szemben. Mivel a biolumineszcencia során nincs szükség külső fényforrásra a gerjesztéshez, minimálisra

csökken az élő szervezetekben fellelhető fluoreszcens vegyületek gerjesztése (autofluoreszcencia), így kiváló jel-zaj arány érhető el. A külső fényforrás hiányából adódóan továbbá a fotodegradációs folyamatok (photobleaching) is hátrébe szorulnak.

Munkám során három biolumineszcens vegyület előállítására volt a célom.



2. ábra Biolumineszcens jelenségek a természetben

2. Elméleti bevezetés

2.1. Biolumineszcencia

A biolumineszcencia olyan jelenség, amely során egy biokémia reakció lejátszódása közben a felszabaduló energia nagy része, nem hő, hanem fény formájában kerül kisugárzásra. A jelenség során a luciferin oxidációja történik és eközben gerjesztett állapotú molekula keletkezik. Ez képes fényt kibocsátani, miközben alapállapotú terméket kapunk.

A biolumineszcencia jelenségét már az ókor óta megfigyelték és tanulmányozták. Az ókori Görögországból fennmaradtak feljegyzések a jelenség megfigyeléséről. Már Arisztotelész is felismerte, hogy az így keletkező fény eltérő az égési folyamatokban keletkezőktől, mert úgynevezett „hideg fény”. A biolumineszcencia jelentősége az élővilágban igen sokféle: találunk fajokat, amelyek táplálékszerzésre (pl. mélytengeri horgászhalak), a ragadozó megzavarására (pl. egyes rákfajok biolumineszcens festéket bocsátanak a vízbe, amely megzavarja a támadót) vagy rejtőzködésre (egy hal hasoldala ezüstösen csillog, így az alulról támadó ragadozó számára a hal beleolvad a felülről jövő fénybe) használják a fénykibocsátást. A legismertebb példa talán mégis az, amely a szentjánosbogár-félék családjában fordul elő, ezeknél a fajoknál a párok egymásra találását teszi lehetővé a biolumineszcencia. A szentjánosbogarak esetében azonban nemcsak az imágók, de a lárvák, bábok és peték is bocsátanak ki fényt, de ezek biológiai funkciója kevésbé ismert. A világítás hullámhossza és a felvillanások mintázata fajokra jellemző. [2][3]

Raphaël Dubois, francia gyógyszerész, aki 1887-ben tanulmányozta a jelenséget, kísérletei alapján megállapította, hogy a biolumineszcenciához kétféle vegyület szükséges. Az egyik vegyület egy hőstabil szerves vegyület, ami a jelenség során oxidálódik, a másik pedig egy hőre elbomló enzim, amely katalizálja a folyamatot. Ezt úgy mutatta ki, hogy két részre osztotta a Pholas kagylóból kivont biolumineszcens anyagot. Az egyik részletben megvárta, hogy lejátszódjon a reakció, a másik részletet pedig forrásig melegítette. Melegítés hatására a fényjelenség megszűnt. Majd ezt az oldatot hozzáadta a hideg oldathoz és újra tapasztalta a lumineszcenciát. A kísérletben eltérő tulajdonságokat mutató vegyületeket lucifeineknek és luciferázoknak nevezték el. A vegyületek neve a lucifer szóból származik, aminek a jelentése „fényhozó”. [2]

A kemilumineszcencia a biolumineszcenciához hasonló jelenség, csak ebben az esetben nem biokémiai reakció során keletkezik fény, hanem egy élő szervezetekhez nem köthető kémiai reakció során. Érdekes különbség, hogy amíg a biolumineszcencia esetén a Φ (kvantumhasznosítási tényező: emittált fotonok száma/oxidálódott molekulák száma) az egységnyihez közelít, addig a szokványos kemilumineszcenciás reakciók esetében csak 0,01 körüli. A biolumineszcencia 10-12 perc alatt éri el intenzitásának csúcsát, és kb. egy óra alatt szűnik meg.[4]

A biolumineszcencia jelensége laboratóriumban jól tanulmányozott jelenség. Legfőképpen az amerikai szentjánosbogár luciferin-luciferáz rendszerét vizsgálták igen részletesen. Több olyan vizsgálat is történt, amelyben különböző luciferin szubsztárokat állítottak elő, hogy a keletkező fény hullámhossza eltérő legyen. Az eddig az irodalomból megismert módosítások főként csak olyan változtatásokat jelentettek, amelyek azt eredményezték, hogy az eredeti zöld szín helyett vörös felé tolódott el a kisugárzott fény hullámhossza. Ellenkező irányú, a kék tartomány felé történő eltolódásra csak igen kevés példa található a szakirodalomban annak ellenére, hogy többszörös jelölési módszereknél a látható fény spektrumának teljes lefedése lenne kívánatos.

