

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

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

dr. Simon Péter

KYNA származékok zöldkémiai előállítása
és továbbalakításai

Komplex vizsga Bizottság:

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

Bírálni bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Dombi György
Opponensek: Dr. Bognár Balázs
Dr. Kanizsai Iván
Tagok: Dr. Sztojkov-Ivanov Anita (titkár)
Dr. Kiss Tivadar

A. ELŐZMÉNYEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A kinurénsav (KYNA) egy endogén kinolinszármazék, amely a kinurenin metabolikus úton az esszenciális L-triptofánból képződik. A vegyület fiziológias szintjétől való eltérés kapcsolatba hozható számos neurológiai kórképpel úgymint a Parkinson, a Huntington betegség, epilepszia és a migrén. Neuroprotektív hatásai széleskörű kutatási területnek ad alapot. A kinurénsav, valamint 5–8 szubsztituált származékainak szintézise általánosan a Conrad–Limpach eljárással történik. A kétlépéses eljárásban első lépésként egy énamin köztitermék kialakulása történik meg, amely követő ciklizációja nem környezetbarát hagyományos oldószereket (difenil-éter, halogénezett aromás szénhidrogének) vagy katalizátorokat mint a polifoszforsavat vagy a *para*-toluol szulfonsavat igényel. Legújabb kutatások az eljárás olyan módosítását írják le ahol az alkalmazott hőközlést és/vagy a feldolgozást optimalizálják. A vegyülettel kapcsolatos kutatások utolsó szakaszaiban az alapváz további módosítására fókuszáltak annak érdekében, hogy javuljon az adott kinurénsavszármazék vér-agy gáton keresztüli penetrációja és hatása. A KYNA észter prekursorainak amidálásával tercier amin részlet épülhetett be, utat nyitva további finomhangolási lehetőségeknek. Ezt példázza az, hogy egyes amidszármazékok protektív hatásáról számoltak be az NMDA-receptorhoz köthető excitotoxicitás folyamatával szemben Alzheimer betegség agyi ischemia és transzgenikus egér modelljében, valamint Huntington betegség transzgenikus egér modelljében. A legújabb kutatások rámutattak, hogy a KYNA, mint 1-naftol analóg, C-3 helyzetben aminoalkilezhető a módosított Mannich-reakcióval, lehetőséget biztosítva a vázszerkezet további módosításaira. Mindemellert egyes aminoalkilezett származékok fEPSP-áramot gátló hatásairól számoltak be patkány CA1 hippocampális területeinek vizsgálata során.

PhD munkám első célkitűzéseként a kinurénsavszármazékok új, környezetbarát szintézisét terveztük megvalósítani. A Conrad–Limpach eljárás – mellyel számos biológiailag és kémiaailag reprezentatív metil-, metoxi- vagy halogénszubsztituált KYNA etilészter szintetizálható – olyan zöldkémiai alapokon fekvő módosításait terveztük, ahol a hagyományos hőközlést mikrohullámú eljárás váltja fel a legújabb irodalmi adatok figyelembevételével. Egy kétlépéses, egyedényes eljárást megtervezését tűztük ki célul,

