

PhD értekezés tézisei

Aliciklusos β -aminosavak szelektív funkcionálizálása nitril-oxidok 1,3-dipoláris cikloaddíciójával

Nonn Mária Melinda

Témavezető

Prof. Dr. Fülöp Ferenc

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszerkémiai Intézet

2012

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

PhD program: Gyógyszerkémia, gyógyszerkutatás
Programvezető: Prof. Dr. Fülöp Ferenc
Intézet: Gyógyszerkémiai Intézet
Témavezető: Prof. Dr. Fülöp Ferenc

Nonn Mária Melinda

**Aliciklusos β -aminosavak szelektív funkcionálizálása nitril-oxidok 1,3-
dipoláris cikloaddíciójával**

Szigorlati bizottság:

Elnök: Dr. Molnár Árpád
Tagok: Dr. Dombi György
Dr. Szabó Pál

Bíráló bizottság:

Elnök: Dr. Hohmann Judit
Opponensek: Dr. Wölfling János
Dr. Riedl Zsuzsanna
Tagok: Dr. Fodor Lajos
Dr. Csányi Erzsébet

1. Bevezetés és célkitűzések

Az aliciklusos β -aminosavak szintézisére és felhasználására egyre nagyobb figyelem irányult az elmúlt évtizedekben, ugyanis értékes farmakológiai hatással rendelkeznek. Ilyen például a természetben is előforduló, antifungális hatású ciszpentacin [(1*R*,2*S*)-2-amino-1-ciklopentánkarbonsav], icofungipen [(1*R*,2*S*)-2-amino-4-metilciklopentánkarbonsav], valamint a baktériumellenes orizoximicin [(*S*)-2-((5*R*,6*R*)-6-amino-5-hidroxiciklohexa-1,3-dienkarboniloxi)-propionsav]. A ciklusos β -aminosavakat széles körben alkalmazzák új típusú peptidek szintézisében. Kiindulási anyagként szolgálhatnak heterociklusos vegyületek, potenciális gyógyszerek és természetes vegyületek szintéziséhez, emellett enantiomer tiszta formában királis segédanyagként, aszimmetrikus szintézisekhez is felhasználhatók.

Intézetünk egyik fő kutatási profilja β -aminosavak funkcionalizálása. Szelektív funkcionalizálási technikákat alkalmazva hidroxil, fluor, dihidroxil, amino vagy azid csoportokat alakítottak ki szelektíven a β -aminosavak vázán. A nitril-oxidok 1,3-dipoláris cikloaddíciója újabb lehetőséget nyújt a C-C kettős kötés funkcionalizálására, így a telítetlen ciklusos β -aminosavakat dipolarofilként használva új, izoxazolin gyűrűvel kondenzált aminosav származékok állíthatók elő.

Doktori munkám során célunk volt nitril-oxidok regio- és sztereoszelektív 1,3-dipoláris cikloaddíciójának tanulmányozása különböző β -aminosav származékokra. Elsődleges célunk a cikloaddíciós reakciók regio- és sztereoszelektivitásának vizsgálata volt, majd az előállított, izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminosav származékok továbbalakítása a heterociklusos gyűrű redukzív felnyitásával. A cikloaddíciós reakciókat enantiomer tiszta β -laktámból kiindulva is terveztük végrehajtani, melyek során izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminosav származék enantiomerekhez juthatunk.

