

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

SZTE Kémia Doktori Iskola

***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.)

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Vegytani Intézet

Szeged

2013.



Előzmények, célkitűzések

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 legtöbb szerves vegyületet 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. Az említett szintetikus kémiai fejlesztési problémákra jelenthet egy hasznos alternatívát a dominó reakciókon alapuló szerves szintézis. Dominó reakciónak nevezünk minden olyan "one-pot" konszekutív kémiai transzformációt, mely során minimum két új kémiai kötés alakul egy adott szerkezetben, továbbá minden egyes részlépés az azt közvetlenül megelőző részlépés következménye. A dominó reakciók egyik alosztályát képezik a multikomponensű reakciók, melyek során minimum három kémiai komponens "one-pot" interakciója révén számos új kémiai kötés jön létre egyetlen szintetikus lépés alatt, a megfelelő intermedierek izolálása pedig nem szükségyszerű. A multikomponensű kémia révén nagyfokú szerkezeti diverzitás érhető el, mely a komponensek variálása révén tetszőlegesen változtatható.

Doktori munkám során dominó- és "one-pot" multikomponensű megközelítések révén új *O*-, ill. *N,N*-heterociklusos rendszerek, valamint módosított kurkumin származékok szintéziseit kívántuk megvalósítani.

Anyagok, módszerek

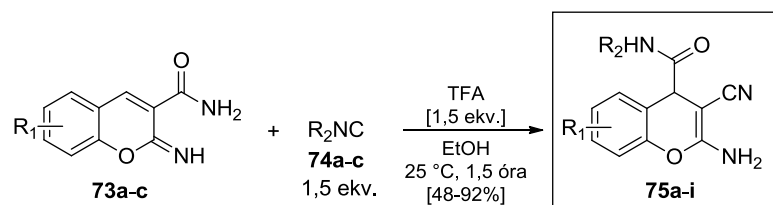
Munkám során 1-40 milimólos preparatív mérettartományban végeztem reakciókat, melyek termékeit oszlopkromatográfiás módszerrel (szilikagél), vagy egyszerű szűréssel és átkristályosítással tisztítottam. Az új vegyületeket olvadáspontjukkal, IR és NMR (^1H és ^{13}C) spektroszkópiái, illetve tömegspektrometriai (ESI) mérésekkel jellemeztem. A modellvegyületek karakterizálását egy- és kétdimenziós NMR spektroszkópiái technikák ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR, COSY, NOESY, HSQC, HMBC) felhasználásával végeztem. A mikrohullámú kísérleteket CEM DiscoverTM Microwave System típusú reaktorokban hajtottam végre. A reakciók és a tisztítási eljárások kivitelezéséhez felhasznált vegyszerek és oldószerek kereskedelmi forgalomból (Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, AK Scientific) származtak. A módosított kurkumin származékok *in vitro* citotoxicitási méréseit az Avidin Kft. munkatársai végezték.

