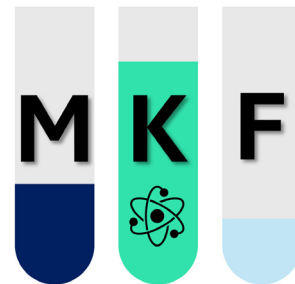


Magyar

Kémiai Folyóirat



Kémiai Közlemények

A Magyar Kémiai Folyóirat 2025. évi 2-4 számaiban a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar Tanszékein folyó kutatómunkáról kaphatunk áttekintést. A folyóirat e különszámi anyagának összeállításáért és gondozásáért a szerkesztők ezúton is köszönetet mondanak **Keglevich György** professzor Úrnak.

**A MKF SZERKESZTŐSÉGE MINDEN KEDVES OLVASÓNAK
KELLEMES ÜNNEPEKET ÉS SIKEREKBEN GAZDAG, BOLDOG
ÚJ ÉVET KÍVÁN!**

131. ÉVFOLYAM, 2025

2-4

A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata
A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei
Magyar Kémiai Folyóirat 131. évfolyam, 2-4. szám 65-223. oldal, 2025

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 terjedelem 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 + féloldalas angol nyelvű kivonat.
4. Könyvismertetés: max. fél oldal.

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

A Semmelweis Egyetem Gyógyszerészi Kémiai Intézet, 1092 Budapest, Högyes Endre u. 9. címet csak akkor használják, ha a közvetlenül a szerkesztőségnek szóló, postai úton érkező levélről van szó (pl. reklamáció, elfogult bírálat vagy plágium stb. esetében).

Az irodalmi hivatkozásoknál a DOI számokat is kérjük feltüntetni.

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 mintafájlt, 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: Szente Lajos

A szerkesztőbizottság tagjai:

Borbás Anikó, Huszthy Péter, Felinger Attila, Gelencsér András,
Keglevich György, Kurtán Tibor, Szakonyi Zsolt

Szerkesztő: Balogh György Tibor

Segédszerkesztő: Vincze Anna

Technikai szerkesztő: Dinnyés Tünde

TARTALOMJEGYZEK

<i>Keglevich György, Szalai Zsuzsanna, Bese Cintia, Bajusz Bence, Milen Mátyás és Schindler József:</i> α -Hidroxi- és α -aminofoszfónátok szintézise és módosítása	67
<i>Milen Mátyás, Keglevich György:</i> A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) szerves kémiai alkalmazása. 1. rész	72
<i>Milen Mátyás, Keglevich György:</i> A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) szerves kémiai alkalmazása. 2. rész	78
<i>Dr. Decsi Balázs, Dr. Balogh György Tibor és Dr. Balogh-Weiser Diána:</i> Metalloporfirin alapú biomimetikus oxidáló rendszerek fejlesztése a hordozó rendszertől az alkalmazásig.....	84
<i>Eszterbauer Edina, Tóth Pál, Sakiyo Jesse, Kiss Berrnadett és Németh Áron:</i> Alkalmazott mikrobiológiai kutatások a Fermentációs Félüzemben.....	91
<i>Kisfaludi Péter, Jávor Bálint, Ádám Bálint Árpád, Vezse Panna, Szabó-Szentjóni Hajnalka, Szemenyei Balázs, Golcs Ádám, Móczár Ildikó, Tóth Tünde, Huszthy Péter:</i> Sokszínű koronaéter-kutatás egy „Szürke” laborban	98
<i>Halmai Mónika, Keglevich Péter, Hazai László:</i> Daganatellenes hatású hibridek kutatása.....	109
<i>Szalai Zsuzsanna:</i> Új foszfónát-származékok szintézise	115

CONTENT

<i>György Keglevich, Zsuzsanna Szalai, Cintia Bese, Bence Bajusz, Mátyás Milen and József Schindler:</i> The synthesis and modification of α -hydroxy- and α -aminophosphonates	67
<i>Mátyás Milen, György Keglevich:</i> Propylphosphonic anhydride (T3P®): A versatile reagent in organic chemistry. Part 1	72
<i>Mátyás Milen, György Keglevich:</i> Propylphosphonic anhydride (T3P®): A versatile reagent in organic chemistry. Part 2	78
<i>Dr. Balázs Decsi, Dr. György Tibor Balogh and Dr. Diána Balogh-Weiser:</i> Development of metalloporphyrin-based biomimetic oxidizing systems from carrier system to application	84
<i>Edina Eszterbauer, Pál Tóth, Jesse Sakiyo, Berrnadett Kiss and Áron Németh:</i> Applied Microbiological Research in the Fermentation Pilot Plant.....	91
<i>Péter Kisfaludi, Bálint Jávor, Bálint Árpád Ádám, Panna Vezse, Hajnalka Szabó-Szentjóni, Balázs Szemenyei, Ádám Golcs, Ildikó Móczár, Tünde Tóth, Péter Huszthy:</i> Colorful Crown-Ether Research in a “Grey” Laboratory	98
<i>Mónika Halmai, Péter Keglevich, László Hazai:</i> Research work on hybrids with antitumor activities ...	109
<i>Zsuzsanna Szalai:</i> The synthesis of new phosphonate derivatives.....	115

Csiszár Emília és Fekete Erika: Régi polimerek
ígéretes új alkalmazásai – Természetes polimerekkel
végzett anyagtudományi kutatások 120

Schindler József: Királis és akirális rokon
szerkezetek szerepe az enantiomer felismerésben.... 131

*Molnár Zsófia, Telek András, Incze Dániel,
Emödi Nikolett, Szemes József, Csuka Pál,
Nyíri Kinga, Nagy Gergely Nándor, Bata Zsófia,
Tasnádi Gábor, Vértessy G. Beáta és Poppe László:*
A BME VBK ipari enzimfejlesztési kutatásai140

Havasi Dávid és Angyal Márton: Multikomponensű
reakciók kémiai informatikai értékelése virtuális
könyvtárfejlesztéshez145

*Szabó Renáta, Egyed Attila, Ábrányi-Balogh Péter,
Kiss Dóra Judit, Volk Balázs, Keserű György Miklós:*
Fluoreszcens jelzővegyületek alkalmazása G-fehérje
kapcsolt receptorok vizsgálatára.....152

*Tömösközi Sándor, Jaksics Edina,
Juhászné Szentmiklóssy Marietta Klaudia,
Muskovics Gabriella és Szűcsné Makay Erika:*
Bemutatkozik a BME Gabonatudományi
és Élelmiszerminőség Kutatócsoportja158

*Tóth Gergő Dániel, Koplányi Gábor, Stummer Tamás,
Sepsik Normann, Pardy Tamas, Ender Ferenc
és Balogh-Weiser Diána:* Nanoszál-hordozós
biokatalizátorok alkalmazási lehetőségei168

Oláh Julianna, Kfoury Joseph:
Átmenetifémek a (bio) katalízisben:
Hogyan segít a számításhoz kémia?179

*Szolnoki Beáta, Decsov Kata Enikő, Nguyen Thanh
Thuy Tien, Ötvös Bettina, Slezák Emese és
Bocz Katalin:* Fenntartható műanyagok kutatása:
anyagtudomány a zöldbb jövőért187

Koncz Medárd, Tátraaljai Dóra és Pukánszky Béla:
Kutatómunka a Műanyag- és Gumiipari
Laboratóriumban 194

*Rávai Bettina, Orosz János Máté, Steinsits Dániel,
Bálint Erika:* A BME Innovatív Gyógyszeripari és
Kirechnológiai Kutatócsoport áramlások kémia
területén végzett kutatásai 200

Szathmári Balázs, Gál Dalma, és Kelemen Zsolt:
Karbonán kémiai kutatások a BME-VBK-n.....210

*Nyíri Kinga, Nagy Gergely Nándor, Leveles Ibolya,
Kőhegyi Bianka, Tóth Zoé, Perey-Simon Viktória,
Incze Dániel, Molnár Zsófia, Bata Zsófia,
Poppe László és Vértessy G. Beáta:*
Szerkezeti biológiai kutatások az ABÉT Biostruct
laboratóriumban214

Emília Csiszár and Erika Fekete: Exciting new
applications for old polymers: Advancements
in materials science with natural polymers 120

József Schindler: The role of chiral and aciral
related structures in enantiomer recognition.....131

*Zsófia Molnár, András Telek, Dániel Incze,
Nikolett Emödi, József Szemes, Pál Csuka,
Kinga Nyíri, Gergely Nándor Nagy, Zsófia Bata,
Gábor Tasnádi, Beáta Vértessy G. and László Poppe:*
Industrial enzyme research at the Faculty of Chemical
Technology and Biotechnology of BME.....140

Dávid Havasi and Márton Angyal: Cheminformatic
evaluation of multicomponent reactions for the
development of virtual chemical libraries145

*Renáta Szabó, Attila Egyed, Péter Ábrányi-Balogh,
Dóra Judit Kiss, Balázs Volk, György Miklós Keserű:*
Application of Fluorescent Probes in the Investigation
of G Protein-Coupled Receptors152

*Sándor Tömösközi, Edina Jaksics,
Marietta Klaudia Juhászné Szentmiklóssy,
Gabriella Muskovics and Erika Szűcsné Makay:*
Introducing the Research Group of Cereal Science
and Food Quality at BME.....158

*Dániel Tóth Gergő, Gábor Koplányi, Tamás Stummer,
Normann Sepsik, Tamas Pardy, Ferenc Ender and
Diána Balogh-Weiser:* Application Possibilities of
Nanofiber-Supported Biocatalysts168

Julianna Oláh, Joseph Kfoury:
Transition metals in (bio)catalysis:
How can computational chemistry contribute?179

*Beáta Szolnoki, Kata Enikő Decsov, Thanh Thuy
Tien Nguyen, Bettina Ötvös, Emese Slezák and
Katalin Bocz:* Research of Sustainable Polymers:
Materials Science for the Greener Future.....187

Medárd Koncz, Dóra Tátraaljai and Béla Pukánszky:
Research activity at the Laboratory of Plastics and
Rubber Technology 194

*Bettina Rávai, János Máté Orosz, Dániel Steinsits,
Erika Bálint:* The research work of the BME
Innovative Pharmaceutical and Chirotechnological
Research Group on the development and application
of flow chemical technologies..... 200

Balázs Szathmári, Dalma Gál and Zsolt Kelemen:
Carborane Chemistry Research at BME-VBK.....210

*Kinga Nyíri, Gergely Nándor Nagy, Ibolya Leveles,
Bianka Kőhegyi, Zoé Tóth, Viktória Perey-Simon,
Dániel Incze, Zsófia Molnár, Zsófia Bata,
László Poppe és Beáta Vértessy G.:*
Structural biology studies in the BME ABÉT
Biostruct Laboratory214

α -Hidroxi- és α -aminofoszfónatok szintézise és módosítása

KEGLEVICH György^{a,*}, SZALAI Zsuzsanna^a, BESE Cintia^a, BAJUSZ Bence^a, MILEN Mátyás^b és SCHINDLER József^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest

^bEgis Gyógyszergyár Zrt., Keresztúri út 30–38, 1106 Budapest, Magyarország

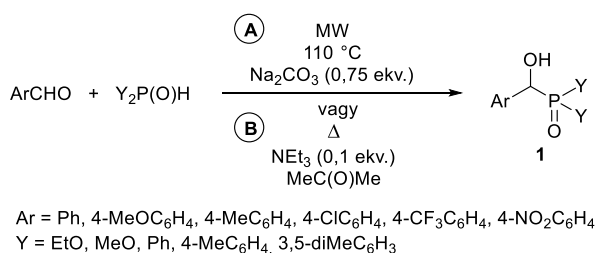
1. Bevezetés

A foszfónatok a szerves foszforvegyületek talán legfontosabb csoportját alkotják. Az α hidroxi- és α aminofoszfónát-származékok – enzim inhibáló hatásuk miatt – biológiai aktivitással rendelkezhetnek, ami miatt szintézisük mind a mai napig az érdeklődés homlokterében áll.^{1–4}

Ebben az összefoglaló közleményben az elmúlt bő évtized α -hidroxifoszfónatokkal és α -aminofoszfónatokkal kapcsolatos eredményeiről számolunk be.

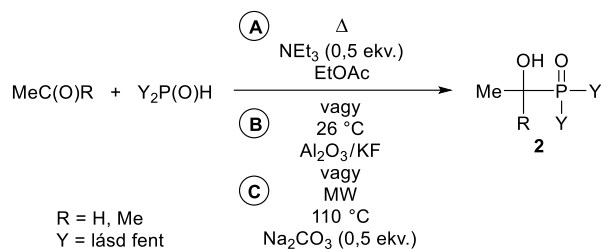
2. Hidroxifoszfónatok előállítása és reakciói

Egy sereg – többnyire a Pudovik-reakciót alkalmazó – módszer áll rendelkezésre α -hidroxifoszfónatok szintézisére.¹ Csoportunk két „zöld”-nek mondható eljárást dolgozott ki α -hidroxi-benzilfoszfónatok előállítására. Az egyik megközelítés szerint a szubsztituált benzaldehideket mikrohullámú körülmények között 110 °C-on, 0,75 ekv. Na₂CO₃ jelenlétében oldószermentes közegben reagáltatták dialkil-foszfítokkal. Diarilfoszfin-oxidokat használva P-reagensként α -hidroxi-benzilfoszfin-oxidokhoz (1) jutottunk (1. ábra/A).⁵ A másik módszer során a reagenseket katalitikus mennyiségű trietilamin jelenlétében forraltuk acetonban, miután lehűlésre kristályos formában kivált a termék (1) (1. ábra/B).⁶



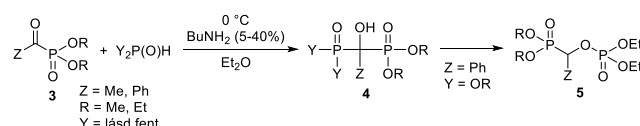
1. Ábra. α -Hidroxi-benzilfoszfónatok szintézise

A közelmúltban acetaldehidből és acetonból is előállítottuk a megfelelő hidroxifoszfónatokat (2, Y = RO) és hidroxifoszfin-oxidokat (2, Y = aril). A fentebb említett két módszer mellett egy harmadik megközelítést is alkalmaztunk, amelynek lényege az, hogy az addíciót Al₂O₃/KF felületén valósítottuk meg (2. ábra).^{7,8}



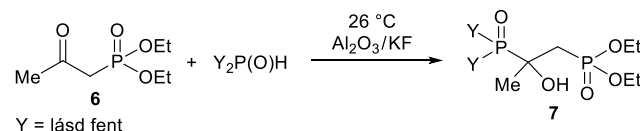
2. Ábra. α -Hidroxi-alkilfoszfónatok szintézise

A következőben hidroximetilénbisfoszfónatokat (4, Y = RO) állítottunk elő α -oxofoszfónatok (3) és dialkil-foszfítok addíciós reakciójában.^{9–12} Vegyes származékokat, köztük foszfin-oxid-foszfónát-származékokat (4, Y = aril) is képeztünk (3. ábra). Megfigyeltük, hogy az adduktok (4) az oxofoszfónát helyettesítőjétől függően (pl. tipikusan Z = Ph esetben), ill. bizonyos körülmények között (pl. magasabb hőmérsékleten, vagy nagyobb mennyiségű amin katalizátor hatására) 5 terméké rendeződtek át (3. ábra).



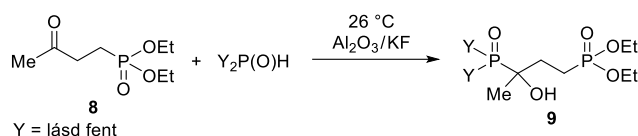
3. Ábra. Hidroximetilénbisfoszfónatok előállítása

Érdekesnek tűnt a β és γ -oxofoszfónatok (6 és 8) Pudovik-reakciójának megvalósítása. Al₂O₃/HF szilárd katalizátor felületén hatékonyan lejáródott az addíció a megfelelő dietilfoszfonoilmetil-, illetve foszfonoilmetil-hidroxifoszfónatokat (7 és 9, Y = RO) eredményezve.^{13,14} Ez esetben is hozzáférhetővé tettünk foszfin-oxid (7 és 9, Y = aril) származékokat (4. és 5. ábra).



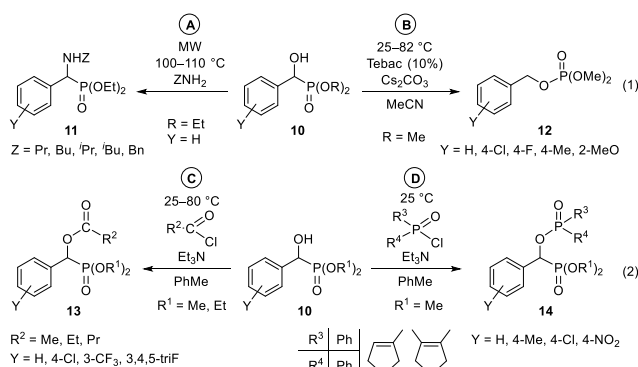
4. Ábra. Foszfonometil-hidroxifoszfónatok képzése

* Keglevich György. Tel.: +36 1 463-1111/5883; e-mail: keglevich.gyorgy@vbk.bme.hu



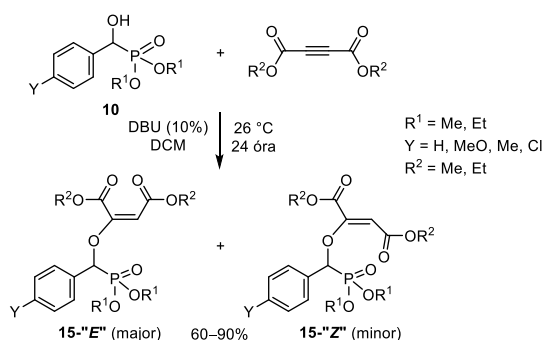
5. Ábra. Foszfonometil-hidroxifoszfónátok hozzáférhetővé tétele

Az α -hidroxifoszfónátok (10) különféle reakciókban vehetnek részt. Váratlan reakció a hidroxicsoport aminofunkcióra való cseréje MW körülmények között (6. ábra/A), amit egy szomszédcsoporthatás segít elő.^{15,16} Egy másik tipikus átalakítás a hidroxifoszfónát (10) átrendezése a megfelelő benzilfoszfónáttá (12) (6. ábra/B).¹⁷ Ezekon kívül, a szóban forgó vegyületek (10) hidroxicsoportja acilezhető (6. ábra/C)¹⁸ és foszforilezhető (6. ábra/D).^{19,20}

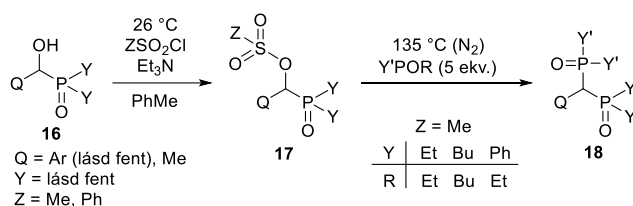


6. Ábra. Foszfonometil-hidroxifoszfónátok hozzáférhetővé tétele

Az α -hidroxibenzilfoszfónátokat (10) DBU-katalizátor jelenlétében dialkil-acetiléndikarboxilátokra addicionáltattuk, amikor is mindkét lehetséges izomer (15/E és 15/Z) képződött (7. ábra).²¹ Az „E” és „Z” izomereket NOE NMR mérésekkel különböztettük meg egymástól.

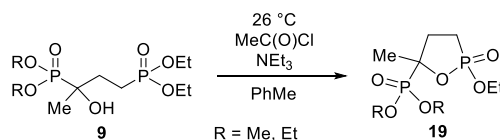
7. Ábra. α -Hidroxibenzilfoszfónátok és dialkil-acetiléndikarboxilátok reakciója

Alkalmas körülmények között a hidroxifoszfónátok alkoxifoszfónátokká alakíthatók.⁷ További módosítási lehetőség a hidroxifoszfónátok (16) szulfonilezése metán- vagy benzol-szulfonsav-kloriddal (8. ábra).^{7,22} Az így kapott szulfoniloxi-foszfónátokat (17) azután trialkil-foszfítokkal és difenilfoszfínossav etilészterrel 135 °C-on Arbuzov-reakcióba vittük. A tágabb értelemben vett biszfoszfónát származékokat (18) viszonylag hatékonyan kaptuk (8. ábra).

8. Ábra. α -Hidroxifoszfónátok szulfonilezése, majd az így kapott intermedierek Arbuzov-reakciója

A bemutatott, szulfoniloxi-származékokkal megvalósított Arbuzov-reakció nem szerepel az irodalomban. Azért folytamtunk ehhez az új átalakításhoz, mert – meglepetésünkre – az α -halogeno-foszfónátok Arbuzov-reakciója igen gyenge hatékonysággal játszódtott le, a fő irány a szubsztitútum dehalogéneződése volt.

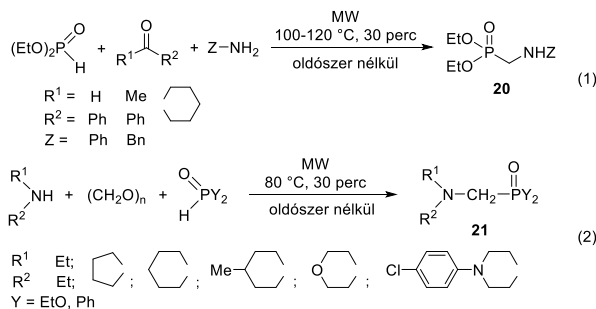
Meglepetésünkre 9 foszfonoetil-hidroxifoszfónátok acetyl-kloriddal történő acilezése (vagy bázis jelenlétében történő átrendezési kísérlete) 19 foszfonoil-1,2-oxafoszfólán-2-oxidok képződéséhez vezetett (9. ábra).¹⁴



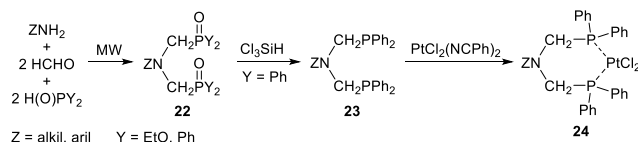
9. Ábra. Foszfonoetil-hidroxifoszfónátok gyűrűzárása

3. Aminofoszfónátok előállítása és reakció

Az α -hidroxifoszfónátokhoz hasonlóan fontos potenciálisan biológiailag aktív vegyületek az α -aminofoszfónátok.²⁻⁴ Az α -aminofoszfónátok tipikus előállítási módszere a dialkil-foszfítok, aldehidek vagy ketonok és aminok kondenzációja, amit változatos körülmények között, sokféle katalizátort kipróbálva valósítottuk meg. Korábban azt találtuk, hogy MW körülmények között a költséget és környezeti terhelést jelentő katalizátorok elhagyhatók, sőt a legtöbb esetben oldószerre sem volt szükség.²³ Példaként a benzaldehid, acetofenon és ciklohexanon dietil-foszfíttal és primer aminokkal megvalósított reakcióját mutatjuk be (10. ábra/(1)).²⁴ A másik példa gyűrűs aminok, formaldehid és dietil-foszfít vagy szekunder foszfín-oxid kondenzációját szemlélteti (10. ábra/(2)).²⁵

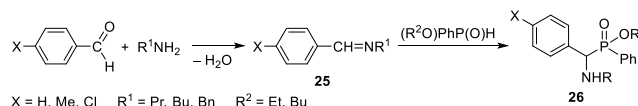
10. Ábra. α -Aminofoszfónátok szintézise Kabachnik–Fields-kondenzációval

Kétszeres foszfa-Mannich-reakciókat is megvalósítottunk primer aminokból, 2 ekvivalens formaldehidből és ugyanennyi $>\text{P}(\text{O})\text{H}$ -reagensből kiindulva (11. ábra).^{26,27} Az így kapott bisz(foszfonoilmetil)- és bisz(foszfinoilmetil)-amin-származékok (**22**, $\text{Y} = \text{EtO}$, ill. Ph) hasznos intermedierek lehetnek. A bisz(foszfinoilmetil)-aminok (**22**, $\text{Y} = \text{Ph}$) kétszeres deoxigénezés után 24 gyűrűs platinakomplexhez juthatunk (11. ábra), amely oxoszintézis katalizátora lehet.



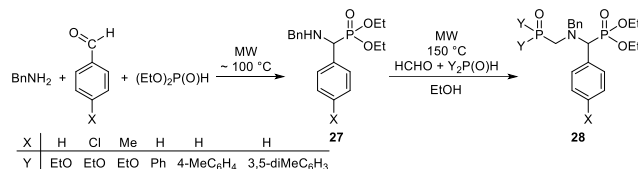
11. Ábra. Aminok kétszeres kondenzációja aldehiddel és $>\text{P}(\text{O})\text{H}$ -reagenssel

Munkánk során α -aminofoszfínátokat (**26**) is előállítottunk. Ebben az esetben célravezetőbb volt az aza-Pudovik utat követni, amely szerint első lépésben egy imint (**25**) hoztunk létre, majd annak $\text{C}=\text{N}$ kettőskötésére alkil-fenil-H-foszfínátot addicionáltattunk (12. ábra).²⁸



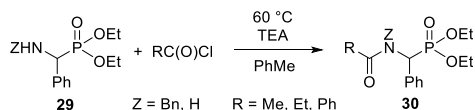
12. Ábra. Aminofoszfónátok előállítása iminekből

Általunk kifejlesztett innováció a tandem- Kabachnik–Fields-reakció, ami azt jelenti, hogy a primer foszfa-Mannich-kondenzáció aminofoszfónát termékét (**27**) egy második foszfa-Mannich-reakcióba viszünk (13. ábra).²⁹

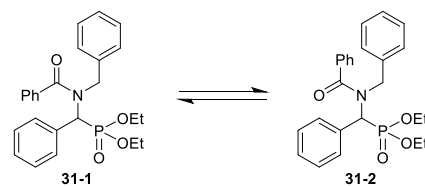


13. Ábra. Tandem foszfa-Mannich-reakció

Az ily módon kapott, két P-funkcióscsoportot tartalmazó vegyületek biológiai aktivitás szempontjából is érdekesek.³⁰ Az aminofoszfónátokat (**29**) acilezéssel is módosítottuk (14. ábra), és az így kapott amid-származékok konformációs egyensúlyát NMR módszerekkel tanulmányoztuk (15. ábra).

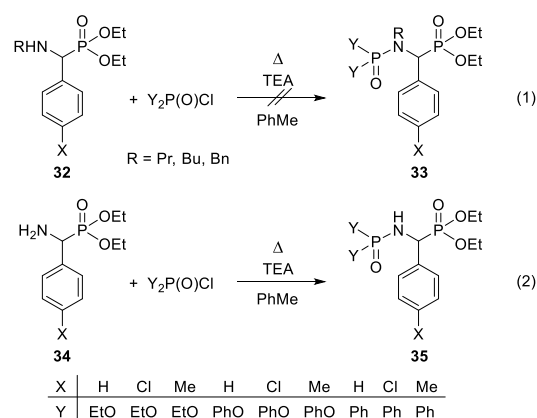


14. Ábra. α -Aminofoszfónátok acilezése



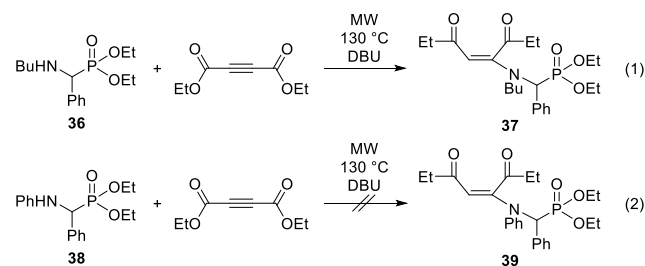
15. Ábra. Acil-aminofoszfónátok konformációs egyensúlya

További módosításként merült fel az aminofoszfónátok (**32**) „foszforilezése”. A N-atomon alkil-helyettesítőt tartalmazó aminofoszfónátokat nem sikerült reakcióba vinni dietil- vagy difenil-foszforilkloriddal, ill. difenilfoszfinsav-kloriddal (16. ábra/(1)), viszont a szabad NH_2 -csoportot tartalmazó foszfónátok (**33**) hatékonyan „foszforileződtek” (16. ábra/(2)).³¹



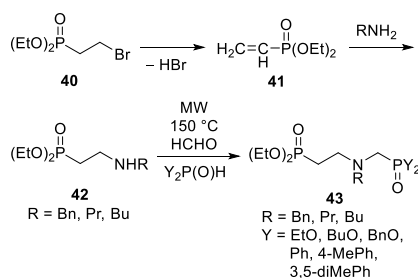
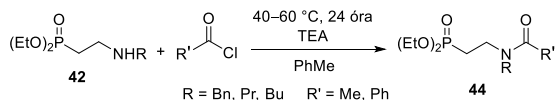
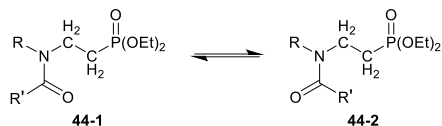
16. Ábra. α -Aminofoszfónátok foszforilezése

Olyan α -aminofoszfónát módosításokkal is próbálkoztunk, hogy dietil-acetiléndikarboxilatra próbáltuk meg addicionáltatni azokat. Azt tapasztaltuk, hogy csak az α -alkilamino-benzilfoszfónátok (pl. **36**) voltak reakcióba vihetők, a fenilamino-származék (**38**) nem lépett reakcióba (17. ábra).³²



17. Ábra. α -Aminofoszfónátok és dietil-acetiléndikarboxilát addíciójának kimenetele

Végezetül β -aminofoszfónátokat (**42**) is előállítottunk dietil-vinilfoszfónát (**41**) és aminok Michael-reakciójával. A β -aminofoszfónátokat (**42**) azután Kabachnik–Fields-kondenzációba és N-acilázási reakcióba vittük, melyek során rendre **43** és **44** termékekhez jutottunk (18. és 19. ábra).³³ Ebben az esetben is konformációs egyensúlyt figyeltünk meg (20. ábra).

18. Ábra. β -Aminofoszfónátok Kabachnik–Fields-kondenzációja19. Ábra. β -Aminofoszfónátok acilezése

20. Ábra. Acil-aminofoszfónátok konformációs egyensúlya

Az előállított hidrox- és aminofoszfónátok és a kapcsolódó származékok a valódi vagy potenciális biológiai aktivitásuk mellett (melyeket ebben a közleményben nem tárgyaltunk) a szintetikus vonatkozások miatt jelentősek.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők hálásak az NKFIH/NKCP ADVANCED-149447 sz. támogatásért

Hivatkozások

- Rádai, Z.; Keglevich, G. *Molecules* **2018**, *23*, 1493. <https://doi.org/10.3390/molecules23061493>
- Keglevich, G.; Bálint, E. *Molecules* **2012**, *17*, 12821–12835. <https://doi.org/10.3390/molecules171112821>
- Varga, P. R.; Keglevich, G. *Molecules* **2021**, *26*, 2511. <https://doi.org/10.3390/molecules26092511>
- Varga, P. R.; Keglevich, G. *Molecules* **2023**, *28*, 6150. <https://doi.org/10.3390/molecules28166150>
- Keglevich, G.; Tóth, V. R.; Drahos, L. *Heteroatom Chem.* **2011**, *22*, 15–17. <https://doi.org/10.1002/hc.20649>
- Keglevich, G.; Rádai, Z.; Kiss, N. Z. *Green Process. Synth.* **2017**, *6*, 197–201. <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0125>
- Szalai, Z.; Debrei, M.; Abrányi-Balogh, P.; Bősze, S.; Oláhné Szabó, R.; Karaghiosoff, K.; Drahos, L.; Keglevich, G. *ACS Omega* **2024**, *9*, 31043–31055. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c04382>
- Szalai, Z.; Kis, A. S.; Takács, A.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Keglevich, G. *Molecules* **2025**, *30*, 428. <https://doi.org/10.3390/molecules30020428>
- Grün, A.; Molnár, I. G.; Bertók, B.; Greiner, I.; Keglevich, G. *Heteroatom Chem.* **2009**, *20*, 350–354. <https://doi.org/10.1002/hc.20558>
- Keglevich, G.; Grün, A.; Molnár, I. G.; Greiner, I. *Heteroatom Chem.* **2011**, *22*, 640–648. <https://doi.org/10.1002/hc.20727>
- Szalai, Z.; Keglevich, G. *Molecules* **2021**, *26*, 7575. <https://doi.org/10.3390/molecules26247575>
- Szalai, Z.; Tóth, B.; Oláhné Szabó, R.; Bősze, S.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Molecules* **2023**, *28*, 6037. <https://doi.org/10.3390/molecules28166037>
- Varga, P. R.; Hägele, G.; Keglevich, G. *Tetrahedron Lett.* **2021**, *68*, 152902. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.152902>
- Varga, P. R.; Belovics, A.; Karaghiosoff, K.; Szabó, R.; Bősze, S.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Synthesis* **2024**, *56*, 561–566. <https://doi.org/10.1055/a-2122-4178>
- Kiss, N. Z.; Kaszás, A.; Drahos, L.; Mucsi, Z.; Keglevich, G. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 207–209. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.11.026>
- Kiss, N. Z.; Rádai, Z.; Mucsi, Z.; Keglevich, G. *Heteroatom Chem.* **2016**, *27*, 260–268. <https://doi.org/10.1002/hc.21324>
- Rádai, Z.; Szabó, R.; Szigetvári, Á.; Kiss, N. Z.; Mucsi, Z.; Keglevich, G. *Curr. Org. Chem.* **2020**, *24*, 465–471. <https://doi.org/10.2174/1385272824666200226114306>
- Varga, P. R.; Belovics, A.; Bagi, P.; Tóth, S.; Szakács, G.; Bősze, S.; Szabó, R.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Molecules* **2022**, *27*, 2067. <https://doi.org/10.3390/molecules27072067>
- Rádai, Z.; Hodula, V.; Kiss, N. Z.; Kóti, J.; Keglevich, G. *Mendeleev Commun.* **2019**, *29*, 153–154. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2019.03.011>
- Rádai, Z.; Szeles, P.; Kiss, N. Z.; Hegedűs, L.; Windt, T.; Nagy, V.; Keglevich, G. *Heteroatom Chem.* **2018**, *29*, e21436. <https://doi.org/10.1002/hc.21436>
- Milen, M.; Bese, C.; Kovács, C.; Dancsó, A.; Keglevich, G. *Synthesis* **2024**, *56*, 3074–3082. <https://doi.org/10.1055/a-2352-7116>
- Szalai, Z.; Bednárík, J.; Tóth, B. S.; Takács, A.; Tekula, S.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Pharmaceuticals* **2025**, *18*, 91. <https://doi.org/10.3390/ph18010091>
- Keglevich, G.; Szekrényi, A. *Lett. Org. Chem.* **2008**, *5*, 616.
- Prauda, I.; Greiner, I.; Ludányi, K.; Keglevich, G. *Synthetic Commun.* **2007**, *37*, 317–322. <https://doi.org/10.1080/00397910601033856>
- Keglevich, G.; Szekrényi, A.; Szöllősy, Á.; Drahos, L. *Synthetic Commun.* **2011**, *41*, 2265–2272. <https://doi.org/10.1080/00397911.2010.501478>
- Bálint, E.; Fazekas, E.; Pongrácz, P.; Kollár, L.; Drahos, L.; Czugler, M.; Keglevich, G. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *717*, 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2012.07.031>
- Bálint, E.; Fazekas, E.; Szöllősy, Á.; Czugler, M.; Drahos, L.; Körtvélyesi, T.; Keglevich, G. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 547–554. <https://doi.org/10.2174/138527212799499822>
- Bajusz, B.; Nagy, D.; Tóth, R.; Szalai, Z.; Gömöry, Á.; Takács, A.; Köhidai, L.; Keglevich, G. *Molecules* **2025**, *30*, 339. <https://doi.org/10.3390/molecules30020339>
- Varga, P. R.; Karaghiosoff, K.; Sári, É. V.; Simon, A.; Hegedűs, L.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Org. Biomol. Chem.* **2023**, *21*, 1709–1718. <https://doi.org/10.1039/D3OB00010A>
- Varga, P. R.; Oláhné Szabó, R.; Dormán, G.; Bősze, S.; Keglevich, G. *Pharmaceuticals* **2023**, *16*, 506. <https://doi.org/10.3390/ph16040506>

31. Bircher, M.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Takács, A.; Kőhidai, L.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Chemistry-A Eur. J.* **2025**, revízió alatt.
32. Publikálatlan eredmények
33. Keglevich, G.; Varga, P. R.; Dinnyési, E.; Szalai, Z.; Bősze, S.; Oláhné Szabó, R.; Drahos, L.; Karaghiosoff, K. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, 22, 3940-3950.
<https://doi.org/10.1039/D4OB00243A>

The synthesis and modification of α -hydroxy- and α -aminophosphonates

The most important synthetic results obtained in the field of α -hydroxy and α -aminophosphonic derivatives by the Keglevich group in the last 15 years are surveyed in this minireview.

A series of oxo-compounds including simple aldehydes, α -oxophosphonates, β -oxophosphonates and γ -oxophosphonates were involved in the Pudovik reaction meaning the addition of $>\text{P}(\text{O})\text{H}$ -reagents, such as dialkyl phosphites and secondary phosphine oxides on the $\text{C}=\text{O}$ group. The syntheses were performed under green chemical conditions applying microwave, solid-phase accomplishment or the minimal use of solvents. The α -hydroxyphosphonates were useful intermediates in the preparation of α -aminophosphinates, rearranged products, acylated-, phosphorylated- and sulfonylated derivatives. The hydroxyphosphonates were added on the triple bond of dialkyl acetylenedicarboxylate reagents. An intramolecular cyclization affording the corresponding oxaphospholane oxides was observed to take place on the acylation of the phosphonoethyl- α -hydroxyphosphonates.

α -Aminophosphonic derivatives were synthesized either by the three-component Kabachnik–Fields condensation of oxo-compounds, primary or secondary amines and $>\text{P}(\text{O})\text{H}$ -reagents as above, or by the aza-Pudovik addition of the P-reagents on the $\text{C}=\text{N}$ unit of imines. MW-assisted and, mostly, solvent-free methods were elaborated. The α -aminophosphonic derivatives were modified by involving then in a second phospho-Mannich reaction applying the same or different aldehyde and $>\text{P}(\text{O})\text{H}$ -reagent in the second step. Acylation and phosphorylation of different aminophosphonates were also elaborated. A series of β -aminophosphonates was also made available, and these new species were also modified by a phospho-Mannich condensation and acylation. The new hydroxy- and aminophosphonate derivatives are of importance due to their real or potential biological activity that is discussed under a separate cover.

A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) szerves kémiai alkalmazása.

1. rész

MILEN Mátyás,^{a,b**} KEGLEVICH György^a

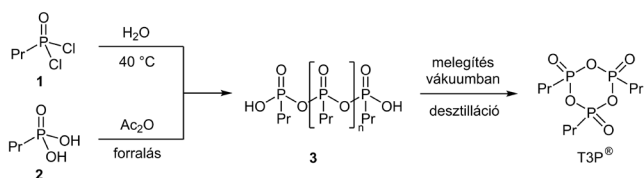
^aSzerves Kémia és Technológia Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.

^bEgis Gyógyszergyár Zrt., Keresztúri út 30–38, 1106 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A szervetlen és szerves foszforreagensek jelentős szerepet játszanak a szintetikus szerves kémiában.¹ Ezen reagensek közé tartozik a propánfoszfonsav-anhidrid (a továbbiakban rövidítve: T3P®) is, amelyet felfedezése óta számos kémiai reakcióban használtak. A T3P®-reagenst először Wissmann és Kleiner állították elő és kapcsolószerként alkalmazták egyszerű peptidszármazékok szintézisében.² A T3P® előnyös tulajdonságai már ekkor megmutatkoztak, mivel a várt termékeket kitűnő optikai tisztasággal és magas hozammal nyerték. A gyakran használt kapcsolószerkezetekhez [*N,N'*-diciklohexilkarbodiimid (DCC) és *N,N'*-diizopropilkarbodiimid (DIC)] képest a T3P®-reagens kevésbé mérgező és allergén tulajdonságú vegyület. Továbbá a szerves oldószerek többségében kitűnően oldódik és a reagens feleslege vagy a belőle képződött melléktermékek vizes, vagy enyhén bázikus extrakcióval könnyen eltávolíthatók. Hátránya a viszonylag magas ára és a kapcsolószerre jellemző alacsony atomhatékonyság.

A T3P® előállítható propilfoszfonil-dikloridból (**1**)² vagy propilfoszfonsavból (**2**)³ (1. ábra). Az első esetben a savklorid hidrolízise után a reakcióelegyet vákuumban melegítve képződik a T3P®, amely desztillációval tovább tisztítható. A második esetben a propilfoszfonsav (**2**) kondenzációs reakciója forró ecetsav-anhidridben játszódik le. Ezután az ecetsav-anhidrid fölöslegét és a melléktermékként keletkezett ecetsavat eltávolítva a kapott oligomerból (**3**) vákuumdesztillációval juthatunk el a termékhez. A T3P®-reagenst kb. 50%-os oldatban forgalmazták. Oldószerként etil-acetátot, *N,N*-dimetilformamidot, ritkábban toluolt vagy diklórmétánt használnak.

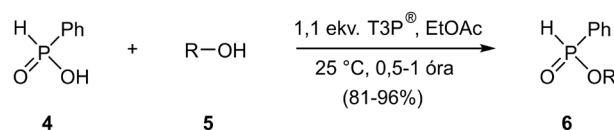


1. Ábra. A T3P®-reagens előállítása propilfoszfonil-dikloridból (**1**) vagy propilfoszfonsavból (**2**)

A T3P®-t a peptidkötés kialakításán kívül további, igen változatos reakciókban, úgymint funkciócsoportok átalakítására, átrendeződéssel járó és multikomponensű reakciókban, illetve heterociklusos vegyületek előállítására alkalmazták. Az eredmények áttekintéséről eddig két részletes összefoglaló közlemény,^{4,5} valamint két rövid publikáció^{6,7} és egy könyvfejezet⁸ jelent meg. Ebben a közleményben azokat a T3P®-reagenssel elősegített reakciókat mutatjuk be, amelyeket kutatócsoportunkban vizsgáltunk.

2. Foszfinsavak észteresítése és amidálása

A foszfinátokat általában foszfinsav-kloridok és alkoholok reakciójával állítják elő.⁹ Ez a módszer jól használható, azonban hátránya, hogy drága savkloridokat igényel és melléktermékként hidrogén-klorid keletkezik, amit meg kell kötni. A foszfinsavak közvetlenül alkohollal csak mikrohullámú melegítés hatására reagálnak kb. 200 °C-on.¹⁰ Ezen kívül a foszfinsavak észteresítése megvalósítható kapcsolószerkezetek,¹¹ ortoészterek,¹² kloroformátok¹³ vagy ortoszilikátok¹⁴ jelenlétében. A T3P®-reagens ugyancsak előnyösen használható nyíltláncú és gyűrűs foszfinsavak észteresítéséhez.^{15,16} Például a fenil-*H*-foszfinsav (**4**) T3P® jelenlétében könnyedén reakcióba lépett C1–C4 szénatomszámú alkoholokkal, a várt foszfinátokat (**6**) 80% feletti termeléssel nyertük (2. ábra).



R = Me, Et, Pr, *i*-Pr, Bu, *i*-Bu, *s*-Bu, *t*-Bu

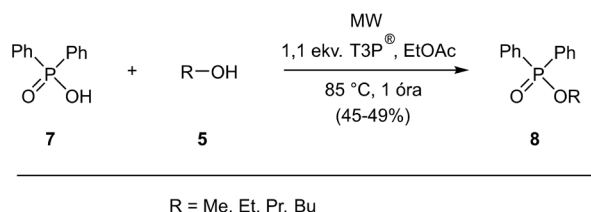
2. Ábra. A fenil-*H*-foszfinsav reakciója alkoholokkal T3P® aktiváló ágens jelenlétében

Érdeemes megjegyezni, hogy a szterikusan zsúfoltabb szerkezetű difenilfoszfinsav (**7**) nyíltláncú alkoholokkal 85 °C-on mikrohullámú reaktorban melegítve 1 óra után is csak közepes termeléssel adta a kívánt észtereket (**8**) (3. ábra).

A gyűrűs foszfinsavak (**9** és **10**) szintén észtereshetőek T3P®-reagens segítségével (4. ábra). Az 1-hidroxi-3-me-

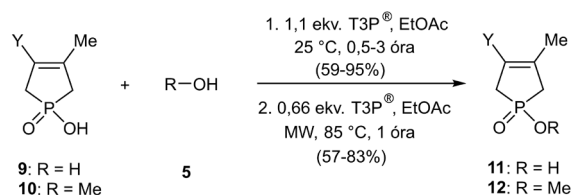
* Tel.: +36 1 803 5555; e-mail: milen.matyas@egis.hu

til-3-foszfólen 1-oxid (**9**) normális szénláncú alkoholokkal gyorsan reagált és már 30 perc után jó termeléssel a várt észterekhez (**11**) jutottunk.



3. Ábra. A difenilfoszfinsav reakciója alkoholokkal T3P[®]-reagens általi aktiválással

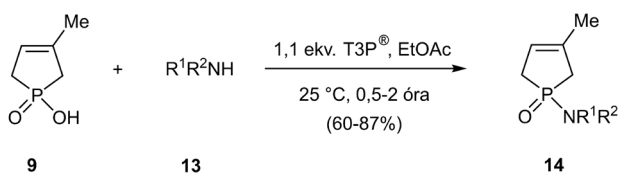
Elágazó szénláncú alkoholokkal szintén magas termelést lehetett elérni, de ebben az esetben a reakcióidő növelésére volt szükség. Az 1-hidroxi-3,4-dimetil-3-foszfólen 1-oxid (**10**) reakcióját C1–C4 szénatomszámú alkoholokkal végeztük el. A kívánt észtereket (**12**) kétféle reakciókörülményt alkalmazva is előállítottuk. Az egyik esetben szobahőmérsékleten 1,1 ekvivalens T3P[®] segítségével, illetve a másik lehetőség szerint 0,66 ekvivalens T3P[®] jelenlétében mikrohullámú készülékben melegítve. Ez utóbbi esetben a reagens mennyisége azért csökkenthető, mert ilyen körülmények között a T3P[®]-reagensből keletkező nyíltláncú forma szintén képes aktiválni a foszfinsavat.¹⁷ A gyűrűs foszfinsavak (**9** és **10**) – ellentétben a nyíltláncú fenil-*H*-foszfinsavval (**4**) – *tert*-butanollal nem léptek reakcióba T3P[®] jelenlétében.



Y = H, R = Me, Et, Pr, *i*-Pr, Bu, *i*-Bu, *s*-Bu, pentil, ciklohexil, Bn, 2-feniletill, mentil
Y = Me, R = Me, Et, Pr, *i*-Pr, Bu, *i*-Bu, *s*-Bu

4. Ábra. Gyűrűs foszfinsavak T3P[®]-reagens által segített észteresítése

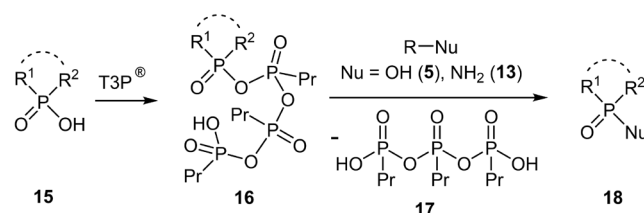
A T3P[®]-reagens a foszfinsavak észteresítésén kívül felhasználható az amidálásukhoz is.¹⁵ Az amidképzést az 1-hidroxi-3-metil-3-foszfólen 1-oxid (**9**) modellvegyületen vizsgáltuk (5. ábra). A reakció szobahőmérsékleten, az amin (**13**) minőségétől függően 0,5–2 óra alatt ment végbe. A várt amidokat (**14**) kromatográfiás tisztítás után 60–87% termeléssel izoláltuk.



R¹ = H, R² = Pr, *i*-Pr, Bu, *i*-Bu, *s*-Bu, hexil, ciklohexil
R¹ = R² = Et, Pr, Bu

5. Ábra. Az 1-hidroxi-3-metil-3-foszfólen 1-oxid T3P[®]-reagenssel megvalósított amidálása

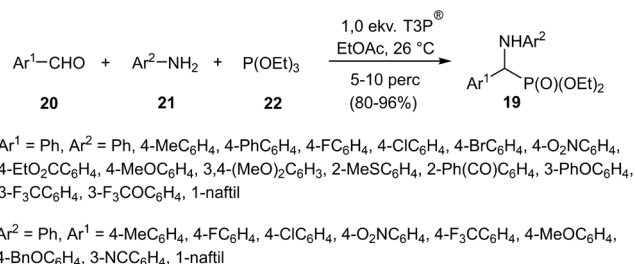
A fenti reakciók mechanizmusa egyszerűen úgy képzelhető el, hogy a **15** általános képlettel jelölt foszfinsav T3P[®]-reagenssel egy reakcióképesebb vegyes anhidridet (**16**) hoz létre, ami tovább reagál a jelen lévő alkohollal (**5**) vagy aminnal (**13**) (6. ábra). A kondenzációs reakció során a T3P[®] egy vízmolekula felvételével nyíltláncú vegyületté, a *P,P',P''*-tripropil-trifoszfonsavvá (**17**) alakul át, amely még tartalmaz reakcióképes anhidrid kötést. Ahogy erre már korábban utaltunk, **17** vegyület magasabb hőmérsékleten szintén képes aktiválni a foszfinsavak OH-csoportját. Ennek köszönhetően a T3P[®]-reagens szükséges mennyisége csökkenthető.¹⁷



6. Ábra. A T3P[®]-reagens aktiváló hatása foszfinsavak észteresítése és amidálása során

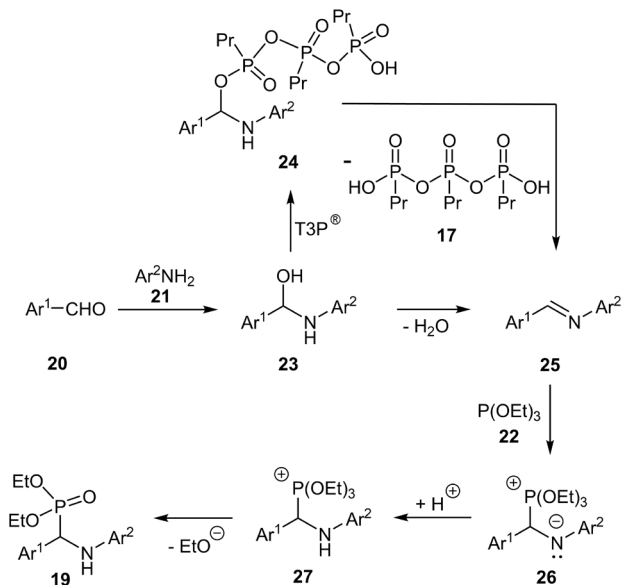
3. α-Aminofoszfónátok előállítása

Az α-aminofoszfónátok (**19**) értékes vegyületek, mivel a hidrolízisükkel nyerhető α-aminofoszfonsavak szerkezeti hasonlóságot mutatnak az α-aminosavakkal és ezért enzim-inhibitor tulajdonságúak.¹⁸ Az α-aminofoszfónátok előállítására több módszer ismert, melyek közül a legfontosabb a Kabachnik–Fields-kondenzáció vagy más néven foszfa-Mannich-reakció. Ennek a háromkomponensű reakciónak a kiindulási anyagai a legegyszerűbb esetben aldehidek, primer- vagy szekunder aminok, valamint dialkil-foszfítek, speciális esetben trialkil-foszfítek.¹⁹ A foszfa-Mannich-reakciót általában különböző katalizátorok, főleg Brønsted- vagy Lewis-savak jelenlétében végezték,²⁰ de ismert katalizátor és oldószer nélkül megvalósított változata is.^{21,22} Kutatócsoportunkban azt tapasztaltuk, hogy aromás aldehidek (**20**), aromás aminok (**21**) és trietil-foszfít (**22**) Kabachnik–Fields-reakciója T3P[®]-reagens jelenlétében szobahőmérsékleten 5–10 perc alatt kitűnő termeléssel lejártszódott (7. ábra).²³ A reakció hozamát a benzolgyűrűn elhelyezkedő elektronszívó vagy elektronszolgáltató csoportok nem befolyásolták különösebben.



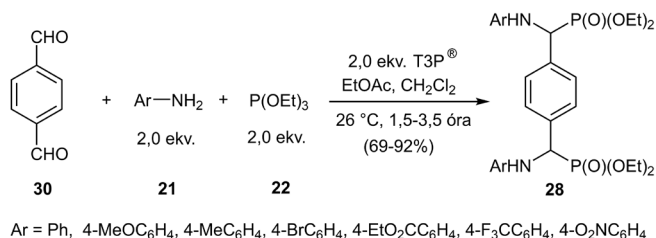
7. Ábra. α-Aminofoszfónátok előállítása T3P[®]-reagens segítségével

A T3P®-reagens jelenlétében végzett Kabachnik–Fields-reakció feltételezett mechanizmusát a 8. ábra mutatja be. A multikomponensű reakció első lépése az aldehid (20) és az amin (21) kondenzációja, amely 24 intermedieren keresztül játszódik le. A folyamatban a T3P® mint vízelvonószer vesz részt és 25 imin mellett *P,P',P''*-tripropil-trifoszfonsav (17) keletkezik. Ezután az imin (25) és a trietil-foszfít (22) nukleofil addíciós reakciója játszódik le. Az így képződött 26 ikerionos intermeider negatív töltést viselő nitrogénatomja protonálódik, majd a foszfóniumsó (27) Arbuzov-reakcióval alakul át α -aminofoszfónáttá (19).

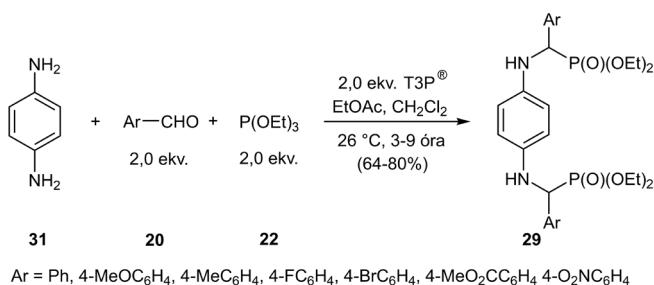


8. Ábra. A T3P®-reagens segítségével elősegített Kabachnik–Fields-reakció mechanizmusa

Ezzel a módszerrel bisz(α -aminofoszfónátok) (28 és 29) szintén előállíthatók tereftálaldehidből (30) vagy 1,4-feniléndiaminból (31) kiindulva (9. és 10. ábrák).²⁴ A foszfa-Mannich-reakció ebben az esetben is hatékonyan lejátszódott, azonban szobahőmérsékleten hosszabb reakcióidőre (1,5–9 óra) volt szükség. A kellemetlen szagú trietil-foszfítot (22) minden esetben helyettesíteni tudtuk dietil-foszfittal [(EtO)₂P(O)H]. A benzolgyűrűn elhelyezkedő különféle szubsztituensek ebben az esetben sem befolyásolták jelentősen a reakció hozamát.



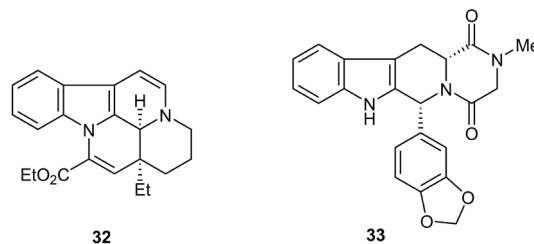
9. Ábra. Bisz(α -aminofoszfónátok előállítása) tereftálaldehidből



10. Ábra. Bisz(α -aminofoszfónátok előállítása) 1,4-feniléndiaminból

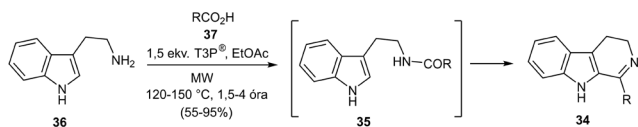
4. 3,4-Dihidro- β -karbolinok előállítása

A β -karbolinok mind a természetes, mind a mesterséges vegyületek jelentős képviselői közé tartoznak.^{25,26} Elsősorban biológiai hatásukról ismert vegyületek, jelenleg is több forgalomban lévő gyógyszermolekula tartalmaz β -karbolinvázat. Ilyen például az agyi vérkeringés zavarával járó betegségek kezelésére használt vinpocetin (32), vagy a foszfodiészteráz-5 gátlók csoportjába tartozó tadalafil (33), amely merevedési problémák esetén használható (11. ábra).²⁵



11. Ábra. A vinpocetin (32) és a tadalafil (33) gyógyszerek szerkezeti képlete

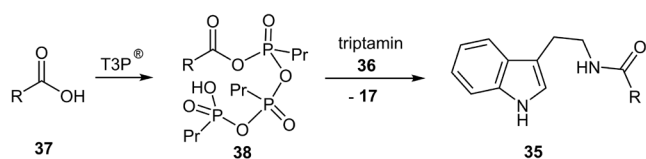
Bár a β -karbolinváz kialakítására számos eljárást ismerünk,²⁷ az egyik legegyszerűbb és legrégebben használt módszer a Bischler–Napieralski-reakció, melynek segítségével 3,4-dihidro- β -karbolinokat (34) állíthatunk elő *N*-acil-triptaminokból (35) kiindulva (12. ábra).²⁸ A gyűrűzáráshoz általában erőlyes reagenseket alkalmaznak, az *N*-acil-triptaminokat (35) foszforil-klorid (POCl₃) vagy foszfor(V)-oxid (P₂O₅) jelenlétében forralják benzolban vagy toluolban. A T3P®-reagens segítségével szintén előállíthatók a 3,4-dihidro- β -karbolinok (34) triptaminból (36) és karbonsavból (37) kiindulva. Ebben az esetben először a savamidkötés kialakításában vesz részt a T3P®, majd ezt követően a Bischler–Napieralski-reakcióban.²⁹ Az acilezést és a gyűrűzárást etil-acetátban, mikrohullámú körülmények között végeztük 120–150 °C-on, a várt termékek ebben a *one-pot* reakcióban jó termeléssel keletkeztek. Alifás és aromás karbonsavak (37) egyaránt jól használhatónak bizonyultak, az egyszerű funkciók csoportok pedig tolerálták a reakció körülményeit.



R = Ph, 3-MeC₆H₄, 4-NCC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 4-O₂NC₆H₄, Me, *i*-Pr, *t*-Bu, 2-metiltiofén-5-il, furán-2-il

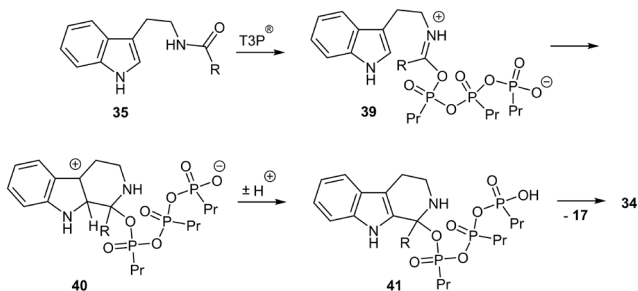
12. Ábra. 3,4-Dihidro-β-karbolinok előállítása T3P®-reagens jelenlétében

A triptaminból (36) és karbonsavból (37) kiinduló, T3P®-reagens hatására lejátszódó *one-pot* reakció mechanizmusát DFT számításokkal tanulmányoztuk.³⁰ Az *N*-acil-triptaminhoz (35) a karbonsavból (37) keletkező vegyesanhidrid (38) és triptamin (36) reakciójával jutunk el (13. ábra).



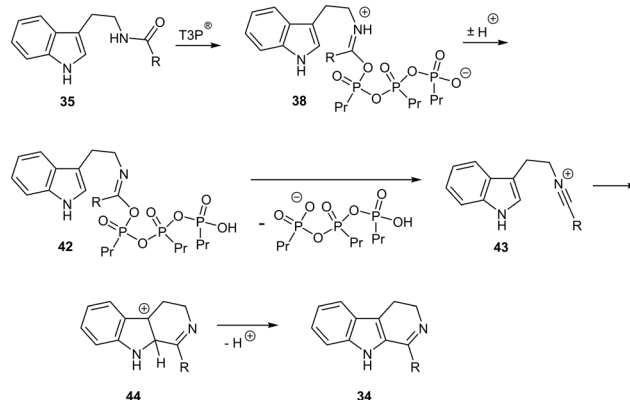
13. Ábra. Karbonsav (37) és triptamin (36) reakciója T3P®-reagens jelenlétében

Az *N*-acil-triptamin (35) Bischler–Napieralski-reakciója két jellemző köztiterméken keresztül is megvalósulhat, ennek megfelelően megkülönböztetünk imin-észter és nitriliumion intermediereken át végbemenő reakcióutat.^{31,32} A két reakcióút között nincs jelentős energiakülönbség.³⁰ Az első esetben a T3P®-reagens az *N*-acil-triptamin (35) savamidcsoportját aktiválja és az így képződött imin-észter (39) játszódik le a gyűrűzárás. Végül a β-karbolinváz C-gyűrűjének kialakulása után történik a *P,P',P''*-tripropil-trifoszfonsav (17) eliminációja és keletkezik a termék (34) (14. ábra).



14. Ábra. Az imin-észter intermediereken keresztül lejátszódó reakció mechanizmusa

A második esetben a T3P®-reagens szintén aktiválja az *N*-acil-triptamint (35) és a következő lépésben, azaz itt a gyűrűzárás előtt történik a foszfonsavcsoport eliminációja a 42 intermediérből. Az eliminációval nitriliumion (43) keletkezik, amelyen végbemeget a gyűrűzárás és 44 köztiterméből protonvesztéssel keletkezik a 3,4-dihidro-β-karbolinszármazék (34) (15. ábra).



15. Ábra. A nitriliumion intermediereken keresztül lejátszódó reakció mechanizmusa

5. Összefoglalás

A propánfoszfonsav-anhidridet (T3P®) Wissmann és Kleiner fedezték fel és kapcsolószerként használták a peptid-kémiában savamidkötés kialakítására. A T3P®-reagens nem mérgező, a gyakorlatban használt szerves oldószerek többségében jól oldódik, a reakcióelegyből pedig extrakcióval könnyen eltávolítható. A legtöbb esetben a mérgező foszforil-klorid (POCl₃) vagy a nedvességre rendkívül érzékeny foszfor(V)-oxid (P₂O₅) is helyettesíthető vele. Felfedezése óta, az elmúlt 45 évben a T3P®-reagens számos kondenzációs reakcióban került sikeres laboratóriumi, valamint ipari alkalmazásra. Ebben a közleményben három reakciót kiválasztva mutattuk be a T3P®-reagens jelentőségét és felhasználhatóságát. Nyíltláncú, valamint gyűrűs foszfinsavakat alkoholokkal és aminosavakkal jó termeléssel alakítottunk át a kívánt észterekké és amidokká T3P®-reagens jelenlétében szobahőmérsékleten vagy mikrohullámú készülékben melegítve. Aromás aminosavak, aromás aldehidek és trietil-foszfát között végbemenő Kabachnik–Fields-kondenzáció T3P®-reagenssel szintén elősegíthető. A háromkomponensű reakció szobahőmérsékleten lejátszódott és az α-aminofoszfónátokat kitűnő termeléssel izoláltuk. Ezzel a módszerrel bisz(α-aminofoszfónátokat) is előállítottunk szintén jó termeléssel, azonban itt a reakció lejátszódásához hosszabb időre volt szükség. Végül 3,4-dihidro-β-karbolinok *one-pot* szintézisét végeztük el triptaminból és karbonsavakból kiindulva. A T3P®-reagens mind a triptamidok keletkezésében, mind a Bischler–Napieralski-reakcióban részt vesz. A fenti példák néhány esetében azt tapasztaltuk, hogy a kondenzáció molekvalensnél kevesebb T3P®-reagens segítségével is lejátszódott, növelve ezzel a reakció atomhatékonyosságát.

Hivatkozások

- Organophosphorus Reagents; Murphy, P. J., Ed.; Oxford University Press Inc., New York, **2004**.
- Wissmann, H.; Kleiner, H.-J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, *19*, 133–134.
<https://doi.org/10.1002/anie.198001331>
- Pizova, H.; Bopal, P. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2014–2017.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.02.126>
- Basavaprabhu, Vishwanatha, T. M.; Panguluri, N. R.; Sureshbabu, V. V. *Synthesis* **2013**, *45*, 1569–1601.
<https://doi.org/10.1055/s-0033-1338989>
- Waghmare, A. A.; Hindupur, R. M.; Pati, H. N. *Rev. J. Chem.* **2014**, *4*, 53–131.
<https://doi.org/10.1134/S2079978014020034>
- Schwarz, M. *Synlett* **2000**, 1369.
<https://doi.org/10.1055/s-2000-7157>
- García, A. L. L. *Synlett* **2007**, 1328–1329.
<https://doi.org/10.1055/s-2007-980339>
- Henycz, R.; Milen, M.; Kánai, K.; Keglevich, G. *Organophosphorus Chemistry*, 148–157.
<https://doi.org/10.1515/9783110535839-007>
- Quin, L. D. *A guide to organophosphorus chemistry*, Wiley, New York, **2000**.
- Keglevich, G.; Kiss, N. Z.; Mucsi, Z.; Körtvélyesi, T. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 2011–2018.
<https://doi.org/10.1039/c2ob06972e>
- Karanewsky, D. S.; Badia, M. C. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1751–1754.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)84364-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)84364-6)
- Yoshino, T.; Imori, S.; Togo, H. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 1309–1317.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.09.147>
- Afarinkia, K.; Yu, H.-w. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 781–783.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)02647-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)02647-3)
- Dumond, Y. R.; Baker, R. L.; Montchamp, J.-L. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3341–3344.
<https://doi.org/10.1021/ol006434g>
- Jablonkai, E.; Henycz, R.; Milen, M.; Kóti, J.; Keglevich, G. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 8280–8285.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.09.021>
- Jablonkai, E.; Milen, M.; Drahos, L.; Keglevich, G. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5873–5875.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.08.082>
- Ábrányi-Balogh, P.; Jablonkai, E.; Henycz, R.; Milen, M.; Keglevich, G. *Curr. Org. Chem.* **2016**, *20*, 1153–1142.
<https://doi.org/10.2174/1385272820666151218204848>
- Orsini, F.; Sello, G.; Sisti, M. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 264–289.
<https://doi.org/10.2174/092986710790149729>
- Varga, P. R.; Keglevich, G. *Molecules* **2021**, *26*, 2511.
<https://doi.org/10.3390/molecules26092511>
- Sravya, G.; Balakrishna, A.; Zyryanov, G. V.; Mohan, G.; Reddy, C. S.; Reddy, N. B. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2020**, *196*, 353–381.
<https://doi.org/10.1080/10426507.2020.1854258>
- Keglevich, G.; Szekrényi, A. *Lett. Org. Chem.* **2008**, *5*, 616–622.
<https://doi.org/10.2174/157017808786857598>
- Gábor, D.; Pollák, P.; Volk, B.; Dancsó, A.; Simig, G.; Milen, M. *ChemistrySelect*, **2023**, *8*, e202301460.
<https://doi.org/10.1002/slct.202301460>
- Milen, M.; Ábrányi-Balogh, P.; Dancsó, A.; Frigyes, D.; Pongó, L.; Keglevich, G. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5430–5433.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.07.145>
- Milen, M.; Ábrányi-Balogh, P.; Kangyal, R.; Dancsó, A.; Frigyes, D.; Keglevich, G. *Heteroat. Chem.* **2014**, *25*, 245–255.
<https://doi.org/10.1002/hc.21170>
- Szabó, T.; Volk, B.; Milen, M. *Molecules* **2021**, *26*, 663.
<https://doi.org/10.3390/molecules26030663>
- Milen, M.; Ábrányi-Balogh, P.; Volk, B. *Magy. Kém. Foly.* **2016**, *122*, 172–178.
- Milen, M.; Ábrányi-Balogh, P. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2016**, *52*, 996–998.
<https://doi.org/10.1007/s10593-017-1997-9>
- Love, B. E. *Org. Prep. Proc. Int.* **1996**, *28*, 1–64.
<https://doi.org/10.1080/00304949609355907>
- Ábrányi-Balogh, P.; Földesi, T.; Grün, A.; Volk, B.; Keglevich, G.; Milen, M. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 1953–1957.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.03.067>
- Ábrányi-Balogh, P.; Volk, B.; Keglevich, G.; Milen, M. *Comput. Theor. Chem.* **2016**, *1097*, 48–60.
<https://doi.org/10.1016/j.comptc.2016.10.008>
- Fodor, G.; Nagubandi, S. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 1279–1300.
[https://doi.org/10.1016/0040-4020\(80\)85039-3](https://doi.org/10.1016/0040-4020(80)85039-3)
- Bobowski, G. *J. Heterocyclic Chem.* **1983**, *20*, 183–187.
<https://doi.org/10.1002/jhet.5570200138>

Propylphosphonic anhydride (T3P®): A versatile reagent in organic chemistry. Part 1

Propylphosphonic anhydride (also known as the T3P® reagent) plays an important role in synthetic organic chemistry. The T3P® reagent discovered by Wissmann and Kleiner was first applied as a condensation agent in the synthesis of simple peptide derivatives. The beneficial properties of T3P® became evident at that time, the peptide derivatives were obtained with excellent optical purity and in high yields. Compared to the commonly used coupling agents [*N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and *N,N'*-diisopropylcarbodiimide (DIC)], the T3P® reagent is a compound with less toxic and allergenic properties. Furthermore, its solubility is excellent in organic solvents, and the excess of the reagent, or the by-products formed from it can be easily removed by aqueous or slightly basic extraction. Its disadvantages are its relatively high price, and the low atomic efficiency. The T3P® reagent may be synthesized from propylphosphonic dichloride or propylphosphonic acid. In the first case, propylphosphonic dichloride was treated with water, and the mixture was heated under vacuum. The crude T3P® may be further purified by vacuum distillation. In the second example, propylphosphonic acid was heated with acetic anhydride, followed by the removal of acetic acid and the excess acetic anhydride. The T3P® reagent was obtained by vacuum distillation of the oligomeric residue. The solution of T3P® reagent is commercially available. Ethyl acetate, *N,N*-dimethylformamide, sometimes toluene or dichloromethane are applied as solvents. Beyond peptide chemistry, the T3P® reagent has been used in a wide variety of other reactions, such as the conversion of functional groups, rearrangements, multicomponent reactions, and the construction of heterocyclic rings. In this article, we summarize the reactions mediated by the T3P® reagent that were investigated in our research group.

The T3P® reagent can be successfully applied for the esterification of aliphatic and cyclic phosphinic acids. For example, phenyl-*H*-phosphinic acid was reacted readily with C1–C4 alcohols in the presence of T3P®, and the expected phosphinates were obtained in most cases over 80% yields. The esterification of sterically more hindered diphenylphosphinic acid with aliphatic alcohols at 85 °C under a microwave condition gave the desired products with moderate yields. 1-Hydroxy-3-methyl-3-phospholene 1-oxide may also be esterified with normal and branched chain alcohols. The expected products were obtained in moderate to high yields. Finally, the esterification of 1-hydroxy-3,4-dimethyl-3-phospholene 1-oxide was performed with C1–C4 alcohols. This reaction was carried out both at room temperature, and in a microwave reactor at 85 °C. In the latter case, the amount of the reagent could

be reduced, as the open-chain form resulting from T3P® can also activate the phosphinic acid. In addition to the esterification of phosphine acids, the T3P® reagent may also be used for amidations. The reaction of 1-hydroxy-3-methyl-3-phospholene 1-oxide was performed at room temperature for 0.5–2 hours, depending on the nature of the amine. The expected amides were isolated in yields of 60–87% after chromatography.

α -Aminophosphonates are remarkable compounds, as the α -aminophosphonic acids obtained by their hydrolysis show structural similarity to α -amino acids therefore have enzyme inhibitory properties. Several methods are known for the preparation of α -aminophosphonates. The most important procedure is the Kabachnik–Fields condensation. In the simplest case, the starting materials of this three-component reaction are aldehydes, primary or secondary amines, and dialkyl phosphites, in special cases, trialkyl phosphites. The Kabachnik–Fields reaction was usually carried out in the presence of various catalysts, mainly Brønsted or Lewis acids, however, catalyst-free and solvent-free versions are also known. It was found that the condensation in the presence of T3P® reagent of aromatic aldehydes, aromatic amines, and triethyl phosphite took place fast in excellent yield. The electron withdrawing and donating substituents in the aromatic ring of the starting materials tolerated well the reaction conditions. Using this method, bis(α -aminophosphonates) were also prepared starting from terephthalaldehyde and 1,4-phenylenediamine.

β -Carbolines are a remarkable family of natural and synthetic heterocyclic compounds. Numerous β -carboline derivatives, for example vinpocetine and tadalafil show significant biological activities. Although many synthetic methods are known for the construction of the β -carboline scaffold, one of the simplest and classical one is the Bischler–Napieralski reaction. It was found that in the Bischler–Napieralski cyclization can be performed using the T3P® reagent instead of the toxic phosphoryl chloride (POCl_3) and the highly hygroscopic phosphorus pentoxide (P_2O_5). 3,4-Dihydro- β -carbolines were prepared starting from tryptamine and carboxylic acids. In this case, T3P® participates first in the formation of the amide bond, and then in the Bischler–Napieralski reaction. The acylation and cyclization were carried out in ethyl acetate under microwave conditions at 120–150 °C. In this one-pot manner, the expected products, 3,4-dihydro- β -carbolines were obtained in good yields. Both aliphatic and aromatic carboxylic acids proved to be useful, and the functional groups tolerated well the reaction conditions.

A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) szerves kémiai alkalmazása.

2. rész

MILEN Mátyás,^{a,b**} KEGLEVICH György^a

^aSzerves Kémia és Technológia Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.

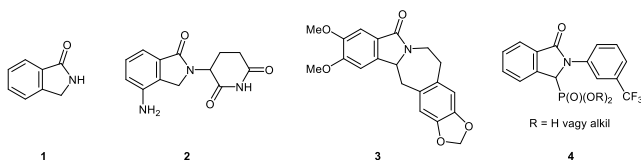
^bEgis Gyógyszergyár Zrt., Keresztúri út 30–38, 1106 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) elsősorban kapcsolószereként ismert, amelyet savamidoktés kialakítására használnak a peptidkémiaiában.^{1,2} További vizsgálatok során kiderült, hogy a T3P®-reagens alkalmazása más szerves kémiai reakciókban is hatásos. Ilyen például az észterképzés, különböző funkciós csoportok átalakítása, átrendeződéssel járó reakciók, vagy heterociklusos vegyületek előállítása.^{3,4} A megelőző első részben összefoglaltuk a kutatócsoportunkban vizsgált, T3P®-reagenssel elősegített reakciók közül a foszfonsavak észterezését és amidálását, a Kabachnik–Fields-kondenzációt, valamint a 3,4-dihidro- β -karbolinok szintézisét triptaminból és karbonsavakból kiindulva.⁵ Ebben a közleményben újabb példákat mutatunk be a T3P®-reagens felhasználására.

2. 3-Oxoizindolin-1-il-foszfónátok előállítása

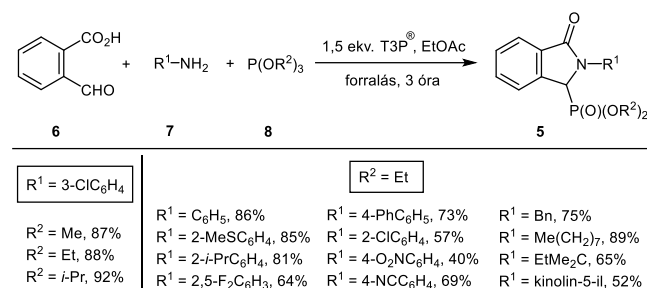
Az oxoizindol (izindolinon, **1**) származékai a heterociklusos vegyületek egyik jelentős csoportját alkotják (1. ábra).⁶ Ide tartozik például a lenalidomid (**2**), amelyet racém formában daganatos betegségek, elsősorban mielóma multiplex kezelésére használnak.⁷ Szintén ide sorolható a Darwin-borbolya (*Berberis darwinii*) nevű növény alkaloidja, az érdekes szerkezetű, öt kondenzált gyűrűt tartalmazó ($\pm$)-lennoxamin (**3**),⁸ valamint a növénynövekedést szabályozó *N*-(3-trifluorometilfenil)-oxoizindolil-foszfónát (**4**).⁹



1. Ábra. Az oxoizindol és néhány jelentős származékainak szerkezeti képlete

A 3-oxoizindolin-1-il-foszfónátok (**5**) egyszerűen előállíthatók 2-formilbenzoesav (**6**), különböző primer aminok (**7**) és dialkil- vagy trialkil-foszfitek háromkomponensű reakciójával. Ez a módosított Kabachnik–Fields-reakció Brønsted- és Lewis-savak jelenlétében,¹⁰ mikrohullámú

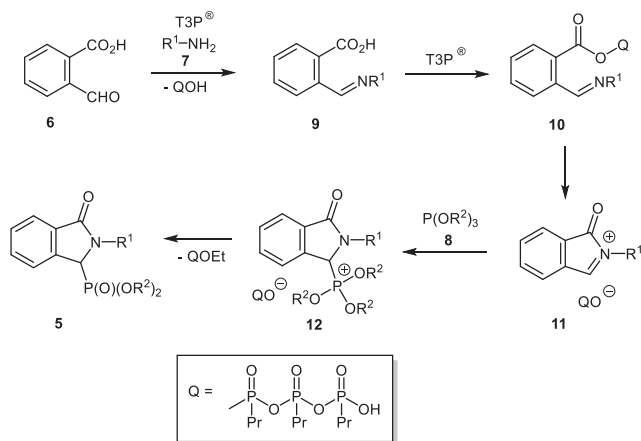
besugárzás hatására,¹¹ sőt néhány kiindulási anyag esetében enyhe körülmények között, oldószer használata nélkül¹² valósítható meg. Ezzel a reakcióval a 3-oxoizindolin-1-il-foszfónátok (**5**) 1,5 ekvivalens T3P®-reagens jelenlétében, forró etil-acetátban szintén előállíthatók (2. ábra).¹³ A különböző trialkil-foszfitekkel (**8**) minden esetben hasonló termelést értünk el. A helyettesített anilinszármazékok a szubsztituens helyzetétől és tulajdonságától függően eltérő eredményt adtak. Az elektronküldő szubsztituensek segítették, míg az erősen elektronszívó csoportok gátolták a reakciót. Továbbá, a 2-helyzetben helyettesített anilineknél szterikus gátlás miatt vagy nem játszódtott le a reakció, vagy csak gyenge hozammal tudtuk izolálni a terméket. Az anilin-származékokon kívül alifás-, valamint aromás heterociklusos aminokkal is elvégeztük a reakciót, amelyek segítségével jó termeléssel kaptuk a kívánt foszfónátokat (**5**).



2. Ábra. 3-Oxoizindolin-1-il foszfónátok előállítása módosított Kabachnik–Fields-reakcióval

A reakció mechanizmusát a 3. ábra szemlélteti, amely úgy képzelhető el, hogy először a 2-formilbenzoesav (**6**) és a primer amin (**7**) között T3P®-reagenssel elősegített kondenzációs reakció játszódik le. Az imin (**9**) mellett a T3P®-reagensből víz addícióval 1,3,5-tripropiltrifosfoxán 1,3,5-trioxid (QOH) keletkezik. A következő lépésben a T3P® hatására **9** karboxilcsoportja aktiválódik, majd **10** intermedieren keresztül addíciós-eliminációs reakcióval alakul ki a gyűrűs szerkezetű imíniumion (**11**). Végül az imíniumion kettős kötésére addicionálódik a trialkil-foszfite és **12** intermedierből Arbuzov-reakcióval képződik a 3-oxoizindolin-1-il-foszfónát (**5**).

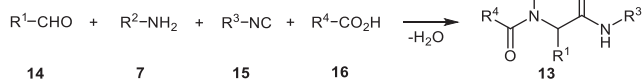
* Tel.: +36 1 803 5555; e-mail: milen.matyas@egis.hu



3. Ábra. A 3-oxoizoidolin-1-ilfoszfónát keletkezésének mechanizmusa

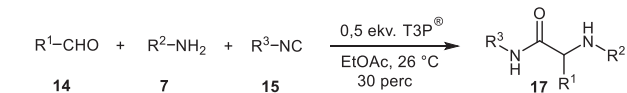
3. α -Amino-amidok előállítása

A multikompenensű reakciókkal változatos szerkezetű termékeket állíthatunk elő a reaktánsok megfelelő megválasztásával. Az egyik legjelentősebb multikompenensű reakció felfedezése Ugi névéhez fűződik, aki α -amino-acilamidokat (13) állított elő karbonilvegyületek (14), aminok (7), izocianidok (15) és karbonsavak (16) segítségével (4. ábra).¹⁴



4. Ábra. A négykomponensű Ugi-reakció

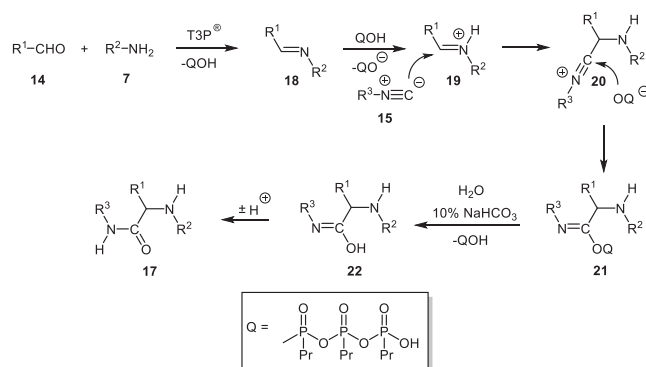
A fenti reakciónak az egyik egyszerűbb változatában karbonsavak nem szerepelnek. Az aldehidek (14), a primer aminok (7) és az izocianidok (15) között lejátszódó reakciót Pan és List publikálták 2008-ban. Ebben az esetben α -amino-amidokat (17) kaptak termékként.¹⁵ A vizsgált katalizátorok közül a fenil-H-foszfinsavat [PhP(O)(OH)H] találták a legjobbnak, amelynek segítségével 80 °C-on toluolban különféle szerkezetű termékeket (17) állítottak elő. Később további hatékony katalizátorokat fedeztek fel az említett háromkomponensű reakció elősegítésére. Például cink-klorid,¹⁶ bórsav¹⁷ és *p*-toluolszulfonsav¹⁸ jelenlétében már szobahőmérsékleten végbemegy a reakció. T3P®-reagenszt alkalmazva ugyanezt tapasztaltuk. Szintén szobahőmérsékleten, mindössze 30 perc után magas termeléssel keletkeztek az α -amino-amidok (17) (5. ábra).¹⁹



$R^1 = \text{Ph}, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 77\%$	$R^1 = 3\text{-FC}_6\text{H}_4, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 72\%$
$R^1 = \text{Ph}, R^2 = 3\text{-ClC}_6\text{H}_4, R^3 = t\text{-Bu}, 70\%$	$R^1 = 3\text{-F}_3\text{CC}_6\text{H}_4, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 69\%$
$R^1 = \text{Ph}, R^2 = 4\text{-FC}_6\text{H}_4, R^3 = t\text{-Bu}, 58\%$	$R^1 = 3\text{-PhOC}_6\text{H}_4, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 79\%$
$R^1 = \text{Ph}, R^2 = 4\text{-NCC}_6\text{H}_4, R^3 = t\text{-Bu}, 90\%$	$R^1 = 4\text{-PhC}_6\text{H}_4, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 75\%$
$R^1 = \text{Ph}, R^2 = 4\text{-PhC}_6\text{H}_4, R^3 = t\text{-Bu}, 79\%$	$R^1 = \text{piridin-3-il}, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 85\%$
$R^1 = \text{Ph}, R^2 = \text{Ph}, R^3 = \text{pentil}, 89\%$	$R^1 = \text{kinolin-4-il}, R^2 = \text{Ph}, R^3 = t\text{-Bu}, 68\%$

5. Ábra. Háromkomponensű Ugi-reakció megvalósítása T3P®-reagens jelenlétében

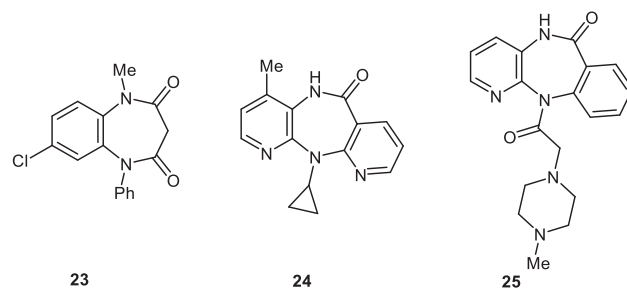
A fenti reakció feltételezett mechanizmusát a 6. ábrán foglaltuk össze. Az első lépés az aldehid (14) és az amin (7) T3P®-reagenssel elősegített kondenzációs reakciója, amelynek eredménye 18 imin és a melléktermékként keletkező 1,3,5-tripropiltrifoszfoxán 1,3,5-trioxid (QOH). A következőben a Schiff-bázis (18) QOH hatására protonálódik, majd az így képződött imíniumion (19) nukleofil addíciós reakcióba lép az izocianiddal (15). Ezután egy újabb nukleofil addíciós reakció játszódik le 20 nitriliumion és QO⁻ anion között, amely 21 foszfonsav észterhez vezet. Végül 21 intermedier hidrolízisével, majd 22 imidsav tautomer átalakulásával kapjuk a terméket (17).



6. Ábra. A T3P®-reagens jelenlétében lejátszódó háromkomponensű Ugi-reakció mechanizmusa

4. Hexahidrodibenzo[b,e][1,4]diazepin-1-on-származékok előállítása

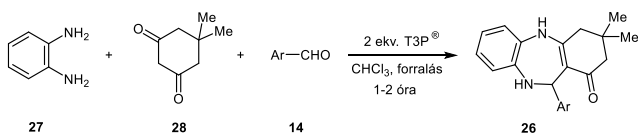
Az 1,5-benzodiazepinek biológiai hatása régóta ismeretes, amelyek közül több származék gyógyszerként jelenleg is forgalomban van.²⁰ A klobazám (23) az epilepszia és a szorongás, a nevirapin (24) a HIV fertőzés, a pirenzepin (25) pedig a gyomorfekély kezelésére használt gyógyszer (7. ábra).



7. Ábra. 1,5-Benzodiazepin gyűrűt tartalmazó gyógyszerek szerkezeti képlete

Az 1,5-benzodiazepinek egyik csoportja, a hexahidro[b,e][1,4]diazepin-1-on-származékok (26) előállíthatók 1,2-feniléndiamin (27), 5,5-dimetilciklohexán-1,3-dion vagy más néven dimedon (28) és aldehidek (6) multikompenensű reakciójával (8. ábra). Ezt a reakciót számos szeretlen és szerves vegyület katalizálja, többek között T3P®-reagenssel is elősegíthető.²¹ Ez utóbbi esetben az oldószer

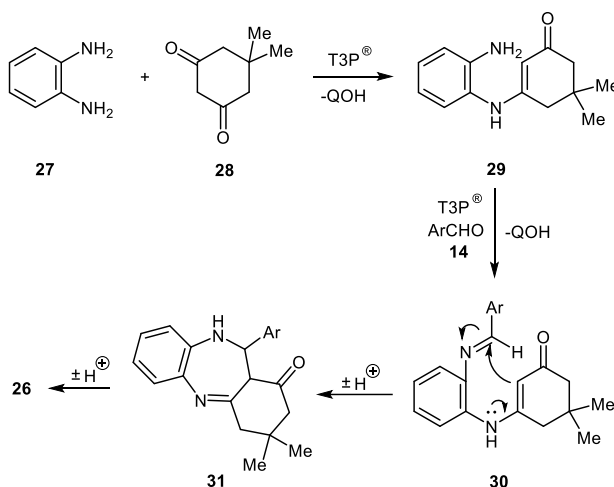
fajtája jelentősen befolyásolja a reakció lejárásdát. Etil-acetátban, metil-*tert*-butil-éterben, acetonitrilben, toluolban, α,α,α -trifluortoluolban, tetrahydrofuranban és ionos folyadékban csak gyenge termeléssel izoláltuk a kívánt terméket. Viszont forró kloroformban végezve a reakciót kb. 1 óra után már nem változott a reakcióelegy összetétele és 26 vegyületeket jó termeléssel sikerült izolálni. Az aromás aldehid (14) fajtája nem befolyásolta jelentősen a reakció hozamát.



Ar = Ph (76%), 2-FC₆H₄ (32%), 3-FC₆H₄ (73%), 4-FC₆H₄ (70%), 2-ClC₆H₄ (81%), 4-ClC₆H₄ (71%), 3,4-Cl₂C₆H₃ (60%), 2-O₂NC₆H₃ (79%), 2-MeC₆H₄ (92%), 4-NCC₆H₄ (72%), fluorén-2-yl (55%)

8. Ábra. Hexahidro[b,e][1,4]diazepin-1-on-származékok előállítása T3P®-reagens jelenlétében

A reakció mechanizmusát a 9. ábra szemlélteti. Az 1,2-feniléndiamin (27) és a dimedon (28) T3P®-reagenssel elősegített kondenzációs reakciójával 29 enaminhoz és a korábban már említett QOH melléktermékhez jutunk. A következő lépés egy újabb kondenzációs reakció 29 intermedier és az aromás aldehid (14) között, amelyben szintén részt vesz a T3P®-reagens. Végül 30 intermedier intramolekuláris gyűrűzárásával 31 tautomer formán át keletkezik a termék (26).

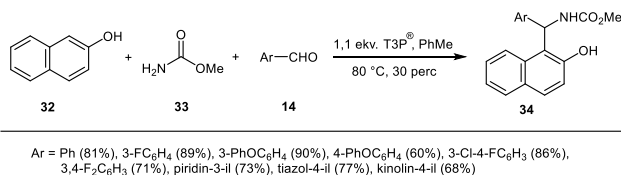


9. Ábra. Hexahidro[b,e][1,4]diazepin-1-on képződésének mechanizmusa T3P®-reagens jelenlétében

5. 2-Naftol- és naftoxazinon-származékok előállítása

A T3P®-reagenssel elősegített multikomponensű reakciók sorának befejezése képpen egy Betti típusú reakciót mutatunk be. A Betti-reakcióban 2-naftol, különböző aminok és aldehid reagálnak egymással, s így számos értékes 2-naftolszármazék állítható elő. Ennek a reakciónak a sokszínűségéről és a Betti-bázis jelentőségéről több összefoglaló közlemény jelent meg az elmúlt időszakban.^{22,23} T3P®-reagens jelenlétében a 2-naftol (32), a metil-karbamát (33) és az aromás aldehid (6) háromkomponensű reakcióját

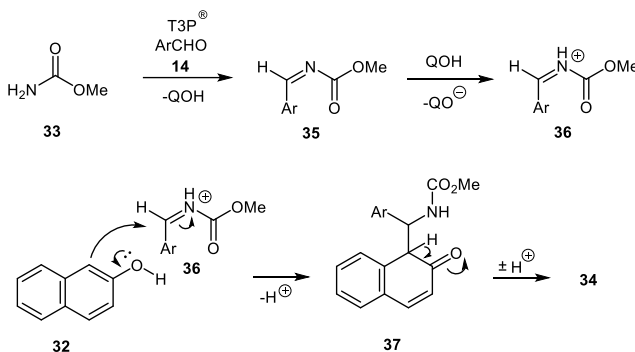
vizsgáltuk.²⁴ A 2-naftolszármazékokat (34) toluol oldószerben 80 °C-on rövid idő alatt jó termeléssel állítottuk elő. A kapott eredményeket a 10. ábra foglalja össze.



Ar = Ph (81%), 3-FC₆H₄ (89%), 3-PhOC₆H₄ (90%), 4-PhOC₆H₄ (60%), 3-Cl-4-FC₆H₃ (86%), 3,4-F₂C₆H₃ (71%), piridin-3-yl (73%), tiazol-4-yl (77%), kinolin-4-yl (68%)

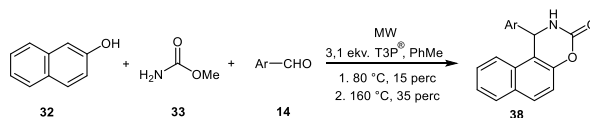
10. Ábra. 2-Naftolszármazékok előállítása Betti-reakcióval T3P®-reagens jelenlétében

Ennek a reakciónak a bevezető lépése a metil-karbamát (33) és az aromás aldehid (14) kondenzációs reakciója, melynek során az imin típusú intermedier (35) mellett 1,5-dihidrox-1,3,5-tripropiltrifoszfoxán 1,3,5-trioxid (QOH) keletkezik. Ezután 35 köztitermék nitrogénatomja protonálódik, majd az így képződött imíniumion (36) nukleofil addíciós reakcióba lép a 2-naftollal (32). Befejezésképpen 37 ketonból a stabilisabb, aromás gyűrűt tartalmazó termék (34) keletkezik (11. ábra).



11. Ábra. A T3P®-reagenssel elősegített Betti-reakció mechanizmusa

Néhány esetben, a fenti reakcióban kis mennyiségű melléktermékek keletkezését figyeltük meg. Ezek közül az egyik naftoxazinon-származéknak (38) bizonyult, amely gyűrűzárással képződött 34 vegyületből metanol vesztéssel. Ennek a heterociklusos vegyületnek (38) a szintézisét optimalizálás után a Betti-reakció kiindulási anyagaiból sikerült megoldani még pedig oly módon, hogy a reakcióelegyet 3,1 ekv. T3P®-reagens jelenlétében először 80 °C-on melegítettük mikrohullámú készülékben 15 percen át, majd 160 °C-on további 35 percig. A naftoxazin-származékokat (38) közepes, vagy annál gyengébb termeléssel sikerült izolálni a bomlástermékek mellől (12. ábra).²⁴

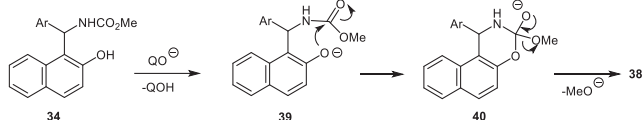


Ar = Ph (52%), 3-FC₆H₄ (53%), 3-PhOC₆H₄ (41%), 4-PhOC₆H₄ (23%), 3-Cl-4-FC₆H₃ (42%), 3,4-F₂C₆H₃ (47%)

12. Ábra. Naftoxazinok one-pot előállítása T3P®-reagens segítségével

Ebben az esetben feltételezzük, hogy először a 2-naftol (32), a metil-karbamát (33) és az aromás aldehid (14) lép

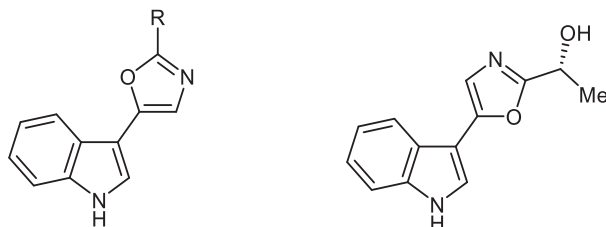
reakcióba T3P®-reagens jelenlétében, majd **34** vegyületből addíciós-eliminációs reakcióval **39** és **40** intermediereken keresztül keletkezik a termék (**38**) (13. ábra).



13. Ábra. A naftoxazin-származék keletkezésének mechanizmusa

6. 5-(3-Indolil)oxazolok előállítása

Az 1,3-oxazolgyűrűt tartalmazó vegyületek az aromás heterociklusok jelentős képviselői, mivel számos biológiailag aktív vegyület, illetve természetes anyag tartozik közéjük.^{25,26} Az egyszerű szerkezetű 5-(3-indolil)oxazolokat baktériumokból izolálták, ilyen például a pimprinin (**41a**), a labradorin **1** (**41b**), vagy az optikailag aktív pimprinol A (**41c**) (14. ábra).

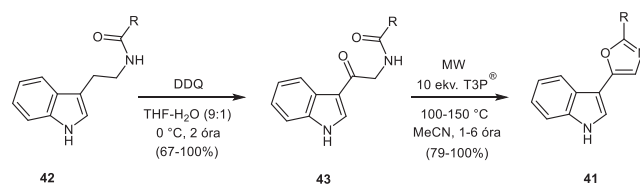


41a: R = Me, pimprinin
(*Streptomyces pimprina*)
41b: R = *i*-Bu, labradorin **1**
(*Pseudomonas syringae*)

41c: pimprinol A
(*Streptomyces* sp. Lv3-13)

14. Ábra. Természetes eredetű 5-(3-indolil)oxazolok és előfordulásuk

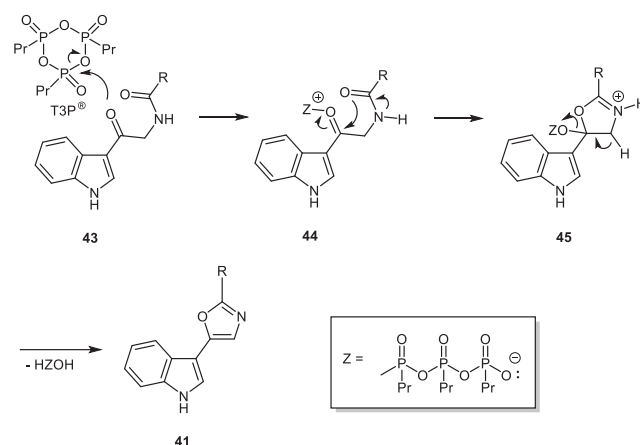
Az 5-(3-indolil)oxazolok (**41**) két lépésben előállíthatók *N*-acil-triptaminből (**42**). Az *N*-acil-triptaminokat (**42**) 5,6-diciano-2,3-diklór-1,4-benzokinonnal (DDQ) oxidálva tetrahydrofuran–víz elegyében 2-acilaminoketonokhoz (**43**) jutunk, amelyekből Robinson–Gabriel-reakcióval kialakítható az oxazolgyűrű. A gyűrűzáráshoz általában erőlyes vízelvonószereket, például foszforil-kloridot, kénsavat, tionil-kloridot stb. használnak.²⁷ Az acilaminoketonokat (**43**) T3P®-reagens alkalmazásával acetonitrilben mikrohullámú reaktorban melegítve kitűnő termeléssel kaptuk a várt termékeket (**41**). A normál vagy izealkilcsoportot tartalmazó kiindulási anyagok esetében a reakció könnyebben lejátszódott, míg a nagyobb térkitöltésű *tert*-butil, aril vagy az elektronszívó trifluorometil-csoportokat tartalmazó vegyületeknél a reakcióidő vagy a hőmérséklet növelésére volt szükség (15. ábra).



R = Me, Et, Bn, Pr, Bu, *i*-Pr, *i*-Bu, pentil, hexil, oktil, ciklopropil, *t*-Bu, CF₃, CF₂CF₃, Ph, 2-FC₆H₄, 3-ClC₆H₄, 3-F₃CC₆H₄, 3-MeOC₆H₄, naftalin-2-il, tiofén-2-il

15. Ábra. 5-(3-Indolil)oxazolok előállítása Robinson–Gabriel-reakcióval T3P® jelenlétében

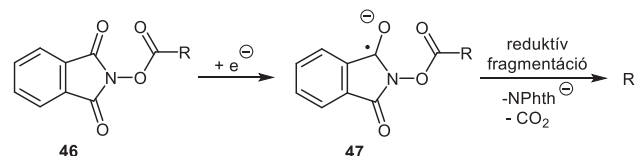
A reakció első lépésében **43** karbonil oxigénatomja aktiválódik a T3P®-reagens hatására, amely **44** intermedierekhez vezet. Ezután a savamid oxigénatomjának nukleofil támadása történik az aktivált karbonilcsoporton. A ZOH eliminációja és protonvesztés után kialakul az oxazolgyűrű és a termékhez (**41**) jutunk (16. ábra).



16. Ábra. T3P®-reagenssel elősegített Robinson–Gabriel-reakció mechanizmusa

7. Redox-aktív *N*-(aciloxi)ftálimidek előállítása

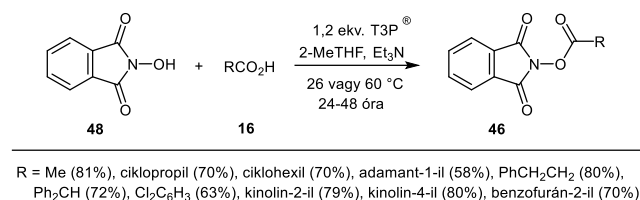
Az *N*-(aciloxi)ftálimidek (**46**) a szintetikus szerves kémia hasznos kiindulási anyagai, mivel egy elektron felvételével **47** intermediereken keresztül ftálimid anion (NPhth[−]) és szén-dioxid képződése mellett gyökös termék alakulnak át (17. ábra). A képződött gyök (R•) pedig számos kémiai reakcióban szén-szén és szén-heteroatom kötés kialakítására használható.^{28,29}



17. Ábra. Az *N*-(aciloxi)ftálimidek reduktív fragmentációja

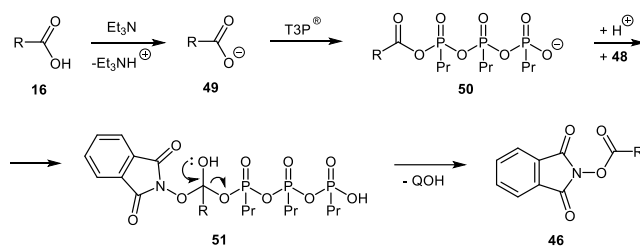
Az *N*-(aciloxi)ftálimideket (**46**) általában *N*-hidroxiftálimidből (**48**) és karbonsavakból (**16**) állítják elő különböző kapcsolószerek segítségével. A gyakran használt *N,N'*-diizopropilkarbodiimid (DIC) és

N,N'-diciklohexilkarbodiimid (DCC) mérgező, irritálja a bőrt és allergiás reakciót vált ki. Továbbá a reakcióhoz a szintén mérgező 4-dimetilaminopiridint (DMAP) is használják katalitikus mennyiségben. A kapott terméket (**46**) kromatográfiásan tisztítják. A kromatográfiás tisztítás hátránya, hogy néhány *N*-(aciloxi)ftálimid (**46**) a szilikagélen bomlik, így csökken a reakció hozama. Az *N*-hidroxiftálimidek (**48**) karbonsavakkal T3P® jelenlétében is reagálnak (18. ábra). A reakció oldószerének a „zöld” 2-metiltetrahidrofuránt (2-MeTHF) választottunk, amelynek előnye, hogy a kiindulási anyagokat jól oldja, valamint nem elegyedik vízzel, így a T3P®-reagens feleslegét és a belőle keletkező melléktermékeket vizes extrakcióval könnyen eltávolítottuk a reakcióelegy feldolgozása során. A reakció szobahőmérsékleten vagy 60 °C-on melegítve jó termeléssel játszódott le és ebben az esetben a termékek kromatográfiás tisztítása elhagyható volt. A reakciót alifás, aromás és heteroaromás karbonsavakra egyaránt kiterjesztettük.³⁰



18. Ábra. *N*-(aciloxi)ftálimidek előállításának néhány példája

A fenti reakció mechanizmusát a 19. ábra mutatja be. A karbonsavból (**16**) trietil-amin hatására keletkező aniont (**49**) a T3P®-reagens aktiválja, majd az így képződött vegyes anhidrid (**50**) tovább reagál az *N*-hidroxiftálimiddel (**48**). Az addíciós vegyületből (**51**) 1,5-dihidroxi-1,3,5-tripropil-rifoszfoxán 1,3,5-trioxid (QOH) kilépésével keletkezik a termék (**46**).



19. Ábra. T3P®-reagenssel elősegített *N*-(aciloxi)ftálimidek előállításának mechanizmusa

8. Összefoglalás

A propánfoszfonsav-anhidrid (T3P®) több szerves kémiai reakcióban előnyösen használható. Ebben a közleményben T3P®-reagenssel elősegített multikomponensű és egyszerű kondenzációs reakciókat mutattunk be, amelyekkel értékes intermedierekhez vagy termékekhez juthatunk. 3-Oxoizindolin-1-il-foszfónátokat 2-formilbenzoesav, különböző primer aminok és dialkil- vagy trialkil-foszfítok módosított Kabachnik–Fields-reakciójával állítottunk elő T3P®-reagens jelenlétében. A termék keletkezését az amin

komponens elektronikus és szterikus tulajdonságai jelentősen befolyásolták. A T3P®-reagens segítségével változatos szerkezetű α -amino-amidokat állítottunk elő aldehidekből, primer aminokból és izocianidokból kiindulva. Ennek az eljárásnak az előnye, hogy a háromkomponensű Ugi-reakció szobahőmérsékleten, rövid idő alatt lezajszódott. Az 1,5-benzodiazepinek csoportjába tartozó hexahidro[*b,e*] [1,4]diazepin-1-on-származékokat 1,2-feniléndiamin, di-medon és aldehidek multikomponensű reakciójával kaptuk szintén T3P®-reagens jelenlétében. Ezt a reakciót az oldószer fajtája jelentősen befolyásolta, jó termelést csak kloroformban értünk el 1–2 óra forralás után. A T3P®-reagenssel elősegített multikomponensű reakciók közül végül egy Betti típusú reakciót vizsgáltunk, amelynek kiindulási anyagai 2-naftol, metil-karbamát és aromás aldehidek voltak. A várt 2-naftolszármazékokat rövid idő alatt jó termeléssel állítottunk elő toluolban melegítve 80 °C-on. Ugyanezt a reakciót erősebb körülmények között végezve a 2-naftolszármazékok helyett naftoxazinokhoz jutottunk közepes termeléssel. A triptaminból egyszerűen előállítható 2-acilaminoketonokból T3P®-reagens jelenlétében természetes és mesterséges 5-(3-indolil)oxazolok szintézisét valósítottuk meg. A reakciót mikrohullámú reaktorban, acetonitril oldószerben végeztük 100 °C-on. Az 5-(3-indolil)oxazolokat kitűnő termeléssel kaptuk, azonban az erősen elektronszívó, vagy nagy térkitöltésű csoportot tartalmazó kiindulási anyagok esetében hosszabb reakcióidőre volt szükség. A T3P®-reagenst kapcsolószerként használtuk redox-aktív *N*-(aciloxi)ftálimidek előállításához *N*-hidroxiftálimidekből és karbonsavból kiindulva. A reakciót 2-metiltetrahidrofuránban végeztük szobahőmérsékleten vagy 60 °C-on. Az *N*-(aciloxi)ftálimideket jó termeléssel és tisztán izoláltuk a reakcióelegyből, így kromatográfiás tisztításukra nem volt szükség.

Hivatkozások

- Musaimi, O. A.; Wisdom, R.; Talbiersky, P.; De La Torre, B. G.; Albericio, F. *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 2649–2657. <https://doi.org/10.1002/slct.202100123>
- Mattellone, A.; Corbisiero, D.; Ferrazzano, L.; Cantelmi, P.; Martelli, G.; Palladino, C.; Tolomelli, A.; Cabri, W. *Green Chem.* **2023**, *25*, 2563–2571. <https://doi.org/10.1039/D3GC00431G>
- Basavaprabhu, Vishwanatha, T. M.; Panguluri, N. R.; Sureshbabu, V. V. *Synthesis* **2013**, *45*, 1569–1601. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1338989>
- Waghmare, A. A.; Hindupur, R. M.; Pati, H. N. *Rev. J. Chem.* **2014**, *4*, 53–131. <https://doi.org/10.1134/S2079978014020034>
- Milen, M.; Keglevich, G. *Magy. Kém. Foly.* **2025** (beküldve)
- Speck, K.; Magauer, T. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 2048–2078. <https://doi.org/10.3762/bjoc.9.243>
- Syed, Y. Y. *Drugs* **2017**, *77*, 1473–1480. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0795-0>
- Valencia, E.; Freyer, A. J.; Shamma, M.; Fajardo, V. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 599–602. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)99948-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)99948-9)
- Philips, W. G. U. S. Patent US 4,164,406, **1979**; Chem. Abstr. **1979**, *91*, 175521.

10. Muddala, N. P.; Nammalwar, B.; Bunce, R. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 28389–28393.
<https://doi.org/10.1039/C5RA02307F>
11. Ordóñez, M.; Tibhe, G. D.; Zamudio-Medina, A.; Viveros-Ceballos, J. L. *Synthesis* **2012**, 569–574.
<https://doi.org/10.1055/s-0031-1289680>
12. Adib, M.; Sheikhi, E.; Yazzaf, R.; Bijanzadeh, H. R.; Mirzaei, P. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 841–844.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.12.055>
13. Milen, M.; Dancsó, A.; Földesi, T.; Slégel, P.; Volk, B. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5091–5099.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.06.074>
14. Ugi, I. *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 386.
<https://doi.org/10.1002/ange.19590711110>
15. Pan, C. S.; List, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3622–3625.
<https://doi.org/10.1002/anie.200800494>
16. Shaabani, A.; Keshipour, S.; Shaabani, S.; Mahyari, M. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1641–1644.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.01.079>
17. Kumar, A.; Saxena, D.; Gupta, M. K. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 4610–4612.
<https://doi.org/10.1039/c3ra23087b>
18. Saha, B.; Frett, B.; Wang, Y.; Li, H. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 2340–2343.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.02.055>
19. Milen, M.; Dancsó, A.; Földesi, T.; Volk, B. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 70–77.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.059>
20. Teli, S.; Teli, P.; Soni, S.; Sakiba, N.; Agarwal, S. *RSC Adv.* **2023**, *13*, 3694–3714.
<https://doi.org/10.1039/D2RA06045K>
21. Hazai, V.; Szabó, T.; Volk, B.; Milen, M. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2020**, *56*, 237–240.
<https://doi.org/10.1007/s10593-020-02650-3>
22. Olyaei, A.; Sadeghpour, M. *RSC Adv.* **2019**, *9*, 18467–18497.
<https://doi.org/10.1039/C9RA02813G>
23. Olyaei, A.; Sadeghpour, M. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 11811–11848.
<https://doi.org/10.1039/D4RA01256A>
24. Varga, V.; Ábrányi-Balogh, P.; Milen, M. *Chemistry* **2020**, *2*, 600–612.
<https://doi.org/10.3390/chemistry2020037>
25. Kakkar, S.; Narasimhan, B. *BMC Chem.* **2019**, *13*, 16.
<https://doi.org/10.1186/s13065-019-0531-9>
26. Yeh, V. C. S. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11995–12042.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.10.001>
27. Turchi, I. J.; Dewar, M. J. S. *Chem. Rev.* **1975**, *75*, 389–437.
<https://doi.org/10.1021/cr60296a002>
28. Murarka, S. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 1735–1753.
<https://doi.org/10.1002/adsc.201701615>
29. Parida, S. K.; Mandal, T.; Das, S.; Hota, S. K.; Sarkar, S. D.; Muraka, S. *ACS Catal.* **2021**, *11*, 1640–1683.
<https://doi.org/10.1021/acscatal.0c04756>
30. Tóth, B.; Szabó, T.; Volk, B.; Milen, M. *Tetrahedron Lett.* **2022**, *104*, 154016.
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2022.154016>

Propylphosphonic anhydride (T3P®): A versatile reagent in organic chemistry. Part 2

Propylphosphonic anhydride (T3P®) may be successfully used in a series of organic chemical transformations. In this review, we show the application of the T3P® reagent in multicomponent and simple condensation reactions, which lead to valuable intermediates or products. 3-Oxoisoindolin-1-ylphosphonates were prepared by the modified Kabachnik–Fields reaction of 2-formylbenzoic acid, various primary amines and dialkyl or trialkyl phosphites using the T3P® reagent. The formation of the product was influenced by the electronic and steric effect of the amine component. Using the T3P® reagent, various α -aminoamides were prepared starting from aldehydes, primary amines and isocyanides. The advantage of this method is that the three-component Ugi reaction could be carried out under mild conditions and in a short time. Hexahydro[*b,e*][1,4]diazepin-1-one derivatives belonging to the group of 1,5-benzodiazepines were obtained by the multicomponent reaction of 1,2-phenylenediamine, dimedone and aldehydes, mediated by the T3P® reagent. This reaction was significantly influenced by the nature of the solvent, good yields could only be obtained in boiling chloroform. Finally, in the series of multicomponent reactions promoted by the T3P® reagent, we

investigated a Betti-type reaction, the starting materials of which were 2-naphthol, methyl carbamate and aromatic aldehydes. The expected 2-naphthol derivatives could be prepared in good yields in a short time by heating the components in toluene at 80 °C. Performing the same reaction under more vigorous conditions, naphthoxazines were obtained instead of the 2-naphthol derivatives in moderate yields. Natural and synthetic 5-(3-indolyl)oxazoles were prepared from 2-acylaminoketones that may be easily obtained from tryptamine in the presence of the T3P® reagent. The reaction was carried out in a microwave reactor in acetonitrile solvent at 100 °C. The 5-(3-indolyl)oxazoles were obtained in excellent yields, but longer reaction times were required for starting materials containing highly electron-withdrawing or bulky groups. The T3P® reagent was applied as a coupling agent in the synthesis of redox-active *N*-(acyloxy)phthalimides starting from *N*-hydroxyphthalimide and carboxylic acid. The reaction was performed in 2-methyltetrahydrofuran at room temperature or 60 °C. The *N*-(acyloxy)phthalimides were isolated from the reaction mixture in good yields and high purity without chromatography.

Metalloporfirin alapú biomimetikus oxidáló rendszerek fejlesztése a hordozó rendszertől az alkalmazásig

Dr. DECSI Balázs,^{a,*} Dr. BALOGH György Tibor^{a,b} és Dr. BALOGH-WEISER Diána^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Műegyetem rakpart 3, 1111, Budapest, Magyarország

^bSemmelweis Egyetem, Üllői út 26, 1085, Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A hatóanyag-metabolizmus felderítése a gyógyszerkutatás egyik kiemelt feladata. Ennek fő oka, hogy a szervezetben enzimatisz uton képződő metabolitok átfogó ismeretét az engedélyező hatóság elvárja. A szervezetben az elsődleges metabolikus út jellemzően a citokróm P450 (CyP450) által katalizált oxidációs lépéssel indul. Tekintettel arra, hogy a gyógyszerkincsünk több mint 70%-a szenved el valamilyen CyP450 katalizálta oxidációs átalakítást¹, egy új hatóanyag fejlesztése során fontos információt hordoz ezen biotranszformációs utak feltárása.

Hagyományosan a CyP450 függő reakciók primer vizsgálatát a máj mikroszoma frakciójának felhasználásával végzik, azonban a biológiai rendszerek számos hátránnyal bírnak. A vizsgált hatóanyag, mint enzim szubsztát csak alacsony koncentrációban alkalmazható, emiatt csekély mennyiségben keletkeznek metabolitok. A reakcióelegyben a mikroszoma komplex biológiai mátrixa megnehezíti az analitikai vizsgálatot, így elsődlegesen csupán kvantitatív információ nyerhető a képződő metabolitokról. A mikroszoma élettartama a reakció körülményei között 1-2 óra². Mindezek miatt nagyobb mennyiségű metabolit nem állítható elő gazdaságosan máj mikroszómális rendszereket alkalmazva.

Az előbbieken ismertetett hagyományos mikroszoma alapú rendszerek hátrányait kiküszöbölve alternatív megoldást nyújthatnak az ún. biomimetikus modellek. Az egyik leggyakrabban alkalmazott biomimetikus rendszer alapjául a CyP450 enzimek aktív helyén található protoporfirin IX egységgel szerkezeti hasonlóságot mutató szintetikus metalloporfirinek szolgálnak. Előnyük, hogy a gyógyszer(jelölt) vegyületből egy lépésben lehetővé válik a metabolitok előállítás a sokszor nehézkes és többlépcsős, gyakran az anyavegyület előállításától független reakcióutak alkalmazását jelentő totálszintézis nélkül. A reakciókörülmények változtatásával nem csak a kívánt metabolitok állíthatók elő, hanem a szerkezeti sokszínűséget szélesítve, új kémia teret képviselő vegyületek is gazdagíthatják a gyógyszerkutatási programok kiindulópontját. Emellett elmondható, hogy az in vitro biológiai rendszerekkel szemben a biomimetikus kémiai modellek robusztusabbak, az eredmények ezáltal jól reprodukálhatók. A komplex biológiai mátrix hiánya és a kiindulási vegyület nagyobb koncentrációja növe-

li a követő analitikai vizsgálatok hatékonyságát, és nagyobb mennyiségű metabolit gazdaságos előállítása is megoldhatóvá válik³.

2. Eredmények

A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyész-mérnöki és Biomérnöki Karának, Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszékén működő Biomimetikus Technológiák Kutatócsoportjában, (ezt megelőzően a Richter Gedeon NyRt. volt Szintézistámogató Laboratóriumában) már évek óta vizsgálják a szintetikus metalloporfirinek alkalmazhatóságát gyógyszerhatóanyagok biomimetikus oxidációjában. A kutatócsoportban felhalmozott tapasztalatok rámutattak, hogy a szintetikus metalloporfirin alapú rendszerek sem mentesek a megoldandó hátrányoktól. A reakciók biomimetikus jellegét igazolni szükséges, azaz meg kell állapítani, hogy metalloporfirin hiányában, a katalizátor aktiválásához szükséges oxidálószer önmagában képes-e átalakítani a szubsztátot. Emellett a metalloporfirinek homogén oxidatív közegben gyors degradációt szenvedhetnek el, valamint a homogén reakcióelegyből az elválasztásuk, ezáltal újra felhasználhatóságuk nehézkes vagy egyáltalán nem megoldható. A Szerves Kémia és Technológia Tanszék Bioorganikus és Kémiai Kutatócsoportjában hosszabb idő óta zajlanak különféle hordozó fejlesztésére, illetve biokatalizátor rögzítésére irányuló kutatások, melyeknek célja stabilabb, kezelhetőbb és hatékonyabb biotranszformációs eljárások megvalósítása.

