



Országos tudományos diákköri dolgozat

**Kapszaicinoidok és prekurzoraik előállítására
áramlások kémiai rendszerekben**

Készítette:

Orosz János Máté
II. évf. gyógyszervegyész-mérnök hallgató

Témavezetők:

Dr. Bálint Erika
egyetemi adjunktus

Dr. Mátravölgyi Béla
egyetemi adjunktus

Konzulens:

Rávai Bettina
doktoráns

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Szerves Kémia és Technológia Tanszék
2022

Lezárva: 2022. 11. 30.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt hálás köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőim, Dr. Bálint Erika és Dr. Mátravölgyi Béla egyetemi adjunktusoknak, akik szakmai tanácsaikkal és útmutatásukkal folyamatosan segítettek munkám előrehaladását. Köszönöm nekik azt a sok bátorítást, odafigyelést és segítőkészséget, amely nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre.

Köszönettel tartozom konzulensemnek, Rávai Bettina doktoránsnak, akihez bármikor bizalommal fordulhattam kérdéseimmel, szakmai problémáimmal kapcsolatban. Mind a dolgozatom elkészítésekor, mind a laboratóriumi munka során kiemelkedő segítséget nyújtott.

Köszönet illeti Mizsák Ágnes laboratóriumi technikust, aki nagyban segítette laboratóriumi munkámat, és rengeteg praktikus tanáccsal látott el.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Hergert Tamásnak, aki hasznos tanácsokkal és információkkal szolgált áramlósos kémiai berendezésekkel kapcsolatban.

Hálás köszönettel tartozom Tajti Ádámnak, és a Bálint Analitika Mérnöki Kutató és Szolgáltató Kft. munkatársainak a GC-MS vizsgálatokért.

Köszönettel tartozom Gálné Dr. Remenyik Juditnak, és a Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Kar biológus munkatársainak a biológiai vizsgálatok elvégzéséért.

Hálámat szeretném kifejezni a kutatócsoport összes munkatársának és hallgatójának baráti és szakmai támogatásukért, valamint a kellemes laboratóriumi hangulatért.

Emellett köszönettel tartozom Dr. Faigl Ferenc egyetemi tanárnak, aki a Szerves Kémia és Technológia Tanszék Kirootechnológiai Kutatócsoportjában munkámat lehetővé tette.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm Családomnak és Barátaimnak, akik mindvégig támogattak céljaim elérésében.



NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI
ÉS INNOVÁCIÓS HIVATAL

A kutatás a Piaci KFI 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2021-00234 számú pályázat támogatásával készült.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	5
2. Irodalmi előzmények	6
2.1. A kapszaicin és származékainak szerkezete, jelentőségük	6
2.2. Kapszaicinoidok a növényvédelemben.....	7
2.3. A kapszaicinoid prekurzorok előállítása	8
2.3.1. Benzaldehid-oximok előállítása	8
2.3.2. Benzil-aminok előállítása	11
2.3.3. Hosszú szénláncú karbonsavak előállítása a kapszaicinoidok szintéziséhez	14
2.4. A kapszaicin és származékainak előállítása	16
2.5. Ciklodextrin-kapszaicin komplexek.....	19
3. Kísérleti rész	22
3.1. Benzaldehid-oximok előállítása	24
3.1.1. Oximképzés optimalizálása	24
3.1.2. Áramlásos kémiai rendszerben előállított oximok	27
3.2. Benzil-aminok előállítása	28
3.2.1. Aminképzés optimalizálása	29
3.2.2. Áramlásos kémiai rendszerben előállított benzil-amin-származékok	34
3.3. Kapszaicinoidok előállítása.....	36
3.3.1. Előkísérletek a kapszaicinoidok szakaszos előállítására	36
3.3.2. <i>N</i> -Acilezési lépés optimalizálása folyamatos rendszerben	38
3.3.3. Áramlásos kémiai rendszerben előállított kapszaicinoidok	39
3.4. Kapszaicinoidok biológiai vizsgálatának eredményei	41
3.5. Kapszaicinoidok ciklodextrin komplexeinek előállítása.....	44
4. Kísérletek részletes leírása	49
4.1. Készülékek leírása	49
4.1.1. Az Asia® rendszerek leírása	49
4.1.2. Az H-Cube Pro® rendszer leírása	50
4.1.3. Analitikai berendezések, mérések paramétereinek leírása	51
4.2. Előirat 4-etoxibenzaldehid-oxim (44) áramlásos kémiai előállításához	52
4.3. Előirat 4-etoxibenzil-amin (45) áramlásos kémiai előállításához	52
4.4. Előirat <i>N</i> -(4-hidroxi-3-metoxibenzil)nonánamid (2) áramlásos kémiai előállításához	53

4.5. Általános előirat aromás aldoximok (44a-44h) áramlásos kémiai előállításához.....	54
4.6. Általános előirat benzil-aminok (31, 45b-45g) és antracén-9-ilmetánamin (45h) előállításához	55
4.7. Általános előirat kapszaicinoidok előállításához.....	57
4.7.1. Előirat <i>N</i> -(4-hidroxi-3-metoxibenzil)nonánamid (2) hagyományos, szakaszos előállításához	57
4.7.2. Általános előirat kapszaicinoidok (51-61) áramlásos kémiai előállításához	58
4.8. Előirat a biológiai vizsgálatokhoz.....	62
4.8.1. Előirat a mérgezett agar kísérlethez	62
4.8.2. Előirat a génexpressziós kísérlethez	62
4.9. Előirat kapszaicinoidok HP- β -CD komplexének előállításához	63
5. Összefoglalás	64
6. Irodalomjegyzék	66

1. Bevezetés

A mai napig a szintetikus szerves kémiában a legtöbb szintézist szakaszos technológiákkal valósítják meg, a laboratóriumi preparatív munkáktól egészen a gyógyszerhatóanyagok ipari méretben való előállításáig. A vegyiparban és ezen belül is a gyógyszeriparban kiemelkedő jelentőségű a biztonságos technológiák tervezése és alkalmazása, valamint a termékek állandó, magas minőségű előállítása. Mindezen követelményeknek megfelelnek a folyamatos üzemben, áramlásos kémiai úton végzett reakciók. Az áramlásos kémia, mint tudományág még kezdeti szakaszában jár, de előnyeinek köszönhetően a jövő meghatározó szerves szintetikus gyártástechnológiájává fejlődhet.

Az áramlásos kémiával és készülékeivel a 2021/2022-es tanév őszi félévében ismerkedtem meg, a Dr. Faigl Ferenc vezette Kirotechnológiai és Fémorganikus Kutatócsoportban. Kutatómunkámat, mely a kapszaicin és származékainak áramlásos technológiával történő előállítása, Dr. Bálint Erika és Dr. Mátravölgyi Béla témavezetésével, valamint Rávai Bettina konzulensem segítségével végeztem.

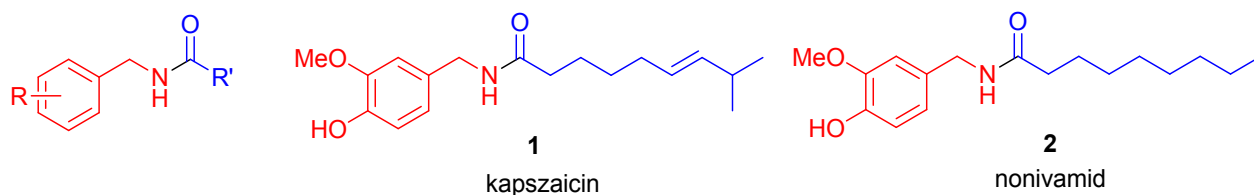
A kapszaicin közismerten a csípős paprika jellegzetes, égető érzést keltő komponense, ami a TRPV-1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) hőreceptorokkal kölcsönhatásba lépve okoz biológiai hatást. A kapszaicint és egyes származékait (pl. nonivamide) széles körben alkalmazzák az élelmiszeriparban, illetve a gyógyászatban többek között gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító sportkrémekben (pl. Nicoflex), továbbá friss kutatások alapján a prosztatatarák kialakulásának esélyét is jelentősen csökkentheti.

Kutatómunkám során célul tűztük ki a kapszaicinoidok előállítását benzaldehid-származékokból kiindulva, oximképzésen, hidrogénezésen, végül *N*-acilezésen keresztül. A reakciólépések áramlásos kémiai rendszerben történő optimalizálását, majd a kapott új kapszaicinoidok jellemzését kívántam megvalósítani. Emellett együttműködés keretében célunk volt az előállított vegyületek biológiai aktivitásának vizsgálata, valamint a kapszaicinoidok ciklodextrinekkel való komplexképzése is, vízdoldhatóságuk növelése érdekében.

2. Irodalmi előzmények

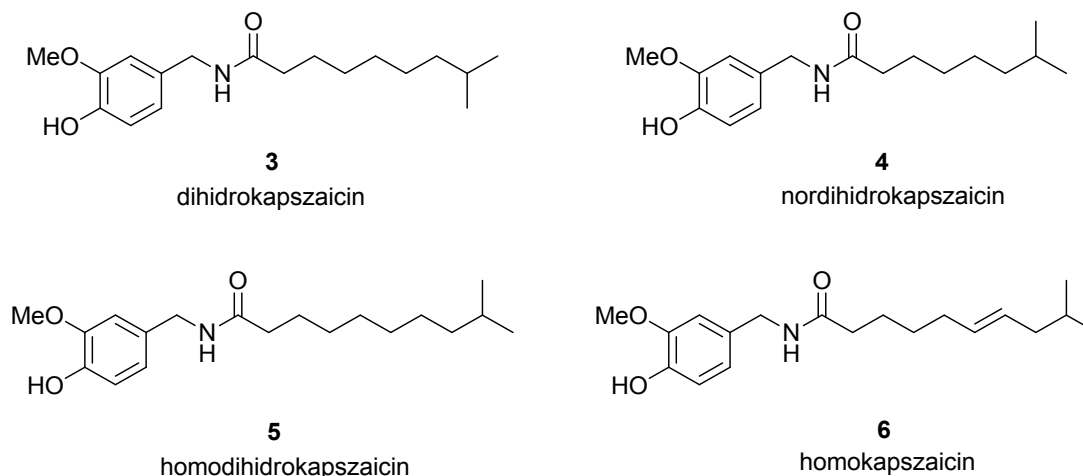
2.1. A kapszaicin és származékainak szerkezete, jelentőségük

Kutatómunkám célmolekulái a kapszaicinoidok. Legismertebb képviselőjük a kapszaicin (**1**) (1. ábra), amely a *Capsicum* fajok csípősségéért felelős komponens. Széles körben alkalmazzák a gyógyszeriparban főként krémekben, izomgyulladás és az azzal járó fájdalom, illetve neuropátiás tünetek enyhítésére [1–4], valamint az élelmiszeriparban csípős szószokban és élelmiszeripari termékek fűszerezésénél. Emellett a kapszaicinoidok ígéretes rákellenes szerek a prosztatatarák kezelésében [5]. A vegyületcsalád fontos képviselője a „szintetikus kapszaicin” vagy másnéven nonivamid (pelargonsav-vanillilamid) (**2**), melyet az élelmiszeriparban adalékanyagként, illetve a paprikaspray hatóanyagaként alkalmaznak [6].



1. ábra: A kapszaicinoidok általános szerkezete, illetve a kapszaicin (**1**) és nonivamid (**2**) képlete

A vegyületcsalád szerkezete két építőegységre vezethető vissza (1. ábra): egy benzil-aminra és egy hosszú szénláncú acil csoportra, melyek egy amidkötésen keresztül kapcsolódnak egymáshoz. Kapszaicinoidoknak nevezzük mindazon vegyületeket, ahol egy hosszú szénláncú acilcsoport valamilyen benzil-amin-származék *N*-atomjához kapcsolódik. Biológiai hatásukat emlősöknél egy nem-szelektív ioncsatornán, a TRPV-1 receptoron fejtik ki [1], amely egy hőérzékeny, idegrendszerrel kapcsolatban lévő részegységgel rendelkezik, ami kapszaicinnal vagy egyéb lipofil agonistákkal a jól ismert csípős, égető érzést váltja ki. Az utóbbi évtizedekben a kapszaicin és származékainak kutatásai alapján, a TRPV-1 agonista hatás kiváltásához a legfontosabb az aromás gyűrűn, 4-es pozícióban lévő hidroxilcsoport jelenléte. Ezen kívül az aromás gyűrűn 3-as pozícióban található szubsztituensek és a hosszú, lipofil szénlánc (esetleg lipofil aralkil-csoport) is hozzájárulnak a biológiai aktivitás növeléséhez [1]. A kapszaicin hosszú oldalláncában található egy telítetlenség is, ugyanakkor ennek a kettős kötésnek nincs nagy jelentősége a csípős érzet kialakításában, ugyanis a legtöbb csípős paprikafajban található egyéb kapszaicinoidok (2. ábra) is hasonló biológiai választ váltanak ki.



2. ábra: Példák természetben előforduló egyéb kapszaicinoidokra (3-6)

2.2. Kapszaicinoidok a növényvédelemben

A mezőgazdaság több ezer éves történelme során az ember számára folyamatos problémát okozott a termés egy részének elpusztulása, amit sok esetben kártevők (gombák, rovarok, emlősök, stb.) okoztak. A növényvédőszeres elterjedésével sikerült mérsékelni a kártevők okozta pusztítást, ugyanakkor ezek a mesterséges, szintetikus vegyületek sokszor nem szelektívek az adott kártevőre, és más, hasznos, vagy védett fajokat is veszélyeztethetnek, illetve az emberre nézve is károsak lehetnek [7]. Így napjainkban megnövekedett a természetes vagy természetazonos növényvédőszeresek iránti igény. Sőt az élővilágban is több olyan természetes anyag található a szintetikus növényvédőszeresekkel szemben, mint a dohánynövényben előforduló nikotin, a krizantém virágában található piretroidok, vagy a csípős paprikákban a kapszaicinoidok. A kapszaicin és származékai a paprikát számos mikroba- és gombafaj elleni támadástól védhetik [8]. Ez a vegyületcsalád a mikroba- és gombaellenes hatását ozmotikus stressz kiváltásával, valamint a plazmamembrán roncsolásával éri el [8]. *Veloso* és kollégái *in vitro* kísérleteik során azt találták, hogy az általuk vizsgált gomba, illetve Oomycota (petespórás gomba) fajok mindegyikének növekedését gátolták a paprika által termelt vanilloidok, ugyanakkor az inhibíció mértéke nagyobb volt a petespórás gombák esetében [8]. *Soumya* és munkatársa a *Capsicum frutescens* nevű csípős paprika fajtából nyert extraktumok segítségével vizsgálták a gombaölő hatást földimogyorókon [9]. Arról számoltak be, hogy már maga az extraktum is fungicidként viselkedett számos gombafajjal szemben, azonban a referenciavegyületként használt indofilhez képest 100-szor akkora koncentrációra volt szükség a megegyező hatás eléréséhez. *Li* és társai kutatómunkájuk során a természetes kapszaicinoidok rovarölő hatásával foglalkoztak [10].

Kísérleteiket 14-féle mezőgazdasági kártevő rovarfajon végezték el, és azt találták, hogy a referenciaként alkalmazott mesterséges rovarölő szerekhez (imidacloprid, pyridaben, abamectin) képest 100-1000-szeres LC_{50} értékek adódtak. Az adatok között jelentős szórás is megfigyelhető volt, mivel egyes rovarfajok (pl. galagonya-takácsatka) sokkal érzékenyebbek voltak a kapszaicinoidokra, mint mások. A rendelkezésre álló *in vitro* kísérletek után a kapszaicinoidokat növényvédőszerként is elkezdtek használni. 1993-ban *Wilson* szabadalmaztatta kapszaicin tartalmú atkaölő szerét Hot Pepper WaxTM néven [11]. A termék különlegessége, hogy csak természetes összetevőkből áll: a paprikából kivont hatóanyagon kívül még viaszból és rovarűző illatanyagokból.

2.3. A kapszaicinoid prekurzorok előállítása

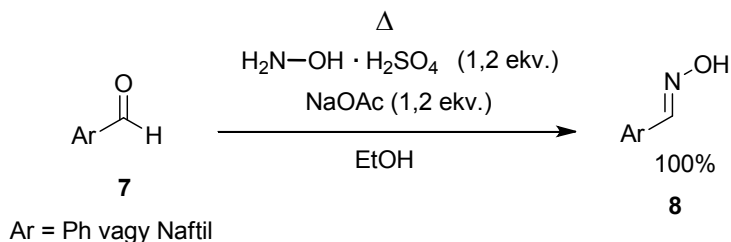
A kapszaicinoidok kétféle prekurzorból építhetők fel: egy benzil-amin és egy hosszú szénláncú (8-12 szénatomos) karbonsavból vagy annak származékából. Kutatómunkám során főként a benzil-amin funkció előállításával, majd továbbalakításával foglalkoztam és a legtöbb hosszú szénláncú karbonsavat a kereskedelmi forgalomból szereztük be. Ettől függetlenül, a teljesség érdekében ebben az irodalmi fejezetben a hosszú szénláncú karbonsak előállítására vonatkozó példákat is ismertetem. Ezen kívül kutatómunkám során fontos szerepet kapott a benzaldehid-oximoknak, mint a benzil-aminok elővegyületeinek szintézise is, melyre szintén mutatok be példákat.

2.3.1. Benzaldehid-oximok előállítása

Az oximok a szerves, heteroatomot tartalmazó vegyületek egyik jelentős családját alkotják, melyekben egy $>C=N-OH$ molekularészlet található. Két csoportra bonthatók, az aldoximokra és a ketoximokra, az előbbi vegyületcsalád az aldehidekből, míg az utóbbi a ketonokból vezethető le, illetve állítható elő. Felhasználásukat tekintve számos területen megtalálhatjuk őket, a műanyagipartól (ciklohexanon-oxim fontos intermediér a nejlon gyártásban [12]), a parfümökön át (például a gyümölcsös illatú buccoxime [13]), egészen a gyógyszeriparig (például az antidepresszáns fluvoxamin [14]).

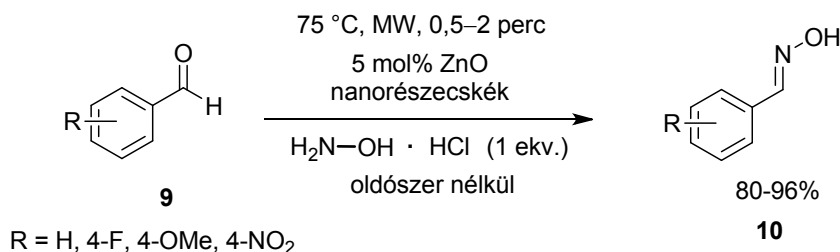
A benzaldehid-oximok (főleg a vanillin-oxim) leginkább a kapszaicin és származékainak prekurzoraiként ismertek. Elsősorban benzaldehidekből és hidroxil-amin sókból állítják elő őket közel kvantitatív termeléssel vizes, vizes-alkoholos vagy alkoholos közegben, forralással maximum néhány órás reakcióidővel, vagy szobahőmérsékleten 8-24 órás kevertetéssel [15–20].

Master és munkatársai különböző aldehidekből oximokon keresztül kívántak előállítani alacsony molekulatömegű, farmakofór és/vagy bioizosztér csoportokkal rendelkező vegyületeket [21]. Etanol oldószerben forralva a reakcióelegyet, 1,2 ekvivalens hidroxil-ammónium-szulfát reagens és 1,2 ekvivalens nátrium-acetát savmegkötő jelenlétében 100%-os termeléssel kapták a benzaldehid- és az 1-naftaldehid-oximokat (**8**) (3. ábra). Az aromás gyűrűn található szubsztituensek nem befolyásolták a termelés mennyiségét.



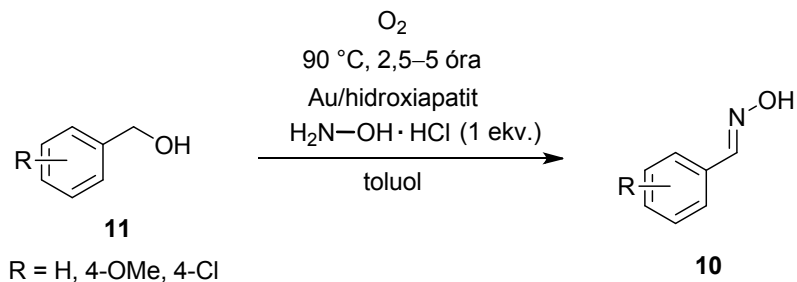
3. ábra: Aldoximok (**8**) előállítása hidroxil-amin reagenssel

Egy indiai kutatócsoport speciális megvalósítást írt le a benzaldehid-oximok szintézisére [22]. A *Carica papaya* levelének kivonatából nyert ZnO nanorészecske katalizátorral, mikrohullámú (MW) körülmények között, oldószer és savmegkötő nélkül jelentősen sikerült csökkenteniük a reakcióidőt, úgy, hogy az oximok (**10**) termelése nem romlott számottevően. A reakció 5 mol% katalizátorral mindössze néhány perc alatt teljesen lejártszódott, és a kívánt oximokhoz (**10**) 80-96%-os termeléssel jutottak.



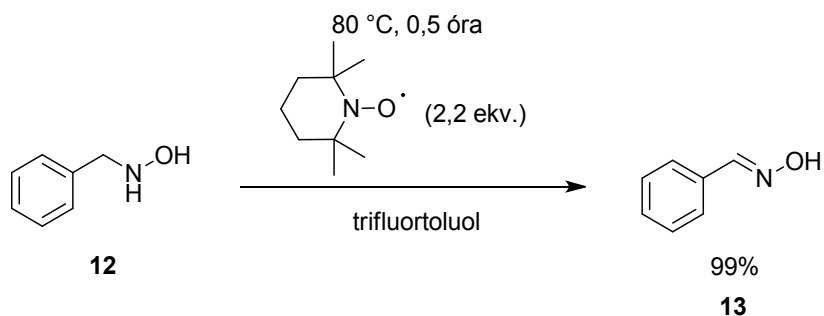
4. ábra: Oximképzés benzaldehidekből (**9**) ZnO katalizátorral MW körülmények között

Annak ellenére, hogy aldehidekből a legkönnyebb és a leggazdaságosabb aldoximokat képezni, számos más előállítási mód is ismert az irodalomban. *Fan* és társai például egy tandem reakcióban jutottak benzil-alkoholokból (**11**) kiindulva benzaldehid-oximokhoz [23]. Ehhez arany katalizátort használtak hidroxipatit hordozón, oxigén és 1 ekvivalens hidroxil-amin-hidroklorid jelenlétében, toluolban. A megfelelő oximokat (**10**) 90 °C-on 2,5-5 óra alatt kiváló (92-97%) konverzióval kapták (5. ábra).



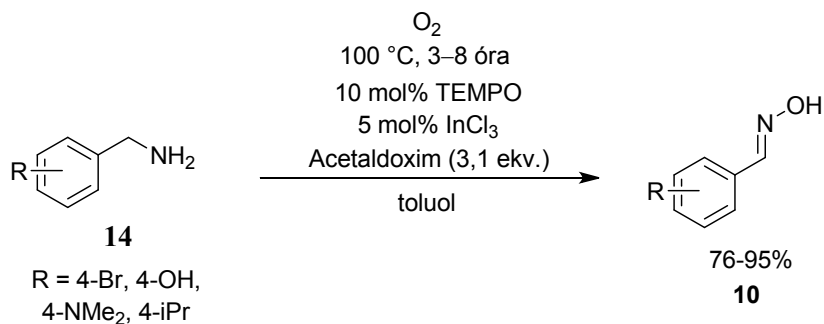
5. ábra: Benzaldehid-oximok (**10**) előállítása benzil-alkoholokból (**11**) oxidatív tandem reakcióban

Legtöbbször a hidroxil-aminokat reagensként használják oximok szintézisekor, ugyanakkor *Studer* és munkatársa kiindulási anyagként alkalmazták ezt a vegyületcsaládot [24]. Kutatómunkájuk során 2,2 ekvivalens TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-iloxi gyök) segítségével végezték az oxidációt trifluortoluolban, mellyel kiemelkedő, 99%-os termelést értek el (6. ábra).



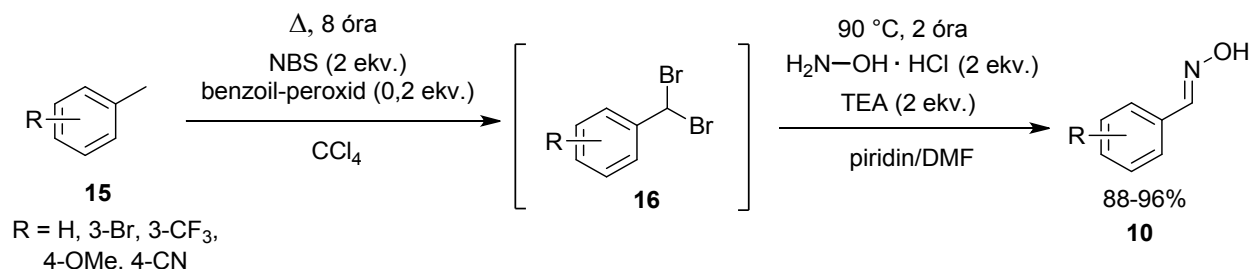
6. ábra: Hidroxil-aminok (**12**) oxidációja benzaldehid-oxim (**13**) előállításához

Primer aminokból is oximokhoz lehet jutni oxidatív körülmények között. Egy kínai kutatócsoport sikeresen állított elő számos benzaldehid-oxim származékokat (**10**) benzil-aminokból (**14**) 100 °C-on TEMPO/acetaldoxim/ InCl_3 rendszerben toluolban (7. ábra) [25]. A szubsztrát anyagi minőségétől függően 76-95%-os termelést értek el.



7. ábra: Benzaldehid-oximok (**10**) előállítása primer aminokból (**14**) oxidatív közegben

Az oximok olyan alacsony reakciókészségű anyagokból is előállíthatók, mint a toluol [26]. *Rangappa* és kutatócsoportja ezt úgy valósította meg, hogy a toluolt, illetve származékait (**15**) one-pot reakcióban először NBS/benzoil-peroxidos közegben oxidálták geminális dibrómvegyületekké (**16**), majd hidroxil-amin-hidrokloriddal savmegkötő jelenlétében alakították ki a kívánt termékeket (**10**) (8. ábra).



