Magyar Kémikusok Egyesülete Csongrád Megyei Csoportja és a Magyar Kémikusok Egyesülete rendezvénye



XLII. Kémiai Előadói Napok

Előadás összefoglalók

Szegedi Akadémiai Bizottság Székháza Szeged, 2019. október 28-30. Szerkesztették

Ádám Anna Adél, SZTE TTIK Szerves Kémia Tanszék

Ziegenheim Szilveszter SZTE TTIK Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék

Lektorálta

Dr. Pálinkó István, egyetemi tanár a Magyar Kémikusok Egyesületének főtitkára SZTE TTIK Szerves Kémia Tanszék

ISBN 978-615-6018-01-4

A MAGYAR KÉMIKUSOK EGYESÜLETE ÁLTAL NÍVÓDÍJJAL KITÜNTETETT DIPLOMADOLGOZATOK A 2019. ÉVBEN

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Bognár Zsófia: Enzimatikus eljárások alkalmazása mikroRNS-ek multiplex meghatározásához képalkotó felületi plazmon rezonanciával
Decsi Balázs: Metalloporfirin alapú biomimetikus oxidáló rendszer fejlesztése és alkalmazása töltött ágyas reaktorban
Mayer Szabolcs: Új, várhatóan daganatellenes hatású Vinca alkaloid- és flavonoid-

származékok szintézise

Debreceni Egyetem

Buglyó Balázs: Domino gyűrűzárási reakciók vizsgálata kondenzált királis O-heterociklusok előállítására

Eötvös Lóránd Tudományegyetem

Fecske Dóra: Hiperelágazásos poliglicidol és poli(tetrahidrofurán) alapú ABA triblokkkopolimerek mint önszerveződő gyógyszerhordozó nanorészecskék
Kissné Menkó Orsolya: A kémiai és fizikai tévképzetek fejlődésének vizsgálata
Simkó Irén: On the computation of bound and unbound rovibrational states of weakly-bound molecular systems
Zagyva Tamás: Examination of novel electrosprayed biogenic hydroxíapatite coatings on

Si₃N₄ and Si₃N₄/MWCNT ceramic composite

Miskocli Egyetem

Prekob Ádám: Nitrobenzol katalitikus hidrogénezése szén nanocső hordozós katalizátorok alkalmazásával

Sikora Emőke: Klorát ionok katalitikus hidrogénezése nanoszerkezetű katalizátorok alkalmazásával

Pannon Egyetem

Gina Gunarto: Chemical and optical characterization of winter rural aerosol

Szegedi Tudományegyetem

Efremova Anastasiia: Optimizing nobel metal free catalysts for CO₂ activation towards high activity and selectivity Lantos Emese: Iminalapú oszcillátorok tervezése: iminek autokatalitikus hidrolízise

Tartalom

A MAGYAR KÉMIKUSOK EGYESÜLETE ÁLTAL NÍVÓDÍJJAL KITÜNTETETT DIPLOMADOLGOZATOK A 2019. ÉVBEN
A XLII. KÉMIAI ELŐADÓI NAPOK konferencia kiadványkötetébe benyújtott közlemények
AZ AKRIDINEGYSÉG 9-ES POZÍCIÓJÁBAN MÓDOSÍTOTT SZÁRMAZÉKOK ÉS MAKROCIKLUSOS ANALOGONJAIK SPEKTROSZKÓPIAI ÖSSZEHASONLÍTÁSA
NUKLEOZIDOK TIOLADDÍCIÓS MÓDOSÍTÁSA ÉS A TERMÉKEK BIOLÓGIAI HATÁSVIZSGÁLATA16
SZILIKAGÉLHEZ KOVALENS KÖTÉSEKKEL RÖGZÍTHETŐ KORONAÉTER SZELEKTORMOLEKULA HETEROAROMÁS KULCSINTERMEDIEREINEK SZINTÉZISE 23
SZILÁRD HORDOZÓHOZ RÖGZÍTETT HETEROPOLISAVAK: NAGY HATÉKONYSÁGÚ KATALIZÁTOROK ALKIL-AROMÁS VEGYÜLETEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA
SZULFAMETAZIN VIZES OLDATÁNAK KEZELÉSE UV, UV/VUV FOTOLÍZISSEL, ÓZONOS KEZELÉSSEL ÉS UV/ÓZON KOMBINÁCIÓJÁVAL
AMORF SZÉN HORDOZÓN IMMOBILIZÁLT ARANY ÉS PALLÁDIUM NANORÉSZECSKÉK SZINTÉZISE ÉS FELHASZNÁLÁSA A SZÉN-DIOXID ELEKTROKATALITIKUS REDUKCIÓJÁBAN42
KÉTFÁZISÚ KIOLDÓDÁSVIZSGÁLATI MÓDSZER FEJLESZTÉSE EGY ROSSZ VÍZOLDHATÓSÁGÚ HATÓANYAG KÜLÖNBÖZŐ KRISTÁLYMÓDOSULATAINAK EGYIDEJŰ KIOLDÓDÁS ÉS FELSZÍVÓDÁS VIZSGÁLATÁHOZ
FOTOINICIÁLT TIOL-ÉN ADDÍCIÓS REAKCIÓK TELÍTETLEN MONO- ÉS DISZACHARIDOKON
KVARCÜVEG HORDOZÓN KOVALENSEN RÖGZÍTETT KORONAÉTER ALAPÚ DIREKT OPTÓDMEMBRÁN FEJLESZTÉSE ÉS ALKALMAZÁSA Zn ²⁺ SPEKTROFLUORIMETRIÁS ANALÍZISÉBEN
SZÉRUM ALBUMIN ALAPÚ KOMPOZITOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI ÉS SZERKEZETI JELLEMZÉSÜK
DIZÁJNER DROGOK ÉS METABOLITJAIK AZ IGAZSÁGÜGYI GYAKORLATBAN
ÚJ BIOMIMETIKUS KATALIZÁTOR CSALÁD KIFEJLESZTÉSE GYÓGYSZERMETABOLITOK SZINTÉZISÉRE
ANTIVIRÁLIS NEURAMINSAV-SZÁRMAZÉKOK SZINTÉZISE
SZEKUNDER FOSZFINOXID EGYSÉGET TARTLAMAZÓ, 18-KORONA-6-ÉTEREK ELŐÁLLÍTÁSA90
NEONIKOTINOID TARTALMÚ VIZEK HETEROGÉN FOTOKATALITIKUS KEZELÉSE 97
HIDROBENZOIN-ALAPÚ ÚJRAHASZNÁLHATÓ KIRÁLIS KORONAÉTEREK SZINTÉZISE ÉS ALKALMAZÁSA
RÉTEGES KETTŐS- ÉS HÁRMAS HIDROXIDOK ELŐÁLLÍTÁSA, SZERKEZETÜK JELLEMZÉSE Hiba! A könyvjelző nem létezik.
BODIPY-ÖSZTRADIOL KONJUGÁTUMOK SZINTÉZISE 117

FENOTIAZIN KARBONSAVAK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS INTERKALÁLÁSA RÉTEGES KETTŐ HIDROXIDOKBA	о́я 123
ELTÉRŐ SZERKEZETŰ FELÜLETAKTÍV ANYAGOK ALKOTTA MICELLÁK KÉPZŐDÉSÉNEK VIZSGÁLATA KALORIMETRIÁS MÓDSZERREL	130
MÉRETKIZÁRÁSOS MEMBRÁN MINT A LIPIDMEMBRÁNOK ALTERNATÍVÁJA	135
NAFTOXAZINON-SZÁRMAZÉKOK EGYEDÉNYES ÉS KÉTLÉPÉSES SZINTÉZISE T3P® FELHASZNÁLÁSÁVAL	142
RIFAMPICIN POLIASZPARTAMID NANOSZÁLAS FORMULÁJÁNAK ELŐÁLLÍTÁSA SZEMÉSZETI ALKALMAZÁSRA	149
KELÁTKÉPZŐK INHIBÍCIÓS HATÁSA GIPSZ KRISTÁLYOSODÁSÁRA Hiba! A könyvje nem létezik.	elző
2019. ÉVI KÉMIAI ELŐADÓI NAPOKAT TÁMOGATTÁK:1	161

A XLII. KÉMIAI ELŐADÓI NAPOK konferencia kiadványkötetébe benyújtott közlemények

AZ AKRIDINEGYSÉG 9-ES POZÍCIÓJÁBAN MÓDOSÍTOTT SZÁRMAZÉKOK ÉS MAKROCIKLUSOS ANALOGONJAIK SPEKTROSZKÓPIAI ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Ádám Bálint Árpád^a, Vezse Panna^a, Golcs Ádám^a, Tóth Tünde^{a,b}, Huszthy Péter^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3. ^bEnergiatudományi Kutatóközpont, 1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33.

Kutatómunkánk során célul tűztük ki az általunk korábban előállított 9-szubsztituált akridinek fotofizikai tulajdonságainak és koronaéter-származékaik enantiomer-felismerőképességének vizsgálatát. Ezen tulajdonságok jól tanulmányozhatók UV/Vis, illetve fluoreszcencia spektroszkópiával. Egy makrociklus optikai érzékelőként történő felhasználását két dolog befolyásolja. Egyrészt, hogy a gazdamolekula milyen mértékben képes megkülönböztetni a vendégmolekulát a molekulahalmaz többi tagjától, másrészt milyen hatékonyan tudja ezen felismerést detektálható jellé alakítani. Az indukált jel erősségét a fluoreszcencia-kvantumhatásfokkal, míg a szenzor érzékenységét a szabad gazdamolekula és a komplex kvantumhatásfok-különbségével jellemezhetjük. A kvantumhatásfok megmutatja, hogy az abszorbeált fotonok hányada járul hozzá a fotonemissziós energiatranszfer létrejöttéhez.

Munkánk során vizsgáltuk két, általunk korábban szintetizált enantiomertiszta makrociklus (**1. ábra**) biogén, protonált primer aminok enantiomerjeivel szemben mutatott szelektivitását UV/Vis, valamint fluoreszcencia spektroszkópiával.



1. ábra A vizsgált koronaéterek

A mérések során a koronaéterek 5 μM-os acetonitriles oldatát titráltuk enantiomertiszta feniletilammónium-perklorát (PEA*HClO₄) acetonitriles oldatával, majd figyeltük az elnyelési, valamint emissziós spektrumban történő változásokat. Elsőként az (S,S)-1 koronaétert titráltuk (R)-PEA*HClO₄-tal, majd (S)-PEA*HClO₄-tal. A 2. ábrán látható, hogy a titrálás során nem történik változás az UV spektrumban. A 230 nm hullámhossz alatti abszorbancia növekedés a PEA só elnyeléséből ered.



2. ábra Az (S,S)-1 koronaéter UV-abszorpciós spektruma (R)-PEA*HClO₄-tal titrálva (A), valamint az ammónium só elnyelése (B)

Komplexképzés hiányában az (S,S)-1 koronaéter fotofizikai tulajdonságai nem változtak meg, így ezen makrociklus nem használható optikai enantiomerszenzorként. A jelenség magyarázata lehet, hogy a vizsgált só ammónium protonja intermolekuláris hidrogénkötést alakít ki a koronaéter karbonilcsoportjával, gátolva ezzel a komplexképzést.

A méréseket az (S,S)-2 koronaéterre is elvégeztük az előzővel egyező módon (3. ábra).



3. ábra Az (S,S)-2 koronaéter UV-abszorpciós spektruma példaként (R)-PEA*HClO₄-tal titrálva (A), valamint a titrálási görbe λ=265 nm-en (B)

A titrálási görbén (**3. ábra/B**) látható, hogy a PEA*HClO₄ enantiomerekkel képzett komplexek jelképzése között különbség van, mely az eltérő komplexstabilitásra vezethető vissza.

A titrálást fluoreszcencia intenzitás-változás vizsgálatával is elvégeztük (**4. ábra/A**), illetve felvettük a titrálási görbét (**4. ábra/B**). Az (*S*,*S*)-2 koronaéter PEA enantiomerekkel képzett diasztereomer komplexeire a komplexstabilitási állandó meghatározása céljából a teljes hullámhossztartományon globális, nemlineáris függvényeket illesztettünk (**4. ábra/C**). Az abszorpciós és az emissziós spektrumok között átlapolás nincs, így önabszorpcióval és az ebből származó hibával nem kell számolnunk.



4. ábra Az (*S*,*S*)-2 koronaéter (λ_{exc} =265 nm) emissziós spektruma példaként (*R*)-PEA*HClO₄-tal titrálva (**A**), a titrálási görbe λ =465 nm-en (**B**), illetve a teljes hullámhossztartományon illesztett regressziós függvények (**C**)

Számításaink alapján a komplexképzés során az 1:1 ammóniumion:koronaéter komplexsztöchiometria kedvezményezett. Várakozásainknak megfelelően homokirális preferencia érvényesül, vagyis az (S,S)-2 koronaéter erősebb komplexet képez a protonált amin (S)-enantiomerével. A fenti mérésekkel, illetve számítással analóg módon további három ammónium-perklorát sóra is meghatároztuk a stabilitási állandókat (5. ábra).

(R)-3 $5,45 \pm 0,005$ $0,19$ (S)-3 $5,64 \pm 0,005$ $0,19$ (R)-4 $5,56 \pm 0,03$ $0,11$ (S)-4 $5,67 \pm 0,03$ $0,11$	× ^{ŇH} 3
(S)-3 $5,64 \pm 0,005$ $0,19$ (R)-4 $5,56 \pm 0,03$ $0,11$ (S)-4 $5,67 \pm 0,03$ $0,11$	\searrow
$\begin{array}{c cccc} (R)-4 & 5,56 \pm 0,03 \\ \hline (S)-4 & 5,67 \pm 0,03 \\ \hline \end{array} 0,11 \\ \hline \end{array} 0,11 \\ \hline \end{array}$	
(S)-4 5 67 + 0.03 0,11	(R)-4 (S)-4
	0 +
(<i>R</i>)-5 $5,36 \pm 0,02$ 0.12 H_3CO $*$ NH_3 H_3CO	
(S)-5 $5,24 \pm 0,02$ 0,12	\checkmark
(<i>R</i>)-6 $4,78 \pm 0,02$	
(S)-6 $4,74 \pm 0,04$ (R)-5 (S)-5	(R)-6

5. Ábra A vizsgált ammónium-perklorát sók és a komplexek stabilitási állandói

Kísérleti tény, hogy egyedül a fenil-glicin-metilészterre érvényesül heterokirális preferencia, melyet hasonló koronaéterszármazékok esetében is tapasztaltak már [1]. A fenilalanin-metilészterrel képzett diasztereomer komplexek stabilitási állandói között nincs szignifikáns eltérés, vagyis ebben az esetben nem lép fel enantiomerszelektivitás.

További munkánk során meghatároztuk néhány heteroaromás egységén módosított koronaéter kvantumhatásfokát. A kapott értékekből látható, hogy a makrociklusok aromás egységébe épített különböző csoportok hogyan befolyásolják a jelképzési tulajdonságot. A kvantumhatásfok meghatározása a későbbi optikai szenzormolekulaként történő alkalmazáshoz szükséges előtanulmány. Munkánk során az alábbi koronaétereket vizsgáltuk (**6. ábra**).



6. ábra A referencia vegyület (7) és a vizsgált koronaéterek

A kvantumhasznosulási tényező számítása referencia értékből származtatva történt. Referenciának az akridont (7) választottuk [2]. A koronaétereket (8-13), illetve a referencia vegyületet (7) acetonitrilben oldottuk, majd felvettük gerjesztési spektrumaikat. Szemléltető példaként a **8** és a **11** koronaéter spektrumát mellékeltük (**7. ábra/A**).



illetve emissziós spektruma (B)

Ezután egy megfelelő hullámhosszon (ahol a mérendő vegyületnek és a referenciának is mérhető elnyelése van) gerjesztve (λ =265 nm), azonos készülékbeállítási paraméterek mellett felvettük az emissziós spektrumaikat (**7. ábra/B**). Az így kapott görbék integráljaiból számítható a vizsgált makrociklusok kvantumhatásfoka. A számított értékeket az **1. táblázatban** foglaltuk össze.

Képletszám	Kvantumhatásfok
7	0,41
8	0,54
9	0,71
10	0,61
11	0,18
12	0,31
13	0,33

1. táblázat A referencia akridon (7) és a koronaéter-származékok (8-13) kvantumhatásfok értékei

A kapott értékekből látható, hogy a referencia vegyülethez képest az akridon egységgel rendelkező koronaéterek kvantumhatásfok-növekedést mutatnak. Ennek oka lehet a 4-es és 5-ös pozícióban lévő alkoxicsoportok +M effektusa. Továbbá látható, hogy az akridon jobb fluorofor, mint az akridin. Az akridin viszonylag gyengébb fluoreszcenciáját fenilcsoport beépítésével növeltük, ezenkívül a 9-es helyzetű csoport akridin formában stabilizálja a heteroaromás egységet, amely struktúra, mint korábban tapasztaltuk, hatékonyabbnak bizonyult az enantiomerfelismerés során.

Nemvárt kísérleti eredmény, hogy a poliéter gyűrűbe épített nagyméretű alkil-láncok szintén növelik a kvantumhasznosulási tényezőt.

Korábbi munkánk során 4,5-dimetoxiakridonból (14) kiindulva szintetizáltunk néhány 9-szubsztituált akridinszármazékot (8. ábra), amelyek potenciális makrociklus prekurzorok lehetnek.



8. ábra Az általunk szintetizált 9-szubsztituált akridinszármazékok

Tanulmányunk során vizsgáltuk az aromás gyűrűbe épített csoportok hatását a kvantumhatásfokra. A mérések, illetve számítások a **14-21** vegyületekre is a koronaéterek esetében ismertetett módszerrel történtek. Az eredményeket a **2. táblázatban** foglaltuk össze.

Képletszám	Kvantumhatásfok
14	0,099
15	0,046
16	0,054
17	0,020
18	0,056
19	0,076
20	0,057
21	0,076

2. táblázat Különböző 9-szubsztituált koronaéter prekurzorok kvantumhatásfok értékei

A kapott értékekből látható, hogy az akridinszármazékok csökkent kvantumhatásfokot mutatnak az akridonhoz képest. Tapasztalataink alapján a 4,5-dimetoxiakridon (**14**) 4-es és 5-ös helyzetű metoxicsoportjai jelentősen csökkentik a kvantumhatásfokot a referencia akridonhoz képest $(0,41 \rightarrow 0,099)$, ugyanakkor a **8** koronaéter esetében a tényező értéke növekedett a makrociklus gyűrű hatására $(0,41 \rightarrow 0,54)$. Ebből arra következtethetünk, hogy a metoxicsoport, illetve az oligoéter típusú makrogyűrű, bár szerkezetileg hasonló, fotofizikai tulajdonságokat tekintve jelentősen eltérnek. A kvantumhatásfok adatokból látható, hogy az elektronszívó csoportok elősegítik a kvantumhasznosulást. Kiemelkedő a **19** triazol gyűrűs, valamint a **21** nitril származék hatásfoka. Az emissziós spektrumot tekintve mondhatjuk, hogy minél nagyobb a származék kvantumhatásfoka, annál nagyobb az emissziós maximumhoz tartozó hullámhossz batokróm eltolódása (**9. ábra**).



9. ábra Koronaéter prekurzorok emissziós spektruma (λ_{exc.}=265 nm) elektronban gazdagabb (A)
 és elektronban szegényebb származékok szerint csoportosítva (B)

Kutatómunkánk során összehasonlítottuk egy enantiomertiszta akridono-, illetve egy enantiomertiszta akridino-koronaéter protonált primer aminok enantiomerjeivel szembeni szelektivitását. Arra az eredményre jutottunk, hogy komplexképzés hiányában az akridon egységgel rendelkező koronaéter nem használható optikai enantiomerszenzorként. Vizsgáltuk továbbá különböző koronaéterek kvantumhatásfokát: fenilcsoport beépítésével megnövelhető a viszonylag gyenge fluoreszcenciával rendelkező akridin egység hatásfoka, valamint a 9-es helyzetű csoport akridin formában stabilizálja a heteroaromás egységet, amely struktúra hatékonyabbnak bizonyult az enantiomerfelismerés során. Összehasonlítottuk továbbá különböző 9-es pozícióban módosított akridinszármazékok fotofizikai tulajdonságait. Nagymértékű batokróm eltolódás figyelhető meg a **21** nitril származék esetében, mely jelentős távlatokat nyithat optikai szenzorok molekularészeként.

- J. Kertész, I. Móczár, A. Kormos, P. Baranyai, M. Kubinyi, K. Tóth, P. Huszthy; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011** (22) 684-689
- [2] J. Kertész, B. Bognár, A. Kormos, I. Móczár, P. Baranyai, M. Kubinyi, T. Kálai, K. Hideg, P. Huszthy; *Tetrahedron*, 2011 (67) 8860-8864

Köszönjük az anyagi támogatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs hivatalnak (K-128473).

Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.





NUKLEOZIDOK TIOLADDÍCIÓS MÓDOSÍTÁSA ÉS A TERMÉKEK BIOLÓGIAI HATÁSVIZSGÁLATA

Bege Miklós^{a,b,c}, Bakai-Bereczki Ilona^a, Borbás Anikó^a

^aDebreceni Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Tanszék, Egyetem tér 1.4032, Debrecen ^bDebreceni Egyetem, Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola, Egyetem tér 1.4032, Debrecen ^cMTA-DE Molekuláris Felismerés és Kölcsönhatás Kutatócsoport, Egyetem tér 1.4032, Debrecen

A nukleozidok és származékaik (pl. a nukleotidok) minden élőlény számára alapvető fontosságúak. Számos biológiai folyamatban vesznek részt, pl. a sejtek energiaháztartásában, a jelátvitelben, ill. a genetikai információ tárolásában és kifejeződésében. A természetes nukleozidok mellett a szintetikus és félszintetikus származékok is változatos biológiai hatásokat mutatnak. Így léteznek antivirális, [1] tumorellenes, [2] és antiprotozoa [3] vegyületek. A klinikumban a legnagyobb jelentősége a vírus- és tumorellenes nukleozidszármazékoknak van (1. ábra).



1. ábra Tumor- és vírusellenes nukleozidszármazékok.

A fentiek miatt nagy potenciál rejlik az új szerkezetű, módosított nukleozidszármazékokban és az ezek előállítására alkalmas reakciókban. A tioladíció az ún. "klikk" reakciók közé tartozik [4], tehát viszonylag könnyen, jó hozammal, enyhe körülmények között, valamint kiváló szelektivitással állíthatóak elő új vegyületek a segítségével. Ezek alapján választottuk ki a tioladdíciót szintetikus eszköznek új nukleozidszármazékok előállítására. Szénhidrátok tioladdíciói korábban is ismertek voltak az irodalomból [5], de mi hajtottunk először végre ilyen típusú reakciót nukleozidokon [6]. A tervünk az volt, hogy telítetlen nukleozidszármazékokra nagyszámú alként addícionáltatva létrehozunk egy vegyületkönyvtárat, melynek tagjait aztán biológiai vizsgálatoknak lehet alávetni.

Mindehhez először telítetlen nukleozidokra volt szükség. A legegyszerűbb nukleoziddal: uridinnel végeztük el a kísérleteket, mert ebben az esetben a nukleobázison nincs külön védelmet igénylő funkciós csoport. A 2' és 3' OH-k izopropilidénezése után egy 5'-O-tozilcsoport beépítése, majd eliminálása egyszerű módszer a 4'-exometilén előállítására [7]. Ha uridint piridinben 3 ekvivalens *terc*butil-dimetilszilil-kloriddal (TBDMSCl) regáltatunk 2 napon keresztül, akkor a kis mennyiségű triszililezett vegyület (**7U**) mellett a 2',5'-diszilil származék (**6U**) képződik főtermékként, ill. melléktermékként a 3',5'-származék (**5U**) is izolálható. A két utóbbi származék jodoxibenzoesavval (IBX) ketonná oxidálható, amikből Wittig reakcióval megkapjuk a kívánt 2' és 3' exometiléneket (**2. ábra**) [8]. Az analóg reakciókat ribotimidinnel is végrehajtottuk, hasonló eredményekkel.



2. ábra Telítetlen nukleozidok szintézise.

Ezen kívül más útvonalakon előállítottunk olyan 4'-exometiléneket is uridinből, amelyek izopropilidén-acetál helyett aciklikus védőcsoportokat, acetil (11), vagy *terc*-butil-dimetilszilil (14) tartalmaznak 2' és 3' helyzetben. Az előbbi esetben az 5'-hidroxilcsoport jódra cserélését követte az acetilezés, majd az elimináció. Az utóbbi vegyületet pedig uridin triszililezésével, szelektív 5'-deszililezésével, majd az 5' OH jódra cserélésével és ezt követő eliminációval állítottuk elő (3. ábra).

Az alkének előállítása után először egy egyszerű modellreakcióban próbáltuk ki a tioladíció teljesítőképességét: propántiolt reagáltattunk a **4U** vegyülettel, UV fény indukálta körülmények között, iniciátorként 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenont (DPAP) használva. Arra számítottunk, hogy az analóg szerkezetű szénhidrátszármazékokhoz hasonlóan itt is teljes sztereoszelektivitást fogunk tapasztalni, azonban kb 2:1 arányú D-*ribo*-L-*lixo* izomerkeverék keletkezett. A reakció szelektivitásának növelése céljából kipróbáltunk más iniciálási módszereket is (AIBN: termikus, TiO₂: látható fény, Et₃B: oxidatív) ill. melegítést, de ezek nem hoztak eredményt, sőt magasabb hőmérsékleten a szelektivitás romlott. A

hőmérséklet drasztikus csökkentése azonban mind a hozamot mind a szelektivitást jelentősen növelte. DPAP-val iniciálva, toluolban -30 °C-on 4:1, -80 °C-on pedig 5:1 arány lehetett elérni (*ribo* főtermékkel). Az oldószer toluol: MeOH elegyre cserélésével ezt tovább lehetett növelni 6,3:1 arányra 88%-os hozammal, mindössze 2 ekvivalens tiol alkalmazása mellett. Kiderült tehát, hogy a hőmérséklet jelentősen befolyásolja a reakció kimenetelét, és a hűtés növeli a hozamot és a sztereoszelektivitást is.



3. ábra Aciklikus védőcsoportokkal ellátott származékok szintézise



1. táblázat Propil merkaptán addíciói a 4U-ra különböző körülmények között.

			Т	Idő	D- <i>ribo:</i> L	Hozam (%)
Tiol	Iniciálás	Oldószer			-lixo	
3 ekv.	DPAP	toluol	r.t.	3x15 perc	2:1	61
6 ekv.	DPAP	toluol	r.t.	3x15 perc	2:1	69
8 ekv.	AIBN	toluol	120 °C	6 óra	1.5:1	54
3 ekv.	Et_3B	DKM	r.t.	2 nap	2:1	38
3 ekv.	Et ₃ B, pirokatekin	DKM	r.t.	4 óra	2:1	59
4 ekv.	TiO_2	DKM	r.t.	2 nap	2:1	7
2 ekv.	DPAP	toluol	-30 °C	3x15 perc	4:1	88
2 ekv.	DPAP	toluol	-80 °C	3x15 perc	5:1	87
2 ekv.	DPAP	toluol: MeOH	-80 °C	3x15 perc	6.3:1	87
2 ekv.	Et ₃ B, pirokatekin	DKM:MeOH	-8020 °C	24 óra	2.5:1	64

A reakciókörülmények optimálása után nagyszámú tiolt addícionáltattunk a **4U** és **4T** vegyületekre. Általában -80 °C-on jó hozammal és *ribo* szelektivitással lehetett előállítani a termékeket. Az 1-tioglükóz-peracetát (1-tioGlcPerAc) reakciója során azonban a hűtés nem javított sem a szelektivitáson, sem a hozamon. Az oldószer cseréje ellenben (toluolról toluol:MeOH elegyre) mérsékelt L-*lixo* szelektivitást eredményezett. Érdekelt minket, vajon a tiol nagy térkitöltése okozza-e ezt a fordított szelektivitást, ezért végrehajtottuk a reakciót *t*-butil-merkaptánnal is. Ebben az esetben szobahőn 3:1 D-*ribo*:L-*lixo* arány volt megfigyelhető, ami -40 ill. -80 °C-ra való hűtéssel 1:6:1 ill. 1.5:1re módosult, vagyis ebben az esetben is az L-*lixo* termék aránya nőtt hűtés hatására, bár ebben az esetben ez a szelektivitás csökkenését jelentette. Más tiocukrok addícióinak vizsgálata során kiderült, hogy a tiol konfigurációja is befolyásolja a reakció sztereokémiai végkimenetelét. Az 1-tioGlcPerAc azonos konfugurációjú 1-tio-N-acetil-glükózamin-peracetát addíciója hasonló eredményt adott. Az 1tiogalaktóz-peracetátnál mindkét hőmérsékleten némileg magasabb volt az L-*lixo* izomer aránya. Az α 1-tiomannóz reakciója esetében viszont (az előzőek mind β cukrok voltak) szobahőn 3.5:1, -80 °C-on pedig 8:1 D-*ribo*:L-*lixo* arány volt megfigyelhető, ami a tiocukrok addíciói között kiemelkedő mind a jó szelektivitás mind a D-*ribo* főtermék miatt. A β 1-tiomannóz reakciója során viszont egyik vizsgált hőmérsékleten és oldószerelegyben sem tapasztaltunk érdemi szelektivitást. Mindezek alátámasztják, hogy a tiol partner szerkezete jelentősen befolyásolja a reakció sztereoszelektivitásdt.

Alkén	Tiol	Oldószer	Termék	D-ribo :L-lixo	Hozam (%)
4 U	AcO ACO OAc OAc OAc	toluol, rt toluol toluol-MeOH MeOH	16	1.1:1 1:1 1:3 1:2	87 89 88 81
4 U	Aco SH Aco NHAc	toluol-MeOH, rt toluol-MeOH	17	1:1.25 1:4.5	77 80
4 U	HS COOH	toluol-MeOH	18	10:1	92
4 U		toluol-MeOH	19	10:1	89
4 U	NaO ₃ S SH	MeOH-DMF	20	14:1	85
4 U	ня К К Соон	MeOH	21	6:1	91
4 U	AcS	toluol toluol-MeOH	22	5.5:1 5:5:1	71 70
4 U	SH	toluol, rt toluol, -40 °C	23	3:1 2:1	58 62
4 U		toluol, rt toluol	24	3.5:1 10:1	60 89
4 U		toluol, rt toluol toluol-MeOH	28	1.2:1 1:1 1:1	56 72 66
4 U	ACO OAC SH	toluol, rt toluol toluol-MeOH	29	1:1.6 1:1.6 1:3.5	68 80 78
4 T	ACO ACO ACO OAC	toluol-MeOH	30	1:2.5	80
4T		toluol-MeOH	31	5:1	64
4 T	∽SH	toluol	32	5:1	59

2. táblázat 4' Exometilének addíciói.

A védőcsoportok szerepének a vizsgálatához a **11** és **14** vegyületekre propántiolt és 1tioGlcPerAc-ot addícionáltattunk. A diacetil származék addíciói esetében hasonló eredményeket kaptunk, mint az izopropilidénezett analógoknál. A szililezet exometilén esetében viszont mindkét tiol addíciója során, szobahőn és -80 °C-on is az L-*lixo* izomerer keletkeztek főtermékként, ami azt mutatja, hogy nem csak a tiol, hanem az alkén szerkezete is fontos a szelektivitás szempontjából.

A reakciót ezek után kiterjesztettük a 3' exometilénekre is. Ezekben az esetekben szinte mindig jó szelektivitást tapasztaltunk szobahőn és kiválót -80 °C-on. A tiol itt is befolyásolta a szelektivitást, de a főtermék minden esetben a megfelelő D-*xilo* izomer volt. Ilyen szempontból a 2-merkaptoetanol addíciója volt a legrosszabb.

3. táblázat 3'-Exometilének addíciói.					
TBDMSO		R'SH DPAP hv	TBDMS		NH KO
				ÓTE	BDMS
9				33-57	
9T	: R= CH₂			00 01	
	Hőmérséklet	dr	P	Termék	Hozam
GlcPerAc	r t	3.1	H	33	<u>26%</u>
GlcPerAc	-80 °C	17.1	H	33	49%
GlcPerAc	r.t.	2:1	Me	34	27%
GlcPerAc	-80 °C	50:1	Me	34	30%
MannPerAc	-80 °C	50:1	Me	35	60%
Etil	-80 °C	9:1	Me	36	86%
<i>n</i> -Propil	-80 °C	13:1	Me	37	49%
<i>i</i> -Propil	-40- 0 °C	33:1	Me	38	34%
n-Butil	-8040 °C	20:1	Me	39	62%
<i>n</i> -Butil	0 °C	10:1	Me	39	65%
<i>i</i> -Butil	0 °C	22:1	Me	40	36%
<i>t</i> -Butil	-80- 0 °C	14:1	Me	41	54%
Hexil	-8040 °C	30:1	Me	42	46%
Octil	0 °C	24:1	Me	43	29%
Dodecil	0 °C	22:1	Me	44	29%
Fenil	-80 °C- r.t.	-	Me	45	-
Benzil	-40 °C	10:1	Me	46	82%
Hidroxietil	-80 °C	3:1	Me	47	75%
Hidroxietil	-40 °C	4:1	Me	47	72%
Hidroxietil	0 °C	4:1	Me	47	74%
<i>n</i> -Propil	-80 °C	50:1	Н	48	75%
<i>n</i> -Butil	-40 °C	60:1	Н	49	59%
<i>n</i> -Butil	0 °C	12:1	Н	49	66%
SAc	0 °C	21:1	Н	50	26%
Naftilmetil	-40 °C	10:1	Н	51	53%
Na-szulfonátoetil	-40 °C	10:1	Н	52	80%
GlcNAcPerAc	-80 °C	12:1	H	53	85%
ßMannPerAc	-80 °C	46:1	H	54	69%
GalPerAc	-80 °C	18:1	H	55	86%
XylPerAc	-80 °C	12:1	Н	56	93%
GlcNAcPerAc	-80 °C	25:1	Me	57	75%

A reakció 2'-exometiléneken való kipróbálásában komoly akadály volt a 8 vegyülethez vezető reakciók rossz hozama, mivel az 5 anyagok csak melléktermékek a diszililezés során, ezért egy másik módszerrel, diszililénacetál-képzéssel védtük a 3' és 5' OH-kat, majd az így kapott nukleozidokon hajtottuk végre a Wittig reakciót (4. ábra).



4. ábra Diszililénacetál-exometilén előállítása.

A 2'-helyzetben végrehajtott addíciók során szintén azt tapasztaltuk, hogy a védőcsoport befolyásolja a szelektivitást. A 8 alkén esetén minden esetben jó szelektivitással az *arabino* izomer volt a főtermék, függetlenül a tioltól (60-61). A szililénacetállal védett 59 származékok esetében a várt tioéter helyett azok szulfoxid származékait sikerült izolálni az alkiltiolok addíciói során (62-65), jó *arabino* szelektivitással, míg cukortiolok adíciója esetében nem figyeltünk meg oxidációt, ellenben jelentősen leromlott a szelektivitás, ami a tiol partner jelentőségét hangsúlyozza (66-67) (5. táblázat).

Alkén	Tiol	Т	Hozam	arabino:ribo	Termék
8	PrSH	r.t.	39%	4:1	60
8	PrSH	-80 °C	68%	12,5:1	60
8	1-tioGlcPerAc	r.t.	68%	5:1	61
8	1-tioGlcPerAc	-80 °C	89%	10:1	61
59U	PrSH	0 °C	59%	14:1	62
59U	BuSH	0 °C	69%	20:1	63
59T	PrSH	0 °C	74%	30:1	64
59T	BuSH	0 °C	59%	30:1	65
59T	1-tioGlcPerAc	0 °C	67%	0,9:1	66
59T	1-tioGlcPerAc	-80 °C	69%	0,7:1	66
59 T	1-tioGlcNAcPerAc	0 °C	60%	2,3:1	67

4. táblázat 2' Exometilének tioladdíciói.

Az előállított nagyszámú vegyület egy része egyelőre vírusellenes és sejt-életképességi vizsgálatokba lett bevonva, ezek alapján a 3'-módosított származékok közül a nem túl hosszú alkil oldalláncot tartalmazók (**36-49**) citosztatikus, míg a cukor oldalláncot tartalmazók közül néhány (**34-35**) vírusellenes hatást mutatott. Tervezzük további vegyületek előállítását és vizsgálatát szerkezet-hatás összefüggések feltárásához.

Összegzésként tehát elsőként hajtottunk végre tioladdíciókat telítetlen nukleozidszármazékokon, a körülmények optimálása után szisztematikus vizsgálatokat végeztünk a hőmérséklet, a védőcsoportok

és egyéb körülmények hatásáról különböző helyzetű exometiléneken, így nagyszámú új vegyületet állítottunk elő, amelyek bizonyos esetekben biológiai aktivitást is mutattak.

Irodalomjegyzék

- [1] K. L. Seley-Radtke, M. K. Yates, Antiviral research, 2018 (154) 66-86
- [2] J. Shelton, X. Lu, J. A. Hollenbaugh, J. H. Cho, F. Amblard, R. F. Schinazi, *Chemical Reviews*, 2016 (116) 14379-14455
- [3] H. Tran, Z. Zheng, X. Wen, S. Manivannan, A. Pastor, M. Kaiser, R. Brun, F. F. Snyder, T. G. Back, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2017 (25) 2091-2104
- [4] C. E. Hoyle, C. N. Bowman, Angewandte Chemistry International Edition, 2010 (49) 1540-1573
- [5] M. Fiore, A. Marra, A. Dondoni, Journal of Organic Chemistry, 2009 (74) 4422-4425
- [6] M. Bege, I. Bereczki, M. Herczeg, M. Kicsák, D. Eszenyi, P. Herczegh, A. Borbás, Organic and Biomolecular Chemistry, 2017 (15) 9226-9233
- [7] M. J. Robins, J. R. McCarthy Jr., R. K. Robins, Journal of Heterocyclic Chemistry 1967(4) 313-314
- [8] H. Takasu, H. Sajiki, K. Hirota, Heterocycles, 2005 (65) 2991-2999
- [9] V. Samano, M. J. Robins, Synthesis, 1991, (4) 282-288

A kutatást a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 projekt támogatta. A projekt az Európai unió támogatásával, az európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg. A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának Szakmai Támogatásával készült.

SZILIKAGÉLHEZ KOVALENS KÖTÉSEKKEL RÖGZÍTHETŐ KORONAÉTER SZELEKTORMOLEKULA HETEROAROMÁS KULCSINTERMEDIEREINEK SZINTÉZISE

Benda Bianka^a, Golcs Ádám^a, Tóth Tünde^{a,b}, Huszthy Péter^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, 1111 Szent Gellért tér 4. ^bEnergiatudományi Kutatóközpont, Budapest, 1120 Konkoly-Thege Miklós út 29-33.

A szupramolekuláris kémia az 1960-as évek végén kezdett népszerű kutatási területté válni, amikor *C. J. Pedersen* egy szintézis melléktermékeként előállította a dibenzo-18-korona-6-étert [1]. Ezt követően számos koronaétert szintetizált köztük a 12-korona-4-étert és a 15-korona-5-étert is [1]. Ezen vegyületek komplexképző sajátságai és üregméretük összehasonlítása alapján megállapította, hogy az üregmérettől függően ezek a koronaéterek más-más ionokkal képesek stabil komplexet képezni.

Az első piridin egységet tartalmazó akirális koronaétert *Cram* és munkatársai állították elő [2]. Kutatómunkájuk során megállapították, hogy a piridin egységet tartalmazó koronaéterek nitrogén atomja erősebb hidrogénkötést hoz létre protonált primer aminokkal, mint az éter oxigén atom. Ennek következtében a piridino-koronaéterek komplexképzési preferenciája a protonált primer aminokkal szemben kedvezőbb. *Izatt* és munkatársai megállapították, hogy a piridino-koronaéterek képesek különbséget tenni protonált primer aminok, aminosavak és aminosav-származékok enantiomerjei között [3-4]. Az enantiomerfelismerés szelektivitását fokozza, ha minél több másodlagos kölcsönhatás jön létre a komplexen belül. *Cram* és munkatársai a piridino-18-korona-6-éterek esetében vizsgálták különböző számú alkil-szubsztituenst tartalmazó ammóniumionokkal képzett komplexek stabilitását [5]. Az alkilcsoportok számának növekedésével csökkent a komplex stabilitása, ami a hidrogénkötések számának csökkenésével és a nagyobb sztérikus taszítással magyarázható. Ebből kifolyólag a későbbiek során a piridino-18-korona-6-éter-származékok szelektív komplexképzését elsősorban protonált primer aminok enantiomerjeivel szemben vizsgálták.

Munkám célja három piridin egységet tartalmazó, szilikagélhez kovalens kötésekkel rögzíthető koronaéter előállítása, melyhez a kulcsintermediereket sikeresen előállítottam. Az előállítani kívánt makrociklus várhatóan alkalmazható szilikagélhez rögzített szelektormolekulaként protonált amin típusú vegyületek rendűség szerinti elválasztását célzó eljárásban. Az előállítani kívánt koronaéter szerkezetében a heteroaromás nitrogén atomok elsősorban az amin típusú vegyületeket koordinálják. A célvegyület alternáló pozícióban három nitrogén atomot tartalmaz, így egyidejűleg a koordinációs szférában egy primer amin hárompontos hidrogénkötéssel rögzíthető (**1. ábra**).



A hidrogénkötések száma az aminok rendűségének növekedésével csökken, mely eltérő stabilitású komplexeket eredményez, ami várhatóan a szerkezeti szelektivitásban is megmutatkozik. Ezzel a módszerrel ki lehetne váltani a *Hinsberg*-féle elválasztást. Az aminok alkilezése általában nem szelektív és vegyesen szubsztituált termékek keletkeznek, így a rendűség-szelektivitás megoldást jelenthet erre a problémára. A következő bekezdésekben a kulcsintermedierek előállítását fogom részletezni. (A beszámolómban piros színnel jelölve szerepelnek a még nem karakterizált vegyületek, feketével az irodalomban már közölt és karakterizált vegyületek.)

Az általam alkalmazott szintézisút (**2. ábra**) első lépésében a 2,6-dimetilpiridint (**1**) vizes KMnO₄ segítségével, 80 °C-on oxidáltam, így kisavanyítás után a **2** dikarbonsavhoz jutottam [2-6]. Ezen vegyületet tionil-kloriddal metil-alkoholban észteresítettem, így a dimetilészter-származékot (**3**) kaptam.

