

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**MORFINVÁZ C GYŰRŰJÉBEN MÓDOSÍTOTT
VEGYÜLETEK SZINTÉZISE**

HOSZTAFI SÁNDOR



SEMMELWEIS EGYETEM GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI KAR

GYÓGYSZERÉSZI KÉMIAI INTÉZET

BUDAPEST

2020

Előszó.....	1
1. Bevezetés.....	2
Opioid receptorok	3
Az opioidok osztályozása	9
Opioid antagonisták	10
A fájdalomcsillapító hatást befolyásoló tényezők	11
Opioidok kémiai szerkezet – farmakológiai hatás összefüggései.....	12
Morfinvázis vegyületek hatás-szerkezet összefüggései, a C gyűrű szubsztitúciója...	14
2. Célkitűzések	17
3. Anyagok, vizsgálati módszerek.....	19
4. Új tudományos eredmények.....	20
4.1 Morfinan C-6 ketonok funkcionalizálása, hidrazonok és ketazinok előállítása ...	20
Jelzett oxymorphon hidrazon előállítása.....	20
Fenilhidrazonok és 2,4-dinitrofenilhidrazonok	22
Szemikarbazonok és tioszemikarbazonok előállítása.....	23
NMR vizsgálatok.....	24
Oximok előállítása.....	24
O-Fenil oximok	26
A szemikarbazonok reakcióiról.....	26
4.2 Heterociklusok kapcsolása a C gyűrűhöz.....	27
Benzofurán- és indolszármazékok előállítása	30
NORBNI jelölés	31
4.3 Morfinváz C-6 hidroxilcsoportjának funkcionalizálása	32
Nikotinsavas észterek előállítása.....	35
4.4 Morfinszármazékok szulfátészter konjugátumainak szintézise	37
A szulfátészterek szerkezetvizsgálata az NMR spektrumok elemzésével	40
4.5 14-hidroxi-morfinanok szulfátészterei	42
4.6 14-O-metilmorfin származékok szintézise	43
4.7 Glükozidok és glükuronidok előállítása	45
Morfin és kodein glükuronidjainak előállítása.....	45
Morfinszármazékok glükozidjainak előállítása.....	49

5.1 Mitsunobu reakció vizsgálata a morfin vázon.....	53
A Mitsunobu reakcióban képződő ftálimido származékok szerkezetvizsgálata	57
A Mitsunobu további alkalmazása a morfinan vázon	61
5.2. Affinitásjelölő C-6 acilamino morfinanok előállítása az opioid receptorok vizsgálatához.....	61
Saját eredmények.....	63
Fahéjsavamidok előállítása	65
6. C-8 halogén szubsztituált apokodeinek és apomorfinok előállítása	67
6.1 C-8 fluor-szubsztituált apokodeinek előállítása.....	70
6.2. Jódszubsztituált kodein és morfin előállítása.....	72
7. Új gyűrűrendszer kialakítása a C gyűrűben a tebain 4+2 Diels-Alder cikloaddíciójával.....	75
7.1 Saját vizsgálatok A diprenorphin és buprenorphin analógonok szintézise	78
A buprenorphin jelölése tríciummal	82
7.2 A nepenthon származékok szintézise	83
C-6 O-demetilezett származékok előállítása.....	94
8. Összefoglalás.....	95
9.1 Irodalomjegyzék	103
9.2 Az értekezés alapját képező saját közlemények jegyzéke	114
Köszönetnyilvánítás.....	117

Rövidítések jegyzéke

Cpm ciklopropilmetil csoport

Cbm ciklobutilmetil csoport

Prenil 3-methyl-2-butenyl vagy dimetil allil csoport

DAMGO Tyr – D Ala – Gly – N-metil-Phe – NHCH₂CH₂OH

β-FNA β-funaltrexamin (irreverzibilis μ-receptor antagonista)

NTI naltrexon indol (δ receptor szelektív antagonista)

NORBNI norbinaltorphimin (κ receptor szelektív antagonista)

GPI guinea pig ileum tengerimalac vékonybél simaizom preparátum

MVD mouse vas deferens (egér vas deferentia)

Hot plate test forró lemez teszt a fájdalomcsillapító hatás mérésére (egér)

Writhing assay vonaglási teszt a fájdalomcsillapító hatás mérésére (egér)

Tail flick teszt patkány farok elrántási teszt fájdalomcsillapító hatás mérésére

Icv intracerebroventricularis injekció

ED₅₀ agonista dózis effektív a populáció 50 %-ában, mg/kg

ID₅₀ az agonista azon koncentrációja amely a vékonybél simaizom kontrakciójának 50 %-os csökkenését idézi elő a preparátum koaxiális ingerlésekor

Ke az antagonista egyensúlyi állandója

IC₅₀ a vegyület azon koncentrációja, amely lezorítja a radioaktív jelzett ligandum 50%-át a receptorról

Ki inhibíciós állandó (receptorkötési teszt)

Előszó

„Among the remedies which it has pleased Almighty God to give to man to relieve his sufferings, none is so universal and so efficacious as **opium**.”

Thomas Sydenham 1624-1689.

A kémiai tudományok fejlődésében jelentős szerepet játszanak a természetes szerves anyagokkal kapcsolatos kutatások. A természetes anyagok körében is kiemelt érdeklődés kíséri az alkaloidok kémiáját egyrészt a kémiai és sztereokémiai érdekességük miatt, illetve a rendkívül változatos biológiai hatásuk következtében. Számos alkaloid a gyógyszerkémiai kutatások és fejlesztések vezető molekulájaként kiemelt jelentőségű, a más alkaloidjai ebben a tekintetben is fontos szerepet játszanak.

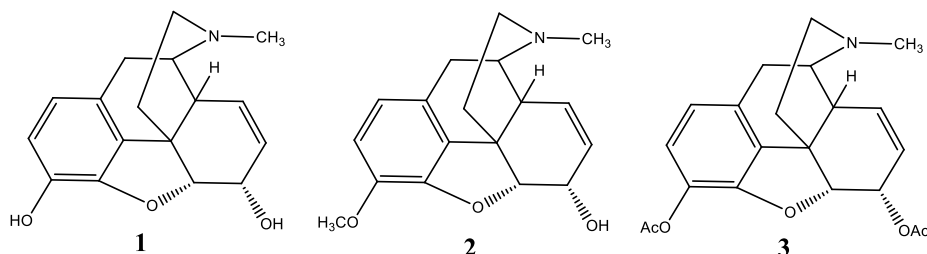
Az alkaloidkémiai kutatás hazánkban komoly hagyományokkal rendelkezik. Különböző kutatóhelyek neves magyar kutatói és iskoláik nemzetközileg is számottevő eredményeket értek el az izokinolinvázas alkaloidok, a morfinvázas más alkaloidok, a szteránvázas szolánium alkaloidok, a tropánvázas alkaloidok, valamint a monomer és dimer indol-alkaloidok területén.

A más alkaloidjainak kémiájával kapcsolatos alap- és fejlesztőkutatásoknak Magyarországon nagy hagyománya és jelentősége van, a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszéken Prof. Bognár Rezső akadémikus és Prof. Makleit Sándor vezetésével nemzetközi viszonylatban is kiemelkedő eredményeket értek el. A Tanszék az Alkaloida Vegyészeti Gyár (Tiszavasvári) kutatóival és fejlesztőivel szoros együttműködést alakított ki, és a kutatómunkát jelentősen megkönnyítette, hogy az Alkaloida nagyüzemi méretben állította elő a más alkaloidjait a száraz és kicsépelte mákfej feldolgozásával, így ezek a kábítószernek minősülő vegyületek a kutatók rendelkezésére álltak. A szerves kémiai kutatómunka mellett feltétlenül meg kell említeni, hogy Magyarországon a Semmelweis Egyetem Gyógyszertani Intézetében Prof. Knoll József akadémikus és Prof. Fürst Zsuzsanna vezetésével tanulmányozták az opioidok farmakológiai hatásait, valamint az MTA Szegedi Biológiai Központban az opioidok biokémiai vizsgálatával foglalkoznak.

1. Bevezetés

Az opioid analgetikumok kiemelkedő jelentőségük a fájdalomcsillapításban, elsősorban a krónikus fájdalmak kezelésében és különösen hatékonyak a posztoperatív fájdalom, a gyulladásos állapotot és a rákos elváltozásokat kísérő tartós fájdalom csökkentésében¹⁻⁴. Ugyanakkor az opioidok neuropátiás fájdalommal szemben nem hatékonyak.

A morfin (**1**) változatlanul a legelterjedtebben használt opioid fájdalomcsillapító hatású vegyület, tulajdonképpen egy arany standardnak (gold standard) tekinthető, ha egyéb fájdalomcsillapítókkal hasonlítjuk össze. Több olyan származékát használják a gyógyításban, mint pl. a kodein (**2**), az etilmorfin, vagy a diacetyl morfin (**3**), melyeket már a múlt század elején bevezettek. A fájdalomcsillapító hatás mellett a morfin és más opioidok alkalmazásakor olyan mellékhatások jelentkezhettek, mint a légzésdepresszió, a hányinger és a hányás a gyomor-bél traktusra gyakorolt hatás, elsősorban a székrekedés⁵.



A morfin és a morfin származékainak az ismétlődő adagolásakor számolni kell a tolerancia és dependencia kialakulásával, valamint az euforizáló hatással. A mellékhatások csökkentésére illetve kiküszöbölésére a kutatók több ezer morfin vázas vegyületet szintetizáltak és ezek farmakológiai vizsgálata is megtörtént. Azok a törekvések, melyek az ideális fájdalomcsillapító hatású vegyületek szintézisét tűzték ki célul, nem voltak sikeresek, mivel a tolerancia vagy a dependencia kialakulása a morfin váz (morfinán és benzomorfinán) intrinsic tulajdonsága⁶⁻⁸. Emellett az opioid receptor – ligandum kölcsönhatások, valamint a fájdalomcsillapító hatás mechanizmusa is felelős, mivel az endogén opioid peptidek esetén is kialakul a tolerancia és a dependencia. Emellett a μ receptor aktiválása nemcsak a fájdalomcsillapító hatást eredményezi, hanem a káros mellékhatások jelentkezéséért is felelős, vagyis a fájdalomcsillapító hatás és a mellékhatások szeparálása elvileg nem lehetséges.

A kutatások eredményeként új opioid hatású vegyületeket és új terápiákat fejlesztettek ki az opioid receptorok és ligandumjaik kölcsönhatását tanulmányozva⁹. Lehetővé vált az opioidok káros mellékhatásainak csökkentése, és az opioidok farmakológiai hatásmechanizmusainak a megismerése is hozzájárult az opioid függők hatékony kezeléséhez.

Opiooid receptorok

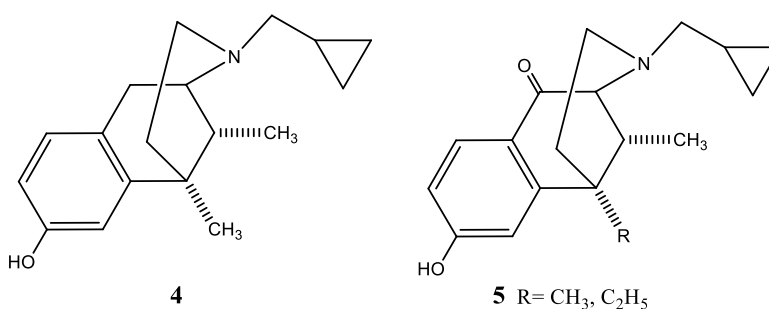
Beckett és Casy 1954-ben elemezték a morfin és félszintetikus származékainak valamint a szintetikus fájdalomcsillapítók és a morfin antagonisták hatás-szerkezet összefüggéseit¹⁰⁻¹¹. Rámutattak, hogy a hatékony fájdalomcsillapítókra érvényes a sztereospecificitás elve, példaként említhető a levorphanol – dextrorphan pár ahol a (-)-levorphanol kb. ötször hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin, a (+)-antipód viszont hatástalan és toxikus. A sztereokémiai bizonyíték mellett rámutattak a fájdalomcsillapító hatású vegyületek közös szerkezeti sajátosságaira és ezek alapján a hatást közvetítő receptor kötőhelyekre javasoltak egy hipotézist, amely a fájdalomcsillapító hatású molekula és a receptor kötőhely között egy három ponton történő asszociációt jelent. A kérdéses ligandum amely kötődik a receptorhoz, olyan sztereokémiai sajátosságú és olyan orientációjú hogy ez a receptor felületi tulajdonságait tekintve komplementer legyen a ligandum – receptor kölcsönhatás során. Szerkezeti követelmény egy bázisos terciér amin, egy planáris aromás gyűrű és egy hidrofób szerkezeti egység. A receptoron ezért feltételezhető egy anionos rész melyhez a protonált terciér amin kapcsolódik, az aromás gyűrű a receptor lapos felületén van der Waals kötésekkel létesít, míg a morfin piperidin gyűrű metilencsoportjai a receptoron található üregben helyezkednek el. A receptor modell szerint a dextrorphan sztereokémiai elrendeződése olyan, hogy a három ponton át történő kapcsolódás nem jön létre. P.S. Portoghese¹²⁻¹⁴ vizsgálta a ligandum – receptor kölcsönhatás sztereokémiai követelményeit és számításai alapján a kölcsönhatás módja eltérő lehet a morfin és a petidin származékoknál, ugyanakkor a három- pontos kapcsolat feltételezése sem szükségszerű. A javasolt modell egy centrális anionos kötőhelyet tartalmaz a kationos terciér aminnak, amelyből különböző módok szerint jön létre a kötődés a receptor felületén. Portoghese emellett kiemelte a szabad fenolos hidroxilcsoport szerepét a ligandum-receptor kölcsönhatás során mivel a morfin és a morfinan származékok esetén a fenolos hidroxil alkilezésekor a fájdalomcsillapító hatás nagymértékben csökken.

A Goldstein által bevezetett sztereospecifikus kötődés¹⁵ elvét alkalmazva magas specifikus aktivitású radioaktív jelzett ligandumok használatával 1973-ban sikerült az opiooid receptorokat azonosítani patkány agyi membrán preparátumokban. Snyder és Pert^{16,17} ³H-jelzett naloxont, Simon és munkatársai¹⁸ ³H-jelzett etorphint, míg L. Terenius^{19,20} ³H-jelzett dihidromorfint használt a specifikus kötődés kimutatására. A kötődés sztereospecificitását a levorphanol – dextrorphan enantiomerek vizsgálatával bizonyították, a jobbra forgató enantiomer esetén nem mértek kötődést a receptorhoz. A specifikus kötődés reverzibilis és kompetitív, a kötőhelyek telíthetők a ligandum koncentráció növelésével. A tríciummal jelzett ligandum a nagy affinitású kötőhelyekhez olyan mértékű, hogy a nem specifikusan kötött anyag mosással eltávolítható, és a vizsgált vegyületek aktivitása meghatározható a radioaktív jelzett ligandum leszorításával a receptorról. Az aktivitás arányos a vegyület affinitásával és az IC₅₀ koncentrációval jellemezhető, ami a vegyület azon koncentrációja, amely a jelzett ligandum 50%-át leszorítja a receptorról. Amennyiben a μ , a κ és a δ receptoron szelektív ³H-jelzett ligandumokat használunk, lehetőség nyílik a vizsgálandó vegyületek receptor szelektivitásának a meghatározására. A jelzett vegyület kinetikai paramétereinek a meghatározásával, az egyensúlyi disszociációs állandót és telítési görbéből a B_{max} értéket kell mérni. A kérdéses vegyület IC₅₀ értékéből a Cheng-

Prusoff egyetlen K_i inhibíciós állandó kiszámítható. Utóbbi hányadosai adják meg a μ , a κ és a δ receptoron a szelektivitási értékeket.

W.R. Martin²¹ a morfin és a nalorfin farmakológiai hatásait elemezve már 1967-ben két opiát receptort feltételezett. A nalorfin képes antagonizálni a morfin hatásait, a fájdalomcsillapító hatást felfüggeszti, illetve előzetesen adagolva gátolja. A klinikai gyakorlatban egy rendkívül hatásos antidotumnak bizonyult pl. morfin vagy diacetyl morfin mérgezés, túladagolás esetén. Morfin-dependens egyéneken vagy kísérleti állatokon gyorsan kiváltja az absztinencia szindrómát. Nagyon fontos megfigyelés volt, hogy a nalorfin emberen hatásos fájdalomcsillapító, vagyis agonista – antagonistá hatású. A nalorfin analgezia azonban a klasszikus opiát teszteken (hot-plate és tail-flick) nem mutatható ki, csak a writhing teszten. A morfin és nalorfin fájdalomcsillapító hatása abban is eltér, hogy a nalorfin dependencia kapacitása alacsony, nem számottevő, illetve a nalorfin a humán vizsgálatokban jellegzetes pszichotomimetikus (hallucináció, szorongás, diszfória) mellékhatásokat mutat. Martin elképzelése szerint a morfin és a nalorfin eltérő receptoron hat, mint fájdalomcsillapító, de a morfin analgéziát a nalorfin a morfin receptoron antagonizálja.

Martin és munkatársai^{22,23} krónikus spinális kutyákon, morfin-dependens és nem-dependens állatokon, tanulmányozták a morfin, a nalorfin a ciklazocin (4) és a keto-ciklazocin (5) neurofiziológiai és viselkedésfarmakológiai hatásait. Ezen vizsgálatok alapján igazolták, hogy a ciklazocin egy vegyes agonista-antagonista hatású vegyület, de a pszichés mellékhatások sokkal kifejezettebbek, mint a nalorfin esetén. A keto-ciklazocin a fájdalomcsillapító tesztek mindegyikén jelentős aktivitást mutat, de a morfin típusú agonistáktól eltérően nem tudja helyettesíteni a morfint olyan morfin-dependens majmokon melyektől hirtelen elvonták a morfint. Nem tapasztaltak légzésdepressziót valamint Straub-tail reakciót egéren, viszont a keto-ciklazocin hatásosabb a GPI izolált szervi preparátumon, mint az MVD preparátumon. Martin a morfin receptort μ receptornak nevezte el, míg a másik receptort, melyen a keto-ciklazocin az agonista κ receptornak nevezte el.



A fájdalomcsillapító hatás tanulmányozható *in vitro* módszerekkel is, ahol lehetőség van az agonista és antagonistá hatások vizsgálatára²⁴⁻²⁶. A tengerimalac vékonybél simaizom preparátum (GPI) árammal történő stimulációjakor létrejövő kontrakciót (rángást) az opioid agonisták dózisfüggő módon gátolják. Az agonista aktivitást az ID₅₀ értékkel jellemezhetjük, amely a vegyület azon koncentrációja, amely 50%-os depressziót idéz elő a kontrakció vagy a rángás magasságán. Az ID₅₀ értékek alapján mért hatáserekségek jó korrelációt mutatnak az *in vivo* fájdalomcsillapító teszteken mért

adatokkal. A GPI izolált szervén a morfin és a normorfin agonista aktivitása azonos, de a normorfin könnyebben kimosható a preparátumból a relatív hatáserőségek meghatározásakor a normorfin a referens vegyület. Az antagonisták hatáserősége szintén mérhető a GPI izolált szervén, az agonista standarddal szemben. Az egyensúlyi állandó a következő egyenlettel számolható:

$$K_e = \frac{[a]}{DH - 1}$$

ahol [a] az antagonista moláris koncentrációja, DH az agonista koncentrációk hányadosa, amely ahhoz szükséges, hogy csökkentse a kontrakciót ugyanolyan mértékben, mint az adott antagonista koncentráció jelenlétében vagy hiányában. Ha $DH = 2$ akkor $K_e = [a]$. Minél kisebb a K_e értéke annál hatásosabb az opioid antagonistá. Hasonló vizsgálatok végezhetők az egér vas deferens (MVD) preparátumon is, a két izolált szervén meghatározott relatív hatáserőségek jó korrelációt mutatnak. Az elektromos árammal stimulált tengerimalac ileum hosszanti simaizom preparátum összehúzódsakor acetyl cholin szabadul fel és ez idézi elő a simaizom depolarizációját, míg az egér vas deferens preparátum ingerlésekor noradrenalin szabadul fel.

Miután az opioid receptorokat azonosították és jellemezték az agyi membrán preparátumokon, felmerült a kérdés melyek az endogén opioid rendszer belső ligandumjai? Mivel a morfin és a szintetikus fájdalomcsillapítók exogén ligandumok, a kutatók elsősorban az agyban peptidszerű anyagokat kerestek. Az endogén ligandumok létezésére utalt az a megfigyelés is, hogy a középgagyban a periaqueductalis szürkeállomány elektromos árammal történő ingerlésekor olyan anyagok szabadulnak fel melyek fájdalomcsillapító hatásúak. Figyelemre méltó, hogy a létrejövő analgészia naloxonnal antagonizálható.

Először Hughes és munkatársai²⁷ számoltak be két pentapeptid sertésagyból történő izolálásáról. A két peptid csak a C-terminális aminosavakban különbözik, ez volt a leucin-enkefalin (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) és a metionin-enkefalin (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met). Az enkefalinok hatékony opioid agonistáknak bizonyultak az izolált szervi preparátumokon, elsősorban az MVD preparátumon hatásosak. Az enkefalinok farmakológiai hatását elemezve Kosterlitz és munkatársai feltételezték, hogy az enkefalinok a μ és κ receptortól különböző receptor endogén ligandumjai, és ezt az újabb receptort δ receptornak²⁸ nevezték el. Goldstein és munkatársai²⁹⁻³¹ szarvasmarha agyszövetből további két fontos opioid peptidet is izoláltak, a dinorphint és a β -endorphint. A dinorphin 13 aminosavból épül fel, az 1 – 5 aminosav szekvenciája azonos a leucin enkefalinnal. A dinorphin a farmakológiai és biokémiai vizsgálatok szerint a κ receptor³² endogén liganduma.

A β -endorphin³¹ egy 31 aminosavból álló peptid, amely a μ és a δ opioid receptorokon mutat jelentős affinitást. A β -endorphin aminosav szekvenciája megegyezik az agyalapi mirigy peptid hormon a β -lipotropin 61 – 91 aminosav szekvenciájával, az in vitro izolálás a β -lipotropin fragmenseiből történt. A β -endorphin 61 – 65 aminosav szekvenciája azonos a metionin enkefalin szekvenciával és feltehető hogy a β -endorphin a μ receptor endogén liganduma, bár nem mutat szelektivitást a μ receptoron. Az enkefalinok, a dinorphin és a β -endorphin viszonylag erős fájdalomcsillapító hatással rendelkeznek az in vitro és in vivo teszteken, de az in vivo aktivitás csak a központi idegrendszerbe történő közvetlen adagolásnál mérhető³³.

Zadina és munkatársai³⁴ 1997-ben izoláltak szarvasmarha agyból két tetrapeptidet melyek egy aminosavban különböznek. Az endomorphin-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) és az endomorphin-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) kivételesen magas affinitást és szelektivitást mutatnak a μ opioid receptoron, és számos kutató a μ opioid receptor endogén ligandumának tekinti. Ennek ellentmond, hogy a prekursor proteint mindeddig nem sikerült izolálni, az endogén jelleget sokan vitatják³⁵.

A különböző opioid receptorok stimulálása olyan effektusok sorozatát hozza létre melyek attól is függnék, hogy hol található a kérdéses receptorok. A teljes agonisták kötődése a μ opioid receptoron analgéziát hoz létre, de további mellékhatások is jelentkeznek, mint a szedatív hatás, légzésdepresszió, bradycardia, hányinger, hányás, vizelet retenció és a gyomor-bél traktus motilitásának a csökkenése. További jellegzetes mellékhatások az eufória, a miosis a fizikai dependencia és a tolerancia. A δ receptor aktiválása szupraspinális analgéziát, hypotenziót és hiperthermiát eredményez, valamint a gyomor motilitás csökkenését okozza. A κ receptor stimulálásakor spinális analgészia, diurézis és diszfória figyelhető meg.

Az opioid receptorok az idegsejtek felszínén elhelyezkedő membránfehérjék, melyek az opioid ligandumokat megkötik (ez a felismerő (recognition) funkció) és a hatás a jeltovábbításban vagy jelátvitelben (signal transduction) valósul meg. Az opioid receptorok a sejtmembrán integráns glikoproteinjei, és ezek a G-protein-kapcsolt (GPCR) hét hidrofób transzmembrán helixet vagy domént tartalmaznak, a 7TM receptorok nagycsaládjába tartoznak^{36,37}. A primer szerkezet és a farmakológiai válaszreakciók alapján μ , δ és κ opioid receptorokat különböztetünk meg. Az opioid receptorok olyan szempontból nagyon különlegesek, hogy aktiválhatók endogén (pl. endorphin) és exogén (morfín, heroin) ligandumokkal. Számos exogén ligandum sokkal hatásosabb, mint az endogén peptidok, de a morfín és származékai nagymértékben addikciót idéznek elő.

Az opioid receptorok felépítése: N-terminális lánc, három extracelluláris hurok, hét transzmembrán α hélix vagy domén és három intracelluláris hurok, C-terminális lánc. A hét hélix olyan sorrendben helyezkedik el, hogy az extracelluláris oldalról nézve az óramutató járásával ellentétesen van a sorrend. A helixeket a három extracelluláris hurok (EL1, EL2, EL3) és a három intracelluláris hurok (IL1, IL2, IL3) köti össze. A három opioid receptor esetében az aminosavak összetétele és sorrendje között nagyfokú hasonlóság (homológia) figyelhető meg.

A μ , a κ és a δ receptorok szerkezetét és a helixek aminosav sorrendjét a szarvasmarha rodopszin fehérje szerkezete alapján állapították meg, mivel ennek a fehérjének ismert a kristályszerkezete a röntgenkristallográfiás mérések alapján. A μ , a κ és a δ receptorok valamint a rodopszin méretben nagyon hasonlóak, 398, 372, 380 illetve 349 aminosavból állnak. A rodopszin és a három opioid receptor emellett számos konzervált aminosavat tartalmaz, melyek feltehetően a receptorok szerkezetének a fenntartásához szükségesek. Ilyen például az opioid receptorokban a TM3 domén és az intracelluláris hurok határán található DRY motívum (Asp – Arg - Tyr).

Az aminosav szekvenciát tekintve a δ és a μ receptoroknál 62 % azonosság van, a δ és a κ receptoroknál 61 % és a μ és a κ receptorok esetén 57 %-os azonosságot találtak. A transzmembrán doménekben (kivétel a TM4) nagyfokú az azonosság, de az intracelluláris hurokok is nagymértékben konzerváltak az egyes receptoron belül.

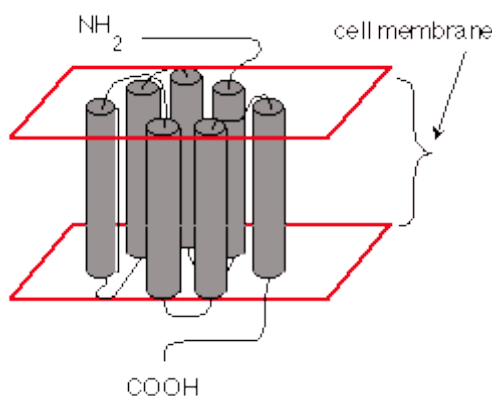
Jelentős eltérések vannak az extracelluláris N-terminális láncban, a második és harmadik extracelluláris hurokban, és az intracelluláris C-terminális láncban.

Az opioid receptorok a központi idegrendszerben az agy szubcortikális régióiban a periaqueductalis szürkeállományban a mediális thalamusban a hippocampusban a caudate nucleusban és a locus coeruleusban helyezkednek el, a gerincvelőben pedig főleg a substantia gelatinosában. A perifériális opioid receptorok a gyomor-bél traktusban elsősorban a bélfalakban találhatók. A lokalizáció feltérképezése során autoradiográfiát használtak, ezekben a vizsgálatokban tríciummal jelölt morfin származékokat alkalmaztak.

A különböző osztályokba tartozó ligandumok amikor aktiválják a receptort létrejön a jelátadás és ezt nagymértékű konzervált mechanizmus szabályozza^{38,39}. Az opioid receptort a ligandum a membrán extracelluláris oldaláról közelíti meg és a ligandum kötődése indukálja a receptor aktivációt, majd a G proteinnel való kölcsönhatás a plazma membrán intracelluláris felületén jön létre. Az opioid receptorok a G_i/G_o típusú G protein családdal kapcsolódnak az intracelluláris doménban. A G proteinek heterotrimer szerkezetűek, és három különböző alegységből állnak, G_α , G_β és G_γ . Az agonista kötődésekor az opioid receptoron konformációváltozás megy végbe, amely támogatja G protein $GDP \rightarrow GTP$ cserét a G_α alegységen. Ez utóbbi a G protein disszociációját eredményezi az opioid receptorról és valamint a G_α alegység (amelyhez GTP kötődik) disszociációját a $G_{\beta\gamma}$ dimerről. Mind a GTP kötött G_α alegység és a $G_{\beta\gamma}$ dimer összekapcsolódhat különböző effektor molekulákkal, hogy modulálja a biológiai funkcióikat.

Az aktivált állapot megszűnik, amikor a G_α alegységben kötött GTP molekula hidrolizál és GDP keletkezik, majd a $G_{\beta\gamma}$ dimerrel ismét egyesülve újraképződik a G protein heterotrimer. Az opioid receptorhoz kapcsolódó G protein G_α alegysége pertussis toxin érzékeny. Az opioid receptor aktiválása közvetíti az adenilát cikláz aktivitás gátlását. A gátlás okozója a $G_{\alpha i}$ alegység melyhez GTP kötődik és ez a receptor aktiváláskor képződik. Az adenilát cikláz akut gátlása csökkenti a cAMP képződést, és így megvalósul a feszültség-függő áramok csökkenése és a neurotranszmitter felszabadulás gátlása. Ezenkívül a cAMP képződés csökkenése tovább csökkenti a neurotranszmitter felszabadulás szintjét azáltal, hogy a cAMP-függő protein-kináz aktivitását gyengíti. **(A cAMP gátlása egy jellegzetes opioid effektus amely naloxonnal antagonizálható.)** Az opioid receptorok a K^+ ioncsatornákat aktiválják ahol a pozitív töltés az ioncsatorna belseje felé halad. Az ioncsatorna aktiválása a G proteinek közreműködésével jön létre. A csatorna nyitása a G protein $\beta\gamma$ alegységének a kölcsönhatásával valósul meg amikor a trimer G proteinnel leválik a $\beta\gamma$ alegység és a membrán hiperpolarizációja a K^+ ionok kiáramlását eredményezi. A feszültségérzékeny Ca^{2+} ioncsatornák a szinaptikus terminálokon helyezkednek el és jelentős szerepük van a neurotranszmitter felszabadulás szabályozásában, vagyis a szinaptikus transzmisszióban. Az opioid receptorok a Ca^{2+} ioncsatornákat negatívan regulálják, vagyis a receptor aktiválása gátolja a Ca^{2+} ionok kiáramlását (influx) megelőzve a neurotranszmitterek (glutamát, P anyag) felszabadulását. Az opioidok és az endogén opioidok emellett aktiválják a preszinaptikus receptorokat a GABA neuronokon, ami gátolja a GABA felszabadulást a ventrális tegmentális agyi területen. A GABA gátlása lehetővé teszi, hogy a dopaminerg neuronok fokozott mértékben tüzeljenek és a nucleus accumbensben felszabaduló extra dopamin intenzív gyönyörözést vált ki.

Mindhárom opioid receptor egy jellegzetes kötőhellyel (kötőzseb) rendelkezik melyek a TM3 – TM7 között alakulnak ki. A kötőzseb a kérdéses receptor esetén részlegesen fedve van az extracelluláris hurkokkal, melyek a transzmembrán domének extracelluláris terminusán egy kaput képeznek, ami megszabja a szelektivitást. Ugyanakkor lehetővé teszi a ligandumoknak -főleg a peptideknek - hogy különböző módon legyenek elérhetők az egyes opioid receptor típusok. A morfin és a morfin vázas vegyületek a receptor transzmembrán doménjének a belsejében kötődnek, míg a nagy térkitöltésű peptid ligandumok az extracelluláris hurkokhoz kötődnek. Mivel az extracelluláris hurkok mutatják a legtöbb eltérést, a μ , a κ és a δ receptorok esetén a szelektivitást az extracelluláris hurkok nagymértékben befolyásolják. A morfin vázas antagonisták a kötőzsebben mélyen kötődnek és sztérikusan akadályozzák a konformációs változásokat és ez funkcionális antagonizmushoz vezet.



1. ábra. A μ opioid receptor szerkezete. A 7 transzmembrán domént (valamennyi több mint 35 aminosavat tartalmaz) hengerek ábrázolják. Az N-terminális lánc az extracelluláris, a C-terminális lánc az intracelluláris régióban helyezkedik el. Az egyes doméneket 3-3 extracelluláris és intracelluláris hurok köti össze.

Az opioid receptorok klónozását 1993-ban sikerült megoldani, először a δ receptor klónozását közölték, a komplementer DNS klóntárát az NG 108-15 hibrid sejt kultúrából izolálták, ez a sejt vonal a δ receptorokat expresszálja és egy homogén receptor forrás. A frakcionált cDNS-sel majomvese COS-7 sejt kultúrát transzfektáltak. A klónozás sikerét azzal magyarázhatjuk, hogy az NG 108-15 sejtekben a δ opioid receptor mRNS-ek mennyisége kb. 100-szorosa az agyban expresszált mRNS-nek. Hamarosan bejelentették az egér és a patkány μ , κ és δ receptorok klónozását is, majd sikerült klónozni mindhárom humán opioid receptort⁴⁰. A klónozott receptorok lehetővé teszik az opioid ligandumok affinitásának és receptor szelektivitásának a pontos mérését. Az opioid receptorok aminosav szekvenciájának az ismeretében génszintézis módszerrel kiméra és mutáns receptorokat (irányított mutáció) fejlesztettek ki, és az aminosav szekvencia módosítással meghatározható a ligandumok pontos kötőhelye és a receptor térszerkezete. A géntechnológiai módszerekkel olyan kísérleti állatokat tenyésztettek ki, melyek pl. μ opioid receptor hiányosak, ilyenek a μ receptor knock out egerek. Ezáltal lehetővé vált az opioidok hatásmechanizmusának a részletes, szelektív tanulmányozása.

Az opioidok osztályozása

Az opioidokat a farmakológiai hatásuk és a receptorral való kölcsönhatásuk alapján négy csoportba soroljuk : 1. agonisták 2. antagonisták 3. agonista-antagonista hatásúak 4. részleges agonisták^{41,42}.

Amikor egy opioid kölcsönhatásba lép a receptorral létrejön a biológiai válasz, ami az agonisták esetén a hatáserősségben (potency) nyilvánul meg, amely a fájdalomcsillapító hatás mérésére alkalmas teszteken a dózis – hatás összefüggéssel határozható meg. A hatáserősség receptorális szinten függ az opioid ligandum affinitásától és hatékonyságától (efficacy). Az affinitás a ligandum – receptor kölcsönhatás erősségének a mértéke, míg a hatékonyság az aktivitás erősségének a mértéke. Az agonisták által kiváltott biológiai válaszok jelentősen különbözhetnek, még akkor is ha azonos számú receptor kötőhelyet foglalnak el, a magas hatékonysággal rendelkező agonisták maximális biológiai választ produkálnak még ha viszonylag kevés kötőhelyet foglalnak is el⁴³⁻⁴⁵. A hatáserősséghez egy másik tényező is hozzájárul, mint például az intrinsic aktivitásban (a konformáció változás foka a receptoron) meglévő különbségek és az eredő biológiai válasz. Más szavakkal a kötődési tulajdonságok és az aktivitás receptorális szinten kifejeződnek az opioid hatáserősség különbözőségeiben. Az agonisták rendelkeznek affinitással és hatékonysággal (efficacy) az antagonistáknak magas az affinitásuk de nincs hatékonyságuk, míg a részleges agonistának van affinitása és részleges hatékonysága. Az opioidok különböző mértékű affinitásúak és hatékonyságúak a μ a κ és a δ opioid receptorokon.

1. Agonisták. Az opioid agonisták a receptorhoz kötődve stimulálják a fiziológiai aktivitást és az analgetikus effektusokban nincs „plafon” (ceiling) vagy maximum hatás.

2. Antagonisták. Az antagonistáknak nincs intrinsic farmakológiai aktivitása, de akadályozzák az agonista hatást, ha mindkét vegyület ugyanazzal a receptorral lép kölcsönhatásba. Az antagonisták kompetitív tulajdonságúak, ha ugyanahhoz a receptorhoz kötődnek, de lehetséges non-kompetitív antagonista is, ha a hatásokat eltérő módon blokkolják. A naloxon és naltrexon ún. tiszta antagonisták, mindkét vegyület kompetitív antagonista a μ a κ és a δ receptorokon, de a legnagyobb az affinitásuk a μ receptorhoz, viszont a μ receptoron nincs hatékonyságuk (efficacy).

3. Agonista-antagonisták. Ezeknek a vegyületeknek van plafon effektusa az antinociceptív hatásra, és rendelkeznek agonista effektusokkal bizonyos receptoron és ellenkező effektusokkal különböző típusú receptorokon. Az első agonista-antagonista hatású vegyület a nalorfin amely a μ receptoron antagonista míg a κ receptoron agonista. Amennyiben egy opioid agonistát és egy opioid antagonistát együtt adagolunk egy agonista-antagonista vagy egy részleges agonista jön létre és az elvonási tünetek kialakulásával kell számolni.

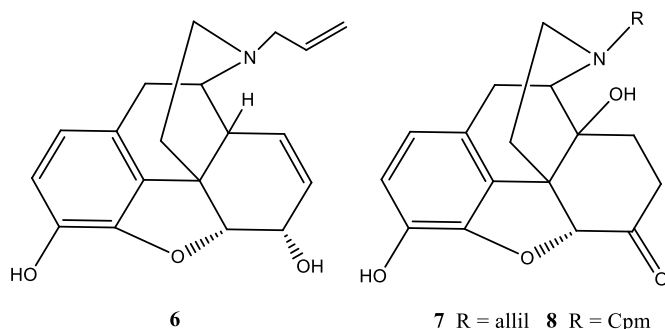
4. Részleges agonisták. Ezek a vegyületek plafon effektust mutatnak az antinociceptív hatásra, ezért előnyösen alkalmazhatók, mint fájdalomcsillapítók, de a dózis eszkalációja bizonyos szinten túl mellékhatások jelentkezéséhez vezet. A részleges agonisták nagyfokú affinitást és gyenge hatékonyságot mutatnak a μ receptoron, opioidfüggő egyéneken előidéznek az elvonási tüneteket, azáltal hogy az agonistákat (melyek gyengébb affinitással bírnak) leszorítják a μ receptorról. A tipikus parciális agonista a buprenorphin, amely magas receptor affinitással és gyenge hatékonysággal rendelkezik. Mindhárom opioid receptoron magas affinitással kötődik, vagyis nem szelektív

ligandum, a μ receptoron parciális agonista, a κ receptoron viszont antagonistákkal rendelkezik.

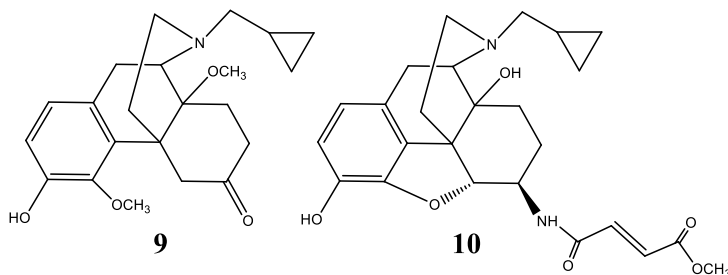
A klasszikus receptorelmélet szerint a receptor egyensúlyban van az aktív és az inaktív állapot között, az agonisták stabilizálják az aktív állapot konformációját. Ezzel szemben az antagonisták az inaktív állapot konformációját stabilizálják és meggátolják az agonisták kötődését a receptorhoz.

Opioid antagonisták

Az opioid antagonisták egy olyan nem természetes eredetű vegyületcsoport melynek tagjai specifikusan kötődnek az opioid receptorokhoz⁴⁶⁻⁵¹ illetve az agonisták hatásait felfüggesztik, gátolják. Az antagonisták hatása kompetitív. Definíció szerint egy ligandum akkor tekinthető opioidnak ha a hatást az opioid antagonisták gátolják. A morfin vázas morfina vagy a benzomorphan vegyülettípusok esetén az N-metilcsoportot N-allil, N-ciklopropilmetil vagy N-propilcsoport helyettesíti. Lényeges hogy az opioid antagonisták (nalorfin (6), naloxon (7), naltrexon (8), diprenorfin) nagyobb affinitással kötődnek az opioid receptorhoz, mint az agonisták. Ez a megállapítás érvényes az in vivo teszteken mért ED₅₀ és AD₅₀ értékekre is az adott vegyületpár (pl. oxymorphan - naloxon) esetén.



Az antagonisták közül a naloxon és a naltrexon egyáltalán nem μ szelektív, $\mu > \kappa \gg \delta$ sorrendben csökkenő affinitást mutatnak az opioid receptorokon. A diprenorfin mindhárom receptoron közel azonos affinitást mutat. A μ receptoron szelektív antagonisták a ciprodim (9) (4,14-dimetoxi-6-oxo-N-ciklopropilmetilmorfina) de a μ receptoron az affinitása kisebb mint a naloxon vagy a naltrexon affinitása, a κ és a δ receptoron viszont nagyon gyenge aktivitású. A β -funaltrexamin (β -FNA, 10) szelektív μ receptor antagonisták, viszont a hatás irreverzibilis.



Ugyancsak irreverzibilis μ receptor antagonisták a naloxonazin, amely in vivo teszten egy hosszan tartó hatású antagonisták, míg a receptorkötési teszten a nagy affinitású kötőhelyeket blokkolja a μ receptoron. Jelenlegi ismereteink szerint a μ receptoron két

oktapeptid antagonistá⁵² mutat magas szelektivitást. Mindkét peptid a CTAP és a CTOP a somatostatin ciklusos analógjának tekinthető és az opioid hatású peptidektől eltérően az N-terminális aminosav nem tirozin, illetve három D aminosavat tartalmaznak.

CTAP: D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen]-ThrNH₂

CTOP: D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen]-ThrNH₂

A CTAP és a CTOP 1200 – 4000-szer nagyobb affinitást mutat a μ receptoron, a κ és a δ receptorral szemben, ezenkívül jelentős stabilitással rendelkeznek a proteolitikus degradációval szemben és hatékony antagonisták az in vivo és in vitro vizsgálatokban.

Sikerült nem-peptid szerkezetű szelektív antagonistákat előállítani a κ és a δ receptor vizsgálatához, a norbinaltorphimin (NORBNI) egy dimer naltrexonnak tekinthető, ahol a C-6 és C-7 kötések pirrol kapcsolja össze, a vegyület szelektív κ antagonistá⁵³. Amennyiben a naltrexon C-6 és C-7 pozíciójához indol-gyűrűt kapcsolunk Fischer indol reakcióban a naltrexon indolt kapjuk (NTI) amely szelektív δ antagonistá⁵⁴⁻⁵⁵.

Az opioid antagonisták rendkívül jelentősek az alapkutatásban, de a klinikai gyakorlatban is kiemelt fontosságúak. A naloxont elsősorban a heroin vagy morfin túladagolásnál a légzésdepresszió felfüggesztésére használják, intravénás injekcióban, valamint az opioid dependencia diagnosztizálásában is alkalmazzák. A naltrexont a heroin-függők kezelésében használják, alkalmazható a metadonos detoxifikálás utókezelésére, vagy a metadon fenntartó kezelés utáni utókezelésnél. Újabban klinikai vizsgálatokat végeztek naltrexonnal olyan betegségek kezelésében, mint például az alkoholfüggők detoxifikálása, nikotinfüggő egyének gyógyszeres kezelése a dohányzásról leszoktatás során, valamint kórosan elhízott betegek gyógyításában.

A fájdalomcsillapító hatást befolyásoló tényezők

A fájdalomcsillapító effektus intenzitása vagy hatáserőssége (potency) attól függ, hogy az opioid ligandum hogyan tudja elérni a receptort illetve a kötődési affinitástól. A receptorhoz való hozzáférés függ a ligandum fizikai-kémiai és farmakokinetikai tulajdonságaitól⁴¹⁻⁴², mint például 1. megoszlási hányados 2. pKa 3. ionizáció foka 4. a dózis fehérjéhez nem kötött frakciója 5. az megoszlás látszólagos térfogata 6. clearance 7. adagolási módszer.

A hatás-szerkezet összefüggések elemzésekor, az in vivo vizsgálatoknál lényeges szempont a vegyület adagolási módja. A morfin parenterális adagolásakor a hatóanyag csak kis hányada jut be a központi idegrendszerbe, ami azzal magyarázható, hogy a morfin gyenge lipid oldékonyságú, nagymértékben ionizált állapotban van a fiziológiás pH értéken (7,4) jelentős mértékben kötődik a fehérjékhez és gyorsan végbemegy a metabolizmusa. Az adagolási módszerek kiválasztásánál⁵⁶ a kérdéses vegyület farmakokinetikai tulajdonságait veszik figyelembe, a morfin esetén orális adagolásnál a biohasznosulás csak 30 % és erőteljes first-pass metabolizmussal kell számolni. Intravénás adagolásnál a fájdalomcsillapító hatás kialakulása gyors, és közel 100 %-os biohasznosulás érhető el. Az oxikodon biohasznosulása > 87 % orálisan adagolva. A farmakológiai vizsgálatokban az állatkísérleteknél általában a subcutan adagolást alkalmazzák, ahol a szövetekből az opioid abszorpcióval kerül a szisztémás keringésbe. Az abszorpciót természetesen befolyásolja az adekvát perfúzió

(átáramoltatás). Az intracerebroventricularis (icv) adagolással kikerülhető a vér-agy gát, illetve olyan mechanizmusok is, melyek korlátozzák a vegyület megoszlását az agyban. Az opioidok hatáserősségi sorrendje eltérő lehet attól függően, hogy a fájdalomcsillapító teszt során kémiai, mechanikai vagy termális stimulációt alkalmaznak. Az izolált szerveken végzett vizsgálatok során nem kell számolni olyan farmakokinetikai tényezőkkel, mint a megoszlás, a metabolizmus és a kiválasztás.

Az opioid effektust a legnagyobb mértékben a ligandum és a receptor kölcsönhatásakor képződő komplex szabja meg. A kölcsönhatás reverzibilis és növeli vagy csökkenti a ligandum okkupációt (helyfoglalást) amely növelheti vagy csökkentheti az effektust. Ezért az opioid effektusok legfontosabb tényezője a ligandum koncentráció receptorális szinten, viszont ezt nem tudjuk mérni, csak indirekt értéket kaphatunk például a kérdéses vegyület plazma koncentrációjából, melyből lehet következtetni a ligandum koncentrációra a receptoron. A plazma koncentrációt ugyanakkor számos tényező befolyásolja, mint pl. az abszorpció, a disztribúció, a metabolizmus és az exkrécio vagyis ezektől a tényezőktől is függ a ligandum koncentráció a receptoron. Ahhoz, hogy a ligandum elérje a központi idegrendszert, át kell jutnia a vér-agy gáton, amely egy folyamatos lipid kettős-réteg, ami körülöleli az endothel sejteket és elszigeteli az agyszövetet a vértől. A legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságok⁵⁷ ebből a szempontból a molekulatömeg, az ionizációs képesség (sav-bázis tulajdonságok) és a lipid oldékonyság. Az opioid ligandumok általában kisméretű, kis molekulatömegű vegyületek, ezért ezek nem befolyásolják a ligandumok hozzáférhetőségét a receptor kötőhelyein. A nem ionizált molekulák könnyebben átjutnak a membránokon és azok a vegyületek, amelyek kevésbé ionizáltak, sokkal nagyobb koncentrációt érhetnek el a szövetekben. Minél lipid oldékonyabb az opioid ligandum annál könnyebben átjut a membránon.

Opioidok kémiai szerkezet – farmakológiai hatás összefüggései

A hatékony fájdalomcsillapító hatással rendelkező vegyületek, mint például a morfin és származékai, a morfinanok, a 6,7-benzomorphanok és az egyéb szintetikus analgetikumok mint pl. a metadon és analógjai, valamint a 4-aril-piperidinek szerkezeti sajátosságait elemezve^{11, 58-63} az alábbi közös szerkezeti vonásokat lehet megállapítani:

1. Egy bázikus funkciós csoport, célszerűen terciér amin, melyhez egy kis szénatomszámú alkilcsoport (metil) kapcsolódik.
2. Egy centrális szénatom, amely kvaterner.
3. Aromás gyűrű, amely a centrális szénatomhoz kapcsolódik, és hidroxilcsoportot tartalmaz.
4. A centrális szénatomot egy két szénatomos híd (etilén-híd, CH₂-CH₂ csoport) köti össze a bázikus nitrogénnel.

A morfin váz A gyűrűje és a bázikus nitrogén (általában terciér amin, a fiziológiás pH-n protonált (kationos) formában van jelen) ezek az opioid fájdalomcsillapító hatással rendelkező vegyületek általános jellemzői. Az aromás gyűrű fenolos hidroxilcsoportja, illetve a protonált terciér amin szükséges, de nem elégséges feltétel az opioid aktivitáshoz.

A kémiai szerkezet – farmakológiai hatás (SAR) összefüggéseinek a tanulmányozásakor, nagyszámú szerkezetileg korrelációban levő opioid származékok (peptidek, peptid-szerű vegyületek, nem peptid szerkezetű agonisták és antagonisták) biológiai hatásaival az összehasonlítás lehetővé teszi a pharmacophor csoportok szerepének a felismerését a ligandum – receptor kötődés vizsgálatokor. Ezek alapján az SAR eredmények analizésével a ligandumok pharmacophor csoportjai (szerkezeti elemei) és a receptor szerkezetéről kapott adathalmaz egy negatív kontúrnak tekinthető.

A pharmacophor csoport vagy szerkezeti egység definíció szerint a molekuláris sajátosságok kifejezése melyek egy adott ligandum felismeréséhez szükségesek a biokémiai makromolekulákon. Olyan sztérikus és elektronikus sajátosságok együttese, amelyek biztosítják a szupramolekuláris kölcsönhatásokat specifikus biológiai célponttal és kiváltják (vagy blokkolják) a biológiai választ. Lényeges szempont, hogy mely atomcsoportok vesznek részt a receptor kötődésben, és milyen e csoportok relatív pozíciója. A receptor – ligandum komplex kialakulásakor ismerni kell a ligandum aktív konformációját. A pharmacophor modell egy geometriai leírása azoknak a kémiai funkciós csoportoknak melyek ahhoz szükségesek, hogy a ligandum kölcsönhatásba kerüljön a receptorral. A pharmacophor modellnek meg kell magyarázni, hogy a különböző szerkezetű ligandumok hogyan kötődnek egy közös receptor kötőhelyhez. A tipikus pharmacophor csoportok a hidrofób centroidok, aromás gyűrűk, akceptorok és donorok hidrogénhid kötéshez, kationos szerkezeti részek, anionos szerkezeti részek és ezek a ligandumon találhatóak. A morfin esetében az aromás gyűrű, a bázikus nitrogén, a nitrogén szubsztituens és a hidrofób C gyűrű játszik szerepet az opioid aktivitásban. Az aromás gyűrű a fenolos hidroxilcsoporttal és a terciér aminocsoport alkotja a tiramin pharmacophor részt. A 3D pharmacophor modell magába foglalja a receptorkötődésben szerepet játszó csoportok térbeli relatív helyzetét, vagyis a farmakofor egységek távolságát illetve a pharmacophor pontok által bezárt szöveget. A röntgenkristallográfiás adatokból ezek a távolságok meghatározhatók.

Horn és Rodgers⁶⁴ összehasonlították a morfin-származékok, a szintetikus morfinánok és a benzomorphánok tiramin szerkezeti egységének a konformációját a röntgenkristallográfiás adatok alapján. Több molekuláris paramétert vizsgálva az opioid agonistákra és antagonistákra jó egyezéseket kaptak mindhárom vegyület típusra. Vizsgálták például a terciér nitrogénatom és a fenolos hidroxilcsoport oxigénatomjának a távolságát (morfin-HI 7,08 Å), a terciér nitrogénatom és az aromás gyűrű középpontjának a távolságát (morfin-HI 4,47 Å) vagy a nitrogén merőleges távolságát az aromás gyűrű síkja felett (morfin-HI 0,81 Å). Tíz vegyület röntgendiffrakciós adataiból az említett paraméterek átlagértékétől az eltérés minimális.

Gorin és Marshall⁶⁵ meghatározták az opioidok és az enkefalin biológiailag aktív konformációit a röntgenkristallográfiás adatokra támaszkodva illetve computeres molekulamodellek segítségével. Rámutattak, hogy a morfin-származékok opioid aktivitásához alapvető fontosságú a morfin fenantrén váz fenolos hidroxilcsoportjának a különleges térbeli elrendeződése, amely a bázikus terciér nitrogénatomtól két metilén-csoport távolságra van. A morfin-származékokban fellelhető tiramin szerkezeti egység mellett a szerzők fontos szerepet tulajdonítanak a morfin C-gyűrűjének amelyet szintén az opioid pharmacophor részének tekintenek. A pharmacophor ezen eleme felelős az opioid hatás sztereospecifikus jellegéért. A röntgen analízis és a molekulamodellek alapján vizsgálták a morfin, naloxon és etorphin-3-metiléter interatomos távolságait. A nitrogénatom távolsága a C-gyűrű szénatomjaitól (pl. C-5, C-6, C-14) azonosnak bizonyult mindhárom vegyületnél. Az enkefalinok konformációját

vizsgálva rámutattak, hogy a TYR-GLY-GLY-PHE fragmens a lehetséges opioid pharmacophor. Az N-terminális tirozin pozitív töltésű nitrogénje és az aromás gyűrű megfelel a morfinban található tiramin egységnek. Az enkefalinban és a morfinban az aromás gyűrű centruma és a nitrogén atom közötti távolsága azonosnak (4,54 Å) bizonyult.

A morfin ugyanolyan μ opioid receptor specificitást mutat, mint a szintetikus peptid DAMGO vagy a természetes endogén opioid peptidok mint az endomorphin-1, endomorphin-2 és a β -endorphin^{66,67}. Felmerül a kérdés, hogy egy exogén anyag hogyan tud kötődni a receptorhoz és azzal kölcsönhatásba lépni? Mivel az említett opioid peptidok közös jellemzője az N-terminális tirozin, általánosan elfogadott, hogy a morfin A és B gyűrűjében található tiramin szerkezeti rész ennek felel meg, azaz a morfin utánozza az opioid peptidok N-terminális részét. A morfin C-9 szénatomja királis, de ez a bioszintézis ismeretében nem meglepő, mivel a (-)-reticulín tirozinnál keletkezik. Természetesen a tiramin szerkezeti rész nem elég a szignifikáns farmakológiai hatáshoz, mivel a morfin-váz egy speciális merev elrendeződésben tartalmazza az opioid aktivitáshoz esszenciális szerkezeti elemeket: bázikus nitrogén, aromás gyűrű és fenolos hidroxilcsoport. A morfin molekula azonban olyan szerkezeti részeket is tartalmaz, melyeket szerkezeti ballasztoknak tekinthetünk, például a C-gyűrű szubsztituenseit és a dihidrofuran (E) gyűrűt is elhagyhatjuk, az így kapott vegyület a 3-hidroxi-N-metil-morfinan (levorphanol) hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin. A C-gyűrű további „lebontásával” kapjuk az 5,9-dialkil-6,7-benzomorphan vázat, és ezek a szintetikus analógok is erős hatású opioid fájdalomcsillapítók. (A morfinanok csak három királis centrumot tartalmaznak, a C-5 és C-6 szénatomok nem királisak.) Lényegében a szerkezet – hatás összefüggések elemzése alapján derült ki hogy az opioid ligandumok különböző felismerési (recognition) szerkezeti részeket tartalmaznak a receptorral való kölcsönhatás során, melyek az aktivitásért felelősek⁶⁸. Az opioid peptideknél az N terminális tirozin vagy tiramin rész reprezentálja az ún. üzenet (message) szerkezeti elemet amely felelős a receptorral történő kölcsönhatásért, míg az opioid peptidok láncvégi (C terminális) szerkezete eltérő lehet és ez a címzett (address) szerkezeti rész felelős a ligandum receptor szelektivitásáért. A δ receptor szelektív enkefalinok esetében a C terminális aminosavak (leucin vagy metionin) szabályozzák a receptor szelektivitást.

