

Magyar

Kémiai Folyóirat

Kémiai Közlemények

127. ÉVFOLYAM, 2021

2

A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata
A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei
Magyar Kémiai Folyóirat 127. évfolyam, 2. szám 45-100. oldal, 2021

Útmutatás szerzőknek

A Magyar Kémiai Folyóirat fő feladata egyrészt a magyar kémiai szaknyelv folyamatos ápolása, s a kémiai tudomány fejlődéséhez, az aktuális tudományos újdonságokhoz alkalmazása, egyidejűleg a minél teljesebb körű szakmai információ-csere késedelem nélkül biztosítása, s az, hogy magas szakmai színvonalon tegye hozzáférhetővé az érdeklődők számára a hazai és külföldön élő magyar kémikusok kiemelkedő tudományos kutatási eredményeit, sikereit és mutassa be a kémiai tudományok világszerte bekövetkező fejlődését, változását, a kémia legfrissebb vívmányait, alkalmazásait, az érdeklődés gyújtópontjába kerülő területeit, másrészt, hogy segítséget nyújtson következő kémikus nemzedékeknek a kémiai tudomány anyanyelven való megismeréséhez, a kémiai ismeretek, fogalmak szakmailag helyes és pontos magyar nyelvű kifejezéseinek megtanulásához.

A Magyar Kémiai Folyóirat negyedévenként jelenik meg. Eredeti magyarnyelvű közleményeket – az alább megadott, szigorúan korlátozott terjedelemben, a nemzetközi tudományos folyóiratok átlagos színvonalát elérő munkák esetén – jelentet meg, előnybe részesítve fiatal kutatók első önálló közleményeit. Összefoglaló cikkeket közöl (felkérés alapján) hazai kiemelkedő teljesítményű kutatóműhelyek hosszabb idő alatt elért eredményeiről, hazai nemzetközi konferenciákról, a nemzetközi érdeklődés gyújtópontjába került kutatási területekről, bemutatva a friss eredményeket, fejlődési irányokat, s ha van, a hazai hozzájárulást, külföldön élő, sikeres magyar származású vegyész-kutatók munkájáról, a szomszédos országokban, határainkon kívül működő magyar kémikusok közzétételre érdemes tudományos eredményeiről. Helyet kapnak a folyóiratban könyvismertetések, kémiai és rokontárgyú kiadványokról. Külön rovatként közli a korábban már a Magyar Kémiai Folyóirat-ba beolvadt Kémiai Közlemények profiljából átvéve akadémiai székfoglalók, MTA doktora címért megvédett értekezések és PhD-dolgozatok összefoglalóit és akadémiai fórumokon elhangzott egyes előadások rövidített változatát. Idegen nyelven már közzétett cikkek másod-közlését a folyóirat nem vállalja. Terjedelem túllépést csak a szerkesztőbizottság hozzájárulásával, a többlet terjedelemben megváltása ellenében fogad el.

Az egyes közlemény-fajták térítésmentesen, szerkesztőbizottsági hozzájárulás nélkül kitölthető terjedelme (nyomtatott oldalak):

1. Összefoglaló közlemények a) jelentős, aktuális kutatási terület legújabb nemzetközi eredményeiről: max. 8 + 1 oldal angol nyelvű kivonat, b) kiemelkedő hazai kutatóhelyek újabb eredményeiről, ill. c) külföldön alkotó magyar származású kiemelkedő elismertségű kutatók munkásságáról: max. 6 + 1 oldal angol nyelvű kivonat.
2. Eredeti közlemények: új tudományos eredményeket bemutató, lektorált magyar nyelvű közlemények: max. 4 + 1 oldal angol nyelvű kivonat. Előnyt élveznek fiatal kutatók (pl. kiemelkedő PhD értekezések összefoglalója) és határon túli magyar kutatók munkái.
3. A „Kémiai Közlemények” rovatban a) Akadémiai székfoglaló előadások rövidítve és b) MTA Doktora védések anyagának összefoglalói: max. 4-4, továbbá c) a Szerk. Bizottság, vagy az MTA Kémiai Tud. Osztálya által kiválasztott és az Osztály szervezésében elhangzott előadás összefoglalója: max. 2 oldal + féloldal angol nyelvű kivonat.
4. Könyvismertetés: max. fél oldal.

A megadott maximális terjedelemben túllépéséhez esetenként a Szerkesztő Bizottság – a költség-többlet szerző általi megtérítése ellenében – hozzájárulhat.

A papír-alakú bírálatokat a következő címre kérjük eljuttatni: 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Szerves Kémia Csoport, Huszthy Péter szerkesztő.

Az ELTE címet (ebben a formában: Magyar Kémiai Folyóirat, főszerkesztő, c/o ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1528 Budapest 112., Pf. 32.) csak akkor használják, ha kimondottan a főszerkesztőnek szóló levélről van szó (pl. reklamáció - mondjuk elfogult bírálat, plágium, etc. esetében).

Az irodalmi hivatkozásoknál a DOI számokat is kérjük feltüntetni.

Színes ábrákat csak fekete-fehér formában tudunk megjelentetni. Az emiatt bekövetkező esetleges információ-vesztés elkerülésére kérjük, hogy a szerzők ezt a körülményt tartsák szem előtt.

A képleteket és ábrákat külön file-ban is, vagy csak így kérjük csatolni a közlésre beküldött kéziratokhoz.

A levelező szerző elérhetőségét (telefon, fax, e-mail cím) kérjük a név lábjegyzeteként megadni.

Az angol nyelvű összefoglalót nem abstract formában, hanem bő kivonatként (legalább 3/4 nyomtatott oldal terjedelemben) kérjük csatolni.

Kérjük, hogy a tartalomjegyzékhez a szerzők adják meg közleményük angol címét.

A kézirat elkészítését segítő mintafajlt, valamint a részletes formai követelményeket a folyóirat honlapján találja meg:

<http://www.mkf.mke.org.hu>

Magyar Kémiai Folyóirat

HUNGARIAN JOURNAL OF CHEMISTRY

és

MTA Kémiai Közlemények

A Magyar Kémikusok Egyesületének lapja

Megindította Than Károly 1895-ben

Főszerkesztő: Sohár Pál

A szerkesztőbizottság tagjai:

Baranyai András, Felinger Attila, Gelencsér András,
Keglevich György, Szakonyi Zsolt, Szilágyi László

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Dinnyés Tünde

TARTALOMJEGYZEK

MEGEMLEKEZÉS:

- Szakonyi Zsolt:* In memoriam Fülöp Ferenc
(1952–2021) 46
- Sipos Pál:* Emlékezés Pálinkó István professzorra
(1959–2021) 48

A KÖZELMÚLT KIEMELKEDŐ MAGYAR KÉMIKUSAI:

- Sohár Pál:* Előszó Kuzsmann János életpályáját
bemutató írásához 52
- Kuzsmann János:* 50 év a gyógyszerkutató
bűvöletében 53

ÖSSZEFOGLALÓ CIKK:

- Perczel András:* Az ELTE 'SzintPlusz' Tématerületi
Kiválósági Program első éve: 2019–2020 58

KÖZLEMÉNYEK:

- Kotschy András:* Szelektív MCL-1 inhibitorok
felfedezése 75

PHD-ÖSSZEFOGLALÓK:

- Gyűjtő Imre, Porcs-Makkay Márta, Simig Gyula,
Nyulászi László és Volk Balázs:*
1,2,3-Benzotiadiazin-1,1-dioxid származékok
előállítása és átrendeződési reakciói 82
- Benke Zsanett Amália, Remete Attila Márió és
Kiss Loránd:* Funkcionalizált aliciklusok diverzitás
orientált szintézise dipoláros cikloaddíciót követő
metatézis reakciókkal 89

CONTENT

OBITUARY:

- Zsolt Szakonyi:* In memoriam professor Ferenc Fülöp
(1952–2021) 46
- Pál Sipos:* Remembering professor István Pálinkó
(1959–2021) 48

EMINENT HUNGARIAN CHEMISTS IN THE RECENT PAST:

- Pál Sohár:* Foreword to essay demonstrating
János Kuzsmann's scientific career 52
- János Kuzsmann:* Summary 53

REVIEW:

- András Perczel:* ELTE's program of excellence to
increase the capacity in synthetic chemistry and
biochemistry: Synthesis+ 58

PAPERS:

- András Kotschy:* The discovery of selective
MCL-1 inhibitors 75

PHD SUMMARIES:

- Imre Gyűjtő, Márta Porcs-Makkay, Gyula Simig,
László Nyulászi and Balázs Volk:*
Synthesis and rearrangements of
1,2,3-benzothiadiazine-1,1-dioxide derivatives 82
- Zsanett Amália Benke, Attila Márió Remete
and Loránd Kiss:* Diversity-oriented synthesis
of functionalized alicycles through dipolar
cycloaddition/metathesis reaction protocols 89

In memoriam Fülöp Ferenc (1952-2021)

SZAKONYI Zsolt*

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertudományi Kar, Gyógyszerkémiai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6.



69 éves korában, 2021. július 17-én elhunyt Fülöp Ferenc, a Szegedi Tudományegyetem professzora, akadémikus, Széchenyi-díjas, és számos egyéb díjjal és kitüntetéssel elismert kémikus.

Fülöp Ferenc 1952. február 23-án született Szankon, Bács-Kiskun megyében. Kiskunfélegyházán, a Petőfi Sándor Gimnáziumban, biológia-kémia tagozaton érettségizett 1970-ben. 1975-ben a József Attila Tudományegyetem Természettudományi Kar vegyész szakán szerzett diplomát.

Először a CHINOIN Gyógyszergyár doktoranduszaként a JATE Szerves Kémiai Tanszékén (ahol 1978-ban egyetemi doktori fokozatot szerzett), majd 1980-tól a SZOTE Gyógyszerkémiai Intézet tanársegédjeként dolgozott Prof. Dr. Bernáth Gábor munkatársaként.

Kiváló kutatói és széleskörű oktatói tevékenységének köszönhetően oktatói-kutatói pályája hamar felfelé ívelt, 1983-ban adjunktusi kinevezést nyert, 1990-től docens, majd 1991-től egyetemi tanár volt. 1983-ban szerezte meg a kémiai tudomány kandidátusa, 1990-ben a kémiai tudomány doktora fokozatot. 1998-tól 2017-ig a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézetének vezetője, 1996–1997 időszakban az SZTE Gyógyszeranalitikai Intézet, míg a 2005–2006 periódusban az SZTE Szerves Kémiai Tanszék megbízott vezetője. 2001 és 2018 között az SZTE Gyógyszertudományok Doktori Iskola vezetői tisztségét töltötte be. 1979-től a Magyar Kémikusok Egyesületének, 1980-tól a Magyar Gyógyszerészeti Társaságnak volt tagja. Az MTA Gyógyszerészeti Interdiszciplináris Bizottságának elnöke (2002–2005), míg 2006-tól két cikluson át az SZTE Gyógyszerésztudományi Kar dékánja volt.

Kutatási területe a szerves kémia, azon belül a telített heterociklusok szintézise és konformáció-vizsgálata, a gyűrű-lánc tautoméria-vizsgálatok, a ciklusos béta-aminosa-

vak szintézise, az önszerveződő béta-peptidek szerkezete, alkalmazásai, az enzim katalizálta kinetikus és dinamikus rezolválások, az enantioszelektív szintézisek és a felfedező gyógyszerkutatás volt. Széleskörű hazai és nemzetközi kooperációi révén azonban a szerves kémia szinte minden területén kiemelkedő publikációkat és nemzetközi szakdalmakat jegyzett.

Fülöp Ferenc kiemelkedő iskolateremtő volt, a legeredményesebb magyar szerves kémikusok között tarthatjuk számon. Közel ezer tudományos közlemény, tízezer feletti idegen hivatkozás, 54-es Hirsch-index is jelzi tudományos tevékenységének eredményességét. Több mint 50 PhD hallgató tudományos fokozatszerzését irányította téma-vezetőként vagy társ-téma-vezetőként. Számos tanítványa lett sikeres vezető kutató, közülük napjainkig négyen, míg közvetlen munkatársai közül további hárman szereztek MTA doktora fokozatot. Számos díjat, kitüntetést kapott. A teljesség igénye nélkül néhány: MTA Zemplén Géza-díj (1983), Gábor Dénes-díj (2002), Than Károly-emlékérem (2004), Ipolyi Arnold-díj (2004), Bruckner Győző-díj (2006), Hevesy György-díj (2009), a Magyar Érdemrend tisztikeresztje (2012), Széchenyi-díj (2013), Prima díj (2019), Khwarizmi-díj (2009). 2021-ben az MTA SZAB Pro Scientia Életműdíjjal tüntette ki.

A szintetikus szerves kémia és a gyógyszerkutatás terén kifejtett munkássága elismerésül 2007-ben a Magyar Tudományos Akadémia levelező tagjává választotta. 2013-tól a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagja, 2017–2020 időszakban a Kémiai Tudományok Osztályának elnöke volt. 2014–2020 között két periódusban az MTA Szegedi Területi Bizottságának elnöki tisztét is betöltötte. Tudományos és egyetemi közéleti tevékenysége mellett embersége, a természet és művészetek szeretete is példamutató volt kollégái és ismerősei számára. (Különösképpen a gombák, valamint a sztereokémiával összekapcsolható művészeti alkotások és természeti képződmények, például csigák és kagylók érdekelték).

Fülöp Ferencsel nemcsak kiváló kutató, oktató távozott közülünk, hanem jó barátunk, kollégánk, kiemelkedő műveltségű embertársunk is. Távozása hatalmas veszteség nemcsak a szegedi kémikustársadalom számára, de az egész magyar tudománynak is.

Emlékét szeretettel és tisztelettel megőrizzük!

* Tel.: +36-52-546-809; e-mail: szakonyi.zsolt@szte.hu

In memoriam professor Ferenc Fülöp (1952-2021)

Ferenc Fülöp, a professor of the University of Szeged, a member of the Hungarian Academy of Sciences, and a chemist recognized with many prizes and honors, died on 17th July 2021, at the age of 69.

Ferenc Fülöp was born on 23rd February 1952 in Szank, Bács-Kiskun County. In 1975 he graduated at Attila József University (JATE), Faculty of Science as a chemist. He was first employed as a doctoral student in CHINOIN Pharmaceutical Company at the Department of Organic Chemistry of JATE (where he obtained a doctoral degree in 1978), and from 1980 as a teaching assistant at the University of Szeged, Faculty of Medicine, Institute of Pharmaceutical Chemistry in the team of Prof. Dr. Gábor Bernáth.

Thanks to his excellent research and teaching activities, his university career quickly curved upwards, he was appointed an assistant professor in 1983, an associate professor in 1990 and a full professor in 1991. He received his Candidate of Chemical Science degree in 1983 and the Doctor of Science (DSc) title in chemistry in 1990. From 1998 to 2017 he was the head of the Institute of Pharmaceutical Chemistry of the University of Szeged (SZTE). Beside this main function in the period of 1996–1997 he was also the head of the Institute of Pharmaceutical Analysis of SZTE, and from 2005 until 2006 the head of the Department of Organic Chemistry of SZTE, too. Between 2001 and 2018, he was the head of the Doctoral School of Pharmaceutical Sciences at SZTE. From 2006 he was the dean of the Faculty of Pharmacy of the University of Szeged for two periods.

His research interests cover several topics in organic chemistry, including the synthesis and conformational analysis of saturated heterocycles, ring-chain tautomerism studies, the synthesis of cyclic beta-amino acids, the structure and applications of self-assembling beta-peptides, enzyme-catalyzed kinetic and dynamic resolutions and enantioselective exploratory drug research.

Armed with extensive domestic and international collaborations, he gained outstanding publications and international patents in almost all fields of organic chemistry.

Professor Fülöp can be regarded as one of the most successful Hungarian organic chemists. Nearly a thousand scientific publications, more than ten thousand independent citations, and a Hirsch index of 54 also indicate the effectiveness of his scientific activity. He supervised the works of more than 50 PhD students very successfully. He received many awards, some of them are: Géza Zemplén Prize of the Hungarian Academy of Sciences (1983), Dénes Gábor Prize (2002), Károly Than Memorial Medal (2004), Arnold Ipolyi Prize (2004), Győző Bruckner Prize (2006), György Hevesy Award (2009), Officer's Cross of the Hungarian Order of Merit (2012), Széchenyi Award (2013), Prima Award (2019). In 2021 he was awarded the Pro Scientia Lifetime Achievement Award by the Hungarian Academy of Sciences.

He was elected a corresponding member of the Hungarian Academy of Sciences in 2007. From 2013 he was a full member of the Academy, in the period 2017–2020 he was the president of the Section of Chemical Sciences of the Academy. Between 2014 and 2020, he also served as chairman of the Szeged Regional Committee of the Hungarian Academy of Sciences. Beside his scientific and academic activities, he was an example to his colleagues and acquaintances of his humanity, his love of nature and the arts.

With Ferenc Fülöp, not only an excellent researcher and teacher left us, but also our colleague and good friend. His death is a huge loss not only for the chemical society of Szeged, but also for the entire Hungarian science.

We will preserve his memory with love and respect.

Emlékezés Pálinkó István professzorra (1959-2021)

SIPOS Pál*

Szegedi Tudományegyetem, TTIK, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Dóm tér 7, H-6721 Szeged

Pálinkó István, Stike rövid és súlyos betegség után 62 éves korában ez év március 26-án elhunyt. Nem tudtam tőle személyesen elköszönni, utolsó rövid telefonbeszélgetésünk során annyit sikerült megtudnom, hogy küzd ugyan, de érezhetően fogytán az ereje. Stikének közismerten a küzdeni tudás volt az egyik védjegye, így akkor még eszembe (eszünkbe) se jutott, hogy alulmaradhat. De ahogy egymás után érkeztek az aggasztó hírek, egyre többször kellett arra gondolnom, ami végül is bekövetkezett, hogy elveszíthetem az egyik legjobb barátomat.

Stike egy évvel előttem járt az egyetemen, az 1978-ban indult vegyész évfolyam egyik legjobb (az is lehet, hogy a legjobb) képességű tagja volt, ami már csak azért is komoly teljesítmény, mert az a mezőny kivételesen erős volt. Stikét mindenki ismerte, központi figura volt, köztudott volt róla, hogy éltanuló, a Népköztársasági Ösztöndíj elosztásakor kihagyhatatlan volt. Emellett aktív (egyes vélemények szerint hiperaktív) közösségi ember, a KISZ-ben is vállalt különböző szintű feladatokat, azt hiszem, először éppen az egyetemi KISZ-bizottságon találkoztunk. Én kémia-fizika tanárszakos hallgatóként Irinyi kollégista voltam, ő meg Eötvösös, ugyanaz az épület, így ott is elég gyakran összefutottunk, később pedig a Herman Ottó Kollégium felső két szintjén, ahol a fiatal házaspárok kaptak szobát. Sok párhuzamosság volt az életünkben. Mindketten első generációs értelmiségiek voltunk, nagyjából egyívású gyerekeink ugyanabba az óvodába jártak és a Herman után mindketten a Makkosházi lakótelepre költöztünk, panellakásba a családjainkkal. Egyetemi doktoranduszként egymás tágabb ismeretségi-baráti körébe tartoztunk, amibe belefért, hogy elmenjünk sörözni vagy a folyosón váltsuk a világot, sőt néha „családilag” még meg is látogattuk egymást. Mivel Stike a szerves kémia és a katalízis szerelmese volt, én meg inkább a szervetlen kémiát kedveltem, és az ennek megfelelő tanszékekre kerültünk, szakmai kapcsolat ebben az időben még nem volt közöttünk (meg aztán az ilyesmi a nyolcvanas évek „szűk levegőjében” nem is tartozott a felülről támogatott kezdeményezések közé.)

Aztán jött a rendszerváltás. A legnagyobb átrendeződéseket hozó 90-es éveket Stike főként idehaza töltötte, az események sűrűjében (persze azért néha el-elutazott egy időre külföldre), így az összes változásnál legalábbis jelen volt, de ahogy én ismertem, követte és ha lehetett, alakította is azokat. Ezzel szemben én 1993 és 2000 között Ausztráliában



éltem és dolgoztam, így lemaradtam egy csomó dologról, de ha így jobban tetszik, lelazsáltam azokat. Amikor 2000-ben hazahozott a hon- és a kalandvágy, érthető módon nem ismertem rá arra az országra, amit 8 évvel azelőtt elhagytam. Értékes és a későbbiek szempontjából fontos felfedezés volt számomra, hogy Stike, mint világot látott ember, nem tekintett a „külföldön megtollasodott és külföldről hazaszkadt” szakmai ellenfélnek (mint oly sokan mások, sajnos). Ekkortájt volt egy nagyon fontos beszélgetésünk, aminek néhány részletére még ma is emlékszem. Stike arról pró-

* Tel.: +36 62 544 054; e-mail: sipos@chem.u-szeged.hu

bált meggyőzni, hogy publikálni kell, éspedig külföldön, angolul és sokat. Én meg amellet érveltem, hogy ipari alapkutatásokat kell behozni az egyetemre, ahol a megtermelt és áttételeken át az R&D központokban hasznosítható háttértudás, ami az érték. Végül megállapodtunk abban, hogy nem értünk egyet, de még később többször visszatértünk erre a kérdésre. Élvezetes pengevéltások voltak és ma már tudjuk, hogy mindkettőnknek igaza volt.

A fordulópont aztán 2008-ban következett be. Mindketten akkor voltunk tudományos pályafutásunk mélypontján (egy újabb érdekes párhuzam). Se pályázatunk, se pénzünk, se sikeres kutatásunk és ebből írható publikációnk nem volt éppen egyikünknek sem, és még egy halom további gond, amit inkább nem is idéznék fel. Ekkor teljesen váratlanul, kaptam külföldről egy ipari megkeresést, a timföldgyártásnál használt tömeges lúgos oldatok és a belőlük kiváló szilárd anyagok, pl. réteges kettős hidroxidok (LDH-k) kémiájának alapjai volt a tárgya. Az oldatkémia rész számomra ismerős terep volt, de LDH-król alig hallottam előtte, arra viszont emlékeztem, hogy Stike a nagydoktori védésén az LDH-król is beszélt, nem is keveset. Bekopogtam hozzá azzal, hogy hozzáértő társat keresek ehhez a projekthez, csináljuk meg együtt, fifti-fifti. Stike azonnal igent mondott, az alig néhány millió forintos projekt elindult, és ezzel megalakult a Kémia Intézet első tanszékeken átívelő kutatócsoportja. Néhány hónapon belül 4 hallgató csatlakozott hozzánk, később mind a négy nálunk PhD-zett. Aztán a csoport nőni kezdett, újabb projektek jöttek, alapkutatások és ipari munkák, újabb feladatok, újabb tehetséges hallgatók. Beindultunk. Még nevünk is lett: Anyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport, angolul Material and Solution Structure Research Group, MASOST. A témakörök is kiszélesedtek: csináltunk katalízist, szintetizáltunk nanoszerkezeteket, műveltünk oldatkémiát és szerves szintézist.

Azóta megszakítás nélkül együtt dolgoztunk Stikével, 14 PhD hallgató került ki a kezünk alól és további 10 cselekménye folyamatban van. A Web of Science alapján 113 közös referált közleményünk jelent meg az elmúlt 10 évben, a legsikeresebb évünk a tavalyi volt, 14 cikkel és két tized híján 70-es össz-impakttal.

Stikével dolgozni élmény volt. Hatalmas és folyamatosan karbantartott szakmai tudással rendelkezett. Munkabíró képessége hihetetlen (és számomra követhetetlen) volt, napi 12-14 órát dolgozott, gyakran hétvégén is, a munka, a kémia volt az élete. („Azt hiszem, jól áll nekem a kémia...”, szokta mondani.)

Amellett, hogy nagyon jól megértettük egymást, az utóbbi időben már félszavakból is, fontos még, hogy egyszer sem vesztünk össze, pedig 2008-ban többen is azt mondták, hogy ez a két ember egy évet sem fog együtt dolgozni. Nem lett igazuk, a több mint egy tucat közösen eltöltött év alatt nagyon összecsiszolódunk, megtanultunk hatékonyan egymás keze alá dolgozni. Egy idő után aztán annyira együtt kezelt bennünket a környezetünk, hogy előfordult: öt szóli-

tották Palinak, vagy engem Pistinek. Bizonyos területeken komplementerek voltunk, másokon egymás antitézisei. Ő több kéziratot produkált, én inkább a pénzek beszerzésében voltam jó. Ő gyors volt, én lassú. Ő szigorú és szókimondó ember lévén szívesen vállalta a „rossz zsarú” szerepét a hallgatónál, cserébe én lehettem a „jó zsarú”, aki a lelküket ápolja. Ő bevállalós volt, szeretett „bokszolni”, ugyanakkor ütészálló is volt („...megerősödök tőle, ha nem csinálják velem, hiányzik...”). Én szívesebben elhajoltam a balegyenesek és a jobbhorgok előtt. Határozott volt a döntéshozásban (nem úgy, mint én), de ha nem tudtunk véleményt egyeztetni, ügyelt arra, hogy ne hozzon kellemetlen vagy vállalhatatlan helyzetbe. Kemény ember volt, de csak kívül: amikor Hank, a kutya elpusztult, engem hívott fel és nem szégyellte a sírást. Ha rossz volt valamiről a véleménye vagy nem értett velem egyet, azt is azonnal a tudomásomra hozta, s azt hiszem, ez kölcsönös volt. Mindig az volt az érzésem, hogy tartozom neki valamivel, ami megsokszorozta az ambícióimat. És hát igen: mióta meghalt, jelentősen csökkent azoknak az embereknek a száma, akiben feltétel nélkül megbízom.

Aztán ott volt a csoport, a MASOST. Amikor megalakult, a legmerészebb álmunkban sem gondoltuk volna, hogy ide fejlődik. Stike, aki nem volt érzélgős ember, úgy fogalmazott a fiataloknak, hogy „ti vagytok a mi tudományos családunk”. Én is úgy érzem, hogy egy kiváló csapat jött létre az évek során és tudom, hogy Stike is úgy gondolta, hogy ez tudományos életművünk közös részének egyik, ha nem a legfontosabb tétele. Bár a most következőkhöz hasonló gondolatokat a Magyar Kémikusok Lapja oldalain nemrég már közzétettem, itt is szeretnék erről írni néhány szót, mert ide kíváncsognak. Valamiért úgy alakult (és ennek a titkát már sem én sem más nem fogja tudni megfejtetni), hogy a MASOST-ba került fiatal emberek pillanatok alatt megtanulták elsősorban *egymástól*, hogy hogyan kell egy tudományos közösségben élni, alkotni és viselkedni. A MASOST-nak ez a belső dinamikája magától, spontán módon alakult ki. Stikének meg nekem ebben nem volt előre eltervezett, aktív szerepünk; sokszor úgy tűnt, hogy elegendő a háttérből figyelni az eseményeket és rendelkezésre állni, amikor szükség van ránk, akár szakmai, akár emberi dolgokban. Nagyon sok olyan fiatal megfordult a kezeink között, akik eleve sziporkázóan tehetségesek voltak, de akadtak olyanok is, nem is egy, akik nálunk „nőtték ki” magukat. Azt is megtanultuk az évek során, hogy egy PhD értekezéssel kapcsolatosan a témavezető legértékesebb tulajdonsága a türelem. A volt MASOST-osok pedig mind a mai napig visszajárnak, évente két olyan alkalom is van, amikor az „aktívak” és a már végzetek összejönnek, férjestől-feleségestől-gyerekestől. Mint egy nagy család.

A családragények szokásos felépítése a genesis – kiteljesedés – fénykor – hanyatlás – felbomlás. Stike a csoport fénykorában távozott el és ez egybeesett saját személyes fénykorával is. A szakma az utóbbi évekre ismerte fel igazán a képességeit és 2021-re a Kémiai Intézet intézetvezetője, a Magyar Kémikusok Egyesületének főtársa,

a MOL-GINOP mega-projekt projektvezetője, a Kémia Doktori Iskola helyettes vezetője, a Szerves Kémiai Tanszék tanszékvezetőhelyettese, MTA Doktori képviselő, az MTA Doktori Tanács tagja, továbbá az MTA Katalízis Munkabizottságának elnöke, hogy csak a legfontosabbakat említsem. Emellett vezette a kutatócsoportot, PhD téma-vezetője- és társtéma-vezetője volt 8 diáknak, elképesztő mennyiségű oktatási feladatot látott el, középiskolásokat mentorált, konferenciákra járt és konferenciákat szervezett, és még arra is maradt ideje, hogy az évfolyamtalálkozók szervezését is a vállára vegye - és ha eljutna eddig a pontig az olvasásban, Stike nem tudná kihagyni, hogy megjegyezze: tovább is van, mondjam még?

Imádta a mozdonyokat és a kutyákat, imádott utazni de ragaszkodott ahhoz, hogy maga takarítsa az irodáját. Új Mercedesének, álmai autójának érkezése előtt hónapokig tanulmányozta a szupermodern járgány gépkönyvét, hogy szakértővé képezze ki magát. Nagyon szerette a történelmi tárgyú könyveket, kedvenc filmjei a „Macskafogó” és a „Hófehér” voltak, de fejből idézett a „Gyalog galopp”-ból is. Politikai tájékozottsága is mindig zavarba ejtően naprakész volt és nem tudom, hogy talált rá időt, de mindig minden fontos dolog finomszerkezetének utána tudott járni. Válogatós volt az evésben, hús- (sült kacsacomb!) evő volt, a növényeket nem kedvelte („...60 évente szoktam répát enni és már ettem egyszer...”). Viszont a „nagy” borokat nagyon szerette, évente egyszer a Bortér idején szervezett a csoportnak egy borkóstolást, amikor végig kóstoltunk egy általa kiválasztott borsort, ehhez ő celebrálta az egészen finom részletekbe is belemenő bemutatásukat. Társasága mindig felvillanyozó volt, sajátos, szabadszájú és gyakran vitriolos humorának megszámlálhatatlan termését ma is naponta idézzük. Nyelvi sziporkái közül („...zongoraleckét adok és veszek...”; „...mennyit fut százon két vödör víz-

zel?”; „...nemzetközi birkát (= interjút) kell adnom...” „... felgyorsult a lelassulás...”) sok még életében szállóigévé vált. Rajongott az unokáiért, mindig meglágyultak az arcvonásai, ha róluk beszélt.

Egy éve körül történt, hogy a körzeti orvosom rám szólt, pihenjek egy kicsit, mert a szívem rendetlenkedik. Felhívtam Stikét: „Houston, we got a problem!” Éreztem a reakcióján, hogy (amellett, hogy rá egyébként nem jellemző módon megjedte a hírtől) az futott át az agyán (meg persze az enyémen is), hogy mi lesz, ha itt hagyom egyedül ezzel a nagy csoporttal meg rengeteg feladattal. Azt nyilván mindketten tudtuk, hogy az megtörténhet („...azt olvastam valahol, hogy az emberek a végén meg szoktak halni...”), de azt hiszem, ismeretségünk során ekkor szembesültünk először azzal, hogy annak bizony következményei lesznek. Persze, aztán elhessegettük, talán el is felejtettük. Aztán jött az utolsó párhuzam: egyszerre kaptuk el ezt a buta kórságot, és bekövetkezett, csak fordítva. Itt van a sok félbehagyott feladat, befejezetlen munka, félig kész PhD projekt, megíratlan publikáció, egy el sem kezdett monográfia. Stike hatalmas űrt hagyott maga után és a szűkebb, de a tágabb környezetében is jó ideig olyan érzése volt mindenkinek, mintha egy kataklizma után a romok felett állnánk. Persze, a kezdeti bénultság és apátia után hamar fel kellett ismerni, hogy menni kell tovább, csinálni kell a dolgunkat, tudni kell folytatni, és mint ahogyan azt Dr. Varsányiné tette, el kell kezdeni az egérintést, akár hozott szalonnával. Lezárult egy korszak, nem csak a csoport, de bizony a egész szege-di kémia történetében. Stike, mint viszonyítási pont úgyis mindig ott lesz. Sokáig és sokszor meg fogjuk még magunkat kérdezni, hogy ehhez vagy ahhoz vajon mit szólna, mi lenne róla a véleménye. Próbáljuk megszokni, hogy a választ nem tőle kapjuk meg.

Remembering professor István Pálinkó (1959–2021)

The present contribution is an obituary to István Pálinkó, professor of chemistry who passed away at the age of 62 on the 26th of March, 2021.

István Pálinkó was born in Kiskőrös in 1959, and accomplished his primary and secondary school studies in Kecskemét. He commenced his University courses in 1978 in the József Attila University of Science (currently University of Szeged) in chemistry major. He graduated in 1983 with high distinction (he was awarded with the so-called *red diplomé* which is given only to those who have spotless academic record.)

Skipping the *dr of Univ* degree, he received his *Candidacy of chemical science* degree (broadly equivalent to the currently used PhD) in 1993, and defended his *Doctor of Hungarian Academy of Science* degree in 2007. István was employed by the Institute of Chemistry, Department of Organic Chemistry right after graduation and has worked there until he passed away. He became full professor in the same Department in 2014. At the time of his death, he held several high profile functions: he was the head of the Chemistry Department, the vice head of the Doctoral School of Chemistry, the vice head of the Department of Organic Chemistry, the general secretary of the Hungarian Chemical Society, the leader of the recently commenced collaborative GINOP project with the MOL Hungary, member of the Doctoral Council of the Hungarian Academy of Science, and president of the Hungarian Catalysis Workgroup, and these are only the most important ones. Add to these the teaching duties, the supervision of the PhD students, various mentoring activities (as he was a keen supporter of chemistry teaching in the secondary schools), participation and organization of scientific conferences. Not surprisingly, he was a real “workaholic”, spent 12-14 hours in the Department, often over the weekends.

István had a very broad research interest. Indeed the organic catalysis was his main research field, however, he was very active and productive in several other areas too, such as inorganic syntheses, theoretical modelling, materials science, catalyst preparation (including all kinds of structural characterizations) - and the list is certainly not complete. István was famous for continuously

creating brilliant new ideas and had an exceptional and permanently updated encyclopedic knowledge. As result of these, he had a plethora of collaborations throughout the World in almost all fields within chemistry.

He participated in various cooperation with Hungarian scientists from the Hungarian Academy of Sciences (MTA TTK), ELTE - Eötvös University, University of Szeged, and his international network included chemists from the UK, Sweden, Germany, and USA.

He was a very popular teacher of the Institute of Chemistry, University of Szeged: supervised more than a hundred BSc and MSc thesis works and 14 PhD completed dissertations. 8 PhD students were supervised by him at the time he passed away. His publishing activity was also excellent.

He was an internationally recognized scientist. He worked with world-famous chemists, like the Nobel-laurated George Oláh, Gábor Somorjai or Kenneth Seddon (and this is again an incomplete list.) He co-authored close to 300 refereed research papers with cumulative impact of ca. 570. Currently, he has more than 3200 independent citations to his works, but this number will certainly increase further in the near future. He was the holder both the Széchenyi and the Széchenyi Professorial Scholarships, and in 2004, the very prestigious George Olah award was presented to him.

In 2008, István was one of the two founders of the Materials and Solution Structure Research Group, or MASOST, as he called it “our scientific family”. His sudden death was shocking to the research group as well as to the entire scientific community in Szeged, in Hungary and also to all those who knew him all around the World.

His passing away is a truly great loss to all of us. With this publication, we attempted to briefly summarize the memories that the author, the members of the MASOST and those who knew him, kept about István.

Előszó Kuzsmann János életpályáját bemutató írásához

Amikor, immár 18. éve felkértek a Magyar Kémiai Folyóirat főszerkesztőjének, bár a lap évszázados hagyománnyal büszkélkedhetett, jövője rendkívül bizonytalan volt, sőt a megszűnés közvetlen veszélye fenyegette. A felkérés elvállalása azt is jelentette, hogy főszerkesztőként az első és legfőbb feladatomban a folyóirat megmentése, életben tartása lesz. A tulajdonos, a Magyar Kémikusok Egyesülete vezetősége és a társfenntartó, a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztályának tagjai, néhány kivétellel, szinte egyöntetűen a megszűnés pártján álltak. Nehezen vitatható érvek lényege az volt, hogy az értékes új hazai kutatási eredményeket nem szabad a magyar nyelvű közlés okán a nemzetközi tudományos közélet elől elrejtetni, a kevésbé jelentősökre pedig kár a papírt pazarolni. Ezért a lap megmentése csak úgy volt elképzelhető, ha közzétételre érdemes, s zömmel nem a hazai kutatások aktuális eredményeit tartalmazó publikációkkal töltjük meg.

Egyik közleménytípus, ami a fenti feltételeknek megfelel, azon kiemelkedő teljesítményt elért magyar kémikusok pályafutásának bemutatása, megörökítése lehetett, akik, bár rászolgáltak, mégsem lettek a Magyar Tudományos Akadémia tagjai. Míg az akadémikusok szakmai pályafutásáról bőséges dokumentáció marad fenn, akiket nem választottak MTA-taggá, azokról csak esetlegesen maradtak/maradnak fenn tudományos eredményeiket szakszerűen és tárgyilagosan bemutató anyagok. E megfontolás jegyében indult útjára a folyóirat egyik új rovata, amelyben nem akadémikus kémikus szaktekintélyek életét és munkásságát áttekintő írások láthatnak napvilágot. Első sorban már nem élő kiválóságokról jelentek meg életrajzok, de még életben lévő, sőt egyes esetekben még aktív kémikusok közül is felkértünk néhány megkérdőjelezhetetlenül kimagasló életművet felmutató kortárs kollégánkat, hogy mint legilletékesebbek, állítsanak össze magukról egy szakmai munkásságukat és életük legfontosabb momentumait összefoglaló írást.

Ezzel nem adtunk könnyű feladatot a kiválasztottaknak, mert emberpróbáló valakinek önmagáról tárgyilagosan, elfogulatlanul, érzelmektől mentesen, s a természetes szerénységet leküzdve, ugyanakkor túlzott önelégültségtől mentesen beszámolni életének eseményeiről, érdemeiről és szakmai teljesítményeiről.

