

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszerkémia, Gyógyszerkutatás PhD program

Programvezető: Prof. Dr. Fülöp Ferenc

Gyógyszerkémiai Intézet

Témavezetők: Prof. Dr. Fülöp Ferenc

Dr. Kiss Loránd

Cherepanova Maria

**Szubsztituált ciszpentacin és nyíltlancú $\beta^{2,3}$ -aminosavak
sztereoszelektív szintézisei oxidatív gyűrűnyitáson keresztül**

Szigorlati Bizottság:

Elnök: Dr. Molnár Árpád

Tagok: Dr. Dombi György

Dr. Tóth Géza

Bíráló Bizottság:

Elnök: Dr. Hohmann Judit

Bírálók: Dr. Frank Éva

Dr. Tömböly Csaba

Tagok: Dr. Janáky Tamás

Dr. Rédei Dóra

1. Bevezetés, célkitűzések

A β -aminosavak értékes és sokrétű biológiai potenciállal rendelkező, széles körben tanulmányozott szerves kémiai építőelemek, melyek számos bioaktív természetes vegyület alapvető szerkezeti egységét alkotják. A természetben előforduló ciklopentánvázis β -aminosavak, úgymint a ciszpentacin, illetve az ikofungipen kimagasló gombaölő hatással rendelkeznek, míg a ciklohexánvázis β -aminosav analóg Tamiflu, és az *O*-heterociklusos származék Zanamivir szignifikáns antivirális hatást mutatnak. Továbbá a vegyületcsalád számos β -laktám származék, antibiotikumok, valamint peptidek szintéziseinek prekursoraiként szolgál. A nyíltláncú, azon belül a $\beta^{2,3}$ -aminosavak a β -aminosavak egyik fontos alosztályát képezik, melyek szerkezeti motívumai tumorelleses hatású természetes vegyületek struktúrájában is fellelhetők, mint például a leukémia-ellenes Dolastatin 11, 12, 16 és D, Majusculamide C, Onchidin, valamint a Guineamide C és D, Ulongapeptin és Malevamide C szerkezetében egyaránt.

A Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézetében nagy hagyományai vannak a β -aminosavak előállításának és átalakításainak. A kutatócsoport jelen kutatásainak fókuszában új, funkcionizált aliciklusos, illetve nyíltláncú β -aminosavak sztereoselektív szintéziseinek kidolgozása áll. Ezt megelőzően szelektív C-C kettős kötés funkcionizálások révén mono- és dihidroxi-, mono- és difluoro-, védett amino-, epoxi- és azido-szubsztituált származékok, valamint izoxazolin gyűrűvel kondenzált aliciklusos β -aminosavak szintéziseit valósították meg a megfelelő telítetlen aliciklusos β -laktámokból kiindulva.

A β -aminosavak előállítására számos módszer ismert, azonban új, regio- és sztereoselektív eljárások fejlesztése enantiomertiszta β -aminosavak szintézisére továbbra is egy fontos és alapvető kutatási terület maradt.

Doktori munkám során norbornénvázis *diendo*- és *diexo*- β -aminokarboxilátokból kiindulva sztereokontrollált eljárásokat terveztünk kidolgozni enantiomertiszta diszubsztituált aliciklusos β -aminosav észterek szintéziseire. Továbbá ciklopentén- és ciklohexénvázis *cisz*-, illetve *transz* β -aminosavakból levezethető racém, illetve enantiomertiszta nyíltláncú $\beta^{2,3}$ -szubsztituált aminosav származékok szintéziseit kívántuk megvalósítani. Az alkalmazott szintetikus stratégia a megfelelő β -aminokarboxilátok C-C kettős kötéseinek dihidroxilálásán, a vicinális diolok oxidatív gyűrűnyitásán, a dialdehid intermedierek Wittig reakcióján, valamint a C-C kettős kötések redukcióján alapul.