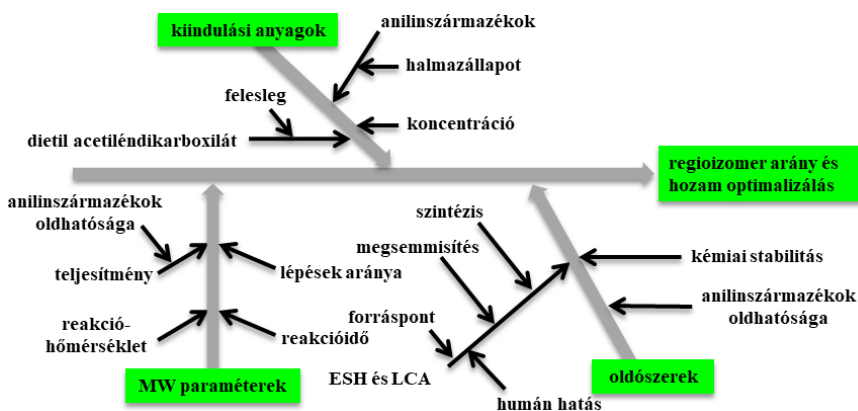
melyben a köztes tisztítási lépések elhagyásával csökkenthető az oldószerfelhasználás. A hagyományos reakcióközeget megújuló oldószerekkel terveztük helyettesíteni, amelyhez a szóban forgó oldószerek ESH (Environment – Health – Safety) és LCA (Life Cycle Assessment) vizsgálatára van szükség. Ezen besorolási szempontok figyelembe veszik az oldószer előállításának, megsemmisítésének és a preparatív munka során felmerülő környezeti hatását (pl. illékonyság, forráspon). A zöld oldószerek széleskörű elérhetőségére, valamint a gamma-valerolakton (GVL) és a dietil karbonát (DEC) kedvező tulajdonságaira való tekintettel ezen oldószerek alkalmazásával terveztük a Conrad–Limpach módszer további optimalizálását végrehajtani. A szintézismódszerek méretnövelése, továbbá zöldkémiai alapokon megtervezett analitikai eljárások használata további célunk tárgyát képezte.

Kutatási célunk volt a kinurénsav C–3 aminoalkilezési reakcióinak kiterjesztése aminosavak használatával. A reakció során tervünk szerint ikerionos fragmensek építhetők be a KYNA szerkezetébe, azonban előkísérleteink C–3 alkoximetilezési reakció lezajlására engedtek következtetni. Az alkoxialkilezési reakciók a szerves kémia olyan sokat vizsgált részterülete (mint direkt és *retro*-Mannich reakcióban végbemenő alkoxialkilezés) amely talaján további optimalizáció és átfogó vizsgálat végrehajtását terveztük gyűrűs aminok, azok acetátjai vagy megfelelő aminosavszármazékainak alkalmazásával. A reakció kiterjesztése és határainak felderítése további célunk tárgyát képezte, mellyel változatos benzil-éter szerkezetű KYNA analógok szintetizálhatók. Tekintettel arra, hogy az alkoxialkilezési reakciók tárgyköre széleskörűen publikált, ezen témakör képezte a disszertációm irodalmi részét.

A kinurénsav továbbalakítása indol-KYNA triarilmetánszármazékokká harmadik fő célkitűzésünk volt. Korábbi kutatások alapján két lehetséges reakcióútvonalat terveztünk tesztelni. Az indol Mannich-termékeinek kinurénsavval, valamint a KYNA Mannich-termékeinek indollal való *retro*-Mannich reakcióban történő átalakítása volt célunk, valamint a reakció optimalizálása, kiterjeszhetőségének vizsgálata 5–8 szubsztituált kinurénsav analógok alkalmazásával.

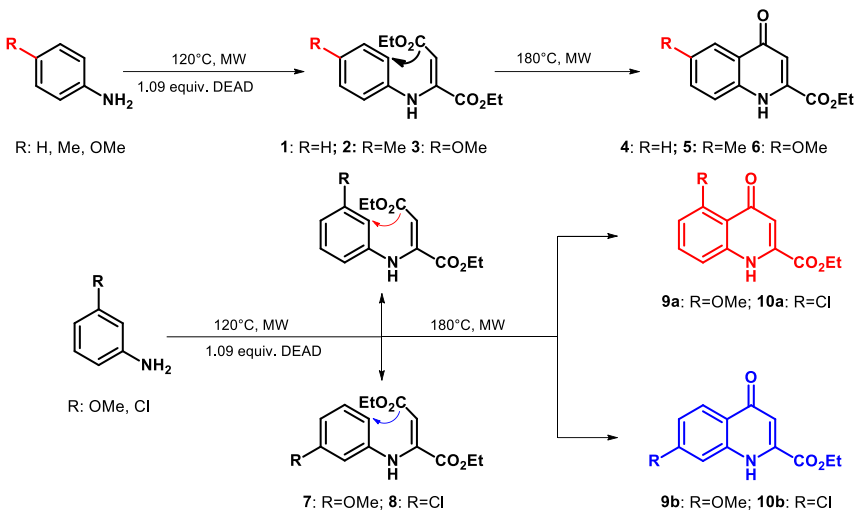
B. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

