

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**ÚJ, 3,4-DISZUBSZTITUÁLT PIRROLIN NITROXIDOK SZINTÉZISE ÉS
ALKALMAZÁSA**

Úr Györgyi

Programvezető és Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Sümegi Balázs

Témavezető: Dr. Kálai Tamás



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Szerves és Gyógyszerkémiai Intézet

Pécs

2018

1. Bevezetés

A Pécsi Tudományegyetem Szerves és Gyógyszerkémiai Intézetében csaknem 60 éve végeznek tudományos kutatómunkát a heterociklusos szerves vegyületek területén. Az 1970-es években Dr. Hideg Kálmán a néhai Prof. Tigyi József akadémikus vezette Biofizikai Intézetben kezdett el foglalkozni stabilis nitroxid szabad gyökök szintézisével. Eleinte ezek a vegyületek a helyi biofizikai kutatások igényeit elégítették ki, majd később a nemzetközi kapcsolatok kiszélesedésével, az új alkalmazási területek megjelenésével az előállított vegyületek száma jelentősen növekedett. A Pécsi Tudományegyetem Biofizikai Intézetében majd a Központi Kutató Laboratóriumban néhai Belágyi József professzor úr és munkatársai foglalkoztak EPR spektroszkópiával.

A nitroxidok preparatív szerves kémiája, átalakításai és alkalmazásai témában Dr. Lex László, Dr. Csekő József, Dr. Sár Cecília, Dr. Kálai Tamás, Dr. Bognár Balázs, Dr. Kulcsár Győző készítették el doktori értekezésüket.

A pirrolin- és piperidin-vázis stabilis nitroxidok szintézise számos nehézséget rejt magában:

- Gyakorlatilag egy kiindulási anyagból (triacetonamin) soklépéses szintézissel kell megoldani a célmolekulák előállítását.
- Az ambifil nitroxid jelenlétében csak bizonyos típusú reakciók hajthatók végre.
- Többszörösen szubsztituált öttagú gyűrűknél számottevő szterikus gátlás alakul ki, amely a reakciók megvalósítását nehezíti illetve sok esetben lehetetlenné teszi.

Az elmúlt években a szabadgyökös vegyületek kutatása önálló tudományterületté fejlődött az orvostudomány, a fizika és a kémia területén. A stabilis nitroxid szabad gyököket alkalmazzák spinjelzőként fehérjék szerkezetének a vizsgálatára, valamint kimutatták azt is, hogy ezen vegyületek és amin prekursoraik antioxidáns, szuperoxid diszmutáló és kataláz hatással is rendelkeznek. A nitroxidokat újabban használják MRI és EPR kontrasztanyagként, sejtszaporodást és bakteriális biofilm kialakulást gátló anyagként, polimerizációs folyamatok mediátoraként valamint akkumulátorok redox aktív anyagaként.

A Prof. Sümegi Balázs vezette Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola PhD-hallgatójaként 2014-ben kapcsolódtam be a Hideg professzor úr által vezetett kutatócsoport munkájába Dr. Kálai Tamás témavezetésével. A PhD-értekezésemben az elmúlt 3 évben általam előállított vegyületek szintézisét foglalom össze.

2. Célkitűzés

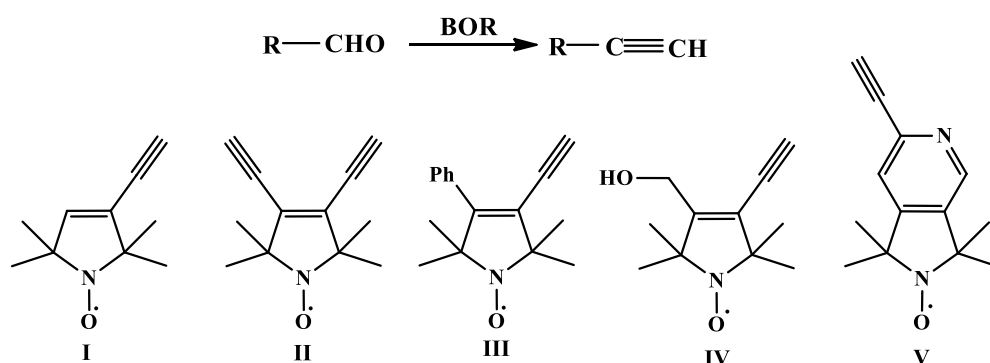
1. Új módszerek szén-szén kötés kialakítására stabilis nitroxidok jelenlétében.
2. Új, 3,4-diszubsztituált pirrolin nitroxidok szintézise.
3. Az új 3,4-diszubsztituált pirrolin nitroxidok továbbalakításai különös tekintettel spinjelző és paramágneses bioaktív vegyületek szintézisére.
4. Nitroxiddal kondenzált heterociklusok előállítása.
5. Paramágneses ligandumok és spinjelölt bioaktív vegyületek szintézise.

3. Alkalmazott vizsgálati módszerek

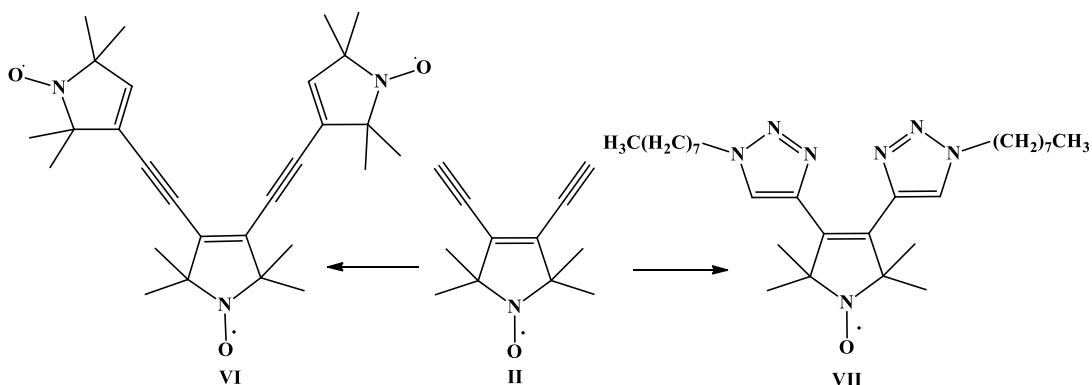
A tézisekben közölt vegyületek előállítására a modern preparatív szerves kémia makro és félmikro módszereit alkalmaztuk. A vegyületeket Merck Kieselgel 60 szilikagélen (40-63 μm) tisztítottuk flash-oszlopkromatográfiás módszerrel. Az anyagok tisztaságát a kereskedelmi forgalomba elérhető, Merck Kieselgel GF₂₅₄ (20 × 20 × 0,02 cm) vékonyréteg-kromatográfiás lapon ellenőriztük. Az olvadáspontokat Boetius olvadáspont-mérővel határoztuk meg. A vegyületek mikroanalízisét Fisons EA 1110 CHNS elemanalizátorral végeztük. A tömegspektrumok TermoQuest Automass-Multi (EI) és Thermo Scientific Q-Exactive HPLC/MS/MS ESI(+) ionizációs készülékekkel készültek. Az NMR spektrumok felvétele Bruker Avance III Ascend 500 készülékkel történt, a jel eltolódását TMS-hez viszonyítottuk. A paramágneses származékokat difenil-hidrazin vagy pentafluorofenil hidrazin jelenlétében (5 ekvivalens/gyök) vizsgáltuk. Az ESR spektrumokat a gyök 10^{-4} M CHCl_3 -os oldatából vettük fel Miniscope MS 200 készüléken. Az IR spektrumokat Bruker Alfa FT-IR készülékkel vettük fel, ZnSe ATR feltétellel. Az UV/VIS spektrumokat Shimadzu UV mini 1240 és Specord 40 spektrofotométerrel kvarc küvettákban (1 × 1 cm) vettük fel. A mikrohullámú reakciókat Milestone MikroSYNTH készülékkel, bomba csőben (15 bar) végeztük el, a hőmérsékelt mérésére beépített infra vagy száloptikás GaAs szenzort használtunk.

