

**Ph. D. értekezés tézisei**

**ALICIKLUSOS *CISZ*- ÉS *TRANSZ*-1,2-DIFUNKCIÓS VEGYÜLETEK  
SZINTÉZISE, ENZIMES REZOLVÁLÁSA ÉS ÁTALAKÍTÁSAI**

**Gyarmati Zsuzsanna**

MTA-SZTE Heterociklusos Kémiai Kutatócsoport  
Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet

Szeged

2004

## 1. Bevezetés és célkitűzések

Az aliciklusos *cisz*- és *transz*-1,2- és 1,3-difunkciós vegyületek ( $\beta$ -aminosavak,  $\beta$ -hidroxikarbonsavak, 1,3-aminoalkoholok és származékaik) szintézisét és reakcióit a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézetében hosszabb ideje behatóan tanulmányozzák. Ezek a vegyületek a kondenzált vázas telített heterociklusok előállításának kiindulási anyagai. Az (1*R*,2*S*)-2-aminociklopentánkarbonsav gombaellenes hatását kb. másfél évtizede felismerték, mely számos antibiotikumnak is szerkezeti eleme. A ciklopentán- és ciklohexánvázás 1,2- és 1,3-difunkciós vegyületek előállításával és átalakításaival széles körben foglalkoztak, ugyanakkor a cikloheptán és ciklooktán származékokról, különösen pedig a nagyobb gyűrűtagszámú homológokról kevés közlemény jelent meg.

Ph. D. munkám célja

- ❖ a cikloheptán-, ciklooktán- és homoadamantánvázás *cisz*-, és a ciklododekánvázás *cisz*- és *transz*- $\beta$ -aminosavak, valamint  $\beta$ -laktám származékaik szintézise és enzimés rezolválása;
- ❖ piridopirimidin-4-on és piridokinazolin-11-on származékok előállítása, térszerkezetük vizsgálata;
- ❖ homológ *cisz*- és *transz*- $\beta$ -hidroxicikloalkánkarbonsavak lúgos izomerizációjának tanulmányozása;
- ❖ ciklusos  $\beta$ -hidroxikarbonsavak, aliciklusokkal kondenzált  $\beta$ -laktámok és származékaik röntgen-diffrakciós modellanyagként való előállítása.

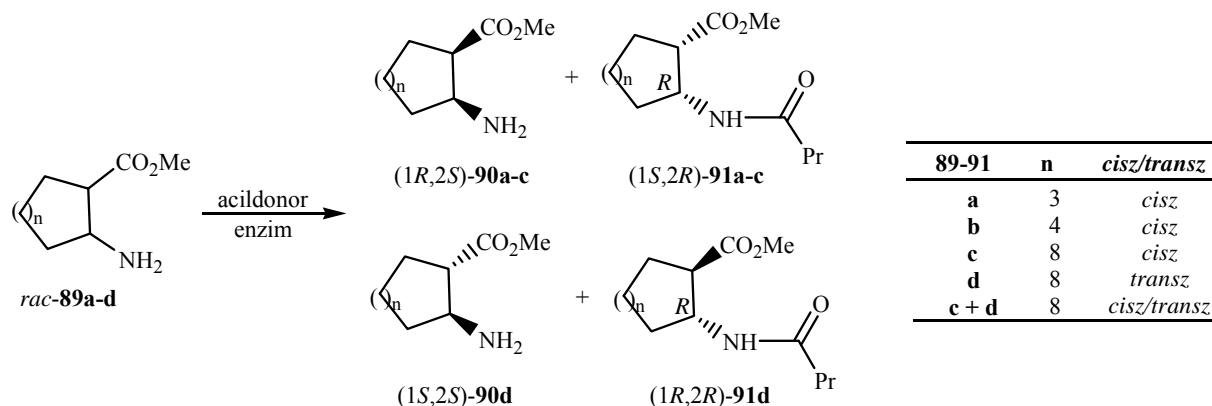
## 2. A tudományos eredmények összefoglalása \*

