

Új szintézismódszerek kidolgozása és alkalmazása célzott hatásterületen aktív heterociklusos molekulák szintézisére

NK 77784 sz. pályázat zárójelentése

2009. IV. 1. – 2012. IX. 30.

1. FŐ CÉLKITŰZÉSEK

E jelentős munkakapacitásra épülő pályázati munka fő célkitűzése az volt, hogy korszerű szintetikus módszereket, technikákat honosítson meg, s mindezek felhasználásával komoly erőfeszítéseket tegyen kiemelt jelentőségű hatásterületeken aktív új molekulák szintézisére.

Jelentésünk bevezető részét követően tételesen leírjuk, hogy melyek azok a módszerek, melyek vonatkozásában komoly előrelépéseket tehattunk. Ezt követően pedig az egyes szintézisek tematikája szerint csoportosítva tárgyaljuk legfontosabb eredményeinket. Minden esetben utalunk arra a megjelent közleményünkre, mely az adott kutatási eredményt leírja.

2. MÓDSZEREK

2.1. Új szintetikus kémiai berendezések üzembe helyezése

A 2010-ben beszerzett **mikroreaktor** számos kémiai reakcióban teszteltük, amelyek közül kiemelkedik az áramlásos reaktorként való alkalmazása. Ebben az esetben egy un. négyzetamid alapú organokatalizátort kapcsoltunk megfelelő polisztirol gyantára. Ezáltal megoldottuk egy széleskörben alkalmazott organokatalizátor immobilizálását, s ugyanakkor lehetővé vált az is, hogy ne csak szakaszos, hanem folyamatos üzemű organokatalízist is megvalósítsunk. Az eredmények nagyon biztatóak, a katalizátor aktivitása és szelektivitása szinte megegyezik a homogén fázisban alkalmazott katalizátoréval, nem csak kiváló enantio-, de kitűnő diasztereoselektivitást is sikerült elérnünk. Eredményeinket összefoglaló cikk jelenleg a szerkesztés fázisában van.

A projekt támogatásával beszerzett **mikrohullámú reaktort** széles körben alkalmaztuk kapcsolási reakciók, védőcsoport-bevitel és egyéb kémiai átalakítások során. Számos esetben sikerült a reakciókörülményeket enyhíteni (pl. reakcióidőt csökkenteni) és a termelési értékeket növelni.

2.2. NMR spektroszkópiai módszerek

Új termékek, illetve reakciók közttermékeinek szerkezet-felderítését, szerkezet-igazolását végeztük nagy felbontású (400, 600MHz) NMR spektroszkópiai módszerrel.

A ^1H és ^{13}C rezonancia jelek teljes hozzárendelését a szokásos módon végeztük el, egydimenziós ^1H , ^{13}C , szelektív 1D-TOCSY és 1D-NOESY, valamint kétdimenziós homo- (COSY, TOCSY, NOESY) és heterokorrelált (^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC) mérések alkalmazásával.

A módszerek hatékony alkalmazása valósulhatott meg izobenzofurán származékok reakcióinak vizsgálatánál, ahol olyan regioizomer termékelegy képződik, melynek egyes tagjai külön-külön is diasztereomerek elegyei. Az oldatban egyidejűleg jelen lévő regio/sztereoizomerek megkülönböztetése a fent említett kísérletek elvégzésével és analízisével volt megvalósítható.

A több nitrogénatomot tartalmazó heterociklusok jellemzésére a ^1H , ^{13}C kémiai eltolódásokon túl a ^{15}N eltolódások ismerete is elengedhetetlenül fontos. A nitrogén kémiai eltolódása ugyanis rendkívül érzékeny, vagyis nagy változással reagál a kémiai környezet módosulására. A kapott információkat adatbankká fejlesztve a N-tartalmú heterociklusok szerkezetfelderítése egyszerűbbé válik. Az alacsony természetes előfordulású ^{15}N magok közvetlen mérése helyett a kapcsolódó protonokon keresztül inverz detektálással nyerhetünk a nitrogénekre vonatkozó információt (^1H - ^{15}N HMBC).

Az oldat és szilárd fázisú NMR mérések kombinálása kiválóan használható reakciók intermedierjeinek vizsgálatára, izoméria / tautoméria kérdéseinek tisztázására. Míg az oldatokban az alkalmazott oldószertől, hőmérséklettől függő egyensúlyi összetételt mérjük, addig a szilárd fázisban a minta aktuális összetételét kapjuk meg.

Ilyen mérés-kombinációt valósítottunk meg sikerrel tetrazolo-azaborinin intermedierek szerkezetvizsgálatakor, ahol is hattagú, bórtartalmú intramolekuláris gyűrű kialakulását figyeltük meg kloroformos oldatban. A szilárd fázisú ^{11}B -MAS és ^{13}C -CP/MAS mérésekből kapott izotróp kémiai eltolódások jó egyezést mutattak az oldatban mértekkel, így igazoltuk, hogy a szilárd minta szerkezete azonos a kloroformos oldatban észlelt hattagú gyűrűs szerkezettel.

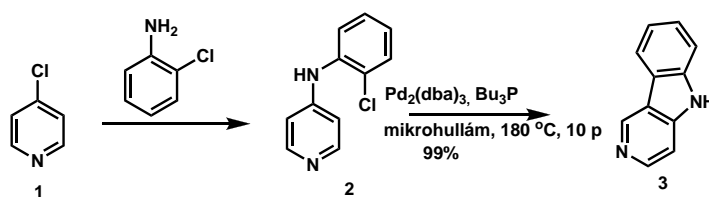
2.3. Új módszerek

Kutatási programunk kiemelt vonása volt, hogy új módszereket fejlesszünk ki és alkalmazzunk a szintézisek során. E vonatkozásban eredményeink elérésének lényeges elemei voltak a Pd-katalizált keresztkapcsolásos technikák, az organokatalízis, a fluoros kémia. Mindezeket a Kutatási Erdemények c. alábbi részben részletesen kifejtjük. Vizsgálataink jelentős részében alapos kvantumkémiai tanulmányokat végeztünk az észlelt átalakulások megértése céljából.

3. KUTATÁSI EREDMÉNYEK

3.1. Pirrolo-piridinek és benzológjaik szintézise

Pozicionális izomer szerkezetű indolopiridinek szintézisét végeztük el a SOTE laboratóriumával és az Antwerpen-i Egyetem Kémiai Intézetével kooperációban. A kiválasztott célvegyületek kutatását az indokolta, hogy néhány, a hatékonyságukról jól ismert indolokinolin alkaloidnak (kriptolepin és analogjai) szerkezeti építőköveinek tekinthetők.



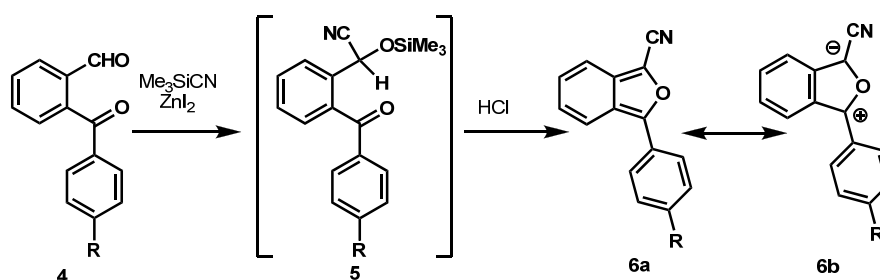
A tervezett triciklusos származékokat gyűrűzáró Heck-reakcióval állítottuk elő. Így pl. 4-klórpíridint (1) o-klór-anilinnel Buchwald-Hartwig aminálással a 2-píridil-fenilaminná (2) alakítottuk, az indolopiridint (3) eredményező ciklizációs lépést pedig mikrohullámú technikával, kitűnő termeléssel valósítottuk meg. Megállapítottuk, hogy a 3 és vele rokon vegyületek körében néhány vegyület jelentős aktivitást mutat paraziták (pl. *P. falciparum* K1) szemben. Ugyanakkor a benzolgyűrűt nem tartalmazó biciklusos származékok inaktívnak bizonyultak.