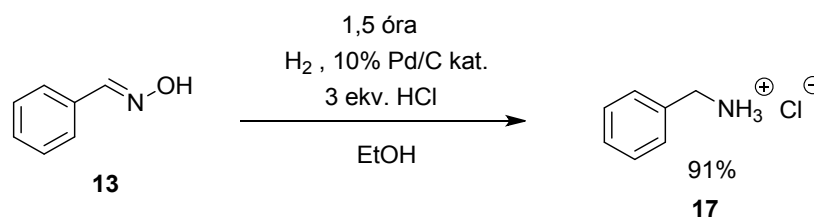
8. ábra: Oximképzés toluolból és származékaiból (**15**) one-pot reakcióban

2.3.2. Benzil-aminok előállítása

A benzil-aminok aromás oldallánccal rendelkező primer aminok, felhasználásuk igen széleskörű. Jelentős szerepük van szerves vegyipari, illetve gyógyszeripari intermediereként, például a különféle rohamok kezelésére használt lacosamide [27], valamint a migrén megelőzésére szolgáló alniditan [28] szintézisében benzil-amin szolgál kiindulási anyagként. Emellett használják rozsdagátlóként és robbanóanyagok előállításában is [29]. Kutatómunkám során a kapszaicin és származékainak egyik építőegysége, leggyakrabban alkalmazott képviselőjük a vanillil-amin.

A benzil-aminok előállítására rengeteg irodalmi példa található, így a kutatómunkám szempontjából relevánsabb szintéziseket gyűjtöttem össze. Mivel ezekhez az intermedierekhez benzaldehid-oximokon keresztül jutottam el, így a továbbiakban az oximokból történő előállítást ismertetem.

A benzaldehid-oximok hidrogénezésekor problémaként vetődik fel, hogy a kívánt primer aminokon kívül Schiff-bázisok és szekunder aminok is keletkeznek, és ezen a katalizátor anyagi minőségének változtatása sem segít. Az első példában *Hartung* Pd/C katalizátor jelenlétében három vagy több ekvivalens sósavat adott a rendszerhez, így gyakorlatilag 100%-os szelektivitással és 91% termeléssel kapta meg a megfelelő primer amin hidroklorid sóját (**17**) (9. ábra) [30].



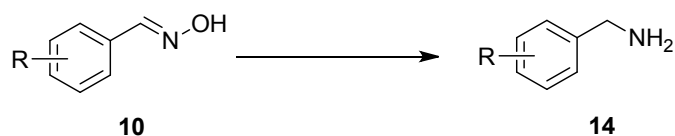
9. ábra: Oximok (**13**) katalitikus hidrogénezése savas körülmények között

Áramlásos kémiai rendszerben ez a módszer nem alkalmazható, ugyanis a katalitikus hidrogénezést követő *N*-acilezési lépéshez nem használható prótikus oldószer (pl. víz, metanol, etanol, stb.), az amidképzési reakciót például tetrahidrofuránban lehet eredményesen megvalósítani. Ebben az esetben azonban nem oldódik az amin-hidroklorid só, a szilárd szemcsék könnyen dugulást okozhatnak a szűk keresztmetszetű csövekben, valamint kárt tehetnek a berendezésekben. Alternatívaként a továbbiakban olyan lehetőségeket mutatok be, ahol a szabad amint (**14**) kapták végtermékként (1. táblázat).

Japán kutatók különféle bázisok segítségével, enyhe körülmények között kapták a primer aminokat (**14**) közepes vagy jó termeléssel [31–32], a módszerek hátránya az alacsony konverzió vagy a drága katalizátor és reagens (lítium-amid) alkalmazása volt. *Abiraj* és kollégája, valamint *Yu-Qing* és kutatócsoportja ezzel szemben olcsó reagens (ammónium-formiát, illetve cink, ecetsav) és katalizátor (Mg) segítségével kiváló termeléssel jutott a kívánt célvegyületekhez [33,35]. Egy iráni kutatócsoportnak a redukciót oldószermentesen is sikerült megvalósítania, nátrium-ciano-borohidriddel, Zr- és Fe-tartalmú katalizátorral [34], ehhez azonban magasabb hőmérsékletre (80 °C) volt szükség. Szinte kvantitatív termelést sikerült elérnie egy kínai kutatócsoportnak benzaldehid-oximok (**10**) hidrogénezésével szobahőmérsékleten, atmoszférikus nyomáson [36], ugyanakkor ehhez egy nehezen hozzáférhető, speciális katalizátorra volt szükségük. Benzaldehid-oxim redukcióját áramlásos kémiai rendszerben *Darvas* és kollégái valósították meg H-Cube[®] folyamatos hidrogénező reaktorban [37]. Ammóniás metanol oldószer használatával visszaszorították a mellékreakciókat, és jó

termeléssel, 1 perces tartózkodási idővel benzil-amint kaptak termékként. A legutóbbi irodalmi példát alapul véve terveztem meg a kapszaicin prekurzoroknak számító benzil-aminok (14) előállítását folyamatos, áramlásos kémiai rendszerben.

1. táblázat: Irodalmi példák a szabad benzil-aminok előállítására

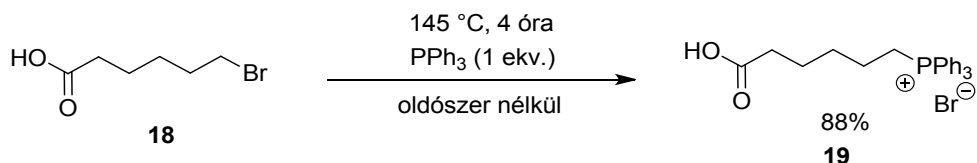


R	Reakció- vezetés	Reagens(ek), oldószer	Katalizátor	Körülmények	Termelés [%]	Ref.
H, 4-Cl, 2-OH	szakaszos	LiNH ₂ , MeOH vagy H ₂ O	SmI ₂	25 °C, 1 perc, 1 bar	45–99	[31]
H, 3,4- diMeO	szakaszos	NaOH, H ₂ O	Al-Ni ötvözet	25 °C, 50–100 perc, 1 bar	51–60	[32]
H, 4-OH, 4-OMe, 4-Cl	szakaszos	NH ₄ HCOO, MeOH	Mg	25 °C, néhány perc, 1 bar	85–94	[33]
3-OH-4- OMe, 4-Cl	szakaszos	NaBH ₃ CN, nincs oldószer	ZrCl ₄ /nano Fe ₃ O ₄	80 °C, 15–120 perc, 1 bar	92–96	[34]
H, 4-Cl, 4-OMe	szakaszos	Zn, AcOH	–	25 °C, 0,5–2 óra, 1 bar	94–96	[35]
H, OMe, CF ₃	szakaszos	H ₂ , H ₂ O	Pd-(4- nitrobenzol- 1,2-diamin) komplex	25 °C, 3 óra, 1 bar	99	[36]
H	áramlásos	H ₂ , 2M MeOH/NH ₃	Ra-Ni	70 °C, 0,8 perc, 70 bar	88	[37]

2.3.3. Hosszú szénláncú karbonsavak előállítása a kapszaicinoidok szintéziséhez

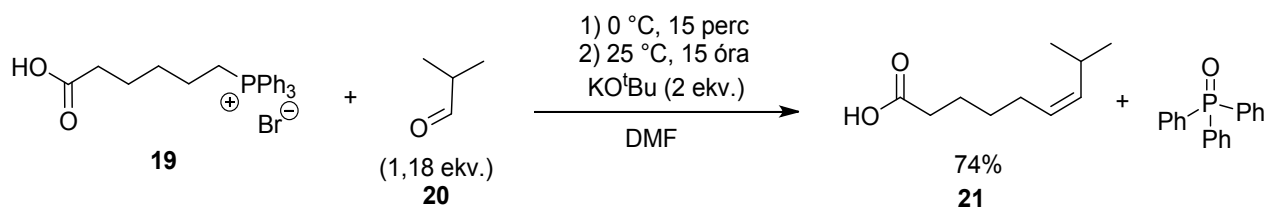
A kapszaicinoidok szintéziséhez a benzil-amin származékok mellett hosszú szénláncú (8-12 szénatomos) alifás karbonsavakra is szükség van. Mivel kutatómunkám során a benzil-aminok előállítása kapott nagyobb hangsúlyt, ezért a teljesség igénye nélkül csak a kapszaicin, valamint a „szintetikus kapszaicinként” elhíresült nonivamid prekursorainak, a 8-metilnona-6-énsav, illetve a nonánsav szintézisstratégiáit szemléltetem néhány példán keresztül.

A mindösszesen három lépést igénylő szintézist a kapszaicin prekursorára, az (*E*)-8-metilnona-6-énsavra (**22**) Kaga és munkatársai írták le (10–12. ábrák) [38]. A szintézis kulcslépése egy Wittig-reakció, amelyhez a kiindulási 6-bromhexánsavból (**18**) először a megfelelő foszfónium-sót képezték (**19**), és kvantitatív termeléssel izolálták a köztterméket (10. ábra).



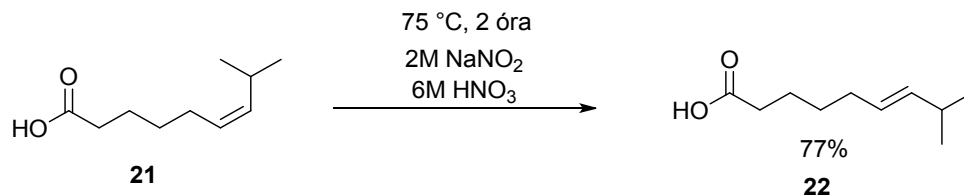
10. ábra: Foszfónium-só (**19**) képzése a Wittig-reakcióhoz

A következő lépés a Wittig-reakció (11. ábra), ahol a kapott foszfónium-sót (**19**) és izobutiraldehidet (**20**) reagáltatták KO^tBu (kálium-*tert*-butoxid) jelenlétében. Melléktermékként trifenilfoszfín-oxidot kaptak, amit szűréssel távolítottak el a karbonsavtól (**21**).



11. ábra: (*Z*)-8-metilnona-6-énsav (**21**) előállítása Wittig-reakcióban

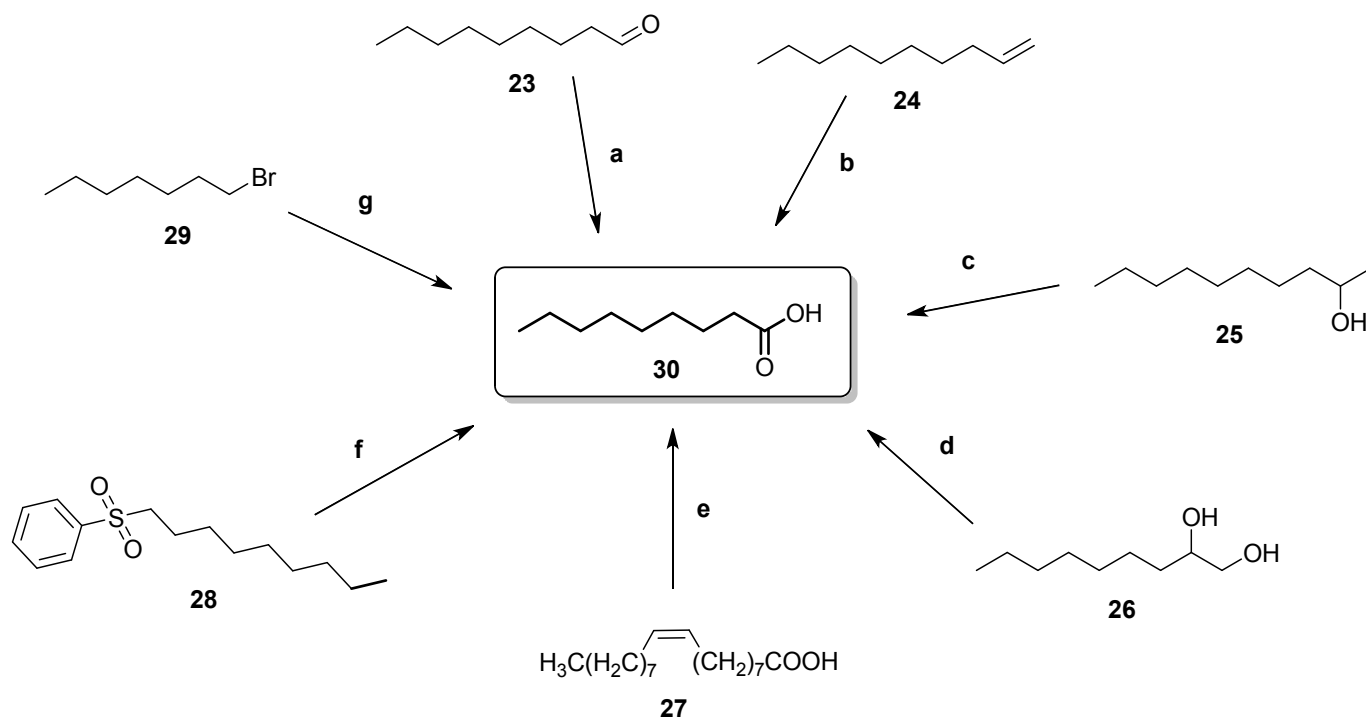
A Wittig-reakció körülményeiből és a szubsztrát anyagi minőségéből adódóan túlnyomó többségben a nem kívánt, *cisz* enantiomer (**21**) keletkezett a második lépésben, így a szintézissor egy izomerizációval zárult, ahol salétromsavas melegítést hajtottak végre NaNO₂ (nátrium-nitrit) jelenlétében (12. ábra). Összességében a 6-bromhexánsavra vonatkoztatva 55%-os termeléssel jutottak a kívánt (*E*)-8-metilnona-6-énsavhoz (**22**), ami jelentősen felülmúlja az irodalomban található egyéb, több lépéses előállítási módszereket.



12. ábra: A (Z)-8-metilnona-6-énsav (**22**) izomerizációja erősen savas közegben

A kapszaicin előállítása sok esetben még így sem gazdaságos, ezért dolgozták ki a „szintetikus kapszaicinnek”, a nonivamidnak a szintézisét. A nonivamid a vanillil-amin nonánsavval alkotott amidja, a hosszú szénlánc nem tartalmaz elágazást, sem telítetlenséget. Ennek megfelelően a nonánsav előállítása is olcsóbb és hatékonyabb, mint a kapszaicin prekursoráé. Sőt, a pelargonsavat (**30**) is használhatjuk kiindulási anyagként, hiszen olcsó és könnyen hozzáférhető. A nonivamid prekursorának helyben történő előállítására számos példa található az irodalomban (2. táblázat). *Travis* és munkatársai szinte kvantitatív termeléssel kapták meg a nonánsavat (**30**) a megegyező szénatomszámú aldehidből (**23**) kiindulva erősen oxidatív közegben [39]. *Zimmermann* és kollégái is oxidációval jutottak a kívánt karbonsavhoz RuCl₃ katalizátor segítségével [40], azonban ők dec-1-ént (**24**), valamint olajsavat (**27**) alkalmaztak kiindulási anyagként, az utóbbi olcsó és könnyen beszerezhető szubsztrát. A szubsztrátok sorát tovább bővítette két japán kutatócsoport, akik a pelargonsav (**30**) előállítását alkoholokból (**25**, **26**) kiindulva valósították meg [41-42]. Jóddal, illetve oxigéngázzal hajtották végre az oxidációs lépéseket szobahőmérsékleten, jó termeléssel. Szulfoxidok (**28**) is szolgálhatnak kiindulási anyagként a nonivamid prekursorának előállításához, ugyanakkor ehhez nagyon erős bázis (kálium-hexametil-diszilazid, KHMDs) és kriogén körülmények szükségesek [43], cserébe viszont 100%-os termelés érhető el. Az eddigi példákban a nonánsavval (**30**) megegyező vagy nagyobb szénatomszámú kiindulási anyagok szerepeltek, de *Emmet* és munkatársa sikeresen megvalósította CH-savas vegyület (diethyl-malonát) alkilezésén keresztül a célvegyület előállítását heptil-bromidból (**29**), fémnátrium segítségével [44].

2. táblázat: Irodalmi példák a nonánsav szintéziséhez

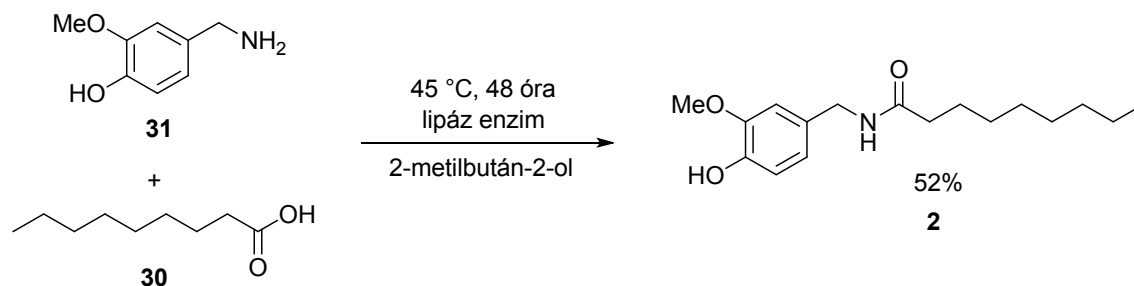


Előállítási módszer	Reagens(ek), oldószer	Katalizátor	Körülmények	Termelés [%]	Ref.
a	KHSO ₅ , DMF	–	25 °C, 3 óra	99	[39]
b	NaIO ₄ , H ₂ O/MeCN/EtOAc	RuCl ₃	25 °C, 4 óra	98	[40]
c	I ₂ , <i>t</i> -BuOK, <i>t</i> -BuOH	–	25 °C, 3 óra	78	[41]
d	O ₂ , EtOAc	2-Cl-antrakinon	<i>hν</i> , 20 óra	75	[42]
e	NaIO ₄ , H ₂ O/MeCN/EtOAc	RuCl ₃	25 °C, 2 óra	65	[40]
f	KHMDS, O ₂ , THF/toluol	–	–78 °C, 1-1,5 óra	100	[43]
g	Dietil-malonát, Na, <i>n</i> -BuOH	–	Δ, 1 óra	70	[44]

2.4. A kapszaicin és származékainak előállítása

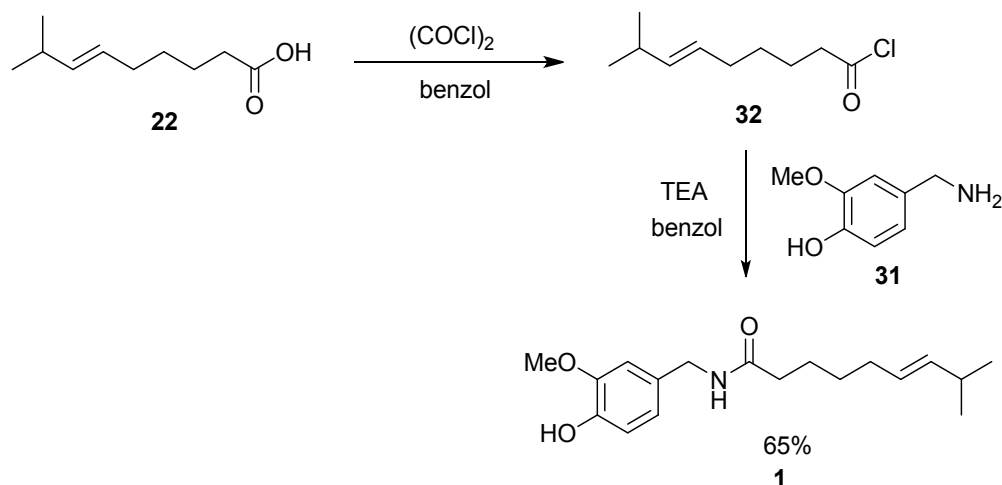
A kapszaicinoidokat egy benzil-amin származék, valamint egy hosszú szénláncú karbonsav összekapcsolásával lehet megkapni, és a témában létező irodalmak döntő többsége is ezt a stratégiát követi a vegyületcsalád képviselőinek előállításakor. A szintetikus megoldásokon kívül számos

biokatalitikus módszer is létezik. *Córdova* és kutatótársai lipáz enzim segítségével végezték el az *N*-acilezési lépést (13. ábra) [45]. A reakciókivitelezés nagy előnye, hogy nem volt szükség a karbonsav acilező ágenssé aktiválásához, ugyanakkor hátránya volt a közepes (52%) termelés, a hosszú reakcióidő és az enzim által erősen behatárolt reakciókörülmények.



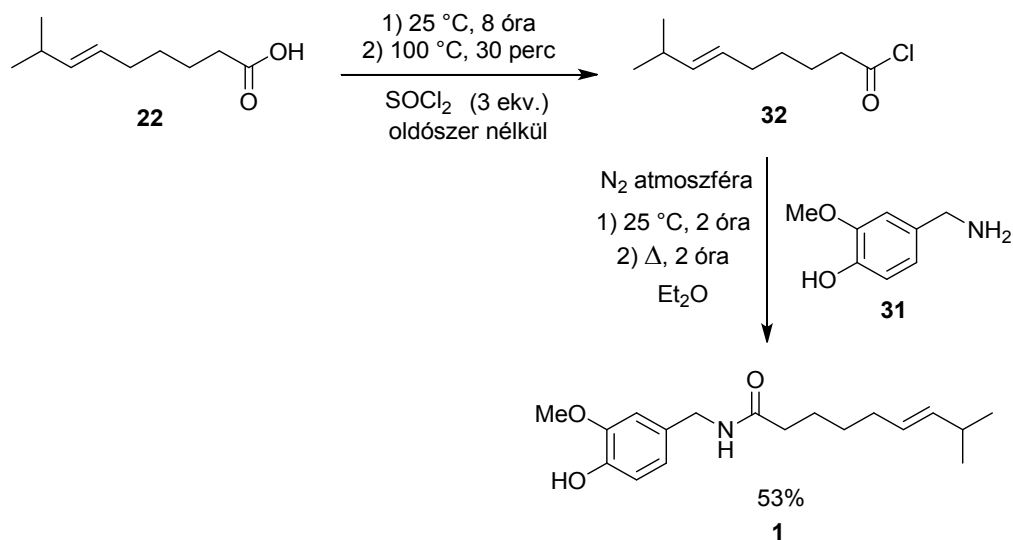
13. ábra: A nonivamide (2) enzimkatalizált előállítása

A szintetikus módszerek fő jellemzője, hogy a karbonsavat valamilyen módon *N*-acilezésre alkalmassá kell tenni, különben a savat a bázikus aminnal reagáltatva termékként csak legfeljebb egy sót kapnánk. Egy fehérórosz kutatócsoport az (*E*)-8-metilnona-6-énsavból (22) savkloridot (32) képzett oxalil-kloriddal [46], majd az acilezést trietil-amin (TEA) jelenlétében valósították meg, és 65%-os termelést értek el (14. ábra). A módszer nagy hátránya a benzol oldószerként való alkalmazása.



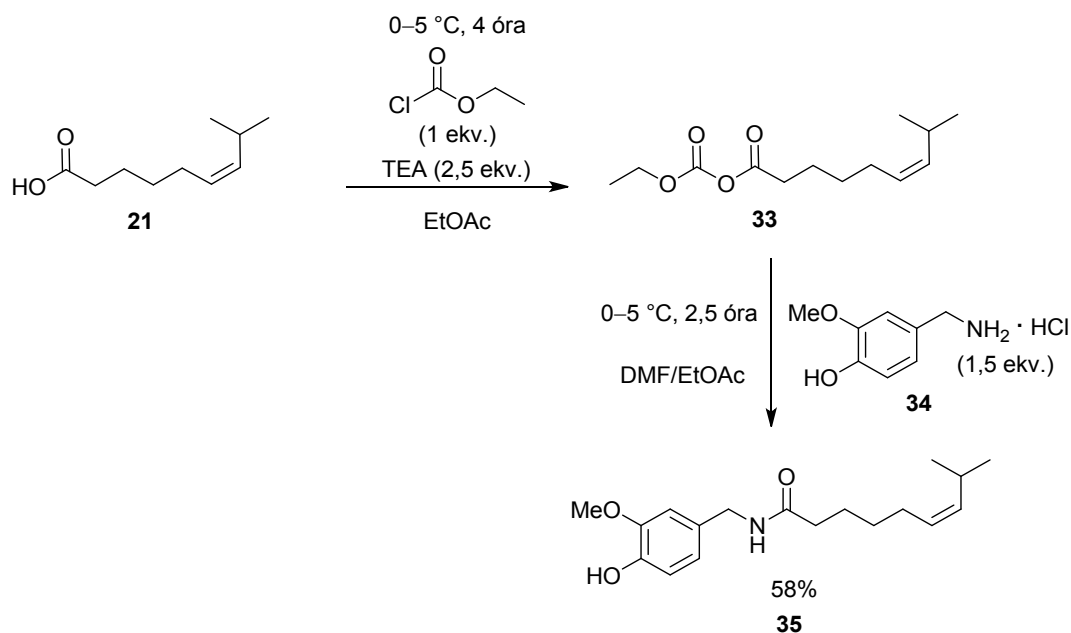
14. ábra: Az (*E*)-8-metilnona-6-énsav (22) aktiválása oxalil-kloriddal, majd a vanillil-amin (31) *N*-acilezése

Orito és kutatócsoportja 3 ekvivalens tionil-kloriddal állított elő sav-kloridot [38], majd a felesleges tionil-klorid ledesztillálását követően végezték el a vanillil-amin (31) acilezését (15. ábra). Két átkristályosítási lépést követően 53% termeléssel kapták meg a tiszta kapszaicint (1) termékként.



15. ábra: A karbonsav prekursor (**22**) tionil-kloridos aktiválását követő kapcsolási reakció

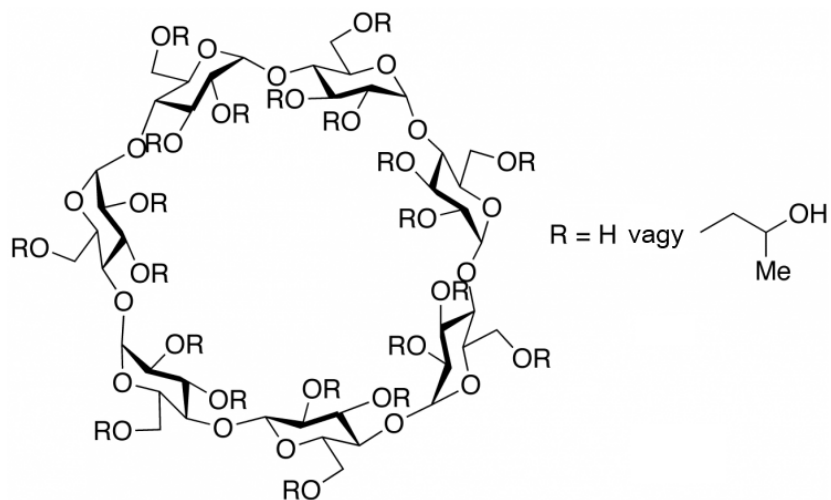
A kapszaicin prekursorának számító karbonsavnak nemcsak az (*E*), hanem a (*Z*) izomere is hasznos vegyület, a belőle előállított amid a kapszaicin számos pozitív hatásával rendelkezik az égető érzés kiváltása nélkül. Egy indiai szabadalomban éppen ennek a vegyületnek, a zukapszaicinnek (**35**) a szintézisét írták le [47]. Az amidképzéshez használt acilező ágens ebben az esetben egy savanhidrid (**33**) volt, amit a prekursor karbonsavból *O*-etilkarbonokloridáttal alacsony hőmérsékleten reagáltatva kaptak meg. Az *N*-acilezést a vanillil-amin hidroklorid sójával (**34**) valósították meg, és 58%-os termelést értek el (16. ábra).



