

L-aminosav-származékokkal és immobilizált oligopeptidekkel katalizált aszimmetrikus aldolreakciók sztereoszelektivitásának szabályozása

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Gurka András Attila

Témavezetők:

Dr. Szöllősi György
tudományos főmunkatárs

Dr. London Gábor
tudományos munkatárs



Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Szerves Kémiai Tanszék

Szeged
2017

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A királis gyógyszermolekulák különböző enantiomerjeinek hatása biológiai környezetben nagyon eltérő lehet. Egyes esetekben ez „csupán” aktivitás-különbségben nyilvánul meg, sok esetben azonban az egyik enantiomer gyógyhatású, míg a másik inaktív, vagy akár toxikus hatású is lehet. Ezért az utóbbi 2-3 évtizedben a királis szintézis a gyógyszertervezés, illetve gyógyszergyártás legmarkánsabb eszközévé nőtte ki magát.

A királis szintézisek egyik legperspektivikusabb módszere az aszimmetrikus aldol-reakcióval megvalósított sztereoszelektív C-C kötésképzés. A kis szerves molekulákkal (organokatalizátorokkal) megvalósított intermolekuláris aszimmetrikus aldol-reakciót elsőként List és munkatársai 2000-ben írták le, amelyben L-prolint használtak királis katalizátorként. Ezt követően széleskörű vizsgálatok kezdődtek az intermolekuláris aszimmetrikus aldol-reakciót befolyásoló reakcióparaméterek hatásai, valamint a reakciómechanizmus tisztázása tekintetében. Az előbbi szempontjából a vizsgálatok tárgyát elsősorban az organokatalizátorok természete, szerkezete, a reakcióközeg, a reakciókörülmények, valamint az adalékok hatása képezi. A reakciómechanizmust illetően, különösen az aminosavak és azok származékai által katalizált intermolekuláris aldol-reakciónál, a széleskörű kutatások eredményeképp az énamin-mechanizmus tekinthető elfogadottnak, az esetek többségében vagy énamin-képződés, vagy karbonil-addíció sebességmeghatározó lépéssel. A minden részletre kiterjedő vizsgálatok következtében az aszimmetrikus organokatalízis, illetve azon belül az enantioszelektív aldol-reakció, egy megbízhatóan alkalmazható eszközzé vált az aszimmetrikus szintézisek területén.

Egy királis molekula mindkét enantiomerjének szelektív előállítása nem egyszerű feladat, hiszen a királis szintézisek hagyományosan csak az egyik enantiomer előállítására korlátozódnak. Ez az akadály kikerülhető abban az esetben, ha a királis katalizátor mindkét enantiomerje rendelkezésre áll. Az esetek többségében ez így is történik: egy megfelelően kifejlesztett királis katalizátorral előállítják a kívánt termék egyik enantiomerjét, míg a másik enantiomer szintézisére az ellentétes kiralitású katalizátort használják. Ez a módszer azonban, különösen bonyolult szerkezetű katalizátorok esetén, meglehetősen munka- és költségigényes lehet.

A királis katalizátorok egyes enantiomerjeinek szelektív előállítását kikerülendő, az utóbbi években előtérbe került olyan királis katalizátorok kifejlesztése, melyek alkalmazása mellett, csupán az akirális paraméterek (pl. oldószer, hőmérséklet, akirális adalékok, stb.) megváltoztatásával, mindkét termék-enantiomer szelektíven előállítható alapvetően a katalizátor szerkezetének megváltoztatása nélkül.

A klasszikus szerves szintézisekben a vizet a reakció lefolyása szempontjából tradicionálisan szennyező anyagnak tekintették, ezért a szintézis első lépése a reagensek, oldószerek, valamint a reakcióedény alapos vízmentesítése volt. Annak ellenére, hogy az 1980-as évektől kezdve a vizes közegű szerves kémia területén jelentős fejlődés tapasztalható, a királis szintézisek területén máig is elsősorban szerves oldószereket használnak közegként. Egészség- és környezetkímélő természetének, valamint alacsony árának köszönhetően a víz ugyanakkor ideális oldószernek tekinthető. Továbbá, reakciókomponensként a víz koncentrációjának, valamint az alkalmazott királis katalizátor

természetének függvényében (a katalizátor, a reagensek és az adalékanyagok között kialakuló hidrogén-kötések, valamint más poláris kölcsönhatások által) befolyásolhatja a reakciók kimenetelét. Ezen kedvező tulajdonságai miatt a víz használata, mint oldószer és additív, egyre inkább előtérbe kerül. Ezért az aszimmetrikus organokatalízisben általában, különösen pedig az aszimmetrikus aldol-reakciók területén történő alkalmazásának igen nagy aktualitása van.

