



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **1-Fenil-1*H*-pirazolo darinių sintezė ir optinių savybių tyrimai**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Gabrielė Varvuolytė**

Projekto autorė

**M.d. dr. Neringa Kleizienė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **1-Fenil-1*H*-pirazolo darinių sintezė ir optinių savybių tyrimai**

Baigiamasis magistro projektas

Taikomoji chemija (6211CX014)

---

**Gabrielė Varvuolytė**

Projekto autorė

**M.d. dr. Neringa Kleizienė**

Vadovė

**Doc. dr. Joana Solovjova**

Recenzentė

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Gabrielė Varvuolytė

## **1-Fenil-1*H*-pirazolo darinių sintezė ir optinių savybių tyrimai**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Gabrielės Varvuolytės, baigiamasis projektas tema „1-Fenil-1*H*-pirazolo darinių sintezė ir optinių savybių tyrimai“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

Gabrielė Varvuolytė

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Varvuolytė, Gabrielė. 1-Fenil-1*H*-pirazolo darinių sintezė ir optinių savybių tyrimai. Magistro baigiamasis projektas / vadovė m.d. dr. Neringa Kleizienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: pirazolas, 3*H*-indolas, heterociklai, fluorescencija.

Kaunas, 2020. 53 p.

### Santrauka

Pirazolas yra penkianaris heterociklinis junginys su dviem gretimais azoto atomais. Vienas iš pirazolo azoto atomų yra piridino tipo, o kitas – pirolo tipo. Egzistuoja daug 1-fenil-1*H*-pirazolo darinių, kurie yra svarbūs farmacijoje, t. y. turintys antibakterinį aktyvumą, priešuždegiminį, priešgrybelinį, priešvėžinį, prieškirmėlinį poveikį. Tačiau iki dabar mokslinėje literatūroje nėra aprašyti tokie mažamolekuliniai 1-fenil-1*H*-pirazolo dariniai, kurie galėtų būti pritaikomi fotodinaminei terapijai.

Šio magistro baigiamojo darbo tikslas buvo susintetinti naujus 1-fenil- ir 1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolo darinius su metoksietoksi- arba metoksipakaitu 3-ioje pirazolo žiedo padėtyje iš komerciškai prieinamų junginių (4-metoksifenil)hidrazino hidroklorido ir 1-fenil-3-hidroksi-1*H*-pirazolo. Iš (4-metoksifenil)hidrazino hidroklorido per dvi stadijas susintetintas 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1*H*-pirazolas.

Vykdam alkilavimo, Vilsmeier-Haack'o formilavimo ir Wittig'o reakcijas, iš pradinių 3-hidroksi-1*H*-pirazolų buvo gauti 4-etenil-3-alkoksi-1-fenil- ir 4-etenil-3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolai. Pastebėta, jog atliekant Vilsmeier-Haack'o formilavimo reakciją su 3-(2-metoksietoksi)-1*H*-pirazolais 70 °C temperatūroje, pasišalina metoksigrupė ir susidaro 3-(2-chloretoksi)-1*H*-pirazol-4-karbaldehidai kaip šalutiniai produktai. Galiausiai, paladžio katalizuojamos Heck'o reakcijos metu iš 4-etenil-1*H*-pirazolų ir jau žinomo junginio 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolo susintetinti keturi 5-[(*E*)-2-(3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)etenil]- ir 5-[(*E*)-2-[3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolo dariniai. Visų naujų junginių struktūros įrodytos 1D, 2D BMR, FT-IR, HRMS duomenimis.

Ištirus 5-[(*E*)-2-(3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)etenil]- ir 5-[(*E*)-2-[3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolo darinių praskiestų tirpalų tetrahidrofurane optines savybes nustatyta, jog šių junginių fluorescencijos kvantinės išeigos yra 71–80 % intervale, o jų Stokso poslinkiai yra dideli (101–105 nm). Galutiniai fluorescuojantys pirazolo-indolo dariniai bus išsiųsti į Palacký universitetą (Čekijos respublika) fotodinaminio aktyvumo tyrimams.

Varvuolytė, Gabrielė. Synthesis of 1-Phenyl-1*H*-pyrazole Derivatives and Investigation of Optical Properties. Master's Final Degree Project / supervisor research assistant dr. Neringa Kleizienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: pyrazole, 3*H*-indole, heterocycles, fluorescence.

Kaunas, 2020. 53 pages.

### Summary

Pyrazole is a five-membered heterocyclic compound that contains two adjacent nitrogen atoms. One of the nitrogen atoms in the pyrazole ring is pyridine-like, whereas the second nitrogen atom is considered pyrrolic. There is a large number of 1-phenyl-1*H*-pyrazole derivatives that are useful in pharmacy because they possess antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, anticancer, anthelmintic activities. However, small-molecule 1-phenyl-1*H*-pyrazole derivatives that could be suitable for photodynamic therapy have not been described in the scientific literature to date.

The aim of this master's final degree project was to synthesize new 1-phenyl- and 1-(4-methoxyphenyl)-1*H*-pyrazole derivatives with methoxyethoxy or methoxy substituents in the 3-position of the pyrazole ring from commercially available compounds (4-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride and 1-phenyl-3-hydroxy-1*H*-pyrazole. 1-(4-methoxyphenyl)-3-hydroxy-1*H*-pyrazole was obtained from (4-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride in two steps.

Subsequent alkylation, Vilsmeier-Haack formylation and Wittig reactions gave rise to 4-ethenyl-3-alkoxy-1-phenyl- and 4-ethenyl-3-alkoxy-1-(4-methoxyphenyl)-1*H*-pyrazoles from aforementioned 3-hydroxy-1*H*-pyrazoles. Also, it was determined that 3-(2-chloroethoxy)-1*H*-pyrazole-4-carbaldehydes form as side products upon cleavage of methoxy group in 3-(2-methoxyethoxy)-1*H*-pyrazoles when Vilsmeier-Haack formylation is conducted at 70 °C. Lastly, 4-ethenyl-1*H*-pyrazoles were coupled with known compound 5-iodo-3,3-dimethyl-2-phenyl-3*H*-indole under palladium-catalysed Heck reaction conditions to yield four new 5-[(*E*)-2-(3-alkoxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethenyl]- and 5-[(*E*)-2-[3-alkoxy-1-(4-methoxyphenyl)-1*H*-pyrazol-4-yl]ethenyl]-3,3-dimethyl-2-phenyl-3*H*-indoles. The structures of all new compounds were elucidated by 1D, 2D NMR, FT-IR, HRMS data.

Upon investigation of the optical properties of 5-[(*E*)-2-(3-alkoxy-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethenyl]- and 5-[(*E*)-2-[3-alkoxy-1-(4-methoxyphenyl)-1*H*-pyrazol-4-yl]ethenyl]-3,3-dimethyl-2-phenyl-3*H*-indoles dissolved in dilute tetrahydrofuran solutions, it was observed that the fluorescence quantum yields of the compounds are in the range of 71-80%, and they also possess large Stokes shifts (101-105 nm). The target fluorescent pyrazole-indole derivatives will be sent to Palacký university (Czech Republic) for investigation of their photodynamic activity.

## Turinys

Santrumpų sąrašas .....	7
Įvadas.....	8
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>9</b>
1.1. Mažamolekuliniai fluoroforai .....	9
1.2. Fluoroforų fotoblyškimo mechanizmas .....	15
1.3. Fotodinaminės terapijos mechanizmas.....	16
1.4. 3 <i>H</i> -indolo dariniai fotodinaminei terapijai.....	18
<b>2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....</b>	<b>21</b>
2.1. 1-(4-metoksifenil)pirazolidin-3-onas ( <b>2b</b> ) .....	21
2.2. 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>3b</b> ).....	22
2.2.1. Bendra junginių <b>4b–d</b> sintezės metodika .....	23
2.3. 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>4b</b> ) .....	23
2.4. 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>4c</b> ).....	24
2.5. 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>4d</b> ).....	24
2.5.1. Bendra junginių <b>5b–d</b> sintezės metodika .....	25
2.6. 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidas ( <b>5b</b> ).....	25
2.7. 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidas ( <b>5c</b> ) .....	26
2.8. 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-karbaldehidas ( <b>5d</b> ) .....	27
2.8.1. Bendra junginių <b>6a–d</b> sintezės metodika .....	27
2.9. 4-etenil-3-metoksi-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>6a</b> ).....	28
2.10. 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>6b</b> ).....	29
2.11. 4-etenil-3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>6c</b> ) .....	29
2.12. 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazolas ( <b>6d</b> ) .....	30
2.12.1. Bendra junginių <b>8a–d</b> sintezės metodika .....	31
2.13. 5-[( <i>E</i> )-2-(3-(metoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3 <i>H</i> -indolas ( <b>8a</b> ).....	31
2.14. 5-[( <i>E</i> )-2-[3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3 <i>H</i> -indolas ( <b>8b</b> ).....	32
2.15. 5-[( <i>E</i> )-2-[3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3 <i>H</i> -indolas ( <b>8c</b> ).....	33
2.16. 5-[( <i>E</i> )-2-[3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3 <i>H</i> -indolas ( <b>8d</b> ) .....	33
<b>3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>35</b>
3.1. Tarpinių junginių sintezė.....	35
3.2. Galutinių junginių sintezė .....	41
3.3. Optinių savybių tyrimai.....	46
<b>Išvados .....</b>	<b>50</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>51</b>

## Santrumpų sąrašas

Å – angstremai;

ATR – visiškas vidaus atspindys (angl. *attenuated total reflection*);

BMR – branduolių magnetinis rezonansas;

CDCl<sub>3</sub> – deuteriuotas chloroformas;

cm<sup>-1</sup> – atvirkštiniai centimetrai;

d – dubletas;

dd – dubleto dubletas;

ESI-TOF – elektropurkštuvinė jonizacija-skriejimo trukmė (angl. *electrospray ionization-time of flight*);

FT-IR – Furjė transformacinė infraraudonoji spektroskopija (angl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*);

HRMS – didelės skyros masių spektrometrija (angl. *high-resolution mass spectrometry*);

m – multipletas;

m.d. – milijoninės dalys;

*m/z* – masės ir krūvio santykis;

nm – nanometras;

Ph – fenilo žiedas;

ppm – milijoninės dalys (angl. *parts per million*);

ps – platus singletas;

r.t. – kambario temperatūra (angl. *room temperature*);

R<sub>f</sub> – sulaikymo rodiklis (angl. *retardation factor*);

s – singletas;

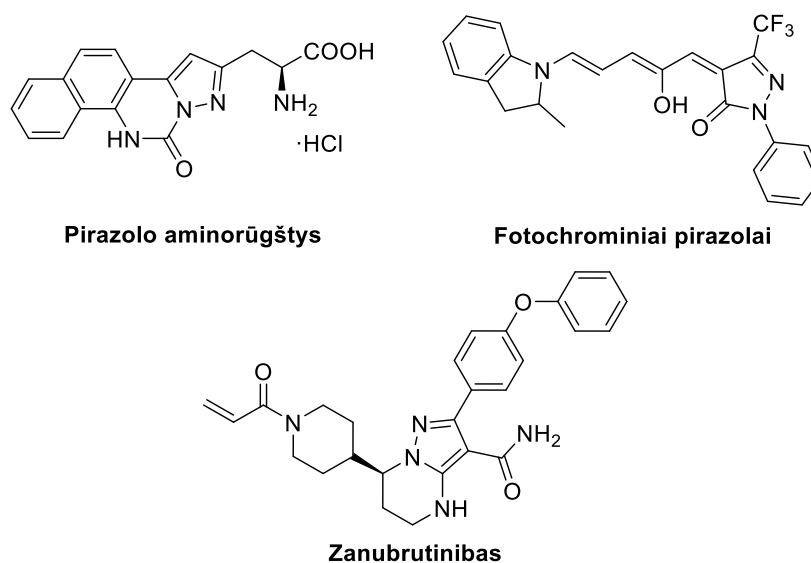
t – tripletas;

δ – cheminis poslinkis;

v – bangos skaičius.

## Įvadas

Junginiai, į kurių struktūras įeina penkianaris pirazolo žiedas, neretai pasižymi biologiniu aktyvumu arba fluorescencija, fotochromizmu. Pavyzdžiui, konformaciškai suvaržytos fluorescuojančios pirazolo aminorūgštys ir peptidai gali būti pritaikomi biologiniam vaizdinimui, o fotochrominiai pirazolo dariniai (žr. 1 pav.) pasižymi greita fotoizomerizacija [1-3]. Pirazolo fragmentą turinčius junginius erdafitinibą ir zanubrutinibą JAV maisto ir vaistų administracija (FDA) patvirtino naudojimui medicinoje įvairių formų vėžiui gydyti [4, 5]. Todėl dabartinėje organinėje chemijoje priešvėžinį aktyvumą turinčių junginių ir fluoroforų su pirazolo heterociklu sintezė iki šiol yra svarbus uždavinys. Reikėtų paminėti tai, jog 1-fenil- ir 1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolo darinių fluorescencinės savybės ir tokių junginių pritaikymo galimybės fotodinaminėje terapijoje, kurios pagalba minimaliai invaziniu būdu gydomas odos arba kitų organų vėžys, nėra plačiai iširtos.



1 pav. Pirazolo dariniai

Darbo tikslas – susintetinti naujus pirazolo-indolo darinius, kaip pradines medžiagas naudojant įvairiai pakeistus 1-fenil- arba 1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolus, ir iširti jų optines savybes su tikslu šiuos junginius panaudoti fotodinaminei terapijai.

Darbo uždaviniai:

1. atlikti 3-hidroksi-1*H*-pirazolų alkilimo, Vilsmeier-Haack'o formilimo, Wittig'o reakcijas, siekiant gauti 4-etenil-3-alkoksi-1*H*-pirazolus;
2. įvykdyti paladžio katalizuojamą Heck'o reakciją tarp 4-etenil-3-alkoksi-1*H*-pirazolo darinių ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolo ir tokiu būdu gauti pirazolo-indolo darinius;
3. įrodyti junginių struktūras 1D, 2D BMR, HRMS, IR spektroskopijos metodais;
4. iširti ir įvertinti gautų pirazolo-indolo darinių optines savybes praskiestuose tetrahidrofurano tirpaluose.

Naujumas – iš 3-hidroksi-1*H*-pirazolų buvo susintetinti nauji 4-etenil-1*H*-pirazolo dariniai su metoksi- arba metoksietoksifragmentais 3-ioje pirazolo žiedo padėtyje. Jie buvo panaudoti paladžio katalizuojamoje Heck'o reakcijoje su 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolu, kurios metu gauti nauji pirazolo-indolo dariniai su ilga konjuguota  $\pi$ -elektronų sistema pasižymi našia fluorescencija ir taip pat yra potencialūs fotosensibilizatoriai fotodinaminei terapijai.



## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1. Mažamolekuliniai fluoroforai

Pagrindinės fluoroforų charakteristikos:

- sugerties maksimumas,  $\lambda_{\max}$ ;
- emisijos maksimumas,  $\lambda_{\text{em}}$ ;
- molinis silpimo koeficientas (angl. *molar attenuation coefficient*),  $\epsilon$ ;
- fluorescencijos kvantinė išeiga,  $\Phi$ .

Norint panaudoti fluoroforus biologiniuose eksperimentuose, reikėtų atsižvelgti į šias fluoroforų savybes – jų tirpumą vandenyje (idealiu atveju fluoroforai turi gerai tirpti vandenyje), polinkį į agregaciją vandeniniuose tirpaluose (t. y. fluoroforai neturi sudaryti agregatų), taip pat ir jų fotobleškinimo (angl. *photobleaching*) greitį.

*In vivo* (gyvųjų organizmų) biologiniam vaizdinimui svarbu, kad fluoroforai sugertų ir išspinduliuotų 650–900 nm bangos ilgio šviesą. Šioje elektromagnetinių bangų spektro dalyje yra vadinamasis audinių optinio skaidrumo langas. Audinių sugertis, jų savitoji fluorescencija ir šviesos išsklaidymas optinio skaidrumo lange sumažėja.

Be to, derėtų atkreipti dėmesį į fluoroforų Stokso poslinkį vandeniniuose tirpaluose (t. y. skirtumą tarp sugerties ir emisijos maksimumų) ir jų ryškumą (angl. *brightness*) – molinio silpimo koeficiento  $\epsilon$  ir fluorescencijos kvantinės išeigos  $\Phi$  sandaugą.

Mažamolekulinius fluoroforus galima suskirstyti į keletą klasių:

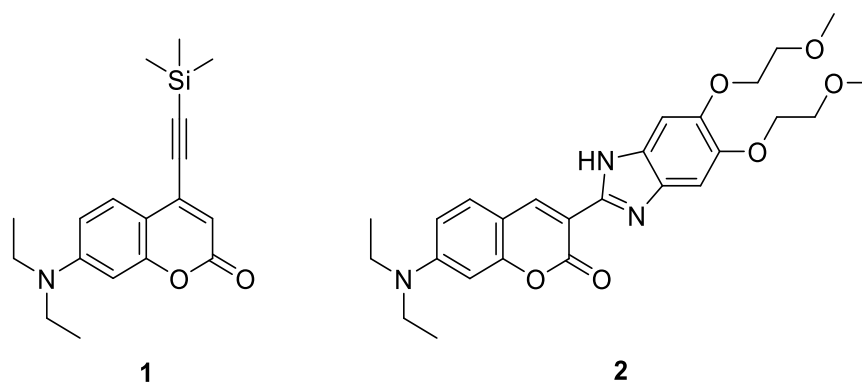
- kumarinai (angl. *coumarins*);
- BODIPY dažikliai;
- fluoresceinas ir jo dariniai;
- rodaminai (angl. *rhodamines*);
- fenoksazino dariniai (angl. *phenoxazines*);
- cianininiai dažikliai (angl. *cyanines*).

Kumarinai, kurie 7-oje padėtyje turi heteroatomą (pavyzdžiui, azoto atomą) yra plačiai naudojami kaip fluoroforai. Kumarinų fluorescencija priklauso nuo prie molekulės prijungtų pakaitų, pavyzdžiui, alkilinant arba acilinant hidroksi- arba aminokumarinus, mažėja fluorescencijos kvantinė išeiga, o emisijos maksimumas pasislenka hipsochromiškai [6].

T. J. J. Müller'io mokslinėje grupėje susintetinti kumarinai, kurie 7-oje padėtyje turi dietilamino fragmentą, o 4-oje padėtyje įvairius alkinilpakaitus. Išmatuota, jog junginio **1** (žr. 1.1 pav.) fluorescencijos kvantinė išeiga  $\Phi_f$  dichlormetane siekė 0,94 [7].

Siekiant pagerinti 7-dietilaminokumarinų tirpumą vandenyje arba padaryti įtaką jų optinėms savybėms ir molekulių savitvarkai (angl. *self-assembly*), į šio tipo junginių struktūras galima įvesti metoksietoksigrupes (junginys **2**, žr. 1.1 pav.). Nustatyta, kad kai dvi metoksietoksigrupės yra *orto*-padėtyje, kumarino fluorescencija kietojoje būsenoje (angl. *solid-state fluorescence*) labai suintensyvėja, t. y. gaunama aukšta fluorescencijos kvantinė išeiga ( $\Phi_f = 0,76$ ). Priešingai, šioms

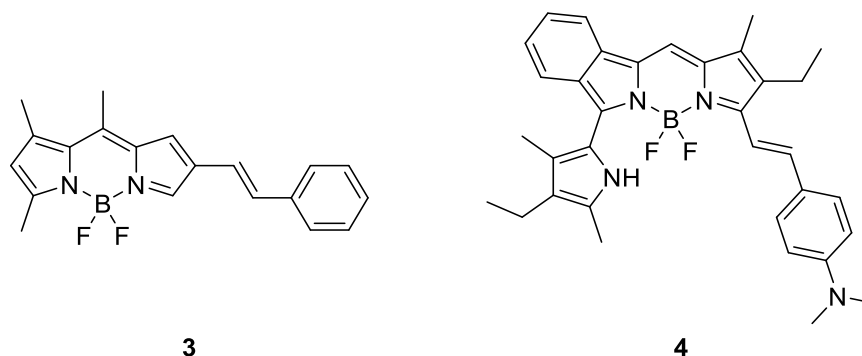
grupėms esant *para*-padėtyje, pagerėja kumarino fluorescencija tirpaluose, o fluorescencijos kvantinė išeiga kietojoje fazėje sumažėja [8].



1.1 pav. 7-dietilaminokumarinai

BODIPY (4,4-difluor-4-bora-3*a*4*a*-diazas-indaceno) fluoroforai turi du pirolo žiedus, tarpusavyje sujungtus metino (=CH-) tilteliu ir sudarančius kompleksą su boro atomu. BODIPY dažikliai įprastai gaunami pirmiausia vykdant pirolo kondensaciją su aldehydais, jos metu susidariusį tarpinį junginį – dipirometaną – oksiduojant ir jį galiausiai paveikiant boro trifluoridu.

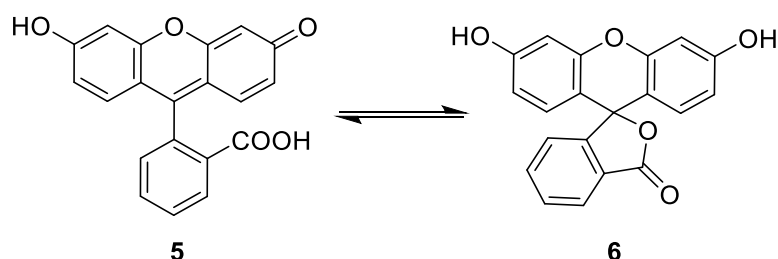
BODIPY dažikliai dažniausiai pasižymi intensyvia sugertimi ir fluorescencija regimosios šviesos srityje, aukštomis fluorescencijos kvantinėmis išeigomis, foto- ir cheminiu stabilumu. Šios optinės savybės nesudėtingai modifikuojamos, prijungiant įvairius pakaitus prie pirolo žiedų. Tokie modifikuoti BODIPY fluoroforai yra labiau tinkami *in vivo* biologiniam vaizdinimui nei paprastesnės struktūros BODIPY dažikliai [6]. Pavyzdžiui, BODIPY dažiklio su fenilpakaitu 8-oje padėtyje fluorescencijos kvantinė išeiga yra daug mažesnė nei dažiklių, turinčių fenilpakaitą 2-oje arba 3-ioje padėtyje. Stokso poslinkiai didėja, prijungus fenil- arba feniletilpakaitus į 2-ąją dažiklio padėtį (junginys **3**, žr. 1.2 pav.), o etenilpakaitai 3-ioje dažiklio padėtyje sukelia sugerties maksimumo batochrominį poslinkį [9]. Pakeitus vieną iš pirolo žiedų izoindolu, gaunami tokie BODIPY dažikliai, kurie fluorescuoja raudonojoje regimojo spektro srityje (junginys **4**, žr. 1.2 pav.). Vykdamas Knoevenagel'io kondensaciją su izoindolo BODIPY dariniais, emisijos maksimumą galima dar labiau paslinkti batochromiškai – į artimąją infraraudonųjų spindulių sritį [10].



