

Válasz Dr. Csámpai Antal D.Sc. egyetemi tanár bírálatára

Köszönettel tartozom Tisztelt Bírálómnak, hogy mélyreható alapossgal tanulmányozta értekezésemet. A kritikai észrevételeit is köszönöm, ezekkel egyetértek. Elfogadom Bírálómnak a néhány mondatban előfordult fogalmazásbeli pontatlanságára és nehéz értelmezhetőségére tett észrevételeit.

Szerkesztési és formai megjegyzéseire az alábbiakban válaszolok:

A tartalomjegyzék fejezeteinek a félreérthető számozásával kapcsolatban megjegyezném, hogy a saját eredményeket a 4.1 – 4.7 valamint az 5, 6 és 7 fejezetekben ismertetem. A nem hagyományos szerkesztéssel kapcsolatban említem, hogy a releváns irodalmi háttér ismertetése a saját eredmények bemutatása előtt általában rövid terjedelmű volt, kivéve a Bentley vegyületekkel kapcsolatos kémiai reakciók és hatás-szerkezet összefüggések tárgyalása, egyetértek, hogy ezt a részt inkább a bevezetésben kellett volna tárgyalni. A saját eredmények és az irodalmi adatok elkülönítésekor arra törekedtem, hogy a közleményekre több esetben a szerzők neveivel hivatkoztam. A reakciók részletes ismertetését (reakciókörülmények, hozamok) mellőztem, mivel ezek megtalálhatók az értekezés alapjául szolgáló saját közleményekben. Opponensem kifogásolta, hogy a vegyületek számozása nem következetes. Ezen általános felvetésre azt válaszolom, hogy amennyiben egy vegyületcsoport esetén összefoglaló képletet használtam, a nitrogén szubsztituens legtöbbször R volt, míg az R₁ szubsztituens a C-6 helyzetben történő szubsztituensek esetében használtam. A C-14 szubsztituens általában X betűvel jelöltem. A Bentley vegyületeknél a nitrogén szubsztituens R a C-20 alkilcsoport R₁. A C-3 alkil vagy acilcsoportok esetén használtam az R₂ jelölést.

A morfinváz szénatomjainak a számozását a 17. oldalon ismertettem, de valóban helyesebb lett volna ezt már a 2. oldalon megtennem. Kifogásolta Opponensem, hogy nem tüntettem fel az ábrákon a morfinváz gyűrűinek alfabetikus jelölését. Valóban csak a 12. 14. és 17. oldalon írtam le, hogy az aromás gyűrű az A-gyűrű, a C-gyűrű lényeges szerepét említem a hatás-szerkezet összefüggések ismertetésekor, míg a bázikus tercier nitrogént tartalmazó piperidin gyűrű a D-gyűrű. A tebain Diels-Alder reakcióiban előállított adduktok számozása a morfin számozáshoz képest annyi változást jelent, hogy a 6,14 etheno áthidalás C-17 és C-18 számokat kap. A régebbi közleményekben a thevinon karbonilcsoport számozása C-19, és ekkor a nitrogén nem kapott számot, az újabb számozás szerint a tevinon karbonilcsoportja C-20. A Bentley vegyületekben és a morfinváz vegyületekben a C-15 és a C-16 számozása ugyanaz.

Kétségtelen hogy az 1-bróm(klór)-szubsztituált kodein származékok előállítása és további reakcióik az A gyűrűben végrehajtott változtatások, de ezek az új vegyületek voltak a kodein (morfin) – apokodein (apomorfin) átrendezés vizsgálatakor a kiindulási anyagok. A morfin-3-glükozid előállítása szintén nem a C gyűrűben végrehajtott reakció, viszont a megjelent közleményünkben (Váradi, A.; Lévai, D.; Tóth, G.; Horváth, P.; Noszál, B.; Hosztafi, S. : Glucosides of morphine derivatives: Synthesis and characterization. Monatshefte für Chemie **2013**, 144, 255-262.) az volt a célkitűzésünk

hogy szintetizáljuk a morfin két új metabolitját, melyek képződését a klinikai vizsgálatok során mutatták ki, de a vegyületek előállítása nem volt ismert.

