

Ph.D. Thesis

Bioaktív származékok előállítása elektronikus aromás vegyületek átalakításával

dr. Hegedűs Dóra



Témavezető:

Prof. Dr. István Szatmári

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszerkémiai Intézet

2024

Szegedi Tudományegyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

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

dr. Hegedűs Dóra

**Bioaktív származékok előállítása elektrondús aromás
vegyületek átalakításával**

Komplex vizsga Bizottság:

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

Bírálni bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Ilisz István
Opponensek: Pápayné Dr. Sár Cecília
Dr. Vágvolgyi Máté
Titkár: Dr. Tóth Noémi
Tag: Dr. Berkó Szilvia

A. ELŐZMÉNYEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A Mannich-reakció az egyik legfrekvenciáltabban alkalmazott, szerves kémiai szintézisek megvalósítására irányuló eljárás. Alkalmazását különösen indokolja, hogy enyhe reakciókörülmények között is új C–C és C–N kötés alakítható ki. A módosított Mannich-reakció (*mMR*) mechanizmusát tekintve formaldehid helyett benzaldehidet, szekunder amin helyett ammóniát használ, és a C–H-savat elektrondús aromás vegyülettel mint 1-, illetve 2-naftollal vagy nitrogéntartalmú naftolanalógokkal helyettesíti, amely antiproliferatív aktivitással rendelkező kelátképző vegyületeket eredményez.

Az előzmények tekintetében, korábbi Intézeti munka során, 1- α -aminobenzil-2-naftol és 3,4-dihidroizokinolin reakciója során nem várt átalakulás révén naft[1,2-*e*][1,3]oxazino[2,3-*a*]izokinolinok előállítására valósult meg mikrohullámú hőközlés alkalmazása mellett. A továbbiakban 2-aminoalkil-1-naftolokból és C=N kötést tartalmazó dienofil vegyületekből kiindulva új naftoxazino-izokinolin, -benzazepin és -tienopiridin származékok előállítását hajtották végre. Enantiomertiszta (4*aS*,8*aS*)-4*a*,5,6,7,8,8*a*-hexahidro-2-kinoxalinonból és 1-aminoalkil-2-naftolokból vagy 2-aminoalkil-1-naftolokból kiindulva új nemracém naft[1,3]oxazino[3,2-*a*]kinoxalinonok szintézise valósult meg. Korábbi szakirodalom alátámasztja, hogy funkcionális aminonaftol vagy aminofenantrol származékok reaktivitását különböző ciklikus iminek alkalmazásával tesztelték [4+2] cikloaddícióban. Irodalmi adatok alapján aromás *orto*-kinon metidek (*o*-QM) képződését és továbbalakítását [4+2] cikloaddíció révén vizsgálták. A Mannich-bázisokból generált *orto*-kinon metidek irodalmát áttekintve nem találtunk utalást részlegesen aromás *o*-QM-ek képződésére, illetve továbbalakítására. Ennek megfelelően, elsődleges célkitűzésünk volt 2-, illetve 1-naftollal szubsztituált bifunkciós glicin típusú prekursorok előállítása. A prekursorok részlegesen aromás *orto*-kinon metid köztiterméken keresztül történő stabilizálódását különböző ciklikus iminokkal kívántuk vizsgálni [4+2] cikloaddícióban. Irodalmi feljegyzések rámutattak, hogy a potenciálisan 1-naftol analógnak tekinthető 8-hidrokinolin biológiailag aktív szerkezeti elem. A Mannich-reakció egyik lehetséges kiindulási anyagként említhető a 8-hidrokinolin, amely számos biológiailag aktív vegyület szerkezetét képezi, ezzel ezen származékok a fertőző betegségek, neuropátiás kórképek, és különböző daganattípusok terápiájában mutatkoznak relevánsnak. Tekintve, hogy a 8-hidrokinolin-származékok változatos biológiai aktivitása finomhangolható a vázelem

szerkezeti módosítása révén, célul tűztük ki az 5-klór-8-hidroxi-kinolin Mannich-reakcióban való tesztelését.

