

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Oktatási Program: Gyógyszerkémia és gyógyszerkutatás

Programvezető: Prof. Dr. Szatmári István

Intézet: Gyógyszerkémiai Intézet

Témavezető: Dr. Palkó Márta

Faragó Tünde

Aliciklusos β -aminosav származékok szintézise és átalakítása hagyományos és zöld kémiai módszerekkel

Komplex vizsgabizottság:

Elnök: Prof. Dr. Kiss Loránd

Tagok : Prof. Dr. Kurtán Tibor

Prof. Dr. Wölfling János

Bírálnói bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Ilisz István

Opponensek: Dr. Herczeg Mihály

Dr. Kámán Judit

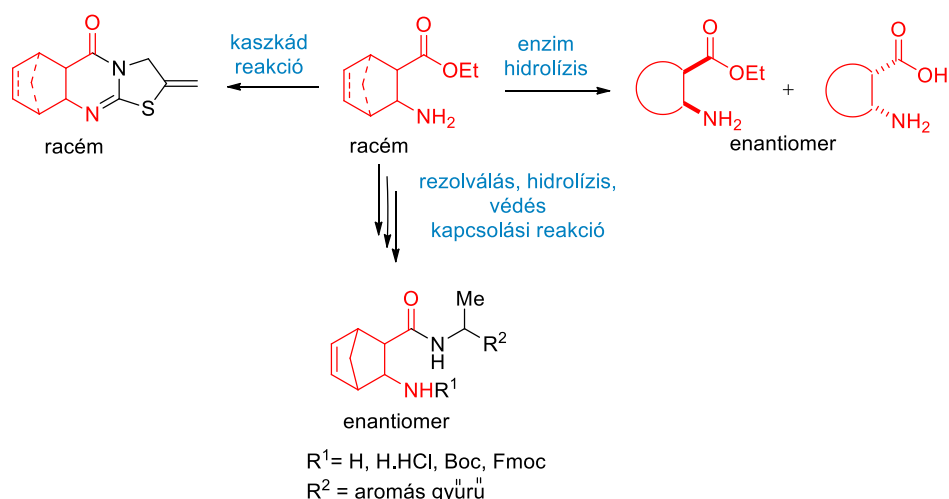
Tagok: Dr. Berkó Szilvia

Dr. Sztojkov-Ivanov Anita

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A természetes királis vegyületek szintézise régóta nagy kihívást és folyamatos fejlesztést igénylő kutatási terület. Az indolváz az a struktúra, mely számos természetes vegyületben és gyógyszermolekulában is előfordul, származékaira nagy igény mutatkozik, széleskörű alkalmazhatóságuk miatt. A jövő gyógyszerkutatásának egyik hajtóerejét ezen hatóanyagok vizsgálata, illetve előállításához vezető kedvezőbb reakcióutak kutatása képezi. Az elmúlt évtizedben az indolvázas gyógyszermolekulák előállítását segítő organokatalizátorok fejlesztése és tesztelése kiemelt figyelemre tett szert, viszont ezidáig kevesen foglalkoztak az aliciklusos β -aminosav származékok ilyen jellegű felhasználásával és vizsgálatával. Manapság nagy érdeklődés mutatkozik a farmakológiailag releváns származékok fenntarthatóbb szintézisútjainak kifejlesztése iránt. A fenntartható jövő fontossága miatt a mai világban a zöld kémia egyre kívánatosabbá és vonzóbbá válik. A gyógyszerkémiaiában továbbra is szükség van új, környezetbarát és hatékony katalitikus rendszerekre a szerves vegyületek előállításához. A dihidrokinazolinon származékok, amelyek a közelmúltban szintén felkeltették a kutatók érdeklődését, fontos biológiai aktivitásokkal rendelkeznek. A különböző dihidrokinazolinon származékok előállításához szükséges környezetkímélő szintetikus eljárások megtalálása folyamatos fejlesztést igényel.

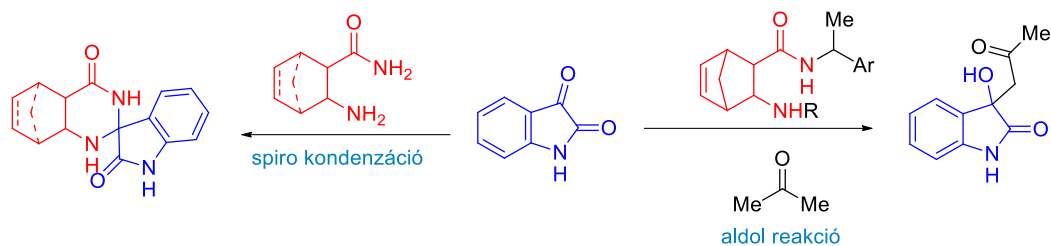
Tekintettel a β -aminosav-származékok növekvő jelentőségére, doktori munkám első célja a 2-metilén-tiazolo[2,3-*b*]kinazolinon-származékok egyszerű szintézisútjának kidolgozása volt. [I] További célunk volt hatékony stratégia kidolgozása az 5–8 tagú aliciklusos aminoészterek enzimatisz hidrolízisére, zöld szerves oldószerben, oldószermentes körülmények között, valamint golyós őrléssel történő hidrolízis révén. [II] (1. ábra).



