

**Szegedi Tudományegyetem**  
**Gyógyszertudományok Doktori Iskola**

Ph.D. program: Gyógyszerkémia, gyógyszerkutatás  
Programvezető: Prof. Dr. Kiss Loránd  
Intézet: Gyógyszerkémiai Intézet  
Témavezetők: Dr. Szatmári István  
Prof. Dr. Fülöp Ferenc

**dr. Lőrinczi Bálint**

**Funkcionalizált kinurénsav származékok szintézise és  
továbbalakítása**

**Komplex vizsga Bizottság:**

Elnök: Prof. Dr. Szakonyi Zsolt  
Tagok: Prof. Dr. Wölfling János  
Prof. Dr. Borbás Anikó

**Bíráli bizottság:**

Elnök: Prof. Dr. Ilisz István  
Opponensek: Dr. Szöllösi György  
Pápayné Dr. Sár Cecília  
Tagok: Dr. Berkó Szilvia  
Titkár: Dr. Sztojkov-Ivanov Anita

## A. ELŐZMÉNYEK ÉS CÉLKITÚZÉSEK

A KYNA (kinurénsav) egy, a triptofán (TRP) metabolizmusa során keletkező endogén vegyület. A TRP metabolizmusa a nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD) és NAD foszfát termeléséért felelős folyamat, melynek során a szervezet a TRP-t változatos származékokká, többek között L-kinureninné alakítja, amit ezt követően két eltérő úton alakíthat tovább. Az egyik út a KYNA keletkezéséhez, míg a másik a 3-hidroxi-kinurenin és a NAD-prekursor kinolinsav termeléséhez vezet.

A KYNA számos fontos tulajdonsága közül legkiemelkedőbb, hogy egyike az ismert endogén excitátoros aminosav receptor blokkolóknak, ugyanakkor ehhez szuprafiziológias koncentrációban egy széles spektrumú antagonistá tulajdonság is társul. Az egyik igazolt, hatáskifejtéséért felelős receptor az  $\alpha$ -7-nikotinos acetilkolin receptor, illetve egy másik, nem rég azonosított és érdekes lehetőségeket nyújtó receptor az  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolpropionsav (AMPA) receptor nagy affinitású pozitív-moduláló kötőhelye. A KYNA neuroprotektív hatásának köszönhetően, azaz hogy képes megakadályozni az excitotoxikus, ischemia indukálta és gyulladások okozta idegrendszeri károsodások során bekövetkező neuronelhalást, a közelmúltban megnövekedett az érdeklődés a KYNA származékokon végzett szintetikus és farmakológiai vizsgálatok iránt. A KYNA 5–8 pozícióinak szubsztitúcióját a kiindulási anilinek megfelelő megválasztásával lehet elérni a módosított Conrad–Limpach eljárás során. A 4-es helyzetű hidroxil-csoportot éter vagy amin funkciós csoporttá alakították, míg a 2-es helyzetű karboxil-csoportot főként a megfelelő észter, vagy amid származékok szintézisével módosították.

Formálisan a KYNA-ra nitrogén tartalmú 1-naftol származékként lehet tekinteni. Korábbi kutatómunkáink során az 1-naftolt és annak nitrogén tartalmú analógjait sikeresen reakcióba vittük módosított Mannich reakcióban (*mMr*), amik a megfelelő aminonaftolokhoz, aminokinolinolokhoz vagy aminoizokinolinolokhoz vezettek. Egy ehhez hasonló átalakítást írt le Schmitt és mtsai. xanturénsavból kiindulva. Ennek során a C-8 helyzetű hidroxil-csoport benzil-funkcióval történő védésén keresztül, régiószelektív aminoalkilezést hajtottak végre a kiindulási vegyület 3-as pozíciójában.

Korábbi KYNA amidok kiértékelése alapján egy tercier nitrogén szükséges a központi idegrendszeri biológiai aktivitás kialakításához. Ilyen funkciós csoporttal rendelkező

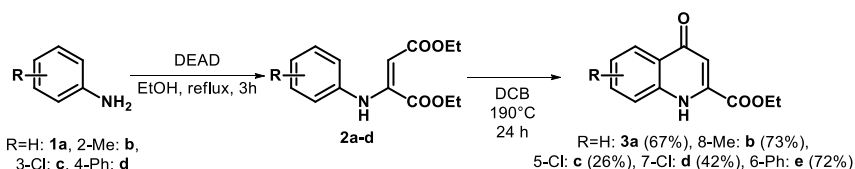
származékok több módszerrel is előállíthatók, például a korábban említett karboxil funkció amidálásával. Egy alternatív út a 4-hidroxi-csoport amin-csoporttá történő átalakítása, majd annak későbbi, nitrogén tartalmú haloalkilaminnal végrehajtott alkilezése lehet.

