

perjesi.pal_370_25

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A SZERKEZET, LIPOFILITÁS, TIOL-REAKTIVITÁS ÉS DAGANATSEJT
CITOTOXICITÁS KÖZÖTTI KAPCSOLATOK TANULMÁNYOZÁSA
KALKONOK ÉS GYŰRŰS KALKON-ANALÓGOK KÖRÉBEN

PERJÉSI PÁL



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
GYÓGYSZERÉSZI KÉMIAI INTÉZET

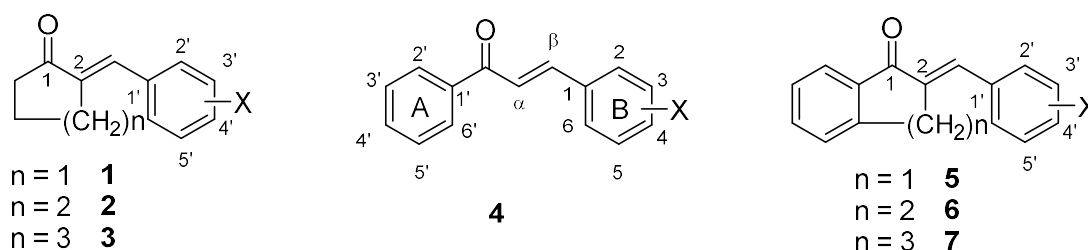
2025

perjesi.pal_370_25

1. Bevezetés, célkitűzések

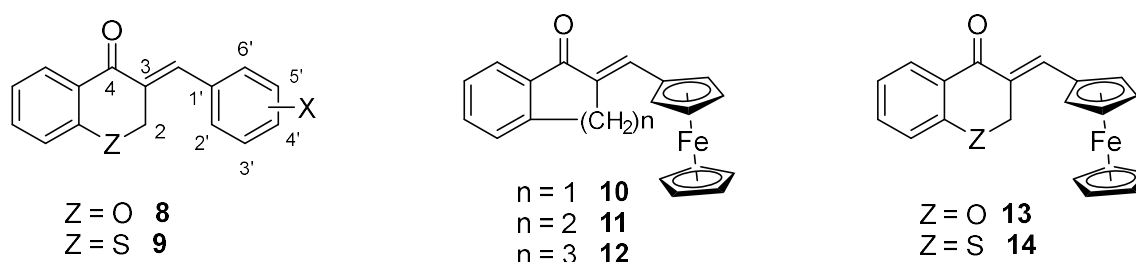
MTA doktori dolgozatomban az MTA kandidátusi fokozat megszerzését követő kutatómunkám eredményeinek egy részét foglaltam össze. A kutatási eredmények legnagyobb része a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Kémiai (ma Biokémiai és Orvosi) és Gyógyszerészi Kémiai Intézeteiben végzett munkáimmal kapcsolatos. Az évek során Fogarty ösztöndíjasként, majd meghívott kutatóként az Egyesült Államokban, DAD ösztöndíjasként a Német Szövetségi Köztársaságban is végeztem a hazai munkáimmal tematikusan kapcsolatban álló kutatásokat.

A kandidátusi munkám során kalkonok (**4**) és különböző gyűrűtagszámú (*E*)-2-benzilidén-1-cikloalkanonok (**1-3**) és (*E*)-2-benzilidénbenzociklo-1-alkanonok (**5-7**) (1. ábra) ditiokarbaminsavval és tiokarbamid származékokkal lejátszódó reakcióit vizsgáltam. A gyűrűzárási reakciók eredményeként pirimidin- és 1,3-tiazin-származékokat szintetizáltam. (Megjegyzés: Bár a kalkonok (**4**) IUPAC nevezéktan szerinti számozása különbözik az 1. ábrán feltüntetett számozástól, a **4** vegyületek és gyűrűs analógjaik (**5-9**) spektroszkópai és reaktivitásbeli vizsgálatai eredményeinek egyszerűbb összehasonlítása érdekében, a dolgozatban az 1'-6' pozíciók a kalkonok (**4**) B-gyűrűjének pozícióit jelölik.)



1. ábra. A szintetizált (*E*)-2-benzilidén-1-cikloalkanonok (**1-3**), kalkonok (**4**) és (*E*)-2-benzilidén-1-benzocikloalkanonok (**5-7**) szerkezete

Kandidátusi vizsgálataim folytatásaként, kezdetben elsősorban szintetikus munkákat végeztem. E munkák elsődleges célkitűzése a korábban vizsgált kalkonok (**4**) és azok különböző tagszámú gyűrűs analógjainak tekinthető (**5-9**) származékok szerkezet-daganatsejt citotoxicitás, valamint szerkezet-reaktivitás összefüggéseinek vizsgálata volt. A kalkonok és gyűrűs analógjaik egy a korábbiaktól némileg különböző szerkezeti csoportját képezték a benzilidén-molekularészt ferrocenilidén-molekularésszel helyettesített származékok (**10-14**) (2. ábra).



2. ábra. A szintetizált heterociklusos kalkon-analógok (**8,9**) és kalkon-ferrocén hibridek (**10-14**) szerkezete

A tervezett szerkezet-hatás/reaktivitás összefüggések vizsgálata céljából a munkák kezdetén célul tűztem ki a benzilidén-molekularészen különbözőképpen szubsztituált (*E*)-2-(X-benzilidén)-1-indanon (**5**), -tetralon (**6**), -benzoszuberon (**7**), valamint (*E*)-3-(X-benzilidén)-2,3-dihydro-1-benzopirán-4-on (**8**) származékok szintézisét és szerkezeti jellemzését.