Kuzsmann János professzor, a kémiai tudományok doktora, az egykori Gyógyszerkutató Intézet tudományos főtanácsosa és „az intézet örökös tagja” is meghívást kapott, hogy a Magyar Kémiai Folyóiratnak a jelenkor kémikus kiválóságait bemutató rovatában írjon beszámolót kémikusi életpályájáról.



Dr. Kuzsmann János

Kuzsmann János a Gyógyszerkutató Intézetnek megszűnéséig emblematikus személyisége, bizonyos értelemben „arca” volt! Amellett, hogy kiemelkedő tudományos kutatási eredményeivel tekintélyt szerzett az Intézetnek, egyfajta „külügyminiszteri”, „menedzseri” és minőségbiztosítási szerepet töltött be. Kimagasló nyelvtudása révén a külföldi partnerekkel tárgyalásokon, külföldi vendégek fogadásakor impresszíven képviselte intézetét, mintegy intézeti idegvezetőként funkcionált, idegen nyelvű anyagok magyarra fordításába, illetve magyar nyelvű anyagok idegen nyelvekre való átültetésében fordítóként, vagy a mások által lefordított szövegek ellenőrzésében, javításában, az idegen nyelvű levelezéseknél nemcsak az intézeti ügyekben vállalt szerepet, de kollégáit, munkatársait is önzetlenül segítette e területeken. Kitűnő kritikai érzéke predesztinálta kollégái és munkatársai szakmai írásainak ellenőrzésére, javítására. Nemcsak a munkatársai publikációinak ellenőrzésében, azok fogyatékoságainak feltárásában volt mások segítségére, de az intézetből kikerülő értekezések szerkesztésében, a szakmai hibák, pontatlanságok észrevételében és eliminálásában, a fogalmazás csiszolásában is közreműködött. Kritikus feladatokat nemcsak az intézetben belül, de folyóiratok lektoraként, az Akadémián kandidátusi, nagydoktori értekezések hivatalos bírálójaként is általános elismerést és tekintélyt kivívó szakértelemmel, „sasszemekkel” látta el.

Sohár Pál

50 év a gyógyszerkutatás bővületében

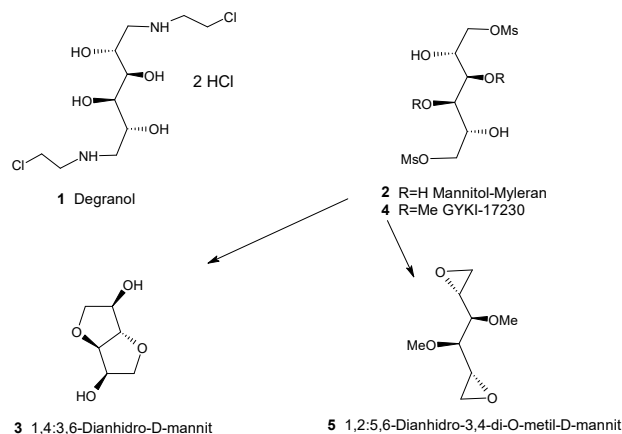
KUSZMANN János*

A Szepességben, a Magas Tátra alján fekvő Késmárkon születtem 1933-ban. Ez akkor természetesen már Szlovákiához tartozott, de a mi családunk megtartotta német nemzetiségét, így én végig német iskolákba jártam. Igaz, a nyári szüneteket többnyire Szegeden, nagybátyámnál, Bruckner Győzőnél töltöttem, de ott is legszívesebben az egyetem németül tudó üvegtechnikusánál, Schlott bácsinál időztem, ahol nemcsak az ujjaimat sikerült többször megégetnem, de megtanultam az üvegfúvás alapjait is. Alighanem emiatt is határoztam el, hogy majd a vegyészi pályára lépek.

A háború után a szlovák kormány természetesen beszüntette a német iskolák működését, így én 1946-ban egy félévig csak a szlovák polgári iskolában folytathattam tanulmányaimat. Miután ekkor sor került a német és magyar kisebbségek deportálására, ez elől illegálisan Magyarországra szöktünk rokonainkhoz, ahol először Cegléden, majd Miskolcon immár magyar nyelven folytattam tanulmányaimat. Mivel akkor még nem tudtam magyarul minden leckét memorizálni kellett bemagolnom! Végül 1952-ben Miskolcon a Földes Ferenc Gimnáziumban érettségiztem már kitűnő eredménnyel, majd ugyanabban az évben felvettek a Budapesti Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki Karára. Azért nem mentem a TTK-ra, mert nagybátyám akkor már ott volt a Szerveskémiai Tanszék vezetője, és nem akartam, hogy emiatt ott ebből bármi előnyöm – vagy hátrányom származzon.

Egyetemi tanulmányaimat 1957-ben fejeztem be. A Budapesti Gyógyszeripari Kutatóintézetben¹ helyezkedtem el, ahol az intézet Igazgatója, Vargha László akadémikus laborjában, az ő közvetlen munkatársaként kezdtem meg kutatói pályafutásomat.

Itt bekapcsolódtam azokba a kutatásokba, amelyek az általa néhány éve szintetizált, rákellenes hatású, a bifunkciós biológiai alkilezőszerek csoportjába tartozó, leukémia elleni gyógyszerként bevált Degranol (1) rokon vegyületeinek a szintézisét tűzték ki célomul, mivel akkor már ismert volt az Angliában kifejlesztett Myleran (1,4-di-O-mezil-butándiol) nevű citosztatikus hatású vegyület, amelynek hátránya azonban annak vízben való oldhatatlansága volt. Célszerűnek látszott a Degranol analógiájára egy olyan potenciálisan rákellenes hatású cukoralkohol származéknak az előállítását, amelyiken a biológiaiilag aktív meziloxi csoportok a molekula lánc-végein foglalnak helyet. Így került sor az 1,6-di-O-mezil-D-mannit (2) szintézisére, amelyet két úton is sikerült előállítanom.^{2,3}



A vegyület a klinikai kipróbálás során rendkívül jó rákellenes hatást mutatott és a Degranollal ellentétben nemcsak a vérképző rendszer rosszindulatú elváltozásait (Leukémia), hanem egyes tumorok kifejlődését is meggátolta. Ezek alapján Mannitol-Myleran néven került volna forgalomba, de a klinikai vizsgálatok során az is kiderült, hogy a vegyület annyira aktív, hogy a szobahőmérsékleten való tároláskor lassan egy önalkilezés során, metánszulfonsav kilépése közben a megfelelő hatástalan dianhidro vegyületté (3) bomlik, így végül gyógyszerként nem kerülhetett kereskedelmi forgalomba. Majdnem 20 évvel később (1979-ben), az 1,6-tioanhidro-hexitek előállításánál során intermedierként előállítottam az 1,6-di-O-mezil-3,4-di-O-metil-D-mannitot (4), amelyik szobahőmérsékleten stabilnak bizonyult és szintén kiváló citosztatikus hatással rendelkezett.⁴



Dr. Kuzmann János munka közben, a laborban

* Tel.: +36-20-240-1622; e-mail: janos.kuzmann@gmail.com

A vegyület biológiai vizsgálatánál kiderült, hogy az egyik metabolitja a megfelelő 1,2:5,6-dianhidro származék (5), amelyik a terminális epoxi csoportok révén a kiindulási vegyülettel azonos aktivitást mutatott. Mivel ekkor még érvényben volt a Gyógyszeripari Tröszt azon rendelkezése, mely konkrét gyárokra „profilírozta” az egyes biológiai aktivitással rendelkező potenciális gyógyszerjelöltek fejlesztését, ez a vegyület a Chinoin gyógyszergyár „portfóliójába” került (GYKI-17230 néven), ahol a további klinikai vizsgálatokat koordinálták volna. Sajnos a Chinoinban, amelyik a Degranol előállításánál maga is érdekelt lett az új citosztatikus hatású vegyületek előállításában, egy hasonló biológiai spektrummal rendelkező anyag előállításán dolgoztak, így a mi vegyületünket az övékével párhuzamosan kívánták az Onkológiai Intézetben a klinikai vizsgálatoknak alávetni. Kiderült azonban, hogy az Onkológiai Intézet kapacitása egyszerre csak egy vegyület vizsgálatára elegendő, így a Chinoin természetesen a saját vegyületének biztosított elsőbbséget. Ezekben a vizsgálatokban azonban az ő vegyületük esetén nem igazolták a várt citosztatikus aktivitást! Ezek után viszont a gyár úgy döntött, hogy a biológiai alkilezőszerek piaca már úgyszólván telítődött, így a mi vegyületünk további fejlesztéséről lemondott!

Ekkor fogalmazódott meg bennem a következő gondolat. Egy gyógyszerkutató életében két kellemetlen esemény

következhet be: az egyik, hogy munkája során nem fedez fel új, biológiailag aktív molekulát, a másik pedig az, ha felfedez egyet. Utóbbi esetben ugyanis rengeteg energiát kell ahhoz befektetnie, hogy a potenciális gyógyszerjelöltből valóban gyógyszer váljon. Hiszen az első sikeres labor-szintézist követően optimalizálni kell a reakció-körülményeket, majd iparilag nagyítható eljárást kell kidolgoznia. Ehhez el kell készítenie az összes ehhez szükséges dokumentációt, beleértve az analitikai elemzések előírásait, meg persze a megfelelő szabadalmi bejelentést, amelyhez, mivel ebben rendszerint célszerű az utalmi kört az összes analóg vagy rokon vegyületre is kiterjeszteni, ezért ezek előállítását is meg kell oldania! Ez hatalmas munka, mely sokszor 1-2 évig is elhúzódhat – és végül nem biztosítja a sikerélményt, hiszen a vegyület sorsa rengeteg, rajta kívülálló tényezőn múlik, és az esetek többségében a végén mégsem lesz belőle gyógyszer! Az olvasóra bízom annak eldöntésével, hogy melyik variáció jelent nagyobb csalódást a kutatóknak!

Ezek a kudarcok azonban nem vették el kedvem a gyógyszerkutatótól, de ha lehetett, a különböző biológiai hatások céljából előállított új vegyületek esetében mindig igyekeztem hasznosítani a szénhidrátkémiai tudásomat is, amelyre az előbb említett témák során tettem szert. Ebben aztán Vargha professzor is támogatott, hiszen alapjában véve ő



Dr. Kuzmann János családja körében karácsonykor az öt unokával

is többek között a szénhidrátkémiában érte el kiemelkedő tudományos eredményeit. A szénhidrátok azért is lettek „kedvenc” vegyületeim, mert aszimmetrikus molekulák révén sok sztereokémiai probléma is felmerült származékaik szintézise során. Márpedig én még középiskolás koromban tanultam ábrázoló geometriát, és mivel jó a térlátásom, ez egyik kedvenc tantárgyam lett. Ez aztán ugyancsak hasznosnak bizonyult a szénhidrátokkal való munkám során, hiszen a reakciók lefutását erősen befolyásolják a szterikus faktorok, amelyek a reakciómechanizmusokban is fontos szerepet játszanak. Azt szoktam mondani, hogy ha egy tervezett reakció a várákosnak megfelelően megy végbe, ez ugyan sikerélmény, de ha egy nem várt eredmény születik, akkor válik a kutatás izgalmassá! Mert az első kérdés: mi az új vegyület (a szerkezetfelderítés problémája), a második: miért ez keletkezett a várt vegyület helyett (a reakciómechanizmus kiderítése) és végül a harmadik: hogy tudom a természetet arra kényszeríteni, hogy a várt terméket kapjam meg! Ha ez sikerül, úgy a természet felett aratott „győzelem” egy sokkal nagyobb sikerélmény!

A Gyógyszerkutató Intézetben eltöltött idő alatt a biológiaiailag aktív cukorszármazékok kutatása során az előbb említetteken kívül a következő vegyülettípusok szintézisével értem el gyógyszerkémiaiailag értékelhető eredményeket:

A rákellenes szerek körében gyakran alkalmazott N-mustár származék az Endoxan, amelyben a nitrogén bázicitását gyűrűs foszforsavamiddá való átalakításával csökkentették. Ilyen típusú, cukor alapú gyűrűs foszforsavamidok sorát állítottuk elő, és bebizonyítottuk, hogy a vegyületek citosztatikus aktivitása a foszfor atom konfigurációjától függ.⁵

A pirimidin nukleozidok körében sikerült a rákellenes hatású antimetabolitként ismert ciklocitidinre (2,2'-anhidro-arabofuranozido-citozin) egy új, szabadalmilag védhető szintézis utat kidolgoznunk. E vegyület és analógjainak N-metilézési reakcióinak a tanulmányozásával új típusú mono- és dianhidro-nukleozidokat állítottunk elő.⁶

Az új dianhidro-cukoralkohol származékok vizsgálata számos elméleti érdekességű probléma megoldásán kívül egy altató hatású vegyülethez, az 1,4:3,6-dianhidro-2,5-diazido-L-mannit szintéziséhez vezetett,⁷ mely hatásmódját tekintve különbözött az eddig ismert összes altatótól.

A tianhidro cukoralkoholok témakörében végzett kutatómunkám során egy új, gyomorsav szekréciót csökkentő anyag szintézisét oldottam meg, amely rendkívül erős ulcus-gátló hatással rendelkezett.⁸



Dr. Kuzmann János 85 évesen Tibetben, a Mt Everest alaptáboránál

A glükózból kiinduló aminocukor-szintézisek témakörben dolgoztuk ki a citosztatikus hatású adriamicin cukorszármazékának, a Daunozaminnak D-glükózból kiinduló előállítását, mely egyben furanozidjainak és analógjainak a szintézisét is lehetővé teszi.⁹ De a fermentációval előállítható Daunomicinnek a nála kedvezőbb hatású Adriamicinné való átalakítására is kidolgoztunk egy módszert.

A tiocukrok tiopiranozidjainak a szintézise során számos olyan származékot állítottunk elő, amelyek orális antitrombotikus hatással rendelkeztek. Ebből a témakörből három szabadalom és 15 publikáció készült.¹⁰ A szabadalmakat megvette a Richter Gedeon Gyógyszergyár, de a téma később „témaszűkítés” áldozata lett és így végül egyik vegyületből sem lett gyógyszer.

A szénhidrát-kémiai kutatásokon kívül természetesen más témákkal is foglalkoznom kellett, így többek között fluorozott szteroidokkal,¹¹ valamint az intézetben folyó ipari kutatási témák kapcsán véralvadásgátló, koronária tágító, széles spektrumú gyulladásgátló, immunszuppresszív és fájdalomcsillapító hatású kumarin-, benzofurán-, benzimidazol- és purin-származékokra dolgoztam ki laboratóriumi előiratokat.

Az intézetben egyébként bejártam a szokásos „szamárlétrát”, mert mint segédmunkatárs vettem fel Vargha professzor mellé, majd tudományos munkatárs (1960), aztán főmunkatárs (1967), tudományos tanácsadó (1973), tudományos osztályvezető (1977), majd műszaki főtanácsos és a Szénhidrátkémiai Csoport vezetője lettem egészen 2008-ig, amikor az intézet akkori tulajdonosa a TEVA Gyógyszergyár azt fel nem számolta.

1960-ban benyújtottam a Budapesti Műszaki Egyetemre „2-Deoxi-2-klór-pentózok előállítása” című doktori dolgozatot, amelynek alapján 1961-ben műszaki doktorrá avattak.

1963-ban a „2'-Dezoxi-2'-klór adenoizidok szintézise” című kandidátusi dolgozatot adtam be a TMB-hez, majd 1971-ben a „Vizsgálatok az anhidro- és tioanhidro hexitek körében” című doktori értekezésemet, és ezek alapján nyertem el a Kémiai Tudományok Kandidátusa, ill. a Kémiai Tudományok Doktora címet.

Amikor 1971-ben az MTA Szerveskémiai Osztályán belül megalakultak a különböző munkabizottságok, a Szénhidrátkémiai Munkabizottság elnöki tisztségét Vargha professzor úrnak ajánlották fel. Mivel ezt, mint a Gyógyszerkutató Intézet Igazgatója már nem tudta elvállalni, végül Bognár Rezső akadémikus lett a munkabizottság elnöke, aki akkor már a Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetem Szerves Kémiai Intézetének professzora volt. Ő azzal a feltétellel fogadta el ezt a kinevezést, ha én elvállalom a titkári funkciót. Ezzel természetesen rám hárult az ezzel járó összes adminisztratív tevékenység, így az évente esedékes munkabizottsági ülések megszervezé-

se, továbbá így lettem 1981-ben a Budapesten megtartott KGST szénhidrátkémiai értekezletnek, valamint 1983-ban a „2nd European Symposium on Carbohydrates and Glycoconjugates” című nemzetközi kongresszusnak is a szervezője. Titkári tisztségemet 22 évig, 1993-ig láttam el.

1966-ban a WHO ösztöndíjával 9 hónapot töltöttem Londonban, a „Chester Beatty Research Institute” nevű rákkutató intézetben, ahol citosztatikus hatású nukleozid származékok szintézisével foglalkoztam.¹²

1988-ban egy évet Andrea Vasella professzor úr meghívására a Zürichi Egyetem Szerves Kémiai Tanszéken folytattam kutatómunkát, melynek során sikeresen megoldottam néhány N-acetilneuraminsav származékának a szintézisét.¹³

Az MTA több munkabizottságának is tagja voltam (Elméleti Sztereokémiai Munkabizottság 1971-től, Szerves Kémiai Bizottság 1996-tól) és Magyarországot képviseltem az Európai Szénhidrátkémiai Szervezetben (ECO) 1985 és 2005 között. 1991-től több évig mind a BME mind a Debreceni KLTE meghívott előadója voltam, ahol Szénhidrátkémiát és Természetes Szerves Anyagok kémiáját adtam elő fakultatív tantárgyként. Utóbbi egyetem 1994-ben kinevezett címzetes egyetemi tanárnak. 2001 és 2004 között az MTA Köztisztviselői tagjainak képviselője voltam. A Magyar Ösztöndíjbizottság Természettudományi Szakmai Kollégiumának pedig 2001 és 2014 között voltam tagja. 128 tudományos közlemény, 24 szabadalom és három könyvfejezet¹⁴⁻¹⁶ szerzője, illetve társszerzője voltam. Természetesen nagyon sok bel- és külföldi kongresszuson vettem részt, ahol többnyire előadásokat is tartottam.

Munkám elismeréseképpen 1975-ben a NIM kiváló dolgozója lettem, 1982-ben a Munkaérdemérem bronz fokozatával tüntettek ki, 1984-ben az MTA-tól a Zemplén Géza díjat, 1991-ben a Bruckner díjat ítélték nekem, és 2014-ben az Eötvös József koszorúval tüntettek ki.

Ami a privát életemet illeti, 1958-ban feleségül vettem korábbi évfolyamtársnőmet Borbély Annát, aki egészen nyugdíjazásáig a BME különböző tanszékein folytatott oktatói tevékenységet. Két lányunk született, majd idővel a családuk kibővült 5 unokával, de közülük senki sem akart már vegyész lenni.

Mint a Tátra szülötte természetesen már gyerekfejjel megtanultam síelni, és ezt a sportot Magyarországra való áttelepülésünk után is folytattam, természetesen többnyire a környező országok síterein egészen 80 éves koromig. Nejemmel egyébként lelkes turisták voltunk és sok magashegy túrát tettünk a Tátrában, az Alpokban, a Fogarasi Havasokban, sőt még a Kaukázusba is eljutottunk, ahol a szuhumi hadiutat jártuk végig. Később inkább társasutazások keretében fedeztük fel a világot és Európa, Ázsia, Amerika és Afrika sok országában jártunk. Feleségem 2009-ben rákban halt meg.

Irodalomjegyzék

1. A. Simay: A Gyógyszerkutató Intézet története és főbb eredményei. *Acta Pharm. Hung.* 71 (2001) 7-12
2. L. Vargha and J. Kuszmann: 1,6-Dimethanesulfonyl-D-mannit, eine neue tumoraffine Substanz. *Die Naturwissenschaften* 46 (1959) 84
<https://doi.org/10.1007/BF00599123>
3. L. Vargha, Ö. Fehér, T. Horváth, L. Toldy und J. Kuszmann: Über die Synthese neuer Zuckerderivate mit potenzieller cytotartischer Wirksamkeit. *Acta Chim. Hung.*, 25 (1960) 361-368
4. J. Kuszmann: 3,4-Di-O-alkylhexitol derivatives containing biological alkylating groups at C-1 and C-6. *Carbohydr. Res.* 71 (1979) 123-134
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)86066-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)86066-8)
5. Kuszmann J. Rákellenes hatású anyagok kutatása a Gyógyszerkutató Intézetben. *Acta Pharm. Hung.* 71 (2001) 57-66.
6. M. Márton-Merész, J. Kuszmann and I. Pelczer: Synthesis and reaction of 2',3'-anhydro-1-D-ribofuranosyl-uracil derivatives. *Tetrahedron* 39 (1983) 275-284.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)91819-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)91819-8)
7. J. Kuszmann and G. Medgyes: Synthesis and biological activity of 1,4:3,6-dianhydro-2,5-diazido-2,5-dideoxyhexitols. *Carbohydr. Res.* 85 (1980) 259-269.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)84675-3](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)84675-3)
8. J. Kuszmann, P. Sohár and Gy. Horváth: Acetalation of 1,6-anhydro-1(6)-thio-D-glucitol. *Carbohydr. Res.* 50 (1976) 45-52
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)84081-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)84081-1)
9. G. Medgyes and J. Kuszmann: Synthesis of 3-amino-2,3,6-trideoxy L- lyxo-hexose (daunosamine) hydrichloride from D-glucose. *Carbohydr Res.* 96 (1981) 306-311.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80395-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80395-X)
10. G. Szabó, É. Bozó, É. Barabás, R. Kedves, K. Csomor and J. Kuszmann: Thioglycoside antithrombotic agents. *Drugs of the Future*, 24 (1999) 1241-1248.
<https://doi.org/10.1358/dof.1999.024.11.560611>
11. Á. Néder, I. Pelczer, Zs. Méhesfalvi and J. Kuszmann: Fluorinated steroids. *Acta Chim. Hung.* 109 (3) 275-285 (1982)
12. M. Jarman, J. Kuszmann and J.A-Stock: Aminoacyl Nucleosides derived from the tumour inhibitor, 1-aminocyclopentane-carboxylic acid. *Biochem. Pharm.* 18 (1969) 2473-2484.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(69\)90363-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(69)90363-3)
13. L. Czollner, J. Kuszmann and A. Vasella: Synthesis of Pyrrolidine Analogs of N-Acetylneuraminic Acid as Potential Sialidase inhibitors. *Helv. Chim. Acta* 73 (1990) 1338-1358.
<https://doi.org/10.1002/hlca.19900730522>
14. Kuszmann János: Citosztatikus hatású vegyületek kémiája. *Akadémiai Kiadó Budapest A kémia Újabb eredményei* 17 (1974) 7-132.
15. Kuszmann János: Rákellenes szerek. *Tankönyvkiadó, Gyógyszerkémia II* (1992) 1112-1159.
16. J. Kuszmann: Introduction to Carbohydrates. *The Organic Chemistry of Sugars* (2006) 25-52 Ed. Daniel E. Levy, Péter Fügedi, CRC Press, USA.
<https://doi.org/10.1201/9781420027952.ch2>

Summary

I was born in 1933 in Kesmark, at the foot of the High-Tatras, which at that time was the northern border of Hungary and was a German speaking region. After the first World War this part of Hungary became a part of Czechoslovakia, but as the government guaranteed some autonomy to the non-Slovakian minorities, consequently I was educated in German Schools. However, after the second World War the newly established Slovak government closed all non-Slovak schools, therefore I had to continue my studies at a Slovak school, but as the policy became more hostile towards the non-Slovak minorities, we left the country and fled to Hungary where some of our relatives lived. There I had to continue my studies in Hungarian, which I never learned in spite of the fact, that as a child I often spent my holidays in Szeged, where that time my uncle – Győző Bruckner - was a professor of chemistry at the University. Nevertheless, everybody could speak there German, consequently there was no need for me to learn the Hungarian language.

Whenever I visited my uncle at the university, I spent the most time in the workshop of the German speaking glass technician Mr Schlott, where I had the opportunity to learn the fundamental knowledge of this profession. I was fascinated by this glass-blowing technique and decided that time to become a chemist!

After absolving my secondary school in Miskolc in 1952, I enrolled the chemistry faculty of the Technical University of Budapest and graduated as a chemical engineer in 1957. Thereafter I joined the staff of the Institute for Drug Research in Budapest, where I was

a co-worker of professor Laszlo Vargha, who was the director of the institute. He had been an excellent carbohydrate chemist and successfully introduced carbohydrates as carriers for cytostatically active compounds, developing so the anticancer drug Degranol, which was successfully used for the treatment of leukaemia. When I entered his group, an extensive research was continued in this field, synthesising similar compounds, which as biological alkylating agents could be used for the treatment of cancer. This way I got familiar with carbohydrate chemistry and very much interested both, in stereochemistry as well as in reaction mechanisms, most of which are strongly related to the former one. During my research work I had of course to deal with different type of compounds looking for new potential drug candidates, but whenever possible I used carbohydrates as carriers for the biologically active groups. This way I became an expert in carbohydrate chemistry and was elected as the secretary for the carbohydrate section of the Hungarian Academy of sciences and held this position over a period of 22 years. Meanwhile I was the representative of Hungary in the European Carbohydrate Committee.

Beside my activity as a researcher, I defended my academical doctoral thesis in 1971. Later I was asked by both, the Technical University of Budapest and the Kossuth Lajos University of Debrecen to hold regularly special courses on carbohydrate chemistry and habilitated at the latter university in 1994. I got a few decorations from the Ministry of Heavy Industry (where our institute belonged to) as well as from the Hungarian Academy of sciences, the latest one the Eötvös Laureat in 2014.

Az ELTE 'SzintPlusz' Tématerületi Kiválósági Program első éve: 2019–2020

Kiválósági Program vezető: Perczel András*

*Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Kémiai Intézet, Szerves Kémia Tanszék,
1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C*

Pillérfelelősök: Csámpai Antal, Málnási-Csizmadia András, Mező Gábor

A jelen közleményben ismertetett kutatásokban résztvettek az alább felsorolt munkatársak, s így ők a publikáció társszerzői: Ábrahám Ágnes, Ábrányi-Balogh Péter, Bali Krisztina, Bánóczy Zoltán, Bárányi Péter, Beke-Somfai Tamás, Biri-Kovács Beáta, Bodor Andrea, Bősze Szilvia, Csámpai Antal, Dókus Levente, Dürvanger Zsolt, Ecsédi Péter, Enyedi Kata Nóra, Farkas Viktor, Fehér Bence, Flavio Massignan, Goldschmidtné Gőz Viktória, Gyimesi Máté, Gyulai Gergő, Harami Gábor, Harmat Veronika, Hotváth Lilla, Horváti Kata, Jernei Tamás, Keserű György Miklós, Kiss Éva, Kovács Mihály, Lőrincz István, Málnási-Csizmadia András, Mándity István, Mező Gábor, Mihály Judit, Mohammed Bouzbib, Murányi József, Nemes Anikó, Nyitray László, Oláh-Szabó Rita, Orgován Zoltán, Pálffy István, Pári Edit, Petri László, Rohonczy János, Sinkó Katalin, Sharad Kumar, Shiro Kubuki, Stráner Pál, Szabó Dénes, Szabó Ildikó, Szalai István, Szigyártó Imola Csilla, Szoboszlai Norbert, Tantos Ágnes, Uray Katalin, Vácziné Schlosser Gitta, Varga Imre, Varga Kata, Vellai Tibor, Vida István

A Szint+ kiválósági program közvetlen célja az ELTE TTK szintetikus kapacitásának fejlesztése és bővítése. Közvetett célunk a szintetikus munkákhoz kapcsolódó kollégák, műhelyek és közösségek megerősítése, összehangolása, szinergiájuk növelése azért, hogy hatékonyabbak lehessünk a kutatásban, eredményesebbek a fejlesztésben, és fókuszáltak az innováció területén. **Célunk** a 1) különböző szintetikus és társult szakterületek megerősítése, összekapcsolása és hálózatba szervezése, 2) a versengő együttműködés gyakorlatának meghonosítása, 3) a szakterületi szinergia katalízise, valamint és 4) a már sikeres kutatók és műhelyek együttműködésének elősegítése és anyagi támogatása. A Kiválósági program keretében öt különböző **támogatás formát** alakítottunk ki, úgymint 1) **tematikus programok**, mely keretében azon legkiválóbb projektek támogatása, amelyek keretében 2-3 minősített kutató szinergiában dolgozik együtt egy új és ígéretes szintetikus vagy ahhoz kapcsolódó probléma megoldásán. 2) **Gépidő programok** amely lehetőséget biztosít arra hogy olyan kutatópárosok kapjanak támogatást, akik dedikált nagyműszereken (röntgen, NMR, ESR, MS, SAXS stb.) kutatnak, és szintetikus

munkájuk sikere érdekében mérések elvégzését igénylik. 3) A műszervásárlási program azon kutató párokat támogatja, akik szintetikus eredményességét jelentősen előremozdítja egy-egy 4-6 millió Ft értékű kutatási eszköz beszerzése. Az eszközbeszerzés kapcsán kell megemlítenünk azt hogy 2020-ban egy világszínvonalat megtestesítő ion-mobilizációs tömegspektrométer (IM-MS) került beszerzésre mint egy 200 Millió Ft értékben, valamint már folyik egy magas szinten automatizált 400 MHz-es rutin, többcsatornás NMR-készülék, egy rutin Ms-MS és egy aminosav-analizátor beszerzése. 4) A **megvalósíthatósági programok** olyan szintetikus munkák támogatását végzik, amelyek nagy hazai vagy nemzetközi pályázatok sikeres előkészítését tehetik lehetővé, és amelyek jelentős tudományos, fejlesztői, szabadalmi és/vagy innovációs eredményeket ígérnek. 5) Végül a **továbbképzési és oktatásfejlesztési programok** – több is van belőlük - az ELTE tudásbázisának bővítését célozza. Különböző szakma-specifikus módszerek megismerését és/vagy elmélyítését támogatjuk, például „mentor-növendék” program, *workshop*-ok, tanfolyamok, digitális oktatás, stb.. formájában. Csámpai Antal, Málnási-Csizmadia András és Mező Gábor pillérfelelősök munkáját a SzintPlusz Tématerületi Kiválósági Program vezetője, Perczel András fogja össze. A pillérfelelősök unkáját, valamint az objektív bírálatot odaadó munkájával segíti a Tudományos Tanács aki tagjai abc sorrendben: Ballagi András, Búzás Edit, Gál Péter, Keserű György Miklós, Martinek Tamás, Monostory Katalin, Patthy László, Simig Gyula István és Szűts Dávid, valamint az Innovációs Bizottság: Ballagi András, Dékány Gyula, Magyar Dániel, Pázmány Tamás, Somody Imre és Sente Lajos.

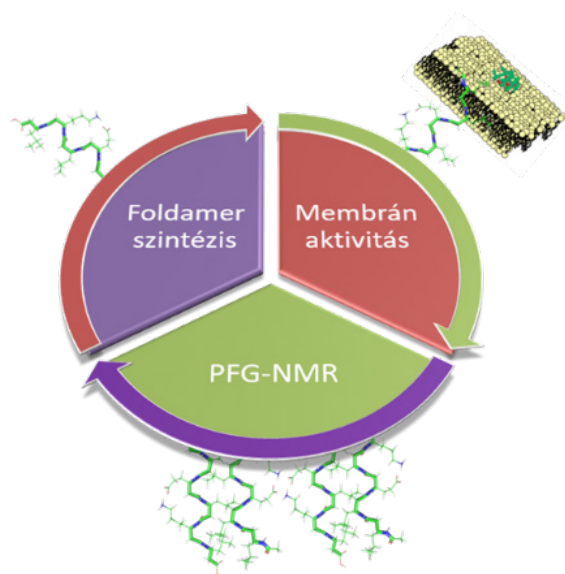
Alább röviden, szinte felsorolás szerűen olvashatók az első évben felkarolt programok célkitűzései, valamint az egy-egy mondatba tömörített első eredmények. A tématerületek felsorolása esetleges sorrendben történik, lefedve a szintetikus szerves kémiától, a peptid és fehérje kémián át, a gyógyszer és hatóanyag fejlesztések területeit is érintve, egészen a terápiás fehérjékig minden olyan szakterületet, amely a célkitűzéseinkkel összhangban bővítette és gazdagította az ELTE-TTK és társult kutatóinak szintetikus munkáját.

* Tel.: +36-1- 372-2500/1653; email: perczel.andras@ttk.elte.hu

A projekt résztvevői (lásd a bevezető bekezdést) valamennyien a közlemény társszerzői.

1. Nanoméretű foldamer oligomerek továbbfejlesztése hidrofób vegyületek egymolekulás transzportjához

Farkas Viktor (Dr), Beke-Somfai Tamás (Dr), Bodor Andrea (Dr habil)



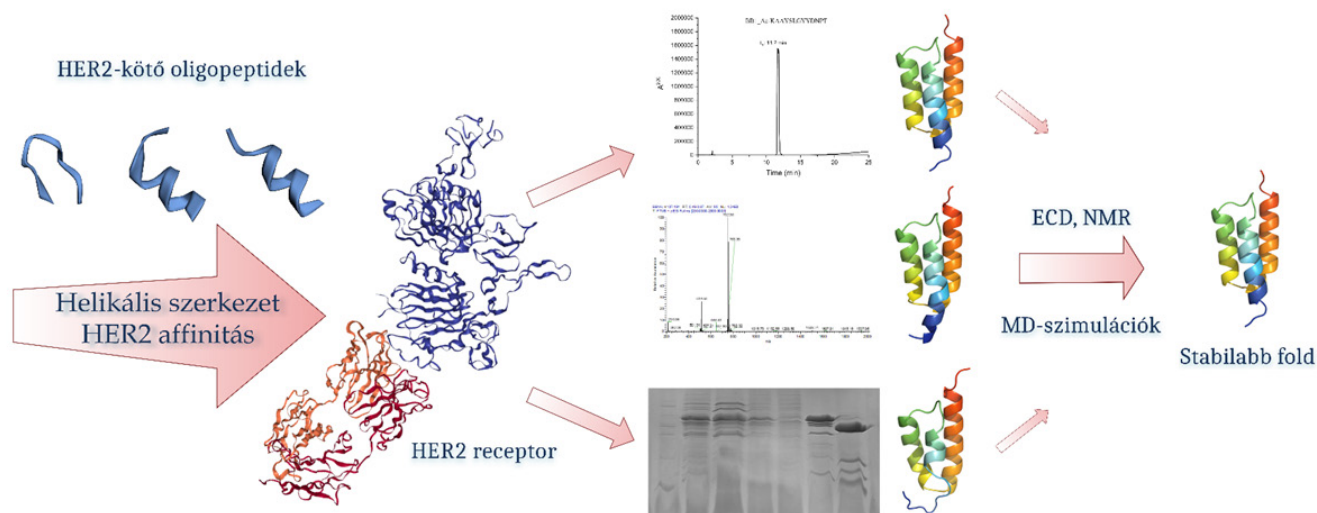
Szintézis/módszer/eljárás: Molekuladinamikai (MD) szimuláció alkalmazása, 8 db peptid asszociációs vizsgálata három, különböző modellel. A kiválasztott β -peptid szilárdfázisú peptidszintézise, áramlásos kémiai módszerrel. Szerkezeti vizsgálatok UV, ECD, NMR.

Célkitűzés: Önrendező β^3 -peptid foldamerekből álló rendszer tervezése és szintézise, mely képes mind vízben, mind lipid kettősrétegben alacsony nanomérettartományú (8-10 nm), 4-10 molekulából álló dinamikus „bundle” oligomereket képezni.

Eredmény: Az MD számolások eredményeként az egyik β -peptid megfelelő oligomereket alkot ez alapján kiválasztottuk az első szintetizálendő szekvenciát. Sikeresen előállítottuk a peptidet. Előkísérleteket végeztünk NMR spektroszkópiával hasonló mérettartományban.

2. HER2 receptor specifikus oligopeptidek vizsgálata: receptor-peptid interakciók és térszerkezetek feltárása

Biri-Kovács Beáta, Szabó Ildikó (Dr), Stráner Pál (Dr)



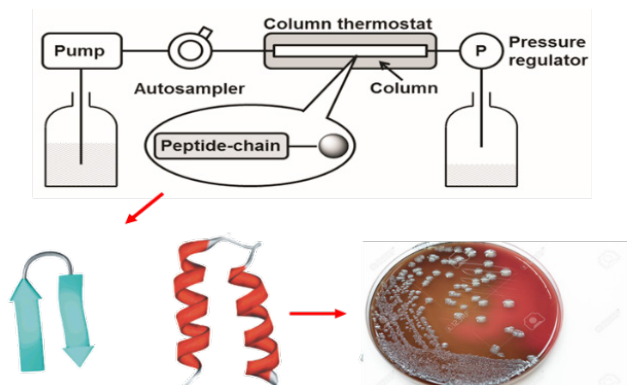
Szintézis/módszer/eljárás: HER2-kötő oligopeptidek és a HER2 receptor előállítása (szilárdfázisú peptidszintézis, heterológ fehérjeexpresszió), a fehérje-peptid interakció vizsgálata (ELISA, SPR), a komplex térszerkezetének meghatározása (NMR, röntgendiffrakció).

Célkitűzés: A fehérje-peptid interakció és a térszerkezet vizsgálatán keresztül olyan HER2 specifikus kötőpeptidek

előállítását, melyek a későbbiekben felhasználhatóak HER2 diagnosztikumként és a hatóanyag célbajuttatásának eszközeként is.

Eredmény: HER2-kötő oligopeptideket és módosított Affibody molekulákat állítottunk elő, jellemeztük őket (kémiailag és másodlagos szerkezet alapján), a molekuladinamikai modellek alapján ígéretes HER2 kötődést mutattak.