Az eredeti Mannich reakcióban egy viszonylag egyszerű, „egy-lombik” reakcióban egy C–H sav, formaldehid és egy szekunder amin alakít ki egy úgynevezett Mannich bázist. Nemrég ennek egy speciális esete, a *mMr* terjedt el, melynek során a C–H savat, aktív hidrogén forrásként elektronban gazdag aromás rendszerek, például 1- vagy 2-naftol, cserélik le. Eredeti elképzelésünk szerint a KYNA egy nitrogén tartalmú 1-naftol származéknak tekinthető, így PhD munkám fő célkitűzése a kinurénsav reaktivitásának vizsgálata volt a *mMr*-ban. Szintén célként fogalmazódott meg ebben a háromkomponensű reakcióban az aminok és aldehidek kiterjeszhetőségének vizsgálata változatos szerkezetű 3-aminoalkilezett kinurénsavanalógok szintézisének reményében.

A munkám további célkitűzése a KYNA-n végrehajtható *mMr* kiterjeszhetőségének vizsgálata volt. Ennek megvalósítása érdekében tesztelni kívántuk a KYNA-nak különböző funkcionalizált, vagy amid származékait, aminoalkilező ágensként különböző reprezentatív aminokat, illetve aldehideket alkalmazva. Néhány amid és B-gyűrűn hidroxi-szubsztituált származék esetében a módosításokat különböző szintetikus eljárások összehasonlításával, illetve DFT számításokkal alátámasztott szisztematikus reakciókkal is vizsgálni kívántuk.

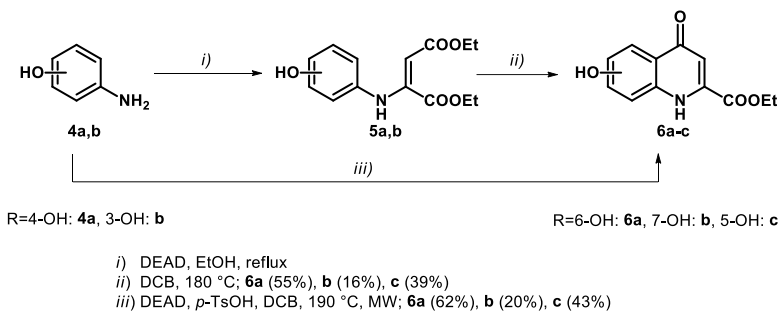
## B. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

1. A KYNA etilészterének (**3a**), illetve alkil-, aril- és halogénnel szubsztituált származékainak (**3b-e**) szintézise során alkalmazott Conrad-Limpach eljárást két lépés beiktatásával optimalizáltuk: (i) a köztitermék énaminok oszlopkromatográfiás tisztításával és (ii) a gyűrűzárási reakció során –egyszerűbb feldolgozást eredményező– 1,2-diklórbenzol alkalmazásával (1. ábra).



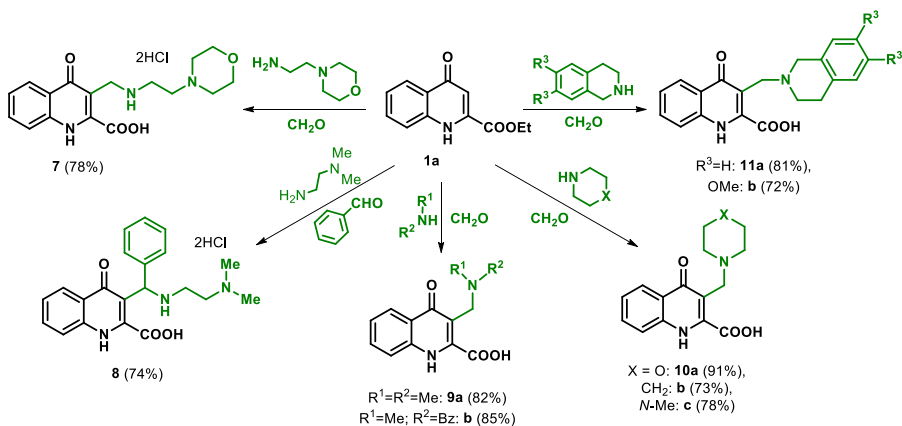
1. ábra

A hidroxilált KYNA származékok (**6a-c**) szintézise során –a reakció kiterjesztésén és az optimalizált Conrad-Limpach eljárás alkalmazásán felül– egy *p*-TsOH katalizált mikrohullámú reaktorban végrehajtott alternatív módszert is alkalmaztunk (2. ábra).