4. Új tudományos eredmények

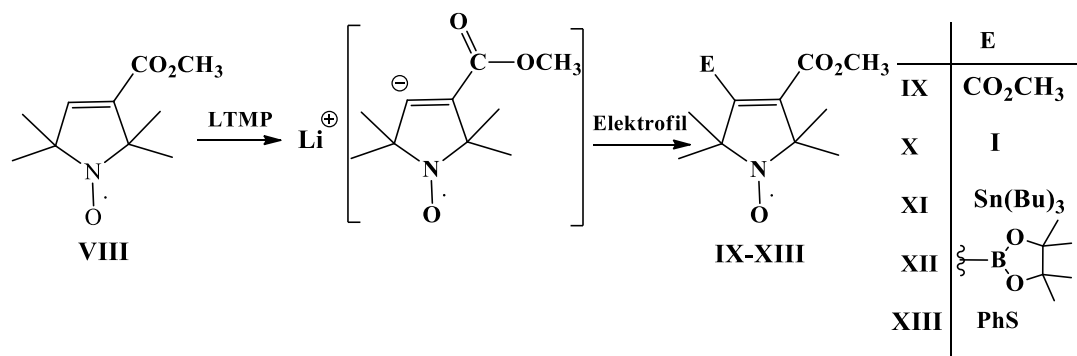
- Új módszert dolgoztunk ki az acetyléncsoportot tartalmazó pirrolin nitroxidok szintézisére. Paramágneses aldehidből kiindulva egy lépéses reakcióban, dimetil-(1-diazo-2-oxopropil)foszfonát (Bestmann-Ohira-reagens, BOR) alkalmazásával sikerült megvalósítanunk olyan 3-szubsztituált és 3,4-diszubsztituált pirrolin nitroxidok szintézisét, melyek egy vagy két etinil funkciós csoportot tartalmaznak. Így kaptuk az **I** 3-etinil-pirrolin nitroxidot, a **II** bisz-acetilént, a **III** 3-etinil-4-fenil-pirrolin nitroxidot, a **IV** 3-etinil-4-hidroxi-metil-pirrolin nitroxidot valamint az **V** paramágneses 2-etinilpiridint.¹



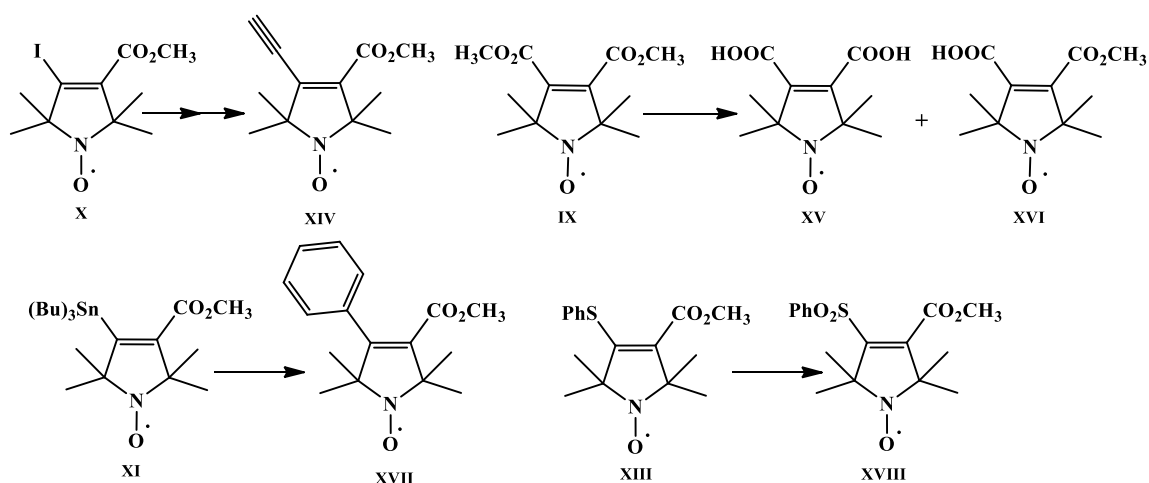
A **II** bisz-acetilénből Sonogashira-keresztkapcsolási reakcióval kaptuk a **VI** triradikális vegyületet, valamint 1,3-dipoláros cikloaddíciós reakcióban a **VII** 3,4-bisz(triazolil)pirrolin nitroxidot.¹



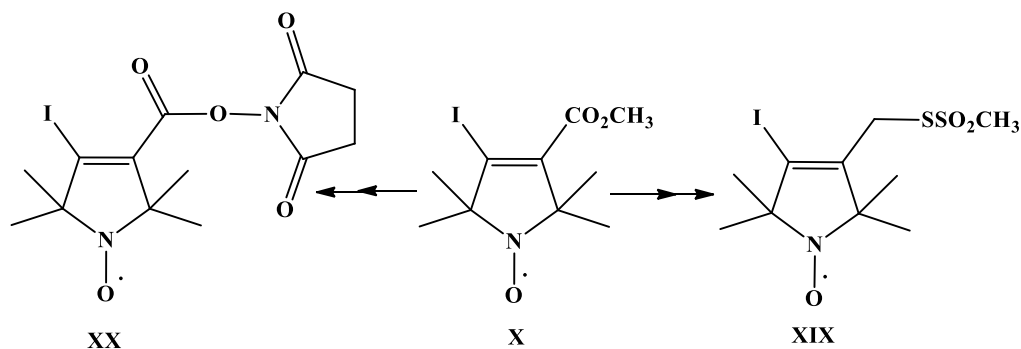
- Az α,β -telítetlen pirrolin nitroxid észtert a β -széven lítium-2,2,6,6-tetrametil piperidinnel (LTMP) lítiálva, majd elektrofillal reagáltatva sikerült egy jobb módszert kidolgoznunk a 3,4-diszubsztituált pirrolin nitroxidok szintézisére. Ez lehetőséget nyújtott új jód- (**X**), ón- (**XI**), bór- (**XII**) és kénorganikus (**XIII**) vegyületek előállítására. A **IX** 3,4-dikarboxi-pirrolin nitroxid észter egy lépésben előállítható volt a korábban kidolgozott 9 lépéses módszer helyett.²



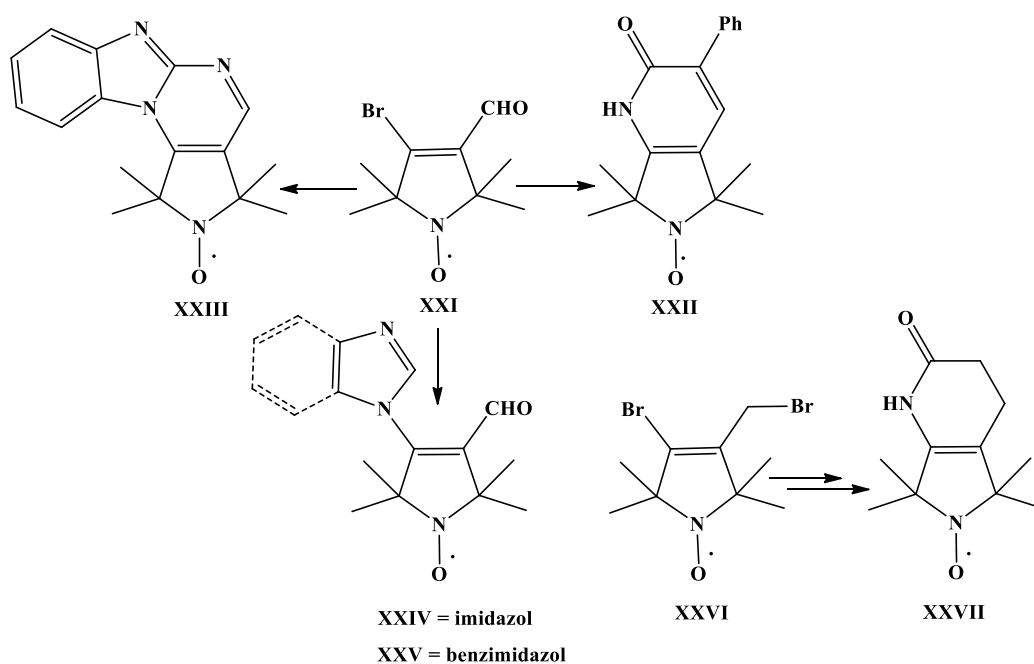
3. Az 3,4-diszubsztituált pirrolin nitroxidok továbbalakítási lehetőségeit is megvizsgáltuk. A **X** jódzámazékból Sonogashira-kapcsolási reakcióval a **XIV** etinilcsoportot tartalmazó pirrolin nitroxidot kaptuk, a **IX** diészter teljes és parciális hidrolízisével a **XV** dikarbonsavat és a **XVI** karbonsav észtert, a **XI** tributil-ón vegyületből Stille-kapcsolási reakcióban a **XVII** fenil észtert valamint a **XIII** fenil szulfid oxidálásával a **XVIII** fenil szulfont állítottuk elő.²