1.2 pav. BODIPY dažikliai

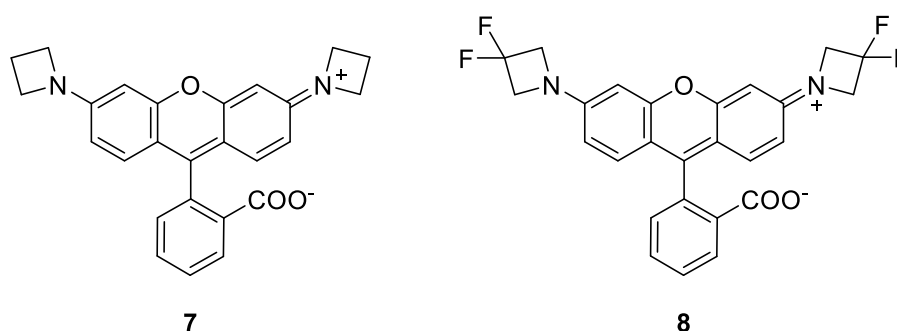
Fluoresceinas **5** vis dar yra plačiai naudojamas biologijoje ir biochemijoje dėl nesudėtingos sintezės ir gerų optinių savybių (aukšta fluorescencijos kvantinė išeiga  $\Phi = 0,95$  ir aukštas molinis silpimo koeficientas  $\epsilon = 9,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Fluoresceinui arba jo dariniams yra būdinga pusiausvyra tarp

dviejų formų – atviros chinoidinės formos (fluorescuojanti) ir uždaros laktono formos **6** (nefluorescuojanti). Vandeniiniuose tirpaluose vyrauja atvira fluoresceino forma (žr. 1.3 pav.).



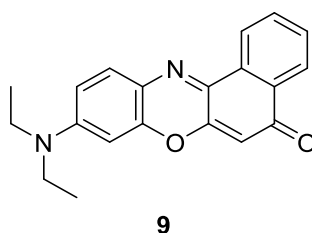
**1.3 pav.** Pusiausvyra tarp atviros ir uždaros fluoresceino formos

Rodaminai skiriasi nuo fluoresceino darinių tuo, kad vietoje hidroksigrupių turi aminogrupes [6]. L. D. Lavis'o mokslinėje grupėje buvo susintetinti nauji rodaminio dariniai su azetidino fragmentais. Jie pasižymi dvigubai aukštesnėmis fluorescencijos kvantinėmis išeigomis nei iki dabar plačiai naudojami *N,N*-dimetilaminogrupes turintys rodaminai. Azetidino fragmentus turintis rodaminas **7** pavadintas JF<sub>549</sub>, nes jo sugerties maksimumas  $\lambda_{\max} = 549$  nm (žr. 1.4 pav.). Prijungus 3-fluor- arba 3,3-difluorazetidino fragmentus, sugertis pasislenka hipsochromiškai, lyginant su rodaminu **7**. 3,3-Difluorazetidino fragmentus turinčio rodaminio **8** (arba kitaip JF<sub>525</sub>) sugerties maksimumas  $\lambda_{\max}$  yra lygus 525 nm [11, 12].



**1.4 pav.** Rodaminai su azetidino fragmentais

Fenoksazino darinio Nilo raudonojo **9** (angl. *Nile red*) emisijos maksimumas, arba retais atvejais fluorescencijos kvantinė išeiga, kinta priklausomai nuo tirpiklio poliškumo (solvatochromizmas). Gyvoje ląstelėse šis dažiklis nudažo lipidus, kurie pasižymi hidrofobiškumu. Vandenyje Nilo raudonojo fluorescencija yra menka, tačiau organiniuose tirpikliuose fluorescencijos kvantinė išeiga didėja [6]. Kadangi Nilo raudonasis yra solvatochrominis dažiklis, jį galima pritaikyti ne tik ląstelių dažymui, tačiau ir mikroplastikų atpažinimui ir jų suskirstymui į polinius arba hidrofobinius polimerus pagal pasikeitusią fluorescencijos spalvą [13].

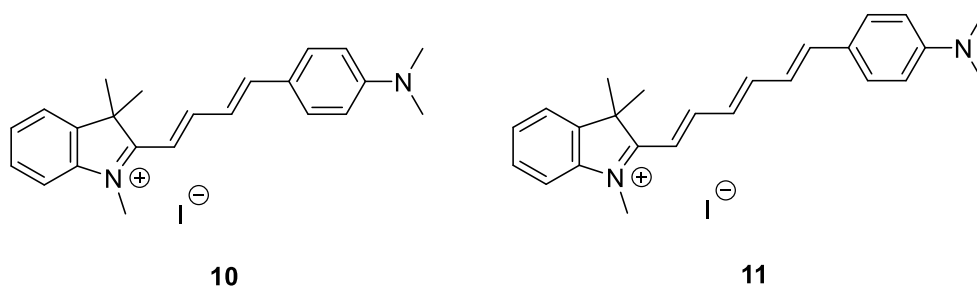


**1.5 pav.** Nilo raudonasis

Cianininių dažiklių bendrinė struktūra yra  $R_2N-(CH=CH)_n-CH=N^+R_2$ . Azoto atomai įeina į heterociklinio junginio (pvz., *3H*-indolo, benzoksazolo, benzotiazolo) struktūrą. Cianininiai dažikliai įprastai pasižymi geru tirpumu vandenyje, o jų moliniai silpimo koeficientai yra gana aukšti, iki  $3 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [6].

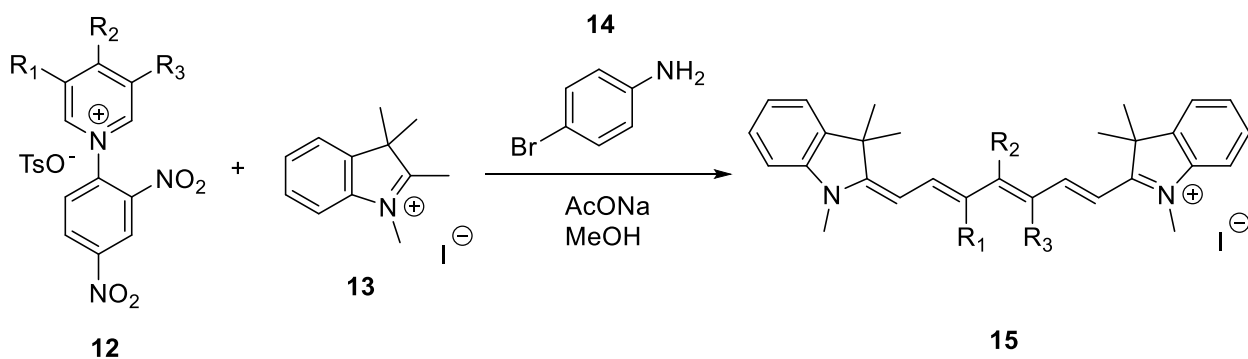
Kai  $n = 0, 1, 2, 3$ , cianininiai dažikliai atitinkamai klasifikuojami į mono-, tri-, penta- ir heptametinius dažiklius. Didžioji dalis monometininių cianininių dažiklių yra nesimetrinės molekulės, kurios dažniausiai sugeria regimąją spinduliuotę. Taip pat verta paminėti, jog nesimetriniai monometininiai cianininiai dažikliai yra geri nukleorūgščių žymenys (angl. *nucleic acid labels*). Trimetininiai cianininiai dažikliai yra linkę sugerti 500–600 nm bangos ilgio šviesą ir įprastai yra violetinės spalvos, o pentametininiai dažikliai yra mėlynos spalvos ir geba sugerti šviesą artimojoje infraraudonųjų spindulių srityje [14].

J. Miao su bendradarbiais kondensuodami ketvirtines amonio druskas su aromatiniais aldehidais verdančiame metanolyje susintetino kelis naujus hemicianininius dažiklius (angl. *hemicyanines*) su prailginta konjuguota  $\pi$ -elektronų sistema. Gautiems dažikliams būdinga D- $\pi$ -A (donoras- $\pi$ -tiltelis-akceptorius) struktūra; *N,N*-dimetilaminofenil- fragmentas elgiasi kaip elektronų donoras. Hemicianininiai dažikliai **10** ir **11**, kurie buvo gauti iš 2,3,3-trimetil-*3H*-indolo, pasižymėjo dideliais Stokso poslinkiais poliniuose tirpikliuose (pavyzdžiui, junginio **11** Stokso poslinkis siekia 222 nm vandeniniame tirpale) [15].



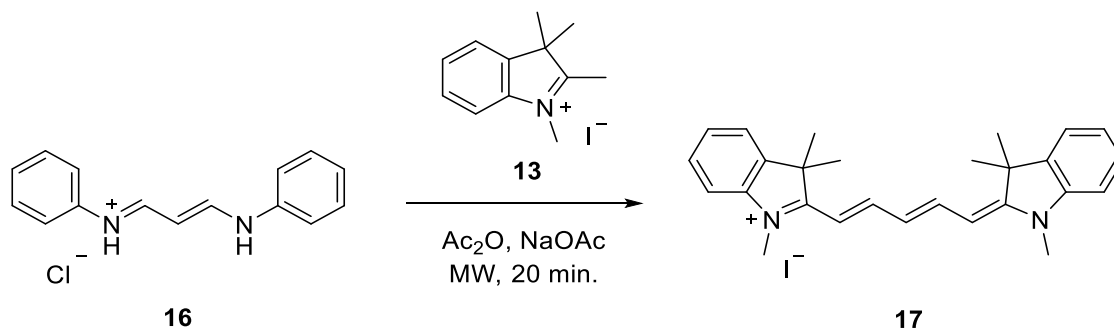
**1.6 pav.** Hemicianininiai dažikliai

Zincke reakcija (žr. 1.7 pav.), kurios metu iš piridino gaunama ketvirtinė piridinio druska, šiam reaguojant su 2,4-dinitrochlorbenzenu ir pirminiais aminais, buvo pritaikyta heptametiniams cianininiams dažikliams gauti. L. Štačková ir kt. pastebėjo, jog reakcijai parenkant 4-bromaniliną **14** kaip pirminį aminą, padidėja tikslinio produkto (cianininio dažiklio) išeiga. Be to, išsiaiškinta, kad Zincke reakcijos metu į cianininio dažiklio metininę grandinę galima įjungti įvairius pakaitus ( $R_1, R_2, R_3$ ), jei reakcijoje dalyvauja 3-, 4-, 3,4- arba 3,5-pakeisti piridiniai **12**. Kai piridino žiedo pakaitai yra elektronų akceptorai, Zincke reakcija įvyksta greičiau ir kartu didėja cianininio dažiklio išeiga. Gauti nauji *3H*-indolo dažikliai pasižymėjo aukštais moliniais silpimo koeficientais  $\epsilon$  ir tuo, kad jų sugerties ir emisijos maksimumai metanolyje patenka į infraraudonąją sritį (sugertis 707–815 nm intervale), bet junginių Stokso poslinkiai metanolyje yra nedideli ir siekia vos 25–35 nm. [16].



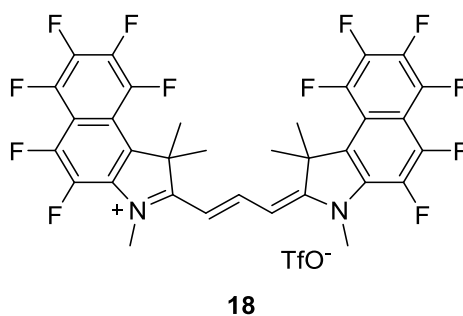
**1.7 pav.** Zincke reakcijos pritaikymas cianininiams dažikliams gauti (TsO<sup>-</sup> - 4-metilbenzensulfonrūgštis)

Reikėtų pabrėžti tai, kad cianininius dažiklius dažnai gali būti sudėtinga gryninti kolonėlinės chromatografijos metodu dėl jų jautrumo rūgštiniam silikageliui ir polinkio skilti šviesos poveikyje (fotoskilimas). E. A. Owens'as ir kt. paskelbė naują metodą 3*H*-indolo pentametiniams cianininiams dažikliams **17** gauti, panaudojant mikrobangų reaktorių. Reakcijos trukmė sutrumpėjo iki 20 minučių ir išvengta kolonėlinės chromatografijos. Reakcijų išeigos siekė 89–98 % ir priklausė nuo alkilgrandinės ilgio [17].



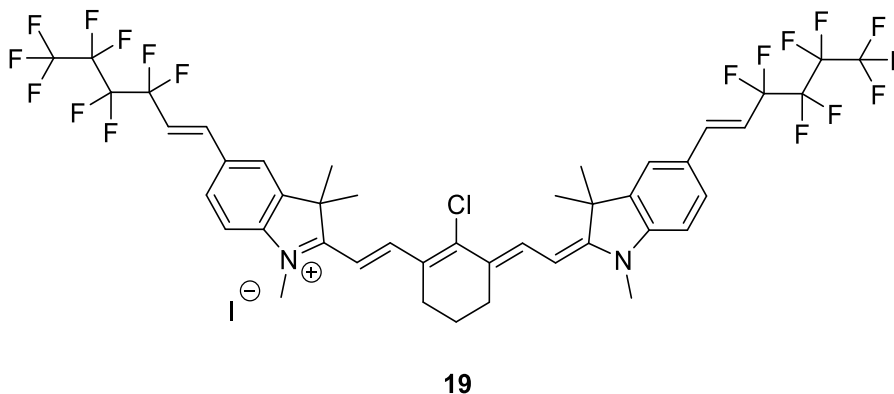
**1.8 pav.** Cianininių dažiklių sintezė, panaudojant mikrobangų reaktorių

K. Funabiki ir kolegos paskelbė mokslinį straipsnį apie naujų perfluorintų trimetiniųjų cianininių dažiklių sintezę. Ši sintezė yra „vieno žingsnio“ (angl. *one-pot*); didžiausia cianininio dažiklio išeiga gaunama kondensuojant pradinę medžiagą 4,5,6,7,8,9-heksafluor-1,1,2-trimetil-1*H*-benz[e]indolą dimetilformamido ir tolueno mišinyje, 100 °C temperatūroje ir reakcijos mišinyje esant 5 ekvivalentams metiltrifluormetansulfonato (MeOTf). Vietoje metiltrifluormetansulfonato naudojant trifluormetansulfoninę rūgštį (TfOH), tikslinio produkto **18** išeiga sumažėjo iki 5 %. Buvo pasiūlytas reakcijos mechanizmas, iš kurio galima spręsti, jog pirmiausia MeOTf reaguoja su dimetilformamidu (DMF), susidarant katijonui (DMF yra metilinamas). Šis katijonas gali elgtis kaip alkilimo agentas, iš pradinio benz[e]indolo susidarant ketvirtinei indolio druskai. Nuo indolio druskos pasišalinant protonui, gauti enaminais reaguoja su metilinto DMF katijonu, ir taip galiausiai per keletą tarpinių stadijų susidaro perfluorinti trimetiniai cianininiai dažikliai. Palyginus nefluorinto ir perfluorinto trimetiniųjų cianininių dažiklių optines savybes, pastebėta, jog perfluorinto junginio **18** sugerties bei emisijos maksimumai pasislinkę hipsochromiškai (į trumpesnių bangų sritį), o fluorescencijos kvantinė išeiga (tirpaluose arba plonose plėvelėse) didesnė nei nefluorinto dažiklio [18].



**1.9 pav.** Perfluorinti cianininiai dažikliai (TfO<sup>-</sup> - triflatas)

A. B. Braun'as ir kt. susintetino polifluorintus heptametinius cianininius dažiklius (pvz. **19**, žr. 1.10 pav.). Reaguojant 5-jod-2,3,3-trimetil-3*H*-indolui su polifluorintais alkenais dimetilformamide, 110 °C temperatūroje, o reakcijos mišinyje esant paladžio acetato, tetrabutilamonio bromido ir natrio acetato (beligandės Heck'o reakcijos sąlygos), susidarė polifluorinti 3*H*-indolai, kurie buvo panaudoti tolimesnėse kvaternizacijos ir kondensacijos reakcijose tikslių cianininių dažiklių **19** gavimui. Jodintas 2,3,3-trimetil-3*H*-indolas buvo parinktas vietoje 5-brom-2,3,3-trimetil-3*H*-indolo dėl jo didesnio reaktiškumo paladžio katalizuojamoje Heck'o reakcijoje. Be to, vykdant Heck'o reakciją su bromintu indolu, net ir prailginus reakcijos trukmę pradinės medžiagos iki galo nesureagavo, o dėl panašaus brominto bei polifluorinto 3*H*-indolo poliškumo šie junginiai nebuvo sėkmingai atskirti kolonėlinės chromatografijos metodu. Heck'o reakcijos produktų išėigos siekė nuo 52 iki 83 %, o polifluorinti cianininiai dažikliai gauti vidutinėmis išėigomis (48–64 %).

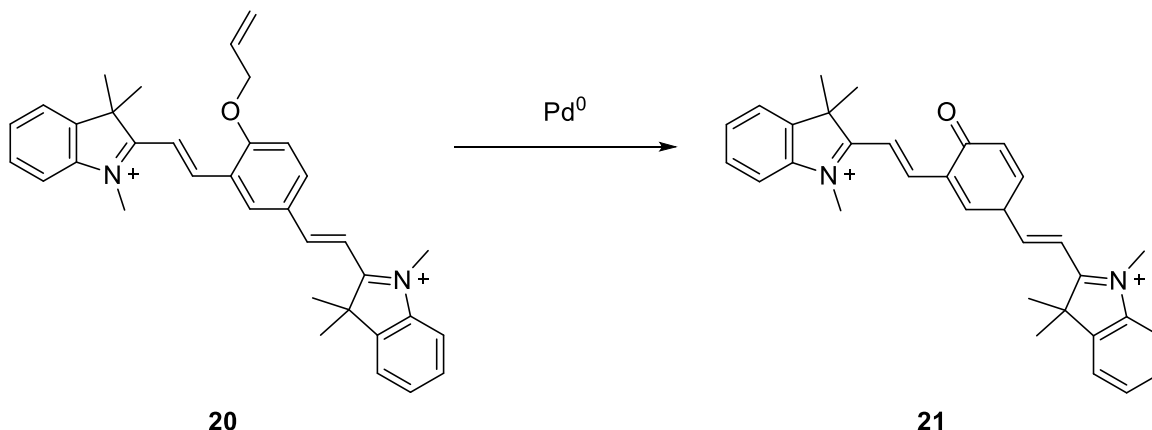


**1.10 pav.** Polifluorinti cianininiai dažikliai

Straipsnio autoriai ištyrė, jog nauji polifluorinti heptametiniai cianinai **19** galimai dėl savo lipofiliškumo ir teigiamo krūvio turi savybę pereiti per ląstelių membranas, kauptis mitochondrijose ir jas žymėti. Gautų dažiklių sugerties bei emisijos maksimumai aptinkami artimojoje IR srityje (780–820 nm intervale). Palyginus fluorintų 3*H*-indolo cianininių dažiklių ir nefluorinto dažiklio optines savybes nustatyta, kad įterpus fluoro atomų grandines, sugerties ir emisijos maksimumai pasislenka batochromiškai apie 20 nm. Kita vertus, keičiant pačių fluoro atomų grandinių ilgį, nedaroma įtakos dažiklių sugerties ir emisijos maksimumų padėčiai [19].

W. Zhang ir kt. susintetino 3*H*-indolo cianininių dažiklį **20**, kurį galima panaudoti kaip jutiklį. Šis dažiklis turi alilinį fragmentą ir dėl to yra tinkamas anglies monoksido (CO) atpažinimui gyvuosiuose organizmuose (*in vivo*). Dažiklis **20** nepasižymi intensyvia fluorescencija, tačiau jo aplinkoje esant PdCl<sub>2</sub> ir CO, vyksta Tsuji-Trost'o reakcija. Šios reakcijos metu CO redukuoja Pd<sup>2+</sup> iki Pd<sup>0</sup>, o alilinis fragmentas pasišalina. Pasišalinus aliliniam fragmentui, padidėja fluorescencijos intensyvumas,

pasirodo nauja sugerties juosta ties 570 nm ir susidaro junginys **21** (žr. 1.11 pav.). Be to, išsiaiškinta, jog junginys **20** selektyviai atpažįsta tik CO; esant įvairių anijonų ir katijonų aplinkoje, fluorescencija netampa intensyvesnė [20].



**1.11 pav.** Tsuji-Trost'o reakcija, susidarant fluorescuojančiam cianiniam dažikliui **21**

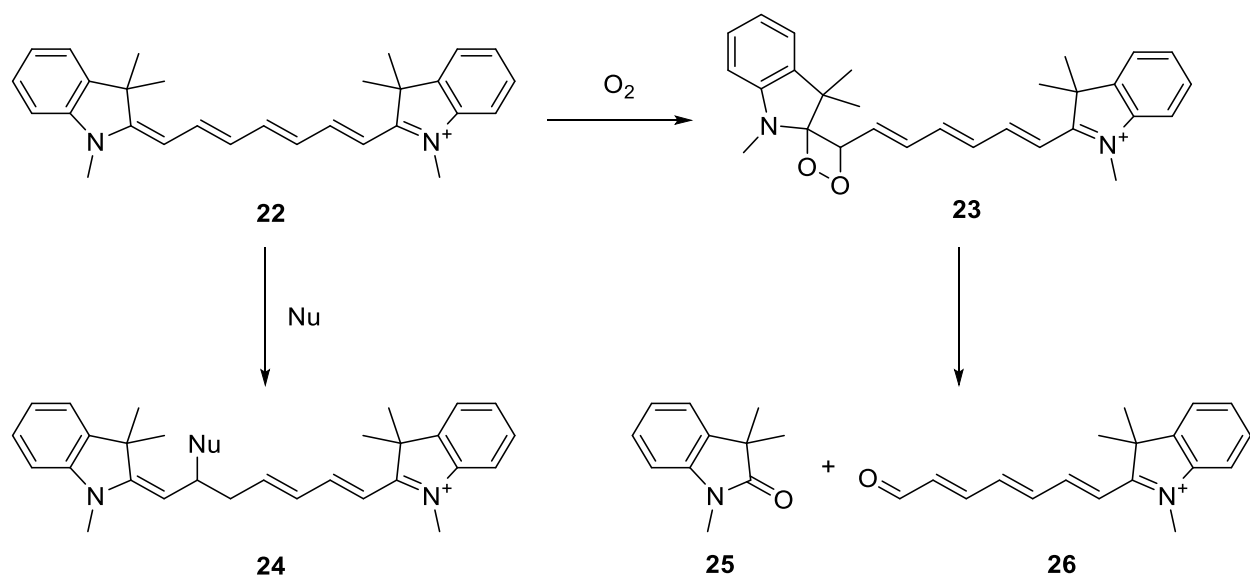
## 1.2. Fluoroforų fotoblyškinimo mechanizmas

Sugerdamas fotoną, fluoroforas pereina iš pagrindinės būsenos  $S_0$  (angl. *ground state*) į pirmąją sužadintąją singletinę būseną  $S_1$  (angl. *first singlet-excited state*). Iš  $S_1$  fluoroforui grįžtant atgal į  $S_0$ , gali vykti spinduliniai procesai (pvz. fluorescencija), arba nespinduliniai procesai. Be to, fluoroforui esant  $S_1$  būsenos, galima ir interkombinacinė konversija (angl. *intersystem crossing*), t. y., perėjimas į pirmąją sužadintą tripletinę būseną  $T_1$ . Šios būsenos energija yra pakankamai didelė ( $>1$  eV), o gyvavimo trukmė ilgesnė nei singletinės būsenos gyvavimo trukmė (apie 100  $\mu\text{s}$ ).