Doktori munkám során célul tűztam ki olyan szintetikus metalloporfirin alapú rendszerek fejlesztését, amelyek képesek lehetnek kiküszöbölni a fent megfogalmazott homogén rendszerekre jellemző hátrányokat. Munkám három különböző, de egymásra épülő és egymással összefüggő szintre tagolható. Egyfelől referenciaként elvégeztük a hagyományos homogén fázisú katalitikus reakciót és azonosítottuk a keletkező metabolitokat. Emellett célunk volt a metalloporfirin katalizátor rögzítése különböző nanostrukturált hordozók felületére, melynek részeként a kötés módjának optimalizálását is el kívántuk végezni. Végezetül, a heterogén katalizátorrendszer integrálását kívántuk megoldani folyamatos üzemű, átfolyásos reaktorokba. Ehhez a hordozórendszer jellegével harmonizáló mikro- és mezo-

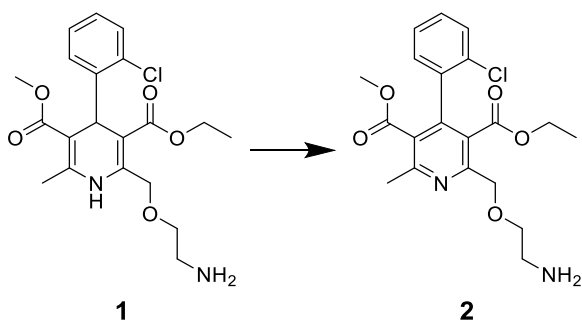
* Főszerező. Tel: +36 1 463 2574; e-mail: balazsdecsi@vbk.bme.hu

reaktorokat (mikrofluidikai chip- és hagyományos töltött ágyas reaktorok) alkalmaztunk.

Összefoglalva, munkám a reakcióvezetés megtervezésétől, a katalizátorhordozó fejlesztésén keresztül a folyamatos áramú reaktortechnológiák alkalmazásáig terjedt.

2.1. Mágneses nanorészecske (MNP) alapú biomimetikus katalizátorok fejlesztése^{4,5}

Mágneses nanorészecskék (MNP) kiválóan alkalmazhatók, mint különböző katalizátor molekulák hordozói. Nagy fajlagos felületük mellett előnyük, hogy mágneses tulajdonságukból következően állandó mágnes jelenlétében szeparálhatók a reakcióközegeből vagy kívánt helyen csapódhatnak. A felületükön kialakítható szilika réteg, ami lehetőséget nyújthat a megfelelő aktív vagy inert csoport(ok) rögzítésére az adott csoportot tartalmazó szilánok hidrolízisével. Különböző inert csoportok alkalmazásával a katalizátor hordozó felületi tulajdonságai optimalizálható, ezáltal növelhető a katalitikus aktivitás. Ez abból a szempontból fontos, hogy a katalizátorok rögzítésével kialakulhat egy ún. diffúziós gát, amely ronthatja az aktivitásukat. Mágneses nanorészecskék felületén aktív funkcióként 3-aminopropilcsoportot alkalmaztunk, míg inert csoportként különböző méretű (metil-, fenil-, propil-, és vinilcsoport) csoportokat rögzítettünk. Katalizátorként *mezo*-tetra(pentafluorofenil)vasporfirint (FeTPPF) és *mezo*-tetra(paraszulfoniloxifenil)vasporfirint (FeTPPS) használtunk. FeTPPF-et kovalens kötással, míg FeTPPS-t elektrosztatikus kölcsönhatással rögzítettük felületmódosított MNP felületére. Inert módosítóként mindkét metalloporfirin katalizátor esetében a metilcsoport bizonyult optimálisnak, így a további kísérletekben ezt alkalmaztuk. A felületi csoportokat tartalmazó szilánok anyagmennyiségét állandónak vettük (64 mM). Az aktív és inert csoportokat a felületmódosító elegyben szisztematikusan különböző molarányban alkalmaztuk. Így öt, felületén az aktív csoportot különböző felületi sűrűségben (aktív:inert = 1:0, 1:1, 1:4, 1:16, valamint vak mintaként 0:1) tartalmazó hordozót állítottunk elő. Modellvegyületeként egy kalciumcsatorna blokkolót, az amlodipin (1) hatóanyagot választottuk. Biomimetikus reakciójában dehidroamlodipin (2) humán major metabolit keletkezik egyedüli terméként, így a reakció UV-vis spektrofotometriás módszerrel követhető.

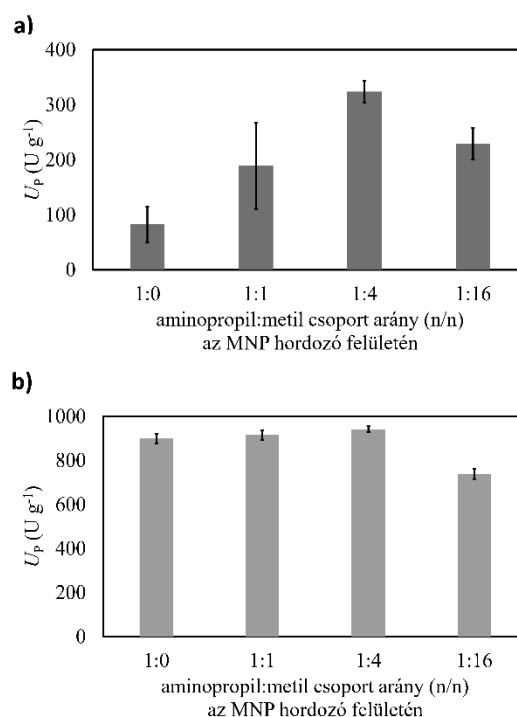


1. ábra. Amlodipin (1) és in vivo humán / biomimetikus metabolitja (dehidroamlodipin, 2)

A különböző katalizátorrendszerek aktivitását az ún. fajlagos specifikus katalitikus aktivitással (U_p , **1. egyenlet**) jellemeztük, amely megmutatja, hogy a teljes katalizátor rendszer egységnyi metalloporfirin mennyisége (m_p , g) egységnyi idő alatt (t , perc) mekkora mennyiségű terméket ($n_s \cdot c$, ahol n_s -szubsztrát kiindulási mennyisége (μmol), c -konverzió,) képes előállítani (vagy szubsztrátot átalakítani).

$$U_p (U \text{ g}^{-1}) = n_s c t^{-1} m_p^{-1} \quad (1)$$

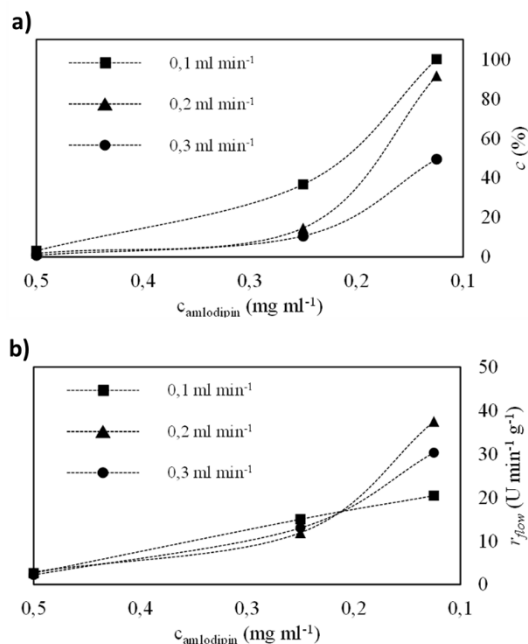
Elsőként mindkét két porfirin esetében az aktív csoportnak az optimális felületi sűrűségét kívántuk meghatározni. Ezt heterogén szakaszos rendszerben végeztük el. Az eredmények a **2. ábrán** láthatók. Általánosan elmondható, hogy a legaktívabbnak mindkét metalloporfirin esetében az 1:4-es módosítási arány bizonyult. Amennyiben a hordozó nem tartalmazott aktív aminosoprotot a felületén, abban az esetben metalloporfirin nem rögzült a hordozóra, illetve nem történt katalitikus átalakulás a heterogén szakaszos rázatott rendszerben. Az ionosan rögzített FeTPPS aktivitása közel háromszorosa a kovalensen rögzített FeTPPF biomimetikus katalizátornak, így folyamatos üzemű, mikrofluidikai reakcióban az előbbi katalizátorrendszert alkalmaztuk.



2. ábra. Heterogén, szakaszos katalitikus rendszerek fajlagos specifikus biomimetikus aktivitása a) FeTPPF, b) FeTPPS porfirint alkalmazva.

Az optimálisnak talált 1:4 amino:metilcsoportot tartalmazó rendszert az amlodipin (1) folyamatos üzemű biomimetikus oxidációjában vizsgáltuk. A reakciót az amlodipin (1) koncentrációja ($c_{\text{amlodipin}} = 0,5; 0,25$ és $0,125 \text{ mg ml}^{-1}$), illetve az áramlási sebesség ($v = 0,1; 0,2$ és $0,3 \text{ ml min}^{-1}$) változtatása mellett optimalizáltuk. Az állandósult állapot beálltát követően mintát vettünk a kifolyó reakcióelegyből, amit HPLC-

DAD, valamint HPLC-DAD-MS módszerrel vizsgáltuk. Az eredmények alapján el lehet mondani, hogy a magnechip reaktor hasonlóan viselkedett, mint a hagyományos (pl.: töltött ágyas) folyamatos áramú reaktorok. Amennyiben növeltük az áramlási sebességet vagy a szubsztrát koncentrációt, csökkent a mért konverzió (3. ábra). Az eredményekből látható, hogy az amlodipin (3) teljes mennyisége átalakult 0,1 ml min⁻¹-es áramlási sebesség és 0,125 mg ml⁻¹ szubsztrátkoncentráció mellett. A reaktor produktivitása (r_{flow}) ugyanezen koncentráció, de magasabb áramlási sebesség (0,2 ml min⁻¹) mellett volt a legnagyobb.

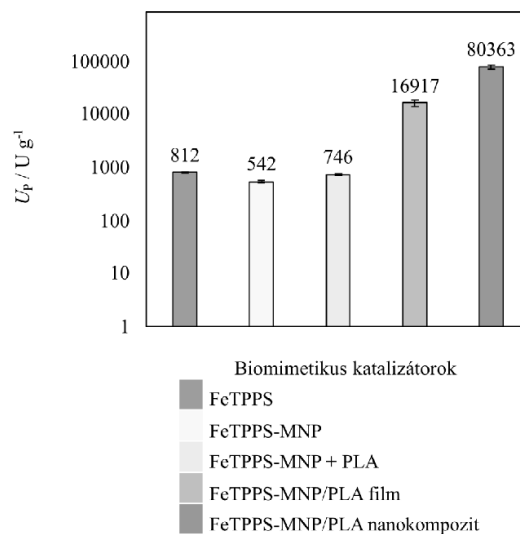


3. ábra. Amlodipin (1) folyamatos áramú biomimetikus reakciójának konverziója (a) és reaktor produktivitása (b) a koncentráció függvényében

2.2. Nanoszál alapú biomimetikus katalizátorok fejlesztése⁶

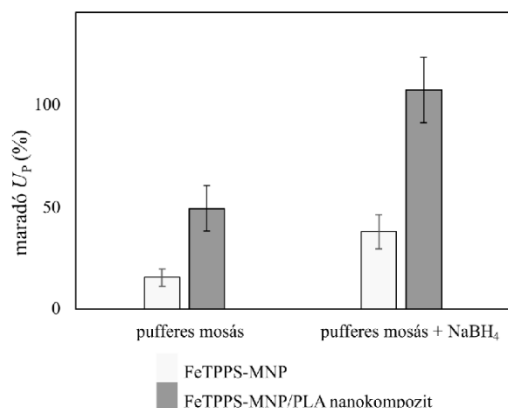
Az elektrosztatikus szálképzéssel készült nem szőtt anyagú nanoszálak mátrix kitűnő tulajdonságokkal rendelkező katalizátorhordozó. Az elkészítése kíméletes (a polimer anyagától függően akár szerves oldószer nélkül is előállítható), így alkalmazásukkal lehetőség nyílik akár enzimek rögzítésére is. Szintetikus metalloporfirin beágyazását nanoszálak mátrixba korábban nem vizsgálták, emiatt előkísérletként szükséges volt elvégezni a szabad porfirin rögzítését, valamint a kioldódásának a vizsgálatát. A kísérleteink során politejsav (PLA) nanoszálak mátrixot használtunk az FeTPPS rögzítésére. A kész nanoszálak terméket kioldódásvizsgálatnak alávetve azt tapasztaltuk, hogy a metalloporfirin közel 90%-ban kioldódott a reakció közegében való ráztatás során. Emiatt alternatív rögzítési módot volt szükséges kidolgoznunk, ami a 2.1-es fejezetben ismertetett MNP alapú hordozó alkalmazását jelentette, így egy PLA/MNP kompozit katalizátorrendszert hoztunk létre. A kompozit katalizátor MNP-FeTPPS tartalmát optimalizáltuk és további kísérleteinkben a legjobbnak bizonyult 1,25 w/w% MNP-FeTPPS-t

alkalmaztuk a száraz PLA mennyiségére vonatkoztatva. Az optimálisnak talált összetétel mellett vizsgáltuk a különböző formulációk hatását a rögzített metalloporfirin katalizátor aktivitására (4. ábra). Az eredmények megerősítették, hogy az PLA kompozit formuláció jelentős aktivitás növelő hatással rendelkezik a szabad, oldott vagy szabad MNP kötött formához képest. A PLA jelenléte önmagában nem befolyásolta a metalloporfirin aktivitását. Fontos megemlíteni, hogy a PLA film és a nanoszálak rendszert összehasonlítva az látható, hogy a nagyobb fajlagos felülete az utóbbinak nagymértékben képes befolyásolni a katalizátor aktivitását azáltal, hogy kiváló átjárhatóságot biztosít és így javítja az anyagtranszportot a katalizátor és az oldat tömbfázisa között.



4. ábra. Amlodipin (1) különböző típusú FeTPPS katalizátor tartalmú rendszerek általi oxidációjának specifikus biomimetikus aktivitása

A rögzített katalizátorok egyik fontos tulajdonsága, hogy könnyen elválaszthatók a reakcióelegytől és egy újabb reakcióban felhasználhatók. Emiatt fontos vizsgálni a különböző katalizátor rendszerek újrahasznosíthatóságát. A maradó aktivitást a szabad MNP-hez és a PLA/MNP kompozitba rögzített FeTPPS esetében kétféle módon vizsgáltuk. Az első esetben a kiszűrés után a reakció közegével történő mosást végeztünk a következő reakció előtt, míg a második esetben a mosás után nátrium-borohidrides kezelést alkalmaztunk. Az 5. ábrán látható eredmények alapján elmondható, hogy a PLA nanoszálak rendszer a borohidrides kezelés nélkül is nagyobb maradó reaktivitással rendelkezett, mint a szabad MNP-FeTPPS. A nátrium-borohidrides kezelés növelte a maradó aktivitását mindkét katalizátorrendszernek, ami azt bizonyítja, hogy a borohidrid egy jó regeneráló ágense az FeTPPS katalizátornak. Így a PLA kompozit közel teljes aktivitása megmaradt a borohidrides kezelés után, ami a nanoszálak PLA kiváló védőhatását bizonyítja.



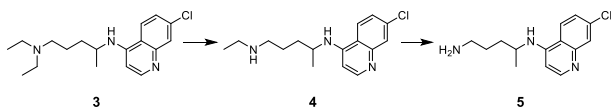
5. ábra. Különböző rögzített metalloporfirin tartalmú rendszer újrahaználhatóságának vizsgálata mosás, illetve NaBH₄-es kezelés után.

2.3. Nanopórusos mikrorészecske alapú biomimetikus katalizátorok fejlesztése⁷

Végezetül a hordozó felületének és a katalizátor molekulák távolságának befolyásoló hatását vizsgáltuk. E célból a szilikarészecskék felületét 3 különböző hosszúságú aminocsoportot tartalmazó linkermolekulát (Si-1: 3-aminopropil-trimetoxiszilán, Si-2: 3-aminoetil-aminopropil-trimetoxiszilán, Si-3: *N*-[3-(trimetoxiszilil)propil]-di-etilén-triamin)) alkalmazva módosítottuk, majd FeTPPS metalloporfirin katalizátort rögzítettünk a felületére ionos kötéssel. Elsőként szakaszos körülmények között heterogén katalitikus oxidációban vizsgáltuk az amlodipin (1), illetve a klorokin (3) esetében a linker hosszának hatását a katalizátor aktivitására (1. táblázat). Előbbi esetében a közepes hosszúságú, míg klorokin (3) esetében a legrövidebb linker bizonyult a legjobbnak. Amlodipin (1) esetében a már korábban ismertetett dehidroamlodipin (2) keletkezett mindhárom rögzített katalizátor esetében, míg klorokin (3) reakciójában két metabolit, egy egyszeres (4) és egy kétszeres (5) dealkilálást eredményező klorokin származék keletkezett (6. ábra). Klorokin esetében elmondható, hogy a linker hossza nem csupán a konverziót befolyásolta, hanem a metabolitprofil is eltért a rövidebb és hosszabb linkerek alkalmazásával (2. táblázat).

1. táblázat. Amlodipin (1) és klorokin (3) heterogén, szakaszos biomimetikus oxidációjának konverzióértékei

	Si-1-FeTPPS	Si-2-FeTPPS	Si-3-FeTPPS
$c_{\text{amlodipin}}$	12,4	37,4	28,0
c_{klorokin}	52,6	26,4	18,6

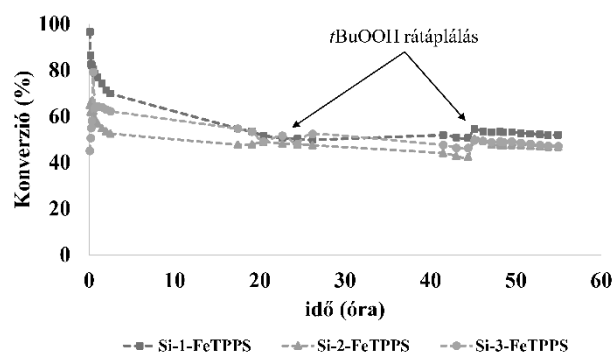


6. ábra. Klorokin (3) és biomimetikus metabolitjai

2. táblázat. Klorokin (3) heterogén, szakaszos biomimetikus oxidációjának metabolitprofiljai

	Si-1-FeTPPS	Si-2-FeTPPS	Si-3-FeTPPS
3	47,4	73,6	81,4
4	39,6	19,8	13,8
5	12,5	6,6	-
Egyéb	0,5	-	4,8

A szakaszos reakciók mellett folyamatos áramú reakcióban is vizsgáltuk a linkermolekula hosszúságának hatását. Az áramlási sebesség korábban optimalizált értéke 250 $\mu\text{l min}^{-1}$ és 2 ekvivalens oxidálószer mennyiség mellett vizsgáltuk a rendszer működését. Amlodipin (1) folyamatos áramú biomimetikus oxidációs reakciójában a három különböző hordozós katalizátor (Si-1-FeTPPS, Si-2-FeTPPS és Si-3-FeTPPS) élettartamát hasonlítottuk össze (7. ábra). A kezdeti nagy konverzió folyamatosan lecsökkent, míg közel állandó 55%-os értékre állt be. 24, majd 48 órás folyamatos reakció után friss oxidálószer oldatot készítettünk és azt áramoltattuk át a töltött ágyas reaktoron. Közel 60 órán keresztül a konverzió nem változott számottevően egyik hordozós katalizátor alkalmazása mellett sem.



7. ábra. Különböző hosszúságú linkermolekula hatása a rögzített katalizátor élettartamára

A töltött ágyas reaktorban a klorokin (3) biomimetikus oxidációját vizsgáltuk. A mért termékprofil szerint a deetil- (4) és bisz-deetil-klorokin (5) volt azonosítható (6. ábra). Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltam össze. A folyamatos áramú reakcióban a közepes hosszúságú linker (Si-2) bizonyult optimálisnak, míg a szakaszos reakcióvezetésben legjobban teljesítő Si-1 linker alkalmazása csupán 2%-os konverzió eredményezett, ahol egyetlen termék, a deetil-klorokin (4) keletkezett. A közepes hosszúságú mellett, a leghosszabb láncú linker is jó aktivitást mutatott több, mint 50%-os konverzió értékkel.

3. táblázat. Klorokin (3) heterogén, folyamatos áramú biomimetikus oxidációjának metabolitprofiljai és konverzióértékei

	Si-1-FeTPPS	Si-2-FeTPPS	Si-3-FeTPPS
3	98,0	23,6	49,6
4	2,0	29,3	29,9
5	-	36,6	19,3
Egyéb	-	10,4	2,1
c_{klorokin}	2,0	76,4	50,4

A szakaszos és folyamatos módban végrehajtott biomimetikus reakciók összehasonlítása érdekében meghatároztuk az ún. volumetrikus produktivitás (STY, Space Time Yield, **2. egyenlet**) értékeket (**4. táblázat**).

4. táblázat. Különböző rendszerek termelékenységének összehasonlítása

Katalizátor	Reakció megvalósítás	STY (mg l ⁻¹ h ⁻¹)
HLM	Szakaszos, heterogén	0,32
RLM		0,31
MLM		0,64
Homogén FeTPPS		184
Si-1-FeTPPS	Szakaszos, heterogén	296
Si-2-FeTPPS		119
Si-3-FeTPPS		84
Si-1-FeTPPS	Folyamatos áramú, heterogén	2309
Si-2-FeTPPS		88213
Si-3-FeTPPS		58193

A volumetrikus produktivitás megadja az egységnyi reaktortérfogatban (V_r , l), egységnyi idő alatt (t, h) előállítható termék tömegét (m_t , mg).

$$\text{STY (mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)} = m_t V_r^{-1} t^{-1} \quad (2)$$

A **4. táblázat** eredményei alapján elmondható, hogy a homogén és heterogén szakaszos biomimetikus reakciók termelékenysége összemérhető, azonban legjobb a folyamatos áramú rendszer két nagyságrenddel nagyobb értékkel rendelkezik, mint a legjobb szakaszos rendszer. Az in vitro, heterogén fázisú, szakaszos, mikroszóma alapú rendszerek rendelkeztek a legrosszabb hatékonysággal, amely alátámasztja a bevezetőben megfogalmazott gazdaságossági megfontolást, miszerint a biomimetikus rendszerek alkalmasak nagyobb mennyiségű metabolit előállítására.

3. Összefoglalás

Doktori munkám során szintetikus metalloporfirin alapú, heterogén biomimetikus oxidáló rendszerek fejlesztésével foglalkoztam. A hordozós metalloporfirin katalizátorokat folyamatos áramú rendszerekbe integrálva gyógyszerhatóanyagok oxidatív metabolitjait állítottuk elő egy lépésben, közvetlenül az anyavegyületből kiindulva. Ezen rendszerek fejlesztése abból a szempontból fontos, hogy a hagyományos in vivo, illetve in vitro sejtes alapú rendszereket kiegészítve segítséget nyújthatnak gyógyszerfejlesztés során az új hatóanyagok tervezésében és optimalizálásában, illetve metabolitjainak előrejelzésében és előállításában.

Elsőként a szintetikus eredetű metalloporfirint kovalens és ionos kötással rögzítettük különböző módon felületmódosított, szilikáréteggel bevont mágneses nanorészecskék felületére. A felület fizikai-kémiai tulajdonságait különböző inert csoportokkal módosítottuk, melyek közül egy op-

timalizációs kísérletsorozatban a metilcsoport bizonyult a legjobbnak, így a további reakciókban a mágneses nanorészecske (MNP) alapú rendszerek esetében ezt alkalmaztuk. Az MNP alapú rendszer működését szakaszos reakcióban vizsgáltuk, valamint meghatároztuk az aktív amino-, valamint az inert metilcsoportok optimális arányát a hordozó felületén. Az optimálisnak talált MNP-FeTPPS katalizátort mikrochipreaktorba töltve/csapdázva amlodipin (**1**) folyamatos áramú mikrofluidikai biomimetikus oxidációját végeztük el, egy olyan stabil, kis szubsztrátigényű rendszert létrehozva, amely megfelelő analitikai módszerrel integrálva alkalmassá tehető akár új, gyógyszerjelölt vegyületek metabolitjainak előállítására és azonosítására.

Először rögzítettünk elektrosztatikus szálképzéssel készített politejsav alapú nanoszálak készítménybe szintetikus metalloporfirint. Megállapítottuk, hogy önmagában a nanoszálak politejsav nem alkalmas a metalloporfirin megfelelő visszatartására, ezért MNP-hez rögzítve elsőként állítottunk elő szintetikus metalloporfirint tartalmazó nanoszálak kompozit katalizátort, amely már megfelelően képes a katalizátor rögzítésére. Amlodipin (**1**) biomimetikus oxidációjában optimalizáltuk a nanoszálak kompozit készítmény MNP-FeTPPS tartalmát. A politejsav formulációját vizsgálva bebizonyítottuk, hogy az MNP tartalmú formulált PLA készítmények jelentősen javítják a metalloporfirin katalizátor katalitikus aktivitását, amit a nanoszálak formula tovább javított. A katalizátor aktivitása mellett, a nanoszálak formula az élettartamát is javította az MNP-hez rögzített metalloporfirin katalizátornak.

Aminocsoportokkal felületmódosított szilika felületére FeTPPS katalizátort rögzítettünk szakaszos és folyamatos áramú körülmények között. Amlodipin (**1**) és klorokin (**3**) heterogén szakaszos és folyamatos üzemi biomimetikus oxidációjában három különböző hosszúságú linker molekulát alkalmazva vizsgáltuk a szilárd hordozó és az FeTPPS porfirin katalizátor távolságának hatását a katalizátor aktivitására. Amlodipin (**1**) optimalizált folyamatos áramú biomimetikus oxidációjában vizsgáltuk a rögzített metalloporfirin katalizátor élettartamát. Elmondható, hogy élettartamukat tekintve a különböző hosszúságú linkerek között nem találtunk érdemi különbséget, valamint a rendszer kellően stabilnak bizonyult, mivel több mint 50 óra után sem csökkent lényegesen az oszlopon mérhető konverzió. A folyamatos áramú kísérleteket a korábban optimálisnak talált áramlási sebesség és oxidálószer mennyiség alkalmazásával végeztük. A linkerhosszúságra vonatkozóan a szakaszos rázatott reakcióban amlodipin (**1**) esetében a közepes, míg klorokin (**3**) esetében a legrövidebb linker bizonyult optimálisnak a biomimetikus transzformációban. A folyamatos áramú reakcióban amlodipin (**1**) esetében nem találtunk lényeges különbséget, míg a klorokin (**3**) esetében a közepes hosszúságú linker bizonyult optimálisnak a biomimetikus oxidációs átalakulásra vonatkozóan.

4. Kísérleti rész

4.1. Felhasznált anyagok és vegyszerek

A kísérleteinkben felhasznált *N*-(2-aminoetil)-3-aminopropil-trimetoxiszilánt (Si-2) a Merck Kft.-től (Budapest, Magyarország) szereztük be. Amlodipin (1), klorokin (3), terc-butil-hidroperoxid, tetraetoxiszilán (TEOS), 3-aminopropil-trimetoxiszilán (Si-1), *N*-[3-(trimetoxiszilil)propil]-dietilén-triamin (Si-3) és a metil-trimetoxiszilánt (MeTMOS) a Sigma-Aldrich Kft. (Budapest, Magyarország) terméke volt. 5,10,15,20-tetrakis-(4-szulfoniloxifenil)vas(II) porfirint (FeTPPS) és 5,10,15,20-tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)vas(II) porfirint (FeTPPF) a Frontier Scientifictől (Logan, UT, USA) szereztük be. Desztillált vizet Millipore (Bedford, MA, USA) Milli-Q víz tisztító rendszerrel állítottunk elő és ezt használtuk a vizes oldatokhoz. Humán, patkány és egér máj mikroszóma Xenotech Llc. (Kansas City, USA) terméke volt.

4.2. Hatóanyagok metalloporfirin katalizálta homogén szakaszos biomimetikus oxidációja

Egy Eppendorf mikrocentrifuga csőbe bemértük a megfelelő szubsztrát oldatát, majd oldószer kiegészítést adtunk hozzá, továbbá metalloporfirin oldatot és az oxidálószer oldatát (*t*BuOOH) pipettáztunk hozzá. Az elegyet ezt követően 1 órán át rázattuk, majd HPLC-DAD-MS módszerrel elemeztük.

4.3. Hatóanyagok rögzített metalloporfirin katalizálta heterogén szakaszos biomimetikus oxidációja

Eppendorf mikrocentrifuga csővekbe bemértünk rögzített metalloporfirint tartalmazó MNP-t, rögzített metalloporfirint tartalmazó szilikát vagy metalloporfirint tartalmazó nanoszálak készítményt, majd ehhez a megfelelő szubsztrátok oldatát adtuk. A heterogén rendszert rázattal vagy ultrahanggal diszpergáltuk. Az oldatot 1 ml-re kiegészítettük, majd a reakciót az oxidálószer (*t*BuOOH, 5 mólekvalens a szubsztrátok mennyiségére vonatkoztatva) hozzáadásával indítottuk. A reakcióelegyeket 1 órán át szobahőmérsékleten rázzuk. Mintavétel után HPLC-DAD-MS vagy UV-vis spektrofotométerrel vizsgáltuk a reakcióelegyeket.

4.4. Folyamatos áramú mikrofluidikai mikrochip-reaktorban megvalósított reakciók

A reaktor feltöltését és a mikrofluidikai biomimetikus oxidációt egyaránt a Magneflow rendszer alkalmazásával valósítottuk meg. A metalloporfirinnel borított mágneses nanorészecskék szuszpenzióját fecskendőpumpa segítségével áramoltattuk keresztül a mikrofluidikai chipen. A reakciókamrákban felhalmozódó hordozós katalizátorokat a kamrák alatt elhelyezkedő állandó mágnesek tartották helyhez kötve. A katalizátor ágyon keresztül fecskendőpumpa segítségével a megfelelő szubsztrát törzsoldatát áramoltattunk

keresztül, amely oxidálószer is tartalmazott (*t*BuOOH 70 %-os vizes oldata, 5 ekvivalens a szubsztrátokra vonatkoztatva). A reakciót különböző áramlási sebességek mellett hajtottuk végre. Az egyensúlyi koncentrációk beállta után mintát vettünk, amelyet feldolgozás nélkül, közvetlenül mértünk HPLC-DAD-MS technikával.

4.5. Szubsztrátok biomimetikus oxidációja folyamatos áramú körülmények között mezoreaktorban

Oxidálószer (*t*BuOOH, 2 mólekvalens) tartalmazó szubsztrát oldatot áramoltattuk át a megfelelő szilikáthoz (Si-1, Si-2 vagy Si-3) rögzített FeTPPS katalizátorral töltött reaktoron keresztül. Mintát 20 perc elteltével 5 percen keresztül vettünk, és HPLC-DAD-MS módszerrel vizsgáltuk.

Köszönetnyilvánítás

Először is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek **Dr. Balogh-Weiser Dianának**, hogy lehetőséget biztosított kutatómunkám elvégzésére, bizalmával megtisztelt és támogatott a kutatómunkám és a dolgozatom elkészítése során. Hálatelt szívvel mondom köszönetet konzulensemnek és korábbi témavezetőmnek **Dr. Balogh György Tibornak**, hogy lehetőséget biztosított a munkám során felmerült analitikai vizsgálatok elvégzésére és a sok beszélgetésért, amik nélkül nem tudtam volna a doktori munkám végére érni. Köszönetet mondom konzulensemnek **Dr. Poppe Lászlónak**, aki a Bioorganikus Kémiai Kutató csoportban lehetőséget biztosított a heterogén és folyamatos áramú kémiai kísérleteim elvégzésére. Köszönetet mondom **Dr. Kupai Józsefnek** és **Dr. Földi Tamásnak**, akik nélkül nem ismertem volna meg témavezetőimet, konzulenseimet és a kutatási témámat. Köszönetet szeretnék mondani hallgatóimnak, családomnak és az összes kollégának, aki doktori munkám során segítséget nyújtott. A doktori munkám a Servier-Beregi ösztöndíj támogatásával valósult meg.

Hivatkozások

1. Nebert, D. W.; Russell, D. W. Clinical Importance of the Cytochromes P450. *The Lancet* **2002**, 360 (9340), 1155., [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11203-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11203-7)
2. Asha, S.; Vidyavathi, M. Role of Human Liver Microsomes in In Vitro Metabolism of Drugs—A Review. *Appl. Biochem. and Biotechnol.* **2010**, 160 (6), 1699., <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8689-6>
3. Földi, T. *et al.* Biomimetic Synthesis of Drug Metabolites in Batch and Continuous-Flow Reactors. *Chem. Eur. J.* **2018**, 24 (37), 9385., <https://doi.org/10.1002/chem.201800892>
4. Decsi, B. *et al.* Liver-on-a-Chip—Magnetic Nanoparticle Bound Synthetic Metalloporphyrin-Catalyzed Biomimetic Oxidation of a Drug in a Magnechip Reactor. *Micromachines* **2019**, 10 (10), 668., <https://doi.org/10.3390/mi10100668>

5. Balogh-Weiser, D. *et al.* Magnetic Nanoparticles with Dual Surface Functions—Efficient Carriers for Metalloporphyrin-Catalyzed Drug Metabolite Synthesis in Batch and Continuous-Flow Reactors. *Nanomaterials* **2020**, *10* (12), 2329, <https://doi.org/10.3390/nano10122329>
6. Balogh-Weiser, D. *et al.* Novel Biomimetic Nanocomposite for Investigation of Drug Metabolism. *J. Mol. Liq.* **2022**, *368*, 120781., <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120781>
7. Balogh, Gy. T. *et al.* Effect of Binding Linkers on the Efficiency and Metabolite Profile of Biomimetic Reactions Catalyzed by Immobilized Metalloporphyrin. *Metabolites* **2022**, *12* (12), 1269., <https://doi.org/10.3390/metabo12121269>

Development of metalloporphyrin-based biomimetic oxidizing systems from carrier system to application

During my doctoral work, I focused on the development of synthetic metalloporphyrin-based heterogeneous biomimetic oxidation systems. By integrating carrier-supported metalloporphyrin catalysts into continuous-flow systems, we produced oxidative metabolites of pharmaceutical active ingredients in a single step, directly starting from the parent compound. The development of these systems is important as they can complement traditional *in vivo* and *in vitro* cell-based systems, aiding in optimizing new active ingredients and predicting or producing their metabolites during drug development.

Initially, synthetic metalloporphyrin was covalently and ionically attached to the surfaces of magnetic nanoparticles (MNPs) coated with a silica layer that had been modified in various ways. The surface's physicochemical properties were altered using different inert groups, among which the methyl group proved optimal in a reaction optimization process. Therefore, this was used in subsequent reactions involving MNP-based systems. The MNP-based system's operation was studied in batch reactions, and the optimal ratio of active amino groups to inert methyl groups on the carrier surface was determined. The optimized MNP-FeTPPS catalyst was packed/trapped in a microchip reactor to perform the continuous-flow microfluidic biomimetic oxidation of amlodipine (**1**). This resulted in a stable system with low substrate requirements that, coupled with suitable analytical methods, could be used for producing and identifying metabolites of new drug candidates.

For the first time, synthetic metalloporphyrin was incorporated into a polylactic acid-based nanofiber matrix prepared via electrospinning. It was found that polylactic acid nanofibers alone could not sufficiently retain the metalloporphyrin. Therefore, by attaching it to MNPs, we created the first synthetic metallopor-

phyrin-containing nanofiber composite catalyst, which was effective in securing the catalyst. In the biomimetic oxidation of amlodipine (**1**), the MNP-FeTPPS content of the nanofiber composite was optimized. Analyzing the polylactic acid formulation demonstrated that MNP-containing formulated PLA significantly enhanced the catalytic activity of the metalloporphyrin catalyst, further improved by the nanofiber formulation. Besides increasing catalytic activity, the nanofiber formulation also extended the lifespan of the MNP-bound metalloporphyrin catalyst.

FeTPPS catalysts were immobilized on the surface of silica gel modified with amino groups under batch and continuous-flow conditions. During the heterogeneous batch and continuous biomimetic oxidation of amlodipine (**1**) and chloroquine (**3**), the effect of the distance between the solid support and the FeTPPS porphyrin catalyst on activity was examined using three linker molecules of different lengths. In the optimized continuous-flow biomimetic oxidation of amlodipine (**1**), the lifetime of the immobilized metalloporphyrin catalyst was evaluated. It was observed that there were no significant differences in lifespan among the linkers of different lengths, and the system demonstrated adequate stability, with no substantial decrease in column conversion even after more than 50 hours. Continuous-flow experiments were performed using the previously optimized flow rate and oxidant quantity. Regarding linker length, in batch-shaken reactions, the medium-length linker was optimal for amlodipine (**1**), while the shortest linker was optimal for chloroquine (**3**) in biomimetic transformations. In continuous-flow reactions, no significant difference was observed for amlodipine (**1**), whereas the medium-length linker was optimal for the biomimetic oxidation of chloroquine (**3**).

Alkalmazott mikrobiológiai kutatások a Fermentációs Félüzemben

ESZTERBAUER Edina,^a TÓTH Pál^a, SAKIYO Jesse^a, KISS Bernadett^a és NÉMETH Áron^{a,*}

^aBME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Szt. Gellért tér 4.
1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A BME VBK Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Fermentációs Félüzemében a korábbi gyakorlatnak megfelelően szerteágazó kutatásokat végzünk, melyek közös pontja az alkalmazott mikrobiológia, tehát a fermentációs eljárásokon alapuló folyamatok vizsgálata és fejlesztése. Ebben a kéziratban 5 különböző területen végzett kutatásainkról adunk átfogó képet.

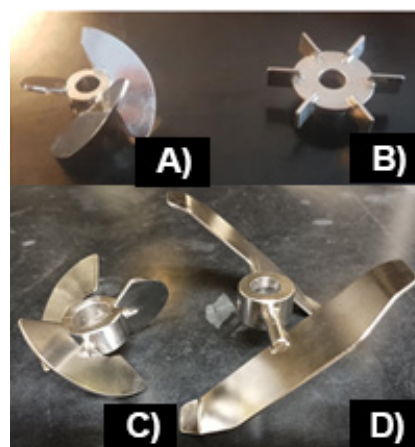
2. Ehető és gyógygombák (bio)technológiája

Első hallásra bizarr lehet a kalapos gombák szubmerz (szuszpenziós) fermentációja, hiszen a természetben a kalapos gombák egészen eltérő körülmények között növekednek a fermentorokhoz képest, s ezek a körülmények jobban hasonlítanak a szilárd fázisú fermentációkhoz, mint a szubmerzhez. Utóbbi előnyeiben azonban megteremtik az igényt arra, hogy a nehezebben kontrolálható, sok kézi munkaerőt igénylő, olykor inhomogén szilárdfázisú fermentáció helyett kevert/levegőztetett reaktorban mért és/vagy szabályozott pH, hőmérséklet és oldott oxigén koncentráció mellett végezzük a Basidiomyceták tenyésztését. Ennek 2 példáját az alábbi fejezetekben mutatjuk be.

2.1. *Agaricus bisporus* szubmerz fermentációja

A csiperke gomba a legnagyobb tömegben termesztett csemege gomba [1], amely sajnos viszonylag hosszú termesztési időigénnyel rendelkezik: a komposzt és gombacsíra készítés, az ágyazás (inokulálás), az átszövetés, a takarás és végül az aratás összesen akár 110 napig is eltarthat. Felmerült, hogy gyorsítható e a termesztés, ha szubmerz módon előállított gombapeleltekkkel indul az átszövetés, amihez a mi feladatunk ezen pelleték előállítása volt. Korábbi szakdolgozatok és diplomaunkák során kidolgozásra került a Petri-csészére történő gomba izolálás, gomba fenntartás és fermentációs oltóanyag (inokulum) készítés, amely pelletes morfológiájú gombanövekedést tett lehetővé. A használt kukoricalekvár és szójaliszt alapú tápközeg jól ülepedett, és gyakran a gomba kitapadásához vezetett, így számos bioreaktor kialakítás után (mágnes keverős CSTR, labor air-lift, pilot air lift stb.) a klasszikus keverős reaktor

tűnt a legjobbnak. Ugyanakkor, a komplex tápközeg okozta könnyű befertőződést, és a Rushton-turbina keverő okozta nyíró stresszt is orvosolni kellett. Előbbi érdekében számos antibiotikumra teszteltük, melyek képesek a Garm – és + fertőzéseket úgy távoltartani, hogy közben a gomba fejlődését nem akadályozzák. A nyíró stressz kiküszöbölésére különböző típusú keverőket és kombinációjukat alkalmaztuk 20L léptékig. Bár az elefántfül keverő és analógja a szegmens keverő kedvező a nyírás szempontjából, kedvezőtlennek bizonyultak a falnövekedés (kitapadás) szempontjából. A 3-lapátos szegmens és Rushton turbina kombinációja mellett legsikeresebben egy speciális 2 lapátos lapátkeverőt tudtuk alkalmazni, amelynél a lapátok nem közvetlenül a tengelyre, hanem távtartókra vannak hegesztve, a tengelyhez képest 45°, egymáshoz viszonyítva 90°ban vannak megdöntve, ezzel lehetővé téve az enyhe radiális és axiális keverést is, minimalizálva a nyíróerőt, de megakadályozva az ülepedést. Indikátornak a kapott pelleték barnulását használhattuk, mivel a stresszhatására a gomba melanint termel. A speciális lapátkeverő esetén nem tapasztaltunk színváltozást, és a kapott gomba pellettel termőtest képzési kísérletet végezve 28 nap után megjelentek az első kalapos gomba kezdemények, tehát úgy tűnik, jelentősen sikerült a termesztési időt csökkenteni.

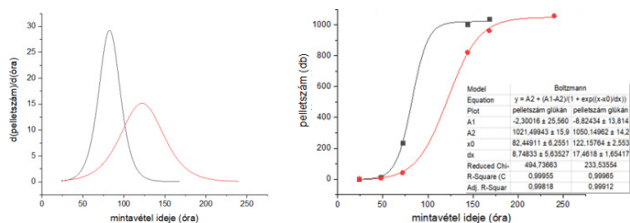


1. ábra. Vizsgált bioreaktor-keverőtípusok *Basidiomyceták* fermentációjában: A) elefánt-fül, B) Rushton turbina, C) 3-lapátos szegmens, D) 2-lapátos lapát keverő

* Németh Áron. Tel.: +36 1 463 2693; e-mail: naron@f-labor.mkt.bme.hu

2.2. *Trametes versicolor* szubmerz fermentációja

A Lepketapló gomba a fák szárán növekvő, szaprofita életmódot folytató gombák közé tartozik, bár vannak szivacsos szerkezetű taplófélek, a megszáradt Lepketapló igen kemény. Mivel Ázsiában évezredek óta gyógyhatásairól (pl.: roboráló étrendkiegészítő, immunmoduláló, utóbbi időben tumor terápiák étrendkiegészítője) ismert gombaként tartják számon, és a gyógyhatásért részben az apoláros spiroxanok, szeszkviterpének és flavonoidok a felelősek, de a főhatást a poláros bétaglükánoknak tulajdonítják, feladatunk volt annak vizsgálata, hogy utóbbiakat a szárított gombából, vagy a szubmerz fermentációból érdemes inkább kinyerni összehasonlítva a kereskedelmi gombaporral. Az első kísérletek azt mutatták, hogy a szárított gomba termőtestből közel kétszeres mennyiségű vízben oldható, de alkohollal kicsapódó poliszaharidot tudunk kinyerni. Szintén megállapítást nyert, hogy a fermentációk pelletes morfológiával zajlanak, ennek megfelelően a behúzott falú Erlenmeyer lombikok a preferáltak. A fermentációkat követően a termelt intra-, és extracelluláris β -glükánokat a Megazyme enzim esztő- β -glükán tartalom mérő kit-jével meghatároztuk, és minden esetben a fermentálba szekretált extracelluláris termék mennyiség dominált. Az össz β -glükán tekintetében a pH=4-es körülmény és a 3-lapátos szegmens keverő kedvezett 10L pilot térfogatban (20%). Szubsztrát gátlást nem, de termék inhibíciót találtunk: kezdeti β -glükán hozzáadásával jelentősen csökkent a növekedési sebesség, és megnőtt a fermentációs idő (2. ábra).



2. ábra: *T.versicolor* növekedési és sebesség függvényei az időben (fekete-kontroll, piros-350mg/L kezdeti β -glükánnal)

A termék β -glükán és a pelletek olyan gél-t képeztek, amely a reológiai és anyagátadási viszonyokat is korlátozta, mivel a tenyésztések során a látszólagos viszkozitás értéke közel hatszorosára emelkedett.

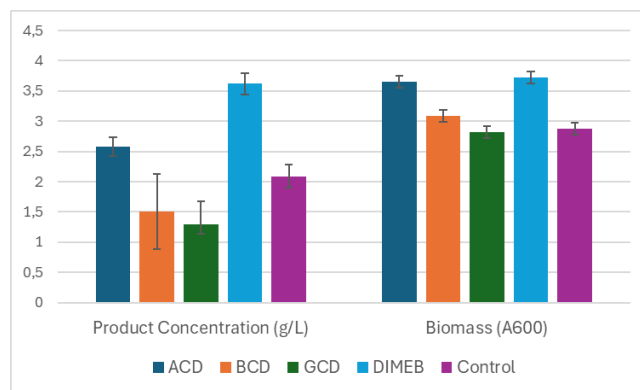
Összefoglalva elmondható, hogy mindkét bemutatott *Basidiomyceta* szuszpenziós fermentációja eredményes volt, a Csiperke esetében sikerül rövidíteni a gombatermesztés idejét a számos technikai nehézség leküzdése után, míg a Lepketapló esetében további optimalással a szubmerz fermentációs eljárás versenyképessé tehető a szárított termőtest extrakciójával.

3. Ciklodextrinek hatása a biodetergens fermentációra

Kutatócsoportunkban korábbi sikeres doktori kutatás [3] során kezdtünk el foglalkozni a *Bacillus*-ok biodetergens termelő képességének vizsgálatával és fejlesztésével. Ebben

az összefoglalóban egy újabb doktori kutatás részeredményeit szeretnénk bemutatni *B. subtilis* baktériummal termelt surfactin biodetergens témájában.

Bár a biodetergensnek előszeretettel kerülnek alkalmazásra különböző területeken a biodegradálhatóságuk és jó emulzifikáló képességük miatt, a mikrobiális fermentációs előállításuk költséges, és alacsony hozamú. Hipotézisünk emiatt arra irányult, hogy ha a termék molekulát ciklodextrinekkel** (CD) csapdáztathatnánk, akkor talán azok kedvezőtlen hatása csökkenne a termelő törzsre, és így az többet is tudna termelni. A 3. ábrán látható annak a rázatott lombikos kísérletnek az eredménye, amelyben ciklodextrin nélküli tenyészet növekedését és termékképződését (savas kicsapással kinyert, közömbösített, liofilezett porformájú termék mennyiségét) hasonlítjuk 4 különböző ciklodextrinnel külön-külön kiegészített tenyészetek átlagos (3-3 ismétléssel) sejtnövekedéséhez és termékképzéséhez.



3. ábra: *B. subtilis* növekedése és biodetergens képzése ciklodextrinek jelenlétében (ACD – α -ciklodextrin, BCD – β -ciklodextrin, GCD – γ -ciklodextrin, DIMEB – DiMetil-Beta-ciklodextrin)

Megállapítható, hogy a növekvő CD molekula belső átmérővel egyre kevesebb sejtet kaptunk és egyre kevesebb terméket, azaz csak a kis pórusméretű α -CD tudta a surfactin biodetergens molekulát hatékonyan csapdázni, a nagyobb β -CD és γ -CD nem. Érdekes, hogy a leghatékonyabbnak a DIMEB bizonyult feltehetően azért, mert a glükóz egységek metilcsoportjai is a belső apoláris zseb felé fordultak, csökkentve ezzel annak belső átmérőjét oly mértékben, hogy még az α -CD-nél is több termék képzése vált lehetővé, illetve a kontrollhoz képest is 40%-kal több termék képződött.

4. *Yarrowia divulgata* alapú biofinomító

4.1. Bevezetés

A *Yarrowia lipolytica* használata széles körben elterjedt a biotechnológiában, kihasználva széles bontási képessé-

** A ciklodextrinek olyan glükózból felépülő természetes oligoszaharidok, amelyek külseje a gyűrűzáródás után a hidroxilcsoportok következtében poláris, belső része pedig apoláris jellegű, így az apoláris vagy hidrofób és remélhetőleg az amfipatikus molekulákat is képes magabazárni.

gét és termékspektrumát. Az első felhasználás az 1960-as évekre vezethető vissza, amikor egysejt fehérje (SCP) előállítására használták n-alkánokat alkalmazva szubsztrátként [8]. Több irodalom is azt mutatja, hogy a *Yarrowia lipolytica* képes eritrit és mannit előállítására fermentációs úton [9-11]. A *Y. lipolytica* növekedését és az általa kiválasztott különböző metabolitok mennyiségét és minőségét különböző környezeti tényezők befolyásolják. A környezeti feltételek, nevezetesen a fizikai-kémiai viszonyok (pH, hőmérséklet, oldott oxigénkoncentráció és ozmotikus stressz), mechanikai viszonyok (keverési sebesség és nyomás), valamint a tápanyagok (szén- és nitrogénforrások és fémionok) hatással vannak a morfológiára és a termékképződésre (enzimek, citromsav és lipid) [12]. A *Y. lipolytica* szigorúan aerob mikroorganizmus. Az egyik legfontosabb az oxigén mennyisége, amely fontos szerepet játszik a mikroorganizmus növekedésében, ezért a levegőztetés elengedhetetlen a nagy növekedési sebességhez [13]. Az alábbiakban a *Y. lipolytica* termékei közül azt a 3-at mutatjuk be, amelyek előállítására fókuszáltunk. 1.) Néhány törzsfeljesztési tanulmányban elkezdtek vizsgálni a törzs azon képességét, hogy glicerint szénforrás felhasználásával eritritet állítson elő [14-15]. Az eritrit ($C_4H_{10}O_4$) egy természetben előforduló 4 szénatomos cukoralkohol, más néven poliol, amelyet széles körben használnak az élelmiszeriparban, főleg édesítőszerként [16]. Az eritrit 60-70%-ban olyan édes, mint az asztali szacharóz, mégis nagyon alacsony a kalóriaértéke (0,2 kcal/g), nincs hatással az emberi vércukorszintre és nem okoz fogszuvasodást [17]. Az ipari felhasználásra szánt eritritet mikrobiális módszerekkel állítják elő, elsősorban ozmofil élesztők (*Moniliella pollinis*, *Trichosporonoides megachiliensis* és *Y. lipolytica*) és néhány baktérium (*Oenococcus oeni*, *Leuconostoc mesenteroides* és *Lactobacillus sanfranciscensis*) felhasználásával [18]. 2) A bioemulgeálószer olyan biológiai molekulák, amelyek felületaktív tulajdonságai hasonlóak a jól ismert szintetikus felületaktív anyagokhoz, de ezek mikrobiális eredetűek [19]. 3) A *Yarrowia lipolytica* fermentációs lizátum, amely a fermentáció során termeltetett sejtek lízise után kapott termék, a kozmetikai összetevők adatbázisában (CosIng) bőrkondicionáló szerként szerepel. Kutatásainkhoz a *Y. lipolytica* közeli rokonát, a *Y. divulgata*-t kívántuk felhasználni, amely az eritrit termelés szempontjából előkísérletekben a természetes (non GMO) *Y. lipolytica*-hoz hasonlóan jól teljesített.

4.2. Anyagok és módszerek

A kutatómunkához a következő törzseket használtuk: *Yarrowia divulgata* NCAIM 1485.

Eritrit fermentáció:

Inokulum [20]: Glicerint 50 g/l, Élesztőkivonat 3 g/l, Maláta kivonat 3 g/l, Pepton 5 g/l. Az inokulumot 25°C, 200 rpm fordulatszámon 3 napig növesztettük, 250 ml-es lombikban 25 ml-t készítettünk, később 500 ml-es lombikban 50 ml-t rázatva.

Behúzott lombik tápközege [21]: Glicerint 150 g/l; NH_4Cl 4,56 g/l; $MgSO_4 \times 7 H_2O$ 1 g/l; Élesztőkivonat 1 g/l; $CuSO_4$ $0,7 \times 10^{-3}$ g/l; $MnSO_4 \times H_2O$ $32,6 \times 10^{-3}$ g/l; KH_2PO_4 97,8 g/l. 25°C, 200 rpm fordulatszámon inkubáltuk. Alkalmaztunk 500 ml-es és 750 ml-es lombikokat, melyekben 50 ml valamint 75 ml fermentlé volt, 10% inokulálás mellett.

Analitikai mérések

Eritrit fermentáció során 1 ml mintát vettünk a lombikokból, melyből mértük az optikai denzitást (600nm), ozmolaritást, valamint HPLC-re készítettük elő a mintákat. Az ozmolaritás méréshez 60 μ l felülúszót használtunk (Gonotec Osmomat 3000) kriosztopikus ozmométerrel.

Hidratációs mérések

A bőrhidratációs méréseket Multi Dermascope MDS 800 corneometer szenzorával végeztük, mely kapacitancia elvén képes a bőr víztartalmát meghatározni [22]. A sejt-kivonat készítéshez a sejteket fagyasztás-felolvasztással tártuk fel.

Emulzifikációs index mérés

Az eritrit fermentáció során a sejtmentes felülúszót használtuk emulzifikációs index méréshez, ahol 2 ml felülúszóhoz 2 ml napraforgóolajat pipettáztunk, majd 2 percig vortexeltük. A számításhoz a következő egyenletet használtuk:

$$EI_t = (H_e/H_t) \times 100$$

ahol H_e az emulzió magassága, H_t a csőben lévő folyadék teljes magassága. A csöveket 25 °C-on inkubáltuk 1 napig. Az emulzifikációs indexet ($EI\%$) 1 óra elteltével, és 24 óra elteltével ($EI_{24\%}$) határoztuk meg [23].

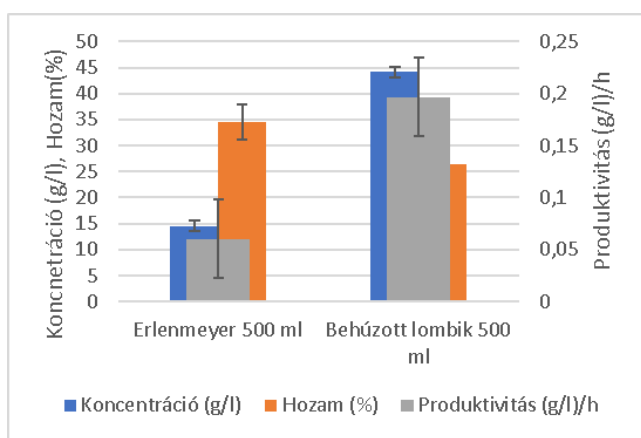
4.3. Eredmények és értékelésük

A *Y. divulgata* az optimalizálás után elérheti a mostanában használt törzsek eredményét eritrit tekintetében. Az eritrit önmagában történő felhasználása mellett nagyobb érdeklődésre és megvalósíthatóságra tarthat számot a fermentlé komplex hasznosítása úgymint bioemulgeáló ágens és az elválasztott sejtek alkalmazása kozmetikumokhoz.

Behúzott lombik

A normál lombikban végzett fermentáció során 14,5 g/l eritrit keletkezett, ami 10 nap alatt 34,5%-os hozamot eredményezett, mivel 105,7g/L glicerint megmaradt. Tehát a glicerint a törzs nem hasznosította jól ezen fermentáció során a 10 nap alatt sem. A nagyobb eritrit hozam elérése érdekében a fokozott levegőztetés hatását vizsgáltuk az eritrit termelésre behúzott lombikokban. A behúzott lombikba elért hozam statisztikailag nem különbözött szignifikánsan az Erlenmeyer lombikos eredménytől, azonban a

végso eritrit koncentráció jelentősen magasabb volt, ami a behúzott lombik magasabb levegőztetésével magyarázható. A behúzott lombikban elért eredmények: Az 500 ml-es behúzott lombikban a 3 ismétlés során átlagosan $44,14 \pm 1$ g/l eritrit, a 750 ml-es behúzott lombikban $42,42 \pm 5,08$ g/l eritrit keletkezett. A fermentációk átlagos hozama a három ismétlésben $26,43\% \pm 3,37$ volt az 500 ml-es lombikok esetében és $27,74\% \pm 7,71$ a 750 ml-es lombikok esetében. A páros t-próba p-értéke 0,842132 volt, tehát nem volt szignifikáns különbség a különböző lombikméretekben végzett fermentációk hozamában. A termelékenység átlagosan $0,19 \pm 0,03$ (g/L)/óra volt az 500 ml-es lombikokban végzett fermentációk esetében, és $0,19 \pm 0,02$ (g/L)/óra a 750 ml-es lombikokban végzett fermentációk esetében [21]. Az eredmények a 4. ábrán vannak összefoglalva.



4.ábra. Yarrowia fermentációk eredményei

Hidratáltság mérés eredményei

A vizsgált lizátumok minden esetben növelték a bőr hidratáltságát, az 500 ml-es behúzott lombik esetében $9,11 \pm 5,47\%$ -kal, a 750 ml-es lombik esetében pedig $11,86 \pm 6,25\%$ -kal. A két féle behúzott lombik között nem volt szignifikáns különbség ($p=0,613744$).

Emulzifikációs index mérés

Számos tanulmány kimutatta a *Yarrowia lipolytica* által termelt emulzifikáló képességét, ezért minden *Y. divulgata* fermentáció végén megmértük a felülszó emulziós indexét. Az emulzifikációs index határozza meg egy molekula szénhidrogének emulgeálására való képességét, és ahhoz, hogy hatékony emulgeálónak tekinthessük, a molekulának 24 órás nyugalmi állapot után is meg kell tartania legalább 50%-os emulzifikációs indexet. [24]. Az emulgeálási index mérését a behúzott lombikok esetében elvégeztük, és eredményül az EI24 $53,63 \pm 1,85\%$ az 500 ml-es lombikok esetében és $55,58 \pm 6,76\%$ a 750 ml-es lombikok esetében. Mivel 24 óra elteltével mindegyik 50% felett maradt, mindegyik stabil emulziót eredményezett.

4.4. Összegzés

Összeségében a *Yarrowia divulgata* 1485-ös törzs esetében a levegőztetés pozitív hatással volt az eritrit termelésre. Erlenmeyer lombikban végzett fermentációhoz képest 33%-kal magasabb eritrit koncentrációt sikerült elérni. A hidratáltság mérés során mindegyik esetben növelte a bőr hidratáltságát a készítmény. Az emulzifikációs index mérés során 24 óra elteltével is 50% felett maradt az emulzió aránya, így megállapítható, hogy hatékony bioemulgeálószer termelt a fermentáció során. Mindezen kísérletek lehetővé teszik, hogy *Y. divulgata* élesztő alkalmazásával egy fermentáció eredményét (fermentlevét) minél teljesebben feldolgozzuk (biofinomító elv), és belőle a legtöbb nagy hozzáadott értékű terméket előállítva javítsuk a gazdaságosságot.

5. Alginit ásvány hatása probiotikumok előállítására

Doktori munka keretében vizsgáljuk az alginit hatását probiotikus fermentációkra és azok lehetséges kozmetikai alkalmazásaira, ígéretes eredményeket és új kutatási irányokat feltárva. Az alginit-kiegészítés következtében jelentős pozitív hatást mutatott a probiotikus baktériumok növekedésére és biomassza-termelésére különböző törzsek esetében [25]. Többféle mérési technika, beleértve a sejt szárazanyag-tartalmát (CDW), a telepkepző egységeket (CFU) és az online kapacitáson alapuló élő sejt szenzorokat, megerősítette, hogy az alginittel kiegészített tenyészetek 1,5-2-szer nagyobb sejtszámot érnek el az alginitmentes tenyészetekhez képest. Fentieken túl a fajlagos növekedési sebesség és a szárazanyag-tartalom is jelentősen növekedett a fermentáció során, egy tanulmány szerint a fajlagos növekedési sebesség háromszorosára nőtt 0,60-ról 1,91 l/h-ra, míg a szárazanyag-tartalom megduplázódott 1,6-ról 3,3 g/l-re alginit jelenlétében.

Ezek az eredmények fontos következményekkel járnak a probiotikus biomassza hatékony termelésére nézve, potenciálisan költséghatékonyabb gyártási folyamatokhoz vezetve. A fokozott növekedés és a kozmetikai hatékonyság közötti összefüggés azonban összetett képet mutat, amely további vizsgálatokat igényel. Míg a *Limosilactobacillus reuteri* és *Bifidobacterium adolescentis* alginittel dúsított fermentumai ígéretesek barnítókrémekben való felhasználásra a később elvégzendő bőrtotoxicitási tesztek függvényében, addig a *Lactobacillus paracasei* fermentumokkal végzett tanulmányunk kimagasló eredményeket mutatott a bőr nedvesítő tesztekben. A várakozásokkal ellentétben az alginitmentes fermentumok felülmúlták az alginit-tartalmúakat, 13,9%, illetve 8,1%-os hidratálási szintekkel [26].

E különbség ellenére az alginittel dúsított probiotikus fermentumok kozmetikai alkalmazásokban rejlő potenciálja továbbra is jelentős. Ezek az összetevők fenntarthatóak, környezetbarátok és rendkívül hatékonyak, összhangban a fogyasztók növekvő igényével a természetes és környezet-

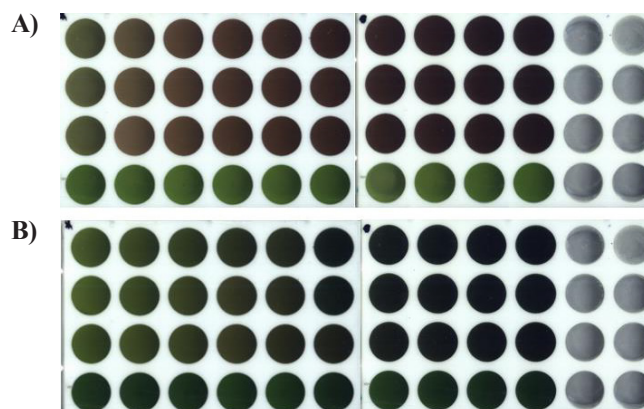
tudatos bőrápolási termékek iránt. A probiotikumok és az alginát kombinációja újszerű megközelítést kínál olyan kozmetikai összetevők létrehozására, amelyek a hidratáláson túl többféle előnyt nyújthatnak.

A jövőbeli kutatási irányok közé tartozik az alginát-tartalmú fermentált táplevek hatásainak vizsgálata egyéb esztétikai szempontokra, mint például az antioxidáns tulajdonságok, a bőrfehérités és a hialuronidáz-gátlás. Az algináttal dúsított probiotikus fermentumokat tartalmazó kozmetikai termékek ideális összetételének és adagolási utasításainak kidolgozása kulcsfontosságú lesz ezen innovatív összetevők teljes potenciáljának kiaknázásához.

6. Mikroalgák alkalmazásának vizsgálata hulladékvizeken

Korábbi kísérleteink során foglalkoztunk mikroalgák tenyésztési körülményeinek, mint például a megvilágítás színének vagy intenzitásának optimalizálásával, tápközegek összehasonlításával, valamint kitapadási vizsgálatokkal is. A vizsgálatokba bevont fajok között főként édesvízi egysejtű *Chlorella vulgaris*-okkal dolgoztunk, de folytattunk vizsgálatokat sós vízi, fonalas- és kovaalgákkal egyaránt. Az autotróf módon lassan növekvő algák nagy áteresztőképességű (high-throughput) vizsgálatához egy 24 cellás mikrotiter lemez megvilágító egységet fejlesztettünk [27]. Az utóbbi időkben az algákkal kapcsolatban az ipari hulladékok felhasználása és a cirkuláris gazdaságba való integrálásuk került előtérbe. Elsősorban hulladékvizek, hulladékő és a keletkező szén-dioxid felhasználás az, amiben az algák hasznosan tudják csökkenteni a kibocsátást, miközben értékes új termékeket tudnak előállítani. Biogáz üzemek esetében mindegyik felsorolt melléktermék megjelenik, így az utóbbi évek kutatásaiban nagy szerepet játszik a biogáz üzem hulladékvizének algákkal történő újrahasznosítása.

Kísérleteinket 1,5 mL térfogatú microplate lemezen, lombikban és kevertetett bioreaktorban végeztük el. Az 5. ábrán a microplate kísérlet szkennelt kezdeti és végső képét mutatjuk be, ahol a felső 4 cellasor a kezdeti, az alsó 4 a végső képet mutatják. Jól látható, hogy minden 4. sor a párhuzamos kontroll minták egységes celláit tartalmazta, felettük balról jobbra a növekvő arányban (5-50 %) bekevert csurgalékvizen növesztett alga növekményét mutatja. A világos zöld az induláskori kisebb algakonzentrációt, a sötét zöld a leálláskori töményebb algaszuszpenziót mutatja. Az is látható, ahogy a növekvő hulladékvíz egyre barnábbra színezte a tenyészeteket.



5. ábra. Alganövekedés biogáz hulladékvizen, A) induláskor, B) leálláskor

Vizsgálatainkban kitértünk a különböző fajok screening vizsgálatára, majd a kiválasztott izolátummal további kísérleteket végeztünk annak érdekében, hogy kiderítsük, mekkora koncentráció az, amit az algák el tudnak viselni és képesek minimális hígítással szaporodni a hulladékvizen. A kapott vízminták lebegő anyag tartalmát jellemzően le kellett csökkenteni, hogy a növekedés detektálása és a monitorozás kivitelezhető legyen. Azt tapasztaltuk, hogy a tenyészetek akár 50% hulladékvíz koncentráció mellett is képesek voltak szaporodni. A kísérletek során megfigyeltük a koncentrációval összefüggő sejtméret változásokat is, miszerint nagyobb hulladékvíz koncentrációnál a sejtek kisebb méretűek voltak, mint alacsony koncentráció esetében azonos megvilágítás mellett. A hulladékvizen előállított algák a N,P eltávolítás mellett a karbonfixációval (CO₂ megkötés) olyan értékes biomasszát állítottak elő, amelyből energia és/vagy polimerek állíthatók elő.

7. Összefoglalás, konklúzió

A bemutatott 5 terület talán rávilágított arra, hogy a baktériumok, élesztők, gombák és algák által termelt termékek előállításához úgy a mérnöki, mint a biológiai ismeretkerek szükség van, és a technológizálásnak a pilot léptékű kísérletezés is része kell legyen, amelyekhez kutató csoportunk humán erőforrással és eszközeivel tud hozzájárulni saját és kollaborációs kutatási munkák során.

Hivatkozások

- Europe Mushroom Market Report by Market Research Future [https://doi.org/10.3390/biomedicines8050135](https://www.marketresearchfuture.com/reports/eu-mushroom-market-21790?utm_term=&utm_campaign=&utm_source=adwords&utm_medium=ppc&hsa_acc=2893753364&hsa_cam=20543884685&hsa_grp=153457592316&hsa_ad=673752668768&hsa_src=g&hsa_tgt=dsa-2312580079568&hsa_kw=&hsa_mt=&hsa_net=adwords&hsa_ver=3&gad_source=1, letöltés: 2025.03.24.
Habtemariam S. <i>Trametes versicolor</i> (Synn. <i>Coriolus versicolor</i>) Polysaccharides in Cancer Therapy: Targets and Efficacy. <i>Biomedicines</i>. 2020 May 25;8(5):135. <a href=)
- Nagy-Czinkóczy Réka: Fermentation and application of biosurfactants and cyclodextrin glycosyltransferase enzyme by *Bacillus* species (2022), PhD dissertation, <https://repozitorium.omikk.bme.hu/items/2c34b5bc-2a1a-447a-8a42-1e2a0c9005c9>
- Goering, B. K. Ph.D. Dissertation, Cornell University, 1995.
- Haslam, E. Shikimic Acid Metabolism and Metabolites, John Wiley & Sons: New York, 1993.
- Buchanan, J. G.; Sable, H. Z. In *Selective Organic Transformations*; Thyagarajan, B. S., Ed.; Wiley-Interscience: New York, 1972; Vol. 2, pp 1–95.
- Lyle, F. R. U.S. Patent 5 973 257, 1985; *Chem. Abstr.* 1985, 65, 2870.
- Gonçalves, F. A. G., Colen, G., & Takahashi, J. A. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. *The Scientific World Journal*, 2014. pp. 1-14. <https://doi.org/10.1155/2014/476207>
- Tomaszewska, Ludwika, Rakicka, M., Rymowicz, W., & Rywińska, A. A comparative study on glycerol metabolism to erythritol and citric acid in *Yarrowia lipolytica* yeast cells. *FEMS yeast research*, 2014, 14 (6), pp. 966-976. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12184>
- Yang, Li-Bo, Dai, X. M., Zheng, Z. Y., Zhu, L., Zhan, X. B., & Lin, C. C. Proteomic analysis of erythritol-producing *Yarrowia lipolytica* from glycerol in response to osmotic pressure. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015. <https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12026>
- Rymowicz, Waldemar; Rywinska, Anita; Marcinkiewicz, Marta. High-yield production of erythritol from raw glycerol in fed-batch cultures of *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnology Letters*, 2009, 31, pp. 377-380. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9884-1>
- Nascimento, Felipe Valle do, et al. A Temporal Evolution Perspective of Lipase Production by *Yarrowia lipolytica* in Solid-State Fermentation. *Processes*, 2022, 10.2: 381. <https://doi.org/10.3390/pr10020381>
- Coelho, M.A.Z.; Amaral, P.F.F.; Belo, Isabel. *Yarrowia lipolytica*: an industrial workhorse. *Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, Formatex Research Center, Badajoz, 2010. 2. pp. 930-944.
- Rakicka, Magdalena, Kieroń, A., Hapeta, P., Neuveglise, C., & Lazar, Z. Sweet and sour potential of yeast from the *Yarrowia* clade. *Biomass and Bioenergy*, 2016, 92, pp. 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.004>
- Rakicka-Pustulka, Magdalena, Joanna Miedzianka, Dominika Jama, Sylwia Kawalec, Kamila Liman, Tomasz Janek, Grzegorz Skaradziński, Waldemar Rymowicz & Zbigniew Lazar, High value-added products derived from crude glycerol via microbial fermentation using *Yarrowia* clade yeast. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20, pp. 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01686-0>
- Abbasi, Abdul Rahman, Jinle Liu, Zhi Wang, Anqi Zhao, Hanjie Ying, Lingbo Qu, Md. Asrafur Alam, Wenlong Xiong, Jingliang Xu, Yongkun Lv et al. Recent advances in producing sugar alcohols and functional sugars by engineering *Yarrowia lipolytica*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 648382. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.648382>
- Godswill, Awuchi Chinaza. Sugar alcohols: chemistry, production, health concerns and nutritional importance of mannitol, sorbitol, xylitol, and erythritol. *International Journal of Advanced Academic Research*, 2017, 3 (2), pp. 31-66. ISSN: 2488-9849
- Rakicka-Pustulka, Magdalena, M., Mirończuk, A. M., Celińska, E., Białas, W., & Rymowicz, W., Scale-up of the erythritol production technology—process simulation and techno-economic analysis. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 257: 120533. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120533>
- Trindade, Joana R., Freire, M. G., Amaral, P. F., Coelho, M. A. Z., Coutinho, J. A., & Marrucho, I. M., Aging mechanisms of oil-in-water emulsions based on a bioemulsifier produced by *Yarrowia lipolytica*. *Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects*, 2008, 324.1-3, pp. 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.04.009>
- Rakicka, Magdalena, Rukowicz, B., Rywińska, A., Lazar, Z., & Rymowicz, W., Technology of efficient continuous erythritol production from glycerol. *Journal of Cleaner Production*, 2016, 139, pp. 905-913. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.08.126>
- Eszterbauer, E., & Németh, Á. (2023). Investigations for a *Yarrowia*-Based Biorefinery: In Vitro Proof-of-Concept for Manufacturing Sweetener, Cosmetic Ingredient, and Bioemulsifier. *Fermentation*, 9(9), 793. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090793>
- Tóth, Pál; Németh, Áron. Investigation and Characterisation of New Eco-Friendly Cosmetic Ingredients Based on Probiotic Bacteria Ferment Filtrates in Combination with Alginite Mineral. *Processes*, 2022, 10.12: 2672. <https://doi.org/10.3390/pr10122672>
- Czinkóczy, Réka; Németh, Áron. The effect of pH on biosurfactant production by *Bacillus subtilis* DSM10. *Hungarian Journal of Industry and Chemistry*, 2020, pp. 37-43. <https://doi.org/10.33927/hjic-2020-25>
- Da Silva, Joselma Ferreira, da Silva, L. A. R., Barbosa, M. R., Houllou, L. M., & Malafaia, C. B., Bioemulsifier produced by *Yarrowia lipolytica* using residual glycerol as a carbon source. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 2020, 5.1, pp. 031-037. <https://doi.org/10.24221/jeap.5.1.2020.2700.031-037>
- Tóth, P.; Németh, Á. Exploring the Impact of Alginite Mineral on Lactic Acid Bacteria. *Preprints* 2025, 2025021082. (Under revision in *Fermentation*) <https://doi.org/10.20944/preprints202502.1082.v1>
- Tóth, P.; Németh, Á. Investigation and Characterisation of New Eco-Friendly Cosmetic Ingredients Based on Probiotic Bacteria Ferment Filtrates in Combination with Alginite Mineral. *Processes* 2022, 10, 2672. <https://doi.org/10.3390/pr10122672>
- Bernadett, Kiss; Áron, Németh (2019) High-throughput microalgae cultivations with adjustable LED-modul applying different colours for *Nannochloropsis* and *Chlorella* microcultures. *Acta Alimentaria* 2019 (1):115–124. <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.1.13,>

Applied Microbiological Research in the Fermentation Pilot Plant

In the Fermentation Plant of the Department of Applied Biotechnology and Food Science of the BME VBK, we carry out diverse research in accordance with previous practice, the common point of which is applied microbiology, i.e. the examination and development of processes based on fermentation. In this manuscript, we provide a comprehensive overview of our research in 5 different areas.

We have shown that by reducing shear forces (with the appropriate type of impeller), the mushroom submerged fermentation can also be successfully implemented and enhanced. We also mentioned that the *Yarrowia* species we examined is a valuable cosmetic ingredient (skin moisturizer) and biodetergent producer in

addition to erythritol production. We have shown how bacterial biodetergent production can be enhanced with cyclodextrins. We have also demonstrated the positive effects of the alginate mineral on probiotic cultures. Finally, we have also shown our results achieved with the use of wastewater in microalgae cultures.

With the 5 presented biotechnology areas, we wanted to highlight that microbial (fungi, yeast bacteria, algae)-based developments require biological, engineering and technological knowledge at the same time, and sometimes pilot-scale experiments are unavoidable, in which our research group has been active for nearly 40 years.

Sokszínű koronaéter-kutatás egy „Szürke” laborban

– Válogatás a Szupramolekuláris Kémia Kutatócsoport utóbbi néhány évben elért eredményeiből –

KISFALUDI Péter,^a JÁVOR Bálint,^a ÁDÁM Bálint Árpád,^a VEZSE Panna,^a
SZABÓ-SZENTJÓBI Hajnalka,^a SZEMENYEI Balázs,^a GOLCS Ádám,^{a,b,c} MÓCZÁR Ildikó,^a
TÓTH Tünde,^{a,d} HUSZTHY Péter^{a,*}

^a Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

^b Gyógyszerészeti Intézet, Semmelweis Egyetem, Högyes Endre utca 9., 1092 Budapest, Magyarország

^c Farmakológiai és Gyógyszerkutatás-fejlesztési Központ, Semmelweis Egyetem, Üllői út 26., 1085 Budapest, Magyarország

^d HUN-REN Energiatudományi Kutatóközpont, Konkoly-Thege Miklós út 29-33., 1121 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Jelenlegi laboratóriumunk elnevezése „Szürke Labornak” Zemplén Géza professzor tanszékvezetésének idejére nyúlik vissza. Zemplén professzor, a BME Szerves Kémia Tanszékének megalapítója és első tanszékvezetője a szénhidrátok kutatásán kívül nagyon fontosnak tartotta a flavonoidkémia művelését is, és megbízta Farkas Loránd professzort egy ezzel a témával foglalkozó kutatócsoport létrehozásával^{1,2}. A Flavonoidkémiail Kutatócsoport az 1950-es évektől kezdődően a Szürke Laborban fejtette ki igen sikeres tevékenységét. Sikereik közül kiemelendő egy csontritkulás ellen gyógyszerré kifejlesztett készítmény, az Osten® (Ipriflavon, Osteochin) előállítás.

A Szürke Labor a nevét onnan kapta, hogy a bútorok és berendezések legnagyobb része szürke színű volt.

Az 1990-es évek elején a Flavonoidkémiail Kutatócsoport számos tagja más helyen folytatta munkáját. Ekkor indult a Szürke Laborban egy új kutatási irány a szupramolekuláris kémia területén: a koronaéter-típusú makrociklusok szintézise, molekuláris felismerőképessége és alkalmazása³.

Ezen kutatások nemcsak szerteágazó voltuk miatt, de a vegyületek eltérő színe okán is tekinthetők sokszínűnek.

A jelen közlemény a Szürke Laborban működő Szupramolekuláris Kémia Kutatócsoport utóbbi néhány évben folytatott kutatásaiból egy válogatást kíván bemutatni. A szerzők három fő tématerületen elért eredményeiket ismertetik, természetesen nem a teljesség igényével: 1.) Piridinegységet tartalmazó makrociklusok. 2.) Akridin- és akridonegységet tartalmazó makrociklusok. 3.) Foszforatomot tartalmazó makrociklusok.

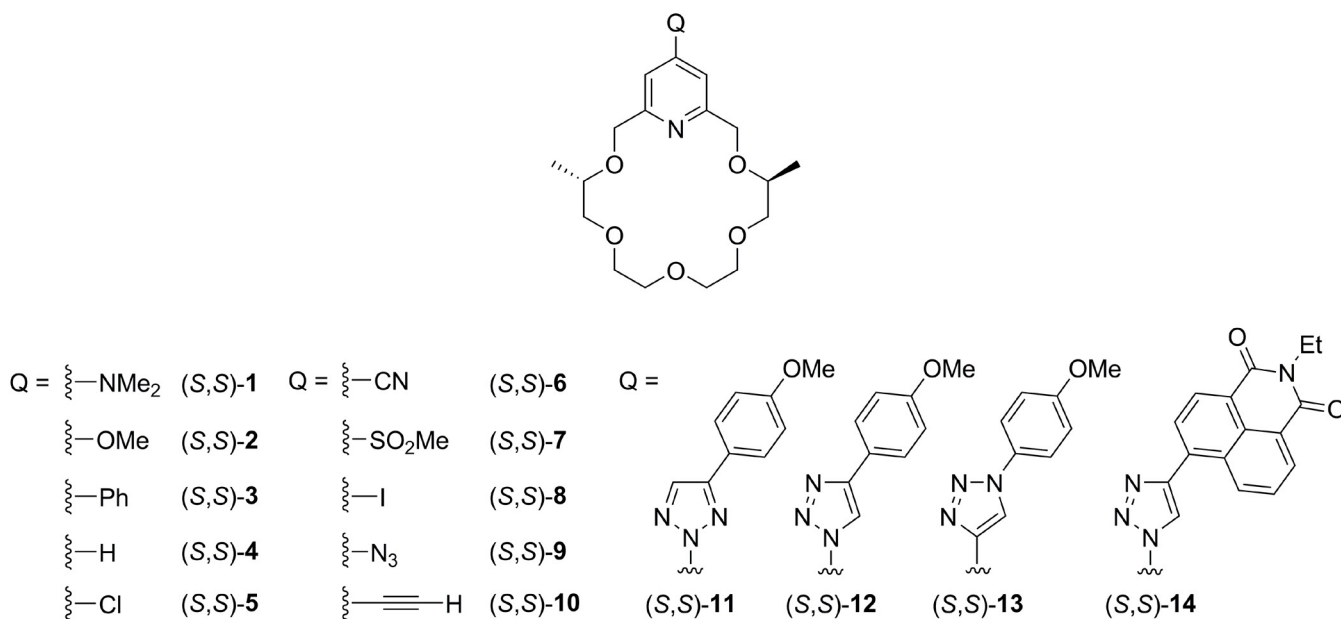
2. Piridinegységet tartalmazó makrociklusok

Kutatócsoportunkban piridinegységet tartalmazó koronaéterek szintézisével és vizsgálatával is foglalkozunk. Több királis piridino-18-korona-6-étert állítottunk elő, amelyek a kiralitáscentrumokon metil- vagy izobutil- vagy *terc*-butilcsoportokat, valamint a piridingyűrű 4-es helyzetében különféle szubsztituenseket tartalmaznak.

2.1. Egy piridinegységet tartalmazó koronaéterek

Egyik kutatási irányunk volt a piridingyűrű 4-es helyzetében különböző elektronikus hatású (dimetilamino, metoxi, fenil, hidrogén, klór, ciano és metánszulfonil) egységeket tartalmazó piridino-18-korona-6-éterek ((*S,S*)-1–(*S,S*)-7) előállítása, amelyek a kiralitáscentrumokon metilcsoportokat hordoznak. Az (*S,S*)-4 szubsztituálatlan koronaétert⁴, valamint az (*S,S*)-5 klór⁵- és az (*S,S*)-2 metoxi⁶-származékokat kutatócsoportunkban már korábban előállították, míg az (*S,S*)-1 dimetilamino-, az (*S,S*)-3 fenil- és az (*S,S*)-7 metánszulfonil-csoportokat tartalmazókat elsőként állítottuk elő, az (*S,S*)-6 cianoszármazék⁷ előállítására pedig új szintézisutat dolgoztunk ki⁸, utóbbi esetben Kollár Lászlóval és Takács Attilával együttműködve (**1. Ábra**). Vizsgáltuk a szubsztituensek hatását az enantiomerfelismerő-képességre. Biczók Lászlóval és Miskolczy Zsomborral együttműködve izotermális titrálósos kalorimetriával, acetonnitril oldószerben meghatároztuk a királis primer ammónium-sókkal (PEA és NEA, **2. Ábra**) képzett komplexeik stabilitási állandóit, és a komplexképződés entalpia- és entrópiaváltozását. A szubsztituens elektronszívó hatásának növekedésével a komplexstabilitási állandók csökkentek, ahogy a gazda- és a vendégmolekula közötti hidrogénkötések gyengébbek lettek. A korábbi vizsgálatoknál már tapasztalt heterokirális preferenciát számszerűsítő $\Delta\log K$ érték a PEA (1-feniletil-amin–hidrogén-perklorát) esetében csökkent, a NEA (1-(naftalin-1-il)etil-amin–hidrogén-perklorát) esetében nőtt, amennyiben a piridingyűrű 4-es helyzetű csoportját elektronszívó csoportra cseréltük, feltehetően a π – π kölcsönhatás növekedése miatt a NEA esetében⁸.

* Tel.: +36 1 463 2111; e-mail: huszthy.peter@vbk.bme.hu

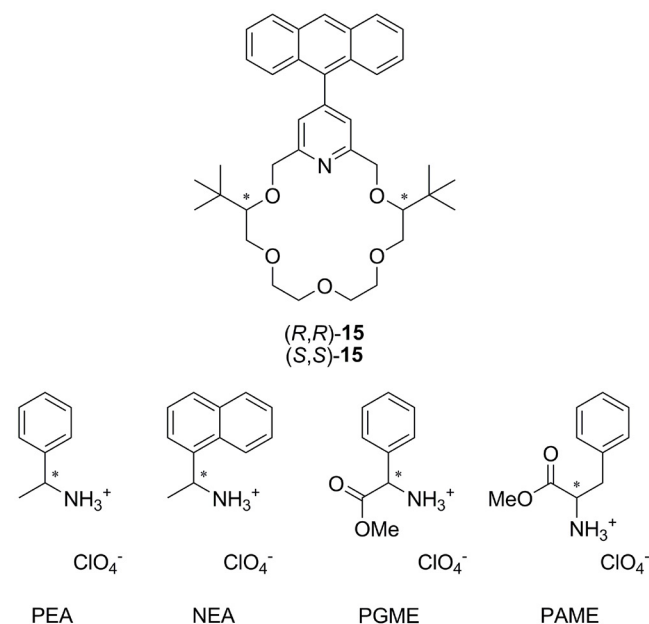


1. Ábra. A piridingyűrű 4-es helyzetében különböző csoportokkal szubsztituált, a kiralitáscentrumokon metilcsoportokat tartalmazó enantiomertiszta piridino-18-korona-6-éterek

2.2. Fluorofor egységet tartalmazó piridino-koronaéterek

Már régóta egy másik kutatási irány csoportunkban a fluorofor egységet tartalmazó koronaéterek szintézise és vizsgálata. Az (S,S)-8 jódegyületből⁵ sikerült előállítanunk az (S,S)-9 azidot és *Sonogashira*-kapcsolás útján az (S,S)-10 etinilszármazékot, ami lehetőséget teremtett arra, hogy klikk-reakcióval 1,2,3-triazol csoporton keresztül vigyünk be szubsztituenseket⁹. Így állítottuk elő az (S,S)-12 és (S,S)-13 4-metoxifenil, valamint az (S,S)-14 1,8-naftálimid egységet tartalmazó származékokat. Előállítottunk továbbá egy *N*-2-ariltriazol egységet tartalmazó koronaétert is ((S,S)-11) a 4-(4-metoxifenil)-1,2,3-triazol *N*-arilezésével (1. Ábra). Így fluoreszcens szenzormolekulákhoz jutottunk, amelyek enantiomerfelismerő-képességét királis primer ammóniumsók enantiomerjeivel (2. Ábra) szemben, acetonitril oldószerben, UV-látható és fluoreszcencia spektroszkópiával vizsgáltuk. Az (S,S)-14 naftálimid fluorofort tartalmazó koronaéter nem mutatott emissziós spektrális választ a vendégmolekulák hozzáadására, csak a NEA esetén kb. 20%-os csökkenést. Az (S,S)-11 és (S,S)-12 koronaéterek jelentős fluoreszcencia-kioltást mutattak komplexképzés hatására. Az (S,S)-13 szenzormolekula titrálásakor a szabad ligandum emissziós sávjának kioltása mellett egy intenzívebb, nagyobb hullámhosszak irányába eltolódott emissziós sáv megjelenését tapasztaltuk. Az utóbbi spektrumalak a ligandum protonált formájának kialakulására utalt, amely gerjesztett állapotban, a hidrogénkötéses komplexekből kiindulva történt. A koronaéterek jelentős szelektivitást és heterokirális preferenciát mutattak a PEA és/vagy NEA enantiomerjeivel szemben. A PGME (fenilglicin-metilészter-hidrogén-perklorát) enantiomer-

jeivel szemben is a PEA és NEA sókhoz hasonló enantiomer-preferencia látható a kiralitáscentrumhoz kapcsolódó szubsztituensek térbeli elrendeződése alapján, azonban a CIP nomenklátúra miatt eltérő a csoportok rangsorolása. A PAME (fenilalanin-metilészter-hidrogén-perklorát) enantiomerjeivel szemben egyik gazdamolekula sem mutatott megkülönböztető-képességet, ami a vendégmolekula aromás gyűrűje és kiralitáscentruma közötti metilencsoport jelenlétével magyarázható⁹.



2. Ábra. A piridingyűrű 4-es helyzetében antracén fluorofort és a kiralitáscentrumokon *tert*-butilcsoportot tartalmazó gazdamolekulák ((R,R)-15, (S,S)-15), és a vizsgálatokhoz használt vendégmolekulák

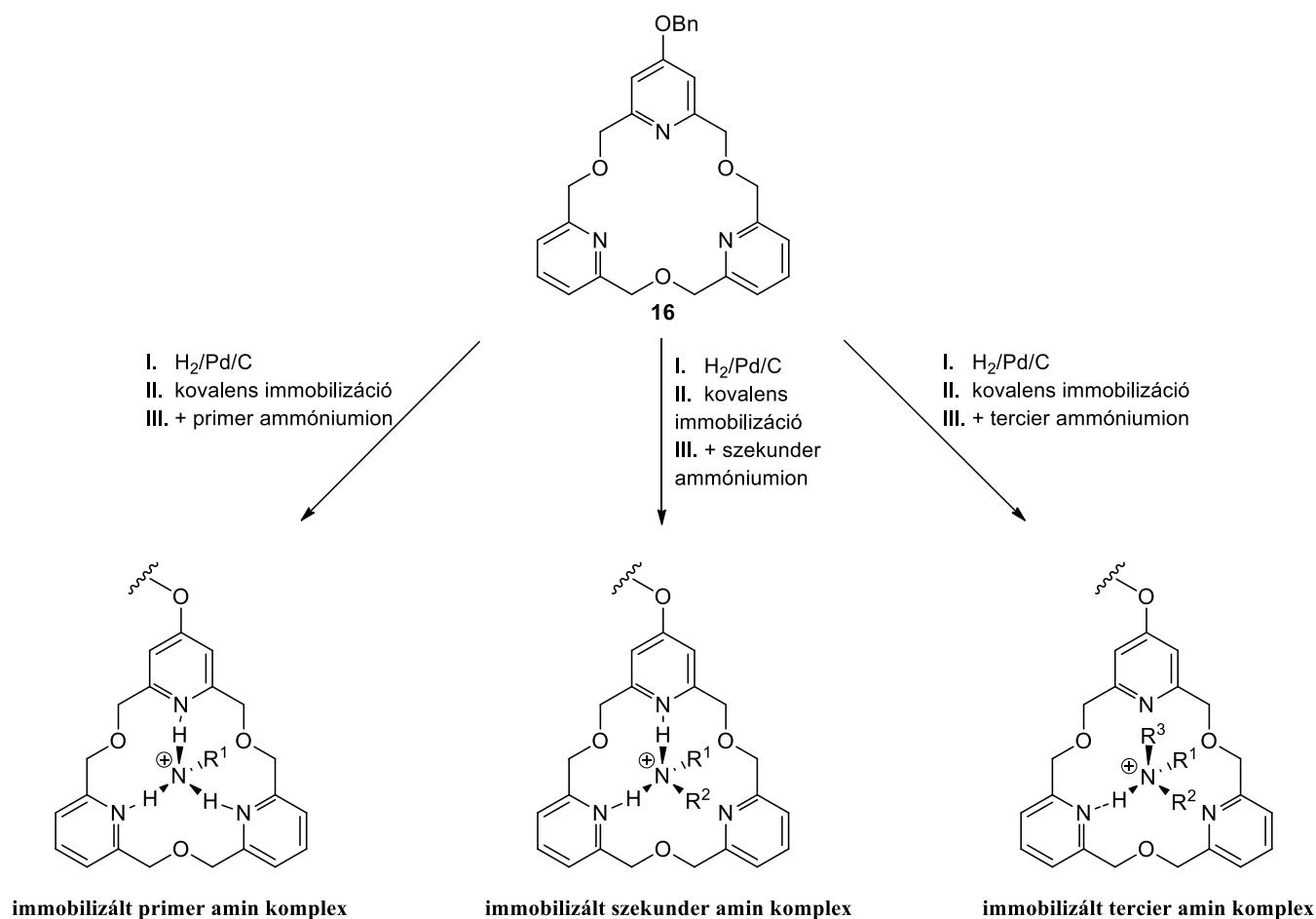
Továbbá előállítottunk két, egymással enantiomer viszonyban lévő, a kiralitáscentrumokon *terc*-butilcsoportot tartalmazó koronaétert ((*R,R*)-**15** és (*S,S*)-**15**), melyek a piridin-gyűrű 4-es helyzetében antracén fluoroforral rendelkeztek (**2. Ábra**)¹⁰. Ezen szenzormolekulák enantiomerfelismerő-képességét PEA, NEA, PGME és PAME vendégmolekulák enantiomerjeivel szemben, acetonitril oldószerben, UV-látható és fluoreszcencia spektroszkópiával vizsgáltuk. Kíváncsiak voltunk a *terc*-butilcsoportok és az antracénegység együttes hatására. Az (*R,R*)-**15** és (*S,S*)-**15** koronaéterek PEA és NEA sókkal történő titrálásakor nagymértékű fluoreszcencia-kioltást tapasztaltunk. A koronaéterek ezen vendégmolekulákkal alkotott komplexeinek stabilitási állandói jelentősen kisebbek voltak, mint a metil- vagy izobutilcsoportokat tartalmazó piridino-18-korona-6-éter-származékok¹¹ esetén. Ez a megfigyelés összhangban van a korábban előállított *terc*-butilcsoporttal szubsztituált piridino-18-korona-6-éterek viselkedésével, amit a csoportok nagyobb sztérikus tasztítása okoz. Az (*R,R*)-**15** és (*S,S*)-**15** koronaéterek említett csökkentet komplexképző-képessége, illetve a PGME és PAME sók savasabb tulajdonsága azt eredményezte, hogy ezen sók protonálták a ligandumokat komplexképződés helyett (a PEA és NEA sók esetén részleges, kb. 30%-os protonálódás történt). A korábban előállított *terc*-butilcsoportot tartalmazó koronaéterek esetében a na-

gyobb sztérikus tasztítás nagyobb enantiomerfelismerő-képességet eredményezett, mint a metil- vagy izobutilcsoportot tartalmazó származékoknál. Ezzel szemben az (*R,R*)-**15** és (*S,S*)-**15** antracénegységet tartalmazó analogonok megkeletésünkre nem mutattak enantiomerszelektivitást a PEA enantiomerjeivel szemben, illetve csak közepeset a NEA enantiomerjeivel szemben, melyek jelentősen kisebbek, mint a korábban előállított, metil- vagy izobutilcsoportot és antracén fluorofort tartalmazó származékok¹¹ esetén, mely okának felderítése további vizsgálatot igényel^{10,11}.

A 2.2. fejezetben ismertetett eredmények esetén a komplexstabilitási állandók és pK_a értékek meghatározását Baranyai Péterrel együttműködve végeztük.

2.3. Három piridinegységet tartalmazó koronaéterek

Új, kovalensen rögzíthető trisz(piridino)-koronaétert (**16**) állítottunk elő, amelyet különböző rendűségű aminok elválasztására alkalmaztunk. A célunk egy olyan elválasztási eljárás kifejlesztése volt, amely képes primer, szekunder és tercier aminok hatékony megkülönböztetésére és elválasztására (**3. Ábra**).



3. Ábra. A **16** szelektormolekula és különböző mértékben *N*-szubsztituált protonált aminok komplexeinek eltérő számú H-kötései

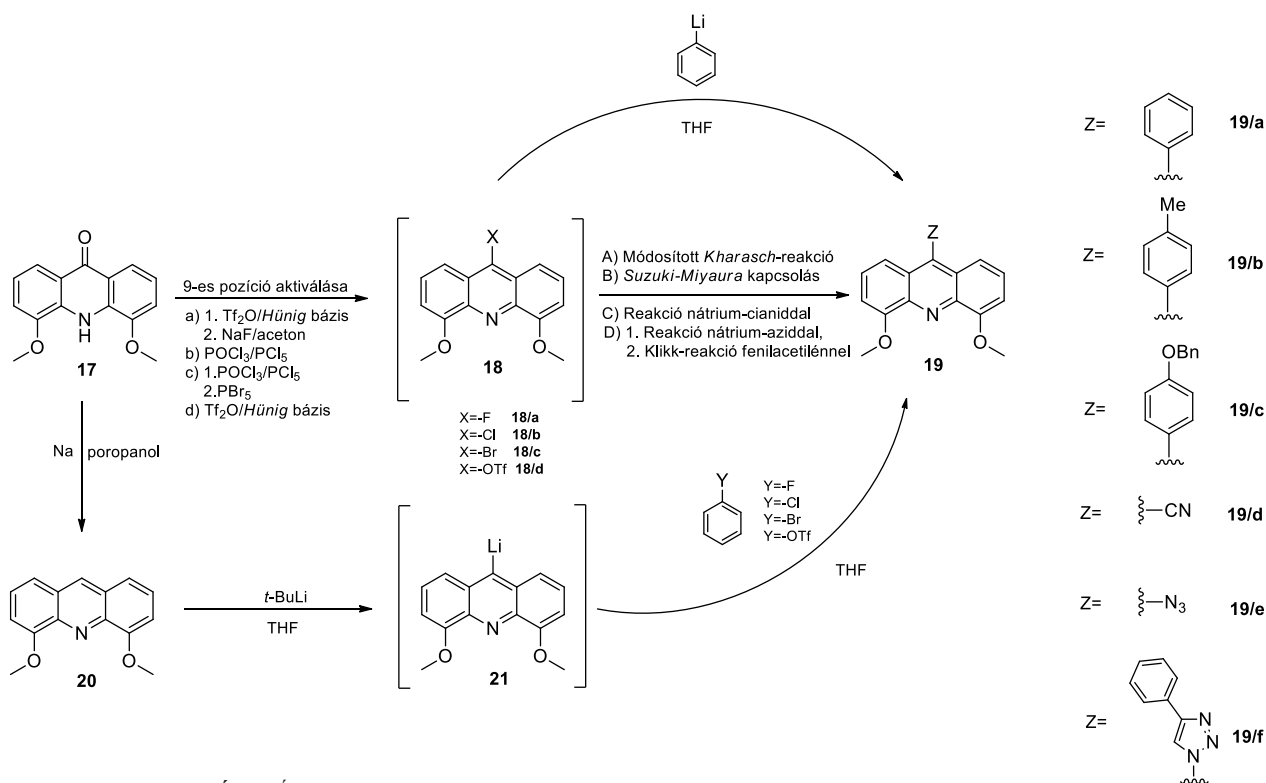
A szintetizált trisz(piridino)-koronaétert kémiai módosított polisztirol felületre rögzítettük, így egy stabil és újra felhasználható szupramolekuláris polimerréteghez jutottunk. Vizsgálataink során kromatográfiás és spektroszkópiai módszerekkel elemeztük az immobilizált gazdamolekulák kölcsönhatását különböző aminosokkal. Megállapítottuk, hogy a rögzített koronaéter szelektív komplexképzést mutatott és hatékonyan különböztette meg az aminosokat azok rendűségének függvényében. A módszerünk lehetővé tette amin-analagonok preparatív lépték alatti hatékony elválasztását¹².

3. Akridin- és akridonegységet tartalmazó makrociklusok

3.1. Egy akridin- vagy akridonegységet tartalmazó koronaéterek

Munkánk során előállítottunk számos új, a 9-es helyzetben szubsztituált 4,5-dimetoxiakridin-származékot, amelyek építőelemei lehetnek különböző gyógyszermolekuláknak, fluoreszcens jelölőanyagoknak és optikai szenzormoleku-

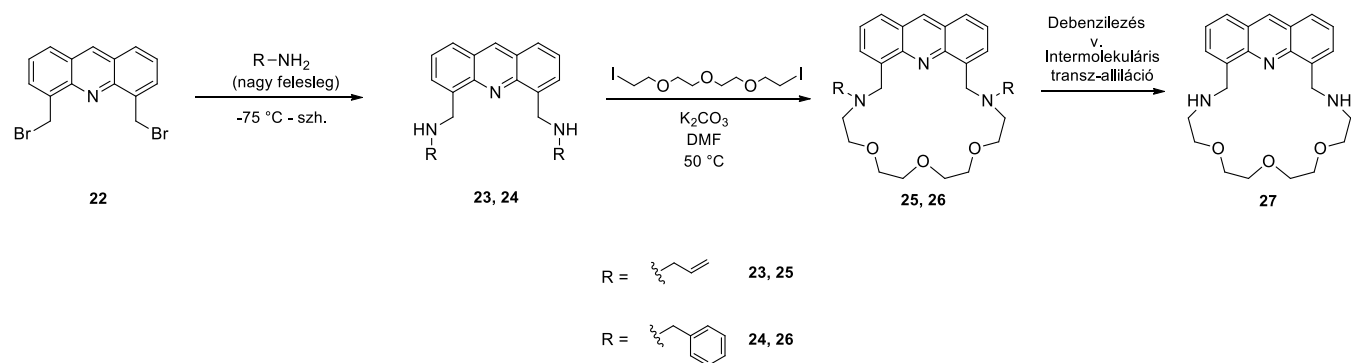
láknak (4. *Ábra*). Kutatásunk során sikeresen szintetizáltuk a 9-fluor (18/a)-, a 9-bróm (18/c)-, a 9-triflát (18/d)- és 9-lítium (21)-származékokat, valamint további, a 9-es helyzetben szubsztituált vegyületeket, mint például, a 9-(*p*-metilfenil) (19/b)-, a 9-(*p*-benziloxifenil) (19/c)-, a 9-ciano (19/d)-, a 9-azido (19/e)- és a 9-feniltriazol (19/f) egységet tartalmazókat. Ezen vegyületek stabilitását, reakcióképességét és fotofizikai tulajdonságait összehasonlítottuk a korábban közölt 18/b 9-klórakridin-származékkal. A 9-es pozíció módosítási lehetőségeinek feltérképezésével kiemelt figyelmet fordítottunk a kémiai stabilitásra és a fluoreszcens jelképzés vizsgálatára, amelyek potenciális optokémiai szenzormolekulák fontos tulajdonságai. Eredményeink alapján a 9-triflát (18/d)- és 9-lítium (21)-származékok különösen ígéretesek szintetikus kémiai szempontból, mivel megnövekedett reaktivitást mutattak a széleskörűen alkalmazott 9-klór (18/b)-származékhoz képest. Az új fluoreszcens prekursorok kiemelkedő tulajdonságokkal (fotostabilitás, 0,4 feletti kvantumhatásfok, >15000 cm⁻¹ Stokes-eltolódás) rendelkeznek, így potenciális jelöltek lehetnek optikai szenzormolekulák kifejlesztésére^{13,14}.



4. *Ábra*. Új, 9-es helyzetben szubsztituált 4,5-dimetoxiakridinek szintézise és átalakítási lehetőségei

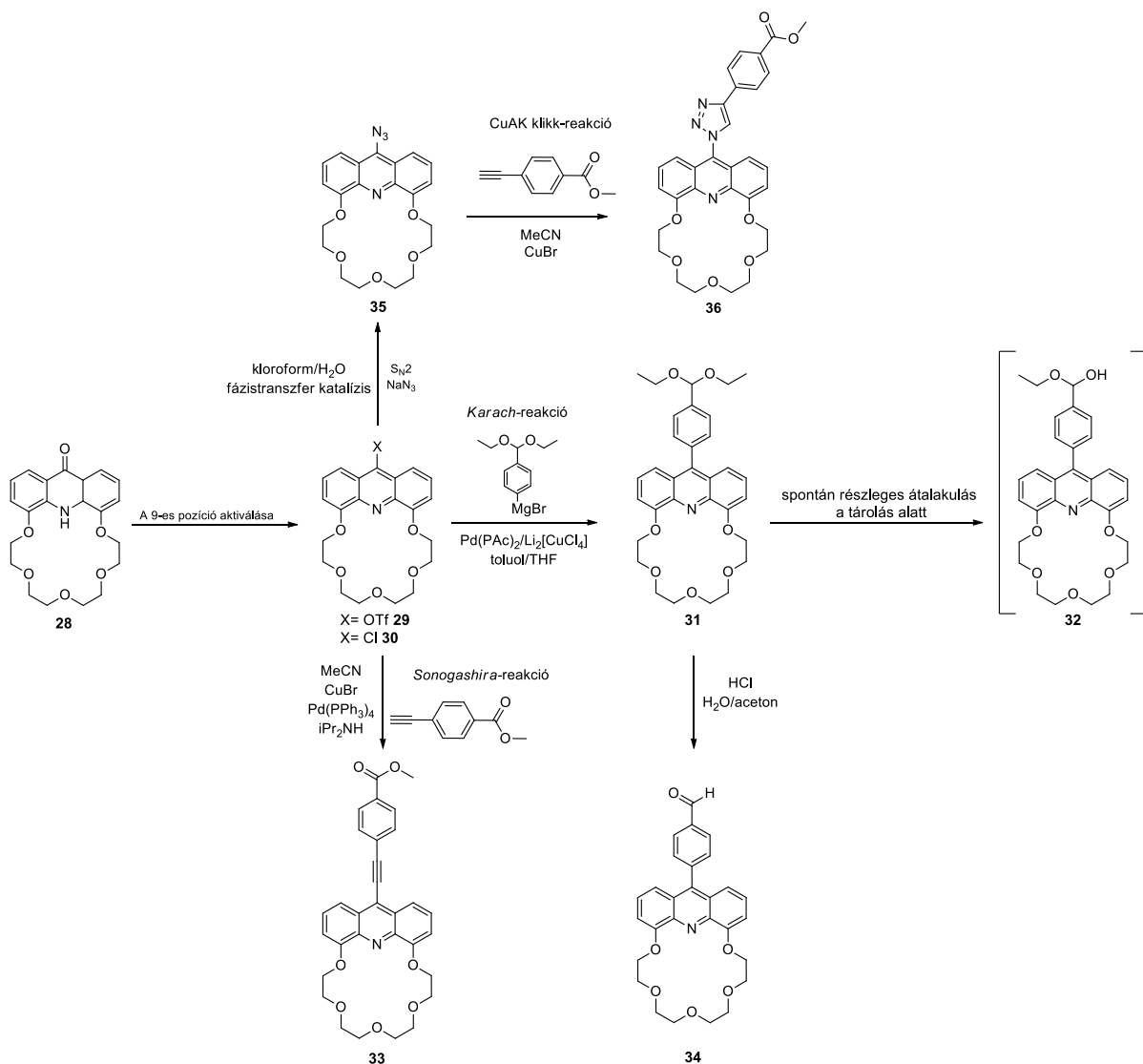
Egy másik projekt kapcsán előállítottunk akridino-diaza-20-korona-6-étereket (25–27), melyek fémionok optikai érzékelésében való alkalmazhatóságát vizsgáltuk (5. *Ábra*). Ezen makrociklusok esetében az akridin fluoroforként, míg a makrogyűrű ürege szelektív fémion-kötőhelyként funkcionál. Az előállításuk során a makrociklusokat szintetikus úton módosítottuk. A fémionokkal való kölcsönhatás vizsgálatát UV-látható és fluoreszcencia spektroszkópiával

végeztük. Eredményeink szerint az akridino-diaza-20-korona-6-éterek jellemzően Zn^{2+} , Pb^{2+} és Bi^{3+} jelenlétében mutattak jelentős fluoreszcencia változást. A szubsztituensek típusa és elhelyezkedése jelentős hatással van a fémionokkal való kölcsönhatásra és a jelképzési tulajdonságokra egyaránt, így ez egy újabb lehetőséget kínál a szenzormolekulák finomhangolására¹⁵.



5. Ábra. Új fluoreszcens szekunder aminok (23, 24) előállítása, a makrociklusok (25, 26) kialakítása tetraetilénglikol-dijodiddal, majd a védőcsoportok eltávolításával a 27 ligandum szintézise

Kidolgoztuk új, 9-es pozícióban eltérően szubsztituált fluoreszcens-származékok szintézisét (6. Ábra), melyek szerkezetét és fotofizikai tulajdonságait vizsgáltuk.

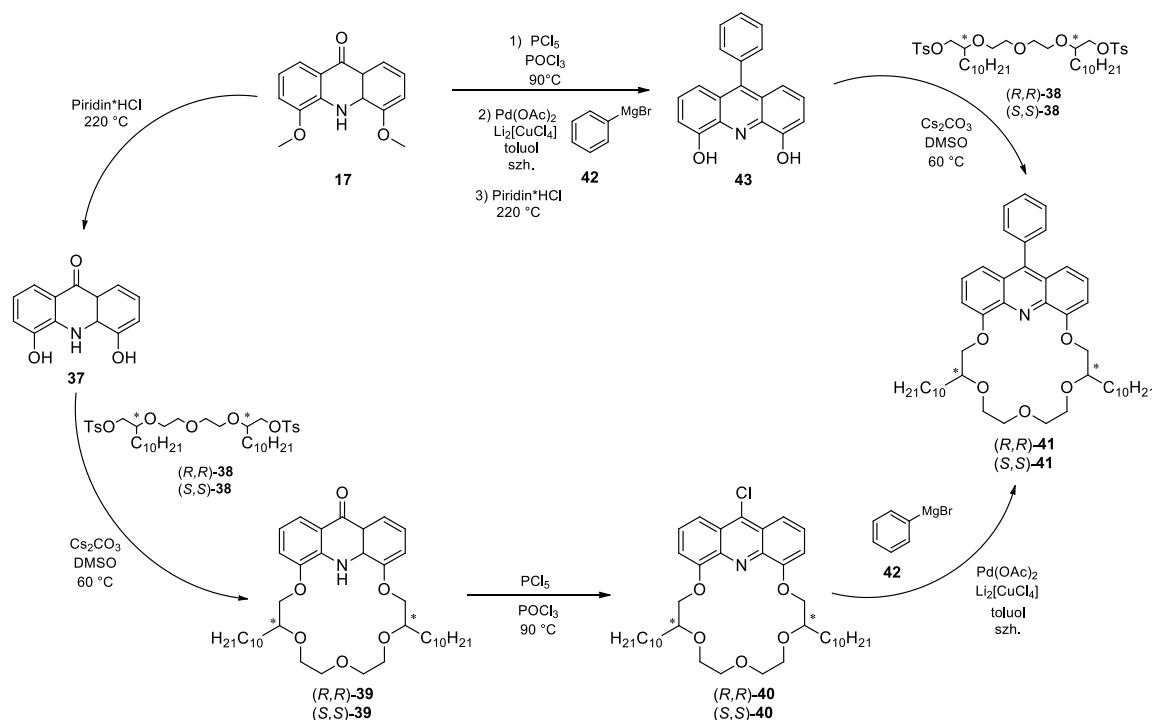


6. Ábra. Új, a 9-es pozícióban különböző egységekkel szubsztituált fluoreszcens akridino-koronaéterek előállítása

A szubsztituensek elektrosztatikus hatása és az oldószer polaritása jelentősen befolyásolják a vegyületek optikai tulajdonságait. Kimutattuk, hogy az elektronhiányos szubsztituensekkel rendelkező vegyületek jelentős fluoreszcenciát mutatnak, ami potenciális alkalmazásokat vet fel optoelektronikai eszközök fejlesztésében¹⁶.

Kutatásunk során új, lipofil, enantiomertiszta akridino-koronaéter-származékokat is szintetizáltunk (7. Ábra),

majd azok alkalmazási lehetőségeit vizsgáltuk különböző folyadékmembrán alapú rendszerekben. A makrociklusok szelektív komplexképzését különféle amin- és aminosav-származékokkal vizsgáltuk, és megállapítottuk, hogy az intermolekuláris π - π kölcsönhatások jelentős szerepet játszanak a komplexképzésben, különösen az aralkilamin-típusú vegyületek esetében.

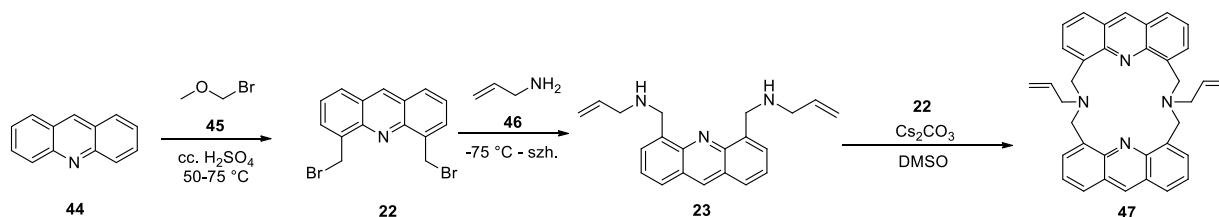


7. Ábra. Királis, enantiomertiszta lipofil akridino-koronaéter-származékok előállítása

A folyadékmembrán alapú transzportkísérletek során az új koronaéter-származékokat sikeresen alkalmaztuk enantioszelektív szállítómolekulákként, amelyek jelentős enantiomerfelismerést mutattak néhány aralkil-amin modellvegyület esetében. Emellett a fotofizikai vizsgálatok eredményei alapján az új makrociklusok szenzormolekulaként is hatékonyan működtek. Összehasonlítottuk az akridin- és akridonegységet tartalmazó koronaéterek komplexképződését és megállapítottuk, hogy az akridinszármazékok hatékonyabbak a protonált aminok megkötésében, valamint az akridinegység stabilitását a 9-es pozícióban lévő fenilcsoport beépítésével növelhetjük¹⁷.

3.2. Két akridin- vagy akridonegységet tartalmazó koronaéterek

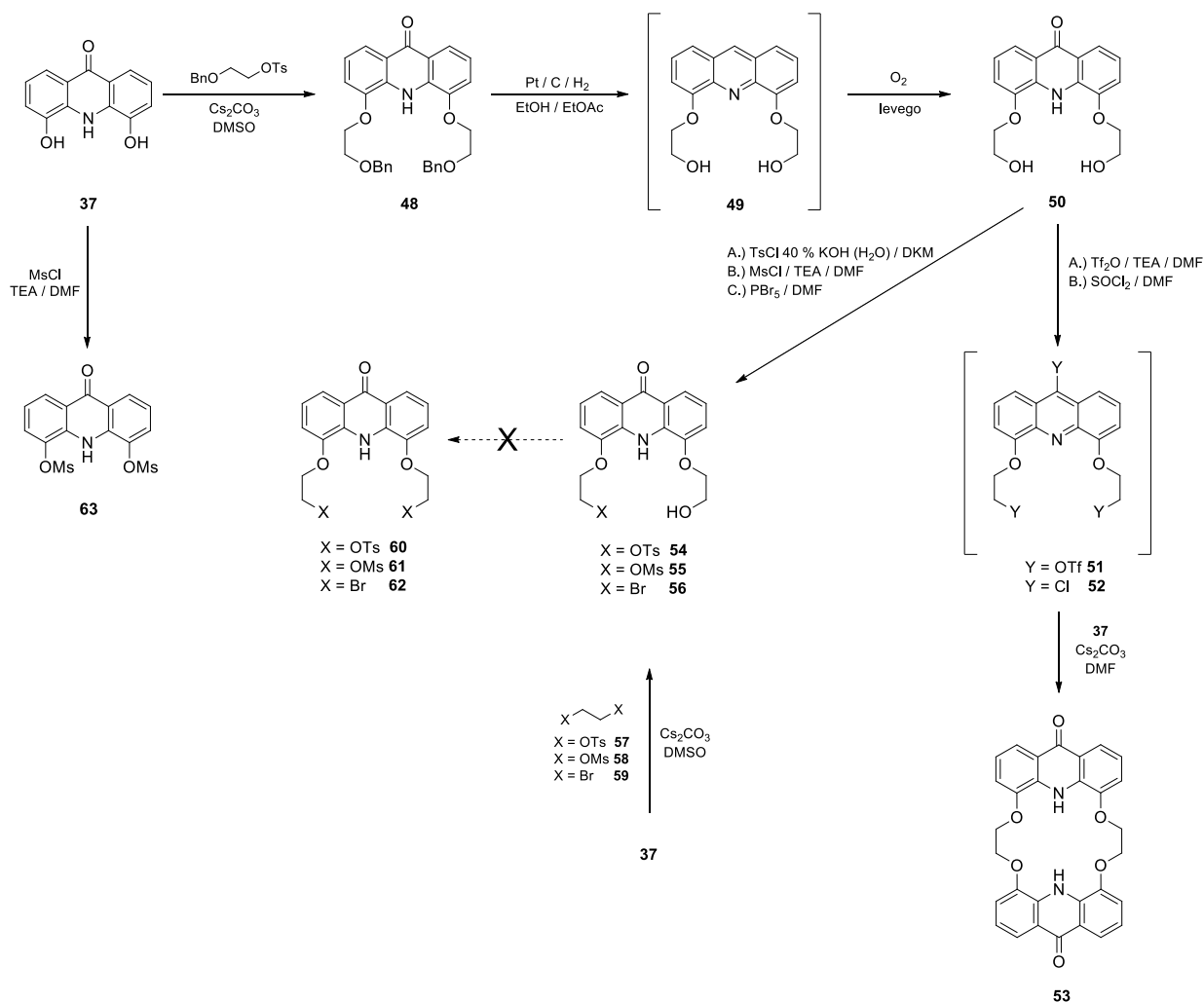
Előállítottunk továbbá egy új, fluoreszcens bisz(akridino)-makrociklust, amely két allilcsoportot tartalmaz (47, 8. Ábra), és fotofizikai tulajdonságait részletesen tanulmányoztuk. Célunk egy olyan szenzormolekula fejlesztése volt, amely kovalensen rögzíthető, és szelektíven képes fémionok, különösen oldott Zn^{2+} felismerésére. A szintézis során az allilcsoportok beépítésével biztosítottuk a makrociklus további funkcionálizálhatóságát, lehetővé téve annak kovalens rögzítését különböző hordozófelületeken.



8. Ábra. Új, fluoreszcens bisz(akridino)-makrociklus előállítása

Fotofizikai vizsgálataink kimutatták, hogy az új szenzor-molekula fluoreszcenciája specifikusan változik Zn^{2+} jelenlétében, míg más fémionok és anionok nem befolyásolják jelentősen a jelintenzitást. Ezenkívül a szenzor pH-független fémionfelismerő-képességgel rendelkezik, ami különösen előnyös egyéb ionoforokhoz képest¹⁸.

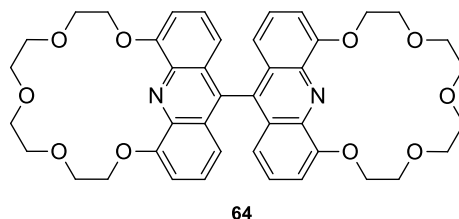
Fémionok szelektív elválasztására egy új bisz(akridono)-makrociklust (**53**, **9. Ábra**) állítottunk elő. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a második akridonegység hatását a molekula optokémiai tulajdonságaira és kationfelismerő-képességre.