A jelentős számú, a szerkezet-aktivitás összefüggést megalapozó biológiai mérési eredményt tartalmazó közleményt a Bioorg. Med. Chem. folyóiratban jelentettük meg.¹

3.2. Izoindol- és izobenzofurán gyűrűvázak terén végzett szintézisek

Mindkét nevezett gyűrűváz kémiája sajátos fejezetét képezi a heterociklusos kémiának, mivel az 5-tagú gyűrűben a 2-es helyen elhelyezkedő heteroatom miatt a telítetlen vegyületek esetében a benzolgyűrű csak kinoid kötésszerkezettel írható fel. Részleges telítettség esetén a benzolgyűrű aromás szextettje visszaállhat.

Az új, izobenzofuránt eredményező ciklizációs reakció (**4** → **6**) kidolgozásának fő jelentősége, hogy a korábban keveset vizsgált aszimmetrikusan szubsztituált vegyületeket eredményez. A megfelelően szubsztituált difenilketon-aldehid vegyületet (**4**) trimetilszili-cianiddal reagáltatva az (**5**) köztitermékben végbemenő, 1-ciano-3-fenil-izobenzofuránt (**6**) eredményező ciklizációt tapasztaltunk. A termék a **6a** semleges és a **6b** ikerionos határszerkezetekkel jellemezhető.



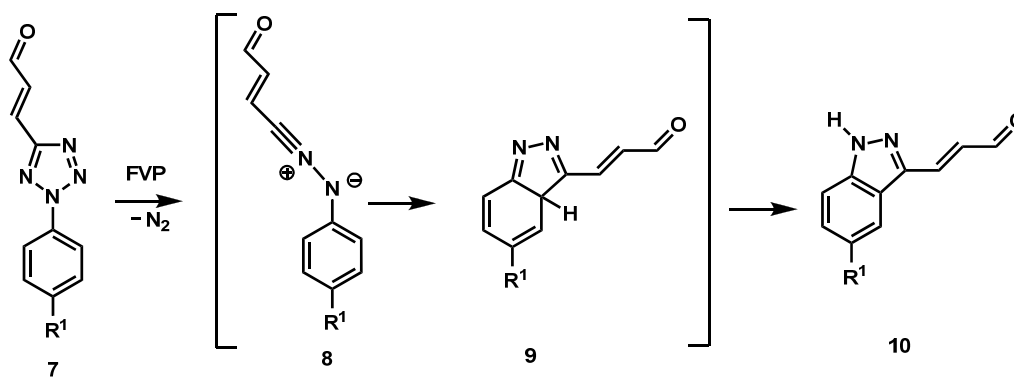
Elméleti számítással kimutattuk, hogy a semleges (**6a**) határszerkezet írja le leginkább a valós elektroneloszlást. Ezzel összhangban Diels-Alder reakciókat valósítottunk meg elektronban szegény dienofilekkel. Az eredményeket a *Heterocycles*¹¹ folyóiratban jelentettük meg¹¹.

A Pécsi Egyetem munkatársaival kooperációban izoindolok területén végeztünk kutatómunkát. Ennek keretén belül o-jód-benzilamin előállítására dolgoztunk ki jól járható szintézisutat, melyet a *Tetrahedron*ban publikáltunk⁶.

3.3. Új gyűrűzárások flash vákuum pirolízis (FVP) technika alkalmazásával

A pályázati munka megindulásakor új FVP berendezés beszerzését terveztük. A projektidőszak elején azonban már kitűnt, hogy az FVP módszernek egy új generációs megoldása: az áramlásos reaktor kifejlesztése van folyamatban, mely technikával a flash vákuum pirolízises átalakítások lényegesen egyszerűbben kivitelezhetőek. Ez indokolta, hogy a tervezett átalakításokat egy korábban kialakított argentín-magyar kooperáció keretében valósítottuk meg, ugyanakkor felvettük a szakmai kapcsolatot a Thales-Nano laboratóriumával, ahol már tesztelik az új módszer alkalmazhatóságát tématerületünkön, így várható, hogy laboratóriumunkban már az új módszert fogjuk honosítani.

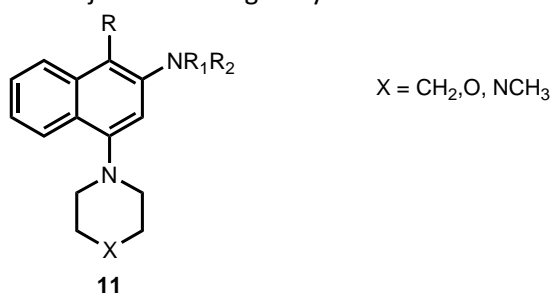
Jelen eredményünket preparatív szempontból tartjuk jelentősnek. Fenil-tetrazolil-akroleinokat (**7**) korábbi kutatási eredményünk alapján könnyen tudunk előállítani (2-aminopiridinből 4 egyszerű lépésben). Pályázati munkánkkal kimutattuk, hogy e vegyület magas hőmérsékleten oly módon szenved pirolízist, hogy először nitrogén-molekula kihalással a (**8**) intermedier keletkezik, mely 1,5-dipoláris ciklizációban vesz részt és a következő, gyűrűs intermediert (**9**) szolgáltatja, melyből hidrogénvándorlással indazolil-akrolein (**10**) keletkezik. Eljárásunk az indazolil-akrolein (**10**) első szintézisét valósítja meg.



Ezt, az FVP módszerrel elért eredményünket a Tetrahedronban tettük közzé¹⁸.

3.4. Fluoreszcens izokinolinok

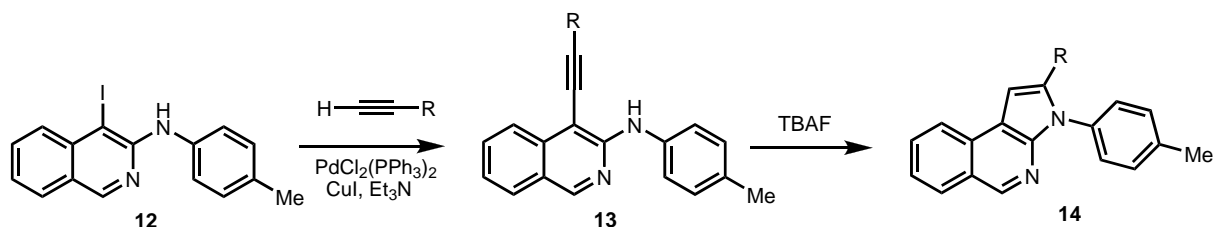
Újszerű eredményeket értünk el izokinolin-származékok szintézise területén. Kísérleti munkánk során észleltük, hogy néhány 3-szubsztituált izokinolin-vegyület láthatóan fluoreszkál. Minthogy a fluoreszcens sajátság napjainkban kimagasló jelentőségű a biológiai markerek vonatkozásában, a 3-aminoizokinolin-származékok körében szisztematikus vizsgálatokat végeztünk annak felismerésére, hogy milyen szerkezeti változtatás járul hozzá legelőnyösebben a fluoreszcencia fokozásához.



A legintenzívebb fluoreszcens vegyületek a **11** általános képlettel jellemezhetők. Eddigi eredményeink felhasználásával a projekt lezárását követően egy új típusú marker kidolgozását tűztük ki célul. A fluoreszcens izokinolin-származékok terén elért eredményeinket a Tetrahedron Letters⁹ és Arkivoc¹⁷ folyóiratokban publikáltuk.

3.5. Izokinolinnal kondenzált új gyűrűvázak

Új kondenzált izokinolin-gyűrűvázak szintézisét oldottuk meg palládium-katalizált keresztkapcsolásos reakció felhasználásával.