3. β^3 -Aminosav szubsztituált antimikrobiális peptidok szintézise – Mándity István (Dr), Horváti Kata (Dr)



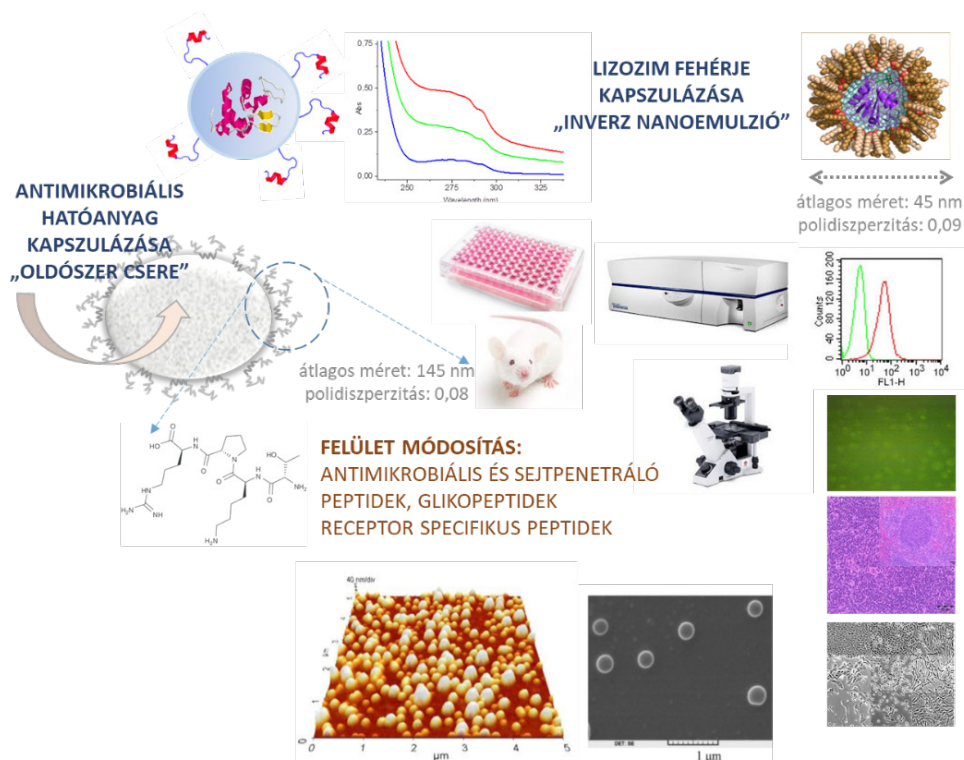
Szintézis/módszer/eljárás: β^3 -aminosav foldamer építő elemeket tartalmazó peptidok szintézise, analízise, valamint a termékek citotoxicitásának és antibakteriális hatásának tesztelése multirezisztens tenyészeteken.

Célkitűzés: Antimikrobiális peptidok szelektivitásának és stabilitásának növelése β^3 -aminosavak beépítésével.

Eredmény: Két antimikrobiális peptidbe építettünk be két-féle β^3 -aminosavat. Az egyik peptid esetében jelentős változást mértünk: a β^3 -aminosav beépítése szignifikánsan csökkentette a peptid citotoxicitását. Így nagymértékben nőtt a vegyület szelektivitása.

4. Peptid-tartalmú polimer nanostruktúrák fejlesztése célsejt specifikus hatóanyag transzport megvalósítására

Kiss Éva (Dr), Bősze Szilvia (Dr), Flavio Massignan, Gyulai Gergő



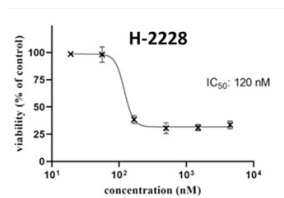
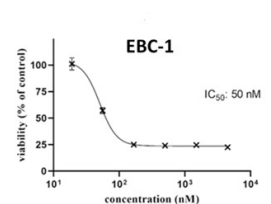
Szintézis/módszer/eljárás: A nanokapszulázható hatóanyagok körét tervezzük kiterjeszteni a gyógyszerkutatásban egyre fontosabbá váló peptid-, fehérje típusú hatóanyagokra. A sejtbejutást és szelektivitást *in vitro*, az aktivitást *in vivo* modelleken vizsgáljuk.

Célkitűzés: A biohasznosíthatóság növelésére célsejtekre specifikus ligandumokkal dekorált polimer alapú nanorészecskéket állítunk elő.

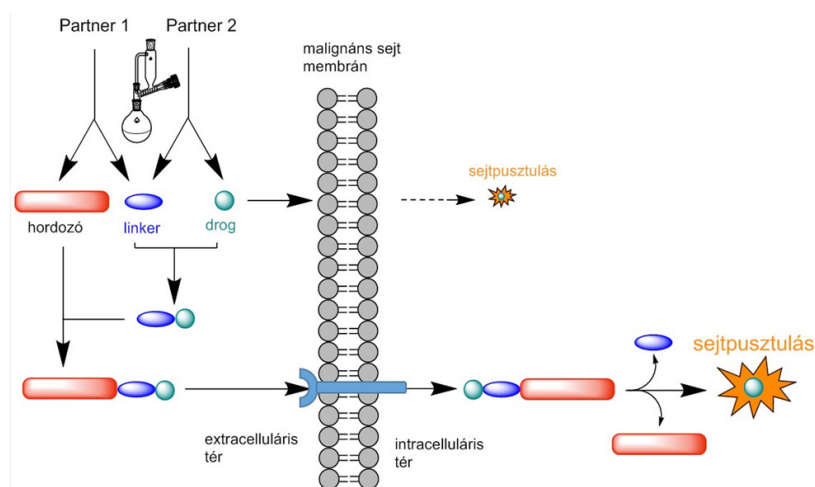
Eredmény: Új gyógyszerhordozókat terveztünk és állítottunk elő. Ezen nanorészecskék *in vitro* és *in vivo* rendszerben biztosítják a hatóanyagok programozott felszabadulását a részecske stabilitása és a célsejt specifikus célbajuttatás mellett.

5. Új hatóanyag – peptid konjugátumok kifejlesztése célzott tumorterápiára

Mező Gábor (Dr), Csámpai Antal (Dr), Bánóczy Zoltán (Dr), Jernei Tamás (Dr), Bárány Péter, Murányi József



Egy kiemelkedő hatékonyságú primer amin tűdőrák sejtvonalakon mért IC₅₀ görbéi.



1.) K.J. Fodor, D. Hutai, D., Jernei, T. et al. *Molecules* **2020**, 25, paper 1599. <https://doi.org/10.3390/molecules25071599>

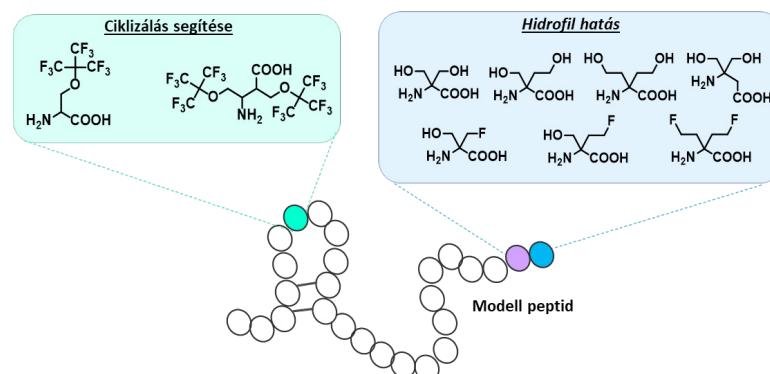
Szintézis/módszer/eljárás: Racionális tervezés alapján szintetizált kemoterápiás hatóanyag-jelöltekből, könnyen kihasadó linkerekből és tumorspecifikus hordozó peptidekből konjugátumok előállítását, antiproliferatív hatásuk és szelektivitásuk vizsgálata.

Célkitűzés: A konjugátumok és a hatóanyag komponensek tesztelésével kapott szerkezet-hatás összefüggéseket fel-

használni szándékozunk fokozott hatással és szelektivitással rendelkező, célzott tumorterápiára alkalmas új termékek kifejlesztéséhez.

Eredmény: Előállítottunk új kalkonokat, valamint heterociklusos aminokat. A szekunder aminokat publikáltuk¹, a primer aminokat oltalmi eljárás alá vonjuk. Előállítottunk és tanulmányoztuk Daunomicin-konjugátumok potenciális aminosav metabolitjait.

6. Ortogónálisan védett nem természetes aminosavak szintézise peptidok aggregációjának gátlására és turn-szerkezetek módosítására – Nemes Anikó (Dr), Enyedi Kata Nóra (Dr)



Szintézis / módszer / eljárás: Kutatásunk alapja az α -hidroximetil-szerin, melynek oldallánchosszabbított, fluortartalmú és β -aminosav, ill. nonafluor-tercier-butyl-csoporttal módosított analógjait állítjuk elő. Hatásukat vizsgáljuk peptid-aggregáció és térszerkezet szempontjából.

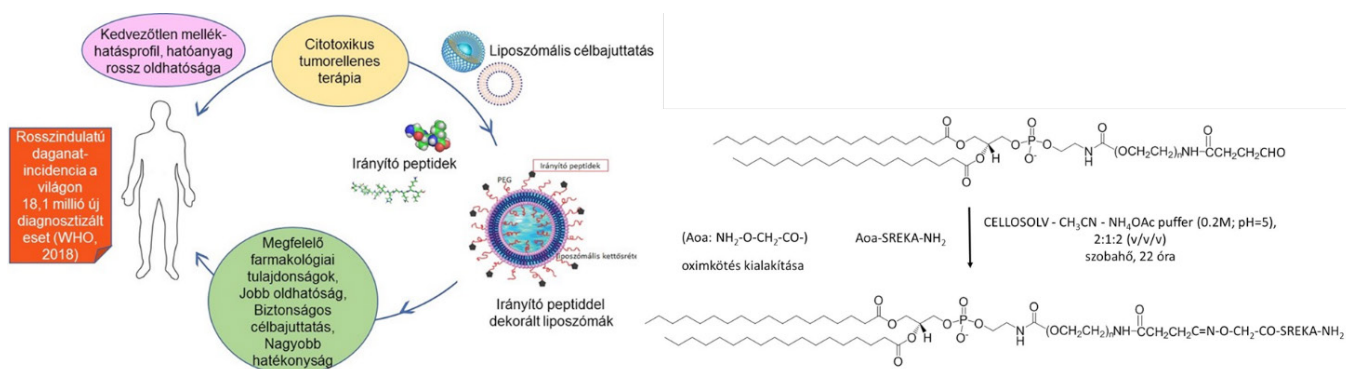
Célkitűzés: Biológiailag aktív peptidok több problémát jelentő tulajdonsága (pl. aggregáció) kompenzálható nem ter-

mészetes aminosavak beépítésével. Ezért célunk egy olyan peptidszintetikus vegyület-tárnak a kialakítása amely, több területre is megoldást nyújt.

Eredmény: Előállítottunk a hidroximetil-szerint és néhány védett származékát (O-Bn, NH-Boc), illetve az O-perfluor-terc-butilszerint. Modell peptideket szintetizáltunk aggregációs vizsgálatokhoz és ciklikus peptidok vizsgálatához.

7. Új irányító peptiddel dekorált liposzómák kialakítása hatóanyag célba juttatásra

Mező Gábor (Dr), Szoboszlai Norbert (Dr), Dókus Levente

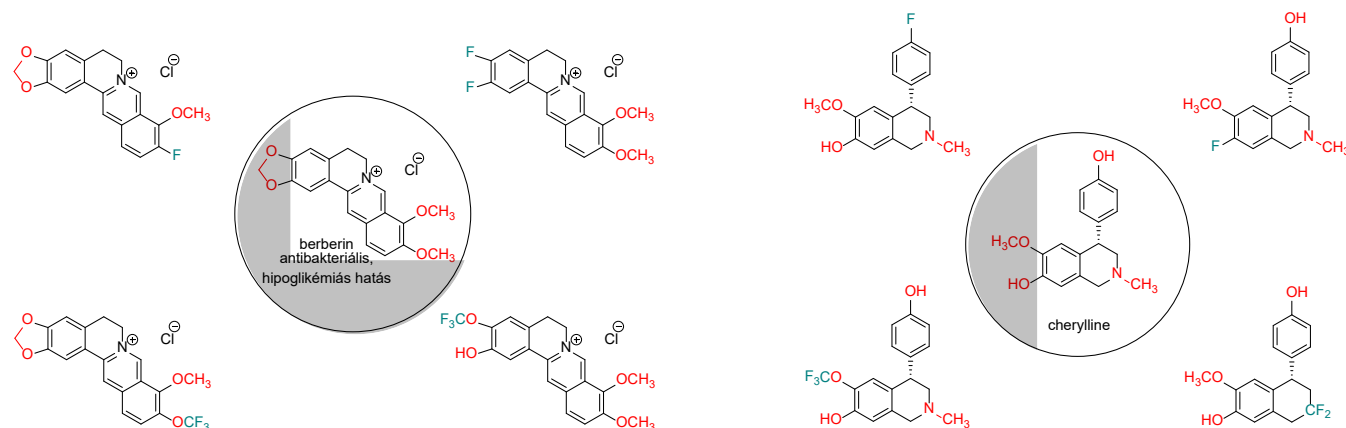


Szintézis/módszer/eljárás: Funkcionalizált (aldehid, tiol, maleimid, azid) DSPE-PEG molekulákhoz kapcsolunk SREKA vagy CREKA irányító peptidet kemoszelektív ligációs módszerrel oxim-, tioéter-, triazolkötésen keresztül.

Célkitűzés: Irányító molekulával dekorált liposzómák előállítása hatóanyagok célzott tumorsejtbe juttatására.

Eredmény: A konjugálási reakciók körülményeit optimalizáltuk és megfelelő tisztítási és analitikai körülményeket dolgoztunk ki. Összehasonlítottuk az egyes esetekben kapott kitermeléseket. Ezek alapján eddig az oximkötést tartalmazó konjugátum előállítása tűnik a leghatékonyabbnak. Elkezdődtek a célzó molekulával dekorált hatóanyagot tartalmazó liposzómák előállítása és összehasonlító vizsgálatuk in vitro és in vivo körülmények között.

8. Természetes vegyületek fluortartalmú analogjainak előállítása – Nemes Anikó (Dr), Szabó Dénes (Dr)



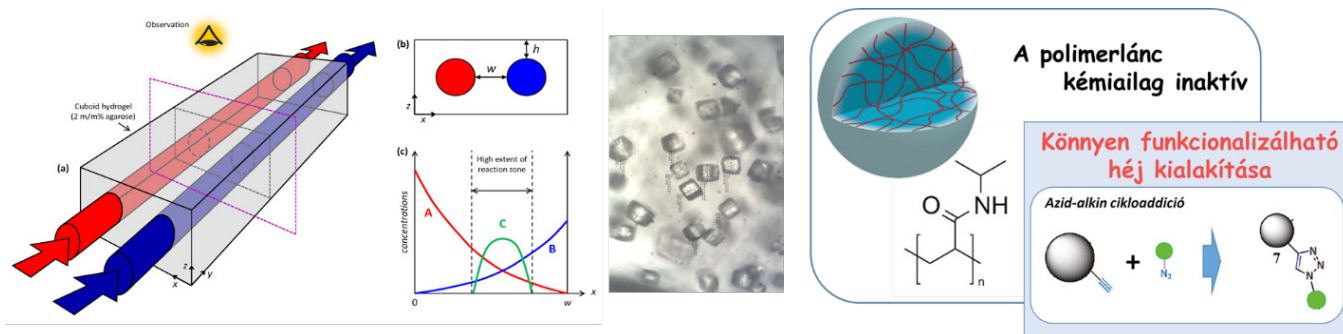
Szintézis/módszer/eljárás: A természetben előforduló alkaloidok hasznos vezérmolekulák lehetnek a gyógyszerfejlesztések során. Ezért munkánk első részében izokinolinvázas alkaloidok fluortartalmú funkciós csoportokkal (F, CF₃, CH₂CF₃) helyettesített változatait tervezzük előállítani.

Célkitűzés: Ismeretes, hogy a C-H vagy C=O kötés C-F kötéssé történő helyettesítése kedvezően hat a biológiai

aktív molekulák tulajdonságaira. Ezért tervezzük a természetben előforduló, biológiai aktivitással rendelkező vegyületek fluortartalmú változatainak előállítását.

Eredmény: Megvalósítottuk 4 norbelladin analóg szintézisét. Ezek gyűrűzárással berberin származékokká alakíthatók. Előállítottunk polisubsztituált benzolszármazékokat, amelyek a lobarinsav utolsó intermedierjei.

9. Szintézis áramlásos rendszerekben – Szalai István (Dr), Varga Imre (Dr)

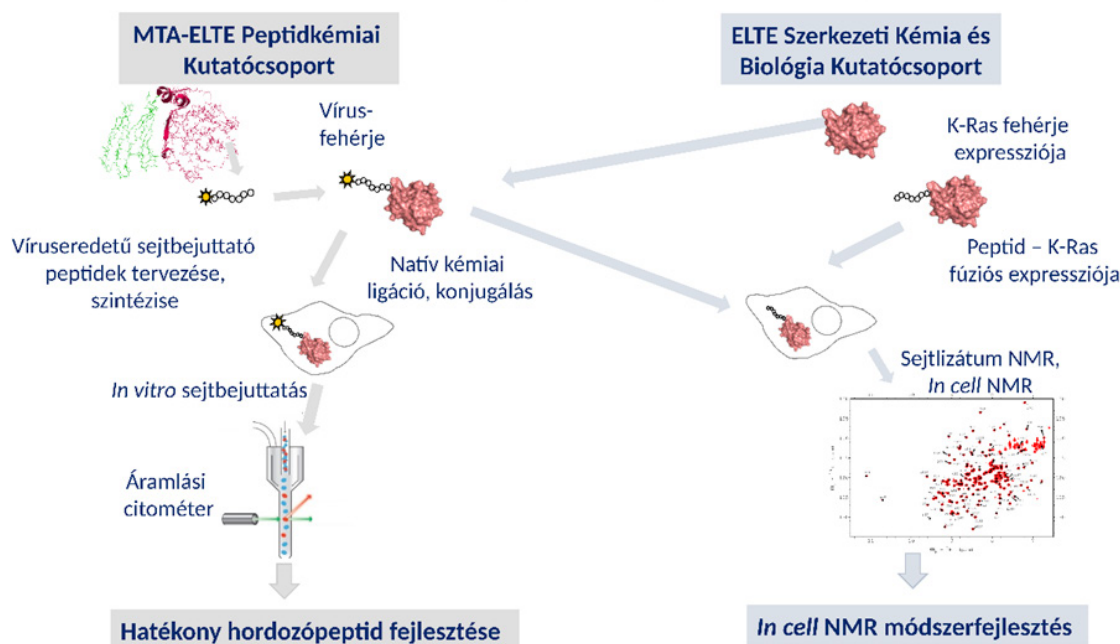


Szintézis/módszer/eljárás: Szeparált csatornákat tartalmazó lágy hidrogélek reaktorként való alkalmazhatóságának tesztelése. Katalitikus komplexek és nanorészecskék immobilizálására alkalmas, funkcionálizálható csoportokkal rendelkező lágy nanostruktúrák szintézise.

Célkitűzés: Az új áramlásos technika tesztelése és katalizátor hordozó lágy nanostruktúrák előállítására alkalmas szintézismódszer kidolgozása.

Eredmény: Megtörtént egyszerű szerves kémiai reakciók segítségével. Azid-alkin cikloaddíciós reakcióval történő funkcionálizálásra alkalmas mag/héj szerkezetű pNIPAm mikrogél részecskék szintézise megtörtént.

10. In-cell NMR módszer fejlesztése sejtbejutó hatású HSV-1 gD peptiddekkel konjugált izotópjelölt K-Ras fehérjével Uray Katalin (Dr), Bősze Szilvia (Dr), Vida István, Pálffy Gyula (Dr)



Szintézis/módszer/eljárás: Bakteriális expresszióval előállított, izotópjelölt K-Ras fehérjét konjugálunk vírus eredetű peptidhez, és a konstrukció sejtbejuttatását citométerrel, a térszerkezetét humán sejtlizátumban és sejtben NMR spektroszkópiával vizsgáljuk.

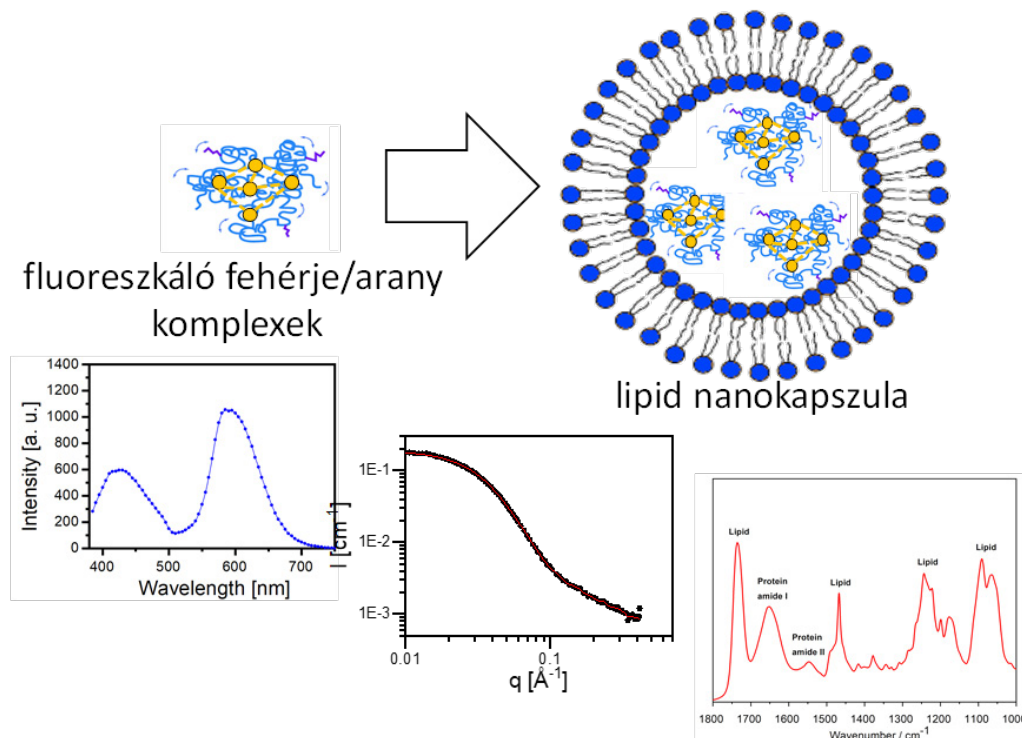
Célkitűzés: Fehérjék sejtbejuttatására alkalmas vírus eredetű peptidhordozó fejlesztése. Ezen megközelítéssel in-

cell NMR módszer fejlesztése, és tesztelése a K-Ras fehérje sejtben belüli szerkezetének vizsgálatán keresztül.

Eredmény: Izotópjelölt K-Ras előállítása, mutagenézisek a KRas-(Cys light)-Cys előállításához, mCherry-Cys expressziója és konjugálása vírus eredetű peptiddel, a sejtbejuttatás bizonyítása. $^1\text{H-NMR}$ és $^1\text{H},^{15}\text{N-HSQC}$ mérések intakt sejtekkel és sejtlizátumokkal. Lizátumokban sikeres spektrum felvétel $^{15}\text{N-K-Ras}$ fehérje egyik mutánsáról.

11. Fluoreszcens lipid nano-kapszulák előállítása fehérje/arany komplexek felhasználásával

Varga Imre (Dr), Mihály Judith (Dr), Fehér Bence



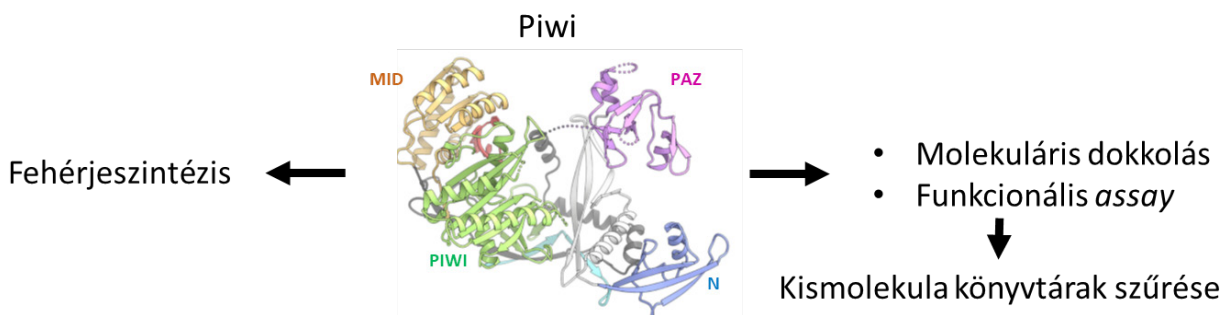
Szintézis/módszer/eljárás: Fluoreszcens fehérje/arany komplexeket tartalmazó lipid nanokapszulák előállítása és jellemzése biofizikai (IR spektroszkópia, kisszögű röntgen-szórás) és optikai módszerekkel.

Célkitűzés: A fluoreszcens fehérje/arany komplexeket lipid nano-kapszulákba csomagolva védjük meg a fluoreszcencia

megszűnését eredményező környezeti hatásoktól, növelve biológiai alkalmazásuk lehetőségét.

Eredmény: Ca^{2+} -ionok jelenléte növeli a fehérje/arany komplex bezárási hatásfokát. Összehangolt IR spektroszkópiai és SAXS mérésekkel követni tudtuk a fehérje szerkezeti változásait az Au@BSA komplexben.

12. Humán Piwi fehérjék szerkezeti és funkcionális jellemzése – Vellai Tibor (Dr), málnási-Csizmadia András (Dr)



Szintézis/módszer/eljárás: A biokémiai csoport által előállított humán Piwi fehérjéket a genetikai csoport funkcionális tesztek kidolgozásához használja fel. Végső cél: Piwi gátló kismolekulák (gyógyszerjelöltek) azonosítása.

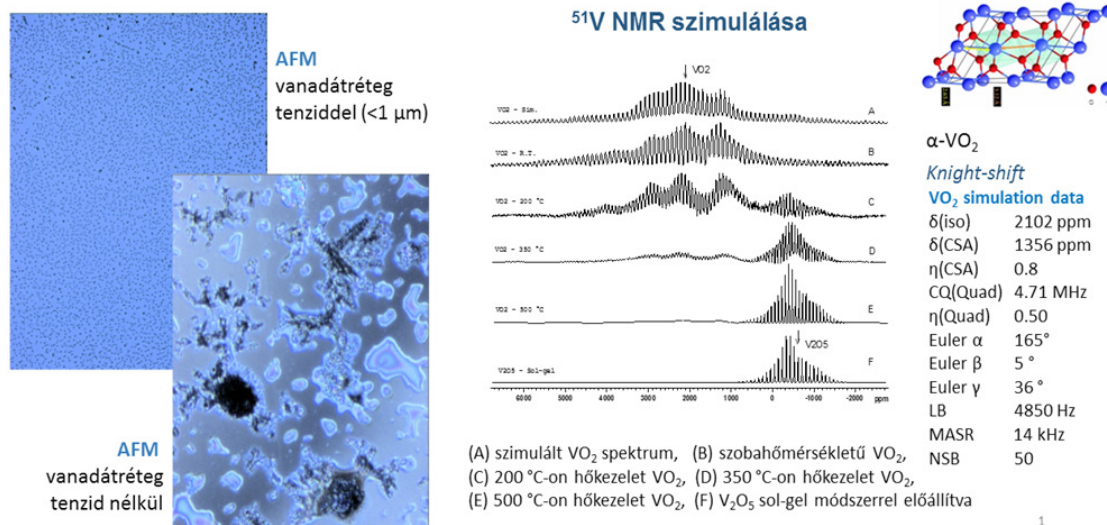
Célkitűzés: A genom stabilitás fenntartásában alapvető szerepet játszó Piwi fehérjék (emberben: PIWIL1-4) szerke-

zetének függvényében potens Piwi gátló, anti-tumor hatású kismolekulákat kívánunk azonosítani.

Eredmény: A Piwi domén 3D szerkezetének ismeretében molekuláris dokkolással potenciális kötőpartnereket azonosítottunk, a fehérjék előállítása folyamatban van, egy in vivo Piwi tesztrendszert fejlesztettünk.

13. Vanadátrétegek elektromos tulajdonságait befolyásoló szerkezeti paraméterek

Sinkó Katalin (Dr), Rohonczy János (Dr), Mohammed Bouzbib, Shiro Kubuki (Dr)



Szintézis: Szol-gél szintézis során pH 2 kolloid oldat készül NH₄VO₃ vizes oldatából különböző savak (salétrom-, ecet-, citromsav) vagy kationcserélő alkalmazásával. A keletkező H₃VO₄ már képes kondenzálódni. Szobahőmérséklet, 70- és 400 °C-os kezelések után a rendszer alkalmas réteghúzásra. Összehasonlításképpen 800 °C-on olvasztott és vízben diszpergáltott V₂O₅ szolgált.

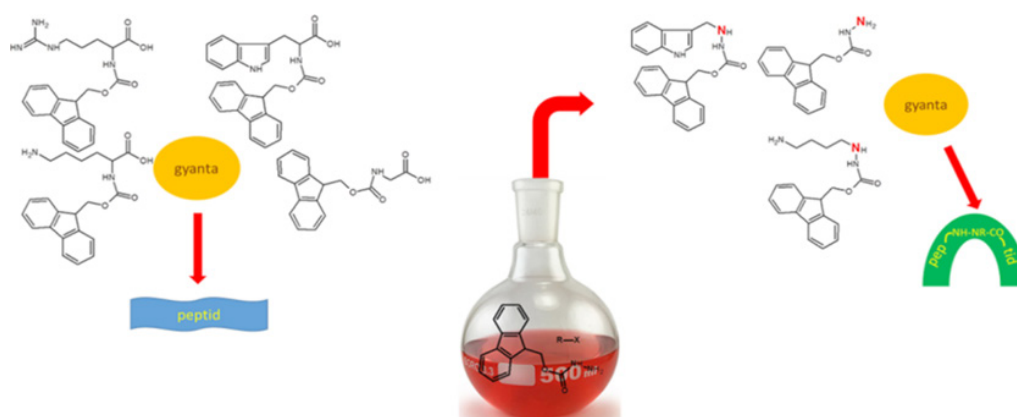
Célkitűzés: Cél egy költséghatékony, variálható rétegvastagságú, jó elektromos tulajdonságokkal rendelkező vana-

dátréteg kialakítása. Fontos feladat a szerkezeti paraméterek hatásának feltérképezése is az elektromos tulajdonságokra.

Eredmény: Az eddigi kísérletek alapján a legjobb szintézisnek az ioncserélőt és tenzidet alkalmazó út bizonyult. A szintézissel homogén vékony réteget lehet előállítani. Szilárd ⁵¹V MAS NMR mérésekkel és szimulációval jellemezni tudjuk a V⁴⁺ és V⁵⁺ állapotokat és környezetüket.

14. Az aminosav tartalmú peptidok; szintetikus megoldások és biológiai aktivitás

Bánóczy Zoltán (Dr), Szabó Ildikó (Dr)



Szintézis/módszer/eljárás: Aza-glicin, -lizin, -arginin és -triptofán tartalmú aza-peptidok szilárdfázisú szintézise hidrazin származékok felhasználásával. A hidrazin-származékok előállítását redukív alkilezéssel valósítjuk meg.

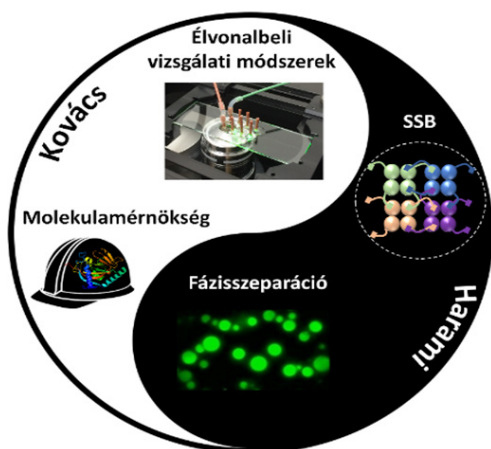
Célkitűzés: Aza-aminosav szubsztitúciók hatásának vizsgálata ismert biológiai aktivitással rendelkező peptidok

stabilitására, szerkezetére, valamint biológiai aktivitásukra (sejtbejutás, citosztikus hatás).

Eredmény: Sikeresen előállítottuk és kémiaiilag jellemeztük az aza-lizin és -triptofán aminosav-származékok szintéziséhez szükséges hidrazin-származékokat, valamint a kontroll peptidokat és konjugátumait.

15. Humán egyszálú DNS-kötő fehérjék szintézise a fázisszeparáció sajátosságainak vizsgálatához

Harami Gábor (Dr), Kovács Mihály (Dr)



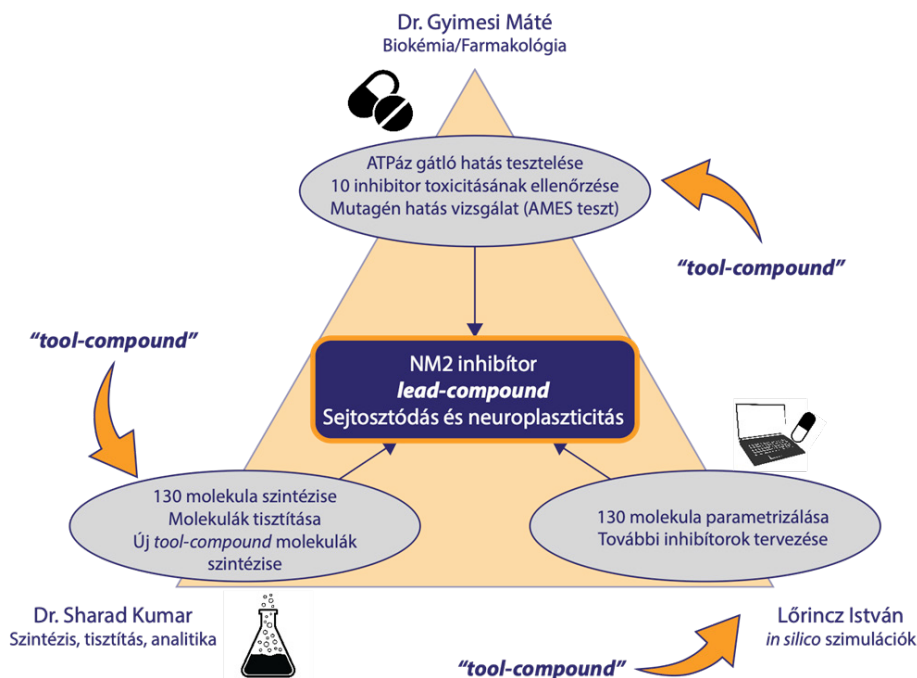
Szintézis/módszer/eljárás: Szintetikusan előállított emberi hSSB1-2 fehérjék fázisszeparációs sajátosságait derítjük fel in vitro és in vivo élvonalbeli fluoreszcencia-mikroszkópia és biofizikai mérések ötvözésével.

Célkitűzés: Célunk, hogy a DNS-hibajavítás új mechanizmusait tárjuk fel és lépést tegyünk a fázisszeparáció jelensége alkalmazott felhasználásának irányába a humán SSB1-2 fehérjék vizsgálatán keresztül.

Eredmény: Sikeresen előállítottuk a humán SSB1-2 fehérjéket és elsőként mutattuk ki, hogy a hSSB2 DNS-függő módon képes a fázisszeparációra **míg a hSSB1** foszforilálatlan formában nem fázisszeparál.

16. Az első nem-izom miozin-2 (NM2) specifikus inhibitor kifejlesztése

Sharad Kumar (Dr), Gyimesi Máté (Dr), Lőrincz István (Dr)



Szintézis/módszer/eljárás: „tool-compound” származékok in silico tervezése, „tool-compound” naftátszármazékok, kombinatórikus kémiai előállítása, tisztított molekulák ATPáz gátlásának tesztelése 7 miozin-2 izofomán, továbbfejlesztés „lead” molekulává.

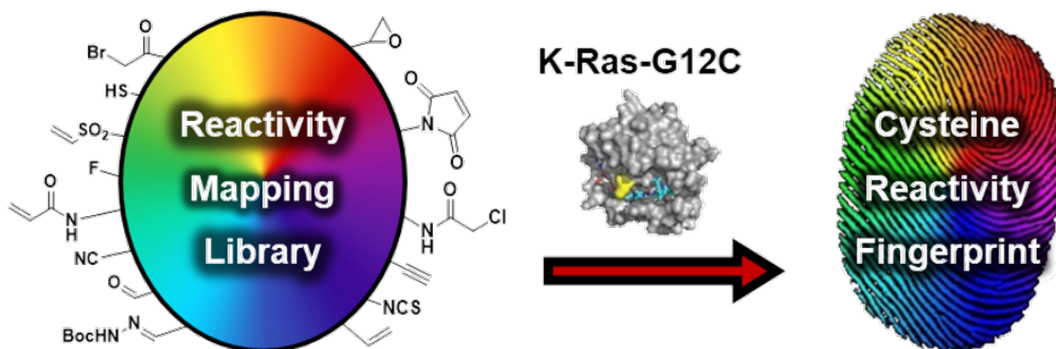
Célkitűzés: NM2 specifikus „lead molekula” előállítása, mely rendkívüli jelentőséggel bírna 1) kemoterápiás szerek,

2) sejtregenerációra, 3) idegsejt nyulványnövesztésére ható gyógyszerek kifejlesztésében.

Eredmény: 130+ naftát származék parametrizálása és molekuladinamikai szimulációja, 100+ molekula szintézise, analitikája, ATPáz tesztek elindítása NM2 izoformákon, AMES mutagenitás teszt 1 molekulán, Neurit növekedési tesztek optimalizálása 5 molekulával.