9. Ábra. Új, bisz(akridono)-koronaéter előállítása

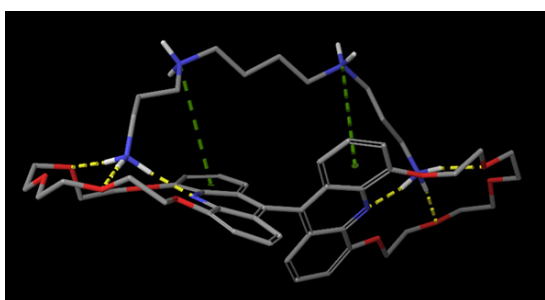
A második akridonegység beépítése ugyan növelte a szerkezeti merevséget, de csökkentette a Pb^{2+} -ionokkal szembeni szelektivitást a korábban leírt monoakridono-18-korona-6-éterhez képest. A bisz(akridono)-makrociklus a lágy, több töltéssel rendelkező kationokkal – függetlenül azok ionsugarától – erős koordinatív kation- π és nukleofil-elektrofil kölcsönhatásokat létesít, így nem alkalmazható szelektíven nehézfémion-analízisre. Emellett a fluoreszcens makrociklus kvantumhatásfoka nem különbözött jelentősen a monoakridono-származékától, így jelképzés javításában rejlő lehetőségeket sem tudtuk kiaknázni¹⁹.

Előállítottunk továbbá olyan két akridinegységet tartalmazó koronaétert (**64**, **10. Ábra**)²⁰ is, melynek a spermin bioszintézisében előforduló oligoaminokkal szembeni komplexképzsét vizsgáltuk.

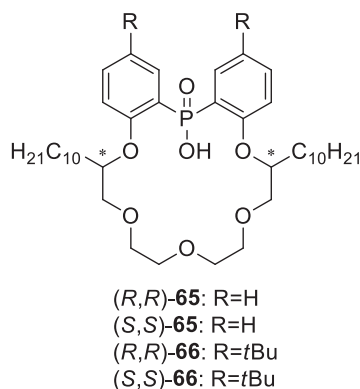


10. Ábra. Az új bisz(akridino)-koronaéter szerkezete

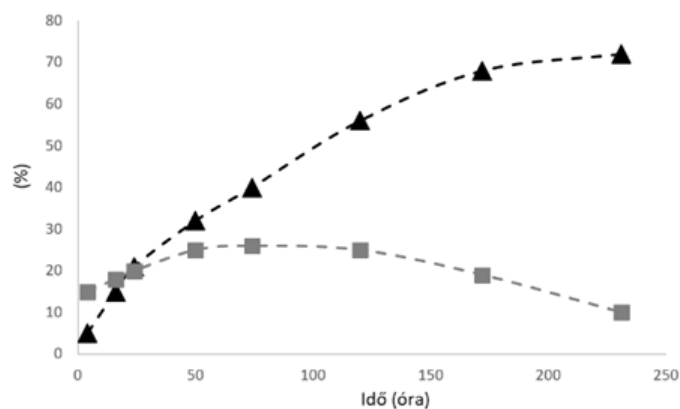
Ezen aminok a biológiai folyamatokban való fontos szerepük miatt napjainkban számos tanulmány fókuszpontját képezik, különös tekintettel a sperminre, amely számos rákos megbetegedésben tölt be biomarker²¹ szerepet, megemelkedett vagy csökkent oligoamin szintet eredményezve. Az előállított gazdamolekula (**64**) a két akridinegységnek köszönhetően kedvező fluoreszcens tulajdonságokkal rendelkezik, ennek megfelelően a komplexképzés folyamatát fluoreszcens titrálation alapuló regressziós módszerekkel, valamint számítógépes szimuláción alapuló molekuláris dokkolással (**11. Ábra**) is vizsgáltuk és megállapítottuk, hogy a tri- és tetraamin-típusú spermin analógok szelektíven felismerhetők a di- és monoszármazékok jelenlétében²⁰. A DFT számításokat *Krekó Marcellel* együttműködve végeztük.



11. Ábra. A DFT-módszerrel optimalizált geometria a **64** gazdamolekula sperminnel alkotott komplexében. (A szürke, piros és kék atomok a C-, O- és N-atomokat, míg a sárga és zöld szaggatott vonalak a hidrogénkötéseket és a kation- π kölcsönhatásokat jelölik.)



12. Ábra. pH-változtatásával kapcsolt aktív transzportfolyamat kiváltására képes enantiomertiszta lipofil koronaéterek (bal) és lipofil folyadékmembránon keresztüli transzportjuk időfüggése a fenilglicinol és az (*S,S*)-**65** szállítómolekula példáján (jobb; háromszög: transzportált mennyiség, %; négyzet: enantiomerfelesleg, %)



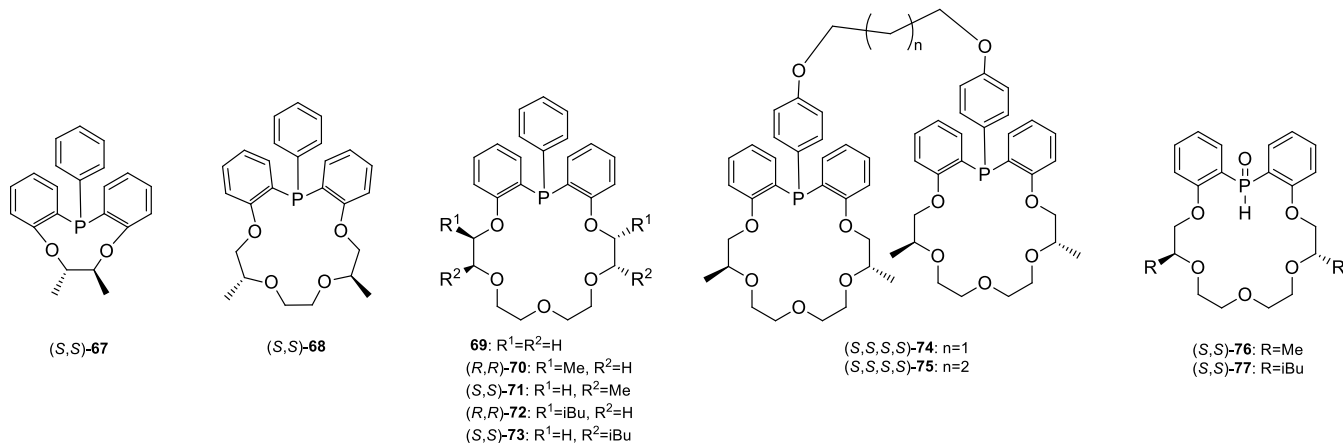
Különböző körülmények között koronaéterek jelenlétében és hiányában is megismételtük a kísérleteinket, melyeken keresztül bizonyítottuk a transzportmechanizmus koncentrációgradiens ellenében is végbemenő aktív jellegét^{22,23}. A foszforatomot hordozó gazdamolekulák körében számos

Az előállított új gazdamolekula lehetővé teszi az oligoaminok molekuláris szintű vizsgálatát (sejtes felszívódás, transzport, rákos folyamatok előrehaladása stb.), így számos alkalmazás kidolgozásához járulhat hozzá a későbbiekben mind a biológiai folyamatok vizsgálata, mind az orvosi diagnosztika terén.

4. Foszforatomot tartalmazó koronaéterek

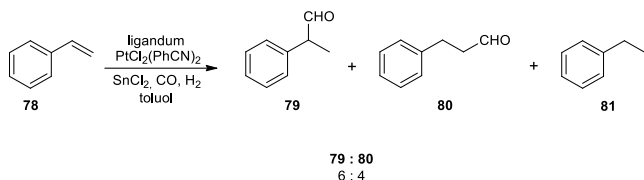
A koronaéterekkel segített, koncentrációgradiens ellenében működő (ún. aktív) transzportfolyamatoknak igen széleskörű a szakirodalma. Kutatócsoportunk elsőként számolt be lipofil folyadékmembránon keresztüli aktív, enantiomerszelektív transzportról, melyet a pH állításával könnyen deprotonálható lipofil diarilfoszfinsav-egységet tartalmazó királis koronaéterek mint szállítómolekulák segítségével sikerült megvalósítanunk²². Ezek az első ilyen transzportmolekulák még nem voltak elég hatékonyak, ezért a szerkezetüket változtatva próbáltuk az enantiomerszelektivitást növelni. Így jutottunk a valamivel nagyobb enantiomerszelektivitást biztosító (*R,R*)-**65**–(*S,S*)-**66** koronaéterekhez (**12. Ábra**). Az enantiomertiszta makrociklusok transzporttulajdonságait királis protonált primer aminok enantiomerszelektív transzportjának példáján vizsgáltuk egy vizes adófázis – lassan kevertetett szerves folyadékmembrán – vizes szedőfázis rendszerben. Az eredmények rámutattak arra, hogy az alapvető fizikokémiai paramétereken túl a transzport kimenetele jelentősen függ mind a makrociklus, mind pedig a transzportált vendégmolekula szerkezetétől²³. Példaként a fenilglicinol enantiomerszelektív transzportjának időfüggését tüntettük fel (**12. Ábra**), melynek során egy maximumponttal rendelkező kinetikai profilt kaptunk eredményül.

trifenilfoszfin, illetve szekunder foszfin-oxid egységet tartalmazó makrociklust állítottunk elő (**67–77**, **13. Ábra**)^{24,25}, melyekből több alkalmasnak bizonyult sztirol enantiomerszelektív hidroformilezési reakciójában katalizátor ligandumként²⁶.



13. Ábra. Trifenilfoszfin és szekunder foszfin-oxid egységet tartalmazó makrociklusok

A katalizátorligandumok vizsgálatát *Pongrácz Péterrel* és *Kollár Lászlóval* együttműködve végeztük. A reakció minden esetben 80 bar nyomáson, szénmonoxid:hidrogén=1:1 gázösszetétel mellett, autoklávban zajlott, ebbe került a $PtCl_2(PhCN)_2$ és a ligandum, valamint a kokatalizátorként használt ón(II)-klorid toluolos oldata (14. Ábra). A reakció során elágazó (79) és lineáris aldehid (80) is keletkezik, valamint hidrogénezési mellékreakció is lejátszódik, melynek terméke az etilbenzol (81), így vizsgálható a reakció kemo- ($[79]+[80]$)/ ($[79]+[80]+[81]$) és regioszelektivitása ($[79]$)/ ($[79]+[80]$)²⁶.



14. Ábra. Koronaéterekkel katalizált enantiomerszelektív hidroformilezési reakciók általános sémája a 2-fenilpropanal (79) modellvegyület szintézisének példáján

Többek között vizsgáltuk a platina-ligandum arányt, a reakcióidőt, valamint a hőmérséklet reakcióra gyakorolt hatását. A kemoszelektivitás jellemzően 63–90% között volt, és minden esetben aldehid volt a főtermék. A regioszelektivitás jellemzően 60% körül adódott az elágazó aldehid javára. A királis ligandumok alkalmazása esetén közepes enantiomerszelektivitást sikerült elérni, a 2-fenilpropanal (79) a legnagyobb (52%) enantiomerfelesleg értékkel az eddigiek során a (S,S)-71 makrociklus alkalmazása esetén keletkezett²⁶.

5. Összefoglalás

A jelen közlemény a Szürke Laborban (a BME Szerves Kémia és Technológia Tanszéken) az utóbbi néhány évben előállított, vizsgált és alkalmazott makrociklusokról és prekursoraikról nyújt egy válogatást. A makrociklusok szintézisét, molekuláris felismerőképességének tanulmá-

nyozását és alkalmazását szenzor- és szelektormolekulaként három területre fókuszálva foglalhatjuk össze. Ezek a következők: i.) Piridinegységet tartalmazó makrociklusok. ii.) Akridin- és akridonegységet tartalmazó makrociklusok. iii.) Foszfóratomot tartalmazó makrociklusok.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az EKÖP-24-4-II-BME-63 Egyetemi Kutatói Ösztöndíjprogram, valamint a Kulturális és Innovációs Minisztérium által a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapon keresztül támogatott Doktori Kiválósági Ösztöndíjprogram (DCEP-25-1-BME-3) támogatta. A szerzők köszönik dr. Gottsegen Ágnes címzetes egyetemi docensnek a Szürke Labor korai időszakában történt események ismertetésében nyújtott segítségét.



Hivatkozások

- Zemplén G.; Farkas L.; *Chem. Berichte*, **1943**, 76, 1110–1112. <https://doi.org/10.1002/cber.19430761105>
- Zemplén G.; Farkas L.; *Chem. Berichte*, **1957**, 90, 836–837. <https://doi.org/10.1002/cber.19570900532>
- Huszthy P.; Tóth T.; *Period. Polytech. Chem. Eng.*, **2007**, 51, 45–51. <https://doi.org/10.3311/pp.ch.2007-2.07>
- Jones B.A.; Bradshaw J.S.; Brown P.R.; Christensen J.J.; Izatt R.M.; *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 2635–2639. <https://doi.org/10.1021/jo00164a001>
- Kupai J.; Lévai S.; Antal K.; Balogh G.T.; Tóth T.; Huszthy P.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 415–427. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2012.04.008>
- Kupai J.; Huszthy P.; Székely K.; Tóth T.; Párkányi L.; *Arkivoc*, **2011**, ix, 77–93. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0012.906>

7. Tóth T.; Huszthy P.; Kupai J.; Nyitrai J.; *Arkivoc*, **2008**, *iii*, 66–79.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.308>
8. Szemenyei B.; Novotny B.; Zsolnai S.; Miskolczy Zs.; Biczók L.; Takács A.; Kollár L.; Drahos L.; Móczár I.; Huszthy P.; *Symmetry*, **2020**, *12*, 1795.
<https://doi.org/10.3390/sym12111795>
9. Szemenyei B.; Malmosi M.; Pál D.; Baranyai P.; Drahos L.; Móczár I.; Huszthy P.; *New J. Chem.*, **2021**, *45*, 22639–22649.
<https://doi.org/10.1039/D1NJ04173H>
10. Szemenyei B.; Firisz M.; Baranyai P.; Bagi P.; Drahos L.; Móczár I.; Huszthy P.; *Period. Polytech. Chem. Eng.*, **2022**, *66*, 541–549.
<https://doi.org/10.3311/PPch.20468>
11. Szemenyei B.; Móczár I.; Pál D.; Kocsis I.; Baranyai P.; Huszthy P.; *Chirality*, **2016**, *28*, 562–568.
<https://doi.org/10.1002/chir.22614>
12. Vezse P.; Benda B.; Fekete A.; Golcs Á.; Tóth T.; Huszthy P.; *Molecules*, **2022**, *27*, 2838.
<https://doi.org/10.3390/molecules27092838>
13. Vezse P.; Golcs Á.; Huszthy P.; Tóth T.; *Period. Polytech. Chem. Eng.*, **2024**, *68*, 277–286.
<https://doi.org/10.3311/PPch.23808>
14. Golcs Á.; Ádám B. Á.; Vezse P.; Huszthy P.; Tóth T.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2021**, 2485–2497.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.202100291>
15. Golcs Á.; Kovács K.; Vezse P.; Tóth T.; Huszthy P.; *Molecules*, **2021**, *26*, 4043.
<https://doi.org/10.3390/molecules26134043>
16. Vezse P.; Gede M.; Golcs Á.; Huszthy P.; Tóth T.; *Molecules*, **2024**, *29*, 1121.
<https://doi.org/10.3390/molecules29051121>
17. Golcs Á.; Ádám B. Á.; Horváth V.; Tóth T.; Huszthy P.; *Molecules*, **2020**, *25*, 2571.
<https://doi.org/10.3390/molecules25112571>
18. Golcs Á.; Kovács K.; Vezse P.; Tóth T.; Huszthy P.; *J. Fluoresc.*, **2022**, *32*, 473–481.
<https://doi.org/10.1007/s10895-021-02851-9>
19. Vezse P.; Ster D.; Golcs Á.; Huszthy P.; Tóth T.; *Period. Polytech. Chem. Eng.*, **2023**, *67*, 537–546.
<https://doi.org/10.3311/PPch.22768>
20. Kisfaludi P.; Spátay S.; Krekó M.; Vezse P.; Tóth T.; Huszthy P.; Golcs Á.; *Molecules*, **2024**, *29*, 4390.
<https://doi.org/10.3390/molecules29184390>
21. Saiki S.; Sasazawa Y.; Fujimaki M.; Kamagata K.; Kaga N.; Taka H.; Li Y.; Souma S.; Hatano T.; Imamichi Y.; et al.; *Ann. Neurol.*, **2019**, *86*, 251–263.
<https://doi.org/10.1002/ana.25516>
22. Szabó T.; Hirsch E.; Tóth T.; Huszthy P.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2014**, *25*, 1443–1449.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2014.10.006>
23. Szabó-Szentjóni H.; Bagi P.; Müller J.; Balogh Gy.T.; Tóth T.; Huszthy P.; *Tetrahedron*, **2019**, *75*, 1275–1281.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.01.039>
24. Szabó T.; Petri L.; Gergely Sz.; Huszthy P.; *Arkivoc*, **2015**, *v*, 20–33.
<https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p009.075>
25. Szabó-Szentjóni H.; Majoros I.; Márton A.; Leveles I.; Vértessy B. G.; Dékány M.; Tóth T.; Huszthy P.; *Synthesis (Stuttgart)*, **2020**, *52*, 2870–2882.
<https://doi.org/10.1055/s-0040-1707854>
26. Pongrácz P.; Szentjóni H.; Tóth T.; Huszthy P.; Kollár L.; *Mol. Catal.*, **2017**, *439*, 128–133.
<https://doi.org/10.1016/j.mcat.2017.06.037>

Colorful Crown-Ether Research in a “Grey” Laboratory

The present paper reports the selected research activities on the synthesis, molecular recognition and applications of macrocycles performed in the “Grey Laboratory” of the Department of Organic Chemistry and Technology at Budapest University of Technology and Economics in the last few years.

We focused on three areas: 1.) pyridino-macrocycles, 2.) acridino- and acridono-macrocycles, 3.) macrocycles containing phosphorus.

1) We synthesized several enantiopure pyridino-18-crown-6 ether-type macrocycles, which contained electron-donating or electron-withdrawing groups at position 4 of the pyridine ring and methyl substituents at their chiral centers. We also prepared fluorescent analogues containing substituted 1,2,3-triazole units at position 4 of the pyridine ring. We studied the enantiomeric recognition of these macrocycles toward the enantiomers of the hydrogen perchlorate salts of 1-phenylethylamine (PEA), 1-(1-naphthyl) ethylamine (NEA), phenylglycine methyl ester (PGME) and phenylalanine methyl ester (PAME). We synthesized both enantiomers of pyridino-18-crown-6 ether-type macrocycles containing an anthracene fluorophore unit at position 4 of the pyridine ring and *tert*-butyl groups at their chiral centers. We also studied the enantiomeric recognition of these macrocycles toward the enantiomers of PEA, NEA, PGME and PAME. We prepared a tris(pyridino)-18-crown-6-type ligand, which was able to distinguish protonated primary, secondary and tertiary amines by the formation of complexes with different stabilities. This ability opens a door for developing separation processes of differently substituted amines.

2.) We synthesized numerous fluorescent 9-substituted-acridine derivatives, which served as valuable precursors for sensor molecules. We prepared acridino-diaza-20-crown-6 ethers as new turn-on-type fluorescent chemosensors, and it was demonstrated that these macrocycles showed excellent selectivity for zinc,

aluminum and bismuth cations. We carried out the synthesis of 9-substituted fluorescent acridino-18-crown-6 ether-type macrocycles, and demonstrated that the electron-withdrawing moieties at position 9 of the acridine ring increased the fluorescence intensities to a great extent. We synthesized both enantiomers of a highly lipophilic enantiopure crown ether containing an acridine unit and applied them for phase transport, electrochemical, UV-Vis and fluorescence spectroscopic studies using aralkylamine-type compounds as guest molecules. We prepared a diacridino-macrocyclic containing two *N*-allyl moieties in the macroring and studied its recognition ability for selected metal ions using fluorescence spectroscopy. The latter ligand had great selectivity for zinc ions and because of its allyl groups it can be immobilized to a suitable support to obtain a sensor. We also synthesized a diacridono-macrocyclic and studied the molecular recognition ability of this host molecule for selected guest molecules using UV-Vis and fluorescence spectroscopies. We successfully prepared a fluorescent bis(acridino)-crown ether by coupling two acridino-18-crown-6 ether units at position 9 of the acridine ring. We performed both computational simulations on molecular docking and regression methods on titration experiments to demonstrate the outstanding selectivity of this sensor molecule for biogenic oligoamines.

3.) The synthesis of four new enantiopure lipophilic crown ethers containing a diarylphosphinic acid unit was accomplished, and the enantioselective transport ability of these carriers for chiral amines was studied in an aqueous source phase/lipophilic organic bulk liquid membrane/aqueous receiving phase system controlled by the pH of the phases. By altering the structures of the carriers we improved the enantioselectivity of the transport. Among the macrocycles we synthesized, several contained a triarylphosphine or a secondary phosphine oxide unit. A couple of enantiopure ones were utilized as ligands for catalytic enantioselective hydroformylation of styrene. Using the best of them we obtained 52% e.e. for 2-phenylpropanal.

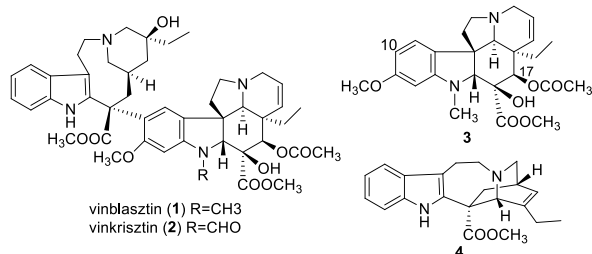
Daganatellenes hatású hibridek kutatása

HALMAI Mónika, KEGLEVICH Péter*, HAZAI László**

Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Műegyetem rkp. 3., H-1111 Budapest, Magyarország,

1. Bevezetés

A vinblasztin (1) és a vinkrisztin (2) jól ismert vegyületek a rákellenes terápiában mint klasszikus tubulin inhibitorok. Ezek a molekulák a rózsameténgből (*Catharanthus roseus*) izolált *Vinca* alkaloidok közé tartoznak, és dimer alkaloidokként két monomerből, a vindolinból (3) és a katarantinból (4) épülnek fel (1. ábra). Közülük a növényben a legnagyobb mennyiségben a vindolin (3) található.



1. ábra. A vinblasztin (1), a vinkrisztin (2), a vindolin (3) és a katarantin (4) szerkezete

Bár a kutatók igen nagy erőfeszítéseket tettek, hogy újabb és kevésbé toxikus származékokat állítsanak elő [1, 2], a fluortartalmú vinflunin, a kisebb tagszámú gyűrűt tartalmazó vinorelbin és egy savamid származék, a vindezin szintézise ellenére igazi áttörés az onkológiai terápiában ez idáig nem történt.

A kombinációs terápiát, amikor ún. koktélokot használnak, pl. vinblasztin mellett egyéb más hatékony molekulákat egy oldatban, széles körben alkalmazzák a klinikai gyakorlatban. Ezt a koncepciót váltja ki a molekuláris hibridizáció, amely mintegy három évtizeddel ezelőtt indult, és igen

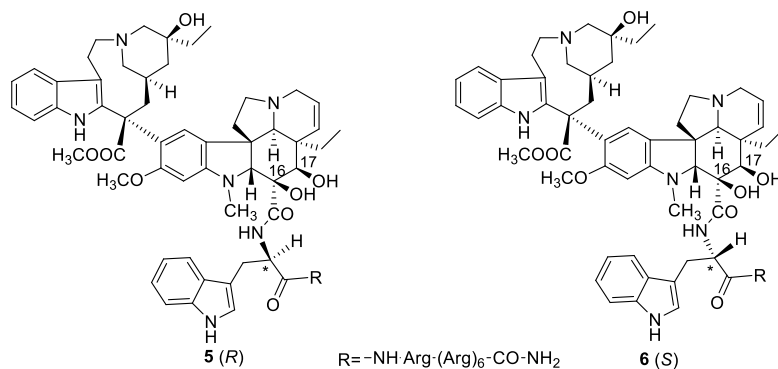
alapos összefoglaló munkák mutatják be [3, 4]. Röviden: a hibridek általános formájában két különböző farmakofór molekulát kötnek össze kovalens kötéssel egy linkernek nevezett mozgékony, illetve merev láncon keresztül vagy akár közvetlenül. A hibrid molekulák a jobb biohasznosulást, a könnyebb membránpenetrációt, a rezisztencia és a mellékhatások csökkentését segíthetik elő.

A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszékén működő Alkaloidkémiai Kutatócsoport fő kutatási területe a daganatellenes hatású hibridek szintézise, melyekben az egyik komponens természetes szerves molekula, elsősorban *Vinca* alkaloid, illetve flavonoid.

2. Eredmények

2.1. Hibridek *Vinca* alkaloidokkal

Célul tűztük ki olyan molekuláris hibridek előállítását, ahol az egyik komponens *Vinca* alkaloid, a másik pedig egy ismert és gyakran alkalmazott farmakofór. A szintézisekhez elsőként a daganatellenes hatású vinblasztint (1) és az egyik komponensét, az önmagában nem rákellenes hatású vindolint (3) választottuk. Így előállítottuk a vinblasztin triptofán aminosavval képzett hibridjét, melyet konjugáltunk az (Arg)₈ penetrációs oktapeptiddel [5]. A vinblasztint a 16-os helyzetben konjugáltuk Busshana Rao [6] módszerével triptofán-metilészterrel, miközben a 17-es helyzetű észterfunkció dezacetileződött. Az aminosav észtercsoportjának hidrolízise után a kapott karbonsav kapcsolható volt az oktapeptid lánccal, majd a keletkezett epimereket, az 5(R) és 6(S) molekulákat sikeresen elválasztottuk (2. ábra).



2. ábra. Hordozó peptidekkel konjugált vinblasztin-triptofán hibridek

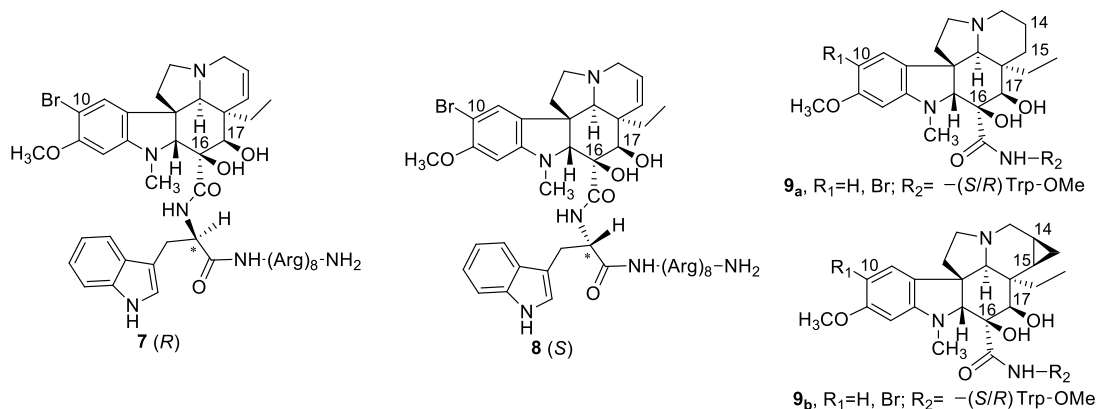
* E-mail: keglevich.peter@vbk.bme.hu,

** E-mail: hazai.laszlo@vbk.bme.hu

A kapott vegyületek antiproliferatív aktivitását HL-60 szenzitív, illetve rezisztens leukémia, valamint HeLa sejteken vizsgáltuk. Az **5** és **6** konjugátumok aktivitása (IC_{50} : 0,97-1,26 μ M) összemérhető volt a vinblasztinra jellemző értékkel (IC_{50} : 1,26 μ M), sőt rezisztens sejteken is hatékonyak voltak. Jelentős eredmény, hogy az **5** vegyület HeLa sejtek esetében is ronsolja a mitotikus orsót, ami a sejtciklus gátlását eredményezi.

A következőkben azt vizsgáltuk, hogy megmarad-e a biológiai hatás akkor is, ha az alkaloid egyik komponensét

eltávolítjuk. Ekkor a vindolint (**3**) kapcsoltuk triptofánnal az alkalmazott módszerrel [7]. Bár a **7(R)** és **8(S)** (3. ábra) esetén az antitumor hatások szignifikánsok voltak, nem érték el az előző, 2. ábrán bemutatott, vinblasztint tartalmazó vegyületekét. A leukémia HL-60 (IC_{50} : 11,5-15,1 μ M), emlőkarcinóma MDA-MB-231 (IC_{50} : 10-15,1 μ M) és az MCF-7 (IC_{50} : 5,1-6,4 μ M) sejteken a két epimer hatása csaknem azonos volt, a vastagbélrák C26 és a leukémia P388 tumor sejtvonalakon a **8(S)** epimer hatásosabbnak bizonyult.



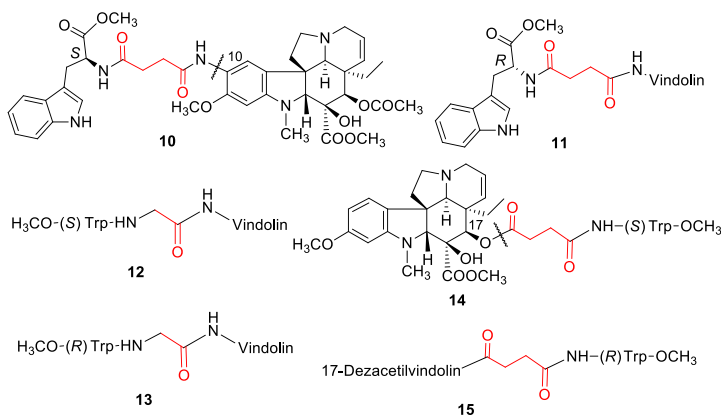
3. ábra. Vindolin-aminosav hibridek

A konjugátumok tumorelles hatását *in vivo* is vizsgáltuk, P388 és C26 tumor sejteket használva egereken szubkután beadással. A **8(S)** lényegesebben hatékonyabbnak mutatkozott a **7(R)** vegyületnél, ez utóbbi nem mutatott jelentősebb aktivitást, és érdemes megemlíteni, hogy az alkalmazott kísérleti körülmények között az **8(S)** epimer kissé, bár nem szignifikánsan aktívabbnak bizonyult a kontrol vinblasztinnál. A vastagbél tumor sejtek (C26) esetén mindkét hibrid inaktív volt.

Néhány módosított vindolin-strukturát is szintetizáltunk [8]; a 14,15-helyzetben telített származékot (**9a**) a vindolin (**3**) katalitikus hidrogénezése eredményezte, a 14,15-ciklopropano vegyületet (**9b**) pedig szintén a **3**-ból Simmons-Smith-reakcióval állítottuk elő. Közülük csak a **9a** mutatott mérsékelt aktivitást (IC_{50} : 27,5 μ M) HL-60 sejteken, ezért a

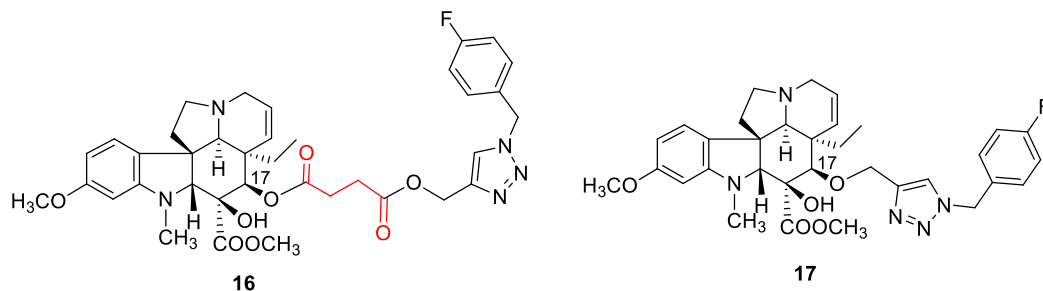
hordozó peptid konjugálására ebben az esetben nem került sor.

További vindolin-aminosav hibrideket szintetizáltunk, melyekben a két farmakofórt egy mozgékony szénláncsal, azaz linkerrel kovalensen kötöttük össze [9]. A kapcsolás a vindolin 10-es, illetve 17-es helyén történt (4. ábra). Így a 10-aminovindolint acileztük borostyánkősav-anhidriddel, és az ezt követő amidálás a megfelelő (l)- és (d)-triptofán-metilésztterrel eredményezte a **10**, illetve a **11** hibrideket. Hasonlóan a **12** és **13** vegyületeket, melyek rövidebb és merevebb linkert tartalmaznak, a 10-aminovindolin klóracetilésztterrel és a kapott 10-klóracetamido-származék megfelelő triptofán-metilésztterekkel történő reakciójával állítottuk elő.



4. ábra. Linkerrel összekötött vindolin-aminosav hibridek

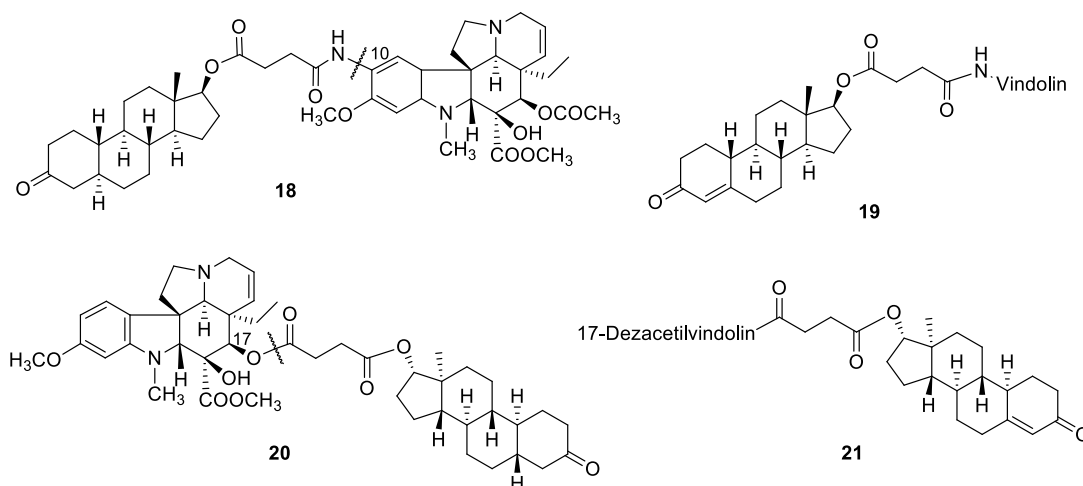
A 17-es helyen történő konjugálással is hasonló módszerekkel szintetizáltunk aminosav hibrideket, a **14** és **15** epimereket a megfelelő 17-dezacetilvindolinból kiindulva állítottuk elő. A kapott származékok antiproliferatív hatását humán nőgyógyászati daganatsejteken (HeLa, SiHa méhnyakrák sejteken, valamint MCF-7, MDA-MB-231 emlőráksejteken) vizsgáltuk. SiHa sejteken a kontrol vinblasztin rezisztensnek mutatkozott (IC_{50} : 14,42 μ M), azonban a **14** vegyület hatékonyabbnak bizonyult (IC_{50} : 6,01 μ M). A **15** hibrid valamennyi sejtvonalon mérsékelt aktivitást mutatott, a 10-es pozícióon keresztül kialakított hibrdek viszont hatástalanok voltak.



5. ábra. Vindolin-triazol hibrdek szerkezete

A hibrdek speciális csoportját képezik a szteroid hibrdek, pl. 5 α -dihidrotesztoszteronnal illetve 19-nortesztoszteronnal [10], melyeket a már ismertetett módszerekkel szintetizáltunk. A vindolint a 10-es helyzetben az aminocsoporton

keresztül, a 17-es helyzetben pedig a hidroxilcsoporton át konjugáltuk borostyánkősav-anhidridből képzett linkert alkalmazva. Így kaptuk a **18** és **19**, illetve a **20** és **21** hibrdek (6. ábra).

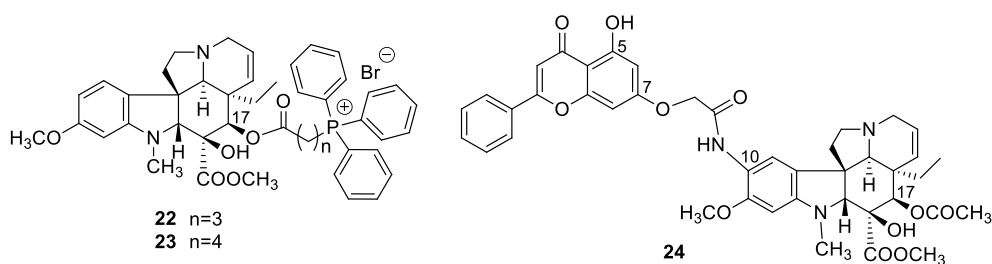


6. ábra. Vindolin-szteroid hibrdek

A legszignifikánsabb antiproliferatív hatást a **21** vegyület mutatta, különösen vastagbélrák (COLO 205) és melanóma (SK-MEL-2, SKMEL-5) esetén, a többi szteroidszármazék alacsony vagy csak mérsékelt aktivitást eredményezett

A trifenilfoszfínnal (TPP) képzett hibrdek különleges helyet foglalnak el a hibrdek területén, miután a TPP szerkezeti rész hordozóként lehetővé teszi, hogy a molekula a mitokondriumban felhalmozódjon és ott fejtse ki a daganat-

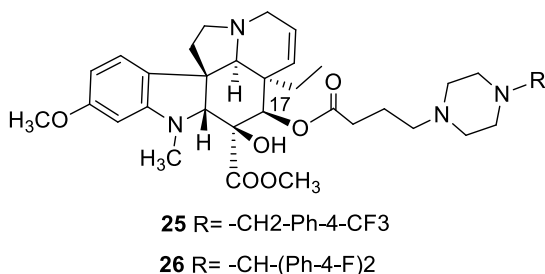
tellenes hatást. Ezért a vindolint 17-es helyzetben kapcsoltuk TPP-nal, különböző hosszúságú acil-linkereken keresztül előállítva a **22** és **23** származékokat (7. ábra). Ez utóbbi vegyületek sejtosztódásgátló hatása hasonlóan mutatkozott [11, 12]. A kiváló, 50%-os gátlást mutató GI_{50} adatok szerint a molekulák jelentős hatást értek el különféle sejtvonalakon, így melanóma, ovárium és emlőrák sejteken (GI_{50} < 0,5 μ M), ezenkívül a **22** jelentős aktivitást eredményezett HOP-92 nemkissztes tüdőrák sejteken (GI_{50} : 0,066 μ M).



7. ábra. Vindolin-hibridek trifenil-foszfinnal és krizinnel

A hibridek fontos csoportja a flavon hibridek (ld. köv. fejezet), melyek közé a flavon-alkaloidok is sorolhatók [13]. Ezt a csoportot tanulmányozva vindolint és krizint kapcsolunk a vindolin 10-es és 17-es helyzetén keresztül linkerekkel vagy azok nélkül (7. ábra). Egy esetben a krizin mindkét, 5-ös és 7-es helyzetben lévő hidroxilcsoportját is kihasználva két vindolin molekularész is beépítésre kerülhetett. Számos szintetizált származék közül azonban csak a **24** hibrid bizonyult hatékonyának [14]; a vegyületre kapott GI_{50} $<1,5 \mu\text{M}$ nemkissejtes tüdőrák (HOP-92), CNS (SNB-75), melanóma (LOX IMVI), vese (A498 és CAKI-1), prosztata (PC-3) és emlőrák sejtvonalakon (MCF7).

Igazi áttörést jelentenek ezen a területen a vindolin piperazinszármazékai [15]. Számos *N*-szubsztituált piperazint konjugáltunk a vindolin 10 és 17-es helyzetébe különféle linkereken keresztül a korábban bemutatott módszereket alkalmazva (8. ábra).



8. ábra. Vindolin-hibridek fluortartalmú piperazinszármazékokkal

A leghatékonyabb daganatellenes molekuláknak a **25** és **26** hibridek bizonyultak, melyek fluortartalmú piperazin építő-

követ tartalmaznak; a **25** leginkább MDAMB-488 emlőrák sejtvonalon (GI_{50} : $1,00 \mu\text{M}$), míg a **26** elsősorban HOP-92 nem kissejtes tüdőrák sejtvonalon (GI_{50} : $1,35 \mu\text{M}$) mutatott kiváló aktivitást. Ezen túlmenően ezek a származékok jelentős szelektivitást eredményeztek nem tumoros sejteken vizsgálva.

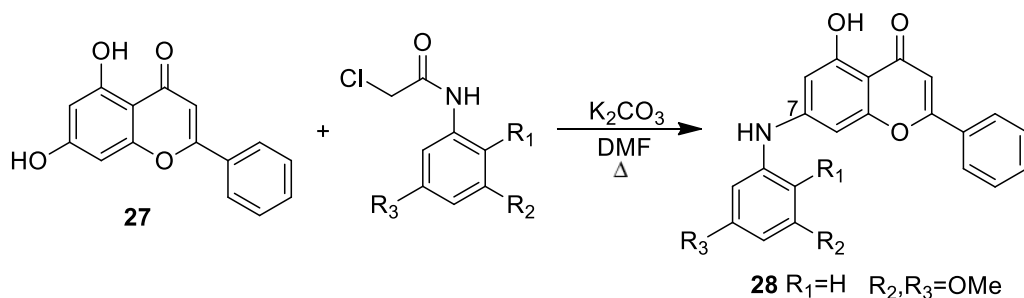
2.2. Hibridek flavonoidokkal

Kutatócsoportunk nem csak *Vinca* alkaloidokkal, hanem flavonoidokkal konjugált bioaktív hibridek szintézisét és biológiai hatását is vizsgálta. Ezen kívül törekvésünk az, hogy a *Vinca* alkaloidokkal kapott sikeres hibridek szerkezetét a flavonoidokra is kiterjesszük.

Számos flavonoidszármazék ismert, amik hibrideknek tekinthetők és fontos biológiai hatásokat mutatnak [16]. A flavonoidok közül egyik target molekulának a krizint választottuk.

Ezen a területen első eredményünk a 9. ábrán bemutatott krizin-aminoaril hibridek. A krizin (**27**) különféleképpen helyettesített *N*-klóracetilanilidekkel történő reakciója nem várt termékeket, 7-amilamino-krizineket eredményezett. A reakció mechanizmusát (ún. Smiles-átrendeződés) is felderítettük, és a számos szintetizált molekula daganatellenes hatása vizsgálatakor a **28** dimetoxiszármazék bizonyult a legaktívabbnak [17].

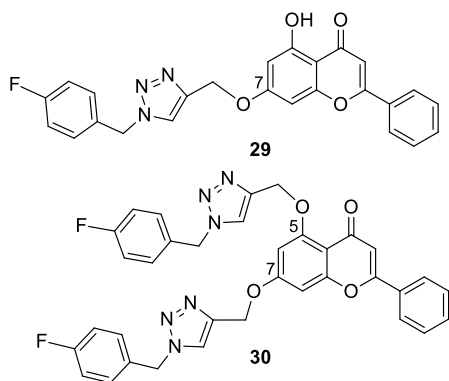
A vegyület nanomoláris gátlást mutatott: MCF7 emlőrák-sejteken GI_{50} : 30 nM, valamint CT-15 vastagbélrák sejteken GI_{50} : 60 nM értékeket kaptunk.



9. ábra. Arilaminoflavon származékok előállítása

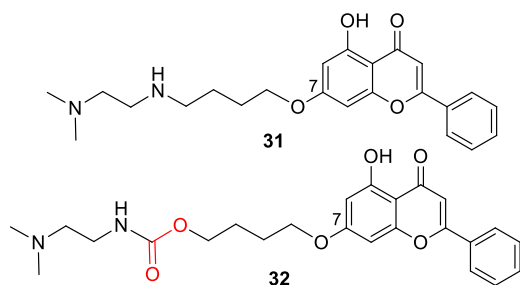
A krizint (**27**) konjugáltuk *N*-benzil-triazol-származékokkal is. Ezek közül az antiproliferatív hatást illetően a fluorhelyettesített **29** és **30** hibrid (10. ábra) bizonyult a leghatásosabbnak [18]. Érdekes, hogy a **30** már két triazol farmakofór egységet tartalmaz, itt sikerült az 5-ös helyzetű hidroxilcsoportot is reakcióba vinni.

A **29** és **30** hibridek több sejtvonalon is szignifikáns antiproliferatív hatást mutattak. A monohibrid **29** HeLa sejteken IC₅₀ 1,9 µM értéket adott, míg SiHa sejteken rezisztens volt. A **30** bisz-hibrid származék mindkét sejtvonalon hatékonyabbnak bizonyult, sőt, HeLa sejteken szubmikromólos értéket ért el (0,73 µM). HeLa esetén mindkét vegyület nagyobb aktivitásúnak bizonyult, mint a kontrol ciszplatin.



10. ábra. Krizin-triazol hibridek

A továbbiakban számos krizintartalmú hibridet szintetizáltunk, így a krizint (**27**) összekapcsoltuk tetrahidroizokinolinnal, *N,N*-dimetiletiléndiaminnal, pirrollal, az aminosavak közül triptofánnal és prolinnal, valamint aril- és hetarilaminokkal [19]. Az előállított nagyszámú vegyület többsége nem mutatott antiproliferatív hatást, azonban a **31** és **32** származékok (11. ábra) 10 µM dózisban több sejtvonalon, így melanóma, vastagbél és CNS esetén csaknem 100% gátlást eredményezett.



11. ábra. Amin oldalláncot tartalmazó krizinszármazékok

3. Összefoglalás

A vindolint és a krizint különféle típusú szintetikus, illetve természetes farmakofórral kapcsoljuk, és számos biológiai

ilag hatékony, jelentős daganatellenes hatást mutató hibrid molekulát sikerült szintetizálni. A kapcsoló komponensek szerkezete igen széles kört ölelt fel, így alkalmaztunk aminosavakat, elsősorban triptofánt, *N*-helyettesített benzil-triazolokat, szteroidokat, trifenil-foszfint, nyílt láncú és gyűrűs aminokat, valamint helyettesített aril- és hetarilaminokat. A vegyületek közül több a vinblasztinnal összehasonlítható aktivitást mutatott, sőt néhány hatékonyabbnak bizonyult. Néhány esetben sikerült kimutatni, hogy az antiproliferatív hatású molekulák szelektíven nem toxikusak a nem-tumoros, egészséges sejteken vizsgálva. A biológiai vizsgálatok során együttműködtünk több intézménnyel, így NCI-vel (USA), valamint az ELTE, az SZTE és a PTE egyetemekkel.

Hivatkozások

- Keglevich, P.; Hazai, L.; Kalaus, G.; Szántay, C. *Molecules* **2012**, *17*, 5893-5914.
<https://doi.org/10.3390/molecules17055893>
- Mayer, S.; Keglevich, P.; Keglevich, A.; Hazai, L. *Curr. Org. Chem.* **2021**, *25*, 1224-1234.
<https://doi.org/10.2174/1385272825666210216123256>
- Nepali, K.; Sharma, S.; Sharma, M.; Bedi, P. M. S.; Dhar, K. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 422-487.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.018>
- Choudhary, S.; Singh, P. K.; Verma, H.; Singh, H.; Silkari, O. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *151*, 62-97.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.057>
- Bánóczy, Z.; Gorka-Kereskényi, Á.; Reményi, J.; Orbán, E.; Hazai, L.; Tókési, N.; Oláh, J.; Ovádi, J.; Béni, Z.; Háda, V.; Szántay, Cs. Jr.; Hudecz, F.; Kalaus, Gy.; Szántay, Cs. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1948-1955.
<https://doi.org/10.1021/bc100028z>
- Bhushana Rao, K. S. P.; Collard, M. P. M.; Dejonghe, J. P. C.; Atassi, G.; Hannart, J.A.; Trouet, A. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1079-1088.
<https://doi.org/10.1021/jm00146a017>
- Bánóczy, Z.; Keglevich, A.; Szabó, I.; Randelović, I.; Hegedüs, Z.; Regenbach, F. L.; Keglevich, P.; Lengyel, Zs.; Gorka-Kereskényi, Á.; Dubrovay, Zs.; Háda, V.; Szigetvári, Á.; Szántay, Cs. Jr.; Hazai, L.; Tóvári, J.; Hudecz, F. *J. Pept. Sci.* **2018**, *24*, e3118.
<https://doi.org/10.1002/psc.3118>
- Keglevich, P.; Hazai, L.; Gorka-Kereskényi, Á.; Péter, L.; Gyenese, J.; Lengyel, Zs.; Dubrovay, Zs.; Kalaus, Gy.; Dékány, M.; Orbán, E.; Szabó, I.; Bánóczy, B.; Szántay, Sz. *Heterocycles* **2013**, *87*, 2299-2317.
<https://doi.org/10.3987/COM-13-12827>
- Keglevich, A.; Dányi, L.; Rieder, A.; Horváth, D.; Szigetvári, Á.; Dékány, M.; Szántay, Cs. Jr.; Dhahir Latif, A.; Hunyadi, A.; Zupkó; Keglevich, P.; Hazai, L. *Molecules* **2020**, *25*, 1010-1028.
<https://doi.org/10.3390/molecules25041010>
- Keglevich, A.; Zsörös, V.; Keglevich, P.; Szigetvári, Á.; Dékány, M.; Szántay, Cs.; Mernyák, E.; Wölfling, J.; Hazai, L. *Curr. Org. Chem.* **2019**, *23*, 959-967.
<https://doi.org/10.2174/1385272823666190614113218>
- Keglevich, A.; Szigetvári, Á.; Dékány, M.; Szántay, C. Jr.; Keglevich, P.; Hazai, L. *Phosphorus, Sulfur, Silicon, Relat. Elem.* **2019**, *194*, 606-609.
<https://doi.org/10.1080/10426507.2018.1550780>
- Keglevich, A.; Szigetvári, Á.; Dékány, M.; Szántay, Cs. Jr.; Keglevich, P.; Hazai, L. *Curr. Org. Chem.* **2019**, *23*, 852-858.
<https://doi.org/10.2174/1385272823666190524083236>

13. Mayer, S.; Keglevich, A.; Sepsey Für, C.; Bölskei, H.; Ilkei, V.; Keglevich, P.; Hazai, L. *Chemistry* **2020**, *2*, 714–726. <https://doi.org/10.3390/chemistry2030046>
14. Mayer, S.; Nagy, N.; Keglevich, P.; Keglevich, A.; Sepsey Für, Cs.; Bölskei, H.; Ilkei, V.; Keglevich, P.; Hazai, L. *Chem. Biodivers.* **2021**, *19*, :e202100725. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100725>
15. Zsoldos, B.; Nagy, N.; Donkó-Tóth, V.; Keglevich, P.; Weber, M.; Dékány, M.; Nehr-Majoros, A.; Szőke, É.; Helyes, Zs.; Hazai, L. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 7929. <https://doi.org/10.3390/ijms25147929>
16. Hazai, L.; Zsoldos, Zs.; Halmai, M.; Keglevich, P. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 1039. <https://doi.org/10.3390/app14031039>
17. Mayer, Sz.; Keglevich, K.; Ábrányi-Balogh, P.; Szigetvári, Á.; Dékány, M.; Szántay, Cs. Jr.; Hazai, L. *Molecules* **2020**, *25*, 888; <https://doi.org/10.3390/molecules25040888>
18. Németh-Rieder, A.; Keglevich, P.; Hunyadi, A.; Dhahir Latif, A.; Zupkó, I.; Hazai, L. *Molecules* **2023**, *28*, 626. <https://doi.org/10.3390/molecules28020626>
19. Mayer, Sz.; Herr, D. M.; Nagy, N.; Donkó-Tóth, V.; Keglevich, P.; Weber, M.; Dékány, M.; Hazai, L. *Period. Polytech. Chem. Engin.* **2023**, *67*, 316–336. <https://doi.org/10.3311/PPch.21919>

Research work on hybrids with antitumor activities

Vindoline and chrysin were coupled with various types of synthetic and natural pharmacophores, and several biologically effective hybrid molecules with significant antitumor activity were synthesized. The structure of the coupling components covered a very wide range, so in our research group, amino acids, primarily tryptophan, *N*-substituted benzyltriazaoles, steroids, triphenylphosphine, open-chain and cyclic amines, and substituted aryl and hetarylaminines were used. Several of the compounds showed activity comparable to vinblastine, and some even proved to be more effective.

In some cases, it was revealed that the molecules with antiproliferative effects were selectively non-toxic when tested on non-tumorous, healthy cells. During the biological studies, we collaborated with several institutions, such as the NCI (USA), the Department of Organic Chemistry, Eötvös L. University, Budapest, the Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, Interdisciplinary Excellence Centre, Interdisciplinary Centre for Natural Products, University of Szeged, and the HUN-REN PTE Chronic Pain Research Group, Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, Medical School & Centre for Neuroscience, University of Pécs.

Új foszfonát-származékok szintézise

SZALAI Zsuzsanna^{a,*}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Széleskörű biológiai aktivitásuk miatt a különböző foszfonát-típusú vegyületek kutatása „örökzöldnek” mondható. A vegyületek farmakológiai hatása elsősorban a molekulában található P-C egységnek tudható be.¹

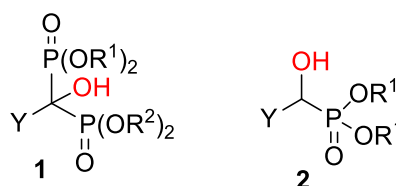
Az α -szubsztituált hidroxi-metilénbiszfoszfonát (1) származékokat gyakran alkalmazzák csonttritkulás és más betegségek kezelésében, például daganatok gyógyításában.²⁻⁵ Ismeretes, hogy a két foszfor funkció képes komplexet képezni a kalcium ionokkal, így azok a csontokban mobilizálhatók. A kalcium fontos szerepet játszik, ugyanis biztosítja a csontszövet szilárdságát, amely életünk során folyamatosan megújul. Az úgy nevezett remodeling során a csontbontó oszteoklasztok csontreszorpciót indítanak, a csontépítő oszteoblasztok pedig az új mátrix felépítéséért felelnek. Ennek a két folyamatnak egyensúlyban kell maradnia; ha felborul, akkor betegség alakulhat ki. Például a fokozott csontfelszívódás csonttritkuláshoz vezet.⁶

A hidroxi-biszfoszfonát (1) vegyületcsalád néhány tagját gyógyszerként is forgalomba hozták, amelyek csupán oldalláncukban térnek el egymástól, ami a biológiai hatásukért is felelős. Az újabb generációs vegyületek csontfelszívódást gátló hatása nagyságrendekkel nagyobb, mint a régebbieké, ezért terápiás dózisuk meglehetősen alacsony. Oldalláncuktól függően a hidroxi-biszfoszfonátok három csoportba sorolhatók: első, második és harmadik generációs vegyületek. Az első csoportba tartozó biszfoszfonátok, mint például az etidronát, a klodronát és a tiludronsav, nem tartalmaznak nitrogénatomot az oldalláncukban. A második generációs biszfoszfonátok, amelyek N-tartalmú alifás szubsztituenset tartalmaznak, az 1980-as években kerültek forgalomba. Tipikus példák a pamidronát, az alendronát és az ibandronát. A harmadik generációs vegyületek, például a zoledronsav és a risedronát oldalláncukban N-heterociklusos egységet tartalmaznak.⁵

Az α -hidroxifoszfonátok (2) kutatása szintén kulcsfontosságú feladat, hiszen enzim-inhibitor^{7,8} tulajdonságuk révén különböző biológiai hatással rendelkezhetnek.⁹⁻¹³

A hidroxi- és biszfoszfonátok általános képlete az 1. ábrán látható.

Doktori munkám során kulcsfontosságú feladat olyan új hidroxi- és biszfoszfonát származékok lehetőség szerint hatékony előállítása, melyek potenciálisan biológiai aktivitással rendelkezhetnek.



Y = H, alkil, aril, heteroaril, alkoxi, ariloxi, halogén, stb.
R¹, R² = H, alkil, aril

1. Ábra. α -Szubsztituált hidroxi-metilénbiszfoszfonátok (1) és α -hidroxifoszfonátok (2) általános képlete

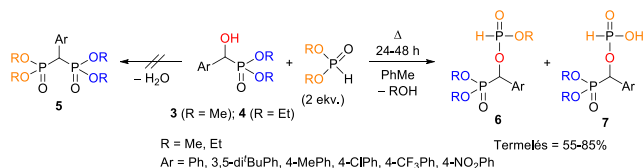
2. Saját eredmények

2.1. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok és dialkil-foszfitok váratlan reakciója

Csoportunkban nagy hagyománya van az α -hidroxi-benzilfoszfonátok (3 és 4) szintézisének, illetve különböző reakcióinak vizsgálatának. Ezt a vonalat is kiegészítve, új megközelítésként szerettük volna a hidroxifoszfonátokat (3 és 4) dialkil-foszfitokkal reagáltatva biszfoszfonsav-észtereket (5) előállítani.

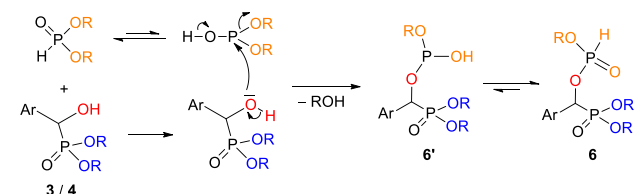
Dietil-, illetve dimetil α -hidroxi-benzilfoszfonátot (3 és 4) két ekvivalens dietil- és dimetil-foszfittal 24 órán keresztül toluolban refluxáltattunk a biszfoszfonát (5) előállítása céljából. Azonban azt tapasztaltuk, hogy nem a kívánt vegyület (5), hanem annak átrendeződött és részben hasadt származéka keletkezett (6 és 7) (2. ábra). A kondenzációs reakciót további elektronszívó és elektronszolgáltató csoportokkal változtatva szubsztituált esetekre is kiterjesztettük. Megállapítottuk, hogy a fenilgyűrűn para helyzetben lévő elektronszolgáltató metilcsoport csökkenti, az elektronszívó 4-Cl, 4-CF₃ és 4-NO₂ szubsztituensek valamelyest növelik az α -hidroxifoszfonátok reaktivitását, így kis mértékben csökkenthető a reakcióidő a szubsztituálatlan esethez képest. A 4-Me szubsztituens esetében 48 óra forralásra volt szükség a teljes konverzió eléréséhez.¹⁴

* Szalai Zsuzsanna. Tel.: +36 1 463 5890; e-mail: szalai.zsuzsanna@edu.bme.hu



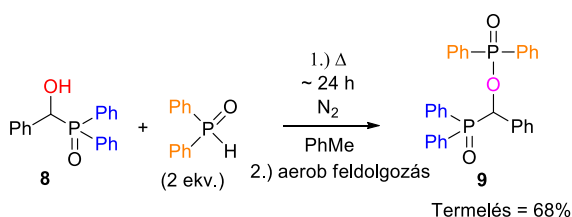
2. **Ábra.** α -Hidroxi-benzilfoszfonátok (3 és 4) dialkil-foszfitokkal való reakciója

Az új reakció mechanizmusára is javaslatot tettünk. Megközelítésünk szerint az α -hidroxifoszfonát (3 és 4) oxigénatomja megtámadja a P-reagens ($>P(O)H$) háromértékű tautomer formájának ($>POH$) foszforatomját. Ezt egy alkoholmolekula távozása kíséri, amikor is az α -foszforiloxi-benzilfoszfonát (6) tautomer formája (6') képződik (3. ábra). A dealkilezett származék (7) a reakció körülményei között (110 °C) hidrolizissal keletkezhet a reakcióelegyen elkerülhetetlenül jelenlévő víznyomok hatására.¹⁴



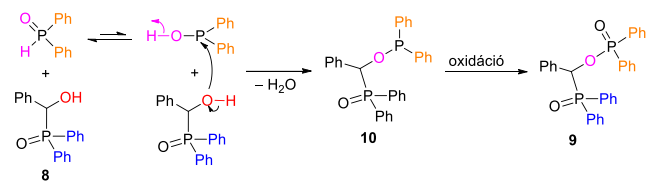
3. **Ábra.** α -Hidroxi-benzilfoszfonátok (3 és 4) dialkil-foszfitokkal történő kondenzációs reakciójának mechanizmusa

Ezután 8 α -hidroxibenzilfoszfin-oxidot difenilfoszfin-oxiddal reagáltattuk az előzőekhez hasonló körülmények között (24 h /110 °C, toluol oldószer), amikor is az α -hidroxibenzilfoszfin-oxid foszfinoilezett származékához (9) jutottunk. A reagens oxidációjának elkerülése érdekében azonban inert atmoszférát biztosítottunk (4. ábra).¹⁴



4. **Ábra.** Difenil- α -hidroxibenzilfoszfin-oxid (8) és difenilfoszfin-oxid reakciója

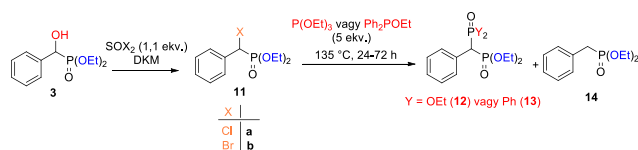
Ez esetben is javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára vonatkozóan. Első lépésként az α -hidroxifoszfin-oxid (8) hidroxicsoportjának oxigénatomja támadást indít a $Ph_2P(O)H$ reagens háromértékű tautomerjének foszforatomjára. Ezt vízkilépés kíséri, amely a foszfinészter-foszfin-oxid (10) képződéséhez vezet. A végső termék (9) a feldolgozás során oxidáció hatására keletkezik (5. ábra).¹⁴



5. **Ábra.** Difenil- α -hidroxibenzilfoszfin-oxid (8) és difenilfoszfin-oxid reakciójának mechanizmusa

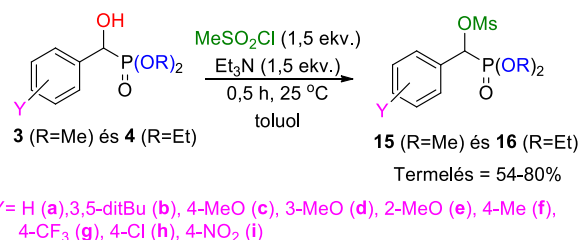
2.2. α -Hidroxi-benzilfoszfonátok módosítása, majd biszfoszfonáttá alakítása

Biszfoszfonát típusú vegyületek előállítására -további lehetőségként- jobb kilépő csoporttal rendelkező intermedierek szintézisét céloztuk meg α -hidroxibenzilfoszfonátokból (3 és 4) kiindulva. Először α -klór- és bróm-benzilfoszfonátokat (11) állítottunk elő csoportelőzmény alapján tionil-klorid és tionil-bromid felhasználásával.¹⁵ Az α -halogenofoszfonátokból (11) ezután dialkil-foszfitokkal megvalósított reakcióban szerettük volna előállítani a megfelelő biszfoszonsav észtereket, viszont semmilyen alkalmazott körülmény között nem tapasztaltuk a kívánt termék képződését. Trietil-foszfit, illetve etil-difenilfoszfinittel Arbuzov-reakcióban csekély konverzióval, jelentős mennyiségű dehalogénezett melléktermék (14) képződése mellett azonban a megfelelő biszfoszfonát típusú (12 vagy 13) vegyület keletkezett (6. ábra).^{16, 17}



6. **Ábra.** α -Halogeno-benzilfoszfonátok Michaelis-Arbuzov-reakciója trietil-foszfit, illetve etil-difenilfoszfinittel

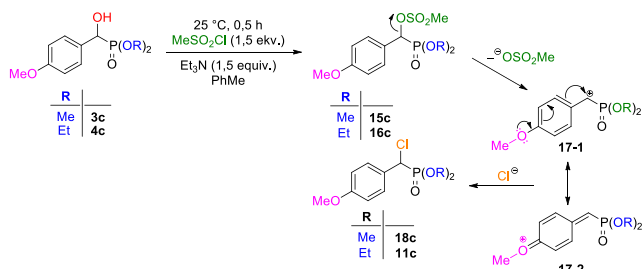
Ezután a hidroxifoszfonátokat (3 és 4) a megfelelő metil-származékok (15-17) előállítása céljából 1,5 ekvivalens metánszulfonil-kloriddal reagáltattuk, 1,5 ekvivalens trietil-amin jelenlétében 25 °C-on toluol oldószerben (7. ábra).^{16,17}



7. **Ábra.** α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (15 és 16) előállítása

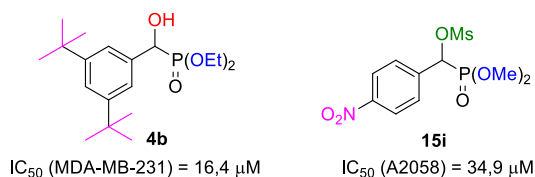
Meglepő módon a 4-metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (3c és 4c) esetében a reakció a megfelelő α -klór-benzilfoszfonátokhoz (11c és 18c) vezetett. Feltételeztük, hogy a metiloxi-származékok (15c és 16c) olyan köztitermékek, amelyek az $Et_3N \cdot HCl$ -sóból származó klorid-anionnal reagálva SN_1 szubsztitúciós reakcióban klór-foszfonátokat

(11c és 18c) képeznek. A MeSO_3^- anion távozása egy kationos intermedierhez vezethet, amely két rezonáns formában (17-1 és 17-2) létezhet, amelyek közül a 17-2 kinoid szerkezetű, ami stabilizációt jelent (8. ábra). A 2-metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (3e és 4e) metánszulfonil-kloriddal történő reakciója szintén a megfelelő α -klórfoszfonátokhoz vezetett.¹⁶



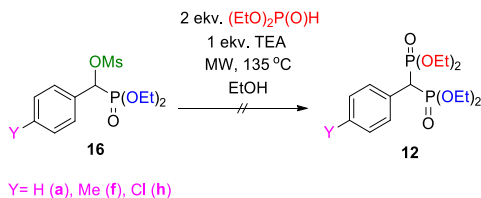
8. Ábra. 4-Metoxi- α -hidroxibenzilfoszfonátok (3c és 4c) reakciója metánszulfonil-kloriddal

Az új hidroxibenzil- (3 és 4) és meziloxibenzilfoszfonátokat (15 és 16) citotoxicitás vizsgálatoknak vetettük alá kétféle tumoros sejtvonalon (humán emlő adenokarcinóma (MDA-MB-231) és melanóma (A2058)). A vizsgált sejtkultúrákon a terc-butil-csoportot tartalmazó hidroxifoszfonát (4b), illetve a 4-nitro-szubsztituált meziloxi-származék (15i) mutatkozott a leghatékonyabbnak (9. ábra).¹⁶



9. Ábra. A citotoxicitás vizsgálatokban legjobb hatást mutató hidroxibenzil- (4b) és meziloxibenzilfoszfonátok (15i)

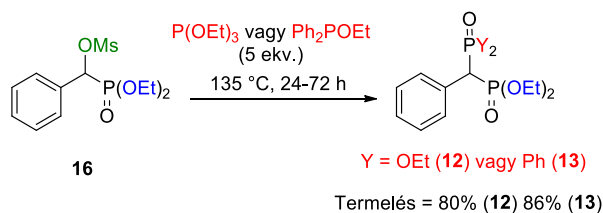
Néhány előállított metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátból (16a, 16f és 16h) először dietil-foszfittal történő kondenzációs reakcióban kíséreltük meg a metilénbiszfoszfonátok (12) előállítását, viszont a kívánt termék képződését nem tapasztaltuk (10. ábra).¹⁶



Y = H (a), Me (f), Cl (h)

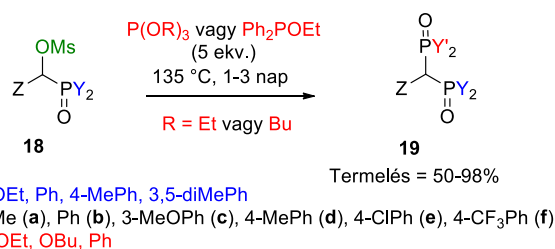
10. Ábra. α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (16a, 16f, és 16h) dietil-foszfittal megkísérelt reakciója

A mezilátokat ezután trietil-foszfittal és etil-difenilfoszfinittel Arbuzov-reakcióba vittük. Meglepetésre ebben az esetben a biszfoszfonát típusú vegyület (12 vagy 13) keletkezett teljes konverzióval (11. ábra).^{16,17} Legjobb tudomásunk szerint a szakirodalom nem tesz említést Michaelis-Arbuzov reakciókról, amelyekben a klór- és brómalkánok helyett meziloxi-származékot alkalmaztak volna.



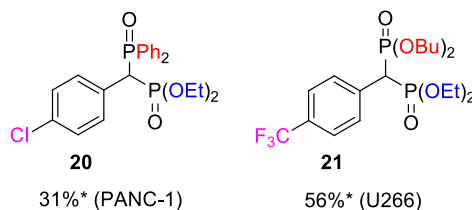
11. Ábra. α -Metánszulfoniloxi-benzilfoszfonátok (16) Michaelis-Arbuzov-reakciója trietil-foszfittal és etil-difenilfoszfinittel

A módszert kiterjesztve változtatva szubsztituált biszfoszfonátokat, biszfoszfin-oxidokat és foszfonát-foszfin-oxidokat (19) szintetizáltunk és jellemeztünk (12. ábra).^{17,18}



12. Ábra. Biszfoszfonátok, biszfoszfin-oxidok és foszfonát-foszfin-oxidok (19) előállítása Arbuzov-reakcióval

A kipreparált származékok antiproliferatív hatásvizsgálatát humán hasnyálmirigy adenokarcinóma (PANC-1) és mielóma multiplex (U266) sejtvonalakon végeztük el 100 μM koncentrációban. Előbbi esetben a Cl-atomot tartalmazó foszfonát-foszfin-oxid (20), utóbbi sejtvonalon a CF_3 -csoportot tartalmazó biszfoszfonát (21) mutatkozott a leghatékonyabbnak, a sejtek túlélőképessége ezekben az esetekben 31%, illetve 56%-ra csökkent (13. ábra).¹⁷



* Az adott sejt túlélőképessége 100 μM koncentrációban.

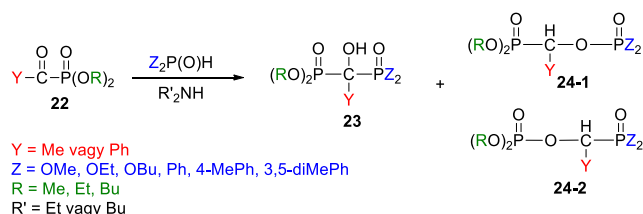
13. Ábra. Az *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálatokban legjobb hatást mutató származékok

2.3. 2.3. Hidroximetilénbiszfoszfonátok szintézise α -oxofoszfonátokból Pudovik-reakcióval

α -Hidroximetilénbiszfoszfonát típusú vegyületeket is szeretnénk volna előállítani α -oxofoszfonátok és különböző P-reagensok Pudovik-reakciójával.^{19,20}

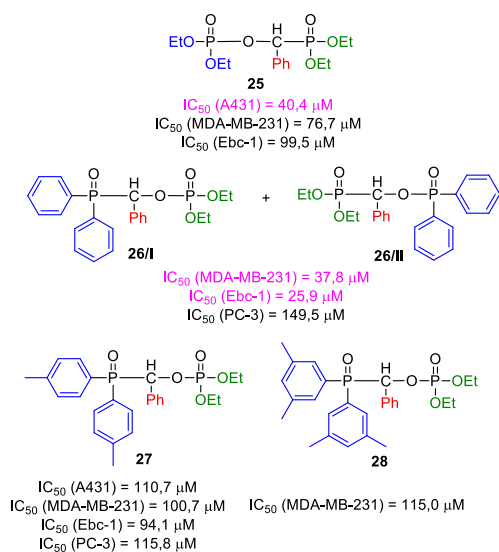
Acetil-, valamint benzoil-klorid trimetil-, trietil- és tributil-foszfittal történő Arbuzov-reakciójával α -oxofoszfonátokat (22) képeztünk, majd azokat dialkil-foszfitokkal és diarilfoszfin-oxidokkal különböző körülmények (hőmérséklet,

oldószer és katalizátor molaránya) között szekunder amin katalizátorok jelenlétében reagáltattuk, mely során adduktok (**23**) és átrendeződött származékok (**24**) keletkeztek (14. ábra). A kétféle termék (**23** addukt és **24** átrendeződött species) képződésére optimalizált körülményeket a katalizátor mennyiségének és a hőmérséklet változtatásával határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy az átrendeződést döntően az Y szubsztituens, valamint a szekunder amin mennyisége befolyásolja. Metilcsoport esetén 5% dietil-amin jelenlétében végezve a reakciókat a biszfoszfónát (**23**) képződése volt a meghatározó, de 20% katalizátort alkalmazva már az átrendeződött species (**24**) is megjelent a termékelegyen. 40% Amint adva a reakcióelegyhez teljes mértékű átrendeződés kísérte a reakciókat. Amennyiben a központi szénatomon fenilcsoport foglalt helyet, az adduktok (**23**) csak intermedierek voltak, melyek állásra, katalizátor jelenléte nélkül is átrendeződtek. A hőmérséklet, az oldószer, az amin fajtája, valamint a Z szubsztituensek kevésbé voltak hatással a reakciók kimenetelére.^{19,20}



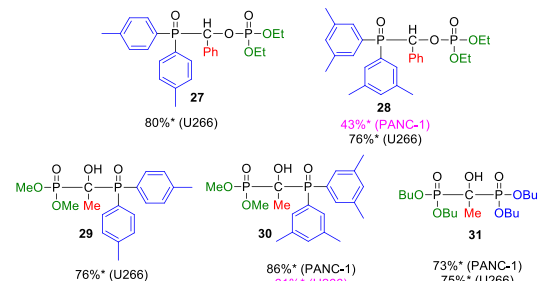
14. Ábra. Hidroxi-metilénbiszfoszfónátok (**23**) és átrendeződött származékaik (**24**) szintézise α -oxofoszfónátokból

A kétféle termék képződésére megfelelő (optimalizált) körülményeket alkalmazva egy közel húsz tagú vegyülettárat szintetizáltunk, amely tagjait négy különböző tumoros sejtvonalon (humán emlő adenokarcinóma (MDA-MB-231), prosztatata kissejtes karcinóma (PC-3), tüdő laphámsejtes karcinóma (Ebc-1), valamint epidermoid karcinóma (A431)) citosztázis vizsgálatoknak vetettük alá. Ezekon a sejtkultúrákon az aromás egységeket tartalmazó átrendeződött származékok (**25-28**) mutatkoztak a leghatásosabbnak (15. ábra).²⁰



15. Ábra. A citosztázis vizsgálatokban legjobb hatást elérő vegyületek

Vizsgáltuk a vegyületek antiproliferatív hatását is humán hasnyálmirigy adenokarcinóma (PANC-1) és mielóma multiplex (U266) sejtvonalakon. A 16. ábrán látható vegyületek (**27-31**) esetében sikerült a sejtek túlélőképességét 61-80%-ra csökkenteni.¹⁷



* Az adott sejt túlélőképessége 100 μ M koncentrációban.

16. Ábra. Az *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálatokban legjobban teljesítő származékok

Köszönetnyilvánítás

A publikáció, illetve az annak keretében ismertett tudományos eredmény a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítvány (székhely: 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.) támogatásával, „Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj” keretében készült. A Doktoranduszi Kiválósági Ösztöndíj Program (DKÖP) által támogatott projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott, valamint a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem közös támogatásával, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatallal kötött támogatási szerződés alapján valósult meg.

Hivatkozások

- Fields, S. C. *Tetrahedron* **1999**, 55, 12237–12273. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(99\)00701-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(99)00701-2)
- Russell, R. G. G. *Bone* **2011**, 49, 2–19. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.04.022>
- Russell, R. G. G. *Pediatrics* **2007**, 119, 150–162. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-2023H>
- Massey, A. S.; Pentlavalli, S.; Cunningham, R.; McCrudden, C. M.; McErlean, E. M.; Redpath, P.; Ali, A. A.; Annett, S.; McBride, J. W.; McCaffrey, J.; Robson, T.; Migaud, M. E.; McCarthy, H. O. *Mol. Pharm.* **2016**, 13, 1217–1228. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00670>
- Hudson, H. R.; Wardle, N. J.; Blight, S. W. A.; Greiner, I.; Grün, A.; Keglevich, Gy. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, 12, 313–325. <https://doi.org/10.2174/138955712799829285>
- Gyires, K.; Fürst, Z. *A farmakológia alapjai*; Medicina kiadó **2011**.
- Frechette, R. F.; Ackerman, C.; Beers, S.; Look R.; Moore, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2169–2172. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(97\)00390-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(97)00390-9)
- Forlani, G.; Occhipinti, A.; Berlicki, Ł.; Dziedziola, G.; Wiecezorek, A.; Kafarski, P. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3193–3199. <https://doi.org/10.1021/jf800029t>

9. Kategaonkar, A. H.; Pokalwar, R. U.; Sonar, S. S.; Gawali, V. U.; Shingatem, B. B.; Shingare, M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1128–1132.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.013>
10. Reddy, G. S.; Sundar, C. S.; Prasad, S. S.; Dadapeer, E. D.; Raju, C. N.; Reddy, C. S. *Der Pharma Chemica* **2012**, *4*, 2208–2213.
11. Sampath, S.; Raju, C. N.; Rao, C. V. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2016**, *191*, 95–99.
<https://doi.org/10.1080/10426507.2015.1032412>
12. Kalla, R. M. N.; Lee, H. R.; Cao, J.; Yoo, J. W.; Kim, I. *New J. Chem.* **2015**, *39*, 3916–3922.
<https://doi.org/10.1039/C5NJ00312A>
13. Varga, P. R.; Belovics A.; Bagi P.; Tóth, Sz.; Szabó, R.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2022**, *27*, 2067.
<https://doi.org/10.3390/molecules27072067>
14. Szalai, Zs.; Ábrányi-Balogh, P.; Keglevich, Gy. *J. Org. Chem.* **2025**, *90*, 439–447.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.4c02355>
15. Grün, A.; Greiner, I.; Keglevich, Gy. *Current Org. Chem.* **2019**, *23*, 968–973.
<https://doi.org/10.2174/1385272823666190611103102>
16. Szalai, Zs.; Debrei, M.; Ábrányi-Balogh, P.; Bösze, Sz.; Oláhné Szabó, R.; Drahos, L.; Keglevich Gy. *ACS Omega* **2024**, *9*, 31043–31055.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c04382>
17. Szalai, Zs.; Bednárík, J.; Tóth, B. Sz.; Takács, A.; Tekula, Sz.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Pharmaceuticals* **2025**, *18*, 91.
<https://doi.org/10.3390/ph18010091>
18. Szalai, Zs.; Kis, A. S.; Takács, A.; Köhidai, L.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2025**, *30*, 428.
<https://doi.org/10.3390/molecules30020428>
19. Szalai, Zs.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2021**, *26*, 7575.
<https://doi.org/10.3390/molecules26247575>
20. Szalai, Zs.; Tóth, B.; Oláhné Szabó, R.; Bösze, Sz.; Karaghiosoff, K.; Czugler, M.; Drahos, L.; Keglevich, Gy. *Molecules* **2023**, *28*, 6037.
<https://doi.org/10.3390/molecules28166037>

The synthesis of new phosphonate derivatives

The biological activity and pharmacological applications of phosphonates are key topics, particularly in the treatment of osteoporosis and cancer diseases. In my PhD research, we focused on the synthesis of new P-compounds and on the evaluation of their biological effects.

Initially, we aimed to synthesize novel bisphosphonate derivatives through the condensation reaction of α -hydroxyphosphonates and dialkyl phosphites. However, our results indicated that instead of the expected compound, a rearranged and partially dealkylated derivative were formed. Therefore, we attempted similar transformations using α -halogenophosphonates in reactions with dialkyl phosphites, but the desired compound was not obtained.

Subsequently, we subjected α -chloro- and α -bromophosphonates to the Michaelis-Arbuzov reaction with trialkyl phosphites and

ethyl diphenylphosphinite. This approach resulted in low conversions and significant amounts of the dehalogenated byproducts alongside the bisphosphonate. In order to create a better leaving group, we synthesized α -mesyloxy-benzylphosphonates, which successfully yielded the target compounds by the Arbuzov reaction.

Finally, we synthesized hydroxy group containing bisphosphonate-type derivatives from α -oxophosphonates through the Pudovik reaction. Notably, in this case, the formation of the adduct was accompanied by a rearrangement; however, with a fine-tuning, we were able to selectively obtain the two types of products.

The cytotoxicity and antiproliferative effects of all synthesized compounds were also evaluated, showing promising results.

Régi polimerek ígéretes új alkalmazásai – Természetes polimerekkel végzett anyagtudományi kutatások

CSISZÁR Emília^{a,*} és FEKETE Erika^{a,b,**}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, Műegyetem rkp. 3. 1111 Budapest, Magyarország

^bHUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Anyag és Környezetkémiai Intézet, Magyar tudósok körútja 2. 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A környezetszennyezés mérséklése és a fenntartható fejlődés előmozdítása szükségessé teszi a megújuló forrásból származó és/vagy lebomló biopolimerekből készült műanyag termékek felhasználását. A biopolimerek jelentős csoportját képezik a természetes polimerek, amelyek a bőségesen rendelkezésre álló és megújuló növényi és állati biomasszából nyerhetők ki. Legfontosabb képviselői a cellulóz és a keményítő, továbbá a kitin, az alginát és a lignin. Ipari felhasználásuk nagy múltra tekint vissza és jelentőségük elsősorban textil- és papíripari, továbbá élelmiszeripari alkalmazásokhoz kapcsolódik. Az utóbbi időben fokozatosan nő a szerepük az anyagtudományi kutatásokban, mivel felhasználásukkal új és kiváló tulajdonságú, biokompatibilis, biológiailag lebomló filmek és gélek állíthatók elő, amelyek alternatívát jelentenek például a csomagolástechnikában, a mezőgazdaságban, a szennyvíztisztításban és az egészségügyben való rövidtávú alkalmazásokra. Emellett jelentős figyelem összpontosul a természetes polimer-alapú nanoanyagokra (pl. nanocellulóz, nanokeményítő), melyekben egyedülálló módon ötvöződnék a természetes polimerek tulajdonságai a nanoméretű anyagok különleges jellegzetességeivel¹.

Az elmúlt évtizedben a felsorolt természetes polimerekből, valamint azok kombinált, továbbá nanocellulózzal erősített rendszereiből különböző termékeket, többek között vékony filmeket és géleket állítottunk elő azzal a céllal, hogy jellemezzük tulajdonságaikat és felderítsük speciális alkalmazásaikat a csomagolástechnikában és a szennyvíztisztításban. Jelen közleményben a természetes polimerekkel és nanoanyagaikkal végzett anyagtudományi kutatásaink legfontosabb eredményeit mutatjuk be.

2. Természetes polimerek

A biológiailag lebomló és megújuló természetes polimerek kiemelten fontos szerepet játszanak a fenntarthatósági törekvések előmozdításában és erősítésében, az ökológiai lábnyom csökkentésében és a fosszilis energiahordozóktól való függőség mérséklésében. A növényi biomassa legfontosabb komponense a cellulóz, amely a Földön a legnagyobb

mennyiségben rendelkezésre álló megújuló szerves anyag. A fás növények anyagának 40-50%-a, a hancsrostok (len, kender) 60-85%-a és a pamut több mint 90%-a cellulóz. Kémiai szerkezetét tekintve β -D-glükopiranoz egységekből felépülő lineáris poliszacharid. A cellulóz molekulák intra- és intermolekuláris hidrogén-kötések kialakulása révén fibrillás szerkezetet hoznak létre, melyben a makromolekulák irányultsága parallel. A nagy tengelyirányú merevséggel rendelkező fibrillák hosszútávú szerveződése kristályos szerkezetet eredményez; a kristályosság nem teljes, cellulózforrástól függően 50-90%. Kémiai alapanyagként kb. 150 éve használják a cellulózt, empirikus felhasználásának bizonyítékai pedig több ezer évre nyúlnak vissza.

Jelenleg a cellulózkémiai kutatások főként a *nanocellulózokra* koncentrálnak, melyeknek legalább egy dimenziója a nanométeres tartományban van². A nanocellulókat előállításuk alapján három csoportba soroljuk: 1) A nanofibrillált cellulózt (NFC) facellulózból állítják elő erős nyíró hatást kifejtő kezeléssel, nagynyomású homogenizátorban; a nanoszálak átmérője 5-60 nm, hossza pedig néhány mikrométer. 2) A nanokristályos cellulóz (CNC) előállítása a cellulóz amorf részének savas hidrolízisével történik; a leggyakrabban alkalmazott kénsavas hidrolízis során negatív töltésű szulfát-észter-csoportok ($-\text{OSO}_3^-$) alakulnak ki a nanorészecskék felületén és ennek köszönhetően a cellulóz nanokristályok vizes szuszpenziója stabil; a nanokristályok pálcika alakúak, átmérőjük 5-20 nm, hosszuk pedig néhány száz nanométer. 3) A bakteriális nanocellulózt (BC) baktériumok szintetizálják kis molekulatömegű cukrokból, illetve alkohollokból; a szálak átmérője jellemzően 20-100 nm között van, hossza pedig néhány mikrométer. A nanocellulózok – önmagukban alkalmazva, vagy teljesítménynövelési céllal nanotöltőanyagként más biopolimerekkel együtt – új és kiváló tulajdonságú termékeket eredményeznek változatos felhasználásokra. Kutatásaink során a nanocellulózok előállítására, módosítására és felhasználására koncentráltunk.

A *keményítő* a növények (főként gabonafélék és gumósok) raktározott tápanyaga. Két fő összetevője az amilóz (20-30%) és az amilopektin (70-80%)³. Az amilóz lineáris polimer, melyben a glükóz monomer egységek α -D-(1 $\rightarrow$ 4) glikozidos kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. Az amilopektinben – az

* Tel.: 06 1 463 1423; e-mail: csiszar.emilia@vbk.bme.hu

** Tel.: 06 1 463 4335; e-mail: bodine.fekete.erika@vbk.bme.hu

említett kötések mellett – α -D-(1 $\rightarrow$ 6) kötések is vannak és ezáltal a molekula elágazásokat tartalmaz. A keményítő finom szemcsék formájában kinyerhető a növényből és elsősorban az élelmiszer-, papír- és gyógyszeriparban kerül felhasználásra. Anyagtudományi alkalmazása során lágyító-szerrel bontják meg a makromolekulák közötti hidrogén-kötések révén kialakuló stabil szerkezetet. Az így kapott anyagot termoplasztikus keményítőnek (TPS) nevezzük.

A TPS-alapú anyagokat elsősorban a csomagolásban lehet alkalmazni a hagyományos műanyagok helyettesítésére. A termoplasztikus keményítőt – gyenge mechanikai tulajdonságai, átkristályosodásra való hajlama, alacsony hőállósága, vízérzékenysége és gyenge vízzáró képessége miatt – szükséges más polimerekkel (keverékek) vagy töltőanyagokkal (kompozitok) kombinálni. A TPS kompozitok előállításához szerves és szervetlen töltőanyagokat egyaránt alkalmaznak. Leggyakrabban használt szerves töltőanyagok a faliszt (faőrlemény), a különböző cellulózrostok, a lignin és a nanocellulózok. A szervetlen töltőanyagok közé tartoznak a különböző rétegszilikátok, a kalcium-karbonát, valamint a talkum^{4,5}. A szervetlen és szerves töltőanyagok TPS kompozitokra gyakorolt hatásának összehasonlítása bonyolult, mivel a TPS kompozitok tulajdonságait nemcsak a töltőanyagok egyedi jellemzői és a polimer/töltőanyag közötti kölcsönhatás határozza meg, hanem a keményítő mátrix típusa és a felhasznált lágyító-szer fajtája és mennyisége is.

A *kitin* a második legnagyobb mennyiségben előforduló természetes polimer, amely gombákban, valamint kagylókban, rákokban és kitinvázis rovarok burkában fordul elő nagy mennyiségben, a sejtfalet erősítő vázanyagaként⁶. Kinyerése intenzív kémiai kezelések sorozatát igényli. Kémiai összetételét tekintve a kitin β -(1-4)-N-acetil-2-amino-2-deoxi-D-glükóz. A kitin deacetilezésével nyerhető a kitozán, amely kémiaiilag β -(1-4)-2-amino-2-deoxi-D-glükóz. A deacetilezés sohasem teljes, ezért a kitozán egy kopolimer, amely amino és N-acetil-amino csoportokat is tartalmaz. A kitin oldhatatlan, a kitozán viszont – a szabad amino csoportoknak köszönhetően – híg savakban oldható. Az acetilezettség mértéke nemcsak az oldhatóságot, hanem a biológia lebonthatóságot és a reaktivitást is meghatározza. Biokompatibilitása, biodegradálhatósága és antibakteriális tulajdonsága miatt a kitozán az egyik legértékesebb természetes polimer.

Az *alginátok* anionos polimerek, amelyek a barna algák szárazanyag-tartalmának kb. 40%-át adják. Az alginátok β -D-mannuronsav (M) és α -L-guluronsav (G) egységekből épülnek fel, amelyek 1-4 glikozidos kötással kapcsolódnak egymáshoz, blokk (GGGMMM) vagy alternáló (GMGMGM) szerkezetet létrehozva. A tulajdonságokat a monomerek aránya és beépülésük sorrendje, valamint a molekulatömeg befolyásolja. Több G egység esetén a pszeudoplasztikus tulajdonságok dominálnak, míg a főként M egységekből álló makromolekula esetén a viszkózus jelleg figyelhető meg. Forrástól függően a molekulatömeg 32 és 400 kDa között van, amely jelentősen befolyásolja a viszkozitást és a gélképződést. A viszkozitást a pH is befolyásolja: a viszkozitás nő

a pH csökkenésével és 3-3,5-ös pH érték körül maximumot ér el a karboxil-csoportok protonálódását követő hidrogén-kötések kialakulása miatt. Korábban főként az élelmiszeripar használta fel az alginátokat, mint zselésítő- és bevonószert. Jelenleg elsősorban az orvosi alkalmazásokhoz (sebkötözés és hatóanyagleadás) kapcsolódó, valamint az élelmiszerek romlását késleltető kísérletek a leggyakoribbak⁷.

A *lignin* a fás növények szerkezeti polimerje, melynek részaránya fafajtától függően körülbelül 30%. A lignin hozzájárul a fa kiváló mechanikai tulajdonságaihoz és felelős a vízállóságért és mikrobiológiai ellenállóképességért⁸. A lignin egy háromdimenziós, amorf, összetett polimer, amely fenil-propán egységekből (monolignolok) épül fel. A lignin fragmentumok szerkezetét és tulajdonságait az alkalmazott feltárási technológia határozza meg. A szulfitos feltárással keletkező lignoszulfonátok például metoxi-, hidroxil-, savas és aromás csoportokat tartalmaznak. A cellulózgyártás során évente kb. 70 Mt lignin melléktermék keletkezik, amelynek csak kis hányada (kb. 5%-a) hasznosul. Az iparban felhasznált lignin több mint 70%-át a lignoszulfonátok teszik ki. Számos kutatás foglalkozik a lignin lehetséges felhasználási területeinek bővítésével és magas hozzáadott értékű lignin tartalmú termékek előállításával.

A természetes polimereket – a sejtfa merev és komplex szerkezete miatt – intenzív és költséges kémiai kezelések sorozatával nyerik ki a biomasszából. A természetes polimerekből készült és csomagolásra ajánlott filmeknek jellemzően gyengébbek a mechanikai tulajdonságai, mint a szintetikus polimerekből készülteknek. Gyakran különleges feldolgozási körülményeket igényelnek, mivel érzékenyek lehetnek a hőmérsékletre és a páratartalomra, ami befolyásolja stabilitásukat és gyakorlati alkalmazhatóságukat. A kutatások jelentős része a felsorolt kedvezőtlen tulajdonságok javítását, a kinyerési és tisztítási folyamatok egyszerűsítését, valamint a felhasználási területek bővítését célozza.

Az utóbbi években egyre inkább előtérbe kerülnek a természetes polimerekből előállítható 3D szerkezettel rendelkező *biogélek*, melyek közül a poliszacharid gélek nagy jelentőséggel bírnak⁹. A polimer oldatból változatos módszerekkel (kicsapás – hő vagy pH változás hatására, kifagyasztás, térhálósítás kémiai vagy fizikai módszerekkel) először hidrogéleket állítanak elő, majd a hidrogélekből különböző szárítási módszerekkel xero-, aero- és kriogélek nyerhetők. A hidrogélek nagy mennyiségű vizet tartanak meg pórusaikban, lágyak és könnyen alakíthatók. Hatékonyan felhasználhatók többek között az egészségügyben, a mezőgazdaságban és a víztisztításban. A szárítás után nyert – változatos pórusméretű, nagy fajlagos felületű és megfelelő kémiai szerkezetű – gélek szelektív gázszorpcióra képesek és alkalmasak szabályozott hatóanyagleadó rendszerek létrehozására. A biogélek biokompatibilisek, biodegradálhatók, olcsók és könnyen előállíthatók, ugyanakkor mechanikai tulajdonságaik, instabil duzzadásképeségük, valamint regenerálhatóságuk javításra szorul.

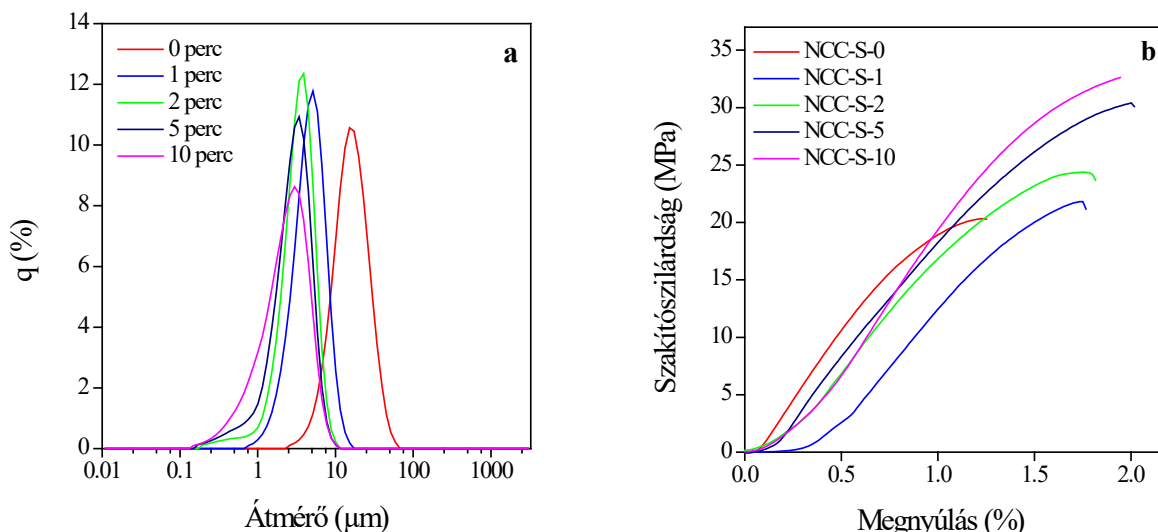
3. Természetes polimerek anyagtudományi felhasználása

3.1. Nanokristályos cellulóz: előállítás, jellemzés, alkalmazás

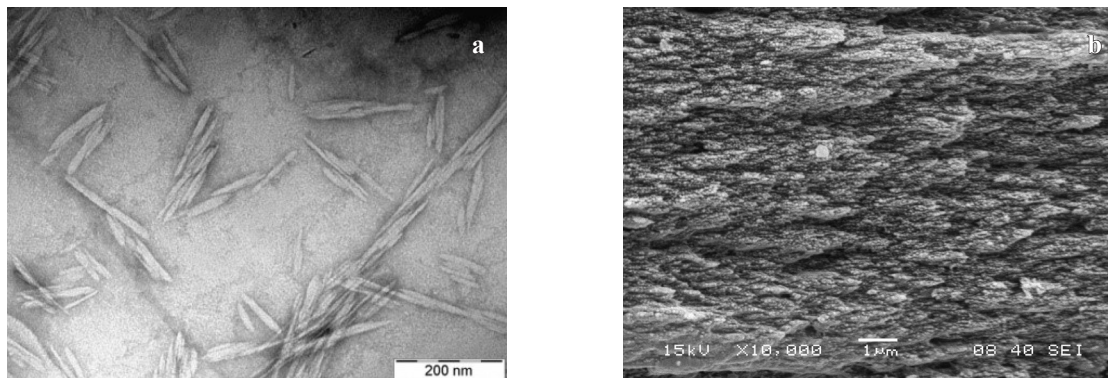
Kutatómunkánk során a cellulóz nanokristályokat kénsavas hidrolízissel nyertük ki különböző cellulózforrásokból (például fehérített pamut és len, nyers len), átlagosan 40%-os hozammal. Részletesen vizsgáltuk a fehérített pamutból kinyert CNC-k esetén a hidrolízis után alkalmazott kisfrekvenciás ultrahangos kezelés hatását a nanokristályok, a CNC vizes szuszpenziója, valamint a belőle öntött filmek tulajdonságaira¹⁰. Megállapítottuk, hogy a kavitációs buborékok szétrobbanása által keltett mikroáramlások segítik a nanokristályok szabaddá válását és jelentősen csökkentik a nanokristályok aggregátumainak lézerdiffrakciós részecskeméret analízissel meghatározott méretét (1.a ábra). Az eloszlásgörbék a CNC vizes szuszpenziójában mikrométerű aggregátumok jelenlétét jelzik, transzmissziós elektronmikroszkópiával azonban láthatóvá válnak az aggregátumokat alkotó nanoméretű, tűszerű részecskék (2.a ábra).

Az egyedi, pamutból nyert nanokristályok hossza $68,5 \pm 5$ nm, a rá merőleges mérete pedig 8 ± 0 nm. Len-CNC esetén a megfelelő értékek: $57,5 \pm 5$ nm és 6 ± 0 nm. A homogén, tejszerű vizes CNC szuszpenzió stabilitása a nanokristályok felületén kialakuló és negatív töltésű szulfát-észter csoportoknak köszönhető. A pamut- és len-CNC vizes szuszpenziójának zéta potenciálja negatív (kb. -35 mV). A nanokristályok kén-tartalma a cellulózforrástól függ: a len-CNC felületén kialakuló szulfát-észter csoportok mennyisége kisebb (0,52%), mint a pamut-CNC-n (0,62%). Ez magyarázhatja a len-CNC részecskék nagyobb aggregációs hajlamát a vizes szuszpenzióban.

A cellulóz nanokristályokból kiváló szakítószilárdságú, merev és átlátszó filmek készíthetők öntéssel és szárítással. A CNC filmek szerkezetére jellemző a nanokristályok irányított rendeződése (2.b ábra). Az ultrahangozott és ezáltal kevésbé aggregálódott CNC-t tartalmazó szuszpenziókból előállított filmeknek jobbak a mechanikai (1.b ábra) és optikai (fényáteresztés, homályosság) tulajdonságai. Az ultrahang tehát végső soron a termék tulajdonságainak a módosulását eredményezi.



1. Ábra. Fehérített pamutból kénsavas hidrolízissel kinyert CNC-szuszenziók ultrahangos kezelése (20 kHz; 60% amplitúdó). Az ultrahangos kezelés időtartamának (0-10 perc) hatása (a) a részecskeméret eloszlásra; (b) a CNC-szuszenziókból készült filmek szakítószilárdságára



2. Ábra. (a) Pamut-CNC-k TEM felvétele (M: 40000×); (b) Fehérített len-CNC szuszpenzióból öntéssel készített film tört felületének SEM felvétele

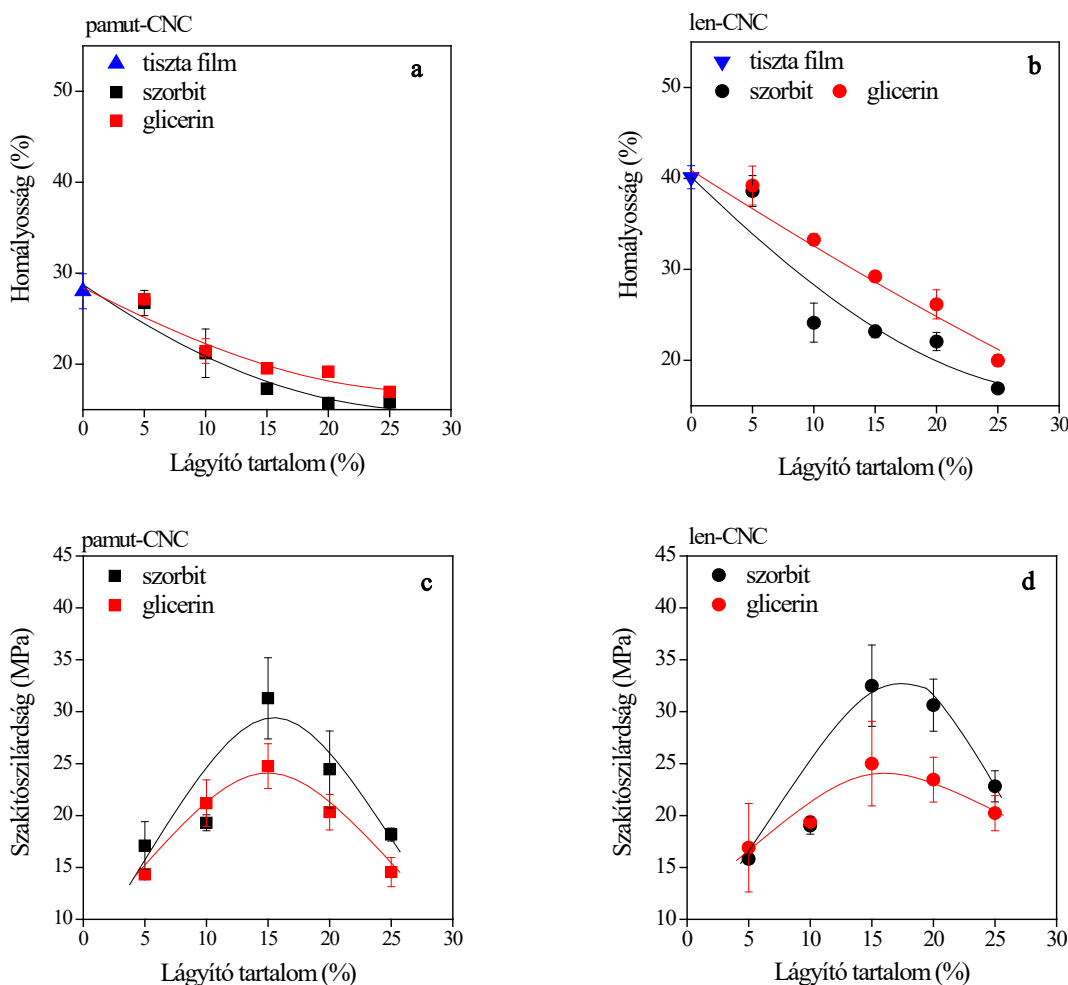
3.2. Nanokristályos cellulóz filmek: a lágyító és keresztlinkáló ágens hatása

A nanokristályos cellulóz vizes szuszpenziójából öntött vékony, átlátszó filmek tulajdonságait vizsgálva megállapítottuk, hogy a filmtulajdonságokat befolyásolja a cellulózforrás (pamut, len), a hozzáadott lágyító minősége (glicerín, szorbit) és koncentrációja, valamint a keresztlinkáló ágens minősége (amino-aldehid gyanta, citromsav) és koncentrációja. A cellulózforrás nemcsak a hozamot, a nanokristályok méretét és aggregációs hajlamát befolyásolja, hanem a CNC filmek morfológiáját, homályosságát és UV abszorpcióját is.

A pamut-CNC filmek kristályossága (röntgendiffrakció alapján számolva) nagyobb (91-94 %), mint a len-CNC filmeké (87-90 %). A len-CNC-ben UV spektroszkópiával lignin nyomokat is detektáltunk, amelyek a len ún. 'szerkezeti lignin' tartalmára utalnak. A len-CNC-k fokozott aggregációs hajlama meghatározza a szuszpenzió és az abból öntött film tulajdonságait is. Erre vezethető vissza, hogy a len-CNC filmek porozitása nagyobb, sűrűsége pedig kisebb, mint a pamut-CNC filmeké.

A CNC filmek merevek és törékenyek. A filmek rugalmasságának és kezelhetőségének javítását lágyítók hozzáadásával érik el, amelyek leggyakrabban poli-hidroxi vegyületek (pl. glicerín, szorbit)¹¹. Megállapítottuk, hogy a lágyító segíti a CNC aggregátumok egyedi nanokristályokká bontását és ezáltal csökkenti a filmek homályosságát. A lágyítótartalmat 0%-ról (háromszög jelölés, 3.a,b ábra) 25%-ra emelve a pamut-CNC filmek esetén kb. 27%-ról 17%-ra, len-CNC filmek esetén pedig kb. 40%-ról 20%-ra csökkent a homályosság¹².

A CNC filmek maximális szakítószilárdsága 15% lágyító adagolásával érhető el és értékét a lágyító típusa befolyásolja. 15% szorbit koncentrációnál kb. 33 MPa szakítószilárdságot mértünk, glicerín esetén az érték kisebb, kb. 24 MPa (3.c,d ábra). A szakadási nyúlás enyhén növekszik a lágyító mennyiségének növelésével (kb. 0,7%-ról 1,7%-ra). A cellulózforrásnak nincs jelentős hatása a CNC filmek mechanikai tulajdonságaira, de befolyásolja a filmtulajdonságokat magas hőmérsékletű hőkezelés esetén¹³. A glicerinnel lágyított len-CNC film ugyanis sokkal jelentősebben sárgul és romlik az átlátszósága, mint a pamut-CNC film.

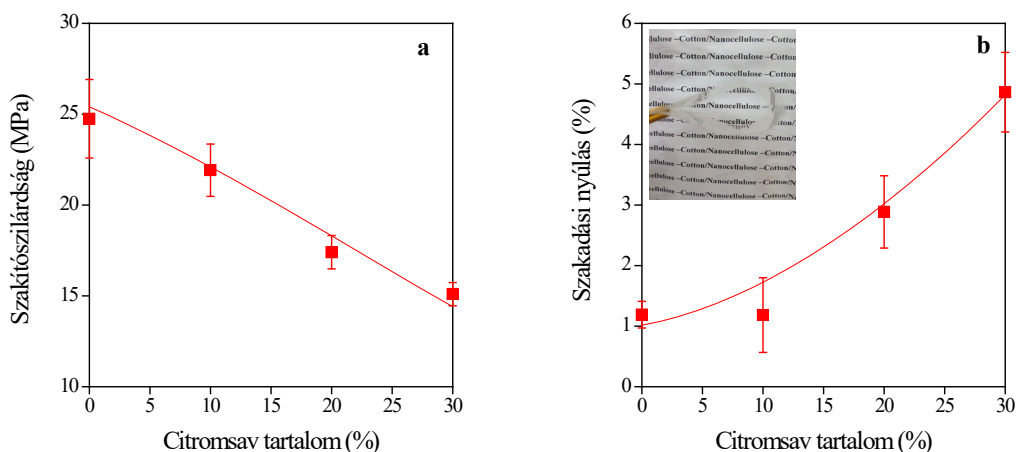


3. Ábra. A lágyító típusának és koncentrációjának hatása a pamut-CNC (a,c) és len-CNC (b,d) filmek homályosságára és szakítószilárdságára

A CNC filmek belső pórusai és külső felülete kb. 4% vízgőz abszorbeálására képes. A filmek vízzel jól nedvesednek, folyékony vízbe helyezve pedig delaminálódnak, vagyis nanokristályokra esnek szét. A filmek vízzel szembeni ellenállóképessége keresztkötő ágensek (pl. aminoaldehyd gyanta, citromsav) hatására jelentősen javítható. Aminoaldehyd gyanta a belső felületekre lerakódva csökkenti a porozitást és már kis koncentrációban (2,5-5%) is jelentősen gátolja a vízgőzszorpciót¹⁴. Nagyobb gyantakonzentrációnál (10-20%) a belső felület jelentősen csökken. A hozzáférhető cellulóz molekulák a nanokristályok felületén keresztkötési reakcióban vesznek részt, a vízmolekulák hozzáférhetősége a cellulózhoz gátoltá válik és ezáltal a folyékony víznek el-

lenálló filmszerkezet alakul ki. A keresztkötés növeli a szakítószilárdságot és csökkenti a szakadási nyúlást. 50%-os gyantakonzentrációnál a gyanta mátrix-tulajdonságai erőteljesen érvényesülnek: merev és rugalmatlan, de nagy szilárdsággal jellemezhető kompozitok nyerhetők.

Citromsav keresztkötő ágenssel is – 20% koncentrációban és legalább 120 °C-on végzett 10 perces hőkezelést követően – a folyékony víznek ellenálló CNC filmek állíthatók elő. Hőkezelés nélkül a citromsav lágyítóként működik: rugalmas és könnyen kezelhető, de gyengébb szakítószilárdságú filmeket eredményez (4. ábra), továbbá fokozza a filmek és a víz közötti kölcsönhatást¹⁵.



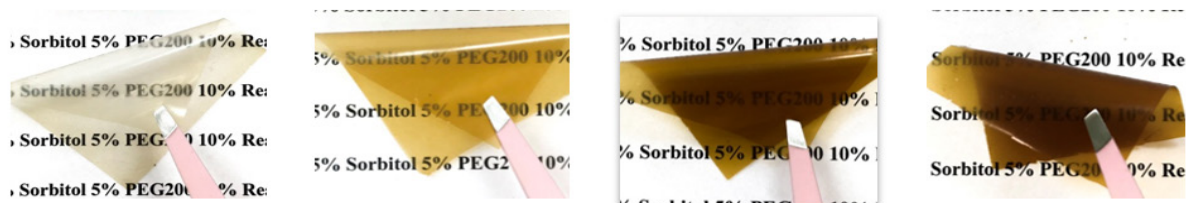
4. Ábra. A nem hőkezelt pamut-CNC filmek (15% glicerín) (a) szakítószilárdsága és (b) szakadási nyúlása a citromsav koncentráció függvényében. Beékelt kép: 30% citromsavval készített film fotója

3.3. Nanokristályos cellulóz-lignin filmek

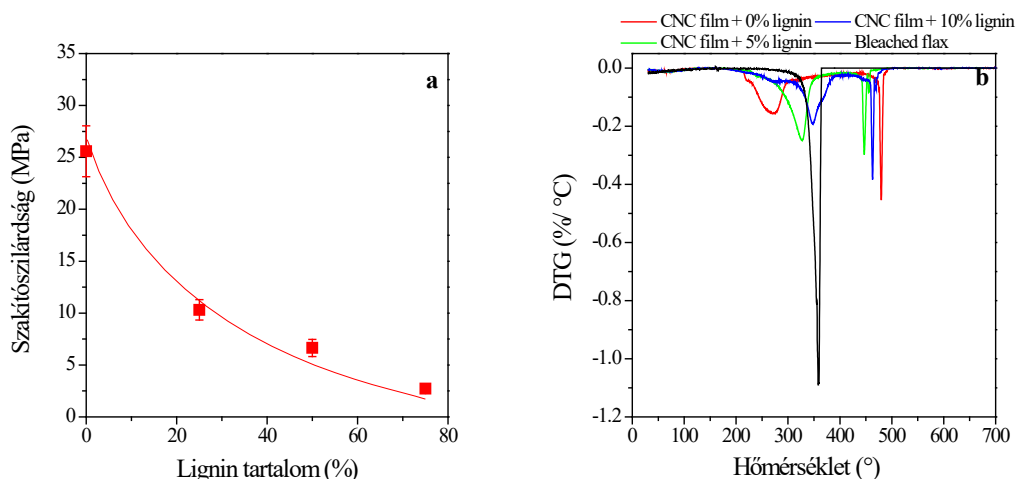
A cellulóz és lignin tartalmú anyagok fejlesztésére jelentős kutatási potenciál összpontosul, mivel a növényi biomassza e két meghatározó polimer komponensének felhasználása erősíti a környezettudatosságot és egyben kiváló példa a körkörös gazdasági modell alapelveinek alkalmazására. A cellulóz és a lignin azonban eredeti formájukban nem ömleszthetők vagy oldhatók fel, ami jelentősen korlátozza felhasználásukat. Ezért kutatómunkánkban len-CNC szuszpenzióval és kereskedelmi forgalomban kapható lignin-szulfonáttal dolgoztunk, amely a szulfitos feltárás vízzel oldható mellékterméke¹⁶.

CNC-lignin kompozitokat állítottunk elő filmöntéssel, a lignin koncentrációt széles tartományban (0-75%) változtatva. Rugalmas és nedvességnek ellenálló rendszerek

csak megfelelő lágyítószer és keresztkötő alkalmazásával nyerhetők. A CNC hatékony lágyítója a szorbit, míg a lignin lágyítására a poli(etilén-glikol) (PEG) alkalmas. A PEG lágyító hatása azonban jelentősen függ a molekulatömegétől. A CNC-lignin filmek alakíthatósága a 200 g/mol átlagos molekulatömegű PEG esetében volt a legjobb. A cellulóz térhálósítására kifejlesztett amino-aldehyd típusú térhálósító szintén kedvezően hatott a CNC-lignin filmek deformálhatóságára (5. ábra). A lignin-tartalom növelésével nő a filmek szakadási nyúlása, tehát a lignin hozzáadása csökkenti a CNC filmek ridegségét. A szakítószilárdság azonban csökken (6.a ábra), mivel a gyanta, a PEG200 és a lignin között kialakuló kölcsönhatások fokozzák a teherbíró nanocellulóz részecskék aggregációját. A szakítószilárdság azonban még 75% lignin tartalom esetén is megfelelő csomagolóanyagként való felhasználásra.



5. Ábra. Növekvő lignin koncentrációval (0, 25, 50, 75%) készült len-CNC-lignin filmek fotói. További összetevők: 5% szorbit, 5% PEG200 és 10% amino-aldehyd gyanta



6. Ábra. A lignin-koncentráció hatása a len-CNC-lignin filmek (a) szakítószilárdságára és (b) termikus stabilitására. További összetevők: 5% szorbit, 5% PEG200, 10% amino-aldehid gyanta

Az 5% szorbitot és 5% PEG200 lágyítószer, valamint 10% térhálósítót tartalmazó filmek a hőstabilitás, az UV-védelem és az oxigénáteresztő képesség tekintetében versenyképesek a hagyományos csomagolóanyagokkal. A lignin nélküli CNC-fólia tömegvesztesége 200 °C felett kezdődik, 10%-os lignintartalom esetén pedig 300 °C felett (6.b ábra). A lignin hatékony UV-abszorber is, mivel a 10% lignint tartalmazó kompozitok esetén 4-5 nagyságrenddel kisebb az áttersztett UV fotonok száma a lignin nélküli CNC-fóliákhoz viszonyítva. Emellett a CNC hatékony oxigéngátat biztosít a lignin tartalmú filmekben. Az OTR a 1,9-3,3 cm³/m²/nap tartományban van, ami figyelemre méltó a szintetikus, hőre lágyuló műanyagokkal összehasonlítva.

3.4. Töltő vagy erősítő anyagot tartalmazó TPS kompozitok – Szerves töltőanyag

A szerves töltőanyagok közül különböző anizotrópiájú falisztek, lenrost, és anizotróp kitozán por felhasználásával készítettünk kompozitokat¹⁷⁻¹⁹. Továbbá pamutból és lenből nyert CNC-t alkalmaztunk a TPS-ből készített filmek tulajdonságainak javítását célozva, glicerín vagy szorbit lágyítószerrel^{20,21}.

A TPS-CNC filmek átlátszók (7. ábra) és rugalmasak. Függetlenül a lágyítószer típusától és mennyiségétől, a len-CNC magas aggregációs hajlama kismértékben növeli a filmek homályosságát, mivel – különösen nagyobb CNC koncentrációnál – az aggregálódott nanorészecskék jobban szórják a fényt (8.a ábra). A nanokristályok erősítő hatása kis koncentrációban (0-5%) jelentős, nagyobb koncentrációknál azonban a görbék telítésbe hajlanak (8.b ábra). A CNC aggregációja miatt az egyedi nanorészecskék szilárdságnövelő hatása nem érvényesül a kompozitban^{20,21}.

A kompozitok szilárdsága 1 hónapos tárolás után minimumot ért el, ami a légkörből történő vízfelvétel és a keményítő retrogradációja közötti hatások eredője. A szilárdságot a víz lágyító hatása csökkentette, a keményítő retrogradációja viszont növelte. A lenből és pamutból származó CNC-t tartalmazó kompozitok tulajdonságait összehasonlítva

megállapítottuk, hogy azok jelentősen eltérhetnek egymástól. A CNC tulajdonságainak ismerete tehát elengedhetetlen a polimer/CNC kompozitok tulajdonságainak és a tulajdonságok összetétel-függésének magyarázatához.