Az (i) – (xv) megjegyzésekre az alábbiakban reagálok a javításokkal együtt. Az Opponensem által kért hibajegyzéket elkészítettem, a bírálóat válaszához csatoltam.

ii megjegyzés: A C-14 hidroxiszubsztituált vegyületek terápiás indexe is sokkal nagyobb mint a megfelelő 14-H szubsztituált vegyületeké.

iii megjegyzés: a morfin fájdalomcsillapító hatásmechanizmusának és az addikciós potenciáljának a megértésében.

iv: A 4,5-epoximorfinán C-6 **ketonokból** Fischer indol és Piloty pirrol szintézisek alkalmazásával

vi megjegyzéshez: A 16. oldal 2. bekezdésében utalok Rapoport és Bonner közleményére (70. irodalmi hivatkozás) ahol a C-6 hidroxilcsoport eliminációját a kodein tozilészter redukciójával (LiAlH_4) valósították meg, erre gondoltam. A C-6 ketonok (pl. oxikodon) Clemmensen redukciója 14-hidroxi-6-dezoxi-dihidrokodeint eredményez.

vii megjegyzés: Természetesen egyetértek a felvetéssel a downfield shift magyar fordítása elmaradt, itt a H-15 ekvatoriális proton multipletje 0,35 ppm értékkel toródik el az alacsonyabb térerő felé, ez a korrigált mondat.

viii megjegyzés: Az oxikodon ezen a néven szerepel a Magyar Gyógyszerkönyvben az oxymorphon nem található meg a Magyar Gyógyszerkönyvben, és A kémiai helyesírás szabályai és nevezéktan című könyvben sem. Dr. Füst Zsuzsanna Farnakológia c. tankönyvében oxymorphon néven szerepel.

ix és x megjegyzések: a bórtribromid egybeírandó és hidrogén-bromidos só a helyes név.

Az xi és xii megjegyzések: elismerem a gépelési hibát és a félreérthető fogalmazást: ^1H és ^{13}C NMR spektrumok a javítások, míg a 102. oldalon NOE mérések a helyes.

xiii megjegyzés: Természetesen a kérdéses számú szénatomhoz (C-9) tartozó hidrogénekről beszélek a 40 és 41 oldalon. Itt a H-9 kémiai eltolódását ismerttetem. Külön bekezdésben tárgyalom az ^1H és a ^{13}C spektrumok analízisét, talán így ezek nem félreérthetők.

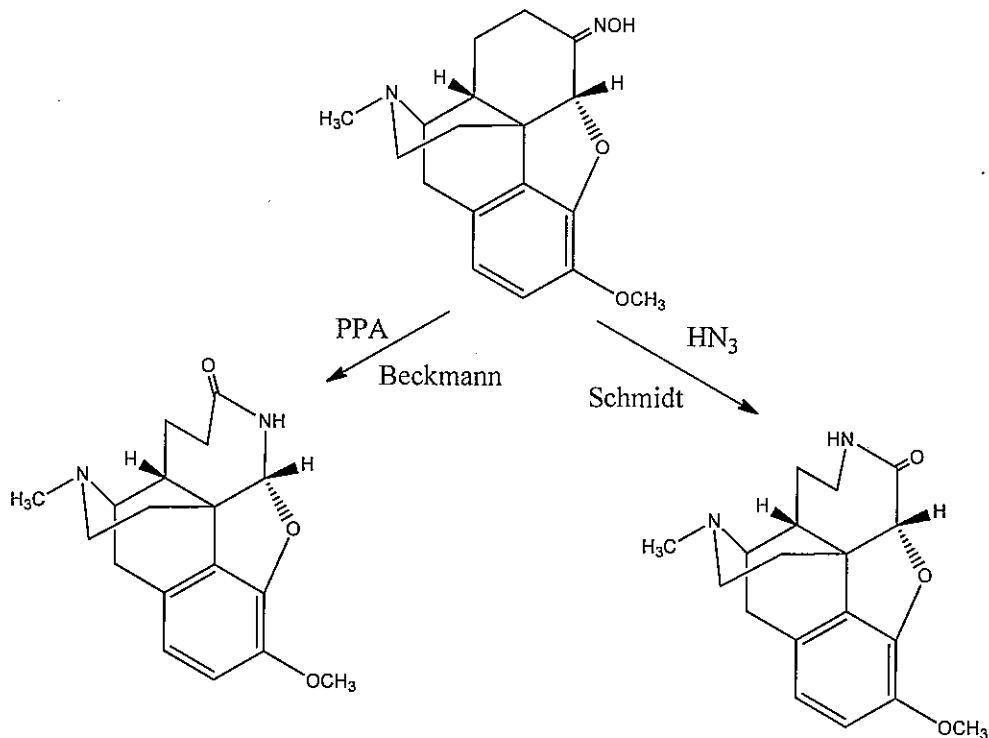
xiv megjegyzés: javítás *a vegyülettípus intenzív fluoreszcens tulajdonságú és az analitikai meghatározások során ez alapvető jelentőséggel bír.*