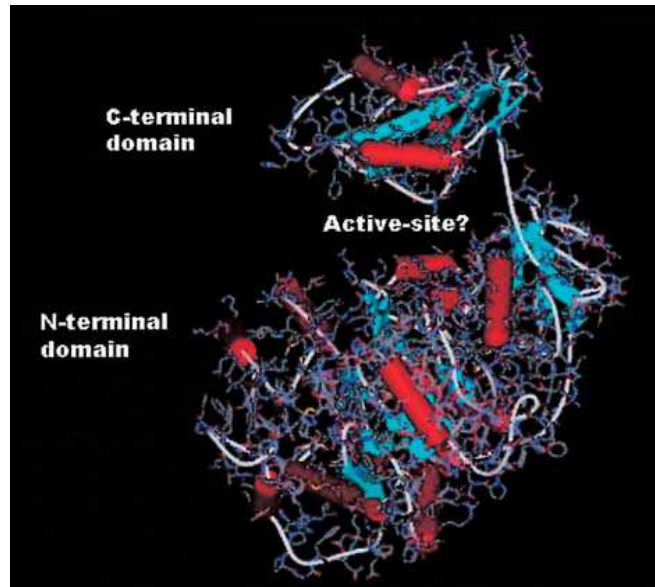
A biolumineszcens festékekkel való festés több dologból is előnyös. Ilyen festékeket a biokémiai gyakorlatban az 1990-es évektől használnak. Alkalmazzák őket például génextpresszió nyomon követésére és ATP mennyiségének meghatározására. Mint azt a bevezetőben is kiemeltem, a biolumineszcencia alkalmazásával olyan festésekre nyílik lehetőség, amelynek esetében a gerjesztő fény hiányából adódóan, autofluoreszcencia és fotodegradáció mentes jelölési eljárás válik lehetővé. [5][6][7]

2.2. Luciferin-luciferáz

A címben említett enzim-szubsztrát kölcsönhatás következtében lejátszódó oxidáció során bekövetkezett lumineszcens fény hullámhossza 510 és 670 nanométer közötti (zöld – sárga - vörös). [8]

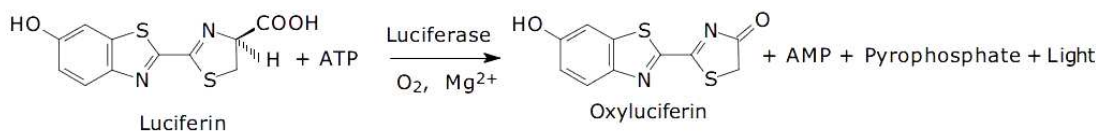
A természetben többféle luciferin és luciferáz enzim előfordul. A laboratóriumban leggyakrabban használt biolumineszcens rendszer az észak-amerikai szentjánosbogár luciferin-luciferáz reakcióján alapul. Ennek az enzimének szerkezete a 3. ábrán látható. Az

enzimmel nem csak a természetes szubsztrát oxidációja katalizálható, hanem az előállított módosulatoké is.



3. ábra A szentjánosbogár luciferáz szerkezete [3]

A luciferinek heterociklusos vegyületek, amelyek segítségével létrejöhet a biolumineszcencia. Az észak-amerikai szentjánosbogár esetén ennek a szerkezete és oxidációja a 4. ábrán látható. A natív luciferin az (S)-2-(6'-hidroxi-2'-benztiazol)-2-tiazolin-4-karbonsav. A vegyület ATP, Mg^{2+} és megfelelő luciferáz enzim jelenlétében oxoluciferinné oxidálódik a biolumineszcens reakció során. A vegyület a 4-es C atomon található karboxil csoporttal kapcsolódik az enzimhez, ezért ez nélkülözhetetlen a származékok esetében is. [5]

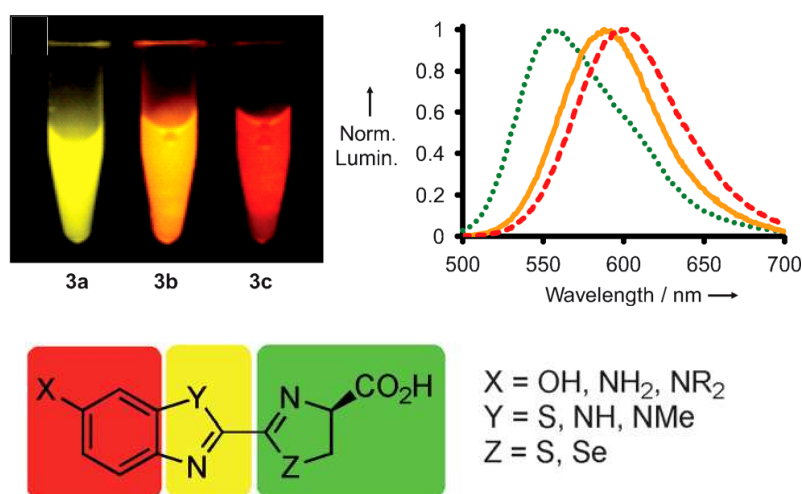


4. ábra A luciferin oxidációja [5]

2.3. Luciferinszármazékok

Az általam végzett szintézisek során háromféle luciferin származékot állítottam elő. Ezek az anyagok, mivel kapcsolódni képesek a luciferázzal, megtalálható bennük a karboxil csoport a megfelelő szénatomon, szintén biolumineszcens vegyületek, de eltérő színnel biolumineszkálnak.