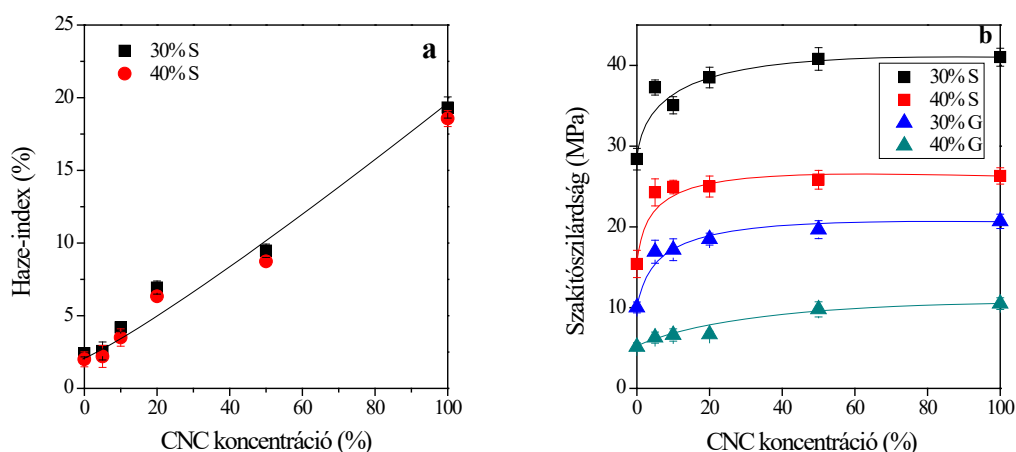


7. Ábra. TPS-CNC (pamut) átlátszó filmek. (a) 20% CNC és 40% glicerín; (b) 50% CNC és 40% szorbit

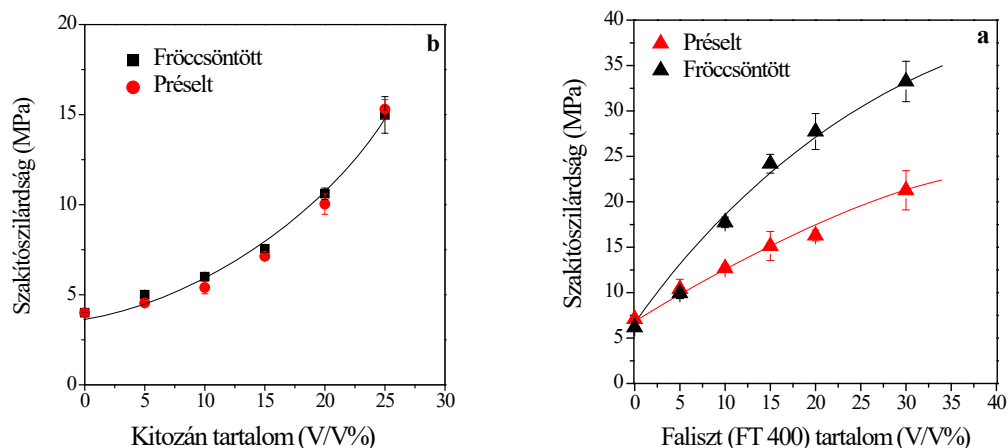
A különböző anizotrópiájú szerves töltőanyag tartalmú TPS kompozitok tanulmányozása alapján megállapítottuk, hogy a falisztek és a lenrost jelentősen megnövelték a TPS merevségét és szilárdságát (9.a ábra). A töltőanyag részecskék anizotrópiájának erősítő hatása a fröccsöntött mintáknál nagyobb mértékű volt, mint a belsőkeverőben készült, préselt kompozitokban. Az anizotróp kitozán is javította a TPS mechanikai jellemzőit (9.b ábra), de kisebb hatékonysággal, továbbá a fröccsöntéssel és belső keverőben előállított minták tulajdonságai alig különböztek. Mindegyik töltőanyag csökkentette a TPS vízfelvételét (10.a ábra) és zsugorodását (10.b ábra). A kitozánnak jelentős antifungális hatása is van.

3.5. Töltő vagy erősítő anyagot tartalmazó TPS kompozitok – Szervetlen töltőanyag

A szervetlen töltőanyagok előnye a szerves töltőanyagokkal szemben, hogy jóval kevesebb vizet tudnak megkötni. Az elmúlt években többféle szervetlen töltőanyag felhasználásával készítettünk TPS nano- és mikrokompozitokat. A gyakran alkalmazott nátrium-montmorillonit (NaMMT) mellett egy másik rétegszilikátot, a Laponitot (Lap) is felhasználtuk^{22,23}.



8. Ábra. TPS-CNC (len) filmek (a) homályossága és (b) szakítószilárdsága a CNC tartalom, valamint a lágyító minősége (G: glicerín, S: szorbit) és koncentrációja (30 és 40%) függvényében



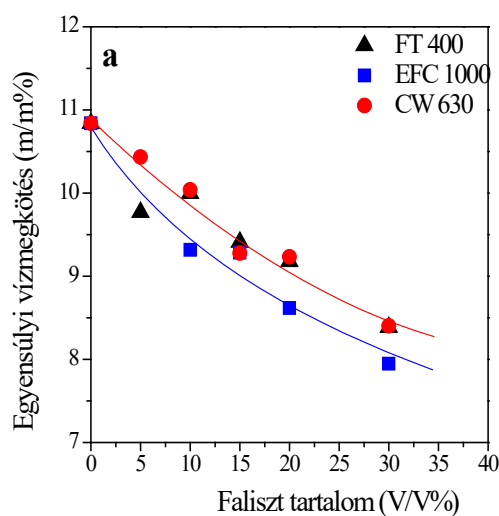
9. Ábra. A fröccsöntéssel és préseléssel készült (a) faliszt és (b) kitozán tartalmú TPS kompozitok szakítószilárdsága

Készítettünk filmöntéssel és gyúrókamrában történő homogenizálással, valamint préseléssel is filmeket. Mindkét rétegszilikát javította a TPS szilárdságát és merevségét már 6-10% töltőanyag tartalomnál. Emellett csökkent a vízgőzáteresztőképesség és vízmegkötés. A rétegszilikátok akkor hatékonyak, ha a töltőanyag rétegekre bomlik, azaz exfoliálódik. Az exfoliáció mértékét a komponensek (TPS, lágyítószer, rétegszilikát) közötti kölcsönhatás határozza meg. Az NaMMT tartalmú TPS kompozitokban a töltőanyag exfoliációja kismértékű, inkább csak a rétegszilikát rétegek közötti távolság növekedése volt megfigyelhető. Ezzel szemben a Laponit nagyobb mértékben exfoliálódott a TPS-ben, és ennek megfelelően nagyobb mértékben javította a termoplasztikus keményítő tulajdonságait.

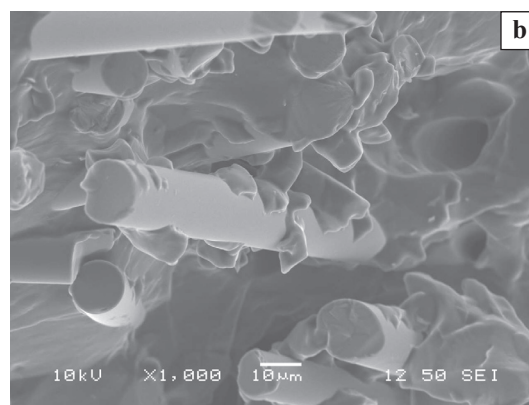
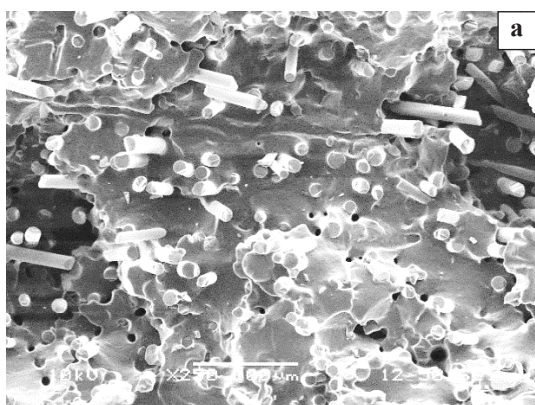
TPS mikrokompozitokat CaCO_3 és bazalt szál felhasználásával készítettünk²⁴. A töltőanyagok erősítő, valamint zsugorodás csökkentő hatását ezeknél a kompozitoknál is megfigyeltük, és a várakozásnak megfelelően az orientációra képes anizotróp bazalt szál (11.a ábra) esetében mértük

a nagyobb hatást. Meglepő volt, hogy bár a bazalt szál nagyobb alakí tényezővel rendelkezik, mint a falisztek, mégsem sikerült jobb mechanikai tulajdonságokkal jellemezhető TPS kompozitokat előállítani vele. A polimer/töltőanyag kölcsönhatások elemzése megmutatta, hogy ennek oka a bazalt szál gyengébb kölcsönhatása a TPS mátrix-szal, aminek eredménye, hogy a szakítóvizsgálatok során megfigyelhető a bazalt szál kihúzóda is a polimerből és a szál törése is (11.b ábra).

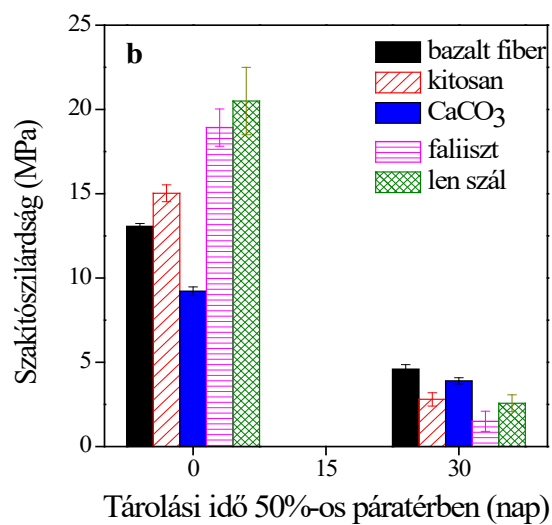
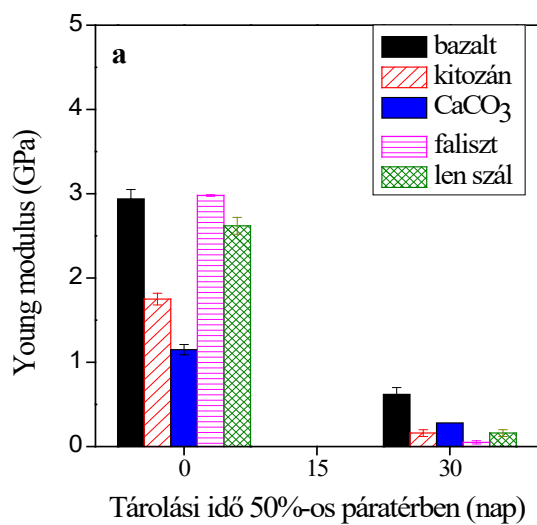
Összehasonlítottuk különböző szerves és szervetlen töltőanyag tartalmú, azonos összetételű kompozitok modulusát és szakítószilárdságát szárazon és 30 napos 50%-os páratérben történő tárolás után. A 12. ábrán jól látható, hogy bár a szervetlen töltőanyagok erősítő hatása gyakran kevésbé hatékony, mint a szerves töltőanyagoké, de kisebb vízfelvételük miatt a nedves közegben történő tárolás hatására sokkal kevésbé romlik a TPS kompozit merevsége és szilárdsága.



10. Ábra. A szerves töltőanyagok hatása a TPS kompozit jellemzőire. (a) Különböző falisztek vízmegkötést csökkentő hatása; (b) A TPS zsugorodásának csökkenése a kitozán tartalom (0-25%) növekedésével



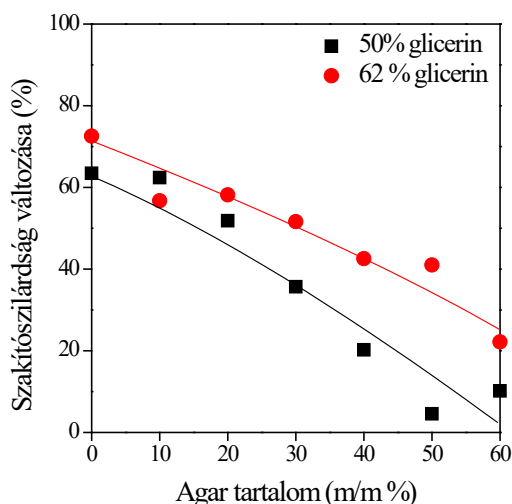
11. Ábra. (a) A bazalt szál orientációja a falnál a fröccsöntött TPS/bazalt kompozitban; (b) A bazalt szál törése és kihúzóása a TPS mátrixból a szakítás során, 25% szál tartalom esetén



12. Ábra. A különböző szerves és szervetlen töltőanyagot tartalmazó TPS kompozitok (a) modulusának és (b) szakítószilárdságának változása 50%-os páratérben történő tárolás hatására

3.6. TPS keverékek

A termoplasztikus keményítő tulajdonságait nemcsak töltőanyagokkal, hanem más polimerekkel való társítással is lehet javítani. Ebben az esetben polimer keveréket kapunk. Keverékeknél a komponensek összeférhetősége, elegyíthetősége döntő jelentőséggel bír. Polimer kompozitok esetében pedig a komponensek egyedi jellemzői (összetétel és szerkezet) mellett a polimer/töltőanyag határfelületi kölcsönhatásoktól függenek a tulajdonságok. Agarral, algináttal és politejsavval (PLA) társítottuk a termoplasztikus keményítőt^{25,26}. Jó összeférhetőségű, az agar esetében gyakorlatilag elegyíthető polimer keveréket kaptunk 50-60% glicerinnel tartalom esetében is. Mind az agar, mind az alginát növelte a TPS modulusát és szakítószilárdságát, javította a vízgőzáteresztést és jelentősen csökkentette a TPS retrogradációját²⁵. A 13. ábrán a TPS/agar keverékek relatív szakítószilárdság változása látszik az összetétel függvényében, 3 hónapos 50%-os páratérben történő tárolás után. Az agar tartalom növekedése csökkenti az átkristályosodást és ezáltal a szilárdság változását. A PLA - az agarral és az algináttal ellentétben - rossz összeférhetőséget mutatott a TPS-sel. A mechanikai tulajdonságok és a vízfelvétel is jelentősen változott a keverékek lágyítószer tartalmával²⁶.

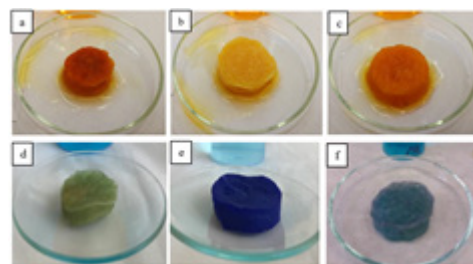


13. ábra. TPS/agar keverékek összetételének hatása a 3 hónapos tárolás során bekövetkező átkristályosodásra (retrogradációra)

3.7. Poliszacharid típusú gélek

A poliszacharidok közül a hidrofíli csoportokkal rendelkező kitozánból és alginátból viszonylag enyhe reakció körülmények között, olcsó térfoglalósító szerek segítségével lehet előállítani hidrogéleket. Savas közegben a kitozán aminos csoportjai protonálódnak pozitív töltést kölcsönözve a polimernek. Az alginátban található karboxil csoportok semleges vagy lúgos közegben deprotonálódnak és a polimer negatív töltésű lesz. A kitozán vizes közegben citromsavval, az alginát pedig Ca^{2+} ionokkal könnyen térfoglalósítható. Az így módon térfoglalósított gélek nem tartalmaznak egészségre ártalmas anyagokat, így széleskörűen felhasználhatók.

Kutatásunk során poliszacharid hidrogéleket, ezekből pedig xero- és kriogéleket állítottunk elő, majd vizsgáltuk a gélek szerkezetét és színezékmegkötő képességét (14. ábra). Megállapítottuk, hogy az alginát és a Ca^{2+} ionokkal térfoglalósított vegyes gélek a pozitív töltéssel rendelkező színezékek oldatokból a színezék 80-95%-át képesek adszorbeálni. A kitozán gélek a negatív töltésű színezékek megkötésére alkalmasak, de a pH megfelelő beállítása nélkül kapacitásuk elmarad az alginát gélektől. 50-60% színezék megkötésére alkalmasak (15. ábra). Az alginát gélek esetében a xero-, krio- és hidrogélek színezékmegkötő képessége megegyezett, a kitozán gélek esetében azonban a hidrogélek valamivel kevesebb színezéket adszorbeáltak, mint a szárított gélek²⁷.



14. ábra. Kitozán (a,d), alginát (b,e) és alginát-kitozán (1:1) (c,f) gélek metilnarancs (felül) és metilénkék (alul) szorpciója 40 mg/l koncentrációjú színezékoldatban 50 óra után

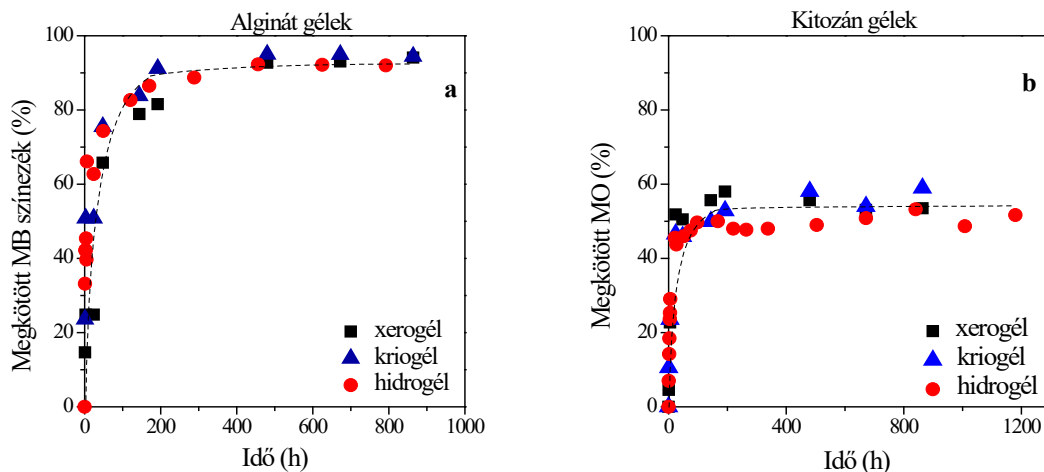
3.8. További kutatások természetes polimerekkel

- Új módszert dolgoztunk ki a bakteriális cellulóz kinyerésére. A cellulóz nanoszálakból rugalmas és kiváló mechanikai tulajdonságokkal bíró membránokat készítettünk, majd – a Miskolci Egyetem Kémiai Intézetével együttműködésben – bakteriális cellulóz alapú cink oxid-több falú szén nanocső (BC-ZnO-MWCNT) kompozitokat hoztunk létre. A membránok a víztisztításban kerülhetnek felhasználásra²⁸.
- A BME Szerves Kémia és Technológia Tanszékkal együttműködésben BC membránhoz – azok peroxidátos oxidációját követően – fémion komplexálására alkalmas EDTA kelátort rögzítettünk, etilén-diamin keresztkötő ágens alkalmazásával és anélkül. A megfelelő fémkomplexet CoCl_2 sóval alakítottuk ki. Vizsgáltuk a felületi Co^{2+} koncentráció, valamint keresztkötő ágens fehérje (rekombináns fenilalanin ammónia-liáz, PAL) felvételre gyakorolt hatását, valamint a membrán aktivitásának változását a fehérje tisztítás folyamata során (publikálás folyamatban).
- Új módszert dolgoztunk ki nanokeményítő részecskék előállítására. A szakirodalomban ismert, energia- és vegyszerigényes folyamat helyett golyósmalomban végzett őrlés, rövid idejű savas kezelés és kisfrekvenciás ultrahangos kezelés alkalmazásával (publikálás folyamatban).
- Nanokristályos cellulózt állítottunk elő hulladék pamut-textíliákból. Kidolgoztuk a hulladék textílek színezék és egyéb idegenanyag tartalmának hatékony eltávolítását. Bizonyítottuk, hogy a cellulóz alapú textíliák az

életciklus végén cellulózforrásként szolgálhatnak magas hozzáadott értékű termékek előállítására (publikálás folyamatban).

- Kitozán és alginát géleket nanocellulózokkal módosítottunk, hogy orvosi biológiai felhasználásra is megfelelő kompozit géleket állítsunk elő. Nanocellulózok (BC,

CNF) hozzáadásával sikerült a gélek duzzadását és mechanikai tulajdonságait jelentősen megnövelni, ami lehetővé teszi a kompozit gélek potenciális sebkötöző anyagként, sejtregenerációt elősegítő vázanyagként és szabályozott hatóanyagleadó rendszerként való alkalmazását (publikálás folyamatban).



15. Ábra. (a) Alginát gélek metilénkék (MB) és (b) kitozán gélek metilnarancs (MO) színezék megkötése.

4. Összefoglalás

A szintetikus műanyagok közel 40%-át a csomagolóipar használja fel. A csomagolások jelentős és egyre növekvő hányadát az egyszeri és rövidtávú csomagolások teszik ki, és ennek következtében az így felhasznált csomagolóanyagok rövid időn belül hulladékként jelennek meg. A csomagolási hulladékok jelentősen növelik a környezeti terhelést, mivel a szintetikus műanyagoknak csupán elenyésző mennyisége kerül újrahasznosításra. A biopolimerek – beleértve a megújuló forrásból származó keményítőt és cellulózt, valamint ezek más biopolimerekkel és nanoanyagokkal társított rendszereit – ideális jelöltek környezetbarát csomagolóanyagok előállítására, és hozzájárulhatnak a környezetszennyezés csökkentéséhez és a fenntartható fejlődéshez. A természetes polimerek, azon belül is a poliszacharidok, a csomagolástechnika mellett ígéretes alapanyagai az orvosi biológiai, mezőgazdasági és víztisztítási területekhez kapcsolódó egyéb alkalmazásoknak is. További kutatások szükségesek azonban a biopolimer alapú, nanotöltőanyagot tartalmazó kompozitok csomagolástechnikai alkalmazását gátló kihívások (mint például a nanoanyagok aggregációja, a gyenge töltőanyag-polimer kölcsönhatás, a magas előállítási költségek, az energiaigényes feldolgozás) leküzdéséhez és a felhasználói igények maradéktalan kielégítéséhez. A poliszacharid gélek felhasználási területeinek jelentős bővítését a mechanikai és szorpciós tulajdonságok javítását célzó kutatások segíthetik elő.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatta (OTKA támogatási szám: K131761; TKP-9-8/PALY-2021 a TKP2021-EGA támogatási rendszer keretében).

Hivatkozások

1. Liang, S.; Guo, S.; Kuang, X.; Wang, X. és mások. *Science Bulletin*. **2024**, 69(21), 3444–3466. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2024.08.023>
2. Klemm, D.; Kramer, F.; Moritz, S.; Lindström, T.; Ankerfors, M.; Gray, D.; Dorris, A. *Angewandte Chemie*. **2011**, 50, 5438–5466. <https://doi.org/10.1002/anie.201001273>
3. Vandeputte, G. E.; Delcour, J. A. *Carbohydrate Polymers*. **2004**, 58(3), 245–266. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.06.003>
4. Abdul Khalil, H. P. S.; Chong, E. W. N.; Owolabi, A. T. *Journal of Applied Polymer Science*. **2018**, 136, 47251. <https://doi.org/10.1002/app.47251>
5. Nasir, N. N.; Othman, S. A. *AIP Conference Proceedings*. **2024**, 2799, 020050. <https://doi.org/10.1063/5.0195125>
6. Islam, S.; Bhuiyan, M. A. R.; Islam, M. N. *Journal of Polymers and the Environment*. **2017**, 25, 854–866. <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0865-5>
7. Puscaselu, R. G.; Lobiuc, A.; Dimian, M. *Polymers (Basel)*. **2020**, 12, 1–30.
8. Hurmekoski, E.; Hetemäki, L.; Jänis, J. *In Outlook for the forest-based bioeconomy*; Hetemäki, L. Kangas, J., Peltola, H., Eds.; Springer, Cham. **2022**, Vol 42. pp. 55–89. https://doi.org/10.1007/978-3-030-99206-4_4
9. McClements, D. J. *Advances in Colloid and Interface Scienc.*, **2024**, 332, 103278. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103278>
10. Csiszár, E.; Kalic, P.; Köböl, Á.; Ferreira, P.E. *Ultrasonics Sonochemistry*. **2016**, 31, 473–480. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.028>
11. Mathew, A. P.; Dufresne, A. *Biomacromolecules*. **2022**, 3, 1101–1108. <https://doi.org/10.1021/bm020065p>
12. Csiszár, E.; Nagy, S. *Carbohydrate Polymers*. **2017**, 174, 740–749. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.103>

13. Nagy, S.; Fekete, E.; Móczó, J.; Koczka, K.; Csiszár, E. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2020**, 142, 2371–2383.
<https://doi.org/10.1007/s10973-020-10188-x>
14. Nagy, S.; Csiszár, E.; Kun, D.; Koczka, B. *Carbohydrate Polymers*. **2018**, 194, 51–60.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.025>
15. Csiszár, E.; Herceg, I.; Fekete, E. *Polymers*, **2013**, 15, 1698.
<https://doi.org/10.3390/polym15071698>
16. Csiszár, E.; Kun, D.; Temesváry-Kis, F.; Fekete, E. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. **2025**, 9, 100743.
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100743>
17. Müller, P.; Renner, K.; Móczó, J.; Fekete, E.; Pukánszky, B. *Carbohydrate Polymers*. **2014**, 102, 821–829.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.083>
18. Fekete, E.; Kun, D.; Móczó, J. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. **2018**, 62(2), 129–136.
<https://doi.org/10.3311/PPCh.11228>
19. Balla, B.; Bartos, A.; Kun, D.; Csiszár, E.; Móczó, J.; Fekete, E. *Polymer Testing*. **2021**, 101, 107278.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2021.107278>
20. Csiszár, E.; Kun, F.; Fekete, E. *Polymers*. **2021**, 13, 3186.
<https://doi.org/10.3390/polym13183186>
21. Csiszár, E.; Nagy, A.; Fekete, E. *Express Polymer Letters*. **2023**, 17(5), 458–470.
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2023.34>
22. Müller, P.; Kapin, É.; Fekete, E. *Carbohydrate Polymers*. **2014**, 113, 569–576.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.054>
23. Fekete, E.; Angyal, L.; Csiszár, E. *Materials*. **2022**, 15(20), 7627.
<https://doi.org/10.3390/ma15217627>
24. Móczó, J.; Klébert, Sz.; Csiszár, E.; Fekete, E. *Results in Engineering*. **2025**, 26, 104525.
<https://doi.org/10.1016/j.rineng.2025.104525>
25. Fekete, E.; Bella, É.; Csiszár, E.; Móczó, J. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2019**, 136, 1026–1033.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.109>
26. Móczó, J.; Kun, D.; Fekete, E. *Express Polymer Letters*. **2018**, 12, 1014–1024.
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2018.88>
27. Fekete, E.; Csiszár, E. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, 25(15), 8406.
<https://doi.org/10.3390/ijms25158406>
28. Mrabate, B.; Udayakumar, M.; Csiszar, E.; Kristaly, F.; Lesko, M.; Somlyai-Sipos, L.; Schabikowski, M.; Nemeth, Z. *Royal Society Open Science*. **2020**, 7, 200592.
<https://doi.org/10.1098/rsos.200592>

Exciting new applications for old polymers: Advancements in materials science with natural polymers

Natural polymers, which can be derived from abundant and renewable plant and animal biomass, represent a significant group of biopolymers. The most notable examples include cellulose, starch, chitin, alginate, and lignin. These natural polymers have a long history of industrial use, and their role in materials science research has been steadily increasing. They can be used to produce new, highly biocompatible, and biodegradable films and gels with excellent properties, making them suitable alternatives for short-term applications in packaging, agriculture, wastewater treatment, and healthcare. Recently, there has been considerable interest in natural polymer-based nanomaterials, such as nanocellulose and nanostarch, which combine the advantageous properties of natural polymers with the unique characteristics of nanoscale materials.

In this paper, we present the most important findings from our materials science research on natural polymers and their nanomaterials, focusing on the following areas: 1. Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose (CNC) and its application as

reinforcing material. 2. The effect of plasticizers and cross-linking agents on the properties of CNC films. 3. Preparation and characterization of CNC-lignin films. 4. Preparation and characterization of thermoplastic starch (TPS) composites containing organic or inorganic fillers or reinforcing materials. 5. TPS blends. 6. Polysaccharide-type gels.

Our research findings demonstrate that natural polymers, including polysaccharides, are promising feedstocks for applications in biomedical, agricultural, and water purification fields, in addition to packaging technology. However, further research is necessary to address challenges such as agglomeration of nanomaterials, poor filler-polymer interactions, high production costs, and energy-intensive processing. These challenges hinder the application of biopolymer-based nanofiller composites in packaging and limit their ability to meet user needs fully. Research focused on improving the mechanical and sorption properties of polysaccharide gels can significantly broaden their applications.

Királis és akirális rokon szerkezetek szerepe az enantiomer felismerésben

SCHINDLER József**

*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest*

1. Bevezetés

A kémiában rokon szerkezetű vegyületek, vagy izomerkeverékek elválasztásakor sokszor olyan módszert alkalmaznak, hogy a keveréket feloldják valamilyen oldószerben és azt egy harmadik vegyülettel reagáltatják. Ennek hatására a keletkezett új képződmény kiválik az oldatból. A szilárd fázis tartalmazza az egyik, a folyadékfázis a másik kiindulási vegyületet, vagy származékát. Ezt a módszert alkalmazta Pasteur is, amikor a racém borkősav (szőlősav) enantiomerjeit elválasztotta.¹ A vizes oldathoz d-quinotoxint adott és a kikristályosodó d-quinotoxin-d-borkősav hexahidrártól leszűrve elkülönítette a borkősav két enantiomerét. Felismerte, hogy az enantiomereket csak egy idegen szerkezetű, optikailag aktív vegyülettel lehet megkülönböztetni. Azóta tudjuk, hogy az ilyen kristályos diasztereomer szerkezetekre a szupramolekuláris szerveződés a jellemző, amit esetenként az oldószer molekulák beépülése is stabilizál.²⁻⁷ Felismerték továbbá, hogy ez a királis molekula a racém vegyület enantiomerjeiből is előállítható és ez lehet a legkedvezőbb rezolválóagens.⁸⁻¹⁴ Holland kutatók felismerték azt is, hogy előnyös lehet több, egymással rokon szerkezetű rezolválóagens keverékének az együttes alkalmazása.¹⁵⁻¹⁶ Mások pedig azt találták, hogy egy adott rezolválóagenssel nem rezolválható racém vegyület, a vele rokon szerkezetű, de rezolválható racém vegyülettel keverve rezolválható lesz.¹⁷ Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az enantiomer-megkülönböztetés, vagyis a királis–királis felismerés igen kedvező lehet, ha a két enantiomeren és a rezolválóagensen kívül legalább egy további királis vegyület is jelen van. Ez lehet a racém vegyülettel, vagy a rezolválóagenssel rokon szerkezetű. A kiralitás és a szerves kémiai molekulaszerveződés összefügg és ok-okozati összefüggéseket találhatunk.¹⁸⁻²⁰ Ha a rezolválóagens keresésénél figyelembe vesszük azt, kölcsönhatásokat tervezhetünk, illetve a lehetőségeket nem szűkítjük le a véletlenszerű összemérésekre, akkor sokkal nagyobb eséllyel találhatjuk meg a választ a „Hogyan találjak rezolválóagenst a racém molekulámhoz?” kérdésre.

A fentiek ismeretében felmerül a kérdés, hogy előnyös-e, ha a keverék rezolválóagensnek nemcsak egymással, hanem a racém vegyületekkel is rokon szerkezetűek. Kérdéses, hogy a diasztereomerbe beépülő kristálysolvát csak oldószer molekula lehet, vagy egyéb akirális vegyület is? Ha az oldó-

szer molekulák helyett más akirális molekulák épülnek be a szupramolekuláris szerkezetbe, akkor kérdés, hogy ezek lehetnek-e rokon szerkezetűek a rezolválóagenssel, vagy a racém vegyülettel? Végezetül az egyik enantiomer és a másik optikai izomerből képzett, stabilabb diasztereomer elválasztásához szükséges-e egyáltalán oldószer, hiszen azt a desztillációs, szublimációs eljárások esetében legfeljebb csak az elválasztás előkészítéséhez használják. A diasztereomer komplexek és enantiomerek olvadákos elválasztásakor is csak a kristályosítás utáni műveletekhez alkalmaztak oldószert. Kérdés, lehetséges-e a racém vegyület és a rezolválóagens olvadékból a stabilabb diasztereomer kristályosodását követően a maradékban lévő enantiomer elválasztása, és keverék reagensek esetében is előnyös-e ez a módszer?

Munkáink során modellvegyületeken keresztül a fenti kérdésekre kerestük a választ. Arra törekedtünk, hogy egy-egy sorozat rezolválásakor lehetőleg azonos körülmények között dolgozzunk és így kimutathatók legyenek a származékok és keverékek viselkedésének hasonlóságai, vagy éppen az eltérései. Nem volt cél az egyedi rezolválások optimalizálása, a legkedvezőbb körülmények kimérése.

2. Optikai izomerek elválasztása a racém vegyület egyik enantiomerjéből előállított ellentétes karakterű rezolválóagenssel

2.1. Racém-6-fluor-2-metil-1,2,3,4-tetrahidrokinolin rezolválása N-ftaloil származékával

A racém 6-fluor-2-metil-1,2,3,4-tetrahidrokinolin (*rac*-1) rezolválására az irodalomban egyetlen eljárás ismert.²¹ A módszert a Riker Laboratories munkatársai dolgozták ki, ez a cég szabadalmaztatta a Flumequint és analogonjait. A tetrahidrokinolint N-tozil-*L*-prolil-kloriddal acilezik, a keletkező diasztereomereket oszlopkromatográfiásan választják el, majd nátrium-etiláttal etanolban elbontják.

A *rac*-1 diasztereomer sóképzéses rezolválásait Bálint térképezte fel a következő optikailag aktív vegyületekkel: bróm-kámforszulfonsav, *L*-borkősav, di-(*p*-toluil)-*L*-borkősav, FTHQ saját N-ftaloil (*R*)-konfigurációjú származéka (*(R)*-2) (1. Táblázat).²²

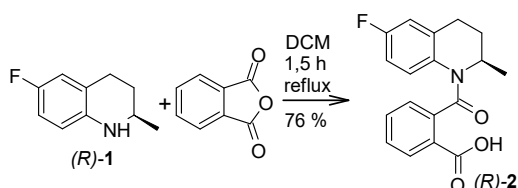
* Schindler József. Tel.: +36 1 463 3653; fax: +36 1 4633648; e-Mail: schindler.jozsef@vbk.bme.hu

1. Táblázat. *Rac*-1 rezolválása különböző rezolválóágensekkel

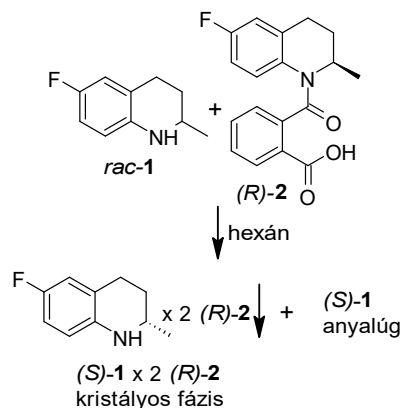
Rezolválóágens	T (%)	OT (%)	S ^a
Bróm-kámforszulfonsav	46	86	0,40
<i>L</i> -Borkősav	97	12	0,12
Di-(<i>p</i> -toluil)- <i>L</i> -borkősav	54	96	0,52
(<i>R</i>)-2	86	28	0,24

^a Rezolválhatóság, S=T x OT.

A rokon szerkezetű rezolválóágenst (*R*)-1 és ftálsavanhidrid reakciójával állították elő (1. Ábra).

1. Ábra. (*R*)-2 rezolválóágens előállítása

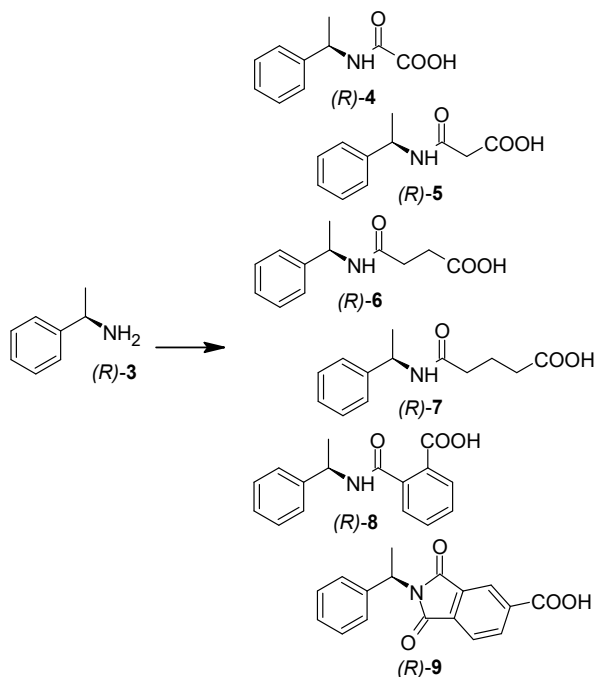
Saját származékkal az elérhető optikai tisztaság (OT=28%), így a rezolválhatóság is (S=0,24) messze elmarad attól, amit egy jó rezolválóágenstől elvárnánk. A Bálint által kidolgozott módszert módosítottuk és abban az esetben, ha a rezolválóágenst szilárd formában adtuk a *rac*-1 hexánnal készült oldatához olyan diasztereomer képződmény keletkezett, amely egy mol bázist és két mol rezolválóágenst tartalmazott (2. Ábra).

2. Ábra. *Rac*-1 rezolálása saját (*R*)-2 származékával

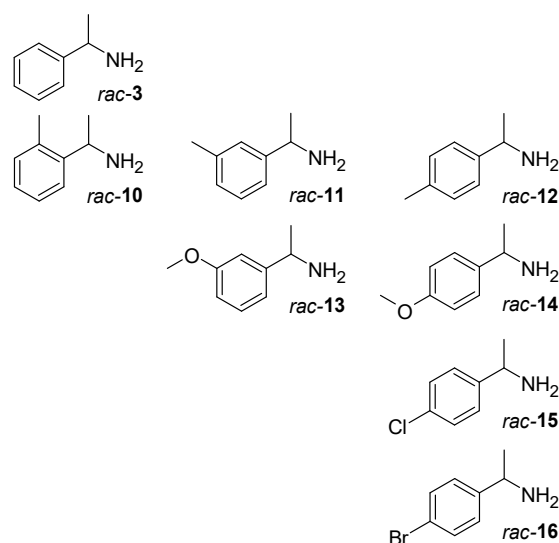
A komplexből 85 %-os termeléssel és 75 % optikai tisztasággal (S=0,64) kaptuk az (*S*)-1 bázist.²³ Az így kapott eredmény lényegesen jobb, mint a korábbiak.

2.2. *Racém*-1-feniletilamin és rokon struktúrák rezolválása saját dikarbonsav-félamid származékokkal

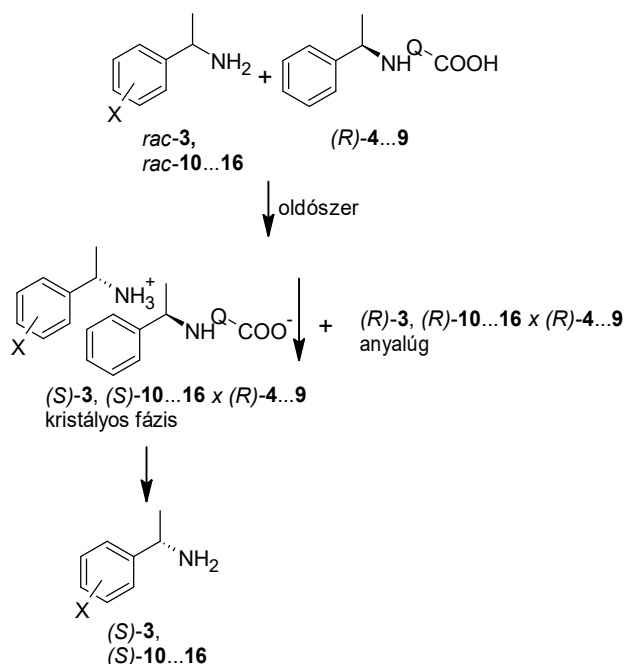
A rokon szerkezetű *racém* vegyület-rezolválóágens kapcsolatok vizsgálataihoz az 1-feniletilamin (*rac*-3) és ennek az optikailag tiszta enantiomerjéből (*R*)-3 előállított, részben homológ sort alkotó dikarbonsav-félamid rezolválóágensek ((*R*)-4...9) kölcsönhatásait tanulmányoztuk (3. Ábra).

3. Ábra. (*R*)-4...(*R*)-9 dikarbonsav-félamid rezolválóágensek

Ezzel a modellel lényegesen jobban kiterjeszthettük a vizsgálatainkat. A rokon szerkezeteket a *racém* oldalon is bővítettük, aromás magban szubsztituált metil-, metoxi- és halogén vegyületeket (*rac*-10...16) is teszteltünk (4. Ábra).

4. Ábra. *Rac*-3...16 *racém* vegyületek

A *rac*-3, *rac*-10...16 rezolválhatóságát a klasszikus módon, oldószerből történő diasztereomer sóképzéses módszerrel vizsgáltuk a rokon szerkezetű (*R*)-4...9 rezolválóágensekkel (5. Ábra).



5. Ábra. *Rac*-3, *rac*-10...16 rezolválása (*R*)-4...9 rezolválóágensekkel

Az (*R*)-8 és (*R*)-9 rezolválóágensek alkalmatlannak bizonyultak, mert jellemzően nem adtak kristályos diasztereomer sót *rac*-3, illetve *rac*-10...16 bázisokkal, vagy a kristályosodó diasztereomer racém összetételben tartalmazta az azokat. Az (*R*)-4...6 rezolválóágenseket és a *rac*-3, illetve *rac*-10...16 bázisokat diasztereomer só kristályosításához alkalmas oldószerben reagáltattuk. Erre a célra leginkább az acetone vagy etilacetát vált be. A kikristályosodó sókat szűrtük, majd kétszeri átkristályosítás után felszabadítottuk a bázist és minősítettük. A legtöbb esetben közel enantiomer tiszta anyagokat kaptunk (2. Táblázat).²⁴⁻²⁶

A diasztereomer sók között minden esetben a heterokirális kapcsolat volt a stabilabb, vagyis a kikristályosodó diasztereomer só az (*S*)-konfigurációjú 3, 10...16 enantiomereket tartalmazta. A p-pozícióban halogént tartalmazó bázisok (*rac*-15, *rac*-16) esetén az (*R*)-5 rezolválóágens bizonyult alkalmasnak az enantiomer megkülönböztetéshez, míg az (*R*)-6 esetén a diasztereomer só racém összetételben tartalmazta a 15 és 16 vegyületek enantiomereit. Ez utóbbiakról eltekintve minden esetben a heterokirális diasztereomer (kvázi racemát) kristályosodott, ebből arra következtettünk, hogy ezekben a sókban hasonlóak a királis kölcsönhatások, tehát a különböző anyagi minőségű diasztereomerek szupramolekuláris szerkezete is hasonló. Ennek bizonyítására több diasztereomer só szerkezetét határoztuk meg egykristály röntgendiffrakció segítségével. Választ kerestünk a hetero- és a homokirális diasztereomerek különbségére.

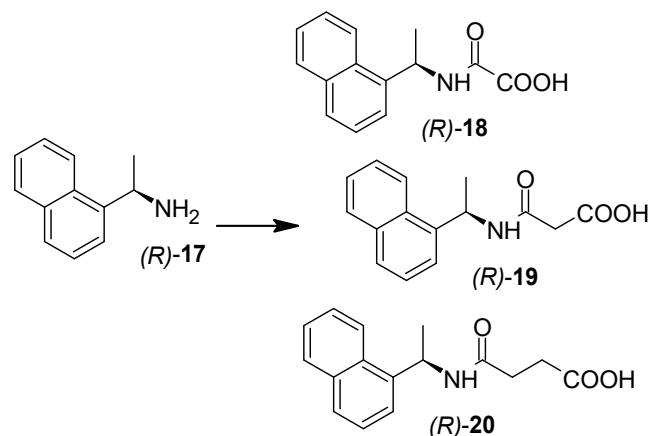
2. Táblázat. *Rac*-3, *rac*-10...16 1-feniletilamin származékok rezolválása rokon szerkezetű (*R*)-4...6 rezolválóágensekkel

Rezolválóágens	(<i>R</i>)-4			(<i>R</i>)-5			(<i>R</i>)-6		
	T (%)	OT (%)	S	T (%)	OT (%)	S	T (%)	OT (%)	S
<i>Rac</i> -3	38	98	0,37	56	99	0,55	61	100	0,61
<i>Rac</i> -10	46	98	0,45	-	-	-	76	19	0,14
<i>Rac</i> -11	-	-	-	54	99	0,53	-	-	-
<i>Rac</i> -12	-	-	-	55	100	0,55	36	100	0,36
<i>Rac</i> -13	-	-	-	-	-	-	51	100	0,51
<i>Rac</i> -14	-	-	-	32	99	0,32	45	97	0,44
<i>Rac</i> -15	-	-	-	48	99	0,48	racém	-	-
<i>Rac</i> -16	-	-	-	49	100	0,49	racém	-	-

Vizsgálatainkhoz a stabil, (*S*)-3 x (*R*)-4 són túl sikeresen előállítottuk a kevésbé stabil (*R*)-3 x (*R*)-4 sót is. Az egyetlen, látható szerkezeti különbség (eltekintve egyéb igen gyenge atom-atom kölcsönhatásoktól) a C-H... π ("gyűrű közép") típusú, elektrosztatikus kölcsönhatás. Míg az alapvető összetartó kölcsönhatások hasonlóak, addig a gyűrű-gyűrű kölcsönhatás miatt a rácsűrűség eltér annyira, hogy az meghatározó legyen a királis megkülönböztetésnél.

2.3. Racém-1-naftiletilamin rezolválása saját dikarbonsav-félamid származékokkal

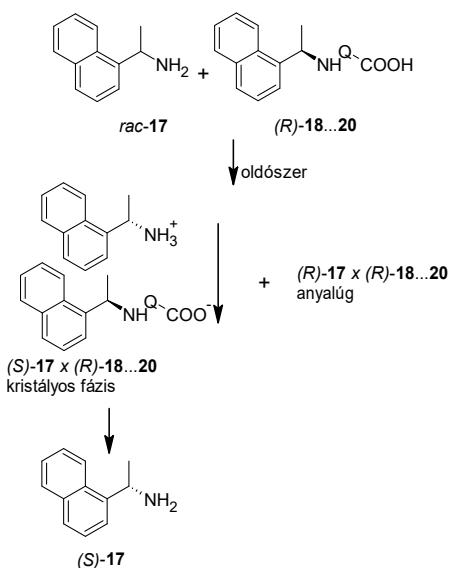
A kísérleteket kiterjesztettük az 1-feniletilaminnal analóg 1-naftiletilamin (*rac*-17) vizsgálatára is. Az (*R*)-17 enantiomerből -hasonlóan, mint az (*R*)-3-à(*R*)-4...6 esetén-, rezolválóágenseket ((*R*)-18...20) állítottunk elő (6. Ábra).



6. Ábra. (*R*)-18...20 dikarbonsav-félamid rezolválóágensek

Az *(R)*-18...19 rezolválóágenseket *(R)*-17 és nagy feleslegben vett dietil-oxalát, illetve dietil-malonát reakciójával, majd az azt követő hidrolízissel állítottuk elő, míg a *(R)*-20 esetén az *(R)*-17-t borostyánkősavanhidriddel reagáltattuk. Az így kapott *(R)*-18...20 savakkal a *rac*-17 bázis rezolválhatóságát vizsgáltuk (7. Ábra).²⁷

A feniletilamin sorozathoz hasonló eredményt kaptunk: mindhárom rezolválóagens alkalmasnak bizonyult az öt felépítő, de racém vegyület rezolválásához (3. Táblázat). A feniletilamin sorozatnál a rezolválóagens oldalkarjának növelésével (*(R)*-4a6) az alapmolekula (*rac*-3) esetén növekvő rezolválhatóságot értünk el és ez hasonló, mint amit a nafi-tilamin (*rac*-17) esetén az oxálamid (*(R)*-19) és a szukcinamidnál (*(R)*-20) tapasztaltunk. Ezzel szemben eltérő a malonamid (*rac*-18) viselkedése: a körülményektől függően a homo-, vagy a heterokirális szerkezet volt stabilabb hasonló, de gyenge eredménnyel.



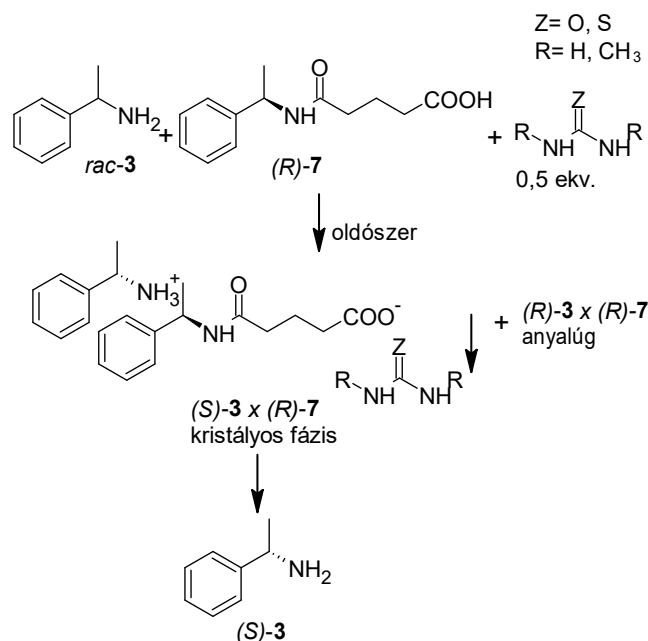
7. Ábra. *Rac*-17 rezolválása *(R)*-18...20 rezolválóágensekkel

3. Táblázat. *Rac*-17 rezolválása rokon szerkezetű *(R)*-18...20 rezolválóágensekkel

Rezolválóagens	<i>(R)</i> -18			<i>(R)</i> -19			<i>(R)</i> -20					
Bázis	T (%)	OT (%)	S	T (%)	OT (%)	S	T (%)	OT (%)	S			
<i>Rac</i> -17	60	99,8	0,59	86	12 (<i>R</i>)	0,10	32	100	0,32			
				homokirális (víz-ciklohexán)								
				86	15 (<i>S</i>)	0,13						
				heterokirális (víz)								

2.4. Racém-(3) rezolválása saját dikarbonsav-félamid származékokkal karbamidok jelenlétében

A rezolválóágensekben jelenlévő amid-kötésnek kiemelt szerepe van a diasztereomer stabilizációjánál. További hasonlósági vizsgálatainkhoz olyan savamid molekulaszervezettel rokon molekulát kerestünk, ami minimális kiterjedéssel és a rezolválóagenshez hasonló csoporttal rendelkezik. „Lecsupaszított” savamidnak a karbamidot, az N-metil-, és N,N'-dimetil-karbamidot, illetve az ezekkel rokon tiokarbamidot választottuk. A kísérleteket a korábbi eredmények összehasonlíthatósága miatt az *(R)*-4...7 rezolválóágensekkel végeztük el úgy, hogy a félekvivalens mennyiségű karbamid származékok voltak jelen. Érdekes tapasztalat, hogy amíg az *(R)*-4, *(R)*-5, *(R)*-6 rezolválóágensek önmagukban jó eredményt adtak, addig karbamidok jelenlétében nem alakult ki kristályos szerkezet, így rezolválásról sem beszélhetünk. *(R)*-7 rezolválóágenst önmagában alkalmazva a diasztereomer só többszöri átkristályosítása után 77%-os optikai tisztaságnál eutektikus összetételt tapasztalunk.²⁸ Karbamidok jelenlétében ezt az eutektikus összetételt az első kristályosításnál „átugorjuk”, így két átkristályosítás után gyakorlatilag tiszta heterokirális diasztereomer sókat izolálunk (8. Ábra).



8. Ábra. *Rac*-3 rezolválása *(R)*-7 rezolválóágensszel karbamidok jelenlétében

4. Táblázat. *Rac-3* rezolválása (*R*)-7 rezolválóágenssel karbamidok jelenlétében, eredmények

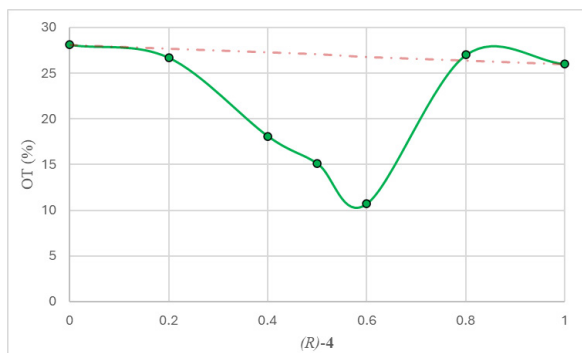
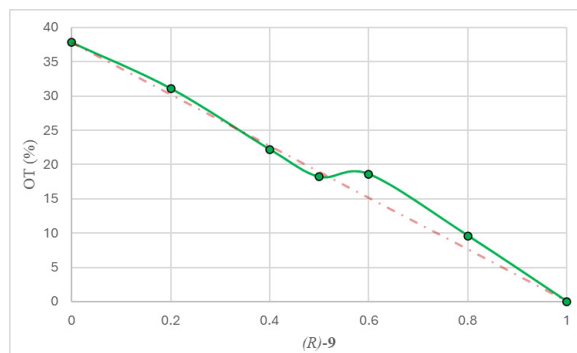
Karbamidok	Oldatból kiváló diasztereomer só			Diasztereomer só kétszeri átkristályosítás után		
	T (%)	OT (%)	S	T (%)	OT (%)	S
-	62	58	0,36	45	77	0,35
Karbamid	54	90	0,49	42	99	0,41
Tiokarbamid	51	73	0,37	35	100	0,35
N-metilkarbamid	53	83	0,44	36	100	0,36
N,N'-dimetilkarbamid	51	82	0,42	33	100	0,33

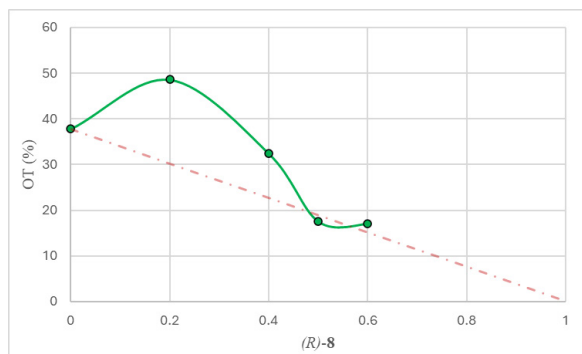
Termoanalitikai és HPLC mérésekkel kimutattuk, hogy a diasztereomer sók karbamid esetén $\approx 0,5$ ekvivalens mennyiséget tartalmaznak, míg a többi származék alkalmazásánál az akirális adalékok nem épültek be a sókba. A 4. Táblázatból látszik, hogy a karbamid beépülése a többiekhez képest plusz nyereséggel jár: a rezolválhatóság is javul. A többi karbamid jelenlétében elért rezolválhatóság kísértetiesen hasonló az eredeti, akirális additív nélküli eredményhez, de az annál több, mert az optikai tisztaság gyakorlatilag 100%.

A heterokirális kapcsolatok hasonlóságának vizsgálatához az (*S*)-3 x (*R*)-4 diasztereomer só egykristály röntgendiffrakciós felvételét hasonlítottuk össze az (*S*)-3 x (*R*)-7, az (*S*)-12 x (*R*)-6, illetve az (*S*)-17 x (*R*)-18 sókkal. Minden esetben hasonló hidrogénhid rendszert találtunk, illetve kitüntetett szerepe van az aromás π - π , illetve a C-H... π ("gyűrű közép") típusú kölcsönhatásoknak. Ezek alapján kijelenthetjük, hogy a rokon szerkezetű vegyületek nagy valószínűséggel hasonló kölcsönhatásokat alakítanak ki. Ennek az a következménye, ha a racém vegyület egyik enantiomeréből ellentétes karakterű rezolválóágens családot állítunk elő, akkor nagy valószínűséggel találhatunk közte a kiindulási racém vegyületre nézve alkalmas rezolválóágens, illetve a rendszer „finomhangolható” a hasonló, de mégis picit eltérő struktúrákkal.

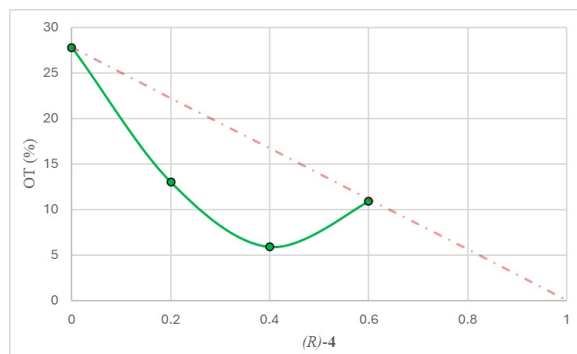
2.5. Rezolválás olvadékkristályosítással

Az eltérő, de mégis nagyrészt hasonló struktúrák szerepét vizsgáltuk úgy, hogy igyekeztünk minél jobban „lecsupaszítani” a rendszert és figyelmen kívül hagyni az oldószer okozta eltéréseket. A korábban megismert rezolválásokat úgy módosítottuk, hogy elhagytuk az oldószert és minden esetben félekvivalens mennyiségű rezolválóágens alkalmaztunk. Összemérés után az elegyet a teljes oldódásig melegítettük és a diasztereomer sőt ebből kristályosítottuk. A kapott szuszpenzióhoz hexánt adtunk, így a bemért racém bázisra számítva félekvivalens mennyiségű diasztereomer sőt és szabad bázist különítettünk el. Ez a megoldás gyors teszt módszernek bizonyult, így vizsgálatainkat kiterjesztettük olyan esetekre, amikor a kémiai egységes rezolválóágens helyett rezolválóágens keverékeket alkalmaztunk.²⁹ Ezeknél a vizsgálatoknál összességében szintén félekvivalens mennyiségű rezolválóágens alkalmaztunk, így jól megfigyelhető volt a rezolválóágens egymásra gyakorolt szinerg hatása. A kapott optikai tisztaság adatokat a rezolválóágens összetételének a függvényében az 1. Diagram-5. Diagramokon ábrázoltuk. Minden esetben behúztuk a két tiszta rezolválóágenssel kapott eredményből számolható lineáris effektust is.

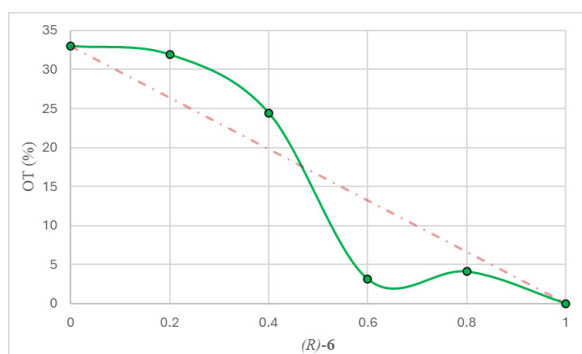
**1. Diagram.** *Rac-1* rezolválása (*R*)-4 (*R*)-6 rezolválóágens keverékekkel**2. Diagram.** *Rac-1* rezolválása (*R*)-9 (*R*)-7 rezolválóágens keverékekkel



3. Diagram. *Rac-1* rezolválása (*R*)-8 (*R*)-7 rezolválóagens keverékekkel



4. Diagram. *Rac-12* rezolválása (*R*)-4 (*R*)-6 rezolválóagens keverékekkel



5. Diagram. *Rac-16* rezolválása (*R*)-6 (*R*)-5 rezolválóagens keverékekkel

Kíváncsiak voltunk olyan esetekre, amikor mindkét rezolválóagens alkalmas a racém vegyület enantiomerjeinek a megkülönböztetésére, de kiemelt szerepet kaptak azok a kombinációk, amikor valamelyik rezolválóagens önmagában nem volt jó (2. Diagram-5. Diagramok). Ez lehet azért, mert nem kristályosodik az adott racém vegyülettel (3. Diagram és 4. Diagramok), vagy ugyan tapasztalunk kristályos kiválást, de az racém összetételben tartalmazza az elválasztani kívánt enantiomereket (2. Diagram és 5. Diagramok). Ezek figyelembevételével tervezett kísérlet-sorozatokról megállapíthatjuk, hogy a 2. Diagram keverékeinél az elért optikai tisztaság-keverékarány összefüggés közel lineáris. Ezzel szemben az 1. Diagram és 4. Diagramok keverékeinél negatív, míg a 3. Diagram keverékeinél ellenben pozitív kölcsönhatást kapunk. Az 5. Diagram keverékeivel a reagensek arányától függően pozitív és negatív kölcsönhatást tapasztalunk.

3. Összefoglalás

Az eredmények tükrében jópár általánosítást tehetünk a rezolválóagens kereséssel kapcsolatban:

- Származék rezolválóagensok között biztosan találunk olyat, amelyik alkalmas az enantiomerek elválasztására.

- A rezolválóagens core molekuláriszletét tartalmazó racém összetétel több saját származékkal is, a szubsztituált racém core vegyület ezek közül valamelyikkel nagy valószínűséggel rezolválható.
- Rokon szerkezetű rezolválóagens keverékeket alkalmazva javítható a királis megkülönböztető képesség. Az egyik molekula lehet önmagában alkalmatlan is.
- Az oldószer meghatározhatja, hogy melyik enantiomer vesz részt a kristályosodó szupramolekuláris szerkezetben.
- Olvadékból is lehet diasztereomer sőt kristályosítani.
- Nemcsak oldószer molekula épülhet be a diasztereomerbe, hanem más akirális vegyület is. Előnyös lehet a szerkezetében hasonló.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti Dr. Fogassy Elemért, illetve Dr. Keglevich Györgyöt, nélkülük nem jött volna létre sem a kutatási terület, sem pedig ez a cikk. A szerző hálás továbbá a PharmaLab Nemzeti Labornak (RRF-2.3.1-21-2022-00015) a támogatásért.

Hivatkozások

1. a) Pasteur, L. C. R. *Acad. Sci.* **1853**, 37, 162. b) Pasteur, L. *Ann. Chim. (Paris)*, **1853**, 38, 437.
2. Sakurai, R., Yuzawa, A., Sakai, K., and Hirayama, N. *Cryst. Growth Design*, **2006**, 6, 1606-1610.
<https://doi.org/10.1021/cg060041s>
3. Sakurai, R., Sakai, K. *Pharmaceutical Process Chemistry*, **2010**, 19.
4. Kodama, K., Kimura, Y., Shitara, H., Yasutake, M., Sakurai, R., Hirose, T. *Chirality*, **2010**, 23, 326-332.
<https://doi.org/10.1002/chir.20922>
5. Novák T., Ujj V., Schindler J., Czugler M., Kubinyi M., Mayer Z.A., Fogassy E., Keglevich G. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 2599-2602.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2006.09.016>
6. Ujj V., Schindler J., Novák T., Czugler M., Fogassy E., Keglevich GY. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19, 1973-1977.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2008.07.029>
7. Bagi P., Fekete A., Kállay M., Hessz D., Kubinyi M., Holczbauer T., Czugler M., Fogassy E., and Keglevich G. *Heteroatom Chemistry* **2015**, 26, 79-90.
<https://doi.org/10.1002/hc.21218>
8. Gizur, T., Péter, I., Harsányi, K., Fogassy, E. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 1589.
[https://doi.org/10.1016/0957-4166\(96\)00188-7](https://doi.org/10.1016/0957-4166(96)00188-7)
9. Fogassy, E., Kozma, D. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol., Sect. A* **1996**, 276, 37-45.
10. Suzuki, K., Kondo, S., Fujino, M., Takauchi, H., Kawachi, Y. Japanese Patent 73, 103,516, 1973; *Chem. Abstr.* **1973**, 80, 133826.
11. Hung. Pat. 195174, 1984, *Chem. Abstr.* **1984**, 102, 61849.
12. Schneider, G., Feller, A., Greff, Z., Lempert, K., Fetter, J., Hornyák, Gy., Sohár, P., Fogassy, E., Ács, M., Kürthy, M., Fekete, M. Hung. Pat. 2069/91.
13. Fogassy, E., Kozma, D. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 28, 5069-5070.
[https://doi.org/10.1016/00404-0399\(50\)09415-](https://doi.org/10.1016/00404-0399(50)09415-)
14. Faigl, F., Fogassy, E., Ács, M. Hung. Pat. 193199, 1984, W08503,932, *Chem. Abstr.* **1984**, 104, 190891.
15. Vries, T., Wynberg, H., van Echten, E., Koek, J., ten Hoeve, W., Kellogg, R. M., Broxterman, Q. B., Minnaard, A., Kaptein, B., van der Sluis, S., Hulshof, L. A., Kooistra, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 17, 2349-2354.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19980918\)37:17<2349::AID-ANIE2349>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19980918)37:17<2349::AID-ANIE2349>3.0.CO;2-I)
16. R.M. Kellogg, M. Leeman *Comprehensive Chirality*, **2012**, 367-399.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095167-6.00918-6>
17. Kaptein, B., Elsberg, H., Grimbergen, R. F. P., Broxterman, Q. B., Hulshof, L. A., Pouwer, K. L., Vries, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 1343-1351.
[https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00048-3)
18. Fogassy E., Schindler J., Kiss V., Pálovics E. *Magyar Kémiai Folyóirat* **2004**, 2, 64-70.
19. E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics and J. Schindler *Synthesis* **2005**, 10, 1555-1568.
<https://doi.org/10.1055/s-2005-869903>
20. F. Faigl, J. Schindler, E. Fogassy *Topics in Current Chemistry, Volume: Novel Optical Resolution Technologies*, **2006**.
21. Gerster, J. F., Rohlfing, S. R., Winandy, R. M.: North American Medicinal Chemistry Symposium, Toronto, 1982.
22. Bálint József PhD értekezés Budapesti Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki Kar Szerves Kémiai Technológia Tanszék Budapest, 1996.
23. Balint, J., Egri, G., Vass, G., Schindler, J., Gajary, A., Friesz, A., Fogassy, E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 3, 809-813.
[https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(99\)00527-3](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(99)00527-3)
24. Balint, J., Egri, G., Czugler, M., Schindler, J., Kiss, V., Juvancz, Z., Fogassy, E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1511-1518.
[https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(01\)00254-3](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(01)00254-3)
25. Egressy M., Schindler J., E. Fogassy *Periodica politechnica* **2003**, 61.
26. Bálint J., Schindler J., Egri G., Hánusz M., Marthi K., Juvancz Z., Fogassy E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3401-3405.
<https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.09.017>
27. Laura Bereczki, Petra Bombicz, József Bálint, Gabriella Egri, József Schindler, György Pokol, Elemér Fogassy, Katalin Marthi *Chirality* **2009**, 21, 331-338
<https://doi.org/10.1002/chir.20535>
28. J. Schindler, M. Egressy, L. Bereczki, G. Pokol, E. Fogassy and K. Marthi *Chirality* **2007**, 19, 239-244
29. J. Schindler, M. Egressy, J. Bálint, Z. Hell, E. Fogassy *Chirality* **2005**, 17, 565-569.

The role of chiral and aciral related structures in enantiomer recognition

In chemistry, the most widely used method for separating compounds of similar structure or mixtures of isomers is as follows: the dissolved mixture is reacted with a third compound and the resulting product precipitates from the solution. The solid phase contains one compound, the liquid the other or their derivatives. This method was first used by Pasteur, who separated the enantiomers of racemic tartaric acid.¹ He added the racemic tartaric acid to the aqueous solution of d-quinotoxine and the crystals of d-quinotoxine-d-tartaric acid hexahydrate could be separated by filtration. He realised that the only way to distinguish the enantiomers was to use an optically active compound with foreign structures.

Since then it has been known that these crystalline diastereomeric structures are characterised by a supramolecular organisation, which in some cases is stabilised by the presence of solvent molecules.²⁻⁷

It was also recognised that this chiral molecule could be derived from enantiomers of racemic compounds, which could be the most advantageous resolving agent.⁸⁻¹⁴

Dutch researchers recognised that the joint use of mixtures of several resolving agents of similar structure can be advantageous for separation.¹⁵⁻¹⁶

Others have observed that a racemic compound which is inseparable by one resolving agent becomes separable when mixed with an analogous but separable racemic compound.¹⁷ In summary, enantiomeric discrimination, chiral-chiral recognition, can be improved if a chiral compound of similar structure (either to the racemic compound or to the resolving agent) is present in addition to the resolving agent. Chirality and the organisation of organic chemical molecules are related, and causal relationships can be found.¹⁸⁻²⁰ Taking into account the fact that you can design interactions when searching for a resolving agent and not limiting the possibilities to random combinations gives you a much better chance of answering the question, 'How do I find a resolving agent for my racemic molecule?'

In the light of the above, the question arises as to whether it is advantageous to have a mixture of resolving agents with a structure related not only to each other but also to the racemic compounds. The question is whether the crystal solvate incorporated in the diastereomer can be only a solvent molecule or also other aciral compounds. If other aciral molecules are incorporated into the supramolecular structure instead of solvent molecules, can they be related to the resolving agent or to the racemic compound? Finally, is a solvent needed at all to separate one enantiomer from the more stable diastereomer formed from the other optical isomer, which is at most used to prepare the separation in distillation and sublimation processes? Solvents are also used in the melt separation of diastereomeric complexes and enantiomers only for post-crystallisation operations. The question is whether it is possible to separate the residual enantiomer from the melt of the racemic compound and the resolving agent after crystallisation of the more stable diastereomer, and whether this method is also advantageous for mixed reagents.

Our work has sought to answer these questions through model compounds. Our aim was to work under the same conditions as far as possible when isolating a series of compounds, so that similarities or differences in the behaviour of the derivatives and mixtures could be detected. The aim was not to optimise individual resolves, but not to find the most favourable conditions.

There is only one known method in the literature for the resolution of racemic 6-fluoro-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline (*rac*-1).²¹ The method was developed by Riker Laboratories, which patented flumequine and its analogues. Tetrahydroquinoline is acylated with N-tosyl-L-prolyl chloride, the resulting diastereomers are separated by column chromatography, and then decomposed in ethanol with sodium ethylate.

The salt-forming resolutions of the *rac*-1 diastereoisomer were mapped by Bálint with the following optically active compounds: bromocamphorsulfonic acid, *L*-tartaric acid, di-(*p*-toluyl)-*L*-tartaric acid, FTHQ's own *N*-phenyl (*R*)-configuration derivative (*R*)-2) (Table 1).²²

For its own derivative, the optical purity (OT= 28%) and thus the resolvability (S= 0.24) is far below what would be expected for a good resolving agent. The method developed by Bálint was modified and when the resolving agent was added in solid form to a solution of *rac*-1 with hexane, a diastereomeric formation was obtained containing one mole of base and two moles of resolving agent (Figure 2). From the complex, the (*S*)-1 base was obtained with 85% production and 75% optical purity (S= 0.64).²³ The result obtained is significantly better than the previous ones.

To investigate the interactions of racemic resolving agents with related structures, the interactions of 1-phenylethylamine (*rac*-3) and its partially homologous dicarboxylic acid halfamide resolving agents (*R*)-4...9), prepared from its optically pure enantiomer (*R*)-3), were studied (Figure 3).

With this model, we were able to expand the scope of our studies significantly. We also extended the related structures on the racemic side by testing methyl, methoxy, and halogen compounds (*rac*-10...16) substituted in the aromatic core (Figure 4).

The solubility of *rac*-3, *rac*-10...16 was investigated in the classical way by the solvent diastereomer salt formation method with the resolving agents (*R*)-4...9 with related structures (Figure 5).

The resolving agents (*R*)-8 and (*R*)-9 were found to be unsuitable because they typically did not yield crystalline diastereomeric salts with *rac*-3 or *rac*-10...16 bases or the crystallizing diastereomer contained them in a racemic composition. The (*R*)-4...6 resolving agents and the *rac*-3 and *rac*-10...16 bases were reacted in a solvent suitable for crystallization of the diastereomeric salt. Acetone or ethyl acetate were the most suitable solvents. After two crystallisation cycles, the crystallising salts were filtered and the base was liberated and qualified. In most cases, near-pure enantiomers were obtained (Table 2).²⁴⁻²⁶

In all cases, the heterochiral relationship was the most stable among the diastereomeric salts, i.e. the crystallizing diastereomeric salt contained (*S*)-configuration of 3, 10...16 enantiomers. In the case of bases containing halogen in the *p*-position (*rac*-15, *rac*-16), the resolving agent (*R*)-5 was found to be suitable for enantiomer discrimination, whereas in the case of (*R*)-6 the diastereomeric salt contained the enantiomers of compounds 15 and 16 in racemic configuration. Except for the latter, in all cases the heterochiral diastereomer (quasi racemate) crystallized, from which it was concluded that these salts have similar chiral interactions and thus the supramolecular structure of the diastereomers of different material qualities is similar. To prove this, the structure of several diastereomeric salts was determined by single crystal X-ray diffraction. An answer to the difference between hetero- and homochiral diastereoisomers was attempted.

In addition to the stable (*S*)-**3** x (*R*)-**4** salt, we have also successfully prepared the less stable (*R*)-**3** x (*R*)-**4** salt for our studies. The only observed structural difference (apart from other very weak atom-atom interactions) is the C-H... π ("ring center") type electrostatic interaction. While the basic cohesive interactions are similar, the ring-ring interaction causes the lattice density to differ enough to be decisive for the chiral distinction.

The experiments were extended to 1-naphthylethylamine (*rac*-**17**), an analog of 1-phenylethylamine. The resolving agents ((*R*)-**18**...**20**) were prepared from the enantiomer (*R*)-**17**, similar to (*R*)-**3** and (*R*)-**4** (Figure 6). The resolving agents (*R*)-**18**...**19** were prepared by reacting (*R*)-**17** with diethyl oxalate or diethyl malonate in large excess followed by hydrolysis, while for (*R*)-**20** (*R*)-**17** was reacted with succinic anhydride. The resulting (*R*)-**18**...**20** acids were used to study the resolution of the *rac*-**17** base (Figure 7).²⁷ Results were similar to those obtained for the phenylethylamine series: all three resolving agents were found to be suitable for resolving the racemic compound formed (Table 3). For the phenylethylamine series, increasing the side chain ((*R*)-**4** to **6**) of the resolving agent for the parent molecule (*rac*-**3**) resulted in increasing resolvability and is similar to that observed for naphthylamine (*rac*-**17**) for oxalamide ((*R*)-**19**) and succinamide ((*R*)-**20**). In contrast, the behavior of malonamide (*rac*-**18**) is different: depending on the conditions, the homo- or heterochiral structure was more stable with similar but poor results.

The amide bond present in the resolving agents plays a key role in diastereomer stabilisation. For our further similarity studies we aimed to find a molecule related to the amide molecular structure with minimal extension and a group similar to the resolving agent. We chose urea, *N*-methyl- and *N,N'*-dimethylurea and their related thiourea as 'stripped' amides. For comparison with previous results, the experiments were carried out with (*R*)-**4**...**7** resolving agents, with half-equivalent amounts of urea derivatives present. It is interesting to note that while (*R*)-**4**, (*R*)-**5**, (*R*)-**6** gave good results on their own, no crystalline structure was formed in the presence of ureas and therefore no resolution could be observed. (*R*)-**7** resolving agent alone, after repeated recrystallization of the diastereomeric salt, gave a eutectic composition with 77% optical purity.²⁸ In the presence of ureas, this eutectic composition is "skipped" on the first crystallization, so that after two recrystallizations pure heterochiral diastereomeric salts are isolated (Figure 8).

Thermoanalytical and HPLC measurements showed that the diastereomeric salts contain ≈ 0.5 equivalent amount of urea, while the other derivatives did not incorporate aciral additives. From Table 4 it can be seen that the incorporation of urea gives an additional gain compared to the others: the resolvability is also improved. The resolvability achieved in the presence of other ureas

is eerily similar to the original result without acrylic additives. Furthermore, the optical purity is practically 100%.

To investigate the similarity of heterochiral relationships, single crystal X-ray diffraction patterns of the diastereomeric salt (*S*)-**3** x (*R*)-**4** were compared with those of the salts (*S*)-**3** x (*R*)-**7**, (*S*)-**12** x (*R*)-**6**, and (*S*)-**17** x (*R*)-**18**. In all cases, similar hydrogen bridge systems were found and the aromatic π - π and C-H... π ("ring center") interactions play a predominant role. These results suggest that compounds with related structures are likely to have similar interactions. The consequence is that, if a family of resolving agents with different properties is prepared from one enantiomer of the racemic compound, it is highly likely that a suitable resolving agent for the starting racemic compound will be found among them. Alternatively, the system can be 'fine-tuned' using similar structures with slight differences.

We investigated the role of the different, but still largely similar, structures by trying to "strip down" the system as much as possible, ignoring solvent-induced differences. Previously known optical resolutions were modified by omitting the solvent and using half the amount of resolving agent in each case. After mixing, the mixture was heated to complete dissolution and the diastereomeric salt was crystallized out. Hexane was added to the resulting suspension to separate half the equivalent amount of diastereomeric salt and free base per measured racemic base. This solution proved to be a rapid test method, and we extended our studies to cases where mixtures of resolving agents were used instead of chemically uniform resolving agents.²⁹ In these studies, we also used a total of half equivalent amounts of resolving agents so that the synergistic effect of the resolving agents on each other could be well observed. The optical purity data obtained as a function of the resolving agent composition are plotted in diagrams 1 to 5. In each case, the linear effect calculated from the result obtained with two pure resolving agents is also included.

We were interested in cases where both resolving agents were good at distinguishing the enantiomers of the racemic compound, but we gave priority to combinations where one of the resolving agents alone was not good (Diagrams 2-5). This may be because it does not crystallize with the racemic compound (Diagrams 3 and 4), or because crystalline precipitation is observed but the racemic composition contains the enantiomers to be separated (Diagrams 2 and 5). For a series of experiments designed with this in mind, it can be concluded that the optical purity/mixing ratio relationship obtained for the mixtures in Diagram 2 is almost linear. In contrast, a negative interaction is obtained for the mixtures of Diagrams 1 and 4, while a positive interaction is obtained for the mixtures of Diagram 3. For the mixtures in Diagram 5 we find positive and negative interactions depending on the ratio of the reagents.

A BME VBK ipari enzimfejlesztési kutatásai

MOLNÁR Zsófia,^{a,b,**} TELEK András,^{c,d} INCZE Dániel,^e EMÖDI Nikolett,^e SZEMES József,^a
CSUKA Pál,^a NYÍRI Kinga,^{b,c} NAGY Gergely Nándor,^{b,c} BATA Zsófia,^e TASNÁDI Gábor,^d
VÉRTESSY G. Beáta^{b,c} és POPPE László^a

^aBME VBK, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

^bHUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet, Magyar tudósok körútja 2., 1117 Budapest, Magyarország

^cBME VBK, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

^dServier Kutatóintézet Zrt., 1031 Budapest, Magyarország

^eDr. Bata Zrt., 2364 Ócsa, Magyarország

1. Bevezetés

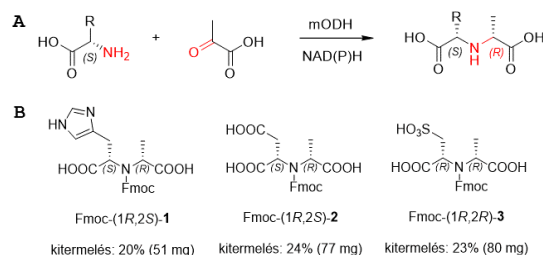
Napjainkban egyre nagyobb hangsúly kerül a környezetbarát megoldásokra mind a hétköznapi életben, mind az ipari folyamatokban. Ez többek között a gyógyszer- és az élelmiszeripart is érinti, ahol egyre nagyobb szerepet kapnak a zöld eljárások, mint például a biokatalízis.¹ Az enzimek (illetve az őket magukba foglaló sejtek) ipari szintű felhasználására bőven akad példa, elég csak a glükóz-izomeráz felhasználásával előállított magas fruktóztartalmú kukoricaszirupra,² vagy a szitaliptin antidiabetikum transzamináz enzim katalizálta előállítására gondolni.³ A biokatalízisnek számos előnye van, mint például a kiváló szubsztrát-, sztereo- és régiószelektivitás, valamint a működéshez szükséges enyhe reakciókörülmények. Széleskörű felhasználásukat azonban nagyban hátráltatja, hogy az ipari folyamatokban már megszokott, hagyományos katalizátorokhoz képest más infrastruktúra és kompetenciák szükségesek az előállításukhoz, fejlesztésükhöz és alkalmazásukhoz. A közeli jövőben azonban várhatóan egyre nagyobb jelentősége lesz az enzimikus technológiáknak. Az utóbbi évtizedekben robbanásszerű fejlődésnek indult mind a molekuláris biológia területe, mind pedig a számítási szerkezetmodellezések megbízhatósága és gyorsasága (a mesterséges intelligencia kiaknázásában rejlő lehetőségekről nem is beszélve). Ezek új területeket nyitottak meg az enzimek célzott fejlesztésében, az úgynevezett enzimmérnökségben.⁴ A tudományterület relevanciáját jól jelzi, hogy számos Nobel-díjat osztottak ki ilyen irányú kutatásokra az elmúlt években.⁵⁻⁷

A mérnöki irányú kutatásokban kiemelt fontosságú, hogy szoros együttműködésre törekedjünk az ipari partnerekkel, és hogy valós problémák megoldását tűzzük ki célul. A BME VBK-n több, jelenleg futó kutatás is ezt az elvet követi. Ezek az interdiszciplináris együttműködések olyan területeket ölelnek fel, mint például a metagenomikus enzimek bioinformatikai úton történő azonosítása és kísérletes vizsgálata, szerkezetmeghatározás és azon alapuló modellezés, az enzimek célzott pontmutációkkal történő fejlesztése és az iparilag releváns körülmények közötti tesztelés. Az alábbi összefoglaló cikkben ezen eredményeinket mutatjuk be.

2. Opin származékok enzimatiszintézise

A modern gyógyszerjelölt molekulák szerkezete egyre összetettebb, gyakran több kiralitáscentrumot is tartalmaz, melyek gazdaságos szintézise hatalmas kihívás a szintetikus vegyészek számára. Mivel a királis amin építőelem nagyon gyakran előfordul a kismolekulás hatóanyagokban,⁸ a szén-nitrogén kötés sztereoselektív kialakítása kiemelt fontossággal bír. Felismerve a biokatalízis királis aminok előállítására kínált lehetőségeit, a Servier kutatóintézet és a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszékén működő Biostruct Labor egy redukzív amináz enzim gyűjtemény létrehozását és funkcionális jellemzését tűzte ki célul. A célvegyületekként megjelölt ún. opin-származékok α -ketosavak és α -aminoészterek reakciójából nyerhetők, melyek értékes építőelemei számos bioaktív molekulának, mint például a peptidomimetikum típusú ACE2 gátlószereknek.

Munkánkat opin-dehidrogenázok (ODH) vizsgálatával kezdtük, mivel ezen enzimek a természetben α -aminosavak és piruvát redukzív aminálásával opinokat szintetizálnak (1. Ábra A).⁹ Az ELTE PIT bioinformatikai csoportja segítségével 10 új ODH szekvenciát azonosítottunk hőforrásból nyert metagenomikai adatbázisokból. Ezekből 6 enzim (mODH) karakterizálását valósítottuk meg, melyek az irodalomban leírtakhoz képest eltérő szubsztrátokon, jellemzően negatív töltésű poláros aminosavakon, mutatnak aktivitást. Egy kiválasztott metagenomikus enzimmel több preparatív méretű (~100 mg) transzformációt is elvégeztünk (1. Ábra B, 1-3). Az mODH-k eddig példátlan aminosav preferenciáját szerkezeti modellek segítségével értelmeztük, majd célzott pont mutációkkal bizonyítottuk.¹⁰

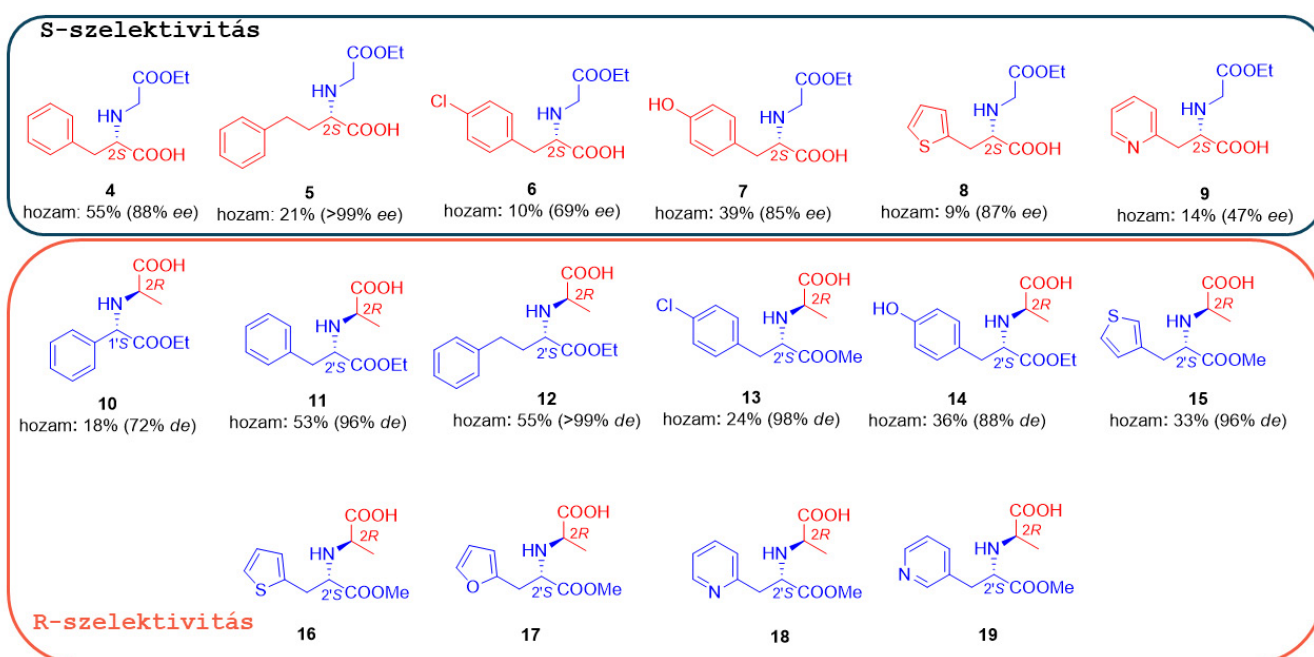


1. Ábra. A Az mODH-k által katalizált reakció általános egyenlete. B Az mODH-k felhasználásával szintetizált új molekulák.

* Főszerező. E-mail: molnar.zsolia@vbk.bme.hu

Mivel az ODH-k nem mutattak aktivitást sem aminoésztereken, sem ketoésztereken, figyelmünket kereskedelmi forgalomban kapható imin-reduktázokra (IREĐ), valamint irodalomban leírt iminosav-reduktázokra (IAREĐ) fordítottuk. A tesztelesek eredményeként azonosítottuk a *Rattus norvegicus*-ból származó ketimin-reduktázt (*Rn*KIRED), amely kiemelkedő aktivitást mutatott a-ketosav/a-aminoészter szubsztrátkombinációval. A reakciókörülmények optimalizálását követően feltérképeztük ezen enzim szubsztrátkörét és elvégeztünk 16 preparatív méretű átalakítást, valamint a vegyületek kémiai karakterizálását (2. Ábra). A termékek abszolút konfigurációjának meghatározása során egy érdekes jelenséget tapasztaltunk. Egyedülálló módon, ezekben az enzimatis reakciókban a szubsztrátok mérete befolyásolja az újonnan létrejövő sztereocentrum

konfigurációját: aromás ketosavak és l-alanin etil észter reakciójában (*S*)-szelektivitást (**4-9**), míg piruvát és aromás aminoészterek esetében (*R*)-szelektivitást (**10-19**) mutat az *Rn*KIRED az újonnan kialakuló kiralitáscentrum esetében. Ezt a jelenséget szerkezeti modellek segítségével értelmeztük.¹¹ Azonban meg kell jegyezni, hogy csökkent aktivitást figyeltünk meg néhány szubsztrátkombináció esetében, mint például az (*S*)-alanin-*tert*-butil-észter és a benzilpiruvát közötti reakció esetén (<10%-os konverzió 3 nap alatt). Mivel utóbbi reakció terméke több ACE2 gátló közös intermediere, jelenleg laboratóriumi evolúciós módszerekkel növeljük az enzim szintetikus alkalmazhatóságát. Ennek a munkának szerves eleme egy új típusú, sejtmentes enzim-mérnöki fejlesztés fókuszált variánskönyvtárak gyors vizsgálata céljából.



2. Ábra. Az *Rn*KIRED által katalizált reakciókban előállított vegyületek az újonnan kialakított sztereocentrum konfigurációja szerint csoportosítva. (A kék szín az aminoészter reakciópartnerből, a piros a ketosavból származó molekularészt jelöli.)

3. Mikotoxinnal szennyezett élelmiszerek és takarmányok enzimes detoxikálása

A mikotoxinok olyan toxikus másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket különböző penészgombák termelnek, és gyakran előfordulnak gabonafélékben, csonthéjasokban és fűszerekben.¹² Az ezen anyagokkal szennyezett élelmiszerek vagy takarmányok fogyasztása mikotoxikózishoz vezethet, amely emberben és haszonállatokban egyaránt súlyos egészségkárosodást okozhat.¹³ A fumonizinek olyan mikotoxinok, amelyek jelentős élelmiszer- és takarmánybiztonsági kockázatot jelentenek, közülük a fumonizin B₁ (FB₁) a legtoxikusabb és leggyakrabban előforduló vegyület.¹⁴ A fumonizin észterázokkal (FE-k) végzett enzimes detoxikálás ígéretes alternatívát kínál,¹⁵ a hagyományos kémiai és fizikai kezelések korlátaival szemben.¹⁶ Munkánk

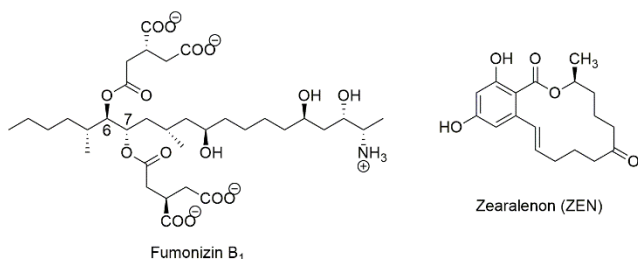
során két fumonizin-észteráz, az FE1 és FE2 kinetikai és szerkezeti jellemzését végeztük el, különös tekintettel azok regioszelektivitására és katalitikus hatékonyságára.¹⁵

Eredményeink alapján mindkét enzim kétlépéses mechanizmuson keresztül hidrolizálja az FB₁-et: először a C6 pozícióban található trikarballilsav-észtert hasítják le, így jön létre a pHFB_{1_7} köztitermék, majd ezt követi a teljes hidrolízis, amely során a végső, teljesen hidrolizált forma (HFB₁) keletkezik. Az acil-migráció, amely a két monoészter köztitermék (pHFB_{1_6} és pHFB_{1_7}) között zajlik, nem enzimatis folyamat és pH- és hőmérsékletfüggő – lúgos közegben gyorsabb átrendeződés figyelhető meg. Kinetikai elemzéseink azt mutatták, hogy az FE2 enzim alacsonyabb *K_M* értékkel és magasabb katalitikus hatékonysággal rendelkezik, különösen a pHFB_{1_7} hidrolízisének során (1. táblázat).

Ez a gyakorlati alkalmazás szempontjából kritikus, mivel az FE2 K_M értékei egybeesnek a nemzetközi fumonizin-határértékekkel, ami alátámasztja az enzim alkalmasságát az FB₁ teljes hidrolízisére a környezeti koncentrációkban.

Az igen kedvező kinetikai paraméterek molekuláris hátterének feltárása érdekében meghatároztuk az FE2 kristályszerkezetét (2,24 Å felbontással), amelyben kirajzolódott a klasszikus α/β -hidroláz felépítés, az enzim katalitikus triádja (S227, E343, H435) és az oxianion-lyuk. Felfedezhető egy, a rokon szerkezetekben nem fellelhető, pozitív töltésű szubsztrátkötő zseb is az aktív centrumban, amit arginin oldalláncok alakítanak ki. Molekuláris dokkolási vizsgálatok megerősítették az aktív centrum szerepét, és a fumonizin molekulacsalád további tagjainak (FB₂, FB₃, FA₁) kötődését is valószínűsítették.

Végül, az FE2 gyakorlati alkalmazhatóságát a kukorica nedvesüti feldolgozási körülményei között is vizsgáltuk, ahol az áztatóléban és a szilárd frakcióban is több mint 95%-os FB₁ hidrolízist értünk el, ami az enzim ipari alkalmazásának potenciálját is alátámasztotta. Eredményeink hozzájárulnak a fumonizin észterázok működésének jobb megértéséhez, és alapot adnak az enzimfejlesztési törekvésekhez, amelyek célja a hatékonyabb és szélesebb körben alkalmazható mikotoxin inaktíváló enzimek kifejlesztése.



3. Ábra. A fumonizin B₁ és zearalenon mikotoxinok szerkezete

A fumonizinek mellett a zearalenon (ZEN) az egyik leggyakrabban előforduló mikotoxin a gabonafélékben.¹² A zearalenon egy ösztrogénhatással rendelkező molekula, amely felhalmozódva a szervezetben hiperösztrogenizmust idéz elő, ezáltal kedvezőtlenül befolyásolja a szaporodásbiológiai folyamatokat. Emellett gyulladást okoz a bél nyálkahártyájában, ami az immunrendszer működésének gyengüléséhez vezethet.¹⁸ A haszonállatok zearalenonnal szennyezett takarmányozása különösen súlyos egészségügyi problémákat okozhat, elsősorban a sertések esetében, melyek a legérzékenyebbek a kitétségre.

A takarmányok zearalenon szennyezettségének csökkentésére a lakton-hidroláz enzimek egyre nagyobb kutatási érdeklődést váltanak ki, mivel képesek a ZEN lebontására a laktonkötés hidrolízisével, így nem toxikus vegyületekké alakítják azt.¹⁹ Jelen kutatásunk célja olyan új zearalenon-laktonázok azonosítása, amelyek alacsony K_m és magas k_{cat} értékekkel rendelkeznek, ezáltal hatékonyan képesek semlegesíteni a ZEN-t már alacsony környezeti koncentrációkban is.

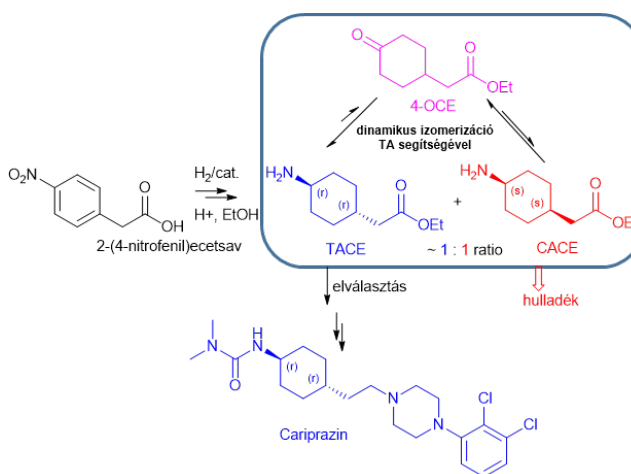
1. Táblázat. Az FE1 és FE2 enzimek kinetikai paraméterei (pH 6,0; 37 °C)

Enzim	Szubsztrát	K_M (μM)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_M (s ⁻¹ M ⁻¹)
FE1	FB ₁	8.37±0.55	140 ±2	1.67×10 ⁷
FE1	pHFB _{1_7}	44.3±2.23	121±2	2.73×10 ⁶
FE2	FB ₁	6.03±0.41	115±2	1.91×10 ⁷
FE2	pHFB _{1_7}	4.76±0.61	124±3	2.60×10 ⁷

4. Cariprazin gyártás közttermékének enzimés deracemizálása

A Richter Gedeon Nyrt. által kifejlesztett és gyártott Cariprazin hatóanyag jelenleg a cég zászlóshajója, melyet Európában Reagila®, Amerikában pedig Vraylar® néven hoznak forgalomba a skizofrénia és a bipoláris depresszió kezelésére.²⁰ A gyógyszer hatóanyagának része egy ciklohexán gyűrűegység, mely két pseudoaszimmetria centrumot tartalmaz, így a gyártás során *transz* és *cisz* közttermékek keletkeznek. Az aktív hatóanyag a *transz* közttermék, melyet hagyományos kristályosítási módszerrel választanak el a *cisz* köztterméktől. Kutatócsoportunkban a gyógyszer-gyártó céggel közösen egy biokatalízisen alapú gyártás-fejlesztési lehetőséget dolgoztunk ki, mellyel növelni lehetne a hatásos *transz* közttermék mennyiségét.

A gyártás során a 2-(4-nitrofenil)ecetsav katalitikus hidrogénezése során keletkezik az etil-2-(4-aminociklohexil)acetát, melyben a ciklohexán gyűrű 1- és 4-helyzetben két pseudoaszimmetria centrumot tartalmaz. Így a gyártás során a kívánt *transz* (TACE) közttermék mellett a hulladékként kezelt *cisz* (CACE) izomer is közel azonos mennyiségben keletkezik. A *cisz*-szelektív transzamináz enzim lehetőséget adnak, hogy dinamikus izomerizációval a CACE izomerből TACE izomert állítsunk elő a saját keton (4-OCE) köztterméken keresztül.^{21,22}



4. ábra A Cariprazin hatóanyag TACE közttermékének előállítása transzamináz enzimmel az eddig hulladékként kezelt CACE-ből

A gyártás során melléktermékként keletkező CACE-t dinamikus izomerizációval alakítottuk át TACE terméké. A megfelelő transzamináz enzimek kiválasztásához számos enzimet teszteltünk, mint például a *Chromobacterium violaceum* illetve a *Vibrio fluvialis* baktériumtörzsekből származó transzaminázokat és ezek mutánsait (Codexis® ATA screening kit). A legnagyobb CACE-TACE átalakítást az ATA217 enzimmel sikerült elérni, így további fejlesztéseinket ezzel az enzimmel végeztük. A vizsgálatok során számos reakciót befolyásoló paramétert optimaltunk, többek között a hőmérséklet, piridoxál-5'-foszfát ko-faktor koncentrációja, koszubsztrát arány, aminakceptor függés, szubsztrát koncentráció. A fejlesztés során olyan magas szubsztrát koncentrációval is sikerült dolgoznunk (50-100 g/L) és olyan mértékű diasztereomertisztaságot (de_{TACE} : 70-80 %) értünk el az optimalizációs folyamatnak köszönhetően, ami a méretnövelési kísérleteknek és az iparosíthatósági feltételeknek jó alapja.

A kutatási projekt során az ATA217 transzamináz számos a kutatócsoportunk által fejlesztett kovalens alapú enzim hordozóhoz rögzítettük és vizsgáltuk a biotranszformáció során a CACE-TACE átalakítást és visszaforgathatóságot. Méretnövelési reakciókat (200 mL reakciótér fogat) végeztünk számos formájú ATA217 biokatalizátorral (natív enzim, hordozóhoz rögzített enzim, egészsejtes, feltárt sejt forma) melyekkel 10 g-ot meghaladó TACE-t állítottunk elő.

Köszönetnyilvánítás

A C1580174 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a NVKDP-2021 pályázati program finanszírozásában valósult meg. A C1341189 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2021 pályázati program finanszírozásában valósult meg. A 2024-2.1.2-EKÖP-KDP-2024-00005 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a EKÖP_KDP-24-1-BME-25 pályázati program finanszírozásában valósult meg. A publikáció a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítvány támogatásával, a Richter Gedeon Kiválósági PhD Ösztöndíj keretében készült.

Hivatkozások

- Bornscheuer, U., Huisman, G., Kazlauskas, R., Lutz, S., Moore, J., Robins, K. *Nature* **2012**, *485*, 185–194. <https://doi.org/10.1038/nature11117>
- Marshall, R., Kooi, E. *Science* **1957**, *125* (3249), 648–649. <https://doi.org/10.1126/science.125.3249.648>
- Savile, C., Janey, J., Mundorff, E., Moore, J., Tam, S., Jarvis, W., Colbeck, J., Krebber, A., Fleitz, F., Brands, J., Devine, P., Huisman, G., Hughes, G. *Science* **2010**, *329* (5989), 305–309. <https://doi.org/10.1126/science.1188934>
- Buller, R., Damborsky, J., Hilvert, D., Bornscheuer, U. *Ang. Chem. Int. Ed.* **2025**, *64*, e202421686. <https://doi.org/10.1002/anie.202421686>
- The Nobel Prize in Chemistry 2018. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach 2025. Mon. 28 Apr **2025**. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2018/summary/>
- The Nobel Prize in Chemistry 2020. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach 2025. Mon. 28 Apr **2025**. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/summary/>
- The Nobel Prize in Chemistry 2024. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach 2025. Mon. 28 Apr **2025**. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2024/summary/>
- Bhutani, P.; Joshi, G.; Raja, N.; Bachhav, N.; Rajanna, P. K.; Bhutani, H.; Paul, A. T.; Kumar, R. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2339–2381. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01786>
- Telek, A.; Molnár, Zs.; Vértessy, G. B.; Tasnádi, G. *Biotechnol. Bioeng.* **2023**, *120*, 2793–2808. <https://doi.org/10.1002/bit.28469>
- Telek, A.; Molnár, Zs.; Takács, K.; Varga, B.; Grólmusz, V.; Tasnádi, G.; Vértessy, G. B. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2024**, *108*, 101. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12871-z>
- Telek, A.; Dargó, G.; Kovács, R.; Molnár, Zs.; Vértessy, G. B.; Tasnádi, G. *ChemCatChem* **2025**, DOI: 10.1002/cctc.202402066. <https://doi.org/10.1002/cctc.202402066>
- WHO. Mycotoxins. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins> (Fact sheet, 2 October 2023).
- Eskola, M.; Kos, G.; Elliott, C. T.; Hajšlová, J.; Mayar, S.; Krska, R. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2020**, *60*, 2773–2789. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>
- Chen, J.; Wei, Z.; Wang, Y.; Long, M.; Wu, W.; Kuca, K. *Food Chem. Toxicol.* **2021**, *149*, 111977. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.111977>
- Incze, D. J.; Molnár, Zs.; Nagy, G. N.; Leveles, I.; Vértessy, B. G.; Poppe, L.; Bata, Zs. *Food Chem.* **2025**, *473*, 143110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143110>
- Liu, M.; Zhao, L.; Gong, G.; Zhang, L.; Shi, L.; Dai, J.; Sun, L. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2022**, *13* (1), 19. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00661-4>
- Gruber-Dorninger, C.; Jenkins, T.; Schatzmayr, G. *Toxins* **2019**, *11* (7), 375. <https://doi.org/10.3390/toxins11070375>
- Zinedine, A.; Soriano, J. M.; Moltó, J. C.; Manes, J. *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *45* (1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.030>
- Peng, W.; Ko, T. P.; Yang, Y.; Zheng, Y.; Chen, C. C.; Zhu, Z.; Guo, R. T. *RSC Adv.* **2014**, *4* (107), 62321–62325. <https://doi.org/10.1039/C4RA12111B>
- Ágainé Csongor, É., Galambos, J., Nógrádi, K., Vágó, I., Gyertyán, I., Kiss, B., Laszlovsky, I., Laszy, J., Sággy, K. WO2005/012266A1
- Farkas, E., Sátorhelyi, P., Szakács, Z., Dékány, M., Vaskó, D., Hornyánszky, G., Poppe, L., Éles J. *Commun Chem.* **2024**, *7*, 86. doi: 10.1038/s42004-024-01148-9. <https://doi.org/10.1038/s42004-024-01148-9>
- Farkas, E., Poppe, L., Hornyánszky, G., Incze, D., Éles, J., Santa-Bell, E., Molnár, Zs., Szemes, J., Csuka, P. WO2023/042081A1.

Industrial enzyme research at the Faculty of Chemical Technology and Biotechnology of BME

In recent years, there has been a growing emphasis on environmentally friendly solutions in both everyday life and industrial processes, including both the pharmaceutical and food industries. One such green approach is biocatalysis, which offers advantages such as excellent substrate, stereo-, and regioselectivity under mild conditions. However, the widespread industrial use of enzymes still faces challenges related to infrastructure and expertise. Thanks to advances in molecular biology, computational modeling, and artificial intelligence, enzyme engineering has become a rapidly growing field, highlighted by several recent Nobel Prizes. At BME VBK, interdisciplinary collaborations with industrial partners focus on solving real-world problems through projects like metagenomic enzyme screening, structural analysis and modelling, and targeted development of industrially relevant enzymatic technologies.

One major project involved the enzymatic synthesis of opine derivatives. Recognizing the importance of chiral amine building blocks in drug development, we aimed to establish and characterize a library of reductive aminase enzymes. Using bioinformatic metagenome mining, ten new opine dehydrogenases (ODHs) were identified from thermophilic metagenomic databases, with six novel enzymes (mODHs) showing unique substrate preferences. Additionally, a ketimine reductase (RnKIREd) from *Rattus*

norvegicus was found to catalyze key reactions with impressive stereoselectivity, depending on substrate size. Efforts are ongoing to improve enzymatic activity for less reactive substrates through cell-free enzyme engineering.

Another line of research focused on the enzymatic detoxification of mycotoxins. Mycotoxins such as fumonisins and zearalenone (ZEN) pose serious food and feed safety risks. Two fumonisin esterases (FE1 and FE2) were kinetically and structurally characterized, revealing a two-step hydrolysis mechanism and a novel positively charged binding pocket in FE2. FE2 showed excellent catalytic efficiency even at environmental concentrations, highlighting its industrial application potential. Similarly, research into lactonase enzymes aims to identify candidates capable of effectively detoxifying ZEN at low concentrations.

Finally, our project in collaboration with Richter Gedeon Plc. targeted process optimization for the production of Cariprazin, an antipsychotic drug. We developed a biocatalytic method to convert the by-product *cis*-intermediate (CACE) into the desired *trans*-form (TACE) using selective transaminase enzymes. After screening several enzymes, ATA217 was identified as the most effective enzyme, and optimization efforts are ongoing to enhance process efficiency.

Multikomponensű reakciók kémiai informatikai értékelése virtuális könyvtárfejlesztéshez

HAVASI Dávid^{a,b,*} és ANGYAL Márton^a

^a Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3., Magyarország
^b Mcule.com Kft., Bartók Béla út 105-113., 1115 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A gyógyszerkutatás korai fázisában a számítógépes módszereknek köszönhetően nagyszámú szerkezet vizsgálatára nyílik lehetőség.¹ Egy virtuális szűrés során akár többmillió molekula is gyorsan vizsgálható, ugyanakkor a jelenleg polcra elérhető vegyületek száma mindössze tízmillió nagyságrendű. Napjainkra a szerves félvezetők kutatásában is megjelentek ezek a módszerek, ami tovább növeli az új vegyületek iránti igényt.² A polcra elérhető és az egyedi szintézissel előállítható vegyületek közötti szállítási idő- és költségbeli különbséget a virtuális vegyületek igyekeznek áthidalni. Ezek jellemzője, hogy elérhető alapanyagokból 1-2 szintetikus lépésben állíthatók elő elterjedten alkalmazott reakciótípusokkal, mint acilezés vagy C-C keresztkapcsolás.³ Az ilyen típusú vegyületekkel szemben elvárás, hogy nagy valószínűséggel elkészíthetők legyenek, valamint alacsony költséggel és szintézisidővel rendelkezzenek. Ezt a vegyületeket létrehozó szabályokkal lehet biztosítani, amelyek azonosítják a reakció szempontjából fontos alszerkezeteket, valamint kiszűrhetik a mellékfolyamatokat.⁴ Ilyen célból elterjedten alkalmazzák a SMARTS⁵ és SMIRKS⁶ reprezentációkat, mivel a reaktivitás mellett a transzformációkat is leírhatják. A jelenleg elérhető virtuális adatbázisok többek közt a Hartenfeller és munkatársai⁷ által gyűjtött robusztus reakció szabályhalmazán alapulnak.⁸ A terek vizsgálata alapján látható, hogy igazán nagyszámú terméket minimum két egymást követő reakcióval lehet elérni.

2. Multikomponensű reakciók

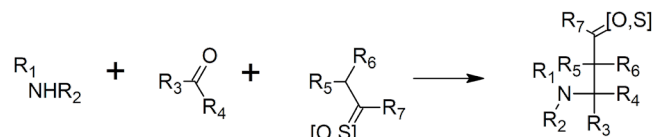
A multikomponensű reakciók (MCR-ek) olyan átalakulások, amelyeknél kettőnél több reaktáns kombinációjával jön létre a termék.⁹ Az MCR-ek különösen előnyösek, mivel egyetlen lépésben lehetővé teszik egy nagyobb kémiai tér gyors és hatékony felépítését. Fontos azonban különbséget tenni az egyes MCR-ek között aszerint, hogy a résztvevő reaktánsok változtathatók-e. Az alkinnek [2+2+2] cikloaddíciója (trimerizáció) nikkkel katalizátorral benzolgyűrűt alkot, azonban három különböző alkinvegyület kombinálására nem alkalmazható egyetlen termék eléréséhez¹⁰ – a reakció jellemzően szimmetrikus vagy intramolekuláris rendszerekben működik szelektíven. A tiofén előállításához

használható Gewald-reakcióban a-cianoészter, aldehid vagy keton, valamint kén vesz részt.¹¹ Az elemi kénalkalmazása miatt, csak a két további reaktáns lesz változtatható. Hasonló korlátai vannak az Asinger-reakciónak is az ammónia és a kén miatt, valamint a két keton használata is vegyes termékösszetételt eredményez.¹² A Pauson–Khand [2+2+1] cikloaddíció során alkin, alkén és szén-monoxid kapcsolódik össze öttagú gyűrűt zárva, a változtathatóságot a karbonilként beépülő CO korlátozza.¹³ A Strecker-féle aminosav szintézis első lépése kondenzáció aldehid, cianid és ammónia között, amelynek eredményeként egy a-aminonitril alakítható ki.¹⁴ A Hantzsch-féle piridinszintézis során összesen háromféle komponens alkotja meg a termék gyűrűs szerkezetét: ketoészter, aldehid és ammónia.¹⁵ A Bucherer–Bergs-reakció hidantoinok előállítására alkalmas karbonil vegyületekből, ammónia- és cianidforrás segítségével.¹⁶ Látható, hogy a felsorolt reakcióknál legfeljebb kettő komponensük ad változtatható alszerkezetet a termékben.

3. A vizsgálatba bevont multikomponensű reakciók

A következőkben olyan MCR-k rövid bemutatásával folytatjuk, amelyek legalább három variálható reaktánsra épülnek, kitérve a változtatható alszerkezetekre, valamint az egyes reakciókhoz bemutatjuk a SMIRKS reprezentációkat is, amelyek enumerációhoz és keresésekhez használhatók.

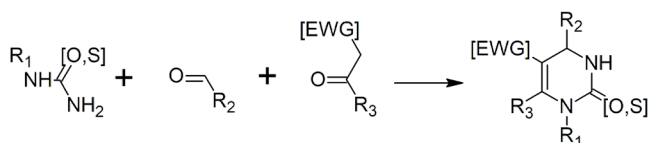
A Mannich-reakció egy vegyes-aldol-reakcióként értelmezhető, amelyben amin, karbonil vegyület és egy CH-savas komponens savas protonja vesz részt^{17,18} – szakirodalmi adatok alapján karbonil és tiokarbonil vegyületek is használhatók.¹⁹ A reakció eredményeként b-amino-karbonil vegyületek alakíthatók, különféle Lewis- és Bronsted-savak jelenlétében.



1. Ábra. A Mannich-reakció vizsgálatban használt sémája.
SMIRKS: [NX3!H0;!\$(*=[O,S,N]):10]-[#6].
[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX4H2:30]-
[A;\$([CX3]=[OX1,SX1])]>>[NX3:10]-[CX4:20]-[CX4:30]

* Főszerező. Tel.: +36 1 463 3103; e-mail: havasi.david@vbk.bme.hu

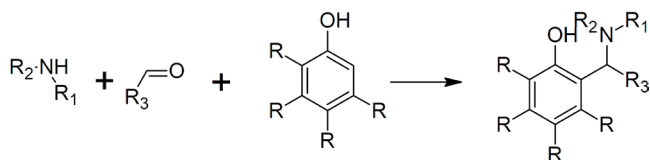
A Biginelli-reakció 3,4-dihidropirimidin-2(1H)-on előállítására alkalmas, eredeti formájában karbamid, aril aldehid és etil acetoacetát kapcsolódásából.²⁰ Újabb kutatásokban sikerült megvalósítani különféle karbamidszármazékok, valamint a ketoészterek mellett ketoszulfonátok alkalmazásával is. Amennyiben nem szimmetrikus az alkalmazott karbamid / tiokarbamid komponens, kétféle termék képződése várható, ugyanakkor ha csak az egyik nitrogén szubsztituált, akkor egyféle termék képződik.^{21,22}



2. Ábra. A Biginelli-reakció vizsgálatban használt sémája (EWG: karbonil és szulfonil funkciók)

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [NX3H2:13].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

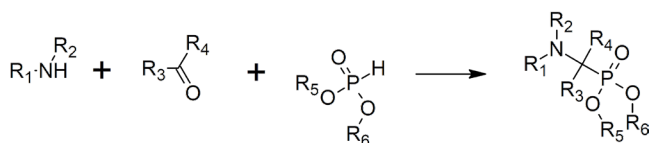
A Betti-reakcióval egy a-aminobenzilfenol alakítható ki egy fenolos komponens, aldehid és amin kapcsolásával.²³ Alapvetően a Mannich-reakció egy speciális esetének tekinthető, a karbonil CH savas hidrogénje helyett a fenol orto helyzetű protonja vesz részt a reakcióban. Jellemzően naftol és fenol típusú vegyületekkel írják le a szintézist, különféle szubsztituációs mintákkal.^{24,25}



3. Ábra. A Betti-reakció vizsgálatban használt sémája.

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [CX3H1:20]=[OX1].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

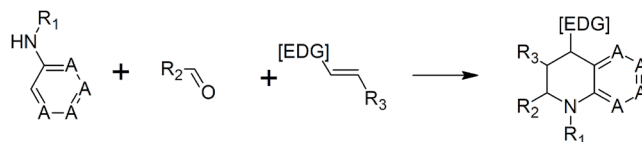
Az a-aminofoszfátok előállítására alkalmas Kabachnik–Fields-reakció során amin, karbonil és egy dialkil foszfonát kapcsolódik össze.^{26,27} A reakció alapvetően egy iminképződésből és az azt követő hidrofoszfoniációból áll, amelyet Lewis-savak és dehidralizálószerek gyorsíthatnak, ugyanakkor újabb szintetikus eredmények azt mutatják, hogy a reakció mikrohullámú fűtéssel akár oldószer és katalizátor nélkül is kivitelezhető.²⁸ A résztvevő amin és karbonil mellett a foszfonát is kétféle szubsztituenssel rendelkezhet.



4. Ábra. A Kabachnik–Fields-reakció vizsgálatban használt sémája.

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [CX3H1:20]=[OX1].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

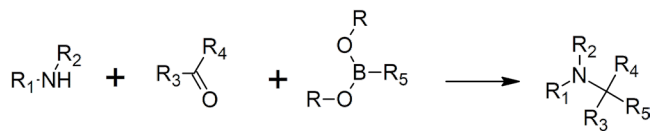
A Povarov- / Grieco-reakció karbonil, amin és elektrondús alkén (gyakran ciklopentadién) reakciójával 6-tagú heterociklusok kialakítására használható.^{29,30} Az alkén esetében fontos az elektrondús csoport jelenléte az egyik oldalon, ez ugyanis meghatározó a reakció szempontjából, valamint biztosítja a szelektív termékképződést.³¹ A résztvevő aminos esetében heteroaromás gyűrűhöz kapcsolódó, valamint szekunder aminos is alkalmasak lehetnek a reakcióra.^{32,33}



5. Ábra. A Povarov- / Grieco-reakció vizsgálatban használt sémája (EDG: az alkén szempontjából fontos, hogy elektrondús szubsztituensek, pl. fenil, vinil, éter, amin, stb.).

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [NX3H2:13].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

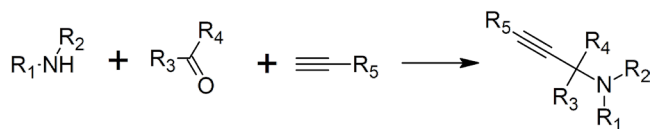
A Petasis-reakció során aromás vagy vinil boronsavak segítségével szubsztituált aminos állíthatók elő primer vagy szekunder aminosból, valamint aldehidekből vagy ketonokból.³⁴ A reakció első leírása óta igazolták, hogy boronsavak mellett boronátokkal és különféle heterociklusos bórvegyületekkel is működik a kapcsolás – katalitikus és katalizátortmentes körülmények között is.^{35,36}



6. Ábra. A Petasis-reakció vizsgálatban használt sémája.

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [CX3H1:20]=[OX1].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

Az aldehidek-aminok-alkinek MCR-ben való katalitikus kombinációját Li és munkatársai írták le először.³⁷ A röviden csak A3 kapcsolásnak nevezett reakció terméke egy propargil amin, ami hasznos építőkö különféle gyűrűs, biológiai és kémiai aktív szerkezet előállításához.³⁸ A reakció körülményeit tekintve átmenetifémek, például réz, ezüst vagy cink vegyületek használhatók katalizátorként.^{39,40}

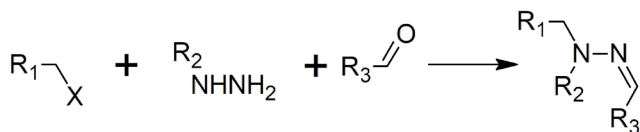


7. Ábra. Az A3 kapcsolási reakció vizsgálatban használt sémája.