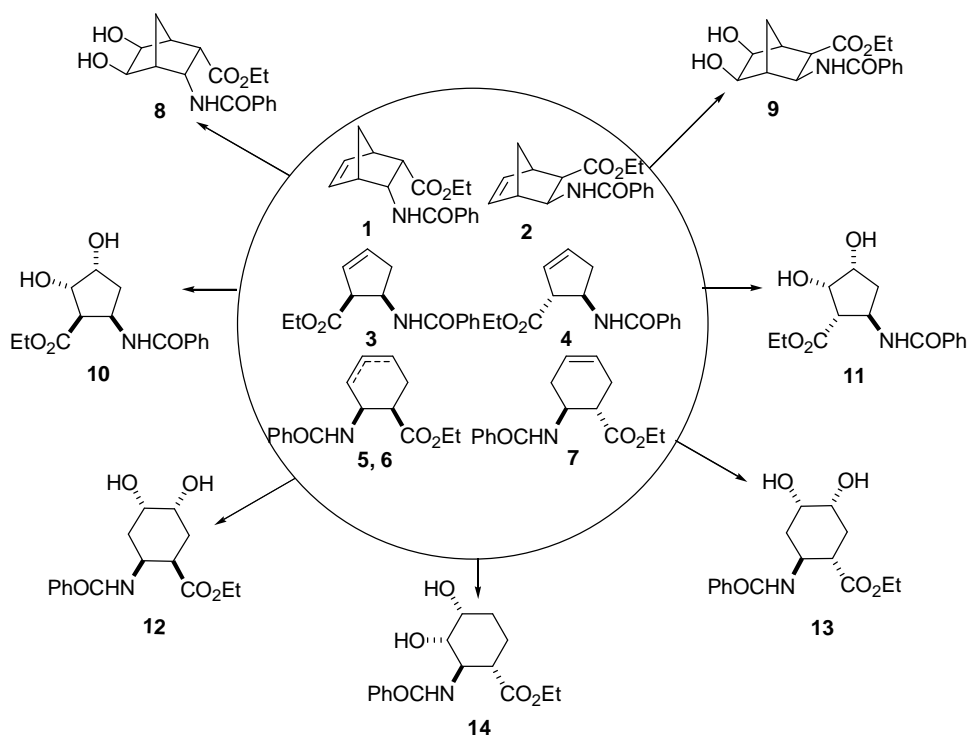
2. Alkalmazott módszerek

Az előállított anyagok tisztítását oszlopkromatográfias módszerrel (szilikagél) és/vagy átkristályosítással végeztem. Az új vegyületek karakterizálását olvadáspont mérések, elemátlízis, IR- és NMR spektroszkópiái technikák, valamint tömegspektrometria felhasználásával hajtottam végre. Az optikailag aktív vegyületek *ee* értékeinek meghatározása gázkromatográfias- (GC), vagy nagyhatékonyságú folyadékkromatográfias (HPLC) mérésekkel történt. A vegyületek sztereokémiai karakterizálását kétdimenziós NMR spektroszkópiái technikák (COSY, HSQC, HMBC és NOESY), illetve röntgendiffrakciós mérések felhasználásával végeztem.

3. Eredmények, diszkusszió

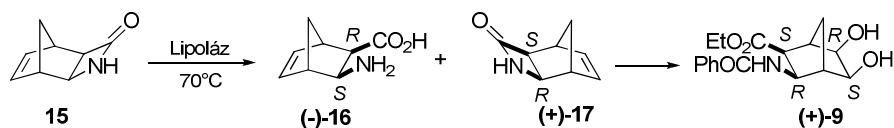
3.1. A kiindulási vegyületek előállítása

A kiindulási **1-7** racém β -aminoésztereket a megfelelő β -laktámok alkoholízisével, majd amino csoportvédelemmel állítottuk elő. Az **1** biciklusos *diendo*- β -aminoészter szintézisét több lépésben, a megfelelő biciklusos *diendo*-savanhidrid amidálása, egy ezt követő Hoffmann-lebontás, észterképzés, valamint *N*-benzoilezés révén hajtottuk végre. A β -aminokarboxilátok sztereoselektív dihidroxilálása katalitikus mennyiségű OsO_4 és NMO jelenlétében a **8-14** vicinális diolokat eredményezte (1. ábra).



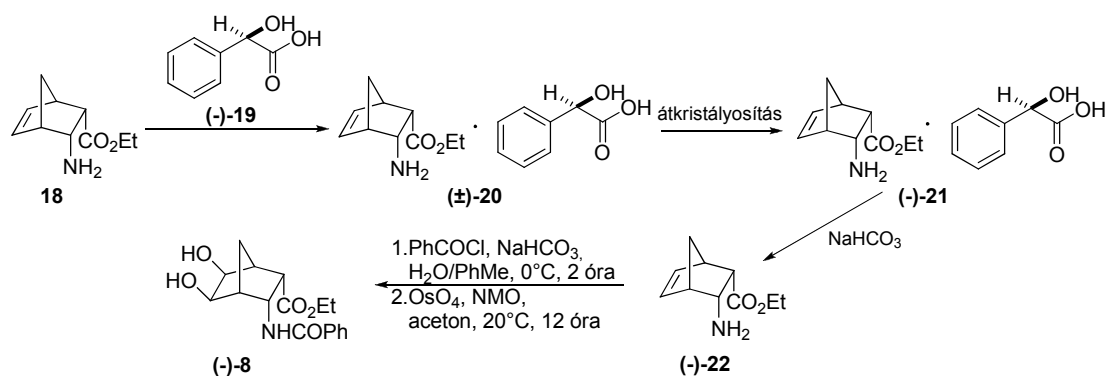
1. ábra

A módszer alkalmazásával a dihidroxilált β -aminoészter enantiomerek előállítását is elvégeztük. A **15** racém β -laktám enzim-katalizálta enantioszelektív gyűrűnyitása a (-)-**16** aminosavat és az elreagálatlan antipód (+)-**17** β -laktámot eredményezte. Ezt követően a (+)-**17** azetidinon alkoholízisével, *N*-benzoilezésével, majd sztereoszelektív dihidroxilálásával a (+)-**9** diol enantiomert nyertük (2. ábra).



