

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Vegytani Intézet

SZTE Kémia Doktori Iskola

Ph.D. értekezés

*Új típusú vegyületek előállítása multikomponensű és
dominó szintetikus stratégiák alkalmazásával*

Gyuris Mária

Témavezetők:

Prof. Dr. Tóth Gábor

Dr. Puskás László (Avidin Kft.)

Dr. Kanizsai Iván (Avidin Kft.)

**Szeged
2013.**

Tartalomjegyzék

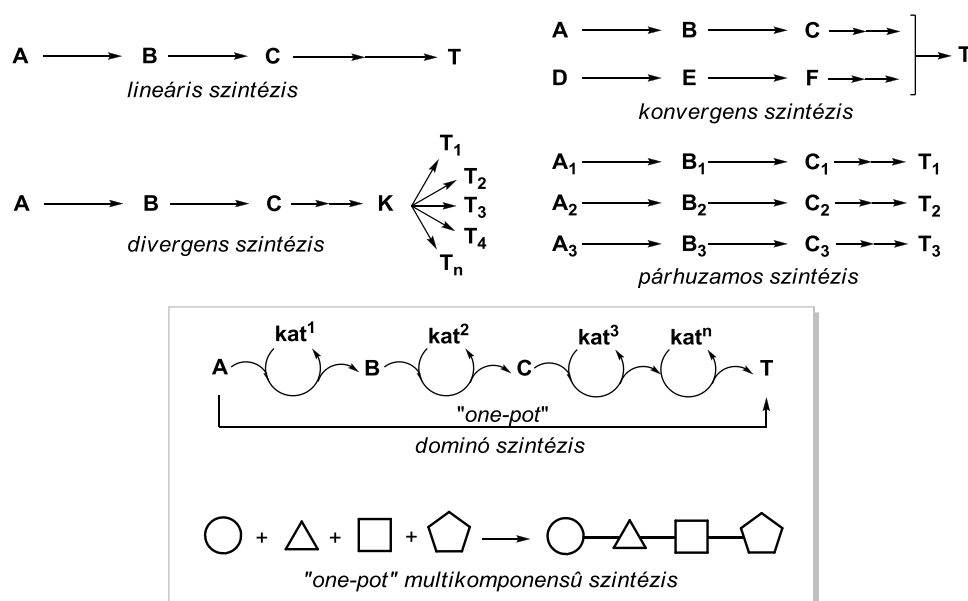
1. Rövidítések jegyzéke	1
2. Bevezetés	2
3. Új típusú hattagú kondenzált <i>O</i> -heterociklusos vegyületek szintézise multikomponensű reakciókon keresztül	5
3.1. Az izocianidok kémiája	5
3.2. Izocianid alapú klasszikus multikomponensű reakciók (<i>I</i> -MCRs)	6
3.3. Izocianid alapú nem-konvencionális multikomponensű reakciók	7
3.4. 2-amino-4 <i>H</i> -kromén vázat tartalmazó heterociklusok szintézise multikomponensű reakciókon keresztül	9
3.5. Kromén-vázis heterociklusok farmakológiai jelentősége	11
3.6. Célkitűzések	13
3.7. Eredmények ismertetése, diszkusszió	14
4. Új típusú <i>N,N</i> -heterociklusos vegyületek szintézise dominó reakciókon keresztül	21
4.1. Aromás bifunkciós kémiai építőelemek alkalmazása dominó szintézisekben	21
4.1.1. A β -aminonitrilek, mint bifunkciós kémiai építőelemek alkalmazása dominó szintézisekben	22
4.1.2. Pirazol-vázis β -aminonitrilek alkalmazása <i>N,N</i> -heterociklusos vegyületek dominó szintéziseiben	24
4.2. Pirazolo[3,4- <i>d</i>]pirimidinek farmakológiai jelentősége	27
4.3. Célkitűzések	28
4.4. Eredmények ismertetése, diszkusszió	29
5. Új típusú kurkumin származékok előállítása	38
5.1. A kurkumin biológiai és farmakológiai relevanciája	38
5.2. A kurkumin laboratóriumi előállítása	38
5.3. Centrálisan szubsztituált kurkumin származékok	40
5.4. Célkitűzések	43
5.5. Eredmények ismertetése, diszkusszió	44
6. Összefoglalás	59
7. Summary & Outline	62
8. Anyagok, módszerek	65
9. Köszönetnyilvánítás	66
10. Irodalomjegyzék	67
11. Függelék	

1. Rövidítések jegyzéke

MCR	Multikomponensű reakció
Ugi-4CR	Ugi négykomponensű reakció
Passerini-3CR	Passerini háromkomponensű reakció
TMSCN	Trimetilszilil-cianid
CTACl	Cetiltrimetilammónium-klorid
DMAD	Dimetil-acetiléndikarboxilát
MK-2	Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2
TNF α	Tumor Nekrózis Faktor alfa
TFA	Trifluor-ecetsav
EDPBT	1,1'-(etán-1,2-diil)dipiridínium-bisztribromid
EGFR	Epidermal growth factor receptor
ATP	Adenozin-trifoszfát
HR1 és HR2	Hydrophobic region 1 and 2
TBAB	Tetrabutilammónium-bromid
TEA	Trietilamin
Cu(C ₅ HF ₆ O ₂) ₂	Réz(II)-hexafluoroacetilacetonát
μ W	Mikrohullámú besugárzás
DMBA	7,12-dimetilbenz[a]antracén
BaP	Benzo[a]pirén
ROS	Reactive oxygen species
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
MDM2	Mouse double minute 2 homolog
PKC	protein kináz C
TMSCl	Trimetilszilil-klorid
GI ₅₀	Sejtnövekedést 50%-ban gátló koncentráció
IC ₅₀	50%-os inhibitor koncentráció
THK	1,2,3,4-tetrahidrokinolin

2. Bevezetés

A szerves kémiai szintézisek tervezése és kivitelezése során a legjobb hozammal járó, legkevesebb lépésben megvalósítható, legjobb szelektivitást biztosító, legolcsóbb, valamint legflexibilisebben megvalósítható szintézisutak fejlesztéseire kell törekednünk. A klasszikus szerves szintézisek kivitelezési módjukat tekintve lehetnek lineárisak, konvergensek, divergensek, valamint párhuzamosak (1. ábra).¹ A legtöbb szerves vegyület szintézise hagyományosan több egymást követő lépésben zajlik, továbbá az egyedi lépések termékeit sok esetben komplikált tisztítási eljárásoknak kell alávetnünk, majd az izolációt követően az egyes intermediereket felhasználjuk egy következő reakció kiindulási anyagaként.¹ Az említett szintetikus kémiai fejlesztési problémákra jelenthet egy hasznos alternatívát a dominó reakciókon alapuló szerves szintézis.²⁻⁴



1. ábra

Tietze definíciója alapján dominó reakciónak nevezünk minden olyan konzekutív kémiai transzformációt, mely során minimum két új kémiai kötés alakul egy adott szerkezetben.²⁻⁵ További kritérium, hogy megegyező reakciókörülmények és reakciótér alkalmazása mellett minden egyes részlépés az azt közvetlenül megelőző részlépés következménye.²⁻⁵ Az egyes részlépések aktiválása egyaránt történhet katalitikusan, valamint sztöchiometrikus mennyiségű reagensek alkalmazása révén.²⁻⁵ A reakciók lejátszódása szempontjából megkülönböztethetünk intra- és intermolekuláris dominó folyamatokat,

melyek "one-pot" egymást követően is végbemehetnek.⁵ A szakirodalom gyakran említi a "dominó" szinonimájaként a "tandem" és "kaszád" kifejezéseket, melyek egyenértékűsége a mai napig vitatott tárgykör.⁵ A dolgozatom további részében a dominó reakciók egységes, mindenki által elfogadott taxonómiájának hiányában a fent említett kifejezéseket egymás szinonimájaként használom. A tandem vagy kaszád transzformációk biomimetikus folyamatoknak tekinthetők, mivel a természetes kémiai rendszerekhez hasonlóan többlépéses, összetett szintézisek a köztitermékek elkülönítése nélkül, egy reakciótérben valósulnak meg.²⁻⁴ Emellett sok esetben rendkívül összetett mechanizmusok révén nagyfokú szerkezeti komplexitással rendelkező molekulák állíthatók elő egyszerű kiindulási építőelemekből.²⁻⁴

Az elmúlt két évtized progresszív gyógyszeripari tendenciái által diktált igényeknek eleget téve számos kombinatorikus kémiai alkalmazás került az alap- és alkalmazott kutatások előterébe.⁶⁻⁹ Ezen módszerek felhasználásával viszonylag rövid idő alatt nagy tagszámú, jelentős szerkezeti komplexitással és diverzitással bíró fragmens-, illetve molekula könyvtárak előállítása vált lehetővé.⁹ A kombinatorikus szerves kémia egyik ágazata a multikomponensű reakciókon (MCRs) alapuló megközelítés, mely során kettőnél több komponens van egyszerre jelen egy reakciótérben.¹⁰

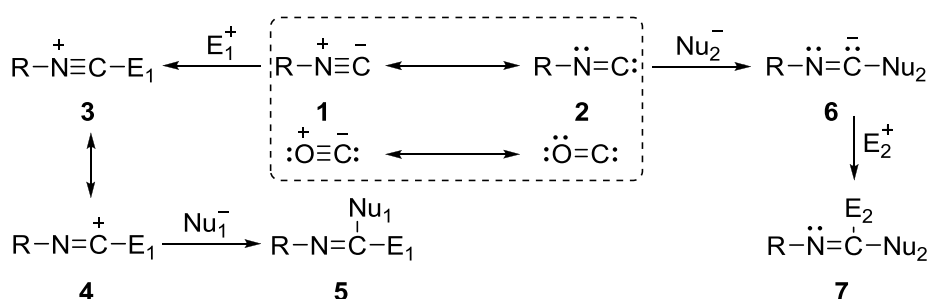
Ezen transzformációk a dominó reakciók egy alosztályát képviselik, melyek során számos új kémiai kötés jön létre egyetlen szintetikus lépés alatt, a megfelelő intermedierek izolálása pedig nem szükségszerű.¹¹ Optimális reakcióparaméterek esetén többszörös konszekutív folyamatokon keresztül nagy kemo-, regio- illetve sztereoselektivitások, valamint kiváló konverziók érhetők el.^{10,11} A multikomponensű reakciók által többlépéses, lineáris vagy konvergens szintézisek egy lépésben történő megvalósítása válik lehetővé (1. ábra).¹⁰⁻¹² További előnyök között említendő a kiindulási "építőelemek" könnyű hozzáférhetősége, az egyszerű szintetikus kivitelezhetőség, a nagyfokú atomhatékonyság, valamint adott esetben a könnyű automatizálhatóság is.¹⁰⁻¹² A multikomponensű reakciók kémiájában fontos különbséget tennünk komponens és reagens között, mivel a nyert multikomponensű termék szerkezetében az összes felhasznált komponens szerkezeti motívuma megtalálható és egymástól egyértelműen megkülönböztethető, azonban egy reagens alkalmazása esetén ez általában nem kritérium.¹² A forráshatékonyságon túl, úgymint felhasznált idő, költségek, humán erőforrások minimalizálása, a multikomponensű "one-pot" kémia egy rendkívül fontos lépés a szintetikus tervezés és kivitelezés racionalizációjának irányába.¹³

Doktori disszertációmban dominó- és "one-pot" multikomponensű megközelítések révén új *O*-, ill. *N,N*-heterociklusos rendszerek, valamint módosított természetes vegyületek szintéziseit mutatom be. A meglehetősen eltérő szerkezetek, az irodalmi hátterek különbözősége, valamint a könnyebb átláthatóság és értelmezhetőség okán az egyes témakörökhöz közvetlenül kapcsolódó irodalmi áttekintések, illetve a témában elért eredmények bemutatását egy adott fejezeten belül ismertetem.

3. Új típusú hattagú kondenzált *O*-heterociklusos vegyületek szintézise multikomponensű reakciókon keresztül

3.1. Az izocianidok kémiája

Az izocianidok vagy izonitrilek formálisan divalens szénatommal rendelkező, karbényszerű szerkezettel és tulajdonsággal bíró stabil szerves vegyületek.^{14,15} Az izocianidok különleges szerkezeti sajátosságából adódóan felírhatók két rezonancia hibridként, úgymint az **1** ikerionos, valamint a **2** karbén forma (2. ábra).



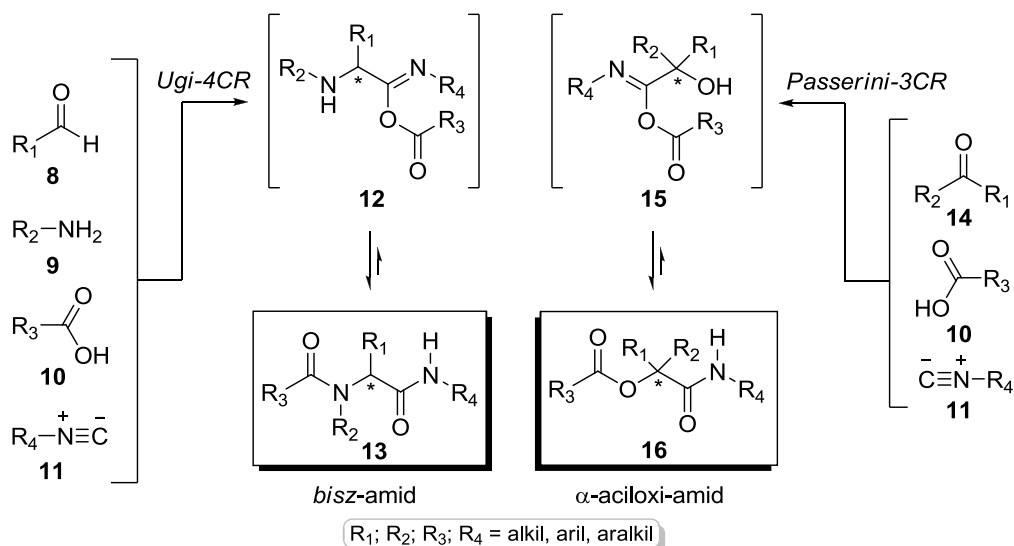
2. ábra

Az izocianid funkció izoelektronos a szén-monoxiddal, továbbá a nemkötő és az elektronhiányos π -elektronpályák együttes jelenléte ambivalens kémiai karakter megjelenését eredményezi. Az izonitrilek nitrilektől eltérő, rendhagyó elektronszerkezete egyaránt tükröződik egyedi kémiai sajátágaikban: az izonitril α -szénatom mind elektrofil, mind nukleofil karakterű atomokkal is képes kovalens kötés kialakítására.¹⁴ és ¹⁵ Ezen sajátosság további következménye, hogy a kialakuló **3** illetve **6** α -adduktban az α -szénatom polaritás inverziót, ún. *umpolung*-ot szenved. Az *umpolung* által kialakuló **4** és **6** reaktív intermedierek további elektrofil, illetve nukleofil ágensekkel léphetnek reakcióba. A reakciók kémiai jellegétől és minőségétől, valamint a kialakuló **5** és **7** intermedierek szerkezetétől függően további *O*→*N* intramolekuláris átrendeződések (pl. Mumm- vagy Smiles-átrendeződés) léphetnek fel.¹⁴ és ¹⁵ Az izocianidok különböző reakciókban megfigyelt eltérő karaktere a reakció partnerek HOMO-LUMO kölcsönhatásainak mértéke és jellege, valamint a frontális orbitálok energiája határozza meg.¹⁴ és ¹⁵ Jelen ismereteink alapján ilyen kettős kémiai jelleggel csak a szénmonoxid, illetve a karbén típusú vegyületek rendelkeznek.

3.2. Izocianid alapú klasszikus multikomponensű reakciók (I-MCRs)

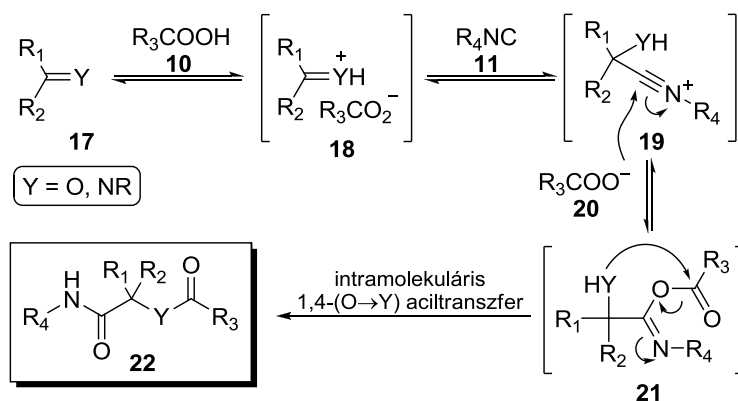
Az izocianid kémián alapú multikomponensű reakciók (I-MCRs) széles körben alkalmazott és rendkívül népszerű módszerek gyógyszerkémiailag releváns, illetve természetes vegyületek szintézisei során.^{10,11,14,16-18} Ezen transzformációk leggyakrabban alkalmazott és leginkább tanulmányozott képviselői az Ugi- és Passerini reakciók (3.ábra).¹⁶⁻¹⁸

A klasszikus négykomponensű Ugi reakcióban (Ugi-4CR) aldehidek, aminok, izonitrilek, valamint karbonsavak meghatározott szekvencia szerinti kombinálódása által a **13** bisz-amid típusú peptidomimetikumok nyerhetők. A három diverzitási ponttal rendelkező Passerini reakcióban (Passerini-3CR) oxovegyületek, karbonsavak és izonitrilek konszekutív interakciója révén a **16** α -aciloxi amid típusú származékok állíthatók elő.



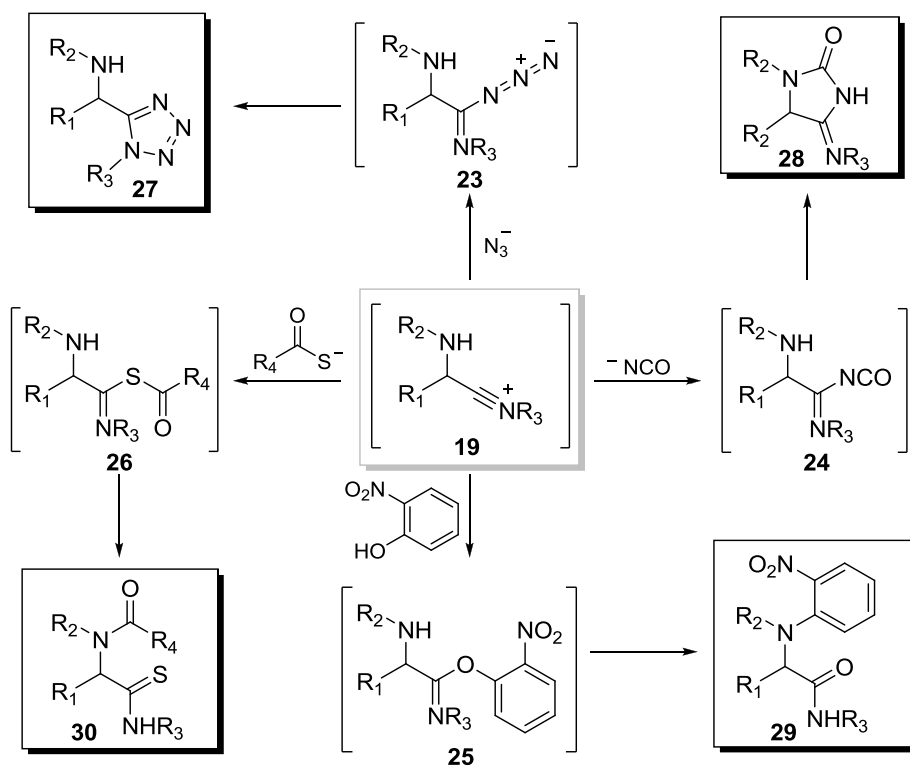
3. ábra

Az Ugi-4CR és a Passerini-3CR mechanizmusai alapvetően nagyfokú hasonlóságot mutatnak (4. ábra). Közös jellemzőik a **10** karbonsav komponens által aktivált **17** elektrofil és a **11** izocianid egyensúlyi interakcióját követően kialakuló **19** nitrílium intermedier képződése. A **19** reaktív α -addukt a rendszerben lévő **20** karboxilát anion által képes stabilizálódni, a kialakuló **21** O-acil-izoamid struktúra pedig egy második stabilizációs egyensúlyban egy intramolekuláris 1,4-(O \rightarrow X) acilvándorlás révén a **22** végtermékké alakul. Megjegyzendő, hogy ezen folyamatok többlépcsős stabilizációs egyensúlyokon keresztül mennek végbe, melyek egyéb faktorok (pl. kompetitív nukleofilok) jelenlétében eltolhatók, és adott esetben új reakcióutak megjelenésével járnak.¹⁹⁻²⁹



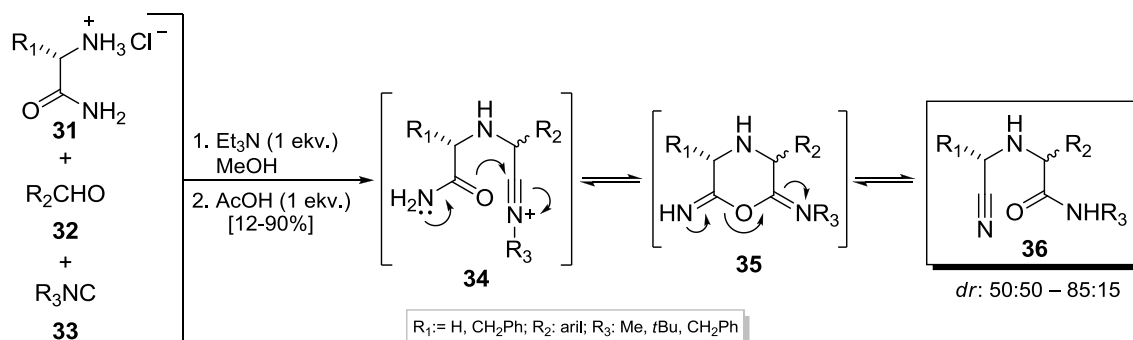
3.3. Izocianid alapú nem-konvencionális multikomponensű reakciók

Az izocianidok által felépülő **19** nitrílium ionok rendkívül erős elektrofil karakterrel bíró intermedierek, melyek egyéb nukleofilok (pl. azidok, izocianátok, nitrofenolok, tiokarboxilátok, stb.) jelenlétében is képesek stabilizálódni mind inter-, mind intramolekuláris addíciók révén (5. ábra).¹⁹⁻²⁹ A második stabilizációs lépcsőben a **23** addukt 1,5-dipoláris electrociclizáció, a **24** intramolekuláris nukleofil addíció, a **25** Smiles-átrendeződés (1,4-(O→N) ariltranszfer), a **26** pedig Mumm-átrendeződés (1,4-(O→N) aciltranszfer) révén konvertálódik át a **27-30** termékekké.



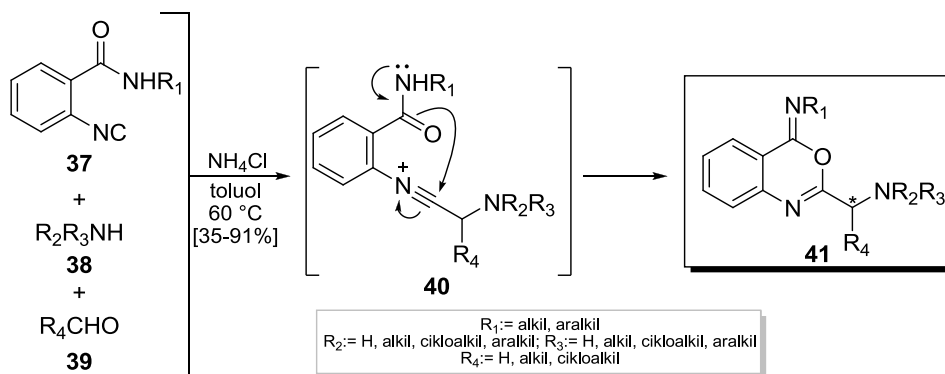
A nitrílium ion stabilizációs folyamatainak egyik kevésbé tanulmányozott területe az intramolekuláris *O*-befogással járó folyamatok.^{24, 30-32}

Behnke és munkatársai a **36** szubsztituált 2-(cianometilamino)-acetamidok képződését tapasztalták **31** α -aminosavamidok, **32** aldehidek és **33** izocianidok "Ugi-jellegű" reakciójában (6. ábra).³⁰ A folyamat során a keletkező **34** nitrílium intermedier a rendszerben lévő acetát ion helyett az amid funkció oxigén atomján keresztül intramolekulárisan stabilizálódik. A kialakuló **35** bisz-imino morfolin intermedier egy gyűrű→lánc átrendeződésen keresztül vezet a **35** végtermékhez, a reakció során klasszikus Ugi termék képződését nem tapasztalták. Továbbá (*S*)-aminosavamidokból kiindulva a szerzők közepes diasztereoselektivitást tapasztaltak a **36** termékekre vonatkozólag, azonban a major diasztereomer sztereocentrumainak (*S,R*) relatív térállását csak egyetlen esetben igazolták. Az új típusú izocianid alapú multikomponensű reakció (*I*-MCR) lényege a **34** nitrílium ion által generált intramolekuláris karboxamid→karbonitril konverzióban összegezhető.



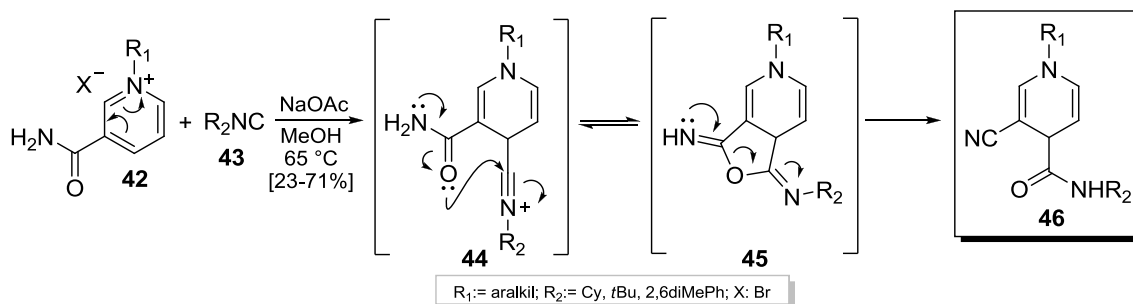
6. ábra

Zhu és csoportja a **37** bifunkciós α -acetamido izonitrilek, **38** aminok és **39** aldehidek háromkomponensű reakciójában a **41** 4-imino-4*H*-3,1-benzoxazinok előállítását valósították meg (7. ábra).³¹ A módszer az előbbieken ismertetett elven alapul; az *in situ* képződő **40** α -addukt a karboxamid funkció *O*-atomján keresztül intramolekulárisan stabilizálódik. Fontos kiemelni, hogy a Zhu által leírt körülmények között a **41** vegyület gyűrű→lánc átrendeződést nem szenved, ami a kialakult iminobenzoxazin gyűrűrendszer stabilitásával magyarázható. Az analógok előállításakor az *N*-szubsztituált savamid *N*-atomján keresztül történő stabilizációt nem tapasztaltak.



7. ábra

Egy érdekes példa az intramolekuláris *O*-befogással történő karboxamid→karbonitril konverzió szemléltetésére a **42** nikotinamid piridínium sóinak kétkomponensű reakciója izocianidokkal (8. ábra).³² A **42** kvaterner nikotinamid sók *para*-pozíciója az elektronhiányos jelleg következtében aktivált, melyre a **43** izocianid addíciója enyhe reakciókörülmények mellett is megtörténik. A keletkező **44** nitrílium ion az amid funkciót a **45** bisz-iminofurán intermedieren keresztül dehidrálja. A **46** β,γ-diszubsztituált-1,4-dihidropiridineket egy háromkomponensű reakción keresztül, nikotinamidból kiindulva is elő lehet állítani *in situ* kvaternerezés révén.