xv megjegyzés: a 8-bróm-morfotobain-2-metil éter valóban nem helyes elnevezés, bár a megjelent közleményben (29. saját közlemény) ezt használtuk. Amennyiben az aporfin váz számozását alkalmazzuk az elnevezés: 8-bróm-2,10-dimetoxi-11-hidroxi-aporfin. A morfotobain név elavult, már nem használják, csak az alkaloidkémiai monográfiákban, kémiai neve 2,10-dimetoxi-11-hidroxi-aporfin.

A bírálóban feltett kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

1. kérdés

A dihidrokodeinon oxim Beckmann átrendeződését C. Schöpf vizsgálta annak eldöntésére, hogy a Gulland-Robinson vagy a Wieland-Knorr által javasolt morfin szerkezetek közül melyik a helyes. Tionil kloriddal olyan, a C-gyűrűben felnyílt terméket kapott, amely a Gulland-Robinson szerkezetet igazolta. A hetvenes években Bognár és Makleit vizsgálták (Org. Pep. Proced. Intern. 1973,5, 49-54.) a dihidrokodeinon oxim és az oxikodon oxim Beckmann átrendeződését polifoszorsav alkalmazásával. A reakcióban egy laktám képződött, a C-gyűrű bővítésével. Schmidt reakcióban egy izomer laktám keletkezett, amelyben a C-6 karbonilcsoport és a C-7 szénatom közé épült be az NH csoport.



2. kérdés

A tríciummal jelölt **107** és **113** vegyületek a **106** és **112** trícíálásával nyerhetők Pd – BaSO_4 katalizátor alkalmazásával. Ha példaként a **106** vegyületet tekintjük, amely 6-dezoxi-6 β -amino-kodein, a vegyületben a C-gyűrű konformációja fél-kád (half-boat). A trícíálás során a katalizátor csak a molekula β oldala felől tudja megközelíteni a kettőskötést, mivel az α oldal gátolt. A katalizátor π komplexet képez a kettőskötéssel, majd feltehetően a trícium atomok a β oldal felől lépnek be és alakítják ki a szén-trícium kötések. A kérdést bonyolítja, hogy a kettőskötés telítésekor a gyűrű konformációja szék lesz. Említem, hogy a WO 2014/170704 sz. szabadalomban a morfin és kodein

kettőskötését telítették deutériummal Pd – BaSO₄ katalizátor jelenlétében. A vegyületeknek közölték az ¹H-NMR spektrumát, de nem adták meg például a H-6 – H7 csatolási állandót, amely bizonyíthatná a belépő deutériumok térállását.

3. kérdés

Számos C-6 helyzetben C=N- kötést tartalmazó vegyület ¹H-NMR spektrumát vizsgáltuk és a C=N- kötés konfigurációjának a meghatározására a H-5 β kémiai eltolódás értékét találtuk diagnosztikus jelentőségűnek. Az anyavegyület C-6 morfinán ketonok H-5 eltolódásához képest a C=N- kötést tartalmazó vegyületek beleértve az oximokat és az O-metiloximokat, ez a rezonanciajel 0,3 – 1,0 ppm-mel tolódik el az alacsonyabb tér irányában. Ismeretes, hogy a C=N- kettőskötéshez alfa helyzetű proton nagyobb eltolódást szenved az alacsonyabb tér irányában, ha a nitrogénen levő szubsztituens hozzá képest cisz (Z) konfigurációjú, mint a transz (E). Eredményeinket publikáltuk az Acta Chim. Hung. folyóiratban 1990, 127, 9-19. A dolgozatban ez a 4 sz. saját közlemény. A dihidrokodeinon és oxikodon egyébként csak egy terméket eredményezett hidroxilammal. Ezeket a vizsgálatokat még 1990 előtt végeztük, természetesen a NOE mérések és a kétdimenziós NOESY mérések is gyors és pontos adatokat szolgáltatnak az E és Z izomerek szerkezetére vonatkozóan. Említtem továbbá hogy a morfinvázas vegyületekre a NOE alkalmazásáról valamint a 2D technikák alkalmazásáról az első közlemények az 1980-as évek második felében jelentek meg.