SMIRKS: [NX3!H0;!\$[*#6]:10]-[CX3R0:11](=[OX1,SX1:12])- [CX3H1:20]=[OX1].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[#6]-[CX3:30] (= [OX1])-[CX4H2:31]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4] (= [OX1])=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3] (~[OX1])~[OX1])>>[NX3:10]1-[CX3:11](=[*12])-[NX3:13]- [CX3:20]=[CX3:30]-[CX4:31]-1

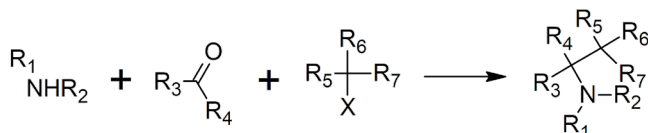
Egy nemrég megjelent munkában Hao és munkatársai trisubsztituált hidrazonok szintézisét mutatták be alkil halogenidek, aminos és aldehidek felhasználásával. A reakció

bázis jelenlétében hajtható végre, a különféle alkil halogenidek közül a kloridok bizonyultak a legreaktívabbnak. A termékként előállítható hidrazonok hasznos intermedierek lehetnek különféle heterociklusok szintéziséhez.⁴¹



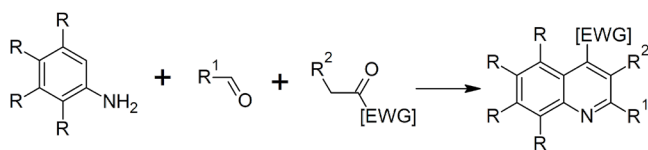
8. Ábra. A Hao-féle reakció vizsgálatban használt sémája, halogenidként fluorid, klorid, bromid és jodid is használható. SMIRKS: [FX1,CIX1,BrX1,IX1]-[CX4H2:10]-[c].[NX3H2:20]-[NX3H1;!\$(*=[O,S,N]):21]-[#6].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:30]=[OX1]>>[CX4:10]-[NX3:21]-[NX2:20]=[CX3:30]

Gaunt és munkatársai cink katalizátor vagy látható fény segítségével alfa pozícióban elágazó aminok szintézisét mutatták be karbonil alkilatív aminálási mechanizmussal. A reakcióban hatékonyan alkil jodidok és bromidok bizonyultak megfelelően reaktívnak, ugyanakkor mind primer, szekunder és tercier halogenidekre is mutattak be példákat.^{42,43}



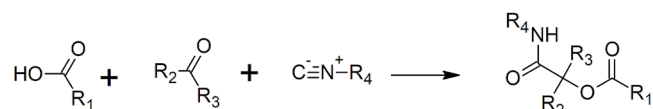
9. Ábra. A Gaunt-féle reakció vizsgálatban használt sémája. SMIRKS: [NX3!H0;!\$(*=[O,S,N]):1]-[#6].[#6]-[CX3R0;\$([CX3H1]),\$([CX3H0])([CX4])([CX4,c]):2)]=[OX1].[BrX1,IX1]-[CX4:3]>>[NX3:1]-[CX4:2]-[CX4:3]

A Doebner-reakcióban első leírása szerint anilin, egy aldehid, valamint piroszölősav kondenzációjából kinolinszármazékok állíthatók elő, szervesetlen sav jelenlétében.⁴⁴ Az első publikálása óta rámutattak, hogy az amin és az aldehid komponensek mellett a piroszölősav is kiváltható változtatható szerkezetekkel, pl. más ketoészterekkel, különféle savkatalizátorok jelenlétében.⁴⁵



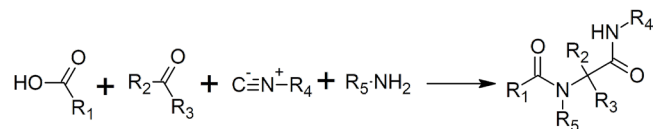
10. Ábra. A Doebner-reakció vizsgálatban használt sémája (EWG: észter és karbonsav funkciók). SMIRKS: [NX3H2;!\$(*=[O,S,N]):10]-[c;\$([c1cccc1]):11](-[a;!\$([cH]))~[cH:12].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[CX4!H0&!H1R0:31]-[CX3:30]=[OX1][A;\$([CX3]=[OX1])([OX2H0,OX2H1])>>[NX2:10]1:[c:11]:[c:12]:[c:30]:[c:31]:[c:20]:1

Az izocianidot használó MCR-ek egyike a Passerini-reakció, amelyben karbonsavak és karbonil vegyületek kapcsolhatók, egy a-aciloxi amidot kialakítva.⁴⁶ A reakció különféle karbonilvegyületekkel, köztük gyűrűs ketonokkal is kivitelezhető, limitációja elsősorban az izocianidok elérhetősége.⁴⁷ A szintézisre legnagyobb hatása az oldószernek van.⁴⁸



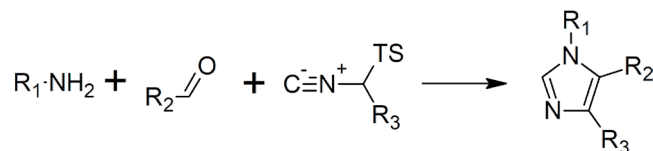
11. Ábra. A Passerini-reakció vizsgálatban használt sémája. SMIRKS: [#6][CX3]=[OX1][OX2H1:10].[#6]-[CX3R0;\$([CX3H1]),\$([CX3H0])([CX4])([CX4,c]):20)]=[OX1].[CX1:30]~[NX2:31]-[#6]>>[OX2:10]-[CX4:20]-[CX3:30]=[OX1]-[NX3:31]

Az Ugi-reakció ugyanazokat a komponenseket használja, mint a Passerini, kiegészítve egy aminnal, ezáltal egy reakcióban négy változtatható komponenst kombinálva, jellemzően katalizátor nélkül.⁴⁹ Az egyes reaktánsok szubsztituensei széles körben változtathatók, pl. az izocianid esetén terc-butil csoport, a karbonsav esetén különféle aromás gyűrűk is kapcsolódhatnak.⁵⁰



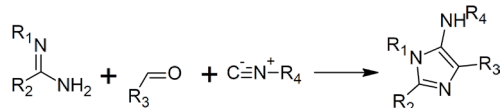
12. Ábra. Az Ugi-reakció vizsgálatban használt sémája. SMIRKS: [#6][CX3:10]=[OX1][OX2H1].[NX3!H0;!\$(*=[O,S,N]):20]-[#6].[#6]-[CX3R0;\$([CX3H1]),\$([CX3H0])([CX4])([CX4,c]):30]=[OX1].[CX1:40]~[NX2:41]-[#6]>>[CX3:10]-[NX3:20]-[CX4:30]-[CX3:40]=[OX1]-[NX3:41]

A van Leusen-reakció tozilmetil izocianidok (TosMIC) felhasználásával aldehidek és primer aminok összekapcsolására alkalmas, imidazolgyűrűt zárva.⁵¹ A reakció során a tozil funkció távozik, ugyanakkor a reakció szempontjából egy további szubsztituens (alifás, aromás) megengedhető.⁵² A reakció alapvetően bázis jelenlétében zajlik, és szobahőmérsékleten is végrehajtható.⁵³



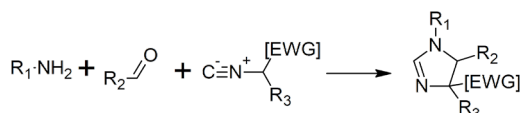
13. Ábra. A van Leusen-reakció vizsgálatban használt sémája (TS: p-toluolszulfonil csoport). SMIRKS: [NX3H2;!\$(*=[O,S,N]):10]-[#6].[#6]-[CX3H1:20]=[OX1].[CX1:30]~[NX2:31]-[CX4!H0:32]-[SX4;\$(*=(O)=(O)c1ccc(C)cc1)]>>[NX3:10]1:[c:20]:[c:32]:[NX2:31]:[c:30]:1

A savkatalizált Grobbeck–Blackburn–Bienaymé-reakcióban egy izocianid segítségével kondenzált aromás rendszer alakítható ki, savas közegben.^{54,55,56} A reakcióba bevonható alapanyagok körét az izocianid mellett az amin is limitálja, mivel annak egy orto helyzetben nitrogént tartalmazó gyűrűhöz kell kapcsolódnia – viszont nem csak hat, hanem öttagú heterociklusok is bevonhatók. Az aldehidek számos szubsztituenssel használhatók, így a reakció többféle variációra ad lehetőséget.^{57,58}



14. Ábra. A Grobke-Blackburn-Bienaymé-reakció vizsgálatban használt sémája (R_1 és R_2 egy gyűrű részei).
SMIRKS: [NX3H2:10]-[c:11]~[n:12]~[a;!\$([n])].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[CX1:30]~[NX2:31]-[#6]>>[nX2:10]1:[c:11]:[nX3:12]:[c:30]([NX3H1:31]):[c:20]:1

Az Orru-reakció nagyban hasonlít a van Leusen-reakcióra (amin, aldehid és izocianid kapcsolódása), azonban ebben az esetben az izocianid nem TosMIC típusú, hanem más elektronszívó csoporttal (pl. észter) van ellátva. Ennek köszönhetően a reakció termékeként 2-imidazolinok alakíthatók ki. A szintézis nátrium-szulfát jelenlétében, akár szobahőmérsékleten is végrehajtható.⁵⁹



15. Ábra. Az Orru-reakció vizsgálatban használt sémája (EWG: elektronszívó csoport, pl. észterek).
SMIRKS: [NX3H2:10]~[O,S,N]:10]-[#6].[#6;\$([c,CX4H0])]-[CX3H1:20]=[OX1].[CX1:30]~[NX2:31]-[CX4H0:32]-[A;\$([CX3]=[OX1])[OX2H0]),\$([SX4]=[OX1])(=[OX1])[OX2H0,NX3,#6]),\$([CX2]#[NX1]),\$([NX3]~[OX1])~[OX1]);!\$(S(=O)(=O)c1ccc(C)cc1)>>[NX3:10]1-[CX4H1:20]-[CX4:32]-[NX2:31]=[CX3H1:30]-1

4. Reakciók termékpotenciáljának értékelése

A virtuális tér bővítése szempontjából fontos, hogy a kialakítandó alszerkezet ritkának számít-e a jelenleg elérhető vegyületek között, valamint hasznosítható-e potenciálisan (pl. nem kerül-e kizárásra gyógyszerkutatási szempontok miatt⁶⁰). A kialakított SMIRKS-ek alapján első körben megvizsgáltuk az Mcule In Stock adatbázisában (6.317.976 szerkezet),⁶¹ hogy az egyes reakciók által előállított termék alszerkezetek milyen számban találhatók meg, az adatokat az 1. Táblázat tartalmazza. Az egyes reakciótípusokkal potenciálisan elérhető kémiai tér méretét közelíteni az alapanyagokra kapott találati számok alapján lehetséges. Ennek feltérképezéséhez az Mcule Fast Delivery Building Blocks Class 2 (317.751 szerkezet) halmazát használtuk (a kiválasztás szempontja az alapkövek könnyű hozzáférhetősége volt).⁶² Izocianidok esetében a kiválasztott halmaz egy szerkezetet sem tartalmazott, így ezeket egy szintetikus kémiai beszállító adatbázisában vizsgáltuk (Key Organics BIONET Building Blocks, 271.148 szerkezet).⁶³ A reakciók segítségével elérhető maximális kombinatorikus tér a találati számok szorzata alapján becsülhető (1. Táblázat), amely segítheti pl. áralapú alapanyag leválogatás kialakítását.⁶⁴

A vizsgálat alapvetően rámutat, hogy egyes reakciók alkalmazását elsősorban a legspeciálisabb reaktántípus korlátozza, mint amilyen az izocianid (kivéve az Ugi-reakció esetében, ahol a 4. komponens ellensúlyozza ezt)

vagy a Kabachnik-Fields-reakció esetében a foszfonátok. Ezzel szemben az olyan reakciók, mint az A3 kapcsolás, a Mannich- vagy a Petasis-reakció jelentős előnyt élveznek, mivel azok gyakran használt szintetikus építőkövekre támaszkodnak, amelyeket például acilezési, redukív aminálási, Sonogashira- és Suzuki reakciók is hasznosítanak, így nagyobb számban elérhetők. A reakciók segítségével elérhető kémiai tér mérete tovább növelhető olyan reakciók azonosításával, amelyek alkalmasak a szűk keresztmetszetet jelentő alapanyagok kialakítására, pl. az izocianidok előállíthatók primer aminok felhasználásával.⁶⁵ A MCR-ek esetében megfigyelhető, hogy döntő többségük igényel amin és karbonil (aldehid vagy keton) funkciót, a különbség a további komponensekben figyelhető meg. Habár sok esetben még nem vizsgálták teljeskörűen a reakciók mechanizmusát, egyes vizsgálatokban az imin vagy iminium ion képződését tekintik elsődleges lépésnek,^{65,66} így a reakciókat érdemes lehet két lépésben is kezelni enumeráció során (pl. ha az enumerációs környezet csak 2-2 komponens kombinációját engedi meg), első lépésben kialakítva ezt az intermediert.

1. Táblázat. Az egyes reakciók termékeinek alszerkezeti találati, valamint az egyes reakciókkal potenciálisan elérhető kémiai tér mérete (a *-al jelölt reakciók izocianidot igényelnek)

Reakció megnevezése	Termék találati szám	Potenciálisan elérhető termékszám
Mannich	26	2.48×10^{13}
Biginelli	9715	3.07×10^9
Betti	421	5.44×10^{12}
Kabachnik-Fields	409	1.51×10^{10}
Grieco/Povarov	1944	7.40×10^{10}
Petasis	140513	2.28×10^{13}
A3	84	4.46×10^{12}
Hao	105	3.30×10^{10}
Gaunt	20485	9.91×10^{12}
Doebner	11043	1.07×10^{10}
Passerini*	902	2.23×10^{11}
Ugi*	54995	1.99×10^{16}
van Leusen*	4148	1.74×10^{10}
Grobke-Blackburn-Bienaymé*	83	1.43×10^{10}
Orru*	0	6.44×10^9

5. Összegzés

A MCR-k lehetővé teszik, hogy egyetlen reakciólépésben, legalább három különféle alapanyag kombinációjával új termékeket állítsunk elő. Virtuális könyvtárak fejlesztése szempontjából ez kiemelten hasznos lehet, mivel a valós szintézis egy lépésben történik, nem igényel köztes tisztítást, szemben egy kétlépéses szintézissel. Jelen munkában

15 különböző MCR-t vizsgáltunk meg virtuális könyvtárpítés szempontjából, amihez minden reakció esetében bemutattuk a keresésekhez és enumerációhoz használható SMARTS / SMIRKS mintázatokat. A reaktánsok SMARTS-ai lehetővé teszik a potenciálisan elérhető virtuális tér méretének becslését, a SMIRKS-ek pedig a tényleges enumerációhoz használhatók. Az elemzés alapján látható, hogy számos reakció olyan nagyszámban rendelkezésre álló vegyületre épít, mint az aminos, aldehidek vagy ketonok, viszont egyes esetekben ritkább vegyületekre van szükség, ami jelenleg limitálhatja az elérhető tér diverzitását – ugyanakkor rámutat arra is, hogy mely alapanyagok számát lehet célszerű növelni.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munka támogatásban részesült az Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2020-00050 azonosítószámú pályázat keretében.

Hivatkozások

1. Zhao H. *ACS Med. Chem. Lett.*, **2024**, 15, 4, 436–440
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.4c00093>
2. Omar, Ö. H.; del Cueto, M.; Nematiamram, T.; Troisi, A. J. *Mater. Chem. C*, **2021**, 9, 13557–13583
<https://doi.org/10.1039/D1TC03256A>
3. Takács, G.; Havasi, D.; Sándor, M.; Dohánics, Zs.; Balogh, Gy. T.; Kiss, R. *ACS Med. Chem. Lett.* **2023**, 14, 9, 1188–1197
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.3c00146>
4. Patel, H.; Ihlenfeldt W-D.; Judson, P. N.; Moroz, Y. S.; Pevzner, Y.; Peach, M. L.; Delannée, V.; Tarasova, N. I.; Nicklaus, M. C. *Sci Data*, **2020**, 7, 384
<https://doi.org/10.1038/s41597-020-00727-4>
5. Daylight. SMARTS: a language for describing molecular patterns [Internet] [2025 április 28.]
<http://www.daylight.com/dayhtml/doc/theory/theory.smarts.html>
6. Daylight. SMIRKS: A Reaction Transform Language [Internet] [2025 április 28.]
<http://www.daylight.com/dayhtml/doc/theory/theory.smirks.html>
7. Hartenfeller, M.; Eberle, M.; Meier, P.; Nieto-Oberhuber, C.; Altmann, K-H.; Schneider, G.; Jacoby, E.; Renner, S. J. *Chem. Inf. Model.* **2011**, 51, 12, 3093–3098
<https://doi.org/10.1021/ci200379p>
8. Roughley, S. D.; Jordan, A. M. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 10, 3451–3479
<https://doi.org/10.1021/jm200187y>
9. Dömling, A.; Wang, W.; Wang, K. *Chem. Rev.* **2012**, 112, 6, 3083–3135
<https://doi.org/10.1021/cr100233r>
10. Agenes, N.; Buisine, O.; Slowinski, F.; Gandon, V.; Aubert, C.; Malacria, M. *Organic Reactions*, **2007**
<https://doi.org/10.1002/0471264180.or068.01>
11. Gewald, K.; Schinke, E.; Böttcher, H. *Ber.* **1966**, 99, 94–100
<https://doi.org/10.1002/cber.19660990116>
12. Asinger, F.; Offermanns, H. *Angew. Chem. Internat. Edit.* **1967**, 6, 11, 907–919
<https://doi.org/10.1002/anie.196709071>
13. Khand, I. U.; Knox, G. R.; Pauson, P. L.; Watts, W. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1973**, 975–977
<https://doi.org/10.1039/P19730000975>
14. Singh, S. K.; Zhu, C.; La Jeunesse, J.; Fortenberry, R. C.; Kaiser, R. I. *Nat. Commun.* **2022**, 13, 375
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-27963-z>
15. Hantzsch, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, 14, 1637–1638.
<https://doi.org/10.1002/cber.18810140214>
16. Bucherer, H. T.; Steiner, W. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 291–316
17. Mannich, C.; Krösche, W. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **1912**, 250, 647–667.
<https://doi.org/10.1002/ardp.19122500151>
18. Manabe, K.; Kobayashi, S. *Org. Lett.*, **1999**, 1, 12, 1965–1967
<https://doi.org/10.1021/ol991113u>
19. Bepalova, G. V.; Sedavkina, V. A.; Kharchenko, V. G. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1979**, 15, 1035
<https://doi.org/10.1007/BF00473853>
20. Biginelli, P. *Chemische Berichte*, **1891**, 24, 1317
<http://dx.doi.org/10.1002/cber.189102401228>
21. Ryabukhin, S., V.; Plaskon, A. S.; Ostapchuk, E. N.; Volochnyuk, D. M.; Tolmachev, D. M. *Synthesis*, **2007**, 417–427
<https://doi.org/10.1055/s-2007-965881>
22. Ranu, B. C.; Hajra, A.; Jana, U. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 19, 6270–6272
<https://doi.org/10.1021/jo000711f>
23. Betti, M. *Gazz. Chum. Ital.* **1900**, 30 II, 301
24. Olyaei, A.; Sadeghpour, M. *RSC Adv.*, **2024**, 14, 11811–11848
<https://doi.org/10.1039/D4RA01256A>
25. Cimarelli, C.; Fraton, D.; Mazzanti, A.; Palmieri, G. *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**: 2094–2100.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.201001611>
26. Kabachnik, M. I.; Medved, T. Y. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1952**, 83, 689–692.
27. Fields, E. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 6, 1528–1531
<https://doi.org/10.1021/ja01126a054>
28. Keglevich, Gy.; Bálint, E. *Molecules* **2012**, 17, 11, 12821–12835
<https://doi.org/10.3390/molecules171112821>
29. Povarov, L. S.; Mikhailov, B. M. *Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* **1963**, 953–956.
30. Larsen, S. D.; Grieco, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 1768.
<https://doi.org/10.1021/ja00292a057>
31. Kanth, S. R.; Reddy, G. V.; Maitraie, D.; Narsaiah, B.; Rao, P. S.; Kumar, K. R.; Sridhar, B. *J. Fluor. Chem.* **2006**, 127, 1211–1221
<https://doi.org/10.1016/j.jflchem.2006.06.017>
32. Lemos, B. C.; Filho, E. V.; Fiorot, R. G.; Medici, F.; Greco, S. J.; Benaglia, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, e202101171
<https://doi.org/10.1002/ejoc.202101171>
33. Masdeu, C.; de los Santos, J. M.; Palacios, F.; Alonso, C. *Top. Curr. Chem. (Z)* **2023**, 381, 20
<https://doi.org/10.1007/s41061-023-00428-7>
34. Petasis, N. A.; Akritopoulou, I. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 4, 583–586
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61625-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61625-8)
35. Wu, P.; Givskov, M.; Nielsen, T. E. *Chem. Rev.* **2019**, 119, 20, 11245–11290
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00214>
36. Koolmesiter, T.; Södergren, M.; Scobie, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 34, 5965–5968
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)01265-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)01265-0)
37. Wei, C.; Li, Z.; Li, C-J. *Synlett* **2004**, 9, 1472–1483
<https://doi.org/10.1055/s-2004-829531>
38. Volkova, Y.; Baranin, S.; Zavarzin, I. *Adv. Synth. Catal.* **2021**, 363, 40.
<https://doi.org/10.1002/adsc.202000866>
39. Jesin, I.; Nandi, G. C. *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**: 2704–2720.
<https://doi.org/10.1002/ejoc.201900001>

40. Farhi, J.; Lykakis, I. N.; Kostakis, G. E. *Catalysts* **2022**, *12*, 6, 660
<https://doi.org/10.3390/catal12060660>
41. Hao, W.; Gao, S.; Cui, H.; Ding, D.; Jiang, S.; Zhang, C.; Ji, Y.; Zhang, G. *J. Org. Chem.* **2024**, *89*, 4, 2605–2621
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02621>
42. Phelps, J. M.; Kumar, R.; Robinson, J. D.; Chu, J. C. K.; Flodén, N. J.; Beaton, S.; Gaunt, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 13, 9045–9062
<https://doi.org/10.1021/jacs.3c14037>
43. Smith, M. A.; Kang, R. J. D.; Kumar, R.; Roy, B.; Gaunt, M. *J. Chem. Sci.*, **2024**, *15*, 14888–14898
<https://doi.org/10.1039/D4SC03916E>
44. Döbner, O. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1887**, 242: 265–289.
<https://doi.org/10.1002/jlac.18872420302>
45. Komatsu, H.; Shigeyama, T.; Sugimoto, T.; Nishiyama, H. *J. Org. Chem.* **2023**, *88*, 17, 12816–12820
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01123>
46. Passerini, M.; Simone, L. *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126–129
47. Sztanó, G.; Dobi, Z.; Soós, T. *ChemistryOpen* **2023**, *12*, e202200083
<https://doi.org/10.1002/open.202200083>
48. Ferdeghini, C.; Wu, M.; Ranjan, P.; Würdemann, M. A.; Pyschik, J.; Mitsos, A.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A.; Hansen, T. *J. Org. Chem.* **2025**, *90*, 14, 5000–5007
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.5c00236>
49. Ugi, I.; Meyr, R.; Fetzer, U.; Steinbrückner, C. *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 373–388.
<https://doi.org/10.1002/ange.19590711110>
50. Rocha, R. O.; Rodrigues, M. O.; Neto, B. A. D. *ACS Omega* **2020**, *5*, 2, 972–979
<https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03684>
51. Oldenziel, O. H.; van Leusen, D.; van Leusen, A. M. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 19, 3114–3118
<https://doi.org/10.1021/jo00439a002>
52. Zheng, X.; Ma, Z.; Zhang, D. *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, 3, 37
<https://doi.org/10.3390/ph13030037>
53. Geigle, S. N.; Petersen, A. C.; Satz, A. L. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 22, 9001–9004
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b03406>
54. Groebke, K.; Weber, L.; Mehlin, F. *Synlett* **1998**, 661–663
<https://doi.org/10.1055/s-1998-1721>
55. Blackburn, C.; Guan, B.; Fleming, P.; Shiosaki, K.; Tsai, S. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3635–3638
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00653-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00653-4)
56. Bienaymé, H.; Bouzid, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2234–2237
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19980904\)37:16%3C2234::AID-ANIE2234%3E3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16%3C2234::AID-ANIE2234%3E3.0.CO;2-R)
57. An, Y.; Lee, J.; Seo, H.; Bae, S.; Kang, J.; Lee, J.; Kim, J.; Nam, M. H.; Song, M.; Hwang, G. G. *Org. Lett.* **2023**, *25*, 24, 4445–4450
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c01366>
58. Martini, C.; Mardjan, M. I. D.; Basso, A. *Beilstein J. Org. Chem.* **2024**, *20*, 1839–1879.
<https://doi.org/10.3762/bjoc.20.162>
59. Bon, R. S.; Hong, C.; Bouma, M. J.; Schmitz, R. F.; de Kanter, F. J. J.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Orru, R. V. A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 20, 3759–3762
<https://doi.org/10.1021/ol035521g>
60. Baell, J. B.; Holloway, G. A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7, 2719–2740
<https://doi.org/10.1021/jm901137j>
61. Mcule In Stock 2025. március 9-i verzió [Internet] [2025 április 25.]
<https://mcule.com/database/>
62. Mcule Fast Delivery Building Block Class 2 2025. április 20-i verzió [Internet] [2025 április 25.]
<https://mcule.com/database/>
63. Key Organics BIONET Building Blocks 2025. márciusi verzió [Internet] [2025 április 25.]
<https://www.keyorganics.net/downloads-bionet-databases/>
64. Sanchez-Garcia, R.; Havasi, D.; Takács, G.; Robinson, M. C.; Lee, A.; von Delft, F.; Deane, C. M. *Digital Discovery*, **2023**, *2*, 103–111
<https://doi.org/10.1039/D2DD00071G>
65. Si, Y-X.; Zhu, P-F.; Zhang, S-L. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 22, 9086–9090
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c03472>
66. Domingo, L. R.; Aurell, M. J.; Sáez, J. A.; Mekelleche, S. M. *RSC Adv.*, **2014**, *4*, 25268–25278
<https://doi.org/10.1039/C4RA02916J>
67. Peshkov, V. A.; Pereshivko, O. P.; van der Eycken, E. V. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, *41*, 3790–3807
<https://doi.org/10.1039/C2CS15356D>

Cheminformatic evaluation of multicomponent reactions for the development of virtual chemical libraries

In the early stage of drug discovery nowadays millions of molecules can be screened via computational methods to identify structures that could potentially be utilized in the development of novel drugs. Although the number of in-stock available molecules is estimated to be between 10-20 million, virtual molecules opened the possibility to investigate billions of structures. As novelty is highly needed, the further development and extension of the chemical space is still interesting, however most of the currently available virtual libraries are based on the same reaction types and usually combining these reactions in 2-3 consecutive steps. Virtual molecules are also expected to be synthesizable with a 60-80% success rate – which is greatly affected by reactivity, purification and the stability of substructures under the synthetic conditions.

Multicomponent reactions (MCR) are a unique class of synthetic methods as they are capable to combine three or more components in one synthetic step. Although the first types of these reactions were already identified in the late 19th century, there is an emerging interest recently in their utilization in the development of drug-like molecules. Certain types of multicomponent reactions rely on some reactants bearing a specific functional group and some fixed components, like the Gewald-, Asinger-, Pauson-Khand-, Strecker-, Hantzsch- or Bucherer-Bergs reactions. With a fixed component like sulfur or ammonia, only the other components will be variable, thus a similar library size to the A+B type reactions could be expected. Reactions where all three (or more) components have a variable substituent part could generate much larger combinatorial libraries, therefore in the present study we aimed to collect these reaction types, create their cheminformatic representations and evaluate their potential in extending the chemical space. As part of the work, 15 multicomponent reactions were identified: the Biginelli to form dihydropyrimidones, the Mannich for α -amino carbonyls, the Betti reaction generating α -aminobenzylphenols, the Grieco/Povarov ring closing reaction, the Kabachnik-Fields synthesis for aminophosphonate formation, the Petasis reaction for amine substitution, the A3 coupling for propargyl amines, the Doebner synthesis of quinoline and two recently developed methods by Hao et al. and Gaunt et al. A separate group of multicomponent reactions of isocyanides was also included, covering the Passerini, Ugi, van Leusen, Groebke-Blackburn-Bienayme, Orriu reactions. To evaluate the potential of the reactions, first the variability of substructures was investigated

based on scientific literature. Based on the findings, the general schemes of all reactions were constructed (Figures 1-15), which served as a basis for creating the SMIRKS reaction representation of all involved reactions. Based on the reactant and product SMARTS of the reaction SMIRKS, the availability of the compounds containing the desired substructures was evaluated. The investigation showed that many of the product types have a very low representation among the in-stock molecules.

By evaluating the availability of building blocks required for a reaction, an initial estimation of the potential chemical space could be provided. Therefore, the building block SMARTS were searched, and a product count estimation was provided based on the results. It should be noted that the actually available chemical space could be much smaller due to multiple factors: competing functionalities that could interfere with reactive centers under the synthesis conditions; lability of substructures; duplicate formation from functionally different molecules, etc. Even if these considerations are considered, it is clearly visible that billions of virtual structures could be accessed via multicomponent reactions. It is also visible that some reactions, e.g. the A3 coupling or the Petasis reaction utilize building blocks that are available in very large numbers, due to their participation in the most commonly applied reaction types, like amines and acids in amide formation, or acetylenes and boronic acids in the Sonogashira and Suzuki couplings. On the other hand, we can see that many of the reactions are mainly limited by one of the required components, like in the case of isocyanides. However, as the interest for these reactions is growing, there could be a rise in the number of available building blocks in the future, allowing the faster spread of isocyanide-based multicomponent reactions. Another limitation of multicomponent reactions currently is that compared to the commonly applied synthetic reactions in medicinal chemistry have a much greater validation database, including various synthetic protocols. In the future with the continuous extension of validation data for MCRs, we could expect a much wider utilization, especially if mild, efficient and more generalizable conditions could be developed. Both can highly be boosted by high throughput experimentation techniques. The main goal of the present study was to provide a collection of multicomponent reactions and their SMIRKS representations for researchers, allowing them to go beyond the traditional virtual spaces, that are based on regular 2-3 step syntheses.

Fluoreszcens jelzővegyületek alkalmazása G-fehérje kapcsolt receptorok vizsgálatára

SZABÓ Renáta^{a,b,c}, EGYED Attila^{a,b,c}, ÁBRÁNYI-BALOGH Péter^{a,b,c}, KISS Dóra Judit^{a,c},
VOLK Balázs^d, KESERŰ György Miklós^{a,b,c,*}

^aHUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Magyar Tudósok körútja 2.,
1117 Budapest, Magyarország

^bBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

^cNemzeti Gyógyszerkutató és Fejlesztési Laboratórium, Magyar Tudósok körútja 2., 1117 Budapest, Magyarország

^dEgis Gyógyszergyár Zrt., Hatóanyagfejlesztési igazgatóság, Keresztúri út 30-38., 1106 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A G-fehérje kapcsolt receptorok (GPCR-ok) a plazmamembrán receptorok legnagyobb és legváltozatosabb családját képviselik.¹ Ezek a receptorok kiemelkedő szerepet játszanak a sejtek működésének szabályozásában és a külvilág ingereinek észlelésében. Jelentőségüket az is alátámasztja, hogy az FDA által jóváhagyott gyógyszerek mintegy 34%-a ezeknek a receptoroknak a célzásával fejti ki a hatását.² A GPCR-ok fehérje-fehérje kölcsönhatások révén vesznek részt a sejtek működésének szabályozásában. Az összetett jelátviteli folyamatok megértése és a befolyásolási lehetőségek felderítése fontos feltétele a receptorokat célzó gyógyszerkutató programok sikerének.

A gyógyszerek kötődésének vizsgálatára leggyakrabban alkalmazott módszer az antitest alapú immunjelölés,³ valamint a radioligand alapú autoradiográfia.⁴ Az immunjelölés hátránya, hogy nem mindig áll rendelkezésre érzékeny és specifikus antitest, valamint ezek nagy méretük miatt nehezen jutnak el a célfehérjéhez. A radioligand-alapú autoradiográfia térbeli felbontása korlátozott, és nehezebben integrálható más vizsgálati módszerekkel. Ezért ezek a módszerek csak speciális esetekben teszik lehetővé a gyógyszermolekulák hatásmechanizmusának feltárását. A hagyományos módszerek korlátai miatt egyre nagyobb figyelem irányul a fluoreszcens vegyületek alkalmazására a receptor–ligandum kölcsönhatások vizsgálata során. A biolumineszcens rezonancia energiaátvitel (BRET) és a fluoreszcens rezonancia energiaátvitel (FRET) lehetővé teszi ezen kölcsönhatások kinetikájának valós idejű, radioaktív anyagok használata nélküli elemzését.⁵ E technikák révén pontosan meghatározhatók a ligandumok kötődési paraméterei, és nagy érzékenységgüknek köszönhetően sejttípus-specifikus kölcsönhatások is vizsgálhatók. A fluoreszcens jelzővegyületek szuperfelbontású képalkotó eljárásokkal – mint például a sztochasztikus optikai rekonstrukciós mikroszkópia (STORM) vagy a stimulált emisszió kioltás (STED) elven működő fluoreszcens mikroszkópia – való kombinálása pedig új lehetőségeket teremt a fehérjék működésének feltárására, mivel ezek segítségével részlete-

sen feltérképezhető a receptorok anatómiai elhelyezkedése és a hozzájuk kapcsolódó jelátviteli mechanizmusok.^{6,7}

Ebben az összefoglalóban bemutatjuk a fluoreszcens jelzővegyületek tervezésének főbb lépéseit, valamint három különböző GPCR típusú receptorhoz – a D₃ dopamin-, a CB₁ kannabinoid- és az M₂ muszkarin receptorhoz – kapcsolódó specifikus ligandumok tervezését, szintézisét és kötődési jellemzőinek vizsgálatát.^{8,9} A fluoreszcens próbák farmakológiai és mikroszkópos alkalmazását az eredeti publikációk tárgyalják.

2. Eredmények

2.1. Fluoreszcens jelzővegyületek tervezése

Az évek során számos tanulmány foglalkozott a fluoreszcens ligandumok hatékony tervezésével, azonban még mindig nem létezik olyan egységes módszer, amely minden szempontot figyelembe véve biztosítaná egy sikeres fluoreszcens jelzőmolekula fejlesztését.¹⁰⁻¹² Ennek hátterében az áll, hogy a különböző fluorofórok ligandumokhoz való kapcsolása olyan szerkezeti változásokat okozhat, amelyek megnehezítik a farmakológiai tulajdonságok (mint például a kötési affinitás vagy a szelektivitás), valamint a lipofilitás és a fotofizikai jellemzők pontos előrejelzését. Egy fluoreszcens festékkel jelölt ligandum leggyakrabban három fő komponensből épül fel: a *farmakofór* felelős a receptorral való interakcióért, a *fluorofór* biztosítja a fluoreszcens jelet, míg a két egységet összekötő *linker* garantálja az optimális térszerkezetet.

Egy új fluoreszcens jelzővegyület tervezésének első lépése a vizsgálandó fehérje iránti nagy kötődési affinitással és megfelelő szelektivitással rendelkező ligandum kiválasztása, mivel a fluoreszcens csoport beépítése gyakran csökkenti a kötődési affinitást.^{13,14} A kiválasztott ligandum típusát az alkalmazás célja határozza meg: agonisták és antagonisták egyaránt alkalmazhatóak, de receptoraktiváció és internalizáció vizsgálatához agonisták szükségesek.¹⁵ Ezt követő-

* Tel.: +36 1 382 6911; e-mail: keseru.gyorgy@ttk.hu

en a ligandum módosítási lehetőségeit a szerkezet-aktivitás (SAR) elemzés és –amennyiben rendelkezésre áll – a receptor-ligandum komplex kísérletes úton meghatározott térszerkezete alapján kell meghatározni, figyelembe véve a ligandum kötőmódját és a receptorral való kölcsönhatásait.¹⁶ Ha nem áll rendelkezésre kísérleti térszerkezet, a számítási kémiai modellezés segíthet előrejelezni a ligandum kötőmódját és az optimális módosítási pozíciókat, bár még a megbízható modellek sem garantálják a hatékony jelzővegyület kifejlesztésének sikerét.

A fluoreszcens jelzővegyület tervezésének következő kulcsfontosságú lépése a megfelelő fluorofór kiválasztása. A kereskedelmi forgalomban széles választékban elérhető fluorofórok lehetővé teszik a kutatók számára, hogy az adott kutatási célokhoz leginkább illeszkedő fluoreszcens festéket válasszanak. A leggyakrabban alkalmazott fluorofórok közé tartozik a fluoreszcein, a rodamin, a BODIPY, a kumarin és a cianin.¹⁷ Az utóbbi években közeli infravörös fluorofórokat is fejlesztettek, amelyek különösen hasznosak tumorképződésben és képvezérelt műtétek során.¹⁸ A ligandum kiválasztása és módosítási pontjainak meghatározása, valamint a festék kiválasztása után következik a fluorofór és a ligandum összekapcsolása. A legtöbb esetben a fluorofórok nem képesek közvetlenül illeszkedni a kötősebbe, ezért linker alkalmazására van szükség a receptor és a festék közötti kedvezőtlen kölcsönhatások elkerülése érdekében.¹⁹ A hidrofób kötősebekkel rendelkező receptorok gyakran előnyben részesítik az alkil-linkereket a hidrofíli linkerekkel szemben, mint például a polietilén-glikol (PEG).²⁰ A PEG-szerű linkerek növelhetik a fluoreszcens ligandum hidrofilitását, ami potenciálisan javíthatja a képződési tulajdonságokat azáltal, hogy csökkenti a nem specifikus, membránhoz való kötődést.²¹

Összességében elmondható, hogy nincs egyetlen, minden helyzetre alkalmazható módszer a sikeres fluoreszcens jelzővegyületek tervezésére. Érdemes áttekinteni a szakirodalomban már ismert jelzővegyületeket, mivel ezek hasznos kiindulópontot adhatnak. A rendelkezésre álló szerkezeti információk alapos elemzése, a részletes farmakológiai profilalkotás és a SAR adatok segíthetnek a megfelelő ligandumok kiválasztásában, valamint a módosítási pontok tervezésében. Az *in silico* dokkolási kísérletek támogatják a linker tervezését és a kiválasztott festék beépítésének módját. A legtöbb esetben azonban különböző linker-festék kombinációkkal kísérleteznek, hogy megtalálják a kívánt tulajdonságokkal rendelkező fluoreszcens jelzővegyületet.

2.2. D₃ dopamin receptorhoz kötődő fluoreszcens jelzővegyület számítógépes modellezése

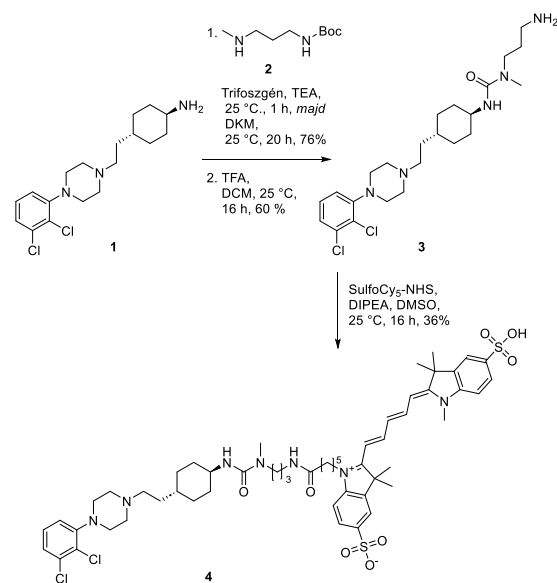
A számítógépes modellezést a D₃ dopamin receptorhoz kötődő fluoreszcens kariprazinszármazék példáján keresztül mutatjuk be, míg a CB₁ és M₂ receptorok esetében az *in silico* tervezés részletei a hivatkozott publikációkban találhatók meg.^{8,9}

A fluoreszcens kariprazinszármazék tervezésénél elsőként elkészítettük a D₃ dopamin receptor térszerkezeti modelljét annak érdekében,⁸ hogy azonosítsuk a molekula olyan módosítható részeit, amelyek változtatása nem befolyásolja jelentősen a receptorhoz való affinitást. A szerkezetből hiányzó, koordinátákkal nem rendelkező aminosavmaradékokat a *MODELLER* program segítségével egészítettük ki, míg a sztérikus ütközéseket tartalmazó régiókat a *Schrödinger Prime* programmal korrigáltuk. A szerkezet további finomítása során a hiányzó hidrogéneket pótoltuk, a hibás térszerkezetű oldalláncokat javítottuk, illetve szükség szerint módosítottuk a protonáltsági állapotokat a *Schrödinger Protein Preparation Wizard* alkalmazásával. A ligandumok előkészítése a *Schrödinger LigPrep* eszközzel történt, stabil konformerek előállítására céljából. Ezt követően a *Glide* program segítségével dokkoltuk a ligandumokat a receptor kötőhelyére, single precision (SP) protokollt alkalmazva, 61×61×61 Å méretű külső és 25×25×25 Å méretű belső rácsdoboz beállításával. A dokkolás során külön figyelmet fordítottunk a konzervált Asp110^{3,32} aminosavval kialakuló hidrogénkötésre, és minden generált póz esetében dokkolás utáni energiainimalizálást végeztünk.

2.3. Fluoreszcens jelzővegyületek szintézise

2.3.1. A D₃ dopamin receptorhoz kötődő fluoreszcens kariprazinszármazék szintézise

A szintézis kiindulási pontját képező piperazinszármazék (1) előállítása a Richter Gedeon Nyrt. szabadalma alapján történt (1. ábra).²² Ezt követően az 1 amint trifoszgén alkalmazásával kapcsoltuk össze a 2 védett diaminnal, így kialakítva a karbamátot jó hozam mellett. A reakció után a Boc-védőcsoportot trifluorecetsavval (TFA) távolítottuk el. Az így kapott, szabad aminocsoportot tartalmazó vegyületet (3) a Sulfo-Cy5-NHS fluoreszcens festékkel *N*-acileztük, amelynek eredményeként létrejött a kívánt fluoreszcens jelzővegyület (4).

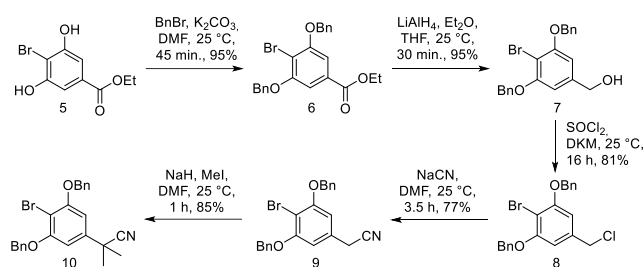


1. ábra. A fluoreszcens kariprazinszármazék (4) előállítása

2.3.2. A CB₁ kannabinoid receptorhoz kötődő fluoreszcens jelzővegyület szintézise

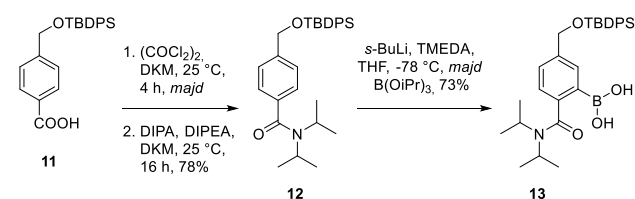
A szintézis egyik kulcsfontosságú intermediere, a **10** aril-bromid származék előállítása öt lépésben történt (2. ábra).

Az első lépésben az etil-4-brom-dihidroxibenzoát (**5**) két fenolos hidroxilcsoportját benzil védőcsoportokkal láttuk el, aminek eredményeként a **6** észtert 95%-os hozammal nyertük ki. A védett származékot (**6**) ezt követően lítium-alumínium-hidriddel alkohollá (**7**) redukáltuk. Ezután kétlépéses nitrilképzést végeztünk: először tionil-kloriddal a hidroxilcsoportot klórrá alakítottuk (**8**), majd ezt nátrium-cianidval reagáltatva jutottunk a **9** nitrilhez. Végül a nitrilcsoporthoz kapcsolódó szénatomra két metilcsoportot vittünk be nátrium-hidrid és metil-jodid segítségével, így kiváló hozammal állítottuk elő a **10** intermediert.



2. ábra. A **10** aril-bromid előállítása

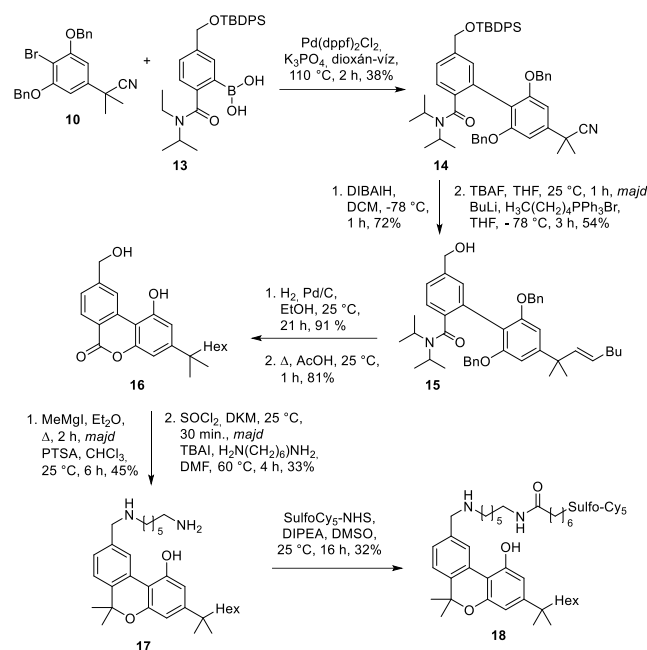
A szintézis másik fontos intermediere, a **13** boronsavat három lépésben állítottuk elő (3. ábra). Kiindulásként *tert*-butil-difenilszilil (TBDPS) védőcsoporttal ellátott hidroximetilbenzoesav származékot (**11**) használtuk, amelyből oxalil-kloriddal savkloridot képeztünk. Ezt a reaktív intermediert diizopropil-amin (DIPA) segítségével amiddá (**12**) alakítottuk. A következő lépésben a **12** amidot *s*-BuLi-mal lítiáltuk TMEDA jelenlétében, majd triizopropil-borát hozzáadásával előállítottuk a kívánt **13** boronsavat.



3. ábra. A **13** boronsav előállítása

A **10** aril-bromidot és a **13** boronsavat Suzuki-reakcióval kapcsoltuk össze Pd(dppf)₂Cl₂ jelenlétében. A reakció eredményeként mérsékelt hozammal kaptuk meg a **14** bifenil származékot (4. ábra). A nitrilcsoportot DIBAL-H segítségével a megfelelő aldehiddé (**15**) redukáltuk, majd a TBDPS védőcsoportot tetrabutylammónium-fluoriddal távolítottuk el. Ezt követően Wittig-reakcióval kettős kötést hoztunk létre, amelyet katalitikus hidrogénezéssel, *Selcat Q₆* (Pd/C) katalizátor jelenlétében telítettünk, miközben a benzil védőcsoportokat is eltávolítottuk. A triciklusos váz-

elem kialakítása intramolekuláris acilezéssel történt, amelyet metilmagnézium-jodiddal (MeMgI) végzett gyűrűnyitás követett.

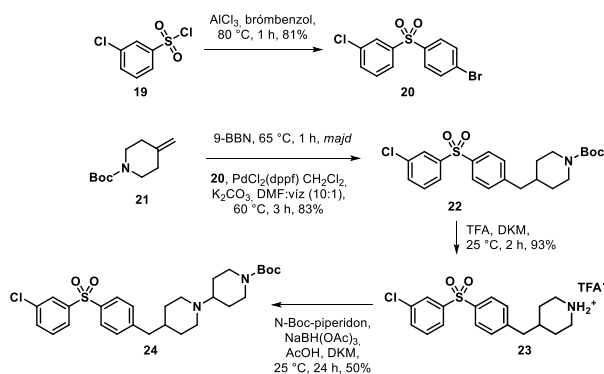


4. ábra. A CB₁ receptorhoz kötődő fluoreszcens jelzővegyület (**18**) előállítása

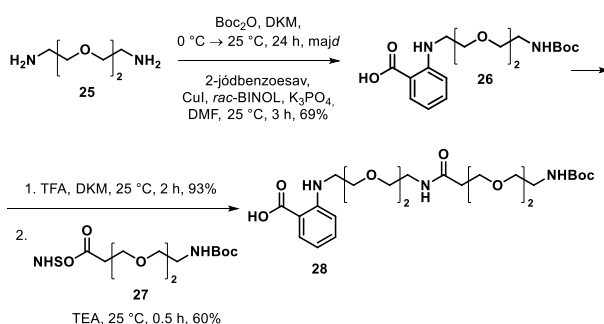
A középső gyűrű visszazárása 4-toluolszulfonsavval történt, a ciklizáció után 2-hidroxikannabinol származékot kaptunk. A benzil-alkohol funkciós csoportot tionil-kloriddal klórra cseréltük, amellyel *N*-alkileztük a hexán-1,6-diamin linkert. Végül a linker szabad aminocsoportját (**17**) *N*-acilezéssel reagáltattuk a Sulfo-Cy₅-NHS észterrel, így kialakítva a fluoreszcens jelzővegyületet (**18**).

2.3.3. Az M₂ muszkarin receptorhoz kötődő fluoreszcens jelzővegyület szintézise

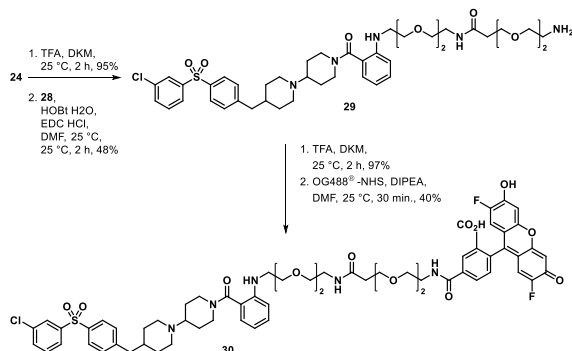
Az M₂ muszkarin receptorhoz kötődő, Oregon Green 488® festékkel jelölt ligandum szintézisének kiindulási anyagát, a **20** szulfont egy hatékony, oldószer- és kromatográfiamentes eljárással állítottuk elő (5. ábra). A brómbenzolt sikeresen vittük *Friedel–Crafts*-acilezésbe 3-klórbenzol-szulfonil-kloriddal (**19**) alumínium(III)-klorid jelenlétében. Ezt követően az irodalmi eljárást követve szintetizáltuk a **24** intermediert.²³ A **21** metilidén-piperidint 9-BBN-nel kezelve borán intermediert képeztünk, amelyet palládium-katalizált reakcióban kapcsolunk össze a **20** szulfonnal. A Boc védőcsoport eltávolítása után a keletkező amin TFA sóját (**23**) redukív aminálással alakítottuk tovább NaBH₃CN jelenlétében *N*-Boc-piperidonnal és megkaptuk a **24** *N*-Boc védett származékot.

5. ábra. A **24** szulfon előállítása

A linker szerepét betöltő PEG-származékot (**28**) meglévő irodalmi módszerek alapján szintetizáltuk (6. ábra).^{24,25} Elsőként a kereskedelmi forgalomban kapható **25** vegyület egyik aminocsoportját Boc védőcsoporttal láttuk el. Az így kapott Boc-védett amint pedig egy rézkatalizált keresztkapcsolási reakcióban 2-jód-benzoesavval reagáltattuk. A következő lépésben eltávolítottuk a Boc védőcsoportot, majd a keletkezett származékot *N*-hidroxiszukcinimid-észterrel (**27**) *N*-acileztük, így jutottunk a **28** PEG-származékhoz.

6. ábra. A **28** PEG-származék előállítása

A **24** szulfon-származék Boc védőcsoportjának eltávolítása után a kapott piperidint összekapcsoltuk a **28** antranilsavval, majd a Boc védőcsoportot TFA-val eltávolítottuk (7. ábra). Végül az amint a kereskedelembe elérhető OG488® NHS-észterrel *N*-acileztük, így kialakítva a fluoreszcens jelzővegyületet (**30**).

7. ábra. A **30** fluoreszcens jelzővegyület előállítása

2.4. A fluoreszcens jelzővegyületek kötődési affinitásának meghatározása

2.4.1. A D₃ és CB₁ receptorokhoz kötődő fluoreszcens származékok affinitásának vizsgálata

A fluoreszcens származékok kötődési affinitását radioligand-alapú kötődési vizsgálatokkal határoztuk meg. Az eredményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze, ahol mindhárom származék (**4**, **18**, **30**) kötődési paramétereit (K_i) bemutatjuk.

1. táblázat: A **4**, **18**, **30** jelzővegyületek kötődési affinitás vizsgálata⁸⁻⁹

	Jelző-vegyület	Receptor	Radioligand	K_i [nM]
1.	4	D ₃	[³ H]spiperon	1,31
2.		D _{2L}	[³ H]spiperon	7,05
3.		5-HT _{1A}	[³ H]8-OH-DPAT	27,3
4.		5-HT _{2A}	[³ H]ketanserine	2660
5.		5-HT ₆	[³ H]LSD	530
6.		5-HT ₇	[³ H]LSD	5,08
7.	18	CB ₁	[³ H]CP 55940	3,5
8.	30	M ₁	[³ H]szkopolamin	38@10 μM
9.		M ₂		2,4
10.		M ₃		55592
11.		M ₄		54,1
12.		M ₅		182

A fluoreszcens karpiprazin származék (**4**) affinitását meghatároztuk a releváns dopamin, illetve szerotonin (5-hidroxitriptamin) G-fehérje kapcsolt receptorokon, beleértve a D₃, D_{2L}, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ és az 5-HT₇ receptorokat. A jelzővegyület (**4**) a karpiprazinhoz hasonlóan megtartotta nagy affinitását és szelektivitását a D₃ dopamin receptorhoz (K_i = 1,31 nM; 1. táblázat). Az általunk előállított fluoreszcens kannabinoid-származékot (**18**) kizárólag a CB₁ kannabinoid receptoron vizsgáltuk, ahol kiváló affinitást mutatott (K_i = 3,5 nM; 1. táblázat). Az M₂ muszkarin receptorhoz kötődő fluoreszcens jelzővegyület (**30**) esetében a fluoreszcens festék beépítése növelte a ligandum M₂ receptorok felé mutatott szelektivitását. Az általunk kifejlesztett új fluoreszcens ligandum szelektivitása az M₂ receptorral szemben kedvezőbb, mint a szakirodalomban korábban közölt dibenzodiazepinon alapú jelzőmolekuláké.^{26,27} Különösen kiemelkedő az M₁ és M₃ receptorok iránti szelektivitása, míg az M₄ és M₅ receptorok esetében a szelektivitás mértéke hasonló a korábban publikált vegyületekéhez.

3. Összefoglalás

A fluoreszcens jelzővegyületek kulcsszerepet töltenek be a modern farmakológiai kutatásokban, hiszen lehetővé teszi a receptor–ligandum kölcsönhatások valós idejű, nagy

érzékenységű vizsgálatát. Ezen túlmenően a fejlett képal-
kotási technikákkal – különösen a szuperfelbontású mik-
roszkópiával – kombinálva páratlan lehetőséget kínálnak a
molekuláris célpontok térbeli és időbeli eloszlásának feltér-
képezésére *in vitro* és *in vivo* rendszerekben. A fluoreszcens
ligandumok fejlesztése hozzájárul a különböző gyógysze-
rek hatásmechanizmusának mélyebb megértéséhez, előse-
gítve új terápiás stratégiák kialakítását.

Kutatócsoportunkban három jelentős G-fehérje kapcsolt re-
ceptor – a D₃, a CB₁ és az M₂ receptorok – célzására fejleszt-
tünk ki sikeresen fluoreszcens jelzővegyületeket. Ezek
a receptorok kulcsszerepet töltenek be különböző neuroló-
giai és pszichiátriai kórképek (pl. skizofrénia, depresszió,
Alzheimer-kór), valamint fájdalom és gyulladásos folyama-
tok szabályozásában. A fluoreszcens jelzővegyületek terve-
zését *in silico* dokkolás segítségével végeztük. A szintetizált
vegyületek kötődési affinitását radioligand-alapú vizsgálá-
tokkal határoztuk meg. A PharmacStorm technológia
alkalmazásával részletes térbeli információkat nyertünk a
kariprazin eloszlásáról. Katona István (KOKI) munkacso-
portjával együttműködésben végzett *in vivo* vizsgálataink
igazolták, hogy a kariprazin preferenciálisan a D₃ recepto-
rokat célozza meg a *Calleja*-szigeteken granulás neuronja-
inak axonjaiban, miközben megkíméli a dopaminerg ter-
minálisokat. Ez a mechanizmus hozzájárulhat a kariprazin
célzott és mellékhatás-szegény terápiás hatásához.

4. Kísérleti rész

A szintetikus munkához preparatív szerves kémiai módsze-
reket alkalmaztunk. A reakciók előrehaladását vékonyréteg
kromatográfia, HPLC-MS és GC-MS segítségével követ-
tük. Az anyagok tisztítására normál és fordított fázisú flash
oszlopkromatográfiát, valamint fordított fázisú preparatív
oszlopkromatográfiát használtunk. Az előállított vegyüle-
teket olvadáspont, ¹H és ¹³C NMR, valamint HRMS segít-
ségével jellemeztük.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönettel tartoznak a Nemzeti Kutatási,
Fejlesztési és Innovációs Hivatal (PharmaLab, RRF-2.3.1-
21-2022-00015, 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2020-00039), vala-
mint a Magyar Tudományos Akadémia (NAP 1.0; 2.0; 3.0) tá-
mogatásáért. A KDP-IKT-2023-900-11-00000957/0000003
számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium
Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs alapról nyújtott
támogatásával, a KDP-2023 Pályázati Program finanszíro-
zásában valósult meg.

Hivatkozások

- Nieto Gutierrez, A.; McDonald, P. H. *Cell. Signal.* **2018**, *41*, 65–74.
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.09.005>
- Zhang, M.; Chen, T.; Lu, X.; Lan, X.; Chen, Z.; Lu, S. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2024**, *9*, 1–43.
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-01803-6>
- Giepmans, B. N. G.; Adams, S. R.; Ellisman, M. H.; Tsien R. Y. *Science* **2006**, *312*, 217–224.
<https://doi.org/10.1126/science.1124618>
- Griem-Krey, N.; Klein, A. B.; Herth, M.; Wellendorph, P. J. *Vis. Exp.* **2019**, *145*, e58879.
- Stoddart, L. A.; White, C. W.; Nguyen, K.; Hill, S. J.; Pflieger K. D. G. *Br. J. Pharmacol.* **2016**, *173*, 3028–3037.
<https://doi.org/10.1111/bph.13316>
- Guthrie, D. A.; Klein Herenbrink, C.; Lycas, M. D.; Ku, T.; Bonifazi, A.; DeVree, B. T.; Mathiasen, S.; Javitch, J. A.; Grimm, J. B.; Lavis, L.; Gether, U.; Newman, A. H. *ACS Chem. Neurosci.* **2020**, *11*, 3288–3300.
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00397>
- Jeong, S.; Widengren, J.; Lee, J. C. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 21.
<https://doi.org/10.3390/nano12010021>
- Prokop, S.; Abrányi-Balogh, P.; Barti, B.; Vámosi, M.; Zöldi, M.; Barna, L.; Urbán, M. G.; Tóth, D. A.; Dudok, B.; Egyed, A.; Deng, H.; Leggio, G. M.; Hunyady, L.; van der Stelt, M.; Keserü, M. G.; Katona, I. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 6505.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-26757-z>
- Szabó, R.; Szepesi Kovács, D.; Kiss, J. D.; Yazdi, Z. N.; Tóth, D. A.; Brea, J.; Loza, M. I.; Meszéna, D.; Wittner, L.; Ulbert, I.; Volk, B.; Hunyady, L.; Keserü, G. M. *ACS Med. Chem. Lett.* **2025**, *16*, 552–559.
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.4c00592>
- Iliopoulos-Tsoutsouvas, C.; Kulkarni, R. N.; Makriyannis, A.; Nikas, S. P. *Expert Opin. Drug Discov.* **2018**, *13*, 933–947.
<https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1518975>
- Conner, J. W.; Poole, D. P.; Jörg, M.; Veldhuis, N. A. *Future Med. Chem.* **2020**, *13*, 63–90.
<https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0327>
- Szabó, R.; Hornyánszky, Á.; Kiss, D. J.; Keserü, G. M. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2025**, *209*, 107074.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107074>
- Casella, B. M.; Farmer, P. J.; Nesheva, N. D.; Williams, H. E. L.; Charlton, S. J.; Holliday, N. D.; Laughton, C. A.; Mistry, S. N. *J. Med. Chem.* **2023**, *66*, 12911–12930.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00849>
- Heering, J.; Hernandez-Olmos, V.; Ildefeld, N.; Liu, L.; Kaiser, A.; Naeem, Z.; Frömel, T.; Fleming, I.; Steinhilber, D.; Proschak, E. *J. Med. Chem.* **2022**, *65*, 2023–2034.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01589>
- De Paus, L. V.; Janssen, A. P. A.; Halimi, A.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Haitman, L. H.; van der Stelt, M. *Synlett* **2024**, *35*, 1239–1246.
- Dekkers, S.; Comez, D.; Karsai, N.; Arimont-Segura, M.; Canals, M.; Caspar, B.; de Graaf, C.; Kilpatrick, E. L.; Leurs, R.; Kellam, B.; Hill, S. J.; Briddon, S. J.; Stocks, M. J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2024**, *15*, 143–148.
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.3c00469>
- Fu, Y.; Finney, N. S. *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29051–29061.
<https://doi.org/10.1039/C8RA02297F>
- Qiu, Y.; Yuan, B.; Cao, Y.; He, X.; Udochukwu Akakuru, O.; Lu, L.; Chen, N.; Xu, M.; Wu, A.; Li, J.; *WIREs Nanomed. Nanobio.* **2023**, *15*, e1910.
<https://doi.org/10.1002/wnan.1910>

19. Verhoeven, M.; Handula, M.; van den Brink, L.; de Ridder, C. M. A.; Stuurman, D. C.; Seimbille, Y.; Dalm, S. U. *Cancers* **2023**, *15*, 2161. <https://doi.org/10.3390/cancers15072161>
20. Bresinsky, M.; Shahraki, A.; Kolb, P.; Pockes, S.; Sxhahada, H. *J. Med. Chem.* **2023**, *66*, 15025–15041. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c01707>
21. Cooper, G. A.; Oyagawa, C. R. M.; Manning, J. J.; Singh, S.; Hook, S.; Grimsey, N. L.; Glass, M.; Tyndall, J. D. A.; Vernall, A. *J. Med. Chem. Commun.* **2018**, *9*, 2055–2067. <https://doi.org/10.1039/C8MD00448J>
22. Czibula, L. et al. WO2010/70369 (2010).
23. Clader, J. W.; Billard, W.; Binch, H.; Chen, L. Y.; Crosby, G.; Duffy, R. A.; Ford, J.; Kozłowski, J. A.; Lachowicz, J. E.; Li, S.; Liu, C.; McCombie, S. W.; Vice, S.; Zhou, G.; Greenlee, W. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.11.005>
24. Zeng, L.; Fu, H.; Qiao, R.; Jiang, Y.; Zhao, Y. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1671–1676. <https://doi.org/10.1002/adsc.200900065>
25. Suzuki, T.; Hisakawa, S.; Itoh, Y.; Suzuki, N.; Takahashi, K.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Nakagawa, H.; Miyata, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4208–4212. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.05.040>
26. Gruber, C. G.; Pegoli, A.; Müller, C.; Grätz, L.; She, X.; Keller, M. *RSC Med. Chem.* **2020**, *11*, 823–832. <https://doi.org/10.1039/D0MD00137F>
27. She, X.; Pegoli, A.; Gruber, C. G.; Wifling, D.; Carpenter, J.; Hübner, H.; Chen, M.; Wan, J.; Bernhardt, G.; Gmeiner, P.; Holliday, N. D.; Keller, M. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 4133–4154. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02172>

Application of Fluorescent Probes in the Investigation of G Protein-Coupled Receptors

G protein-coupled receptors (GPCRs) are pivotal regulators of numerous physiological processes and constitute a major class of drug targets, with over 500 approved therapeutics acting on a subset of these receptors. Despite their pharmacological relevance, many GPCRs, particularly orphan receptors, remain poorly understood, underscoring the need for advanced molecular tools to probe their function. Fluorescent ligands have emerged as indispensable assets in modern pharmacological research, providing high-sensitivity, real-time insights into receptor–ligand interactions through a variety of binding assays. When combined with advanced imaging platforms, especially super-resolution microscopy, these probes enable unparalleled spatial and temporal resolution of receptor localization, trafficking, and engagement in both *in vitro* and *in vivo* systems. Beyond mere detection, the rational design and application of fluorescent ligands facilitate a deeper mechanistic understanding of drug–target interactions and support the development of more selective and effective therapeutic strategies.

The design of effective fluorescent GPCR ligands, however, lacks a standardized protocol. Instead, successful probe development typically relies on iterative strategies informed by prior literature. Critical steps include a comprehensive assessment of available structural data, detailed pharmacological characterization, and structure–activity relationship (SAR) analyses and the available experimental 3D structures of the receptor–ligand complexes to guide ligand selection and identify modifiable positions. *In silico* docking studies further facilitate the rational design of linkers and the selection of appropriate fluorophore conjugation strate-

gies. Nonetheless, empirical testing of multiple linker–dye configurations is often necessary to optimize the photophysical and pharmacological properties of the resulting probe.

Our research team successfully designed and developed fluorescent molecular probes selectively targeting three pharmacologically relevant G protein-coupled receptors (GPCRs): the dopamine D₃ receptor (D₃R), the cannabinoid CB₁ receptor (CB₁R), and the muscarinic M₂ receptor (M₂R). These GPCRs are critically implicated in the pathophysiology and therapeutic modulation of numerous neurological and psychiatric disorders, including schizophrenia, major depressive disorder, and Alzheimer’s disease, as well as in pain signaling and inflammatory responses. Probe design was guided by structure-based *in silico* molecular docking to ensure optimal ligand–receptor interactions and suitable sites for fluorophore conjugation. The binding affinities of the synthesized compounds were quantitatively assessed through radioligand displacement assays.

Furthermore, the application of the super-resolution imaging technique PharmacoSTORM enabled nanoscale spatial localization of cariprazine, a clinically approved D₃-preferring antipsychotics. *In vivo* imaging revealed a highly selective accumulation of cariprazine at D₃ receptor-expressing granule cell axons in the islands of Calleja, while dopaminergic terminals remained largely unaffected. These findings underscore the potential of fluorescent ligands not only as tools for advanced receptor imaging but also for elucidating receptor-specific binding kinetics and supporting the development of more effective therapeutics.

Bemutatózik a BME Gabonatudományi és Élelmiszerminőség Kutatócsoportja

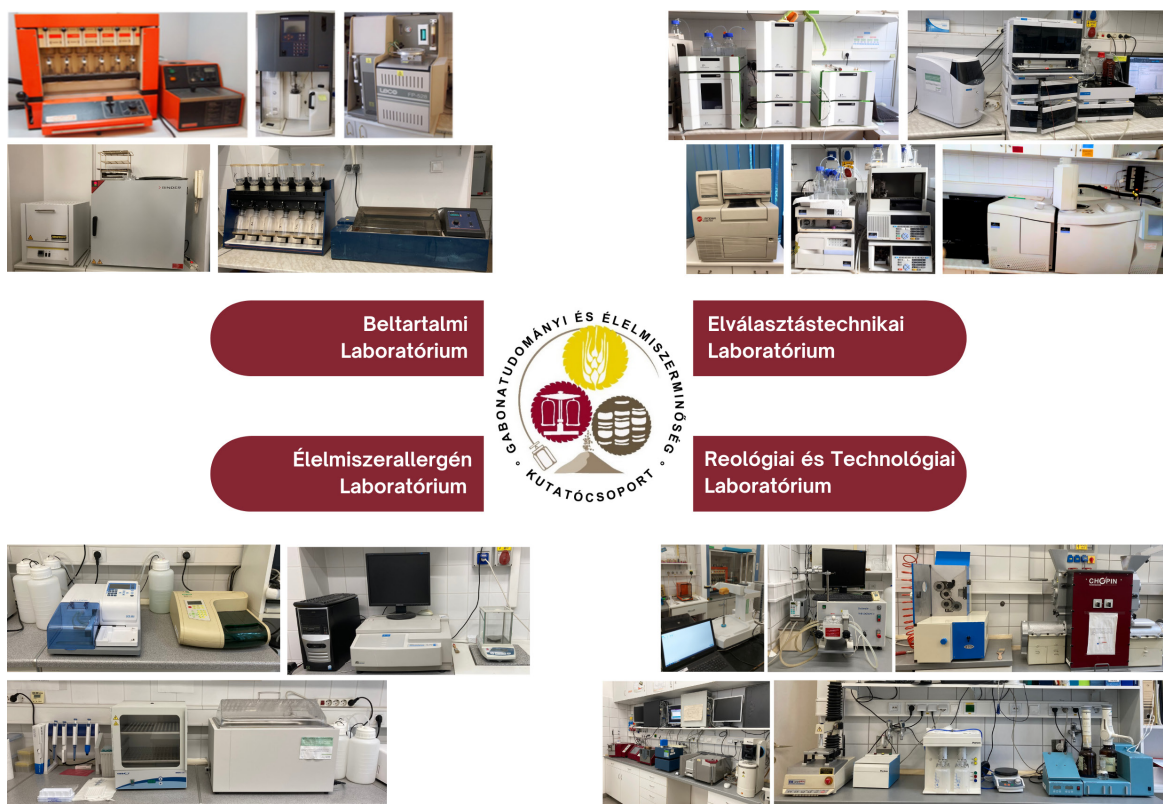
TÖMÖSKÖZI Sándor,^{a,*} JAKSICS Edina,^a JUHÁSZNÉ SZENTMIKLÓSSY Marietta Klaudia,^a
MUSKOVICS Gabriella,^a SCHALL Eszter^a és SZÜCSNÉ MAKAY Erika^a

^a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Gabonatudományi és Élelmiszerminőség Kutatócsoport,
Szent Gellért tér 4, 1111, Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Kutatócsoportunk az 1990-es évek közepén, a jelenlegi szervezeti egységünk egyik jogelődjén, A BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar Biokémia és Élelmiszertechnológia Tanszékén alakult. Más, ebben az időszakban létrejött tanszéki kutatócsoportokhoz hasonlóan célunk volt a szervezeti egységünk alapítása óta meghatározó két tudományterület, a gabonakémia és az élelmiszerminőség működéséhez a folytonosság biztosítása, az elődeink által teremtett szakmai hagyomány továbbvitele. A magyarországi felsőfokú élelmiszertudományi oktatás elindításában és fejlődésében tanszékünk és jogelődjeinek munkatársai döntő szerepet játszottak, az elmúlt több

mint egy évszázad szakmai történéseiről jelent meg összefoglaló [1]. Tanszékünk jelenét és a közeljövő terveit pedig karunk fennállásának 150 éves jubileuma alkalmából megjelent cikkünk összegzi [2]. Most a Gabonatudományi és Élelmiszerminőség Kutatócsoport jelenlegi felépítését, tevékenységét kívánjuk vázlatosan bemutatni. Egyetemi szakmai közösségként természetesen részt veszünk a különböző szintű képzések, oktatási programok kidolgozásában, fejlesztésében, koordinálásában, elsősorban az élelmiszeralitika, élelmiszerbiztonság, élelmiszeripari technológia, laboratóriumi minőségirányítás területén. Ebben az összefoglalóban azonban kutatási profilunkról, a jelen és a közel-múlt néhány tudományos eredményéről adunk áttekintést.



1. ábra. BME ABÉT Gabonatudományi és Élelmiszerminőség Kutatócsoport laboratóriumi egységei

* Főszervező. Tel.: +36 1 463 1419; e-mail: tomoskozi.sandor@vbk.bme.hu; honlap: <https://abet.vbk.bme.hu/>;
közösségi média: https://www.instagram.com/bme_vbk_abet_biomernok/

Kutatási infrastruktúránkat igyekeztünk úgy alakítani, hogy az általunk művelt szakterületeken az alap és alkalmazott kutatás mellett a felsőfokú oktatásra és a szakmai szolgáltatásra is alkalmas tudásbázis és eszközpark jöjjön létre. Csoportunk négy laboratóriumi egységből épül fel melyek a következők: Beltartalmi Laboratórium, Elválasztástechnikai Laboratórium, Élelmiszerallergén Laboratórium, valamint Reológiai és Technológiai Laboratórium (1. ábra). Laborjaink nemzetközi szinten is korszerű, vagy legalábbis az európai színvonalhoz hasonló műszaki felszereltségű eszközparkkal és működési infrastruktúrával rendelkeznek. Munkatársainkkal tudatosan törekszünk szakmai kapcsolatok, együttműködések kialakítására, közös oktatási és kutatási programok megvalósítására a gabonavertikum és általában az élelmiszertudomány hazai és nemzetközi képviselőivel, oktatási, kutatási és gazdasági szereplővel. A szakmai kompetenciák egymást erősítő hatásának kihasználására, a szakmai színvonal további jobbítását segítő hazai együttműködésre példaként említénénk az idén az NKFIH-tól kiváló minősítést kapott Gabonatudományi Infrastruktúra Hálózat létrehozását, melynek tagjai a HUNREN Agrártudományi Kutatóközpont, a Gabonakutató Nonprofit Kft. Laboratóriumi Egysége, a BME ABÉT NIR Spektroszkópia Csoportja és koordinátorként a BME ABÉT Gabonatudományi és Élelmiszermínőség Kutatócsoportja.

Az alábbiakban laboratóriumi egységenként haladva mutatjuk be szakmai tevékenységünket és lehetőségeinket.

2. Beltartalmi laboratórium

A beltartalmi laborunk elődje a csoport legrégebbi egysége, 1987-ben jött létre a karunkon akkor állami támogatással kialakított élelmiszer és takarmányvizsgáló laboratórium részeként. Ezt a szakmai profilt képviseljük ma is, a folyamatosan modernizált eszközparkunk elsősorban az élelmiszerek és takarmányok, illetve alapanyagaik legfontosabb, jelölésköteles összetevőinek és jellemzőinek (fehérje, zsír, élelmi rost, nedvesség, hamu, energiatartalom) mennyiségi meghatározását teszik lehetővé. Ezt a fő profilt egészíti ki a klasszikus analitikai eljárásokon (pl. titrálás, fotometria) alapuló módszerek alkalmazása, mint például a lipidek romlási folyamatainak vizsgálata, szénhidrát összetevők (pl. amilóz, rostalkotó β -glükán) mennyiségi meghatározása, antioxidáns kapacitás vizsgálata stb. A rutinszerűen, többségében szabványos módszerekkel végzett vizsgálataink jól illeszkednek a K+F tevékenységünkhöz is, de itt különösen törekszünk arra, hogy erőforrásainkat kutatási és analitikai szolgáltatásként is hasznosítsuk.

3. Elválasztástechnikai laboratórium

Az elválasztástechnikai laboratórium eszközparkját és alkalmazott módszereit a fent felvázolt kutatási profilhoz igyekszünk igazítani. A jelenleg rendelkezésre álló folyadék- és gázkromatográfiás, gél és kapilláris elektroforetikus berendezéseket, a mintaelőkészítő eszközöket elsősorban a makromolekulák (fehérjék, keményítő és nem keményítő

szénhidrátok, rostok) összetétel és fizikai-kémiai tulajdonságok (méret, hidrofóbitás) alapján történő jellemzésére alkalmazzuk. Az elmúlt években a táplálkozási és élelmiszerbiztonsági szempontból is fontos rövid szénláncú szénhidrátok és zsírsavak jellemzésével is foglalkoztunk.

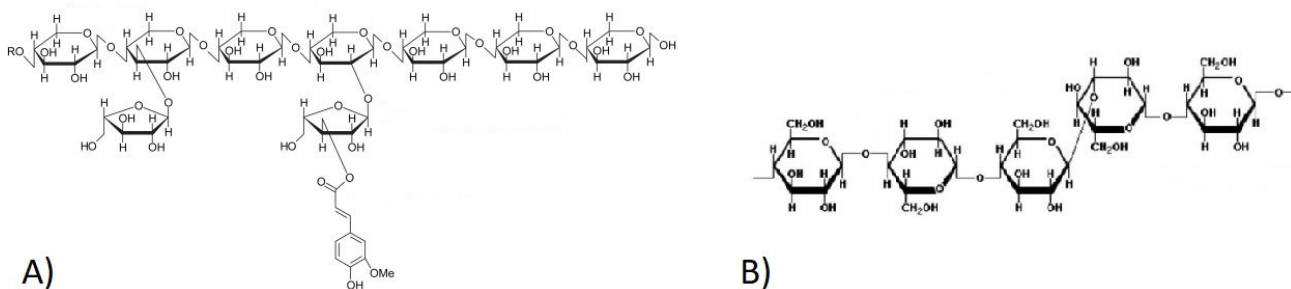
Az alábbiakban néhány jelenleg futó kutatási területet mutatunk be röviden.

3.1. Rostanalitika

Az élelmiszerek és gabonák vizsgálata, minősítése az összetett és feldolgozás/tárolás hatására változó összetételi és fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező mintamátrix miatt jelentenek komoly kihívást. Kutatócsoportunkban az élelmiszeralkotó makromolekulák (fehérjék, keményítő, rostösszetevők) és a rövid láncú szénhidrátok részletes jellemzése az elválasztástechnika részlegén történnek.

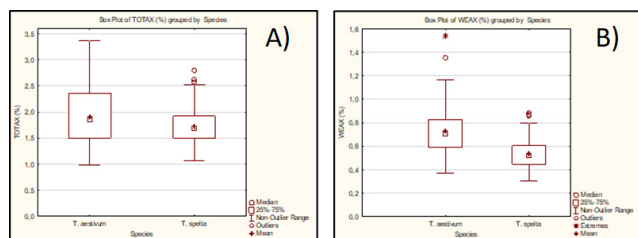
A táplálkozási szempontból kedvező hatású élelmi rostok vizsgálatának célja a rostalkotók összetételében és fizikai-kémiai tulajdonságaiban megjelenő változékonyság leírása, a rostjellemzők feldolgozási folyamatok során bekövetkező változásának követése, általánosságban a rostok élelmiszermátrixok tulajdonságainak alakításában betöltött szerepének tanulmányozása, megértése. Ezek az információk segítenek feltárni a rostok szerepét az alapanyagok technológiai viselkedésében és táplálkozási értékének meghatározásában.

Az élelmi rostokat a humán elsődleges emésztőrendszer nem képes hasznosítani, viszont kedvező hatásuk van az emésztésre. Alapvető szerepük, hogy iniciálják a bélmozgást, szabályozzák a bélperisztaltikát, ezzel a tápanyag tartózkodási idejét, valamint a vastagbél mikroflórájának tápanyagául szolgálnak, így növelve annak diverzitását és egészségre gyakorolt hatását. A mikrobiom anyagcsere termékei közül a rövid láncú zsírsavak a vastagbélből visszaszívódnak és hasznosulnak a szervezetben. A gabonák legfontosabb élelmirost összetevői az arabinoxilánok és a β -glükánok (2. ábra). A heteropolimer arabinoxilánok alapváza β -1,4 glikozidos kötésekkel kapcsolódó β -D-xilopiranoz egységekből épül fel és ehhez szubsztituensként α -L-arabinofuranozil csoportok kapcsolódhatnak. A teljes arabinoxilán tartalmat (TOTAX) oldhatóság szempontjából két csoportba oszthatjuk: vízdoldható (WEAX) és vízdoldhatatlan arabinoxilánok (WUAX). A két csoport jellemzői a gabonaszemen belüli eloszlásuktól is függenek az A/X arányban és a polimerek lánc hosszában és térszerkezetében is eltérhetnek, ezáltal fizikai kémiai tulajdonságaik és biológiai funkcióik is részben eltérőek lehetnek. A β -glükánok elágazásmentes lineáris homopolimerek, a glükózmolekulák β -1,4-glikozidos kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz cellotriozil és cello-tetraozil egységek kialakításával, amiket β -1,3-glikozidos kötések kapcsolnak össze. A molekulaméret és a szerkezet, a vegyes kötés aránya az egyes gabonákban, illetve azok frakcióiban, szöveteiben eltérő lehet.



2. ábra. A) az arabinosilánok [3] és B) a β -glükánok szerkezete [4]

A közelmúltban zárult négyéves OTKA 135211 és OTKA 135343 alaputatásban a Magyar Kutatási Hálózat (HUNREN) martonvásári Agrártudományi Kutatóközpont (ATK) Mezőgazdasági Intézetével (MGI) együttműködve a tönkölybúza részletes összetéti és technológiai jellemzését tűztük ki célul. A célkitűzés mögött álló alap gondolat az volt, hogy bár a változatos és egészségtudatos táplálkozás jegyében több állítás is megfogalmazódik a tönkölybúzával kapcsolatban, viszont ezeket alátámasztó tudományos eredmények még hiányosak. Térképező vizsgálatok keretén belül 187 tönköly- (*Triticum spelta*) és összehasonlításként 80 kenyérbúza (*Triticum aestivum*) fajta és nemesítési vonal rostösszetételét vizsgáltuk. Az eredmények alapján látható, hogy a tönkölybúza rostösszetéti változékonysága nem sokkal marad el a kenyérbúzáéhoz képest, viszont a medián rendszerint alulmarad a modern kenyérbúza fajtákhoz képest (3. ábra).

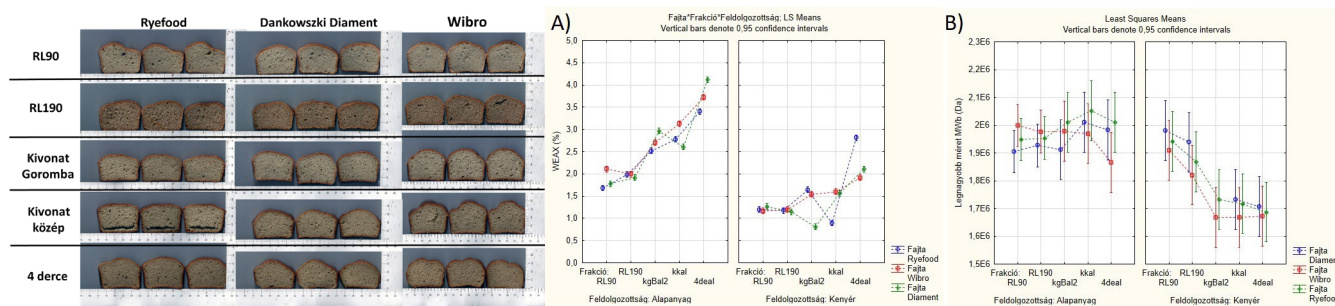


3. ábra. Kenyérbúza (*T. aestivum*) és tönkölybúza (*T. spelta*) fajták A) TOTAX és B) WEAX box plot vizsgálata (Kutatócsoport eredményei, [5])

A tönköly pelyvás szemtermése miatt ellenállóbb a környezeti hatásoknak, így használata indokolható az organikus

gazdálkodásban - megfelelő fajtaszelekciót követően. Az organikus és a „modern”, nagyüzemi termesztés összetételre és minőségre gyakorolt hatásának összehasonlítására azonban nagyon kevés adat áll rendelkezésre. Az organikus és a konvencionális termesztés vizsgálatai során olyan fajtákat kerestünk, amik stabilan kedvezően nagyobb rosttartalmú és kedvezőbb hozamú termést tudtak elérni. A négy évjárat és két termesztési körülmény eredményeit ANOVA statisztikai módszer segítségével elemeztük. Az eredmények azt mutatták, hogy a termesztés közvetlenül nem befolyásolja a rostösszetételt, vagyis az általunk vizsgált tönköly fajták képesek organikus termesztési körülmények között is hasonló rostösszetételű jó minőségű termést adni.

Az élelmi rostok jellemzésének másik példáját a rozs humán célú hasznosításának fejlesztését célzó kutatási programunkból hozzuk (2017-1.3.1-VKE-2017-00004). Az alapanyag vizsgálatokon túl a fogyasztóhoz eljutó termékek összetételének ismerete alapvető fontosságú. Fajtaazonos rozsok különleges malmi frakcióinak összetéti leírása során vizsgáltuk az alapanyagban lévő rost mennyiségi és minőségi változását a sütőipari termékkészítés hatására. A teljes arabinosilán tartalmat a feldolgozás nem befolyásolta, viszont a termékekben a vízoldható arabinosilán tartalom mennyisége csökkent és a molekulaméret eloszlásban is történtek változások (4. ábra). A sütőipari termékkészítés (dagasztás, kelesztés, sütés) komplex hatására a rostok oldhatósági tulajdonságai csökkentek, de a fajtákból adódó változékonyság és a különleges frakciók egyedi tulajdonságai jelentősen befolyásolják az eredményeket [6]



4. ábra. Fajtaazonos rozs fajták frakciói és azokból készült kenyerek rostösszetételét ábrázoló LS Means diagramok. A) WEAX és B) legnagyobb molekulaméret. (A pontok önálló értékek, a köztük lévő szaggatott vonal csak a változások mértékének követhetőségét szolgálják) [7].

3.2. Gabonák és élelmiszerek rövid láncú szénhidrát összetételére irányuló kutatások

A gabonák szemtermései kis mennyiségben rövid láncú szénhidrátokat tartalmaznak. Ezek egy bizonyos csoportjának fogyasztása az irritábilis bélszindrómával (IBS) élőknel kellemetlen tüneteket okoznak. Ez a csoport a fermentábilis oligo-, di-, monoszacharidok, valamint cukoralkoholok – röviden FODMAP-összetevők. Az IBS fogyasztók számára élelmiszerbiztonsági kérdés az élelmiszerek pontos összetételének ismerete. A FODMAP-ok meghatározása az összes rövid láncú szénhidráttal együtt történik két egymást kiegészítő folyadékromatográfiás és egy enzimes módszerrel. Az oligoszacharidok elválasztása hidrofób kölcsönhatáson alapuló módszerrel, míg a monoszacharidok ligandumcseréről kromatográfiával határozhatók meg. Minkét esetben a szénhidrátok detektálása fényszóródásos detektorral (evaporate light scattering detector, ELSD) történik. A fruktán tartalom Megazyme Fructan HK enzimes módszerrel és UV spektrométerrel állapítható meg [8].

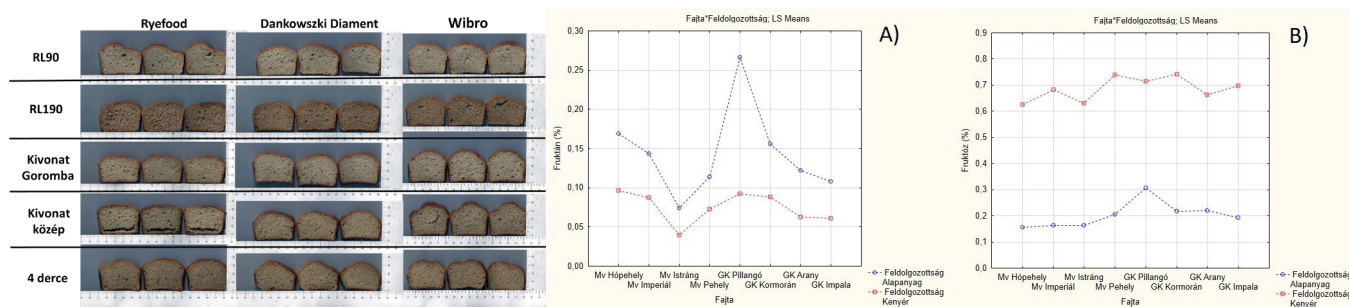
Az irodalomban a búza, rozs és zab FODMAP-összetételének fajták közötti változékonyságáról kevés információ található. A búza és a rozs a magas FODMAP-tartalmú, IBS fogyasztóknak nem ajánlott alapanyagok közé sorolandók, még a zab alapvetően alacsony FODMAP-tartalommal rendelkezik és beépíthető a FODMAP-diétába. Saját mérési eredményeink azt mutatták, hogy a fajok és a fajták közötti változékonyság jelentős és alacsonyabb FODMAP-tartalommal rendelkező fajták is azonosíthatók, melyek felhasználhatók lehetnek célzott nemesítés során.

A fajtaazonos rozskok különleges malmi frakciói között is sikerült azonosítani magas rosttartalom mellett is alacsonyabb FODMAP-tartalommal rendelkező tétteleket. A vizsgált zabfajtáink mindegyikére jellemző volt az alacsony FODMAP-tartalom [9]. A termékkészítés során bekövetkező változásokat is tanulmányoztuk (5. ábra). A feldolgozás hatására értelemszerűen a fruktántartalom csökkent, fruktóztartalom nőtt, de jelentősen az ajánlott érték alatt maradt. Ezek ismeretében összegezhető, hogy ezek a zabfajták stabilan megfelelnek a speciális diéta kritériumainak.

Kísérleteket végeztünk a FODMAP-összetétel fermentáció (kovászos erjesztés) hatására bekövetkező változások tanulmányozására is. Különböző starter kultúrák alkalmazása során megállapítottuk, hogy az eltérő enzimaktivitások következtében jelentős különbségek írhatók le az összetételben, mint például a fruktán bontás hatékonysága és a mannitol akkumuláció jelensége [10]. Jelenleg a FODMAP szempontjából kritikus hüvelyes szemtermékek és belőlük készült termékek vizsgálata folyik.

4. Élelmiszerallergén Laboratórium

A kutatócsoportunk legfiatalabb egysége az élelmiszer allergének és érzékenységet kiváltó összetevők meghatározására specializálódott laboratórium, amelyben elsősorban immunanalitikai módszerekkel dolgozunk. Az allergén laborban a többi egységtől elkülönítve, a keresztszenyeződések kockázatát csökkentve végzünk rutin ELISA vizsgálatokat, és a kutatási tevékenységünkhöz kapcsolódó mintakezelési műveleteket.



5. ábra. Nyolc magyar zabfajta A) fruktán és B) fruktóz eredményei az alapanyagban és abból készült termékekben (A pontok önálló értékek, a közöttük lévő szaggatott vonal csak a változások mértékének követhetőségét szolgálják) [7].

4.1. Gluténanalitika, referenciaanyag fejlesztés

A kutatási projektekben – csoportunk profiljának megfelelően – elsődlegesen gluténanalitikával, a gluténanalitika feltételrendszerének továbbfejlesztésével foglalkozunk. Ezen belül is fő kutatási irányunk a gluténtartalom meghatározásának megbízhatósága szempontjából kulcsfontosságú referenciaanyag jelölt mátrixok fejlesztése.

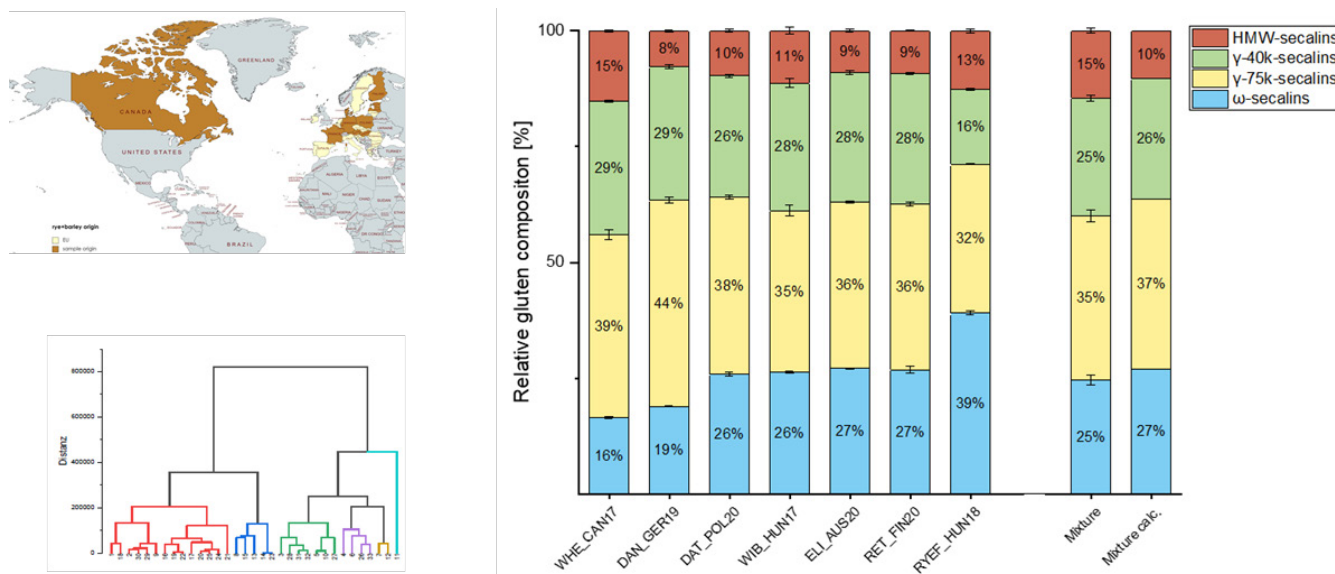
Ebbe a munkába kutatócsoportunk 2008-ban, a MoniQA Kiválóságárhálózat Allergén Munkacsoportjának tagjaként kapcsolódott be glutént tartalmazó, feldolgozott mátrix alapú referencia anyag jelölt modelltermékek kidolgozásával.

A nemzetközi kutatás keretei között munkatársainkkal először búza alapú referenciaanyag fejlesztéssel kezdtünk el foglalkozni, melynek során a világ meghatározó búzatermő területeiről begyűjtött 23 búzafajta fehérje összetételét és gluténtartalmát jellemeztük és hasonlítottuk össze immunanalitikai és elválasztástechnikai módszerekkel. A minták közül 5 fajta kiválasztásával sikerült egy olyan reprezentatív lisztkeveréket előállítani, amely megfelelően modellezte a búzafajták sokaságának fehérjeprofili változékonyságát. A fajták mellett különböző évjáratok vizsgálatára is sor került a környezeti változékonyság feltérképezésére. Az eredmények alapján a reprezentatív lisztkeverék alkalmazásával a

genetikai és környezeti változékonyság által okozott mérési hiba jelentősen csökkenthető [11], [12], [13], [14], [15], [16].

Jól ismert azonban, hogy a búza mellett a rozs és az árpa fehérjei is felelősek a cöliákia kialakulásáért. Így a jelenleg folyamatban lévő kutatómunkánk célja rozs és árpa alapú referenciaanyag célú mintamátrix fejlesztése. Ehhez a korábban a búzánál alkalmazotthoz hasonló kísérlettervet állítottunk össze. A világ jellegzetes termőhelyeiről jellemző rozs és árpa fajtákat gyűjtöttünk össze és elvégeztük ezek fehérjeprofíl jellemzését RP-HPLC, SE-HPLC és SDS-

PAGE módszerekkel, valamint a gluténtartalom immunanalitikai meghatározását R5 és G12 ELISA módszerekkel. A kísérletek során 57 rozs- és 123 árpafajtát vizsgáltunk. A reprezentatív fajták kiválasztásának szempontjai a fehérjeösszetétel, a származási hely és a fehérjék méret szerinti eloszlásában megfigyelt különbségek voltak. A mért eredmények alapján klaszteranalízis segítségével 7 rozs és 8 árpafajtát választottunk ki a referenciaanyag jelölt keverékek előállításához, amelyek fehérjeprofíljuk jól reprezentálja a sokaságban mérhető változékonyságot és ezt vizsgálataink is igazolják (6. ábra) [17], [18].



6. ábra. Rozs fajták kiválasztása reprezentatív lisztkeverék előállításához, a kiválasztott fajták gluténfehérje összetételének összehasonlítása a reprezentatív lisztkeverék eredményeivel [19]

További nagy kérdés, hogy a referenciaanyag jelölt milyen formában (mátrixban) szolgáltathat megbízhatóbb analitikai eredményeket. Ennek megválaszolása érdekében jelenleg az előállított lisztkeverékeket közvetlenül, illetve belőlük készített fehérje izolátumok formájában is teszteljük többféle ELISA módszer kalibrálóanyagaként [19], [20].

4.2. A feldolgozás hatásának vizsgálata a glutén mennyiségi meghatározásának megbízhatóságára

A referenciaanyag fejlesztés kiegészítéseként a glutén analitika megbízhatóságának egy másik problémakörével is foglalkozunk. Nevezetesen azzal, hogy az élelmiszerelőállítás során alkalmazott műveletek, biológiai (pl. kelesztés, fermentáció), fizikai (pl. hőkezelés, sütés) és kémiai (pl. hidratálás, más élelmiszeralkotók jelenléte stb.) hogyan befolyásolja a gluténanalízis megbízhatóságát. Jelenleg a sütőipari termék előállítás során meghatározó fermentációs folyamat, a kovászolás hatását vizsgáljuk. A kovászolás során a makromolekulák, így a fehérjék is részlegesen bomlanak, ami egyrészt a gluténfehérjék túlerzékenységi reakciókat kiváltó toxikus epitópjai szempontjából, másrészt a gluténtartalom meghatározás szempontjából is érdekes kérdés.

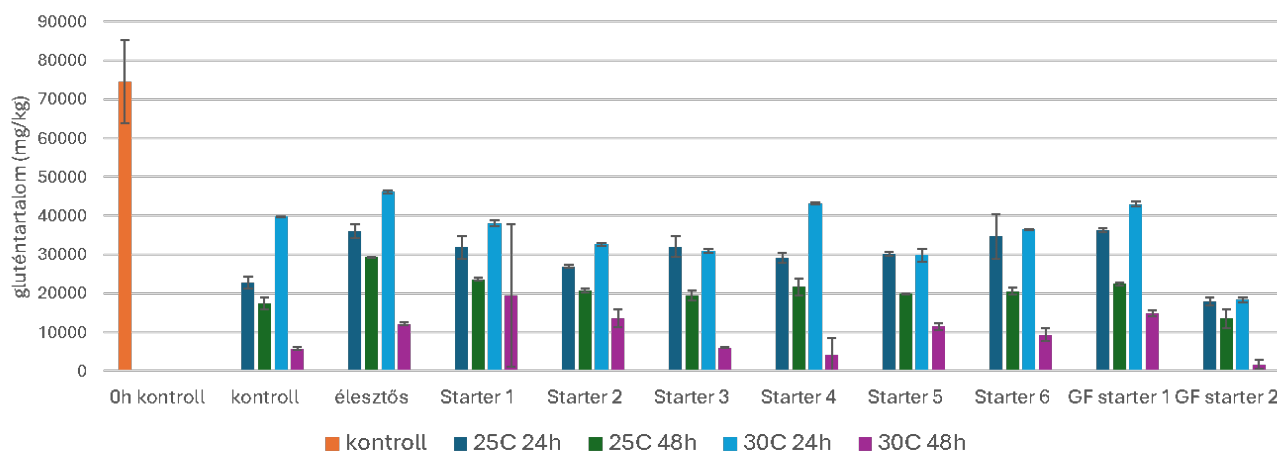
A kísérleteinkben különböző, kereskedelmi forgalomban elérhető kovász starter kultúrák hatásait hasonlítottuk össze starter nélküli kontroll, pékésztővel kezelt kontroll és egy tejsavbaktérium kultúrával kezelt minta eredményeivel kontrollált fermentációs modellben. A fehérjebomlás folyamatát kromatográfiai módszerekkel (SE-HPLC és RP-HPLC), a gluténtartalom változását R5 és G12 antitesteket alkalmazó ELISA mérésekkel követtük nyomon. A modellrendszerünkben a referenciaanyag fejlesztés során előállított reprezentatív rozsliszt keveréket alkalmaztuk, hogy az eredményeink a lehető legjobban reprezentálják a rozslisztre általánosan jellemző változásokat.

A két eltérő célepitópot (meghatározott aminosav sorrendű fehérjeszakaszt) alkalmazó ELISA vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy az eltérő fermentációs körülményekben lejátszódó részleges fehérjebomlás együtt jár-e a túlerzékenységi reakciókat kiváltó epitópok mennyiségének érdemi csökkenésével. A kidolgozott egységes modellrendszerben végzett kísérleteink során az alkalmazott kromatográfiai és immunanalitikai módszerekkel azt bizonyítottuk, hogy bár a részleges fehérjebomlás a vártan

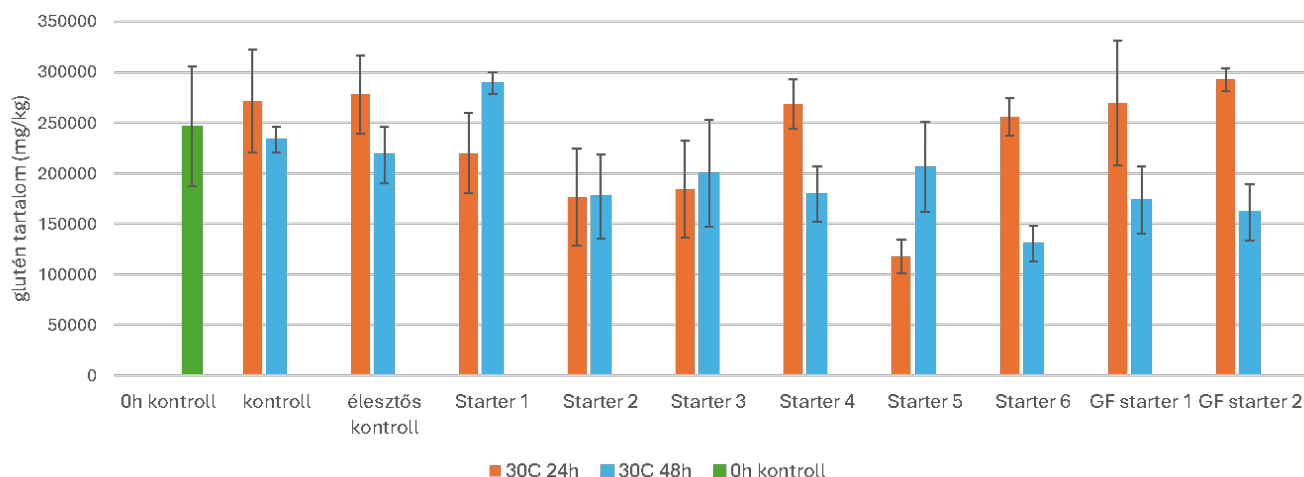
megfelelően lejátszódik, az ELISA módszerekkel meghatározható gluténtartalom, tehát a vizsgált toxikus epitópok mennyisége nem csökkent az általunk alkalmazott fermentációs eljárás során (7. ábra). Az eredményeink azt bizonyították, hogy bár a fehérjebomlás jelentős, annak mértéke

nem elegendő a toxikus határértékek közelítéséhez. A kapott adatok arra is felhívják a figyelmet, hogy a változások mértéke jelentősen függ a fermentáció körülményeitől és az alkalmazott startertől, vagyis az adott kovászban található mikroba kultúra összetételétől.

Összes glutén tartalom RP-HPLC



R5 ELISA



7. ábra. Kontrollált fermentáció hatása rozsliszt gluténfehérjéire. A kromatográfias módszerrel meghatározott összes gluténtartalom szignifikáns csökkenése az eredmények alapján nem jelenti automatikusan az R5 ELISA módszerrel detektálható toxikus epitópok számának csökkenését

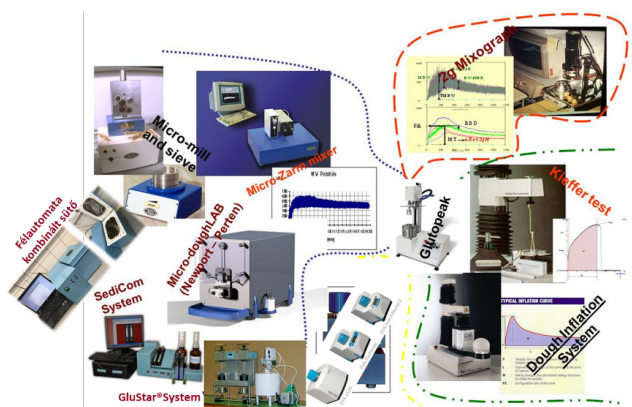
A különböző kovász starterek összehasonlítása során az eredmények azt mutatták továbbá, hogy nem lehet úgy általában kovászolásról és annak hatásairól beszélni, hiszen ezek a hatások jelentős mértékben függenek a starterkultúrák mikrobiális összetételétől. Különbséget tudunk kimutatni az élesztős, illetve a tejsavbaktérium kultúrával kezelt minták fehérjebomlási folyamatai között, melyet a későbbiekben részletes mikrobiológiai vizsgálatokkal szeretnénk megerősíteni [21].

5. Reológia és Technológia Laboratórium

A gabonaminőség fogalma és tartalma gyakorlatilag a 20. század elejéig elsősorban a termesztési mutatók alakulására, a tisztaságra és a termékből készült élelmiszerek minőség-

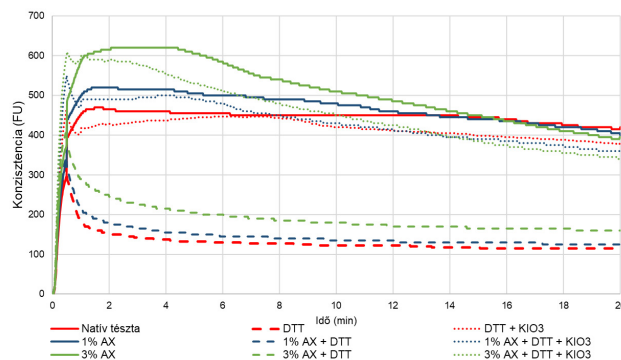
gének érzékszervi megítélésre korlátozódott. A malomipar, majd később a sütőipar közép-, majd nagyüzemi méretűvé válásával a minőség, ezen belül is elsősorban a búzaminőség fontos kérdéssé vált [22]. Így megindultak a táplálkozási érték javítását, majd a technológiai fejlesztéseket elősegítő és a technológiai minőség befolyásolását célzó, illetve az összetétel és minőség közötti összefüggéseket vizsgáló kutatások. A terület fejlődésében kulcskérdéssé vált a technológiai minőség (malmi viselkedés, őrleményekből készült tészták reológiai tulajdonságai stb.) meghatározására alkalmas, objektív eredményt szolgáltató módszerek és műszerek (pl. sikértartalom, sikérerősség, dagasztási tulajdonságok meghatározása) kialakítása, melyben a magyar kutatók a kezdetektől világviszonylatban is úttörő szerepet játszottak [23].

Jelenleg a kutatócsoport korábbi tevékenységének is köszönhetően a megépített saját műszereket más gyártók be-
rendezéseivel kiegészítve, nemzetközi léptékben is jelen-
tősnek mondható olyan búza-, gabona- és termékminősítő
kapacitást sikerült kialakítanunk, melynek különlegessége,
hogy a nagyobb mintamennyiséget igénylő, többségében
szabványos vizsgálati módszerek alkalmazása mellett le-
hetséges a kis mennyiségű minták reológiai és végtermék-
tulajdonságainak jellemzése is (8. ábra).



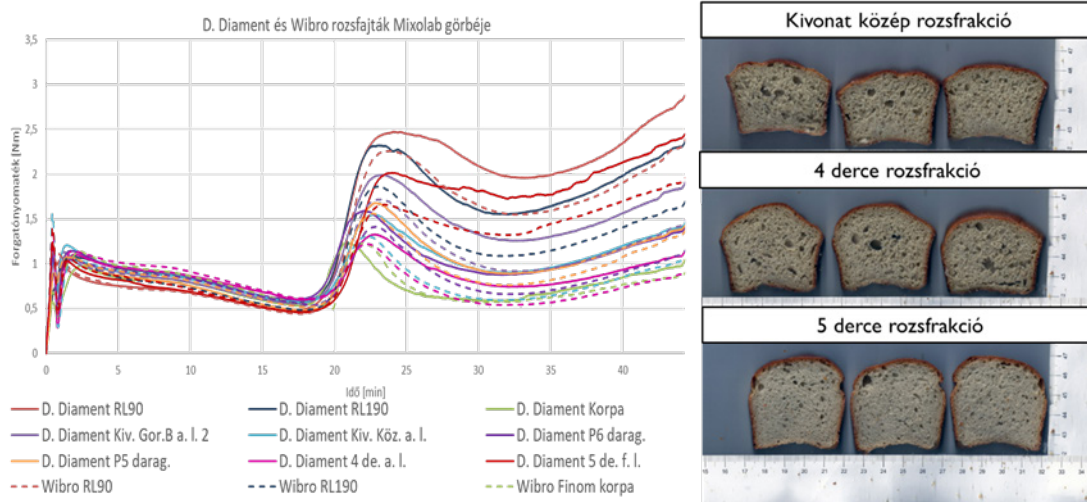
8. ábra. A jelenleg leggyakrabban alkalmazott kis mennyiségű gabonaminták vizsgálatára alkalmas műszerek, ezen belül a bal oldalon a BME ABÉT közreműködésével fejlesztett berendezések áttekintése

A búza és más gabonák táplálkozási szerepének megítélése az utóbbi évtizedekben jelentősen változott. Korábban a jórészt magbelsőt tartalmazó fehér lisztek előállítása és a belőlük készülő sütő-, édes-, tésztaipari termékek és egyéb élelmiszerek előállítása meghatározó volt. Ezért az összetéti és technológiai minőség jellemzésére alkalmas módszerek többsége is ezt a (siker)fehérje és keményítő „központú szemléletet” szolgálta ki. Az élelmi rostok és bioaktív összetevők szerepének mind teljesebb megismerése, a tudatos táplálkozás terjedése a teljes kiőrlésű, illetve rostokban, nem keményítő szénhidrátokban gazdagabb őrlémények, illetve gabonaalapú élelmiszerek térnyerését eredményezte. A rostösszetevők szerkezetalkító tulajdonságairól azonban viszonylag keveset tudunk. A közelmúlt és a jelen kutatási témáinak egy része a búzalisztek meghatározó rostösszetevői, az arabinoxilánok, búzalisztekben és sikérmentes mátrixokban betöltött szerepének vizsgálatára irányultak. Nemrégiben olyan alap kutatási irányt is indítottunk, amely egy korábban fehérjékre kidolgozott redukciós és reoxidációs beépítési (inkorporációs) technika rostösszetevőkre történő kiterjesztését célozza (9. ábra) [24]. Szintén érdekes lehet a rostós őrlémények téstaképző tulajdonságainak hő hatására bekövetkező változásait vizsgálni. A hőkezelés jól ismert eljárás búzalisztek technológiai tulajdonságainak változtatása, vagy pl. zabőrlémények eltarthatóságának növelése céljából, azonban rostban gazdag minták esetében a lejátszódó molekuláris folyamatokról, illetve ezek technológiai viselkedést befolyásoló hatásairól keveset tudunk [25], [26], [27].



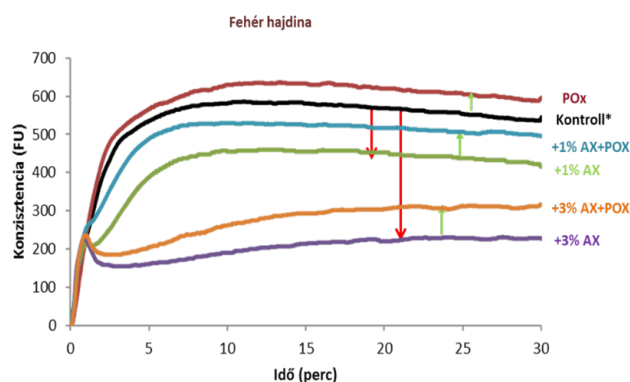
9. ábra. Példa a micro-doughLAB (Perten Instruments) alkalmazására: Arabinoxilán izolátum adagolásának és beépítésének (inkorporáció) hatása a búzátészta dagasztási tulajdonságainak alakulására [26] (DTT: redukált búzátészta; DTT+KIO3: redukált és visszaoxidált búzátészta)

A jelenleg lényegesen kisebb mennyiségben termelt, de speciális táplálkozási szükségletek, választékbővítés vagy éppen divat miatt növekvő jelentőségű gabonák (mint például a rozs, zab, árpa, cirok, köles, tritikálé) vagy álgabonák (amaránt, quinoa, hajdina) népszerűsége folyamatosan növekszik, viszont problémát jelent, hogy nem rendelkeznek részletes minősítő eljárással, módszertannal. Sok esetben az adott felhasználási célnak megfelelő minőségi követelmények meghatározása is hiányos. Ezért hazai és külföldi kutatóhelyekkel, munkatársakkal közösen több alap és alkalmazott kutatás-fejlesztési programot indítottunk egyrészt a kiscabonák minősítési módszereinek fejlesztésére, másrészt a hasznosításuk szélesítését elősegítő termékfejlesztések irányában, valamint a technológiai viselkedésük javítását célzó molekuláris háttér megismerésére. Terjedelmi korlátok miatt itt csak két példa segítségével mutatjuk be ezen területek kutatás-fejlesztési potenciálját, lehetőségeit. A közelmúltban záródott projektünk keretében hazai termesztésű és részben hazai nemesítésű zab és rozsfajták minősítési módszereit fejlesztettük tovább és ezek alkalmazásával vizsgáltuk a fajták összetéti és technológiai tulajdonságbeli változékonyságát. Nagyüzemi malomipari kísérletekben, 54 frakció legyűjtésével és elemzésével „megrajzoltuk” az ipari őrlési eljárás frakcióterképét és azonosítottunk néhány olyan új rozsórléményt, melyek tápérték, egészségtámogató összetevők jelenléte szempontjából a hagyományos, jelenleg használatos őrléményeknél kedvezőbb tulajdonságokkal rendelkeztek. Részletesen jellemeztük az új őrléményekből készült tészták reológiai és sütőipari végtermék minőségét, mely eredmények segítségével lehetővé vált új típusú, összetéti és érzékszervi szempontból egyaránt kedvező termékek előállítása (10. ábra) [28], [29].



10. ábra. Rozsfajták és speciális örleményeik reológiai jellemzése Mixolabbal (a) és a Wibro rozsfajta speciális frakcióival végzett mikro sütési tesztek eredményei (b)

Másik példánk a gluténmentes tészta-matrixok táplálkozási és technológiai tulajdonságainak javítási lehetőségét mutatja be. A gluténmentes alapanyagok (pl. köles vagy hajdina) tészta-képző tulajdonsága viszonylag gyenge, a szerkezet-építő makromolekulák (síkérfehérjék) hiányában a tészta-matrixok termék-előállításához szükséges viszkózus szerkezetét a szénhidrátok és sok esetben adalékolt hidrokolloidok biztosítják. Többek között ez az oka annak, hogy a gluténmentes sütő és tésztaipari termékek tápértéke is számos esetben kedvezőtlenebb a sikértartalmú változathoz képest. Ugyanakkor ismert például, hogy a rostalkotó arabinoxilánok oxidatív közegben oldalláncaik összekapcsolódásával képesek a sikérszerkezethez részben hasonló makromolekuláris hálózat kialakítására. Kísérleteinkben sikerült bizonyítani, hogy enzimreakciókban keletkező hidrogénperoxid megfelelő koncentrációban képes a sikérmentes tészta-matrixokhoz adagolt arabinoxilánok polimerizációját indukálni és ezzel a tészta dagasztási tulajdonságait és a sütőipari végtermékek komplex minőségét javítani, miközben a rost-adagolással a táplálkozási érték is növekszik (11. ábra) [30], [31], [32].



11. ábra. Fehér hajdinaliszttól készült tészta micro-doughLab műszerrel mért dagasztási tulajdonságainak változása arabinoxilán adagolás és oxidáció hatására [27]

Sok tekintetben (pl. biodiverzitás, tápérték növelés, termékínálat bővítés, élelmiszerbiztonsági problémák kezelése stb.) fontos és izgalmas kutatási iránynak tartjuk a régi fajták, vonalak, illetve az ősi búzafajták (pl. tönköly, tönke, alakor) összetéti és technológiai potenciáljának feltárását modern szemlélet és vizsgálati módszerek alkalmazásával. Ilyen megfontolások alapján indítottuk el nemesítőházakkal közösen a régi búza genotípusok új szemléletű jellemzésére és felhasználásának javítására irányuló K+F programunkat, illetve ezt kiegészítő alapkutatásainkat is. Ezekben is felhasználtuk és továbbfejlesztettük az új reológiai és szénhidrát (rost) összetétel meghatározására alkalmas módszereinket. Megállapítottuk például, hogy míg a különböző tönkölybúza fajták és vonalak dagasztási jellemzői néhány kivételtől eltekintve hasonlóak, addig a viszkózus viselkedésben jelentős eltérések mutatkoznak [33], [34], [35].

6. Záró gondolatok

Bízunk abban, hogy írásunkban sikerült áttekintést adni kutatócsoportunk jelenlegi tevékenységéről. Itt tartunk ma, ezt a szakmai profilt sikerült a korábban és jelenleg itt dolgozó munkatársak és hallgatók odaadó és hozzáértő munkájával létrehozni és működtetni. Feltételeink és témáink alakításában, megvalósításában, a folyamatos fejlesztés és fejlődés képességének fenntartásában döntő szerep jut az egyetemen belüli és kívüli együttműködéseknek oktatási, kutatási és gazdasági partnereinkkel egyaránt. Ezt tudjuk ajánlani a szakmai közösségnek és természetesen nyitottak vagyunk képzési, K+F+I, gazdasági és társadalmi célokat szolgáló, az egészséges életmód és táplálkozás fejlesztését segítő közös tevékenységek formálására, a meglévők továbbfejlesztésére és új kapcsolatok alakítására.