Korábbi irodalmi adatok alapján ismert volt, hogy az **1-9** vegyületek fény-inicializált folyamat során (*E*)/(*Z*)-izomerizációt szenvednek. Így a szintetizált minták sztereoegységességének igazolása a szintetikus munkák – valamint a későbbi kémiai és biológiai vizsgálatok - egyik alapvető fontosságú részét képezte. A vegyületek sztereokémiájának vizsgálatát NMR és néhány esetben egykristály-röntgendiffrakciós módszerek segítségével végeztük. A kapott, illetve a további kísérletek során alkalmazott minták sztereoegységességének igazolása céljából VRK, GC és HPLC-UV-Vis módszerek kidolgozását tűztem ki célul.

A szintetizált vegyületek biológia vizsgálatainak elsődleges célja azok daganatsejt-citotoxicitásának meghatározása volt. Jonathan R. Dimmock (University of Saskatchewan, Saskatoon, Kanada) professzorral történt együttműködés keretében, a szintetizált vegyületek *in vitro* daganatsejt citotoxikus hatása egér P388 és L1210 leukémia sejtekkel, humán Molt 4/C8 és CEM T-limfoblasztóma, valamint további mintegy 60, különböző humán szervből származó tumor sejtvonallal szemben határoztuk meg.

A kalkonok szubsztituált 1,3-difenil-2-propenon-származékok, melyek megismert biológiai hatásai a lipofil tulajdonságú 1,3-difenil-2-propenon konjugált alapszerkezet részvételével kialakuló (a) nem-kovalens kölcsönhatások, (b) az aromás gyűrűk elektrofil és/vagy (c) a szén-szén kettős kötés nukleofil reaktánsokkal lejátszódó reakciói eredményeként alakulnak ki. A nem-kovalens kölcsönhatások között jól dokumentált a kalkonok néhány enzimmel (pl. CYP1A, topoizomeráz II), tubulinnal és DNS-sel kialakított kölcsönhatása. Ezeknek a kölcsönhatásoknak a kialakításában fontos szerepet játszik a vegyületek tér- és elektronszerkezete, valamint lipofil tulajdonsága.

A kapott *in vitro* daganatsejt citotoxicitás adatok szerkezet-hatás összefüggéseinek vizsgálata céljából először vegyületek tér-és elektronszerkezetének vizsgálatát tűztem ki célul. A két hatás egyidejű vizsgálatának egyik gyakran alkalmazott módszere a konjugált rendszer tér- és elektronszerkezetére gyakorolt aromás szubsztituenshatások IR és ¹³C NMR spektroszkópiai módszerekkel történő vizsgálata. A kapott spektroszkópiai adatok segítségével vizsgálni kívántuk a kalkonok (**4**) és az **5-7** karbociklusos kalkon-analógok tér és elektronszerkezetét a lineáris szabadenergia összefüggések alkalmazásával.

A testidegen vegyületek szervezetbeli sorsának és biológiai hatásai kialakulásának egyik meghatározó fizikai-kémiai tulajdonsága azok lipofilitása. A rokon szerkezetű **4-9** vegyületek összehasonlító log*P* vizsgálatainak célja egyrészt az aromás szubsztituenseknek, másrészt a gyűrűtagszámnak, illetve a gyűrűszerkezetnek a kalkonszármazékok lipofil tulajdonságára gyakorolt hatásának megismerése volt.

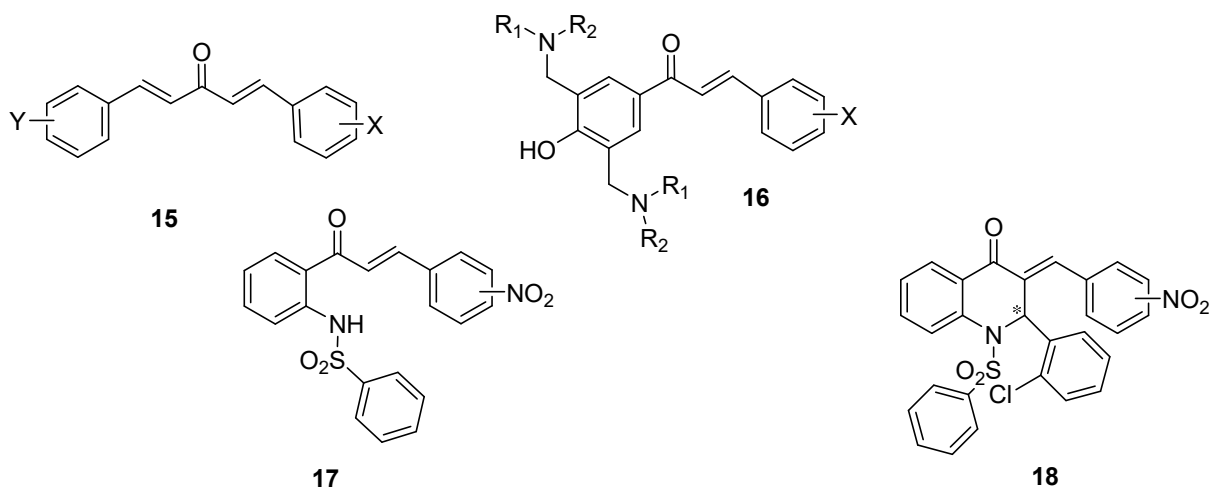
A testidegen vegyületek szervezetbeli sorsát azok lipofil jellegén túlmenően a metabolikus enzimekkel történő kölcsönhatásuk (biotranszformáció) határozza meg. A