16. ábra: Zukapszaicin (**35**) szintézise savanhidrid segítségével

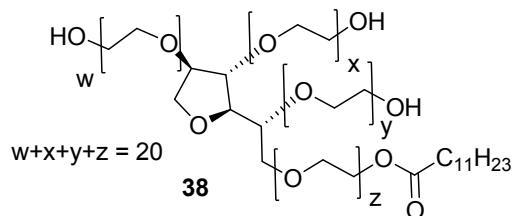
2.5. Ciklodextrin-kapszaicin komplexek

A kapszaicinoidok számos pozitív és jótékony tulajdonságuk mellett, néhány hátránnyal is rendelkeznek. A rossz vízoldhatóság és a gastrointesztinális irritáció, ami megnehezíti felhasználásukat a gyógyászatban, valamint a mérsékelt hőérzékenység, ami a mezőgazdaságban jelenthet problémát. Ezeket a hátrányokat a vegyületsaládnak a formulációjával tudjuk kiküszöbölni. Excípiensként az elmúlt évtizedben gyakran alkalmaztak ciklodextrineket [48]. A ciklodextrinek általában 6, 7 vagy 8 α -D-glükopiranoz egységből álló ciklusos oligoszacharidok, melyek 3 dimenziós alakja egy kónuszra emlékeztet. A makromolekula külső része hidrofíl, míg belül hidrofób jellegű, így a kapszaicinoidok könnyen komplexeket tudnak képezni az oligoszacharid belső részéhez orientálódva. A ciklodextrinek napjainkban számos iparágban elterjedtek, így az élelmiszer-, gyógyszer-, valamint a kozmetikai iparban is [48]. Az irodalmi példák alapján főleg a 7 glükózegységből álló β -ciklodextrint (β -CD) (**36**) vagy annak a hidroxipropilezett származékát (HP- β -CD) (**37**) használják a kapszaicin formulálásához (17. ábra).



17. ábra: A β -CD (R = H) (**36**) és a HP- β -CD (R = 2-hidroxipropil) (**37**) szerkezete

A farmakológiában jelenleg tesztelési fázisban jár a kapszaicin HP- β -CD komplexe. Zhang és társai farmakokinetikai kutatásokban kimutatták [49], hogy a kapszaicin biohasznosulása ebből a formulációból közel 140%-kal magasabb volt, mint a komplexálatlan kapszaiciné, ezen kívül az emésztőrendszeri irritációt tekintve is sokkal kedvezőbbnek mutatkozott a formulázott hatóanyag (az utóbbira bioassay vizsgálatokból következtettek). Gustafsson és kollégái a HP- β -CD-t és egy másik excípienst (TWEEN-20, (**38**), 18. ábra) hasonlítottak össze [50].



18. ábra: A TWEEN-20 (38) szerkezete

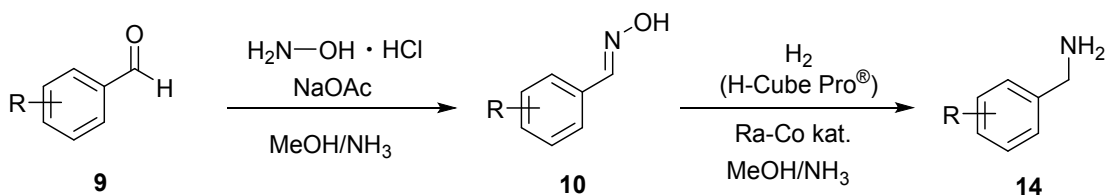
Eredményeikből arra a következtetést, hogy 1-30 μg kapszaicinből készült minták között nincs érdemi különbség a két excípiens között, ugyanakkor 100 μg hatóanyag esetén a HP- β -CD már szignifikánsan jobban komplexálta a kapszaicint, mint a TWEEN-20 (38). Egy kínai kutatócsoport a kapszaicin bőrön keresztül történő felszívódását vizsgálta *in vitro* körülmények között [51], izolált patkánybőrön. Úgy találták, hogy HP- β -CD komplexképző alkalmazásakor a felszívódás mértéke (penetrációs fluxus, [$\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$]) jelentősen, kb. 50%-kal megnőtt ahhoz képest, mintha nem használtak volna formulázóanyagot. Ugyanakkor a HP- β -CD mennyiségének növelésével elértek egy olyan koncentrációt (2,2 w/v%), amit túllépve már csökkent a penetrációs fluxus. Ez a tény rámutat arra, hogy a kapszaicin:HP- β -CD arány finomhangolása kiemelten fontos ennek a hatóanyagnak a formulázásakor.

A kutatási területemhez legközelebb álló irodalmi példa Shen és kollégáinak nevéhez fűződik, akik a kapszaicin, mint növényvédőszer β -ciklodextrinekkal történő formulációja utáni tulajdonságait vizsgálták [52]. Érdekes megfigyelés volt, hogy oldatban a β -CD és a HP- β -CD is 1:1 arányban képzett komplexeket a hatóanyaggal, ezzel szemben szilárd komplexeket vizsgálva 1:5, illetve 1:3 arányok adódtak optimálisnak (szilárd komplexek esetében ennél alacsonyabb ciklodextrin mennyiségeknél az elegy tiszta, kristályos kapszaicin részleteket tartalmazott). Az oldhatósági vizsgálatok során megállapították, hogy ugyan a kapszaicin- β -CD komplex termodinamikailag stabilabb, mint a HP- β -CD-vel alkotott komplex, viszont a HP- β -CD-vel 10-szer akkora koncentrációjú oldatot lehetett előállítani, mint β -CD-vel, ami kedvez a későbbi gyakorlati felhasználásnak. A kioldódási vizsgálatokban is a HP- β -CD bizonyult jobbnak, csak úgy, mint a fénybesugárzásos és hevítési stabilitás vizsgálatokban. A szerzők talajmintákon vizsgálták a tiszta kapszaicin, illetve a komplexek talajon történő adszorpcióját és deszorpcióját is az oldat fázisból. Úgy találták, hogy a tiszta kapszaicin inkább a talaj felületén kötődött meg, és nem szívódott be, ami alacsony biohasznosuláshoz vezethet, azonban ezen a tulajdonságon a HP- β -CD képes volt javítani. Mindezen tapasztalatok alapján a ciklodextrinekkal komplexált kapszaicinoidokból ígéretes peszticidek állíthatók elő.

3. Kísérleti rész

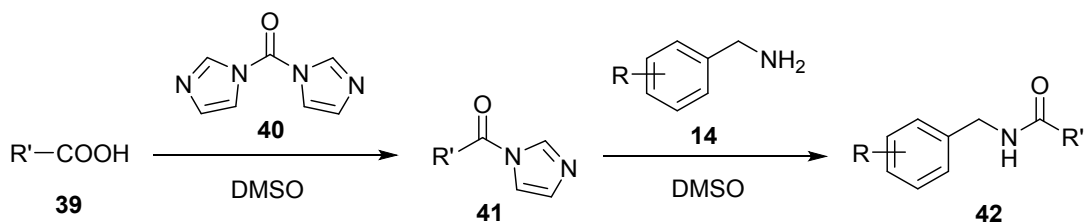
Kutatómunkám során a kapszaicin-származékok áramlós kémiai előállítását tűztük ki célul benzil-amin prekurzorokon keresztül, mely során a hagyományos szintézisekhez képest egy gyorsabb és nagyobb hozamú technológia kifejlesztésére törekedtünk. Továbbá célunk volt a kapszaicinoidok mezőgazdasági alkalmazhatóságának vizsgálata, elsősorban a búza gombafertőzésének elkerülésére.

A prekurzorok kiindulási anyagaiként benzaldehid-származékok (**9**) szolgáltak, az utóbbiakat hidroxil-ammal reagáltatva képeztem oximokat (**10**), melyekből a következő lépésben, hidrogénezéssel nyertem a megfelelő benzil-aminokat (**14**) (18. ábra).



18. ábra: A benzil-amin prekurzorok (**14**) előállítása

Az oximképzést Asia[®] rendszerben hajtottam végre, általában szobahőmérsékleten, a kiindulási anyagot és reagenst tartalmazó oldatokat fecskendőpumpák segítségével elegyítettem, és az intermediert tartalmazó oldatot továbbítottam a következő lépésbe. A hidrogénezést egy speciális áramlós kémiai berendezésben, az H-Cube Pro[®]-ban végeztem, ami nagy tisztaságú (ionmentes) vízből elektrolízissel *in situ* generálja a redukcióhoz szükséges hidrogént. A berendezéshez előre megtöltött katalizátorbetétek kaphatók, a reakciókörülményeket széles határok között lehet változtatni (10-150 °C, 1-100 bar). A végtermékek szintéziséhez szükséges másik építőegység, a karbonsavak kereskedelmi forgalomból kerültek beszerzésre. Az *N*-acilezés, hasonlóan az oximok előállításához, Asia[®] rendszerben történt fűtőegység használatával. A karbonsavakat (**39**) CDI-aktiváció (CDI = karbonildiimidazol, **40**) útján alakítottam acilezésre alkalmas reagensekké (**41**) (19. ábra).



19. ábra: A kapszaicinoidok (**42**) előállítási sémája CDI-aktivációt követő *N*-acilezéssel

Az irodalomban már jól leírt szakaszos folyamatokat kívántam átültetni áramlásos rendszerre, ami miatt viszont szükség volt az összes lépés optimalizálására, figyelembe véve, hogy az áramlásos rendszer hőátadási és keveredési tulajdonságai nagymértékben különbözhetnek a hagyományos, termikus, lombikban végzett kísérletekétől. Ennek megfelelően lehetőségem nyílt az egyes szintetikus lépésekhez az eddigieknél enyhébb reakciókörülményeket, valamint rövidebb reakcióidőt találni. Az áramlásos kémiai megvalósításból adódó folyamatos technológia, valamint az acilezési lépés viszont megkövetelte, hogy alacsony víztartalmú legyen a reakcióelegy. Egyrészt az acilezés előtt oldószerváltásra van szükség, ami egy folyamatos bepárlást fog igényelni, vizes reakcióelegyet pedig hosszú idő és nagy energia befektetés bepárolni. Másrészt a CDI-aktivációnál képződő imidazol-amidot (**41**) azonnal elbontja a víz, ami rontaná a kihozataalt. Néhány előkísérlet és más megfontolások alapján a metanolt választottam a szintézissor első két lépésének oldószereként, ami bepárlással könnyen eltávolítható. Az oximképzési lépés áramlásos kémiai modellezéséhez a 4-etoxibenzaldehidet (**43**) választottam kiindulási anyagként a legtöbb kapszaicinoid kiindulási anyagául ismert vanillin helyett. A 4-etoxibenzaldehid (**43**) szerkezetileg (nem tartalmaz fenolos hidroxilcsoportot) és kémiai tulajdonságokban közelebb állt a később kialakítani kívánt molekulakönyvtáram többi képviselőjéhez. Úgy gondoltam, ha vanillinen kísérlem meg elvégezni az egyes lépések optimalizálását, akkor a molekulakönyvtáram más tagjainál merőben eltérő termelési értékeket kapnék (amely feltételezésem be is bizonyosodott később). Kerestem tehát azt a hőmérséklet és betáplálási áramlási sebesség párosítást, ahol a legnagyobb konverziót érem el. A hidrogénezési lépés optimalizálásához a 4-etoxibenzaldehidből (**43**) nyert oximot (**44**) használtam, széles határok közt változtatva a hőmérsékletet, nyomást, illetve többféle katalizátortöltetet kipróbálva. Itt a konverzió mellett a minél nagyobb szelektivitás is fontos tényező volt.

Az optimalizálások során végzett kísérleteket a reprodukálhatóság vizsgálata érdekében többször is elvégeztem. Az reakciókat gázkromatográfiás (GC) vizsgálattal követtem, míg a vegyületek azonosítását GC-MS (gázkromatográfia-tömegspektrometria) mérésekkel végeztük. Az irodalomban nem ismert, új vegyületek szerkezetét ^1H , ^{13}C NMR, illetve HRMS (nagy felbontású tömegspektrometriai) mérésekkel igazoltuk.

A biohasznosulás illetve a kapszaicinoidok kellemetlen hatásainak (köhögésre ingerlő, égető szálló por) kiküszöbölése érdekében β -ciklodextrinekkel megkíséreltük az áramlásos kémiai folyamatsor végén kapott termékek formulázását.

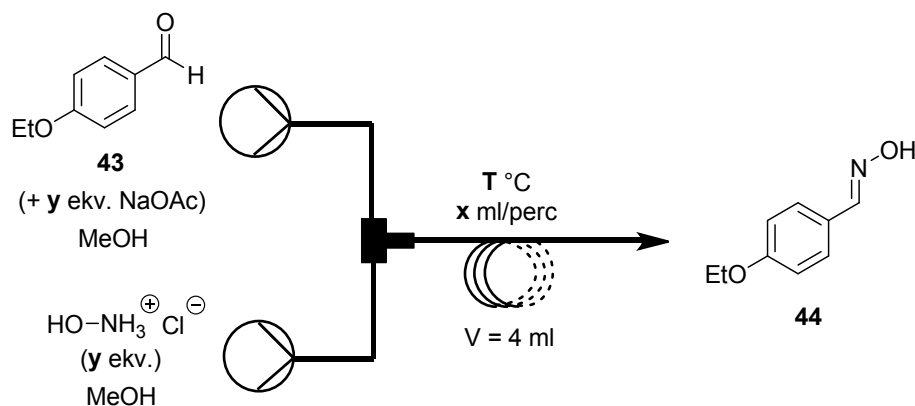
Kutatómunkám célja nemcsak a kapszaicinoidok modern technológiával történő előállítására korlátozódott, hanem a már ismert és az újonnan szintetizált vegyületek biológiai hatására is. A végtermékek nagyrészt együttműködés keretében a Debreceni Egyetem biológusai vizsgálták *Fusarium graminearum* gombafajon.

3.1. Benzaldehyd-oximok előállítása

Kutatómunkám kiindulási anyagaiként a benzaldehydekek szolgáltak, képviselőik többsége kereskedelmi forgalomból olcsón beszerezhető. A reagensként alkalmazott hidroxil-amin-hidroklorid ugyancsak könnyen hozzáférhető, olcsó anyag, csakúgy, mint a savmegkötő nátrium-acetát.

3.1.1. Oximképzés optimalizálása

Az irodalomban a legtöbb esetben a benzaldehyd származékaiból kiinduló oxim előállításához a kvantitatív termelés elérése érdekében vagy melegítést, vagy több órás reakcióidőt alkalmaznak. Céлом az volt, hogy áramlósos kémiai rendszerben (20. ábra) szobahőmérsékleten, rövid tartózkodási idő mellett gyakorlatilag teljes konverzióval jussak 4-etoxibenzaldehydből (43) a kívánt intermedierhez (44). Az optimalizálási kísérletek elején vizsgálni kívántam, hogy szükség van-e egyáltalán savmegkötőre a teljes konverzió eléréséhez, így először savmegkötő nélkül, csak hidroxil-amin-hidroklorid reagenssel végeztem a reakciókat. A folyamat optimalizálásához több paramétert is változtattam.

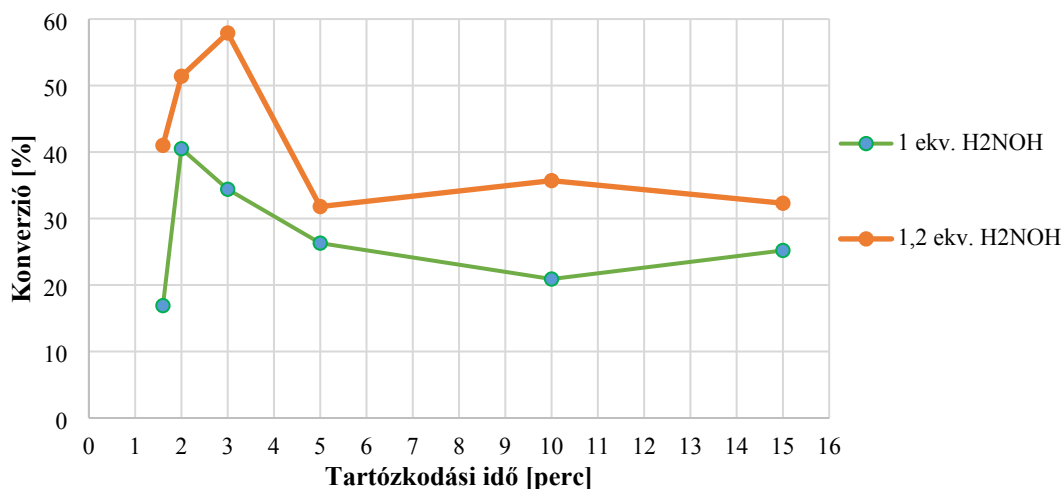


20. ábra: Az oximképzés megvalósítása áramlósos kémiai rendszerben (x, y, és T változtatható paraméterek)

Először a 4-etoxibenzaldehydet és a reagenst tartalmazó oldatok betáplálási áramlási sebességét változtattam, a hidroxil-amin mennyiségét (1,2 ekvivalens, irodalmi adatokból) és

a hőmérsékletet (25 °C) állandó értéken tartottam (3. táblázat/1-6. kísérletek). Hat különböző beállítás után a legnagyobb konverzió (58%) 1,33 ml/percnél adódott, ami a reakcióelegy 3 perces tartózkodási idejének felel meg. Ezután a tartózkodási időt az optimálisnak talált 3 percen tartottam, a reakció hőmérsékletét 25 °C-on hagytam, és a hidroxil-amin mennyiségét változtattam (1 és 1,2 ekvivalens között). Konklúzióm az volt, hogy a konverzió szempontjából fontos az irodalomban is sok helyen megjelölt 1,2 ekvivalensnyi reagensmennyiség (1. diagram).

Oximképzés konverziója áramlásos kémiai rendszerben a tartózkodási idő függvényében 25 °C-on



1. diagram: Az oximképzés lejátszódása áramlásos kémiai rendszerekben

Az 1. diagramon látható, hogy a reagens mennyiségétől függetlenül rövid és hosszú tartózkodási idők mellett is kisebb a konverzió, ugyanakkor 2-4 perc között kimagasló. Ennek a jelenségnek az lehet az oka, hogy rövid tartózkodási idő mellett nincs elég idő a nagy konverzió eléréséhez, 4 perc fölött pedig lassú az áramlás, nem elég intenzív a komponensek keveredése. A 2-4 perces tartomány azért lehet optimális, mert a bemenő oldatok rendesen el tudnak keveredni egymással, és a komponenseknek is van elég idejük, hogy reakcióba léphessenek.

A hőmérsékletet 25 °C-ról 70 °C-ra emelve a GC-mérések azt mutatták, hogy melegített reakcióközegben a konverzió jelentősen megnő (3. táblázat/7. és 9. kísérletek). Mivel el szerettem volna kerülni a melegítést, elvégeztem néhány kísérletet savmegkötő bázisok (nátrium-acetát valamint trietil-amin, TEA) jelenlétében is (3. táblázat/10-15. kísérletek). A nátrium-acetát mennyiségét a reagensével arányban változtattam, és vizsgáltam a konverzió változását a savmegkötő és a hidroxil-amin-hidroklorid mennyiségének növelésének függvényében

(3. táblázat/10-13. kísérletek). Már 1 ekvivalens nátrium-acetáttal és reagenssel is sokkal kedvezőbb adatokat kaptam, mint amikor nem használtam savmegkötőt (88% az előbbi, míg 34% az utóbbi esetben). Az említett anyagokból 1,2 ekvivalenst alkalmazva szinte teljes konverziót tudtam elérni 3 perces tartózkodási idő mellett szobahőmérsékleten. Amikor TEA-t választottam savmegkötő bázisnak, akkor 1,2 ekvivalens mennyiséggel már a 100%-os átalakulás is megvalósult. Jelentős különbség ugyanakkor nem mutatkozott a két bázis konverzióra gyakorolt hatásában, ezért a nátrium-acetát mellett döntöttem, mivel olcsóbb illetve a belőle keletkező ecetsav és nátrium-klorid kevésbé környezetszennyezőek, mint a TEA-ból keletkező trietil-ammónium-klorid.

3. táblázat: Az oximképzés optimalizálási kísérleteinek körülményei és eredményei

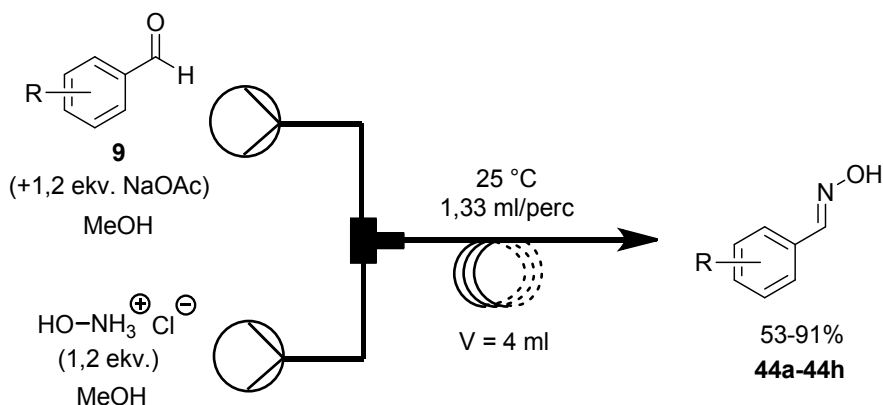
Kísérlet	Bázis [y ekv.]	Hidroxil- amin [y ekv.]	T [°C]	Áramlási seb. (x) [ml/perc]	Tartózkodási idő [perc]	Konverzió [%] ^a
1	-	1,2	25	0,267	15	41
2	-	1,2	25	0,4	10	51
3	-	1,2	25	0,8	5	32
4	-	1,2	25	1,33	3	58
5	-	1,2	25	2	2	36
6	-	1,2	25	2,5	1,6	32
7	-	1,2	70	1,33	3	91
8	-	1	25	1,33	3	34
9	-	1	70	1,33	3	54
10	NaOAc	1	25	1,33	3	88
11	NaOAc	1,05	25	1,33	3	84
12	NaOAc	1,1	25	1,33	3	93
13	NaOAc	1,15	25	1,33	3	94
14	NaOAc	1,2	25	1,33	3	~ 100
15	TEA	1,2	25	1,33	3	100

^aGC alapján.

A 3. táblázat adataiból jól látszik, hogy 3 perc tartózkodási idő mellett szükség van savmegkötő alkalmazására, cserébe viszont szobahőmérsékleten teljes konverzióhoz juthatunk. Sikeresen elértem tehát az optimalizálás előtt kitűzött céljainkat, mivel rövidebb reakcióidő alatt melegítés és katalizátor nélkül a hagyományos, szakaszos reakcióvezetés során elérhető konverzióértékeket reprodukáltam benzaldehyd-oximok áramlósos előállítása esetén.

3.1.2. Áramlósos kémiai rendszerben előállított oximok

Az optimalizálást követően a benzaldehyd-származékok (**9**) aromás gyűrűjén található szubsztituensek hatását vizsgáltam a termelésre nézve. A 4-etoxibenzaldehydből (**44**) kiinduló oximképzés optimális körülményeit (1,2 ekvivalens reagens- és savmegkötő mennyiség, 25 °C, 3 perc tartózkodási idő) használtam fel a reakciókhoz (21. ábra).

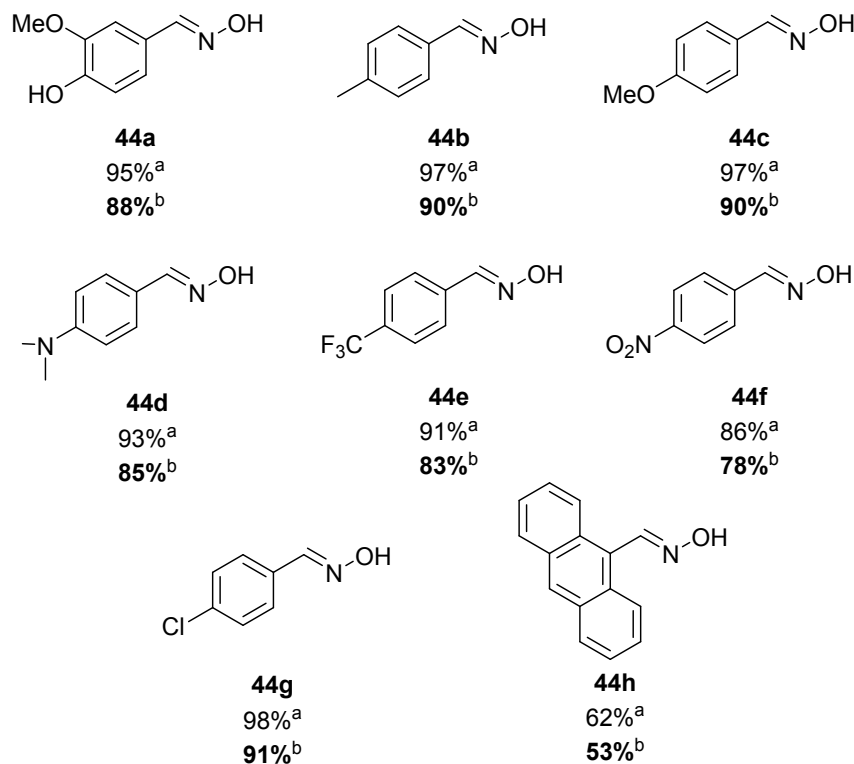


21. ábra: Különböző benzaldehydszármazékok (**44a-44h**) előállítása áramlósos kémiai rendszerben

A szubsztrátokat tekintve több elektronküldő (3-MeO-4-OH, 4-Me, 4-MeO, 4-NMe₂), illetve számos elektronszívó csoporttal (4-Cl, 4-CF₃, 4-NO₂) szubsztituált oximot (**44a-g**) állítottam elő (22. ábra). Általánosságban elmondható, hogy az elektronküldő csoporttal rendelkező szubsztrátokkal nagyobb konverziót értem el, a GC kromatogramok adatai alapján ezekből az aldehidekből a reakciót követően csak néhány százalék maradt. Ezzel párhuzamosan a kipreparált termelés is nagyobbnak adódott az elektronban gazdag benzaldehyd-származékokból kiindulva (85-90%). Az elektronszegény benzaldehidek valamelyest kisebb konverzióval alakultak át aldoximokká, így a termelési adatok is elmaradtak az elektronküldő csoportokkal rendelkező benzaldehidekéhez képest. Meglepően nagy konverzió és termelés adódott ugyanakkor a 4-klórbenzaldehyd-oxim esetében, ami feltehetően a Cl elektrondonáló mezomer effektusának

tudható be. Az oximképzést 9-antraldehydből (**9h**) kiindulva is elvégeztem, a többi szubsztráthoz képest nagyobb méretű molekula azonban kevésbé volt reaktív hidroxil-ammal, ugyanis csak közepes termeléssel (53%) kaptam meg a megfelelő oximot (**44h**).