A luciferin molekula két fő modulból, egy benzotiazol és egy tiazolin egységből épül fel (5. ábra). Vizsgálatok kimutatták, hogy a luciferáz enzim általi felismeréshez a karboxil-csoport mellett a tiazolin rész elengedhetetlen, így ezt a modult konzervatív, kevésbé variálható egységként kell kezelnünk. A szakirodalomban csak olyan korlátozott módosításokra találunk példát a tiazolin egységre vonatkozóan, ahol a kénatomot szelénnel helyettesítették. E módosítás egyébként a spektrum vörös tartomány felé történő eltolódását eredményezte [9]. A benzotiazol egység egyéb aromás rendszerekkel történő helyettesítésére sokkal több példát találunk.[10][11]

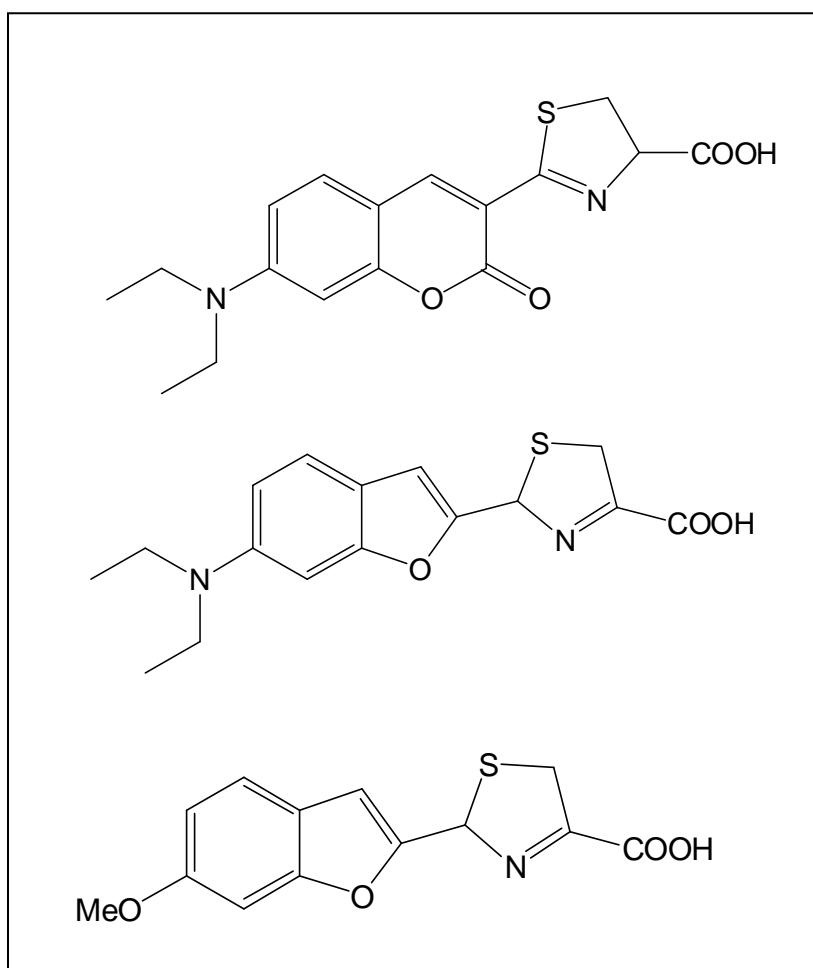


5. ábra Luciferin származékok

3. Célkitűzések

Munkám során három luciferinszármazékot terveztem előállítani. Ezek a szerkezete a 6. ábrán látható. Olyan vegyületek előállítása volt a cél melyek, a spektrum kék tartományában emittálnak. A célvegyületek szerkezetéből látszik, hogy az eredeti tiazolin egység megtartása mellett a benzotiazol modul kumarinnal, illetve benzofuránnal történő cseréjét terveztem.

A szintéziseket követően ugyancsak terveztem az előállított vegyületek fluoreszcens és biolumineszcens jellemzését is.