kalkonok és a vizsgált kalkonoidok metabolikus transzformációi között a legnagyobb jelentőséggel az aromás gyűrűk CYP enzimek által katalizált oxidációja, az enon rendszer redukciója, valamint a redukált glutationnal (GSH) lejátszódó konjugációs reakciói bírnak. Ez utóbbi reakciók lejátszódhatnak a celluláris makromolekulák reaktív tiolcsoportjaival is. Ezek a kölcsönhatások (részben vagy egészben) alapját képezhetik a vegyületek megfigyelt biológiai hatásainak. Ugyanakkor, a metabolikus transzformációk ismerete a testidegen anyagok (metabolikus) stabilitásának is fontos jellemzője.

A vizsgált vegyületek ígéretes *in vitro* daganatellenes hatásainak ismeretében kísérleteket végeztünk kiválasztott kalkonszármazékok *in vivo* vékonybélből történő eliminációjának, valamint vékonybél-metabolizmusának megismerése céljából. E munka keretében egy 4-OH-kalkon (**4q**) és egy *bisz*-(*N*-dialkilaminometilén)-szubsztituált származékaik (**16a**) *in vivo* intesztinális eliminációjának és metabolizmusának vizsgálatát terveztük kísérleti patkányokon.

Az *in vitro* daganatsejt citotoxicitási adatok alapján az egyik leghatékonyabb származéknak az (*E*)-2-(4'-metoxibenzilidén)-1-benzoszuberon (**7c**) bizonyult. A megfigyelt hatás alaposabb megismerése céljából vizsgálatokat terveztünk a vegyület sejtciklusra gyakorolt hatásának analízisére. A Jurkat T-sejteken végzett kísérleteink során a **7c** vegyület hatását összehasonlítottuk a nála átlagosan 27-szer alacsonyabb daganatsejt citotoxicitást mutató 4'-metilszármazék (**7b**) hatásával. A sejtciklus vizsgálatokkal párhuzamosan kísérleteket terveztünk a vegyületek celluláris tiol-státuszára gyakorolt hatásának megismerése céljából is.

A vizsgált vegyületek tiol-reaktivitásán alapuló hatásainak vizsgálata céljából, e munkák kezdetén célul tűztük ki a **4-7** vegyületek redukált glutationnal (GSH) és *N*-acetilciszteinnel (NAC) lejátszódó reakcióinak vizsgálatát. E munkák során kapcsolatot kerestünk a különbözőképpen szubsztituált kalkonok és különböző gyűrűtagszámú kalkon-analógok citotoxicitása és a vegyületeknek a két tiolszármazékkal szemben mutatott reaktivitása között. Brazíliai együttműködéseim eredményeképpen a vizsgált vegyületek köre kibővült számos *bisz*-kalkon (**15**), *N*-dialkilaminometilén-szubsztituált kalkon (**16**), valamint szulfonamid-funkciót hordozó, nyíltlancú (**17**) és gyűrűs kalkonszármazék (**18**) vizsgálatával (3. ábra).



3. ábra. A **15-18** vegyületek szerkezete

2. Alkalmazott módszerek

Munkánk során a szintéziseket és kémiai átalakításokat klasszikus és modern szerveskémiai módszerekkel, félmikro és mikro méretben valósítottuk meg. Az előállított új vegyületek szerkezetét és térszerkezetét elsősorban egy- és kétdimenziós ^1H -, ^{13}C -NMR módszerek alkalmazásával, esetenként tömegspektroszkópiai vizsgálatokkal, illetve egykristály-röntgendiffrakciós analízissel határoztuk meg [D4-D14]. A vizsgálatok során használt minták tisztaságát a kísérletek megkezdése előtt kromatográfiás módszerekkel (VRK, GC-FID, HPLC-UV-Vis, HPLC-MS) ellenőriztük.

Az *in vitro* citotoxicitási vizsgálatok a kooperációs partnerek laboratóriumaiban végeztük [D5, D9, D11, D25, D29, D34, D36]. Az *in vivo* vizsgálatokat a PTE Orvosi Népegészségtani Intézet [D30] és a Gyógyszerészi Kémiai Intézet [D27] állatkísérletes laboratóriumában történtek, a megfelelő hatósági engedélyek birtokában.

A vegyületek tiol-reaktivitással kapcsolatos *in vitro* vizsgálatait (inkubálásokat) a Gyógyszerészi Kémiai Intézetben végeztük [D33-D39]. A kapott minták összetételének vizsgálata, valamint a keletkező főtermékek szerkezetének azonosítása a legtöbb esetben az Gyógyszerészi Kémiai Intézet HPLC-UV [D17,D24,D33-D39] és HPLC-MS [D33,D36,D38,D39] készülékeinek használatával történt.

3. Új tudományos eredmények

3.1. Szintetikus módszereket dolgoztam ki korábban alacsony hozammal előállítható, a benzilidén-molekularészen nitro-, hidroxil- és dimetilamino-szubsztituált kalkonok (**4**) és analóg (*E*)-2-(4'-X-benzilidén)-1-indanonok (**5**), -tetralonok (**6**) és -benzoszuberonek (**7**) előállítására, valamint oszlopkromatográfiás tisztítására. A módszerek eredményesen alkalmazhatók voltak a tetralonszármazékok (**6**) oxigén- (**8**) és kénatomot (**9**) tartalmazó, valamint a benzilidén-molekularészt ferrocénmetilén-molekularésszel helyettesített analógok (**10-14**) előállítására is [D4-D14].