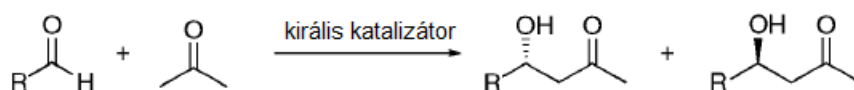
A királis szintézisekben használt szerves katalizátorokkal nagy enantiotisztaságú, többek között a gyógyszeriparban alkalmazott, fontos molekuláris építőelemek állíthatók elő. Ezen katalizátorok általában kis hatékonyságúak, így relatíve nagy katalizátormennyiségre (10-30 mol %) van szükség a megfelelő termelés biztosítására. Ezért a királis szintézis ipari megvalósíthatóságának, valamint a katalizátor újrahasznosíthatóságának szempontjából előnyösebb a heterogenizált katalizátorok folyamatos üzemmódban történő alkalmazása.

Az organokatalízis területének alapvető kihívásait figyelembe véve, munkámban a következő célokat tűztem ki:

- sztereokontroll megvalósítása L-aminosav-származékokkal katalizált vizes közegű aszimmetrikus aldol-reakciókban kizárólag akirális komponensek változtatásával;
- polisztirol gyantán rögzített L-prolinnal, prolint és más aminosavakat tartalmazó immobilizált di- és tripeptidekkel katalizált folyamatos áramú fixágyas reaktorban végrehajtott aszimmetrikus aldol-reakciók kutatása, akirális adalékok az aldol-termék sztereokémiájára történő hatásának vizsgálata;
- az L-aminosav-származékokkal, valamint immobilizált oligopeptidekkel katalizált aszimmetrikus aldol-reakciók során észlelt enantioszelektivitás-inverzió mechanizmusának tisztázása.

2. FELHASZNÁLT ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Munkámban az aceton és különböző aldehidek közötti aszimmetrikus aldol-reakciókat vizsgáltam (1. ábra).

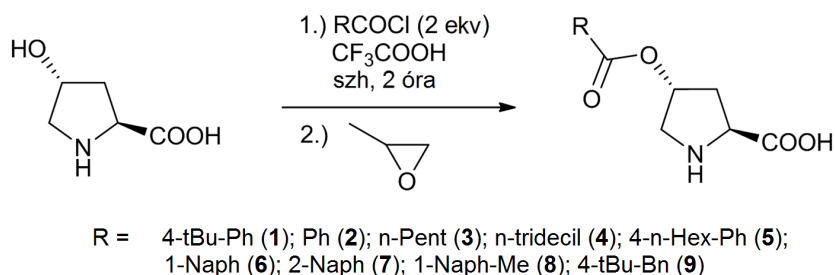


1. ábra

A hidroxiprolin-származékokkal katalizált szerves és vizes közegű aceton és különböző aldehidek közötti aszimmetrikus aldol-reakciókat batch-reaktorban valósítottam meg. A vizes közegű reakciókban a savas kémhatást ammónium-klorid oldattal, míg a bázikus kémhatást alkálifém-(kvaterner ammónium-)karboxiláttal biztosítottam.