2. ábra

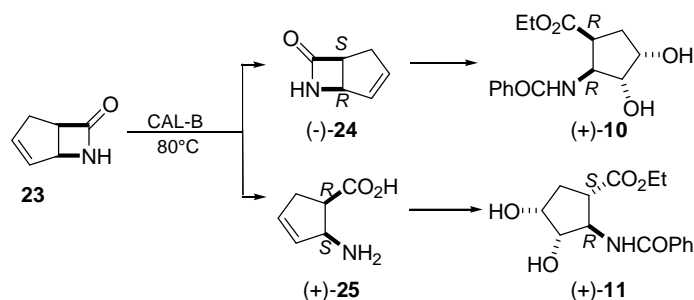
A (-)-**8** β -aminosav észter enantiomert egy általunk fejlesztett rezolválási eljárás révén, diasztereomer sópár képzéssel és átkristályosítással állítottuk elő. A (\pm)-**18** racém *diendo*- β -aminosav észter és 1 ekvivalens (-)-**19** D(-)-mandulasav interakciója a (\pm)-**20** diasztereomer sópár kialakulását eredményezte. A nyert sópár kétszeri átkristályosítását EtOAc/EtOH = 10:1 elegyben végeztük, a diasztereomer arány követése ^1H NMR mérésekkel történt. Az diasztereomer dúsítást követően a tiszta diasztereomer sópárt szűréssel nyertük, majd a (-)-**22** *diendo*- β -aminosavat telített NaHCO_3 -os extrakcióval és >99%-os enantiomertisztasággal izoláltuk. Ezt követő benzoilezési és sztereoszelektív dihidroxilálási reakciók vezettek a (-)-**8** enantiomerhez (3. ábra).



3. ábra

A ciklopenténvázas *cisz*- és *transz*- β -aminosavésztereket egy enzim-katalizálta kinetikus rezolváláson keresztül nyertük. Az előzőekhez hasonlóan a (+)-**25** aminosav enantiomert és az elreagálatlan (-)-**24** β -laktámot sikeresen izoláltuk és elválasztottuk. A (1*R*,2*R*)-(+)-**10** vicinális diolt a (-)-**24** azetidinon savas gyűrűnyitása, ezt követő védőcsoport kémia, valamint dihidroxilálási reakció alkalmazásával szintetizáltuk. A (+)-**25** aminosav átalakítását a (1*S*,2*R*)-(+)-**11** *transz*- β -aminokarboxilát származékká észterezési és védőcsoport kiépítési reakciókon,

majd bázis-indukálta epimerizáción és dihidroxi funkcionálizáláson keresztül hajtottuk végre (4. ábra).

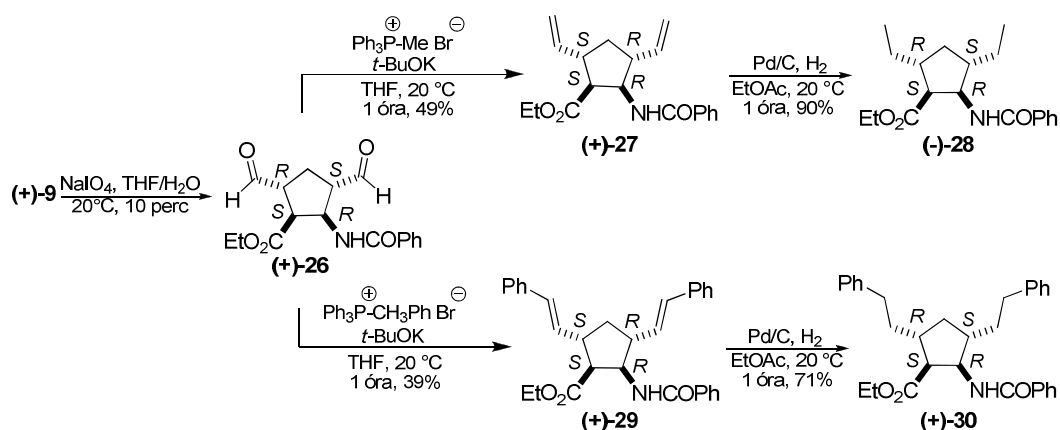


4. ábra

3.2. Funkcionálizált ciszpentacin származékok előállítása *diexo*- és *diendo*-norbonén-vázás β -aminsavak oxidatív gyűrűnyitási reakcióin keresztül

A gyűrű funkcionálizálás koncepciója a vicinális diolok oxidatív gyűrűnyitásán, a keletkező dialdehyd kulcs intermedierek és különböző foszforanilidek között végbemenő Wittig reakcióján, valamint a keletkező C-C kettős kötések redukcióján alapult. Az előzetes kísérleteket racém vegyületeken hajtottuk végre, majd az optimalizált reakciókörülmények mellett új, enantiomer-tiszta ciszpentacin származékok szintézisét is elvégeztük.