1. Biológiai szempontból kiemelkedően fontos kinurénsavszármazékok szintézisét vizsgáltuk és optimalizáltuk egyedényes, kétlépéses mikrohullámú reakciókban. Ennek megfelelően szubsztituátlan, metil-, metoxi- és klórszubsztituált anilin származékokból kiindulva, katalizátormentes körülmények között hét kinurénsav-származék 2–3,5 órás reakcióidejű szintézisét valósítottuk meg. Olyan kulcsfontosságú paramétereket vizsgáltunk és optimalizáltunk, mint a reakcióidő, reakcióhőmérsékletet, kiindulási anilinszármazékok oldhatósága, koncentrációja és reagensekhez viszonyított mólaránya (1. ábra).



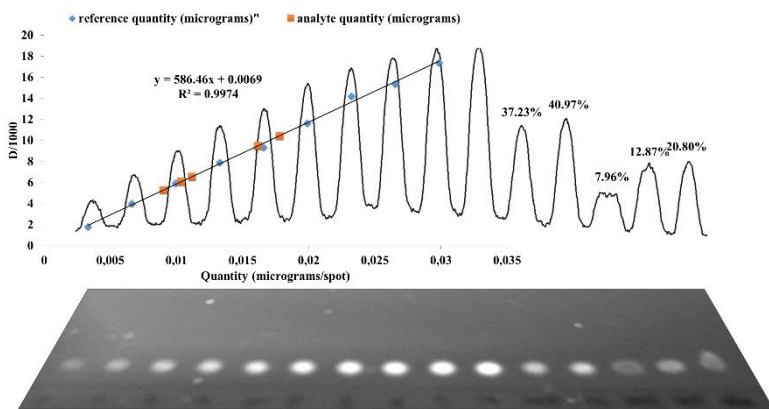
1. ábra A mikrohullámú szintézisek során figyelembevett reakcióparaméterek

Az 1,2-diklórbenzol helyettesítése céljából négy zöld, dietil-karbonátból és gamma-valerolaktonból készült, hangolható oldószerrendszert teszteltünk (2. ábra). A mikrohullámvezérelt reakciók hozamcsökkenése nem volt megfigyelhető, mely a megújuló oldószerekben rejlő potenciált mutatja. Arra is rámutattunk, hogy az oldószerrendszerek célirányos változtatásával a regioizomer arány finomhangolható volt a szubsztituált kinurénsavszármazékok szintézise során.



2. ábra A 4–6, 9, 10 KYNA analógok regiodivergens szintézise

2. A reakciók konverzióinak vizsgálatát zöldkémiai megfontolások mellett terveztük végrehajtani. A vékonyrétegekromatográfiás denzitometria (3. ábra) egy gyors, környezetbarát, alacsony költséggel járó alternatívát jelentett a mennyiségi NMR vizsgálatokkal szemben a szintézisek konverzióvizsgálata során.

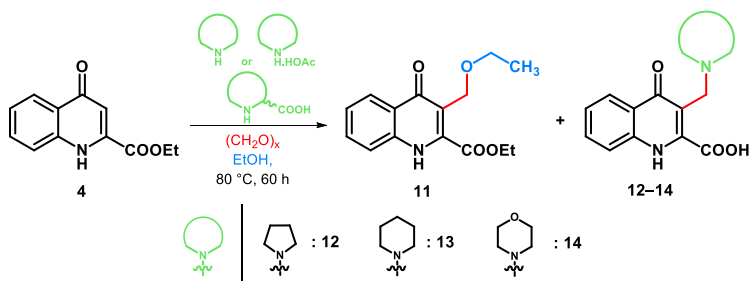


3. ábra A 4 vegyület VRK-denzitometriás analízise

Grammos méretnövelést sikerrel hajtottunk végre hagyományos diklórbenzol oldószerben, melyet sikeresen továbbfejlesztettünk zöld oldószerek használatával az előkísérletekben