Morfinvázis vegyületek hatás-szerkezet összefüggései, a C gyűrű szubsztitúciója

A morfin molekula egy öttagú gyűrűs rendszer, amely tartalmaz egy fenatrénavázat illetve a C-9 és C-13 pozíciókban kapcsolódó N-metil piperidin gyűrűt. Az A – gyűrű aromás és a C-3 hidroxilcsoport értelemszerűen fenolos jellegű. A molekula a C-6 helyzetben egy szekunder allilalkohol egységet is tartalmaz. NMR és Röntgen diffrakciós vizsgálatok alapján bizonyították, hogy a C-gyűrű kád konformációjú, és a C-6 α hidroxilcsoport ekvatoriális helyzetű. A morfin (vagy kodein) kettőskötésének a telítésekor a dihidrovegyületek C-gyűrűje szék konformációjú, és a C-6 α hidroxilcsoport axiális helyzetű. A morfin aromás gyűrűje a C-13 kvaterner szénatomhoz kapcsolódva axiális helyzetben rögzített (C-12 – C-13 kötés), és ez az elrendeződés érvényes a szintetikus morfinan és benzomorphan-származékokra is. Az arilcsoport axiális pozícióba van kényszerítve, ezért a molekula konformációs szempontból feszült. A morfin molekula öt királis centrumot (5R,6S, 9R,13S,14R) tartalmaz, a morfinan vázis alkaloid sinomeninből előállítható antipód a (+)-morfin⁶⁹ a standard fájdalomcsillapító teszteken nem mutat aktivitást.

A morfin és származékai körében a hatás-szerkezet összefüggések tanulmányozásakor lényeges szempont, hogy a morfin egy komplex szerkezetű molekula, számos funkció csoportot tartalmaz. Ezek közül a két legfontosabb a fenolos hidroxilcsoport és az erős bázis tercier amin (N-metil-piperidin), és emiatt a morfin savban és lúgban is jól oldódik, sőt bizonyos pH tartományban a zwitterionos forma is jelen van. A morfin savbázis tulajdonságait és a lipofil jellegét ez a két funkció csoport szabja meg. A fenolos hidroxilcsoport és az N-metil-tercier amin számos új vegyület előállítását teszi lehetővé. További reakcióképes funkció csoport a C-6 szekunder alkohol, amely egyben allil alkoholként viselkedik több reakcióban, ketonná oxidálható vagy átrendeződési reakcióban új funkció csoport alakítható ki. Ezenkívül több olyan származék ismert melyek az aromás gyűrűben, a C-5 pozícióban vagy a C-10 és a C-14 helyzetben tartalmaznak szubsztituenseket. A morfin C7 – C8 kettőskötése is reakcióképes, könnyen telíthető katalitikus hidrogénezéssel, és ez a C-gyűrű konformációváltozását eredményezi. Meg kell említeni, hogy a morfin molekula reakcióképesége abban is megnyilvánul, hogy a kérdéses funkció csoportok reakcióiban a metabolizmus során nyolc metabolit (morfin-3-glucuronid, morfin-6-glucuronid, normorfin-3-glucuronid, morfin-3-szulfátészter, normorfin, morfin-N-oxid, morfion, dihidromorfinon) képződik.

A morfin és származékaiban illetve a szintetikus morfinanok és benzomorphanok esetében az N-metil csoport jelenléte kritikus az agonista aktivitás szempontjából. Az N-metil csoport helyettesítése alkil csoportokkal egyrészt befolyásolja a hatáserősséget valamint a vegyület agonista és antagonistá jellegét. Az N-allil, N-propil vagy N-ciklopropilmetil-szubsztituált származékok lehetnek tiszta antagonisták, vagy vegyes hatású opioid agonista-antagonista hatásúak. Az N-metilcsoportot tartalmazó agonisták mellett az N- β -feniletill-szubsztituált vegyületek is tiszta agonisták, ez esetben a fájdalomcsillapító hatás növekedésével számolhatunk az N-metil agonistákhoz viszonyítva.

A C-6 pozíció a morfin vázon az elmúlt évtizedekben jelentős célpont volt a sikeres gyógyszerfejlesztések során, számos új opioid agonistát és antagonistát szintetizáltak melyek rendkívül jelentősek akár a terápiában, akár az alapkutatásban. A morfin C-6 szekunder alkoholos hidroxilcsoportjának a funkcionálizálása számos szintetikus szerves kémiai reakció tanulmányozását tette lehetővé. A C-6 karbonil csoport funkcionálizálása is olyan vegyületek előállítását eredményezte, melyek farmakológiai szempontból rendkívül változatos hatásúak. A dihidrokodeinonból és dihidromorfinonból szintetizált vegyületek farmakológiai profilja is kellő hatás irányába módosítható, valamint ezeknél a vegyületeknél előnyösen befolyásolja a hatást a C-14 hidroxilcsoport beépítése is. Az oxymorphon és oxikodon mellett az opioid antagonistá hatású naloxon és naltrexon C-6 oxocsoportjának a funkcionálizálása tovább bővítette a farmakológiai hatásspektrumot. Egy további szintetikus stratégia a 4,5-epoxi-morfinan-6-on származékok átalakítása olyan reakciókkal melyek során a C-gyűrűhöz heterociklusok kapcsolhatók.

A C-6 pozíció tehát a 4,5-epoximorfinanok körében a legnagyobb mértékben manipulált hely, és a kémiai módosítások egyértelműen befolyásolják a μ opioid receptoron a ligandum kötődést, az analgetikus hatáserősséget (potency) valamint a ligandum hatékonyságát (efficacy) és az opioid receptor és a kapcsolódó G protein jelátviteli folyamatát. Azok a vegyületek, melyek a C-6 pozíció funkcionálizálásával nyerhetők jelentősek abból a szempontból, hogy fontos betekintést kapunk a receptor-ligandum kölcsönhatásokról, illetve a biológiai válaszreakció molekuláris

mechanizmusáról. Ezáltal nemcsak a fájdalomcsillapító hatás fokozható előnyösen, de a nemkívánatos mellékhatások is csökkenthetők. A morfin váz C-6 helyzetben történő szubsztitúciójával befolyásolható a származékok opioid receptor szelektivitása (naltrexon μ antagonistá → NORBNI κ antagonistá, és naltrexon → naltrexon indol δ antagonistá) valamint megfelelő szubsztituensek beépítésével irreverzibilis hatás érhető el.

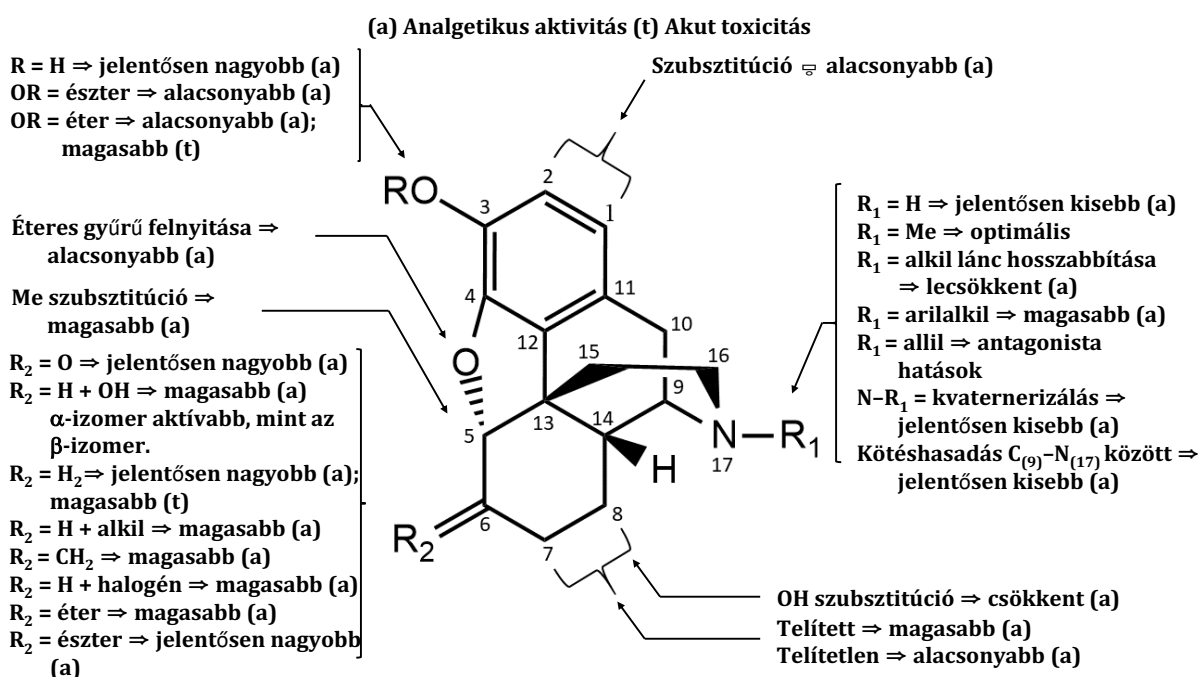
A morfin C-6 alkoholos hidroxilcsoport eliminációjakor a C-6 dezoximorfin erősebb hatású (kb. 10x) mint a morfin⁷⁰, és a C-6 dezoxi-dihidromorfin (Desomorphine) is sokkal hatásosabb analgetikum mint a morfin. A C-6 dezoxi-vegyületek származtathatók a C-6 hidroxyl-vegyületekből a hidroxilcsoport eliminációjával, vagy a C-6 ketonokból redukcióval, ezért célszerű a hatáserősséget ezekkel a vegyületekkel összehasonlítani^{58,59}. A relatív hatáserősségek (morfin = 100) a következők: dihidrodesoximorfin (1166) > dihidromorfinon (700) > dihidromorfin (117) > morfin (100) > dihidrodesoxikodein (72) > dihidrokodeinon (66) > dihidrokodein (17). Seki és munkatársai⁷¹ hasonló hatáserősség sorrendet mértek a 14-hidroxi-4,5 α -epoxymorfinanok körében: 14-hidroxi-dihidrodesoxymorfin > oxymorphon > dihidrodesoxymorfin > dihidromorfinon > 14-hidroxi-dihidromorfin > 14-hidroxi-dihidromorfin > morfin > 14-hidroxi-dihidrodesoxykodein > 14-hidroxi-dihidrokodein > 14-hidroxi-morfin > kodein. A C-6 dezoxi-származékok erősebb hatásúak, mint a megfelelő 6-keto és 6-hidroxi vegyületek, vagyis a C-6-keto és a C-6 hidroxil szubsztituensek nem létfontosságúak a magas aktivitáshoz. A C-6 helyzetben oxocsoportot tartalmazó 7,8-dihidro-származékok, mint például a dihidrokodeinon és dihidromorfinon hatékony fájdalomcsillapítók, mindkét vegyületet alkalmazzák a gyógyításban. Utóbbi két vegyület esetén a C-14 helyzetben hidroxilcsoport bevezetése jelentősen növeli az analgetikus hatást, a tipikus példák az oxikodon és oxymorphon.

A C-6 szubsztituált morfin származékok között kiemelkedő fájdalomcsillapító hatást tapasztaltak a C-6 azido-szubsztitúció esetén. Az alapvegyület azidomorfin⁷² a dihidromorfin C-6 tozilészter SN₂ szubsztitúciójával állítható elő (Bognár és Makleit, 1968) a kémiai neve 6 β -azido-6-dezoxidihidromorfin. A farmakológiai vizsgálatokat a Semmelweis Egyetemen Prof. Knoll József és Prof. Fürst Zsuzsanna⁷³ kutatócsoportja végezte.

A morfin C-6 szekunder alkoholos hidroxilcsoportjának az észteresítése a fájdalomcsillapító hatás és az euforizáló hatás jelentős növekedését eredményezi. A morfin legismertebb észterszármazéka a diacetyl-morfin, melynek a sósavas sója a heroin⁷⁴. E vegyület fájdalomcsillapító hatását és metabolizmusát vizsgálva kiderült, hogy parenterális adagolás esetén a vérben gyorsan hidrolizál, és 6-acetylmorfin képződik^{74,75}. Tulajdonképpen a heroin farmakológiai hatásai a 6-acetylmorfinnak tulajdoníthatók, vagyis a vegyület egy aktív metabolit. Figyelemreméltó, hogy a 6-acetylmorfin sokkal zsírolékonyabb jellegű, mint a morfin ezért könnyebben átjut a vér-agy gáton. Korábban a morfin számos észterének a fájdalomcsillapító hatását tanulmányozták, és a magasabb szénatomszámú észterek esetében a fájdalomcsillapító hatás időtartamának a növekedését tapasztalták^{76,77}. A morfin C-6 hidroxilcsoportjának a metilezése (6-O-metilmorfin) növeli a hatáserősséget, ugyanez érvényes a 6-O-metildihidromorfinra is, amely hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a dihidromorfin. A morfin C-6 epimerje az izomorfin a hot plate teszten gyengébb fájdalomcsillapító hatással rendelkezik, hasonló eredményt kaptak a kodein – izokodein vegyületepár esetén is^{58,59}. A 7,8-dihidro-vegyületek esetén az ED₅₀ értékek közel egyformák. A morfin kettőskötésének a hidrogénezése a C-gyűrű konformációjának jelentős változását

eredményezi (kád → szék) de ez a fájdalomcsillapító hatásban nem jelent nagy különbséget morfin – dihidromorfin viszonylatban egér hot-plate teszten, bár egyes közlemények szerint a dihidromorfin jóval hatásosabb in vivo és in vitro GPI izolált szerven^{58,59}.

A C-14 hidroxilcsoport bevezetése a morfin vázban a fájdalomcsillapító hatás szignifikáns növekedését eredményezi. Emellett a C-14 hidroxi-szubsztituált vegyületek terápiás indexe is sokkal nagyobb, mint a 14-H vegyületek esetén^{60,61}. Meg kell említeni azonban hogy bár az oxymorphon állatkísérletekben és humán klinikai vizsgálatok alapján kb. tízszer erősebb fájdalomcsillapító, mint a morfin, de a dependencia kapacitása is nagyobb. A C-14 hidroxilcsoport bevezetése jelentősen növeli az opioid antagonist hatást is, valamint a vegyület farmakológiai profilja is változik. A naltrexon például tiszta opioid antagonist, míg az N-ciklopropilmetil-dihidromorfinon vegyes agonista-antagonista hatása.



A morfinváz hatás-szerkezet összefüggések összefoglalása

2. Célkitűzések

Munkám során elsősorban a C gyűrűben megvalósított reakciókat terveztem mivel a C-6 és a C-14 pozícióban végrehajtott szubsztitúciók előnyösek a hatás-szerkezet összefüggések alapján. A C-6 szubsztituált származékok előállításánál során lehetőség nyílt az alkalmazott reakciók mechanizmusának a tanulmányozására.

2.1 A C-6 oxovegyületek funkcionálisítása

2.1a. A C-6 morfinan ketonokból C=N-X szerkezetű vegyületek (szemikarbazonok, tioszemikarbazonok, fenilhidrazonok és oximok) előállítását terveztük néhány ismert hasonló szerkezetű vegyület hatástani tulajdonságainak az ismeretében.

2.1b. Heterociklusok kapcsolása a C-gyűrűhöz a C-6 – C-7 pozícióban

A 4,5-epoximorfinan C-6 ketonok Fischer-indol és Piloty pirrol szintézisek alkalmazásával terveztünk új származékokat előállítani. Ebben az esetben a C-gyűrűhöz heterociklusokat kapcsolunk, ami lehetőséget nyújt a ketonok reaktivitásának tanulmányozására. Tekintettel arra, hogy a képződő új származékok a korábbi eredmények alapján az opioid receptoron nagyfokú szelektivitást mutatnak, lehetőség nyílik a vegyületek farmakológiai profiljának és az agonista – antagonisták jellegének tanulmányozására.

2.2 A C gyűrű C-6 szubsztituenseinek módosítása

2.2a Tanulmányoztuk a C-6 hidroxilcsoport észteresítési reakcióit benzooesavval, nikotinsavval és izonikotinsavval. A morfin származékoknál az észterek előállításakor vizsgálni kívántuk az acilezési reakciók regioszelektivitását, figyelembe véve a fenolos hidroxilcsoport és a C-14 terciér alkoholos hidroxilcsoport reaktivitását.

2.2b Tanulmányoztuk az állandó töltéssel rendelkező morfinvázas szulfátészterek előállítási lehetőségeit, különös tekintettel a morfin származékok C-3, C-6 és C-14 helyzetű hidroxilcsoportok reakcióképességére. Ezek a vegyületek az előzetes farmakológiai vizsgálatok alapján korlátozottan jutnak be a központi idegrendszerbe, az opioid aktivitás várhatóan a perifériális opioid receptorokon közvetítődik.

2.2c Irodalmi előzmények alapján a C-14 helyzetben alkoxicsoprotot tartalmazó morfin származékok kiemelkedő fájdalomcsillapító hatással rendelkeznek. Célul tűztük ki a 14-metoxi-morfin, a 14-metoxi-kodein, valamint a C-6 szulfátésztereinek előállítását.

2.2d Célkitűzéseink között szerepelt a morfin két új metabolitjának a szintézise, a morfin-3-glücosidot és a morfin-6-glücosidot kínai kutatók izolálták morfinnal kezelt daganatos betegek vizeletéből. Tervbe vettük a morfin és kodein C-6 glücosidjainak a szintézisét a klasszikus Koenigs-Knorr reakcióval, illetve a flavonoidok körében sikeresen alkalmazott fenolos glücosidok előállítását kívántuk vizsgálni a morfin és dihidromorfin esetében.

2.3. Aminok és amidok előállítása C-6 helyzetben Mitsunobu reakcióval

A Mitsunobu reakció alkalmazásával C-6 amino-szubsztituált morfin és kodeinszármazékok előállítását kívántuk tanulmányozni, illetve az aminocsoport acilezésével új C-6 szubsztituált opioidokat terveztünk farmakológiai vizsgálatokra.

2.4. A C gyűrű (kodein, morfin) átrendeződési reakciói aporphin váz kialakítása

Olyan apokodein és apomorfin származékok szintézisét terveztük melyek az aporphin váz D gyűrűjében halogén szubsztituenseket tartalmaznak. A szintézis terve szerint a C-1 helyzetben halogén-szubsztituált kodein és morfin származékok savas átrendeződésével juthatunk el a célvegyületekhez, a morfin-apomorfin C-gyűrűben végbemenő átrendeződések.

2.5. Új gyűrűrendszer kialakítása a C gyűrűben Diels – Alder [4+2] cikloaddícióval

A tebainból és egyéb morfinan 6,8-diénekből Diels-Alder reakcióval előállított vegyületek extrém hatásosságú fájdalomcsillapítókat eredményeznek. Farmakológiai és gyógyszerfejlesztési szempontból fontos vegyületek, mint pl. a diprenorphin, a buprenorphin és az etorphin szintézisének a vizsgálatát terveztük, illetve e vegyületek újabb analogonjainak a szintézisét. Céljaink között szerepelt a tebainból és fenil-vinil

ketonból előállított Diels-Alder addukt a nepenthon reakcióinak a tanulmányozása és további új származékok szintézise.

3. Anyagok, vizsgálati módszerek

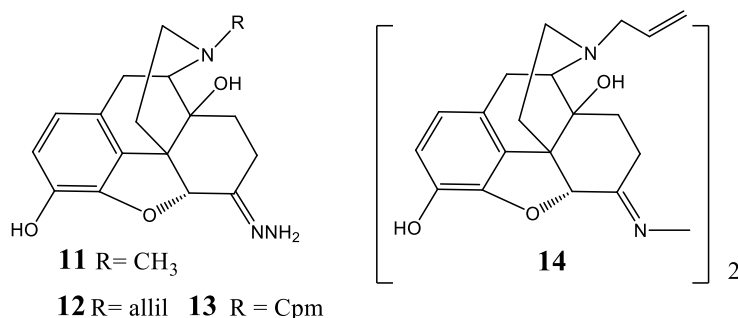
A szintetikus munka során az Alkaloida Vegyészeti Gyár által izolált alkaloidokat (morfin, kodein és tebain) használtam, az egyéb kiindulási vegyületeket, mint például oxikodon, oxymorphon, naloxon és naltrexon az irodalomban publikált eljárásokkal illetve azok módosításaival állítottam elő. Vizsgálataink során a preparatív szerves kémia makro és félmikro technikáit alkalmaztuk, a reakciók követése a vékonyréteg-kromatográfia alkalmazásával történt. A reakcióelegyek szétválasztására és a termékek tisztítására az oszlopkromatográfiát, a preparatív vékonyréteg-kromatográfiát valamint átkristályosítást (sok esetben sóképzést) alkalmaztunk. Az előállított új vegyületek és köztitermékek szerkezetének és tisztaságának a megállapítása az elemanalízis mellett a modern szerkezetvizsgáló módszerekkel történt. Tanulmányoztuk a vegyületek ^1H és ^{13}C spektrumát, valamint a tömegspektrumokkal és a Röntgenkristallográfiás adatokkal is igazoltuk a vegyületek szerkezetét. Az elemanalízist kiegészítendő a legtöbb esetben mértük a vegyületek fajlagos forgatóképességét és tanulmányoztuk a vegyületek CD spektrumait.

A szintetikus munkát a Tiszavasvári Alkaloida Vegyészeti Gyár Kémiai Kutatási Osztályán és a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Kémiai Intézetében végeztem. A dolgozatban bemutatott új kutatási eredményekkel kapcsolatos farmakológiai vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Farmakológiai Intézetben, az MTA Szegedi Biológiai kutató Központ Biokémiai Intézetben az Opioid kutatócsoport, továbbá a New York City Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Neurokémiai Intézetében és az Innsbrucki Egyetem Gyógyszerkémiai Intézetben végezték. Az irodalomjegyzék közleményeire történő hivatkozásokra a felső indexben feltüntetett számok utalnak, míg a saját eredményekhez tartozó, mellékletben szereplő publikációk idézése szögletes zárójel használatával történik.

4. Új tudományos eredmények

4.1 Morfinan C-6 ketonok funkcionálizálása, hidrazonok és ketazinok előállítása

Pasternak és Hahn⁷⁸ 1980-ban számoltak be az oxymorphon, naloxon és naltrexon hidrazonjainak (**11**,**12**,**13**) az előállításáról. A morfinan C-6 ketonokat vízmentes hidrazinnal reagáltatták, a termékek szerkezetét IR MS és NMR spektrumokkal igazolták. Mindhárom vegyület magas affinitást mutatott az opioid receptorokhoz in vitro. Az oxymorphon hidrazon in vivo potens fájdalomcsillapító hatású, míg a naloxon és naltrexon hidrazonjai opioid antagonisták. A hidrazonok agonista és antagonist hatásának időtartama az alapvegyületekéhez viszonyítva jelentősen megnőtt.



A farmakológiai vizsgálatok során Hahn és munkatársai^{79,80} azt tapasztalták, hogy a hidrazonok 1%-os ecetsavban feloldva ketazinokká alakulnak át, melyek ebben az oldatban stabilisak. A naloxon hidrazonból képződő naloxonazin (**14**) fontos szerepet játszott az opioid receptorok vizsgálatában. A receptorkötődési vizsgálatok szerint a μ opioid receptoron az agonisták egy nagy affinitású és egy kisebb affinitású kötőhellyel léphetnek kölcsönhatásba. A két kötőhelyhez a ligandumok eltérő affinitást és szelektivitást mutatnak. A naloxonazin mint antagonist szelektíven és irreverzibilisen blokkolja a μ agonisták kötődését a nagy affinitású kötőhelyhez, nemcsak az in vitro, de az in vivo kísérletek alapján is. A μ opioid receptor tehát tartalmaz egy naloxonazin-érzékeny (μ_1) kötőhelyet, valamint egy naloxonazinra nem érzékeny (μ_2) kötőhelyet. A naloxonazin antagonizálja az analgeziát (szupraspinálisan és szisztémikusan) de nem befolyásolja a morfin légzésdeprimáló és a gyomor-bél traktusra kifejtett hatását.

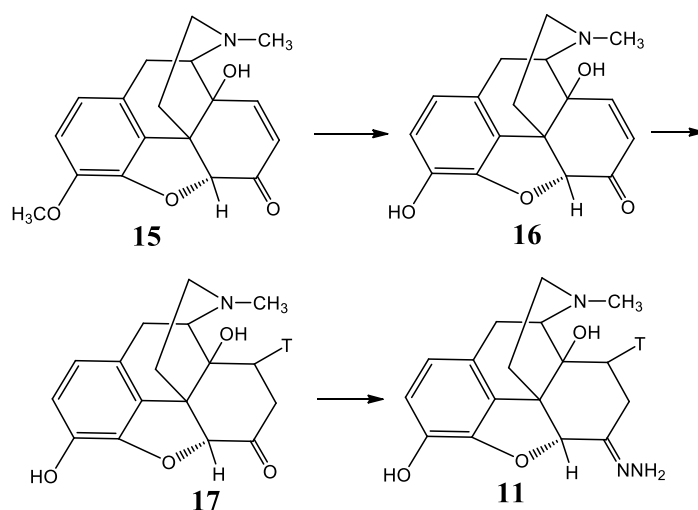
Kolb és munkacsoportja⁸¹ a hidrazonok előállításakor a nyerstermékekben anti-syn izomerek elegyét tudták kimutatni a ¹³C-NMR spektrumok analízisével. Az anti-syn arány kb. 8:2 volt. A naltrexon hidrazont (**13**) etanolból kristályosítva a tiszta anti izomer etanol szolvátját nyerték. A syn-anti izomerek közül az utóbbiak a kevésbé zsúfolt szerkezetűek.

Jelzett oxymorphon hidrazon előállítása

Az opioid receptorok vizsgálatához a tríciummal jelzett oxymorphazon előállítását tűztük ki célul [1,2], a radioaktív trícium beépítését az oxymorphon C-gyűrűjébe terveztük. Az oxymorphon (**17**) tríciummal történő jelölése során a 14-hidroximorfinont (**16**) dimetil formamidban PdO katalizátor jelenlétében reagáltattuk trícium gázzal, a moláris aktivitás 25,5 Ci/mmol volt. A C-7 helyzetű trícium viszont labilisnak bizonyult, a C-6 oxocsoport semleges vagy lúgos közegben történő enolizációja miatt cserélődött, ezzel magyarázható az alacsonyabb fajlagos aktivitás. Amennyiben az 1-brom-14-hidroximorfinont reagáltattuk hasonló reakciókörülmények mellett tríciummal

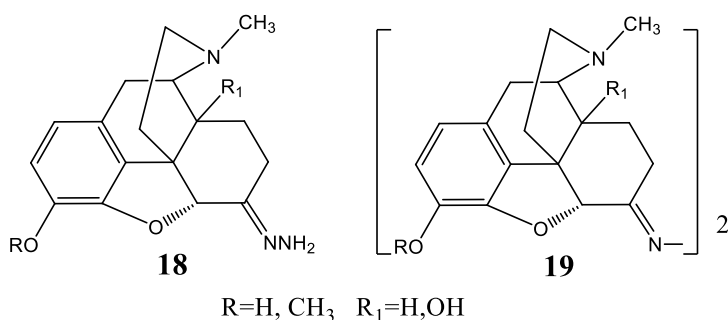
(a képződő hidrogén bromidot trietil-aminnal kötöttük meg) az 1,8-di-³H-oximorphon moláris aktivitása 45 Ci/mmol volt. A tríciummal történő jelölés során a nyerstermék összetételét vékonyréteg kromatográfiával vizsgáltuk, a radioaktivitás eloszlásának a meghatározása autoradiográfiával történt. A jelzett anyag tisztítására vékonyréteg kromatográfiát használtunk, a kvantitatív meghatározás HPLC kromatográfiával és UV spektroszkópiával történt.

A 14-hidroxi-morfinon (**16**) előállításakor a 14-hidroxi-kodeinont (**15**) 120 °C-on O-demetileztük 48%-os hidrogén bromiddal⁸², a 14-hidroxi-morfinon hozama csak 40-45 % és kb. 30% 8,14-dihidroxi-dihidromorfinon melléktermék is képződik a feldolgozás során. Az O-demetilezés megoldható bór tribromiddal is kloroformos oldatban, de a hozam ekkor sem jobb, viszont a nyers 14-hidroxi-morfinon jóval kevesebb szennyeződést tartalmaz és kristályosítással jól tisztítható. A 14-hidroxi-kodeinon hidrogén bromidos sóját vizes oldatban hűtés közben brómos vízzel reagáltattuk, a termék az 1-bróm-14-hidroxi-kodeinon HBr sója kristályosan kiválik, majd bázissá alakítva etanolból kristályosítható⁸³. Később kidolgoztunk egy újabb eljárást is, a 14-hidroxi-kodeinon hidrogén bromidos sóját 0,1 n sósavban N-bróm-szukcinimiddel reagáltatva jó hozammal nyerhető (>75%) az 1-bróm-14-hidroxi-kodeinon. A bór tribromidos O-demetilezéssel kaptuk az 1-bróm-14-hidroxi-morfinont. Egy újabb közlemény⁸⁴ a tríciummal oxymorphon autoradiográfiás felhasználásáról számolt be. A jelzett vegyület segítségével az opioid receptor hiányos (knock out) egerek agyában a receptor kötőhelyeket jellemezték. A továbbiakban a jelzett oxymorphon hidrazinnal (tízszerez felesleg) reagáltattuk etanolban szobahőmérsékleten. A jelzett oxymorphon hidrazont (**11**) vékonyréteg kromatográfiával izoláltuk. A specifikus aktivitás 17,3 Ci/mmol-nak adódott. A nem jelzett és a jelzett oxymorphon hidrazon patkány agyi preparátumon nagy affinitást mutatott a μ és a κ opioid receptorokhoz. A jelzett vegyület esetében bizonyítható volt az irreverzibilis kötődés. A receptorkötődési kísérletek során a Tris-HCl puffer alkalmazásakor a dimer oxymorphon azin képződését nem tapasztaltuk.



A további munka során előállítottuk az oxymorphon, naloxon és naltrexon hidrazonjait és ketazinjait egyrészt modellvegyületként az NMR mérésekhez, illetve standard mintának a biokémiai vizsgálatokhoz [3,4]. Új vegyületként állítottuk elő a 14-hidroxi-kodeinon, a 14-hidroxi-dihidrokodeinon (oxikodon) a dihidrokodeinon és

dihidromorfinon (hydromorphon) hidrazonjait (**18**) és ketazinszármazékait (**19**). A hidrazonok előállításánál a ketonokat feleslegben vett vízmentes hidrazinnal reagáltattuk etanolban vagy dimetil formamidban. A ketazinok preparálása során a hidrazonok ecetsavas kezelése illetve a hidrazon reakciója feleslegben vett ketonnal nem eredményezett egységes termékeket, ezért a C-6 ketonokat etanolban 0,5m hidrazin-bisz-hidrokloriddal forraltuk, ekkor teljes konverziót tapasztaltunk. Az új hidrazon és ketazin-származékok szerkezetét NMR mérésekkel igazoltuk. A nyers-termékek NMR spektrumának elemzése arra utalt, hogy geometriai izomerek képződtek, melyekből több esetben kristályosítással és/vagy oszlopkromatográfiával a domináns anti izomer izolálható. A H-5 β proton kémiai eltolódása mérvadó a szin és anti izomerek azonosításában.

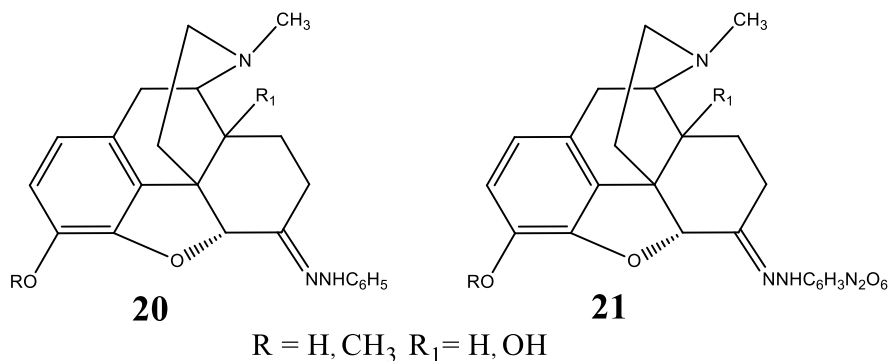


Fenilhidrazonok és 2,4-dinitrofenilhidrazonok

Az irodalom tanulmányozása alapján kitűnt, hogy számos morfinan keton fenilhidrazonját előállították korábban^{85,86}. Ismert vegyületek a dihidrokodeinon, a14-hidroxi-dihidrokodeinon és a 14-hidroxi kodeinon fenilhidrazonjai. A fenilhidrazonok (**20**) előállításánál a ketont és a fenilhidrazint etilalkoholos oldatban forralták, illetve savkatalízist alkalmaztak. Az említett fenilhidrazonok éles olvadáspontú anyagok az NMR spektrumok és a vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatok alapján homogén vegyületek. Az oxymorphon és dihidromorfinon fenilhidrazonja kétkomponensű volt vékonyréteg kromatográfián és a ¹H-NMR spektrumok szerint E – Z izomerek képződtek. Az ismert fenilhidrazonok esetén a nyers-termékek szintén geometriai izomériát mutattak. Vizsgálataink [3,4] szerint etanolos oldatban az E izomer a domináns, míg az általunk használt savas katalízis során az izomerek egyensúlyi elegye alakult ki. Hahn és munkatársai⁸⁷ az oxymorphon és a naloxon fenilhidrazonjainak az előállítását közölték. A morfinan ketonokat szobahőmérsékleten reagáltatták fenil hidrazinnal etanol oldószerben, a nyers-termékeket preparatív vékonyréteg kromatográfiával tisztították. Az oxymorphon és a naloxon fenilhidrazonját és p-nitro-fenilhidrazonját preparálták, valamennyi vegyületre közöltek olvadáspontokat illetve spektrális (MS és ¹H-NMR) adatokat. Mindkét fenilhidrazon irreverzibilis kötődést mutat az opioid receptoron a receptor kötési teszten, de az irreverzibilis kötődés mechanizmusára nincs kielégítő magyarázat. A naloxon és az oxymorphon 2,4-dinitrofenilhidrazonjainak előállításakor a ketont és a 2,4-dinitrofenilhidrazint etanolban reflux hőmérsékleten reagáltatták, a termékek tisztítását preparatív vékonyréteg kromatográfiával oldották meg. A kapott termékek jellemzése a fentiek alapján történt. Az NMR spektrumokban csak a H-5 kémiai eltolódásokat közölték, nem található utalás az esetleges syn-anti izomériára.

Az irodalomból ismert, hogy a 2,4-dinitro-fenilhidrazonok preparatív jelentőséggel bírnak, mivel az oxovegyületek és 2,4-dinitrofenilhidrazin reakciójában keletkező dinitrofenilhidrazonok etanolból jól kristályosodnak, számos esetben az oxovegyület

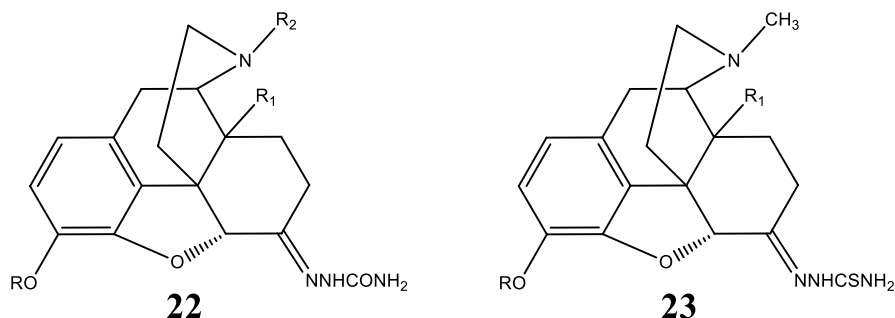
azonosítására és meghatározásra alkalmasak. A morfinan ketonok körében csak a kodeinon és dihidrokodeinon 2,4-dinitro-fenilhidrazonja volt ismert^{85,88}. Előállítottuk [3,4] a kodeinon, dihidrokodeinon, a 14-hidroxi kodeinon a 14-hidroxi dihidrokodeinon valamint a dihidromorfinon és az oxymorphon 2,4-dinitro-fenilhidrazonjait (**21**) híg sósavas közegben végezve a reakciókat. A C-3 metiléterek esetén a termékek átkristályosítás után vékonyréteg kromatográfiásan egységesnek bizonyultak, az NMR spektrumokban a H-5 β protonok kémiai eltolódása alapján cisz izomerek. A dihidromorfinonból (**21** R=R₁=H) és oxymorphonból (**21** R=H, R₁=OH) E – Z izomerek elegye képződött, a tiszta izomerek kristályosítás és oszlopkromatográfia kombinációjával nyerhetők.



Szemikarbazonok és tioszemikarbazonok előállítása

Korábban az irodalomban a dihidrotebainon és a dihidrokodeinon⁸⁵ szemikarbazonjait írták le. Saját munkánk során [3,4] a dihidrokodeinon mellett előállítottuk a 14-hidroxi kodeinon a 14-hidroxi dihidrokodeinon, a dihidromorfinon, az oxymorphon, a naloxon és a C-3 O-metil naloxon szemikarbazonjait (**22**). Időközben Portoghese és munkatársai⁸⁹ is beszámoltak az oxymorphon és naltrexon szemikarbazonok előállításáról, de spektrális adatokat nem közöltek. A szemikarbazonok előállításakor szintén kétkomponensű nyerstermék képződése figyelhető meg, de átkristályosítással vagy oszlopkromatográfiával az E – Z izomerek elválasztása megoldható.

Több új tioszemikarbazon (**23**) származékot állítottunk elő, ezek közül a 14-hidroxi kodeinon és a 14-hidroxi dihidrokodeinon tioszemikarbazonjai kristályosítással tiszta izomerekhez jutottunk. A dihidrokodeinon, a dihidromorfinon és oxymorphon esetén a geometriai izomerek képződését az NMR mérések igazolták, de az izomerek elválasztása nem sikerült, mivel a tioszemikarbazonok tisztíthatóságát jelentősen korlátozza rossz oldékonyságuk a szerves oldószerekben.



R = H, CH₃ R₁ = H, OH R₂ = CH₃, allil

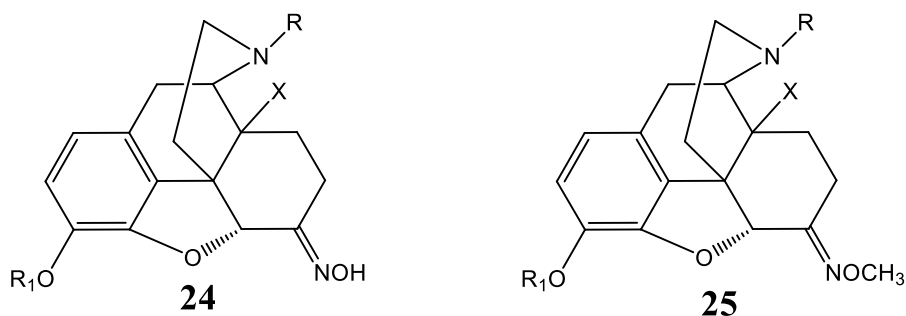
R = H, CH₃ R₁ = H, OH

NMR vizsgálatok

Az előállított vegyületek $^1\text{H-NMR}$ eltolódási értékeit vizsgálva megállapítottuk, hogy a $\text{C}=\text{N}$ kötés konfigurációjának meghatározásához az 5β -proton kémiai eltolódása diagnosztikus jelentőséggel bír. Az oxoreagensekkel kapott származékokban ez a rezonanciajel 0,3 – 1,2 ppm-mel tolódik el az alacsonyabb tér irányába a megfelelő kiindulási vegyület $\text{H-}5\beta$ eltolódásához viszonyítva. Ismeretes hogy a $\text{C}=\text{N}$ kettőskötéshez α -helyzetű proton nagyobb eltolódást szenved az alacsonyabb tér irányában, ha a nitrogénen levő szubsztituens hozzá képest cisz (Z) konfigurációjú, mint ha transz (E). A hidrazonok, szemikarbazonok, tioszemikarbazonok esetében a $\text{H-}5\beta$ eltolódási különbség 0,25 – 0,6 ppm; a transz (E) izomerben 5 ppm-nél kisebb, a cisz (Z) izomerekben 5 ppm-nél nagyobb eltolódásnál találjuk a $\text{H-}5\beta$ rezonanciajelét. A különbség fenil-hidrazonokban, 2,4-dinitro-fenil-hidrazonokban kisebb, 0,2 – 0,3 ppm; bár az utóbbi esetben az eltolódás abszolút értéke nagyobb, mint a szemikarbazon vagy tioszemikarbazon esetében. Az eltolódások oldószerfüggése nem jelentős kivéve, ha benzolt használunk, ez esetben mindkét izomer $\text{H-}5$ eltolódása a nagyobb tér irányába mozdul el. A $\Delta 7,8$ kettőskötésű kodeinon származékokban hasonló a helyzet, csupán az eltolódások abszolút értéke nagyobb, mint a megfelelő 7,8-dihidro-származékokban, és ez az elmozdulás párhuzamos a kiindulási ketonokban megfigyelt tendenciával. Egyes esetekben az E-Z izomerekben az NH protonok jelei is jól elkülönülnek és szintén alkalmasak a konfiguráció meghatározására, de a diagnosztikus jelentőségük az 5β -protonokhoz viszonyítva kisebb. Megállapítható tehát, hogy a vizsgált vegyületekben az 5β -protonok kémiai eltolódása egyszerű, gyors és megbízható diagnosztikai eszköz a $\text{C}=\text{N}$ kötés konfigurációjának a meghatározásában, valamint lehetővé teszi, az E-Z izomer arány mérését is.

Oximok előállítása

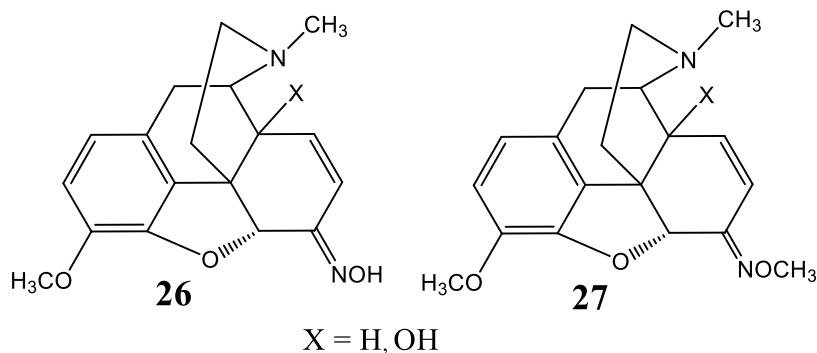
Ko és munkatársai⁹⁰ 1984-ben közölték az oximorphon, naloxon és naltrexon oximjainak és O-metil-oximjainak az előállítását. Az oximok és O-metil-oximok NMR spektruma alapján megállapították, hogy valamennyi C-6 $\text{C}=\text{N}$ kettőskötéssel rendelkező vegyület E izomer. Az oxymorphon oxim és az oxymorphon O-metil oxim hatásosabb fájdalomcsillapítók (hot plate, tail-flick és writhing tesztek) mint a morfin, de az anyavegyület oxymorphonnál valamivel gyengébb hatásúak. Az opioid antagonistá naloxonból és naltrexonból előállított oximok és O-metil oximok viszont gyengébb antagonistáknak bizonyultak (tail-flick teszt versus morfin) mint az anyavegyületek. Az oximszármazékok hatástartama gyakorlatilag megegyezett a ketonok hatástartamával.



R = CH_3 , allil, Cpm R₁ = CH_3 , H X = H, OH

Számos C-6 morfinan keton oximját (**24**) és O-metiloximját (**25**) állítottuk elő, elsősorban farmakológiai vizsgálatok céljából [5]. A kiindulási ketonok dihidrokodeinon, 14-hidroxi-dihidrokodeinon, dihidromorfinon, oxymorphon, naloxon és C-3 O-metil naloxon voltak, azaz valamennyi C-7 – C-8 dihidroszarmazék. Ezek közül a dihidrokodeinon, 14-hidroxi-dihidrokodeinon és a dihidromorfinon O-metil oximjait elsőként a kutatócsoportunk állította elő. A C-3 O-metil naloxon oximjai is új vegyületek. Az új oximok vagy O-metil oximok a H-5 β protonok kémiai eltolódásai alapján E izomerek. A folyadékkromatográfiás mérések alapján is a dihidrokodeinonból és a 14-hidroxi-dihidrokodeinonból csak egy izomer képződött. A dihidrokodeinon és a 14-hidroxi-dihidrokodeinon oximokban a H-5 β proton kémiai eltolódása 5,0 ppm, míg a dihidrokodeinon O-metil oximban és a 14-hidroxi-dihidrokodeinon O-metil oximban a H-5 β protonok kémiai eltolódásai 4,9 és 4,96 ppm.

A C-7 – C-8 helyzetben kettőskötést tartalmazó ketonok a kodeinon és a 14-hidroxi-kodeinon esetén az oximokat^{88,91} korábban leírták a szakirodalomban, az O-metil oximokat a kutatócsoportunk állította elő. A kodeinon (**26** X=H) és 14-hidroxi-kodeinon (**27** X=OH) oximjai jól kristályosítható vegyületek, az NMR és a vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatok alapján egységes vegyületek. Az O-metil oximok esetén szintén hasonló megfigyeléseket tettünk. Amennyiben a kodeinon és a 14-hidroxi-kodeinon oximok illetve O-metil oximok nyers-termékeit vizsgáltuk, az NMR és a vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatok alapján E-Z izomerek képződését figyeltük meg [6]. Az oximok illetve az O-metil oximok képződését fordított fázisú folyadékkromatográfiával is követtük, és meghatároztuk az izomerek kromatográfiás jellemzőit. A retenciós faktorok alapján az E-Z izomerek jól azonosíthatók. Preparatív folyadékkromatográfiával az E-Z izomerek könnyen elválaszthatók, az NMR mérések igazolták, hogy a Z izomer eluálódik először ez a polárisabb az adott kromatográfiás rendszerben. Analitikai szempontból fontos hogy az oximok jóval az anyavegyület ketonok előtt eluálódnak, vagyis ez egy szelektív és érzékeny meghatározást jelent a ketonokra oxim-szarmazék mintákban.



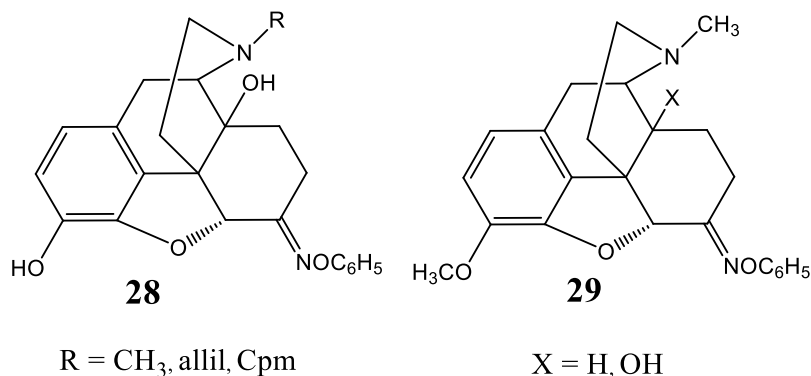
Az NMR spektrumokban az E-Z izomer arányt a H-5 β protonok integrálásával lehetett meghatározni. Az E-Z arány kodeinon oximra 30:70, a 14-hidroxi-kodeinon oximra 38:62 volt, a kodeinon O-metil oximra 20:80, míg a 14-hidroxi-kodeinon O-metil oximra 1:99 E-Z arány mérhető. A H-5 β protonok deuterokloroformos oldatban 5,6 – 6,1 ppm kémiai eltolódásnál jelentkeznek. A Z izomerek H-5 β protonjainak a kémiai eltolódása általában 0,4 – 0,5 ppm-mel nagyobb, mint az E izomerek H-5 β protonjainak a kémiai eltolódása. Az E-Z izomerek arányából kitűnik, hogy a C-7 – C-8 kettőskötésű ketonok oximjai és O-metil oximjai esetén a szterikusan zsúfoltabb Z izomerek dominánsak. A Z-izomer oximok dominanciája az α,β -telítetlen ketonok esetében azzal magyarázható, hogy a C-gyűrű csavart-kád konformációjából az oxim képződés során egy

energetikailag stabilabb konformáció alakul ki. A modellvizsgálatok arra utalnak, hogy a dihidrofuran gyűrű oxigénatomja és az oxim hidroxilcsoportja között nincs lehetőség hidrogénhid kialakulására. A kodeinon és a 14-hidroxi-kodeinon oxim származékait CD spektrális paramétereit is meghatároztuk, és ezek alapján az E – Z izomerek jellegzetes eltéréseket mutatnak. Szteroid α,β telítetlen ketonok oximjai esetén^{92,93} szintén kimutatták az E-Z geometriai izomerek képződését.

O-Fenil oximok

Mavunkel és munkatársai⁹⁴ a naltrexon számos oximéterének az előállításáról számoltak be, beleértve az oxymorphon, a naloxon és naltrexon O-fenil oximjait is. Az oximéterek biokémiai és farmakológiai vizsgálatát is közölték. A receptor kötődési teszteken a naltrexon O-feniletil oximja szignifikáns kappa receptor szelektivitást mutatott, míg számos oxim-éter a tail-flick teszten a naltrexonnal azonos hatékonyságú opioid antagonistának bizonyult.

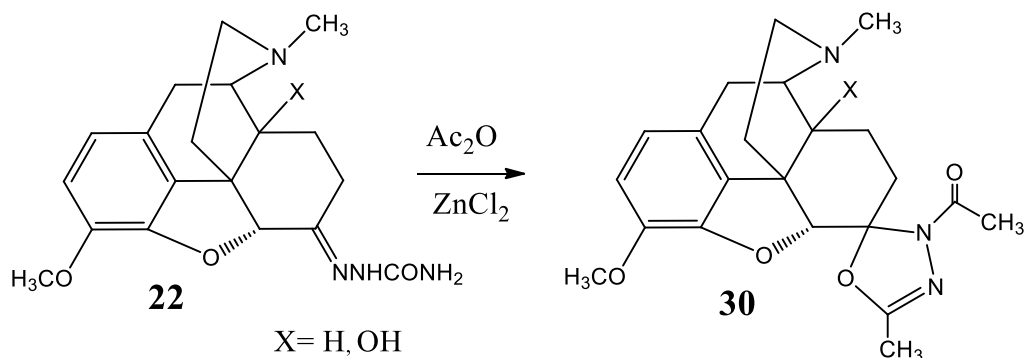
Elkészítettük az oxymorphon a naloxon és naltrexon O-feniloximjait (**28**) is, de ezekben a reakciókban alacsonyabb hozamokat tapasztaltunk, és a termékeket oszlopkromatográfiásan kellett tisztítani. Az O-feniloximok előállításánál a reagenst nem tudtuk beszerezni, ezért az alábbi eljárással preparáltuk: Difenil-jodónium klorid és N-hidroxi-ftalimid reakciójában N-fenoxi-ftalimid⁹⁵ képződik, melyet hidrazin hidráttal forraltunk etanolban nitrogén atmoszférában. A ftalil-hidrazid kiszűrése után az alkoholos oldatot etanolos sósavval megsavanyítva kiválik az O-fenil-hidroxilamin hidroklorid.



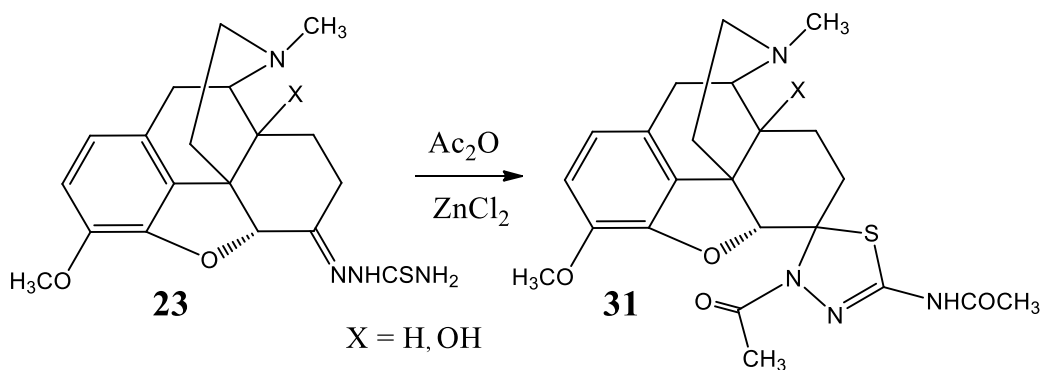
További O-fenil oximok (**29**) előállítását is megoldottuk, a dihidrokodeinonból, a 14-hidroxi-kodeinonból és a 14-hidroxi-dihidrokodeinonból kristályos terméket kaptunk. Ezekben a reakciókban a képződő oximok vékonyréteg kromatográfiásan egységes vegyületek, az NMR spektrumokban a H-5 β protonok jelei 5,1 ppm kémiai eltolódásnál (deuterokloroformban mérve) találhatóak a 7,8-dihidrovegyületek esetén. A 14-hidroxi-kodeinon O-fenil oximra a H-5 β proton kémiai eltolódása 5,32 ppm.

A szemikarbazonok reakcióiról

A dihidrokodeinon szemikarbazon (**22** X=H) és a 14-hidroxi-dihidrokodeinon szemikarbazon (**22** X=OH) reakcióit vizsgálva [7] szobahőmérsékleten ecetsav anhidrid – cink klorid reagenssel CONH₂ csoport vesztéssel a C-6 spiro-oxadiazolin (**30**) szerkezet alakult ki ciklizációs reakcióban. A spirovegyület szerkezetét elsősorban a ¹³C-NMR spektrumok igazolták. A C-6 spiro karbon konfigurációját a homonukleáris NOE differencia ¹H NMR spektrális mérések bizonyították. A NOE vizsgálatok alapján a vegyület 6S spiro sztereokémiájú.



A dihidrokodeinon tioszemikarbazon (**23** $\text{X}=\text{H}$) és a 14-hidroxidihidrokodeinon tioszemikarbazon (**23** $\text{X}=\text{OH}$) hasonló ciklizációs reakciót mutatnak [7], de a termékek szerkezete eltérő a fentiektől. A képződő C-6 spirovegyületek 2-acetilamino-4-N-acetil-3,4-tiadiazolin (**31**) szerkezettel rendelkeznek. A szerkezet igazolása során itt is a ^{13}C -NMR spektrumok analízisével sikerült. A NOE mérések alapján a C-6 szénatom 6R konfigurációjának bizonyult. A spiro C-6 ellentétes konfigurációjára utalnak az eltérő előjelű fajlagos forgatóképességek is.