A piridin-diésztert (**3**) nátrium-tetrahidrido-boráttal redukáltam diollá (**4**). A keletkezett elegyről az alkoholt lepároltam, ezt követően acetonnal forraltam, hogy a maradék redukálószer elreagáljon. A bórsav eltávolítása céljából kálium-karbonát oldattal extraháltam a keletkezett terméket. A nyersterméket keverékoldószeres (EtOAc-hexán) átkristályosítással tisztítottam.





A keletkezett diolt (**4**) a következő lépésben tritil-kloriddal reagáltattam. A reakció során ditritilés monotritil-származék (**5**,**6**) egyaránt keletkezett. Mivel a következő lépésben csak a monotritilszármazékra (**5**) volt szükségem, ezért a két termék elválasztása elengedhetetlen. Az átkristályosítás nem bizonyult kellően hatékonynak a két termék elválasztására, így a tisztítási lépést végül oszlopkromatográfiás módszerrel aceton-toluol oldószerelegyet alkalmazva végeztem.

A keletkező ditritil-származék (6) védőcsoportjait ecetsavval, vizes közegben távolítottam el, így ebből is előállítható az 5 monotritil-származék. A melléktermékként keletkezett tritil-alkoholt tionilkloriddal reagáltatva visszaalakítottam tritil-kloriddá. A következő lépésben a monotritil-származékot (5) tozil-kloriddal, vizes kálium-hidroxid-diklórmetán oldószerkeverékben a kívánt tozilát-származékká (7) alakítottam. A monotritil-monoalkohol-származékot (5) és a monotritil-monotozil-származékot (7) nátriumhidriddel tetrahidrofurán és *N*,*N*-dimetilformamid oldószerkeverékben reagáltattam, így a bisz(piridin)ditritil (8) intermedierhez jutottam. A 8 ditritil-származékot 80%-os vizes ecetsavban diollá (9) alakítottam. A 9 diolról az ecetsavat vákuumdesztillációval távolítottam el. A termék vízben nagyon jól oldódik, ezért a kirázás nem bizonyult hatékony elválasztásnak, így oszlopkromatográfiás elválasztást alkalmaztam. A sikeres elválasztás után a korábban leírt módon a 9 diolt tozil távozócsoporttal láttam el és így jutottam a 10 bisz-piridin-ditozilát kulcsintermedierhez.

A kelidonsavat (14) acetonból (12) és dietil-oxalátból (11) állítottam elő nátrium-etanoát jelenlétében, majd utána sósavas forralást végeztem (3. ábra).



A kelidámsavat (15) 25%-os vizes ammóniaoldattal állítottam elő szobahőmérsékleten, melyet a következő lépésben vízmentes metanolban tionil-kloriddal dimetil-kelidamáttá (17) alakítottam.

A 17 diésztert nukleofil szubsztitúciós reakcióban *N*,*N*-dimetilformamidban benzil-koriddal reagáltatva jutottam a 18 benziloxi-diészterhez. A benzilcsoporttal védett diésztert (18) nátrium-tetrahidrido-boráttal etanolban redukáltam. Az így kapott benzilezett diol-származékot (19) 40%-os kálium-hidroxid oldat és diklórmetán keverékében tozil-kloriddal a 20 ditoziláttá alakítottam.

Kutatómunkám folytatásaként a gyűrűzárási reakciót a **4. Ábrán** feltüntetett módon, két útvonalon tervezem megvalósítani.





Az egyik útvonalon a bisz(piridin)-diolt (9) fogom reagáltatni a benzilcsoporttal védett ditoziláttal (20), nátium-hidriddel N,N-dimetilformamidban. A másik reakcióúton a bisz(piridin)-ditozilátból (10) és benzilezett diolból (19) nátrium-hidriddel tetrahidrofuránban tervezem előállítani a célvegyület makrociklust (21). A bisz(piridin)-diol (9) nem oldódik a nátrium-hidridnél használatos tetrahidrofuránban, ezért célszerű N,N-dimetil-formamiddal helyettesíteni. A másik reakcióúton a bisz(piridin)-ditozilát (10) jól oldódik tetrahidrofuránban, így itt már ezen oldószer egyedül is alkalmazható. A három piridinegységet tartalmazó koronaéterről (21) katalitikus hidrogénezéssel

tervezem a benzilcsoportot eltávolítani, így várhatóan a szilikagélhez történő rögzítésre alkalmas 22 koronaéterhez jutok.

A következő lépésben a 22 piridino-koronaétert 3-(trietoxiszilil)propil-jodiddal kálium-karbonát és *N*,*N*-dimetilformamid jelenlétében tervezem reagáltatni, mely feltehetőleg a 23 makrociklus képződését eredményezi. A trietoxiszilil védőcsoportot tartalmazó szubsztituált piridino-koronaétert (23) HPLC minőségű szilikagélhez szeretnénk rögzíteni egy korábban a szakirodalomban sikeresen alkalmazott eljárással [7], toluolban végzett forralás segítségével. A szelektormolekula szilikagélhez történő rögzítésével kapott állófázist üres rozsdamentes acéloszlopba tervezzük betölteni, hogy megfelelő HPLC oszlopot kapjunk. Az oszlopba töltést kis szemcseméret esetén zagytöltő berendezéssel lehet elvégezni. A folyamat során az adszorbens oldószerben képzett zagyát a zagytartályba töltik és a megfelelően illesztett pumpával nagy nyomáson belenyomják az oszlopba.

Összefoglalva munkám célja aminok rendűség szerinti elválasztására alkalmas, szilikagélhez kovalens kötésekkel rögzítendő koronaéter előállítása. Ezen eljárás legfőképp gyógyszeripari jelentőséget hordoz, mivel számos gyógyszerhatóanyag szintézise során a szintézissor valamely köztes lépése amin keveréket eredményez. Példaként említhető primer aminok jellemzően alkil-halogenidekkel történő alkilezése, mely során melléktermékként magasabb rendű aminok keletkeznek. Az általunk kidolgozott módszer lehetővé tenné a nyerstermék folyamatos üzemű tisztítását és elválasztását.

Irodalomjegyzék

[1] Pedersen, C. J.; Journal of the American Chemical Society, 1967 (89) 2495-2496, 7017-7036

- [2] Newcomb, M., Gokel, G. W., & Cram, D. J.; Journal of the American Chemical Society, 1974 (96) 6810-6811
- [3] Bradshaw, J. S.; Huszthy, P.; Mc Daniel, C. W.; Oue, M.; Zhu, C. Y., Izatt, R. M., Cifson, S. Journal of Coordination Chemistry, 1992 (27) 105-1014
- [4] Izatt, R. M.; Wang, T. M.; Hathaway, J. K.; Zhang, X. X.; Curtis, J. C.; Bradshaw, J. S.; Zhu, C. Y.; Huszthy, P.: *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, **1994** (17) 157-175
- [5] Newcomb, M.; Timko, J. M.; Walba, D. M.; Cram, D. J.: *Journal of the American Chemical Society*, 1977 (99) 6392-6398
- [6] Hiroshi, T., Satoshi, S., Jun'ichi, U., Takao, H., Takahiro, I., Osamu, Y.; *The Journal of Organic Chemistry*, **1998** (63) 3884-3894
- [7] Farkas, V.; Tóth, T.; Orosz, G.; Huszthy, P.; Hollósi, M.; *Tetrahedron: Asymmetry* 2006 (17) 1883-1889

Köszönöm az anyagi támogatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak (NKFIH K-128473)

SZILÁRD HORDOZÓHOZ RÖGZÍTETT HETEROPOLISAVAK: NAGY HATÉKONYSÁGÚ KATALIZÁTOROK ALKIL-AROMÁS VEGYÜLETEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

Császár Zsófia, Bakos József, Farkas Gergely

Pannon Egyetem, Szerves Kémia Intézeti Tanszék, 8200 Veszprém, Egyetem u. 10.

A Keggin-szerkezetű heteropolisavak nagy stabilitása, kitűnő oxidációs képessége és az ásványi savaknál erősebb Brönsted-savassága sokrétű felhasználásra ad lehetőséget [1]. Mindezen kedvező tulajdonságuk vonzóvá teszi savkatalizált reakciókban való alkalmazásukat, homogén- és heterogénkatalitikus reakciókban egyaránt [2-4]. A heteropolisavak alkalmazásával kiválthatók az olyan savas katalizátorok, mint a kénsav, HF vagy AlCl₃, melyek számos kedvezőtlen tulajdonsággal rendelkeznek: kevésbé szelektívek, a reakcióelegytől való korrozívak, elválasztásuk nehézkes, így újrafelhasználhatóságuk is erősen korlátozott. A heteropolisav-tartalmú katalizátorokra ezzel ellentétben nagy stabilitás jellemző, használatukkal kiemelkedő aktivitás és szelektivitás érhető el, valamint újrahasznosíthatóságuk környezetbarát felhasználást tesz lehetővé. Ezen előnyös tulajdonságaik számos felhasználási lehetőséget nyújtanak. A Friedel-Crafts alkilezési reakciók során széles körben használt Brönsted- és Lewis-sav katalizátorok, mint a kénsav, a hidrogén-fluorid, az AlCl₃ vagy a FeCl₃, kiválóan helyettesíthetők hordozóhoz kötött heteropolisavakkal [5]. Az alkil-aromás vegyületek szintézise ipari szempontból nagy jelentőséggel bír; például benzol etilénnel és propilénnel végzett alkilezése során keletkező etilbenzol és kumol a petrolkémiai ipar számára rendkívül jelentősek [6]. További példaként említhető, hogy a hordozóra rögzített heteropolisavak segítségével olyan lineáris alkil-benzolok szintézise is megvalósítható, melyek nagy felületi aktivitással rendelkező alkil-benzol-szulfonátok előállításának fontos közti termékei [7].

Munkánk során hét, foszfor-volfrámsavat (PTA) tartalmazó heterogén katalizátort állítottunk elő az egyes hordozók minőségének, illetve a rögzített heteropolisav mennyiségének változtatásával. A katalizátorokat irodalmi analógiák alapján készítettük el, melyek szerint a szintézis egy lépésben megvalósítható: a kereskedelmi forgalomból beszerezhető szervetlen hordozó (pl. szilikagél, SBA-15, neutrális Al₂O₃) heteropolisavval történő egyszerű vizes impregnálását követően a hordozós katalizátort hőkezelésnek vetjük alá. Az így nyert katalizátorok felületi borítottságát FT-IR és szilárd fázisú NMR spektroszkópiai módszerekkel vizsgáltuk.

A katalizátorokat toluol Friedel-Crafts alkilezési reakciójában alkalmaztuk, alkilezőszerként 1-oktént használva (1. Ábra). A reakciókörülmények optimalizálása során rendkívüli aktivitást értünk el a szilikagél hordozós katalizátorokkal: 10:1 toluol:1-oktén mólarány mellett, 80 °C-os hőmérsékleten – mely a heterogén-katalitikus alkilezési reakcióknál enyhe körülménynek tekinthető – csupán 5 perc alatt teljes konverziót tapasztaltunk. Ezen körülmények alkalmazásával összehasonlítottuk az egyes PTA-tartalmú katalizátorok teljesítményét. Az elvégzett kísérletek során a szilikagélre rögzített foszforvolfrámsav mennyiségétől függetlenül teljes átalakulást értünk el, míg más hordozók esetében (SBA-15 és Al₂O₃) jelentős aktivitás-csökkenést figyeltünk meg.



1. ábra Toluol 1-okténnel történő Friedel-Crafts alkilezése hordozóhoz rögzített foszfor-volfrámsavval

További kísérleteinkben az eltérő mennyiségű foszfor-volfrámsavat tartalmazó katalizátorok aktivitását vizsgáltuk, melyek összehasonlítása miatt a hőmérséklet és a reakcióidő csökkentésére (70 °C, 3 perc) volt szükség. Ezen körülmények között a reakció nem megy végbe teljesen, így az egyes konverzió értékek megfelelően tükrözik a katalizátorok aktivitása közötti különbséget. Az elért eredmények alapján elmondható, hogy a rögzített foszfor-volfrámsav mennyisége nagymértékben meghatározza a katalitikus reakció lefolyását: a 20 m/m%-ostól az 50 m/m%-os katalizátorig aktivitás-növekedést tapasztaltunk, azonban a 60 m/m%-os esetében jelentősen csökkent az átalakulás (2. ábra).



2. ábra Különböző mennyiségű foszfor-volfrámsavat tartalmazó katalizátorok által nyújtott konverzió értékek toluol és 1-oktén alkilezési reakciójában

Ez a jelenség feltehetően azzal magyarázható, hogy míg alacsony heteropolisav koncentrációk esetén a foszfor-volfrámsav jól diszpergált formában van jelen a szilikagél felületén, addig magasabb PTA koncentrációknál nő a valószínűsége a Keggin-egységek felületi aggregációjának. Tekintettel arra, hogy az apoláros szubsztrátum molekulák nem képesek a kristályos PTA egységei közé jutni, így csökken a számukra elérhető katalitikusan aktív helyek száma. A jelenség különböző apoláros molekulák izomerizációja során jól ismert [8, 9]. Fontos ugyanakkor, hogy poláros szubsztrátumok

esetében a heteropolisav koncentrációjának növelésével a katalitikus aktivitás egyértelmű növekedése tapasztalható [8].



3. ábra Különböző mennyiségű foszfor-volfrámsav megkötődése szilikagél felületén

A szilikagél hordozóhoz rögzített, 20 m/m%-os PTA-tartalmú katalizátorral különböző alkilaromás vegyületek (benzol, toluol, kumol, *terc*-butil-benzol, *m*-xilol) 1-okténnel történő alkilezését is elvégeztük. A *terc*-butil-benzol kivételével minden esetben az 1-oktén teljes átalakulását tapasztaltuk. Ez utóbbi esetben, ahol 86 %-os konverziót értünk el, feltehetően sztérikus okok vezettek az átalakulás csökkenéséhez.

A kutatás során előállított katalizátorok nagy stabilitása és rendkívüli aktivitása lehetőséget biztosít folyamatos átáramlásos kísérleti reaktorban való alkalmazásukra aromások Friedel-Crafts alkilezési reakciójában. Ezen kísérletekhez használt folyamatos üzemű rendszer az alábbiak szerint működik: az aromás vegyület és az olefin megfelelő arányú elegyét átvezetjük egy, a katalizátorral töltött oszlopon, végül a kiáramló elegyet egy automata mintavevő egység gyűjti össze. A reakcióelegy folyamatos áramlását HPLC pumpa segítségével, míg a megfelelő hőmérsékletet egy HPLC kolonna termosztáttal biztosítjuk (4. Ábra). A mikroreaktort a 20 m/m%-os katalizátorral teszteltük toluol és 1-oktén alkilezési reakciójában. Kezdetben 80 °C-os hőmérsékletet alkalmazva, 0,15 ml/min áramlási sebesség mellett vizsgáltuk a katalizátor teljesítményét. A készülék közel 15 óra folyamatos működése után kis mértékben csökkent a katalizátor aktivitása, de még 24 óra elteltével is 93 %-os konverziót tapasztaltunk. A következő kísérletünkben a katalizátor terhelhetőségének vizsgálata érdekében duplájára növeltük a reakcióelegy áramlási sebességét (0,3 ml/min), melynek köszönhetően az 1-oktén átalakulásának csökkénese korábban bekövetkezett. A konverzió már 12 óra után csökkeni kezdett, valamint ez a csökkenés az előzőnél nagyobb mértékű volt, 24 óra után 81 %-os átalakulást mértünk.

Az áramlási sebesség hatásának vizsgálata mellett a hőmérséklet változtatásával is teszteltük a katalizátort: 70 °C-on 0,15 ml/perc áramlási sebesség mellett már 7 óra elteltével aktivitásbeli csökkenést tapasztaltunk, ezután pedig rohamosan csökkent a konverzió, ugyanis 24 órás folyamatos működés után csupán 46 %-os konverziót tapasztaltunk. A korábbi kísérletek alapján megállapítottuk, hogy a katalitikus rendszer rendkívül érzékeny a nedvességre, ezért a folyamatos üzemű reaktort módosítottuk, méghozzá oly módon, hogy egy előszárító oszlopot illesztettünk a katalizátorral töltött kolonna és a HPLC pumpa közé. Az előszárító kolonnába kiváló vízmegkötő képességű, 4 Å átmérőjű pórusokkal rendelkező molekulaszűrőt helyeztünk, melyet előzőleg 8 órán keresztül 400 °C-on hőkezeltünk. Az így összeállított készüléket a korábban optimálisnak vélt paraméterek (80 °C, 0,15 ml/perc áramlási sebesség) beállításával használtuk toluol és 1-oktén alkilezésére. Az előszárító oszlop igen hatékonynak bizonyult, ugyanis 48 óra folyamatos működés után is teljes konverziót értünk el a segítségével.



4. ábra Szilikagélre rögzített heteropolisav katalizátor alkalmazása aromás vegyületek alkilezésére folyamatos üzemű reaktorban

A kutatás jelentőségét nagymértékben növeli, hogy alkil-aromás vegyületek folyamatos áramlásos reaktorban történő előállítására a fent leírt módszer alkalmazásával kevés példa található a szakirodalomban [10]. Lényeges továbbá, hogy a módszerrel hozzáadott oldószer nélkül valósítható meg alkil-aromások szintézise.

- [1] M. N. Timofeeva, Applied Catalysis A: General, 2003 (256) 19-35.
- [2] Y. Ren, B. Yue, M. Gu, H. He, Materials, 2010 (3) 764-785.
- [3] A. Aitani, J. B. Wang, I. Wang, S. Al-Khattaf, T.-C. Tsai, *Catalysis Surveys from Asia*, 2014 (18) 1-12.
- [4] M. J. da Silva, C. M. de Oliveira, *Current Catalysis*, 2018 (7) 26-34.
- [5] E. Tirronen, T. Salmi, Chemical Engineering Journal, 2003 (91) 103-114.
- [6] G. Bellussi, G. Pazzuconi, C. Perego, G. Girotti, G. Terzoni, *Journal of Catalysis*, 1995 (157) 227–234.

- [7] J. A. Kocal, B. V. Vora, T. Imai, Applied Catalysis A: General, 2001 (221) 295-301.
- [8] A. D. Newman, D. R. Roberts, P. Siril, A. F. Lee, K. Wilson, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2006 (8) 2893-2902.
- [9] E. Grinenval, A. Garron, F. Lefebvre, Journal of Catalysis, 2013, 1-8.
- [10] J. Zhang, Z. Zhu, C. Li, L. Wen, E. Min, Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2003 (198) 359-367.

Köszönetnyilvánítás: A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.



SZULFAMETAZIN VIZES OLDATÁNAK KEZELÉSE UV, UV/VUV FOTOLÍZISSEL, ÓZONOS KEZELÉSSEL ÉS UV/ÓZON KOMBINÁCIÓJÁVAL

Farkas Luca^a, Ilaria Monzini^b, Náfrádi Máté^a, Fuderer Dalma^a, Alapi Tünde^a

^aSzegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szeged
^bUniversity of Padova, Riviera Tito Livio, Padova

Absztrakt

Munkánk során a szulfametazin, az egyik legnagyobb mennyiségben használt antibiotikum átalakulását vizsgáltuk annak UV (254 nm), UV/VUV (254/185 nm) fotolízisét, ózonos kezelését, illetve annak UV fotolízissel való kombinációját. A szulfametazin koncentrációja UV sugárzás hatására is csökkent annak 1,0×10⁻⁴ M koncentrációjú vizes oldatában, azonban a köztitermékek jelentős része nem alakult át, a besugárzott oldat KOI értéke nem csökkent. UV/VUV fotolízis során, a képződő HO•-nek köszönhetően az átalakulás sebessége több mint kétszeresére nőtt, a köztitermékek átalakulása is gyorsult, és a KOI értéke intenzíven csökkent. Az ózon meglehetősen szelektív oxidálószer, szerves vegyületekkel lejátszódó reakcióinak sebességi állandói széles skálán mozognak. Meglehetősen alacsony ózon koncentráció esetén is gyorsan alakul át a szulfametazin, azonban a KOI legfeljebb 45%kal csökkenthető ebben az esetben. UV fotolízissel kombinálva az ózonos kezelést, a szulfametazin átalakulási sebessége csak kismértékben nőtt, ugyanakkor a mineralizáció sebességére pozitív hatással volt az UV fény és ózon együttes jelenléte. Egy vízkezelési módszer hatékonysága nem csupán a célvegyület átalakulási sebességével jellemezhető, hanem a cél elérése érdekében befektetendő energiaigénnyel is. Ennek megfelelően eredményeink alapján összehasonlítottuk az alkalmazott módszerek fajlagos elektromos energia felhasználását is.

Bevezetés

Az antibiotikumokat elterjedten alkalmazzák emberi és állati terápiára. Az állatok esetében az antimikrobiális tulajdonságú gyógyszerek felhasználása négyszer akkora (2010-ben 63151±1560 tonna [1]), mint az emberi felhasználás. Az állatoknál nem csak betegségek kezelésére, hanem azok megelőzésére, illetve a növekedés gyorsítására is nagymértékben használnak antibiotikumokat. Az antibiotikumok jelentős része változatlanul, vagy csak részlegesen tovább alakulva, illetve metabolitok formájában távozik az élő szervezetből, és kiválasztódik az emberek és az állatok vizeletéből és bélsarából. Ennek, valamint a túlzott mértékű antibiotikum felhasználásnak köszönhetően nagy mennyiségű gyógyszermaradvány kerül ki a környezetbe, ahonnan bejutnak a talaj mélyebb rétegeibe, és szennyezik a talajvizet [2]. Felszívódnak a növényekben, hajlamosak a bioakkumulációra, ezáltal bejuthatnak a táplálékláncba. A szennyvízkezelés jelenleg alkalmazott módszerei azonban nem mindig

képesek a szennyvizekbe bekerülő antibiotikumokat megfelelő mértékben eltávolítani. Ennek egyik következménye, hogy az elmúlt évtizedekben az antibiotikum-rezisztens baktérium törzsek száma jelentősen megnőtt, ami beláthatatlan következményekkel járhat [1].



1. ábra A szulfametazin szerkezeti képlete

Az általunk vizsgált vegyület a szulfametazin, amely egy szulfonamid típusú szélesspektrumú antibiotikum, a leggyakoribb állatgyógyászatban alkalmazott antimikrobiális tulajdonságú gyógyszer. Bioakkumulációra hajlamos, rosszul adszorbeálódik a talajon, ezáltal eljut annak mélyebb rétegeibe. 2010-ben trágyában 91 mg kg⁻¹ [1], a talajban pedig 0,18 mg kg⁻¹ [1] koncentrációban mutattak ki szulfametazint.

Kísérleti körülmények

A vizsgálatokhoz kétféle 20,5 mm átmérőjű, 227 mm hosszú, 15 W elektromos teljesítményű, és 4,3 W UV teljesítménnyel rendelkező, a LightTech által gyártott kisnyomású higanygőz lámpát használtunk. A két lámpa elektromos és geometriai paraméterei, valamint a 254 nm-re vonatkozó foton fluxusuk megegyezett (ferrioxalát aktinometriával meghatározva: $5,97 \times 10^{-6} \text{ mol}_{\text{photon}} \text{ s}^{-1}$). Az UV lámpa búrája hagyományos kvarcból készült, míg az UV/VUV lámpáé szintetikus kvarcból, mely a kvarccal ellentétben képes átengedni a 185 nm-es VUV fényt. Az ózon előállítására Ozomatic Modular 4HC típusú ózonizátort használtunk, melynek maximális elektromos teljesítménye 95 W. Az így előállított ózon koncentráció gáz fázisban, oxigén betáplálás mellett pedig 20 mg dm⁻³.

A használt henger alakú üvegreaktor (belső átmérője 60 mm, hossza 320 mm) közepén helyezkedett el a fényforrás, az optikai úthossz így 20 mm volt. Minden esetben 0,500 dm⁻³ térfogatú oldatot kezeltünk, amelyet oxigénnel, nitrogénnel, vagy levegővel, illetve oxigén/ózon gázkeverékkel buborékoltattunk át. Az átbuborékoltatás a reaktor alján lévő üvegszűrőn keresztül történt, az áramló gáz biztosította a megfelelő keveredést.

A szulfametazin koncentrációját $1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-4}$ M között változtattuk a vizsgálatok során. A kezelt oldatok esetén a szulfametazin és köztitermékei elválasztása Agilent 1100 típusú HPLC-vel történt, Lichrospher 100, RP-18 oszlopot, eluensként pedig 40:60 metanol:víz
elegyet használtunk. Az eluens áramlási sebessége 1,0 cm⁻³ perc⁻¹ volt. A szulfametazin detektálása UV/Vis DAD detektorral történt, 266 nm-en. A kezdeti átalakulási sebességet a kinetikai görbe kezdeti, lineáris szakaszára illesztett egyenes meredekségéből határoztuk meg.

A kémiai oxigénigény (KOI) mérése LCK1414 (Hach) típusú, 5,0 – 60,0 mg dm⁻³ méréstartománnyal rendelkező kolorimetriás küvettateszttel történt. Az egyes minták spektrumainak felvételére Agilent 8453 spektrofotométert használtunk.

Méréseink során Milli-Q nagytisztaságú vizet, tisztított szennyvizet, illetve csapvizet használtunk, melyek jellemzőit az 1. táblázat tartalmazza.

	csapvíz	tisztított szennyvíz
рН	7,3	5,5
Vezetőképesség (µS cm ⁻¹)	482	21,9
KOI (mg dm ⁻³)	0,69	< 15
NH₄-N (mg dm⁻³)	< 0,4	< 0,4
NO₃⁻ (mg dm⁻³)	< 0,7	1,5
Cl ⁻ (mg dm ⁻³)	8,75	-
TOC (mg dm ⁻³)	8	-

1.táblázat A mátrixhatás vizsgálatához használt vizek jellemző értékei

Eredmények és értékelésük

A szulfametazin oldat UV és UV/VUV fotolízise, valamint ózonos kezelése és annak UV fotolízissel való kombinációja esetén vizsgáltuk az oldott oxigén, a kiindulási szulfametazin koncentráció, illetve az ózonkoncentráció hatását a szulfametazin átalakulási sebességére. A kis intenzitású VUV fény jelentősen megnövelte az átalakulás hatékonyságát, ami a víz VUV fotolízise következtében képződő gyökök,

$$H_2O \rightarrow H^{\bullet} + HO^{\bullet}$$
 $\Phi(HO^{\bullet})_{185 \text{ nm}} = 0.33$

Elsősorban a HO• jelenlétével értelmezhető (k(szulfametazin + HO•) = 8.3×10^9 mol⁻¹ dm³ s⁻¹ [3].

UV fotolízis során a kiindulási koncentráció növelésével nő az elnyelt fény intenzitása és ennek megfelelően az átalakulás sebessége is. UV/VUV fotolízis során a szulfametazin átalakulását részben az UV fotolízis részben pedig a HO•-kel való reakció okozza. Annak ellenére, hogy a VUV fény intenzitása egy nagyságrenddel kisebb, mint az UV fényé, több mint kétszeresére növeli az átalakulási sebességet (2. Táblázat).

c ₀ (×10 ⁻⁵ M)	$I^{254 \text{ nm}}/I_0^{254 \text{ nm}}$	r ₀ ^{UV} /r ₀ ^{UV/VUV}	UV	UV/VUV
			r ₀ (×10 ⁻⁸	³ M ⁻¹ s ⁻¹)
1,0	0,38	4,1	0,83	3,44
2,0	0,75	2,4	2,13	5,00
4,5	0,93	2,1	2,81	5,82
6,5	0,96	1,9	3,24	6,28
10,0	0,98	2,1	3,20	6,87

2. táblázat A szulfametazin UV és UV/VUV fotolízise során mért kezdeti átalakulási sebességek, azok hányadosai és a 254 nm-en elnyelt UV fény relatív intenzitása



2. ábra Oldott oxigén hatása a spektrumokra UV és UV/VUV fotolízis során

Az oxigén általában pozitív hatással van a szerves vegyületek fotolízise és gyökös átalakulása esetén egyaránt. UV fotolízis során az oldott oxigén esetünkben kismértékben lassította a szulfametazin átalakulási sebességét (2. táblázat), a spektrumok alakjára viszont nem volt hatással (2. ábra). UV/VUV fotolízis esetén ezzel szemben az oldott oxigén hatása az UV spektrumok alakjának változásában is megnyilvánul, ugyanakkor nincs hatása az átalakulási sebességre. A HO•-kel való reakció és a molekuláris oldott oxigén jelenléte peroxilgyökökön keresztül új lehetőséget teremt a szulfametazin és köztitermékei átalakulására.

	$r_0 (\times 10^{-8} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1})$		
	oxigén	levegő	nitrogén
UV	2,51	2,65	3,34
UV/VUV	5,32	5,24	5,45

3. táblázat Az oldott oxigén hatása a szulfametazin átalakulási sebességére UV és UV/VUV fotolízis során, 1.0×10⁻⁴ M kiindulási koncentrációjú oldatok esetén

Ózonos kezelés során állandó ózon koncentráció ($c_{O3}(gáz fázis) = 5,9 \times 10^{-5}$ M) mellett a szulfametazin kiindulási koncentrációjának növelésével, valamint állandó szulfametazin koncentráció ($1,0 \times 10^{-4}$ M) mellett az ózon koncentrációjának növelésével egyaránt egyenesen arányosan nőtt az átalakulás sebessége (3. ábra). Az átalakulás sebességét csak kismértékben növeli meg az UV fény jelenléte annak ellenére, hogy az ózon vizes oldatának UV fotolízise jelentősen növeli a HO• képződés sebességét (3. ábra)



3. ábra A szulfametazin koncentrációjának (a), és az ózon kiindulási koncentrációjának (b) hatása az ózonos kezelés, és annak UV fotolízissel való kombinációja során

Az egyes módszereket összehasonlítottuk a mineralizáció hatékonysága szempontjából is (4. ábra). UV fotolízis során a KOI értéke nem változik, ugyanakkor UV/VUV fotolízis során jelentősen csökken, a változás sebessége megnő a szulfametazin átalakulása után. Ózonos kezelés során a KOI érték kezdetben meredeken csökken, azonban ózon koncentrációtól függetelenül, 24%-nál nagyobb mértékű csökkenést nem tudtunk elérni, ami az ózonnal lassan reagáló köztitermékek képződésére utal. Bár az UV fénnyel való kombináció nem növelte a szulfametazin átalakulási sebességét, jelentősen megváltoztatta a mineralizáció hatékonyságát. Az ózon és UV fény együttes alkalmazása során a KOI folyamatosan csökken, a fotolízis végére az átalakulás mértéke eléri a 90%-ot (4. ábra).



4. ábra A KOI értékének változása levegővel telített 1,0×10⁻⁴ M kiindulási koncentrációjú szulfametazin oldatok UV és UV/VUV fotolízise (a), valamint ózonos kezelése és UV/ózonos kezelés kombinációja során (b)

Az egyes módszerek hatékonyságát a kiindulási vegyület átalakulási sebessége és a mineralizáció sebessége alapján egyaránt érdemes összehasonlítani. Ugyanakkor gyakorlati szempontból az is fontos, hogy a különböző mátrixok milyen mértékben képesek csökkenteni az átalakulási sebességet. Esetünkben mindkét vizsgált mátrix enyhén növelte a szulfametazin átalakulási sebességét (3. táblázat).

	r₀ (×10 ⁻⁷ M ⁻¹ s ⁻¹)			
	Milli-Q víz	csapvíz	Tisztított szennyvíz	
UV	0,32	0,42	0,45	
υν/νυν	0,68	0,74	0,88	
ózonos kezelés	2,01	2,65	3,41	
UV/ózonos kezelés	2,16	3,04	3,81	

4. táblázat A szulfametazin átalakulási sebessége különböző mátrixokban

A továbbiakban a Bolton által kialakított modell segítségével, az ózonizátor és a fényforrás teljesítményét felhasználva kiszámoltuk a fajlagos energiafelhasználást, azaz hogy 1 m³, 1,0×10⁻⁴ M kiindulási koncentrációjú szulfametazin oldat kezelése során mennyi energia szükséges a koncentráció egy nagyságrenddel való csökkentéséhez. Az értékek összehasonlítása alapján egyértelműen az ózonozás a leginkább költséghatékony módszer, melyet az ózon/UV kombináció követ.



5. ábra: Fajlagos energiafelhasználás

Összefoglalás

- A kis intenzitású VUV fény hatására a szulfametazin átalakulási sebessége kétszeresére nőtt.
- A mineralizáció UV fotolízisnél elhanyagolható mértékű, UV/VUV fotolízisnél jelentős, sebessége a szulfametazin átalakulása után megnő.
- Az ózonos kezelés igen hatékonynak bizonyult, annak UV fotolízissel való kombinációja nem növelte tovább a szulfametazin átalakulási sebességét.
- Ózonos kezelés során a KOI legfeljebb 50%-kal volt csökkenthető, míg UV fotolízissel való kombinációja során több mint 90%-kal.
- A mátrix (csapvíz és tisztított szennyvíz) minden esetben pozitív hatással volt a szulfametazin átalakulási sebességére.
- Fajlagos energiafelhasználás szempontjából az ózonozás a legkedvezőbb módszer.

Irodalomjegyzék

- [1] R. Nassar, A. Rifai, A. Trivella, P. Mazellier, S. Mokh, M. Al-Iskandarani; Wiley, 2018
- [2] M. Conde-Cid, D. Fernández-Calviño, J.C. Nóvoa-Muñoz, M. Arias-Estévez, M. Díaz-Raviña, A. Núñez-Delgado, M.J. Fernández-Sanjurjo, E. Álvarez-Rodríguez; *Journal of Environmental Management* 2018 (228) 239–248
- [3] L. Wojnárovits, T. Tóth, E. Takács; *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*; 1064-3389; **2018**, 1–37

A publikáció a Bolyai János Kutatói Ösztöndíj valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3-SZTE-207 és ÚNKP-19-4-SZTE-115 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

AMORF SZÉN HORDOZÓN IMMOBILIZÁLT ARANY ÉS PALLÁDIUM NANORÉSZECSKÉK SZINTÉZISE ÉS FELHASZNÁLÁSA A SZÉN-DIOXID ELEKTROKATALITIKUS REDUKCIÓJÁBAN

Karádi Krisztina^{a,b}, Lokesh Kesavan^b, Carita Kvarnström^b

^aAnyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport, Szerves Kémiai Tanszék, Kémiai Intézet, Szegedi Tudományegyetem, Szeged, Magyarország

^bMaterials Chemistry Research Group, Laboratory of Materials Chemistry and Chemical Analysis, Turku University Centre for Materials & Surfaces, Department of Chemistry, University of Turku, Finland

Bevezetés

Napjaink legfontosabb, megoldásra váró problémái közé tartozik az élhető jövő megteremtése, amihez elengedhetetlen a globális felmelegedés problémájának kezelése és az energiatermelésnek, illetve tárolásának megbízható és költséghatékony módjának kidolgozása. A szén-dioxiddal folytatott kutatások ezekre a kérdésekre igyekeznek megoldást találni.

A szén-dioxid elektrokémiai átalakítása energiagazdag tüzelőanyagokká, illetve vegyianyagokká számos kutatás tárgyát képezi, ugyanis ezzel egyszerre nyerhetnek megoldást a globális szén-dioxid tartalom csökkentésére, és az olyan forrásokból, mint a nap és a szél, időszakosan megújuló energia hatékony tárolására [1-2]. Ez a folyamat újrahasznosítja a szén-dioxidot, lehetővé téve egy közel szén-semleges, zárt rendszerű tüzelőanyag-égetési módszert. Így csökkenthető a CO₂-kibocsátás, megakadályozva az üvegházhatású gázok koncentrációjának növekedését a légkörben.

Az időszakos villamosenergia stabilis és hordozható tárolására a kémiai átalakítás nyújthat megoldást. Egyik lehetséges módszer az, hogy a termelt elektromos áram segítségével és megfelelő katalizátorok használata mellett, szén-dioxid kémiai redukcióját hajtjuk végre. A szén-dioxid stabilizálása azonban termodinamikai szempontból kihívást jelent, általában nagy túlfeszültséget igényel, tehát az elektrokémiai szén-dioxid redukció hatékonysága nagymértékben függ a katódos elektrokatalizátor aktivitásától és szelektivitásától.

A közel azonos méretű fém nanorészecskék előállítása, jellemzése és katalitikus tulajdonságainak vizsgálata napjaink jelentős kihívása, ugyanis így egyedi, igen szelektív katalizátorok állíthatók elő, amelyek segítségével a fent említett kihívások megoldhatók [3].

Kísérleti munkánk során célul tűztük ki CO₂ redukciós reakciók kivitelezését egy elektrokémiai cellában. A reakciókhoz amorf szénhordozón immobilizált arany, illetve arany-palládium nanorészecskéket szintetizáltunk és alkalmaztunk katalizátorként, szénszálas üvegelektródra (angolul glassy carbon electrode, GCE) rögzítve.

Kísérleti rész

Az amorf szénhordozós nanorészecskék szintéziséhez a szol-immobilizációs módszert alkalmaztuk. Első lépésben elkészítettük a fémionok vizes oldatát. A nanorészecskék méretének kontrollálása, illetve a későbbi agglomeráció megelőzése érdekében polivinil-alkohol (PVA) vizes oldatát öntöttem a diszperzióhoz, ahol a fémion és a PVA tömegaránya 1:1,2 volt. 5 perc kevertetés után a frissen elkészített nátrium-borohidrid oldatát adagoltuk az elegyhez redukálószerként úgy, hogy a fémion és a NaBH₄ mólaránya 1:5 legyen. A kevertetést további 30 percig folytattuk.

Következő lépésként a diszpergált arany nanorészecskéket amorf szénen immobilizáltuk. A megkötődés elősegítésére a pH-t ~2-re állítottuk be kénsav felhasználásával. Az arany kolloid és a szén keverékét 1–16 órán át kevertettük a homogén felületi megkötődés érdekében. Az előállított terméket szűrtük, mostuk desztillált vízzel és szárítottuk 16 órán át, 110 °C-on.

Az immobilizált nanorészecskék redoxi viselkedésének vizsgálatára ciklikus voltammetriás méréseket végeztünk el. A mérések során Pt elektródot, Ag/AgCl referencia elektródot használtunk és munkaelektródként szénszálas üvegelektródot alkalmaztunk. A szénhordozós nanorészecskéket etanolban diszpergáltuk (1 mg/1 ml), majd cseppenként vittük fel az üvegelektródra, hogy összesen 30 µg szilárd anyag legyen rajta. Az elektromos cella ezen kívül elektrolitként 388 mg TBAPF₆-ot is tartalmazott, 10 ml acetonitrilben feloldva. Először N₂ gázt buborékoltattunk át a cellán 30 percig, majd ugyanennyi ideig CO₂-ot. A méréshez 50 mV/s szkennelési sebességet használtunk, és -2 V-tól 0 V-közötti tartományban mértünk.

Eredmények és értékelésük

A hordozós és a hordozómentes nanorészecskék viselkedését összehasonlítottuk az elektrokatalitikus redukció során. Mindkét esetben ugyanannyi arany nanorészecskét vittünk fel a munkaelektród felületére. A hordozómentes Au nanorészecske esetén jól megfigyelhető, hogy a kezdeti redukciós potenciál magasabb értéket ért el, ami kevésbé hatékony katalitikus aktivitásra utal (1. ábra).



1. ábra A CO₂ elektrokatalitikus redukciójának ciklikus voltammogramja GC elektródon mérve. Katalizátorként Au nanorészecskét (fekete), illetve amorf szénhordozón rögzített Au nanorészecskét (piros) alkalmazva.

Az immobilizálás optimalizálása során a kevertetési idő volt az egyik legmeghatározóbb szintézisparaméter. Egy órás kevertetést követően a szűrlet színes volt, míg tizenhat órás kevertetést követően színtelen szűrletet kaptunk, ami hatékonyabb megkötődésre utal. Mint az az elektrokémiai vizsgálatokból is kiderül, ennek a paraméternek komoly hatása volt a katalitikus viselkedésre is (2. ábra), de nem a várt módon. Összehasonlítva az 1 órás és 16 órás kevertetés segítségével immobilizált Au nanorészecskék katalitikus tulajdonságát még így is a rövidebb kevertetési idejű minta volt nagyobb aktivitású, ugyanis feltételezésünk szerint a megnövekedett kevertetési idővel megnövekedett a részecskeméret [4].



2. ábra A CO₂ elektrokatalitikus redukciójának ciklikus voltammogramja GC elektródon mérve. Katalizátorként amorf szénhordozón rögzített Au nanorészecskét alkalmazva.

A katalitikus aktivitást jelentősen befolyásoló szintézisparaméter volt még a kiindulási diszperzió fémion-koncentrációja. A nominálisan 1 illetve 5 % tömegarányú arany nanorészecskét tartalmazó rendszer elektrokatalitikus redukciós viselkedésének összehasonlításakor a nagyobb aranytartalomnál a potenciál -1,26 V értéket mutat, vagyis nagyobb mennyiségű katalitikusan aktív komponenssel nagyobb aktivitást sikerült elérni (3. ábra).



3. ábra A CO₂ elektrokatalitikus redukciójának ciklikus voltammogramja GC elektródon mérve. Katalizátorként amorf szénhordozón különböző mennyiségben immobilizált Au nanorészecskéket alkalmazva.

A munkánk másik felében a kétfémes, arany-palládium, hordozós katalizátorok katalitikus viselkedését vizsgáltuk. Ahogyan azt már az irodalomban is megállapították korábban, Pd nanorészecskéket amorf szénhordozón immobilizálva a CO₂ elektrokatalitikus redukciója során nem tapasztaltunk jelentős katalitikus aktivitást. Azonban a két fémiont együtt immobilizálva a hordozón sikeres redukciót értünk el. Az 1,85:1 arányú Au:Pd nanokompozit alkalmazásával a palládiummentes rendszernél is nagyobb aktivitást sikerült elérni (4. ábra).



4. ábra A CO₂ elektrokatalitikus redukciójának ciklikus voltammogramja GC elektródon mérve. Katalizátorként amorf szénhordozón immobilizált Au/Pd kétfémes katalizátort alkalmazva.

Összefoglalás

Az amorf szénhordozós arany nanorészecske szénszálas üvegelektródon a CO₂ redukciójának katalizátoraként való alkalmazásakor a potenciál -1,5 és -1,0 V között változott. A hordozón immobilizált nanorészecskék mennyisége és mérete egyaránt befolyásolta a katalitikus viselkedést. Ezek alapján tudtuk finomhangolni a szintézismódszert.

