

Pirido[2,3-b] indolizinek szintézise mikrohullámú reaktor felhasználásával

Szerző:

Laczkó Kinga

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Kémia és Vegyészmérnöki kar, Vegyészmérnöki szakirány, III. Év

Témavezető:

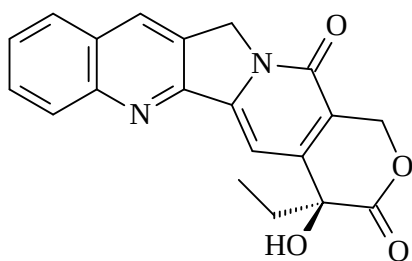
dr. Lovász Tamás, tanársegéd,

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Magyar Kémia és Vegyészmérnöki Intézet

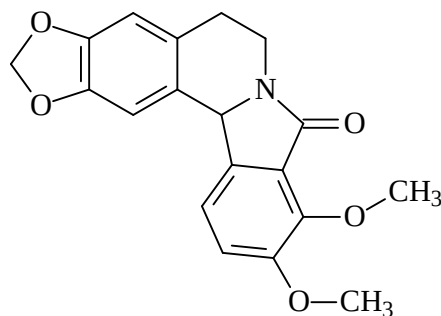
2012

1. Bevezető

Az indolizinek a heteroaromás vegyületek azon csoportjába tartoznak, amely egy 5 illetve egy 6 tagú kondenzált gyűrűt tartalmaznak és a köztük hídát képező N atomot. [1,2] Az irodalomban különböző neveket használnak az indolizinekre, pl. pirindol, pirrodin, pirrolo [1,2-a] piridin és pirrokolin. Az aromás indolizint nem találjuk meg a természetben, de viszont redukált származékai gyakran előfordulnak. Számos indolizin származék lett kivonva növényekből, rovarokból, állatokból, tengeri élőlényekből és mikrobákból. Az indolizinek jelentősége a gyógyszertervezésben megnőtt, a szintetikus és orvosi szerves vegyészek számára kihívást jelent, hogy jól meghatározott szubsztitúciós mintákkal rendelkező indolizineket kifejlesszenek. Számos új, szintézis metodológiát fedeztek fel és potenciális, biológiai aktivitással rendelkező összetevőket szintetizáltak [2,10a]. Az indolizin egy speciális elektron szerkezettel rendelkezik, amely régóta nagy elméleti érdeklődést von maga után. Emelett az indolizin származékoknál bebizonyosodott, hogy változatos biológiai aktivitásokkal rendelkeznek, pl. gyulladáscsökkentő [3,4,5,6], antivirális [3,5,6,7], antibakteriális [4,7], antiparazita [8], nyugtató [4,8], tüdőgyulladáselleni [3], hörgőtágító [8], immunrendszer védő [8], aromataz-enzim inhibitor (kulcsfontosságú szerepe van az ösztrogének és androgének szintézisében) [5,6], fájdalomcsillapító [3,4,6,7], lázcsillapító [4] és antitumorális hatás [5,6]. Ezenkívül Ca felszívódást gátló tulajdonságokat is mutattak [6,7] és potenciális antioxidánsok [5,6], blokkolja a lipid-peroxidáz enzimet in vitro körülmények között [6]. Ezáltal az indolizinek fontos szintetikus célpontok a HIV fertőzések, a rák és szívérrendszeri betegségek kezelésére kifejlesztendő gyógyszerek szempontjából. Az 1-2 helyzetben zárt indolizinek megtalálható néhány természetes, biológiai aktivitással rendelkező alkaloidban, pl. *camptothecin* és a *nuevamine* [5,6].

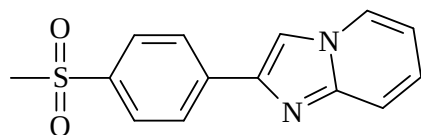


Camptothecin 1

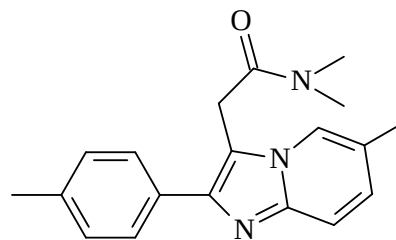


Nuevamine 2

Néhány 1-2 helyzetben zárt indolizin ugyancsak érdekes biológiai aktivitást mutatott, idegrendszer védő és rákellenes hatását említették [6]. A policiklikus indolizin származékok fluoreszkáló tulajdonsággal rendelkeznek. Ezen típusú összetevők szintézise nagy érdeklődést keltett a kutatók körében, mint újszerű színezékek és markerek [6,9]. Imidazol[1,2-a] piridin kiinduló anyagot tartalmazó forgalomban lévő gyógyszerek a *Zolimidin*TM [4], egy gyomorfekélyelleni készítmény, a *Zolpidem*TM [4] altató és az *Alpidem* [7] nyugtató.



Zolimidine™



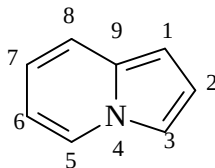
Zolpidem™

2. Az indolizinek szintézise

2.1 Fontosabb módszerek az indolizinek előállítására

A különböző szintézis módszerek a következőképpen oszthatók:

- Tschitschibabin reakció
- Cikloaddíciós reakciók (1,3 dipoláris cikloaddíció)
- Intramolekuláris gyűrűzáródás ecetsav-anhidrid felhasználásával
- C3-C4 kötést alkotó gyűrűzáródás
- C1-C9 kötést alkotó gyűrűzáródás
- C8-C9 kötést alkotó gyűrűzáródás

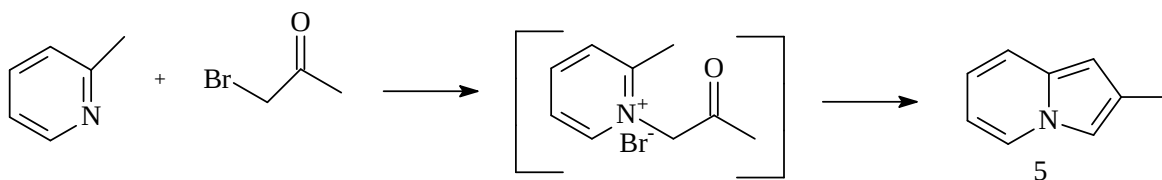


1.ábra. Az indolizin gyűrű számozása

Számos gyűrűzáródásos reakció fémeket használ katalizátorként, pl. Cu, Pt, Ag, Au, és Pd. Annak ellenére, hogy a legtöbb megközelítés olyan szubsztátumból indul ki, melyek egy hattagú gyűrűs rendszerbe zárt N-t tartalmaz, mint pl. a piridin, kinolin és izokinolin, vannak módszerek, melyek pirrol-származékokból indulnak ki. Az utóbbi néhány évben új környezetbarát technológiák jelentek meg, mint a mikrohullámú hevítés és a vizes környezetben való reakciók.

Tschitschibabin reakció [2]

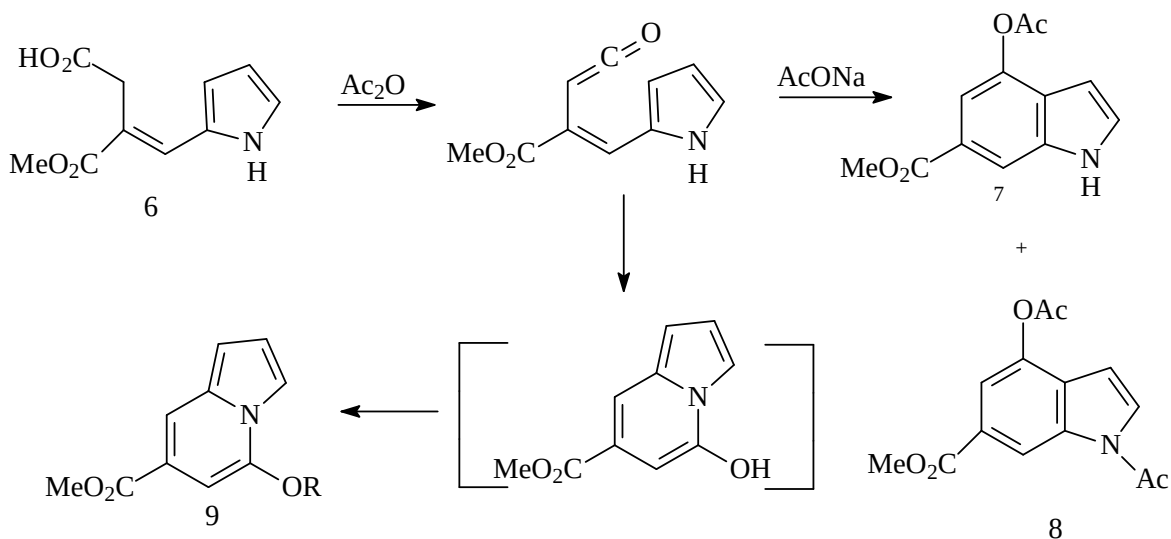
Ez egy klasszikus módszer az indolizin szintézisére, amelyben a quaterner piridin-halogenid (mely a 2-szubsztituált piridin és egy α -halokarbonil reakciójából származik) intermolekuláris kondenzációban vesz részt és kialakul egy indolizin származék. Pl. a 2-metilpiridin és a bróm-aceton reakciója alapfeltételek mellett a 2-metilindolizin 5 kialakulásához vezet (2.ábra).