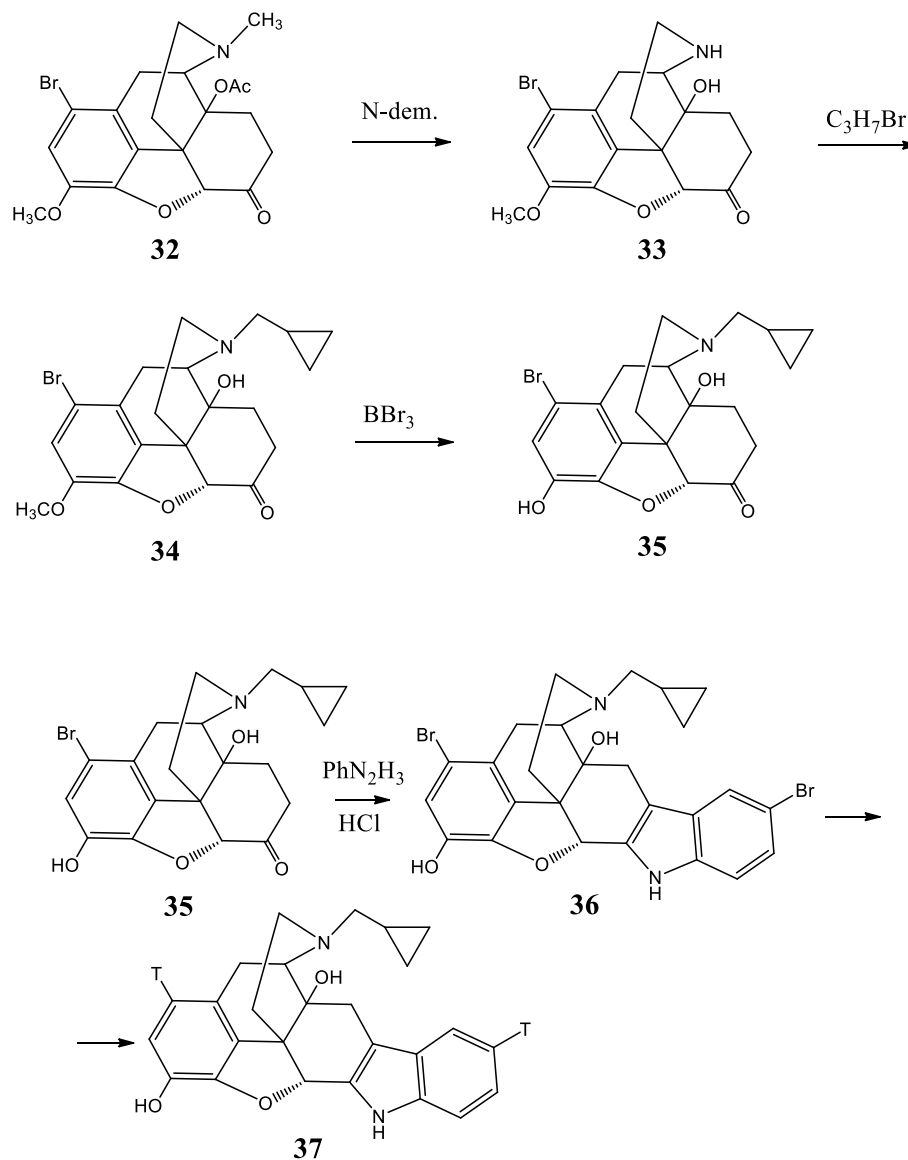


4.2 Heterociklusok kapcsolása a C gyűrűhöz

A δ opioid receptor első szelektív nem peptid szerkezetű antagonistája a naltrexon indol (NTI) volt. A vegyület szintézisét Prof. P.S. Portoghese kutatócsoportja közölte⁹⁶⁻⁹⁹, a message-address koncepciót használva a tervezéskor. A message – address koncepciót peptid hormonok biológiai hatás – szerkezet összefüggéseinek az elemzésére dolgozták ki. A peptid message szekvenciáját alkotó aminosav maradékok felelősek a jelátviteli folyamatért (signal transduction) míg az address rész a kötődési affinitást biztosítja, de nem esszenciális a jelátvitelben. Az opioid peptidekre alkalmazva ezt a koncepciót, az enkefalinok, a β endorfin és a dynorphin N-terminális aminosav szekvenciája az első négy aminosav maradékra (TYR-GLY-GLY-PHE) azonos, vagyis az N-terminális tirozin a message komponens, míg az address rész a fenil alaninnal kezdődik és ez felelős a receptor szelektivitásért. Portoghese és munkatársai a naltrexon C-gyűrűjéhez C-6 és C-7 helyzetben egy indol molekulát kapcsoltak. A vegyület könnyen előállítható a Fischer – indol reakcióval. Amennyiben az indol homoaromás gyűrű a molekula address része, a μ receptor szelektív naltrexonból az enkefalinhoz hasonló δ receptor szelektív molekula jön létre. Az elmélet szerint az indol aromás gyűrűje az enkefalin fenilalanin aminosav maradék aromás gyűrűjét utánozza. A naltrexon indol (naltrindole, NTI) valóban egy potens nagy δ opioid receptor szelektivitással rendelkező opioid antagonist. A naltrexon indol mellett az oxymorphonból és naloxonból is

elvégezték a Fischer indol szintézist illetve a naltrexon és 1-fenil-1-metil-hidrazin reakciójában a naltrexon indol N-metil származéka képződött. Az oxymorphonból kapott indol az MVD preparátumon opioid agonista és δ szelektivitást mutat, ami a message-address koncepció helyes voltára utal a ligandum tervezésében. A naltrexon hidrokloridot és a fenilhidrazin hidrokloridot sósavval telített metanolban forralták, a naltrexon indol hozama > 70%. A naltrexon hidroklorid és a fenilhidrazin hidroklorid elegyét jégecetben forralva hasonló hozam érhető el.

Elsősorban a receptorkötési vizsgálatokhoz szükség volt a vegyület radioaktív izotóppal való jelölésére. Először a Szegedi Biológiai Központ kutatócsoportja számolt be a tríciummal jelölt NTI előállításáról. A naltrexonból 4-bróm fenilhidrazinnal elkészítették az 5'-bróm-naltrexon indolt, majd ennek a trícíálásával (trícium gáz – PdO/BaSO₄ katalizátor) kapták a jelölt vegyületet, melynek a specifikus aktivitása 20,5 Ci/mmol volt¹⁰⁰. A Szegedi Biológiai Központ kutatócsoporttal együttműködve, olyan naltrexon indol származékot terveztünk előállítani mely a naltrexon aromás gyűrűjében is tartalmaz bróm szubsztituenst, s így a 4-bróm fenilhidrazinnal 1,5'-dibróm-naltrexon indolhoz juthatunk [8], melynek a katalitikus trícíálása várhatóan magasabb specifikus aktivitású naltrexon indolt eredményez. A szintézis során a 14-hidroxi-dihidrokodeinon C-1 bróm-szubsztituált származékából indultunk ki. A 14-hidroxi-dihidrokodeinon HBr sóját vizes oldatban brómos vízzel reagáltatva kaptuk az 1-bróm-14-hidroxi-dihidrokodeinont⁸³, melyet ecetsavanhidriddel melegítve a C-14 észter (**32**) képződik. A C-14 észtert kloroformos oldatban brómciánnal reagáltatva N-demetileztük, majd a képződő cianamid-származékot nitrogén atmoszférában 3N sósavval forralva a cianamid és az észter hidrolízise végbement, és az 1-Br-14-hidroxi-dihidronorkodeinonhoz (**33**) jutottunk. Az N-demetilezésre kidolgoztunk egy alternatív módszert is, a mérgező brómciánt klórhangyasav vinilészterrel helyettesítettük. A reakció 1,2-diklóretán oldószerben a karbamát észtert eredményezte, melyet először diklóretánban sósavgázzal reagáltattunk (HCl addíció a vinilcsoportra) majd az adduktot absz. metanolban melegítve az 1-Br-14-acetoxi-dihidronorkodeinon sósavas sója képződött. A C-14 észtert 3N sósavval hidrolizáltuk. A továbbiakban a norvegyületet ciklopropilmetil bromiddal N-alkileztük dimetil formamidban nátrium hidrogénkarbonát jelenlétében. Az 1-Br-N-ciklopropilmetil-14-hidroxi-dihidronorkodeinont (**34**) kloroformos oldatban bór tribromiddal O-demetilezve megkaptuk az 1-Br-naltrexont (**35**). Ennek a Fischer-indol reakciója 4-bróm fenilhidrazinnal (metanolos sósav) eredményezte az 1,5'-dibróm-naltrexon indolt (**36**). A dehalogénezés dimetil formamidban történt tríciummal PdO/BaSO₄ katalizátor alkalmazásával. A jelzett naltrexon indol (**37**) specifikus aktivitása 46,1 Ci/mmol volt. A vegyület magas affinitást és szelektivitást mutatott a δ opioid receptorokon¹⁰¹.



Saját munkám során a farmakológiai és biokémiai vizsgálatokhoz előállítottam [9] a 14-O-metiloxymorphon indolt (**38** R=CH₃, X=OCH₃, R₁, R₂ = H) a standard naltrindolt (**37**) és a naloxon indolt, (**38** R=allil, X=OH, R₁,R₂=H) illetve új vegyületként a dihidrokodeinonból, a dihydromorfinonból és a 14-hidroxydihidrokodeinonból a megfelelő indol-származékokat a Fischer indol szintézissel. Az indolképződés a C-6 morfinan ketonok esetében viszonylag enyhe körülmények között megy végbe, a termék sósavas sója általában kiválik az oldatból. További új vegyületnek számít a 14-hidroxydihidrokodeinon N-Me indol (**38** R=R₁=R₂= CH₃, X=OH), a dihidrokodeinon N-Me indol, a dihydromorfinon N-Me indol és a naloxon N-Me indol. A morfinan ketonokat ez esetben N-metil-fenilhidrazinnal reagáltattuk. Az előállított új vegyületek NMR és MS spektrumát tanulmányozva az ¹H-NMR spektrumokban jellegzetes a H-5β protonok magas (5,7-5,6 ppm) kémiai eltolódása az alapvegyület ketonokhoz viszonyítva közel egy ppm-mel magasabb. Az N-metil indol-származékok esetén a H-5β protonok kémiai eltolódásai 5,8 – 5,75 ppm tartományba esnek.

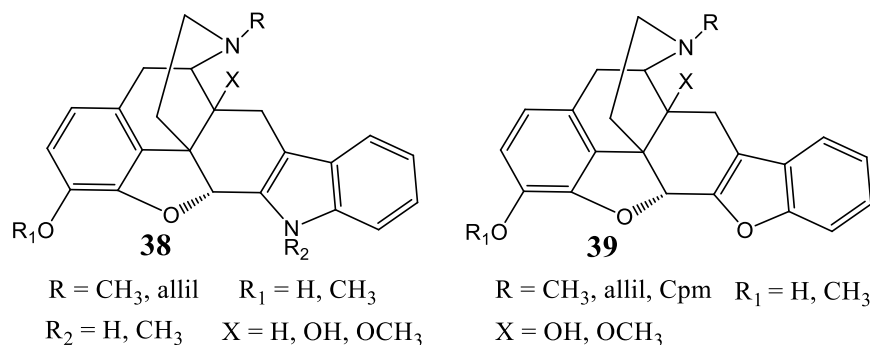
Dorn és munkatársai¹⁰² a közleményeink megjelenésével egy időben hasonló elvet alkalmaztak a ³H-jelzett naltrexon indol előállítására: naltrexont jégecetben 2,4-dibróm-fenilhidrazinnal melegítve az 5',7'-dibróm-naltrexon indol képződött. Ennek a

tríciummal történő dehalogénezésekor (dimetil formamid oldószer, Pd/C katalizátor) kapták a jelzett naltrexon indolt melynek a specifikus aktivitása 39,5 Ci/mmol volt. Lever és Johnson¹⁰³ hasonló reakciókban az N-metil-naltrexon indol tríciummal történő jelöléséről számoltak be. A naltrexont α -metil-2,4-dibrómfenilhidrazinnal reagáltatták és a reakcióban keletkező N-metil-5',7'-dibróm naltrexon indolt dehalogéneztek dimetil formamidban Pd/C katalizátort és trietil-amin savmegkötőt alkalmazva. A dehalogénezés során nem tapasztaltak teljes konverziót, a jelzett naltrexon indol specifikus aktivitása 17,3 Ci/mmol volt.

Benzofurán- és indolszármazékok előállítása

Portoghese és munkatársai^{96,98,99} elkészítették a naltrexon indol benzofurán analogonját (**39**) is, ez a vegyület is hatásos δ opioid receptor antagonist. A benzofurán származék (naltriben) alkalmazásával a δ opioid receptoron két altípust találtak. A naltrexon benzofurán (**39** R= Cpm, X= OH, R₁= H) előállításakor naltrexon hidrokloridot és O-fenilhidroxilamin hidrokloridot reagáltattak metán szulfonsav katalízist alkalmazva etanolos oldatban 18 órás forralással. Ez a reakció tulajdonképpen a Fischer indol szintézis analóg reakciója^{104,105}, az átrendeződés itt is egy ciklusos [3,3] szigmatróp reakcióval magyarázható. Ketonok O-fenil (aril) oximjai bór trifluorid éteráttal vagy alkoholos sósavval katalizálva ciklizálhatók és a benzofurán képződik.

Farmakológiai vizsgálatokhoz előállítottuk [10] a fenti eljárással a 14-O-metiloxymorphon benzofuránt (**39** R= CH₃, X= OCH₃, R₁=H) a naltrexon benzofuránt a naloxon benzofuránt (**39** R= allil, X= OH, R₁= H) az oxymorphon benzofuránt (**39** R= CH₃, X= OH, R₁= H) és a 14-hidroxi-dihidrokodeinon benzofuránt (**39** R= CH₃, X=OH, R₁= CH₃). A reakcióban a korábban preparált O-fenil oximok keletkeznek, az átrendeződés a sav hatására játszódik le. A naltrexon benzofurán standard kivételével valamennyi új származék. A benzofurán származékokban is jellegzetes a H-5 β protonok magas (5,65-5,6 ppm) kémiai eltolódása.

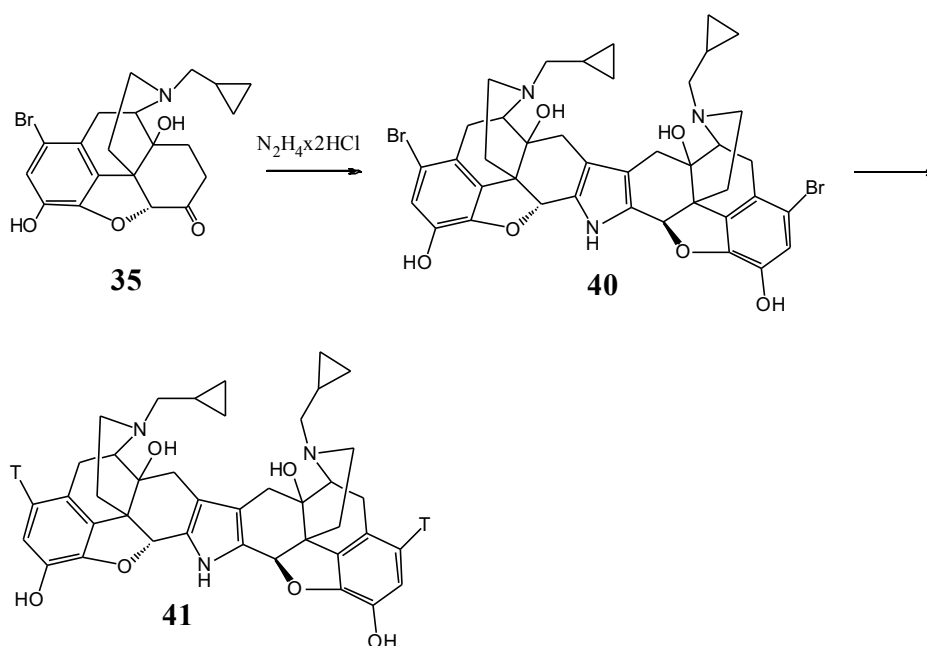


Az oxymorphon indol az MVD izolált szervi preparátumon δ receptor szelektivitást mutat viszont nem teljes agonista hanem parciális agonista. A δ receptor szelektivitást alátámasztja, hogy az agonista hatást a naltrexon indol antagonizálja. Amennyiben a 14-hidroxi csoportot metilezzük, a 14-O-metiloxymorphon indol egy hatásosabb teljes agonista és magas δ receptor szelektivitással rendelkezik. A message-address koncepciót támasztja alá az oxikodon indol δ receptor szelektivitása is: az oxikodon Ki értéke 1170 nmol a δ receptoron, míg az oxikodon indol esetén a Ki 23 nmol, vagyis az indol gyűrű kapcsolódása jelentősen befolyásolja a receptor szelektivitást. Az előállított új benzofuránok közül a naloxon benzofurán MVD izolált szervben hatásos és szelektív antagonist a δ receptoron, az oxymorphon és oxikodon benzofurán parciális agonisták a δ receptoron. A kérdéses benzofuránok a receptor kötési teszten, a δ receptoron magas

affinitást mutatnak (^3H -jelzett δ receptor ligandumokkal szemben), ez érvényes az oxikodon indolra is, bár ennek a K_i értéke nagyságrenddel kisebb, mint a C-3 helyzetben fenolos hidroxilt tartalmazó benzofuranoké.

NORBNI jelölés

Portoghese és munkatársai¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ naltrexonból egy bivalens szerkezetű vegyületet állítottak elő melyben két naltrexon molekulát C-6 és C-7 helyzetben egy pirrol gyűrű kapcsol össze. A vegyületet norbinaltorphiminnek (NORBNI) nevezték el. Naltrexon-hidrokloridot reagáltattak N-amino-szukcinimid hidrokloriddal dimetil formamidban 90°C -on. Ez egyben egy új típusú pirrol szintézisnek tekinthető. Oxymorphonból, dihidromorfinból és dihidrokodeinból is hasonló szerkezetű vegyületeket kaptak. A hozam naltrexon és oxymorphon esetén kb. 60%, a másik két ketonra pedig 50% alatt volt. A termékek tisztítását szilikagél oszlopkromatográfiával és Sephadex gél szűréssel végezték. A biológiai vizsgálatok alapján kiderült, hogy a NORBNI (**41**) egy szelektív antagonistája a κ opioid receptoron, szignifikáns hatáserőséggel. A NORBNI szintézisét megvalósították a Piloty-Robinson pirrol szintézissel is. Naltrexon hidroklorid és hidrazin bisz-hidroklorid reakciójában (dimetil formamid, 90°C , majd oldószercserére dimetil szulfoxid-metán szulfonsav 130°C) 70%-os hozammal kapták a várt terméket. Naltrexon hidrokloridból és metilhidrazin hidrokloridból Piloty-Robinson reakcióban az N-metil-pirrolszármazék (BNI) képződött 42 %-os hozammal. A Piloty-Robinson reakcióval oxymorphonból és naloxonból is előállították a megfelelő pirrolszármazékokat. Bár a NORBNI dimer szerkezetű, a C_2 szimmetria miatt az NMR spektrumban egyféle rezonanciajelek jelentkeznek. Az ^1H NMR spektrumokban a H-5 β protonok jelei $\sim 5,5$ ppm-nél találhatóak, ami kb. 0,7 ppm-mel magasabb az alapvegyületek H-5 kémiai eltolódásánál. Vizsgálataink [11] szerint jégacet oldószerben a naltrexon hidroklorid és hidrazin bisz-hidroklorid reakciójában 90°C -on magas hozammal képződik a NORBNI bisz-hidrokloridja, amely kiválik a reakcióelegyből. A farmakológiai vizsgálatokhoz ezzel a módszerrel előállítottuk a naloxon az oxymorphon és a 14-hidroxidihidrokodeinon hasonló származékait is. Az utóbbi vegyület korábban nem volt ismert az irodalomban.



Elsőként számoltunk be a κ opioid receptor antagonistá Norbinaltorphine (NORBNI) radioaktív jelöléséről, az általunk kidolgozott módszert alkalmazva 1-brom-naltrexon (**35**) és hidrazin bisz-hidroklorid reakciójában az 1,1'-dibrom-NORBNI x 2HCl (**40**) képződött [11]. A leválasztott bázist oszlopkromatográfiával tisztítottuk. A dibrom-NORBNI trícilálását dimetil formamidban végeztük, Pd/BaSO₄ katalizátort és savmegkötőként trietil-amint alkalmaztunk. A vékonyréteg kromatográfia segítségével izolált jelzett NORBNI (**41**) specifikus radioaktivitása 47,2 Ci/mmol volt. A jelzett vegyület alkalmazásával elvégzett receptorkötési vizsgálatok igazolták a ligandum magas affinitását az opioid receptorhoz, illetve a κ opioid receptor szelektivitást.

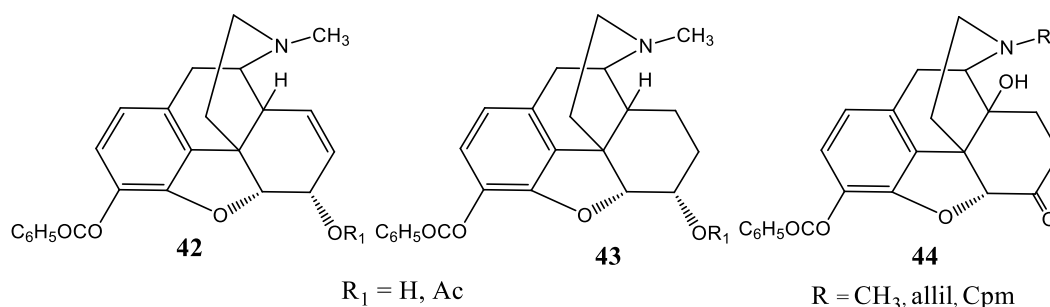
4.3 Morfinváz C-6 hidroxilcsoportjának funkcionálizálása

A hidroxilcsoportok észterésítése az egyik leggyakrabban alkalmazott prodrug stratégia, mivel így olyan vegyületek szintetizálhatók, melyek rendelkeznek a megfelelő lipofilitással és a megfelelő *in vivo* labilitással. Egy ideális észter prodrugnak rendelkeznie kell adekvát vízoldékonysággal azon a pH értéken ahol a molekula maximális stabilitást mutat. Célszerű továbbá, hogy a vegyület adekvát tárolási stabilitást is mutasson. Az észtereknek *in vivo* körülmények között gyors és kvantitatív konverzióval kell rendelkezni, hogy az anyavegyület felszabaduljon.

Az opioid agonisták és antagonisták hatás-szerkezet összefüggései egyértelműen hangsúlyozzák a fenolos hidroxilcsoport fontosságát, mivel szignifikáns opioid hatás csak ekkor tapasztalható. Ugyanakkor a fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületek biohasznosulása korlátozott, emellett ezeknél a vegyületeknél jelentős first-pass metabolizmussal kell számolni. A nem lipofil karakter általában gyenge áthaladást eredményez a biomembránon. A prodrugok alkalmazása a fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületeknél¹⁰⁹ a hatóanyag egy biztonságos, hatékony szállítását teszi lehetővé, hogy az anyavegyület bejusson a szisztémás keringésbe illetve elérje a hatás helyét ahol a farmakológiai hatás közvetítődik. A morfin bioreverzibilis származékképzése könnyen megoldható a C-3 fenolos hidroxilcsoport és a C-6 allilalkoholos csoport észterésítésével. A morfin számos alacsonyabb szénatomszámú zsírsavészterét korábban már előállították. Az észterképződés a morfin esetén ideiglenesen inaktíválja a hatást pl. a C-3 hidroxilcsoport észterésítésekor, illetve az észterkötés hidrolízis stabilitásától függően a vegyület kontrollált felszabadulása érhető el. A fenolos hidroxilcsoport észterésítése várhatóan prodrug jellegű vegyületet eredményez. A prodrugokat gyakran használják azzal a szándékkal, hogy az anyavegyület fizikai-kémiai és/vagy farmakológiai tulajdonságait javítsák. E tekintetben példaként említhető az oldékonyság változása, a stabilitás növelése, a toxicitás csökkentése, valamint az eliminációs félidő és a biohasznosulás növelése. Az újabb vizsgálatok alapján a morfin származékok 3,6-diészterei (prodrug) könnyen átjutnak a bőrön is, majd a vérben a fenolészter gyorsan hidrolizál, ami lehetővé teszi az ún. transzdermális készítmények előállítását.⁷⁷ A orálisan adagolt opioid antagonistá naltrexon¹¹⁰ vagy a szintén orálisan adható agonista-antagonista nalbuphine biohasznosulása gyenge (kevesebb mint a dózis 10 %-a) elsősorban a first-pass metabolizmus miatt, mivel a C-3 fenolos hidroxilcsoport konjugációja a májban és a belekben gyors kiürülést eredményez. A prodrug (C-3 acetyl szalicilát vagy benzoát) alkalmazása ilyen esetben csökkenti a first-pass metabolizmust és növeli az orális biohasznosulást.

A morfin esetében a fenolészterek sokkal gyorsabban hidrolizálnak (C-3 acetil, propionil, butiril, kaproil) mint a megfelelő C-6 észterek. Célkitűzésünk az volt, hogy olyan észtereket állítsunk elő morfinból és származékaiból melyek nem érzékenyek hidrolízisre és ezáltal a C-3-OH és C-6-OH acilezésekor kapott vegyületek farmakológiai hatása is tanulmányozható, nem kell a teszt során esetleges hidrolízissel számolni. Korábbi adatok¹¹ szerint a morfin-3-benzoátja (és további szubsztituált benzoátok) stabilabbnak mutatkoztak az enzimatis (és enyhe lúgos) hidrolízis során, mint a zsírsavas észterek. A benzoosavas észtereket a szerves kémiai szintézisekben mint védőcsoportot alkalmazzák, mivel híg lúgos hidrolízissel könnyen eltávolíthatók. A morfin kémiában tipikus példa a morfin-6 α -glukuronid¹² szintézise ahol előnyösebb kiindulási vegyület a 3-O-benzoil-morfin mint a C-3 acetát.

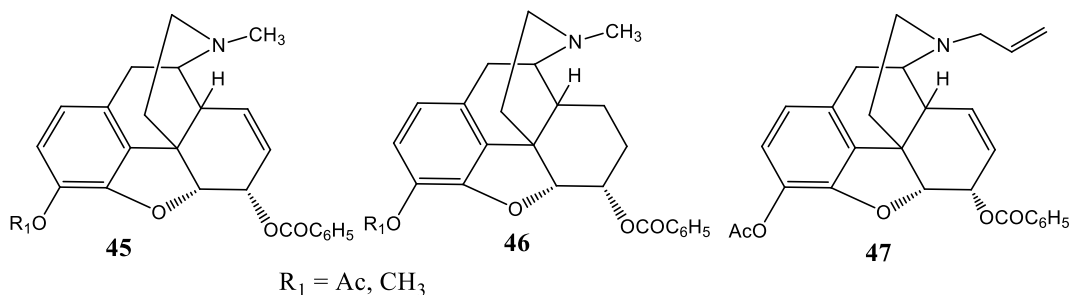
A benzoosavas észterek előállíthatók benzoil kloriddal vagy a terciér hidroxilcsoportok acilezésekor (14-OH-kodeinon és 14-OH-dihidrokodeinon) benzoosav anhidriddel¹³ (oldószer nélkül) 150 °C-on. Korábban a Mitsunobu reakció alkalmazásával¹⁴ számos izomorfin (izokodein) benzoosavas észtert állítottunk elő. Célszerűnek láttuk megvizsgálni az epimer benzoátok előállításának lehetőségeit is [12].



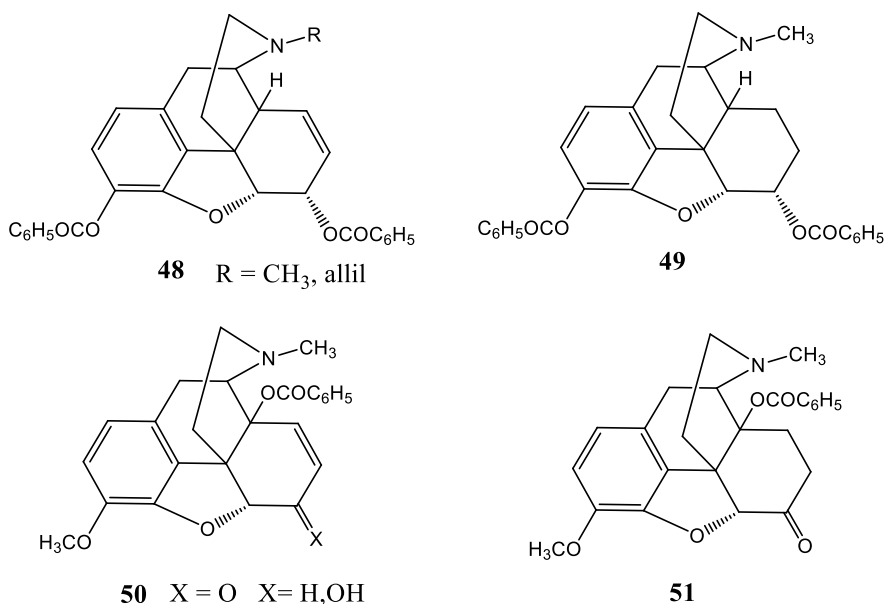
A morfin, dihidromorfin, oximorphon, naloxon, és naltrexon fenolos hidroxilcsoportjának a benzoilezése kétféle módszerrel oldható meg. A morfin-származékot diklórmetánban reagáltatjuk benzoil-kloriddal trietil-amin jelenlétében, illetve Schotten-Baumann reakcióban feleslegben alkalmazott benzoil-kloriddal. Az utóbbi módszert alkalmazva, morfinból és dihidromorfinból nemcsak a monobenzoil- (42, 43 R=H) de melléktermékként a dibenzoil-származék is képződik. A 14-hidroxi-dihidromorfinon származékok (44) esetében is kimutatható melléktermék, mindkét reakciókörülményt alkalmazva. A nyerstermékek NMR spektrumában azonosíthatók a C-6-enol-benzoátok. A kodein és dihidrokodein C-6 benzoilszármazékai (45, 46 R₁ = CH₃) 1,2-diklór-etánban trietil-amin katalizátor jelenlétében reflux hőmérsékleten feleslegben vett benzoil-kloriddal állíthatók elő. (Azt tapasztaltuk, hogy a piridin alkalmazása esetén a termék tisztítása jóval nehezebb.) Megoldható a kodein (dihidrokodein) benzoilezése szobahőfokon is ekvivalens benzoil-kloriddal 4-dimetilamino-piridin katalizátor alkalmazásával. A morfinból, nalorphinból és dihidromorfinból 1,2-diklór-etánban benzoil-klorid felesleggel a várt 3,6-dibenzoil-származékok (48,49) nyerhetők. Amennyiben e reakciókörülményeket a 3-acetil-morfin, 3-acetil-dihidro-morfin és 3-acetil-nalorphin esetében alkalmaztuk a megfelelő 3-acetil-6-benzoil-származékok (45, 46, 47 R₁ = acetyl) képződtek. Utóbbi vegyületekből könnyen és jó hozammal nyerhetők új módszerrel a 6-benzoil-származékok. E vegyületek ugyanis hidroxilamin-hidrokloriddal szelektíven dezacetilezhetők, enyhe körülmények között. Előállítottuk továbbá a 3-acetil-6-benzoil-származékok fordított észtereit is: a 3-benzoil-morfin (dihidromorfin) acetilezésével a megfelelő 3-benzoil-6-acetil származékok (42,43 R₁ = acetyl) nyerhetők. Általában a fenti C-3 benzoátok

metanolos oldatban 5 %-os nátrium hidroxiddal szobahőmérsékleten 3-4 óra alatt hidrolizálnak, míg a C-6 és a C-14 észterek jóval lassabban hidrolizálnak.

A 4-dimetilamino-piridin alkalmazásával szobahőmérsékleten megoldható a 14-hidroxi-kodeinon és 14-hidroxi-dihidrokodeinon benzoilezése (**50** X=O, **51**) benzoil-kloriddal. Mindkét autentikus C-14 benzoátot előállítottuk a benzoésav anhidrides reakcióban is. A 14-benzoiloxi-kodeinon redukciójával (NaBH₄-metanol) a 14-benzoiloxikodein (**50** X=H, αOH) képződött.



A kísérleteinkben használt dihidromorfint is új módon nyertük. A morfin katalitikus hidrogénezése (Pd-C) során, ha a reakciót alkoholokban (etanol, metanol) vagy híg savakban (sósav, ecetsav) hajtottuk végre, nem kaptunk egységes terméket az átrendeződés miatt. A diacetyl-morfin hidrogénezése viszont (Pd-C ; benzol-metanol) egységes terméként diacetyl-dihidromorfint ad, melyből enyhe lúgos hidrolízissel a dihidromorfin magas hozammal kapható meg.



Fordított fázisú folyadékkromatográfia alkalmazásával meghatároztuk a benzoátok zsirolékonyságát a kapacitási tényezők mérésével. A logD (pH = 7,4) értékek alapján a nalorphin 3,6 dibenzoát lipofil jellege a legnagyobb (4,03), valamint a morfin 3,6 dibenzoát (3,22) és a dihidromorfin 3,6 dibenzoát (3,11) logD értékei. A C-3 és C-6 benzoátokat összehasonlítva az előbbieket sokkal lipofilabbak.

Tanulmányoztuk a morfin származékok acetilszalicilsavas észtereinek az előállításai lehetőségeit is. Shefter és munkatársai¹¹⁰ korábban közölték a naltrexon a naloxon és az oxymorphone C-3 acetilszalicilsavas észtereinek a szintézisét. A reakciókat

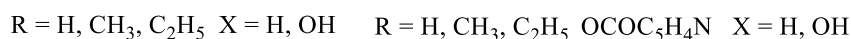
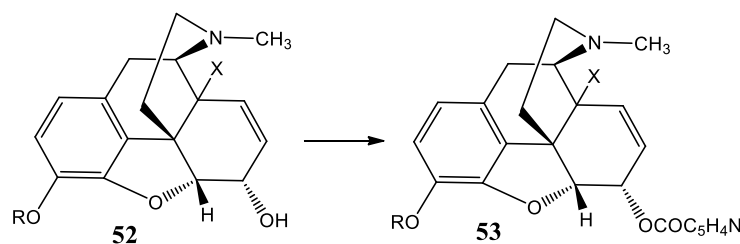
diklórmétánban végezték trietil-amin savmegkötő jelenlétében, az acilezőszer acetilszalicilsav klorid volt. A részletes NMR és MS vizsgálatokhoz előállítottuk az említett vegyületeket, illetve megoldottuk a morfin és dihidromorfin C-3 acetilszalicilát észterek előállítását is. Mindkét új vegyület jól kristályosodik, ecetsavanhidriddel történő reakciókban a C-6 acetátokat nyertük. Kézenfekvőnek látszott a C-6 acetilszalicilátok szintézise is elsősorban farmakológiai vizsgálatok céljára, de a 3-O-acetil morfin és kodein reakciójában acetil- szalicilsav kloriddal trietil-amin vagy 4-dimetilamino-piridin jelenlétében vagy a változatlan kiindulási vegyületet nyertük vissza, vagy 6-O-acetilkodeint izoláltunk.

Nikotinsavas észterek előállítása

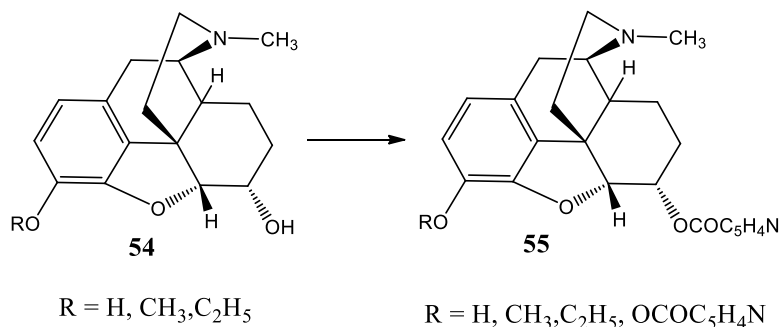
A morfin 3,6-bisz-nikotinátja (Nicomorfine) a morfinnál erősebb fájdalomcsillapító hatást mutat¹¹⁵⁻¹¹⁷, de a hatás gyorsabban kezdődik és hosszabb a hatástartam is. A nicomorfín in vitro vizsgálata arra utal, hogy a vegyület gyenge affinitást mutat az opioid receptorhoz¹¹⁸ a receptorkötési teszten, viszont a C-6 morfin nikotinát észter nagy affinitást mutat nanomólos koncentrációban. A nicomorfín hidrolízisének a kinetikáját tanulmányozva kiderült, hogy a C-3 nikotinát gyorsan hidrolizál, ezért a morfin-6-nikotinát feltehetően aktív metabolit¹¹⁹, a nicomorfín prodrug jellegű vegyület.

A nicomorfine (**53** R = OCOC₅H₄N) előállítása során morfine hidrokloridot nikotinsavanhidriddel reagáltattak oldószer nélkül ömledék fázisban 130 °C-on. A morfin hidroklorid és nikotinsav-klorid hidroklorid reakciója piridinben szobahőmérsékleten^{115,120} eredményezett nicomorfint. Később kodeinből és nalorphinből nikotinsavanhidriddel elkészítették a kodein-6-nikotinátot (**53** R = CH₃) illetve a nalorphine-3,6-dinikotinátot.

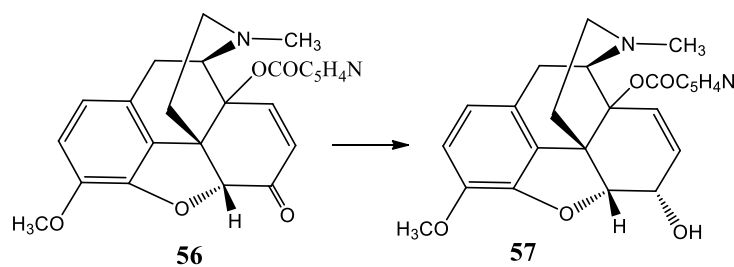
A μ receptor ligandum kötőseb szerkezetének az ismeretében Zhang és kutatócsoportja¹²¹ olyan 14-O-acilezett naltrexon származékokat terveztek melyekben az észter csoport feltehetően egy flexibilis konformáció következtében a heterociklusos észter nitrogénje hidrogén hidat képez a receptor Tyr212 és Trp320 aminosav maradékokkal, valamint aromás π - π kölcsön-hatásokkal kell számolni. Ezt a dokkolási vizsgálatok is megerősítették. Előállították a naltrexon C-14 heteroaromás észtereit, acilező szerként piridin-karbonsav kloridokat (pikolinsav, nikotinsav és izonikotinsav) kinolin-karbonsav kloridokat (kinolin 2- és kinolin-3-karbonsav) valamint izokinolin-3-karbonsav kloridot használtak. A naltrexont dimetil formamidban trietil-amin jelenlétében a savkloridokkal reagáltatták (100 °C, 6 óra reakcióidő) majd a képződő 3,14 diésztereket 4 %-os kénsavval vagy metanolos vizes kálium karbonáttal hidrolizálták a C-3 észtert. A naltrexon C-14 észterek jelentős szelektivitást mutattak a μ opioid receptoron



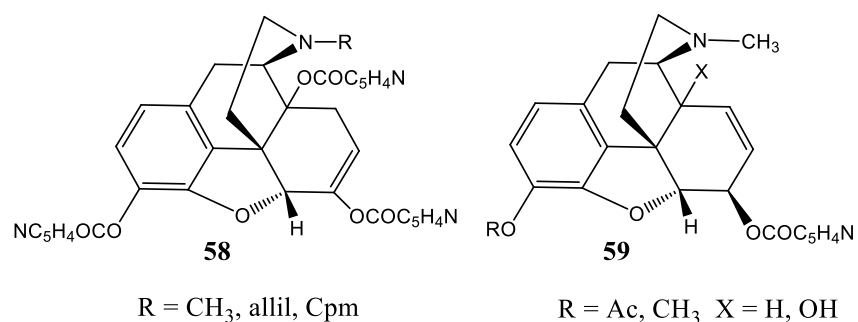
Saját vizsgálataink [13] során a nicomorfin előállítására új és szabadalmaztatható módszert dolgoztunk ki. A morfin és a nikotinsav klorid hidroklorid reakcióját piridinben szobahőmérsékleten valósítottuk meg. Ezzel a módszerrel előállítottuk a korábban ismert kodein, dihidrokodein és etilmorfin nikotinsavas észterét (**53**, **55**), valamint új vegyületnek számít a dihidromorfin 3,6-bisz-nikotínát (**55**) és a dihidroetilmorfin és a 14-hidroxi-kodein C-6 nikotínátja (**53** X = OH, R = CH₃).



A C-14 hidroxil csoport ilyen reakciókörülményeket alkalmazva nem reagál. A 14-hidroxi-kodeinon 80 °C-on acilezhető nikotinsav kloriddal a 14-nikotinoiloxi-kodeinon (**56**) metanolban nátrium bórhidriddel redukálható és a 14-nikotinoiloxi-kodein (**57**) képződik.



A morfin-3,6-bisz-nikotínátot és a dihidromorfin-3,6-bisz-nikotínátot metanolban melegítve a C-3 észtercsoport hidrolizál és a C-6 mononikotínátok képződnek. A 14-hidroxi-dihidrokodeinon acilezése nikotinsav kloriddal nem adott egységes terméket. A savklorid felesleggel egy olyan terméket izoláltunk, ahol a 14-hidroxi-dihidrokodeinon enol tautomerje is acileződött (**58** R = CH₃ C-3 metoxi csoport). Korábban Portugese és munkatársai¹²² közölték, hogy a naloxonból és naltrexonból ecetsav anhidrid – piridin reagensekkel 3,6 (enol),14 –triacetátok képződtek. A naloxon, a naltrexon és a 14-hidroxi-dihidromorfinon reakciója nikotinsav klorid felesleggel szintén a 3,6,14-trisz-nikotínátokat (**58**) eredményezte. A vegyületek szerkezetét az NMR vizsgálatokkal bizonyítottuk.



Vizsgáltuk a nikotinsavas észterek előállítását a Mitsunobu reakcióval, amikor a savkomponens értelemszerűen nikotinsav. A kodein a 14-hidroxi-kodein, valamint a 3-O-acetil morfin és a 3-O-acetil-14-hidroxi-morfin Mitsunobu reakciója (trifenil foszfin – dietil azodikarboxilát) az izokodein a 14-hidroxi-izokodein a 3-O-acetil izomorfin és a 3-O-acetil-14-hidroxi-izomorfin C-6 nikotinátját (**59**) eredményezte. Az utóbbi két vegyület C-3 dezacetilezését is megoldottuk, a C-3 acetátokat vizes etanolban hidroxilamin hidrokloriddal történő melegítésével.

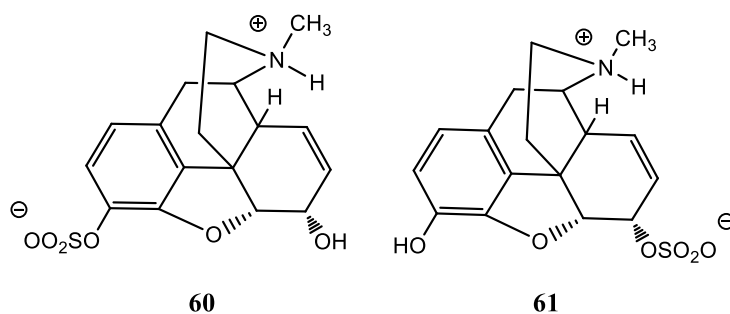
Vizsgálatainkat a későbbiekben kiterjesztettük a morfin és származékainak az izonikotinsavas észtereinek az előállítására. A morfin a kodein és a dihidrokodein reakcióját izonikotinsav klorid hidrokloriddal piridinben hajtottuk végre. Az új vegyületek szerkezetét ¹H-NMR spektrumok és a tömegspektrumok igazolták. Vizsgáltuk a C-14-hidroxi-szubsztituált vegyületek acilezését nikotinsav kloriddal és izonikotinsav-kloriddal a Zhang és munkatársai¹²¹ által közölt eljárással. A 14-hidroxi-dihidrokodeinont (oxikodon) dimetil formamidban 100 °C-on trietil-amin jelenlétében reagáltattuk nikotinsav kloriddal és izonikotinsav-kloriddal. A reakciókban nem képződött vékonyréteg kromatográfiásan egységes termék, de a fő komponens sikerült oszlopkromatográfiával izolálni, és ez a várt C-14-O-acilezett 14-hidroxi-dihidrokodeinonnak bizonyult.

Az új nikotinátok farmakológiai vizsgálata során a kodein és dihidrokodein nikotinátok inaktívnak bizonyultak a fájdalomcsillapító teszten, viszont a 3-O-acetil-morfin-6-nikotinát háromszor hatásosabb, mint a morfin. A dihidromorfin-3,6-bisz-nikotinát és a nicomorfin fájdalomcsillapító hatása közel azonos.

4.4 Morfinszármazékok szulfátészter konjugátumainak szintézise

Célunk volt állandó töltéssel rendelkező morfinszármazékok szintézise és e tekintetben a szulfátésztereket tartottuk alkalmasnak. Ezek a vegyületek megfelelő modellként szolgálhatnak a fizikai, kémiai tulajdonságaik vizsgálatához illetve az opioid metabolizmus tanulmányozásakor standard vegyületek. Néhány vegyületnek pedig jelentősége van a farmakológiai hatékonysága miatt, a morfin-6-szulfátészter egy hatásos fájdalomcsillapító. A szulfátészter csoportot és bázikus nitrogénatomot is tartalmazó konjugátumok kristályos formában és közel semleges oldatban is legnagyobb részt ikerionosak, a szulfátészter deprotonált, a nitrogénatom protonált állapotban van jelen.

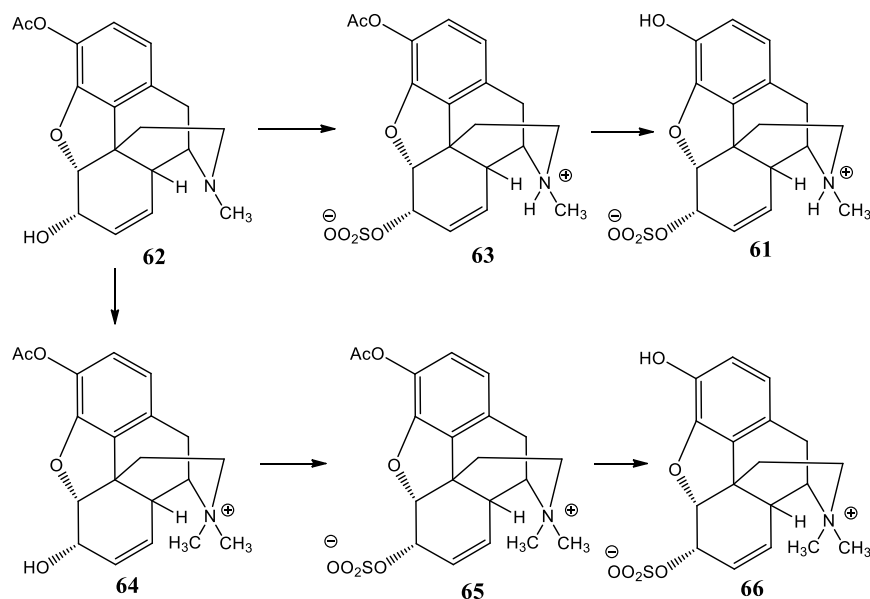
A morfin-3-szulfátészter (**60**) volt az első metabolit melyet macskák és csirkék vizeletéből izoláltak. Az állatokat morfinnal kezelték, a metabolitot ioncserés kromatográfiával izolálták. A morfin-3-szulfátészter a macskán és csirkén a morfin fő metabolitja^{123,124}. A vegyület szerkezetét az UV és IR spektrumok analízise igazolta. Az eredmények alapján a tercier nitrogén ionizált állapotban van, az észter zwitterionos szerkezetű, és a fiziológias pH értéken ez a forma dominál. Lúgos oldatban morfint nátrium piro-szulfáttal reagáltatva alacsony hozammal morfin-3-szulfátésztert kaptak. Általában macskán a metabolizmus fő útvonala a C-3 szulfát konjugáció, a nalorphine-3-szulfátot és a naloxon-3-szulfátot is major metabolitként^{125,126} izolálták a vizeletből. A morfin-3-szulfátot azonosították, mint minor humán metabolitot is: morfin dependens egyének napi 240 mg/kg dózis morfin szulfátot kaptak (subcutan adagolás) és a vizeletben a metabolitot^{127,128} vékonyréteg kromatográfiásan mutatták ki.



A morfin-3-szulfátészter előállítását Mori és munkatársai¹²⁹ közölték: 6-O-acetylmorfin (70) piridinben klórszulfonsavval reagáltatták és a reakcióban 6-O-acetil-morfin-3-szulfát (71) képződött. Az acetilcsoportot 5%-os metanolos nátrium hidroxiddal hidrolizálták. Az oldat semlegesítése (10 % ecetsav) után a termék gyorsan kristályosodott. Mori és munkatársai kidolgozták a C-6 szulfátészter (61) előállítását is: 3-O-acetylmorfinból (62) kiindulva az eljárás (62 → 63 → 61) azonos a C-3 szulfátészter szintézisével. Megemlítendő, hogy a piridin és a klórszulfonsav reakciójában a piridin-kén trioxid komplex intermedier képződik. A morfin-6-szulfátésztert nem sikerült azonosítani, mint morfin metabolitot, vagyis ez a vegyület egy mesterséges metabolit. A vegyület zwitterionos jellege ellenére a morfinnál hatásosabb fájdalom-csillapító subcutan adagolásnál is, icv adagolásnál pedig tovább nő a relatív hatáserősség¹³⁰.

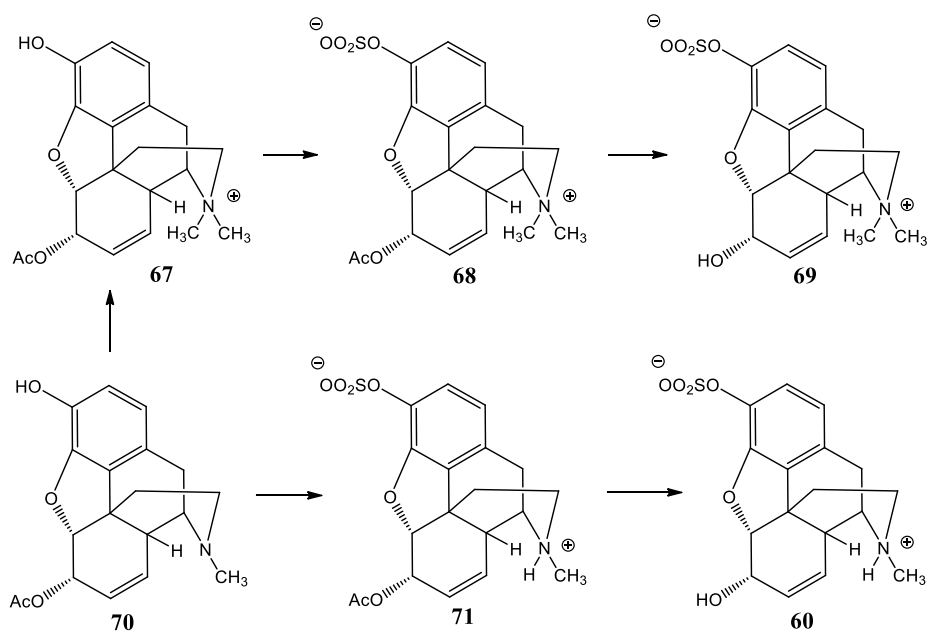
Linder és Fishman¹³¹ a naloxon C-3 és C-14 szulfátészterének illetve a 3,14-diszulfátészter előállításáról számoltak be a diciklohexil karbodiimid – kénsav reagens alkalmazásával. A szulfátészterek előállítására széleskörűen elterjedt módszer¹³²⁻¹³⁴ a kén trioxid amin komplexszeivel történő észteresítés. Alkalmazható a piridin – kén trioxid komplex, a trimetil amin – kén trioxid komplex vagy a trietil amin – kén trioxid komplex. Mivel a klórszulfonsav és piridin reakciójában piridin – kén trioxid komplex képződik^{135,136}, célszerűnek tűnt a komplex alkalmazása a morfin származékok észteresítésére is.

A szulfátésztereket a megfelelő szabad hidroxilcsoportot tartalmazó morfin- és kodein származékok és feleslegben adott (3 mólekvalens) piridin-kén trioxid komplex reakciójával állítottuk elő, vízmentes piridinben, 60 °C-n 3,5 órás reakcióidőt alkalmazva [14]. Ezzel a módszerrel nyertük elő a kodein és a 3-O-acetylmorfin C-6 szulfátésztereit (72 R = CH₃ és 63), illetve a 6-O-acetylmorfinból (70) a C-3 szulfátésztert (71). (Tapasztalatunk szerint kodein vagy 3-O-acetylmorfin reakciója piridinben klórszulfonsavval rossz hozamokkal eredményezte a várt termékeket, a piridin és a klórszulfonsav heves reakciója miatt a szulfatálás nehezen kontrollálható, a reakció konverziója nem teljes.) Hasonló reakciókkal a dihidrokodeinből a 3-O-acetil-dihidro-morfinból és a 6-O-acetildihidromorfinból állítottunk elő C-6 illetve C-3 szulfátésztereket. A C-3 és C-6 acetilcsoportot 5%-os metanolos nátrium hidroxiddal hidrolizáltuk, szobahőmérsékleten végzett reakciókkal, majd a vizes oldatból ecetsavval az észterek kristályosan kiválnak. Több kvaterner ammóniumsó szulfátészterezési reakcióját vizsgáltuk: az N-metil-kodeinium jodid, az N-metil-dihidrokodeinium jodid, N-metil-3-O-acetylmorfinium jodid (64) és az N-metil-6-O-acetylmorfinium jodid (67) volt a észterképzési reakció kiindulási vegyülete. A kvaterner sók piridinben rosszul oldódnak, ezért piridin-dimetil formamid oldószerkeletben végeztük a reakciókat. A kvaterner morfin szulfátészterek (65 → 66 és 68 → 69) dezacetilezését 20 %-os nátrium karbonáttal végeztük 50 °C-on melegítéssel, mivel a lúgos oldatban történő hidrolízisnél számolni kell a Hoffmann eliminációs reakcióval, amikor a C-9 – N kötés hasad.



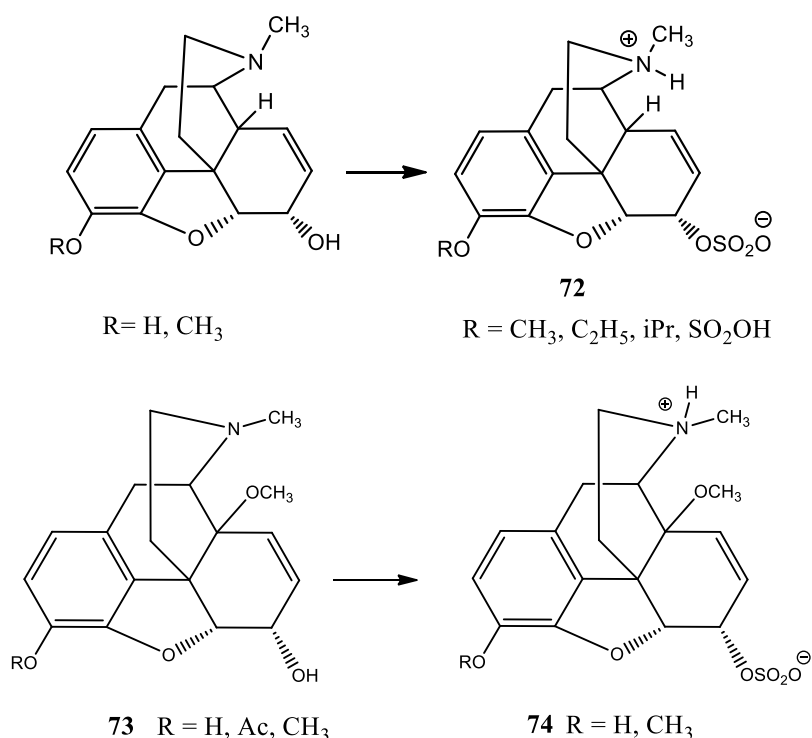
Morphin-6-szulfát(61) és kvaterner morfin-6-szulfát (66) szintézise

További C-6 szulfátésztereket (72 és 74) állítottunk elő etilmorfinból, izokodeinből, morfin-3-izopropil éterből, 14-hydroxykodeinből, 14-O-metilkodeinből (73 R = CH₃) és 14-O-metilmorfinból (73 R = H). A 14-hydroxykodein szelektív C-6 észteresítésekor 14-O-acetil-kodeinből végeztük a piridin-kén trioxid komplexszel a reakciót majd az acetilcsoportot metanolos nátrium hidroxiddal hidrolizáltuk. A 14-O-metilmorfin esetén először a fenolos hidroxilcsoportot védtük szelektív acetilezéssel (73 R = acetil), majd a C-6 szulfátészter kialakítása után az acetilcsoportot hidrolízissel távolítottuk el [15]. A 14-O-metilmorfin-6-szulfátészter magasabb hatékonyságú (efficacy) mint a morfin vagy a morfin-6-szulfátészter az izolált szervi preparátumokon (egér vas deferens és patkány vas deferens) és a ³⁵S-GTPγS teszten. A patkány tail-flick teszten a 14-O-metilmorfin-6-szulfátészter sokkal hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin és a morfin-6-szulfátészter.