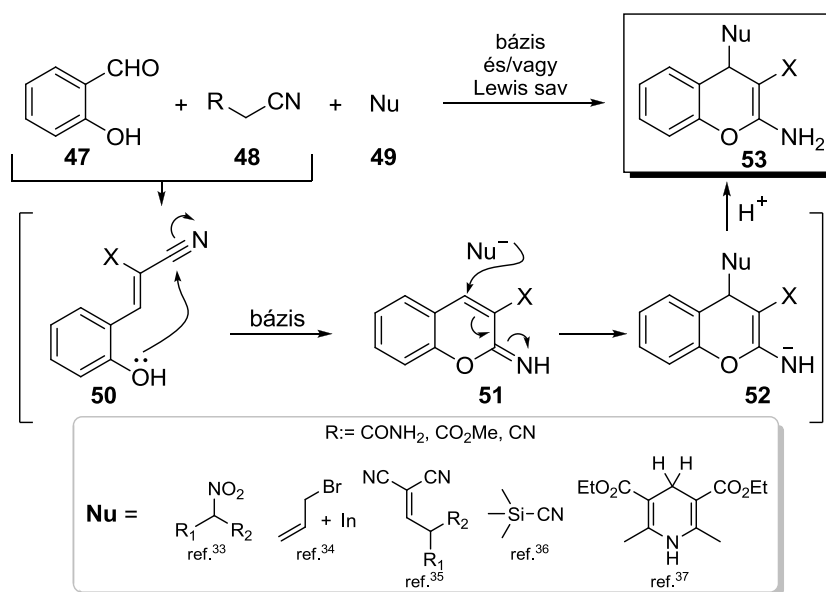


8. ábra

3.4. 2-amino-4*H*-kromén vázat tartalmazó heterociklusok szintézise multikomponensű reakciókon keresztül

A szakirodalom számos szintetikus variációt tartalmaz funkcionális kromén-váz heterociklusok multikomponensű reakciókon keresztül történő előállítására.³³⁻⁴¹ Az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a **43** szalicilalhedid, **44** malonsav származék (pl. cianoacetamid, cianoecetsav észter, malononitril), valamint egy nukleofil meghatározott szekvencia szerinti kombinálódásán alapul (9. ábra).³³⁻³⁷

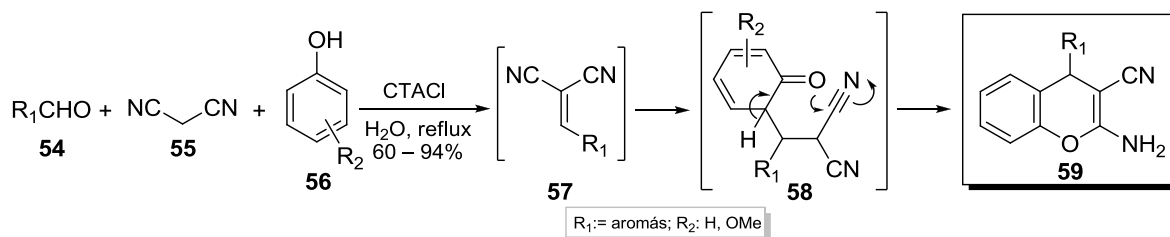
A reakciósor nyitó lépése a szalicilaldehid (**47**) komponens Knoevenagel kondenzációja a **48** ciánecetsav származékra, majd egy ezt követő intramolekuláris Pinner reakció vezet az **51** 2-iminokumarin típusú vegyülethez, melyek stabil, izolálható vegyületek. A következő lépés a **48** nukleofil komponens 1,4-konjugált addíciója a **51** 2-iminokumarinra, majd protonálódást követően a **53** triszubsztituált 2-amino-4*H*-kromének nyerhetők. Az alkalmazott nukleofilek tekintetében, például nitroalkánok, *in situ* képződő allil-indium fémorganikus vegyületek, aktív γ -metilén csoporttal rendelkező malononitril Knoevenagel kondenzátumok (vinil-Michael addíció), valamint TMSCN szolgálnak Michael donorként.³³⁻³⁶ Amennyiben Hantzsch észter, mint hidrid ion forrás a harmadik reagens, a folyamat egy *in situ* iminokumarin redukciónak feleltethető meg.³⁷ A reakciók során alkalmazhatnak bázis katalízist (pl. piperidin), mely a Knoevenagel-Pinner reakció lejátszódását segíti, míg Lewis savak (pl. InCl_3) az *in situ* keletkező **51** iminokumarinra történő 1,4-konjugált addíciót katalizálják.³³⁻³⁷



9. ábra

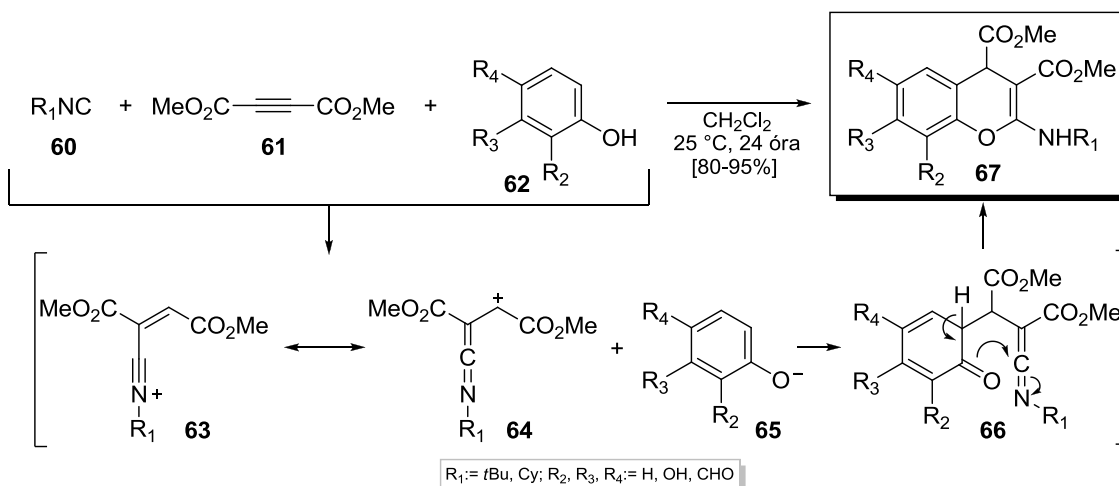
Ballini és csoportja 4-aril szubsztituált 2-amino-4*H*-kromének cetiltrimetilammónium klorid-katalizált (CTACl) "one-pot" multikomponensű szintézisét dolgozta ki (10. ábra).³⁸ A reakciósor első lépése a **54** aldehid és malononitril (**55**) Knoevenagel kondenzációja, mely reakciókinetikai adatok alapján katalízis nélkül is lezajlik vizes közegben. Ezt követően az **57** Knoevenagel kondenzátum CTACl jelenlétében addicionálódik a **56** fenol *orto*-pozíciójára, majd egy aromatizációt követő intramolekuláris Pinner reakció vezet az **59** 2-amino-3-ciano-

4-aril-4*H*-kroménekhez. A módszer egy praktikus és elegáns kiegészítője a 9. ábrán vázolt szintetikus stratégiának.



10. ábra

A 2-amino-4*H*-kromének izocianid alapú háromkomponensű szintézisére egy reprezentatív példával szolgál alifás izocianidok, dimetil-acetiléndikarboxilát (DMAD), valamint polysubsztituált fenol származékok "one-pot" reakciója (11. ábra).³⁹ A szerzők által javasolt mechanizmus nyitó lépése a **60** izocianidnak a **61** DMAD-ra történő 1,4-konjugált addíciója. Az így keletkező **63** nitrilium ion, amely egyaránt felírható a **64** keténimin ion határszerkezetként is, a **65** fenolát *ortho* addíciójával a **66** kinoidális átmeneti állapotot eredményezi. A keténiminre történő intramolekuláris *O*-addíció, majd egy ezt követő aromatiszáció kiváló termeléssel (80-95%) vezet a **67** *N*-szubsztituált 2-amino-4*H*-kromén típusú végtermékhez.



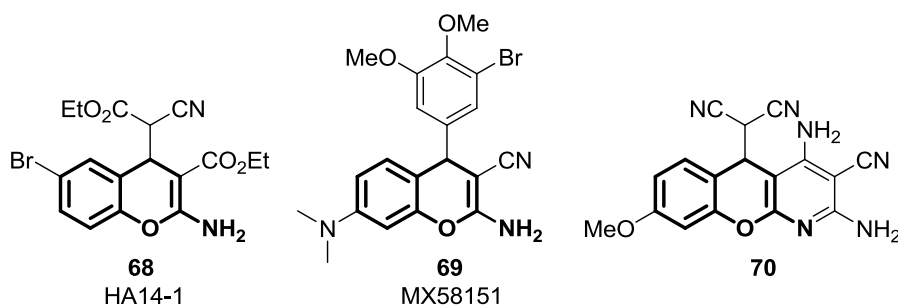
11. ábra

3.5. Kromén-vázás heterociklusok farmakológiai jelentősége

A kromén egység gyakran előforduló szerkezeti motívum biológiailag aktív természetes vegyületek szerkezetében, mint például flavanoid, tokoferol (E-vitamin), valamint

antocianin származékok vázelemeiként.⁴² Az ismert gyógyszerkincs is tartalmaz kromén vázas hatóanyagokat, úgymint a véralvadásgátló warfarin, vagy az asztmaellenes hatású dimeflin.⁴³

Emellett tumorelles hatású 2-amino-4*H*-kromén vázas molekulák fejlesztése is a gyógyszerkémiai kutatások fókuszába került (12. ábra).⁴⁴⁻⁴⁶ A **68** (2-amino-4*H*-kromén-4-il)cianoacetát származék (HA14-1) nagy affinitással kötődik a Bcl-2 fehérje felszínéhez, ezáltal programozott sejthalált (apoptózis) indukál mind follikuláris limfóma B, mind HL-60 leukémiás sejtekben *in vitro*.⁴⁴ A **69** 2-amino-3-ciano-4*H*-kromén származék (MX58151) egy ígéretes tumorelles ágens lehet mellrák, tüdőrák, valamint végbélrák hatékony kezelése szempontjából.⁴⁵ Az MX58151 a tubulin polimerizáció gátlás mellett kaszpáz-mediálta apoptózist indukál, valamint *taxán* és *vinca* rezisztens tumoros sejtek *in vitro* kezelésére is hatékonyan alkalmazható. A **70** analóg szignifikáns MK-2 kináz gátló hatása, valamint a TNF α expressziójára gyakorolt szuppresszív hatása révén kiváló eredményeket értek el humán U937 típusú limfóma sejtek *in vitro* kezelésében.⁴⁶

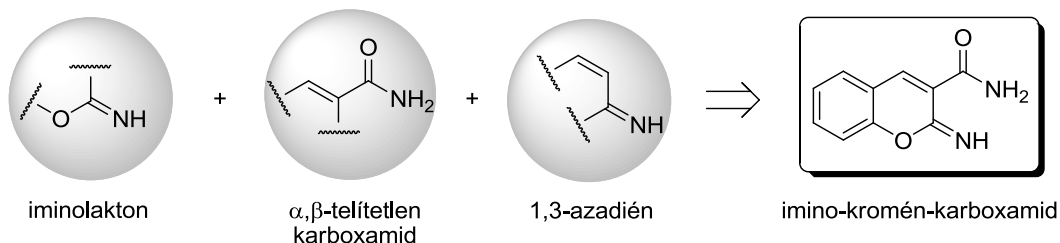


12. ábra

Ezen adatok ismeretében megállapítható, hogy a 2-amino-4*H*-kromén szerkezeti egységet tartalmazó kismolekulák szintetikus tervezésére és kivitelezésére irányuló fejlesztések gyógyszerkémiai szempontból is erősen indokoltak.

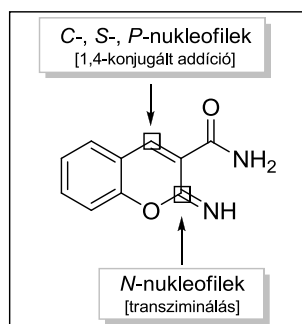
3.6. Célkitűzések

Az imino-kromén-karboxamidok nagyfokú strukturális komplexitással rendelkező vegyületek, egyaránt tartalmaznak iminolakton, aktivált alkén, illetve 1,3-azadién szerkezeti egységeket (13. ábra).



13. ábra

A imino-kromén-karboxamidok további jellegzetessége, hogy a támadó nukleofil típusától függően regio szelektív átalakítások végezhetők a vázon (14. ábra).

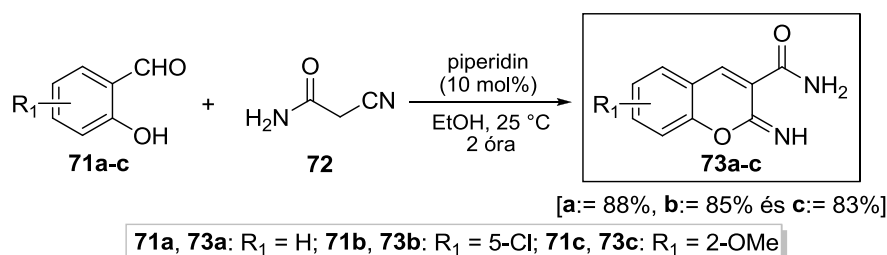


14. ábra

Munkánk során a 2-imino-kromén-3-karboxamidok izocianidokkal történő lehetséges interakcióit, valamint egy "one-pot" multikomponensű módszer kidolgozása révén új 2-amino-4*H*-kromén származékok előállításának lehetőségeit kívántuk vizsgálni.

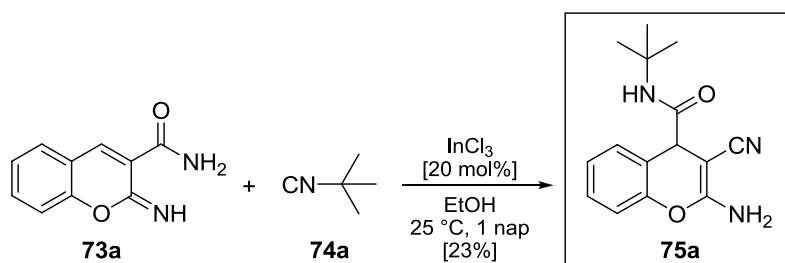
3.7. Eredmények ismertetése, diszkusszió

A kiindulási **73a-c** 2-imino-kromén-3-karboxamidokat a megfelelő **71a-c** szalicilaldehidek és 2-cianoacetamid (**72**) ciklokondenzációs reakciójával állítottuk elő (15. ábra). A reakciókat szobahőmérsékleten, katalitikus mennyiségű (10 mol%) piperidin jelenlétében végeztük. A Knoevenagel-Pinner reakció eredményeképpen a reakcióelegyből kivált **73a-c** intermediereket 83-88%-os hozammal nyertük. A reakcióidő minden esetben 2 óra, a feldolgozás pedig egyszerű szűrés volt.



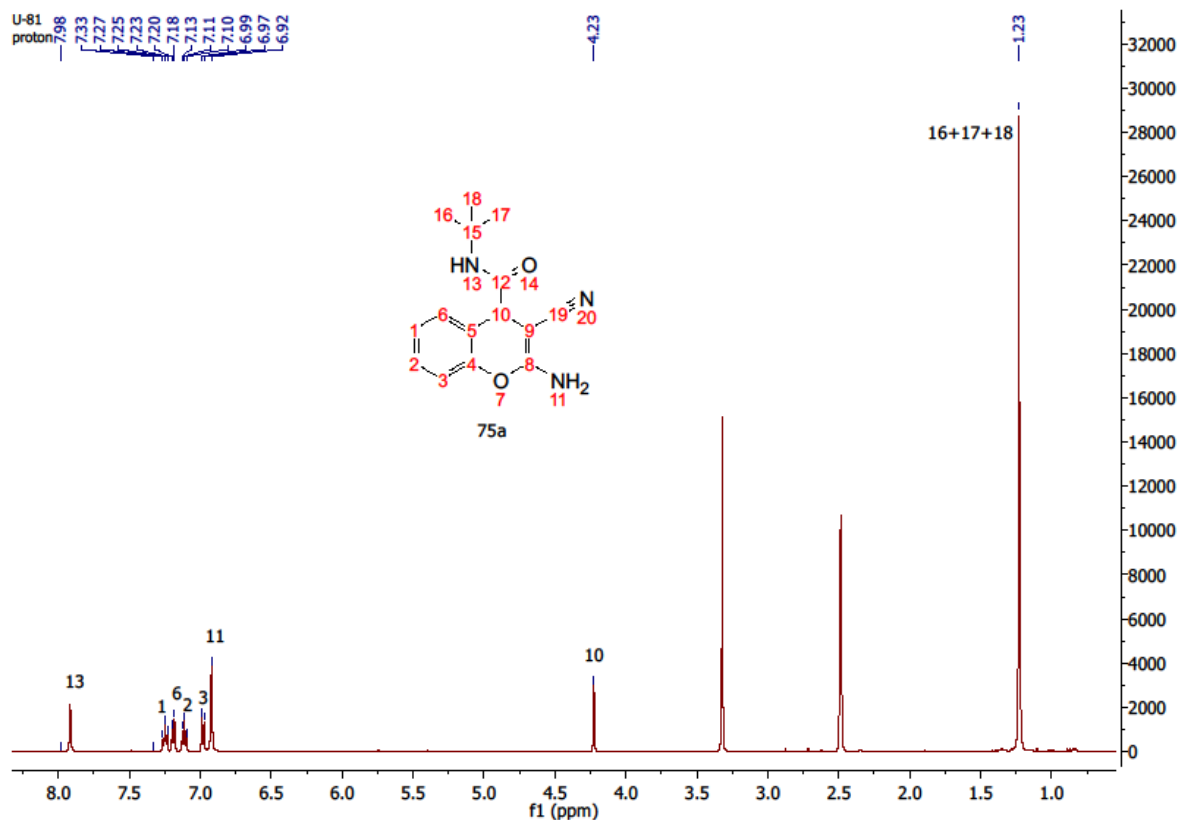
15. ábra

Az 2-imino-kromén-3-karboxamidok izocianidokkal történő interakcióját egy modell reakción keresztül vizsgáltuk (16. ábra). Az előzetes munkahipotézisünk alapján a *tert*-butil izonitril (**74a**) **73a** vegyületre történő 1,4-konjugált addícióját, majd egy ezt követő karboxamid→karbonitril konverzió esetleges végbemenetelét feltételeztük. A **73a** kiindulási vegyületet katalitikus mennyiségű (20 mol%) InCl₃ jelenlétében *tert*-butil izonitrillel (**74a**) reagáltattuk, majd 24 órát követően egységes termék képződését tapasztaltuk gyenge konverzió mellett. A termék tisztítását és izolálását oszlopkromatográfiás módszerrel, *n*-hexán/EtOAc gradiens alkalmazásával végeztük (izolált hozam: 23%). A nyert termék szerkezetigazolása egy- és kétdimenziós NMR spektroszkópai technikák (¹H, ¹³C, COSY, HSQC, HMBC), valamint IR spektroszkópia felhasználásával valósult meg.

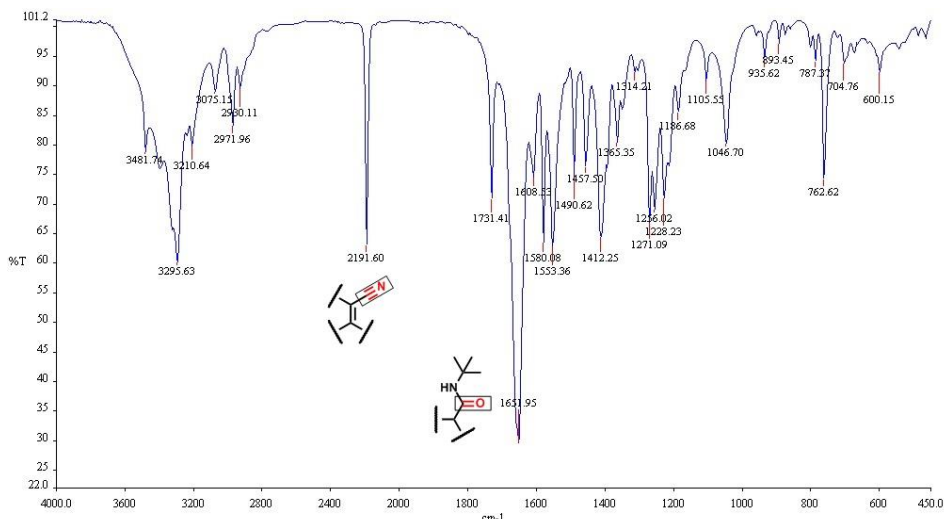


16. ábra

Az összesített NMR adatok alapján a ^1H NMR spektrumon teljes jelhozzárendelést végeztünk (17. ábra), melyen egyértelműen elkülöníthetőek a várt **75a** 2-amino-3-ciano-4-karboxamido-4*H*-kromén származék egyes részegységeihez tartozó karakterisztikus szignálok [(H-16, H-17 és H-18, 1,23 ppm, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, *s*), (H-10: 4,23 ppm, $\text{C}(\text{O})\text{CH}$, *s*), (H-11: 6,92 ppm, NH_2 , *s*), (H-3 és H-6: 6,98 és 7,19 ppm, *d*, $J = 6,94$ Hz; H-2 és H-1: 7,11 és 7,25 ppm, *t*, $J = 7,25$ Hz, ArCH), (H-13: 7,98 ppm, $\text{C}(\text{O})\text{NH}$, *s*)]. A ^{13}C spektrumok analízise során két közeli kvaterner szignál megjelenését tapasztaltuk 120,1 és 120,2 ppm kémiai eltolódásnál, így a CN funkció bizonyítása céljából IR spektroszkópiai méréseket végeztünk. A spektrumban a karbonitril funkciós csoportra jellemző karakterisztikus elnyelés (2191 cm^{-1}), továbbá a karboxamid funkció $\text{C}=\text{O}$ rezgésére jellemző abszorpciós szignál (1651 cm^{-1}) egyértelműen azonosítható (18. ábra).



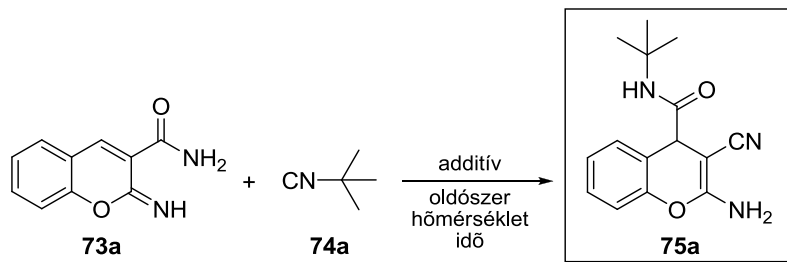
17. ábra



18. ábra

A spektroszkópiai adatok és a tömegspektrometriai mérések ((ESI, pozitív mód) $m/z = 294,0 [M + Na]^+$) egyértelműen megerősítették a képződött **75a** molekula szerkezetét.

A következőkben a reakciókörülmények változtatásával (oldószer, additív, hőmérséklet) a modell reakció optimalizálását végeztük el (1. táblázat). Az előzetes kísérletek alapján megállapítottuk, hogy **75a** képződése savas karakterű additív hiányában nem detektálható (1. táblázat, 1. kísérlet). Ezt követően különböző Lewis savaknak a modell reakcióra gyakorolt katalitikus hatását tanulmányoztuk (1. táblázat, 2-10. kísérlet) EtOH-ban. A tesztelt Lewis savak közül 20 mol% $In(OTf)_3$ alkalmazása 12 óra reakcióidő mellett bizonyult a leghatékonyabbnak, ennek ellenére alacsony izolált hozammal (37%) nyertük a **75a** végterméket (1. táblázat, 7. kísérlet). A kísérletet aprotikus-poláris és apoláris közegben ismételve alacsonyabb konverziót tapasztaltunk, mint a protikus-poláris EtOH-ban (1. táblázat, 7-10. kísérlet). A Lewis savak Brønsted savakkal történő helyettesítése 20 mol% TFA alkalmazásával, 1,5 órát követően az $In(OTf)_3$ -katalízissel egyenértékű konverziót és hozamot eredményezett (1. táblázat, 7. és 12. kísérlet). A TFA mennyiségét növelve arányosan növekvő konverziót, illetve csökkenő reakcióidőt figyeltünk meg (1. táblázat, 12-15.). Feleslegben használt 1,5-1,5 ekvivalens *tert*-butil izocianid (**74a**) és TFA szobahőmérsékleten, EtOH-ban 75%-os izolált termeléssel eredményezte a **75a** terméket. Az itt alkalmazott körülményeket optimális beállításnak véltük további 2-amino-4*H*-kromén analógok előállítására (1. táblázat, 15. kísérlet). Fontos megemlíteni, hogy a hőmérséklet konvencionálisan vagy mikrohullámmal indukált emelése az összes tesztreakció esetén komplex reakcióelegy keletkezését eredményezte.



Kísérlet	Additív	Ekv.	Oldószert	Idő [óra]	Hozam [%] ^{a,b}
1	–	–	EtOH	48	–
2	InCl ₃	0,2	EtOH	24	23
3	AgOTf	0,2	EtOH	24	–
4	Dy(OTf) ₃	0,2	EtOH	24	11
5	Cu(OAc) ₂	0,2	EtOH	24	–
6	Zn(OAc) ₂	0,2	EtOH	24	–
7	In(OTf) ₃	0,2	EtOH	12	37
8	In(OTf) ₃	0,2	THF	12	33
9	In(OTf) ₃	0,2	MeCN	12	21
10	In(OTf) ₃	0,2	toluol	12	9
11	HCOOH	0,2	EtOH	12	–
12	TFA	0,2	EtOH	12	38
13	TFA	0,5	EtOH	8	50
14	TFA	1	EtOH	4	61
15	TFA	1,5	EtOH	1,5	75 ^c

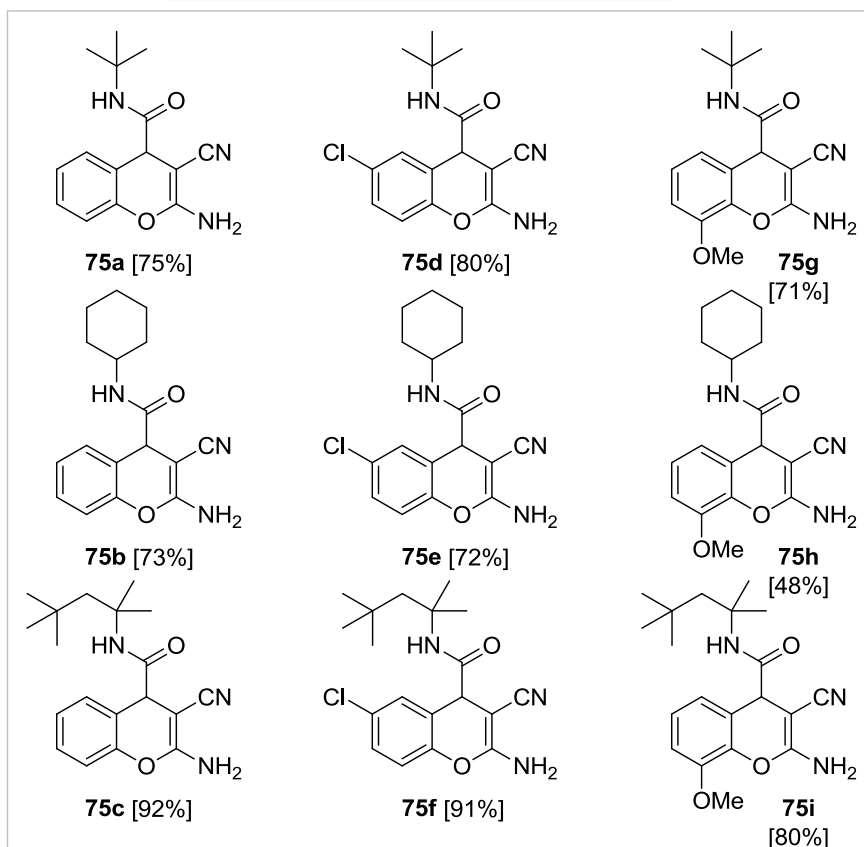
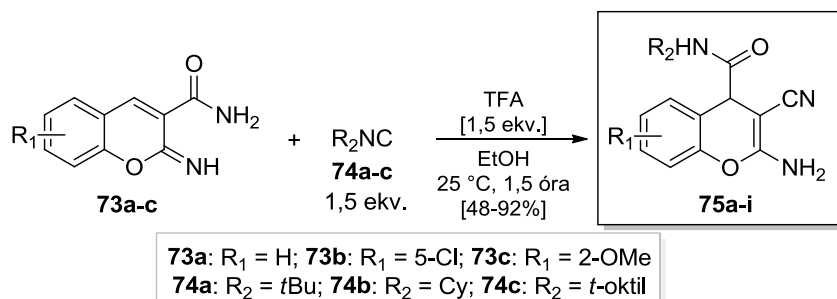
[a] izolált hozam oszlopkromatográfias tisztítást követően.