Eredmények*

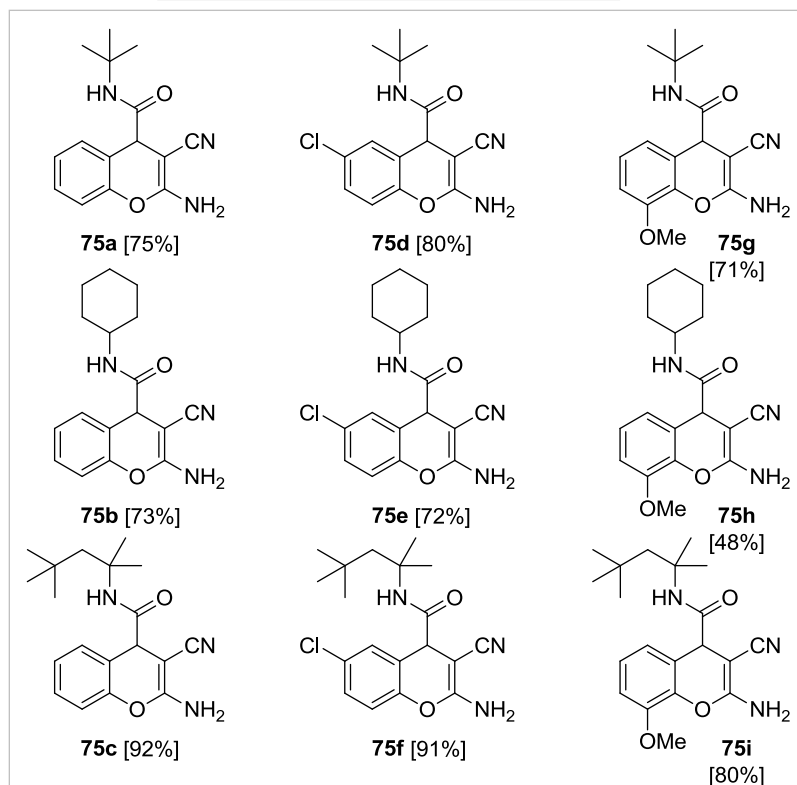
1. Új típusú hattagú kondenzált *O*-heterociklusos vegyületek szintézise¹

1.1. A munka első fázisában az iminolakton, aktivált alkén, illetve 1,3-azadién szerkezeti egységeket egyaránt tartalmazó **73a-c** 2-imino-kromén-3-karboxamidok izocianidokkal történő 1,4-konjugált addíciós átalakításait vizsgáltuk. A **74a-c** izonitrilek konjugált addícióját egy modell-reakció segítségével optimalizáltuk, az optimális reakcióparaméterek beállításakor Lewis- és Brønsted-savakat teszteltünk, valamint vizsgáltuk az oldószer hatását is.

A reakció finomhangolását követően (1,5 ekvivalens TFA, 1,5 ekvivalens izocianid, EtOH, szobahőmérséklet) három izocianidot és három 2-iminokromén származékot felhasználva 9 új 2-amino-3-ciano-4-karboxamido-4*H*-kromén származék szintézisét valósítottuk meg közepes-jó termelésekkel (48-92%) (1. ábra).



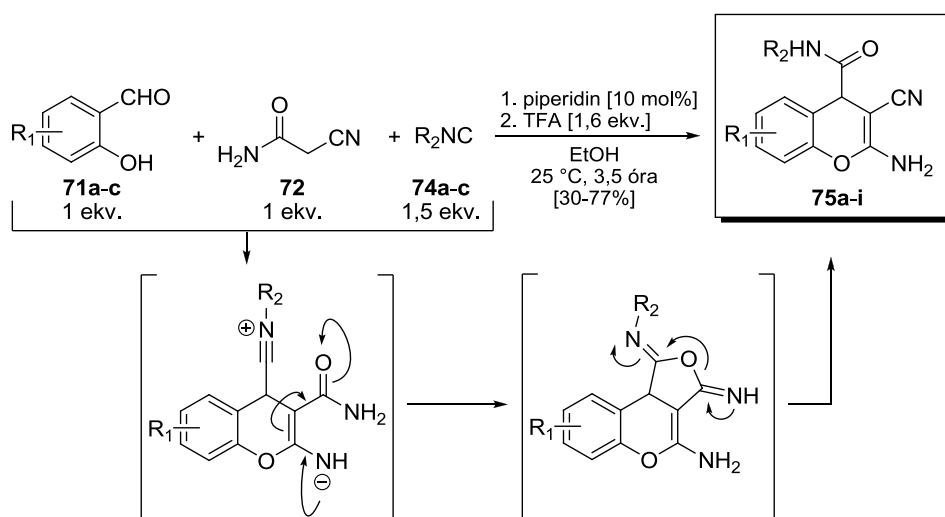
73a: R₁ = H; **73b:** R₁ = 5-Cl; **73c:** R₁ = 2-OMe
74a: R₂ = *t*Bu; **74b:** R₂ = Cy; **74c:** R₂ = *t*-oktil



1 ábra

*A vegyületszámolás minden esetben megegyezik a disszertációban alkalmazottal.

