**Opponensi vélemény dr. Volk Balázs Nitrogéntartalmú heterociklusos gyógyszerjelölt vegyületek előállítására és vizsgálataik c. MTA Doktori Értekezéséről**

Dr. Volk Balázs a PhD fokozatának megszerzése utáni 15 évben az EGIS-ben végzett kutatómunkája alapján állította össze az MTA doktori értekezését. Az értekezés arányosan tagolt, 8 érdemi fejezetből álló mű, amely 27 db, jórészt magas színvonalú közleményen (J. Med. Chem., Tetrahedron, Tetrahedron Letters, J. Org. Chem., ACS Chem. Neurosci.) és elfogadott szabadalmon alapul. A Jelölt ezek közül 21-ben első v. beküldő szerző, tehát kijelenthetjük, hogy az eredmények létrejöttében döntő szerepet játszott. Az értekezést 212 hivatkozást tartalmazó irodalomjegyzék zárja.

A bírálónak könnyű dolga van, hiszen az értekezés alapját jelentő közlemények és szabadalmak már komoly szűrőkön átment művek, melyek alapján az értekezés magas színvonala eleve biztosított. A szerző értekezésén érződik, hogy innovációval foglalkozó gyógyszerkutató, hiszen minden felvetődő problémát alaposan körüljár és a disszertációban szinte nincsenek megválaszolatlan kérdések, feltáratlan részproblémák. Az értekezésből kitűnik, hogy a Jelölt a preparatív szerves kémia szakavatott művelője és az elmúlt időszakban a lítiálás és klasszikus preparatív módszerek ötvözésével több száz új vegyületet állított elő, szem előtt tartva az iparban megkövetelt biztonságossági, gazdaságossági és méretnövelési szempontokat.

Az értekezés szerves kémiai preparatív tárgyú mű, amely négy különböző vegyületcsalád: oxindolok, 1,3-diazaoxindolok, benzotiadiazin-dioxidok és benzotiadiazepin-dioxidok előállításával, továbbalakításával, regioselektív reakcióival és biológiai (farmakológiai) vizsgálatával foglalkozik, különös tekintettel a központi idegrendszeri hatásokra. Az értekezés azonban nem csak szerkezet-hatás összefüggéseket taglal, hanem a változatos vegyületcsaládokhoz vezető, nem egyszer váratlan átrendeződési reakciók mechanizmusára is javaslatot tesz, amelyeket több esetben számításon alapuló módszerekkel támaszt alá. Erre jó példa a 3.3.1. fejezetben tárgyalt az 1-etoxikarbonil- és 1-fenoxikarbonil-3-(2-tienil)oxindol eltérő utat követő ammonolízisének vizsgálata az átmeneti állapotok energiatartalmának számításával, ill. „Systems Chemistry” módszer segítségével, ill. a 6.6 fejezetben tárgyalt benzotiadiazepin-dioxidok átrendeződési reakcióinak értelmezése DFT

számítások segítségével. Az értekezés spektroszkópai és analitikai kémiai szempontból is értékes és érdemleges információkat tartalmaz. A Jelölt az általa előállított vegyületek szerkezetét, IR, MS, ^{13}C -NMR és ^1H -NMR és röntgenkristallográfiai módszerekkel bizonyítja. A diazaoxidok benzilezési reakciójának eredményeként keletkezett termékek szerkezetét IR és ^1H -NMR adatok segítségével interpretálja a 71. ábrán a kívülálló olvasó számára nagy segítséget nyújtva az értelmezésben. Az NMR alkalmazása szintén jelentős volt a mezoionos szerkezetű benzotiadiazin-dioxid vegyületcsalád szerkezetének feltárásában. Analitikai szempontból szintén jelentősnek ítélem a relatív retenciós idő bevezetését az oxindol vázat tartalmazó EGIS-12233 vegyület és származékainak elsődleges metabolitjainak beazonosítására kidolgozott LC-MS módszert.

Az értekezés olvasmányosan, helyesírási hiba, ill. gépelési hiba nélkül megírt, jól szerkesztett, logikusan felépített mű. Két hibát mégis találtam: a 109. oldalon „a biztonságosabb hexillítiumot” kellett volna írni, ill. a jelölt 21. tézispontjában felcserélte a hidrazin/MeI-DBU reagenseket. Ami a szerkesztést illeti a 4. táblázatban szereplő SB-258719, SB-271046 ill. SB-269970 vegyületekhez jó lett volna utalást fűzni, hogy a 31. ábrán már szerepeltek. A Jelölt a benzotiadiazin-dioxidokkal foglalkozó 5. fejezetben tárgyalja a acetofenon ketálok BuLi/PMDTA-val történő lítiálását, amelyet szerintem nyugodtan ki lehetett volna hagyni, főleg, hogy a jelölt a 99. oldalon elismeri, hogy az eljárás nem alkalmazható hatékonyan benzotiadiazin-dioxid prekursorok előállítására.