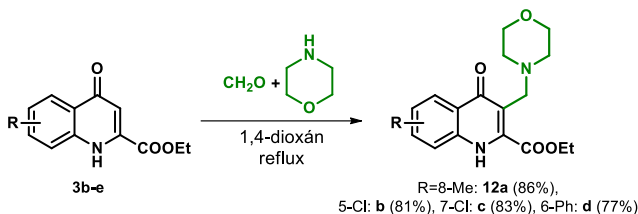
2. ábra

2. A kinurénsav és 1-naftol közötti szerkezeti hasonlóságokra alapozva vizsgáltuk a KYNA reaktivitását egy módosított Mannich típusú reakcióban. A C-3 aminoalkilizéseket benzaldehid és formaldehid mellett különböző primer és szekunder ciklikus és aciklikus aminokat alkalmazva hajtottuk végre (3. ábra).



3. ábra

Az eljárást ezt követően kiterjesztettük az alkil-, aril- és halogén szubsztituált KYNA származékokra (**3b-e**), a *mMr*-ben morfolint és formaldehidet, mint reprezentatív amint és aldehidet alkalmazva (4. ábra). A reakciók során a C-3 szubsztituált származékok (**12a-d**) keletkeztek. Ugyanakkor megállapítottuk, hogy a B-gyűrű szubsztituensei nem befolyásolták nagymértékben a prekursor KYNA észterek reaktivitását.

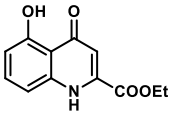
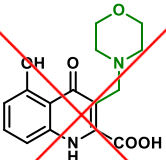
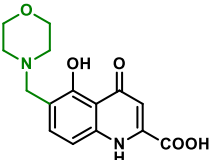
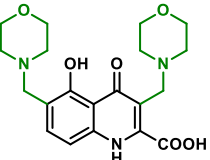
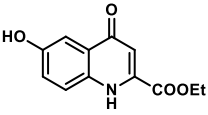
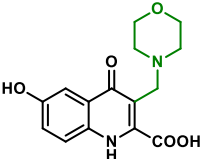
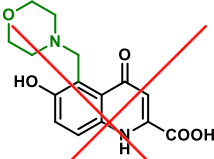
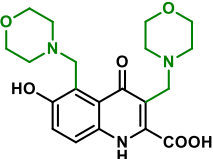
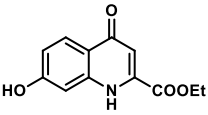
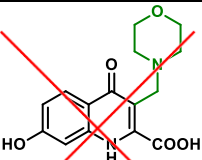
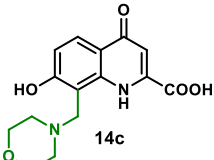
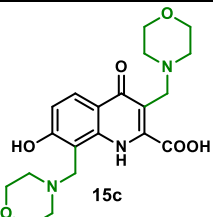
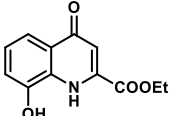
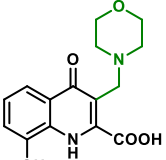
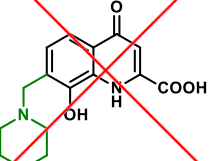
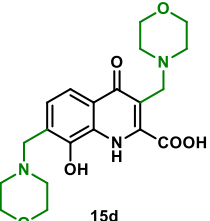