2. ábra. 2-metil-indolizin 5 szintézise Tschitschibabin reakcióval

Ecetsav-anhidrid jelenlétében történő gyűrűzáródás [2]

A **6**-os félészter, amit a pirrol-2-karboxaldehid és a dimetil-szukcinát Stobbe kondenzációjával képződik, gyűrűzárással a **9**-es indolizinné alakul (3. ábra). A reakciómechanizmus alapján a gyűrűzáródás egy vinil-ketén köztitermék kialakulásán keresztül történik. Az előzőleg bemutatott módszer szerint az ecetsav-anhidrid/Na-acetát alkalmazása az indolizin **9** származékokat valamint a **7** és **8** indol származékokat adja.

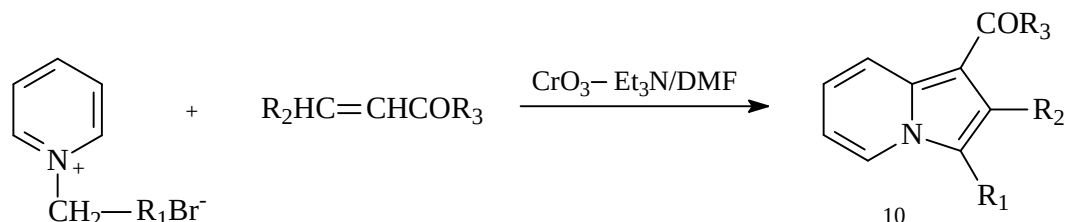


9: R=a. Ac, b. CO₂Me, c. Me

3. ábra. Ecetsav-anhidriddel való gyűrűzáródás az indolizin **9** esetében

1,3- dipoláris cikloaddíció [10b]

A heterociklusos N-ilidek és az elektronhiányos alkinek, alkének és allének 1,3- dipoláris cikloaddíciós reakciói fontos módszerek az indolizin szintézisében. Különböző típusú dipolarofileket használtak piridin-, kinolin-, vagy izokinolin-ilidekkel való reakciókban, hogy különböző típusú indolizineket alkossanak. Az N-ilidek (4.ábra) és az izokinolin-N-ilidek (5.ábra) 1,3 dipoláris cikloaddíciós reakciója kalkonokkal $\text{CrO}_3/\text{Et}_3\text{N}$ hozzáadásával 1-benzoil-2-aril-indolizint **10** és 1-benzoil-2-arilpirrol[2,1- α]-izokinolint **11** eredményez.

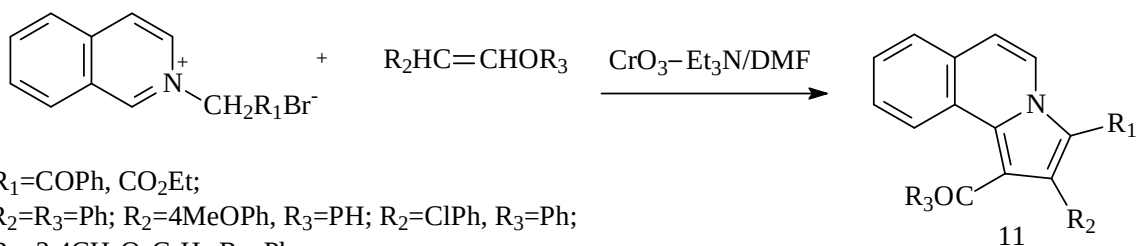


$\text{R}_1 = \text{COPh}, \text{CO}_2\text{Et};$

$\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{Ph}; \text{R}_2 = 4\text{ MeOPh}, \text{R}_3 = \text{Ph}; \text{R}_2 = \text{ClPh}, \text{R}_3 = \text{Ph};$

$\text{R}_2 = 3,4\text{ CH}_2\text{O}_2\text{C}_6\text{H}_3, \text{R}_3 = \text{Ph}$

4.ábra. $\text{CrO}_3/\text{Et}_3\text{N}$ hozzáadásával 1,3 dipoláris cikloaddíció piridin-N-ilidek és kalkonok között



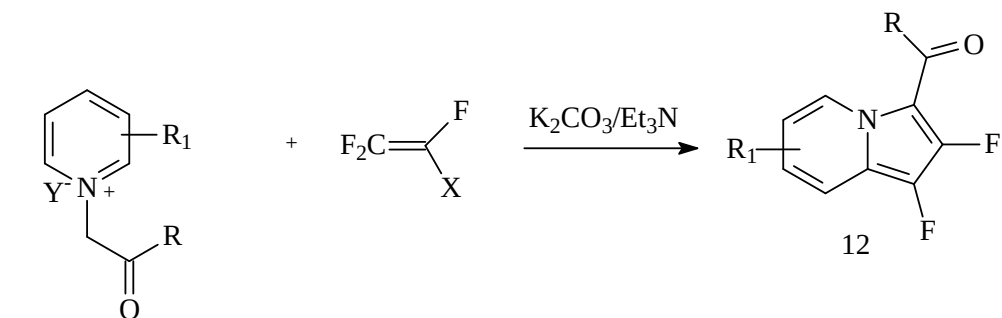
$\text{R}_1 = \text{COPh}, \text{CO}_2\text{Et};$

$\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{Ph}; \text{R}_2 = 4\text{ MeOPh}, \text{R}_3 = \text{Ph}; \text{R}_2 = \text{ClPh}, \text{R}_3 = \text{Ph};$

$\text{R}_2 = 3,4\text{ CH}_2\text{O}_2\text{C}_6\text{H}_3, \text{R}_3 = \text{Ph}$

5.ábra. $\text{CrO}_3/\text{Et}_3\text{N}$ hozzáadásával 1,3 dipoláris cikloaddíció izokinolin-N-ilidek és kalkonok között

Hasonló 1,3 dipoláris cikloaddíciós reakció figyelhető meg a piridin-N-ilideknek esetében, fluoroalkénekkel kalcium-karbonát és trietil-amin jelenlétében, melynek során fluorozott indolizinek **12** keletkeznek (6.ábra). A reakció légköri nyomáson 70°C -on lett végrehajtva DMF ben oldva egyszerű üvegedényt használva. A reakció kinolin-, és izokinolin-N-ilidekre is ki lett terjesztve.



X=Cl, Br, F, CF₃; Y=Br, Cl

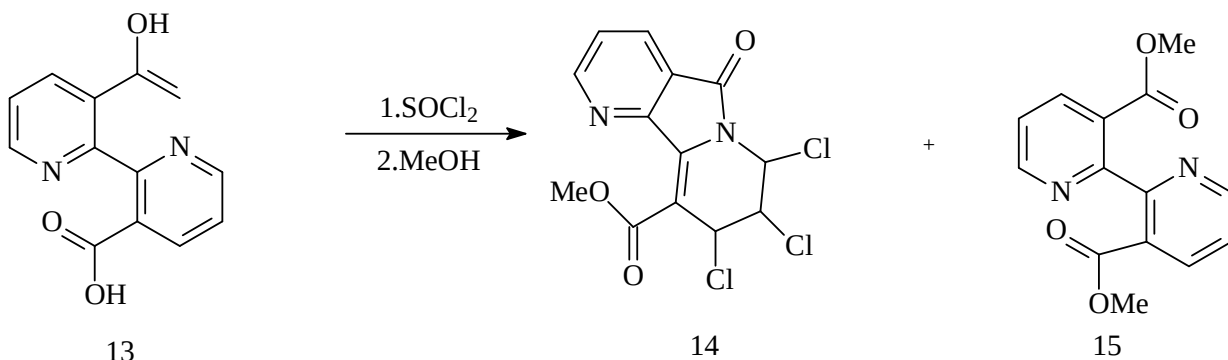
a. R=Ph, R₁=H; R=Ph, R₁=4Me; R=Ph, R₁=3Me;

b. R=OEt, R₁=H; R=OEt, R₁=4Me; R=OEt, R₁=H

6.ábra. Fluorozott indolizinek **12** szintézise 1,3 dipoláris cikloaddíciós reakció segítségével

C3-C4 kötést alkotó gyűrűzáródás

A 2,2'-bipiridin-3,3'-dikarbonsav **13** tionil-kloriddal reagáltatva egy királis enantiomer metil 7,8,9-triklór-6,7,8,9-tetrahidro-5-oxopirido[2,3-a] indolizine-10-karbonsavvá **14** és a szubsztrátum észterévé **15** alakul (7.ábra). [2] A reakcióra a bipiridinek kezdeti intermolekuláris N-kloro-acilezése ad magyarázatot. Basavaiah és munkatársai néhány indolizin származékot alkotó Baylis-Hillman addukt gyűrűzáródásáról számoltak be [11].