6. ábra A három szintetizált luciferinszármazék szerkezete

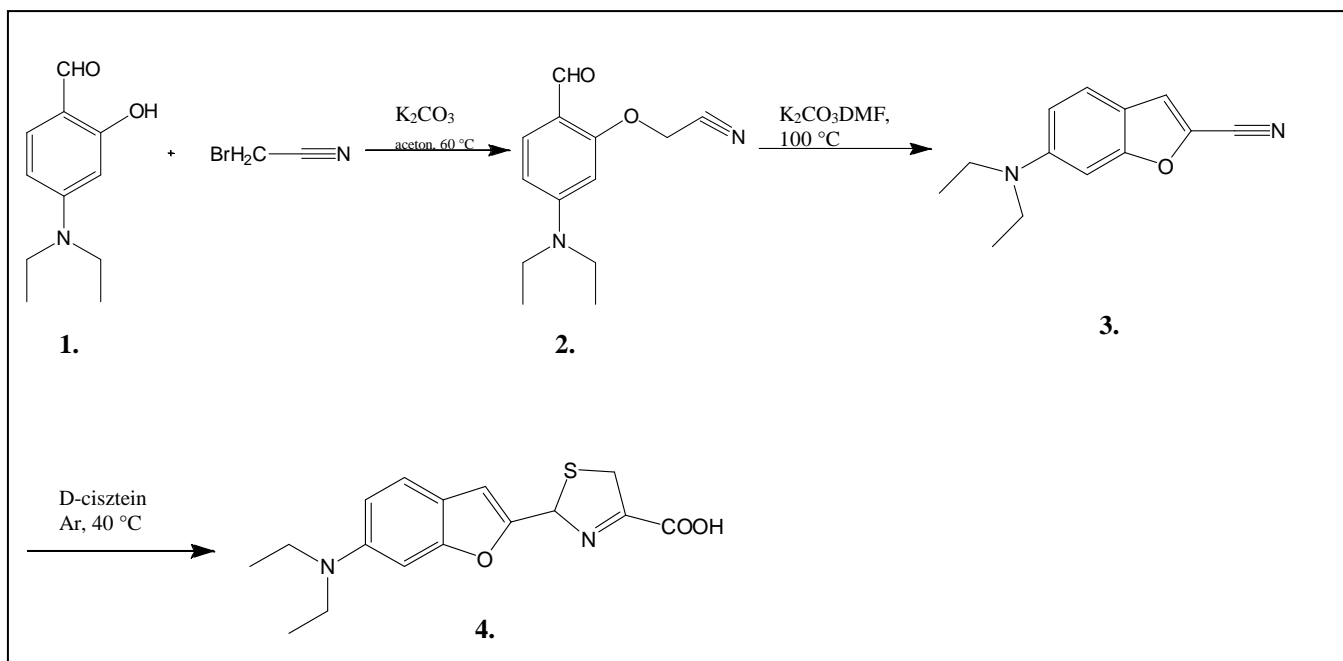
4. Saját eredmények

4.1 Rövidítések

DCM	diklór-metán
DMF	N,N-dimetil-formamid
DMSO	dimetil-szulfoxid
EtOAc	etil-acetát
HPLC	nagy hatékonyságú folyadék kromatográfia
Me	metil csoport
VRK	vékonyréteg kromatográfia

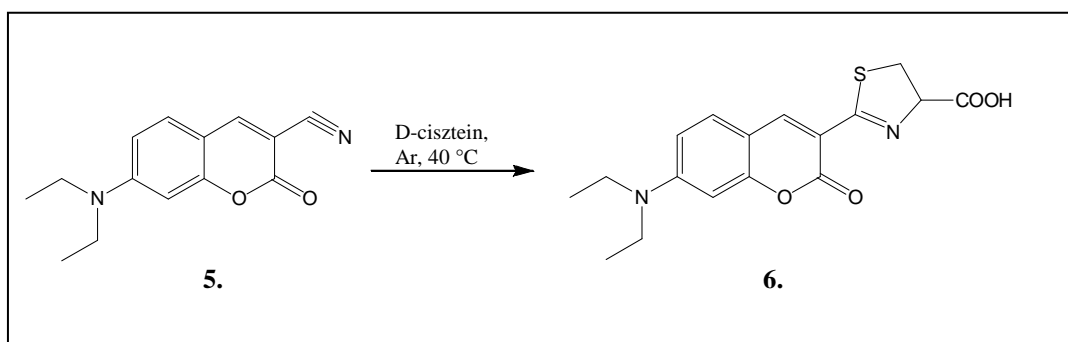
4.2. Szintézisek

Az első luciferinszármazék előállításához először az **1.** vegyületet reagáltattam bróm-acetonitrillel.[12] A keletkező vegyületből (**2.**) gyűrűzárásos reakcióval kaptam meg a **3.** anyagot.[13][14][15] Ezt reagáltattam D-ciszteinnel és így kaptam meg az első luciferinszármazékot (**4.**). (7. ábra)[16]



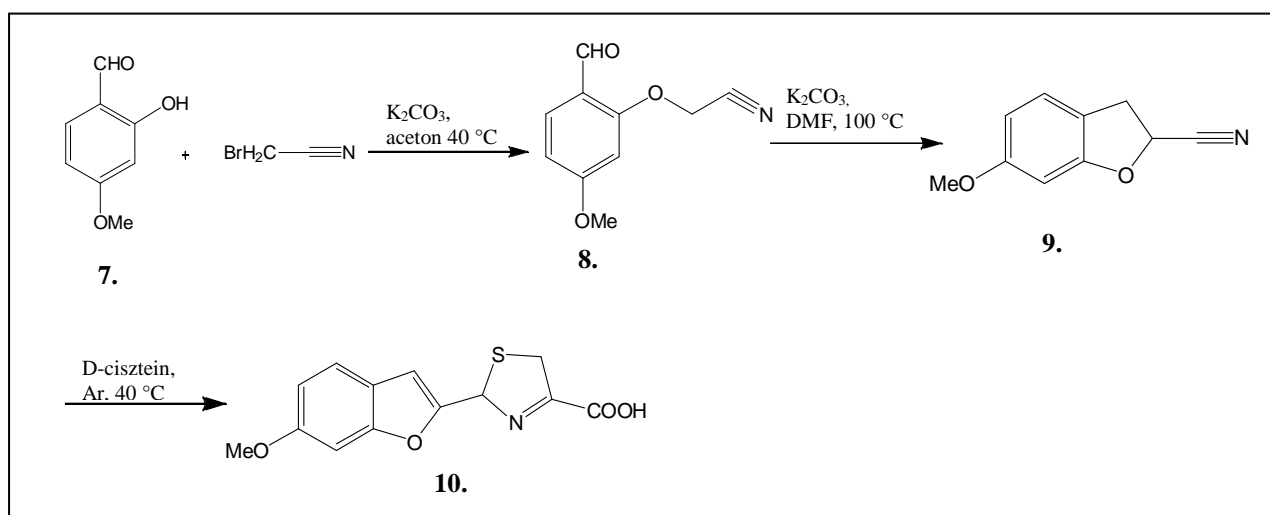
7. ábra a **4.** vegyület szintézise

A második luciferin származék előállításához az **5.** vegyületet reagáltattam D-ciszteinnel. (8. ábra) [16]