- 2.1. Megvalósítottam a ciklooktánvázás *cisz*- és a ciklododekánvázás *cisz*- és *transz*- $\beta$ -aminosavak és észterek (*rac*-**89a-d**), valamint a cikloheptánnal és a ciklooktánnal *cisz*- (*rac*-**95a,b**), valamint a ciklododekánnal *cisz*- és *transz*-kondenzált *N*-hidroximetil- $\beta$ -laktámok (*rac*-**95c,d**) szintézisét és enzimés rezolválását.
- 2.2. A *rac*-**89a-c** (*cisz* izomerek) és a *rac*-(**89c+89d**) (*cisz:transz* = 1:2) vegyületeket acileztük *Candida antartica* lipáz A (CAL-A) enzimmel 2,2,2-trifluoretil-butanoát jelenlétében diizopropiléterben. A **89a-c** *cisz*- $\beta$ -aminosav észterek esetén kiváló enantioszelektivitás volt tapasztalható, míg a *cisz/transz* keverékben (**89c+89d**) a *transz* izomer (**89d**) csak jelentéktelen enantioszelektivitással reagált.

Megállapítottuk, hogy a *cisz* izomerek reaktivitása az aliciklusos gyűrű méretének növekedésével jelentős mértékben csökken. A **89a** 48%-os, a **89b** 34%-os konverzióval reagált

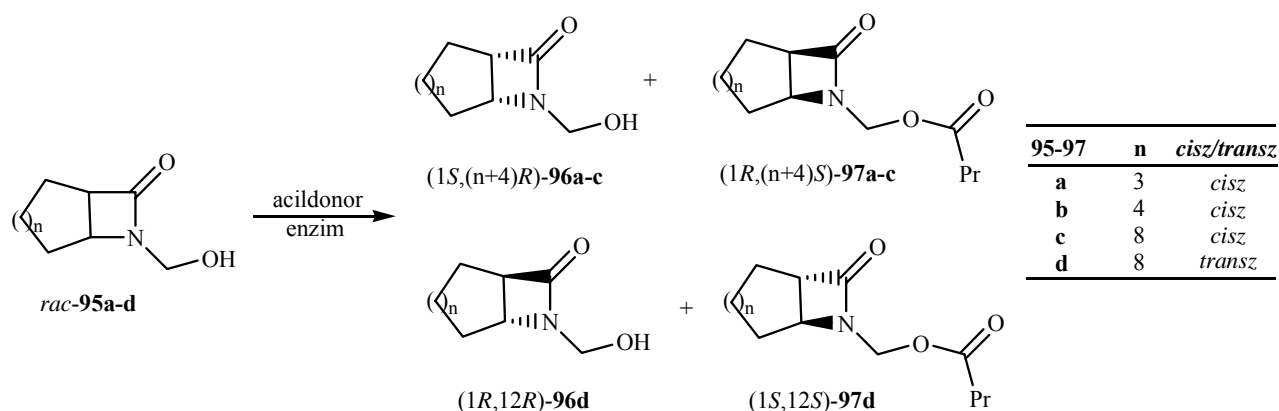
\* A vegyületek számozása megegyezik a doktori értekezésben alkalmazottal

szobahőmérsékleten 1 h alatt 20 mg/ml enzim készítmény jelenlétében, míg a **89c+89d** esetén 2 nap után sem tapasztaltunk reakciót annak ellenére, hogy az enzimtartalom magas (50 mg/ml) volt.



A keveréknél (**89c+89d**) más oldószer (pl. aceton, acetonitril) és enzim [pl. *Pseudomonas cepacia* (lipáz PS), *Candida antarctica* lipáz B (CAL-B)] alkalmazásával sem történt a reaktivásban változás. 2,2,2-Trifluoretil-klóracetát és lipáz PS alkalmazásával diizopropiléterben a kémiai reakció erőteljesen zavarja az enzimes acilezést. A **89c** *cisz* izomer hatékony acilezéséhez magasabb hőmérséklet (47 °C) szükséges.