4. kérdés

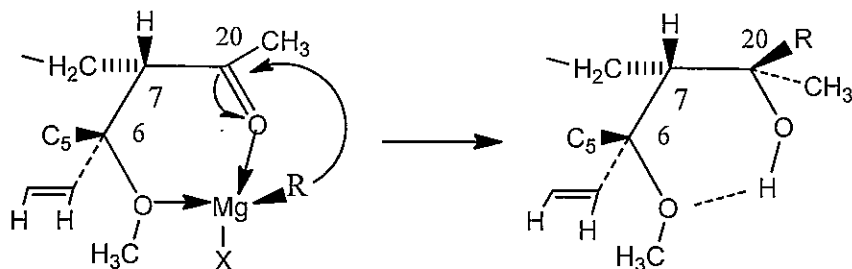
A 14-O-metilkodeinon (**81**) O-demetilezése 48 %-os hidrogénbromiddal jó hozammal (~70%) megoldható, nem tapasztalható a C-14 metoxicsoport (**nem C-16!**) O-demetilezése. A reakció 17 perc alatt végbemegy forráshőmérsékleten, a sav lepárlása után a maradék, amely a 14-O-metilmorfinon HBr sója metanolból kristályosítható.

A 14-O-metilmorfinanok szintézisét Kobilecki és munkatársai (a dolgozatban 138 sz. irodalmi hivatkozás) dolgozták ki, és munkájuk során a 14-O-metildihidrokodeinon származékokat kíséreltek meg O-demetilezni. Bórtribromid alkalmazásakor (- 70 °C → - 30 °C) 42 és 32 %-os hozamokat közöltek oszlopkromatográfiás tisztítás után, de a reakcióelegyből izolálták a C-14 hidroxiszármazékokat is, azaz a BBr₃ alkalmazásakor nincs szelektív reakció. A 14-hidroxikodein vagy morfin átrendeződési reakciói az apokodein vagy apomorfin származékokká nem valósíthatók meg, mivel a C-14 terciér alkohol miatt nincs lehetőség a C gyűrű aromatizációjára. Említtem, hogy a 14-O-acetilkodeinból brómcíánnal kapott termék hidrolízisét vizsgáltam 5 %-os sósavval és nagyfokú bomlást tapasztaltam, a 14-OH-norkodein előállítását nem sikerült a molekula savérzékenysége miatt.

5. kérdés

A tevinon Grignard reakciója nagyfokú sztereoselektivitást mutat, a Grignard reagens egy hat tagú köztiterméket képez, melyben a magnézium komplexet képez a C-7 karbonil oxigénnel és a C-6 metoxicsoport oxigénnel. A modell vizsgálata is arra utal, hogy a

reagens „felülről” közelíti meg a karbonil szénatomot, mivel az etilén híd az alulról történő megközelítést gátolja. A képződő 20R terciér alkohol mellett számos melléktermék is izolálható, mint pl. a Grignard redukciós termék, de a 20S diasztereomer a C-7 alkilkarbonil vegyület és metilmagnézium bromid reakciójában állítható elő. Mindkét diasztereomer terciér alkohol hidroxilcsoportja stabilis hidrogénhíd kötését létesít a C-6 metoxicsoport oxigénjével, ami a C-7 és C-20 kötések szabad rotációját korlátozza.