1.2. Az izocianid alapú új szintetikus protokoll fejlesztésén túl a **75a-i** termékek „one-pot” háromkomponensű reakciók által történő előállítási lehetőségeit is vizsgáltuk. A **71a-c** szalicilaldehidek, 2-cianoacetamid (**72**), valamint **74a-c** izocianidok TFA jelenlétében történő "one-pot" háromkomponensű reakciója a **75a-i** 2-amino-3-ciano-4*H*-kromén-4-karboxamid származékokat 30-77%-os összhozammal eredményezte (2 ábra).

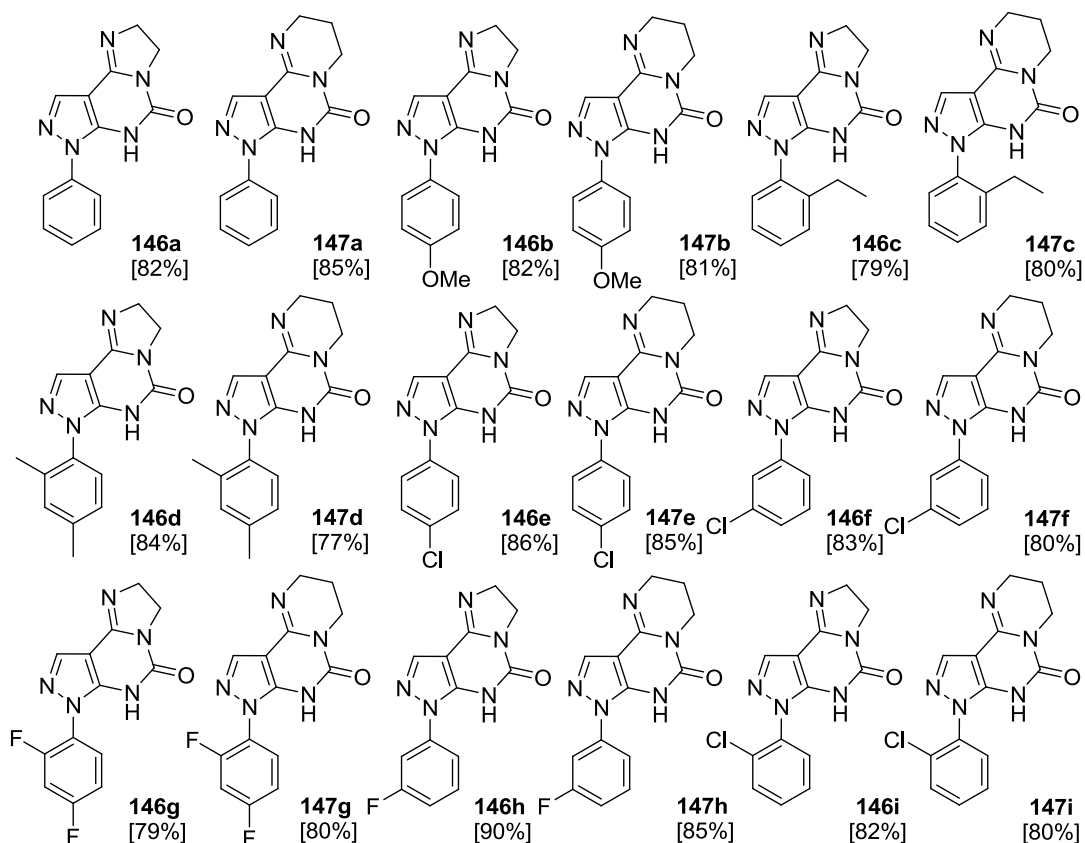
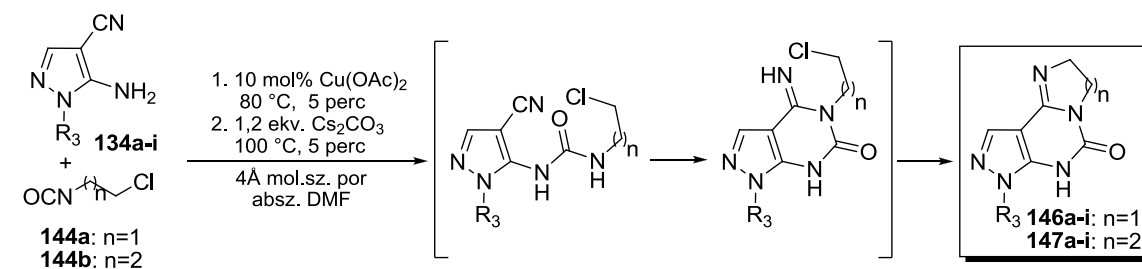