A leírt tapasztalatokat, miszerint az elektronban gazdagabb benzaldehidekkel nagyobb konverzió és termelés volt elérhető, a hidroxil-amin szerkezete magyarázhatja meg. A hidroxil-amin nukleofil centrumának számító nitrogén az aminokéhoz képest sokkal elektronszegényebb a nitrogénhez kapcsolódó, és magasabb elektronegativitású oxigén miatt. A parciális negatív töltés tehát alacsonyabb a hidroxil-amin N-atomján, így a hidroxil-amin az alacsonyabb parciális pozitív töltést hordozó karbonil C-atommal reagál el gyorsabban. Az elektronban gazdag aromás aldehidek karbonil C-atomja a többlet elektronsűrűség miatt kisebb parciális pozitív töltéssel bír, ez okozhatja esetükben a nagyobb termelési értékeket.



^aKonverzióérték GC alapján. ^bIzolált termelés.

22. ábra: Az áramlásos kémiai rendszerben előállított oximok (**44a-44h**)

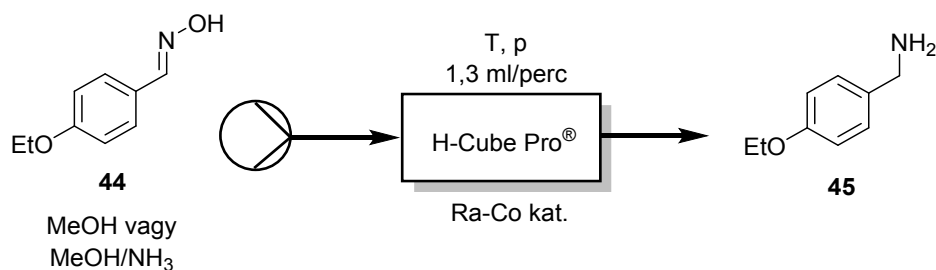
3.2. Benzil-aminok előállítása

Az áramlásos kémiai szintézis következő lépése a benzaldehyd-oximok redukciója volt, hidrogénezéssel. A hidrogénezést H-Cube Pro[®] készülékben valósítottam meg. Ahogyan az előző

lépésnél, a hidrogénezés során is az első lépés az optimális körülmények (katalizátor, hőmérséklet és nyomás) meghatározása volt. A katalizátort irodalmi és gyakorlati megfontolások alapján választottuk ki.

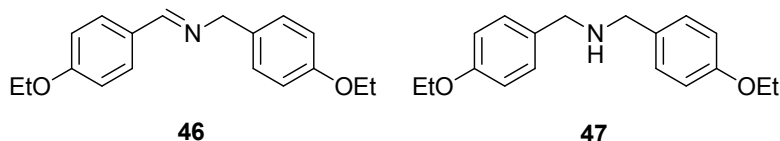
3.2.1. Aminképzés optimalizálása

Az aminképzés modellreakcióját úgy választottam meg, hogy kiindulási anyagként az oximképzés modellreakciójának terméke, a 4-etoxibenzaldehyd-oxim (**44**) szerepelt. Ennek megfelelően az volt a célom, hogy minél nagyobb konverzióval, mérsékelt reakciókörülmények között állítsak elő 4-etoxibenzil-amint (**45**) (23. ábra). Az H-Cube Pro[®] HPLC pumpáját az oximképzés optimális áramlási sebességéhez igazítottam, így 1,3 ml/perc betáplálásra, mivel később a két reakciólépés és rendszer összekötése is terveim között szerepelt. Emiatt ez a paraméter az aminképzés optimalizálásakor állandó maradt.



23. ábra: Aminképzés áramlásos kémiai rendszerben

Legelőször a legalkalmasabb katalizátort kerestem meg. A legnagyobb problémát ennél a redukciónál a mellékreakciók jelentik, ugyanis nem optimális körülmények között jelentős mennyiségű Schiff-bázis (**46**) és kevesebb dibenzil-amin származék (**47**) keletkezik (24. ábra).



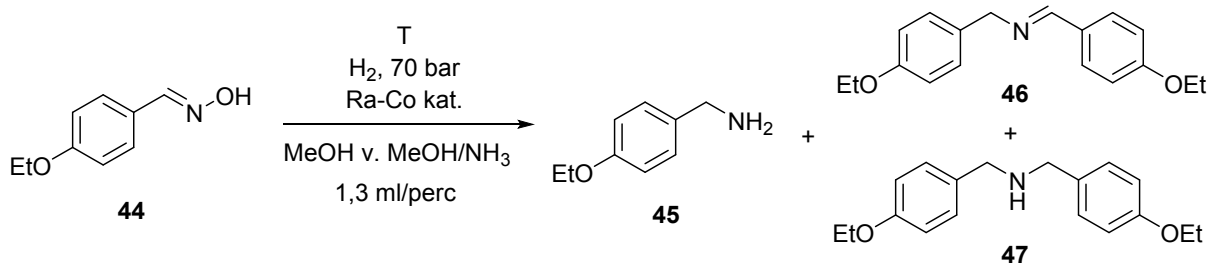
24. ábra: Az aminképzésnél keletkező melléktermékek

A probléma legegyszerűbb kezelésére már bemutattam egy példát az irodalmi részben, ahol Pt/C katalizátor mellett feleslegben sósavat alkalmaztak [30]. Ez a megoldás ennél a reakciólépésnél még alkalmazható is lenne, ugyanakkor a keletkező amin-hidroklorid só a következő, *N*-acilezési lépésben sokkal kevésbé reaktív, mint a szabad amin (**45**), illetve a sóból történő felszabadításra

tett kísérleteim a fellelhető irodalmi példákkal ellentétben rossz termeléssel (20-50%) mentek csak végbe. Sósav alkalmazása nélkül a már említett **46** és **47** melléktermékek megjelentek nemesfém katalizátorok esetén is. Továbbá a hidrogénezés során keletkező amin csökkenti a Pt és más nemesfém katalizátorok élettartamát [37], mivel rájuk az aminok katalizátorméregként hatnak. A leírt okok miatt a Pt és Pd tartalmú katalizátorok alkalmazását elvetettem. Sokkal olcsóbb, és ehhez a hidrogénezéshez alkalmas katalizátorok a Raney-nikkel és Raney-kobalt. A két katalizátortípus árban és tulajdonságokban is nagyon hasonló. Irodalmi példa támasztja alá [53], hogy oximok hidrogénezésekor több szubsztrát esetén Raney-kobalttal néhány százalékkal nagyobb szelektivitás érhető el primer aminokra nézve, így végül a kobalttartalmú katalizátor alkalmazása mellett döntöttem.

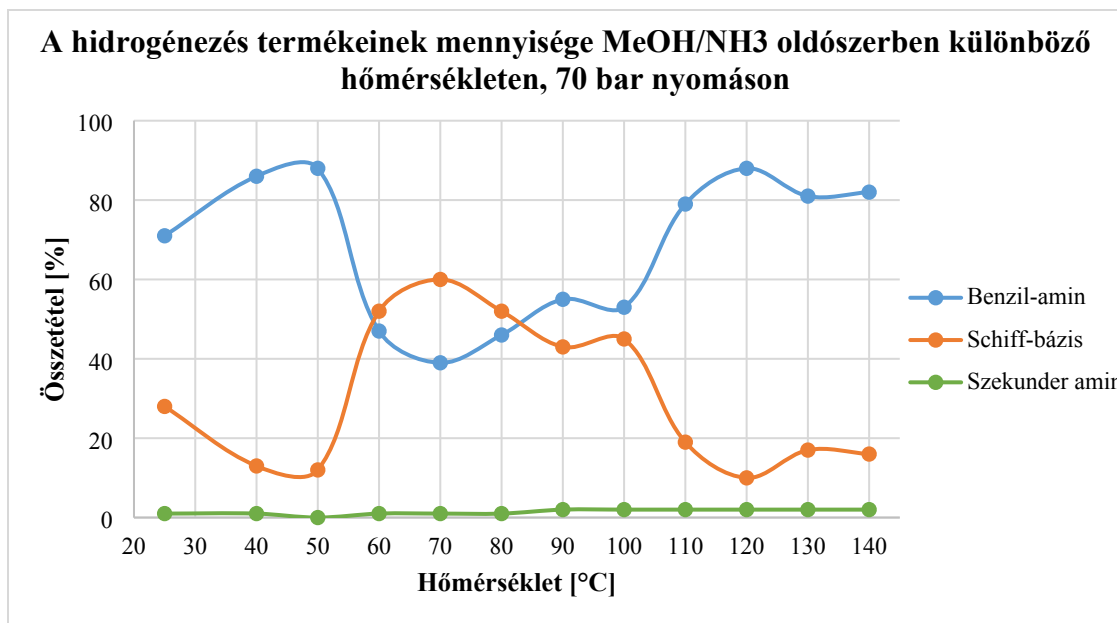
A katalizátor kiválasztása után megkerestem a 4-etoxibenzil-amin (**45**) legnagyobb részarányának eléréséhez szükséges hőmérsékletet. Az alkalmazott körülményeket és az elért eredményeket a *4. táblázatban* és a *2. diagramon* szemléltetem. 25 °C és 140 °C közötti hőmérséklettartományban 12 mérést végeztem 70 bar nyomáson (*4. táblázat/1-12. kísérletek*), azonban a GC mérések eredményei alapján a 4-etoxibenzil-amin (**45**) részaránya alacsonynak vagy közepesnek adódott, ugyanis főleg Schiff-bázis (**46**), valamint némi dibenzil-amin-származék (**47**) képződött. Számos irodalmi példa [53-54] létezik ugyanakkor arra, hogy nagy feleslegű ammónia hozzáadásával teljesen vagy jelentősen visszaszoríthatók az oximok hidrogénezésekor tapasztalható mellékreakciók. Ezért ammóniával telített metanolt készítettem, és ebben az oldószerben megismételtem a reakciókat (*4. táblázat/13-24. kísérletek*). A 4-etoxibenzil-amin (**45**) részaránya látványosan megnőtt, 50 °C-on és 120 °C-on is 88%-ban képződött (*4. táblázat/15. és 22. kísérlet*). A nagy koncentrációban jelenlévő ammónia visszaszorítja a Schiff-bázis (**46**) keletkezésével járó mellékreakciót, ahol ammónia szabadulna fel. 50 °C és 120 °C környékén a legnagyobb a primer amin (**45**) részaránya (*4. táblázat/15. és 22. kísérletek*), ugyanakkor 50 °C és 100 °C között a Schiff-bázis (**46**) mennyisége jelentősen megnő (*4. táblázat/16-20. kísérletek*).

3. táblázat: Az aminképzés hőmérsékletének optimalizálása 70 bar nyomáson



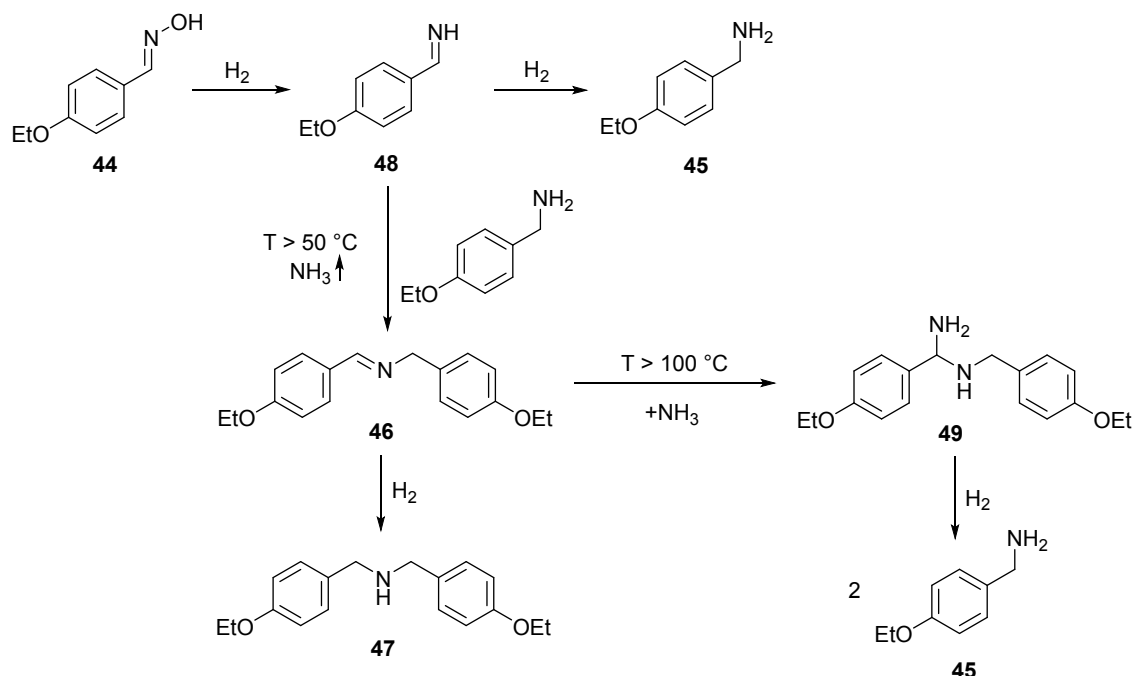
Kísérlet	Hőmérséklet [°C]	Oldószer	Összetétel [%] ^a		
			45	46	47
1 ^b	25	MeOH	12	55	0
2	40	MeOH	67	33	0
3	50	MeOH	55	44	1
4	60	MeOH	35	63	2
5	70	MeOH	41	47	2
6	80	MeOH	44	51	5
7	90	MeOH	48	48	4
8	100	MeOH	31	65	4
9	110	MeOH	53	45	2
10	120	MeOH	52	45	3
11	130	MeOH	20	77	3
12	140	MeOH	40	56	4
13	25	MeOH/NH ₃	71	28	1
14	40	MeOH/NH ₃	86	13	1
15	50	MeOH/NH ₃	88	12	0
16	60	MeOH/NH ₃	47	52	1
17	70	MeOH/NH ₃	39	60	1
18	80	MeOH/NH ₃	46	52	2
19	90	MeOH/NH ₃	55	43	2
20	100	MeOH/NH ₃	53	45	2
21	110	MeOH/NH ₃	79	19	2
22	120	MeOH/NH ₃	88	10	2
23	130	MeOH/NH ₃	81	17	2
24	140	MeOH/NH ₃	82	16	2

^aGC alapján. ^bA reakcióelegy 33%-ban 4-etoxibenzaldimint (**48**) is tartalmazott.



2. diagram: A hidrogénezés termékeinek aránya a reakcióelegyben

A 4. táblázat adataiból látszik, hogy metanolban nem szelektív a hidrogénezés (4. táblázat/1-12. kísérletek), viszont ammóniás metanolra váltva akár 30-40%-os szelektivitásnövekedés is elérhető primer aminra (45) nézve. Ez azzal magyarázható, hogy a Schiff-bázis képződése ezen a hőmérséklettartományon és 70 bar nyomáson előtérbe kerül azáltal, hogy a keletkező köztitermék imin (48) egy addíciós-eliminációs folyamatban elreagál a primer aminnal (45). 100 °C fölött azonban olyan reakcióút nyílhat meg, ahol a Schiff-bázis (46) C=N kettőskötésére ammónia addicionálódik, majd az így keletkezett diamin (49) hidrogenolízisével két primer amin alakul ki (25. ábra) [55].



25. ábra: Lehetséges reakcióutak a 4-etoxibenzaldeid-oxim (**44**) hidrogénezésekor, 50 °C és 100 °C fölött, 70 bar nyomáson

A két lehetséges optimális hőmérséklet megtalálása után az optimális nyomás megkeresése volt a következő lépés. 1 és 100 bar között 11-11 mérést végeztem 50 °C-on, valamint 120 °C-on ammóniás metanol oldószerben (5. táblázat). Először 50 °C-on, 70 barnál alacsonyabb nyomáson végeztem kísérleteket, és azt tapasztaltam, hogy a hidrogénezés szelektivitása a 70 bar nyomáson végzett kísérlethez képest kisebbnek adódott (5. táblázat/1-7. kísérletek). Ugyanakkor a nyomást növelve, illetve 120 °C-on vizsgálva a nyomás hatását, két optimális körülményt is találtam, ugyanis 50 °C-on és 100 bar nyomáson, illetve 120 °C-on és 1 bar nyomáson is hasonló eredményt kaptam, 98%-ban keletkezett a kívánt 4-etoxibenzil-amin (**45**) (5. táblázat/11-12. kísérletek). Választhattam, hogy vagy alacsonyabb hőmérsékleten, de nagy nyomáson végzem az oximok hidrogénezését, vagy magas hőmérsékleten, de közel atmoszférikus nyomáson. A döntés meghozatalakor számba vettem ipari és gazdasági megfontolásokat. A vegyiparban általában inkább magas hőmérsékletet és alacsonyabb nyomást alkalmaznak, 100 bar vagy afölötti nyomás alatt működő technológiák ritkák, a nagy nyomás biztonságtechnikai kockázatot és nyomásálló berendezéseket igényel, ami drágítja a technológiát. Továbbá, ha az iparban is H-Cube Pro[®] rendszereket szeretnék használni, abban az esetben a 100 bar hidrogénnyomás rengeteg felesleges hidrogéngáz fejlesztését vonja maga után, aminek a visszaforgatásáról vagy

tárolásáról/megsemmisítéséről gondoskodnunk kellene. Ezek alapján a továbbiakban a benzaldehid-oximok hidrogénezésénél a 120 °C-os hőmérsékletet és 1 bar nyomást tekintem optimális körülménynek.

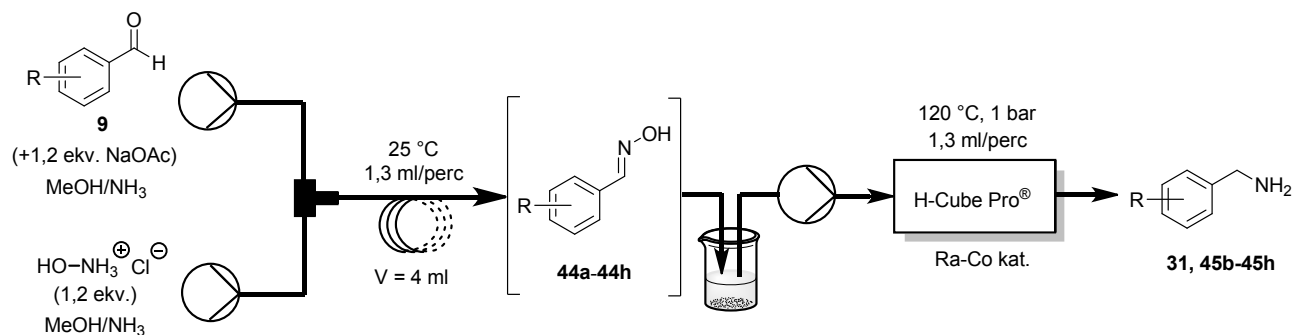
5. táblázat: Az aminképzéshez szükséges nyomás optimalizálása 50 °C-on és 120 °C-on

Kísérlet	Hőmérséklet [°C]	Nyomás [bar]	45 mennyisége [%]
1	50	1	81
2	50	10	82
3	50	20	85
4	50	30	85
5	50	40	84
6	50	50	86
7	50	60	87
8	50	70	88
9	50	80	91
10	50	90	95
11	50	100	98
12	120	1	97
13	120	10	96 ^a

^aA nyomás további növelésével a konverzióértékek nem változtak számottevően.

3.2.2. Áramlásos kémiai rendszerben előállított benzil-amin-származékok

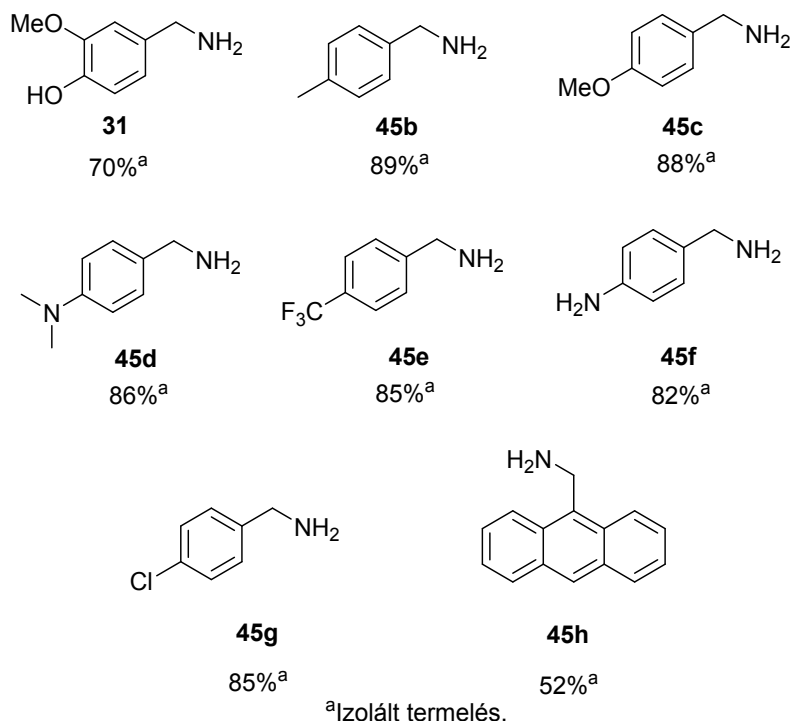
Az oximok és az aminok áramlásos kémiai előállításának optimalizálása után célul tűzttem ki a benzaldehid-oximokhoz hasonlóan a benzil-aminok molekulakönyvtárának elkészítését is. Az ehhez szükséges áramlásos kémiai rendszert az Asia[®] és az H-Cube Pro[®] rendszer közvetett (pufferedényen keresztüli) összekapcsolásával képzeltem el (25. ábra).



25. ábra: Benzil-amin-származékok (**31**, **45b-45h**) folyamatos előállítása

Mivel az H-Cube Pro[®] bemeneti HPLC-pumpáján csak egy tizedes pontossággal lehet az áramlási sebességet ml/perc-ben beállítani, ezért az eredeti, optimálisnak gondolt 1,33 ml/perc áramlási sebességet 1,30 ml/perc-re változtattam az oximképzésnél. Így gyakorlatilag benzaldehydekből (**9**) megszakítás nélkül a kapszaicinoidok prekursorait, benzil-aminokat (illetve a molekulakönyvtár részeként antracén-9-il-metánamint) (**31**, **45b-45h**) állítottam elő folyamatos rendszerben (26. ábra).

A GC kromatogramok és a kipreparálás után kapott termelések is általánosságban azt mutatták, hogy a hidrogénezés minden esetben gyakorlatilag 100%-os konverzióval végbement, a folyamat intermedierei, az oximok teljesen átalakultak. A legtöbb esetben az elektronküldő csoportot tartalmazó vegyületeket (**45b-45d**) néhány százalékkal nagyobb termeléssel kaptam meg, ugyanakkor ezeknél az anyagoknál jellemzőbb volt a mellékreakciók fellépése, és a Schiff-bázisok képződése. Érdekes megfigyelés volt, hogy az elektronszívó szubsztituenseket tartalmazó szubsztrátokból képződött reakcióelegyekben nem, vagy csak minimális mennyiségben látszódtak a megfelelő Schiff-bázisok. Érdekességgént megemlíthető, hogy a vanillil-amin (**31**) előállítása során jelentősebb volt a melléktermékképződés, ugyanis 15% fölötti mennyiségben képződött Schiff-bázis és dibenzil-amin-származék, ami a két elektronküldő szubsztituensnek köszönhető. Az oximképzési reakcióban is alacsony kihozatalt mutató 9-antraldehidből a várakozásoknak megfelelően csak közepes termeléssel jutottam antracén-9-il-metánaminhoz (**45h**).



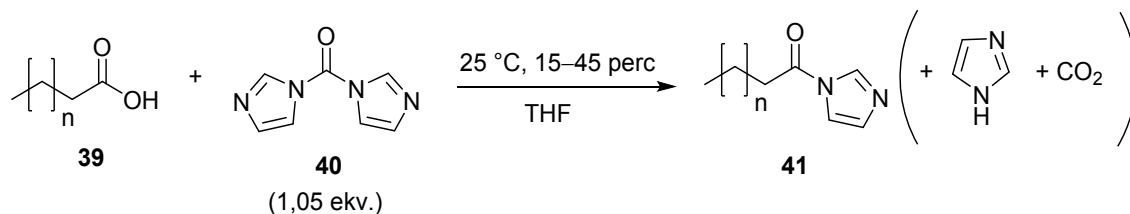
26. ábra: Áramlásos kémiai rendszerben előállított benzil-amin-származékok (**31**, **45b-45h**)

3.3. Kapszaicinoidok előállítása

Munkám végtermékei a kapszaicin származékai, a kapszaicinoidok voltak. A vegyületcsalád több tagját előállítottam mind szakaszos, mind folyamatos rendszerben, melyek közül számos az irodalomban eddig nem ismert, új vegyület. Szakaszos reakcióvezetéssel legtöbbször a vanillil-amin *N*-acilezett származékait állítottam elő, melyek egy részét együttműködés keretében a Debreceni Egyetem biológusai vizsgálták *Fusarium graminearum* gombafajon. Áramlásos kémiai rendszerben néhány benzil-amin-származék különböző karbonsavakkal acilezett termékeinek előállítását valósítottam meg.

3.3.1. Előkísérletek a kapszaicinoidok szakaszos előállítására

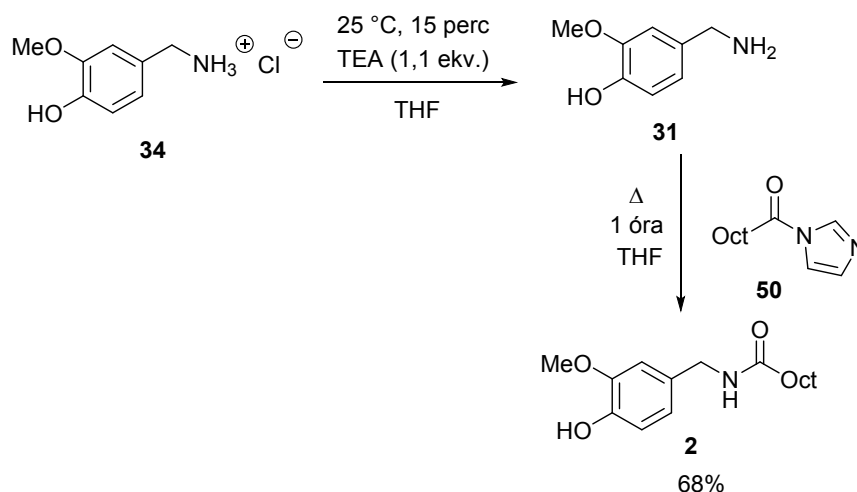
A kapszaicinoidok előállításához szükséges *N*-acilezési lépés előtt mind szakaszos, mind folyamatos rendszerben szükség van a karbonsav aktiválására. Ellenkező esetben a karbonsav a beadagolt/betáplált aminnal sőt fog képezni, az acilezés nem játszódik le. Az irodalmi példánál már említésre került, hogy az aktiválást legtöbbször tionil-kloriddal, oxalil-kloriddal vagy anhidridekkel végzik. Az ekkor képződő melléktermékek korrozívak, és környezetre ártalmasak lehetnek. Biztonságosabb és kevésbé környezetszennyező alternatívaként létezik a karbonil-diimidazol (CDI) (**40**), amivel az acilezésre aktivált reagens egy imidazol-amid lesz (**41**) (27. ábra).