8. ábra a **6.** vegyület szintézise

A harmadik luciferinszármazék előállításához először a **7.** anyagot reagáltattam bróm-acetonitrillel.[12] A keletkező vegyületekből (**8.**) gyűrűzárásos reakcióval kaptam meg a **9.** molekulát. [13][14][15] Ezt reagáltattam D-ciszteinnel és így kaptam meg a harmadik luciferin származékot (**10.**). (9. ábra)[16]



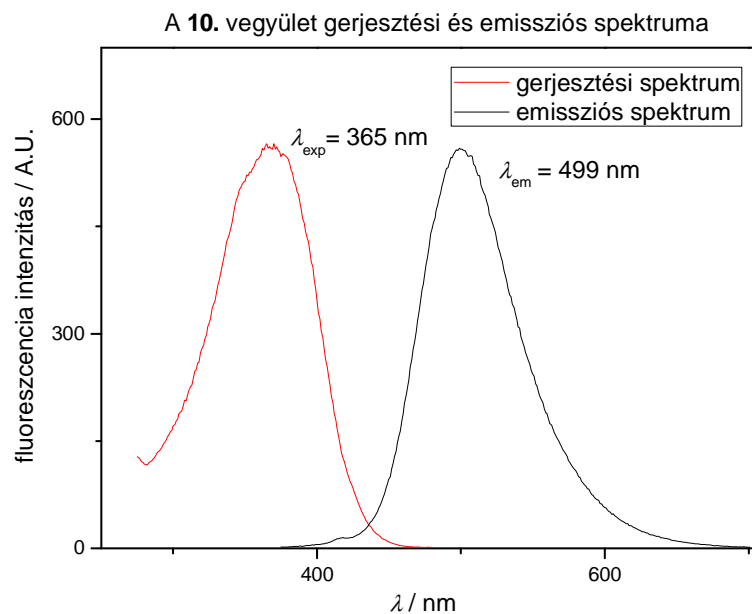
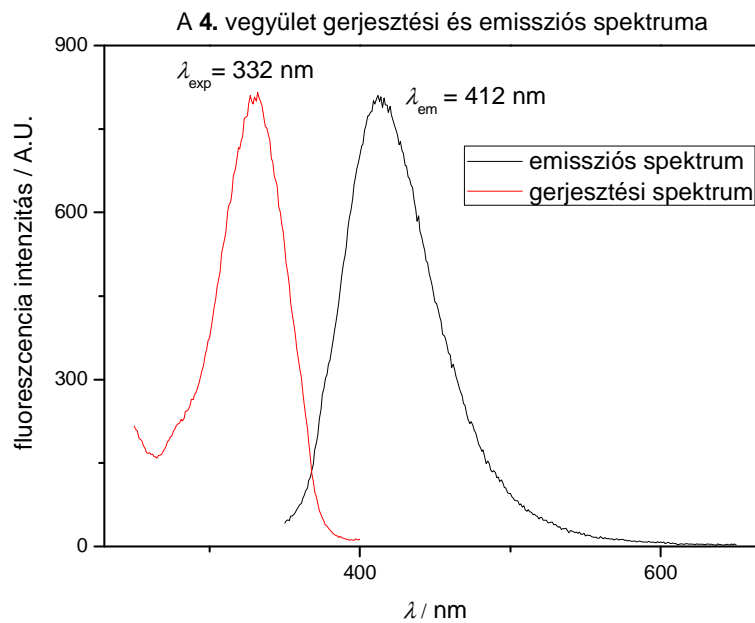
9. ábra a **10.** vegyület szintézise

4.3. Fluoreszcens vizsgálatok

Az előállított kettő vegyület esetében felvettük a gerjesztési és az emissziós spektrumokat és megállapítottuk a jellemző hullámhosszokat (λ_{exp} és λ_{em}). (1. táblázat)

	4.	10.
$\lambda_{\text{exp}} / \text{nm}$	365	332
$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	499	412

1. táblázat: 4. és 10. anyagok gerjesztési és emissziós maximumai



10. ábra: A gerjesztési és emissziós spektrumok, a fluoreszcencia intenzitása a hullámhossz függvényében

A mérések alapján megállapítható, hogy az előállított vegyületek gerjesztési és emissziós spektruma az eredeti luciferinhez képest a kék tartomány felé tolódott el.

5. Kísérleti rész

5.1. Általános rész

A reakció során a Sigma-Aldrich és Fluka vegyszereit használtam külön tisztítás nélkül. A **6.** vegyület előállításához használt **5.** anyagot Cserép Gergely szintetizálta. A VRK vizsgálatokhoz Merck TLC Silica gel 60 F₂₅₄ lapot használtam, az oszlopkromatográfiához (0,040-0,063 mm-) szilika gélt a Merck-től.