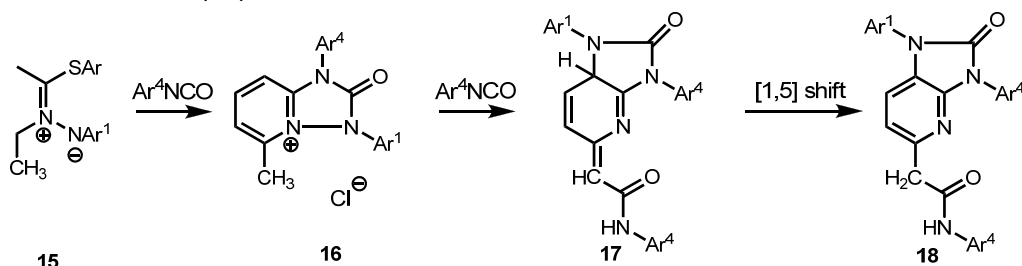
Felismertük, hogy 3-amilino-4-jód-izokinolin (**12**) könnyen vesz részt Sonogashira-kapcsolásban és szolgáltatja az acetilén-oldalláncot tartalmazó izokinolin-vegyületet (**13**). Bár számos rokon szerkezetű vegyület esetében dolgozták ki az acetilén-lánc kapcsolódását az amin-nitrogén-atomra és kaptak ezáltal kondenzált öttagú gyűrűt, esetünkben egyetlen hagyományos gyűrűzárási módszer sem volt végrehajtható. Sikerrel valósítottuk azonban meg a ciklizációt pirrolo-izokinolinná (**14**)

tetrabutylammónium-fluorid reagenssel. A szokatlan átalakulás reakciómechanizmusát értelmezni tudtuk.

Első ilyen eredményünket a Tetrahedron folyóiratban tettük közzé¹⁴. A sikeres gyűrűzárási módszer kiterjesztésén jelenleg is dolgozunk.

3.6. Ikerionos jellegű, kéntartalmú piridinium-imidátok átalakítása

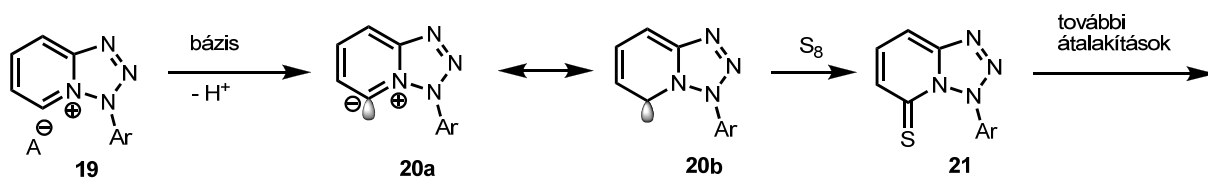
Szintetikus szempontból és elméletileg egyaránt fontos átalakításokat dolgoztunk ki kéntartalmú piridinium-amidátokból (**15**) kiindulva.



Az ikerionos kéntartalmú piridinium-imidát (**15**) és aril-izocianát reakcióját vizsgálva azt észleltük, hogy az ekvivalens reakciópartnerekkel végbemenő, triazolopiridiniumsót (**16**) eredményező átalakulás mellett olyan folyamat is lejátszódik, melynél kétszeres mennyiségű izocianát lép be a reakcióba a piridingyűrű metilcsoportjának részvételével. Az új termék (**17**) szokatlan gyűrűtranszformáció útján keletkezett, melynek mechanizmusára kvantumkémiai számítások felhasználásával javaslatot tettünk. A kísérleti körülmények megfelelő megválasztásával jól járható szintézisutat dolgoztunk ki korábban nem ismert imidazopiridinonok (**18**) előállítására is. Az eredményeket a J. Org. Chem.-ben publikáltuk¹⁰.

3.7. Új nukleofil karbének

Munkatervünkben fontos szerepet szántunk új nukleofil karbének előállításának és reakciókészségei vizsgálatának.



Tetrazolopiridiniumsókból (**19**) bázis hatására protonvesztés játszódik le, és a két határszerkezettel (**20a** és **20b**) ábrázolt karbén keletkezik. Ezzel a nukleofil karbének nagyon ritka előfordulását: hatta-gú gyűrűs karbént figyeltünk meg. A karbént elemi kénnel reagáltatva tiont (**21**) nyertünk, majd a kénatom szulfonná alakításával, valamint az így nyert alkilszulfonil csoport nukleofil szubsztitúciójával további szerkezeti átalakításokat hajtottunk végre.

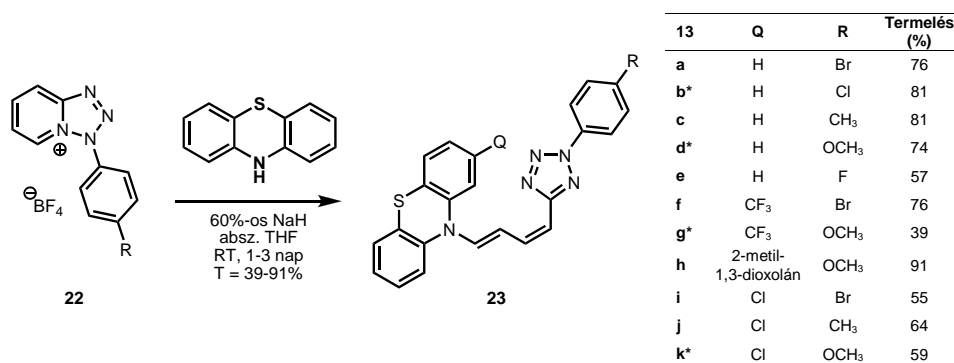
Eredményeinket összefoglaló kéziratot²⁰ jelenleg állítjuk össze, és küldjük el közlésre.

3.8. Új, multidrog rezisztenciát gátló fenotiazin-származékok

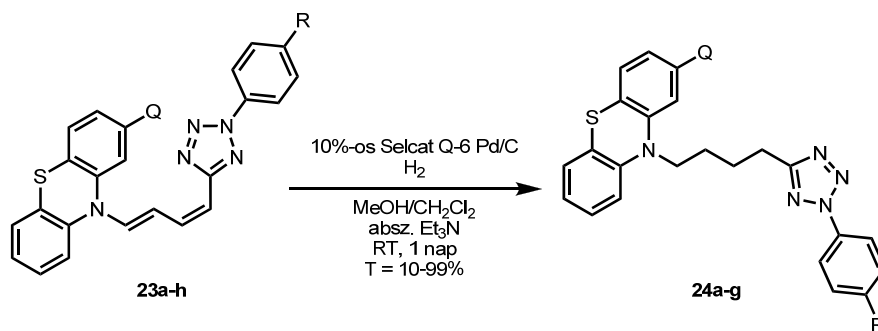
Pályázati munkánk során jelentős kapacitást fordítottunk a címben megjelölt vegyületek szintézisére és hatásvizsgálatára. E területen elért eredményeink a szerteágazó biológiai kooperáció következmé-

nyeként csak a projekt-időszak utolsó hónapjaiban véglegesítődtek és fogalmazódtak meg, ezért ezeket összefoglaló kéziratot jelentésünk átadása előtti napokban küldtük el közlésre. Mivel a végleges elfogadásról még nem kaptunk és nem is kaphattunk visszajelzést, eredményeinket most részletesebben ismertetjük.

Ezt a kutatássorozatot a laboratóriumunkban régóta kidolgozott és alaposan kutatott gyűrűfelnyílási reakcióra alapoztuk. Ismert volt, hogy a 2-aminopiridinből könnyen, 2 lépésben és jó hozammal előállítható tetrazolopiridiniumsó (**22**) szekunder aminok hatására gyűrűfelnyílást szenved és tetrazolil-diénaminokat szolgáltat.