Būdamas ilgai gyvuojančioje  $T_1$  būsenoje, fluoroforas gali reaguoti su molekulinio deguonimi, taip pat ir mažamolekuliniiais tioliais, tirpikliu, aminorūgščių šoninėmis grandinėmis (kai yra biologinė aplinka), tuomet iš fluoroforo gaunami jau nefluorescuojantys aduktai. Singletinis deguonis  $^1\text{O}_2$ , kuris susidaro iš molekulinio deguonies, arba kitos aktyvios deguonies formos (angl. *reactive oxygen species*, ROS) reaguodamos su fluoroforu taipogi gali sukelti šio fotoblyškinimą.

Pavyzdžiui, jei fluoroforas priklauso cianininių dažiklių klasei, tai singletinis deguonis atakuoja abu  $3H$ -indolo heterociklus jungiančią polimetininę grandinę. Susidaro junginys **23**, turintis dioksetano žiedą (žr. 1.12 pav.). Po dioksetano žiedo C-C ryšio nutrūkimo iš junginio **23** gaunami dažiklio skilimo produktai –  $3H$ -indolo dariniai su karbonilinėmis grupėmis **25** ir **26**.

Veikiant šviesai, cianininių dažiklių **22** taip pat gali atakuoti ir įvairūs nukleofilai (Nu) ir dėl to gerokai susilpnėja dažiklio fluorescencija, tačiau reikėtų paminėti, jog šis nepageidaujamas procesas yra grįžtamasis [21].



1.12 pav. 3H-indolo darinių fotoblyškinimo mechanizmas

### 1.3. Fotodinaminės terapijos mechanizmas

Fotodinaminė terapija yra pagrįsta fotosensibilizatoriaus sužadinimu tam tikro bangos ilgio, pavyzdžiui, regimajai, šviesa. Fotodinaminė terapija pranašesnė už kitus taikomus priešvėžinės terapijos būdus (pvz. chemoterapiją, radioterapiją) tuo, kad fotosensibilizatoriai patys savaime yra netoksiški, arba mažai toksiški, ir tik apšvietus šviesa pasirinktą plotą, pasižymi toksišku poveikiu vėžinėms ląstelėms (lokalizuotas toksinis poveikis). Tiesa, fotodinaminė terapija gali būti taikoma ir nevėžiniams susirgimams gydyti, pvz. sėkmingai taikoma oftalmologijoje, odontologijoje, dermatologijoje.

Fotosensibilizatorius, kurį suaktyvina regimosios šviesos spinduliuotė, pereina iš singletinės būsenos (singletinė būsena – kai du elektronai, turintys priešingus sukinius, yra aptinkami aukščiausioje užimtoje molekulinėje orbitalėje, angl. *highest occupied molecular orbital*, HOMO) į trumpai gyvuojančią sužadintą singletinę būseną (sužadinta būsena – kai vienas iš elektronų pereina į žemiausią neužimtą molekulinę orbitalę, angl. *lowest unoccupied molecular orbital* arba LUMO, tačiau šio elektrono sukinytis nekinta). Iš sužadintosios singletinės būsenos fotosensibilizatorius gali pereiti į ilgai gyvuojančią tripletinę būseną. Po sužadinimo gali įvykti I arba II tipo fotocheminės reakcijos.

I tipo fotocheminė reakcija – kai sužadintos tripletinės būsenos fotosensibilizatorius sąveikaudamas su ląstelių membrana arba biomolekulėmis sudaro radikalus. Šie radikalai reaguoja su molekuliniu deguonimi ( $O_2$ ) ir tuomet gaunamos tokios aktyvios deguonies formos kaip superoksido radikalas  $O_2^-$ , hidroksiradikalas  $OH\cdot$ , vandenilio peroksidas  $H_2O_2$ . II tipo fotocheminė reakcija – kai energija iš sužadinto fotosensibilizatoriaus tiesiogiai perduodama deguonies molekulei (deguonis iš molekulinio  $^3O_2$  pereina į singletinį  $^1O_2$ ). *In vivo* fotodinaminėje terapijoje vyrauja II tipo fotocheminės reakcijos. Aktyvios deguonies formos geba reaguoti su įvairiomis biomolekulėmis (baltymais, nukleorūgštimis, lipidais) ir sukelti jų pažeidimus. Pažeidus biomolekules, negrįžtamai pažeidžiamos piktybinių auglių ląstelės arba jų kraujagyslės (pavyzdžiui, sukeliama ląstelių nekrozė, apoptozė arba autofagija).

I tipo fotodinaminėje reakcijoje sužadintas fotosensibilizatorius gali gauti elektroną iš ląstelėse esančių reduktorių – nikotinamido adenino dinukleotido redukuotos formos (NADH) arba



nikotinamido adenino dinukleotido redukuotos formos (NADPH) – ir tokiu būdu tapti radikalanijonu. Tripletinės būsenos fotosensibilizatorius gali reaguoti su kita tripletinės būsenos fotosensibilizatoriaus molekule. Šios reakcijos metu susidaro katjonradikalo ir anjonradikalo pora. Pastaroji radikalo pora reaguoja su molekulinio deguonimi ir taip yra generuojamas superoksido anijonas.

Kaip jau buvo minėta, II tipo fotodinaminėje reakcijoje tripletinės būsenos fotosensibilizatoriaus energija tiesiogiai perduodama molekuliniam deguoniui, tuomet iš molekulinio deguonies susidaro singletinis deguonis. Tačiau, jei singletinis deguonis sureaguotų su pačiu fotosensibilizatoriumi, įvyktų anksčiau paminėtas fotoblyškinimas (žr. 1.2 skyrių) ir fotosensibilizatorius būtų deaktyvuojamas (nebesusidarytų toksiški junginiai, kurie ir pažeidžia ląsteles).

Fotodinaminės terapijos sėkmė priklauso nuo tokių faktorių, kaip sugeneruoto  $^1\text{O}_2$  išeiiga, fotosensibilizatoriaus molekulės stabilumas, šviesos prasiskverbimo gylis, fotosensibilizatoriaus pasiskirstymas vėžiniame audinyje.

Pagrindinės fotosensibilizatorių klasės – porfirinai, chlorinai (angl. *chlorins*), ftalocianinai, BODIPY dažikliai. Reikia paminėti, jog šie fotosensibilizatoriai turi nemažai trūkumų.

Idealus fotosensibilizatorius turėtų pasižymėti šiomis savybėmis:

- pageidautina, kad fotosensibilizatoriaus sintezė būtų nesudėtinga ir jis būtų išskirtas kaip vienas, grynas junginys, o ne kelių produktų mišinys;
- jo citotoksiškumas tamsoje turi būti labai menkas arba, geriausiu atveju, lygus nuliui;
- fotosensibilizatorius neturi sukelti pašalinio poveikio;
- fotosensibilizatorius turėtų pasižymėti stipria šviesos sugertimi (molinis silpimo koeficientas didesnis nei  $30000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), tuomet fotodinaminei terapijai būtų galima taikyti mažesnę jo dozę arba mažesnio galingumo šviesą;
- fotosensibilizatorius idealiu atveju turi būti suaktyvinamas šviesa raudonojoje regimojo spektro srityje, jei yra reikalingas poveikis gilesniems audiniams, nes raudona šviesa pasižymi didele skvarba į audinius; odos susirgimams gydyti yra tikslinga suaktyvinti fotosensibilizatorių mėlyna šviesa;
- jis turėtų kuo greičiau pašalinti iš organizmo, atlikus fotodinaminę terapiją;
- fotosensibilizatoriaus fotodinaminis aktyvumas neturi būti per didelis, jeigu norima išvengti sveikų audinių pažeidimo.

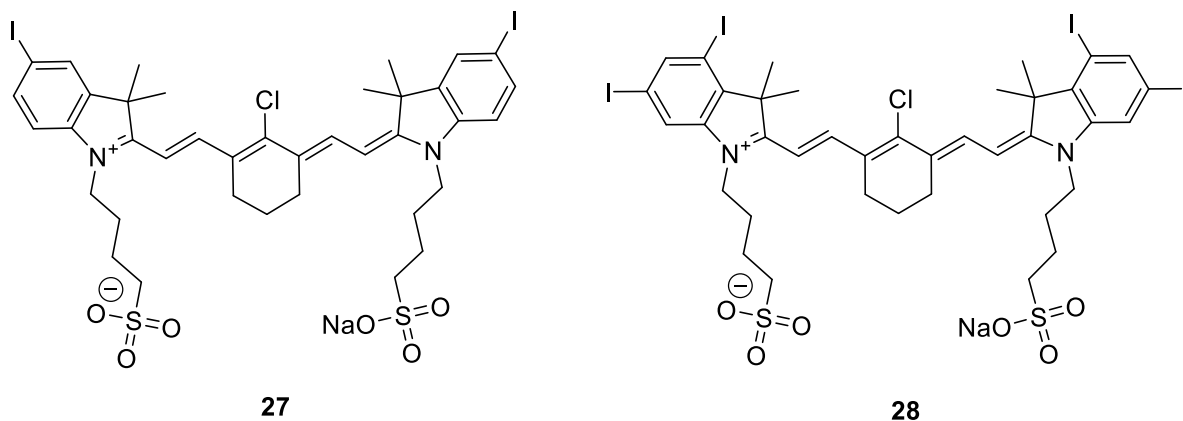
Būdai pagerinti fotosensibilizatorių savybes:

- prijungiant bromo arba jodo atomus prie fotosensibilizatoriaus molekulės, gali padidėti  $^1\text{O}_2$  generavimas;
- daugelio fotosensibilizatorių trūkumas yra toks, kad jie linkę agreguotis, tuomet sutrumpėja tripletinės būsenos gyvavimo trukmė ir sumažėja  $^1\text{O}_2$  išeiiga, todėl reikėtų modifikuoti fotosensibilizatoriaus molekulės struktūrą taip, kad sumažėtų agregacijos tikimybė;
- įjungti elektronų donora į fotosensibilizatoriaus molekulę ir didinti konjuguotą  $\pi$ -elektronų sistemą, kad fotosensibilizatoriaus sugerties maksimumas pasislinktų batochromiškai, idealiu atveju į raudonąją spektro sritį, nes, kaip jau buvo minėta, raudona šviesa lengviau prasiskverbia į audinius;

- fotosensibilizatoriaus pernašai į vėžinius audinius pagerinti galima naudoti tokius ligandus kaip biotinas, foliatai, peptidai;
- keičiant fotosensibilizatoriaus molekulės pakaitus, galima reguliuoti šio lipofiliškumą; nuo to taip pat priklausys, kuriose vėžinio audinio vietose kaupsis fotosensibilizatorius [22, 23].

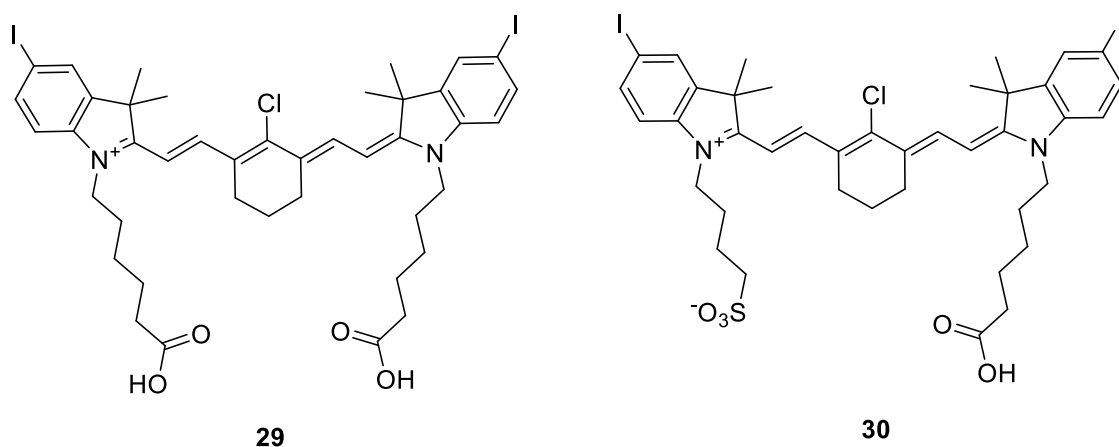
#### 1.4. 3*H*-indolo dariniai fotodinaminei terapijai

J. Atchison'as ir kt. susintetino heptametinius cianininius dažiklius **27** bei **28**, savo struktūroje turinčius jodo atomų, kaip reagentus panaudojant 5-jod- arba 4,6-dijod-2,3,3-trimetil-3*H*-indolą. Gauti junginiai palyginti su medicinoje plačiai naudojamu fluoroforu indocianino žaliuoju (angl. *indocyanine green*, ICG), turinčiu 3*H*-indolo fragmentus, ir pastebėta, jog jodo atomų įtraukimas į heptametinio dažiklio molekulę gali kelis kartus padidinti singletinio deguonies generavimą (pvz. junginys **27** generuoja 7,9 kartų daugiau  $^1\text{O}_2$ , lyginant su ICG; junginys **28** su keturiais jodo atomais – 4,4 kartų daugiau) ir kartu padidinti citotoksiškumą vėžinėms ląstelėms. Verta paminėti tai, kad junginiai **27** ir **28** padeda generuoti singletinį deguonį juos apšvietus ne regimosios šviesos, bet artimosios IR srities spinduliuote (bangos ilgis 780 nm). Junginio **28**, kuris turi keturis jodo atomus, fluorescencija lyginant su prieš tai paminėtų junginių ICG arba **27** fluorescencija, yra gesinama ir jos kvantinė išeiga  $\Phi_f$  siekia vos 0,009 [24].



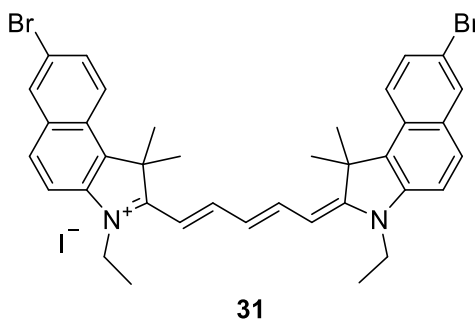
1.13 pav. Jodinti heptametiniai cianininiai dažikliai **27** ir **28**

S. M. Usama su bendradarbiais susintetino 3 serijas naujų heptametinių cianininių dažiklių su 3*H*-indolo fragmentais ir ištyrė jų citotoksiškumą tamsoje arba veikiant šviesa. Kadangi junginiai iš antrosios serijos pasižymėjo efektyviausiu singletinio deguonies generavimu, jų citotoksiškumas lygintas su prieš tai minėto junginio **27** citotoksiškumu. Nustatyta, kad junginių **29** ir **30** citotoksiškumas, juos apšvietus 780 nm bangos ilgio LED šviesa, yra didesnis nei dažiklio **27**. Be to, šie dažikliai, skirtingai nuo junginio **27**, yra linkę kauptis ląstelių mitochondrijose, o tai dar labiau padidina ląstelių jautrumą fotodinaminei terapijai. Galimai dėl geresnio tirpumo vandenyje ir mažesnio polinkio į agregaciją vandeniniuose tirpaluose, cianininiai dažikliai su sulfogrupėmis turi aukštesnius molinius silpimo koeficientus  $\epsilon$  nei kiti ištirti dažikliai. [25].



**1.14 pav.** Jodinti heptametininiai dažikliai **29** ir **30**

B. Ciubini ir kt. aprašė pentametininis cianininius dažiklius (pvz. junginys **31**, žr. 1.15 pav.), kurie abiejuose metino tiltelio galuose turi 1,1,2-trimetil-1*H*-benz[e]indolo heterociklus. Pradinė medžiaga bromintiems benz[e]indolo cianininiams dažikliams – 7-brom-1,1,2-trimetil-1*H*-benz[e]indolas – susintetintas iš (6-bromnaftalen-2-il)hidrazino ir 3-metil-2-butanono Fischer'io indolų sintezės būdu. Gautų dažiklių konjuguota  $\pi$ -elektronų sistema yra ilgesnė nei anksčiau paminėtų 2,3,3-trimetil-3*H*-indolo cianininių dažiklių, o sugerties maksimumai (680–695 nm intervale) patenka į audinių optinio skaidrumo langą. Bromo atomai, taip pat ir alkilgrandinės ilgis arba tirpiklio poliškumas nedaro įtakos sugerties maksimumo padėčiai arba sugerties kreivės formai. Dažiklių Stokso poslinkis yra gana mažas – apie 20 nm. Buvo tiriamas naujų benz[e]indolo darinių citotoksiškumas žmogaus fibrosarkomos ląstelėms ir buvo pastebėta, jog kaip ir aukščiau paminėti 2,3,3-trimetil-3*H*-indolo cianininiai dažikliai, benz[e]indolo dažikliai yra potencialūs fotosensibilizatoriai, padedantys generuoti aktyvias deguonies formas. 7-oje padėtyje bromintų benz[e]indolo dažiklių **31** fotodinaminis aktyvumas nedaug skiriasi nuo nebromintų cianininių dažiklių aktyvumo, galimai dėl bromo atomų padėties. [26].



**1.15 pav.** Benz[e]indolo fragmentus turintys cianininiai dažikliai

Apibendrinant literatūros analizę, derėtų pasakyti, kad įvairių aukšta fluorescencijos kvantine išėiga ir dideliu Stokso poslinkiu pasižyminčių junginių (arba kitaip fluoroforų) sintezė jau daugelį metų išlieka aktuali, nes tokius junginius galima panaudoti biologijoje bei biomedicinoje. Keičiant pakaitus molekulėje, daroma įtakos fluoroforų sugerties ir emisijos maksimumų padėtimis. Pavyzdžiui, kumarinų arba rodaminų klasei priklausantys fluoroforai yra tinkami ląstelių dalių bei audinių žymėjimui. 3*H*-indolo fragmentus turintys polimetininiai cianininiai dažikliai su įvairiais pakaitais yra ne tik geri ląstelių žymekliai, fluorescuojantys regimosios šviesos arba infraraudonųjų spindulių srityje, bet dar neretai jie yra ypatingi ir tuo, kad juos sužadinus šviesa, efektyviai generuojamos

aktyvios deguonies formos, pažeidžiančios vėžines ląsteles, todėl tokie cianininiai dažikliai tinkami ir fotodinaminei terapijai. Įjungus halogenus, taip pat ir elektronų donorus į *3H*-indolo darinius, didėja aktyvių deguonies formų generavimas.

Šio magistro baigiamojo darbo tikslas buvo susintetinti naujus pirazolo-indolo fluoroforus, kaip pradines medžiagas naudojant įvairiai pakeistus *1H*-pirazolo darinius. Pirazolo dariniai su metoksi- ir metoksietoksipakaitais 3-ioje padėtyje buvo gauti vykdant Williamson'o eterių sintezės, Vilsmeier'io-Haack'o formilinimo, Wittig'o reakcijas. Su keturiais naujais 4-etenil-*1H*-pirazolo dariniais, kurie buvo susintetinti iš pirazolo karbaldehidų Wittig'o reakcijos metu, ir jau žinomu junginiu 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-*3H*-indolu galiausiai buvo atlikta paladžio katalizuojama beligandė Heck'o reakcija. Tikimasi, jog Heck'o reakcijos metu gauti tiksliniai pirazolo ir *3H*-indolo dariniai su ilga konjuguota  $\pi$ -elektronų sistema ne tik pasižymės aukšta fluorescencijos kvantine išeiga ir dideliais Stokso poslinkiais tetrahidrofurane ir poliniuose tirpikliuose, tačiau turės ir fotodinaminį aktyvumą (citotoksiškumą vėžinėms ląstelėms, apšvietus šviesa), kaip ir prieš tai paminėti *3H*-indolo cianininiai dažikliai.

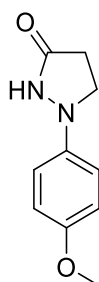
## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Reagentai ir tirpikliai įsigyti iš *Sigma-Aldrich* ir *Fluorochem*. Prieš naudojimą reagentai nebuvo papildomai gryninami, o tirpikliai dimetilformamidas ir toluenas džiovinti molekuliniais sietais (4 Å).

BMR spektrus užrašė jaunesnysis mokslo darbuotojas Aurimas Bieliauskas Kauno technologijos universitete, Sintetinės chemijos institute, spektrometru Bruker Avance III 700. HRMS spektrus užrašė mokslo darbuotojas Saulius Burinskas Bruker micrOTOF-Q III spektrometru Kauno technologijos universitete, Sintetinės chemijos institute. Junginių UV-RŠ sugerties spektrus užregistravo jaunesnysis mokslo darbuotojas Aurimas Bieliauskas Kauno technologijos universitete, Sintetinės chemijos institute, Shimadzu UV-2600 spektrofotometru, o fluorescencijos spektrus – Edinburgh Instruments FLS920 spektrofluorimetru (sužadinimo šaltinis – ksenono lanko lempa). Junginių fluorescencijos kvantinės išeigos išmatuotos integruojančiosios sferos metodu.

FT-IR spektrai iš kietų bandinių gauti naudojant Bruker Vertex 70v spektrometrą su integruotu Platinum ATR moduliu. Plonasluoksnei chromatografijai atlikti panaudotos Macherey-Nagel™ ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 plokštelės. Dėmės ryškintos UV lempa (bangos ilgis 254 arba 365 nm). Kolonėlinei chromatografijai parinkta nejudančioji fazė – silikagelis (firma Merck, dalelių dydis 0,063–0,200 mm). Kristalinių medžiagų lydymosi temperatūros nustatytos Buchi Melting Point M-565 aparatu (temperatūrinis gradientas – 2 °C/min.) ir yra nekoreguotos.

### 2.1. 1-(4-metoksifenil)pirazolidin-3-onas (2b)



2.1 pav. Junginio **2b** struktūrinė formulė

Argono atmosferoje intensyviai maišoma (4-metoksifenil)hidrazino hidroklorido **1b** (8290 mg, 60 mmol) suspensija sausame toluene/metanolyje (1/1, 100 mL). Suberiamas kalio *tert*-butoksidas (20200 mg, 180 mmol) ir reakcijos mišinys maišomas kambario temperatūroje 30 min. Po to reakcijos mišinys pašildomas iki 50 °C ir sulašinamas etilakrilatas (19,6 mL, 180 mmol). Reakcija vykdoma 50 °C temperatūroje 24 val. Atvėsinus reakcijos mišinį, jis praskiedžiamas distiliuotu vandeniu (100 mL) ir atskiriamas organinis sluoksnius. Vandeninis sluoksnius parūgštinamas iki pH = 1, lašinant koncentruotą (37 %) druskos rūgštį ir ekstrahuojamas etilacetatu (4 × 50 mL). Organiniai sluoksniai sujungiami, džiovinami bevandeniu natrio sulfatu, filtruojami, tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje. Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas – *n*-heksanas/etilacetatas 2/1 → etilacetatas). Gautas junginys **2b** yra šviesiai rožinės spalvos, lipnių kristalų pavidalo. Išeiga 56 % (6426 mg).

Lydymosi temperatūra  $t_{lyd} = 136\text{--}140$  °C (lydymosi metu medžiaga tamsėja).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 8,71 (ps, 1H, NH), 7,03–6,97 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,88–6,82 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 3,82 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, pirazolo 5- $\text{CH}_2$ ), 3,77 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ), 2,54 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2H, pirazolo 4- $\text{CH}_2$ ).