A kétfémes, arany-palládium hordozós katalizátorok esetén, katalitikus szempontból szinergia figyelhető meg az arany és palládium részecskék között 1,85:1 Au:Pd nominális aránynál. Ezzel az aránnyal kisebb potenciálnál is elérhető a CO₂ elektroredukciója.

Irodalomjegyzék

- S. Solomon, J.S. Daniel, T.J. Sanford, D.M. Murphy, G.-K. Plattner, R. Knutti, P. Friedlingstein, *PNAS* 2010, (107), 18354–18359
- [2] O. S. Bushuyev, P. De Luna, C. T. Dinh, L. Tao, G. Saur, J. van de Lagemaat, S. O. Kelley, E. H. Sargent, *Joule* 2018, (2), 825–832
- [3] J. Shan, H. Tenhu, Chemical Communications 2007, (44), 4580-4598
- [4] S. K. Balavandy, K. Shameli, D. R. B. A. Biak, Z. Z. Abidin, *Chemistry Cental Journal.* 2014, (8), 11:1–10

KÉTFÁZISÚ KIOLDÓDÁSVIZSGÁLATI MÓDSZER FEJLESZTÉSE EGY ROSSZ VÍZOLDHATÓSÁGÚ HATÓANYAG KÜLÖNBÖZŐ KRISTÁLYMÓDOSULATAINAK EGYIDEJŰ KIOLDÓDÁS ÉS FELSZÍVÓDÁS VIZSGÁLATÁHOZ

Kádár Szabina^a, Katona Miklós^b, Jaksáné Borbás Enikő^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest Műegyetem rakpart 3 ^bEgis Gyógyszergyár Zrt, Készítmény analitikai fejlesztési laboratórium 3, 1106 Budapest, Keresztúri út 30-38

A gyógyszeriparban a fejlesztés alatt álló és piacra kerülő hatóanyagok között nagymértékben megnövekedett a Biofarmáciai Osztályozási Rendszer II-es csoportjába tartozó vegyületek száma, amelyek rossz oldhatósággal és nagy permeábilitással rendelkeznek.

A megfelelő biohasznosulás elérése a hatóanyag kioldódásának javításán keresztül elérhető, amelyre a két fő lehetőség áll rendelkezésünkre. Az egyik lehetőség az oldhatóság javítása, ami kioldódás gyorsítása mellett egyben a kioldódás során elérhető maximális oldatkoncentrációt is növeli. A másik az oldódás számára hozzáférhető felület növelése, ugyanis minél nagyobb az oldat és a szilárd anyag közötti határfelület, annál nagyobb felületen történik kölcsönhatás az oldószer és a szilárd anyag molekulái között, és így annál gyorsabb a kioldódás [1].

Kihívás ilyen vegyületek esetén az olyan kioldódás vizsgálati módszerek fejlesztése, amelyek megfelelően képesek modellezni az emésztőrendszer körülményeit és megfelelő előrejelzést mutatnak a várható biohasznosulásra. A legegyszerűbb, a hagyományos kioldó vizsgálatokhoz képest mégis jelentős *in vitro-in vivo* korreláció javulást eredményező elrendezés a kioldó közeg fölé rétegzett szerves fázis. A vizsgálat során a tabletta először feloldódik a kioldóközegben, majd a hatóanyag megoszlik a vizes és a szerves fázis között, ezzel modellezve a sejtmembránok lipofil jellegét, amelyen keresztül a gyógyszer felszívódik. Ezen vizsgálat során a nem ionizált hatóanyag folyamatosan diffundál a lipofil fázisba, hasonlóan a felszívódás folyamatához a gyomor-bél traktusban.

A kutatómunkánk során a választott hatóanyag egy nem-szelektív béta- antiaritmiás és antianginás szerként, valamint magas vérnyomás kezelésére alkalmazható racém formában forgalomba kerülő hatóanyag, amelynek 5 polimorf és három szolvát módosulata ismert. A különböző polimorf módosulatok, különböző fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, beleértve az olvadáspontot, oldhatóságot, kémiai stabilitást és a feldolgozhatóságot is. Kutatómunkánk során célul tűztük ki ezen hatóanyag kioldódásának javítását polimorf átalakítással, sóképzéssel és amorf forma előállításával,

továbbá ezek gyógyszerkészítménnyé való formulálását. Célunk volt továbbá ezen végső gyógyszerformák kétfázisú kioldódás vizsgálata, mely során kapott eredményeket biohasznosulás szempontjából összehasonlítottuk.

Előállítások és módszerek

Oltásos átkristályosítás

A hatóanyag II-es polimorf módosulatából kimértünk 2,5 grammot és egy háromnyakú gömblombikban 12,5 mL etil-acetátban szuszpendáltuk. A hőmérővel és hűtővel ellátott lombikot 100 1/perc fordulatszám mellett olajfürdőben 60 °C-ig fűtöttük. A kívánt hőmérséklet elérésekor beoltottuk előzetes kísérletekből származó Form I módosulat 50 mg-jával. Állandó keverés mellett 60 °C-on tartottuk az elegyet 2 órán keresztül. A fűtés és a keverés leállítása után az elegyet szobahőmérsékletig hagytuk hűlni majd üvegszűrőre öntve, vákuum és szívópalack segítségével szűrtük, szobahőmérsékleten szárítottuk.

Foszfátsó előállítása

Egy gömblombikba 75 mL acetont töltöttünk ezután hozzáadtunk 2,5 grammot a hatóanyag II-es polimorf módosulatából. Megfelelő kevertetés mellett részletekben ~ 15 mL vizet adagoltunk, amelynek következtében az anyag feloldódott. A következő lépésben foszforsav hozzáadása után a foszfát só kivált. Szobahőmérsékleten tartva 1 órás kevertetés után az oldatot rotadeszt segítségével szárazra pároltuk és 0,5 mL víz hozzáadása után a kikristályosodott anyagot exszikkátorban tömegállandóságig szárítottuk.

Elektrosztatikus szálképzés

Az elektrosztatikus szálképzéshez először a homogén polimer oldatot készítettünk el, mely a polimert és a hatóanyagot tartalmazta 5mL etanol/5 mL DMF oldószerben.

Minta neve	Hatóanyagtartalom [g]	Polimer tartalom [g]	Oldószer
Hatóanyag/PVP K30	1,281	5,125	EtOH/DMF 1:1

1. táblázat Elektrosztatikus szálképzéshez használt polimer oldat összetétele

Ezután a polimer oldatot egy fecskendőbe töltöttük, amiből egy digitális pumpa adagolta folyamatosan a nagyfeszültségre kötött tűhegyre gumicsövön keresztül. 20 kV feszültséget alkalmaztunk, valamint a pumpa adagolási sebességét 2 mL/h-ra állítottuk be. A szálképzést szobahőmérsékleten hajtottuk végre. Kollektornak egy alumínium fóliával bevont fém lapot használtunk

körülbelül 20 cm távolságra a tűhegytől. A fehér, pókhálószerű termék az alufóliáról könnyen eltávolítható volt.

Röntgendiffrakció

PANalytical (Amelo, the Netherlands) X'pert ProMDP Röntgen diffraktométerrel végeztük a méréseket, mely Cu-K" besugárzást (1.542 Å) és Ni szűrőt használ. A feszültség 40 kV, míg az áramerősség 30 mA volt a mérések során. A minták 2° és 42° 2θ között kerültek vizsgálatra.

Kétfázisú kioldódás vizsgálat

A kioldódás vizsgálathoz a Hanson Vision Elite 8 típusú kioldó készüléket használtunk, 10 μmes csővégi szűrővel, amelyet összekapcsoltunk egy SOTAX CE-7 típusú USP IV kioldó készülékkel. A megvalósítás sematikus ábrája az **1. ábrán** látható.



1. ábra USP Apparatus IV összekapcsolva USP Apparatus II-vel [2]

A módszer főbb paramétereit a 2. táblázatban foglaltuk össze.

Keverőelem típusa	dupla lapát
Fordulatszám	50 rpm
Áramlási sebesség	32 mL/perc
USP IV cella mérete	22,6 mm
Vizsgálati hőmérséklet	37,0±0,5 °C
	500 mL pH=6,5 foszfát puffer
Kioldó közeg	200 mL nonanol
	foszfát puffer: automata mintavevő
Mintavétel módja	nonanol: kézi mintavevő
Mintavételi időpontok	5,15,30,45,60,90 és 120 perc
Tartalom mérés módja	Nagy teljesítményű folyadék kromatográfia (HPLC)

2. táblázat Kétfázisú kioldódás vizsgálati módszer fejlesztés összefoglalása

Mintavételezést követően a nonanolos fázisból vett mintákból 200 μ L-t 1 mL-re hígítottunk *MeOH: H*₂*O* (70:30) eleggyel, a foszfát pufferből vett minták nem igényeltek mintaelőkészítést a HPLC-vel történő oldott hatóanyagtartalom meghatározása előtt.

Eredmények

Röntgendiffrakció (XRD)



2. ábra A hatóanyag különböző módosulatainak röntgendiffrakciós felvételei

Kristályos és amorf anyagok megkülönböztetésére a leggyakrabban használt porröntgen diffrakció esetében karakterisztikus csúcsok megjelenése jelzi a diffraktogramban a kimutatási határnál nagyobb arányú kristályos fázis jelenlétét. A módosulatok diffraktogramjai a **2. ábrán** láthatók. A szálképzett mintánál nem láthatók karakterisztikus csúcsok, hiszen az amorf szerkezetű anyagok a hosszú távú rendezettség hiánya miatt nem adnak éles diffrakciós csúcsokat, ezért ily módon nem azonosíthatók. Az I-es és II-es polimorf módosulat azonosítása rendkívül egyszerű, a kapott diffraktogramokat összevetettük a szoftver adatbázisában fellelhető eredményekkel. A foszfát só azonosítása (3. Ábra felső) egy szabadalmi publikációban megjelent röntgendiffrakciós felvétel összevetésével történt. (3. Ábra alsó)



3. ábra Általunk előállított hatóanyag-dihidrogén-foszfát röntgendiffrakciós felvétele (felső) WO 2008/002683 A2 publikációsszámú szabadomban megjelent hatóanyag-dihidrogén-foszfát diffraktogramja (alsó) [6]

Kétfázisú kioldódás vizsgálat

A mérést befolyásoló paraméterek optimalizálása után elvégeztük a különböző módosulatok kétfázisú kioldódás vizsgálatát és a kapott eredmények alapján összehasonlítottuk a készítményeket ez alapján várható biohasznosulásuk szempontjából.



4. ábra Az általunk fejlesztett módszer vizes (bal oldal) és szerves (jobb oldal) fázisából vett minták eredményei

A **4. ábrán** található eredményekből megfigyelhető, hogy a szerves fázis alkalmazása mind a négy hatóanyag módosulat esetén lecsökkentette a pH= 6,5 foszfát pufferben a maximális hatóanyagkoncentrációt, aminek oka a fázisok közötti transzport folyamat. Megemlítendő, hogy a módosulatok közötti rangsor azonos a szerves fázis alkalmazása nélküli vizsgálat eredményeinél tapasztalt eltérésekkel. A szerves fázis eredményeiből is hasonló konklúzió vonható le, mint a vizes fázis eredményeiből, az amorf módosulat előállítása felszívódás szempontjából is jelentős javulást eredményezett a kereskedelmi forgalomban kapható II-es módosulat felszívódás eredményeihez képest. Az I-es módosulat és a foszfát só eredményei között nem lehet különbséget tenni a kétfázisú vizsgálat során, aminek magyarázata, hogy sótartomány és a Henderson-Hasselbach tartomány pont 6,5-es pH-n találkozik, ezért ez az a pH, ahol a só és az I-es forma ugyanúgy fog viselkedni. Vagyis a szervezet ezen pH tartományán várhatóan azonos mennyiség szívódik fel a két módosulatból.



5. ábra Amorf forma anyagmérlege azegyes mintavételezési időpontokban

Amorf forma esetén a kétfázisú kioldódás vizsgálat vizes fázis eredményeinél megfigyelhető, hogy a 60. perc után koncentráció csökkenés lépett fel. Ennek egyik oka lehet, hogy a hatóanyag kicsapódott, viszont a vizsgálat során ennek látható jele nem volt, ezért reprezentatív oszlop

diagramokban ábrázoltam a módosulatok anyagmérlegét, (**5. ábra**) ami alapján megállapítható, hogy kicsapódás valóban nem történt, hiszen a szilárd fázisban ezután is hatóanyagtartalom csökkenés figyelhető meg, csak a hatóanyag felszívódásának mértéke megnövekedett, ami a vizes fázis koncentrációjának csökkenését eredményezte. Annak oka, hogy a 120 perces mintavétel esetén is maradt szilárd anyag az anyagmérleg szerint, feltehetőleg az, hogy a kapszulázás kézzel, analitikai mérlegen való beméréssel történt és a gyártás sem egy validált módszer, így ezek a folyamatok minimális hatóanyag veszteséggel járhattak.

Konklúzió

Kutatómunkánk során sikeresen előállítottuk a hatóanyag II-es polimorf módosulatából kiindulva oltásos átkristályosítással a stabilabb I-es módosulatot, sóképzéssel a vízmentes hatóanyag-dihidrogénfoszfátot és elektrosztatikus szálképzéssel az amorf módosulatot. Ezeket szilárd analitikai vizsgálatokkal azonosítottuk, majd készítménnyé formáltuk. A módszer optimálását követően sikeresen megvalósítottuk a módosulatokból formált készítmények kétfázisú kioldódás vizsgálatát. Az eredmények alapján elmondható, hogy a kereskedelmi forgalomban is kapható II-es módosulatot tartalmazó készítménynek várhatóan nagyobb a biohasznosulása, mint az I-es, valamint a sóformának. Elmondható továbbá ezek alapján, hogy a foszfát só esetén forgalomba hozatalát csak szabadalmaztathatósága indokolja, hiszen kioldódási profilja nem indokolja a retard formát. Kioldódás javulást csak a szálképzéssel előállított amorf forma esetén sikerült elérni, ami a felszívódásban is jelentős növekedést eredményezett, viszont ez egy kevésbé stabil módosulat, így stabilitási problémák léphetnek fel.

Irodalomjegyzék

- [1] Zs. K. Nagy, Doktori értekezés, 2012
- [2] A. Pestieau, F. Krier, A. Brouwers, B. Streel, B. Evrard. *European Journal of Pharmaceutical* Sciences; **2016** (92) 212-219

A munka a FIEK_16-1-2016-0007 számú projekt keretén belül a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a "Felsőoktatási és Ipari Együttműködési Központ – Kutatási infrastruktúra fejlesztése – FIEK_16" pályázati program finanszírozásában valósult meg.

FOTOINICIÁLT TIOL-ÉN ADDÍCIÓS REAKCIÓK TELÍTETLEN MONO- ÉS DISZACHARIDOKON

<u>Kelemen Viktor</u>^{a,b}, Bege Miklós^{a,b}, Eszenyi Dániel^a, Debreczeni Nóra^{a,c}, Herczegh Pál^a, Borbás Anikó^a

^aDebreceni Egyetem, Gyógyszerészi Kémia Tanszék. 4032 Debrecen, Egyetem tér 1 ^bDebreceni Egyetem, Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola, 4032 Debrecen, Nagyerdei körút 98 ^cDebreceni Egyetem, Kémiai Tudományok Doktori Iskola. 4032 Debrecen, Egyetem tér 1

Bevezetés

Az α -glikozidos kötéssel rendelkező szénhidrátok rendkívüli mértékben elterjedtek a természetben, a kicsiny prokariótáktól egészen a fejlett organizmusokig. Az *O*-glikozidos kötés viszont természetéből adódóan könnyen bontható enzimatikusan, így figyelmünket a biológiailag releváns szénhidrátok *S*-glikozidos kötésű mimetkumai felé fordítottuk. A tiokötésű glikokonjugátumok biológiai környezetben stabilak, ezért glikobiológiai vizsgálatokra és gyógyszerfejlesztésre alkalmasabbak a természetes *O*-glikozidoknál. Az 1,2-cisz- α -tioglikozidos kötés sztereoszelektív kialakítása azonban laboratóriumi körülmények között igen nehéz feladat, és az irodalomban nem találtunk általánosan alkalmazható eljárást erre a kötéstípusra. Fotoiniciált tiol-én addíciós reakcióval már sikerült kiváló regio- és sztereoszelektivitással előállítani tiodiszacharid mimetikumokat, és megállapítottuk, hogy kiválóan alkalmas a nehezen előállítható 1,2-cisz- α -glikozidos kötés sztereoszelektív létrehozására [2]. Megfigyeltük, hogy a reakció rendkívül szokatlan hőmérsékletfüggést mutat, a hűtés elősegíti, a melegítés pedig gátolja a reakció végbemenetelét [3]. Éppen ezért kiterjesztettük a reakciót további telítetlen szénhidrátokra és tiolokra, vizsgálva a reakciókörülmények változtatásának hatását a konverzióra és az izolált hozamra.

Eredmények

Korábbi kutatásokból kiderült, hogy a védett 2-acetoxi-D-glükál szobahőn is jól reagál különféle peptid és szénhidrát karakterű tiolokkal, viszont az egyszerű tiolokkal, mint például a terc-butil- vagy a benzil-merkaptán, rendkívül alacsony konverziók voltak megfigyelhetők. [2, 4] Elsőként tehát további egyszerű tiolokat addicionáltattunk különböző hőmérsékleteken peracetilezett 2-acetoxi-D-glükálra, majd aminosavtiolt (N-acetil-L-ciszteint), végül mono- és diszacharidtiolt (1. táblázat).

	DPAP, 3 x 0.1 ekv. 3 x 15 min	OAc	
AcO OAc	+ RSH \rightarrow At $h_{\nu} (\lambda_{max} = 365 \text{ nm})$ toluol vagy toluol-metanol	AcO AcO SR	
Tiol (tiolfelesleg)	Termék	Hőmérséklet (tiolfelesleg)	Hozam (%)
(3-15 ekv)	Aco Aco Aco S	rt (5) rt (3 x 5) 0 °C (3) 0 °C (5)	35 54 46 65
)—SH (3-15 ekv)	Aco Aco S	-40 °C (3) rt (5) rt (3 x 5) 0 °C (3) 0 °C (5) -40 °C (3)	18 32 51 56 68 50
NHAc HS COOH (2 ekv)	ACO ACO NHAC	rt -80 °C	61% 71%
Aco OAc Aco SH NHAc (2 ekv)	AcO AcO S OAC AcO S OAC AcHN OAC	rt -80 °C	55% 71%
A_{cO} A	AcO AC	rt 0 °C -20 °C -40 °C -80 °C	5 10 14 29 58

1. táblázat Addíciók védett 2-acetoxi-D-glükálra

A táblázatból jól látható, hogy néhány kivételtől eltekintve a hűtés igen előnyösnek bizonyult a konverzióra és az izolált hozamra nézve. Fontos megemlíteni, hogy az alacsony hozamok nem mellékreakciók létrejöttének voltak tulajdoníthatók, hanem a csekély konverziónak. Ezekben az esetekben a kiindulási szénhidrát el nem reagált maradéka tisztítás után visszanyerhető. A két egyszerű alkil-merkaptán esetében jóval nagyobb felesleget alkalmaztunk tiolból, ezzel próbálva a reakció előremenetelét javítani, és azt tapasztaltuk, hogy az igen magas (akár 15 ekvivalens) felesleg valóban

javítja a konverziót. A legutolsó esetben, a diszacharidtiol esetében pedig lépésről lépésre csökkentettük a hőmérsékletet, így megfigyelhettük a konverzió fokozatos növekedését. Ebben az esetben a toluol mellé szükséges volt *N-N*-dimetil-formamid koszolvenst alkalmazni, ugyanis a diszacharidtiol teljes oldódását csak így tudtuk elérni.

Enóz	Tiol	Termék	Hőmér- séklet	Hozam [a]
Aco OAc Aco OAc	SH (5 ekv)	Aco OAc Aco Aco S	rt 0 °C -40 °C -80 °C	28% 26% 56% 22%
AcO OAc AcO OAc OAc	HSAc (6-18 ekv)	ACO OAC ACO ACO ACO SAC	rt ^[b] 0 °C ^[b] -40 °C ^[b] -40 °C ^[c] -80 °C ^[b]	0 15% 22% 26% 23%
AcO OAc AcO OAc OAc	A_{cO} A	ACO OAC ACO ACO OAC ACO ACO OAC ACO ACO OAC	-40 °C -80 °C	35% 75%
ACO OAC OAC	NHAc HS (1.2 ekv)	ACO OAC	-80 °C	88%
Aco OAc OAc	AcO AcO AcO AcO $(1.2 ekv)$	OAc S OAc OAc OAc AcO OAc	-80 °C	73%
AcO AcO NHAc	HSAc (6-24 ekv)	AcO AcO AcHN SAc	-20 °C ^[b] -40 °C ^[b] -40 °C ^[d] -80 °C ^[c]	36% 50% 56% 63%
AcO AcO NHAc	A_{cO} A	ACO ACHN OAC ACO ACHN OAC ACO ACO OAC ACO ACO OAC	-40 °C -80 °C	65% 33%

^[a] Izolált hozam; itt sem tapasztaltunk melléktermék-képződést, az alacsony hozamok az alacsony konverziónak voltak tulajdoníthatók; ^[b] 6 ekv. tiolt használtunk; ^[c] 3 x 6 ekv. tiolt használtunk; ^[d] 3 x 8 ekv. tiolt használtunk

Ezután további, biológiailag érdekes szénhidrátok tiomimetikumainak eőállítása céljából a tiolén addíciós reakciót kiterjesztettük védett 2-acetoxi-D-galaktálra, 2-acetoxi-L-fukálra, illetve 2acetamido-D-glükálra is (2. táblázat).

Korábbi eredményeinkhez hasonlóan azt tapasztaltuk, hogy ezeknél a telítetlen szénhidrátoknál még jelentősebb hatást gyakorol a hőmérséklet a konverzióra [3]. Látható, hogy az esetek jelentős részében -40 és -80 °C hőmérsékleten mentek végbe legjobb konverzióval a reakciók. Fontos részlet, hogy a diszacharidtiol és a 2-acetamido-D-glükál reakciójánál az alacsony hozam az alacsony hőmérsékleten történő rossz oldékonyságnak volt tulajdonítható. Érdemes megemlíteni, hogy a tiolecetsav addíciójával létrejött 1-S-acetilcsoportot hordozó származékokból szelektív S-dezacetilezéssel előállíthatóak szabad tiolok, melyekkel további tioladdíciós reakciók végezhetők.

Ezt követően kiterjesztettük a reakció vizsgálatát egy telítetlen diszacharidra is (1. ábra). Megvizsgáltuk különféle szénhidráttiolok addícióját, és azt tapasztaltuk, hogy a hűtés ezekben az esetekben is előnyösnek bizonyult. Látható, hogy a szénhidráttiol konfigurációja mily mértékben befolyásolja a reakció hatékonyságát, az α -tiomannóz-tetraacetát -80 °C-on csaknem teljes mértékben addícionált a kettős kötésre, a míg β -tiomannóz-tetraacetát azonos körülmények között csupán 58%-kal. Fontos megemlíteni, hogy a telítetlen diszacharid, illetve a diszacharidtiol rosszabbul oldódik toluolban, mint a monoszacharidok, ezért szükséges volt koszolvensnek néhol *N-N*-dimetil-formamidot alkalmazni.



1. ábra Addíciók telítetlen diszacharidra

Összefoglalás

Előállítottunk számos kéntartalmú szénhidrátszármazékot különféle tiolok és telítetlen szénhidrátok reakciójából. A hőmérséklet, valamint a tiolok és telítetlen szénhidrátok konfigurációja jelentős mértékben befolyásolta a konverziót és az izolált hozamot. A reakciók teljes sztereo- és regioszelektivitással mentek végbe, melléktermékek nem keletkeztek. Hűtéssel minden esetben javítható volt a hozam, a hűtés szükséges mértéke viszont reakciónként eltérőnek bizonyult. Az alkiltiolok esetében nagyobb tiolfelesleget kellett alkalmazni, a szénhidráttiolok viszont jó konverziót mutattak mindössze 1.2-1.5 ekvivalens alkalmazásával is.

A szintetikus és kinetikai vizsgálatokból arra következtettünk, hogy a reakciók sztereoszelektivitásáért a különféle konformációjú szénközpontú gyökök stabilitása a felelős. A 2-szubsztituált hexoglikálokon a teljes 1,2-cisz- α -sztereoszelektivitás a ${}^{4}C_{1}$ konformációjú gyök kivételes stabilitásának tulajdonítható.

Ezen vegyületek a természetben előforduló di-, tri- és tetraszacharidok stabil tioanalógjainak tekinthetők, ezáltal potenciális enziminhibitorok, antibakteriális szerek lehetnek. A védőcsoportok eltávolítása után kezdődnek majd a biológiai vizsgálatok.

Irodalomjegyzék

- [1] M. Fiore, A. Marra, A. Dondoni, Journal of Organic. Chemistry., 2009 (11) 4422-442
- [2] L. Lázár, M. Csávás, M. Herczeg, P. Herczegh, A. Borbás, Organic. Letters. 2012 (14) 4650-4653
- [3] D. Eszenyi, V. Kelemen, F. Balogh, M. Bege, M. Csávás, P. Herczegh, A. Borbás, *Chemistry A European Journal* 2018 (24) 4532–4536
- [4] L. Lázár, M. Csávás, Á. Hadházi, M. Herczeg, M. Tóth, L. Somsák, T. Barna, P. Herczegh, A. Borbás, Organic & Biomolecular Chemistry 2013 (11) 5339–5350

Köszönetnyilvánítás

A publikáció, illetve az annak keretében ismertetett tudományos eredmény a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítvány (székhely: 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.) támogatásával, "Richter Gedeon PhD Ösztöndíj" keretében, valamint az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült. A kutatást a GINOP-2.3.2-15-2016-00008, és a "Debrecen Venture Catapult Program" EFOP-3.6.1-16-2016-00022 számú projekt is támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

KVARCÜVEG HORDOZÓN KOVALENSEN RÖGZÍTETT KORONAÉTER ALAPÚ DIREKT OPTÓDMEMBRÁN FEJLESZTÉSE ÉS ALKALMAZÁSA Zn²⁺ SPEKTROFLUORIMETRIÁS ANALÍZISÉBEN

Kovács Korinna^a, Vezse Panna^a, Golcs Ádám^a, Tóth Tünde^b, Huszthy Péter^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, 1111 Szent Gellért tér 4 ^bEnergiatudományi Kutatóközpont, Budapest, 1121 Konkoly-Thege Miklós út 29-33

Kutatómunkánk céljául a szakirodalomban eddig még nem közölt, általunk szintetizált bisz(akridino)tetraaza-koronaéter (1) szenzormolekulából (1. ábra) egy szilárd hordozóhoz kovalens kötésekkel rögzített direkt optód típusú szenzor membrán fejlesztését tűztük ki. Vizsgáltuk a szenzor alkalmazhatósági korlátait, illetve kompetitív körülmények között mutatott működési sajátságait.



1. ábra A korábban előállított bisz(akridino)tetraaza makrociklus (1)

Egy nem készülékspecifikus, miniatűr, és regenerálható eszköz fejlesztése volt a cél, így szilárd hordozóként kvarcüveg lapot alkalmaztunk, mivel ez bármilyen hagyományos küvettával rendelkező spektrofotométerben alkalmazható. Ezen hordozó felületére kovalens kötésekkel kapcsoltunk egy direkt optód típusú szenzormembrán réteget, amely az **1** szenzormolekula kvarcüveg felületen *in situ* előállított kopolimere.

Elsőként megvizsgáltuk az **1** makrociklus fémionszelektivitását, mely során 23 különböző fémsó $(CO_3^{2^-} ellenion: Sr^{2+}, Rb^{2+}, Li^+, Cs^+; SO_4^{2^-} ellenion: Mn^{2+}, Cr^{3+}, Fe^{2+}; OH^- ellenion: Ba^{2+}; Cl^- ellenion: Al^{3+}, Hg^{2+}, Bi^{3+}; I^- ellenion: Cd^{2+}; COO^- ellenion: K^+, Ni^{2+}, Pd^{2+}, Co^{2+}, Na^+, Cu^{2+}, Ag^+, Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mg^{2+}; NO_3^- ellenion: Pb^{2+}) 50 mM-os desztillált vizes oldatát a gazdamolekula anyagmennyiségére vonatkoztatva 10 ekvivalens mennyiségben adtuk a koronaéter acetonitriles oldatához (c_k). A fémsó oldatok közül kivételt képeznek a Cr³⁺ (előállítva [1] alapján), a Sr²⁺ 10 % sósav tartalmú, a Bi³⁺ 10% metanol tartalmú, Pd²⁺ 5 mM 50% acetonitril tartalmú oldatai. A spektrumokat minden esetben korrigáltuk a fémsóoldatok emissziós háttérértékével. Először felvettük a koronaéter emissziós spektrumát, majd azonos beállítások mellett a jelentős spektrális változást okozó fémsók oldataival titrálást végeztünk annak érdekében, hogy meghatározzuk a ligandum-fémion komplex stabilitási állandóját ($ *K*) (**2. ábra/A-B**). A komplexstabilitási állandók (**1. táblázat**) meghatározása céljából a teljes

hullámhossz-tartományon globálisan illesztett nemlineáris regressziós függvény (**2. ábra/C**) alapján minden esetben az 1:1 komplex sztöchiometria volt a kedvezményezett.



2. ábra A: Az 1 bisz(akridino)tetraaza-koronaéter (c_k= 1,0 μM) vizsgálata során jelentős spektrális változást okozó fémionok, B: Példaként Zn²⁺ oldattal végzett titrálás emissziós spektruma, C: Példaként a Zn²⁺ titrálási spektrumára stabilitási állandó meghatározása céljából teljes hullámhossz-tartományon illesztett nemlineáris függvény

1. táblázat Az 1 bisz(akridino)-tetraaza-koronaéter számított stabilitási állandóinak logaritmusa

Vizsgált fémion	Számított lg K értéke
Al^{3+}	$5,0 \pm 0,1$
Cd^{2+}	$5,6 \pm 0,1$
Pb^{2+}	$5,5 \pm 0,1$
Zn^{2+}	$5,7\pm0,05$
Pd^{2+}	$3,6 \pm 0,2$

Mivel a makrociklus Zn²⁺-nal képzett komplexének stabilitási állandója volt a legnagyobb értékű, így alkalmasnak bizonyult Zn²⁺-szelektív optikai szenzor fejlesztésére.

A szenzor fejlesztésének első lépéseként meghatároztuk a megfelelő membránösszetélt, melynek alapjaként egy a szakirodalomból ismert [2], közvetlen kopolimerizációval előállított szenzor szolgált. A kvarcüveg hordozó felületkezelését és a szilanizációt szintén irodalmi analógiák alapján valósítottuk meg [3-5] kisebb módosításokkal. Szilanizáló felületkezelő ágensként ecetsav / nátrium-acetát (pH=3,6) puffer és trimetoxiszilil-propil-metakrilát (TSPM) 1:3 arányú elegyét alkalmaztuk. A membrán készítésekor akrilamidot feloldottunk DMF-ban, majd hozzáadtunk hirdoxietil-metakrilátot,

trietilénglikol-dimetakrilátot, trietanol-amint és az **1** koronaéter fluorofort. Utolsó lépésként a polimerizáció elősegítéséhez 2-hidroxi-2-metil-propiofenon fotoinduktort adtunk az elegyhez.

A monomerkeveréket ezután egy sötét helyiségben egyenletesen felvittük a felületkezelt kvarcüveg hordozóra. A fotoindukált kopolimerizációt 254 nm hullámhosszúságú UV-sugárzásra alkalmas fényforrás segítségével valósítottuk meg. Az így elkészített membrán vastagsága hozzávetőlegesen 100 µm, mely nagyságrendileg megegyezik a szakirodalomban található kovalens kötésekkel rögzített optódmembránokéval [6-7]. A fejlesztett szenzor felépítését a **3. ábra** szemlélteti.



3. ábra A szenzor felépítését szemléltető sematikus ábra

A direkt optódmembrán megfelelő működése érdekében első lépésként a szenzort 0,1 M-os $Zn(OAc)_2$ desztillált vizes oldatban inkubáltuk, hogy az ionofor felvehesse a hatékony komplexképzés érdekében szükséges ioncsapda konformációt. A mérés megkezdése előtt vizsgáltuk a lehetséges készülékelrendezési opciókat. A kvarcüveglapot négyféleképpen helyezhettük a küvettába, mind a négy esetben vizsgáltuk a detektálható válaszjel Zn^{2+} -érzékenységét (**4. ábra**). Tapasztalataink alapján a "B" elrendezés bizonyult a legkedvezőbbnek.



Elsőként a szenzor abszorpciós spektrumát rögzítettük (**5. ábra/A**). A gerjesztési hullámhosszt 249 nm-nek választottuk, mivel ezen a hullámhossz-értéken az inofornak UV elnyelési maximuma van. A membrán, illetve az ionofor meglehetősen fotostabil. A membránösszetétel megváltozásával a kopolimer térhálós jellege, illetve az ionos membránösszetevők hiánya miatt nem kell számolnunk. Az egyes mérések között az eszköz regenerálását általános eljárás alapján végeztük, mely során a membránt kétszer az adott mintaoldat koncentrációjára jellemző válaszidő kétszeresének megfelelő ideig áztattuk desztillált vízben.

A szenzor kimutatási határának meghatározása érdekében az inkubálást követően elsőként 0,5 mM-os Zn(OAc)₂ oldattal titrálva vizsgáltuk, ám ekkor csekély spektrális jelváltozást tapasztaltunk, így a titrálást 50 mM-os Zn(OAc)₂ oldattal folytattuk. A mérés során az oldatfázisú méréssel ellentétben részleges fluoreszcencia kioltás (quenching) volt megfigyelhető (**5. ábra/B**). *T*-próba alapján meghatároztuk a legkisebb szignifikáns jelváltozáshoz szükséges Zn²⁺ mennyiséget, mely 2 μ l 0,5 mM-os oldat Zn²⁺ tartalmának felelt meg. Ennek alapján az alsó kimutatási határ (LOD) 5,0 · 10⁻⁷M, mely jóval a WHO által meghatározott ivóvízben megengedett érték alatt található (2,7 · 10⁻⁵ M) [8].



5. ábra A: A Zn²⁺ szenzor abszorpciós spektruma, B: A Zn²⁺ titrálás során rögzített emissziós spektrumok a hozzáadott térfogatok és mólekvivalensek függvényében

Lineáris regressziót alkalmazva 385 nm-es emissziós csúcsmaximumnál, amennyiben a titrálás utolsó mérési pontját (18628 ekv.) elhanyagoljuk, a regressziós koefficiens 0,988-nak adódott (**6. ábra/A**). A titrálás végpontját a fenti emissziós spektrumok értelmében hozzávetőleg 19000 ekvivalens Zn^{2+} hozzáadása esetén értük el, a detektált válaszjel ezután konstans maradt. Következésképp a lineáris tartomány a LOD-tól az utolsó előtti ábrázolt titrálási pontig, azaz a 12378 mólekvivalensnek megfelelő 4,5 · 10⁻³M koncentrációig terjed. Ez a tartomány hozzávetőleg 4 nagyságrendet ölel fel, mely az irodalomban jellemzően 1-2 nagyságrend [9-10], így kiemelkedőnek számít. A szenzor "látszólagos" lg*K* értékének (a membránon belül a komplexképzésben részt vevő ionoforok pontos száma ismeretlen) számítását irodalmi összefüggés alapján végeztük [11]. A teljes hullámhossz-tartományon globálisan

illesztett nemlineáris regressziós függvényt a **6. ábra/B** részletén tüntettük fel. Az általunk számított lg *K* érték 2,82 \pm 0,06-nak adódott. A számítás során azon feltételezéssel éltünk, hogy a membránban lévő összes koronaéter részt vesz a komplexképzésben, ám az oldatfázisban végzett mérések során számított érték 3 nagyságrenddel nagyobb volt, mely várakozásainknak megfelelően arra enged következtetni, hogy ez a feltétel nem teljesül.



6. ábra A: Illesztés 385 nm-es emissziós csúcsmaximum esetén, B: Teljes hullámhossz-tartományon illesztett nemlineáris függvény

Ezt követően a fejlesztett szenzor válaszidejét tanulmányoztuk növekvő Zn^{2+} koncentráció esetén, majd kompetitív körülmények között (**7. ábra/A**). A gyakorlati alkalmazás modellrendszereként alkálifémek és alkáli földfémek (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ és K⁺) acetát sóinak elegyét alkalmaztuk, mint interferáló ionok oldata (c_{fémion}=10⁻³ M). Az így elkészített elegyhez adtuk a Zn²⁺-oldatokat.

Tapasztalataink alapján a zavaró ionok jelenlétének hatása csak a válaszidőben okoz változást, a válaszjelet nem befolyásolja. A LOD sem változott szervetlen háttérelektrolit jelenlétében. A megnövekedett válaszidő háttérben az állhat, hogy a bediffundáló fémionok mindegyike komplexet képez a koronaéterrel, azonban csak Zn²⁺-nal alkot olyan erős komplexet, amely konformáció, illetve elektronrendszer-változást idéz elő, mely folyamat spektrális jelváltozásként jelentkezik. Látható, hogy magasabb koncentrációknál drasztikusan megnő a válaszidő, ami arra enged következtetni, hogy csak részlegesen járja át a membránt az analit oldata, továbbá a membrán térhálós sajátságaiból adódóan csak korlátozott permeabilitással bír elektrolit oldatokra nézve.

A szenzor biológiai mintákban történő alkalmazhatóságát egy bontott biogén fehérjéből származó mintát reprezentáló aminosav keverék vizes oldatával kívántuk modellezni. Az aminosav keverék (c_{össz}=0,01 M) összesen 10 különböző aminosavat (L-fenilalanin, L-hisztidin, L-glutamin, L-metionin, L-triptofán, L-leucin, L-lizin, L-arginin, DL-izoleucin, D-treonin) tartalmazott, mindegyiket 0,001 M egyedi koncentrációban (**7. ábra/B**).

Az aminosav keverék oldatának mérésekor jelentős fluoreszcencia intenzitás kioltást tapasztaltunk, melynek oka, hogy az aminosavak másodrendű kötőerőkkel megtapadnak a membrán felületén. Ez többek között a membránok nehezebb regenerálhatóságát eredményezi, szerves oldószeres mosást tehet szükségessé.

A titrálást 50 mM-os Zn²⁺-oldattal végeztük, elsőként 20 μ l hozzáadása után tapasztaltunk szignifikáns spektrális változást. A membrán Zn²⁺-érzékenysége csökkent, az alsó kimutatási határ magasabb lett (3,0 \cdot 10⁻⁴ M) aminosavak jelenlétében.



7. ábra A: Válaszidők grafikus ábrázolás a Zn²⁺ koncentráció függvényében, B: Aminosav keverék jelenlétében végzett titrálás emissziós spektruma

A tapasztalatok alapján a válaszjel linearitása a koncentráció függvényében megmaradt (8. ábra), az aminosavak hatása az alacsonyabb Zn²⁺-koncentrációk esetén erőteljesen jelentkezett, elnyomta azok válaszjelét.



Konklúzióként levonhatjuk, hogy magas Zn²⁺-tartalmú emésztett fehérjeminták vizsgálatára korlátozottan alkalmas lehet a szenzor, ha lehetőség van a háttérszennyezőkkel, illetve szervesanyag-tartalommal előzetes kalibrációt végezni.

Irodalomjegyzék

- [1] G. Bauer, Handbook of Preparative Inorganic Chemistry, 1963 2nd Ed. 1365.
- [2] C-G. Niu, P-Z. Qin, G-M. Zeng, X-Q. Gui, A-L. Guan, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007 (387) 1067-1074.
- [3] C-G. Niu, A-L. Guan, G-M. Zeng, Y-G. Liu, G-H. Huang, P-F. Gao, X-Q. Gui, Analytica Chimica Acta, 2005 (547) 221-228.
- [4] M. P. Xavier, D. García-Fresnadillo, M. C. Moreno-Bondi, G. Orellana, *Analytical Chemistry*, 1998 (70) 5184-5189.
- [5] C. Munkholm, D. R. Walt, Analytical Chemistry, 1986 (58) 1427-1430.
- [6] P. Teolato, E. Rampazzo, M. Arduini, F. Mancin, P. Tecilla, U. Tonellato, *Chemistry: A European Journal*, 2007 (13) 2238-2245.
- [7] Z. Dong, Z. Dong, P. Wang, X. Tian, H. Geng, R. Li, J. Ma, *Applied Surface Science*, 2010 (257) 802-806.
- [8] J. M. Cohen, L. J. Kamphake, E. K. Harris, R. L. Woodward, *Journal of American Water Works Association*, **1960** (52) 660-670.
- [9] M. Shamsipur, T. Poursaberi, M. Hassanisadi, M. Rezapour, F. Nourmohamaddian, K. Alizadeh, Sensors and Actuators B: Chemical, 2012 (161) 1080-1087.
- [10] A. A. Abdel Aziz, H. S. Seda, S. F. Mohamed, Sensors and Actuators B: Chemical, 2016 (223) 566-575.
- [11] M. Van de Weert, L. Stella, Journal of Molecular Structure, 2011 (998) 144-150.

Köszönjük az anyagi támogatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak (NKFIH K-128473).