3.2. HPLC-UV módszert fejlesztettem ki a szintetizált **5-7** (*E*)-izomerek tisztaságvizsgálatára, valamint az (*E*)-izomerekből keletkező (*Z*)-izomerektől történő elválasztására. Utóbbi módszer segítségével meghatároztam a különböző gyűrűtagszámú (*E*)- és (*Z*)-2-(4'-X-benzilidén)-1-indanon (**5**), -tetralon (**6**) és -benzoszuberonek (**7**) geometriai izomerpárok fotostacionárius elegyeinek összetételét. HPLC vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy az azonos körülmények között besugárzott minták izomerelegyének összetételére mind a gyűrűtagszám, mind a benzilidén-molekularész szubsztituense hatást gyakorol [D16,D17].

3.3. A 4'-N(CH₃)₂-kalkon (**4d**), valamint a (*E*)-2-(4'-N(CH₃)₂-benzilidén)-1-indanon (**5d**), -tetralon (**6d**) és -benzoszuberonek (**7d**) származékok különböző oldószerekben felvett UV-Vis abszorpciós maximumainak oldószer-indukált batokróm eltolódása a TOL<ACN<MeOH≈DMSO sorrendet követte. A vegyületek batokróm eltolódásainak sorrendje a vizsgált oldószerhatás-paraméterek közül a DN értékekkel mutatott hasonlóságot. Ez a tapasztalat jól értelmezhető a vizsgált oldószeres és a **4d-7d** vegyületek karbonilcsoportja között kialakuló kölcsönhatás eredményeként [D18-D20].

3.4. Az (*E*)-2-(4'-X-benzilidén)-1-indanonok (**5**), -tetralonok (**6**) és -benzoszuberonek (**7**) elektron- és térszerkezetének vizsgálata céljából a vegyületek IR karbonil vegyértékrezgési sávjai, valamint az enon-molekularész ^{13}C NMR kémiai

eltolódásértékei alapján, egy- és kétdimenziós regresszió analízis segítségével vizsgáltam a 4'-szubsztituensek elektronikus hatásainak tovaterjedését. A kapott adatok alapján megállapítható volt, hogy a benzilidén-szubsztituensek induktív és rezonancia hatásai a leghatékonyabban az öttagú (**5**), a legkisebb hatékonysággal a héttagú gyűrűs (**7**) származékok körében érvényesülnek [D15,D21]. Az induktív hatások β -szénatomon történő érvényesülésének erőssége párhuzamosságot mutatott a vegyületek tiol-reaktivitásával [D33,D38,D39].

3.5. Közel 150, a benzilidén-molekularészen különbözőképpen szubsztituált (*E*)-2-(X-benzilidén)-1-indanon (**5**), -tetralon (**6**), -benzoszuberón (**7**), valamint (*E*)-3-(X-benzilidén)-2,3-dihidro-1-benzopirán-4-on (**8**) és -tiopirán-4-on (**9**) származékot állítottam elő, melyek különböző rágcsáló és human karcinóma sejtvonalakon daganattellenes hatásúnak bizonyultak. Az **5-7** vegyületek *in vitro* citotoxicitásának P388, L1210 leukémia sejtekkel, valamint Molt 4/C8 és CEM T-limfocitákkal szemben történt vizsgálata alapján a héttagú gyűrűs, 4'-helyzetben metoxi- (**7c**), valamint dimetilamino-szubsztituált (**7d**) benzoszuberón-származékok bizonyultak a leghatékonyabb citotoxikus származékoknak. A **7** és az analóg (*E*)-2-(4'-X-benzilidén)-1-cikloheptanon (**3**) származékok IC₅₀ értékeinek összehasonlítása azt mutatta, hogy a cikloheptanon gyűrűvel kondenzált benzolgyűrű jelenléte (**7**) megnöveli az vegyületek daganatsejtekkel szemben mutatott citotoxicitását [D5,D9,D11].

3.6. Az **5-9** fenil és az analóg **10-14** ferrocenil kalkonok logP_{VRK} értékeinek összehasonlítása azt mutatta, hogy a ferrocénszármazékok átlagosan 0,94 egységgel magasabb logP_{VRK} értékkel rendelkeznek [D25]. A **8a-l** 3-(4'-X-benzilidén)-4-kromanon-származékok és a ferrocenil analóg **13** L12010 sejtekkel, illetve Molt 4/C8 és CEM T-limfocitákkal szemben kapott IC₅₀ értékei hasonló (5-10 μ M) nagyságrendűnek bizonyultak [D29]. Hasonló eredményt mutatott az **5-9** és **10-14** párok P388 sejtekkel szemben meghatározott IC₅₀ értékeinek összehasonlítása is [D25]. Mivel a **10-14** ferrocenil-kalkonok nem rendelkeznek spontán tiol-reaktivitással, így feltételezhető, hogy a vegyületek hatása a ferrocenil molekularész redox tulajdonságai és/vagy a molekulák nem-kovalens kölcsönhatásainak eredményeként értéklehetők.