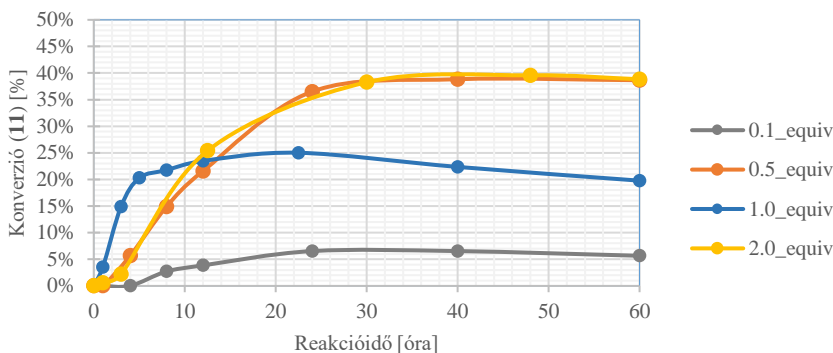
meghatározott konverzióértékek csökkenése nélkül. Ezen preparatív módszerek megkönnyítették számos kinurénsavszármazék Conrad–Limpach módszerrel végrehajtott szintézisét.

3. A kinurénsav új C–3 alkoximetil származékait szintetizáltuk szekunder aminosavkatalizátor jelenlétében, melyek feltételezéseink szerint a Mannich–*retro*-Mannich reakcióútvonalon képződtek. A szekunder amin csoport fontosságát bizonyítottuk a reakció végbemenetele során, továbbá a reakciókat végrehajtottuk szokásos additívek mellett, gyűrűs aminokkal, azok acetátsóival és számos savas karakterű *N*-nukleofil alkalmazásával. Az eredmények rávilágítottak a heterociklus jelenlétének és típusának fontosságára, valamint az *O*-nukleofileket koordináló képességére (4. ábra).



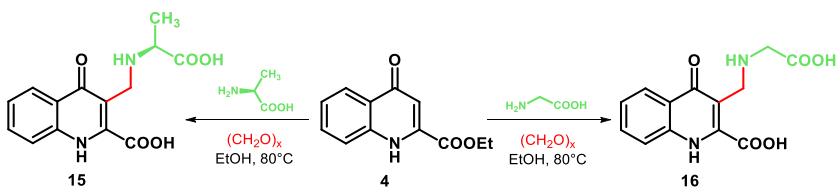
4. ábra A 4 vegyület C–3 funkcionalizálása szekunder gyűrűs aminokkal, azok acetátsóival vagy a megfelelő aminosavakkal

4. A reakció mechanizmusára a *retro*-Mannich reakciók irodalmi adatai alapján javaslatot tettünk, továbbá analóg reakciók végrehajtásával azt indirekt módszerrel bizonyítottuk. Teszteltük az aminosavak (L-prolin, D-pipekolinsav és *S*)-3-morfolin karbonsav) optimális ekvivalenciaviszonyait. Az eredmények alátámasztották, hogy az additív mennyiségű (0.5 ekvivalens) aminosav a mellékreakciók visszaszorítása mellett növelte a konverziót és megkönnyítette a további feldolgozási lépéseket (5. ábra).