[b] reakciókörülmények: **73a** (0,8 mmol), **74a** (0,8 mmol, 1 ekv.), oldószert (6 ml), 25 °C.

[c] reakciókörülmények: **73a** (0,8 mmol), **74a** (1,2 mmol, 1,5 ekv.), oldószert (6 ml), 25 °C.

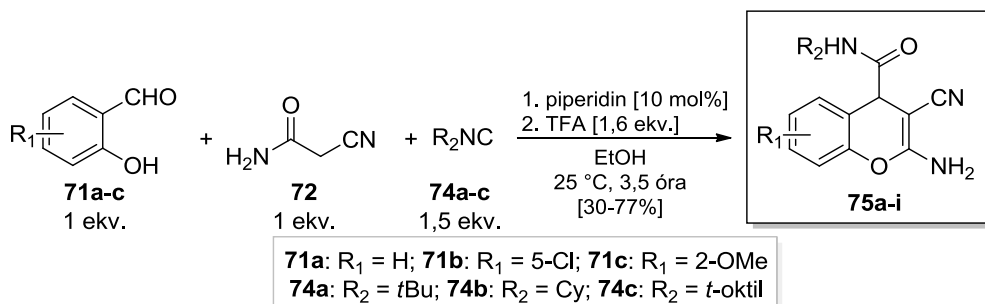
1. táblázat

Az optimalizált reakció paraméterek mellett egy kis méretű 2-amino-3-ciano-4*H*-kromén-4 karboxamid analóg könyvtár szintézisét valósítottuk meg (19. ábra). A reakciók minden esetben 1,5 óra alatt, szobahőmérsékleten játszódtak le. A szintézisek optimális kivitelezéséhez 1,5 ekvivalens **74a-c** alifás és alicikus izocianid, valamint 1,5 ekvivalens TFA használata volt szükséges, oldószertként EtOH szolgált. A legjobb izolált termeléseket *tert*-oktil izocianid alkalmazásával nyertük (**75c** [92%], **75f** [91%], **75i** [80%]). A reakció limitálhatóságának vizsgálata során aromás és benzil izocianidokat is teszteltünk, de minden esetben komplex reakcióelegy keletkezését tapasztaltuk. A **75a-i** termékek tisztítását oszlopkromatográfias módszerrel, *n*-hexán/EtOAc gradiens alkalmazásával végeztük.



19. \u00e1bra

Az izocianid alap\u00fa \u00faj szintetikus protokoll fejleszt\u00e9s\u00e9n t\u00fal a **75a-i** term\u00e9kek „one-pot” h\u00e1romkomponens\u00fa reakci\u00f3k \u00e1ltal t\u00f6rt\u00e9n\u0151 el\u0151\u00e1ll\u00edt\u00e1si lehet\u0151s\u00e9geit is vizsg\u00e1ltuk (2. t\u00e1bl\u00e1zat). A megfelel\u0151 **71a-c** szaliciladehidet 2-cianoacetamiddal (**72**) reag\u00e1ltattuk szobah\u00f6m\u00e9rs\u00e9kleten, katalitikus mennyis\u00e9g\u00fa (10 mol%) piperidin jelenl\u00e9t\u00e9ben. Mindegyik esetben 2 \u00f3ra kevertet\u00e9st k\u00f6vet\u0151en az *in situ* k\u00e9pz\u0151d\u0151 **73a-c** 2-imino-krom\u00e9n-3-karboxamidokhoz a megfelel\u0151 mennyis\u00e9g\u00fa (1,6 ekvivalens) TFA-t, illetve 1,5 ekvivalens **74a-c** izocianidot adagoltunk. A h\u00e1romkomponens\u00fa reakci\u00f3k minden esetben 3,5 \u00f3ra m\u00falva, szobah\u00f6m\u00e9rs\u00e9kleten, teljes konverzi\u00f3val lej\u00e1tsz\u00f3dtak.



Kísérlet	Aldehid	Izonitril	Termék	Hozam [%] ^{a,b}
1	71a	74a	75a	60
2	71a	74b	75b	56
3	71a	74c	75c	77
4	71b	74a	75d	63
5	71b	74b	75e	75
6	71b	74c	75f	54
7	71c	74a	75g	55
8	71c	74b	75h	30
9	71c	74c	75i	62

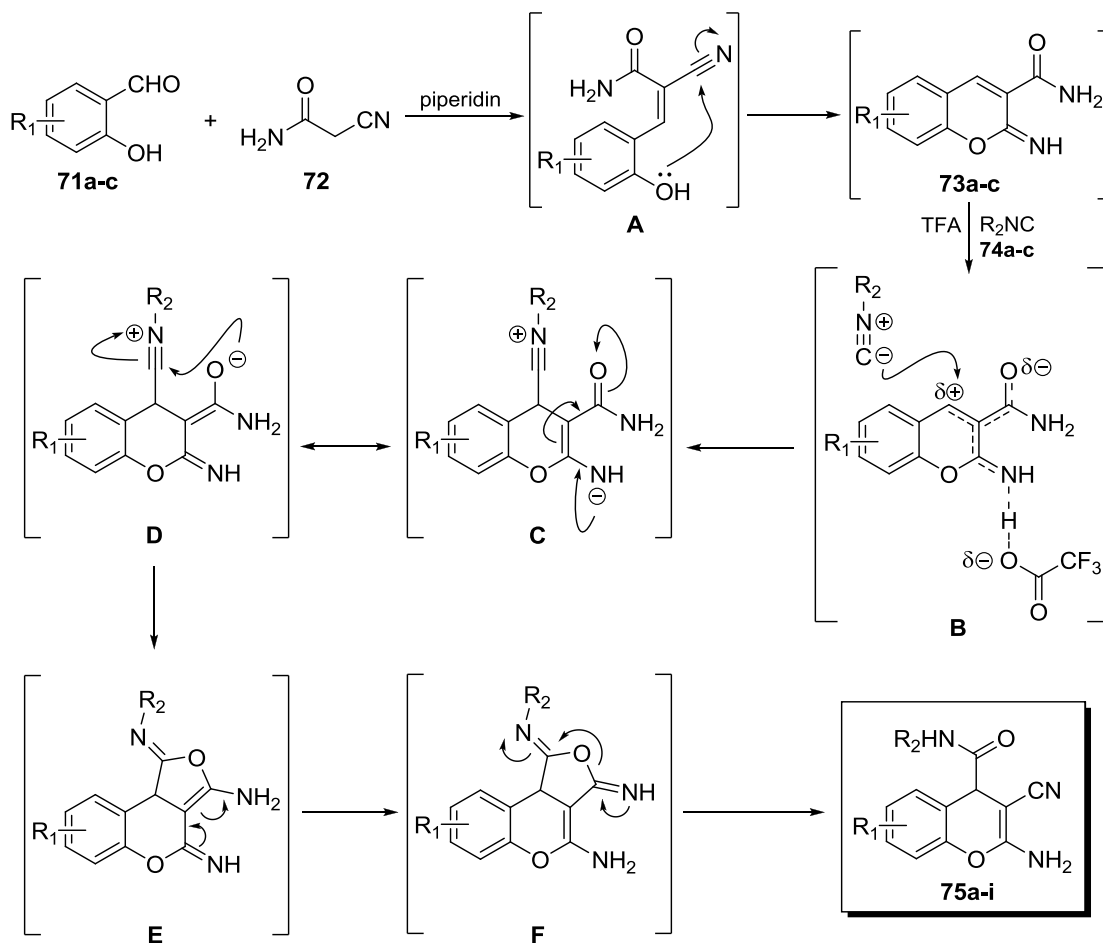
[a] izolált hozam oszlopkromatográfias tisztítást követően.

[b] reakciókörülmények: **71a** (0,8 mmol), **72** (0,8 mmol, 1 ekv.), piperidin (10 mol%), EtOH (6 ml), 25 °C, 2 óra, majd TFA (1,28 mmol, 1.6 ekv.), **74a-c** (1,2 mmol, 1,5 ekv.), 25 °C, 1,5 óra.

2. táblázat

Az előzőekhez hasonlóan a **75a-i** termékek tisztítását oszlopkromatográfias módszerrel, *n*-hexán/EtOAc eluens alkalmazásával hajtottuk végre. A "one-pot" háromkomponensű reakció eredményeképpen a **75a-i** 2-amino-3-ciano-4*H*-kromén-4-karboxamid származékokat 30-77%-os összhozammal nyertük.

Az általunk fejlesztett multikomponensű, többszörös szintetikus szekvenciát tartalmazó "one-pot" transzformáció feltételezett mechanizmusát a 20. ábra szemlélteti. Első lépésben a **71a-c** szalicilaldehydelek és a 2-cianoacetamid (**72**) piperidin-katalizált Knoevenagel kondenzációja játszódik le. A keletkező **A** intermedier egy intramolekuláris Pinner reakciót szenved, mely a **73a-c** 2-imino-kromén-3-karboxamid létrejöttét eredményezi. A **73a-c** imino funkciója és a TFA között létrejövő erős hidrogén-híd kötés 1,4- π -elektron eltolódást eredményezhet a molekulában, mely a C-4-es pozícióban keletkező elektronhiányhoz, ezáltal az 1,3-azadién ill. az α,β -telítetlen-karboxamid egység aktiválásához vezet (**B** intermedier).



20. ábra

Ezt követheti a **74a-c** izocianid *C*-4-es pozícióban preferált 1,4-konjugált addíciója, mely során a **C** reaktív nitrilium ion képződik. Az erősen elektrofil karakterű **C** α -addukt felírható **D** mezomer határszerkezetként, mely a β -pozícióban lévő karboxamid funkció *O*-atomját befogva („*O*-trapping”) **E** intermedierhez vezet. Ezt követi egy tandem énamin-imin tautomerizáció, majd a keletkező **F** bisz-iminofurán köztitermék gyűrű→lánc átrendeződése eredményezi a **75a-i** végterméket. A teljes "one-pot" háromkomponensű folyamat egy szekvenciális Knoevenagel kondenzáció/intramolekuláris Pinner reakció/izocianid 1,4-konjugált addíció/intramolekuláris *O*-befogás/karboxamid→karbonitril konverzióként értelmezhető.

4. Új típusú *N,N*-heterociklusos vegyületek szintézise dominó reakciókon keresztül

4.1. Aromás bifunkciós kémiai építőelemek alkalmazása dominó szintézisekben

Az aromás 1,2-bifunkciós vegyületek a szerves szintézisekben széles körben alkalmazott molekuláris építőelemek, felhasználásukkal rendkívül változatos szerkezetű kondenzált *N*-, *O*-, *N*- és *N,N*-heterociklusos rendszerek állíthatók elő, mint például kinolin, kinazolin, benzoxazol, vagy benzoxazin származékok. Emellett az 1,2-bifunkció "one-pot" reakcióban történő részvétele által minimum két új kémiai kötés létesülhet a keletkező molekulában, mely lehetőséget kínál inter- és intramolekuláris dominó transzformációk szintetikus tervezésére.^{2-5, 47-51}

A β -helyzetű funkciós csoportok elméletileg tetszőlegesen kombinálhatók, úgymint vegyes kémiai karakterrel (nukleofil-elektrofil) rendelkező aromás bifunkciós vegyületek (például a **76a** β -aminoaldehid és **76b** β -aminosav), nukleofil-nukleofil funkciós párosítással bíró vegyületek (pl. *o*-aminofenol **76c**), vagy speciális, reakciópartnertől függő nukleofil-nukleofil/elektrofil bifunkciós származékok (β -aminoazidok, **76d** vegyület) (21. ábra).⁴⁷⁻⁵¹

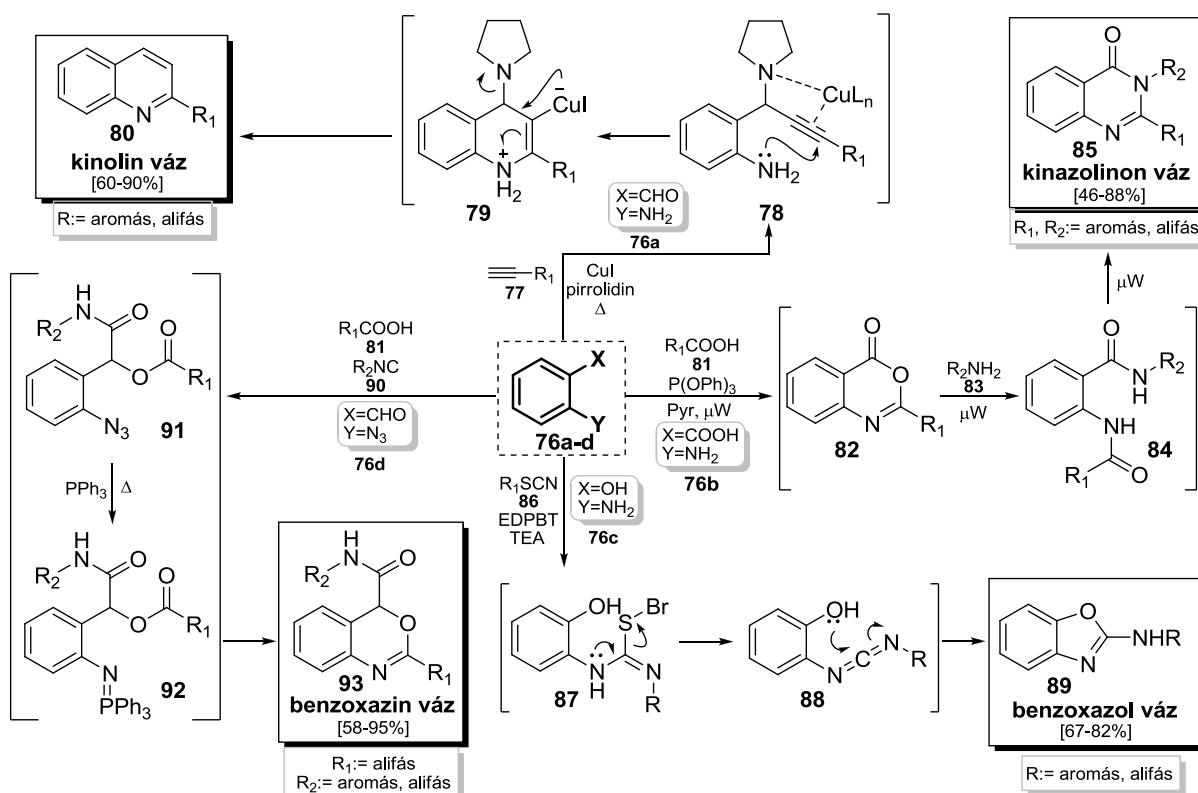
Az általános megközelítésen túl a bifunkciós vegyületek dominó transzformációira egy példa a **76a** β -aminoaldehid tandem ciklizációja a **77** terminális alkinekkel.⁴⁷ A javasolt mechanizmus alapján a folyamat egy *in situ* kialakuló imíniumra történő alkin addíción alapul. A **78** intermedierben az így beépült, Cu(I)-által aktivált alkinre az amin intramolekulárisan addicionálódik (6-*endo-dig* gyűrűzárás), majd a **79** köztitermék a pirrolidin és Cu(I) leválását, valamint kötés átrendeződést (aromatizáció) követően a **80** 2-szubsztituált kinolin származékhoz vezet.

Liu mikrohullámmal-indukált háromkomponensű "one-pot" dominó reakciókkal antranilsavból (**76b**) kiindulva a **85** kinazolinon származékokat 46-88%-os hozammal állította elő.⁴⁸ Első lépésben a **76b** és a **81** karbonsav ciklokondenzációja trifenilfoszfit jelenlétében a **82** benzoxazinon származékot eredményezi. A **82** heterociklus a **83** primer aminokkal egy gyűrű felnyílással járó S_N -acil reakción keresztül a **84** diamidot adja, majd a mikrohullámmal segített reciklizáció vezet a **85** kinazolinon végtermékekhez.

Patel és csoportja *o*-aminofenol (**76c**) és izotiocianátok interakcióját vizsgálta 1,1'-(etán-1,2-diil)dipiridínium-bisztribromid (EDPBT) jelenlétében.⁴⁹ A reakciósor kulcslépése a

képződő tiokarbamid addukt EDPBT által történő brómozása. A keletkező **87** intermedier kén absztrakciója, majd a kialakuló **88** β -hidroxi-karbodiimid intramolekuláris ciklizációja a **89** 2-aminobenzoxazol termékekhez vezet.

Egy további elegáns példa, a Passerini-3CR/Staudinger/aza-Wittig "one-pot" szintetikus stratégia kiválóan szemlélteti a bifunkciós **76d** β -azidoaldehyd dominó transzformációkban történő felhasználhatóságát.⁵⁰ Elsőként a **76d** β -azidoaldehyd, a **81** karbonsav, valamint a **90** izocianid egy "one-pot" háromkomponensű Passerini reakcióban (Passerini-3CR) a **91** α -aciloxiamid azid intermedierré konvertálható.



21. ábra

Az azid funkció egy Staudinger reakción keresztül, PPh₃ jelenlétében a reaktív **92** α -aciloxiamid iminofoszfóránt eredményezi, mely egy intramolekuláris aza-Wittig reakció révén a **93** szubsztituált benzoxazin származékokat adja.

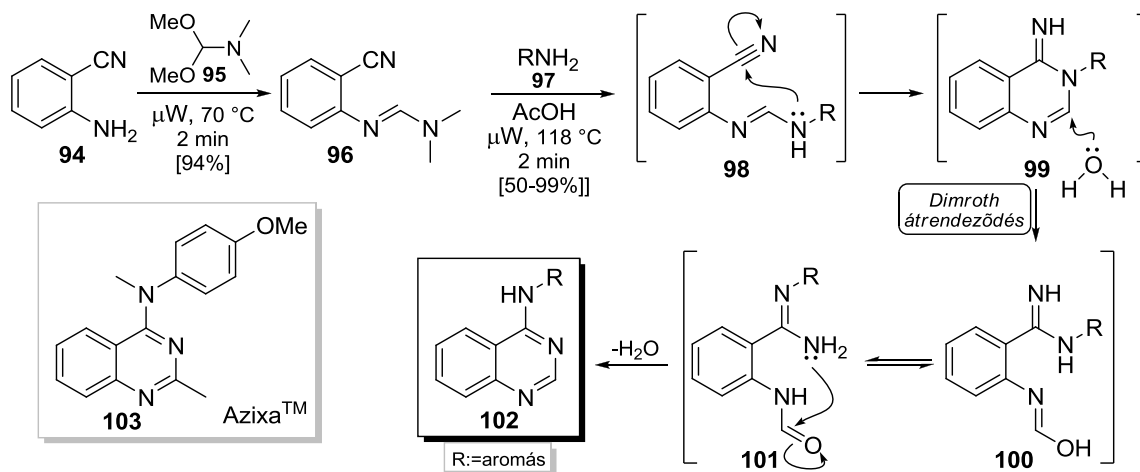
4.1.1. A β -aminonitrilek, mint bifunkciós kémiai építőelemek alkalmazása dominó szintézisekben

A β -aminonitrilek az 1,2-bifunkciós vegyületek vegyes kémiai karakterrel bíró (nukleofil-elektrofil) alcsoportját képezik, melyek felhasználása révén *N,N*-heterociklusos vegyületek (pl. *N*-szubsztituált 4-aminokinazolinok, imidazo- és pirimido[1,2-*c*]kinazolinok,

kina-zolo[4,3-*b*]kinazolinonok, iminobenzoxazinonok) dominó szintézise valósítható meg.⁵²⁻⁵⁸

A β -aminonitrilek szintetikus átalakíthatósági lehetőségeinek demonstrálására egy adekvát példa a Dimroth átrendeződésen keresztül végrehajtható kémiai transzformációk (22. ábra).⁵² Mikrohullámú körülmények között antranilonitril (**94**) és *N,N*-dimetilformamid dimetil acetál (**95**) kondenzációjával 2 perc alatt kiváló (94%) hozammal állították elő a **96** szubsztituált formamidint, melyet a **97** anilinnel reagáltatva további 2 perc reakcióidő mellett, közepes-kiváló hozammal (55-99%) nyerték a **102** 4-aminokinazolinokat. A reakciósor első lépése a formamidin funkción savas közegben lejátszódó S_N reakció. A gyűrűzárást követően a keletkező **99** iminokinazolin víz-katalizált Dimroth átrendeződéssel a **100** és **101** átmeneteken keresztül a **102** 4-aminokinazolin végtermékekké alakul. A rendkívül rövid reakcióidőkön túl fontos kiemelni, hogy a szerzők a módszer alkalmazhatóságát és hatékonyságát a tumorellenes (glioblasztóma, metasztatikus melanóma) gyógyszerjelölt **103** AzixaTM kétlépéses szintézisén keresztül is bemutatják.

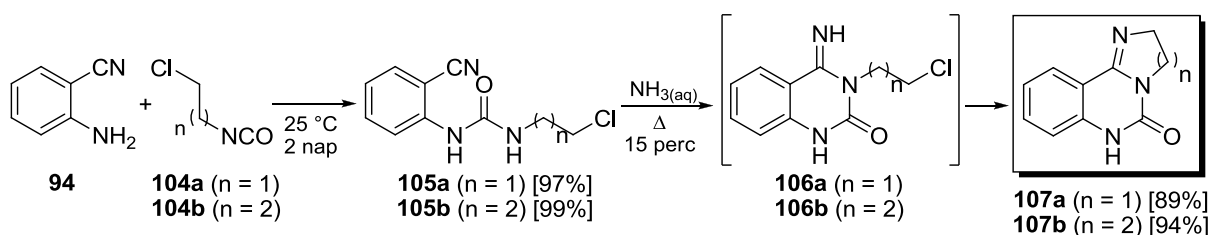
A kinazolin vázegységet tartalmazó heterociklusos vegyületek említésre méltó gyógyszerkémiai relevanciáját az ismert gyógyszerkincsben fellelhető számos analóg bizonyítja, mint például a daganatellenes hatású EGFR inhibitorok (Gefitinib, Erlotinib), vagy a szedatohipnotikum "qualone" család (Methaqualone, Afloqualon, Diproqualone) is.⁴³



22. ábra

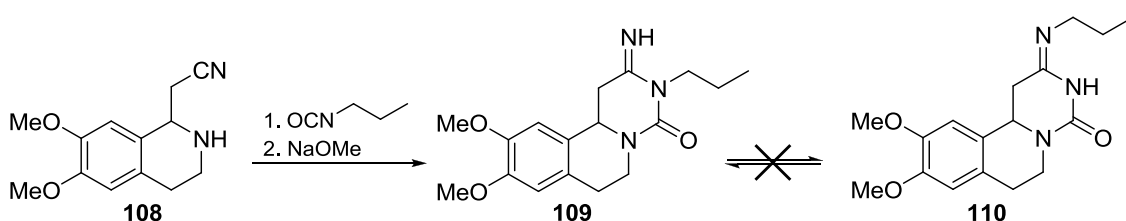
Papadopoulos két közleményében számolt be az antranilonitril (**94**) tandem ciklizációs átalakításairól (23. ábra).^{53,54} Kísérletei során 2-klóretil- ill. 3-klórpropilizocianátot (**104a** és **104b**) alkalmazott a közel kvantitatívan lejátszódó karbamid adduktkepzési lépésekben. Az így nyert **105a** és **105b** intermediereket vizes ammónia oldatban melegítve a **107a** és **107b**

triciklusos imidazolo- és pirimido[1,2-*c*]kinazolinokat kiváló (**107a**: 89%, **107b**: 94%) hozamokkal nyerte. A dominó gyűrűzárási reakció feltételezett első lépése a **105a** és **105b** karbamid adduktok deprotonálódása és intramolekuláris gyűrűzárása. Az így kialakuló reaktív **106a** és **106b** iminourea köztitermékekben egy következő, spontán lejátszódó intramolekuláris S_N2 gyűrűzárási lépésben épül ki a triciklusos gyűrűrendszer.



23. ábra

Fülöp és munkatársai a **108** tetrahydroizokinolin vázas β-aminonitrilekből kiindulva végezték el a fent említett tandem ciklizációt.⁵⁵ Reaktánsként *n*-propilizocianátot alkalmazva a **106** intermedierekkel analóg **109** iminourea típusú vegyületet izolálták, mely terminális halogénatom hiányában nem szenvedhet egy második, intramolekuláris S_N2 annulációt (24. ábra). Emellett IR spektroszkópiai mérésekkel igazolták, hogy a **109** iminourea egy Dimroth átrendeződésen keresztül nem alakul át **110** regioizomer formává, mely az S_N2 gyűrűzárási irányára vonatkozó kísérleti bizonyítéknak tekinthető.



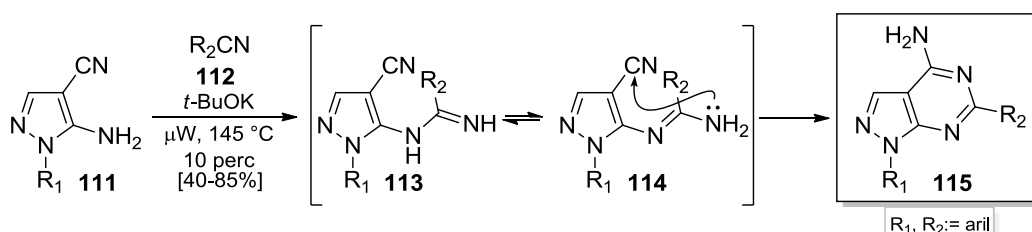
24. ábra

Fontos megemlíteni, hogy a reakció "one-pot" kivitelezhetőségének vizsgálata és a módszer kiterjeszhetősége más heterociklusos β-aminonitrilekre a kémiai szakirodalomban eddig nem ismert.

4.1.2. Pirazol-vázás β-aminonitrilek alkalmazása *N,N*-heterociklusos vegyületek dominó szintéziseiben

A pirazolo[3,4-*d*]pirimidinek "one-pot" dominó szintézisét célzó egyik módszer a **111** 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-karbonitrilek módosított Niementowski kinazolin szintézisen

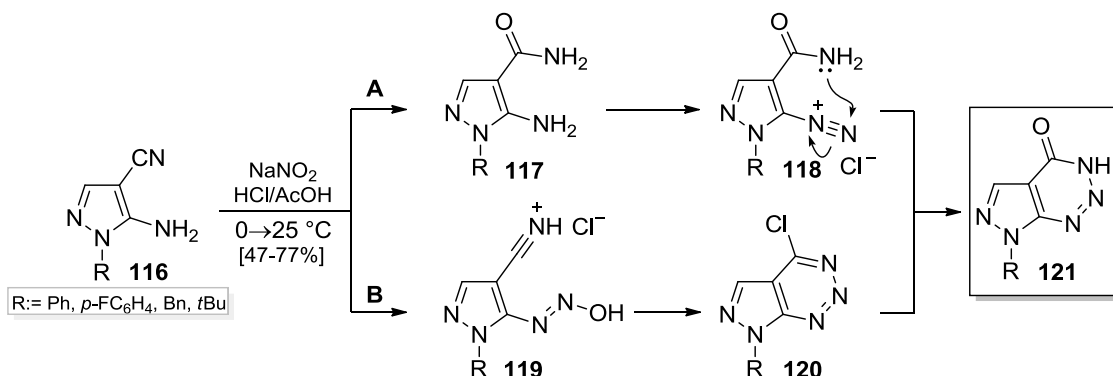
keresztüli átalakítása (25. ábra).⁵⁹ A **111** pirazol-vázás β -aminonitrilek a **112** aromás nitrilekkel oldószermentes körülmények között, 10 perces mikrohullámú besugárzást követően 40-85%-os hozammal alakultak át a megfelelő **115** 4-amino-pirazolo [3,4-*d*]pirimidinekké. A módosított Niementowski reakció során a **111** β -aminonitril amino csoportja magas hőmérsékleten addicionálódik a **112** karbonitril funkciójára. A keletkező **113** amidin egy énamin-imin tautomérián keresztül a **114** származékká alakul, mely egy gyűrűzárás, valamint imin-énamin tautomérián keresztül a **115** pirazolo[3,4-*d*]pirimidinekhez vezet.