3.7. A daganatsejtekkel szemben mutatott toxikus hatások molekuláris mechanizmusának megismerése miatt megvizsgáltuk két különböző toxicitással bíró (*E*)-2-(4'-X-benzilidén)-1-benzoszuberón származék (**7b** és **7c**) Jurkat T-sejtek sejtciklusára gyakorolt hatását. A két vegyület ekvitoxikus dózisa hatásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy a vegyületek erős apoptózist indukáló szerek. A hatékonyabb vegyület (**7c**) esetén kifejezett G₂/M fázisú sejtciklus gátlás és poliploid sejtek képződése volt megfigyelhető. A vegyületek sejtciklusra gyakorolt hatása alapján feltételezhető, hogy azok kölcsönhatást alakítanak ki celluláris makromolekulákkal (pl. tubulinnal, DNS-sel) [D28].

3.8. A 4'-metoxi-szubsztituált héttagú gyűrűs kalkonszármazék (**7c**), valamint nyíltláncú kalkon (**4c**) és további karbociklusos analógok (**5c,6c**) erős *in vitro* CYP 1A enzimgátló hatást mutattak [D31]. A hatást a **7c** vegyület tumorspecifikus gének expressziójára gyakorolt hatása alapján *in vivo* állatkísérletekben is igazoltuk. A vegyület csökkentette a 7,12-dimetilbenz[a]antracén (DMBA) okozta expresszió növekedését a c-myc, Ha-ras és p53 géneknek [D30]. Az eredmények alapján a **7c**

hatékony duális (kemopreventív és daganatsejt citotoxikus) hatású vegyületek tervezésének és szintézisének kiindulási anyagának tekinthető.

3.9. Fordított fázisú vékonyréteg kromatográfiás (RF-VRK) módszer alkalmazásával igazoltuk, hogy a szintézisek során izolált (*E*)-konfigurációjú **5-7** származékok fény hatására reverzibilis (*E*)/(*Z*)-izomerizációt szenvednek [D16]. Az (*E*)/(*Z*) izomer-párok elválasztására GC-FID és HPLC-UV-Vis módszereket dolgoztam ki, melyeket vizsgálataink során rutinszerűen alkalmaztunk a kiindulási kalkonszármazékok kémiai és sztereokémiai tisztaságvizsgálatára. GC vizsgálataink során összefüggést állapítottunk meg az izomerek planaritása és retenciós ideje között [D16].

3.10. Az **5-7** származékok (*E*)- és (*Z*)-izomerjeinek lipofilitását RF-VRK és HPLC-UV-Vis módszerekkel jellemeztük. A vegyületek RF-HPLC módszerrel meghatározott retenciós tényező (k') értékeinek összehasonlításával felismertem, hogy a gyűrűtagszám és az enon-molekularész konfigurációjának megváltoztatásával (az (*E*)-konfigurációjú vegyületek (*E*)/(*Z*)-izomerizációjával) a nyíltláncú kalkonok (**4**) mind nagyobb, mind kisebb lipofilitással rendelkező származékai állíthatók elő. A (*Z*)-izomerek (*E*)-izomerekhez viszonyított lipofilitása a gyűrűtagszám növekedésével párhuzamosan csökkent [D17].

3.11. Az (*E*)-konfigurációjú vegyületek körében szerkezet-hatás összefüggéseket ismertem fel a vegyületek $\log P_{VRK}$ értékei, valamint a gyűrűtagszám és a benzilidén-molekularész szubsztituenseinek minősége és helyzete között. A **7** benzoszuberonszármazékok esetén azt találtuk, hogy egy adott szubsztituenst *orto*-, *meta*-, illetve *para*-helyzetben tartalmazó vegyületek $\log P$ értékei a $\log P_{VRK}(orto) \leq \log P_{VRK}(para) \leq \log P_{VRK}(meta)$ sorrend szerint változnak [D23].

3.12. *In vivo* állatkísérletes modellen megvizsgáltuk egy 4-hidroxikalkon (**4q**) és egy 4-hidroxikalkon *bisz*-Mannich-származékának (**16a**) vékonybélből történő felszívódását és metabolizmusát. Megállapítottuk, hogy a két kalkonszármazék vékonybélből történő felszívódása jellegzetes különbségeket mutat: a *bisz*-Mannich-származék felszívódása lassúbb. A vegyületek szulfát-, glükuronid- és glutation-konjugátumait HPLC-MS módszerrel azonosítottuk a perfúziós oldatokban [D27].

3.13. 4'-helyzetben különbözőképpen szubsztituált kalkonok (így a 4'-metil- (**4b**) és 4'-metoxikalkon (**4c**), a **4r** és **4s** 4-hidroxikalkonok, a **16a** és **16b** 4-hidroxikalkon *bisz*-Mannich-származékok, valamint a **17a** és **17b** 2-szulfonamido-3'- és 4'-nitrokalkonok, és kinolinon gyűrűs analógjai (**18a** és **18b**) GSH és NAC modell tiolvegyületekkel különböző pH értékeken lejátszódó reakciói során felismertem, hogy a **17a** és **17b** 2-szulfonamido-nitrokalkonok [D36], valamint a **16a** és **16b** 4-hidroxikalkon *bisz*-Mannich-származékok [D34] még savas (pH 3,2) körülmények között is szignifikánsan reaktívabbak mint a **4b**, **4c**, **4r** és **4s** származékok. A **16a,b** vegyületek GSH-val lejátszódó reakcióját az addíció sztereoszелеktivitásának megnövekedése kísérte, ami feltételezhetően a vegyületeknek a GSH protonált amino- és tiolcsoportjával kialakított kölcsönhatásainak következménye [D35].