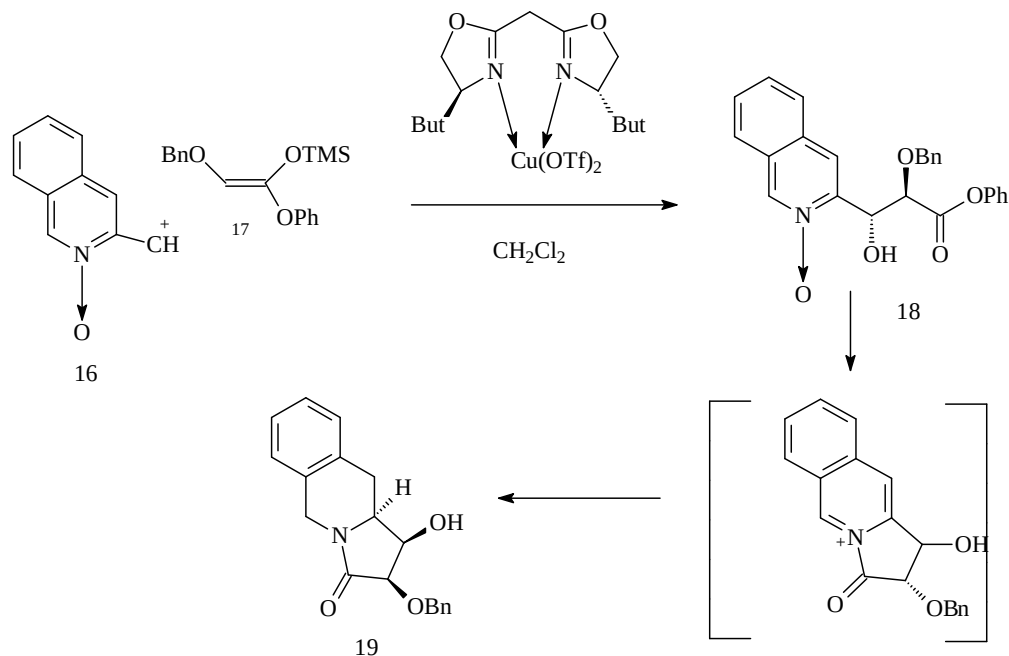


7.ábra. A 2,2'-bipiridin 3,3'-dikarboxilsav **13** és tionil-klorid reakciójából keletkező metil 7,8,9-triklór-6,7,8,9-tetrahidro-5-oxopirido[2,3-a] indolizin-10-karbonsav **14** és az észter **15**

C1-C9 kötést alkotó gyűrűzáródás [2]

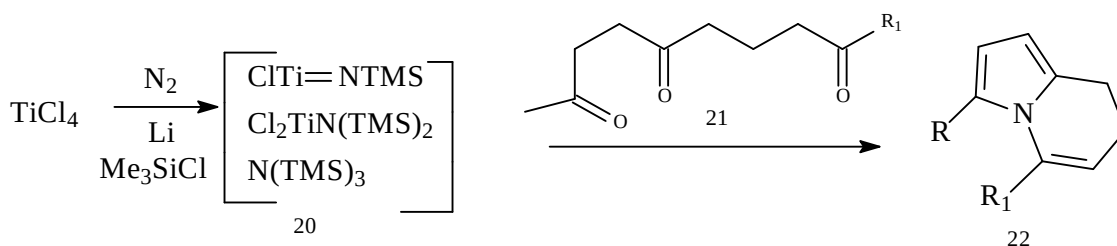
Egy szintetikus indolizin-alkaloid **19** asszimmetrikus, totál szintézise a **18**-as összetevő felhasználásával történt. Egy indolizin alkaloid a katalitikus Mukaiyama aldol reakcióval képződik, amelyben részt vesz a ketén-szilil-acetát **17** és az 1-oxipiridin-2-karbaldehid **16** egy

királis Cu (II)-bis(oxazolin) komplexek által katalizált, optikailag aktív 2-(hidroxialkil)-, és 2-(anti-1,2-dihidroxialkil) piridint **18** eredményezve. A reakció katalizátora egy királis Cu (II)-bis(oxazolin) komplex. A **18**-as összetevő gyűrűzár és indolizin származékká **19** alakul (8.ábra).



8.ábra. Aszimmetrikus, totál szintézise egy szintetikus indolizin-alkaloidnak

Az indolizin származék szintetizálására molekuláris N megkötést használtak katalitikus mennyiségű titán-komplexel **20** (9.ábra). A triketonokkal **21** reagáltatott titán-nitrogén komplex **20** indolizin származékokat **22** eredményezett.

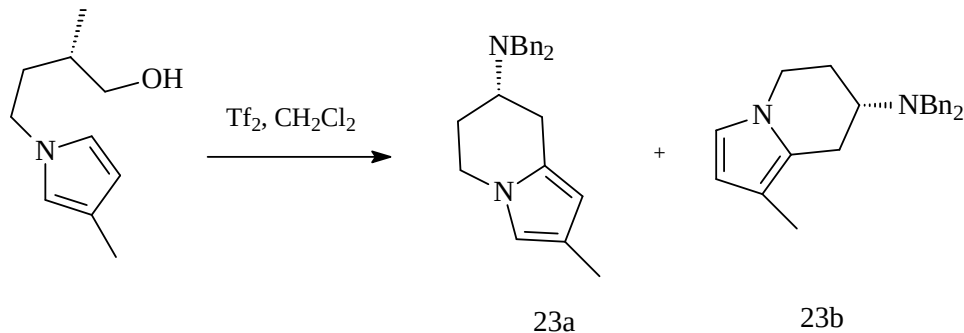


9.ábra. Titán-nitrogén komplex reakciója triketonokkal

A C8-C9 kötést alkotó gyűrűzáródás

Egy aziridinium köztitermék és glutamin reakciójából, mely egy kationos 6-exo π gyűrűzáródással megy végbe 8-amino-metil-indolizin keletkezik. A gyűrűzáródást egy 2-amino-alkohol trifluorometánsulfon-anhidriddel való reakciója aktiválja. A természetes aszparaginból, mely egy királis építő elem 7-amino-tetrahydro-indolizin **23a,b** keletkezik (10.ábra) [2]. A

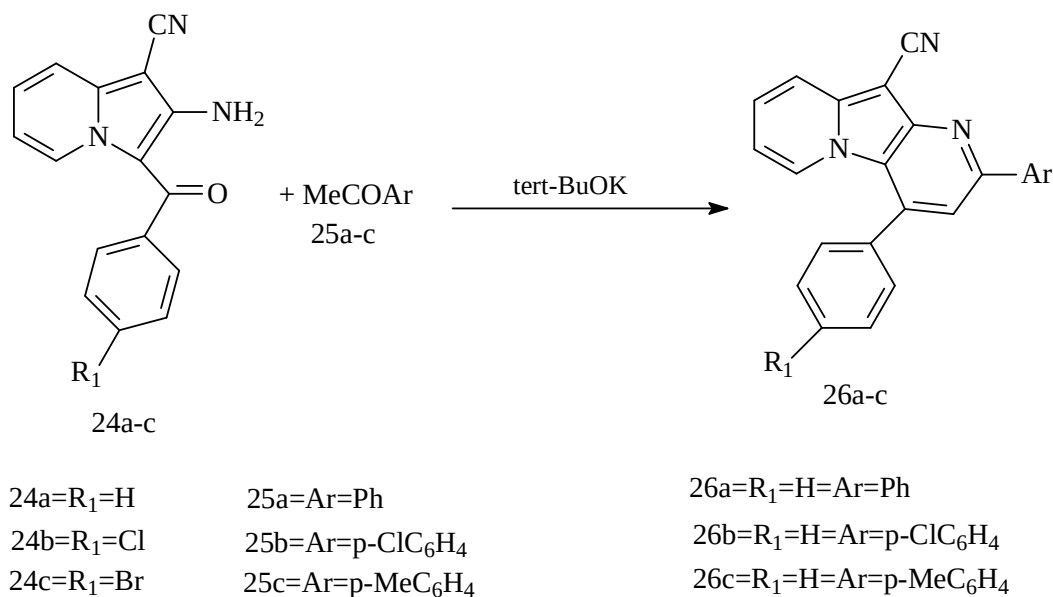
hattagú gyűrűk kialakulását a sztereoelektronikusan szabályzott kationos gyűrűzáródás eredményezi, melyet a terminális alkoholok aktiválása indukálta [12].



10.ábra. 7-amino-tetrahidro-indolizinek **23a,b** szintézise természetes aszparaginból.