27. ábra: Karbonsavak (39) CDI-aktivációja

Az imidazol pKa értéke alapján jó távozócsoport, így az imidazol-amid (**41**) nagy reakcióképességű vegyület, prótikus, nukleofil ágensekkel könnyen elreagál. Sajnos pont ezért nem lehet sem a CDI-aktivációnál, sem az *N*-acilezésnél metanol oldószert használni, általában vízmentes THF-ben valósítják meg ezeket a reakciókat [56]. Úgy találtam, hogy az aktiváció teljes lejátszódásához szükséges idő nagyban függ a karbonsav láncának hosszúságától. Hexánsav esetén 15 percet, míg nonánsav esetén akár már 45 percet is igénybe vett ez a folyamat. A reakció a keletkező CO₂ buborékolásával nyomon követhető, szakaszosan a reakció végpontja könnyen meghatározható egy lombikra szerelt buborékoló segítségével. Előkísérleteim alapján az optimális CDI mennyiséget 1,05 ekvivalensnek találtam, így az oldószerben található minimális mennyiségű vízzel elreagálva még mindig marad elég CDI az aktiváció teljes lejátszódásához.

Szakaszosan az *N*-acilezés gyakorlatilag egy one-pot reakcióban valósítható meg, ahol először a vanillil-amin-hidrokloridból (**34**) felszabadítottam az amint. Az előkísérletek alapján ehhez legalább 1,1 ekvivalens trietil-aminra volt szükség. A felszabadított aminhoz adtam hozzá az aktivált karbonsavat (**50**) tartalmazó oldatot, és a reakcióelegyet 65–70 °C-on refluxáltattam (28. ábra). A reakció feldolgozása és a nyerstermék (**2**) oszlopkromatográfiás tisztítása után 68%-os termelést értem el.



28. ábra: Nonivamid (2) előállítása hagyományos, szakaszos módon

Mellékreakcióként diacilezés lépett fel, amikor nemcsak az amino, hanem a fenolos hidroxilcsoport is megacileződött, a melléktermék aránya átlagosan 10%-nak adódott a feldolgozott nyerstermékben.

3.3.2. *N*-Acilezési lépés optimalizálása folyamatos rendszerben

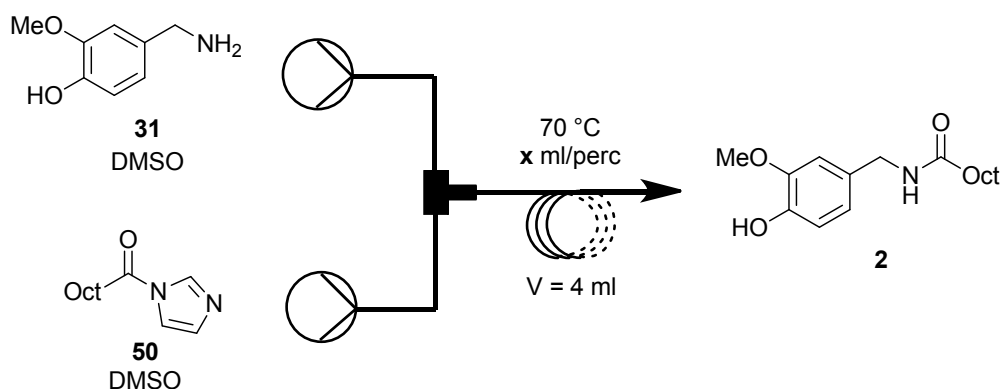
Mielőtt a kapszaicinoid molekulakönyvtárát létrehoztam volna, áramlásos kémiai rendszerre optimalizálnom kellett az *N*-acilezés körülményeit. A molekulakönyvtár legtöbb tagját vanillil-aminból (**31**) terveztem előállítani, hiszen ahogyan az irodalmi részben azt bemutattam, a vanillil-aminból készült kapszaicinoidok rendelkeznek a legnagyobb biológiai hatással. Meglepődve tapasztaltam, hogy a vanillil-amin (**31**) nem oldódott fel THF-ben, ezért a későbbi dugulási problémák elkerülésére más, aprotikus oldószert kellett találnom, amiben az amin feloldódik. Úgy találtam, hogy a vanillil-amin (**31**) dimetil-formamidban (DMF), valamint dimetil-szulfoxidban (DMSO) jól oldódik. A DMF nem a legjobb választás ehhez az acilezési reakcióhoz, mivel dimetil-amint tartalmazhat, ami a vanillil-aminhoz (**31**) hasonlóan el tud reagálni a nonánsav imidazol-amidjával (**50**). Így végső választásom a DMSO-ra esett. A DMSO feloldja a vanillil-amin-hidroklorid sóját (**34**) is, de úgy döntöttem, hogy inkább a szabad amint alkalmazom az acilezéseknél, mivel az előző áramlásos kémiai rendszerben szabad aminokat kapok termékként, illetve az amin-hidroklorid csökkentett reakcióképességű az acilezésnél. Fontosnak tartom megjegyezni, hogy a legtöbb benzil-amin-származék viszonylag jól oldódik THF-ben, esetükben nem szükséges DMSO oldószert használni az acilezéskor.

A reakció optimalizálása során és a későbbi kiterjesztésnél is a CDI-aktivált karbonsav oldatát frissen, előre elkészítettem lombikban, és azt vezetem be az áramlásos kémiai rendszerbe. Ennek oka az volt, hogy a CDI-aktiváció ismeretlen ok(ok)ból csak rossz konverzióval ment végbe Asia[®] rendszerben, szakaszosan viszont 15-45 perc alatt közel teljes konverziót tudtam elérni. Az optimalizálásnál csak a termelés szempontjából legjobb tartózkodási időt kerestem, a hőmérsékletet nem változtattam, mivel szerettem volna összehasonlítani az előkísérletekben kapott termelést az áramlásos kémiai rendszerével, ugyanazon hőmérsékletet alkalmazva. Az optimalizáláshoz és a kiterjesztési reakciókhoz is Asia[®] fűtött, 4 ml-es csőreaktort használtam, és a betáplálási áramlási sebességeket 133–1000 µl/perc között változtattam (6. táblázat).

Az eredmények alapján a vizsgált tartományon jó vagy kiváló konverzióval és szelektivitással jutottam a nonivamidhoz (**2**), diacilezett vagy észter melléktermék képződését nem tapasztaltam.

Konklúzióként levonható, hogy minél hosszabb a tartózkodási idő, annál nagyobb a konverzió, ugyanakkor nagy áramlási sebesség (2000 $\mu\text{l}/\text{perc}$) mellett valószínűleg a komponensek fokozott keveredése miatt, a vártnál nagyobb konverzió mutatkozott (6. táblázat/6. kísérlet). Ezen kívül a kísérletek eredményei alapján nincs számottevő különbség az átalakulásban 8 és 15 perc tartózkodási idő között (6. táblázat/1. és 3. kísérletek), ezért érdemes lehet a termelékenység növelése céljából 8 perc tartózkodási idő mellett végezni az *N*-acilezést 15 perc helyett. A jövőben tervezem tovább optimalizálni ezt a folyamatot, 70 °C felett akár a teljes konverzió is elérhetővé válhat.

6. táblázat: Nonivamid (2) előállításának optimalizálása 70 °C-on

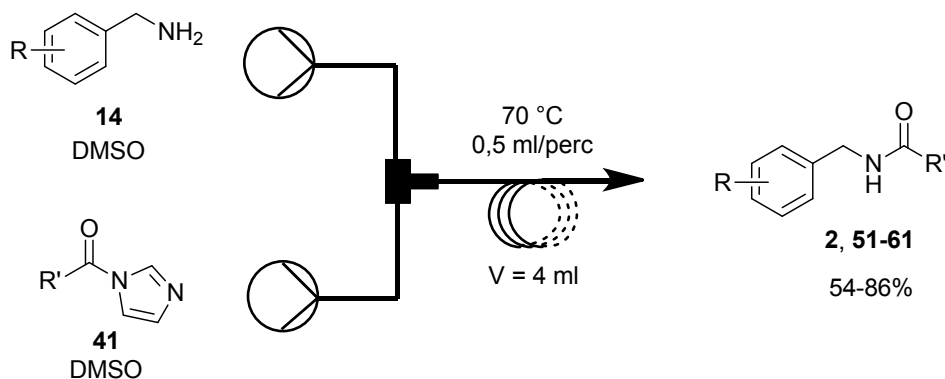


Kísérlet	Áramlási sebesség [$\mu\text{l}/\text{perc}$]	Tartózkodási idő [min]	Konverzió [%] ^a
1	266	15	90
2	400	10	87
3	500	8	89
4	667	6	81
5	1000	4	76
6	2000	2	85

^aGC alapján.

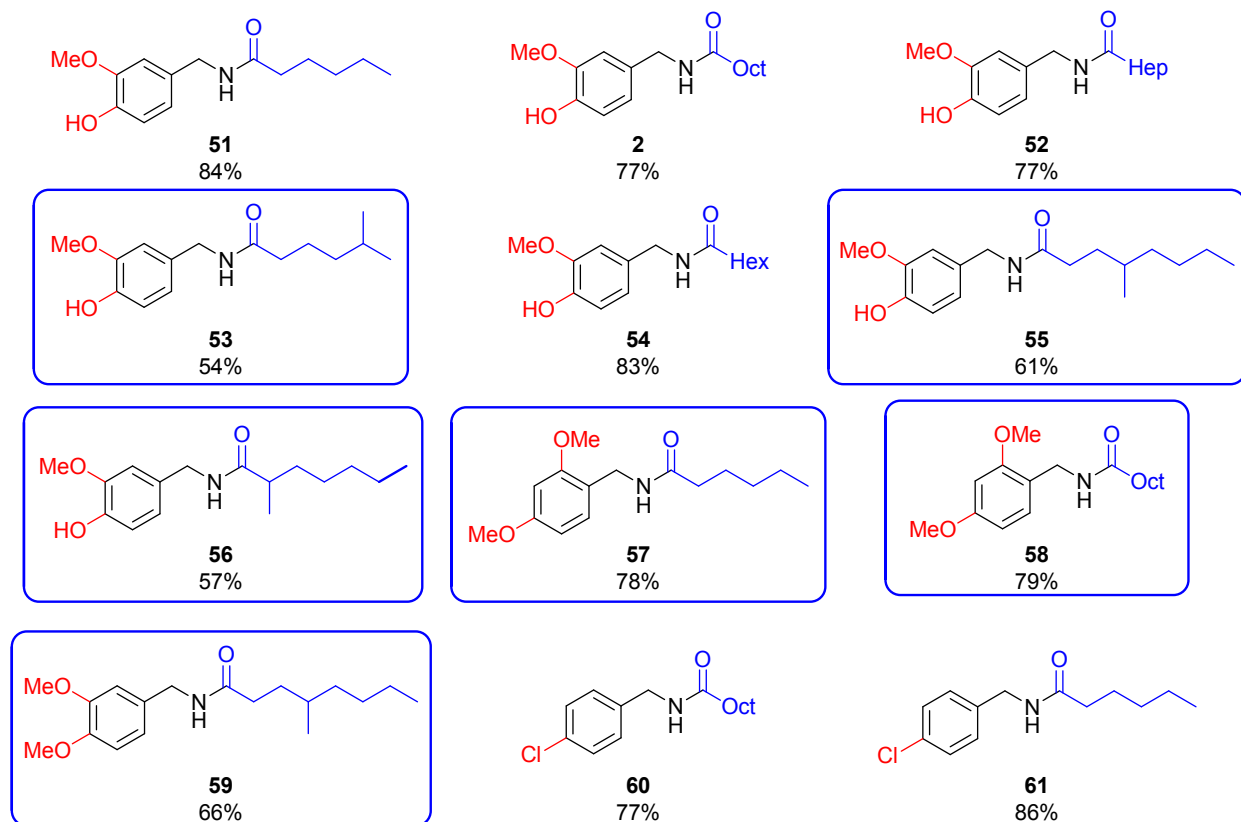
3.3.3. Áramlósos kémiai rendszerben előállított kapszaicinoidok

Az *N*-acilezés optimális tartózkodási idejének ismeretében állítottam elő a kapszaicinoid molekulakönyvtárat (29. ábra), a szubsztrátok anyagi minőségétől függően közepes vagy jó termeléssel kaptam a megfelelő kapszaicinszármazékokat termékként.



29. ábra: Kapszaicinoidok előállítása áramlósos kémiai rendszerben

A legtöbb termék vanillil-amid, ugyanakkor néhány, más benzil-amin-származékból származó amidot is előállítottam, ezen kívül több, különböző szénatomszámú karbonsavat is felhasználtam a szintézishez. A 12 előállított vegyület között 6 olyan szerepel, amit még nem írtak le az irodalomban, ezeket kerettel jelöltem (30. ábra). Általánosan kijelenthető, hogy a rövidebb láncú karbonsavakból képzett amidokat nagyobb termeléssel sikerült előállítanom, mint a hosszabb alkilláncúakat. Továbbá az elágazó oldalláncú kapszaicinoidok esetén szterikus okok miatt kisebb termelést értem el. A folyamatos technológiát összevetve a szakaszos előkészítéssel, nonivamidra (2) nézve majdnem 10%-kal nagyobb termelést tudtam elérni, miközben a reakcióidő 1 órától 8 percre csökkent.



30. ábra: Áramlásos kémiai rendszerben előállított kapszaicinoidok (2, 51-61)
(kék keretben az irodalomban eddig nem ismert vegyületek)

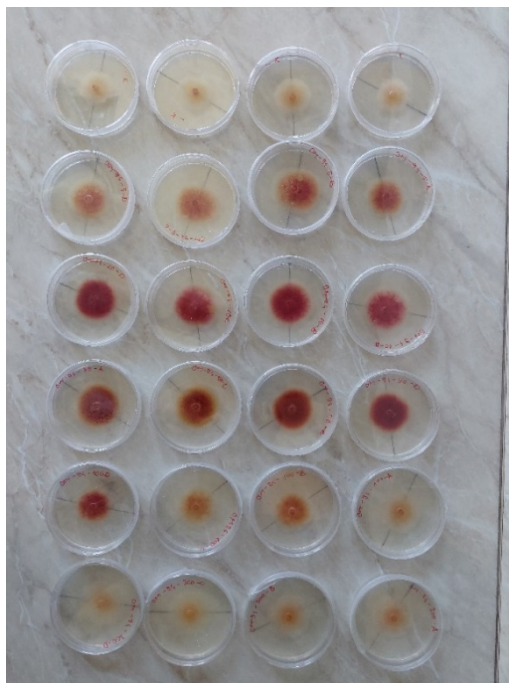
3.4. Kapszaicinoidok biológiai vizsgálatának eredményei

A kapszaicinoidok áramlásos kémiai rendszerekben történő előállításán túl, kutatómunkám célja volt a vegyületek hatásának vizsgálata a mezőgazdaságban jelentős kárt okozó *Fusarium graminearum* gombafajon. A biológiai tesztek együttműködés keretében végeztük, a Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Karának biológus kollégái segítségével. Az előállított amidokkal kétféle vizsgálatot hajtottak végre: egy mérgezett agar, illetve egy génexpressziós kísérlet sorozatot. A táptalajon végzett kísérletekhez az általuk kézhez kapott vegyületekből különböző koncentrációjú (5 mg/l, 10 mg/l, 50mg/l, 100mg/l és 200mg/l) oldatokat készítettek (31. ábra).



31. ábra: A biológiai vizsgálatokhoz használt különböző kapszaicin-származékok

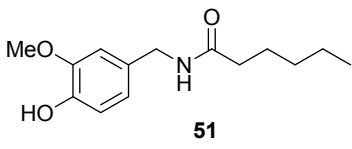
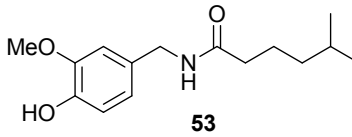
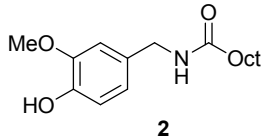
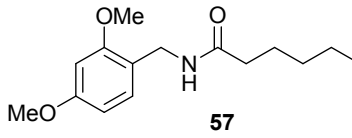
Az oldószer közönséges, kereskedelmi forgalomban kapható napraforgó olaj volt, mivel a kapszaicinoidok jól oldódnak olajban. Kísérleteik során a magyar nemzeti génbankból származó *Fusarium graminearum* gombafajjal dolgoztak. A gombát előzetesen PDA (Potato Dextrose Agar) táptalajon növesztették, majd ezekből a telepekből vágtak ki kör alakú teleprészeket és helyezték rá a különböző kapszaicinoidtartalmú oldatokkal kevert PDA táptalajra. Minden koncentrációból négy ismétlést végeztek (4 Petri-csésze anyagonként, 32. ábra).



32. ábra: A *Fusarium graminearum* gomba növesztése PDA táptalajon

A negatív és pozitív kontrol elkészítéséhez tiszta oldószert (napraforgó olajat) keverték a táptalajhoz. *Streptomycin* kezeléssel kizárták a baktériumokat a táptalajból. A pozitív kontrol táptalaj *protiokonazol*t (kereskedelmi forgalomból beszerezhető fungicid) tartalmazott. A telepek növekedését a leoltást követő 5 napon keresztül mérték vonalzó használatával (7. táblázat).

7. táblázat: A mérgezett agar-agar kísérlet eredményei

Vegyület	c [mg/l]	Gombatelep átmérője ^b [mm]				
		2. nap	3. nap	4. nap	5. nap	6. nap
 51	5	20,5±1,3	29,3±1,5	43,8±1,3	55,0±1,6	66,0±1,8
	10	20,0±0,8	29,5±1,7	42,0±1,8	54,3±1,5	64,8±1,7
	50	21,0±0,8	32,8±1,0	46,3±0,5	59,3±1,0	69,8±3,3
	100	19,8±0,5	29,8±1,0	43,8±1,0	58,3±0,5	67,0±2,5
	200	19,8±1,0	29,8±1,3	42,8±1,9	55,0±2,7	66,3±3,5
 53	10	18,8±1,3	29,5±1,7	41,8±1,9	53,3±1,7	64,5±1,7
 2	10	18,0±0,8	28,0±1,4	41,5±2,1	53,3±2,1	64,0±0,8
 57	10	25,0±0,8	36,0±2,0	52,5±0,6	66,5±1,7	77,5±1,7
Kontroll	–	19,0±0,8	28,8±2,2	37,5±1,9	47,5±3,8	55,8±4,4
Protiokonazol ^c	825	5	5	5	5	5

^aAz adatokat átlag±szórás alakban fejeztük ki.

^bAz 1. napon a telepek kezdeti nagysága minden esetben 5 mm volt.

^cA pozitív kontrol táptalajon nem nőtt telep.

Ahogy az a 32. ábrán és a 7. táblázat adatiból is látszik, a vizsgált kapszaicinoidok 5–200 mg/l koncentrációtartományon nem mutattak gombaellenes hatást, sőt, az

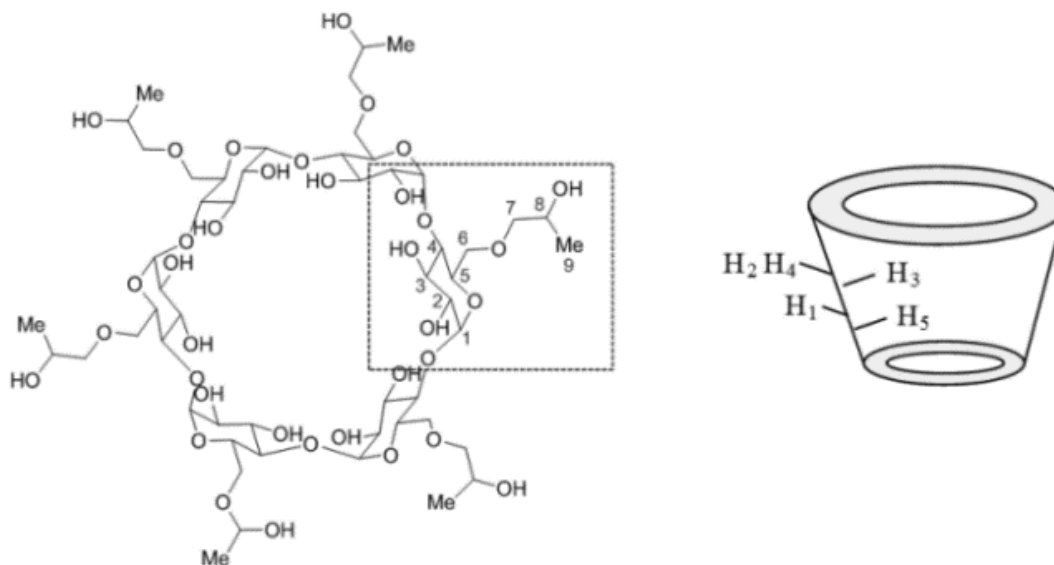
N-(2,4-dimetoxibenzil)hexánamid (**57**) még gyorsította is a gombatelep növekedését. Az utóbbi tény egy rendkívül hasznos eredménye lehet a mérgezett agar kísérletsorozatnak, hiszen a laboratóriumban a gombatelepek növesztéséhez használt bioaktivátorok nagyon drágák, *N*-(2,4-dimetoxibenzil)hexánamid (**57**) viszont az általunk kidolgozott módszerrel olcsón előállítható.

Az egészségügyi kockázatot a gabona gombafertőzése esetén leginkább a gomba által termelt toxinok jelentik. A Debreceni Egyetem munkatársai ezért génexpressziós kísérletekben vizsgálták az agaron fejlődött gombatelepeken az egyes toxinok termeléséért felelős gének kifejeződésének mértékét, PCR (Polimerase Chain Reaction) módszerrel. Ehhez először RNS-t izoláltak a Petri-csészék tartalmából, majd azt cDNS-sé írták át. A kapott géneket qPCR vizsgálatnak vetették alá, így kvantitatív eredményeket kaptak az egyes gének kifejeződésére. Úgy találták, hogy az *N*-(2,4-dimetoxibenzil)hexánamid (**57**) a kontrolhoz képest növeli a génkifejeződés mértékét, azaz fokozza a toxintermelést. A nonivamid (**2**) esetében a kontrolhoz hasonló eredményekre jutottak, ugyanakkor az *N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)-5-metilhexánamid (**53**) csökkentette a génkifejeződést, tehát gátolta a toxintermelést. A biológiai vizsgálatok konklúziójaként elmondható, hogy az eddig vizsgált kapszaicinoidok önmagukban nem viselkednek fungicidként, viszont egyes képviselőik gátolják a gombák toxintermelését. A gyenge fungicid hatás a kapszaicinoidok rossz vízoldhatóságára vezethető vissza, így az aktivitás növelése érdekében a vegyületek vízoldhatóságát ciklodextrinnel végzett komplexképzéssel terveztük elősegíteni.

3.5. Kapszaicinoidok ciklodextrin komplexeinek előállítása

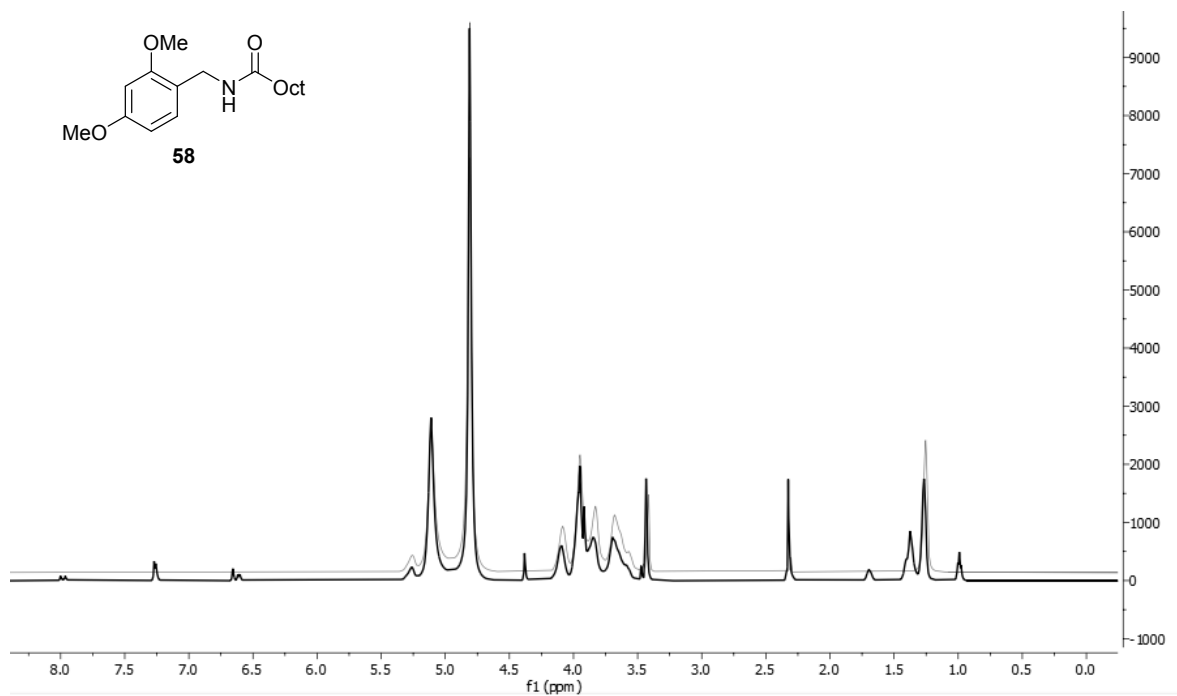
A kapszaicin és származékai alig oldhatók vízben. Úgy véljük, hogy a biológiai vizsgálatok eredményei javulni fognak, amint megnöveljük a kapszaicinoidok vízoldhatóságát. Ehhez egy olyan excípienst (gazdamolekulát) kellett keresnünk, amely erős másodrendű kölcsönhatást alakít ki az előállított amidokkal, és hidrofíl tulajdonsággal rendelkezik.