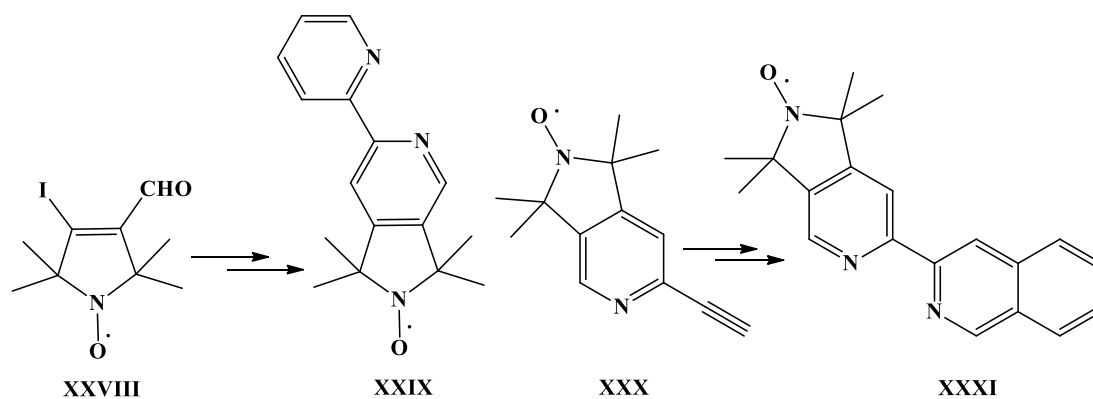
A **X** β -jód- α,β -telítetlen észterből többlépéses reakciókban sikerült új, a fehérjék cisztein oldalláncának módosítására alkalmas **XIX** metántioszulfonátot illetve aminocsoportok specifikus jelölésére használható **XX** aktív észtert előállítanunk.³



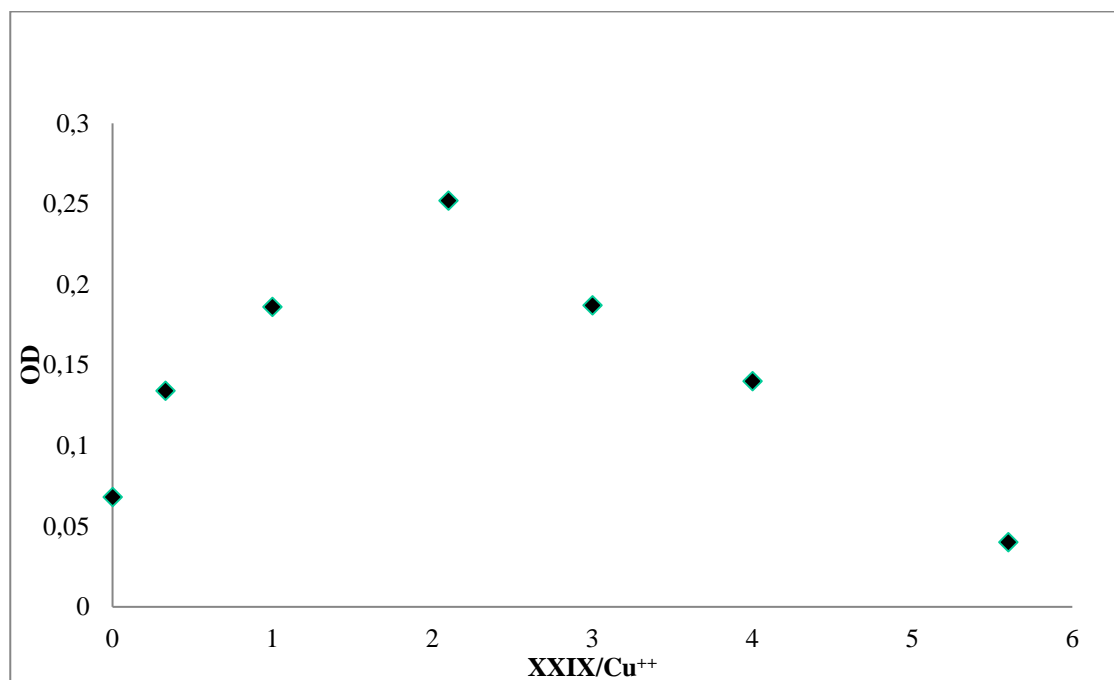
4. Pirrolin nitroxiddal anellált gyűrűrendszerek kialakítását valósítottuk meg Pd-katalizált keresztkapcsolási reakciók alkalmazásával. A **XXI** β -bróm- α,β -telítetlen aldehid gyűrűzárási reakciókban Buchwald-Hartwig-kapcsolással a **XXII** pirrolo[3,4-b]piridin-2(5H)-on típusú vegyületet³ valamint imidazzollal, benzimidazzal és 2-amino-benzimidazzal N-vinilezési reakciókban a **XXIII**, **XXIV** és **XXV** vegyületeket⁴ adta. Tovább vizsgálva a C-N kötés kialakítására alkalmas reakciókat a **XXVI** dibromvegyületből többlépéses reakcióban malonészter szintézisét követően amid kialakításával és gyűrűzárással a **XXVII** piperidin-2-on típusú vegyülethez³ jutottunk.



5. A **XXVIII** jód-aldehid és a **XXX** 2-etinilpiridin jó kiindulási vegyületeknek bizonyultak paramágneses komplexképző ligandumok előállítására. Sonogashira-kapcsolással, majd metanolos-ammóniában, AgOTf katalizátorral végzett gyűrűzárással kaptuk a **XXIX**³ és a **XXXI**¹ paramágneses α,α' -dipiridil típusú vegyületeket. A vegyületek komplexképző sajátosságait Cu^{2+} ionokkal, spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk.

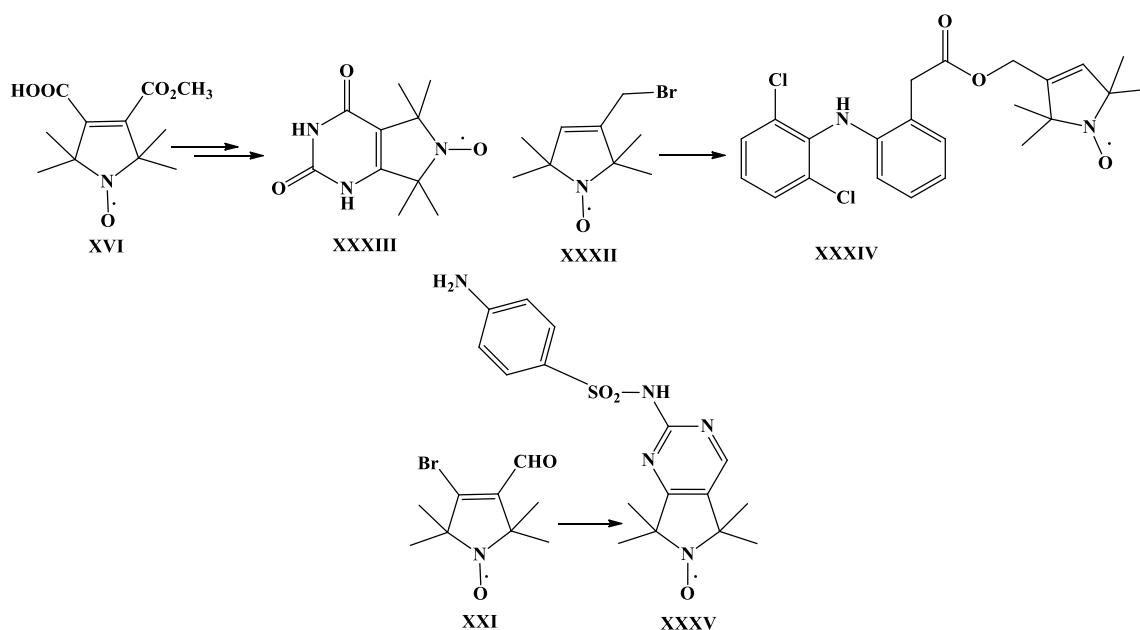


A **XXIX** vegyület Job Plot diagramja alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a **XXIX**/ Cu^{2+} komplexben a ligandum/fém 2:1 aránya megegyezik az α,α' -dipiridil/ Cu^{2+} komplex ligandum/fém arányával. A **XXIX** vegyület komplexképző sajátossága miatt esetlegesen alkalmazható fehérjék átmeneti fémionokat tartalmazó prosztetikus csoportjainak módosítására.³