Dr. Volk Balázs MTA Doktori Értekezésének főbb eredményei a következők, amelyeket a Jelölt saját eredményeinek ismerem el:

- Az oxindolok szelektív és hatékony alkilezésének kidolgozása, különös tekintettel az 5-HT₇/5-HT₁ és 5-HT₇/α₁-AR szelektivitás szempontjából kiemelkedő vegyületek szintézisére.
- Az oxindol gyógyszerjelölt molekulák metabolizmusának vizsgálata és új LC-MS módszer kidolgozása (relatív retenciós idők) a metabolitok beazonosítására.
- Az EGIS-12233 vegyület két enantiomerjének rezolválása és ezek biológiai vizsgálata.
- Új oxindol karboxamidok előállítása, továbbá az 1-etoxikarbonil- és 1-fenoxikarbonil-3-(2-tienil)oxindol eltérő ammonolízisének feltárása.
- Méretnövelhető módszer kidolgozása 1,3-diazaoxidok szintézisére, a kapott diazaoxidol származékok alkilezési reakcióinak vizsgálata.

- Karbociklusos gyűrűben szubsztituált benzotiazin dioxidok szintézise, regioszelektív alkilezési, acilezési és redukciós módszerek kidolgozása
- Új, mezoionos szerkezetű benzotiadiazin-dioxid vegyületcsalád felismerése és előállításának kidolgozása.
- Az 1,2,3-benzotiadiazin/1,2-benzizotiazol átrendeződés felismerése és mechanizmusának bizonyítása.
- Benzotiadiazepin-dioxidok szintézisének kidolgozása változatosan szubsztituált ftalid intermedierekből kiindulva.
- A benzotiadiazepin-dioxidok átrendeződési reakcióinak tanulmányozása és mechanizmusuk feltárása az intermedierek izolálásán és szerkezetigazolásán alapuló, ill. számítási módszerek segítségével.

Az értekezést olvasva néhány kérdés merült fel bennem, amelyeket bírálói tiszteemből adódóan felteszek:

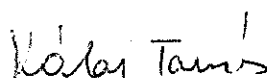
- 1.) Az oxindol sók közül a Jelölt a Li sókat alkalmazta szubsztrátként alkilezési reakciókban. A Jelölt ill. munkatársai próbálkoztak-e magnézium sókkal vagy van-e erre irodalmi adat?
- 2.) A 26. ábrán (29. o.) közölt *N*-szubsztituált piperazinok szintézisének első (a) lépésénél tapasztaltak-e intramolekuláris vagy intermolekuláris alkileződést, utóbbi esetben pl. dimerek képződését metileződés, ill. benzileződés helyett?
- 3.) A Jelölt említi, hogy az arilpiperazin és oxindol egységet tartalmazó gyógyszerjelöltek vagy az arilpiperazin vagy az oxindol aromás gyűrűn monohidroxilálódnak. Találtak-e olyan metabolitot, amely mind a két aromás gyűrűn hidroxilálódott?
- 4.) Az elsődleges metabolitokból milyen másodlagos metabolitok képződnek?
- 5.) A fent említett metabolitok szerkezetének feltárására kidolgozott relatív retenciós időkön alapuló módszer a Jelölt véleménye szerint mennyire extrapolálható más, aromás egységet tartalmazó vegyületek hidroxilezett metabolitjaira? Történtek-e erre vonatkozó kísérletek?
- 6.) Van-e arra magyarázat, hogy a Porsolt-féle kényszerített úszási teszten a racém vegyület (EGIS-12233) szignifikánsan hatékonyabb volt mint az enantiomerek (EGIS-

12901, ill. 12902) külön-külön? Valamilyen szinergizmus áll fenn? Ennek felderítésére történtek-e kísérletek?

- 7.) Az 5-klóroxindol-1,3-dikarboxamidok előállításánál az enolátot (57 DMAP) a 4-dimetilaminopiridin sójaként izolálták. Más, olcsóbb tercier aminok alkalmazására történtek-e próbálkozások?
- 8.) A jelölt értekezésében említi az oxindolok (értekezés 25. o.) és az analóg diazaoxindolok esetében is (értekezés 79. o.), hogy az oxindolok C3 Li-sóinak, ill. a diazaoxindolok C5 Li-sóinak alkilezésekor inert körülményeket kell alkalmazni, mert alkileződés helyett hidroxileződés következik be. Mi lehet ennek a reakciónak a mechanizmusa?
- 9.) A benzotiadiazin-dioxid redukciója közben tapasztalták-e benzotiadiazin-oxid vagy benzotiadiazin képződését?
- 10.) A 108. ábrán ismertetett 4,6-difluorftalid szintézise (111. o.) mennyire méretnövelhető?

A feltett kérdések és megjegyzések természetesen semmilyen tekintetben nem kérdőjelezik meg a Jelölt által végzett munka értékét. A dr. Volk Balázs által benyújtott disszertáció kielégíti az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeket, így sikeres védelem esetén javaslom a Jelöltnek az MTA Doktora cím odaítélését.

Pécs, 2020 január 20.



Dr. Kálai Tamás

egyetemi tanár, MTA doktora