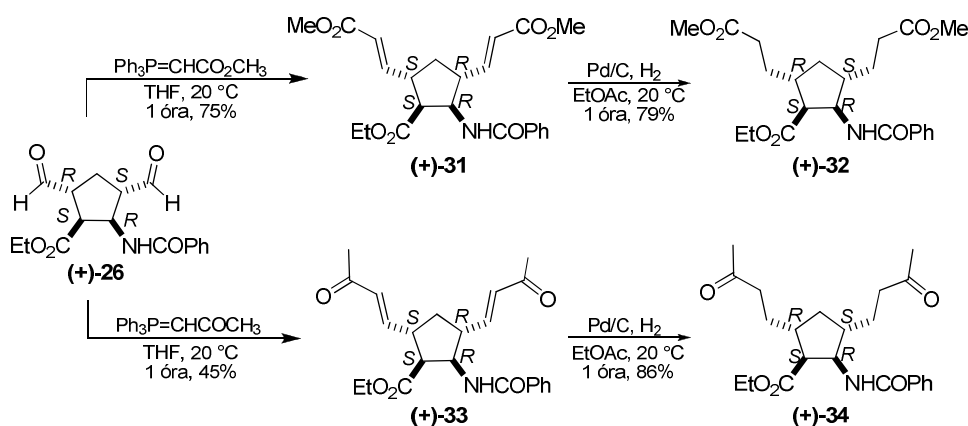
A (+)-26 dialdehyd köztitermék szintézisét a (+)-9 dihidroxilált β -aminokarboxilát enantiomer NaIO_4 jelenlétében történő oxidatív gyűrűnyitásával valósítottuk meg. Egy ezt követő *in situ* Wittig olefinezési reakción keresztül nyertük a (+)-27 and (+)-29 dialkenil analógokat, melyek katalitikus hidrogénezésével a (-)-28 and (+)-30 dialkil ciszpentacin származékokat jó hozamokkal állítottuk elő (5. ábra).



5. ábra

A diformilezett β -aminsav észterek és metil(trifenilfoszforanilidén)acetát, valamint (trifenilfoszforanilidén)-2-propanon reakciói által a (+)-31 és (+)-33 vegyületek szintézisét is

megvalósítottuk, majd C-C kettős kötés redukciók révén a (+)-**32** and (+)-**34** telített analógokat nyertük (6. ábra).

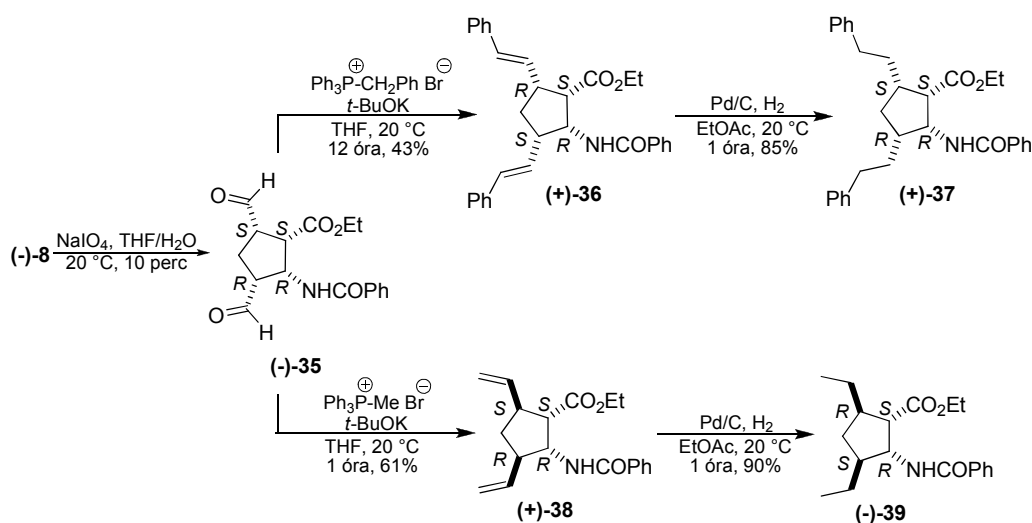


6. ábra

A diszubsztituált "all"-*cis* ciszpentacín származékok szintézisét az előbbieken ismertetett módon hajtottuk végre, az alkalmazott szintetikus protokoll az alábbiakban összegezhető: 1. sztereoszelektív dihidroxilálás; 2. oxidatív gyűrűnyitás; 3. Wittig reakció; 4. C-C kettős kötés redukció. Az előzetes vizsgálatokat racém vegyületeken végeztük, ezt követően a különböző transzformációkat enantiomertiszta kiindulási anyagokból is végrehajtottuk.