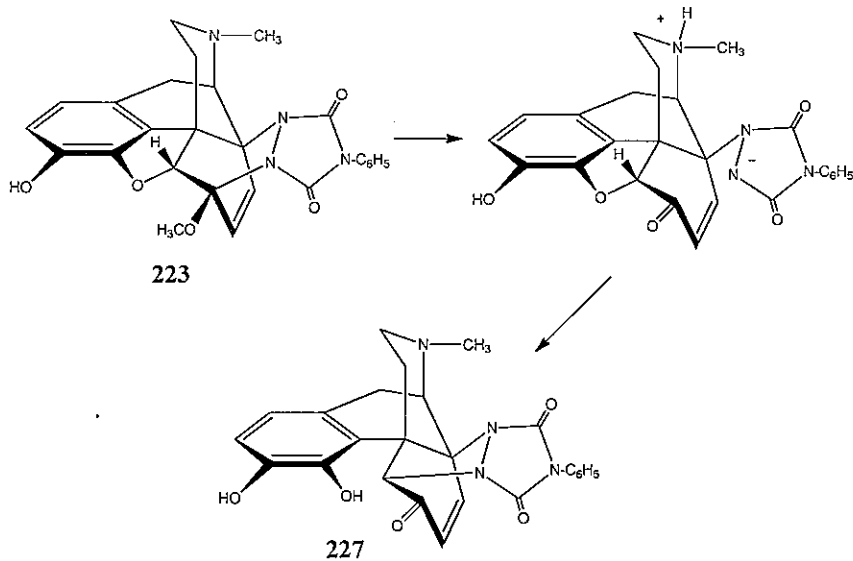


A tevinon Meerwein-Ponndorf-Verley redukciója kizárólag a 20R szekunder alkoholt eredményezi, a Grignard redukcióval pedig a 20S diasztereomer szekunder alkohol képződik. A 20R és 20S diasztereomer terciér alkoholok $^1\text{H-NMR}$ spektrumát tanulmányozva, az etorfin metiléter és a 20S diasztereomer spektrumai nem mutatnak jellegzetes eltéréseket, bár ezeket a méréseket 1967-ben közölték Varian A-60 spektrométeren. A tevinonból fenilmagnézium bromiddal illetve nepenthonból metilmagnézium jodiddal előállított diasztereomer terciér alkoholok spektrumát kutatócsoportunk is vizsgálta. A nepenthonból kapott terciér alkohol NMR spektruma jelentős eltérést mutat a másik diasztereomer spektrumától, mivel az aromás gyűrű közelsége miatt a H-17 és H-18 protonok kémiai eltolódása a magasabb térerő irányába tolódik. Nepenthonból redukcióval előállítottuk a 20R és 20S szekunder alkoholokat, az abszolút konfigurációkat NOE mérésekkel határoztuk meg, eredményeinket a 35 sz. saját közleményben (Marton, J., Szabó, Z.; Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synthesis of New Nepenthone Derivatives* *Liebigs Ann.* 1996, 1653-1656.) publikáltuk.

Természetesen számos közlemény ismert elsősorban a terciér alkoholok kvantumkémiai konformáció analízisével kapcsolatban, az alábbiakban megadom a fontosabb irodalmi hivatkozásokat 1. A. Feinberg et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1976, 73, 4215-19. 2. G. Loew, D. Berkowitz *J. Med. Chem.* 1979, 22, 603-607. 3. DiMaio et al. *J. Med. Chem.* 1986, 29, 1658-63. 4. J. Martin et al. *J. Comp-Aided Mol. Design* 1987, 1, 53-72. Ezek a közlemények a Bentley vegyületek konformációit vizsgálják kvantumkémiai számításokkal illetve a PET nevű vegyület (20R-feniletalthevinol) extrém erős fájdalomcsillapító hatását próbálták értelmezni. Ismert olyan közlemény is, ahol a tebain Diels-Alder reakcióit és az adduktok képződését kvantumkémiai számításokkal elemezték: U. Pindur, D. Keilhofer *Liebigs Ann. Chem.* 1993, 947-53.