4. ábra

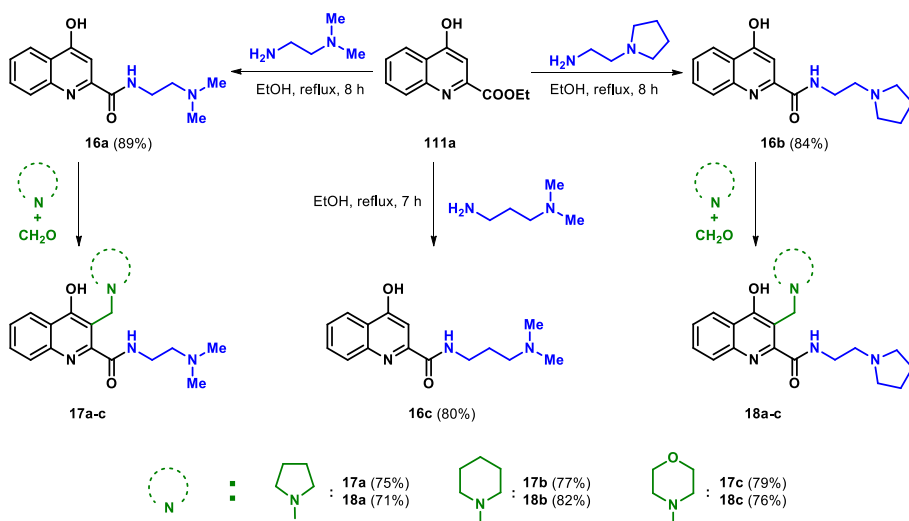
3. A *mMr* kiterjeszhetőségét hidroxifunkcionalizált származékok (**6a-c**, **13**) esetében is vizsgáltuk. A szubsztitúciókat –reprezentatív reagensekként morfolint és paraformaldehidet alkalmazva– egy szisztematikus vizsgálat keretén belül hajtottuk végre, amelynek eredményeként mono- és diszubsztituált származékokat (**14a-d**, **15a-d**) izoláltunk (1. táblázat). A termék- és régiószelktivitást DFT számításokkal támasztottuk alá, amik rávilágítottak az iminium ion köztitermékekkel elreagáló, feltételezett aktív

komponensek, azaz KYNA észter anionok potenciális nukleofil centrumainak HOMO eloszlására és NBO töltéseire.

1. táblázat

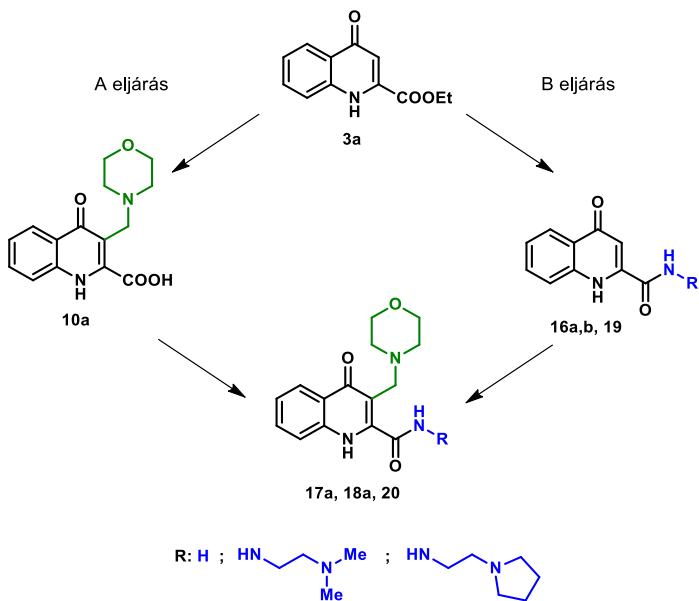
Kiindulási észter	C-3 szubsztituált származék	B-gyűrűn szubsztituált származék	Diszubsztituált származék
 <p>6a</p>	 <p>14b</p>	 <p>14a</p>	 <p>15a</p>
 <p>6b</p>	 <p>14c</p>	 <p>14d</p>	 <p>15b</p>
 <p>6c</p>	 <p>14e</p>	 <p>14f</p>	 <p>15c</p>
 <p>13</p>	 <p>14g</p>	 <p>14h</p>	 <p>15d</p>

4. A központi idegrendszerben kiváltott biológiai aktivitáshoz szükséges tercier nitrogénnel rendelkező aminok felhasználásával a KYNA amid analógjait (**16a-c**) állítottuk elő. Ezen származékokat ezt követően a C-3 aminoalkilezések kibővítésére használtuk fel ciklikus és aciklikus aminok és formaldehid felhasználásával (**17a-c**, **18a-c**, 5. ábra). Az így előállított amidokat és aminoalkilezett származékok hatásait vér-agy gát penetrációs, különböző hippokampális sejt kultúrákon végzett elektrofiziológiás és *S. aureus*, illetve *C. pneumonia* indukálta U-937 monocitikus sejtek TNF- $\alpha$  termelésére kifejtett hatásának nyomonkövetésére kialakított kísérletekben vizsgálták. A vizsgálatok során a morfolinmetilezett *N*-2-(dimetilamino)etilamid analóg mutatta a legígéretesebb eredményeket további kutatások indítására.