SZÉRUM ALBUMIN ALAPÚ KOMPOZITOK ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEI ÉS SZERKEZETI JELLEMZÉSÜK

Kovács Nikolett Alexandra^a, Hornok Viktória^a, Csapó Edit^{a,b}

^aSzegedi Tudományegyetem, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, 6720 Szeged, Rerrich Béla tér 1 ^bSzegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, MTA-SZTE Biomimetikus Rendszerek Kutatócsoport, 6720 Szeged, Dóm tér 8

Bevezetés

Az 1960-as évektől kezdődően egyre nagyobb érdeklődés övezi a hatóanyag hordozó rendszerek fejlesztésére irányuló kutatásokat, amelyek napjainkra a modern kolloidkémia egyik legintenzívebben kutatott tématerületei közé sorolhatók. Ezen gyógyszerhordozó rendszerek nemcsak a hatóanyag célzott transzportját, valamint programozott (időben kontrollált) leadását valósíthatják meg, hanem a terápiás hatás kifejtéséhez szükséges dózis bevitelét is. A kolloidális gyógyszerhordozókat összetételük alapján többféle csoportba sorolhatjuk; beszélhetünk szervetlen- (pl. nemesfém nanorészecskék) vagy polimeralapú (pl. PLA, PLGA) hordozó rendszerekről, de az asszociációs kolloidok (pl. liposzómális rendszerek) is ide tartoznak. A gyógyszerhordozó rendszerek közül számos, a célzott hatóanyagszállítást lehetővé tevő készítmény, már a forgalomba hozatali engedéllyel is rendelkezik; ilyen fehérje-alapú (humán szérum albumin) gyógyszerhordozó rendszert tartalmazó készítmény például az *Abraxane*. A humán szérum albumin (*Human Serum Albumin*; HSA) az egyik legjelentősebb mennyiségben megtalálható fehérje a vérplazmában; a vérben található fehérjék 60%-át ez a szérum protein alkotja. Jelentősége vitathatatlan, mivel a fehérje egyedi szerkezeti sajátságai következtében számos komponens képes hozzá kötődni, ezért szerepet játszik többek között hormonok, zsírsavak transzportjában is [1,2].

A kinurenin útvonalhoz kapcsolható vegyületek és szintetikus származékaik (pl. KYNA, SZR-72) a neurodegeneratív betegségekhez kapcsolódó terápiás készítmények fejlesztésében kiemelkedő jelentőségűek, azonban a terapeutikumok fejlesztésénél hátrányt jelent, hogy a vér-agy gáton való átjutásra néhány vegyület csak kismértékben képes [3]. A gyógyászati szempontból szükséges mennyiség beviteléhez lényeges az említett hatóanyagok kapszulázását megvalósítani, melyre jó alternatívát kínálhat a már fentebb említett előnyös tulajdonságokkal rendelkező szérum albumin-alapú hordozó rendszer(ek) fejlesztése [4,5].

A kompozitok előállítására többféle lehetőség is ismert az irodalomban (pl. LbL, nanoprecipitáció *stb.*). Új lehetőséget jelenthet azonban az áramlásos elven működő berendezések alkalmazása, melyek segítségével szabályozhatóbbá válik a részecskék alakja, mérete ezáltal a bejuttatni kívánt vegyületek mennyisége is [6].

Kísérleti munkánk célja volt a neuroaktív hatással rendelkező kinurénsav (KYNA) és egy szintetikus származéknak (SZR-72) "kapszulázása" humán és marha szérum albumin felhasználásával LbL-módszerrel, valamint áramlásos elven alapuló méréstechnikával. A kétféle eljárással előállított kompozitokat tisztítás után jellemeztük, ahol méretüket, méreteloszlásukat és morfológiájukat határoztuk meg. Mindezek mellett kioldódásos kísérleteket is végeztünk a kapszulázott vegyületek kompozitból történő felszabadulásuk javasolt mechanizmusának megállapítására.

Módszerek

A kompozitokat minden esetben foszfát (PBS) pufferben (pH = 7,34) kerültek elkészítésre. Az LbL-módszerrel előállított kompozitok esetén a HSA és a BSA koncentrációja 3 mg/ml volt, a kapszulázott vegyületek koncentrációját 1,66 mg/ml értékre állítottuk. Első lépésben a hordozó és a hatóanyag megfelelő koncentrációjú oldatát két órán át kevertettük (350 rpm), majd a rendszerhez hozzáadásra került a kompozit héját képző poliallilamin hidroklorid (PAH) oldatából (2,1 mg/ml), majd az elegyet további 2 órán át kevertettünk.

A kétcsatornás áramlásos elven alapuló módszer esetén az egyik csatornán a szérum albumint és a hatóanyagokat is tartalmazó oldat áramlott egy két órán át tartó kevertetési szakaszt (350 rpm) követően, a másik csatornán pedig a polielektrolit oldata áramlott az **1. táblázatban** összefoglalt áramlási sebességek és komponens arányok alkalmazása mellett. A koncentrációk ezen kísérlet esetén az LbL-szintézisnél alkalmazott koncentrációkkal megegyezett.



1. ábra Az áramlásos elven működő berendezés vázlatos elrendezése

A kompozitok előállítását követően a minták minden esetben centrifugálással tisztításra kerültek (5000 rpm, 10 perc) a meg nem kötött hatóanyag eltávolítása érdekében, majd a mintákat liofilizálás után -20°C-os hűtőben tároltuk felhasználásig.

A kompozitok méretének meghatározásához döntően dinamikus fényszórás méréseket végeztünk (Horiba SZ-100 típusú készülék), de elektronmikroszkópos (TEM) felvételekkel is igyekeztünk a fényszórás mérések eredményeit megerősíteni (Jeol JEM-1400 plus (120 keV)). A TEM felvételek esetén az átlagos részecskeméret felvétele az ImageJ szoftver segítségével került megvalósításra.

A kapszulázott terapeutikum kioldódásának vizsgálatához Shimadzu UV-1800 UV-Vis spektrofotométert használtunk. A méréseket 37°C-on végeztük és 400 percig rögzítettünk az adatokat.

A kapszulázott vegyületek kioldódásának vizsgálata után megtörtént a primer adatok kinetikai modellekkel (Korsmeyer-Peppas modell, az elsőrendű kinetikát leíró modell, valamint a Weibull modell) történő illesztése is.

Eredmények

A kísérleti munka során sikeresen valósítottuk meg négyféle összetételű kompozit előállítását, melyek rendre az alábbi összetétellel adhatóak meg: BSA/KYNA/PAH; BSA/SZR-72/PAH; HSA/KYNA/PAH; HSA/SZR-72/PAH. A különböző összetételű kompozitokról a transzmissziós elektronmikrószkóppal készített felvételek alapján elmondható, hogy mind a négy összetétel esetében mag-héj szerkezetű részecskék kialakulása figyelhető meg. A **2. ábrán** jól kivehető mag-héj struktúrával rendelkező részecskék esetében a TEM felvételek segítségével regisztrált átlagos részecske méret (d_{TEM}) összevethető a DLS mérések által nyert eredményekkel (d_{DLS}), melyek a **1. táblázatban** kerültek bemutatásra. A felvételeken látható kisebb részecskék valószínűleg fehérje aggregátumok jelenlétére utalnak.



2. ábra A különböző összetételű szérum albumin tartalmú kompozitokról készített reprezentatív TEM felvételek.

Összehasonlítva a KYNA és SZR-72 tartalmú kompozitokat megállapítható, hogy a regisztrált TEM felvételeken hasonló méret és alak figyelhető meg.

Az **1. táblázat** a BSA-alapú kompozitok DLS méréseinek eredményeit foglalja össze az áramlásos technikával előállított kompozitokra vonatkozóan.

A mérési eredmények alapján elmondható, hogy ugyanazon áramlási sebességek esetében a KYNA nélküli BSA/PAH részecskék mérete számottevően kisebb, mint a KYNA tartalmú BSA/KYNA/PAH hordozó rendszer esetében. Levonhatjuk továbbá azt a következtetést is, hogy ugyanazon sebesség arányok, de eltérő térfogatok esetén a keletkezett mag-héj szerkezetű részecskék mérete csökken a mikrofluidikai berendezésben percenként áramló térfogat növelésével. A kapszulázott vegyületetet is tartalmazó BSA/KYNA/PAH összetételű mag-héj szerkezetű kompozitok esetében a legkisebb méret a 125:500 µl/min sebesség arány alkalmazása esetében mutatkozott, mely arányt a későbbi vizsgálatokhoz optimálisnak választottuk.

 táblázat A különböző áramlási sebességek esetén előállított BSA/PAH és a mag-héj szerkezetű BSA/KYNA/PAH összetételű kompozitok DLS alapján meghatározott átlagos hidrodinamikai átmérő adatai a polidiszperzitási index (PI) feltüntetésével

РАН	BSA (KYNA)	Relatív áramlási sebesség arány	BSA/PAH		BSA/KY	'NA/PAH
v1 (μL/min)	v2 (µL/min)	v1:v2	d _{DLS} ±SD (nm)	PI±SD	d _{DLS} ±SD (nm)	PI±SD
25	500	1:20	114±44	0,31±0,03	142±66	0,26±0,04
50	500	1:10	93±30	0,18±0,06	137±45	0,22±0,05
75	500	1:6,7	100±28	0,20±0,03	139±51	0,19±0,03
100	500	1:5	116±37	0,18±0,10	122±36	0,25±0,03
125	500	1:4	103±28	0,20±0,04	121±42	0,27±0,04
150	500	1:3,3	117±38	0,21±0,02	123±42	0,28±0,04
25	100	1:4	147±51	0,17±0,03	183±56	0,27±0,02
50	200	1:4	150±48	0,16±0,03	176±62	0,27±0,06
75	300	1:4	139±44	0,15±0,03	158±57	0,28±0,07
100	400	1:4	130±38	0,19±0,03	154±49	0,29±0,04
125	500	1:4	103±28	0,20±0,04	121±42	0,27±0,04
150	600	1:4	90±24	0,18±0,04	129±49	0,33±0,06

A hatóanyag kioldódás mechanizmusa ezután a BSA/KYNA/PAH összetételű kompozit esetében került megvizsgálásra. A hatóanyag kioldódásos vizsgálatokat az áramlásos berendezésben 125:500 µl/min áramlási sebességek esetén előállított kompozit összetétel esetén, az LbL-módszerrel előállított

részecskék esetében az áramlásos elven működő berendezés segítségével előállított kompozitokkal összevethető térfogatarány mellett nyert minták esetében végeztük el.



3. ábra A kétféle módszerrel előállított BSA/KYNA/PAH kompozit esetében a kapszulázott vegyület kioldódásának vizsgálata. Illesztés: Weibull modell segítségével

A **3. ábrán** szemléltetett primer adatokból látható, hogy a hatóanyag az első két órában viszonylag gyorsan leadásra kerül, az áramlásos technikával előállított kompozitok esetében a kapszulázott KYNA 77%-a; az LbL-módszer során előállított minták esetében a kapszulázott KYNA 44%-a szabadul fel a teljes vizsgált időtartam alatt (400 min).

Kinetikai modellek		BSA/KYNA/PAH	BSA/KYNA/PAH
		Áramlásos módszerrel	LbL-módszerrel
		előállított	előállított
Flo "non d"	k(min ⁻¹)	0,0229	0,0137
EISUrendu	R ²	0,9708	0,9884
Korenovor	k _m (min⁻ʰ)	0,217	0,068
Korsmeyer-	n	0,346	0,527
Peppas	R ²	0,9843	0,9973
	а	8,201	27,456
Weibull	b	0,707	0,793
	R ²	0,9998	0,9954

2. táblázat A KYNA kioldódási kísérlete	i során kapott adatol	k kinetikai modelle	l történő illesztéséne	ek
	eredményei			

Kioldódásos mérésék elvégzése után a primer adatok illesztéséhez több kinetikai modell alkalmazhatóságát is tanulmányoztuk. Az alkalmazott modellek közül az áramlásos módszerrel előállított kompozitok esetén a Weibull modell, míg az LbL-módszerrel előállított kompozitok közül a Korsmeyer-Peppas modell esetében figyelhető meg a legjobb illeszkedés. A kinetikai illesztésekből nyert eredményekből megállapítható, hogy a kapszulázott KYNA kioldódása során a diffúzió a legmeghatározóbb jelenség.

Összefoglalás

Kétféle szérum albumin alapú hordozó rendszer alkalmazásával sikerült a kinurenin útvonalhoz kapcsolható terapeutikumok kapszulázását megvalósítani LbL-módszerrel és áramlásos módszerrel történő előállítás révén is, melyek lehetőséget teremthetnek a terapeutikumok vér-agy gáton történő transzportjára képes hordozó rendszerek fejlesztésére. Sikerült a mag-héj szerkezetű kompozitok karakterizálása mellett a kapszulázott KYNA kioldódásának mechanizmusáról is információt szolgáltatni a BSA/KYNA/PAH összetételű kompozitok esetében.

Irodalomjegyzék

- N. Varga, E. Csapó, Z. Majláth, I. Ilisz, I.A. Krizbai, I. Wilhelm, L. Knapp, J. Toldi, L. Vécsei, I. Dékány, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016 (86), 67-74
- [2] B. Alvarez, S. Carballal, L. Turell, R. Radi, Methods in Enzymology, 2010 (473), 117-136
- [3] L. Vécsei, L. Szalárdy, F. Fülöp, J. Toldi, Nature Reviews Drug Discovery, 2013 (12 (1)), 64-82
- [4] F.F. An, X.H. Zhang, Theranostics 2017;(7(15)), 3667-3689
- [5] E. Csapó, Juhász, N. Varga, D. Sebők, V. Hornok, L. Janovák, I. Dékány, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2016 (504), 471-478
- [6] R. Karnik, F. Gu, P. Basto, C. Cannizzaro, L. Dean, W. Kyei-Manu, R. Langer, O.C. Farokhzad, *Nano Letters*, 2008 (8), 2906-12

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával GINOP-2.3.2-15-2016-00034 számú projekt keretében valósult meg. A kísérleti munkát az Emberi Erőforrások Minisztériuma a TUDFO/47138-1/2019-ITM (Csapó E.), és a Magyar Tudományos Akadémia, Bolyai János Kutatói Ösztöndíj is támogatta (Csapó E.).
DIZÁJNER DROGOK ÉS METABOLITJAIK AZ IGAZSÁGÜGYI GYAKORLATBAN

<u>Körmöczi Tímea</u>^a, Kovács Orsolya^b, Sija Éva^c, Hunya Ákos^d, Reza Samavati^b, Gáspár Róbert^b, Institóris László^c, Ilisz István^a, Berkecz Róbert^a

^aSZTE GYTK Gyógyszeranalitikai Intézet, 6720 Szeged, Somogyi utca 4 ^bSZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, 6721 Szeged, Dóm tér 12 ^cSZTE ÁOK Igazságügyi Orvostani Intézet, 6724 Szeged, Kossuth Lajos sgt. 40 ^dMTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet,6726 Szeged, Temesvári krt 62.

Komoly aggodalomra ad okot napjainkban, főleg a fiatalok körében népszerű herbál, Spice, K2, biofű, műfű, füstölő és legális fű néven terjedő szerek. Ezek az interneten mindenki számára könnyen beszerezhető, a marihuánához nagyon hasonlító növényi törmelékek rendszerint szintetikus kannabinoidokat tartalmaznak. A szintetikus kannabinoidok a dizájner drogok egyik jelentős csoportjába tartoznak, melyek a marihuána fő pszichoaktív anyagához, a tetrahidrokannabinolhoz (THC) hasonlóan a CB₁ és CB₂ kannabinoid receptorokon fejtik ki hatásukat. Azonban a szintetikus kannabinoidok sokkal erősebb hatást gyakorolnak az emberi szervezetre a parciális agonista THC-val szemben, mivel teljes (szuper) agonisták a CB receptorokon. Ezért is rendkívül veszélyesek, hiszen akár több százszor kisebb koncentráció is elegendő ugyanahhoz a hatás kiváltásához, mint amelyet a marihuána használatával el lehet érni [1].

Intézetünkben 2015 óta történik rendőrségi valamint klinikai vér és vizeletminták analízise. A szintetikus kannabinoidok fogyasztást az anyamolekula folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria (LC-MS/MS) technikával történő azonosításával végezzük. Ez idő alatt több mint 50 szintetikus kannabinoidot vizsgáltunk, melyhez a komponensek kromatográfiás és tömegspektrométeres paramétereit optimalizáltuk. Azonban a szintetikus kannabinoidok gyors metabolizmusának következtében, több esetben is a fogyasztást bevallók között nem sikerült az anyamolekula detektálása. Az anyamolekulák mellett a főbb metabolitok analízisével megbízhatóbbá válna a szintetikus kannabinoidok használatának igazolása A metabolikus folyamatok megismerésére több módszer is rendelkezésünkre áll, úgy mint az *in silico* (adatbázisok), *in vitro* (enzimek, sejtvonalak, májmikroszóma, májsejt), *in vivo* (állatkísérletek, humán testnedvek, mint vizelet és vér) valamint *ex vivo* (májperfúzió) kísérletek.

Munkánk fő céljai között szerepel olyan *in vitro*, *ex viv*o és *in vivo* vizsgálati módszerek kidolgozása és komplex összehasonlítása, amelyek alkalmasak szintetikus kannabinoidok metabolizmusának vizsgálatára, illetve a képződő metabolitok azonosítására alkalmas analitikai módszerek kifejlesztése és alkalmazása. Ehhez optimalizáltuk a különböző vizsgálati módszereket, a

folyadék-folyadék extrakciós mintaelőkészítést, a kromatográfiás és tömegspektrometriás paramétereket valamint a statisztikai kiértékelést.

Vizsgálatainkhoz modell vegyületként a tavalyi évben legtöbbet fogyasztott CUMYL-PeGaCLONE (2-CUMYL-5-Pentyl-Gamma-CarboLin-1-ONE, 1. ábra) szintetikus kannabinoidot választottuk ki. A mérésekhez Thermo Fisher Scientific Accucore C30 fordított fázisú kromatográfiás oszlopot és Acquity UPLC I-Class ultra nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás készüléket használtunk, melyet egy Thermo Ficher Scientific Q Exactive Orbitrap tömegspektrométerrel kapcsoltunk össze.



 ábra CUMYL-PeGaCLONE szerkezete, mely áll egy fejrészből (CUMYL), egy magból (gamma-carbolin-1on) és egy farki részből (pentil lánc). Utóbbi kettő alkotja a PeGaCLONE részt.

In vitro kísérleteket humán májmikroszómás kezelésekkel kezdtük, amely kísérletek alkalmasak voltak a fázis I metabolitok tanulmányozására. Az inkubációt követően 60 fázis I metabolitot azonosítottunk, többek között aromás gyűrűn és az alkil láncon történő oxidációt, dealkilációt, dehidrogenációt és metilációt. A kapott adatok alapján a mono-hidroxilált metabolitok képződnek túlnyomó többségben a májmikroszómában.

In vitro vizsgálataink másik részében immortalizált humán májsejteket alkalmaztunk. Ez a sejtvonal nem képzett annyi metabolitot mint a májmikroszóma, de a metabolitok képzése mellett információt nyújtott a CUMYL-PeGaCLONE májkárosító hatásáról. A citotoxikológiai vizsgálatok eredményeként azt tapasztaltuk, hogy még magas koncentrációban (100 μ M) is közel 100%-os a májsejtek életképessége, tehát a CUMYL-PeGaCLONE szintetikus kannabinoidnak nincs toxikus hatása ebben a koncentráció tartományban a májsejtekre nézve.

CUMYL-PeGaCLONE



2. ábra CUMYL-PeGaCLONE anyamolekula farmakokinetikai görbéje

Az eddigi tapasztalatok és irodalmi adatok azt mutatják, hogy a szintetikus kannabinoidok gyorsan metabolizálódnak. A metabolizáció megértéséhez és a felezési idő megállapításához farmakokinetikai vizsgálatok szükségesek, melyhez lehetőséget nyújtanak az *ex vivo* májperfúziós rendszerek. Az általunk alkalmazott újfajta patkány májperfúziós rendszerben (MDE GmbH., Németország) a hagyományos eljárásoktól eltérően, a máj egy puffer páratérben van, így a szervezethez nagyon hasonló körülmények biztosítottak. A májperfúziós kísérletekkel lehetőségünk nyílik mind a fázis I és fázis II metabolitok azonosítására és farmakokinetikai vizsgálatára.



3. ábra CUMYL-PeGaCLONE szintetikus kannabinoid mono-hidroxilált metabolitjának farmakokinetikai görbéje

A kísérlet során a májat az eltávolítás és kanülálás után puffer páratérbe helyeztük, ahol egy recirkulációs rendszerben 2 órán keresztül keringettük benne a CUMYL-PeGaCLONE szintetikus kannabinoidot. A patkány májperfúziós rendszerrel a metabolitok képződésének vizsgálata mellett megismertük mind a CUMYL-PeGaCLONE (2. ábra) mind a főbb metabolitok (3-4. ábra) koncentrációjának időbeni változását.

Di-hidroxilált metabolit



4. ábra CUMYL-PeGaCLONE szintetikus kannabinoid di-hidroxilált metabolitjának farmakokinetikai görbéje

Végezetül az *in vitro* és *ex vivo* módszerek eredményeit összevetettük humán vizeletminták metabolomikai eredményeivel. Ehhez 11 CUMYL-PeGaCLONE szintetikus kannabinoidra pozitív vizeletmintát vizsgáltunk meg. A kapott mérési eredmények alapján elmondható, hogy az *in vitro* és *ex vivo* módszerek által azonosított metabolitok mellett további izomereket sikerült azonosítani, illetve egy új típusú módosítást, a propionsav formát. Ugyanakkor metilált fázis I metabolitot nem mutattunk ki a vizsgált vizeletmintákban. Az azonosított metabolitokból intenzitásuk szerinti rangsort állítottunk fel, mely alapján kijelenthetjük, hogy az M27 mono-hidroxilált metabolit a legintenzívebb a vizelet mintákban. A módosítás a gamma-carbolin-1-on magon található, melyet a PRM (parallel reaction monitoring, párhuzamos reakció megfigyelés) mérés MS/MS spektrumán látható fragmentációból tudhatunk (5. ábra). A spektrumon látható 91.0550 m/z és 119.0861 m/z fragmensek a CUMYL-PeGaCLONE fejrészére, a CUMYL csoportra utalnak, tehát a hidroxiláció nem ezt a részt érinti. A 271.1451 m/z fragmens azt mutatja, hogy a mono-hidroxiláció a PeGaCLONE (pentil lánc és gamma-carbolin-1-on mag) részen történt. A még pontosabb szerkezet megállapításához a 201.0658 m/z

fragmens nyújt megoldást, melyből látható, hogy a módosítás feltételezhetően a gamma-carbolin-1-on magon található.



5. ábra M27 mono-hidroxilált metabolit feltételezhető szerkezeti képlete, és MS/MS spektruma

Összefoglalásként elmondható, hogy az általunk alkalmazott *in vitro*, *ex vivo* és *in vivo* módszerek alkalmasak szintetikus kannabinoidok metabolomikai vizsgálatára. Az *in vitro* májmikroszómás kísérlet alkalmas a legtöbb fázis I metabolit képzésére, míg a májsejtes vizsgálatok az adott szintetikus kannabinoid májsejtre gyakorolt káros hatásáról nyújtanak információt. A májperfúziós rendszer lehetőséget ad a metabolitok képződése mellett, az adott vegyület farmakokinetikai vizsgálatára is. A gyakorlatban azonban kevés pozitív vizeletminta áll a rendelkezésünkre a vizsgált szintetikus kannabinoid metabolomikai profiljának megismeréséhez. Ezért a főbb metabolitok azonosításához, elengedhetetlen az előbb említett, *in vitro* és *ex vivo* megelőző vizsgálatok elvégzése.

Az igazságügyi gyakorlatban a szintetikus kannabinoidok különböző jogi besorolásba esnek. A helyzetet tovább nehezíti, hogy az egyes szintetikus kannabinoidok szerkezete csak kisebb módosításokban tér el, ezáltal két vegyületnek képződhetnek azonos metabolitjai. Így a pontos azonosításhoz nem elegendő a legintenzívebb metabolitok kimutatása, hanem az adott anyamolekulára jellemző karakterisztikus metabolitok azonosítása is, melyhez humán vizelet vagy vérminta szükséges.

Irodalomjegyzék

[1] S. Tai, Sherrica, W. E. Fantegrossi, *Neuropharmacology of New Psychoactive Substances (NPS)*. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, **2016** (32) 249-262

A kutatás az EFOP-3.6.1-16.2016.-00008 pályázat keretén belül valósult meg.

ÚJ BIOMIMETIKUS KATALIZÁTOR CSALÁD KIFEJLESZTÉSE GYÓGYSZERMETABOLITOK SZINTÉZISÉRE

<u>Krammer Réka Melinda</u>^a, Decsi Balázs^a, Poppe László^a, Balogh György Tibor^{b,c}, Balogh-Weiser Diána^{a,d}

^a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4

^b Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út 8

^c Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6

^d Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út. 8

A preklinikai gyógyszerkutatás során kiemelten fontos a gyógyszerjelölt vegyületek élő szervezetben történő biotranszformációjának vizsgálata, hiszen az ehhez kapcsolódó biokémiai folyamatok nagymértékben befolyásolják a farmakológiai hatást, toxicitást. A gyógyszermetabolitok azonosítása és vizsgálata hozzásegít a gyógyszerjelölt molekulák lehetséges metabolikus útvonalainak feltárásához. A metabolizmus vizsgálatok segítségével felismerhetők a biológiailag aktív származékok, ezáltal a képződött metabolitok farmakológiai hatásai a klinikai tesztek előtt jelezhetők. A hagyományos laboratóriumi gyakorlatban a gyógyszerjelölt vegyületek preklinikai metabolit vizsgálatát in vitro májsejteken (hepatocitákon), a máj mikroszóma frakcióján, valamint in vivo állatmodellek alkalmazásával végzik, azonban ekkor a metabolitok csak alacsony koncentrációban, összetett biológiai mátrix mellett keletkeznek, így ezek jellemzően csak kvantitatív meghatározást tesznek lehetővé bonyolult izolációs eljárások után. Ezen nehézségek kiküszöbölésére jelenthetnek megoldást az in vitro biomimetikus (az élő szervezet folyamatait utánzó) módszerek kifejlesztése [1,2].

A biomimetikus eljárások előnye, hogy ekkor a metabolitjelöltek egyszerű vizes közegben, rutin analitikai módszerekkel könnyen állíthatóak elő a további farmakológiai vizsgálatokhoz szükséges mennyiségben. Mindemellett, az instabil metabolitok ellenőrzött reakciókörülmények között detektálhatók és időnként izolálhatók is, ami megkönnyíti a vezérmolekula finomhangolását. Továbbá, a megfelelő in vitro biomimetikus eljárás kialakításával a gyógyszervizsgálatokhoz felhasznált állatkísérletek száma is csökkenthető [3].

Az élő szervezet egyik fő, májhoz köthető, gyógyszermetabolizmusért felelős enzimrendszere, a citokróm P450 (cP450) izoenzim család, amely működését szintetikus metalloporfirinek segítségével is helyettesíthetjük. A cP450 enzim aktív helyén található prosztetikus *hem* csoport és a porfirinvázas vegyületek szerkezeti hasonlóságot mutatnak, így bizonyos porfirin származékok képesek az enzimatikus katalízist mimikálni. Ebből kifolyólag a metalloporfirin alapú biomimetikus modellrendszerek nem csupán a metabolikus útvonalak előrejelzésére, de a metabolitok előállítására is

jól alkalmazhatók lehetnek, emellett a célzott és már ismert metabolitokon kívül gyakran új, potenciálisan aktív ágenseket is létrehozhatnak [4-7].

Kutatómunkánk célja egy jól szabályozható és reprodukálható metalloporfirin alapú katalizátorrendszer kifejlesztése volt, amely során a katalitikus aktivitással bíró vas-porfirint felületmódosított szilika részecskékhez történő kapcsolással kívánjuk stabilizálni. A megfelelő fizikaikémiai tulajdonságokkal ellátott szilárd hordozó részecskékhez történő immobilizáció nagymértékben javíthatja az érzékeny porfirinek működését, mivel az oxidatív közegben végbemenő autooxidációval szemben a hordozó fokozott védelmet biztosíthat. A heterogén katalizátorok további előnye, hogy egyszerű fizikai művelettel eltávolíthatók a reakcióelegyből, valamint regenerálásuk is megoldható. Töltött ágyas reaktorokban alkalmazva egyedülálló lehetőséget biztosít a metabolitok folyamatos üzemben történő előállítására is, amely nagymértékben elősegíti a korai fázisú gyógyszerkutatás lépéseit [8].

Kísérleteink során a hordozórendszer kialakításához mezopórusos szilika részecskék felületmódosítását hajtottuk végre 3-aminopropil-trimetoxiszilán, *N*-(2-aminoetil)-3-aminopropil-trimetoxiszilán és *N*¹-[3-(trimetoxiszilil)propil]-dietilén-triamin organoszilán ágensek segítségével ammóniás etanolos közegben. Az így kialakított felületi linkerek eltérő hosszúságú és mozgékonyságú ionos kötőhelyeket biztosítottak a vízoldható *mezo*-tetra(4-szulfoniloxifenil)vasporfirin (FeTSPP) számára, amelyek várhatóan befolyásolják a rendszer katalitikus működését, hiszen a csoportok eltérő térkitöltése, hidrofóbicitása, felületi sűrűsége, valamint az aminocsoportok elhelyezkedése mind befolyással lehet az adott katalizátor rendszer aktivitására, ezáltal a konverzióra, és a létrejövő bomlástermékek mennyiségére és minőségére is. Az oldott fázisú porfirin, valamint a fejlesztett katalizátor családok hatékonyságát *klorokvin* maláriaellenes hatóanyag élő szervezetet utánzó oxidációjában vizsgáltuk szakaszos és folyamatos üzemben, a keletkezett metabolitokat HPLC-DAD-MS technikával elemeztük és összevetettük a szervezetben keletkezett bomlástermékekkel (1. ábra).



 ábra Heterogén FeTSPP katalizátor rendszer kifejlesztése, és alkalmazása klorokvin hatóanyag folyamatos és szakaszos üzemű biomimetikus oxidációjában, majd a keletkezett bomlástermékek vizsgálata LC-MS technikával

A módosított hordozók (Si-**0**, Si-**1**, Si-**2**), majd a hozzájuk kapcsolt porfirines katalizátorok (Si-**1**-FeTSPP, Si-**2**-FeTSPP, Si-**3**-FeTSPP) elemi összetétel vizsgálatát SEM-EDAX segítségével végeztük el, amely során a módosítatlan szilikagélhez viszonyítva megnövekedett szén- és nitrogén atom mennyiséget tapasztaltunk, amely a felületekre bevitt szénláncok és aminocsoportok jelenlétét igazolja (1. Táblázat, Panel A). Az amino-linkerekkel módosított felületekre ezt követően elvégeztük a porfirin szakaszos üzemű rögzítését (rázatott lombikos), majd a rögzített, hordozós katalizátorok elemi összetételét is megvizsgáltuk. Az eredmények alapján a szén-, nitrogén-, és vas atomok megnövekedése egyértelműen az FeTSPP sikeres rögzítését mutatja mindhárom hordozó esetén (1. Táblázat, Panel B).

elem			Tömegszázalék [%]	
Panel A	Si-0	Si-1	Si-2	Si-3
	\bigcirc	NH ₂		
С	$5,2 \pm 1,5$	$11,4 \pm 1,6$	$9,3 \pm 1,69$	$11,3 \pm 1,4$
Ν	$0,8 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,32$	$2,0 \pm 0,4$
0	$\begin{array}{r} 49,3\pm\\ 3,0\end{array}$	$44,5 \pm 6,3$	43,0 ± 3,79	$46,5 \pm 3,2$
Si	$44,6 \pm 4,4$	$42,5 \pm 7,8$	$46,3 \pm 5,13$	$39,1 \pm 3,8$
S	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Fe	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Panel B	Si-1-F	TeTSPP	Si-2-FeTSPP	Si-3-FeTSPP
	Q	FeTSPP [−] NH ₃ ⁺		
С	18,1	± 2,6	$26,9 \pm 1,6$	$25,3 \pm 2,30$
Ν	1,7	± 0,3	$2,1 \pm 0,7$	$2,4 \pm 0,28$
0	$44,3 \pm 2,7$		$38,9 \pm 2,2$	$37,1 \pm 2,22$
Si	34,6	$\pm 4,9$	$31,2 \pm 3,4$	$32,7 \pm 4,93$
S	0,9	$\pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$
Fe	0,4	$\pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,\!4 \pm 0,\!2$

1. táblázat A felületmódosítási és a porfirin immobilizálási kísérletek SEM/EDAX mérések eredményei

Az egyes hordozó típusok immobilizációs hatékonyságának (*Immobilization Yield*, Y_I , %) pontos meghatározása érdekében spektrofotometriás (UV-VIS) méréseket végeztünk, amely során a rögzítés utáni felülúszó minták abszorbancia értékei alapján, az FeTSPP porfirin moláris extinkciós koefficiensének meghatározását követően, következtetni tudtunk a rögzült FeTSPP mennyiségére. Az eredményeink azt mutatták, hogy a Si-**2** felületre 97%-os hatékonysággal, míg a Si-**1** és Si-**3** esetében több, mint 99%-ban kötődött meg a porfirin.

Az ily módon előállított katalizátor rendszerek és a homogén, oldott fázisú porfirin aktivitását *klorokvin* hatóanyag élő szervezetet utánzó reakcióiban vizsgáltuk, ahol oxidálószerként minden esetben *terc*-butil-hidroperoxidot alkalmaztunk, a reakció közegeként metanol:vizes nátrium-acetát puffer (pH = 4,5) 4:1 térfogatarányú elegyét használtuk. A biomimetikus reakciók során keletkezett,



illetve azonosított bomlástermékek szerkezetét és feltételezett útvonalát mutatja be a 2. ábra.

2. ábra A klorokvin biomimetikus oxidációjának termékei

A máj mikroszómális vizsgálatok gyakoriak, az FDA (Food and Drug Administartion) által elfogadott módszere a fajspecifikus máj mikroszómás vizsgálat, amely során a hepatociták izolált mikroszóma frakcióját alkalmazzák a gyógyszermetabolitok vizsgálatára. Ez az izolátum leginkább a cP450 izoenzimekben gazdag, ezáltal a vegyületek szervezetben végbemenő oxidatív metabolikus átalakulásai jól modellezhetők. A 2. Táblázat mutatja a *klorokvin* humán-, patkány- és egér mikroszóma vizsgálatok eredményeit, amely alapján a bomlástermékek csupán kis konverzióval képződtek. A humán major metabolit (**M1**), azaz a *klorokvin N*-deetilált származéka mellett az egér és patkány esetében egy hidroxilált termék (**M2**) is megjelent.

				Termék [%]	
	m/z	\mathbf{r}_t	HLM ●	RLM	MLM ^c
	[g/mol]	[min]			
klorokvin	320,3	1,54	97,4	97,5	94,8
M1	292,2	1,47	2,6	2,1	3,4
M2	336,2	1,61	-	0,5	1,8
Konverzió [%	%]		2,6	2,5	5,2

2. táblázat A klorokvin humán-, patkány-, és egér mikroszómális kísérletek során keletkező metabolitok

Az oldott fázisú FeTSPP katalitikus aktivitását szintén megvizsgáltuk a *klorokvin* biomimetikus oxidációjában, amely során széles spektrumú metabolit képződött, a porfirin 39,5%-os konverzióval alakította át a hatóanyagot (3. Táblázat).

૿૱ૣૡૺ૿ ૢૡૼૺૺૺૺઌૻ૾ૡ૽ૺૼૢ	m/z [g/mol]	r _t [min]	Termék [%]
klorokvin	320,3	1,54	60,5
M1	292,2	1,47	28,4
M3	263,2; 281,2	1,65	10,3
M4	312,3; 279,2	1,75	0,2
M5	322,3	1,9	0,1
M6	320,3	1,95	0,2
egyéb		-	0,4
Konverzió [%]			39,5

3. táblázat A klorokvin homogén fázisú, szakaszos biomimetikus oxidációja során keletkező metabolitok

A heterogén biomimetikus reakció szakaszos üzemű megvalósítása során bemértük a modulált szilikát, amihez szubsztrát oldatot, oldószer kiegészítést és porfirin oldatát adtuk, végül a reakció elindításához oxidálószert adagoltunk, majd az elegyet egy órán át homogenizáltuk, a termékelegyet HPLC-DAD-MS módszerrel vizsgáltuk. A mérések alapján (4. Táblázat) a legnagyobb konverzió értéket (52,6%) a Si-**1-FeTSPP** alkalmazásával értük el, emellett számos egyéb minor metabolitot is azonosítottunk a termékelegyben.

			Termék [%]					
	m/a n		Si-1-FeTSPP	Si-2-FeTSPP	Si-3-FeTSPP			
	[g/mol]	[min]	FeTSPP NH3 ⁺					
klorokvin	320,3	1,54	47,4	73,6	81,4			
M1	292,2	1,47	39,6	19,8	13,8			
M3	263,2; 281,2	1,65	12,5	6,6	4,7			
M4	312,3;279,2	1,75	0,2	0,1	< 0,1			
M5	322,3	1,90	-	-	< 0,1			
M6	320,3	1,95	0,1	-	-			
egyéb			0,4	-	-			
Konverzió	[%]		52,6	26,4	18,6			

4. táblázat A klorokvin heterogén, szakaszos biomimetikus oxidációja során képződött metabolitok

A folyamatos üzemű kísérletek során a porfirin immobilizációját áramlásos körülmények között valósítottuk meg, majd az így aktívvá tett katalizátor ágyon hajtottuk végre a *klorokvin* biomimetikus oxidációját. A rögzítés hatékonyságának meghatározására az oszlopon átfolyt oldószerből mintát vettünk, amelyet spektrofotometriásan vizsgáltunk a porfirinmaradványokra. A kapott eredmények alapján a porfirin koncentrációja nem érte el a berendezés porfirinre vonatkozó kimutatási határát, ami alapján kijelenthető, hogy a porfirinmennyiség több, mint 99,99%-ban rögzült a szilárd hordozókon.

A folyamatos áramlásos biomimetikus reakciók során képződő metabolitokat az 5. Táblázat mutatja be. A termékelegy összetételének vizsgálata alapján major metabolitként minden hordozó esetében a humán major metabolit (**M1**) képződött. A legnagyobb, 76,4%-os konverzió értéket áramlásos körülmények között a Si-**2 FeTSPP** katalizátor érte el, amely esetében a hordozó közepes hosszúságú linker molekulákat tartalmaz. Ez esetben nagy mennyiségben keletkezett a bisz-*N*-deetilált származék (**M3**), valamint egyéb, ezidáig még nem azonosított vegyület is képződött. A Si-**3-FeTSPP** katalizátor hasonló termékprofillal rendelkezett, de valamivel kisebb, 50% körüli konverziót mutatott. A legrövidebb amino-linkerrel kapcsolt készítmény, az Si-**1-FeTSPP** a szakaszos üzemű heterogén oxidációval ellentétben, alacsony konverziós értéket mutatott.

			Termék [%]						
	m/z	r	Si-1-FeTSPP	Si-2-FeTSPP	Si-3-FeTSPP				
	[g/mol]	[min]	FeTSPP NH3 ⁺		H FetSPP NH ₃				
klorokvin	320,3	1,54	98,0	23,6	49,6				
M1	292,2	1,47	2,0	29,3	29,0				
M3	263,2; 281,2	1,65	-	36,6	19,3				
egyéb			-	10,4	2,1				
Konverzió	6 [%]		2,0	76,4	50,4				

5. táblázat A *klorokvin* heterogén fázisú, biomimetikus oxidációja során képződött metabolitok folyamatos áramlásos üzemben

Összességében, eredményeink alátámasztják a feltételezést, miszerint a hordozó felületi csoportjainak jellege nagymértékben befolyásolja a hozzájuk rögzített porfirin biokatalitikus működését. Az általunk fejlesztett katalizátor család sikeresen alkalmazható volt a *klorokvin* biomimetikus oxidációjában szakaszos és folyamatos üzemben egyaránt. Az immobilizált metalloporfirinekkel minden esetben sikerült előállítani a hatóanyag humán metabolitját, így ez a módszer a jövőben a gyógyszer analitikai vizsgálatokban egy új alternatívát jelenthet. Eredményeink megmutatták, hogy a porfirin immobilizáció során alkalmazott linker molekula hossza, mozgékonysága, valamint a biomimetikus oxidáció kivitelezésének módja befolyásolja a metabolit profilt, valamint a produktivitást. Emellett, a porfirin alapú katalizátorokkal jelentősen lecsökkenhető lépésszámmal, folyamatosítható technológiával, lehetőség nyílik akár új gyógyszerjelöltek hatékony szintézisére is.

Irodalomjegyzék

- K. P. Cusack, H. F. Koolman, U. E. W. Lange, H. M. Peltier, I. Piel, A. Vasudevan, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013 (23) 5471-5483
- [2] W. Lohmann, U. Karst, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008 (391) 79-96

- [3] A. J. B. Melo, Y. Iamamoto, A.P.J. Maestrin, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2005 (226) 23-31
- [4] T. Fődi, G. Ignácz, B. Decsi, Z. Béni, Gy. I. Túrós, J. Kupai, D. Balogh-Weiser, I. Greiner, P. Huszthy, Gy. T. Balogh, *Chemistry: A European Journal*, 2018 (24) 9385-9392
- [5] B. Decsi, R. Krammer, K. Hegedűs, F. Ender, B. Gyarmati, A. Szilágyi, R. Tőtős, G. Katona, Cs. Paizs, Gy. T. Balogh, L. Poppe, D. Balogh-Weiser, *Micromachines*, **2019** 10(668) 1–13
- [6] B. Meunier, Chemical Reviews, 1992 (92) 1411-1456
- [7] J. Bernadou, B. Meunier, Advanced Synthesis & Catalysis, 2004 (346) 171-184
- [8] E. Brulé, Y. R. de Miguel, Organic and Biomolecular Chemistry, 2006 (4) 599-609

A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium Tématerületi Kiválósági Program (TKP) – TUDFO/51757/2019-ITM-Hatékonyságnövelt és intelligens gyártástechnológiák - Vegyipari technológiák intenzifikálása Program és ÚNKP-19-2-I kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Program támogatásával készült.

ANTIVIRÁLIS NEURAMINSAV-SZÁRMAZÉKOK SZINTÉZISE

Lőrincz Eszter Boglárka^{a,b}, Bakai-Bereczki Ilona^a, Herczegh Pál^a, Borbás Anikó^a

^a DE-GYTK, Gyógyszerészi Kémia Tanszék, 4032 Debrecen, Egyetem tér 1 ^b Debreceni Egyetem, Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Az influenza az egyik legsúlyosabb vírusfertőzés, amely a társadalmat fenyegetheti. A 10 leghalálosabb vírus közé sorolják. A vírus mutációja miatt a szezonális influenzajárványok mellett akár világméretű járványok is kialakulhatnak. A 2009-es H1N1 világjárvány óta a WHO fokozottabb figyelmet szentel az influenza elleni védekezésre és kezelésre. A WHO szakemberei számos tudóssal karöltve 2019-ben felhívták a figyelmet arra, hogy az influenza napjaink egyik legfenyegetőbb világjárványát okozhatja. Világszerte egy átlagos influenza szezonban 1 milliárd ember fertőződik meg, ebből 3-5 millió eset súlyos és körülbelül 300000-600000 ember hal meg [1].