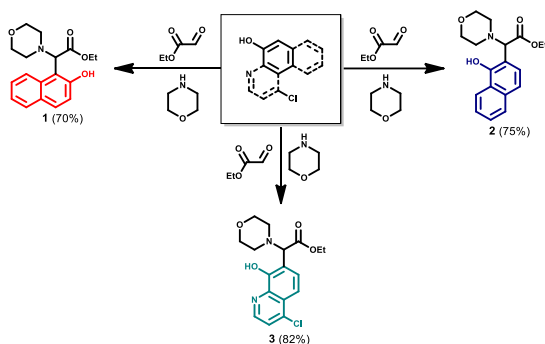
A közelmúltban végzett kutatások eredményeként a potenciálisan biológiai aktivitással bíró indolból és 2-naftolból vagy a kinurénsav etil-észteréből álló triarilmetán származékok képződését írták le. PhD munkám további célkitűzéseként a 2-, illetve 1-naftollal szubsztituált glicin származékok reaktivitását indollal és 7-azaindollal terveztük vizsgálni. Célul tűztük ki továbbá az 5-klór-8-hidroxi-kinolin vázelemet tartalmazó Mannich bázis továbbalakíthatóságának vizsgálatát indollal és 7-azaindollal, valamint tanulmányozni kívántuk az aldehid- és amin komponens változtatásának hatását a reakció végbemenetelére.

Különböző ciklikus iminek és indol származékok mint elektrondús aromás vegyületek direkt kapcsolását valószínűsítették meg a speciális *mMR*-ként értelmezhető módosított *aza*-Friedel–Crafts reakció révén. A reakció kiterjeszhetőségének vizsgálata, valamint a szerkezeti módosítások hatásának vizsgálata részét képezték kutatómunkánkknak, ezzel lehetőséget biztosítva arra, hogy elsődleges következtetést vonjunk le a C-3-kapcsolt indol- és azaindol-származékok szerkezet-hatás összefüggéseit illetően. Eszerint szisztematikusan válogatott származékok szintézisének megismétlését (3-izokinolil-, 3-tieno[3,2-*c*]piridil-, 3- β -karbonil- és 3-benz[*c*]azepinil-indol-, azaindol vegyületek), valamint új származékok előállítását 6,7-dimetoxi-3,4-dihidroizokinolin, (4*aR*,8*aR*)-4*a*,5,6,7,8,8*a*-hexahidrokinoxalin-2(1*H*)-on és 7-azaindol reagáltatásával terveztük megvalósítani.

A munka egészét tekintve, a szerkezet-hatás összefüggések áttekintése érdekében a szintetizált vegyületek antibakteriális és daganatellenes aktivitását elsődleges biológiai szűrőmódszerekkel kívántuk tesztelni.

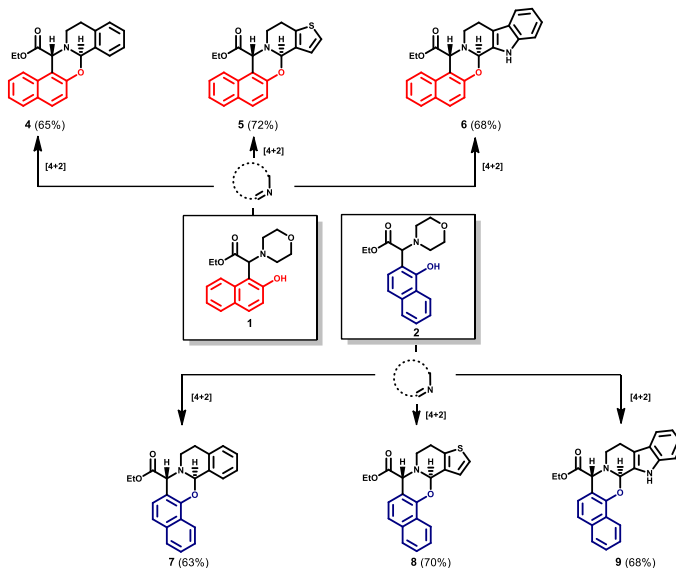
B. EREDMÉNYEK

1. PhD munkám keretében új bifunkciós 2-, és 1-naftollal (**1**, **2**) vagy 5-klór-8-hidroxi-kinolinnal (**3**) szubsztituált prekursorok szintézisét hajtottuk végre 2-, és 1-naftol vagy 5-klór-8-hidroxi-kinolin, morfolin és aldehid komponensként etil-glioxilát reagáltatásával módosított Mannich-reakcióban (1. ábra). A reakciók esetében optimális reakciókörülménynek 80–100 °C és 30–150 perc reakcióidő mutatkozott mikrohullámú hőközlés alkalmazása mellett.