25. ábra

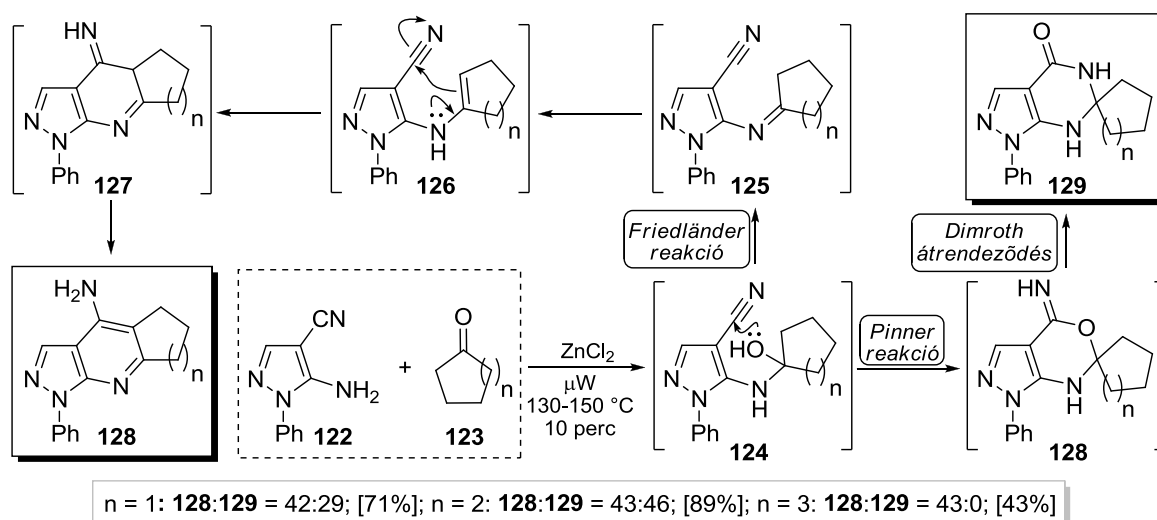
Fontos megjegyezni, hogy a fent alkalmazott magas hőmérséklet, valamint független, más szerzők által közölt urea adduktképzési kísérletek egyaránt az 5-aminopirazolok viszonylag gyenge nukleofilicitását támasztják alá.⁶⁰

Egy érdekes példa a **121** pirazolo[3,4-*d*][1,2,3]triazin gyűrűrendszert tartalmazó heterociklusok szintézisére a **116** β -aminonitrilek klasszikus diazotálási körülmények között lejátszódó dominó transzformációi (26. ábra).⁶¹ A szerzők által javasolt vitatható mechanizmus (A-reakciót) szerint a **118** diazóniumsó képződését a karbonitril savas hidrolízise előzi meg, majd egy amid-diazónium gyűrűzárással a **121** pirazolo[3,4-*d*]triazin képződik. Egy másik hipotézis értelmében (B-reakciót) a **119** intermedierekben savas közegben kialakuló nitrílium ion az *in situ* keletkező diazosavval vízeliminációval kísért *N*→*N* kötést létesít, majd a gyűrűzárást követő hidrolízis vezet a **121** végtermékhez.



26. ábra

Spiro pirazolo[3,4-*d*]pirimidinonok, valamint pirazolo[3,4-*d*]pirimidinek előállítását demonstrálja az 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbonitril (**122**) Lewis-sav jelenlétében lejátszódó reakciója a **123** aliciklusos ketonokkal, mely a **128** és **129** ciklokondenzációs termékeveréket eredményezte (27. ábra).⁶² A dominó reakciósor nyitó lépésében a **124** hemiaminál képződik, mely két módon alakulhat tovább. Az egyik lehetőség a módosított Friedländer reakció; a **125** ketimin egy imin-énamin tautmériával a **126** β-énaminonitrilt adja, amely intramolekuláris gyűrűzáródással, valamint imin-énamin tautóméria révén vezet a **128** takrin analóghoz. A másik reakcióút a **124** hemiaminál intramolekuláris Pinner reakciójával indulhat; a keletkező **130** spiro-iminobenzoxazin Dimroth átrendeződésével a **129** pirazolopirimidinonná alakul. Ciklopentán (**123**, n=1) és ciklohexán (**123**, n=2) kiindulási vegyületek esetén párhuzamosan végbemenő módosított Friedländer reakció és a spirociklizációs folyamat egy termékeverék képződését eredményezte. Amennyiben cikloheptanont (**123**, n=3) használtak reaktánsként, az alkalmazott körülmények mellett a **129** spirociklizációs termék képződését nem tapasztalták.



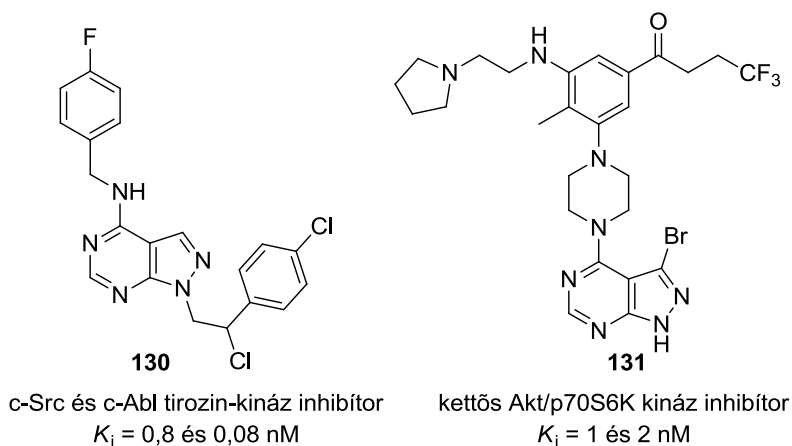
27. ábra

A fent említett szintéziseken túl további példák demonstrálják az 5-amino-1*H*-pirazol-4-karbonitrilek, mint *N*-heterociklusos 1,2-bifunkciós építőelemek kiváló alkalmazhatóságát új típusú *N,N*-heteropoliciklusos rendszerek, mint például pirazolo[4',3':5,6]pirido[2,3-*d*]piridazinok, vagy pirazolo[3,4-*d*][1,3,2]diazafoszfinek dominó szintéziseiben.⁶³⁻⁶⁵

4.2. Pirazolo[3,4-*d*]pirimidinek farmakológiai jelentősége

A pirazolo[3,4-*d*]pirimidinek a tirozin-kináz-gátlók egy ígéretes csoportját képezik.⁶⁶ A tirozin-kinázok inhibíciója jelen tudásunk alapján szoros kapcsolatba hozható a tumoros sejtekben indukált programozott sejthalállal, mely a daganatellenes kutatások szemszögéből nézve egy rendkívül attraktív molekuláris célpontot jelent.⁶⁷ A **130** vegyület például jelentős Abl tirozin-kináz gátlást ($K_i = 0,08$ nM) mutatott, emellett jelentős citotoxikus hatással bír *in vitro* humán leukémia sejtvonalakon (K562: $IC_{50} = 9$ μ M; MEG-01: $IC_{50} = 5,5$ μ M valamint KU-812: $IC_{50} = 8$ μ M).⁶⁸ Szerkezet-hatás összefüggések igazolták, hogy a *p*-halogén (fluor és klór) szubsztituált fenil csoportok felelősek az Abl kináz ATP kötőhelyeinek blokkolásában az Abl kináz hidrofób részeihez (HR1 és HR2) való kötődés miatt.

Egy másik releváns kináz gátláson alapuló példa a **131** pirazolo[3,4-*d*]pirimidin származék, mely kettős Akt/p70S6K kináz gátlása ($K_i = 1$ és 2 nM) révén nanomólos koncentrációban mutat tumorelles hatást ($IC_{50} = 55$ nM) PC-3 humán prosztatarákos sejtvonalon *in vitro*.⁶⁹ A szerkezet-hatás összefüggések (SAR) szerint a C-3 pozícióban lévő bróm szubsztituens mellett az aromás *meta*-szubsztituensek mérete és lipofilitása is fontos szerepet játszik az Akt-kináz inhibíció szempontjából (28. ábra).

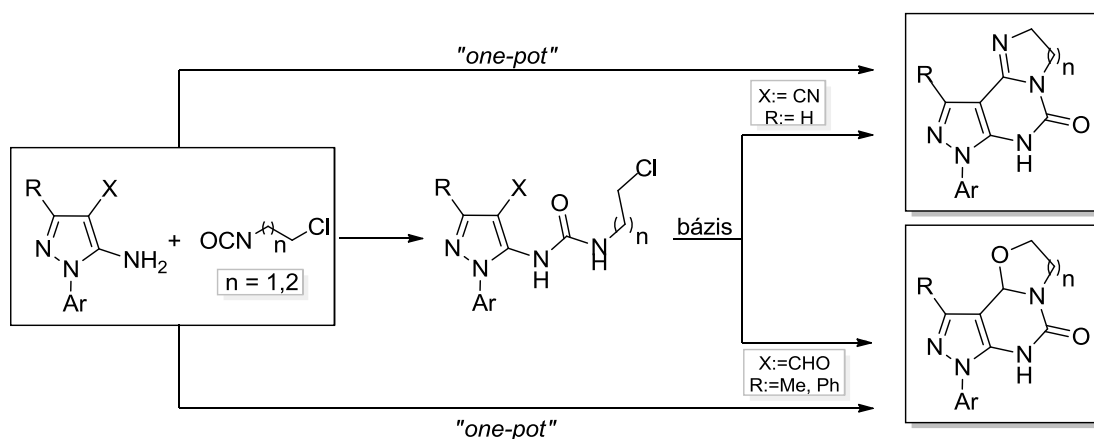


28. ábra

A nagyfokú szerkezeti variabilitást és diverzitást mutató purin analogon pirazolo[3,4-*d*]pirimidinek számos biológiailag aktív és gyógyszerjelölt-molekula fejlesztését célzó kutatási program alapját képezik.^{66, 70-74}

4.3. Célkitűzések

Munkánk során az 1,2-bifunkciós 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-karbonitrilek, valamint 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-karbaldehidek klóralkil-izocianátokkal történő dominó gyűrűzárási reakcióit kívántuk vizsgálni (29. ábra). Fő célunk "one-pot" eljárások kidolgozása volt, fókuszálva a dihidro-imidazol- és dihidro-pirimidinnel kondenzált pirazolo[3,4-d]pirimidinek előállítására (módszerfejlesztés és optimalizálás).

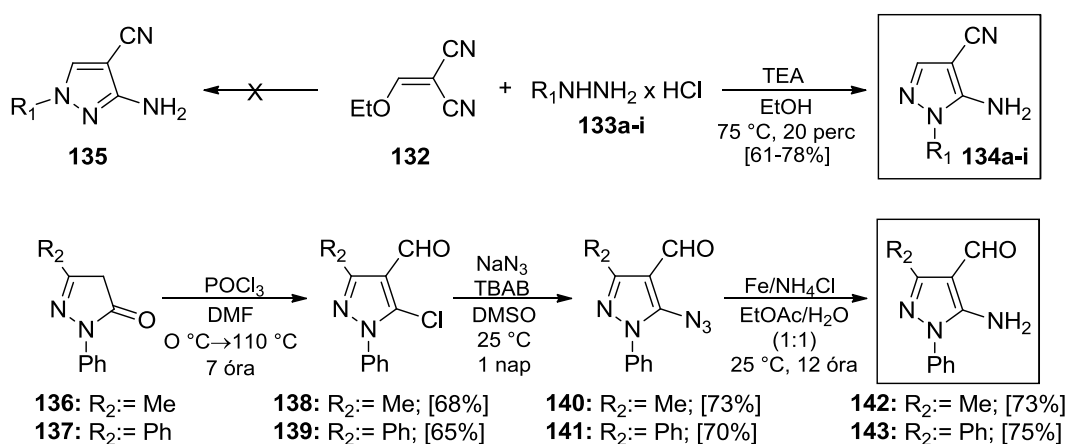


29. ábra

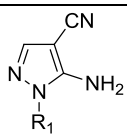


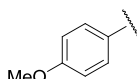



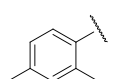

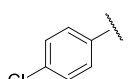
4.4. Eredmények ismertetése, diszkusszió

A kiindulási **134a-i** 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-karbonitrilek előállítását etoximetilénmalononitril (**132**), és a megfelelő **133a-i** arilhidrazin hidrokloridok gyűrűzárási reakcióival valósítottuk meg (30. ábra). A gyűrűzárások minden esetben 20 perc alatt végbementek, a nyers reakcióelegyeket Teledyne Isco CombiFlash[®] Rf flash kromatográfias készülékkel tisztítottuk. A **134a-i** β-aminonitrileket 61-78%-os izolált hozammal nyertük (3. táblázat), az eljárás során az elméletileg keletkezhető **135** regioizomer keletkezését nem tapasztaltuk.

A **142** és **143** 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehid kiindulási vegyületek szintézisét három lépésben, egy Vilsmeier-Haack/azid funkcionálizálás/kemo-szelektív azid redukciós szintetikus szekvencián keresztül hajtottuk végre. A **136** és **137** 3-szubsztituált 1-fenil-1*H*-pirazol-5(4*H*)-onokat foszforil-klorid és *N,N*-dimetilformamid jelenlétében egy Vilsmeier-Haack reakcióban a megfelelő **138** és **139** 4-formil-5-kloro származékokká alakítottuk át (termelés: 68% és 65%). Az azid funkcionálizálási reakciót NaN₃ és katalikus mennyiségű (20 mol%) TBAB jelenlétében végeztük, majd oszlopkromatográfias tisztítást követően a **140** és **141** β-azidoaldehideket jó hozammal (73% és 70%) izoláltuk. Az azid funkciót Fe és NH₄Cl felhasználásával, egy kétfázisú rendszerben jó termeléssel (73% és 75%) redukáltuk a megfelelő **142** és **143** β-aminoaldehidekké.



30. ábra

					
Vegyület	R ₁	Hozam [%] ^a	Vegyület	R ₁	Hozam [%] ^a
134a		61	134f		74
134b		70	134g		75
134c		71	134h		73
134d		64	134i		67
134e		69			

^a: [%]-ban megadott izolált hozamok

3. táblázat

A dominó gyűrűzárási reakció tanulmányozása céljából az 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbonitril (**134a**) és 2-klóretilizocianát (**144a**) modellvegyületek interakcióját a **145a** urea addukt képződésén keresztül vizsgáltuk különböző reakciókörülmények között (4. táblázat). Első kísérleteink során mind konvencionális fűtéssel, mind pedig mikrohullámú besugárzással nem tapasztaltunk konverziót 150 °C-on (4 táblázat, 1-4. kísérlet). Ez a meglepő, az irodalmi példák alapján nem várt kísérleti tény a **134a** 5-aminopirazol származék amino csoportjának rendhagyóan gyenge nukleofil jellegére engedett következtetni.

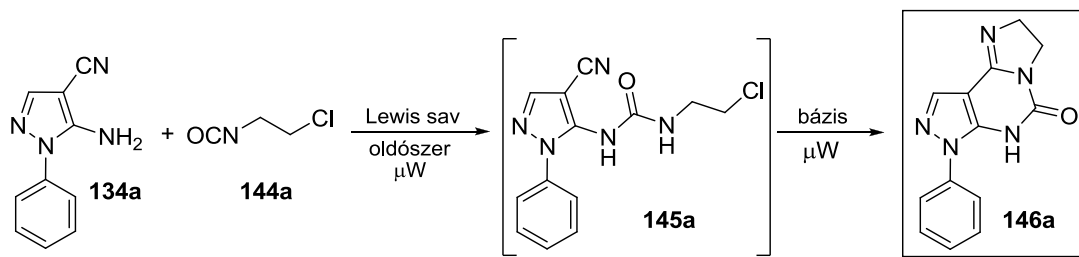
A **144a** izocianát elektrofil aktiválását, így a **145a** urea addukt képződését katalitikus mennyiségű Lewis sav (Ag(I)-, In(III)-, Sn(IV)-, Fe(III)- és Cu(II)-sók) hozzáadásával kívántuk elősegíteni (4. táblázat, 5-15. kísérlet). A kísérleteket 20 mol% Lewis sav jelenlétében, 80 °C-on, 5 perces mikrohullámú besugárzás mellett hajtottuk végre. Az alkalmazott körülmények mellett kizárólag a Cu(II)-sók mutattak katalitikus aktivitást a **145a** urea addukt képződésére vonatkozóan, melyek közül a Cu(OAc)₂ DMF-ben történő alkalmazása bizonyult a leghatékonyabbnak (4. táblázat, 10-13. kísérlet). A reakciót DMF/H₂O elegyben (1:1) végrehajtva nem tapasztaltunk konverziót, ami a reakció vízérzékenységére engedett következtetni (4. táblázat, 14. kísérlet). A Cu(OAc)₂

mennyiségének (5, 10, 20, 30 és 40 mol%) a konverzióra gyakorolt hatását további kísérletekben vizsgáltuk, melyek során 10 mol% katalizátor alkalmazása bizonyult optimális mennyiségnek. További kísérleteket végeztünk Cu(OAc)₂ (10 mol%) jelenlétében, vizsgálva a **145a** urea képződés konverzióját a hőmérséklet függvényében (25→100°C), mely során 80 °C-on, 5 perces mikrohullámú besugárzás mellett tapasztaltunk teljes konverziót. Az optimálisnak vélt reakciókörülmények alkalmazásával (1,5 ekvivalens 2-klóretil-izocianát (**144a**)), 10 mol% Cu(OAc)₂, abszolútizált DMF, 4Å molekulaszűrő por, μ W: 5 perc, 150 W és 80 °C) a **145a** urea intermediert kiváló hozammal (90%) izoláltuk (4. táblázat, 15. kísérlet).

Az optimalizált **145a** urea adduktképződési lépést követően bázikus additívek hatását vizsgáltuk az előzetesen feltételezett dominó gyűrűzárási folyamatra, mely a **145a** triciklusos vegyület kialakulásához vezethet (4. táblázat, 16-30. kísérlet). A réz(II)-katalizált folyamat kiváló konverziójának, valamint rendkívül rövid reakcióidejének következtében további kísérleteinket a **144a** intermedier izolálása nélkül, egy "one-pot" eljárás fejlesztésére fókuszálva végeztük. Az urea adduktképződési folyamatot követően a tandem gyűrűzárási reakciókat 100 °C-on, 1,2 ekvivalens bázis jelenlétében, 5 perces mikrohullámú besugárzás mellett vizsgáltuk, melyek során a legoptimálisabbnak választásnak a Cs₂CO₃ alkalmazása bizonyult (4. táblázat, 30. kísérlet).

Így a teljes "one-pot" dominó gyűrűzárási protokoll az alábbiakban összegezhető: **134a** β -aminonitrilt száraz DMF-ben, 10 mol% Cu(OAc)₂ és 4Å molekulaszűrő por jelenlétében, 80 °C-on reagáltatjuk 1,5 ekvivalens 2-klóretilizocianáttal (**144a**) 5 perces mikrohullámú besugárzás mellett. Ezt követően 1,2 ekvivalens Cs₂CO₃ hozzáadását, majd újabb 5 perc mikrohullámú fűtést követően (100 °C) a tandem gyűrűzárást kiváló összhozammal (82%) eredményezte a **146a** imidazo[1,2-*c*]pirazolo[4,3-*e*]pirimidinon származékot.

Egy következő kísérletben vizsgáltuk a konvencionális melegítésnek a tandem gyűrűzárási folyamatra gyakorolt hatását (reakcióidő, konverzió, termelés) a mikrohullámú reakciónál alkalmazott optimális paraméterekkel összehasonlítva. A 80°C-ra melegített olajfürdőn a **134a** β -aminonitril és a **144a** izocianát interakciója 5 perc alatt a mikrohullámú besugárzással megegyező kiváló konverziót mutatott.



145a Urea addukt					146a Termék				
Kísérlet	Oldószer	Katalizátor	Bázis	Hozam [%] ^a	Kísérlet	Oldószer	Katalizátor	Bázis	Hozam [%] ^f
1	DMF	–	–	0 ^b	16	DMF	–	TEA	17 ^g
2	Toluene	–	–	0 ^c	17	DMF	–	DABCO	18 ^g
3	MeCN	–	–	0 ^c	18	MeCN	–	TEA	18 ^g
4	DMF	–	–	0 ^c	19	MeCN	–	DABCO	16 ^g
5	DMF	AgOTf	–	0 ^d	20	MeCN	Cu(OAc) ₂	DABCO	33 ^h
6	DMF	In(OTf) ₃	–	0 ^d	21	DMF	Cu(OAc) ₂	DBU	–
7	DMF	Me ₂ SnCl ₂	–	0 ^d	22	DMF	Cu(OAc) ₂	<i>t</i> BuOK	–
8	DMF	InCl ₃	–	0 ^d	23	DMF	Cu(OAc) ₂	K ₃ PO ₄	–
9	DMF	FeCl ₃ ·6H ₂ O	–	0 ^d	24	DMF	Cu(OAc) ₂	TEA	10 ^h
10	DMF	CuCl ₂	–	70 ^d	25	DMF	Cu(OAc) ₂	DIPEA	13 ^h
11	DMF	Cu(C ₅ HF ₆ O ₂) ₂	–	66 ^d	26	DMF	Cu(OAc) ₂	DABCO	45 ^h
12	DMF	Cu(OAc) ₂	–	81 ^d	27	DMF	Cu(OAc) ₂	NaOAc	–
13	MeCN	Cu(OAc) ₂	–	81 ^d	28	DMF	Cu(OAc) ₂	K ₂ CO ₃	–
14	DMF/H ₂ O	Cu(OAc) ₂	–	0 ^d	29	DMF	Cu(OAc) ₂	NaOMe	40 ^h
15	DMF	Cu(OAc) ₂	–	90 ^e	30	DMF	Cu(OAc) ₂	Cs ₂ CO ₃	82 ^h

^[a] **145a** urea adduktra vonatkozó izolált hozam oszlopkromatográfiás tisztítást követően.

^[b] *Reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (3 ekv.), DMF (1,5 mL), 150 °C, 1 nap.

^[c] *Reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (3 ekv.), oldószer (1,5 mL), μ W: 300 W, 150 °C, 30 perc.

^[d] *Reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (1,5 ekv.), katalizátor (20 mol%), oldószer (1,5 mL), μ W: 150 W, 80 °C, 5 perc.

^[e] *Optimalizált reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (1,5 ekv.), Cu(OAc)₂ (10 mol%), 4Å mol.sz. por (100 mg), absz. DMF (1,5 mL), μ W: 150 W, 80 °C, 5 perc.

^[f] **146a** termékre vonatkozó izolált hozam oszlopkromatográfiás tisztítást követően.

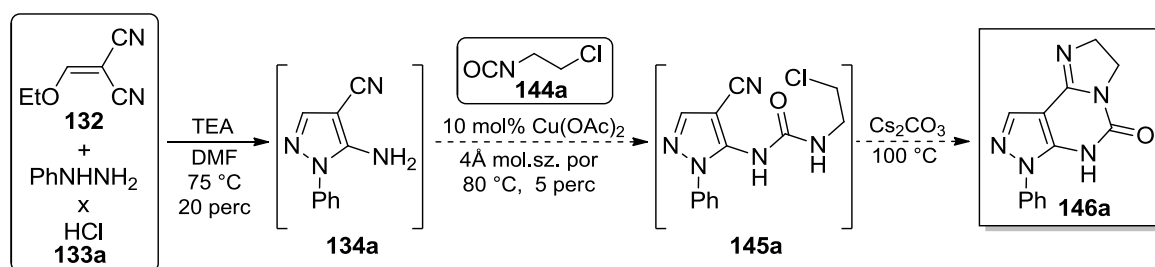
^[g] *Reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (3 ekv.), oldószer (1,5 mL), bázis (3 ekv.), μ W: 250 W, 125 °C, 20 perc.

^[h] *Reakciókörülmények:* **134a** (1 mmol), **144a** (1,5 ekv.), Cu(OAc)₂ (10 mol%), 4Å mol.sz. por (100 mg), oldószer (1,5 mL), μ W₁: 150 W, 80 °C, 5 perc; majd bázis (1,2 ekv.), μ W₂: 150 W, 100 °C, 5 perc.

4. táblázat

Az optimalizált mikrohullámú protokollt követve a dominó gyűrűzárás hasonló (82%) izolált hozammal eredményezte a **146a** triciklusos terméket. Az összehasonlító kísérlet alapján kijelenthető, hogy a vizsgált folyamatok nem mikrohullám specifikusak, így a további kísérleteket konvencionális fűtés mellett hajtottuk végre.

Az optimális reakciókörülmények ismeretében kísérletet tettünk a **146a** termék "one-pot" háromkomponensű szintézisére (31. ábra). Az etoximetilénmalononitril (**132**) és fenilhidrazin hidroklorid (**133a**) gyűrűzárása TEA jelenlétében 75 °C-on, 20 perc alatt végbement. Az elegyet szobahőmérsékletre hűtve, majd a nyers reakcióelegyhez *in situ* 1,5 ekvivalens 2-klóretilizocianátot (**144a**), illetve katalitikus mennyiségű (10 mol%) Cu(OAc)₂-ot adagolva további 5 percig kevertettük 80 °C-on, azonban a **145a** intermedier képződését egyáltalán nem tapasztaltuk. Feltételezésünk szerint a fenilhidrazin maradék, valamint bomlástermékei blokkolhatták a réz(II) katalizátort. A feltételezés megerősítést nyert, amikor a kromatográfias módszerrel tisztított β-aminonitrilekből kiindulva az átalakítást megvalósítottuk.