2.2 Pirimidin-indolizinek előállítása

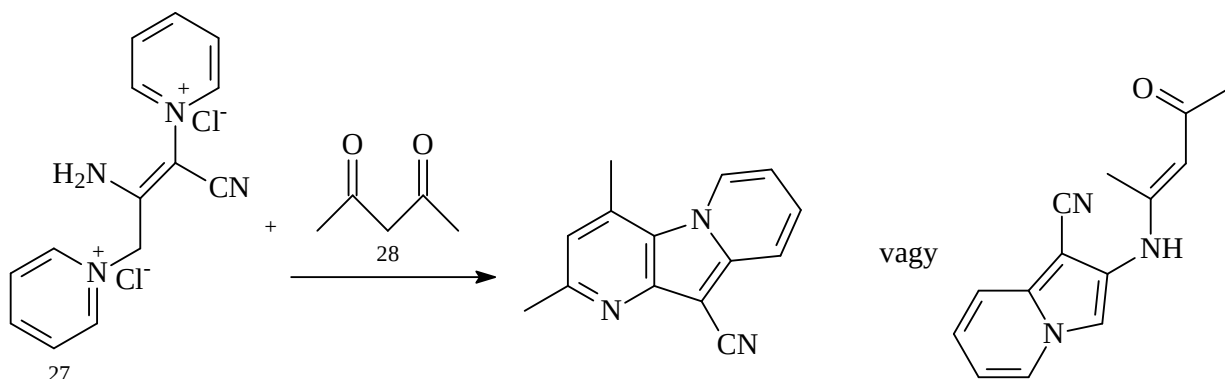
A pirimidin-indolizinek szintézisére két módszert említ a szakirodalom. Az első módszer alapján előállítanak egy amino-indolizin származékot, majd a következő lépésben kiépítik a pirimidin gyűrűt. Ha a 2-amino-3-benzoindolizin-1-karbonitrilt **24a** 1:2 arányban acetofenonnal **25a** reagáltatják kloroformban vagy etanolban bázis jelenlétében (pl. trietil-amin) a 2,4-difenil-pirido-[2,3-b] indolizin-10-karbonitril **26a** képződik. A nagyobb hozam elérése érdekében a **24a** és **25a** anyagot DMF-ben oldották kálium-tert-butoxid jelenlétében [11].



11.ábra. A 2,4-difenil-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril szintézise

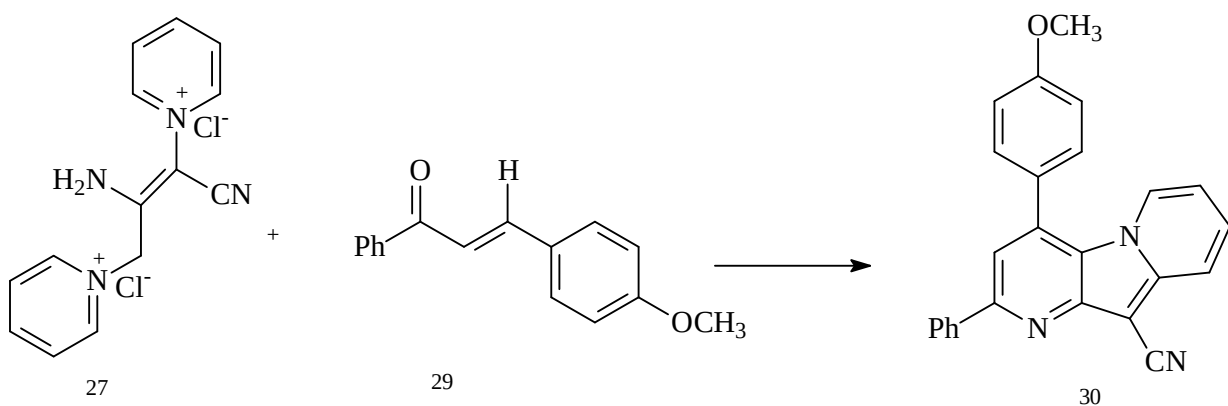
A második módszer szerint ugyanabban a lépésben történik a pirimidin, illetve az indolizin gyűrű kialakítása. A mi kutatásunk ezt a szintézis utat követte, ahol első lépésben

szintetizáltuk az 1-cianometil-piridinium kloridot **27**, amelyből kiindulva, gyűrűzáródás segítségével ugyanabban a lépésben kialakult mind az indolizin, illetve a pirimidin részlet. Kiindulóanyagként a kvaterner-ammóniumsón kívül még telítetlen ketont 1,3-diaril-propenont használtunk. A pirido-indolizin mag kialakulását először a dipiridinium-dikloridnak **27** az acetyl-acetonnal **28** való reakciójakor figyelték meg (12.ábra). A reakció bázikus katalizátor jelenlétében megy végbe (Na_2CO_3 vagy N-metil-piperazin) vizes oldatban, a felhasznált reagensek aránya pedig 1:2 [1].



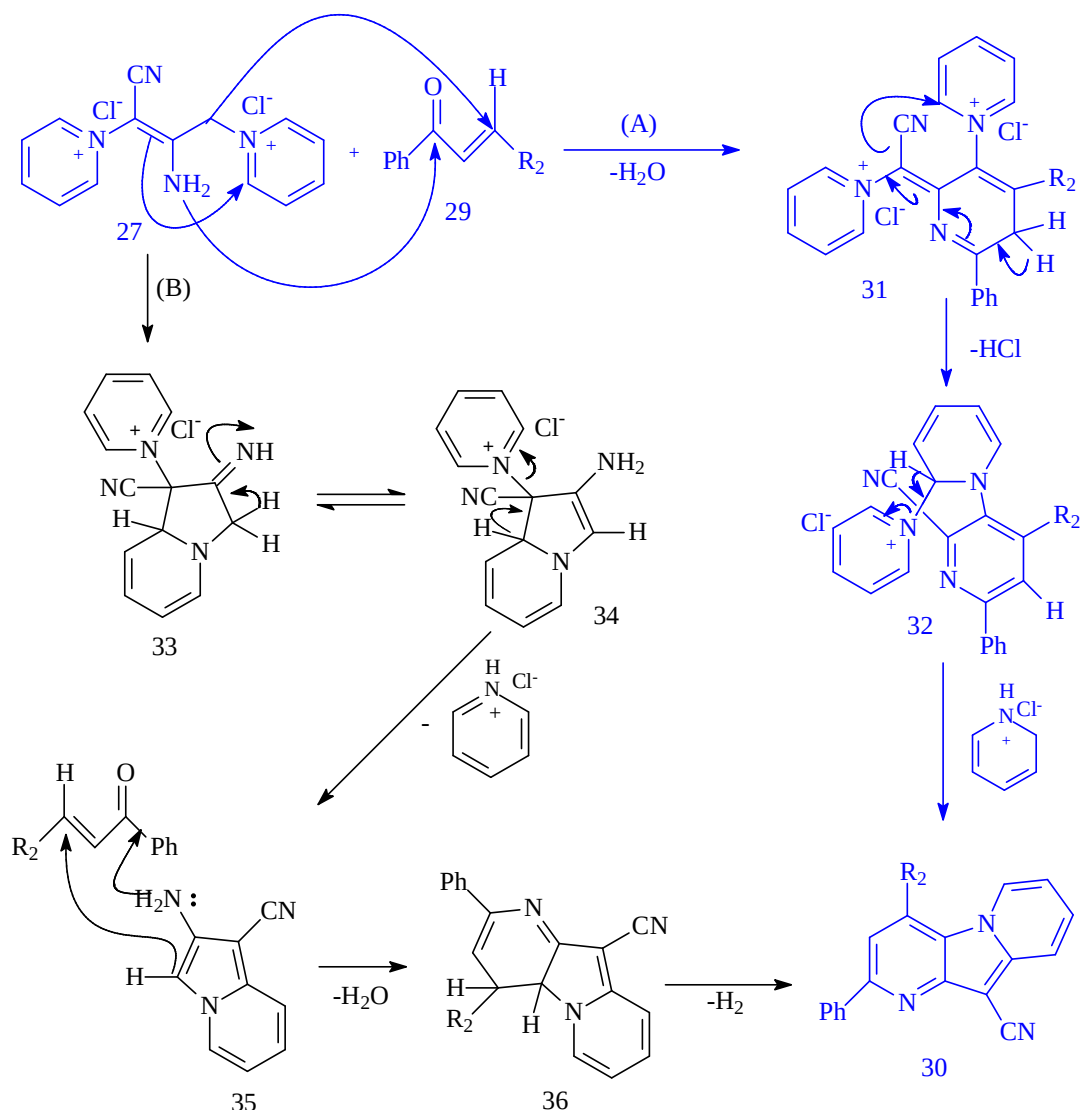
12.ábra. A dipiridinium-diklorid **27** és acetyl-aceton **28** reakciója

Mennyiségben több terméket izoláltak, amikor a dipiridinium-dikloridot **27** egy α,β -telítetlen karbonil származékkal 3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-one-et **29** reagáltatták (13.ábra).



13.ábra. A pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril szintézisének optimalizálása

A pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril **30** szintézise dipiridinium-dikloridból és α,β -telítetlen karbonil származékokból, víz és etanolban oldott nátrium-acetát katalizátor jelenlétében megy végbe. A reakció mechanizmusát a 14.ábra szemlélteti.



14.ábra. Pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril szintézisének reakciómechanizmusa [3]

A pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril kialakulása valószínűleg a 27-es dimér szerkezetében lévő metilénecsoporthoz és aminocsoport nukleofil támadásának az eredménye a 29-es vegyület β -, illetve karbonil szénatomjára (A-val jelzett irány). A 31-es köztitermék intermolekuláris gyűrűzáródással egyenesen a végső formába 30 alakul a HCl illetve a piridin-klorid eliminációja után. A B-vel jelzett alternatív irány ugyancsak alkalmazható. A 27-es anyag intermolekuláris gyűrűzáródással, tautomerizációval és ezt követően a piridin-klorid eliminációja után kialakul a 35-ös szubsztituált indolizin. Ennek az összetevőnek a reakciója α,β telítetlen anyagokkal, melyben az enamin funkciós csoport nukleofil támadásával, majd dehidratációval és oxidáció után a 30-as termékhez vezet [3].

