

Zárójelentés az OTKA NI-61336 számú pályázatról

1. A szén-szén kötés kialakításának egyik, az utóbbi évtizedben széles körben vizsgált és alkalmazott módszerei a Heck-, a Suzuki-, a Stille-, a Sonogashira- és a Negishi-névvel jelölt Pd(O)-katalizált keresztkapcsolási reakciók. E projekt keretében a kutatási munkatervünkben megadottak szerint a kromon és kumarinszármazékok körében behatóan tanulmányoztuk a Heck és Sonogashira reakció alkalmazhatóságát. Megállapítottuk, hogy mind az A-, mind pedig a B-gyűrűben brómatomot tartalmazó származékokon akrolein-dietilacetállal a Heck-reakció körülményei között 2-etoxikarbinil-vinil-csoportot lehet kialakítani, melyek további funkcionálizálásával változatos szerkezetű oldalláncok szintézisét tette lehetővé. Példákon bemutattuk, hogy ez az átalakítás – a megfelelő védőcsoport stratégiát alkalmazva – a természetben előforduló 5-hidroxi és 5,7-dihidroxikromonszármazékok körében is megvalósítható. Kimutattuk, hogy a bróm-szubsztituált-kromonszármazékok körében a Sonogashira-reakció is magas hozammal valósítható meg. Ezen átalakításokra támaszkodva molekulakönyvtárat hoztunk létre. A szén-hidrogén kötés kialakítását tanulmányozva potenciálisan farmakológiailag aktív aminoflavonszármazékokat állítottunk elő Buchwald-Hartwig aminálási reakcióval. Behatóan foglalkoztunk a mikrohullámú aktiválás alkalmazásával O-heterociklusok szintézisével. Vizsgáltuk az így nyert vegyületek lipofilitását.

Eredményeinket pedig a közleményjegyzék 1, 2, 5, 6, 7, 11-13, 22, 27, 30, 31, 33, 36, 41, 47, 54, 56, 60, 64, 70, 78, 82, 84, 94, 102, 105, 114 és 126-128 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

2. Az ipriflavon (7-izopropiloxiizoflavon) az első szájon át is adható csonttritkulás (osteoporosis) elleni szer az Osteochin^R (Chinoïn-Sanofi) hatóanyaga. Hatásmechanizmusa (fokozza az ösztrogének-által stimulált kalcitonin képződést) alapján feltételezhető, hogy az ösztrogén receptorokhoz kötődő analógjai (pl. pterokarpánok, 6a,11a-dehidropterokarpánok és kumesztánok) is mutatnak ilyen hatást. Szintézisük beható tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a flavanonok a megfelelő 2,3-dihidrobenczo[b]furánszármazékot eredményező sztereospecifikus gyűrűszűkülésén alapuló előállítás a D-gyűrűben elektronküldő csoportot (hidroxi-, metoxi- vagy O-dimetoxi-, illetve metiléndioxi) tartalmazó pterokarpánok előállítására nem alkalmas. Kimutattuk, hogy ezen esetekben a szubsztitúciós mintázattól függő

módon főtermékként a megfelelő flavon- vagy izoflavonszármazék keletkezik. A termékanalízist alapvonalú elválasztást biztosító körülmények kidolgozása után HPLC-vel oldottuk meg. A váratlan átalakulás okait kvantumkémiai számítások alapján valószínűsítettük. Vizsgálatainkat a munkatervünkben megadottak szerint kiterjesztettük a pterokarpánok előállítására alkalmas a 3-kroménszármazékok Heck-féle oxiarilezési reakciójára is.

Eredményeinket a közleményjegyzék 17, 53, 58, 63, 73, 96, 97, 109-111, 115, 121, 122 és 124 sorszama alatt megadottak szerint közöltük.

3. Szervezetünk a létfenntartásához szükséges glükózt a májunk glikogén formában raktározza. Ennek metabolizmusát a glikogén foszforiláz enzim (GP) aktivitása szabályozza, melynek csökkentésével új és kedvező lehetőség nyílik a 2-típusú cukorbetegség vércukor szintjének kontrollálására. A munkatervünkben megadottak szerint folytattuk e területen megkezdett kutatásainkat és nagyszámú anomer centrumán bifunkcionalizált D-glükózszármazékokat állítottunk elő, közöttük különféle spiroheterociklusokat és számos N-(β -D-glükopiranozil)amid, -karbamid és 1,4-benzodioxánszármazékokat is. Az utóbbi vegyületek körében a Troglitazon (Sankyo) és Englitazon (Pfizer) analogonjainak a szintézisét is megvalósítottuk.

A széleskörű hatás-szerkezet összefüggések vizsgálatokból a GP inhibitor tulajdonság szerkezeti feltételeit illetően az alábbi értékes megállapításokat tettük.