1. ábra

Célkitűzéseink között szerepelt változatos szerkezetű enantiomertiszta aliciklusos β -aminosav-származékok környezetbarát szintézisének és organokatalitikus alkalmazhatóságának vizsgálata izatin és acetone aszimmetrikus aldol reakciójában. [III]

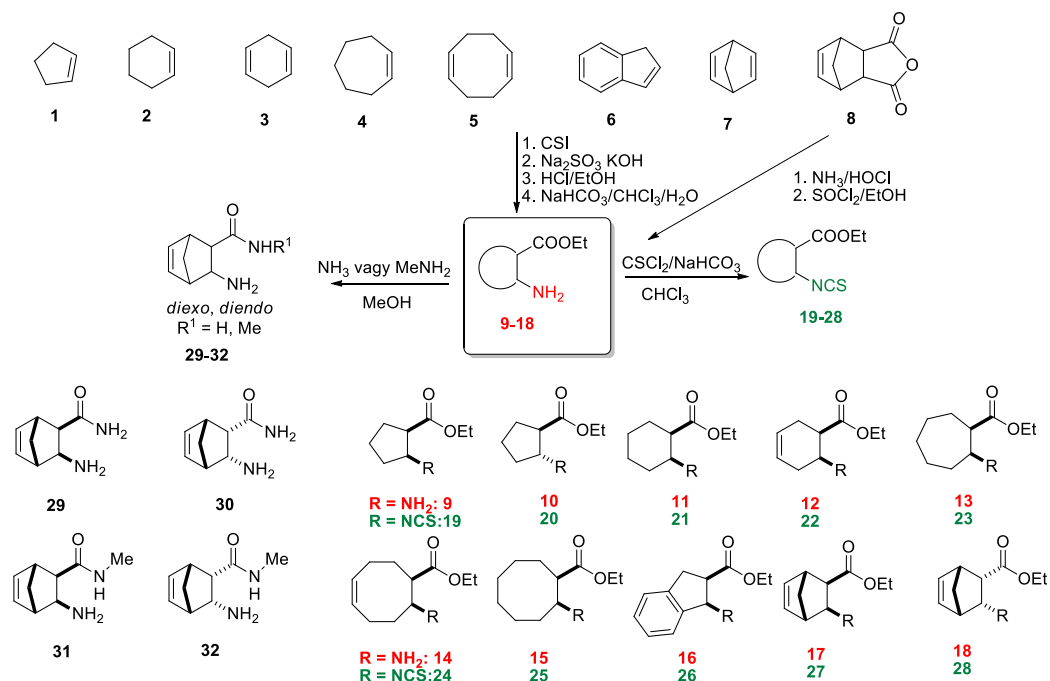
Célul tűztük ki az izatin származékok és aliciklikus β -amino-amidok spirokondenzációs reakcióinak vizsgálatát, racém tetrahydro-1*H*-spiro[5,8-metanokinazolin-2,3'-indolin]-2',4-dion-származékok előállítását és szerkezetvizsgálatát. Terveztük a gyógyszerkutatás daganat- és vírusellenes területének elősegítése érdekében a spiro vegyületek gyógyszerkémiailag alkalmazhatóságának vizsgálatát (2. ábra). [IV]



2. ábra

2. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

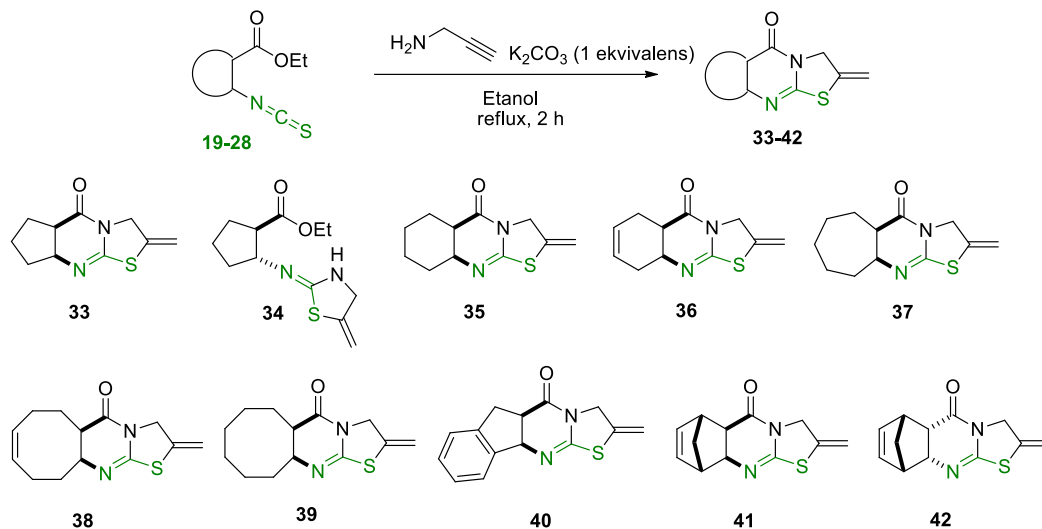
Célkitűzéseink elérése érdekében az első lépések a kiindulási vegyületek szintézisét jelentették. A klórszulfonil-izocianát (CSI) cikloaddíciós reakciója különböző cikloalkénekkal jól ismert szintézisút a racém cikloalkánnal kondenzált β -laktámok előállítására. A szintéziseket a már ismert módszerek szerint végeztük ciklopenténből (**1**), ciklohexénből (**2**) 1,4-ciklohexadiénből (**3**), ciklohepténből (**4**), 1,5-ciklooktadiénből (**5**), indénből (**6**) és norbornadiénből (**7**) kiindulva. A β -laktámok sósavas etanollal történő kezelése a **9**, **11–14**, **16** és **17** racém aliciklusos aminoészterekhez vezetett. A **9** *cisz* észter nátrium-etoxiddal indukált izomerizációja a **10** *transz* észter képződését eredményezte. A telített **15** vegyület előállítása érdekében az etil *cisz*-2-aminociklookt-5-én-karboxilát (**14**), hidrogén-gáz alatt katalitikusan redukáltuk. A **18** *diendo* β -amino-észter szintézise során a **8** anhidridből kapott karboxamid nátrium-hipokloritos Hofmann-bontásával aminosavat állítottuk elő, majd etanolban tionil-kloriddal végzett észterezéssel kaptuk a kívánt terméket. A **19–28** etil *cisz*- és *transz*-, *diexo*- és *diendo*-2-izotiocianáto-1-cikloalkán-karboxilátokat konvencionális módszerekkel, a megfelelő **9–18** aliciklusos 2-aminoészterek és tiofoszgén reakcióival állítottuk elő. A **17** és **18** *diexo*- és *diendo*-2-aminonorbornén-észtereket ammóniával kezelve a **29** és **30** *diexo*- és *diendo*-2-aminonorbornén-karboxamidokat izoláltuk. A **31** és **32** *diexo*- és *diendo*-*N*-metil-karboxamidokat az **17** és **18** etilészter metanolos metilaminnal történő reakciójából kaptuk (3. ábra).