7. Bibliográfiai hivatkozások

Köszönetnyilvánítás

A kutatócsoport tagjai köszönik valamennyi volt és jelenlegi munkatársnak, lelkes jelenlegi és korábbi hallgatóiknak, doktoranduszaiuknak részvételüket az oktatási és kutatási infrastruktúra létrehozásában és fejlesztésében, a működési feltételek alakításában és fenntartásában, a szakmai programok tervezésében és végrehajtásában, publikációk, egyéb megjelenések megvalósításában és ami a legfontosabb, a szakmai és emberi alkotó közösség mindennapjainak formálásában. Köszönettel tartozunk a Tanszék, a Kar és a Kutatócsoport hazai és külföldi együttműködő oktatási, kutatási és gazdasági partnereinek. A bemutatott eredmények számos projekt támogatásának köszönhetően születhettek meg. Ezek közül munkáink közvetlenül kapcsolódnak az alábbi programok szakmai céljainak megvalósításához:

Gluténmentes tészta minőségének javítása hemicellulóz hálózat kialakításával (OTKA-ANN 11455)

„Új szempontok a búzanemesítésben: a bioaktív komponens összetétel javítása és annak hatásai” című OTKAK112169 és K112179 pályázat

Galgabona projekt: Élelmiszerbiztonsági, agrotechnikai, feldolgozástechnológiai és táplálkozási érték növelését célzó fejlesztések a zab és rozs humán célú hasznosítási feltételeinek javítása érdekében. (2017-1.3.1-VKE-2017-00004)

COST Action 18101 „SOURDOMICS – Kovász biotechnológiai hálózat egy korszerű, egészséges és fenntartható élelmiszerért és biológiai folyamatokért

A tönkölybúzában rejlő genetikai, összetételi és feldolgozóipari lehetőségek feltárása” című OTKA 135211 pályázat

TKP2021-EGA-02 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program részfinanszírozásában.

Hivatkozások

1. S. Tömösközi, R. Lásztity, A. Salgó, and B. Vértessy G., “100+10 év a felsőfokú élelmiszertudományi oktatás és a kutatás szolgálatában,” *Magyar Kémikusok Lapja*, vol. 76, no. 10, pp. 286–292, **2021**, <https://doi.org/10.24364/MKL.2021.10>
2. I. Leveles, R. Németh, and S. Tömösközi, “Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék – múlt, jelen és az elképzelt jövő,” *Magyar Kémikusok Lapja*, vol. 78, no. 12, pp. 365–369, **2023**, <https://doi.org/10.24364/MKL.2023.12>
3. M. Mendis and S. Simsek, “Arabinoxylans and human health,” *Food Hydrocoll*, vol. 42, no. P2, pp. 239–243, Dec. **2014**, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.022>
4. M. Shoukat and A. Sorrentino, “Cereal β -glucan: a promising prebiotic polysaccharide and its impact on the gut health,” May 01, **2021**, *Blackwell Publishing Ltd*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14971>
5. E. Schall *et al.*, “Fibre and short chain carbohydrate composition of Triticum aestivum and Triticum Spelta varieties Graphical abstract,” *Under submission*, **2025**.
6. M. K. J. Szentmiklóssy *et al.*, “Fibre and short-chain carbohydrate composition in rye varieties, novel industrial milling fractions and breads,” *Acta Aliment*, May **2023**, <https://doi.org/10.1556/066.2022.00221>
7. M. K. Juhász Szentmiklóssy, “Élelmi rostok és rövid láncú szénhidrátok vizsgálata gabonákban és élelmiszerekben” Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest, **2024**.
8. J. G. Muir *et al.*, “Measurement of short-chain carbohydrates in common Australian vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography (HPLC),” *J Agric Food Chem*, vol. 57, no. 2, pp. 554–565, **2009**, <https://doi.org/10.1021/jf802700e>
9. A. Farkas, E. Szabó, A. Horváth, E. Jaksics, R. Németh, and S. Tömösközi, “Development and application of a laboratory baking test for the characterisation of wholemeal oat flours,” *J Cereal Sci*, vol. 114, Nov. **2023**, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103761>
10. G. Muskovics, M. K. J. Szentmiklóssy, A. Donáth, and S. Tömösközi, “Changes of short chain carbohydrate components during sourdough fermentation in rye flour,” *Under submission*, **2025**.
11. Z. Bugyi *et al.*, “Development of incurred reference material for improving conditions of gluten quantification,” **2012**, *AOAC International*. https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Bugyi
12. Z. Bugyi, J. Nagy, K. Török, L. Hajas, and S. Tömösközi, “Towards development of incurred materials for quality assurance purposes in the analysis of food allergens,” *Anal Chim Acta*, vol. 672, no. 1–2, pp. 25–29, Jul. **2010**, doi: 10.1016/j.aca.2010.03.058.
13. L. Hajas *et al.*, “Variation in protein composition among wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to identify cultivars suitable as reference material for wheat gluten analysis,” *Food Chem*, vol. 267, pp. 387–394, Nov. **2018**, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.005>
14. K. Török, L. Hajas, V. Horváth, E. Schall, Z. Bugyi, and S. Tömösközi, “Identification of key effects causing weak performance of allergen analysis in processed food matrices,” *Acta Aliment*, vol. 45, no. 1, pp. 45–53, Mar. **2016**, <https://doi.org/10.1556/066.2016.45.1.6>
15. E. Schall *et al.*, “Characterisation and comparison of selected wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and their blends to develop a gluten reference material,” *Food Chem*, vol. 313, May **2020**, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126049>
16. K. Török *et al.*, “Identification of the factors affecting the analytical results of food allergen ELISA methods,” *European Food Research and Technology*, vol. 241, no. 1, pp. 127–136, Jul. **2015**, <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2441-y>
17. M. Xhaferaj, G. Muskovics, E. Schall, Z. Bugyi, S. Tömösközi, and K. A. Scherf, “Characterization of rye flours and their potential as reference material for gluten analysis,” *Food Chem*, vol. 408, May **2023**, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135148>
18. M. Xhaferaj, G. Muskovics, E. Schall, Z. Bugyi, S. Tömösközi, and K. A. Scherf, “Development of a barley reference material for gluten analysis,” *Food Chem*, vol. 424, Oct. **2023**, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136414>

19. M. Khaferaj, G. Muskovics, Z. Bugyi, S. Tömösközi, and K. A. Scherf, "Rye secalin isolates to develop reference materials for gluten detection," *Food Chem*, vol. 471, Apr. **2025**, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142691>
20. G. Muskovics, S. Tömösközi, and Zs. Bugyi, "Investigation of the effects of sample preparation on gluten quantitation in rye and barley flours," *Acta Aliment*, vol. 52, no. 1, pp. 73–81, Mar. **2023**, <https://doi.org/10.1556/066.2022.00177>
21. G. Muskovics, A. Farkas, Z. Bugyi, and S. Tömösközi, "Changes of gluten protein composition during sourdough fermentation in rye flour," *Cereal Chem*, Nov. **2024**, <https://doi.org/10.1002/cche.10837>
22. S. Tömösközi, R. Németh, A. Farkas, and M. Rakszegi, "Hungarian History of Cereal Cultivation, Processing and Sourdough Making," in *In: Garcia-Vaquero, M., Pastor, K., Orhun, G.E., McElhatton, A., Rocha, J.M.F. (eds) Traditional European Breads*, **2023**. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23352-4_8
23. C. W. Wrigley, S. Tömösközi, F. Békés, and M. Bason, "The Farinograph: Its origins," in *The Farinograph Handbook* (eds: Bock J.E; Don C.), J. E. Bock and C. Don, Eds., Cereals & Grains Association. Published by Elsevier, **2022**, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819546-8.00008-X>
24. M. Oszvald, S. R. Tömösközi, L. Tamás, and F. Békés, "Effects of wheat storage proteins on the functional properties of rice dough," *J Agric Food Chem*, vol. 57, no. 21, pp. 10442–10449, Nov. **2009**, <https://doi.org/10.1021/jf902166h>
25. A. Harasztos, G. Balázs, P. N. Csöke, S. D'Amico, R. Schönlechner, and S. Tömösközi, "How arabinoxylans modify gluten and starch related wheat flour characteristics," *Acta Aliment*, vol. 45, no. 2, pp. 215–223, **2016**, <https://doi.org/10.1556/AAlim.2015.0010>
26. R. Németh *et al.*, "Investigation of the Role of Arabinoxylan on Dough Mixing Properties in Native and Model Wheat Dough Systems," *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, vol. 66, no. 3, pp. 437–447, **2022**, <https://doi.org/10.3311/PPCh.19019>
27. R. Németh, L. K. Sznopka, C. Orosz, and S. Tömösközi, "Investigation of the structure-forming role of dietary fibre components in gluten-free cereal- and pseudocereal-based food matrices," *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol. 31, no. August 2023, **2024**, <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2024.100417>
28. E. Jaksics *et al.*, "Comparative compositional and functional characterisation of rye varieties and novel industrial milling fractions," *Int J Food Sci Technol*, vol. 57, no. 7, pp. 4463–4472, **2022**, <https://doi.org/10.1111/ijfs.15780>
29. R. Németh and S. Tömösközi, "Rye: Current state and future trends in research and applications," *Acta Aliment*, vol. 50, pp. 620–640, **2021**, <https://doi.org/10.1556/066.2021.00162>
30. D. Bender *et al.*, "Characterization of rheological properties of rye arabinoxylans in buckwheat model systems," *Food Hydrocoll*, vol. 80, pp. 33–41, **2018**, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.035>
31. R. Németh *et al.*, "Investigation of the effect of pentosan addition and enzyme treatment on the rheological properties of millet flour based model dough systems," *Food Hydrocoll*, vol. 94, no. March, pp. 381–390, **2019**, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.036>
32. A. Farkas, P. Szepesvári, R. Németh, D. Bender, R. Schoenlechner, and S. Tömösközi, "Comparative study on the rheological and baking behaviour of enzyme-treated and arabinoxylan-enriched gluten-free straight dough and sourdough small-scale systems," *J Cereal Sci*, vol. 101, **2021**, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103292>
33. E. Jaksics *et al.*, "Complex rheological characterization of normal, waxy and high-amylose wheat lines," *J Cereal Sci*, vol. 93, no. December **2019**, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102982>
34. M. Rakszegi *et al.*, "Inter- and intraspecific study on compositional quality traits of diverse sets of spelt and common wheat," *J Cereal Sci*, vol. 123, no. March, **2025**, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2025.104162>
35. Á. Bánfalvi *et al.*, "A novel approach to the characterization of old wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties by complex rheological analysis," *J Sci Food Agric*, vol. 100, no. 12, pp. 4409–4417, **2020**, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10479>

Introducing the Research Group of Cereal Science and Food Quality at BME

The research group was founded in the mid-1990s, at the predecessor of our current organizational unit, the Department of Applied Biotechnology and Food Science, Faculty of Chemical Technology and Biotechnology, BME. Our goal is to ensure continuity on the areas of cereal chemistry and food quality and to continue the professional tradition created by our predecessors. The aim of this paper is a brief presentation of the current structure and activities of the Research Group. As an university pro-

fessional community, the members of the group participate in the elaboration, development, and coordination of training, educational, and research programs at various levels, primarily in the fields of food analysis, food safety, food technology and laboratory quality management. This summary provides an overview of the group's research profile and some of its previous and recent scientific results.

Nanoszál-hordozós biokatalizátorok alkalmazási lehetőségei

TÓTH Gergő Dániel,^a KOPLÁNYI Gábor,^a STUMMER Tamás,^a SEPSIK Normann,^b PARDY Tamas,^c
ENDER Ferenc^{b,d} és BALOGH-WEISER Diána^{a,e,*}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

^bBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Elektronikus Eszközök Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

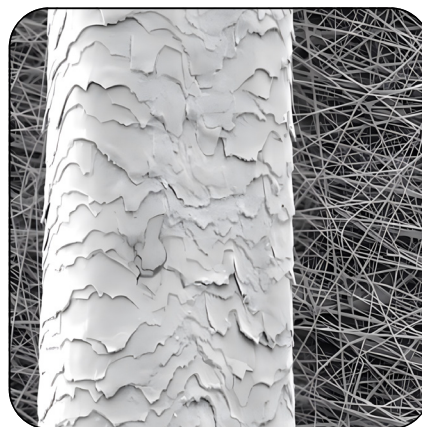
^cTallinn University of Technology, Thomas Johann Seebeck Department of Electronics, School of Information Technologies,
12616 Tallinn, Estonia

^dSpinsplit Kft., Szőlőskert utca 0182/135, 2220, Vecsés, Magyarország

^eBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az elmúlt években tapasztalt előrelépések a nanotechnológia területén új perspektívákat nyitottak a nanométeres tartományba eső anyagok előállításában és alkalmazásában. Ezen fejlesztések egyik kulcstechnológiája az elektrosztatikus szálképzés (electrospinning), amely gyors és hatékony megoldást kínál különféle, jellemzően lineáris polimerekből álló nanoszálak rendszerek előállítására. Kutatócsoportunk tevékenysége fókuszában az elektrosztatikus szálképzés paramétereinek optimalizálása és az így létrehozott nanoszálak struktúrák fizikai, kémiai és funkcionális jellemzése áll. Emellett kutatómunkánk kiterjed ezen nanoszálak rendszerek alkalmazási lehetőségeinek vizsgálatára, elsősorban az immobilizált enzimekkel végzett szintetikus biokatalízisre, valamint a nanoformulált terápiás enzimeken alapuló gyógyszerészeti alkalmazásokra fókuszálva.



1. Ábra. Elektronmikroszkópos felvétel egy emberi hajszálról ($\varnothing \approx 70 \mu\text{m}$), amely keresztben fekszik egy elektrosztatikus szálképzéssel előállított nanoszál ($\varnothing \approx 200 \text{ nm}$ szövedéken)l.

2. Nanoszálak: mint innovatív szerkezeti elemek

A nanotechnológia dinamikus fejlődése új távlatokat nyitott a nanoanyagok számtalan formájának előállításában és alkalmazásában. Ezek sokféle morfológiát vehetnek fel, legyen szó egyszerű gömbökről, szálakról, szalagokról vagy rudakról. A nanoszálak olyan egyedülálló szerkezetű anyagok, amelyek keresztmetszeti átmérője nanométer-skálán (általában 1–1000 nm) helyezkedik el – hozzávetőleg az emberi hajszál átmérőjének századrésze (1. ábra) –, miközben hosszuk több nagyságrenddel meghaladja szélességüket^{2–4}. Ezen ultravékony szálak előállításának egyik legelterjedtebb módszere az elektrosztatikus szálképzés (*electrospinning*), amely során a folyadék fázisú polimer prekursor elegy cseppje elektromos tér hatására finom folyadék sugárrá formálódik, majd a szilárd halmazállapotú szálak képződése közben a szolvens pillanatszerűen elpárolog². E struktúrák kiemelkedő fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például az extrém nagy fajlagos felületük (akár $100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), magas porozitásuk és mechanikai rugalmasságuk, amik lehetővé teszik alkalmazásukat számos területen⁵.

3. Nanoszálak alkalmazási területei

A polimer alapú nanoszálak alkalmazása rendkívül széleskörű a modern tudományos és ipari gyakorlatban. Az elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer nanoszálak kiemelkedő szerepet játszanak az orvosbiológiai alkalmazásokban, köszönhetően annak, hogy szerkezetükben hasonlítanak a természetes szövetek extracelluláris mátrixához^{6,7}. E tulajdonságuknak köszönhetően kiválóan alkalmazhatók sebkezelésben⁷, szövetmérnökségben⁶, valamint gyógyszerhatóanyag-hordozó rendszerekként⁸. Az intelligens, különböző stimulusokra (pl.: fény, hőmérséklet, pH, mágneses tér) reagáló nanoszálak célzott és szabályozott hatóanyag-leadást tesznek lehetővé⁹. A biomedicinális alkalmazásokon túl a polimer nanoszálak számos más területen is jelentős potenciállal bírnak. Az élelmiszeripari csomagolástechnikában használva javíthatják a termékek eltarthatóságát, valamint hosszútávon megőrizhetik azok minőségét¹⁰.

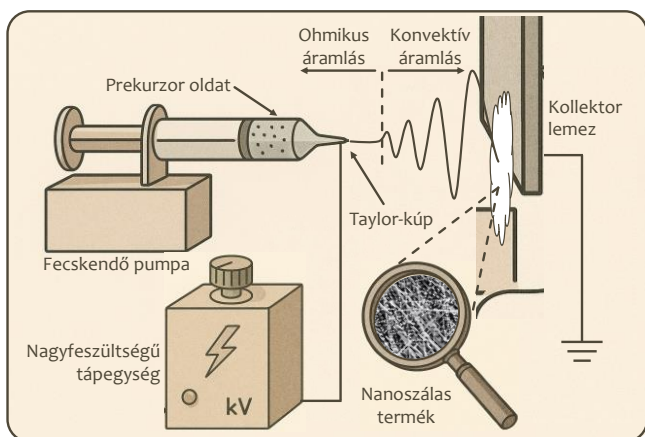
* Balogh-Weiser Diána. Tel.: +36 1 463 2229; e-mail: balogh.weiser.diana@vbk.bme.hu

A nanoszálás hordozókra rögzített katalizátorok kiemelkedően hatékonyak az ipari katalízisben területén is, ugyanis nagy specifikus felületük, kiváló mechanikai stabilitásuk és az egyszerű újra felhasználhatóságuk lehetővé teszik a folyamatok költséghatékony optimalizálását. Ezek a rendszerek felhasználhatók többek közt savkatalízishez¹¹ vagy hidrogénezési reakciókban¹².

Kiváló szűrési tulajdonságaik révén aeroszol szűrésre¹³, vízkezelésre és fémion adszorpcióra^{14,15} is alkalmasak, továbbá porózus membrán formájában különböző szeparációs folyamatokban hasznosíthatók. Az elektromágneses interferencia árnyékolásban is előnyösen alkalmazhatók a fémrészekkel módosított nanoszálak¹⁶, míg speciális összetételű nanoszálás rendszerek érzékelőkben¹⁷ és energiátároló eszközökben, például szuperkondenzátorokban¹⁵ is megtalálhatók.

4. Elektrosztatikus szálképzés

Az elektrosztatikus szálképzés napjainkban az egyik legdinamikusabban fejlődő eljárásként tartandó számon, amely alkalmas nagy fajlagos felületű, szubmikronos, illetve nanoskálájú polimer szálak előállítására¹⁸. A technológia jelentősége abban rejlik, hogy alkalmazása lehetővé teszi különféle bioaktív anyagok (például gyógyszerhatóanyagok, fehérjék vagy más biomolekulák) immobilizálását és stabilizálását¹⁹, mindezt külön segéd- vagy hordozóanyagok használata nélkül. Az eljárás során magas feszültségű elektromos tér hatására oldott vagy olvadt halmazállapotú polimerekből nanoszálak képződnek, amelyek a folyamat végén szilárd halmazállapotban, strukturált, random rendeződve vagy orientált módon gyűlnek össze egy földelt gyűjtőfelületen (kollektor)²⁰.



2. Ábra. Laboratóriumi elektrosztatikus szálképző berendezés sematikus ábrája.

A 2. ábrán látható az elektrosztatikus szálképzés folyamatának sematikus ábrája. A folyamat jellemzően zárt térben történik, ahol a polimer oldatot egy pozitív elektromos potenciálra kapcsolt ún. emitter-tű végére juttatják szabályozott adagolási sebességgel. Az emitter hegyén kialakuló

folyadékcsepp az elektromos tér hatására töltést vesz fel, és alakja a felületi feszültség és az elektrosztatikus taszító erők kölcsönhatása révén kúpszerű formát ölt, amelyet Taylor-kúpnek nevezünk²¹. Amennyiben az elektromos tér által kifejtett elektrosztatikus húzóerő meghaladja a csepp egyben tartó felületi feszültséget, a Taylor-kúp csúcsából egy folyadéksugár (*polymer-jet*) indul ki, amely a tér nulla potenciálú végpontja, azaz a kollektor irányába halad. A *jet* kialakulásának és stabilitásának egyik alapvető feltétele a polimerláncok közötti megfelelő kohéziós erő fennállása. Alacsony kohéziós erő esetén az anyagáramlás instabillá válik, és a folyamat során diszkrét polimer-cseppek lépnek ki az emitterből, míg túlzott kohézió esetén az elektromos tér nem képes legyőzni a belső kötőerőket, aminek következtében a csepp megnövekszik, majd hirtelen, nagyobb tömegben válik le.²² A *jet* mozgása a kilépési ponttól távolodva fokozatosan gyorsul. A kezdeti szakaszban a rendszer viselkedése ohmikus áramlásként írható le, ahol a stabil folyadékszáll jellemzőit a felületi feszültség és a polimerláncok közötti elektrosztatikus taszító kölcsönhatások egyensúlya határozza meg. A folyadékszállban található töltéssel rendelkező polimer molekulák idővel a szál felületére migrálnak, ahol a hasonló töltések közötti taszító erő hatására a *jet* „ostorszerű” mozgást végez²³. Ennek következtében az áramlás dinamikája megváltozik, és konvektív áramlási szakaszba lép át, amelyet tovább növekvő sebesség és komplex pályaváltozások jellemeznek. Az ostorszerű mozgás és a megnövekedett áramlási sebesség hatására a szál jelentősen megnyúlik, fajlagos felülete nagymértékben megnő, ami elősegíti az oldószer gyors elpárolgását. A folyadékszáll szilárd nanoszállá való átalakulása tehát az anyag gyors nedvesség- vagy oldószervesztésének eredményeként megy végbe, amelynek végállapotaként a nanoszálak szilárd halmazállapotban, véletlenszerű vagy rendezett struktúrában csapódnak ki a kollektor felületén^{24,25}.

Az elektrosztatikus szálképzési technológia többféle elrendezésben valósítható meg, amelyek alapvetően túalapú és tümentes rendszerekre oszthatók²⁶. A túalapú konfigurációkban az emitter rendszerint szűk átmérőjű tű vagy kapilláris, míg a tümentes eljárások a szálképzést szabad folyadékfelszínről valósítják meg²⁷. A túalapú rendszerek továbbá orientációjuk szerint vertikális vagy horizontális elrendezésűek lehetnek. A vertikális elrendezés lehetőséget kínál fentről-lefelé irányuló (tengelyes) vagy lentől-felfelé működő (fordított) szálképzésre²⁸.

4.1. A szálképzés főbb paraméterei

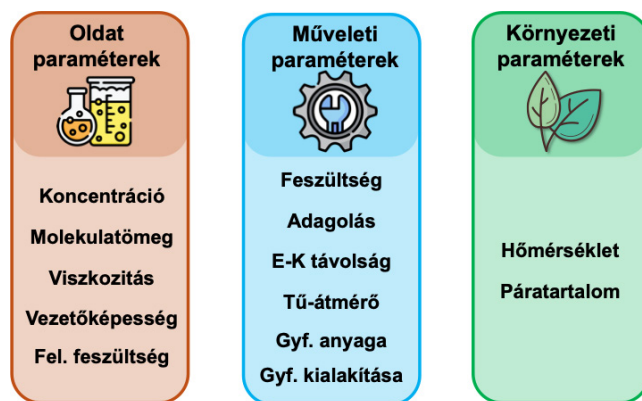
Az elektrosztatikus szálképzés során számos paraméter beállítása szükséges annak érdekében, hogy a kapott szálak termék morfológiája és mennyisége megfelelően a kívánt jellemzőknek, melyek közül a legfontosabbakat a 3. ábra foglalja össze. Ezen paraméterek hatása komplex és egymással szorosan összefüggő rendszert alkot, amely három fő kategóriába sorolható: oldatparaméterek, műveleti paraméterek és környezeti paraméterek²⁵.

Az oldatparaméterek közé tartozik a polimer elegy koncentrációja, molekulatömege, viszkozitása, vezetőképessége, valamint a felületi feszültség, amely az emitter-hegyen kialakuló folyadékcsapp felszínén érvényesül. Ezek közül kiemelkedő szerepet játszik a molekulatömeg²⁹, a koncentráció³⁰ és a viszkozitás^{31,32}, melyek egymással szoros kölcsönhatásban állnak, így hatásukat kizárólag együtt vizsgálva értelmezhetjük. A polimer molekulatömege a lánc hosszúsággal arányosan növekszik, ami fokozza a polimerláncok közötti kölcsönhatásokat és elősegíti a stabil, folytonos polimersugár kialakulását. A nagyobb molekulatömegű polimer oldatokban megnövekszik a makromolekulák térkitöltése, ezáltal nő a kohézió, ami elengedhetetlen a stabil szálképződéshez. A magasabb molekulatömeg és koncentráció fokozott viszkozitással jár, amely alapvető feltétele a szálképződésnek. Ugyanakkor, ha ezen paraméterek értéke túl alacsony, a keletkező kohéziós erők nem elegendőek a folytonos anyagátadáshoz, és az oldat nem képez szálát, hanem cseppek termékként (*electrospraying*) jelenik meg. Túl magas értékek esetén viszont a folyadék nem képes Taylor-kúpot alkotni, és a szálképzés meghiúsul^{29,33,34}. A vezetőképesség a szálképzés egyik meghatározó paramétere, amely növelhető ionizáló adalékok, például sók hozzáadásával. A magasabb vezetőképesség nagyobb töltéshordozó kapacitást eredményez, ezáltal stabilabb és megnyúltabb folyadéksugarat biztosít, amely vékonyabb, egyenletesebb szálakat eredményez. Ezzel szemben az alacsony vezetőképesség instabil *jet*-et, szabálytalan morfológiát és gyöngyképződést eredményezhet.^{35,36} A felületi feszültség az oldatból kilépő polimersugár stabilitására van jelentős hatással. A magas felületi feszültség megnehezíti a Taylor-kúp kialakulását, és elősegíti a cseppképződést, amely szintén gyöngyös szerkezet kialakulásához vezet. Ennek megelőzésére a felületi feszültség csökkentése szükséges, különösen a gyöngymentes szálak előállítása érdekében³⁷.

Az alkalmazott elektromos feszültség alapvető feltétele az elektrosztatikus szálképzésnek, mivel ez biztosítja a polimersugár elindításához szükséges elektrosztatikus erőket. A feszültség növelése elősegíti a stabil Taylor-kúp és polimersugár kialakulását, azonban túl magas érték instabilitást, szabálytalan morfológiát vagy gyöngyképződést okozhat³⁰. Az adagolási sebesség a szál vastagságára és morfológiájára gyakorol hatást. A túl magas áramlási sebesség csökkenti az oldószer elpárolgásához szükséges időt, így vastagabb és hibás szálak képződhetnek. A Taylor-kúp csak bizonyos áramlási sebesség-intervallumon belül képes stabilan kialakulni³⁸. Az emitter-hegy és a kollektor közötti távolság (*Emitter-kollektor távolság*, EKT) meghatározza a polimersugár útvonalát és ezzel együtt az oldószer elpárolgásához rendelkezésre álló időt. A távolság növelése javíthatja a szálak morfológiai egyenletességét, azonban túl nagy érték inhomogén szerkezethez vezethet. A laboratóriumi körülmények között alkalmazott optimális távolság jellemzően 10–20 cm közé esik^{39,40}. Az emitter-hegy átmérője befolyásolja az áramlás sebességét és a nyomásesés mértékét. Kis átmérő esetén vékonyabb szálak képződnek, és a nagy viszkozitású oldatok is könnyebben feldolgozhatók.

A túl nagy átmérő azonban a prekursor elegy kiszáradását okozhatja az emitter-hegy peremén, amely duguláshoz és a folyamat megszakadásához vezethet^{41,42}. A kollektor anyaga és kialakítása szintén befolyásolja a szálképzés eredményét. A leggyakrabban használt alumíniumfólia kiváló vezetőképessége miatt ideális választás, de alkalmazhatók egyéb vezetőképes anyagok is, mint például textíliák, drótháló vagy papír^{37,43}. A forgó dobos kollektor kisebb szálmérőt és homogénebb szerkezetet eredményezhet, továbbá lehetőséget biztosít a szálak orientációjának szabályozására. A kollektor mérete hatással van a szálak eloszlására és az elektrosztatikus tér alakulására, azonban jelentősége másodlagos a többi paraméterhez képest, mivel hatása főként magasabb rendű, komplex tényezők függvénye⁴⁴.

A hőmérséklet az elektrosztatikus szálképzés számos fizikai és kémiai folyamatát befolyásolja, többek között a polimerkristályosságot, a láncok konformációját, az oldat viszkoelasztikus tulajdonságait és az oldószer párolgását. A hőmérséklet növekedése jellemzően csökkenti a szálak átmérőjét, ugyanakkor a túlzott hőmérséklet kedvezőtlen morfológiai változásokat is eredményezhet⁴⁵. A relatív páratartalom szintén meghatározó szerepet játszik a szálak termék szerkezetében. Magas páratartalom esetén az oldat nedvességtartalma lassabban csökken, ami gyöngyös, összeolvadó szálrészeket és porózus, gyapjúszerű szerkezetet eredményez. Alacsony páratartalom esetén finomabb és simább szálak jönnek létre, bár ezek előállítása lassabb lehet^{37,46}.

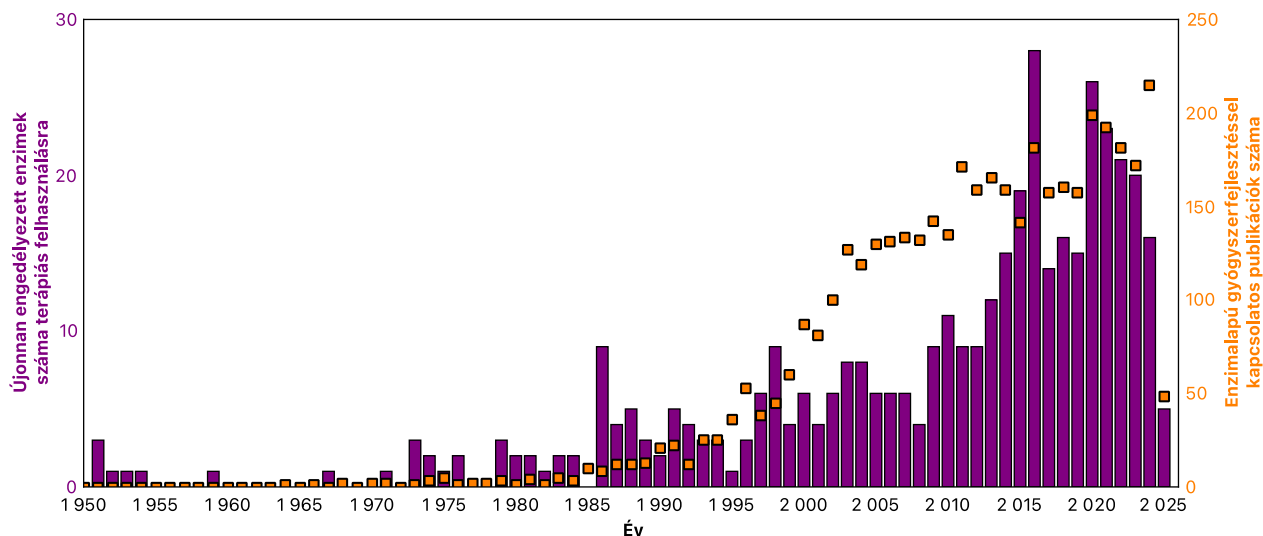


3. Ábra. Az elektrosztatikus szálképzést befolyásoló legfontosabb paraméterek. A folyamat sikeres kivitelezését, valamint a kialakuló termék jellemzőit az oldat tulajdonságai, a műveleti paraméterek, valamint a környezeti tényezők együttesen határozzák meg. (E-K: Emitter-Kollektor; Gyf.: Gyűjtőfelület, Fel. feszültség: Felületi feszültség)

Összességében elmondható, hogy a sikeres elektrosztatikus szálképzés érdekében minden paraméter optimális tartományban történő beállítása szükséges, figyelembe véve azok kölcsönhatásait és határértékeit. A paraméterek integrált, rendszerszintű szemléletű kezelése alapvető feltétele a reprodukálható és megfelelő minőségű nanoszálak anyagok előállításának.

5. Biokatalizator mint terápiás eszköz

Az enzimek, mint biokatalizátorok, kulcsszerepet játszanak az élő szervezetek biokémiai folyamataiban⁴⁷. Ahogy ezt a 4. ábra is mutatja, egyre növekvő figyelem övezi az enzimek terápiás alkalmazását, mivel kivételes specificitásuk, szelektivitásuk és biológiai aktivitásuk révén lehetőséget kínálnak célzott, mellékhatásoktól mentes kezelések kifejlesztésére. Az enzimalapú terápiák különösen fontosak genetikai eredetű betegségek, anyagcsere-rendellenességek, daganatos elváltozások és immunológiai kórképek kezelésében⁴⁸.



4. Ábra. Az enzim alapú gyógyszerfejlesztéssel kapcsolatos publikációk száma, valamint újonnan engedélyezett enzimhatóanyagok éves száma 1950 és 2025 között. A publikációk számának meghatározásához a PubMed adatbázisban a „Title/Abstract” mezőre szűkítve, az „enzyme therapy, drug and treatment” kulcsszavakra keresve történt a lekérdezés. Az engedélyezett enzimek számát a DrugBank Online adatbázisban szereplő, enzimeket tartalmazó gyógyszerek elsőként jóváhagyott változatának engedélyezési dátuma alapján határoztuk meg⁵¹.

Az enzimterápia alkalmazása azonban komoly kihívásokkal is szembesül. A fő nehézségek közé tartozik az enzimek rövid biológiai felezési ideje, érzékenységük a hőre és *pH*-változásokra, immunválaszt kiváltó potenciáljuk, valamint az alacsony célzott hatékonyság^{49,52}. Ráadásul a szisztémásan (pl. intravénásan) alkalmazott enzimek gyakori adagolást és egészségügyi háttérinfrastruktúrát igényelnek, ami jelentős terhet ró a betegekre⁵³.

E problémák áthidalására korszerű megoldási lehetőséget nyújtanak a nanoformulációs technológiák. Ezek lényege, hogy az enzimeket különböző nanoszerkezetű hordozókkal (például nanorészecskékkkel, nanokapszulákkal, vagy nanoszálakkal) immobilizálják. Ezáltal növelhető az enzimek stabilitása, meghosszabbítható a biológiai aktivitásuk időtartama, valamint mérsékelhető immunogenitásuk⁵⁴. Például α -glükózidázt mágneses nanorészecskékhöz rögzítve sikeresen használtak Pompe-kór kezelésére, míg L-aszparaginázt PEG-ilált (PEG: polietilén-glikol) nanoliposzómákba ágyazva hatékonyan alkalmaztak leukémia esetén^{55,56}.

A nanoformuláció egyik különösen ígéretes megközelítése az elektrosztatikus szálképzéssel előállított nanoszálás

Kiemelkedő példája a terápiás enzimek alkalmazásának az enzimhelyettesítő terápia (ERT), mely során a szervezetből hiányzó vagy hibásan működő enzimek pótlásával korrigálják az anyagcsere-folyamatokat⁴⁹. Az ERT különösen sikeresnek bizonyult lizoszomális tárolási betegségek – például Gaucher-, Fabry- és Pompe-kór – kezelésében. Az ilyen terápiák hosszabb távon nemcsak a tünetek enyhítésére, de a betegségek progressziójának lassítására is alkalmasak⁵⁰.

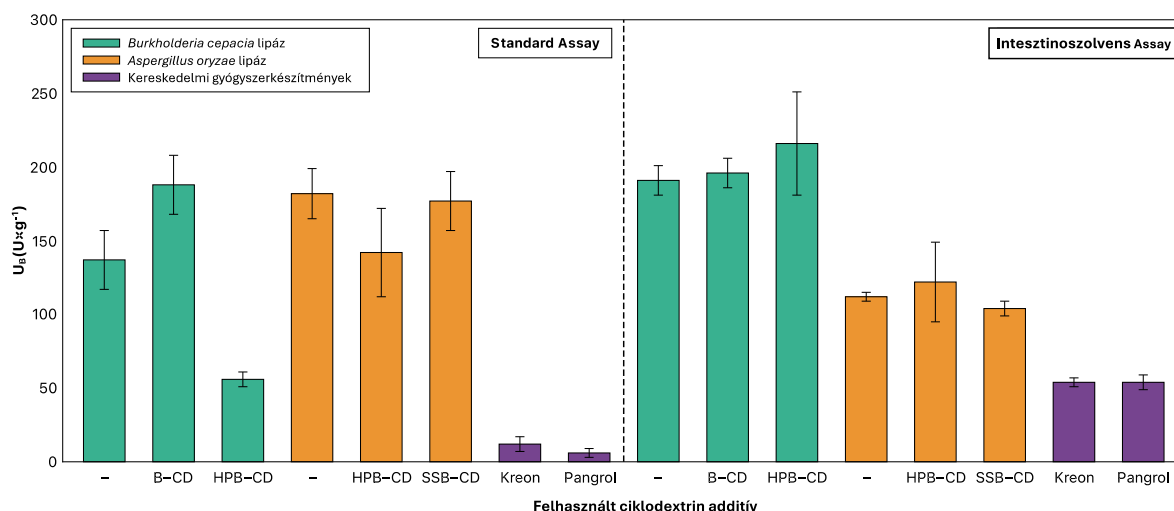
mátrixok alkalmazása. A folyamat során képződő, nanoszálakból felépülő szövetek nagy fajlagos felületű, porózus mátrixot alkot, amely kitűnően alkalmazható terápiás enzimek hordozójaként. Amennyiben a szálképzéshez használt polimer prekursor oldathoz enzimeket adagolunk, azok a szálképzés során beépülnek a megszilárduló polimer nanoszálakba, így egy szilárd halmazállapotú, nanoszálás enzimformula jön létre^{57,58}.

Az ilyen nanoszálás formuláció számos előnyt nyújthat az enzimterápiák terén. Egyrészt a polimer mátrix fizikailag védi az enzimet a denaturáló hatásoktól, melynek köszönhetően jelentősen nő az enzim stabilitása (például javul a tárolhatóság vagy a gyomorsavval szembeni ellenállás)⁵⁹. Másrészt a nanoszálás szerkezet és az immobilizáció következtében az enzimaktivitás is fokozódhat: kutatócsoportunk kísérletei során számos esetben tapasztaltuk, hogy a nanoszálakba ágyazott enzimek aktivitása többszörösen meghaladta a szabad (natív) enzimekéét. A nanométeres szálás hordozóformának köszönhetően lehetőség nyílik az enzimek újszerű adagolására, beleértve az orális (szájon át történő) alkalmazást, a helyi (topikális) dermális kezeléseket, sőt akár kombinált terápiás rendszerek kialakítását is, például az enzim egy másik gyógyszerhatóanyaggal együtt

történő alkalmazását⁵¹. Szintén kiemelendő, hogy az elektrosztatikus szálképzés rugalmasan adaptálható különböző polimerek használatával: csoportunk munkája során vízzoldható polimerekből, úgymint poli(vinil-alkohol) (PVA) és poli(vinil-pirrolidon) (PVP), valamint vízben nem oldódó, biokompatibilis polimerekből (például politejsav, PLA) egyaránt sikeresen állítottunk elő enzimtartalmú nanoszálakat^{60,61}. Szükség esetén további stabilizáló, vagy enzimaktivitást fokozó segédanyagok is beépíthetők a formulációba.

Kutatócsoportunk munkájának egyik fő célja olyan nanoszál enzimformulációk kifejlesztése volt, amelyek alkalmazhatók lehetnek orális emésztőenzim-helyettesítő terápiában. Ebből a célból elsőként az ilyen terápiákban leggyakrabban alkalmazott lipáz, a sertés hasnyálmirigy lipáz (*PpL*) nanoformulálását valósítottuk meg elektrosztatikus szálképzéssel. A formulálás során különböző nanoszál mátrixokat alakítottunk ki: vízzoldható poli(vinil-alkohol) (PVA), poli(vinil-pirrolidon) (PVP) és vízzoldhatatlan politejsav (PLA) polimereket felhasználva. Eredményeink alapján a nanoszál formuláció minden esetben jelentősen növelte a *PpL* aktivitását a szabad enzimhez képest, melyek közül a legmagasabb aktivitásértéket a PLA-mátrixba rögzített készítmények esetében mértük. Ezek az értékek

elérték, sőt esetenként meg is haladták a kereskedelmi forgalomban kapható referencia *PpL* készítmények aktivitását, ami alátámasztja, hogy a nanoszál formuláció ígéretes megközelítés lehet az orális lipázterápia hatékonyságának növelésére. A projekt következő fázisában olyan vízzoldható nanoszál rendszerek fejlesztésére törekedtünk, amelyek a PLA-alapú formulákhoz hasonlóan magas enzimaktivitást biztosítanak. Korábbi eredményeinkre építve két jelentős terápiás potenciállal rendelkező lipázt – *Aspergillus oryzae* és *Burkholderia cepacia* lipázok – immobilizáltunk PVA nanoszálakba. A specifikus aktivitás további növelése érdekében pedig különböző ciklodextrin alapú stabilizáló adalékokat ko-formuláltunk a lipázokkal. Az így létrehozott formulációk minden tesztelt körülmény között lényegesen meghaladták a referencia-készítmények aktivitását (lásd 5. ábra). Eredményeink azt is igazolták, hogy a ciklodextrinek nemcsak fokozzák az enzimaktivitást, hanem elősegítik az lipázok egyenletes eloszlását a nanoszál mátrixban. Mindez alátámasztja, hogy a ciklodextrinek alkalmazása jelentősen javíthatja a nanoszál enzimformulációk terápiás hatékonyságát^{61,62}.



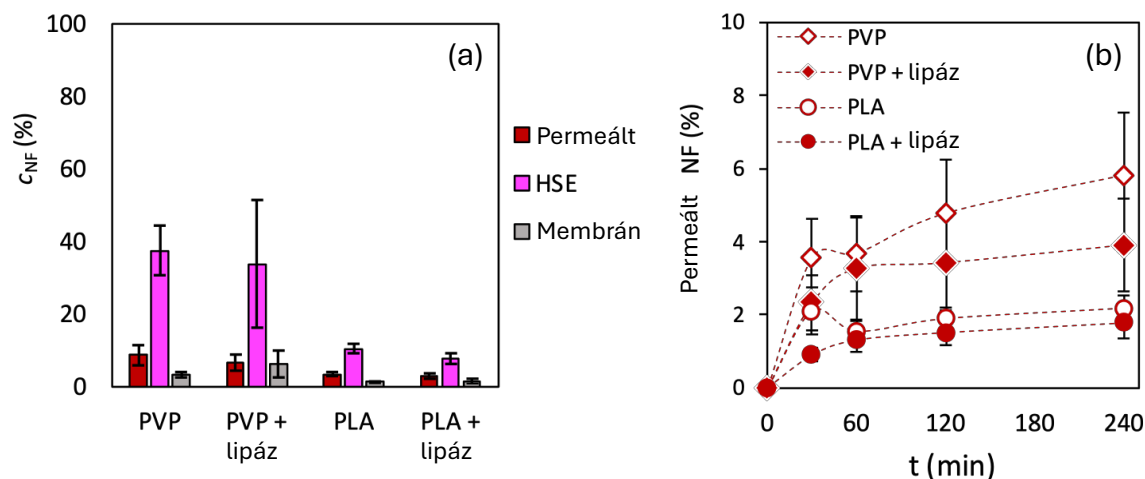
5. Ábra. Nanoszál lipázformulációk és kereskedelmi pankreatin készítmények specifikus aktivitásának összehasonlítása *p*-nitrofenil-palmitát (*p*-NPP) szubsztát hidrolízise során (U_B , $U \times g^{-1}$, 37°C, 1 óra). A mérések a lipázaktivitás kifejezését segítő standard és a felhasználás körülményeit szimuláló FeSSIF (*Fed State Simulated Intestinal Fluid*) közegben történtek. A nanoszál rendszerek különböző ciklodextrineket (B-CD: β -ciklodextrin, HPB-CD: 2-hidroxiopropil- β -ciklodextrin, SSB-CD: szulfobutilált- β -ciklodextrin) tartalmaztak⁶².

Egy másik kutatási projektünk célja egy topikális alkalmazásra szánt, kombinált hatásmechanizmusú nanoszál gyógyszerhordozó rendszer kifejlesztése volt, amely alkalmas a *Propionibacterium acnes* által kiváltott *acne vulgaris* kezelésére. A projekt során háromrétegű nanoszál arcmaszkokat állítottunk elő elektrosztatikus szálképzéssel, vízzoldható (PVP) és vízzoldhatatlan (PLA) polimerek felhasználásával. Az arcmaszkokba *Candida rugosa* és *Rhizomucor miehei* eredetű lipázok, valamint a nadifloxacin nevű antibiotikum együttes formulációját valósítottuk meg. A készítményben található lipázok feladata a bőrfagy-

gyú fő zsírsavészterének lebontása volt, elősegítve ezzel a nadifloxacin mélyebb penetrációját az epidermiszbe, míg az antibiotikum közvetlenül célzott a gyulladásért felelős baktériumokat. Az immobilizált enzimek minden vizsgált zsírsavészter hidrolízisében magas biokatalitikus aktivitást mutattak, különösen a PLA alapú nanoszálakban, amelyek hidrofób jellege stabilabb enzimkészítményt eredményezett. A háromrétegű maszkokban az együttesen formulált lipázok kombinációja kiegyensúlyozott aktivitást biztosított a vizsgált szubsztátok teljes spektrumán. A bőrön át történő hatóanyag-leadás vizsgálata ex vivo Franz-diffúziós cel-

lával történt humán epidermisz mintán, amely igazolta a nadifloxacin sikeres penetrációját: a PVP-alapú maszk gyors, míg a PLA-alapú maszk elnyújtott hatóanyagleadást biztosított, ahogy az a 6. ábrán is látható. Összegzőként az előállított nanoszálak maszkok kedvező kombinációját nyújtják a mechanikai stabilitásnak, a hangolható hatóanyagleadásnak és az enzimaktivitás fenntartásának, így alapjául szolgálhatnak olyan bőrgyógyászati terápiáknak, ahol egyidejű antimikrobiális és lipolitikus hatás szükséges⁶³.

Összességében az enzimalapú terápiák jövője szorosan összefonódik a nanotechnológia fejlődésével. A nanoszálak rendszerek új távlatokat nyitnak a hatékonyabb, célzottabb és felhasználóbarátabb gyógyszerformák fejlesztésében, különösen az olyan érzékeny hatóanyagok esetén, mint a terápiás enzimek.



6. Ábra. A nanoszálak formulákban rögzített nadifloxacin (NF) bőrön át történő penetrációjának vizsgálata hővel leválasztott humán epidermiszen (HSE), topikális-transzdermális Franz-diffúziós cella segítségével. (a) A NF koncentrációja 24 órás inkubáció után az akceptor fázisban, az epidermiszben és a membránban; (b) az NF átjutott mennyisége egy 4 órás periódus során⁶³.

6. Biokatalizátor mint szintetikus kémia eszközei

Az enzimek – mint biokatalizátorok – számos előnyt kínálnak a hagyományos kémiai katalizátorokhoz képest. Egyrészt, segítségükkel gyakran enyhe (vízbázisú, szobahőmérsékletű) és környezetbarát reakciókörülmények között valósítható meg a kívánt átalakítás, minimalizálva a veszélyes vegyszerek és melléktermékek használatát⁶⁴. Másrészt, az enzimkatalizált reakciók kiemelkedő szelektivitással – többek között enantioselektivitással és regio-szelektivitással – zajlanak, lehetővé téve királis vegyületek (pl. aminosavak, aminok) hatékony előállítását^{65,66}. Számos ipari területen alkalmaznak enzimeket a szintetikus folyamatokban, a finom-kémiai termékek gyártásától a gyógyszeriparon át a biodízel előállításáig^{67,68}.

Bár az enzimek rendkívül hatékony katalizátorok, alkalmazásukat számos kihívás nehezíti. Az izolált enzimek gyakran instabilak a természetes környezetükön kívül, érzékenyek a hőmérséklet-ingadozásra, pH-eltérésekre és a szerves oldószerek jelenlétére^{69,70}. Ezen túlmenően a szabad formában alkalmazott enzimek újrafelhasználhatósága korlátozott, mivel nehéz őket visszanyerni a reakcióelegyből, ami gazdaságtalanná teheti az eljárást. Mivel a tisztított enzimfehérjék előállítása jelentős költségekkel jár, stabilitásuk és újrafelhasználhatóságuk biztosítása elengedhetetlen a fenntartható ipari alkalmazásukhoz⁷¹.

Számos kutatás foglalkozott nanoméretű hordozók alkalmazásával az enzimstabilitás javítása érdekében⁵⁹. A szilí-

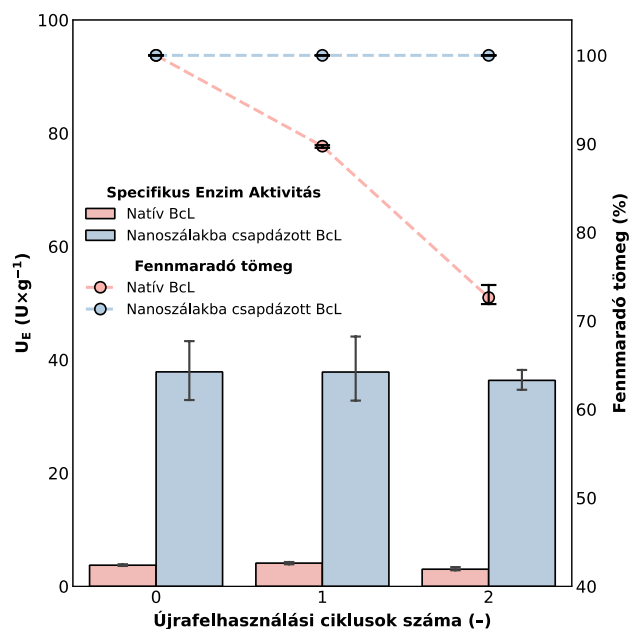
cium-dioxid alapú nanorészecskék (szilikagél, mezopórusos szilika stb.) különösen elterjedtek és ipari méretekben is beváltak az enzimek immobilizálására. Ezenkívül számos fém-oxid nanohordozót (pl. titán-dioxid, cink-oxid) is alkalmaznak, melyeket gyakran felületmódosítással tesznek alkalmassá az enzimmolekulák megkötésére⁷². Köztük a mágneses nanorészecskék – például vas-oxid (magnetit) – azért vonzóak, mert külső mágneses tér segítségével egyszerűen visszanyerhetők a reakcióelegyből. Az ilyen nanorészecske-hordozók nagy fajlagos felülete nemcsak a magas enzimkötési kapacitást segíti elő, hanem a fehérjék konformációjának stabilizálásához is hozzájárul; kimutatták például, hogy nano-hordozón történő rögzítés csökkenti az enzim kicsapódását és növeli a katalizátor hő- és pH stabilitását⁷³.

Az elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer nanoszálak rendkívül nagy fajlagos felülettel és belső porozitással rendelkeznek, amelyek magas enzimkötő kapacitást biztosít és elősegíti a hatékony szubsztrát-diffúziót. A módszer során az enzimek közvetlenül a polimer oldathoz keverhetők, melyek az ezt követő szálképzés folyamán fizikailag csapdázódnak a keletkező nanoszálak belsejében⁷⁴. Alternatív megközelítésként az enzimek adszorpcióval, vagy a nanoszálak felületének funkcionálizálását követően kovalens kötéssel is rögzíthetők a szálakhoz⁷⁵. Jelentős előny, hogy a szálak belsejébe zárt enzimek megőrizhetik natív konformációjukat, így fokozott védelmet élveznek - és hőingadozásokkal szemben, ami hosszabb élettartamot és nagyobb stabilitást biztosít a

katalizátor számára⁷⁶. Mindezek következményeként egyre több kutatás számol be arról, hogy a nanoszálal biokatalizátorok ígéretes megoldást jelentenek a finomkémiai eljárásokban, az élelmiszeripari folyamatokban, a tejfeldolgozásban és a bioüzemanyagok előállításában^{68,77}.

Kutatócsoportunk egyik tanulmánya során célul tűztük ki, hogy egy *electrospinning* technika segítségével létrehozott biokatalizátor előállítása során feltérképezzük a polimer tulajdonságainak és a szálképzési paramétereknek a hatását a kialakuló termék szerkezetére és a csapdázott enzim aktivitására. A kísérletek során a *Burkholderia cepacia* eredetű lipáz (BcL) PVA alapú nanoszálakban történő csapdázását valósítottuk meg elektrosztatikus szálképzéssel. Szisztematikus vizsgálat keretében különböző molekulatömegű és eltérő hidrolizáltsági fokú PVA alapanyagokat hasonlítottunk össze, miközben optimalizáltuk a szálképzés legfontosabb technológiai paramétereit.

Az elvégzett aktivitásvizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a nanoszálakba csapdázott BcL specifikus aktivitása – a megfelelő gyártási paraméterek mellett – akár tízszerese is lehetett a liofilizált enzimének. Emellett a csapdázott biokatalizátor kiváló visszaforgathatóságot mutatott: az ismételt aktivitástesztetek során sem az enzim aktivitásában, sem a tömegében nem észleltünk jelentős veszteséget (lásd 7. ábra). Ezzel szemben a liofilizált enzim a harmadik visszaforgatási ciklus végére eredeti tömegének közel 30 százalékát elveszítette.

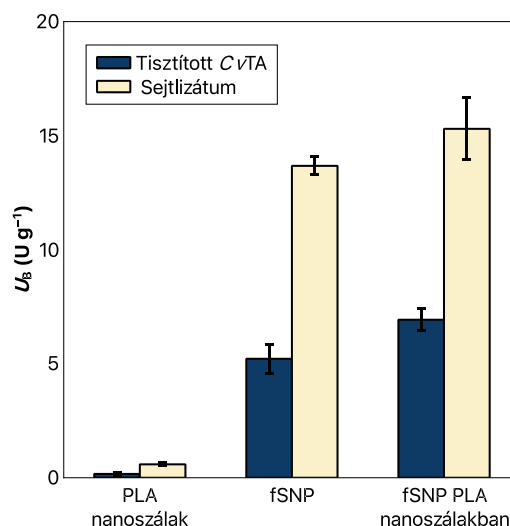


7. Ábra. Három egymást követő reakcióciklus során vizsgáltuk a natív BcL és a PVA nanoszálal mátrixban immobilizált BcL stabilitását és katalitikus aktivitását. Minden ciklus egy 24 órás átészterezési reakciót foglalt magában, majd a katalizátorokat elválasztottuk, mostuk és állandó tömegig szárítottuk. A natív enzimet centrifugálással, míg a nanoszálal katalizátort csipesszel távolítottuk el a reakcióelegyből. A ciklusok végén meghatároztuk a specifikus enzimaktivitást (U_E ; $U \times g^{-1}$) és a katalizátor tömegcsökkenését (%)⁶⁰.

A nanoszálal csapdázás során tapasztalt enzimaktivitás-növekedés okainak felderítése során a következő megállapításokat tettük: A differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálatok egyértelmű kapcsolatot mutattak a nanoszálal biokatalizátorok üvegesedési hőmérséklete (T_g) és az enzimaktivitás között. A magasabb T_g -vel rendelkező polimer mátrixok minden esetben nagyobb mértékben járultak hozzá az enzim katalitikus működéséhez. Ez a megfigyelés a PVA mátrix és a csapdázott lipáz között kialakuló stabilizáló kölcsönhatások kialakulására utalhat.

A PVA és a lipáz közötti specifikus kölcsönhatásokat molekuladokkolási szimulációkkal is vizsgáltuk. Az eredmények alátámasztották, hogy a polimer és az enzim közötti közvetlen kapcsolatok hozzájárulnak az enzim konformációs stabilitásához, ezáltal növelve annak aktivitását a nanoszálal környezetben.

Egy párhuzamos tanulmányban kutatócsoportunk olyan nanoformulációs stratégiát dolgozott ki, amely nemcsak az enzimek stabilizálását és aktivitásuk megőrzését segíti elő, hanem közvetlenül integrálható a rekombináns fehérjetermelés utófeldolgozási szakaszába is. Hisztidin-jelölt *Chromobacterium violaceum* aminosztransferázt (CvTA) sikerült közvetlenül a nyers sejtlizátumból izolálnunk és fémionokkal funkcionizált szilícium-dioxid nanorészecskékre immobilizálnunk, így elkerülhetővé vált a költséges fehérjetisztítás, és az eljárás ideje a hagyományoshoz képest kevesebb mint negyedére csökkent. A nyers sejtlizátumból közvetlenül rögzített enzimek aktivitása magasabbnak adódott, mint a tisztított fehérjéből immobilizált változatoké, ami arra utal, hogy a sejtlizátum összetevői – például stabilizáló fehérjék vagy kofaktorok – kedvező mikro-környezetet biztosíthatnak az enzim számára.



8. Ábra. Az alkalmazott nanohordozó rendszer (fSNP: aminosz-funkcionalizált szilika nanorészecské, PLA nanoszálal és fSNP-t tartalmazó PLA nanoszálal) hatása a tisztított CvTA és a sejtlizátum biokatalitikus aktivitására (U_B)⁷⁸.

A továbbfejlesztett, „második generációs” rendszerben az enzim–nanorészecske komplexet elektrosztatikus szálképzéssel PLA nanoszálakba ágyaztuk, amely tovább növelte a stabilitást. Ahogy azt a 8. ábra is mutatja, az így kapott kompozit biokatalizátor specifikus aktivitása jelentősen meghaladta a csak nanorészecskén rögzített, és a pusztán nanoszálakba csapdázott enzimekét egyaránt. A nanoszálás mátrix és a nanohordozók kombinációja tehát szinergikusan javította az enzim teljesítményét és újrafelhasználhatóságát, ami különösen előnyös lehet szintetikus biokatalitikus alkalmazásokban⁷⁸.

Hivatkozások

1. Stellenbosch Nanofiber Company Introduction 2018, <https://innovationbridge.info/ibportal/sites/default/files/SNC%20Introduction%20%28PDF%20version%20with%20YouTube%20links%20to%20videos%29.pdf>, Utoljára megnyitva: 2025.máj.26.
2. Pulungan, M. A.; Sriyanti, I.; Marlina, L. Physicochemical Properties of Characterization of PVP/CA/AE Nanofiber. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni* **2023**, *12* (1), 11–18. <https://doi.org/10.24042/jipfalbiruni.v12i1.14904>
3. Tian, D.; Li, X.-X.; He, J.-H. Geometrical Potential and Nanofiber Membrane's Highly Selective Adsorption Property. *Adsorption Science & Technology* **2019**, *37* (5-6), 367–388. <https://doi.org/10.1177/0263617418813826>
4. Bhat, G. Advances in Polymeric Nanofiber Manufacturing Technologies. *J. Nanomater. Mol. Nanotechnol* **2016**, *5* (10.4172), 2324–8777.
5. Song, B.; Chen, Z.; Ao, H.; Zhang, M. Nanofibrous Biomaterials for Biomedical Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, *11*, 1279471. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1279471>
6. Zhang, M.; Song, W.; Tang, Y.; Xu, X.; Huang, Y.; Yu, D. Polymer-Based Nanofiber–Nanoparticle Hybrids and Their Medical Applications. *Polymers* **2022**, *14* (2), 351. <https://doi.org/10.3390/polym14020351>
7. Behere, I.; Ingavle, G. In Vitro and in Vivo Advancement of Multifunctional Electrospun Nanofiber Scaffolds in Wound Healing Applications: Innovative Nanofiber Designs, Stem Cell Approaches, and Future Perspectives. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2022**, *110* (2), 443–461. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37290>
8. Pérez-González, G. L.; Villarreal-Gómez, L. J.; Serrano-Medina, A.; Torres-Martínez, E. J.; Cornejo-Bravo, J. M. Mucoadhesive Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Systems: Applications of Polymers and the Parameters' Roles. *International Journal of Nanomedicine* **2019**, 5271–5285. <https://doi.org/10.2147/IJN.S193328>
9. Chen, K.; Li, Y.; Li, Y.; Tan, Y.; Liu, Y.; Pan, W.; Tan, G. Stimuli-Responsive Electrospun Nanofibers for Drug Delivery, Cancer Therapy, Wound Dressing, and Tissue Engineering. *Journal of Nanobiotechnology* **2023**, *21* (1), 237. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01987-z>
10. Aman Mohammadi, M.; Dakhili, S.; Mirza Alizadeh, A.; Kooki, S.; Hassanzadazar, H.; Alizadeh-Sani, M.; McClements, D. J. New Perspectives on Electrospun Nanofiber Applications in Smart and Active Food Packaging Materials. *Critical reviews in food science and nutrition* **2024**, *64* (9), 2601–2617. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2124506>
11. Tamura, Y.; Kanomata, K.; Kitaoka, T. Interfacial Hydrolysis of Acetals on Protonated TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers. *Scientific reports* **2018**, *8* (1), 5021. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23381-8>
12. Arizapana, K.; Schossig, J.; Wildy, M.; Weber, D.; Gandotra, A.; Jayaraman, S.; Wei, W.; Xu, K.; Yu, L.; Mugweru, A. M.; others. Harnessing the Synergy of Fe and Co with Carbon Nanofibers for Enhanced CO₂ Hydrogenation Performance. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2024**, *12* (5), 1868–1883. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c05489>
13. Langner, M.; Greiner, A. Wet-Laid Meets Electrospinning: Nonwovens for Filtration Applications from Short Electrospun Polymer Nanofiber Dispersions. *Macromolecular Rapid Communications* **2016**, *37* (4), 351–355. <https://doi.org/10.1002/marc.201500514>
14. Pereao, O.; Bode-Aluko, C.; Laatikainen, K.; Nechaev, A.; Petrik, L. Morphology, Modification and Characterisation of Electrospun Polymer Nanofiber Adsorbent Material Used in Metal Ion Removal. *Journal of Polymers and the Environment* **2019**, *27*, 1843–1860. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01497-w>
15. Tahir, M.; Vicini, S.; Sionkowska, A. Electrospun Materials Based on Polymer and Biopolymer Blends—a Review. *Polymers* **2023**, *15* (7), 1654. <https://doi.org/10.3390/polym15071654>
16. Ji, H.; Zhao, R.; Zhang, N.; Jin, C.; Lu, X.; Wang, C. Lightweight and Flexible Electrospun Polymer Nanofiber/Metal Nanoparticle Hybrid Membrane for High-Performance Electromagnetic Interference Shielding. *NPG Asia Materials* **2018**, *10* (8), 749–760. <https://doi.org/10.1038/s41427-018-0070-1>
17. Wang, L.; Sun, Y.; Wang, J.; Li, Z. Assembly of Gold Nanoparticles on Electrospun Polymer Nanofiber Film for SERS Applications. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2014**, *35* (1), 30–34. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2014.35.1.30>
18. Li, Y.; Zhu, J.; Cheng, H.; Li, G.; Cho, H.; Jiang, M.; Gao, Q.; Zhang, X. Developments of Advanced Electrospinning Techniques: A Critical Review. *Advanced Materials Technologies* **2021**, *6* (11), 2100410. <https://doi.org/10.1002/admt.202100410>
19. Golpira, F.; Maftoonazad, N.; Ramaswamy, H. S. Evaluation of Freeze Drying and Electrospinning Techniques for Saffron Encapsulation and Storage Stability of Encapsulated Bioactives. *Journal of Composites Science* **2021**, *5* (12), 326. <https://doi.org/10.3390/jcs5120326>
20. Ji, D.; Lin, Y.; Guo, X.; Ramasubramanian, B.; Wang, R.; Radacsi, N.; Jose, R.; Qin, X.; Ramakrishna, S. Electrospinning of Nanofibres. *Nature Reviews Methods Primers* **2024**, *4* (1), 1. <https://doi.org/10.1038/s43586-023-00278-z>
21. Singh, S. K.; Sarma, S. Taylor Cone Height as a Tool to Understand Properties of Electrospun PVDF Nanofibers. *Journal of Electrostatics* **2022**, *120*, 103770. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2022.103770>
22. Alqallab, O. N.; Jumali, M. H. H. A Novel Centrifugal Electrospinning Design for Preparing of High Alignment-Phase PVDF Nanofibers for High-Performance Piezoelectric Nanogenerators. *Polymer* **2024**, *304*, 127137. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2024.127137>
23. Lei, S.; Xiong, C.; Quan, Z.; Qin, X.; Yu, J. Controlled Stretching of the First Spiral in Electrospinning Whipping Jet via Surface Charge. *Polymer* **2021**, *217*, 123443. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.123443>

24. Guo, Y.; Wang, X.; Shen, Y.; Dong, K.; Shen, L.; Alzabal, A. A. Research Progress, Models and Simulation of Electrospinning Technology: A Review. *Journal of Materials Science* **2022**, 1–47.
<https://doi.org/10.1007/s10853-021-06575-w>
25. Keirouz, A.; Wang, Z.; Reddy, V. S.; Nagy, Z. K.; Vass, P.; Buzgo, M.; Ramakrishna, S.; Radacsi, N. The History of Electrospinning: Past, Present, and Future Developments. *Advanced Materials Technologies* **2023**, 8 (11), 2201723.
<https://doi.org/10.1002/admt.202201723>
26. Yavari, A.; Ito, T.; Hara, K.; Tahara, K. Comparative Analysis of Needleless and Needle-Based Electrospinning Methods for Polyamide 6: A Technical Note. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2025**, 73 (1), 18–24.
<https://doi.org/10.1248/cpb.c24-00611>
27. Kouhi, M.; Mobasheri, M.; Valipouri, A. Needleless Electrospinning. In *Electrospun and nanofibrous membranes*; Elsevier, 2023; pp 145–171.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823032-9.00011-8>
28. Lu, W.-C.; Chen, C.-Y.; Cho, C.-J.; Venkatesan, M.; Chiang, W.-H.; Yu, Y.-Y.; Lee, C.-H.; Lee, R.-H.; Rwei, S.-P.; Kuo, C.-C. Antibacterial Activity and Protection Efficiency of Polyvinyl Butyral Nanofibrous Membrane Containing Thymol Prepared Through Vertical Electrospinning. *Polymers* **2021**, 13 (7), 1122.
<https://doi.org/10.3390/polym13071122>
29. Tang, C.; Levit, S. L.; Swana, K. F.; Thornton, B. T.; Barlow, J. L.; Dotivala, A. C. Electrospinning Parameters and Resulting Nanofiber Characteristics: Theoretical to Practical Considerations. *Applications of Polymer Nanofibers* **2022**, 1–40.
<https://doi.org/10.1002/9781119267713.ch1>
30. Jacobs, V.; Anandjiwala, R. D.; Maaza, M. The Influence of Electrospinning Parameters on the Structural Morphology and Diameter of Electrospun Nanofibers. *Journal of applied polymer science* **2010**, 115 (5), 3130–3136.
<https://doi.org/10.1002/app.31396>
31. Filip, P.; Zelenkova, J.; Peer, P. Electrospinning of a Copolymer PVDF-Co-HFP Solved in DMF/Acetone: Explicit Relations Among Viscosity, Polymer Concentration, DMF/Acetone Ratio and Mean Nanofiber Diameter. *Polymers* **2021**, 13 (19), 3418.
<https://doi.org/10.3390/polym13193418>
32. Han, W.; Wang, L.; Li, Q.; Ma, B.; He, C.; Guo, X.; Nie, J.; Ma, G. A Review: Current Status and Emerging Developments on Natural Polymer-Based Electrospun Fibers. *Macromolecular Rapid Communications* **2022**, 43 (21), 2200456.
<https://doi.org/10.1002/marc.202200456>
33. Ramakrishna, S. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*; World scientific, 2005.
<https://doi.org/10.1142/5894>
34. Koski, A.; Yim, K.; Shivkumar, S. Effect of Molecular Weight on Fibrous PVA Produced by Electrospinning. *Materials letters* **2004**, 58 (3–4), 493–497.
[https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(03\)00532-9](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00532-9)
35. Angammana, C. J.; Jayaram, S. H. Fundamentals of Electrospinning and Processing Technologies. *Particulate Science and Technology* **2016**, 34 (1), 72–82.
<https://doi.org/10.1080/02726351.2015.1043678>
36. Zuo, W.; Zhu, M.; Yang, W.; Yu, H.; Chen, Y.; Zhang, Y. Experimental Study on Relationship Between Jet Instability and Formation of Beaded Fibers During Electrospinning. *Polymer Engineering & Science* **2005**, 45 (5), 704–709.
<https://doi.org/10.1002/pen.20304>
37. Ibrahim, H. M.; Klingner, A. A Review on Electrospun Polymeric Nanofibers: Production Parameters and Potential Applications. *Polymer Testing* **2020**, 90, 106647.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106647>
38. Zargham, S.; Bazgir, S.; Tavakoli, A.; Rashidi, A. S.; Damerchely, R. The Effect of Flow Rate on Morphology and Deposition Area of Electrospun Nylon 6 Nanofiber. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* **2012**, 7 (4), 155892501200700414.
<https://doi.org/10.1177/155892501200700414>
39. Duan, X.-P.; Yan, X.; Zhang, B.; Zhang, Z.-G.; Yu, M.; Zhang, H.-D.; Yang, D.-P.; Long, Y.-Z. Simple Piezoelectric Ceramic Generator-Based Electrospinning Apparatus. *RSC advances* **2016**, 6 (70), 66252–66255.
<https://doi.org/10.1039/C6RA14695C>
40. Long, Y.-Z.; Yan, X.; Wang, X.-X.; Zhang, J.; Yu, M. Electrospinning: The Setup and Procedure. In *Electrospinning: Nanofabrication and applications*; Elsevier, 2019; pp 21–52.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9>
41. Liu, Y.; Wang, Y.; Lee, C.-H.; Kan, C.-W.; Lu, X. Influence of Electrospinning Parameters on the Morphology of Electrospun Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) Fibrous Membranes and Their Application as Potential Air Filtration Materials. *Polymers* **2024**, 16 (1), 154.
<https://doi.org/10.3390/polym16010154>
42. Medeiros, G. B.; Lima, F. de A.; Almeida, D. S. de; Guerra, V. G.; Aguiar, M. L. Modification and Functionalization of Fibers Formed by Electrospinning: A Review. *Membranes* **2022**, 12 (9), 861.
<https://doi.org/10.3390/membranes12090861>
43. Wang, X.; Um, I. C.; Fang, D.; Okamoto, A.; Hsiao, B. S.; Chu, B. Formation of Water-Resistant Hyaluronic Acid Nanofibers by Blowing-Assisted Electro-Spinning and Non-Toxic Post Treatments. *Polymer* **2005**, 46 (13), 4853–4867.
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.03.058>
44. ÇAVDAR, F. Y.; UĞUZ, A. A Comparative Study of Electrospinning Process for Two Different Collectors: The Effect of the Collecting Method on the Nanofiber Diameters. *Mechanical Engineering Journal* **2019**, 6 (1), 18–00298.
<https://doi.org/10.1299/mej.18-00298>
45. Morsy, R. Influence of Substrate Temperature Parameter on Electrospinning Process: Example of Application to the Formation of Gelatin Fibers. *Polymer Bulletin* **2023**, 80 (2), 1519–1530.
<https://doi.org/10.1007/s00289-022-04109-1>
46. Mailley, D.; Hebraud, A.; Schlatter, G. A Review on the Impact of Humidity During Electrospinning: From the Nanofiber Structure Engineering to the Applications. *Macromolecular Materials and Engineering* **2021**, 306 (7), 2100115.
<https://doi.org/10.1002/mame.202100115>
47. Robinson, P. K. Enzymes: Principles and Biotechnological Applications. *Essays in biochemistry* **2015**, 59, 1.
<https://doi.org/10.1042/bse0590001>
48. Marchetti, M.; Faggiano, S.; Mozzarelli, A. Enzyme Replacement Therapy for Genetic Disorders Associated with Enzyme Deficiency. *Current Medicinal Chemistry* **2022**, 29 (3), 489–525.
<https://doi.org/10.2174/0929867328666210526144654>
49. De La Fuente, M.; Lombardero, L.; Gómez-González, A.; Solari, C.; Angulo-Barturen, I.; Acera, A.; Vecino, E.; Astigarraga, E.; Barreda-Gómez, G. Enzyme Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, 22 (17), 9181.
<https://doi.org/10.3390/ijms22179181>
50. Lachmann, R. H. Enzyme Replacement Therapy for Lysosomal Storage Diseases. *Current opinion in pediatrics* **2011**, 23 (6), 588–593.
<https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32834c20d9>

51. Tóth, G. D.; Koplányi, G.; Kenéz, B.; Balogh-Weiser, D. Nanoformulation of Therapeutic Enzymes: A Short Review. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* **2023**, *67* (4), 624–635.
<https://doi.org/10.3311/PPCh.22826>
52. Silva, A.; Sagné, C.; Gazeau, F.; Abasolo, I. Enzyme Replacement Therapy: Current Challenges and Drug Delivery Prospects via Extracellular Vesicles. *Rare Disease and Orphan Drugs Journal* **2022**, *1* (3), 13.
<https://doi.org/10.20517/rdodj.2022.09>
53. Yıldız, Y.; Sivri, H. S. Difficulties Associated with Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidoses. *Turkish Archives of Pediatrics* **2021**, *56* (6), 602.
<https://doi.org/10.5152/TurkArchPediatri.2021.21235>
54. Bosio, V. E.; Islan, G. A.; Martínez, Y. N.; Durán, N.; Castro, G. R. Nanodevices for the Immobilization of Therapeutic Enzymes. *Critical reviews in biotechnology* **2016**, *36* (3), 447–464.
55. Hu, F.; Deng, C.; Zhang, X. Development of High Performance Liquid Chromatography with Immobilized Enzyme onto Magnetic Nanospheres for Screening Enzyme Inhibitor. *Journal of chromatography B* **2008**, *871* (1), 67–71.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.06.036>
56. Souza Guimarães, M. de; Cachumba, J. J. M.; Bueno, C. Z.; Torres-Obreque, K. M.; Lara, G. V. R.; Monteiro, G.; Barbosa, L. R. S.; Pessoa Jr, A.; Rangel-Yagui, C. de O. Peg-Grafted Liposomes for L-Asparaginase Encapsulation. *Pharmaceutics* **2022**, *14* (9), 1819.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091819>
57. San Keskin, N. O.; Dinç, S. K. Electrospinning Techniques for Encapsulation. In *Micro- and nano-containers for smart applications*; Springer, 2022; pp 39–61.
https://doi.org/10.1007/978-981-16-8146-2_2
58. Li, D.; Wang, Q.; Huang, F.; Wei, Q. Electrospun Nanofibers for Enzyme Immobilization. In *Electrospinning: Nanofabrication and applications*; Elsevier, 2019; pp 765–781.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00026-1>
59. Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. A.; Huyop, F.; Wahab, R. A. An Overview of Technologies for Immobilization of Enzymes and Surface Analysis Techniques for Immobilized Enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **2015**, *29* (2), 205–220.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1008192>
60. Tóth, G. D.; Molnár, Z.; Koplányi, G.; Gyarmati, B.; Szilágyi, A.; Katona, G.; Menyhárd, A.; Poppe, L.; Pukánszky, B.; Balogh-Weiser, D. How Could the Physical Properties of Poly (Vinyl Alcohol) Influence Enzymatic Activity? A Detailed Study on Nanofibrous Catalysts Incorporating a Lipase from Burkholderia Cepacia. *ChemCatChem* **2025**, *17* (5), e202400562.
<https://doi.org/10.1002/cctc.202400562>
61. Tóth, G. D.; Kállai-Szabó, N.; Lengyel, M.; Süvegh, K.; Ender, F.; Katona, G.; Kazsoki, A.; Zekó, R.; Antal, I.; Balogh, G. T.; others. Nanoformulation of Lipase from Porcine Pancreas by Electrospinning as a Novel Alternative for Enzyme-Based Per Os Therapies. *Journal of Molecular Liquids* **2023**, *389*, 122819.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122819>
62. Tóth, G. D.; Kazsoki, A.; Gyarmati, B.; Szilágyi, A.; Vasvári, G.; Katona, G.; Sente, L.; Zekó, R.; Poppe, L.; Balogh-Weiser, D.; others. Nanofibrous Formulation of Cyclodextrin Stabilized Lipases for Efficient Pancreatin Replacement Therapies. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (7), 972.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070972>
63. Balogh-Weiser, D.; Molnár, A.; Tóth, G. D.; Koplányi, G.; Szemes, J.; Decsi, B.; Katona, G.; Salamah, M.; Ender, F.; Kovács, A.; others. Combined Nanofibrous Face Mask: Co-Formulation of Lipases and Antibiotic Agent by Electrospinning Technique. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (4), 1174.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041174>
64. Buller, R.; Lutz, S.; Kazlauskas, R.; Snajdrova, R.; Moore, J.; Bornscheuer, U. From Nature to Industry: Harnessing Enzymes for Biocatalysis. *Science* **2023**, *382* (6673), eadh8615.
<https://doi.org/10.1126/science.adh8615>
65. Imarah, A. O.; Silva, F. M.; Tuba, L.; Malta-Lakó, Á.; Szemes, J.; Santa-Bell, E.; Poppe, L. A Convenient u-Shape Microreactor for Continuous Flow Biocatalysis with Enzyme-Coated Magnetic Nanoparticles-Lipase-Catalyzed Enantiomer Selective Acylation of 4-(morpholin-4-yl) Butan-2-ol. *Catalysts* **2022**, *12* (9), 1065.
<https://doi.org/10.3390/catal12091065>
66. Broderick, J. B.; Broderick, W. E.; Hoffman, B. M. Radical SAM Enzymes: Nature's Choice for Radical Reactions. *FEBS letters* **2023**, *597* (1), 92–101.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.14519>
67. Jegannathan, K. R.; Nielsen, P. H. Environmental Assessment of Enzyme Use in Industrial Production—a Literature Review. *Journal of cleaner production* **2013**, *42*, 228–240.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.11.005>
68. Victorino da Silva Amatto, I.; Gonsales da Rosa-Garzon, N.; Antonio de Oliveira Simoes, F.; Santiago, F.; Pereira da Silva Leite, N.; Raspante Martins, J.; Cabral, H. Enzyme Engineering and Its Industrial Applications. *Biotechnology and applied biochemistry* **2022**, *69* (2), 389–409.
<https://doi.org/10.1002/bab.2117>
69. Nezhad, N. G.; Rahman, R. N. Z. R. A.; Normi, Y. M.; Oslan, S. N.; Shariff, F. M.; Leow, T. C. Thermostability Engineering of Industrial Enzymes Through Structure Modification. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2022**, *106* (13), 4845–4866.
<https://doi.org/10.1007/s00253-022-12067-x>
70. Doukyu, N.; Ogino, H. Organic Solvent-Tolerant Enzymes. *Biochemical engineering journal* **2010**, *48* (3), 270–282.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.09.009>
71. Atiroğlu, V.; Atiroğlu, A.; Atiroğlu, A.; Al-Hajri, A. S.; Özacar, M. Green Immobilization: Enhancing Enzyme Stability and Reusability on Eco-Friendly Support. *Food Chemistry* **2024**, *448*, 138978.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138978>
72. Thakur, K.; Atti, C.; Seth, A. Nanocarriers-Based Immobilization of Enzymes for Industrial Application. *3 Biotech* **2021**, *11* (10), 427.
<https://doi.org/10.1007/s13205-021-02953-y>
73. Matveeva, V. G.; Bronstein, L. M. Magnetic Nanoparticle-Containing Supports as Carriers of Immobilized Enzymes: Key Factors Influencing the Biocatalyst Performance. *Nanomaterials* **2021**, *11* (9), 2257.
<https://doi.org/10.3390/nano11092257>
74. Khan, R. S.; Rather, A. H.; Wani, T. U.; Rather, S.; Amna, T.; Hassan, M. S.; Sheikh, F. A. Recent Trends Using Natural Polymeric Nanofibers as Supports for Enzyme Immobilization and Catalysis. *Biotechnology and Bioengineering* **2023**, *120* (1), 22–40.
<https://doi.org/10.1002/bit.28246>
75. Maghraby, Y. R.; El-Shabasy, R. M.; Ibrahim, A. H.; Azzazy, H. M. E.-S. Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS omega* **2023**, *8* (6), 5184–5196.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>

76. Ribeiro, E. S.; Farias, B. S. de; Junior, T. R. S. C.; Almeida Pinto, L. A. de; Diaz, P. S. Chitosan-Based Nanofibers for Enzyme Immobilization. *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, *183*, 1959–1970. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.214>
77. Liu, X.; Kokare, C. Microbial Enzymes of Use in Industry. In *Biotechnology of microbial enzymes*; Elsevier, 2023; pp 405–444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19059-9.00021-9>
78. Koplányi, G.; Bell, E.; Molnár, Z.; Katona, G.; Lajos Neumann, P.; Ender, F.; Balogh, G. T.; Žnidaršič-Plazl, P.; Poppe, L.; Balogh-Weiser, D. Novel Approach for the Isolation and Immobilization of a Recombinant Transaminase: Applying an Advanced Nanocomposite System. *Chembiochem* **2023**, *24* (7), e202200713. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200713>

Application Possibilities of Nanofiber-Supported Biocatalysts

This short review presents an overview of the electrospinning process and highlights its potential in biomedical and synthetic biocatalytic applications. Emphasis is placed on nanofibrous enzyme formulations developed by our research group, demonstrating how electrospun polymer matrices can enhance the stability, reusability, and activity of immobilized enzymes. Case studies include oral enzyme replacement therapy using lipase-loaded na-

nofibers, and the design of multilayered nanofibrous facial masks for topical drug delivery. In synthetic applications, we describe the development of highly active, nanofiber-immobilized lipase systems and a hybrid platform combining silica nanoparticles and nanofibers for enhanced aminotransferase catalysis. These results underline the versatility of electrospun nanofibers as functional carriers in advanced biocatalytic systems.

Átmenetifémek a (bio)katalízisben: Hogyan segít a számításhoz kémia?

OLÁH Julianna,* KFOURY Joseph

*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest*

1. Bevezetés

Az átmenetifém katalízis kiemelt szerepet játszik a modern kémiában, a vegyiparban és az élőlényekben is. Az enzimek 40%-a tartalmaz fém kofaktort, amelyek közül a magnéziumot és cinket követően a vas a leggyakrabban előforduló fémion.¹ A vas: számos oxidációs formájával kulcsszerepet játszik többek között az oxidoreduktázok működésében, az elektrontranszport lánc fehérjeiben, és a gázok érzékelésében. A hemcsoport részeként, hisztidinhez kapcsolódva a hemoglobin és mioglobin központi ionja, s gondoskodik az emberi (és legtöbb magasabbrendű) szervezet oxigénellátásáról, a citokróm P450 enzimekben az oxigén aktiválásáról, biztonságos környezetet teremtve az élőlények oxidációs reakcióinak.

A vasat és különböző formáit az iparban is elterjedten alkalmazzák katalizátorként, elegendő a Haber-Bosch folyamatra gondolnunk, amely több mint 100 éve meghatározza az egyik legfontosabb ipari nyersanyag, az ammónia előállítását. Várható a vas további térnyerése az iparban: intenzív kutatások irányulnak arra, hogy a hagyományos eljárásokban használt ritka és toxikus elemeket (ródiom, irídium, ruténium és platina) földön nagymennyiségben előforduló elemekkel, pl. vassal és rézzel helyettesítsék, amely fontos előrelépés lenne a fenntartható és zöld ipari eljárások elterjedésében.

Jelen közleményben a BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén működő Számítási Bioszervetlen Kémia csoport munkájából szeretnénk ízelítőt adni. Kizárólagosan számítási kémiai módszereket használunk, s többségében átmenetifémeket tartalmazó rendszereket vizsgálunk. Szeretnénk megérteni működésüket, szerkezetüket, s az ezeket befolyásoló faktorokat. Foglalkozunk metalloenzimokkal, valamint biomimetikus komplexekkel, spinváltó vegyületekkel, valamint Bakó Imrével folytatott együttműködésünk keretében biomolekulák hidrátburkát is örömmel vizsgáljuk.

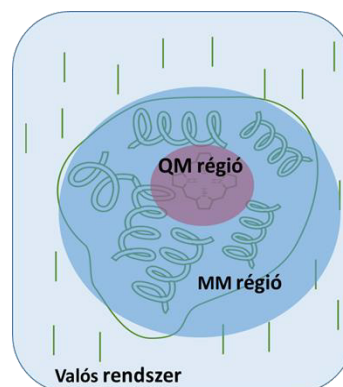
2. Felhasznált módszerek

Nagyon sokféle rendszer szerepel érdeklődésünk központjában a kismolekuláktól kezdve a sokezer atomos fehérjékig. A rendszerek mérete és a feltett kérdések megkövetelik tőlünk, hogy minden probléma esetén megkeressük a megfelelő modellezési módszert és ezt kombináljuk fizikokémiai alapelvekkel.

Kismolekulák (nagyjából 200 atomos rendszerekig) esetén alapvetően kvantumkémiai számításokat használunk. Schrödinger-egyenleten vagy sűrűségfunkcionál elméleten alapuló módszereket segítségével le tudjuk írni a vizsgált rendszerek elektronszerkezetét és pontos információkat (figyelembe véve nyilvánvalóan a módszerek pontosságát!) nyerhetünk többek között a konformációs viszonyokról, egy reakcióban szereplő reaktánsok, köztitermékek és termékek szerkezetéről, relatív energiájáról és spektroszkópiai tulajdonságairól.

Fehérjék vizsgálata során gyakran fordulunk molekulamechanikai leíráshoz, melynek során egy erőter segítségével modellezzük a fehérjék szerkezetét, s molekuladinamikai szimulációk segítségével vizsgálhatjuk a fehérjék konformációs sokféleségét és a rendszerek szerkezetének a változását a szimulációs idő függvényében.

Enzimreakciók tanulmányozása egy harmadik megközelítést követel tőlünk. Kvantumkémiai számításokat nem használhatunk a rendszer mérete miatt, a klasszikus molekulamechanikai erőterek segítségével viszont nem tudjuk leírni kötések hasadását és kialakulását, amely alapvető tulajdonsága az enzimreakcióknak. Ezért úgynevezett kvantummechanikai molekulamechanikai (QM/MM) módszereket használunk, amelynek során az enzim aktív helyét kvantumkémiai módszerekkel, míg a környezetet molekulamechanikai szinten (1. ábra).



1. ábra. Hibrid QM/MM számítások felépítése. Az enzim aktív helyét (QM régió) magasszintű, kvantumkémiai számításokkal, míg a környezetet (MM régió) alacsonyabb szinten, molekulamechanikai erőterrel írjuk le.

* Email: olah.julianna@vbk.bme.hu

3. Eredmények

A következőkben legérdekesebb eredményeink közül válogattunk, s témakörök szerint csoportosítva mutatjuk be őket.

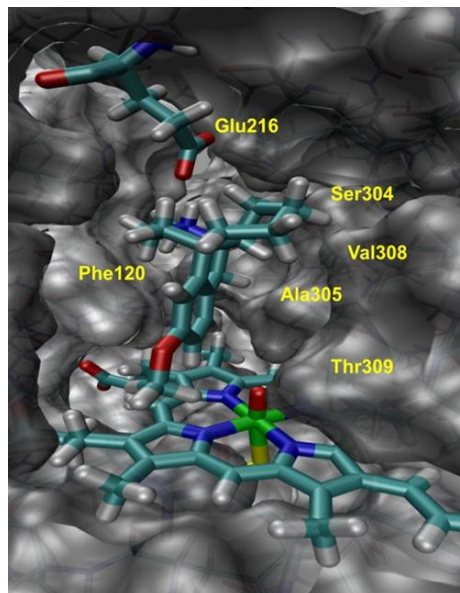
3.1. Citokróm P450 enzimek és gyógyszermetabolizmus

A citokróm P450 (CYP) enzimek aktív helyén egy hemcsoporthoz kapcsolódó Fe(III) ion található, amely axiálisan egy cisztein oldallánchoz is koordinálódik. A CYP enzimek legfontosabb feladata az oxigén aktiválása, és oxidációs folyamatok katalizálása. Hatalmas szupercsaládot alkotnak, amelynek tagjai gyakorlatilag minden élőlényben előfordulnak. Emberben 57 változatuk van jelen, s szerepet játszanak a gyógyszerek metabolizmusában, és hormonok bioszintézisében is.

A gyógyszeripar számára különösen fontosak azok a CYP enzimek, amelyek részt vesznek a gyógyszerek lebontásában, hiszen ezek nagyon közvetlen módon befolyásolják a gyógyszerek inaktiválódását és kiürülését a szervezetből. A CYP enzimek multiszubsztrát enzimek és ugyanazt a szubsztrátot akár több izoforma (a CYP enzimek különböző változatait izoformáknak hívják) is lebonthatja. Emiatt számos faktor befolyásolja a metabolitok szerkezetét és metabolit keverékek esetén összetételét. (1) A metabolizmus lejátszódhat ugyanannak a szubsztrát molekulának különböző pontján (2) számos CYP enzim képes lehet lebontani ugyanazt a gyógyszermolekulát különböző termékeket eredményezve (3) szerepet játszanak CYP enzim indukciós folyamatok, hogy melyik enzim, milyen mértékben expresszálódik (4) CYP enzimek eloszlása a különböző szövetekben pl. más enzimek vannak jelen nagy mennyiségben a májban, a bélben vagy a tüdőben.

Első munkánkban a CYP2D6 enzim régiószelektivitását vizsgáltuk. A CYP2D6 enzim a második legfontosabb gyógyszermetabolizáló enzim, s jelentős szerepet játszik gyógyszer-gyógyszer és gyógyszer-élelmiszer kölcsönhatásokban, mivel számos genotípusa létezik. Az olyan fenotípusok jelenléte, amelyek aktivitása magasabb a vad típusunál gyors metabolizmushoz fog vezetni, míg alacsony aktivitású fenotípusok esetén lassú metabolizmus és hosszantartó magas vérkoncentráció várható. A dextromethorphan egy gyakran alkalmazott köhögéscsillapító gyógyszer, amelyet a CYP2D6 enzim a metoxycsoport demetilációjával alakít át. Érdekes azonban, hogy az aromás gyűrű hidroxilációja nem következik be, annak ellenére, hogy ez egy jól ismert és gyakori CYP-enzim katalizált folyamat. Kismoddellen végzett kvantumkémiai számításaink megerősítették azt, hogy a két út aktiválási energiája valóban hasonló, s molekuladinamikai szimulációk is egyértelműen jelzik, hogy mindkét pozíció a molekulán belül közel esik a vasionhoz. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a két reakciónak valóban versengő reakcióútnak kellene lennie. Ugyanakkor QM/MM számítások segítségével megmutattuk, hogy a molekula kötődési pozíciója az aktív helyen meggátolja azt,

hogy az aromás hidroxiláció számára kedvező átmeneti állapot ki tudjon alakulni (2. ábra). Mindez azért fontos, mert potenciális metabolitok megjósolása során nem elegendő figyelembe venni a szubsztrátmolekula különböző pozícióinak relatív reaktivitását, vagy hogy a dokkolt pozíciók során melyik atom esik közel a vasionhoz, hanem érdemes lenne figyelembe venni, hogy ki tud-e alakulni az aktív helyen a kedvező átmeneti állapot szerkezet.²



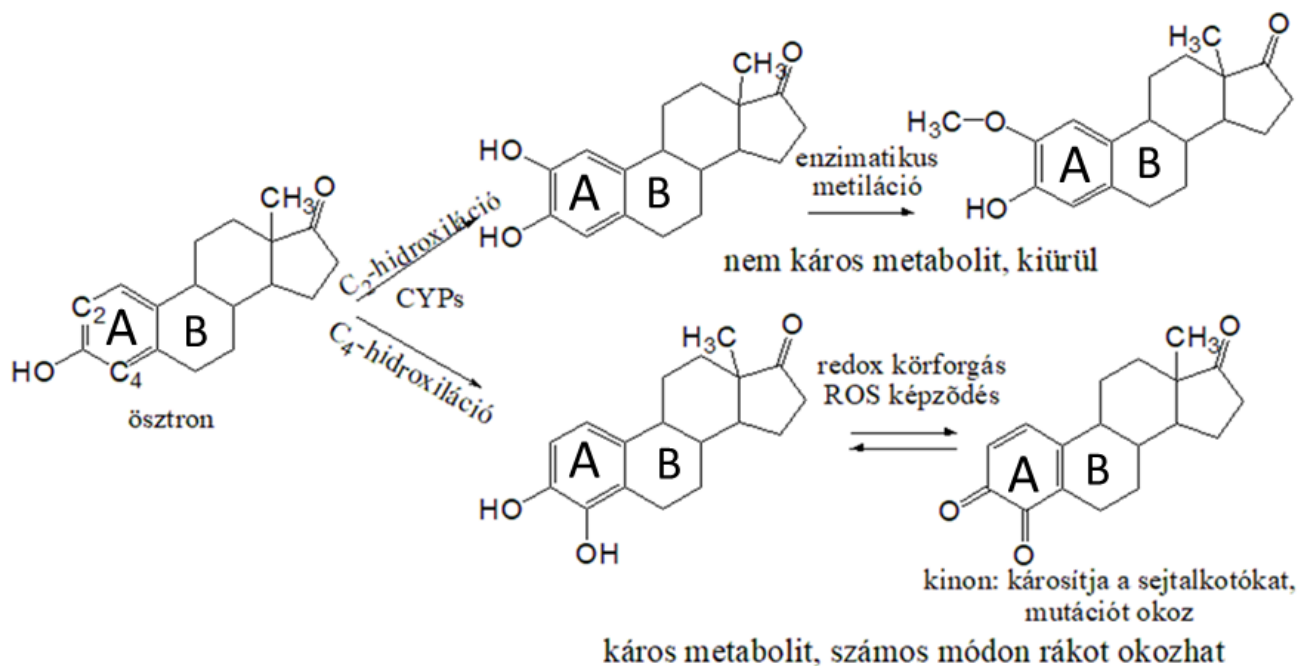
2. ábra. Dextromethorphan pozíciója a CYP 2D6 enzim aktív zsebében. Az ábra asú részén látható a hemcsoport egy része, felette a dextromethorphan molekula, amelyet szorosan körülvesznek az enzimben található oldalláncok. Kép forrása: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 108, 6050–6055 (2011)

A CYP enzimek fontos szerepet játszanak az emberben az ösztrogén hormonok bioszintézisében: az aromatáz enzim katalizálja az androsztendion A gyűrűjének aromatizációját, amely folyamat mechanizmusára javaslatot tettünk QM/MM számítások segítségével.^{3,4} CYP enzimek nem csak ösztrogének bioszintézisében, de lebontásában, és bioaktivációjában is kulcsszerepet játszanak. Hosszútávú vizsgálatok bizonyítják, hogy nők esetén a hosszantartó kitettség ösztrogéneknek (pl. hormonpótló terápiák keretén belül) megnöveli többek között a mellrák és az agyvérzés kockázatát. A rákkeltő hatást kapcsolatba hozták az ösztrogének 2- és 4-hidroxilációs útjaival, melyek közül az előbbi nem káros, viszont az utóbbit káros metabolikus útnak tekintik (3. ábra). A Premarin® hormonpótló terápia tízféle ösztrogén származékot tartalmaz, amelyek közül munkánk során a legfontosabbat az ösztront, valamint annak két változatát (az equilint és equilenint) tanulmányoztuk.⁵ A vegyületet különböző humán CYP izoformák aktív helyére dokkolva azt találtuk, hogy léteznek olyan izoformák, amelyek aktív zsebe meghatározza a fő metabolit szerkezetét, viszont pl. a CYP3A4 enzim esetében, (amely a legfontosabb humán gyógyszermetabolizáló enzim) a 2-es és 4-es szénatomok relatív reakcióképessége a döntő a metabolitok arányának meghatározásában. A kísérletekkel összhangban azt találtuk, hogy ösztron esetében a nem káros 2-es hidroxilációs út

gátja a legalacsonyabb, viszont a B gyűrű telítettségének növekedésével az öszttron $\leftarrow$ equilin $\leftarrow$ equilin irányban egyértelműen felerősödik a káros 4-es hidroxilált katekol termék képződése.

A 4-hidroxilált termékek több módon is hozzájárulhatnak a rákos betegségek kialakulásához, pl. a katekolok és kinonjaik között kialakuló redox ciklusban reaktív oxigén gyökök jönnek létre, amelyek károsíthatják a sejtalkotókat, Munkánkban egy másik utat vizsgáltunk: a katekolokból

származó kinonok és a DNS purin bázisai között lejátszódó kémiai reakció depurinációhoz vezet. Ezért az öszttronból, equilinből és equileninből kialakuló kinonok és purin bázisok között lejátszódó reakciók mechanizmusát. Az eredmények arra utalnak, hogy az emberben természetes módon is előforduló öszttronhoz képest, a mesterségesen bevitt equilin és equilenin esetén a depurinálódó adduktok képződése könnyebb, mivel a reakcióút valamelyik lépésének (equilenin esetén a Michael addíció, equilin esetén pedig a újraaromatizációs lépés) gátja alacsonyabb.⁶



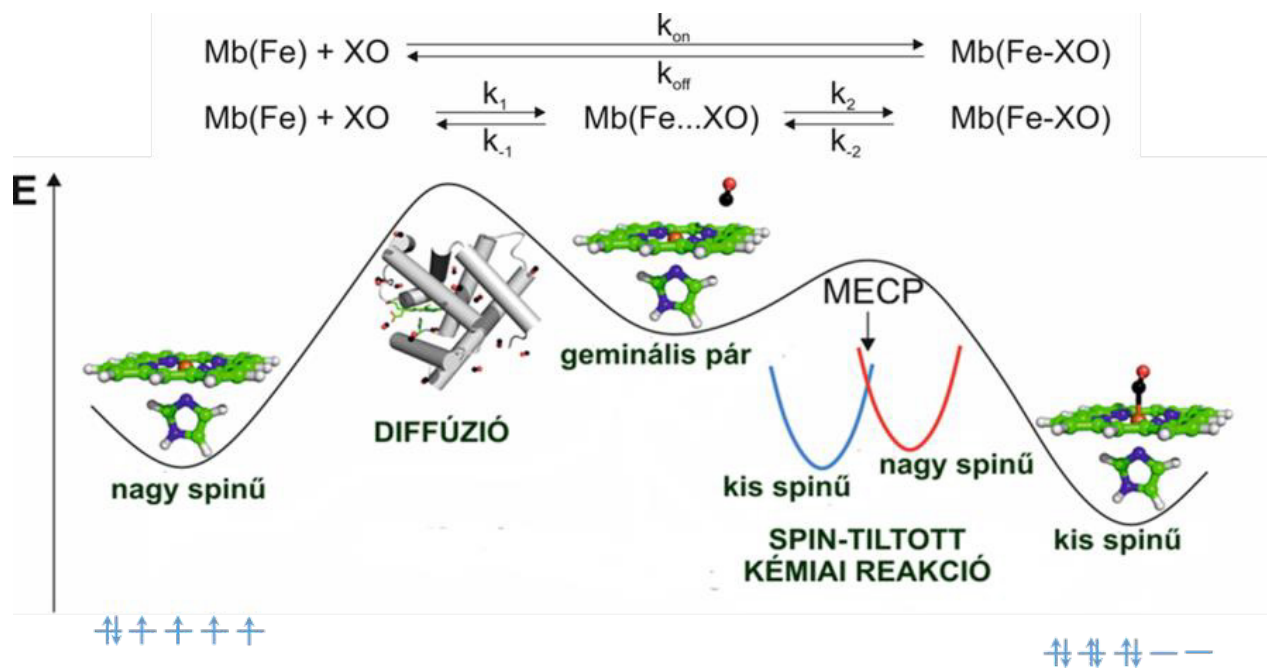
3. ábra. Ösztrogének 2- és 4-hidroxilációs metabolikus útjai

3.2. Gázmolekulák és fehérjék kölcsönhatása

Az élőlények képesek különféle gázok jelenlétét érzékelni és arra adaptív válaszokat adni. Anaerob élőlények pl. az oxigén jelenlétére kemotaxissal reagálhatnak. Gázérzékelés azonban alapvetően a szervezetben endogén módon keletkező kis molekulájú gázok, alapvetően CO, NO és H₂S érzékelésére irányul, mivel ezek fontos szerepet játszanak a szervezetben belül a jelátvitelben és a szabályozásban.

A legfontosabb gázérzékelő fehérjék hemcsoportot tartalmaznak, és a gázok megkötése egy soklépcsős folyamat, amely két fő részből áll: az első lépésben a gáz gázmolekula bediffundál a fehérje aktív helyére, majd ezt követi a kémiai

kötés kialakulása a vasion és a gázmolekula között. Ez utóbbi során az ötös koordinációjú nagyspinű komplex kisspinű komplexszé alakul, amely a spinátfordulás miatt spintiltott folyamat. A két folyamat eredője adja meg a mérhető reakciósebességi együtthatókat. Kidolgoztunk egy olyan kétlépcsős modellt/protokolt, amellyel a diffúzió sebességét molekuladinamikai számításokból tudjuk meghatározni, míg a gázmolekula és a hemcsoport között lejátszódó kémiai reakció aktiválási gátját kvantumkémiai számítások segítségével.⁷ Megmutattuk, hogy mioglobinban (Mb) a NO monoxid kötődésének egyértelműen a diffúzió sebessége szab határt, viszont CO esetén a diffúzió és a vas-szén kötődés kialakulásának sebessége összemérhető.



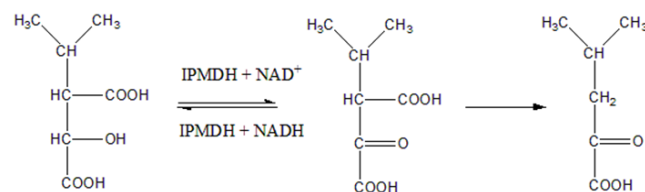
4. ábra. Kétlépcsős modell gázmolekulák és fehérjék között lejátszódó reakciók vizsgálatára.

Modellünket felhasználtuk három gázérzékelő fehérje tulajdonságainak vizsgálatára is, és meghatároztuk a gázok diffúziójának útvonalait valamint a gáztároló zsebeket.⁸ Emberben a NO érzékelésére egyetlen receptor fehérje létezik: az oldható guanilil-cikláz (sGC) enzim, amely fontos szerepet játszik többek között az erek feszességének szabályozásában. A szakirodalomban hosszú vita folyik arról, hogyan aktiválódik az enzim, s vajon a NO gáz melyik oldalán kötődik meg a hemcsoportnak. Munkánk inkább amellett teszi le a voksot, hogy valószínűsíthetően az NO gáz a fehérje disztális oldalán köt be, de nagy NO koncentrációk esetén a proximális oldalon történő kötődés sem zárható ki, s ennek szerepe lehet az enzimaktivitás fenntartásában akkor is, amikor az NO koncentráció lecsökken.⁹ Végül vizsgáltuk azt, hogy milyen szerepet játszhat NO és CO a kén-hidrogén gáz előállításában szerepet játszó cisztationin-β-aminotranszferáz (CBS) enzim gátlásában, s az eredményeink alapján, mindkét gáz képes gátni az enzimet. Ez az enzim a gyönyörű példája annak a szövevényes, egyelőre kevésbé értett kapcsolatnak, amely a szervezetben endogén módon képződő gázok, a H₂S, a NO és a CO között fennáll.¹⁰

3.3. Izopropil-malát dehidrogenáz enzim

Az izopropil-malát dehidrogenáz (IPMDH) enzim vizsgálatát szoros együttműködésben végeztük Prof. Vas Máriával a TTK kutatóközpontban. A kísérleti csoport alaposan tanulmányozta az IPMDH enzim reakciómechanizmusát mutációs tanulmányok, reaktivitási és szerkezeti vizsgálatok segítségével. Az IPMDH enzim egy NAD⁺ kofaktort felhasználva képes a szubsztát β-helyzetű hidroxilcsoportját ketocsoporttá oxidálni (5. ábra). Az IPMDH enzim gyógyszeripari jelentőségét az adja, hogy a baktériumok, gombák

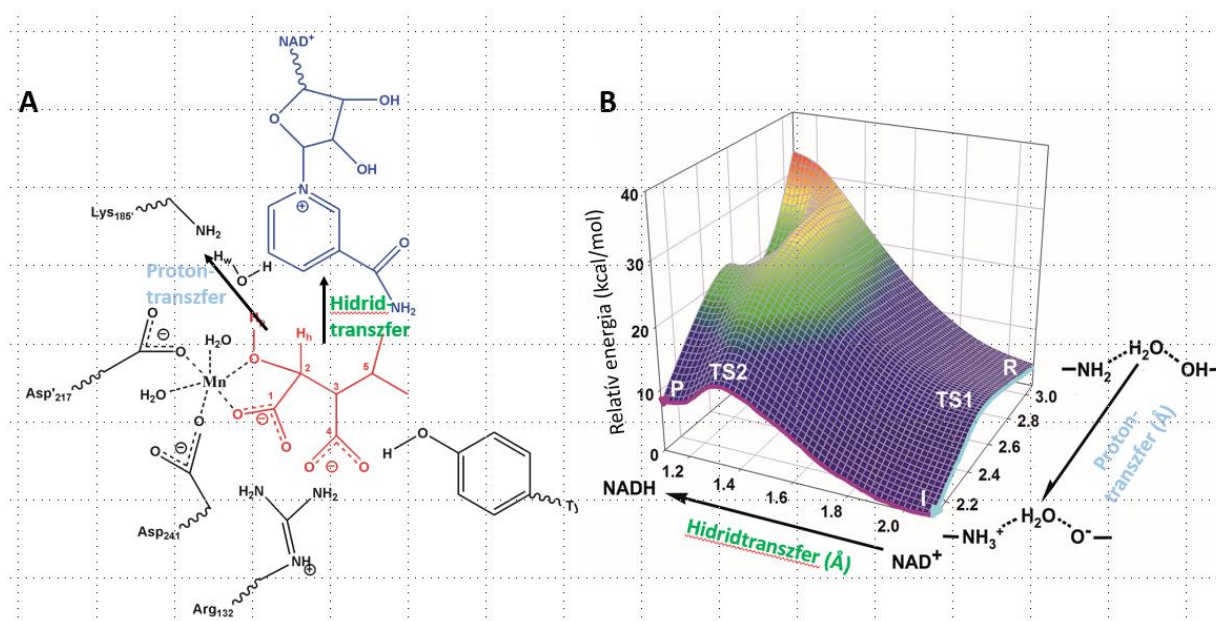
és növények leucin metabolizmusának esszenciális enzime, amely nincs jelen emlősökben, s ezért potenciális antibakteriális gyógyszer-célpont. A kutatócsoport sikeresen kristályosította a *Thermus thermophilus* (Tt) baktérium enzimjét egy szubsztátanalóggal, NADH-val és közösen vizsgáltuk az enzim reakciómechanizmusát¹¹ és a mutációk hatását.^{12,13}



5. ábra. Az IPMDH enzim által katalizált reakció sémája. A reakció két fő lépésre bontható: az oxidációs lépést követi a decarboxiláció.

Sikerült kristályosítaniuk egy olyan szerkezetet, amelyben kívánt szöveget többféleképpen is beillesztheti a dokumentumba. A legegyszerűbb módszer a begépelés. Nyisson meg egy új dokumentumot az MKF sablon alapján és gépelje, vagy másolja be a kívánt szöveget és ábrákat a megfelelő helyre. A megfelelő bekezdés-stílust ilyenkor az előző bekezdésben tárgyalt módon állíthatja be.

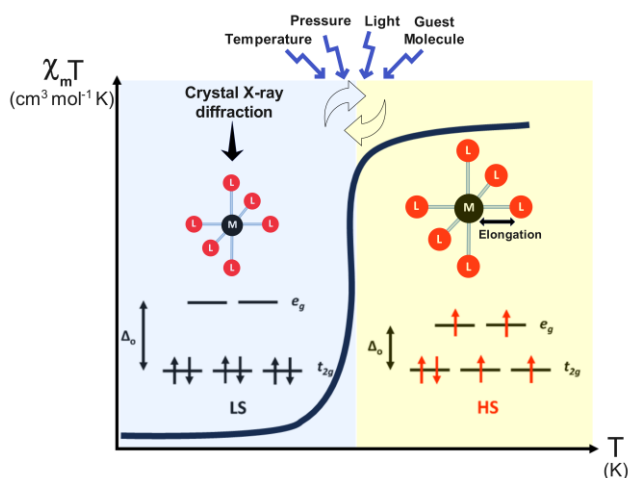
A hidroxilcsoport ketocsoporttá történő oxidációja során egy proton és egy hidridion vándorlása következik be. QM/MM számítások segítségével megállapítottuk, hogy a reakcióban a legvalószínűbb protonakceptor a Lys185-ös oldallánc, míg a hidridion a NAD⁺-ra vándorol (6. ábra). A két lépés sorrendiségét vizsgálva a 6. ábra alapján egyértelmű, hogy először a protonvándorlás következik be, s ennek a gátja kifejezetten alacsony, s ezt követi a lassabb hidridtranszfer.



6. ábra. Izopropilmalát dehidrogenáz enzimben lejátszódó reakció első lépése (A).
B. a reakció kétdimenziós potenciális energia felülete.

3.4. Spinváltó vegyületek

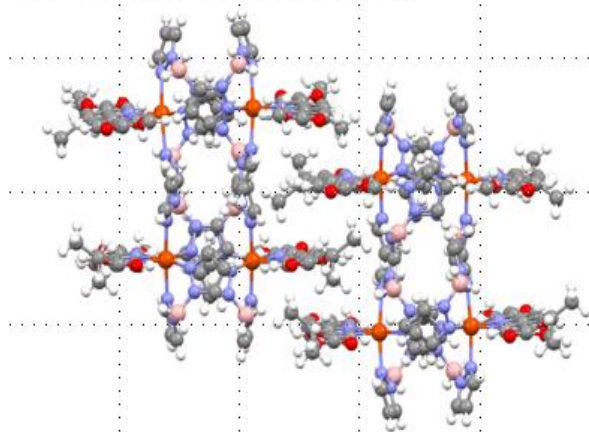
Az információs technológia fejlődésében az elektronikai eszközök miniaturizálása kulcsfontosságú hajtóerő. A technológiai háttér fejlődésének feltétele az egyre kisebb kapcsolók és adattárolók fejlesztése. A spinváltó vegyületek (spin crossover, SCO) kiindulási pontot szolgáltatnak molekuláris kapcsolók és adattárolók fejlesztéséhez, ahol az információt a vegyület spinállapotában tudjuk tárolni, amelyet külső stimulusok, pl. hőmérséklet, nyomás, vagy koncentráció változtatás segítségével tudunk módosítani (7. ábra).



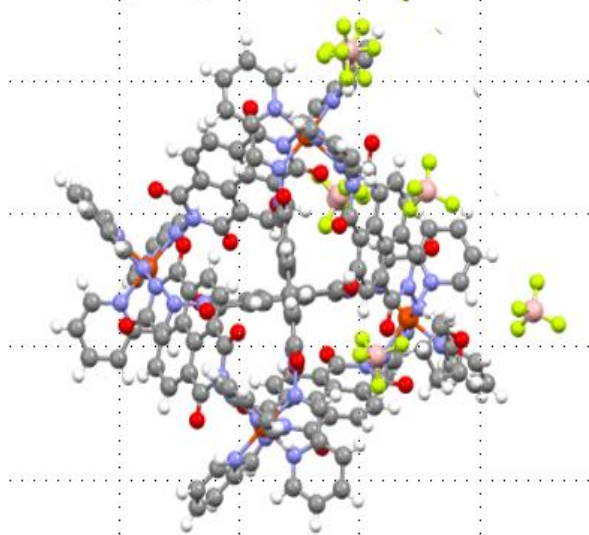
7. ábra. Spinváltó vegyületek működésének alapja. Az x-tengelyen a megfelelő stimulus (jelen esetben a hőmérséklet) látható, míg az y-tengelyen a mágneses szuszceptibilitás, amely információt ad a központi atom spinállapotáról. A hőmérséklet növekedésével a kisspinű komplex nagyspinűvé változik.

Hála kísérleti partnereinknek Prof. Yann Garcianak (UCLouvain, Belgium) és Prof. Yunnan Guonak (Zhejiang Sci-Tech University, Kína) egy kicsit belekóstolhattunk ezeknek a rendszereknek a vizsgálatába, s közelebb kerülhettünk a szupramolekuláris kémia területéhez. Mindkét csoport spinváltásra alkalmas szupramolekuláris rendszereket tervez, szintetizál és karakterizál, amelyekben a központi atom vas(II)-ion. A modellezés során a spinváltó képesség létrejöttét befolyásoló faktorokat vizsgáltuk. A vizsgált réteges szerkezetek (8. ábra) esetén többféle szubsztituens helyeztek el a partnerek a ligandumokon, s sikerült bizonyítanunk, hogy ebben az esetben a ligandumok a kristályszerkezet változásán keresztül befolyásolják a spinváltás mechanizmusát: hogy az folyamatosan történik, vagy pedig ugrásszerűen, egyszerre az összes vascentrumon.¹⁴ Ezzel szemben a vizsgált négymagvú komplexek (8. ábra) esetében a vasionhoz kapcsolódó ligandum elektronikus tulajdonságai fontos szerepet játszanak a spinváltó karakterben¹⁵ és a spinváltó tulajdonságot a szintézis során használt anionok anyagi minőségével is befolyásolhatjuk.¹⁶ A négymagvú komplex érdekessége, hogy a ketrecen belül egy 306 Å³ méretű üreg helyezkedik el, amely alkalmas lehet kisebb ionok (pl. halogenid) és molekulák (pl. benzol) befogadására is (9. ábra).

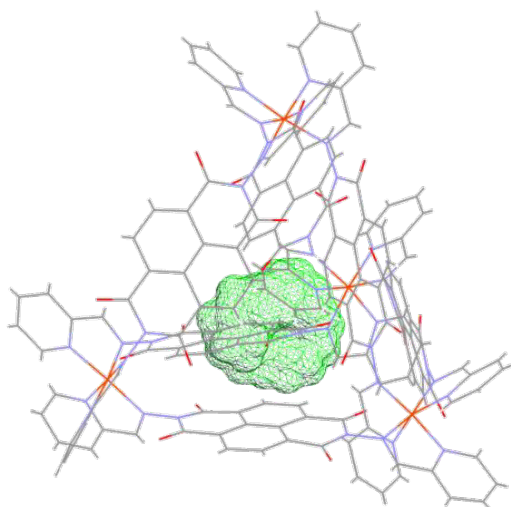
A: réteges SCO rendszer



B: négymagvú ketrec



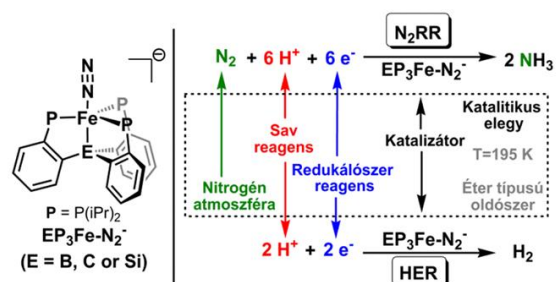
8. ábra. Vizsgált SCO vegyületek szerkezete kristályos fázisban



9. ábra. Négymagvú spinváltó komplex kismolekulák befogadására alkalmas ürege

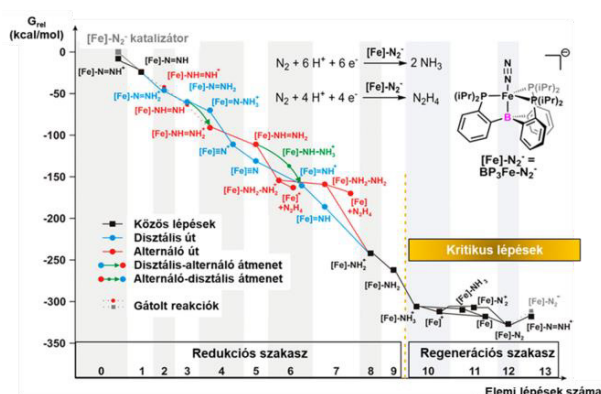
3.5. Biomimetikus nitrogénfixálás

Az ammónia az egyik legfontosabb ipari nyersanyagunk, amelyből évente több millió tonnát állítanak elő. A szintézis még ma is a több mint százéves Haber-Bosch eljárással történik, és magas nyomáson és magas hőmérsékleten megy végbe. Ennek következménye, hogy a globális energia felhasználás 1%-a, és a szén-dioxid kibocsátás 3%-a az ammónia előállításához kapcsolódik. Emiatt jelentős erőfeszítések történnek olyan eljárások kidolgozására, amelyek enyhébb körülmények között teszik lehetővé a nitrogén redukcióját ammóniává. Ennek egyik jelentős iránya a biomimetikus komplexek fejlesztése, amelyek működésükben utánozzák a nitrogénfixáló baktériumokban előforduló nitrogenáz enzimet, és savak és redukálószeres felhasználásával alakítják a légköri nitrogént ammóniává (10. ábra). Jonas Peters csoportja Caltech egyetemen fejleszti ezeket a komplexeket.



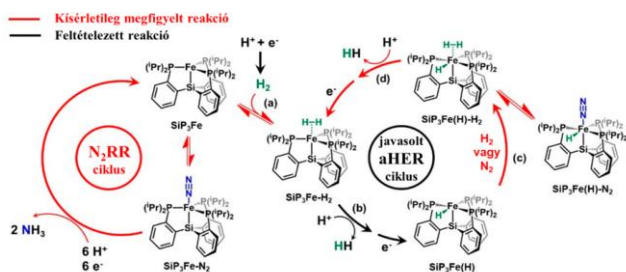
10. ábra. Mesterséges nitrogén fixálásra alkalmas komplex szerkezete és a nitrogén redukció (N2RR) és a hidrogén evolúciós reakció (HER) reakció egyenlete.