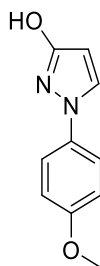
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 175,6 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 156,0 (fenilo žiedo C-4), 145,0 (fenilo žiedo C-1), 118,5 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,6 (fenilo žiedo C-3, C-5), 56,3 (pirazolo 5- $\text{CH}_2$ ), 55,7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 29,7 (pirazolo 4- $\text{CH}_2$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1} = 3137, 3009$  ( $=\text{C}-\text{H}_{\text{arom}}$  valentiniai virpesiai), 2967, 2857, 2832 ( $-\text{C}-\text{H}_{\text{alif}}$ ), 1690 ( $-\text{C}=\text{O}$ ), 1508, 1460, 1242, 1030, 828 ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}-\text{O}$  valentiniai,  $\text{C}-\text{N}$ ,  $=\text{C}-\text{H}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  deformaciniai).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{NaO}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 215,0791, rasta 215,0791.

$R_f = 0,45$  (etilacetatas).

## 2.2. 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1H-pirazolas (3b)



2.2 pav. Junginio **3b** struktūrinė formulė

1-(4-metoksifenil)pirazolidin-3-onas **2b** (6136 mg, 32 mmol) ištirpinamas etanolyje (50 mL) ir įstaičius grįžtamąjį kondensatorių, tirpalas pašildomas iki 100 °C temperatūros. Paruošiamas HCl (36 %, 2,5 mL) tirpalas distiliuotame vandenyje (114 mL) ir jame tirpinamas  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (7600 mg). Tirpalas lašinamuoju piltuvu per 1 val. sulašinamas į reakcijos mišinį. Sulašinus  $\text{FeCl}_3$  ir HCl (0,4 M) tirpalą vandenyje, reakcija vykdoma 100 °C temperatūroje 24 val. Atvėsinus reakcijos mišinį, jis praskiedžiamas distiliuotu vandeniu (100 mL) ir ekstrahuojamas dichlormetanu ( $4 \times 50$  mL). Organinis sluoksnis džiovinamas natrio sulfatu, filtruojama ir tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje. Junginys tolimesnei reakcijai naudotas be papildomo gryninimo. Gautas produktas **3b** yra rudos spalvos, lipnių kristalų pavidalo. Išeiga 4715 mg (78 %).

Lydymosi temperatūra  $t_{\text{lyd}} = 156\text{--}162$  °C (lydymosi metu medžiaga tamsėja).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 7,54 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H, pirazolo 5-H), 7,42–7,39 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,98–6,94 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 5,84 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H, pirazolo 4-H), 3,83 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 163,8 (pirazolo C-3), 158,1 (fenilo žiedo C-4), 133,4 (fenilo žiedo C-1), 129,3 (pirazolo C-5), 120,8 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,9 (fenilo žiedo C-3, C-5), 93,5 (pirazolo C-4), 55,7 ( $-\text{OCH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1} = 3144, 3047$  ( $=\text{C}-\text{H}_{\text{arom}}$ ), 2964, 2936, 2838 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{alif}}$ ), 1511, 1247, 1171, 1026, 825, 735 ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}-\text{O}$ ,  $\text{C}-\text{N}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $=\text{C}-\text{H}$ ).

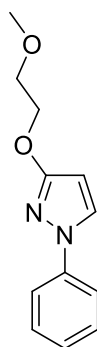
HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 191,0815, rasta 191,0815.

$R_f = 0,14$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

### 2.2.1. Bendra junginių 4b–d sintezės metodika

Atitinkamas 1*H*-pirazolas **3a,b** (15 mmol) ištirpinamas sausame dimetilformamide (15 mL), palaikant argono atmosferą. Į reakcijos mišinį porcijomis suberiamas natrio hidridas (60 % mineralinėje alyvoje, 18,75 mmol) ir maišoma kambario temperatūroje 20 min., kol nustoja skirtis H<sub>2</sub> dujos. Tuomet sulašinamas atitinkamas alkilinio agentas (22,5 mmol) ir reakcija vykdoma 60 °C temperatūroje 24 val. Atvėsinus reakcijos mišinį, jis išpilamas į distiliuotą vandenį (250 mL) ir ekstrahuojamas etilacetatu (4 × 50 mL). Organinis sluoksnis praplaunamas sočiu natrio chlorido tirpalu, džiovinamas bevandeniu natrio sulfatu, filtruojamas ir tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje. Likutis gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu.

### 2.3. 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1*H*-pirazolas (4b)



2.3 pav. Junginio **4b** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **4b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 1-fenil-3-hidroksi-1*H*-pirazolas **3a** (2403 mg) ir alkilinio agentas 2-brometilmetileteris (2,1 mL). Produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas – *n*-heksanas/etilacetatas 3/1). Gautas produktas **4b** gelsvos spalvos, skystas. Išėja 2703 mg (83 %).

<sup>1</sup>H BMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 7,72 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, pirazolo 5-H), 7,59 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 7,43 – 7,37 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 7,19 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, fenilo žiedo 4-H), 5,93 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, pirazolo 4-H), 4,45–4,42 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,78–3,75 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,45 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).

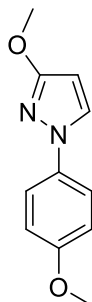
<sup>13</sup>C BMR (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 164,3 (pirazolo C-3), 140,3 (fenilo žiedo C-1), 129,4 (fenilo žiedo C-3, C-5), 127,8 (pirazolo C-5), 125,3 (fenilo žiedo C-4), 117,9 (fenilo žiedo C-2, C-6), 94,2 (pirazolo C-4), 71,1 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 68,2 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 59,2 (-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR): ν, cm<sup>-1</sup> = 3146, 3127, 3070, 3048 (=C-H<sub>arom</sub>), 2982, 2931, 2881, 2815 (C-H<sub>alif</sub>), 1600, 1543, 1506, 1482, 1352, 1051, 752 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF): *m/z*: apskaičiuota C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 241,0947, rasta 241,0948.

$R_f = 0,43$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

## 2.4. 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas (4c)



2.4 pav. Junginio **4c** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **4b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1H-pirazolas **3b** (2852 mg) ir alkilinantis agentas metiljodidas (1,4 mL). Produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas – *n*-heksanas/etilacetatas 6/1). Gautas produktas **4c** gelsvos spalvos, skystas. Išėiga 1919 mg (63 %).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 7,62 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H, pirazolo 5-H), 7,53–7,48 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,95–6,90 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 5,85 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H, pirazolo 4-H), 3,97 (s, 3H, pirazolo 3-OCH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>).

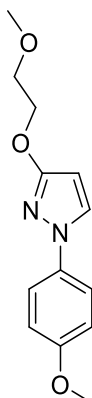
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 165,0 (pirazolo C-3), 157,6 (fenilo žiedo C-4), 134,2 (fenilo žiedo C-1), 127,9 (pirazolo C-5), 119,8 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,6 (fenilo žiedo C-3, C-5), 92,7 (pirazolo C-4), 56,5 (pirazolo 3-OCH<sub>3</sub>), 55,7 (fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3149, 3132, 3019 (=C-H<sub>arom</sub>), 2978, 2967, 2938 (C-H<sub>alif</sub>), 1546, 1517, 1489, 1456, 1417, 1388, 1255, 1234, 1028, 936, 827, 741 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 205,0972, rasta 205,0972.

$R_f = 0,43$  (*n*-heksanas/etilacetatas 6/1).

## 2.5. 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas (4d)



2.5 pav. Junginio **4d** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **4b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1H-pirazolas **3b** (2853 mg) ir alkilinimo agentas 2-brometilmetileteris (2,1



mL). Produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas – *n*-heksanas/etilacetatas 3/1). Gautas produktas **4d** geltonai oranžinės spalvos, skystas. Išeiga 2438 mg (66 %).

<sup>1</sup>H BMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 7,60 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, pirazolo 5-H), 7,51–7,46 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,94–6,91 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 5,89 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, pirazolo 4-H), 4,42–4,40 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,82 (s, 3H, fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>), 3,77–3,75 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-).

<sup>13</sup>C BMR (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 164,1 (pirazolo C-3), 157,6 (fenilo žiedo C-4), 134,2 (fenilo žiedo C-1), 127,8 (pirazolo C-5), 119,7 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,6 (fenilo žiedo C-3, C-5), 93,4 (pirazolo C-4), 71,2 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 68,2 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 59,2 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 55,7 (fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR): ν, cm<sup>-1</sup> = 3134, 3118, 3019 (=C-H<sub>arom</sub>), 2999, 2966, 2934, 2885, 2841, 2820 (C-H<sub>alif</sub>), 1541, 1515, 1448, 1377, 1301, 1241, 1077, 1024, 836, 768 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, =C-H).

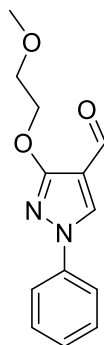
HRMS (ESI-TOF): *m/z*: apskaičiuota C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 271,1053, rasta 271,1053.

R<sub>f</sub> = 0,31 (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

### 2.5.1. Bendra junginių **5b–d** sintezės metodika

Fosforo oksichloridas (20 arba 40 mmol) lašinamas į sausą dimetilformamidą (20 arba 40 mmol) –10 °C temperatūroje, palaikant argono atmosferą. Susidaro baltos spalvos Vilsmeier-Haack kompleksas. Tuomet atitinkamas 1*H*-pirazolas **4b–d** (10 mmol) ištirpinamas dimetilformamide (5 mL) ir sulašinamas į Vilsmeier-Haack kompleksą kambario temperatūroje. Sulašinus atitinkamą 1*H*-pirazolą **4b–d**, reakcija pašildoma iki atitinkamos temperatūros (45 arba 70 °C) ir vykdoma 24 val. Atvėsinus reakcijos mišinį, šis išpilamas į ledo ir vandens mišinį (250 mL), įberiama natrio karbonato ir po to natrio šarmo, kol terpė tampa stipriai bazinė (pH > 10). Iškritę kristalai nufiltruojami, kelis kartus plaunami karštu vandeniu ir džiovinami. Jei iš plonasluoksnės chromatogramos matoma, jog susidaro produktų mišinys, gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu.

### 2.6. 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidas (**5b**)



2.6 pav. Junginio **5b** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **5b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1*H*-pirazolas **4b** (2183 mg, 10 mmol), fosforo oksichloridas (1,9 mL, 20 mmol), dimetilformamidas (1,5 mL, 20 mmol). Reakcija vykdoma 45 °C temperatūroje. Gryninama

kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas *n*-heksanas/etilacetatas 3/1). Gautas produktas **5b** baltos spalvos, kristalinis. Išeiga 1915 mg (78 %).

Lydomosi temperatūra  $t_{lyd} = 94\text{--}95\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 9,88 (s, 1H,  $-\text{CHO}$ ), 8,25 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,63 (dd,  $J = 8,6, 1,0$  Hz, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 7,47–7,43 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 7,31 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H, fenilo žiedo 4-H), 4,59–4,53 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ), 3,88–3,75 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ), 3,46 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ).

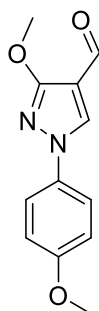
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 183,6 ( $-\text{CHO}$ ), 163,8 (pirazolo C-3), 139,1 (fenilo žiedo C-1), 129,7 (fenilo žiedo C-3, C-5), 129,3 (pirazolo C-5), 127,4 (fenilo žiedo C-4), 118,9 (fenilo žiedo C-2, C-6), 111,5 (pirazolo C-4), 70,8 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ), 68,8 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ ), 59,3 ( $-\text{OCH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1} = 3121, 3100, 2974, 2922, 2905, 2874, 2811, 2783$  (C-H valentiniai), 1669 (C=O), 1563, 1499, 1350, 1224, 1205, 1030, 917, 760 (C=C, C-O, C-N,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ , =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 269,0897, rasta 269,0897.

$R_f = 0,19$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

## 2.7. 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-4-karbaldehidas (5c)



2.7 pav. Junginio **5c** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **5b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas **4c** (2043 mg, 10 mmol), fosforo oksichloridas (3,7 mL, 40 mmol), dimetilformamidas (3,2 mL, 40 mmol). Reakcija vykdoma  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Gautas produktas **5c** baltos spalvos, kristalinis. Išeiga 1691 mg (73 %).

Lydomosi temperatūra  $t_{lyd} = 126\text{--}127\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 9,83 (s, 1H,  $-\text{CHO}$ ), 8,13 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,56–7,53 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,98–6,95 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 4,08 (s, 3H, pirazolo 3- $\text{OCH}_3$ ), 3,84 (s, 3H, fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ).

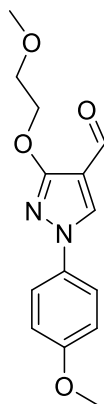
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 183,2 ( $-\text{CHO}$ ), 164,2 (pirazolo C-3), 158,9 (fenilo žiedo C-4), 132,8 (fenilo žiedo C-1), 129,9 (pirazolo C-5), 120,7 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,8 (fenilo žiedo C-3, C-5), 111,0 (pirazolo C-4), 56,7 (pirazolo 3- $\text{OCH}_3$ ), 55,7 (fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1} = 3126, 3100, 3009, 2976, 2964, 2937, 2835, 2763$  (C-H valentiniai), 1661 (C=O), 1555, 1511, 1413, 1389, 1248, 1224, 1173, 1006, 825, 710 (C=C, C-O, C-N,  $\text{CH}_3$ , =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $C_{12}H_{12}N_2NaO_3$   $[M+Na]^+$ : 255,0740, rasta 255,0740.

$R_f = 0,69$  (*n*-heksanas/etilacetatas 1/1).

## 2.8. 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehydas (5d)



2.8 pav. Junginio **5d** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **5b–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolas **4d** (2482 mg, 10 mmol), fosforo oksichloridas (3,7 mL, 40 mmol), dimetilformamidas (3,1 mL, 40 mmol). Reakcija vykdoma 70 °C temperatūroje. Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas *n*-heksanas/etilacetatas 3/1 → 1/1). Gautas produktas **5d** baltos spalvos, kristalinis. Išeiga 790 mg (29 %).

Lydymosi temperatūra  $t_{lyd} = 111–112$  °C.

$^1H$  BMR (700 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 9,85 (s, 1H, -CHO), 8,13 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,55–7,49 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,97–6,93 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 4,56–4,51 (m, 2H,  $CH_3OCH_2CH_2O-$ ), 3,85–3,78 (m, 5H,  $CH_3OCH_2CH_2O-$  ir fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>), 3,45 (s, 3H,  $CH_3OCH_2CH_2O-$ ).

$^{13}C$  BMR (176 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 183,5 (-CHO), 163,8 (pirazolo C-3), 158,9 (fenilo žiedo C-4), 132,7 (fenilo žiedo C-1), 129,1 (pirazolo C-5), 120,6 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,8 (fenilo žiedo C-3, C-5), 111,1 (pirazolo C-4), 70,8 ( $CH_3OCH_2CH_2O-$ ), 68,8 ( $CH_3OCH_2CH_2O-$ ), 59,3 ( $CH_3OCH_2CH_2O-$ ), 55,7 (fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $cm^{-1}$  = 3123, 3092, 3006, 2994, 2933, 2891, 2863, 2835, 2773, 2752 (C-H valentiniai), 1657 (C=O), 1600, 1559, 1520, 1498, 1448, 1382, 1347, 1305, 1248, 1219, 1202, 1187, 1028, 832, 709, 615 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $C_{14}H_{16}N_2NaO_4$   $[M+Na]^+$ : 299,1002, rasta 299,1003.

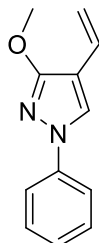
$R_f = 0,11$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

### 2.8.1. Bendra junginių **6a–d** sintezės metodika

Argono atmosferoje į iki –5 °C atšaldytą metiltrifenilfosfonio jodido (2031 mg, 5 mmol) suspensiją sausame toluene (50 mL) suberiamas kalio *tert*-butoksidas (1122 mg, 10 mmol). Reakcijos mišinys maišomas –5 °C temperatūroje 15 min., po to kambario temperatūroje 30 min., kol susidaro klampus, ryškiai geltonos spalvos tarpinis junginys. Tuomet reakcijos mišinys atšaldomas iki 0 °C ir

sulašinama atitinkamo aldehido **5a-d** (4 mmol) suspensija sausame toluene (25 mL). Sulašinus aldehidą **5a-d**, reakcija vykdoma 0 °C temperatūroje 1 val. ir, perkėlus į kambario temperatūrą, dar 1 val. Reakcijai pasibaigus, įpilama šotaus amonio chlorido tirpalo (150 mL) ir atskiriamas organinis sluoksnis. Organinis sluoksnis džiovinamas bevandeniu natrio sulfatu, filtruojamas, tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje. Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas: *n*-heksanas/etilacetatas 15/1).

## 2.9. 4-etenil-3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazolas (**6a**)



2.9 pav. Junginio **6a** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **6a-d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidas **5a** (809 mg). Gautas produktas **6a** gelsvos spalvos, skystas. Išeiga 597 mg (75 %).

<sup>1</sup>H BMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 7,74 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,59 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 7,44–7,38 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 7,20 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, fenilo žiedo 4-H), 6,52 (dd, *J* = 17,7, 11,3 Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 5,70 (dd, *J* = 17,7, 1,6 Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 5,16 (dd, *J* = 11,3, 1,6 Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 4,06 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).

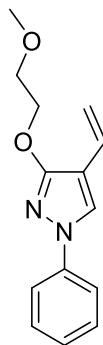
<sup>13</sup>C BMR (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ, m.d. = 162,6 (pirazolo C-3), 140,1 (fenilo žiedo C-1), 129,5 (fenilo žiedo C-3, C-5), 125,36 (pirazolo C-5), 125,32 (fenilo žiedo C-4), 125,1 (pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 117,7 (fenilo žiedo C-2, C-6), 113,3 (pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 108,5 (pirazolo C-4), 56,3 (-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR): ν, cm<sup>-1</sup> = 3102, 3071, 3050, 3014, 2977, 2945, 2896, 2870, 2815 (C-H valentiniai), 1637, 1599, 1566, 1501, 1462, 1428, 1414, 1398, 1247, 1204, 1010, 940, 897, 808, 751, 647 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF): *m/z*: apskaičiuota C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup>: 201,1022, rasta 201,1020.

R<sub>f</sub> = 0,76 (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

## 2.10. 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1H-pirazolas (6b)



2.10 pav. Junginio **6b** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **6a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1H-pirazol-4-karbaldehidas **5b** (985 mg). Gautas produktas **6b** bespalvis, skystas. Išėiga 552 mg (56 %).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 7,75 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,58 (dd,  $J = 8,7, 1,2$  Hz, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 7,43–7,36 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 7,22–7,16 (m, 1H, fenilo žiedo 4-H), 6,53 (dd,  $J = 17,7, 11,3$  Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 5,71 (dd,  $J = 17,7, 1,7$  Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 5,16 (dd,  $J = 11,3, 1,7$  Hz, 1H, pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 4,53–4,50 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,84–3,79 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,47 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>).

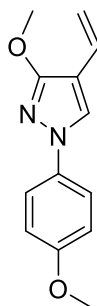
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 161,9 (pirazolo C-3), 140,0 (fenilo žiedo C-1), 129,4 (fenilo žiedo C-3, C-5), 125,3 (fenilo žiedo C-4), 125,11 (pirazolo C-5), 125,05 (pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 117,7 (fenilo žiedo C-2, C-6), 113,3 (pirazolo 4-CH=CH<sub>2</sub>), 108,7 (pirazolo C-4), 71,1 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 68,3 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 59,3 (-OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3101, 3070, 3051, 3014, 2982, 2929, 2883, 2815 (C-H valentiniai), 1638, 1599, 1565, 1499, 1449, 1353, 1246, 1202, 1127, 1045, 1030, 990, 942, 899, 851, 810, 752, 735 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{NaO}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 267,1104, rasta 267,1104.

$R_f = 0,67$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

## 2.11. 4-etenil-3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas (6c)



2.11 pav. Junginio **6c** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **6a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehidas **5c** (929 mg). Gautas produktas **6c** baltos spalvos, kristalinis. Išeiga 735 mg (80 %).

Lydimosi temperatūra  $t_{lyd} = 58\text{--}59\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 7,63 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,51–7,46 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,96–6,91 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 6,51 (dd,  $J = 17,7, 11,3$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,66 (dd,  $J = 17,7, 1,8$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,13 (dd,  $J = 11,3, 1,8$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4,04 (s, 3H, pirazolo 3- $\text{OCH}_3$ ), 3,82 (s, 3H, fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ).

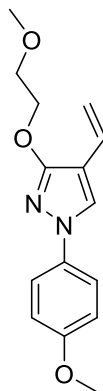
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 162,4 (pirazolo C-3), 157,6 (fenilo žiedo C-4), 134,0 (fenilo žiedo C-1), 125,5 (pirazolo C-5), 125,2 (pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 119,5 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,6 (fenilo žiedo C-3, C-5), 112,8 (pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 107,8 (pirazolo C-4), 56,3 (pirazolo 3- $\text{OCH}_3$ ), 55,7 (fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1} = 3154, 3133, 3101, 3055, 3013, 2960, 2946, 2911, 2897, 2869, 2837$  (C-H valentiniai), 1635, 1563, 1508, 1461, 1445, 1414, 1401, 1297, 1241, 1029, 1008, 995, 940, 900, 824, 735 (C=C, C-O, C-N,  $\text{CH}_3$ , =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 253,0947, rasta 253,0946.

$R_f = 0,62$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

## 2.12. 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolas (**6d**)



2.12 pav. Junginio **6d** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **6a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehidas **5d** (1120 mg). Gautas produktas **6d** baltos spalvos, kristalinis. Išeiga 570 mg (52 %).

Lydimosi temperatūra  $t_{lyd} = 83\text{--}84\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 7,64 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,50–7,44 (m, 2H, fenilo žiedo 2-H, 6-H), 6,95–6,89 (m, 2H, fenilo žiedo 3-H, 5-H), 6,52 (dd,  $J = 17,7, 11,3$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,67 (dd,  $J = 17,7, 1,7$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,12 (dd,  $J = 11,3, 1,7$  Hz, 1H, pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4,51 – 4,47 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3,84–3,78 (m, 5H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ - ir fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ), 3,46 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -).

$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 161,6 (pirazolo C-3), 157,6 (fenilo žiedo C-4), 133,9 (fenilo žiedo C-1), 125,20 (pirazolo C-5), 125,16 (pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 119,5 (fenilo žiedo C-2, C-6), 114,6 (fenilo žiedo C-3, C-5), 112,8 (pirazolo 4- $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 108,0 (pirazolo C-4), 71,2 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 68,3 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 59,2 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 55,7 (fenilo žiedo 4- $\text{OCH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3084, 3012, 2990, 2955, 2930, 2887, 2845, 2833, 2818 (C-H valentiniai), 1633, 1558, 1501, 1441, 1424, 1350, 1302, 1243, 1198, 1180, 1125, 1103, 1062, 1048, 1026, 994, 943, 913, 831, 813, 737, 657 (C=C, C-O, C-N,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ , =C-H).

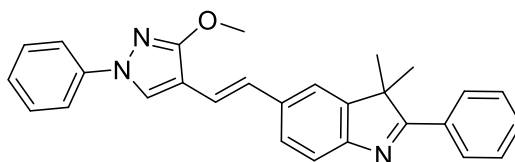
HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 297,1210, rasta 297,1212.