2. ábra

A "one-pot" tandem multikomponensű reakció egy szekvenciális Knoevenagel kondenzáció/intramolekuláris Pinner reakció/izocianid 1,4-konjugált addíció/intramolekuláris *O*-befogás/karboxamid→karbonitril konverzióként értelmezhető.

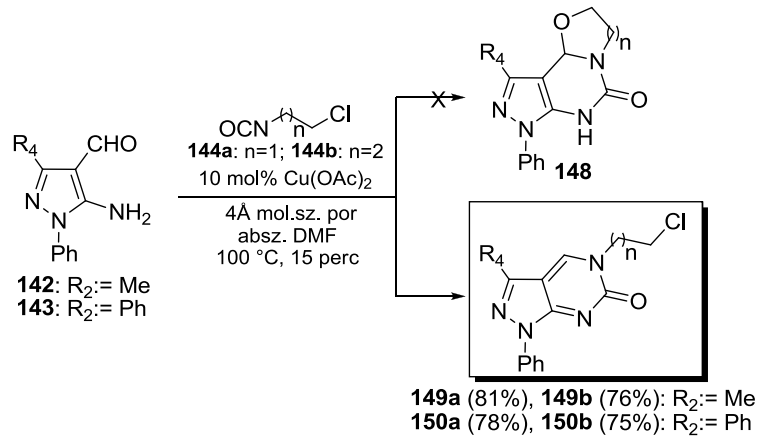
2. Új típusú *N,N*-heterotriciklusos vegyületek szintézise dominó reakciókon keresztül²

2.1. A munka második szakaszában az 1,2-bifunkciós **134a-i** 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-karbonitrilek klóralkil-izocianátokkal (**144a** és **144b**) történő dominó gyűrűzárási reakcióit vizsgáltuk. 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 (10mol% Cu(OAc)₂/1,2 ekvivalens Cs₂CO₃, 10 perc) egy 18 tagból álló pirazolo[3,4-*d*]pirimidin alapú molekulakönyvtárat (**146a-i** és **147a-i**) építettünk fel 77-90%-os izolált hozammal (3. ábra).