2. Alkalmazott vizsgálati módszerek

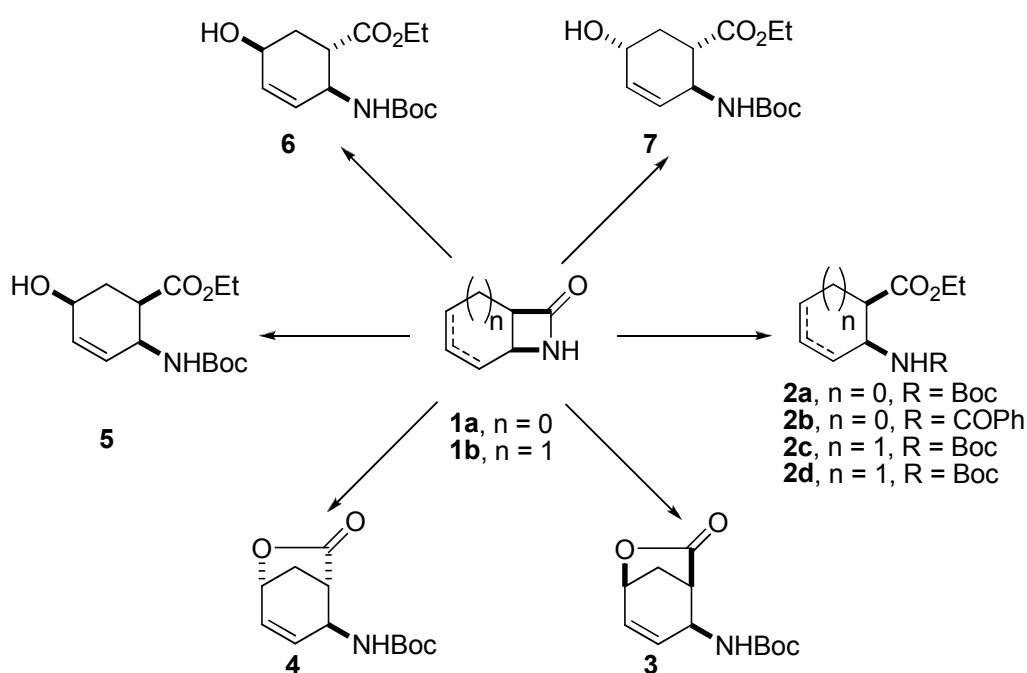
Az általam végzett reakciók termékeit szilikagél hordozón végzett oszlopkratográfiával és kristályosítással választottam szét és tisztítottam. Az előállított új vegyületeket olvadáspontjukkal, IR, NMR, tömegspektroszkópiás mérésekkel és elemanalízissel jellemeztem. A vegyületek térszerkezetének meghatározására 400 MHz-es NMR készülékkel kétdimenziós (COSY, HSQC, HMBC, NOESY) NMR spektrumok és

néhány esetben röntgendiffrakciós mérések készültek. Az optikailag aktív vegyületek elválasztása és azonosítása királis HPLC illetve gázkromatográfiai módszerrel történt.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. A kiindulási anyagok szintézise

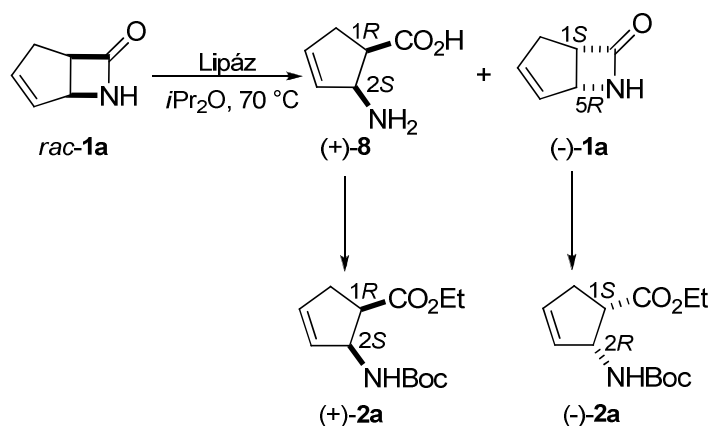
A kiindulási anyagokat (**2-7**), mint dipolarofileket, a biciklusos β -laktámból (**1a,b**) kiindulva állítottuk elő (1. ábra). A **2a-d** vegyületeket az azetidion gyűrű (**1a,b**) nyitásával majd az amino funkció védésével (Boc vagy C_{OPh}) szintetizáltuk (1. ábra).



1. ábra

A **3** és **4** kiindulási anyagok szintézise regio- és sztereoselektív jódlaktonizáción, majd az ezt követő HI elimináción alapult. A hidroxilált aminoésztereket (**5**, **6** és **7**) a **3** és **4** vegyületek lakton gyűrűjének nyitásával állítottuk elő (1. ábra).

A (+)-**2a** és (-)-**2a** enantiomer tiszta kiindulási anyagokat használtuk fel az optikailag aktív, izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminosav származékok szintéziséhez. A (+)-**8a** és (-)-**1a** enantiomereket a racém biciklusos β -laktám (**1a**) enzimes rezolválásával állítottuk elő *Candida antarctica* B Lipáz jelenlétében (2. ábra).