17. DrugRas: onkogén K-Ras mutánsokra ható vegyületek tervezése, szintézise, szűrése és jellemzése

Perczel András (Dr, egy.tan.), Pálffy Gyula (Dr), Vida István, Keserű György Miklós (Dr), Ábrányi-Balogh Péter (Dr), Orgován Zoltán, Petri László



Szintézis/módszer/eljárás: Egy speciális kovalens fragmenskönyvtár szűrése NMR módszerekkel. A kovalens kötés validálása a ligandum oldaláról ^{19}F -NMR módszerrel, valamint a fehérje oldaláról ^1H , ^{15}N -HSQC módszerrel a kötődés helyzetének meghatározásával együtt.

Célkitűzés: K-Ras-G12C onkogén mutáns kovalens módosítására alkalmas kötőelemek azonosítása, majd ezek felszerelése ismert K-Ras-G12C inhibitor és általunk talált alapvázra, az új alapvázak további optimalálása.

Eredmény: 28 vizsgált kötőelemből 15-öt találtunk a K-Ras-G12C-GDP kovalens módosítására alkalmasnak. Figyelemre méltó, hogy a ligandum oldaláról ^{19}F -NMR méréssel azonosított kötődéseket a fehérje oldaláról ^1H , ^{15}N -HSQC mérésekkel is meg tudtuk erősíteni. Utóbbi módszerrel további 7 jelölt molekulából 6 esetben mutattunk ki kötődést.

18. Gépidő felhasználás NMR 700 MHz készüléken – Bodor Andrea (Dr. habil), Tants Ágnes (Dr), Beke-Somfai Tamás (Dr)

Célkitűzések: a) Az RNS-kötő, 106 aminosav hosszú EZH2 rendezetlen loop jellemzése fiziológias körülmények között, a foszforiláció hatásának vizsgálata. b) A hisztatin származék DHVAR, 14 aminosav hosszú, amfipatikus, pozitív töltésű antimikrobiális hatású peptid és a tartrazin ételfesték kölcsönhatásának leírása.

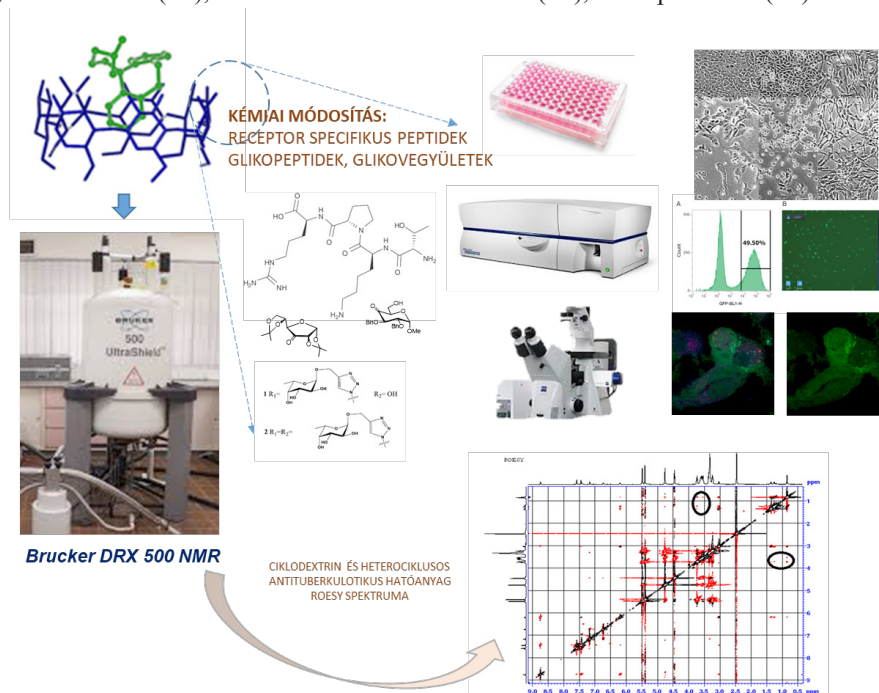
Eredmény: A hisztatin származék DHVAR4 peptid és tartrazin (TZ) ételfesték kölcsönhatásának vizsgálata ter-

mészetes izotópeloszlás mellett 2D homo- és heteronukleáris; illetve translációs diffúziós mérésekkel 1mM koncentráció: a 14 aminosav hosszúságú peptid rendezetlen Elektrosztatikus kölcsönhatás a pozitív töltésű peptid és a negatív töltésű TZ között. $D(\text{DHVAR4}) = 2,1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$; $D(\text{TZ}) = 4,6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Az RNS-kötő, 106 aminosav hosszú EZH2 loop fiziológias körülmények között mind 278K, mind 298K hőmérsékleten rendezetlen. Teljes aszignáció 3D mérések segítségével.

19. Ciklodextrin hordozók és ciklodextrin - hatóanyag komplexek szerkezetének meghatározása

NMR spektroszkópiai módszerrel: a molekuláris konstrukciók összehasonlító jellemzése

Bősze Szilvia (Dr), Horváti Kata (Dr), Goldschmidt Gőz Viktória (Dr), Csámpai Antal (Dr)



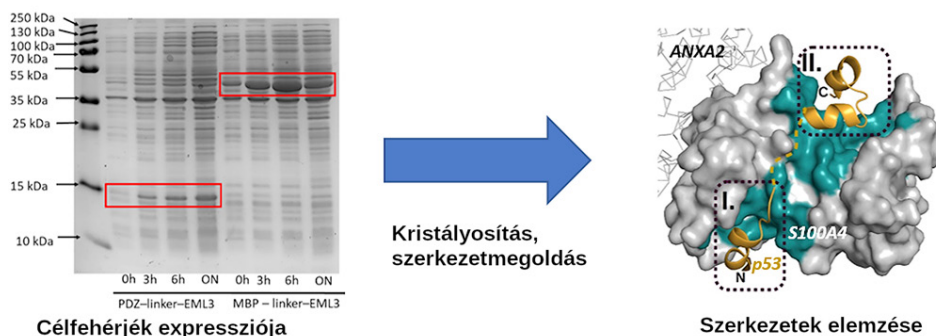
Szintézis/módszer/eljárás: Ciklodextrin alapú zárvány komplexeket állítunk elő. Meghatározzuk ezen komplexek szerkezetét, valamint a komplexképzés molekuláris feltételeit. Vizsgáljuk ezen komplexek sejtbejutását.

Célkitűzés: Módosított ciklodextrin vázak előállítására hatóanyagok célbajuttatására és biodisztribúciójuk vizsgálatára.

Eredmény: A komplexek létrejöttét nagyfelbontású ^1H - és ^{13}C -NMR (optimalizált NOESY, ROESY) módszerekkel, a kémiai eltolódás változások és intermolekuláris kölcsönhatások detektálásán keresztül igazoltuk. Bizonyítottuk, hogy a ciklodextrinek egyes hatóanyagok célbajuttatására és biodisztribúciójuk vizsgálata-ra megfelelő jelöltek lehetnek.

20. Új kristályosító chaperonok hatékonyságának vizsgálata: Fehérjekristallográfiai vizsgálatok az ELTE-CrystalLAB nagyműszereinek használatával – Nyitray László (Dr), Ecsédi Péter, Varga Kata, Harmat Veronika (Dr),

Dürvanger Zsolt, Stráner Pál (Dr)



Módszer: Célfehérje – kristályosító chaperon rendszerek tervezése, a fehérjék expressziója, kristályosítása, majd a szerkezet megoldása röntgendiffrakcióval és a kristálybeli kölcsönhatások elemzése.

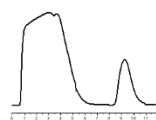
Célkitűzés: Új típusú kristályosító chaperon rendszerek tervezése az annexin A2 és a dinein könnyű lánc 1 fehérjék

felhasználásával. Az új kristályosító chaperonok hatékonyságának vizsgálata.

Eredmény: Sikeresen alkalmaztuk chaperonként az annexin A2 fehérjét, mely az elterjedten használt MBP-nél hatékonyabbnak bizonyult. A dinein könnyű lánc 1 és a célfehérjék expressziója folyamatban van.

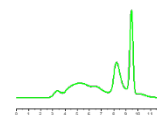
21. Műszervásárlás keretében beszerzésre került 2 db Jasco UV-4075 kétsatornás detektor beszerzése

Farkas Viktor (Dr), Horváti Kata (Dr)



det1

kapcsolási
reakció

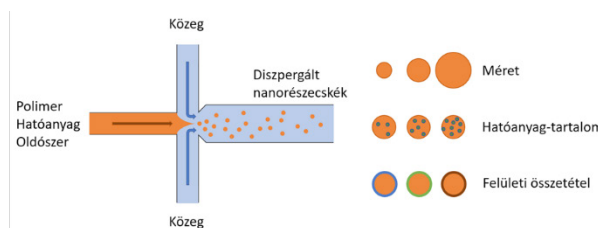
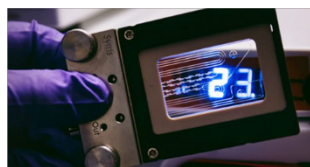


det2

Kereskedelmi forgalomban megvásárolható, HPLC modulokból összerakott áramlásos peptidkémiai készülék segítségével gyorsan, kis költséggel, minimális környezetkárosító hatás mellett tudunk tiszta nyersterméket (akár 95%) eredményező peptidet, kimérát és foldamert szintetizálni. A pályázott műszerek (2db UV detektor) segítségével mo-

nitorozni tudjuk az aminosavak kapcsolási reakcióit és a védőcsoportok hasítását. A pontos detektálás hozzásegít minket ahhoz, hogy megtalálhassuk az optimális kapcsolási és hasítási reakciókörülményeket és pontosabb képet kaphatunk a peptidszintézis közben lezajló reakciók mechanizmusáról és kinetikájáról.

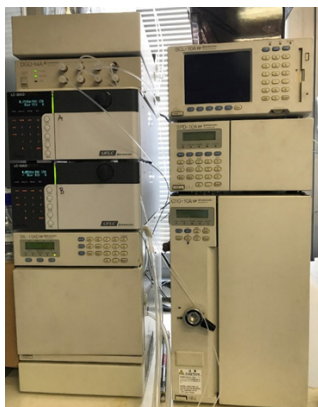
22. Mikrofluidikai reaktor – Ábrahám Ágnes (Dr), Gyulai Gergő (Dr)



A Határfelületi- és Nanoszerkezetek Laboratóriumában munkánk egyik fő fókuszja polimer alapú, gyógyszerhordozó nanorészecske rendszerek előállítása és vizsgálata. A mikrofluidikai technikák segítségével a kis mennyiségben rendelkezésre álló peptid alapú hatóanyagok nagy hatékonyságú nanoformulázása is megvalósítható. A SzintPlusz Műszervásárlási pályázat keretében beszerzésre került ASIA Mikrofluidikai rendszer jelentős kapacitás bővítést jelent a nanoformulázott készítmények előállításához. Csoportunk az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

munkatársaival együttműködve különböző kismolekulás, illetve peptid alapú hatóanyagok és hatóanyagjelöltek nagy hatékonyságú kapszulázását fogja megvalósítani. A műszer segítségével a kis mennyiségben rendelkezésre álló anyagokkal is vizsgálni tudjuk a kapszulázási hőmérséklet és áramlási sebesség hatását a részecske méretre, a hatóanyag tartalomra és a kapszulázási hatékonyságra, ezáltal optimalizálhatjuk a becsomagolt anyagok biohasznosulását. Az eszköz beszerzése megvalósult, a kísérleti munka rövidesen megkezdődhet.

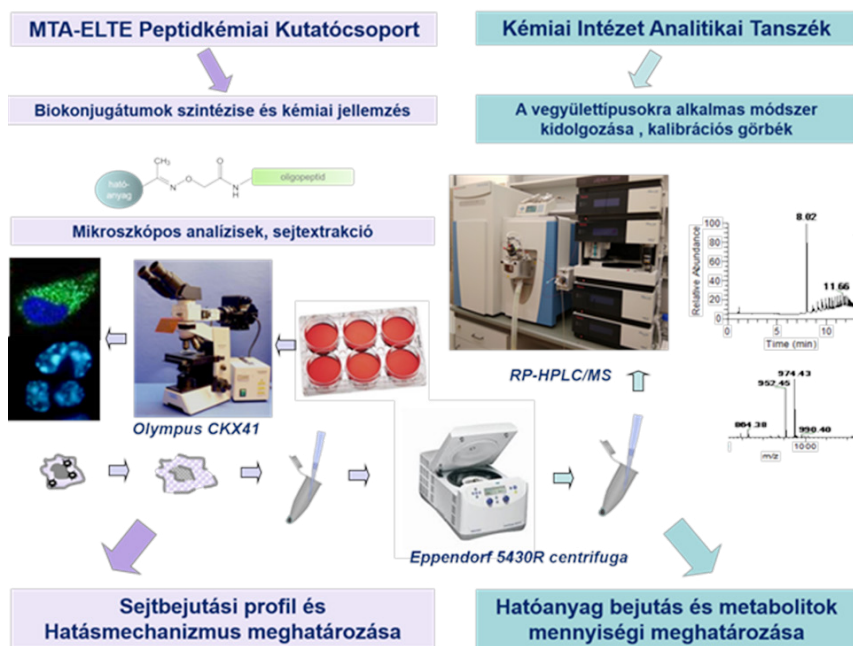
23.2 új LC20 egység beszerzése – Horváti Kata (Dr), Farkas Viktor (Dr)



Peptidek terápiás alkalmazása a modern gyógyszerfejlesztés egyik legígéretesebb területe. Több, mint 60 engedélyezett peptid-alapú hatóanyag van jelenleg forgalomban és további 150 peptid szerepel jelenleg aktív

klinikai fázisban [1]. A farmakokinetikai tulajdonságok javítására és specificitás növelésére számos szintetikus stratégia került kidolgozásra az elmúlt években (pl. nem-természetes aminosavak beépítése, peptid-gerinc módosítása, konjugálás, formulázás, stb.). Az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportban (PKCs) és az MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoportban (FMKCs) régóta folyó kutatások a peptidkémia területén. A szerkezetvizsgálat (CD, NMR) és a biológiai tesztek (antibakteriális tesztek, citotoxicitás vizsgálat, stb.) elvégzése előtt a felhasznált peptideket minden esetben tisztítani szükséges HPLC rendszer segítségével, illetve az előállított peptidek homogenitásának ellenőrzése is HPLC segítségével történik. A műszervásárlási pályázat lehetőséget adott számunkra, hogy fejlesszük a HPLC rendszert és kibővítsük laborjaink tisztítási és analitikai kapacitását. Ennek eredményeként nagyobb mennyiségben tudunk elvégezni tesztek az előállított biológiailag aktív peptidekkel.

24. Internalizálódott hatóanyagok mennyiségi meghatározása és sejtben belüli megoszlásának, lokalizációjának vizsgálata – Oláhné Szabó Rita (Dr), Bősze Szilvia (Dr), Horváth Lilla, Vácziné Schlosser Gitta (Dr)

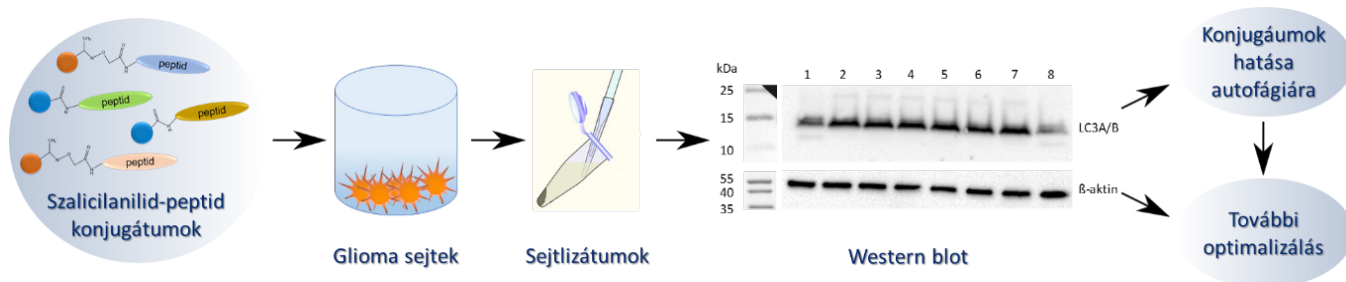


A hatóanyagok szerkezet-hatás összefüggéseinek feltárása során fontos a vegyületek sejtbejutásának, disztribúciójának jellemzése. RP-HPLC-MS módszer alkalmazásával vizsgáltuk hatóanyag jelöltekkel történő kezelést követően a sejtekbe jutott anyagmennyiséget kvantitatív/szemikvantitatív módon, sejtextraktumokból. Az extraktumok RP-HPLC-MS elemzésre történő előkészítése az extrahálási folyamat során több centrifugálási- és tisztítási lépéssel történik az Eppendorf 5430R centrifuga alkalmazásával. Az RP-HPLC-MS meghatározásokat megelőzően, az extrakció

előtt, fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk a hatóanyagok sejtbejutását és intracelluláris lokalizációját. A fluoreszcens mikroszkóphoz tartozó képalkotó munkaállomás alkalmazása lehetővé tette, hogy fluoreszcens sajátosságú hatóanyag-jelöltek, nano- és peptidhordozó konstrukciók sejtbejutási sajátosságait összevessük az extraktumokból nyert mennyiségi adatokkal. A sejtben belüli disztribúciót képalkotással és mennyiségi elemzéssel is követhettük, fontos szerkezet – hatás összefüggések definiálása mellett.

25. A Mentor-Növendék program keretében támogatást nyert a 'Szalicilanilid-származékok autofágia indukciójának vizsgálata glioma sejteken: Western blot módszer betanítása és optimalizálása' című program

Biri-Kovács Beáta és Horváth Lilla



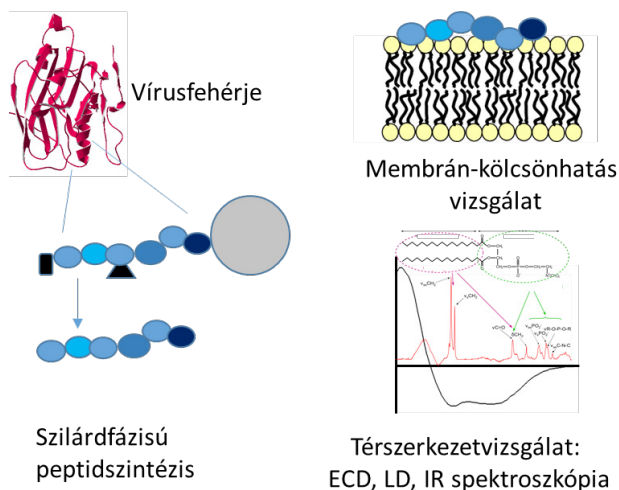
Szintézis/módszer/eljárás: Szalicilanilid (2-hidroxi-N-fenilbenzamid) – hordozó peptid konjugátumok szintézise. Glioma sejtek kezelése a konjugátumokkal, sejtlizátumok készítése. A sejtek autofágia marker expressziójának vizsgálata Western blot módszerrel.

Célkitűzés: Célunk antitumor hatású szalicilanilid-hordozó peptid konjugátumok szintézise, illetve a biokonjugá-

tumok autofágiára kifejtett hatásának vizsgálata és összehasonlítása Western blot módszer alkalmazásával, glioma sejtvonalon.

Eredmény: Western blot módszer beállítása szalicilanilid származékokkal. A vegyületek autofágiára kifejtett hatása összemérhető a klinikumban alkalmazott kontrollal, és jelentősen eltér a kezeletlen kontrolltól.

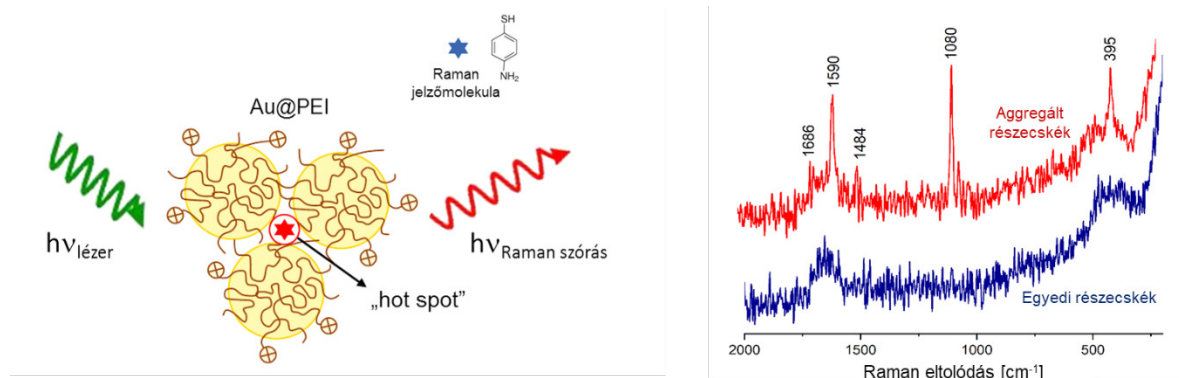
26. Valamint a 'Peptidszintézis – vírus eredetű sejtbejuttató peptidek szintézise és membrán-kölcsönhatásának vizsgálata' című kooperáció – Uray Katalin (Dr), Szigyártó Imola Csilla (Dr)



Peptidszintézis – vírus eredetű sejtbejuttató peptidek szintézise és membrán-kölcsönhatásának vizsgálata.

Eredmény: HSV eredetű peptideket állítottunk elő. A tisztított, azonosított peptidek szerkezetét modell membránok jelenlétében és anélkül infravörös és polarizált fényspektroszkópai mérésekkel vizsgáltuk.

27. Továbbá a 'Polietilén-iminnel (PEI) stabilizált arany nanorészecskék felületerősített Raman spektroszkópiái (SERS) tesztelése' – Mihály Judith (Dr) és Bali Krisztina



Módszerek: Szilárdfázisú peptidszintézissel állítunk elő víruseredetű peptideket. A peptidok kölcsönhatását membránmodellekkel cirkuláris és lineáris dikroizmus, valamint infravörös spektroszkópiával tanulmányozzuk.

Célkitűzés: A felületerősített Raman spektroszkópia gyakorlati alapjainak átadása. A szerzett tapasztalatokat bio-

lógiai minták vizsgálatára alkalmas SERS szubsztrátumok kialakítására szeretnénk felhasználni.

Eredmény: A különböző felületi tulajdonságokkal rendelkező Au@PEI nanorészecskék eltérő SERS tulajdonságokat mutattak. A SERS sávok detektálásához minden esetben a nanorészecskék spontán vagy indukált aggregációjára volt szükség.

SzintPlusz munkadélutánok keretében, minden hónap 3. csütörtökén (14.00-16.00 óra között) amíg lehetett, addig személyesen, azóta pedig a virtuális térben, *Temas-en* tartottunk érdekes rövid előadások keretében előadói üléseket. Legyen Ön is szakmai munkacsoportunk tagja, a kiváló élménynek részese, vagy jöjjön el és halgassa meg a legfrissebb tudományos eredményeket, mert a Szint+ 2021 és 2022-ben is folytatódik!

Köszönetnyilvánítás

Dr. Borhy László (rektor), Dr. Scheuer Gyula (kancellár), Dr. Darázs Lénárd (rektorhelyettes), Dr. Szalay Péter egyetemi tanár, dr. Rikker Emília (főigazgató), valamint az ELTE pályázati központ és a Természettudományi Kar adminisztratív munkatársainak.

Hivatkozások

- Aronson, M. R.; Medina, S. H.; Mitchell, M. J. Peptide functionalized liposomes for receptor targeted cancer therapy. *APL Bioeng.* 2021, 5, 011501. <https://doi.org/10.1063/5.0029860>
- Zhang, Y.; Wei, J.; Liu, S.; Wang, J.; Han, X.; Qin, H.; Lang, J.; Cheng, K.; Li, Y.; Qi, Y.; Anderson, G. J.; Sukumar, S.; Li, S.; Nie, G. Inhibition of platelet function using liposomal nanoparticles blocks tumor metastasis. 2017, 7, 1062-1071. <https://doi.org/10.7150/thno.17908>
- Gyimesi, M.; Horváth, A.I.; Túrós, D.; Suthar, S.K.; Péntzes, M.; Kurdi, C.; Canon, L.; Kikuti, C.; Ruppel, K.M.; Trivedi, D.V.; Spudich, J.A.; Lőrincz, I.; Rauscher, A.Á.; Kovács, M.; Pál, E.; Komoly, S.; Houdusse, A.; Málnási-Csizmadia, A. *Cell.* 2020 Oct 15;183(2):335-346.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.050>
- Péntzes, M.; Túrós, D.; Máthé, D.; Szigeti, K.; Hegedűs, N.; Rauscher, A.Á.; Töt, P.; Ivic, I.; Padmanabhan, P.; Pál, G.; Dobolyi, Á.; Gyimesi, M.; Málnási-Csizmadia, A. *Theranostics.* 2020 Apr 6;10(12):5341-5356. <https://doi.org/10.7150/thno.42077>
- Rauscher, A.Á.; Gyimesi, M.; Kovács, M.; Málnási-Csizmadia, A. *Trends Biochem Sci.* 2018 Sep;43(9):700-713. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.06.006>
- Dudás, E.F.; Bodor, A. Quantitative, Diffusion NMR Based Analytical Tool To Distinguish Folded, Disordered, and Denatured Biomolecules. *Anal.Chem.* 2019, 91,8,4929-4933. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05617>
- Ashkenasy, G., et al. Systems chemistry. *Chemical Society Reviews* 46.9 (2017): 2543-2554. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/CS/C7CS00117G>
- van Rossum, S. AP, et al. Dissipative out-of-equilibrium assembly of man-made supramolecular materials. *Chemical Society Reviews* 46.18 (2017): 5519-5535. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/CS/C7CS00246G>
- Dúzs, B., and Szalai I. A simple hydrogel device with flow-through channels to maintain dissipative non-equilibrium phenomena. *Communications Chemistry* 3.1 (2020):16. <https://www.nature.com/articles/s42004-020-00420-y>
- Baranyai Z, Biri-Kovács B, Krátký M, Szeder B, Debreczeni ML, Budai J, Kovács B, Horváth L, Pári E, Németh Z, Cervenak L, Zsila F, Méhes E, Kiss É, Vinšová J, Bősze S.; *J Med Chem.* 2021, 25;64(6), 2982-3005. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01399>

11. Kósa N, Zolcsák Á, Voszka I, Csík G, Horváti K, Horváth L, Bősze S, Herenyi L.; *Int J Mol Sci.* 2021, 22(5), 2457. <https://doi.org/10.3390/ijms22052457>
12. Adina Borbély, Lilla Pethő, Ildikó Szabó, Mohammed Al-Majidi, Arnold Steckel, Tibor Nagy, Sándor Kéki, Gergő Kalló, Éva Csósz, Gábor Mező, Gitta Schlosser: Structural Characterization of Daunomycin-Peptide Conjugates by Various Tandem Mass Spectrometric Techniques. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 1648. <https://doi.org/10.3390/ijms22041648>
13. Murányi, J.; Varga, A.; Gyulavári, P.; Péntes, K.; Németh, C.E.; Csala, M.; Pethő, L.; Csámpai, A.; Halmos, G.; Peták, I.; Vályi-Nagy, I. Novel Crizotinib–GnRH Conjugates Revealed the Significance of Lysosomal Trapping in GnRH-Based Drug Delivery Systems. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 5590. <https://doi.org/10.3390/ijms20225590>
14. Biri-Kovács, B.; Adorján, A.; Szabó, I.; Szeder, B.; Bősze, Sz.; Mező, G. Structure–Activity Relationship of HER2 Receptor Targeting Peptide and Its Derivatives in Targeted Tumor Therapy. *Biomolecules* 2020, 10(2), 183. <https://doi.org/10.3390/biom10020183>
15. Lv, Q.; Meng, Z.; Yu, Y.; Jiang, F.; Guan, D.; Liang, C.; Zhou, J.; Lu, A.; Zhang, G. Molecular Mechanisms and Translational Therapies for Human Epidermal Receptor 2 Positive Breast Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 2095. <https://doi.org/10.3390/ijms17122095>
16. Fehér, B., Lyngsø, J., Bartók, B., Mihály, J., Varga, Z., Mészáros, R., Pedersen, J. S., Bóta, A., Varga, I. Effect of pH on the conformation of bovine serum albumin – gold bioconjugates. *Journal of Molecular Liquids* 2020, 309, 11306. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113065>
17. Bali, K., Bak, M., Szarka, K., Juhász, G., Sáfrán, G., Pécz, B., Mihály, J., Mészáros, R. Controlling the morphology of poly(ethyleneimine)/gold nanoassemblies through the variation of pH and electrolyte additives. *Journal of Molecular Liquids* 2021, 322, 114559. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114559>
18. Banoczi, Z.; Tantos, A.; Farkas, A.; Majer, Z.; Dokus, L.E.; Tompa, P.; Hudecz, F. New m-calpain substrate-based azapeptide inhibitors. *J. Pept. Sci.* 2013, 19, 370-376. <https://doi.org/10.1002/psc.2511>
19. Zhang, Y.; Herling, M.; Chenoweth, M.D. General Solution for Stabilizing Triple Helical Collagen. *J. Am. Chem. Soc.* 2016, 138, 9751–9754. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b03823>
20. Bősze, Sz.; Zsila, F.; Biri-Kovács B, Szeder, B.; Majer, Zs.; Hudecz, F.; Uray, K. Tailoring Uptake Efficacy of HSV-1 gD Derived Carrier Peptides. *Biomolecules* 2020, 10(5), 721. <https://doi.org/10.3390/biom10050721>
21. Szigyarto, I.Cs.; Mihály, J.; Wacha, A.; Bogdán, D.; Juhász, T.; Kohut, G.; Schlosser, G.; Zsila, F.; Urlacher, V.; Varga, Z.; Fülöp, F.; Bóta, A.; Mándity, L.; Beke-Somfai, T. Membrane active Janus-oligomers of β 3-peptides. *Chem. Sci.* 2020, 11, 6868–6881. <https://doi.org/10.1039/D0SC01344G>
22. Ecsédi P, Gógl G., Hóf H., Kiss B., Harmat V., Nyitray L. Structure determination of the transactivation domain of p53 in complex with S100A4 using annexin A2 as a crystallization chaperone. *Structure* 2020, 28, 943-953.e4. <https://doi.org/10.1016/j.str.2020.05.001>
23. Bősze, Sz.; Zsila, F.; Biri-Kovács B, Szeder, B.; Majer, Zs.; Hudecz, F.; Uray, K. Tailoring Uptake Efficacy of HSV-1 gD Derived Carrier Peptides. *Biomolecules* 2020, 10(5), 721. <https://doi.org/10.3390/biom10050721>
24. Lu, S.; Jang, H.; Muratcioglu, S.; Gursoy, A.; Keskin, O.; Nussinov, R.; Zhang, J. Ras Conformational Ensembles, Allostery, and Signaling. *Chem. Rev.* 2016, 116(11), 6607-65. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00542>
25. Zhao, Q.; Fujimiya, R.; Kubo, S.; Marshall C. B.; Ikura, M.; Shimada, I.; Nishida, N. Real-Time In-Cell NMR Reveals the Intracellular Modulation of GTP-Bound Levels of RAS. *Cell. Rep.* 2020;32(8):108074. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108074>

ELTE's program of excellence to increase the capacity in synthetic chemistry and biochemistry: Synthesis+

The Latin word synthesis – assembling and uniting – is also a scientific terminus technicus referring to the production of more complex molecules or materials. Today, most of the 2,000 active compounds available in pharmacies in forms of various medications are synthetic. However, synthetic chemistry and biochemistry are much more than this; most of our clothing, equipment, vehicles, and other items of use are a cleverly assembled systems of synthetic materials. Therefore, the development and expansion of synthetic, analytical and technological knowledge and capacity is a top priority.

The **direct objective of the Synthesis+** excellence program is to develop and expand the synthetic capacity of ELTE TTK. The indirect goal of the program is to strengthen, coordinate and enhance the synergies between colleagues, working groups and communities related to synthetic works, so that we can be more effective in research and development, and bring focus to selected areas of innovation. Thus, in the forthcoming years, we plan to

- **strengthen, link and network** different synthetic and associated disciplines,
- introduce the practice of **cooperation and competition**,
- **catalyze specialty synergy**,
- promote collaboration between successful researchers and
- provide financial support for the best.

Based on their size and chemical constitution, we plan to begin with the development of four research areas : 1) organic small molecules, 2) oligo- and polypeptides, 3) proteins, and 4) bio-similars and bioassays. These four themes cover the major areas of domestic drug, fine chemicals and agrochemistry, requiring broad-profile cooperation.

1) In the context of the structure-activity relationship (QSAR), we start or continue to develop small organic molecules. We will work on the synthesis and cost-effective scale-up of naturally occurring bioactivity compounds, potential active agents, targeting their market exploitation. Furthermore, we will work on the design and synthesis of skeletal and fragment-based compounds.

2) We will develop amino acid, peptide, and protein fragment-based active substances as guiding (targeting?) peptides and bifunctional linker libraries for personalized medicine, producing a large number of specific and selective peptide conjugates. We will produce and test radiotherapy and diagnostic (PET, MRI) products in cooperation with external partner institutions

(e.g. National Oncology Institute and SE). We will develop a new flow-chemistry method for the efficient and environmentally friendly synthesis of polypeptides.

3) Bacterial expression systems will be developed and optimized for fermentation to aid the production of isotopically labeled proteins. We will produce key proteins according to research and market needs, develop and analyze lead molecules related to certain diseases (e.g. type 2 diabetes, neurodegenerative diseases, oncogenic and muscle proteins, steroid-resistant kidney disease,..).

4) The development of biosimilar molecules (/materials?) and bioassays is a key economic challenge. Protein-based in vitro drug tests and in vivo disease models will be developed to test potential active ingredients, lead compounds etc. of section 3.

Many of the scientists, chemists and biologists involved in these projects are internationally well-known researchers. Excellent synthetic chemists and biochemists, spectroscopists, molecular modelers, applied quantum chemists, material scientists, biocompatible and bioactive molecule specialists as well as researchers of outstanding scientific indicators form the core team of this excellence program. They all have prestigious international connections and scientific networks and are members of important international panels, boards and committees.

In summary, we will catalyze, strengthen and make more efficient our current synthetic capacities exactly where our scientific community needs it the most. This excellence program will be developed, partly based on previous pilot studies (e.g. MedInProt / ELTE, HunProtExc / NKFIH, Research Groups / MTA-ELTE, etc.), alongside the development of established and proven structures. We also want to provide an opportunity

- to formulate and start **new research topics**,
- to stimulate **researcher mobility**,
- to enhance effective and efficient **cooperation**,
- to create a XXI. century synthetic **research environment**,
- to build bridges toward the industry.

Relying on the experience-pool of previous integration and cooperation projects, the aim of the Synthesis+ excellence program is the introduce synergy between researchers of synthetic chemistry and biology and thereby strengthen their integration so that we can be even more efficient, competitive and successful.

Szelektív MCL-1 inhibitorok felfedezése

KOTSCHY András*

Servier Kutatóintézet Zrt., Záhony u 7., 1031 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A programozott sejthalál, és ennek egyik fontos formája, az apoptózis a vesélyt jelentő sejtek eltávolításának egyik fontos útvonala.¹ Az apoptózis elkerülése a rák kifejlődésének és a különböző terápiás kezelésekkel szembeni rezisztencia kialakulásának alapjelensége.² Az általunk vizsgált MCL-1 fehérje a BCL-2 fehérjecsald tagja, mely fehérjecsald felelős a mitokondriális apoptózis kontrolljáért. A ráksejtekben mennyiségük, különösen az MCL-1-é, gyakran emelkedett.³ Több leírt, a génextpressziót vagy fehérjeszintézist általánosan gátló gyógyszerjelölt tumorsejtekre kifejtett citotoxikus hatásáért is (legalább részben) az MCL-1 fehérje szintjének csökkentése felel.⁴

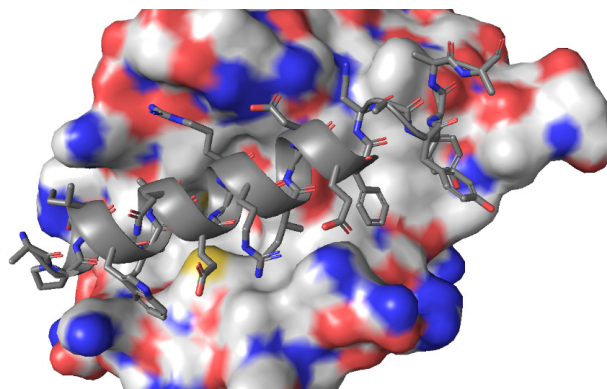
Ezen előzmények után nem meglepő, hogy a BCL-2 fehérjecsald és azon belül az MCL-1 is évtizedek óta a gyógyszerkutatók célpontjában van. A kitartó munka eredményeként a szelektív BCL-2 inhibitor venetoclax (Venclexta®) mára engedélyezett gyógyszer a CLL (krónikus limfocitás leukémia) és AML (akut mieloid leukémia) betegek gyógyításában.⁵ Az első hatékony és szelektív MCL-1 gátlók megjelenéséig 2016-ig kellett várni. E vegyületek közül több jelenleg klinikai vizsgálati fázisban van.⁶ Jelen közleményben az elmúlt évtizedben az MCL-1 gátlók felfedezése terén végzett kutatásainkról adunk áttekintést.