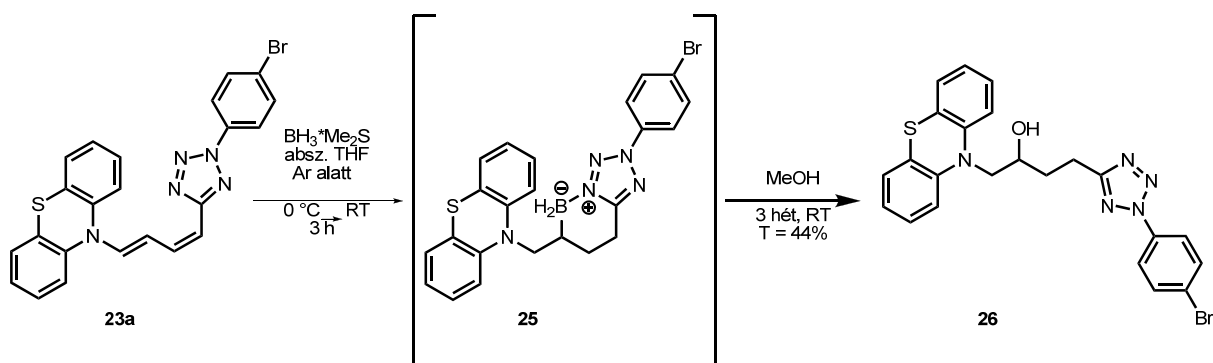
Felismertük, hogy amennyiben ehhez az átalakításhoz fenotiazint használunk fel szekunder aminként, akkor a termék a fenotiazin gyűrű N-atomjához kapcsolódó tetrazolil-dién szerkezeti egységet tartalmaz (**23**). Minthogy elvileg a diénlánc telített alkilnáccá redukálható, könnyen juthatunk el ílymódon szubsztituált N-butilfenotiazinokhoz. Több ilyen származékról (pl. tioridazin, klórpromazin, stb.) már régóta ismert, hogy gátolják az ún. efflux pumpát kiváltó P-gp-t, azaz multidrog-rezisztenciagátló vegyületek. A fentiekben vázolt szintézisút rokon szerkezetű vegyületek előállítására kínál fel új eljárást, ezért célul tűztük ki ennek a reakcióútnak a feltárását, és várhatóan MDR-gátló új származékok szintézisét.



13	R	115	Q	R'	Termelés (%)
a/b	Br/Cl	a	H	H	10/43
c	CH ₃	b	H	CH ₃	20
d	OCH ₃	c	H	OCH ₃	65
e	F	d	H	F	57
f	Br	e	CF ₃	H	15
g	OCH ₃	f	CF ₃	OCH ₃	99
h	OCH ₃	g	2-metil-1,3-dioxolán	OCH ₃	53

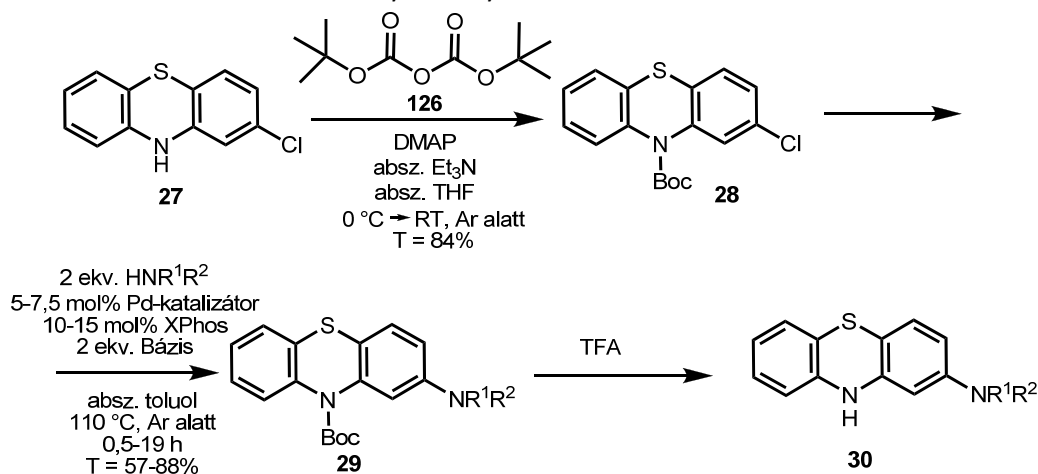
A tetrazolopiridiniumsó gyűrűfelnylását számos szubsztituált származékra jó termeléssel végrehajtottuk. Az eredeti célkitűzésnek megfelelően először katalitikus hidrogénezéssel kíséreltük meg telíteni a diénláncot.

A tervezett redukciónál változó termeléssel (10-99%) sikerült megvalósítani, így szubsztituált N-butilfenotiazinokat (**24**) nyertünk. Kiemelendő érdekesség, hogy a katalizátorméregként ismert kénatom jelenlétében is néhány esetben kitűnő hozamot tapasztaltunk. Váratlan nehézséget okozott ugyanakkor az a megfigyelés, hogy a 4-halogén-fenil szubsztituált vegyületek esetében nem kívánt dehalogéneződés is lejátszódott.



Új redukáló módszert keresve észleltük, hogy az N-tetrazolodienilfenotiazinok (**23**) könnyen vesznek részt hidrobórási reakcióban. Kimutattuk, hogy a levegő távollétében képződő azaborinin származék (**25**, melyet izoláltunk és tulajdonságait külön vizsgáltuk, ld. 3.10.) metanolban szobahőfokon kevertetve N-2-hidroxibutil származékká (**26**) alakul. Minthogy az oxigénatom belépését csak a levegő oxigéntartalma tehetné lehetővé, arra következtettünk, hogy az átalakulás lényegében egy hidrobórási-oxidációs átalakulás. E felismerés alapján a szükséges oxigénforrást peroxid hozzáadásával biztosítva a reakciót enyhe körülmények és rövid reakcióidő alatt közepes-jó termeléssel tudtuk 10 származék esetében megvalósítani.

A szintetikus átalakításokat két további irányban folytattuk:

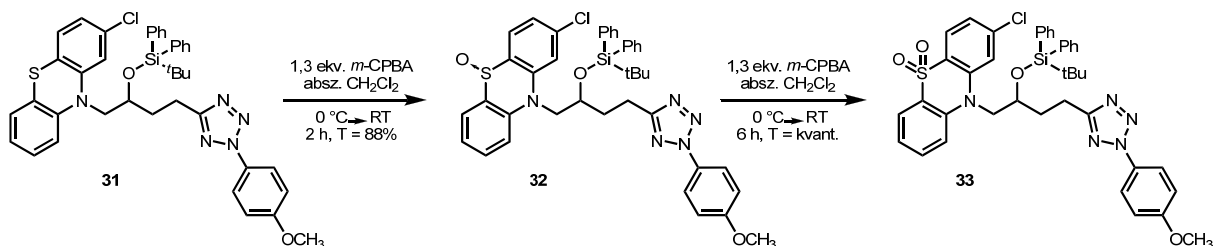


- a) egyrészt amikor a 2-es helyen klóratomot tartalmazó fenotiazinból (**27**) indultunk ki, védőcsoport bevitelével (**28** képzésével) a klóratom Buchwald-Hartwig keresztkapcsolásával (**29** előállításával), majd a védőcsoport eltávolításával számos új amino-származékot (**30**) szintetizáltunk. Ezt az átalakítást használtuk fel emellett a gyűrű-nitrogén atomon szubsztituálatlan