3.14. A **4b**, **4c** kalkonok [D33] és a karbociklusos **6b**, **6c** [D39], illetve **7b**, és **7c** gyűrűs kalkon-analógok [D38] különböző pH körülmények között lejátszódó Michael-addíciós reakciói kezdeti sebességeinek és egyensúlyi elegyeik összetételének összehasonlítása során azt találtam, hogy a megfelelő **4** kalkonok reaktivitása nagyobb, a **7** gyűrűs kalkon-analógok reaktivitása kisebb, mint a **6b**, illetve **6c** hattagú

gyűrűs kalkon-analógoké. A tapasztalatok a negatív töltésű átmeneti termékek α -helyzetű alkilcsoportok elektronküldő hatása és cikloalkén gyűrűk konformációs korlátozása okozta magasabb energiatartalmával értelmezhetők. Minden sorban a 4'-metil-szubsztituált-származékok (**4b,6b,7b**) reaktivitása meghaladta a 4'-metoxi-szubsztituált (**4c,6c,7c**) vegyületekét. Ez a 4'-metoxicsoport hatékonyabb elektronsűrűség-növelő (pozitív rezonancia) hatásával magyarázható. A citotoxicitási adatokkal történő összehasonlítás alapján megállapítható, hogy a legkiemelkedőbb daganatsejt citotoxikus hatással bíró **7c** származék hatásának kialakítása a vegyület celluláris makromolekulákkal kialakított nem-kovalens kölcsönhatásának az eredménye.

4. Eredmények hasznosíthatósága

A kalkonokkal, illetve gyűrűs kalkon-analógokkal kapcsolatos kutatások elsődleges célja új, daganatsejt citotoxikus származékok szintézise, toxicitásuk szerkezet-hatás összefüggéseinek elemzése és citotoxikus hatásuk molekuláris szintű megismerése volt. Az eddigi eredmények alapján megállapítható volt, hogy a kalkon szerkezeti egység szubsztitúciója, valamint gyűrűs származékokká történő átalakítása a vegyületek biológiai hatásai módosításának alkalmas eszközei. A két területen megismert összefüggések új szerkezettel bíró – várhatóan hatékonyabb – származékok tervezésének alapjait képezhetik.

Vizsgálataim során felismertük, hogy a kalkonok és gyűrűs analógjaik oldataiban fény-inicializált (*E*)(*Z*)-izomerizáció történik. Mivel az (*E*)- és (*Z*)-izomerek tér- és elektronszerkezete, valamint lipofilítása is különbözik, felismerésünk hozzásegített az igazoltan sztereoegységes vegyületek biológiai és kémiai vizsgálatainak reprodukálható elvégzéséhez.

Felismertem, hogy a kalkonok és vizsgált gyűrűs analógjaik lipifilitása – a biológiai hatásukat befolyásoló egyik meghatározó fizikai-kémiai tulajdonsága – hogyan változik a gyűrűtagszám, a kalkon molekularész geometriai (*E/Z*) izomériájának, valamint a benzilidén csoport szubsztituenseinek függvényében. A szerkezet-lipofilitás összefüggések megismerése lehetőséget nyújt új kalkon-származékok log*P* tulajdonságának optimalizálásához.

A testidegen anyagok vékonybélből történő felszívódásának, metabolizmusának, valamint a vékonybél lumenbe történő kiválasztásának vizsgálatára alkalmazott állatkísérletes modell – megfelelő analitikai (HPLC-UV és HPLC-MS) módszerek kifejlesztésével kombinálva – alkalmas *in vivo* módszer új hatóanyagok vékonybélben történő komplex metabolizmusának és kiválasztódásának vizsgálatára. Saját kísérleteink során a módszert eredményesen alkalmaztuk modellvegyületek (pl. 4-nitrofenol), nem-szteroid gyulladásgátlók (pl. ibuprofén), valamint kapszaicinoidok (kapszaicin és dihidrokapszaicin) vékonybélből történő eliminációjának és metabolizmusának vizsgálatára. Utóbbi vizsgálatok részét képezték a PTE Regionális Tudáscentrum keretében kifejlesztett és szabadalmaztatott, kapszaicin tartalmú *per os* gyógyszerkészítmény preklinikai vizsgálati anyagának. A módszer – folyamatban lévő – *in vitro* körülmények közötti adaptálása alkalmazható a humán vékonybél metabolikus és transzport aktivitásának vizsgálatára is.

A vegyületek tiol-reaktivitásának vizsgálati eredményei rámutattak, hogy a 4'-szubsztituált nyíltláncú kalkonok (**4**), a 2-szulfonamido-3'- és 4'-nitrokalkonok (**17a,b**) valamint a 4-hidroxikalkonok *bisz*-Mannich-származékai (**16a,b**) nagyfokú spontán tiol-reaktivással bíró származékok. Így biológiai hatásaik kialakulásában a celluláris makromolekulák reaktív tiolcsoportjaival szemben mutatott spontán tiol-reaktivitás szerepet játszhat. További származékok tervezése és szintézise új típusú kovalens-módosító hatásmechanizmussal bíró biológiailag aktív vegyületek fejlesztésének kiindulási szerkezetei lehetnek.