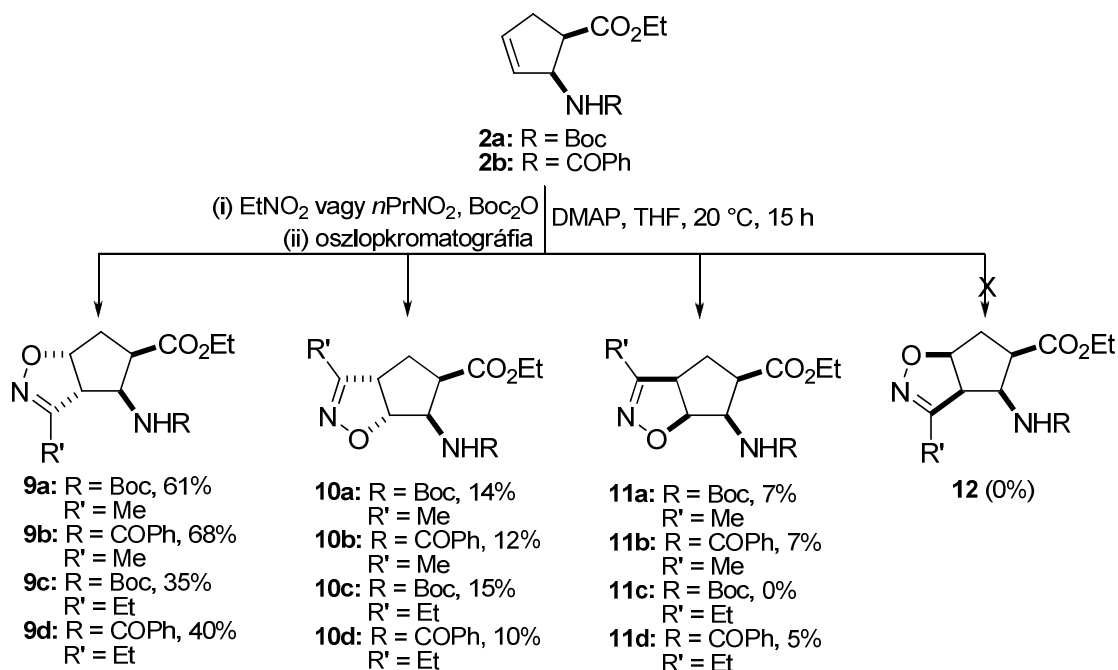


2. ábra

Az így kapott aminosav [(+)-8] és β-laktám [(-)-1a] enantiomereket továbbalakítottuk a kívánt, optikailag aktív dipolarofilekké [(+)-2a és (-)-2a (2. ábra)].

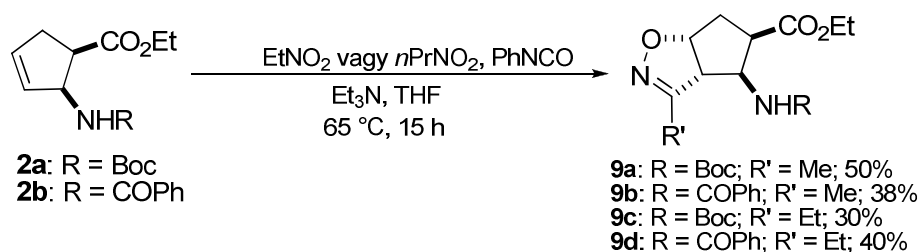
3.2. Izoxazolin gyűrűvel kondenzált N-védett amino észterek szintézise

Új, izoxazolin gyűrűvel kondenzált etil *cis*-2-aminociklopentánkarboxilát regio- és sztereoisomereket (9a-d, 10a-d, 11a-d) állítottunk elő jó, illetve közepes termeléssel nitril-oxidok (EtNO₂ és *n*PrNO₂-ből kiindulva Boc₂O-et használva vízelvonó szerként, DMAP jelenlétében) etil *cis*-2-aminociklopentánkarboxilátra (2a,b) történő 1,3-dipoláris cikloaddíciójával (3. ábra).



3. ábra

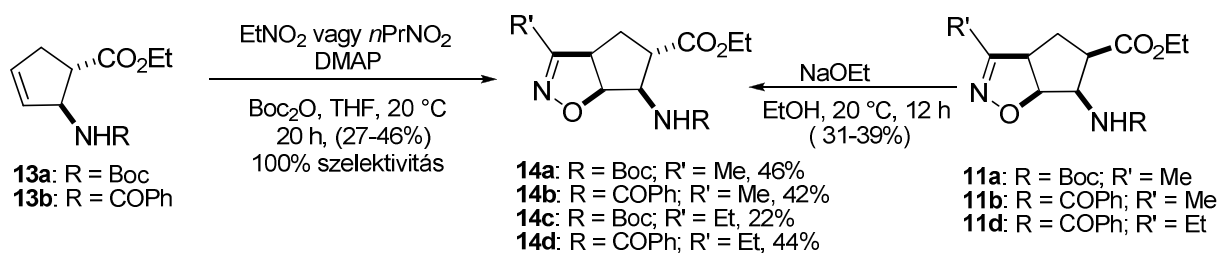
A cikloaddíciós reakcióban használt Boc₂O vízelvonó szert PhNCO-ra cserélve, 100%-os szelektivitással, közepes termeléssel egyetlen termék (**9a**) képződött (4. ábra), amely az előbbi ábrán (3. ábra) tárgyalt reakció főterméke volt.