Morphin-3-szulfát(60) és kvaterner morfin-3-szulfát (69) szintézise

Morfin-3,6-*O*-diszulfát (72 R = SO₂OH) előállítására tett kísérleteink során a morfin reakciója piridinben 6 mólekvivalens piridin-kén trioxid komplexszel nem eredményezett egységes terméket. A keletkező termékelegy NMR spektruma alapján morfin-3-*O*-szulfátot, morfin-6-*O*-szulfátot és morfin-3,6-*O*-diszulfátot is tartalmazott. Nem vezetett eredményre sem morfin-3-*O*-szulfát, sem morfin-6-*O*-szulfát reakció további piridin-kén trioxid komplexszel; a reakciók minden esetben a kiindulási szulfátészter és a diszulfát keverékét eredményezték. A keverék komponensei erősen poláris, ikerionos jellegű molekulák, melyek elválasztása a rendelkezésünkre álló eszközökkel (átkristályosítás, kromatográfia) nem volt megvalósítható, ezért más módszert választottunk a morfin-3,6-*O*-diszulfát előállítására. A morfint hűtés közben, közvetlenül tömény kénsavval reagáltatva diciklohexil karbodiimid jelenlétében dimetil formamidban megfelelő tisztaságú morfin-3,6-*O*-diszulfátot kaptunk.



A szulfátészterek szerkezetvizsgálata az NMR spektrumok elemzésével

Az előállított vegyületek ¹H- és ¹³C-NMR spektrumaiban található összes jel hozzárendelése megtörtént. A szulfátészter csoport nem jelenik meg közvetlenül a vegyületek ¹H-NMR spektrumában, jelenléte a morfinánváz különböző protonjaihoz tartozó jelek kémiai eltolódásának megváltozásából következtethetünk. Tanulmányoztuk az erősen elektronvonzó szulfátészter csoporttal történő szubsztitúciónak a töltéseloszlás vagy a konformáció megváltoztatása által kiváltott hatását az egyes atomok jeleinek kémiai eltolódására, egységesen DMSO-*d*₆ oldószerben. A vizsgált vegyületek zwitterionios szerkezetűek. Összehasonlításképpen a szulfátészter csoportot nem tartalmazó anyavegyületek NMR spektrumait is felvettük DMSO-*d*₆ oldószerben.

A háromkötéses spin-spin csatolásnak köszönhetően a morfin származékokban az aromás H-1 és H-2 jelei dublettként jelennek meg, azonban a 3-*O*-szulfátok spektrumaiban a két mag kémiai eltolódása a többi származékénál jelentősen magasabb

(kb. +0,20 ppm H-1 és +0,50 - 0,70 ppm H-2 esetében). Ez a jelenség feltehetően a szulfátésztercsoport elektronszívó hatásának és nagy térkitöltése miatt az aromás gyűrű környezetében fellépő szterikus zsúfoltságnak köszönhető. A morfin-3-szulfát ^1H NMR spektrumában a H2 proton rezonanciája az alacsonyabb térerő felé tolódik el a morfinhoz (6,44 ppm – 6,97 ppm) viszonyítva. A morfin C-3 szulfátészteresítése befolyásolja a C-15 ekvatoriális proton multipletjének a kémiai eltolódását, 0,35 ppm downfield shiftet jelent, de 0,3 – 0,5 ppm változás figyelhető meg a C-10, a C-14 esetén, illetve + 0,7 – + 0,9 ppm eltérés a C-9 és a C-16 axiális és ekvatoriális protonok kémiai eltolódásában. A C-15 proton változását a szulfátészter csoport anizotróp árnyékoló hatásával illetve a szulfátészter csoport és a piperidin gyűrű között fellépő szterikus zsúfoltsággal magyarázhatjuk. A C-6 helyzetben szulfátészter csoportot tartalmazó származékok spektrumában a H-7, H-8, H-14, H-5 és különösen a H-6 jelek eltolódása volt magasabb, mint az anyavegyületben, de jelentős a változás a C-9, a C-10 és a C-16 protonok kémiai eltolódásaiban is. A vizsgált szulfátészterek többségében a H-6 jele széles, rossz felbontású multiplettként jelentkezik, ezt a töltéssel rendelkező szulfátészter csoport elektromágneses hatásával lehet magyarázni. A C-6 H esetében + 0,5 ppm a változás, a C-9 H esetében közel + 1 ppm az eltérés, a többi esetben \sim + 0,3 ppm a változás a morfinhoz viszonyítva.

A ^{13}C spektrumban a C-3 szulfátészter hatása elsősorban az aromás gyűrűben jelentkezik, mivel az erős elektronszívó csoport jelentősen megváltoztatja a gyűrű elektronsűrűségének az eloszlását. A C-3 szénatomon ez – 4 ppm változást okoz, míg a C-2, C-4 és C-11 szénatomok esetén + 3 – 6 ppm eltérés figyelhető meg a morfinhoz viszonyítva. Eltérés (\sim 3 ppm) figyelhető meg a C-15 és C-16 szénatomok kémiai eltolódásaiban is, ezt is a C-3 szulfátészter és a piperidin gyűrű között fellépő szterikus zsúfoltság okozza. Ezzel ellentétben viszont a C-6 helyzetben való észteresítés a kémiai eltolódások tekintetében a C-6 esetében növekedést, a C-7 és C-8 esetében pedig csökkenést okoz. A kémiai eltolódás enyhe csökkenése figyelhető meg a C-14 és az *N*-metil csoportok esetében is. A ^{13}C spektrumban a C-6 eltolódása jelentős + 4 ppm, míg a C-11 és C-12 esetében – 3 és - 4 ppm változás látható. Érdekes módon a C-9 és C-10 kémiai eltolódások alig (\sim 1 ppm) változnak.

A kodein-6-szulfát és a morfin-3,6-diszulfát ^1H és ^{13}C NMR spektrális jellegzetességei megegyeznek a morfin-3-szulfát és a morfin-6-szulfát spektrumaiban megfigyelt változásokkal. Az izokodein-6-*O*-szulfát szulfátészter csoportja axiális térállású, ennek eredménye a fokozottabb szterikus zsúfoltság és a kodein-6-*O*-szulfát H-5, H-7 és H-8 jeleinél is nagyobb kémiai eltolódás. A $\Delta 7,8$ kettős kötést és tercier 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 derített fényt csavart szék – csavart kád és szék – kád konformációs állapotok közötti átmenetre. Morfin-6-*O*-szulfát NOESY spektrumában a fenolos hidroxilcsoport, a protonált nitrogénatom és a víz jelei között fellépő intenzív keresztcsúcsok a víz és az adott funkciós csoportok, valamint a szulfátészter csoport között kialakuló erős hidrogénkötés meglétére utalnak.

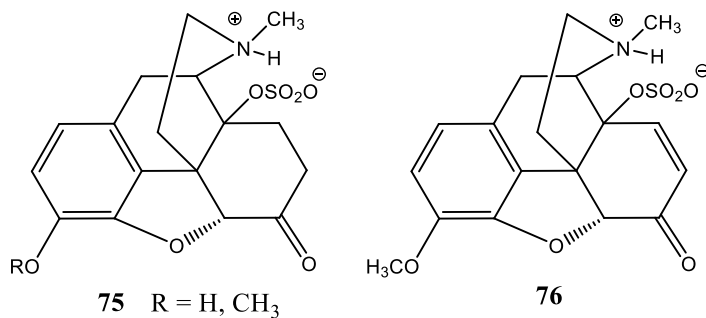
Az *N*-metil csoportok jelei hozzávetőleg 0,60 ppm-mel magasabb kémiai eltolódásnál jelentkeznek, mint a szulfátésztert nem tartalmazó vegyületek azonos jelei. Az ikerionos jellegre vall, hogy az *N*-metil jelek kémiai eltolódása (2,80 - 2,90 ppm) a protonált

morfinszármazékok *N*-metil jeleinél (2,50 – 2,60 ppm) is magasabb kémiai eltolódás értéknel jelennek meg. Kvaterner nitrogénatomot tartalmazó szulfátészterek esetében mind az ekvatoriális, mind pedig az axiális *N*-metil csoport jele magasabb kémiai eltolódású, mint a szulfátésztert nem tartalmazó kvaterner származékokban, de a különbség kisebb, mint a terciér *N*-atomot tartalmazó vegyületek esetében.

4.5 14-hidroxi-morfinanok szulfátészterei

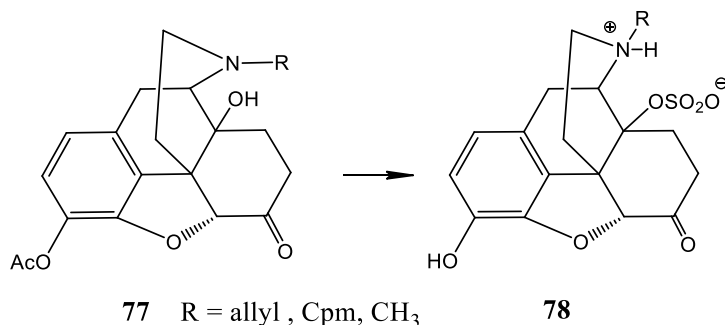
A kvaterner nitrogénatomot tartalmazó, így állandó töltéssel rendelkező metilnaloxon, illetve metilnaltrexon magas polaritásának köszönhetően nem képes átjutni biológiai membránokon, de a receptor affinitásuk mégis magas és antagonisták hatásuk sem változik. Ezeknek a tulajdonságaiknak köszönhetően alkalmasak orális adagolás mellett a bélcsatornában található μ receptor kötőhelyeihez kötődve tudják antagonizálni a morfin kezelést kísérő székrekedést. A naloxon és a naltrexon 14-*O*-szulfátészterei ikerionos jellegüknel fogva szintén nem képesek jelentős mértékű membránpenetrációra, így várható a perifériális opioid antagonisták hatása. A naloxon-14-*O*-szulfátot és naltrexon-3,14-*O*-diszulfátot korábban már előállították, kutatócsoportunk is szintetizálta a vegyületeket a részletes hatástani vizsgálat céljából. A szintézisek első lépése a kiindulási anyag C-3 fenolos hidroxilcsoportjának a 6-*O*-szulfátok szintézisének leírt módszerrel történő szelektív acetilezése, amit a C-14 hidroxilcsoport szulfátészteresítése (**77**→**78**) követett, melyet tömény kénsavval reagáltatva diciklohexil karbodiimid (DCC) jelenlétében dimetil formamidban valósították meg. A feldolgozás során a reakcióelegyeket 10 %-os ammóniaoldattal 12 órán át állni hagyták, és ekkor lejátszódott a C-3 acetilcsoportok hidrolízise.

Terciér alkoholok szulfátésztereit korábban sikeresen előállították trietil amin-SO₃ komplexszel, de az irodalomban nem találunk utalást terciér alkoholok és piridin-SO₃ reakciójára. Megvizsgáltuk a reagens szelektivitását terciér alkoholos hidroxilcsoport jelenlétében. Amennyiben naloxont közvetlenül reagáltattunk a komplex kis feleslegével, szulfátészterek keverékéhez jutottunk, csakúgy, mint a 14-hidroxi-kodeinnel történő reakcióban. A piridin-SO₃ komplex tehát készségesen reagál a morfin származékok C-14 terciér hidroxilcsoportjával, szelektivitás nem tapasztalható a szterikusan kevésbé gátolt C-3, illetve C-6 hidroxilcsoportok javára. 14-Hidroxi-kodeinból és oxiconoból a C-6 szulfátészterek előállításánál leírt módszerrel megfelelő hozammal elő tudtuk állítani a 14-hidroxi-kodeinon-14-*O*-szulfátot (**75**) és az oxiconon-14-*O*-szulfátot (**76**). 14-Hidroxi-kodein-6-*O*-szulfátot kizárólag 14-*O*-acetil-kodein észteresítésével tudtunk tisztán előállítani.



A naloxon, naltrexon és az oxymorphon esetén először a C-3 fenolos hidroxilcsoportokat szelektíven acetileztük [16] és a piridin-SO₃-dal történő észterképződés (**77**→**78**) után az acetyl-védőcsoportokat 5%-os vizes metanolos nátrium

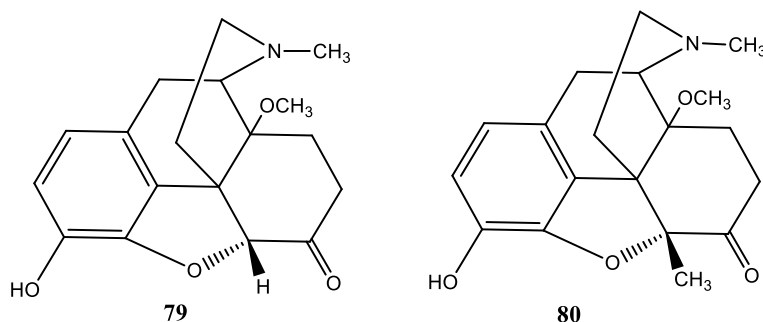
hidroxiddal hidrolizáltuk. Az oxymorfont dimetil formamidban hűtés közben, közvetlenül tömény kénsavval reagáltatva diciklohexil-karbodiimid jelenlétében állítottuk elő az oximorfon-3,14-*O*-diszulfát származékát is.



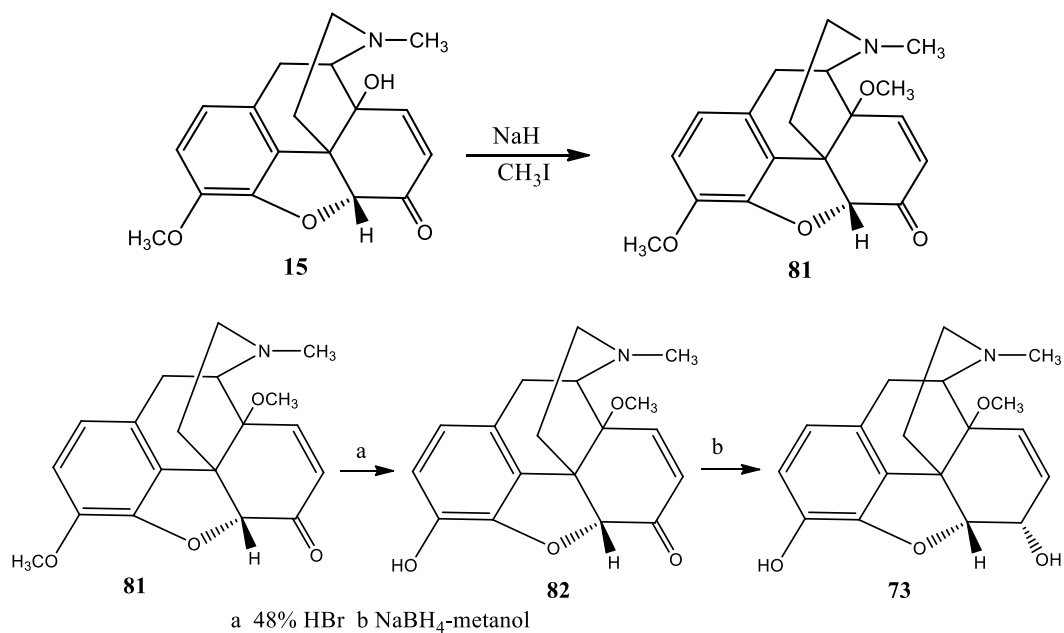
A C-14 szulfátészterek szerkezetét igazoltuk az NMR spektrumok analízisével. Valamennyi spektrumban a C-9 proton downfield shiftje figyelhető meg, 5,45 ppm kémiai eltolódás mérhető. A protonált N-metil csoportok kémiai eltolódása 2,9 – 3,0 ppm, és általában a zwitterionos jellegű szulfátészterek N-metil protonjainak a kémiai eltolódása magasabb, mint pl. a sósavas sókban

4.6 14-*O*-metilmorfin származékok szintézise

A C-14-hidroxilcsoport *O*-metilezése extrém hatásos fájdalomcsillapítókat eredményez, említhetjük a 14-*O*-metiloxymorfont (**79**), vagy a 14-*O*-metilmetopont (**80**)¹³⁷. Ezek figyelembevételével célul tűztük ki a 14-*O*-metilmorfin és C-6 szulfátészterének a szintézisét és farmakológiai vizsgálatát.

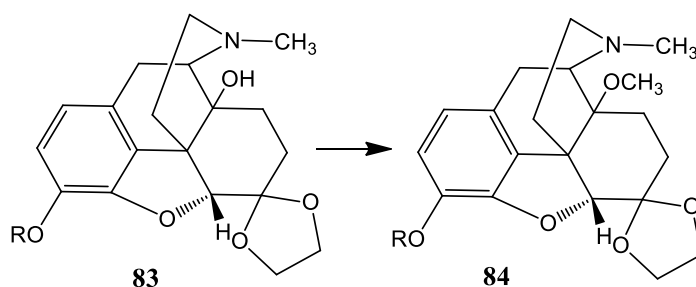


A 14-hidroxikodeinont (**15**) dimetil formamidban nátrium hidriddel reagáltattuk majd metil jodiddal *O*-metileztünk¹³⁸. A kapott 14-*O*-metilkodeinont (**81**) nátrium bórhidriddel redukáltuk, 14-*O*-metilkodein (**73** $R = \text{CH}_3$) képződött [15]. A 14-*O*-metilkodeinont 48 %-os hidrogén bromiddal forralva szelektív C-3 *O*-demetileződés megy végbe és a 14-*O*-metilmorfinon (**82**)¹³⁹ keletkezik, melyből redukcióval (NaBH_4) kaptuk a 14-*O*-metilmorfint (**73** $R = \text{H}$). A 14-*O*-metilmorfin a receptor kötési teszten nagyobb affinitást mutat a μ opioid receptoron mint a morphin, in vivo a 14-*O*-metilmorfin sokkal erősebb fájdalomcsillapító hatású a patkány tail-flick teszten mint a morphin, mind perifériális, mind centrális adagolást alkalmazva. Ugyanakkor mindkét vegyület gátolta a gyomor-bél traktus perisztaltikáját.



A 14-O-metilkodein és 14-O-metilmorfin reakciója ecetsavanhidriddel 100 °C-on a 6-O-acetil-14-O-metilkodeint és a 3,6-diacetil-14-O-metilmorfint eredményezte.

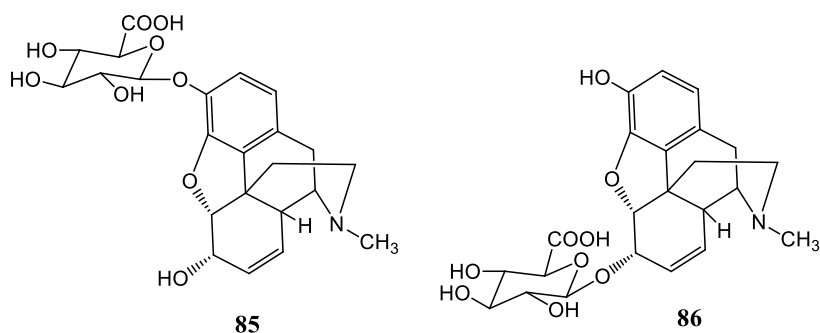
A továbbiakban tervbe vettük a 14-O-metiloxymorphon¹⁴⁰ és a 14-O-metiloxikodon szintézisét új eljárásokkal. Az oxymorphon esetében először a C-6 oxocsoportból etilén ketált állítottunk elő, majd a C-3 hidroxil csoportot benzilézéssel (**83** R = benzil) védtük. Az oxymorphon C-3 benziléter etilén ketált a fent említett reakciókörülmények között O-metileztük (**84** R = benzil), majd a védőcsoportokat egy lépésben távolítottuk el, metanolos konc. sósavas forralással. Az utóbbi reakcióban a 14-O-metiloxymorphon (**79**) közepes (~ 50-55%) hozammal nyertük. Schmidhammer és munkatársai¹⁴⁰ az oxymorphon C-3 benziléter reakciójában (2,5 ekv NaH és 5ekv dimetil szulfát) a 3-O-benzil-14-O-metiloxymorphon enolmetilétert állították elő, melynek a savas hidrolízise vezetett a 14-O-metiloxymorphonhoz. A 14-O-metiloxikodon szintézisére két módszert dolgoztunk ki. Az oxikodon etilén ketál (**83** R =CH₃) metilezése (**84** R = CH₃) után a ketál védőcsoportot 5%-os sósavval vízfürdőn melegítve nyertük a célvegyületet. A metilezési reakció hozama ~70%, míg a ketál hidrolízis hozama 90%.



Előnyösen alkalmazható kiindulási vegyületként az oxikodon C-6 enoletiléter¹⁴¹ mely az oxikodon és ortohangyasav etilészter (p-toluol szulfonsav jelenlétében) reakciójában állítható elő, vagyis enoletilétert alkalmazunk az oxocsoport védelmére. Ebben az esetben is a szokásos módon O-metileztünk majd 5%-os sósavval hidrolizáltuk az enolétert. Ez a reakciósor azért is előnyös mert a hozamok 70% feletti és mindkét enoléter jól tisztítható etanolos átkristályosítással.

4.7 Glükózidok és glükuronidok előállítása

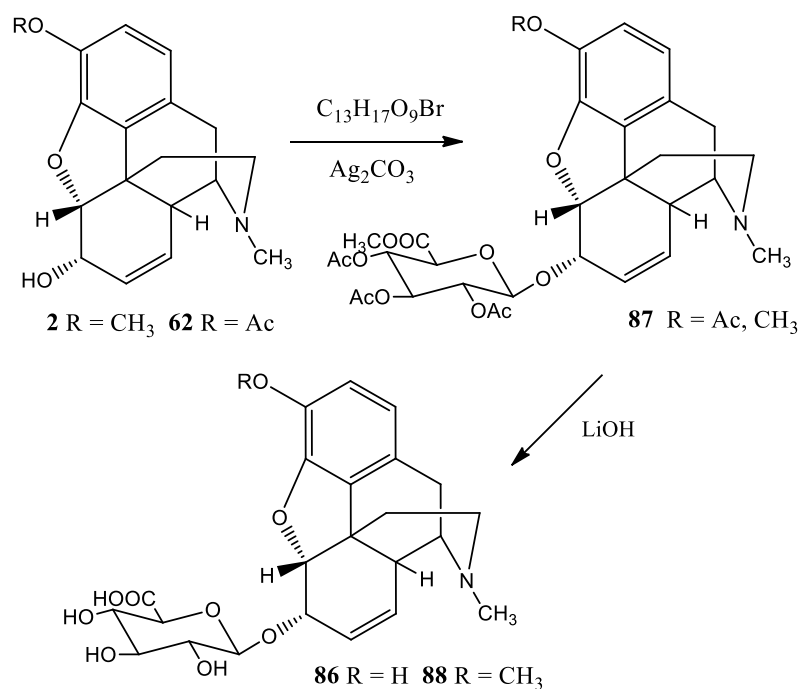
A szulfátészterekhez hasonlóan a morfin vázas opioid glükuronidok is állandó töltéssel rendelkeznek, zwitterionos formában fordulnak elő még a fiziológiai pH értéken is. Ezek a vegyületek lényeges szerepet játszanak az opioidok metabolizmusában¹⁴²⁻¹⁴⁵ során, a glükuronsavval történő konjugáció az egyik legfontosabb II. fázisú konjugációs reakció. A morfin esetében a glükuronsav konjugáció végbemehet a C-3 fenolos hidroxilcsoporton (**85**), valamint kisebb mértékben a C-6 szekunder alkoholcsoporton. Az utóbbi esetben képződő morfin-6-glükuronidról (**86**) kiderült, hogy jelentős fájdalomcsillapító hatással rendelkezik, főleg ha közvetlenül juttatják be a központi idegrendszerbe, vagyis a vegyület a morfin aktív metabolitja. Amennyiben a vegyület fizikai-kémiai tulajdonságait vizsgáljuk, ilyen szempontból nagyon érdekes lehet, mivel tartalmaz egy fenolos hidroxilcsoportot, egy karboxilcsoportot és egy bázisos tercier N-metil amin.



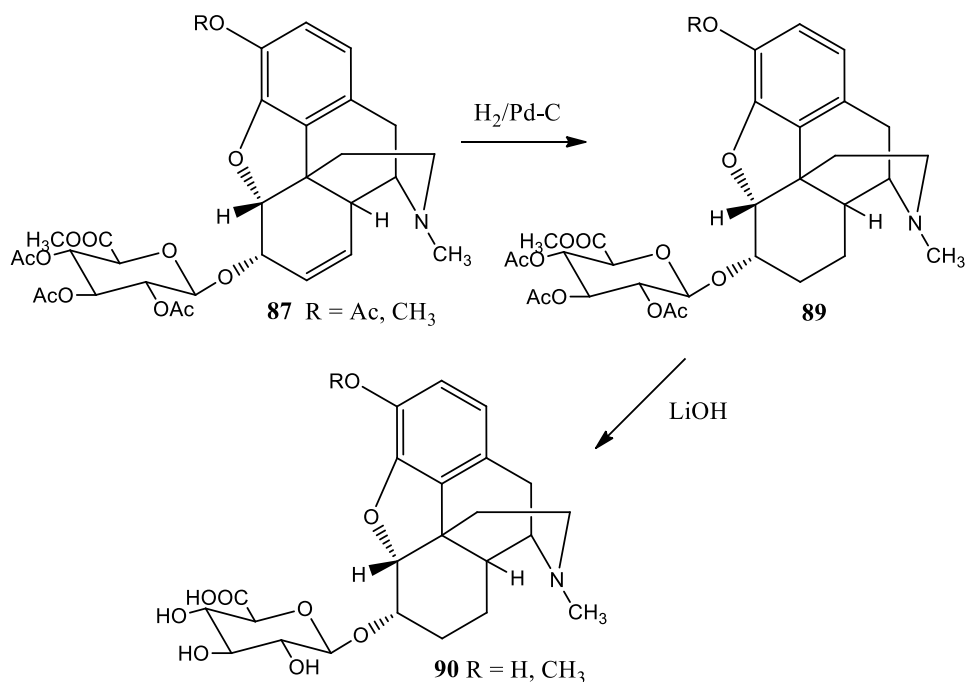
A morfin és kodein glükuronidjainak a szintézisét tehát az alábbi szempontok indokolták: 1. morfin szulfát tabletták klinikai farmakológiai vizsgálata önkéntesen¹⁴⁶ 2. glükuronidok fizikai-kémiai tulajdonságainak a vizsgálata 3. A morfin-6-glükuronid és a kodein-6-glükuronid szintézise farmakológiai vizsgálatokhoz.

Morfin és kodein glükuronidjainak előállítása

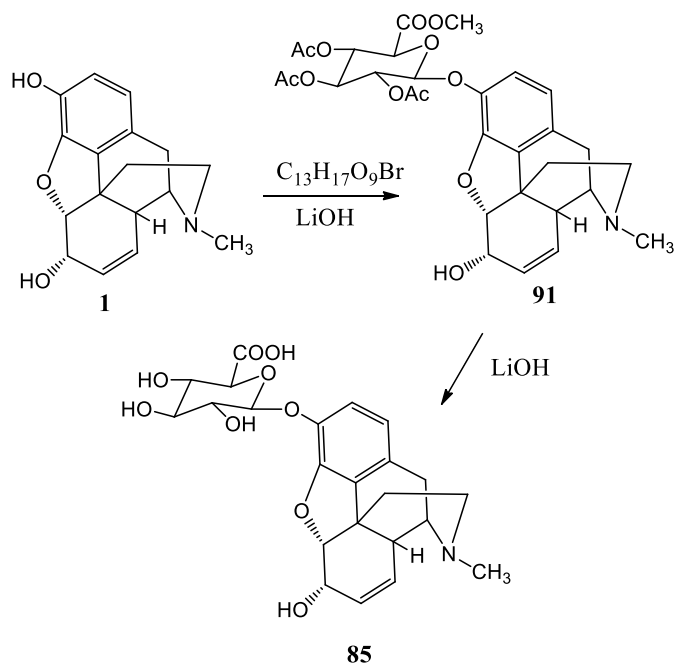
A glikozidkötés kialakítására a legrégebben kidolgozott módszer a Koenigs-Knorr reakció^{132, 147-149} ahol a glikozil-komponens például az α -bróm-triacetyl glükuronsav methyl észter, vagy az α -bróm-2,3,4,6-tetraacetyl-glükóz lehet. Ez a reakció általában főleg β -anomer glikozidokat eredményez. A kapcsolási reakciókban általában nehézfém sókat használnak aktiváló reagensként, mint például ezüst karbonát, ezüst oxid, ezüst perklorát, ezüst triflát, higany(II) cianid, cadmium karbonát. Oldószerként benzol, toluol, kinolin használatos, ha a reakcióban víz képződik ezt Drierit vagy molekulaszita alkalmazásával lehet eltávolítani. A glükuronidok előállításánál figyelembe kell venni az α -bróm-triacetyl glükuronsav methyl észter csökkent reaktivitását egyéb glükozil-bromidokhoz viszonyítva, mivel a C-5 metoxikarbonilcsoport elektronvonzó hatása a kialakuló C-1 kationt destabilizálja. A fenolok glükuronid konjugátumainak előállításakor célravezető lehet a fenol alkáli sóinak a reakciója (nátrium, kálium vagy lítium) lúgos közegben a megfelelő glükozil-bromiddal.



Tanulmányoztam a morfin és a kodein glükuronidjainak az előállítását¹⁵⁰⁻¹⁵³ Koenigs-Knorr reakció alkalmazásával [17]. A 3-O-acetilmorfint (**62**) és a kodeint (**2**) α -bróm-triacetil-glükuronsav metilészterrel reagáltatva a védett C-6 glükuronidokat (**87**) kaptam, ezek hidrolízise (**86** R=H, **88** R=CH₃) lítium hidroxiddal egy lépésben megoldható. Az említett glükuronidok szerkezetét részletes NMR vizsgálatokkal igazoltuk. A dihidrokodein és a 3-O-acetildihidromorfin és α -bróm-triacetil-glükuronsav metilészter reakciójában nem tapasztaltam teljes konverziót a szénhidrátkomponens felesleg növelésével sem, viszont a védett kodein-6-glükuronid (**87** R=CH₃) és a védett 3-O-acetilmorfin-6-glükuronid (**87** R=Ac) katalitikus hidrogénezésével (Pd/C, etanol) megkaptam a dihidrovezgyületeket (**89**). A lítium hidroxiddal elvégzett hidrolízis dihidrokodein-6-glükuronidot (**90** R=CH₃) és dihidromorfin-6-glükuronidot (**90** R=H) eredményezett. A dihidrokodein metabolit szintézisét korábban nem közölték, a dihidromorfin-6-glükuronidot¹⁵⁴ korábban enzimatiszus szintézissel nyerték.

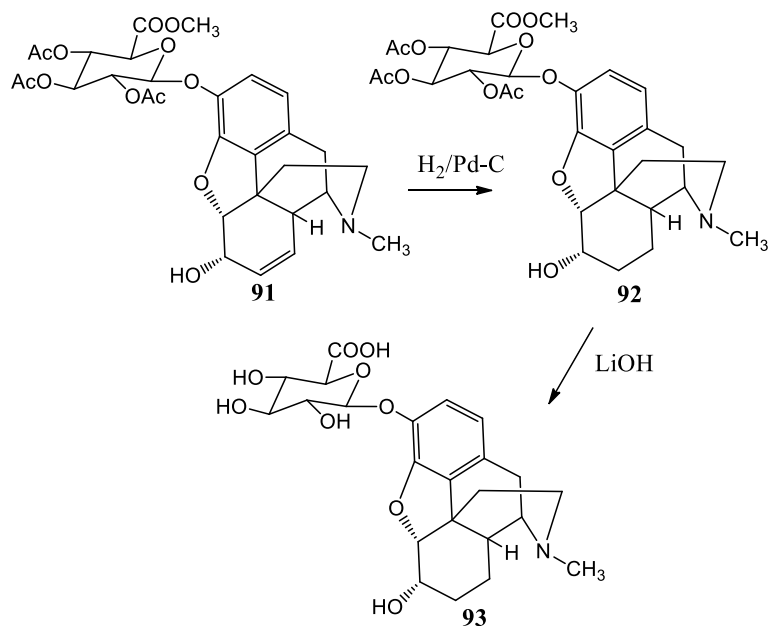


A morfin-3-glükuronid (**85**) előállítására új módszert dolgoztam ki, mivel az irodalomban közölt eljárás^{155,156} során az el nem reagált morfint szeparálni kell a terméktől. Ez csak ioncserés kromatográfiával oldható meg. Megfigyelésem szerint a morfin bázis metanolban lítium hidroxid jelenlétében gyorsan reagál az α -bróm-triacetil-glükuronsav metilészterrel és a reakció feldolgozásakor a védett morfin-3-glükuronid (**91**) izolálható, melyet szilikagél oszlopkromatográfiával lehet tisztítani. Az átmeneti termék szerkezetét az NMR spektrum analízisével bizonyítottuk. A továbbiakban a hidrolízissel (LiOH - metanol) jó hozammal kaptam a morfin-3-glükuronidot.

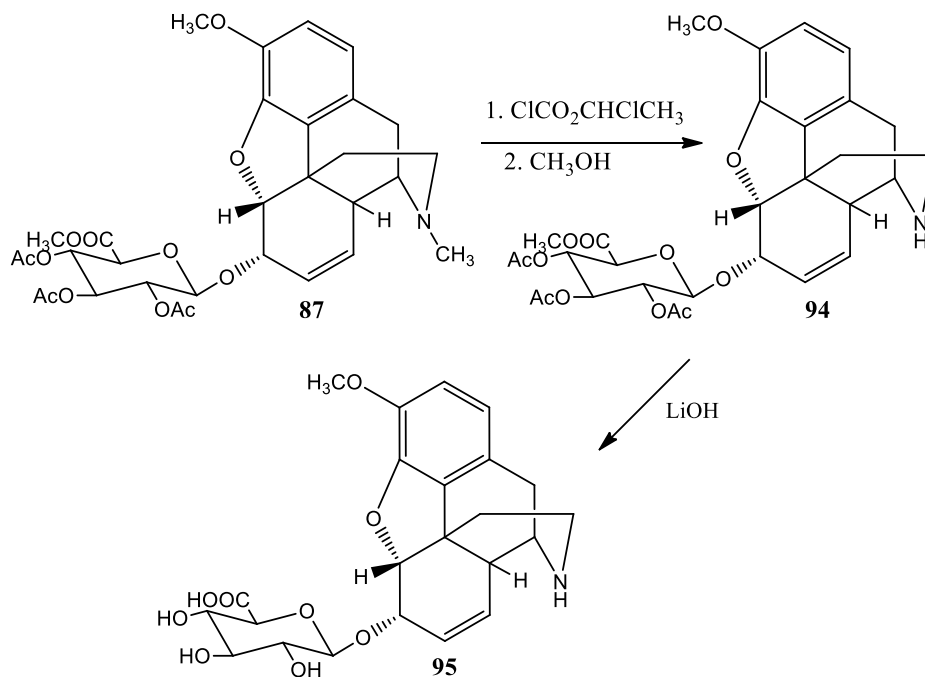


A védett morfin-3-glükuronid (**91**) katalitikus hidrogénezésével a dihidromorfin származékot (**92**) kaptam, melynek a hidrolízise a dhidromorfin-3-glükuronidot (**93**)

eredményezte. Ennek a vegyületnek nem volt ismert a szintézise, a dihidromorfinon és a morfin metabolizmusának a vizsgálata során, indirekt módon mutatták ki a képződését.



Hasonlóan indirekt módon mutatták ki a norkodein-6-glükuronidot mint a kodein metabolitját, ezért célul tűztem ki a vegyület szintézisét. A védett kodein-6-glükuronid (**87**) 1,2-diklór-etánban N-demetilézhető α -klóretil-klórhangyasav észterrel. Ezután a közti termék karbamát észtert metanollal elbontottam, ekkor a védett norkodein-6-glükuronid (**94**) sósavas sója képződött, melynek hidrolízise lítium hidroxiddal a norkodein-6-glükuronidot (**95**) eredményezte, a vegyületet savas pH értéken (pH 5-6) lehet izolálni kristályos állapotban. Szerkezetét az NMR spektrumokkal igazoltuk.



Morfinszármazékok glükozidjainak előállítása

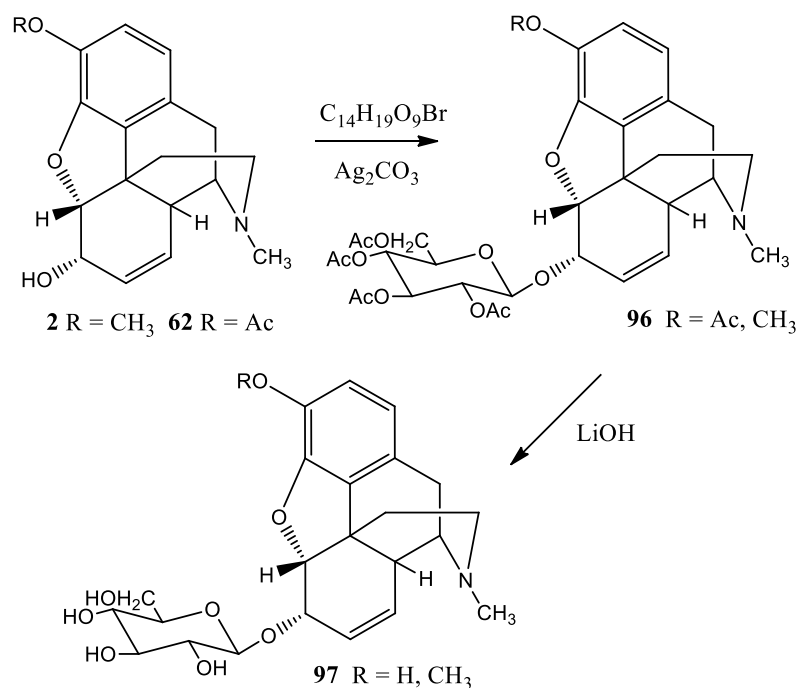
Egy kínai kutatócsoport¹⁵⁷ a morfin metabolizmust vizsgálva a morfin-3-glükuronid és a morfin-6-glükuronid detektálása mellett beszámoltak két új metabolit azonosításáról is: kimutatták a morfin-3-glükozid és a morfin-6-glükozid képződését. Orálisan adagolt morfinnal kezelt daganatos betegek vizeletében a metabolitokat HPLC segítségével választották el, majd a tiszta frakciók tömegspektrumát meghatározva igazolták a két új metabolit szerkezetét. Mindkét glükozid hidrolizált β -glükozidáz enzimmel és morfin keletkezett. Az autentikus mintákkal nem rendelkeztek.

Casparis és munkatársai¹⁵⁸ 1949-ben közölték a kodein és α -acetobrom-glükóz Koenigs-Knorr reakcióját ezüst karbonát aktivátor jelenlétében. A képződő kodein-6 β -tetraacetil glükozidot hidrolizálták (nátrium metilát) és a kodein-6 β -glükozidot kapták. A vegyület szerkezetére az elemvizelés alapján tettek javaslatot. Kovac és Rice¹⁵⁹ 1995-ben Casparis korábbi eredményeit akarták reprodukálni. 3-O-acetil-morfin és acetobrom glükóz reakciójában Hg(CN)₂ vagy ezüst triflát (2,4,6-trimetil piridin bázis savmegkötővel) promotort alkalmazva a fő termék ortoészter szerkezetű vegyület volt. A várt 6- β -glükozidot gyenge hozammal izolálták. Mindkét vegyületet dezacetilezték nátrium metiláttal. Amennyiben a 3-O-acetil-morfint ezüst triflát jelenlétében savmegkötő nélkül reagáltatták 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -bromglükózzal az ortoészter kis mennyiségben képződött, a fő termék a 6- β -glükozid (77 %) volt, de az α -anomert (20 %) is izolálták. A kodeinből hasonló reakciókörülményeket alkalmazva az α - és β -anomerek elegyét kapták, melyet oszlopkromatográfiásan választottak szét. A kodein és acetobrom glükóz Koenigs-Knorr reakciójában (ezüst karbonát aktivátor) azt tapasztalták, hogy a fő termék a kodeinon volt, a β -glükozid hozama 10-20 % között volt, míg nyomokban az α -glükozid képződése is kimutatható volt.

Saját vizsgálatok

Munkám során célul tűztem ki morfin és származékainak C-3 és C-6 helyzetben történő glükozidok előállítását [18]. Elsősorban a morfinszármazékok C-3 és C-6 glükuronidjainak a szintézise során alkalmazott módszereket kívántam alkalmazni a glükozidok előállítására is. Szénhidrát komponensként az acetobrom glükózt (2,3,4,6-tetra-O-acetil - α -D-glükopiranozil bromid) választottam, és a C-6 glükozidok szintézisét a Koenigs – Knorr reakcióval vizsgáltam.

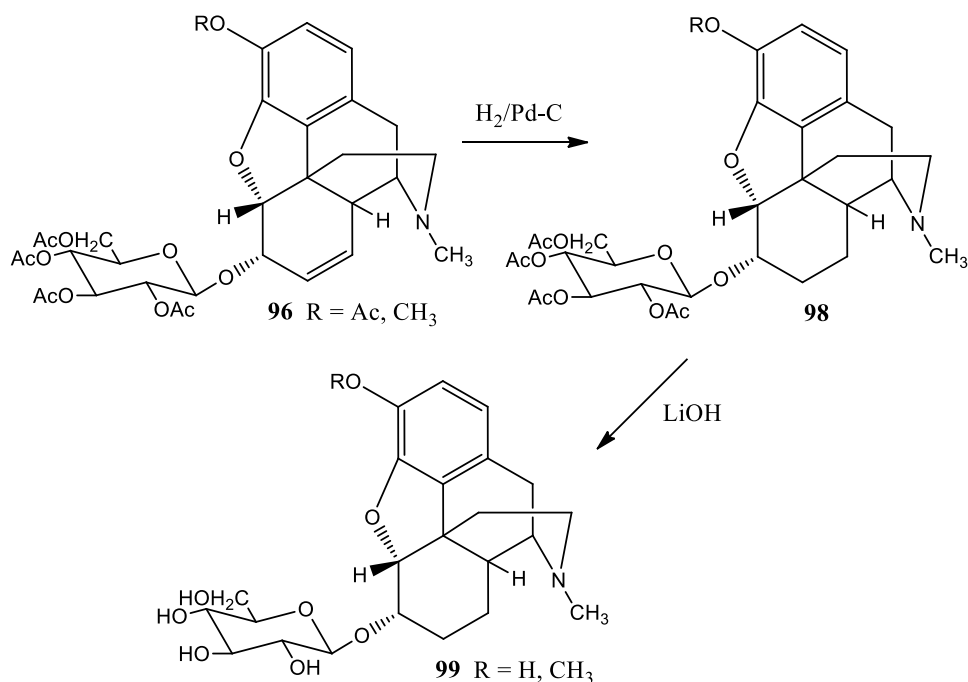
Első lépésben a kodeint reagáltattam acetobrom glükózzal ezüst karbonát jelenlétében. A reakcióban VRK alapján többkomponensű elegy képződött, de a főterméket sikerült oszlopkromatográfiás elválasztással kinyerni. A termék jól kristályosítható etanolból. Az ¹H NMR spektrum alapján C-6 szubsztituált kodeinszármazéknak bizonyult. A vegyületben négy acetilcsoport található. A HSQC és HMBC módszerek segítségével sikerült asszignálni a cukorrész protonjait és szénatomjait. Ezek alapján bizonyított, hogy a vegyület a kodein-6-glükozid tetraacetát. További kérdés, hogy melyik anomer képződött? Ezt a H-1' és a H-2' protonok csatolási állandójának a meghatározásával lehet eldönteni. Glükozid és glükuronid β -anomerek esetén ez ~6 – 10 Hz, míg a α -anomerekre ~2 – 5 Hz. Az általunk előállított vegyületben a kérdéses csatolási állandó 8 Hz, azaz a β -anomer (**96** R=CH₃) képződött.



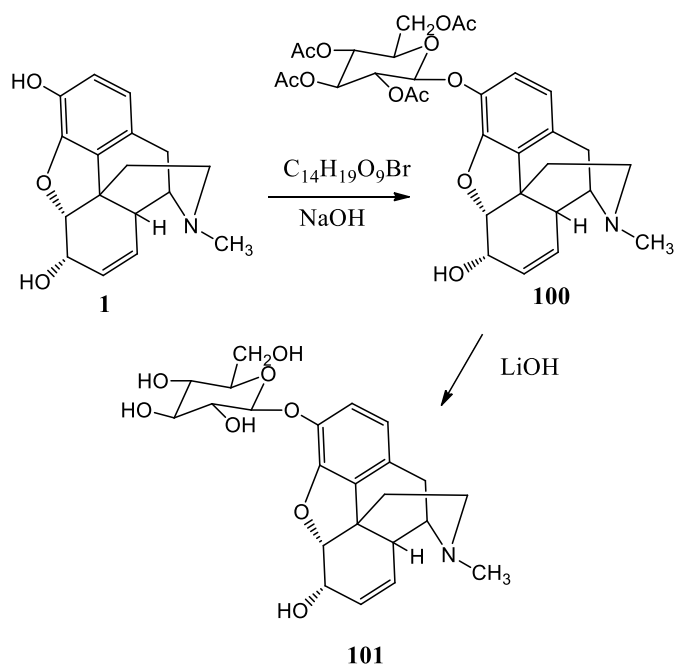
A kodein Koenigs – Knorr reakciójában kapott nyers termék oszlopkromatográfiás elválasztásakor sikerült egy további melléktermék izolálása is tiszta állapotban. Ez a vegyület olvadáspontja és NMR spektruma alapján kodeinonnak bizonyult. A kodeinon képződése nem meglepő, hiszen ismert az irodalomból hogy a kodein jó hozammal oxidálható kodeinonná ezüst karbonáttal benzolos oldatban forralva.

A továbbiakban a morfin C-6 glükózid szintézisét tanulmányoztam. A 3-O-acetilmorfin (**62**) a kodeinhez hasonlóan acetobróm glükózzal reagáltattam. Ekkor szintén egy többkomponensű reakcióelegy képződött, de a főterméket itt is sikerült kristályos állapotban izolálni oszlopkromatográfia segítségével. Az ^1H NMR spektrum szerint a termék egy C-6 szubsztituált morfin származék a vegyületben öt acetyl-csoport található. A részletes NMR vizsgálatok alapján a vegyület 3-O-acetilmorfin-6-glükózid tetraacetát (**96** R=Ac) és β -anomer.

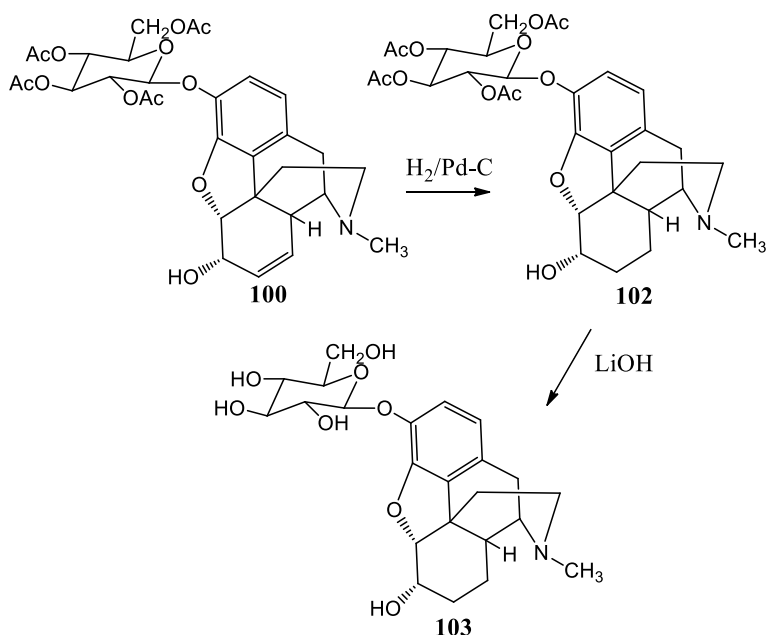
A dihidrokodein és a 3-O-acetildihidromorfin Koenigs-Knorr reakciója acetobróm glükózzal a várt C-6 glükózidokat eredményezte és β -anomerek keletkeztek. A kodeinnel ellentétben a dihidrokodein (3-O-acetildihidromorfin) reaktivitása csökkent, és 24 óra forralás után a konverzió nem volt teljes. Ezért 24 óra után további acetobróm glükózt és ezüst karbonátot adtunk a reakcióelegyhez. A későbbiek során kodeinből és 3-O-acetilmorfinból kapott acetilezett glükózidok (**96**) katalitikus hidrogénezésével (Pd/C, etanol) állítottam elő a két dihidrovegyületet (**98**).



Előállítottam a C-3 glükozidokat is morfinból illetve dihidromorfinból. Morfint reagáltattunk acetobrom glükózzal acetonban 2N nátrium hidroxid jelenlétében. A kapott nyersterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottam, majd a homogén frakciók etanolból jól kristályosíthatók. A termék az NMR spektrum alapján C-3 szubsztituált (**100**) morfin származék, és négy acetilcsoportot tartalmaz. A kodein glükozid esetén alkalmazott módszerekkel igazoltuk, hogy a vegyület β -anomer szerkezetű. Amennyiben a fenti reakcióban aceton helyett acetonitril oldószert használtam, a hozam jelentős mértékben javult. A morfin-3-glükozid tetraacetátot ecetsavanhidriddel forralva a várt 6-O-acetilszármazékot nyertem, amely szintén jól kristályosodik és NMR spektruma is a várt szerkezetet igazolja.



A morfinhoz hasonlóan a dihidromorfinból is előállítottam a dihidromorfin-3-glükózid tetraacetátot (**102**), bár itt a hozam sokkal alacsonyabb volt. Ezért ezt a vegyületet a morfin-3-glükózid tetraacetát (**100**) katalitikus hidrogénezésével (H_2 /Pd-C, etanol) nyertem.



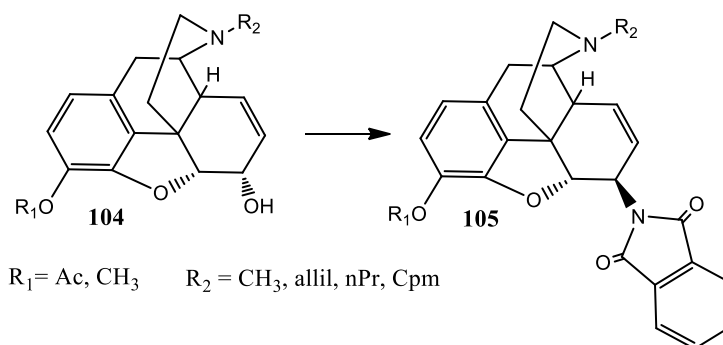
Az acetilcsoportok hidrolízisének a vizsgálatokor modellvegyületnek a kodein-6-glükózid tetraacetátot választottam. Meglepő módon a Zemplén által kidolgozott módszerrel (katalitikus mennyiségű nátrium metilát) a hidrolízis nem eredményezett homogén terméket. A flavonoid glükózidok esetén bevált metanolos vizes nátrium hidroxid hatására bomlást is tapasztaltunk a dezacetilezés mellett. Korábban a kodein-6-glükuronid tetraacetát metilészter hidrolízisének sikerrel alkalmaztuk a lítium hidroxidot. Ez a módszer itt is bevált, mivel a kodein-6-glükózid tetraacetát metanolban kis feleslegben vett (1,2m LiOH / acetilcsoport) lítium hidroxiddal a reakció szobahőmérsékleten kb. három óra alatt lejátszódik számottevő bomlás nélkül. A hidrolízistermék (**97** R=CH₃) szerkezetét egyrészt a tömegspektruma másrészt az NMR spektrumok igazolták. A termék C-6 szubsztituált kodeinszármazék, az O-acetilcsoportok eltűntek. Megfigyelhető, hogy a piranózgyűrű C-2', C-3', C-4', C-5' szénatomok protonjain acetilezés hatására downfield shift (nagyobb kémiai eltolódás) tapasztalható. Ez egyébként valamennyi vegyületpárra érvényes.

A fenti eljárást alkalmazva előállítottam a morfin-6-glükózidot (**97** R=H), a dihidrokodein-6-glükózidot (**99** R=CH₃), a dihidromorfin-6-glükózidot (**99** R=H), valamint a C-3 szubsztituált morfin-3-glükózidot (**101**) és a dihidromorfin-3-glükózidot (**103**). Valamennyi vegyület szerkezetét NMR és MS vizsgálatokkal bizonyítottuk. A hidrolizált cukorszármazékok vízben, metanolban és etanolban jól oldódnak kloroformban az oldékonyság rossz. A megnövekedett hidrofílium miatt nem sikerült a kristályosításuk, valamennyi vegyület amorf anyag. A poláros jelleg miatt a legtöbb VRK futtatóelegyben a glükózidok a startponton maradnak, viszont a morfin glükuronidok esetén alkalmazott futtató elegyben ez esetben is 0.3 – 0,5 R_f értékek mérhetők.

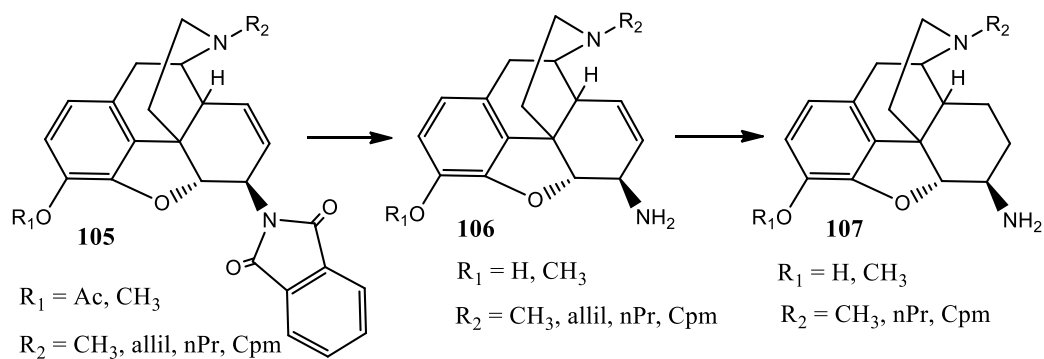
5.1 Mitsunobu reakció vizsgálata a morfin vázán

A Mitsunobu reakciót korábban Kanematsu és munkatársai¹⁶⁰⁻¹⁶² alkalmazták a morfin alkaloidok körében, savkomponensként tioecetsavat használtak. A Mitsunobu reakcióval vizsgálni kívántuk a reakció alkalmazhatóságát morfin és kodein vázán figyelembe véve a reakció sztereokémiai követelményeit. A reakciók tervezésekor a morfin és kodein származékok kiválasztását szerves kémiai és farmakológiai megfontolások is befolyásolták.