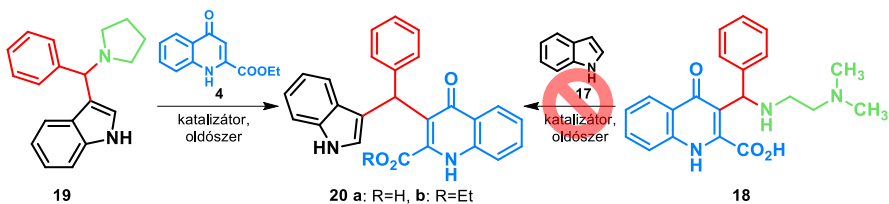
5. **ábra** A **11** vegyület konverziógörbéi az (*S*)-3-morfolin karbonsav különböző ekvivalenciáinak függvényében

5. Két új glicin és L-alanin részletet tartalmazó kinurénsavszármazékot szintetizáltunk, amellyel meghatároztuk az anyavegyület aminosavval történő C–3 alkoximetilezési reakciójának határait (6. ábra). Az alkoxialkilezési reakció korlátait is vizsgáltuk, melynek eredményeképpen két új, etoximetil és izopropoximetil fragmenst C–3 helyzetben tartalmazó kinurénsav analógot állítottunk elő.



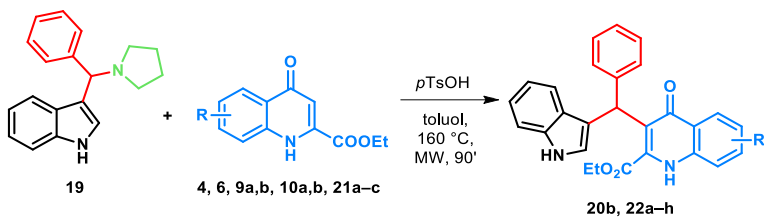
6. **ábra** A **4** vegyület C–3 funkcionálizálása glicinnel és L-alaninnal

6. Sikeresen szintetizáltunk indol és kinurénsav vázelemekből triarilmétán biokonjugátumokat az indol Mannich-bázisainak C–N hasításával és a benzilidén indol köztitermék azt követő C–C kapcsolásával (7. ábra). Az amin részlet eliminációját a savas és bázikus környezet egyaránt segítette, két katalitikus útvonalnak utat engedve. Alternatív reakcióútként vizsgáltuk a KYNA és a szerkezeti analóg 1-naftol Mannich-bázisainak reaktivitását indollal. A kísérleti eredmények bizonyították, hogy az indol Mannich-bázisaiból és az abból képződő benzilidén-indolon keresztül végbemenő átalakítások magasabb hozammal zajlanak le.



7. ábra KYNA és indol vázelemekből felépített triarilmétánszármazékok szintézise

7. A reakciókat kiterjesztettük a kémiaailag és biológiailag ígéretes klór- és metoxiszubsztituált kinurénsavszármazékok alkalmazásával, mellyel KYNA és indol vázelemekből felépített, potenciálisan bioaktív triarilmétánszármazékok széles palettáját állítottuk elő (8. ábra).



R=H: 4, 20b; 5-Cl: 10a, 22a; 6-Cl: 21a, 22b; 7-Cl: 10b, 22c; 8-Cl: 21b, 22d;
5-OMe: 9a, 22e; 6-OMe: 6, 22f; 7-OMe: 9b, 22g; 8-OMe: 21c, 22h

8. ábra KYNA-indol alapú triarilmétánszármazékok szintézisének kiterjesztése

C. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés anyagát képező közlemények