4. ábra

A reakciók sztereoszzelektivitását feltehetően a karbamát funkció és a nitril-oxid között fellépő H-kötéses és szterikus kölcsönhatással, a regio szelektivitást pedig elektronos tényezővel magyarázhatjuk, mely szerint a nitril-oxid O-atomjának a C-4 atomra történő támadása a kedvezőbb.

Nitril-oxidok (EtNO₂ vagy nPrNO₂, Boc₂O és DMAP jelenlétében) 1,3-dipoláris cikloaddíciója az etil *transz*-2-aminociklopenténkarboxilátra (**13a,b**) 100% regio- és sztereoszzelektivitással egy terméket (**14a-d**) eredményezett, amelyet a minor termék (**11a-d**) NaOEt-tal történő epimerizációjával szintén elő tudunk állítani (5. ábra).

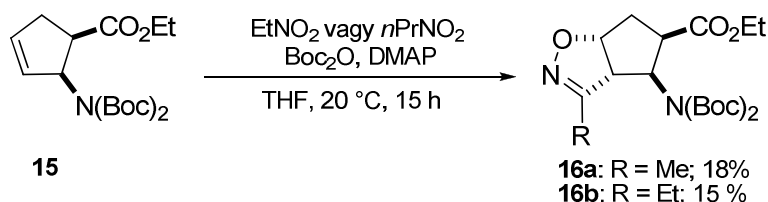


5. ábra

Az 5. ábrán bemutatott cikloaddíciós reakció szelektivitása szterikus és H-kötéses kölcsönhatással magyarázható. Az átmeneti állapotban szterikus taszítás alakul ki a nitril-oxid és az észter funkció között, valamint H-kötéses kölcsönhatás jön létre a karbamát és a nitril-oxid között. Az elméleti számítások alapján a H-kötéses kölcsönhatás a meghatározóbb.

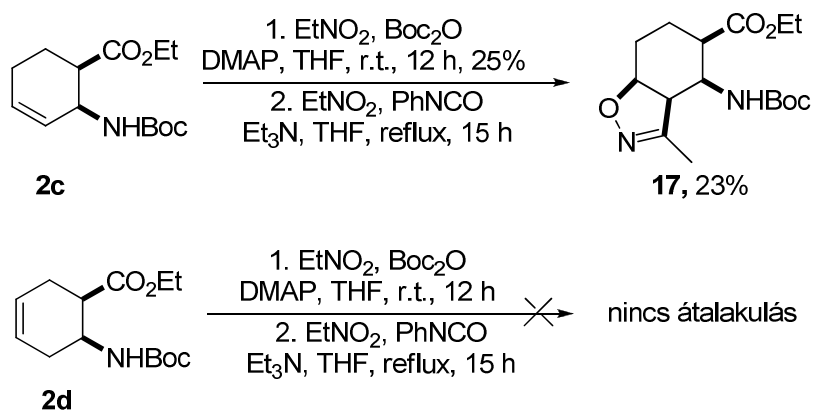
100%-os szelektivitással, ám gyenge hozammal állítottuk elő a **16a,b** izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminosav származékokat, amikor a kétszeresen N-Boc védett amino észterre (**15**) végeztük el a cikloaddíciós reakciót (6. ábra). Oszlopkromatográfiás tisztítás

során a cikloaddíciós termék (**16a,b**) mellett el nem reagált kiindulási anyagot (**15**) is izoláltunk. A cikloaddíciós reakció szelektivitását sztérikus és elektronos tényezővel magyaráztuk, H-kötéses kölcsönhatás ebben az esetben nem jöhet létre a nitril-oxid és a kétszeresen N-Boc védett amino funkció között.