2. Saját eredmények

A gyógyszerkutatói program elején létre kellett hoznunk a szükséges eszköztárat, melynek segítségével a kémiai kiindulópontként szolgáló fragmenseket azonosítani tudtuk.⁷ A folyamat következő stádiumában a fragmenseket az MCL-1-et szelektíven gátló, sejtes aktivitást mutató vezérmolekulává fejlesztettük.⁸ Ezt a vezérmolekula optimalizálásával nyert, *in vivo* aktivitást mutató S63845 molekula azonosítása követte, mely már alkalmas volt a célpont biológiai validálására is.⁹ A folyamat záró fázisában a további optimalás eredményeként eljutottunk az S64315 klinikai kandidátushoz, melynek humán vizsgálata jelenleg is zajlik.¹⁰

Egy gyógyszerkutatói program elindításakor nélkülözhetetlen a megfelelő reagensek előállítása és a vizsgálati módszerek kifejlesztése és validálása. A sejtekben a programozott sejthalál féken tartásáért az úgynevezett antiapoptotikus BCL-2 fehérjecsald (BCL-2, BCL-x₁, MCL-1, BCL-w, BFL-1) és a sejthalált előidéző ún. BH3 fehérjék (pl. BIM, BAD, BAX, NOXA, PUMA) egyensúlya felel. E

két család elemei egymással stabil komplexeket alkotnak, így a citoszolban alacsony a szabad BH3 fehérjék szintje. Az 1. ábra az MCL-1 és BIM fehérjék komplexének röntgenszerkezetét mutatja. Gyógyszerkutatói programunk alapfeltevése az volt, hogy amennyiben egy, az MCL-1-hez erősen kötődő kismolekula segítségével ki tudjuk szorítani a BIM-et és rokonfehérjét az MCL-1-gyel alkotott komplexeikből a ráksejtben, akkor a citoszolban feldúsuló BH3 fehérjék visszafordíthatatlanul elindítják a programozott sejthalált, ami a ráksejt pusztulásához vezet. Míg az egészséges sejtek általában a BCL-2 fehérjecsald több tagjára is támaszkodnak a belső egyensúly fenntartásában, addig a ráksejtekben jellemzően egy-egy antiapoptotikus fehérje feldúsulása biztosítja a ráksejt túlélését, így az MCL-1 függő daganatok esetében bízhattunk ezen sejtek szelektív elpusztításában.



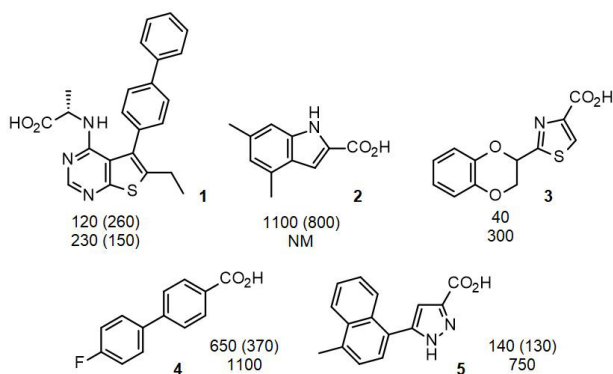
1. Ábra. Humán MCL-1 fehérje BIM komplexének röntgenszerkezet (PDB:6QF1)

A helikális elrendeződést mutató BH3 fehérjék nM affinitással kötődnek a BCL-2 család tagjaihoz. A fehérje-fehérje kölcsönhatási felület, az ún. „BH3-groove” viszonylag hidrofób, kevés erős kölcsönhatásra ad lehetőséget a kismolekula és a célfehérje között. Emiatt sokáig elképzelhetlennek tartották, hogy gyógyszer fejleszthető e megközelítéssel (ún. undruggable célpont). A kutatói folyamat elején előállítottuk a 350 aminosavból álló humán MCL-1 fehérje BH3 kötőrégióját (171-327 aminosavak), mely alkalmas volt biofizikai vizsgálatok, pl. izotermális titrálós kalorimetria (ITC) elvégzésére, és melynek a BIM-mel alkotott komplexét sikeresen kristályosítottuk (1. ábra). A BIM fehérje fluoreszcensen jelölt analogonjait felhasználva olyan fluoreszcencia polarizáció (FP) mérésen alapuló módszert dolgoztunk ki, amellyel nagy áteresztőképességgel határozhattuk meg a vegyületeink MCL-1-hez való kötődését az 1 nM – 100 μM tartományban.⁷

* Tel.: +36-1-881-2000; e-mail: andras.kotschy@servier.com

2.1. Kiindulópontok azonosítása

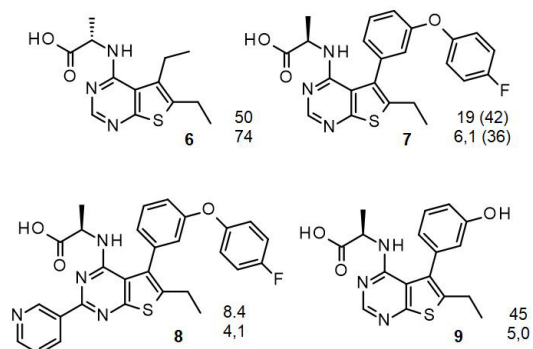
A kémiai kiindulópontok azonosítására NMR alapú fragmensszűrést használtunk, melynek során 8 fragmensből álló keverékekhez adtuk az MCL-1 fehérjét és vizsgáltuk a fragmensekre jellemző ^1H NMR jelek intenzitásának változását különböző mérési módszerek (STD, water-LOGSY, CPMG) között. Annak bizonyítására, hogy egy adott fragmens a BH3 fehérje helyére köt, a méréseket elvégeztük hozzáadott NOXA fehérje jelenlétében is. Több mint 1100 fragmensből kiindulva 40 olyan vegyületet azonosítottunk, melyek több technikával vizsgálva is kötődést mutattak és a NOXA hatására megszűnt a kötődésük. Mivel a BCL-2 fehérjecsaldón belül fontos volt az MCL-1 szelektív gátlása, így a fragmensek esetében az MCL-1 mellett a BCL-2-höz való kötődésüket is vizsgáltuk FP módszerrel. A 2. ábra néhány fragmens találat szerkezetét, valamint az MCL-1 és BCL-2 kötődési értékeit mutatja be. Ezen vegyületek (1-5) közös jellemzője, hogy a μM tartományban kötődnek a célfehérjéhez és nem mutatnak szelektivitást a BCL-2 fehérjével szemben. Mind az öt fragmens találat karbonsav részletet tartalmaz, amely az MCL-1 fehérje egyik Arg oldalláncával képez ionos kapcsolatot. Ennek hiányában a fragmensek kötődése több nagyságrenddel gyengül. E gyengén kötődő fragmensek esetében célszerű a fehérjekötődési vizsgálatokat két különböző elven működő (ún. ortogonális) módszerrel is elvégezni. A mi esetünkben NMR HSQC titrálásokat, valamint izotermális titrálási kalorimetriát (ITC) használtunk erre a célra, melyek az elsődleges FP mérésekhez hasonló eredményt adtak.



2. Ábra. Az NMR fragmensszűréssel azonosított néhány találat szerkezete, MCL-1 (felső szám) és BCL-2 (alsó szám) kötődése FP mérésekből számított eK_i értékek μM -ban kifejezve, zárójelben HSQC NMR K_d értékek. NM – nem mérhető 2,5 mM koncentrációig.

Az azonosított fragmensek MCL-1 komplexeiről nem sikerült szerkezeti információt szereznünk, így a validálás során szisztematikusan változtattuk a szerkezetüket és vizsgáltuk ennek hatását az MCL-1-hez való kötődésükre. Az elsődleges eredmények alapján figyelmünk elsősorban a tieno[2,3-*d*]pirimidinvázis 1 fragmens származékaira összpontosult. Ennek az alapváznak előnye, hogy a gyűrűrendszer szénatomjaira a különböző helyettesítők beépítése általában jó hatékonysággal megoldható. Így előállítottuk többek között a kisméretű helyettesítőket hordozó 6 vegyületet, melynek affinitása hasonló volt a kiindulópontunkhoz

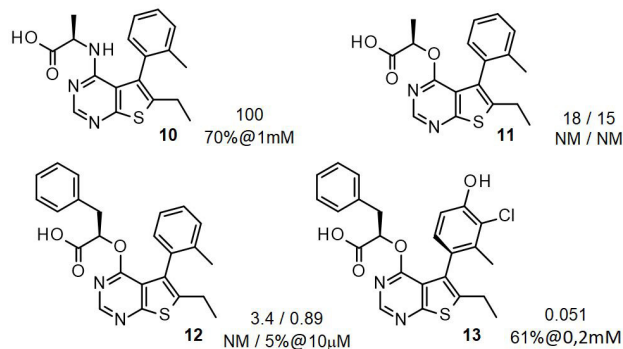
(3. Ábra). A gyűrűváz 5-ös helyzetébe difeniléter-csoportot építve (7) mind az MCL-1, mind a BCL-2 affinitás $20 \mu\text{M}$ alá csökkent, amit az NMR K_d mérések is megerősítettek. További, hasonló mértékű javulást értünk el, amikor a pirimidingyűrű 2-es helyzetébe aromás helyettesítőt építettünk be (8). Ezek a változtatások látszólag jó irányba vezetnek, de ha figyelembe vesszük, hogy milyen mértékű móló-meg növekedést „szenvedett el” a molekulánk, akkor rögtön látszik, hogy nem hatékonyak. Jól példázza ezt a 9-es molekula is, mely jóval kisebb mérete ellenére számottevő kötődést mutat mindkét vizsgált fehérjéhez, így öt választottuk a további fragmensoptimalás kiindulópontjának. A részletesebb szerkezet-hatás összefüggést vizsgálva arra a következtetésre jutottunk, hogy ezen kisméretű vegyületek esetében többféle kötődési mód is előfordulhat, ami nehezíti az eredmények értelmezését.



3. Ábra. A tienopirimidin-vázis fragmens találat kémiai validálása. MCL-1 (felső szám) és BCL-2 (alsó szám) kötődés FP mérésekből számított eK_i értékek μM -ban kifejezve, zárójelben HSQC NMR K_d értékek.

2.2. Fragmens optimalása vezérmolekulává

A 9-es fragmens optimalásának egyik fontos része volt az 5-ös helyzetű benzolgyűrű szubsztitúciós mintázatának változtatása (4. Ábra). E folyamat során váratlan módon, a fenilcsoportot *ortho*-tolilra cserélve (10), jelentős változást értünk el a vegyület szelektivitásában. Míg az MCL-1-hez való kötődés a μM tartományban maradt, a BCL-2 kötődés elromlott.

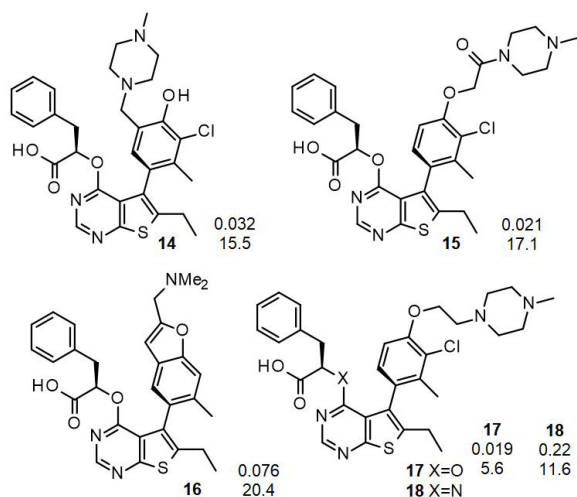


4. Ábra. A tienopirimidin-vázis fragmens optimalásának korai fázisa. MCL-1 (felső szám) és BCL-2 (alsó szám) kötődés FP mérésekből számított eK_i értékek μM -ban kifejezve. Részleges görbe esetén a legnagyobb koncentrációnál mért hatást tüntettük fel. NM – nem mérhető 2,5 mM koncentrációig.

Még markánsabb lett ez a hatás, amikor az aminosavat hidroxisavra cseréltük. Az *ortho*-tolil helyettesítő gátolt rotációja miatt a **11** vegyület diasztereomerek keverékékként keletkezett, melyeket kromatográfiásan el tudtunk választani. Mindkét atropoizomer hasonló, 20 μM alatti affinitást mutatott az MCL-1-hez, míg BCL-2 kötődésük nem volt mérhető.

A tejsav részlet növelésével (**12**) szintén számottevő javulást sikerült elérnünk: az MCL-1 kötődést a nM tartományba vittük, míg a szelektivitás továbbra is jelentős maradt. Hasonló, majd további hússzoros javulást értünk el a benzolgyűrű szubsztitúciós mintázatának finomhangolásával. A **13**, diasztereoiszomertiszta vegyület 51 nM kötődést mutatott az MCL-1 fehérjéhez. Ebben szerepet játszott az aromás gyűrűhöz kapcsolódó klóratom és a fehérje peptidvázának egy közeli karbonilcsoportja között kialakuló másodlagos kölcsönhatás, ún. halogénkötés is, mely a röntgenszerkezetekben jól látható.

Bár az előállított vegyületeink hatékonyan és szelektíven kötődtek az MCL-1 fehérjéhez, a sejtes vizsgálatok során nem mutatták a várt apoptózis indukáló hatást. Feltételezésünk szerint ennek elsődleges oka a gyenge sejtpenetrációs készség lehetett, amely elsősorban a karboxilcsoport fiziológiai körülmények között mutatott állandó negatív töltéséből eredhetett. Ennek ellensúlyozására különböző bázikus csoportokat építettünk be molekulánk aromás gyűrűjére (5. Ábra). A szerkezeti biológiai vizsgálatok egyértelműen mutatták, hogy ezek a csoportok az oldószerszféra felé néznek, így nem rontják el a fehérjéhez való kötődést. A **14** vegyület például 32 nM kötődést mutatott és mellette a H929 sejtvonalon vizsgálva megfigyeltük a programozott sejthalál beindítását 15,5 μM IC_{50} értékkel.



5. Ábra. Az MCL-1 gátló vezérmolekula kiválasztása. MCL-1 kötődés FP mérésekből számított eKi értéke μM -ban kifejezve (felső szám) és H929 sejtpusztítás IC_{50} értéke μM -ban kifejezve MTT módszerrel (alsó szám).

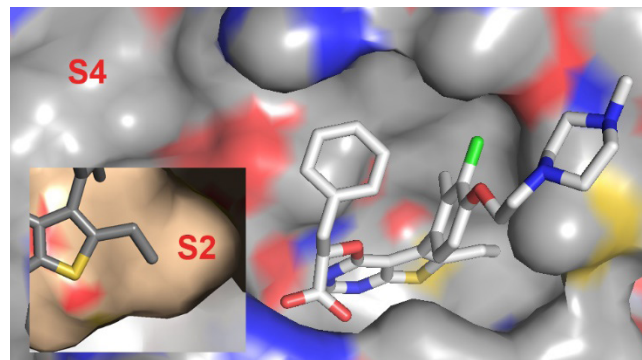
A **15** és **16** vegyületek hasonló affinitást és sejtes aktivitást mutattak, megerősítve, hogy a bázisos nitrogén jelenléte fontos, míg pontos elhelyezkedése kevésbé. Ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a nitrogénatom megfelelő bázis-

citása kulcsfontosságú volt a sejtes aktivitás szempontjából. Az aminocsoport változtatása általában a sejtes aktivitás gyors letöréséhez vezetett.

A legjobb affinitást és sejtes aktivitást abban az esetben értük el, amikor a bázikus csoportot etilénláncon keresztül kötöttük a fenol részlethez. A számos vizsgált amin közül az *N*-metil-piperazin részlet esetében (**17**) kiváló 19 nM kötődést és 5,6 μM sejtes aktivitást mértünk. A vegyület diasztereoiszomerei kivétel nélkül jóval gyengébb kötődést mutattak. Elkészítettük e molekula aminosav analogonját is (**18**), amely valamivel gyengébb kötődést és aktivitást mutatott a hidroxisavnál. A **17** vegyületet részletes jellemzése (*in vitro* ADME és biztonságossági vizsgálatok, *in vivo* PK) után vezérmolekulának tekintettük és belőle kiindulva folytattuk az optimalizációs folyamatot.

2.3. A vezérmolekula optimalizálása és a célpont biológiai validálása

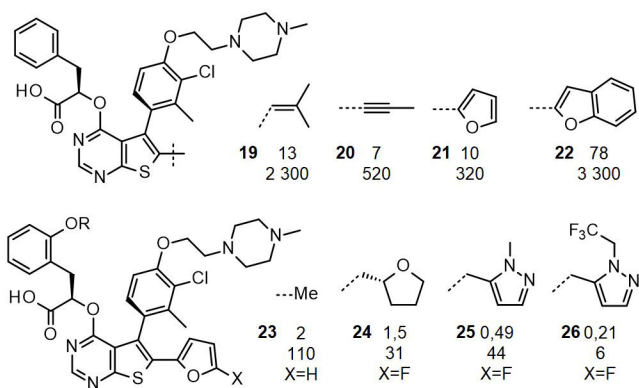
A kutatás ezen stádiumában sikerült meghatározni a **17** MCL-1-gyel alkotott komplexének röntgenkristallográfiás szerkezetét (6. Ábra). A tienopirimidin részlet a fehérje ún. S2-es kötőzsebébe mélyen benyúlik és azt szinte teljesen kitölti. E régióban az egyetlen növekedési lehetőségnek (6. Ábra kiegészítő kép) a gyűrűváz 6-os helyzetű etilcsoportjának kismértékű változtatása tűnt. Az 5-ös helyzetű tetraszubsztituált benzolgyűrű esetében nem láttuk értelmét a további átalakításoknak. A 4-es helyzetű tejsavszármazék esetében az építkezés kézenfekvő helye a fenilcsoport volt, ezen belül is a benzolgyűrű *ortho*-helyzete, mely lehetőséget kínált a fehérje távolabbi, ún. S4 kötőzsebének elérésére.



6. Ábra. A **17** vezérmolekula MCL-1 komplexének röntgenszerkezete (PDB:6QYO). A kiegészítő kép az S2 kötőzseb egy részletét mutatja.

A vezérmolekula optimalizálását az S2 kötőzsebbe nyúló etilcsoport változtatásával kezdtük. A szerkezeti információk alapján azt vártuk, hogy csak minimális átalakítást végzhetünk a hatóanyagunkon az MCL-1-hez való kötődés elrontása nélkül. Örömmel tapasztaltuk, hogy a telítetlen oldalláncot hordozó 2-metil-propénil- (**19**) és 1-propénil-származék (**20**) is jelentős affinitást mutatott és emellett a sejtes aktivitásuk is számottevően javult (7. Ábra). Ugyanakkor meglepő eredmény volt a nagyobb térigényű furil oldalláncot hordozó **21** vegyület 10 nM kötődése és 320 nM sejtes aktivitása. A röntgenszerkezet alapján e csoport már nem fért volna be az S2-es kötőzsebbe, ezért a

kötődés csökkenésére számítottunk. Az eredmények arra utaltak, hogy az MCL-1 fehérje számottevő konformációs mozgékonyssággal rendelkezik és képes úgy átrendeződni, hogy helyet biztosítson az öttagú heterociklusnak. A nagyobb térigényű kétyűrűs benzofuril-csoportot is beépítettük a tienopirimidin 6-os helyzetébe (**22**). Bár a kötődés számottevő maradt, de a furánanalogonhoz képest elromlott, ami arra utalt, hogy elértük a fehérje kötőzsebe befogadóképességének határát.



7. Ábra. Az MCL-1 gátló vezérmolekula optimalása az S2 és S4 kötőzsebben. A vegyületek MCL-1 kötődésének FP (**19-23**) és QA (**24-26**) mérésekből számított eK_1 értéke nM-ban kifejezve (felső szám) és H929 sejtpusztítás MTT módszerrel mért IC_{50} értéke nM-ban kifejezve (alsó szám).

A 6-os helyzetű furángyűrűt rögzítve belefogtunk a tejsav fenilcsoportjának változtatásába. Egyszerű metoxycsoportot beépítve (**23**) a sejtes aktivitást sikerült 110 nM-ra javítanunk, míg az MCL-1 kötődés elérte a vizsgálati módszerünk alsó határának számító 1-2 nM tartományt, ezért a továbbiakban egy új, ún. „quench assay-t” (QA) vezetünk be, melynek alsó mérési határa az alacsony pikomólos tartományban volt. Hasonló további előrelépést, 1,5 nM kötődést és ezzel együtt 31 nM aktivitást hozott a tetrahydrofuranil-metil helyettesítő és a furilcsoport 5-ös helyzetébe egy fluoratom egyidejű beépítése (**24**).

Hasonló *in vitro* tulajdonságokkal rendelkezett a pirazolil-metil-csoportot hordozó **25** vegyület is (7. Ábra). E vegyületet mutatott sajátosságai miatt *in vivo* vizsgálatoknak is alávetettük. Mivel farmakokinetikai sajátosságai alapján megfelelő expozícióra számíthatunk intravénás adagolás esetén, így az MCL-1 gátlásra érzékeny AMO1 ráksejtvonalat egérbe ültettük (xenograft) és az egereket **25** oldatával kezeltük. A hatóanyag adagolása után adott idővel a daganatos sejteket vizsgálva megállapítottuk, hogy dózisfüggő mértékben sikerült apoptózis indukciót kiváltanunk, amelyet a folyamatra jellemző PARP hasítás mértékével jellemeztünk (1. Táblázat). Mivel 25 mg/kg dózisban adva még 16 óra elteltével is jelentős farmakodinámiás (PD) jelet mértünk, így megvizsgáltuk azt is, hogy a **25** vegyületet 5 egymást követő napon (QD5) ebben a dózisban adagolva hogyan változik az egérbe ültetett daganat mérete (1. Táblázat). A kezelés alatt tumor regressziót észleltünk és a kezelés leállítását követően majd 3 hétig tartott mire az újra növekedő daganatok mérete elérte a határként kijelölt 500 mm³-t.

A szerkezeti vizsgálatok kimutatták, hogy **25** pirazolrészletének nitrogénatomja kiválóan alkalmas a vegyület további növelésére és ennek szisztematikus változtatásával jutottunk a **26**-os vegyülethez, amely S63845 jelöléssel került leírásra. **26** affinitásában érdemi előrelépést észleltünk és sejtes aktivitása is kiemelkedő volt (IC_{50} =6 nM). A farmakodinámiás vizsgálatok azt mutatták, hogy **26** 12,5 mg/kg-os dózisban is tartós apoptózis indukciót váltott ki és hatékonyan gátolta a daganat növekedését is ebben a dózisban (1. Táblázat). E vegyület biológiai aktivitása lehetővé tette, hogy az MCL-1 gátlás biztonságosságával kapcsolatos vitás kérdésekre is választ kapjunk. Az MCL-1 fehérjét nélkülöző (ún. knock-out, vagy KO) genetikusan módosított egerek ugyanis káros szervi elváltozásokat mutattak és kérdéses volt, hogy ezek az MCL-1 biológiai funkciójából (programozott sejthalál szabályozása), vagy esetleg más szerepből eredtek (pl. fehérjekomplexekben betöltött szerkezet összetartó funkció). MCL-1 függő rákot hordozó egér betegségmodellben sikerült **26** adagolásával az állatok jelentős részét tartósan meggyógyítani, miközben az állat egyéb szerveiben nem észleltünk káros elváltozást.⁹ Ezen eredményekből bizalmat merítve léptünk be az optimálási folyamat záró stádiumába.

1. Táblázat. Farmakodinámiás aktivitás 12,5 mg/kg dózisban, i.v. bólus adagolás után 16 óra elteltével (n=3) és tumornövekedés-gátlás AMO1 egér xenograft modelben QD5 i.v. bólus adagolással (n=8).

	PD válasz	dózis (mg/kg)	%TGI (nap)	%TGI max (nap)	Relapszus ^a
25	55 ^b	25	120,5 (7)	147,5 (2)	23
26	309	12,5	118,9 (7)	152,8 (2)	32
28	129	12,5	120 (7)	134,6 (4)	28
30	237	6,25	106 (7)	132,4 (2)	14
31	285	6,25	189,5 (4)	189,5 (4)	38
32	60	6,25	121,2 (4)	130,8 (2)	21

^a A kezelés után eltelt idő, mikorra a csoport medián tumormérete eléri az 500 mm³-t.

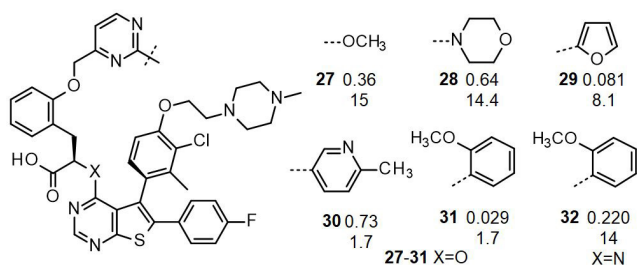
^b 25 mg/kg dózisban adagolva.

2.4. A klinikai gyógyszerjelölt kiválasztása

Bár **26** kiemelkedő affinitással és szelektivitással kötődött az MCL-1 fehérjéhez, és ezen keresztül sejthalált indukált mind *in vitro*, mind *in vivo* betegség modellekben, a fluorfuril-csoport jelenlétéből eredő fényérzékenysége miatt nem léphetett tovább a kutatás-fejlesztési folyamatban. A fényérzékenység kiküszöbölésére a hasonló szerkezetű 4-fluorfenil helyettesítő beépítése jelentett megoldást. A késsői vezérmolekula-optimalás a **27** metoxi-pirimidin-származékból indult (8. Ábra). Ez a vegyület 360 pM affinitás mellett 15 nM sejtes aktivitást mutatott. A metoxycsoport morfolinra való cseréje (**28**) bár kissé csökkentette az affinitást, de megőrizte a sejtes aktivitást. Amennyiben **28**-at a farmakodinámiás modellben vizsgáltuk, számottevő biológiai választ észleltünk (1. Táblázat). Örömmel láttuk, hogy

a tumoros egereket kezelve tartós tumorregressziót értünk el és a kezelés befejezése után 24 nappal érte csak el a tumorok átlagos mérete az 500 mm³-t.

A pirimidinyűrű helyettesítője az S4-es kötőzsebben foglal helyet, amely viszonylag kevés kölcsönhatási pontot kínál. A poláris alifás csoportokat a heteroaromás 2-furil-csoportra cserélve (**29**) mégis számottevő affinitásnövekedést (81 pM) értünk el, ami a sejtes aktivitás javulásában is megmutatkozott. Érdekes változást hozott a 4-metil-3-piridil helyettesítő beépítése. Bár a **30**-as vegyület affinitása 730 pM-ra nőtt, sejtes aktivitása ugyanakkor 1,7 nM-ra csökkent. A két érték eltérő irányú változásáért feltehetően a megjavult sejtbejutási képesség felel. Az *in vivo* vizsgálat során **30** kiemelkedő farmakodinámiás aktivitást mutatott: a PARP fehérje hasított formájának mennyisége 16 óra elteltével 237-szeresére nőtt (1. Táblázat), amely az eddig mért legmagasabb érték. A kiváló PD válasz előrevetítette a vegyület tumornövekedés gátló hatását is. QD5 adagolást követően a korábbiakhoz képest csökkentett, 6,25 mg/kg dózisban adagolva is értékelhető regressziót értünk el és a daganatok ismételt növekedését is sikerült késleltetni.



8. Ábra. Az MCL-1 gátló vezérmolekula optimalizálásának záró szakasza. A vegyületek MCL-1 kötődésének QA mérésekből számított eK_d értéke nM-ban kifejezve (felső szám) és H929 sejtpusztítás MTT módszerrel mért IC₅₀ értéke nM-ban kifejezve (alsó szám).

Számos további helyettesítőt is megvizsgálva a legjobb eredményt a **31**, 2-metoxifenil-csoporttal módosított vegyülettel értük el. Az S64315 néven preklinikai fejlesztésre kiválasztott vegyület 29 pM affinitást mutatott az MCL-1 fehérjéhez és 1,7 nM sejtes aktivitása is kiváló. Jó farmakokinetikai sajátságai miatt az *in vivo* PARP hasítási vizsgálatokban (PD) is kiválóan szerepelt és a tumornövekedés gátlása terén is a legjobb volt: a kezelés végére szinte teljesen eltűntek a tumorok a vizsgálati egerekből és a visszanyerésüket a kezelések befejezése után sikerült egy hónappal késleltetni (1. Táblázat). A vegyületet egyéb, itt nem részletezett tulajdonságai is alkalmassá tették a fejlesztésre,¹⁰ ami a jelenleg is folyó klinikai vizsgálatokban teljesedett ki. Előállítottuk a preklinikai kandidátus aminosav analogonját is. A **32** vegyület 220 pM affinitása és 14 nM sejtes aktivitása is némiképp elmaradt **31**-től. Bár **32** az *in vivo* farmakodinámiás és tumornövekedés gátlás vizsgálatokban is értékelhető aktivitást mutatott, ez jelentősen elmaradt a hidroxisav analogontól.

3. Összefoglalás

NMR alapú szűrés segítségével több olyan fragmenst sikerült azonosítanunk, melyek kötődést mutattak az MCL-1 fehérje BH3 kötőrégiójához. Ezek a fragmensek, melyek kötődését ortogonális módszerek is igazolták, általában a fehérjecsalád több tagjához is kötődtek. A fragmens találatok szisztematikus kémiai változtatását követően a tieno[2,3-*d*] pirimidin alapvázat tartalmazó sorozatot választottuk ki további optimalásra. Ennek során áttörést hozott a felismerés, hogy az alapváz 5-ös helyzetébe orto-helyettesítőt hordozó aromás gyűrűt építve kiváló szelektivitást érhetünk el a fehérjecsaládon belül az MCL-1 fehérje gátlásában. Ez a kémiai változtatás egy újabb kiralitáselem megjelenését eredményezte. Az atropoizomerek kromatográfiásan elválaszthatóak voltak és megfelelő stabilitást mutattak a vizsgálati körülmények között. A helyettesítők további finomhangolásával és egy bázikus nitrogén beépítésével sikerült sejtes aktivitást mutató vezérmolekuláig jutnunk.

A vezérmolekula optimalizálását szerkezeti biológiai információ is segítette. Ennek során megfigyeltük, hogy az MCL-1 fehérje képes volt olyan molekulákkal is erős kölcsönhatást kialakítani, amelyek a rendelkezésre álló szerkezeti adatok alapján nem fértek volna el a kötőzsebben. A további kémiai változtatások eredményeként sikerült a kötődést és a sejtes aktivitást is olyan mértékben javítanunk, hogy a vegyületeink *in vivo* modellekben is képesek voltak beindítani a programozott sejtthalált. A kutatási program ezen stádiumában, hála a rendelkezésre álló vegyületek hatékonyságának, megnyugtató választ tudtunk adni az MCL-1 fehérje gátlásának biztonságosságával kapcsolatos felvetésekre is. A vezérmolekula további finomhangolásával S64315-höz jutottunk, amit előnyös tulajdonságai miatt kiválasztottunk preklinikai fejlesztésre. A vegyület jelenleg klinikai vizsgálati fázisban van S64315/MIK665 kódneven.

Köszönetnyilvánítás

A fenti eredmények egy többrésztvevős nemzetközi kutatás során születtek. Ezúton köszönöm az összes szabadalmi bejelentés és közlemény társszerzőinek lelkiismeretes munkájukat az elmúlt évtizedben, valamint a Servier Kutatóintézet kollektívájának, és azon belül is kiemelten az Analitikai Kémiai Divízió munkatársainak folyamatos és magas szintű támogatását!

Hivatkozások

1. Green, D. R.; Llambi, F. Cell Death Signaling. *Cold Spring Harbour Perspect. Biol.* **2015**, *7*, 1-24.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006080>
2. Hanahan, D.; Weinberg, R. A. *Cell* **2011**, *144*, 646-674.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
3. Beroukhi, R.; Mermel, C. H.; Porter, D.; Guo Wei, Raychaudhuri, S.; Donovan, J.; Barretina, J.; Boehm, J. S.; Dobson, J.; Urashima, M.; Mc Henry, K. T.; Pinchback, R. M.; Ligon, A. H.; Cho, Y.-J.; Haery, L.; Greulich, H.; Reich, M.; Winckler, W.; Lawrence, M. S.; Weir, B. A.; Tanaka, K. E.; Chiang, D. Y.; Bass, A. J.; Loo, A.; Hoffman, C.; Prensner, J.; Liefeld, T.; Gao, Q.; Yecies, D.; Signoretti, S.; Maher, E.; Kaye, F. J.; Sasaki, H.; Tepper, J. E.; Fletcher, J. A.; Taberero, J.; Baselga, J.; Tsao, M.-S.; Demicheli, F.; Rubin, M. A.; Janne, P. A.; Daly, M. J.; Nucera, C.; Levine, R. L.; Ebert, B. L.; Gabriel, S.; Rustgi, A. K.; Antonescu, C. R.; Ladanyi, M.; Letai, A.; Garraway, L. A.; Loda, M.; Beer, D. G.; True, L. D.; Okamoto, A.; Pomeroy, S. L.; Singer, S.; Golub, T. R.; Lander, E. S.; Getz, G.; Sellers, W. R.; Meyerson, M. *Nature* **2010**, *463*, 899-905.
<https://doi.org/10.1038/nature08822>
4. a) Wei, G.; Margolin, A. A.; Haery, L.; Brown, E.; Cucolo, L.; Julian, B.; Shehata, S.; Kung, A. L.; Beroukhi, R.; Golub, T. R. *Cancer Cell* **2012**, *21*, 547-562.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.028>
b) Barlaam, B.; De Savi, C.; Drew, L.; Ferguson, A.; Ferguson, D.; Gu, C.; Hawkins, J. W.; Hird, A.; Lamb, M.; O'Connell, N.; Pike, K.; Proia, T.; San Martin, M.; Vasbinder, M.; Varnes, J.; Wang, J.; Shao, W. *Cancer Research*, **2018**, *78*, 1650-1650.
<https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2018-1650>
5. Juin, P.; Geneste, O.; Gautier, F.; Depil, S. & Campone, M. *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 455-465.
<https://doi.org/10.1038/nrc3538>
6. a) Caenepeel, S.; Brown, S. P.; Belmontes, B.; Moody, G.; Keegan, K. S.; Chui, D.; Whittington, D. A.; Huang, X.; Poppe, L.; Cheng, A. C.; Cardozo, M.; Houze, J.; Li, Y.; Lucas, B.; Paras, N. A.; Wang, X.; Taygerly, J. P.; Vimolratana, M.; Zancanella, M.; Zhu, L.; Cajulis, E.; Osgood, T.; Sun, J.; Damon, L.; Egan, R. K.; Greninger, P.; McClanaghan, J. D.; Gong, J.; Moujalled, D.; Pomilio, G.; Beltran, P.; Benes, C. H.; Roberts, A. W.; Huang, D. C.; Wei, A.; Canon, J.; Coxon, A.; Hughes, P. E. *Cancer Discov.* **2018**, *8*, 1582-1597.
<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0387>
b) Tron, A.E.; Belmonte, M.A.; Adam, A.; Aquila, B.M.; Boise, L.H.; Chiarparin, E.; Cidado, J.; Embrey, K.J.; Gangl, E.; Gibbons, F.D.; Gregory, G.P.; Hargreaves, D.; Hendricks, J.A.; Johannes, J.W.; Johnstone, R.W.; Kazmirski, S.L.; Kettle, J.G.; Lamb, M.L.; Matulis, S.M.; Nooka, A.K.; Packer, M.J.; Peng, B.; Rawlins, P.B.; Robbins, D.W.; Schuller, A.G.; Su, N.; Yang, W.Z.; Ye, Q.; Zheng, X.L.; Secrist, J.P.; Clark, E.A.; Wilson, D.M.; Fawell, S.E.; Hird, A.W. *Nature Comm.* **2018**, *9*, 5341.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-07551-w>
- c) Shaw, S.; Bian, Z.; Zhao, B.; Tarr, J. C.; Veerasamy, N.; Ok, K.; Johannes Belmar, L.; Arnold, A. L.; Fogarty, S. A.; Perry, E.; Sensintaffar, J. L.; Camper, D. V.; Rossanese, O. W.; Lee, T.; Olejniczak, E. T.; Fesik, S. W. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 2410-2421.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01155>
- d) Bruncko, M.; Wang, L.; Sheppard, G. S.; Phillips, D. C.; Tahir, S. K.; Xue, J.; Erickson, S.; Fidanze, S.; Fry, E.; Hasvold, L.; Jenkins, G. J.; Jin, S.; Judge, R. A.; Kovar, P. J.; Madar, D.; Nimmer, P.; Park, C.; Petros, A. M.; Rosenberg, S. H.; Smith, M. L.; Song, X.; Sun, C.; Tao, Z.-F.; Wang, X.; Xiao, Y.; Zhang, H.; Tse, C.; Levenson, J. D.; Elmore, S. W.; Souers, A. J. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2180-2194.
<https://doi.org/10.1021/jm501258m>
7. Murray, J.; Davidson, J.; Chen, I.; Dokurno, P.; Davis, B.; Harris, R.; Jordan, A.; Matassova, N.; Pedder, C.; Ray, S.; Roughley, S.; Smith, J.; Walmsley, C.; Wang, Y.; Whitehead, N.; Williamson, D.; Casara, P.; Le Diguarher, T.; Hickman, J.; Stark, J.; Kotschy, A.; Geneste, O.; Hubbard, R.E. *ACS Omega* **2019**, *4*, 8892-8906.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00611>
8. Szlavik, Z.; Ondi, L.; Csékei, M.; Paczal, A.; Szabó, Z.B.; Radics, G.; Murray, J.; Davidson, J.; Chen, I.; Davis, B.; Hubbard, R.E.; Pedder, C.; Dokurno, P.; Surgenor, A.; Smith, J.; Robertson, A.; LeToumelin-Braizat, G.; Cauquil, N.; Zarka, M.; Demarles, D.; Perron-Sierra, F.; Geneste, O.; Kotschy, A. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 6913-6924.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00134>
9. Kotschy, A.; Szlavik, Z.; Murray, J.; Davidson, J.; Maragno, A. L.; Le Toumelin-Braizat, G.; Chanrion, M.; Kelly, G. L.; Gong, J.; Moujalled, D. M.; Bruno, A.; Csekei, M.; Paczal, A.; Szable, Z. B.; Sipos, S.; Radics, G.; Prosenyak, A.; Balint, B.; Ondi, L.; Blasko, G.; Robertson, A.; Surgenor, A.; Dokurno, P.; Chen, I.; Matassova, N.; Smith, J.; Pedder, C.; Graham, C.; Studeny, A.; Lysiak-Auvity, G.; Girard, A.; Gravé, F.; Segal, D.; Riffkin, C. D.; Pomilio, G.; Galbraith, L. C. A.; Aubrey, B. J.; Brennan, M. S.; Herold, M. J.; Chang, C.; Guasconi, G.; Cauquil, N.; Melchiorre, F.; Guigal-Stephan, N.; Lockhart, B.; Colland, F.; Hickman, J. A.; Roberts, A. W.; Huang, D. C. S.; Wei, A. H.; Strasser, A.; Lessene, G.; Geneste, O. *Nature* **2016**, *538*, 477-482.
<https://doi.org/10.1038/nature19830>
10. Szlavik, Z.; Csékei, M.; Paczal, A.; Szabó, Z.B.; Sipos, S.; Radics, G.; Prosenyak, A.; Balint, B.; Murray, J.; Davidson, J.; Chen, I.; Dokurno, P.; Surgenor, A. E.; Daniels, Z. M.; Hubbard, R.E.; Le Toumelin-Braizat, G.; Claperon, A.; Lysiak-Auvity, G.; Girard, A.-M.; Bruno, A.; Chanrion, M.; Colland, F.; Maragno, A.-L.; Demarles, D.; Geneste, O.; Kotschy, A. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 13762-13795.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01234>

The discovery of selective MCL-1 inhibitors

Apoptosis, an evolutionary highly conserved form of programmed cell death, is an essential process for the elimination of no longer needed and dangerous cells. Myeloid cell leukemia 1 (MCL-1), whose upregulation in human cancers is associated with high tumor grade, poor survival, and resistance to chemotherapy, an antiapoptotic member of the BCL-2 family of proteins, has emerged as an attractive target for cancer therapy. The longstanding interest in MCL-1 as a target and the late emergence of MCL-1 targeting drug candidates suggest that drugging MCL-1 is highly desirable but also very challenging.