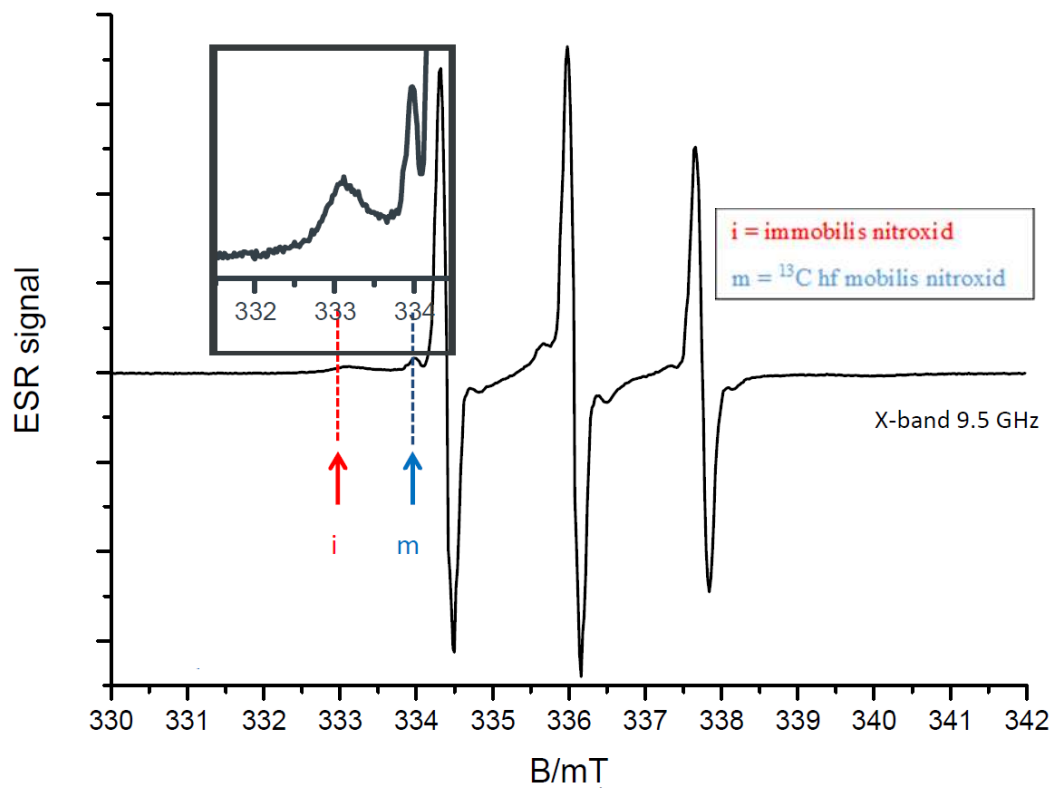


1. ábra: A **XXIX**/ Cu^{2+} komplex Job Plot diagramja.

A **XVI** karbonsav észter, a **XXI** β -bróm- α,β -telítetlen aldehid és a **XXXII** allil-bromid vegyületek biológiailag aktív molekulák előállítására is alkalmasak. Felismerve a spinjelölt nukleinsavak fontosságát a **XVI** karbonsav észterből többlépéses reakcióban kaptuk a **XXXIII** pirrolin nitroxiddal kondenzált uracilszármazékot.² A nitroxiddal módosított gyógyszer-molekulák kötődésének a vizsgálatára szolgált a spinjelölt-diklofenák szintézise. A diklofenák széles körben alkalmazott COX-1 gátló. A diklofenák-nátrium sóját a **XXXII** paramágneses allil-bromiddal alkilezve kaptuk a **XXXIV** nitroxiddal észteresített diklofenákot. Ennek politejsav hordozóról történő kioldódási kinetikáját jelenleg is vizsgálják.



A **XXI** β -bróm- α,β -telítetlen aldehidet szulfaguanidinnel reagáltatva Pd-katalizált reakcióban a **XXXV** paramágnesesen módosított szulfadiazinhoz jutottunk.³ A **XXXV** paramágneses spinjelölt szulfadiazint az osnabrücki egyetem kutatóival együttműködve M. Matthies és H. J. Steinhoff kutatócsoportjával teszteltük EPR spektroszkópiai környezetanalitikai vizsgálatokkal. A **XXXV** spinjelölt szulfadiazin analóg adszorpcióját vizsgáltuk huminsav modellen. A vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a szulfadiazin kovalens kötések keresztül kapcsolódhatnak a huminsavhoz, ezt az EPR spektrumban a 333 mT térerőnél jelentkező csúcs mutatja⁵ (2. ábra).



2. ábra: A **XXXV** vegyület-huminsav keverék EPR spektruma.

5. Irodalomjegyzék

5.1. A disszertáció alapjául szolgáló cikkek jegyzéke

1. Synthesis of New Pyrroline Nitroxides with Ethynyl Functional Group.
Úr, Gy.; Kálai, T.; Balog, M.; Bognár, B.; Gulyás-Fekete, G.; Hideg, K. Synth. Commun. **2015**, 45, 2122-2129. **IF**: 1,065. cit. 1
2. Facile Syntheses of 3,4-Disubstituted Pyrroline Nitroxides and their Further Synthetic Applications.
Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K. Tetrahedron Lett. **2016**, 57, 778-780. **IF**: 2,193. cit. 3
3. Palladium- and/or Copper-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Paramagnetic Vinyl Bromides and Iodides.
Úr, Gy.; Gulyás-Fekete, G.; Jekő, J.; Hideg, K.; Kálai, T. Synthesis **2017**, 49, 3740-3748. **IF**: 2,65 (2016-os IF). cit. 1
4. N-Vinylation of Imidazole and Benzimidazole with Paramagnetic Vinyl Halides.
Úr, Gy.; Gulyás-Fekete, G.; Hideg, K.; Kálai, T. Molbank **2018**, M980; doi: 10.3390/M980
5. Interaction kinetics of sulfadiazine and N-acetyl-sulfadiazine with soil humic acid: ESR investigations with nitroxide spin label.
Ricke, A.; Bondarenko, E.; Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K.; Steinhoff, H. J.; Matthies, M. Environ. Sci. Technol. (Bírálat alatt ID: es-2018-01148h)

5.2. Az értekezés tárgykörébe tartozó cikkek és előadások

1. Úr, Gy.; Kálai, T.; Balog, M.; Gulyás Fekete, G.; Hideg, K. Synthesis of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides with ethynyl functional group (p) 16th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Balatonalmádi, Hungary, June 14 - 17, 2015.

2. Kálai, T.; Úr, Gy.; Balog, M.; Gulyás Fekete, G.; Hideg, K. Synthesis of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides with ethynyl functional group (p) National Organic Symposium, College Park MD, USA, June 28 – July 2, 2015.
3. Úr, Gy.; Bognár, B.; Gulyás-Fekete, G.; Balog, M.; Kálai, T.; Hideg, K. 3,4-Diszubsztituált pirrolin nitroxidok szintézise, spinjelölt uracil előállítása *MTA Heterociklusos Elemorganikus Munkabizottság Balatonszemes, 2016. május 18 - 20.*
4. Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K. Facile syntheses of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides and their further synthetic applications (p) Xth International Workshop on EPR in Biology and Medicine, Krakow, Poland, 2 - 6 October 2016.
5. Úr, Gy.; Gulyás Fekete, G.; Jekő, J.; Hideg, K.; Kálai, T. Palladium-and/or Copper-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Paramagnetic Vinyl Bromides and Iodides 18th Tetrahedron Symposium, Budapest, Hungary, 27 - 30 June 2017.

6. Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok témavezetőmnek Dr. Kálai Tamás egyetemi tanárnak, az MTA doktorának a munkám szakmai irányításáért, értékes tanácsaiért, aki lehetővé tette, hogy az általa vezetett kutatócsoport munkájába bekapcsolódhattam. Megköszönöm Dr. Hideg Kálmán egyetemi tanárnak munkám támogatását és a lehetőséget, hogy munkámat a Szerves és Gyógyszerkémiai Intézetben végezhettem. Köszönöm Pápayné Dr. Sár Cecília egyetemi docens mindig segítőkész támogatását. Köszönöm Dr. Bognár Balázs adjunktus mindennapi munkámban nyújtott segítségét. Köszönetet mondok Dr. Jekő Józsefnek a tömegspektrometrometriai és Dr. Gulyás Fekete Gergelynek az NMR vizsgálatokban nyújtott segítségükért.

Köszönöm a külföldi együttműködő partnereknek Prof. Heinz-Jürgen Steinhoff (University of Osnabrück, Osnabrück, Germany), Prof. Michael Matthies (University of Osnabrück, Osnabrück, Germany), Elena Golubeva (Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia) az általam szintetizált vegyületek vizsgálatában nyújtott segítségét.

Köszönöm Balog Mária, Csokona Viola, Lamperth Éva, Lazsányi Noémi, Kish Krisztina vegyésztechnikusok munkáját és azt, hogy mindig összetartó és baráti légkört biztosítottak a laboratóriumban. Köszönöm Lengyel Ildikó, Dr. Deák Ivánné titkárnők és Jozipovics Róbertné kisegítő munkáját.

Ezúton is szeretném megköszönni az OTKA 104956, GINOP 2.2.1-15-2016-00020 és EFOP – 3.6.1-16-2016-00004 pályázatoknak a munkám elvégzéséhez nyújtott anyagi támogatását.

Végezetül köszönöm családom és barátaim megértő türelmét és támogatását, hogy szeretetükkel biztosították számomra a nyugodt háttérrel.

DOCTORAL (PhD) THESIS

**SYNTHESIS OF NEW 3,4-DISUBSTITUTED PYRROLINE NITROXIDES AND
THEIR FURTHER SYNTHETIC APPLICATIONS**

Györgyi Úr

Head of the PhD School and the PhD Program: Prof. Dr. Sümegi Balázs

Tutor: Prof. Dr. Kálai Tamás



University of Pécs, Medical School

Institute of Organic and Medicinal Chemistry

Pécs

2018

1. Introduction

Our research group at the Institute of Organic and Medicinal Chemistry at the University of Pécs has had a longstanding interest in the synthesis of heterocycles for nearly 60 years. In the 1970's Dr. Kálmán Hideg started the synthesis of stable nitroxide free radicals at the Department of Biophysics headed by Prof. József Tigyi. Initially, these compounds satisfied the needs of the local biophysical research and later, with the broadening of international relations, and the emergence of new applications, the number of produced compounds increased significantly. At the Department of Biophysics at the University of Pécs and after that at the Central Research Laboratory Prof. József Belágyi and his colleagues started to deal with EPR spectroscopy.

My predecessors Dr. László Lex, Dr. József Csekő, Dr. Cecília Sár, Dr. Tamás Kálai, Dr. Balázs Bognár, Dr. Győző Kulcsár also prepared their doctoral (PhD) dissertation in nitroxide topics.

The synthesis of stable pyrroline and piperidine nitroxides gives us several challenges:

- Triacetoneamine is the only starting compound to achieve versatile target molecules by multi-step syntheses;
- In the presence of ambifil nitroxide only limited types of reactions can be carried out;
- Densely substituted five-membered rings with significant steric inhibition make the realization of the reactions difficult or, in many cases impossible.

During the recent decades, the research of free radical compounds has developed like an independent scientific discipline in the fields of medicine, physics and chemistry. Stable nitroxide free radicals have been utilized in a variety of fields including spin labeling, the construction of organic-based magnets, MRI and EPR contrast agents, redox-active components of radical organic batteries, co-oxidants, and tools for controlled radical polymerization.

To fulfill these various requirements a broad range of different nitroxides with miscellaneous substituent patterns must be produced. I had an opportunity to join the research team as a Ph.D. student in 2014. This work includes the most important aspects of my contribution to these aims in the last 4 years.

2. Objectives

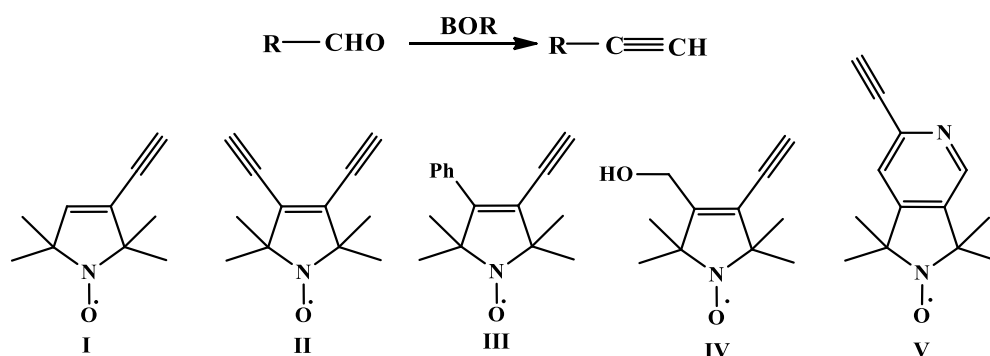
1. New methods for the carbon-carbon bond formations, in the presence of nitroxide free radicals;
2. Syntheses of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides;
3. Further transformations of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides for access spin labels and paramagnetic biomolecules;
4. Synthesis of nitroxide condensed heterocycles;
5. Synthesis of paramagnetic ligands and spin-labeled bioactive molecules.

3. Experimental procedures

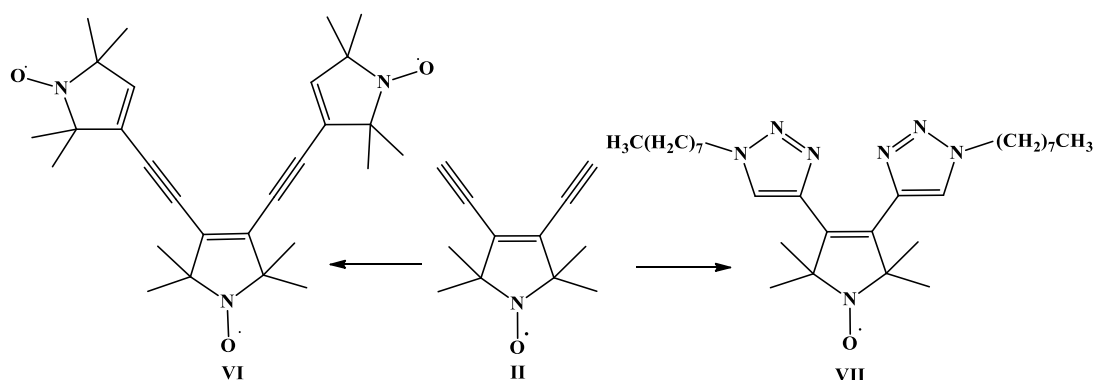
During our experiments we used macro- and half-micro methods of the modern preparative organic chemistry. The compounds were purified on Merck Kieselgel Silica Gel 60 (40 - 63 μm) by flash column chromatography. The purity of compounds was inspected by TLC on commercially available Merck Kieselgel GF₂₅₄ (20 \times 20 \times 0,02 cm) plates. The melting points were determined with Boetius micro-melting-point apparatus and are uncorrected. Elementary analyses were performed on Fisons EA 1110 CHNS elemental analyzer. Mass spectra were recorded on a ThermoQuest Automass-Multi (EI) and a Thermo Scientific Q-Exactive HPLC/MS/MS ESI(+) ionization. The NMR spectra were recorded on a Bruker Avance III Ascend 500 spectrometer; chemical shifts are referred to TMS. The paramagnetic compounds were reduced to the N-hydroxilamines with five equivalents of hydrazobenzene (DPPH)/radical in situ in the NMR tube. ESR spectra were taken on Miniscope MS 200 in 10^{-4} M CHCl_3 solution. The IR spectra were taken with Bruker Alpha FT-IR instrument with ATR support (ZnSe plate). The UV/Vis measurements were performed with a Shimadzu UV mini 1240 spectrophotometer in a quartz cuvette (1 \times 1 cm). Microwave-assisted reactions were carried out in a Milestone MicroSYNTH Labstation in sealed tubes (15 bar) with temperature control (fiber optic probe).