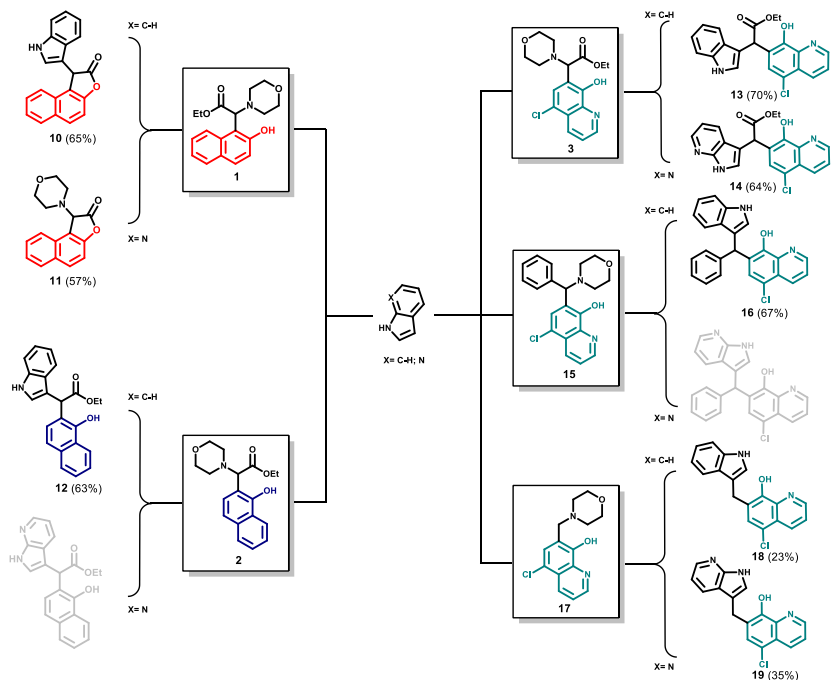
1. ábra

2. Az **1**, **2** Mannich bázisok különböző ciklikus iminekkel (3,4-dihidroizokinolin, 6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin, 3,4-dihidro- β -karbolin) való stabilizálódását részlegesen aromás *orto*-kinon metid köztiterméken keresztül [4+2] cikloaddiációs reakcióban teszteltük (2. ábra). A képződött **4-9** α -aminosav észterek esetében egyetlen termék képződése volt detektálható $^1\text{H-NMR}$ spektrum alapján. A NOE spektrumról leolvashatóvá vált, hogy a két jellegzetes vállproton relatív térállása *transz*.