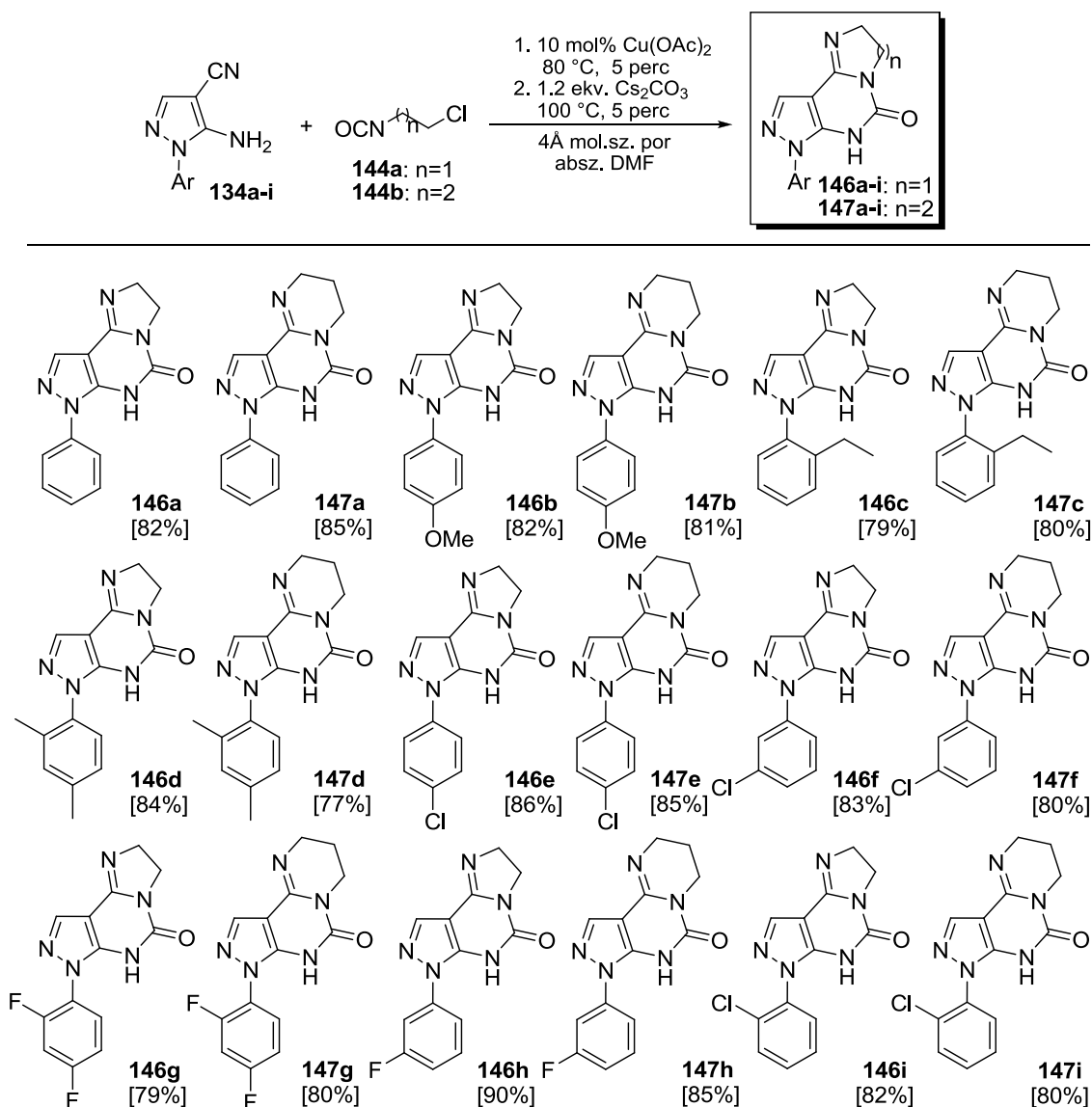


31. ábra

Fontos megjegyezni, hogy tercier aminok, mint bázikus additívek tesztelése során 125 °C-on, Cu(OAc)₂ hiányában is tapasztaltunk **146a** triciklusos termék képződést, azonban a konverziók és az izolált termelések (16-18%) rendkívül alacsonynak bizonyultak (4. táblázat, 16-19. kísérlet). Feltételezésünk szerint a tercier aminok addicionálódhatnak elsőként a **144a** izocianátra, majd a így kialakuló ikerionos addukt léphet további reakcióba **134a** β-aminonitrillel. Az optimális reakciókörülmények ismeretében, valamint az alacsony hozamra való tekintettel a tercier amin aktiváláson alapuló tandem ciklizációs folyamatokkal kapcsolatos további kísérleteket nem folytattunk.

Az optimalizált reakciókörülményeket alkalmazva egy 18 tagból álló pirazolo [3,4-*d*]pirimidin alapú heterociklusos molekulakönyvtár szintézisét hajtottuk végre (32. ábra). A reakciókhoz elektronküldő- és elektronszívó csoportokkal szubsztituált **134a-i** 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-karbonitrileket, valamint 2-klóretil- és 3-klórpropil izocianátot (**144a** és

144b) használtunk fel. Az urea adduktképzési lépések 80 °C-on, 10 mol% Cu(OAc)₂ jelenlétében minden esetben 5 perc alatt kvantitatívan lejátszódtak. Az ezt követő tandem gyűrűzárási reakciók 100 °C-on, 1,2 ekvivalens Cs₂CO₃ jelenlétében, további 5 perc kevertetést követően 77-90%-os izolált hozammal eredményezték a **146a-i** és **147a-i** heterotriciklusokat.



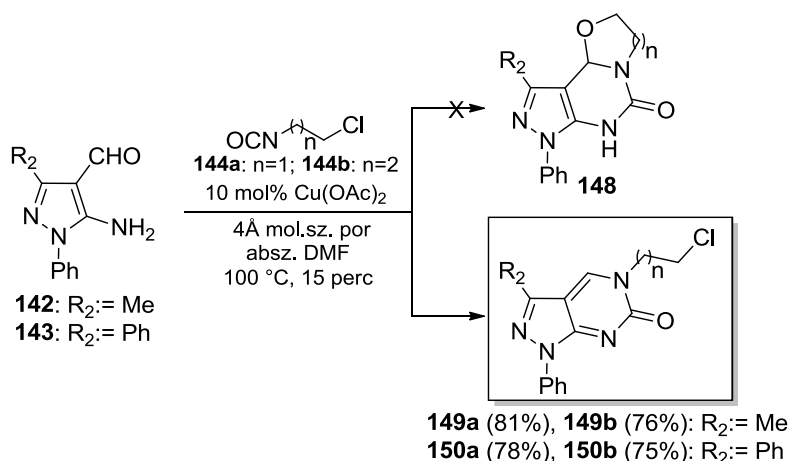
32. ábra

A kísérletek során szignifikáns szubsztituens-hatást nem figyeltünk meg. A **146a-i** és a **147a-i** termékek tisztítását minden esetben oszlopkromatográfias módszerrel, *n*-hexán/EtOAc elegy alkalmazásával végeztük.

A továbbiakban a tandem gyűrűzárási protokoll kiterjeszhetőségét vizsgáltuk a **142** és **143** 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidekre (33. ábra). Munkahipo-

tézisünk alapján a **146a-i** triciklusos vegyületekkel analóg **148** tetrahydro-oxazol gyűrűvel kondenzált pirazolo[3,4-*d*]pirimidinonok keletkezését vártuk.

A **142** és **143** β -aminoaldehideket a **144a** és **144b** klóralkil izocianátokkal 100 °C-on reagáltatva, katalitikus mennyiségű (10 mol%) Cu(OAc)₂ jelenlétében, 15 percet követően kvantitatív konverziókat és egységes termékek képződését tapasztaltuk. A termékek szerkezetigazolása (¹H NMR, ¹³C NMR és MS) a várt **148** triciklusos vegyületek helyett a **149a**, **149b**, **150a**, illetve **150b** biciklusos rendszerek keletkezését támasztotta alá. A reakciók minden esetben réz(II)-katalízissel (10 mol%), 15 perc alatt jó hozammal (75-82%) játszódtak le konvencionális fűtés (100 °C) alkalmazása mellett. A réz(II)-katalizátor és Cs₂CO₃ együttes használata komplex reakcióelegy keletkezését eredményezte, míg Cu(OAc)₂ hiányában nem tapasztaltunk konverziót. A **149a**, **149b**, **150a**, illetve **150b** termékek tisztítását oszlopkromatográfiás módszerrel, *n*-hexán/EtOAc elegy alkalmazásával végeztük. Az eljárás egy elegáns szintetikus alternatívát biztosít *N,N*-biciklusos pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-6(*5H*)-onok gyors és hatékony előállítására.

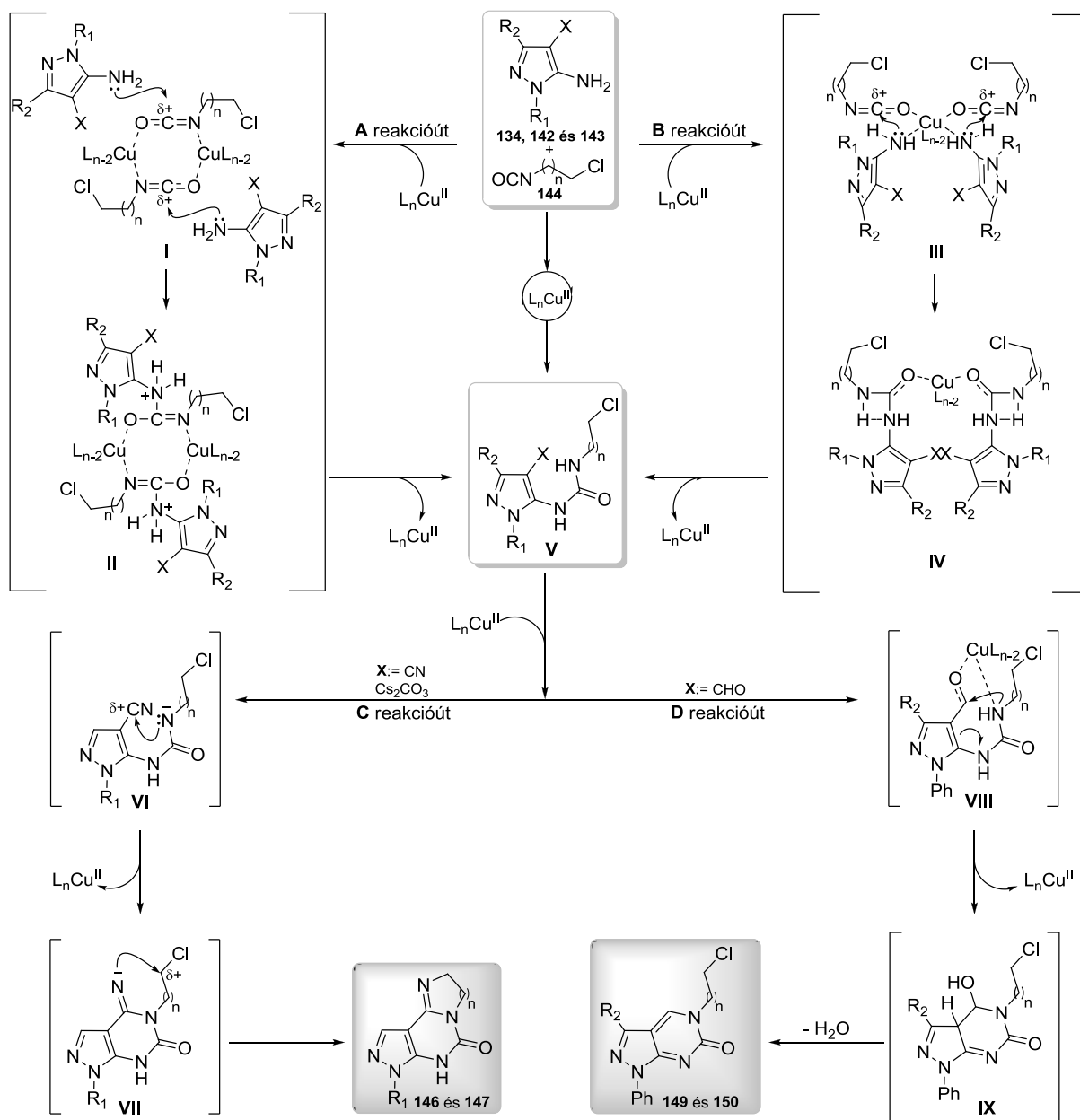


33. ábra

Az 1,2-bifunkciós **134** β -aminonitrilek, valamint a **142** és **143** β -aminoaldehidek klóralkil-izocianátokkal történő Cu(OAc)₂-katalizált adduktkepzési lépéseinek, majd az ezt követő dominó ciklizációk javasolt mechanizmusát a 34. ábra szemlélteti.

Az **A** reakcióút értelmében a réz(II)-ion egy kétmagvú komplexet (**I**) képez az izocianátokkal, mely ciklikus konjugációhoz, valamint az izocianátok C-atomjának lecsökkent elektronsűrűséghez vezethet. A koordinációból eredő elektrofil aktiválást követően az 5-aminopirazolok nukleofil addíciója a **II** réz(II)-amino-imidát komplex kialakulását

eredményezheti. Ezt követő intramolekuláris 1,3-($N \rightarrow N$) protontranszfer, valamint a **II** komplex degradációja adja az **V** urea adduktot.



34. ábra

A **B** reakciót egy alternatív megközelítést szemléltet, melynek értelmében a réz(II)-ion mind az izocianátot, mind az 5-aminopirazol származékot egy egymagvú réz(II)-komplexen (**III**) keresztül szimultán koordinálja. Az így kialakuló "kalitka-effektus" megfelelő távolságot biztosíthat a reaktánsok számára. A "kalitkában" lejátszódó nukleofil addíció vezethet a **IV** átmeneti komplexhez, majd egy intramolekuláris 1,3-($N \rightarrow N$) protontranszfer, valamint a **IV** komplex disszociációja eredményezi az **V** urea származékot.

A **134** β -aminonitrilek esetén az **V** urea származék Cs_2CO_3 jelenlétében deprotonálódást szenved (**C** reakcióút). A **VI** intermedier intramolekuláris gyűrűzárása a **VII** reaktív iminourea származékot eredményezi, melyben egy következő, spontán lejátszódó intramolekuláris $\text{S}_{\text{N}}2$ gyűrűzárási lépésben épül ki az *N,N*-triciklusos gyűrűrendszer.

A **142** és **143** β -aminoaldehidek formil csoportjának réz(II)-katalizált elektrofil aktiválása egy bázis nélkül is végbemenő intramolekuláris gyűrűzáráshoz vezet (**D** reakcióút). Ezt követő énamin-imin tautóméria eredményezi az instabil **IX** hemiaminál átmeneti állapotot, mely vízvesztéssel a **149** és **150** *N,N*-biciklusos végtermékeket adja.

5. Új típusú kurkumin származékok előállítása

5.1. A kurkumin biológiai és farmakológiai relevanciája

A kurkumin (1,7-bisz-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadién-3,5-dion) a polifenolok családjába tartozó természetes vegyület, melyet elsőként a *Curcuma longa* L. növény gyökérgumójából izoláltak, és több évszázada alkalmaznak az indiai és kínai tradicionális gyógyászatban.⁷⁵ Az utóbbi évtizedekben számos, a kurkumin farmakológiai potenciálját célzó kísérleteket végeztek el, melyek többek között a kurkumin antioxidáns, gyulladáscsökkentő, antibakteriális, antivirális, gombaellenes, HIV-ellenes, valamint Alzheimer-ellenes hatását tárták fel.⁷⁶⁻⁸²

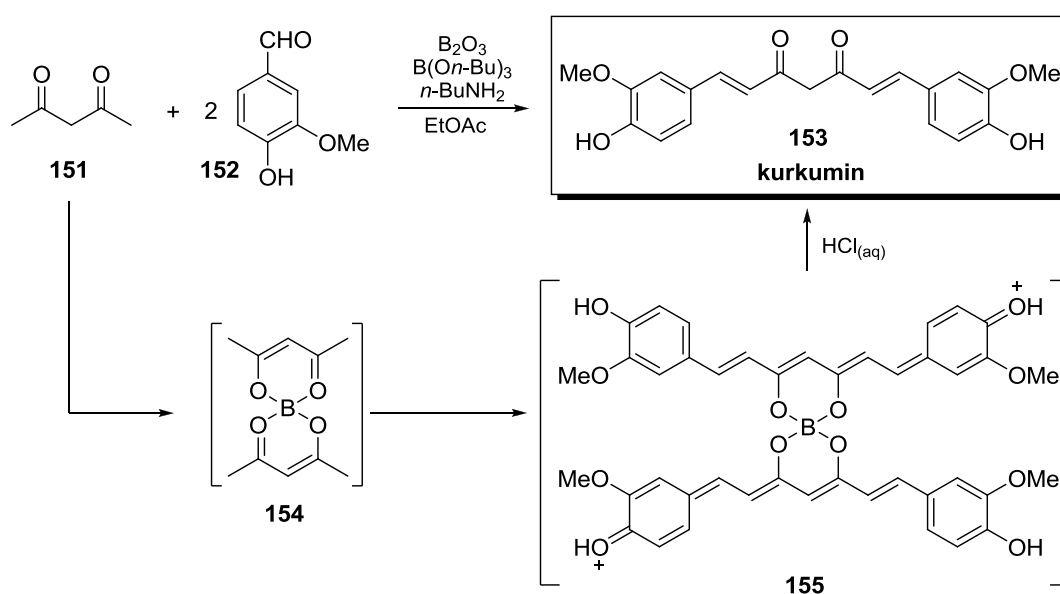
Az említett indikációkon túl számos adat támasztja alá a kurkumin kemopreventív és tumorelles tulajdonságait is.⁸³⁻⁸⁶ A kemoprevenzióra példaként szolgálnak a benzo[*a*]pirén (BaP), a 7,12-dimetilbenz[*a*]antracén (DMBA), dietilnitrózamin és az azoximetán (AOM) által egérben *in vivo* indukálható tumor képződésre és/vagy növekedésre gyakorolt szignifikáns gátló hatások.⁸⁷⁻⁹⁰ Emellett a kurkumin kiváló gyökfogó ágensnek bizonyult *in vitro* (ROS: szuperoxid gyökönion, hidroxil gyök, szingulett oxigén, nitrogén-monoxid, valamint peroxinitrit ion), ebből kifolyólag az oxidatív stresszhez szorosan kapcsolódó lipid, DNS, valamint hemoglobin degradáció megakadályozásában lehet szerepe.^{91 és 92} Irodalmi példák ismertek a ROS-generáló enzimek – lipoxigenázok (LOX) és ciklooxygenázok (COX) – inhibíciójára, az NF- κ B protein és a protein kináz C (PKC) gátlásokra, valamint az MDM2 onkogén kifejeződésének csökkentésére.⁹³⁻⁹⁶

A kurkumin nem toxikus vegyület, és kivételes affinitással rendelkezik számos tumoros megbetegedés kialakulásáért felelős molekuláris faktoral szemben, azonban rossz oldhatósága, alacsony orális biohasznosíthatósága (<2%), valamint gyors metabolizmusa révén a humán klinikai tesztek nem zárultak meggyőző eredményekkel.⁹⁷ Ebből kifolyólag a tumorelles célpontokkal szembeni további érzékenyítés, illetve a farmakokinetikai profil finomhangolása céljából új, szintetikus kurkumin származékok tervezése és vizsgálata megalapozottnak tűnik.⁹⁸

5.2. A kurkumin laboratóriumi előállítása

Pabon 1964-ben ismertette elsőként a kurkumin (153) egy lépéses szintézisét acetilacetonból (151) és vanilinből (152) kiindulva (35. ábra).⁹⁹ A reakció során bórsav

anhidridet használt maszkírozó ágensként, mely az acetilacetonnal (**151**) a **154** bór-komplexet képezi. Az enolizáció által a **151** központi C-atomjának reaktivitása lecsökken, így az elsődlegesen fellépő Knoevenagel kondenzáció kiküszöbölhető; a terminális C-atomok, mint nukleofil centrumok vesznek részt a vanilinnel (**152**) történő további kondenzációs reakciókban. Az *n*-butilamin jelenlétében lezajló dupla aldol (Claisen-Schmidt) kondenzáció a **155** rozocianin átmeneti állapothoz vezet, mely híg sóvasas bontást követően adja a kurkumint (**153**). A promóter *n*-butilamin helyettesítése 1,2,3,4-tetrahidrokinolin/AcOH kombinációval, valamint DMF alkalmazása reakcióközegként szintén ismert a szakirodalomban.¹⁰⁰



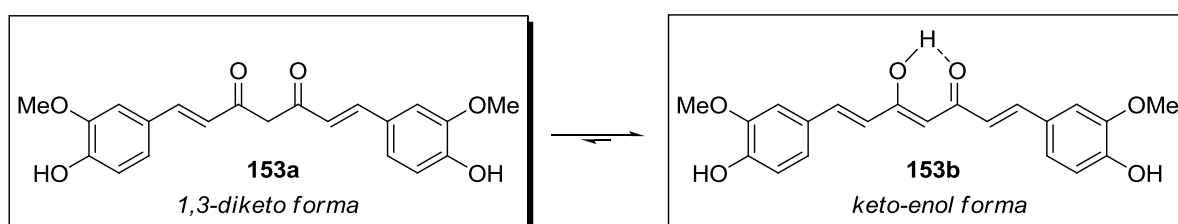
35. ábra

Fontos megemlíteni, hogy általánosan elfogadott és ésszerű, egymásnak nem ellentmondó magyarázat a kurkumin szintézis mechanizmusára vonatkozólag a szakirodalomban ez idáig nem ismert. A **154** bór-komplex kialakulása és töltésviszonyai, az amin promóter szerepe a dupla aldol kondenzációban sok esetben nem ismertetett, illetve ellentmondásos. Mivel a kurkumin szintézis *OH*-csoportot nem tartalmazó aromás aldehidekkel is ismert, így a **155** rozocianin átmeneti állapot sem tűnik ésszerűnek, mivel fenolos *OH*-csoport hiányában kinoidális struktúra nem alakulhat ki. Mindezek ismeretében a kurkumin szintézis részlépéseinek mélyebb átgondolása erősen indokolt.

Általánosságban az aldol kondenzáció során egy enolát, mint nukleofil reagál egy formil- vagy karbonilcsoporttal, melynek eredményeként egy (*E*)-szelektív C-C kettős kötés

alakítható ki.¹⁰¹ A reakció elősegíthető bázisok (pl. NaOH), savak (pl. H₃PO₄, *p*-TsOH), valamint szekunder amin sók (PhNHMe • TFA, morfolínium-trifluoroacetát) jelenlétében egyaránt.¹⁰²⁻¹⁰⁶

A kurkumin (**153**) kémiai tulajdonságaiból érdemes kiemelni a keto-enol tautomeria jelenségét (36. ábra). Spektroszkópiai mérések (IR, NMR), valamint DFT számítások igazolták a **153b** keto-enol forma dominanciáját a **153a** 1,3-diketo tautomerrel szemben oldat és szilárd fázisban egyaránt.¹⁰⁷ A jelenség magyarázata az enol intramolekuláris hidrogén kötés általi stabilizációjában, valamint a folytonos, kiterjedt konjugált rendszer kialakulásában rejlik.

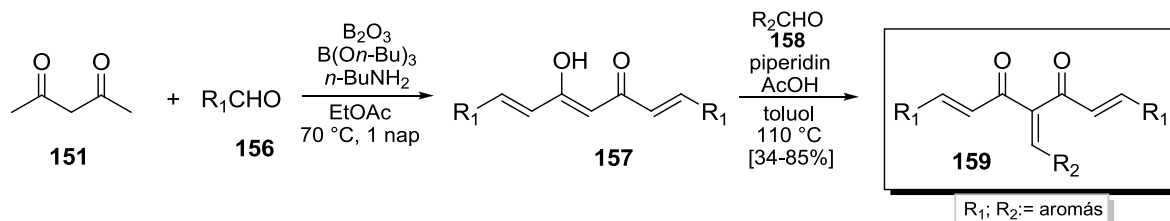


36. ábra

5.3. Centrálisan szubsztituált kurkumin származékok

A C-4 pozícióban szubsztituált bioaktív származékokra egy eklatáns példa a Qiu és munkatársai által előállított **159** 4-arilidén kurkumin analógok (5. táblázat).¹⁰⁸ A dupla aldol kondenzációt klasszikus Pabon körülmények között (B₂O₃, B(*On*-Bu)₃, *n*-BuNH₂) hajtották végre. A **157** kurkuminoidok és a **158** aromás aldehidek Knoevenagel-típusú kondenzációjában a megfelelő **159** 4-arilidén származékokat nyerték.

Az előállított **159** analógok *in vitro* citotoxicitási vizsgálatait A549, H1944, H460, valamint H157 humán tüdőrákos sejteken végezték (5. táblázat). A 72 órás inkubációt követően a sorozatból a **159a-c** vegyületek bizonyultak a legaktívabbnak. A kapott **159a** 4-arilidén analóg például mind a négy sejtvonalon mért nanomólos (0,07-0,72 μM) GI₅₀ értékekkel (sejtnövekedést 50 %-ban gátló) egy-három nagyságrenddel hatékonyabbnak bizonyult a kurkuminnál (GI₅₀ = 9,44-19,25 μM). Továbbá a **159a-c** vegyületek mikromólos koncentráció tartományban (IC₅₀ = 1,0-1,7 μM) mutattak jelentős NF-κB gátlást. A **160b** analógot a későbbiekben referencia anyagként használtuk az *in vitro* citotoxicitási vizsgálatokhoz.

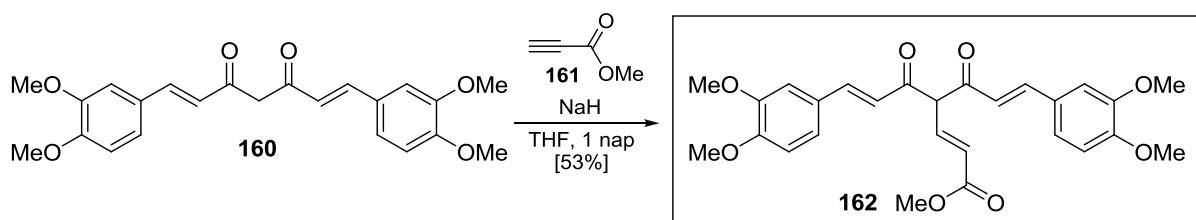


Vegyület	R ₁	R ₂	GI ₅₀ (μM)			
			A549	H1944	H460	H157
159a			0,72	0,07	0,13	0,16
159b			0,70	0,28	0,27	0,28
159c			0,93	0,33	0,30	0,53
kurkumin		—	9,44	16,16	12,13	19,25

5. táblázat

Egy másik példában a **160** *O,O'*-dimetil kurkumin és metil-propiolát (**161**) 1,4-konjugált addíciójában a **162** *C*-4 szubsztituált kurkumin származékot állították elő (37. ábra).¹⁰⁹ Az *in vitro* vizsgálatok során a **162** analóg alacsony koncentrációban (IC₅₀ = 0,512 és 0,564 μM) mutatott kiváló sejtosztódás gátló hatást a kurkuminhoz (**153**) képest (IC₅₀ = 5,58 és 2,11 μM) MCF-7 and SKBR3 humán emlőrákos sejtvonalakon. A **162** analóg -COOMe egységének -COOEt cseréje a citotoxicitást harmadára csökkentette. Továbbá egy fenolos OH→OMe cserével a kiindulási **160** *O,O'*-dimetil kurkumin az "anyavegyület" kurkuminhoz (**153**) képest jelentősebb (IC₅₀ = 1,07 és 0,955 μM) antiproliferatív hatással bírt a vizsgált sejtvonalakon.

Egy másik tanulmány a **162** analóg kimagasló (IC₅₀ = 1 és 0,2 μM) *in vitro* sejtosztódás gátló hatását írja le PC-3 és LNCaP humán prosztatarákos sejtvonalakon is.¹¹⁰

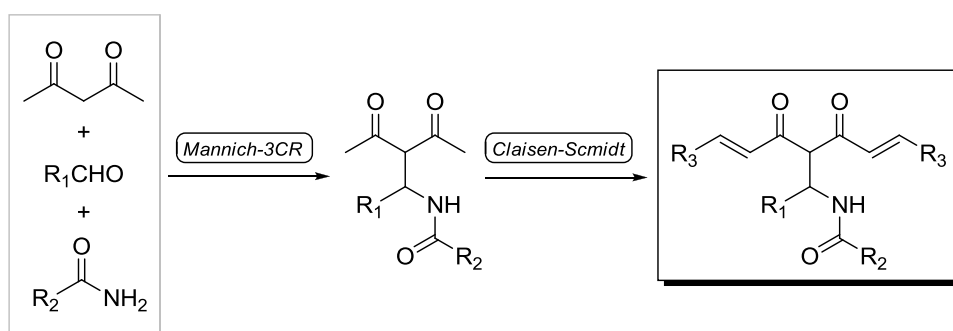


37. ábra

A fent említett példákon túl számos *C*-4 szubsztituált kurkumin származékot állítottak elő és karakterizáltak, melyek a **159** vegyületcsoporttal teljesen analóg Knoevenagel kondenzátum, valamint *C*-4 metilezett, benzilezett, vagy halogénezett származékok szerkezetére korlátozódnak.^{110,111} A meglévő kémiai tér bővítése kombinatórikus kémiai eszközökkel (pl. multikomponensű reakciók), illetve a *C*-4 szubsztituált kurkuminoidokban rejlő ígéretes biológiai potenciál új szintetikus stratégiák tervezését irányozza elő.