A ¹H NMR méréseket Bruker DRX-250 spektrométeren végeztem. A kémiai eltolódásokat (δ) ppm-ben az oldószerhez viszonyítva, a csatolási állandót (J) Hz-ben adtam meg. A jelfelhasadások esetében a használt rövidítések: s (szinglett), d (dublett), t (triplett), q (kvintett) és m (multiplett). A spektrofotometriás méréseket egy Varia Eclipses spektrofluoriméteren végeztem.

5.2. Vegyületek szintézise

A **2.** vegyület előállításához 0,484 g (2,5 mmol) **1.** anyagot refluxáltattam 0,360 g (3,0 mmol) bróm-acetonitrillel 4,5 ml acetonban 4 órán át 0,485 g K₂CO₃ jelenlétében. A reakció lejátszódását VKR-val követtem. A kapott oldathoz 10 ml EtOAc-t és 10 ml NaHCO₃ oldatot adtam, majd rázótolcsérrel elválasztottam a fázisokat. A vizes fázist 3x 3ml EtOAc-al mostam, majd a szerves fázisokat egyesítettem és 10 ml NaCl-el mostam. A termék a szerves fázisban volt. A kapott terméket VRK-n hexán-EtOAc (5:1, 1:1) és DCM-metanol (30:1) elegyekkel vizsgáltam. Az R_f értékekből megállapítottam, hogy az oszlopkromatográfias tisztításhoz a legalkalmasabb a hexán-EtOAc elegy. Ebben az esetben a termék R_f értéke 0,48, a kiindulási anyagé R_f 0,84. Az elegyet szilika gélen hexán-EtOAc 1:1 arányú elegyével tisztítottam, majd a megfelelő frakciókat egyesítettem. Az oldószert rotációs vákuumbepárlón elhajtottam. Ekkor 0,409 g piszkosfehér anyagot kaptam. (70,3%-os kitermelés). A reakciót később újra megismételtem, ekkor szintén 2,5 mmol **1.**-ből 3,0 mmol bróm-acetonitrillel, a már leírtak szerint dolgoztam fel a terméket. Ez esetben 0,285 g anyagot kaptam (57 %-os kitermelés). ¹H NMR: δ 10,04 (s, 1H), 7,72 (d, $J = 9$, 1H), 6,41 (dd, $J = 2,2$ $J = 8,9$, 1H), 6,15

(d, $J = 2,2$ 1H), 4,88 (s, 2H), 3,45 (q, $J = 7,2$ 4H); 1,25 (t, $J = 7,2$ 6H); ^{13}C NMR: 186,7; 161,0; 154,0; 132,4; 115,3; 114,9; 106,7; 95,3; 54,5; 45,4; 12,9.

A **3.** vegyülethez 0,409 g (1,7 mmol) **2**-t és 0,337 g (2,4 mmol) K_2CO_3 -at reagáltattam 2 órán keresztül 17 ml DMF-ben 100 °C-on. A reakciót VRK-val követtem hexán-EtOAc 1:1 elegyet használva eluensként. A termékről az oldószert eltávolítottam és hexán-EtOAc eluenst használva szilikagélen tisztítottam. Ekkor 0,200 g sárgászöld olajos terméket kaptam (53%-os kitermelés). A reakciót később megismételtem, ekkor 0,285 g **2**-ből és 0,235 g K_2CO_3 -ből indultam ki. A tisztítás az előzőekhez hasonlóan végeztem és 0,151 g terméket kaptam (57%-os kitermelés). ^1H NMR: δ 7,38 (d, $J = 9$ 1H), 7,26 (s, 1H), 6,76 (dd, $J = 2,2$ $J = 8,9$, 1H), 6,64 (s, 1H), 3,40 (q, $J = 7,1$ 4H); 1,21 (t, $J = 7,1$ 6H); ^{13}C NMR: 159,1; 149,7; 124,3; 123,3; 119,5; 114,7; 113,5; 111,6; 93,1; 45,5; 12,3

A **4.** vegyület előállításához 18,8 mg (0,093 mmol) **3.** reagáltattam 49,45 mg (0,28 mmol) D-cisztein hidrokloriddal 24 órán keresztül 40 °C-on argon atmoszférában sötétben. A **3.** -t 40 ml etanolban oldottam, majd hozzáadtam argon atmoszférában a D-cisztein vizes oldatát (5 ml vízben oldva) 0,5 M-os K_2CO_3 -al pH = 8-ra beállítva. A termékünk nem futtatható jól VRK-n csak nBu:jégecet:víz 4:1:1 arányú elegyében, a termék ebben az esetben a kék színnel fluoreszkáló folt lett. A feldolgozás során a termék feléhez 20 ml vizet és 1 ml 2 M-os NaOH-oldatot adtam és az elegyet 2x50 ml EtOAc-al kiráztam, a vizes fázist savval semlegesítettem kb. pH=5-6-ra és az így kapott elegyet ismét 3x 50 ml EtOAc-al extraháltam. Ezt a termék másik felével is megismételtem. Az így kapott anyagot DCM:metanol 9:1 arányú elegyében futtattam VRK-n ebből megállapítható, hogy a termék R_f értéke nagyon kicsi de eltér a többi szennyezőtől, így oszlopkromatográfiával DCM:metanol 9:1 arányú elegyében tisztítottam a terméket. 5,44 mg sárga színű szilárd terméket kaptam (ez 18,3%-os kitermelést jelent). A fluoreszcens vizsgálatokhoz a termékből DMSO-ban oldatot készítettem. Így a további vizsgálatokhoz még szükség volt a vegyület újbóli előállítására. Ehhez 19 mg (0,0933 mmol) **3.** reagáltattam 50,2 mg (0,28 mmol) D-cisztein hidrokloriddal a fent leírt módon. A **3.** 40 ml etanolban, a D-ciszteint pedig 5 ml vízben oldottam. A kapott terméket a későbbiekben majd HPLC-vel fogom tisztítani. Az NMR spektrumok kiértékelése még folyamatban van.