3. ábra

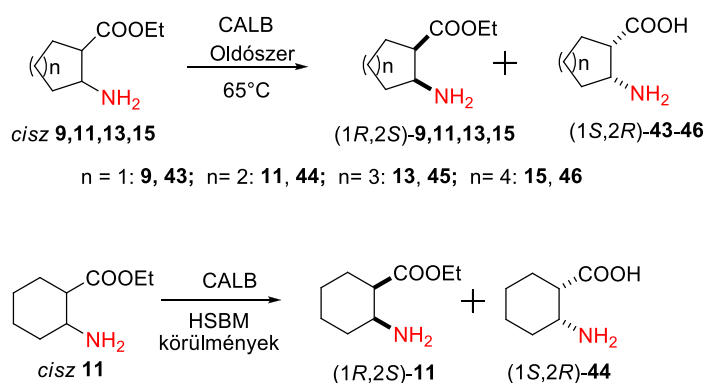
A **19–28** izotiocianátok propargil-aminnal végzett bázis katalizált kaszkád reakciója során a **33–42** 2-metilén-szubsztituált tiazolo[2,3-*b*]kinazolinonok és aliciklusos tiazolo[3,2-*a*]pirimidinonok képződtek (4. ábra). A **20** *transz*-ciklopentánvázis vegyület esetén nem ment végbe a kaszkád reakció, így termékül a **34** metilén-tiazolidin-2-ilidén intermediert nyertük. A vegyületek teljes szerkezetigazolását elvégezve megállapítottuk,

hogy a kaszkád reakció 5-exo-dig gyűrűzárás révén megy végbe. Vizsgáltuk a **33–42** származékok biológiai aktivitását, és azt tapasztaltuk, hogy a vegyületek emlőráksejtekkel szemben mérsékelt aktivitást mutattak. Az (5a*S**,10b*S**)-2-metilén-2,3,5a,6-tetrahidroindeno[1,2-*d*]-tiazolo[3,2-*a*]pirimidin-5(10b*H*)-on (**40**) vegyület kiemelkedő biológiai tulajdonságot mutatott, ami minden bizonnyal hasznos lehet a rákellenes gyógyszerek fejlesztésében [I].