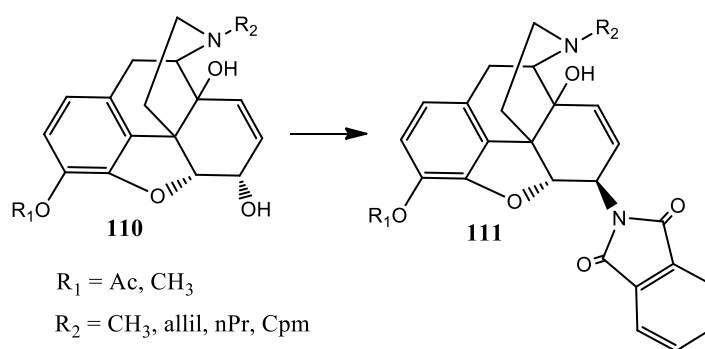
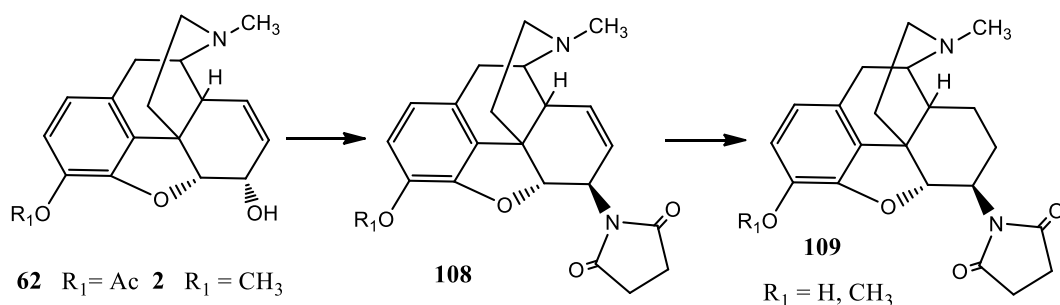
Kutatócsoportunk vizsgálta a morfin és kodein-származékok Mitsunobu reakcióit [19], többféle savkomponenst alkalmazva. A kodein (**2**) vagy 3-O-acetilmorfin (**62**) benzolos oldatban szobahőmérsékleten savkomponensként ftálimidet használva a Mitsunobu-reagenssel (trifenil-foszfin és dietil azodikarboxilát) > 90 % hozammal eredményezte a 6- β -ftálimido-származékokat (**105**) a konfiguráció inverziójával. Mellékreakciót nem tapasztaltunk, allilvándorlással nem kell számolni. A 3-O-acetilmorfinból kapott ftálimido származékot hidroxilamin hidrokloriddal nyertük a C-3 dezacetilezett vegyületet. A C-6-ftálimido vegyületeket hidrazinnal forralva etanolban a C-6 β -aminokodein (morfin)-származékok (**106**) keletkeztek. A kodein vagy a morfin direkt C-6 S_N2 szubsztitúciója csak a klorid és fluorid ionokkal valósítható meg¹⁶³⁻¹⁶⁵ amennyiben a kodein (morfin) reaktív tozil- vagy mezilésztereinek a reakcióit vizsgáljuk. A két említett kivételt leszámítva a reakciók összetett mechanizmussal (S_N2 + S_Ni') mennek végbe és allilvándorlással a C-8 szubsztituált termék képződik. Korábban a C-6-amino-4,5-epoxi-morfinánok előállítására elsősorban a C-6 ketonok redukív aminálását¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ alkalmazták, de ez a reakció nem sztereospecifikus, a képződő C-6 α -amin epimerek a főtermékek. A Mitsunobu reakcióval előállított C-6 aminoszármazékok a C-gyűrűben kettőskötést tartalmaznak ezért a C-gyűrű konformációja eltér a megfelelő 7,8-dihidroszármazékok konformációjától, ami újabb adatokat jelent a hatás-szerkezet összefüggések elemzésekor. Másrészt a C-6 β -aminok Δ 7,8 kettőskötését katalitikus hidrogénezéssel telítve a 7,8-dihidro-származékok nyerhetők, és ez az utóbbi vegyületcsoport új sztereoszelektív szintézisét is jelenti. A kettőskötés telítése tríciummal a C-6 β -aminok radioaktív jelzett formában való előállítására ad lehetőséget.



A Mitsunobu reakciót a ftálimid savkomponenset használva kiterjesztettük N-szubsztituált-norkodein (**104**) és N-szubsztituált-normorfin-analógonokra (**104**) (R₂ = allil, propil és ciklopropilmetil) is, és elvégeztük a ftálimido-származékok aminokká (**106**) történő átalakítását is.

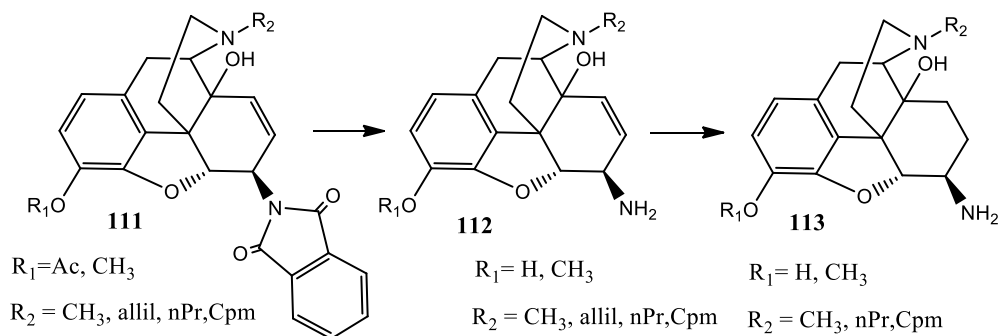


A kodeinből (3-O-acetilmorfín) benzolos oldatban szukcin-imid savkomponens alkalmazásával a 6-szukcinimido-származékok (**108**) nyerhetők a Mitsunobu reakcióban. Utóbbi vegyületek katalitikus (Pd-C) hidrogénezése a 7,8-dihidro-származékokat (**109**) eredményezi. A ftálimido-származékok esetén a katalitikus hidrogénezési reakció normál nyomáson nem ment végbe. Ugyanakkor a ftálimido-származékokból kapott C-6β-aminok katalitikus hidrogénezése a megfelelő 7,8-dihidro-aminokat (**107**) eredményezte, ezt a reakciót az N-szubsztituált-analógonokra (kivétel az N-allil-szubsztituált vegyület) is elvégeztük. A **107** általános képletű aminokat először a 6β-azido-6-dezoxidihidromorfín és a 6β-azido-6-dezoxidihidrokodein redukciójával¹⁶⁹⁻¹⁷¹ (lítium alumínium hidrid) nyerték.



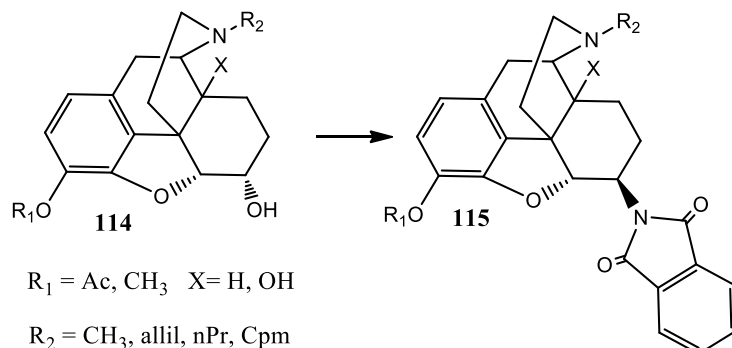
A Mitsunobu reakcióval szintén ftálimid savkomponens alkalmazásával a 14-hidroxi-kodeinből (**110** $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{CH}_3$), illetve a 3-O-acetil-14-hidroxi-morfínből (**110** $\text{R}_1 = \text{Ac}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_3$) is jó hozamban képződött a várt C-6β-ftálimido-származék (**111**) majd a ftalil-csoport hidrazinos hasításával a C-6β-aminokhoz jutottunk [20]. Hasonló reakciókkal az N-alkil-14-hidroxi-norkodeinekből (**110** $\text{R}_2 = \text{allil, propil}$ és ciklopropilmetil) és az N-alkil-14-hidroxi-normorfínokból a C-6β-ftálimido-származékok és a C-6β-aminok (**112**) nyerhetők. Az aminok katalitikus hidrogénezése a megfelelő 7,8-dihidro-aminokat (**113**) eredményezte. A fenti reakciók alkalmazása az

előállított vegyületek között a már ismert 6 β -oximorphamin (**113** R₁= H R₂ = CH₃), és a 6 β -naltrexamin (**113** R₁ = H, R₂= Cpm) új sztereoselektív szintézisét jelenti. Valamennyi vegyületre részletes NMR spektroszkópiai méréseket végeztünk, a ftálimido származékok új vegyületek, a 6-dezoxi-6 β -amino-14-hidroxi-kodeint (**112** R₁=R₂= CH₃) és a 6-dezoxi-6 β -amino-14-hidroxi-dihidrokodeint (**113** R₁=R₂= CH₃) korábban a 6 β -azidoszármazékok¹⁷² redukciójával már előállították.



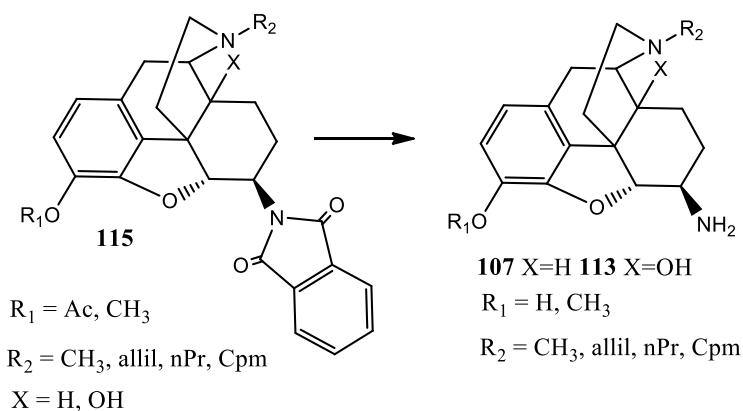
A kiindulási vegyületek az N-alkil-14-hidroxi-norkodeinek¹⁷³ (**110** R₂ = allil, propil és ciklopropilmetil) és az N-alkil-14-hidroxi-normorfinok szintézisét korábban közöltük.

Vizsgáltuk a morfin származékok Mitsunobu reakcióját ftálimid savkomponenssel a 7,8-dihidroszármazékok (**114**) körében [21]. A várt C-6 β -ftálimido-származékok (**115**) ez esetben is jó hozamokkal keletkeztek. Az alapvegyületek (dihidrokodein, 3-O-acetil-dihidromorfin, 14-hidroxi-dihidrokodein és 3-O-acetil-14-hidroxi-dihidromorfin) mellett valamennyi N-szubsztituált-noranalóg (R = allil, propil és ciklopropilmetil) Mitsunobu reakcióját is megvalósítottuk. A C-6 β -ftálimido-származékok hidrazinos hasítása a megfelelő C-6 β -aminokat (**107** X=H **113** X=OH) eredményezte, és ezek a reakciósorozatok a 6 β -oximorphamin, a 6 β -naloxamin (**113** R₁=H R₂=allil) és a 6 β -naltrexamin új sztereoselektív szintézisét jelentik. Ugyancsak egy új módszert közöltünk a farmakológiai szempontból érdekes vegyület, a 6 β -naltrexol előállítására. Mivel a dihidrokodein Mitsunobu reakciójában benzoészav savkomponenssel nem tapasztaltunk teljes konverziót, ezért p-nitro-benzoészavat alkalmaztunk, és így a dihidroizokodein p-nitro-benzoátja 90%-os hozammal keletkezett. A C-3 acetyl- α -naltrexol (**114** R₁= Ac, R₂= Cpm X = OH) hasonló reakciójában a 6 β -naltrexol észtert kaptuk, melynek a lúgos hidrolízisével jutottunk a célvegyülethez.



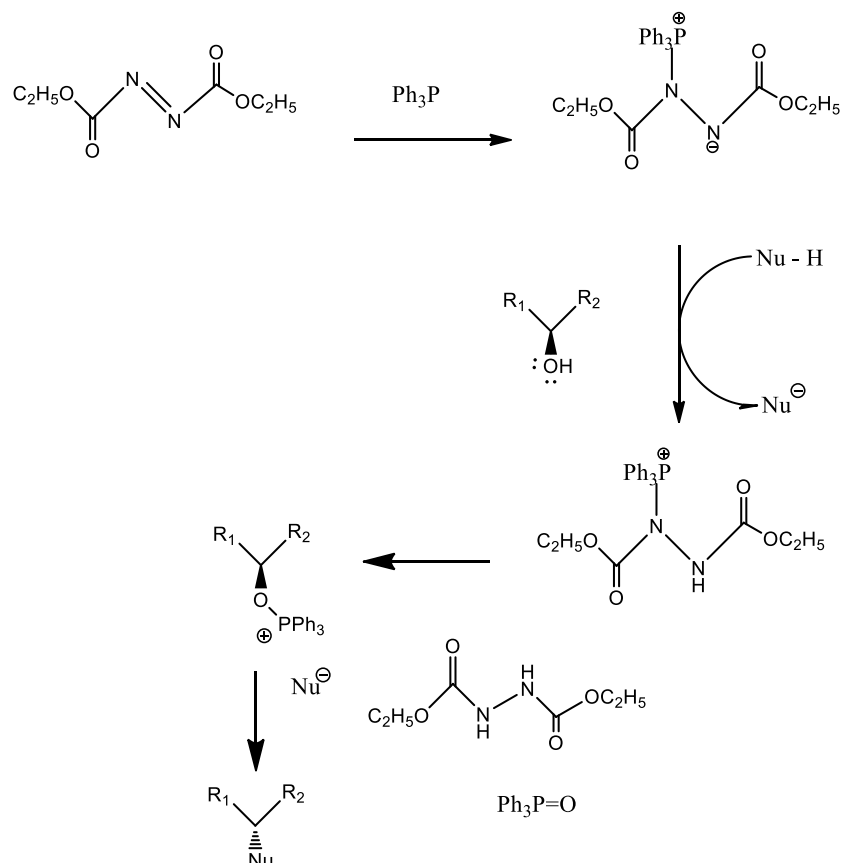
A kiindulási N-szubsztituált-14-hidroxi-dihidronorkodein és 14-hidroxi-normorfin (**114**) szintézisét a korábban közölt eljárással¹⁷⁴ valósítottuk meg, de a kísérletekhez szükséges N-ciklopropilmetil-dihidronorkodeint dihidronorkodeinből állítottuk elő ciklopropilmetil bromiddal történő N-alkilezési reakcióban (dimetil formamid, nátrium

hidrogén-karbonát, 80 °C, 20 óra reakcióidő) majd az N-ciklopropilmetil-dihidronorkodeint bór tribromiddal O-demetileztük kloroformos oldatban és így kaptuk az N-ciklopropilmetil-dihidronormorfint. Utóbbi két vegyület előállítását elsőként kutatócsoportunk közölte.



A Mitsunobu reakció^{175, 176} mechanizmusa.

Első lépésben a trifenil foszfinból és a dietil azodikarboxilátból képződő reaktív betain a savas pronukleofillel reagál és utóbbi protonálja a betaint. Az alkohol nukleofil támadása a protonált betainon az alkoxifoszónium intermedier kialakulásához vezet, közben 1,2-hidrazin-dikarbonsav dietil-észter képződik. A pronukleofil konjugált bázis formája az alkoxifoszónium intermedieren S_N2 szubsztitúcióban eredményezi a terméket és trifenil foszfin oxidot. Amennyiben a szekunder alkohol királis, a konfiguráció inverziójával kell számolni.



A Mitsunobu reakcióban képződő ftálimido származékok szerkezetvizsgálata

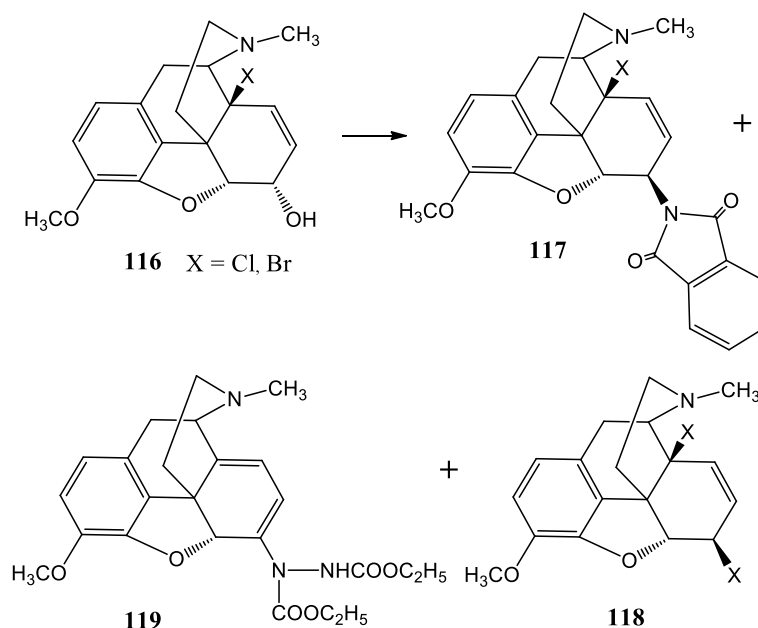
A kodeinből és morfinból Mitsunobu reakcióval előállított C-6 β -aminok és származékaik új vegyületek [20,21] és ezért indokolt volt a részletes NMR spektroszkópiai vizsgálatuk¹⁷⁷. A telítetlen Δ 7,8 kettőskötést tartalmazó vegyületekben a H-5 β protonok kémiai eltolódása karakterisztikus, mivel az aminok illetve a ftálimido- és szukcinimido-származékok δ értékei között ~ 0.4 ppm eltérés van utóbbi két vegyületcsoport kémiai eltolódása nagyobb. A C-6 β -aminokra a $J_{5,6}$ csatolási állandó ~ 1 Hz, míg a kodeinből előállított C-6 β -ftálimido- és szukcinimido-származékokra ez ~ 2 Hz. A 14-hidrokodeinből kapott ftálimido- és szukcinimido-származékokra a $J_{5,6} \sim 3$ Hz. A nagy térkitöltésű C-6 helyzetű szukcinimido- és ftálimido-csoportok miatt a H-6 és H-8 olefin protonok jelentős (~ 3 Hz) homoallil-csatolást mutatnak. A C-gyűrű konformációja ezekben a vegyületekben közel fél-szék konformációjú és a C-5, C-6, C-7, C-8 és a C-14 pozíciók kvázi-koplanáris elrendeződésűek, kivéve C-13 atomot. Ez a konformáció némileg eltér a kodein és morfin-származékoknál domináns konformációtól, mivel a C-6 szubsztituenst az α -oldalra kényszerítik a nagy térkitöltésű ftálimido (szukcinimido) csoportok. A konformáció változáshoz hozzájárul a C-6 és C-14 szubsztituensek közötti sztérikus zsúfoltság a molekula β oldalán. Ez megnyilvánul a $J_{5,6}$ és a $J_{6,8}$ csatolási állandók nagyságában is. A sztérikus tasztítás a C-14-OH és a C-6 β -ftálimido-csoportok között azt eredményezi, hogy az utóbbi csoport kvázi-ekvatoriális helyzetbe kényszerül, míg a C-6 α proton kvázi-axiális helyzetű lesz és a molekula α oldala felé irányul.

A C gyűrűben telített vegyületek esetén a C-5 β protonok kémiai eltolódása az aminok esetén itt is kisebb ($\sim 4,2$ ppm) mint a ftálimido- és szukcinimido-származékoknál, ezek kémiai eltolódása ~ 1 ppm értékkel magasabb. A $J_{5,6}$ csatolási állandók értéke az aminokra $\sim 7,5$ Hz, míg a szukcinimido- és ftálimido-származékokra $\sim 8,2$ Hz. A 7,8-dihidroszármazékokban a C-gyűrű konformációja majdnem torzulatlan szék, függetlenül a C-6 szubsztituenstől. Az axiális C-14 és ekvatoriális C-6 szubsztituensek kellőképpen távol vannak, és ezért sztérikus zsúfoltsággal nem kell számolni. A kémiai eltolódásokat és a csatolási állandókat az alábbi táblázatban adjuk meg.

vegyület	δ H-5	δ H-6	$J_{5,6}$
6-dezoxi-6 β -ftálimido-kodein (105 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	5,1 ppm	4,88 ppm	1,8 Hz
6-dezoxi-6 β -ftálimido-14-hidroxi-kodein (111 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	5,1 ppm	4,86 ppm	3,1 Hz
6-dezoxi-6 β -ftálimido-dihidrokodein (115 R ₁ = R ₂ = CH ₃ X=H)	5,2 ppm	4,38 ppm	8,2 Hz
6-dezoxi-6 β -ftálimido-14-hidroxi-dihidrokodein (115 R ₁ = R ₂ = CH ₃ X=OH)	5,3 ppm	4,1 ppm	8,4 Hz

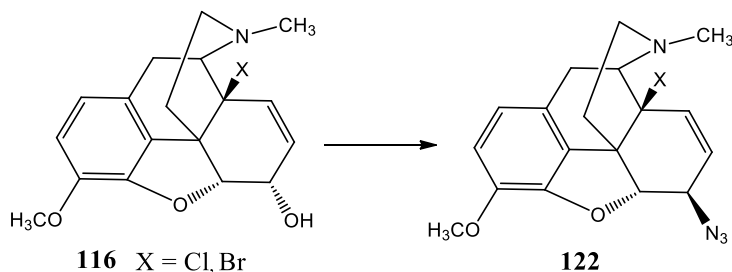
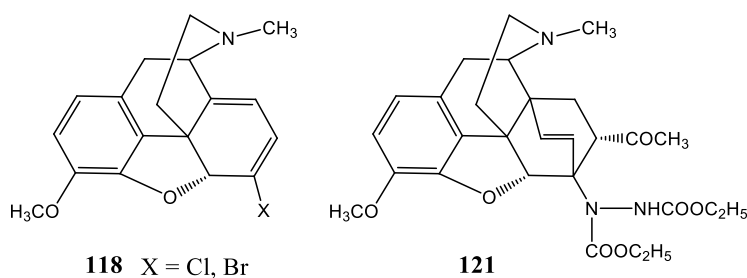
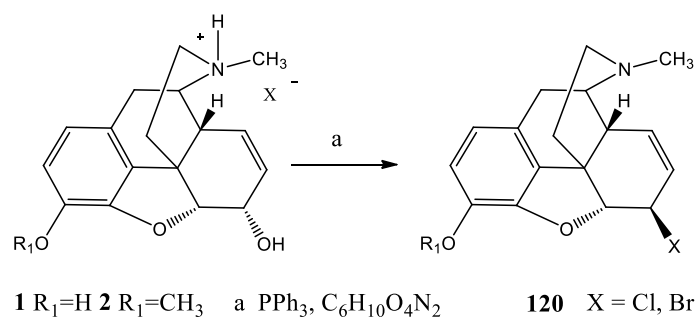
6-dezoxi-6 β -amino-kodein (106 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	4,61 ppm	3,50 ppm	1,0 Hz
6-dezoxi-6 β -amino-14-hidroxi-kodein (112 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	4,7 ppm	3,35 ppm	1,0 Hz
6-dezoxi-6 β -amino-dihidrokodein (107 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	4,2 ppm	2,6 ppm	7,5 Hz
6-dezoxi-6 β -amino-14-hidroxi-dihidrokodein (113 R ₁ = R ₂ = CH ₃)	4,35 ppm	2,62 ppm	7,3 Hz

Tanulmányoztuk a 14-halogeno-kodeinek Mitsunobu reakcióját ftálimid pronukleofil alkalmazva [22]. A kiindulási vegyületek a C-6 allil alkohol mellett egy allil halogenid funkciós csoportot is tartalmaznak. Tebainból N-bróm-szukcinimiddal illetve N-klór-szukcinimiddal előállítottuk a 14-bróm-kodeinont és a 14-klór-kodeinont. Az oxocsoport redukcióját nátrium bórhidriddel végeztük, mindkét reakcióban egységes terméket kaptunk, a 14-klór-kodeint (**116** X= Cl) és a 14-bróm-kodeint (**116** X = Br).



A 14-klór-kodein Mitsunobu reakciója ftálimiddal (benzolos oldat, trifetil foszfin – dietil azodikarboxilát) három terméket eredményezett, melyek elválasztását szilikagél-oszlopkromatográfiával oldottuk meg. A főtermék (**119**, 36%) egy Δ 6,8-konjugált dién, ahol a C-6 helyzetben hidrazin-dikarbonsav észter kapcsolódik. Az inverzióval képződő 6- β -ftálimido-származék (**117**) csak 12%-os hozammal nyerhető, illetve 6- β -14- β -diklór-6-dezoxikodein (**118**, 13%) is izolálható. A 14-bróm-kodein hasonló reakciójában szterikus okok miatt a C-6 ftálimido-származék nem keletkezik, a főtermék (**119**, 34%) itt is a Δ 6,8-konjugált dién, és 6- β -14- β -dibróm-6-dezoxikodein (**118**, 25 %) is

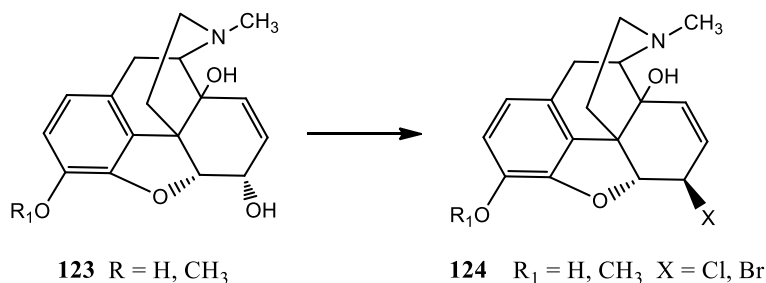
izolálható. A fenti reakciókat ftálimid távollétében elvégezve ugyanazokat a termékeket tudtuk izolálni. A dién és a 6,14-dihalogén származék képződését az in situ keletkező HA savas komponens (A = Br, Cl) megjelenésével értelmezzük. Amennyiben a kodein sósavas sót Mitsunobu reagenssel reagáltattunk α -klórkodidot (**120** X= Cl) kaptunk. A 6,14-dihalogén-6-dezokikodeinek dimetil formamidban nukleofil komponens hiányában 6-halogeno- Δ 6,8-konjugált diéneket (**118** X= Cl, Br) eredményeztek. A Δ 6,8-konjugált dién (**119**) szerkezetét az NMR spektrum igazolja a C-7 és C-8 olefin protonok a tebainhoz hasonló kémiai eltolódásoknál (5,0 és 5,5 ppm) jelentkeznek. A diént metilvinil ketonnal melegítve egy thevinonhoz hasonló szerkezetű Diels-Alder addukt (**121**) képződik. A 14-klór-kodein és a 14-bróm-kodein Mitsunobu reakciója difenil foszforil aziddal (benzolos oldat, trifenil foszfin – dietil azodikarboxilát) a 6-dezoxi-6-azido-14-halogenokodeineket (**122** X= Cl, Br) eredményezte alacsony (37 illetve 25 %) hozamokkal.



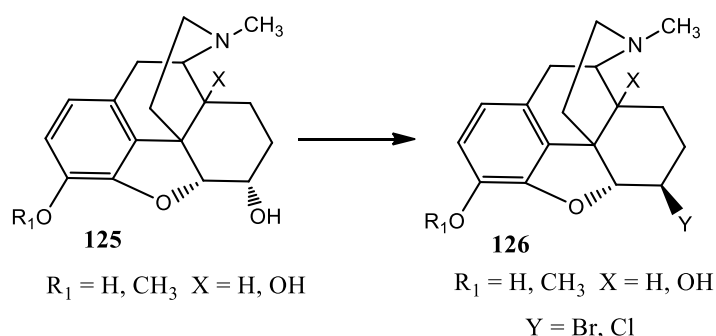
A Mitsunobu reakcióban a kodein vagy a morfin sósavas vagy hidrogén bromidos sóját alkalmazva savkomponensként az anion S_N2 reakcióban a 6 β -klór (**120** X= Cl) és a 6 β -bróm-származékokat (**120** X = Br) eredményezte [23]. Amennyiben a kodein

tozilésztert lítium bromiddal¹⁶³ reagáltatták, a reakcióban a $\Delta 6,7$ 8 β -brómkodid képződött, illetve utóbbi vegyület keletkezett kodein és tionil bromid reakciójában is. A Mitsunobu reakció alkalmazásával tehát **sikerült izolálni a kinetikusan kontrollált reakció termékét**. A $\Delta 6,7$ kettőskötésű kodein származékok egyébként stabilabbak, mint a $\Delta 7,8$ kettőskötésű vegyületek. (A telítetlen kötést tartalmazó 6 β -bróm-származékokat toluolban forralva, a C8 β -izomerek képződnek.)

A továbbiakban a 14-hidroxi-kodein (**123** R=CH₃) és a 14-hidroxi-morfin (**123** R=H) sósavas és hidrogén bromidos sóiból a 6 β -klór és a 6 β -bróm-származékokat (**124**) nyertük amennyiben az említett sókat toluolban szuszpendáltuk és trifenil foszfin – dietil azodikarboxilát reagenssel vittük reakcióba. A reakciók hozamai 30 és 70 % között voltak, de általában 50% alatt. A reakcióidő a legtöbb esetben 60 perc volt. A fenti reakciókat a megfelelő C-7 – C-8 dihidroszármazékokkal (**125** → **126**) is megvalósítottuk, de itt a reakciók lassabban mentek végbe és a hozamok is jóval alacsonyabbak.



A C-7 – C-8 telítetlen vegyületekből előállított 6 β -bróm-származékok értelemszerűen új vegyületek, a 14-hidroxi-morfinból kapott 6 β -klór-származék (**124** R= H X= Cl) is új vegyület. (A kodein és morfin reakciója tionil kloriddal α -klórkodidot és α -klórmorphidot eredményez S_N2 reakcióban, mindkét vegyület szerepet játszott a morfin szerkezet felderítésében.) A dihidrovegyületek esetében korábban előállították a dihidrokodein és dihidromorfin 6 β -klór és a 6 β -bróm-származékát¹⁷⁸, illetve a 14-hidroxi-dihidrokodeinből a 6 β -klór vegyületet¹⁷⁹.



A C-7 – C-8 telítetlen vegyületekből előállított 6 β -klór és a 6 β -bróm-származékok NMR spektrumában a J_{5,6} csatolási állandó ~ 1 Hz, míg a C-7 – C-8 dihidroszármazékok esetében a J_{5,6} csatolási állandó ~ 6,7 Hz. Munkánk során elkészítettük a korábban ismert autentikus 6 β -klór és a 8 β -bróm-származékokat is és ezek NMR spektrumát is felvettük a szerkezetigazolás céljából.

A Mitsunobu további alkalmazása a morfinan vázon

Egy japán kutatócsoport több szabadalmi bejelentésben β -naltrexamin és β -naloxamin reakcióit közölték ftálsav anhidriddel, 140 °C-on, trietil-amin jelenlétében a 6 β -ftálimido-származékokokat állították elő. A β -naltrexamin-ból kapott ftálimido-származék (**115** R₁= H, X= OH, R₂= Cpm) egy hatásos és szelektív részleges agonista a humán μ opioid receptoron, amely az opioidokkal kapcsolatos mellékhatásoktól mentes (pl. székrekedést nem okoz). Ugyanakkor a vizelet-visszatartási funkciókat is befolyásolja, profilaktikus ágens a vizeleti gyakorisággal vagy vizelet inkontinenciával szemben. A farmakológiai vizsgálatokhoz a vegyületet a 3-O-acetil- α -naltrexol és ftálimid Mitsunobu reakciójával nyerték^{180,181}.

G. R. Matyas és munkatársai^{182,183} a heroin-ellenes vakcina kifejlesztése során a 6 β -amino-6-dezoximorfint (**106** R₁= H R₂= CH₃) mint haptent alapvázat találták a legoptimálisabbnak. Az aminocsoportot β -trilmerkaptó-propionsavval acilezték majd ezt a haptén molekulát tetanus toxoid hordozó proteinhez kötötték. A konjugátum hatására keletkező antitestek hatékony védelmet nyújtottak egereken a heroin hatásával szemben. A vegyület szintézise megegyezett az általunk 1992-ben publikált (Synthetic Commun.) módszerrel, 3-acetil-morfine és ftálimid Mitsunobu reakciójában a ftálimido-származékot nyerték, majd ezt hidrazinnal kezelve a 6 β -amino-6-dezoximorfint képződött. A 3-acetil-6 β -ftálimido-6-dezoximorfint (**105**) sztereokémiáját Röntgen kristallográfias analízissel igazolták.

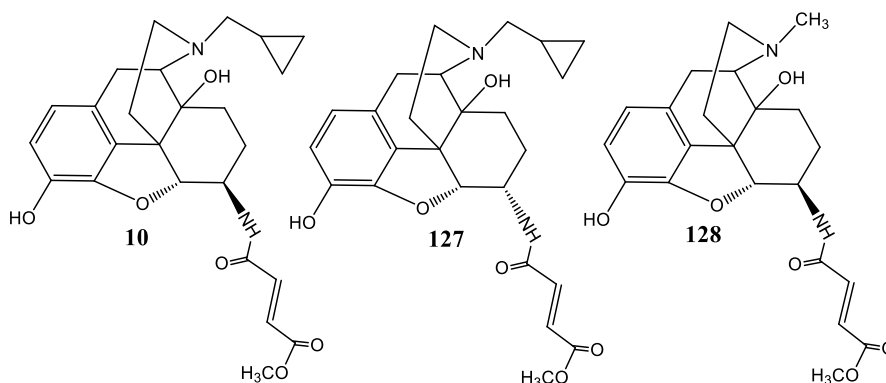
Scammells és munkatársai¹⁸⁴ morfinból C-3 p-metoxibenzilétert állítottak elő, majd Mitsunobu reakcióban (benzoesav, trifenil foszfin, diizopropil azodikarboxilát) a C-6 izomorfint benzooesavas észterét kapták. A benzoát hidrolízisével az izomorfint C-3 p-metoxibenziléter képződött, melynek egy újabb Mitsunobu reakciója (ftálimid, trifenil foszfin, diizopropil azodikarboxilát) a C-6 α -ftálimido-származékot eredményezte és ebből hidrazin hidráttal a C-6 α -aminhoz jutottak. A C-3 védőcsoportot trifluorecetsavban trietil szilánnal távolították el, és a 6-dezoxi- 6 α -aminomorfint képződött. Az izomorfint C-6 királis centrum inverziója tehát ez esetben is sztereospecifikus.

Nagase és munkatársai¹⁸⁵ az N-metil- β -naltrexamint β -(3-furil)-akrilsavval acilezték és a kapott amid (kód TRK-820) a legszelektívebb morfin-vázis κ agonistának bizonyult. Az agonista aktivitást GPI és MVD izolált szerveken vizsgálták, a receptor szelektivitás meghatározására a μ antagonistát naloxont, a κ antagonistát NORBNI-t és a δ antagonistát naltrexon indolt (NTI) használták. Az agonista referenciavegyületek a morfin és az U – 50488H (κ agonista) voltak. Suzuki és munkatársai¹⁸⁶ a 3-O-acetil- α -naltrexolból Mitsunobu reakcióban ftálimiddel kapott 3-hidroxi-6- β -ftálimido-származékot (**115** R₁= H, X= OH, R₂= Cpm) alkalmas kiindulási vegyületnek találták a TRK-820 előállítására.

5.2. Affinitásjelölő C-6 acilamino morfinanok előállítása az opioid receptorok vizsgálatához

Az affinitásjelölők definíció szerint olyan ligandumok melyek a receptorhoz nagy affinitást mutatnak és a receptorral való kölcsönhatás nem-egyensúlyi jellegű. Az ilyen ligandumok a receptorhoz kovalens kötéssel kapcsolódnak, de a kapcsolódás nem jelent mindig kovalens kötést. A receptorhoz való kötődés tehát irreverzibilis. Az affinitásjelölők olyan funkciós csoportokat tartalmaznak, melyek képesek kovalens

kötés kialakítására az opioid receptorral. A kérdéses funkciós csoportok általában elektrofil csoportok. A ligandum (melyhez adott elektrofil csoport kapcsolódik) szelektivitását az opioid receptoron befolyásolja a receptor affinitása a ligandummal szemben, az elektrofil csoport helyzete a ligandumban és az elektrofil csoport reaktivitása és szelektivitása. A morfinan vázon több lehetőség kínálkozik (A gyűrű, C gyűrű, N-szubsztituens) az elektrofil csoport beépítésére. Portugese és munkatársai¹⁸⁷ olyan funkciós csoportokat terveztek beépíteni a morfinan váz C-6 pozícióba melyek kisebb reaktivitásúak és nagyobb szelektivitással rendelkeznek. Ilyen csoport lehet a kovalens kötést létrehozó Michael akceptor, mint például a monometil fumársavamid csoport a C-6 helyzetben. Ezt a vegyületet a β -naltrexamin monometil fumársavkloriddal való acilezésével állították elő¹⁸⁸. A kapott amidot β -funaltrexaminnak (**10** β -FNA) nevezték. A vegyületet GPI izolált szervén vizsgálták és potens opioid antagonistá hatást mértek, de a hatás morfinnal szemben irreverzibilisnek bizonyult. Az irreverzibilis antagonistá hatást az előzetesen a preparátumhoz adott naloxon felfüggeszti.

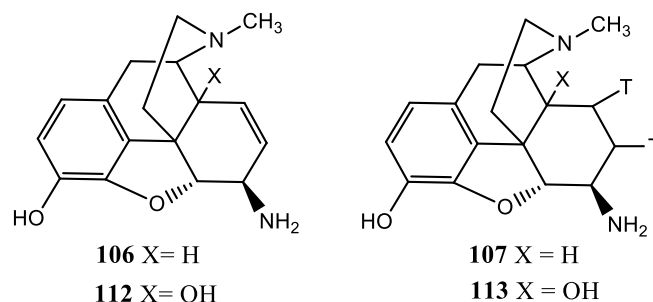


Előállították a β -FNA várhatóan agonista hatású analogonját a β -fuoxymorphamint (**128** β -FOA) a β -oxymorphamin és monometil fumársavklorid reakciójában. A β -FOA ténylegesen agonista a GPI preparátumon, a hatás reverzibilis. A β -FOA hatását naloxon antagonizálta, a pA2 analízis arra utal, hogy a vegyület a μ receptorokkal lép kölcsönhatásba. Emellett a β -FNA antagonizálta a β -FOA agonista hatását. A β -FOA tehát nem képes kovalens kötést létesíteni a receptorral, az agonista β -FOA és az antagonistá β -FNA nem ugyanazzal a receptor kötőhellyel lép kölcsönhatásba, vagyis a μ receptoron az agonista és antagonistá ligandumok kötőhelyei különböznek. Portugese és munkatársai előállították a β -FNA epimer párját az α -funaltrexamint (**127** α -FNA) az α -naltrexamin acilezésével^{189,190}. A vegyület a GPI preparátumon reverzibilis hatású agonista, és a β -FNA antagonizmussal szemben képes megvédeni a GPI preparátumot és e tekintetben jóval hatásosabb, mint a morfin. Ezek az adatok azt jelezték, hogy az epimer vegyületepár ugyanahhoz a receptorhoz kötődik. Fontos hangsúlyozni továbbá, hogy a C-6 elektrofil szubsztituens megfelelő orientációja szükséges a közelebbi nukleofil csoporthoz a μ receptoron hogy a kovalens kötést létrejöjjön. A β -naloxaminból előállított monometil fumársavamid jelentősen különbözik a β -funaltrex-amintól. Az N-allil származék kb. tízszer gyengébb hatású irreverzibilis antagonistá a morfinnal szemben, mint a β -FNA valamint a GPI preparátumon tartós agonista aktivitást mutat és ez a preparátum mosásakor nem múlik el.

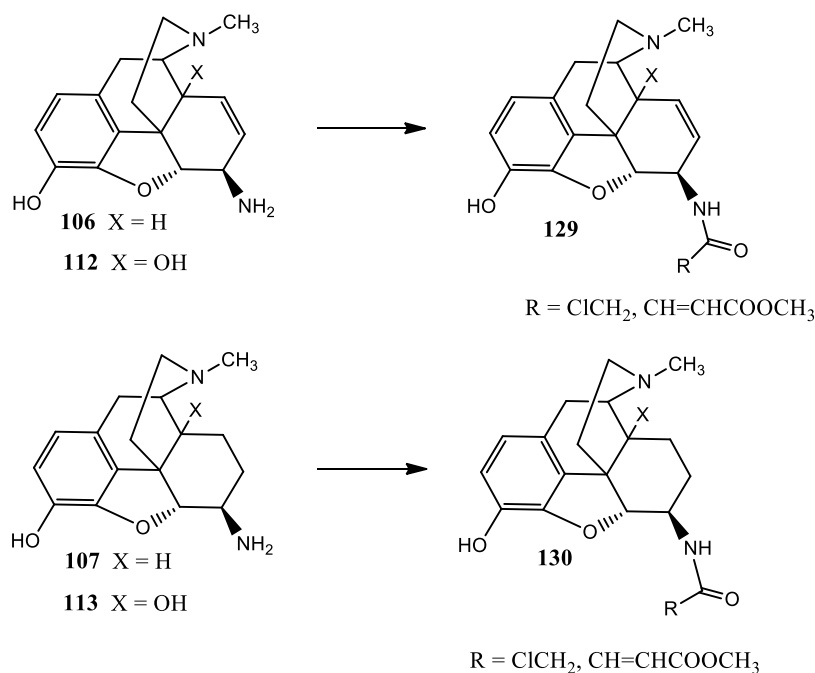
Manglik és munkatársai¹⁹¹ 2012-ben meghatározták a μ opioid receptor kristályszerkezetét Röntgen diffrakciós módszerrel. A μ receptorhoz irreverzibilisen β -funaltrexamint kötöttek, majd az ún. meso kristályosítási eljárással sikerült a μ receptor - β -funaltrexamin komplexből kristályokat előállítani. Jellegzetes a D147 (aszparaginsav) aminkötőhely (elektrosztatikus kölcsönhatás) valamint az Y326 (tirozin) hidrogénhidás kölcsönhatás, mivel mindkét aminosav konzervált az összes opioid receptoron. A H297 (hisztidin) a morfinán váz aromás gyűrűjével van kölcsönhatásban. A kristályszerkezet elemzése azt is igazolta, hogy a β -FNA és a receptor között a kovalens kötés kialakulásában a K233 (lizin) aminosav maradék aminocsoportja és a fumársavészter kettőkötés kölcsönhatása felelős.

Saját eredmények

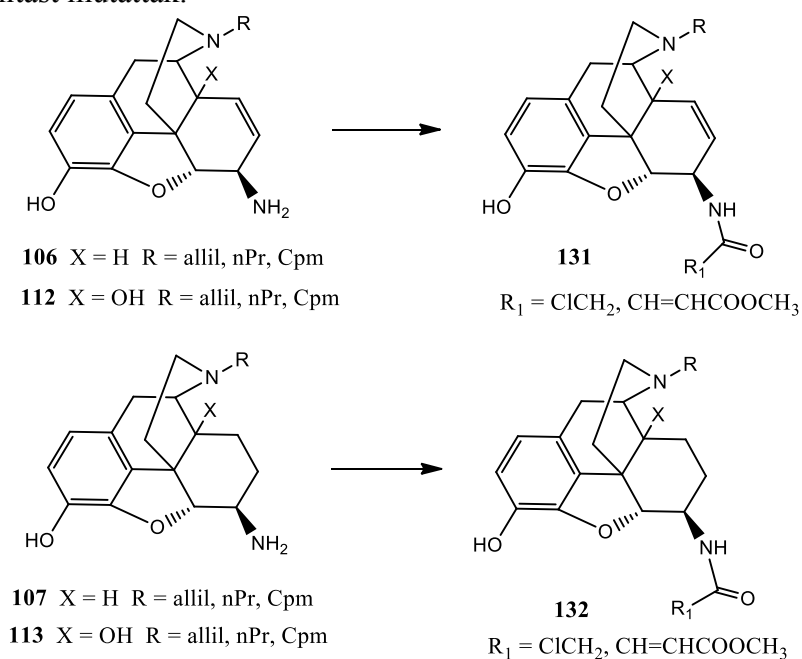
A Mitsunobu reakcióval kapott C-6 aminovegyületek lehetővé tették, hogy új acilamino származékokat állítsunk elő és tanulmányozhassuk a potenciális affinitás jelölők farmakológiai hatását.

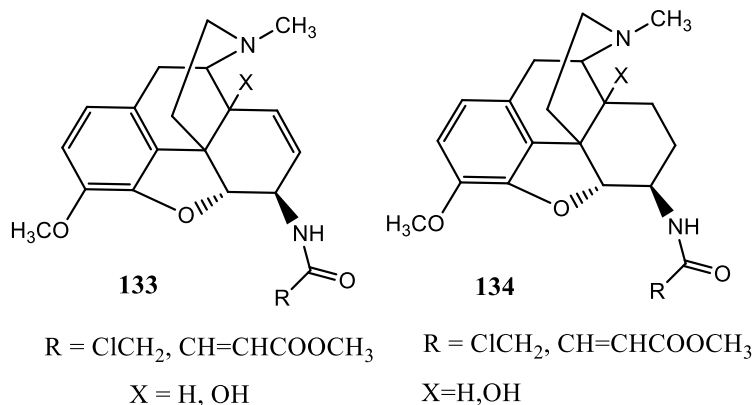


Vizsgáltuk a morfinból és a 14-hidroxi-morfinból Mitsunobu reakcióval nyerhető C-6 β -aminok (**106** és **112**) és a megfelelő dihidrovegyületek (**107** és **113**) acilezését illetve a telítetlen vegyületek tríciummal való (C-7 – C-8) jelölését [24]. A Δ 7,8 kettőskötést PdO katalizátort alkalmazva triciáltuk dimetil formamid oldószerben. A C-6 β -amino-6-dezoxi-14-hidroximorfin és a 7,8-dihidroszármazékok N-acilezését klórecetsavval és fumársav monometilészterrel (**129** és **130**) valósítottuk meg, a savakból kapott N-hidroxi-szukcin-imid aktív észterekkel, diciklohexil-karbodiimid kondenzálószerrel használva. Ez a módszer tulajdonképpen a β -FOA és a 7,8-didehidro- β -FOA szintézisét jelenti. A tríciummal jelzett aminokat szintén klórecetsavval és fumársav monometilészterrel acileztük. A radioaktív vegyületek esetén az N-acilezést a peptidkémiaiában használt vegyes anhidrides módszerrel végeztük: az oldószer tetrahidrofurán volt és klórhangyasav-izobutilésztert és N-metil-morfolin bázist alkalmaztak az amidok előállítására. Ezzel a reakcióssal megvalósítottuk a β -FOA radioaktív jelölését tríciummal a C-7 – C-8 helyzetben.



További N-acilezett aminok előállítását is megvalósítottuk [25] az aktív észteres (N-hidroxi-szukcinimid és diciklohexil-karbodiimid) módszerrel: 6β-naloxamint (**113** R = allil X= OH) és 6β-naltrexamint (**113** R = Cpm X= OH) acileztünk klórecetsavval és fumársav monometilészterrel (**132**). Ezenkívül a Δ 7,8 kettőskötést tartalmazó C-6β-aminokat is acileztük (**131**) ugyanezen savkomponensekkel. Az NMR spektrumelemzésekhez modellvegyületként acileztük a 6β-amino-kodeint és a 6β-amino-14-hidroxi-kodeint, valamint a megfelelő 7,8-dihidrovegyületeket (**133** és **134**). A 6β-amino-morfín, a 6β-amino-N-propil-normorfín, a 6β-amino-N-allil-normorfín és a 6β-amino-14-hidroxi-morfín acilezett származékainak a biológiai vizsgálatáról is beszámoltunk. A vizsgált vegyületek főleg a μ opioid receptorhoz mutattak affinitást a δ receptoron gyakorlatilag inaktívak a receptor kötődési teszten. Ki kell emelni, hogy a 6β-amino-N-allil-normorfínból előállított amidok (**131** X = H R = allil) a κ receptoron jelentős affinitást mutattak.





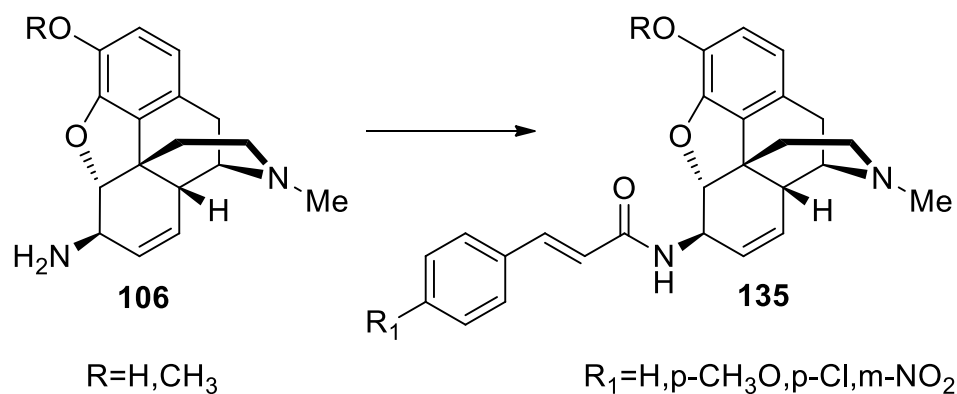
Fahéjsavamidok előállítása

Derrick és munkatársai¹⁹² tanulmányozták a β -naltrexaminból (**113** X = OH R = Cpm) előállított p-metil-fahéjsavamidot és a p-klór-fahéjsavamid farmakológiai hatását. A p-metil-fahéjsavamid farmakológiai profilja gyakorlatilag azonos a β -FNA farmakológiai profiljával. A receptor kötődési teszten a két amid csak a μ és κ receptorokon mutatott magas affinitást. Mindkét vegyület reverzibilis κ agonista a GPI izolált szerven (NORBNI a hatást antagonizálja) és az egér tail-withdrawal fájdalomcsillapító teszten. A p-metil-fahéjsavamid irreverzibilis antagonist morfinnal szemben az egér tail-withdrawal teszten, viszont a writhing teszten az antagonist hatás nem irreverzibilis. A GPI izolált szerven a p-metil-fahéjsavamid szintén irreverzibilis antagonist a preparátumból nem lehet kimosni. A p-klór-fahéjsavamid a GPI izolált szerven és az MVD izolált szervi preparátumokon erős hatású antagonist, de csak az MVD preparátumon mutat irreverzibilis hatást. Figyelemre méltó, hogy a receptor kötési teszten mindkét fahéjsavamid nagyobb affinitással kötődik a μ receptorhoz, mint a β -FNA. A K_i értékek alapján a fahéjsavamidok κ receptor affinitása is nagyobb, mint a β -FNA referencia vegyület.

Derrick és munkatársai¹⁹³ később a β -naltrexamint acilezték fahéjsav kloriddal és p-nitro-fahéjsav kloriddal. A kapott C-6 amidok farmakológiai vizsgálata arra utalt, hogy a β -FNA κ agonista hatása nem eliminálható, ha az acilező csoportot fahéjsavra cseréljük. A κ agonista hatás ugyanúgy jelentkezik, mint a β -FNA esetén, sőt utóbbihoz viszonyítva nagyobb a hatáserősség in vivo. A fahéjsav amid GPI izolált szerven antagonizálható a szelektív κ antagonist NORBNI alkalmazásával, és az effektus a preparátum többszöri mosása után is jelentkezik. Ezzel szemben a β -FNA κ agonista hatása a preparátum mosásával megszűnik. A p-nitro-fahéjsavamidot a NORBNI nem képes antagonizálni a GPI preparátumon, a vegyület irreverzibilis hatást mutat. Cami-Cobeci és munkatársai¹⁹⁴ további aromás gyűrűben szubsztituált fahéjsavakkal (orto és meta nitro, orto-Cl és orto-metil) acilezték a β -naltrexamint. Valamennyi vegyület esetén a κ agonista hatás növekedését tapasztalták, míg a μ receptoron részleges agonista hatást mértek, alacsony hatékonysággal (efficacy) a funkcionális assay (³⁵S-GTP) alapján.

A kodeinből és morfinból Mitsunobu reakcióval előállított 6 β -amino-6-dezoxi származékok (**106**) acilezését vizsgáltuk [26] fahéjsav kloriddal és szubsztituált (p-Cl, p-CH₃O, p-CF₃ és m-nitro) fahéjsav kloridokkal. A reakciókat diklórmetánban trietilamin jelenlétében hajtottuk végre szobahőmérsékleten kevertetve. A kodein származékok az acilezési reakciókban elsősorban a reakciókörülmények optimalálásában

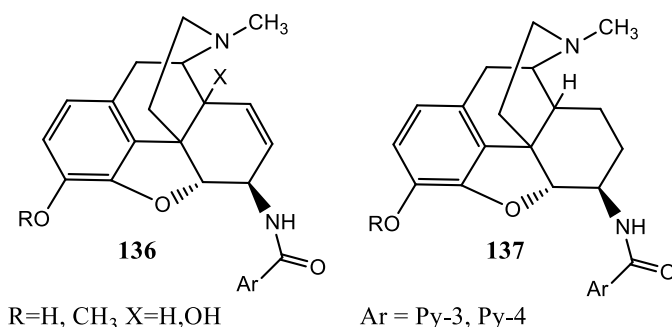
játszottak szerepet, illetve az NMR spektrumok értékelésében modellként szolgáltak. A 6 β -amino-6-dezoxi-morfin acilezésekor a fenolos hidroxilcsoport is reagált, ezért a mellékterméket metanolban 10%-os nátrium karbonát oldattal hidrolizáltuk. A biológiai vizsgálatokra mind a 10 fahéjsavamidot (**135**) elküldtük, de amint várható volt a kodein származékok a receptor kötési teszten és az egér tail-flick teszten gyenge agonista aktivitást mutattak. Az acilezett morfin aminok a receptor kötési teszten a K_i értékek alapján elsősorban a μ receptoron mutattak jelentős affinitást de a p-klór-fahéjsavamid származék közel azonos affinitást mutatott a μ és a κ receptoron. (Amennyiben a C-6-amino-6dezoximorfint acilezzük aromás magban szubsztituált fahéjsavakkal a morfin váz affinitása befolyásolható a κ opioid receptoron.) Az acilezett morfin aminok általában hatékony fájdalomcsillapítók, ki kell emelni a szubsztituátlan fahéjsavamid (**135** R = R₁ = H) származékot, amely hatásosabb, mint a morfin. A részletes vizsgálatok szerint a morfinhoz viszonyítva egereken kevésbé idéz elő légzésdepressziót, a fájdalomcsillapító ED₅₀ nyolcszoros értékénél sem jelentkezett a mellékhatás. A morfin már a fájdalomcsillapító dózis négyszeres értékénél súlyos légzésdepressziót okoz.



Li és munkatársai¹⁹⁵ α - és β -naltrexaminből nitrogént tartalmazó heterociklusos karbonsavakkal savamidokat szintetizáltak az alábbi karbonsavak felhasználásával: piridin-2, piridin-3, piridin-4 karbonsav, izokinolin-3-karbonsav, kinolin-2- és kinolin-3-karbonsav. A heteroaromás karbonsavakban a nitrogén várhatóan hidrogén hidat képez a μ opioid receptoron, az extracelluláris hurokban található aminosavakkal (tirozin, triptofán) létrejött hidrogénhíd kötés a receptor-ligandum komplexet stabilizálják. A vegyületek tervezésekor előzetesen molekuláris modellezéssel valószínűsíthető volt a hidrogén híd kötések kialakulása. Receptorkötődési teszten, a μ receptoron a nikotinsavval acilezett α - és β -naltrexaminok nagyobb affinitást mutattak, mint a naltrexon. Az izonikotinsavamidok közül a β -amid a hatékonyabb, míg a pikolinsavamid epimerek gyenge μ affinitással rendelkeztek, viszont ezeknél az α amid volt hatásosabb. In vivo vizsgálatok alapján az izonikotinsavval acilezett β -naltrexamin tiszta antagonistának bizonyult a morfinnal szemben (egér tail-immersion teszt) míg a nikotinsavval és pikolinsavval acilezett α - és β -naltrexaminok agonista-antagonistaként viselkedtek. Az izonikotinsavval acilezett β -naltrexamin (NAP) nagy hatáserősségű és szelektív μ opioid receptor antagonistának¹⁹⁶ bizonyult. Ezzel összefüggésben valószínűsíthető, hogy a μ receptoron jelen van egy váltakozó „address” domén amely felismeri azt a ligandumot, amely hidrogén híd akceptor aromás rendszert tartalmaz, és ez eredményezi a magas receptor kötődési affinitást és szelektivitást. A C-6 izonikotinsav-amid szubsztituens piridin gyűrű nitrogénje képes hidrogénhíd kötést kialakítani. Ezt igazolták a NAP dokkolási kísérletei is a μ receptor homológ modellen,

a piridin gyűrű hidrogénhíd akceptorként viselkedik. A NAP részletes farmakológiai vizsgálata arra utalt, hogy a vegyület kompetitív nagy μ receptor affinitású antagonistá, viszont a δ és κ receptorokon alacsony hatékonysággal (efficacy) rendelkezik.