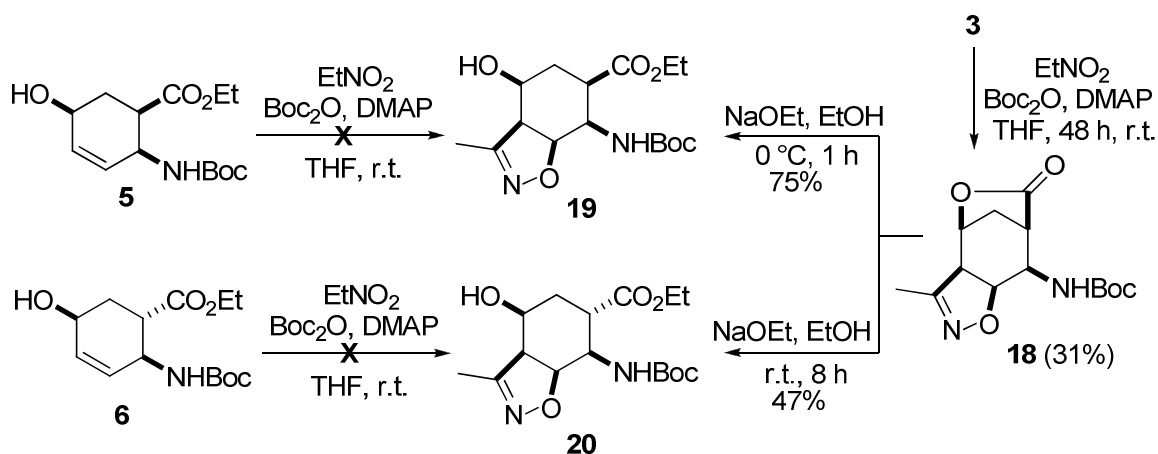
6. ábra

A **2c** vegyületre elvégezve a cikloaddíciós reakciót mind Boc_2O -t és DMAP-t, mind PhNCO -t és Et_3N -t használva a nitril-oxid generálására egyetlen egy addukt (**17**) képződését tapasztaltuk (7. ábra). Ezzel ellentétben a **2d** dipolarofil inaktívnak bizonyult a cikloaddíciós reakció során, termék képződését nem tapasztaltuk, ami feltehetően azzal magyarázható, hogy a C-C kettős kötés távol van mindkét funkciós csoporttól (CO_2Et illetve NHBoc).



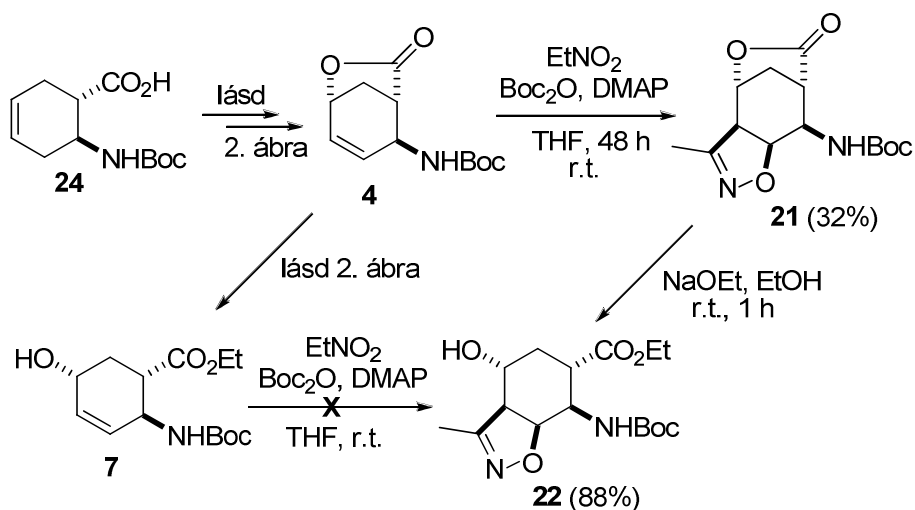
7. ábra

A hidroxilált aminokarboxilátokra (**5**, **6** és **7**) elvégzett nitril-oxid 1,3-dipoláris cikloaddíciók sikertelennek bizonyultak (8. és 9. ábra). Annak ellenére, hogy a nitril-oxid generálására pl. Mukaiyama (primer nitroalkánból) vagy Huisgen (aldoximból) módszert is alkalmaztunk, nem tapasztaltunk átalakulást.