- a) az enzim aktív centrumához történő szoros illeszkedéshez a β -D-glükóz konfigurációjú szükséges,
- b) melynek a C-1 szénatomjához célszerűen (de nem kizárólagosan) N-en keresztül 2- vagy 3-atomos kötőelemet kell kapcsolni.
- c) A molekula második farmakofor csoportját egy nagy térkitöltésű hidrofób molekularészlet alkotja, amely elsősorban aromás tulajdonsága révén $\pi \rightarrow \pi$ kölcsönhatás révén kapcsolódik az enzimhez, és befolyásolja annak aktivitását.

Ezt a szerepet nemcsak a 2-naftil-, hanem a C-8 helyzetben megfelelően szubsztituált 1,4-benzodioxán-6-il csoport is betöltheti.

- d) A kötőelem és a nagy térkitöltésű hidrofób csoport része lehet a glükopirazolidén-spiro-N vagy O-heterociklusnak is (pl. oxatiazol rendszer).

Eredményeink jelentős részét közöltük, de a leghatékonyabb származékok a Debreceni Egyetem, mint szabadalom tulajdonos által kezdeményezett szabadalmi bejelentésben kerülnek leírásra.

Eredményeinket a közleményjegyzék 3, 4, 14, 24, 25, 42-46, 57, 66-69, 71, 72, 77, 83, 86, 103, 107, 111, 116-120, 123 és 129 sorszám alatt megadottak szerint közöltük.

4. A Legalon^R (Madaus, Köln) hatóanyagának a (+)-2*R*,3*R*,2'*R*,3'*R*(2'*S*,3'*S*)-szilibininnek (szilibin A és szilibin B) *in vitro* farmakológiai vizsgálatához e vegyület C-2' kiralitáscentrumához kapcsolódó hidrogént deutériumra cseréltük le. Ezt úgy oldottuk meg, hogy a molekula lignán részét a β-deutero-koniferil alkoholt vanillinból – a formilcsoportjának a hidrogénjét deuteriummal helyettesítve – 6 lépésben állítottuk elő. Az így nyert deuteroszármazékot (+)-2*R*,3*R*-taxifolinnal Ag₂O jelenlétében, kapcsolva a (+)-2'-D-szilibin A+B és a (+)-2'-D-izoszilibin A+B regioizomérek 1:1 arányú keverékét kaptuk meg. Ezek preparatív rétegekromatográfiás elválasztásával jutottunk a kívánt célvegyülethez, melynek antioxidáns tulajdonságát összehasonlítottuk a kereskedelemben hozzáférhető vörös és fehérborokéval, a xantin oxidáz és protein kináz C enzimekre gyakorolt hatásuk vizsgálata pedig folyamatban van. E farmakológiai vizsgálatok analitikai háttérének megteremtése érdekében behatóan tanulmányoztuk a deutériummal jelzett (+)-szilibin A+B tömegspektrometriai viselkedését is.

A fent említett Ag₂O-os kapcsolás során a megfelelően szubsztituált o-dihidroxifenolból és a koniferil-alkoholból a *transz*-2-(4-hidroxi-3-metoxi)fenil-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán származék racém formában keletkezik. Ennek *Pseudomonas fluorescens* lipázzal katalizált kinetikus rezolválását tanulmányozva az enzim aktív centrumának a topológiáját illetően értékes megfigyeléseket tettünk. Ennek ismeretében új enantioszelektív utat dolgoztunk ki az 1,4-benzodioxánvázás flavano- és neolignánok szintézisére. Az így nyert vegyületek lehetővé tették, hogy a széleskörű HPLC-és vizsgálatokra támaszkodva igazoljuk a hazánkban honos fehérvirágú máriatövisben (*Silybum marianum*) lejátszódó bioszintézis [(-)-2*S*-eriodiktiol + koniferil-alkohol] elemi lépéseit.

Eredményeinket a közleményjegyzék 29, 48, 49, 59, 74, 79, 99 és 111 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

5. Hatékony szintézist dolgoztunk ki *O*-prenilezett polihidroxiflavanon származékok előállítására és hatás-szerkezeti összefüggésre támaszkodva igazoltuk e vegyületek *Candida albicans* ellen hatásos farmakoforjának a szerkezetét. Tekintettel e vegyületek csekély toxicitására és számottevő antifungális hatására az eredményünk alapját képezheti egy új a humán terápiában is alkalmazható *Candida albicans* ellen hatásos szer kifejlesztésére irányuló (vezérmolekula optimalizálása) innováció elindításának.

