

## Opponensi vélemény

Maksó Lilla

### „IONFOLYADÉKOK ALKALMAZÁSA SZTEROIDOK SZINTÉZISÉBEN”

című PhD értekezéséről

A veszprémi Pannon Egyetem Szerves Kémiai Szintézis és Katalízis Kutatócsoportjában a szteránvázis vegyületek homogén katalitikus átalakításainak régi hagyománya van és újabban a kutatási irány a zöldkémiai szempontoknak sok tekintetben megfelelő ionfolyadékok katalizátorként és oldószerként való felhasználhatóságának vizsgálatával is kiegészült. Maksó Lilla doktori képzése során ez utóbbi kutatásokba kapcsolódott be Skodáné Prof. Földes Rita témavezetésével. Kísérleti munkája során pregnadienolonból és pregnadienolon-acetátból kiindulva 16-os helyzetben sztereoszelektíven funkcionális, többségében új származékokat állított elő ionfolyadékok jelenlétében kivitelezett aza- és tio-Michael addíciós reakciókban. Az előállított vegyületek, legalábbis az elvégzett biológiai vizsgálatokban csak mérsékelt aktivitást mutattak, de a munka jelentősége a szintetikus módszerfejlesztésben rejlik, melynek során a jelölt új vegyületek előállításán keresztül igazolta az általa kidolgozott katalitikus rendszerek szteroid modellen való alkalmazhatóságát, a reakciók reprodukálhatóságát és az ionfolyadékok újrafelhasználhatóságát.

A dolgozat arányos felépítésű, olvasható, az első verzióhoz képest jelentősen továbbfejlesztett, tömörebb összeállítás, a fogalmazás választékos, elírás, helyesírási hiba csak elvétve található benne. Szerkezetileg és formailag is megfelel egy PhD doktori értekezéstől elvárt követelményeknek. A magyar, angol és spanyol nyelven megírt 1 oldalas tartalmi összefoglalókat és a rövidítések jegyzékét követően az irodalmi összefoglaló fejezetben közel 30 oldalon keresztül áttekintést kapunk a szteránvázis vegyületek, ezen belül is főként a nemi hormonok szerkezeti és biológiai tulajdonságairól, a jelölt által felhasznált pregnánvázis kiindulási anyagokról, valamint azok biológiailag aktív N- és S-tartalmú módosított származékairól, a munka alapját képező Michael addíció típusairól, lehetséges mechanizmusairól és katalitikus lehetőségeiről szteránvázis példákkal is illusztrálva. Az ionfolyadékok általános jellemzőit, típusait és alkalmazási területeit tetszetős, jól érthető ábrákkal is szemléltetve mutatja be a szerző. Ehelyütt szeretném megjegyezni, hogy továbbra is fent tartom azon véleményemet, miszerint a dolgozatban túl sok (348) irodalmi hivatkozás szerepel annál is inkább, mivel számos helyen tetten érhető, hogy ennyi referenciát nem sikerült megfelelő alaposággal átolvasnia és feldolgoznia a szerzőnek és viszonylag sok a figyelmetlenségből adódó hiba.

Néhány példa:

- A 6. ábrán mind az abirateron, mind a ketokonazol szerkezete hibásan szerepel.
- Több helyen pregnánszármazékként hivatkozik olyan vegyületekre, amelyek nem sorolhatók ezen szerkezeti csoportba. Pl. a 9. ábrán a **b** és **c** vegyületek nem pregnánszármazékok, a középső

valószínűleg dehidroepiandroszteronból egyszerű kondenzációs reakcióval készült, míg a jobb szélsőnek a szerkezete is hibás, ha a vonatkozó irodalmat megnézzük, akkor ez a vegyület egy DHT-acetát származék, sőt nyilván a N sem 4 vegyértékű, mint ahogy az az ábrán szerepel.

- A 12. ábrán bemutatott **b** vegyület ránézésre is kakukkojtás, mint kéntartalmú pregnánszármazék. Ha az ember utánanézi a hivatkozott irodalomnak, akkor abban valóban szulfatált pregnánszármazékok előállításáról van szó, és a **b** vegyületekre, csak, mint korábbi munkájuk során természetes forrásból izolált, illetve szintetizált szteránvázas diszulfát származékokra hivatkoznak a szerzők.
- Több csúsztatás van a feltüntetett vegyületek farmakológiai hatásait illetően is. A 16-szubsztituált pregnenolon származékokra vonatkozóan a CYP17 liáz gátlás nem kerül említésre a hivatkozott szabadalomban, továbbá a 10. ábrán feltüntetett **c** vegyületsalád egyetlen egy képviselője (egy 16-benzilamino származék) volt a DPP-IV enzim hatásos inhibitora a vonatkozó irodalom szerint, de az is 3-OH és nem 3-OAc származék.