Az 1918-as spanyolnáthának nevezett járvány a leghalálosabb influenzajárvány volt a történelemben. A világ lakosságának egyharmada megfertőződött és körülbelül 50 millió ember halt meg. Bill Gates és az Institute for Disease Modeling készített egy szimulációt, amelyben bemutatják, hogy napjainkban fél év alatt egy a spanyolnáthához hasonló járvány közel 33 millió embert ölne meg világszerte [2]. A WHO a 2019-2030-as időszakra kiadott egy stratégiai tervet, melyben felhívják a figyelmet arra, hogy a világnak fel kell készülnie egy esetleges állatról emberre terjedő világjárvány kialakulására. Növelni kell a felkészültséget, újabb és jobb gyógyszereket és vakcinákat szükséges kifejleszteni [1].

Az influenzaellenes gyógyszereket három csoportba sorolhatjuk. Az első csoportba tartoznak azok, amelyek a vírus M2 protoncsatornáját célozzák meg. Ezeket manapság a magas rezisztencia és a kis hatékonyság miatt nem használják. A második csoportba a legáltalánosabban használt neuraminidázinhibitorok tartoznak, mint például az oszeltamivir, zanamivir, peramivir. Az influenza felületén két fontos glikoprotein található: a neuraminidáz és a hemagglutinin. Az utóbbi a vírus megtapadásáért felel a gazdasejtek felületén, az első pedig a vírus szaporodása után az új vírusrészecskék elszakadását segíti a gazdasejt felületéről. A neuraminidázgátlók ezt a folyamatot gátolják. Ezek a szerek sajnos nem elég hatékonyak a vírussal szemben, mindössze fél-egy nappal csökkentik a tünetek időtartamát [3]. 2018 végén az FDA jóváhagyott egy új gyógyszert, a baloxavir marboxilt. Ez egy új hatásmechanizmusú, cap-függő endonukleáz inhibitor, ami a vírusos RNS-ek szintézisét akadályozza meg [4].

Habár már léteznek gyógyszerek a kezelésre és vakcinák a megelőzésre, az influenzavírus mutációja miatt ezekre a gyógyszerekre az új törzsek rezisztenssé válhatnak, illetve a vakcinák az új mutáció esetén nem biztosítanak védelmet az aktuális vírus ellen. A 2008-2009-es időszakban egy

specifikus neuraminidázmutáció alakult ki a H1N1 influenza törzsben, amely teljes (99,4%-os) oszeltamivir elleni rezisztenciát eredményezett [5].

A WHO szerint nagyon sürgető feladat az új hatásmechanizmusú influenzaellenes gyógyszerek kutatása és kifejlesztése. A vírus gazdasejten való megtapadásának gátlása igen ígéretes hatásmechanizmus lehetne. Sajnos nincs még forgalomban hemagglutiningátló szer, pedig a vírus megtapadásának gátlásával a fertőződés is megakadályozható, és így a mutációk kialakulása is gátolható lehetne.

Az emberi szervezetben az influenza hemagglutininja a sejtek felületén levő sziálsavhoz (neuraminsavhoz) kapcsolódik [6]. A hemagglutinin három alegységből áll, három sziálsavhoz képes egyszerre kötődni [6]. Ezért olyan új típusú influenzaellenes molekulák előállítását tűztük ki célul, amelyek sziálsavat tartalmaznak, és amfifil tulajdonságuknak köszönhetően aggregátumok kialakítására képesek. Az aggregátumok felületén levő sziálsav molekulák a klaszterhatás, vagy multivalens hatás miatt erősebb kötődésre lehetnek képesek a hemagglutininnal. A tervezett molekulákban a sziálsavat linkeren keresztül egy lipofil oldalláncokkal ellátott cukor hordozómolekulához kapcsoltuk (**1. ábra**).



1. ábra A tervezett neuraminsav származékok

Kiindulási anyagként a metil-α-D-glükopiranozidot választottuk. A 6-os és 4-es hidroxilcsoportokat *p*-metoxi-benzilidén védőcsoporttal védtük, majd a 2-es és 3-as hidroxil-csoportokat éteresítettük butil, oktil illetve decil oldalláncokkal. A p-metoxi-benzilidén védőcsoportot 6-os helyzetben szelektíven hasítottuk, és a szabaddá vált hidroxil-csoporthoz linkerként egy tetraetilénglikol láncot kapcsoltunk, melynek végén azido-csoport található (**2. ábra**).



2. ábra A szénhidrát hordozómolekula átalakítása

A sziálsav karboxil-csoportját átmenetileg metilészter formában védtük, majd a 2-es pozícióban *S*-propargil-csoportot alakítottunk ki (**3. ábra**).



3. ábra A neuraminsav átalakítása

Az **5a,b,c** és **10**-es vegyületeket Cu(I)-jodid és Et₃N jelenlétében alkin-azid 1,3-dipoláros cikloaddíciós reakcióval kapcsoltuk össze (**4. ábra**).



Az előállított származékok influenzaellenes hatását Lieve Naesens és kutatócsoportja vizsgálta Leuvenben, a Rega intézetben. A vizsgálatok azt mutatták, hogy az *n*-butil oldallánccal ellátott molekulának nincs influenzaellenes hatása, míg az *n*-oktil oldalláncokat tartalmazó származék jó antivirális hatással bír mind az influenza A és influenza B törzsek ellen is. (**1. táblázat**) Az *n*-decil oldalláncú származék vizsgálata folyamatban van influenza és nyugat-nílusi láz vírusok ellen.

	Citoto (J	oxicitás ul)	Antivirális EC ₅₀ °							
Vizsgált anyag			Influ A/H (A/P	ienza [1N1 PR/8)	Influenza A/H1N1 (A/Virginia/ATCC3/2009)		Influenza A/H3N2 (A/HK/7/87)		Influer (B/HK	nza B /5/72)
	CC_{50}^{a}	MCC ^b	CPE	MTS	CPE	MTS	CPE	MTS	CPE	MTS
<i>n</i> -butil származék	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>n</i> -oktil származék	42	20	8,9	15	8,9	>100	8,9	8,7	>100	<18
Zanamivir	>100	>100	0,47	0,76	19	6,4	4	4,8	0,0022	0,016

1. táblázat Inluenzaellenes vizsgálatok

^a 50%-os citotoxikus koncentráció; ^b minimális citotoxikus koncentráció; ^c 50%-os effektív koncentráció

Irodalomjegyzék

- [1] Global influenza strategy 2019-2030, World Health Organization 2019
 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/311184/9789241515320-eng.pdf?ua=1)
- [2] Bill Gates, Shattuck Lecture, 2018 (<u>https://www.gatesfoundation.org/Media-Center/Speeches/2018/04/Shattuck-Lecture-Innovation-for-Pandemics</u>) (<u>http://www.idmod.org/news/node/296</u>)
- [3] T. Jefferson, P. Doshi; British Medical Journal, 2014 (348), g2263–g2263.
- [4] F. G. Hayden, N. Sugaya, N. Hirotsu, N. Lee, M. D. de Jong, A. C. Hurt, T. Ishida, H. Sekino, K. Yamada, S. Portsmouth, K. Kawaguchi, T. Shishido, M. Arai, K. Tsuchiya, T. Uehara, A. Watanabe, the Baloxavir Marboxil Investigators Group; *The New England Journal of Medicine*, 2018 (379), 913-923
- [5] https://www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2008-2009/08-09summary.htm
- [6] J. J. Skehel, D. C. Wiley; Annual Review of Biochemistry, 2000 (69(1)), 531-569

Köszönetnyilvánítás: a kutatást az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 című projekt támogatta, amely az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

SZEKUNDER FOSZFINOXID EGYSÉGET TARTLAMAZÓ, 18-KORONA-6-ÉTEREK ELŐÁLLÍTÁSA

Márton Anna^a, Szabó-Szentjóbi Hajnalka^a, Tóth Tünde^{a,b}, Huszthy Péter^a

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3 ^bEnergiatudományi Kutatóközpont, 1121 Budapest, Konkoly Thege Miklós út 29-33

A szupramolekuláris kémia az elmúlt évek tudományos érdeklődésének egy jelentős célpontjává nőtte ki magát. Fontossága a fémionok, szerves kationok és anionok, semleges molekulák, illetve királis vegyületek enantiomerjeinek felismerését, illetve elválasztását lehetővé tévő szenzor-és szelektormolekulák kutatásában rejlik. A szupramolekuláris kémia alapjának a molekuláris felismerés jelensége tekinthető, amely során egy adott molekula (gazdamolekula) a környezetét alkotó halmazból képes szelektíven kiválasztani egy másik molekulát vagy iont (vendég), és azzal rendezett struktúrájú, stabil szerkezetet alkotni. Ezen jelenség a természetben is számtalan helyen előfordul, úgymint a DNS kettős csavar, az enzim-szubsztrát kapcsolat, illetve az antigén-antitest kölcsönhatás során. A molekuláris felismerés viszonylag egyszerű szintetikus molekulákkal, például koronaéterek alkalmazásával, az élettelen természetre is kiterjeszthető [1,2].

A vegyipar és ezáltal a zöld kémia egy másik jelentős kutatási területe a homogén katalitikus eljárások kifejlesztése, illetve tanulmányozása. A homogén katalitikus reakciók egyik nagy előnye, hogy használatukkal kiemelkedő regio- és sztereoszelektivitás érhető el enantioszelektív reakciókban. Míg ezen reakciók másik nagy előnye, hogy fémorganikus reagensek alkalmazásával régebben semmiképpen nem, vagy csak nehezen végbemenő reakciók is megvalósíthatóvá váltak [3].

Homogén katalitikus reakciók során az alkalmazott liagndumok legfőbb feladata a fém oldatban tartása, ezáltal pedig a homogenitás biztosítása. *Wilkinson* 1965-ös felfedezése fordította a kutatók figyelmét a foszfin ligandumok irányába, ugyanis a RhCl(PPh₃)₃ katalizátorral szobahőmérsékleten, atmoszférikus nyomáson sikeresen valósította meg az alkének hidrogénezését [4]. A foszfinok hátránya azonban, hogy könnyen oxidálódnak, ezért alkalmazásuk csak inert körülmények biztosítása mellett lehetséges. A trivalens foszforvegyületek oxidációja során keletkező trialkil-foszfinoxidok már nem rendelkeznek a kívánt fém koordinációs képességgel. Ezen probléma például szekunder foszfinoxid katalizátor pre-ligandumok alkalmazásával küszöbölhető ki, mely vegyületek iránt a kutatók csak nemrégiben kezdtek érdeklődni [5].

Jelen kutatómunkám során célul tűztem ki a szakirodalomban eddig még nem közölt (*S*,*S*)-1, (*S*,*S*)-2, illetve (*S*,*S*)-3 (1. ábra) szekunder foszfinoxid egységet tartalmazó, 18-korona-6-éter típusú, a makrogyűrűn különbözőképpen szubsztituált királis koronaéterek szintézisét.



1. ábra Célvegyületek

A későbbiekben az elkészült enantiomertiszta koronavegyületek hidroformilezési reakciókban katalizátor pre-ligandumként való alkalmazásának vizsgálatát tervezzük.

A kívánt vegyületek előállítására a következő szintézis stratégiát dolgoztam ki. A diarilfoszfinsav-etil-észter egységet tartalmazó (S,S)-4, (S,S)-5 és (S,S)-6 királis koronaéterek szintézisét a következőképpen valósítottam meg: a két fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó 7 diarilfoszfinsavészter és az enantiomertiszta (R,R)-8, (S,S)-9 és (S,S)-10 oligoetilénglikol-ditozilátok makrociklizációs reakcióját végeztem el. Ezek után a keletkezett koronavegyületeket redukáltam, így a kívánt szekunder foszfinoxid típusú makrociklusokhoz jutottam (2. ábra).



2. ábra A kidolgozott szintézisút

Elsőként a gyűrűzáráshoz felhasznált intermediereket (**7-10**) kellett előállítanom. Először a kívánt koronaéterek közös kulcsintermedierjét, a szakirodalomban már közölt **7** diarilfoszfinsav-etil-észtert állítottam elő [6]. A kiindulási anyagként választott **11** savkloridot etanollal észteresítettem trietil-amin bázis jelenlétében, amely a reakció során keletkező sósavat kötötte meg. Termékként a **12** etil-difenil-foszfát származékot kaptam (**3. ábra**).



3. ábra A 12 intermedier előállítása

Ezután a butil-lítiumból és diizopropil-aminból *in situ* képzett lítium-diizopropilamid hatására végbemenő *orto*-lítiálást követően egy intramolekuláris átrendeződés (**13**) megy végbe, amely során kialakul a két fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó diarilfoszfinsav-etil-észter (**7**) [6]. Így jutottam a kívánt **7** kulcsintermedierhez (**4. ábra**), mely a fenolos hidroxilcsoportok savasságának köszönhetően már könnyen éterképzési reakcióba vihető.



4. ábra A diarilfoszfinsav-etil-észter köztitermék előállítása

Ezt követően az enantiomertiszta tetraetilénglikol-ditozilátok ((R,R)-8, (S,S)-9, (S,S)-10) előállítása következett. A kiralitáscentrumon metilcsoportokat tartalmazó teraetilénglikol ((S,S)-14 és (S,S)-15) többlépéses szintézissel állítható elő [7], melyet itt nem ismertetek. A tozilát távozócsoportok kialakítását az (S,S)-14 esetében KOH, az (R,R)-15 esetében piridin bázis alkalmazásával *p*-toluolszulfonsav-klorid reagenst alkalmazva hajtottam végre [7,8] Az (R,R)-8 szekunder tozilátjai az erős bázis miatt eliminációs reakciót adnak, ezért ebben az esetben a gyengébb, piridin bázis alkalmazása célravezető. Így kaptam a kívánt (S,S)-9 és (R,R)-8 intermediereket (5. ábra).

$$\begin{array}{c} R_{1,...,R^{2}}^{1} & R_{2}^{2} & R_{1}^{2} & R_{2}^{1} & R$$

5. ábra A tetraetilénglikol-ditozilát intermedierek előállítása

Az (S,S)-**10** tetraetilénglikol-ditozilátot egy többlépéses szintézisúton az (S)-**16** α -hidroxikarbonsav származékból kiindulva állítottam elő [9-11]. Ezt elsőként dihidropiránnal reagáltattam piridinium-*p*-toluolszulfonát (PPTs) katalizátor jelenlétében, diklórmetán oldószert alkalmazva. Így a tetrahidropiranil védőcsoporttal ellátott (*S*)-**17** észter keletkezett, amit a következő lépésben lítium-tetrahidrid-aluminát segítségével redukáltam dietil-éterben, végül az (S)-**18** szabad primer hidroxilcsoportot tartalmazó vegyülethez jutottam (**6. ábra**).



6. ábra Az (S)-19 köztitermék előállítása

Ezután az (*S*)-**18** szekunder hidroxilcsoportján tetrahidropiranil-csoporttal védett vegyületet tetrahidrofuránban végzett nátrium-hidrides deprotonálás után benzil-klorid segítségével benzilcsoporttal láttam el, majd a tetrahidropiranil védőcsoportot Amberlite IR-120 ioncserélő gyanta alkalmazásával eltávolítottam (**6. ábra**).

Az (S)-19 primer hidroxilcsoportján benzilcsoporttal védett propilénglikol származékot ezt követően tetrahidrofuránban végzett nátrium-hidrides deprotonálás után kapcsoltam dietilénglikolditoziláttal (7. ábra).



7. ábra Az (S,S)-20 vegyület előállítása

Az így nyert (*S*,*S*)-**20** oligoetilénglikol α, ω -dibenzil származékát palládium/szén katalizátor jelenlétében metanolban hidrogéneztem, így távolítva el a benzil-védőcsoportokat (**8. ábra**). A benzil-védőcsoportok alkalmazásának nagy előnye, hogy egyszerűen, légköri nyomáson végrehajtott katalitikus hidrogénezéssel szelektív módon eltávolíthatók és a reakció után nem szükséges tisztítási lépés beiktatása.



8. ábra Az (S,S)-10 tetraetilénglikol-ditozilát előállítása

Az így előállított (S,S)-**21** tetraetilénglikol származékot az (S,S)-**9** előállításával megegyező módon p-toluolszulfonsav-kloriddal reagáltattam kálium-hidroxid bázis jelenlétében diklórmetán oldószerben, hogy a makrociklizációra alkalmas (S,S)-**10** kulcsintermedierhez jussak (**8. ábra**).

A makrociklizációs lépés során a 7 foszfinátot reagáltattam a tetraetilénglikol-ditozilát különbözőképpen szubsztituált származékaival ((R,R)-8, (S,S)-9, (S,S)-10), ezáltal az (S,S)-4, (S,S)-5, illetve az (S,S)-6 enantiomertiszta diarilfoszfinsav-etil-észter egységet tartalmazó koronaéterekhez jutottam (9. Ábra). Már a gyűrűzárási reakció során is kihasználhatjuk a koronaéterek komplexképző hajlamát, ugyanis a reakcióelegyhez hozzáadott kálium-karbonát nemcsak a bázis szerepét tölti be a fenolos hidroxilcsoportok deprotonálása során, hanem templáthatást kifejtve a makrociklizációt is nagyban elősegíti. Ennek során nyílt láncú tetraetilénglikol-ditozilát származékokkal képes kölcsönhatásba lépni és azokat maga köré csavarni, így a láncvégeken elhelyezkedő csoportok sztérikusan megfelelő helyzetbe kerülnek ahhoz, hogy lehetővé váljon az 1+1 makrociklizáció [12]. Az ehhez hasonló gyűrűzárások vizsgálata során megfigyelték, hogy a szekunder ditozilátok magas hőmérsékleten végzett makrociklizációs reakciója során racemizáció mehet végbe, ezért alacsonyabb hőmérséklet alkalmazása a célszerűbb. Így az (R,R)-8 tetraetilékglikol-ditozilát származék esetében a reakciót 50 °C-on végeztem dimetil-formamid oldószerben. Mivel a gyűrűzárási reakció S_N2 mechanizmus szerint játszódik le, így teljes inverzióval jár, ennek köszönhetően ebben az esetben a kapott termék az enantiomertiszta (S,S)-4 diarilfoszfinsav-etil-észter egységet tartalmazó makrociklus lett (9. Ábra). A primer ditozilátok esetében a kiralitáscentrumon nem történik reakció, így az (S,S)-9 és (S,S)-10 tetraetilénglikol-ditozilát származékok esetében a gyűrűzárási reakciót 80 °C-on végeztem (9. ábra).



9. ábra Makrociklizáció

A diarilfoszfinsav-etil-észter ((S,S)-4, (S,S)-5, (S,S)-6) egységet tartalmazó makrociklusok redukcióját lítium-tetrahidrid-aluminát segítségével kíséreltem meg végrehajtani [13]. A reakció során először a foszfin típusú (S,S)-22, illetve (S,S)-23 makrociklusok keletkeztek, amelyek azonban igen rövid idő alatt, a feldolgozás, illetve a tisztítás során a nem megfelelően inert körülmények miatt a levegő hatására szinte teljes mennyiségükben oxidálódtak és a kívánt (S,S)-1 és (S,S)-2 szekunder foszfinoxid

egységet tartalmazó koronavegyületek keletkeztek (**10. ábra**). A foszfin típusú koronaéter keletkezését ³¹P-NMR-rel is sikerült igazolnom az (*S*,*S*)-**22** makrociklus esetében. Kis mennyiséget sikerült izolálnom ezen koronaéter származékból, azonban már az NMR felvétel során is oxidálódott, és a ³¹P-NMR-ben is megjelent a szekunder foszfinoxid egységet tartalmazó makrociklushoz ((*S*,*S*)-**1**) tartozó jel. Ezen lépés végén sikeresen jutottam a kívánt (*S*,*S*)-**1**, illetve (*S*,*S*)-**2** szekunder foszfinoxid egységet tartalmazó királis koronaéterekhez (**10. ábra**).



10. ábra A koronaéterek redukciója

Az (*S*,*S*)-**6** foszfinát egységet tartalmazó makrociklus esetében a lítium-tetrahidrid-aluminát reagenssel végrehajtott reakció során nem várt módon az (*S*,*S*)-**24** foszfinsav egységet tartalmazó koronaéter keletkezett (**11. ábra**). Ezen vegyület keletkezését NMR, illetve LC-MS vizsgálatokkal sikerült igazolnunk. Ennek a jelenségnek a vizsgálata, illetve a kívánt szekunder foszfinoxid egységet tartalmazó koronavegyület ((*S*,*S*)-**3**) előállítása jelenleg is folyamatban van.



11. ábra Az (S,S)-24 foszfinsav keletkezése

Kutatómunkám során sikeresen előállítottam az eddig még nem közölt enantiomertiszta (S,S)-**1** és (S,S)-**2** szekunder foszfinoxid egységet tartalmazó 18-korona-6-éter típusú makrociklusokat, illetve

a szintén új (S,S)-**24** foszfinsav egységet tartalmazó koronavegyületet. Az egyes koronaéterek szintézise során több, a szakirodalomban már közölt vegyületet állítottam elő. Továbbá, az (S,S)-**24** koronaéter a szakirodalomban eddig még nem közölt (S,S)-**10** kulcsintermedierjét is sikeresen szintetizáltam. A továbbiakban az új, enantiomertiszta, szekunder foszfinoxid-egységet tartalmazó koronaétereket ((S,S)-**1**, (S,S)-**2** és (S,S)-**3**) katalizátor pre-ligandumként alkalmazva hidroformilezési modellreakciókban tervezzük vizsgálni.

Irodalomjegyzék

- [1] J.-M. Lehn; Supramolecular Chemistry; VCH: Weinheim, Germany 1995.
- [2] K. Ariga, T. Kunitake; Supramolecular Chemistry-Fundamentals and Applications (Advanced Textbook); Springer: Heidelberg, Germany 2006.
- [3] F. Faigl, L. Kollár, A. Kotschy, L. Szepes; *Szerves fémvegyületek kémiája, Nemzeti Tankönyvkiadó,* 2001.
- [4] J. F. Young, J. A. Osborn, F. H. Jardine, G. Wilkinson; *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1965 (7) 131.
- [5] T. Achard; Chimia, 2016 (70) 8.
- [6] B. Dhawan, D. Redmore; The Journal of Organic Chemistry, 1986 (51) 179.
- [7] K. A. Petros, S. V. Agafonov, V. P. Pokatun; *Journal of General Chemistry of the USSR*, 1987 (57) 98.
- [8] R. G. Ghirardelli; Journal of the American Chemical Society, 1973 (95) 4987.
- [9] I. Kovács, P. Huszthy, F. Bertha, D. Sziebert; Tetrahedron: Assymetry, 2006 (17) 2538.
- [10] E. Samu, P. Huszthy, Gy. Horváth, Á. Szöllősy, A. Neszmélyi; *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999** (10) 3615.
- [11] K. Mori; Tetrahedron, 1976 (32) 1101.
- [12] P. Huszthy, V. Farkas, T. Tóth, Gy. Székely, M. Hollósi; Tetrahedron, 2008 (64) 10107.
- [13] D. J. Collins, P. F. Drygala, J. M. Swan; Australian Journal of Chemistry, 1983 (36) 2095.

Az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-2 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.





NEONIKOTINOID TARTALMÚ VIZEK HETEROGÉN FOTOKATALITIKUS KEZELÉSE

Náfrádi Máté, Hlogyik Tamás, Dr. Alapi Tünde

Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szeged

Összefoglaló

Munkánk célja két, elterjedten és nagy mennyiségben használt neonikotinoid, az imidakloprid és tiakloprid heterogén fotokatalitikus átalakításának vizsgálata volt Aeroxid P25 TiO₂ fotokatalizátort és UV_{300-400 nm} fényt használva. Vizsgáltuk az kiindulási koncentráció, a TiO₂ szuszpenzió töménységének és az oldott O₂ koncentrációjának hatását. Mérési eredményeinkre jól alkalmazható volt mind a Langmuir, mind a Freundlich modell. Az oldott O₂ koncentrációjának növelése 1,25×10⁻⁴ M felett már nem volt szignifikáns hatással az átalakulási sebességre. Az 1,0×10⁻⁴ M kiindulási koncentrációjú oldatok esetén a peszticid hatóanyagok átalakulásához szükséges idő alatt a kiindulási vegyületek és köztitermékeik dehalogenizációja teljes mértékben lejátszódott. Mindkét vegyület esetén a KOI és TOC értékek csökkenése jelentősen lelassult a célvegyületek átalakulása után, ami nehezen oxidálható köztitermékek képződésére utal. Mindkét kiindulási vegyületünk N-tartalmú szerves vegyület, a szerves nitrogéntartalom nitráttá alakulását azonban csak imidakloprid esetén tudtuk kimutatni, ebben az esetben is csak a teljes nitrogén tartalom 25 %-a volt kimutatható nitrátként. Megvizsgáltuk két enyhe mátrix, egy alacsony (15 mg dm⁻³) KOI értékkel bíró tisztított szennyvíz és a csapvíz hatását az átalakulás sebességére. Az alacsony KOI értékkel bíró tisztított szennyvíz és a csapvíz hatását az átalakulás sebességére.

Bevezetés

Napjaink egyik jelentős környezeti problémáját jelentik a vizekbe kerülő nagy mennyiségű peszticidek. Ezek közül az utóbbi években jelentős figyelmet kaptak a neonikotinoid inszekticidek, elsősorban a mézelő méhekre gyakorolt toxikus hatásuk miatt. Az egyik legszélesebb körben alkalmazott neonikotinoid, az imidakloprid letális dózisa méhekre nézve 5-70 ng, de számos vízi gerinctelenre és madárfajra kimutatták káros hatásait [1]. A neonikotinoidok használatát az Európai Unióban jelentősen korlátozták, az imidakloprid szabadföldi használatát 2018-ban betiltották, míg a tiakloprid továbbra is vizsgálat tárgya, Franciaországban már nem engedélyezett a használata [2].



1. ábra Az imidakloprid (A) és a tiakloprid (B) szerkezeti képlete

A neonikotinoidok eltávolítására számos különböző nagyhatékonyságú oxidációs eljárást alkalmazhatóságát vizsgálták [3-4]. Munkánk során két neonikotinoid, az imidakloprid és a tiakloprid heterogén fotokatalitikus átalakítását vizsgáltuk, különös tekintettel a különböző reakciókörülményekre (fotokatalizátor, oldott oxigén és peszticid hatóanyag koncentrációja), a mineralizáció és dehalogenizáció sebességére. Mindemellett célunk volt két különböző mátrix (tisztított szennyvíz és csapvíz) hatásának vizsgálata az átalakulás sebességére.

Használt anyagok és analitikai módszerek

A mérések során a 250 cm³ térfogatú szuszpenziókat kezeltünk. Fotokatalizátorként TiO₂ Aeroxid P25 katalizátort, fényforrásként 300-400 nm hullámhosszon sugárzó fluoreszcens UV lámpát (LightTech) alkalmaztunk. A szuszpenzót perisztaltikus pumpával recirkuláltattuk, 375 cm³ perc⁻¹ sebességgel. A mérések során a szuszpenzión 855 cm³ perc⁻¹ áramlási sebességgel buborékoltattunk át különböző összetételű oxigén/nitrogén gázkeverékeket. A minták centrifugálás (15000 RPM) és szűrés (0,22 µm PVDF-L fecskendőszűrő) után kerültek további analizálásra. A kezelt oldatok esetén az imidakloprid és tiakloprid elválasztása köztitermékeiktől Agilent 1100 HPLC-vel történt, Lichrospher 100 RP-18 oszlopot, eluensként pedig 45:55 metanol:víz elegyet használva. Az eluens áramlási sebessége 1.0 ml perc⁻¹volt. A peszticid hatóanyagok detektálása 240 és 270 nm-en történt a tiakloprid és az imidakloprid esetén, detektorként UV/Vis DAD detektort alkalmaztunk.

A kezdeti reakciósebességeket a kinetikai görbék kezdeti, lineáris szakaszára illesztett egyenesek meredekségéből határoztuk meg. A teljes széntartalom (TOC) mérése Analytik Jena multi N/C 3100 analizátorral, az adszorbeálható szerves klórtartalom (AOX) meghatározása Analytik Jena multi X 2500 készülékkel történt, utóbbi esetben 15 ml minta 2×50 mg nagytisztaságú aktív szénen való adszorpciója után. A kémiai oxigénigény (KOI), a H₂O₂ és a nitrát koncentrációjának méréséhez kolorimetriás küvettateszteket használtunk, valamint Spectroquant Multy és Hach DR 2800 spektrofotométert.

Méréseink során Milli-Q nagytisztaságú vizet, tisztított szennyvizet, illetve csapvizet használtunk, melyek jellemzőit az 1. Táblázat tartalmazza.

	Csapvíz	Tisztított szennyvíz
рН	7,3	5,5
Vezetőképesség (µS cm ⁻¹)	482	21,9
KOI (mg dm ⁻³)	0,69	< 15
NH_4 -N (mg dm ⁻³)	< 0,4	< 0,4
$NO_3 (mg dm^{-3})$	< 0,7	1,5
Cl [°] (mg dm ⁻³)	8,75	nincs adat
$TOC (mg dm^{-3})$	8	nincs adat

1. táblázat Az alkalmazott két mátrix főbb vízanalitikai paraméterei

Eredmények

Először $1,0\times10^{-4}$ M koncentrációjú imidakloprid és a tiakloprid heterogén fotokatalaízisét vizsgáltuk 1,0 g dm⁻³ TiO₂ katalizátor szuszpenzió esetén. Mindkét hatóanyag 20 perc kezelés után közel teljesen átalakult (2.ábra). A bomlásgörbék kezdeti szakaszára illesztett egyenesek meredeksége alapján meghatározott kezdeti átalakulási sebességek (r₀) imidakloprid esetén 1,67×10⁻⁷ M s⁻¹, tiakloprid esetén 1,48×10⁻⁷ M s⁻¹ voltak.



2. ábra Az imidakloprid és a tiakloprid relatív koncentrációjának változása az idő függvényében.

Mivel fotokatalitikus reakciók esetén az adszorpciónak igen nagy jelentősége van, ezért vizsgáltuk mindkét vegyület adszorpcióját az alkalmazott TiO₂ katalizátoron. Egyik peszticid hatóanyag sem adszorbeálódott jelentős mértékben (<1 %). Állandó (1,0 g dm⁻³) TiO₂ szuszpenzió töménység

mellett (3. ábra) vizsgálva a kiindulási koncentráció ($2,5 \times 10^{-5} - 5,0 \times 10^{-4}$ M) hatását az átalakulási sebességre, a heterogén fotokatalízisre jellemző telítési jellegű görbét kaptunk.



3. ábra Az imidakloprid és tiakloprid kezdeti sebessége a kiindulási koncentráció függvényében, 1,0 g dm⁻³ TiO₂ szuszpenzió töménység esetén

A fotokatalitikus folyamatok jellemzése során alkalmazott két legáltalánosabb adszorpciós modellt használva megállapítottuk, hogy mind a Langmuir-Hinshelwood, mind a Freundlich modell megfelelően jó illeszkedést mutatott mérési pontjainkra az imidakloprid és a tiakloprid heterogén fotokatalitikus átalakulása esetén egyaránt. (4.ábra).



4. ábra A Langmuir-Hinshelwood (A) és Freundlich (B) modell alkalmazása

Az oldott O₂ esszenciális szerepet tölt be heterogén fotokatalízis során: egyrészt elektronbefogóként gátolja a fotogenerált töltések rekombinációját, másrészt többlépéses reakciók során számos reaktív köztitermék képződik belőle, melyek aztán elindíthatják a szerves vegyület átalakulását. Különösen fontos szerepet tölt be a mineralizációban, ami a peroxilgyökök képződéséhez köthető. Az

oldott O₂ koncentrációjának hatását vizsgálva a kezdeti reakciósebességre, $1,25 \times 10^{-4}$ M felett nem tapasztaltunk annak további növekedését (5/A ábra). A további méréseket így levegővel telített szuszpenziókban végeztük el.



5. ábra Az oldott O₂ koncentrációjának (A) és a TiO₂ szuszpenzió töménységének (B) hatása a kezdeti reakciósebességre

A TiO₂ szuszpenziók töménységének növelése a 0 - 1,5 g dm⁻³ tartományban állandó kiindulási koncentráció (1,0×10⁻⁴ M) mellett mindkét vegyület esetén intenzív növekedést mutatott 0,5 g dm⁻³ TiO₂ szuszpenzió töménységig. Tiakloprid esetén 0,5 g dm⁻³ fölött már enyhén csökken, míg imidakloprid esetén a fotokatalizátor mennyiségének további növelésével enyhén nő az átalakulási sebesség (5/B ábra). További méréseinket 1,0 g dm⁻³ TiO₂ szuszpenzió töménység mellett végeztük, mely biztosította a fényforrás által kibocsátott fotonok teljes mértékű elnyelődését a besugárzott szuszpenzió rétegben.



6. ábra Az imidakloprid (A) és tiakloprid (B) koncentrációja, az AOX tartalom és a nitrát koncentrációja a kezelés idejének függvényében

Mivel mindkét célvegyület tartalmazott klórt és nitrogént, követtük az átalakulás során a klórtartalmú szerves vegyületek (AOX) illetve a nitrát koncentrációjának változását. Az AOX

koncentráció közel egyidejűleg csökken a célvegyületek átalakulásával, amiből arra következtethetünk, hogy mind a peszticid hatóanyagok, mind pedig a klórtartalmú köztitermékek dehalogenizációja gyorsan lejátszódik az átalakulás során. Ugyanakkor imidakloprid esetén is a kiindulási nitrogéntartalomnak csupán 25 %-át tudtuk nitrát formájában kimutatni. A nitrátion képződése kezdetben igen gyors, azonban az imidakloprid átalakulása során csak lassan növekszik tovább a koncentrációja. Tiakloprid esetén egyáltalán nem tudtunk nitrátiont kimutatni (6. ábra).



7. ábra 1,0×10⁻⁴ M koncentrációjú imidakloprid (A) és tiakloprid (B) szuszpenziók kezelése során mért TOC, KOI és H₂O₂ koncentrációk az idő függvényében

A teljes szerves széntartalom (TOC) és a kémiai oxigénigény (KOI) mindkét peszticid hatóanyag esetén intenzíven csökken a kiindulási vegyület átalakulásának ideje alatt. Azonban annak teljes átalakulása után mindkét érték csökkenésének sebessége erőteljesen lelassul, ami arra utal, hogy nehezen oxidálható köztitermékek képződnek. A TOC és KOI változást ábrázoló görbéket (7. ábra) összevetve az AOX és nitrátion koncentrációjának változását ábrázoló görbékkel (6. ábra) arra következtethetünk, hogy ezen nehezen oxidálható köztitermékek halogént nem tartalmazó, de meglehetősen nagy nitrogéntartalommal rendelkező vegyületek. A H₂O₂ koncentrációjának változása alátámasztja, hogy az oxidáció elsősorban a peszticid hatóanyagok átalakulásának ideje alatt intenzív, mely után pedig rendkívül lelassul, a H₂O₂ képződése is szinte elhanyagolhatóvá válik.

Egy módszer gyakorlati alkalmazhatóságát igen erőteljesen korlátozhatja a mátrix hatása. Ennek vizsgálatára kétféle mátrix hatását hasonlítottunk össze a nagytisztaságú vízben végzett mérésekkel. Tisztított ipari szennyvizet és szegedi csapvizet alkalmaztunk, kétféle kiindulási koncentráció esetén vizsgálva hatásukat az imidakloprid és tiakloprid átalakulási sebességét. A tisztított szennyvíz alacsony szervesanyag tartalma (1. táblázat) elhanyagolható hatással volt az átalakulási sebességre. Azonban a csapvíz jelentős mértékben csökkentette az átalakulás sebességét. Negatív hatása elsősorban azzal értelmezhető, hogy magas iontartalma elősegíti a TiO₂ részecskék aggregációját, jelentősen rontva a fotokatalitikus kezelés hatékonyságát (8.ábra).



8. ábra 1,0×10⁻⁴ M és 2,5×10⁻⁵ M koncentrációjú imidakloprid és tiakloprid kezdeti reakciósebessége Milli-Q vízben, tisztított szennyvízben és szegedi csapvízben

Összefoglalás

- Az oldott O₂ koncentrációja 1,25×10⁻⁴ M felett már nincs további pozitív hatással az átalakulási sebességekre
- A célvegyületek és köztitermékeik átalakulásának dehalogenizációja gyors, a nitrátion képződése azonban igen lassú, illetve elhanyagolható
- A mineralizáció sebessége jelentősen lecsökken az imidakloprid és a tiakloprid átalakulása után, feltehetően nitrogéntartalmú, nehezen oxidálható köztitermékek miatt
- Alacsony KOI tartalmú tisztított szennyvíz hatása elhanyagolható, az ivóvíz magas iontartalma viszont erősen csökkenti a heterogén fotokatalízis hatékonyságát

Irodalomjegyzék

- [1] M. L. Eng, B. J. M. Stutchbury, C. A. Morrissey, Scientific Reports, 2017 (7)
- [2] J. Kathage, P. Castañerab, J. L. Alonso-Pradosc, M. Gómez-Barberoa, E. Rodríguez-Cerezoa, Pest Management Science, 2017 (74) 88-99.
- [3] S. Malato, J. Caceres, A. Aguera, M. Mezcua, D. Hernando, J. Vial, A. R. Fernandez-Alba, *Environmental Science & Technology*, 2001, (35) 4359–4366.
- [4] V. Kitsiou, N. Filippidis, D. Mantzavinos, I. Poulios, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009 (86) 27–35.

A publikáció a Bólyai János Kutatói Ösztöndíj valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3-SZTE-207 és UNKP-19-4-SZTE-115 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.

HIDROBENZOIN-ALAPÚ ÚJRAHASZNÁLHATÓ KIRÁLIS KORONAÉTEREK SZINTÉZISE ÉS ALKALMAZÁSA.

Oláh Attila László^a, Nemcsok Tamás^a, Rapi Zsolt^a, Bakó Péter^a

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

Napjainkban egyre nagyobb jelentőséget nyer a zöld kémia és a környezet megóvása. A zöldkémiai törekvések célja, hogy a kémiai reakciók és folyamatok tervezését meghatározott szabályrendszer segítségével végezzük, ezáltal visszaszorítva a környezet szennyezését és a veszélyes anyagok használatát a vegyiparban [1].

A fázistranszfer katalízis több szempontból is eleget tesz a zöld kémia elvárásainak, mivel általában lehetőséget biztosít, hogy enyhébb körülmények között, "zöldebb" oldószerek és reagensek felhasználásával valósítsunk meg reakciókat pl.: Na₂CO₃ bázisként való használata szerves közegben, vagy a víz mint oldószer alkalmazása [2]. Az aszimmetrikus fázistranszfer katalízis iránt jelentősen megnőtt a tudományos érdeklődés az elmúlt harminc évben. Számos különböző királis katalizátort szintetizáltak és teszteltek különböző reakciókban, több esetben kiváló enantioszelektivitással. A legtöbb királis fázistranszfer katalizátor szintézise bonyolult és költséges, regenerálásuk általában nem megoldott, vagy körülményes (pl.: kromatográfiás tisztítást igényel).

A bemutatott kutatás célja egy olyan regenerálható királis fázistranszfer katalizátor szintézise, mely megfelel a következő feltételeknek:

- A kiindulási anyag viszonylag olcsó és/vagy könnyen előállítható.
- A kiindulási anyagból lehetőleg minél egyszerűbb szintézissel jussunk a kívánt termékhez.
- Relatíve jó termeléssel kapjuk a kívánt koronaétert a kiindulási anyagból.
- A kapott koronaéter ne tartalmazzon savra érzékeny csoportokat, mivel a visszanyerést 10%-os sósavoldattal történő extrakcióval tervezzük megvalósítani.

A fenti szempontok figyelembevételével a kereskedelmi forgalomban kapható hidrobenzoint (1) választottuk kiindulási anyagként a kísérleteinkhez. Kutatómunkám két részre osztható. Először négy hidrobenzoin-alapú koronaétert szintetizáltam, melyek közül kettő-kettő enantiomerpárt alkot. Munkám második szakaszában az előállított makrociklusok hatását vizsgáltam olyan modellreakciókban, melyeket a csoportunkban cukoralapú koronaéterekkel már jó enantioszelektivitással megvalósítottak. Továbbá teszteltem az új lariát éterek regenerálhatóságát és visszaforgathatóságát.

A szintézisek alapanyagai tehát a kereskedelmi forgalomban viszonylag olcsón beszerezhető (R,R)- és (S,S)-hidrobenzoin (**1**) voltak. Az első lépésben *Gross* módszerét követve a szabad vicinális OH-csoportokon bisz(2-klóretil)éterrel szobahőmérsékleten 24 óra alatt oldalkarokat alakítottam ki (1. ábra) [3]. Kétfázisú rendszerben dolgoztam, melyben a megfelelő fázisérintkeztetést motoros keverővel biztosítottam. Az oldószereként és reagensként is alkalmazott bisz(2-klóretil)éter nagy feleslege biztosította a két vagy több hidrobenzoin-egység összekapcsolódásával járó mellékreakciók visszaszorítását. A reakció báziskatalizált, melyhez 50%-os nátrium-hidroxid oldatot használtam, és a hidroxidionokat tetrabutilammónium-hidrogénszulfát segítségével juttattam a szerves fázisba. A módszer előnye, hogy viszonylag kevés melléktermék keletkezik, és jó termeléssel megy végbe. A reakció befejeződése után az elegyet jeges víz és diklórmetán elegyével bontottam meg. A feldolgozás után nagy forráspontú bisz(2-klóretil)éter feleslegét vákuumdesztillációval távolítottam el-A keletkezett **2** biszklór-podánsokat (R,R)-hidrobenzoinból (**1**) 64%-os termeléssel, míg az (S,S)-**1** enantiomerből 68%-os hozammal kaptam oszlopkromatográfiás tisztítás után. A termékeket ¹H-NMR és ¹³C-NMR spektrumuk alapján azonosítottam.