2.3. A cikloheptánnal, ciklooktánnal *cisz*- (**95a,b**) és a ciklododekánal *cisz*- és *transz*-kondenzált (**95c,d**) *N*-hidroximetil- $\beta$ -laktámok lipáz-katalizált enzimes rezolválását vízmentes acetonban, lipáz PS enzimműveléssel, 2,2,2-trifluoretil-butanoát vagy vinil-butirát acildonor jelenlétében végeztem. A *rac*-**95b-d** vegyületek vinil-butanoáttal lipáz PS jelenlétében való acilezési reakciója alacsony konverzió mellett megállt.

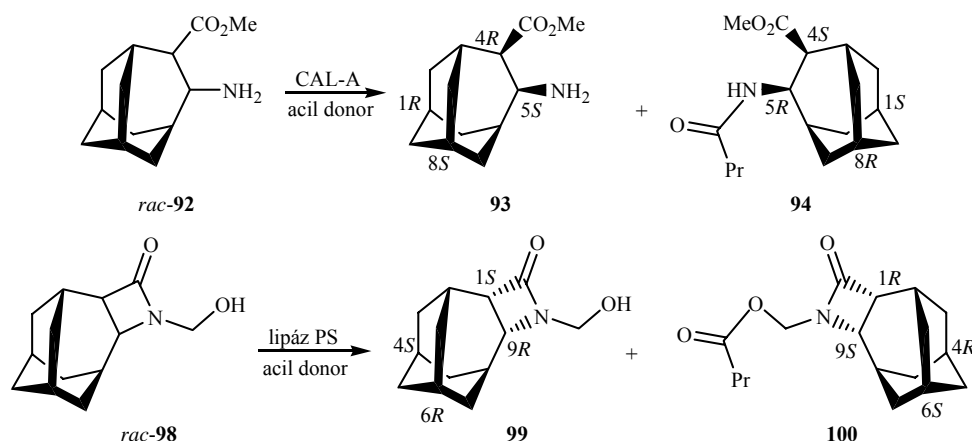


Az azonos reakciók CAL-B, illetve *Pseudomonas fluorescens* (PPL) enzimek jelenlétében végbemennek, de a *rac*-**95a-c** esetén csak alacsony szelektivitással. A *transz*- $\beta$ -laktám analóg (**95d**) rezolválására a CAL-B katalizálta vinil-butanoáttal acetonban végzett eljárás bizonyult a legalkalmasabbnak.

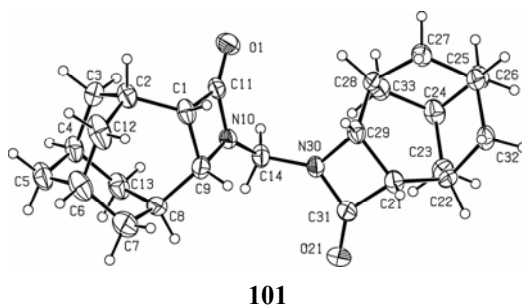
2.4. Az enantiomertiszta vegyületeket (**90**, **91**, **96**, **97**) grammos méretben is előállítottam. Az abszolút konfigurációk megállapítása korábbi eredményeink felhasználásával történt, miszerint a fenti körülmények között az *N*-hidroximetil- $\beta$ -laktámoknak az  $[1R,(n+4)S]$  ( $n = 1, 2$ ) enantiomere reagál. Azt tapasztaltuk továbbá, hogy az aliciklusos  $\beta$ -aminosav észterek (**89a-d**) acilezésekor ellentétes enantiomer reagál, mint a megfelelő *N*-hidroximetil- $\beta$ -laktámok (**95a-d**) lipáz-katalizálta acilezésénél. Ezen adatok alapján a *rac*-**89a-c** reaktívabb enantiomere az  $(1S,2R)$ , *rac*-**89d** esetén pedig az  $(1R,2R)$  konfigurációjú.

2.5. A homoadamantán-kondenzált racém  $\beta$ -laktám szintézise homoadamant-4-énből történt klórszulfonil-izocianátos addícióval. A vegyületből  $\beta$ -aminosav észtert (**92**) és *N*-hidroximetil- $\beta$ -laktámot (**98**) állítottam elő.