5.4. Célkitűzések

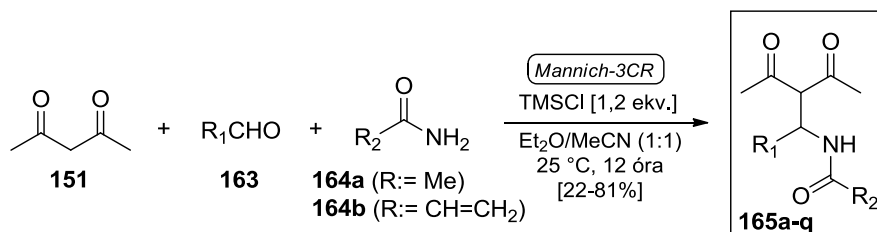
Munkánk során új, centrálisan (C-4) szubsztituált kurkumin származékokat kívántunk előállítani (38. ábra). A megfelelő szerkezeti diverzitás és variabilitás biztosítása céljából egy módosított Mannich háromkomponensű reakció révén terveztük a kurkuminoidok prekursorait előállítani. További célunk volt egy új, általánosan alkalmazható organokatalitikus Claisen-Schmidt kondenzációs protokoll kidolgozása a megfelelő kurkumin analógok szintézisére. Ezen túlmenően terveztük az előállított vegyületek *in vitro* citotoxicitási vizsgálatainak elvégzését is.



38. ábra

5.5. Eredmények ismertetése, diszkusszió

A kísérleti munka első részében a **165a-q** β -acilamido-1,3-dion származékokat állítottuk elő egy "one-pot" háromkomponensű módosított Mannich reakcióban (6. táblázat). Komponensek gyanánt pentán-2,4-dion (**151**), **163** aromás aldehidek, valamint acetamid (**164a**) és akrilamid (**164b**), mint alternatív aminforrások szolgáltak. Rövid optimalizálást követően a reakciókat szobahőmérsékleten, 1,2 ekvivalens TMSCl jelenlétében hajtottuk végre Et₂O/MeCN (1:1) elegyben.



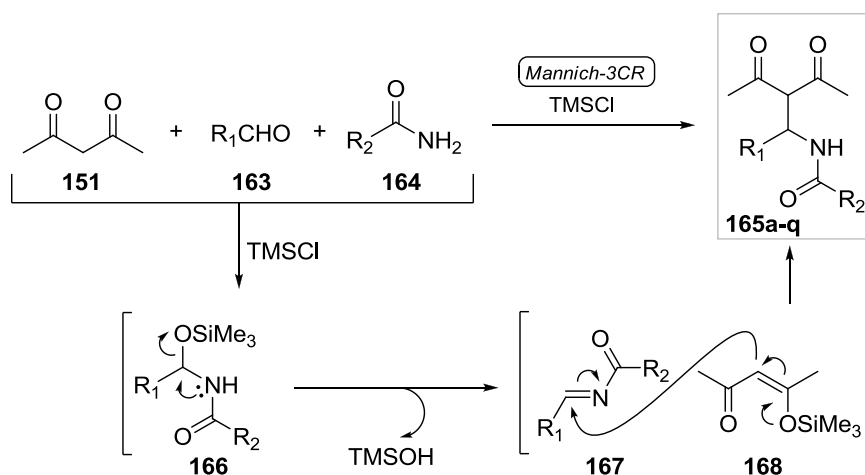
Vegyület	R ₁	R ₂	Hozam [%] ^a	Vegyület	R ₁	R ₂	Hozam [%] ^a
165a			75	165j			74
165b			78	165k			22
165c			71	165l			78
165d			64	165m			58
165e			69	165n			80
165f			81	165o			78
165g			67	165p			77
165h			78	165q			79
165i			24				

^a: [%]-ban megadott izolált hozamok

6. táblázat

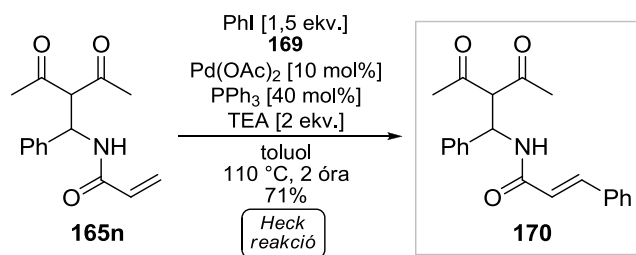
Az aldehidek által biztosított R_1 diverzitási pontot a fenil-, *orto*-, *meta*-, ill. *para*-helyzetben elektronszívó csoportokkal mono- és/vagy diszubsztituált fenil-, 3-brómtiofén-, valamint a *para-n*-butilfenil csoportok biztosították. A reakciók a **165i** (R_1 : = 3-brómtiofén; 24%) és a **165k** (R_1 : = *p-n*-BuPh; 24%) kivételével közepes-jó (54-81%) hozammal mentek végbe. A **165a-q** prekursorok tisztítását minden esetben oszlopkromatográfiás módszerrel, *n*-hexán/EtOAc elegy alkalmazásával végeztük. Fontos megemlíteni, hogy az alkalmazott körülmények mellett az R_1 pozícióban a *p-n*-butilfenil csoporton túlmenően egyéb elektronküldő szubsztituenssel rendelkező aromás csoport kiépítését nem tudtuk megvalósítani.

A háromkomponensű módosított Mannich reakció feltételezett első lépése a **166** *O*-szililezett *N,O*-aminál keletkezése acetilaceton (**151**) és a **163** aldehyd TMSCl-mediálta addíciója révén. Ezt követően a **168** szilil-enolát addíciója az *in situ* képződő **167** *N*-aciliminre vezet a **168a-q** β -acilamido-1,3-dion származékokhoz (39. ábra).



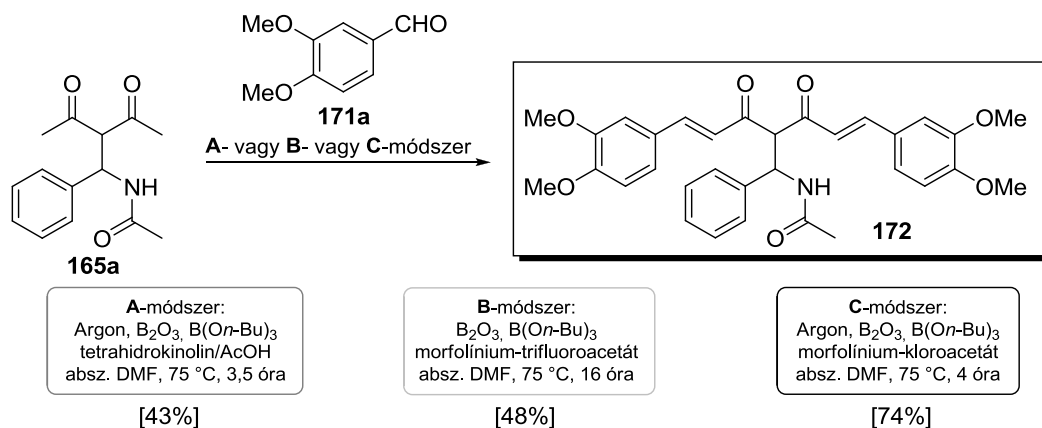
39. ábra

Egy reprezentatív példán keresztül szemléltettük a **165n** terminális aktivált kettős kötést tartalmazó építőelem Heck reakcióval történő további diverzifikálhatóságát (40. ábra). Katalitikus mennyiségű 10 mol% Pd(OAc)₂ és 40 mol% PPh₃ jelenlétében, reagensként 1.5 ekvivalens jódbenzolt (**169**) használva a **170** fahéjamid származékot jó hozammal (71%) izoláltuk.



40. ábra

A munka következő fázisában egy modell reakció révén vizsgáltuk a dupla aldol (Claisen-Schmidt) kondenzáció kivitelezhetőségét a megfelelő **172** kurkuminoid előállítása céljából (41. ábra). Kiindulási vegyületként a **165a** Mannich intermedier, valamint veratraldehid (**171a**) szolgált. Három kísérleti összeállításban vizsgáltuk a reakciót, melyek alapvetően a katalizátor minőségében tértek el, a kurkumin szintézisek során általánosan alkalmazott bórsav anhidrid (0,75 ekvivalens), illetve tributil-borát (2 ekvivalens) mennyisége mindhárom esetben megegyezett. Az **A**-módszer esetén *in situ* előállított 1,2,3,4-tetrahidrokinolin (THK)/AcOH kombinációt, a **B**-módszer esetén előzetesen kipreparált morfolínium-trifluoroacetátot, míg a **C**-módszer esetén a szakirodalomban eddig nem ismertetett morfolínium-kloroacetátot használtunk promóterként 25-100 mol%-os tartományban. Az **A**-módszer esetén a **172** analógot 3,5 órát követően közepes (43%) hozammal nyertük 25 mol% THK és 75 mol% AcOH alkalmazása mellett. A THK mennyiségének növelése (50, 75 és 100 mol%) komplex reakcióelegy keletkezését eredményezte. A **B**-módszer esetén a dupla aldol kondenzáció 16 óra alatt 25 mol% morfolínium-trifluoroacetát jelenlétében, 75 °C -on rendkívül gyenge konverzióval játszódtott le. A katalizátor mennyiségének növelését (50, 75 és 100 mol%) követően 1 ekvivalens morfolínium-trifluoroacetát alkalmazása bizonyult a leghatékonyabbnak, azonban 16 óra kevertetést követően szignifikáns hozamnövekményt (**A**: 43%; **B**: 48%) az **A**-módszerhez képest nem tapasztaltunk. Továbbá a **172** termék tisztítása oszlopkromatográfiás módszerrel nehezen volt kivitelezhető. A hőmérséklet (100 és 120 °C) növelése 1 ekvivalens szekunder amin só jelenlétében az előbbiekhöz hasonlóan komplex reakcióelegyet eredményezett.



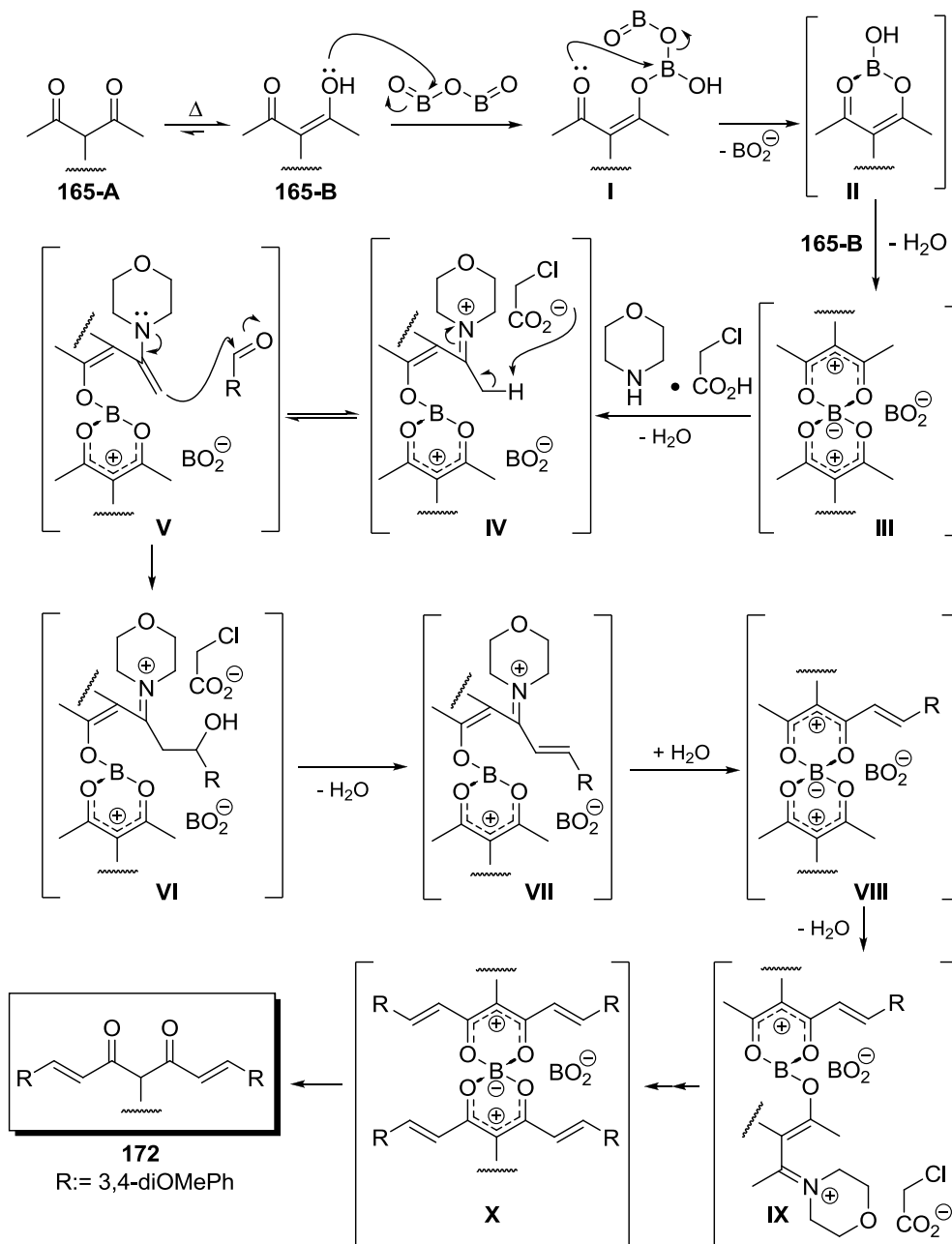
41. ábra

A tesztelt eljárások közül a **C**-módszer bizonyult a leghatékonyabbnak, mely során 25 mol% morfolínium-kloroacetát alkalmazása 75 °C-on, 4 óra kevertetést követően a kívánt **172** kurkumin származékot jó (74%) hozammal eredményezte. A módszer további előnye, hogy alkalmazott körülmények között a **172** termék kivált a reakcióelegyből, mely gyártásfejlesztési szempontból előnyös tulajdonságnak tekinthető.

A **C**-módszer az alábbiakban összegezhető; argon atmoszféra alatt a **165a** Mannich intermedier abszolútizált *N,N*-dimetilformamiddal készített oldatához 0,75 ekvivalens bórsav anhidridet (B₂O₃) adagolunk, majd az elegyet 75 °C-on kevertetjük 30 percen át. A sárga oldathoz 75 °C-on a **171a** aromás aldehidet (2 ekvivalens) és 2 ekvivalens *n*-tributil-borátot (B(On-Bu)₃) adunk, majd 5 perc kevertetést követően 25 mol% morfolínium-kloroacetátot (előállítás: 1 ekvivalens morfolin és 1 ekvivalens klórecetsav, dietil-éter, 0 °C, 1 óra, szűrés) adagolunk a rendszerhez. A reakcióelegyet 4 órán keresztül, inert atmoszféra alatt, 75 °C-on kevertetjük. Ezt követően az oldatot szobahőmérsékletre hűtjük, majd a kialakult bór-komplex elbontásának céljából a rendszerhez 5 m/m%-os vizes ecetsavoldatot csepegtetünk, ezt követően az elegyet 5 percig kevertetjük szobahőmérsékleten. A heterogén reakcióelegyet 1 órán át erősen kevertetjük 75 °C -on, majd szobahőmérsékletre hűtjük. A kivált nyersterméket vákuumon szűrjük, vízzel mossuk és szárítjuk. A száraz nyersterméket Et₂O/EtOH/CHCl₃ elegyben átkristályosítjuk.

Amint az **5.2.** fejezetben említettem, a kurkumin szintézis mechanizmusára vonatkozó irodalmi háttér meglehetősen hiányos és ellentmondásos, mely részint a folyamat összetettségével magyarázható. Az általunk fejlesztett szintetikus eljárás feltételezett mechanizmusát a 42. ábra szemlélteti.

A reakciósor nyitó lépése a bórsav anhidrid (B_2O_3) addíciója a **165B** enolra. Az **I** bór-enolát észterre a karbonil csoport egy *O*-datív kötessel intramolekulárisan addícionálódik. A **II** bórsav származékra egy újabb molekula **165B** vízvesztéssel addícionálódik egy kovalens, illetve egy datív kötés révén. A **165B** bór általi "maszkírozásának" kettős célja van; egyrészt a stabil enol forma kialakítása, mely a fokozott reaktivitású centrális C-atom nukleofilitását dezaktiválja, így a terminális C-atomokon keresztül hajthatunk végre kapcsolásokat; másrészt a bór-komplexben az elektronhiányos 1,3-dikarbonil kialakítása, mely egy esetleges nukleofil-katalízis kivitelezhetőségét segíti elő.

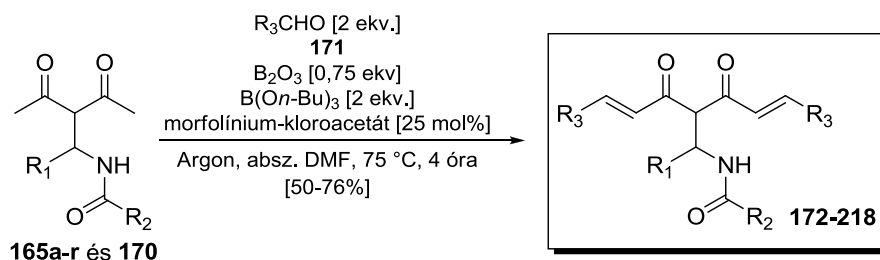


42. ábra

A keletkező ikerionos **III** spirociklusos bór-komplexben a metaborát ion (BO_2^-) állandó jelenléte biztosítja a töltés kiegyenlítődést. A morfolínium-kloroacetát katalizátor az elektronhiányos karbonilra történő kondenzációja a datív kötés mentén átmenetileg felnyitja a **III** komplex egyik gyűrűjét. A **IV** iminium ion egy tautomérián keresztül az **V** énamin köztiterméké alakul, melynek aldol addíciója vezet a **VI** intermedierhez. Vízeliminációt követően a **VII** iminium ion hidrolízise ketonná, majd a stabilizációt biztosító spiro bór-komplex visszaalakulása a karbonil *O*-atom datív kötésén keresztül vezet a **VIII** átmeneti állapothoz. Az első aldol kondenzációt követően a regenerálódott szekunder amin só az előzőekhez hasonlóan kondenzálódik a **VIII** komplex egy másik karbonil C-atomjára. A **IX** iminium ionban az előbbieken vázolt énamin aktiválás–aldol kondenzáció–iminium hidrolízis–komplex újrendeződés szerinti szintetikus szekvenciát követően épül ki a második C-C kettős kötés. A maradék két "kar" kiépülése a fent vázolt mechanizmus alapján mehet végbe, majd az **X** négy olefinkötést tartalmazó bór komplex enyhe savas hidrolízise vezet a **172** kurkumin származékhoz.

Feltételezésünk szerint az általánosan használt *n*-tributil-borát additív egyfajta "víz pufferként" szerepelhet a reakcióban; nagyobb, több ekvivalensnyi mennyiségű víz jelenléte az átmeneti bór-komplex reakció közbeni hidrolíziséhez vezethet, azonban katalitikus mennyiségű víz jelenléte az iminium intermedierek hidrolíziséhez szükséges.

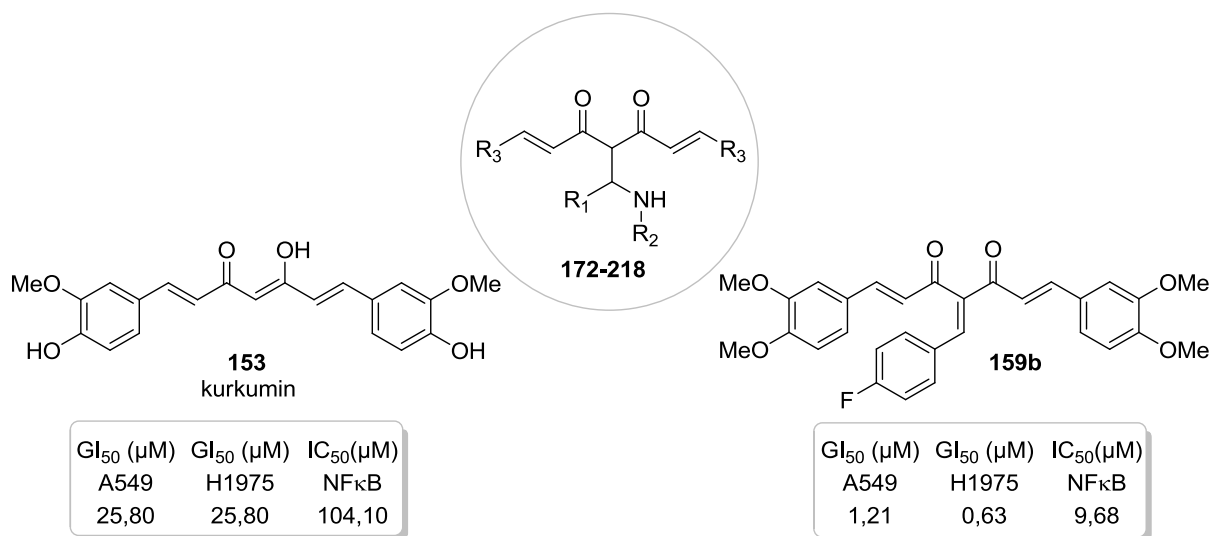
A munka további szakaszában az általunk fejlesztett organokatalitikus Claisen-Schmidt kondenzációs protokoll felhasználásával egy 47 tagú kurkuminoid könyvtár szintézisét hajtottuk végre a megfelelő **165a-r** Mannich- és a **170** Mannich-Heck intermedierekből kiindulva (43. ábra). A szintézisek tervezése során R_1 , R_2 és R_3 diverzitási pontokat variáltuk. Az R_3 diverzitási pont felépítésében a kurkuminhoz hasonló szerkezet megtartására törekedtünk. A reakciókat minden esetben a **C**-módszer szerinti körülmények mellett hajtottuk végre. Argon atmoszféra alatt a **165a-r** és **170** kiindulási vegyületeket 30 percen át kevertettük bórsav anhidriddel (0,75 ekvivalens), majd *n*-tributil-borát (2 ekvivalens), a megfelelő **171** aromás aldehid (2 ekvivalens), valamint katalitikus mennyiségű (25 mol%) morfolínium-kloroacetátot adtunk a rendszerhez. A reakcióelegyeket 3,5 órán át kevertettük 75 °C-on, majd a bór-komplex elbontását híg AcOH-oldattal végeztük. Sok esetben tapasztaltunk termékkiválást a bontás során, melyek feldolgozásánál egyszerű szűrést és átkristályosítást alkalmaztunk. Amennyiben a nyers termék nem kristályosodott ki, a tisztítást oszlopkromatográfiás módszerrel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ eluenst használva végeztük. A **C**-módszert alkalmazva a **172-218** kurkumin analógokat közepes-jó termeléssel (50-76%) izoláltuk.



43. ábra

Az előállított 47 új, centrálisan szubsztituált kurkumin analógot az Avidin Kft. munkatársai *in vitro* citotoxicitási vizsgálatoknak vetették alá A549, valamint H1945 humán tüdőrákos sejtvonalakon. Mérési referenciaként az "anyavegyület" kurkumin (**153**), illetve a **159b** 4-arilidén származék szolgált. Továbbá vizsgálták a vegyületek NF- κ B protein komplex indukciójának gátlását is *in vitro* körülmények között rekombináns-, valamint humán makrofág-sejteken. Az NF- κ B egy sejtmagi faktor, amely a B sejtek "kappa" könnyű láncához kötődik, és szerepet játszik az immunválaszban (Sen, R., Baltimore, D. (1986) Cell, 46, 705-716.). A gyulladási folyamatokban, valamint a tumornövekedés során az NF- κ B aktiválódásának, és az öt szabályozó gének kifejeződésének indukciója fontos szerepet játszik.

A szerkezet-hatás összefüggések (SAR) ismertetéséhez az előállított **172-218** vegyületeket az R_2 szubsztituensek szerinti főcsoportokra tagoltuk (44. ábra, 7-11. táblázat). Ennek alapján az első osztály a legnagyobb diverzifikációval felépített acetamid származékok képezik (az R_1 és R_3 szubsztituensek változtatásával elkülönített 3 alcsoporttal rendelkezik ($\text{R}_2 := \text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, 30 vegyület). A második osztályt az akrilamidok ($\text{R}_2 := \text{C}(\text{O})\text{CHCH}_2$, 13 vegyület), míg a harmadik osztályt a fahéjamid származékok ($\text{R}_2 := \text{C}(\text{O})\text{CHCHPh}$, 4 vegyület) képezik. Az amidok biológiai potenciálját a kurkumin (**153**), és a szakirodalomból ismert, kiváló citotoxikus aktivitással rendelkező **159b** Knoevenagel-típusú kurkuminoid mért eredményeihez viszonyítottuk. Az *in vitro* GI_{50} érték a sejtnövekedést (A549 és H1975) 50%-ban gátló koncentrációt, míg az NF- κ B gátláshoz rendelt IC_{50} érték az 50%-os inhibitor koncentrációt jelöli.



44. ábra

I. csoport – Acetamid származékok (R_2 : = C(O)CH₃)

1. alosztály:

A munka első fázisában az R_1 változóval, R_3 : = 3,4-dimetoxifenil és R_2 : = acetil csoport rögzítésével 13 új acetamid származék citotoxikus hatását vizsgáltuk (7. táblázat). Az R_1 szubsztituens jelentése fenil-, *orto*-, *meta*- és *para*-helyzetben elektronszívó csoporttal szubsztituált, vagy diszubsztituált ((2,4)- vagy (3,4)-helyzetben) fenil csoport mellett bemutatunk elektronküldő (4-*n*-Bu- és 4-OAc-3-OMePh) és 3-brómtiofén gyűrűt tartalmazó származékot is. A szubsztituált származékok kevés kivételtől (**183** R_1 : = 4-COOH-fenil és **184** R_1 : = 4-OAc-3-OMePh vegyületek) eltekintve nagyobb citotoxikus aktivitást mutattak A549 és H1975 humán tüdőrákos sejtvonalakon (GI_{50} = 1,32-2,28 és 0,54-0,91 μM), mint az aromás szubsztituens nem tartalmazó **172** vegyület (R_1 : = Ph; GI_{50} = 3,35 és 1,39 μM). Mindazonáltal a **174** (R_1 : = 4-fluorofenil), a **177** (R_1 : = 3,4-difluorofenil), valamint a **182** (R_1 : = 4-(*n*-BuPh) származék (GI_{50} [A549] = 1,32, 1,50 és 1,60 μM; GI_{50} [H1975] = 0,54; 0,61 és 0,61 μM) megközelítette a **159b** referencia vegyület tumorellenes aktivitását (GI_{50} = 1,21 és 0,63 μM) mindkét vizsgált sejtvonalon. Meglepő módon a **179** vegyület (R_1 : = 4-CF₃Ph) (GI_{50} = 2,28 és 1,10 μM) gyengébb hatást mutatott, mint a többi elektronszívó szubsztituens (halogén; *m*-Br, *p*-Cl vagy *p*-F) származék, vagy mint a regioizomer **181** (R_1 : = 3-CF₃Ph) (GI_{50} = 1,65 és 0,69 μM). Ha a fenil csoportot 3-brómtiofén gyűrűvel helyettesítettük, akkor kétszeres citotoxikus aktivitás növekedést tapasztaltunk (**180**, GI_{50} = 1,61 és 0,66 μM), hasonlóan a fenil → 4-(*n*-Bu)-fenil cseréhez (**182**, GI_{50} = 1,50 és 0,61 μM). A másik elektronküldő

csoporttal szubsztituált példánk (**184**, $R_1 := 4\text{-OAc-3-OMePh}$) a **182** 4-(*n*-Bu)-fenil fragmenst tartalmazó vegyülethez képest bár gyengébb hatású, de hasonló koncentrációban mutat hatást ($GI_{50} = 3,94$ és $1,68 \mu\text{M}$), mint az **172** ($R_1 := \text{Ph}$) vegyület. Amennyiben $R_1 := 4\text{-COOH-fenil}$ egységet (**183** analóg) építettünk be a molekulába, akkor a citotoxikus hatás teljes eltűnését tapasztaltuk. Az 1. alosztály NF- κ B inhibícióját célzó kísérletek alapján a **182** 4-*n*-Bu-fenil származék ($IC_{50} = 10,56 \mu\text{M}$) a **159b** referencia vegyülethez képest ($IC_{50} = 9,68 \mu\text{M}$) kisebb, míg a többi esetben azonban nagyobb mértékű NF- κ B gátlás ($IC_{50} = 4,07\text{-}8,64 \mu\text{M}$) tapasztalható. Összességében a **172-184** vegyületek a **183** kivételével a kurkuminhoz (**153**, $IC_{50} = 104,1 \mu\text{M}$) képest két nagyságrenddel nagyobb inhibíciós hatást mutattak.