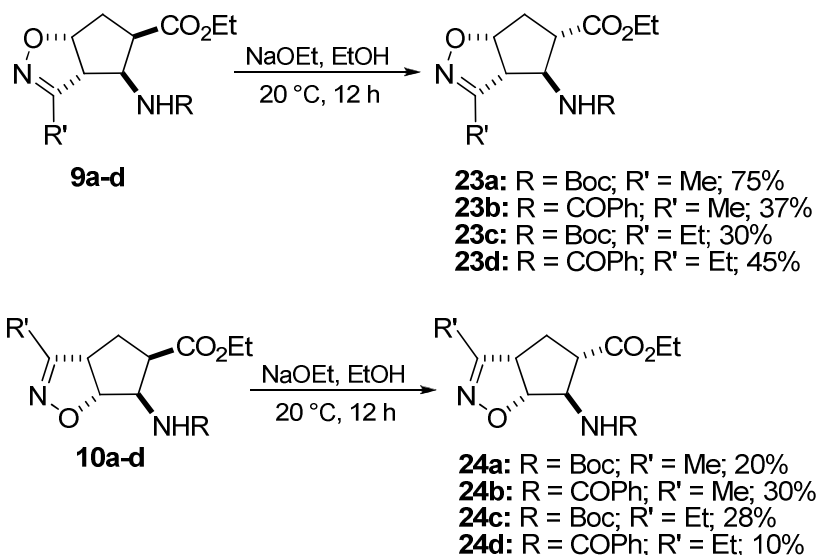
8. ábra

A hidroxilált vegyületek (5, 6 és 7) csökkent reaktivitása feltehetően az izolált C-C kettős kötésnek tulajdonítható. Ezzel ellentétben 100% regio- és sztereoszelektivitást tapasztaltunk a *cisz*- és *transz*-laktonokra (3 és 4) történő nitril-oxid (EtNO₂-ből történő generálás Boc₂O-del, DMAP jelenlétében) 1,3-dipoláris cikloaddíciója során. Mindegyik esetben, a H-kötéses kölcsönhatás eredményeként egyetlen termék képződött (18 és 21) (8. és 9. ábra), amelyben az izoxazolin gyűrű *cisz* térállású a karbamát funkcióhoz viszonyítva, és a heterociklusos gyűrű O-atomja közel van az NHBoc csoporthoz. Ezt követően elvégeztük a lakton gyűrű nyitását NaOEt-tal EtOH-ban, amely során megkaptuk a hidroxilált, izoxazolin gyűrűvel kondenzált aminociklohexánkarboxilátokat (19, 20 és 22).



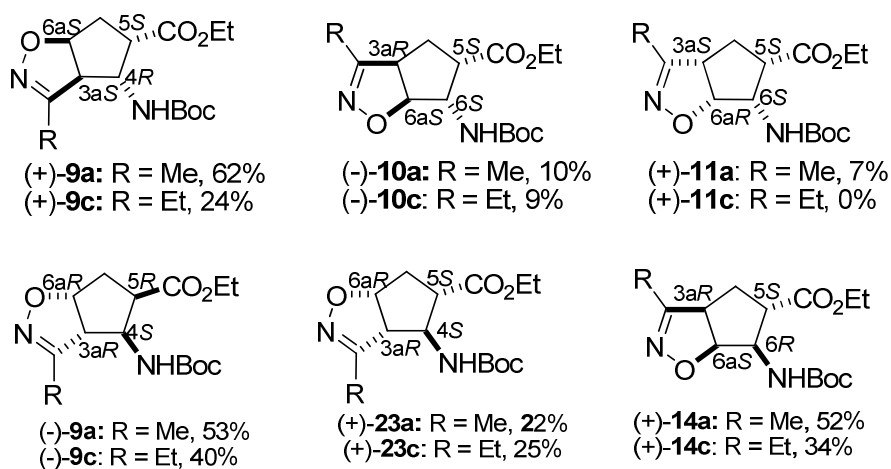
9. ábra

Az előállított, izoxazolin gyűrűvel kondenzált *cisz*-2-aminociklopentánkarboxilátok (**9a-d**, **10a-d**) NaOEt-tal, EtOH-ban történő epimerizációja lehetőséget nyújtott a megfelelő *transz* származékok (**23a-d**, **24a-d**) előállítására (10. ábra).



10. ábra

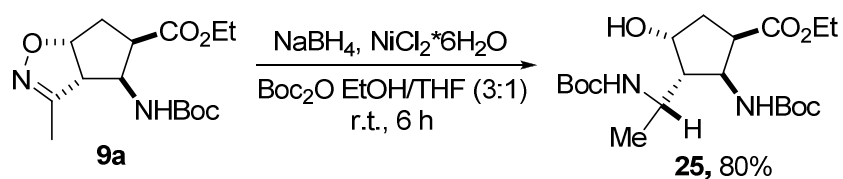
A **9a,c**, **10a,c**, **11a,c**, **14a,c** és **23a,c**, izoxazolin gyűrűvel kondenzált β -aminociklopentánkarboxilátokat enantiomer tiszta formában is előállítottuk a Boc-védett etil-2-aminociklopentánkarboxilát enantiomerekből [(-)-**2a** és (+)-**2a**] kiindulva, amit a racém β -laktám [(\pm)-**2a**] enzimés rezolválásával állítottunk elő *Candida antarctica* B lipáz jelenlétében. (2. és 11. ábra). A cikloaddíciós reakciókat a racém vegyületeknél leírt reakciókörülmények között végeztük el (lásd 3., 4., 5. és 10. ábra).