2.6. A *rac*-**92** és *rac*-**98** vegyületek acilezését 2,2,2-trifluoetil-butanoáttal CAL-A, illetve lipáz PS enzim jelenlétében diizopropil-éterben, illetve acetonban végeztem. A reakciók nagy enantioszelektivitással mentek végbe ( $E \gg 200$ ).



2.7. Az enantiomertiszta vegyületeket (**93**, **94**, **99**, **100**) grammos méretben is előállítottam. Az elreagálatlan kiindulási anyagok (**93**, **99**) és a termékek (**94**, **100**) abszolút konfigurációjának meghatározása az el nem reagált *N*-hidroximetil-azetidionból (**99**) savas közegben nyert dimer (**101**) röntgendiffrakciós szerkezetelemzésével történt.

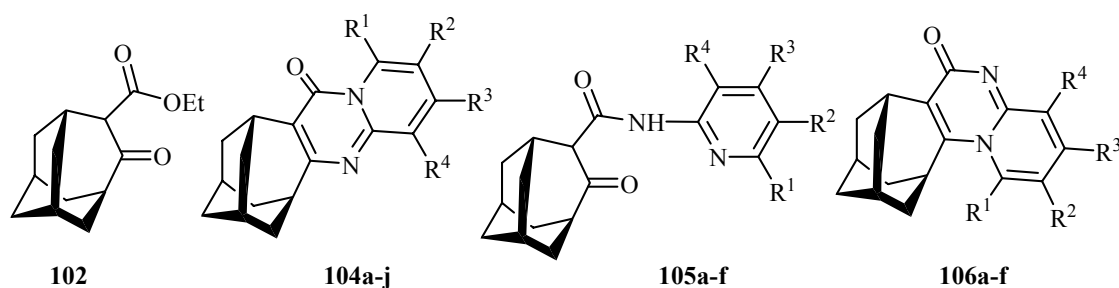


2.8. A kondenzáltvázas telített és részlegesen telített heterociklusokkal való munkáink folytatásaként elvégeztük néhány homoadamantánvázval kondenzált piridopirimidinon származék szintézisét és vizsgálatát.

Az etil-(5-oxotriciklo[4.3.1.1<sup>3,8</sup>]undekán-4-karboxilát) (**102**) metilszubsztituált 2-aminopiridinekkel polifoszforsavban (PPA) való reakciójában két típusú termék – a lineárisan kondenzált piridopirimidinonok (**104a–c**) és 2-piridilkarboxamidok (**105a–c**) – képződött, ugyanakkor a reakció a 2-aminopiridin amino-, hidroxi- és nitro-származékaival csak lineárisan kondenzált piridopirimidinonokat (**104g–j**) eredményezett.

Oldószerként a PPA és foszforoxiklorid elegyét alkalmazva mind a lineárisan (**104a–c,e,f**), mind az angulárisan kondenzált (**106a–c,e,f**) piridopirimidinonok képződtek.

Toluolban *p*-toluolszulfonsav katalizátor alkalmazásával 2-piridilkarboxamidokat **105a–f** nyertünk. A **105a–f**-t PPA és foszforoxiklorid elegyében 80-120 °C-on melegítve angulárisan kondenzált piridopirimidinonok **106a–f** képződtek.

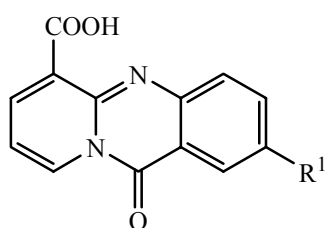


104	105	106	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
a	a	a	H	H	Me	H
b	b	b	H	Me	H	H
c	c	c	Me	H	H	H
	d	d	H	H	H	H
e	e	e	H	Br	H	H
f	f	f	H	Cl	H	H

104	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
g	NH <sub>2</sub>	H	H	H
h	H	H	H	OH
i	OH	H	H	H
j	H	NO <sub>2</sub>	H	H