Az irodalmi áttekintőben néhány további hiba is található (pl. több helyen továbbra is lemaradt a konfiguráció jelölés – pl. 3-R<sup>1</sup> és 17-R<sup>2</sup> térállás a 8. ábrán vagy 3-OH térállás a 9. ábra vegyületeinél, a 16. ábrán a tautomériát jelölő oda-vissza mutató nyilak helyett mezomériára utaló kétfejű nyíl szerepel).

Az irodalmi bevezetést követően az 1 oldalas célkitűzés, majd a kísérleti eredmények és értékelésük fejezet következik több mint 50 oldalon keresztül. Ez utóbbi fejezet alapvetően 3 részre bontható, amely egyúttal a tézispontok alapjául is szolgál. Ez utóbbiakat új tudományos eredményként fogadom el és a következőkben foglalom össze.

1. Jelölt munkája során egy pregnánvázas enon és különböző szerkezetű aminok sztereoszelektív aza-Michael addíciójával 16 (ebből 14 új), az irodalomban eddig ismeretlen 16 $\alpha$ -amino-pregnenolon származékot állított elő bázikus ionfolyadék, mint oldószer és katalizátor jelenlétében. A vegyületek szerkezetét nagyműszeres mérésekkel igazolta. Kísérletei során optimalizálta a reakciókörülményeket a szubsztrátum/reagens arány, a hőmérséklet és a reakcióidő vonatkozásában, igazolta az ionfolyadék újrafelhasználhatóságát, valamint kísérletet tett az egyes aminok bázicitásának / nukleofilitásának / térkitöltésének reakciókészségükre és így a termékhozamokra gyakorolt hatásának az értelmezésére.
2. 16-dehidropregnenolonból és annak acetátjából kiindulva bázisos ionfolyadékban 15 (ebből 13 új) 16 $\alpha$ -tio-Michael addíciós terméket szintetizált és karakterizált. Igazolta az általa alkalmazott ionfolyadék katalitikus hatását és visszaforgathatóságát. Összességében megállapította, hogy a tiolok reakciókészsége nem csupán azok pK<sub>a</sub> értékétől függhet.
3. A munka legötletesebb és legértékesebb részének tartom a különféle N-heterociklusos vegyületek guanidin bázisok által katalizált aza-Michael-addíciójának megtervezését metilimidazolium-tetrafluoro-borát ionfolyadékban, melynek során a reakció lejátszódását követően CO<sub>2</sub> bevezetéssel mind a feleslegben alkalmazott reagens, mind a bázis katalizátor ionfolyadékká alakítható, a termék

pedig egyszerűen kiextrahálható a reakcióelegyből. Ráadásul a reverzibilis ionfolyadékból a reagens és a bázis újra molekuláris állapotba hozható és ismételten felhasználható. Nagyon impozánsak a jelöltnek a változtatható polaritású rendszer kidolgozására, az optimális reakciókörülmények és a megfelelő extrahálószer megtalálása érdekében tett kísérletei. A CO<sub>2</sub> reverzibilis kemisorpcióját NMR spektroszkópiai mérésekkel igazolta. Ezzel a módszerrel 7 új, 16 $\alpha$ -helyzetben heterogyűrűt tartalmazó pregnenolonszármazékot állított elő.

A dolgozattal kapcsolatos kérdéseim, megjegyzéseim a következők:

1. Az irodalmi bevezetés 1.7.4. pontjában a bázikus ionfolyadékokról ír, melyek bázicitása – ha jól értem – vagy a kation vagy az anion bázikus jellegéből adódik, ugyanakkor leírja, hogy hátrányuk, hogy bázikus körülmények között instabilisak, sőt az utolsó mondat alapján a bázikus aniont tartalmazó ionfolyadékok instabilabbak, mint a bázikus kationt tartalmazók. Számomra ez a rész kevésbé érthető. Kérem, hogy válaszában kicsit jobban fejtse ki, hogy itt mire gondol!
2. Kísérletei során bázikus aniont tartalmazó ionfolyadékokat alkalmazott a 16-aza-Michael addíciók oldószereként és katalizátoraként. Véleménye szerint bázisos kationt tartalmazó vagy savas ionfolyadékkal is katalizálható lenne a vizsgált reakció?
3. A 45. oldalon bemutatott négy ionfolyadék mennyire viszkózus szobahőmérsékleten? Az ionfolyadék szteroidhoz képesti mennyiségét a szteroid oldhatósága alapján választották meg. Ezek szerint a pregnadienolon és pregnadienolon-acetát ugyanolyan oldhatósággal rendelkezik a [HDBU][OAc] ionfolyadékban? További kérdésem, hogy – talán az imidazol kivételével – valamennyi alkalmazott amin 65 °C-on folyadék. Mennyiben tekinthető oldószernek az ionfolyadék 10  $\times$  - es mennyiségű amin jelenlétében? A folyékony aminok esetében nem merült fel, hogy az ionfolyadék mennyiségének hatását vizsgálják?
4. A 37. ábrán az **1a** vegyület morfolinnal történő reakcióját mutatja be, ahol 3 terméket izoláltak. Az aza-Michael-addíció mellett az **1a** szteroid észtercsoportja, valamint a morfolin (**3a**) közötti amidálási reakció is végbemegy. Említi, hogy korábban nem tettek hasonló megfigyelést, csak primer aminok esetén, ugyanakkor későbbi vizsgálatai alapján megállapítja, hogy a megfigyelt amidálási reakcióban az ionfolyadék nem játszik szerepet. Ionfolyadék nélkül, illetve egyéb szekunder aminokkal is bekövetkezik ez a reakció? Végeztek-e erre irányuló kísérleteket?
5. Az acetonitrilben megadott nukleofilítási paraméterek és a vizes oldatban mért pK<sub>a</sub>H értékek alapján nem nagyon tudták értelmezni a piperidinnek a morfolinnál kisebb reakciókészségét. Adódik a kérdés, hogy megpróbálták-e a piperidinhez hasonló tulajdonságú pirrolidinnel is elvégezni a reakciót?
6. A 46. ábrán a **8a** vegyület szintézisét a 16-DPA-ból képzett tio-Michael addíciós termék lúgos közegű dezacetilezésével is előállították. Miért volt szükség forralásra a dezacetilezéskor? Lehetséges, hogy itt az alacsonyabb hozam (69%) annak tudható be, hogy dezacetilezéssel kísért retro-Michael addícióval valamennyi **1b** melléktermék is képződött?

7. Végül az utolsó kérdéseim a farmakológiai vizsgálatokra irányulnak:

- a) Mi indokolta a 16-szubsztituált vegyületek CYP17 liáz enzimgátló hatásának vizsgálatát? (A CYP17 liáz gátlás szempontjából nagyon jó hatás-szerkezet összefüggések vannak a szakirodalomban, sőt a csonkolt humán enzim abirateronnal és galeteronnal kikristályosított rtg szerkezete is rendelkezésre áll).
- b) Milyen szempontok alapján választották ki az előállított tio-Michael adduktumok közül a biológiai vizsgálatra bocsátott vegyületeket?
- c) A 16-os helyzetben N-heterociklust tartalmazó származékok esetében történtek-e citotoxicitási vizsgálatok?

Kritikai megjegyzéseim ellenére Maksó Lilla értekezését rendkívül értékes munkának tartom, eredményeiből 3 színvonalas (2 elsőszerezős) angol nyelvű tudományos közlemény ( $\Sigma$ IF = 8) és 3 poszterelőadás született. Kutatómunkája során a paraméterek optimalizálását követően hatékony, szelektív módszert dolgozott ki szteránvázas enonok aza- és tio-Michael addíciójának ionfolyadékokban történő megvalósítására, melynek eredményeként 34 új vegyület jó hozamú szintézisét és szerkezetigazolását valósította meg. Eredményeit újszerűnek, következtetéseit kísérletileg megalapozottnak ítélem meg. Az értekezésben foglaltakat a nyilvános vitára alkalmasnak tartom és sikeres védést követően a doktori fokozat odaítélését messzemenően támogatom.

Szeged, 2024. október 25.



Dr. Frank Éva

egyetemi docens

SZTE Molekuláris és Analitikai Kémiai Tanszék