1. ábra Az (R,R)- és (S,S)-2 biszklór-podánsok előállítása

Tapasztalataink szerint biszklór-podáns típusú vegyületekből csak gyenge termeléssel kaphatók monoaza-15-korona-5 típusú koronaéterek. A gyűrűzárás hozama javítható, ha a klórt jobb távozó csoportra, jódra cseréljük. A reakciót száraz NaI-dal, száraz acetonban nedvesség kizárása mellett végeztem. A klór-jód csere egy egyensúlyi reakció (2. ábra), mégis szinte kvantitatívan kaphatjuk az **3** intermediereket. Ennek oka, hogy a nátrium-jodid jól oldódik acetonban, míg a nátrium-klorid rosszul, ezáltal az egyensúly a termékképződés irányába tolódik. A reakció 24 óra alatt refluxhőmérsékleten játszódott le. A feldolgozás után az (*S*,*S*)- és (*R*,*R*)-biszjód-podánsokat (**3**) közel kvantitatív termeléssel (95% és 93%) kaptam. A termékek szerkezetéről ¹H-NMR-méréssel győződtem meg.



2. ábra (R,R)- és (S,S)-3 biszjód-podánsok előállítása

Az **3** biszjód-vegyületeket 3-amino-propán-1-ollal és 2-(3,4-dietoxifenil)etil-aminnal zártam gyűrűvé *Gokel* módszerét követve [4]. A két amin kiválasztásában fontos szerepet játszott, hogy a kutatócsoportunkban előállított cukoralapú koronaéterek esetében az ezekből létrejövő oldalláncok bizonyultak a leghatékonyabbnak. A gyűrűzárás argon alatt reflux hőmérsékleten 24 óra alatt játszódott le száraz acetonitrilben. A keletkező hidrogén-jodid megkötésére száraz nátrium-karbonátot használtam. A mellékreakciók elkerülése végett nagyhígítású technikát alkalmaztam, ami elősegíti az intramolekuláris gyűrűzárást a polimerizációs és kvaternerezési reakciókkal szemben. A nátriumion templáthatása szintén javítja a termelést. A nyerstermékek kromatográfiás tisztítását követően az (*R*,*R*)- és (*S*,*S*)-**4a**, valamint az (*R*,*R*)- és (*S*,*S*)-**4b** makrociklusokat 58-68%-os termelésekkel tudtam izolálni. A termékeket jól jellemzik az NCH₂ csoportok, illetve az oldalkar jelei az ¹H-NMR spektrumban.



3. ábra Az 4a és 4b koronaéterek kialakítása kétszeres N-alkilezéssel

Kezdetben a kutatócsoportunkban korábban optimálisnak talált reakciókörülmények között teszteltem az (R,R)-**4a** és (R,R)-**4b** katalizátorok hatásosságát. Ezeket a paramétereket a cukoralapú koronaéterekkel végzett kísérletekben optimalizálták [5]. Mivel a hidrobenzoin-alapú makrociklusok szerkezete eltér a szénhidrátalapú koronavegyületekétől, ezért a reakciókörülmények újraoptimalizálását (1. Táblázat) indokoltnak találtam.

	0 5	-	oldósze <i>t</i> BuOOH (1.3 20% aq.Na katalizáto	r 8 ekv.) aOH or		
No.	Katalizátor	Reakcióidő	Oldószer	T (°C)	Termelés (%)	ee (%) ^a
1	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4 a	4 óra	toluol	25	89	80 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
2	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4b	5 óra	toluol	25	90	8 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
3	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4a	5 óra	CH_2Cl_2	25	81	56 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
4	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4a	5 óra	Et ₂ O	25	83	77 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
5	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4 a	4 óra	MTBE	25	88	81 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
6	(<i>R</i> , <i>R</i>)- 4a	10 óra	MTBE	0	83	81 (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)
7	(<i>S</i> , <i>S</i>)- 4 a	4 óra	MTBE	25	90	79 (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)

1. táblázat Az oldószer, hőmérséklet illetve a katalizátor hatásának vizsgálata *transz*-kalkon (5)

aszimmetrikus epoxidációjában

^akirális HPLC alapján

A reakciók során a hidroxipropil oldalkarral rendelkező (R,R)-4a koronaéter váltott ki jelentős aszimmetrikus indukciót (80% ee, 1. táblázat, 1. sor). Ezek után megvizsgáltam, hogy az oldószer milyen hatással van a reakcióra (1. táblázat, 3-5. sor). Diklórmetánban az eddigiekhez hasonló termeléssel kaptam a 6 epoxiketont közepes enantioszelektivitással (56%) a 2R,3S izomer javára. Étertípusú oldószerekben a toluolhoz hasonló szelektivitással (dietil-éter 77%, metil-*terc*-butil-éter (MTBE) 81%) nyertem a terméket. Ezek alapján az oldószer nem befolyásolja érdemi mértékben a kiváltott aszimmetrikus indukciót. Zöldkémiai megfontolások alapján a további kísérletek oldószereként a metil-*terc*-butil-étert választottam

Megállapítottam tehát, hogy az optimális körülmények: 25 °C, 5 óra reakció idő, MTBE oldószer, 1,3 ekvivalens *terc*-butilhidroperoxid. Ezek után megvizsgáltam, hogyan befolyásolja a katalizátor hatékonyságát, ha különböző *transz*-kalkon származékokat (**7a-j**) használok szubsztrátként. A 2. táblázatból látható, hogy sem a termelések (71-93%), sem pedig az enantioszelektivitások (68-88% ee) nem változtak drasztikusan a szubsztituensek hatására. Néhány esetben kissé jobb termeléssel vagy enantioszelektivitással kaptam a terméket, mint a szubsztituálatlan kalkon esetén Bizonyos helyettesítők esetén pedig csökkent a termelés és a szelektivitás. A különböző klórhelyettesített kalkonszármazékokat (**7a-e**) 70-88% enantiomerfelesleggel kaptam (2. táblázat, 1-5 sor). A klóratom elhelyezkedése a molekulán belül kisebb különbséget eredményezett a szelektivitásban. Ha klóratom az Ar¹ gyűrűn helyezkedett el, akkor mértük a legjobb enantioszelektivitást (88% ee).

Amikor a klóratom az Ar^2 gyűrűn *orto*-helyzetben volt, kismértékben csökkent az enantioszelektivitás a szubsztituálatlan vegyülethez képest (**7b**: 75% ee).

	МТВЕ О <i>t</i> BuOOH (1.3 ekv.) О П <i>t</i> BuOOH (1.3 ekv.)									
	Ar ¹	Ar ² 20% aq. N	NaOH Ar ¹	Ar ²						
	7a-I (<i>R,R</i>)-4a (5 mol%) a-I									
No.	Ar ¹	Ar^2	Idő (óra)	Termelés (%)	ee (%) ^a					
1	C_6H_5	$2-Cl-C_6H_4$	10	7a: 76	75					
2	C_6H_5	$3-Cl-C_6H_4$	7	7b : 88	85					
3	C_6H_5	$4-Cl-C_6H_4$	5	7c: 93	83					
4	C_6H_5	2,6-diCl-C ₆ H ₃	3	7d: 85	70					
5	$4-Cl-C_6H_4$	C_6H_5	5	7e: 89	88					
6	C_6H_5	$3-\text{Me-C}_6\text{H}_4$	6	7f: 79	79					
7	$4-Me-C_6H_4$	C_6H_5	8	7g: 86	79					
8	C_6H_5	$4-NO_2-C_6H_4$	24	7h: 80	74					
9	tBu	1-naftil	24	7i: 71	73					
10	C_6H_5	piperonil	10	56j: 86	68					
11	2-benzilidén	-1-indanon	24	56k: 71	76					
12	2-benzilidén	e-1-tetralon	24	561: 75	86					

 táblázat Különböző szubsztituált *transz*-kalkonok és kalkonanalogonok (7a-l) epoxidációjának vizsgálata az (*R*,*R*)-4a katalizátor jelenlétében

^aKirális HPLC alapján

Az *orto*-diszubszituált származék esetén a mért enantiomerfelesleg tovább csökkent (**7d:** 70% ee). A reakció centrumához közeli, *orto*-helyzetű helyettesítők valószínűleg a sztérikus hatások révén kedvezőtlenül befolyásolják az aszimmetrikus indukciót. Metilcsoport jelenléte esetén nem volt számottevő változás a katalizátor hatásosságában. Az **7f** (Ar¹ = C₆H₅, Ar² = 3-Me-C₆H₄) és **7g** (Ar¹ = 4-Me-C₆H₄, Ar² = Ph) vegyületeket egyaránt 79%-os enantiomerfelesleggel kaptam (2. táblázat 6-7 sor). A *para*-nitro-kalkonnal (**7h**, Ar² = 4-NO₂-C₆H₄) végzett kísérletben 74%-os enantioszelektivitással jutottam az **7h** vegyülethez (2. táblázat, 8. sor). Kissé gyengébb enantiomerfelesleget (68-76% ee) értem el az **7i** és **7j** kalkonanalogonok esetében. Az **7j** vegyület (Ar¹ = Ph, Ar² = piperonil) keletkezett-a legkisebb enantioszelektivitással (68% ee), míg az **7i** terméket (Ar¹ = *t*Bu, Ar² = 1-naftil) 73%-os optikai tisztasággal kaptam (2. táblázat, 9-10. sor). Az **7k** és **7l** epoxidokat 2-benzilidén-1-indanon **7k**) és 2-benzilidén-1-tetralonból (**7l**) kiindulva izoláltam 76% és 86%-os enantiomertisztasággal (2. táblázat, 11-12 sor).

Ezt követően az epoxidációhoz használt (R,R)-**4a** katalizátor visszaforgathatóságát vizsgáltam. A regenerálásra kidolgozott módszert a 4. ábrán foglaltam össze. Miután a reakció lejátszódott, 10%-os sósav hozzáadásával sót képeztem a katalizátorból, majd az így kapott sót többszörös sósavas extrakcióval választottam el a reakcióelegytől. Ezután a nátrium-hidroxid oldattal a vizes fázis pH-ját enyhén lúgosra (pH = 8-9) állítottam be, majd a sójából felszabadított katalizátort MTBE-vel
extraháltam. Végül bepárlást és exszikkátorban történő szárítást követően nyertem vissza a katalizátort, melyet újrafelhasználtam egy következő reakcióban.



4. ábra A katalizátor visszanyerése sóképzéssel és extrakcióval

A 4. ábrán látható módon visszanyert katalizátorral végzett kísérletek eredményeit a 3. táblázatban foglaltam össze. A katalizátort jó hozammal, 92-96%-ban tudtam visszanyerni. A katalizátor tisztaságát a regenerálást követően ¹H-NMR-rel ellenőriztem, mely alapján tisztán sikerült visszakapnom az (R,R)-4a vegyületet. A kismértékű veszteséget még nem használt (R,R)-4a katalizátorral pótoltam, hogy a reakciók volumenét ne kelljen folyamatosan csökkenteni.

Katalitikus ciklusok	1	2	3	4	5
Termelés (%)	87	89	88	90	86
ee (%)	80	81	81	78	81

3. táblázat Az (*R*,*R*)-4a katalizátor újrahasznosítása *transz*-kalkon (5) epoxidációjában

A 3. táblázat alapján látható, hogy sem a katalizátor által kiváltott aszimmetrikus indukció (78-81% ee), sem a termelés (86-90%) nem csökkent számottevő mértékben az ismételt felhasználások során. Az eredmények alapján elmondható, hogy egy hatékony módszert sikerült kidolgoznunk az **4a** katalizátor regenerálására.

Kutatómunkám során enantiomertiszta (*S*,*S*)- és (*R*,*R*)-hidrobenzoinból kiindulva összesen négy új monoaza koronaétert (**4a-b**) szintetizáltam háromlépéses szintézisekkel. Az előállított katalizátorok hatását különböző folyadék-folyadék és folyadék-szilárd fázistranszfer reakcióban teszteltem. A reakciókörülményeket minden esetben optimalizáltam (oldószer, hőmérséklet, katalizátor mennyisége). Folyadék-folyadék kétfázisú reakcióban a hidroxipropil oldalkarral rendelkező koronaéterekkel értünk el jobb enantioszelektivitást. A folyadék-szilárd kétfázisú szintézisekben a 3,4-dietoxifeniletil oldalkarral ellátott **4b** makrociklus bizonyult némileg hatásosabbnak. Az elvégzett kísérletek alapján elmondható, hogy az oldalkarnak jelentős szerepe van az aszimmetrikus indukció kialakulásában. Megvalósítottam továbbá az új koronaéterek regenerálását egy egyszerű sóképzésen és extrakción alapuló módszerrel. A katalizátor jó termeléssel volt visszanyerhető és a szelektivitása sem csökkent az ismételt felhasználások során.

Irodalomjegyzék

- [1] Anastas, P. T., & Warner, J. C.: *Green chemistry: theory and practice.*, Oxford University Press, Oxford **1998**.
- [2] Mieczysław Makosza.: *Phase-transfer catalysis. A general green methodology in organic synthesis.* Pure Appl. Chem. **2000**, 72 (7): 1399–1403.
- [3] P. Di Cesare, B. Gross: *Synthesis* **1979**, 458.
- [4] V. J. Gatto, G. W. Gokel: *Journal of the American Chemical Society* **1984** (106) 8240.
- [5] A. Makó, Zs. Rapi, Gy. Keglevich, Á. Szöllősy, L. Drahos, L. Hegedűs, P. Bakó: *Tetrahedron:* Asymmetry 2010 (21) 919.

ALUMÍNIUMBAN GAZDAG RÉTEGES KETTŐS ÉS HÁRMAS HIDROXIDOK ELŐÁLLÍTÁSA, SZERKEZETÜK JELLEMZÉSE

Papp Ádám^{a,b}, Ádám Anna Adél^{a,b}, Szabados Márton^{a,b}, Sipos Pál^{a,c}, Pálinkó István^{a,b}

^aSZTE, TTIK, Anyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport, H-6720, Szeged, Dóm tér 8
 ^bSZTE, TTIK, Szerves Kémiai Tanszék, H-6720, Szeged, Dóm tér 8
 ^cSZTE, TTIK, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, H-6720, Szeged, Dóm tér 7

Bevezetés

Napjainkban számos kutatás szentel kiemelt figyelmet a réteges kettős hidroxidoknak (továbbiakban – az angol *layered double hydroxide* kifejezésből – LDH-k). Ennek oka az egyszerű és gazdaságos szintézismódszereikben, valamint különleges szerkezeti tulajdonságaikban rejlik. Az LDH-k szerkezeti vázát pozitív töltéssel rendelkező brucithoz (Mg(OH)₂, amelyben a Mg²⁺-ionok oktaéderesen koordináltak) hasonló rétegek adják, melyekben a kétszeresen töltött pozitív ionokat, helyenként háromszorosan töltöttek helyettesítik. A pozitív töltés kompenzálása a rétegek között interkalált negatív töltésű anionokkal történik, amelyek mellett víz-, vagy egyéb semleges molekulák is találhatók. Szerkezeti sajátságaiknak köszönhetően alkalmazhatók többek között ioncserélőként [1], izomerek elválasztására [2], gyógyszermolekulák transzportjára [3], katalizátorkompozitok prekurzoraként [4], stb.

A réteges kettős hidroxidok általános képlete a következőképp írható fel:

 $[M^{2+}_{1-x}M^{3+}_{x}(OH)_{2}]^{x+}[A^{m-}_{x/m}\times nH_{2}O]^{x-},$

ahol a M^{2+} és M^{3+} a két- és háromértékű fémionok, az A^{m-} pedig a rácsközi térben elhelyezkedő *m* töltéssel rendelkező anion (1>x>0). A brucitszerű rétegben megtalálható két- és háromértékű fémionok miatt az LDH-k alapvetően pozitív töltésűek. Ennek nagyságát a rácsban lévő háromértékű fémionok aránya határozza meg: x= $M^{3+}/(M^{2+}+M^{3+})$. A rácsban előforduló fémionok legtöbbször a harmadik és negyedik periódusból származó elemek (pl.: Mg(II), Ni (II), Fe(II), Fe(III), Al (III), Co (III)). A rétegek közötti távolságot a két réteg között lévő tér magasságának és az egyik réteg vastagságának összegéből kaphatjuk meg, mely LDH-k esetén 0,6–1 nm. A rétegtávolságra befolyással vannak a rácsközi térben található, az LDH-szerkezet integráns részét képező ionok és molekulák.

Fogg és társai [5] alumíniumban gazdag, $[MAl_4(OH)_{12}]Cl_2 \times 1,5H_2O$ (M = Co, Ni, Cu, Zn) LDHkat kíséreltek meg létrehozni. Kiindulási anyagnak gibbsitet (γ -Al(OH)₃) használtak, mely felületének őrléssel történő aktiválását követően a megfelelő fém-kloriddal 1:11 mólarányú keveréket készítettek, majd egy autokláv segítségével hidrotermális eljárás alkalmazásával kísérelték meg az LDH-k előállítását. Kobalt és nikkel esetén a módszer sikeresnek bizonyult, valamint anioncserélő reakciók során, már szobahőmérsékleten, mind szerves, mind szervetlen ionokat képesek voltak a rétegközi térbe vinni. Továbbá a két fém sójának kloridról nitrátra való cserélésével is sikerült LDH-t készíteniük a következő összetétellel: $[MAl_4(OH)_{12}](NO_3)_2 \times 1,5H_2O$ (M = Co, Ni). Réz és cink esetében az eljárás eredménytelennek bizonyult.

Williams és társai [6] a réteges kettős hidroxidok előállítását követően megkíséreltek olyan LDHkat előállítani, melyek három fémiont tartalmaznak (M^{II}-M^{II'}-Al). Az ilyen összetételű réteges hidroxidokat a továbbiakban (az angol *layered triple hydroxide* kifejezésből) LTH-ként említjük. Williamsék nikkel(II)-, kobalt(II)-, réz(II)- valamint cink(II)-ionok sóinak keverékéből és aktivált felületű Al(OH)₃-ból kiindulva készítették az LTH-kat. A réz(II)-ionok kivételével minden esetben sikerült fázistiszta NiCoAl-,NiZnAl-,CoZnAl-LTH-kat létrehozni. Azt azonban megfigyelték, hogy az ionok beépülése a brucitszerű rétegekbe szelektíven történik, ugyanis a kapott LTH-kban a fémionok aránya eltérő volt a bemérési koncentrációk arányaitól. Ennek ismeretében képesek voltak felállítani egy, a fémionok réteges hidroxidokba való beépülési affinitását reprezentáló liotróp sort: Li(I)>Ni(II)>>Co(II)~Zn(II). A Cu(II)-ionoknak azonban nem tudták megmondani a sorban elfoglalt helyüket, mert beépítésük sikertelen volt fázistiszta formában.

Kutatásaink elsődleges céljául az alumíniumban gazdag, Ni(II)- és Cu(II)-ionokat tartalmazó réteges hármas hidroxidok fázistiszta előállítását, azok pontos, rétegekbe történő beépülési arányainak meghatározását tűztük ki. Terveztük az eddig ismert liotróp sor Cu(II)-ionokkal való kiegészítését is. Az ionok beépülési affinitásának kvantitatív meghatározása érdekében a Co(II)- és Zn(II)-ionokat tartalmazó rendszerek szintézisét és vizsgálatát is szükségesnek véltük.

Kísérleti rész

Munkánk során nem a hagyományos értelemben vett réteges hidroxidokat állítottunk elő, hanem alumíniumban gazdag réteges kettős és hármas hidroxidokat készítettünk, melyek a szakirodalomban még kevésbé kutatottak. Ezeket a réteges szerkezetű anyagokat mechanokémiai úton gibbsit interkalációs technikával állítottuk elő, vagyis a réteges szerkezetű Al(OH)₃ hibahelyeibe építettük be a kétértékű fémionokat. Ehhez őrölt, és így aktivált felületű Al(OH)3-ot használtunk, melyet minden esetben 12 Hz, 6 óra őrlési paraméterek mellett egy Retsch MM 400 típusú rázómalom segítségével állítottunk elő. Az előkezelés hatására az Al(OH)3-ban található rácsbéli hibahelyek hozzáférhetőbbé válnak, továbbá csökken a rácsenergia, amely segíti a szintézis sikerességét. Az őrölt alumíniumhidroxidhoz 5 mL desztillált vizet, majd a beépíteni kívánt fémnitrát sójából annyit adtunk, hogy a kapott elegyben az Al(III):Ni(II) vagy Al(III):Cu(II) mólarány 1:1 legyen. Abban az esetben, amikor a Ni(II)és Cu(II)-ionokat egyszerre kívántuk beépíteni az Al(OH)3 szerkezetébe, a fémionok arányát változtattuk a Cu(II) mennyiségének növelésével, valamint a Ni(II) mennyiségének csökkentésével. A teljes reakció állandó kevertetés mellett, 85°C-on, három nap alatt ment végbe. Ezt követően az oldatot szűrtük, desztillált vízzel mostuk, majd szárítottuk. A szintézisek sikerességét röntgendiffraktometria (XRD), összetételét pedig pásztázó elektronmikroszkóphoz csatol energiadiszperzív röntgenanalizátor (SEM-EDX) segítségével vizsgáltuk.

Eredmények és értékelésük

Kezdetben kísérletet tettünk LDH-k készítésére őröletlen alumínium-hidroxidból is, ám ebben az esetben sikertelen volt a réteges szerkezetű anyagok szintézise, csupán az Al(OH)₃ reflexiói (JCPDS#70-2038) jelentek meg az diffraktogramokon. A mechanokémiai előkezelés segítségével már sikeresen előállítottunk NiAl- és CuAl-LDH-kat 1:1 kiindulási mól aránnyal (1. ábra, felső két diffraktogram).



 ábra. Alumíniumban gazdag NiAl- és CuAl-LDH-k röntgendiffraktogramjai őrölt Al(OH)₃-ból (a felső két diffraktogram) és őröletlenből (alsó diffraktogram)

A következő cél három fém együttes alkalmazásával, fázistiszta NiCuAl-LTH előállítása volt, melyet Williams és társai korábban már megkíséreltek [6], de nem jártak sikerrel. A Cu(II)-ionok beépítése esetén, réz-hidroxid-nitrát jelent meg melléktermékként (JCPDS#75-1779), így nem tudtak fázistiszta három fémet tartalmazó réteges hidroxidot létrehozni. A kísérletek során először a Ni(II)- és Al(III)-ionok kiindulási mólarányát állandó értéken (1:1) tartva a Cu(II)-ionok mennyiségét kezdtük növelni Ni(II):Cu(II):Al(III)= 1:2:1; 1:4:1; 1:5:1; 1:6:1 és 1:8:1 arányban. Azonban a diffraktogramokon látható, hogy van egy koncentrációhatár, amely felett (>1:4:1) már nem keletkezik fázistiszta NiCuAl-LTH, megjelenik a réz-hidroxid-nitrát szennyeződés (2. bal oldali ábra).

Következőkben a Cu(II)- és Al(III)-ionok mennyiségét tartottuk 1:1 mólarányon, és a Ni(II)ionok mennyiségét kezdtük csökkenteni (Ni(II):Cu(II):Al(III)= 0,5:1:1; 0,25:1:1; 0,2:1:1; 0,17:1:1; 0,125:1:1) (2. jobb oldali ábra). Ez a módszer minden mólarány mellett sikeres szintézishez vezetett, szennyeződést nem tartalmazó terméket eredményezett, így sikerült fázistiszta NiCuAl-LTH-kat előállítanunk változatos mólaránnyal és közel azonos részecskemérettel. Ezen felül a Ni(II)-ionok bemérési mennyiségének ötödére csökkentése a Ni(II):Cu(II) 1:1 beépülési arányát eredményezte a kapott LTH-ban. Mivel ilyen réteges szerkezetű anyagokat korábban nem állítottak elő az irodalomban, a reflexiók azonosítását (Miller-indexelését) a Britto és társa [7] által előállított CoAlNO₃-LDH diffraktogramja alapján végeztük el a kettős és hármas hidroxidok esetén is. A jellemző reflexiók 10,5°, 20,8° és 40° 20 értéknél jelennek meg, az (133)-as Miller-indexszel ellátott reflexiók az alapvonalemelkedés miatt láthatók kevésbé. A hordozók átlagos krisztallitméretét a (002) reflexiókból számoltuk ki a Scherrer-egyenlet segítségével.



2. ábra. Alumíniumban gazdag NiCuAl-LTH-k röntgendiffraktogramjai a Cu(II)-ionok hányadának növelésével (bal oldal) és a Ni(II)-ionok hányadának csökkentésével (jobb oldal)

A NiCuAl-LTH sikeres fázistiszta szintézise, valamint a Ni(II):Cu(II) 1:1-es beépülési arány elérésének köszönhetően el tudtuk helyezni a szakirodalomban korábban felállított liotróp sorban a Cu(II)-ionokat, valamint további mérések segítségével, a Co(II)- és Zn(II)-ionok LTH-kba való beépítésével a teljes liotróp sorra számszerűen is meg tudtuk adni az ionok beépülési affinitásának mértékét. Ez egy igen fontos információ lehet a jövőre nézve, hiszen így meg tudjuk mondani, hogy mekkora az a kiindulási sókoncentráció, amelyet alkalmazva sikeresen elő tudjuk állítani a kívánt réteges szerkezetű anyagot.

Először a CoAl- és ZnAl-LDH-k előállításával foglalkoztunk, kezdetben 1:1 kiindulási mólarányt alkalmaztunk (3 bal oldali ábra), de ez nem vezetett sikeres szintézishez, így egy magasabb 4:1-es kétértékű fémfelesleggel próbálkoztunk (3 jobb oldali ábra), amely már megfelelőnek bizonyult.



3. ábra. Al(III) és Zn(II):Al(III) 1:1 (bal oldali ábra) és 1:4 (jobb oldali ábra) kezdeti mól arányból előállított CoAl- és ZnAl-LDH-k röntgen diffraktogramjai

Ezután CuZnAl-, CuCoAl-, NiZnAl- és NiCoAl-LTH-kat hoztunk létre, a korábbi szintézismódszerekkel, 1:1:1 kiindulási mól arányt alkalmazva (4. ábra). Minden esetben az LTH-kra jellemző reflexiók jelentek meg, melléktermék nem keletkezett, így a szintézisek ebben az esetben is sikeresnek mondhatók.



4. ábra. Alumíniumban gazdag CuZnAl-, CuCoAl-, NiZnAl- és NiCoAl-LTH-k röntgen diffraktogramjai

Az előállított kompozitok összetételének SEM-EDX-el történő vizsgálata igazolta feltételezéseinket a beépülési affinitásokat illetően, a Ni(II) a Co(II)-nál tizennyolcszor, a Zn(II)-nél tizennégyszer, míg a Cu(II) tízszer és kilencszer nagyobb beépülést mutatott. Az eredmények alapján az általunk kiegészített liotróp sor a következő lett: (Li(I)>>)Ni(II)>Cu(II)>>Co(II)~Zn(II). Az összetétel alapján az is meghatározható, hogy a Ni(II)- ionok 4-5-ször nagyobb mennyiségben épülnek be a rétegek közé a Cu(II)-ionokhoz képest, míg a Co(II)-ionok beépülési affinitása kicsivel nagyobb a Zn(II)-ionokhoz képest.

Az LTH-k esetén a SEM-EDX eredmények jobb átláthatósága érdekében a kezdeti összetételt és a beépült ionok arányát az 1. táblázatban foglaltuk össze.

Kompozit	Bemért mólarány	Beépült mólarány
NiCuAl	0,125:1	1:2
	0,17:1	1:1,3
	0,2:1	1:1
	0,25:1	1,3:1
	0,5:1	4:1
	1:1	4:1
	1:2	4:1
	1:4	1,5:1
NiCoAl	1:1	18:1
NiZnAl	1:1	14:1
CuCoAl	1:1	10:1
CuZnAl	1:1	9:1

I. táblázat. A Ni(II)- és/vagy Cu(II)-tartalmú alumíniumban gazdag LTH-k kétértékű kationkomponenseine
bemért és beépült aránya

Számításaink tesztelése céljából megkíséreltünk egy négy fémes ($M^{II}-M^{II'}-M^{II''}-AI$), alumíniumban gazdag réteges hidroxidot is szintetizálni a korábban meghatározott bemérési és végső mólarányok ismeretében. A NiCuZnAl és NiCuCoAl réteges szerkezetű kompozitok előállítása is sikeres volt, a fémionok beépülésének aránya is korrelál a háromfémes rendszereknél számoltakkal, vagyis Ni(II)>Cu(II)>Co(II)~Zn(II) = 45>10>1.

Összefoglalás

A közleményhez vezető kísérleti munkánk során fémionok nitrátsójából kiindulva, valamint aktivált felületű Al(OH)₃ segítségével sikeresen szintetizáltunk Ni(II)- és Cu(II)-ionokat tartalmazó fázistiszta, alumíniumban gazdag réteges kettős (LDH) és hármas hidroxidokat (LTH). Ni(II):Cu(II):Al(III)= 0,25:1:1 bemérési mólarány esetén a keletkezett LTH-ban a Ni(II):Cu(II) aránya 1:1 volt.

Williams és társai [6] által korábban felállított liotróp sorba el tudtuk helyezni a Cu(II)-iont, valamint képesek voltunk számokban kifejezni a fémionok egymáshoz viszonyított beépülési affinitásait.

Sikeresen szintetizáltunk továbbá olyan réteges hidroxidot is, melyben az alumínium mellett további három fémion (Ni²⁺, Cu²⁺ és Zn²⁺, illetve Ni²⁺, Cu²⁺ és Co²⁺) található a rétegekben.

Irodalomjegyzék

[1] F. Cavani, F. Trifirò, A. Vaccari, Catalysis Today, 1991 (11) 173-301

- [2] G. R. Williams, T. G. Dunbar, A. J. Beer, A. M. Fogg, D. O'Hare, *Journal of Materials Chemistry*, 2006 (16) 1231–1237
- [3] J.-M. Oh, S.-J. Choi, G.-E. Lee, S.-H. Han, J.-H. Choy, Advanced Functional Materials, 2009 (19) 1617–1624
- [4] W. Reichle, Solid State Ionics, 1986 (22) 135-141
- [5] J. R. Rees, C. S. Burden, A. M. Fogg, Journal of Solid State Chemistry, 2015 (224) 36-39
- [6] G. R. Williams, S. J. Moorhouse, T. J. Prior, A. M. Fogg, N. H. Rees, D. O'Hare, *Dalton Transactions*, 2011 (40) 6012–6022
- [7] S. Britto, P. V. Kamath, Inorganic Chemistry, 2010 (49) 11370–11377

BODIPY-ÖSZTRADIOL KONJUGÁTUMOK SZINTÉZISE

Szabó Vivien^a, Rigó Réka^b, Özvegy-Laczka Csilla^b, Mernyák Erzsébet^a

^aSZTE TTIK Szerves Kémiai Tanszék, Szteroidkémiai Kutatócsoport, Magyarország, 6720 Szeged, Dóm tér 8 ^bMTA TTK Enzimológiai Intézet, Membrán Fehérje Kutatócsoport, Magyarország, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2

A nők szervezetében három fő ösztrogén található: az ösztron, a 17β-ösztradiol (1) és a 16α,17βösztriol. Ezek közül a 17β-ösztradiol a legaktívabb, amely a sejtmagban található receptorokon keresztül fejti ki hormonális hatását (1. ábra). Az 1-es jelű vegyület egyes női hormonfüggő tumoros megbetegedésekben fokozza a tumorsejtek osztódását, ezáltal elősegíti a betegség előrehaladását [1]. A 17β-ösztradiolnak azonban sejtvédő hatást is tulajdonítanak. Mindezek alapján kulcsfontosságú annak vizsgálata, hogy a 17β-ösztradiol hogyan jut be a különböző sejtekbe, és milyen mechanizmussal fejti ki biológiai hatását. Ahhoz, hogy a molekula sejtmembránon való átjutását és a sejtben való viselkedését tanulmányozhassuk, elengedhetetlen annak detektálhatóvá tétele. Korábban radioizotóppal való nyomjelzésen alapuló eljárásokat alkalmaztak (főként tríciálással vagy 14-es tömegszámú szén izotóppal való jelöléssel), manapság azonban előtérbe került a fluoreszcens festékkel való jelölés. Számos biokémiai vizsgálat létezik, amelyek radioizotóp jelölésén alapulnak; azonban egyre nagyobb az igény a környezetbarát bioanalitikai módszerek iránt. A fluoreszcens jelölés a radioizotópon alapuló módszerekhez képest kedvezőbb alternatívaként szolgálhat.



5. ábra A 17β-ösztradiol (1) szerkezeti képlete és a humán ösztrogén receptor α ligandumkötő részlete, 17β-ösztradiollal (1) alkotott komplex formájában (pdb: 1ERE)

A szakirodalomban kevés fluoreszcens 17β -ösztradiol (1) származék ismeretes, hiszen ez a jelölés kémiai szempontból komoly kihívást jelent a kutatók számára. A biomolekulák nagyméretű fluoreszcens festékekkel történő kapcsolása számos paraméter gondos megválasztását igényli: a festék kémiai minősége, annak kapcsolási helye és módja, illetve a két molekularészlet közötti távolság is meghatározó szerepet játszik az adott vegyület biológiai viselkedése szempontjából. Korábbi kutatásokban az 17β-ösztradiolt (1) olyan pozíciókban kísérelték meg jelölni, amelyek nem befolyásolják a két fő oxigéntartalmú funkciós csoport biológiai viselkedését. Ismeretes azonban a szakirodalomban egy olyan fluoreszcens 17 β -ösztradiol konjugátum, az Estradiol Glow (EG), amely nem rendelkezik szabad fenolos hidroxilcsoporttal, mégis képes - az 17β-ösztradiolhoz hasonlóan - az ösztrogén magreceptorokhoz való kötődésre [2]. Ezt mi sem igazolja jobban, mint az a kutatási eredmény, amelyben a kísérleti állatokba szisztémásan injektált fluoreszcens szteroid felhalmozódását tapasztalták az ismert ösztrogén célszövetek magjában, ideértve az agyat is [3]. Az EG egy olyan konjugátum, amely a 3-as szénatomon található oxigénen egy 8 szénatomos linkert tartalmaz, a linker másik végén pedig egy konjugált kettős kötésű molekularészletet: 4-sztiril-piridínium-bromid egységet, dibutilamino-oldallánccal ellátva. A szakirodalom nem ad pontos magyarázatot az EG ösztrogén receptorokhoz való kötődésének módjára és a beépített szerkezeti elemek szerepére vonatkozóan. Annak érdekében, hogy betekintést nyerjünk az ösztrogének sejtszintű anyagfelvételébe, az intracelluláris transzportjukba és a szubcelluláris kötődésükbe, további szerkezeti variánsok előállítására, és részletes biológiai vizsgálatára van szükség.



6. ábra Az Estradiol Glow (EG) szerkezeti képlete

A fentiek alapján kutatómunkánk céljául tűztük ki, hogy a 17β-ösztradiol (1) fluoreszcens jelölését a 3-OH csoportján valósítsuk meg, különböző hosszúságú linkerek beépítésén keresztül, fluoreszcens molekularészletként BODIPY-alapú festéket alkalmazva (3. ábra). A jelölési stratégia kidolgozásakor figyelembe vettük a biológiai kötődés szempontjából meghatározó funkciós csoportok jelenlétét és a szerves kémiai megvalósíthatóságot. A szteroid és a festék egymáshoz való konjugálását olyan összekapcsoló elem kialakításán keresztül céloztuk meg, amely kémiailag és biológiailag egyaránt stabil.



3. ábra A 17β-ösztradiol (1) jelölési stratégiája

Kísérleti munkánk során elsőként a linkerek beépítését valósítottuk meg, α, ω -dibrómalkánnal történő alkilezéssel (4. ábra). Így olyan ω-brómalkil származékokhoz (2) jutottunk, amelyek közvetlenül vagy közvetett úton terminális alkinekkel való kapcsolásokra alkalmasak. A BODIPY-festék (4) előállítását több lépésben végeztük. A terminális alkin funkció kialakítását már az első lépésben megvalósítottuk a p-hidroxibenzaldehid propargil-bromiddal való propargilezésével. Az aldehidet ezután pirrollal reagáltattuk, majd egy oxidációs lépést követően, bórtrifluorid-éteráttal alakítottuk ki a végső komplexet. Az így nyert BODIPY-alkin (4) közvetlenül konjugálható volt az ω-brómalkil szteroidokhoz (2) átmenetifém-katalízissel. Ez a "nem szokványos" Pd-katalizált Sonogashira kapcsolás [4] nem aril- vagy vinil-halogeniden, hanem alkil-halogeniden történt. Annak érdekében, hogy elkerüljük a hidrogén-halogenid eliminációt mint lehetséges mellékreakciót, egy olyan speciális katalizátor-ligandum rendszert alkalmaztunk, amely a szakirodalom szerint kizárólag a C-C kapcsolás lejátszódását teszi kedvezményezetté. Az alkalmazott Pd/N-heterociklusos karbén-alapú katalizátor rendszer ($[(\pi-allil)PdCl]_2$ katalizátor és 1,3-di(adamantán-1-il)-1*H*-imidazol-3-ium klorid ligandum) lehetővé tette a kívánt konjugátumok (6) kemoszelektív előállítását. A Sonogashira keresztkapcsolással előállított BODIPY-ösztradiol konjugátumok (6) lineáris C=C kapcsolóelemet tartalmaznak. A célból, hogy a CuAAC reakciókhoz szteroid-azidokat (3) képezzünk, a korábban előállított ω-brómalkil származékokat (2) nukleofil szubsztitúciós reakcióknak vetettük alá, reagensként nátrium-azidot alkalmazva. Az így nyert szteroid-azidokat CuI-katalizátor és PPh₃ gyorsító ligandum felhasználásával reagáltattuk a BODIPY-alkinnel (4). A Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíciók (CuAAC) [5] során 3 új, triazol-kapcsolóelemmel ellátott konjugátumot (5) sikerült előállítanunk. A triazol-gyűrű molekulában való jelenléte több szempontból is előnyös, hiszen kémiailag és metabolikusan is stabil, továbbá polaritásában és hidrogénkötés kialakítására való hajlamában a peptid kötéshez hasonló.



4. ábra A 17β-ösztradiol (1) 3-as helyzetben való fluoreszcens jelölése CuAAC vagy Sonogashira reakcióval. Reakciókörülmények: (i) α ,ω-dibrómoalkán (8 ekv.), K₂CO₃ (4 ekv.), 18-korona-6 (0,08 ekv.), 110 °C, toluol, N₂ atmoszféra, 24 h; (ii) NaN₃ (2 ekv.) DMSO, szobahőmérséklet, 2 h; (iii) BODIPY-alkin **4** (1 ekv.), CuI (0,05 ekv.), Ph₃P (0,1 ekv.), DIPEA (3 ekv.), toluol, forralás, 2 h; (iv) BODIPY-alkin **4** (1,3 ekv.), [(π -allil)PdCl]₂ (0,025 ekv.), DAIC (0,05 ekv.), CuI (0,075 ekv.), Cs₂CO₃ (1,4 ekv.), Et₂O:DMF = 2:1, 45 °C, N₂ atmoszféra, 24 h.

Az 5. ábra a nem konjugált BODIPY festék (4) és a BODIPY-ösztradiol konjugátumok (5a–c, 6a–c) abszorpciós és fluoreszcens emissziós spektrumait szemlélteti. A spektrumokat a festék 545 nm emissziós és 610 nm gerjesztési hullámhosszon mért maximális fluoreszcenciájára normalizáltuk. A vegyületek abszorpciós spektrumai hasonlóak, két abszorpciós maximummal, 350–400 és 510–550 nm között. Azonban a nem konjugált BODIPY festékéhez (4) képest a konjugátumok (5a–c, 6a–c) spektruma kissé eltolódik az alacsonyabb hullámhosszak felé. A BODIPY (4) festék és a szteroid konjugátumok (5a–c, 6a–c) emissziós spektrumai is hasonlóak. Az alapján, hogy a BODIPY-ösztradiol konjugátumok spektrális jellemzői hasonlítanak a nem konjugált BODIPY festékéhez, azt várjuk, hogy az újonnan előállított fluoreszcensen jelölt konjugátumok élő sejtekben és szövetekben hatékonyan vizsgálhatók.



5. ábra: Normalizált abszorpciós és emissziós spektrumok

Munkánk során új fluoreszcens stratégiákat dolgoztunk ki a legaktívabb ösztrogén hormon, a 17β-ösztradiol (1) jelölésére. Az átalakításokat a 3-OH csoporton hajtottuk végre. A szteroid és fluoreszcens (BODIPY) építőelemeket közvetett módon kapcsoltuk össze, különböző szénatom számú, szabad rotációra képes alkil-linkerek beépítésével. A konjugációkat CuAAC vagy Pd-katalizált Sonogashira reakcióval végeztük. Az újonnan szintetizált BODIPY-ösztradiol konjugátumok (5, 6) fluoreszcens jellemzői hasonlóak a nem konjugált BODIPY festékéhez, ezért várhatóan jól detektálhatók lesznek a különböző, élő sejtekben kivitelezett biológiai vizsgálatokban. A 6 új fluoreszcens származék a közeljövőben, együttműködő partnereinknek köszönhetően, szerteágazó molekuláris biológiai vizsgálatra kerül, amelyek eredményei hozzájárulhatnak a 17β-ösztradiol (1) sejtbe való bejutásának és intracelluláris viselkedésének megértéséhez. A biológiai vizsgálatok eredményeinek kiegészítéséhez számításos kémiai eljárások végrehajtását is tervezzük.

Irodalomjegyzék

- D.C. Allred, S.K. Mohsin (Harris JR, Ed.). Lippincott Williams & Wilkins, Biological features of human premalignant breast disease, in diseases of the breast 2000 355-366
- [2] G. F. Jirikowski, Gegenwart von Steroidbinden Proteinen, DE 102010027016A1, 2012
- [3] Jirikowski et al., Rapid Responses to Steroid Hormones, Uptake, intracellular transport and physiological effects of biologically active fluorescent steroids **2011**
- [4] R. Chinchilla, C. Nájera, Chemical Society Reviews 2011 (40) 5084-212
- [5] M. Meldal, C. W. Tornoe, Chemical Reviews 2008 (108) 2952-3015

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (OTKA SNN 124329) támogatta.