3. ábra

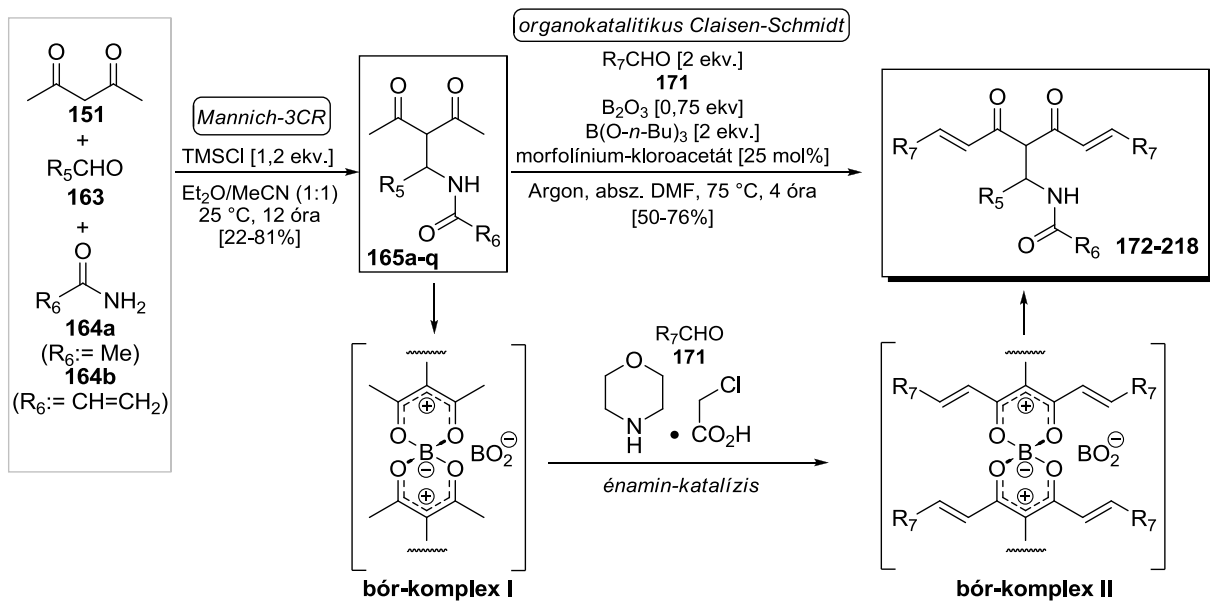
2.2. A tandem gyűrűzárási protokoll kiterjeszhetőségét a **142** és **143** 3-szubsztituált 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-karbaldehidekre is vizsgáltuk. A várt triciklusos végtermékek helyett a **149a**, **149b**, **150a**, illetve **150b** biciklusos pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-6(5*H*)-onok keletkezését tapasztaltuk, amely egy szintetikus alternatívát jelent *N,N*-biciklusos vegyületek gyors és hatékony előállítására (4. ábra). Az általunk megfigyelt réz(II)-katalizált folyamatok mechanizmusára javaslatot tettünk, melyek alapját egy- vagy kétmagvú réz(II)-komplexeken keresztüli izocianát elektrofil aktiválás képezi.



4. ábra

3. Új típusú kurkumin származékok előállítása^{3 és 4}

3.1. A kísérleti munka harmadik részében 47 új, centrálisan (C-4) szubsztituált kurkumin származékot (**172-218**) állítottunk elő. A megfelelő szerkezeti sokszínűséget "one-pot" Mannich háromkomponensű reakciók révén teremtettük meg, a **165a-q** prekursor β -acilamido-1,3-dion származékokat 22-81%-os hozammal állítottuk elő (5. ábra).

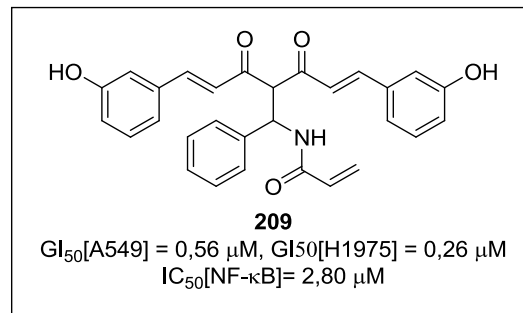


5. ábra

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 **172-218** kurkumin analógok szintézisek tervezése során R_1 , R_2 és R_3 diverzitási pontokat variáltuk, a megfelelő származékokat közepes-jó termeléssel (50-76%) izoláltuk (5. ábra). A reakció

mechanizmusára javaslatot tettünk, melynek lényege egy spirociklusos bór-komplex *in situ* kialakulásában, a komplex dinamikus felnyílásában és záródásában, valamint a szekunder amin só általi énamin aktiváláson alapuló többszörös aldol kondenzációjában összegezhető.