A **6.** vegyület előállításához 24,2 mg (0,098 mmol) **5.** reagáltattam 53 mg (0,30 mmol) D-cisztein hidrokloriddal. A **5.** 40 ml etanolban oldottam, majd hozzáadtam argon

atmoszférában a D-cisztein vizes oldatát (5 ml vízben oldva) 0,5 M-os K_2CO_3 -al pH = 8- ra beállítva. A **4.** vegyület tisztításához hasonlóan tisztítottam. A tisztítás után 6,541 mg élénksárga szilárd terméket kaptam (19,6%-os kitermelés). A termékünk nem futtatható jól VRK-n csak n-Bu:jégecet:víz 4:1:1 arányú elegyében, a termék ebben az esetben a zöldeskék színnel fluoreszkáló folt lett. A fluoreszcens vizsgálatokhoz a termékből DMSO-ban oldatot készítettem. Így a további vizsgálatokhoz még szükség van a vegyület ismételt előállítására. Ehhez 25 mg (0,099 mmol) **5.** reagáltattam 65 mg (0,37 mmol) D- cisztein hidrokloriddal reagáltattam a fent leírt módon. A kapott terméket a későbbiekben majd HPLC-vel fogom tisztítani. Az NMR spektrumok kiértékelése még folyamatban van.

Az **8.** vegyület előállításához 0,398 g (2,6 mmol) **7.** reagáltattam 0,2 ml (3,1 mmol) bróm-acetonitrillel, 4,8 ml acetonban 3 órán át, reflux hőmérsékleten 0,542 g K_2CO_3 jelenlétében. A reakció lejátszódását VKR-val követtem. Az eluens hexán-EtOAc 1:1 arányú elegye volt, ebben az esetben a termékünk R_f értéke 0,5, a kiindulási anyagé 0,714. A tisztítást az első vegyülethez hasonlóan végeztem először extrakcióval, majd az oldószer eltávolítása után oszlopkromatográfiás tisztással. A reakció végén 0,377 g fehér szilárd anyagot kaptam (75,4%-os kitermelés). 1H NMR: δ 10,23 (s, 1H), 7,86 (d, $J = 9$, 1H), 6,687 (dd, $J = 2,4$ $J = 9$, 1H), 6,53 (d, $J = 2,2$ 1H), 4,89 (s, 2H), 3,89 (s, 1H); ^{13}C NMR: 187,0; 165,7; 159,8; 131,6; 119,9; 114,3; 108,2; 99,2; 55,8; 53,9.

A **9.** vegyület előállításához 0,377 g (1,9 mmol) **8.**-t oldottam 19 ml DMF-ben és $100^\circ C$ -on 2 órán keresztül reagáltattam 0,377 g (2,7 mmol) K_2CO_3 -al. A reakciót VRK-val követtem hexán-EtOAc 1:1 elegyet használva eluensként. A termékről az oldószert eltávolítottam és hexán-EtOAc eluents használva szilikagélen tisztítottam. Ekkor 0,220 g halványsárga szilárd terméket kaptam (65,6%-os kitermelés). 1H NMR: δ 7,36 (m, 1H), 7,25 (s, 1H), 6,85 (m, 2H), 3,75 (s, 3H); ^{13}C NMR: 161,4; 157,1; 126,7; 123,2; 119,1; 118,8; 115,4; 112,7; 95,8; 56,0.

A **10.** vegyület előállításához 22,0 mg (0,127 mmol) **9.** reagáltattam 66,93 mg (0,381 mmol) D-cisztein hidrokloriddal 24 órán keresztül $40^\circ C$ -on argon atmoszférában sötétben. A **9.** 40 ml etanolban oldottam, majd hozzáadtam argon atmoszférában a D-cisztein vizes oldatát

(6 ml vízben oldva) 0,5 M-os K_2CO_3 -al pH = 8- ra beállítva. A kapott vegyületet a **3**-hoz hasonlóan tisztítottam. A tisztítás után 7,200 mg halványsárga szilárd terméket kaptam (20,4%-os kitermelés). A termék kék színnel fluoreszkált. A fluoreszcens vizsgálatához a terméket DMSO-ban oldottam. Így a további vizsgálatokhoz még szükség van a vegyület előállítására. Ehhez 18 mg (0,104 mmol) **9**. reagáltattam 55,3 mg (0,313 mmol) D-cisztein hidrokloriddal reagáltattam a fent leírt módon. A kapott terméket a későbbiekben HPLC-vel fogom tisztítani. Az NMR spektrumok kiértékelése még folyamatban van.