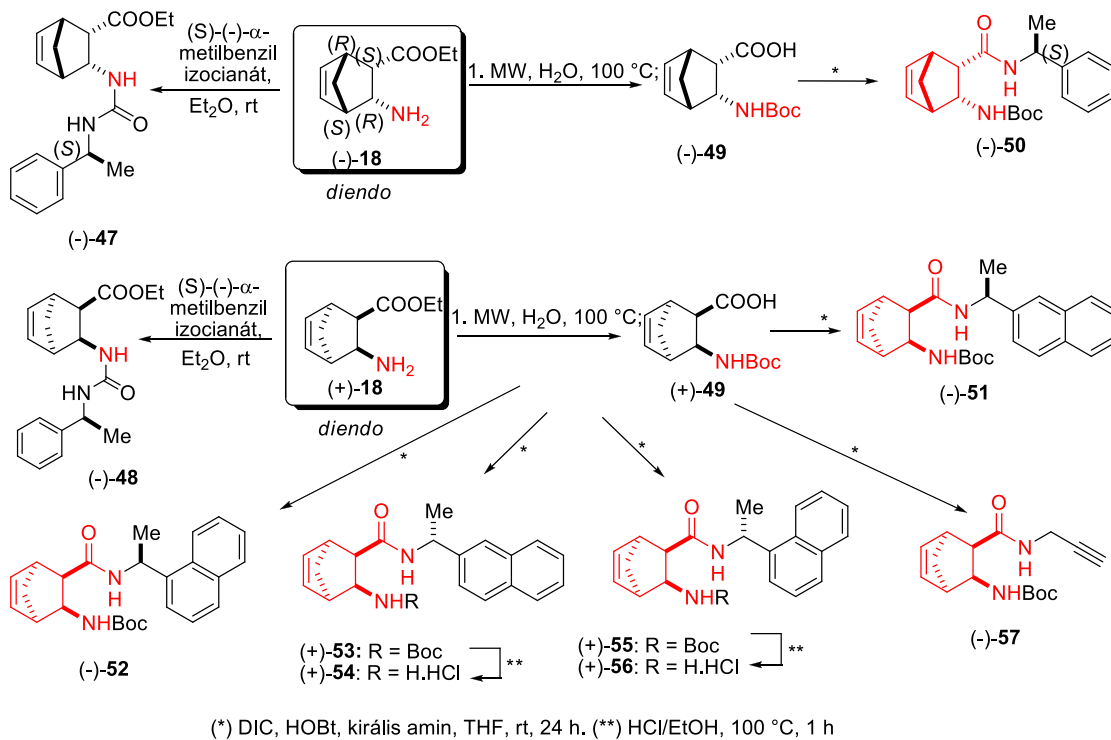
4. ábra

Doktori munkám során irodalmi eljárásoknak megfelelően szintetizáltuk a racém **9**, **11**, **13** és **15** ciklopentán, ciklohexán, cikloheptán és ciklooktán vázzal rendelkező β -amino-észtereket. Ezek a vegyületek voltak a kiindulási anyagok a CALB enzim alkalmazásával végzett enzimatis hidrolízisben, hogy a zöldebb megközelítések révén (1*R*,2*S*)-**9**, -**11**, -**13** és -**15** β -aminoészter enantiomereket és (1*S*,2*R*)-**43–46** enantiomer β -aminosavakat nyerhessünk (5. ábra). Az enzimatis reakciókat nagy sebességű golyós malomban (HSBM) is elvégeztük, hogy környezetbarátabbá tegyük őket. A HSBM előnyös módszernek bizonyult az enzimatis hidrolízis során. A CALB által katalizált enzimatis hidrolízisben zöld oldószereket is teszteltünk (propilénkarbonát, 2-Me-THF, 2-metil-2-butanol (2M2B), *t*BuOMe), melyek közül a *t*BuOMe bizonyult a legjobbnak. A preparatív léptékű reakciókat HSBM körülmények között is elvégeztük. [II]

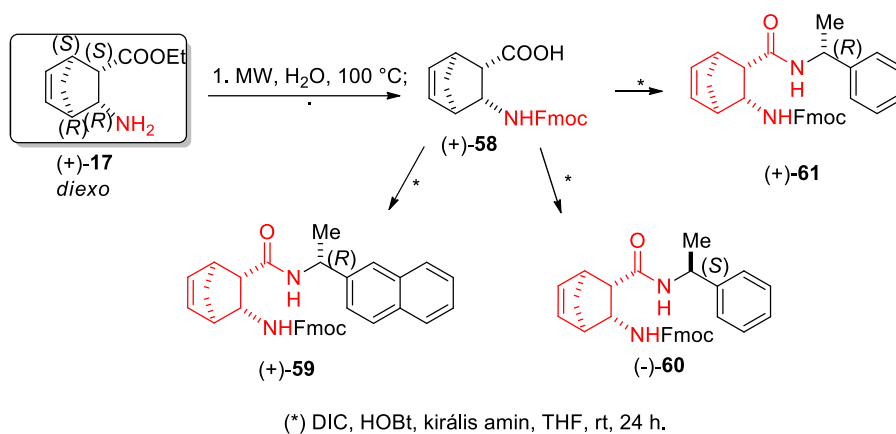


5. ábra

Az (+)-**17**, (-)-**18** és (+)-**18** enantiomer etil 3-aminobicyclo[2.2.1]hept-5-én-2-karboxilátból kiindulva számos vegyületet (**47–61**) szintetizáltunk, jellemeztük és vizsgáltuk az izatin (**62**) és acetone (**63**) közötti aldol reakcióban, mint modellreakcióban. A 6. és 7. ábrán bemutatott többlépéses szintézisút során előállított vegyületeink a következő három különböző csoportba sorolhatók: β -karbamidészterek: (-)-**47**, (-)-**48**; β -aminoamid-hidroklorid-sók: (+)-**54**, (+)-**56** és N-védett β -aminoamidok: (-)-**50**–(-)-**57** és (+)-**59**–(+)-**61**.