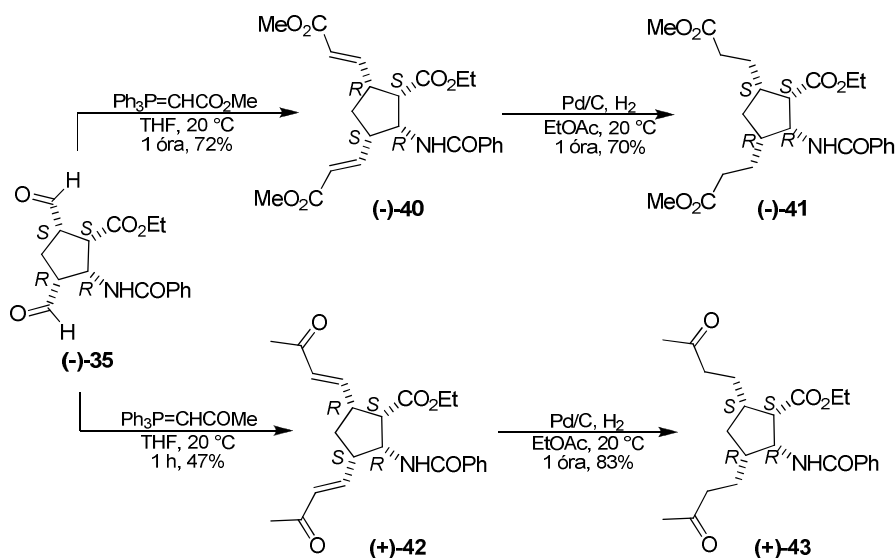
A (-)-**8** vicinális diol oxidatív gyűrűnyításával a (-)-**35** "all"-*cis* dialdehid intermediert is sikeresen izoláltuk. A (-)-**35** vegyület sztereocentrumainak abszolút konfigurációját (1*R*,2*S*,3*R*,4*S*) kémiai korrelációk alapján határoztuk meg.

A (-)-**35** köztitermék és az *in situ* képződő benziltrifenilfoszforán interakciója a (+)-**36** diolefinezett termék képződését eredményezte, melynek katalitikus hidrogénezésével a (+)-**37** dialkil szubsztituált analóghoz jutottunk (7. ábra).



7. ábra

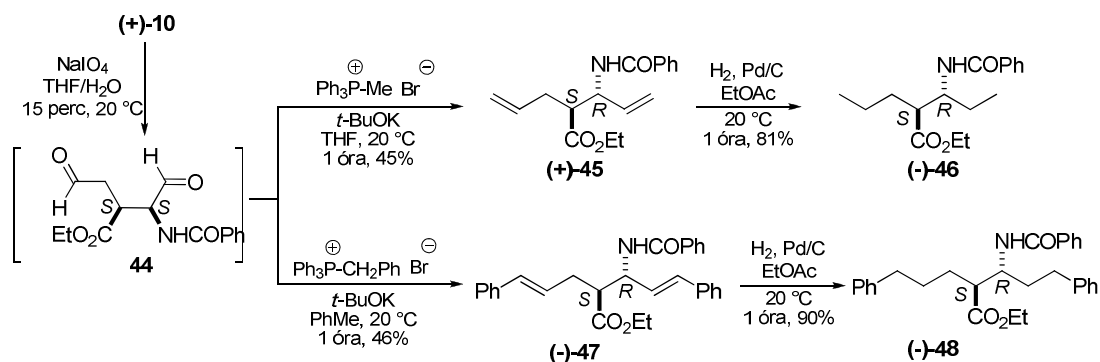
A (-)-**35** diformilezett származék és a kereskedelmi forgalomban kapható metil(trifenilfoszforanilidén)acetát, valamint (trifenilfoszforanilidén)-2-propanon felhasználásával végzett olefinezési reakció a (-)-**40** and (+)-**42** analógokat eredményezte, melyek redukív átalakításaival a (-)-**41** and (+)-**43** ciszpentacin analogon enantiomereket nyertük (8. ábra).