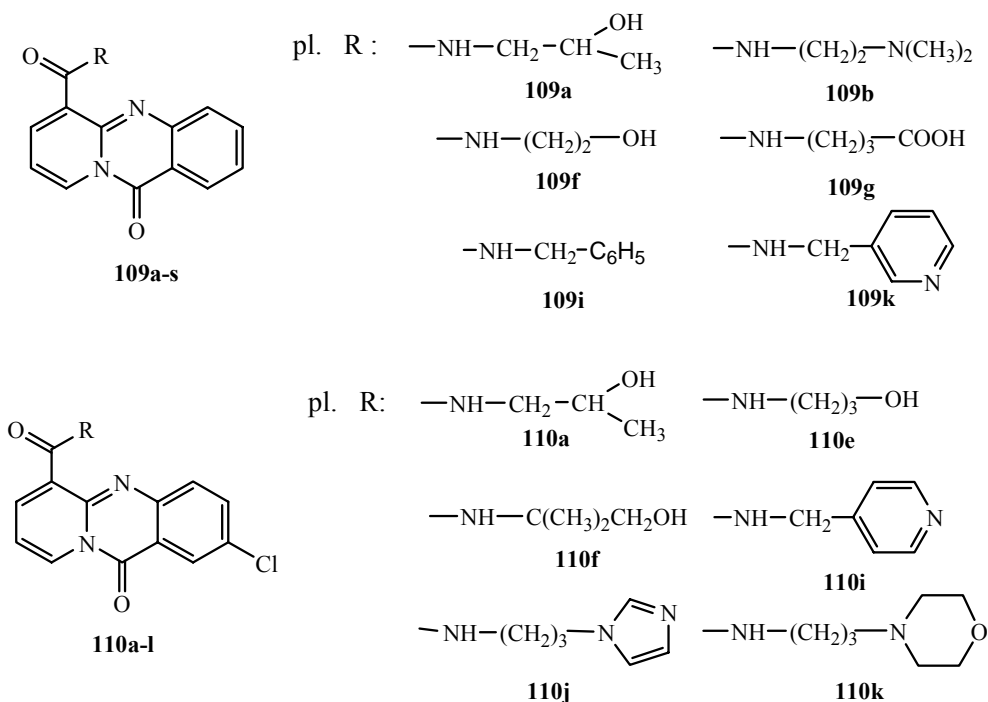
Az előállított vegyületek szerkezetét NMR, MS és röntgenkristallográfiás módszerekkel igazoltuk.

2.9. A pirido[2.1-*a*]kinazolin-11-on és karbonsav származékainak farmakológiai jelentősége (pl. allergiaellenes, tumorellenes, analgetikus hatás) van. Ezért előállítottuk a 11-oxo-11*H*-pirido[2,1-*a*]kiinazolin-6-karbonsavat (**107**) és a 14-klór-11-oxo-11*H*-pirido[2,1-*a*]kinazolin-6-karbonsavat (**108**) és ezek nagyszámú karboxamid származékát.

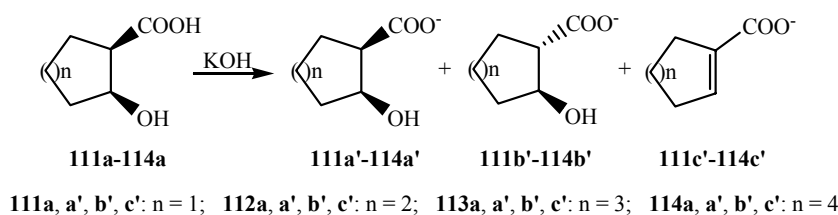


**107:** R<sup>1</sup> = H; **108:** R<sup>1</sup> = Cl

A **107** és **108** triciklusos karbonsavakat 2-klórnicotinsav és antranilsav, illetve 5-klórantranilsav reakciójával állítottuk elő magas hőmérsékleten (130 °C, illetve 160 °C). A **107** és a **108** vegyületeket primer és szekunder aminokkal reagáltatva a **109a-s**, **110a-l** karboxamidokat nyertük.