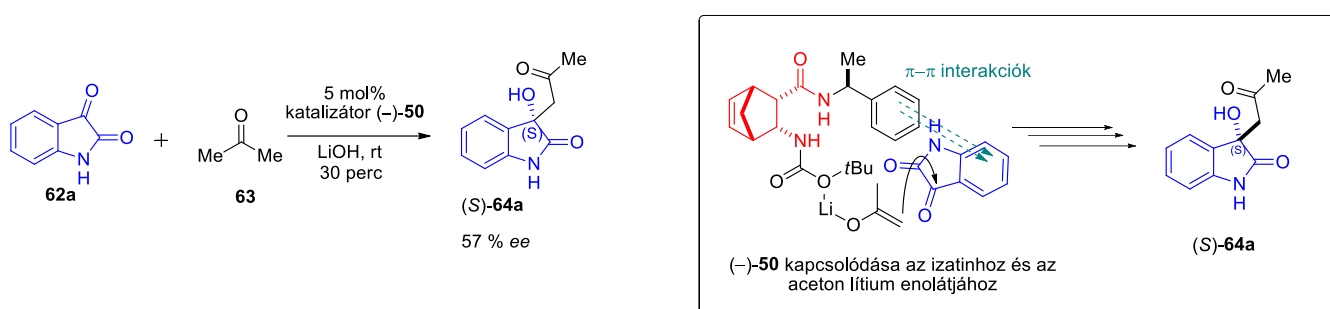
6. ábra



7. ábra

Vizsgáltuk ezen **47–61** vegyületek organokatalizátorként való alkalmazhatóságát a választott modellreakcióban, az aszimmetrikus aldol reakcióban. A reakció enantioszelektivitásának növelése érdekében a modellreakciót optimalizáltuk az alkalmazott additívek, az oldószerek, a hozzáadott katalizátor mennyiségének és a hőmérsékletnek változtatásával. Az optimalizált feltételek, a legbiztonságosabb és legzöldebb körülmények a következők voltak: nagyon kis mennyiségű LiOH additív, acetone, mint oldószer és

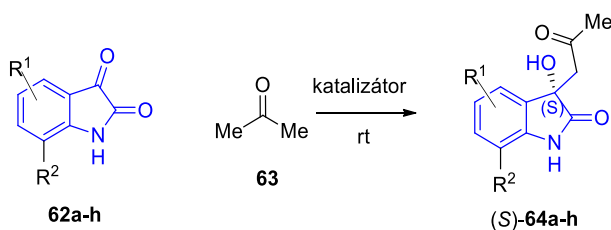
reagens, 5 mol% katalizátor és szobahőmérséklet. Kiemelendő, hogy a legoptimálisabb körülmények között a reakcióidő jelentősen lecsökkent (30 perc), és a felhasznált legjobban működő **50** katalizátor közepes enantiomerfelesleggel (57% *ee*) eredményezte az (*S*)-3-hidroxi-3-(2-oxopropil)indolin-2-on (**64**) terméket (8. ábra).



8. ábra

A lehetséges reakciómechanizmusok átfogóbb megértése érdekében ezen a területen különböző katalizátorcsoportjaink használatát javasoltuk. A reakcióban alkalmazott LiOH additív acetonnal lítium-enolátot hoz létre, OH⁻ jelenlétében az acetone enolátja keletkezik, amely meglehetősen reaktív. Ezért OH⁻ szükséges a reakció felgyorsításához. Másrészt az enantioszelektivitáshoz kifejezetten Li⁺ szükséges, mivel annak egyedülálló koordinatív képessége döntő fontosságú az enolát orientációjához (8. ábra).