Kurkuminoidok 172-178		GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFκB^b	Kurkuminoidok 179-184		GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFκB^b
172 [74] ^b		3,35	1,39	4,07	179 [72] ^b		2,28	1,10	>10
173 [65] ^b		1,98	0,77	7,90	180 [51] ^b		1,61	0,66	7,35
174 [67] ^b		1,60	0,61	4,93	181 [60] ^b		1,65	0,69	7,59
175 [64] ^b		1,44	0,68	6,11	182 [52] ^b		1,50	0,61	10,56
176 [59] ^b		1,78	0,73	4,55	183 [72] ^b		>10	>10	>10
177 [70] ^b		1,32	0,54	6,23	184 [56] ^b		3,94	1,68	8,64
178 [57] ^b		1,76	0,91	>10					

^a: koncentráció μM -ban megadva

^b: izolált hozam [%]-ban megadva

7. táblázat

Az NF- κ B inhibíció szempontjából az alosztály legaktívabb vegyületei a kevésbé citotoxikus **172** ($R_1 := \text{fenil}$), a **174** ($R_1 := 4\text{-F-fenil}$) és a **176** ($R_1 := 3\text{-F-fenil}$) termékek, míg *in*

in vitro citotoxicitási szempontból a **174** (R_1 : 4-F-fenil) és **175** (R_1 : 3-Br-fenil) analógok voltak.

2. alosztály:

Olyan acetamid motívumot tartalmazó kurkuminoidokat is előállítottunk, ahol az R_1 mellett az R_3 diverzitási ponton is hajtottunk végre módosításokat, úgymint a dimetoxifenil molekularész valamelyik OMe csoportjának OH vagy OAc csoport cseréje. A 8. táblázatban az **185-192** előállított nyolc származékot és a szerkezetmódosítások biológiai eredményeit prezentáljuk. Az említett szerkezeti változtatások mellett a **188** és **191** vegyületeken (R_1 : fenil, R_3 : 4-OMe-3-OH-Ph vagy 3-OMe-4-OH-Ph; $GI_{50}[A549] = 1,81$ és $2,15 \mu M$, $GI_{50}[H1975] = 0,88-1,09 \mu M$) kívül mindegyik esetben csökkent a citotoxikus hatás ($GI_{50}[A549] = 1,81-4,53 \mu M$, $GI_{50}[H1975] = 1,09-2,10 \mu M$) az előző alosztály aktívabb tagjaihoz képest. Érdekesség, hogy a **190** vegyület (R_1 : 4-COOH-fenil) nem mutat citotoxikus aktivitást. Az előbbiekhöz hasonló tendencia figyelhető meg az NF- κ B gátlás tekintetében is; kizárólag a **185** vegyület (R_1 : 4-Cl-Ph, (R_3 : 4-OAc-3-OMe-Ph) esetén tapasztaltunk minimális pozitív változást ($IC_{50} = 4,49 \mu M$) az előző csoporthoz potensebb elemeihez képest.

Kurkuminoidok 185-188		GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFκB^b	Kurkuminoidok 189-192		GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFκB^b
185 [57] ^b		4,49	2,10	5,76	189 [62] ^b		3,56	1,63	8,94
186 [57] ^b		2,84	1,24	9,66	190 [53] ^b		>10	>10	>10
187 [56] ^b		3,37	1,58	8,78	191 [64] ^b		1,81	0,88	25,95
188 [64] ^b		2,15	1,09	7,44	192 [62] ^b		4,53	1,91	7,93

^a: koncentráció μM -ban megadva

^b: izolált hozam [%]-ban megadva

8. táblázat

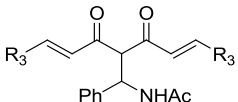
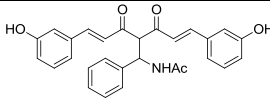
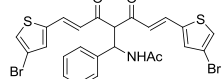
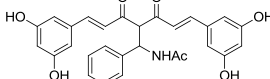
Emellett megállapítható, hogy a 2. alosztály elemei a **190** származék kivételével mind nagyobb mértékű *in vitro* sejtsztódás gátlást mutatnak a kurkuminhoz képest.

3. alosztály:

A továbbiakban olyan acetamid származékok szintézisét terveztük meg, melyekben a diverzifikációt további R_3 csoportok által biztosítjuk, valamint az R_1 : = fenil csoportot rögzítjük (9. táblázat). Heteroatomot tartalmazó, öttagú gyűrűs rendszereink közül a **194** (R_3 : = 3-bromotiofén) származék gyenge, a **197** (R_3 : = 2-hidroxi-etilfurán) analóg esetén nem mérhető citotoxikus hatás volt tapasztalható. Hasonlóan a R_3 : = 3,5-dihidroxifenil fragmenst tartalmazó **195** vegyület esetén nem mérhető, a R_3 : = 4-hidroxifenil egységgel rendelkező **196** származéknál gyengébb hatás detektálható a korábbi analógokhoz képest. Továbbá 3-metoxi-4-hidroxifenil alkalmazása az R_3 oldallánc kiépítésére (**201** vegyület) a hatás elvesztését vonja maga után (45. ábra). Optimális hatáserősséget két esetben tapasztaltunk; a **193** R_3 : = 3-hidroxifenil (GI_{50} [A549] = 1,22 μ M; GI_{50} [H1975] = 1,03 μ M), valamint a **198** R_3 : = 4-fluorofenil származékoknál (GI_{50} [A549] = 1,92 μ M; GI_{50} [H1975] = 0,92 μ M).

Amennyiben az R_1 : = 4-COOH-fenil csoportot rögzítettük (**199** és **200** vegyület, 45. ábra), a **190** vegyülethez (8. táblázat) analóg módon a citotoxikus hatás elvesztését tapasztaltuk. Ezen adatokból egyértelműen látszik, hogy a 4-COOH-fenil csoport pozíciótól független beépítése molekulába a citotoxicitás teljes megszűnésével jár.

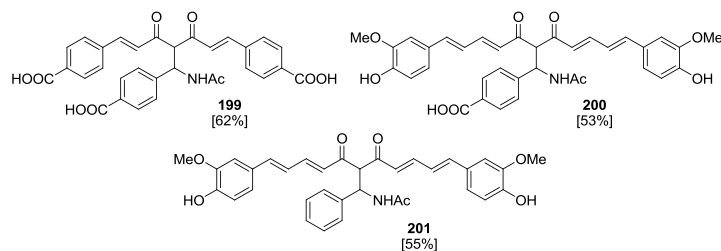
Fontos kiemelni, hogy a 3. alosztály tagjai közül a **193**, **194**, **196** és **198** analógok szintén nagyobb citotoxicitási jelleggel bírnak, mint az "anyavegyület" kurkumin (**153**).

								
Kurkuminoidok 193-195		GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFKB^a	Kurkuminoidok 196-198	GI_{50} A549^a	GI_{50} H1975^a	IC_{50} NFKB^a
193 [61] ^b		1,22	1,03	4,01	196 [62] ^b	6,81	3,70	12,21
194 [50] ^b		8,24	3,59	24,26	197 [51] ^b	>10	>10	>10
195 [53] ^b		>10	>10	>10	198 [72] ^b	1,92	0,92	4,36

^a: koncentráció μ M-ban megadva

^b: izolált hozam [%]-ban megadva

9. táblázat



45. ábra

II. csoport – Akrilamid származékok ($R_2 := C(O)CHCH_2$)

Az $R_2 := Acetil \rightarrow Akril$ cserével sikerült növelnünk a citotoxikus hatást; a **204** ($GI_{50}[A549] = 0,8 \mu M$, $GI_{50}[H1975] = 0,36 \mu M$), a **209** ($GI_{50}[A549] = 0,56 \mu M$, $GI_{50}[H1975] = 0,26 \mu M$), valamint az **213** ($GI_{50}[A549] = 0,58 \mu M$, $GI_{50}[H1975] = 0,29 \mu M$) kurkumin analógok esetén nanomólos GI_{50} értékeket kaptunk mind A549, mind H1975 tüdőrák sejtvonalakon (10. táblázat). Az említett három potens vegyület közül a **209** származék kiemelkedő *in vitro* tumorellenes hatása a kiváló NF- κ B gátlásban ($IC_{50} = 2,80 \mu M$) is megmutatkozott, így „lead” vegyületként kiemelve számos más biológiai tesztben is felhasználtuk a továbbiakban.

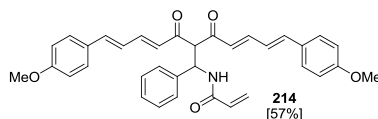
Az eddigi eredmények ismeretében elmondható, hogy ha az R_1 csoport fenil, 4-fluorofenil vagy 3- CF_3 -fenil csoport és/vagy az $R_3 := 3$ -hidroxifenil vagy 3,4-dimetoxifenil egység, akkor megfelelő tumorellenes hatású vegyület van a birtokunkban. Fontos kiemelni, hogy a II. csoport prominens tagjai (**204**, **209** és **213**) mind a kurkuminhoz, mind a **159b** referencia vegyülethez viszonyítva hatásosabbnak bizonyultak *in vitro* citotoxicitás, és NF- κ B gátlás vonatkozásában egyaránt.

Kurkuminoidok 202-207			GI ₅₀ A549 ^a	GI ₅₀ H1975 ^a	IC ₅₀ NFkB ^a	Kurkuminoidok 208-213			GI ₅₀ A549 ^a	GI ₅₀ H1975 ^a	IC ₅₀ NFkB ^a
202 [75] ^b			1,17	0,43	8,14	208 [58] ^b			17,29	3,04	55,43
203 [74] ^b			1,05	0,32	5,59	209 [60] ^b			0,56	0,26	2,80
204 [70] ^b			0,80	0,36	5,16	210 [64] ^b			>10	>10	>10
205 [70] ^b			>10	>10	>10	211 [53] ^b			>10	>10	>10
206 [65] ^b			2,84	1,24	9,66	212 [52] ^b			3,34	1,94	>10
207 [67] ^b			>10	>10	>10	213 [62] ^b			0,58	0,29	5,45

^a: koncentráció μM -ban megadva

^b: izolált hozam [%]-ban megadva

10. táblázat



46. ábra

III. csoport – Fahéjamid származékok ($R_2 = \text{C(O)CHCHPh}$)

A Heck reakcióval előállított **170** intermedierből további négy származékot szintetizáltunk (11. táblázat). Az adatokból megállapítható, hogy az akrilamid \rightarrow fahéjamid szerkezeti átalakítással nem fokoztuk a citotoxikus aktivitást. Az **215** analóg tumorellenes hatása ($\text{GI}_{50} = 0,67$ és $0,32 \mu\text{M}$) bár kimagasló a könyvtár egyéb tagjaihoz képest, azonban szignifikánsan nem tér el a **209** "lead" vegyület mért adataitól ($\text{GI}_{50} = 0,56$ és $0,26 \mu\text{M}$). Ezzel szemben a **202** (10. táblázat) és **218** ($R_3 := 3,4\text{-diOMe-fenil}$) vegyületek összehasonlításakor már jelentős hatáscsökkenést tapasztaltunk. Összességében elmondható, hogy az akrilamid \rightarrow fahéjamid csere a biológiai hatás romlásával jár, így nem javasolt a további optimalizációban.

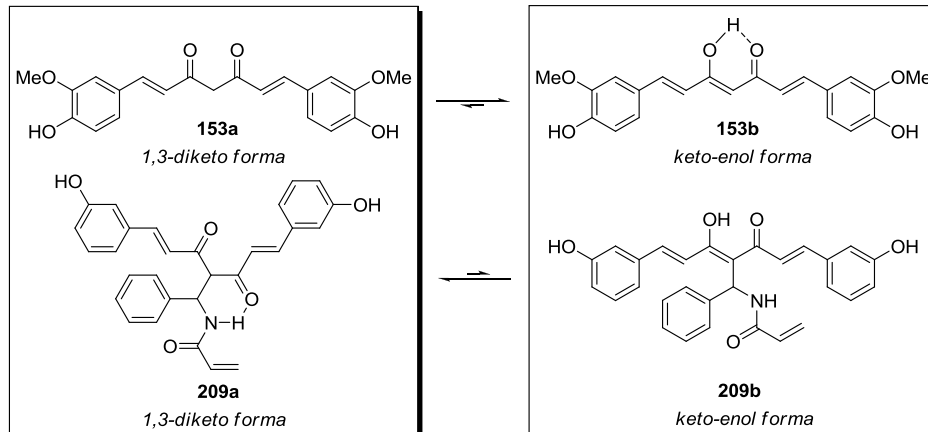
Kurkuminoidok 215-218		GI ₅₀ <u>A549</u> ^a	GI ₅₀ <u>H1975</u> ^a	IC ₅₀ <u>NFκB</u> ^a
215 [52] ^b		0,67	0,32	4,76
216 [53] ^b		>10	>10	>10
217 [55] ^b		12,84	5,01	>10
218 [70] ^b		5,76	0,67	>10

^a: koncentráció μM-ban megadva

^b: izolált hozam [%]-ban megadva

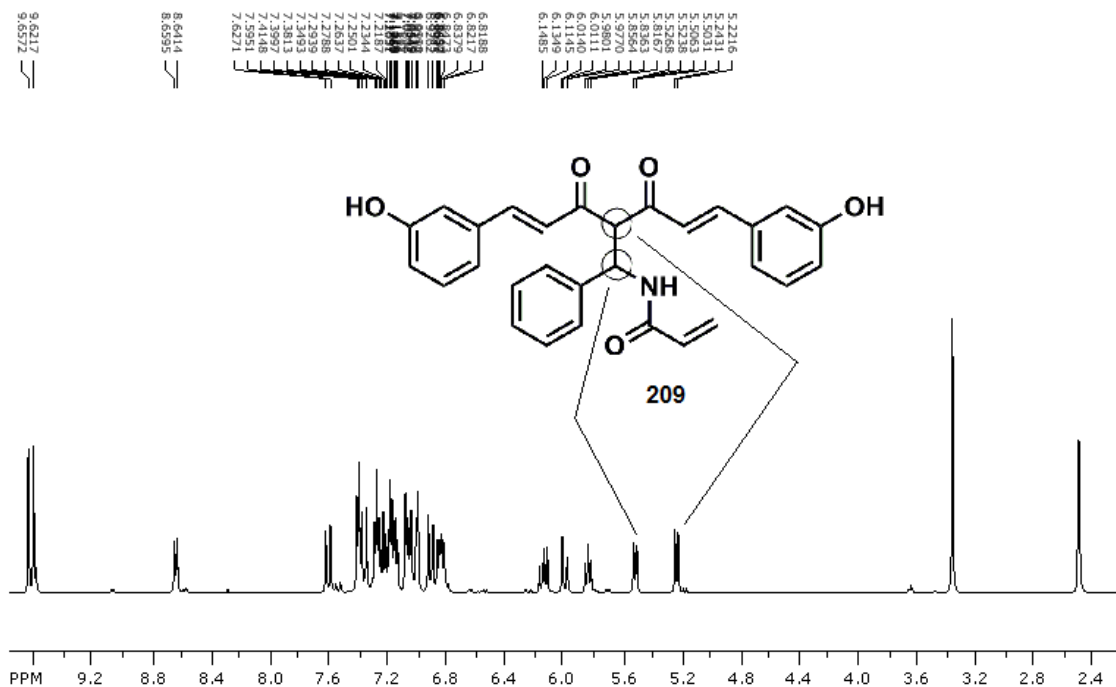
11. táblázat

Az előállított **172-218** analógok szerkezetigazolása NMR spektroszkópia (¹H, ¹³C), illetve tömegspektrometria (MS) alkalmazásával történt.



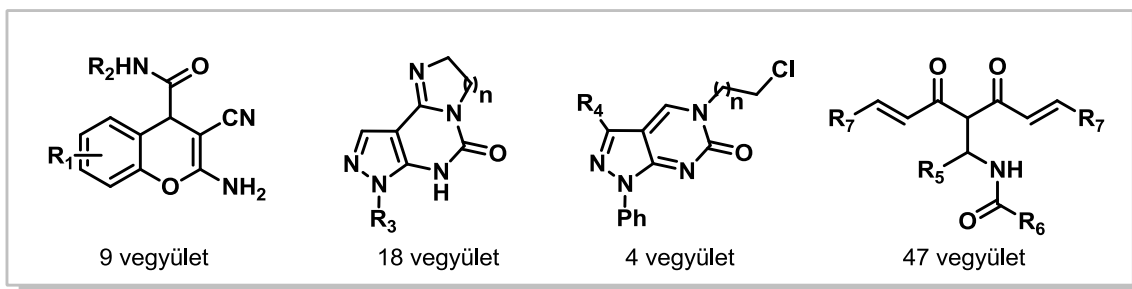
47. ábra

Az NMR vizsgálatokból (¹H- és ¹³C NMR, DMSO-*d*₆) egyértelműen kiderült, hogy a **209** kurkuminoid szerkezetét tekintve 1,3-diketo vegyületnek felel meg, egyensúlyi enolizáció jelét a detektálási tartományon belül nem tapasztaltuk (47 és 48. ábra). Ezzel szemben a kurkumin (**153**) esetén köztudottan a keto-enol forma a domináns (lásd 5.2. fejezet) (48. ábra). A szokatlan jelenség magyarázata lehet az 1,3-diketo forma karbonil *O*-atomja és az amid *NH*-között létrejövő intramolekuláris *H*-kötés, mely egy stabil, kvázi hattagú gyűrűs rendszert alakít ki. A kurkumin (**153**) esetén az enol formát a karbonil *O*-atom stabilizálja.



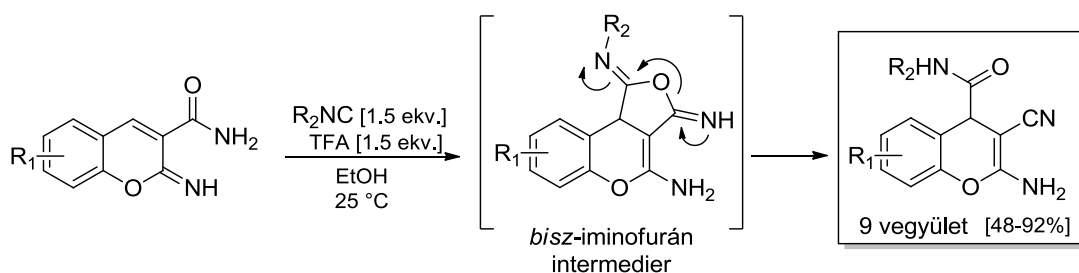
6. Összefoglalás

Doktori munkám során 78 új *O*-, ill. *N,N*-heterociklusos (kromének, pirazolo [3,4-*d*]pirimidin származékok), valamint centrálisan szubsztituált kurkumin származékok szintéziseit valósítottam meg dominó- és "one-pot" multikomponensű szintetikus stratégiák alkalmazásával (49. ábra).



49. ábra

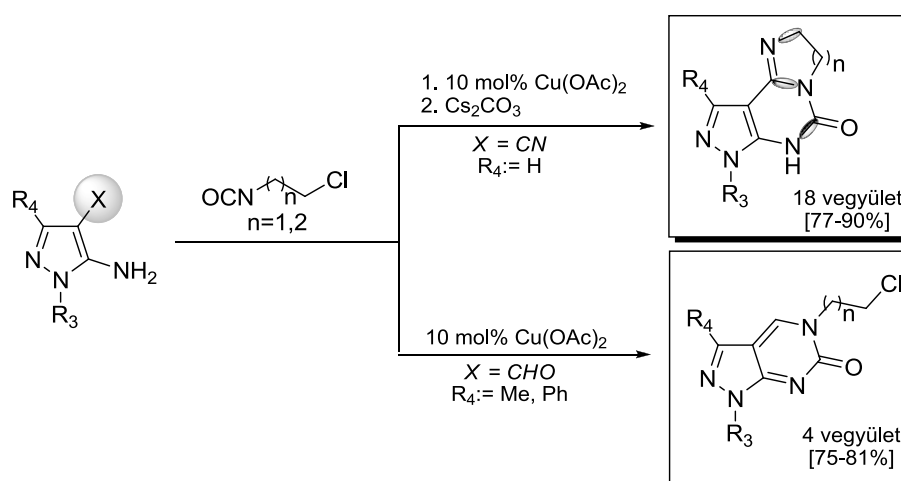
A munka első fázisában (3.7. fejezet) a 2-imino-kromén-3-karboxamidok izocianidokkal történő 1,4-konjugált addíciós átalakításait vizsgáltuk. A konjugált addíció optimalizálásakor Lewis- és Brønsted-savakat teszteltük. A reakció finomhangolását követően (1,5 ekvivalens TFA, 1,5 ekvivalens izocianid, EtOH, szobahőmérséklet) három izocianidot és három iminokromén származékot felhasználva 9 új 2-amino-3-ciano-4-karboxamido-4*H*-kromén származék szintézisét valósítottuk meg közepes-jó (48-92%) termelésekkel (50. ábra).



50. ábra

Az új, izocianid alapú szintetikus protokoll fejlesztésén túl a termékeket 30-77%-os összhozammal egy „one-pot” háromkomponensű reakcióval is előállítottuk (szalicilaldehidek, cianacetamid és izocianidok), amely egy szekvenciális Knoevenagel kondenzáció/intramolekuláris Pinner reakció/izocianid 1,4-konjugált addíció/intramolekuláris *O*-befogás/karboxamid→karbonitril konverzióként értelmezhető.

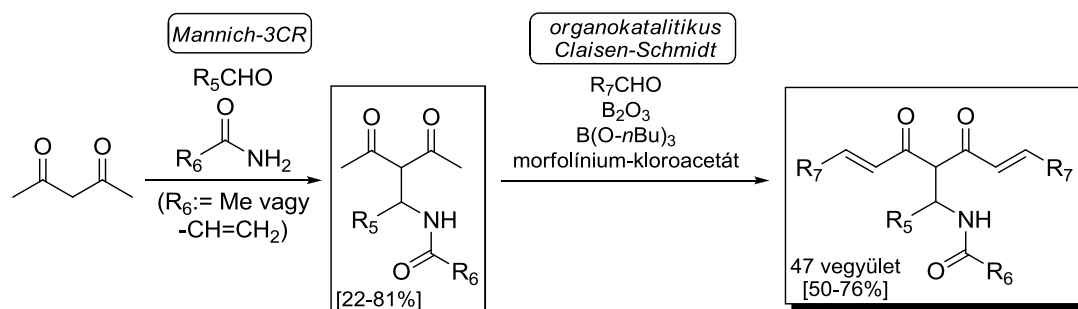
A munka második szakaszában (4.4. fejezet) az 1,2-bifunkciós 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-karbonitrilek, valamint a 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidok klóralkil-izocianátokkal történő dominó gyűrűzárási reakcióit vizsgáltuk (51. ábra). Az 5-aminopirazol származék amino csoportjának rendhagyóan gyenge nukleofil jellegét tapasztalva az izocianát aktiválási lehetőségeit vizsgáltuk katalitikus mennyiségű Lewis savakkal. A kísérletek során a Cu(OAc)₂ alkalmazása bizonyult a legmegfelelőbbnek. A réz(II)-katalizált urea képződés kiváló konverziójának, valamint rövid reakcióidejének következtében további kísérleteinket az urea intermedier izolálása nélkül, egy "one-pot" eljárás fejlesztésére fókuszáltuk, valamint bázikus additívek hatását vizsgáltuk a dominó gyűrűzárási folyamatra, amely során Cs₂CO₃ alkalmazása bizonyult a leghatékonyabbnak. Az optimális reakciókörülményekkel (10 mol% Cu(OAc)₂, 1,2 ekvivalens Cs₂CO₃, 10 perc) egy 18 tagból álló pirazolo[3,4-*d*]pirimidin alapú molekulakönyvtárat építettünk fel 77-90%-os izolált hozammal. A tandem gyűrűzárási protokoll kiterjeszhetőségét vizsgáltuk 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidokra is. A várt triciklusos végtermékek helyett a biciklusos pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-6(5*H*)-onok keletkezését tapasztaltuk, amely egy szintetikus alternatívát biztosít *N,N*-biciklusos vegyületek gyors és hatékony előállítására. Az általunk megfigyelt réz(II)-katalizált folyamat mechanizmusára javaslatot is tettünk, melynek alapját egy- vagy kétmagvú réz(II)-komplexeken keresztüli izocianát elektrofil aktiválás képezi.



51. ábra

A kísérleti munka harmadik részében (5.5. fejezet) 47 új, centrálisan (*C*-4) szubsztituált kurkumin származékot állítottunk elő. A megfelelő szerkezeti sokszínűséget "one-pot" Mannich háromkomponensű reakciók révén teremtettük meg, a prekursor

β -acilamido-1,3-dion származékokat 22-81%-os hozammal állítottuk elő. Emellett egy reprezentatív akrilamid származékon keresztül szemléltettük a terminális aktivált kettős kötést tartalmazó építőelem Heck reakcióval történő további diverzifikálhatóságát is. A kurkuminoidokhoz vezető dupla aldol kondenzáció (Claisen-Schmidt reakció) kivitelezésére egy hatékony morfolínium-kloroacetát-katalizált eljárást fejlesztettünk ki, a reakciómechanizmusra javaslatot tettünk, a megfelelő származékokat közepes-jó termeléssel (50-76%) izoláltuk. (52. ábra).

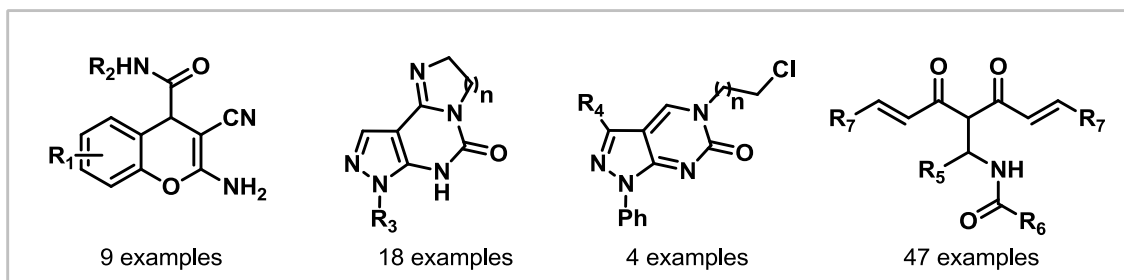


52. ábra

Az előállított 47 új, centrálisan szubsztituált kurkumin analógot az Avidin Kft. munkatársai *in vitro* citotoxicitási vizsgálatoknak vetették alá A549, valamint H1945 humán tüdőrákos sejtvonalakon. Továbbá vizsgálták a vegyületek NF- κ B protein komplex indukciójának gátlását is *in vitro* körülmények között. A mért *in vitro* adatok ismeretében a szerkezet-hatás összefüggéseket megállapítottuk, és a kurkuminoid könyvtár legprominensebb tagját, mint "lead" vegyületet ($\text{GI}_{50}[\text{A549}] = 0,56 \mu\text{M}$, $\text{GI}_{50}[\text{H1975}] = 0,26 \mu\text{M}$, NF- κ B gátlás ($\text{IC}_{50} = 2,80 \mu\text{M}$) kiválasztottuk további vizsgálatokhoz. Emellett a méretnövelést 40 milimólos tartományig sikeresen optimalizáltuk; a „lead” vegyületet 60%-os hozammal, valamint kitűnő NMR-tisztasággal (>98%) szintetizáltuk. A feldolgozás során egyszerű szűrést és átkristályosítást alkalmaztunk, oszlopkromatográfiai módszer alkalmazása nem volt szükséges.