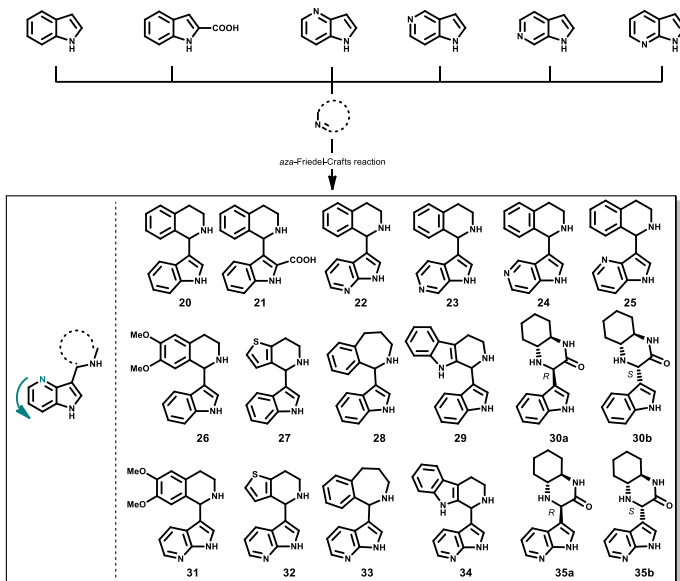
2. ábra

3. A továbbiakban 2-, és 1-naftol tartalmú glicin származékok (**1**, **2**) továbbalkítását hajtottuk végre indollal és 7-azaindollal. A reakciók kimenetelét tekintve a naftol váz meghatározónak bizonyult. Amennyiben a reakció kiindulási anyagként az 2-naftol szubsztituált prekuzort (**1**) alkalmaztuk, a **10**, **11** laktám típusú gyűrűzárt termékekhez jutottunk. Az 1-naftol váz továbbalkítása a kívánt **12** biaril észter képződését eredményezte. A **13**, **14** származékok előállítását az 5-klór-8-hidroxikinolinnal szubsztituált Mannich bázis indollal vagy 7-azaindollal való reagáltatásával valósítottuk meg. A Mannich bázis amin, illetve aldehid komponenseinek változtatásával teszteltük azok reakció végbemenetelére gyakorolt hatását. A 8-hidroxikinolin vázat tartalmazó di-, és triarilmétán származékok sorát bővítve, 7-aminobenzil-8-hidroxikinolin (**15**) és 7-aminometil-8-hidroxikinolin (**17**) Mannich bázisok továbbalkítását valósítottuk meg indollal és 7-azaindollal (3. ábra). A 7-((1*H*-indol-3-il)metil)-5-klórkinolin-8-ol (**18**) szintézise amin komponensként morfolint vagy L-prolint tartalmazó prekuzor vegyületekből egyaránt végbement. A távozó csoportok hatását a konverzióra szisztematikusan vizsgáltuk.



3. ábra

4. Indollal és azaindollal kapcsolt ciklikus amin származékok tematikus megtervezését hajtottuk végre (4. ábra). A vizsgált prekursorokat indol és 3,4-dihidroizokinolin, 6,7-dimetoxi-3,4-dihidroizokinolin, 6,7-dihidrotieno[3,2-*c*]piridin, 3,4-dihidro- β -karbolin, 4,5-dihidro-3*H*-benz[*c*]azepin és (4*aR*,8*aR*)-4*a*,5,6,7,8,8*a*-hexahidrokinoxalin-2(1*H*)-on mint ciklikus iminek kapcsolásával szintetizáltuk. Az izokinolin egység rögzítése mellett az indol váz változtatásának hatását teszteltük indol-2-karbonsav, 4-, 5-, 6- és 7-azaindok alkalmazásával. Annak érdekében, hogy átfogó hatás-szerkezet összefüggérendszerre tegyünk szert, az előbb említett C-3 szubsztituált indol származékok 7-azaindol analogjait szintetizáltuk vagy újraszintetizáltuk *aza*-Friedel–Crafts reakció segítségével. Új 7-azaindol származékok (**31**, **35a**, **35b**) előállítását hajtottuk végre mikrohullámú körülmények között ciklikus iminként 6,7-dimetoxi-3,4-dihidroizokinolinból és királis ciklikus iminként (4*aR*,8*aR*)-4*a*,5,6,7,8,8*a*-hexahidrokinoxalin-2(1*H*)-onból kiindulva.



4. ábra

5. A szerkezet-hatás összefüggések értelmezése érdekében a szintetizált vegyületek biológiai aktivitására biológiai szűrővizsgálatok segítségével nyertünk rálátást. A 2-, és 1-naftol szubsztituált glicin származékok és α -aminosav észterek esetében végzett biológiai mérések az **1**, **7**, **8** és **9** termékek esetében efflux pumpa gátló aktivitást támasztottak alá *S. aureus* ATCC 25923 törzsön. Továbbá, a **7** és **8** származékok hatásosnak bizonyultak a rezisztens *S. aureus* MRSA ATCC 43300 törzsön. A szerkezet-hatás összefüggés tekintetében megállapítottuk, hogy az α -aminosav észterek esetében az 1-naftol mint elektrondús aromás vegyület jelentős egységnek tekinthető a biológiai hatás szempontjából. Az indol és 8-hidroxiindol, 2-, illetve 1-naftol vázat tartalmazó di-, vagy triarilmetán származékok citotoxicitás hatásvizsgálata alátámasztotta, hogy a biaril szerkezet és 5-klór-8-hidroxiindol váz előnyös a biológiai hatás kiváltásában (**18**-as származék). A magasabb citotoxikus aktivitás érdekében a kationos centrummal rendelkező morfolin és az 5-klór-8-hidroxiindol jelenléte kedvező (**3**-as származék). A ciklikus aminokkal kapcsolt indol és azaindol származékok esetében a legszignifikánsabb efflux pumpa gátló aktivitás a 6,7-dihidro-tieno[3,2-*c*]piridinnek az indollal kapcsolt származéka esetén volt detektálható *E. coli* AG100 törzsön. A 6,7-dimetoxi-3,4-dihidroizokinolin és a 7-azaindol reakciója a