Our objective was to develop a potent and selective inhibitor of MCL-1, which would restore the programmed cell death in cancer cells leading to their death, while sparing non-cancer cells. To identify the chemistry starting points we ran an NMR-based fragment screen using the BH3 protein fragment as a control to ensure that we select only fragments that bind to the appropriate region of MCL-1. As a counter screen we also routinely assessed binding to some closely related proteins like BCL-2 or BCL-x_L. Systematic chemical modification of the identified hits led to the emergence of the thieno[2,3-*d*]pyrimidines (**1**) as the validated hit series.

The exploration of the different vectors around this fragment was well tolerated and we obtained several compounds showing low micromolar affinity for MCL-1, although they also had similar affinity for BCL-2. Unfortunately, at this stage of the project we had only limited structural information and some of the SAR suggested the presence of multiple binding modes, which complicated the analysis of the obtained data and its use for planning. A major breakthrough was achieved when we prepared the first 5-phenyl analog with a hindered rotation around the biaryl axis (**10**). The atropoisomers were separated and found stable under assay conditions. This structural feature led to an increased affinity for MCL-1 and reversely a decreased affinity for the other BCL-2 family members resulting in an excellent selectivity. Finetuning the substitution pattern of the benzene ring and moving to a phenyl lactic acid substituent in position 4 led to high affinity (51 nM, **13**).

Another significant advancement was the identification of amine substituents whose addition improved the cell penetrance of our compounds and led to cell killing in an MCL-1 sensitive model. Optimization of the basic group resulted in our lead compound **17**, a highly potent and selective MCL-1 inhibitor inducing apoptosis and cell killing in the micromolar range. We assessed the amino acid analog of our lead and found it slightly less potent, while the

stereoisomers of **17** all showed a significant drop of affinity, which made them useful negative controls in biological studies.

We pursued the structure-guided optimization of our lead molecule into two separate directions: making minor changes to the ethyl group in the 6-position, and a more ambitious growing of the lactic acid towards the S4 pocket. In spite of the fact that the X-ray structure of the **17**:MCL-1 complex (PDB:6QYO) showed only a little room around the ethyl group, we found that the introduction of monocyclic and bicyclic aromatic compounds was well tolerated, the former giving the more potent compounds, such as **21**. This is a clear indication of the conformational flexibility of the protein in this region.

Fixing the 2-furyl substitution in the 6-position we continued with the optimization of the lactic acid part. Of the substituents tested the pyrazolylmethyl derivatives showed consistently high affinity at or below the single digit nanomolar range, and the cellular activities also dropped below 50 nM. These compounds (e.g. **25**) were potent enough to induce apoptosis in a xenografted mice disease model (AMO1), evidenced both by the appearance of the apoptosis hallmarks such as Caspase-3 and PARP cleavage, and by the induction of tumor regression following i.v. bolus treatment on 5 consecutive days. The most active compound in this series **26** (a.k.a. S63845) was potent enough to address also some of the biological concerns related to the inhibition of MCL-1.

Some of the unfavorable properties of the furyl-substituted MCL-1 inhibitors prompted us to move away from this substituent to the 4-fluorophenyl group. The optimal bridging motif towards the S4 pocket in this subseries was the 4-pyrimidylmethyl (**27-32**).

The introduction of a diverse set of substituents onto the pyrimidine ring was well tolerated resulting in compounds with high affinity (below 1 nM) and good cellular activity (IC₅₀s in the 1.7-15 nM range). The potency of the compounds was successfully translated into the *in vivo* setting leading to a strong pharmacodynamic response and subsequently to tumor regression. The relative efficiency of the different compounds was assessed by comparing their tumor growth inhibition as well as the time it took for the tumors to regrow following the last treatment. The most active compounds were characterized in more detail and **31** emerged as our candidate for preclinical development. This compound (a.k.a. S64315/MIK665) was later progressed into clinical development.

1,2,3-Benzotiadiazin-1,1-dioxid származékok előállítása és átrendeződési reakciói⁺

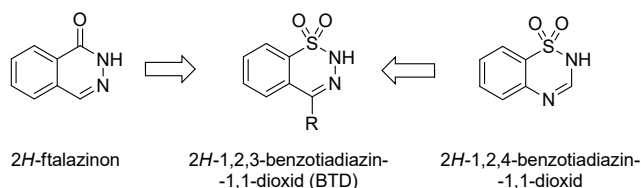
GYŰJTŐ Imre,^{a,b,*} PORCS-MAKKAY Márta,^a SIMIG Gyula,^a NYULÁSZI László^b és VOLK Balázs^{a*}

^a Egis Gyógyszergyár Zrt., Hatóanyagfejlesztési igazgatóság, Keresztúri út 30–38., 1106 Budapest, Magyarország

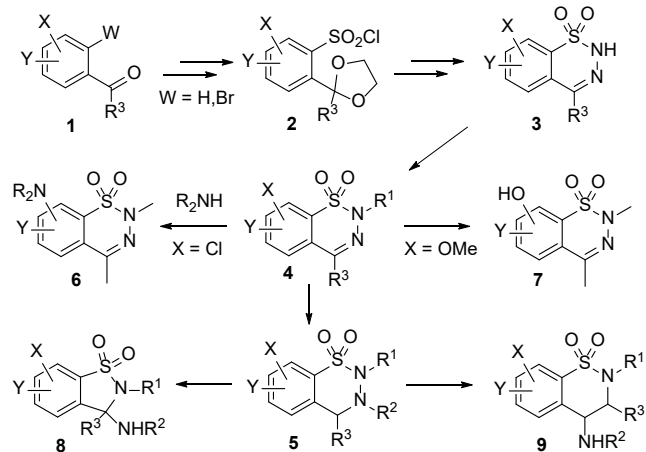
^b Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az Egis Gyógyszergyár kutatói originális gyógyszerkutatási tevékenységük során azt célt tűzték ki maguk elé, hogy központi idegrendszerre ható 2*H*-1,2,3-benzotiadiazin-1,1-dioxid (BTD) vegyületeket fejlesszenek (1. ábra). Egyfelől szerették volna tanulmányozni a BTD vegyületek farmakológiai hatását, ugyanis a BTD család analogonja a 2*H*-ftalazinon és a 2*H*-1,2,4-benzotiadiazin-1,1-dioxid vázának, amelyek gyógyszerhatóanyagokban is fellelhetők (pl. olaparib, talazoparib, ill. klorotiazid, hidroklorotiazid). Másrészt ezt a strukturális elemet farmakológiai szempontból előnyös részszerkezetekhez kívánták kapcsolni, hogy szabadalmi szempontból független új vegyületeket hozzanak létre.



1. ábra. A BTD-ok fejlesztésének farmakológiai motivációja.



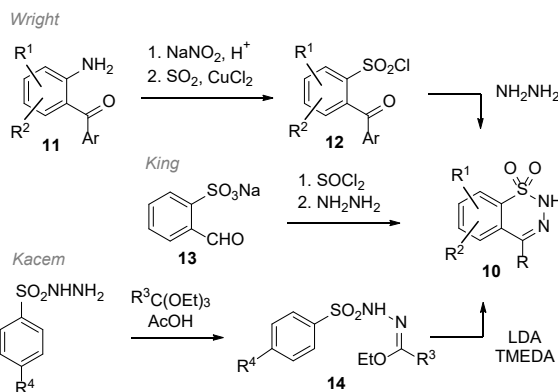
2. ábra. A kutatómunka célkitűzése.

Az Egis kutatói számos érdekességet fedeztek fel a BTD kémiában, amelyeknek részletes vizsgálatára nem került sor. Így a PhD értekezés célja az volt, hogy az előállított BTD vegyületek körét szélesítsük, bemutassuk a továbbfejlesztett szintézisstratégiákat, és módszeresen körbejárjuk a felismert újdonságokat. Benzaldehid-acetálokból (**1**, R³=H), valamint acetofenon- (**1**, R³=alkil) és benzofenon-ketálokból (**1**, R³=aril) több lépésben, a megfelelő szulfonsav-kloridokon (**2**) keresztül alakítottuk ki a BTD származékokat (**3**, 2. ábra). Ezután egyfelől *N*(2)-alkilezési (**3**→**4**, R¹=alkil), redukciót követő *N*(3)-acilezési (**4**→**5**, R²=acil), valamint aminokkal történő nukleofil szubsztitúciós (**4**→**6**) és *O*-demetilizációs (**4**→**7**) reakciókat hajtottunk végre. A másik feltérképezendő területet pedig a BTD-ok átrendeződési reakciói képezték (**5**→**8** és **5**→**9**).

2. Irodalmi háttér

2.1. A BTD váz kialakítása és reakciói

A BTD váz (**10**) kialakítására néhány megközelítés ismert volt az irodalomból (3. ábra). Wright *o*-aminobenzofenonokból (**11**) képzett diazóniumsókat *o*-arilbenzolszulfonsav-kloridokká (**12**) alakított, amelyeket hidrazinnal reagáltatott.¹ King 2-formilbenzolszulfonát nátriumsóját (**13**) használta kiindulási anyagnak.² Kacem szintézisstratégiája *N*¹-arilszulfonil-hidrazonátok (**14**) LDA/TMEDA rendszerben történő *ortho*-lítálásán alapult.³



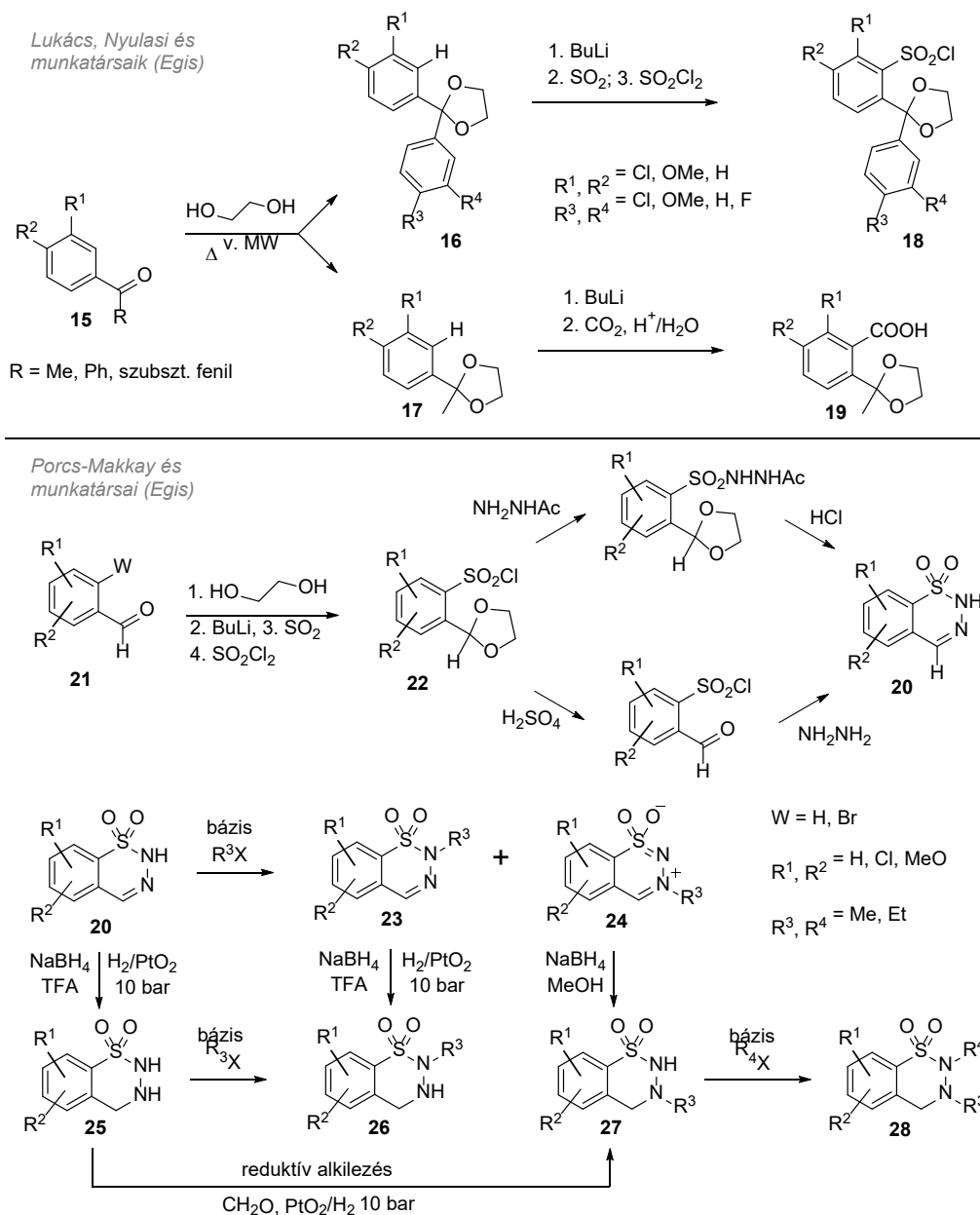
3. ábra. BTD-ok irodalmi szintézisei.

⁺ Gyűjtő Imre azonos című PhD értekezéséhez kapcsolódó tézisfüzet alapján készült.

* Tel.: +36 1 803 5874; e-mail: gyujtoimre@gmail.com, volk.balazs@egis.hu.

Az Egis kutatói olyan reakcióutat kívántak kidolgozni, amely könnyen hozzáférhető kiindulási anyagokat felhasználva, az aromás gyűrűn különféle szubsztituenseket tartalmazó BTD-okat eredményez. Így esett a választás aceto- és benzofenonokra (**15**, 4. ábra). A karbonilsoportot etilén-glikollal maszkírozták, esetenként mikrohullámú (MW) körülmények között (4. ábra, fent).⁴ Az eljárás kulcslépése a dioxolanil vegyületek (**16**, **17**) *orto*-lítálása, és a kapott aril-lítium vegyületek kén-dioxiddal történő reagáltatása, amelyet szulfuril-kloriddal történő oxidatív klórozás követett, így jutva a megfelelő szulfonsavklorid-ke-tálokhoz (**18**, **19**). Benzofenon-ketálok esetében ezt számos szubsztrátumon végrehajtották.⁵ Acetofenon-ketáloknál elsődlegesen szén-dioxidot használtak elektrofilként a regi-oszelektivitás feltérképezésére,⁶ és kén-dioxiddal csak pár példát közöltek,⁷ azonban szabadalmi bejelentéseikben már

számos példán bemutatták a gyűrűzárasi, alkilezési és C=N redukciós eljárásaikat.^{8,9} A 4-es helyzetben szubsztituátlan (4-H) BTD-ok (**20**) esetében a benzaldehidekből (**21**) kiindulva hasonló módon kapott 2-klórszulfonil-acetálok-ból (**22**) a gyűrűzárást két úton is végrehajtották (4. ábra, közepén): hidrazinnal vagy acetidraziddal a védőcsoport eltávolítását követően.¹⁰ A 4-H BTD-ok (**20**) alkilezése során *N*(2)-alkil- (**23**) és mezoionos *N*(3)-alkilszármazékok (**24**) keletkeztek (4. ábra, lent).¹¹ A C=N kettős kötés redukcióját végrehajtották NaBH₄/TFA, illetve PtO₂/H₂ rendszerben (**20**→**25**, **23**→**26**, **24**→**27**), valamint reduk-tív alkilezés során paraformaldehiddel metilcsoportot vezettek be 3,4-dihidroszármazékok 3-as helyzetébe (**25**→**27**). Az *N*(3)-alkilszármazékok (**27**) *N*(2)-helyzetben végzett alkilezésével a megfelelő dialkilszármazékokat (**28**) nyerték.¹²

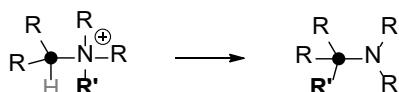
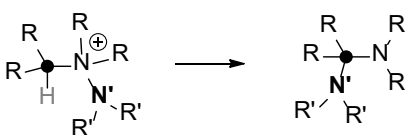


4. ábra. Az Egis eljárása ketálok *orto*-funkcionalizálására (fent), valamint a 4-H BTD-ok szintézisére (középen), alkilezésére és redukciójára (lent).

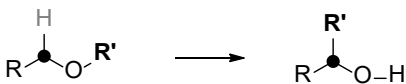
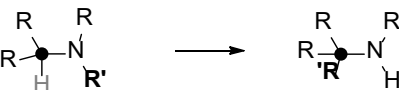
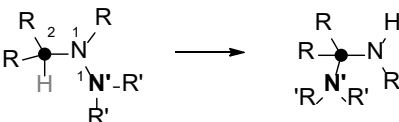
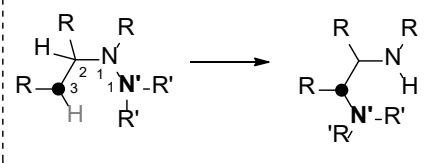
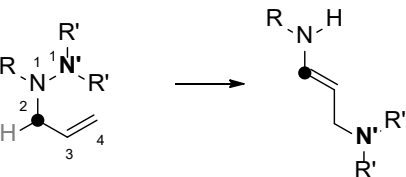
2.2. Stevens- és Wittig-átrendeződések

A Stevens-átrendeződés során kvaterner ammóniumvegyületek α -deprotonálódását követően kialakul egy ilid, majd tipikusan biradikális mechanizmussal [1,2]-vándorlás történik (5. ábra).¹³ Bázis hatására a hidrazóniumvegyületek hasonló módon *aza*-[1,2]-Stevens-átrendeződésen mehetnek keresztül.¹⁴

[1,2]-Stevens

*aza*-[1,2]-Stevens

[1,2]-Wittig

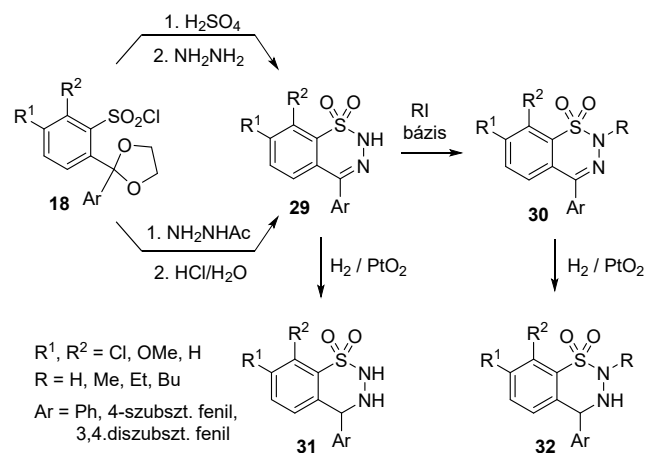
*aza*-[1,2]-Wittig*diaza*-[1,2]-Wittig*diaza*-[1,3]-Wittig*diaza*-[1,4]-Wittig5. ábra. Stevens- és Wittig-átrendeződések, valamint *aza*-analogonjaik.

Az [1,2]-Wittig-átrendeződésben az α -helyzetű deprotonálódást követően hasad a C–O kötés, és [1,2]-átrendeződés történik.¹⁵ A Wittig-átrendeződés *aza*-analogonjai alapvetően abban különböznek a Stevens-átrendeződéstől, hogy nincs bennük kvaterner nitrogénatom. Az *aza*-[1,2]-Wittig-átrendeződés során a C–N kötés hasad. Ezen az analógián alapulva az N–N kötés hasadásával járó átalakulásokat *diaza*-[1,2]-Wittig-átrendeződésnek nevezhetjük (pl. *N*-fluorenilurazolok gyűrűbővülése *t*-BuOK hatására).¹⁶ A *diaza*-[1,4]-Wittig-átrendeződés szintén ismert,¹⁷ de a *diaza*-[1,3]-Wittig-átrendeződés eddig hiányzó láncszem volt az átalakulások sorából.

3. Eredmények

3.1. A 4-aryl-BTD-ok előállítása és reakciói¹⁸

A 4-aryl-BTD-okat (**29**) a megfelelő *o*-klórszulfonil-ketálok (**18**) hidrazinnal vagy acetidraziddal történő gyűrűzárásával állítottuk elő (6. ábra). Farmakológiai szempontból kedvezőnek ígérkezett a 2-alkil- (**30**), a 3,4-dihidro- (**31**) és a 2-alkil-3,4-dihidroszármazékokkal (**32**) foglalkozni. NaH vagy *t*-BuOK bázisok és alkil-jodidok alkalmazásával előállítottuk **30** *N*(2)-metil-, etil- és butilszármazékot. Megállapítottuk, hogy 4-aryl-BTD-ok esetén az *N*(2)-alkilezés jó regioselektivitással megy végbe, szemben a 4-es helyzetben szubsztituálatlan BTD-oknál korábban tapasztaltakkal, amikor is az *N*(2)- és az *N*(3)-alkilezett termékek közel azonos mennyiségben keletkeztek. A **29** és **30** vegyületek C=N kettőskötésének redukcióját PtO₂ katalizátor jelenlétében, hidrogénatmoszférában, illetve egy esetben NaBH₄-del TFA jelenlétében is elvégeztük, így **31** és **32** 3,4-dihidroszármazékokhoz jutottunk.

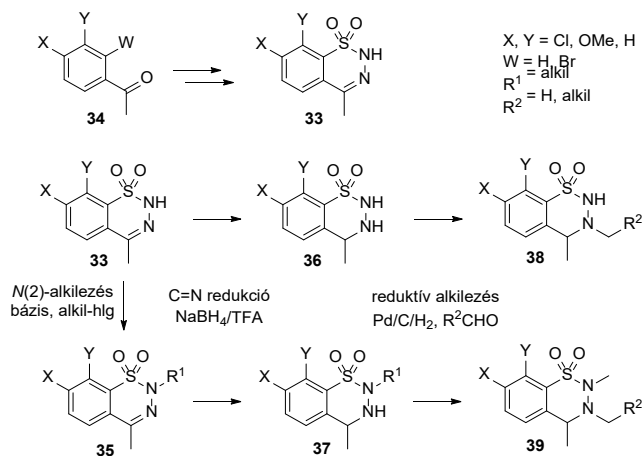


6. ábra. A 4-aryl-BTD gyűrű kialakítása, alkilezése és redukciója.

3.2. A 4-metil-BTD-ok előállítása, alkilezése és redukciója¹⁹

Részletesen kidolgoztuk a 4-metil-BTD-származékok (**33**) acetofenonokból (**34**) kiinduló szintézisét is (7. ábra). A karbonilcsoportot 1,3-dioxolánként védtük, etilén-glikollal MW körülmények között, vagy trietil-ortoformiát

jelenlétében reagáltatva. A következő lépésben butil-lítiummal *ortho*-lítialást hajtottunk végre. Amennyiben az *ortho*-lítialás nem működött, a megfelelő 2-brom-ketálokat ($W=Br$) lítiáltuk. Az aril-lítiumot kén-dioxiddal reagáltatva lítium-szulfínátot kaptunk, amelyet szulfuril-kloriddal oxidatív klórozásnak vetettünk alá, így szulfonsavklorid-ketálokhöz jutottunk. Végül a védőcsoportot savas körülmények között távolítottuk el, és a gyűrűzárást hidrazinnal vagy acethidraziddal hajtottuk végre. Ezt követően *t*-BuOK bázissal és alkil-halogenidekkel metil-, etil- vagy benzilcsoportot vittünk be a 2-es helyzetbe (**33**→**35**). Az *N*(2)-helyzetben szubsztituálatlan (**33**→**36**) vagy 2-alkil-BTD-vegyületek (**35**→**37**) redukcióját $NaBH_4$ -trifluoracetsav rendszerben végeztük el. A 3-as helyzetbe redukatív alkilezéssel vezettünk be alkilcsoportot: aldehidekkel, aktív-szén-hordozós palládiumkatalizátor jelenlétében hidrogén atmoszférában (**36**→**38**). Ilyen módon a 2,4-dialkil-3,4-dihidroszármazékból (**37**) 2,3,4-trialkilszármazék (**39**) is előállítható. A 3,4-dihidroszármazékoknál az 1H és ^{13}C NMR spektrumokban jelkiszéledést észleltünk a heterogyűrű jelein [$C(4)-H$, $C(4)-CH_3$, $N(2)-CH_3$, $N(3)-CH_3$]. A jelek kiszéledése, illetve egyes esetekben zajszint alá csökkenése a heterogyűrű gátolt inverziójával volt magyarázható, mely jelenség különösen a sztérikusan zsúfoltabb származékoknál, jellemzően az *N*(2)-, *N*(3)- és/vagy *C*(8)-helyettesített vegyületeknél jelentkezett.

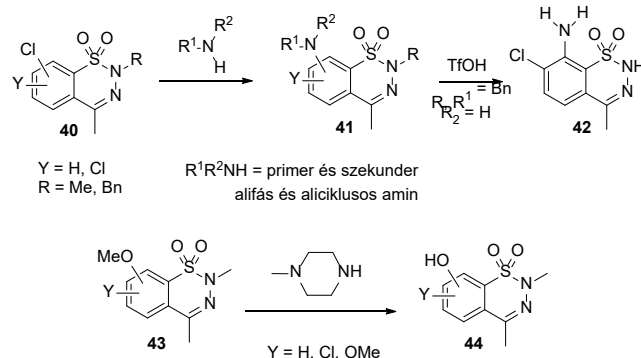


7. ábra. A 4-metil-BTD-ok acetofenonokból történő előállítása, alkilezése és redukciója.

3.3. A 4-metil-BTD-ok reakciói aminokkal²⁰

Ezt követően a 7-es vagy a 8-as helyzetben klóratomot tartalmazó 2,4-dimetil-BTD-okat (**40**) aminokkal reagáltatva 7- vagy 8-aminoszármazékokat (**41**) kaptunk (8. ábra). A 7,8-diklór-2,4-dimetil-BTD-ből (**40**, $R=Me$, $Y=Cl$) regioizomerek keletkeztek: elektronikusan a 8-as helyzet a preferált, de szekunder aminok esetében sztérikus okokból megnőtt a 7-szubsztitúció aránya. 1D selNOE és 2D NMR módszerekkel azonosítottuk a regioizomereket, valamint megfigyeltük, hogy a gyűrűs aminoknál a 7-es helyzetben

lehetőség van gyors gyűrűinverzióra, ugyanakkor a 8-as helyzetben ez gátolt.

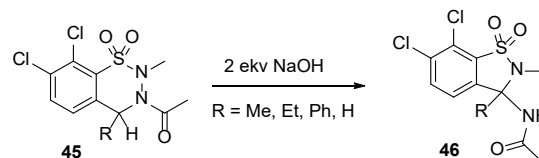


8. ábra. A klór-BTD-ok szubsztitúciója és a metoxivegyületek demetilézése aminokkal

Az *N*(2)-es helyzetben szubsztituálatlan vegyületek esetében nem működött a klór-amin csere. Ezért kidolgoztunk egy védőcsoport stratégiát, mely során benzilcsoportot alkalmaztunk, amely tolerálta az aminálás reakciókörülményeit. A **41** ($R=Bn$, $Y=7-Cl$, $NR^1R^2 = 8-NHBn$) vegyület hasítását $100\text{ }^\circ\text{C}$ -on trifluormetánszulfonsavval végeztük el, így **42** vegyületet kapva (8. ábra). A 7-klór-8-metoxiszármazék aminálási reakciójában nem a várt szubsztitúció történt meg, hanem *O*-demetilézéssel a megfelelő fenol keletkezett. Ezt a módszert kiterjesztve, *N*-metilpiperazinnal megvalósítottuk különböző metoxi-BTD-ok demetilézését, így hidroxil-BTD-okhoz (**44**) jutottunk (8. ábra).

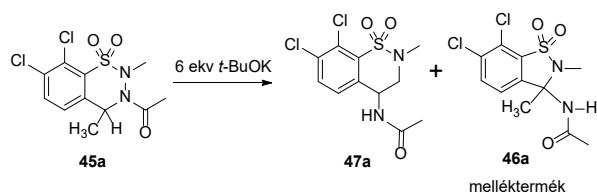
3.4. A BTD-ok átrendeződési reakciói^{21,22}

Felfedeztük, hogy a 3-acetil-7,8-diklór-2,4-dimetil-3,4-dihidro-BTD-ot (**45**, $R = Me$) $LiAlH_4$ -del reagáltatva az acetylsoport várt redukciója helyett a megfelelő benzotiazol-1,1-dioxiddá (**46**, $R = Me$) alakul, *diaza*-[1,2]-Wittig típusú reakcióban (9. ábra). A továbbiakban a gyűrűszűkülést megfigyeltük más bázisok jelenlétében is, és 2 ekv $NaOH$ -ot THF-ban alkalmazva kiváló termeléssel hajtottuk végre a 4-es helyzetben metil-, etil- vagy fenilcsoportot tartalmazó és a 4-H származékok (**45**) gyűrűszűkülését.



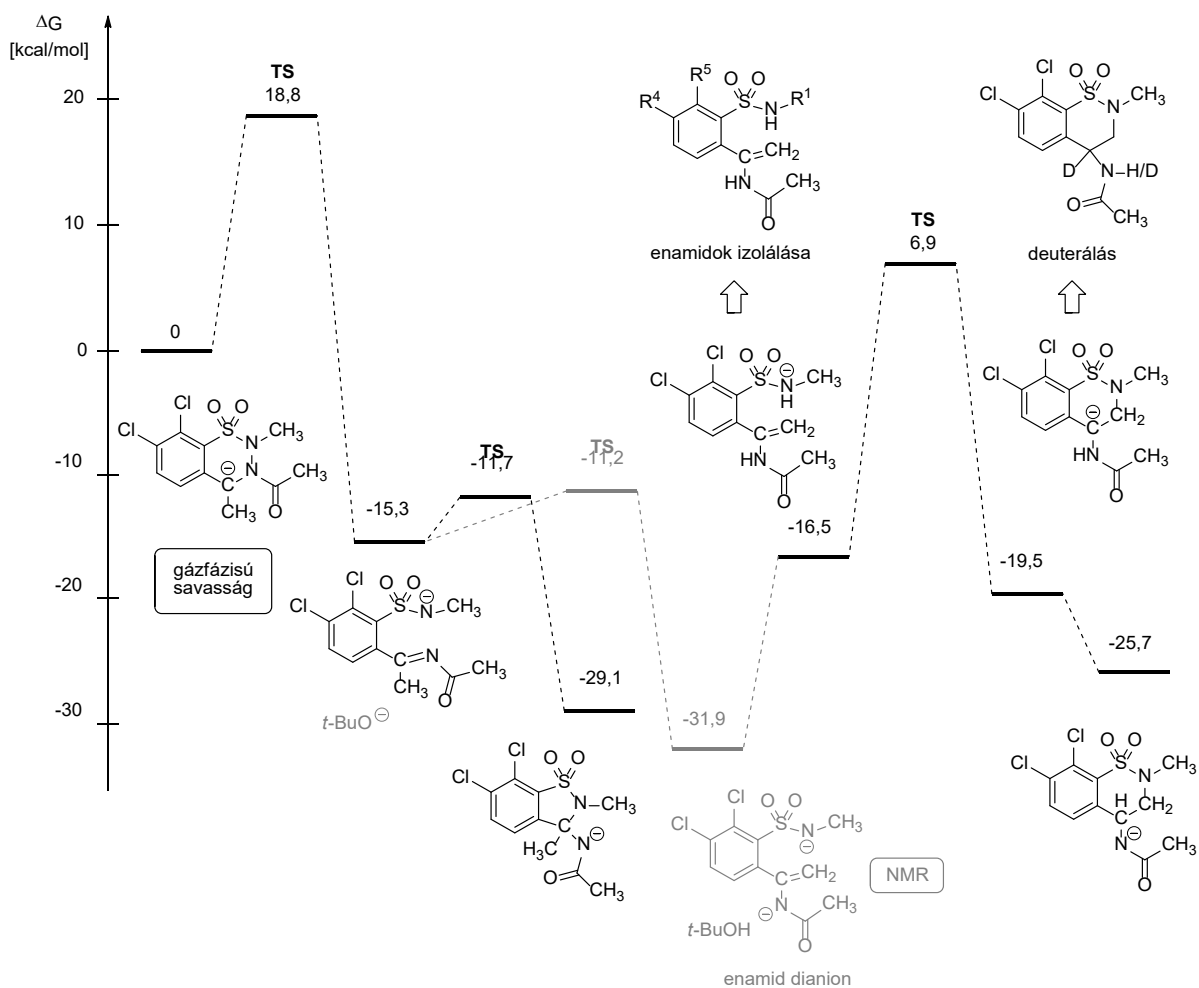
9. ábra. A 3-acetil-7,8-diklór-2-metil-3,4-dihidro-BTD-ok gyűrűszűkülése a megfelelő benzotiazol-1,1-dioxidokká.

Megfigyeltük, hogy nagyobb mennyiségű bázis, 6 ekv *t*-BuOK alkalmazásával a 3-acetil-7,8-diklór-2,4-dimetil-3,4-dihidro-BTD (**45a**) a megfelelő benzotiazin-1,1-dioxid (**47a**) alakul át, és a gyűrűszűkült termék (**46a**) csak kisebb mennyiségben keletkezik (10. ábra).

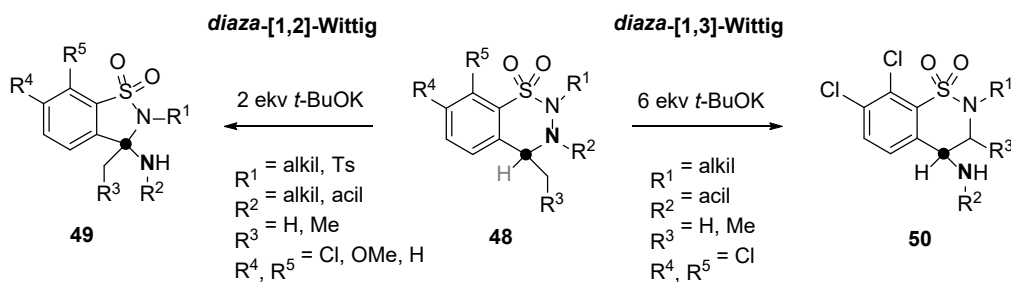


10. ábra. A 3-acetil-7,8-diklór-2,4-dimetil-3,4-dihidro-BTD átrendeződése a megfelelő benzotiazin-1,1-dioxiddá.

Kísérletesen megvizsgáltuk a reakciókörülmények hatását az átrendeződések termékszelektivitására, beleértve a bázis minőségét, mennyiségét és az alkalmazott oldószert. Azt találtuk, hogy erősen bázikus közeg szükséges a benzotiazin kialakulásához, egyéb esetben benzotiazol keletkezik főtermékként. DFT számításokon alapulva igazoltuk, hogy monoanionos úton a benzotiazol-1,1-dioxid keletkezése a preferált (11. ábra).



11. ábra. Reakciómechanizmus-számítások M06-2X/6-31+G* (smd: THF) szinten, és az intermedierek létezésének kísérletes bizonyítékai.



12. ábra. A BTD-ok diaza-[1,2]- és diaza-[1,3]-Wittig-átrendeződési reakciói.

Ezt követően feltételeztük, hogy a benzotiazint eredményező reakcióút kulcsa egy enamid dianion intermedier (11. ábra) keletkezése lehet, amit NMR vizsgálatokkal megerősítettünk. Deuterálással sikerült egy karbanion intermediert is igazolni. Továbbá bebizonyítottuk, hogy 6 ekv *t*-BuOK alkalmazásával a benzizotiazol gyűrű felnyílik, és benzotiazinná alakítható.

Megvizsgáltuk a szubsztituensek hatását is az átrendeződési reakciókra (12. ábra). Ennek során 2 ekv *t*BuOK-ot THF-ban alkalmazva kiterjesztettük a BTD-ok *di*aza-[1,2]-Wittig-átrendeződését (48→49) a 2-es helyzetben alkil- vagy tozil-, a 3-as helyzetben alkil- vagy acilcsoportot, valamint az aromás gyűrűn a 7-es vagy 8-as helyzetben klóratomot vagy metoxicsoportot tartalmazó, illetve szubsztituátlan származékokra. Bizonyos esetekben enamid köztermék-nél megállt a reakció (11. ábra), de a feldolgozás során savanyítással vagy a hőmérséklet emelésével kialakítható volt a benzizotiazol gyűrű (12. ábra). Végül preparatív módszert dolgoztunk ki a 3-acil-2-alkil-7,8-diklór-4-metil-3,4-dihidro-BTD-ok benzotiazin származékokká (50) történő *di*aza-[1,3]-Wittig-átrendeződéseire, 6 ekv *t*BuOK jelenlétében.