8. ábra

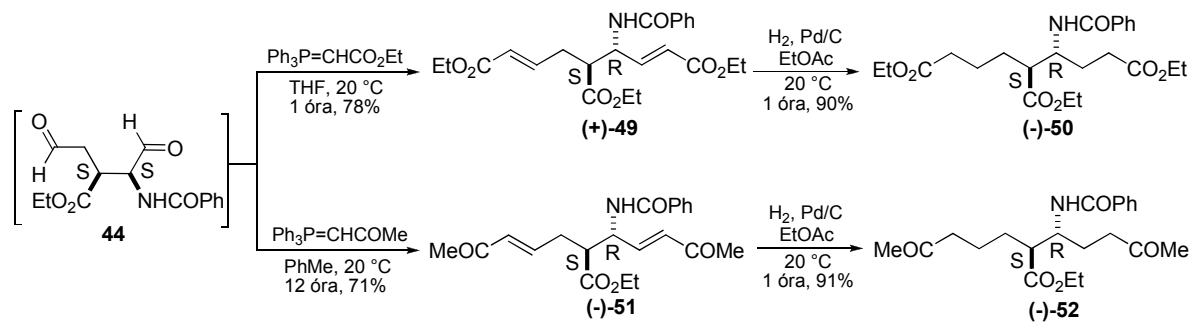
3.3. Nyíltlancú diszubsztituált $\beta^{2,3}$ -aminosavak szintézise 2-amino-3-ciklopentén- és 2-amino-3-ciklohexén karbonsavakból kiindulva

A $\beta^{2,3}$ -diszubsztituált aciklusos aminosavak szintézisét *cisz*- és *transz*-ciklopentén- és ciklohexénvázis β -aminosavakból hajtottuk végre a fentiekben részletezett szintetikus stratégia alkalmazásával. Az előzetes kísérleteket racém vegyületeken hajtottuk végre, majd az optimalizált reakciókörülmények mellett új, enantiomertiszta nyíltlancú származékok szintézisét is elvégeztük. A (+)-**45** és (-)-**47** dialkenilezett származékokat a **44** dialdehidből Wittig reakcióval állítottuk elő. Ezt követő katalitikus hidrogénezéssel a (-)-**46** and (-)-**48** *anti* β -aminokarboxilátok szintézisét valósítottuk meg (9. ábra).



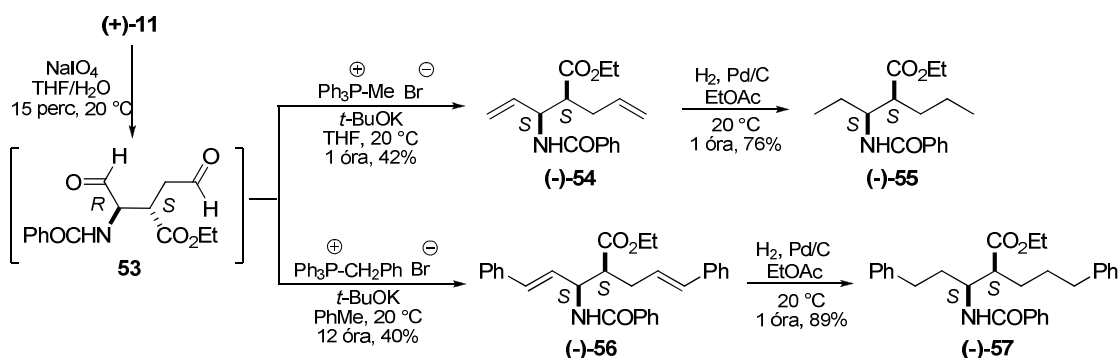
9. ábra

A **44** diformil kulcs intermedier olefinezési reakciója kereskedelmi forgalomban lévő foszforánokkal a (+)-**49** és (-)-**51** *anti* analogonok képződéséhez vezetett. Ezt követő C-C kettős kötés redukcióval az (-)-**50** és (-)-**52** telített nyíltláncú származékokat nyertük (10. ábra)



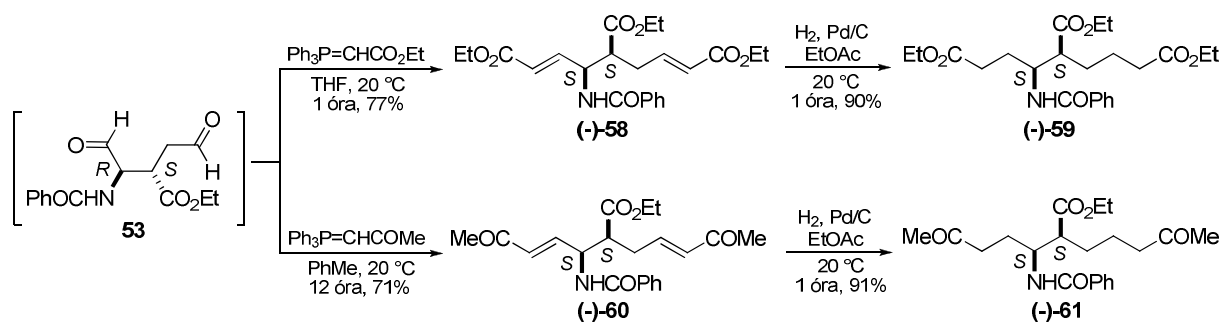
10. ábra

A következőkben az **53** dialdehyd enantiomer átalakításával a (-)-**54** és (-)-**56** *syn* Wittig termékeket állítottuk elő, melyek katalitikus hidrogénezésével a (-)-**55** és (-)-**57** dialkil származékokat 99%-os enantiomertisztasággal izoláltuk (11. ábra).