Ugyanakkor, a karbociklusos (**5-7**) és a heterociklusos (**18a,b**) származékok tiol-reaktivása messze elmarad a nyíltláncú analógokétól. Így a két sorozat további származékainak tervezésénél utóbbi esetben az új kalkon-származékok és a célmolekula nem-kovalens kölcsönhatásának optimalizálása lehet a sikeres gyógyszerfejlesztés stratégiája.

A vegyületek spontán tiol-reaktivitásának további vizsgálata (különösképpen a nem-ionizált tiolok Michael-addíciós reakciójának mechanizmusa és sztereokémiája), a keletkező GSH-konjugátumok profarmakonként történő alkalmazása (tiol-kicserélődési reakcióinak vizsgálata) az eddigi vizsgálatok folytatásának perspektivikus területeit jelentik, mind elméleti mind gyakorlati szempontokból.

Ugyanakkor, a kifejezett ICT szerkezettel bíró (pl. dimetilamino- és metoxi-szubsztituált) kalkonok és gyűrűs kalkon-analógok nemlineáris optikai rendszerek. Bár e területen ezideig nem kerestem kooperáló partnereket, a meglévő származékok vizsgálatainak eredményei alapján ez az alkalmazási lehetőség új származékok tervezését és szintézisét teheti indokolttá.

A kalkonok (különösképpen a hidrox- és metoxi-szubsztituált származékok antioxidáns hatása jól dokumentált az irodalomban. E kémiai tulajdonságai alapján a vegyületek többek között oxidációra hajlamos (lipofil tulajdonságú) termékek (pl. biodízel üzemanyag) stabilitásának biztosítására felhasználható vegyületek lehetnek. Egy brazil kutatócsoporttal történő együttműködés keretében e téren új kalkonokszármazékok szintézise és vizsgálata van folyamatban.

A kalkonok (különösképpen a hidrox- és metoxi-szubsztituált származékok reaktív gyökökkel lejátszódó reakcióin alapuló antioxidáns hatása jól dokumentált az irodalomban. E kémiai tulajdonságai alapján a vegyületek többek között oxidációra hajlamos (lipofil tulajdonságú) termékek stabilitásának biztosítására felhasználható vegyületek lehetnek. Egy brazil kutatócsoporttal történő együttműködés keretében e téren új, a biodízel üzemanyag stabilitásának megnövelésére alkalmas származékok szintézise és antioxidáns (gyökfogó) hatásának szerkezet-hatás összefüggéseinek vizsgálata van folyamatban.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények (*Levelező szerző)

D1. Rozmer, Z.; **Perjesi, P.***. *Phytochem. Rev.* **2016**, 15, 87–120.

D2. **Perjesi, P.***; Perez, C.N.; Kulcsár, G. In *Chalcones and their synthetic analogs*; **Perjesi, P.**, Ed.; Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, USA, **2020**, 3-37.

D3. Vasková*, J.; Kocan, L.; Vasko, L.; **Perjesi, P.*** *Molecules*. **2023**, 28, 1447.

- D4. Perjési, P.***; Caridad, N.P.; Aline, B.; Giulio, D. d'Oliveira; Kenari, F. In *Glutathione: Biosynthesis, Functions and Biological Implications*; **Perjési, P.**, Ed.; Nova Science Publishers: Hauppauge, New York, **2019**, 373-403. ISBN 978-1-5361-4740-7
- D5.** Dimmock, J.R.; Kandepu, N.M.; Nazarali, A.J.; Kowalchuk, T.P.; Motaganahalli, N.; Quail, J.W.; Mykytiuk, P.A.; Audette, G.F.; Prasad, L.; **Perjési, P.**; Allen, T.M.; Santos, C.L.; Szydlowski, J.; De Clercq, E.; Balzarini J. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1358–1366.
- D5a.** Dimmock, J.R.; **Perjési, P.** Gyűrűs kalkonszármazékok szintézise és tumorelles hatását vizsgálata. *Gyógyszerészet*, **2001**, *45*, 210-215.
- D6. Perjési, P.**; Nusser, T.; Tarczay, G.; Sohár, P. *E-2-Benzylidenebenzocycloalkanones. Stereostructure and NMR spectroscopic investigation. J. Mol. Struct.* **1999**, *479*, 13-19.
- D7.** Tarczay, G.; Vékey, K.; Ludányi, K.; **Perjési, P.**; Sohár, P. *E-2-Benzylidenebenzocycloalkanones. II. IR and mass spectrometric investigations. J. Mol. Struct.* **2000**, *520*, 97-102.
- D8.** Sohár, P.; **Perjési, P.**; Tornroos, K.; Husebye, S.; Vértes, A.; Vankó, G.; Bozak, R. Study on ferrocenes, Part 7. *E-2-Ferrocenemethylene-1-benzocycloalkanones. Synthesis, stereostructure, NMR, IR X-Ray, and Mossbauer spectroscopic investigation. J. Mol. Struct.* **2000**, *524*, 297-304.
- D9.** Dimmock, J.R.; Zello, G.A.; Oloo, E.O.; Quail, J.W.; Kraatz, H.-B.; **Perjési, P.**; Aradi, F.; Takács-Novák, K.; Allen, T.M.; Santos, C.L.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Stables J.P. Correlations between cytotoxicity and topography of some 2-arylidenbenzocycloalkanones determined by X-ray crystallography. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3103–3111.
- D10.** Sohár, P.; Csámpai, A.; **Perjési, P.** *ARKIVOC* **2003**, *2003*, 114–120.
- D11. Perjési, P.**; Das, U.; De Clercq, E.; Balzarini, J.; Kawase, M.; Sakagami, H.; Stables, J.P.; Loránd, T.; Rozmer, Z.; Dimmock, J.R. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 839-845.
- D12.** Valkonen, A.; Laihia, K.; Kolehmainen, E.; Kauppinen, R.; **Perjési, P.** *Struct. Chem.* **2012**, *23*, 209–217.
- D13.** Oloo, E.; Quail, J.; **Perjési, P.**; Dimmock, J. *Acta Crystallogr. Sect. E-Struct. Rep. ONLINE* **2002**, *58*, o582–o583.
- D14.** Oloo, E.; Quail, J.; **Perjési, P.**; Dimmock, J. *Acta Crystallogr. Sect. E-Struct. Rep. ONLINE* **2002**, *58*, o580–o581.
- D15. Perjési, P.***; Perjessy, A.; Kolehmainen, E.; Ősz, E.; Samalikova, M.; Linnanto, J.; Virtanen, E. *J. Mol. Struct.* **2004**, *697*, 41-47.
- D16. Perjési, P.***; Takács, M.; Ősz, E.; Pintér, Z.; Vámos, J.; Takács-Novák, K. *J. Chromatogr. Sci.* **2005**, *43*, 289–295.
- D17. Perjési, P.*** *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 1275–1281.
- D18.** Fodor, K.; Tomeckova, V.; Kőszegi, T.; Kron, I.; **Perjési, P.*** *Monatsh. Chem.* **2011**, *142*, 463-468.