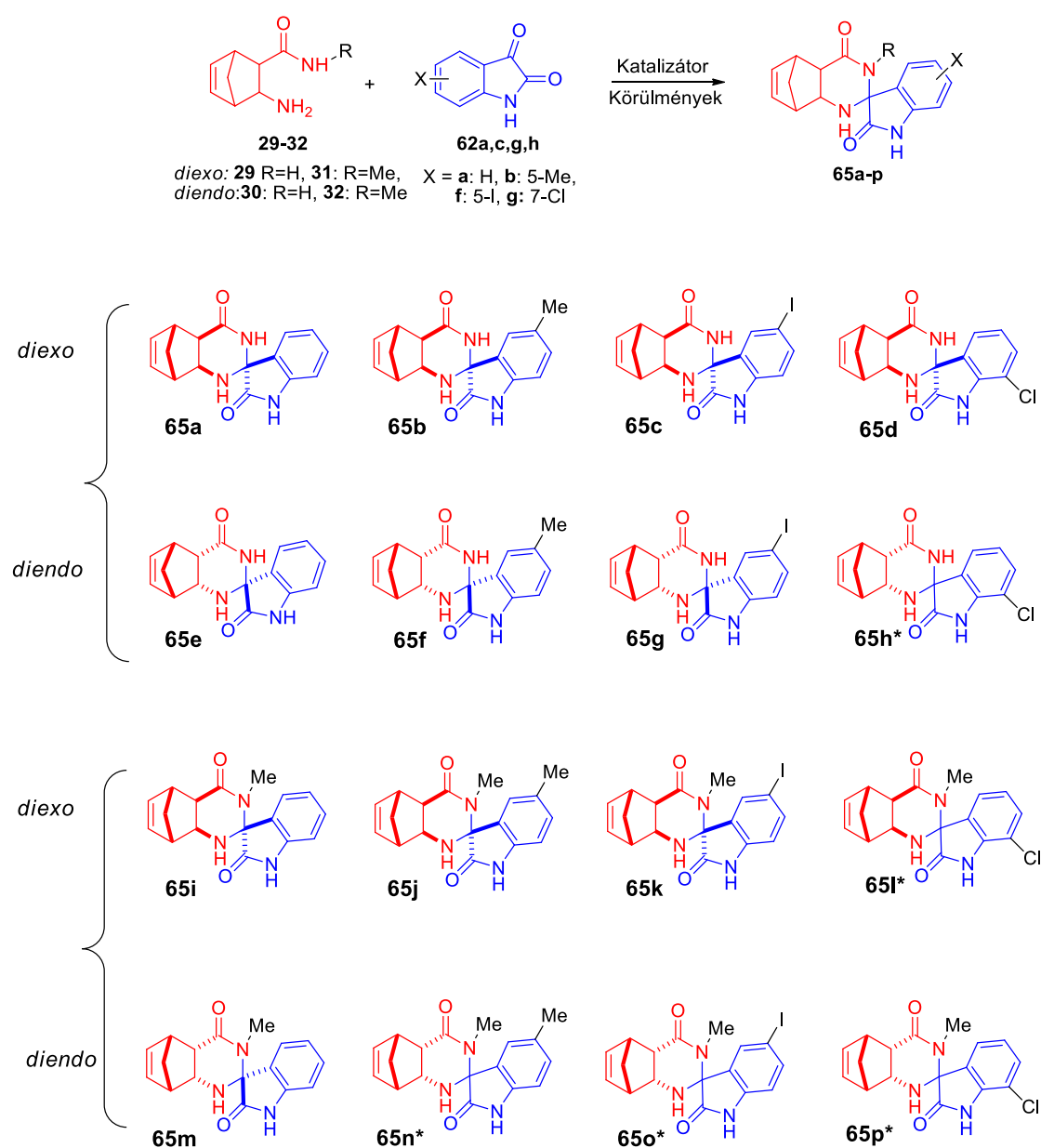
Teszteltük az aldol reakcióban a különböző szubsztituált izatin segítségével a szubsztituens befolyásoló hatását, például 5-metilizattinnal (**62b**), 5-fluorizattinnal (**62c**), 5-brómizattinnal (**62d**), 5-nitrozattinnal (**62e**), 5-jódizattinnal (**62f**), 7-klórizattinnal (**62g**) és 4,7-diklórizattinnal (**62h**) (9. ábra). A legtöbb esetben jobb eredményt sikerült elérni (*ee* ~ 99 %), mint a **62a** nem szubsztituált izatin esetén. Ezen túlmenően erőfeszítéseket tettünk a modellreakció fenntarthatóbbá tételére az aldol reakció golyós malomban (HSBM) történő kivitelezésével. A modellreakciónak sem a túl magas, sem a túl alacsony frekvenciák nem voltak kedvezőek, 15-20 Hz-es frekvencia alkalmazása jó megoldásnak bizonyult. Vizsgáltuk az alkalmazott golyószám lehetséges hatását is, végül golyós örlési körülmények között is kiváló enantiomerfelesleggel (*ee* ~ 96 %) sikerült az (*S*)-**64a-h** termékeket előállítani. [III]



9. ábra

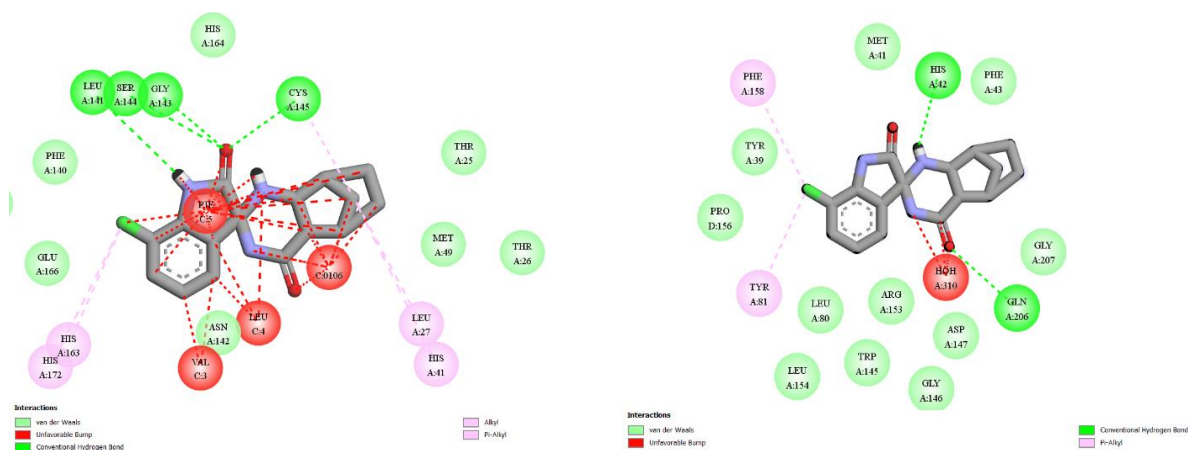
Doktori munkám során új daganatellenes és antiallergiás tulajdonságokkal rendelkező származékok kifejlesztése érdekében új spiro-kinazolinon vegyületeket terveztünk és szintetizáltunk. A **29–32 diexo** és *diendo* aminobiciklo-karboxamidokat izatinokkal való kondenzációs reakciókkal alakítottuk át (10. ábra). A