$R_f$  = 0,53 (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

### 2.12.1. Bendra junginių 8a–d sintezės metodika

Reakcija vykdoma argono atmosferoje. Atitinkamas alkenas **6a–d** (1 mmol) ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolas **7** (1,25–1,5 mmol) ištirpinami sausame dimetilformamide (5 mL). Tuomet į reakcijos mišinį suberiami cezio karbonatas (489 mg, 1,5 mmol), tetrabutilamonio jodidas (554 mg, 1,5 mmol) ir paladžio(II) acetatas (45 mg, 0,2 mmol). Reakcija vykdoma 120 °C temperatūroje 48 val. Reakcijai pasibaigus, reakcijos mišinys išpilamas į sotų natrio chlorido tirpalą (150 mL) ir ekstrahuojamas etilacetatu (4 × 25 mL). Organinis sluoksnis praplaunamas sočiu natrio chlorido tirpalu (150 mL), džiovinamas bevandeniu natrio sulfatu, filtruojamas ir tirpiklis nugarinamas sumažintame slėgyje. Likutis gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu.

### 2.13. 5-[(*E*)-2-(3-(metoksi)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolas (**8a**)



2.13 pav. Junginio **8a** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **8a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 4-etenil-3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazolas **6a** (211 mg, 1 mmol) ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolas **7** (433 mg, 1,25 mmol). Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas *n*-heksanas/etilacetatas 6/1). Gautas produktas **8a** žaliai geltonos spalvos, stikliško pavidalo. Išėja 203 mg (48 %).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 8,16 (dd,  $J$  = 7,5, 2,2 Hz, 2H, C-Ph 2-H, 6-H), 7,87 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,67–7,60 (m, 3H, N-Ph 2-H, 6-H ir indolo 7-H), 7,51–7,41 (m, 7H, N-Ph 3-H, 5-H, indolo 4-H, 6-H, C-Ph 3-H, 4-H, 5-H), 7,24–7,16 (m, 2H, N-Ph 4-H ir pirazolas- $\text{CH}=\text{CH}$ -indolas), 6,97 (d,  $J$  = 16,4 Hz, 1H, pirazolas- $\text{CH}=\text{CH}$ -indolas), 4,14 (s, 3H, - $\text{OCH}_3$ ), 1,63 (s, 6H, indolo 3- $\text{CH}_3$ ).

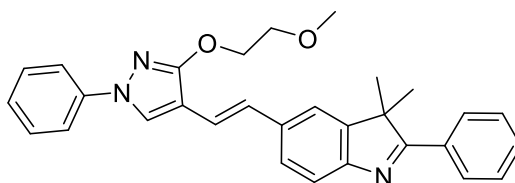
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 183,0 (indolo C-2), 162,6 (pirazolo C-3), 152,6 (indolo C-7a), 148,4 (indolo C-3a), 140,0 (N-Ph C-1), 136,2 (indolo C-5), 133,5 (C-Ph C-1), 130,6 (C-Ph C-4), 129,5 (N-Ph C-3, C-5), 128,7 (C-Ph C-3, C-5), 128,4 (C-Ph C-2, C-6), 128,0 (pirazolas- $\text{CH}=\text{CH}$ -indolas), 126,2 (indolo C-6), 125,4 (N-Ph C-4), 125,1 (pirazolo C-5), 121,0 (indolo C-7), 118,3 (indolo C-4), 117,7 (N-Ph C-2, C-6), 116,7 (pirazolas- $\text{CH}=\text{CH}$ -indolas), 108,6 (pirazolo C-4), 56,5 (- $\text{OCH}_3$ ), 53,6 (indolo C-3), 25,0 (indolo 3- $\text{CH}_3$ ).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3048, 3019, 3007, 2966, 2943, 2928, 2865, 2814 (C-H valentiniai), 1638, 1598, 1566, 1502, 1460, 1442, 1406, 1344, 1250, 1222, 1201, 1053, 1013, 961, 941, 820, 775, 752, 712, 689 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O [M+H]<sup>+</sup>: 420,2070, rasta 420,2070.

R<sub>f</sub> = 0,43 (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

#### 2.14. 5-*{(E)-2-[3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1H-pirazol-4-il]etenil}*-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas (8b)



2.14 pav. Junginio **8b** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **8a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-fenil-1H-pirazolas **6b** (244 mg, 1 mmol) ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas **7** (439 mg, 1,25 mmol). Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas *n*-heksanas/etilacetatas 6/1). Gautas produktas **8b** geltonai oranžinės spalvos, stikliško pavidalo. Išeiga 242 mg (52 %).

<sup>1</sup>H BMR (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ , m.d. = 8,16 (dd,  $J$  = 7,6, 2,0 Hz, 2H, C-Ph 2-H, 6-H), 7,88 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,66–7,60 (m, 3H, N-Ph 2-H, 6-H ir indolo 7-H), 7,51–7,40 (m, 7H, N-Ph 3-H, 5-H, indolo 4-H, 6-H, C-Ph 3-H, 4-H, 5-H), 7,23–7,15 (m, 2H, N-Ph 4-H, pirazolas-CH=CH-indolas), 6,98 (d,  $J$  = 16,4 Hz, 1H, pirazolas-CH=CH-indolas), 4,60–4,58 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,90–3,87 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,52 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 1,64 (s, 6H, indolo 3-CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C BMR (176 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ , m.d. = 183,0 (indolo C-2), 161,9 (pirazolo C-3), 152,6 (indolo C-7a), 148,3 (indolo C-3a), 140,0 (N-Ph C-1), 136,2 (indolo C-5), 133,4 (C-Ph C-1), 130,6 (C-Ph C-4), 129,5 (N-Ph C-3, C-5), 128,7 (C-Ph C-3, C-5), 128,4 (C-Ph C-2, C-6), 128,0 (pirazolas-CH=CH-indolas), 126,4 (indolo C-6), 125,4 (N-Ph C-4), 124,8 (pirazolo C-5), 121,0 (indolo C-7), 118,2 (indolo C-4), 117,6 (N-Ph C-2, C-6), 116,7 (pirazolas-CH=CH-indolas), 108,8 (pirazolo C-4), 71,2 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 68,5 (CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-), 59,3 (-OCH<sub>3</sub>), 53,5 (indolo C-3), 25,0 (indolo 3-CH<sub>3</sub>).

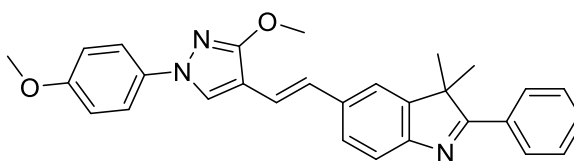
IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3050, 2964, 2927, 2878, 2815 (C-H valentiniai), 1638, 1598, 1566, 1500, 1461, 1445, 1407, 1355, 1250, 1236, 1199, 1126, 1043, 962, 942, 919, 821, 776, 753, 690 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota C<sub>30</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 464,2333, rasta 464,2334.

R<sub>f</sub> = 0,36 (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).



**2.15. 5-*{(E)-2-[3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-4-il]etenil}*-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas (8c)**



**2.15 pav.** Junginio **8c** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **8a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 4-etenil-3-metoksi-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas **6c** (231 mg, 1 mmol) ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas **7** (520 mg, 1,5 mmol). Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas *n*-heksanas/etilacetatas 6/1). Gautas produktas **8c** geltonos spalvos, stikliško pavidalo. Išeiga 242 mg (54 %).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 8,16 (dd,  $J = 7,6, 2,1$  Hz, 2H, C-Ph 2-H, 6-H), 7,76 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,65 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, indolo 7-H), 7,56–7,43 (m, 7H, N-Ph 2-H, 6-H, indolo 4-H, 6-H, C-Ph 3-H, 4-H, 5-H), 7,15 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, pirazolas-CH=CH-indolas), 6,99–6,93 (m, 3H, N-Ph 3-H, 5-H ir pirazolas-CH=CH-indolas), 4,12 (s, 3H, pirazolo 3-OCH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, N-Ph 4-OCH<sub>3</sub>), 1,63 (s, 6H, indolo 3-CH<sub>3</sub>).

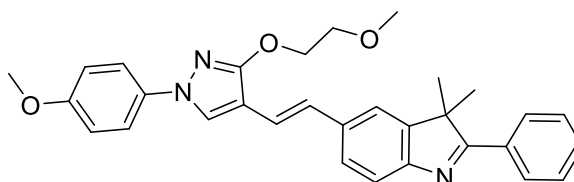
$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 182,9 (indolo C-2), 162,4 (pirazolo C-3), 157,6 (N-Ph C-4), 152,5 (indolo C-7a), 148,3 (indolo C-3a), 136,3 (indolo C-5), 133,9 (N-Ph C-1), 133,4 (C-Ph C-1), 130,6 (C-Ph C-4), 128,7 (C-Ph C-3, C-5), 128,4 (C-Ph C-2, C-6), 127,5 (pirazolas-CH=CH-indolas), 126,1 (indolo C-6), 125,2 (pirazolo C-5), 121,0 (indolo C-7), 119,5 (N-Ph C-2, C-6), 118,2 (indolo C-4), 116,8 (pirazolas-CH=CH-indolas), 114,6 (N-Ph C-3, C-5), 107,8 (pirazolo C-4), 56,4 (pirazolo 3-OCH<sub>3</sub>), 55,7 (N-Ph 4-OCH<sub>3</sub>), 53,5 (indolo C-3), 25,0 (indolo 3-CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3054, 3002, 2963, 2930, 2865, 2834 (C-H valentiniai), 1636, 1564, 1510, 1460, 1443, 1412, 1301, 1243, 1171, 1055, 1030, 1014, 963, 943, 823, 775, 695 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 450,2176, rasta 450,2176.

$R_f = 0,27$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

**2.16. 5-*{(E)-2-[3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-4-il]etenil}*-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas (8d)**



**2.16 pav.** Junginio **8d** struktūrinė formulė

Junginys sintetinamas pagal bendrą junginių **8a–d** sintezės metodiką. Reakcijoje dalyvauja 4-etenil-3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazolas **6d** (274 mg, 1 mmol) ir 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3H-indolas **7** (520 mg, 1,5 mmol). Gryninama kolonėlinės chromatografijos metodu (eliuentas

*n*-heksanas/etilacetatas 3/1). Gautas produktas **8d** geltonai oranžinės spalvos, stikliško pavidalo. Išeiga 222 mg (45 %).

$^1\text{H}$  BMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 8,15 (dd,  $J = 7,5, 2,2$  Hz, 2H, C-Ph 2-H, 6-H), 7,78 (s, 1H, pirazolo 5-H), 7,63 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, indolo 7-H), 7,54–7,40 (m, 7H, N-Ph 2-H, 6-H, indolo 4-H, 6-H, C-Ph 3-H, 4-H, 5-H), 7,13 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H, pirazolas-CH=CH-indolas), 7,00–6,93 (m, 3H, N-Ph 3-H, 5-H, pirazolas-CH=CH-indolas), 4,58–4,54 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3,90–3,85 (m, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 3,84 (s, 3H, fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>), 3,51 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 1,63 (s, 6H, indolo 3-CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  BMR (176 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , m.d. = 183,0 (indolo C-2), 161,7 (pirazolo C-3), 157,6 (N-Ph C-4), 152,5 (indolo C-7a), 148,3 (indolo C-3a), 136,3 (indolo C-5), 133,9 (N-Ph C-1), 133,5 (C-Ph C-1), 130,6 (C-Ph C-4), 128,7 (C-Ph C-3, C-5), 128,4 (C-Ph C-2, C-6), 127,5 (pirazolas-CH=CH-indolas), 126,3 (indolo C-6), 124,9 (pirazolo C-5), 121,0 (indolo C-7), 119,5 (N-Ph C-2, C-6), 118,1 (indolo C-4), 116,8 (pirazolas-CH=CH-indolas), 114,7 (N-Ph C-3, C-5), 108,2 (pirazolo C-4), 71,2 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 68,5 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 59,3 ( $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ -), 55,7 (fenilo žiedo 4-OCH<sub>3</sub>), 53,6 (indolo C-3), 25,1 (indolo 3-CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$  = 3055, 2962, 2928, 2881, 2834, 2815 (C-H valentiniai), 1637, 1563, 1512, 1461, 1444, 1405, 1387, 1355, 1344, 1301, 1244, 1198, 1172, 1126, 1043, 1030, 963, 945, 919, 824, 776, 695 (C=C, C-O, C-N, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, =C-H).

HRMS (ESI-TOF):  $m/z$ : apskaičiuota  $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 494,2438, rasta 494,2440.

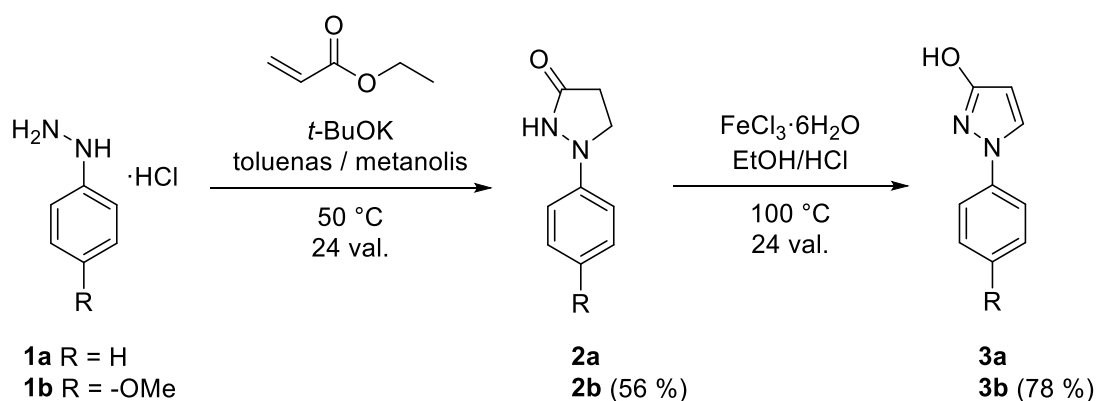
$R_f = 0,20$  (*n*-heksanas/etilacetatas 3/1).

### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

#### 3.1. Tarpinių junginių sintezė

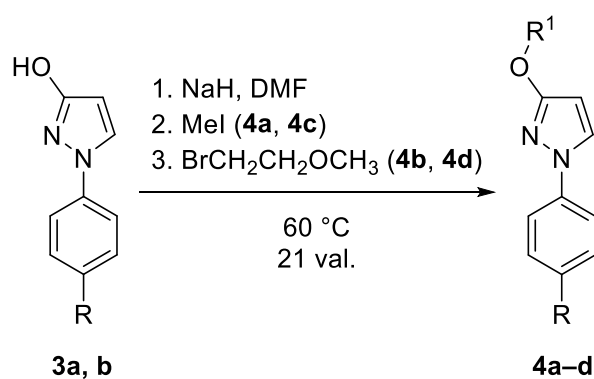
Yra žinoma, kad ne tik junginių fluorescencija, bet ir jų tirpumas vandenyje arba kituose poliniuose tirpikliuose priklauso nuo prie molekulės prijungtų pakaitų. Įjungiant ilgus alkilpakaitus į molekulę, didėja jos lipofiliškumas, o tai gali pabloginti junginio tirpumą vandenyje ir dimetilsulfoksido. Pakankamas junginių tirpumas šiuose poliniuose tirpikliuose yra svarbus, norint ištirti junginių biologinį aktyvumą [27]. Šiame baigiamajame darbe buvo nuspręsta sintetinti įvairiai pakeistus 3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)- ir 3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazolo darinius. Pradinių junginių – 3-hidroksi-1*H*-pirazolų – 3-ioje pirazolo žiedo padėtyje esanti laisva hidroksigrupė buvo alkilinama metiljodidu arba 2-brometilmetileteriu, ir tuo pačiu apsaugojama prieš tolimesnių reakcijų (formilinimo, Wittig'o, Heck'o reakcijų) vykdymą. Buvo tikimasi, jog metoksi- ir metoksietoksipakaitai padarys įtakos tikslinių pirazolo-indolo darinių tirpumui vandenyje ir dimetilsulfoksido, taip pat ir junginių optinėms savybėms (sugerčiai, fluorescencijai). Be to, tokių pirazolo darinių su metoksi- ir metoksietoksifragmentais nebuvo rasta ir moksliniuose literatūros šaltiniuose.

Pagal literatūroje [28] aprašytą metodiką buvo susintetinti 1-fenil- ir 1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolo dariniai **3a,b** iš komercinių junginių fenilhidrazino hidroklorido **1a** ir 4-metoksifenilhidrazino hidroklorido **1b**. Pradinei medžiagai **1b** reaguojant su etilakrilatu tolueno ir metanolio mišinyje ir esant bazei kalio *tert*-butoksidui 50 °C temperatūroje, susidarė ciklizacijos produktas 1-(4-metoksifenil)pirazolidin-3-onas **2b** (56 % išeiga). Reakcijos produktą **2b** oksiduojant geležies(III) chloridu, susintetintas 1-(4-metoksifenil)-3-hidroksi-1*H*-pirazolas **3b** (78% išeiga po ekstrakcijos). Tolimesnėms reakcijoms junginio **3b** grynumas buvo pakankamas. Junginio **3a** sintezė yra pateikta literatūroje [29, 30].



3.1 pav. Junginio **3b** sintezė

Junginiai **3a** ir **3b** panaudoti alkilinimo reakcijoje, kurios metu gauti 3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazolai bei 3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolai **4a–d** (žr. 3.2 pav.). 3-metoksi-1-fenil-1*H*-pirazolas **4a** yra žinomas junginys ir aprašytas mokslinėje literatūroje [31]. Reakcijoms naudoti alkilinimo agentai metiljodidas arba 2-brometilmetileteris, tirpiklis – dimetilformamidas, o stipri bazė natrio hidridas yra reikalinga protono atplėšimui nuo hidroksigrupės ir reaktingesnio tarpinio junginio – alkoksido sudarymui. Rezultatai pateikti 1 lentelėje.



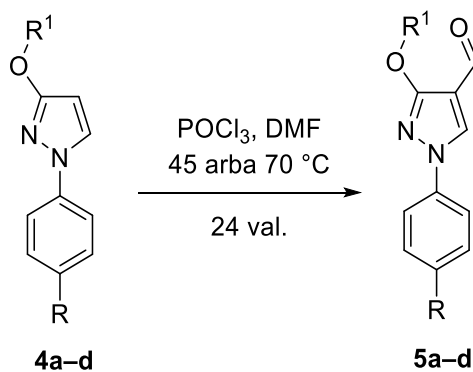
**3.2 pav.** Junginių **4a-d** sintezė

**1 lentelė.** Junginių **4a-d** sintezė

Eil. Nr.	R	R <sup>1</sup>	Produktas	Išėiga, %
1	-H	-CH <sub>3</sub>	<b>4a</b>	68*
2	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>4b</b>	83
3	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	<b>4c</b>	63
4	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>4d</b>	66

\* – sintezė pateikta literatūros šaltinyje [31].

Į gautų 3-alkoksi-1*H*-pirazolų **4a-d** 4-ąją padėtį įjungta aldehidinė grupė, vykdant Vilsmeier-Haack'o formilinimo reakciją [31]. Dimetilformamidas ir fosforo oksichloridas sudaro vadinamąjį Vilsmeier-Haack'o reagentą, kuris yra silpnas elektrofilas, gebantis reaguoti su įvairiais elektronų perteklių turinčiais heterocikliniais junginiais [32]. Vykdant reakcijas, į šį reagentą sulašinami atitinkami pirazolai **4a-d**, kurie yra ištirpinti dimetilformamide.



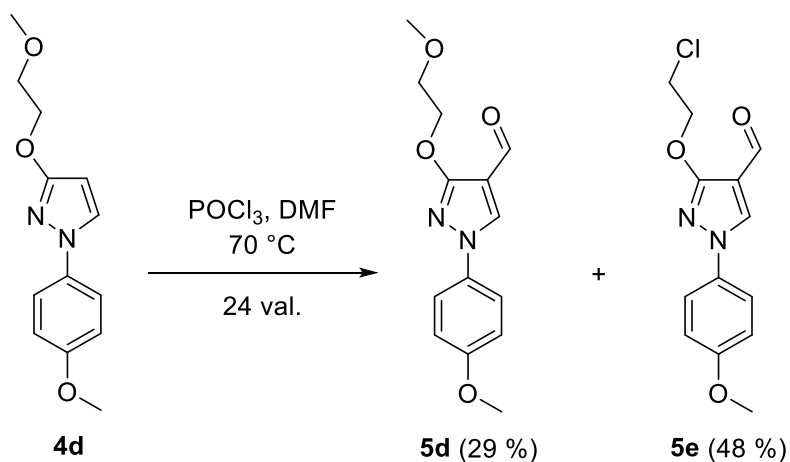
**3.3 pav.** Junginių **5a-d** sintezė

**2 lentelė.** Junginių **5a-d** sintezė

Eil. Nr.	R	R <sup>1</sup>	Temperatūra	Produktas	Išėiga, %
1	-H	-CH <sub>3</sub>	70 °C	<b>5a</b>	45 <sup>a</sup>
2	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	45 °C	<b>5b</b>	78 <sup>b</sup>
3	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	70 °C	<b>5c</b>	73
4	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	70 °C	<b>5d</b>	29 <sup>b</sup>

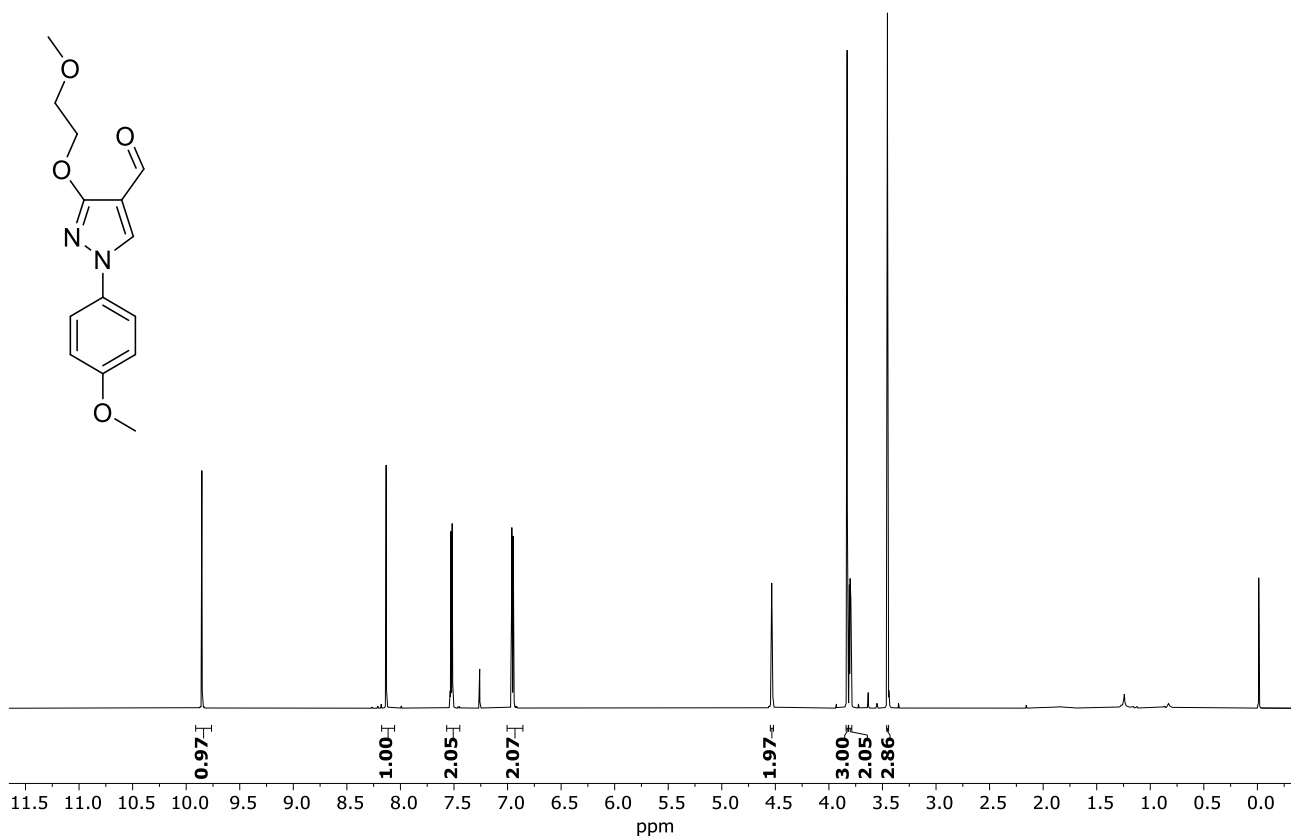
<sup>a</sup> – sintezė pateikta literatūros šaltinyje [31], <sup>b</sup> - išėiga po kolonėlinės chromatografijos.