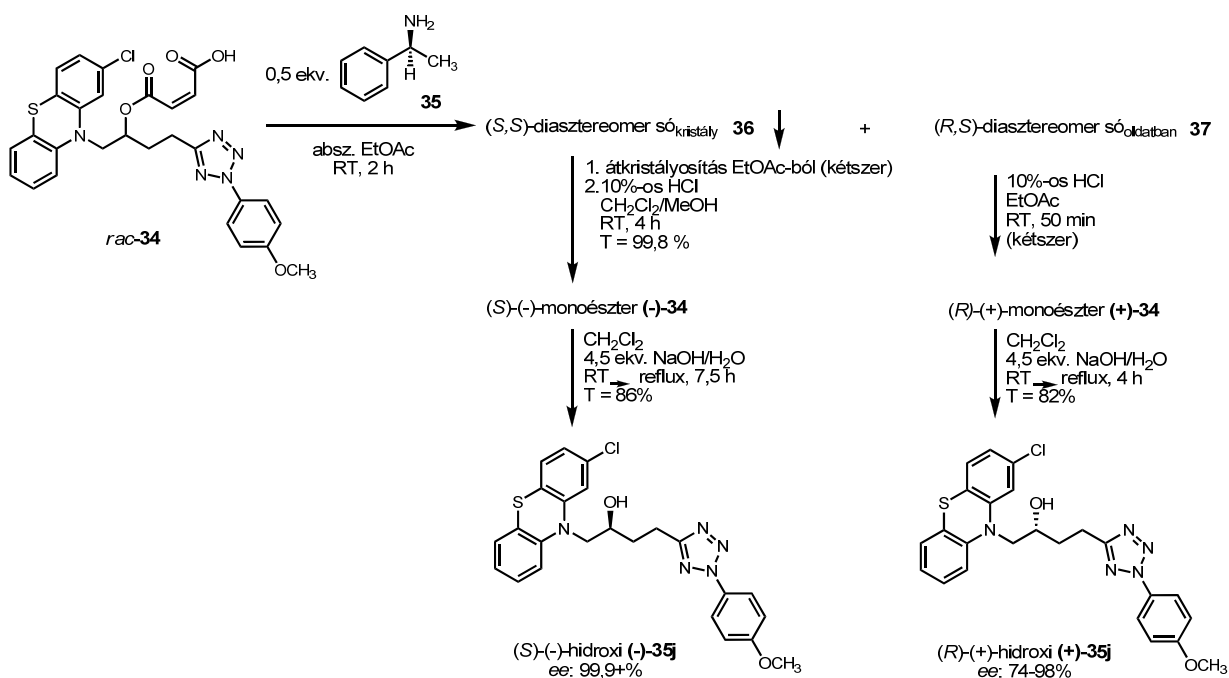
2-aminofenotiazain előállítására is. E vegyület korábban csak bonyolult kémiai lépésekkel és nehéz kísérleti körülmények között volt előállítható. Új módszerünkkel ugyanakkor kereskedelembe kapható kiindulási vegyületből (2-klór-fenotiazinból, **27**) kiindulva 3 egyszerű lépéssel (N-védés, keresztkapcsolás, védőcsoport-eltávolítás) jól járható utat kínáltunk az értékes funkciós csoportot (amin-csoportot) tartalmazó fenotiazin (**30**, $R^1, R^2 = H$) szintézisére.

- b) felismertük, hogy a fenotiazin-gyűrű kénatomja oxidálásával szulfoxidok és szulfonok is szintetizálhatók. Ezeket az átalakításokat a difenil-butilszili védőcsoportot tartalmazó származékkal (**31**) m-klór-peroxibenzoessavval szelektíven végeztük el: 1 ekvivalens reagens hatására a szulfoxid (**32**) keletkezett, míg 2 ekvivalens reagenssel, hosszabb reakcióidő alatt, a szulfont (**33**) lehetett izolálni. Mindkét átalakítás kitűnő termeléssel ment végbe.

c)



A hidroborálás-oxidáció érdekes velejárója, hogy a beépülő hidroxicsoprot körül új kiralitás-centrum jön létre, így esetünkben az összes ilyen új származék racém vegyületeként keletkezik. A biológiai tesztek során értékes MDR-gátlást mutató egyik származék (**35j**) esetében ezért megoldottuk a racém vegyület rezolválását, és a két enantiomert jó optikai tisztasággal izoláltuk. A rezolválást a 2-klór-N-(4-aniziltetrazolil-2-hidroxi-butil)fenotiazinnal végeztük el, majd ebből kiindulva a már kidolgozott módszerrel nyertük az enantiomer-párokat.



Erre a célra a kiindulási vegyületből először maleinsav-anhidriddel félésztert (*rac*-**34**) készítettünk, majd e származék rezolválását „félekvivalens módszerrel” végeztük el, azaz fél ekvivalens S(-)-1-

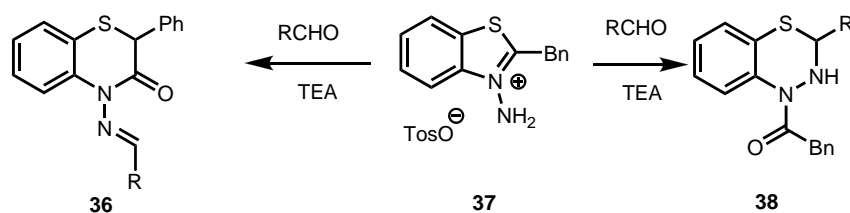
feniletilamin bázis (**35**) segítségével a kiindulási származékot diasztereomer sópárrá (**36**, **37**) alakítottuk absz. etil-acetátban, szobahőmérsékleten. Az (*S,S*)-diasztereomer só (**36**) rossz oldhatósága miatt a reakcióelegyből kristályként kivált, míg az (*R,S*)-diasztereomer só (**37**) feldúsult az oldatban. A kivált **36** sót kétszer átkristályosítottuk etil-acetátból, közben az optikai tisztaság növekedését optikai forgatás-méréssel követtük. Ezután a diasztereomer sót felszabadítottuk 10%-os HCl-oldattal diklórmétán/metanol oldatban, majd a (*S*)-(-)-monoésztert ((-)-**34**) lúgos körülmények között hidrolizáltuk, így jutottunk az (*S*)-(-)-hidroxi-vegyülethez ((-)-**35j**). A másik enantiomer kinyeréséhez a szűrés után visszamaradt anyalúgot (151) bepároltuk, majd sósavas hidrolízissel (kétszer megismételtük) felszabadítottuk (*R*)-(+)-monoésztert ((+)-**34**), majd lúgos hidrolízissel kaptuk az (*R*)-(+)-hidroxi-vegyületet ((+)-**35j**).

A hidroxibutil származékok királis jellegére további kísérleti bizonyítékot szolgáltatott a szulfoxid származék NMR spektruma: a szintén királis szulfoxid szerkezeti rész miatt e vegyületek diasztereomer párok, és ennek megfelelően az ¹H-NMR spektrumukban két jel-sorozat volt található.

Eredményeink jelentős részét már közöltük,^{3, 5, 15, 16} a tématerületről összefoglaló közleményt jelentettünk meg⁸, a fentiekben részletezett, legutóbb elért eredményeinket összefoglaló kéziratot pedig jelentésünkkel egy időben nyújtottuk be közlésre a Journal of Medicinal Chemistry folyóirathoz¹⁹.

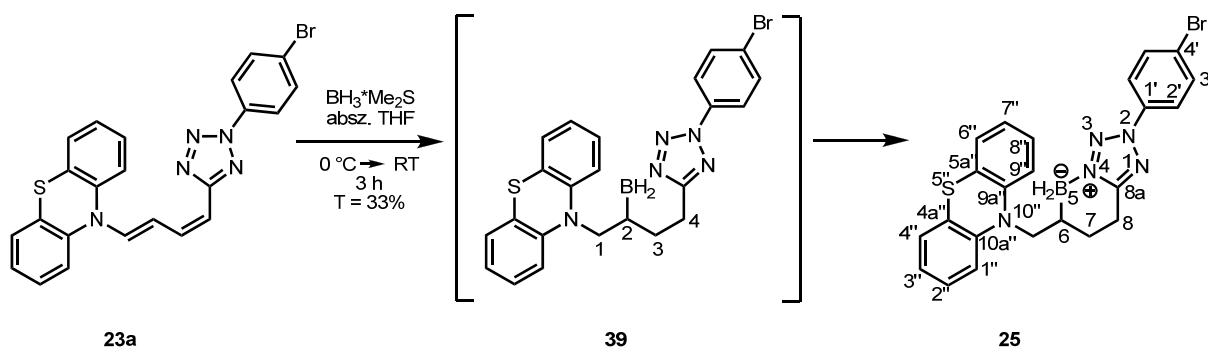
3.9. Új átalakítások benzotiazolium sók körében

Számos benzotiazol-származékról ismert, hogy multidrog-rezisztencia-gátlás hatással rendelkeznek, ez a farmakológiai sajátosság irányította figyelmünket nevezett vegyületcsoport irányába. Kísérleti munkánkba egy török-magyar együttműködés által felajánlott munkaerőt is felhasználtunk.