Eredményeinket a közleményjegyzék 8, 34, 35 és 111 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

6/a. A korábbi kiroptikai kutatásainkat a munkatervünkben megadottak szerint folytatva elsőként ismertük fel, hogy a szilárd fázisban mért és a röntgen színekép adatainak felhasználásával kvantumkémiai úton számított CD összehasonlításra alapuló abszolút konfiguráció meghatározásának lehetőségét. Ezt az tette lehetővé, hogy megoldottuk a KBr pasztillában rögzített optikailag aktív kristályos minta „arte fact” mentes CD színeképének mérését, valamint olasz kutatókkal (G. Pescitelli, R. Salvadori) együttműködve a módszer felhasználásával a röntgen színekép adatai alapján a rögzített konformációban lévő molekula CD színeképének számítását. A mért és számított adatok összevetése alapján a molekula abszolút konfigurációja adható meg. A lehetőség széleskörű alkalmazhatóságát bizonyította, hogy K. Krohn professzorral és mtsai-val (Paderborn, Németország) együttműködve nagyszámú biológiailag aktív O-heterociklusos természetes anyag konfigurációját határoztuk meg ezzel a módszerrel. Eredményeinket a közleményjegyzék 16, 18, 19, 20, 21, 23, 75, 80, 85 és 112 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

6/b. Az oldat- és szilárd-fázisban mért CD-en alapuló abszolút konfiguráció meghatározás lehetőségét a biológiailag aktív izokrománok és szénhidrátok kémiája területén végzett szintetikus munkánk során is sikerrel kamatoztattuk és értékes megállapításokat tettünk az izokromán, a naftil és a diszulfid kromofor kiroptikai sajátágaival kapcsolatban. Eredményeinket a közleményjegyzék 15, 50, 51, 61, 62, 81, 100, 101, 104 és 125 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

7. A munkatervünkben megadottak szerint szintetikus munkát végeztünk az alkaloidkémia területén is. Tanulmányoztuk a Suzuki-Miyaura keresztkapcsolási reakciót a morfinánszármazékok körében. A biológiailag értéktelen tebainból kiindulva valósítottuk meg a 2-aril-alkil, tiazollal és izotiazollal kondenzált apomorfínok előállítását, oripavidin első szintézisét, és 10-dezoxiapomorfínok előállítását átmeneti fémek által katalizált körülmények között. E területen végzett kutatásaink számos információt szolgáltattak e vegyületek dopaminerg aktivitásáról, valamint antioxidáns tulajdonságairól. Eredményeinket a közleményjegyzék 9, 10, 32, 37-39, 40, 76, 88-93, 95, 98, 106 és 113 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

8. Eredményes kutatást folytattunk a biológiailag aktív szénhidrátszármazékok szintézise területén is. Hatékony módszert dolgoztunk ki a véralvadásban meghatározó szerepet játszó heparin származékainak előállítására. E molekula farmakológiai profiljának

megőrzése mellett a szulfonsavészter funkciós csoportját a hidrolízissel szemben stabil metilénszulfonsav csoporttal helyettesítve új potenciális véralvadásgátlót állítottunk elő. Emellett behatóan tanulmányoztuk a tionukleofilok szerepét a szénhidrátszármazékok szintézisében.

Eredményeinket a közleményjegyzék 52, 55, 87, 108 és 130 sorszáma alatt megadottak szerint közöltük.

9. Az iskolapályázaton kapott támogatás segítségével Dr. Czifrák Katalin, Dr. Kenéz Ágnes, Dr. Sipos Attila, posztdoktorok; Czakó Zoltán, Fekete Szabolcs, Felföldi Nóra, Girán Levente, Herczeg Mihály, Jakab Zsolt, Németh István és Vasas Attila PhD hallgatók; Papp Tamás, Parti-Tóth Veronika és Szabó Ildikó Erzsébet MSc; Balogh János, Birizdó Erika és Czece Laura BSc hallgatók továbbképzését biztosítottuk. Ebben a munkában széleskörű preparatív tapasztalatokkal rendelkező vegyésztechnikus Magyar Lászlóné volt segítségünkre, akit nyugdíjasként alkalmaztunk.

A pályázaton kapott támogatásból az OTKA Iroda hozzájárulása alapján az 500 MHz NMR készülékünk számítástechnikai részének a modernizálásához (1.000 eFt), egy Agilent-5975 típusú GC-MS beszerzéséhez (2.400 eFt) és a CD szinképek kvantumkémiai számítását lehetővé tevő számítógépes rendszer kiépítéséhez (2.278 eFt) járultunk hozzá. Ezek a beszerzések, illetve fejlesztések megvalósultak és így a tanszéken jelenleg is folyó az OTKA által támogatott kutatások infrastrukturális háttere számottevően javult.

E helyütt is megköszönöm munkatársaim nevében is az OTKA Kémia-II Zsűrijének, a Szakkollégiumának, Gilyén Elemérné igazgató asszonynak és munkatársainak a kutató munkánk hathatós támogatását.