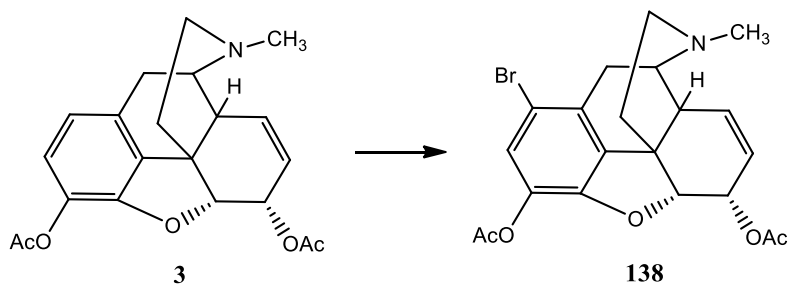
A fenti eredmények alapján megvizsgáltuk a 6 β -amino-6-dezoxi-morfin (**106**), a 6 β -amino-6-dezoxi-kodein, a 6 β -amino-6-dezoxi-14-hidroxi-morfin (**112**) és a 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfin (**107**) acilezési reakcióit nikotinsav kloriddal és izonikotinsav kloriddal [27]. A reakciókat a fahéjsavamidok előállításakor alkalmazott módon (diklórmetános oldatban, trietil amin jelenlétében) végeztük. Az O-acilezett melléktermékeket metanolban 10%-os nátrium karbonát oldattal hidrolizáltuk. A 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfint (**107** $R_1 = R_2 = H$) előállítottuk azidomorfinból is. Az eredeti eljárás¹⁶⁹ szerint az azidomorfin éteres oldatban redukálható aminná lítium alumínium hidriddel. Az új módszerrel a reakciót etanolban hajtottuk végre, Raney nikkal – hidrazin reagenssel. A farmakológiai vizsgálatokra elküldött vegyületek (**136** és **137**) várhatóan opioid agonisták, mivel a nitrogén szubsztituens metil csoport. A receptor kötési teszten a K_i értékek alapján a C-6 amidok a morfinnál magasabb aktivitást és μ opioid receptor szelektivitást mutatnak. A κ és a δ receptorokon az új származékok affinitása gyenge. A fájdalomcsillapító hatás (patkány tail-flick teszt) tekintetében a nikotinsav és izonikotinsav amidok hatáserőssége azonos a morfinéval, de figyelemre méltó a 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfinból előállított nikotinsav és izonikotinsav amidja mivel mindkét vegyület esetén a fájdalomcsillapító hatás időtartama jelentősen hosszabb a morfinhoz viszonyítva.



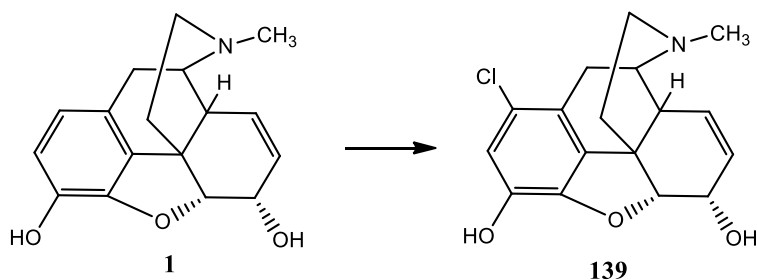
6. C-8 halogén szubsztituált apokodeinek és apomorfinok előállítása

A C-gyűrű módosításának egy további lehetősége hogy a morfin (kodein)-származékok savas átrendeződéssel apomorfin (apokodein) származékokat eredményeznek. Korábban a kutatócsoportunk^{197,198} tanulmányozta a C-6 fluor- és 7-halogeno(Br, Cl)-demethoxibainok átrendeződését a C-2 és C-3 halogén-szubsztituált apokodeinekké. Neumeyer és munkatársai¹⁹⁹ számos A-gyűrűben halogén-szubsztituált aporphin-származékot állítottak elő, ezek közül a C-2 Fluor apomorfin az apomorfinnál jóval nagyobb affinitást mutatott a dopamin receptoron. Schaus és munkatársai²⁰⁰ az aporphin váz D-gyűrűjében halogén szubsztituált származékokat állítottak elő, és a biokémiai vizsgálatok alapján a D-gyűrű szubsztitúciója befolyásolja a D-1 receptor affinitást illetve a D-1/D-2 receptor szelektivitást. A fent említett közleményekben az aporphin vázon a halogén szubsztituenseket aminocsoportokból alakították ki a diazóniumsók megfelelő reakcióival. A saját vizsgálatainkat arra alapoztuk, hogy az A-gyűrűben szubsztituált morfin és kodein származékokat állítunk elő, majd ezekből savas átrendeződéssel²⁰¹ jutunk el az apomorfin és apokodein származékokhoz [28].

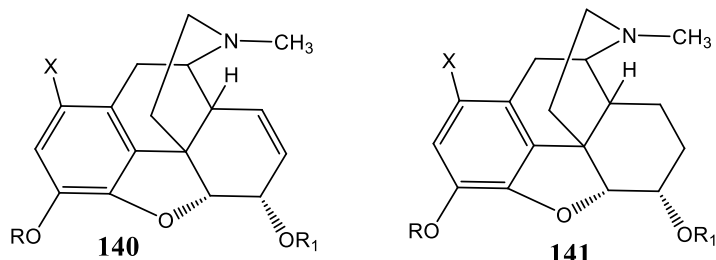
A diacetil-morfin (**3**) vizes oldatban reagál a brómos vízzel és 1-bróm-diacetil-morfin (**138**) képződik. A diacetil-dihidromorfin hasonló reakciója több termék képződéséhez vezetett, melyből a célvegyület kinyerése nem sikerült. Jégecetben mólekvalens brómmal a várt 1-bróm-diacetil-dihidromorfin képződött. A dezacetilezés etanolos 5 %-os nátrium hidroxiddal gyorsan végbemegy (30 perc reflux) inert atmoszférában, nitrogén bevezetésével. A morfin hidroklorid brómozását ecetsavban Görlitzer és munkatársai²⁰² tanulmányozták, 1-bróm-morfint kb. 53 %-os hozammal izoláltak, míg brómfelesleggel 1,2-dibróm-morfin (13%) is keletkezik.



A kodein hidroklorid sója 30 %-os hangyasavban 30 %-os hidrogén peroxid^{203,204} hatására 1-klór-kodeint eredményez. A kodein hidrobromidból hasonló reakcióban 1-bróm-kodein állítható elő. Ezeket a reakciókat elvégeztük a dihidrokodein sósavas és hidrogénbromidos sóiból is, az 1-bróm-dihidrokodeint és az 1-klór-dihidrokodeint kaptuk.



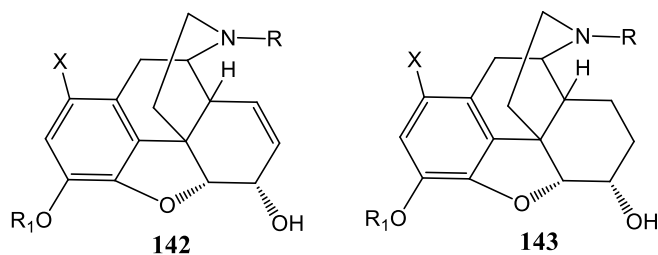
Weiss és munkatársai²⁰⁵ a morfint aceton – koncentrált sósavban kálium jodáttal oxidálva (70 °C, 20 óra) C-1 klórszubsztitúciót tapasztaltak. Az 1-klór-morfin (**139**) diazometánnal metilezhető, és a korábban előállított 1-klór-kodein (**140** R= CH₃, X= Cl, R₁= H) keletkezett. A dihidromorfinból a közvetlen C-1 klórszubsztitúció nem eredményezte a célvegyületet, ezért az 1-klór-dihidromorfint (**141** R= R₁= H X= Cl) az 1-klór-dihidrokodein (**141** R= CH₃ R₁= H X= Cl) bór tribromidos O-demetilezésével állítottuk elő. Az 1-klór morfint és az 1-klór-dihidromorfint ecetsavanhidriddel melegítve 1-klór-diacetil morfint (**140** R= R₁= Ac X= Cl) és 1-klór-diacetil dihidromorfint (**141** R= R₁= Ac X= Cl) állítottunk elő.



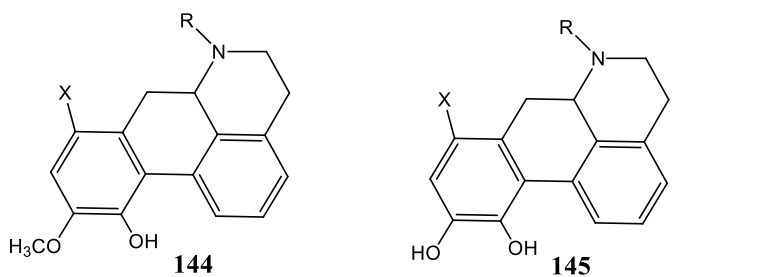
X = Cl, Br R₁ = H, Ac

R = H, CH₃, Ac

A C-1 halogénszubsztituált kodeineket, dihidrokodeineket acetileztük és brómcíannal vagy klórszénsav α -klóretilészterrel N-demetileztünk. A norvegyületeket allil bromiddal és n-propil bromiddal N-allilezve nyertük az N-allil- és N-propil-norvegyületeket (**142**, **143** R₁ = CH₃). (A dihidronorvegyületekből csak N-allil-származékokat készítettünk.) Az 1-bróm-morfin és az 1-klór-morfin a 3,6-diacetátokból kiindulva szintén N-demetilezhető klórszénsav α -klóretilészterrel és a norvegyületekből alkilezéssel kaptuk az N-allil- és N-propil-normorfin (**142** R₁ = H) származékokat. Az 1-bróm-dihidromorfinból és az 1-klór-dihidromorfinból hasonló reakciókat végeztünk [28].



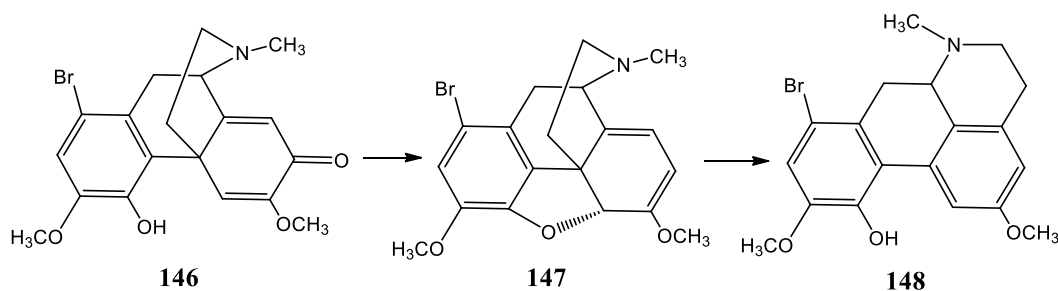
X = Cl, Br R₁ = CH₃, H R = H, allil, propil



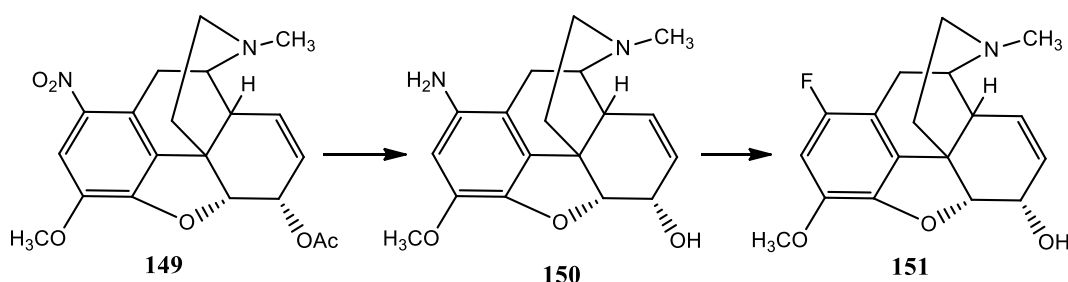
X = Cl, Br R = H, CH₃, allil, Pr X = Cl, Br R = CH₃, allil, Pr

Az 1-bróm-kodein (**140** R = CH₃ X = Br R₁ = H) és 1-klór-kodein (**140** R = CH₃ X = Cl R₁ = H) metánszulfonsavban melegítve átrendeződik és a 8-bróm-apokodein (**144** R = CH₃, X = Br 53%) és a 8-klór-apokodein (**144** R = CH₃ X = Cl 46%) képződik a nyerszertermékek oszlopkromatográfiás tisztítása során [29]. A 8-bróm-apokodein előállítható ecetsavban történő brómozással, illetve ecetsavban piridinium hidrobromid perbromiddal. Megoldottuk az apokodein közvetlen klórozását is, trifluoecetsavban N-klór-szukcinimiddel 8-klór-apokodein képződik. A C-8 halogeno-apomorfinok előállítása során az 1-bróm(klór)-morfin metánszulfonsavval melegítve többkomponensű reakcióelegyet eredményezett, melyből a célvegyületet nem sikerült izolálni. A megoldást a 8-bróm(klór)-apokodein O-demetilezése jelentette, bór

tribromiddal kloroformos oldatban O-demetileztünk, majd a reagens felesleget metanollal elbontva a 8-brom(klór)-apomorfin (**145** $R = CH_3$ $X = Br$ vagy Cl) hidrogén bromidos sóját kaptuk, melyek etanolból jól kristályosíthatók. Az O-demetilezés megoldható ecetsav-48%-os hidrogén bromiddal is refluxhőmérsékleten, majd az oldat bepárlásakor a hidrogén bromidos só etanolból kristályosítható. Az utóbbi módszerrel az apokodeinből jó hozammal (~ 60%) nyerhető az apomorfin hidrogén bromidos sója. Az 1-brom-N-propil-norkodeinből (**142** $R_1 = CH_3$, $R = Pr$ $X = Br$) és az 1-klór-N-propilnorkodeinből (**142** $R_1 = CH_3$, $R = Pr$ $X = Cl$) metánszulfonsavas átrendeződéssel és az ezt követő O-demetilezéssel nyertük a 8-brom(klór)-N-propil-norapomorfin (**145** $R = Pr$ $X = Br$ vagy Cl). Az 1-brom-norkodeinből (**142** $R_1 = CH_3$, $R = H$ $X = Br$) és az 1-klór-norkodeinből (**142** $R_1 = CH_3$, $R = H$ $X = Cl$) szintén átrendeződéssel kaptuk a 8-brom-norapokodeint (**144** $R = H$ $X = Br$) és a 8-klór-norapokodeint (**144** $R = H$ $X = Cl$). Előállítottunk néhány C-8 bróm-szubsztituált morphotebain származékot is. Szalutaridint ecetsavban brómozva 1-brom-szalutaridin (**146**) képződik, ennek redukciójával (nátrium bórhidrid) kaptuk az 1-brom-szalutaridinolt melynek híg savas kezelése eredményezte az 1-brom-tebaint (**147**). Ennek a metánszulfonsavas átrendeződésével a 8-brom-morphotebain-2-methyl éter (**148**) keletkezik. Az N-propil-nortebain metánszulfonsavas átrendeződésével állítottuk elő az N-propil-normorphotebain-2-metil étert, melyet jégecetben brómozunk és a C-8 bróm-származékhoz jutottunk.

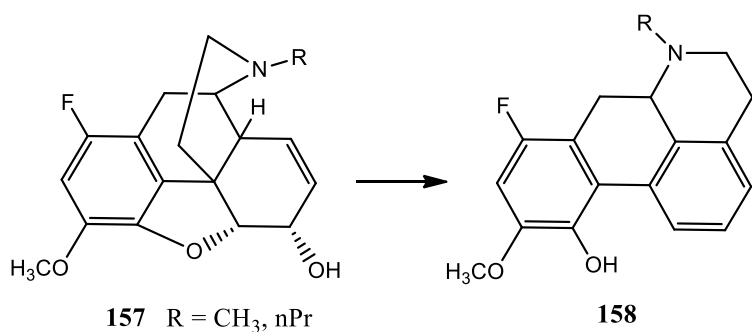
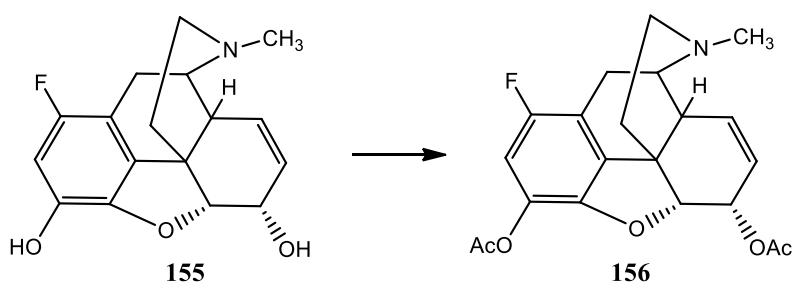
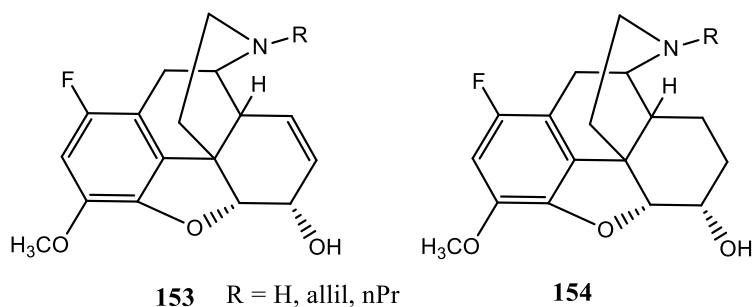
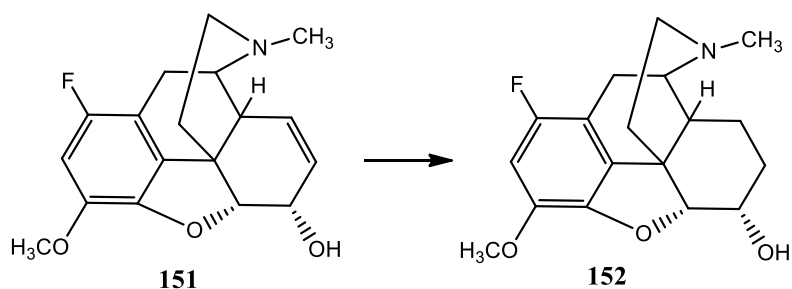


6.1 C-8 fluor-szubsztituált apokodeinek előállítása



A fluor szubsztituens beépítését a kodein aromás gyűrűjébe a diazónium só Schiemann reakciójával²⁰⁶ oldottuk meg. A 6-O-acetil-kodein nitrálásával (cc. salétromsav-ecetsav) kaptuk az 1-nitro-szubsztituált kodeint (**149**). A lúgos hidrolízis után nitrocsoportot ön – cc. sósav reagenssel redukáltuk, majd az 1-amino-kodeinből (**150**) diazónium-tetrafluoroborát sót állítottunk elő. A kristályos diazónium só termikus bontásával kaptuk az 1-fluor-kodeint (**151**). Ezt a vegyületet korábban előállították²⁰⁷ a diazónium-tetrafluoroborát bontásával, az 1-fluor-kodein jóval hatásosabb fájdalomcsillapító volt, mint a kodein. A dihidrokodein nitrálásával kapott 1-nitro-dihidrokodeint a fent említett

módszerrel redukáltuk, de az 1-aminodihidro-kodeinből nem sikerült kristályos diazónium-tetra-fluoroborát sót kinyerni. Az 1-fluor-dihidrokodeint (**152**) az 1-fluor-kodein kontrollált katalitikus hidrogénezésével sikerült előállítani. Az 1-fluor-kodein és az 1-fluor-dihidrokodein [30] N-demetilezésével (klórszénsav α -klóretil-észter) előállítottuk az N-nor-származékokat (**153** R = H **154** R = H), majd ezekből N-propilezéssel (propil bromid – dimetil formamid/nátrium hidrogénkarbonát) N-propil-1-fluor-norkodein (**153** R = Pr) és N-propil-1-fluor-dihidronorkodein (**154** R = Pr) képződött. Az 1-fluor-kodein és az 1-fluor-dihidrokodein O-demetilezésével (bór tribromid - kloroform) kaptuk a C-1 fluorszubsztituált morfin származékokat. Az 1-fluormorfin (**155**) és az 1-fluordihidromorfin reakciója ecetsav anhidriddel (100 °C, 4 óra) a 3,6-diacétátokat eredményezte (**156**). Az 1-fluor-kodein (**151**) és az N-propil-1-fluor-norkodein (**153** R = Pr) metánszulfonsavas átrendeződése a C-8 fluor szubsztituált apokodeineket (**158** R = CH₃, Pr) eredményezte.



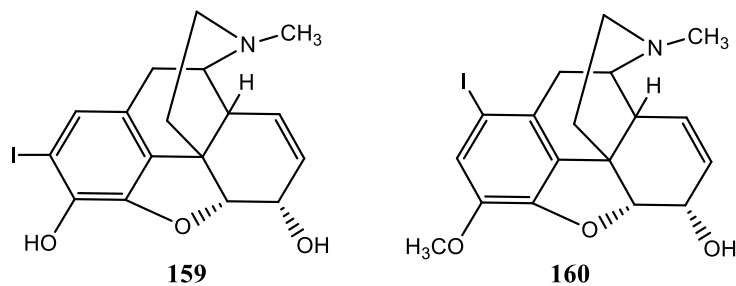
6.2. Jódsubstituíált kodein és morfin előállítása

A morfin és a dihidromorfin direkt jódozásokor²⁰⁸ (nátrium jodid – klóramin T – pH 8,4 puffer) ¹²⁵I-jódizotóp alkalmazásakor egy radioaktív jódot tartalmazó morfin molekula képződik, amely a morfin radioimmunanalitikai (RIA) mérése során kötődik az antitesthez melyet úgy nyertek, hogy 3-karboximetil-morfinnal immunizálták a kísérleti állatokat. A jódsubstituíált morfin vékonyréteg-kromatográfiásan elválasztható a nem reagáló morfintól. A morfin jódozása ¹²⁷I-izotópot tartalmazó nátrium jodiddal sikertelen volt, a szerzők feltételezték, hogy a Na¹²⁵I esetében radiolitikus reakció megy végbe.

Mason és munkatársai²⁰⁹ a fenti reakciót vizsgálva előállították a C-2 helyzetben ¹²⁷I-szubsztituált morfint (**159**), a reakcióban 15 % alatti konverziót értek el, a jódozott morfint folyadék-kromatográfiával tisztították. Megállapították, hogy a morfin nagyon érzékeny a klóramin T oxidációs reakcióban ezért pH = 7,4 puffert használtak és a morfine nagy feleslegben alkalmazták, míg a klóramin T reagenst viszonylag alacsony koncentrációban alkalmazták. A 2-I-morfin szerkezetét a nagy felbontású tömegspektruma és a tömegspektrumban mért fragmentációk bizonyították. A ¹²⁷I-morfin jól kötődött a Syva opiat antiszérumhoz. A fenti módszert radioaktív nátrium jodiddal (Na¹²⁵I) megismételve, a C-2 helyzetben ¹²⁵I-szubsztituált morfint kapták.

Moore és munkatársai²¹⁰ kifejlesztettek egy specifikus radioimmunanalitikai módszert, amely során jódsubstituíált morfint használtak. A morfine szulfátot jodogen – Na¹²⁵I reagenssel foszfát pufferben (pH = 7,5) reagáltatták, a jelzett 2-I-morfin specifikus aktivitása 100 μ Ci volt. A jódsubstituíált morfin pozícióját nem vizsgálták, feltételezték, hogy a klóramin T reagenssel elvégzett reakcióhoz hasonlóan C-2 szubsztitúció történik.

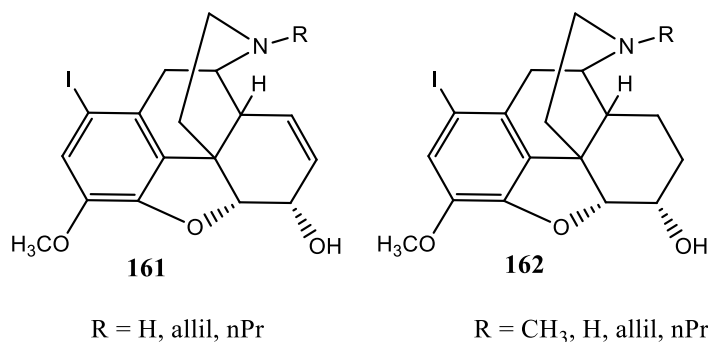
A kodein C-1 jódsubstituíációját Liebman és munkatársai²¹¹ közölték, kodeint 0,1m sósavban reagáltattak klóramin T- nátrium jodid reagenssel, az 1-jód-kodeint (**160**) 85 %-os hozammal kapták, 0.1mmol kodeinből kiindulva. A reakciót alkalmasnak találták a radioaktív ¹²⁵I-jód-szubsztituált kodein előállítására is. A morfinból ilyen reakciókörülményeket alkalmazva nem kaptak jódsubstituíált terméket, ezért az 1-jód-kodeint O-demetilizálták bór tribromiddal. A szerzők az NMR spektrum alapján nem tudták eldönteni a jód-szubsztituens helyzetét az aromás gyűrűben, de Röntgen kristallográfiás analízissel sikerült igazolni a C-1 szubsztitúciót.



Wilson és munkatársai²¹² a dihidrokodeinont és a 14-hidroxi-dihidrokodeinont C-1 helyzetben szubsztituáltak N-bróm-szukcinimiddal és N-jód-szukcinimiddal 0,1m trifluorecetsavban. Az 1-jód-14-hidroxi-dihidrokodeinon előállítására 85 %-os hozamot

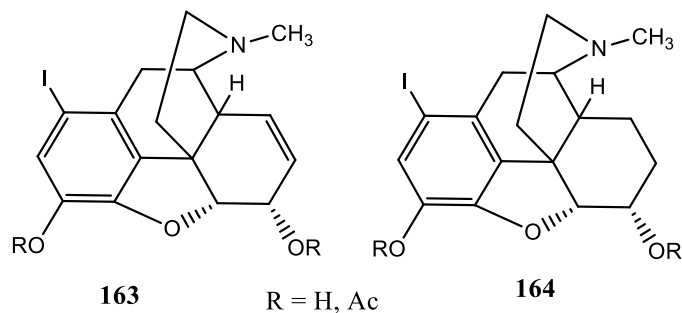
közöltek. Tóth G. és munkatársai²¹³ magas specifikus aktivitású trícíált dihidromorfint állítottak elő az 1-jód-morfin katalitikus trícíálása során, az 1, 7, 8-3H-dihidromorfin specifikus aktivitása 67.9 Ci/mmol volt.

A fenti áttekintésből kitűnik, hogy az ismertetett jódozási reakciók elsősorban radioaktív jelzett vegyületek előállítására alkalmasak, ezért célul tűztük ki olyan eljárások kidolgozását melyek preparatív szerves kémiai léptékben is alkalmazhatók jódszubsztituált morfin és kodein származékok előállítására. Terveztük továbbá a kodein – apokodein átrendeződési reakció vizsgálatát az 1-jód-kodein (**160**) esetében.

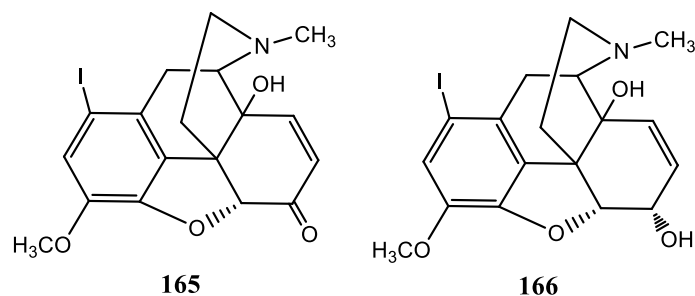


Saját vizsgálatok

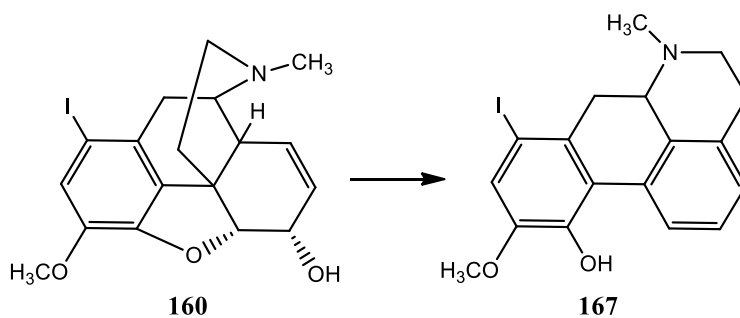
A kodein és dihidrokodein reakcióját a klóramin T- NaI reagenssel 0,1m sósavban a reakciókörülmények változtatásával sikerült megvalósítani 3-5 mmól kodein kiindulási anyagra, ami lehetővé tette további új vegyületek előállítását [31]. Az 1-jód-kodein (**160**) és az 1-jód-dihidrokodein (**162** R = CH₃) etanolos oldatban a jól kristályosodó bitartarátokat eredményez borkősavval, a leválasztott bázis megfelelő tisztaságú a további reakciókhoz. A savanyú borkősavas sókból leválasztott bázisok etil acetátból jól kristályosodnak. Mindkét vegyületből ecetsav anhidrides melegítéssel (100 °C) a 6-O-acetát képződött, melyeket N-demetileztük klórhangyasav α-klóretil észterrel. A reakciókat 1,2-diklóretánban hajtottuk végre nátrium hidrogénkarbonát jelenlétében forráshőmérsékleten. Az átmeneti terméket (karbamát észter) metanolban melegítve a 6-O-acetil-1-jód-norkodein és a 6-O-acetil-1-jód-dihidronorkodein sósavas sói képződtek. A 6-O-acetátokból lúgos hidrolízissel (etanol, 5% NaOH, 1 óra forralás) kaptuk a norvegyületeket. Az 1-jód-norkodeint (**161** R = H) allil bromiddal és normál propil bromiddal N-alkileztük dimetil formamid oldószerben 80 °C-on nátrium hidrogénkarbonát savmegkötő alkalmazásával. Hasonló reakciókat valósítottunk meg 1-jód-dihidronorkodeinből (**162** R = H) is. A négy N-szubsztituált-norvegyület (**161** és **162** R = allil és Pr) tisztítása oszlopkromatográfiával volt megoldható, valamennyi vegyület nem kristályosodó sárga olaj. Az ásványi savakkal (HCl, HBr) képezett sók sem kristályosak. Az 1-jód-kodein és az 1-jód-dihidrokodein kloroformos oldatban O-demetilezhető bór tribromiddal és az 1-jód-morfin (**163** R = H) és az 1-jód-dihidromorfin (**164** R = H) képződik. Mindkét morfin származékból előállítottuk a 3,6-diacetátokat (**163** és **164** R = Ac) ecetsav anhidriddel történő reakcióban.



A morfint és a diacetil morfint a klóramin T – NaI reagenssel 0,1 n sósavban reagáltatva nem tapasztaltunk jódszubsztitúciót. A diacetil morfint 0,1 n trifluoecetsavban N-jódszukcinimiddal a várt C-1 szubsztituált terméket eredményezi, de a reakcióban nem képződik egységes termék a C-3 acetát hidrolízise miatt. Vizsgálataink szerint a morfint közvetlenül 1-jód-morfinná (**163** R = H) alakítható a jód-morpholin komplexszel²¹⁴ metanolos oldatban. A diacetil morfint hasonló reakciója nem vezet egységes termékhez, itt is megfigyelhető a C-3 acetát részleges hidrolízise.



Az N-jód-szukcinimid 0,1 n trifluoecetsav reagens²¹² alkalmazása jó hozamokat eredményezett a kodein és a dihidrokódein C-1 jódszubsztitúciója során, ezzel a módszerrel állítottuk elő az 1-jód-14-hidroxi-kódeinont (**165**) és az 1-jód-14-hidroxi-kódeint (**166**).



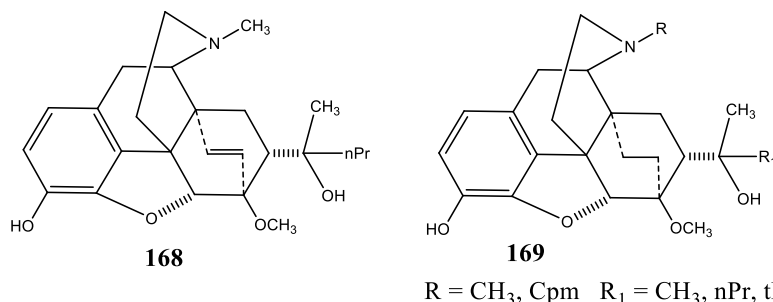
Vizsgáltuk az 1-jód-kódein és az 1-jód-N-propilnorkódein átrendeződési reakcióit metánszulfonsavban 90 °C-on melegítve²⁰¹. Az 1-jód-kódein átrendeződési reakciójában egy többkomponensű reakcióelegy képződött, melyből oszlopkromatográfiával a fő komponenst sikerült izolálni, amely az NMR spektruma alapján apokódein volt. A reakcióban jód is képződött. Csutorás és munkatársai²¹⁵ közleménye alapján a kodein → apokódein átrendeződési reakció 60 °C-on is végbemegy, mindamelllett az apokódein hozama is magasabb. Az 1-jód-kódein 60 °C-on történő átrendeződése során már többszörös oszlopkromatográfiás tisztítással sikerült gyenge (~ 5-7 %) hozammal izolálni a 8-jód-apokódeint (**167**). A vegyület fényérzékeny és bomlékony. A szerkezetét az NMR és tömegspektrumok igazolták.

Ezen a hőmérsékleten is tapasztalható volt a jód keletkezése, és az apokodein is izolálható volt. Az 1-jód-N-propilnorkodein átrendeződési reakciójában a komplex reakcióelegyből a várt terméket nem sikerült izolálni. Aril jodidok jód eliminációját szulfonálási reakcióban Cerfontain és munkatársai²¹⁶ szintén megfigyelték erősen savas közegben.

7. Új gyűrűrendszer kialakítása a C gyűrűben a tebain 4+2 Diels-Alder cikloaddíciójával

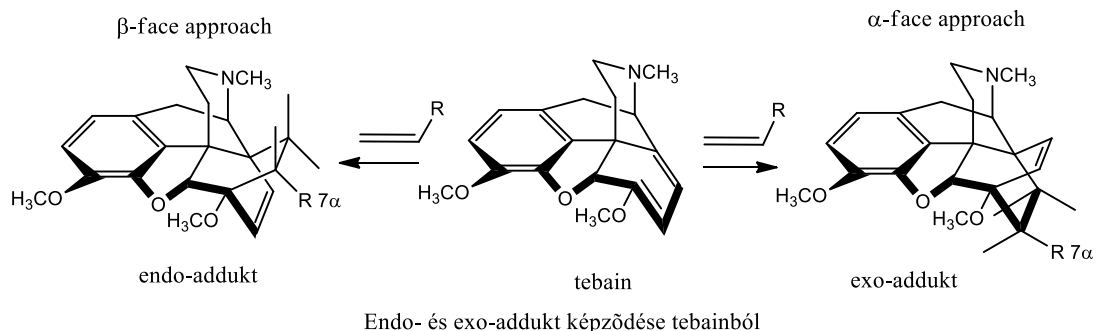
K. W. Bentley²¹⁷ feltételezte, hogy a morfin azon származékai melyek konformációs szempontból flexibilis molekulák, ezért több receptorral léphetnek kölcsönhatásba mivel a receptor-ligandum komplex létrejötte során a flexibilis ligandum könnyen adaptálódik a megfelelő szerkezetű receptorhoz. Amennyiben olyan vegyületeket állítunk elő, melyeknél a nagyfokú molekuláris merevség korlátozza a többféle receptorokkal való illeszkedést és így nagyobb szelektivitás érhető el. Ez a gyógyszertervezési megközelítés az opioid receptorok szerkezetének az ismeretében már egyfajta leegyszerűsítése a receptor-ligandum kölcsönhatásnak, de az elgondolás rendkívül hatásos vegyületek kifejlesztését eredményezte.

A morfin váz C gyűrűjének egy speciális módosítása a tebain [4+2] Diels-Alder reakciójában képződő C-6 – C-14 pozícióban etilénnel áthidalt gyűrűs vegyületek melyeket a morfin váz merevségének a növelése céljából szintetizáltak. Ebből a vegyületcsoportból származik a két leghatásosabb fájdalomcsillapító²¹⁸ az etorphin (**168**) és a dihidroetorphin (**169** R = CH₃, R₁ = nPr), a leghatásosabb opioid antagonistá a diprenorphin (**169** R = Cpm R₁ = CH₃), valamint a kábítószeresek kezelése során alkalmazott parciális agonista²¹⁹⁻²²² buprenorphin (**169** R = Cpm R₁ = terc.Bu).



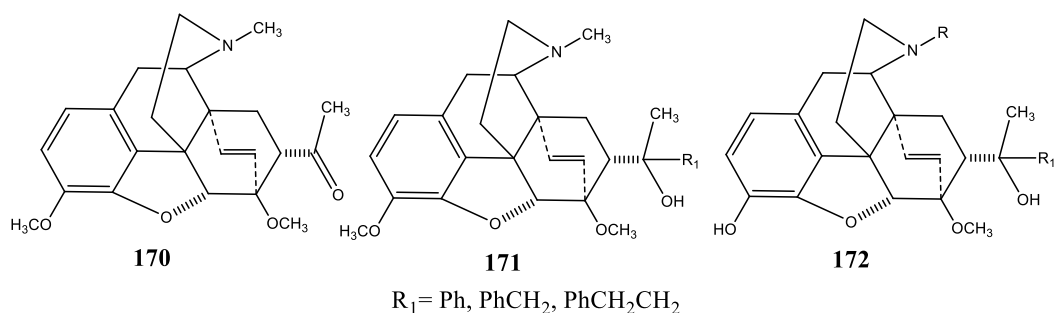
A tebain különleges szerkezettel rendelkezik, mivel a C gyűrűben egy elektronban gazdag konjugált dién rendszert tartalmaz²²³, ahol a Δ 6,7 kettőskötéshez C-6 metoxicsoport kapcsolódik azaz enoléter szerkezetű. A tebain Diels-Alder reakciójában a dienofil addíciója korlátozva van a C-gyűrű diénrendszerének a hozzáférhető β -oldalára és a 6,14-endoetheno-tetrahidrotebain származékok keletkeznek. Az endo adduktban a 6,14-etheno híd a C-14-alkilláncsal és a C-6 metoxi csoporttal ellentétes konfigurációjú, vagyis ezekhez viszonyítva α helyzetű. Az endo-addukt képződése egyébként energetikailag is kedvezményezett. A nem szimmetrikus dienofilekkel a Diels-Alder reakcióban csak egy regioizomer (C-7) képződik, és ez a reakció tulajdonképpen egy [4+2] cikloaddíció, melyet elektronikus kontroll irányít. A dienofil orientációja olyan, hogy az új kötések kialakulásakor a 7 α -izomer²²⁴ dominál. Az elektronikus effektust a metoxi-csoport polarizációja okozza a kettős kötésen. A dienofil

addíciója lejátszódhat oly módon, hogy C-7 epimerok keletkeznek, és az atommodellek alapján a két epimer egyenlő arányban képződhet. A kísérleti tapasztalat az, hogy a 7α -epimer a domináns a 7β -epimer csak kis mennyiségben keletkezik, a nem szimmetrikus szerkezetű dienofilek esetén (alkil vagy aril vinil ketonok, akrilsav észterek) viszont az akrilsav nitril addíciójakor az izomerek aránya $\sim 1:2$.



Amennyiben a dién a metoxi csoport helyett C-6 hidrogént tartalmaz, (6-demetoxi-tebain) nincs polarizáció a kettős kötésen, ezért regioizomerek képződhetnek²²⁵, melyek keletkezését a szterikus effektus fogja kontrollálni. A 6-demetoxi-tebain és metil-vinil keton reakciójában a 7α -keton mellett a 8α -regioizomer is képződik, az arányuk $7\alpha / 8\alpha = 9:1$.

A tebainból Diel-Alder reakcióval előállított vegyületek a morfin vázhoz viszonyítva nagyobb komplexitást és sokkal nagyobb merevséget mutatnak, emellett a 6,14 pozícióban történő etilén vagy etán áthidalás a morfin molekula T alakját is jelentősen megváltoztatja. Ezeknek a vegyületeknek az opioid agonista vagy antagonistá profilja nagyfokú változatoságot mutat, jóllehet csak két olyan változtatás van, amelyek szignifikáns módon befolyásolják a farmakológiai hatást, az egyik a C-3 metiléterek O-demetilézése oripavin származékokká, a másik fontos pozíció a C-7 szubsztitúció ahol szekunder vagy terciér alkoholokat lehet kialakítani. A tebain és metil-vinil keton reakciójában képződő Diels-Alder addukt a thevinon (**170**) fontos kiindulási vegyületnek bizonyult, mivel ennek a kémiai átalakításaival^{224,226-227} (főleg Grignard reakció) állították elő a kiemelkedő hatású fájdalomcsillapítókat.



A thevinon Grignard reakciója nagyfokú sztereospecificitást mutat, a reagens a karbonilcsoportot a C-7 – C-20 kötés síkja felett közelíti meg és a hattagú ciklikus intermedieren keresztül képződő terciér alkohol (**171**) R konfigurációjú, az S diasztereoizomer csak nyomokban (VRK) keletkezik²²⁶. A thevinonból előállított C-20 terciér alkoholok esetében az R diasztereomerek sokkal hatásosabb fájdalomcsillapítók (patkány tail pressure teszt) mint az S diasztereomerek^{217,226,227}. Az alkilcsoportok (nyílt szénlánc) szénatom számának a növekedésekor a hatás a propil és a n-butil szubsztituenseknél mutat maximumot, ezután csökken. Az elágazó alkilcsoportok között

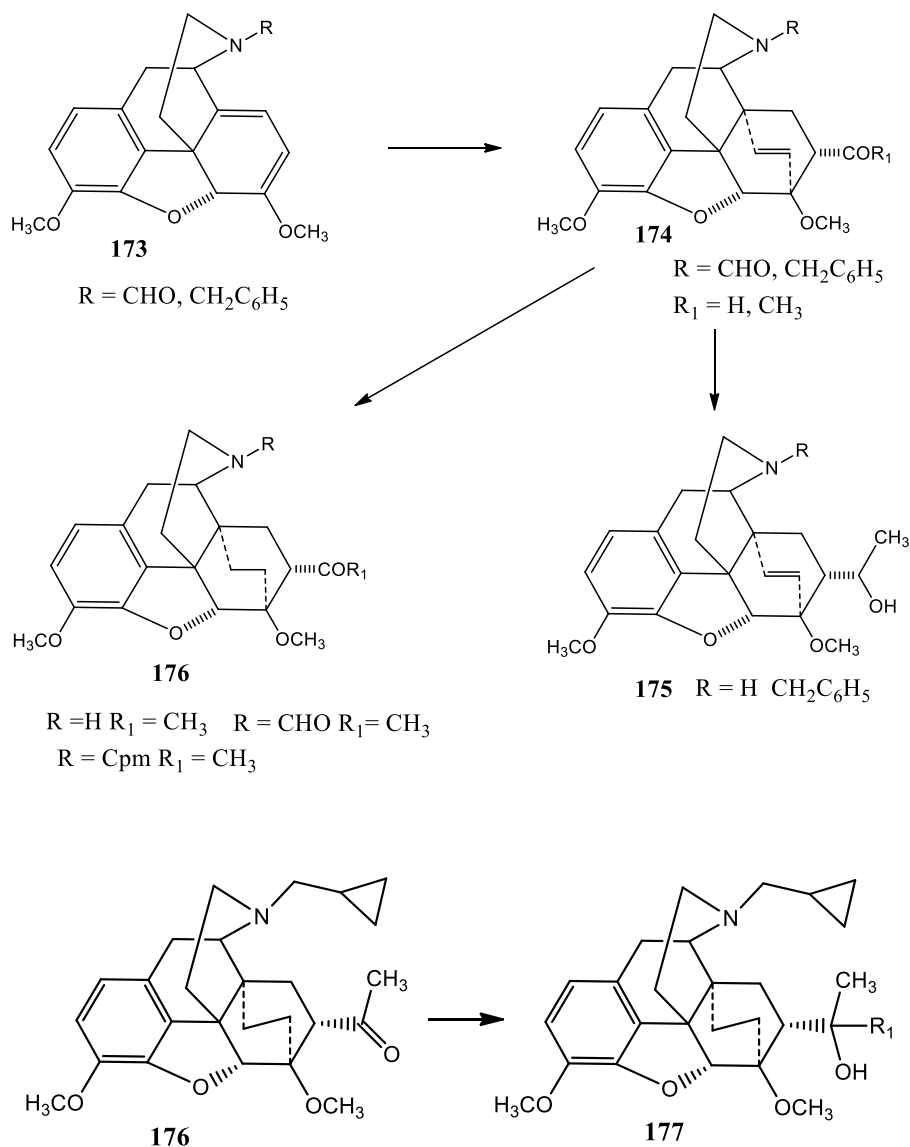
nincs ilyen összefüggés, de néhány vegyület kiemelkedő hatása. A thevinonból fenilmagnézium bromiddal kapott tercier alkohol (**171** $R_1 = \text{Ph}$) gyenge fájdalomcsillapító hatású (0,04x morfin) viszont a benzil- és a β -feniletill-csoportot tartalmazó tercier alkohokok (**171**) az alifás szénláncot tartalmazó származékoknál is hatásosabb (benzilthevinol 75x morfin, a feniletillthevinol 300x morfin) fájdalomcsillapítók. Utóbbi vegyület hatása kiemelkedő²²⁸, ha figyelembe vesszük, hogy C-3 metil éter. A szakirodalomban a vegyület (**171** $R_1 = \text{PhCH}_2\text{CH}_2$) rövidítése PET. A C-20 tercier thevinokok C-3 O-demetilézése (KOH, dietilén glikol, 210 °C) a fájdalomcsillapító hatást 10 – 100-szorosra növeli^{217,227}, és ez példátlanul hatékony fájdalomcsillapító hatású vegyületeket (**172** orvinokok) eredményez. A tipikus példa erre az etorphin (**168**), amely a fájdalomcsillapító tesztől függően 5000 – 8600-szor erősebb hatású, mint a morfin. Az etorphin S-diasztereomerje is kb. 20-szor hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin. A PET O-demetilézésével előállították a 20-feniletillorvinolt (**172** $R = \text{CH}_3$ $R_1 = \text{PhCH}_2\text{CH}_2$ PEO), amelynek a hatása szintén függ az alkalmazott tesztől, a tail-pressure teszten 3400-szor hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin.

A thevinonból Grignard reakcióban kapott tercier alkohokok N-demetilézésével és a norvegyületek N-allilezésével illetve N-ciklopropilmetilézésével várhatóan morfin (opioid) antagonistá hatású vegyületek (**172**) képződnek^{217,227}. Meglepő módon azt tapasztalták, hogy a tipikus antagonistá nitrogén szubsztituensek esetén egyes vegyületek csak fájdalomcsillapító hatást mutattak. Az agonista és antagonistá hatást az R_1 szubsztituens szénlánc hossza illetve a C-20 szénatom konfigurációja határozza meg. Ha $R_1 = \text{CH}_3$ akkor az N-allil és N-ciklopropilmetil származékok hatásos antagonisták, de az N-ciklopropilmetil-származék mindig hatásosabb. Ha $R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$ akkor mind az N-allil mind az N-ciklopropilmetil-származék morfin antagonistá, de a C-20 dimetil tercier alkoholhoz viszonyítva gyengébb hatású. Amennyiben az R_1 alkilcsoport normál propil vagy normál butil az N-allil és az N-ciklopropilmetil-származékok erős hatású fájdalomcsillapítók, antagonistá hatás nélkül. Az N-ciklopropilmetil-noretorphin (**172** $R = \text{Cpm}$ $R_1 = \text{nPr}$) 1000-szor hatásosabb, mint a morfin²¹⁷. A 6,14-endo-ethano orvinokok körében elsősorban az N-ciklopropilmetil-származékokat vizsgálták. Ha az R_1 szubsztituens metilcsoport, egy rendkívül hatékony morfin antagonistát kapunk, ez a diprenorphin(**169**), míg $R_1 =$ tercier butil esetén ez a parciális agonista buprenorphin (**169**).

A C-20 homológ tercier alkohokok hatás-szerkezet összefüggéseit elemezve Bentley és Lewis²¹⁷ feltételezték, hogy az alkoholos hidroxilcsoportnak van egy specifikus hidrofíll jellegű kötőhelye, de mivel a C-7 C-8 ciklohexano-6,14-endoetheno-tetrahydro-oripavin magas aktivitást (1000x morfin) mutat, illetve a C-20 dezoxi-vegyületek is erős hatásúak, nyilvánvaló, hogy a hidroxilcsoport hiánya nem befolyásolja a hatáserősséget. Ugyanakkor a C-7 szubsztituens térbeli közelségében feltételezhető egy lipofíll kötőhely, amely kölcsönhatásba lép a tercier alkohokok alkilcsoportjával. A lipofíll kötőhely a C-7 szénatomtól kb. 6 Å távolságra található, viszonylag közel a C-8 szénatomhoz. A lipofíll kötőhely jelenléte magyarázatot ad a C-20 szekunder és tercier alkohokok közötti hatáserősség különbségekre, illetve az R és S tercier alkohokok között tapasztalható hatáserősség különbségekre.

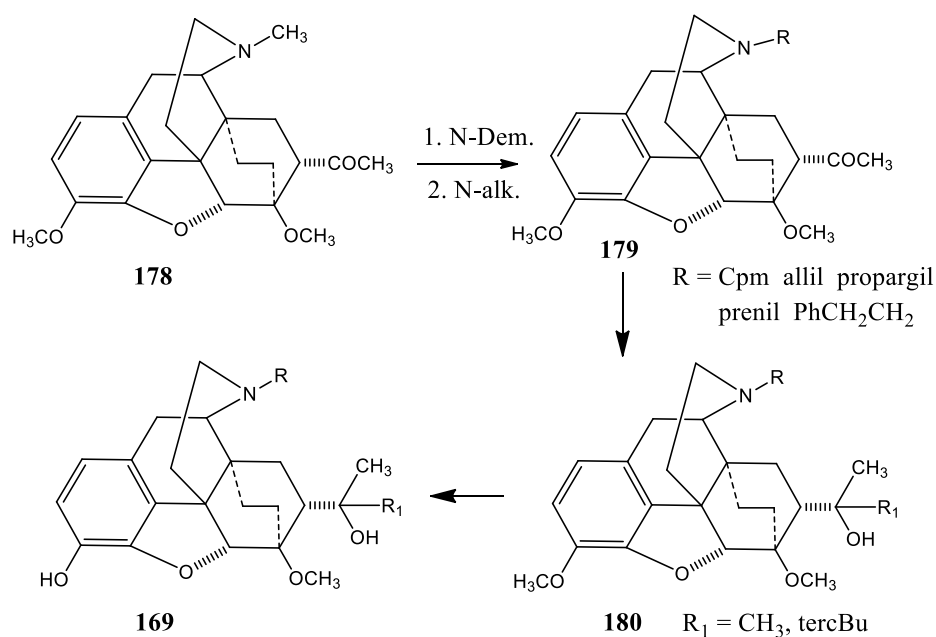
7.1 Saját vizsgálatok A diprenorphin és buprenorphin analógonok szintézise

Tanulmányoztuk az N-benzilnortebain (**173** R = PhCH₂) és az N-formilnortebain (**173** R = CHO) Diels-Alder reakcióit akroleinnel és metil-vinil ketonnal, egy újabb módosított buprenorphin és diprenorphin szintézis kidolgozására [32]. A két nortebain származék előállítását korábban közöltem az egyetemi doktori értekezésemben. Az N-benzilnortebain akrolein adduktot (**174** R = PhCH₂ R₁ = H) metilmagnézium jodiddal reagáltatva diasztereomer szekunder alkoholok (**175**) elegye képződött. Az N-benzilnorthevinon (**174** R = PhCH₂ R₁ = CH₃) és nátrium bórhidrid reakciójában szintén diasztereomer szekunder alkoholok (**175**) elegyét kaptuk majd a terméket tozil kloriddal piridinben reagáltattuk. A 20R és 20S thevinolok tozilésztereit oszlopkromatográfiásan választottuk szét. A 20R és 20S szekunder alkoholok (**175**) dimetil szulfoxid-oxalil klorid reagenssel oxidálva a keton képződött. Az akrolein adduktból tehát thevinonhoz juthatunk el. Az N-benzil-7 α -formil adduktot (**174** R = PhCH₂ R₁ = H) nyomás alatt hidrogénezve (Pd-C, 60 °C) a vegyület N-debenzilezéssel a 6,14-endoethano-7 α -formil tetrahidronortebaint (**176** R = H R₁ = H) eredményezte. Az N-benzilnorthevinon (**174**) hasonló N-debenzilezési reakciójában **dihidronorthevinon** (**176** R = H R₁ = CH₃) képződött. Az N-formil-noradduktokból a formamidsoprot híg sósavas hidrolízisével northevinon (**174** R = H R₁ = CH₃) és a 6,14-endoetheno-7 α -formil tetrahidronortebain nyerhetők. Az N-formilnorthevinon előállításakor az addukt rotamer formában létezik, vékonyréteg kromatográfiásan a két anyag elválasztható, az NMR spektrumban két formil-proton jele látható. A dihidronorthevinonból ciklopropilmetil bromiddal dimetil formamidban az **N- ciklopropil-metildihidronorthevinon** (**176** R = Cpm, R₁ = CH₃ a közlemény megjelenése idején új vegyületnek számított) keletkezik, melyből tercier-butilmagnézium kloriddal a 20S tercier alkoholhoz (**177** R₁ = tercBu) jutunk. A reakcióban melléktermékként a Grignard redukcióban képződő 20S szekunder alkoholt is tudtuk izolálni a főtermék anyalúgjának oszlopkromatográfiás elválasztásakor. Az N-ciklopropilmetil-dihidronorthevinon Grignard reakciója metilmagnézium jodiddal a 19-metil-N- ciklopropilmetildihidronorthevinolt (**177** R₁ = CH₃) eredményezte. A tercier alkoholokat dietilén glikolban kálium hidroxiddal 210 °C-on O-demetileztük (**177** \rightarrow **169**), így nyertük a buprenorphint és diprenorphint. Ez a közlemény a későbbiek során alapul szolgált két szabadalmi bejelentésnek.