Választásunk a ciklodextrinre esett, azon belül is a hidroxipropil- β -ciklodextrinre (HP- β -CD), ahogyan azt az irodalmi bevezetőben bemutattam, az irodalmi példák többségében ezzel a származékkal végzik a kapszaicin komplexképzését. A ciklodextrinek szerkezetükből adódóan egy külső, hidrofíl, illetve egy belső, hidrofób résszel rendelkeznek. Azt vártuk, hogy a hidrofób kapszaicinoidok a HP- β -CD belső üregével fognak kölcsönhatást kialakítani, így az ott található 3-as és 5-ös pozícióban lévő hidrogének (33. ábra) eltolódását vizsgáltuk HSQC mérésekkel.

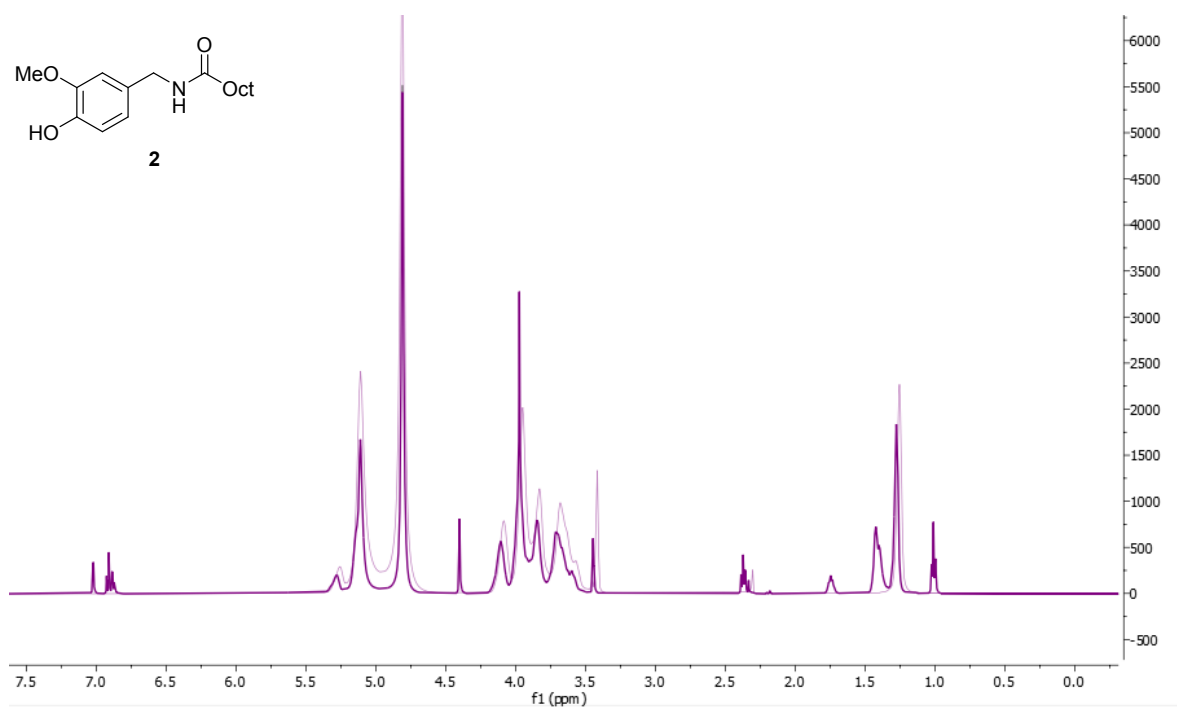


33. ábra: A HP-β-CD szerkezete, és a gyűrűben lévő CH hidrogének térbeli elhelyezkedése

A komplexképzés vizes-alkoholos közegben, lombikban történt, 1 napos kevertetés és 1:1 molarány mellett. A bepárlás után visszamaradt fehér, szilárd anyagot ¹H NMR és HSQC mérésekkel vizsgáltuk CD₃OD:D₂O=7:3 oldószerben, a kapott spektrumokat összevetettük a tiszta HP-β-CD spektrumaival (34-38. ábrák). Amennyiben megtörtént a komplexképzés, akkor szemmel látható eltolódást látunk a spektrumokon, ami jelzi, hogy kölcsönhatás alakult ki a gazda- és vendégmolekula (kapszaicinoid) között. Mind az *N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid (**58**), mind a nonivamid (**2**) HP-β-CD-vel alkotott elegyének ¹H NMR spektrumán (34-35. ábrák) láthatunk eltolódást a tiszta gazdamolekula spektrumához képest, főleg a 3,5-4,2 ppm körüli, úgynevezett magrégióban, ahol a szénhidrátgyűrűk CH csoportjainak jelei találhatók.

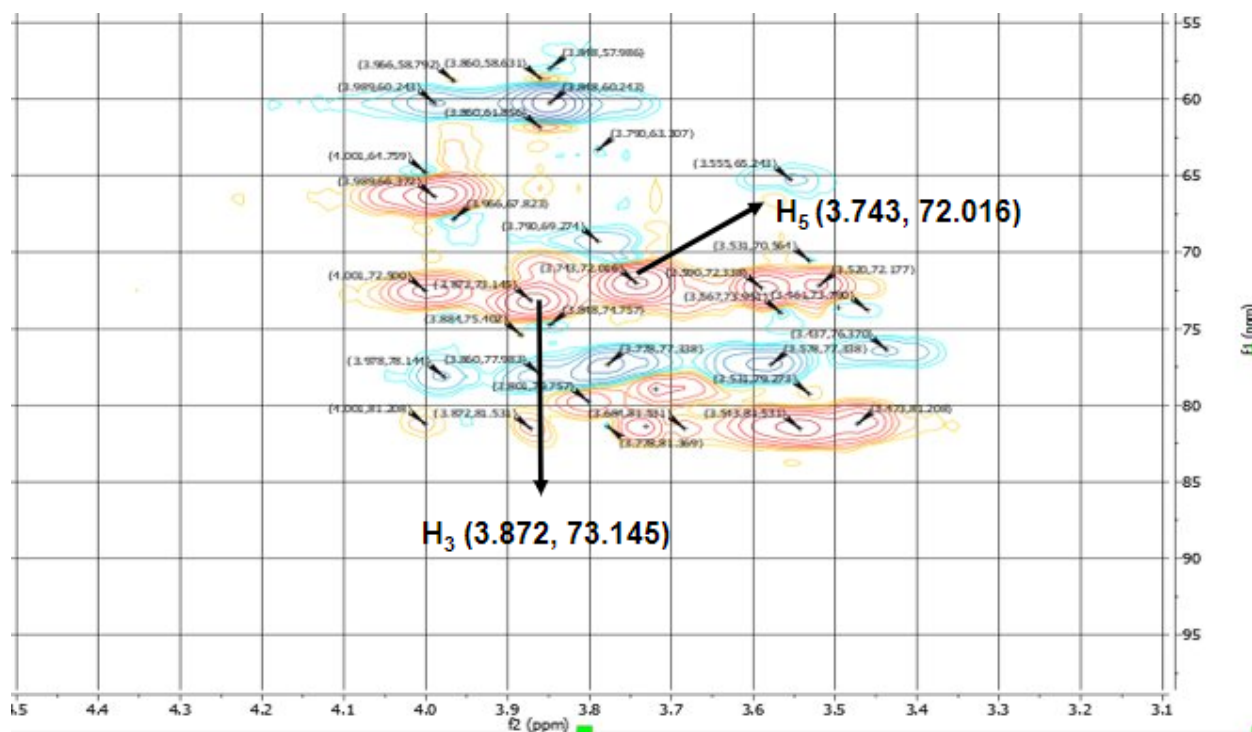


34. ábra: A HP-β-CD (világos színnel), illetve az *N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid (**58**) és a HP-β-CD elegyének (sötét színnel) közös ¹H NMR spektruma

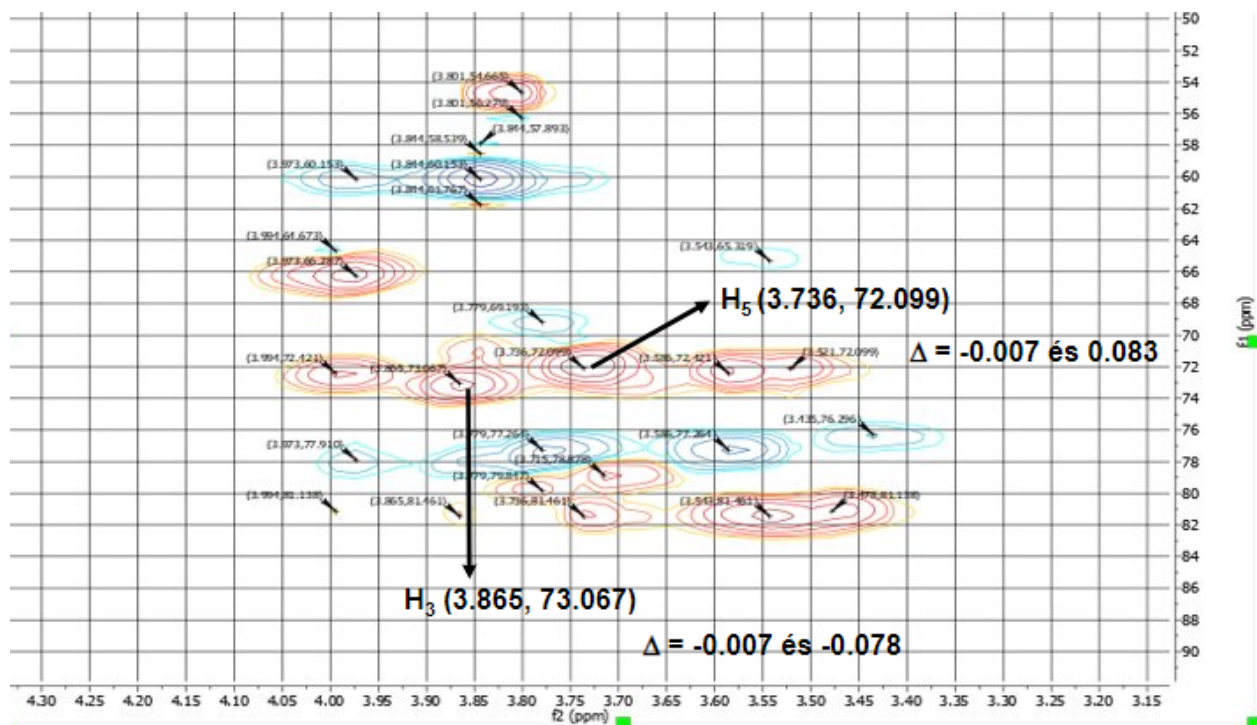


35. ábra: A HP-β-CD (világos színnel), illetve a nonivamid (**2**) és a HP-β-CD elegyének (sötét színnel) közös ¹H NMR spektruma

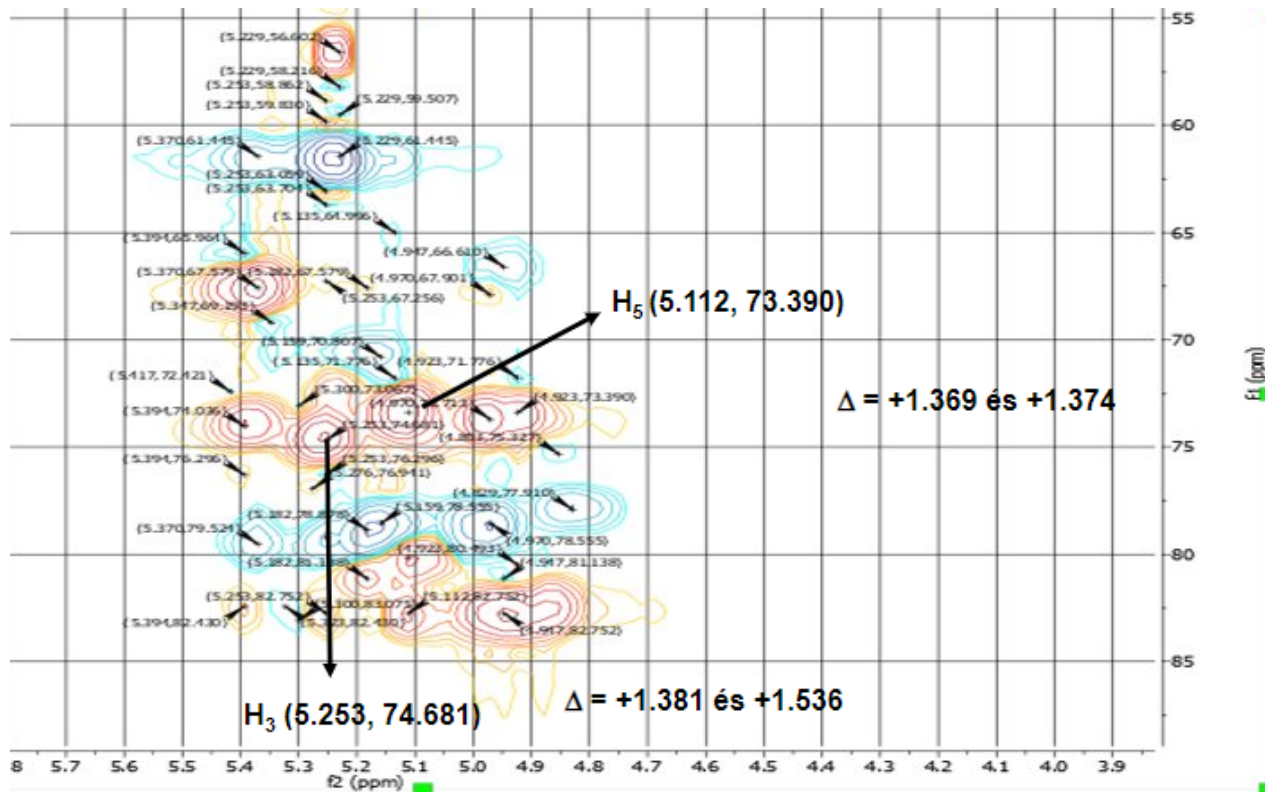
Igazi bizonyítékot a komplexképzésre azonban a HSQC spektrumok alapján (36-38. ábrák) láthatunk. *N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid (**58**) vendégmolekula esetén minimális interakció történt a HP- β -CD magrégiójának 3-as és 5-ös pozíciójú hidrogénjeivel (37. ábra), ami arra enged következtetni, hogy legfeljebb csak gyenge kölcsönhatás alakult ki. Nonivamid (**2**) esetén ugyanakkor jelentős, 1 ppm fölötti mértékű eltolódást láthatunk az eredeti ciklodextrin-származék HSQC spektrumához képest (36. ábra), így kijelenthető, hogy sikeresen előállítottuk a nonivamid HP- β -CD komplexét. A jövőben tervezzük a többi kapszaicinoid HP- β -CD-vel történő kölcsönhatásának vizsgálatát, valamint a sikeres komplexálás után a komplexek biológiai tesztelését is.



36. ábra: A tiszta HP- β -CD HSQC spektrumának részlete



37. ábra: *N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid (58) és HP- β -CD elegyének HSQC spektrumának részlete



38. ábra: Nonivamid (2) és HP- β -CD elegyének HSQC spektrumának részlete

4. Kísérletek részletes leírása

4.1. Készülékek leírása

4.1.1. Az Asia® rendszerek leírása

A benzaldehydekből kiinduló szintézis első (oximképzési) és harmadik lépését (benzil-aminok *N*-acilezése) a Syrris által gyártott Asia® rendszerekben végeztem. A szubsztrátot és a reagenst tartalmazó oldatokat az Asia® fecskendőpumpákkal juttattam a csőreaktorokba (39. ábra).



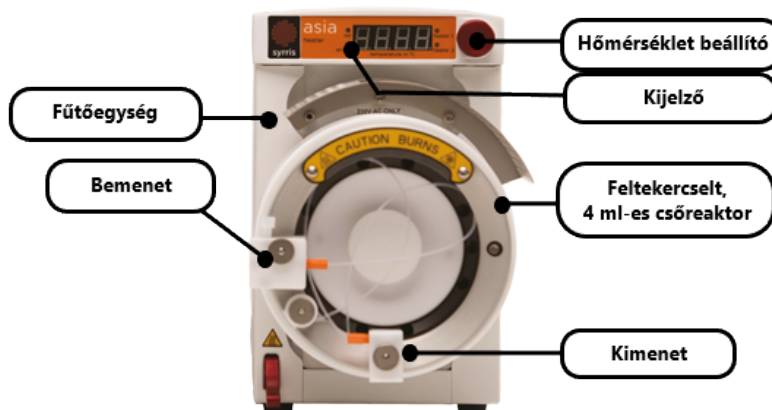
39. ábra: Asia® fecskendőpumpa

Ebben a rendszerben 2 db, egymás mellett elhelyezkedő fecskendőpumpa segítségével széles határok között (1 μ l/perc – 10 ml/perc) lehet változtatni az áramlási sebességeket a pumpák típusának megválasztásával, így két oldat vezethető be egy berendezéssel a reaktortérbe. A rendszer maximálisan 20 bar (300 psi) nyomáson üzemeltethető, és vegyszerállósága is kiemelkedő. A fecskendőpumpák további elemek megvásárlásával automatikusan, számítógép-vezérelve is működtethetők, miközben a rendszerről on-line adatok gyűjthetők. Manuálisan is egyszerű a berendezés kezelése: a felhasználói felület jobb oldalán található tekerővel gyorsan beállíthatjuk az általunk kívánt értékre az áramlási sebességeket. A kijelzőn figyelemmel kísérhetjük az éppen beállított áramlási sebességeket, valamint a kimeneteknél található nyomásérzékelők segítségével a pumpákban uralkodó nyomást.

Kutatómunkám során minden esetben az 50 μ l/perc és 1,25 ml/perc áramlási sebességek között üzemeltethető fecskendőpumpákat használtam, a reagenseket és szubsztrátokat tartalmazó oldatokat T-mixer segítségével elegyítettem. A csövek fecskendőpumpához, valamint reaktorhoz történő csatlakoztatását az Asia® saját gyártmányú fitting-jeivel oldottam meg. Az oximképzéshez

elegendő volt a rendszert szobahőmérsékleten üzemeltetni, ezért a csőreaktor szerepét ennél a lépésnél egyszerűen egy feltekercselt, 2020 mm hosszúságú, 1/16 hüvelyk (1,59 mm) átmérőjű poli(éter-éter-keton) (PEEK) látta el, ami egy 4 ml-es reakcióteret eredményezett.

A kapszaicinoidok áramlásos kémiai előállítását nem tudtam megvalósítani jó termeléssel szobahőmérsékleten, így a reakció hőmérsékletét meg kellett emelni. Ehhez az Asia[®] rendszer másik elemét, a fűthető, ugyancsak 4 ml belső térfogattal rendelkező csőreaktort használtam (40. ábra). Ez a fűthető rendszer két modulból, a csőreaktorból és a mögötte lévő fűtőegységből áll. A csőreaktor le- és felszerelhető, mivel a fűtőegységre mikroreaktor is felhelyezhető. A fűtőmodul kb. 8 °C/perc fűtési sebességgel állítja be a kívánt hőmérsékletet, a reakció végeztével pedig a csőreaktor mögött található ventilátor hűti le az egységet. A hőmérséklet egyszerűen állítható a felhasználói felület jobb oldalán lévő tekerővel, a fűtés a tekerő lenyomásával indítható el, a kijelzőn az aktuális, valamint a beállított hőmérsékletet is megtekinthetjük. Az Asia[®] csőreaktor a reaktor előtt saját, három bemenetű mixerrel rendelkezik, ezért az *N*-acilezési lépésnél nem volt szükség T-mixerre.

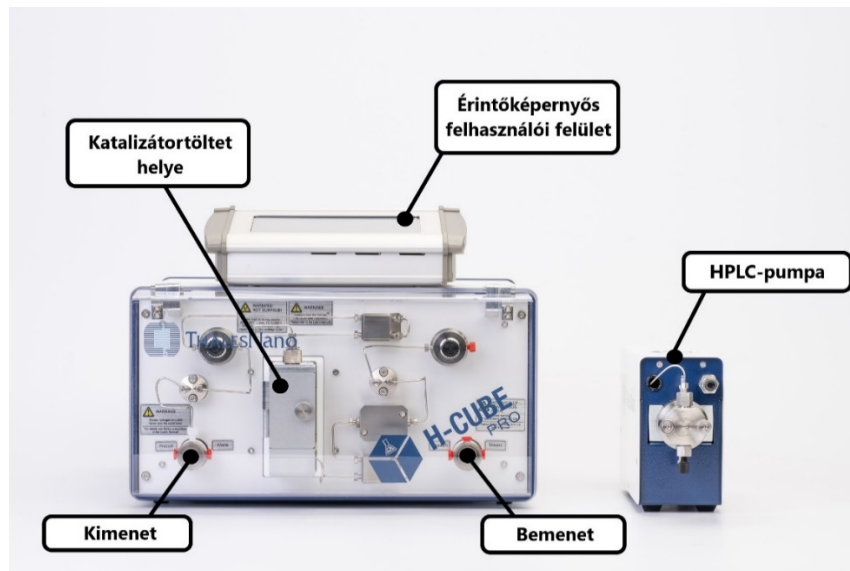


40. ábra: Fűthető Asia[®] csőreaktor

4.1.2. Az H-Cube Pro[®] rendszer leírása

A benzaldehid-oximok áramlásos kémiai úton történő hidrogénezéséhez az H-Cube Pro[®] nevű berendezést használtam, amelyet a Thales Nano gyárt. Az H-Cube Pro[®] egy széles hőmérséklet- (10-150 °C) és nyomástartományon (1-100 bar) üzemeltethető folyamatos hidrogénező reaktor (41. ábra). Hidrogénpalackra nincs szükség az üzemeltetéséhez, ugyanis egy elektrolizáló cella található benne, ami nagy tisztaságú (ionmentes) vízből akár 60 ml/perc sebességgel *in situ* állítja elő a redukcióhoz szükséges hidrogént. A berendezés lelke a hidrogénen kívül az előre megtöltött rozsdamentes acél katalizátorbetétek (CatCart[®]), amik egyszerűen cserélhetőek. A benzil-aminok

előállításához 30 mm hosszúságú Raney kobalt CatCart®-ot használtam. Az áramlási sebesség szabályozásához külön gyártott HPLC pumpára van szükség, segítségével az áramlási sebesség 0,3–3 ml/perc között változtatható. A reakció körülményeit érintőképernyőn állíthatjuk be, időzítő segítségével megadhatjuk a kívánt reakcióidőt, valamint a körülményeket a reakció közben is megváltoztathatjuk. A rendszer belső térfogata kb. 3–4 ml, a 30 mm-es katalizátortöltet belső térfogata 296 μ l.



41. ábra: Az H-Cube Pro® készülék és a hozzá tartozó HPLC-pumpa

4.1.3. Analitikai berendezések, mérések paramétereinek leírása

A gázkromatográfiás méréseket Agilent® 6890, FID detektorral rendelkező készülék segítségével végeztük el. A gázkromatográf egy 15 m $\times$ 0,18 mm-es Restek®, Rtx-5 típusú 0,20 μ m filmvastagságú kolonnát tartalmaz. A kolonna hőmérséklete 1 percig 60 °C, majd percenként 25 °C-ot emelkedik a hőmérsékletprogram, míg el nem éri a 300 °C-ot, amit 5 percen keresztül tart. Az injektor hőmérséklete 290 °C, a FID detektoré pedig 300 °C. A vivőgáz N₂.

A GC-MS felvételeket Agilent 6890 N-GC-5973 N-MSD típusú készülékkel vettük fel. A készülék egy 30 m $\times$ 0,25 mm Restek, Rtx-5SILMS típusú kolonnát tartalmaz, melyen 0,25 μ m vastagságú filmréteg van. A kolonna hőmérséklete 1 percig 45 °C, majd a hőmérséklet program percenként 10 °C-ot emelkedik, míg el nem éri a 310 °C-ot és 17 percen keresztül tartja ezt a hőmérsékletet. Az injektor hőmérséklete 250 °C. A vivőgáz He.

Az előállított vegyületek szerkezetét ¹³C és ¹H NMR spektroszkópiával igazoltuk. A ¹³C és ¹H NMR spektrumok Bruker® AV-300 vagy DRX-500 típusú spektrométerrel 75,5 és 300, vagy

125,7, illetve 500 MHz-en készültek, referenciaanyagként TMS szolgált. Oldószerként CDCl_3 vagy $\text{MeOD}:\text{D}_2\text{O}$ 7:3 elegyét használtuk a mérésekhez.

A nagyfelbontású tömegspektrometriás (HRMS) mérések TripleTOF® 5600+ típusú készülékekkel készültek, ESI pozitív ionizációs módban.

4.2. Előirat 4-etoxibenzaldehyd-oxim (44) áramlásos kémiai előállításához

1,00 mmol (0,15 g) 4-etoxibenzaldehyd (43) és 1,20 mmol (0,10 g) nátrium-acetát 10 ml-es metanolos oldatát (I-es oldat), illetve 1,20 mmol (0,08 g) hidroxil-amin-hidroklorid 10 ml-es metanolos oldatát (II-es oldat) elkészítettem. Az Asia® fecskendőpumpa-rendszert és a 4 ml térfogatú PEEK-csőreaktort a reakció megkezdése előtt 5 percen keresztül, 1 ml/perc áramlási sebességgel átmostam tiszta metanollal. Az átmosást követően az I-es és a II-es oldatokat egyenként 667 μl /perc áramlási sebességgel bevezettem az áramlásos kémiai rendszerbe 15 percen keresztül, az első 3,75 percben a rendszerből távozó folyadékot regdóba gyűjtöttem, a fennmaradó időben pedig termékgyűjtőbe. Ezután mindkét fecskendőpumpán át 667 μl /perc áramlási sebesség mellett tiszta metanolt vezettem be a rendszerbe 3,75 percen keresztül, a kilépő folyadékot még a termékgyűjtőbe szedtem. Ezt követően 5 percen át 1 ml/perc áramlási sebességgel átmostam metanollal a rendszert. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás méréssel határoztam meg. A terméket tartalmazó oldatot bepároltam, a fennmaradó szilárd anyagot etil-acetáttal mostam, szűrtem, majd a szűrletet bepároltam. A termékeket GC-MS méréssel igazoltuk.

4-etoxibenzaldehyd-oxim (44)

Elérhető termelékenység: 1,14 g/h, termelés: 91% (0,15 g), halványsárga, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 165.