5. ábra

5. Vizsgáltuk az aminoalkilezett amidokhoz vezető két lehetséges szintetikus eljárást, azaz az amidálását követő aminoalkilezést (A módszer) és ennek fordított sorrendjét (B eljárás).



**6. ábra**

Három reprezentatív aminoalkilezett amid származék teljes hozamának összehasonlítása rámutatott arra, hogy a kívánt származékokat az amidalsát követő aminoalkilezés (B eljárás) magasabb hozamban eredményezi.



## C. AZ ÉRTEKEZÉS ANYAGÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Mándi, Y.; Endrész, V.; Mosolygó, T.; Burián, K.; Lantos, I.; Fülöp, F.; Szatmári, I.; **Lőrinczi, B.**; Balog, A.; Vécsei, L.  
The opposite effects of kynurenic acid and different kynurenic acid analogues on tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production and tumor necrosis factor-stimulated gene-6 (TSG-6) expression in U-937 cells.  
*Front. Immunol.* **2019**, *10*, 1406, DOI: 10.3389/fimmu.2019.01406 **IF.:5.085**
2. Fehér, E.; Szatmári, I.; Dudás, T.; Zalatnai, A.; Farkas, T.; **Lőrinczi, B.**; Fülöp, F.; Vécsei, L.; Toldi, J.  
Structural evaluation and electrophysiological effects of some kynurenic acid analogues.  
*Molecules* **2019**, *24*, 3502, DOI: 10.3390/molecules24193502 **IF.:3.267**
3. **Lőrinczi, B.**; Csámpai, A.; Fülöp, F.; Szatmári, I.  
Synthesis of New C-3 Substituted Kynurenic Acid Derivatives.  
*Molecules* **2020**, *25*, 937, DOI: 10.3390/molecules25040937 **IF.:3.267**
4. Molnár, K.; **Lőrinczi, B.**; Fazakas, C.; Szatmári, I.; Fülöp, F.; Kmettykó, N.; Berkecz, R.; Ilisz, I.; Krizbai, A. I.; Wilhelm, I.; Vécsei, L.  
SZR-104, a novel kynurenic acid analogue with high permeability through the blood–brain barrier.  
*Pharmaceutics* **2021**, *13*, 61, DOI: 10.3390/pharmaceutics13010061 **IF.:4.421**
5. **Lőrinczi, B.**; Csámpai, A.; Fülöp, F.; Szatmári, I.  
Synthetic- and DFT modelling studies on regioselective modified Mannich reactions of hydroxy-KYNA derivatives.  
*RSC Adv.* **2021**, *11*, 543. DOI: 10.1039/d0ra08325a **IF.:3.119**
6. Lo, Y-C.; Lin, C-L.; Fang, W-Y.; **Lőrinczi, B.**; Szatmári, I.; Chang, W-H.; Fülöp, F.; Wu, S-N.  
Effective activation by kynurenic acid and its aminoalkylated derivatives on M-type K<sup>+</sup> current.  
*Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1300. DOI: 10.3390/ijms22031300 **IF.:4.556**

## D. AZ ÉRTEKEZÉSEL KAPCSOLATOS ELŐADÁSOK

1. **Bálint Lőrinczi**  
*Kinurénsav-származékok továbbalakítása ortokinon-metid köztiterméken keresztül;*  
XIII. Clauder Ottó memorial  
November 22. – 23. 2018. Budapest, Hungary
2. **Bálint Lőrinczi**, Ferenc Fülöp and István Szatmári  
*A kinurénsav C-3 helyzetének szubsztitúciója módosított Mannich-reakció segítségével*  
Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése  
June 3. – 5. 2019. Balatonszemes, Hungary
3. **Bálint Lőrinczi**, István Szatmári and Ferenc Fülöp  
*Synthesis and transformation of kynurenic acid derivatives*  
19<sup>th</sup> Tetrahedron Symposium  
June 26. – 29. 2018. Riva del Garda, Italy
4. **Bálint Lőrinczi**, Ferenc Fülöp and István Szatmári  
*Synthesis of pyrroloquinolinone derivatives via ortho-quinonemethides*  
26<sup>th</sup> Young Research Fellow Meeting  
February 20. – 22. 2019. Paris, France
5. **Bálint Lőrinczi**, Ferenc Fülöp and István Szatmári  
*Transformation of substituted kynurenic acid derivatives in modified Mannich reaction*  
25th International Conference on Chemistry  
October 24. – 26. 2019. Cluj-Napoca, Romania