2.10. Tanulmányoztuk a homológ 2-hidroxicikloalkánkarbonsavak *cisz-transz* izomerizációját erősen bázikus vizes oldatban a *cisz* izomerekből kiindulva.



Azt tapasztaltuk, hogy a ciklopentán, ciklohexán és cikloheptán homológok az egyensúlyban preparatív célra hasznosítható mennyiségű *transz*-2-hidroxicikloalkánkarbonsavat és viszonylag kis mennyiségű megfelelő olefinsavat eredményeznek. Ezzel ellentétben a *cisz*-2-hidroxicikloalkánkarbonsav izomerizációjakor az egyensúlyi elegyben közel azonos mennyiségű *cisz-transz* izomer és 1-cikloalkénkarbonsav van jelen.

A reakciósebesség a homológ soron belül különböző. Az összetételt az idő függvényében ábrázolva, pszeudo-elsőrendű reakciókat kapunk, mely ismeretében a reakciósebességi állandók meghatározhatóak voltak.

2.11. A homológ *cisz*- és *transz*-2-hidroxicikloalkánkarbonsavakat röntgenkristallográfiás módszerekkel vizsgáltuk hidrogénkötés-rendszerük és más szupramolekuláris jelenség szempontjából.

Korábbi eredményeinkkel összhangban, a **111b**, a **112a** és **113a** kristályai izostrukturálisak, és heterokirális láncok antiparalel elhelyezkedésével jellemezhetők. Az antiparalel láncokból álló szerkezetekben nemcsak a láncok, hanem a keresztkötések által összekapcsolt dimerek is egységnek tekinthetők. Ez alapján egy újabb lehetséges szerkezetet tételeztünk fel, melyet a *transz*-2-hidroxicikloalkánkarbonsav (**114b**) és *transz*-2-hidroxicikloalkánkarboxamid kristályszerkezete igazolt.

A *transz*-2-hidroxicikloheptánkarbonsavnak (**113b**) mindkét polimorf módosulatát előállítottuk.

A karbociklus sztérikus hatását modelleztük a hidrogénkötésekre  $\beta$ -laktámoknál. A **17** és a **18** izostrukturális racém kristályokat alkot, míg a cikloheptán származék (**19**) spontán rezolválódik. A hidrogénhidakkal összekötött molekulák mindhárom esetben hélixet alkotnak. A hélix a homológ sorban az alifás gyűrű tagszámától függően megnyúlik. A *transz*-13-azabicyclo[10.2.0]tetradekán-14-on (**115**) két polimorf módosulatában (melyeket metanolból, illetve acetontól kristályosítottunk) jelentős különbséget fedeztünk fel a hélix megnyúltságában, melynek oka az *O* magányos elektronpár.