A reakciók során részben kereskedelmi forgalomban lévő (L-prolin, L-hidroxiprolin, O-benzil-Hyp-HCl), részben általam az irodalomból ismert módszerek alkalmazásával szintetizált (O-(4-*terc*-butilbenzoil)-Hyp, O-benzoil-Hyp, O-kaproil-Hyp, O-mirisztoil-

Hyp, *O*-(4-hexilbenzoil)-Hyp, *O*-1-naftoil-Hyp, *O*-2-naftoil-Hyp, *O*-(1-naftilacetil)-Hyp, *O*-(4-*tert*-butilfenilacetil)-Hyp, *O*-1-naftoil-Hyp-metil-észter, *O*-benzil-Hyp) katalizátorokat használtam. A hidroxiprolin-származékok szintézisére a következő tipikus eljárást alkalmaztam (2. ábra):

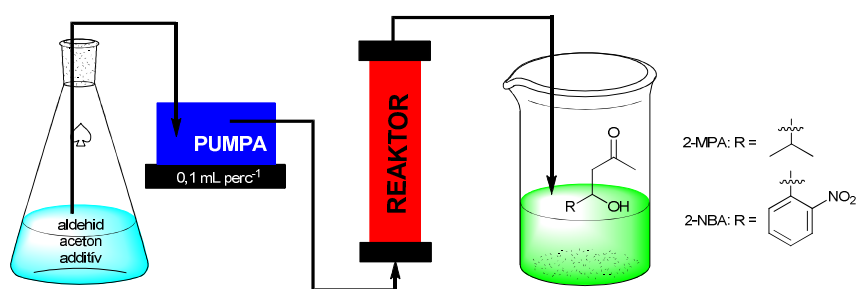


2. ábra

A szintetizált hidroxiprolin-származékok azonosítását és tisztaságvizsgálatát olvadáspontmérés, valamint ^1H NMR, ^{13}C NMR és ESI-MS spektrumok alapján végeztem el.

Az aldol-reakciótermék etil-acetátos extraktumának GC-fiolába vett mintáját királis gázkromatográffal analizáltam (kvantitatív analízis - konverzió, szelektivitás, valamint enantioszelektivitás ($ee\ (\%) = 100 \times ([A]-[B])/([A]+[B])$, ahol [A] - a feleslegben lévő enantiomer koncentrációja és [B] - a másik enantiomer koncentrációja) meghatározása). Az extraktum többi részét vákuum segítségével bepároltam, majd oszlopkromatográfiásan megtisztítottam (SiO_2 , hexán/etil-acetát 7:3). A termék tisztaságáról gázkromatográfiás- és NMR-vizsgálat alapján győződtem meg. Konfigurációjának meghatározásához optikai forgatóképesség-mérést, valamint irodalmi adatokat alkalmaztam.

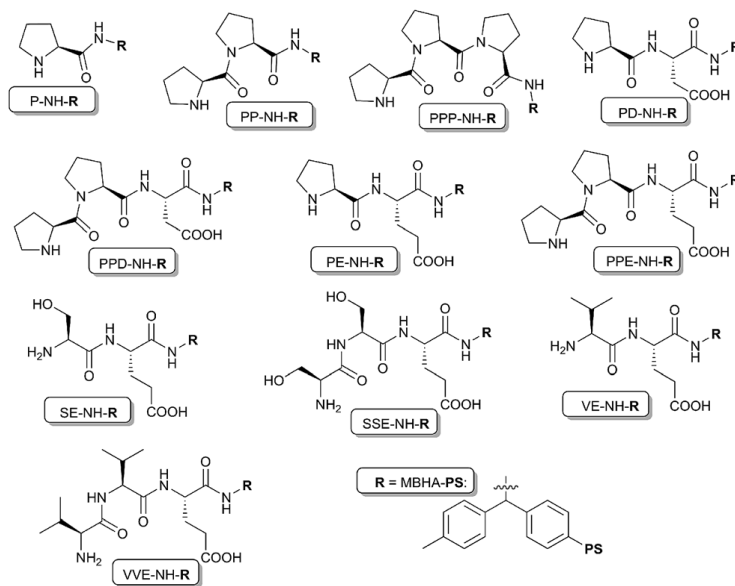
Az immobilizált oligopeptidekkel katalizált folyamatos áramú heterogén aszimmetrikus aldol-reakciókat fixágyas reaktor alkalmazásával végeztem (3. ábra).