Munkánk során szerettük volna megérteni ezeknek a katalizátoroknak a működését, beleértve a katalitikus ciklust, a mellékreakciókat, és ezek ismeretében javaslatot tenni hatékonyabb katalizátorokra. Először meghatároztuk a katalitikus ciklus termodinamikai profilját B, C, és Si axiális atomok mellett, ezt sematikusan a 11. ábra szemlélteti. Annak függvényében, hogy az N_2 fragmens melyik nitrogén atomja veszi fel a protonokat, többféle reakcióutat is megkülönböztethetünk: a disztális út során eleinte mindig a vastól messzebbi nitrogén veszi fel a protont, míg az alternáló út során a két nitrogén váltakozva.



11. ábra. A biomimetikus ammóniaszintézis szabadentalpia-profilja. Az egyes elemi lépések proton/elektron transzfer folyamatokat vagy pedig ligandum koordinációs/dekoordináció lépéseket takarnak.

Bárhogy is történik a redukció, a katalízis első lépései során a szabadentalpia gyorsan csökken, de a reakció vége felé a reakció profil ellaposodik az axiális atomtól függetlenül.¹⁷ A nitrogénredukciós reakció (N_2RR) legfontosabb mellékreakciója a hidrogén evolúciós reakció (HER), melynek során a savból származó protonok és az elektronok H_2 molekulákká egyesülnek. Bár ez a reakció a katalitikus elegyben katalizátortól függetlenül is lejátszódik, mégis a kísérletek tanúsága szerint a katalizátor felgyorsítja. Meg tudtuk mutatni, hogy a H_2 gáz fejlődése nem a nitrogén redukció katalitikus ciklus elején megjelenő közttermékekhez köthető,¹⁸ és javaslatot tettünk az autokatalitikus HER ciklusra, melynek során a katalizátor egy H_2 molekulát köt meg, és a hidrogén kötött komplex protonálódása további H_2 molekulák képződését katalizálja, ezzel egyrészt elfogyasztva a reagenseket, másrészt deaktiválva a katalizátort.¹⁹ Ennek a munkának az oroszlán részét Benedek Zsolt doktoráns és Papp Marcell hallgató végezte, akik egyedüli módon megalkották a katalizátor működésének mikrokinetikai modelljét is.¹⁹



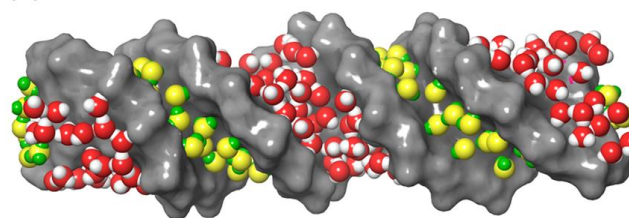
12. ábra. A nitrogénredukciós és a javasolt autokatalitikus HER ciklus kapcsolata

A mikrokinetikai modellünk alapján kulcsfontosságúnak tűnik a HER reakció gátlása a katalitikus teljesítmény növeléséhez, ezért modellezés segítségével számos módosítást végeztünk a katalizátoron. Sajnos sem az foszforhoz kapcsolódó izopropilcsoportok módosítása, sem a fenilgyűrűk szubsztitúciója nem vezetett a HER reakció visszaszorításához, mivel a N_2 és H_2 nagyon hasonló módon kötődik a komplexhez, s változtatások egyszerre növelik vagy csökkentik mindkét gáz affinitását a katalitikus centrumhoz.²⁰ Tanulmányoztuk az axiális ligandum hatását is, de annak lecserélése Lewis bázis karakterű N vagy P atomokra várhatóan csak tovább rontaná a katalizátor működését. Jonas Peters csoportja egy igen érdekes megoldást javasolt a HER reakció elkerülésére: a molekuláris katalizátort egy elektrokatalitikus kokatalizátorral kombinálják, így segítve a N-H kötések kialakulását.²¹

3.6. Biomolekulák hidrátburka

A HUN-REN kutatóközpontban Prof. Bakó Imrével közösen elegyek és biomolekulák hidrátburkát is vizsgáltuk. Molekuladinamikai szimulációk során szerkezetek sokaságát állítottuk elő, és górcső alá vettük a víz és a metanol,²² valamint biomolekulák (inzulin fehérje²³ és egy DNS fragmens²⁴) körül kialakuló hidrogénkötéses hálózatokat. Ezek az analízisek a hidrogén kötések számának, erősségének,

eloszlásának és a hálózatok perkolációs tulajdonságainak statisztikai vizsgálatán alapultak. A tömbfázisú metanol és víz hidrogénkötéses hálózatai nagyon eltérőek, metanolban sok a hosszú, lineáris hidrogénkötéses lánc, ezzel szemben vízben gyakoriak a különböző méretű gyűrűs szerkezetek.²² Az inzulín fehérje körüli hidrogénkötéses hálózat vizsgálata rámutatott, hogy a második víz réteg a fehérje körül különleges tulajdonságokkal bír, amely abból ered, hogy az első hidrátburok és a tömbfázisú víz tulajdonságai közötti átmenetet biztosítja.²³ A DNS fragmens vizsgálata során talán legérdekesebb (bár nem biztos, hogy meglepő) az, hogy statisztikailag és szerkezetileg is kimutathatóan eltér a DNS kis és nagy árkaiban elhelyezkedő víz szerkezete (13. ábra).²⁴ A kisárokban gyakorlatilag egy hosszú hidrogénkötéses vízláncolat található, a nagyárokban viszont a víz szerkezet jobban hasonlít a tömbfázisú víz szerkezetére.



13. ábra. DNS molekula árkaiban hidratációja.

Kép forrása: Fig. 6. a Theoretical insights into water network of B-DNA duplex with Watson-Crick and Hoogsteen base pairing geometries

A. M. Rozza, I. Bakó, J. Oláh

Journal of Molecular Liquids 362, 119728 cikkben

4. Összefoglalás

Az elmúlt 16 évben a BME Szervetlen és Analitikai Tanszékén dolgozva lehetőségünk nyílt arra, hogy sokféle rendszer tulajdonságaiba bepillantást nyerjünk, módszereket próbálgassunk és hazai és nemzetközi együttműködések alakítsunk ki. A rendszerek sokfélesége a kémia szépségéről és érdekességéről, hasznosságáról árulkodik számunkra, és bízunk benne, hogy a jövő is hasonlóan érdekes vizsgálandó kérdéseket és problémákat tartogat számunkra.

Köszönetnyilvánítás

OJ hálás a BME VBK és különösen a Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék támogatásáért, és minden volt és jelenlegi hallgatójának, doktoránsainak, Krámos Baláznak, Krezinger Anikónak, Benedek Zsoltnak, Ahmed M. Rozzának, Joseph Kfoury-nak, Neil R. McFarlane-nek, valamint Yang Mengnek, Luo Shengnek és Noor Al-Deebnek, a sokévnnyi közös munkáért. OJ köszöni a Richter Gedeon Talentum Alapítvány, és a Tempus közalapítvány doktori ösztöndíj formájában nyújtott támogatását, a CELSA pályázat (CELSA/19/017), a BME Vissza a Tudományba pályázatának, az MTA Kisgyermekeket nevelő kutatókat támogató pályázatának, és az NKFIH (HunProtExc, NKFIH: no. 2018-1.2.1-NKP-2018-00005) és NKFIH K 146661 pályázatainak anyagi támogatását.

Hivatkozások

- Andreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G. L. & Thornton, J. M. Metal ions in biological catalysis: From enzyme databases to general principles. *J. Biol. Inorg. Chem.* 13, 1205–1218 (2008).
<https://doi.org/10.1007/s00775-008-0404-5>
- Oláh, J., Mulholland, A. J. & Harvey, J. N. Understanding the determinants of selectivity in drug metabolism through modeling of dextromethorphan oxidation by cytochrome P450. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 6050–6055 (2011).
<https://doi.org/10.1073/pnas.1010194108>
- Krámos, B. & Oláh, J. Enolization as an Alternative Proton Delivery Pathway in Human Aromatase (P450 19A1). *J. Phys. Chem. B* 118, 390–405 (2014).
<https://doi.org/10.1021/jp407365x>
- Krámos, B. & Oláh, J. The mechanism of human aromatase (CYP 19A1) revisited: DFT and QM/MM calculations support a compound I-mediated pathway for the aromatization process. *Struct. Chem.* 26, 279–300 (2015).
<https://doi.org/10.1007/s11224-014-0545-9>
- Lábas, A., Krámos, B. & Oláh, J. Combined Docking and Quantum Chemical Study on CYP-Mediated Metabolism of Estrogens in Man. *Chem. Res. Toxicol.* 30, 583–594 (2017).
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00330>
- Benedek, Z., Girt, P. & Oláh, J. The Reactivity of Human and Equine Estrogen Quinones towards Purine Nucleosides. *Symmetry (Basel)* 13, 1641 (2021).
<https://doi.org/10.3390/sym13091641>
- Lábas, A., Menyhárd, D. K., Harvey, J. N. & Oláh, J. First Principles Calculation of the Reaction Rates for Ligand Binding to Myoglobin: The Cases of NO and CO. *Chem. - A Eur. J.* 24, 5350–5358 (2018).
<https://doi.org/10.1002/chem.201704867>
- Rozza, A. M., Menyhárd, D. K. & Oláh, J. Gas sensing by bacterial H-NOX proteins: An MD study. *Molecules* 25, 1–19 (2020).
<https://doi.org/10.3390/molecules25122882>
- Rozza, A. M., Papp, M., McFarlane, N. R., Harvey, J. N. & Oláh, J. The Mechanism of Biochemical NO-Sensing: Insights from Computational Chemistry. *Chem. - A Eur. J.* 28, (2022).
<https://doi.org/10.1002/chem.202200930>
- McFarlane, N. R., Gui, J., Oláh, J. & Harvey, J. N. Gaseous inhibition of the transsulfuration pathway by cystathionine β -synthase. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 26, 16579–16588 (2024).
<https://doi.org/10.1039/D4CP01321B>
- Palló, A. és mtsai. Structural and energetic basis of isopropylmalate dehydrogenase enzyme catalysis. *FEBS J.* 281, 5063–5076 (2014).
<https://doi.org/10.1111/febs.13044>
- Grácz, É. és mtsai. Glutamate 270 plays an essential role in K⁺-activation and domain closure of Thermus thermophilus isopropylmalate dehydrogenase. *FEBS Lett.* 589, 240–245 (2015).
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.005>
- Grácz, É. és mtsai. Dual Role of the Active Site Residues of Thermus thermophilus 3-Isopropylmalate Dehydrogenase: Chemical Catalysis and Domain Closure. *Biochemistry* 55, 560–574 (2016).
<https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00839>
- Xue, S. és mtsai. Spin Crossover Behavior in a Homologous Series of Iron(II) Complexes Based on Functionalized Bipyridyl Ligands. *Inorg. Chem.* 57, 9880–9891 (2018).
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b00850>
- Li, W. és mtsai. A spin crossover FeII4L6 cage based on pyridyl-hydrazone sites. *Chem. Commun.* 58, 11653–11656 (2022).
<https://doi.org/10.1039/D2CC04476E>
- Li, W. és mtsai. Spin-state versatility in FeII4L 6 supramolecular cages with a pyridyl-hydrazone ligand scaffold modulated by solvents and counter anions. *Dalt. Trans.* 53, 1449–1459 (2024).
<https://doi.org/10.1039/D3DT02474A>
- Benedek, Z., Papp, M., Oláh, J. & Szilvási, T. Identifying the Rate-Limiting Elementary Steps of Nitrogen Fixation with Single-Site Fe Model Complexes. *Inorg. Chem.* 57, 8499–8508 (2018).
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b01183>
- Benedek, Z., Papp, M., Oláh, J. & Szilvási, T. Exploring Hydrogen Evolution Accompanying Nitrogen Reduction on Biomimetic Nitrogenase Analogs: Can Fe–N x H y Intermediates Be Active Under Turnover Conditions? *Inorg. Chem.* 58, 7969–7977 (2019).
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00719>
- Benedek, Z., Papp, M., Oláh, J. & Szilvási, T. Demonstrating the Direct Relationship between Hydrogen Evolution Reaction and Catalyst Deactivation in Synthetic Fe Nitrogenases. *ACS Catal.* 10, 12555–12568 (2020).
<https://doi.org/10.1021/acscatal.0c02315>
- Kfoury, J., Benedek, Z., Szilvási, T. & Oláh, J. H₂ and N₂ Binding Affinities Are Coupled in Synthetic Fe Nitrogenases Limiting N₂ Fixation. *Organometallics* 41, 1134–1146 (2022).
<https://doi.org/10.1021/acs.organomet.1c00681>
- Garrido-Barros, P., Derosa, J., Chalkley, M. J. & Peters, J. C. Tandem electrocatalytic N₂ fixation via proton-coupled electron transfer. *Nature* 609, 71–76 (2022).
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05011-6>
- Bakó, I. és mtsai. Hydrogen bond network topology in liquid water and methanol: a graph theory approach. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15, 15163 (2013).
<https://doi.org/10.1039/c3cp52271g>
- Lábas, A., Bakó, I. & Oláh, J. Hydration sphere structure of proteins : A theoretical study. *J. Mol. Liq.* 238, 462–469 (2017).
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.05.038>
- Rozza, A. M., Bakó, I. & Oláh, J. Theoretical insights into water network of B-DNA duplex with Watson-Crick and Hoogsteen base pairing geometries. *J. Mol. Liq.* 362, 119728 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119728>

Transition metals in (bio)catalysis: How can computational chemistry contribute?

In the Computational Bioinorganic Chemistry Group in the Department of the Analytical and Chemistry of the Faculty of Chemical Technology and Biotechnology of the Budapest University of Technology and Economics we have been using computational tools for the past 16 years to gain insight into versatile chemical and biochemical processes. Our most important tools are quantum chemical calculations, molecular dynamics

simulations and combined quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) calculations. In the current publication we touch upon our work done in the field of (1) drug metabolizing cytochrome P450 enzymes (2) interactions of heme proteins with gas molecules (3) the isopropyl-malate dehydrogenase enzyme (4) spin crossover compounds (5) biomimetic catalysts for nitrogen fixation (6) hydration sphere structure of biomolecules.

Fenntartható műanyagok kutatása: anyagtudomány a zöldebb jövőért

SZOLNOKI Beáta,^{a,*} DECSOV Kata Enikő,^a NGUYEN Thanh Thuy Tien,^a ÖTVÖS Bettina,^a
SLEZÁK Emese^a és BOCZ Katalin^a

^aSzerves Kémia és Technológia Tanszék, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Műgyetem rkp. 3. 1111 Budapest

1. Bevezetés

A modern ember élete nem képzelhető el polimerek használatával; a mindennapi életünkben mindenhol jelen vannak. Találkozhatunk velük a háztartásunkban, ruházatunkban, elektronikai alkalmazásokban, közlekedésben, sporteszközökben, csomagolásokban stb. Az óriási igény miatt a polimereket nem lehet kivonni az életünkből, de megpróbálhatjuk fenntartható módon használni őket.

Jelen írásban két lehetséges megközelítést tárgyalunk. Az első a már előállított anyagok újrahasznosítása, mivel a műanyagok felhasználásának dinamikus növekedésével párhuzamosan a belőlük keletkező hulladék mennyisége is folyamatosan nő. Az Európai Unió által is szorgalmazott körkörös gazdasági modell kiemelt figyelmet fordít a műanyag-hulladék kezelésére és a körkörös műanyag-gazdaság megteremtésére. Ennek egyik módja a mechanikai újrahasznosítás, amely bár költséghatékony technológia, ám csak jó minőségű hulladékfrakciók feldolgozására alkalmas.

Kutatócsoportunk célja, hogy különböző forrásokból származó poli(etilén-tereftalát) (PET) hulladékfrakciókból olyan fenntartható alapanyagokat állítsunk elő, amelyek nemcsak újrafeldolgozhatóak, hanem értéknövelt termékek gyártására is alkalmasak. A PET értéknövelő újrahasznosítást célzó kutatási területeink a teljes újrahasznosítási ciklust lefedik; új hulladékanalitikai módszerek kifejlesztésétől kezdve, a hulladékfrakciók gazdaságos újrafeldolgozását lehetővé tevő új technológiák kidolgozásán át, egészen a funkcionális termékjellemzők – mint pl. hőállóság, ütőszilárdság, lángállóság, súlycsökkentés, hőszigetelő-képesség és további előnyös tulajdonságok – kialakításáig terjednek.

A másik megközelítés a megújuló alapanyagokból származó és potenciálisan biológiailag lebomló polimer anyagok fejlesztése, amelyek termikus- és mechanikai szempontból valódi alternatívát jelenthetnek a jelenleg használt műanyagokkal szemben. A biopolimerek fejlesztése és kutatása napjainkban túltekint az egyszer használatos tárgyak – például csomagolóanyagok és evőeszközök – területén, és egyre nagyobb hangsúlyt kap a tartós, műszaki alkalmazásokban való felhasználásuk. Ezek a környezetbarát alap-

anyagok képesek lehetnek helyettesíteni a hagyományos kőolaj-alapú műanyagokat számos ipari alkalmazásban, miközben csökkentik a környezetszennyezést és az ökológiai lábnyomot, valamint lehetőséget teremtenek a biológiailag lebomló termékek fejlesztésében. Ezen anyagok iránt növekvő ipari és tudományos érdeklődés hosszú távon kulcsfontosságú az élhetőbb és fenntarthatóbb társadalom megteremtéséhez. A hőre lágyuló polimerek esetében a poli(tejsav) (PLA) dominanciája nyilvánvaló, és vannak más, széles körben elérhető bioműanyagok is (pl. poli(butilén-szukcinát) (PBS)). A hőre keményedő műanyagok esetében, bár sok kutatás történt, még nincs nyilvánvaló alternatíva a kőolajalapú gyanták kiváltására.

A biopolimerek égésgátlásának fejlesztése fontos lépés ahhoz, hogy ezek az anyagok valóban versenyképes alternatívát jelentsenek az elterjedten alkalmazott hagyományos műanyagokkal szemben a műszaki és ipari alkalmazásokban. A biopolimerek gyakran alacsonyabb hőállósággal rendelkeznek, és gyúlékony természetüknél fogva korlátozott a használatuk szigorú tűzbiztonsági előírásokkal szemben, ezért égésgátlásuk elengedhetetlen.

Jelen közleményben a kutatócsoportunkban az elmúlt években végzett, a fenntarthatóságot és biztonságot szem előtt tartó kutatási eredményeinket mutatjuk be.

2. PET értéknövelő újrahasznosítása

2.1. Hulladékanalízis

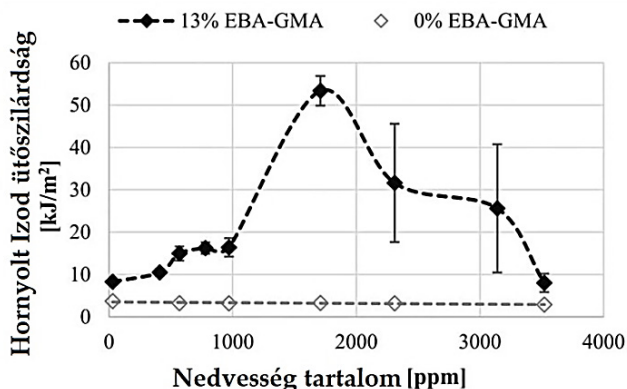
A hatékony mechanikai újrahasznosításhoz fontos ismerni a hulladékfrakció tulajdonságait. A viszkozitás, illetve az abból számolható molekulatömeg alapján következtethetünk a PET és más poliszterek degradáltságára. Az oldatviszkozitás méréséhez azonban egészség- és környezetkárosító vegyszerek szükségesek. Ezzel szemben, egy olyan differenciál pásztázó kaloriméterrel (DSC) elvégezhető termoanalitikai módszert dolgoztunk ki, amely izoterm kristályosításon alapul, oldószermentes, és alkalmas ismeretlen előéletű PET-minták molekulatömegének becslésére is.¹ A módszer alkalmazásával gazdaságos újrahasznosítási stratégia tervezhető az egyes hulladékfrakciókra.

* Szolnoki Beáta. Tel.: +36 1 463 1111/5899; e-mail: szolnoki.beata@vbk.bme.hu

2.2. Értéknövelő módosítások

Korábbi kutatómunkánk során hatékony szívósítást értünk el etilén-butil-akrilát-glicidil-metakrilát elasztomer (EBA-GMA) hozzáadásával, mind eredeti (OPET), mind újrahasznosított (RPET) poli(etilén-tereftalát) esetében. Megállapítottuk, hogy az újrahasznosított alapanyaghoz mintegy 50%-kal kevesebb elasztomer is elegendő az ütőszilárdság ugrásszerű növeléséhez, mint az eredeti polimermátrix esetén. Ennek oka, hogy a láncvégi reaktív hidroxil- és karboxilcsoportok száma nő a hosszabb molekulaláncok tördelődésével, így több ponton alakul ki kovalens kötés a PET és az EBA-GMA felnyíló epoxi csoportjai között.²

Továbbá megkérdőjeleztük a műanyagfeldolgozás egyik elterjedt koncepcióját, miszerint a PET-et feldolgozás előtt mindig alaposan ki kell szárítani. A reaktív szívósítás során ugyanis a kis mennyiségű víz jelenléte elősegíti a polimer hidrolitikus degradációját a feldolgozási hőmérsékleten (250–270 °C), ezáltal növelve a láncvégi funkciós csoportok számát. Rámutattunk, hogy azonos EBA-GMA tartalom (pl. 13 m/m%) mellett az ütőszilárdság többszörösére növelhető a megfelelő – 1700 ppm körüli – nedvességtartalom beállításával (1. ábra).³

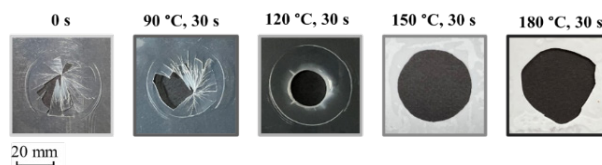


1. ábra. A víztartalom hatása az RPET/EBA-GMA-keverékek ütőszilárdságára³

Műszaki cikkek és hőálló csomagolóanyagok esetén az ütőszilárdság és a hőállóság egyidejű javítása nagy kihívást jelent, főként újrahasznosított PET esetén. Ezért az EBA-GMA-val történő szívósítást követően az RPET-lapkákat hőkezelésnek vetettük alá 150 °C-on, különböző időtartamokig (0-20-40-60-180 s). Rövidebb hőkezelési idő mellett az ütőszilárdság még kismértékben javult is, míg hosszabb hőkezelést követően jelentős növekedést tapasztaltunk a hőállóságban (90 °C-on mért tárolási modulusz) és a merevségben, miközben az ütőszilárdság továbbra is megfelelő értéket mutatott.⁴

A hőálló csomagolóanyagok fejlesztését erősítve extrudált lemezeket készítettünk RPET-ből, és vizsgáltuk a hőkezelési idő és hőmérséklet hatását a mechanikai és termikus

jellemzőkre. Az alacsonyabb kezelési hőmérsékletek (90–120 °C) javult szívósságot eredményeztek a rideg amorf fázis (RAF) devitrifikációjának következtében, míg a magasabb hőmérsékletek (150–180 °C) a kristályos és rideg amorf fázis arányának növekedését eredményezték, amely a hőállóság és a merevség jelentős javulásában nyilvánult meg (2. ábra).⁵

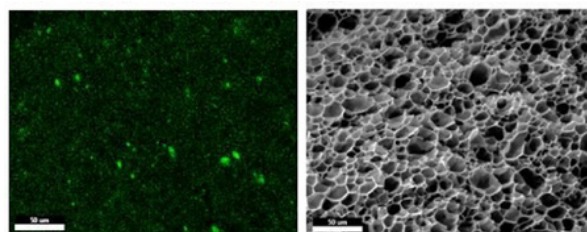


2. ábra. Az RPET-lemezek képe a műszerezett ejtődárdás ütvizsgálatot követően⁵

Olyan fröccsönthető RPET nanokompozitokat fejlesztettünk ki elektronikai alkalmazásokhoz, amelyek csökkentett éghetőséggel és kiváló mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek.⁶

2.3. Feldolgozástechnológiai eredmények

Sikeresen gyártottunk RPET-ből égésgátolt mikrocellás habtermékeket szuperkritikus CO₂-dal végzett extrudálással,⁷ valamint batch habosítási technológiával (3. ábra).⁸ Demonstráltuk az RPET-habgyártás közeli-infravörös (NIR) spektroszkópián alapuló in-line minőségellenőrzését.⁹



3. ábra. Égésgátolt RPET-hab SEM-képe és a foszfor elemanalízisének eredménye⁸

Az extrúzió és fröccsöntés mellett az additív gyártástechnológiák, többek között a 3D-nyomatás szerepe is egyre jelentősebb. RPET és EBA-GMA felhasználásával sikeresen gyártottunk filamentet, abból pedig jó minőségű 3D-nyomatott próbatesteket.¹⁰ Az elasztomer jelenléte hozzájárult a ridegség csökkenéséhez, amely megkönnyítette a gyártási folyamatot.

Az RPET-alapú alapanyagok esetén is fontos az újrafeldolgozhatóság. Ezért megvizsgáltuk az RPET/EBA-GMA rendszerek mechanikai újrahasznosíthatóságát. A második feldolgozási ciklust követően az ütőszilárdság csökkent, de más mechanikai jellemzőknél inkább javulást tapasztaltunk.¹¹

3. Biopolimerek és égésgátló anyagok előállítása megújuló nyersanyagforrásból

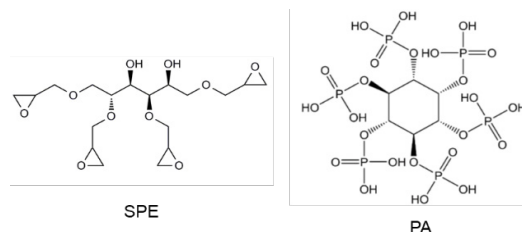
Korábban halogénezett égésgátlók használata volt elterjedt, mivel kis mennyiségben is hatékonyan tudták csökkenteni az anyagok éghetőségét. Ám az elmúlt évtizedekben ezek a vegyületek egyre inkább háttérbe szorultak környezeti és egészségügyi aggályok miatt, mert égésük során korrozív és mérgező gázok képződnek, amelyek károsak a környezetre és az emberi egészségre egyaránt. Kutatócsoportunk az égésgátló tulajdonságok fenntartható módon történő javítását célozta meg, nem toxikus, környezetbarát és fenntartható forrásból származó adalékanyagokkal. Ezen irányú fejlesztések nemcsak növelik a biopolimerek alkalmazhatóságát, hanem elősegítik a biztonságos, hosszú élet-tartalmú és zöld anyagok szélesebb körű elterjedését, így támogatva a fenntartható ipari fejlődés megvalósítását. A megújuló nyersanyagokat számos esetben biológiai forrásokból állítják elő. Például az alginátok a barna hínárokból,¹² a fitinsav pedig a hüvelyesekben és az olajos magvak héjában megtalálható vegyületek.¹³ A természetben is megtalálható adalékanyagok további előnye, hogy mivel maguk is lebonthatóak, biodegradálható mátrixban való alkalmazásukkal megtarthatjuk az eredeti polimer mátrix – például a politejsav – biodegradálható tulajdonságát, mely biztosítja a hatékony hulladékgazdálkodás lehetőségét.

Az egyik legelterjedtebben alkalmazott égésgátló típust az ún. felhabosodó rendszerek jelentik. Ezek az intumeszcens rendszerek tartalmazznak egy szenesedő komponenst, egy savforrást és egy gázképző komponenst. A működési mechanizmus szerint a műanyag égésekor hő hatására a savforrásból keletkező savak szenesíteni kezdik a szénforrást és a – rendszerint nitrogén tartalmú – gázforrásból származó gáz habot képez a szenesedő komponensből keletkező szénréteggel. A szenes habréteg részlegesen gátolja a hő- és gáz-, köztük az oxigéntranszportot is a láng és a kondenzált fázis között. Szenesedő komponensként korábban gyakran alkalmaztak pentaeritritet, azonban napjainkban ezt a petrokémiai terméket egyre többször zöld alapanyagok – például, keményítő, cellulóz vagy alginátok – helyettesítik.^{14,15} A savforrások közül a foszfor tartalmú vegyületek mutatják a legnagyobb hatékonyságot.^{16,17} A szenes habréteg merevségét tovább fokozhatja, amennyiben szilícium-vegyületeket, illetve különböző fémsókat alkalmazunk, melyekből az égés során szilikátok és szilícium-foszfátok, illetve fém-oxidok és fém-karbonátok képződhetnek. Mivel ezek igen magas hőmérsékletig stabil vegyületek – az erősítő hatás mellett – a szenes maradék mennyiségét is növelik, valamint ezzel párhuzamosan csökkentik az éghető anyag hányadát.¹⁴

3.1. Hőre keményedő rendszerek égésgátlása

A hőre keményedő anyagok égésgátlása különösen fontos, mivel ezeket az anyagokat széles körben alkalmazzák olyan területeken, ahol magas hő- és mechanikai terhelésnek vannak kitéve. A hőre keményedő műgyanták, mint például az epoxigyanták és a fenolgyanták, éghetőek, ezért égésgátló adalékanyagokat vagy szerkezeti módosításokat alkalmaz-

nak a tűzbiztonság javítása érdekében. Kutatásunk során a vízbázisú rendszerek előnyeire építve előállítottunk egy teljesen bioalapú, égésgátló epoxigyantát, szorbit-poliglicidil-éter (SPE) és fitinsav (PA) alkalmazásával (4. ábra), ahol az utóbbi magas foszfor-tartalma miatt előnyös lehet az égésgátlási tulajdonságokat tekintve.¹⁸



4. ábra. Szorbit-poliglicidil-éter (SPE) és fitinsav (PA) szerkezete

A foszfor tartalmú égésgátlók előállítása számos esetben nem környezetbarát módon történik. Ezzel szemben a kutatócsoportunk környezetbarát módon – foszfor-pentoxid és alkoholok addíciós reakciójával – állított elő foszfor tartalmú vegyületeket, melyek melamin sóit égésgátló adalékként alkalmazva hatékonyan fokozták a szenesedést epoxi gyan-ta mátrixban. Az előállított vegyületek egy másik lehetséges hasznosítása a prekursoroként való alkalmazás cellulóz szálak szilános reaktív felületkezelése során. A foszfor tartalmú szilánok képesek a természetes szálak – mint például a cellulóz – hidroxil csoportjaival kötések létrehozni. A foszfor tartalmú szilánt és a cellulózt 1:1 tömegarányban reagáltatva termikusan stabil égésgátló adalék keletkezik, mely a leggyakrabban használt termoplasztikus polimer rendszerekben feldolgozható.¹⁹

3.2. Bioalapú égésgátlók előállítása és vizsgálata

Az adalékanyagok nitrogén és foszfor-tartalmú vegyületekkel történő felületkezelése, illetve szilánózása hatékony módszerek az égésgátló hatás javítására. Nátrium-alginát foszforos szilánnal (PSil) való, vizes fázisú felületkezelésével, majd a termék kalcium-ionokkal történő kicsapásával olyan égésgátló adalék hozható létre, melyet ammónium-polifoszfátot (APP) tartalmazó politejsav mátrixú kompozitban alkalmazva az égés során mért hőkibocsátás és füstképződés jelentősen kisebb, mint a csak APP-t tartalmazó kompozit esetében. A felületkezelés hatására összefüggő, bliszter szerű szerkezet jön létre a szenes maradványban, ami erősítő hatást gyakorol a szenes habrétegre és megnöveli annak termikus stabilitását. Továbbá az égés során képződő szervesetlen szilikátok és kalcium-sók tovább erősítik a szenes réteg szerkezetét (5. ábra).¹⁴

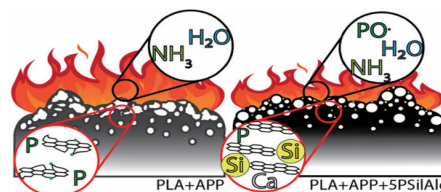


Figure 12. Schematic representation of the mechanism of APP-PSilAlg flame retardant system.

5. ábra. A PSil-lel kezelt alginátot és APP-t tartalmazó rendszer égésgátló mechanizmusának sematikus ábrája¹⁴

Sok esetben a reaktív módosítás mellett a fizikai módosítás is nagy szerepet játszik a megfelelő égésgátló hatás kiváltásában. Korábbi munkánk során 15 tömeg% APP mellett 3 tömeg%-ban a keményítő enzimatis le bomlása során képződő ciklikus oligoszacharidokat – ciklodextrineket – alkalmaztunk politejsav égésgátlására. A 2-hidroxipropil- β ciklodextrin (HP- β -CD) vizes oldatából nagysebességű elektrosztatikus szálképzéssel (HSES) előállított mikroszálak önmagukban, és foszforos szilánnal (PSil) módosított ciklodextrin alkalmazása esetén is jobb eredményeket mutattak, mint a kezeletlen és PSil-lel kezelt por formában alkalmazott adalékok. Ennek a hatásnak a fő oka a nagyobb fajlagos felület, melynek köszönhetően az adalékanyag jobban eloszlik a polimerben és a nagyobb határfelület és jobb fizikai kölcsönhatások miatt hatékonyabban fejti ki a hatását. Mind a szálak szerkezete, mind a PSil-lel történő kezelés fokozza a ciklodextrin adalék és a szénese réteg termikus stabilitását és jelentősen növeli az oxigén index (LOI) értékét (6. ábra).^{20,21}

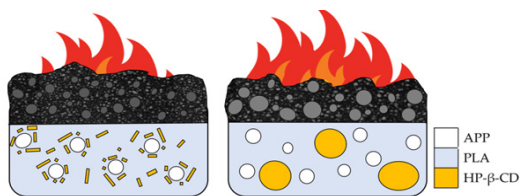


Fig. 13. Schematic representation of the flame retardancy mechanism.

6. ábra. A szálak és a por formában alkalmazott kezeletlen HP- β -CD mechanizmusa²⁰

Az alaki tényező a fajlagos felület hatásán kívül más módon is befolyásolhatja a termék tulajdonságait. Az égésgátló hatékonyságot rontó kanóc hatás a természetes szálak – például a cellulóz – alkalmazása esetén gyakran fellépő jelenség. A kanóchatás mértéke elsősorban a nagyobb hosszúságú szálak esetén jelentős. A kezeletlen és a nitrogén és foszfor tartalmú vegyületekkel égésgátlott cellulóz szálakat 15 tömeg% melamin polifoszfát (MPP) alkalmazása mellett vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a megfelelő szénese eléréséhez legalább 10 tömeg% cellulóz tartalomra van szükség a politejsav mátrixú kompozitban. Az égésgátló kezelés a kanóchatást nem mérsékelte, azonban csökkentette az éghető gázok kibocsátását az égés során és fokozta a szénese dést. A kanóc hatás miatt a leghosszabb cellulózt tartalmazó kompozitok 2%-kal kisebb oxigén index (LOI) értékkel rendelkeztek, mint a legrövidebb szálakat tartalmazó kompozitok. A különböző hosszúságú cellulóz mikroszálak vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a vizsgált méretek közül a közepes hosszúságú szálak alkalmazása eredményezte a leghatékonyabb égésgátló hatást, mivel ezeknél a szénese habréteget erősítő hatás és az égésgátlást mérséklő kanóc effektus optimális arányban fejtették ki a hatásukat.²²

A természetes szálerősítésű kompozitok esetében az égésgátló kezelés a határfelületi kölcsönhatásokat is befolyásolhatja. Sima szövésű len szövetből és politejsav filmből felépülő, többrétegű biokompozit tulajdonságait vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a szövet diammónium-polifoszfáttal és

karbamiddal való kezelésének, valamint a politejsav ammónium-polifoszfát tartalmának optimalizálása a mechanikai tulajdonságok és az égésgátoltság együttes javulását eredményezheti. A kompozit összetevőinek együttes égésgátlása jelentősen jobb eredményeket adott, mint amikor csupán az erősítő réteggént jelen levő len szövet vagy a PLA mátrix volt égésgátolva. A vártnál jobb eredményeket a mátrixban és az erősítő anyagban is jelen levő foszfátok hatására kialakított erősebb határfelületi kölcsönhatások okozhatták.²³

3.3. Égésgátló rendszerek módosítása

Az adalékanyagok felületi tulajdonságainak módosítására az egyik leghatékonyabb módszer a mikrokapszulázás, mely során egy külső héj kialakításával változtatjuk meg a határfelületi kölcsönhatásokat.²⁴

Ammónium-polifoszfát (APP) égésgátlót szorbit poliglicidil-éter-alapú bioepoxi gyantával mikrokapszulázva az APP betölti a savforrás és a gázképző szerepét, míg a bioepoxi héj szénese dő komponensként van jelen az égésgátló rendszerben, így egyetlen adalékkal bevihető a teljes felhabosodó égésgátló rendszer a polimer mátrixba. A mikrokapszulázott APP-t politejsav mátrixban alkalmazva azt tapasztaljuk, hogy a bioepoxi héj réteg csökkenti a kompozit rendszer vízerzékenységét és fokozza a szénese dő képességét az adalékként csupán APP-t tartalmazó kompozit-hoz képest.²⁵ Ez a rendszer a későbbiekben polipropilénben is hatékonyan bizonyult, és adalékok fizikai keverékének használatához viszonyítva, a mikrokapszulázott adalék alkalmazásakor a polipropilén kompozit égési intenzitása csökkent, a szénese maradék mennyisége pedig nőtt. A kedvezőbb tulajdonságok oka az APP mag és a szénese dő héj közötti jó kölcsönhatásoknak köszönhető.²⁶

Egy új, potenciálisan megújuló forrásból előállítható poliol komponenssel készült poliuretán héjjal mikrokapszulázott ammónium-polifoszfátot (GS-MCAPP) is előállítottunk. A peremszög mérésnél a mikrokapszulázott részecskék hidrofób karaktert mutattak a kezeletlen részecskékhez viszonyítva, amely hidrofób polimerekben alkalmazva előnyös lehet. A mikrokapszulák hatékonyságát PLA és PP polimerekben vizsgáltuk. Az égés utáni szénese maradékot Raman mikrospektrométerrel is megvizsgáltuk, ahol azt tapasztaltuk, hogy a mikrokapszula hatására a rendezett szénese szerkezet aránya magasabb. SEM felvételeken a szénese réteg keresztmetszetén látható, hogy a mikrokapszulás minta szénese szerkezete vastagabb és robusztusabb, bizonyítva a jobb szénese dést. Ezek az eredmények bizonyítják, hogy a poliuretán héjjal mikrokapszulázott ammónium-polifoszfát megfelelően tudja a szénese dő komponenszt beépíteni az égésgátolt rendszerbe, így csökkentve a polimer éghetőségét.²⁷

Bár a mikrokapszulázott APP égésgátlók hatékonyan bizonyultak PLA égésgátlásában, a szakirodalomban gyakran alkalmaznak különböző agyagásványokat szinergistaként, melyek elsődleges feladata a polimerre jellemző csepegé-

si hajlam csökkentése. Szisztematikus vizsgálatsorozatot végeztünk az agyagásványok típusa, felületkezelése és koncentrációja hatásának azonosítása érdekében. A montmorillonit és a szepiolit agyagásvány adalék esetében alkalmazott szerves felületkezelés megnövelte a kölcsönhatást a fázisok között a dinamikus mechanikai analízis (DMA) vizsgálatok tanúsága szerint, mégis az égésgátolt minták éghetőségi vizsgálata során eltérő eredményeket kaptunk a két agyagásvány esetében. A lemezszerű montmorillonit vonatkozásában kísérletileg igazoltuk azt a korábban feltetelezett mechanizmust miszerint égésgátló hatékonyságát az égés során a polimer felületére migrálva fejt ki. Az elszéneseedett védőréteg elemanalízises térképezése során kimutattuk, hogy a montmorillonit felületkezelése – a politejsav mátrixszal megnövekedett kompatibilitása következtében – gátolja a migrációt. A szálszerű szepiolit esetében az organofilizálás megnövelte migrációt a felszínre, amely kimagasló égésgátlást eredményezett a kónikus kaloriméterben meghatározott jellemzők tanúsága szerint.²⁸

4. Összefoglalás, új kutatási irányok

Eddigi kutatásaink során számos lehetőséget feltártunk a különböző polimer rendszerek fenntarthatóbbá és biztonságosabbá tételére, azonban a munka még nem ért véget. Terveink között szerepel az újrahasznosított műanyag termékek tulajdonságainak testesztelését lehetővé tevő, szabályozott újrahasznosítási technológiák fejlesztése, továbbá új, többszörös újrafeldolgozhatóságot biztosító RPET-alapú dinamikus térhálós szerkezetek (vitrimerek) fejlesztése.

Célunk továbbá, hogy a környezetbarát és biztonságos anyagok kutatásán keresztül elősegítsük a fosszilis alapú műanyagok és adalékanyagok gyártásának kiváltását megújuló nyersanyagforrások minél nagyobb arányú felhasználásával.

A polimerek égésgátlásának területén további innovatív fejlesztésekre van szükség, amelyek növelik a korszerű (foszfortartalmú) égésgátlók hatékonyságát, miközben megőrzik, vagy akár fokozzák azok környezet- és egészségvédelmi előnyeit.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik a támogatást a TKP2021-NVA-02, valamint a GINOP_PLUSZ-2.1.1-21-2022-00041 projekteknek, valamint a Bolyai János Kutatási Ösztöndíjnak.

A KDP-IKT-2023-900-I1-00000957/0000003 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2023 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

A Doktoranduszi Kiválósági Ösztöndíj Program (DKÖP) által támogatott projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs

Alapból nyújtott, valamint a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem támogatása alapján valósult meg.

Hivatkozások

- Ronkay, F.; Slezák, E.; Gere, D.; Lukács, N.; Gyalai-Korpos, M.; Molnár, D. A.; Bocz, K. Thermoanalytical Approach to Assess Riverine PET Litter and Its Recycling Potential. *Sci. Rep.* **2025**.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-94925-y>
- Bocz, K.; Ronkay, F.; Decsov, K. E.; Molnár, B.; Marosi, G. Application of low-grade recycle to enhance reactive toughening of PET. *Polym. Degrad. Stab.* **2021**, *185*, 109505.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109505>
- Ronkay, F.; Molnár, B.; Szabó, E.; Marosi, G.; Bocz, K. Water boosts reactive toughening of PET. *Polym. Degrad. Stab.* **2022**, *203*, 110052
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.110052>
- Slezák, E.; Ronkay, F.; Bocz, K. Development of an engineering material with increased impact strength and heat resistance from recycled PET. *J. Polym. Environ.* **2023**, *31*, 5296–5308.
<https://doi.org/10.1007/s10924-023-02945-4>
- Ronkay, F.; Gere, D.; Slezák, E.; Szabó, E.; Marosi, G.; Bocz, K. Recycled PET Packaging Materials of Improved Toughness - Importance of Devitrification of the Rigid Amorphous Fraction. *Macrom. Mater. and Eng.* **2025**, *310*, 1–10.
<https://doi.org/10.1002/mame.202400219>
- Ronkay, F.; Molnár, B.; Szalay, F.; Nagy, D.; Bodzay, B.; Sajó, I. E.; Bocz, K. Development of Flame-Retarded Nanocomposites from Recycled PET Bottles for the Electronics Industry. *Polymers* **2019**, *11*(2), 233.
<https://doi.org/10.3390/polym11020233>
- Bocz, K.; Ronkay, F.; Vadas, D.; Molnár, B.; Gere, D.; Czígány, T.; Marosi, G. Flame retardancy of PET foams manufactured from bottle waste. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2023**, *148*, 217–228.
<https://doi.org/10.1007/s10973-022-11423-3>
- Lukács, N.; Ronkay, F.; Molnár, B.; Marosfői, B.; Bocz, K. Characterisation of flame retarded recycled PET foams produced by batch foaming. *Polym. Test.* **2023**, *124*, 108104.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2023.108104>
- Bocz, K.; Ronkay, F.; Molnár, B.; Vadas, D.; Gyürkés, M.; Gere, D.; Marosi, G.; Czígány, T. Recycled PET foaming: Supercritical carbon dioxide assisted extrusion with real-time quality monitoring *Adv. Ind. Eng. Polym. Res.* **2021**, *4*(3), 178–186.
<https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2021.03.002>
- Tóth, L.; Slezák, E.; Bocz, K.; Ronkay, F. Progress in 3D printing of recycled PET. *Mater. Today. Sustain.* **2024**, *26*, 100757.
<https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2024.100757>
- Slezák, E.; Ronkay, F.; Réz, D.; Bocz, K. Recyclability of elastomer toughened recycled poly(ethylene terephthalate). *Heliyon* **2024**, *10*, e32096.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32096>
- Lee, K. Y.; Mooney, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*(1), 106–126.
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>
- Chen, W.; Xu, D. Phytic acid and its interactions in food components, health benefits, and applications: A comprehensive review. *Trends Food Sci Technol* **2023**, *141*, 104201.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104201>

14. Decsov, K. E.; Cserni, V.; Szolnoki, B.; Krafcsik, O.; Bocz, K. Phosphorus and Silicon Modified Alginate as an Efficient Flame Retardant for Poly(lactic acid). *Macromol. Mater. Eng.* **2024**, *309*(12).
<https://doi.org/10.1002/mame.202400194>
15. Réti, C.; Casetta, M.; Duquesne, S.; Bourbigot, S.; Delobel, R. Flammability properties of intumescent PLA starch and lignin. *Polym. Adv. Technol.* **2008**, *19*, 628–635.
<https://doi.org/10.1002/pat.1130>
16. Scharrel, B. Phosphorus-based Flame Retardancy Mechanisms—Old Hat or a Starting Point for Future Development? *Materials* **2010**, *3*, 4710–4745.
<https://doi.org/10.3390/ma3104710>
17. Bourbigot, S.; Le Bras, M.; Duquesne, S.; Rochery, M. Recent Advances for Intumescent Polymers. *Macromol. Mater. Eng.* **2004**, *289*, 499–511.
<https://doi.org/10.1002/mame.200400007>
18. Aljamal, A.; Marosi, G.; Szolnoki, B. The utilisation of phytic acid as a reactive flame retardant in the preparation of a fully waterborne biobased epoxy system. *Fire. Mater.* **2024**, *48*, 508–521.
<https://doi.org/10.1002/fam.3199>
19. Szolnoki, B.; Nguyen Thanh, T.T.; Harakály, G. Eco-friendly Synthesis of Novel Phosphorus Flame Retardants for Multiple Purposes. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* **2023**, *67*, 573–581.
<https://doi.org/10.3311/PPch.22758>
20. Decsov, K.; Takács, V.; Marosi, G.; Bocz, K. Microfibrillar cyclodextrin boosts flame retardancy of poly(lactic acid). *Polym. Degrad. Stab.* **2021**, *191*, 109655.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109655>
21. Decsov, K.; Ötvös, B.; Marosi, G.; Bocz, K. Microfibrillar cyclodextrin boosts flame retardancy of poly(lactic acid) II - phosphorous silane treatment further enhances the effectivity. *Polym. Degrad. Stab.* **2022**, *200*, 109938.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.109938>
22. Decsov, K.E.; Ötvös, B.; Nguyen Thanh, T. T.; Bocz, K. The Effect of Cellulose Fibre Length on the Efficiency of an Intumescent Flame Retardant System in Poly(lactic acid). *Fire* **2023**, *6*(3), 97.
<https://doi.org/10.3390/fire6030097>
23. Bocz, K.; Szolnoki, B.; Farkas, A.; Verret, E.; Vadas, D.; Decsov, K.; Marosi, G. Optimal distribution of phosphorus compounds in multi-layered natural fabric reinforced biocomposites. *Express Polym Lett* **2020**, *14* (7), 606–618.
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2020.50>
24. Li, R.-M.; Deng, C.; Deng, C.-L.; Dong, L.-P.; Di, H.-W.; Wang, Y.-Z. An efficient method to improve simultaneously the water resistance, flame retardancy and mechanical properties of POE intumescent flame-retardant systems. *RSC Adv.* **2015**, *5*(21), 16328–16339.
<https://doi.org/10.1039/C4RA15971C>
25. Decsov, K.; Bocz, K.; Szolnoki, B.; Bourbigot, S.; Fontaine, G.; Vadas, D.; Marosi, G. Development of Bioepoxy Resin Microencapsulated Ammonium-Polyphosphate for Flame Retardancy of Polylactic Acid. *Molecules* **2019**, *24*, 4123.
<https://doi.org/10.3390/molecules24224123>
26. Nguyen Thanh, T.T.; Decsov, K.E.; Bocz, K.; Marosi, G.; Szolnoki, B. Development of Intumescent Flame Retardant for Polypropylene: Bio-epoxy Resin Microencapsulated Ammonium-polyphosphate. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* **2022**, *66*, 313–324.
<https://doi.org/10.3311/PPch.19468>
27. Nguyen Thanh, T.T.; Yusifov, Z.; Tóth, B.; Bocz, K.; Márton, P.; Hörvölgyi, Z.; Marosi, G.; Szolnoki, B. Preparation and Characterization of Microencapsulated Ammonium Polyphosphate with Polyurethane Shell and Its Flame Retardance in Polypropylene. *Fire* **2024**, *7*, 97.
<https://doi.org/10.3390/fire7030097>
28. Nguyen Thanh, T.T.; Szolnoki, B.; Vadas, D.; Nacs, M.; Marosi, G.; Bocz, K. Effect of clay minerals on the flame retardancy of polylactic acid/ammonium polyphosphate system. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2023**, *148*, 293–304.
<https://doi.org/10.1007/s10973-022-11712-x>

Research of Sustainable Polymers: Materials Science for the Greener Future

Modern life is unimaginable without polymers, they are present everywhere in our daily lives – our houses, clothing, electronic appliances, vehicles, sports equipment, packaging, and so on. Due to the immense demand, polymers cannot be eliminated from our lives, but we can attempt to use them in a more sustainable way.

In this review, we discuss two possible approaches. The first is the recycling of already produced materials, as the amount of waste continues to grow with the increasing use of plastic. The circular economy model promoted by the European Union places special emphasis on the management of plastic waste and the creation of circular applications of plastics. One method to achieve this is through mechanical recycling, which, even though a cost-effective technology, it is only suitable for processing high-quality waste fractions.

Our research group aims to produce sustainable materials from polyethylene terephthalate (PET) waste fractions of various origins. These materials would not only be re-processable, but they would be suitable for the production of value-added raw materials. The research in the functionalised recyclability of PET covers the whole cycle of recycling, including the development of methods analysing waste materials,¹ through the creation of the technologies that allow for the economical processing of waste fractions,¹¹ all the way to design functional product characteristics such as heat resistance,⁴ impact strength,³ flame retardancy,⁶ mass reduction,⁹ thermal insulation,⁸ and other advantageous properties.¹⁰

The second approach is the research of polymer materials derived from renewable sources, with the potential of biodegradability, that can offer a real alternative to the currently used petrol-based plastics in terms of thermal and mechanical performance. These environmentally friendly materials can replace conventional plastics in many industrial applications while reducing environmental pollution and the ecological footprint, also creating opportunities for the development of new biodegradable products. In the case of thermoplastic polymers, polylactic acid (PLA) is one of the most promising materials.

The flame retardancy of biopolymers is a crucial step towards making these materials a competitive alternative to conventional plastics in technical and industrial applications. The biopolymers often have lower heat resistance, and due to their flammable nature, their use is limited under strict fire safety regulations. Therefore, flame retardancy is inevitable. One of the most widely used types of flame retardants is the so-called intumescent system. These systems contain a carbon source (or charring agent), an acid source, and a gas-forming component.

In this flame retardant system, pentaerythritol was often used as the charring component, but nowadays, this petrochemical product is increasingly being replaced by green materials—such as starch, cellulose, or alginates, which was also explored by our re-

search group.^{14,15} By surface-treating sodium alginate with a phosphorus-containing silane (PSil), followed by precipitation of the product with calcium ions, a flame-retardant additive can be produced that was effective in enhancing the flame-retardant effect of ammonium polyphosphate (APP).¹⁴ Aside from this, we used cyclodextrins to enhance the flame retardancy of PLA. We analysed its efficiency in powder and microfiber form, and both forms were modified with phosphorus-containing silane (PSil).^{20,21} Another method involves APP microencapsulated with materials that are potentially derived from renewable sources, creating an all-in-one intumescent flame retardant system.^{25,26,27}

Among acid sources, phosphorus-containing compounds exhibit the highest effectiveness,^{16,17}; however, the synthesis methods of most parts apply harmful and toxic reagents, and the formation of byproducts is often inevitable. We successfully prepared two FRs via an addition reaction of phosphorus-pentoxide and alcohols. These molecules can be used as additive FRs after salt formation or as precursors for flame-retardant surface treatments of natural fibres.¹⁹

The rigidity of the charred foam layer can be further enhanced by the use of silicon compounds, clay minerals²⁸ or various metal salts, which, during combustion, can form silicates and silicon phosphates, as well as metal oxides and metal carbonates. Since these compounds are stable at very high temperatures, they not only reinforce the structure but also increase the amount of char residue and simultaneously reduce the proportion of flammable material.¹⁴

In the case of thermosetting plastics, in spite of extensive research, there is still no clear alternative to petroleum-based resins. In our research, building on the advantages of water-based systems, we developed a fully bio-based, flame-retardant epoxy resin using sorbitol polyglycidyl ether and phytic acid, as the latter being beneficial for flame retardancy due to its high phosphorus content.¹⁸

In our research so far, we have explored numerous possibilities for making various polymer systems more sustainable and safer, but the work is far from over. Our plans include the development of controlled recycling technologies that enable the customisation of properties in recycled plastic products, as well as the creation of new RPET-based dynamic cross-linked structures (vitrimers) that offer multiple recyclability. We also wish to contribute to replacing the production of fossil-based plastics and additives by promoting the use of renewable raw material sources to the greatest extent possible through the research of environmentally friendly and safe materials. In the field of polymer flame retardancy, further innovative developments are needed to enhance the effectiveness of modern (phosphorus-containing) flame retardants while maintaining—or even improving—their environmental and health protection benefits.

Kutatómunka a Műanyag- és Gumiipari Laboratóriumban

KONCZ Medárd,^{a,b} TÁTRAALJAI Dóra^{a,b*} és PUKÁNSZKY Béla^{a,b}

^a Műanyag- és Gumiipari Laboratórium, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Műgyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

^b Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Kutatási Hálózat, Magyar Tudósok Körútja 2., 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A fogyasztói igények kiszolgálása a műanyagipart az elmúlt 20 évben vezető iparággá tette, ezért a globális szinten jelentkező problémák erre az iparágra is nagymértékben kihatnak. Ilyen probléma a fosszilis energiahordozók fogyása és az óriási méreteket öltő környezetszennyezés, amely egész bolygónkra káros hatással van. A műanyagipar felé különösen erős az elvárás, hogy a fenntarthatóság elvét követve minél nagyobb mértékben megújuló energiaforrásokat használjon alapanyagként, és adjon megoldást a műanyag hulladék hibás kezelésének problémájára. Egyre nagyobb az aggály a környezetbe, az élővilágba és nem utolsósorban az emberi szervezetbe kerülő mikroműanyagokkal kapcsolatban. Népszerű, sőt sok alkalmazási területen előírás a műanyagok helyettesítése más anyagokkal, sokszor akkor is, ha az alkalmazott új anyag a használat szempontjából nem praktikus. A mai társadalom életmódjában olyan nagymértékben beépült a műanyagok használata, hogy elképzelhetetlen teljes mértékű helyettesítésük, azonban a tudatos hozzáállás mindenképpen elengedhetetlen a műanyagok alkalmazása során.

A Műanyag- és Gumiipari Laboratórium (MGL) a Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék egyik csoportja, amely elsősorban a műanyagok előállításával, feldolgozásával, jellemzésével és alkalmazásával kapcsolatban oktatja a BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Karának hallgatóit, szakképzett műanyagipari mérnököket képezve. Az oktatási tevékenység mellett évtizedek óta magas színvonalú alap- és alkalmazott kutatás zajlik a csoportban (ld. **1. ábra**), amelynek a fókuszában az utóbbi 10 évben a fent említett problémák és aggályok állnak. Laboratóriumunk szorosan együttműködik a HUN-REN Természettudományi Központ Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoportjával. Munkánk fontos részét képezi az együttműködés hazai és nemzetközi ipari vállalatokkal, amely során konkrét ipari problémák megoldásán dolgozunk.

Bár fejlesztéssel nem tudjuk elérni azt, hogy az emberek, a nagyvállalatok és az állami szervezetek a műanyag hulladékot felelősen kezeljék, az utóbbi évtizedben laboratóriumunkban is meghatározóvá vált az olyan anyagok és megoldások kutatása és fejlesztése, amelyek beilleszthetők a körforgásos gazdaságba, mint például a műanyagok ké-

miai újrahasznosítása, illetve új stabilizátorok fejlesztése. Ezentúl számos kutatásunk foglalkozik természetes eredetű, illetve biológiailag lebomló polimer alapanyagokkal, adalékanyagokkal, illetve társítóanyagokkal.



1. Ábra. Kutatómunka az MGL-en.

2. A társított rendszerek szerkezet tulajdonság összefüggései

Új műanyag kifejlesztésének gazdaságos és gyors módja egy, már létező polimer módosítása töltőanyag hozzáadásával (kompozit képzés), illetve egy másik polimer hozzáadásával (keverék készítés). Így a hagyományos tömegműanyagok átalakításával is a műszaki műanyagok mechanikai tulajdonságaival vetekedő minőségű új anyagot kaphatunk. Több, gyakorlati szempontból is fontos szálerezített műanyag kompozit széleskörű jellemzését végeztük el, hogy jobban megértsük az anyag tulajdonságait meghatározó legfontosabb tényezőket¹. Többkomponensű rendszerekben elengedhetetlen az anyagban lejátszódó lokális deformációs folyamatok ismerete, mivel ezek alapvetően határozzák meg az anyag viselkedését külső feszültség hatására. Laboratóriumunkban olyan módon is sikerült eredményesen javítanunk egy anyag mechanikai tulajdonságait,

* Tel.: +36 1 463 2479; e-mail: tatraeljai.dora@vbk.bme.hu

hogy megváltoztattuk az anyagban végbemenő meghatározó tönkremeneteli folyamatot².

3. Természetes alapú polimer módosítása további komponensekkel

A politejsav (PLA) egy olyan termoplasztikus poliészter, amely megfelelő mechanikai tulajdonságainak és a biokompatibilitásának köszönhetően az egyik legígéretesebb természetes alapú és egyben biodegradálható polimer. Előállítható fermentált növényi keményítőtől, kukoricakeményítőtől, cukornádból, cukorrépából, de akár mezőgazdasági hulladékból is. A PLA-ból előállított termékek alkalmazásának korlátjai közé tartozik gyenge hőállósága, érzékenysége a nedvességre és ridegsége. Ahhoz, hogy a PLA szerkezeti anyagként is hatékonyan alkalmazható legyen, ütésállóságát jelentősen növelni kell. Ezt megtehetjük szintetikus szál erősítőanyag alkalmazásával, ennek hátránya viszont, hogy a kompozit már nem 100%-ban biodegradálható. Laborunkban eredményesen javítottuk a PLA ütésállóságát szintetikus szerves polivinil-alkohol (PVOH) és polietilén-tereftalát (PET) szálak hozzáadásával úgy, hogy emellett az anyag modulusa is nőtt³.

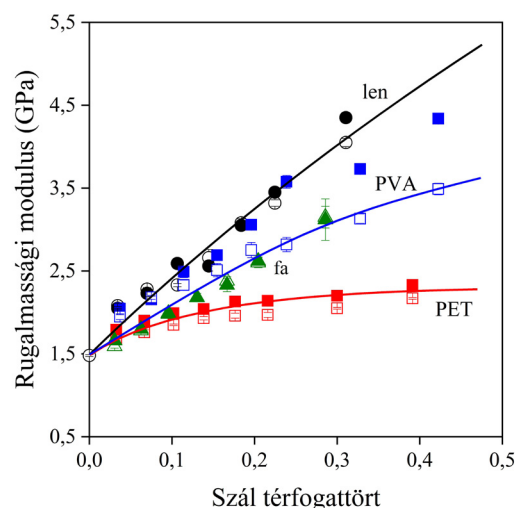
4. Természetes eredetű társítóanyagok alkalmazása

A fenntartható gazdaság koncepciójának jobban megfelelni, ha a polimer keverékekben és kompozitokban alkalmazott társítóanyag is természetes eredetű. A természetes szálak alkalmazásának előnye, hogy gyakran valamilyen mezőgazdasági művelet melléktermékeként keletkeznek, ezért viszonylag olcsók, valamint, hogy a kis sűrűségük-höz képest jó mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek. Sikeresen megvalósítottuk a PLA és a polipropilén (PP) mechanikai tulajdonságainak módosítását több természetes eredetű társítóanyag hozzáadásával, faliszttal, lennel, bagasszal, ligninnel és termoplasztikus keményítővel^{1,3-6}. A **2a. ábrán** jól látszik, hogy a lencsaszál, illetve a faliszt jelentősen növelte a PP modulusát, hatása vetekszik a szintetikus szálakéval. Ugyanakkor hátrány, hogy a természetes erősítőanyaggal készített kompozitok ütésállósága általában gyenge, még abban az esetben is, ha kémiai kapcsolóanyagot alkalmazunk, hogy erősítsük a töltőanyag és a mátrix közötti kölcsönhatást (**2b. ábra**).

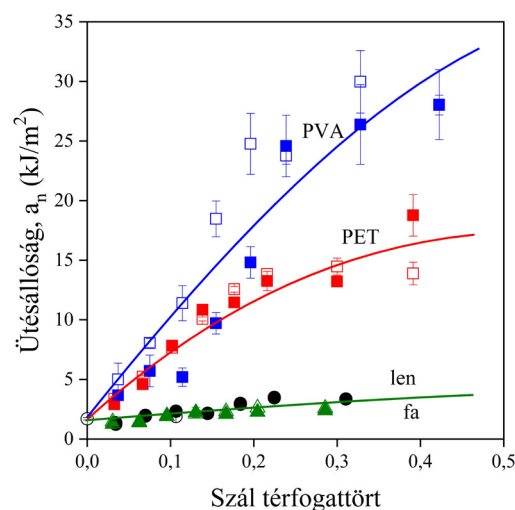
5. Hibrid biokompozitok

Ahogy a **2. ábra** is mutatja, a természetes szálak bár gyakran növelik a kompozit modulusát, az anyag ütésállósága sokszor nem javul kielégítő mértékben. Ilyen esetekben különböző társítóanyagok egyidejű alkalmazása célravezető lehet, így a műanyag több tulajdonságát egyidejűleg tudjuk módosítani. Ebből a megfontolásból fejlesztettünk ki többek között PLA/lignin/poli(butilén-adipát-ko-tereftalát) (PBAT) hibrid keveréket, PP/PET/természetes szál és PP/lignin/lencsaszál hibrid kompozitokat, amelyekben már hatékonyan alkalmazunk egyrészt megújuló forrásból származó

természetes szálakat a merevség növelésére, másrészt nagyhatékonyságú szintetikus szálakat az ütésállóság növelésére⁷⁻⁹. Ezekben a kompozitokban számos lokális deformációs folyamat megy végbe, amelyek megfelelő összehangolása kedvező tulajdonságkombinációt eredményez. Ezeket a folyamatokat szemlélteti a **3. ábra**, amelyen különböző hibrid kompozitok törési felületéről pásztázó elektronmikroszkóppal készült felvétel látható. A B ábrán jól látható, hogy a jellemző tönkremeneteli mód a szálak kihúzódnása volt, míg a többi ábrán inkább a szálak szakadása figyelhető meg.

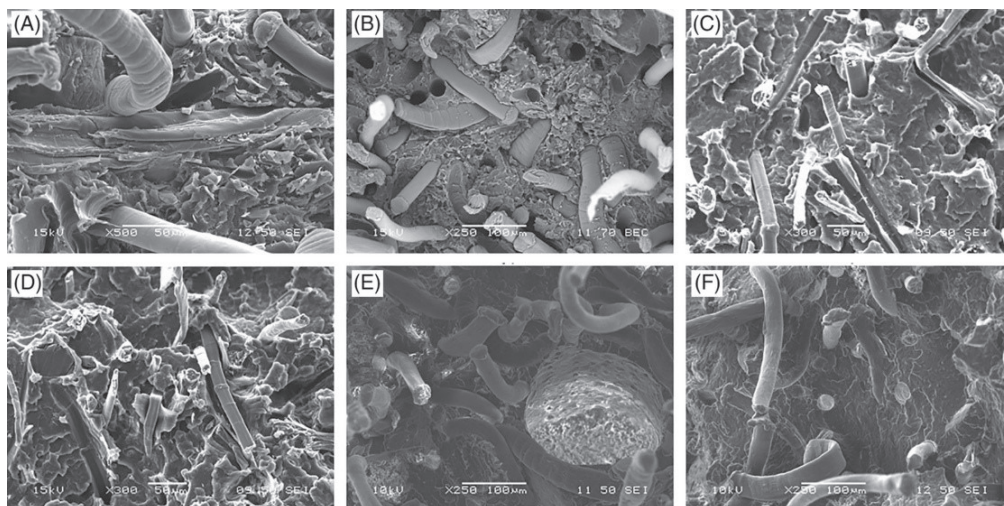


a,



b,

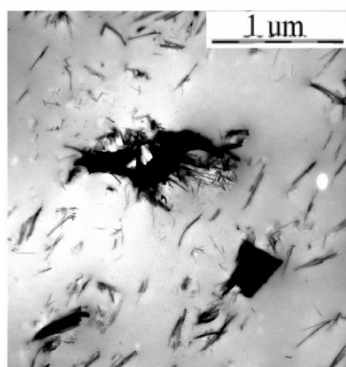
2. Ábra. PVA, PET és len szálal, illetve faliszttal erősített PP merevségének (a) és ütésállóságának (b) változása a hozzáadott erősítőanyag térfogattörtje függvényében (Teli jelölő: kapcsolóanyag hozzáadásával, üres jelölő: kapcsolóanyag nélkül.)⁶.



3. Ábra. Hibrid PP kompozitok törési felületéről pásztázó elektronmikroszkóppal készült felvételek⁷.

6. Természetes eredetű nanoanyagok, nanokompozitok

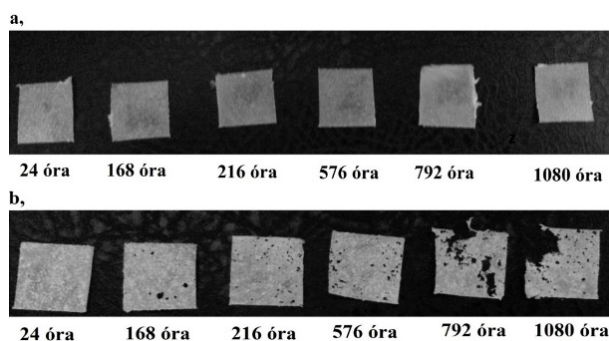
Kompozitok esetén a társítóanyag szemcseméretének csökkenése nagyobb fajlagos felületet és ezzel együtt megnövekedett kölcsönhatást eredményez a töltőanyag és a mátrix között. Ez az egyik tényező, amely a nanokompozitok fejlesztését motiválja. Ugyanakkor a kis szemcseméret növeli a töltő vagy erősítőanyag aggregációs hajlamát, ami viszont az ütésállóság romlásához vezet és korlátozza az anyag alkalmazásának lehetőségeit¹⁰. A kereskedelemben kapható hibrid töltőanyagból képződött aggregátumokról transzmissziós elektronmikroszkóppal készült kép jól mutatja, hogy az aggregátumok mérete messze meghaladja a nanométeres mérettartományt, illetve az egyedi szemcsék méretét (4. ábra). Az aggregáció elkerülésének érdekében a töltőanyag felületkezelésére lehet szükség. Sikeresen állítottunk elő olyan nano-hidroxipatit töltőanyagot tartalmazó PLA alapú csontpótló anyagot, melyben a felületkezelősegítségével az aggregációt jelentősen visszaszorítottuk¹¹.



4. Ábra. Transzmissziós elektronmikroszkóppal készült felvétel egy nanotöltőanyag aggregációjáról PP mátrixban¹⁰.

A laboratóriumunkban vizsgált nanoméretű társítóanyagok közé tartoznak a természetes eredetű halloysite nanocsövek (HNT) is. A csövek belső átmérője néhány tíz nanométer, ahová különböző természetes stabilizátorokat juttathatunk,

hogy ez a polimerben társítóanyagként alkalmazva időben elnyújtott, ellenőrzött stabilizáló hatást eredményezzen^{12,13}. A *Burkholderia cepacia* lipázt sikeresen vittük fel halloysite nanocsőhordozó felületére, majd a nanocsövet poli-ε-kaprolakton mátrixhoz adva az enzim a polimeren belül katalizálja annak biodegradációját¹⁴. Ilyen módon a világon először készítettünk önlebomló polimer kompozitot. Az 5. ábra a hordozóra felvitt enzim katalitikus hatását mutatja az enzimet nem tartalmazó polikaprolaktonhoz képest. Míg az utóbbi anyag tömege nem változik az idővel, az önlebomló kompozit tömege folyamatosan csökken.



5. Ábra. Önlebomló polikaprolakton (PCL) film degradációja az enzim katalitikus hatására. Enzim nélkül (a), enzim jelenlétében (b)

Ígéretes, természetes eredetű nanoanyag a kristályos nanocellulóz (CNC). Laborunkban vizsgáltuk a pamutból és lenből kinyert kristályos nanocellulóz kristályokat, szuszpenziókat és a belőlük előállított filmeket. A nanoméretű kristályok aggregációját ultrahangos kezeléssel nagymértékben csökkentettük, így jelentősen növeltük az általunk előállított filmek szakítószilárdságát és merevségét. A filmek szakítószilárdságát glicerín és szorbit lágyítókkkal tovább tudtuk növelni, az így előállított anyag potenciálisan a csomagolóiparban is használható^{15,16}. A természetes polimerekkel kapcsolatos kutatásainkat ugyanebben a különszámban egy másik publikációban mutatjuk be részletesen.

7. Kristályszerkezet és tulajdonság összefüggések modellezése

Sok szó esett a műanyagok szerkezete és tulajdonságai közötti összefüggések megismerésének fontosságáról. Amennyiben van információ a vizsgált anyag szerkezetéről, modellek segítségével meg tudjuk becsülni annak tulajdonságait anélkül, hogy időigényes vizsgálatokat végeznénk. A felállított modellek segítségével, számítógépes szimulációval becsültük a polimert felépítő kristályszerkezetet. A modellek és szimulációk gyakorlati hasznossága jelentős, hiszen segítenek új anyagok tervezésében és felgyorsítják a fejlesztés folyamatát. Polipropilén, polietilén és PET szerkezetének vizsgálata eredményeként szoros összefüggést állapítottunk meg az anyagok kristályos szerkezete és modulusa között¹⁷⁻¹⁹.

8. Biokompatibilis polimerek alkalmazása, enzimatis degradáció

Azontúl, hogy új anyagok fejlesztésekor fontos a polimer eredete és biodegradációja, lényeges szempont a polimerek szervezetre gyakorolt hatása is. A biokompatibilis polimerek fejlesztése lehetőséget ad a műanyagok elterjedésére az orvosi biológiában is. Elektromos szálhúzással PLA, polikaprolakton (PCL) és poli(3-hidroxibutirát) (PHB) biopolimerekből olyan összefüggő pórusszerkezetű vázanyagot, scaffoldot hoztunk létre, amelyen a szövetet kialakító sejtek megtapadnak és szaporodnak, a kialakítandó szövet a vázanyagon három dimenzióban növekszik^{20,21}.

Biokompatibilis PHB felhasználásával sikeresen állítható elő orvosi biológiai implantátum és hatóanyag-leadó mátrix is. A **6. ábrán** nedves szálhúzással előállított szálak láthatók, amelyek alkalmasak vázanyagok készítésére, de ellenőrzött hatóanyagleadó rendszerek előállítására is. Annak érdekében, hogy az alkalmazhatóság előnyeiről és korlátairól megfelelő képet kapjunk, széleskörűen vizsgáltuk a PHB enzimatis degradációjának és hatóanyag-leadásának kinetikáját. Az enzimreakciók leírására hagyományosan alkalmazott Michaelis-Menten modellt úgy módosítottuk, hogy a polimerek heterogén fázisú degradációját, beleértve a PHB alapú eszközöket, megfelelően leírassuk²². A degradáció kinetikáján túl olyan újszerű megközelítést sikerült kidolgoznunk kismólsúlyú adalékok diffúziós koefficiensének meghatározására amorf PHB filmekben, amely segítségével empirikus faktorok nélkül leírhatjuk a hatóanyag-leadás időfüggését²³.



6. Ábra. Nedves szálhúzással előállított PHB szálakról digitális optikai mikroszkóppal készült kép²¹.

A PHB mellett vizsgáltuk a PLA enzimatis degradációjának optimális környezeti paramétereit. A *Proteinase K* enzim katalizálja a PLA biodegradációját. Eredményeink fényt derítettek a folyamatot meghatározó legfontosabb tényezőkre, az enzimkoncentrációra, a hőmérsékletre és a pH-ra²⁴. A PHB degradációjára kidolgozott módosított kinetikai modellt sikeresen alkalmaztuk a PLA enzimatis degradációjának leírására. Az összegyűlt tapasztalatok alapján biodegradálható PLA/CNC kompozitokat állítottunk elő²⁵.

Egy Európai Unió projekt keretében olyan természetes fehérje, illetve szintetikus poliaminosav nanorészecskéket fejlesztünk, amelyek lehetővé teszik a vízben rosszul oldódó gyógyszerhatóanyagok oldatba vitelét, célba juttatását és késleltetett felszívódását. Mindehhez zöld kémiai eljárásokat alkalmazunk: kukoricafelhérből, illetve aminosavakból kiindulva deszolvációval, vizes közegben hozunk létre nanorészecskéket, amelyeket különböző eredetű és szerkezetű poliszacharidokkal (pektin, alginát, karragén) vonunk be, majd stabilitásuk növelése érdekében enzimesen térhálósítunk. A nanorészecskék jellemzése során, azok méreteleszlása és hatóanyagleadási jellemzői mellett, kiemelt figyelmet fordítunk az általuk kiváltott immunválasz in vitro vizsgálatára és mérséklésére.

9. Kémiai újrahasznosítás

Térhálós szerkezetük miatt egyszerű fizikai újrahasznosítással nem lehetséges feldolgozni a poliuretán párnák és matracok hulladékát. Egy török-magyar Európai Unió projekt keretében lágy poliuretán habok kémiai lebontásával, szolvólízissel foglalkozunk (ld. **7. ábra**). Célunk a bomlástermékek újrahasznosítási lehetőségeinek felderítése. Ezen túl kutatócsoportunk részt vesz PET és epoxigyanta környezetbarát kémiai lebontásában is. A lebontást szuperkritikus állapotú vízzel végezzük, amelynek előnye a rendkívül gyors, majdnem pillanatszerű reakció.



7. Ábra. Poliuretán habok glikolízissel történő bontásának termékei.

10. Természetes stabilizátorok

A polimerek, feldolgozásuk során magas hőmérsékleten oxigénnel reagálhatnak, ami a láncok szerkezetének megváltozásához és a termék tulajdonságainak romlásához vezethet. A degradáció mértékének csökkentésére az előállítás, illetve feldolgozás során a polimerhez stabilizátort adnak. Aggodalomra adhat okot az iparban leggyakrabban alkalmazott stabilizátorokkal kapcsolatban, a szintetikus fenolos antioxidánsok reakciótermékeinek esetlegesen negatív hatása az élő szervezetekre. Kutatócsoportunk olyan természetes eredetű modern stabilizátorok fejlesztésén dolgozik, amelyek nem károsítják a környezetet, illetve az élő szervezetet, ha kikerülnek az anyagból. Ilyen antioxidánsok közé tartoznak például a kurkumin, amely elterjedten alkalmazott fűszer, élelmiszeripari segédanyag és a természetgyógyászatban alkalmazott anyag (ld. **8. ábra**), a dihidromiricetin, a kvercetin, a szilimarín, a t-resveratrol és a rutin^{26–30}. Ezek az antioxidánsok megtalálhatók különböző gyümölcsökben, zöldségekben, levelekben és magokban. Sikeresen alkalmaztuk őket polimerömlédekek stabilizálására kimutatva, hogy sok esetben hatékonyabbak, mint a hagyományosan alkalmazott ipari antioxidánsok. A stabilizátorok mellőzése, illetve nem megfelelő stabilizátorok alkalmazása komoly akadály az újrahasznosított műanyagok elterjedésében. Laboratóriumunkban ezért vizsgáljuk újrahasznosított polimer granulátum utólagos stabilizálásának lehetőségeit, ezzel támogatva a körkörös gazdaság előremozdítását.



8. Ábra. A kurkumin természetes eredete, a kurkuma.

11. A kutatáson túl

Azontúl, hogy csoportunk magas színvonalú oktatási és kutatási tevékenységet folytat a műanyagok jellemzésével, feldolgozásával, fejlesztésével és alkalmazásával kapcsolatban, különböző konferenciák, workshopok szervezésével és platformok létesítésével nemzetközi szinten is részt vállalunk a fenntartható gazdaság kutatási irányzatainak kijelölésében és egy nemzetközi szintű összefogás kialakításában. Minden második évben megszervezzük Magyarországon a BiPoCo konferenciát (International Conference on Bio-based Polymers and Composites), amelyen a világ minden tájáról érkező, nemzetközileg elismert előadók bemutatják az aktuális kutatási irányzatokat és lehetőségeket a biopolimerek és biokompozitok, valamint a biomassa alapú gazdaság területén. A **9. ábrán** a legutóbbi, 2024 szeptember elején rendezett konferencia résztvevőiről készült csoportkép látható. Ezen túl a konferencia lehetőséget teremt a

konstruktív párbeszédre a területen érdekelt kutatók és ipari szereplők számára. A csoport által szervezett BIOEAST Kezdeményezés Közép- és Kelet-Európa országokban támogatja a biomassa termelését és feldolgozását érintő szakpolitikák tudásalapú összekapcsolását, valamint a kutatási és innovációs kapacitások erősítését.



9. Ábra. A 2024-ben Esztergomban megrendezett BiPoCo konferencia résztvevői.

Hivatkozások

- Várdai, R.; Lummerstorfer, T.; Pretschuh, C.; Jerabek, M.; Gahleitner, M.; Faludi, G.; Móczó, J.; Pukánszky, B. *Compos Part A Appl Sci Manuf* **2020**, *133*, 105895. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2020.105895>
- Sudár, A.; Renner, K.; Móczó, J.; Lummerstorfer, T.; Burgstaller, C.; Jerabek, M.; Gahleitner, M.; Doshev, P.; Pukánszky, B. *Compos Struct* **2016**, *141*, 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2016.01.031>
- Ferdinánd, M.; Várdai, R.; Móczó, J.; Pukánszky, B. *Eng Fract Mech* **2023**, *277*, 108950. <https://doi.org/10.1016/j.engfracmech.2022.108950>
- Kun, D.; Pukánszky, B. *Eur Polym J* **2017**, *93*, 618–641. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.04.035>
- Bartos, A.; Anggono, J.; Farkas, A. E.; Kun, D.; Soetaredjo, F. E.; Móczó, J.; Antoni, Purwaningsih, H.; Pukánszky, B. *Polym Test* **2020**, *88*, 106549. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106549>
- Várdai, R.; Ferdinánd, M.; Lummerstorfer, T.; Pretschuh, C.; Jerabek, M.; Gahleitner, M.; Faludi, G.; Móczó, J.; Pukánszky, B. *Polym Int* **2021**, *70* (1), 145–153. <https://doi.org/10.1002/pi.6105>
- Várdai, R.; Lummerstorfer, T.; Pretschuh, C.; Jerabek, M.; Gahleitner, M.; Bartos, A.; Móczó, J.; Anggono, J.; Pukánszky, B. *Polym Adv Technol* **2021**, *32* (6), 2499–2507. <https://doi.org/10.1002/pat.5280>
- Pregi, E.; Faludi, G.; Kun, D.; Móczó, J.; Pukánszky, B. *Ind Crops Prod* **2022**, *182*, 114890. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114890>
- Pregi, E.; Romsics, I.; Várdai, R.; Pukánszky, B. *Polymers (Basel)* **2023**, *15* (15), 3237. <https://doi.org/10.3390/polym15153237>
- Ferdinánd, M.; Várdai, R.; Móczó, J.; Pukánszky, B. *Polym Test* **2023**, *117*, 107840. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2022.107840>
- Ur, A.; Plachi, D.; Varga, V.; Hornyák, I.; Románszki, L.; Slouf, M.; Hegyesi, N.; Móczó, J.; Kardos, D.; Tátraaljai, D.; Pukánszky, B. *Emergent Mater* **2025**, 1–13.
- Hári, J.; Gyürki, Á.; Sárközi, M.; Földes, E.; Pukánszky, B. *J Colloid Interface Sci* **2016**, *462*, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.09.054>
- Hári, J.; Polyák, P.; Mester, D.; Mičušik, M.; Omastová, M.; Kállay, M.; Pukánszky, B. *Appl Clay Sci* **2016**, *132–133*, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.06.001>

14. Hegyesi, N.; Hodosi, E.; Polyák, P.; Faludi, G.; Balogh-Weiser, D.; Pukánszky, B. *Colloids Surf B Biointerfaces* **2020**, *186*.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110678>
15. Csiszár, E.; Nagy, S. *Carbohydr Polym* **2017**, *174*, 740–749.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.103>
16. Csiszar, E.; Kalic, P.; Kobol, A.; Ferreira, E. D. P. *Ultrason Sonochem* **2016**, *31*, 473–480.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.028>
17. Zarbali, A.; Djaffar, I.; Menyhárd, A. *Heliyon* **2024**, *10* (4), e26122.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26122>
18. Menyhárd, A.; Suba, P.; László, Z.; Fekete, H. M.; Mester, O.; Horváth, Z.; Vörös, G.; Varga, J.; Móczó, J. *Express Polym Lett* **2015**, *9* (3), 308–320.
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2015.28>
19. Zarbali, A.; Yossier, Y.; Menyhárd, A. *J Therm Anal Calorim* **2024**, *150* (1), 167–173.
<https://doi.org/10.1007/s10973-024-13759-4>
20. Nagy, O.; Kirschweng, B.; Imre, B.; Pukánszky, B. *Műanyag- és Gumiipari Évkönyv* **2016**, 86–93.
21. Polyák, P.; Bartha, K.; Pukánszky, B. *Materials Science and Engineering: C* **2020**, *114*, 111026.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111026>
22. Polyák, P.; Dohovits, E.; Nagy, G. N.; Vértessy, B. G.; Vörös, G.; Pukánszky, B. *Int J Biol Macromol* **2018**, *112*, 156–162.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.104>
23. Polyák, P.; Szemerszki, D.; Benke, H. C.; Pukánszky, B. *Polym Test* **2017**, *63*, 342–348.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.08.037>
24. Cui, L.; Wang, X.; Szarka, G.; Hegyesi, N.; Wang, Y.; Sui, X.; Pukánszky, B. *Int J Biol Macromol* **2022**, *209*, 1703–1709.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.121>
25. Hegyesi, N.; Zhang, Y.; Kohári, A.; Polyák, P.; Sui, X.; Pukánszky, B. *Ind Crops Prod* **2019**, *141*, 111799.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111799>
26. Tátraaljai, D.; Kirschweng, B.; Kovács, J.; Földes, E.; Pukánszky, B. *Eur Polym J* **2013**, *49* (6), 1196–1203.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.02.018>
27. Tátraaljai, D.; Földes, E.; Pukánszky, B. *Polym Degrad Stab* **2014**, *102* (1), 41–48.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.02.010>
28. Kirschweng, B.; Bencze, K.; Sárközi, M.; Hégely, B.; Samu, G.; Hári, J.; Tátraaljai, D.; Földes, E.; Kállay, M.; Pukánszky, B. *Polym Degrad Stab* **2016**, *133*, 192–200.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.08.016>
29. Kirschweng, B.; Tilinger, D. M.; Hégely, B.; Samu, G.; Tátraaljai, D.; Földes, E.; Pukánszky, B. *Eur Polym J* **2018**, *103*, 228–237.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.04.016>
30. Takács, K.; Németh, M. Á.; Renkecz, T.; Tátraaljai, D.; Pukánszky, B. *Polym Degrad Stab* **2024**, *230*, 111046.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2024.111046>

Research activity at the Laboratory of Plastics and Rubber Technology

The Laboratory of Plastics and Rubber Technology (MGL) is a group of the Department of Physical Chemistry and Materials Science, which mainly teaches students of the Faculty of Chemical Technology and Biotechnology at BME, training qualified engineers for the plastics industry. Our laboratory works in close collaboration with the Polymer Chemistry and Physics Research Group of the HUN-REN Research Centre for Natural Sciences. An important part of our work is the cooperation with national and international industrial companies, where we work on solving specific industrial problems. In addition to teaching and industrial activities, the group has been carrying out high-quality basic and applied research for decades, with a focus over the last 10 years on the research and development of materials and solutions that

can be integrated into the circular economy. We actively explore the possibilities of the chemical recycling of various plastics, such as PET and polyurethane, and the use of natural-based stabilizers. Much of our research focuses on naturally derived materials. We have successfully developed hybrid biocomposites and natural-based nanomaterials. Our laboratory has also pioneered the development of biocompatible and biodegradable materials for biomedical applications. In addition to our high-quality teaching and research activities, our group is also involved in setting research directions for the sustainable economy and building an international network of connections by organizing conferences, workshops, and platforms at the international level.

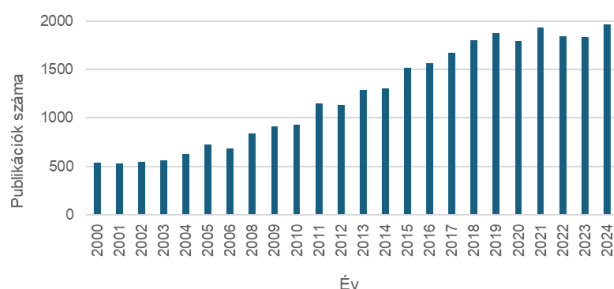
A BME Innovatív Gyógyszeripari és Kirootechnológiai Kutatócsoport áramlások kémia területén végzett kutatásai

RÁVAI Bettina, OROSZ János Máté, STEINSITS Dániel, BÁLINT Erika*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.

1. Bevezetés

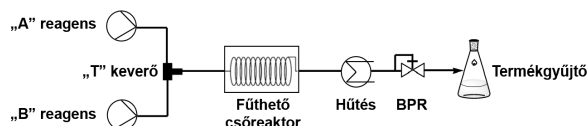
A hagyományos szerves kémiai szintetikus módszerek többsége szakaszos reakcióvezetésre épül, melyet laboratóriumi környezetben gömbloblikokban, ipari szinten pedig nagyméretű tartályreaktorokban valósítanak meg. Az ezredforduló óta azonban egyre nagyobb figyelmet kap az áramlások kémia, amit jól mutat az elmúlt két évtizedben megjelent publikációk növekvő száma is (1. ábra). Az áramlások technológia számos előnnyel rendelkezik, így mind az akadémiai kutatások, mind a gyógyszeripar egyre nagyobb figyelmet fordít rá, és napjainkra a szintetikus kémia egyik legkorszerűbb és legdinamikusabban fejlődő területévé vált.



1. Ábra. Az elmúlt 25 évben az áramlások kémia területén évente megjelent cikkek száma (Web of Science „flow chemistry” éves találatai 2000 és 2024 között)

1.1. Az áramlások kémiáról röviden

Az áramlások kémia lényegét egy egyszerű, egylépéses reakció kivitelezésére alkalmas összeállításon keresztül lehet a legkönnyebben szemléltetni (2. ábrán). A reagensek homogén oldatait pumpák segítségével tápláljuk be vékony, kisátmérőjű csövekben keresztül egy háromágas keverőelembe (*T*-keverőbe). Az egyesített oldat a keverőelemből egy fűthető reaktortérbe áramlik, ahol a pumpák által beállított áramlási sebesség és tartózkodási idő mellett játszódik le a reakció. Ezt követően az elegy egy nyomásszabályozó szelepen (*BPR* – *back pressure regulator*) keresztül távozik, majd egy termékgyűjtő tartályban kerül összegyűjtésre. Kiemelendő, hogy az áramlások kémia egyik fő előnye a nagyfokú modularitás, így az alapvetően egyszerű rendszer elemeinek változtatásával a szintézislépésekhez igazodva számos eltérő, akár összetett rendszer is felépíthető.



2. Ábra. Egy alapvető áramlások kémiai rendszer felépítése

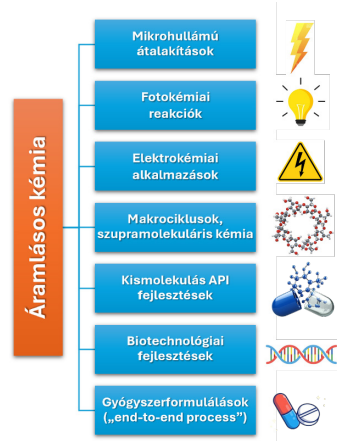
A folyamatos technológiai megvalósítás számos előnyt kínál a hagyományos, szakaszos eljárásokkal szemben. A többlépéses, szakaszos szintézisek során a köztitermékek izolálása gyakran időigényes, mielőtt azokat a következő reakciólépésben felhasználhatnánk. Ezzel szemben a folyamatos reaktorokból kilépő termékelegy gyakran közvetlenül, további műveletek nélkül vezethető a következő reaktorba, ahol további reakcióba vihető. Az áramlások rendszerek kis reaktortérfogatuk révén nagyobb biztonságot nyújtanak, mivel a veszélyes és/vagy toxikus reagensek kis mennyisége vesz csak részt a reakcióban (pl. hidrogénezés, diazotálás, ózonizálás, illetve azidokkal vagy cianidokkal végzett reakciók esetén). Továbbá a kis méretek, hatékonyabb és precízebb hőmérséklet-szabályozást tesznek lehetővé, és akár az oldószerek forráspontja felett is biztonságosan dolgozhatunk nyomásszabályozó szelep beépítésével, valamint a reakciókörülmények pillanatszerű változtatása gyors optimalizálásra is lehetőséget ad. Emellett az áramlások kémiai technológia méretnövelése és automatizálása könnyen megvalósítható, miközben lehetőség nyílik különféle analitikai, tisztítási, feldolgozási vagy formulációs lépések beépítésére is a folyamatba. Ez nemcsak a melléktermékek és hulladékok mennyiségét csökkenti, hanem hozzájárul egy robusztus és hatékony gyártási folyamat kialakításához is. Fontos azonban kiemelni, hogy minden reagenst homogén oldat formájában kell betáplálni, és a csapadékképződést a reakciók során el kell kerülni, mivel az eltömítheti a csöveket és a reaktorokat. A technológia nagy beruházási költségei ugyanakkor hátrányt jelentenek, így a meglévő, jól bevált szakaszos gyártástechnológiák átalakítását és újraengedélyeztetését alapos mérlegelés előzi meg. Ezek alapján az áramlások kémia gyógyszeripari térhódítása jelenleg az újonnan bevezetett hatóanyagok gyártásánál, valamint azon hatóanyagok esetén kerül előtérbe, melyekből éves szinten kisebb mennyiséget gyártanak.

* Tel.: +36 1 363 1111/5886; e-mail: balint.erika@vbk.bme.hu

1.2. Sokszínű áramlások kémia

Az áramlások kémiai rendszerek sokszínűsége elsősorban a felhasznált modulok változatosságának köszönhető, mely lehetővé teszi a rendszerek egyéni testreszabását a különféle szintézisek igényei szerint.¹ A reagensek adagolásához használhatunk fecskendőpumpákat vagy HPLC-pumpákat, míg a reakció kivitelezéséhez kistérfogató chip-reaktorok, fluoropolimer vagy rozsdamentes acélból készült csőreaktorok, valamint töltött ágyas reaktorok is elérhetők. Utóbbiak gyakran immobilizált Pd-, Pt- vagy Raney-Ni katalizátort, esetleg szilárd bázisokat tartalmaznak. Mindezen reaktortípusok kombinálhatók foto- vagy elektrokémiai modulokkal is, illetve lehetőség van kétfalú csövek („cső a csőben”) alkalmazásával heterogén, gáz-folyadék fázisú reakciók kivitelezésére is. A reaktorok fűtése leggyakrabban olajfürdővel vagy termosztáló egységgel történik, de van példa mikrohullámú (MW) vagy induktív fűtési technikákra is. Alkalmazhatók még a reaktor után beépíthető nyomásszabályozó elemek is túlfűtött reakciók kivitelezéséhez. A feldolgozás érdekében használhatók csapdaoszlopok (pl. vízmegkötő), vagy folyadék-folyadék fázisszeparátorok folyamatos extrakciókhoz.

A kortárs szakirodalomban számos példát találunk, mely bemutatja az áramlások kémia sokszínűségét és határait (3. ábra). Ilyen például a fémorganikus reakciók kivitelezése másodperces tartózkodási idő alatt, kriosztált körülmények között, vagy akár szobahőmérsékleten mikroreaktorokban.² Sőt egyes reakciók végezhetők akár 270 °C-os hőmérsékleten is, melyre példa az alifás makrociklusok szintézise Seemann és munkatársai által.³ Számos példát találunk még foszfororganikus kémiára,^{4,5} elemi brómot vagy fluort alkalmazó módszerekre,^{6,7} illetve kénorganikus kémiára is,⁸ melyekkel biztonságosabb körülmények között alakíthatók ki értékes vegyületek. Mindezek mellett számos biomolekula totálszintézisét is megvalósították már áramlások kémiai módszerekkel, így például a kismolekulák,⁹ peptidok¹⁰ vagy akár komplett fehérjék területén is.¹¹ Ezen a téren kiemelendő hazai eredmények is jelen vannak: Perczel és Farkas munkatársaikkal jelentős eredményeket értek el a pszeudoprolin acilezése¹² és fehérjedomének automatizált szintézise területén.¹³ Ezek mellett találunk példát akár ~30 kDa-os fehérjék automatizált



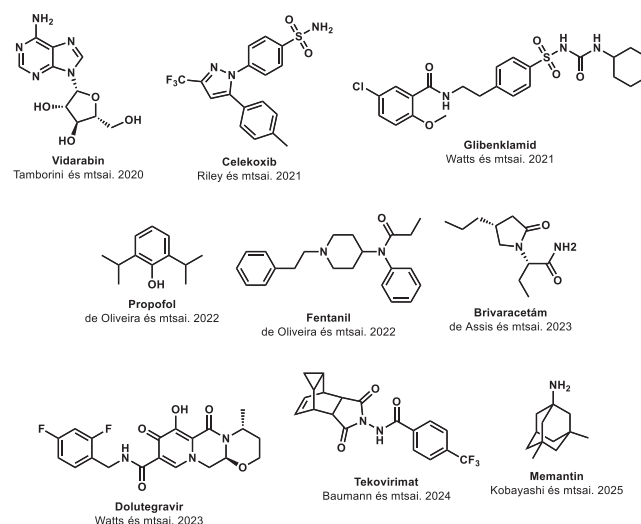
3. Ábra. Az áramlások kémia alkalmazási lehetőségei

totálszintézisére¹⁴ és mesterséges intelligenciával (MI) önoptimalizáló áramlások kémiai rendszerekre is,¹⁵ melyek integrálják a szintetikus kémiát az új digitalizációs és MI-alapú trendekbe.

1.3. Gyógyszeripari alkalmazások

Annak ellenére, hogy a vegyipar számos területén alkalmaznak folyamatos technológiákat, a gyógyszeriparban jelenleg még a szakaszos eljárások dominálnak. Ennek oka az igen szigorú szabályozási rendszerek és engedélyeztetési folyamatok. Az áramlások kémiát, számos előnye mellett, az egyensúlyi állapot beállása után (feltéve, hogy a betáplált anyagok minősége azonos) konzisztens termékminőség is jellemzi, mely nagy előnyt jelenthet a gyógyszeripar számára, az azonos gyártási minőség révén. Látszólag problémát jelent az ilyen kisméretű technikák alkalmazása, azonban a gyógyszeripar fejlődésével egyre hatékonyabb gyógyszer-molekulák kerülnek kifejlesztésre, mellyel így csökken a dózis, azaz az előállítani kívánt hatóanyagból kevesebbre van szükség. Emellett lehetőség van több áramlások kémiai rendszert egymással párhuzamosan összekapcsolni, mellyel gyakorlatilag lineárisan méretnövelhető a gyártás.

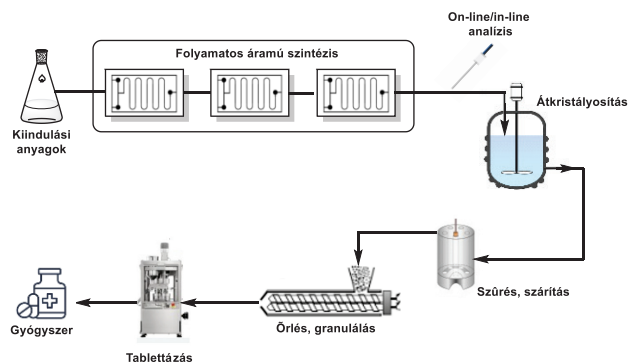
Az áramlások kémiai technológiákra történő áttérést számos kortárs kutatás segíti, melyek célja a kereskedelem-ben forgalmazott gyógyszerhatóanyagok áramlások kémiai szintézisének megvalósítása. Ezek közül az elmúlt öt évből néhány sikeres példát a 4. ábra foglalja össze, melyek a következők: a vírusellenes vidarabin,¹⁶ a nem-szteroid gyulladáscsökkentő celecoxib,¹⁷ az anesztetikum propofol,¹⁸ az antidiabetikus glibenklamid,¹⁹ az opioid fájdalomcsökkentő fentanil,²⁰ a görcsoldó brivaracetám,²¹ a retrovírus-ellenes dolutegravir,²² a feketehimlő-ellenes tekovirimat²³ és az Alzheimer-gyógyszer memantin.²⁴



4. Ábra. Néhány példa gyógyszerhatóanyagok áramlások kémiai szintézisére az elmúlt öt évből

Az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (FDA) 2023-ban közzétette a gyógyszerhatóanyagok és gyógyszerkészítmények folyamatos gyártásáról szó-

ló ajánlásait, mely többek között szemlélteti a szabályozási rendszer hajlandóságát az áramlások kémia alkalmazására.²⁵ Ezen ajánlásokban tárgyalásra került az ún. „end-to-end” típusú integrált gyártási módszer is, mely lehetővé teszi, hogy a hatóanyagok többlépéses szintézise, a feldolgozási és tisztítási lépések, valamint a formuláció egyetlen összefüggő folyamatban valósuljanak meg, így a gyógyszerhatóanyag előállításán keresztül eljuthatunk akár a tablettáformáig is (5. ábra). Noha a gyógyszeripar általánosságban véve ettől a gyártástechnológiától még messze van, azonban vannak már példák laboratóriumi méretű GMP „end-to-end” folyamatos gyógyszergyártási technológiákra.^{26,27}



5. Ábra. „End-to-end” folyamatos gyógyszergyártási technológia koncepciója

2. Eredmények

A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME), Vegyészmérnöki és Biomérnöki Karán, a Szerves Kémia és Technológia Tanszéken működő, Innovatív Gyógyszeripari és Kirotechnológiai Kutatócsoportunk innovatív szintetikus módszerek fejlesztésén dolgozik biológiaiailag aktív vegyületek és gyógyszerintermedierek előállításán, valamint ciklodextrinek kémiai módosításán keresztül. Munkánk során gyakran alkalmazunk MW reaktorokat és áramlások kémiai rendszereket, szem előtt tartva a zöldkémia 12 alaptörvényét és a fenntarthatóságot. A következőkben kutatási témáink közül az áramlások kémia területén elért eddigi eredményeinket foglaltuk össze.

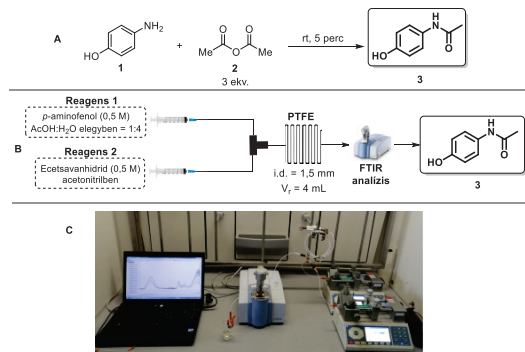
2.1. A paracetamol áramlások kémiai előállítása

A paracetamol (3) egy széles körben alkalmazott, nem opioid fájdalom- és lázcsillapító hatóanyag. Szerkezetileg egy *para*-helyzetű aminofenol-származék, melynek aminocsoportja *N*-acilezéssel acetil-amid funkcióvá alakul. Farmakológiai hatását elsősorban a központi idegrendszerben fejt ki, ahol a ciklooxygenáz (COX) enzimek gátlásával csökkenti a prosztaglandin szintézist, ezáltal csillapítja a fájdalmat és a lázat.

Célul tűztük ki egy olyan áramlások kémiai laborgyakorlat kidolgozását, mellyel a BME Vegyészmérnöki képzésének BSc-hallgatóival megismertetjük az áramlások kémia alapjait.²⁸ A gyakorlat modellreakciójaként a paracetamol (3) előállítását választottuk. Célunk volt annak bemutatása is,

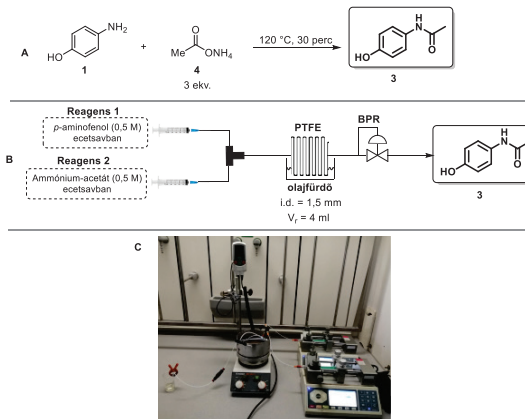
hogy az áramlások kémiai rendszerbe hogyan integrálható *in-line* analitikai mérés, mellyel valós időben kaphatunk információt a reakció lejárásáról. A gyakorlat során a hallgatók a hatóanyag (3) két különböző áramlások kémiai előállítását vizsgálják, és az egyik reakciót *in-line* Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópiával (FT-IR) is nyomonkövetik.

Az első eljárás az *N*-acilezés klasszikus formájára épül, mely során a *p*-aminofenolt (1) ecetsavanhidriddel (2) reagáltatják szobahőmérsékleten (6. ábra). A kísérleti elrendezés két fecskendőpumpából, egy T-keverőelemből és egy politetrafluoretilénből (PTFE) készült csőreaktorból áll. A hallgatók a kiáramló termékelegyet vékonyréteg-kromatográfiával (VRK) és gázkromatográfiával (GC) analizálják. Emellett a reakcióelegy összetételét Bruker ALPHA II FT-IR spektrométerrel valós időben is vizsgálják. A mért spektrumok alapján jól nyomon követhető a reaktánsok fogyása és a paracetamol képződése (3) (pl. az új, 1133 cm⁻¹ hullámszámú sáv megjelenésével). A reakció rövid idő alatt, 5 perces tartózkodási idővel és teljes konverzióval játszódik le.



6. Ábra. A paracetamol (3) áramlások kémia szintézise *p*-aminofenol (1) és ecetsavanhidrid (2) reakcióján keresztül (A: reakcióegyenlet, B: áramlások kémiai elrendezés, C: fotó az összeállított rendszerről)

A második szintetikus út egy transzamidálási reakción alapul, mely során a *p*-aminofenol (1) ammónium-acetáttal (4) reagál ecetsavas közegben, 120 °C-on, 30 perces tartózkodási idő mellett (7. ábra). A reakció során az ammónium-acetátból (4) *in situ* képződő acetamid az acilező ágens.



7. Ábra. A paracetamol (3) áramlások kémia szintézise *p*-aminofenol (1) és ammónium-acetát (4) reakcióján keresztül (A: Reakcióegyenlet, B: Áramlások kémia elrendezés, C: Fotó az összeállított rendszerről)

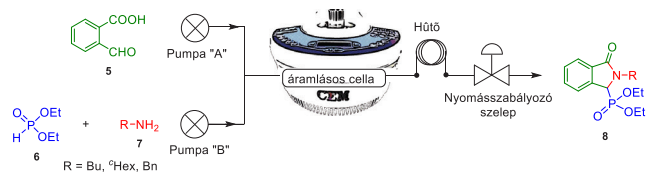
Mivel a reakció forráspont felett megy végbe, így a rendszerbe egy BPR nyomásszabályozó szelep is beépítésre kerül. A szintetikus rendszer elrendezése hasonló az első kísérlethez, a reakció lejátszódását a hallgatók VRK és GC módszerekkel követik és értékelik.

Mindkét kísérlet során a hallgatók elsajátítják az áramlásos kémiai rendszerek összeállítását, az anyagáramlási számításokat, valamint a szintetikus reakciók analitikai nyomonkövetését is. Az FT-IR analízis révén pedig bepillantást nyernek az *in-line* folyamatellenőrzés („*Process Analytical Technology*”, PAT) alapelveibe, amely az áramlásos kémia mellett a mai modern gyógyszergyártás másik fontos kulcseleme.

2.2. *N*-alkil-izindolin-1-on-3-foszfónátok előállítása Kabachnik–Fields-reakciót követő gyűrűzáráson keresztül folyamatos MW reaktorban

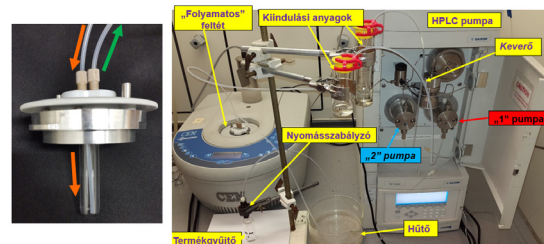
Napjainkban a MW technika alkalmazása számos szerves szintetikus reakcióban, sőt több ipari területen is elterjedt (például az élelmiszeriparban hatékonyan használják különféle szárítási, sterilizálási és extrakciós folyamatokhoz is). A szerves kémia területén a technika legfontosabb előnyei közé tartozik a reakcióidő jelentős csökkentése, valamint a gyakran elkerülhető katalizátorok és/vagy oldószerek használata. Továbbá többkomponensű reakciók esetén a kívánt termékek nagyobb szelektivitással állíthatók elő. Ugyanakkor a MW reaktorok korlátozott geometriája komoly kihívást jelent az átalakítások méretnövelésében. Ezt a problémát folyamatos áramlású MW reaktorok bevezetésével lehet hatékonyan megoldani.

Munkánk során egy egyszerű és hatékony MW módszert dolgoztunk ki izindolin-1-on-3-foszfónátok (**8**) szakaszos, illetve folyamatos áramú előállítására.²⁹ A szintézis a 2-formilbenzoesav, alifás primer aminok és különféle dialkil-foszfítok háromkomponensű kondenzációján alapult. A reakciókörülményeket – így a hőmérsékletet, a reakcióidőt és a kiindulási anyagok moláris arányát – mind szakaszos, mind pedig folyamatos reakcióvezetés mellett optimalizáltuk. A szakaszos körülmények között kifejlesztett szintézis termelékenységének növelése érdekében, a 2-formilbenzoesav, butil-, ciklohexil- vagy benzil-amin és dietil-foszfít háromkomponensű reakcióját egy kétcsatornás HPLC pumpából, egy folyamatos feltétellel ellátott CEM® MW reaktorból és egy nyomásszabályozó szelepből álló áramlásos kémiai rendszerben is hatékonyan megvalósítottuk.



8. Ábra. A 2-formil-benzoesav (**5**), különböző primer aminok (**7**) és dietil-foszfít (**6**) kondenzációja folyamatos MW reaktorban

A kísérleti munka során a 2-formilbenzoesav etanolos oldatát (A oldat) és a butilamin és dietil-foszfít etanolos keverékét (B oldat) külön-külön tápláltuk a rendszerbe (9. ábra). Az oldatok 0,25–0,70 ml/perc összarámlási sebességgel érték el a reaktort (ez 30–10 perc közötti tartózkodási időnek felel meg). A hőmérsékletet a MW reaktor IR érzékelője szabályozta. A reaktorból kiáramló oldatot feltekercselt csőben hűtöttük 25 °C-ra egy vízfürdő segítségével, majd egy nyomásszabályozó szelep beépítésével gyűjtöttük össze. A reakcióelegy összetételének meghatározására a távozó elegy egymást követő frakcióit GC mérésekkel analizáltuk.



9. Ábra. Az alkalmazott folyamatos MW rendszer és az áramlásos cella

Összességében a folyamatos áramú kísérletek esetén körülbelül 1,3–2,3-szoros termelékenység növekedést sikerült elérnünk a szakaszos eljáráshoz képest (1. táblázat). Fontos azonban megjegyezni, hogy a szakaszos reakciók termelékenységét több egymást követő reakció nettó reakcióideje alapján számoltuk, az egyes kísérletek előkészületein túlmenően.

1. Táblázat. A termelékenységi eredmények összehasonlítása

Vegyület	Termelékenység (g/óra)	
	Szakaszos technológia	Folyamatos technológia
 8a	1,8	2,3
 8b	0,6	1,4
 8c	1,0	1,8

2.3. A 6-monoamino-6-monodeoxi-β-ciklodextrin áramlásos kémiai előállítása

A ciklodextrinek (CD-k), mint természetes ciklikus oligoszacharidok glükóz alegységek makrociklusos gyűrűjéből állnak, melyeket α-1,4-glikozidos kötések kötnék össze.³⁰ Három fő típusuk van: α-, β- és γ-CD, attól függően, hogy hány glükózegységből állnak (6, 7 vagy 8). Ezek az üreges, csonkakúp alakú molekulák különleges tulajdonságokkal rendelkeznek: vízben oldhatók, miközben apoláros vendégmolekulákat képesek belső üregükbe zárni.³¹ Ezen tulajdonságuknak köszönhetően széles körben alkalmazzák őket a gyógyszeriparban,³² élelmiszeriparban,³³ mezőgazdaságban³⁴ és a környezetvédelemben is.³⁵

A CD-k kémiai módosítása lehetővé teszi tulajdonságaik finomhangolását. A monoamino CD-k, mint például a 6-monoamino-6-monodeoxi- β -CD (**12**) különösen értékes, mivel az aminocsoport lehetőséget biztosít további kovalens módosításokra vagy konjugációra (pl. fluoreszcens jelöléssel vagy biológiailag aktív molekulákkal). Ennek következtében ezen vegyületek alkalmasak gyógyszerhordozók, szenzorok vagy akár biomolekulák célzott szállítására is.³⁶

Hagyományosan a CD-ek módosítását szakaszos eljárással valósítják meg, ami gyakran időigényes és nehezen szabályozható. Kutatócsoportunkban célul tűztük ki az első áramlásos kémiai eljárás kidolgozását a 6-monoamino-6-monodeoxi- β -CD (**12**) előállítására natív β -CD-ből kiindulva, három lépésen, tozilezésen, azidáláson és redukción keresztül (10. ábra).³⁷

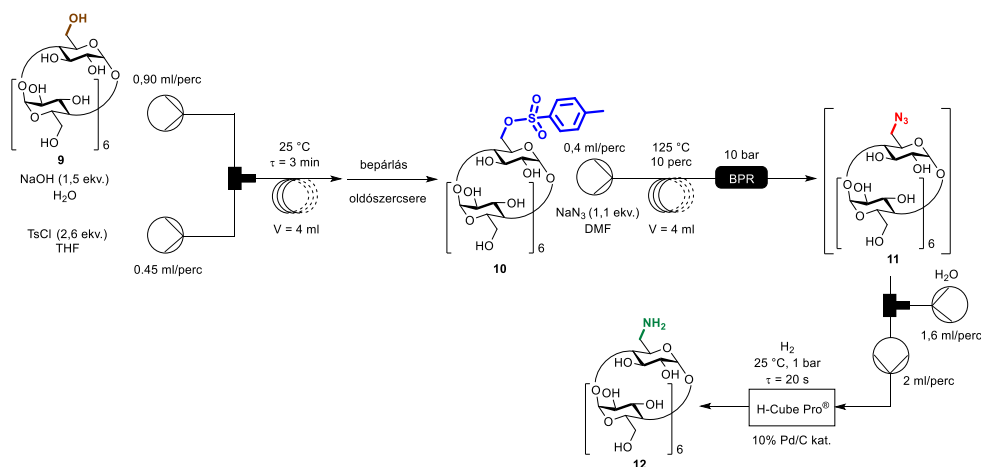
Először a három reakciólépést külön-külön optimalizáltuk áramlásos körülmények között. A tozilezés során a β -CD-t tozil-kloriddal reagáltattuk kis feleslegben vett nátrium-hidroxid és tetrahidrofuran/víz 2:1 elegyében Asia® reaktorban, és szobahőmérsékleten 3 perces tartózkodási idő mellett, a szakaszos eljárásokhoz hasonló eredményt értünk el. Az azidálás nátrium-aziddal *N,N*-dimetilformamidban volt hatékony, így a tozilezés után bepároltuk a reakcióelegyet és oldószercserét hajtottunk végre, emiatt az első két lépést nem tudtuk összekapcsolni. Azonban az azidálás és a hidrogénezés már összekapcsolható volt, azzal a feltétellel,

hogy az azidálási lépés után vizet adtunk a reakcióelegyhez, a hidrogénezés hatékonyságának növelése érdekében. A redukciót H-cube Pro® folyamatos hidrogénező reaktorban hatékonyan valósítottuk meg 10% Pd/C katalizátorral, DMF/víz 1:4 arányú elegyében, 25 °C-on 0,3 perces tartózkodási idővel.

Az általunk kidolgozott áramlásos kémiai eljárásokat az irodalmi szakaszos módszerekkel összevetve (2. táblázat), megállapítható, hogy a hozamok mindkét esetben hasonlóak, ugyanakkor áramlásos körülmények között a reagens- és katalizátormennyiség, valamint a reakcióidő jelentősen csökkenthető.

2.4. Kapszaicin és származékainak szintézise áramlásos kémiai rendszerben

A kapszaicin és származékai (a kapszaicinoidok) a paprikák csípősségéért felelős bioaktív alkaloidok. Főként az élelmiszeripar hasznosítja őket csípős élelmiszeripari adalékanyagaként, ugyanakkor a gyógyszeriparban is alkalmazzák őket neuropátiás fájdalmak enyhítésére, krémek és kenőcsök hatóanyagaként. A kapszaicinoidok szakaszos szintézise régi, bevett eljárás, ugyanakkor áramlásos kémiai előállításuk még nem volt ismert. Így egy olyan folyamatos eljárás kifejlesztése volt a célunk, ahol az eddigi szakaszos irodalmi példákhoz képest, rövidebb idő alatt hasonló, vagy jobb termeléssel állíthatók elő ezek a bioaktív vegyületek.⁴¹



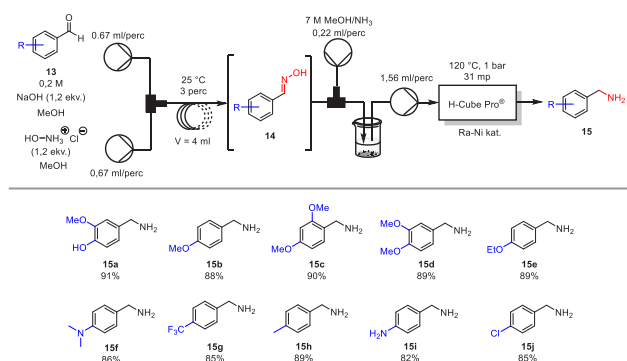
10. Ábra. 6-Monoamino-6-monodeoxi- β -CD (**12**) áramlásos kémiai előállítására β -CD-ből (**9**) kiindulva

2. Táblázat. 6-Monoamino-6-monodeoxi- β -CD (**12**) korábbi szakaszos, valamint az általunk kidolgozott áramlásos szintézis összehasonlítása

Szintetikus lépés	Szakaszos				Folyamatos		
	Reagens, oldószer	Körülmények	Termelés ^a (%)	Ref.	Reagens, oldószer	Körülmények	Termelés ^a (%)
Tozilezés	TsCl (6 ekv.), NaOH (14 ekv.), víz	0 °C, 3 óra	22	[38]	TsCl (2,6 ekv.), NaOH (1,5 ekv.), víz:THF (2:1)	25 °C, 3 perc	20
Azidálás	NaN ₃ (1,1 ekv.), vízmentes DMF	110 °C, 1 óra	81	[39]	NaN ₃ (1,1 ekv.), DMF	125 °C, 10 perc	81
Hidrogénezés	H ₂ (1 bar), 5% Pd/C kat.	25 °C, 12 óra	87	[40]	H ₂ (1 bar), 10% Pd/C kat.	25 °C, 0,3 perc	93

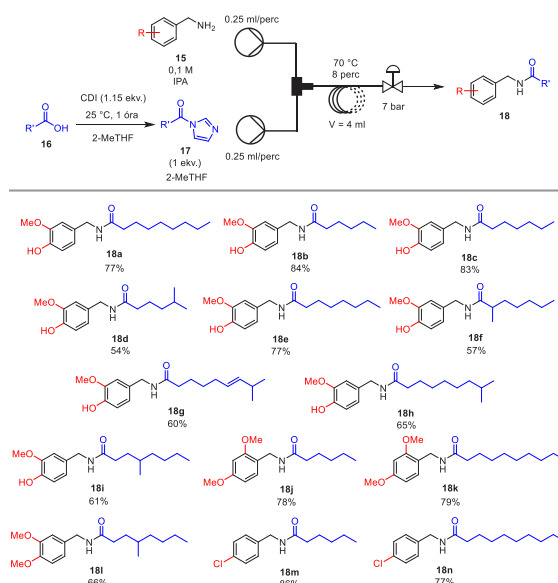
^a Izolált termelések.