### Az értekezés anyagát képező közlemények

1. Alajos Kálmán, László Fábián, Gyula Argay, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Gyarmati**: Novel, predicted patterns of supramolecular self-assembly afforded by tetrameric  $R_4^4(12)$  rings of  $C_2$  symmetry in the crystal structures of 2-hydroxy-1-cyclopentanecarboxylic acid, 2-hydroxy-1-cyclohexanecarboxylic acid and 2-hydroxy-1-cycloheptanecarboxylic acid; *Acta Cryst. B* **2002**, 58, 494-501. **IF: 2,026**
2. Alajos Kálmán, László Fábián, Gyula Argay, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Gyarmati**: Predictable close-packing similarities between *cis*- and *trans*-2-hydroxy-1-cyclooctanecarboxylic acids and *trans*-2-hydroxy-1-cyclooctanecarboxamide; *Acta Cryst. B* **2002**, 58, 855-863. **IF: 2,026**
3. Alajos Kálmán, László Fábián, Gyula Argay, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Gyarmati**: Dipole-induced polymorphs of *trans*-2-hydroxycycloheptanecarboxylic acid with virtually the same unit cell; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 34-35. **IF: 6,079**
4. Gyula Argay, Alajos Kálmán, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**: Ethyl (O-B)-5-(difluoroboryloxy)tricyclo[4.3.1.1<sup>3,8</sup>]undecane-4-carboxylate difluoroborate; *Acta Cryst. E* **2003**, 59, 1554-1555. **IF: 0,453**
5. **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**, Arto Liljeblad, Mikko Rintola, Gábor Bernáth, Liisa T. Kanerva: Lipase-catalyzed resolution of 7-, 8- and 12-membered alicyclic  $\beta$ -amino esters and *N*-hydroxymethyl- $\beta$ -lactam enantiomers; *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 3805-3814. **IF: 2,163**
6. Gyula Argay, László Fábián, Alajos Kálmán, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**: *cis*-7-Azabicyclo[4.2.0]octan-8-one; *Acta Cryst. E* **2004**, 60, 170-172 **IF: 0,453**
7. Gyula Argay, Alajos Kálmán, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**: *cis*-8-Azabicyclo[5.2.0]nonan-9-one; *Acta Cryst. E* **2004**, 60, 173-175 **IF: 0,453**
8. **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**, Arto Liljeblad, Gyula Argay, Alajos Kálmán, Gábor Bernáth, Liisa T. Kanerva: Chemoenzymatic preparation of enantiopure homoadamantyl  $\beta$ -amino acid and  $\beta$ -lactam derivatives; *Adv. Synth. Cat.* **2004**, 346, 566-572 **IF: 2,991**
9. **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**, Péter Csomós, Gábor Bernáth, Paulina Valtamo, Henri Kivelä, Gyula Argay, Alajos Kálmán, Karel D. Klika, Kalevi Pihlaja: Syntheses and NMR, MS and X-ray investigations of homoadamantane-used pyridopyrimidinones; *J. Heterocyclic Chem.* **2004**, 41, 187-199 **IF: 0,701**



10. László Fábián, Alajos Kálmán, Gyula Argay, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**: Two polymorphs of a  $\beta$ -lactam (*trans*-13-azabicyclo[10.2.0]tetradecan-14-one). Concomitant crystal polymorphism and isostructurality; *Chem. Commun.*, közlés alatt **IF: 4,038**
11. Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**, Szilvia Pelikán, Lajos Simon: Synthesis of some 11-oxo-11*H*-pyrido[2,1-*b*]quinazolin-6-carboxamides; *J. Heterocyclic Chem.*, közlésre előkészítve
12. **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**, István Pálinkó, Attila Bokros, Tamás A. Martinek, Gábor Bernáth: The *cis-trans* isomerisation of homologous 2-hydroxycycloalkanecarboxylic acids under basic conditions; előkészületben
- $\Sigma$ IF: 21,383**

#### A disszertációval kapcsolatos külföldi előadások

1. Mikko Rintola, **Zsuzsanna Gyarmati**, Gábor Bernáth, Liisa T. Kanerva: Kinetic resolution of ( $\pm$ )-8-hydroxymethyl-*cis*-8-azabicyclo[5.2.0]nonan-9-one; The 5<sup>th</sup> Spring Meeting of the Division of Synthetic Chemistry; Turku, Finland, 14-15 May, 2001; Abstr.: P27
2. Gábor Bernáth, Péter Csomós, **Zsuzsanna Gyarmati**, Gyula Argay, Alajos Kálmán, Kalevi Pihlaja: Synthesis, NMR, MS and X-ray investigation of homoadamantane-fused pyridopyrimidines and related saturated heterocycles; 18<sup>th</sup> International Congress of Heterocyclic Chemistry; Yokohama, Japan, 29 June – 3 August, 2001; Abstr.: 31-PO-154
3. László Fábián, Alajos Kálmán, Gyula Argay, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Gyarmati**: Crystal engineering using the analogy of X = OH and NH<sub>2</sub> groups in 2-X-cycloalkane-1-carboxylic acids; 19<sup>th</sup> Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography; Geneva, Switzerland, 6-15 August, 2002; Abstr.: Acta Cryst. A 58, 151, (2002)
4. Alajos Kálmán, Gyula Argay, László Fábián, Gábor Bernáth, **Zsuzsanna Gyarmati**: Stacking alternatives generated by the effect of antidromic rings in close packing patterns; 19<sup>th</sup> Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography; Geneva, Switzerland, 6-15 August, 2002; Abstr.: Acta Cryst. A 58, 325, (2002)
5. **Zsuzsanna Cs. Gyarmati**: Syntheses of homoadamantane-fused pyridopyrimidines; *Christmas Cruise Seminar*; University of Turku, Turku, Finland, 27 November, 2002