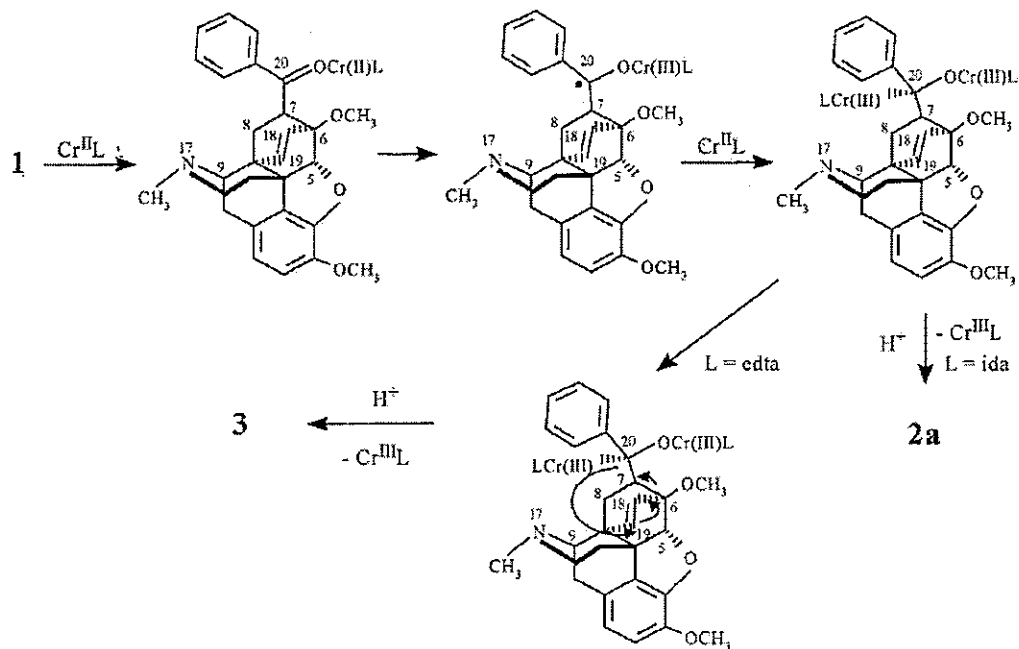
6. kérdés

A tebainból és a 4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-dion-ból képződő adduktot (**223**) 95 %-os etilalkoholban dietilaminnal forralva először C6 – N kötés-hasadás történik, majd a nitrogén atom a C-5 szénatomra támad, ami a dihidrofurán gyűrű felnyílásához vezet.



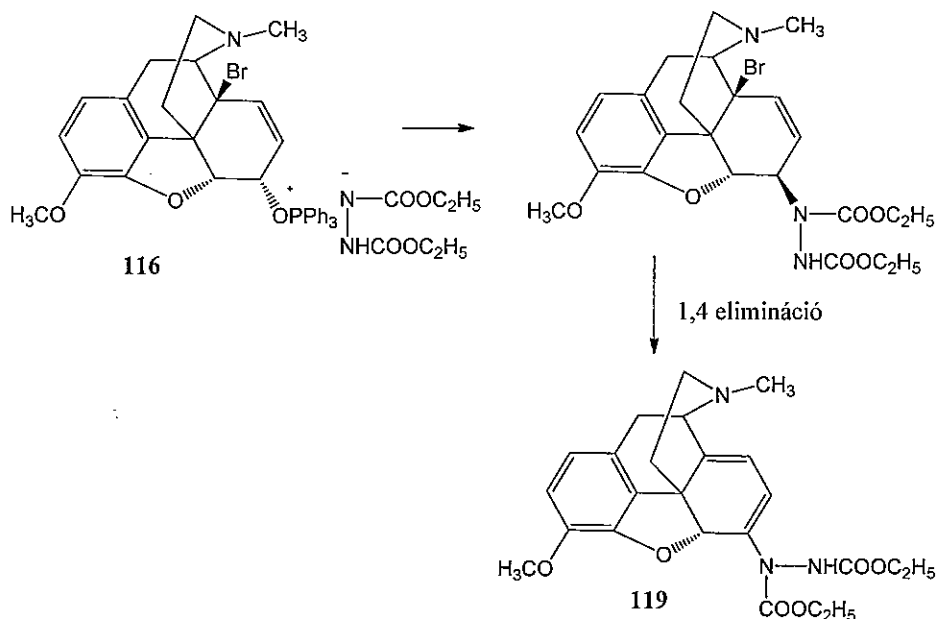
7. kérdés

Az alábbi ábrán bemutatom a **230** vegyület képződésének a mechanizmusát. Az ábrán az 1. számmal jelölt vegyület a nepenthon míg a **3** vegyület az átrendeződött termék (**230**). Amennyiben EDTA ligandumot használtunk a komplex reaktivitása jelentősen megnőtt. A reakciómechanizmus az alábbi lehetséges folyamatokkal adható meg: Először a $\text{Cr}^{\text{II}}\text{L}$ koordinációja megy végbe a nepenthon karbonil oxigén atomjára, amit egy elektron transzfer követ és a C-20 szénatomon kialakuló gyök (radical) azonnal reagál egy másik $\text{Cr}^{\text{II}}\text{L}$ speciesszel és organokromonium kötés jön létre. A benzil C-20 karbanion az etilén híd C-18 szénatomját támadja, melyet egy koncertikus (concerted) elektron eltolódás követ, majd a karbanion a C-7 szénatomon protonálódik, illetve a szekunder alkoholát szintén protonálódhat, feltehetően a gyök képződése után.