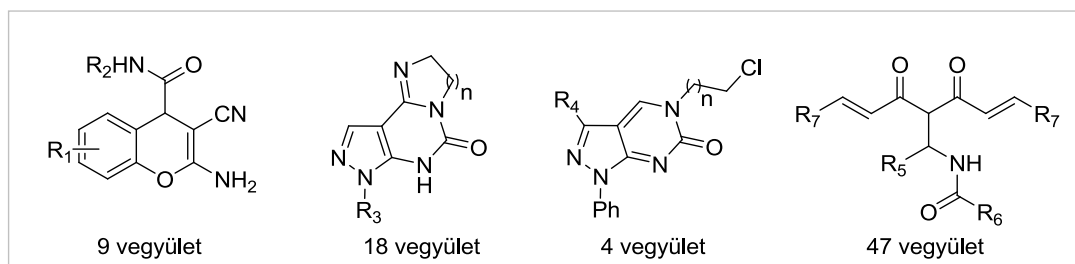
3.2. Az előállított 47 új, centrálisan szubsztituált kurkumin analógot az Avidin Kft. munkatársai *in vitro* citotoxicitási vizsgálatoknak vetették alá A549, valamint H1945 humán tüdőrákos sejtvonalakon. Továbbá vizsgálták a vegyületek NF- κ B protein komplex indukciójának gátlását is *in vitro* körülmények között. A mért *in vitro* adatok ismeretében a szerkezet-hatás összefüggéseket megállapítottuk. A szerkezet-hatás összefüggések (SAR) alapján a **209** származékot, mint a kurkuminoid könyvtár legprominensebb tagját "lead" vegyületként ($GI_{50}[A549] = 0,56 \mu\text{M}$, $GI_{50}[H1975] = 0,26 \mu\text{M}$, NF- κ B gátlás ($IC_{50} = 2,80 \mu\text{M}$) kiválasztottuk további vizsgálatokhoz (6. ábra).



6. ábra

3.3. A **209** vegyület szintézisének méretnövelését 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, oszlopkromatográfias módszer alkalmazása nem volt szükséges.

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 (7. ábra).



7. ábra

A tézis alapját képező tudományos közlemények listája:

- 1. Synthesis of 2-Amino-3-cyano-4*H*-chromene-4-carboxamide Derivatives by an Isocyanide-Based Domino Conjugate Addition/O-Trapping Rearrangement Sequence**

M. Gyuris, R. Madácsi, L. G. Puskás, G. K. Tóth, J. Wölfling, I. Kanizsai
European Journal of Organic Chemistry, **5**, 848-851, (2011).

IF: 3.329

- 2. Synthesis of novel pyrazole-based heterocycles via a copper(II)-catalyzed domino annulation**

M. Gyuris, L. G. Puskás, G. K. Tóth, I. Kanizsai
Organic & Biomolecular Chemistry, **11**(37), 6320-6327, (2013).

IF: 3.568 (2012)

- 3. Új gyógyhatású vegyületek - Szubsztituált kurkumin származékok, eljárás előállításukra és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények**

(magyar szabadalmi bejelentés)

Gyuris M., Puskás L., Kanizsai I., Ózsvári B., Hackler L. Nagy L. I.
P1100532, 2011.09.23.

- 4. Novel medicinal compounds**

(international patent application)

M. Gyuris, L. Puskás, I. Kanizsai, B. Ózsvári, L. Hackler, L. I. Nagy
PCT Int. Appl. (2013), WO2013041895A1

Egyéb tudományos közlemények listája:

- 5. Use of trifluoro phthalimides for the treatment of cancerous diseases**

(international patent application)

L. Puskás, I. Kanizsai, M. Gyuris, R. Madácsi, B. Ózsvári, L. Fehér, G. Fábián,
K. Kitajka

PCT Int. Appl. (2012), WO2012085608A2

6. 8-Hydroxy-quinoline derivatives

(international patent application)

L. Puskás, C. Szabó, I. Kanizsai, M. Gyuris, R. Madácsi, B. Ózsvári, L. Fehér,

G. Tamás

PCT Int. Appl. (2011), WO2011148208A1

7. Aromatic Sulfonamides Containing a Condensed Piperidine Moiety as Potential Oxidative Stress-Inducing Anticancer Agents

R. Madácsi, I. Kanizsai, L. Z. Fehér, M. Gyuris, B. Ózsvári, A. Erdélyi, J. Wölfling,

L. G. Puskás

Medicinal Chemistry, **9**(7), 911-919, (2013).