Pastebėta, jog formilinant junginį **4d** pagal 1*H*-pirazolo darinių formilinimo metodiką, kai reakcijos mišinys kaitinamas iki 70 °C ir naudojama po 4 ekvivalentus POCl<sub>3</sub> ir DMF [31], susidarė tikslinis produktas 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehidas **5d** (išeiga 29 %) ir šalutinis produktas 3-(2-chloretoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehidus (pažymėtas **5e**, žr. 3.4 pav.) (išeiga 48 %).

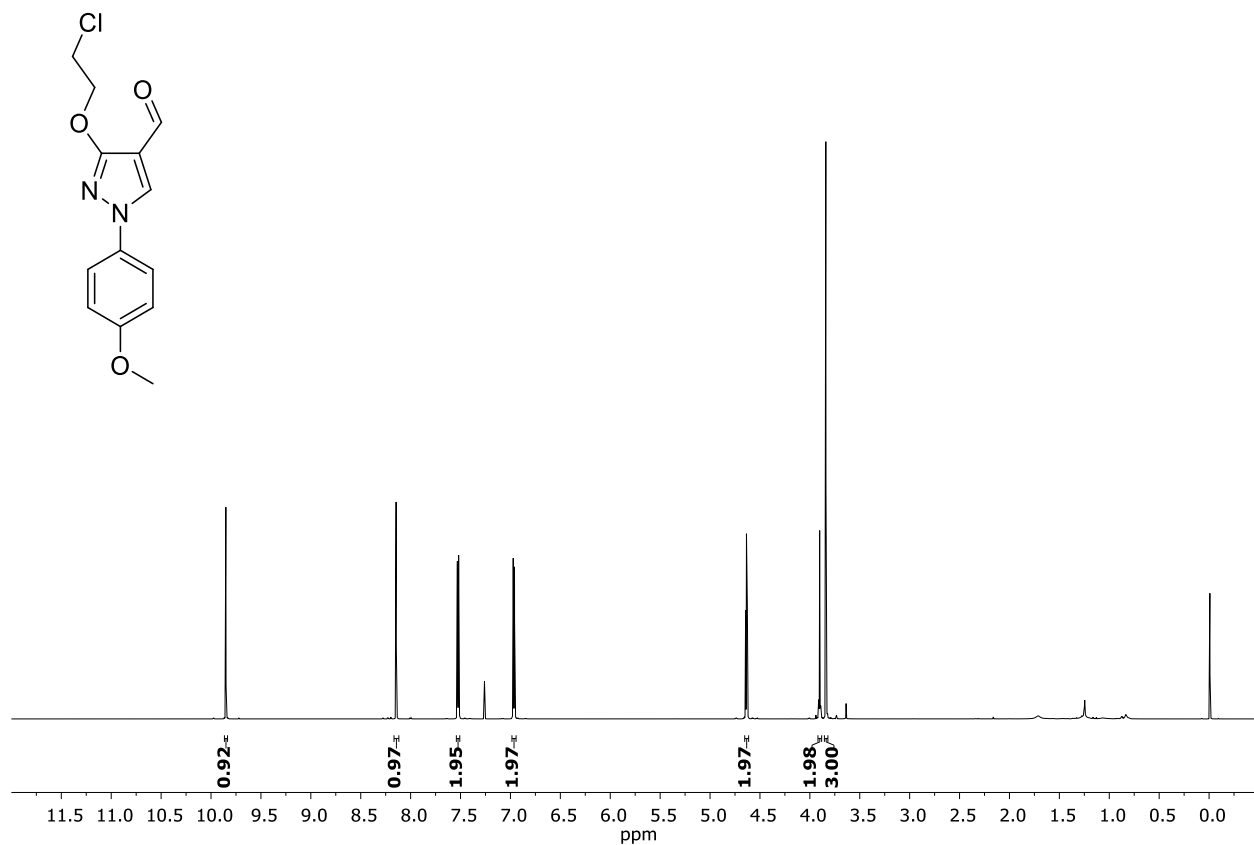


**3.4 pav.** Junginių **5d,e** sintezė

Abu junginiai buvo atskirti kolonėlinės chromatografijos metodu. Panaudojus HRMS ir BMR spektroskopijos duomenis buvo įrodytos šių gautų junginių struktūros. Toliau 3.5 ir 3.6 pav. pateikiami junginių **5d** ir **5e** <sup>1</sup>H BMR spektrai. Iš junginio **5e** <sup>1</sup>H BMR spektro matoma, jog registruojamas tik vienos metoksigrupės signalas, o užrašius HRMS spektrą buvo įrodyta, kad metoksietoksifragmente buvusi metoksigrupė yra pakeista į chloro atomą.



3.5 pav. 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-4-karbaldehido (5d) <sup>1</sup>H BMR spektras



3.6 pav. 3-(2-chloretoksi)-1-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-4-karbaldehido (5e) <sup>1</sup>H BMR spektras

Tarpinių junginių anglies atomams ir protonams atitinkami cheminiai poslinkiai priskirti, remiantis viendimensiniais  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT-90, DEPT-135, taip pat ir dvidimensiniais HMBC, H2BC, HSQC spektrais. Toliau pateiktas junginio **5c**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC spektras (žr. 3.7 pav.), kuris parodo protonų ir anglių sąveikas per kelis ryšius (dažniausiai per 2–3) [33].

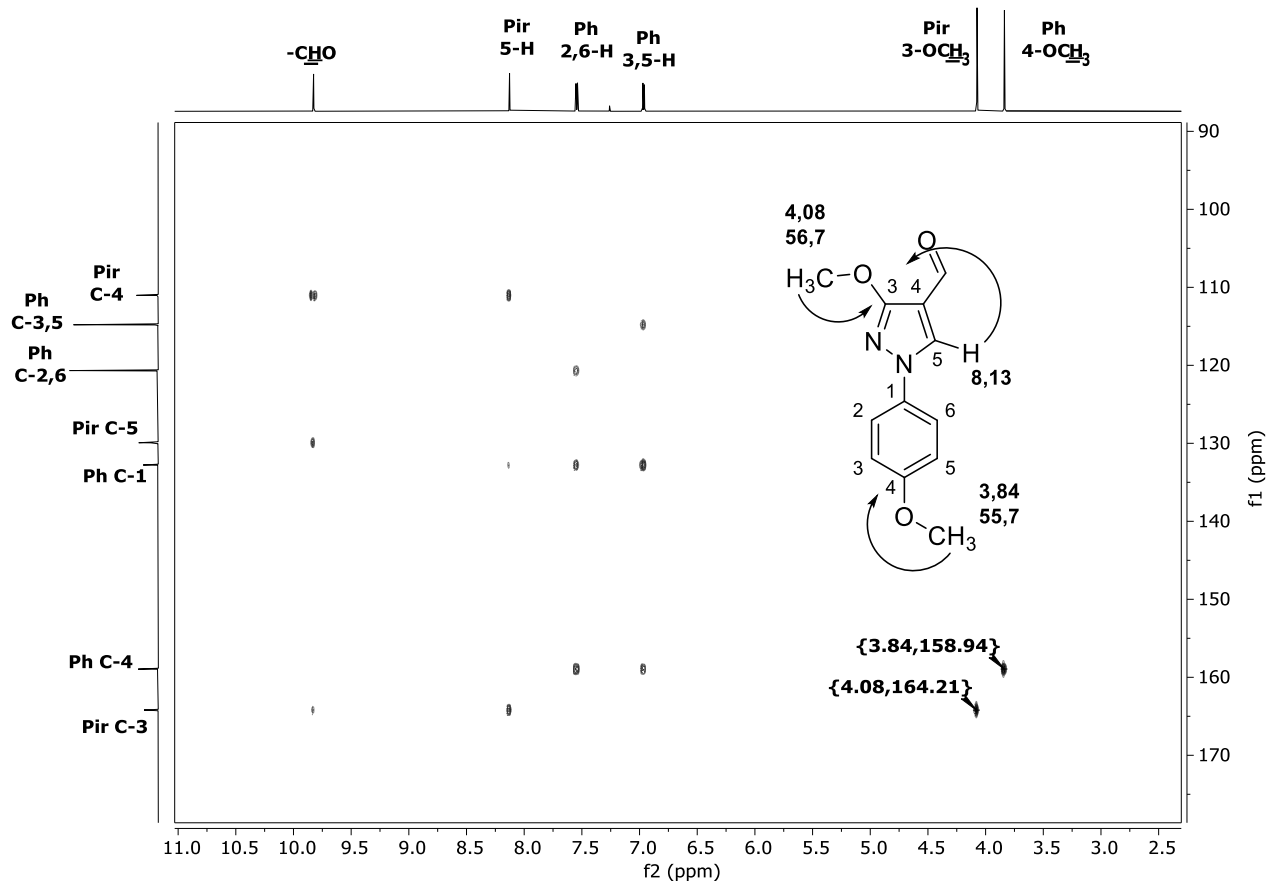
Junginyje **5c** dvi metoksigrupės ( $-\text{OCH}_3$ ) nėra magnetiškai ekvivalenčios. Iš  $^1\text{H}$  BMR spektrų nesudėtinga nustatyti, jog vienos metoksigrupės trijų protonų singletas yra prie 3,84 m.d., o kitos – prie 4,08 m.d. Tam, kad būtų galima priskirti  $^1\text{H}$  bei  $^{13}\text{C}$  BMR signalus pirazolo 3-ioje padėtyje ir fenilo žiedo 4-oje padėtyje esančių metoksigrupių protonams ir anglies atomams, buvo nagrinėjami HMBC bei HSQC spektrai.

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC spektre stebimos protonų ir anglių sąveikos per vieną ryšį. Iš jo nustatyta, jog metoksigrupės protonai, kurių signalas ties 3,84 m.d., tiesiogiai sąveikauja su anglimi, kurios signalas  $^{13}\text{C}$  BMR spektre yra prie 55,7 m.d. Kitos metoksigrupės protonai (cheminis poslinkis 4,08 m.d.) turi sąveiką per vieną ryšį su anglimi, kurios signalas yra ties 56,7 m.d.

Iš apačioje pateikto HMBC spektro nustatyta, jog metoksigrupės protonai, kurių cheminis poslinkis  $^1\text{H}$  BMR spektre ties 3,84 m.d., turi sąveiką per kelis ryšius su anglimi, kurios cheminis poslinkis  $^{13}\text{C}$  BMR spektre aptinkamas prie 158,9 m.d. Antrosios metoksigrupės protonai (4,08 m.d.) atitinkamai turi tolimąją sąveiką su ketvirtine anglimi, kurios signalas stebimas prie 164,2 m.d. Su šia anglimi taip pat per tris ryšius sąveikauja 5-oje pirazolo žiedo padėtyje esantis protonas (8,13 m.d.), todėl  $^{13}\text{C}$  BMR signalą ties 164,2 m.d. galima priskirti pirazolo C-3. Reikėtų paminėti, kad stebima ir pirazolo 5-H tolimoji sąveika su pirazolo C-4 (111 m.d.). Taigi, turint šiuos HMBC ir HSQC spektroskopinius duomenis galima teigti, jog  $^1\text{H}$  BMR signalas ties 4,08 m.d. ir  $^{13}\text{C}$  BMR signalas prie 56,7 m.d. atitinkamai priklauso metoksigrupės, prisijungusios prie pirazolo C-3, protonams ir anglies atomui.

Fenilo žiedo aromatiniai protonai, kaip ir vienos iš metoksigrupių protonai, sąveikauja per kelis ryšius su ketvirtine anglimi, kurios signalas yra prie 158,9 m.d. Iš šių duomenų galima išsiaiškinti, jog fenilo žiedo 4-oje padėtyje esančios metoksigrupės protonų singletas yra prie 3,84 m.d.

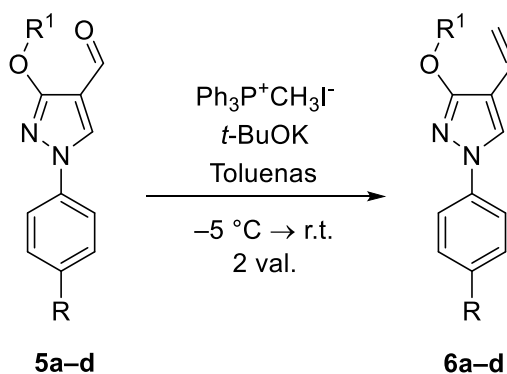
HMBC spektre taip pat galima stebėti ir aldehidinės grupės protono tolimąsias sąveikas su pirazolo C-4 (111 m.d.) ir C-5 (129,9 m.d.).



3.7 pav. Junginio **5c**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC spektro fragmentas

Iš karbaldehydų **5a–d** buvo gauti 4-etenil-1*H*-pirazolai **6a–d**, vykdamt Wittig‘o reakciją. Iš pradžių metiltrifenilfosfonio jodido suspensija sausame toluene paveikta stipria baze – kalio *tret*-butoksidu, palaikant  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  temperatūrą. Apie tai, jog nuo metiltrifenilfosfonio jodido stipri bazė atplėšė protoną, susidarant metilentrifenilfosforanui, galima spręsti iš neblunkančios reakcijos mišinio geltonos spalvos. Į gautą tarpinį junginį metilentrifenilfosforaną šaldant sulašintos atitinkamų pirazolo karbaldehydų **5a–d** suspensijos sausame toluene.

Mokslinėje literatūroje aprašyta pirazolo alkenų sintezės metodika buvo šiek tiek modifikuota, t. y. nekaitinta susidariusio gana nestabilaus metilentrifenilfosforano iki tolueno virimo temperatūros [23]. Junginių **6a–d** išeigos pateiktos 3 lentelėje.



3.8 pav. Junginių **6a–d** sintezė

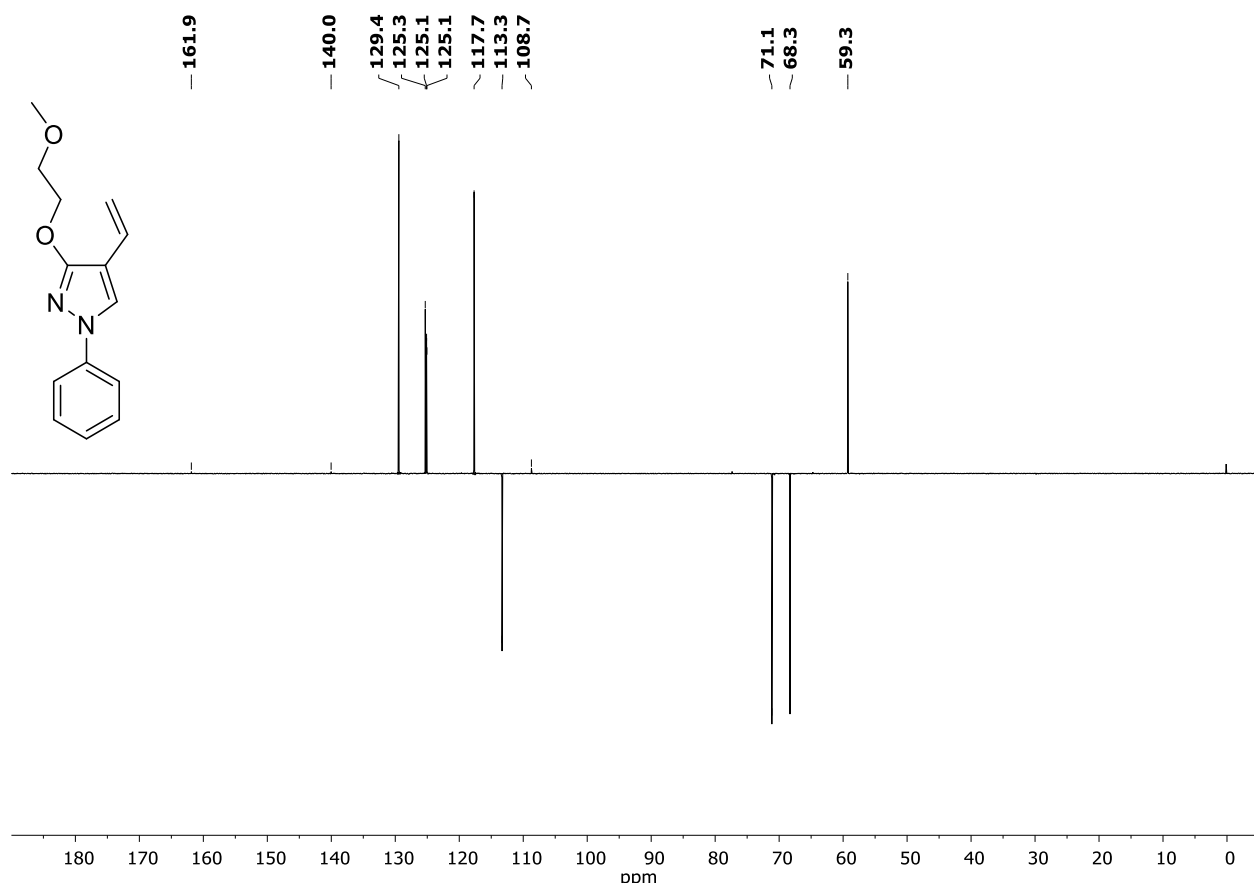


### 3 lentelė. Junginių 6a–d sintezė

Eil. Nr.	R	R <sup>1</sup>	Produktas	Išciga, %
1	-H	-CH <sub>3</sub>	<b>6a</b>	75
2	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>6b</b>	56
3	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	<b>6c</b>	80
4	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>6d</b>	52

Apie sėkmingą pirazolo alkenų **6a–d** susidarymą iš karbaldehidų **5a–d** galima spręsti iš jų <sup>13</sup>C DEPT-135 spektrų. Gautų junginių struktūras patvirtino ir HRMS spektrai. Alkenų **6a–d** <sup>13</sup>C DEPT-135 spektruose atsiranda neigiamas signalas prie 112,8 arba 113,3 m.d., kurį galima priskirti metileninės grupės =CH<sub>2</sub> anglies atomui. Karbonilinės anglies -CHO signalas, kurio cheminis poslinkis junginiuose **5a–d** svyruoja tarp 183,2–183,6 m.d., jau nebėra stebimas junginių **6a–d** <sup>13</sup>C BMR ir <sup>13</sup>C DEPT-135 spektruose.

Kaip pavyzdys (žr. 3.9 pav.) pateikiamas junginio **6b** <sup>13</sup>C DEPT-135 spektras. Neigiamas metileninės grupės =CH<sub>2</sub> anglies signalas šiuo atveju yra prie 113,3 m.d., o dviejų alifatinių -CH<sub>2</sub>- grupių iš metoksietoksipakaito signalai <sup>13</sup>C DEPT-135 spektre ties 68,3 ir 71,1 m.d. taip pat yra neigiami.



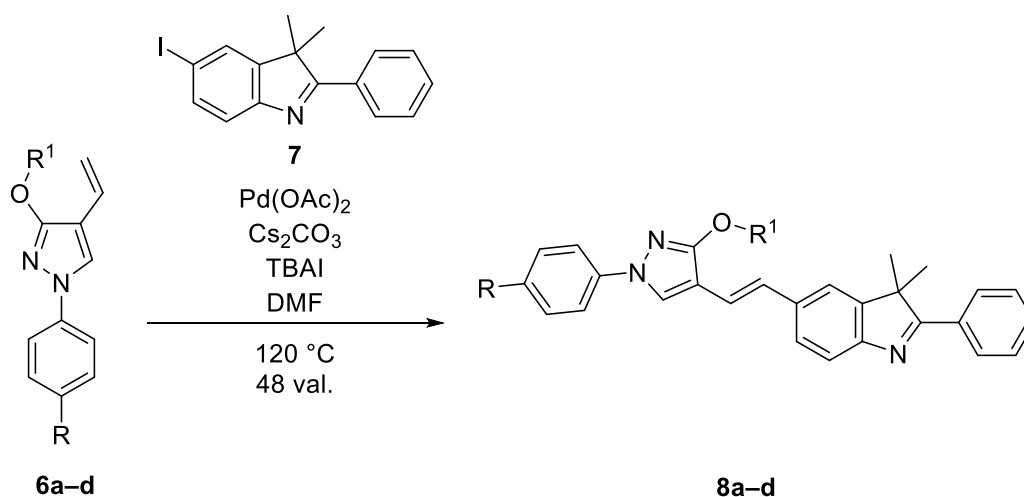
3.9 pav. Junginio **6b** DEPT-135 spektras

### 3.2. Galutinių junginių sintezė

Nauji pirazolo ir 3*H*-indolo fluoroforai **8a–d** buvo susintetinti, atlikus paladžio katalizuojamą Heck'ο reakciją. Tai yra kryžminio jungimo reakcija, kuri vyksta tarp alkenų ir arilhalogenidų (tinkami

halogenai – Cl, Br, I; taip pat ir vadinamieji pseudohalogenidai – ariltriflatai OTf), reakcijos mišinyje esant bazei. Heck'o reakcijoje dalyvavo prieš tai gauti galiniai alkenai – 4-etenil-1*H*-pirazolo dariniai **6a–d** ir jau žinomas junginys 5-jod-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolas **7**, kuris parinktas kaip arilhalogenidas. Pastarasis indolo darinys **7** sintetintas iš 4-jodfenilhidrazino ir izobutiropfenono virinant etanolyje, reakcijos mišinyje esant katalitiniam kiekiui sieros rūgšties (Fischer'io indolų sintezė) [32, 34].

Sintetinant pirazolo-indolo fluoroforus **8a–d** remtasi moksliniu straipsniu, kuriame yra aprašyta 3-(10-alkil-10*H*-fentiazin-3-il)-2-propenalių sintezė iš bromintų alkilfentiazinų ir akroleino dietilacetolio Heck'o reakcijos sąlygomis. Straipsnio autoriai Heck'o reakcijai katalizatoriumi parinko paladžio acetatą ir nenaudojo ligandų; vietoje jų buvo panaudotas tetrabutilamonio acetatas, kuris šioje reakcijoje atliko fazių pernašos katalizatoriaus vaidmenį [35]. Šios Heck'o reakcijos sąlygos buvo modifikuotos, reakcijos mišinio temperatūrą pakeliant iki 120 °C, fazių pernašos katalizatorių tetrabutilamonio acetatą, kuris pasižymi dideliu higroskopiškumu, pakeičiant į tetrabutilamonio jodidą, o kaip bazę panaudojant cezio karbonatą. Tikslinių kryžminio jungimo produktų **8a–d** išeigos siekė 45–54 % (žr. 4 lentelę).