4. New scientific findings

1. 3-Substituted and 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides containing one or two ethynyl functional groups were achieved by the reaction of paramagnetic aldehydes with dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonate (Bestmann-Ohira reagent). Thus we synthesized the **I** 3-ethynylsubstituted pyrroline nitroxide, the **II** 3,4-diethynyl-pyrroline nitroxide, the **III** 3-ethynyl-4-phenyl-pyrroline nitroxide, the **IV** 4-ethynyl-3-hydroxymethyl-pyrroline nitroxide and the **V** paramagnetic 2-ethynylpyridine.¹

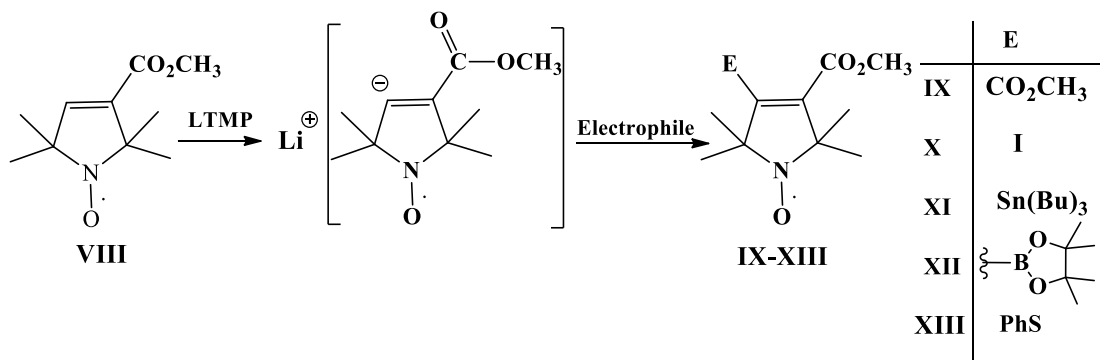


The new ethynyl compounds were found to be useful building blocks in Sonogashira couplings and 1,3-dipolar cycloaddition reactions. The **VI** triradical compound was obtained in Sonogashira coupling reaction of **II** 3,4-diethynyl pyrroline nitroxide with two equivalents of paramagnetic vinyl iodide, and the **VII** 3,4-bis(triazolyl)pyrroline nitroxide in 1,3-dipolar cycloaddition reaction with octylazide was also prepared.

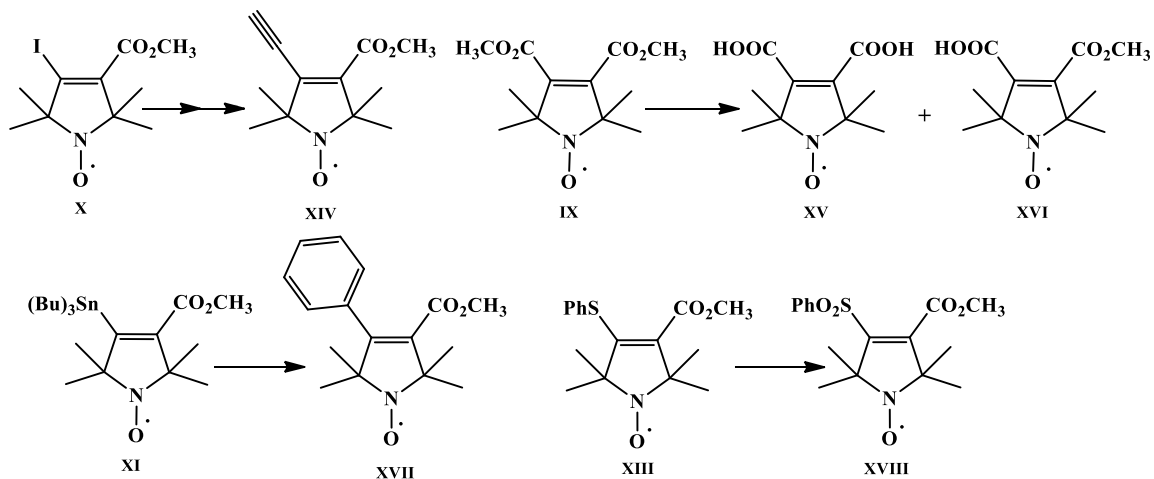


2. Lithiation of an α,β -unsaturated pyrroline nitroxide ester at the β -carbon with Li salt of 2,2,6,6-tetramethyl piperidine (LTMP) followed by the treatment with electrophiles led to a new series of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides, which could be used as valuable paramagnetic key

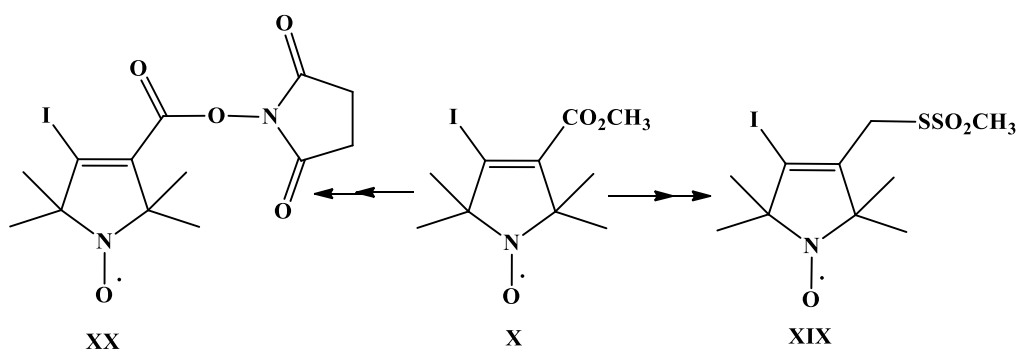
compounds exploitable for synthesis of new **IX** ester, **X** iodine, **XI** tin, **XII** boron and **XIII** sulfur containing nitroxides.²



3. The new compounds were used in the transformations listed below: the **X** 4-iodoester in Sonogashira cross-coupling reaction offered the **XIV** acetylene ester the hydrolysis and partial hydrolysi of **IX** diester afforded the **XV** dicarboxylic acid and the **XVI** half ester. The **XI** compound in Stille coupling reaction gave the **XVII** phenyl ester, and oxidation of **XIII** phenylsulfide yielded the **XVIII** phenylsulfone.²

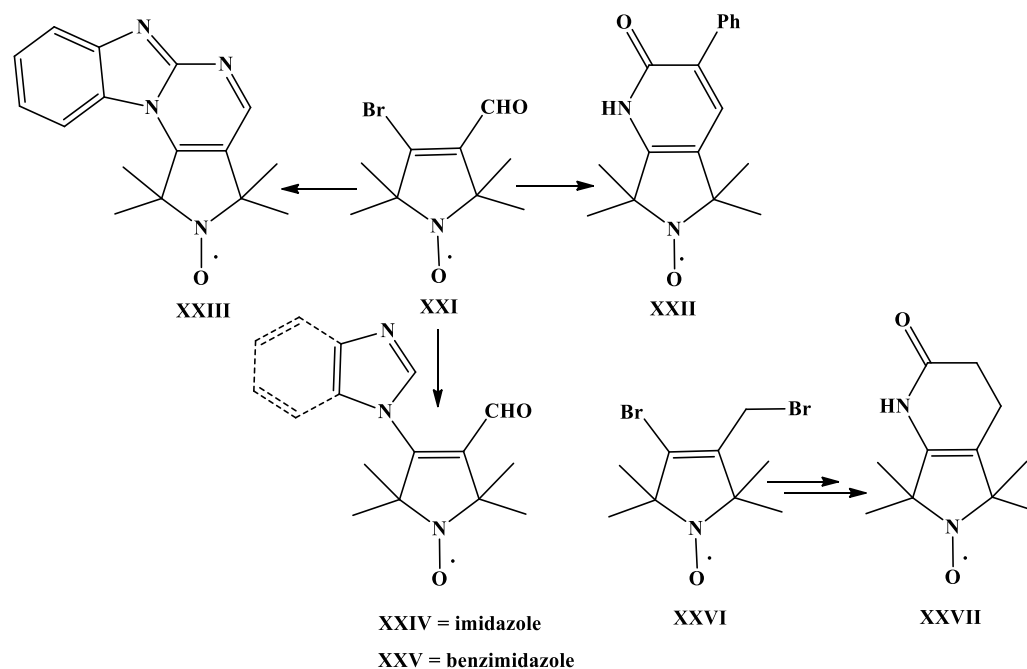


The **X** compound was the key compound for **XX** NH_2 -specific and **XIX** SH -specific spin labels.³