3. ábra

A heterogén aszimmetrikus aldol-reakciókban az SZTE-ÁOK Orvosi Vegytani Intézet által Fmoc-technikával szintetizált katalizátorokat (H-Pro-MBHA-PS (**P**-MBHA-PS), H-Pro-Pro-MBHA-PS (**PP**-MBHA-PS), H-Pro-Pro-Pro-MBHA-PS (**PPP**-MBHA-PS), H-Pro-Asp(OH)-MBHA-PS (**PD**-MBHA-PS), H-Pro-Pro-Asp(OH)-MBHA-PS (**PPD**-MBHA-PS), H-Pro-Glu(OH)-MBHA-PS (**PE**-MBHA-PS), H-Pro-Pro-Glu(OH)-MBHA-PS (**PPE**-MBHA-PS), H-Val-Glu(OH)-MBHA-PS (**VE**-MBHA-PS), H-Val-Val-

Glu(OH)-MBHA-PS (**VVE-MBHA-PS**), H-Ser-Glu(OH)-MBHA-PS (**SE-MBHA-PS**), H-Ser-Ser-Glu(OH)-MBHA-PS (**SSE-MBHA-PS**)) használtam (4. ábra).



4. ábra

Az immobilizált oligopeptidek vizsgálata IR-spektroszkópia alkalmazásával DRIFT módban történt, a gyanta borítottsága CHN-analízissel került meghatározásra.

Az aldol-reakciótermékek vizsgálatakor a reakcióelegyből vett mintát tisztítás nélkül királis gázkromatográffal analizáltam, a maradékot bepároltam, majd oszlopkromatográfiásan megtisztítottam, eluensként hexán/etil-acetát 7:3 elegyet használva 2-nitrobenzaldehyd esetében és hexán/etil-acetát 3:1 elegyet használva izobutiraldehyd esetében. A termékek tisztaságát gázkromatográfiásan és NMR-spektroszkópiával ellenőriztem. Konfigurációjuk meghatározása a mért optikai forgatások irodalmi adatokkal történő összehasonlítása alapján történt.

3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

3.1. Hidroxiprolin-származékokkal katalizált szerves és vizes közegű aszimmetrikus aldol-reakciók acetón és különböző aldehidek között

1. Az irodalomból ismert, vagy újonnan szintetizált amfifil jellegű L-hidroxiprolin-származék katalizátorokat vizsgálva az acetón és különböző aldehidek közötti szerves és vizes közegű aszimmetrikus aldol-reakciókban kimutattuk, hogy a vizes közegű reakciókban a fázis-szeparációt megakadályozandó, olyan körülményeket kell biztosítani, amelyeknél a különböző vízáffinitású reagensek (hidrofób aldehid és hidofil acetón) és az aminosav-származék katalizátor hidofil aktív központja közel kerülnek egymáshoz. Ehhez egy megfelelő határfelület kialakulásának biztosítására van szükség, amit az amfifil aminosav-származék katalizátor stabilizál. A katalizátor hatékonyságának növelése céljából ugyanakkor fontos csökkenteni a vízaktivitást megfelelő koncentrációjú sóoldat

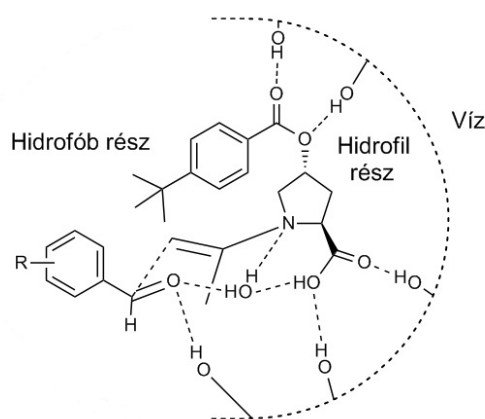
alkalmazásával, ezzel stabilizálva a határfelületet micellaképző nemionos tenzid hozzáadása esetén is.

2. A vizes közegű reakciók optimalizálása során kimutattuk, hogy a katalizátorok hatékonyságának növelését szolgáló vízakktivitás-csökkentésre használt sóoldat minősége és összetétele, a reagens aldehid szerkezete, valamint nemionos tenzid reakcióelegyhez történő hozzáadása jelentősen befolyásolja a reakciómutatókat.

3. Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy savasan hidrolizáló só (ammónium-klorid) oldatának reakcióközegként történő alkalmazásakor, ugyanúgy, mint szerves fázisban, mindig az (*R*) konfigurációjú aldol-termék képződik feleslegben jó szelektivitással és enantioszelektivitással, valamint közepes konverzióval, míg lúgosan hidrolizáló só (alkálifém-, kvaterner ammónium-karboxilát) oldatában az aldol-reakciók túlnyomó többségében kiváló konverzióval és szelektivitással, valamint alacsony és közepes enantioszelektivitással az (*S*) konfigurációjú aldol-termék képződik feleslegben.

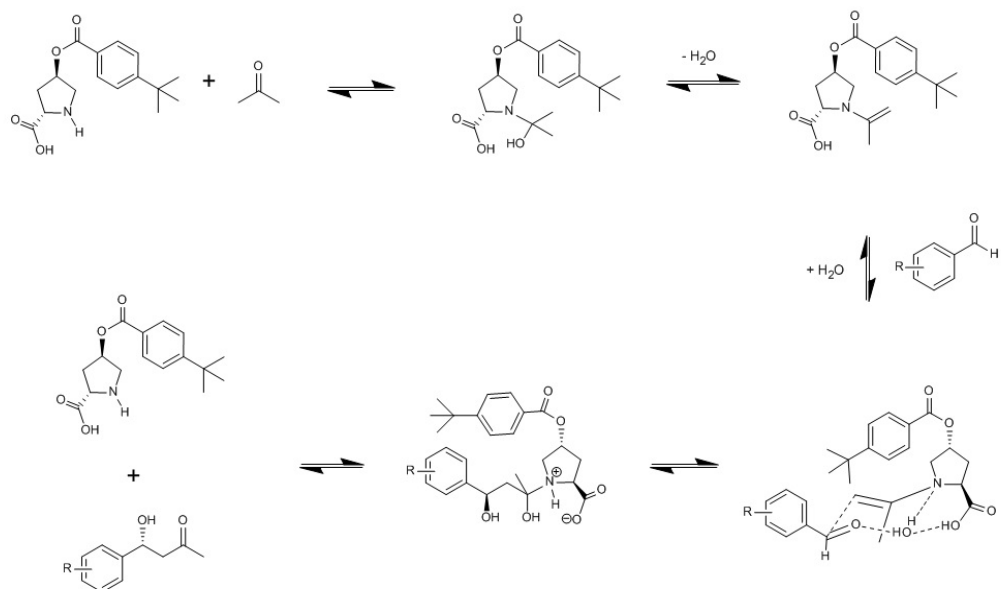
4. Az L-aminosav-származékokkal katalizált vizes közegű aszimmetrikus aldol-reakciók sztereoszelektivitásának szabályozására lehetőséget nyújtó jelenséget a reakció kimenetele szempontjából kulcsfontosságú, a Zimmermann-Traxler modell fémmentes verziójával értelmezhető, egy vízmolekula beépülésével micellárisan stabilizált átmeneti állapot különböző szerkezetével interpretáltuk.

4.1. Savas kémhatású vizes közegben, ugyanúgy, mint szerves fázisban, a karboxil-csoport protonja hidrogénkötéssel térben úgy irányítja az aldehidet, hogy annak az énaminnal történő *Re*-faciális támadása lesz preferált, ami az (*R*) konfigurációjú termék képződéséhez fog vezetni (5. ábra).



