



Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Természettudományi Központ

Válasz Dr. Nagyné dr. Frank Éva előbírálataira

Köszönöm Dr. Nagyné dr. Frank Éva egyetemi docensnek, hogy elvállalta doktori dolgozatom bírálatainak elkészítését. Hálámat szeretném kifejezni a rendkívül gyors és alapos munkájáért. Köszönöm a disszertációmmal kapcsolatban tett szakmai észrevételeit, tanácsait. Az előbírálati pontok alapján igyekeztem maradéktalanul javítani a hibákat. Ennek ellenére a dolgozat végleges formájában továbbra is fellelhetőek hibák, amelyekkel teljes mértékben egyetértek.

A bírálóban szereplő kérdésekre a válaszaim 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!

Talán a megfogalmazásom kissé félreérthető volt, amely úgy hangzott:

„A bázikus ionfolyadékok előállítását és alkalmazását oldószerként és/vagy katalizátorként korlátozza, hogy alapvetően jellemző az ionfolyadékok instabilitása bázikus körülmények között (<https://doi.org/10.1039/D0GC01832E>).”

Az ionfolyadékok instabilitását és a dolgozatban említett mellékreakciók lejátszódását elsősorban erősen bázikus körülmények között figyelték meg. Erős bázis lehet az ionfolyadék saját anionja (pl.: OH^-) vagy egy „külső” bázis. Ezek jelenlétében például az imidazóliumionokat a bázis (a saját anionja vagy egy másik bázis) karbén alakíthatja és ez a karbén nukleofil reagensként reakcióba léphet például aldehidekkel, vagy éppen a CO_2 -dal. Azonban abban az esetben, ha az ionfolyadék bázikusságát a kation hordozza nem jellemző ez az instabilitás elsősorban azért, mert ezek a kationok gyenge bázisok (pl.: aminocsoporttal az oldalláncban), így nem elég erős bázisok ahhoz, hogy deprotonálják az imidazóliumiont. Természetesen a stabilitást más tényezők is befolyásolják (pl.: oldószer).



2. Kísérletei során bázikus aniont tartalmazó ionfolyadékot alkalmazott a 16-aza-Michael addíciók oldószereként és katalizátoraként. Véleménye szerint bázisos kationt tartalmazó vagy savas ionfolyadékkal is katalizálható lenne a vizsgált reakció?

A savas ionfolyadékok is katalitikus hatást fejthetnek ki a Michael-addíciós reakciók során. Erre léteznek irodalmi példák is (pl.: DOI: 10.1039/C1OB06346D). A bázikus kationok általában az oldalláncunkban aminocsoportot tartalmaznak. Véleményem szerint ezek az ionfolyadékok is katalizálhatják a hetero-Michael addíciót, de számolnunk kellene a szteroid és az ionfolyadék között lejátszódó mellékreakcióval is. A kutatásom korai fázisában a [BMIM][PF₆], [HMIM][BF₄] ionfolyadékok jelenlétében vizsgáltam a szteroidok aza-Michael addíciós reakcióit, sikertelenül. Igaz, az említett ionfolyadékok gyengén savasnak tekinthetők a C2-H savassága miatt. Az első pozitív részeredményeket azonban [HDBU][OAc] jelenlétében sikerült elérnem, így a későbbiekben a bázikus ionfolyadékok alkalmazására fókuszáltam. Kiegészítésként azonban megjegyezném, hogy a dolgozatban szereplő **52. ábrán** látható, hogy a reakció lejátszódását elősegítheti a választott ionfolyadék anionja és kationja egyaránt.

3. A 45. oldalon bemutatott négy ionfolyadék mennyire viszkozus 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 × - es mennyiségű amin jelenlétében? A folyékony aminok esetében nem merült fel, hogy az ionfolyadék mennyiségének hatását vizsgálják?

A pregnadienolon és pregnadienolon-acetát oldhatósága között nem tapasztaltam különbséget. A trietil-ammónium-acetát (TEAA) és a 2-hidroxiethyl-ammónium-formiát (2-HEAF) ionfolyadékok már kevésbé viszkozusak, de továbbra is mézszerű állaggal rendelkeznek. Ez utóbbi két esetben az oldhatóság szempontjából biztosan csökkenthető lett volna az ionfolyadék bemérési aránya. Ezt azonban nem vizsgáltam két okból kifolyólag:

- a trietil-ammónium-acetát (TEAA) összetételének bizonytalansága miatt nem végeztem kísérleteket ezzel az ionfolyadékkal
- 2-hidroxiethyl-ammónium-formiát (2-HEAF) jelenlétében az elvégzett kísérletet követően nem történt termékképződés, így szükség sérültlen volt az oldhatóság kérdésének körüljárása.



Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Természettudományi Központ

Az alkalmazott amin reagensek halmazállapotát külön nem vizsgáltam 65 °C-on. Tény, hogy a szobahőmérsékleten is folyadék halmazállapotú aminok 10 ×-es mennyiség mellett már oldószerként is funkcionálhatnak. Ez tette lehetővé pl. a morfolin és a 16-DHP reakciójának vizsgálatát külön oldószer és ionfolyadék hozzáadása nélkül. Ekkor azonban csak nyomokban tapasztaltam termékképződést. Ez rámutat arra, hogy az aza-Michael-addíciók során az alkalmazott ionfolyadékok nem csak oldószerként funkcionálhatnak, hanem katalizátorai is ezeknek a reakcióknak. Elsősorban ezt a katalitikus hatást kívántam vizsgálni, ezért a kísérleteim során az egységes reakciókörülmények megteremtése volt a célom, beleértve az ionfolyadékok bemérési arányát is. Ennek ellenére valóban érdekes lett volna az ionfolyadékok változó arányú mennyiségének vizsgálata ott, ahol lehetséges. Elképzelhető, hogy az ionfolyadékok ezekben az esetekben katalitikus mennyiségben is hatásosak. Többszöri felhasználásuk viszont a szubsztrátum kis mennyisége miatt nehezen lett volna eredményesen megoldható. A kísérletek elvégzéséhez jelentős méretnövelésre lett volna szükség.

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?

További szekunder aminokkal nem vizsgáltuk a reakciót. A butilamin és az **1a** szteroid reakciója során kaptunk hasonló eredményt. Ez elegendő volt ahhoz, hogy a reakciók szelektivitásának érdekében áttérjünk az **1b** szteroid alkalmazására. A mellékreakció lejátszódásának vizsgálatához azonban valóban nem ártott volna a fent említett további kísérleteket elvégezni.

5. Az acetonitrilben megadott nukleofilitási paraméterek és a vizes oldatban mért pKaH értékek alapján nem nagyon tudták értelmezni a piperidinnel a morfolinnál kisebb reakciókészségét. Adódik a kérdés, hogy megpróbálták-e a piperidinhez hasonló tulajdonságú pirrolidinnel is elvégezni a reakciót?

Pirrolidin reagenssel nem végeztük el a kísérletet.



Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Természettudományi Központ

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?

A dezacetilezési reakció során a dolgozatban hivatkozott szakirodalommal [DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.05.032] ellentétben forralás alkalmazásakor sikerült elérni magasabb hozamot. Melléktermékként az 1b vegyület képződését nem tapasztaltam a 7a → 8a átalakítási folyamat során.

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).

Az előállított vegyületek CYP17 liáz gátlás vizsgálatát azért tartottuk indokoltnak, mert bár a 17-es helyen szubsztituált szteroidszármazékok előállítását és azok hatását széleskörben vizsgálták, a 16-os helyen N-szubsztituált adduktumokra viszonylag kevés szakirodalmi példa létezett. Ha jól értem, a kérdés arra is utal, hogy akár valamilyen szimulációs program segítségével is megjósolhattuk volna a lehetséges biológiai hatást. Azonban a publikálás szempontjából úgy gondolom mindenképp szükségszerű volt biológiai hatásvizsgálatok elvégzése. Kiegészítésként azonban érdekes lehetett volna az eredményeket összevetni egy dokkoló program által kapott adatokkal.

b) Milyen szempontok alapján választották ki az előállított tio-Michael adduktumok közül a biológiai vizsgálatra bocsátott vegyületeket?

A biológiai vizsgálatokra azokat a vegyületeket küldtük, amelyek a vizsgálat idején a rendelkezésünkre álltak. Az elért eredmények nem voltak kimagaslóak, így nem tartottuk indokoltnak a később előállított vegyületek hasonló biológiai hatásvizsgálatát.



Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Természettudományi Központ

c) A 16-os helyzetben N-heterociklust tartalmazó származékok esetében történtek-e citotoxicitási vizsgálatok?

Gogoi és munkatársai szabadalmaztatták a 16-dehidropregnenolon-acetát benzimidazol- és imidazolszármazékát (**10. ábra, a-b**), melyek jelentős CYP17 inhibitor aktivitással, valamint mellrákellenes hatással rendelkeznek [Sanjib Gogoi, Boruah, R. C.; Saikia, P.; Addlagatta, A.; Saddanapur, V.; *16 α -Heteroaryl pregnenolone acetate and a process for preparation thereof*, WO2015170336, **2015**]. Feltételezhetően az általam újonnan előállított további N-heterociklusos származékok is rendelkeznek hasonló hatással. A reverzibilis ionfolyadékokra irányuló kísérleteim során azonban elsősorban a módszerfejlesztésen volt a hangsúly, így az előállított szteroidszármazékok biológiai hatásvizsgálatára nem került sor.

Köszönöm Dr. Nagyné dr. Frank Éva egyetemi docensnek, hogy észrevételeivel és tanácsaival hozzájárult dolgozatom színvonalának emeléséhez.

Veszprém, 2024. 12. 18.

Maksi Lilla

doktorjelölt