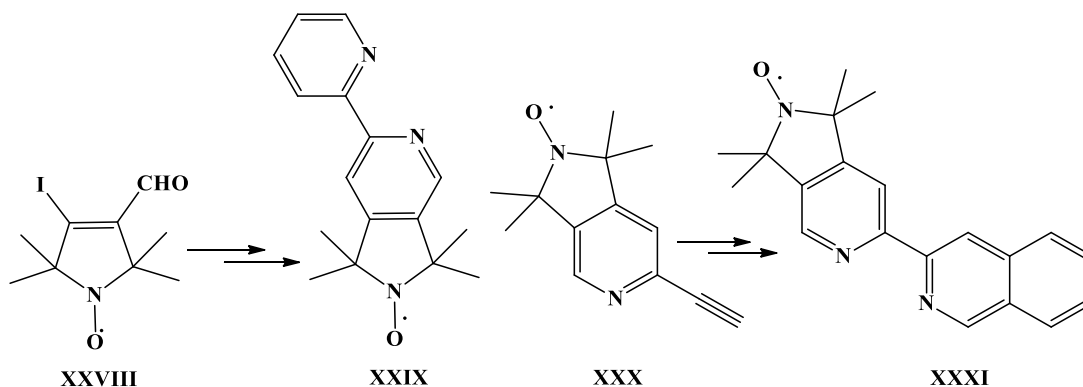


4. The **XXI** β -bromo- α,β -unsaturated aldehyde and the **XXVI** dibromo compound were important intermediates in the formation of the pyrroline nitroxide annulated ring system. In

the Buchwald-Hartwig-type reaction of **XXI** compound with phenylacetamide, we got the **XXII** 6,7-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-b]pyridine-2(5H)-one scaffold³ and the N-vinylation of imidazole, benzimidazole and 2-aminobenzimidazole we obtained the **XXIII**, **XXIV** and **XXV** compounds.⁴ For further investigation of the scope of the C-N coupling reactions, we extended the reactions for intramolecular amidation thus **XXVI** dibromo compound was used in a malonester synthesis, followed by amide formation and cyclization to produce the **XXVII** paramagnetic piperidin-2-one compound.³



5. The **XXVIII** iodo aldehyde and the **XXX** paramagnetic 2-ethynyl pyridine with Sonogashira cross-coupling reaction followed by ring-closing in methanolic ammonia with AgOTf catalyst under microwave irradiation afforded the **XXIX**³ and **XXXI**¹ paramagnetic α,α' -dipyridyl type ligands.



The complex-forming ability of **XXIX** and **XXXI** compounds were tested spectrophotometrically with Cu^{2+} ions. Based on the Job-plot curve, we concluded that the compound **XXIX** / Cu^{2+} ratio was 2:1, which is similar to an α,α' -dipyridyl/ Cu^{2+} complex.

The complex-forming ability of compound **XXIX** may have applications for the paramagnetic modification of transition-metal-ion-containing proteins.³

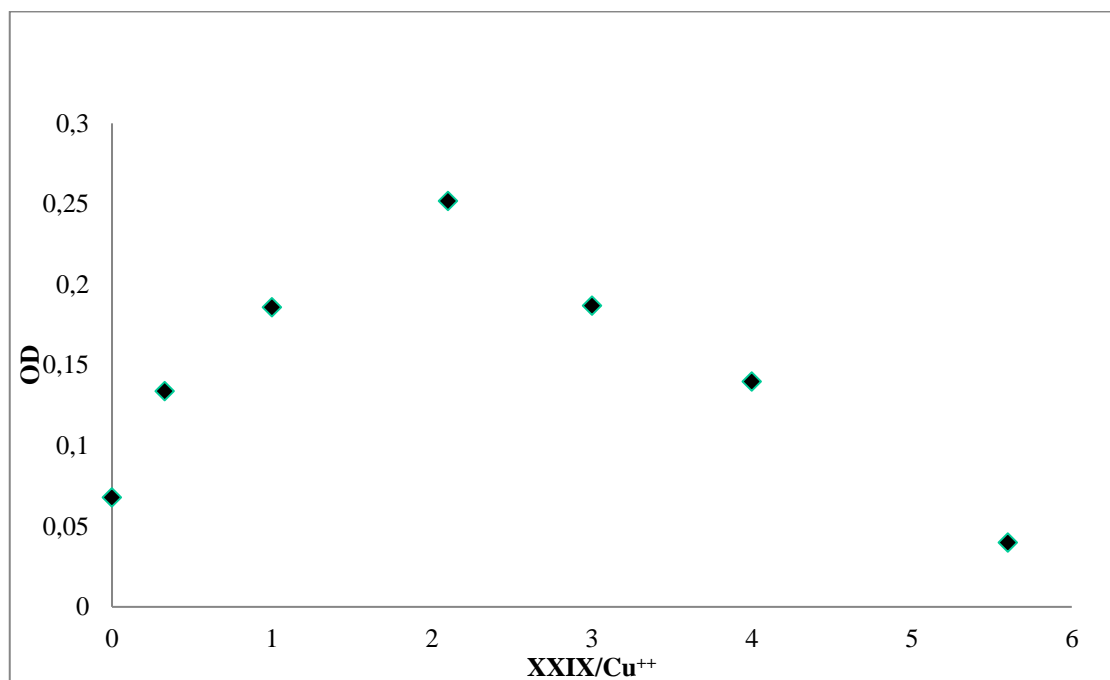
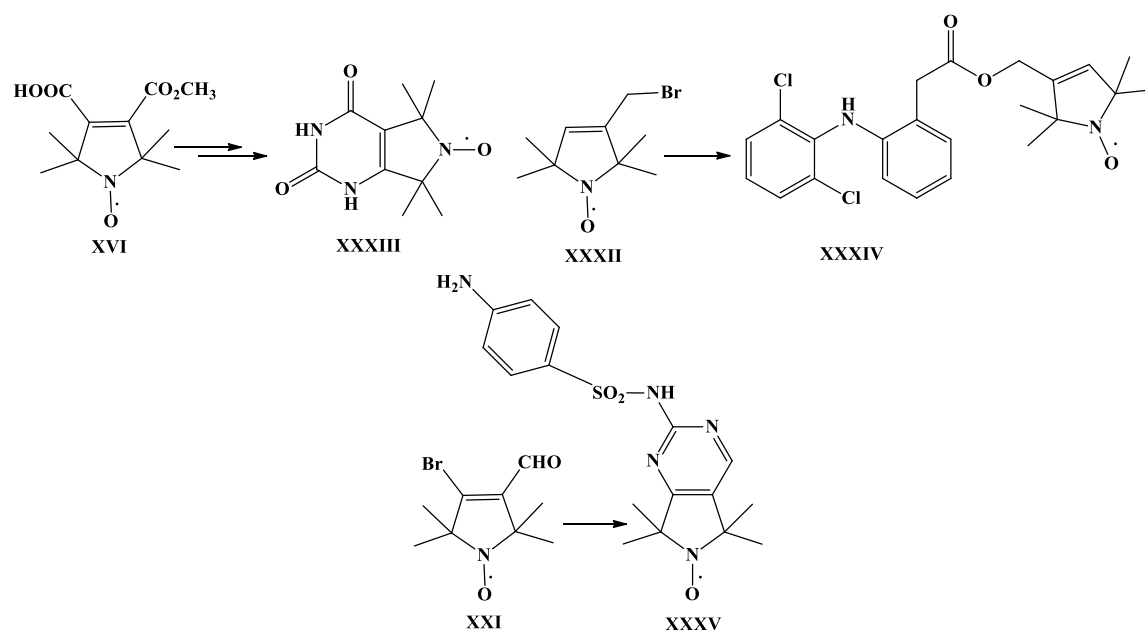


Figure 1: The Job-plot diagram of **XXIX**/ Cu^{2+} complex

The **XVI** half ester, the **XXI** β -bromo- α,β -unsaturated aldehyde and the **XXXII** allylic bromide were used in the synthesis of spin-labeled (SL) biologically active molecules. Recognizing the increasing importance of spin-labeled nucleic acids, from the **XVI** compound we synthesized the **XXXIII** SL-uracil derivative², condensed with pyrroline nitroxide moiety. The sodium salt of diclofenac with **XXXII** allylic bromide furnished the **XXXIV** SL-diclofenac. The aim of the synthesis of **XXXIV** spin-labeled diclofenac (COX-1 inhibitor analog) was the investigation drug's release from the polylactic acid matrix.