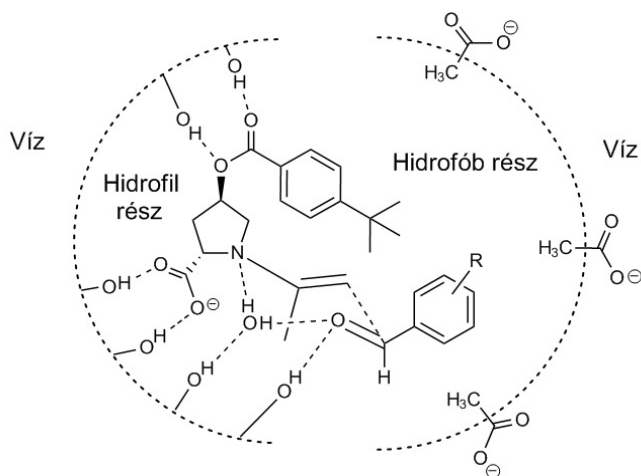
5. ábra

Így, a savasan hidrolizáló ammónium-klorid vizes oldatában megvalósított aszimmetrikus aldol-reakció esetén aceton és különböző aldehidek között mindig az (*R*) konfigurációjú termék képződik feleslegben, a következő reakciómechanizmus szerint (6. ábra):



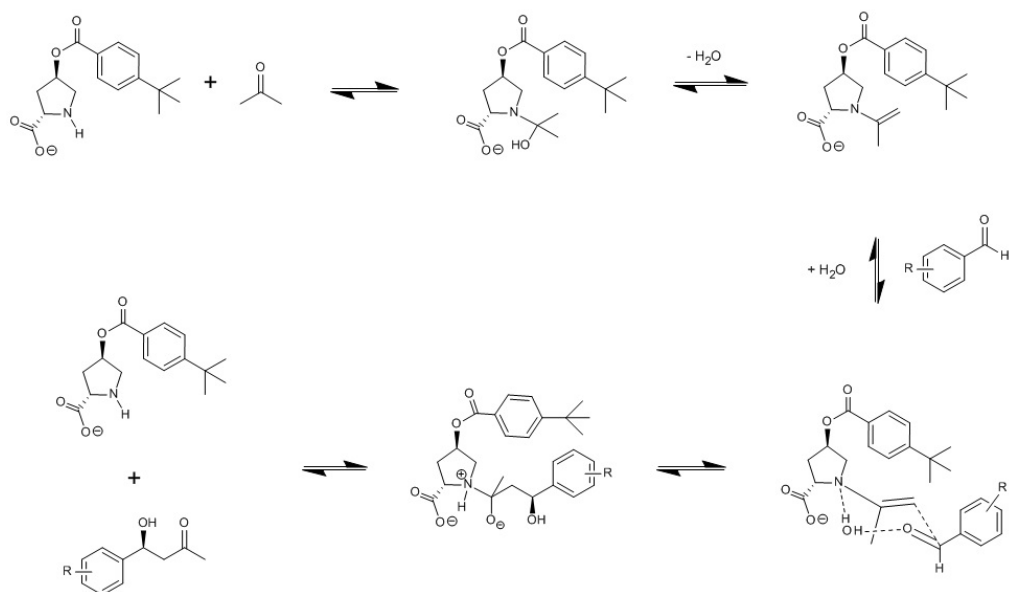
6. ábra

4.2. A lúgosan hidrolizáló só (alkálifém-, kvaterner ammónium-karboxilát) oldatában a karboxil-csoport protonjának hiánya miatt, amikor az aminosav karboxilát-csoportjának (a só karboxilátja mellett) már elsősorban micellastabilizáló funkciója van, kedvezőbb lesz az aldehid énaminnal történő *Si*-faciális támadása, ami az (*S*) konfigurációjú termék képződését fogja eredményezni (7. ábra).



7. ábra

Ennek megfelelően a bázikus kémhatású vizes közegű aszimmetrikus aldol-reakció esetén aceton és különböző aldehidek között az (*S*) konfigurációjú termék képződése preferált, a következő reakciómechanizmus szerint (8. ábra):

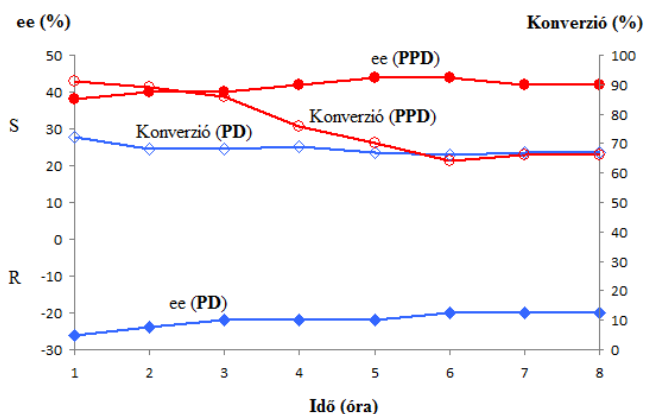


8. ábra

3.2. Immobilizált oligopeptidekkel katalizált folyamatos áramú heterogén aszimmetrikus aldol-reakciók aceton és aldehidek között