3.Célkitűzések

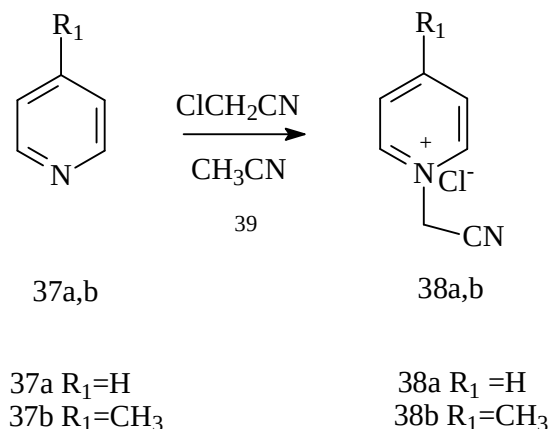
Kutatásaink célja pirido-indolizin származékok előállítása klasszikus és mikrohullámú körülmények felhasználásával illetve ezen előállítási módszerek összehasonlítása és a keletkezett vegyületek szerkezetvizsgálata. Az említett vegyületek várhatóan biológiai aktivitást mutatnak tekintettel arra, hogy a szakirodalom leír számos olyan indolizin származékot, melyek gyógyászati felhasználással rendelkeznek. További céljaink közé tartozik az előállított vegyületek antibakteriális és antitumorális hatásainak a vizsgálata.

4.Gyakorlati rész

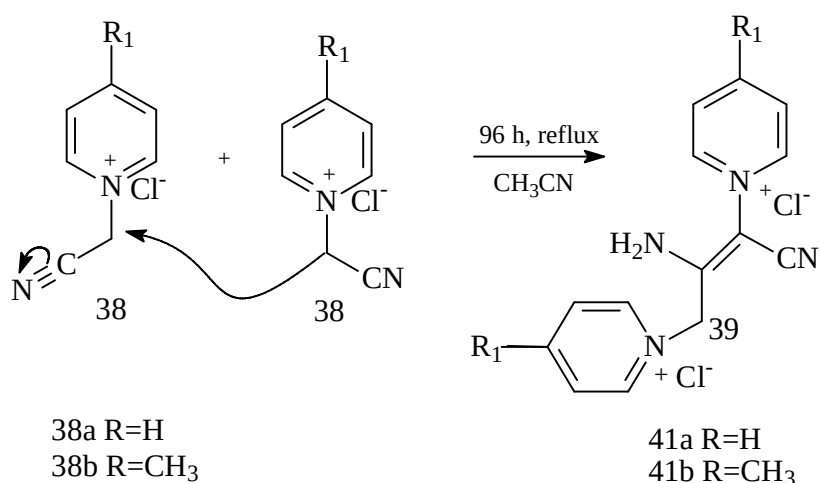
4.1. Az alapanyagok szintézise

A piridinium sók előállítása [3]

A sókat a megfelelő irodalmi receptek alapján állítottam elő. Acetonitrilben **39** piridint **37a,b** oldottam fel majd 2-klór-acetonitrilt adtam hozzá. A reakcióelegyet 10 órát főztem, majd a keletkezett csapadékot **38** mostam és szárítottam (15.ábra). A sók összekapcsolási reakciója jóval több reakcióidőt igényelt. A cianometil-piridinium- kloridot **38a,b** újabb 96 órát főztem acetonitrilben, majd a csapadékot **41a,b** szűrtem és szárítottam (16.ábra).



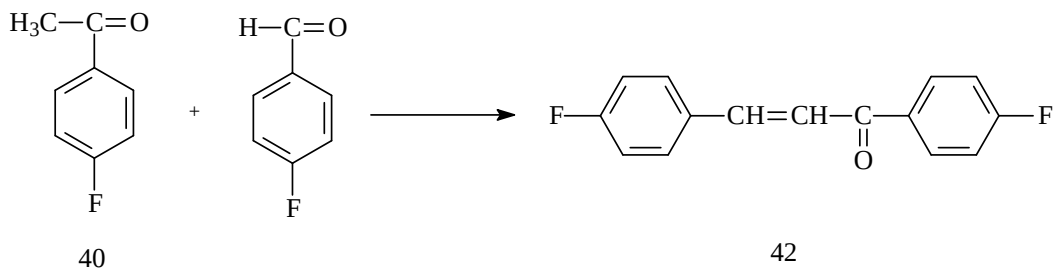
15.ábra. A cianometil-piridinium-klorid **38a** és az 1-metil-cianometil-piridinium-klorid **38b** szintézise



16.ábra. Az 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-diklorid **41a** és az 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-diklorid **41b** szintézise

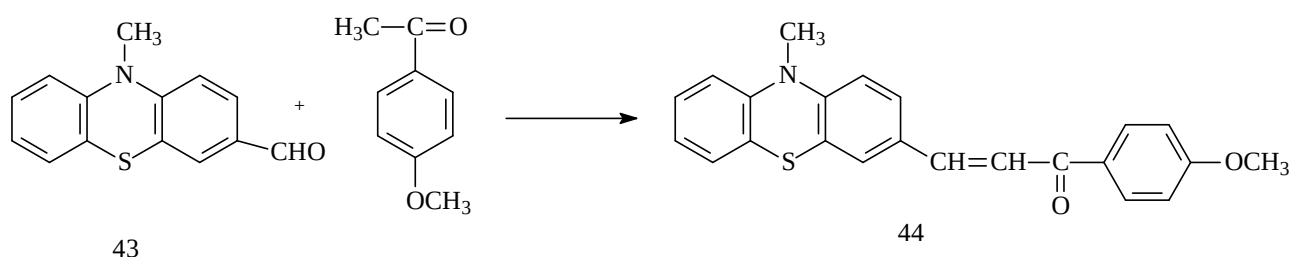
Kalkonok előállítása [19,20]

Az alapanyagként felhasznált kalkonokat lúgos környezetben történő aldol kondenzációval állítottam elő. *para*-F-acetofenont **40** és *para*-F-benzaldehidet etanolban oldottam, majd pár csepp 10% NaOH/MeOH oldatot adtam a reakcióelegyhez. Melegítés nélkül másfél órán keresztül kevertettük az oldatot amíg a csapadék **42** kivált(17.ábra).



17.ábra. A 1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one **42** szintézise

Az 1-(4-metoxifenil)-3-(10-metil-10*H*-fenotiazin-3il)-prop-2-ene-1-one **44** szintézise esetében 10-metil-fenotiazin-3-karbaldehidből **43** és 4-metoxi-acetofenonból indultam ki. A szintézist ugyanolyan reakció körülmények között végeztem, mint a fluoros kalkon **42** esetében (18.ábra).



18.ábra. Az 1-(4-metoxifenil)-3-(10-metil-10*H*-fenotiazin-3il)-prop-2-ene-1-one **44** szintézise

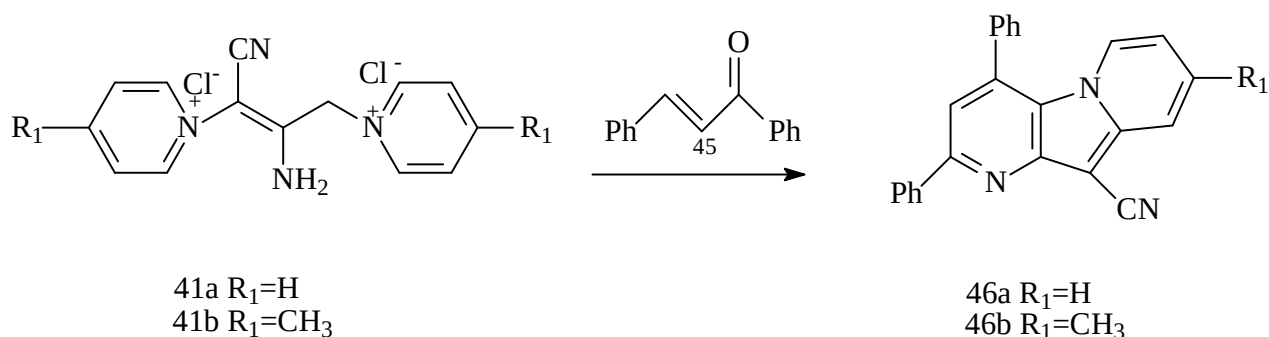
4.2 Pirimidin-indolizinek szintézise

Két módszer felhasználásával állítottam elő a pirimidin-indolizineket: klasszikus módszerrel illetve mikrohullámú aktiválás alkalmazásával.

*A 2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10-karbonitril és a 8-metil-2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10-karbonitril szintézise [3]*

1,3-diaril-ketont **45** 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-dikloridot **41a** és nátrium-acetátot feloldottam etanol és víz elegyében. Az oldatot a mikrohullámú reaktor esetében 2 órát melegítettem 120°C-on, a klasszikus szintézis esetében 36 órát főztem. A keletkezett 2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10- karbonitrilt **46a** szűrtem és mostam vízzel, ezután pedig oszlopkromatográfiával tisztítottam toluol:etilacetát:triethyl-amint használva eluensként, majd végül etanoból átkristályosítottam.

8-metil-2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10- karbonitril **46b** szintézise hasonlóan történik az előbb leírtakhoz, csak az 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-diklorid **41b** indulok ki (18.ábra).