6. Összefoglalás, távlati tervek

A laboratóriumi munkám során sikerült előállítani a három luciferin származékot. Ezekről megállapítottam, hogy fénnel való gerjesztés hatására, valóban az eredeti szentjánosbogár luciferinhez és az eddig szintetizált származékokhoz képest a látható spektrum kék tartományában fluoreszkálnak.

A továbbiakban tervezem mindhárom vegyület teljes karakterizálását és biolumineszcens jellemzését. Ezeket a vizsgálatokat elvégezve az előállított vegyületek alkalmasak lehetnek a jövőben különböző, biolumineszcencián alapuló biológiai képalkotó eljárásokban történő felhasználásra.

7. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Kele Péternek, hogy felhívta a figyelmemet a lumineszens reakciók szépségére, majd lehetőséget adott rá, hogy részt vegyek a biolumineszcens vegyületek kutatásban is. A laboratóriumi munkában nyújtott segítségért a kutatócsoport összes tagjának, különösképpen Cserép Gergelynek, Demeter Orsolyának és Herner Andrásnak.

8. Irodalomjegyzék

- [1] **J. Lloyd**, Lampyridae, in R. H. Arnett, JR, M. C. Thomas, P. E. Skelley, J. H. Frank (ed.): American Beetles: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea, tom. 2. CRC Press, **2002**, 187-197.
- [2] **J. Lee**, *Journal of Siberian Federal University*, **2008**, 3, 194-205
- [3] **V. R. Viviani**, *Cell. Mol. Life Sci* **2002**. 59 1833–1850
- [4] **G. Meroni**, M. Rajabi, E. Santaniello, *Arkivoc*, **2009**, 1, 265-288
- [5] **A. Roda**, M. Guardigli, E. Michelini, M. Mirasoli, P. Pasini, *Anal. Chem.* **2003**, 11., 462A-470A
- [6] **H. Spielmann**, et al., *Anal Bioch.* **1981**, 113, 172-178
- [7] **A. Roda**, M. Guardigli, E. Michelini, M. Mirasoli, *Trends Anal. Chem.* **2009**, 28, 307-308
- [8] **N. Thorne**, J. Inglese, and D. S. Auldm, *Chem. & Bio.* **2010**
- [9] **N. R. Conley**, A. Dragulescu-Andrasi, J. Rao, and W. E. Moerner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 3350 –3353
- [10] **Y. Q. Sun**, J. Liu, P. Wang, J. Zhang, W. Guo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 8428 – 8430
- [11] **M. Isobe**, H. Takahashi, K. Usami, M. Hattori, Y. Nishigohri, *Pure & Appl. Chem.* **1994** Vol. 66, No. 4, pp. 765-772.
- [12] **M. Hirose**, M. Okaniwa, T. Miyazaki, T. Imada, T. Ohashi, Y. Tanaka, T. Arita, M. Yabuki, T. Kawamoto, S. Tsutsumi, A. Sumita, T. Takagi, B.-C. Sang, J. Yano, K. Aertgeerts, S. Yoshida, T. Ishikawa, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**. 20. 5600-5615
- [13] **T. Hirota**, Hiroko Fujita, Kenji Sasaki, Tetsuto Namba, Shohei Hayakawa, *J. Heterocyclic Chem.* **1986** 23, 1347 – 1351
- [14] **W. Zhou**, W. Chena, L. Wang, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 4172
- [15] **J. Lee**, S. P. Khanapure, H. Kim, R. (S. B.) Rajur, B. Li, J. D. Williams, R. Pai, N. P. Peet, *Synthetic Communications*, **2010**, 40: 3390–3396,

[16] **H. Takakura**, K. Sasakura, T. Ueno, Y. Urano, T. Terai, K. Hanaoka, T. Tsuboi, T. Nagano, *Chem. Asian J.* **2010**, 5, 2053 – 2061 (luciferinszármazékszintézis)

9. Ábrajegyzék

1. ábra: Észak-Amerikai Lampyridae fajok : **J. Lloyd**, *Lampyridae*, in R. H. Arnett, JR, M. C. Thomas, P. E. Skelley, J. H. Frank (ed.): *American Beetles: Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea*, tom. 2. CRC Press, **2002**, 187-197.

2. ábra: Biolumineszcens jelenségek a természetben: www.firefly.org, www.origo.hu, www.erdekesvilag.hu

3. ábra: A szentjánosbogár luciferáz szerkezete: **V. R. Viviani**, *Cell. Mol. Life Sci* **2002**. 59 1833–1850

4. ábra: a luciferin oxidációja : **A. Roda**, M. Guardigli, E. Michelini, M. Mirasoli, P. Pasini, *Anal. Chem.* **2003**, 11., 462A-470A

5. ábra: Luciferin származékok

6. ábra: A három szintetizált luciferinszármazék szerkezete

7. ábra: A 4. vegyület szintézise

8. ábra: A 6. vegyület szintézise

9. ábra: A 10. vegyület szintézise

10. ábra: Az gerjesztési és emissziós spektrumok