### Hazai előadások

1. Csomós Péter, **Gyarmati Zsuzsanna**, Bernáth Gábor, Fülöp Ferenc: Aliciklusos és homoadamantán-vázás  $\beta$ -aminokarbonsavak és karboxamidok készítése. Egy nem várt izomerizáció és hasznosítása; MKE Vegyészkonferencia 2001; Hajdúszoboszló, 2001. június 27-29.; Abstr.: P-16
2. Csomós Péter, **Gyarmati Zsuzsanna**, Bernáth Gábor, Kalevi Pihlaja: Homoadamantánnal kondenzált piridopirimidinek és egyéb heterociklusok szintézise, MS és NMR vizsgálata; MKE Vegyészkonferencia 2001; Hajdúszoboszló, 27-29. June, 2001. Abstr.: P-15
3. Péter Csomós, Lajos Simon, **Zsuzsanna Gyarmati**, Gyula Argay, Alajos Kálmán, György Dombi, Kalevi Pihlaja, Gábor Bernáth: Synthesis of homoadamantane-fused saturated and partially saturated heterocycles; Hungarian-German-Italian-Polish Joint Meeting on Medicinal Chemistry, Budapest, 2001. szeptember 2-6.; Abstr.: P-39
4. **Gyarmati Zsuzsanna**: Aliciklusokkal és homoadamantánnal kondenzált heterociklusok szintézise és vizsgálata; XXIV. Kémiai Előadói Napok; Szeged, 2001. október 29-31.; Abstr.: 87. o.
5. **Gyarmati Zsuzsanna**: Kondenzáltvázás telített heterociklusok szintézise és vizsgálata; A Magyar Tudomány Napja; Szeged, 2001. november 5-9.
6. **Gyarmati Zsuzsanna**: Homoadamantánnal kondenzált piridopirimidinek előállítása és szerkezetvizsgálata; A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány és a SZAB Szerves és Gyógyszerkémiai Munkabizottság közös tudományos előadóülése; Szeged, 2002. január 17.
7. **Cs. Gyarmati Zsuzsanna**, Arto Liljelblad, Bernáth Gábor, Liisa T. Kanerva: Normál, közepes és nagy gyűrűtagszámú *cisz*- és *transz*-2-aminocikloalkánkarboxilátok és cikloalkánokkal *cisz*- és *transz*-kondenzált azetidionok enzimes rezolválása; MKE Vegyészkonferencia; Hajdúszoboszló, 2003. június 26-28.; Abstr.: P-17
8. **Cs. Gyarmati Zsuzsanna**, Kálmán Alajos, Argay Gyula, Arto Liljelblad, Bernáth Gábor, Liisa T. Kanerva: Homoadamantán-származékok enzimes rezolválása; MKE Vegyészkonferencia 2003; Hajdúszoboszló, 2003. június 26-28.; Abstr.: P-18
9. Martinek Tamás, **Cs. Gyarmati Zsuzsanna**, Pálinkó István, Bokros Attila, Bernáth Gábor: Homológ *cisz*-2-hidroxisavak lúgos izomerizációja; MKE Vegyészkonferencia 2003; Hajdúszoboszló, 2003. június 26-28.; Abstr.: P-70

10. Argay Gyula, Fábián László, Kálmán Alajos, Bernáth Gábor, Cs. Gyarmati Zsuzsanna: Hidrogénhidak kapcsolata tetramer formák a *cisz*- és *transz*-2-hidroxicikloheptánkarbonsavak és az analóg karboxamidok kristályrácsában. Polimorfia virtuálisan azonos elemi cellával; MKE Vegyészkonferencia 2003; Hajdúszoboszló, 2003. június 26-28.; Absztr.: P-1