4.3. Előirat 4-etoxibenzil-amin (45) áramlásos kémiai előállításához

A reakció megkezdése előtt a folyamatos hidrogénező reaktorba (H-Cube Pro®) 30 mm hosszúságú Raney-kobalt katalizátortöltetet helyeztem, majd 10 percen keresztül (1 ml/perc áramlási sebességgel) tiszta metanollal átmostam. A reaktort 120°C hőmérsékletre és 1 bar hidrogénnyomásra állítottam be. A felfűtést követően 1,00 mmol (0,17 g) 4-etoxibenzaldehyd-oxim (44) 10 ml-es ammóniás metanolos oldatát 1 ml/perc áramlási sebességgel bevezettem a rendszerbe 10 percen keresztül, az első 4 percben a távozó folyadékot regdóba, a további fennmaradó időben termékgyűjtőbe szedtem. Ezt követően 4 percen át 1 ml/perc áramlási sebességgel tiszta metanolt vezettem be, a távozó folyadékot még a termékgyűjtőbe szedtem. A rendszert 10 percen keresztül

1 ml/perc áramlási sebesség mellett átmostam tiszta metanollal. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás mérésel határoztam meg. A terméket tartalmazó oldatot bepároltam, izopropil-alkohollal mostam, szűrtem, a szűrletet bepároltam. A terméket GC-MS mérésel igazoltuk.

4-etoxibenzil-amin (45)

Elérhető termelékenység: 0,75 g/h, termelés: 96% (0,14 g), fehér, szilárd anyag, GC-MS (m/z): 151.

4.4. Előírat *N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)nonánamid (2) áramlásos kémiai előállításához

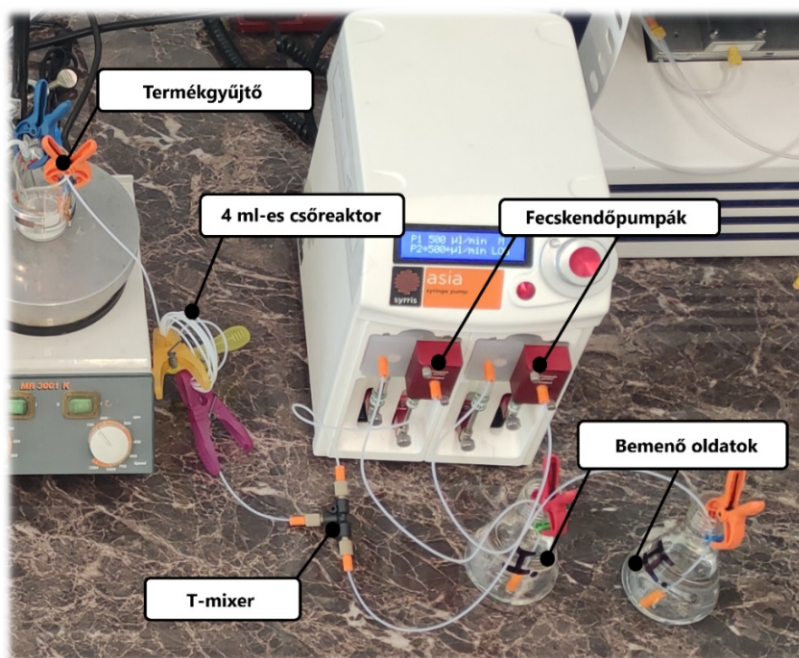
A reakció megkezdése előtt az Asia[®] rendszert 5 percen keresztül mostam DMSO-val 1-1 ml/perc áramlási sebességek mellett, közben a fűtőegységet 70 °C hőmérsékletre állítottam be, majd hagytam felmelegedni. A felfűtést és az átmosást követően a rendszerbe 1,00 mmol (0,15 g) vanillil-amin (31) 10 ml-es DMSO-s oldatát, valamint 1,00 mmol (0,21 g) 1-(1*H*-imidazol-1-il)nonán-1-on (47) 10 ml-es DMSO-s oldatát vezettem be egyenként 250 µl/perc áramlási sebességgel. A bevezetés első 10 percében a távozó folyadékot regdőba, majd 30 percig termékgyűjtőbe szedtem. Ezt követően 10 percig 250-250 µl/perc áramlási sebességek mellett DMSO-t vezettem a rendszerbe, és a távozó reakcióelegyet a termékgyűjtőbe szedtem. A rendszert a reakció után 5 percen át 1-1 ml/perc áramlási sebességek mellett DMSO-val átmostam. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás mérésel határoztam meg.

A terméket tartalmazó oldathoz 200 ml desztillált vizet adtam, majd az elegyet 3x50 ml diklórmetánnal extraháltam. A szerves fázist nátrium-szulfáttal szárítottam, szűrtem, majd bepároltam. A fennmaradó nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottam Teledyne Isco RF 200 készüléken, 10 g szilikagél tartalmazó oszloppal, hexán-etil-acetát eluenssel 0-50% gradiens mellett. A terméket tartalmazó frakciókat egyesítettem, majd bepároltam. A termék szerkezetét ¹H NMR és HR-MS vizsgálattal igazoltam.

Elérhető termelékenység: 0,34 g/h, termelés: 77% (0,23 g), fehér, kristályos anyag, ¹H NMR (CDCl₃) δ 0,86 (t, *J*_{HH} = 6,9, 3H, CH₃CH₂), 1,18–1,32 (m, 12H, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂), 1,63 (p, *J*_{HH} = 7,3, 2H, CH₂CH₂CO), 2,18 (t, *J*_{HH} = 7,6, 2H, CH₂CO), 3,85 (s, 3H, OCH₃), 4,33 (d, *J*_{HH} = 5,6, 2H, ArCH₂NH), 5,74 (s, 2H, NH és OH jelei átfednek), 6,73 (dd, *J*_{HH} = 8,0, *J*_{HH} = 1,8, 1H, C₆H), 6,78 (d, *J*_{HH} = 1,8, 1H, C₂H), 6,84 (d, *J*_{HH} = 8,0, 1H, C₅H); [M+H]⁺_{mért} = 294,2081, C₁₇H₂₈NO₃-ra számított: 294,2069.

4.5. Általános előírat aromás aldoximok (44a-44h) áramlásos kémiai előállításához

1,00 mmol aldehyd (0,15 g vanillin, 0,14 g *p*-ánizsaldehyd, 0,12 g 4-metilbenzaldehyd, 0,15 g 4-(dimetilamino)benzaldehyd, 0,14 g 4-klórbenzaldehyd, 0,17 g 4- (trifluormetil)benzaldehyd, 0,15 g 4-nitrobenzaldehyd vagy 0,21 g 9-antraldehyd) és 1,20 mmol (0,10 g) nátrium-acetát 10 ml-es telített ammóniás metanolos oldatát (I-es oldat) elkészítettem. 1,20 mmol (0,08 g) hidroxil-amin-hidroklorid 10 ml-es ammóniás metanolos oldatát (II-es oldat) elkészítettem. Az Asia[®] fecskendőpumpa-rendszert és a 4 ml térfogatú PEEK-csőreaktort a reakció megkezdése előtt 5 percen keresztül, 1-1 ml/perc áramlási sebességgel átmostam tiszta metanollal. Az átmosást követően az I-es és a II-es oldatokat egyenként 667 µl/perc áramlási sebességgel bevezettem az áramlásos kémiai rendszerbe 15 percen keresztül, az első 3,75 percben a rendszerből távozó folyadékot regdóba gyűjtöttem, a fennmaradó időben pedig termékgyűjtőbe. Ezután mindkét fecskendőpumpán át 667 µl/perc áramlási sebesség mellett tiszta metanolt vezettem be a rendszerbe 3,75 percen keresztül, a kilépő folyadékot még a termékgyűjtőbe szedtem. Ezt követően 5 percen át 1-1 ml/perc áramlási sebességgel átmostam metanollal a rendszert. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás méréssel határoztam meg. A terméket tartalmazó oldatot bepároltam, a fennmaradó szilárd anyagot etil-acetáttal mostam, szűrtem, majd a szűrletet bepároltam. A termékek szerkezetét GC-MS méréssel igazoltuk.



42. ábra: Oximképzéshez használt áramlásos kémiai rendszer

A következő vegyületeket állítottam elő:

Vanillin-oxim (44a)

Elérhető termelékenység: 0,59 g/h, termelés: 88% (0,15 g), fehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 167.

4-metilbenzaldehyd-oxim (44b)

Elérhető termelékenység: 0,49 g/h, termelés: 90% (0,12 g), fehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 135.

4-metoxibenzaldehyd-oxim (44c)

Elérhető termelékenység: 0,54 g/h, termelés: 90% (0,14 g), fehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 151.

4-(dimetilamino)benzaldehyd-oxim (44d)

Elérhető termelékenység: 0,56 g/h, termelés: 85% (0,14 g), piszkosfehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 164.

4-(trifluormetil)benzaldehyd-oxim (44e)

Elérhető termelékenység: 0,63 g/h, termelés: 83% (0,16 g), fehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 189.

4-nitrobenzaldehyd-oxim (44f)

Elérhető termelékenység: 0,52 g/h, termelés: 78% (0,13 g), halványsárga, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 166.

4-klórbenzaldehyd-oxim (44g)

Elérhető termelékenység: 0,57 g/h, termelés: 91% (0,14 g), fehér, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 156.

9-antraldehyd-oxim (44h)

Elérhető termelékenység: 0,47 g/h, termelés: 53% (0,12 g), citromsárga, kristályos anyag, GC-MS (m/z): 221.

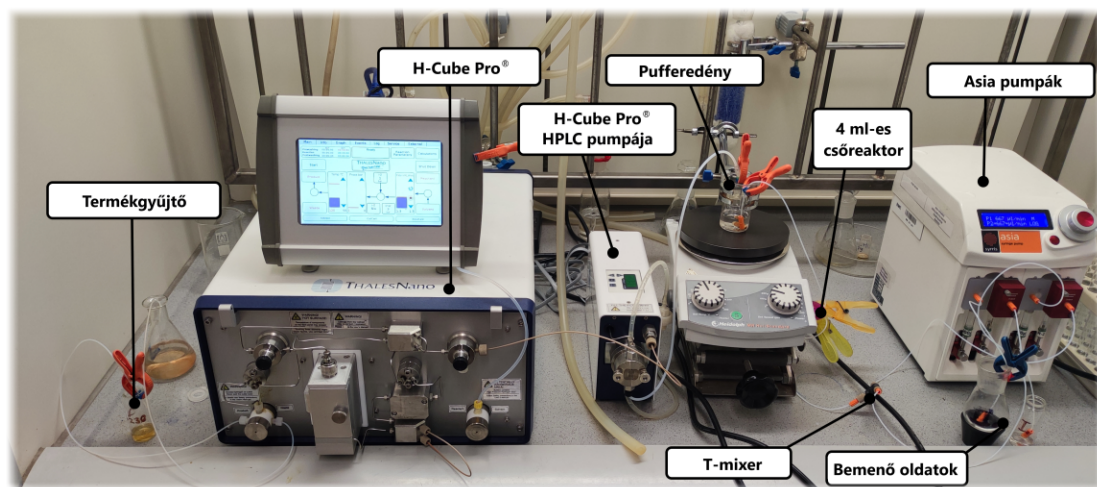
4.6. Általános előirat benzil-aminok (31, 45b-45g) és antracén-9-ilmétánamin (45h) előállításához

1,00 mmol oxim (0,15 g vanillin-oxim (44a), 0,12 g 4-metilbenzaldehyd-oxim (44b), 0,14 g *p*-ánizsaldehyd-oxim (44c), 0,15 g 4-(dimetilamino)benzaldehyd-oxim (44d), 0,17 g 4-(trifluormetil)benzaldehyd-oxim (44e), 0,15 g 4-nitrobenzaldehyd-oxim (44f), 0,14 g 4-klórbenzaldehyd-oxim (44g) vagy 0,21 g 9-antraldehyd-oxim (44h) és 1,20 mmol (0,10 g) nátrium-

acetát 10 ml-es ammóniás metanolos oldatát (I-es oldat) elkészítettem. 1,20 mmol (0,08 g) hidroxil-amin-hidroklorid 10 ml-es telített ammóniás metanolos oldatát (II-es oldat) elkészítettem.

Egy pufferedényen keresztül összekapcsoltam az oximképzéshez használt áramlásos kémia rendszert, valamint az H-Cube Pro[®] folyamatos hidrogénező reaktort. Az Asia[®] fecskendőpumpákon 1-1 ml/perc áramlási sebességet állítottam be, és elkezdtem a rendszer átmosását tiszta metanollal. 5 perc elteltével, amikor már volt elegendő folyadék a pufferedényben, 2 ml/perc áramlási sebességet állítottam be az H-Cube Pro[®] HPLC-pumpáján. A tiszta metanolos átmosást további 5 percen keresztül folytattam. Ezt követően az H-Cube Pro[®] készüléken 120°C hőmérsékletet és 1 bar hidrogénnyomást állítottunk be.

A felfűtés után megkezdtem az I-es és II-es oldatok bevezetését egyenként 650 µl/perc áramlási sebességgel az Asia[®] fecskendőpumpákkal, 3 perc elteltével a pufferedényben összegyűlt metanolt kiürítettem. A pufferedény kiürítése után 4 perccel elindítottam az H-Cube Pro[®]-ba történő betáplálást 1,3 ml/perc áramlási sebességgel. Ezután 3 perccel megkezdtem a termék szedését a hidrogénező reaktor kivezetésénél. A termékgyűjtés elkezdését követő 5,5 perc múlva (amikor elfogyott az I-es és II-es oldat) az Asia[®] pumpák bevezetéseire tiszta metanolt kötöttem, és folytattam tovább a pumpákon a betáplálást egyenként 650 µl/perc áramlási sebességgel 3 percen keresztül. Ezt követően leállítottam az Asia[®] pumpákat, majd 3 perc múlva leállítottam az H-Cube Pro[®] pumpáját is, és befejeztem a termék gyűjtését. A teljes rendszert 1-1 ml/perc (Asia pumpák), illetve 2 ml/perc (H-Cube Pro[®] pumpája) áramlási sebességgel 10 percen keresztül átmostam tiszta metanollal. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás méréssel vizsgáltam. A reakcióelegyet bepároltam, a fennmaradó szilárd anyagot izopropanollal mostam, szűrtem, a szűrletet bepároltam. A termékeket GC-MS méréssel igazoltuk.



43. ábra: Az aminképzéshez használt, összekapcsolt áramlásos kémiai rendszer

A következő vegyületeket állítottam elő:

Vanillil-amin (31)

Elérhető termelékenység: 0,42 g/h, termelés: 70% (0,11 g), halvány narancssárga, szilárd anyag, GC-MS (m/z): 153.

***p*-tolilmetánamin (45b)**

Elérhető termelékenység: 0,42 g/h, termelés: 89% (0,11 g), halványsárga olaj, GC-MS (m/z): 121.

4-metoxifenil-metánamin (45c)

Elérhető termelékenység: 0,47 g/h, termelés: 88% (0,12 g), halványsárga olaj, GC-MS (m/z): 137.

4-(aminometil)-*N,N*-dimetilanilin (45d)

Elérhető termelékenység: 0,50 g/h, termelés: 86% (0,13 g), halványsárga, szilárd anyag, GC-MS (m/z): 150.

4-(trifluormetil)fenil-metánamin (45e)

Elérhető termelékenység: 0,58 g/h, termelés: 85% (0,15 g), halványsárga olaj, GC-MS (m/z): 175.

4-(aminometil)anilin (45f)

Elérhető termelékenység: 0,49 g/h, termelés: 82% (0,12 g), narancssárga olaj, GC-MS (m/z): 152.

4-klórfenil-metánamin (45g)

Elérhető termelékenység: 0,47 g/h, termelés: 85% (0,12 g), halványsárga olaj, GC-MS (m/z): 142.

Antracén-9-ilmetánamin (45h)

Elérhető termelékenység: 0,42 g/h, termelés: 52% (0,11 g), citromsárga, szilárd anyag, GC-MS (m/z): 207.

4.7. Általános előirat kapszaicinoidok előállításához

4.7.1. Előirat *N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)nonánamid (2) hagyományos, szakaszos előállításához

3,00 mmol (0,47 g, 0,52 ml) nonánsavat (**30**) és 3,15 mmol (0,51 g) karbonil-diimidazolt hozzáadtam 10 ml vízmentes THF-hez. Az oldatot 15–45 percig kevertettem szobahőmérsékleten.

3,00 mmol (0,57 g) vanillil-amin-hidrokloridot (**34**) és 3,15 mmol (0,32 g, 0,44 ml) trietil-amint hozzáadtam 10 ml THF-hez. Az oldatot 45 percig kevertettem szobahőmérsékleten. 45 perc után az aktivált karbonsavat tartalmazó oldatot lassan, kevertetés mellett hozzáadtam az amint tartalmazó oldathoz. A keletkezett új oldatot olajfürdőben 1 órán keresztül refluxáltattam. Az 1 óra elteltével megvártam, hogy a reakcióelegy lehűljön, majd az oldhatatlan fehér kristályokat kiszűrtem. A szűrletet szárazra pároltam, majd a fennmaradó olajat 20 ml etil-acetátban oldottam.

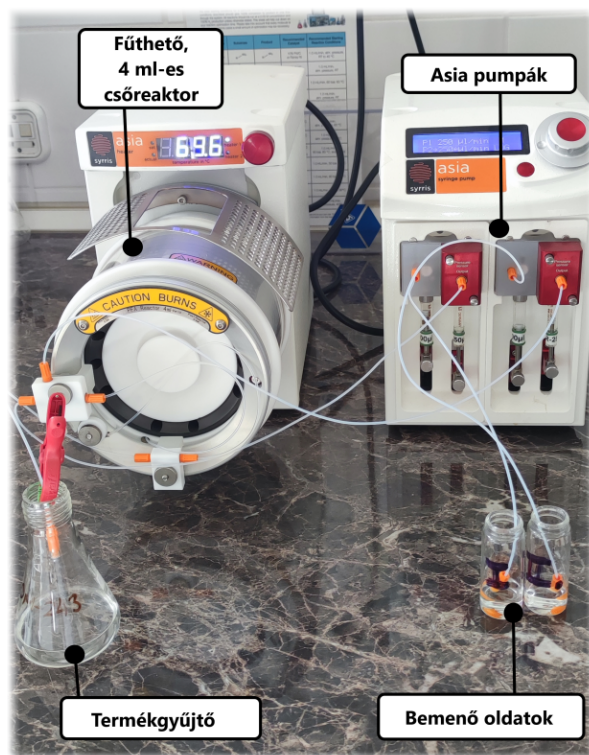
Az oldatot 2x20 ml 1M sósavval, majd 2x20 ml desztillált vízzel extraháltam, a szerves fázist nátrium-szulfáttal szárítottam, majd a nátrium-szulfátot kiszűrtem. A szárított szerves fázist bepároltam. Végül flash kromatográfiás tisztítást végeztem Teledyne Isco RF 200 készüléken, 30 g szilikagél tartalmazó oszloppal, hexán-etil-acetát eluenssel 0-50% gradiens mellett. A terméket tartalmazó frakciókat egyesítettem, majd bepároltam. A termék szerkezetét ^1H NMR és HR-MS vizsgálatokkal igazoltam (4.4. fejezet).

Termelés: 68% (0,60 g), fehér, kristályos anyag.

4.7.2. Általános előirat kapszaicinoidok (51-61) áramlásos kémiai előállításához

A reakció megkezdése előtt az Asia[®] rendszert 5 percen keresztül mostam DMSO-val 1-1 ml/perc áramlási sebességek mellett, közben a fűtőegységet 70 °C-ra állítottam be, majd hagytam felmelegedni. A felfűtést és az átmosást követően a rendszerbe 1,00 mmol benzil-amin-származék (0,15 g vanillil-amin (**31**), 0,15 ml 2,4-dimetoxibenzil-amin, 0,15 ml 3,4-dimetoxibenzil-amin vagy 0,12 ml 4-klórbenzil-amin (**45g**)) 10 ml-es DMSO-s oldatát, valamint 1,00 mmol CDI-aktivált karbonsavszármazék (0,21 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)-4-metiloktán-1-on, 0,19 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)oktán-1-on, 0,19 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)-2-metilheptán-1-on, 0,18 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)heptán-1-on, 0,18 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)-5-metilhexán-1-on vagy 0,17 g 1-(1*H*-imidazol-1-il)hexán-1-on) 10 ml-es DMSO-s oldatát vezettem be egyenként 250 μl /perc áramlási sebességgel. A bevezetés első 10 percében a távozó folyadékot regdőba, majd 30 percig termékgyűjtőbe szedtem. Ezt követően 10 percig 250-250 μl /perc áramlási sebességek mellett DMSO-t vezettem a rendszerbe, és a távozó reakcióelegyet a termékgyűjtőbe szedtem. A rendszert a reakció után 5 percen át 1-1 ml/perc áramlási sebességek mellett DMSO-val mostam át. A reakcióelegy összetételét gázkromatográfiás méréssel határoztam meg.

A terméket tartalmazó oldathoz 200 ml desztillált vizet adtam, majd az elegyet 3x50 ml diklórmetánnal extraháltam. A szerves fázist nátrium-szulfáttal szárítottam, szűrtem, majd bepároltam. A fennmaradó nyersterméket flash kromatográfiával tisztítottam Teledyne Isco RF 200 készüléken, 10 g szilikagél tartalmazó oszloppal, hexán-etil-acetát eluenssel 0-50% gradiens mellett. A terméket tartalmazó frakciókat egyesítettem, majd bepároltam. A termékek szerkezetét ^1H NMR mérésekkel (CDCl_3 illetve $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}=7:3$ oldószerben) igazoltuk, az irodalomban eddig nem tárgyalt, új vegyületekről ^{13}C NMR felvételeket is készítettünk (CDCl_3 oldószerben).



44. ábra: Kapszaicinoidok előállításához használt áramlósos kémiai rendszer

A következő vegyületeket állítottam elő:

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)hexánamid (51)**

Elérhető termelékenység: 0,32 g/h, termelés: 84% (0,21 g), színtelen olaj, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,87 (t, $J_{\text{HH}} = 6,8$, 3H, CH_3CH_2), 1,23–1,36 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,63 (p, $J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,17 (t, $J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H, CH_2CO), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 4,33 (d, $J_{\text{HH}} = 5,6$, 2H, ArCH_2NH), 5,75 (s, 2H, NH és OH jelei átfednek), 6,73 (dd, $J_{\text{HH}} = 8,0$, $J_{\text{HH}} = 1,9$, 1H, C_6H), 6,78 (d, $J_{\text{HH}} = 1,9$, 1H, C_2H), 6,84 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, 1H, C_5H); $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 252,1609$, $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_3$ -ra számított: 252,1599.

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)oktánamid (52)**

Elérhető termelékenység: 0,32 g/h, termelés: 77% (0,21 g), fehér, kristályos anyag, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,89 (t, $J_{\text{HH}} = 6,8$, 3H, CH_3CH_2), 1,23–1,37 (m, 8H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,66 (p, $J_{\text{HH}} = 7,3$, 2H, $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,21 (t, $J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H, COCH_2CH_2), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 4,37 (d, $J_{\text{HH}} = 5,6$, 2H, ArCH_2NH), 5,75 (s, 2H, NH és OH jelei átfednek), 6,77 (dd, $J_{\text{HH}} = 8,1$, $J_{\text{HH}} = 2,0$, 1H, C_6H), 6,82 (d, $J_{\text{HH}} = 2,0$, 1H, C_2H), 6,88 (d, $J_{\text{HH}} = 8,1$, 1H, C_5H); $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 280,1920$, $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{NO}_3$ -ra számított: 280,1912.

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)-5-metilhexánamid (53)**

Elérhető termelékenység: 0,21 g/h, termelés: 54% (0,14 g), színtelen olaj, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,85 (d, $J_{\text{HH}} = 6,8$, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1,18 (p, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$), 1,48–1,58 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1,63 (p, $J_{\text{HH}} = 7,5$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,16 (t, $J_{\text{HH}} = 7,5$, 2H, CH_2CO), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 4,33 (d, $J_{\text{HH}} = 5,7$, 2H, ArCH_2NH), 5,75 (s, 2H, NH és OH jelei átfednek), 6,74 (dd, $J_{\text{HH}} = 8,0$, $J_{\text{HH}} = 1,8$, 1H, C_6H), 6,78 (d, $J_{\text{HH}} = 1,8$, 1H, C_2H), 6,84 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, 1H, C_5H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 22,5 (2C, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 23,7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 27,8 (COCH_2), 37,0 ($\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 38,5 ($\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 43,5 (ArCH_2NH), 55,9 (OCH_3), 110,8 (C_2), 114,5 (C_5), 120,7 (C_6), 130,3 (C_1), 145,2 (C_4), 146,8 (C_3), 173,2 (NHCO); $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 266,1768$, $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NO}_3$ -ra számított: 266,1756.

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)heptánamid (54)**

Elérhető termelékenység: 0,33 g/h, termelés: 83% (0,22 g), fehér, kristályos anyag, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,85 (d, $J_{\text{HH}} = 6,7$, 3H, CH_3CH_2), 1,22–1,33 (m, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,61 (p, $J_{\text{HH}} = 7,3$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,18 (t, $J_{\text{HH}} = 7,5$, 2H, CH_2CO), 3,85 (s, 3H, OCH_3), 4,32 (d, $J_{\text{HH}} = 5,5$, 2H, ArCH_2NH), 5,73* (s, 1H, NH), 5,79* (s, 1H, OH), 6,73 (dd, $J_{\text{HH}} = 7,8$, $J_{\text{HH}} = 1,9$, 1H, C_6H), 6,78 (d, $J_{\text{HH}} = 1,9$, 1H, C_2H), 6,84 (d, $J_{\text{HH}} = 7,8$, 1H, C_5H), *felcserélhető; $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 266,1760$, $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NO}_3$ -ra számított: 266,1756.

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)-4-metiloktánamid (55)**

Elérhető termelékenység: 0,27 g/h, termelés: 61% (0,18 g), színtelen olaj, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,87 (d, $J_{\text{HH}} = 6,5$, 3H, CH_3CH), 0,88 (t, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH_2), 1,09–1,15 (m, 1H, CH^{A} , CH_3CH_2), 1,19–1,32 (m, 5H, CH^{B} , CH_3CH_2 és $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ jelei átfednek), 1,39–1,50 (m, 2H, COCH_2CH_2), 1,64–1,73 (m, 1H, CH_3CH), 2,14–2,26 (m, 2H, COCH_2), 3,86 (s, 3H, OCH_3), 4,34 (d, $J_{\text{HH}} = 5,7$, 2H, ArCH_2NH), 5,95 (s, 2H, NH és OH jelei átfednek), 6,75 (dd, $J_{\text{HH}} = 8,0$, $J_{\text{HH}} = 2,0$, 1H, C_6H), 6,80 (d, $J_{\text{HH}} = 2,0$, 1H, C_2H), 6,86 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, 1H, C_5H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 14,1 (CH_2CH_3), 19,4 (CHCH_3), 23,0 (CH_2CH_3), 29,2 (CH_2CO), 32,6* ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 32,8* ($\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$), 34,5 ($(\text{CH}_2)_2\text{CHCH}_3$), 36,4* ($\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 43,6 (ArCH_2NH), 55,9 (OCH_3), 110,8 (C_2), 114,5 (C_5), 120,8 (C_6), 130,3 (C_1), 145,2 (C_4), 146,8 (C_3), 173,4 (NHCO), *felcserélhető; $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 294,2078$, $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{NO}_3$ -ra számított: 294,2069.