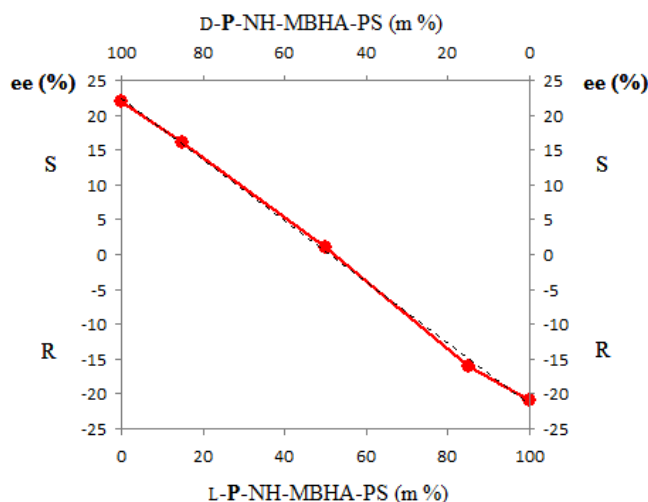
A királis szintézisek ipari megvalósíthatóságának, valamint a katalizátor újrahasznosíthatóságának szempontjából előnyös folyamatos üzemmódú heterogén katalízis adta lehetőséget kihasználva, sztereoselektivitás-szabályozás céljából folyamatos áramú fixágyas reaktorban polisztirol gyantán rögzített oligopeptidekkel katalizált aceton és 2-nitrobenzaldehyd vagy izobutiraldehyd közötti aldol-reakciókat vizsgáltunk és a következőket állapítottuk meg:

5. Az immobilizált oligopeptid-katalizátorok stabilitását vizsgálva a **PD-NH-MBHA-PS**-sel és **PPD-NH-MBHA-PS**-sel katalizált, folyamatos áramban 8 órán át zajló, aceton és 2-nitrobenzaldehyd közötti aszimmetrikus aldol-reakción igazoltuk az immobilizált oligopeptid-katalizátorok használhatóságát folyamatos áramú üzemmódban is (9. ábra):



9. ábra

6. Az **L-P-NH-MBHA-PS** és **D-P-NH-MBHA-PS** immobilizált katalizátorok különböző arányú keverékeit használva, az enantioszelektivitás és az összetétel között kapott lineáris összefüggéssel bizonyítottuk a vizsgált aldol-reakció (aceton + 2-nitrobenzaldehyd) heterogén természetét (10. ábra):



10. ábra

7. Folyamatos áramú üzemmódban a polisztirol gyantán rögzített L-prolinnal, valamint csak L-prolint tartalmazó immobilizált di- és tripeptidekkel (*R*) konfigurációjú termék képződik feleslegben, közepes katalizátor-aktivitás és enantioszelektivitás mellett. **PD-NH-MBHA-PS**, valamint **PE-NH-MBHA-PS** immobilizált dipeptid-katalizátorok esetén az (*R*), míg **PPD-NH-MBHA-PS**, valamint **PPE-NH-MBHA-PS** immobilizált tripeptid-katalizátorok esetén az (*S*) konfigurációjú termék képződik feleslegben (enantioszelektivitás-inverzió következik be) mind aromás, mind alifás aldehydnél, nagy katalizátor-aktivitás és közepes enantioszelektivitás mellett az aromás és kis katalizátor-aktivitás, valamint relatíve nagy enantioszelektivitás mellett az alifás aldehydnél.

8. L-prolint nem tartalmazó immobilizált di- és tripeptidek (**SE-NH-MBHA-PS** és **VE-NH-MBHA-PS**, valamint **SSE-NH-MBHA-PS** és **VVE-NH-MBHA-PS**) alkalmazásakor viszont enantioszelektivitás-inverziót nem tapasztaltunk (az (*R*) konfigurációjú termék képződik feleslegben).