FENOTIAZIN KARBONSAVAK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS INTERKALÁLÁSA RÉTEGES KETTŐS HIDROXIDOKBA

<u>Szabó Yvette</u>^a, Nagy Sándor-Balázs^a, Lovász Tamás^a, Varga Gábor^{b,c}, Sipos Pál^{b,d}, Pálinkó István^{b,c}

^aBBTE, Kémia és Vegyészmérnöki kar, 400028, Kolozsvár, Arany János 11 ^bSZTE, TTIK, Anyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport, H-6720, Szeged, Dóm tér 8 ^cSZTE, TTIK, Szerves Kémiai Tanszék, H-6720, Szeged, Dóm tér 8 ^dSZTE, TTIK, Szervetlen és Analitiki Kémiai Tanszék, H-6720, Szeged, Dóm tér 9

Bevezetés

A réteges kettős hidroxidok (LDH-k) és a fenotiazin származékok széleskörű felhasználhatóságából adódóan kutatásunk célkitűzései fenotiazinnal adalékolt LDH-kompozitok szintézise, jellemzése és alkalmazhatósági vizsgálatai voltak. Az LDH-kat a XIX. század közepén fedezték fel [1]. Az első ilyen ásvány a hidrotalcit volt, ezért szokás az LDH-kat hidrotalcitszerű anyagoknak is nevezni. A hidrotalcit a magnézium és az alumínium hidroxikarbonátja, amelynek szerkezete a brucitéból (magnézium-hidroxid [2]) származtatható [3]. A hidrotalcitot 1842-ben fedezték fel Svédországban [4], de a pontos összetételét (Mg₆Al₂(OH)₁₆·CO₃·4H₂O) csak 1915-ben publikálták. Feitknecht "doppelschichtstrukturen"-nek vagyis dupla lapos struktúráknak nevezte a hidrotalcitot 1942-ben, ez volt az első próbálkozás szerkezetének megadására [5].

Az LDH-k sok szempontból hasonlítanak az agyagásványokhoz [6]. Réteges szerkezetük, széles skálán mozgó kémiai összetételük, ioncserélő tulajdonságuk, a reaktív rétegközi tér, valamint a reológiai és kolloidális tulajdonságaik, teszik az LDH-kat agyagszerűvé. Az LDH-k kialakulása során a kétértékű fémion hidroxidjába izomorf szubsztitúcióval épülnek be a háromértékű fémionok, és a rétegek pozitív többlettöltését kompenzálják a rétegközi térbe beépülő anionok [7].

Ezeket az anyagokat könnyen funkcionalizálni lehet különféle, akár bonyolult szerkezetű molekulák anionos formáival [9]. Így nem csoda, hogy az LDH-kat az elmúlt évtizedekben gyakran alkalmazták többek között katalizátorhordozóként vagy biológiailag aktív molekulák *in vivo* szállítóiként. Ezek a hibrid (szerves-szervetlen) nanokompozitok felhasználhatók katalizátorként is, például alkánok hidroxilezési vagy alkének epoxidálási reakcióiban [12]. Ráadásul, az utóbbi időben jelentős előrelépés történt a szerkezeti sajátságaik, valamint ioncserélő tulajdonságaik feltérképezése terén az *in situ* technikák elterjedésének köszönhetően [1].

Az elmúlt évtizedekben egyre nagyobb figyelem fordult a szerves festékanyagok immobilizálására szervetlen hordozókon. Ilyen szervetlen anyagok lehetnek az LDH-k, a zeolitok, a réteges szerkezetű foszfátok illetve szilikátok [8]. A kompozit tulajdonsága nagymértékben függ a hordozó töltéssűrűségének eloszlásától valamint az interkalált szerves molekula koncentrációjától,

töltésétől és méretétől [11]. Sikeres szintézis esetén nagy stabilitású, heterogén kromofor rendszerek nyerhetők, amelyek ugyanakkor megtarthatják nemlineáris optikai sajátságaikat. Néhány irodalmi példát mutatunk be az 1. táblázatban.

Név	Szerkezet	Szervetlen hordozó	Módszer	
kumarin-3-karbonsav	O O O O O O O O O O O O O O O O O O O			
9-antracén karbonsav	ОСОН			
4-benzoil benzoesav	ОН	MgAl-LDH	direkt anioncsere	
2-naftalén szulfonsav	ОН			
Alluravörös	Na [*] O O S O O S O O H O H			
E110 (sunset yellow fcf)		ZnAl-LDH	együttes lecsapás	
Brillantkék				
mezo-tetrakisz(p- karboxifenil) porfirin (pTCPP)		ZnAl-LDH	direkt anion csere együttes lecsapás	

1. táblázat LDH-ba interkalált szerves anyagok és az alkalmazott módszerek

metil-narancs		ZnAl-LDH	direkt anioncsere
fluoreszcein	ностори	ZnAl-LDH	direkt anioncsere
Alizarin red s	O O O O O Na ⁺ O O O Na ⁺	ZnAl-LDH MgAl-LDH	dehidratáció- rehidratáció

Kísérleti rész

A kísérletek során három különböző alkil-fenotiazin-karboxilát származékot állítottunk elő és használtunk fel. A vegyületek előállítása az 1. ábrán látható egyenlet lépései alapján történt. A 100 ml DMF-ben feloldott fenotiazin (0,1 mol) oldatát 0°C-ra hűtöttük, majd hozzáadagoltuk a szilárd NaH-et (0,3 mol). Az így kapott elegyet fél órán át kevertettük. A reakció terméke a fenotiazin nátriumsója volt. A fekete színű oldathoz csepegtettük a megfelelő alkil-halogenidet (0,3 mol). A kapott elegyet 6 órán át kevertettük szobahőmérsékleten, a reakció lejárta után jégre öntöttük, extraháltuk 3×25ml toluollal és bepároltuk. A kapott sárgás színű 10-alkil-fenotiazinszármazékok tisztítottuk etanolból történő átkristályosítással és oszlopkromatográfiával állófázisként szilikagélt, mozgófázisként toluolt használva. A reakció hatásfoka a tisztítási lépéseket követően 80%. Az így kapott 10-alkil-fenotiazin származékot Vilsmeier-Haack formilezési reakció segítségével, a molekula különböző pozícióiba szubsztitúciót tudtunk végrehajtani. A reakció során mono- illetve diformilszármazék is keletkezik. Első lépésben feloldottuk az 10-alkil-fenotiazint (0,043 mol) 50 ml diklór-etánban, majd a kapott oldatot 0°Cra hűtöttük, majd hozzáadtunk 17 ml DMF-ot, majd a POCl₃-ot (0,22 mol) úgy, hogy a hőmérséklet ne haladja meg az 5°C-t. Ennek eredményeként egy opálos oldatot kaptunk, amelyhez még 100 ml diklóretánt adtunk és 2-6 órán keresztül visszafolyattuk. A reakció végén jégre öntöttük az elegyet, egy napon keresztül állni hagytuk a teljes(ebb) hidrolízis éredekében, beállítottuk a pH-t 7-re, a szerves fázist elválasztottuk a vizestől, majd pedig a vizes fázist NaCl-al telítettük és 3×25 ml toluollal extraháltuk. Az egyesített szerves fázisok bepárlása után egy sárgás olajos terméket kaptunk, amely kevés etanol hozzáadása után kikristályosodott. A termék oszlopkromatográfiával tisztítottuk eluensként toluolt használva. A kapott 10-alkil-3-formil-fenotiazin lúgos közegben ezüst-oxid felhasználásával szelektíven oxidálva kaptuk meg a kívánt terméket.



1. ábra Fenotiazin karbonsavak előállítási reakciója

Ca(NO₃)₂×4H₂O vagy Mg(NO₃)₂×6H₂O, valamint Al(NO₃)₃×9H₂O sókat használva, az együttes lecsapás módszerével állítottunk elő CaAl-LDH-t és MgAl-LDH-t. A szintézis során a sók közös oldatának 100 ml-ét csepegtettük a lúgoldathoz, amelynek a pH-ját 13,1-re állítottuk be. A törzsoldat kalciumra (magnéziumra) nézve 0,3 M, míg alumíniumra nézve 0,15 M koncentrációjú volt. A szintézis során N₂-atmoszférát alkalmaztunk a karbonátosodás elkerülése érdekében. A szuszpenziót 24 órán át kevertettük, majd szűrtük, az anyalúggal mostuk nagy felesleget alkalmazva (250 ml), végül a szilárd anyagot 24 órán keresztül 60°C-on szárítottuk. Hasonlóan jártunk el a NiAl-, CoAl- és ZnAl-LDH előállítása során is, de ezekben az esetekben a pH-t 10-re állítottuk be. A módszert interkalálásra is használtuk, ekkor a fémsó-oldat adagolása közben fenotiazintartalmú oldatot is adtunk a NaOH-hoz.

A direkt anioncsere reakció során az első lépésben a fenotiazin törzsoldathoz annyi NaOHoldatot (~0,1 M) adagoltunk, hogy az kromofórok anionos formába kerüljenek. Az törzsoldathoz (100 cm³) szilárd LDH-t (0,3 g) adtunk, majd az így kialakított szuszpenziót 168 órán át kevertettük. Ezt követte a szűrés, mosás és szárítotás, a fentebb már leírt módszerrel. Dehidratáció-rehidratáció során az előre elkészített LDH 0,5 g-ját kemencében 500°C-on kiégettük, összeomlasztva a szerkezetet. A következő lépésben a fenotiazint tartalmazó etanol:víz:0,1M NaOH 5:1:1 arányú keverékében rehidratáltuk a szerkezetet. Végezetül a kapott anyagot szűrtük, mostuk és szárítottuk, a fentebb leírt módszerrel. Delamináció során az előre elkészített LDH 0,1g-os részletét delamináló oldószerhez adtuk (100 ml). A kapott kolloid oldatot 300 ml vizes fenotiazinoldatra öntöttük. A kiváló csapadékot szűrtük, desztillált vízzel (300 ml), etanollal (100 ml) és 0,1 M-os NaOH-dal (100 ml) mostuk, majd foszforpentoxidon, N₂ atmoszféra alkalmazása mellett szárítottuk 12 órán keresztül.

A (por)röntgen diffraktogramokat $2\theta = 4-40^{\circ}$ tartományban, 4°/perc pásztázási sebesség mellett, egy Rigaku Miniflex II készüléken vettük fel CuK α ($\lambda = 1,5418$ Å) sugárzást használva. A röntgen diffraktometriás (XRD) mérések segítségével megállapítható, hogy a kompozit réteges szerkezetű-e, illetve a rétegtávolság változásból következtethetünk a fenotiazinok beépítésének sikerességére. Két különböző IR spektroszkópiai detektálási módszert alkalmaztunk annak eldöntésére, hogy a fenotiazinok döntően a rétegközi térbe, vagy az LDH külső felületére kötődtek. A mérésekhez egy BIO-RAD Digilab Division FTS-65A/896 FT-IR spektrofotométert alkalmaztunk, amelynek felbontása 4 cm⁻¹ volt. Az összes spektrum esetében 256 interferogramot gyűjtöttünk a 4000–600 cm⁻¹ tartományban. A mérésekhez használtunk diffúz reflektancia spektroszkópiai detektálást (IR-DRS), valamint felület érzékenyített grazing incidence (surló szögű reflexiós, GIRA) üzemmódot is.

Eredmények és értékelésük

Az előállított fenotiazinszármazékok vizsgálata során megmértük az olvadáspontjukat, valamint NMR, IR, UV-VIS és fluoreszcencia mérésekkel bizonyítottuk szerkezetüket.

A korábbi irodalmi adatokból kiindulva négy különböző interkalálási módszert választottunk a fenotiazinok beépítéséhez. Ezek az együttes lecsapás, a dehidratáció-rehidratáció, a direkt anioncsere, illetve a delamináció-újrarétegzés voltak. Azt tapasztaltuk, hogy CoAl-, ZnAl- illetve NiAl-LDH esetén nem sikerült sem a rétegek közötti immobilizálás, sem a felületi megkötés. Az átmenetifém-tartalmú LDH-k szerkezete összeomlott, feltételezhetően komplexképződés játszódhatott le a ligandum donorcsoportjai illetve a vázalkotó fémionok között. Ezekre az eredményekre nem fogunk ennél részletesebben kitérni.

A hidrokalumit illetve hidrotalcit hordozók nagyon hasonló viselkedést mutattak kísérleteink során. Lényeges eltérést nem tapasztaltunk a különböző összetételű (Mg₂Al-, Mg₃Al-, Mg₄Al-LDH) hidrotalcitok viselkedése között sem. Eddig a 10-metil-3-karboxi-fenotiazin beépítése volt sikeres. Ezeket az eredményeket mutatjuk be. Az együttes lecsapás módszerét alkalmazva mindkét LDH típus esetén felületi megkötődést tapasztaltunk. A MgAl-LDH jellemző (003), (006) és (009) reflexiók a szerves anyaggal történt kezelés után is jól megfigyelhetők a kompozitok diffraktogramjain (1. ábra). Láthatóan rétegtávolság csökkenés történt. Ez még nem zárná ki a sikeres interkalációt, ugyanakkor a szerves anyaghoz köthető rezgési sávokat a felületérzékeny GIRA spektrumon figyelhetjük meg, ami felületi megkötődésre utal.



2. ábra Az együttes lecsapás módszerével szintetizált 10-metil-3-karboxi-fenotiazin–MgAl-LDH kompozitok (A) röntgen diffraktogramjai: a: fenotiazin–Mg₂Al-LDH, b: fenotiazin–Mg₃Al-LDH, c: Mg₂Al-LDH; (B) IR spektrumai: fenotiazin–Mg₂Al-LDH a: IR-DRS, b: GIRA, Mg₂Al-LDH c: IR-DRS.

A delamináció-újrarétegzés valamint a direkt anioncsere módszerét alkalmazva a karakterisztikus reflexiók eltolódása rétegtávolság csökkenést mutat (2. ábra). A közel síkszerű fenotiazinszármazékok sikeres beépítése a rétegek közé azonban nem feltétlenül jelent rétegtávolság növekedést. A GIRA és IR-DRS spektrumok összehasonlítása azt mutatja, hogy csak a szerves anyaghoz

köthető rezgési sávok jelentek meg mindkét esetben. Vagyis a felületen és a rétegek között is sikerült immobilizálni a fenotiazint.



3. ábra A direkt anioncsere módszerével szintetizált 10-metil-3-karboxi-fenotiazin–MgAl-LDH kompozitok (A) röntgen diffraktogramjai: a: fenotiazin–Mg₂Al-LDH, b: fenotiazin–Mg₃Al-LDH, c: Mg₂Al-LDH; (B) IR spektrumai: fenotiazin–Mg₂Al-LDH a: IR-DRS, b: GIRA, Mg₂Al-LDH c: IR-DRS.

Sikeres beépítés történt a dehidratáció-rehidratáció módszerét alkalmazva is. Itt sem az XRD mérések szolgáltatták a bizonyítékot, hiszen rétegtávolság csökkenést tapasztalunk. A felületi megkötődést kizártuk, mert a GIRA spektrumokon csak a karbonát sávok láthatók. Mivel az IR-DRS színképeken új, a szerves anyaghoz rendelhető rezgési sávok láthatók, megállapítható, hogy sikeres interkaláció történt.



4. ábra A dehidratáció-rehidratáció módszerével szintetizált 10-metil-3-karboxi-fenotiazin–MgAl-LDH kompozitok (A) röntgen diffraktogramjai: a: fenotiazin–Mg₂Al-LDH, b: fenotiazin–Mg₃Al-LDH, c: Mg₂Al-LDH; (B) IR spektrumai: fenotiazin–Mg₂Al-LDH a: IR-DRS, b: GIRA, Mg₂Al-LDH c: IR-DRS.

Összefoglalás

Sikeresen állítottuk elő a fenotiazin karbonsav 10-metil-, 10-etil- és 10-butilszármazékait. Az előállított karbonsavak közül 10-metil-3-karboxi-fenotiazint sikeresen interkaláltuk Mg₂Al-, valamint Ca₂Al-LDH réteges hordozókba többféle módszerrel. A beépítést követően a rétegtávolság a kiindulási, nitráttartalmú LDH rétegtávolságához képest csökkent, mivel egy közel síkalkatú molekulát építettünk be. Egy újszerű összehasonlító IR spektroszkópiai módszer (IR-DRS vs. GIRA) segítségével bizonyítani tudtuk, hogy a beépítés sikeres volt, valamint azt is ki tudtuk mutatni, hogy volt-e felületi megkötődés.

Irodalomjegyzék

- [1] A. I. Khan, D. O'Hare, Journal of Material Chemistry. 2002, (12), 3191-3198
- [2] G.D. Evans, R.C.T. Slade, *Structure and Bonding* **2006**, (119), 1–87
- [3] W. Feitknecht, G. Fischer, Helvetica Chimica Acta 1935, (18), 555-569
- [4] X. Duan, J. Lu, D.G. Evans, Modern Inorganic Synthetic Chemistry Elsevier Ltd., 2011, (17) 375–404
- [5] W. Feitknecht, M. Gerber, Helvetica Chimica Acta 1942 (25) 131–137
- [6] F. Bergaya, B.K.G. Theng, G. Lagaly. Handbook of Clay Science; Elsevier Ltd. 2006 (13.1) 1021–1095
- [7] M. Catti, G. Ferraris, S. Hull, A. Pavese, Physics and Chemistry of Minerals 1995 (22) 200-206
- [8] S. Bonnet, C. Forano, A. de Roy, J. P. Besse Chemistry of Materials 1996 (8) 1962–1968
- [9] G. G. Aloisi, U. Costantino, F. Elisei, L. Latterini, C. Natali, M. Nocchetti, *Journal of Materials Chemistry*. 2002 (12) 3316–3323
- [10] J. Bauer, P. Behrens, M. Speckbacher, H. Lanhals, Advanced Functional Materials. 2003 (13) 241–248
- [11] K. Lang, P. Bezdicka, J. L. Bourdelande, J. Hernando Chemistry of Materials 2007 (19) 3822– 3829
- [12] F. Leroux, J. Besse, Chemistry of Materials 2001 (13) 3507-3515
- [13] W. Chen, B. Qu, Chemistry of Materials 2003 (15) 3208-3213

ELTÉRŐ SZERKEZETŰ FELÜLETAKTÍV ANYAGOK ALKOTTA MICELLÁK KÉPZŐDÉSÉNEK VIZSGÁLATA KALORIMETRIÁS MÓDSZERREL

Seres László^a, Juhász Ádám^{a,b}, Csapó Edit^{a,b}

^aSzegedi Tudományegyetem, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, 6720 Szeged, Rerrich Béla tér 1 ^bSzegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, MTA-SZTE Biomimetikus Rendszerek Kutatócsoport, 6720 Szeged, Dóm tér 8

Bevezetés

A felületaktív anyagok széles körben használt vegyületek, amelyek olyan tömegtermékekben vannak jellen, mint a háztartási mosószerek, szépségápolási termékek és élelmiszerek. Aszimmetrikus polaritást eredményező molekulaszerkezetük által képesek oldatfázisban asszociációs kolloidot (micella, nioszóma) képezni, valamint folyadék/gáz, illetve folyadék/folyadék határfelületen feldúsulni. Szolublilizáló-, stabilizáló- és emulgeáló sajátságuk révén széles körben alkalmazott ipari kemikáliák, de az előállított mennyiség több mint fele a háztartásokba kerül mosó- és tisztítószer formájában. Környezetünk megóvása érdekében hozott nemzetközi szabályozás ellenére a vízi élővilágba való kikerülésük továbbra is állandó kockázatot jelent, így a gyártott és felhasznált mennyiség csökkentése napjaink egyik fontos technológiai kihívása.

Alkalmazásközeli technológiák megalkotásához azonban a felületaktív anyagok (tenzidek) oldatés határfelületi viselkedését meghatározó fizikai-kémiai törvényszerűségek átfogó ismerete szükséges. A kevert micellák képződése évtizedek óta vizsgált jelenség, ám a kialakulásukat és az összetételüket meghatározó átfogó szabályszerűség a mai napig sem tisztázott [1].

Az összegyűlt kísérleti eredmények arra engednek következtetni, hogy amikor a micella két komponense megfelelő arányban van jelen a vizes oldatban a kevert micella képződése kedvezményezett és az asszociáció alacsonyabb tenzid koncentrációnál (cmc) következik be, mint az egyedi tenzidekből felépülő micellák esetében [2]. A különböző szerkezetű felületaktív anyagok oldatában kialakuló vegyes összetételű micellák és kevert határfelületi réteg kialakulását az **1. ábra** szemlélteti. Az **1. ábra** ezen felül egy nemionos tenzidek alkotta keverék esetében, 25°C hőmérsékleten, az oldatfázis levegővel szemben mérhető felületi feszültségének koncentrációfüggése alapján meghatározott vegyes cmc érték változását mutatja be a keveréket jellemző móltört (α_1) függvényében. A keveréket jellemző α_1 móltört csupán az oldatfázisban jelenlévő felületaktív molekulák egymáshoz viszonyított arányt fejezi ki és nem azonos az oldat összetételét meghatározó móltörttel, amely az oldószer jelenlétét is figyelembe veszi. A micellák összetételét az X1^m, a határfelületi réteg összetételét pedig az X1^o móltörttel jellemezzük, azonban ezek sem veszik figyelembe az oldószer jelenlétét, csupán a bináris elegyet alkotó tenzidek egymáshoz viszonyított arányt fejezik ki. A vegyes micellák összetételét jellemző móltört meghatározására csupán indirekt módon, a felületaktív anyag keverékek jellemzően vizes oldataiban mérhető cmc értékek összetétel függésének ismeretében adódik lehetőség. A keveréket alkotó tenzidek egyedi cmc értékének ismeretében tetszőleges összetétel (α_1 móltört) esetében számítható a várható cmc érték, amelyet a továbbiakban az individuális (cmc₁ és cmc₂) és a kevert micellák kialakulását (cmc₁₂) jellemző kísérleti értékektől való megkülönböztetés érdekében cmc_{id} indexeléssel jelölünk, amely indexelés a "kölcsönhatásmentes" ideális viselkedésre utal. Az ideálisnak tekintett esetben a tenzidmolekulák közötti kölcsönhatások A-A és A-B felületaktív molekulák között azonosnak tekinthetők, ekkor a cmc értéke a következő összefüggés alapján számolható [3].

$1/cmc_{id} = \alpha_1/cmc_1 + (1 - \alpha_1)/cmc_2$

Az **1. ábra** jobb oldali részét szemlélve jól látható, hogy a kísérleti cmc értékek a vizsgált rendszer esetében alacsonyabbak, mint az ideális viselkedést feltételező megközelítés alapján számított értékek. Utóbbi tapasztalatot a szakirodalom szinergikus/erősítő kölcsönhatásként értelmezi, amelynek részletes megértése segíthet olyan tenzidkeverékek kifejlesztésében, melyek hatékonyabban töltik be szolublilizáló-, stabilizáló- és emulgeáló szerepüket, így csökkenhet a felhasznált felületaktív anyagok mennyisége [4, 5].



1. ábra Eltérő szerkezetű felületaktív anyagok oldatában kialakuló, kevert micellák és határfelületi réteg sematikus ábrája, valamint a kevert micellák kialakulását jellemző cmc érték változása a keveréket jellemző móltört (a1) függvényében [1]

A bemutatásra kerülő kísérleti munka során az eltérő szerkezetű ionos és nemionos tenzidekből felépülő micellák képződésének kalorimetriás tanulmányozása útján igyekeztünk azonosítani a micellák összetételét meghatározó tényezőket. A kutatás során a kritikus micellaképződési koncentrációk (cmc) összetétel és hőmérséklet függésének ismeretében az asszociációs kolloid összetételét, valamint a kialakulásukat kísérő entalpia- és entrópia változás mértékének meghatározására került sor.

Kísérleti rész

A kalorimetriás vizsgálatok során egy VP-ITC (Microcal, USA) típusú titrációs berendezés segítségével határoztuk meg a TritonX100 (továbbiakban TX, polietilén-glikol-mono-p(1,1,3,3-tetrametil-butil)-fenil-éter, M = 625 g mol⁻¹, Sigma-Aldrich Kft.) és CTAB (Cetil-trimetil-ammóniumbromid, M = 364,45 g mol⁻¹, Sigma-Aldrich Kft.) tenzidek, valamint ezek keverékeinek ioncserélt vízben, 25 °C-on mérhető cmc-ját és a micellák képződését kísérő entalpiaváltozás (Δ_{mic} H) mértékét. A berendezés két elszeparált, nagy érzékenységű fűtő/hűtő-rendszerét visszacsatolási elvű mikroelektronika szabályozza. A primer fűtő/hűtő rendszer egy referenciacella hőmérsékletét tartja állandó értéken, az általában 1 °C-kal alacsonyabb hőmérsékletű adiabatikus külső köpennyel szemben. A szekunder fűtőrendszer pedig a mérőcella és a referenciacella közötti hőmérséklet különbséget egyenlíti ki, amely a mérőcellában a mintaadagolás következtében létrejövő hőjelenség miatt alakul ki. A mérés során a berendezés a **2. ábra** bal oldalán vázolt minta kamrát mellette elhelyezkedő referencia cellával igyekszik azonos hőmérsékleten tartani és az ehhez szükséges fűtőteljesítményt méri.



2. ábra A vizsgálatok során alkalmazott VP-ITC típusú kaloriméter vázlata, valamint a mérési módszert jellemző reprezentatív kalorimetriás görbe (A) és entalpogram (B)

Amennyiben a mintacellában endoterm reakció játszódik le, akkor a hőelvonás révén a cellát nagyobb teljesítménnyel kell fűteni, mint a referencia cellát, míg exoterm reakció esetében a hőfelszabadulás által a mintacella azonos hőmérsékleten tartása kisebb teljesítményt igényel. Az állandó hőmérséklet biztosításához szükséges teljesítmény időbeni változása szolgáltatja azt a hőmennyiség változást (dQ/dt), amelyet a berendezés a mérés közben eltelt idő függvényében rögzít. A titrációs kaloriméter sematikus vázlata mellet a **2. ábra** jobb oldalán látható reprezentatív grafikonok a módszert jellemző differenciális görbét (**2. ábra A**) valamit a feldolgozott, integrális entalpogramot (**2. ábra B**) szemléltetik. A mintaadagolás során az automatizált injektor előre meghatározott időközönként kevertetés közben a cellában lévő ioncserélt vízhez adagolja a titráló tenzidoldat részletét, így a

mérőcellában az adagolás kezdetén a demicellizációt (a micellák disszociációja), majd a cmc-t meghaladó koncentrációt elérve az asszociációs kolloid hígulását kísérő termikus esemény megy végbe. Az úgynevezett premicelláris tartományban az adagolást követően a micellák disszociációjához nagyobb hőeffektus rendelhető, mint a posztmicelláris tartományt jellemző hígulási hő. Ezáltal a titrálás egyes lépéseihez rendelhető entalpiaértékeket a kalorimetriás cellába juttatott tenzid koncentrációjának függvényében ábrázolva szigmoid görbét kapunk. A görbe inflexiós pontjának x koordinátája (az x tengelyen ennek megfelelő koncentráció érték) szolgáltatja a cmc értékét a pre- és poszmicelláris tartományt jellemző entalpiaértékek különbsége pedig a micellaképződéshez rendelhető entalpiaváltozás ($\Delta_{mic}H^0$) mértékét határozza meg.

Eredmények és értékelésük

A kérdéses tenzidek és keverékeik kalorimetriás vizsgálata során rögzített entalpogramokat a **3. ábra A** része mutatja be. Az áttekinthetőség érdekében az ábra x- tengelyén az adott összetételt jellemző cmc értékkel osztott tenezidkoncentráció (c/cmc) került feltüntetésre, míg a jelmagyarázat a TX tenzid móltörtjét határozza meg. Az entalpogramok illesztése és a cmc valamint $\Delta_{mic}H^0$ értékek illesztési paraméterként történő meghatározása a szigmoid görbét leíró Boltzmann egyenlet segítségével történt [6–8]. A meghatározott kritikus micellaképződési koncentráció és entalpiaváltozás értékek a **3. ábra B** és **C** részén kerültek feltüntetésre a TX tenzid keverékbeli móltörtjének függvényében.



3. ábra A tenzidkeverék kalorimetriás vizsgálata során rögzített entalpogramok (A) és az ezek alapján meghatározott cmc (B) valamint Δ_{mic}H (C) értékek változása az összetétel függvényében

A **3.** ábrán összefoglalt entalpogramokat és grafikonokat szemlélve megállapítható, hogy már kis mennyiségű eltérő kémiai szerkezetű tenzid megjelenése is drámaian megváltoztatja a kevert micellák kialakulását kísérő termodinamikai jellemzők alakulását. A CTAB alkotta micellák keletkezését kísérő exoterm folyamat a TX jelenlétében elveszíti hőfelszabadulás jellegét és a tisztán TX alkotta micellák keletkezésének endoterm sajátsága is szerényebb mértékű, ha a keverékben megjelenik az ionos komponens. Ezen túlmenően megállapítható, hogy a tiszta tenzidek és keverékeik vizes oldataiban, a számított és a mért cmc értékek között a legnagyobb eltérés akkor mutatkozik, amikor a nemionos

komponens kis mennyiségben ($\alpha_{Triton X-100} = 0,2$) van jelen a keverékben, ekkor azonban a mért cmc érték meghaladja a jósolt cmc értéket, így kedvező effektusról nem beszélhetünk. A keverékek vizsgálata során csupán a TX tenzidre 0,6 móltörtű összetétel esetén tapasztaltunk kedvező, a várt cmc értéknél alacsonyabb micellaképződési koncentrációt eredményező effektust. Amennyiben a micellák kialakulását kísérő szabadentalpia ($\Delta_{mic}G^0$) változásának összetétel függését is figyelembe vesszük, azt is megállapíthatjuk, hogy kizárólag ebben az esetben kedvezményezett a vegyes micellák képződése. Amíg a számított cmc érték felhasználásával kalkulált $\Delta_{mic}G^0$ értéke, $\alpha_{Triton X-100} = 0,6$ esetben -29,5 kJ mol⁻¹, a mért cmc érték alapján 0,11 kJ mol⁻¹–el alacsonyabb $\Delta_{mic}G^0$ kíséri a kevert micellák kialakulását.

Összefoglalás

Kalorimetriás vizsgálatok során TritonX100 és CTAB tenzidek, valamint ezek keverékeinek ioncserélt vízben mérhető cmc-ját és $\Delta_{mic}H^0$ -át határoztuk meg. Az entalpogramok alapján származtatott termodinamikai paraméterek összetétel függését elemezve megállapítottuk, hogy az $\alpha_{Triton X-100} = 0,6$ összetétellel jellemezhető keverék esetében tapasztalható kedvező, a cmc értéket csökkentő szinergetikus hatás.

Irodalomjegyzék

- [1] Á. Juhász, R. Tabajdi, I. Dékány, E. Csapó. Journal of Surfactants Detergents 2017 (20):1291– 1299
- [2] K. Ogino, H. Uchiyama, T. Kakihara, M. Abe. Solution. Springer US, 1989 413-429
- [3] J. H.Clint. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1 Physical Chemistry in Condensed Phases 1975 (71):1327–1334
- [4] T. P. Goloub, R. J. Pugh, B. V. Zhmud, Journal of Colloid and Interface Science 2000 (229):72-81
- [5] L. A. Noll 1990 Surface Chemistry of Surfactants and Polymers. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp 251–269
- [6] Z. Király, I. Dekány Journal of Colloid and Interface Science 2001 (242) 214-219
- [7] S. Paula, W. Süs, J. Tuchtenhagen, A. Blume Journal of Physical Chemistry 1995 (99)
- [8] A. B. Páhi, Z. Király, Á. Mastalir Journal of Physical Chemistry B 2008 (112) 15320-15326

Köszönetnyilvánítás: A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával a GINOP-2.3.2-15-2016-00034 számú projekt támogatta.

MÉRETKIZÁRÁSOS MEMBRÁN MINT A LIPIDMEMBRÁNOK ALTERNATÍVÁJA

<u>Tőzsér Petra</u>^a, Borbás Enikő^a, Sinkó Bálint^b, Takácsné Novák Krisztina^c, Völgyi Gergely^c, Konstantin Tsinman^b, Marosi György^a, Nagy Zsombor Kristóf^a

^a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rakpart 3.

^b Pion Inc., Billerica MA, USA

^c Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 7-9

Bevezetés

A gyógyszertechnológia kiemelkedően fontos kihívásai közé tartozik, a jó permeabilitású, de rossz vízoldhatóságú hatóanyagjelöltek gyógyszerformájának kifejlesztése. A BCS II. osztályba sorolható molekulák esetén a biológiai hatás elérése érdekében igen fontos feladat a kioldódás és ezen keresztül a biohasznosulás javítása. A készítmények tesztelésére a Gyógyszerkönyv mindössze a kioldódás vizsgálatok elvégzését írja elő, melyből azonban a hatóanyagok biohasznosulására vonatkozóan nem vonhatunk le egyértelmű következtetéseket [1-2], hiszen a hatóanyag kioldódása és felszívódása a készítménymátrixból konszekutív folyamatok. A kioldódást segítő formulációs segédanyagok negatív és pozitív irányba egyaránt képesek befolyásolni a biológiai membránokon keresztül történő transzport folyamatokat. Ezért a hagyományos kioldódás méréseken túlmutató eredményeket érhetünk el a kioldódás és felszívódás szimultán vizsgálatával. Az eddigi kutatások érzékeny és költséges élő sejtvonalakat vagy szerves oldószerben oldott lipid extraktumokat alkalmaztak a formulációs segédanyagok felszívódásra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Kutatásunk során a kémiailag ellenállóbb és újrahasználható méretkizárásos regenerált cellulóz membrán segítségével kívántuk vizsgálni a gyógyszerformulációk kioldódását és szimultán permeációját.

Munkánk során célul tűztük ki a méretkizárásos membránon keresztüli transzport fizikai-kémiai megértését, a termodinamikai hajtóerejének leírását, és ezen keresztül a lipofil membránokkal való összehasonlítását. További célunk volt, hogy feltérképezzük, milyen feltételek mellett lehetséges a lipid membránok méretkizárásos membránokkal történő kiváltása.

Céljaink megvalósítása érdekében egy vízben rosszul oldódó vérnyomáscsökkentő hatóanyagot, a karvedilolt (KAR) választottuk modell hatóanyagként, melyet oldószeres elektrosztatikus szálképzés segítségével kívántunk formulálni. A gyógyszerformák kifejlesztéséhez gyakorta használt polimereket (egy polivinil-pirrolidon származékot és Soluplust) alkalmazva két különböző szálképzett amorf szilárd diszperzió előállítását és ezen készítmények, valamint a tiszta hatóanyag *in vitro* kioldódás-felszívódás vizsgálatát kívántuk elvégezni.

Eredmények

Az előállított formulációt pásztázó elektron mikroszkóppal vizsgáltuk, ami alapján megállapítható, hogy sikerült nanoszálakat létrehozni (1. ábra).



 ábra Pásztázó elektronmikroszkóppal készült felvétel a KAR PVP VA 64 (ES_PVPVA64), valamint Soluplus (ES Soluplus) segédanyaggal készült formulációjáról

Porröntgen diffrakciós mérésnek is alávetettük az anyagot. A diffraktogramon látható, hogy az ujjlenyomat tartományban a kristályos formára jellemző éles csúcsok ellaposodnak, amelyből arra következtethetünk, hogy a formulációban amorf formában van a hatóanyag, nem mutathatók ki kristályos nyomok (2. ábra).



2. ábra Röntgen diffraktogram a tiszta hatóanyagról és formulációiról: a) KAR (form II); b) ES_PVP VA64 fizikai keverék; c) ES_PVP VA64; d) ES_Soluplus fizikai keverék; e) ES_Soluplus

A formulációt differenciál pásztázó kalorimetria segítségével is vizsgáltuk. A termogramból láthatjuk, hogy a kristályos hatóanyag olvadáspontjának éles csúcsa a formuláció esetében eltűnik, ezzel is alátámasztva, hogy sikerült amorf szilárd diszperziót előállítani (3. ábra).



3. ábra DSC termogramok a tiszta hatóanyagról és formulációiról: a) KAR (form II);
b) ES_PVP VA64 fizikai keverék; c) ES_PVP VA64; d) ES_Soluplus fizikai keverék;
e) ES_Soluplus

A μFLUX készülékkel végzett kioldódás-felszívódás vizsgálatokat több különböző célkoncentrációjú oldattal hajtottuk végre, melyek közül az alábbiakban hármat részletezünk.





4. ábra KAR koncentrációk a donor oldalon (balra) és az akceptor oldalon (jobbra) (a) 16 μg/mL (b) 55 μg/mL (c) 130 μg/mL hatóanyag tartalom, pH 6,5 foszfát puffer a donor és az akeptor cellában, méretkizárásos membránnal (1kDa MWCO), 150 rpm, 25 °C

A három kiválasztott közül az első esetben egy 16 µg/mL célkoncentrációjú alultelített oldatot hoztunk létre a donor oldalon és ebben az esetben a fogadó oldalon a görbék meredeksége azonosnak adódott, ami a fluxussal egyenesen arányos mennyiség (4. ábra). Ez a megfigyelés összhangban van Fick első törvényének egyszerűsített formájával, azaz a permeabilitást, mint fizikai-kémiai állandót definiáló egyenlettel (1. egyenlet). A második esetben 55 µg/mL a hatóanyag célkoncentrációja, és ez megnövekedett segédanyagkoncentrációt is jelent. A fogadó oldalon azt tapasztaltuk, hogy a Soluplus segédanyaggal készített formulációnak a meredeksége eltér a tiszta hatóanyag és a PVP segédanyaggal előállított formuláció meredekségétől, azaz a fluxusok különböznek azonos donor koncentrációk esetén. A harmadik esetben egy túltelített oldatot hoztunk létre 130 µg/mL célkoncentrációval. Ezt úgy tudtuk megtenni, hogy a hatóanyagot, ami egy gyenge bázis, savban (pH 1,6) oldottuk, majd átcsaptuk az oldat pH-ját nátrium-hidroxidot tartalmazó foszfát oldattal. Ebben az esetben az látható, hogy a fogadó oldalon a koncentráció görbék meredeksége még jobban eltér, már mindhárom esetben különböző, azonos donor koncentrációk esetén. Ahhoz tehát, hogy megértsük, hogy azonos kioldódásprofilú készítményekből a hatóanyag felszívódási kinetikája miért különbözik, szükségünk van a membrántranszport fizikai-kémiai leírására.

Ha a modellünk során csak diffúziót feltételezünk és hajtóerőnek a koncentráció gradienst választjuk, akkor azt tapasztaljuk, hogy a görbék egy ponton elhajlanak (5. ábra).



$$\mathbf{J} = P_{\mathrm{e}} \boldsymbol{c}_{D} \tag{1. egyenlet}$$

5. ábra A fluxus mérési eredmények a donor oldali koncentrációk függvényében 25 °C-on

Tehát az így felírt egyenlet ebben az esetben nem érvényes. Láthatjuk, hogy a permeabilitás nem lehet a hatóanyagra jellemző állandó, mert a jelenlévő segédanyagok minőségétől és mennyiségétől függően változik.

Azonban ha a modell során figyelembe vesszük, hogy a polimerek beoldódnak a donor oldatba, de a membránon nem férnek át, és ezzel a hatóanyagnak az akceptor oldattól különböző oldószerét hozzák létre, akkor egy megoszlást követő diffúziós modellt írhatunk fel. Miután elvégeztük membrántranszport fizikai-kéimai levezetését a hajtóerő a donor oldali túltelítésnek adódott, ahol a túltelítés az adott oldali koncentráció és a termodinamikai oldhatóság hányadosa. Ezen kívül definiáltunk a hatóanyagokra jellemző segédanyagoktól független állandót, a B-t (2. egyenlet). [3]



6. ábra A fluxus mérési eredmények a donor oldali túltelítettség függvényében

A mérési eredmények az elméleti levezetést alátámasztják: a fluxus egyenesen arányos a túltelítés fokával és a meredekségek nem mutatnak szignifikáns (p=0.5303) eltérést a különböző formulációk esetében (6. ábra). Tehát sikerült egy olyan modellt felírnunk, amely képes jól leírni a segédanyagos rendszerekből történő hatóanyag permeációt méretkizárásos membránon keresztül.

Összefoglalás

Munkánk során célunk volt a méretkizárásos membránon keresztüli transzport fizikai-kémiai megértése, termodinamikai hajtóerejének leírása, és ezen keresztül a lipofil membránokkal való összehasonlítása, továbbá, hogy feltérképezzük, milyen feltételek mellett lehetséges a lipid membránok méretkizárásos membránokkal történő kiváltása.

	Méretkizárásos membrán	Lipid membránok	
Haither"	két oldal túltelítésbeli	két oldal túltelítésbeli	
пајюего	különbsége	különbsége	
Költség igény	kisebb	nagyobb	
Újrahasználható	igen	nem	
Márási 14	hosszú mérési idő alatt sem	hosszú mérési idő esetén nem	
Meresi Ido	megy tönkre	használható	

1. táblázat Méretkizárásos membrán és a lipid membránok összehasonlítása

Tárolás	nem igényel hűtött tárolást	hűtött tárolást igényel
Segédanyagos rendszerek	csak nagy molekulatömegű	akár kis molekulatömegű
alkalmazhatósága	segédanyagok esetén	segédanyagok estében is
pH sink alkalmazása	nem lehetséges	lehetséges
tiszta hatóanyagok mérése	nem alkalmas	alkalmas

Ezen mérési eredmények és a kutatócsoportunk korábbi mérési eredményei [4] alapján elmondható, hogy mind lipidmembránok, mind pedig méretkizárásos membrán alkalmazása esetén a transzportfolyamatok leírására megoszlást követő diffúziós modellt írhatunk fel és a hajtóerő mindkét esetben megegyezik segédanyagos rendszerekben. A méretkizárásos membrán előnye, hogy egyszerűbb, kevésbé érzékeny, valamint alacsonyabb a költségigénye, hiszen újrahasználható. További nagy előnye, hogy hosszú mérési idő alatt sem megy tönkre és nem igényel hűtött tárolást, ellentétben a lipid membránokkal. Alkalmazhatóságának viszont vannak korlátai, ugyanis tiszta hatóanyagok mérésére nem alkalmas, azonban nagy molekulatömegű segédanyagos rendszerek esetében remekül tudja helyettesíteni a lipid membránokat. Hátrányként említhető, hogy a membrán két oldalán lévő folyadékok pH-ja megegyező kell, hogy legyen (1. táblázat).