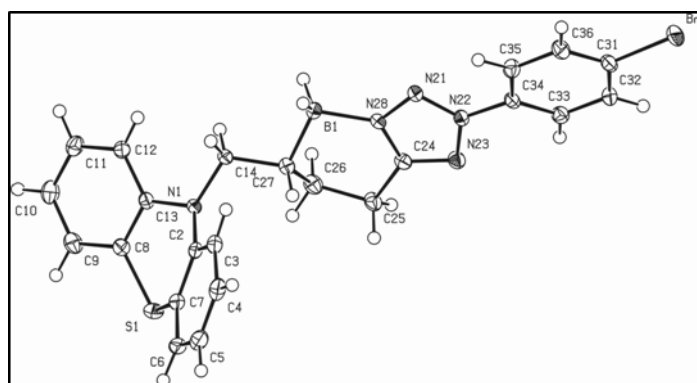


Kimutattuk, hogy N-aminobenzotiazoliumsók (**37**) trietilamin jelenlétében kétféle gyűrűtranszformációs reakcióban vehetnek részt: a) a kiindulási vegyület exo-nitrogén atomja beépülhet a gyűrűbe is tiadiazin-származék (**38**) jön létre, b) a benzil szubsztituens metilén-csoportja válik az új gyűrű tagjává és tiazin-váz (**36**) keletkezik. Sikert a reakciókörülményeket úgy megválasztani, hogy a termékek, viszonylag könnyen elvégezhető elválasztás után, közepes termeléssel izolálhatók. Az eredményünket az Acta Chimica Slovenica lapban jelentettük meg².

3.10. Tetrazolo[5,1-f][1,2]azaborinin mint új heterociklus képződése



A fentiekben leírtuk, hogy N-tetrazolildienilfenotiazinok (**23a**) dimetil-szulfid/borán reagenssel biciklusos, a gyűrűben bóratomot tartalmazó vegyületet (**25**) eredményeznek. Az új gyűrűváz képződését úgy értelmeztük, hogy először a butil-lánc telítődését és a 2-es helyre a BH₂ csoport beépülését (azaz **39** képződését) feltételeztük, majd a Lewis-sav jellegű bóratom közelségében levő, Lewis-bázis tulajdonságú tetrazol-nitrogénatom addíciójával képzelhető el az öttagú gyűrű bezáródása.



1. ábra A **25** vegyület egykristály Röntgen-diffrakciós vizsgálattal meghatározott ORTEP diagramja

Minthogy ilyen ikerionos gyűrűrendszert korábban még nem állítottak elő, alapos szerkezetvizsgálatot végeztünk: Röntgen-diffraktométerrel, valamint NMR-spektroszkópiával. A Röntgen-analízis eredménye az alábbi ORTEP diagramon meggyőzően igazolja a feltételezett szerkezetet. Fontos megjegyezni továbbá, hogy a szilárd fázisban meghatározott ¹³C és ¹¹B izotróp kémiai eltolódások és az oldatban mért ¹³C és ¹⁰B kémiai eltolódások között nem tapasztaltunk lényeges eltérést, ami szintén igazolja a várt azaborinin-vázat. Az oldat NMR vizsgálatok során a megszokott ¹¹B helyett ¹⁰B méréseket végeztünk a zavaró háttérjelek kiküszöbölése érdekében.

Az új, kondenzált azaborinin képződéséről és vizsgálatáról a J. Organometallic. Chem. folyóiratban jelentettük meg publikációt³.

3.11. Új eredmények az organokatalízis területén

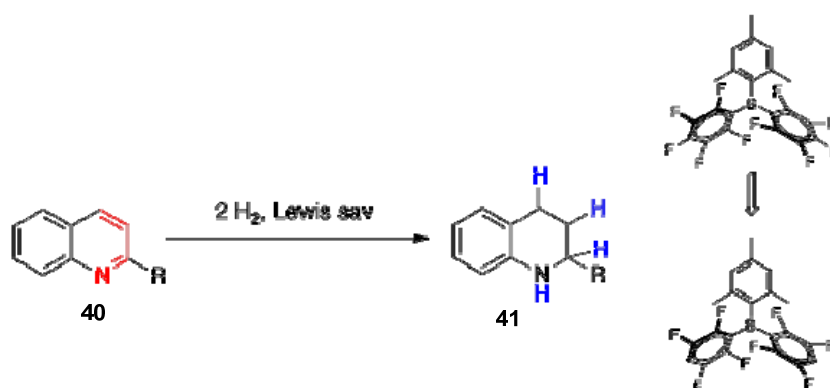
Az organokatalizátorok vizsgálata során felismertük, hogy a dupla diasztereoselektivitásnak jelentős szerepe lehet a katalitikus folyamatok során, s hatása elsősorban az un. domino reakciók lefutása során mutatkozik meg. A jelenség lényege, hogy a bifunkcionális organokatalizátor által előállított királis terméket ugyanannak a katalizátornak a segítségével már nem lehet további organokatalitikus reakcióba vinni. Bár elsőként az merült fel, hogy a reakció hiánya szterikus, vagy elektronikus okok miatt lehet, de végül felvetettük, hogy a jelenség hátterében a dupla diasztereokontrol egy különleges esete van. Azaz a királis katalizátor és a királis szubsztrát a további reakcióban olyan „mismatch” párt képez, amelyhez tartozó reakcióút aktiválási energiája olyan nagy, hogy a folyamat már nem mehet végbe. A feltételezésünket úgy igazoltuk, hogy második lépésben a királis katalizátor enantiomerjét alkalmaztuk, így „mismatch” pár nem alakulhatott ki. A jelenséget igazoló kísérletet elvégeztük, s azt tapasztaltuk, hogy további Michael-Henry, vagy Michael-Aldol organokatalitikus reakció mehet végbe, azaz a jelenséget valóban a dupla diasztereokontrol segítségével lehet értelmezni. Az eredményeinket összefoglaló cikket¹² idáig már 6 alkalommal idézték

3.12. Új frusztrált Lewis párok felismerése és alkalmazása

A frusztrált Lewis párok reaktivitásának vizsgálata során felismertük, hogy a fokozott reaktivitás nem ortogonális, a Lewis párok gyakorlatilag a szerves molekulákban található összes funkciós csoporttal

képesek reagálni. Ez a fokozott reaktivitás bár érdekes önmagában, sajnos kizárja a frusztrált Lewis párok széleskörű alkalmazhatóságát a legértékesebb reakcióban, a katalitikus hidrogénezésben. Mivel célunk hidrogénező katalizátorok fejlesztése volt, ezért megfogalmaztunk egy új katalizátor-tervezési elvet: a méretkizárásos elvet. A szelektivitás, illetve az ezzel szorosan összefüggő a funkciós csoport-tolerancia növelését nem a Lewis sav-bázis pár elektronikus tulajdonságainak a finomhangolásával kívántuk elérni, hanem azzal, hogy a frusztrált Lewis párok reaktivitását a reakciócentrumokhoz való fizikai hozzáférhetőség révén kívántuk korlátozni. Mivel a hidrogén a lehető legkisebb molekula, így olyan Lewis savak előállítását tűztük ki célul, ahol a központi centrum szterikus okok miatt nehezen hozzáférhető, gyakorlatilag csak a hidrogén fér el. Ez alapján egy módosított származékot állítottuk elő, amelyben a bóratom jelentősen árnyékolt a metil csoportok miatt. A katalizátor módosítása révén jelentős mértékben sikerült javítani a funkciós csoport toleranciát, s számos olyan szubsztrát katalitikus redukcióját valósítottuk meg, amely a frusztrált Lewis párok területén addig megvalósíthatatlannak bizonyult. Eredményeinket az Angewandte Chemie-ben közzeltük⁴, a bírálók véleménye alapján a cikk "Hot paper" minősítést kapott, valamint a címlap tervezésére is felkérést kaptunk. A cikket azóta 42 esetben idézték.