leghatásosabb biofilmképződést gátló terméket eredményezte. Az indol és a dihidro- β -karbolin vagy a dihidrotieno[3,2-*c*]piridin reagáltatása a legmagasabb daganatellenes aktivitással rendelkező C-3-kapcsolt vegyület kialakulásához vezetett. Elektrondús aromás vegyületként a 6,7-dimetoxi-3,4-dihidroizokinolin és indolváz alkalmazása hatékonynak bizonyult az ABCB1 gátlásában.

C. PUBLIKÁCIÓK

- I. **Dóra Hegedűs**, Nikoletta Szemerédi, Gabriella and István Szatmári
Application of partially aromatic *ortho*-quionone-methides for the synthesis of novel naphthoxazines with improved antibacterial activity
Eur J Med Chem **2022**, 237, 114391. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114391 **IF: 6.7**
- II. **Dóra Hegedűs**, Nikoletta Szemerédi, Maja Gábor, Judit Sas, Khadija Belasri, István Szatmári and Gabriella Spengler
Cyclic Amines Coupled to Indole Derivatives with Improved Efflux Pump Inhibiting Activity in Bacteria and Cancer Cells
Anticancer Res **2024**, 44, 1149-1160. DOI:10.21873/anticancer.16910 **IF: 1.6**
- III. **Dóra Hegedűs**, Nikoletta Szemerédi, Krisztina Petrinca, Róbert Berkecz, Gabriella Spengler and István Szatmári
Synthesis of tumor selective indole and 8-hydroxyquinoline skeleton containing di-, or triarylmethanes with improved cy-totoxic activity
Molecules **2024**, 29, 4176. DOI:10.3390/ molecules29174176 **IF: 4.2**

D. KONFERENCIA-RÉSZVÉTELEK

- I. **Hegedűs Dóra** és Szatmári István
Részlegesen aromás *ortho*-kinon metidek szintézise és továbbalakítása
Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, november 16, 2018.
- II. **Hegedűs Dóra** és Szatmári István
Részlegesen aromás *ortho*-kinon metidek szintézise és továbbalakítása
Szegedi Ifjú Kémikusok Támogatásáért Alapítvány előadóülése, Szeged, május 25, 2021.
- III. **Hegedűs Dóra**, Spengler Gabriella, Szemerédi Nikoletta és Szatmári István
Bioaktív naftoxazin-származékok szintézise glioxilát-szubsztrát alkalmazásával
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése, Balatonszemes, május 23-25, 2022.
- IV. **Hegedűs Dóra**, Szemerédi Nikoletta, Spengler Gabriella és Szatmári István
A módosított Mannich-reakció alkalmazása bioaktív prekursorok szintézisére és továbbalakításaira
Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Herceghalom, szeptember 19-20, 2022.
- V. **Hegedűs Dóra**, Szemerédi Nikoletta, Spengler Gabriella és Szatmári István
Partially aromatic *ortho*-quinone-methides as precursors for the synthesis of novel naphthoxazines with improved antibacterial activity
22nd Tetrahedron Symposium, Lisszabon/Portugália, június 28–július 1, 2022.
- VI. **Hegedűs Dóra** és Szatmári István
Synthesis and transformations of bifunctional glycine-type precursors containing 8-hydroxyquinoline skeleton
23rd Tetrahedron Symposium, Göteborg/Svédország, június 27-30, 2023.
- VII. **Hegedűs Dóra**, Szemerédi Nikoletta, Gubó Dorka, Spengler Gabriella és Szatmári István
Synthesis and transformations of bifunctional 8-hydroxyquinoline skeleton containing glycine-type precursors
Congressus Pharmaceuticus Hungaricus (CPH) XVII. and EUFEPS annual meeting, Debrecen/Magyarország, május 23-25, 2024.
- VIII. **Hegedűs Dóra**, Szemerédi Nikoletta, Petrinca Krisztina, Spengler Gabriella és Szatmári István
Synthesis and cytotoxic activity of bioconjugates consisting of indole and 8-hydroxyquinoline skeleton
24th Tetrahedron Symposium, Montpellier/Franciaország, június 18-21, 2024.