9. Amellett, hogy az akirális adalékként használt benzoésav markáns konverzió növekedést eredményez az immobilizált L-prolinnal, valamint csak L-prolint tartalmazó immobilizált di- és tripeptidekkel katalizált 2-nitrobenzaldehyd és aceton közötti aldol reakcióban, elsőként megállapítottuk, hogy benzoésav jelenlétében **P-NH-MBHA-PS** esetén az (*R*), míg **PP-NH-MBHA-PS** és **PPP-NH-MBHA-PS** alkalmazásakor az (*S*) konfigurációjú termék képződik feleslegben (enantioszelektivitás-inverzió következik be).

10. A benzoésav-adalékkal regisztrált nem triviális effektus oka valószínűleg az, hogy az L-prolinnal szemben a flexibilisebb di- és tripeptidnél a benzoésav okozta protonálódás

olyan katalizátor konformáció-változást eredményez, melynek hatására az acetone és 2-nitrobenzaldehyd közötti aldol-reakció átmeneti állapotának szerkezete már az (S) konfigurációjú termék képződésének fog kedvezni. Ezzel lehetőség nyílik az aszimmetrikus aldol-reakció sztereoselektivitásának szabályozására akirális adalék alkalmazásával.

4. AZ ÉRTEKEZÉS ANYAGÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

- [1] A. Gurka, I. Bucsi, L. Kovács, G. Szöllősi and M. Bartók
Reversal of the enantioselectivity in aldol addition over immobilized di- and tripeptides: studies under continuous flow conditions
RSC Adv., **4**, 61611-61618 (2014) IF: 3,840
- [2] A. A. Gurka, K. Szőri, G. Szöllősi, M. Bartók and G. London
Tuning the sense of product stereochemistry in aldol reactions of acetone and aromatic aldehydes in the presence of water with a single chiral catalyst
Tetrahedron Lett., **56**, 7201-7205 (2015) IF: 2,379
- [3] A. A. Gurka, K. Szőri, M. Bartók and G. London
Dual stereocontrol in aldol reactions catalysed by hydroxyproline derivatives in the presence of a large amount of water
Tetrahedron: Asymm., **27**, 936-942 (2016) IF: 2,108
- [4] A. A. Gurka and G. London
Dual stereocontrol in enantioselective aldol reactions
Org. Prep. Proc. Int., (2017) (Elfogadva) IF: 1,750

Az értekezés anyagát képező közlemények összesített impakt faktora: 10,077

5. EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

- [1] G. Szöllősi, M. Fekete, A. A. Gurka and M. Bartók
Reversal of Enantioselectivity in Aldol Reaction: New Data on Proline/ γ -Alumina Organic-Inorganic Hybrid Catalysts
Catal. Lett., **144**, 478-486 (2014) IF: 2,291
- [2] A. A. Gurka, K. Szőri, M. Szőri, M. Bartók and G. London
Application of hydroxyproline derivatives in enantioselective α -amination reactions in organic and aqueous environments: a structure-activity relationship study
Struct. Chem., **28**, 415-421 (2017) IF: 1,854

Az egyéb közlemények összesített impakt faktora: 4,145

6. AZ ÉRTEKEZÉSEL KAPCSOLATOS ELŐADÁSOK

- [1] Gurka András, Szöllősi György, Bartók Mihály
Immobilizált oligopeptidekkel katalizált folyamatos áramú enantioszelektív aldol addíciós reakciók
MKE 2. nemzeti konferencia
Hajdúszoboszló, 2015. augusztus 31-szeptember 2.
- [2] András Gurka, György Szöllősi, Mihály Bartók
Continuous flow enantioselective aldol additions over immobilized oligopeptides

Eleventh International Symposium on Heterogeneous Catalysis
Varna, Bulgaria, 6-9 September 2015

- [3] London Gábor, Gurka András
Kettős sztereokontroll vizes közegű aldol reakciókban
Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottság ülése
Balatonszemes, 2016. május 18-20.