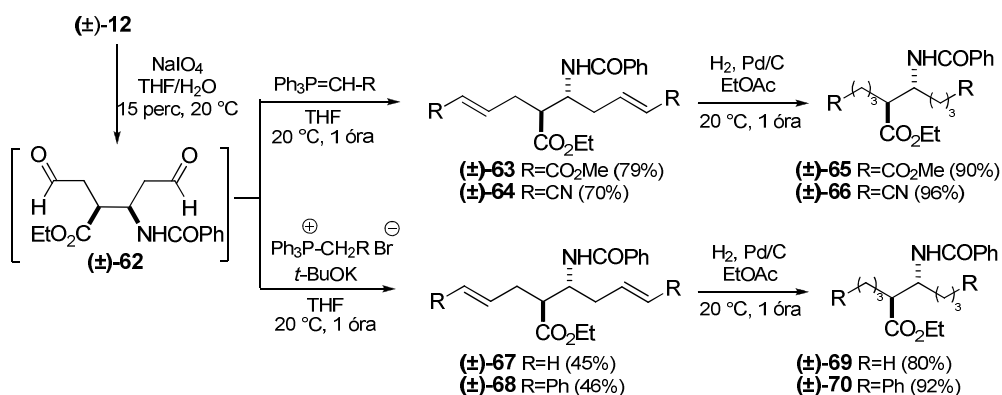
11. ábra

Hasonló szintetikus megoldások felhasználásával a (-)-**58** és (-)-**60** diolefin enantiomerek szintézisét is sikeresen megvalósítottuk, majd Pd/C-en végzett katalitikus hidrogénezésekkel jutottunk a (-)-**59** és (-)-**61** telített *syn* végtermékekhez (12. ábra).



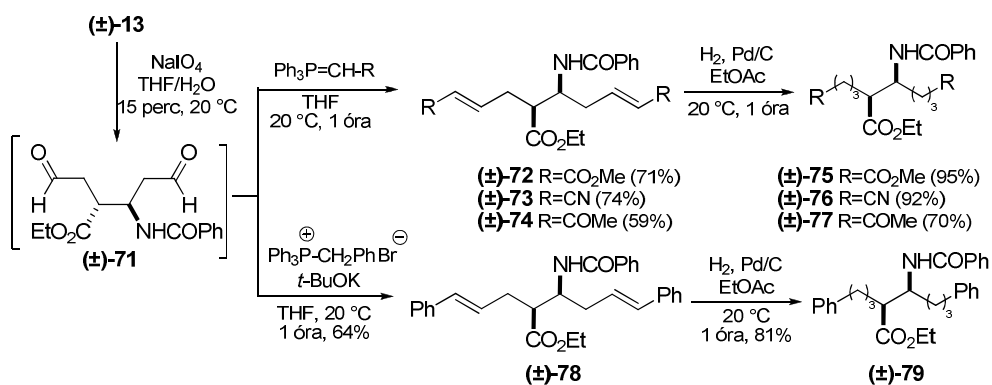
12. ábra

A munka folytatásaként a **12** dihidroxilált β-aminosav észterből kiindulva oxidatív gyűrűnyitáson keresztül a **62** diformilezett származékot is előállítottuk. A **62** prekursor Wittig reakciója metil(trifenilfoszforanilidén)acetáttal, valamint (trifenilfoszforanilidén)acetonitrillel a **63** és **64** nyíltlancú *anti* dialkenilezett termékeket eredményezte. A Wittig termékek redukcióját követően a **65** és **66** telített *anti* analógokat jó hozamokkal izoláltuk. A **67** és **68** telítetlen származékokat *in situ* Wittig transzformációkon keresztül nyertük, melyek katalitikus C-C kettős kötés hidrogénezései a **69** és **70** *anti* β-aminosav végtermékekhez vezettek (13. ábra).