- I. Simon, P.;** Lőrinczi, B.; Szatmári, I.
Alkoxyalkylation of Electron-Rich Aromatic Compounds
Int. J. Mol. Sci. **2024**, *25*, 6966.
<https://doi.org/10.3390/ijms25136966> **IF.: 4.9**
- II. Simon, P.;** Lőrinczi, B.; Szatmári, I.
Novel Eco-friendly, One-Pot Method for the Synthesis of Kynurenic Acid Ethyl Esters
ACS Omega **2023**, *8*, 17966.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01170> **IF.: 3.7**
- III. Simon, P.;** Lőrinczi, B.; Szatmári, I.
C–3 alkoxy methylation of 4-oxo-1,4-dihydroquinoline 2-carboxylic acid esters *via* organic additives
Heliyon **2024**, *10*, e32188.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32188> **IF.: 3.4**
- IV. Lőrinczi, B.;** **Simon, P.;** Szatmári, I.
Synthesis of Indole-Coupled KYNA Derivatives *via* C-N Bond Cleavage of Mannich Bases.
Int. J. Mol. Sci. **2022**, *23*, 7152.
<https://doi.org/10.3390/ijms23137152> **IF.: 5.6**
- Egyéb közlemények*
- V. Gombár, G.;** **Simon, P.;** Ungor, D.; Szatmári, I.; Csapó, E.
Histidinehydroxamic acid as new biomolecule to produce molecular-like fluorescent gold nanoclusters: Possible mechanisms for metal ion sensing
J. Mol. Liq. **2023**, *387*, 122597.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122597> **IF.: 5.3**
- VI. Ibos, K.E.;** Bodnár, É.; Dinh, H.; Kis, M.; Márványkövi, F.; Kovács, Z.; Siska, A.; Földesi, I.; Galla, Z.; Monostori, P.; Szatmári, I.; **Simon, P.;** Sárközy, M.; Csabafi, K.
Chronic kidney disease may evoke anxiety by altering CRH expression in the amygdala and tryptophan metabolism in rats
Pflüg. Arch. **2024**, *476*, 179.
<https://doi.org/10.1007/s00424-023-02884-y> **IF.: 2.9**

D. AZ ÉRTEKEZÉSEL KAPCSOLATOS ELŐADÁSOK

1. Péter Simon

Szubsztituált kinurénsavszármazékok mikrohullám-asszisztált zöldkémiai előállítása

A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány a SZAB Szerves és Gyógyszerkémiai Munkabizottsággal és az MKE Csongrád Megyei Csoportjával közösen rendezett 22. tudományos előadóülése

2022. május 18. Szeged, Magyarország

2. Péter Simon, Bálint Lőrinczi, István Szatmári

Új környezetbarát, one-batch eljárások kidolgozása kinurénsav-származékok szintézisére

Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése

2022. május 23–25. Balatonszemes, Magyarország

3. Péter Simon, Bálint Lőrinczi, István Szatmári

A novel eco-friendly, one-pot method for the synthesis of kynurenic acid ethyl esters

22nd Tetrahedron Symposium: Catalysis for a Sustainable World

2022. június 28.–július 1. Lisszabon, Portugália

4. Péter Simon

Kinurénsavszármazékok egylobbikos, környezetbarát előállítása és továbbalakítása

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógyszerkutatói Szakosztálya „Fiatal Kutatók Fóruma”

2022. november 25. Budapest, Magyarország

5. Péter Simon, Bálint Lőrinczi, István Szatmári

Új, C-3 alkoximetil-kinurénsavszármazékok szintézise

Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése

2023. május 31.–június 2. Balatonszemes, Magyarország

6. Péter Simon, Bálint Lőrinczi, István Szatmári

Kinurénsavszármazékok organokatalitikus C–3 alkoximetilezési reakcióinak feltérképezése és kiterjesztése

XXIX. Nemzetközi Vegyészkonferencia

2023. október 23–25. Marosvásárhely, Románia

7. Péter Simon

Kinurénsavszármazékok zöldkémiai előállítása és orto-kinonmetid köztiterméken való funkcionálizálása organoadditívek alkalmazásával

MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottságának Patonay Tamás-díj átadásával egybekötött nyílt ülése

2023. december 18. Budapest, Magyarország

8. Péter Simon, Bálint Lőrinczi, István Szatmári

Organoadditive facilitated C–3 alkoxymethylation of 4-oxo-1,4-dihydroquinoline 2-carboxylic acid esters

16th Congress of the International Society for Tryptophan Research

2024. április 24–26. Jéna, Németország

9. Péter Simon, Bálint Imre Modok, István Szatmári

Synthesis and transformation of novel sulfur-containing kynurenic acid heteroanalogues

24th Tetrahedron Symposium

2024. június 18–21. Montpellier, Franciaország