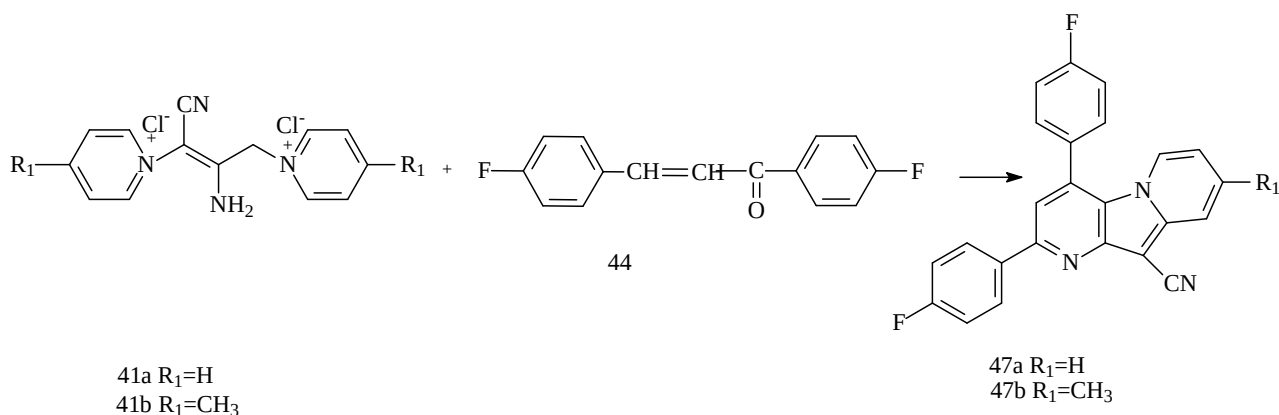


18.ábra. A 2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10- karbonitril **46a** és a 8-metil-2,4-difenil-*H*-pirido[2,3-*b*] indolizin-10- karbonitril **46b** szintézise

A 2,4-bis(4-fluorofenil)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril és a 2,4-bis(4-fluorofenil)8-metilH-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril szintézise

1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-onet **44**, 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-dikloridot **41a** és nátrium-acetátot etanol és víz keverékében feloldottam. Az oldatot a fentebb már leírt szintézis módszerek alapján előállítottam. A keletkezett 2,4-bis(4-fluorofenil)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitrilt **47a** oszlopkromatográfiás tisztítására diklórmétán és trietil-amin eluenst használtam.

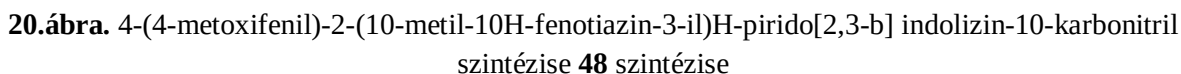
A 2,4-bis(4-fluorofenil)8-metilH-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril **47b** szintézise esetében az 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-dikloridot **41b** használtam (19.ábra).



19.ábra. 2,4-bis(4-fluorofenil)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril **47a** és a 2,4-bis(4-fluorofenil)8-metilH-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril **47b** szintézise

A 4-(4-metoxifenil)-2-(10-metil-10H-fenotiazin-3-il)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril szintézise

Az 1-(4-metoxifenil)-3-(10-metil-10H-fenotiazin-3-il)-prop-2-ene-1-onet **44** 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-dikloridot **41a** nátrium-acetátot etanol és víz elegyében feloldottam. A szintézist csak mikrohullámú reaktor felhasználásával végeztem a már fentebb is emített reakciókörülmények között (20.ábra).

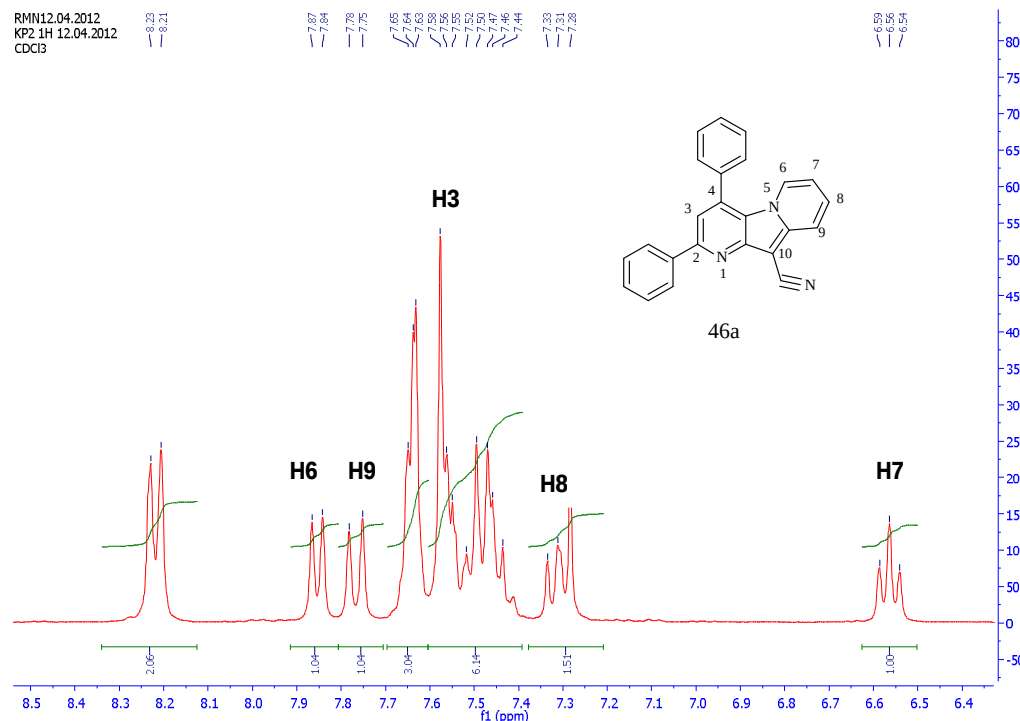


4.3.1 Használt anyagok és módszerek

4.3.2. NMR és IR spektroszkópiás mérések

15

A ^{13}C -NMR spektrumában ugyanennél a vegyületnél szintén megfigyelhető az összes nem egyenértékű szénatomra jellemző jel: $\delta=111,5; 115,5; 116,3; 118,0; 118,5; 127,5; 127,5; 128,0; 128,6; 128,7; 129,3; 129,4; 135,0; 136,3; 137,2; 138,9; 143,8; 146,6; 155,8; 155,8$. A **47b** vegyület spektrumában a metil-csoport szinglett jele $\delta=1,64\text{ppm}$ értéknél jelentkezik, illetve a metil csoport ^{13}C -NMR jele $\delta=5,00\text{ ppm}$ értéken látható.



25.ábra. Részlet a **46a** indolizin származék ^1H -NMR spektrumából, CDCl_3 300 MHz

Az infravörös spektrumokat ATR mérőfej segítségével készítettük szilárd fázisba. A vizsgált vegyületek infravörös spektrumaiban megfigyelhetők minden esetben a szénhidrogén kötésekre jellemző vegyérték rezgések a $\nu=2890\text{-}3070\text{ cm}^{-1}$ tartományban, továbbá megjelennek a $\nu=1600\text{ cm}^{-1}$ értéknél a $\nu_{\text{C}=\text{C}}$ vegyérték rezgésre jellemző abszorpciós sávok. Szintén megfigyelhetők a $\nu=1514\text{ cm}^{-1}$ értéknél, a $\nu=1509\text{-}1514\text{ cm}^{-1}$ vegyérték körül a C-N sík deformációs rezgésére jellemző sávok. Szerkezet felderítés szempontjából jelentősséggel bírnak a nitril csoportra jellemző vegyérték rezgések, amelyek a következő értékeket veszik fel a vizsgált vegyületek esetében: **46a** $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}=2212\text{ cm}^{-1}$, **46b** $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}=2209\text{ cm}^{-1}$, **47a** $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}=2204\text{ cm}^{-1}$, **47b** $\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}=2209\text{ cm}^{-1}$

4.3.3 UV-VIS spektroszkópiai mérések

A méréseket egy Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spektrofotométeren végeztük acetonitril oldószerben. Az általunk előállított vegyületek színes vegyületek, ezért felmerült más területeken való felhasználásuk is, mint festékek vagy jelzőmolekulák. Az előállított vegyületek UV-VIS méréseit a $200\text{-}800\text{ nm}$ -es tartományban végeztük. A mérések során $10^{-5}\text{-}10^{-6}\text{ M}$

nagyságrendű koncentrációkkal dolgoztunk. Az előállított indolizinek a mérések alapján nagy moláris abszorbivitással rendelkeznek.