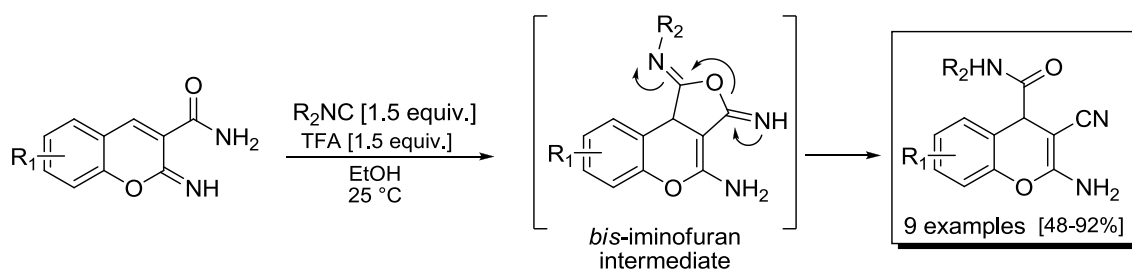
7. Summary & Outline

In summary, the synthetic elaboration of 78 novel compounds, including *O*- and *N,N*-heterocycles (4*H*-chromenes, pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidinones), as well as *C*-4 modified curcumin species using one-pot multicomponent and domino synthetic strategies has been discussed (Scheme 49.).



Scheme 49.

The first experimental part (Chapter 3.7.) discloses a specific conjugate addition/*O*-trapping rearrangement sequence between 2-iminochromene-3-carboxamides and isocyanides. In the course of the optimization, a variety of Lewis- and Brønsted acids were employed in order to trigger the 1,4-conjugate addition. Upon tuning the reaction conditions (1.5 equivalents of TFA and isocyanide each, EtOH, RT), the synthesis of nine novel 2-amino-3-cyano-4-carboxamide-4*H*-chromene frameworks was completed in moderate to good yields (48-92%) by means of three isocyanide and three 2-iminochromene building blocks (Scheme 50.).

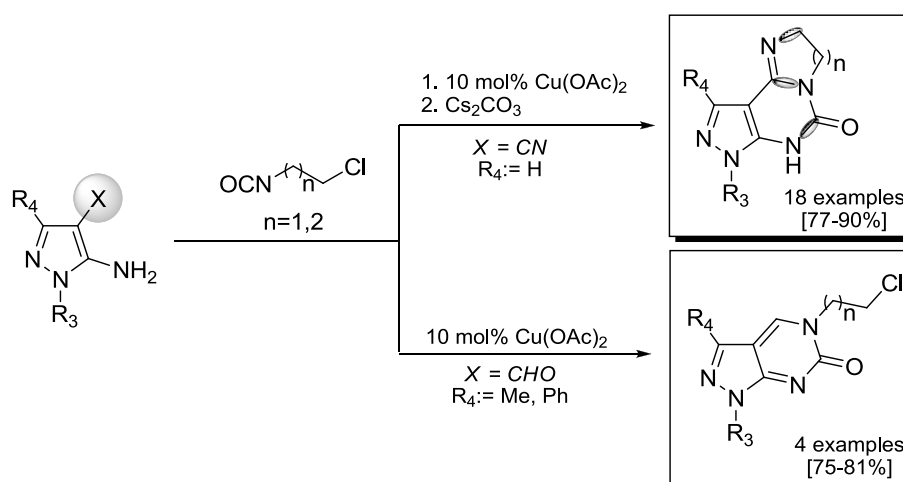


Scheme 50.

Besides the development of a novel isocyanide-based approach, the products were also synthesized *via* a one-pot three-component reaction of salicylaldehydes, cyanoacetamide and isocyanides with overall yields up to 77%. The tandem multicomponent reaction can be elucidated as a one-pot Knoevenagel condensation/intramolecular Pinner reaction followed by

an isocyanide 1,4-conjugate addition/intramolecular *O*-trapping rearrangement (carboxamide→carbonitrile conversion) sequence.

The second experimental session (Chapter 4.4.) deals with the domino annulations of 5-amino-1-aryl-1*H*-pyrazol-4-carbonitriles and 3-substituted 5-amino-1-phenyl-1*H*-pyrazol-4-carbaldehydes with chloroalkyl isocyanates (Scheme 51.). We investigated the catalytic activation of isocyanates towards amine-isocyanate coupling by Lewis acids due to the extremely low nucleophilicity of 5-aminopyrazoles observed in the course of the project. Followed by an extensive catalyst screen, the use of catalytic amount of copper(II)-acetate proved to be highly efficient. Due to the excellent conversion and short reaction time of the copper(II)-catalyzed urea formation observed, further efforts were focused on the one-pot realization of the domino process without isolating the corresponding intermediates. Moreover, the effect of various basic additives was examined in order to trigger the domino ring-closure process. The use of Cs₂CO₃ in a one-pot fashion was found to be the most efficient way to obtain pyrazole-fused imidazo[1,2-*c*]pyrimidinones. By using the well-established and rapid one-pot protocol (10 mol% of Cu(OAc)₂ and 1.2 equivalent of Cs₂CO₃, 10 min), an 18-membered novel pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine library was successfully generated with isolated yields in the range 77-90%. Experiments were then performed to reveal whether β-aminocarbaldehydes as bifunctional building blocks can be subjected to a copper(II)-catalyzed domino transformation with chloroalkyl isocyanates.

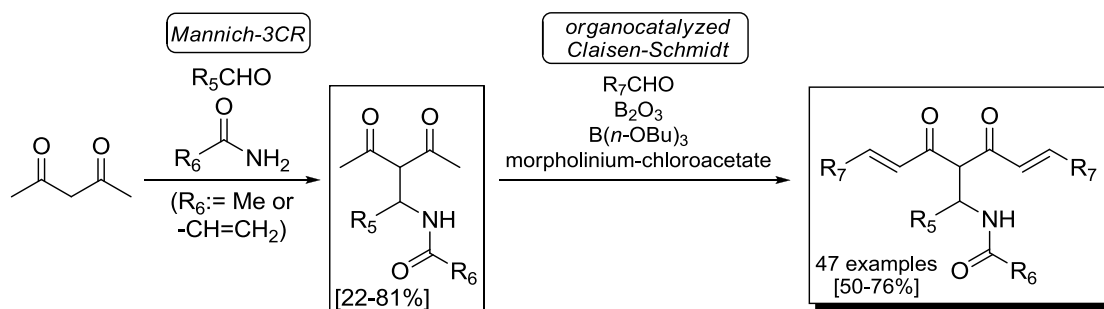


Scheme 51.

Interestingly, the formation of bicyclic pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine-6(5*H*)-one species were observed instead of the anticipated tricycles when pyrazole-based β-aminocarbaldehydes were employed. Nevertheless, the mechanisms of the copper-catalyzed amine–isocyanate coupling

and the following domino processes were proposed based on an isocyanate electrophilic activation through mono- and dinuclear copper(II)-transition complexes.

The final experimental part (Chapter 5.5.) describes the synthesis of 47 novel C-4 substituted curcumin derivatives. In order to prove the appropriate structural diversity, the precursor β -acylamide-1,3-diones were synthesized *via* a modified Mannich three-component reaction in yields of 22-81%. In addition, a Mannich intermediate possessing an activated terminal double bond was subjected to Heck-coupling to demonstrate further variability. Afterwards, the construction of the curcumin backbone was achieved through an improved morpholinium-chloroacetate-catalyzed double aldol condensation (Claisen-Schmidt reaction). Based on the well-established protocol, a series of novel curcuminoids were synthesized in moderate to good yields (50-76%) (Scheme 52.).



Scheme 52.

The *in vitro* anti-proliferative activity of the synthesized curcumin analogs was tested by Avidin Ltd. in A549 and H1975 lung adenocarcinoma cells using viability assays. Furthermore, a strong correlation of the cytotoxic potential of the analogs was found followed by the detection of TNF α -induced NF- κ B inhibition *in vitro*. Structure-activity relationships were established based on the obtained *in vitro* data, and the most prominent member of the library was assigned as lead compound ($\text{GI}_{50}[\text{A549}] = 0.56 \mu\text{M}$, $\text{GI}_{50}[\text{H1975}] = 0.26 \mu\text{M}$, NF- κ B inhibition ($\text{IC}_{50} = 2.80 \mu\text{M}$)) for further investigations. In addition, the scale-up trials of the lead compound in 40 mmol amount were successfully accomplished in isolated yield of 60% and with excellent NMR purity (>98%). It should be emphasized, that only simple filtration and recrystallization was applied during the work-up procedure.

8. Anyagok, módszerek

A ^1H és ^{13}C NMR spektrumokat CDCl_3 és $\text{DMSO-}d_6$ oldatokban, 5 mm-es mintacsőben, szobahőmérsékleten, Bruker Avance-500 típusú spektrométerrel, az alkalmazott oldószerek deutérium jelére 'lock'-olva, TMS belső standard mellett vettük fel. Az IR spektroszkópiai méréseket egy PerkinElmer Spectrum 100 FT IR spektrométerrel végeztük. A tömegspektrometriai mérések ESI pozitív és negatív módban, egy tripla kvadrupól tömegspektrométer használatával, ESI pozitív és negatív módban készültek. Az elemanalitikai mérések Perkin-Elmer 2400 típusú készülékkel végeztük. A **133a-i** vegyületeket Teledyne Isco CombiFlash[®] Rf flash kromatográfiás készülékkel tisztítottuk. A mikrohullámú kísérleteket CEM Discover[™] Microwave System típusú reaktorokban hajtottuk végre. Az olvadáspontokat Kofler típusú olvadáspontmérő készülékkel határoztuk meg, az értékek nem korrigáltak. A reakciók és a tisztítási eljárások kivitelezéséhez felhasznált vegyszerek és oldószerek kereskedelmi forgalomból (Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, AK Scientific) származtak.

Az Avidin Kft. a **172-218** vegyületek *in vitro* citotoxicitási vizsgálataihoz használt A549 és H1975 (humán tüdő adenokarcinóma) sejtvonalakat 10%-os FBS-t (újszülött borjú savó, Gibco) tartalmazó DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco) tápfolyadékban növesztették. A sejteket 96-lyukú mikrotitráló lemezekbe helyezték (6000 sejt/lyuk), majd 24 óra múlva a sejteket a **172-218** anyagokkal 72 órán át inkubálták. A kísérlet végén a sejtek életképességét MTS mérésekkel vizsgálták (Promega). A kezelt sejtek életképességét a kezeletlen (DMSO kontroll) sejtek életképességéhez viszonyították. Az *in vitro* NF- κ B aktivitás mérésekhez a B16 (egér melanóma) sejtvonalat 10%-os FBS-t (újszülött borjú savó, Gibco) tartalmazó RPMI (Lonza) tápfolyadékban növesztették. Az NF- κ B riporter sejtvonalat Lipofectamine 2000 (Invitrogen) reagens segítségével, a pNF- κ B-Luc/neo riporter transzfektálásával hozták létre. A stabil sejtvonalakat G418 (Sigma) segítségével szelektálták. A szelektált B16/NF- κ B-Luc sejteket 5×10^4 sejt/lyuk sűrűségben luminometriás mikrotiter lemezekben tenyésztették 24 órán keresztül. A sejteket 100 Unit/ml TNF-alfa (tumor nekrosis faktor) segítségével aktiválták. A vizsgált **172-218** kurkumin analógokat az aktiválással egyidejűleg adták a sejtekhez. 6 óra inkubációt követően a sejtekről eltávolították a tápoldatot, majd mosás után a sejteket Cell Culture Lysis Reagent (20 μ l/lyuk; Promega) alkalmazásával lizálták. A szubsztrát (20 μ l/lyuk; Promega) hozzáadása után a luciferáz aktivitást egy Luminoskan Ascent (Thermo Electron Corporation) luminométerrel mérték. A sejtek életképességét rutinszerűen vizsgálták a tripánkék festék kizárásos módszerrel annak érdekében, hogy a mérések mindig élő sejteken történjenek.

9. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, **Prof. Dr. Tóth Gábor** intézetvezető egyetemi tanárnak, **Dr. Puskás Lászlónak** (Avidin Kft.) és **Dr. Kanizsai Ivánnak** (Avidin Kft.) a doktori munkámhoz nyújtott önzetlen segítségükért, valamint munkám professzionális irányításáért. Továbbá köszönettel tartozom az Avidin Kft. összes jelenlegi és volt dolgozójának személyes és szakmai hozzájárulásukért egyaránt.

10. Irodalomjegyzék

1. Laurie S. Starkey, *Introduction to Strategies for Organic Synthesis*; Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, ISBN: 978-0-470-48409-8, **2012**.
2. L. F. Tietze, G. Brasche, K. M. Gericke, *Domino Reactions in Organic Synthesis*; Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, ISBN: 3-527-29060-5, **2006**.
3. L. F. Tietze, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 115–136.
4. L. F. Tietze, U. Beifuss, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1993**, 32, 131–163.
5. D. E. Fogg, E. N. dos Santos, *Coord. Chem. Rev.*, **2004**, 248, 2365–2379.
6. X. Q. Lewell, D. B. Judd, S. P. Watson, M. M. Hann, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1998**, 38, 511–522.
7. G. Müller, *Drug Discovery Today*, **2003**, 8, 681–691.
8. J.-Y. Ortholand, A. Ganesan, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 8, 271–280.
9. S. R. Wilson, A. W. Czarnik, *Combinatorial Chemistry: Synthesis and Application*; ISBN: 978-0-471-12687-4, Wiley-VCH: Weinheim, **1997**.
10. J. Zhu, H. Bienayme, *Multicomponent Reactions*; Wiley-VCH: Weinheim, **2005**.
11. R.V.A. Orru, E. Ruijter, *Synthesis of Heterocycles via Multicomponent Reactions I, Topics in Heterocyclic Chemistry*; ISBN 978-3-642-12674-1, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2010**.
12. J. E. Biggs-Houck, A. Younai, J. T. Shaw, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 14, 371–382.
13. C. Kalinski, H. Lemoine, J. Schmidt, C. Burdack, J. Kolb, M. Umkehrer, G. Ross, *Synthesis*, **2008**, 24, 4007–4011.
14. A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 3168.
15. E. Nenadjenko, *Isocyanide Chemistry: Applications in Synthesis and Material Science*; ISBN: 978-3-527-33043-0, Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, **2012**.
16. A. Dömling, *Chem. Rev.*, **2006**, 106, 17–89.
17. A. Dömling, W. Wang, K. Wang, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 3083–3135.
18. I. Akritopoulou-Zanze, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2008**, 12, 324–331.
19. A. S. Kiselyov, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 4851–4854.
20. I. Ugi, *Angew. Chem.*, **1960**, 72, 639.

21. S. Marcaccini, T. Torroba, *Nat. Protoc.*, **2007**, 2, 632–639.
22. I. Ugi, K. Offerman, *Chem. Ber.*, **1964**, 97, 2276–2281.
23. I. Kanizsai, Zs. Szakonyi, R. Sillanpää, F. Fülöp, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 9113–9116.
24. L. El Kaim, L. Grimaud, *Tetrahedron*, **2009**, 65, 2153–2171.
25. L. El Kaim, M. Gizolme, L. Grimaud, J. Oble, *Synlett*, **2007**, 465–469.
26. H. Bienayme, K. Bouzid, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, 37, 2234–2237.
27. K. Ley, U. Eholzer, R. Nast, *Angew. Chem.*, **1965**, 77, 544–545;
Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **1965**, 4, 519–520.
28. G. Morel, E. Marchand, A. Foucaud, L. Toupet, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 1721–1727.
29. K. Kobayashi, A. Takanohashi, K. Hashimoto, O. Morikawa, H. Konishi,
Tetrahedron, **2006**, 62, 10379–10382.
30. D. Behnke, R. Taube, K. Illgen, S. Nerdinger, E. Herdtweck, *Synlett*, **2004**, 688–692.
31. D. Bonne, M. Dekhane, J. Zhu, *Org. Lett.*, **2005**, 7, 5285–5288.
32. N. A. O. Williams, C. Masdeu, J. L. Díaz, R. Lavilla, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5789–5792.
33. M. N. Elinson, A. I. Ilovaisky, V. M. Merkulova, P. A. Belyakov, A. O. Chizhov,
G. I. Nikishin, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 4043–4048.
34. G. Shanthi, P. T. Perumal, *Synlett*, **2008**, 18, 2791–2794.
35. T. H. Babu, P. T. Perumal, *Synlett*, **2011**, 3, 341–344.
36. L. Moafi, S. Ahadi, A. Bazgir, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 6270–6274.
37. G. Shanthi, P. T. Perumal, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 6785–6789.
38. R. Ballini, G. Bosica, M. L. Conforti, R. Maggi, A. Mazzacani, P. Righi, G. Sartori,
Tetrahedron, **2001**, 57, 1395–1398.
39. I. Yavari, H. Djahaniani, F. Nasiri, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 9409–9412.
40. L. Zhao, G. Cheng, Y. Hu, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 7364–7367.
41. N. M. Evdokimov, A. S. Kireev, A. A. Yakovenko, M. Y. Antipin, I. V. Magedov,
A. Kornienko, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3443–3453.
42. J. B. Harborne (Ed.), *The Flavanoids – Advances in Research*; Chapman & Hall,
London, **1988**.
43. Sean C. Sweetman, *Martindale: The Complete Drug Reference, 37th Edition*,
ISBN: 978-0-85369-933-0, Pharmaceutical Press, United Kingdom, **2011**.
44. J. L. Wang, D. Liu, Z. Zhang, S. Shan, X. Han, S. M. Srinvasula, C. M. Croce,
E. S. Alnemer, Z. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, 97, 7124–7129.

45. W. Kemnitzer, J. Drewe, S. Jiang, H. Zhang, Y. Wang, J. Zhao, S. Jia, J. Herich, D. Labreque, R. Storer, K. Meerovitch, D. Bouffard, R. Rej, R. Denis, C. Blais, S. Lamothe, G. Attardo, H. Gourdeau, B. Tseng, S. Kasibhatla, S. X. Cai, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 6299–6310.
46. D. R. Anderson, S. Hegde, E. Reinhard, L. Gomez, W. F. Vernier, L. Lee, S. Liu, A. Sambandam, P. A. Snider, L. Masih, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 1587–1590.
47. N. T. Patil, V. S. Raut, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 6961–6964.
48. J.-F. Liu, J. Lee, A. M. Dalton, G. Bi, L. Yu, C. M. Baldino, E. McElory, M. Brown, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 1241–1244.
49. R. Yella, B. K. Patel, *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 754–763.
50. P. He, J. Wu, Y.-B. Nie, M.-W. Ding, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 8563–8570.
51. F. Leon, D. G. Rivera, L. A. Wessjohann, *J. Org. Chem.*, **2008** *73*, 1762–1767.
52. A. Foucourt, C. Dubouilh-Benard, E. Chosson, C. Corbière, C. Buquet, M. Iannelli, B. Leblond, F. Marsais, T. Besson, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 4495–4502.
53. E. P. Papadopoulos, *J. Heterocyclic Chem.*, **1980**, *17*, 1553–1558.
54. E. P. Papadopoulos, *J. Heterocyclic Chem.*, **1984**, *21*, 1411–1414.
55. F. Fülöp, H. Wamhoff, P. Sohár, *Synthesis*, **1995**, *7*, 863–867.
56. S. Ma, J. Li, Y. Sun, J. Zhao, X. Zhao, X. Yang, L. Zhang, L. Wang, Z. Zhou, *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 7999–8005.
57. A. D. Roy, A. Subramanian, R. Roy, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 382–385.
58. T. Mizuno, M. Mihara, T. Nakai, T. Iwai, T. Ito, *Synthesis*, **2007**, *16*, 2524–2528.
59. A. M. F. Oliveira-Campos, A. Sivasubramanian, L. M. Rodrigues, J. A. Seijas, M. P. Vázquez-Tato, F. Peixoto, C. G. Abreu, H. Cidade, A. Oliveira, M. Pinto, *Helv. Chim. Acta*, **2008**, *91*, 1336–1345.
60. B. E. Blass, A. Srivastava, K. R. Coburn, A. L. Faulkner, W. L. Seibel, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 3009–3011.
61. E. L. Moyano, J. P. Colomer, G. I. Yranzo, *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 3377–3381.
62. L.-J. Zhang, D.-X. Shi, J.-R. Li, *Synth. Commun.*, **2009**, *39*, 4010–4018.
63. F. Allouche, F. Chabchoub, M. Salem, G. Kirsch, *Synth. Commun.*, **2011**, *41*, 1500–1507.
64. Y. Tominaga, N. Yoshioka, S. Kataoka, N. Aoyama, T. Masunari, A. Miike, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 8641–8644.

65. A. M. Salaheldin, A. M. F. Oliveira-Campos, L. M. Rodrigues, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 1186–1195.
66. M. Chauhan, R. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*, 5657–5668.
67. A. Arora, E. M. Scholar, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **2005**, *315*, 971–979.
68. F. Manetti, C. Brullo, M. Magnani, F. Mosci, B. Chelli, E. Crespan, S. Schenone, A. Naldini, O. Bruno, M. L. Trincavelli, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 1252–1259.
69. K. D. Rice, M. H. Kim, J. Bussenius, N. K. Anand, C. M. Blazey, O. J. Bowles, L. Canne-Bannen, D. S.-M. Chan, B. Chen, E. W. Co, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 2693–2697.
70. A. Spreafico, S. Schenone, T. Serchi, M. Orlandini, A. Angelucci, D. Magrini, G. Bernardini, G. Collodel, A. Di Stefano, C. Tintori, M. Bologna, F. Manetti, M. Botta, A. Santucci, *FASEB J.*, **2008**, *22*, 1560–1571.
71. F. Carraro, A. Naldini, A. Pucci, G. A. Locatelli, G. Maga, S. Schenone, O. Bruno, A. Ranise, F. Bondavalli, C. Brullo, P. Fossa, G. Menozzi, L. Mosti, M. Modungo, C. Tintori, F. Manetti, M. Botta, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 1549–1561.
72. J. Kaplan, J. C. Verheijen, N. Brooijmans, L. Toral-Barza, I. Hollander, K. Yu, A. Zask, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 640–643.
73. M. Radi, E. Dreassi, C. Brullo, E. Crespan, C. Tintori, V. Bernardo, M. Valoti, C. Zamperini, H. Daigl, F. Musumeci, *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 2610–2626.
74. D. J. Kopecky, X. Hao, Y. Chen, J. Fu, X. Jiao, J. C. Jaen, M. G. Cardozo, J. Liu, Z. Wang, N. P. Walker, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 6352–6356.
75. B. B. Aggarwal, Y.-J. Surh, S. Shishodia, *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*; ISBN-13:978-0-387-46400-8, Springer, New York, **2007**.
76. T. Ak T, I. Gülçin, *Chem. Biol. Interact.*, **2008**, *174*, 27–37.
77. V. P. Menon, A. R. Sudheer, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **2007**, *595*, 105–125.
78. R. De, P. Kundu, S. Swarnakar, T. Ramamurthy, A. Chowdhury, G. B. Nair, A. K. Mukhopadhyay, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, *4*, 1592–1597.
79. X. Si, Y. Wang, J. Wong, J. Zhang, B. M. McManus, H. Luo, *J Virol.*, **2007**, *7*, 3142–3150.
80. Z. Sui, R. Salto, J. Li, C. Craik, P. R. Ortiz de Montellano, *Bioorg. Med. Chem.*, **1993**, *6*, 415–422.

81. C. V. Martins, D. L. da Silva, A. T. Neres, T. F. Magalhães, G. A. Watanabe, L. V. Modolo, A. A. Sabino, A. de Fátima, M. A. de Resende, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2009**, *63*, 337–339.
82. K. Ono, K. Hasegawa, H. Naiki, M. Yamada, *J. Neurosci. Res.*, **2004**, *75*, 742–750.
83. I. Shureiqi, J. A. Baron, *Cancer Prev. Res.*, **2011**, *4*, 296–298.
84. F. C. Campbell, G. P. Collett, *Future Oncol.*, **2005**, *1*, 405–414.
85. A. Shehzad, F. Wahid, Y. S. Lee, *Arch. Pharm.*, **2010**, *343*, 489–499.
86. J. J. Johnson, H. Mukhtar, *Cancer Lett.*, **2007**, *255*, 170–181.
87. A. H. Conney, T. Lysz, T. Ferraro, T. F. Abidi, P. S. Manchand, J. D. Laskin, M. T. Huang, *Adv. Enzyme Regul.*, **1991**, *31*, 385–389.
88. S. E. Chuang, M. L. Kuo, C. H. Hsu, C. R. Chen, J. K. Lin, G. M. Lai, C. Y. Hsieh, A. L. Cheng, *Carcinogenesis*, **2000**, *21*, 331–335.
89. M. T. Huang, Y. R. Lou, Y. W. Ma, H. L. Newmark, K. R. Reuhl, A. H. Conney, *Cancer Res.*, **1994**, *54*, 5841–5847.
90. C. V. Rao, A. B. Riven, A. B. Simi, B. S. Reddy, *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 259–266.
91. E. Kunchandyand, M. N. A. Rao, *Int. J. Pharm.*, **1990**, *38*, 239–240.
92. M. Subramanian, M. N. A. Sreejayan Rao, T. P. A. Devasagayam, B. B. Singh, *Mutat. Res.*, **1994**, *311*, 249–255.
93. R. A. Sharma, C. R. Ireson, R. D. Verschoyle, K. A. Hill, M. L. Williams, C. Leuratti, M. M. Manson, L. J. Marett, W. P. Steward, A. Gescher, *Clin. Cancer Res.*, **2001**, *7*, 1452–1458.
94. S. Singh, B. B. Aggarwal, *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 24995–25000.
95. J. Y. Liu, S. J. Lin, J. K. Lin, *Carcinogenesis*, **1993**, *14*, 857–861.
96. M. Li, Z. Zhang, D. L. Hill, H. Wang, R. Zhang, *Cancer Res.*, **2007**, *67*, 1988–1996.
97. P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman, B. B. Aggarwal, *Mol. Pharmaceutics*, **2007**, *4*, 807–818.
98. D. K. Agrawal, P. K. Mishra, *Med. Res. Rev.*, **2010**, *30*, 818–860.
99. H. J. J. Pabon, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1964**, *83*, 379–386.
100. S. Venkateswarlu, M. S. Ramachandra, G. V. Subbaraju, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 6374–6380.
101. R. Mahrwald, *Modern Aldol Reactions 1, 2.*; ISBN-3-527-30714-1, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1218–1223, **2004**.
102. M. G. Banwell, *Pure Appl. Chem.*, **1996**, *68*, 539–542.

- 103.** A. Eschenmoser, C. E. Wintner, *Science*, **1977**, *196*, 1410–1420.
- 104.** M T. Crimmins, L. D. Gould, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*, 6199–6200.
- 105.** Y.-K. Han, L. A. Paquette, *J. Org. Chem.*, **1979**, *44*, 3731–3733.
- 106.** K. Zumbansen, A. Döhring, B. List, *Adv. Synth. Catal.*, **2010**, *352*, 1135–1138.
- 107.** T. M. Kolev, E. A. Velcheva, B. A. Stamboliyska, M. Spiteller, *Int. J. Quantum Chem.*, **2005**, *102*, 1069–1079.
- 108.** X. Qiu, Y. Du, B. Lou, Y. Zuo, W. Shao, Y. Huo, J. Huang, Y. Yu, B. Zhou, J. Du, H. Fu, X. Bu, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 8260–8273.
- 109.** M. W. Amolins, L. B. Peterson, B. S. J. Blagg, *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, *17*, 360–367.
- 110.** L. Lin, Q. Shi, A. K. Nyarko, K. F. Bastow, C.-C. Wu, C.-Y. Su, C. C.-Y. Shih, K.-H. Lee, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 3963–3972.
- 111.** (a) A. Zambre, V. Kulkarni, S. Padhye, S. Sandur, B. Aggarwal, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 7196–7204 (b) S. Padhye, H. Yang, A. Jamadar, Q. Cui, D. Chavan, K. Dominiak, J. McKinney, S. Banerjee, Q. Dou, F. Sarkar, *Pharm. Res.*, 2009, 1–7 (c) J. Ishida, H. Ohtsu, Y. Tachibana, Y. Nakanishi, K. F. Bastow, M. Nagai, H. K. Wang, H. Itokawa, K. H. Lee, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10*, 3481–3487 (d) W. M. Weber, L. A. Hunsaker, C. N. Roybal, E. V. Bobrovnikova-Marjon, S. F. Abcouwer, R. E. Royer, L. M. Deck, D. L. Vander Jagt, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 2450–2461.