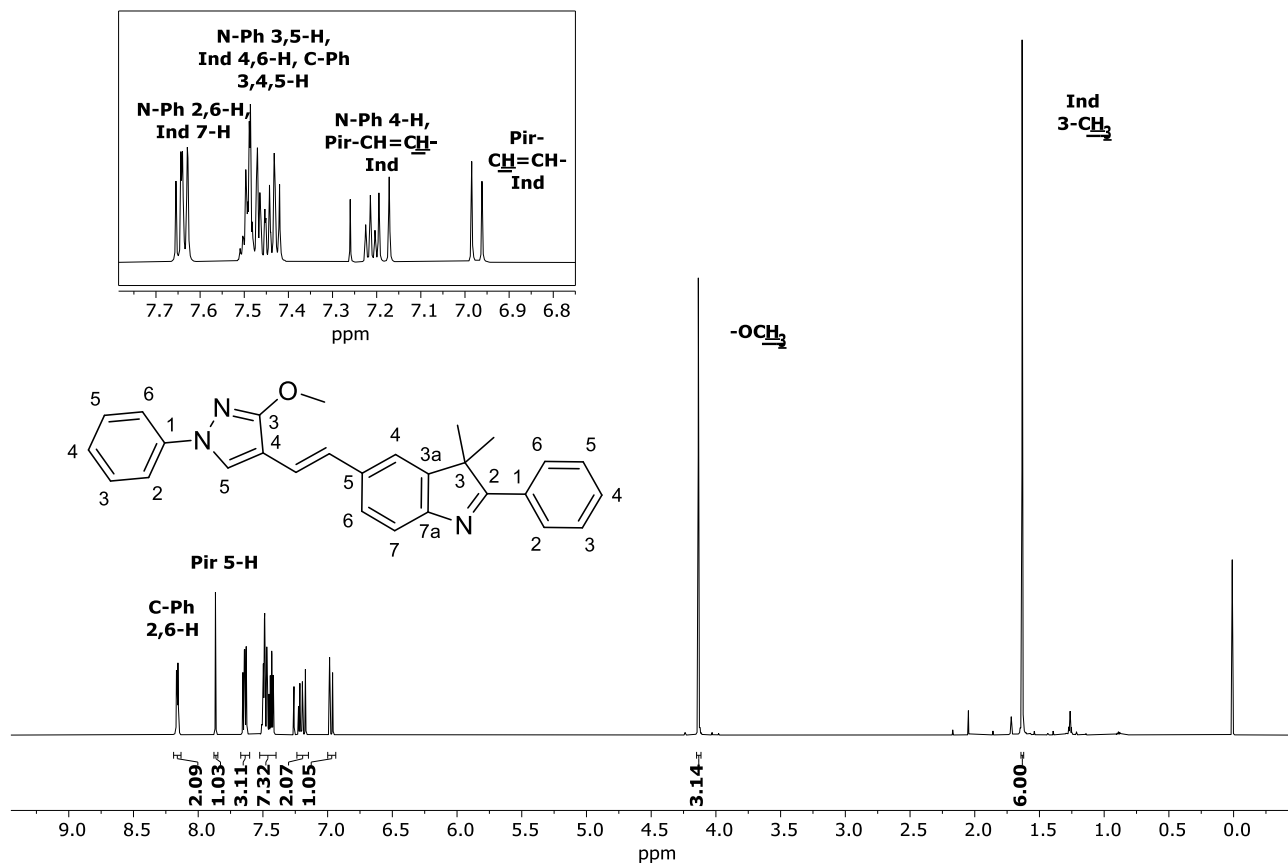
3.10 pav. Junginių **8a–d** sintezė

4 lentelė. Junginių **8a–d** sintezė

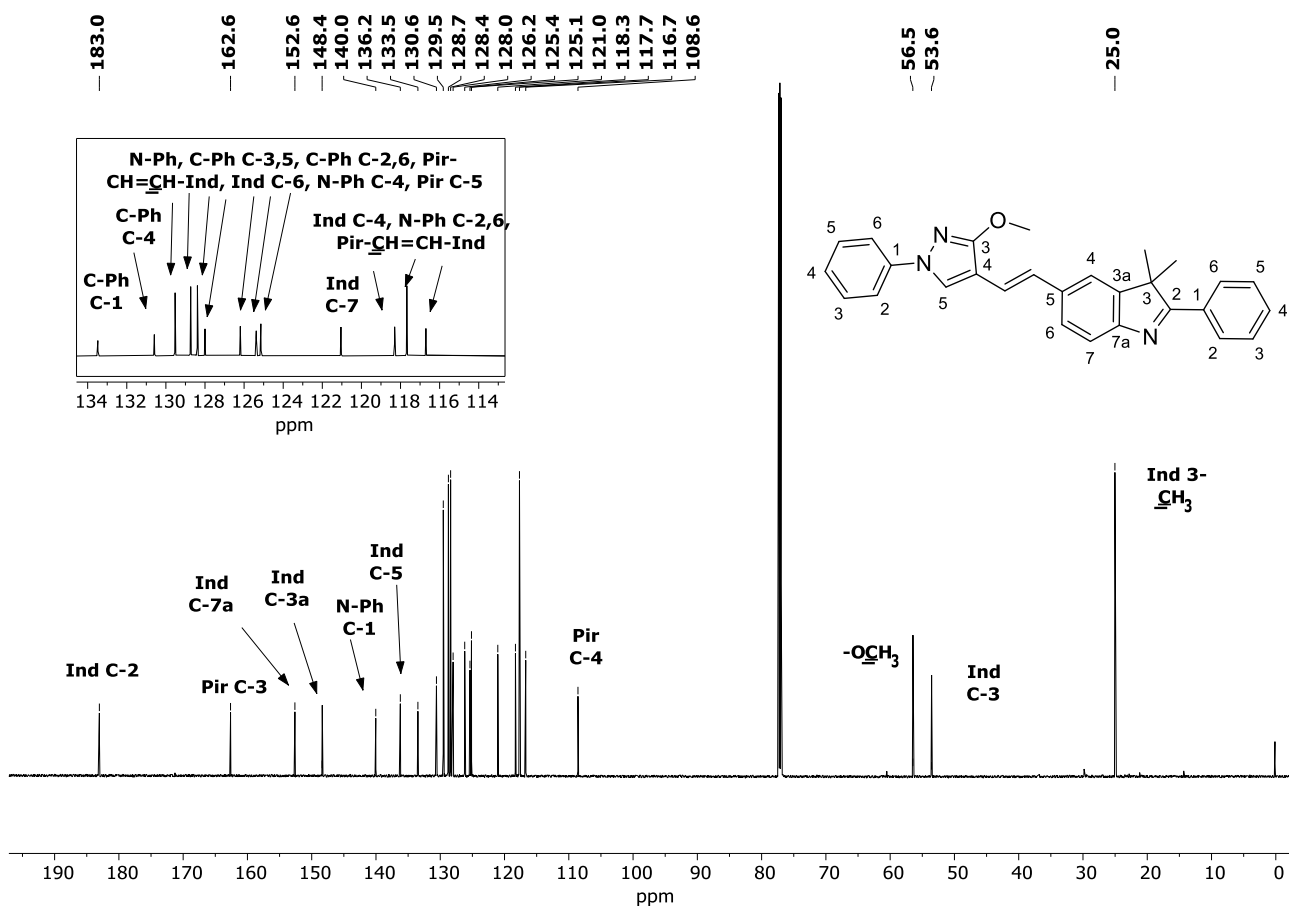
Eil. Nr.	R	R <sup>1</sup>	Produktas	Išeiga, %
1	-H	-CH <sub>3</sub>	<b>8a</b>	48
2	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>8b</b>	52
3	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	<b>8c</b>	54
4	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	<b>8d</b>	45

Žemiau pateiktas junginio **8a** <sup>1</sup>H BMR spektras (žr. 3.11 pav.), kuriame galima pastebėti, jog didžioji dalis aromatinių protonų turi panašius cheminius poslinkius, todėl jų signalai persidengę tarpusavyje. Trys protonai sudaro multiplėtą ties 7,60–7,67 m.d, septyni – ties 7,41–7,51 m.d, ir dviejų protonų signalai persidengia prie 7,16–7,24 m.d. Remiantis tik <sup>1</sup>H BMR spektru nustatyta, kuriems protonams priklauso singletai ties 1,63, 4,14, 7,87 m.d. (1,63 m.d. – 3*H*-indolo dvi metilgrupės, 4,14 m.d. – metoksigrupė, 7,87 m.d. – pirazolo žiedo protonas 5-oje padėtyje).

Tam, kad ir persidengiantiems galutinių junginių **8a-d**  $^1\text{H}$  BMR signalams būtų priskirti atitinkami protonai, buvo nagrinėjami dvidimensiniai BMR spektrai. Atitinkami cheminiai poslinkiai buvo priskirti ir anglies atomams, remiantis dvidimensiniais BMR spektrais (HSQC,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC, H2BC, NOESY, 1,1-ADEQUATE).



3.11 pav. Junginio **8a**  $^1\text{H}$  BMR spektras su priartinta 6,8–7,7 m.d. sritimi



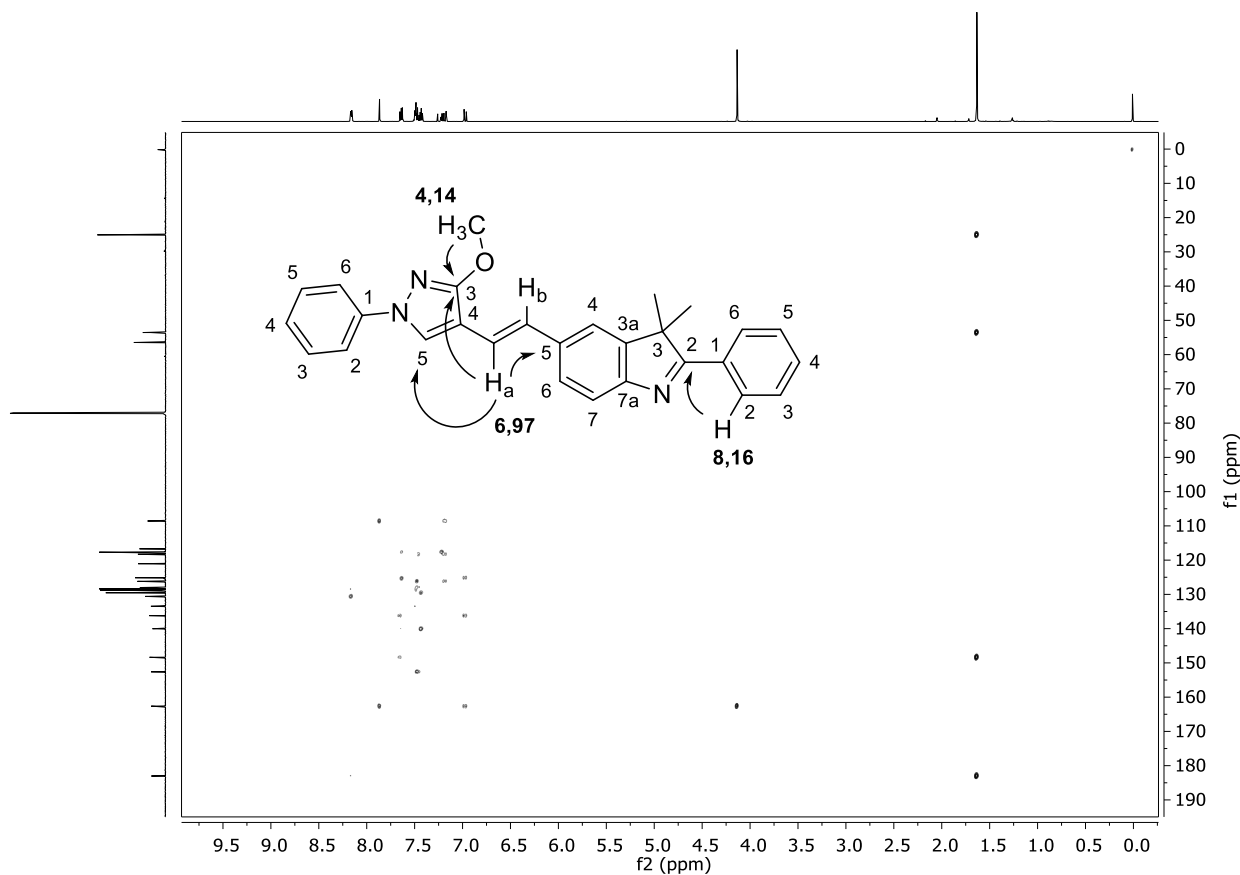
3.12 pav. Junginio **8a**  $^{13}\text{C}$  BMR spektras su priartinta 114–134 m.d. sritimi

Analizuojant junginio **8a**  $^1\text{H}$ – $^{13}\text{C}$  HMBC spektrą (žr. 3.13 pav.), pastebėta, jog protonas, kurio signalas yra dubletas ties 6,97 m.d., o vicinalinė sąveikos konstanta  $^3J = 16,4$  Hz, turi sąveikas per kelis ryšius su pirazolo C-5 (125,1 m.d.), pirazolo C-4 (108,6 m.d.), indolo C-5 (136,2 m.d.) ir pirazolo C-3 (162,6 m.d.) HSQC spektro duomenimis, šis protonas yra per vieną ryšį prisijungęs prie anglies, kurios signalas nustatomas esant 116,7 m.d. Dvidimensiniame NOESY spektre, kuris parodo erdvines protonų sąveikas matoma, jog indolo metilgrupių protonai (1,63 m.d.) turi erdvinę sąveiką su 2-oje  $3H$ -indolo padėtyje esančio fenilo žiedo 2-H bei 6-H (8,16 m.d.). Pirazolo 5-H (kurio cheminis poslinkis 7,87 m.d.) sąveikauja su protonais, kurių signalai patenka į multiplėtą ties 7,60–7,67 m.d. (t. y. prie pirazolo prijungto fenilo žiedo 2-H ir 6-H).

H2BC spektrai skiriasi nuo prieš tai minėtų HMBC spektrų tuo, kad jie leidžia atskirti sąveikas per du ryšius nuo sąveikų per tris ryšius, be to, nestebimos koreliacijos su ketvirtinėmis anglimis, kurios neturi protonų [33]. Todėl iš H2BC spektrų išsiaiškinta, kad protonas, kurio cheminis poslinkis ties 6,97 m.d., turi sąveiką per du ryšius su anglimi, kurios cheminis poslinkis  $^{13}\text{C}$  BMR spektre lygus 128 m.d. Prie šios anglies tiesiogiai prisijungęs protonas, kurio signalas patenka į multiplėtą ties 7,16–7,24 m.d. Remiantis šia informacija galima teigti, jog šie protonai priklauso etenilgrupei, jungiančiai pirazolo ir indolo heterociklus. Šie protonai pažymėti raidėmis  $\text{H}_a$  bei  $\text{H}_b$ .  $\text{H}_a$  protono cheminis poslinkis yra prie 6,97 m.d., o  $\text{H}_b$  protono signalas persidengia su prie pirazolo heterociklo prisijungusio fenilo žiedo 4-oje padėtyje esančiu protonu ir įeina į multiplėtą ties 7,16–7,24 m.d.

Toliau pateiktame HMBC spektre taip pat aiškiai matomos dviejų  $3H$ -indolo  $-\text{CH}_3$  grupių protonų (1,63 m.d.) tolimosios sąveikos su ketvirtinėmis  $3H$ -indolo C-3 (53,6 m.d.), C-3a (148,4 m.d.) ir C-2 (183,0 m.d.). Pirazolo 5-H (7,87 m.d.) sąveikauja per keletą ryšių su trimis anglies atomais – su

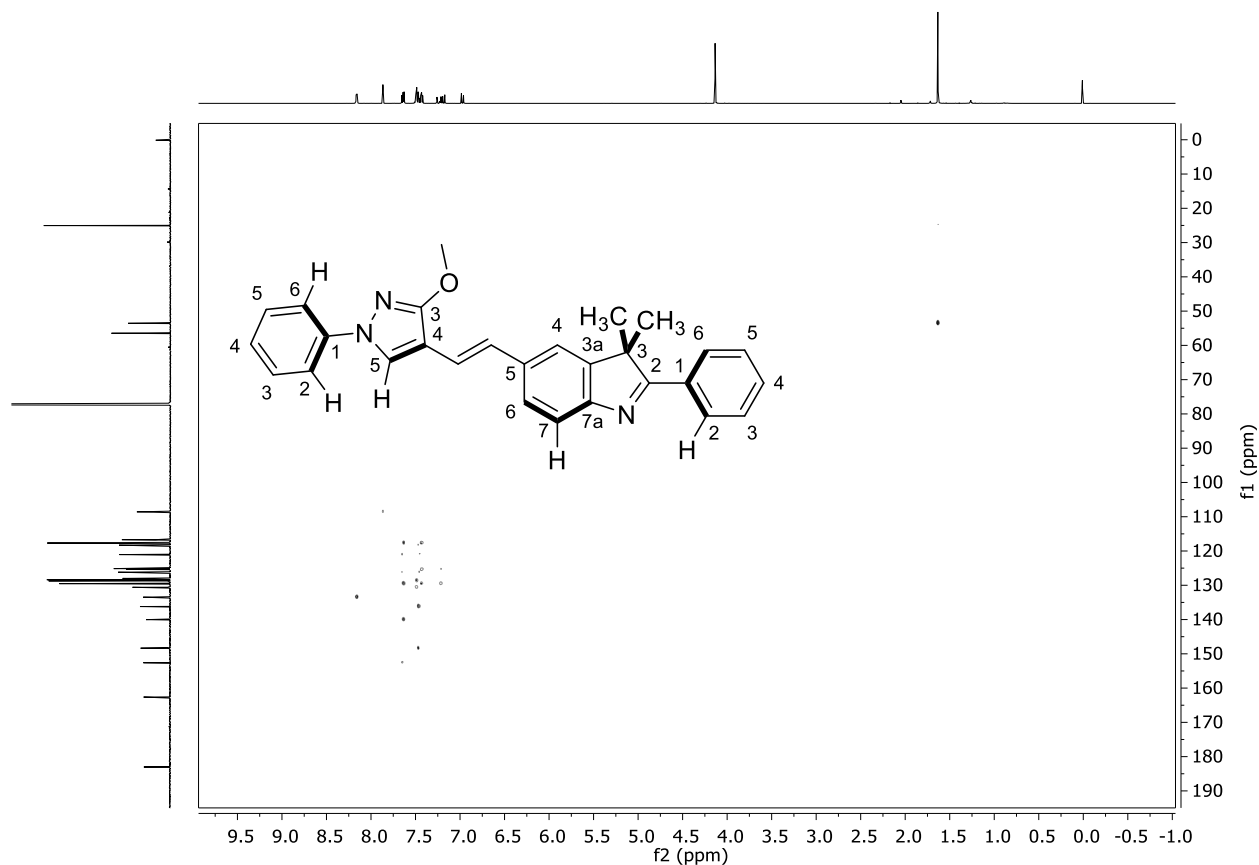
pirazolo C-4 (108,6 m.d.), anglimi, prie kurios prisijungęs H<sub>a</sub> protonas (116,7 m.d.), ir pirazolo C-3 (162,6 m.d.). Prie indolo 2-osios padėties prijungto fenilo žiedo (sutrumpintai C-Ph) protonai 2-H ir 6-H (8,16 m.d.) turi sąveiką per tris ryšius su indolo C-2, kurios cheminis poslinkis yra 183,0 m.d. Taip pat yra aptinkama pirazolo metoksigrupės (OCH<sub>3</sub>) protonų (4,14 m.d.) sąveika per kelis ryšius tik su pirazolo C-3 (162,6 m.d.). Iš HSQC spektrų nustatyta, jog anglies, prie kurios tiesiogiai prisijungę 3*H*-indolo -CH<sub>3</sub> grupių protonai (indolo C-3), cheminis poslinkis yra prie 25,0 m.d., o metoksigrupės anglies cheminis poslinkis yra ties 56,5 m.d.



**3.13 pav.** Junginio **8a** <sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C HMBC spektras

1,1-ADEQUATE yra <sup>13</sup>C–<sup>13</sup>C eksperimentas. 1,1-ADEQUATE spektre (žr. 3.14 pav.) stebima 3*H*-indolo metilgrupės protonizuotos anglies (signalas ties 1,63 m.d.) sąveika su gretima anglimi (indolo C-3; cheminis poslinkis 53,6 m.d.). 2-oje indolo padėtyje esančio fenilo žiedo 2-H, taip pat ir 6-H (8,16 m.d.) protonizuotos anglis turi sąveiką su gretima anglimi, kurios cheminis poslinkis lygus 133,5 m.d. (sąveikos paryškintos juodai). Stebima ir sąveika tarp pirazolo 5-H protonizuotos anglies (protonų cheminis poslinkis 7,87 m.d.) ir ketvirtinės pirazolo anglies C-4 (cheminis poslinkis 108,6 m.d.).

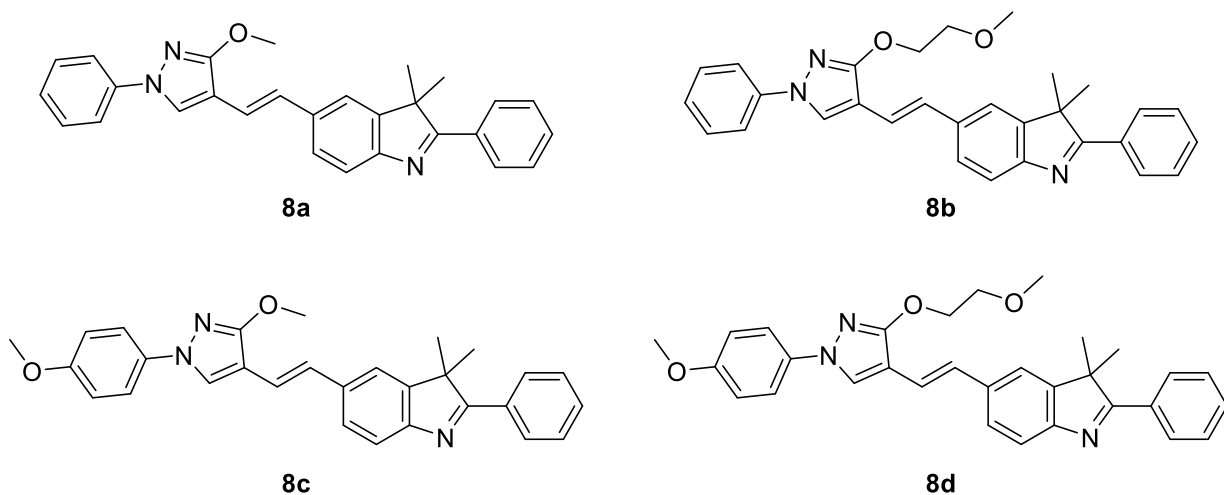
Protonų iš multipletų ties 7,60–7,67 m.d. (prie pirazolo prisijungusio fenilo žiedo 2-H ir 6-H) anglis turi sąveiką su greta esančia pirazolo C-1. Šios anglies cheminis poslinkis <sup>13</sup>C BMR spektre stebimas prie 140 m.d. Į tą patį multipletą įeina ir indolo žiedo 7-H signalas. Šio protono anglis turi sąveiką su gretimomis anglimis – indolo žiedo C-6 (126,2 m.d.) ir indolo žiedo ketvirtine anglimi C-7a (152,6 m.d.).