The **XXI** β -bromo- α,β -unsaturated aldehyde with sulfaguanidine was converted in a Pd-catalysed reaction to **XXXV** SL-sulfadiazine.³ Sulfonamides are listed among the highly important antimicrobial agents for the risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. The **XXXV** paramagnetic SL-sulfadiazine was used as a spin probe to model the behavior of sulfadiazine by means of EPR-based environmental analytical methods. Unspecific sorption, physical entrapment and covalent binding can be distinguished, which is important for determination of persistence of sulfonamides in the soil. In cooperation with groups of Steinhoff and Matthies (Osnabrück University), we found that our model compound **XXXV** upon incubation with Leonardite humic acid and laccase gives an EPR spectrum which consists of two spectral components revealing spin labels of different mobilities. Peak at 333 mT proves (Figure 2) the covalent binding of SL-sulfadiazine.⁵

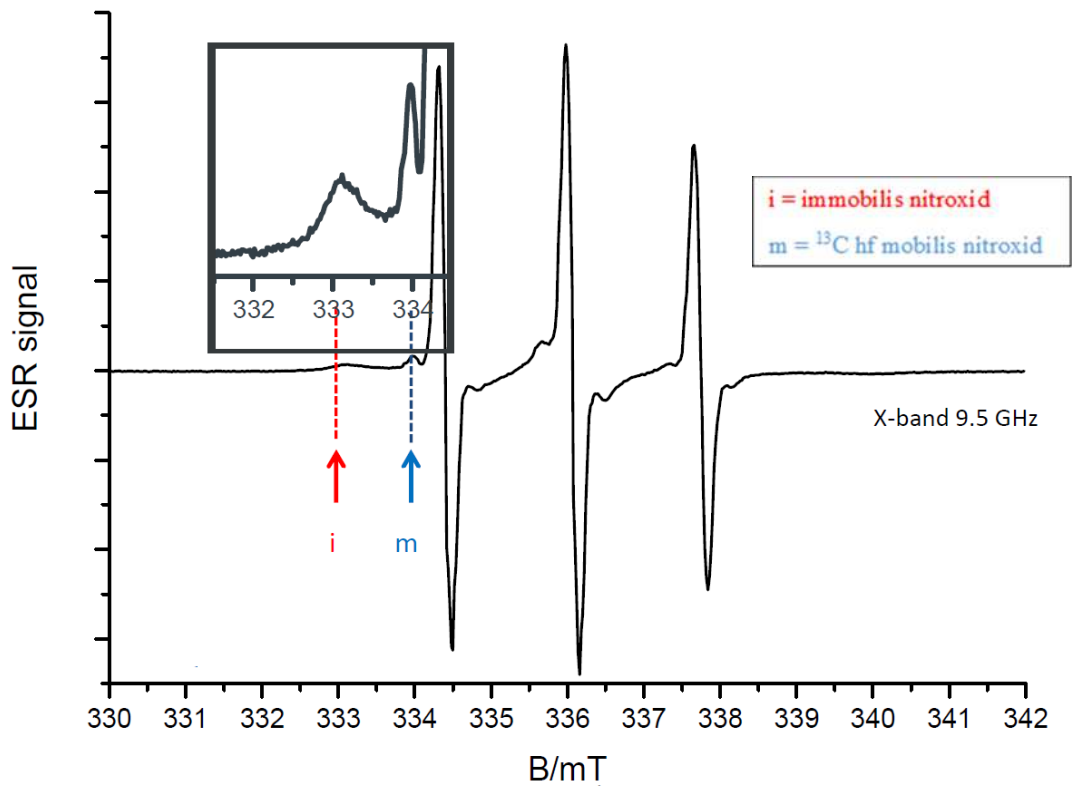


Figure 2: The EPR spectra of **XXXV** compound-humic acid mixture

5. List of publications

5.1. Publications that serve as basis for dissertation

1. Synthesis of New Pyrroline Nitroxides with Ethynyl Functional Group.
Úr, Gy.; Kálai, T.; Balog, M.; Bognár, B.; Gulyás-Fekete, G.; Hideg, K. Synth. Commun. **2015**, 45, 2122-2129. **IF**: 1.065. cit. 1
2. Facile Syntheses of 3,4-Disubstituted Pyrroline Nitroxides and their Further Synthetic Applications.
Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K. Tetrahedron Lett. **2016**, 57, 778-780. **IF**: 2.193. cit. 3
3. Palladium- and/or Copper-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Paramagnetic Vinyl Bromides and Iodides.
Úr, Gy.; Gulyás-Fekete, G.; Jekő, J.; Hideg, K.; Kálai, T. Synthesis **2017**, 49, 3740-3748. **IF**: 2.65 (2016-os IF). cit 1
4. N-Vinylation of Imidazole and Benzimidazole with Paramagnetic Vinyl Halides.
Úr, Gy.; Gulyás-Fekete, G.; Hideg, K.; Kálai, T. Molbank **2018**, M980; doi: 10.3390/M980
5. Interaction kinetics of sulfadiazine and N-acetyl-sulfadiazine with soil humic acid: ESR investigations with nitroxide spin label.
Ricke, A.; Bondarenko, E.; Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K.; Steinhoff, H. J.; Matthies, M. Environ. Sci. Technol. (submitted, manuscript ID: es-2018-01148h)

5.2. List of conference presentations and posters

1. Úr, Gy.; Kálai, T.; Balog, M.; Gulyás Fekete, G.; Hideg, K. Synthesis of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides with ethynyl functional group (p) 16th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, *Balatonalmádi, Hungary, June 14 - 17, 2015.*

2. Kálai, T.; Úr, Gy.; Balog, M.; Gulyás Fekete, G.; Hideg, K. Synthesis of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides with ethynyl functional group (p) National Organic Symposium, College Park MD, USA, June 28 – July 2, 2015.
3. Úr, Gy.; Bognár, B.; Gulyás-Fekete, G.; Balog, M.; Kálai, T.; Hideg, K. 3,4-Diszubsztituált pirrolin nitroxidok szintézise, spinjelölt uracil előállítása MTA *Heterociklusos Elemorganikus Munkabizottság Balatonszemes, 2016. május 18 - 20.*
4. Úr, Gy.; Kálai, T.; Hideg, K. Facile syntheses of 3,4-disubstituted pyrroline nitroxides and their further synthetic applications (p) Xth International Workshop on EPR in Biology and Medicine, Krakow, Poland, 2 - 6 October 2016.
5. Úr, Gy.; Gulyás Fekete, G.; Jekő, J.; Hideg, K.; Kálai, T. Palladium-and/or Copper-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Paramagnetic Vinyl Bromides and Iodides 18th Tetrahedron Symposium, Budapest, Hungary, 27 - 30 June 2017.

6. Acknowledgements

I am grateful to my supervisor Prof. Tamás Kálai for guiding my research work. I would like to thank Prof. Kálmán Hideg for supporting my scientific work and the opportunity to do my research at the Institute of Organic and Medicinal Chemistry. I am especially grateful to Dr. Cecília P. Sár for her support and help throughout the years. I am grateful to Dr. Balázs Bognár, associate professor, for his ever helpful support in the laboratory experiments from the very beginning. I thank Dr. József Jekő for his help in the mass spectrometry measurements and Dr. Gergely Gulyás-Fekete for NMR measurements.

I would like to thank the foreign cooperating partners Prof. Heinz-Jürgen Steinhoff (University of Osnabrück, Osnabrück, Germany), Prof. Michael Matthies (University of Osnabrück, Osnabrück, Germany), and Elena Golubeva (Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia).

I am thankful for the help from Mária Balog, Viola Csokona, Éva Lamperth, Noémi Lazsányi, Krisztina Kish chemical technicians, Dr. Ivánné Deák, Ildikó Lengyel secretaries and Róbertné Jozipovics as well as. I am also grateful for the supportive and friendly milieu of the research group.

I am grateful for the generous financial support OTKA 104956, GINOP 2.2.1-15-2016-00020 and EFOP – 3.6.1-16-2016-00004.

I would like to express my gratitude to my family and friends for their support. They made it possible for me to concentrate on my work, free of much of my daily burdens.