A frusztrált Lewis párok területén korábban felvetett méretkizárásos elv kiterjesztését, s gyakorlati felhasználását tovább folytattuk.¹³ Így a gyógyszer- és agrokémiai iparban gyakran alkalmazott eljárásnak, kinolin-származékok (**40**) heteroaromás gyűrűjének a redukcióját próbáltuk megvalósítani frusztrált Lewis pár katalízis segítségével. Elméleti és izotópjelzéses módszerek segítségével sikerült értelmezni a folyamat mechanizmusát, amelynek különlegessége, hogy a folyamat során átmenetileg egy szerves redukálószer: az 1,2 dihidrokinolin (**41**) keletkezik. A Chem. Eur. J.-ban közzelt cikkünket⁷ idáig már 7 esetben idézték.



4. BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

4.1. Az új fenotiazin-származékok MDR gátló hatásának vizsgálata baktériumon

Az általunk szintetizált, különböző helyettesítőket és különböző oxidációs állapotú kénatomot tartalmazó származékok biológiai hatását idáig három teszt-rendszeren: baktériumokon, patkány-hepatocita sejt kultúrán és tumoros sejteken vizsgáltuk.

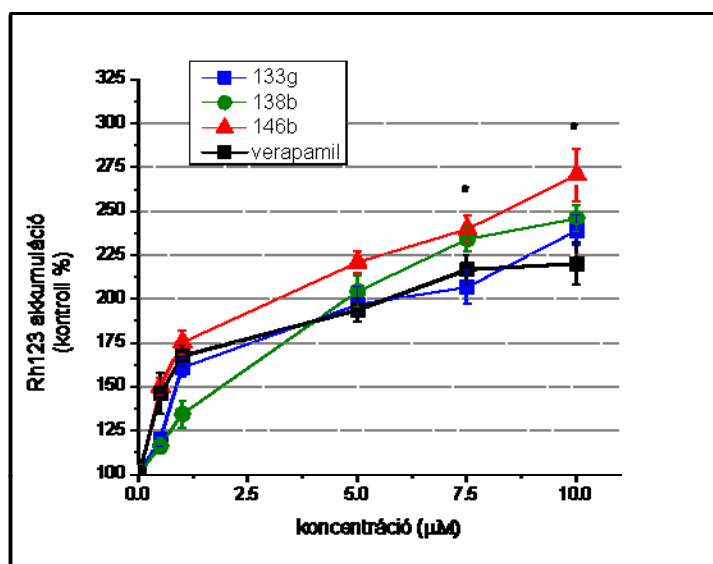
Negyven, általunk szintetizált vegyület efflux rendszerekre gyakorolt hatását határoztuk meg 4 vad típusú baktérium törzsen. A két Gram-pozitív vizsgálati törzs az *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 és a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, a két Gram-negatív törzs pedig a *Salmonella Enteritidis* NCTC 13349 és az *Escherichia coli* K12-AG 100 volt.

Az etidinium-bromid (EB) mint fluoreszens szubsztrát transzportját vizsgáltuk a sejtmembránon keresztül. Vizes oldatban (azaz a sejten kívül) gyenge fluoreszens jelet ad, azonban ennek a fluoreszens

jelnek az intenzitása erősen megnő apoláros és hidrofób környezetben. Ezt a tulajdonságot kiaknáva, „real-time”, azaz valós idejű akkumulációt vizsgáltuk a Corbett Research által kifejlesztett Rotor-Gene 3000™ PCR készülék segítségével. Ebben a vizsgálatban a Rotor-Gene 3000™ mint fotométer játszik szerepet és a fluoreszcens jelet detektálja másodpercenként. A készülékkel végzett módszert a kooperáló Lisszabon-ikutatócsoporthoz dolgozták ki. Az eredményekről közleményt jelentettünk meg az In Vivo folyóiratban⁵.

Vizsgálatok patkány-hepatocita sejt kultúrán

A Lisszabonban végzett biológiai vizsgálatok mellett vegyületeink MDR-gátló tulajdonságát patkány hepatocita sejt kultúrán is megvizsgáltuk a jó P-gp gátlóként ismert verapamil referenciaanyag jelenlétében. A mérések során kitűnt, hogy a dienil-származékhoz (**23**) és a hidrogénezéssel előállított telített vegyülethez viszonyítva (**24**) mellett néhány, a hidroborálással nyert monohidroxi-vegyület (**26**) jó P-gp gátlást eredményezett, kiemelkedő aktivitást pedig a hidroxilcsoport mellett, a fenotiazin-váz 2-es pozíciójában amin-részt is tartalmazó származékok (pl. **133g**) esetében tapasztaltunk. A legkiválóbb P-gp gátlást a szulfoxidok (pl. **138b**) és szulfonok (pl. **146b**) körében regisztráltuk (1. ábra). E vegyületek hatása meghaladta a referenciaként vizsgált verapamilét, így a jövőre nézve lead-vegyületnek tekinthetők.



A tumoros sejteken elvégzett mérések megtörténtek, értékelésük folyamatban van, publikálásukra még ez évben sor kerül.

Az eddigi biológiai kiértékelésekből kitűnik, hogy a különböző tesztek során nyert eredmények összhangban vannak, belőlük a szerkezetek hatásosságára nézve azonos következtetések vonhatók le.

5. Az elvégzett pályázati munka átfogó értékelése

Hatékony szintetikus munkát lehetővé tevő új laboratóriumi eszközök beszerzésével és üzembe állításával, új katalitikus és szintetikus lépések kidolgozásával és fejlesztésével sokrétű munkát végezhetünk el a projektidőszakban. Az eredmények elérésében nélkülözhetetlen szerepet játszottak a résztvevő szerkezeti kémiai (főként NMR és MS-spektroszkópiái), elméleti kémiai és biokémiai laboratóriumok. Munkánk eredményét 18, főként magas impakt-faktorú nemzetközi folyóiratban megjelent publikáció ismerteti, emellett több hazai és nemzetközi fórumon hangzottak el eredményeink előadás formájában.

A jelentős volumenű munka indokolta, hogy az eredetileg tervezett 3 éves időszak fél évvel történő meghosszabbítását kérjük, amit az OTKA Iroda engedélyezett. Ebben a kiegészített projektidőszakban a tervezett kísérleti munkát elvégeztük, a már megjelent publikációk mellett egy további kéziratot közlésre elküldtünk, valamint egy további kézirat összeállítása van folyamatban. Ez utóbbit mint „összeállítás alatt levő kézirat” tüntettem fel az irodalomjegyzékben, a jelentés megfelelő helyén erre utaltam. Megjelenése a következő 5-6 hónap alatt várható.

Fontos jellegzetessége volt pályázati munkánknak fiatal doktoranduszok bevonása a kísérleti munkába. Örömmel jelentjük ennek sikeres megvalósulását. A sikert egyértelműen igazolja, hogy a résztvevő PhD hallgatók közül öten (Mehdi Hasan, Rokob Tibor András, Ferenczi Palkó Roberta, Erős Gábor, Varga Szilárd) a projekt-időszak alatt megszerezték a PhD fokozatot kitűnő (summa cum laude) eredménnyel, emellett három további PhD disszertáció (Kardos György, Molnár Laura, Takács Daniela) kísérleti munkája lezárult, a disszertációk lényegében már elkészültek, benyújtásuk a következő hónapokban történik. Kutatásaink sikeréhez két egyetemi hallgató (Urvölgyi Mónika és Werner Erika, BME) is hozzájárult, akiknek MSc záródolgozata szintén pályázati kutatásunk részét képezte.