4. Összefoglalás

A doktori kutatómunka során kidolgozott eljárások változatosan szubsztituált benzotiadiazin-1,1-dioxidok és 3,4-dihidroszármazékaik szintézisét teszik lehetővé. Ezek önmagukban is gyógyszereszerű vegyületek, illetve az általunk kifejlesztett szintézismódszerek alkalmazásával széles körben tovább funkcionálizálhatóak az aromás gyűrűn, valamint a heterogyűrű *N*(2), *N*(3) és *C*(4) atomjain, ezáltal további gyógyszerjelölteké alakíthatóak. Tanulmányaink jelentősen hozzájárulnak a BTD vegyületek reaktivitásának és a *di*aza-Wittig-átrendeződések megismeréséhez.

Köszönetnyilvánítás

Gy. I. köszönetét fejezi ki az infrastrukturális és szakmai háttérért, amelyet a kísérleti munkához és az analízishez az Egis Gyógyszergyár Zrt., a számítástechnikai kémiahoz a BME Szeretlen és Analitikai Kémia Tanszék biztosított.

Hivatkozások

- Wright, J. B.; Kalamazoo, M. *US 3407197 US Pat. Appl.; Chem. Abstr.* **1969**, *70*, 57914.
- King, J. F.; Hawson, A.; Deaken, D. M.; Komery, J. *Chem. Commun.* **1969**, *1*, 33–34.
<https://doi.org/10.1039/c29690000033>
- Kacem, Y.; Hassine, B. B. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 4023–4025.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.05.082>
- Lukács, G.; Porcs-Makkay, M.; Komáromi, A.; Simig, G. *Arkivoc* **2008**, *iii*, 17–24.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.303>
- Lukács, G.; Porcs-Makkay, M.; Simig, G. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *20*, 4130–4140.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.200400335>
- Nyulasi, B.; Németh, A.; Porcs-Makkay, M.; Kupai, J.; Lukács, G.; Simig, G.; Volk, B. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 298–306.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.072>
- Lukács, G.; Porcs-Makkay, M.; Simig, G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3211–3214.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(03\)00391-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(03)00391-5)
- Porcs-Makkay, M.; Lukács, G.; Kapus, G.; Gacsályi, I.; Simig, G.; Lévy, G.; Mezei, T.; Végh, M.; Kertész, S.; Barkóczy, J.; Leveleki, C.; Hársing, L. G. WO 2008020255 PCT Intern. Pat. Appl.; *Chem. Abstr.* **2008**, *148*, 262627.
- Porcs-Makkay, M.; Lukács, G.; Kapus, G.; Gacsályi, I.; Simig, G.; Lévy, G.; Mezei, T.; Végh, M.; Kertész, S.; Barkóczy, J.; Leveleki, C.; Hársing, L. WO 2008020256 PCT Intern. Pat. Appl.; *Chem. Abstr.* **2008**, *148*, 262626.
- Porcs-Makkay, M.; Lukács, G.; Pandur, A.; Simig, G.; Volk, B. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 286–293.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.11.058>
- Porcs-Makkay, M.; Kapiller-Dezsőfi, R.; Párkányi, L.; Pandur, A.; Simig, G.; Volk, B. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 2169–2174.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.01.072>
- Porcs-Makkay, M.; Pandur, A.; Simig, G.; Volk, B. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 44–50.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.11.046>
- Bach, R.; Harthong, S.; Lacour, J.: Nitrogen- and Sulfur-Based Stevens and Related Rearrangements, Chapter 3.20. *Comprehensive Organic Synthesis 2nd ed.* (ed.: Knochel, P.; Molander, G. A.), Elsevier, **2014**. ISBN: 978-0-08-097742-3
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097742-3.00326-8>
- Nakamura, A.; Kamiya, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 2142–2146.
<https://doi.org/10.1248/cpb.22.2142>
- Wolfe, J. P.: The Wittig Rearrangement, Chapter 3.21. *Comprehensive Organic Synthesis 2nd ed.* (ed.: Knochel, P.; Molander, G. A.), Elsevier, **2014**. ISBN: 978-0-08-097742-3
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097742-3.00327-X>
- Gong, Y.; Bausch, M. J.; Wang, L. *Heterocycles* **2001**, *55*, 163–170.
<https://doi.org/10.3987/COM-00-9087>
- Tayama, E.; Kobayashi, Y.; Toma, Y. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 10570–10573.
<https://doi.org/10.1039/C6CC04626F>
- Porcs-Makkay, M.; Gyűjtő, I.; Lukács, G.; Komáromi, A.; Tóth, G.; Garádi, Z.; Simig, G.; Volk, B. *Chemistry Select* **2019**, *4*, 8295–8300.
<https://doi.org/10.1002/slct.201901212>
- Gyűjtő, I.; Porcs-Makkay, M.; Lukács, G.; Pusztai, G.; Garádi, Z.; Tóth, G.; Nyulasi, B.; Simig, G.; Volk, B. *Synth. Commun.* **2019**, *49*, 3475–3485.
<https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1673777>
- Gyűjtő, I.; Porcs-Makkay, M.; Várda, E. F.; Pusztai, G.; Tóth, G.; Simig, G.; Volk, B. *Synth. Commun.* **2020**, *50*, 3413–3423.
<https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1801748>
- Porcs-Makkay, M.; Gyűjtő, I.; Simig, G.; Volk, B.: *Tetrahedron* **2016**, *72*, 8463–8469.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.021>
- Gyűjtő, I.; Porcs-Makkay, M.; Szabó, G.; Kelemen, Z.; Pusztai, G.; Tóth, G.; Dancsó, A.; Halász, J.; Simig, G.; Volk, B.; Nyulászi, L. *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 1685–1700.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02512>

Synthesis and rearrangements of 1,2,3-benzothiadiazine-1,1-dioxide derivatives

Around 20 years ago, research was initiated at Egis Plc. aiming at the development of 2*H*-1,2,3-benzothiadiazine-1,1-dioxides (BTDs) potentially exhibiting CNS activity. This heterocycle is structurally related to phthalazinone and 1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide drug scaffolds. In addition, BTD can serve as a core structural unit to which pharmacophores can be attached. Although interesting chemical aspects were discovered in the course of the synthesis of these compounds, there was no opportunity for their detailed investigation. Therefore, the aim of my PhD research was to widen the scope of the prepared BTDs, to present improved synthetic routes, and to study the surprising discoveries emerging during the research.

A lithiation-based methodology was elaborated starting from aceto- and benzophenones and benzaldehydes by the researchers of Egis in order to afford variously substituted BTDs. The carbonyl group was protected with ethylene glycol to give the corresponding 1,3-dioxolanes. The synthesis of sulfonyl chlorides was elaborated via lithiation of ketals with BuLi followed by consecutive treatment of the obtained aryllithium species with sulfur dioxide and sulfonyl chloride. This strategy was demonstrated on variously substituted benzophenone ketals. As far as acetophenone ketals are concerned, mainly carbon dioxide was employed as the electrophile to map the regioselectivity, and only a few examples were published using sulfur dioxide. In case of 4-unsubstituted (4-H) BTDs, for the ring closure of the 2-chlorosulfonyl acetals obtained in similar manner, two methods were elaborated: using either hydrazine or acetylhydrazide, and the protective group removal was conducted under acidic conditions. Alkylation of 4-H BTDs led to the formation of both *N*(2)-alkyl and mesoionic *N*(3)-alkylated products. The C=N double bond was reduced with NaBH₄/TFA or PtO₂/H₂ systems. Reductive alkylation was performed with paraformaldehyde to introduce a methyl group into position 3.

During our research, 4-aryl-BTDs were obtained via the ring closure of the corresponding chlorosulfonyl ketals using hydrazine or acetylhydrazide. 3,4-Dihydro and/or 2-alkyl derivatives seemed promising based on pharmacological tests. Therefore, the C=N double bond was hydrogenated in the presence of PtO₂. 2-Alkylation reactions were conducted using NaH or *t*-BuOK bases and alkyl iodides to introduce 2-methyl-, -ethyl and -butyl groups. It occurred with good regioselectivity compared to the 4-H BTDs, when the *N*(2)- and *N*(3)-alkylated products were formed in roughly the same amount. *N*(2)-Alkylation with 1-bromo-4-chlorobutane allowed the introduction of a pharmacophore by nucleophilic replacement of the terminal leaving group.

A process was elaborated for the preparation of 4-methyl-BTDs starting from acetophenones. The carbonyl group was protected as a dioxolane with ethylene glycol under MW conditions or in the presence of triethyl orthoformate. Sulfonyl chlorides were prepared by trapping the corresponding aryllithiums with sulfur dioxide, followed by treatment of the isolated aryl sulfinate with sulfonyl chloride. In case of the unsubstituted and the *para*-methoxy substituted acetophenone, the *ortho*-bromo derivatives were used as the starting materials. The protecting group was removed under acidic conditions and the ring closure was conducted with hydrazine or acetylhydrazide. *N*(2)-Alkylation was conducted with methyl, ethyl and benzyl halogenides. The reduction of *N*(2)-unsubstituted or alkylated compounds were performed with NaBH₄/TFA instead of catalytic hydrogenation in the presence of PtO₂. Alkyl groups were introduced to position 3 via reductive alkylation with aldehydes in the presence of palladium on charcoal under hydrogen atmosphere. Based on the elaborated process, 2,4-dimethyl-3,4-dihydro compounds could be transformed to the 3,4-saturated 2,3,4-trimethyl derivatives.

Furthermore, 7- or 8-chloro substituted 2,4-dimethyl-BTDs were reacted with amines to give the corresponding 7- or 8-amino compounds. Reaction of 7,8-dichloro-2,4-dimethyl-BTD afforded a mixture of regioisomers in most cases: secondary amines could be mainly introduced to the sterically less crowded position 7, whereas primary amines were more likely to attack at the electronically more favored position 8. We also aimed at the synthesis of 2-unsubstituted BTDs bearing an amino group at the aromatic ring. Benzyl group was employed as a protecting group to withstand the harsh conditions of the chlorine-amine exchange reaction. The debenzoylation was performed with trifluoromethanesulfonic acid at 100 °C. In the reaction of 8chloro-2,4-dimethyl-7-methoxy-BTD with amines, *O*-demethylation occurred leading to the corresponding phenol, instead of substitution of the chlorine atom. The *O*-demethylation was also demonstrated on other methoxy-BTDs using *N*-methylpiperazine.

Attempted reduction of the acetyl moiety of 3-acetyl-7,8-dichloro-2,4-dimethyl-3,4-dihydro-BTD with LiAlH₄ led surprisingly to the corresponding 2,3-dihydro-1,2-benzisothiazole 1,1-dioxide, a ring-contracted product. Thus, LiAlH₄ did not act as a reducing agent but as a base in the reaction. This base-mediated rearrangement was then extended to other substituents (H, Et, Ph) in position 4 using 2 eq solid NaOH in THF with high yields. Treatment of 3-acetyl-7,8-dichloro-2,4-dimethyl-3,4-dihydro-BTD with 6 eq *t*-BuOK in THF gave rise to the formation of the corresponding 1,2-benzothiazine 1,1-dioxide as the major product besides the 1,2-benzisothiazole 1,1-dioxide. The effect of reaction conditions (including e.g. solvent, base and the amount thereof) were investigated on the product selectivity of the two ring transformations. We found that strongly basic conditions were necessary for the formation of benzothiazine, otherwise benzisothiazole would be the sole product. The mechanism of a monoanionic pathway was calculated which fully justified the formation of benzisothiazole on thermodynamic as well as on kinetic grounds. The key intermediate of the proposed route toward benzothiazine was an enamide dianion, which was supported by NMR studies. The presence of a benzothiazine carbanion intermediate was proved by trapping with D₂O, as well. The reversibility of the rearrangements was investigated, and revealed that the treatment of benzisothiazole with 6 eq *t*-BuOK induced a ring opening resulting in the benzothiazine. After that, we intended to widen the substrate scope. The substituent effect on the outcome of the rearrangements was evaluated experimentally. Using 2 eq *t*-BuOK in THF, the *diaza*-[1,2]-Wittig rearrangement was extended to substrates bearing alkyl or tosyl groups at position 2, alkyl or acyl groups at position 3, and various substituents at the aromatic ring. Modifications in the aromatic substitution pattern (in respect to the 7,8-dichloro derivative) resulted in enamides as the main products in the rearrangement reaction. Cyclization could be fostered by quenching with 1% HCl or by heating. A targeted preparative process was elaborated for *diaza*-[1,3]-Wittig rearrangement of 3-acyl-2,4-dialkyl-7,8-dichloro-3,4-dihydro-BTDs.

In conclusion, processes were elaborated for the preparation of variously substituted benzothiadiazine-1,1-dioxides and their 3,4-dihydro congeners. The synthesized compounds are drug-like themselves, moreover they can be further functionalized at the aromatic ring and at positions *N*(2) and *N*(3) to transform them to other drug candidates. Our studies significantly contributed to the exploration of the chemistry of benzothiadiazine-1,1-dioxides and to that of *diaza*-Wittig rearrangements.

Funkcionalizált aliciklusok diverzitás orientált szintézise dipoláros cikloaddíciót követő metatézis reakciókkal†

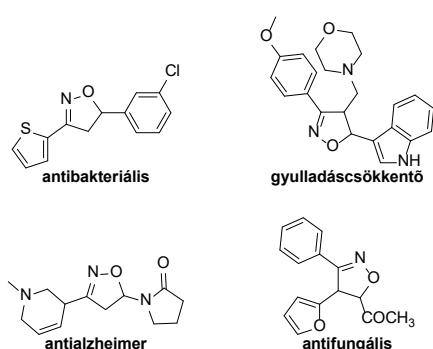
BENKE Zsanett Amália, REMETE Attila Márió és KISS Loránd*

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertudományi Kar, Gyógyszerkémiai Intézet, Eötvös utca 6., 6720 Szeged, Magyarország

1. Bevezetés

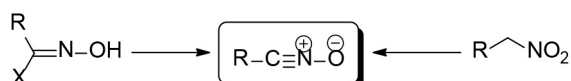
Az elmúlt két évtizedben a diverzitás orientált szintézisek (DOS) alkalmazása széles körben elterjedt háromdimenziós kismolekulákból álló molekulakönyvtárak létrehozására. A múlt évtized óta a szerkezetileg és funkcionálisan változatos molekulák előállítására nagyobb figyelem irányul szemben a molekulaméret növeléssel¹⁻³.

A funkcionalizált izoxazolinvázat tartalmazó vegyületek változatos biológiai tulajdonságokkal rendelkeznek (antivirális, antibakteriális, gombaellenes hatás), így fontos szerepet játszanak a gyógyszerkémiaiban^{4,5}. (1. ábra) Továbbá hasznos intermedierek lehetnek különféle kémiai átalakításokban, a felhasználásukkal például amino-alkoholok, amino-diolok, β -hidroxi-ketonok állíthatók elő⁶⁻⁸.



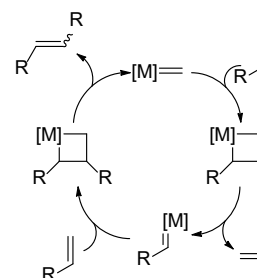
1. ábra. Néhány biológiailag aktív izoxazolin-származék

Nitril-oxidok 1,3-dipoláros cikloaddíciója széles körben alkalmazott eljárás izoxazolinok szintézisére. Mivel a nitril-oxidok nem stabil dipólok, ezért *in situ* generálják ezeket a reakcióelegyben. Ehhez a két legismertebb módszer: a Huisgen-módszer, amikor aldoximból kiindulva; valamint a Mukaiyama-módszer, amikor primer nitroalkánból kiindulva állítják elő a nitril-oxidot⁹⁻¹¹. (2. ábra)



2. ábra. Nitril-oxid generálása

A metatézis reakció egy hatékony eljárás C=C kötések létrehozására. Köszönhetően az enyhe reakciókörülményeknek és a szerkezetileg változatos molekulák létrehozására való készségének a metatézis egy széles körben elterjedt eljárás. A ruténium-alapú katalizátorok megjelenésével az olefin-metatézis szélesebb teret hódított magának. Ezek kitűnő funkciós csoport toleranciával rendelkező katalizátorok, továbbá jelentősen stabilak az oxigénnel és a nedvességgel szemben. A 20. század végén az olefin metatézisben áttörést jelentett Yves Chauvin mechanizmus-javaslat¹²⁻¹⁶. (3. ábra)



3. ábra. Chauvin-metatézis mechanizmus

Kutatócsoportunkban korábban már állítottak elő izoxazolin-származékokat nitril-oxidok 1,3-dipoláros cikloaddíciójával telítetlen β -aminosavakból kiindulva. Továbbá ciklusos β -aminosavak, valamint β -laktámok továbbalakítását végezték el olefin metatézis reakciók (ROM és CM) alkalmazásával. Így változatosan szubsztituált β -aminosavakat, valamint β -laktámokat állítottak elő sikeresen^{11,17}.

2. Eredmények

2.1. Izoxazolin-származékok szintézise

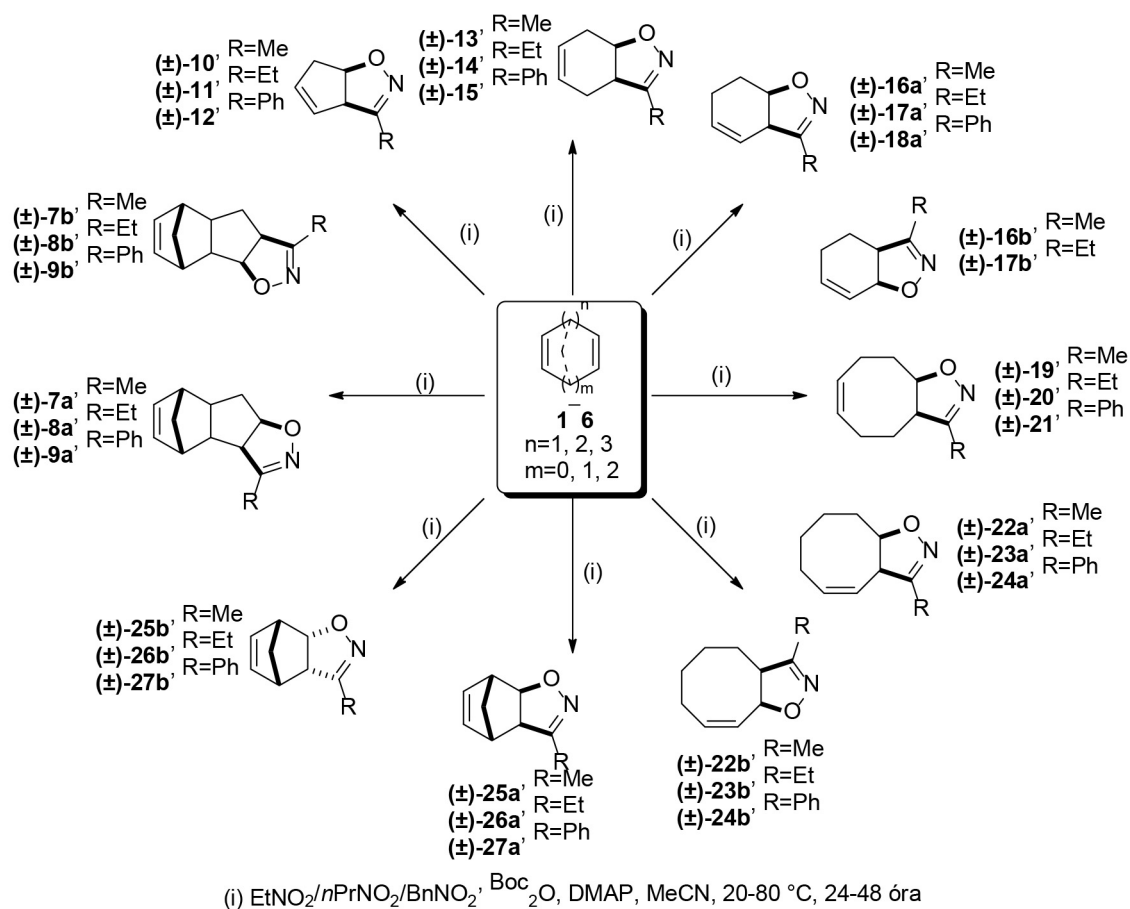
Aliciklusos gyűrűvel kondenzált izoxazolin-származékok [(±)-7ab–(±)-27ab] regio- és sztereoizomerjeit nitril-oxidok (EtNO₂, *n*PrNO₂, valamint BnNO₂-ből kiindulva, dehidratáló ágensként Boc₂O-et, bázisként DMAP-t alkalmazva) 1,3-dipoláros cikloaddíciójával állítottuk elő különböző ciklodiének (ciklopentadién, 1,4-ciklohexadién, 1,3-ciklohexadién, 1,5-cikloheptadién, 1,3-cikloheptadién, illetve 2,5-norbornadién) kiindulási anyagként történő felhasználásával.¹⁸

† Benke Zsanett Amália azonos című PhD értekezéséhez kapcsolódó összefoglaló tézisfüzet alapján készült

* Tel.: +36 30-8535341; e-mail: kiss.lorand@szte.hu

Amennyiben ciklopentadiént (**1**) alkalmaztunk kiindulási anyagként, a cikloaddukt (\pm) -**10**– (\pm) -**12** (minden esetben az a regioizomer képződött, amelyikben az izoxazolingyűrű O-atomja közelebb helyezkedik el a ciklopenténygyűrű sp^3 C-atomjához) mellett főtermékként a diciklopentadiénnel kondenzált izoxazolin regioizomereket (\pm) -**7ab**– (\pm) -**9ab** kaptuk meg. 1,4-Ciklohexadiénből (**2**) kiindulva csak nyomokban jutottunk cikloaddíciós termékhez, azonban ennek helyzeti izomerjéből, az 1,3-ciklohexadiénből (**3**) kiindulva regioizomer termékeket kaptunk. A főtermékek minden esetben a (\pm) -**16a**– (\pm) -**18a** vegyületek voltak. Amennyiben fenil-nitrometánt alkalmaztunk nitril-oxid forrásként, az izomer cikloaddíciós termék (\pm) -**18b** (amely-

ben az izoxazolingyűrű O-atomja közelebb helyezkedik el a ciklohexénygyűrű sp^2 C-atomjához) képződése elmaradt. 1,5-Cikloooktadién (**4**) reakcióiban egyetlen terméket $[(\pm)$ -**19**– (\pm) -**21] kaptunk minden esetben közepes hozammal. 1,3-Cikloooktadién (**5**) esetében szintén regioizomerek keverékét $[(\pm)$ -**22ab**– (\pm) -**24ab] kaptuk. Konstitúciós szerkezetüket minden esetben sikeresen meghatároztuk 2D NMR spektrumok (COSY, HSQC) alapján. 2,5-Norbornadiénre (**6**) végzett nitril-oxid cikloaddíciós reakcióban két terméket kaptunk jó hozammal minden esetben. A főtermék az *exo* sztereoizomer volt, a melléktermék az *endo* sztereoizomer¹⁹. (4. ábra)****



4. ábra: Aliciklusos gyűrűvel kondenzált izoxazolin-származékok szintézisei

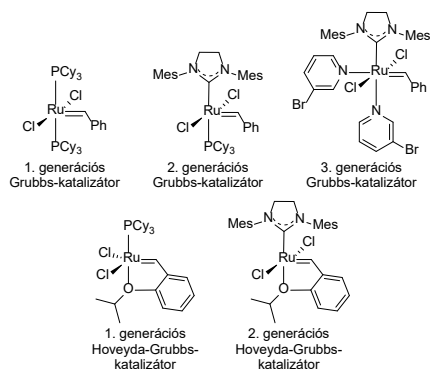
Az így előállított izoxazolin-származékokat $[(\pm)$ -**7a/b**– (\pm) -**27a/b] kiindulási anyagként használtuk a továbbiakban.**

2.2. Izoxazolin-származékok gyűrűnyitó metatézissel történő átalakításai

Az izoxazolin-származékok sztereokontrollált gyűrűnyitó metatézisét elvégezve jó, illetve kiváló hozamokkal jutottunk a gyűrűnyitott termékekhez. A gyűrűnyitó metatézist (ROM) etilén atmoszférában végeztük, szobahőmérsék-

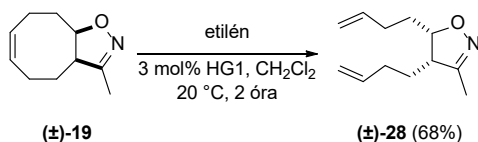
leten, ruténium-alapú katalizátor (1. generációs Grubbs, G1, illetve Hoveyda-Grubbs HG1, 2. generációs Grubbs G2, illetve Hoveyda-Grubbs, HG2, valamint 3. generációs Grubbs, G3 katalizátor) jelenlétében. (5. ábra)²⁰⁻²⁴

A gyűrűnyitott termékek mellett kisebb mennyiségű polimer termékek képződését is tapasztaltuk. A polimerek visszaszorítására jó megoldásnak bizonyult a reakció lejtátszódását követően a katalizátor elroncsolása, ezt $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$ és MeOH eleggyel végeztük²⁵⁻²⁷.



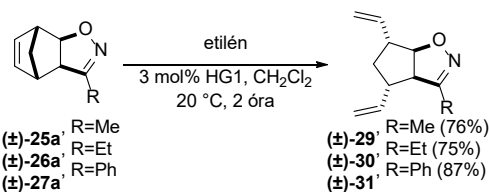
5. ábra. Alkalmazott Ru-alapú katalizátorok

Az általunk előállított ciklookténvázal kondenzált izoxazolin-származékok közül a 3-metil-ciklooktén-izoxazolin [(±)-19] gyűrűnyitó metatézisét végeztük el. A HG1 katalizátor alkalmazásával jobb hozamot értünk el, mint a G1 katalizátor alkalmazásával. A reakció során egyetlen terméket izoláltunk oszlopkromatográfiás tisztítást követően 68%-os hozammal. (6. ábra)

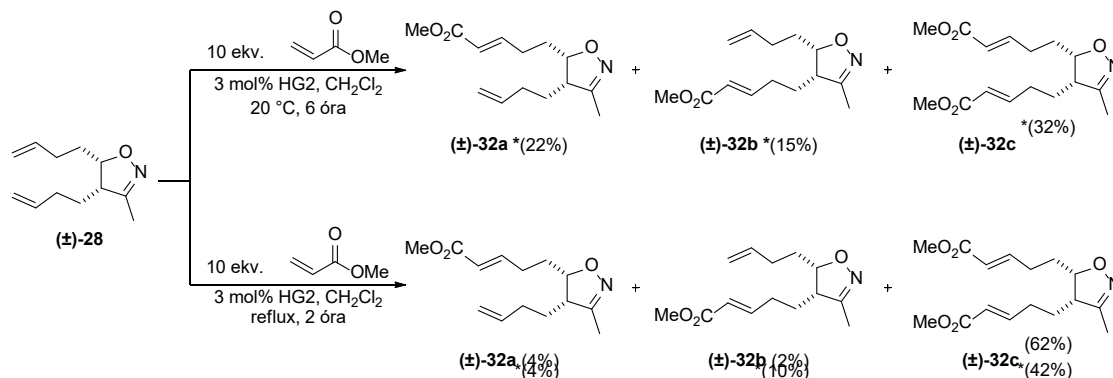


6. ábra: 3-Metil-ciklooktén-izoxazolin [(±)-19] gyűrűnyitó metatézise

A norbornénvázal kondenzált izoxazolin-származékok [(±)-25a–(±)-27a] gyűrűnyitó metatézise során célunk volt a kereskedelmi forgalomban kapható katalizátorok teljesítőképességének vizsgálata. A reakciók során szelektíven, egyetlen terméket izoláltunk, a (±)-29–(±)-31 gyűrűnyitott izoxazolin-származékokat. (7. ábra)



7. ábra. Divinil-szubsztituált ciklopentánvázal kondenzált izoxazolin-származékok szintézisei



8. ábra. Keresztkapcsolt termékek szintézise metil-akriláttal; (*katalizátor elroncsolással kapott hozamok)

Azt tapasztaltuk, hogy a HG1 katalizátor jó, illetve kiváló hozammal eredményezte a gyűrűnyitott termékeket. A 2. generációs katalizátorok (G2 és HG2) esetében az 1 órás reakcióidővel jobb eredményt értünk el, mint 2 órás reakcióidővel, valamint a 3. generációs Grubbs-katalizátor különösen rövid reakcióidőt igényelt. Ennek legfőbb oka polimerek képződése volt. (1. Táblázat)

Vegyületszám	G1	G2	HG1	HG2	G3
(±)-29	33%	22%	76%	13%	30%
(±)-30	58%	15%	75%	34%	49%
(±)-31	93%	10%	87%	25%	44%

1. Táblázat. Izolált hozamok [(±)-29–(±)-31]

2.3. Izoxazolin-származékok keresztmetatézissel történő átalakítása

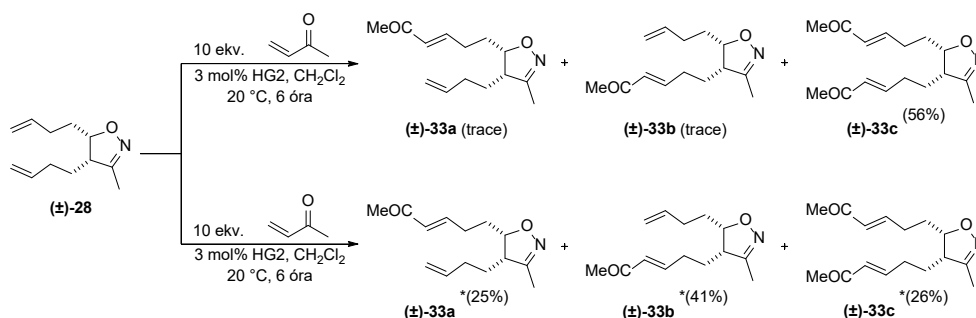
2.3.1. Keresztmetatézis metil-akriláttal, illetve metil-vinil-ketonnal

A gyűrűnyitó-metatézissel előállított dialkenil-szubsztituált izoxazolin-származékok [(±)-28–(±)-31] C=C kötése további funkcionálisításokra ad lehetőséget. A keresztmetatézis CH₂Cl₂ közegben, Ru-alapú katalizátorok (G2, HG2 és G3) jelenlétében történt. Kapcsoló partnerként metil-akrilátot és metil-vinil-ketont alkalmaztunk. A keresztmetatézis reakciók sztereokontrollált módon játszódtak le és minden esetben a termék *E* geometriával rendelkezett.

A (±)-28-as vegyület átalakítása során kapcsoló partnerként metil-akrilátot alkalmazva a kétszeresen kapcsolt vegyület [(±)-32c] mellett egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-32a és (±)-32b] is képződtek változó arányban és hozammal. Azt tapasztaltuk, hogy szobahőmérsékleten, 6 órás reakcióidővel, HG2 katalizátor jelenlétében elvégezve a reakciót jelentősebb mennyiségű egyszeresen kapcsolt termékek [(±)-32a és (±)-32b] képződtek. Reflux hőmérsékleten elvégezve a reakciót, 2 órás reakcióidővel, szintén HG2 katalizátor jelenlétében jó hozammal jutottunk a kétszeresen kapcsolt termékhez [(±)-32c]. (8. ábra)

Abban az esetben, ha kapcsoló partnerként metil-vinil-ketont alkalmaztunk, az előzőekhez hasonló módon egyszeresen kapcsolt regioizomereket [(±)-33a és (±)-33b]

és kétszeresen kapcsolt terméket [(±)-33c] kaptunk. A reakciót HG2 katalizátor jelenlétében szobahőmérsékleten 6 órás reakcióidővel végeztük el. (9. ábra)



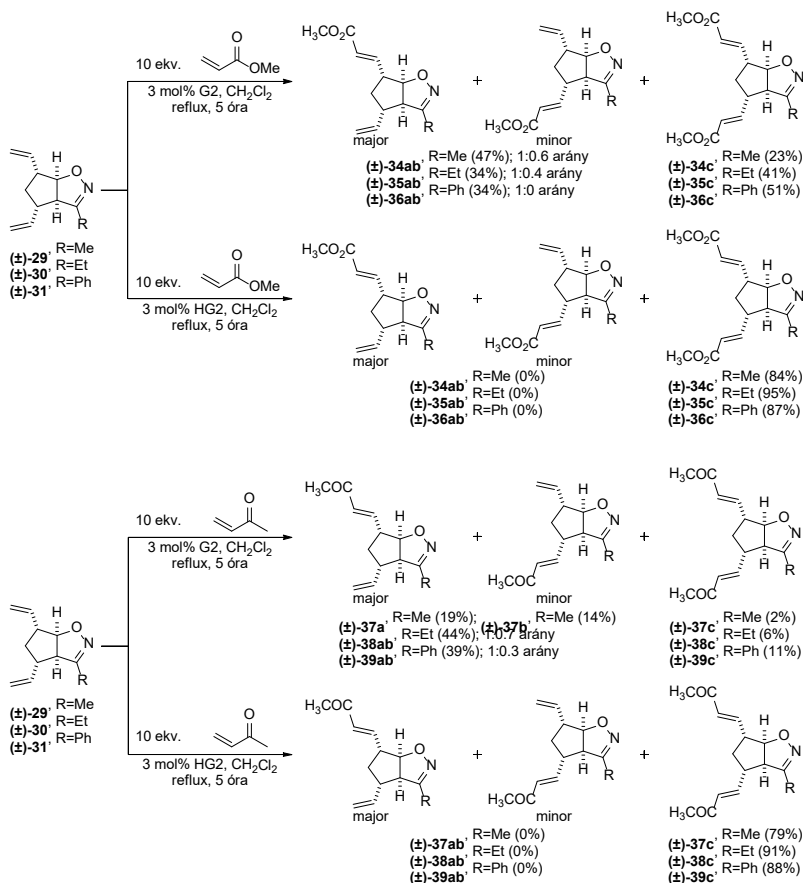
9. ábra. Keresztkapcsolt termékek szintézise metil-vinil-ketonnal (*katalizátor elroncsolással kapott hozamok)

Az egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-32a/b és (±)-33a/b] oszlopkromatográfias módszerrel történő elválasztása sikeres volt.

Munkánk során vizsgáltuk a katalizátor jelenlétének hatását is; abban az esetben, ha a katalizátor aktív maradt a reakció feldolgozása során, a metatézis reakció eltolódott a kétszeresen kapcsolt termékek képződésének irányába. Azonban, ha a katalizátort $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$, MeOH elegyével elroncsoltuk a reakció feldolgozása során, jelentősebb mennyiségű egyszeresen kapcsolt regioizomerekhez jutottunk. Kísérleti tapasztalataink azt mutatták, hogy az elroncsoláshoz al-

kalmazott $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$, MeOH elegy nem befolyásolta negatívan a képződött metatézis termékeket. Továbbá a magasabb hőmérséklet szintén kedvez a kétszeresen kapcsolt termékek képződésének.

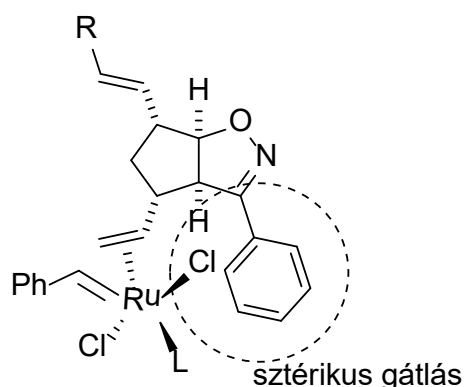
A keresztmetatézist kiterjesztve divinil-szubsztituált ciklopentánvázzal kondenzált izoxazolinokra (±)-29–(±)-31, metil-akriláttal és metil-vinil-ketonnal elvégezve a keresztmetatézis reakciókat hasonló eredményekhez jutottunk. Egyszeresen kapcsolt regioizomerek (±)-34ab–(±)-39ab és kétszeresen kapcsolt termékek (±)-34c–(±)-39c képződtek a reakciók során. (10. ábra)



10. ábra. Divinil-ciklopenta-izoxazolin származékok [(±)-29–(±)-31] keresztmetatézissel történő átalakítása metil-akriláttal és metil-vinil-ketonnal

Az egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-**34ab**, (±)-**35ab**, (±)-**38ab** és (±)-**39ab**] elválasztása sikertelen volt oszlopkromatográfias módszerrel, de képződésük arányát minden esetben sikerült meghatározni.