IF: 1.373 (2012)

8. Q50, an iron-chelating and zinc-complexing agent, improves cardiac function in rat models of ischemia/reperfusion-induced myocardial injury

S. Korkmaz, E. Barnucz, S. Loganathan, S. Li, T. Radovits, P. Hegedűs, A. Zubarevich,

K. Hirschberg, A. Weymann, L. G. Puskás, B. Ózsvári, N. Faragó, I. Kanizsai,

G. Fábián, M. Gyuris, B. Merkely, M. Karck, C. Szabó, G. Szabó.

Circulation Journal, **77**(7), 1817-1826, (2013).

IF: 3.578 (2012)

9. Polyunsaturated fatty acids synergize with lipid droplet binding thalidomide analogs to induce oxidative stress in cancer cells

L. G. Puskás, L. Z. Fehér, C. Vizler, F. Ayaydin, E. Rásó, E. Molnár, I. Magyary,

I. Kanizsai, M. Gyuris, R. Madácsi, G. Fábián, K. Farkas, P. Hegyi, F. Baska,

B. Ózsvári, K. Kitajka

Lipids in health and disease, **9**:56, (2010).

IF: 2.239

10. A cell-microelectronic sensing technique for the screening of cytoprotective compounds

B. Ózsvári, L. G. Puskás, L. I. Nagy, I. Kanizsai, M. Gyuris, R. Madácsi, L. Z. Fehér,

D. Geró, C. Szabó

International Journal of Molecular Medicine, **25**(4), 525-530, (2010).

IF: 1.814

A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 15.901

Konferenciák:

- ***Előadás: Unexpected one-pot phosphine triggered domino synthesis of novel trisubstituted dihydropyridin-2-one species***
M. Gyuris
5th ORCA Meeting & Training School
Alicante, Spain, **2013**.
- ***Poszter: Synthesis of α -aminosulfonyl amide peptidomimetics via an Ugi three-component reaction***
M. Gyuris, L. G. Puskás, G. K. Tóth, I. Kanizsai
13th Belgian Organic Synthesis Symposium (BOSS XIII)
Leuven, Belgium, **2012**.
- ***Poszter: Synthesis of novel pyrazole-based heterocycles via a copper(II)-catalyzed domino annulation***
M. Gyuris, L. G. Puskás, G. K. Tóth, I. Kanizsai
13th Tetrahedron Symposium - Challenges in Bioorganic & Organic Medicinal Chemistry
Amsterdam, Netherlands, **2012**.
- ***Poszter: Multicentrumú imino-kromén-karboxamidok reakciója izocianidokkal***
Gyuris M., Kanizsai I., Madácsi R., Puskás L. G., Tóth G. K., Wölfling J.
Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés
Hajdúszoboszló, Hungary, **2010**.
- ***Előadás: Multicentrumú imino-kromén-karboxamidok reakciója izocianidokkal***
Gyuris M.
XXXIII. Kémiai Előadói Napok
Szeged, Hungary, **2010**.
- ***Poszter: Lipid droplet interacting ER-stress inducing amino-trifluorophthalimides as cytotoxic agents***
I. Kanizsai, M. Gyuris, L. Z. Fehér, B. Ózsvári, E. Molnár, G. Fábán, R. Madácsi,
L. G. Puskás
16th European Symposium on Organic Chemistry - ESOC 2009
Prague, Czech Republic, **2009**.