***N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)-2-metilheptánamid (56)**

Elérhető termelékenység: 0,24 g/h, termelés: 57% (0,16 g), fehér, kristályos anyag, ^1H NMR ($\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}=7:3$) δ 0,89 (t, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH_2), 1,15 (d, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH), 1,22–1,33 (m, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,37–1,43 (m, 1H, CH^{A} , $\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$), 1,59–1,66 (m, 1H, CH^{B} , $\text{COCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$), 2,35–2,42 (m, 1H, COCH), 3,88 (s, 3H, OCH_3), 4,24 (d, $J_{\text{HH}} = 14,6$, CH^{A} , ArCH_2NH), 4,40 (d, $J_{\text{HH}} = 14,6$, CH^{B} , ArCH_2NH), 6,80 (dd, $J_{\text{HH}} = 8,0$, $J_{\text{HH}} = 1,9$, C_6H), 6,83 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, C_5H), 6,94 (d, $J_{\text{HH}} = 1,9$, C_2H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 14,0 (CH_3CH_2), 18,0 (CH_3CH), 22,6 (CH_2CH_3), 27,2* ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 31,8* (CHCH_2CH_2), 34,4 (CHCH_2), 41,7 (CH_3CHCO), 43,3 (ArCH_2NH), 55,9 (OCH_3), 110,6 (C_2), 114,4 (C_5), 120,6 (C_6), 130,5 (C_1), 145,1 (C_4), 146,8 (C_3), 176,6 (NHCO), *felcserélhető; $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 280,1925$, $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{NO}_3$ -ra számított: 280,1913.

***N*-(2,4-dimetoxibenzil)hexánamid (57)**

Elérhető termelékenység: 0,31 g/h, termelés: 78% (0,21 g), halványsárga olaj, ^1H NMR és ^{13}C NMR mérések folyamatban vannak. $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 266,1764$, $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{NO}_3$ -ra számított: 266,1756.

***N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid (58)**

Elérhető termelékenység: 0,36 g/h, termelés: 79% (0,24 g), halványsárga, kristályos anyag, ^1H NMR ($\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}=7:3$) δ 0,89 (t, $J_{\text{HH}} = 7,0$, 3H, CH_3CH_2), 1,19–1,34 (m, 10H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,54–1,64 (m, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2$), 2,21 (t, $J_{\text{HH}} = 7,2$, 2H, CH_2CO), 3,81* (s, 3H, 2- OCH_3), 3,84* (s, 3H, 4- OCH_3), 4,28 (s, 2H, ArCH_2NH), 6,50 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, 1H, C_6H), 7,16 (d, $J_{\text{HH}} = 8,0$, 1H, C_5H), 7,20 (s, 1H, C_3H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 14,1 (CH_3CH_2), 22,6 (CH_3CH_2), 25,8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$), 29,1–29,4 (3C, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$), 31,8 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 36,9 (CH_2CONH), 39,0 (ArCH_2NH), 55,3* (2- OCH_3), 55,4* (4- OCH_3), 98,6 (C_3), 104,0 (C_5), 118,8 (C_1), 130,4 (C_6), 158,5 (C_4), 160,5 (C_2), 173,4 (NHCO), *felcserélhető; $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 308,2229$, $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{NO}_3$ -ra számított: 308,2226.

***N*-(3,4-dimetoxibenzil)-4-metiloktánamid (59)**

Elérhető termelékenység: 0,30 g/h, termelés: 66% (0,20 g), fehér, kristályos anyag, ^1H NMR ($\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}=7:3$) δ 0,7 (t, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH_2), 0,9 (d, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH), 1,0–1,1 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,1–1,2 (m, 1H, CH_A , CH_2), 1,3–1,4 (m, 1H, CH_B , CH_2), 2,1–2,2 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 3,7 (s, 3H, OCH_3), 4,0 (d, $J_{\text{HH}} = 14,5$, 1H, CH_A , ArCH_2NH), 4,2 (d, $J_{\text{HH}} = 14,6$,

^1H , CH_B , ArCH_2NH), 6,5–6,6 (m, 2H, ArH), 6,6–6,7 (m, 1H, ArH); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 14,1 (CH_3CH_2), 19,4 (CH_3CH), 23,0 (CH_3CH_2), 29,2 (CH_2CO), 32,5* ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 32,8* ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$), 34,6 ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 36,4 ($\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 38,9 (ArCH_2NH), 55,3* (2- OCH_3), 55,4* (4- OCH_3), 98,6 (C_2), 104,0 (C_5), 118,9 (C_1), 130,5 (C_6), 158,5* (C_4), 160,5* (C_3), 173,3 (NHCO), *felcserélhető; $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 308,2237$, $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ -ra számított: 308,2226.

***N*-(4-klórbenzil)nonánamid (60)**

Elérhető termelékenység: 0,32 g/h, termelés: 77% (0,22 g), fehér, kristályos anyag, ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,89 (t, $J_{\text{HH}} = 6,9$, 3H, CH_3CH_2), 1,22–1,34 (m, 10H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1,65 (p, $J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_2$), 2,23 (t, $J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H, CH_2CO), 4,40 (d, $J_{\text{HH}} = 6,0$, 2H, ArCH_2NH), 6,17 (s, 1H, NH), 7,21 (d, $J_{\text{HH}} = 8,2$, 2H, C_2H , C_6H), 7,30 (d, $J_{\text{HH}} = 8,2$, 2H, C_3H , C_5H); $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 282,1608$, $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{ClNO}$ -ra számított: 282,1625.

***N*-(4-klórbenzil)hexánamid (61)**

Elérhető termelékenység: 0,31 g/h, termelés: 86% (0,21 g), színtelen olaj, ^1H NMR mérés folyamatban. $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{mért}} = 240,1168$, $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{ClNO}$ -ra számított: 240,1155.

4.8. Előírat a biológiai vizsgálatokhoz

4.8.1. Előírat a mérgezett agar kísérlethez

51 és **57** vegyületekből 5 mg/l, 10 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l és 200 mg/l, illetve **2**, **52**, **53** és **54** vegyületekből 5mg/l és 10mg/l koncentrációjú oldatokat készítettek. A gombát előzetesen PDA táptalajon növesztették, majd ezekből a telepekből vágtak ki kör alakú teleprészeket és helyezték rá a különböző kapszaicinoidoldatokkal kevert PDA táptalajra. Minden koncentrációból 4 ismétlést végeztek. A negatív és pozitív kontrol elkészítéséhez napraforgó olajat keverték a táptalajhoz. *Streptomycin* kezeléssel kizárták a baktériumokat a táptalajból. A pozitív kontrol 825 mg/l koncentrációban *protiokonazolt* tartalmazott. A telepek növekedését a leoltást követő 5 napon keresztül mérték vonalzóval.

4.8.2. Előírat a génexpressziós kísérlethez

Mintaelőkészítésként a gombatelepet folyékony nitrogén alatt dörzsmozsárban finom porrá őrölték. Kb. 100 mg porhoz hozzáadtak 1 ml Buffer RL oldatot és vortexelték 30 másodpercig, majd szobahőmérsékleten inkubáltak 5-10 percig. Ezt követően 400 μl RNáz és DNáz mentes vizet (továbbiakban ddH₂O) adtak a rendszerhez, majd kézzel alaposan összerázták az elegyet 15 másodpercig, majd 5-15 percig szobahőmérsékleten inkubáltak. A mintákat 12 000 g-n 15 percig

szobahőmérsékleten centrifugálták. A felülúszót átpipettázták egy új 2 ml-es Eppendorf csőbe és 0,5 térfogatnak megfelelő 100% etanolt adtak a csőbe, majd 10 másodpercig vortexeltek. Eközben előkészítették az RNA Mini oszlopot egy 2 ml-es Eppendorf csővel együtt, amelybe 600 µl mintát pipettáztak és a mintát 12 000 g-n centrifugálták 1 percig. A felülúszót félretették, majd az oszlopba 600 µl Buffer AW2 oldatot pipettáztak és 12 000 g-n centrifugáltak 1 percig. Félretették a szűrletet, de az oszlopot még tovább használták, amit üresen centrifugáltak 12 000 g-n 3 percig. Az oszlopot ezután átrakták egy tiszta 1,5 ml Eppendorf csőbe és 30-100 µl ddH₂O-t pipettáztak a membrán közepére. Lezárták a csövet és 3 percig szobahőmérsékleten inkubálták, majd 12 000 g-n centrifugálták 1 percig. Félretették a mini oszlopot és az RNS-t a későbbi felhasználásig –80 °C-on tárolták.

A továbbiakban az RNS cDNS-sé átírása történt meg. Az RNS mintákat azonos térfogatra (16 µl) hígították. 100 ng RNS-t írtak át mindegyik mintából. Az RNS-t és a desztillált vizet 96 lyukú tálca réseibe mérték be és mindegyik részbe 4 µl sötétkék színű LunaScript RT SuperMix-et pipettáztak. A tálcát konvencionális PCR készülékbe helyezték, ahol beállították a megfelelő programot. Az RNS átírás hőprofilja: 25 °C-ra 2 perc, 55 °C-ra 10 perc, 90 °C-ra 1 perc. A folyamat végén cDNS-t kaptak, melyet –20 °C-on tároltak további felhasználásig.

A géneket qPCR módszerrel vizsgálták meg, és a következő reagenseket használták fel: 5 µl 2x qPCRBIO SyGreen Blue Mix Separate-ROX, 0,4 µl Forward primer (10 µM), 0,4 µl Reverse primer (10 µM), 3 µl nukleáz mentes víz. A reagensekből keveréket készítettek és a 96 lyukú tálca réseibe 9 µl-t pipettáztak belőle, illetve 1 µl DNS-t, majd a tálca tetejét átlátszó fóliával lefedték és betették a Roche Light Cycler 96 nevű PCR készülékbe. Mintánként két párhuzamos mérést, illetve a belső kontrollból (β-tubulin) is két párhuzamos mérést végeztek. Mivel a mintákban nem stabil géneket kerestek, ezért szükség volt a β-tubulinra, ami egy belső kontroll génre. A Livak módszer segítségével elemezték ki a kapott eredményeket, hogy megtudjuk a mintákban lévő valós aurR1, PKS4, PKS13, PKS12, TRI5, TRI8, FUM1 és FUM7 expressziós szintet.

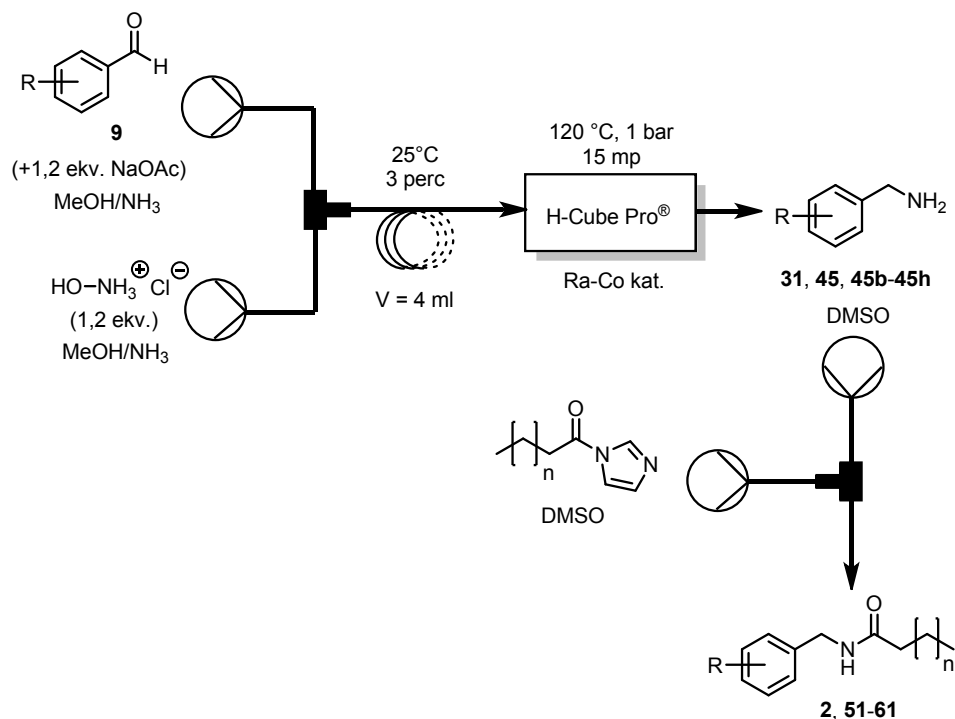
4.9. Előírat kapszaicinoidok HP-β-CD komplexének előállításához

0,25 mmol (0,35 g) hidroxpropil-β-ciklodextrin (**37**) 1,07 ml desztillált vizes oldatához 0,25 mmol (0,07 g) *N*-(4-hidroxi-3-metoxibenzil)nonánamid (**2**) vagy 0,25 mmol (0,08 g) *N*-(2,4-dimetoxibenzil)nonánamid 1 ml etanolos oldatát csepegtették. Az oldatot 500/perc fordulatszámon kevertették 24 óráig szobahőmérsékleten. A 24 óra elteltével az oldatot 1 napra fagyaszttóba helyezték, majd ezt követően 70°C-on bepárolták. A komplexképzést CD₃OD:D₂O=7:3 oldószerben végzett ¹H NMR és HSQC mérésekkel igazoltuk. A termék fehér, kristályos anyag.

5. Összefoglalás

Kutatómunkám során célul tűztük ki kapszaicinoidok és prekursoraik folyamatos, áramlásos kémiai előállítását. A szintézis három fő lépésből állt, ahol mindegyik reakciólépés optimalizálását elvégeztem választott modellreakciókon keresztül, majd az optimális körülmények ismeretében molekulakönyvtárakat állítottam elő.

Az első két lépést egy összekapcsolt rendszerben valósítottam meg, ahol benzaldehydekből (**9**) kiindulva aldoximokat (**44**, **44a-44h**), majd hidrogénezéssel benzil-aminokat (**31**, **45**, **45b-45h**) állítottam elő jó vagy kiváló kihozattal. A benzaldehydektől kapszaicinoidokig tartó folyamatos szintézist egy feldolgozás szakította meg, ahol az első két lépés oldószerétől szabadultam meg, amely összeférhetetlen lett volna a harmadik reakció követelményeivel, illetve a reakcióelegy tisztítását is elvégeztem. Az utolsó lépésben *N*-acilezést hajtottam végre, ahol az irodalomban alkalmazott aktiválószer helyett egy zöldebb aktiválószer, CDI-t használtam, mellyel az acilezés az irodalmi adatokhoz képest lényegesen rövidebb reakcióidővel és nagyobb termeléssel játszódtott le.



Szintézisem első lépését Asia[®] fecskendőpumpák segítségével végeztem. Az optimalizálásához 4-etoxibenzaldehydet alkalmaztam kiindulási anyagként, amit hidroxil-ami-hidrokloriddal reagáltattam metanolban. Vizsgáltam az oldatok betáplálási áramlási sebességének, a hőmérsékletnek, a reagens anyagmennyiségének, valamint a savmegkötő bázis hatását a

konverzióra nézve. Úgy találtam, hogy szobahőmérsékleten, 1,2 ekvivalens reagens és savmegkötő jelenlétében 3 perc tartózkodási idővel teljes átalakulás érhető el. Ily módon összesen kilenc benzaldehid-oxim-származékot állítottam elő, melyek az irodalomban már ismert vegyületek.

A második, hidrogénezési lépést H-Cube Pro[®] rendszerben valósítottam meg. Ebben az esetben modellreakcióként a 4-etoxibenzaldehid-oxim redukciója szolgált. Hamar kiderült, hogy ammóniás metanolra van szükség a mellékreakciók visszaszorításához, így ebben az új oldószerben vizsgáltam a hőmérséklet, valamint a hidrogénnyomás hatását a primer aminok részarányára nézve. A legjobb eredményeket 50 °C-on, 100 bar nyomáson és 120 °C-on 1 bar nyomáson kaptam. Ipari és gazdasági megfontolások alapján optimális körülményeknek a 120 °C-ot és az 1 bar nyomást választottam. Összesen kilenc benzil-amin-származékot állítottam elő, melyek az irodalomban már ismert vegyületek.

Az utolsó lépésben *N*-acilezést hajtottam végre néhány előállított és megvásárolt benzil-amin-származékon, 70 °C-ra melegített Asia[®] csőreaktorban. A reakció megkezdése előtt szükség volt a metanol elpárologatására, ugyanis az amidképzést CDI-aktiváción keresztül valósítottam meg, ebből a reagensből karbonsavval képződő imidazol-amid pedig rendkívül érzékeny prótikus oldószerekre. Az összes aminra nézve a DMSO bizonyult a legjobb oldószernek, és a tartózkodási idő függvényében vizsgáltam a reakció lejátszódását. Termelékenységi szempont miatt a 8 perces tartózkodási idő alkalmazása mellett döntöttem. A folyamatos technológiát összevetve a szakaszos előkísérlettel, nonivamidra (**2**) nézve majdnem 10%-kal nagyobb termelést tudtam elérni, miközben a reakcióidő így 1 óráról 8 percre csökkent. Összesen 12 kapszaicinoidot állítottam elő, melyek közül hat az irodalomban nem ismert, új vegyület.

Együttműködés keretében a Debreceni Egyetem biológusai számos általam szintetizált kapszaicin-származék fungicid hatását vizsgálták *Fusarium graminearum*, mezőgazdasági kártevő gombafajon. Kísérleteik alapján a vizsgált kapszaicinoidok nem mutattak egyértelmű gombaölő hatást, ugyanakkor néhány vegyület gátolta a gombák toxintermelését. A gyenge biocid hatást feltehetően a kapszaicinoidok rossz vízoldhatósága okozta, így a vízoldhatóság növelése érdekében elvégeztük két kapszaicinoid komplexálását hidroxipropil- β -ciklodextrinnel. Eddigi eredményeink alapján a nonivamid (**2**) komplexálását sikerült megvalósítanunk, melynek gombaölő hatásának vizsgálata folyamatban van.

6. Irodalomjegyzék

- [1] De Lourdes Reyes-Escogido, M.; Gonzalez-Mondragon, E. G.; Vazquez-Tzompantzi, E., *Molecules*, **2011**, 16, 1262.
- [2] Hayman, M.; Kam, P. C. A., *Curr. Anaesth. Crit. Care*, **2008**, 19, 341.
- [3] Basith, S.; Cui, M.; Hong, S.; Choi, S., *Molecules*, **2016**, 21, 10.
- [4] Bode, A. M.; Dong, Z., *Cancer Research*, **2011**, 2811.
- [5] Ramos-Torres, Á.; Bort, A.; Morell, C.; Rodríguez-Henche, N.; Díaz-Laviada, I., *Oncotarget*, **2016**, 7, 1570-1581.
- [6] Legin, G. Y., *Pharm. Chem. J.*, **1996**; 30, 67.
- [7] Mahmood, I.; Imadi, S. R.; Shazadi, K.; Gul, A.; Hakeem, K. R., *Plant, Soil and Microbes*, **2016**, 1, 260.
- [8] Veloso, J.; Prego, C.; Varela, M. M.; Carballeira, R.; Bernal, A.; Merino, F.; Díaz, J., *Plant Biol.* **2014**, 16, 177.
- [9] Soumya, S. L.; Nair, B. R., *J. Agric. Technol.*, **2012**, 8, 743.
- [10] Li, B.; Yang, M.; Shi, R.; Ye, M., *Nat. Prod. Commun.*, **2019**, 14, 3.
- [11] Walter, W. R., *Wax and Capsaicin Based Pesticide*, U.S. Patent 5466459, **1995**
- [12] Noland, W. E., *Chem. Rev.*, **1955**, 55, 143.
- [13] Buchbauer, G.; Spreitzer, H.; Kotlan, U., *Z. Naturforsch. B*, **1991**, 46b, 1272.
- [14] Benfield, P.; Ward, A., *Drugs*, **1986**, 32, 314.
- [15] Parghi, K. D.; Satam, J. R.; Jayaram, R. V., *Green Chem. Lett. Rev.*, **2011**, 4, 147.
- [16] Senadi, G. C.; Mutra, M. R.; Lu, T. Y.; Wang, J. J., *Green Chem.*, **2017**, 19, 4272.
- [17] Huang, H.; Si, P.; Wang, L.; Xu, Y.; Xu, X.; Zhu, J.; Jiang, H.; Li, W.; Chen, L.; Li, J., *ChemMedChem*, **2015**, 10, 1196.
- [18] Yang, R.; Zhang, Y.; Xu, H., *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **2018**, 28, 1415.
- [19] Peerzada, M. N.; Khan, P.; Khan, N. S.; Avecilla, F.; Siddiqui, S. M.; Hassan, M. I.; Azam, A., *ACS Omega*, **2020**, 5, 22769.
- [20] De Vita, E.; Schöler, P.; Lovell, S.; Lohbeck, J.; Kullmann, S.; Rabinovich, E.; Sananes, A.; Heßling, B.; Hamon, V.; Papo, N.; Hess, J.; Tate, E. W.; Gunkel, N.; Miller, A. K., *J. Med. Chem.*, **2018**, 61, 8871.
- [21] Master, H. E.; Khan, S. I.; Poojari, K. A., *Bioorganic Med. Chem.*, **2005**, 13, 4893
- [22] Saikia, I.; Hazarika, M.; Tamuly, C., *Mater. Lett.*, **2015**, 161, 32.

-
- [23] Sun, H.; Su, F. Z.; Ni, J.; Cao, Y.; He, H. Y.; Fan, K. N., *Angew. Chemie - Int. Ed.*, **2009**, 48, 4392.
- [24] Wertz, S.; Studer, A., *Helv. Chim. Acta*, **2012**, 95, 1760.
- [25] Yu, J.; Cao, X.; Lu, M., *Tetrahedron Lett.*, **2014**, 55, 5752.
- [26] Chandrappa, S.; Umashankara, M.; Vinaya, K.; Ananda Kumar, C. S.; Rangappa, K. S., *Tetrahedron Lett.*, **2012**, 53, 2632.
- [27] Morieux, P.; Stables, J. P.; Kohn, H., *Bioorganic Med. Chem.*, **2008**, 16, 8969.
- [28] Lommen, G. Van; De Bruyn, M.; Schroven, M.; Verschueren, W.; Janssens, W.; Verrelst, J.; Leysen, J., *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5, 2650.
- [29] Nair, U. R.; Sivabalan, R.; Gore, G. M.; Geetha, M.; Asthana, S. N.; Singh, H., *Combust. Explos.*, **2005**, 41, 122.
- [30] Hartung, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **1928**, 50, 3371.
- [31] Yasuko, K.; Tadahiro, K., *Chem. Soc. Japan*, **1993**, 5, 504.
- [32] Kametani, T.; Nomura, Y., *Chem. Soc. Japan*, **1954**, 74, 414.
- [33] Abiraj, K.; Gowda, D. C., *Synth. Commun.*, **2004**, 34, 602.
- [34] Sadighnia, L.; Zeynizadeh, B., *J. Iran. Chem. Soc.*, **2015**, 12, 875.
- [35] Yu-Qing, C.; Rui-Yan, L.; An-Li, Q.; Yuan-Yuan, J., *Org. Chem. An Indian J.*, **2009**, 5, 412.
- [36] Liu, Y.; Quan, Z.; He, S.; Zhao, Z.; Wang, J.; Wang, B., *React. Chem. Eng.*, **2019**, 4, 1149.
- [37] Jones, R. V.; Godorhazy, L.; Varga, N.; Szalay, D.; Urge, L.; Darvas, F., *J. Comb. Chem.*, **2006**, 8, 112.
- [38] Kaga, H.; Miura, M.; Orito, K., *J. Org. Chem.*, **1989**, 11, 3477.
- [39] Travis, B. R.; Sivakumar, M.; Hollist, G. O.; Borhan, B., *Org. Lett.*, **2003**, 5, 1033.
- [40] Zimmermann, F.; Meux, E.; Mieloszynski, J. L.; Lecuire, J. M.; Oget, N., *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 3202.
- [41] Kawasumi, R.; Narita, S.; Miyamoto, K.; Tominaga, K. I.; Takita, R.; Uchiyama, M., *Sci. Rep.*, **2017**, 7, 6.
- [42] Matsusaki, Y.; Yamaguchi, T.; Tada, N.; Miura, T.; Itoh, A., *Synlett*, **2012**, 23, 2061.
- [43] Bonaparte, A. C.; Betush, M. P.; Panseri, B. M.; Mastarone, D. J.; Murphy, R. K.; Murphree, S. S., *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1448.
- [44] Ride, E. E.; Ruhoff, J. R., *Org. Synth.*, **1936**, 16, 60.

- [45] Anderson, M.; Afewerki, S.; Berglund, P.; Córdova, A., *Adv. Synth. Catal.*, **2014**, 356, 2117.
- [46] Kananovich, D. G.; Zubrytski, D. M.; Kulinkovich, O. G., *Synlett*, **2010**, 7, 1045.
- [47] Shailesh, S.; Bharat, S.; Ashish, J.; Vinod, G.; Vikram, D., 3638MUM2013 Indian Patent, **2003**.
- [48] Wimmer, T., *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, **2003**, 30.
- [49] Zhao, Y.; Sun, C.; Shi, F.; Firemong, C. K.; Yu, J.; Xu, X.; Zhang, W., *Pharm. Biol.*, **2016**, 54, 137.
- [50] Gustafsson, H.; Åkesson, J.; Lau, C. L.; Williams, D.; Miller, L.; Yap, S.; Rolan, P., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **2009**, 68, 512.
- [51] Zi, P.; Yang, X.; Kuang, H.; Yang, Y.; Yu, L., *Int. J. Pharm.*, **2008**, 358, 152.
- [52] Shen, C.; Yang, X.; Wang, Y.; Zhou, J.; Chen, C., *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2012**, 72, 264.
- [53] Reeve, W.; Christian, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 78, 860.
- [54] Gebauer-Henke, E.; Leitner, W.; Prokofieva, A.; Vogt, H.; Müller, E. T., *Catal. Sci. Technol.*, **2012**, 2, 2544.
- [55] Yuan, Z.; Liu, B.; Zhou, P.; Zhang, Z.; Chi, Q., *J. Catal.*, **2019**, 370, 354.
- [56] Al-Sanea, M. M.; Gotina, L.; Mohamed, M. F. A.; Parambi, D. G. T.; Gomaa, H. A. M.; Mathew, B.; Youssif, B. G. M.; Alharbi, K. S.; Elsayed, Z. M.; Abdelgawad, M. A.; Eldehna, W. M., *Drug Des. Devel. Ther.*, **2020**, 14, 499.