8. kérdés

A 14-brómkodein (116) ftálimid jelenlétében, vagy annak hiányában reagál a trifenilfoszfín -- azoészter betainnal amely reakcióban 6-szubsztituált hidrazinkarbonsav észter képződik, és ez a köztitermék 1,4-eliminációval eredményezi a 6,7-8,14 diént (119).



9. kérdés

Tekintettel arra, hogy a hatás-szerkezet összefüggések analízise arra utalt, hogy a thevinonból előállított C-20 tercier alkoholok a leghatásosabb fájdalomcsillapítók, munkánk során elsősorban a metil-vinil ketonból valamint a fenil-vinil ketonból terveztünk újabb származékokat előállítani, további hatás-szerkezet összefüggések feltárására. Említeném a 7-béta szubsztituált vegyületek szintézisét és biokémiai vizsgálatát. A nepenthonból és thevinonból előállított C-20 diasztereomer tercier alkoholok, a közlés idejében szintén új vegyületek voltak, ezek biokémiai vizsgálatát a kutatócsoportunk publikálta. A dolgozatban említtem, hogy a későbbiek során az N-ciklopropilmetil-20S-fenilorvinolt egy angol kutatócsoport vizsgálta, mint a buprenorfin esetleges helyettesítőjét. A 6-O-demetilezett oripavin származékok esetében is elvégeztük a vegyületek farmakológiai és biokémiai vizsgálatát, valamint eredményeinket kiegészítettük in silico számításokkal is, beleértve a ligandumok dokkolását a receptor kötőzsebben.

10. kérdés

A kodeinon esetén [3+2] dipoláris cikloaddíciókat nem közöltek, M. Kotick 1981-ben (J. Med. Chem. 1981, 24, 722-26) vizsgálta a kodeinon reakcióját diazometánnal. Reakciót csak $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ alkalmazásával tapasztalt, de a reakcióban nem a várt pirazolin képződött, hanem a C-7 C-8 helyzetben ciklopropán gyűrűt tartalmazó vegyület. Ez a vegyület

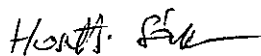
savérzékeny, és 2 mólos sósavval melegítve a ciklopropán gyűrű felnyílik, 8- β -klórmetil származék keletkezik.

11. kérdés

A Δ 7-8 kettős kötést és terciér nitrogénatomot tartalmazó 6-*O*-szulfátészterek ^1H -NMR spektrumában egy második jelsorozat is megjelenik; a H-6, H-7, H-8 és H-9, valamint az *N*-metil protonok jelei kettőződnek, a két jelsorozat integráljainak aránya 1:4. A két jelsorozat a minta melegítése hatására egybeolvad, a jelenség a C és D gyűrű lassú és gátolt konformációs egyensúlyának meglétére utal. A C és D gyűrű esetében korábban szilárd fázisú ^{13}C -NMR vizsgálatok elemzése a csavart szék – csavart kád és szék – kád konformációs állapotok közötti átmenetre utaltak. Utóbbi vizsgálatokat idézzük az Eur. J. Pharmaceut. Sci. Folyóiratban (Váradi et al 2011, 42, 65-72.) megjelent közleményünkben, amely a dolgozatban 14 sz. saját közlemény. A C-6 szulfátészterek protonált nitrogénje a mű receptor kötőzsebben a TM 3 domén Asp147 aminosav maradékkal létesít elektrosztatikus kölcsönhatást, ezt a kapcsolódást a D gyűrű konformációja feltehetően nem befolyásolja, viszont a C gyűrű konformációja a C6 negatív töltésű szulfátcsoport térbeli irányát befolyásolhatja abból a szempontból, hogy a kötőzseb melyik aminosav maradékkal lép kölcsönhatásba. A dolgozatban erre említettem példát a β -funaltrexamin -- α -funaltrexamin epimer párt ahol a β izomer irreverzibilis μ receptor antagonistá és kovalens kötést létesít a receptoron, míg az α izomer reverzibilis antagonistá.

Végezetül ismételten köszönöm Bírálómnak, hogy a tudományos eredményeimről elismerő véleményt alakított ki, és támogatta a doktori értekezésem nyilvános vitára bocsátását. Tisztelettel kérem, hogy fogadja el válaszaimat.

Budapest, 2021. május 14.



Hosztafi Sándor