Első lépésben szubsztituált benzaldehidekből (**13**) kiindulva Syrris Asia[®] csőreaktorban oximképzést hajtottunk végre hidroxilamin-hidrokloriddal metanolban, szobahőmérsékleten, majd a kapott aldoximokat (**14**) izolálás nélkül az H-Cube Pro[®] folyamatos hidrogénező reaktorba vezettük. Annak érdekében, hogy növeljük a hidrogénezés szelektivitását a kívánt primer aminra nézve, ammóniát is adagoltunk a hidrogénező reaktorba belépő reakcióelegyhez. A redukció lejátszódásához Raney[®]-Ni katalizátorral, 120 °C-on mindössze félperces tartózkodási időre volt szükség, és így jó termeléssel izoláltunk tíz benzilamin-származékot (**15**) (11. ábra).



11. Ábra. Benzilaminok (**15**) áramlásos kémiai előállítás benzaldehidekből (**13**)

Végül a kapszaicinoidok előállításához a primer aminokat hosszú szénláncú karbonsavakkal *N*-acileztük. Az H-Cube Pro[®] reaktorból kilépő reakcióelegyet közvetlenül nem tudtuk felhasználni az acilezésnél, mivel az oldószer (metanol, és nyomnyi mennyiségű víz) elbontotta az acilezőszert. Így feldolgozás után az aminokat izopropil-alkoholban oldottuk, acilezőszerként pedig hosszú szénláncú karbonsavak frissen elkészített imidazolamid-származékait használtuk. Az acilezés során 2-metil-tetrahidrofuranban 70 °C-on, 8 perces tartózkodási idő mellett, közepes és jó termeléssel jutottunk 14 kapszaicin-származékhoz (**17**). Ezek közül hat az irodalomban addig nem ismert, új vegyület volt (12. ábra).



12. Ábra. Kapszaicin és származékainak áramlásos kémiai szintézise

Az általunk kidolgozott áramlásos kémiai szintézis eredményeit összevetetve a szakaszos irodalmi példákkal, kiemelhető, hogy rövidebb reakcióidő mellett hasonló vagy jobb termelést értünk el (3. táblázat). Ezen kívül zöldkémiai számításokat is végeztünk, és megállapítottuk, hogy általánosságban jobb atomhatékonysággal és alacsonyabb E-faktossal dolgoztunk. Munkánk során a zöldkémia 12 alapelvéből pedig hétnek teljes mértékben megfeleltünk (3. táblázat).

2.5. Áramlásos kémiai reaktorok 3D nyomtatása és felhasználása szerves kémiai reakciókban

Az áramlásos kémia egyik kihívása, hogy a kereskedelmi forgalomban elérhető reaktorok, pumpák és egyéb kiegészítők költsége jóval nagyobb, mint a hagyományos, szakaszos szintéziseknél alkalmazott eszközöké. Erre nyújthat megoldást a 3D nyomtatás, mellyel nemcsak olcsóbb reaktorokat készíthetünk, de azok szabadon is tervezhetők az adott reakció igényeihez igazítva (13. ábra).

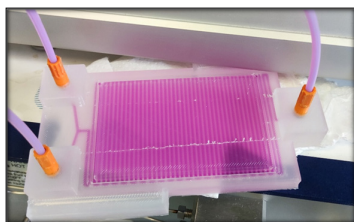
3. Táblázat. Korábbi szakaszos, valamint az általunk kidolgozott áramlásos szintézis összehasonlítása

	Reakciólépés	Termelés (%)	T (°C)	t vagy t (perc)	Atom-hatékonyság (%)	E-faktor ^a	Ref.
Szakaszos módszerek	Oximképzés	76	100	10	55	2,24	[42]
	Redukció	74	10–15	180	37	13,8	[42]
	<i>N</i> -Acilezés	53 ^b	25–35	240	69	4,22	[43]
		71 ^c	25	480	57	2,60	[44]
Általunk kidolgozott áramlásos szintézis	Oximképzés	95	25	3	64	0,78	[41]
	Redukció	91	120	0,5	89	1,66	
		60 ^b	70	8	63	1,71	
	<i>N</i> -Acilezés	77 ^c	70	8	62	1,20	

^a Ha az oldószereket újra felhasználjuk.

^b A keletkező termék kapszaicin.

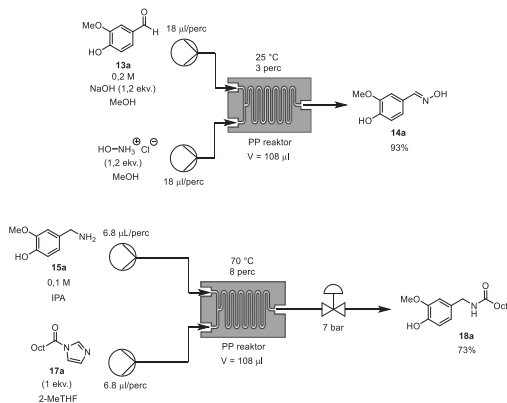
^c A keletkező termék nonivamid.



13. Ábra. 3D nyomtatott, polipropilén áramlásos reaktor

A legközismertebb és legolcsóbb, szálhúzáson alapuló 3D nyomtatási technológia („Fused Filament Fabrication” – FFF) esetén számos alapanyagból (filamentből) választhatunk (pl. politejsav – PLA, polietilén-tereftalát-glikol – PETG, poliamid 6 – PA6, polipropilén – PP, vagy akár polivinilidén-fluorid – PVDF). A nyomtatást követően legtöbbször nincs szükség utókezelésre, ezért laboratóriumi kutatási célra kiváló választás, így munkánk során ezzel a nyomtatási technológiával dolgoztunk. Ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy néhány kihívással szembe kell néznünk, ha áramlásos kémiai reaktorok 3D nyomtatása mellett döntünk: a nyomtatott darabnak eresztésmentesnek kell lennie, valamint olyan alapanyagot kell választanunk, amely a legtöbb szerves oldószernek, savaknak, bázisoknak (akár fűtött közegben, nyomás alatt) is ellenáll. Az eresztési problémát a nyomtatási beállítások finomhangolásával lehet kiküszöbölni, viszont ezeket a paramétereket minden egyes alapanyag esetén külön-külön optimalizálni kell. A polimerek vegyszer- és hőállóságára vonatkozóan jelenleg kevés adat áll rendelkezésre az irodalomban, ugyanakkor a PP és a PA6, valamint ezek kompozitjai megfelelő alapanyagok lehetnek 3D nyomtatott áramlásos kémiai reaktorokhoz.

A felsorolt szempontok figyelembevételével végeztük el áramlásos reaktorok tervezését és 3D nyomtatását PP alapanyagból. A reaktorokat a kapszaicin intermedier, vanillin-oxim (**14a**), valamint a nonivamid (**18a**) szintézisének keresztül teszteltük (14. ábra).⁴¹ Az utóbbi esetben a reaktort 70 °C-os vízfürdőben, 7 bar nyomáson üzemeltettük, és az eredmények alapján megállapítható, hogy ebben a két reakcióban a drágább kereskedelmi forgalomban kapható áramlásos reaktorok kiválthatók az olcsóbb, 3D nyomtatott PP reaktorokkal (4. táblázat).



14. Ábra. Vanillin-oxim (**14a**) és nonivamid (**18a**) áramlásos szintézise 3D nyomtatott reaktorokban

4. Táblázat. A kereskedelmi forgalomból beszerezhető, és a 3D nyomtatott áramlásos kémiai reaktorokban kapott eredmények összehasonlítása

Reakciólépés	Termelés (%)	
	Syrris Asia® reaktor	3D nyomtatott reaktor
Oximképzés	95	93
N-Acilezés	77	73

Annak érdekében, hogy a 3D nyomtatott áramlásos kémiai modulok jobban elterjedhessenek, szükség van az alapanyagok vegyszer- és hőellenállásának széleskörű vizsgálatára, így jövőbeli terveink között szerepel áramlásos reaktorok nyomtatása többféle filamentből (PLA, PP, PP kompozitok, PA6, PA6 kompozitok, PVDF), majd ezek kémiai és hőstabilitásának vizsgálata nagy hőmérsékleten és nyomáson. Tervezünk továbbá olyan műszaki polimerekből is nyomtatni, mint például a PEEK (poliéter-éter-keton), vagy az ULTEM (poliéterimid), ugyanakkor ezekből az alapanyagokkal nehéz reprodukálhatóan jó minőségű elemeket készíteni, 3D nyomtatásuk egyelőre még kezdeti szakaszban jár. Gyógyszeripari alkalmazhatóság szempontjából a legjobb reaktor-alapanyagok a fémek lehetnek, ugyanakkor nyomtatási technológiájuk egyelőre még nagyon költséges és utókezelést igényel.

3. Kísérleti rész

A 2.1. fejezetben bemutatott áramlásos kémiai reakciókat két egysatos Nexus 6000 típusú fecskendőpumpával, 4 ml térfogatú poli(tetrafluoretilén) (PTFE) anyagú csőreaktorban, illetve 2.3.–2.5. fejezetek reakciói esetén Syrris Asia® típusú folyamatos fecskendőpumpákkal és Syrris Asia® típusú fűthető reaktorokban végeztük el (össztérfogat 5,6 ml). A hidrogénezési lépésekhez H-Cube Pro® áramlásos kémiai hidrogénező rendszert alkalmaztunk (össztérfogat 3,5 ml), Knauer Azura® P 2.1S HPLC-pumpával.

A 2.2. fejezetben bemutatott MW reakciókat az általunk kialakított áramlásos kémiai rendszerben végeztük, mely egy 300 W teljesítményű CEM Discover típusú MW reaktorból állt, egy CEM 10 mL-es áramlási cellával felszerelve (besugárzott térfogat: 7 mL). A rendszer része volt továbbá egy Gilson 332 típusú kétsatos HPLC-pumpa, egy 250 psi (17,2 bar) nyomásszabályozó, valamint egy hűtőkör is (ld. 9. ábra).

A felhasznált kiindulási anyagok és oldószerek minden esetben kereskedelmi forgalomban elérhető forrásokból kerültek beszerzésre. Az összeállított rendszerekhez kereskedelmi forgalomban elérhető elemeket, csöveket (PTFE vagy PEEK) és csatlakozókat használtunk. Az előállított vegyületeket izolálás után ¹H és ¹³C NMR, valamint HRMS mérésekkel jellemeztük.

A 3D nyomtatott reaktormodulok tervezéséhez az Autodesk Fusion számítógépes modellező szoftvert használtuk, a modellek rétegekre szeletelése, valamint a nyomtatási paraméterek beállítása az UltiMaker Cura programban történt. A nyomtatásokat az Ultimaker S7 FFF 3D nyomtató segítségével végeztük el. A PP nyomtatásához 0,4 mm-es átmérőjű, Ultimaker gyártmányú „AA” fűvókát használtunk, és a nyomtatási asztalt a megfelelő adhézió érdekében Magigoo PP adhezív stifttel kezeltük. Nyomtatási alapanyag: Ultimaker PP, 500 g, 2,85 mm filament átmérő (gyártó: Ultimaker B. V.).

4. Összefoglalás

A BME Szerves Kémia és Technológia Tanszékén működő Innovatív Gyógyszeripari és Kirechnológiai Kutatócsoport kutatásainak egyik középpontjában áramlásos kémiai technológiák fejlesztése és alkalmazása áll. A csoport célja olyan új, zöldkémiai szempontokat figyelembe vevő szintetikus eljárások kidolgozása, amelyek lehetővé teszik biológiailag aktív vegyületek, gyógyszerhatóanyagok és intermedierek hatékony, fenntartható előállítását. Az áramlásos rendszerek előnyei - mint a kiváló hőmérséklet- és reakciókontroll, a biztonságosabb reakciómegvalósítás, az egyszerűbb méretnövelés, valamint az *in-line* analitikai technikák alkalmazhatósága - jól érvényesülnek a kutatócsoport által fejlesztett eljárásokban. A kutatás során több, oktatás és ipari szempontból is fontos szintetikus megközelítést dolgoztunk ki.

A paracetamol kétféle áramlásos kémiai szintézisére kifejlesztettünk egy laboratóriumi gyakorlatot, mely során bemutattuk a reakció *in-line* FT-IR spektroszkópiás nyomonkövetését is.

Az *N*-alkil-izoidolin-1-on-3-foszfónátok előállítását hatékonyan valósítottuk meg Kabachnik–Fields-reakciót követő gyűrűzáráson keresztül folyamatos MW reaktorban, mely során a szakaszos eljáráshoz képest 1,5-2-szeres termelékenység-növekedést értünk el.

Csoportunkban elsőként dolgoztuk ki a 6-monoamino-6-monodeoxi- β -CD áramlásos kémiai előállítását β -CD-ből kiindulva, három lépésen, tozilezésen, azidáláson és redukción keresztül. Az irodalmi szakaszos eljárásokhoz képest, áramlásos körülmények között jelentősen csökkenthető volt a reagensfelesleg mennyisége és a reakcióidő is.

Elsőként valósítottuk meg kapszaicin és származékai áramlásos kémiai szintézisét is. A kidolgozott háromlépéses áramlásos technológiával, az irodalmi szakaszos eljárásokhoz képest, egy gyorsabb és nagyobb hozamú módszert tettünk elérhetővé, mely a zöldkémia 12 alapelve közül hétnek megfelel.

Igazoltuk továbbá, hogy a kereskedelmi forgalomból drágán beszerezhető áramlásos kémiai reaktorok költséghatékony alternatívájaként 3D nyomtatott PP reaktorokban is megvalósítható a kapszaicin intermedier, vanillin-oxim és a nonivamid áramlásos kémiai szintézise.

Jövőbeli céljaink között szerepel kutatásaink kiterjesztése további biológiailag aktív kismolekulák és funkcionális CD-származékok folyamatos szintézisére, valamint a 3D nyomtatott áramlásos rendszerek továbbfejlesztése, különös tekintettel az alapanyagok kémiai és hőállóságának vizsgálatára, illetve fejlettebb nyomtatható polimerek alkalmazására.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti az egyes kutatásokban résztvevő társszerzőket és együttműködő partnereket. Az elért eredmények a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal, NKFIH FK-142712, Piaci KFI 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2021-00234 és a Nemzeti Laboratórium PharmaLab, RRF-2.3.1-21-2022-00015 pályázatok társfinanszírozásával, valamint részben a Servier Kutatóintézet és a Nemzeti Fiatal Tehetségeiért Ösztöndíj, NTP-NFTÖ-22-B-0143 támogatásával születtek.

Hivatkozások

1. Plutschack, M. B.; Pieber, B.; Gilmore, K.; H. Seeberger, P. H. *Chemical Reviews* **2017**, *117*, 11796–11893. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00183>
2. Power, M.; Alcock, E.; McGlacken G. P. *Org. Process Res. Dev.* **2020**, *24*, 1814–1838. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.0c00090>
3. Seemann, A.; Panten, J.; Kirschning, A. *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 13924–13933. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c00663>
4. Morodo, R.; Bianchi, P.; Monbaliu, J.-C. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 5236–5277. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202000430>
5. Morodo, R.; Riva, R.; van den Akker, N. M. S.; Molin, D. G. M.; Jérôme, C.; Monbaliu, J.-C. M. *Chem. Sci.* **2022**, *13*, 10699–10706. <https://doi.org/10.1039/D2SC02891C>
6. Mallia, C. J.; Baxendale, I. R. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 327–360. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.5b00222>
7. Glotz, G.; Lebl, R.; Dallinger, D.; Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 13786–13789. <https://doi.org/10.1002/anie.201708533>
8. Colomer, J. P.; Traverssi, M.; Oksdath-Mansilla, G. *J. Flow Chem.* **2020**, *10*, 123–138. <https://doi.org/10.1007/s41981-019-00066-5>
9. Wan, L.; Kong, G.; Liu, M.; Jiang, M.; Cheng, D.; Chen, F. *Green Synth. Catal.* **2022**, *3*, 243–258. <https://doi.org/10.1016/j.gresc.2022.07.007>
10. Alfano, A. I.; Lange, H.; Brindisi, M. *ChemSusChem* **2022**, *15*, e202102708. <https://doi.org/10.1002/cssc.202200301>
11. Chen, H.; Mishra, N. K.; Martos-Maldonado, M. C.; Roholm, S.; Sørensen, K. K.; Jensen, K. J. *ChemBioChem* **2024**, *25*, e202400534. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400534>

12. Szaniszló, Sz.; Ferentzi, K.; Perczel, A.; Farkas, V. *Org. Process Res. Dev.* **2023**, *27*, 1053–1060.
<https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00029>
13. Ferentzi, K.; Nagy-Fazekas, D.; Farkas, V.; Perczel, A. *React. Chem. Eng.* **2024**, *9*, 58–69.
<https://doi.org/10.1039/D3RE00324H>
14. Hartrampf, N.; Saebi, A.; Poskus, M.; Gates, Z. P.; Callahan, A. J.; Cowfer, A. E.; Hanna, S.; Antilla, S.; Schissel, C. K.; Quartararo, A. J.; Ye, X.; Mijalis, A. J.; Simon, M. D.; Loas, A.; Liu, S.; Jessen, C.; Nielsen, T. E.; Pentelute, B. L. *Science* **2020**, *368*, 980–987.
<https://doi.org/10.1126/science.abb2491>
15. Ahn, G.-N.; Kang, J.-H.; Lee, H.-J.; Park, B.E.; Kwon, M.; Na, G.-S.; Kim, H.; Seo, D.-H.; Kim, D.-P. *Chem. Eng. J.* **2023**, *453*, 139707.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139707>
16. Tamborini, L.; Previtali, C.; Annunziata, F.; Bavaro, T.; Terreni, M.; Calleri, E.; Rinaldi, F.; Pinto, A.; Speranza, G.; Ubiali, D.; Conti, P. *Molecules* **2020**, *25*, 1223.
<https://doi.org/10.3390/molecules25051223>
17. Scholtz, C.; Riley, D. L. *React. Chem. Eng.* **2021**, *6*, 138–146.
<https://doi.org/10.1039/D0RE00346H>
18. Sagandira, C. R.; Khasipo, A. Z.; Watts, P. *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 16028–16035.
<https://doi.org/10.1002/chem.202103196>
19. Martins, G. M.; Magalhães, M. F. A.; Brocksom, T. J.; Bagnato, V. S.; de Oliveira, K. T. *J. Flow Chem.* **2022**, *12*, 371–379.
<https://doi.org/10.1007/s41981-022-00234-0>
20. Braga, F. C.; Ramos, T. O.; Brocksom, T. J.; de Oliveira, K. T. *Org. Lett.* **2022**, *24*, 8331–8336.
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.2c03338>
21. Franco, M. S.; Silva, R. C.; Rosa, G. H. S.; Flores, L. M.; de Oliveira, K. T.; de Assis, F. F. *ACS Omega* **2023**, *8*, 23008–23016.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c02134>
22. Nqeketo, S.; Watts, P. *J. Org. Chem.* **2023**, *88*, 12024–12040.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01365>
23. Bonner, A.; Baumann, M. *Org. Biomol. Chem.* **2024**, *22*, 8323–8327.
<https://doi.org/10.1039/D4OB01379D>
24. Iwata, M.; Furiya, Y.; Ishitani, H.; Kobayashi, S. *Chem. Eur. J.* **2025**, *31*, e202403562.
<https://doi.org/10.1002/chem.202403562>
25. ICH Expert Working Group, **2023** Iktatószám: FDA-2021-D-1047.
26. Adamo, A.; Beingessner, R. L.; Behnam, M.; Chen, J.; Jamison, T. F.; Jensen, K. F.; Monbaliu, J.-C. M.; Myerson, A. S.; Revalor, E. M.; Snead, D. R. *Science* **2016**, *352*, 61–67.
<https://doi.org/10.1126/science.aaf1337>
27. Cole, K. P.; Groh, J. M.; Johnson, M. D.; Burcham, C. L.; Campbell, B. M.; Diserod, W. D.; Heller, M. R.; Howell, J. R.; Kallman, N. J.; Koenig, T. M.; May, S. A.; Miller, R. D.; Mitchell, D.; Myers, D. P.; Myers, S. S.; Phillips, J. L.; Polster, C. S.; White, T. D.; Cashman, J.; Hurley, D.; Moylan, R.; Sheehan, P.; Spencer, R. D.; Desmond, K.; Desmond, P.; Gowran, O. *Science* **2017**, *356*, 1144–1150.
<https://doi.org/10.1126/science.aan0745>
28. Rávai, B.; Orosz, M.J.; Péterfi, O.; Galata D. L.; Bálint, E. *J. Flow Chem* **2024**, *14*, 409–415.
<https://doi.org/10.1007/s41981-023-00303-y>
29. Tajti, Á.; Tóth, N.; Rávai, B.; Csontos, I.; Szabó, P.T.; Bálint, E. *Molecules* **2020**, *25*, 3307–3323.
<https://doi.org/10.3390/molecules25143307>
30. Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743–1754.
<https://doi.org/10.1021/cr970022c>
31. Sente, L.; Szejtli, J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *36*, 17–28.
[https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(98\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(98)00092-1)
32. Puskás, I.; Sente, L.; Szöcs, L.; Fenyvesi, É. *Period. Polytech. Chem. Eng.* **2023**, *67*, 11–17.
<https://doi.org/10.3311/PPch.21222>
33. Sente, L.; Szejtli, J. *Trends Food Sci. Technol.* **2004**, *15*, 137–142.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.019>
34. Szejtli, J.; Osa, T. *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; Pergamon, Elsevier: Oxford, **1996**; Vol. 3.
35. Sente, L.; Fenyvesi, É.; Szejtli, J. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 4495–4498.
<https://doi.org/10.1021/es981287r>
36. Xu, W.; Li, X.; Wang, L.; Li, S.; Chu, S.; Wang, J.; Li, Y.; Hou, J.; Luo, Q.; Liu, J. *Front. Chem.*, **2021**, *9*, 635507.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2021.635507>
37. Orosz, J. M.; Ujj, D.; Kasal, P.; Benkovics, G.; Bálint, E. *Beilstein J. Org. Chem.* **2023**, *19*, 294–302.
<https://doi.org/10.3762/bjoc.19.25>
38. Hacket, F.; Simova, S.; Schneider, H.-J. *J. Phys. Org. Chem.* **2001**, *14*, 159–170.
<https://doi.org/10.1002/poc.348>
39. Jicsinszky, L.; Iványi, R. *Carbohydr. Polym.* **2001**, *45*, 139–145.
[https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00319-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00319-2)
40. Petter, R. C.; Salek, J. S.; Sikorski, C. T.; Kumaravel, G.; Fu-Tyan, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3860–3868.
<https://doi.org/10.1021/ja00166a021>
41. Orosz, J. M.; Rávai, B.; Mátravölgyi, B.; Bálint, E. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2024**, *12*, 7913–7923.
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c01839>
42. Khan, A.; Naaz, F.; Basit, R.; Das, D.; Bisht, P.; Shaikh, M.; Lone, B. A.; Pokharel, Y. R.; Ahmed, Q. N.; Parveen, S.; Ali, I.; Singh, S. K.; Chashoo, G.; Shafi, S. *ACS Omega* **2022**, *7*, 32078–32100.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c03325>
43. Kaga, H.; Miura, M.; Orito, K. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3477–3478.
<https://doi.org/10.1021/jo00275a040>
44. Xie, M.; Wu, H.; Bian, J.; Huang, S.; Xia, Y.; Qin, Y.; Yan, Z. *RSC Adv.* **2023**, *13*, 32150–32159.
<https://doi.org/10.1039/D3RA05107B>

The research work of the BME Innovative Pharmaceutical and Chirotechnological Research Group on the development and application of flow chemical technologies

At the Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest University of Technology and Economics (BME), the Innovative Pharmaceutical and Chirotechnological Research Group among others focuses on the development and application of flow chemical technologies. The group aims to design novel synthetic methodologies that incorporate green chemistry principles, enabling the efficient and sustainable synthesis of biologically active compounds, active pharmaceutical ingredients, and intermediates. The advantages of flow chemistry – such as excellent temperature and reaction control, safer reaction implementation, easier scale-up, and the integration of *in-line* analytical techniques – are well demonstrated in the procedures developed by the group.

During our research, we have developed several synthetic approaches that are important from both educational and industrial perspectives. We created a laboratory practice for two types of flow synthesis of paracetamol, including real-time monitoring of the reaction using *in-line* FT-IR spectroscopy.

The synthesis of *N*-alkylisoindolin-1-one-3-phosphonates was successfully carried out *via* Kabachnik–Fields reaction followed by cyclization in a continuous MW reactor, resulting in a 1.5–2-fold increase in productivity compared to the batch process.

Our group was the first to establish the flow synthesis of 6-amino-6-monodeoxy- β -CD from β -CD in three steps: tosylation, azidation, and reduction. Compared to batch literature methods, our flow approach significantly reduced reagent excess and reaction times.

The first flow synthesis of capsaicin and its derivatives was also developed. The three-step continuous process provided a faster and higher-yielding alternative to batch methods, while meeting with seven of the twelve principles of green chemistry.

Furthermore, we demonstrated that 3D-printed polypropylene reactors can serve as cost-effective alternatives to expensive commercial flow reactors, enabling the synthesis of capsaicin intermediates such as vanillin oxime and nonivamide under flow chemical conditions.

In the future, our goals include expanding our research toward the continuous flow synthesis of further biologically active small molecules and functional CD derivatives, as well as developing 3D-printed flow systems with a particular focus on evaluating the chemical and thermal resistance of various materials and studying the use of more advanced printable polymers.

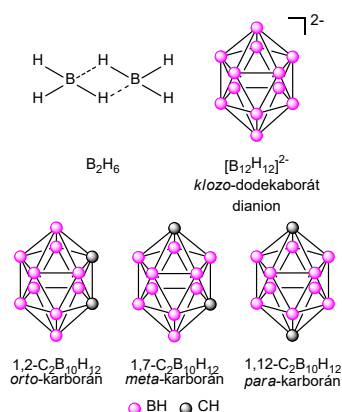
Karborán kémiai kutatások a BME-VBK-n

SZATHMÁRI Balázs,^a GÁL Dalma,^a és KELEMEN Zsolt^{a**}

^a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Műegyetem RKP 3., 1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A kutatócsoportunk 2019 őszén jött létre Kelemen Zsolt vezetésével. A kezdeti kihívások ellenére a csoport gyorsan és dinamikusan fejlődött, melynek gerincét kezdetektől fogva a fiatal doktoránsok, valamint az MSc hallgatók alkotják. Kutatásunk középpontjában a borán és karborán vegyületek állnak. Ellentétben a szén hidrogénnel alkotott vegyületeivel, ahol döntően láncok és gyűrűk alakulnak ki, a nagyobb tagszámú boránok főleg háromdimenziós klasztereket alkotnak. A bór atomok mellett más atomok is részt vehetnek a klaszterek felépítésében, amelyek közül a szénnel való szubsztitúcióval kapott karboránok kémiai a leginkább kutatott. Bár definíció szerint minden bór, szén és hidrogén atomból felépülő háromdimenziós klaszter vegyületet karboránnak nevezünk, ezek közül az ikozaéderes *klozo*-dikarbadodekaborán három izomerje kiemelkedik, köszönhetően nagy stabilitásuknak, könnyű funkcionizálhatóságuknak és alacsony toxicitásuknak. Emiatt a szakirodalom sokszor karboránként hivatkozik erre a három vegyületre, és szerves kémiai analógia alapján izomerjeit *orto*-, *meta*- és *para*-karboránként tárgyalja (**1. ábra**).¹ A boránokkal együtt ezeknek a vegyületeknek közös motívuma a többcentrumú kötések dominanciája, például már a legegyszerűbb poliborán, a diborán szerkezete is két darab háromcentrumú két elektront tartalmazó kötéssel értelmezhető. Nagyobb tagszámú boránok esetében nem csak három centrumú kötések, hanem jóval nagyobb mértékű delokalizáció is megfigyelhető.



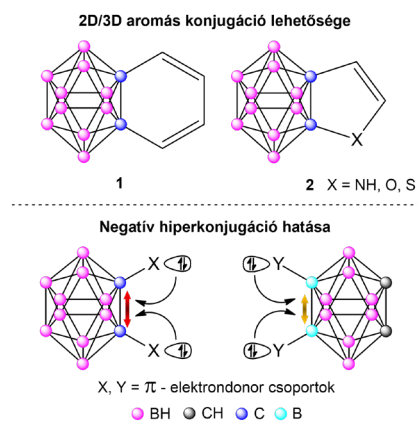
1. ábra. A B_2H_6 , $[B_{12}H_{12}]^{2-}$ és a három karborán izomer szerkezete

Ennek köszönhetően a poliboránok többsége úgynevezett 3D vagy σ -aromás vegyület, ami a szerves kémiából jól is-

mert 2D π -aromással számos azonosságot mutat.¹ Ezen vegyületek nagy stabilitással rendelkeznek, mágneses térben árnyékolásuk jelentős hatással van a szubsztituensek kémiai eltolódására, valamint elektrofil szubsztitúciós reakciókba vihetőek, amely az egyik legfontosabb funkcionizálási lehetőségük. Példaként érdemes megemlíteni, hogy a $[B_{12}H_{12}]^{2-}$ anion jóval aromásabbnak tekinthető, mint a benzol.

2. 2D és 3D aromás rendszerek konjugációjának lehetősége

A karboránok kémiájának kezdetén már felmerült a két különböző szimmetriájú aromáság, a 2D és 3D aromás konjugáció lehetősége, ugyanakkor az úgynevezett benzo-karborán (**2. ábra: 1**) esetében a kapcsolt gyűrű nem mutat 2D aromáságot.² Az elmúlt évtizedben számos közlemény jelent meg, ahol öttagú ciklusokat kapcsolva a karboránhoz 2D/3D aromás konjugációról számoltak be (**2. ábra**).^{3–5} A vegyületek aromáságát döntően a molekulapályák vizsgálatából, valamint a magfüggetlen kémiai eltolódás (nuclear independent chemical shift, NICS) indexének kvantum-kémiai számításával támasztották alá. A számított NICS értékek (–5,8) – (–9,9) ppm körülnek adódtak **2** (X=NH, O, S) vegyületekre, ami jelentős aromás karakterre utal. Felmerül a kérdés, hogy vajon mi lehet az oka annak, hogy a hattagú gyűrűs rendszernél (**1**) nem figyelhető meg a 2D aromás karakter,



2. ábra. Fent: A vizsgált karborán alapú rendszerek, Lent: A negatív hiperkonjugáció hatása a karborán különböző kötéseire

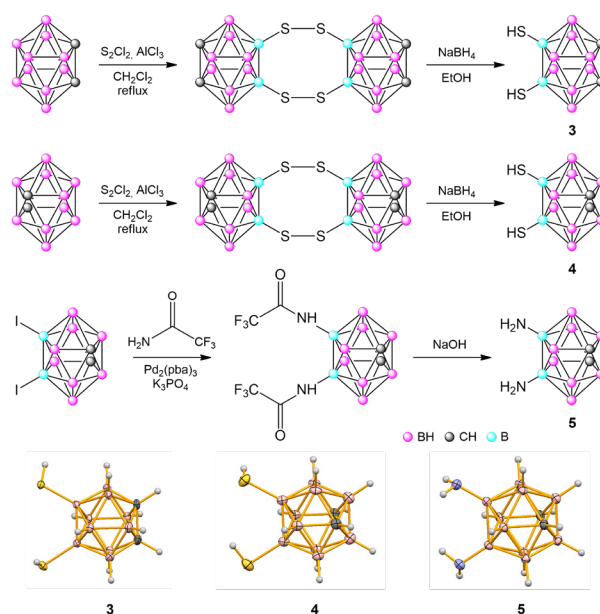
míg öttagú heterociklusokat tartalmazó vegyületeknél (**2**) pedig jelentős konjugációról számolnak be. A kérdés megválaszolásához behatóan vizsgáltuk a fent említett rendszereket

* Tel.: +36-1-463-5692; e-mail: kelemen.zsolt@vbk.bme.hu

(2. ábra: 1, 2) a kvantumkémia eszköztárával.⁶ Az aromás-ságnak nincs fizikai mérőszáma, ezáltal vizsgálata komplex feladat. Schleyer négy kritériumot állapított meg (energetikai, mágneses, geometriai, reaktivitásbeli),⁷ amelyek közül minél több teljesül, annál nagyobb bizonyossággal tekinthető aromásnak egy vegyület. Elsőként az energetikai kritériumot vizsgáltuk meg különböző izodezmikus reakciók segítségével. A hipotetikus reakciók alapján a vizsgált vegyületek nem mutatkoztak aromásnak, inkább a részlegesen telített heterociklusokkal mutattak nagy hasonlóságot. Itt fontos kiemelni, hogy a vizsgált vegyületek kísérleti ¹H NMR eltolódásai is nagyobb egyezést mutattak a részben telített vegyületekkel, mint a megfelelő aromás referencia vegyületekkel. Következő kritériumként a karborán kapcsolt gyűrű geometriáját vizsgáltuk, és megállapítottuk, hogy nem figyelhető meg az aromás vegyületekre jellemző kötés kiegyenlítődés, tehát e kritérium szerint sem tekinthetők aromásnak a vegyületek. Ezek ismeretében felmerül a kérdés, hogy mi okozza a NICS indexek alapján javasolt jelentős aromás karaktert. Megvizsgálva a karborán saját mágneses árnyékolását, megállapítottuk, hogy a klasztertől távolodva is még jelentősen tapasztalható az árnyékolás hatása, ami a távolság függvényében nagymértékben csökken. Egy öttagú gyűrű középpontja – ahol a NICS értéket vizsgálták – jóval közelebb található a klaszter középpontjához, mint egy hatagú gyűrű esetében. E különbség volt az, ami félrevezette a korábbi munkák szerzőit, és egyben rávilágít arra, hogy a kvantumkémia eszköztárát megfelelő óvatossággal és szakértelemmel kell alkalmazni. Számításaink megmutatták, hogy a rendszer ahelyett, hogy törekedne az aromás konjugációra, minden eszközt bevetve, inkább kettősgyökként viselkedik. Ezen eredményeket a *Chemical Science* folyóiratban közzétettük,⁶ a közleményt később egy külön cikkgyűjteménybe is kiválasztották (*Emerging Frontiers in Aromaticity*),⁸ valamint az MTA Kémia Osztálya 2022 szeptemberében a hónap publikációjának választotta. Későbbiekben a fenti megállapításokat kiterjesztettük a bór atomokon keresztül kapcsolódó gyűrűrendszerekre is.⁹ Ahogy közleményünk címében is említjük, a szubsztitúciós mintázatot változtatva sem lehet "kibékíteni" a két féle aromáság kapcsolatát, a kapcsolt gyűrű rendszer nem tekinthető 2D aromásnak. Ugyanakkor a rendszer stabilitásában jelentős szerepe van a gyűrű feszültségnek és a gyűrűn lévő szubsztituens elektronküldő képességének. Jelenlegi munkánk során e megállapításokat különböző foszforheterociklusos vegyületekre is kiterjesztjük.¹⁰

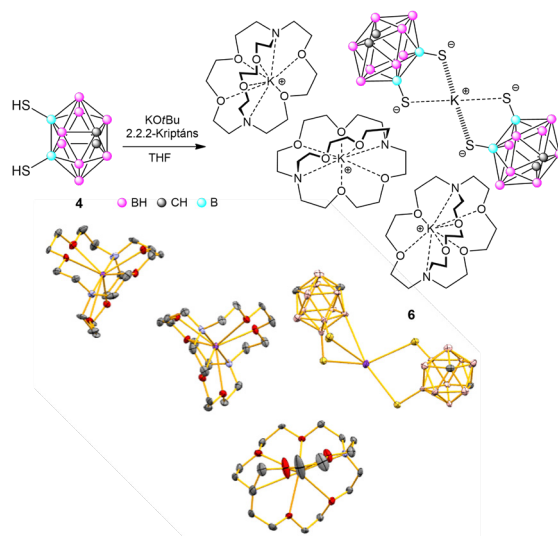
3. Kémiai kötélhúzás a karborán klaszterekben

Bár mint láhattuk, aromás konjugáció nem figyelhető meg ezen vegyületeknél, ugyanakkor a klaszterhez kapcsolódó jó π -elektron donorok például amino- vagy hidroxil-csoportok jelentős mértékben képesek elektront donálni a klaszter σ^* pályáira (2. ábra).¹¹ Ez tulajdonképpen a jól ismert hiperkonjugáció, ugyanakkor az elektrondonálás iránya nem a megszokott ($\sigma \rightarrow \pi^*$), hanem ennek fordítottja ($\pi \rightarrow \sigma^*$), ezért nevezzük negatív hiperkonjugációnak. Ennek hatására szén szubsztituált o-karboránokban a C–C



3. ábra. A szintetizált diszubsztituált karborán vegyületek és az egykristály röntgendiffrakciós szerkezetük

kötés hossza nagymértékben változtatható, akár 2,0 Å-t megközelítő is lehet, amely a leghosszabb C–C kötések egyike.¹² Felmerül a kérdés, hogy hasonló jelenség megfigyelhető-e a klaszter más kötéseinél is. Kvantumkémiai számításaink megmutatták, hogy bár nagyobb energia-befektetés szükséges a B–B kötések nyújtásához, azok plasztikussága nagymértékben hasonlít a fentebb tárgyalt C–C kötésekhez.¹³ A biztató elméleti eredmények tükrében kezdtük meg szintetikus munkánkat. Különböző amino- és tiol-csoportokkal szubsztitúált vegyületeket (3. ábra: 3, 4, 5) állítottunk elő, majd egykristály röntgendiffrakcióval vizsgáltuk azok szerkezetét (Holczbauer Tamás és Udvardy Antal fejtette meg a szerkezeteket). A kötések jól korreláltak a számított értékekkel, ugyanakkor jelentős kötéshosszszababodást nem figyelhettünk meg.

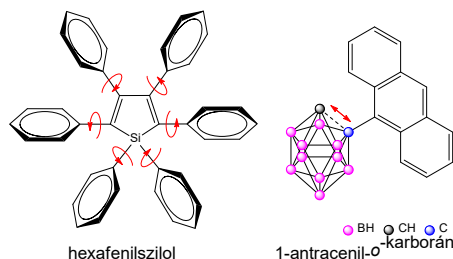


4. ábra. Fent: Deprotonálási reakció a 2.2.2-kriptáns jelenlétében
Lent: A kapott egykristály röntgendiffrakciós szerkezet

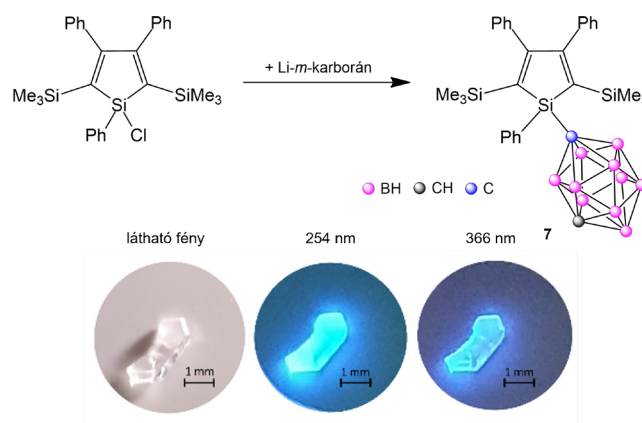
Nagymértékű változáshoz, az elméleti számítások előrejelzése alapján, negatív töltésű donor atomok szükségesek. Itt szintetikus megfontolások szempontjából fontos volt megtalálni a töltés és a nukleofil karakter közti kompromisszumot, ugyanis erős nukleofilek jelenlétében a karborán vegyületek bomlást szenvedhetnek. Választásunk a tiol-csoportok deprotonálására esett. Számos lehetőség közül a kálium-*tert*-butoxiddal való deprotonálás bizonyult a leghatékonyabbnak. Azért, hogy a szubsztituens negatív töltését minél kevésbé árnyékolja az ellenion, a káliumiont különböző módon komplexáltuk, koronaéterrel (18-korona-6) és kriptánsal (2.2.2-kriptáns) is. Érdekes módon még ez utóbbi sem bizonyult elég hatékonynak, a kapott kristály szerkezetben (6) a karborán egység koordinálódott egy kálium ionhoz.

4. Aggregáció-indukált emisszió karborán vegyületekben

Az alapkutatói területeken kívül a karborán vegyületeknek számos alkalmazási lehetőségük ismert, melyek közül talán a fluoreszcencián alapuló a legdinamikusabban fejlődő terület. Számos *orto*-karborán kapcsolt fluorofórt tartalmazó rendszer úgynevezett aggregáció-indukált emissziót (AIE) mutat.^{14,15} Ez a jelenség egy ellentétes folyamat a jól ismert aggregáció-indukált kioltással, ahol a rendszer kvantumhatásfoka drasztikusan csökken a koncentráció növekedésével. Ezen rendszereknél a molekulák egymás közti kölcsönhatásának (például π - π kölcsönhatások) köszönhetően a fluoreszcencia kioltódik. Ezzel szemben az aggregáció-indukált emissziót mutató anyagok nem, vagy csak nagyon gyengén fluoreszkálnak híg oldatban, ugyanakkor aggregált állapotban vagy szilárd fázisban intenzív fluoreszcenciát mutatnak. A jelenséget először az öttagú szilícium atomot tartalmazó heterociklusok, a szilolok esetében dokumentálták.¹⁴ A hexafenilszilol (5. ábra) esetében oldat fázisban a molekula gerjesztett állapotban a fenilcsoportok forgása révén nem-sugárzásos folyamat során hatékonyan le tudja adni fölösleges energiáját. Ugyanakkor aggregált vagy szilárd állapotban a molekulák fenilcsoportjai *összegabalyodnak*, nem tudnak elforgni. Így a rendszer nem képes leadni felesleges energiáját hőként, helyette jelentős fényemissziót tapasztalhatunk. *Orto*-karborán származékok esetében (például: 1-antraceni-*o*-karborán) nem forgásos mechanizmus, hanem a C–C kötés megnyílása (5. ábra) okozza a fluoreszcencia kioltását híg oldatban. Gerjesztés során a fluorofórról a karborán egység C–C lazító pályájára történik az elektronátmenet, aminek hatására a C–C kötés



5. ábra. A fluoreszcencia kioltódásának példája szilol valamint szénen szubsztituált karborán vegyületek esetén



6. ábra. Fent: Karborán szubsztituált szilol származék (7) előállítása, Lent: Karborán szubsztituált szilol származék kristálya látható és UV fényel megvilágítva

jelentősen megnyílik, a klaszter fel is nyílik. Ezen folyamat gátolt aggregált állapotban, emiatt figyelhető meg a fluoreszcencia. Felmerül a kérdés, hogy hogyan viselkedik egy olyan rendszer, ahol két AIE egység is jelen van. Ennek felderítésére számos karborán szubsztituált szilolt állítottunk elő,¹⁶ amelyeknek fotofizikai tulajdonságait vizsgáltuk. Ezen vegyületek gyenge fluoreszcenciát mutattak híg oldatban, ugyanakkor szilárd fázisban jelentős emissziót tapasztaltunk. Bizonyos származékok (6. ábra: 7) esetében 100%-os kvantumhatásfokot sikerült elérni. Kvantumkémiai számításaink megmutatták, hogy a szilol egység felelős a vegyületek AIE aktivitásáért, amely alapján kijelenthetjük, hogy a karborán egység direkt módon nem vesz részt a gerjesztésben, ugyanakkor jelentős hatással van a kristály szerkezetben megfigyelhető szupramolekuláris elrendeződésre, ami befolyásolja ezen vegyületek kvantumhatásfokát.

5. Együttműködések

A csoport számos hazai és nemzetközi csoporttal együttműködik, melyek közül kiemelendő a ferrocénofánok kémiai vizsgálatára prof. Rudolf Pietschnig kutatócsoportjával (Kassel, Németország). Doktoráns hallgatóink több alkalommal tölthettek el egy-két hónapot Németországban, ahol az ottani szintetikus munkába is bekapcsolódhattak.

6. Humán és anyagi erőforrásaink

A csoport létrejött az MTA Prémium Posztdoktori programjának anyagi támogatásával valósult meg 2019-2022 közt, majd a munkánkat több nemzetközi pályázat (TKP-DAAD 2021-2022, CELSA 2022-2024 csereprogram) és egy jelenleg is futó OTKA pályázat (OTKA-FK 2024-2027) is segíti. Mind a kari TDK-n, mind pedig az OTKD-n számos kiemelkedő eredményt értek el a csoportban dolgozó hallgatók (Balogh Marcell János: OTDK 1. helyezés 2025; Kovács Máté Barnabás: OTDK 2. helyezés 2021; Bartek Máté: OTDK különdíj 2025). Doktoránsaink pedig minden évben a doktori kiválósági pályázatok (ÚNKP,

DKÖP, EKÖP) nyertesei. A kutatócsoportvezető munkáját az elmúlt években Bolyai János Kutatási Ösztöndíjjal, Akadémiai Ifjúsági Díjjal, valamint Pungor Ernő Díjjal ismerték el.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az Egyetemi Kiválósági Ösztöndíj Programnak (EKÖP-24-3-BME-312 és EKÖP-24-3-BME-64), melyet a Kulturális és Innovációs Minisztérium, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap támogatott.

Hivatkozások

- Grimes, R. N. *Icosahedral Carboranes*; 2016. ISBN: 978-0-12-801894-1
- Matteson, D. S.; Hota, N. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *1067* (1967), 2893–2897. <https://doi.org/10.1021/ja00741a012>
- Wright, J. H.; Kefalidis, C. E.; Tham, F. S.; Maron, L.; Lavallo, V. *Inorganic Chemistry* **2013**, *52* (10), 6223–6229. <https://doi.org/10.1021/ic400786a>
- Chan, T. L.; Xie, Z. Synthesis, Structure and Aromaticity of Carborane-Fused Carbo- and Heterocycles. *Chem. Sci.* **2018**, *9* (8), 2284–2289. <https://doi.org/10.1039/C7SC04722C>
- Yang, X.; Zhang, B.; Zhang, S.; Li, G.; Xu, L.; Wang, Z.; Li, P.; Zhang, Y.; Liu, Z.; He, G. *Org. Lett.* **2019**, *21* (20), 8285–8289. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b03047>
- Buzsáki, D.; Kovács, M. B.; Hümpfner, E.; Harcsa-Pintér, Z.; Kelemen, Z. *Chem. Sci.* **2022**, *13* (38), 11388–11393. <https://doi.org/10.1039/D2SC03511A>
- Chen, Z.; Wannere, C. S.; Corminboeuf, C.; Puchta, R.; Von Ragué Schleyer, Chem. Rev. **2005**, *105*, 3842–3888. <https://doi.org/10.1021/cr030088>
- Solà, M.; Fernández, I.; Merino, G. *Chem. Sci.* **2023**, *14* (36), 9628–9629. <https://doi.org/10.1039/D3SC90163G>
- Buzsáki, D.; Gál, D.; Harcsa-Pintér, Z.; Kalabay, L.; Kelemen, Z. *Chem. Eur. J.* **2024**, *30* (61), e202402970. <https://doi.org/10.1002/chem.202402970>
- Gál, D. Szántai, L., Buzsáki, D. Kelemen, Z. submitted <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5c01374>
- Oliva, J. M.; Allan, N. L.; Schleyer, P. v. R.; Viñas, C.; Teixidor, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (39), 13538–13547. <https://doi.org/10.1021/ja052091b>
- Li, J.; Pang, R.; Li, Z.; Lai, G.; Xiao, X.; Müller, T. *Angew Chem Int Ed* **2019**, *58* (5), 1397–1401. <https://doi.org/10.1002/anie.201812555>
- Buzsáki, D.; Gál, D.; Szathmári, B.; Holczbauer, T.; Udvardy, A.; Szilágyiné, J. K.; Kargin, D.; Bruhn, C.; Pietschnig, R.; Kelemen, Z. *Inorg. Chem. Front.* **2025**, *12* (5), 1822–1830. <https://doi.org/10.1039/D4QI02566K>
- Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (11), 5361–5388. <https://doi.org/10.1039/C1CS15113D>
- Núñez, R.; Tarrés, M.; Ferrer-Ugalde, A.; De Biani, F. F.; Teixidor, F. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (23), 14307–14378. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00198>
- Szathmári, B.; Hessz, D.; Zámbo, D.; Bruhn, C.; Pietschnig, R.; Udvardy, A.; Szabó, P.; Holczbauer, T.; Balogh, M. J.; Kelemen, Z. *Chem. Eur. J.* **2025** e202404462. <https://doi.org/10.1002/chem.202404462>

Carborane Chemistry Research at BME-VBK

At the Department of Inorganic and Analytical Chemistry, our research group focuses on the synthesis, functionalization, and application of carboranes – boron-rich clusters with unique three-dimensional aromaticity and exceptional thermal and chemical stability. Our work spans from fundamental studies of bonding and reactivity to the design of novel carborane-based fluorescent materials. We have demonstrated that the conjugation between the 3D aromatic carborane unit and the fused ring system was overestimated. These findings were published *Chemical Science* the flagship journal of the *Royal Society of Chemistry* and was later included in the themed issue *Emerging Frontiers in Aromaticity*. Additionally, this publication was selected as the *Publication of the Month* by the Section of Chemical Sciences of the Hungarian Academy of Sciences in September 2022. Last year, we published a full paper showcasing that the overall stability of carborane-based

ring systems is influenced by negative hyperconjugation and ring strain. We further demonstrated that hyperconjugation can occur not only through the carbon vertices of the borane cluster but also through the boron vertices, requiring much stronger π -electron donor substituents. Our synthesized compounds demonstrated the possibility of precise tuning of different bonds within the cluster. Beyond fundamental research, we explored more applied topics, e.g. synthesizing fluorescence carborane-decorated siloles. These systems incorporate two aggregation-induced emission active units – silole and carborane. It was clearly demonstrated that the silole unit primarily driving the photophysical properties. Remarkably, certain derivatives achieved 100% quantum yield, making them ideal candidate for different applications. In parallel with our carborane studies, we have extensively investigated ferrocenophane compounds.

Szerkezeti biológiai kutatások az ABÉT Biostruct laboratóriumban

NYÍRI Kinga,^{a,b,*} NAGY Gergely Nándor,^{a,b,*} LEVELES Ibolya,^{a,b} KÖHEGYI Bianka,^c TÓTH Zoé,^{a,b}
PEREY-SIMON Viktória,^{a,b} INCZE Dániel,^d MOLNÁR Zsófia,^{b,e} BATA Zsófia,^d POPPE László^e és
VÉRTESSY G. Beáta^{a,b}

^a BME VBK, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer tudományi Tanszék, Műgyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

^b HUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet, Magyar tudósok körútja 2., 1117 Budapest, Magyarország

^c Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, 7624 Pécs, Magyarország

^d Dr. Bata Zrt., 2364 Ócsa, Magyarország

^e BME VBK, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Műgyetem rkp. 3., 1111 Budapest, Magyarország

1. A szerkezeti biológia fejlődése az elmúlt évtizedben

A sejtben lévő makromolekulák szerkezetének pontos ismerete elengedhetetlen a működésük megértéséhez. A szerkezeti biológia nagyszámú kísérletes és számítási eljárást kínál a biomolekulák szerkezeti megismeréséhez, mely kapcsolódó kísérletes vizsgálatokkal együtt az élő szervezetek működésének jobb megértését célozza. Az elmúlt évtized során a szerkezeti biológiai módszerek kiemelkedő fejlődésének lehettünk tanúi. A kísérletes módszerek, valamint neurális hálózatok által vezérelt, mesterséges intelligencián alapuló adatelemzési és számítási innovációk új távlatokat biztosítottak összetettebb biológiai folyamatok szerkezeti alapú megértésében, és rendkívül megnövelték a szerkezetmeghatározás folyamatainak hatékonyságát. Érdemes számba vennünk e fejlődési folyamat néhány lényeges mérföldkővét, a röntgenkristallográfia, a kriogenikus elektron-mikroszkópia és mesterséges intelligencia alapú szerkezeti modellezés terén.

A **röntgenkristallográfia**, a biomolekulák és röntgen-sugarak diffrakciós kölcsönhatásán alapuló képalkotó eljárás már hagyományos szerkezeti biológiai technikának tekinthető. A krio-EM és a mesterséges intelligencia alapú szerkezetmodellezés ugrásszerű fejlődése ellenére a szinkrotron röntgenkristallográfia továbbra is a nagy felbontású szerkezetmeghatározás fontos módszere. Ez utóbbi módszer széles körben való elterjedését a közelmúlt technológiai fejlesztései is elősegítették, amik növelték az áteresztőképességet, a felbontást, megoldást kínáltak a kihívást jelentő kristályok mérésére, valamint felhasználóbaráttá tették a szerkezetmeghatározást. Az új, negyedik generációs szinkrotronok nagyobb intenzitású és koherenciájú röntgen sugárzást biztosítanak a kísérletes vizsgálatokhoz.¹ Mindez, a mikrofókusz sugárforrások fejlődésével,² valamint a korábbinál gyorsabb adatkiolvasást és alacsonyabb zajszintet biztosító hibrid pixel detektorok (EIGER, PILATUS) alkalmazásával³ együttesen teszi lehetővé az eredményes adatgyűjtést

és a korábban kihívást jelentő mikrokristályok, inhomogén egykristályok, valamint rosszabbul diffraktáló kristályok esetén is. A röntgen szabadelektron-lézerek fejlődése (X-ray Free Electron Laser, XFEL) hatékonyabb időfelbontás elérését, valamint a sorozatos femtoszekundumos krisztallográfia (SFX) révén sugárzás okozta károsodás nélküli szerkezeti vizsgálatokat tett lehetővé. A szinkrotron forrásoknál elterjedő automatizált valós-idejű adatfeldolgozási és modellépítési szoftvercsomagok (pl. DIALS, xia2 3dii, AutoPROC) jelentősen csökkentették a kristálytól a szerkezetig jutáshoz szükséges időt. Szintén a szerkezeti biológusok munkáját egyszerűsítheti, hogy a közelmúltban a Diamond szinkrotron bevezette a teljesen felügyelet nélküli adatgyűjtési módot (Unattended Data Collection, UDC), amely a helyszíni, illetve távoli kapcsolat során a felhasználók által vezérelt adatgyűjtési módot válthatja ki. A szerkezetmegoldó szoftvercsomagok fejlődése emellett a röntgenkristallográfia, krio-EM és Alphafold szerkezeti modellezés módszereinek integrálását is biztosítja.⁴⁻⁶

A **kriogén elektronmikroszkópia** (krio-EM) a biomolekulák natív konformációjának megfigyelését teszi lehetővé a minták gyors lefagyasztását követő elektronszóródás kölcsönhatás nagy felbontású szerkezetelemzése révén. A módszer az elmúlt évtizedben rendkívül jelentős fejlődésen ment keresztül és mostanra a szerkezeti biológiai közösség egyik, ha nem leghatékonyabb módszerének tekinthető. A krio-EM áteresztőképessége, és az elérhető felbontás javulása egyaránt rendkívül látványos, köszönhetően a hardver, a mintaelőkészítés, az adatgyűjtés és a számítógépes elemzés terén elért szinergikus fejlesztéseknek. A hardver oldaláról érdemes megemlíteni az úgynevezett direkt elektron detektorokat, melyek forradalmasították a technikát. Ezek segítségével „filmeket” tudunk rögzíteni, amelyek alkalmasak arra, hogy számításon kiküszöböljük a molekulák mozgásából eredő homályosságot⁷. A felbontóképesség robbanásszerű fejlődésének (ún. resolution revolution)⁸ és a technika széles körű elérhetőségének⁹ köszönhetően a jó

* Főszerzők. E-mail: nyiri.kinga@vbk.bme.hu, nagy.gergely.nandor@vbk.bme.hu

felbontású szerkezetek krio-EM-mel történő meghatározása rutinszerűvé vált a szerkezeti biológusok széles közösségének. Az egyrészecske kriogén elektron-mikroszkópia során eddig elért legnagyobb felbontás $1,09 \text{ \AA}^{10}$, ami valódi atomi szintű feloldóképességet jelez. Az egész sejtekről való krio-EM képalkotás és az *in situ* szerkezeti vizsgálatokat célzó krio-elektromográfia (krio-ET) szintén rendkívüli fejlődésen ment keresztül és várhatóan további áttörés küszöbén áll, lehetővé téve a komplex biológiai rendszerek működésének szerkezeti alapú megismerését.¹¹

A kísérletes szerkezeti módszereket kiegészítve meghatározó szerepet nyert a szerkezetbecslés is. A DeepMind 2020-ban bemutatott AlphaFold **szerkezeti modellezés** az ismert szekvencia és szerkezeti információkra támaszkodva mesterséges intelligencia segítségével közel kísérleti pontosságot ért el a szerkezet előrejelzésében.¹² Jelenleg számos továbbfejlesztett, felhasználók számára elérhető szerkezeti modellező algoritmus, valamint a több, mint kétszázmillió szerkezeti modellt tartalmazó AlphaFold DataBase könyvtár¹³ a szerkezeti alapú hipotézisek széleskörű bázisát biztosítja, ami jelentős segítséget jelent orvosbiológiai kutatások felgyorsításához.

A fenti bevezetőben bemutatott módszerek a szerkezeti biológiai kutatások fontos részét képezik, amelyek egymást kiegészítve alkalmazhatók a felmerülő élettudományi kérdések szerkezeti alapon való megválaszolására. A továbbiakban a kutatócsoportunkban folyó szerteágazó tudományos munkák eredményeit bemutatva szemléltetjük ezen módszerek széleskörű felhasználhatóságát.

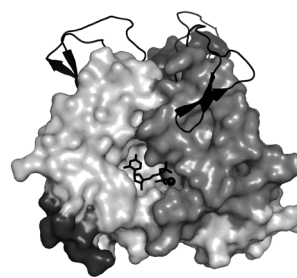
2. A Genom metabolizmus és Biostruct csoport

A Biostruct laboratórium 2011 óta működik a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi Tanszékén. A fehérjekristályosítás kísérleteket nagy áteresztőképességű kristályosító screenek alkalmazásával egy Mosquito nanoliteres folyadékkezelő robot (TTP Labtech) segíti, míg az összeállított kristályosító tálcák tárolását és automatikus fotózását egy Rock Imager kristály tálca 'hotel' rendszer végzi (Formulatrix). A labor SuperNova egykristály röntgendiffraktométer (Agilent Oxford Diffraction) házi röntgen sugárforrással is rendelkezik, mely egykristályok röntgendiffrakció tesztjét, valamint teljes adatkészlet felvételét teszi lehetővé. A labor korábban már bemutatásra került a Magyar Kémiai Folyóirat 124. évfolyam kiadásában¹⁴, a jelen tanulmány az azóta történt szerkezeti biológiai kutatásokat mutatja be. Megjegyzendő, hogy a Biostruct labor e kutatások mellett a szerkezeti biológiai oktatás fontos pillére is, különféle egyetemi kurzusok (pl.: Analitika labor, Modern szerkezetfelderítési módszerek, Projekt feladatok) valamint rendszeresen szolgált tudománynpszerűsítő programok (Kutatók Éjszakája, Lányok Napja, BME Nyílt Nap) helyszíneként.

3. A dUTPáz fehérje típusú inhibíciója

A dUTPáz fehérje a dUTP nukleotid hidrolízisét katalizálja, ezáltal a dUTP/dTTP szintet alacsonyan tartja. Mivel osztódó sejtekben a polimerázok által DNS-be beépített uracil mennyiségét ezen nukleotidok sejtbeli aránya határozza meg, így a dUTPáz a dUTP lebontásával megelőzi az uracil esetleges beépülését a genomba, ezáltal fontos szerepet játszik az örökítőanyag preventív védelmében.^{15, 16} A dUTPáz fehérje hiánya örvény- és fonálférgekben, ecetmuslicában és egérben egyaránt letálisnak bizonyult.¹⁷⁻²⁰ A humán dUTPáz fehérje Y54C mutációja pedig összefüggésbe hozható diabétesz és csontvelő elégtelenség kialakulásával.²¹ Kimutattuk, hogy a mutáció következtében a szubsztrát kötődése és az enzimaktivitás változatlan azonban a fehérje hőstabilitása jelentősen csökken, ami magyarázhatja, hogy miért tapasztalták a mutáns fehérje mennyiségének csökkenését nyúl modellben.^{22, 23}

A dUTPáz inhibitorok fejlesztése a patogén mikroorganizmusok elleni küzdelemben és a humán daganat terápiaiban is kutatások fókuszában áll.²⁴ 2010-ben azonosítottak egy olyan *Staphylococcus aureus* patogenitási szigeteket (SaPI) életciklusát vezérlő fehérjét (StI), amelynek működését a f11 bakteriofág dUTPázal való kölcsönhatás szabályozza.²⁵ Ez a bakteriofág dUTPáz szekvenciája alapján hasonló más bakteriális és eukarióta dUTPázokhoz, viszont tartalmaz egy fágokra jellemző szekvenciába beágyazódó szegmenst, így az első megközelítésben a kölcsönhatást ehhez a szegmenshez köthették. A fág dUTPáz szerkezetének meghatározásával megmutattuk, hogy ez az inszert egy a dUTPázokra jellemző mag szerkezetből kinyúló, elkülönült mini domént alkot²⁶ (1. Ábra) és további vizsgálataink kimutatták, hogy nincs esszenciális szerepe az StI fehérjével való kölcsönhatásban.²⁷



1. Ábra. A f11 bakteriofág dUTPáz szerkezete (PDB ID:4GV8)²⁶.

A trimer fehérje három alegysége a szürke szín különböző árnyalataival lett színezve, a kristályosításhoz használt szubsztrátanalóg (dUPNPP) fekete pálcikaként, míg a kofaktor magnézium ion szürke gömbként van megjelenítve. A fagra jellemző, StI kölcsönhatás specifikitásáért felelős inszert fekete szalagmodellként látható, ezen régió evolúciósan konzervált dUTPáz szerkezetből (térkitöltő modell) nyúlik ki, mintegy önálló minidomént alkotva. Jól látható, hogy a kép közepén található szubsztrátkötő zseb két alegység közös felszínén helyezkedik el. A zsebet a harmadik alegység karboxi terminális régiója zárja. Ezen szakasz elhelyezkedését konformációs flexibilitása miatt a kristályszerkezetben nem lehetett meghatározni.

Emellett fluoreszcens stopped-flow gyorskinetikai módszerrel kimutattuk, hogy az Stl fehérje a f11 fág dUTPáz lassan, de erősen kötődő kompetitív inhibitora,²⁸ így az első ismert fehérje típusú dUTPáz inhibitor. Eredményeink alapján a fág dUTPáz csak azután képes kölcsönhatásba lépni az Stl fehérjével, miután elhidrolizálta a sejtbeli dUTP nagy részét. Ez a modell rámutat a kölcsönhatás esetleges evolúciós előnyére, hiszen a patogenitási sziget csak uracil-mentes környezetben replikálódik, ami biztosítja genetikai információjának megőrzését és elősegíti annak horizontális transzferét.

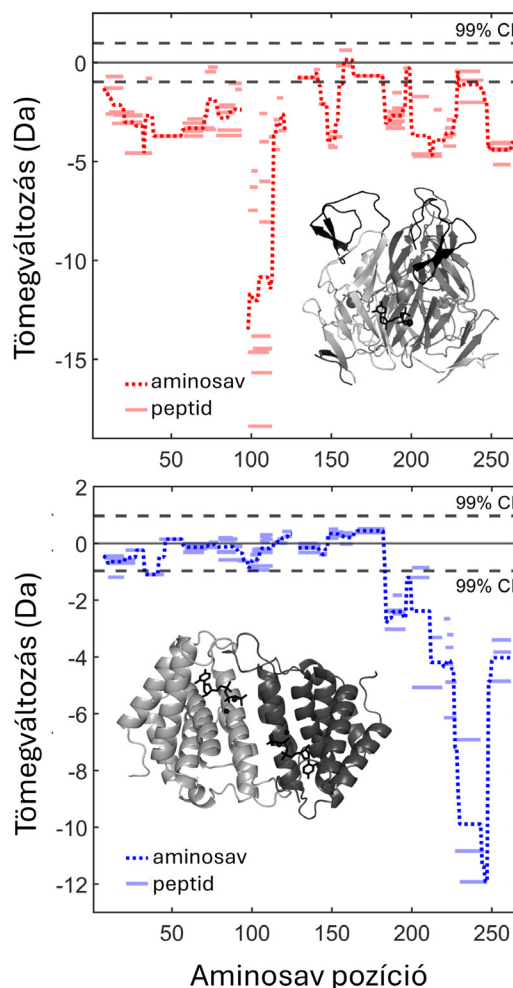
Érdekes módon az Stl fehérje ugyan nem minden fajta fág dUTPázal lép kölcsönhatásba, azonban a mikobakteriális dUTPáz aktivitását ötödére csökkenti.²⁹ Emellett az Stl-t *Mycobacterium smegmatis* sejtben expresszáva a sejtbeli dUTP szint megemelkedését figyeltük meg, amely zavart okozott a mikobaktérium kolóniaképzésében is. Továbbá az Stl fehérje különböző mértékben gátolja az *Escherichia coli*, ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) és a humán dUTPázokat, a legerősebb kölcsönhatást és teljes mértékű inhibíciót azonban a f11 bakteriofág dUTPáz esetében tapasztaltuk.^{28, 30-32}

A fent bemutatott trimer dUTPázok aktív zsebét két alegység alkotja, amelyet a harmadik alegység karboxi-terminális régiója zár le katalízis során. Ez a záródás-nyílás a karboxi terminális régió flexibilitásától függően különböző mértékű konformáció változást jelent az enzim szerkezetében.³³ Az *E. coli* dUTPáz fehérje esetében ezen átlapoló ún. kar régió flexibilitásának csökkenését eredményező pontmutáció növelte mind az Stl inhibitorhoz való kötődés erősségét, mind az aktivitás gátlás mértékét.³¹ Így feltehetőleg a dUTPáz-Stl kölcsönhatás erőssége mellett, az aktív hely záródása során bekövetkező konformációváltozás kinetikája is modulálja az Stl által kifejtett inhibíció mértékét.

A Kardos József kutatócsoportjával együttműködésben (ELTE, Budapest) végzett szinkrotron radiációs cirkuláris dikroizmus vizsgálataink kimutatták, hogy az Stl fehérje főként alfa helikális térszerkezetű. A fehérje amino és karboxi terminális szegmenseit vizsgálva kimutattuk, hogy a DNS kötésért az amino terminálison található hélix-csavar-hélix motívum felelős, azonban ez a motívum nem szükséges a dUTPázal való kölcsönhatáshoz.³⁴ Továbbá igazoltuk, hogy a fehérje dimereket képez, és a dimerizációs felszín a karboxi terminális részen található.³⁵

2017-ben Hill és munkatársai felfedezték, hogy az általunk vizsgált Stl fehérje a főként b-redős szerkezetű trimer dUTPázoktól szerkezetükben teljesen különböző, a-helikális, dimer dUTPázokkal is kölcsönhatásba lép.³⁶ Ez alapján feltételezhető volt, hogy az Stl egy a szubsztrátot mimikáló szegmennel rendelkezik, amivel kapcsolódik a dUTPázokhoz. Azonban Antoni J. Borysik (King's College, London) csoportjával együttműködésben HDX-MS (hidrogén-deutérium cserés tömegspektrometria) módszerrel kimutattuk, hogy az Stl fehérje két különböző szegmense

lép kölcsönhatásba a trimer illetve a dimer dUTPázokkal.³⁵ (2. Ábra) Az, hogy ez az Stl fehérje különböző szegmensei révén bármely típusú dUTPázal képes felismerni, arra utal, hogy az uracil-mentes környezet előnyt jelenthet a patogenitási szigetek terjedésében.

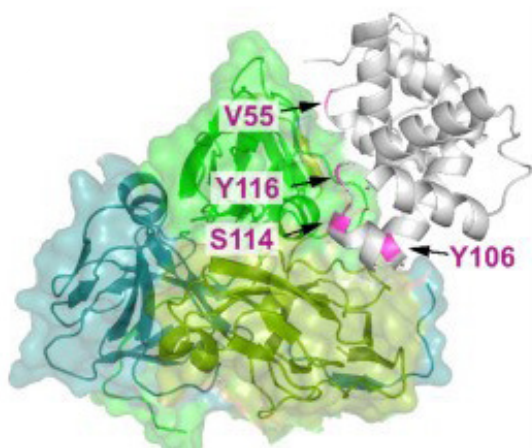


2. Ábra. Az Stl fehérjén HDX-MS módszerrel detektált tömegváltozás trimer (felső panel, PDB ID: 4GV8) illetve dimer (alsó panel, AlphaFold szerver) fág-eredetű dUTPázal való kölcsönhatás következtében. A fehérjék alegységei a szürke különböző árnyalataival színezve. A szubsztrátanalóg (dUPNPP) fekete pálcikaként a kofaktor magnézium ion gömbként van ábrázolva.³⁵

2018-ban Dimitri I. Svergun kutatócsoportjával kollaborációban (DESY, Hamburg) méretkizárásos kromatográfiával kombinált kisszögű szinkrotron radiációs röntgenszórás (SEC-SAXS) vizsgálattal meghatároztuk a humán dUTPáz és az Stl fehérje komplexének kis felbontású szerkezetét.³² A kapott szerkezeti modell egyértelműen arra utal, hogy a komplexképződés megzavarja az Stl fehérje dimerizációját. Ez alapján feltételezhető, hogy a trimer fág dUTPázok a patogenitási szigetek átíródását az azt szabályozó génszakaszhoz kötődő Stl represszor dimer megbontásával képesek iniciálni. Kötődési kinetikai méréseink alapján meghatároztuk, hogy az Stl dimerizáció disszociációs egyensúlyi

állandója $K_{\text{DIM}} = 0.12 \text{ nM}$.³⁷ Ennek fényében a fág dUTPázok tehát csak egy összetett és finomhangolt interakciós hálózat révén lehetnek képesek a patogenicitási sziget reprezentatív dimerjének megbontására.

A humán dUTPáz esetében az Stl fehérjével való kölcsönhatás erőssége és az enzimgátlás mértéke (70%) is kisebb, mint a fág dUTPáz esetében (közel 100%). Annak érdekében, hogy az Stl-t mint a humán dUTPáz térben és időben szabályozható szelektív inhibitoraként használhassuk humán sejt kísérletekben a humán dUTPázra kifejtett Stl-általi gátlást többféle stratégia alapján kíséreltük meg növelni.³⁸ A dimerizációs domén eltávolítása, illetve a dimerizációt gyengítő specifikus pontmutációk nem eredményeztek jelentős növekedést az inhibíció mértékében. Ezzel kimutattuk, hogy az Stl karboxi terminális doménje teljes egészében fontos szerepet játszik a humán dUTPáz inhibíciójában. Az általunk meghatározott dUTPáz-Stl kristályszerkezet alapján specifikus pontmutációkat terveztünk a kölcsönhatás erősítésére (3. Ábra, 1. Táblázat). Itt megjegyzendő, hogy a kristályosításhoz az Stl C-terminális régióját nem tartalmazó fehérjekonstruktot használtunk, mivel a teljes hosszúságú Stl fehérje az amino és karboxi terminális domének közötti szakasz flexibilitása³² következtében nem kristályosítható.



3. Ábra. A humán dUTPáz az Stl fehérje amino terminális szegmensével (Stl^{NT}) alkotott komplexének röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott szerkezeti modellje (PDB-kód: 8C8I). A könnyebb átláthatóság kedvéért a trimer dUTPáz (szalag model és áttetsző felszín) mellett a három kölcsönható Stl láncból csak egyet ábrázoltunk szalag modellként. A tervezett mutációk helyét nyilakkal és sötétítéssel jelöltük. A kialakuló új kölcsönhatásokat az 1. Táblázatban mutatjuk be.

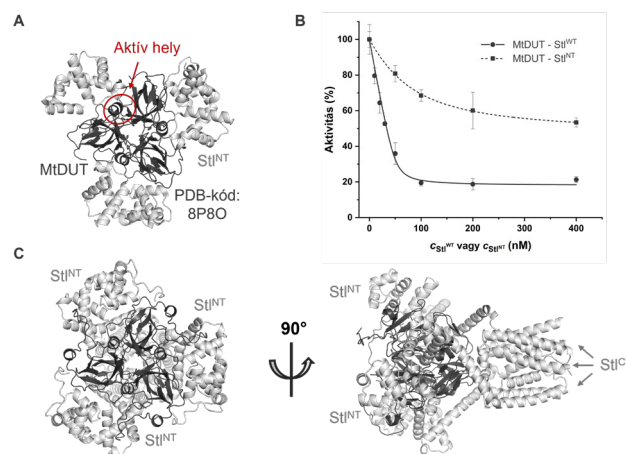
1. Táblázat. A humán dUTPázal való kölcsönhatás erősségének növelésére tervezett Stl mutációk

Stl mutáció	Lehetséges új kölcsönhatása humán dUTPázal
Y106K	poláris vagy ionos kölcsönhatás Asp104
Y106R	
V55S	poláris kölcsönhatás Glu144
S114E	poláris vagy ionos kölcsönhatás Lys91
S114D	
Y116R	poláris vagy ionos kölcsönhatás Asp127

Az előállított Stl pontmutánsok elvárásainktól eltérően nem javították a humán dUTPáz inhibíció hatékonyságát. Feltételezésünk szerint ez a megközelítés a fehérje átlapoló karjának flexibilitása, azaz a fehérje inherens tulajdonsága miatt volt sikertelen.

A dUTPáz és Stl fehérje közötti kölcsönhatás mélyebb megértése érdekében a teljes hosszúságú fehérjék által alkotott komplex térszerkezetének megfigyeltére krio-EM kísérleteket végeztünk (Jiri Novacek, CEITEC, Brno), ezek eredményének kiértékelése jelenleg folyamatban van.

Továbbá vizsgáltuk azt is, hogy az Stl fehérje amino terminális szegmense (Stl^{NT}) képes-e jobban vagy legalább a vad típushoz hasonló hatékonysággal gátolni a *M. tuberculosis* dUTPáz (MtDUT). A szerkezeti vizsgálatokhoz ebben az esetben is az Stl^{NT} amino terminális szegmenst használtuk. A MtDUT-Stl^{NT} komplex kristályszerkezet (PDB-kód: 8P8O) alapján elmondható, hogy az Stl^{NT} fehérje a MtDUT aktív centrumába kötődik (4. ábra/A), itt alakul ki az elsődleges kölcsönhatási felszín a két fehérje között a korábban ismert dUTPáz-N-terminális Stl komplex szerkezetekhez hasonlóan.³⁹⁻⁴¹



4. Ábra. A *M. tuberculosis* dUTPáz Stl általi gátlása. A) A MtDUT-Stl^{NT} komplex kristályszerkezete (PDB-kód: 8P8O). A trimer MtDUT-hoz (sötétszürke) három Stl^{NT} (világosszürke) kötődik. B) A MtDUT enzim aktivitás gátlása a két Stl variáns által. C) A MtDUT enzim teljes hosszú Stl fehérjével alkotott komplexének AlphaFold modellje. A fehérjék megjelenítése az A) panelhez hasonló, az Stl fehérje N- és C-terminális doménjeit jelölve, a fehérje komplex két orientációban látható.

Ezáltal az inhibitor sztérikusan gátolja a szubsztrát bekötődését. Különböző biokémiai és biofizikai módszerek segítségével kimutattuk, hogy a Stl^{NT} fehérje kevésbé képes gátolni a MtDUT-ot, mint a teljes hosszú Stl fehérje (Stl^{WT}), az enzim aktivitását nagyjából csak a felére csökkenti (4. Ábra/B), és szubsztrát mentes környezetben is gyengébb kötődést mutat, amely különbség a disszociációs rátákban mutatkozik meg (2. táblázat).

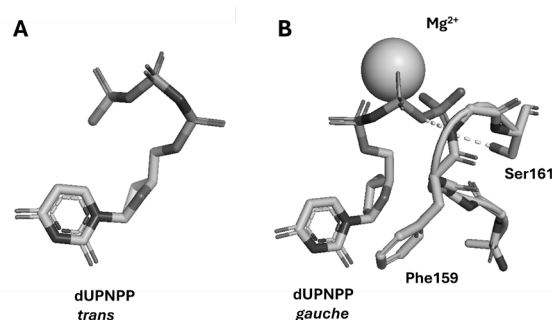
2. Táblázat. Az Stl variánsok és MtDUT közötti kölcsönhatás kinetikai paramétereit, bioréteg interferometria (BLI) mérések alapján

Ligandum	Analit	K_D (pM)	k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)(10^5)	k_{off} (s^{-1})(10^5)
Stl ^{WT}	MtDUT	<1	2,70±0,01	<0,01±0,01
Stl ^{NT}	MtDUT	190±1	5,42±0,01	10,28±0,04

A szerkezeti modellezés fejlődését kihasználva próbáltunk magyarázatot találni arra, hogy az Stl fehérje C-terminális doménje hogyan járul hozzá az erősebb MtDUT-tal való kölcsönhatáshoz és gátláshoz. Ehhez AlphaFold modelleket alkalmaztunk, amik azt sugallják, hogy a két fehérje közötti kölcsönhatás kialakulása során az Stl karboxi terminális domének (Stl^{CT}) egymás között létrehozhatnak egy oligomerizációs felszínt (4. ábra/C), ami által növekszik az aviditás, és ez magyarázhatja a teljes hosszú Stl fehérje erősebb kötődését.⁴² Ezt a hipotézist a továbbiakban krio-elektromikroszkópiás módszerrel tervezzük vizsgálni.

4. Zebrahal dUTPáz szerkezeti és élettani vizsgálata

A zebrahal, mint modellorganizmus ma nagyon népszerű a kutatók körében, mivel könnyen, alacsony költségen fenntartható, fejlődése meglehetősen gyors, és jó túlélőképességet mutat a különböző megtermékenyítés utáni eljárásokkal szemben. Mindezek mellett további előnye, hogy olyan gerinces faj, amely 70%-os homológiát mutat az emberi genommal. Továbbá az embriók az anyaállaton kívül fejlődnek és átlátszóak. Ezen előnyök következtében ez a modell jól alkalmazható az embrionális fejlődés vizsgálatára.⁴³⁻⁴⁵ Eredményeink azt mutatták, hogy a korai embrionális fejlődés során a genomi uracilszint és a sejten belüli dUTP szint igen magas zebrahalakban. Emellett azt tapasztaltuk, ha ezeket a szinteket a dUTPáz megtermékenyített petesejtjeibe történő mikroinjektálásával csökkentjük, az az embriókra nézve letális. Annak érdekében, hogy minél jobban megértsük ezt a folyamatot többek között a zebrahal dUTPáz enzim izoformáit karakterizáltuk. Termofluorimetriás hőstabilitás vizsgálataink és spektrofotometriai alapú enzimaktivitás méréseink során azt tapasztaltuk, hogy az izoformák különböző stabilitással és aktivitással rendelkeztek. Emellett a zebrahal dUTPáz röntgen krisztallográfiás szerkezetét is meghatároztuk egy szubsztrát analóggal (dUPNPP) komplexben. A zebrahal dUTPáz szerkezete igen nagy hasonlóságot mutat a humán dUTPázhoz. A szerkezetben jól azonosítható a fehérjeláncok és a szubsztrát konformációjának összefüggése, mivel a trimer dUTPáz három aktív helyén a szubsztrát és a karboxi terminális kar többféle térállást vesz fel. Egyes szubsztrátkötő zsebek esetében a fehérjelánc karboxi terminálisa nem zárja az aktív centrumot, ekkor a szubsztrát egy nem hidrolizálható, *transz* konformációt vesz fel és a reakció lejtátszódásához szükséges magnézium ion kofaktor sincs jelen (5. Ábra/A). Amennyiben az aktív helyet a karboxi terminális régió zárja a szubsztrát a hidrolízishez megfelelő *gauche* konformációt vesz fel és a magnézium ion kofaktor is bekötődik (5. Ábra/B).



5. Ábra. A zebrahal dUTPáz szubsztrát analóg konformációs flexibilitása A zebrahal dUTPáz kristályszerkezet egyik aktív helyén a dUPNPP szubsztrát analóg az enzim működésben fontos szerepet játszó C-terminális karjának távollétében a katalízisre alkalmatlan *trans* konformációt vett fel. Ugyanazon kristályszerkezetben az enzim C-terminális karja (Phe159, S161) és Mg^{2+} kofaktor a dUPNPP szubsztrát analógot katalízisre alkalmas *gauche* konformációját stabilizálja.

5. Onkogén mutációt hordozó KRAS fehérjék kölcsönhatásainak vizsgálata

Csoportunk a Semmelweis Egyetemen, az Eötvös Loránd Tudományegyetemen, a KINETO Lab és a Fototronic Kft-vel való együttműködés (Rasopátia konzorcium) keretében a KRAS fehérje onkogén mutánsaira specifikus inhibitorokat fejleszt.⁴⁶ A KRAS fehérje a sejt növekedését, és osztódását szabályozó jelátviteli folyamatok kulcsfontosságú eleme, mutációi a daganatos megbetegedések közel egyharmadában vannak jelen. A KRAS fehérje molekuláris kapcsolóként működik, aktív formában GTP-t, inaktív állapotban GDP-t köt. A jelátvitel lecsengése a GTPáz aktiváló fehérjékkel (GAP) való kölcsönhatás következtében valósul meg, az onkogén mutánsok esetében azonban ez a folyamat jelentősen gátolt.

Ezen probléma egyik kezelési stratégiája a GDP kötött állapot rögzítése a mutáns aminosavhoz szelektíven kapcsolódó ágensek által. A G12C mutáns KRAS fehérje esetében nagy áteresztő képességű szűrővizsgálatot végeztünk egy 585 elemű diverz fragmens vegyülettáron, hogy felmérjük, mely vegyületek képesek a mutáns ciszteinnel reakcióba lépni.⁴⁷ Az ígéretes találatok méretnövelését követően nukleotidcsere vizsgálatokkal szűrtük a vegyületek hatékonyságát. Öt vegyületet ezután állat modellben is teszteltünk, amelyből kettő hatékonynak bizonyult, ezek további vizsgálata jelenleg is zajlik.

Egy másik lehetséges megközelítés a KRAS-GAP komplex kölcsönhatásának erősítése a mutáns KRAS fehérjék esetében. Ilyen vegyületek után kutatva Grolmusz Vince (ELTE, Budapest) kutatócsoportjával együttműködésben, *in silico* szűrési módszert alkalmazva, ígéretes jelölteket találtunk a kovalens molekulákkal nehezebben célozható G12D mutáns KRAS fehérje GAP-pal való kölcsönhatásának javítására.⁴⁸ Emellett Rosta Edinával és munkatársaival kollaborációban (University College London) vizsgáltuk a G12 mutáns KRAS fehérjék GAP fehérjék által elősegített GTP bontásának mechanizmusát.⁴⁹

6. További kutatási témák az elmúlt évtized során

A fentebb részletezett kutatások mellett számos további szerkezeti biológiai vizsgálat folyt az ABÉT Biostruct laboratóriumban különböző akadémiai és ipari partnerekkel közösen, melyeket e bekezdésben egészen rövid összefoglaló ismertet. Leveles Ibolya a BME SZKTT Szupramolekuláris Kémia Kutatócsoportjával való együttműködés során új királis koronaéterek röntgenkristallográfiás szerkezet-meghatározását végezte el.⁵⁰⁻⁵² Hegedűs Tamás kutatócsoportjával együttműködve Ibolya hozzájárult a cisztikus fibrózis betegség CFTR kulcsfehérjéjének szerkezeti alapú vizsgálatához, mely során a fehérje funkcióját meghatározó konformációs változásait krio-EM szerkezetek molekuladinamikai (MD) vizsgálatával derítették fel.⁵³ Emelett fehérjekristályosítás és házi röntgen sugár kísérletekkel járultunk hozzá az SH3 domén fehérjék tirozin foszforiláció inhibíciós mechanizmusának feltáráshoz.⁵⁴

Az elmúlt évben egy iparilag releváns enzim szerkezete is meghatározásra került a Biostruct Laboratóriumban. A Dr. Bata Zrt.-vel együttműködésben határoztunk meg az első ismert fumonizin észteráz szerkezetet röntgen-kristallográfia útján.⁵⁵ Ez az enzim képes a fumonizin B1 mikotoxin lebontására, így alkalmazható ilyen módon szennyezett élelmiszerek és takarmányok enzimatisz detoxifikálására. A szerkezet meghatározása lehetővé tette a további dokkolási modellezéseket, amivel közelebb kerültünk az fumonizin észteráz működésének megértéséhez, ami elengedhetetlen a későbbi nagyléptékű ipari felhasználáshoz.

A Biostruct laborból kiindulva Nagy Gergely 2017-től 2022-es visszatéréséig Oxfordban a Division of Structural Biology (STRUBI) intézet Yvonne Jones által vezetett kutatócsoportjában végzett posztdoktori kutatásokat. A szemaforin-plexin extracelluláris jelátvitel szerkezeti biológiáját vizsgálva kutatásai fényt derítettek a ligandum receptor fehérjék egy különleges kölcsönhatási elrendezésére, mely során a két fehérje egyazon sejtmembránon elhelyezkedve lép kölcsönhatásba.⁵⁶ Emellett fehérjekristallográfia révén azonosította a Semaphorin-5A fehérje glükózaminoglikán kötőhelyét, majd együttműködő partnerével együtt meghatározta a fehérje-proteoglikán kölcsönhatás specifikitását, valamint *in vivo* szerepét a neuronális progenitor sejtek vándorlása során.⁵⁷

Szintén a Biostruct laborból kiindulva Kőhegyi Bianka 2017 januárjában fél évig a fehérjekristallográfia rejtelméről tanult tovább az ESRF (Grenoble, Franciaország) laborjában, majd szeptember végén Cambridge-ben, az MRC LMB, Ingo Greger által vezetett csoportjában kezdte meg doktori tanulmányait. A memória, illetve tanulás folyamatában kulcsfontosságú fehérjék, az AMPA receptorok különböző komplexeit vizsgálta krio-elektronmikroszkóppal. Többek között sikeresen megfejtette a hippokampusz egyik jellemző komplexének nyitott és deszenzitizált állapotban úgynevezett single particle elemzés technika alkalmazásával.⁵⁸

7. Krio-EM centrum Pécsen

Az utóbbi évtizedekben a Krio-elektronmikroszkópia forradalmasította a szerkezeti biológiát: lehetőséget nyújt olyan kérdések megválaszolására, melyek korábban elképzelhetetlennek tűntek. Ennek megfelelően 2022 decemberében megszületett az a döntés, hogy Magyarországon is szükséges egy 300 keV-os krio-elektronmikroszkóp, illetve az ahhoz kapcsolódó infrastruktúra kialakítása Pécsen, mely majd nyitva áll az ország kutatói számára. A projekt vezetője Czéh Boldizsár lett, akinek munkáját a Szakmai Tanácsadó Testületének tagjaként Vértessy Beáta is segítette. A kialakulóban lévő mérőállomáshoz 2025 januárban volt kollégánk, Kőhegyi Bianka csatlakozott első munkatársként. Márciustól pedig Horváth Péter 10 évnyi külföldi krio-elektronmikroszkópos tevékenysége után a létesítmény vezetői tisztségét tölti be. Előreláthatóan 2026-ban érkezik meg a műszer, azonban a központ addig is rendelkezésre áll a technikával és mintaelőkészítéssel kapcsolatos kérdések megválaszolásában.

Köszönetnyilvánítás

Nyíri Kinga köszönettel tartozik a ÚNKP-20-4-II-BME-311, OTKA PD 134324, MEC-R-21-141624 és BME 'Vissza a tudományba' pályázatok által biztosított kutatási támogatásért. A KRAS fehérje inhibitorainak kutatása az NVKP_16-1-2016-0020 projekt keretében történt. A dUT-Páz-Stl krio-elektronmikroszkópiás és SEC-SAXS kísérleteket az iNEXT-Discovery (PID: 19027 ill 1551) támogatta. A közlemény a Bolyai János Kutatási ösztöndíj (NGN) és a Varga József Alapítvány Somogyi Mihály pályázatának támogatásával (NGN) készült. Kőhegyi Bianka köszönettel tartozik a Pécsi Tudományegyetem Szentágotthai János Kutatóközpont Szentágotthai János Tehetségtámogató program, illetve a KrioEM Kompetencia Központ kialakítása a Pécsi Tudományegyetemen című projekt (2022-1.1.1-KK-2022-00001) által nyújtott támogatásért. A C1341189 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2021 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

Hivatkozások

- Chushkin, Y.; Zontone, F., Prospects for coherent X-ray diffraction imaging at fourth-generation synchrotron sources. *IUCrJ* **2025**, *12* (Pt 3), 280-287. <https://doi.org/10.1107/S2052252525001526>
- Nanao, M.; Basu, S.; Zander, U.; Giraud, T.; Surr, J.; Guijarro, M.; Lentini, M.; Felisaz, F.; Sinoir, J.; Morawe, C.; Vivo, A.; Beteva, A.; Oscarsson, M.; Caserotto, H.; Dobias, F.; Flot, D.; Nurizzo, D.; Giggles, J.; Foos, N.; Siebrecht, R.; Roth, T.; Thevenneau, P.; Svensson, O.; Papp, G.; Lavault, B.; Cipriani, F.; Barrett, R.; Clavel, C.; Leonard, G., ID23-2: an automated and high-performance microfoc beamline for macromolecular crystallography at the ESRF. *J Synchrotron Radiat* **2022**, *29* (Pt 2), 581-590. <https://doi.org/10.1107/S1600577522000984>
- Wojdyla, J. A.; Panepucci, E.; Martiel, I.; Ebner, S.; Huang, C. Y.; Caffrey, M.; Bunk, O.; Wang, M., Fast two-dimensional grid and transmission X-ray microscopy scanning methods for visualizing and characterizing protein crystals. *J Appl Crystallogr* **2016**, *49* (Pt 3), 944-952. <https://doi.org/10.1107/S1600576716006233>
- Afonine, P. V.; Poon, B. K.; Read, R. J.; Sobolev, O. V.; Terwilliger, T. C.; Urzhumtsev, A.; Adams, P. D., Real-space refinement in PHENIX for cryo-EM and crystallography. *Acta Crystallogr D Struct Biol* **2018**, *74* (Pt 6), 531-544. <https://doi.org/10.1107/S2059798318006551>
- Terwilliger, T. C.; Afonine, P. V.; Liebschner, D.; Croll, T. I.; McCoy, A. J.; Oeffner, R. D.; Williams, C. J.; Poon, B. K.; Richardson, J. S.; Read, R. J.; Adams, P. D., Accelerating crystal structure determination with iterative AlphaFold prediction. *Acta Crystallogr D Struct Biol* **2023**, *79* (Pt 3), 234-244. <https://doi.org/10.1107/S205979832300102X>
- Agirre, J.; Atanasova, M.; Bagdonas, H.; Ballard, C. B.; Basle, A.; Beilsten-Edmands, J.; Borges, R. J.; Brown, D. G.; Burgos-Marmol, J. J.; Berrisford, J. M.; Bond, P. S.; Caballero, I.; Catapano, L.; Chojnowski, G.; Cook, A. G.; Cowtan, K. D.; Croll, T. I.; Debreczeni, J. E.; Devenish, N. E.; Dodson, E. J.; Drevo, T. R.; Emsley, P.; Evans, G.; Evans, P. R.; Fando, M.; Foadi, J.; Fuentes-Montero, L.; Garman, E. F.; Gerstel, M.; Gildea, R. J.; Hatti, K.; Hekkelman, M. L.; Heuser, P.; Hoh, S. W.; Hough, M. A.; Jenkins, H. T.; Jimenez, E.; Joosten, R. P.; Keegan, R. M.; Keep, N.; Krissinel, E. B.; Kolenko, P.; Kovalevskiy, O.; Lamzin, V. S.; Lawson, D. M.; Lebedev, A. A.; Leslie, A. G. W.; Lohkamp, B.; Long, F.; Maly, M.; McCoy, A. J.; McNicholas, S. J.; Medina, A.; Millan, C.; Murray, J. W.; Murshudov, G. N.; Nicholls, R. A.; Noble, M. E. M.; Oeffner, R.; Pannu, N. S.; Parkhurst, J. M.; Pearce, N.; Pereira, J.; Perrakis, A.; Powell, H. R.; Read, R. J.; Rigden, D. J.; Rochira, W.; Sammito, M.; Sanchez Rodriguez, F.; Sheldrick, G. M.; Shelley, K. L.; Simkovic, F.; Simpkin, A. J.; Skubak, P.; Sobolev, E.; Steiner, R. A.; Stevenson, K.; Tews, I.; Thomas, J. M. H.; Thorn, A.; Valls, J. T.; Uski, V.; Uson, I.; Vagin, A.; Velankar, S.; Vollmar, M.; Walden, H.; Waterman, D.; Wilson, K. S.; Winn, M. D.; Winter, G.; Wojdyr, M.; Yamashita, K., The CCP4 suite: integrative software for macromolecular crystallography. *Acta Crystallogr D Struct Biol* **2023**, *79* (Pt 6), 449-461. <https://doi.org/10.1107/S2059798323003595>
- McMullan, G.; Faruqi, A. R.; Henderson, R., Direct Electron Detectors. *Methods Enzymol* **2016**, *579*, 1-17. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2016.05.056>
- Kuhlbrandt, W., Biochemistry. The resolution revolution. *Science* **2014**, *343* (6178), 1443-4. <https://doi.org/10.1126/science.1251652>
- Stuart, D. I.; Subramaniam, S.; Abrescia, N. G., The democratization of cryo-EM. *Nat Methods* **2016**, *13* (8), 607-8. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3946>
- Kucukoglu, B.; Mohammed, I.; Guerrero-Ferreira, R. C.; Ribet, S. M.; Varnavides, G.; Leidl, M. L.; Lau, K.; Nazarov, S.; Myasnikov, A.; Kube, M.; Radecke, J.; Sachse, C.; Muller-Caspary, K.; Ophus, C.; Stahlberg, H., Low-dose cryo-electron ptychography of proteins at sub-nanometer resolution. *Nat Commun* **2024**, *15* (1), 8062. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52403-5>
- Caspy, I.; Wang, Z.; Bharat, T. A. M., Structural biology inside multicellular specimens using electron cryotomography. *Q Rev Biophys* **2025**, *58*, e6. <https://doi.org/10.1017/S0033583525000010>
- Jumper, J.; Evans, R.; Pritzel, A.; Green, T.; Figurnov, M.; Ronneberger, O.; Tunyasuvunakool, K.; Bates, R.; Zidek, A.; Potapenko, A.; Bridgland, A.; Meyer, C.; Kohl, S. A. A.; Ballard, A. J.; Cowie, A.; Romera-Paredes, B.; Nikolov, S.; Jain, R.; Adler, J.; Back, T.; Petersen, S.; Reiman, D.; Clancy, E.; Zielinski, M.; Steinegger, M.; Pacholska, M.; Berghammer, T.; Bodenstein, S.; Silver, D.; Vinyals, O.; Senior, A. W.; Kavukcuoglu, K.; Kohli, P.; Hassabis, D., Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* **2021**, *596* (7873), 583-589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Varadi, M.; Bertoni, D.; Magana, P.; Paramval, U.; Pidruchna, I.; Radhakrishnan, M.; Tsenkov, M.; Nair, S.; Mirdita, M.; Yeo, J.; Kovalevskiy, O.; Tunyasuvunakool, K.; Laydon, A.; Zidek, A.; Tomlinson, H.; Hariharan, D.; Abrahamson, J.; Green, T.; Jumper, J.; Birney, E.; Steinegger, M.; Hassabis, D.; Velankar, S., AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences. *Nucleic Acids Res* **2024**, *52* (D1), D368-D375. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1011>
- Nyíri, K.; Leveles, I.; Nagy, G. N.; Vértessy, G. B., Szerkezeti biológiai kutatások röntgenkristallográfiái alapokon a BME VBK ABÉT Biostruct laboratóriumban. *Magyar Kémiai Folyóirat* **2018**, *124* (3), 121-126. <https://doi.org/10.24100/MKF.2018.03.121>
- Vertessy, B. G.; Toth, J., Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases. *Acc Chem Res* **2009**, *42* (1), 97-106. <https://doi.org/10.1021/ar800114w>
- Szabo, J. E.; Takacs, E.; Merenyi, G.; Vertessy, B. G.; Toth, J., Trading in cooperativity for specificity to maintain uracil-free DNA. *Sci Rep* **2016**, *6*, 24219. <https://doi.org/10.1038/srep24219>
- Muha, V.; Horvath, A.; Bekesi, A.; Pukancsik, M.; Hodoscsek, B.; Merenyi, G.; Rona, G.; Batki, J.; Kiss, I.; Jankovics, F.; Vilmos, P.; Erdelyi, M.; Vertessy, B. G., Uracil-containing DNA in Drosophila: stability, stage-specific accumulation, and developmental involvement. *PLoS Genet* **2012**, *8* (6), e1002738. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002738>
- Palinkas, H. L.; Racz, G. A.; Gal, Z.; Hoffmann, O. I.; Tihanyi, G.; Rona, G.; Gocza, E.; Hiripi, L.; Vertessy, B. G., CRISPR/Cas9-Mediated Knock-Out of dUTPase in Mice Leads to Early Embryonic Lethality. *Biomolecules* **2019**, *9* (4). <https://doi.org/10.3390/biom9040136>
- Dengg, M.; Garcia-Muse, T.; Gill, S. G.; Ashcroft, N.; Boulton, S. J.; Nilsen, H., Abrogation of the CLK-2 checkpoint leads to tolerance to base-excision repair intermediates. *EMBO Rep* **2006**, *7* (10), 1046-51. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400782>

20. Alam, M. S.; Moriyama, H.; Matsumoto, M., Inhibition of Dr-dut gene causes DNA damage in planarian. *Mol Reprod Dev* **2018**, *85* (3), 188-196.
<https://doi.org/10.1002/mrd.22952>
21. Dos Santos, R. S.; Daures, M.; Philippi, A.; Romero, S.; Marselli, L.; Marchetti, P.; Senee, V.; Bacq, D.; Besse, C.; Baz, B.; Marroqui, L.; Ivanoff, S.; Masliah-Planchon, J.; Nicolino, M.; Soulier, J.; Socie, G.; Eizirik, D. L.; Gautier, J. F.; Julier, C., dUTPase (DUT) Is Mutated in a Novel Monogenic Syndrome With Diabetes and Bone Marrow Failure. *Diabetes* **2017**, *66* (4), 1086-1096.
<https://doi.org/10.2337/db16-0839>
22. Szabo, J. E.; Nyiri, K.; Andrasi, D.; Matejka, J.; Ozohanics, O.; Vertessy, B., Redox status of cysteines does not alter functional properties of human dUTPase but the Y54C mutation involved in monogenic diabetes decreases protein stability. *Sci Rep* **2021**, *11* (1), 19197.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-98790-3>
23. Fang, M.; Yang, S.; Liu, R.; Wu, X.; Jiang, L.; Yang, J.; Liu, X.; Wang, G.; Mu, C.; Wang, X., DUT (p. Y116C)-Mutation-Induced Thrombocytopenia in Rabbits. *International Journal of Molecular Sciences* **2025**, *26* (9), 4169.
<https://doi.org/10.3390/ijms26094169>
24. Nyiri, K.; Vertessy, B. G., Perturbation of genome integrity to fight pathogenic microorganisms. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* **2017**, *1861* (1 Pt B), 3593-3612.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.05.024>
25. Tormo-Mas, M. A.; Mir, I.; Shrestha, A.; Tallent, S. M.; Campoy, S.; Lasa, I.; Barbe, J.; Novick, R. P.; Christie, G. E.; Penades, J. R., Moonlighting bacteriophage proteins derepress staphylococcal pathogenicity islands. *Nature* **2010**, *465* (7299), 779-82.
<https://doi.org/10.1038/nature09065>
26. Leveles, I.; Nemeth, V.; Szabo, J. E.; Harmat, V.; Nyiri, K.; Bendes, A. A.; Papp-Kadar, V.; Zagyva, I.; Rona, G.; Ozohanics, O.; Vekey, K.; Toth, J.; Vertessy, B. G., Structure and enzymatic mechanism of a moonlighting dUTPase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **2013**, *69* (Pt 12), 2298-308.
<https://doi.org/10.1107/S0907444913021136>
27. Nyiri, K.; Papp-Kádár, V.; Szabó, J. E.; Németh, V.; Vertessy, B. G., Exploring the role of the phage-specific insert of bacteriophage Φ11 dUTPase. *Structural Chemistry* **2015**, *26*, 1425-1432.
<https://doi.org/10.1007/s11224-015-0652-2>
28. Szabo, J. E.; Nemeth, V.; Papp-Kadar, V.; Nyiri, K.; Leveles, I.; Bendes, A. A.; Zagyva, I.; Rona, G.; Palinkas, H. L.; Besztercei, B.; Ozohanics, O.; Vekey, K.; Liliom, K.; Toth, J.; Vertessy, B. G., Highly potent dUTPase inhibition by a bacterial repressor protein reveals a novel mechanism for gene expression control. *Nucleic Acids Res* **2014**, *42* (19), 11912-20.
<https://doi.org/10.1093/nar/gku882>
29. Hirmondo, R.; Szabo, J. E.; Nyiri, K.; Tarjanyi, S.; Dobrotka, P.; Toth, J.; Vertessy, B. G., Cross-species inhibition of dUTPase via the Staphylococcal Stl protein perturbs dNTP pool and colony formation in Mycobacterium. *DNA Repair (Amst)* **2015**, *30*, 21-7.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2015.03.005>
30. Benedek, A.; Poloskei, I.; Ozohanics, O.; Vekey, K.; Vertessy, B. G., The Stl repressor from Staphylococcus aureus is an efficient inhibitor of the eukaryotic fruitfly dUTPase. *FEBS Open Bio* **2018**, *8* (2), 158-167.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12302>
31. Benedek, A.; Temesvary-Kis, F.; Khatanbaatar, T.; Leveles, I.; Suranyi, E. V.; Szabo, J. E.; Wunderlich, L.; Vertessy, B. G., The Role of a Key Amino Acid Position in Species-Specific Proteinaceous dUTPase Inhibition. *Biomolecules* **2019**, *9* (6).
<https://doi.org/10.3390/biom9060221>
32. Nyiri, K.; Mertens, H. D. T.; Tihanyi, B.; Nagy, G. N.; Kohegyi, B.; Matejka, J.; Harris, M. J.; Szabo, J. E.; Papp-Kadar, V.; Nemeth-Pongracz, V.; Ozohanics, O.; Vekey, K.; Svergun, D. I.; Borysik, A. J.; Vertessy, B. G., Structural model of human dUTPase in complex with a novel proteinaceous inhibitor. *Sci Rep* **2018**, *8* (1), 4326.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-22145-8>
33. Lopata, A.; Leveles, I.; Bendes, A. A.; Viskolcz, B.; Vertessy, B. G.; Jojart, B.; Toth, J., A Hidden Active Site in the Potential Drug Target Mycobacterium tuberculosis dUTPase Is Accessible through Small Amplitude Protein Conformational Changes. *J Biol Chem* **2016**, *291* (51), 26320-26331.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.734012>
34. Nyiri, K.; Kohegyi, B.; Micsonai, A.; Kardos, J.; Vertessy, B. G., Evidence-Based Structural Model of the Staphylococcal Repressor Protein: Separation of Functions into Different Domains. *PLoS One* **2015**, *10* (9), e0139086.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139086>
35. Nyiri, K.; Harris, M. J.; Matejka, J.; Ozohanics, O.; Vekey, K.; Borysik, A. J.; Vertessy, B. G., HDX and Native Mass Spectrometry Reveals the Different Structural Basis for Interaction of the Staphylococcal Pathogenicity Island Repressor Stl with Dimeric and Trimeric Phage dUTPases. *Biomolecules* **2019**, *9* (9).
<https://doi.org/10.3390/biom9090488>
36. Hill, R. L. L.; Vlach, J.; Parker, L. K.; Christie, G. E.; Saad, J. S.; Dokland, T., Derepression of SaPIbov1 Is Independent of phiNM1 Type 2 dUTPase Activity and Is Inhibited by dUTP and dUMP. *J Mol Biol* **2017**, *429* (10), 1570-1580.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.04.001>
37. Nyiri, K.; Gal, E.; Laczkovich, M.; Vertessy, B. G., Antirepressor specificity is shaped by highly efficient dimerization of the staphylococcal pathogenicity island regulating repressors: Stl repressor dimerization perturbed by dUTPases. *Sci Rep* **2024**, *14* (1), 1953.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-51260-y>
38. Kohegyi, B.; Toth, Z. S.; Gal, E.; Laczkovich, M.; Benedek, A.; Vertessy, B. G.; Nyiri, K., Full-length inhibitor protein is the most effective to perturb human dUTPase activity. *Sci Rep* **2025**, *15* (1), 4836.
<https://doi.org/10.1038/s41598-025-86131-7>
39. Wang, F.; Liu, C.; Wang, C.; Wang, Y.; Zang, K.; Wang, X.; Liu, X.; Li, S.; Li, F.; Ma, Q., Structural basis of staphylococcal Stl inhibition on a eukaryotic dUTPase. *Int J Biol Macromol* **2021**, *184*, 821-830.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.107>
40. Sanz-Frasquet, C.; Ciges-Tomas, J. R.; Alite, C.; Penades, J. R.; Marina, A., The Bacteriophage-Phage-Inducible Chromosomal Island Arms Race Designs an Interkingdom Inhibitor of dUTPases. *Microbiol Spectr* **2023**, *11* (1), e0323222.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.03232-22>
41. Ciges-Tomas, J. R.; Alite, C.; Humphrey, S.; Donderis, J.; Bowring, J.; Salvatella, X.; Penades, J. R.; Marina, A., The structure of a polygamous repressor reveals how phage-inducible chromosomal islands spread in nature. *Nat Commun* **2019**, *10* (1), 3676.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-11504-2>

42. Toth, Z. S.; Leveles, I.; Nyiri, K.; Nagy, G. N.; Harmat, V.; Jaroentomeechai, T.; Ozohianics, O.; Miller, R. L.; Alvarez, M. B.; Vertessy, B. G.; Benedek, A., The homodimerization domain of the Stl repressor is crucial for efficient inhibition of mycobacterial dUTPase. *Sci Rep* **2024**, *14* (1), 27171. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76349-2>
43. Kari, G.; Rodeck, U.; Dicker, A. P., Zebrafish: an emerging model system for human disease and drug discovery. *Clin Pharmacol Ther* **2007**, *82* (1), 70-80. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100223>
44. Howe, K.; Clark, M. D.; Torroja, C. F.; Torrance, J.; Berthelot, C.; Muffato, M.; Collins, J. E.; Humphray, S.; McLaren, K.; Matthews, L.; McLaren, S.; Sealy, I.; Caccamo, M.; Churcher, C.; Scott, C.; Barrett, J. C.; Koch, R.; Rauch, G. J.; White, S.; Chow, W.; Kilian, B.; Quintais, L. T.; Guerra-Assuncao, J. A.; Zhou, Y.; Gu, Y.; Yen, J.; Vogel, J. H.; Eyre, T.; Redmond, S.; Banerjee, R.; Chi, J.; Fu, B.; Langley, E.; Maguire, S. F.; Laird, G. K.; Lloyd, D.; Kenyon, E.; Donaldson, S.; Sehra, H.; Almeida-King, J.; Loveland, J.; Trevanion, S.; Jones, M.; Quail, M.; Willey, D.; Hunt, A.; Burton, J.; Sims, S.; McLay, K.; Plumb, B.; Davis, J.; Clee, C.; Oliver, K.; Clark, R.; Riddle, C.; Elliot, D.; Threadgold, G.; Harden, G.; Ware, D.; Begum, S.; Mortimore, B.; Kerry, G.; Heath, P.; Phillimore, B.; Tracey, A.; Corby, N.; Dunn, M.; Johnson, C.; Wood, J.; Clark, S.; Pelan, S.; Griffiths, G.; Smith, M.; Glithero, R.; Howden, P.; Barker, N.; Lloyd, C.; Stevens, C.; Harley, J.; Holt, K.; Panagiotidis, G.; Lovell, J.; Beasley, H.; Henderson, C.; Gordon, D.; Auger, K.; Wright, D.; Collins, J.; Raisen, C.; Dyer, L.; Leung, K.; Robertson, L.; Ambridge, K.; Leongamornlert, D.; McGuire, S.; Gilderthorp, R.; Griffiths, C.; Manthravadi, D.; Nichol, S.; Barker, G.; Whitehead, S.; Kay, M.; Brown, J.; Murnane, C.; Gray, E.; Humphries, M.; Sycamore, N.; Barker, D.; Saunders, D.; Wallis, J.; Babbage, A.; Hammond, S.; Mashregi-Mohammadi, M.; Barr, L.; Martin, S.; Wray, P.; Ellington, A.; Matthews, N.; Ellwood, M.; Woodmansey, R.; Clark, G.; Cooper, J.; Tromans, A.; Grafham, D.; Skuce, C.; Pandian, R.; Andrews, R.; Harrison, E.; Kimberley, A.; Garnett, J.; Fosker, N.; Hall, R.; Garner, P.; Kelly, D.; Bird, C.; Palmer, S.; Gehring, I.; Berger, A.; Dooley, C. M.; Ersan-Urun, Z.; Eser, C.; Geiger, H.; Geisler, M.; Karotki, L.; Kirn, A.; Konantz, J.; Konantz, M.; Oberlander, M.; Rudolph-Geiger, S.; Teuicke, M.; Lanz, C.; Raddatz, G.; Osoegawa, K.; Zhu, B.; Rapp, A.; Widaa, S.; Langford, C.; Yang, F.; Schuster, S. C.; Carter, N. P.; Harrow, J.; Ning, Z.; Herrero, J.; Searle, S. M.; Enright, A.; Geisler, R.; Plasterk, R. H.; Lee, C.; Westerfield, M.; de Jong, P. J.; Zon, L. I.; Postlethwait, J. H.; Nusslein-Volhard, R.; Hubbard, T. J.; Roest Crollius, H.; Rogers, J.; Stemple, D. L., The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* **2013**, *496* (7446), 498-503. <https://doi.org/10.1038/nature12111>
45. Gutierrez-Lovera, C.; Vazquez-Rios, A. J.; Guerra-Varela, J.; Sanchez, L.; de la Fuente, M., The Potential of Zebrafish as a Model Organism for Improving the Translation of Genetic Anticancer Nanomedicines. *Genes (Basel)* **2017**, *8* (12). <https://doi.org/10.3390/genes8120349>
46. Nyiri, K.; Koppány, G.; Palfy, G.; Vida, I.; Toth, S.; Orgovan, Z.; Radelovic, I.; Baranyi, M.; Molnar, E.; Keseru, M. G.; Tovari, J.; Perczel, A.; Vertessy, B. G.; Timar, J., [Allele-specific inhibitors of mutant KRAS are in the focus of RASopathy consortium]. *Magy Onkol* **2019**, *63* (4), 310-323.
47. Orgovan, Z.; Peczka, N.; Petri, L.; Abranyi-Balogh, P.; Radelovic, I.; Toth, S.; Szakacs, G.; Nyiri, K.; Vertessy, B.; Palfy, G.; Vida, I.; Perczel, A.; Tovari, J.; Keseru, M., Covalent fragment mapping of KRas(G12C) revealed novel chemotypes with in vivo potency. *Eur J Med Chem* **2023**, *250*, 115212. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115212>
48. Radelovic, I.; Nyiri, K.; Koppány, G.; Baranyi, M.; Tovari, J.; Kigyos, A.; Timar, J.; Vertessy, B. G.; Grolmusz, V., Gluing GAP to RAS Mutants: A New Approach to an Old Problem in Cancer Drug Development. *Int J Mol Sci* **2024**, *25* (5). <https://doi.org/10.3390/ijms25052572>
49. Berta, D.; Gehrke, S.; Nyiri, K.; Vertessy, B. G.; Rosta, E., Mechanism-Based Redesign of GAP to Activate Oncogenic Ras. *J Am Chem Soc* **2023**, *145* (37), 20302-20310. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c04330>
50. Szabó-Szentjóni, H.; Majoros, I.; Márton, A.; Leveles, I.; Vertessy, B. G.; Dékány, M.; Tóth, T.; Huszthy, P., Synthesis of New Chiral Crown Ethers Containing Phosphine or Secondary Phosphine Oxide Units. *Synthesis* **2020**, *52* (19), 2870-2882. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1707854>
51. Pál, D.; Baranyai, P.; Leveles, I.; Vertessy, B. G.; Huszthy, P.; Móczár, I., An Acridone-Based Fluorescent Chemosensor for Cationic and Anionic Species, and Its Application for Molecular Logic Operations. *ChemistrySelect* **2019**, *4* (40), 11936-11943. <https://doi.org/10.1002/slct.201903483>
52. Németh, T.; Petró, J. L.; Leveles, I.; Tóth, T.; Balogh, G. T.; Vertessy, B. G.; Huszthy, P., Structural characterization of a sodium perchlorate-acridino-18-crown-6 ether complex. *Structural Chemistry* **2018**, *29*, 113-118. <https://doi.org/10.1007/s11224-017-1008-x>
53. Tordai, H.; Leveles, I.; Hegedus, T., Molecular dynamics of the cryo-EM CFTR structure. *Biochem Biophys Res Commun* **2017**, *491* (4), 986-993. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.07.165>
54. Mero, B.; Radnai, L.; Gogl, G.; Toke, O.; Leveles, I.; Koprivanacz, K.; Szeder, B.; Dulk, M.; Kudlik, G.; Vas, V.; Cserkaszky, A.; Sipeki, S.; Nyitray, L.; Vertessy, B. G.; Buday, L., Structural insights into the tyrosine phosphorylation-mediated inhibition of SH3 domain-ligand interactions. *J Biol Chem* **2019**, *294* (12), 4608-4620. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.004732>
55. Incze, D. J.; Molnar, Z.; Nagy, G. N.; Leveles, I.; Vertessy, B. G.; Poppe, L.; Bata, Z., Understanding the molecular mechanism of fumonisin esterases by kinetic and structural studies. *Food Chem* **2025**, *473*, 143110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.143110>
56. Rozbesky, D.; Verhagen, M. G.; Karia, D.; Nagy, G. N.; Alvarez, L.; Robinson, R. A.; Harlos, K.; Padilla-Parra, S.; Pasterkamp, R. J.; Jones, E. Y., Structural basis of semaphorin-plexin cis interaction. *EMBO J* **2020**, *39* (13), e102926. <https://doi.org/10.15252/embj.2019102926>
57. Nagy, G. N.; Zhao, X. F.; Karlsson, R.; Wang, K.; Duman, R.; Harlos, K.; El Omari, K.; Wagner, A.; Clausen, H.; Miller, R. L.; Giger, R. J.; Jones, E. Y., Structure and function of Semaphorin-5A glycosaminoglycan interactions. *Nat Commun* **2024**, *15* (1), 2723. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46725-7>
58. Herguedas, B.; Kohegyi, B. K.; Dohrke, J. N.; Watson, J. F.; Zhang, D.; Ho, H.; Shaikh, S. A.; Lape, R.; Krieger, J. M.; Greger, I. H., Mechanisms underlying TARP modulation of the GluA1/2-gamma8 AMPA receptor. *Nat Commun* **2022**, *13* (1), 734. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28404-7>

Structural biology studies in the BME ABÉT Biostruct Laboratory

Over the past decade, structural biology has undergone remarkable technological and methodological advances, greatly enhancing our understanding of macromolecular structures and their roles in cellular processes. This review summarizes major developments in experimental and computational structural biology techniques, including X-ray crystallography, cryogenic electron microscopy (cryo-EM), and AI-based structure prediction methods such as AlphaFold. X-ray crystallography, though long established, continues to play a key role in high-resolution structure determination due to improvements in synchrotron radiation sources, hybrid pixel detectors, and automation. Meanwhile, cryo-EM has achieved near-atomic resolution and has become widely accessible, revolutionizing the study of complex biological systems and *in situ* structures through cryo-electron tomography. Complementing experimental approaches, AlphaFold has dramatically advanced the accuracy and accessibility of structure prediction, offering over 200 million models that support biomedical research and hypothesis generation. Using these advanced tools, the Genome Metabolism and Biostruct group at Budapest University

of Technology and Economics has explored the structural basis of dUTPase inhibition, a key enzyme that prevents uracil incorporation into DNA by hydrolyzing dUTP nucleotides. We characterized the interaction of dUTPase enzyme with its unique protein inhibitor, Stl, from bacteriophage $\phi 11$, identifying distinct structural elements involved in competitive inhibition across different species, including human and *Mycobacterium tuberculosis*. We probed to enhance Stl inhibition of human dUTPase via rational mutagenesis; however, the structural flexibility of Stl limited the feasibility of this approach. Further investigations involved cryo-EM and HDX-MS analyses, revealing the modular binding modes of Stl to trimeric and dimeric dUTPases. Additionally, structural and physiological studies in zebrafish embryos demonstrated the critical role of dUTPase in early development, highlighting conserved enzymatic mechanisms across species. These multidisciplinary studies emphasize the power of integrated structural biology in understanding enzyme regulation, host-pathogen interactions, and potential therapeutic interventions.

A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült

Főszerkesztő: Szenté Lajos

Szerkesztő: Balogh György Tibor

Segédszerkesztő: Vincze Anna

Technikai szerkesztő: Dinnyés Tünde

A szerkesztőség címe:

Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet, 1092 Budapest, Högyes Endre u. 9.;
telefon: +36 20 480 5172; e-mail: balogh.gyorggy.tibor@semmelweis.hu

Kiadó:

Magyar Kémikusok Egyesülete, 1106 Budapest, Fehér út 10.; Felelős kiadó: Dr. Szabó János Zoltán
telefon: +36 30 720 4417; e-mail: szabojanos@mke.org.hu

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

Internetes változat: <https://mkf.mke.org.hu>

Tördelés:

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

Közleményeink kivonatossan is csak a lapunkra való hivatkozással vehetők át.

Egyes cikkek teljes egészében 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

ISSN 1418-8600 (Online)