Irodalomjegyzék

- [1] S. T. Buckley, S.M. Fischer, G. Fricker, M. Brandl; *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, 45 (3), 235–250
- [2] S. Suarez-Sharp, M. Li, J. Duan; H. Shah, P. Seo; AAPS Journal, 2016, 18 (6)
- [3] E. Borbás, P. Tőzsér, K. Tsinman, O. Tsinman, K. Takács-Novák, G. Völgyi, B. Sinkó, Zs. K. Nagy; Molecular Pharmaceutics, 2018, 15 (8), 3308-3317
- [4] E. Borbás, B. Sinkó, O. Tsinman, K. Tsinman, É. Kiserdei, B. Démuth, A. Balogh, B. Bodák, A. Domokos, G. Dargó; *Molecular Pharmaceutics*, **2016**, 13 (11), 3816–3826

A munka a FIEK_16-1-2016-0007 számú projekt keretén belül a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a "Felsőoktatási és Ipari Együttműködési Központ – Kutatási infrastruktúra fejlesztése – FIEK_16" pályázati program finanszírozásában valósult meg.

NAFTOXAZINON-SZÁRMAZÉKOK EGYEDÉNYES ÉS KÉTLÉPÉSES SZINTÉZISE T3P[®] FELHASZNÁLÁSÁVAL

Varga Valentina^a, Dr. Milen Mátyás^b, Dr. Ábrányi-Balogh Péter^a

^a TTK Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2
 ^b Egis Gyógyszergyár Zrt., 1106 Budapest, Keresztúri út 30-38

Bevezetés, célkitűzés

A T3P[®] a propilfoszfonsav hármas cikloanhidridje, amely kondenzálószerként segít elő szerves kémiai reakciókat. Kutatócsoportunkban évek óta foglalkoznak a T3P[®] alkalmazásával, és sokféle reakciótípusra dolgoztak ki új, hatékonyabb reakcióutakat a céltermék előállítása érdekében. Sikeresen alkalmazták, és a kidolgozott eljárások hatékonyságának igazolására vegyülettárakat hoztak létre a Kabachnik-Fields-, a Bischler-Napieralski-, az Ugi-reakció és a Robinson-Gabriel-ciklizáció folyamataira [1-5].

	Reakció típusa	Előállított vegyületek száma [db]	Módszer (T3P [®] arány, T, termikus/MW)	Reakcióidő	Termelés [%]
1	α-aminofoszfonátok szintézise Kabachnik-Fields-reakcióban [1]	25	1 ekv. T3P [®] , 25 °C	5 perc	80 - 96
2	β-karbolin alkaloidok szintézise acilezést követő Bischler-Napieralski reakcióban [2]	20	1,5 ekv. T3P [®] , 120-140 °C, MW	1,5-4 óra	50 - 95
3	α-amino amid szintézis Ugi- típusú reakcióban [3]	28	0,5 ekv. T3P [®] , 25 °C	30 perc	33 - 90
4	Oxoizoindolin származékok szintézise Ugi-típusú reakcióban [4]	27	1,5 ekv. T3P [®] , 25 °C	15 perc	25 - 85
5	5-(3-indolil)oxazolok szintézise Robinson-Gabriel ciklizáció során [5]	26	10 ekv. T3P [®] , 100-150 °C, MW	1-6 óra	79 – 100

1. táblázat Kutatócsoportunkb	an T3P® alkalma	azásával elért e	eredmények
-------------------------------	-----------------	------------------	------------

Legfrissebb eredményünkként az Ugi-reakció fejlesztése során a T3P[®] alkalmazásával egy 27 tagú oxoizoindolin vegyülettárat hoztunk létre, és megvalósítottuk a megfelelő amin (1) és formilbenzoesav (2)-származékokból a (\pm) -nuevamine (3) egyedényes szintézisét.



7. ábra A (±)-nuevamine egylépéses szintézise T3P® felhasználásával.

Tekintettel arra, hogy a T3P[®]-t sikeresen alkalmaztuk multikomponensű reakciókban, jelenlegi kutatómunkánk során a Betti-reakció vizsgálatát és fejlesztését tűztük ki célul. A Betti-reakció egy háromkomponensű kondenzációs reakció egy amin, egy aldehid és aromás hidroxivegyület, leggyakrabban 2-naftol között [6]. A T3P[®] Betti-reakcióra kifejtett hatásának vizsgálatához kiindulási anyagként 2-naftolt (**4**), aromás aldehideket (**5**) és metil-karbamátot (**6**) alkalmaztunk, feltételezve, hogy az így kapott Betti-reakció terméke, a 2-hidroxinaft-1-il-karbamát-származék (**7**) metanol kilépésével gyűrűzárásra képes naftoxazinon (**8**) kialakulását eredményezi.



8. ábra A tervezett reakciók sémája.

Kutatómunkánk során célul tűztük ki a két származék előállításának optimalizálását a T3P[®] reagens alkalmazásával, és a gyűrűzárt naftoxazinon-származék one-pot szintézisére törekedtünk a 2hidroxinaft-1-il-karbamát (7) intermedieren keresztül. A sikeres optimalizálást követően mindkét eljárás hatékonyságának igazolására két vegyülettár létrehozását terveztük aromás és heteroaromás aldehidek (5) felhasználásával.

Elért eredmények

Kutatómunkánk első részeként az 2-hidroxinaft-1-il-karbamát-származékokat (7) eredményező reakció paramétereinek meghatározását végeztük el a T3P[®] reagens felhasználásával. A **2. táblázat** eredményei igazolták, hogy a T3P[®] aktiváló hatása szükséges a reakcióhoz. Etil acetát oldószerben két óra alatt 1,1 ekvivalens reagenssel 83%-os termeléssel keletkezett a várt termék (**2. táblázat 4. sor**). A mólarányok további növelése nem eredményezett további javulást a termelésben.

NHCO₂Me ΟН 7a 4 5a T3P[®] Hőmérséklet Termelés (7a) Moláris Idő arányok [%] [ekv.] [óra] [°C] 1/1/125 32 1 1 26 2 1/1/11 2 77 53 3 1/1/10 2 77 0 4 1/1,1/1,1 2 77 83 1,1 2 5 1/1,3/1,3 1.3 77 83 2 6 1/1,1/1,1 1,5 77 81 7 1/1,1/1,1 5 5 77 73

2. táblázat A 2-hidroxinaft-1-il-karbamát-származékokat eredményező reakció mólarányainak meghatározása

A mólarányok megállapítását követően oldószervizsgálatot végeztünk. A **3. táblázat** eredményei alapján a toluolt találtuk a legalkalmasabb oldószernek a reakcióhoz. Toluolban a reakcióidő fél órára csökkent (**3. táblázat 6-7. sor**).

5

77

77

1,1

8

1/1,1/1,1

	Moláris arányok	T3P [®] [ekv.]	Idő [h]	Oldószer	Hőmérséklet [°C]	Termelés (7a) [%]
1.	1/1,1/1,1	1,1	2	THF	66	90
2.	1/1,1/1,1	1,1	2	MeCN	82	73
3.	1/1,1/1,1	1,1	2	CHCl ₃	62	89
4.	1/1,1/1,1	1,1	2	MTBE	65	83
5.	1/1,1/1,1	1,1	2	MeTHF	80	85
6.	1/1,1/1,1	1,1	2	PhMe	80	91
7.	1/1,1/1,1	1,1	0,5	PhMe	80	89

3. táblázat Oldószervizsgálat 2-hidroxinaft-1-il-karbamát-származékok előállítására

Az optimalizálást követően egy kilenctagú vegyülettár szintézisével igazoltuk a módszer hatékonyságát, amely szintézisek során toluolban, 80 °C-on fél órás kevertetéssel keletkezett termikus körülmények között a várt termék, minden esetben jó termeléssel (66-90%). A vegyülettár elemeiben a beépített aromás gyűrűk különböző tulajdonságú: elektronszívó és –küldő csoportokat tartalmaztak, illetve heteroaromás aldehidekkel is elvégeztük a reakciókat (**6. táblázat 7a-i**).

A naftoxazinon-származékok (8) előállítását több módon is vizsgáltuk, törekedtünk a reakció egy üst megvalósítására. A gyűrűzárás vizsgálatához a 2-hidroxinaft-1-il-karbamát (7) intermedierből kiindulva vizsgáltuk a szükséges körülményeket T3P[®] mellett. A gyűrűzárást termikus és mikrohullámú körülmények között vizsgáltuk.
	Ph NCO ₂ Me OH -	T3P [®] , toluol T [°C], t [min] -MeOH	Ph Ph 8b	Ph N O O 8b		
	T3P [®] mennyisége (ekv.)	Hőmérséklet [°C]	Reakcióidő	Termelés (8b) [%]		
1.	-	80	26 óra	n.r. ^a		
2.	1,1	80	30 perc	0^{b}		
3.	1,1	135	4 óra	0^{b}		
4.	2	135	70 perc	0^{b}		
5.	2	160	60 perc	75		
6.	1,1	160	90 perc	47		
7.	3	160	45 perc	50		
8.	2	135 ^c	90 perc	18		
9.	2	160 ^c	30 perc	36		

4. táblázat A gyűrűzárás optimalizálása 2-hidroxinaft-1-il-karbamát intermedierből kiindulva

A gyűrűzárás T3P[®] nélkül nem játszódott le (**4. táblázat 1. sor**), míg a reagens mennyiségét 2 ekvivalensre és a hőmérsékletet 160 °C-ra növelve 75% termelést sikerült elérni (**4. táblázat 5. sor**). A T3P[®] mennyiségének további növelése nem eredményezett növekedést a termelésben. Mikrohullámú körülmények között a termelés visszaesett, amelynek oka a mikrohullámú reaktorban tapasztalható lokális túlmelegedés lehet (**4. táblázat 8-9. sor**). Utóbbi jelenség magasabb hőmérsékleten feltehetően már a bomlásnak kedvez. Az optimalizálások során a kétlépéses szintézisben meghatározott körülmények figyelembe vételével hat különböző egy üst stratégiát dolgoztunk ki a naftoxazinonok előállítására. Az **A-F** stratégiákkal termikus és mikrohullámú körülmények között vizsgáltuk a reakciót, a hőmérséklet gradiens és a T3P[®] adagolásának változtatásával (**3. ábra**).



9. ábra Stratégiai útvonalak naftoxazinon-származékok one-pot szintézisére

	Eljárás	Lépések száma	Reakcióidő [perc]		Hőmérséklet [°C]		T3P® [ekv.]		Termelés (8b) [%]
	Δ/MW	1 / 2	1. lépés	2. lépés	1. lépés	2. lépés	1. lépés	2. lépés	One-pot
А	Δ	1	90	-	160	-	3,1	-	26
В	MW	1	55	-	160	-	3,1	-	38
С	Δ	2	30	90	80	160	3,1	-	28
D	MW	2	15	35	80	160	3,1	-	52
E	Δ	2	30	90	80	160	1,1	2,0	51 (61)*
F	MW	2	15	35	80	160	1,1	2,0	45 (27)*

5. táblázat Egy üst stratégiák összefoglaló táblázata

*: A zárójelben látható értékek a 2-hidroxinaft-1-il-karbamát intermedier gyűrűzárásával, kétlépésben kapott hozamok.

Az **5. táblázat** az egyes stratégiák körülményeit és a kapott termeléseket tartalmazza. A legjobb hozamot a két részre osztott stratégiák ($\mathbf{D} - 52\%$ és $\mathbf{E} - 51\%$) eredményezték. Tekintettel arra, hogy a \mathbf{D} eljárás mikrohullámú körülmények között a reakcióidőt jelentősen csökkenti a termikus \mathbf{E} úthoz képest, az optimalizálást követően a tervezett vegyülettár szintézisét a \mathbf{D} útvonalnak megfelelő körülmények között hajtottuk végre, 15 percig 80 °C-on, majd további 35 percig 160 °C-on tartva a reakció hőmérsékletét. Az egy üst eljárás a kétlépéses szintézissel összehasonlítva a termelésben 9-10%-os csökkenést eredményezett termikus körülmények között (**5. táblázat E sor**), míg mikrohullámú körülmények alkalmazásával jelentős növekedést értünk el a termelésben (**5. táblázat F sor**). Az egy üst reakció pozitívuma, hogy ezzel az eljárással a feldolgozási és kromatográfiás lépések számát és a reakcióidőt is sikerült csökkenteni.



10. ábra A vizsgált reakciók az optimalizált paraméterekkel

Az optimalizált paraméterek felhasználásával egy kétszer kilenc tagú vegyülettár szintézisét terveztük. A kapott eredményeket a **6. táblázat** foglalja össze. Az előállított 15 vegyület közül csupán

három ismert az irodalomban, tizenkettő vegyület teljesen új, elsőként előállított vegyület. A 2hidroxinaft-1-il-karbamát-származékok (**7a-i**) esetében a termelés minden esetben jó, a naftoxazinonok (**8a-f**) esetében közepes. Heteroaromás aldehidek (**5g-i**) esetében a 2-hidroxinaft-1-il-karbamát (**7g-i**) termékek előállítása a termelés kisebb visszaesésével, de probléma nélkül sikerült. Naftoxazinonok esetében a várt termékeket (**8g-i**) egy üst és kétlépéses szintézis módszerrel sem sikerült előállítani. Utóbbi származékok szintézisére az irodalomban egyetlen példa található 10% körüli termeléssel montmorillonit K10 katalizátor alkalmazásával [7].

Ar		Termelés [%]				
			7a-i*	8a-f*		
5a	E-	7a	89	8a	53	
5b		7b	Δ: 81 MW: 76	8b	52	
5c	PhO	7c	60	8c	23	
5d	Cl F	7d	86	8d	42	
5e	OPh	7e	90	8e	41	
5f	F	7f	71	8f	47	
5g		7g	73	8g	-	
5h	S S S	7h	77	8h	-	
5i		7i	66	8i	-	

6. táblázat 2-Hidroxinaft-1-il-karbamát és naftoxazinon vegyülettár

*: A dőlt betűvel jelölt vegyületek új, eddig nem ismert anyagok.

Összefoglalás, konklúzió

Kutatómunkánk során a Betti-reakcióra visszavezethető multikomponensű reakció részletes vizsgálatával foglalkoztunk egy könnyen alkalmazható, környezetbarát segédanyag, a T3P[®]

alkalmazásával. Munkánk során két, egymással összefüggő folyamat körülményeit optimalizáltuk és igazoltuk a T3P[®] aktiváló hatását a reakciókra termikus és mikrohullámú körülmények között. Az optimalizálást követően a meghatározott paraméterek felhasználásával egy 15 tagú 2-hidroxinaft-1-il-karbamát- (**7a-i**) és naftoxazinon (**8a-f**) -származékokat tartalmazó vegyülettárat hoztunk létre.

Irodalomjegyzék

- [1] M. Milen, P. Ábrányi-Balogh, A. Dancsó, D. Frigyes, L. Pongó, Gy. Keglevich, *Tetrahedron Letters*, 2013 (54) 5430-5433
- [2] P. Abrányi-Balogh, T. Földesi, A. Grün, B. Volk, G. Keglevich, M. Milen, *Tetrahedron Letters*, 2016 (57) 1953-1957
- [3] M. Milen, A. Dancsó, T. Földesi, B. Volk, Tetrahedron, 2017 (73) 70-77
- [4] V. Varga, P. Ábrányi-Balogh, M. Mátyás, Tetrahedron Letters, 2018 (59) 3683-3689
- [5] T. Szabó, A. Dancsó, P. Abrányi-Balogh, B. Volk, M. Milen, *Tetrahedron Letters*, 2019
 (60) 1353-1356
- [6] C. Cardellicchio, M. A. M. Capozzi, F. Naso, Tetrahedron: Asymmetry, 2010 (21) 507-517
- [7] J. Mou, G. Gao, C. Chen, J. Liu, J. Gao, Y. Liu, D. Pei, RSC Advances, 2017 (7) 13868-13875

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Ábrányi-Balogh Péternek és Dr. Milen Mátyásnak, akik lehetőséget biztosítottak a kutatásomhoz, és hasznos tanácsokkal láttak el munkám során.

RIFAMPICIN POLIASZPARTAMID NANOSZÁLAS FORMULÁJÁNAK ELŐÁLLÍTÁSA SZEMÉSZETI ALKALMAZÁSRA

Vincze Anna^a, Balogh-Weiser Diána^{a,b}, Gyarmati Benjámin^a, Szilágyi András^a

 ^a Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3
 ^bSzerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3

Napjainkban a látáskárosodás az emberi populáció jelentős hányadát érintő probléma. Időskorban számos betegség vezethet a látás károsodásához, vagy akár vaksághoz, pl. a zöldhályog (glaucoma), az időskori makuladegeneráció (AMD), a szürkehályog vagy a diabéteszes retinopátia [1]. Azonban a számítógépek és okostelefonok világában már a fiatalabb generáció körében is elszaporodtak a szembetegségek, többek között a száraz szem szindróma (DED). Szemünk meglehetősen összetett érzékszerv, melynek célzott és hatékony terápiás kezelése a mai napig kihívást jelent a gyógyszeripar számára [2]. A szem elülső és hátsó szegmense eltérő kezelési módot kíván: míg az elülső szegmens topikális úton érhető el tipikusan szemcseppekkel, addig a hátsó szegmens esetében nem ritkák az invazív (szembe adott injekciók) vagy szisztémás (orális, intravénás) megközelítések (**1. ábra**).



1. ábra A szem kezelésének lehetséges módszerei [3]

A szemcseppek hátránya, hogy rendkívül kicsi a biohasznosulásuk (kb. 5 %), hiszen a pislogás és a könnyezés a készítmény nagy részének lemosódását eredményezi már a beadást követő 15-30 másodpercben, valamint fokozott együttműködést igényel a beteg részéről [4]. A jobb biohasznosulás elérése érdekében mára már kifejlesztettek néhány, topikálisan alkalmazható szemészeti gyógyszerformát, melyek többsége félszilárd vagy szilárd készítmény (*in situ* gélek, szemkenőcsök,

szemészeti inzertek) [5]. A szemészeti inzertek olyan vékony, steril, többrétegű, gyógyszerrel átitatott szilárd vagy félszilárd konzisztenciájú eszközök, melyek a kötőhártya-zsákba helyezve nyújtott hatóanyag-felszabadulást képesek biztosítani (**2. ábra**). Szemcseppekkel szemben előnyük a hosszabb tartózkodási idő, hosszabb eltarthatóság, a kevésbé gyakori adagolás szükségessége, valamint az, hogy az oly gyakran irritációt okozó segédanyagok elhagyhatók. Hátrányos tulajdonságuk azonban, hogy idegentest-érzést, túlérzékenységet válthatnak ki, a szem dörzsölésének következtében pedig a helyükről elmozdulva akár a látást is zavarhatják. Felhelyezésük és – az oldhatatlan készítmények esetében – kivételük problémával járhat, ezen tényezők pedig a beteg kényelemérzetét csökkentik. A szilárd inzertek további előnye lehet, hogy a vizes közegű szemcseppekben instabil hatóanyagok szilárd diszperziókban nagyobb stabilitást mutatnak.



2. ábra Egy szemészeti inzert (Lacrisert ®) felhelyezése [6]

A rifampicin vagy rifampin a rifamycin *Streptomyces mediterranei* baktérium által termelt antibiotikum félszintetikus származéka, mely alkalmazható topikálisan, szemet érintő bakteriális fertőzések kezelésére [7]. Rifampicin tartalmú készítményekre széleskörű baktericid hatása miatt a szemészet területén nagy igényt tartanak. A jelenleg létező, Szabályos Vényminták gyűjteményébe vett szemcsepp készítményt kizárólag szakorvosi elrendelésre készítik gyógyszertárakban. A magisztrális készítmény -12 °C-os hőmérsékleten tárolandó (mélyhűtő szekrény) a felbontást követően hűtőben tárolva csupán 5 napig alkalmazható a hatóanyag vizes közegbeli kis stabilitása miatt [8]. A hatóanyag eltarthatósága azonban nagyban növelhető lenne egy szilárd diszperzió típusú formulában.

Szilárd diszperziók előállítására és a hatóanyagok polimermátrixba való bejuttatására alkalmas technológia az elektrosztatikus szálképzés [9]. Más szálhúzó technológiákkal (pl. templát-szintézis, fázisszeparáció, fagyasztva szárítás, önszerveződő rendszerek alkalmazása) szemben nagy előnye, hogy a szálátmérő konzisztensen egy mikrométer alatt marad és segítségével sokféle polimerből lehet szálakat előállítani [10]. Az elektrosztatikus szálképző berendezés lehet vertikális vagy horizontális elrendezésű (**3. ábra**). Három fő eleme a nagyfeszültségű tápegység, egy elektromosan vezető emitter (pl. egy fecskendő csúcsa - ahonnan a szálak kilépnek) és egy földelt kollektor (általában fém ernyő, lap vagy

forgó tengely). A berendezés emittere a polimeroldatot vagy olvadékot elektromosan feltölti, az elektrosztatikus tér az oldatot kilépésre kényszeríti és gyorsítja az ellentétesen töltött kollektorig. A kapilláris végén a polimeroldatot cseppjét a felületi feszültség tartja. Amint a kapillárist elektromos hálózatra kapcsoljuk, a polimeroldat felületén elektromos töltés indukálódik, és az oldat kicsúcsosodik, kialakul az ún. Taylor-kúp. Ha az elektromos feszültség elér egy kritikus értéket, a taszító elektromos erők legyőzik a felületi feszültséget, és ekkor egy elektromosan töltött sugár távozik a Taylor-kúp végéből, gyorsan és ostorcsapás-szerűen jut a kollektorra. Az emitter és kollektor között megtett úton az oldatból az oldószer pillanatszerűen elpárolog és a kollektoron rendezetlen formában polimerszálak maradnak vissza [11-12].



3. ábra Az elektrosztatikus szálhúzó berendezés vertikális (a) és horizontális (b) elrendezésben

Az elektrosztatikus szálképzést ma már széles körben alkalmazzák nanoszálak előállítására, melyek számos területen alkalmazásra kerülhetnek (elektronika, környezetvédelem, mesterséges szövetépítés, hatóanyag-hordozó rendszerek). Nanoszálak orvosbiológiai alkalmazásaiban fontos kritérium a kiindulási polimer kis toxicitása, biokompatibilitása és biológiai lebonthatósága [13]. Az ezeket a tulajdonságokat hordozó polimerek két csoportra oszthatók: természetes és szintetikus polimerek. A természetes polimerek közé tartoznak a poliszacharidok (pl. kitin, kitozán, alginátok) és a polipeptidek (pl. zselatin, kollagén). Alkalmazásuk előnye, hogy biokompatibilisek és az élő szervezet képes enzimes lebontásukra. Hátrányuk, hogy hőmérsékletre érzékenyek, szerkezetük nem reprodukálható és potenciálisan betegségeket hordozhatnak növényi ill. állati eredetükből fakadóan. A szintetikus polimerek között érdemes megemlíteni a politejsavat (PLA) poliglikolsavat (PGA), polikaprolaktont (PCL), poliglutaminsavat (PGA) és a poliaszparaginsavat (PASP). Ezek homo- és kopolimerjeinek felhasználása főként a mesterséges szövetépítésben számottevő [14]. A szintetikus polimerek használatának előnye, hogy tulajdonságaik különböző stratégiákkal a kívánt célnak megfelelően alakíthatók (pl. mechanikai vagy bomlási tulajdonságok) [15]. A poliaszpartamidok a

poliaszparaginsav származékai, melyek a poliszukcinimid (PSI) nukleofil ágensekkel (pl. primer aminokkal) történő gyűrűfelnyitási reakciójában képződnek (**4. ábra**). Biokompatibilitásuk és biológiai lebonthatóságuk miatt alkalmasak lehetnek pl. hatóanyag-hordozó rendszerek kialakítására.



R: hidroxipropil, hidroxibutil stb. Q: propil, butil, hexil stb.

4. ábra Példák poliaszpartamidok lehetséges szerkezetére

A fentiek alapján célul tűztük ki a vizes közegben instabil rifampicin antibiotikum poliaszpartamid alapú nanoszálas formulájának előállítását, annak érdekében, hogy a hatóanyagot a nanoszálas mátrixban stabilizáljuk. Ennek köszönhetően egy tartósabb, nem vizes alapú rifampicint tartalmazó szilárd szemészeti készítményt kínálhatunk alternatívaként (**5. ábra**).



5. ábra A rifampicin tartalmú poliaszpartamid nanoszálak előállítása szemészeti inzert típusú alkalmazásra

Irodalomjegyzék

[1] https://nei.nih.gov/learn-about-eye-health/resources-for-health-educators/eye-health-data-andstatistics

- [2] Y. Weng, J. Liu, S. Jin, W. Guo, X. Liang, and Z. Hu; Acta Pharmaceutica Sinica B. 2017 (7) 281– 291
- [3] M. Dubald, S. Bourgeois, V. Andrieu, H. Fessi; Pharmaceutics, 2018 (10)
- [4] J. Barar, A. R. Javadzadeh, Y. Omidi; Expert Opinion on Drug Delivery, 2008 (5) 567-581
- [5] P. Baranowski et al.; The Scientific World Journal, 2014 861–904
- [6] http://www.manualsdir.com/manuals/583182/bausch-lomb-lacriserthydroxypropyl-celluloseophthalmic-insert.html
- [7] S. Braha, C. Gafitanu, E. Braha, C. Tuchilus, M. Vasilescu, A. Poiata; Farmacia, 2009 (57) 58-64
- [8] K. Izer, I. Török, G. Magyarné Pintér, L. Varsányi, J. Lipták; *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 1996
 (66) 157–163
- [9] D. G. Yu, J. J. Li, G. R. Williams, and M. Zhao; Journal of Controlled Release, 2018 (292) 91-110

[10] Könyv szerkesztője: A. Barhoum, A fejezet szerzői: I. Alghoraibi, S. Alomari; *Handbook of Nanofibers; Different Methods for Nanofiber Design and Fabrication,* **2018** 1–46

- [11] N. Bhardwaj and S. C. Kundu; Biotechnology Advances, 2010 (28) 325-347
- [12] A. Haider, S. Haider, and I. K. Kang; Arabian Journal of Chemistry, 2018 (11) 1165–1188
- [13] J. Fang, H. T. Niu, T. Lin, and X. G. Wang; Chinese Science Bulletin, 2008 (53) 2265–2286
- [14] F. Asghari, M. Samiei, K. Adibkia, A. Akbarzadeh, and S. Davaran; Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology, 2017 (45) 185–192
- [15] O. Pillai and R. Panchagnula; Current Opinion in Chemical Biology, 2001 (5) 447-451

Köszönetnyilvánítás: A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatta (FK 125074). A kutatás az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-2 és ÚNKP-19-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült (ÚNKP-19-2-BME-370 ÚNKP-19-4-BME-421). Köszönjük az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatását.

KELÁTKÉPZŐK INHIBÍCIÓS HATÁSA GIPSZ KRISTÁLYOSODÁSÁRA

Ziegenheim Szilveszter^a, Sztegura Alex^a, Pálinkó István^b Sipos Pál^a

^aSzegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 6720 Szeged Dóm Tér 7. ^b Szegedi Tudományegyetem, Szerves Kémiai Tanszék, 6720 Szeged Dóm Tér 8.

Bevezetés:

Napjainkban számos ipari folyamat során okoz problémákat különböző szilárd anyagok kiválása túltelített oldataikból. Az olajfúrások során például a hűtőfolyadékból vagy a kőzet kapillárisaiban kicsapódó sók technológiai komplikációkat okoznak [1], vagy geotermikus energiát felhasználó folyamatok során a hőcserélő felületeken kicsapódva nagy mértékben csökkentik a hőcsere hatékonyságát [2]. Fűtőrendszerek esetében ez különösen veszélyes lehet, akár kazánrobbanáshoz is vezethet [3]. A manapság népszerű membrán technológiák – például fordított ozmózis – teljesítményét is lecsökkentheti, valamint rontja az így kapott termékvíz minőségét is [4].

Az egyik leggyakrabban megjelenő ilyen csapadék a Ca₂SO₄·2H₂O (gipsz), melynek kristályosodására számos környezeti tényező hatással van [5]. Emiatt már a 20. század első felében elkezdték kutatni a lehetőségeket a gipsz kristályosodásának szabályozására, illetve megakadályozására. A legtöbb esetben különböző típusú adalékok segítségével próbálták meg lassítani a kristályok kiválását és növekedését [6, 7]. Később ez a kutatási téma nagymértékben kiszélesedett, az évek során jelentős számú vegyület hatását megvizsgálták ezekben a reakciókban.

Különböző átmentifém-ionok jelenléte már igen kis mennyiségben is képes a kristályok növekedését lassítani [8]. Egyes aminosavak jelenléte szintén befolyásolhatja a reakció kinetikáját [9]. Különböző típusú felületaktív anyagok hatásait is összevetették, hogy megvizsgálják, a különböző töltésű anyagok milyen hatással vannak a nukleációra (gócképződésre) és a kristálynövekedésre [10]. Sok egyszerű karbonsav is hatékony kristálynövekedési inhibitornak bizonyult, közülük is kiemelkedik a citromsav [11, 12]. Utóbbi eredmények vezethettek a különböző karbonsav-polimerek inhibitorként való alkalmazásához, melyek igen nagy hatásfokkal képesek lassítani a gipsz kristályosodását [13]. Hozzájuk hasonló, kiváló inhibitornak bizonyult jónéhány foszfonsav is [14, 15], velük akár stabilizálni is lehet túltelített kalcium-szulfát oldatokat [16].

Ezen irodalmi előzmények miatt arra jutottunk, hogy az EDTA és analógjai – mivel több karbonsav csoporttal is rendelkeznek – kontrollált körülmények között képesek lehetnek jó hatásfokkal lassítani a gipsz kristályosodását. Ezek a molekulák megfelelően magas pH-jú közegben stabil komplexet képeznek Ca²⁺- ionnal, azonban alacsonyabb pH-n ezek a komplexek kis stabilitásúak, vagy

nem jönnek létre, így az inhibitor képes lehet a kristályok felületével kölcsönhatásba kerülni, mely az irodalmi adatok alapján jóval hatásosabb mechanizmus a komplexképzésnél.

Kísérletek végrehajtása:

Kísérleteink során a következő reakció lefutását követtük *in situ* vezetőképességméréssel és pHérzékeny üvegelektróddal:

 $Na_2SO_4 + CaCl_2 + 2 H_2O \rightarrow CaSO_4 \cdot 2H_2O + 2 NaCl$

A reaktánsokat sztöchiometrikus mennyiségben alkalmaztuk 0,1 M kiindulási koncentrációban. A reakcióelegyet viszonylag nagy, 300 rpm sebességgel kevertettük, mágneses keverő segítségével. A reaktánsokból 50-50 cm³ 0,2 M koncentrációjú oldatokat készítettünk, a NaSO₄ oldatban oldottuk fel a használt inhibitort, majd a reakció elindításához összeöntöttük ezeket. Inhibitorként a következő anyagokat alkalmaztuk: 1,2-etilén-diamin-tetraecetsav – EDTA (10 mM); 1,3-propilén-diamin-tetraecetsav – 1,3-PDTA (5 mM); 1,6-diamino-hexán-tetraecetsav – 1,6-HDTA (5 mM); etilénglikolbis(2-aminoetiléter)-tetraecetsav – EGTA (2,5 mM). Az EDTA és 1,3-PDTA esetében megvizsgáltuk a reakció pH-jának hatását az inhibitorok működésére, szisztematikusan változtatva azt. A pH beállítását NaOH oldat segítségével végeztük.

A reakciók lejártával leszűrtük azokat, a szilárd anyag szerkezetét porröntgen diffraktometriával (XRD), morfológiáját pásztázó elektronmikroszkópiával (SEM), az esetleg kicsapódó adalékanyagok jelenlétét pedig infravörös spektroszkópiával (IR) vizsgáltuk. Hogy az adalékok oldatban maradásáról meggyőződjünk, a szűrletet UV-spektrofotometriával (UV) tanulmányoztuk.

Eredmények és értékelésük:

Reakcióink kiindulási koncentrációjának a 0,1 M-t választottuk, mert előkísérleteink során inhibitor nélküli reakciókban ezen a koncentráción a reakció sebessége ideális az inhibitorok működésének vizsgálatához. A kristályosodás kb. 1,5 perc után kezdődik meg (2. ábra), és viszonylag gyorsan be is áll a végső egyensúly, így ha megfelelően működik az inhibitor, annak hatása látványos lesz a reakciók során. Inhibitornak olyan lehetséges kelátképzőket választottunk, melyekben a két amino-csoportot összekötő lánc hossza növekszik (2, 3, 6 és 8 atom), így meg tudjuk vizsgálni ennek a hatását is az inhibitorok működésére.

Hogy össze tudjuk hasonlítani az adalékok hatását a reakcióra, pH = 4 kémhatású oldatban hajtottuk végre a reakciókat az inhibitorok jelenlétében. Mind a négy esetben tapasztaltuk a kristályképződés- és növekedés lassulását, a mérések eredményeit az 1. ábrán mutatjuk be.



 ábra Kelátképzők gipsz kristályosodására gyakorolt inhibíciós hatásának összehasonlítása pH = 4 oldatokban a reakciók vezetőképességének időbeli változását követve

Az adalékok koncentrációjának megváltoztatására azok oldhatósága miatt volt szükség, azonban így is leszűrhetjük, hogy az amino-csoportokat összekötő lánc hosszának megnövekedése jobb inhibíciós hatást eredményezett, hiszen minden esetben az alkalmazott koncentrációhoz viszonyítva növekedett az inhibíció hatásfoka.

Hogy ezen adalékok hatásmechanizmusát részleteseben is tanulmányozni tudjuk, végrehajtottuk a reakciókat EDTA és 1,3-PDTA jelenlétében, szisztematikusan változtatva a reakció pH-ját. Hasonló tapasztalatokat szereztünk mindkét inhibitor esetén, azonban mivel az 1,3-PDTA esetében jóval látványosabb a változás, így itt ezt szeretnénk részletesen bemutatni. Az 1,3-PDTA jelenlétében végrehajtott kísérletek során mért vezetőképesség változásait a reakciók során a 2. ábra mutatja be.



2. ábra A vezetőképesség változása az 1,3-PDTA jelenlétében végrehajtott kísérletek során, szisztematikusan változtatva a reakciók kémhatását

Az ábrán jól láthatjuk, hogy minden esetben jelentős inhibíciós hatást gyakorolt az adalékunk, azonban pH = 6 kémhatású oldatban rendkívüli módon meghosszabbította a kristályképződés indukciós periódusát, az csak körülbelül 1 óra elteltével indult meg. Erre magyarázattal szolgálhat, ha megvizsgáljuk az 1,3-PDTA protonálódási állandóit, melyeket az 1. táblázatban írtunk le.

	pK_1	pK ₂	pK ₃	pK ₄
1,3-PDTA	2,0(4)	2,67	7,91	10,27

1. táblázat Az 1,3-PDTA protonálódási állandói

Ez alapján azt mondhatjuk, hogy pH = 6 kémhatású oldatokban az 1,3-PDTA két amino-csoportja protonált, míg karboxil-csoportjai deprotonált állapotban vannak. Előbbi miatt nem képes stabil kelátkomplex képzésére, azonban utóbbiak miatt képes lehet erős kölcsönhatást kialakítani a gipsz-kristályok (és így a kristály-embriók) felületével, akadályozva ezzel a növekedést, és a kritikus gócméret elérését.

A reakciók után a keletkezett szilárd anyagot szűrtük, majd szárítottuk, végül megvizsgáltuk a szerkezetét XRD segítségével. A mérések eredményeit a 3. ábrán mutatjuk be.



3. ábra A különböző adalékok jelenlétében pH = 4 kémhatású oldatokból leválasztott gipsz-minták diffraktogramjai (JCPDS#21-0816)

A szilárd minták diffraktogramjain csak a gipszre jellemző reflexiók jelentek meg, a főbb csúcsokhoz tartozó kristálysíkok Miller-indexeit meg is adtuk a JCPDS adatbázis megfelelő kártyája alapján. Bár minden esetben gipsz vált ki a reakciók során, a kapott reflexiók intenzitása és azok arányai jelentősen megváltoztak az inhibitor nélkül leválasztott gipsz esetében tapasztaltakhoz képest. A

legintenzívebb csúcsok – (020), (130), (041) – mérete nagyon lecsökken, intenzitásuk összemérhető lesz a (021) kristálysíkhoz tartozó reflexióval. Ez arra utal, hogy az adalékok a gipsz leggyorsabban növekvő felületein képesek megkötődni és ezáltal nagymértékben akadályozni azok növekedését. Ezen kívül megerősítést kaphatunk arról is, hogy az amino-csoportokat összekötő lánc hosszának növelésével nő az inhibíció hatásfoka; a reflexiók intenzitásának csökkenése egyre nagyobb mértékű a lánchossz növekedésével. Ezek az eredmények megerősítik a korábbi feltételezésünket, miszerint ezek a kelátképzők megfelelő körülmények között képesek a gipsz felületével kölcsönhatásba lépni, így akadályozva a kristályok növekedését.

További megerősítést nyerhetünk, ha tanulmányozzuk a kiváló kristályok morfológiáját SEM képek segítségével, ezeket az eredményeket a 4. ábra mutatja be.



A: Inhibitor nélkül B: Kelátképző jelenlétében 4. ábra A: Inhibitor nélküli rendszerben és B: inhibitor jelenlétében leválasztott gipsz kristályairól készített SEM felvételek

A felvételeken láthatjuk, hogy míg adalék nélkül leválasztva a gipsz tűszerű, hosszúkás kristályokat képez, addig kelátképzők jelenlétében rombusz alakú lapkák formájában kristályosodik, tovább erősítve a feltételezést, hogy a kelátképzők felületi mechanizmuson keresztül fejtik ki inhibíciós hatásukat.

Hogy kiderítsük, az adalékok a reakció végén az oldatban maradnak-e vagy kikristályosodnak a kiváló gipsszel, a felülúszókat UV-spektroszkópiával, a szilárd anyagokat pedig IR-spektroszkópiával vizsgáltuk, mivel mindkét módszerrel kimutathatók az adalékokban található karboxil-csoportok. A mérések eredményei az 5. és 6. ábrákon láthatók.



5. ábra Felülúszók UV spektrumai

6. ábra Szilárd minták IR spektrumai

Mindkét mérési módszer eredményei azt mutatják, hogy az adalékok a reakció után is a folyadék fázisban találhatók. Telített CaSO₄ oldat és 1,3-PDTA oldat spektrumaival összehasonlítva a felülúszók megfelelően higított spektrumait azt láthatjuk, hogy 210 nm körül növekedik az oldatok elnyelése a pH növekedésével. Ez valószínűleg a deprotonálódó – és így a kettős kötés delokalizációjának hatására jobban elnyelő – karboxil-csoportoknak tudható be. A szilárd anyagok IR spektrumai megerősítik ezt a feltételezést, a módszer elég érzékeny az adalékokban található karboxil-csoportokra, azonban a spektrumokon csak a gipszre jellemző csúcsok – 1100-1200 cm⁻¹-nél: v3(SO₄) rezgés jelei, 1620 és 1680 cm⁻¹-nél: a kristályvíz v2 rezgései, 3000-3600 cm⁻¹ régió: a víz nyújtórezgésének jelei – jelennek meg, nem utal semmi arra, hogy az adalékok a szilárd fázisban is jelen lennének.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a tanulmányozott adalékok megfelelő körülmények között kiváló inhibitorai lehetnek a gipsz kristályosodásának, és az aminocsoportokat összekötő lánc hosszával ez a hatás növekszik. (Az 1,6-HDTA és az EGTA esetén további részletes vizsgálat szükséges.) Az adalékok a reakció során jelentősen megváltoztatják a kiváló kristályok morfológiáját, mely felületi inhibíciós mechanizmusra utal. A reakció lejátszódása után a kelátképzők továbbra is az oldatfázisban találhatók meg, nem utal semmi arra, hogy jelentős mennyiségben megtalálhatók lennének a szilárd fázisban.

Irodalomjegyzék:

- [1] M. A. Kellard, Industrial & Engineering Chemistry Research 2011 (50) 5852-5861.
- [2] A.V. García, K. Thomsen, E.H. Stenby, Geothermics 2005 (34) 61-97
- [3] Szerkesztők: M. R. Malayeri, H. Muller-Steinhagen, A.P. Watkinson; Szerzők: A. Goujon, T. Pauporte, C. Mansour, S. Delaunay, J.-L. Bretelle, *Fouling of steam generator tubes in nuclear*

power plants: laboratory tests to reproduce oxides deposition, Proceedings of International Conference on Heat Exchanger Fouling and Cleaning, June 9-14, Budapest, Hungary, (2013)

- [4] J. S. Gill, Desalination 1999 (124) 43-50
- [5] T. J. Trivedi, J. Shukla, A. Kumar Journal of Chemical & Engineering Data 2014 (59) 832-838
- [6] O. J. Schierholtz, Canadian Journal of Chemitry 1958 (36) 1057-1063
- [7] E. R. McCartney, A. E. Alexander, Journal of Colloid Science 1958 (13) 383-396
- [8] S. K. Hamdona, O. A. Al Hadad; Journal of Crystal Growth 2007 (299) 146-151
- [9] S. K. Hamdona, O. A. Al Hadad; Desalination 2008 (228) 277-286
- [10] M. H. H. Mahmoud, M. M. Rashad, I. A. Ibrahim, E. A. Abdel-Aal, *Journal of Colloidand Interface Science* 2004 (270) 99-105
- [11] E. Badens, E., S. Veesler, R. Boistelle, Journal of Crystal Growth 1999 (198) 704 709
- [12] M. Prisciandaro, A. Santucci, A. Lancia, D. Musmarra; *Canadian Journal of Chemical Engineering* 2005 (83) 586 – 592
- [13] S. Sarig, F. Kahana, R. Leshem, Desalination 1975 (17) 215-229
- [14] P. G. Klepetsanis, P. G. Koutsoukos, Journal of Crystal. Growth 1998 (193) 156-163
- [15] E. Akyol, M. Öner, E. Barouda, K. Demadis, Crystal Growth & Design 2009 (9) 5145-5154
- [16] Szerkesztő: J. W. Mullin Szerzők: J. R. Bourne, K. Hungerbuehler, M. Zabelka, *Industrial Crystallization*, Plenum Press, New York (1976) 283

"AZ INNOVÁCIÓS ÉS TECHNOLÓGIAI MINISZTÉRIUM ÚNKP-19-3-SZTE-336 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROG-RAMJÁNAK SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT."



2019. ÉVI KÉMIAI ELŐADÓI NAPOKAT TÁMOGATTÁK

MTA Szegedi Akadémiai Bizottság



Magyar Kémikusok Egyesülete



Magyar Kémikusok Egyesülete Csongrád Megyei Csoport