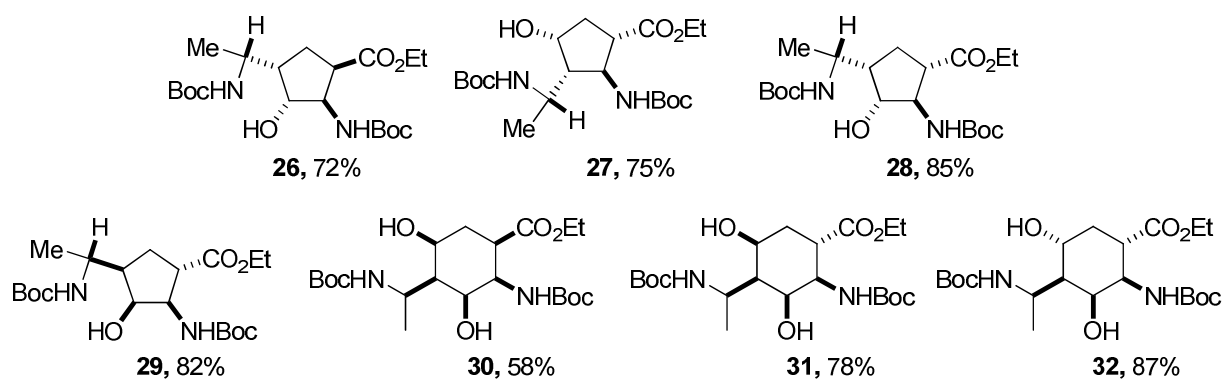
11. ábra

3.3. Multifunkcionalizált β -aminosav származékok szintézise

Multifunkcionalizált, négy sztereogén centrumot tartalmazó β -aminosav származékokat (**25-32**) állítottunk elő a cikloaddíciós termékek (**9a**, **10a**, **23a**, **24a**, **14a**, **19**, **20** és **22**) izoxazolin gyűrűjének NaBH_4 -del NiCl_2 jelenlétében történő nyitásával (12. és 13. ábra). A reakciók 100%-os diasztereoselektivitással játszódtak le és a keletkező termékeket oszlopkromatográfiás tisztítás során jó hozammal izoláltuk.



12. ábra



13. ábra

4. Közlemények és előadások

Az értekezés alapját képező közlemények

- I. Loránd Kiss, **Melinda Nonn**, Enikő Forró Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp
Synthesis of novel isoxazoline-fused cispentacin stereoisomers
Tetrahedron Lett., **2009**, 50, 2605. **IF: 2.61**
- II. **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Enikő Forró, Zoltán Mucsi, Ferenc Fülöp
Synthesis of novel isoxazoline-fused cyclic β -amino esters by regio- and stereoselective 1,3-dipolar cycloaddition
Tetrahedron, **2011**, 67, 4079. **IF: 3.02***
- III. **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp
Synthesis of highly functionalized β -aminocyclopentanecarboxylate stereoisomers by reductive ring opening reaction of isoxazolines
Beilstein J. Org. Chem., **2012**, 8, 100. **IF: 2.51***
- IV. **Nonn Melinda**, Kiss Loránd, Forró Enikő, Reijo Sillanpää, Mucsi Zoltán, Fülöp Ferenc
Izoxazolin gyűrűvel kondenzált cispentacin származékok szintézise
Magyar Kémiai Folyóirat, közlésre beküldve
- V. **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp
Selective nitrile oxide dipolar cycloaddition toward the synthesis of highly functionalized β -aminocyclohexanecarboxylate stereoisomers
Tetrahedron, közlésre elfogadva **IF: 3.02***
- VI. Loránd Kiss, **Melinda Nonn**, Ferenc Fülöp
Syntheses of isoxazoline-based amino acids by nitrile oxide cycloaddition and their conversion to highly functionalized bioactive amino acid derivatives
Synthesis, **2012**, 44, 1951. **IF: 2.46***

Egyébb közlemények

- VII. László Sipos, István Ilisz, **Melinda Nonn**, Ferenc Fülöp, Zoltán Pataj, Daniel W. Armstrong, Antal Péter
High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on macrocyclic glycopeptide-based chiral stationary phases
J. Chromatogr. A., **2012**, 1232, 142. **IF: 4.53***