A dihidrothevinon (**178**) N-demetilezését dietil-azodikarboxiláttal valósítottuk meg [33], az átmeneti hidrazoészter adduktot piridin-hidrokloriddal hidrolizáltuk. Korábban Bentley és Hardy²²⁷ a hasonló eljárással kapott **dihidronorthevinonból** (**176** $\text{R} = \text{H}$ $\text{R}_1 = \text{CH}_3$) előállították az N-propil-dihidronorthevinont majd ebből metilmagnézium joddal tercier alkoholt kaptak. Saját munkánk során dihidronorthevinon N-alkilezésével (**176** \rightarrow **179**) nyertük az N-ciklopropilmetil, az N-allil, N-propargil, N-prenil és az N- β -feniletildihidronorthevinont. Ezután az N-szubsztituált-dihidronorthevinonokból Grignard reakcióval diprenorphin és buprenorphin analógonokat állítottunk elő. Metilmagnézium joddal a várt 19-metil-dihidrothevinolok képződtek (**180** $\text{R}_1 = \text{CH}_3$), a tercier-butilmagnézium kloriddal melléktermék is keletkezett, amit oszlopkromatográfiával izoláltunk. A melléktermék szekunder alkohol a 20S-dihidrothevinol (**175** $\text{R} = \text{CH}_3$ 6,14-ethano) volt és Grignard redukcióval képződött. A tercier alkoholokat dietilén glikolban kálium hidroxiddal melegítve O-demetileztük, így nyertük a 6,14-endoethano-oripavin származékokat (**169**). Az O-demetilezés az N-allil, N-propargil és az N-prenil-szubsztituensek hőérzékenysége és bomlási hajlama miatt ezeknél a vegyületeknél gyenge hozamokat eredményezett, ezért egy másik szintézis utat is vizsgáltunk. A 20-metil-dihidrothevinol (**180** $\text{R} = \text{R}_1 = \text{CH}_3$) és a 20-tercier-butildihidrothevinol (**180** $\text{R} = \text{CH}_3$ $\text{R}_1 = \text{tercBu}$) N-demetilezhető brómciánnal, majd az N-

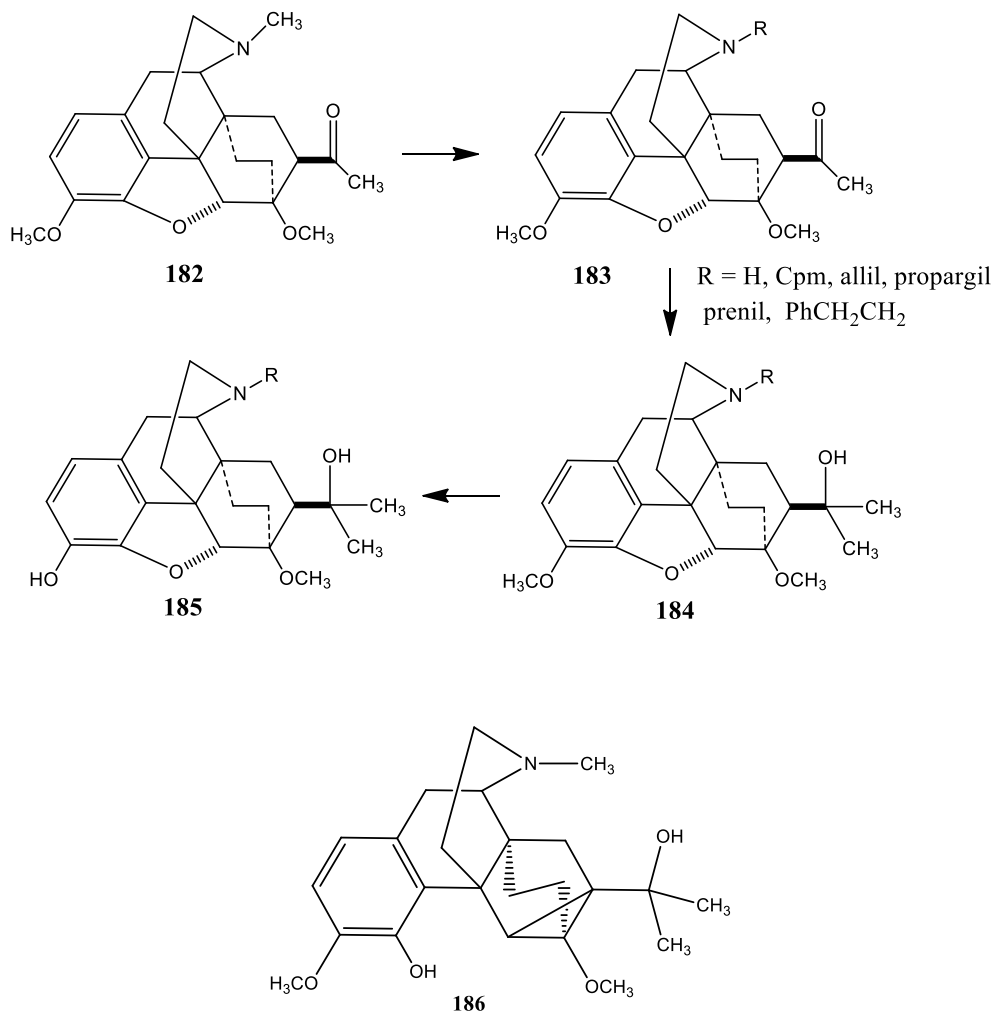
cianocsoport hidrolízise és az O-demetilezés egy lépésben megoldható volt és így nyertük a „nordiprenorphint” (**169** R = H R₁ = CH₃) és a „norbuprenorphint” (**169** R = H R₁ = tercBu). A norvegyületeket sikerült N-alkilezni allil bromiddal, prenil bromiddal és propargil bromiddal dimetil formamidban. Nem tapasztaltunk C-3 O-alkilezési mellékreakciót. (A cianocsoport hidrolízise megoldható alacsonyabb hőmérsékleten is, a C-3 metiléter nem reagál.) A Grignard redukciós mellékterméket az S-dihydrothevinolt piridinium klorokromáttal sikerült oxidálni és visszanyerni a dihydrothevinont. Kidolgoztunk egy új módszert a C-3 O-demetilezésre, a buprenorphin metilétert (**177** R₁ = tercBu) és a diprenorphin metilétert (**177** R₁ = CH₃) toluolos oldatban diizobutil-alumínium hidriddel reagáltatva ~ 80 %-os hozammal kaptuk az O-demetilezett vegyületeket.



A tebain és metil-vinil keton Diels-Alder reakciójában a thevinon (**170**) - β -thevinon (**181**) arány 98:2. A buprenorphin üzemi előállításakor ezt a reakciót nagy méretben (~ 100 g tebain) hajtottuk végre és így lehetővé vált a $7\alpha/7\beta$ izomerek szétválasztása. Célkitűzésünk a β -dihydro-thevinon (**182**) izolálása [34] és a reakciónak a tanulmányozása volt. Bentley és Hardy²²⁴ a $7\alpha/7\beta$ izomereket frakcionált kristályosítással választotta el. A thevinont metanolból lehet kristályosítani, ekkor a thevinon kb. 90 %-a leválik. Az anyalúgot töményítve a kivált kristályos anyag 40 % thevinont és 60 % β -thevinont tartalmaz. Ezt metanollal forralva a jobb oldékonyaságú thevinon oldatba megy a β -thevinont szűrővel izolálható és etanolból kristályosítva tiszta anyag nyerhető. A β -thevinont etanolban Pd/C katalizátor alkalmazásával lehet normál nyomáson hidrogénezeni β -dihydrothevinonná. A saját kísérleteink alapján ez a módszer gyenge hozammal eredményezte a β -thevinont. Amennyiben a $7\alpha/7\beta$ izomerek elegyét hidrogéneztük, a dihydrovegyület elválasztása is megoldható. A hidrogénezés után a dihydrothevinont (**178**) etanolból átkristályosítva a β -dihydro-thevinon (**182**) az anyalúgban marad. Ennek bepárlása után az elegyből vizes oldatban savanyú borkósavas sót képezve a dihydrothevinon bitartarát tisztán leválik, az anyalúgban a β -dihydro-thevinon – dihydrothevinon arány 3:1. Leválasztva a bázist és etanolból kristályosítva tiszta β -dihydro-thevinont (**182**) kaptunk. Ez a vegyület volt a kiindulási

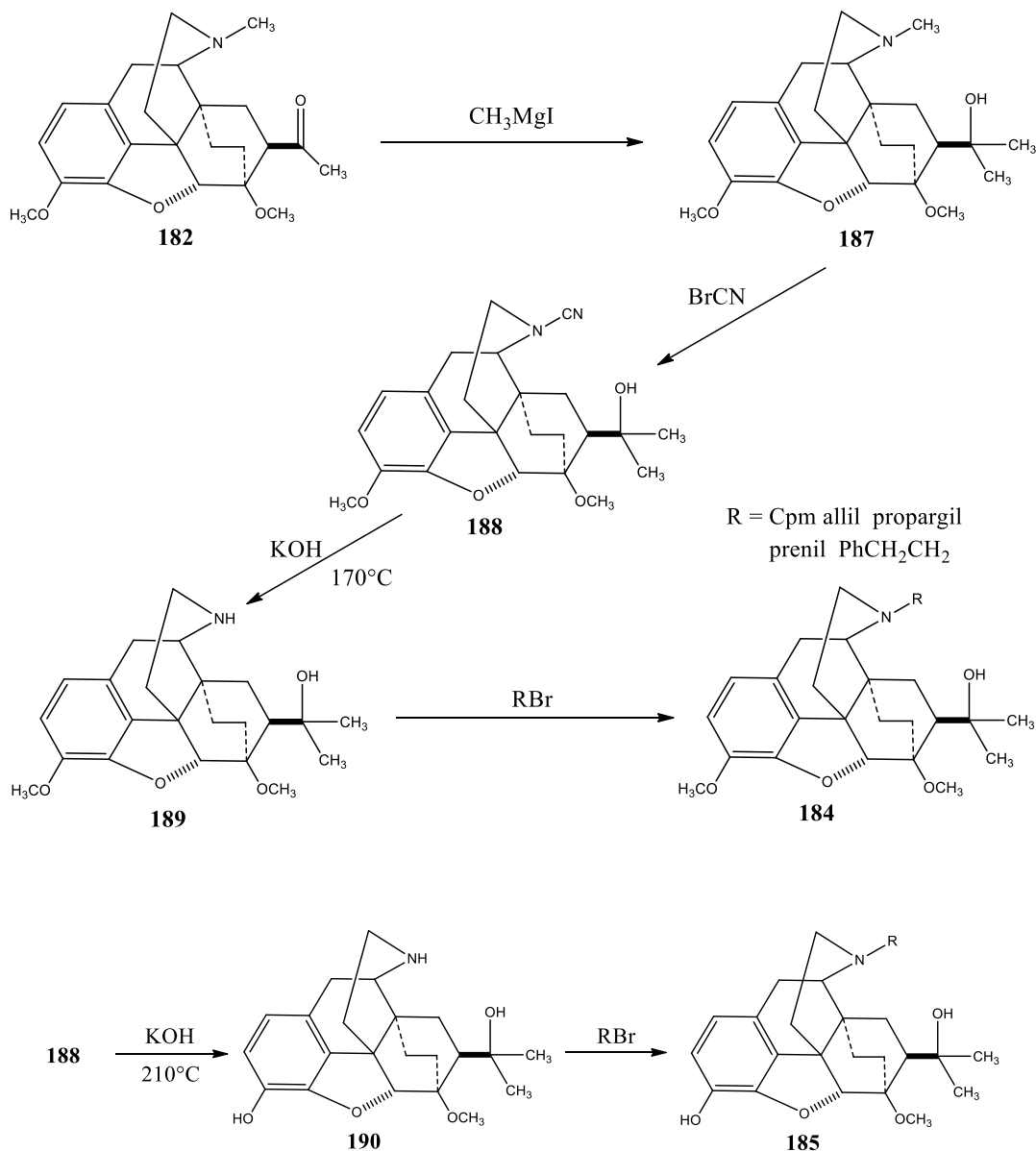
anyag a diprenorphin 7 β -izomer előállításához. Első lépésben N-demetileztünk dietilazodikarboxiláttal. Az átmeneti termék hidrazoésztert piridin hidrokloriddal hidrolizáltuk etanosos oldatban. A β -dihidro-northevinont (**183** R = H) dimetilformamidban N-alkileztük, (**183** R = alkil) és előállítottuk az N-ciklopropilmetil, az N-allil, N-propargil, N-prenil és az N- β -feniletill- β -dihidronorthevinont. Ezután a fenti vegyületeket metilmagnézium jodiddal reagáltatva kaptuk a C-19 tercier alkoholokat (**184**). A β -dihidrothevinolok O-demetilezése (KOH – dietilén glikol) a β -dihidroorvinolokat (**185**) eredményezte. Az O-demetilezési reakciókban az N-allil, N-prenil és N-propargil-származékok esetén ekkor is gyenge hozamokat tapasztaltunk, a nitrogén szubsztituensek hőérzékenysége miatt.

Az alapvegyület β -dihidro-thevinon és metilmagnézium jodid Grignard reakciójában egy mellékterméket (**186**) izoláltunk, a vegyület szerkezetét az NMR spektrum elemzésével igazoltuk. A melléktermék egy tercier alkohol melyben a dihidrofuran gyűrű felnyílt, és a molekula szabad C-4 fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz. Emellett a vegyületben létrejött egy C-5 – C-7 kötés. Hasonló szerkezetű melléktermékek keletkeznek az N-szubsztituált-7 β -dihidro-northevinon és metilmagnézium jodid reakcióiban.



A 7 β -diprenorphin analogonok előállítására egy alternatív szintézis utat is kidolgoztunk, először a 7 β -dihidrothevinonból (**182**) metilmagnézium jodiddal kapott tercier alkoholt (**187**) N-demetileztük brómciánnal, majd a ciánamid származék (**188**) hidrolízisével

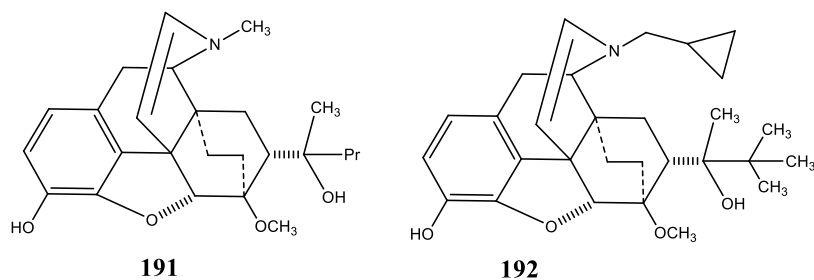
(KOH – dietilén glikol, 170 °C) a 20-metil-7 β -dihidronorthevinol (**189**) képződött, melyből N-alkilezéssel (**184**) és az ezt követő O-demetilezéssel nyertük az N-szubsztituált-7 β -dihidronor-orvinolokat (**185**). További változata a szintézisnek, amikor a fenti cianamid származék hidrolízisét és O-demetilezését egy lépésben hajtjuk végre, és a 7 β -dihidronor-orvinolokat (**190**) N-alkilezzük allil bromiddal, prenil bromiddal és propargil bromiddal dimetil formamid oldószerben.



A buprenorphin jelölése tríciummal

A C-7-szubsztituált 6,14-endoetheno-tetrahidrotebain- vagy oripavin-származékok higany (II)-acetáttal (higany oxid – 1,5m ecetsav) forralva C-15 – C-16 didehidro-vegyületekké alakíthatók, melyek enamín szerkezettel rendelkeznek^{230,231}. Etanolban katalitikus hidrogénezéssel (H₂/Pd-C) a kettőskötés gyorsan telíthető, a kiindulási vegyület visszanyerhető. Ez a reaktív kettőskötés lehetőséget nyújt jelzett vegyületek előállítására. A 15,16-didehidro-etorphinből (**191**) tríciummal vízben a C-16-triciált származék képződik nátrium bórhidriddel redukálva. A 15,16-didehidro-etorphint etil-

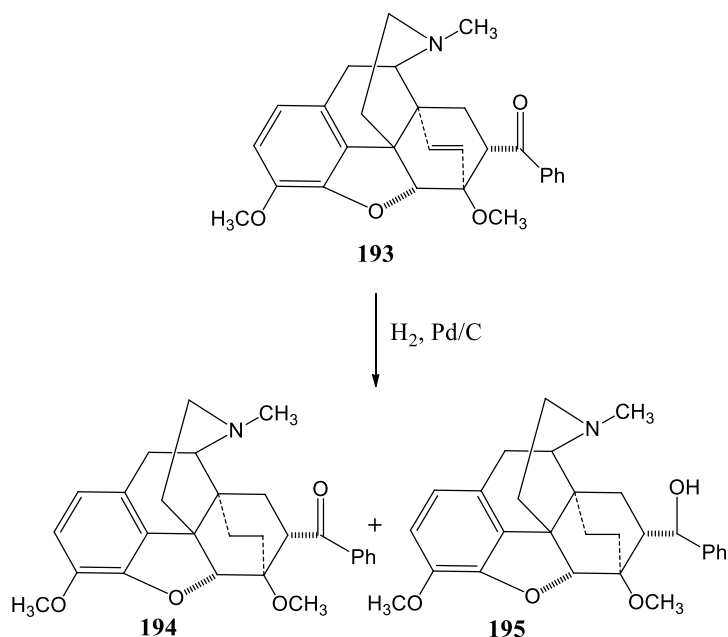
acetátban Pd-C katalizátor alkalmazásával trícium gázzal a jelzett vegyületté lehetett alakítani, a ^3H -etorphin specifikus aktivitása 3,6 Ci/mmol volt a radiokémiai tisztaság 98 %.



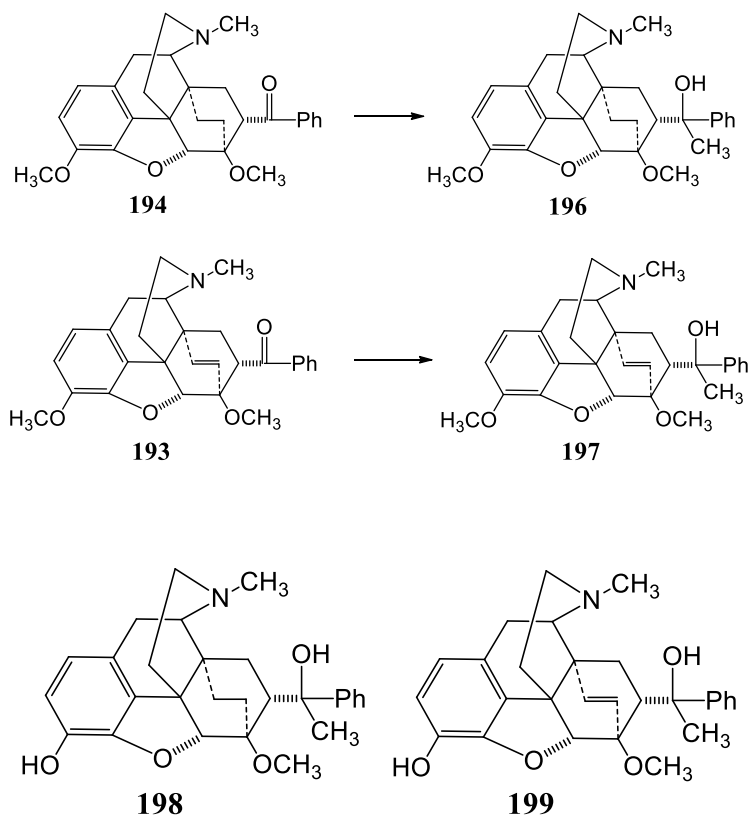
Saját vizsgálataink során előállítottuk [36] a 15,16-didehidro-buprenorphint (**192**) és dimetil formamidban reagáltattuk tríciummal Pd – bárium szulfát katalizátor jelenlétében. A 15-16- T_2 -buprenorphint preparatív vékonyréteg kromatográfiával izoláltuk, a specifikus aktivitás 63,6 Ci/mmol volt. A tríciummal jelzett buprenorphin savas kezelés (0,2m sósav) hatására szobahőmérsékleten vagy 70 °C-on nem veszített az aktivitásából. A lúgos kezelés (0,2m NaOH) során 25 °C-on nem tapasztaltunk aktivitáscsökkenést, viszont 70 °C-on (30 perc) a specifikus aktivitás 38 %-al csökkent. A 15,16-didehidro-buprenorphin szerkezetét az NMR spektrum analízisével igazoltuk.

7.2 A nepenthon származékok szintézise

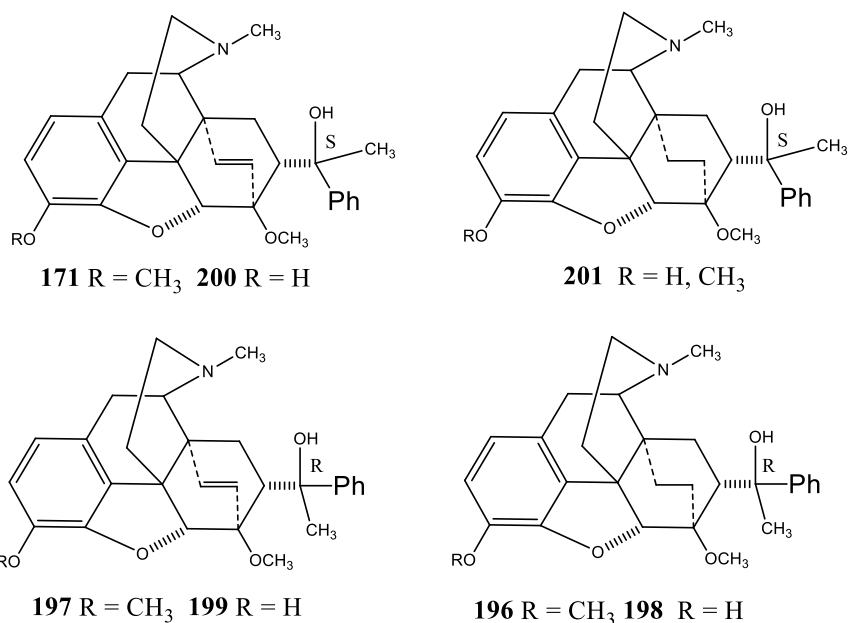
A nepenthon (**193**) előállítását Bentley és Ball²⁹ közzölték, tebain és fenil-vinil keton Diels-Alder reakciójában. A tebain – akrilnitril 7α -addukt és fenilmagnézium bromid reakciójában is képződik nepenthon (25%) több melléktermékkel együtt. Bentley és Ball megkísérelték a 6,14 kettőskötést hidrogéneezni, de megállapításuk szerint ez a nagy térkitöltésű 7α -benzoilcsoport miatt nem megoldható. Munkánk során célul tűztük ki a dihidronepenthon (**194**) előállítását illetve további származékok szintézisét [35]. A nepenthon 6,14-kettőskötését katalitikus hidrogénezéssel sikerült telíteni, a reakcióban teljes konverziót értünk el. A katalizátor és a nyomás változtatásával sikerült kidolgozni az optimális reakció-körülményeket, etanos oldatban, 5 bar nyomáson, 55 °C-on, Pd/C alkalmazásával kaptuk a 6,14-ethano-származékot. A hidrogénezés során melléktermék is képződött, az oxocsoport redukciójával egy szekunder alkohol (**195**). Az említett reakciókörülmények alkalmazásakor a dihidronepenthon és a dihidronepenthol 62 : 38 arányban keletkezett. A szekunder alkohol sztereokémiai szempontból homogénnek bizonyult, mint később kiderült 20S abszolút konfigurációjú. A két vegyület elválasztása kristályosítással vagy kromatográfiával nem sikerült, viszont a termékelegy Swern oxidációjakor tiszta dihidronepenthonhoz jutottunk. Ha a fenti termékelegyet metilmagnézium jodiddal reagáltattuk, majd a terciér alkohol és a szekunder alkohol elegyét oszlopkromatográfiával már el tudtuk választani. A hidrogénezéssel képződő szekunder alkohol diasztereomerjét kétféle módon is előállítottuk. A tebain – akrolein addukt és fenilmagnézium bromid reakciójában a diasztereomer nepentholok 1 : 1 arányú elegyét kaptuk, melynek a 6,14-kettőskötését hidrogénezéssel telítettük. A két diasztereomer szekunder alkoholt frakcionált kristályosítással választottuk el. A dihidronepenthon redukciója nátrium bórhidriddel a tiszta 20S szekunder alkoholt (**195**) eredményezte. A 20R és 20S diasztereomer szekunder alkoholt abszolút konfigurációját NMR spektroszkópia alkalmazásával NOE differencia mérésekkel igazoltuk.



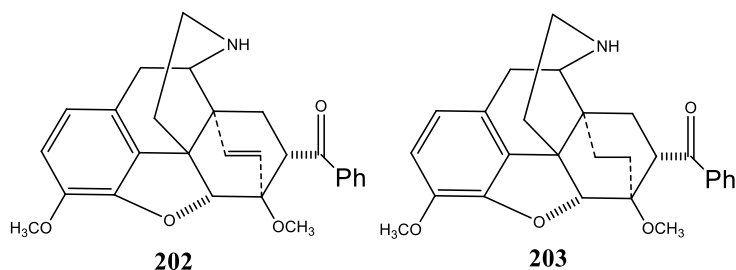
A dihidronepenton és metilmagnézium jodid reakciójában kizárólag a 20R terciér alkohol (**196**) képződött, a nepenthon hasonló reakciójában szintén a 20R diasztereomer terciér alkohol (**197**) keletkezése domináns, de a termék kristályosítási anyalúgijából sikerül izolálni (5 %) a 20S terciér alkoholt is. A dihidronepentonból és nepenthonból metilmagnézium jodiddal kapott terciér alkoholokat C-3 helyzetben O-demetileztük (**196** → **198** és **197** → **199**), 210 °C-on, KOH – dietilén glikol reagensek alkalmazásával.



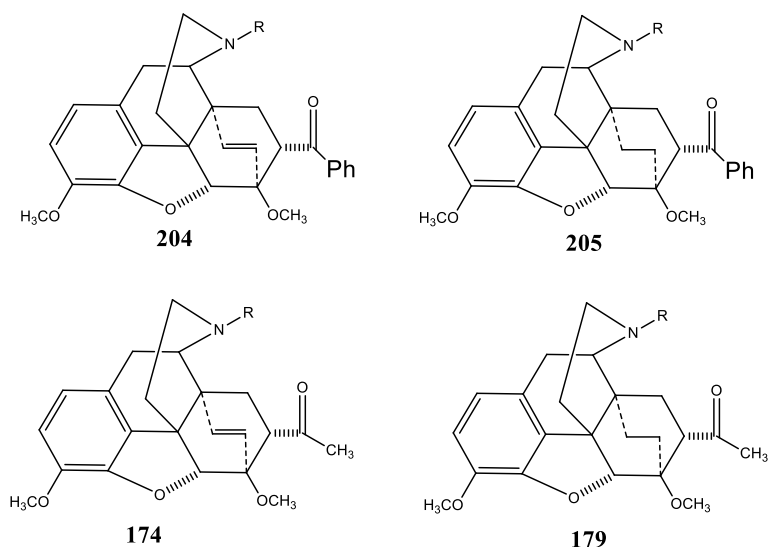
A thevinonból Bentley és Hardy²²⁶ fenilmagnézium bromiddal előállították a 20S tercier alkoholt (**171** R = CH₃), míg kutatócsoportunk előállította nepenthonból metilmagnézium joddal a 20R tercier alkoholt (**197**). A 20S diasztereomer mellett minor komponensként a 20R diasztereomert is lehetett izolálni, és hasonlóan major és minor diasztereomerek képződtek a nepenthon Grignard reakciójában. Mindkét tercier alkohol gyenge fájdalomcsillapító hatással rendelkezett, a 20R 0,07x a 20S 0,09x morfin hatású volt. A 20S izomer C-3 O-demetilézésekor az orvinol (**200** R = H) származék 34-szer hatásosabb, mint a morfin. Saját vizsgálatainkban a dihidrothevinonból (**178**) is előállítottuk fenilmagnézium bromiddal a 20S tercier alkoholt (**201** R = CH₃) és elvégeztük a C-3 O-demetilézést (**201** R = H) is [37]. A dihidronepenthon (**194**) reakcióit előzőleg tárgyaltam.



Célul tűztük ki a fenti tercier alkohol diasztereomerek N-szubsztitúcióját, illetve a 6,14-endo-ethano származékok hasonló reakcióinak a vizsgálatát. A thevinon, a nepenthon és a dihidronepenthon N-demetilézését dietil-azodikarboxiláttal hajtottuk végre. Utóbbi két norvegyületet (**202** és **203**) korábban nem állították elő. A northevinonból (**174** R = H R₁ = CH₃) Bentley és Hardy²²⁷ korábban előállították az N-propil, N-propargil, N-allil, N-prenil és N-β-feniletil valamint az N-ciklopropánkarbonil származékokat. Ezeket az N-szubsztituált-northevinon származékokat valamint az N-ciklopropilmetil analogont mi is elkészítettük.



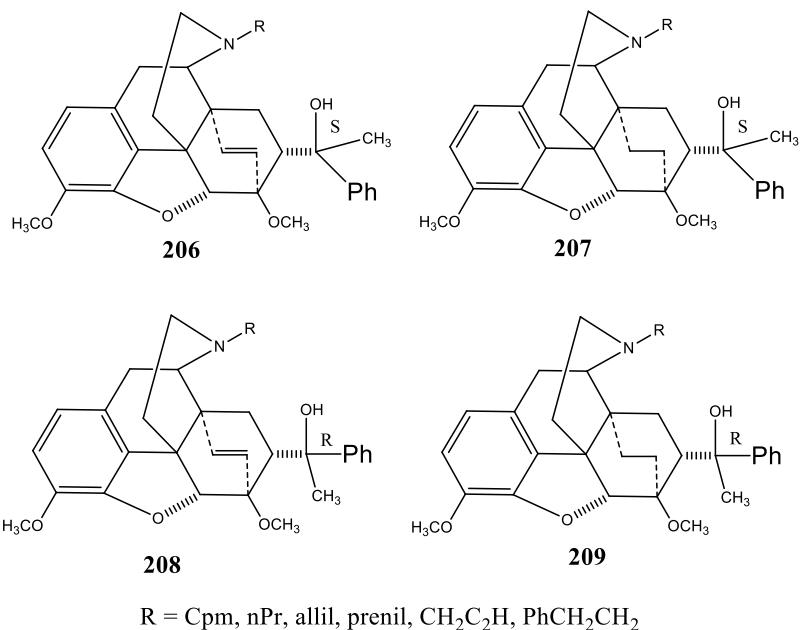
Amennyiben N-szubsztituált-nortebainokat (**173** R = ciklopropilmetil, n-propil és β-feniletil) reagáltattunk metil-vinil ketonnal szintén az N-szubsztituált northevinonokat (**174**) nyertük. Az N-propilnortebain²³² és az N-feniletilnortebain²³³ előállítását korábban közöltük.



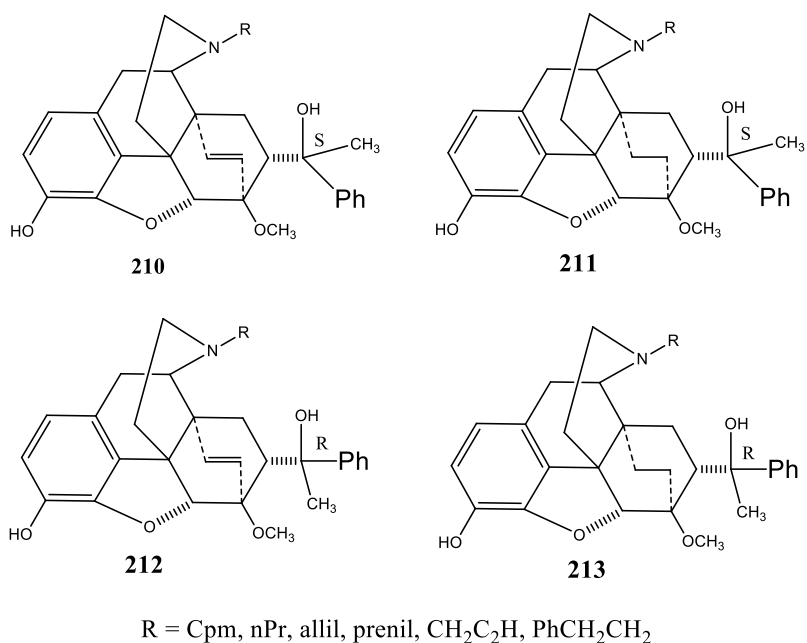
R = Cpm, nPr, allil, prenil, CH₂C₂H, PhCH₂CH₂

A nornepenthonból illetve a dihidronornepenthonból ugyanezeket az N-szubsztituált analógonokat (**204** és **205**) nyertük, illetve már korábban előállítottuk a dihidronorthevinon hasonló származékait (**179**) is. Az N-szubsztituált northevinon és dihidronorthevinon analógonokat fenilmagnézium bromiddal reagáltatva nyertük a C-20S terciér thevinolokat (**206** és **207**). Az N-szubsztituált nornepenthon és dihidronornepenthon származékok Grignard reakciója metilmagnézium jodiddal a C-20R terciér nepentholokat (**208** és **209**) eredményezte. Az N-metilcsoportot hordozó alapvegyületek közül is új vegyület a 20R-metil-nepenthol O-demetilezésével kapott oripavin-származék, illetve a dihidrothevinonból és dihidro-nepenthonból Grignard reakcióval kapott 20S és 20R terciér alkoholok illetve ezek C-3 O-demetilezett származékai. A nepenthon és metilmagnézium bromid reakciójában a főtermék a 20R terciér alkohol, de a kristályosítási anyalúgból sikerült izolálni a 20S diasztereomert is.

Az N-szubsztituált 20R és 20S 6,14-endo-etheno-terciér alkoholok (**206** és **208**) illetve a 6,14-endo-ethano-analógonjaik (**207** és **209**) C-3 O-demetilezése (**206** → **210**, **207** → **211**, **208** → **212**, **209** → **213**) csak az N-ciklopropilmetil, N-propil és N-β-feniletil-szubsztituensek esetén volt sikeres (42-63 %-os hozamok) az allil, prenil és propargil nitrogén szubsztituenst tartalmazó vegyületek O-demetilezése a termikus instabilitás miatt nem volt megoldható. Ezért alternatív szintézist kellett kidolgozni mely szerint a thevinonból és dihidrothevinonból fenilmagnézium bromiddal kapott terciér alkoholokat (**171** R = CH₃ és **201** R = CH₃) von Braun módszerrel, brómciánnal N-demetileztük.



Hasonlóan a nepenthomból és dihidronepenthomból metilmagnézium joddal előállított tercier alkoholokat (**197** és **196**) is brómcíánnal reagáltattuk. A cianamid-származékok hidrolízisével a 20R és 20S tercier alkoholok norszarmazékait kaptuk, melyek N-alkilezésével eljutottunk az előző szintézisúton előállított vegyületekhez. A thevinonból, nepenthomból és dihidronepenthomból származó N-ciano-nor tercier alkoholok egy lépésben történő C-3 O-demetilézése és az N-ciano csoport hidrolízise a nororipavin tercier alkoholokat eredményezte, és a norvegyületek N-alkilezése allil bromiddal, prenil bromiddal és propargil bromiddal a „hiányzó” N-szubsztituált nororipavinokhoz vezetett.



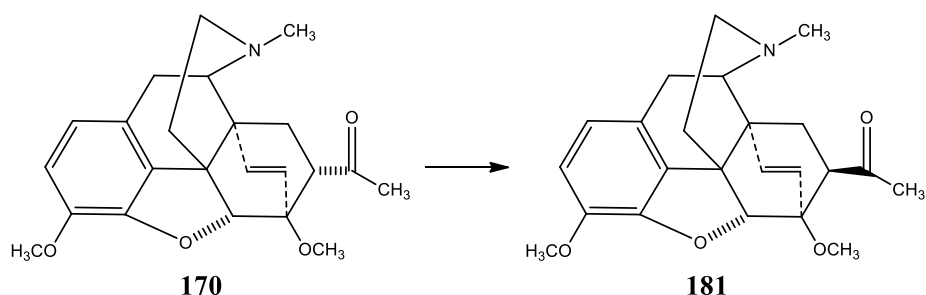
Az N-ciano-20S-fenil-dihidronorthevinol (**207** R = CN) egy lépésben történő C-3 O-demetilézését és az N-cianocsoport hidrolízisét nem sikerült végrehajtani az anyag 210 °C-on elbomlott. A cianamid hidrolízise 170 °C-on sikerült, a 20S-fenil-dihidronorthevinol (**207** R = H) képződött. Az N-szubsztituált-20S-fenil-

dihidronorthevinolok (R = allil, prenil és propargil) O-demetilezése más módszerekkel (bór tribromid, n-propil mercaptán/NaH/dimetil formamid) sem volt kivitelezhető. Az N-szubsztituált tercier alkoholok új vegyületek.

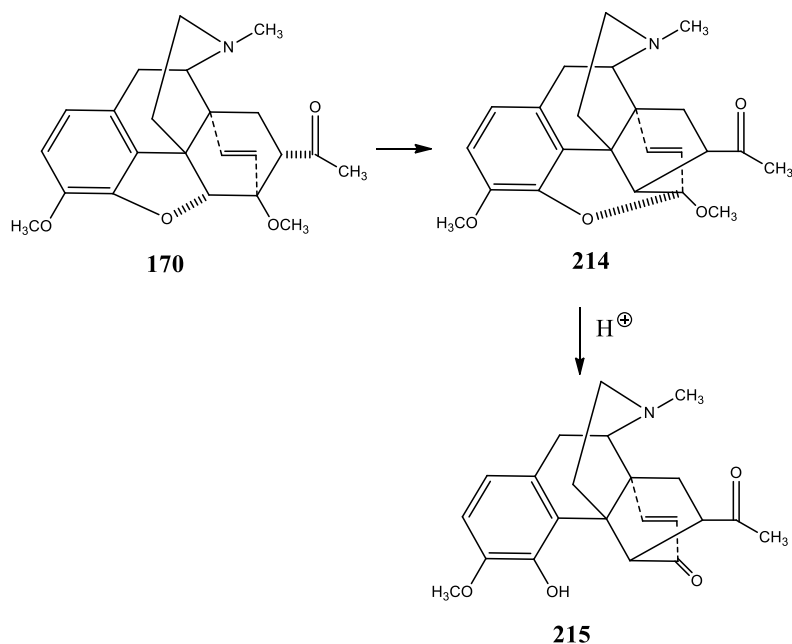
S. Husbands és munkatársai^{234,235} az N-ciklopropilmetil-northevinonból (**174** R = Cpm, R₁ = CH₃) és az N-ciklopropilmetil-dihidro-northevinonból ((**176** R = Cpm, R₁ = CH₃) arilmagnézium bromidokkal állítottak elő 20S tercier thevinolokat majd C-3 helyzetben O-demetileztek normál-propil nátrium mercaptiddal 110 °C-on hexametil foszforsavtriamidban. A 20S fenil orvinol (**210** R = Cpm, BU127) közepes affinitást mutat a nociceptin receptorokhoz, míg a három opioid receptoron (μ, κ és δ) a nagy affinitás mellett nem mutat szelektivitást. A BU127 vegyületet mint buprenorphin helyettesítőt vizsgálták in vivo és in vitro teszteken. A BU127 vezető molekula a buprenorphin analogok kutatásában.

Az általunk korábban előállított N-ciklopropilmetil-nornepenthon (**204** R = Cpm) egy kínai kutatócsoport²³⁶ vizsgálatai szerint kiemelkedően magas κ opioid receptor szelektivitást mutatott. A vegyület fájdalomcsillapító hatását az in vivo tesztek is igazolták. A kutatócsoport szerint ez a vegyület alkalmas, mint vezető molekula a szelektív κ opioid receptor ligandumok tervezésében.

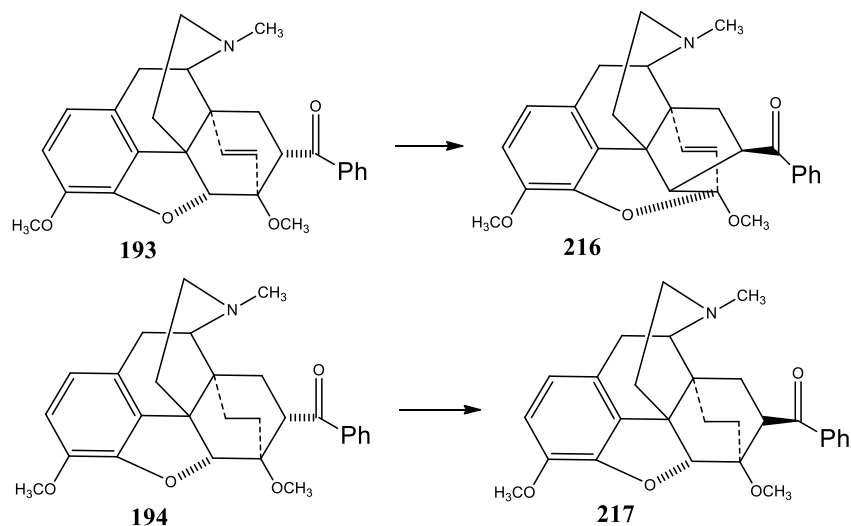
Miután a nepenthon (**193**) és thevinon (**170**) előállítása során a 7β-izomerek csak 1-2 %-ban képződnek megvizsgáltuk a 7α → 7β izomerizációt, mivel a C-7β vegyületek Grignard reakcióinak a vizsgálatát terveztük [38] illetve az N-demetilezéssel N-szubsztituált analógok előállítását is célul tűztük ki.



A thevinon (**170**) metanolos nátrium hidroxiddal forralva átrendeződik²³⁷ és a C-7 karbanion támadásakor a C-5 szénatomon egy ciklopropán gyűrű alakul ki ez a vegyület az izothevinon (**214**). Utóbbi híg savas kezelése az E gyűrű felnyílását (**215**) eredményezi a C-6 ketál hidrolízisekor. A nepenthont^{229,238} vizes metanolban kálium hidroxiddal forralva hasonló átrendeződési reakcióban izonepenthont (**216**) kapunk.



Vizsgálataink során az izomerizációhoz a gyenge nukleofil karakterű bázist az 1,8-diaza-biciklo-undecen(7)-t (DBU) alkalmaztuk. A thevinont acetonitrilben DBU-val forralva 19% β -thevinon (**170** \rightarrow **181**) képződött, míg a β -thevinonból hasonló körülmények között 65% thevinon képződött. A dihydrothevinonból (**178**) 18% β -dihydrothevinon (**182**) keletkezett, míg a β -dihydrothevinon izomerizációja során 52 % dihydrothevinon keletkezett. A nepenthonból (**191**) nem sikerült az izomerizáció 90% változatlan nepenthon mellett 10% izonepenthon (**216**) képződött.



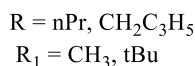
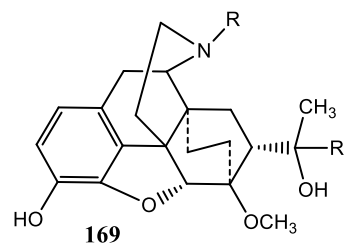
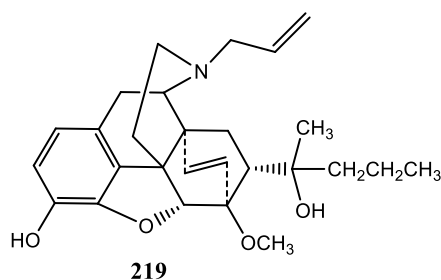
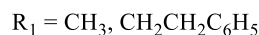
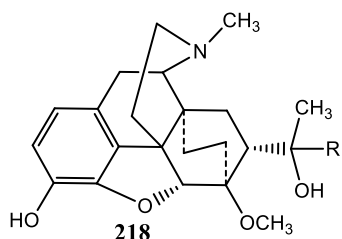
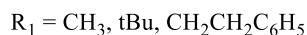
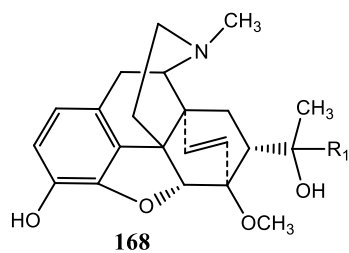
A thevinont kálium karbonáttal melegítve dimetil formamidban illetve dimetil formamidban DBU bázissal izomerizálva az izothevinon (**214**) volt a főtermék, változatlan thevinon mellett néhány % β -thevinon is képződött. A dihydronepenthonból (**194**) (DBU bázis) acetonitrilben 88% α és 11% β -izomer (**217**) keletkezett. Az akroleinból és tebainból előállított 7α -formil addukt izomerizációja során 16% 7α -formil-származék változatlan maradt és 83% izo-addukt képződött, de a vegyületben a formilcsoport monometil-acetal formában van. A tebain és akril nitril reakciójában $7\alpha/7\beta$ izomerek elegye (a fő komponens a 7β -izomer) képződik, és a két izomer kristályosítással és oszlopkromatográfiával elválasztható. A 7β -nitrilcsoport Grignard

reakciója lehetőséget kínál a ketonok előállítására. A Grignard reakcióban fenilmagnézium bromiddal nem tudtunk kimutatni a termékek között β -nepenthont a főtermék egy dimer szerkezetű átrendeződéssel keletkezett vegyület volt. A β -thevinont (**181**) dietil azodikarboxiláttal 70 %-os hozammal N-demetileztük, és a β -northevinon^{239,240} lehetővé tette új N-szubsztituált származékok szintézisét.

Később két további közlemény jelent meg a thevinon és a dihidrothevinon savas közegben történő izomerizációjáról. Derrick és munkatársai²⁴¹ 35 %-os perklórsavval 70 °C-on az N-ciklopropilmetildihidronorthevinon izomerizációja során a 7 α /7 β arányt mérték. A dihidrothevinon epimerizációja során a 7 α /7 β arány 58:42 volt. A thevinon esetében nem tapasztaltak epimerizációt, minimális mennyiségben 7 β -thevinon képződött valamint a thevinon 6-O-demethyl-származéka. Garadnay és munkatársai²⁴² a thevinon és a dihidrothevinon epimerizációját 60 °C-on 20%-os sósavban vizsgálták, thevinonból kiindulva a 7 α /7 β arány 80:20 volt, míg a dihidrothevinon esetében a 7 α /7 β arány 64:36 volt. Mindkét kutatócsoport a 7 α /7 β arányt NMR vizsgálatokkal állapította meg.

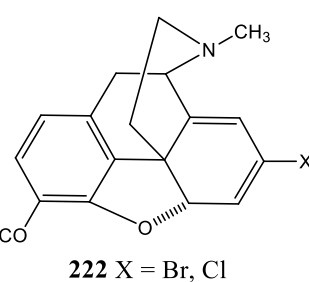
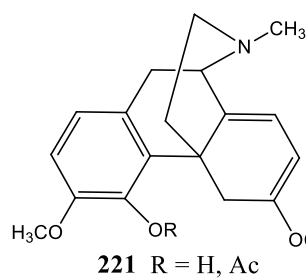
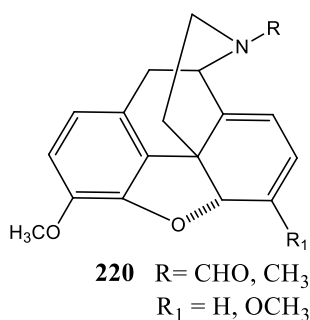
A buprenorphin vizeletből történő meghatározására²⁴³ vékonyréteg kromatográfias módszert dolgoztak ki, a vizeletből a buprenorphint extrahálták majd dansyl kloriddal (5-dimetilamino-naftalin-1-szulfonsavklorid) reagáltatva a 3-O-dansyl-buprenorphint fluoreszcenciás denzitometriával mérték. A kérdéses származékot nem jellemezték. Korábban több morfin származékból állítottunk elő C-3 dansylésztereket²⁴⁴ és tervbe vettük a 6,14-etheno (ethano)-oripavinok hasonló reakcióinak vizsgálatát. A fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületeket vizes acetonban reagáltattuk a dansyl kloriddal nátrium hidrogén-karbonát jelenlétében szobahőmérsékleten [39].

A kiindulási anyagok között 20-metil-orvinol (**168** R₁ = CH₃), 20-metil-dihidro-orvinol (**218** R₁ = CH₃), buprenorphin (**169**), diprenorphin (**169**), 20-tercier butil-orvinol (**168** R₁ = tBu), N-propil-norbuprenorphin (**169** R = nPr R₁ = tBu), N-allil-noretorphin (**219**), PEO (**168**) és dihidro-PEO (**218**) szerepelt. Az N-propil-norbuprenorphint (**169** R = nPr R₁ = tercBu) az ún. norbuprenorphin (**169** R = H R₁ = tercBu) és propil bromid reakciójában nyertük. Hasonlóképpen a noretorphint N-allileztük dimetil formamidban allil bromiddal. Az etorphine C-3 metilétert brómcíánnal²²⁷ reagáltattuk, majd a cianamid származékot egy lépésben hidrolizáltuk és a C-3 helyzetben O-demetileztünk, így kaptuk a noretorphint (**168** N-metil helyett NH). A thevinonból terciér butilmagnézium kloriddal kapott terciér alkoholt Bentley és Hardy²²⁶ előállították (**171** R₁ = tercBu), C-3 O-demetilezését (**171** → **168** R₁ = tercBu) nem közölték. A reakciót a szokásos módon (dietilén glikolban kálium hidroxiddal melegítve) hajtottuk végre és 20-tercier butil-orvinolt kaptunk. A PEO előállításakor a thevinonból β -feniletilmagnézium bromiddal kapott terciér alkoholt (**171** R₁ = PhCH₂CH₂ PET) O-demetileztük. A fenti reakciósor dihidrothevinonból kiindulva eredményezte a dihidro-PEO-t (**218** R₁ = PhCH₂CH₂). Az N-propilnorbuprenorphin, a 20-tercier butil-orvinol és a dihidro-PEO új vegyületek, illetve ezekről korábban nem közöltek spektrális adatokat.

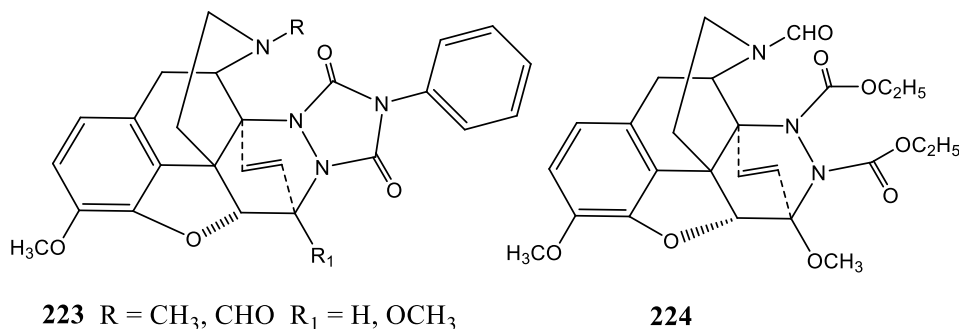


Az itt felsorolt kiindulási vegyületeket spektrálisan ($^1\text{H-NMR}$, EI MS és UV) jellemeztük és megadtuk a kromatográfiai (fordított fázisú HPLC és vékonyréteg kromatográfia) paramétereit. Az előállított C-3 danylszármazékok szerkezetét spektrális módszerekkel ($^1\text{H-NMR}$, EI MS és UV) bizonyítottuk, illetve itt is meghatároztuk a kromatográfiai (HPLC és TLC) paramétereit.

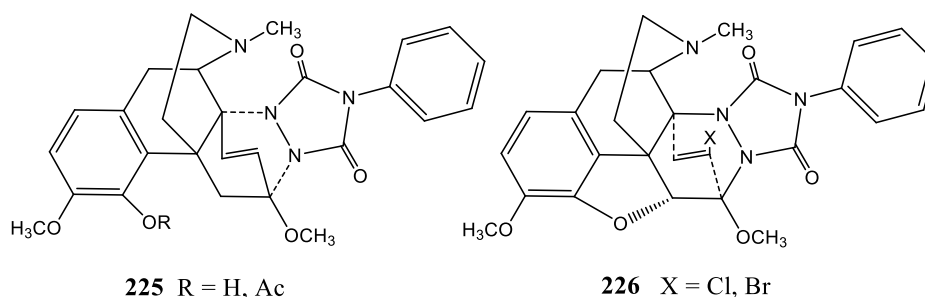
Tanulmányoztuk morfinan $\Delta 6$, $\Delta 8$ diének reakcióit azadienofil reagensekkel, elsősorban a 4-fenil-1,2,4-triazoline-3,5-dione (PTAD) reagens Diels-Alder reakcióit [40]. Ez a dienofil reagens gyorsan reagál diénnel, a reakció már szobahőmérsékleten is lejátszódik. Korábban két közlemény^{245,246} jelent meg a tebain (**220** $R = \text{CH}_3$ $R_1 = \text{OCH}_3$) és a PTAD reagens Diels-Alder reakciójáról.



Saját vizsgálataink során az N-formilnortebaint (**220** $R = \text{CHO}$ $R_1 = \text{OCH}_3$) és a 6-demetoxi-tebaint (**220** $R = \text{CH}_3$ $R_1 = \text{H}$) reagáltattunk PTAD reagenssel és az endo-adduktokat (a dién β -oldali támadása) izoláltuk (**223**) magas hozamokkal. Az adduktok szerkezetét az NMR (^1H , ^{13}C) spektrumok igazolták. A szerkezetvizsgálatokhoz modellvegyületként előállítottuk az N-formilnortebainból és dietil azodikarboxilátból képződő cikloadduktot (**224**) is.



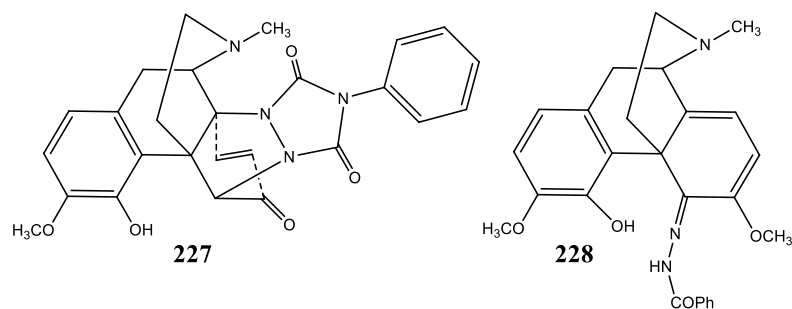
Diénkomponensként tervbe vettük a β -dihidrotebain (**221** R = H) Diels-Alder reakciójának a tanulmányozását PTAD reagenssel. A β -dihidrotebain Diels-Alder reakcióját Ghosh és munkatársai²⁴⁷ vizsgálták metil-vinil ketonnal, de a reakció során a β -dihidrotebain elbomlott a várt addukt csak nyomokban képződött. A β -dihidrotebain-4-O-feniléter viszont reagált a metil-vinil ketonnal (33 %-os hozam) de a keletkezett termék nem endo- hanem exo-addukt (α -oldali támadás) szerkezetű. A β -dihidrotebain és PTAD reakciója szobahőmérsékleten 90 perc alatt végbement (vékonyréteg kromatográfiás monitorozás) és két terméket lehetett izolálni oszlopkromatográfiás elválasztással. A főtermék (**225** R = H 43 % hozam) az **exo-addukt** volt, és egy mellékterméket is izoláltunk, ahol az exo-addukt C-1 szénatomjához egy dihidro-PTAD molekula kapcsolódik, a feleslegben alkalmazott reagens elektrofil szubsztitúciójával magyarázható a melléktermék képződése. Az adduktok szerkezetét az ¹H-NMR és a ¹³C-NMR spektrumok analízisével illetve NOE mérésekkel igazoltuk. A β -dihidrotebain C-4 hidroxilcsoportját acetilézve (ecetsav-anhidrid - piridin) a PTAD Diels-Alder reakcióban az **exo-addukt** (**225** R = Ac) magasabb hozammal (67 %) képződött.