Általánosságban elmondható, hogy a G2 és G3 katalizátorok alkalmazása egyszeresen kapcsolt regioizomereket eredményezett, míg a HG2 katalizátor kétszeresen kapcsolt termékekhez vezetett jó hozammal. A kiindulási anyagként alkalmazott metil-, etil- és fenil-szubsztituált izoxazolin-származékok esetében azt tapasztaltuk, hogy a szubsztituens méretének növekedésével egyenesen arányosan csökken a kisebb mértékben képződött egyszeresen kapcsolt regioizomer [(±)-**34b**–(±)-**39b**] aránya. Ez a jelenség sztérikus okokkal volt magyarázható. (11. ábra)

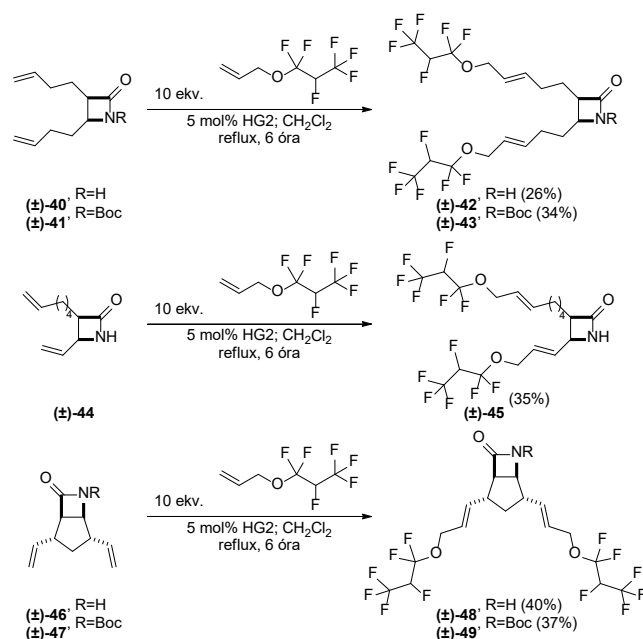


11. ábra. Az átmeneti állapotban kialakuló sztérikus gátlás a katalizátor ligandum és a fenilcsoport között

2.3.2. Keresztmetatézis fluortartalmú olefinekkel

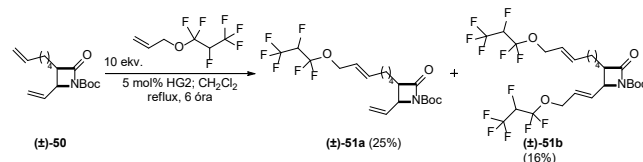
A fluortartalmú vegyületek széleskörű biológiai jelentőségét figyelembe véve²⁸⁻³⁰, célunk volt fluortartalmú származékokkal is kiegészíteni az általunk előállított vegyületek körét. Ehhez kapcsoló partnerként fluortartalmú terminális olefineket alkalmaztunk, pl. 2-brom-3,3,3-trifluor-1-propén, 4-brom-3,3,4,4-tetrafluor-1-butén, allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-éter, metil-2-fluorakrilát, allil-trifluoracetát, 1,1,1,3,3,3-hexafluorizopropil-akrilát, 1H,1H-heptafluorbutil-akrilát, 2,2,2-trifluoetil-akrilát, 4-fluorsztírol, 2-allilhexafluor-izopropanol vagy allil-1H, 1H,2H,2H-perfluoroktil-éter. A keresztmetatézis reakciókat az előzőekkel megegyező módon CH₂Cl₂ közegben Ru-alapú katalizátor (G2, HG2 és G3) jelenlétében végeztük.

Abban az esetben, ha dialkenil-szubsztituált β-laktámot [(±)-**40** és (±)-**44**] és az *N*-Boc védett párját [(±)-**41**] vagy divinil-szubsztituált biciklusos β-laktámot [(±)-**46**] és az *N*-Boc védett párját [(±)-**47**] alkalmaztuk kiindulási anyagként a keresztmetatézis reakcióban, kapcsoló partnerként allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-étert, a reakció során egyetlen termék képződött minden esetben, a kétszeresen kapcsolt metatézis termék. Mivel az alkalmazott reagens kiralitáscentrumot tartalmaz, ezért a képződött termékek diasztereomerekként jelentek meg. (12. ábra)



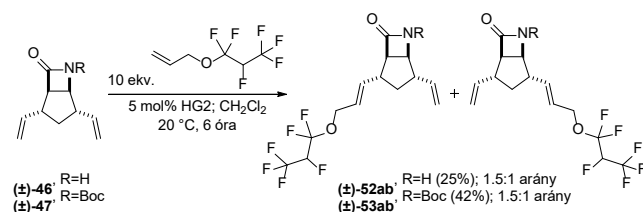
12. ábra. β-Laktámok keresztmetatézise allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-éterrel

Az *N*-Boc védett β-laktám [(±)-**50**] esetében, ha a reakciót reflux mellett végeztük el a kétszeresen kapcsolt metatézis termék [(±)-**51b**] mellett egyszeresen kapcsolt metatézis-terméket [(±)-**51a**] is kaptunk. Ez a jelenség két tényezővel volt magyarázható: az egyik a kelátképződés az intermedier és a karbonil-oxigén között, ami gátolja a további reakciót azáltal, hogy stabilizálja az átmeneti állapotot. Másrészről a vinilcsoport sztérikus gátoltsága minimalizálja annak reaktivitását. (13. ábra)



13. ábra. *N*-Boc védett β-laktám keresztmetatézise allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-éterrel

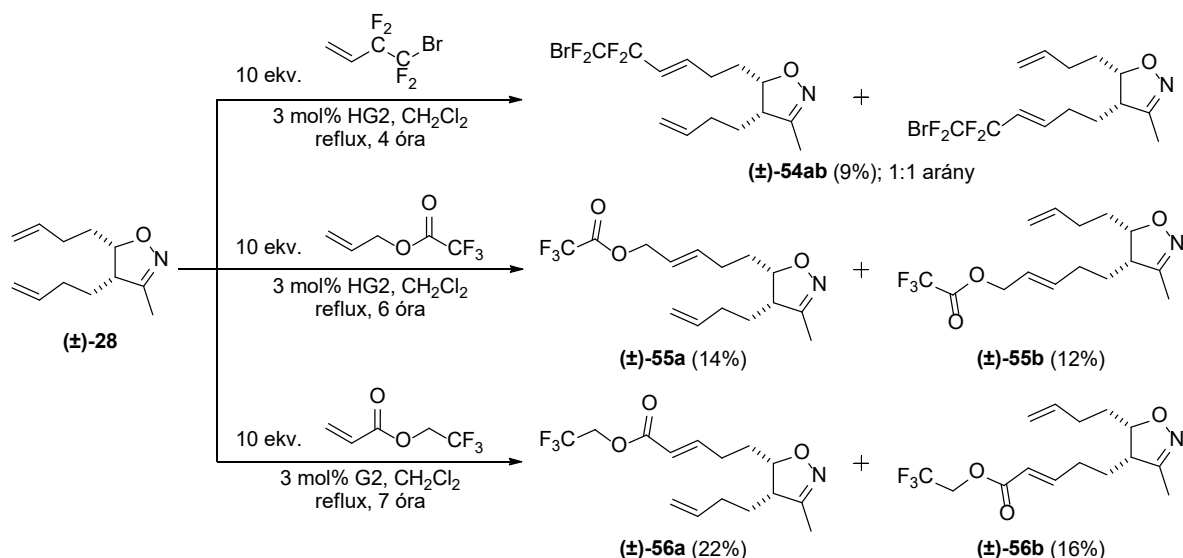
Hőmérsékletfüggő eredményt kaptunk, amikor dialkenil-szubsztituált biciklusos β-laktámot [(±)-**46**] és *N*-Boc védett [(±)-**47**] analógját alkalmaztuk a keresztmetatézis reakcióban. Szobahőmérsékleten elvégezve a reakciót 1,5:1 arányú egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-**52ab** és (±)-**53ab**] keverékéhez jutottunk. (14. ábra)



14. ábra. Hőmérsékletfüggő keresztmetatézis termékek

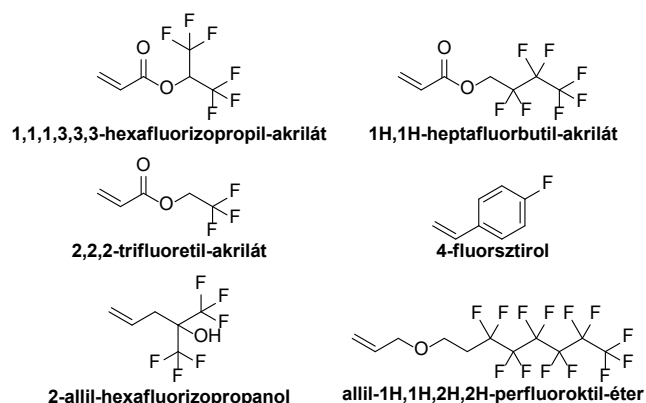
Di(but-3-én-1-il)-3-metil-izoxazolin [(±)-**28**] kiindulási anyagot, kapcsoló partnerként 4-bróm-3,3,4,4-tetrafluor-1-butén, allil-trifluoacetát vagy 2,2,2-trifluoetil-akrilátot

alkalmazva a keresztmetatézis reakcióban, egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-**54ab**, (±)-**55ab** és (±)-**56ab**] keveréke képződött. (15. ábra)



15. ábra. Dialkenil-szubsztituált izoxazolin-származék keresztmetatézise fluortartalmú olefinekkel

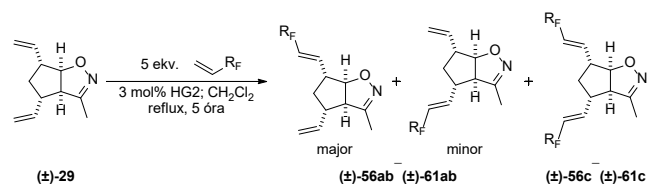
A fluortartalmú, szubsztituált izoxazolinok szintézisét kiterjesztettük a divinil-ciklopenta-izoxazolin [(±)-**29**–(±)-**31**] származékokra is. Kapcsoló partnerként az alábbi fluortartalmú olefineket használtuk: 1,1,1,3,3,3-hexafluorizopropil-akrilát, 1H,1H-heptafluorbutil-akrilát, 2,2,2-trifluoetil-akrilát, 4-fluorsztírol, 2-allilhexafluorizopropanol vagy allil-1H,1H,2H,2H-perfluoroktil-éter. (16. ábra)



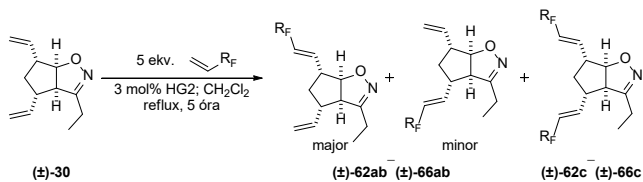
16. ábra. Alkalmazott fluortartalmú olefinek

A keresztmetatézis reakcióban a kereskedelmi forgalomban kapható Ru-alapú katalizátorok közül a G2, HG2 és G3 katalizátorokat alkalmaztuk. Célunk volt az alkalmazott katalizátorok teljesítőképességének és szelektivitásának összehasonlítása is. A reakciók során egyszeresen kapcsolt regioizomerek és kétszeresen kapcsolt termékek is képződtek. (17. ábra)

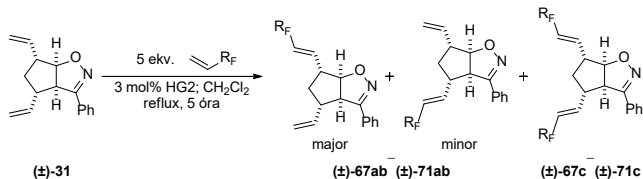
Általánosságban elmondható, hogy a HG2 katalizátor kétszeresen kapcsolt termékeket [(±)-**56c**–(±)-**71c**] eredményezett jelentősebb mennyiségben, ezzel szemben a G2 és a G3 katalizátorok inkább az egyszeresen kapcsolt regioizomerek [(±)-**56ab**–(±)-**71ab**] képződésének kedveztek. A regioizomerek elválasztása sikertelen volt. Hasonló tendencia volt megfigyelhető, mint a metil-akrilát és a metil-vinil-keton esetében. Az izoxazolin-gyűrűn található szubsztituens (metil-, etil-, fenil-szubsztituens) molekulaméretének növekedésével csökkent a kisebb mértékben képződött egyszeresen kapcsolt regioizomer aránya. A fenil-szubsztituált izoxazolin esetében regio szelektivitást értünk el. Ez a jelenség szintén szterikus okokkal volt magyarázható.



RF	(±)- 56ab –(±)- 61ab (arány)	(±)- 56c –(±)- 61c
CO ₂ CH(CF ₃) ₂	10% (1:0.3)	17%
CO ₂ CH ₂ (CF ₂) ₂ CF ₃	20% (1:0.3)	34%
CO ₂ CH ₂ CF ₃	15% (1:0.3)	nyomokban
PhF	18% (1:0.7)	30%
CH ₂ C(CF ₃) ₂ OH	15% 26%	0%
CH ₂ O(CH ₂) ₂ (CF ₂) ₃ CF ₃	9% 6%	0%



RF	(±)-62ab–(±)-66ab (arány)	(±)-62c–(±)-66c
CO ₂ CH(CF ₃) ₂	2% (1:0)	27%
CO ₂ CH ₂ (CF ₂) ₂ CF ₃	9% (1:0.2)	42%
CO ₂ CH ₂ CF ₃	7% (1:0)	52%
PhF	12% (1:0.5)	38%
CH ₂ C(CF ₃) ₂ OH	4% 21%	0%



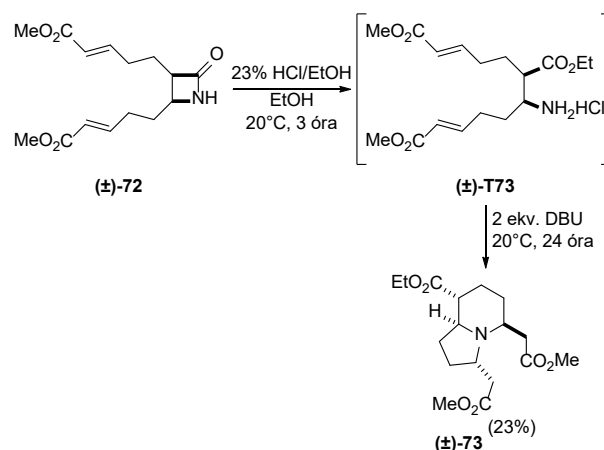
RF	(±)-67ab–(±)-71ab (arány)	(±)-67c–(±)-71c
CO ₂ CH(CF ₃) ₂	6% (1:0)	38%
CO ₂ CH ₂ (CF ₂) ₂ CF ₃	18% (1:0)	37%
CO ₂ CH ₂ CF ₃	4% (1:0)	48%
PhF	18% (1:0)	25%
CH ₂ C(CF ₃) ₂ OH	3% (1:0)	0%

17. ábra. Divinil-3-alkil-ciklopenta-izoxazolínok keresztmetatézise fluortartalmú olefinekkel

2.4. Heterociklusok előállítása intramolekuláris aza-Michael-addícióval

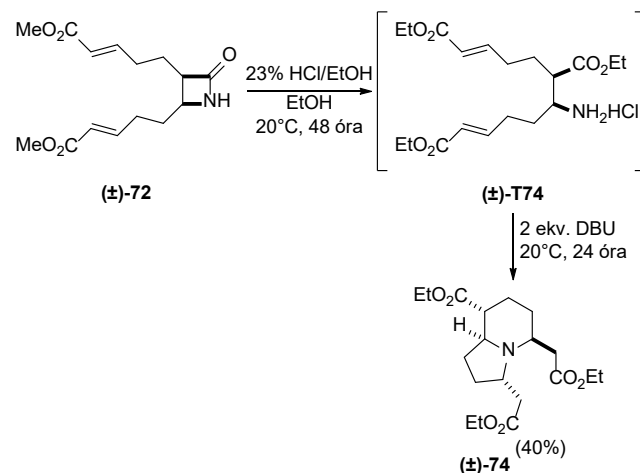
A funkcionizált *N*-heterociklusok számos biológiailag aktív vegyületben (szintetikus heterociklusok és természetes vegyületek) megtalálhatók³¹⁻³². Az általunk előállított kétszeresen kapcsolt metatézis-termékek, mint potenciális Michael-akceptorok alkalmas szubsztitúttokként funkcionálhatnak intramolekuláris aza-Michael-addíciós reakcióban.

Kísérleti munkánk során a (±)-72 vegyület gyűrűnyitását végeztük el 23% HCl/EtOH oldatával szobahőmérsékleten, majd ezt követte a bázis katalizálta intramolekuláris aza-Michael-addíció (THF közegben, szobahőmérséklet, DBU bázis, 24 órás reakcióidő). A reakció során, szelektíven, egyetlen terméket kaptunk, a szubsztituált indolizidin vegyületet [(±)-73]. (18. ábra)



18. ábra. A (±)-72 vegyület intramolekuláris aza-Michael-addíciója

Abban az esetben, ha az azetidion gyűrűnyitását hosszabb reakcióidő alatt (48 óra) végeztük el, az átészterezés is megtörtént. Az így kapott termék [(±)-T74] intramolekuláris aza-Michael-addícióját is elvégeztük, az előzőekkel analóg módon kaptuk a megfelelő indolizidin terméket [(±)-74]. (19. ábra)



19. ábra. A (±)-72 vegyület intramolekuláris aza-Michael-addíciója

A Baldwin szabályok³³ értelmében a gyűrűzáródások 5-*exo*-trig és 6-*exo*-trig módon történtek, mivel mindkét gyűrűzáródás megengedett, így termékként piperidin/pirrolidin kondenzált (indolizidin) terméket kaptunk. A konjugált addíció során két új sztereogén centrum alakult ki.

Az így előállított indolizidin termékben [(±)-73 és (±)-74] a karboximetil oldalláncok relatív térállása *transz*, az intramolekuláris aza-Michael addíció diasztereoselektív módon játszódtott le. Az 5S* relatív konfiguráció kialakulása megegyezik azzal a feltevésünkkel, miszerint a hattagú gyűrű szék helyzetű átmeneti állapota és a szubsztituens ekvatoriális helyzete a kedvezményezett a gyűrűzáródás során.

3. Összefoglalás

Munkánk során izoxazolin-gyűrűvel kondenzált aliciklusokat állítottunk elő 1,3-dipoláros cikloaddícióval. Az 1,3-dipólt Mukaiyama-módszerrel (Boc₂O, DMAP) generáltuk primer nitroalkánból (EtNO₂, *n*PrNO₂ és BnNO₂) kiindulva. Kiindulási anyagként különböző tagszámú és típusú ciklusos diéneket (ciklopentadién, 1,4-ciklohexadién, 1,3-ciklohexadién, 1,5-ciklooktadién, 1,3-ciklooktadién, illetve 2,5-norbornadién) alkalmaztunk.

Az így előállított izoxazolin-származékok sztereokontrollált gyűrűnyitó metatézisét hajtottuk végre Ru-alapú katalizátorok alkalmazásával, etilén jelenlétében. A melléktermékként képződő polimerek visszaszorítására jó megoldásnak bizonyult a katalizátor elroncsolása (NaHCO₃/H₂O, MeOH elegy) a reakció feldolgozása során.

A gyűrűnyított termékek továbbalakítása kereszt-metatézissel történt. Kapcsoló partnerként α,β -telítetlen karbonilvegyületeket (metil-akrilát, metil-vinil-ke-ton) használtunk. A reakció során alkalmazott Ru-alapú metatézis katalizátorok teljesítőképességét és szelektivitását is vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy a HG2 katalizátorok jó hozammal eredményezték a kétszeresen kapcsolt termékeket. A kereszt-kapcsolt termékek minden esetben *E* geometriával képződtek. Vizsgáltuk, hogy a katalizátor aktivitás milyen hatással van az egyszeresen- és kétszeresen kapcsolt termékek képződési arányára.

A keresztmetatézist elvégeztük fluortartalmú olefinek felhasználásával is. Kapcsoló partnerként 2-bróm-3,3,3-trifluor-1-propén, 4-bróm-3,3,4,4-tetrafluor-1-butén, allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-éter, metil-2-fluorakrilát, allil-trifluoracetát, 1,1,1,3,3,3-hexafluorizopropil-akrilát, 1H,1H-heptafluorbutil-akrilát, 2,2,2-trifluoretil-akrilát, 4-fluorsztirol, 2-allilhexafluorizopropanol vagy allil-1H,1H,2H,2H-perfluoroktil-éter vegyületeket alkalmaztunk.

Amikor dialkenil-szubsztituált β -laktámot és az *N*-Boc védett párját vagy divinil-szubsztituált biciklusos β -laktámot és az *N*-Boc védett párját alkalmaztuk kiindulási anyagként a keresztmetatézis reakcióban, kapcsoló partnerként allil-1,1,2,3,3,3-hexafluorpropil-étert, a reakció során egyetlen termék képződött minden esetben, a kétszeresen kapcsolt metatézis termék. Azonban az *N*-Boc védett β -laktám esetében, ha a reakciót reflux mellett végeztük el a kétszeresen kapcsolt metatézis termék mellett egyszeresen kapcsolt metatézis terméket is kaptunk. Hőmérsékletfüggő eredményt kaptunk, amikor dialkenil-szubsztituált biciklusos β -laktámot és *N*-Boc védett analógját alkalmaztuk a keresztmetatézis reakcióban. A reakciót szobahőmérsékleten elvégezve egyszeresen kapcsolt regioizomerek 1,5:1 arányú keverékéhez jutottunk.

Fluorozott ciklopentán-gyűrűvel kondenzált izoxazolin-származékokhoz jutottunk dialkenil-szubsztituált ciklopenta-izoxazolin vegyületekből kiindulva. Kapcsoló-partnerként 1,1,1,3,3,3-hexafluorizopropil-akrilát,

1H,1H-heptafluorbutil-akrilát, 2,2,2-trifluoretil-akrilát, 4-fluor-sztirol, 2-allilhexafluorizopropanol vagy allil-1H,1H,2H,2H-perfluoroktil-éter vegyületeket használtunk. Minden esetben egyszeresen kapcsolt és kétszeresen kapcsolt termékeket kaptunk. A reakciók során tanulmányoztuk a katalizátorok szelektivitását és azt tapasztaltuk, hogy a HG2 katalizátorok inkább kétszeresen kapcsolt termékek képződését segítette elő, míg a G2 és G3 katalizátorokat alkalmazva egyszeresen kapcsolt termékekhez jutottunk.

Az előállított kereszt-kapcsolt termékek alkalmas Michael-akceptoroknak bizonyultak intramolekuláris aza-Michael-addícióban. Az azetidion gyűrű nyitását (23% HCl/EtOH) követően bázis katalizálta intramolekuláris aza-Michael-addíciót elvégezve egyetlen terméket izoláltunk, a szubsztituált indolizidin vegyületet. Amennyiben az azetidion gyűrű nyitását hosszabb reakcióidővel végeztük el, abban az esetben az átészterezés is megtörtént. Elvégezve a Michael-addíciót szintén egyetlen termékhez jutottunk az előzőekkel analóg módon.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki az Új Nemzeti Kiválósági Program ÚNKP-18-3-I-SZTE-11, ÚNKP-19-3-SZTE-20, ÚNKP-20-3-I-SZTE-309, az NKFIH K 119282, a GINOP-2.3.2-15-2016-00060, az EFOP-3.6.1-16-2016-00008, a 20391-3/2018/FEKUSTRA anyagi támogatásáért.

Hivatkozások

- Pavlinov, I.; Gerlach, E. M.; Aldrich, L. N. *Org. Biomol. Chem.*, 2019, 17, 1608–1623.
<https://doi.org/10.1039/C8OB02327A>
- Hung, A. W.; Ramek, A.; Wang, Y.; Kaya, T.; Wilson, J. A.; Clemons, P. A.; Young, D. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2011, 108, 6799–6804.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1015271108>
- Collins, S.; Bartlett, S.; Nie, F.; Sore, H.; Spring, D. *Synthesis*, 2016, 48, 1457–1473.
<https://doi.org/10.1055/s-0035-1561414>
- Kumar, K. A.; Govindaraju, N. R.; Kumar, G. V. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2015, 7, 250–257.
<https://www.jocpr.com/articles/isoxazolines-an-insight-to-their-synthesis-and-diverse-applications.pdf>
- Agrawal, N.; Mishra, P. *Med. Chem. Res.*, 2018, 27, 1309–1344.
<https://doi.org/10.1007/s00044-018-2152-6>
- Tang, S.; He, J.; Sun, Y.; He, L.; She, X. *J. Org. Chem.*, 2010, 75, 1961–1966.
<https://doi.org/10.1021/jo1000065>
- Churykau, D.; Zinovich, V.; Kulinkovich, O. *Synlett*, 2004, 11, 1949–1952.
<https://doi.org/10.1055/s-2004-831294>
- Karpavičiene, I.; Lapinskaite, R.; Brukštus, A.; Čikotiene, I. *Synlett*, 2012, 23, 381–384.
<https://doi.org/10.1055/s-0031-1290310>
- Huisgen, R. *Angew. Chem.*, 1963, 2, 565–632.
<https://doi.org/10.1002/anie.196305651>
- Namboothiri, I. N. N.; Rastogi, N. *Synth. Heterocycles Cycloaddit. I* (Ed.: A. Hassner), Springer Berlin Heidelberg, 2008, 1–44.
https://link.springer.com/10.1007/7081_2007_101

11. Kiss, L.; Nonn, M.; Fülöp, F. *Synthesis*, 2012, 44, 1951–1963. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1290373>
12. Grela, K. Ed. *Olefin Metathesis: Theory and Practice*, Wiley, Hoboken, New Jersey, 2014. ISBN 978-1118207949 <https://doi.org/10.1002/9781118711613>
13. Schrodi, Y.; Pederson, R. *AldrichimicaActa*, 2007, 40, 45–52.
14. Dias, E. L.; Nguyen, T.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, 119, 3887–3897. <https://doi.org/10.1021/ja963136z>
15. Trnka, T. M.; Grubbs, R. H. *Acc. Chem. Res.*, 2001, 34, 18–29. <https://doi.org/10.1021/ar000114f>
16. Chauvin, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, 45, 3740–3747. <https://doi.org/10.1002/anie.200601234>
17. Kiss, L.; Kardos, M.; Vass, Cs.; Fülöp, F. *Synthesis*, 2018, 50, 3571–3588. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1591600>
18. Benke, Z.; Nonn, M.; Fülöp, F.; Kiss, L. *ChemistrySelect* 2019, 4, 2886–2891. <https://doi.org/10.1002/slct.201900688>
19. Tranmer, G. K.; Tam, W. *Org. Lett.*, 2002, 4, 4101–4104. <https://doi.org/10.1021/ol026846k>
20. Remete, A. M.; Benke, Z.; Kiss, L. *Fluorine Notes*, 2019, 6 <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900981>
21. Kiss, L.; Benke, Z.; Remete, A. M.; Fülöp, F. *Chem. Rec.* 2020, 20, 1129–1141. <https://doi.org/10.1002/tcr.202000070>
22. Benke, Z.; Remete, A. M.; Semghouli, A.; Kiss, L. *Asian J. Org. Chem.* 2021, 10, 1184–1191. <https://doi.org/10.1002/ajoc.202100147>
23. Benke, Z.; Nonn, M.; Kardos, M.; Fustero, S.; Kiss, L.; Beilstein *J. Org. Chem.* 2018, 14, 2698–2707. <https://doi.org/10.3762/bjoc.14.247>
24. Nonn, M.; Benke, Z.; Fustero, S.; Fülöp, F.; Kiss, L. *Eur. J. Org. Chem.* 2019, 5285–5293. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201900101>
25. Dinger, M. B.; Mol, J. C. *Organometallics*, 2003, 22, 1089–1095. <https://doi.org/10.1021/om0208218>
26. Dinger, M. B.; Mol, J. C. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2003, 2827–2833. <https://doi.org/10.1002/ejic.200200702>
27. Jawiczuk, M.; Marczyk, A.; Trzaskowski, B. *Catalysts*, 2020, 10, 887–943. <https://doi.org/10.3390/catal10080887>
28. Mei, H.; Remete, A. M.; Zou, Y.; Moriwaki, H.; Fustero, S.; Kiss, L.; Soloshonok, V. A.; Han, J. *Chin. Chem. Lett.*, 2020, 31, 2401–2413. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2020.03.050>
29. Han, J.; Remete, A. M.; Dobson, L. S.; Kiss, L.; Izawa, K.; Moriwaki, H.; Soloshonok, V. A.; O'Hagan, D. *J. Fluor. Chem.*, 2020, 239, 109639–109666. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2020.109639>
30. Inoue, M.; Sumii, Y.; Shibata, N. *ACS Omega*, 2020, 5, 10633–10640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00830>
31. Amara, Z.; Caron, J.; Joseph, D. *Nat. Prod. Rep.*, 2013, 30, 1211–1225. <https://doi.org/10.1039/c3np20121j>
32. Bates, R. W.; Ko, W.; Barát, V. *Org. Biomol. Chem.*, 2020, 18, 810–829. <https://doi.org/10.1039/C9OB02388G>
33. Baldwin, J. E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1976, 734–736. <https://doi.org/10.1039/c39760000734>

Diversity-oriented synthesis of functionalized alicycles through dipolar cycloaddition/metathesis reaction protocols

Our research was focused on the preparation of some novel isoxazoline-containing scaffolds starting from varied cycloalkenes. Because of their diverse bioactivities, isoxazoline derivatives play an important role in organic and medicinal chemistry. Organic compounds containing the isoxazoline motif are known to have a wide range of biological properties, such as antibacterial, antifungal, anticancer, antiviral, etc. Furthermore, the isoxazoline skeleton is a well-used intermediate in synthetic chemistry. Many valuable compounds are accessed via isoxazoline intermediates, such as amino alcohols, amino diols, and β -hydroxyketones. Last, but not least, the synthesis of highly functionalized cyclopentane derivatives received considerable attention in medicinal chemistry, due to their various biological activities.

For the formation of the isoxazoline ring, the 1,3-dipolar cycloaddition of nitrile oxide with cycloalkenes is a widely used convenient approach. Since nitrile oxides are reactive and not stable dipoles, they are synthesized *in situ*. They can be generated utilizing two methods, namely, Huisgen methodology and Mukaiyama methodology. We generated nitrile oxides according to the Mukaiyama method by dehydrating primary nitroalkanes (nitroethane, 1-nitropropane, phenylnitromethane) performed in the presence of a base (DMAP). Various cycloalkenes were used as dipolarophiles during the cycloaddition.

Our systematic study started with cyclopentadiene, and besides the cycloaddition adduct, dicyclopentadiene-condensed isoxazoline regioisomers were obtained as main products. Next starting material was 1,4-cyclohexadiene, in this case, only traces of the cycloaddition products were obtained, but starting from its positional isomer the 1,3-cyclohexadiene, regioisomeric products were obtained. The main products in each case were compounds in which the O-atom of the isoxazoline ring located farther from the sp^2 C-atom of the cyclohexene ring. When phenylnitromethane was used as the nitrile oxide source, formation of the minor cycloaddition product (when the O-atom of the isoxazoline ring located closer to the sp^2 C-atom of the cyclohexene ring) did not occur. In the case of 1,5-cyclooctadiene, a single product was obtained in each case in moderate yield. When 1,3-cyclooctadiene was used as starting material, a mixture of regioisomers was also achieved. In the dipolar cycloaddition reaction of nitrile oxide to 2,5-norbornadiene, two products were obtained in good yield. The main product was the *exo* stereoisomer and the by-product was the *endo* stereoisomer.

Metathesis reaction is an efficient method for C=C bond rearrangement. Thanks to its good functional group tolerance, mild reaction conditions, and its capability to create structurally diverse molecules, its use is more and more widespread in synthetic chemistry. Stereocontrolled ring-opening metathesis was accomplished to isoxazoline derivatives, the corresponding ring-opened products were obtained with a good to excellent yield. The ring-opening metathesis (ROM) was carried out in ethylene atmosphere, at room temperature in the presence of ruthenium based catalyst (1st generation Grubbs and Hoveyda-Grubbs, 2nd generation Grubbs and Hoveyda-Grubbs, as well as 3rd generation Grubbs catalyst). Small amount of polymeric products were also formed besides ring-opened products. The catalyst degradation proved to be a good solution to repress the polymer formation, for this reason, $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$ and MeOH solution was used.

ROM of 3-methyl-cyclooctene-isoxazoline was performed, during the reaction, a single product was isolated after purification by column chromatography. In the ROM of isoxazoline derivatives condensed with norbornene skeleton, a single product was isolated. We aimed to test the performance of some commercially

available catalysts, we found that the HG1 catalyst resulted in the ring-opened products in good to excellent yields.

For the functionalization of the C=C bond, cross metathesis (CM) is a useful and convenient method. The cross metathesis was carried out in CH_2Cl_2 in the presence of Ru-based catalysts (G2, HG2, and G3). Methyl acrylate, methyl vinyl ketone, and various fluorinated terminal olefins were used as cross-partners. The reactions took place in a stereocontrolled manner and the products have *E* geometry in all cases.

During transformation of di(but-3-en-1-yl)-3-methyl-isoxazoline by using methyl acrylate as cross-partner, when the reaction was carried out at room temperature, in the presence of HG2 catalyst for 6 hours significant amount of monocoupled products were formed. When the reaction was executed at reflux, in the presence of HG2 catalyst for 2 hours the dicoupled product was formed in a good yield. In that case, when methyl vinyl ketone was used as cross-partner, the reaction was carried out at room temperature in the presence of HG2 catalyst for 6 hours. During the reaction, monocoupled regioisomers and dicoupled product were obtained and their ratio of formation depends on the reaction conditions. Expanding the cross metathesis to isoxazoline derivatives condensed with divinyl substituted cyclopentane skeleton, CM with methyl acrylate and methyl vinyl ketone gave similar results. During the reactions, monocoupled regioisomers and dicoupled products were formed. Namely, in the case of phenyl substituted derivatives, regioisomer, in which the substituted vinyl moiety was located closer to the substituent of the isoxazoline ring, was not formed. This phenomenon is mostly due to steric reasons.

Considering the wide biological significance of fluorine-containing compounds, we aimed to supplement the range of synthesized compounds with fluorinated derivatives. In that case, when dialkenyl substituted β -lactam and its *N*-Boc protected counterpart or divinyl substituted bicyclic β -lactam and its *N*-Boc protected counterpart were used as starting materials in the CM reaction (in CH_2Cl_2 , in the presence of HG2 catalyst, allyl 1,1,2,3,3,3-hexafluoropropyl ether as cross-partner at reflux for 6 h) dicoupled products were formed. In the case of *N*-Boc protected β -lactam when the reaction was carried out at reflux a monocoupled regioisomer also was formed beside the dicoupled product. Two factors may contribute to the outcome of the reaction: the chelation of the metallacycle intermediate with the carbonyl oxygen and the steric hindrance. The results were found to be temperature dependent, when dialkenyl substituted bicyclic β -lactam and its *N*-Boc protected counterpart were used as starting material. When the reaction was executed at room temperature mixture of monocoupled regioisomers was obtained in a ratio of 1.5:1. When di(but-3-en-1-yl)-3-methylisoxazoline as starting material, 4-bromo-3,3,4,4-tetrafluoro-1-butene, allyl trifluoroacetate or 2,2,2-trifluoroethyl acrylate as cross-partners were used in the CM reaction, a mixture of monocoupled regioisomers was formed. The synthesis of fluorine containing divinyl-cyclopenta-isoxazoline derivatives was expanded. During the reactions, monocoupled regioisomers and dicoupled products were formed. Regioselectivity was achieved in the case of phenyl-substituted isoxazoline as well.

The synthesized dicoupled cross metathesis products function as Michael acceptor substrates in intramolecular aza-Michael additions. Lactam ring-opening was executed, followed by base catalyzed intramolecular aza-Michael addition, a single product was obtained, a substituted indolizidine compound. When the 2-azetidion ring-opening with HCl/EtOH solution was performed for a longer reaction time (48 h), in addition to the ring-opening, transesterification also took place. The intramolecular aza-Michael addition of the resulting product was also executed.



MEGHÍVÓ

A Magyar Tudomány Ünnepe rendezvénysorozat keretében a Kémiai Tudományok Osztálya

A jövő élelmiszerbiztonsága – élelmiszereink jövője

címmel ünnepi tudományos ülészakot rendez

Az ülészak időpontja: 2021. november 4, 14:00-16.30

Az ülészak helyszíne: MTA Székház, Díszterem

Az ülészak programja:

Levezető elnök:

Simonné Sarkadi Livia, az MTA doktora, Élelmiszer-tudományi Bizottság elnöke

- 14.00 **Köszöntő**
Perczel András, az MTA rendes tagja, osztályelnök
- 14.05 **European perspectives of Food Safety**
Barbara Gallani, European Food Safety Authority
- 14.30 **Magyar Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia és a fenntartható élelmiszer-fogyasztás**
Kasza Gyula PhD, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal
- 14.55 **Gabonák és álgabonák értéknövelt hasznosítása – egészségtámogatás, élelmiszerbiztonság, fenntarthatóság**
Tömösközi Sándor, kandidátus, BME
- 15.20 **Adatelemzési lehetőségek az élelmiszerlánc-biztonság területén**
Józwiak Ákos PhD
- 15.45 **Élelmiszerbiztonság a vendéglátásban és a háztartásokban**
Lugai Andrea PhD
- 16.10 **Design of innovative healthy**
Vincenzo Fogliano, professor, Wageningen University
- 16.35 **Zárszó**
Simonné Sarkadi Livia, az MTA doktora

Kiemelt ismeretterjesztő kémia rendezvényeink

Salma Imre,

az MTA doktorának kiemelt, tudománynépszerűsítő előadása lesz

november 11-én 18.00-tól a Díszteremben,

amelynek címe:

„Kémiai folyamatok és lehetőségek a budapesti levegőminőség és éghajlat alakításában”.

Tarczay György,

az MTA doktorának kiemelt, tudománynépszerűsítő előadása

november 9-én, 18.00-tól szintén a Díszteremben,

amelynek címe:

„Kémia a csillagok között és csillagközi kémia a laborban – Hogyan segítik a laboratóriumi kísérletek az asztrofizikai megfigyelések megértését?”

A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült

Főszerkesztő: Sohár Pál

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Dinnyés Tünde

A szerkesztőség címe:

ELTE Kémiai Intézet, Általános és Szeretlen Kémiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány sétány 1A;
telefon: 372-2911, fax: 372-2592; e-mail: mkf@chem.elte.hu

Kiadó:

Magyar Kémikusok Egyesülete, 1015 Budapest, Hattyú u. 16. II/8.; Felelős kiadó: Androsits Beáta
telefon: 201-6883; e-mail: androsits@mke.org.hu

URL: <http://www.mke.org.hu>

Internetes változat: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Nyomda:

Europrinting Kft., 1185 Budapest, Lajta utca 3. Telefon: +36 1 287 8495, +36 70 381 8239

Felelős vezető: Endzsel Ernő

Terjeszti a Magyar Kémikusok Egyesülete

Előfizetési díj egy évre MKE tagoknak 1400,- forint, közületeknek 5000,- forint.

Közleményeink kivonatosan is csak a lapunkra való hivatkozással vehetők át.

Egyes cikkek teljes egészben való átvételéhez a szerkesztőség külön engedélye szükséges.
A folyóiratot az MTA MTMT indexeli és a REAL, továbbá az Országos Széchényi Könyvtár (OSZK)
Elektronikus Periodika Adatbázisa és Archívuma (EPA) is archíválja.

Index: 25.540

HU ISSN 1418-9933