46a			46b			47a			47b		
$\lambda_{\max}$	ϵ	Ig ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ	Ig ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ	Ig ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ	Ig ϵ
293	48111	4,68	291	48587	4,68	293	48111	4,68	294	48190	4,68
342	20857	4,31	340	17063	4,23	342	21158	4,32	340	16841	4,22
376	10190	4,00	389	9380	3,97	376	10571	4,02	390	13111	4,11
414	15523	4,19	412	8269	3,91	414	16238	4,21	410	14285	4,15

23.ábra Az előállított pirido-indolizinek UV-VIS spektroszkópiai méréseinek adatai

4.3.3 PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substance*) [21]

A PASS applikációt a molekulák biológiai aktivitás profiljának a becslésére lehet használni a kémiai szintézisük és tesztelésük előtt. A program több mint 3500 biológiai aktivitást tud megbecsülni, beleértve a gyógyszerészeti hatásukat is. A Pa (Probability “to be active”) és Pi (Probability “to be inactive”) az aktivitás illetve az inaktivitás valószínűségét jelenti. Ha az adott vegyület Pa értéke 30%-al nagyobb a Pi értékénél, akkor az adott vegyület valószínűleg biológiai aktivitást mutat. Az előállított vegyületeimet illetően az applikáció több mint 100 adatot adott, ezek közül azokat választottam ki, amelyek nagyobb értékekre utaltak. További kutatási céljaink közé tartozik az előállított vegyületek nitril csoportjának karboxil csoporttá történő átalakítása, ezzel növelve azok vízoldhatóságát és a PASS becslése szerint is ezáltal a **46a** vegyület esetében a nitrát-reduktáz inhibitor aktivitás is nőhet.

<i>Biológiai aktivitás</i>	<i>Előállított anyagok</i>	<i>Pa/Pi</i>
Nitrát-reduktáz inhibitor	46a	0,736/0,020
Nitriláz inhibitor	46a	0,667/0,006
(S)-6-hidroxicotin-oxidáz inhibitor	46a	0,666/0,020
Calmodulin antagonista	46a	0,630/0,017
Calmodulin antagonista	46b	0,610/0,022
Neurotrof faktor növelő	46b	0,621/0,037
Tumor nekrosis faktor antagonista	47a	0,611/0,022
Ciklooxygenáz-1 inhibitor	47a	0,621/0,034
Ciklooxygenáz-1 inhibitor	47b	0,617/0,036
Nitrát-reduktáz inhibitor	46a-COOH	0,849/0,005

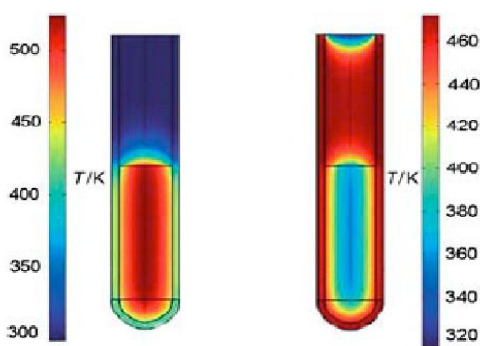
24.ábra. Az előállított indolizin származékok becsült biológiai aktivitása

4.4. Kísérleti rész

Kutatásom során előállítottam a cianometil-dipiridinium-diklorid sókat (**38a**, **38b**) a fluoros-, illetve a metoxis kalkonokat (**42**, **44**) és ezeket felhasználva a piridinium-indolizinek gyűrűzárási reakcióit vizsgáltam. A gyűrűzárásoknál összehasonlítottam a klasszikus szintézis módszert a mikrohullámú aktiválás alkalmazásával.

A mikrohullámú kémiai reakciók aktivitását először az 1980-as években használták. Az első mikrohullámú reaktorok egyszerű háztartási eszközök voltak, de a kapott eredményeik jobbak voltak, mint a klasszikusan hevített reakcióké. Kisebb reakcióidő, magasabb hozam és nagyobb tisztaság volt elérhető a használatukkal. Bizonyos reakciók csak mikrohullámú reaktorban mennek végbe. Egyesek vitáznak az úgynevezett mikrohullámú effektusról, miszerint a mikrohullámok a hevítésen túl, még további hatással vannak a reagensekre [14]. Az elektromágneses spektrum mikrohullámú régiója megfelel az 1 cm-től 1 m-es hullámhossznak (30 GHz-300 MHz). Az 1 és 25 cm közötti hullámhosszak széles körben használtak radar és telekommunikációs rendszerekben és nemzetközi egyezmény szerint csupán a 2,5 GHz (12,2 cm) és 900 MHz (33,3cm) frekvenciák használhatók fel dielektrikus hevítésre, hacsak nem tesznek körülményes elővigyázatosságot, hogy korlátozzák a mikrohullámú kisugárzást. A felhasználható frekvenciák dielektrikus hevítésre nagyon behatároltak. Házi és kereskedelmileg elérhető, mikrohullámú kémiai célokra használt eszközök általában 2,45 GHz-en (12,2 cm) működnek. Az irodalomban megjelenő eredmények esetében, a mikrohullámú dielektrikus hevítés kémiában való felhasználásával kapcsolatban ezen a frekvencián történő kísérleteket említene [15,16].

A mikrohullámú hevítés működési elve azon alapszik, hogy a kis molekulák gáz fázisban a mikrohullámokkal kapcsolatba lépnek, hogyha rendelkeznek egy állandó dipólusmomentummal és egy jól meghatározott spektrumot mutatnak. Az meghatározhatja a molekula inercianyomatékát. A molekula forgása ebben a fázisban van mérve. Az energiaszintek közötti átmenetek éles vonalak a mikrohullámú spektrumban, feltéve ha a molekulának van egy állandó dipólusos momentuma. Folyékony állapotban a folytonossága a rotációs fázisoknak nagyszámú gyakrankölcsönhatásba lépő molekulákra azt jelenti, hogy a jelenség elveszti az identitását az egyedi molekulákra nézve, a forgó mozgás kevésbé válik elkülöníthetővé. Két típusú mikrohullámú reaktort különböztetünk meg: a magnetron helyének függvényében mono üzemmódút és multi üzemmódút a besugárzás módjának a függvényében. A mikrohullámok nem eléggé erősek ahhoz, hogy kötéseket bontsanak (0,0016 eV) a fő hatásuk az egyenletes melegítés, nincs bizonyíték az úgynevezett mikrohullámú effektusra. Egy egyszerű hidrogén kötésnek az energiája 0,21 eV és nincs befolyásolva a mikrohullámok által [17]. Az általunk alkalmazott CEM discovery reaktor egy *monomód* üzemmódú berendezés, egyenletes besugárzást biztosít és a mikrohullámok nem szóródnak szét úgy, mint egy *multimód* üzemmódú reaktorban.



21. ábra. A két hőmérsékleti profil különbségei: mikrohullámú besugárzás 1 perc után (bal) és olajfürdőben történő melegítés során (jobb)[18]

Mikrohullámú sugárzásnál az anyagnak a teljes térfogata szimultán hevül fel, amíg az olajfürdőben lévő reakcióelegy először az üveg falával lép kapcsolatba és aztán lesz felmelegítve.

A mikrohullámú reakciók előnyei: rövidebb a reakcióidő és a hatásfokok meghaladják a klasszikus módszer esetében megfigyelt hatásfokokat.

Előállított termék	Olvadáspont [C°]	Klasszikus módszer		Mikrohullámú reakciós módszer	
		Alkalmazott reakcióidő [h]	Hatásfok [%]	Alkalmazott reakcióidő [h]	Hatásfok [%]
46a	244-245	36	57	2	79
46b	250-252	36	38	2	83
47a	279-281	36	52	2	67
47b	317-318	36	69	2	85

22. ábra. Az előállított anyagok összehasonlítása a két módszer esetében

A táblázatban látható, hogy az alkalmazott reakcióidő a klasszikus módszer esetében 36 óra, a mikrohullámú reakciók esetében csak 2 órá. Ennek ellenére a hatásfokok nagyobbak a klasszikus módszernél megfigyelt hatásfokoknál. A termék tisztítása mind a két módszer esetében oszlopkromatográfiát és átkristályosítást igényelt.

A cianometil-piridinium-klorid (38a) és az 1-metil-cianometil-piridinium-klorid (38b) előállítása

Feloldottunk 20 mmol piridint **37a** 24 ml acetonitrilben, amelyhez 40 mmol 2-klór-acetonitrilt adtunk. Az így kapott reakcióelegyet 10 órát főztük. A képződött szürke csapadékot leszűrtük, 2x10 ml acetonitrillel mostuk, majd szárítottuk. A **38a** termék op. 172-173°C. termelés 85%. Az 1-metil-cianometil-piridinium-klorid **38b** esetében 1-metil-piridinből **37b** indultam ki. Op. 204-205 °C és a termelés 98%-os.

A cianometil-dipiridinium-diklorid (41a) és 1-metil-cianometil-dipiridinium-diklorid (41b) előállítása

4.79 mmol cianometil-piridinium-kloridot **38a** feloldottunk 80 ml acetonitrilben és 96 órát főztük. A keletkezett szürkés-fehér csapadékot **41a** szűrés után acetonitrillel mostuk, majd szárítottuk. A **41a** termék olvadáspontja 235-238°C illetve a termelés 68%. A **41b** termék esetében 1-metil-cianometil-piridinium-kloridból **38b** indultam ki. Op. 210-212°C és a termelés 62%.