3.14 pav. Junginio **8a** 1,1-ADEQUATE spektras

### 3.3. Optinių savybių tyrimai

Optinių savybių (sugerties, fluorescencijos) tyrimams galutiniai pirazolo-indolo dariniai **8a–d** buvo ištirpinti tetrahidrofurane (praskiesti tirpalai; koncentracija  $10^{-4}$ – $10^{-5}$  M). 3.15 pav. pateikiamos šių junginių struktūrinės formulės.

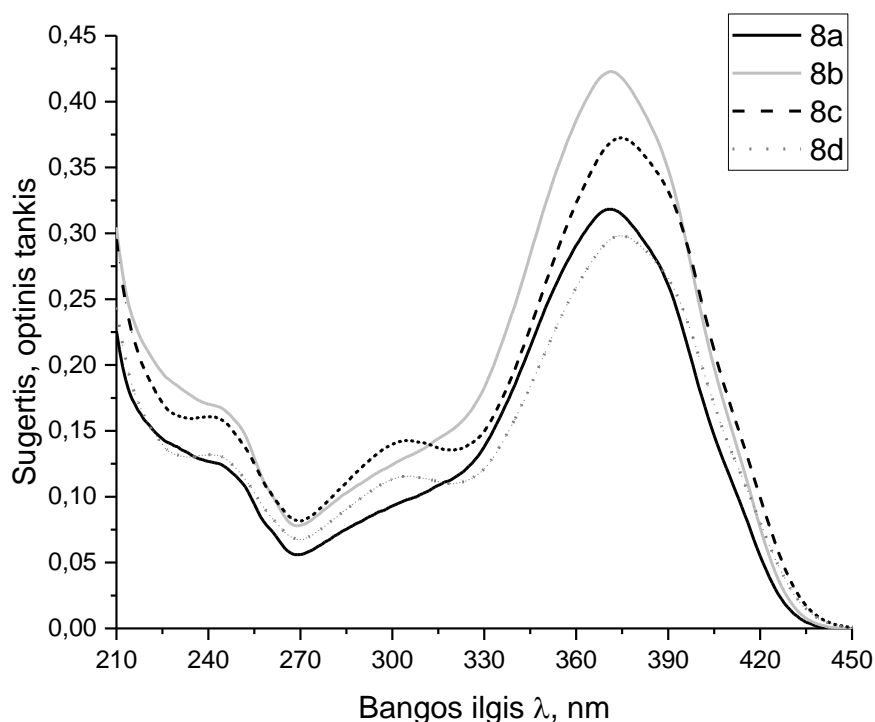


3.15 pav. Junginių **8a–d** struktūrinės formulės

Pastebima, jog šiuose junginiuose yra skirtingi alkoksipakaitai – junginys **8a** savo struktūroje turi vieną metoksigrupę pirazolo 3-iojoje padėtyje, junginyje **8b** vietoje metoksigrupės pirazolo 3-iojoje padėtyje įjungtas metoksietoksifragmentas. Junginys **8c** turi dvi metoksigrupes (pirazolo 3-iojoje

padėtyje ir prie pirazolo prijungto fenilo žiedo 4-ojoje padėtyje), o **8d** turi metoksietoksigrupę, prijungtą prie pirazolo C-3 ir metoksigrupę prie pirazolo prijungto fenilo žiedo 4-osios padėties. Tikėtasi, jog dėl papildomos metoksigrupės įjungimo į fenilo žiedą *para*-padėtyje junginiai taps tinkamesni fotodinaminei terapijai. Dėl savaime žalingo ultravioletinių spindulių poveikio ląstelėms ir audiniams, buvo siekiama paslinkti pirazolo-indolo darinių sugerties maksimumus ilgesnių bangų kryptimi (batochrominis poslinkis), kad šiuos junginius fotodinaminės terapijos metu būtų galima veiksmingiau sužadinti ne ultravioletiniais spinduliais, bet mėlyna šviesa.

Žemiau pateikiami junginių **8a–d** praskiestų tetrahidrofurano ( $10^{-4}$  M) tirpalų UV-RŠ (ultravioletinės ir regimosios šviesos) sugerties spektrai (3.16 pav.).

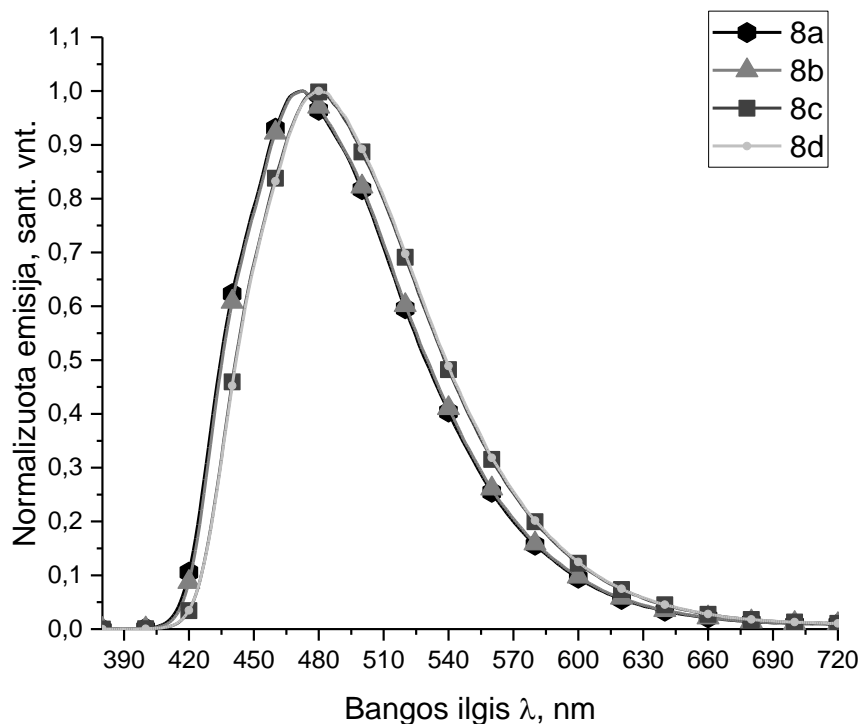


**3.16 pav.** Junginių **8a–d** UV-RŠ sugerties spektrai (praskiesti tetrahidrofurano tirpalai)

Pirazolo-indolo darinių **8a–d** UV-RŠ sugerties maksimumai aptinkami artimojo ultravioleto srityje. Regimojo spektro srityje (t. y. nuo 380 nm) šių junginių sugertis yra mažiau intensyvi. Junginių **8a** ir **8b** sugerties maksimumų vertės yra lygios 371 nm, o junginių **8c** ir **8d**, kurie turi metoksigrupę prie pirazolo prijungto fenilo žiedo 4-ojoje padėtyje – 375 nm. Galima teigti, jog ši papildomai įjungta metoksigrupė daro tik nedidelę įtaką tirtų pirazolo-indolo darinių UV-RŠ sugerties maksimumų padėtimis, taip pat ir konjuguotos  $\pi$ -elektronų sistemos dydžiui.

Buvo užrašyti ir junginių **8a–d** praskiestų tirpalų tetrahidrofurane fluorescencijos spektrai, parinkus sužadavimo bangos ilgį  $\lambda_{ex} = 370$  nm (žr. 3.17 pav.). Iš gautų spektrų matoma, jog visų tirtų junginių emisijos maksimumai aptinkami mėlynojoje regimojo spektro dalyje, o fluorescencijos juostos išplatėjusios. Lyginant su junginiais **8a**, **b** ir **c**, junginio **8d** (su metoksietoksi- ir metoksifragmentais) emisijos maksimumas labiausiai pasislinkęs batochromiškai ir stebimas ties 480 nm. Junginių **8a** ir **8b** emisijos maksimumų vertės yra vienodos (472 nm), taigi, pakeitus metoksigrupę į metoksietoksifragmentą, emisijos maksimumo padėtis nepakito.

Žinant sugerties ir emisijos maksimumus, buvo apskaičiuoti Stokso poslinkiai – skirtumai tarp sugerties ir emisijos maksimumų verčių. Reikėtų paminėti tai, kad pirazolo-indolo darinių **8a–d** Stokso poslinkiai praskiestuose tirpaluose tetrahidrofurane yra dideli, tačiau nedaug skiriasi tarpusavyje (101–105 nm).



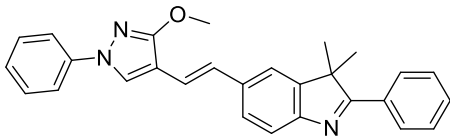
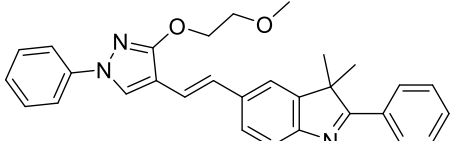
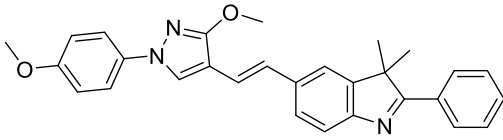
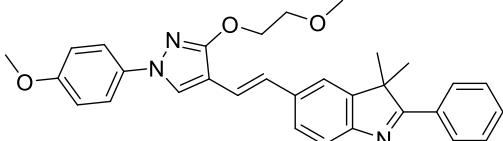
**3.17 pav.** Junginių **8a–d** fluorescencijos spektrai (praskiesti tetrahidrofurano tirpalai)

Junginių **8a–d** fluorescencijos kvantinės išeigos  $\Phi$  tetrahidrofurane buvo įvertintos integruojančios sferos metodu. Kvantinių išeigų matavimai atlikti du kartus ir apskaičiuotas vidurkis. Sužadinimo bangos ilgis  $\lambda_{ex} = 380$  nm. Išsiaiškinta, jog visų tirtų junginių fluorescencijos kvantinės išeigos praskiestuose tetrahidrofurano tirpaluose yra aukštos. Dviejų matavimų metu gautos reikšmės: junginio **8a** – 79,52 %, 80,22 %, **8b** – 70,21 %, 72,72 %, **8c** – 77,07 %, 78,69 %, **8d** – 74,35 %, 74,45%, taigi, didžiausia fluorescencijos kvantine išeiga tetrahidrofurane pasižymi junginys **8a**, o mažiausia – junginys **8b**.

Junginių **8a–d** praskiestų tirpalų tetrahidrofurane optinių savybių tyrimų rezultatai yra pateikti 5 lentelėje. Apibendrinus sugerties ir fluorescencijos tyrimų rezultatus galima teigti, jog šie tirti pirazolo-indolo dariniai yra tinkami tolimesniems fotodinaminio aktyvumo tyrimams. Taip pat bus atliekami jų optinių savybių tyrimai praskiestuose vandeniniuose tirpaluose arba dimetilsulfoksido. Nors buvo išmatuota, jog junginiai **8a–d** praskiestuose tetrahidrofurano tirpaluose intensyviai sugeria ultravioletinę spinduliuotę, juos būtų galima sužadinti ir mėlyna šviesa.



**5 lentelė.** Optinių savybių tyrimai

Junginys	Sugerties maksimumas $\lambda_{\text{max}}$ , nm	Emisijos maksimumas $\lambda_{\text{em}}$ , nm	Stokso poslinkis, nm	Fluorescencijos kvantinė išeiga $\Phi$ , %
 <b>8a</b>	371	472	101	79,9
 <b>8b</b>	371	472	101	71,5
 <b>8c</b>	375	478	103	77,9
 <b>8d</b>	375	480	105	74,4

## Išvados

1. 3-Alkoksi-1-fenil-, 3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-karbaldehydai **5a–d** ir 4-etenil-3-alkoksi-1-fenil-, 4-etenil-3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolai **6a–d** yra tinkamos pradinės medžiagos naujų fluorescuojančių pirazolo-indolo darinių sintezei.
2. Atliekant 3-(2-metoksietoksi)-1-fenil- bei 3-(2-metoksietoksi)-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazolo Vilsmeier-Haack'o formilinimo reakciją 45 °C temperatūroje, naudojant po 2 ekvivalentus fosforo oksichlorido ir dimetilformamido, gaunami 3-(2-metoksietoksi)-pakeisti 1*H*-pirazol-4-karbaldehydai geromis išeigomis. Vykiant reakciją 70 °C temperatūroje ir naudojant po 4 ekvivalentus fosforo oksichlorido ir dimetilformamido, susidaro didelė dalis šalutinio produkto, turinčio chloretoksipakaitą.
3. Beligandė paladžio katalizuojama Heck'o reakcija yra tinkama, norint susintetinti naujus 5-[(*E*)-2-(3-alkoksi-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)etenil]- ir 5-[(*E*)-2-[3-alkoksi-1-(4-metoksifenil)-1*H*-pirazol-4-il]etenil]-3,3-dimetil-2-fenil-3*H*-indolo darinius.
4. Nustatyta, jog pirazolo-indolo dariniai **8a–d** praskiestuose tetrahidrofurano tirpaluose fluorescuoja mėlynojoje regimojo spektro srityje, jų fluorescencijos kvantinės išeigos yra aukštos (71–80 %), o Stokso poslinkiai dideli (101–105 nm). Papildomos metoksigrupės įvedimas į junginių struktūras nedarė reikšmingos įtakos sugerties ir emisijos maksimumų padėtimis.
5. Pirazolo-indolo dariniai **8a–d**, įvertinus jų sugerties ir fluorescencines savybes, yra tinkami fotodinaminio aktyvumo tyrimams.

## Literatūros sąrašas

1. BELL, J. D. et al. Conformationally rigid pyrazoloquinazoline  $\alpha$ -amino acids: one- and two-photon induced fluorescence. *Chem. Commun.* [interaktyvus]. 2020, **56**, 1887 – 1890 [žiūrėta 2020-02-21]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1039/C9CC09064A>
2. CALBO, J. et al. Tuning Azoheteroarene Photoswitch Performance through Heteroaryl Design. *J. Am. Chem. Soc.* [interaktyvus]. 2017, **139**, 1261–1274 [žiūrėta 2020-02-09]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11626>
3. HEMMER, J. R. et al. Controlling Dark Equilibria and Enhancing Donor-Acceptor Stenhouse Adduct Photoswitching Properties through Carbon Acid Design. *J. Am. Chem. Soc.* [interaktyvus]. 2018, **140**, 10425–10429 [žiūrėta 2020-02-09]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1021/jacs.8b06067>
4. MURRAY, C. W. et al. A successful collaboration between academia, biotech and pharma led to discovery of erdafitinib, a selective FGFR inhibitor recently approved by the FDA. *Med. Chem. Commun.* [interaktyvus]. 2019, **10**, 1509 –1511 [žiūrėta 2020-02-09]. Prieiga per doi: [10.1039/c9md90044f](https://doi.org/10.1039/c9md90044f)
5. GUO, Y. et al. Discovery of Zanubrutinib (BGB-3111), a Novel, Potent, and Selective Covalent Inhibitor of Bruton's Tyrosine Kinase. *J. Med. Chem.* [interaktyvus]. 2019, **62**, 7923–7940 [žiūrėta 2020-02-09]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00687>
6. MORRIS, M. C., ed. *Fluorescence-Based Biosensors: From Concepts to Applications*. San Diego: Academic Press, 2013. ISBN 978-0-12-386932-6.
7. PAPADOPOULOS, J. et al. Rapid synthesis of 4-alkynyl coumarins and tunable electronic properties of emission solvatochromic fluorophores. *Dyes and Pigments* [interaktyvus]. 2019, **166**, 357-366 [žiūrėta 2019-09-29]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.03.038>
8. YUAN, L. et al. Methoxyethoxy-substituted coumarin-benzimidazole: Substituent group positions adjusted the self-assembly, optical properties and ions sensor. *Journal of Luminescence* [interaktyvus]. 2019, **215**, 116690 [žiūrėta 2019-09-29]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2019.116690>
9. ORTE, A. et al. Effect of the substitution position (2, 3 or 8) on the spectroscopic and photophysical properties of BODIPY dyes with a phenyl, styryl or phenylethynyl group. *RSC Adv.* [interaktyvus]. 2016, **6**, 102899-102913 [žiūrėta 2019-09-29]. Prieiga per doi: [10.1039/c6ra22340k](https://doi.org/10.1039/c6ra22340k)
10. YU, C. et al. Red to Near-Infrared Isoindole BODIPY Fluorophores: Synthesis, Crystal Structures, and Spectroscopic and Electrochemical Properties. *J. Org. Chem.* [interaktyvus]. 2016, **81**, 3761-3770 [žiūrėta 2019-09-29]. Prieiga per doi: [10.1021/acs.joc.6b00414](https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b00414)
11. GRIMM, J. B. et al. A general method to fine-tune fluorophores for live-cell and *in vivo* imaging. *Nature Methods* [interaktyvus]. 2017, **14**, 987-994 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1038/nmeth.4403](https://doi.org/10.1038/nmeth.4403).
12. GRIMM, J. B. et al. A general method to improve fluorophores for live-cell and single-molecule microscopy. *Nature Methods* [interaktyvus]. 2015, **12**, 244-250 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1038/nmeth.3256](https://doi.org/10.1038/nmeth.3256).
13. MAES, T. et al. A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports* [interaktyvus]. 2017, **7**, 44501 [žiūrėta 2019-09-29]. Prieiga per doi: [10.1038/srep44501](https://doi.org/10.1038/srep44501)

14. HENARY, M. and A. LEVITZ. Synthesis and applications of unsymmetrical carbocyanine dyes. *Dyes and Pigments* [interaktyvus]. 2013, **99**(3), 1107-1116 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.dyepig.2013.08.001](https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.08.001).
15. MIAO, J.T. et al. Optical properties of hemicyanines with terminal amino groups and their applications in near-infrared fluorescent imaging of nucleoli. *J. Mater. Chem. B* [interaktyvus]. 2014, **2**, 7065-7072 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1039/C4TB01218F](https://doi.org/10.1039/C4TB01218F).
16. ŠTAČKOVÁ, L. et al. Approach to a Substituted Heptamethine Cyanine Chain by the Ring Opening of Zincke Salts. *J. Am. Chem. Soc.* [interaktyvus]. 2019, **141**, 7155-7162 [žiūrėta 2019-09-28]. Prieiga per doi: [10.1021/jacs.9b02537](https://doi.org/10.1021/jacs.9b02537)
17. OWENS, E. A. et al. A microwave-assisted and environmentally benign approach to the synthesis of near-infrared fluorescent pentamethine cyanine dyes. *Dyes and Pigments* [interaktyvus]. 2015, **113**, 27-37 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.dyepig.2014.07.035](https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2014.07.035).
18. FUNABIKI, K. et al. Aromatic Fluorine-Induced One-Pot Synthesis of Ring-Perfluorinated Trimethine Cyanine Dye and Its Remarkable Fluorescence Properties. *J. Org. Chem.* [interaktyvus]. 2019, **84**(7), 4372-4380 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1021/acs.joc.9b00378](https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b00378).
19. BRAUN, A. B. et al. New Polyfluorinated Cyanine Dyes for Selective NIR Staining of Mitochondria. *Chem. Eur. J.* [interaktyvus]. 2019, **25**, 7998-8002 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1002/chem.201900412](https://doi.org/10.1002/chem.201900412).
20. ZHANG, W. et al. Rational design of stable near-infrared cyanine-based probe with remarkable large Stokes Shift for monitoring Carbon monoxide in living cells and *in vivo*. *Dyes and Pigments* [interaktyvus]. 2019, **171**, 107753 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.dyepig.2019.107753](https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107753).
21. ZHENG, Q. and L. D. LAVIS. Development of photostable fluorophores for molecular imaging. *Current Opinion in Chemical Biology* [interaktyvus]. 2017, **39**, 32-38 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.cbpa.2017.04.017](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.04.017).
22. DE FREITAS, L. F. and M. R. HAMBLIN. Antimicrobial photoinactivation with functionalized fullerenes. In: GRUMEZESCU, A., ed. *Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy* [interaktyvus]. William Andrew Publishing, 2016, pp. 1-27 [žiūrėta 2019-07-07]. ISBN 9780323428644. Prieiga per doi: [10.1016/B978-0-323-42864-4.00001-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42864-4.00001-4).
23. ZHANG, J. et al. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [interaktyvus]. 2018, **8**(2), 137-146 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.apsb.2017.09.003](https://doi.org/10.1016/j.apsb.2017.09.003).
24. ATCHISON, J. et al. Iodinated cyanine dyes: a new class of sensitizers for use in NIR activated photodynamic therapy (PDT). *Chem. Commun.* [interaktyvus]. 2017, **53**, 2009-2012 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1039/C6CC09624G](https://doi.org/10.1039/C6CC09624G).
25. USAMA, S. M. et al. Optimized Heptamethine Cyanines for Photodynamic Therapy. *ACS Appl. Bio Mater.* [interaktyvus]. 2018, **1**(4), 1195-1205 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1021/acsabm.8b00414](https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00414).
26. CIUBINI, B. et al. Design and synthesis of symmetrical pentamethine cyanine dyes as NIR photosensitizers for PDT. *Dyes and Pigments* [interaktyvus]. 2019, **160**, 806-813 [žiūrėta 2019-08-28]. Prieiga per doi: [10.1016/j.dyepig.2018.09.009](https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.09.009).
27. BORCHARDT, Ronald, Edward KERNS, Christopher LIPINSKI, Dhrien THAKKER and Binghe WANG, eds. *Pharmaceutical Profiling in Drug Discovery for Lead Selection*. American Association of Pharmaceutical Scientists, 2004. ISBN 978-0-9711767-9-9.

28. BIELIAUSKAS, A. et al. Ring-closing metathesis as a key step to construct 2,6-dihydropyrano[2,3-*c*]pyrazole ring system. *Arkivoc* [interaktyvus]. 2018, 296–307 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p010.407>.
29. ARBAČIAUSKIENĖ, E. et al. Pd-catalyzed cross-coupling reactions of halogenated 1-phenylpyrazol-3-ols and related triflates. *Tetrahedron* [interaktyvus]. 2009, **65**(37), 7817-7824 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.07.017>
30. ARBAČIAUSKIENĖ, E. et al. On the Tautomerism of *N*-Substituted Pyrazolones: 1,2-Dihydro-3*H*-pyrazol-3-ones versus 1*H*-Pyrazol-3-ols. *Molecules* [interaktyvus]. 2018, **23**(1), 129 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23010129>
31. KAZLAUSKAS, K. et al. Morphology and Emission Tuning in Fluorescent Nanoparticles Based on Phenylenediacetonitrile. *J. Phys. Chem. C* [interaktyvus]. 2014, **118**, 43, 25261-25271 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1021/jp507707f>
32. LI, J. J. *Name Reactions: A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications*. Fifth Edition. Switzerland: Springer International Publishing, 2014. ISBN 978-3-319-03978-7.
33. CLARIDGE, T. D. W. *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*. Third Edition. Elsevier Science, 2016. ISBN 978-0-08-099986-9.
34. TOMASULO, M., S. SORTINO and F. M. RAYMO. Bichromophoric Photochromes Based on the Opening and Closing of a Single Oxazine Ring. *J. Org. Chem.* [interaktyvus]. 2008, **73**, 1, 118-126 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1021/jo7017119>
35. BIELIAUSKAS, A. et al. Synthesis of electroactive hydrazones derived from 3-(10-alkyl-10*H*-phenothiazin-3-yl)-2-propenals and their corresponding 3,3'-bispropenals. *Tetrahedron* [interaktyvus]. 2012, **68**(18), 3552-3559 [žiūrėta 2020-01-25]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.03.010>