Munkatársaimmal aktívan vettünk részt hazai és nemzetközi fórumokon, ahol 20 előadást tartottunk konferenciákon szóbeli előadás és poszter formájában.

Irodalomjegyzék

[1] Gitte Van Baelen, Steven Hostyn, Liene Dhooghe, Pál Tapolcsányi, Péter Mátyus, Guy Lemière, Roger Dommissé, Marcel Kaiser, Reto Brun, Paul Cos, Louis Maes, György Hajós, Zsuzsanna Riedl, Ildikó Nagy, Bert U. W. Maes, Luc Pieters: **Structure – Activity Relationship of Antiparasitic and Cytotoxic Indoloquinoline Alkaloids, and their Tricyclic and Bicyclic Analogue**, *Bioorg. Med. Chem.* **17**, 7209-7217 (2009).

IF: 3.075

[2] László Filák, Betül Tekiner-Gulbas, Zsuzsanna Riedl, Gyöngyvér Ágnes Vaskó, Orsolya Egyed, Ismail Yalçın, Esin Aki-Sener, and György Hajós: **Ring Expansion of N-aminobenzothiazolium salts to benzothiazines and benzothiadiazines**, *Acta Chimica Slovenica*, **56**, 622–628 (2009).

IF: 0.909

[3] Daniella Takács, Péter Király, Ildikó Nagy, Petra Bombicz, Orsolya Egyed, Zsuzsanna Riedl, György Hajós: **Formation of a New Ring System: Tetrazolo[5,1-f][1,2]azaborinin**, *J. Organometallic Chem.* **695**, 2673-2678 (2010).

IF: 2.347

[4] Gábor Erős, Hasan Mehdi, Imre Pápai, Tibor András Rokob, Péter Király, Gábor Tárkányi and Tibor Soós: **Expanding the Scope of Metal-Free Catalytic Hydrogenation through Frustrated Lewis Pair Design**, *Angew. Chem. Int.*, **49**, 6559, 2010.

IF: 11.829

[5] György Hajós, József Molnár, Miguel Viveiros, Isabel Couto, Leonard Amaral: **Evaluation of Forty New Phenothiazine Derivatives for Activity Against Intrinsic Efflux Pump Systems of Reference Escherichia coli, Salmonella Enteritidis, Enterococcus**, *In Vivo*, **25** (5) 719-724, 2011.

IF: 1.215

[6] Diána Marosvölgyi-Haskó, Attila Takács, Zsuzsanna Riedl, László Kollár: **High-yielding synthesis of 1-isoindolinone derivatives via palladium-catalyzed cycloaminocarbonylation**, *Tetrahedron*, **67**, 1036-1040, 2011.

IF: 3.219

[7] Gábor Erős, Krisztina Nagy, Hasan Mehdi, Imre Pápai, Péter Nagy, Péter Király, Gábor Tárkányi, Tibor Soós: **Catalytic Hydrogenation with Frustrated Lewis Pairs: Selectivity Achieved by Size-Exclusion Design of Lewis Acids**, *Chem. Eur. J.* DOI: 10.1002/chem.201102438, 2011.
IF: 5.480

[8] György Hajós, Katalin Jemnitz, Zsuzsanna Riedl, Daniella Takács, and Zsuzsa Veres: **Heterocyclic Compounds as MDR Modulators**. *Letts. Drug Des. Discov.*, **8** (2), 102-113 (2011).
IF: 0.805

[9] József Balog, Zsuzsanna Riedl, György Hajós, Zsombor Miskolczy, László Biczók: **New fluorescent isoquinoline derivatives**, *Tetr. Lett.*, **52**, 5264–5266 (2011).
IF: 2.588

[10] Roberta Palkó, Orsolya Egyed, Zsuzsanna Riedl, Tibor András Rokob, György Hajós: **Rearrangement of aryl- and benzylthioiridinium imides with participation of a methyl substituent**, *J. Org. Chem.*, **76**, 9362–9369, 2011.
IF: 3.994

[11] Roberta Palkó, Zsuzsanna Riedl, Sándor Sólyom, István Pallagi, Tibor András Rokob, Orsolya Egyed György Hajós: **Synthesis and Transformations of Novel Benzo[c]furans**, *Heterocycles*, **83** (3), 591-607, 2011.
IF: 1.165

[12] Szilárd Varga, Gergely Jakab, László Drahos, Tamás Holczbauer, Mátyás Czugler, and Tibor Soós: **Double Diastereocontrol in Bifunctional Thiourea Organocatalysis: Iterative Michael–Michael–Henry Sequence Regulated by the Configuration of Chiral Catalysts**, *Organic Letters*, **13** (20), 5416–5419 2011. DOI: 10.1021/ol201559j
IF: 5.420

[13] Tibor Soós: **Design of frustrated Lewis pair catalysts for metal-free and selective hydrogenation**, *Pure and Applied Chemistry*, **83**, 667 2011.
IF 2.289

[14] Bharatkumar Chandrashekhhar Dixit, József Balog, Zsuzsanna Riedl, László Drahos, and György Hajós: **Efficient new approach for the synthesis of 3H-pyrrolo[2,3-c]isoquinoline derivatives**, *Tetrahedron*, **68**, 3560-65 (2012).
IF: 3.157

[15] Daniella Takács, Ildikó Nagy, Petra Bombicz, Orsolya Egyed, Katalin Jemnitz, Zsuzsanna Riedl, József Molnár, Leonard Amaral, and György Hajós: **Novel alkenyl, alkyl, and hydroxyalkyl-phenothiazines as MDR modulators**, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 4258-70 (2012).
IF: 3.157

[16] Daniella Takács, Orsolya Egyed, László Drahos, Zsuzsanna Riedl, and György Hajós: **A new Synthetic Approach to Phenothiazin-2-amines**, *Tetr. Lett.*, **53**, 5585-5588 (2012).
IF: 2.683

[17] József Balog, Zsuzsanna Riedl, György Hajós, Zsombor Miskolczy, and László Biczók: **Novel fluorescent isoquinoline derivatives obtained via Buchwald-Hartwig coupling of 3-isoquinolineamine**, *Arkivoc*, 2012 (v), 109-119.
IF: 1.252

[18] Paola L. Lucero, Walter J. Peláez, Zsuzsanna Riedl, György Hajós, Elizabeth L. Moyano, and Gloria I. Yranzo: **Flash vacuum pyrolysis of azolylacroleins and azolylbutadienyls**, *Tetrahedron*, **68**, 1299-1305 (2012).

IF: 3.025

[19] Daniella Takács, Orsolya Egyed, László Drahos, Pál Szabó, Katalin Jemnitz, Mónika Szabó, Zsuzsa Veres, Júlia Visy, József Molnár, Zsuzsanna Riedl, and György Hajós: **Synthesis and Pharmacological Investigation of New 2-Amino-N-Hydroxyalkylphenothiazines Exhibiting Marked MDR Inhibitory Effect**, *J. Med. Chem.*, submitted for publication.

[20] Roberta Ferenczi-Palkó, Zsuzsanna Riedl, Petra Bombicz, András Rokob, and György Hajós: **Formation of a nucleophilic carbene in a fused pyridine ring**. Manuscript under compilation.

Ezúton fejezem ki az OTKA Irodának köszönetemet a hathatós támogatásért, mely lehetővé tette, hogy nagy létszámú kutató team dolgozhatott a kitűzött feladatokon, néhány jelentős teljesítőképességű készülék üzembe állítása mellett a tervezett, széles program megvalósulhatott, és legfőbbképpen azt, hogy kiemelt hatásterületen (MDR-gátlás) közel kerülhettünk egy gyógyszerfejlesztés megvalósításához.

Budapest, 2012. október 31.

Hajós György

témavezető