szintézisek során izatint (**62a**), 5-metilizatint (**62b**), 5-jódizatint (**62f**) és 7-klórizatint (**62g**) alkalmaztuk, és így nyerve a **65a–p** spiro-kinazolinon származékokat. A reakció optimalizálása érdekében különböző katalizátorokat, oldószereket és hőmérsékleteket teszteltünk. Céljainknak megfelelően a vizsgálatokat folyamatos áramlású flow reaktorban (CF), mikrohullámú reaktorban (MW) és golyós malomban (HSBM) különböző körülmények között végeztük annak érdekében, hogy a β -aminoamidok és izatinok kondenzációs reakciója környezetkímélőbb legyen. Mikrohullámú besugárzást (MW) alkalmazva a termékeket kiváló eredménnyel, akár 85%-os hozammal kaptuk. A HSBM alkalmazásával lehetővé vált a felhasznált oldószer mennyiségének csökkentése, jó hozam elérése mellett. Vizsgáltuk a reakció diasztereoselektivitását, és azt tapasztaltuk, hogy a **29** és **31** *diexo*-amidok spirokondenzációs reakciói nagyobb diasztereoselektivitással zajlik, mint a **30** és **32** *diendo* vegyületek hasonló átalakulása.

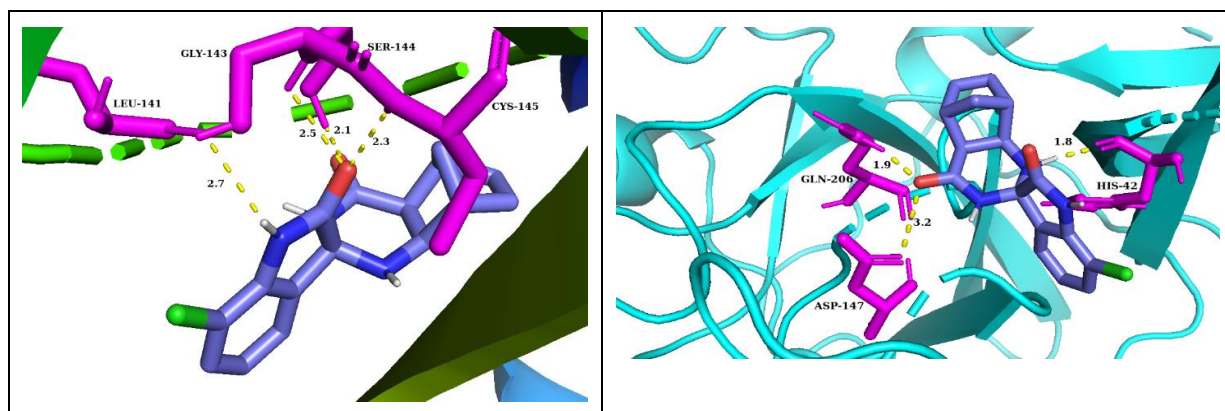


10. ábra

A potenciális biológiailag hasznos molekulák tervezésének és a gyógyszerfejlesztés elősegítése érdekében a **65a–p** spiro[5,8-metanokinazolin-2,3'-indolin]-2',4-dion-származékokkal *in silico* dokkolási vizsgálatokat is végeztünk. Innovatív vegyületeink a SARS-CoV-2 fő proteázhoz (PDB: 6LU7) és az emberi hízósejt-triptázhoz (PDB: 2ZA5) is jól illeszkedő ligandumoknak bizonyultak. A legígéretesebb ligandum a **65d** vegyület volt, amely mindkét makromolekula esetében kiváló eredményeket nyújtott (11. ábra, 12. ábra). Ezen túlmenően felszívódási, eloszlási, anyagcsere- és toxicitási (ADMET) előrejelzést is végeztünk annak becslésére, hogy új vegyületeinkből lehetséges-e orálisan aktív gyógyszerek előállítását, illetve képesek-e áthatolni a bőrön. A dokkolási és ADMET elméleti vizsgálatok jelentősége, hogy a **65a–p** spiro[5,8-metanokinazolin-2,3'-indolin]-2',4-dion-származékok elméletileg gyógyszerfejlesztésre alkalmasak lehetnek.



11 ábra: Balra: 2D kölcsönhatási térkép a (PDB: 6LU7) és a **65d** között. Jobbra: 2D kölcsönhatási térkép a (PDB: 2ZA5) és a **65d** között.



12 ábra Balra: A **65d** vegyület molekuláris kölcsönhatásai és kötési pózai a humán triptáz és a potenciális SARS-CoV-2 fő proteáz (PDB: 6LU7) határfelületén, a makromolekula és a **65d** vegyület közötti H kötések sárga szaggatott vonalakkal és a távolságok Å egységekben; Jobbra: A **65d** vegyület molekuláris kölcsönhatásai és kötési pózai a humán triptáz és a potenciális nem-peptid inhibitor (PDB: 2ZA5) határfelületén, a makromolekula és a **65d** vegyület közötti H-kötések sárga szaggatott vonalakkal és Å egységekben megadott távolságokkal.

3. PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés anyagát képező közlemények

- I. Mohamed El Haimer, **Tünde Faragó**, Zsuzsanna Schelz, István Zupkó, Márta Palkó
Synthesis of alicyclic 2-methylenethiazolo[2,3-*b*]quinazolinone derivatives via base-promoted cascade reaction
Synthesis, **2022**, *54*, 3809–3816. (DOI: 10.1055/s-0040-1720028) **IF: 2.6**
- II. Sayeh Shahmohammadi, **Tünde Faragó**, Márta Palkó, Enikő Forró
Green strategies for the preparation of enantiomeric 5–8-membered carbocyclic β -amino acid derivatives through CALB-catalyzed hydrolysis
Molecules, **2022**, *27*, 2600. (DOI: 10.3390/molecules27082600) **IF: 4.6**
- III. **Tünde Faragó**, Attila M. Remete, István Szatmári, Rita Ambrus, Márta Palkó
The synthesis of pharmacologically important oxindoles via the asymmetric aldol reaction of isatin and the investigation of the organocatalytic activity of new alicyclic β -amino acid derivatives
RSC Advances, **2023**, *13*, 19356–19365. (DOI: 10.1039/D3RA03528J) **IF: 3.9**
- IV. **Tünde Faragó**, Rebeka Mészáros, Edit Wéber, Márta Palkó
Synthesis and docking studies of novel spiro[5,8-methanoquinazoline-2,3'-indoline]-2',4-dione derivatives
Molecules, **2024**, *29*, 5112. (DOI: 10.3390/molecules29215112) **IF: 4.2**

Egyéb közlemények, melyek nem képezik az értekezés anyagát

- V. Attila Gácsi, Bence Kutus, Zita Csendes, **Tünde Faragó**, Gábor Peintler, István Pálinkó, Pál Sipos
Calcium L-tartrate complex formation in neutral and in hyperalkaline aqueous solutions
Dalton Transactions, **2016**, *45*, 17296–17303. (DOI: 10.1039/c6dt03463b) **IF: 4.6**

4. AZ ÉRTEKEZÉSSSEL KAPCSOLATOS ELŐADÁSOK

- I. Faragó Tünde, Palkó Márta:**
Aliciklusos β -aminosav származékok organokatalitikus alkalmazhatóságának vizsgálata: farmakológiailag jelentős oxindolok szintézise izatin aszimmetrikus aldol reakciójával
Szegedi Ifjú Kémikusok Támogatásáért Alapítvány ZOOM konferencia keretében szervezett előadóülése
Szeged, May 25, 2021. (szóbeli előadás).
- II. Tünde Faragó, Márta Palkó, István Szatmári:**
Organocatalytic activity of novel alicyclic β -amino amides in asymmetric aldol reaction
2022 #RSC Poster Twitter Conference
March 1, 2022. (online, poszter prezentáció)
- III. Shahmohammadi Sayeh, Faragó Tünde, Palkó Márta, Forró Enikő:**
Green enzymatic strategies for the preparation of enantiomeric carbocyclic β -amino acid derivatives
4th International Green Catalysis Symposium, GreenCat
Rennes/France, April 19–22, 2022. P6 (poszter prezentáció)
- IV. Faragó Tünde, Palkó Márta, Szatmári István:**
Változatosan szubsztituált enantiomertiszta aliciklusos β -aminosav-származékok szintézise és organokatalitikus alkalmazhatóságának vizsgálata izatin aszimmetrikus aldol reakciójával
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése,
Balatonszemes, May 23–25, 2022. (szóbeli előadás)
- V. Márta Palkó, Tünde Faragó, István Szatmári:**
Synthesis of glycosyl triazolyl methanopyrroloquinazoline and methanoisindoloquinazoline derivatives via domino- and click reactions
22nd Tetrahedron Symposium
Lisbon/Portugal, June 28–July 1, 2022. Abstract reference number: 188, P2.27 (poszter prezentáció)
- VI. Tünde Faragó, Márta Palkó, István Szatmári:**
Novel alicyclic β -amino amide organocatalysts for the synthesis of pharmaceutically relevant oxindoles
22nd Tetrahedron Symposium
Lisbon/Portugal, June 28–July 1, 2022. Abstract reference number: 198, P2.36 (poszter prezentáció)

VII. Faragó Tünde:

Aliciklusos β -aminosav származékok előállítására és organokatalitikus alkalmazhatóságának vizsgálata: farmakológiailag jelentős oxindolok szintézise izatin aszimmetrikus aldol reakciójával
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottságának a Patonay Tamás-díj átadásával egybekötött nyílt ülése
Budapest, November 25, 2022. (szóbeli előadás)

VIII. Tünde Faragó, Márta Palkó:

Synthesis of novel spiro[5,8-methanoquinazoline-2,3'-indoline]-2',4-dione derivatives starting from alicyclic β -amino amides
23rd Tetrahedron Symposium
Gothenburg/Sweden, June 27–30, 2023. Abstract reference number: TETR2023_0366, P3.001
(poszter prezentáció)

IX. Tünde Faragó, Márta Palkó:

Synthesis and docking studies of novel spiro[5,8-methanoquinazoline-2,3'-indoline]-2',4-dione derivatives
#RSC Poster Conference 2024 LinkedIn
March 5, 2024. (online, poszter prezentáció)