- VIII. Jessica A. Howard, **Melinda Nonn**, Ferenc Fülöp, Thomas J. Wenzel
 Enantiomeric discrimination of isoxazoline-fused β -amino acid derivatives using (18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid as a chiral NMR solvating agent
Chirality, közlésre elfogadva **IF: 2.35***
- IX. László Sipos, István Ilisz, Anita Aranyi, **Melinda Nonn**, Ferenc Fülöp, Myung Hyun, Antal Péter
 High-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual isoxazoline-fused 2-aminocyclopentanecarboxylic acids on (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phases
Chirality, **2012**, DOI: 10.1002/chir.22077 **IF: 2.35***

* A 2011-es impakt faktorokat tüntettem fel.

Az értekezéssel kapcsolatos előadások

- X. **Nonn Melinda**, Kiss Loránd, Forró Enikő, Fülöp Ferenc
 Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szintézise
XIV. Nemzetközi Vegyészkonferencia
 Cluj Napoca, Románia, November 13-15, 2008, Absztr.: P52, poszter előadás
- XI. **Nonn Melinda**
 Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok szintézise
XXXI. Kémiai Előadói Napok
 Szeged, Magyarország, Október 27-29, 2008, Absztr.: p. 105, orális előadás
- XII. **Nonn Melinda**, Kiss Loránd, Forró Enikő, Fülöp Ferenc
 Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciszpentacin származékok regio- és sztereoselektív szintézise
MTA Heterociklusos Kémiai Munkabizottság Ülése
 Balatonszemes, Magyarország, Május 20-22, 2009, orális előadás
- XIII. **Nonn Melinda**
 β -Aminosav származékok funkcionálizálása 1,3-dipoláris cikloaddícióval
Magyar Tudomány Ünnepe – PhD hallgatóink eredményei
 Szeged, Magyarország, November 10, 2009, orális előadás
- XIV. **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Enikő Forró, Ferenc Fülöp
 Regio- and stereoselective 1,3-dipolar cycloaddition of nitrile oxides to ethyl *cis*- or *trans*-2-aminocyclopent-3-enecarboxylates
COST Action CM0803. Foldamers: Building blocks, structure and function

- Szeged, Magyarország, Szeptember 24-26, 2009, Absztr.: P03, p. 31, poszter előadás
- XV. **Nonn Melinda**, Kiss Loránd, Forró Enikő, Fülöp Ferenc
Izoxazolin gyűrűvel kondenzált ciklusos β -aminosav származékok szelektív szintézise
MTA Heterociklusos Kémiai Munkabizottság Ülése
Balatonszemes, Magyarország, Május 19-21, 2010, orális előadás
- XVI. Gert Callebaut, Sven Mangelinckx, **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Ferenc Fülöp, Norbert De Kimpe
Synthesis of α -hydroxy- β,γ -aziridino esters via stereoselective Mannich-type addition of Boc-protected glycolate esters across chiral *N*-sulfinyl α -chloroaldimines
14th SIGMA-ALDRICH Organic Synthesis Meeting
Sol Cress-Spa, Belgium, December 2-3, 2010, poszter előadás
- XVII. **Melinda Nonn**, Gert Callebaut, Swen Mangelinckx, Loránd Kiss, Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp, Norbert De Kimpe
Stereoselective Mannich-type reaction of O-protected glycolate esters across *N*-sulfinyl α -chloro aldimines. Synthesis of α -hydroxy- β,γ -aziridino ester derivatives
Foldamers: Synthesis and Structure of Functional Materials
Barcelona, Spanyolország, Április 7-9, 2011, Absztr.: OC8, p. 24, orális előadás
- XVIII. **Melinda Nonn**, Loránd Kiss, Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp
Synthesis of highly functionalized β -aminocyclopentane- or cyclohexanecarboxylate stereoisomers via selective nitrile oxide dipolar cycloaddition
XIVth Conference on Heterocycles in Bio-organic Chemistry
Brno, Csehország, Szeptember 4–8, 2011, Absztr.: P23, poszter előadás
- XIX. **Nonn Melinda**, Gert Callebaut, Swen Mangelinckx, Kiss Loránd, Reijo Sillanpää, Norbert De Kimpe, Fülöp Ferenc
 α -Hidroxi- β , γ -aziridin származékok szintézise
MTA Heterociklusos Kémiai Munkabizottság Ülése
Balatonszemes, Magyarország, Szeptember 26-28, 2011, orális előadás