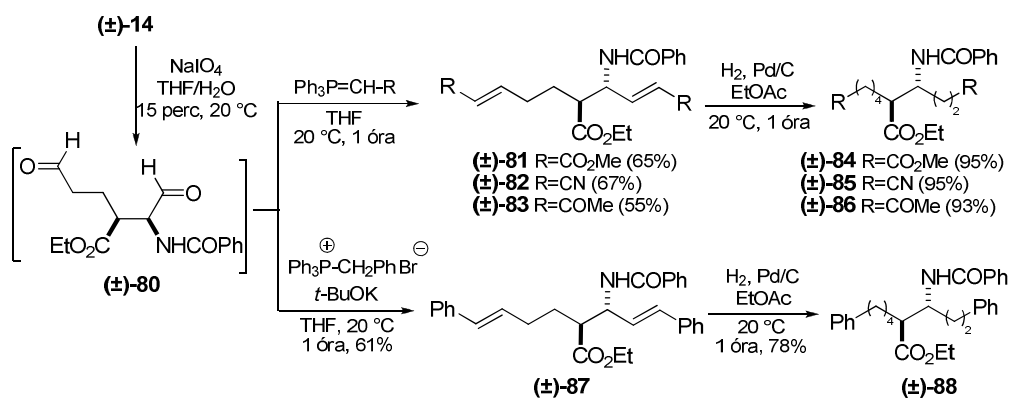
13. ábra

A fent ismertetett protokollt kiterjesztettük további nyíltlancú *syn* β-aminosav észterek szintéziséire is. A **71** diformilezett származék kereskedelmi forgalomban lévő foszforánokkal végbemenő olefinezési reakcióiban a **72-74** difunkcionalizált Wittig termékeket állítottuk elő. Ezt követően katalitikus hidrogénezéssel a **75-77** aciklusos *syn* β-aminokarboxilátok szintézisét valósítottuk meg. A **71** intermedier és benziltrifenilfoszfónium bromidból *in situ* képződő "ilid" reakciójában a **78** diszubsztituált Wittig terméket nyertük, melynek redukciója a **79** végtermékhez vezetett (14. ábra).



14. ábra

A **80** dialdehidet a **14** dihidroxilált β -aminokarboxilát oxidatív gyűrűnyitási reakciójával állítottuk elő. Ezt követően Wittig reakciókon keresztül a **81-83** és **87** dialkenilezett analógok szintéziseit hajtottuk végre. Végül katalitikus hidrogénezési reakciók vezettek **84-86** és **88** telített *anti* β -aminosav származékokhoz. (15. ábra).



15. ábra

Közlemények és tudományos előadások:

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények listája:

- I. Loránd Kiss, **Maria Cherepanova**, Enikő Forró, Ferenc Fülöp
A novel access to functionalized cispentacins from norbornene β -amino acids
Chem. Eur. J. **2013**, *19*, 2102. **IF: 5.83***
- II. **Maria Cherepanova**, Loránd Kiss, Reijo Sillanpää, Ferenc Fülöp
Synthesis of novel functionalized cispentacins through C-C oxidative cleavage of *diendo*-norbornene β -amino acid
RCS Advances, **2013**, *3*, 9757. **IF: 2.56***
- III. **Maria Cherepanova**, Loránd Kiss, Enikő Forró, Ferenc Fülöp
A *de novo* stereocontrolled approach to *syn* and *anti* disubstituted acyclic $\beta^{2,3}$ -amino acid enantiomers
Eur. J. Org. Chem. **2014**, 403. **IF: 3.34***
- IV. **Maria Cherepanova**, Loránd Kiss, Ferenc Fülöp
Stereocontrolled transformation of cyclohexene β -amino esters into *syn* or *anti* difunctionalized acyclic $\beta^{2,3}$ -amino acid derivatives
Tetrahedron, közlésre elfogadva **IF: 2.89***

* A 2012-es impakt faktorokat tüntettem fel.

Értekezéssel kapcsolatos tudományos előadások listája:

- I. **Cherepanova Maria**
Synthesis of novel highly functionalized cyclic β -amino acids
XXXIV. Kémiai Előadói Napok
Szeged, 2011. november 2-4.
- II. **Cherepanova Maria**
Synthesis of novel highly functionalized cispentacins
A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány Tudományos előadóülése
Szeged, 2012. május 8.

- III. **Cherepanova Maria**, Kiss Loránd, Fülöp Ferenc
Synthesis of novel highly functionalized cispentacins
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése
Balatonszemes, 2012. június 6-8.
- IV. **Cherepanova Maria**, Kiss Loránd, Fülöp Ferenc
Synthesis of novel highly functionalized cyclic β -amino acids
BOSS XII – 13th Belgian Organic Synthesis Symposium,
Leuven, Belgium, 2012. július 15-20.
- V. **Cherepanova Maria**, Kiss Loránd, Enikő Forró, Fülöp Ferenc
A de novo stereocontrolled approach to *syn* and *anti* disubstituted acyclic $\beta^{2,3}$ -
amino acids
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése
Balatonszemes, 2013. június 5-7.