- D19.** Lóránd, T.; Kulcsár, G.; Horváth, P.; **Perjési, P.*** In *Chalcones and their synthetic analogs*; **Perjési, P.**, Ed.; Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, USA, **2020**, 57-92. ISBN 978-1-5361-8794-6
- D20.** Tomecková, V.; Veliká, B.; Malhotra, S.; Revická, M.; **Perjési, P.** *Spectrosc. Lett.* **2015**, *48*, 317-323.
- D21.** **Perjési, P.***; Linnanto, J.; Kolehmainen, E.; Ősz, E.; Virtanen, E. *J. Mol. Struct.* **2005**, *740*, 81-89.
- D22.** Takács-Novák, K.; **Perjési, P.**; Vámos, J. *JPC-J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* **2001**, *14*, 42-46.
- D23.** Rozmer, Z.; **Perjési, P.**; Takács-Novák, K. *JPC-J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* **2006**, *19*, 124-128.
- D24.** Rozmer, Z.; **Perjési, P.*** *JPC-J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC* **2013**, *26*, 284-288.
- D25.** **Perjési, P.***; Takács-Novák, K.; Rozmer, Z.; Sohár, P.; Bozak, R.; Allen, T. *Cent. Eur. J. Chem.* **2012**, *10*, 1500-1505.
- D26.** Bernardes, A.; Kuzma, M.; Almási, A.; Mayer, M.; Pérez, C.N.; **Perjési, P.*** *Open Med. Chem. J.* **2022**, *16*, e187410452208110.
- D27.** Das, U.; Lóránd, T.; Dimmock, S.G.; **Perjési, P.**; Dimmock, J.R. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2015**, *30*, 259-263.
- D28.** Rozmer, Z.; Berki, T.; **Perjési, P.*** *Toxicol. In Vitro* **2006**, *20*, 1354-1362.
- D29.** Vasková, J.; Daniel, Z.; Vasko, L.; **Perjési, P.**; Porácová, J.; Mojzisová, G. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Anim.* **2015**, *51*, 964-974.
- D30.** **Perjési, P.***; Bayer, Z.; Ember, I.A. *Anticancer Res.* **2000**, *20*, 475-482.
- D31.** Monostory, K.; Tamási, V.; Vereczkey, L.; **Perjési, P.*** *Toxicology* **2003**, *184*, 203-210.
- D32.** Rozmer, Z.; Berki, T.; Maász, G.; **Perjési, P.*** *Toxicol. In Vitro* **2014**, *28*, 1359-1365.
- D33.** Kenari, F.; Molnár, S.; **Perjési, P.*** *Molecules* **2021**, *26*, 4332.
- D34.** Bernardes, A.; Pérez, C.N.; Mayer, M.; daSilva, C.C.; Martins, F.T.; **Perjési, P.*** *J. Braz. Chem. Soc.* **2017**, *28*, 1048-1062.
- D35.** Bernardes, A.; D'Oliveira, G.D.; Silezin, A.; Kuzma, M.; Molnár, S.; Noda Pérez, C.; **Perjési, P.*** *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2018**, *351*, 1700386.
- D36.** d'Oliveira, G.D.; Custodio, J.M.; Moura, A.F.; Napolitano, H.B.; Pérez, C.N.; Moraes, M.O.; Prókai, L.; **Perjési, P.*** *Med. Chem. Res.* **2019**, *28*, 1448-1460.
- D37.** **Perjési, P.***; Maász, G.; Reisch, R.; Benkő. *Monatsh. Chem.* **2012**, *143*, 1107-1114.
- D38.** Kenari, F.; Molnár, S.; Borges, I.D.; Napolitano, H.B.; **Perjési, P.*** *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 8557.
- D39.** Kenari, F.; Pintér, Z.; Molnár, S.; Borges, I.D.; Camargo, A.J.; Napolitano, H.B.; **Perjési, P.*** *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 7773.