1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one (42) és 1-(4-fluorofenil)-3-(10-metil-10H-fenotiazin-3il)-prop-2-ene-1-one (44) előállítása

0,0217 mol *para*-F-benzaldehidet és 0,0217 mol *para*-F-acetofenont feloldunk 30 ml etanolban. Ezután hozzáadtunk pár csepp 10% NaOH/MeOH oldatot. Melegítés nélkül másfél órán keresztül kevertettük a reakcióelegyet, majd a képződő csapadékot **42** leszűrtük és mostuk 2x10 ml etanolos víz keverékével (1:1). Egy fehér, kristályos termék keletkezett. Op. 117-119°C. Termelés: 86%. Az 1-(4-metoxifenil)-3-(10-metil-10H-fenotiazin-3il)-prop-2-ene-1-one **44** szintézise esetében 0,0062 mmol 4-metoxi-acetofenonból és 0,0062 mmol 10-metil-fenotiazin-3-karbaldehidből **43** indultam ki. Op. 182-184°C. Termelés: 81%.

Pirido-indolizinek előállítása klasszikus módszerrel

2,4-difenil-H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (46a)

1 mmol 1,3-diaril-propenont **45** 1,38 mmol 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium dikloridot **41a** és 5,23 mmol nátrium-acetátot feloldottam 30 ml etanol és 5 ml víz keverékében. A sárga oldatot 36 órán át főztem, majd szűrtem és vízzel mostam a csapadékot. A keletkezett 2,4-difenil-H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitrilt **46a** oszlopkromatográfiával tisztítottam (szilikagél, eluens toluol: etil-acetát: trietil-amin =100:10:1) és átkristályosítottam etanolból így egy sárga, kristályos anyag keletkezett. Op.244 -245°C és a termelés 57% (Irod. Op.=246-247°C)[13]

MS: m/z (%): 345 (M⁺, 100%), 266 , 267, 172, 158

8-metil-2,4-difenil-H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (46b)

Ebben az esetben 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-diklorid **41b** reagáltatok 1,3 diaril-propenonnal **45**. Az előállítása és tisztítása a fent már leírt eljárás szerint történik. A keletkezett sárga, kristályos anyag olvadáspontja 250-252°C. Termelés: 38%.

MS: m/z (%): 359 (M^+ , 100%), 377, 280, 179, 77

A 2,4-bis(4-fluorofenil)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (47a)

A **47a** vegyület előállítása a fentebb leírt általános recept alapján történik. Ebben az esetben 1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one **44** és 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-diklorid **41a** a kiindulóanyag. A terméket oszlopkromatográfiás tisztítására diklórmétán és trietil-amin 100:1 eluenst használtam. A keletkezett sárga, kristályos, anyag olvadáspontja 279-281°C. Termelés: 52 %

MS: m/z (%): 381 (M^+ , 100%), 284, 190, 78

A 2,4-bis(4-fluorofenil)8-metilH-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (47b)

A **47b** vegyület előállítása hasonlóan történik, de itt 1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one **44** és 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-diklorid **41b** a kiindulóanyag. A terméket oszlopkromatográfiás tisztítására diklórmétán és trietil-amin 100:1 eluenst használtam. A keletkezett anyag olvadáspontja 317-318°C. Termelés: 69%.

MS: m/z (%): 395 (M^+ , 100%), 298, 197, 83, 57, 43, 27

Pirido-indolizinek előállítása mikrohullámú reaktor felhasználásával

A mikrohullámú reaktor esetében a reakciókat többször ismételtam és átlag hatásfokokat számoltam. A besugárzási program, amelyen a reakciókat ismételtam 2 óra, 100 W, 120°C.

2,4-difenil-H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (46a)

0,21 mmol diaril-propenont **45** 0,29 mmol 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil] dipiridinium-dikloridot **41a** és 1,1 mmol nátrium-acetátot feloldottam 3 ml etanol és 0,5 ml víz keverékében. Az oldatot a mikrohullámú reaktorba helyeztük 2 órára, majd a program lejártával a sárga csapadékot leszűrtem és mostam vízzel. Ennél a módszernél a terméket ugyancsak

oszlopkromatográfiás-, illetve etanolból való átkristályosítással tisztítottam. Op.244 -245°C. Termelés: 79%.

8-metil-2,4-difenil-H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (46b)

Előállítása és tisztítása a terméknek hasonló reakciókörülmények között megy végbe, de itt 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-diklorid **41b** és 1,3 diaril-propenon **45** a kiindulóanyag. Op. 250-252°C. Termelés: 83%.

A 2,4-bis(4-fluorofenil)H-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (47a)

Hasonló reakciókörülmények között megy végbe a termék előállítása és tisztítása. Ebben az esetben 1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one **44** és 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]dipiridinium-diklorid **41a** a kiindulóanyag. Op. 279-281°C. Termelés: 67%.

A 2,4-bis(4-fluorofenil)8-metilH-pirido[2,3-b] indolizin-10-karbonitril (47b)

1,3-bis(4-fluorofenil)-prop-2-en-1-one **44** és 1,1'-[2-amino-1-cianoprop-1-ene-1,3-diil]-di-(4-metil-piridinium)-dikloridot **41b** reagáltatunk egymással. A termék előállítása és tisztítása hasonló reakciókörülmények között megy végbe. Op. 317-318°C. Termelés: 85%.

4.4 Következtetések és kitekintések

Kutatásom során előállítottam a cianometil-dipiridinium-diklorid sókat (**38a**, **38b**), fluoros-, illetve metoxis-kalkonokat (**42**, **44**) és ezen összetevők gyűrűzáródásos reakcióival pirimidin-indolizin származékot szintetizáltam (**46a**, **46b**, **47a**, **47b**). Összehasonlítottam az előállításukat mikrohullámú és klasszikus körülmények között és arra a következtetésre jutottam, hogy a mikrohullámú reakciók esetében a gyűrűzárási reakciók határfoka nagyobb a klasszikus módszerhez viszonyítva, és a reakciósebesség több mint egy nagyságrenddel nő, így a reakcióidő 36 órától 2 órára csökken. Az előállított vegyületek szerkezetét MS, IR és NMR spektroszkópiai mérésekkel igazoltuk.

További céljaink közé tartozik, hogy az előállított vegyületeknek a vízzoldhatóságát növeljük a nitril-csoportnak karboxil-csoporttá történő átalakításával, illetve az így képződött vegyületeknek a biológiai aktivitását szeretnénk vizsgálni, különös tekintettel gyulladáscsökkentő, antibakteriális és antitumorális hatásukra.

Irodalmi jegyzék

- [1] J. W. Wiench, L. Stefaniac, G. A. Webb, J. Mol. Stuct., 605, **2002**, 33-39
- [2] G. S. Singh, E. E. Mmatli, Eur. J. Med. Chem., 64, **2001**, 5237-5257
- [3] F. Proenca, M. Costa, Tetrahedron, 67, **2011**, 1071-1075
- [4] F. Proenca, M. Costa, Tetrahedron, 66, **2010**, 4542-4550
- [5] Y.-M. Shen, P.-C. Lv, W. Chen, P.-G. Liu, M.-Z. Zhang, H.-L. Zhu, Eur. J. Med. Chem., 45, **2010**, 3184-3190
- [6] Y. Liu, H.-Y. Hu, Q.-J. Liu, H.-W. Hu, J.-H. Xu, Tetrahedron, 63, **2007**, 2024-2033
- [7] A. R. Katritzky, Y.-J. Xu, H. Tu, J. Org. Chem., 68, **2003**, 4935-4937
- [8] M. Adib, E. Sheibani, H. R. Bijanzadeh, L.-G. Zhu, Tetrahedron, 64, **2008**, 10681-10686
- [9] I. I. Druta, M. A. Andrei, C. I. Ganj, P. S. Aburel, Tetrahedron, 55, **1999**, 13063-13070
- [10a] S.-S. Juang, M. Chang, L. F. Wang, J. L. Han, C. H. Ong, Tetrahedron, 61, **2005**, 1693-1697
- [10b] X. B-Wang, W.Liu, T. He, H.-Hu, Chin.J.Chem. 24 , **2006**, 279-281
- [11] T. Lehmann, P. Gmeiner, Heterocycles, 53, **2000**, 1371-1378
- [12] D. Basavaiah, A. J. Rao, Tetrahedron Lett., 44, **2003**, 4365-4368
- [13] A. Kakehi, H. Suga, S. Sato, Heterocycles, 77, **2009**, 471-481
- [14] A. Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, Chem. Soc. Rev., 34, **2005**, 164–178
- [15] A .Metaxas, C. Meredith, R.J., Industrial Microwave Heating, P. Perigrinis, London, **1983**.
- [16] D.M.P. Mingos, D.R Baghurst ,Chem. Soc. Rev., **1991** , 20,1
- [17] A. J. Seijas, M. P.Vázquez-Tato, M. Montserrat, Green Chemistry, 4, **2002**, 390–391
- [18] C. Oliver Kappe, Angew. Chem. Int. Ed., 43, **2004** , 6259–6284
- [19] S.Ducki, D.Rennison, M.Woo, A. Kendall, J.F.D.Chabert, A.T.McGown, N. J.Lawrence, Bioorg. Med.Chem., **2009**, Vol.17, 7698-7710
- [20] L.Gaina, A.Csampai, Gy.Turos, T.Lovasz, V.Zs.-Mady, J.A.Silberg, P.Sohar, Org. Biomol.Chem, **2006**, Vol.4, 4375-4386
- [21] <http://195.178.207.233/PASS/>