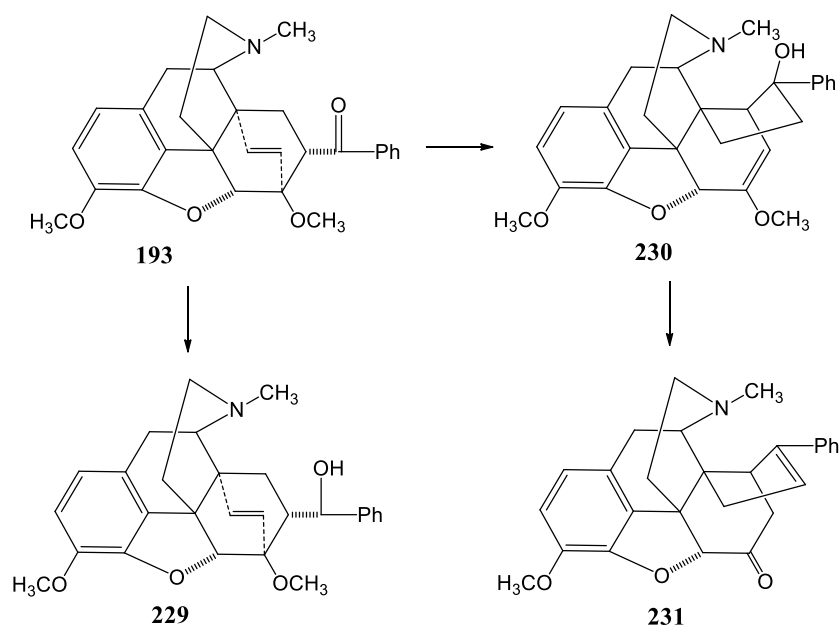
További két diénkomponenssel vizsgáltuk a Diels-Alder reakciót a 7-klór- és 7-bróm-6-demetoxitebainnal (**222** R = Cl, Br). Mindkét dién jó hozammal eredményezte a PTAD reagenssel az endo-adduktokat (**226** R = Cl, Br), melyek a halogénatomokat az etilénhídban tartalmazzák. Woudenberg és Maat²⁴⁸ korábban a 7-klór-6-demetoxitebainból metil-vinil ketonnal állítottak elő Diels-Alder adduktot, melynek a szerkezetét a Röntgen-diffrakciós mérések is igazolták.

A morfinán diénekből előállított PTAD adduktok általában jó hozammal képződnek és ez a vegyülettípus alkalmas a retro-Diels-Alder (rDA) reakció tanulmányozására is. Számos szteroid dién – PTAD addukt²⁴⁹ esetén sikerült ilyen típusú reakciókat megvalósítani, és miután az addukt előállítása felfogható, mint a dién szerkezet átmeneti védése, az addukt retro Diels-Alder reakciója a dién regenerálását jelenti. A PTAD reagens tehát e tekintetben védőcsoportként funkcionál. A tebainból és az N-formilnortebainból előállított PTAD adduktok (**223** R = CH₃, CHO R₁ = OCH₃) tömegspektrometriás analízise (EI vagy thomospray TSP technikák) arra utalt, hogy a

spektrométerben az rDA reakciók lejátszódnak. A tebain – PTAD addukt melegítésekor (toluol reflux, 3 nap) a tebain gyenge hozammal (30 %) képződött a vékonyréteg kromatográfiás monitorozás szerint. Az adduktot 95 %-os etanolban dietilaminnal forralva ~69 %-os hozammal egy átrendeződött terméket (**227**) kaptunk, amely C-6 oxocsoportot és $\Delta 7,8$ kettőskötést tartalmaz. Amennyiben kollidinben forraltuk az adduktot, 7 óra után teljes konverziót tapasztaltunk, de ekkor is az átrendeződött vegyület volt a főtermék (46 %) valamint tebaint (30 %) is lehetett izolálni. Etanolban forralva az adduktot 2N kálium hidroxiddal, 10 perc alatt teljes volt az átalakulás, de ekkor átrendeződéssel egy $\Delta 6, \Delta 8$ dién (**228**) szerkezetű vegyület keletkezett. Utóbbi szerkezetét az NMR mérések igazolták, valamint az a Diels-Alder reakció melyben a dién rendszer reakcióba lépett metil-vinil ketonnal. A tebain – PTAD addukt retro Diels-Alder reakciója jó hozammal eredményezett tebaint ha az adduktot dimetil formamidban vízmentes kálium karbonáttal melegítettük. Az adduktot acetonitrilben 7-metil-1,5,7-triazabiciklo [4.4.0]-dec5-ene (MTBD) bázissal forralva szintén jó hozam volt elérhető. Az N-formilnortebain – PTAD addukt retro Diels-Alder reakciójában is jó hozammal képződött a dién (**220** R = CHO R₁ = OCH₃), amennyiben az adduktot kollidinben vízmentes kálium karbonáttal melegítettük.



Tanulmányoztuk a nepenthon (**193**) reakcióit króm (II) komplexekkel semleges vizes közegben [41]. Elvben a nepenthon kettőskötésének a telítésére illetve az oxocsoport redukciójára van lehetőség króm (II) reagensek alkalmazásával. A nepenthone egyáltalán nem reagál a $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ aqua komplex-szel, a kiindulási anyag változatlan formában visszanyerhető. A fémion reaktivitása a $[\text{Cr}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})_3]$ alkalmazásával növelhető és a nepenthon oxocsoportja redukálható (pH = 6,1) és a kemoszelektív redukcióban 20R-nepenthol (**229**) képződik. A C-20 királis centrum konfigurációját NMR mérésekkel (2D COSY and NOE) bizonyítottuk. A nepenthon redukcióját korábban Bentley és Ball²²⁹ nátrium bórhidriddel vagy alumínium izopropiláttal hajtotta végre, de a nepenthol sztereokémiáját nem vizsgálták. Vizsgálataink alapján ez a C-20S diasztereomer.



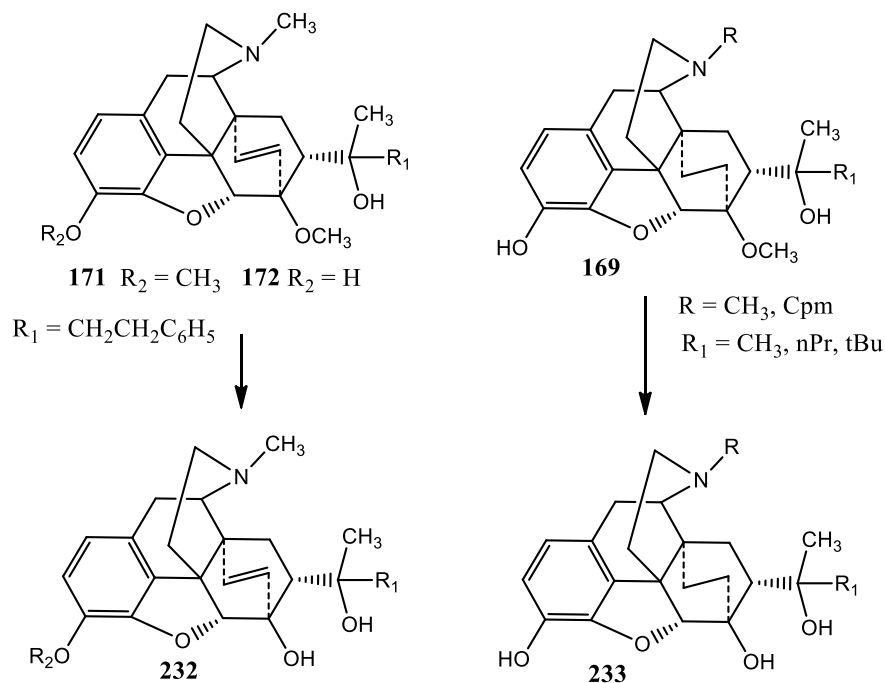
A $\text{Cr}(\text{EDTA})^{2+}$ komplex és nepenthion reakciójában ($\text{pH} = 5,5$) az oxocsoport redukciója mellett a C-6 – C-7 kötés felnyílásával egy C-6 enol metiléter szerkezetű (**230**) vegyület keletkezett, melynek a szerkezetét az ^1H és ^{13}C NMR spektrumok analízisével, illetve Röntgen kristallográfiás mérésekkel igazoltuk. Az enoléter híg sósavas melegítéssel hidrolizál, ugyanakkor az eredeti C-20 szekunder alkoholból vízkilépéssel kettőskötés (**231**) alakul ki. A $\text{Cr}(\text{EDTA})^{2+}$ komplex és nepenthion között végbement reakció mechanizmusára egy lehetséges magyarázatot adtunk. A javasolt reakciómechanizmust alátámasztja az a megfigyelés is hogy a $\text{Cr}(\text{EDTA})^{2+}$ komplex és thevinon között ilyen reakció nem jön létre.

C-6 O-demetilezett származékok előállítása

A tebain-akrolein addukt 7α -formilcsoportját lítium alumínium hidriddel redukálták tetrahydrofuranban, és a várt 7α -hidroximetil-származék képződött. Ha a reakciót tetrahydrofuran – széntetraklorid oldószerkeletben végezték, a formilcsoport redukciója mellett C-6 O-demetilződés²⁵⁰ is végbement. A reakció mechanizmusára javaslatot tettek: a redukálószerben az alumínium egy hattagú komplexet képez a C-7 és a C-6 OCH_3 szubsztituensekkel, a metiléter $\text{S}_{\text{N}}2$ reakcióban demetilződik. Breeden és munkatársai²⁵¹ a thevinolt dioxánban forralták lítium alumínium hidriddel és a reakcióban a C-3 O-demetilződéssel orvinol és C-6 O-demetil-thevinol elegyét kapták. Ha az oldószer toluol volt csupán C-6 O-demetilézést tapasztaltak. Ezt a reakciót alkalmazták a 6-O-demetil-buprenorphin és a 6-O-demetil-20-etil-thevinol előállítására.

A C-6 O-demetilezett származékok farmakológiai vizsgálatához vizsgáltuk a diprenorphin (**169**), a buprenorphin (**169**), a dihydroetorphin (**169**), a C-20-feniletal-thevinol (**171** $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ PET) valamint ennek C-3 O-demetilezett származékának (**171** $\text{R}_2 = \text{H}$, PEO) a reakcióit lítium alumínium hidriddel tetrahydrofuran-széntetraklorid oldószerkeletben [42]. A C-6 hidroxi-származékokat (**232**, **233**) 67 – 91 %-os hozammal nyertük, valamennyi anyagról részletes ^1H és ^{13}C NMR spektrális elemzést végeztünk. A fentebb említett 6-O-demetil-buprenorphin kivételével valamennyi vegyület új anyag. A dihydroetorphin szintézisekor dihydrothevinon volt a kiindulási vegyület, melynek Grignard reakciójában propilmagnézium bromiddal kaptuk a terciér alkoholt. A C-3 O-demetilézést dietilén glikolban kálium hidroxiddal végeztük $210\text{ }^\circ\text{C}$ -

on. A PET szintézise során thevinont reagáltattunk β -feniletil magnézium bromiddal. A terciér alkohol C-3 O-demetilizését kálium hidroxid – dietilén glikol reagensekkel hajtottuk végre. A C-6-hidroxi PET (**232** $R_1 = \text{PhCH}_2\text{CH}_2$ $R_2 = \text{CH}_3$) dimetil formamidban nátrium hidriddel megvalósított deprotonálással O-alkilezhető β -brómetil fluoriddal és a PET C-6- β -fluoretil éter képződik. Ez a reakció tehát alkalmas a ^{18}F izotóppal történő jelölésre.



8. Összefoglalás

A dolgozatomban elsősorban a morfinváz C gyűrűjében megvalósított reakciókat vizsgáltam, mivel a C-6 és a C-14 pozícióban végrehajtott szubsztitúciók előnyösek a hatás-szerkezet összefüggések alapján. A C-6 szubsztituált származékok előállítása során az alkalmazott reakciók mechanizmusát is tudtuk tanulmányozni. A C-6 oxovegyületek funkcionálásával lehetőség nyílt heterociklusok kapcsolása a C gyűrűhöz. Számos állandó töltéssel rendelkező vegyületet szintetizáltunk a C-6 és C-14 pozícióban szulfátészter csoport beépítésével. A Mitsunobu reakció alkalmazásával C-6 amino-szubsztituált morfin és kodeinszármazékokat állítottunk elő, illetve az aminocsoport acilezésével új C-6 szubsztituált opioidokat szintetizáltunk farmakológiai vizsgálatokra. A tebainból és egyéb morfinan 6,8-diénekből Diels-Alder reakcióval előállított vegyületek extrém hatáserősségű fájdalomcsillapítókat eredményeznek. Farmakológiai és gyógyszerfejlesztési szempontból fontos vegyületek, mint pl. a diprenorphin, a buprenorphin és az etorphin szintézisére új eljárásokat dolgoztunk ki, illetve e vegyületek újabb analogonjainak a szintézisét, valósítottuk meg.

I.1. Az oxymorphazon (**11**) a 14-hidroxi-dihidromorfinon hidrazonja, az opioid receptorokat irreverzibilis módon jelöli. A ^3H -jelzett oxymorphazont a ^3H -jelzett oxymorphon (**17**) és feleslegben alkalmazott hidrazin reakciójában nyertük, a specifikus aktivitás 17 Ci/mmol. A nem jelzett és ^3H -jelzett oxymorphazon egyaránt magas

affinitással kötődött a μ és κ opioid receptoron patkány agyi membrán preparátumon, a kötődés jellege irreverzibilis. A 14-hidroximorfinont (**16**) és az 1-bróm-14-hidroximorfinont katalizátor (PdO) jelenlétében reagáltattuk tríciummal, a jelzett oxymorphon specifikus aktivitása 25,5 Ci/mmol és 45 Ci/mmol volt.

I.2. Számos 4,5-epoximorfinan C-6 ketonból hidrazont, ketazint, fenilhidrazont (**20**), 2,4-dinitrofenil hidrazont (**21**), szemikarbazon (**22**) és tioszemikarbazon (**23**) állítottunk elő. Ezek a vegyületek közül több jelentőséggel bír az opioid receptorok kutatásában. Az említett szubsztituált hidrazonszármazékok esetén kimutattuk az E - Z geometriai izomerek képződését, és az izomereket az NMR spektrumok analízisével sikerült megkülönböztetni. Részletesen vizsgáltuk az új vegyületek biokémiai jellemzőit az opioid receptoron, a receptor kötési teszten.

I.3. Számos C-6 morfinan keton oximját (**24**) és O-metiloximját (**25**) állítottuk elő, vizsgáltuk a fájdalomcsillapító hatást valamint a biológiai aktivitást a receptor kötési teszten. A 7,8-dihidro ketonokból kapott oximok vagy O-metil oximok a H-5 β protonok kémiai eltolódásai alapján E izomerek. Elsőként figyeltük meg a geometriai izomerek képződését az α,β -telítetlen kötést tartalmazó kodeinon és 14-hidroxikodeinon oximok (**26**) és O-metil-oximok (**27**) képződésekor, és a Z izomerek a dominánsak.

I.4. A dihidrokodeinon szemikarbazon és a 14-hidroxidihidrokodeinon szemikarbazon (**22**) reakcióit vizsgálva szobahőmérsékleten ecetsav anhidrid – cink klorid reagenssel CONH₂ csoport vesztéssel a C-6 spiro-oxadiazolin szerkezet (**30**) alakult ki a ciklizációs reakcióban. A dihidrokodeinon tioszemikarbazon és a 14-hidroxidihidrokodeinon tioszemikarbazon (**23**) hasonló ciklizációs reakciót mutatnak, de a termékek szerkezete eltérő a fentiektől. A képződő C-6 spirovegyületek 2-acetilamino-4-N-acetil-3,4-tiadiazolin (**31**) szerkezettel rendelkeznek. A spirovegyületek szerkezetét elsősorban a ¹³C-NMR spektrumok elemzésével igazoltuk.

I.5. Közöltük a magas specifikus aktivitású C-1 és C-5' helyzetben tríciummal jelzett szelektív δ opioid antagonistá naltrexon indol (**37**) szintézisét. Az 1-bróm-14-hidroxidihidrokodeinonból több lépésben előállítottuk az 1-bróm-naltrexont (**35**) melyet 4-bróm-fenil hidrazinnal reagáltatunk. A Fischer-indol reakcióban 1,5'-dibróm-naltrexon (**36**) képződött, melynek a dehalogénezési reakciója tríciummal Pd-bárium szulfát katalizátor és trietil-amin savmegkötő jelenlétében eredményezte a jelzett vegyületet.

I.6. Elsőként számoltunk be a κ opioid receptor antagonistá Norbinaltorphine (**41** NORBNI) radioaktív jelöléséről. A kulcsvegyület ekkor is az 1-bróm-naltrexon melynek Piloty reakciójában hidrazin-bisz-hidrokloriddal 1,1'-dibróm-NORBNI x 2HCl (**40**) képződött. A dibróm-NORBNI trícilálását dimetil formamidban végeztük, Pd/bárium szulfát katalizátort és savmegkötőként trietil-amint alkalmaztunk. A jelzett NORBNI specifikus radioaktivitása 47,2 Ci/mmol volt. A jelzett vegyület alkalmazásával elvégzett receptorkötési vizsgálatok igazolták az anyag magas affinitását az opioid receptorhoz, illetve a κ opioid receptor szelektivitást.

II.1. Vizsgáltuk a morfin és származékainak az észteresítési reakcióit benzoil kloriddal, szelektív reakciók alkalmazásával a C-3, a C-6 és C-14 hidroxilcsoportok esetében. A fenolos hidroxilcsoportot acetilezéssel védve, a C-6 szekunder alkoholos hidroxilcsoportok jó hozammal benzoilezhetőek (**45**) trietil-amin vagy 4-dimetilamino piridin katalizátor jelenlétében. A C-14 terciér alkohol benzoilezése (**50**, **51**)

megoldható benzoésav anhidriddel vagy 4-dimetilamino piridin katalizátor alkalmazásával. Valamennyi vegyületre meghatároztuk a logD értéket fordított fázisú folyadékkromatográfiás módszerrel, a szintetizált benzoátok potenciális prodrugoknak tekinthetők, az anyavegyülethez képest jelentősen megnövekedett lipofilicitással.

II.2. A morfin 3,6-bisz-nikotinátja (**53** Nicomorfin) a morfinnal azonos fájdalomcsillapító hatást mutat, de a hatás gyorsabban kezdődik és hosszabb a hatástartam is. A nicomorfin és az aktív metabolit morfin-6-nikotinát egyaránt prodrugként viselkednek. A C-3 fenolos hidroxilcsoport és a C-6 szekunder alkoholos hidroxilcsoport nikotinsav-klorid hidrokloriddal acilezhető szobahőmérsékleten piridin oldószerben. A 14-hidroxi-kodeinon (**15**) 80 °C-on acilezhető (**56**) nikotinsav kloriddal, trietil-amin jelenlétében 1,2-diklóretán oldószerben. Vizsgáltuk a nikotinsavas észterek előállítását Mitsunobu reakcióval, amikor a savkomponens nikotinsav. A kodein a 14-hidroxi-kodein, valamint a 3-O-acetil morfin és a 3-O-acetil-14-hidroxi-morfin Mitsunobu reakciója (trifenil foszfin – dietil azodikarboxilát) az izokodein a 14-hidroxi-izokodein a 3-O-acetil izomorfin és a 3-O-acetil-14-hidroxi-izomorfin C-6 nikotinátját (**59**) eredményezte.

II.3. Előállítottuk a morfin- és a kodeinszármazékok szulfát monoésztereinek (**72**) sorozatát, valamint a morfin-3,6-O-diszulfát (**72**) és oximorfon-3,14-Odiszulfát diésztereket. A monoszulfát-észtereket a szabad hidroxilcsoportot tartalmazó morfin- és kodein-származékok és feleslegben adott (3 mólekvalens) piridin-SO₃ komplex reakciójával állítottunk elő vízmentes piridinben, 60 °C-n 3,5 órán keresztül kevertetve. A morfin és a dihidromorfin esetében a C-3 és C-6 hidroxilcsoportokat acetilezéssel védjük a piridin-SO₃ komplexszel történő reakciókban. A védett szulfátészterek acetil-védőcsoportját vizes-metanolos nátrium-hidroxiddal távolítottuk el (**61**, **69**). A diszulfátokat tömény kénsavval, diciklohexil karbodiimid jelenlétében szintetizáltuk. Részletesen vizsgáltuk a szulfátészterek NMR spektroszkópiai jellemzőit (¹H és ¹³C) egy és kétdimenziós homo- és heteronukleáris technikát alkalmazva. A kémiai eltolódások és a csatolási állandók elemzése azt mutatta, hogy a poláros és nagy térkitöltésű szulfátészter csoport jelentősen befolyásolja a C-gyűrű konformációt.

II.4. A morfin-6-szulfátészter (**61**) parenterális adagolásnál is hatásosabb fájdalomcsillapító, mint a morfin. A vegyület állandó töltéssel rendelkezik, ezért a vér-agy gáton való átjutása korlátozott. Előállítottuk a 14-O-metilmorfinból a megfelelő C-6 szulfátésztert (**74** R = H) a fentiekben vázolt eljárással, a fenolos hidroxilcsoportot acetilezéssel védjük. A vegyület hatáserőssége felülmúlja a morfin-6-szulfátészter hatását, kiemelkedő aktivitást mutat a perifériális opioid receptorokon. A kodein-6-szulfátészter előállításával analóg módon nyertük a 14-O-metilkodein-6-szulfátésztert (**74** R = CH₃).

II.5. Vizsgáltuk a C-14 tercier alkoholos hidroxilcsoport észteresítését piridin-SO₃ komplex reakciójával. A piridin-SO₃ komplex készségesen reagál morfinszármazékok C-14 tercier hidroxilcsoportjával, szelektivitás nem tapasztalható a szterikusan kevésbé gátolt C-3, illetve C-6 hidroxilcsoportok javára. A naloxon, naltrexon és az oxymorphon esetén először a C-3 fenolos hidroxilcsoportokat szelektíven acetileztük és a piridin-SO₃-dal történő észterképződés után az acetil-védőcsoportokat 5%-os vizes metanolos nátrium hidroxiddal hidrolizáltuk. Mivel a naloxon és a naltrexon 14-O-szulfátészterei (**78**) ikerionos jellegüknél fogva szintén nem képesek jelentős mértékű

membránpenetrációra, mindkét vegyület hatásos antagonisták a perifériális opioid receptorokon.

II.6. A 4,5 α -epoximorfinanok C-14-hidroxilcsoportjának az O-metilézése extrém hatásos fájdalomcsillapítókat eredményez, említhetjük a 14-O-metiloxymorphonat (**79**), vagy a 14-O-metilmetopont (**80**). Ezek figyelembevételével célul tűztük ki a 14-O-metilmorfin szintézisét és farmakológiai vizsgálatát. A 14-hidroxicodeinont dimetil formamidban nátrium hidriddel reagáltattuk majd metil jodiddal O-metileztünk. A kapott 14-O-metilcodeinont (**81**) nátrium bórhidriddel redukáltuk, 14-O-metilcodein (**73** R = CH₃) képződött. A 14-O-metilcodeinont 48 %-os hidrogén bromiddal forralva szelektív C-3 O-demetiléződés megy végbe és a 14-O-metilmorfinon (**82**) keletkezik, melyből redukcióval (NaBH₄) kaptuk a 14-O-metilmorfint (**73** R = H), amely vegyület lényegesen hatásosabb fájdalomcsillapító, mint az anyavegyület.

II.7. Kidolgoztuk a 14-O-metiloxymorphon és a 14-O-metiloxikodon szintézisét új eljárásokkal. Az oxymorphon esetében először a C-6 oxocsoportból etilén ketált állítottunk elő, majd a C-3 hidroxil csoportot benzilezéssel (**83** R = benzil) védtük. Az oxymorphon C-3 benziléter etilén ketált a fent említett reakciókörülmények között O-metileztük (**84**), majd a védőcsoportokat egy lépésben távolítottuk el, metanolos konc. sósavas forralással. A 14-O-metiloxikodon szintézisére két módszert dolgoztunk ki. Az oxikodon etilén ketál (**83** R = CH₃) metilezése után a ketál védőcsoportot 5%-os sósavval vízfürdőn melegítve nyertük a célvegyületet. Előnyösen alkalmazható kiindulási vegyületként az oxikodon C-6 enolelter, a C-14 hidroxilcsoport metilezése és az enolelter hidrolízise eredményezte a 14-O-metiloxikodont.

III.1. Tanulmányoztam a morfin és a kodein glükuronidjainak az előállítását Koenigs-Knorr reakció alkalmazásával. A 3-O-acetilmorfin vagy kodein és α -bróm-triacetil-glükuronsav metilészter reakciójában ezüst karbonát aktivátor alkalmazásával a védett C-6 glükuronidokat (**87**) kaptam, ezek hidrolízise (**86**, **88**) lítium hidroxiddal egy lépésben megoldható. Előállítottam a dihidrokodein és a dihidromorfin C-6 glükuronidjait, valamint a védett kodein-6-glükuronid N-demetilezésével és ezt követő hidrolízisével a norkodein-6-glükuronidot (**95**). A morfin-3-glükuronid (**85**) és a dihidromorfin-3-glükuronid szintézisére egy új eljárást dolgoztam ki. Az említett glükuronidok szerkezetét részletes NMR vizsgálatokkal igazoltuk.

III.2. Kínai kutatók morfinnal kezelt daganatos betegek vizeletéből két új metabolitot izoláltak, a morfin-3-glükozidot (**101**) és a morfin-6-glükozidot (**97** R = H). Megvalósítottam a morfin és kodein glükozidjainak a szintézisét a Koenigs-Knorr reakcióval és az előállított vegyületek szerkezetét NMR spektroszkópia alkalmazásával igazoltam. A 3-O-acetilmorfin és a kodeint acetobrom-glükózzal reagáltattam, aktivátorként ezüst-karbonátot használtam. A reakcióban C-6 β -anomer glükozidok tetraacetátjai képződtek (**96**). A tetraacetátokat metanolos lítium-hidroxiddal hidrolizáltam (**97**). A C-3 glükozidok előállításánál morfint és dihidromorfint reagáltattam lúg jelenlétében acetobrom-glükózzal, a C-3 glükozid tetraacetát (**100**) köztitermékeket izoláltam majd metanolos lítium-hidroxiddal hidrolizáltam.

IV.1. Vizsgáltuk a Mitsunobu reakciót ftálimid (és szukcinimid) savkomponens alkalmazásával kodein és 3-O-acetilmorfin esetében, a 6-dezoxi-6- β -ftálimido vegyületek (**105**) képződtek inverzióval, jó hozammal. A 6-dezoxi-6- β -ftálimido vegyületeket hidrazinnal forralva a 6-dezoxi-6- β -aminokat (**106**) kaptuk, a C-7 – C-8

kettőskötések katalitikus hidrogénezéssel telíthetők (107). A reakciókat elvégeztük N-alkil-norszármazékok esetén is.

IV.2. A Mitsunobu reakció alkalmazásával számos 6-dezoxi-6- β -ftálimido-14-hidroxi-morfin és kodein származékot (111) szintetizáltunk ftálimid savkomponenssel. A ftálimido származékok hidrazinnal hasíthatók, így nyertük a 6-dezoxi-6- β -amino-14-hidroxi-morfin (kodein) analógokat (112), melyek katalitikus hidrogénezéssel a 7,8-dihidro aminokká (113) alakíthatók.

IV.3. a) Tanulmányoztuk a Mitsunobu reakció alkalmazásának a lehetőségét a 7,8-dihidromorfin és a 7,8-dihidrokodein vegyületcsoportokban. Amennyiben a savkomponens benzooesav, a 14-hidroxi-dihidrokodein jó hozammal eredményezte a várt 14-hidroxi-dihidroizokodein C-6 benzoátot, míg a dihidrokodein esetén nem tapasztaltunk teljes konverziót. A 14-H származékok esetén viszont a p-nitrobenzooesav alkalmazásával a reakció gyorsan végbement és a hozam is kitűnő volt. Módszerünk a farmakológiai szempontból kiemelkedő hatású neutrális antagonistá β-naltrexol új sztereospecifikus szintézise.

b) A dihidromorfin és dihidrokodein vegyületcsoportban a ftálimid pronukleofil a Mitsunobu reakcióban magas hozammal eredményezte a 6 β -ftálimido (115) származékokat, a 14-H és 14-OH vegyületek reaktivitásában nem tapasztaltunk jelentős különbségeket. A ftálimido vegyületek hidrazinos hasításával itt is megkaptuk 7,8-dihidro-6 β -aminokat (107, 113). Az előállított vegyületek közül kiemeljük a β-naltrexamin (113 R₁ = H R₂ = Cpm) egy újabb sztereospecifikus szintézisének a kidolgozását. Az α-naltrexolból ftálimiddal Mitsunobu reakcióban előállított vegyület egy japán kutatócsoport vizsgálatai alapján hatásos és szelektív részleges agonista a humán μ opioid receptoron, az opioidokkal kapcsolatos mellékhatásokat nem tapasztaltak.

IV.4. A kettős allil-rendszert tartalmazó 14-brómkodein (116) és 14-klórkodein (116) Mitsunobu reakciója ftálimiddal a C-14 allil halogenidek reaktivitása miatt a várt 6 β -ftálimido-vegyületek (117) mellett egy C-6-hidrazinnal szubsztituált Δ 6,7,8,14-szerkezetű diént (119) és a 6 β -bróm-14-bróm-6-dezoxi-kodeint (6 β -klór-14-klór-6-dezoxi-kodeint) eredményezett. A két melléktermék képződésének a mechanizmusára javaslatot tettünk, a C-6-hidrazino-dién szerkezetét egy metil vinil ketonnal megvalósított [4 + 2] Diels – Alder reakcióval is igazoltuk. A 14-brómkodein és 14-klórkodein Mitsunobu reakciója difenil-foszforil aziddal inverzióval a 6 β -azidovegyületeket (122) eredményezte alacsony hozamokkal.

IV.5. A fenti reakciókban a melléktermékek képződését úgy értelmeztük, hogy az N-metil terciér amin HX só (X = Cl, Br) reagál savkomponensként. Ezt a feltevést a következő kísérlettel igazoltuk: kodein sósavas sóját reagáltattunk toluolban Mitsunobu reagenssel, és egyedüli termékként α-klórkodidot (120 X = Cl) izoláltunk, vagyis a reakció inverzióval játszódott le. A kodein hidrogén bromidos sója szintén reagál a fenti reakciókörülmények között és meglepő módon inverzióval a 6 β -bróm-6-dezoxikodein (120 X = Br) képződik. A kodein reakciója tionil bromiddal vagy kodein tozilészterből lítium bromiddal a 8 β -bróm-Δ 6,7-dezoxikodeint (brómkodid) eredményezi, egy összetett mechanizmus (S_N2 + S_Ni) szerint, vagyis a brómkodid a termodinamikai izomer. A Mitsunobu reakció alkalmazásával sikerült izolálni a kinetikusan kontrollált reakcióterméket. A fenti reakciókat a megfelelő C-7 – C-8 dihidroszármazékokkal is

megvalósítottuk, de itt a reakciók lassabban mentek végbe és a hozamok is jóval alacsonyabbak.

IV.6. Tanulmányoztuk a 6 β -amino-6-dezoxi-morfin, 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfin a 6 β -amino-6-dezoxi-14-hidroximorfin és a 6 β -amino-6-dezoxi-14-hidroxidihidromorfin C-6 aminocsoportok N-acilezését klórecetsavval és fumársav monometil észterrel (**129**, **130**). A savakból N-hidroxi-szukcinimiddel diciklohexil karbodiimid kondenzálószer alkalmazásával kapott aktív észtereket reagáltattuk az említett aminokkal. A C-7 – C-8 kettőskötést tartalmazó vegyületek dimetil formamidban PdO katalizátort alkalmazva tríciummal jelölhetők a C-7 – C-8 helyzetben. A radioaktív jelölt vegyületek esetében szintén megvalósítottuk az C-6 N-acilezést klórecetsavval és fumársav monometil észterrel. Ekkor az N-acilezésre a peptidkémiában használatos vegyes anhidrides módszert alkalmaztuk.

IV.7. Számos N-acilezett amin előállítását is megvalósítottuk az aktívészteres (N-hidroxi-szukcinimid és diciklohexil-karbodiimid) módszerrel: 6 β -naloxamint és 6 β -naltrexamint acileztünk klórecetsavval és fumársav monometilészterrel (**131**, **132**). Ezenkívül a megfelelő Δ 7,8 kettőskötést tartalmazó C-6 β -aminokat is acileztük ugyanezen savkomponensekkel. A 6 β -amino-morfin, a 6 β -amino-N-propil-normorfin, a 6 β -amino-N-allil-normorfin és a 6 β -amino-14-hidroxi-morfin acilezett származékainak a biológiai vizsgálatáról is beszámoltunk. A vizsgált vegyületek főleg a μ opioid receptorhoz mutattak affinitást a δ receptoron gyakorlatilag inaktívak a receptorkötődési teszten. Ki kell emelni, hogy a 6 β -amino-N-allil-normorfinból előállított amidok a κ receptoron jelentős affinitást mutattak.

IV.8. Vizsgáltuk a 6 β -amino-6-dezoxi-morfin, és a 6 β -amino-6-dezoxi-kodein N-acilezési reakcióit aromás gyűrűben szubsztituált (p-klór, p-metoxi, p-trifluormetil és m-nitro) fahéjsav kloridokkal (**106** \rightarrow **135**). A kodein származékok az acilezési reakciókban elsősorban a reakció-körülmények optimalásában játszottak szerepet, illetve az NMR spektrumok értékelésében modellként szolgáltak. A morfin származékok hatásos fájdalomcsillapítók, a szubsztituátlan C-6 fahéjsavamid légzésdeprimáló hatása sokkal kisebb a morfinhoz viszonyítva.

IV.9. Szintetizáltuk a 6 β -amino-6-dezoxi-morfin, a 6 β -amino-6-dezoxi-kodein, a 6 β -amino-6-dezoxi-14-hidroximorfin és a 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfin C-6 amidjait (**136**, **137**) acilező szerként nikotinsav kloridot és izonikotinsav kloridot alkalmazva. A farmakológiai vizsgálatok alapján a vegyületek tiszta opioid agonisták, a receptor kötési teszten μ opioid receptor szelektivitást mutattak, a κ és a δ receptoron gyenge affinitással rendelkeztek. A fájdalomcsillapító hatás tekintetében a 6 β -amino-6-dezoxi-dihidromorfinból előállított amidok voltak a leghatásosabbak. A hatás időtartama viszont szignifikáns növekedést mutatott.

V.1. A C-gyűrű további átalakítási lehetősége a kodein – apokodein és morfin – apomorfin átrendeződési reakció, melynek alkalmazásával C-8 helyzetben halogén-szubsztituált apokodein és apomorfin analogonokat (**144**, **145**) szintetizáltunk. A C-1 helyzetben halogénezett (Cl, Br) morfin és kodein származékokat valamint ezek 7,8-dihidro-származékait állítottuk elő, majd N-demetilezés (BrCN vagy klórhangyasav α -klóretilészter) után a norvegyületekből az N-allil és az N-propilnoranalogkat (**142**, **143**) nyertük. A kodein és az N-alkil-norkodein származékok metánszulfonsavas átrendeződésével a C-8 halogén szubsztituált apokodeinek képződtek. Az apomorfin származékokat bór tribromidos O-demetilezéssel kaptuk.

V.2. 1-Amino-kodeinből (**150**) kiindulva megvalósítottuk az 1-fluor-kodein (**151**) és az 1-fluor-dihidrokodein (**152**) szintézisét. Mindkét kodein származékot N-demetileztük és előállítottuk az N-alkil-szubsztituált norvegyületeket (**153**, **154**). A kodeinekből bór tribromidos O-demetilezéssel nyertük az 1-fluor-morfint (**155**) és az 1-fluor-dihidromorfint. Az 1-fluor-kodein metánszulfonsavas átrendeződése a 8-fluor-apokodeint (**158**) eredményezte, hasonló reakcióban kaptuk a 8-fluor-N-propilnorkodeint az 1-fluor-N-propilnorkodeinből.

V.3. Kidolgoztuk az 1-jód-kodein (**160**) és az 1-jód-dihidrokodein (**162**) előállítását, klóramin T-nátrium jodid vagy N-jód-szukcinimid reagensek alkalmazásával savas oldatban. Az 1-jód-kodein és az 1-jód-dihidrokodein O-demetilezésével előállítottuk az 1-jód-morfint (**163**) és az 1-jód-dihidromorfint (**164**), illetve ezek acetilezésével a 3,6-diacetilezett analógokat. Az 1-jód-kodein metánszulfonsavas átrendeződése alacsony hozammal eredményezte a várt 8-jód-apokodeint (**167**), a reakcióban a főtermék az apokodein volt amely jódeliminációval képződött.

VI.1. A buprenorphin (**169** R = Cpm R₁ = tBu) és a diprenorphin (**169** R = Cpm R₁ = CH₃) szintézisére további új eljárásokat dolgoztunk ki N-formil-nortebainból (**173** R = CHO) és N-benzil-nortebainból (**173** R = benzil) kiindulva. Az N-benzil-northevinon (**174**) katalitikus hidrogénezésével, új módszerrel egy lépésben jutottunk a dihidronorthevinonhoz (**176** R = H R₁ = CH₃), míg az N-formil-northevinon (**174** R = CHO R₁ = CH₃) enyhe savas hidrolízise northevinont (**174** R = H R₁ = CH₃) eredményezett. A dihidronorthevinonból ciklopropil metil bromiddal az N-ciklopropilmetil-dihidronorthevinon (**176** R = Cpm R₁ = CH₃) képződik, melynek Grignard reakciójában (metilmagnézium jodid és tercier butilmagnézium klorid) a C-20 tercier alkoholokat (**177**) nyertük, és ezek O-demetilezésével kaptuk a célvegyületeket.

VI.2. Dihidronorthevinonból (**176** R = H R₁ = CH₃) számos új N-szubsztituált-dihidronorthevinont (**179** R = allil, prenil, propargil, β-feniletill) állítottunk elő és a C-7 oxocsoport Grignard reakciójával (metilmagnézium jodid és tercier butilmagnézium klorid) a C-20 tercier alkoholokat (**180**) kaptuk. A C-20 tercier alkoholok O-demetilezésével (kálium hidroxid – dietilén glikol, 210 °C) diprenorphin és buprenorphin analógokat (**169**) kaptunk. Az O-demetilezésre kidolgoztunk egy új eljárást mely során toluolos oldatban diizobutil alumínium hidriddel O-demetileztünk szelektíven a C-3 pozícióban.

VI.3. Kidolgoztunk egy új eljárást a dihidrothevinon 7-β epimerjének (**182**) az előállítására: a thevinon (**170**) és 7β-thevinon (**181**) elegy katalitikus hidrogénezésével dihidrothevinon és 7β-dihidrothevinon képződik, melyek elválasztását a savanyú borkősavas sók frakcionált kristályosításával oldottuk meg. A 7β-dihidrothevinonból Grignard reakció, N-demetilezés, N-alkilezés és O-demetilezési reakciók alkalmazásával kaptuk a 7β-diprenorphint (**185** R = Cpm). Az N-demetilezést dietil azodikarboxiláttal és brómciánnal valósítottuk meg.

VI.4. A tebainból fenil-vinil ketonnal előállított Diels-Alder addukt a nepenthon (**193**) melynek a katalitikus hidrogénezésével előállítottuk a dihidronepenthont (**194**). A reakcióban az oxocsoport redukciójával dihidronepenthol szekunder alkohol melléktermék is képződött. A szekunder alkohol 20S abszolút konfigurációjú, és ugyanez a vegyület képződik a dihidronepenthon és nátrium bórhidrid reakciójában. Többlépése szintézissel előállítottuk a diasztereomer 20R szekunder alkoholt is. A diasztereomer szekunder alkoholok abszolút konfigurációját NOE differencia mérések

segítségével határoztuk meg. A nepenthon és a dihidronepenthon reakciója metilmagnézium jodiddal a 20R terciér alkoholokhoz (**197**, **196**) vezetett, majd mindkét vegyületet O-demetileztük (**198** és **199**) a kálium hidroxid – dietilén glikol reagenssel.

VI.5. Kidolgoztuk a magas specifikus aktivitású tríciummal jelzett buprenorphin szintézisét. A buprenorphint ecetsavban higany (II) oxiddal reagáltatva 15,16-didehidrobuprenorphin (**192**) képződik, melynek a szerkezetét az NMR spektrumra alapozva igazoltuk. A kettőskötést dimetil formamid oldószerben PdO – bárium szulfát katalizátor alkalmazásával telítettük tríciummal, a jelzett vegyület specifikus aktivitása 63,6 Ci/mmol, a vegyület radiokémiai tisztasága > 95%. A 15,16-T₂-buprenorphine az opioid receptorok tanulmányozásában kiemelt fontosságú.

VI.6. Nepenthonból és dihidronepenthonból metilmagnézium jodiddal (**196**, **197**) illetve thevinonból és dihidrothevinonból fenilmagnézium bromiddal (**171**, **201**) előállítottuk a C-20R valamint a C-20S diasztereomer terciér alkoholokat, melyek C-3 O-demetilezésével (kálium hidroxid – dietilén glikol) kaptuk az oripavin származékokat. A fent említett négy C-7 ketont N-demetileztük dietil azodikarboxiláttal majd N-alkilezés után Grignard reakcióban képződő C-20 terciér alkoholokat O-demetileztük és az N-szubsztituált nororipavinokhoz (**210**, **211**, **212**, **213**) jutottunk. A vegyületek biokémiai vizsgálata során több esetben szignifikáns μ opioid receptor szelektivitást tapasztaltunk.

VI.7. Vizsgáltuk a thevinon (**170**) és a dihidrothevinon (**178**) izomerizációs reakcióit a β -thevinon (**181**) és a β -dihidrothevinon (**182**) előállítására céljából. Acetonitril oldószerben 1,8-diazabiciklo-[5,4,0]-undec-7-en gyenge nukleofil karakterű bázist alkalmazva egyensúlyi elegy képződött, ahol az α/β arány 80 – 20. Figyelemre méltó, hogy tiszta β -thevinonból végezve az izomerizációt az egyensúlyi elegyben az α/β arány 65,5 – 12,5 és 22% izothevinon (**214**) is keletkezett. A nepenthonból (**193**) csak az átrendeződéssel képződő termék az izonepenthon (**216**) keletkezett, míg a dihidronepenthon esetén az egyensúlyi izomer elegyben az α/β arány 80 – 20.

VI.8. Számos 6,14-endo etheno (ethano)-7-szubsztituált oripavin C-3 danzil származékát állítottuk elő, ez a vegyülettípus intenzív fluoreszcens tulajdonságú és az analitikai meghatározások során jelentős. A vegyületek szerkezetét az NMR és tömegspektrumok alapján igazoltuk, illetve tanulmányoztuk a kromatográfiás (VRK és HPLC) paramétereiket. A kiindulási vegyületek a diprenorphin (**169**), a buprenorphin (**169**), a 20-metil-orvinol (**168**), a 20-metil-dihidroorvinol (**218**), a 20S-terciér butil orvinol (**168**), az N-propilnorbuprenorphin (**169**), az N-allil-noretorphin (**219**), a C-20R feniletil orvinol (**168** PEO) és a C-20R feniletil dihidroorvinol (**218**).

VI.9. Tanulmányoztuk morfinan Δ 6,8-dién szerkezetű vegyületek [4+2] Diels-Alder cikloaddíciós reakcióit a reaktív dienofil 4-fenil-4H-1,2,4-triazolin-3,5-dionnal (PTAD). Előállítottuk a tebain, az N-formil-nortebain, a 6-demetoxitebain és a 7-halogeno-(Cl, Br)-demetoxitebainok Diels-Alder endo-adduktjait (**223**), melyek a diénrendszer β -oldali támadásával keletkeztek. A 7-halogeno-demetoxitebainokból kapott adduktokban a halogénatom az endoetheno kettőskötésen helyezkedik el (**226**). A β -dihidrotebain reakciójában **exo-addukt** képződését (**225**) figyeltük meg. A vegyületek szerkezetét NMR mérésekkel (NOE effektus) igazoltuk. A tebainból és az N-formilnortebainból előállított PTAD adduktok tömegspektrumainak (EI vagy themospray TSP technikák) analízise arra utalt, hogy a retro Diels-Alder reakció végbemegy a spektrométerben. A preparatív termikus reakcióban a kiindulási diének gyenge (< 20 – 30%) hozamokkal képződtek, viszont gyenge nukleofil karakterű bázisokkal poláros aprotikus oldószerben

már jó hozamok érhetőek el. Eredményeink az első példák a szakirodalomban morfinan diének aduktjainak retro Diels-Alder reakciójára.

VI. 10. Tanulmányoztuk a nepenthon (**193**) reakcióit króm (II) komplexekkel semleges vizes közegben. A $[\text{Cr}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})_3]$ komplex alkalmazásával a nepenthon oxocsoportja redukálható (pH = 6,1) és a kemoselektív redukcióban 20-R-nepenthol képződik. A C-20 királis centrum konfigurációját NMR mérésekkel (2D COSY és NOE) bizonyítottuk. A $\text{Cr}(\text{EDTA})^{2+}$ komplex és nepenthone reakciójában (pH = 5,5) az oxocsoport redukciója mellett a C-6 – C-7 kötés felnyílásával egy C-6 enol metiléter (**230**) szerkezetű vegyület keletkezett, melynek a szerkezetét az ^1H és ^{13}C NMR spektrumok analízisével, illetve Röntgen kristallográfiás mérésekkel igazoltuk. Az enoléter híg sósavas melegítéssel hidrolizál, ugyanakkor az eredeti C-20 szekunder alkoholból vízkilépéssel kettőskötés (**231**) alakul ki.

VI.11. Előállítottuk több 6,14-endo-etheno(ethano)-orvinol C-6 helyzetben O-demetilezett származékát. Vizsgáltuk a diprenorphin (**169**), a buprenorphin (**169**), a dihidroetorphin (**169**), a C-20-feniletíl-thevinol (**171** PET) valamint ennek C-3 O-demetilezett származékának (**171** PEO) a reakcióit lítium alumínium hidriddel tetrahidrofurán-széntetraklorid oldószerkelegyen. A C-6 hidroxí-származékokat (**232**, **233**) 67 – 91 %-os hozammal nyertük, valamennyi anyagról részletes ^1H - és ^{13}C -NMR spektrális elemzést végeztünk. A 6-O-demetil-buprenorphine kivételével valamennyi vegyület új anyag. A C-6-hidroxí PET dimetil formamidban nátrium hidriddel történő deprotonálással O-alkilezhető β -brómetil fluoriddal és a PET C-6- β -fluoretil éter képződik. Ez a reakció alkalmas a ^{18}F izotóppal történő jelölésre.

9.1 Irodalomjegyzék

1. Martin, W.R. *Pharmacol. Reviews.* **1984**, 35, 283-323. #36
2. Cherny, N.I. *Drugs.* **1996**, 51, 713-737.
3. McQuay, H. *The Lancet* **1999**, 353, 2229-2232.
4. Inturrisi, C.E. *The Clinical Journal of Pain.* **2002**, 18, S3-S13.
5. Benyamin, R.; Trescot, A.M.; Datta, S.; Buenaventura, R.; Adlak, R.; Sehgal, N.; Glaser, S.E.; Vallejo, R. *Pain Physician* **2008**, 11, S105-S120.
6. Isbell, H. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1977**, 22, 377–384.
7. Corbett, A.D.; Henderson, G.; McKnight, A.T.; Paterson, S.J. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, 147, S153-S162.
8. Tao, P.L.; Law, P. Y.; Loh, H.H. *IUBMB Life* **2010**, 62, 103-111.
9. Smith, H.S. *Therapy* **2009**, 6, 667-683.
10. Beckett, A.H.; Casy, A.F. *J. Pharm. Pharmacol.* **1954**, 6, 986-1001.

11. Beckett, A.H.; Casy, A.F.: Analgesics and their antagonists: Biochemical aspects and structure-activity relationships. *Progress in Medicinal Chemistry*. **1965**, volume 4, pages 171-218. Editors: Ellis, G.P.; West, G.B. Butterworth, London.
12. Portoghese, P.S. *J. Med. Chem.* **1965**, 8, 609-616.
13. Portoghese, P.S. *J. Pharmaceut. Sci.* **1966**, 55, 865-887.
14. Portoghese, P.S. *Accounts of Chem. Res.* **1978**, 11, 21-29.
15. Goldstein, A.; Lowney, L.I.; Pal, B.K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1971**, 68, 1742-1747.
16. Pert, C.B.; Snyder, S.H. *Science* **1973**, 179, 1001-1014.
17. Pert, C.B.; Snyder, S.H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, 70, 2243-2247.
18. Simon, E.J., Hiller, J.M., Edelman, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, 70, 1947-1949.
19. Terenius, L. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1973**, 33, 377-384.
20. Terenius, L. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1973**, 32, 317-320.
21. Martin, W.R. *Pharmacol. Reviews.* **1967**, 19, 463-521.
22. Gilbert, P.E.; Martin, W.R. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1976**, 198, 66-82.
23. Martin, W.R.; Eades, C.G.; Thompson, J.A., Huppler, R.E.; Gilbert, P.E. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1976**, 197, 517-532.
24. Gyang, E.A.; Kosterlitz, H.W. *Br. J. Pharmac. Chemother.* **1966**, 27, 514-527.
25. Kosterlitz, H.W.; Watt, A.A. *Br. J. Pharmac. Chemother.* **1968**, 33, 266-276.
26. Kosterlitz, H.W.; Waterfield, A.A. *Annual Rev. Pharmacol.* **1975**, 15, 29-47.
27. Hughes, J; Smith, T.W.; Kosterlitz, H.W.; Fothergill, L.A.; Morgan, B.A.; Morris, H.R. *Nature* **1975**, 258, 577-580.
28. Lord, J.A.; Waterfield, A.A.; Hughes, J.; Kosterlitz, H.W. *Nature* **1977**, 267, 495-499.
29. Goldstein, A.; Tachibana, S.; Lowney, L.I.; Hunkapiller, M.; Hood, L. *Proceed. Natl. Acad. Sci.* **1979**, 76, 6666-6670.
30. Chavkin, C.; Goldstein, A. *Proceed. Natl. Acad. Sci.* **1981**, 78, 6543-6547.
31. Cox, B.M.; Goldstein, A.; Li, C.H. *Proceed. Natl. Acad. Sci.* 1976, 73, 1821-1823.
32. Corbett, A.D.; Paterson, S.J.; McKnight, A.T.; Magnan, J.; Kosterlitz, H.W.: Dynorphin₁₋₈ and dynorphin₁₋₉ are ligands for the κ receptor. *Nature* **1982**, 299, 79-81.
33. Székely, J. I. *Acta Pharmaceutica Hungarica* **2001**, 71, 25-39.
34. Zadina, J. E.; Hackler, L.; Ge, L.-J., Kastin, A. J. *Nature*, **1997**, 386, 499-502.

35. Horváth, Gy. *Pharmacology & Therapeutics* **2000**, 88, 437-463.
36. Eguchi, M. *Medicinal Research Reviews* **2004**, 24, 182-212.
37. Chaturvedi, K.; Christofers, K.H.; Singh, K.; Howells, R.D. *Biopolymers (Peptide Science)* **2000**, 55, 334-346.
38. Waldhoer, M.; Bartlett, S.E.; Whistler, J.L. *Annual Reviews of Biochemistry* **2004**, 73, 953-990.
39. McDonald, J.; Lambert, D.G. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine* **2016**, 17, 464-468.
40. Satoh, M.; Minami, M. *Pharmacol. Ther.* **1995**, 68, 343-364.
41. Trescot, A.M.; Datta, S.; Lee, M.; Hansen, H. *Pain Physician* **2008**, 11, S133-S153.
42. Vallejo, R.; Barkin, R.L.; Wang, V.C. *Pain Physician* **2011**, 14, E343-E360.
43. Clarke, W.P.; Bond, R.A. *Trends in Pharmacol. Sci.* **1998**, 19, 270-276.
44. Kelly, E. *Br. J. Pharmacol.* **2013**, 169, 1430-1446.
45. Kenakin, T. *Trends in Pharmacol. Sciences* **2004**, 25, 186-1192.
46. Archer, S.; Harris, L.S. *Progress in Drug Research* **1965**, 8, 261-320.
47. Blumberg, H.; Dayton, H.B.: Naloxone, Naltrexone and related noroxymorphones. In: *Narcotic antagonists*. Editors Braude, M.C.; Harris, L.S.; May, E.L.; Smith, J.P.; Villareal, J.E.; *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, **1974**. vol. 8. pages 33-43. Raven Press, New York.
48. Archer, S.; Michne, W.F.: Recent progress in research on narcotic antagonists. *Progress in Drug Research* **1976**, 20, 45-100. Editor E. Juckers. Birkhauser Verlag. Basel and Stuttgart.
49. Hahn, E.F. *Drugs of the Future* **1984**, 9, 443-459.
50. Schmidhammer, H.: Opioid receptor antagonists. *Progress in Medicinal Chemistry* **1998**, 35, 83-132. Editors: Ellis, G.P.; Luscombe, D.K., Oxford, A.W., Elsevier, New York.
51. Kaczor, A.; Matosiuk, D. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 1591-1603.
52. Kazmierski, W.; Wire, W.S.; Lui, G.K.; Knapp, R.J.; Shook, J.E.; Burks, T.F.; Yamamura, H.I.; Hruby, V.J. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 2170-2177.
53. Portoghese, P.S. *Trends in Pharmacol. Sciences* **1989**, 10, 230-23235.
54. Portoghese, P.S. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1757-1762.
55. Takemori, A.E.; Portoghese, P.S. *Ann. Rev. Pharmacol. & Toxicol.* **1992**, 32, 239-269.
56. Morgan, M.M.; Fossum, E.N.; Stalding, B.M. *Journal of Pain* **2006**, 7, 358-366.

57. Mazák, K.; Noszál, B. *Eur. J. Pharmaceut. Sci.* **2012**, 45, 205-210.
58. Eddy, N.B.; Halbach, H.; Braenden, O.J. *Bull. World Health Org.* **1956**,14, 353-402.
59. Braenden, O.J.; Eddy, N.B.; Halbach, H. *Bull. World Health Org.* **1955**, 13, 937-998.
60. Fürst, S.; Hosztafi, S.; Friedmann, T. *Curr. Med. Chem.* **1995**, 1, 423-440.
61. Fürst, S.; Hosztafi, S. *Acta Physiol. Hung.* **2008**, 95, 3-44.
62. Thorpe, D.H. *Anesthesia and Analgesia* **1984**, 63, 143-151.
63. Feinberg, A.P.; Creese, I.; Snyder, S.H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**,73, 4215-4219.
64. Horn, A.S.; Rodgers, J.R. *J. Pharm. Pharmacol.* **1977**, 29, 257-265.
65. Gorin, F.A.; Marshall, G.R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74** 5179-5183 (1977)
66. Gentilucci, L.; Squassabia, F.; Artali, R. *Curr. Drug Targets* **2007**, 8, 185-196.
67. Gentilucci, L.; Tolomelli, A., DeMarco, R.; Artali, R. *Curr. Medicinal Chem.* **2012**, 19, 1587-1601.
68. Filizola, M.; Villar, H.O.; Loew, G.H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 69-76.
69. Iijima, I.; Minamikawa, J.; Jacobson, A.E.; Brossi, A.E.; Rice, K.C. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 1462-1463.
70. Rapoport, H.; Bonner, R.M. *J. Am. Chem Soc.* **1951**, 73, 5485.
71. Seki, I.; Takagi, H.; Kobayashi, S. *Yakugaku Zasshi* **1964**, 84, 280-286.
72. Makleit, S.; Bognár, R. *Kémiai Közlemények* **1968**, 30, 285-295.
73. Knoll, J.; Fürst, S.; Kelemen K.: *J. Pharm. Pharmacol.* **1973**, 25, 929-935.
74. Umans, J.G.; Inturrisi, C.E. *Eur. J. Pharmacol.* **1982**, 85, 317-323.
75. Nakamura, G.R.; Thornton, J.I.; Noguchi, T.T. *J. Chromatogr.* **1975**, 110, 81-89.
76. Owen, J. A.; Elliott, J.; Jhamandas, K.; Nakatsu, K. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **1984**, 62, 446-451.
77. Drustrup, J.; Fullerton, A.; Christrup, L.; Bundgaard, H. *Int. J. Pharmaceut.* **1991**, 71, 105-116.
78. Pasternak, G.W.; Hahn, E.F. *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 674-676.
79. Galetta, S.; Ling, G.S.F.; Wolfin, L.; Pasternak, G.W. *Life Sciences* **1982**, 31, 1389-1392.
80. Hahn, E.F.; Carroll-Buatti, M.; Pasternak, G.W. *J. Neurochem.* **1982**, 2, 572-576.
81. Kolb, V. M.; Gober, J.R. *Life Sciences* **1983**, 33, Suppl I, 419-422.

82. Weiss, U. *J. Org. Chem.* **1957**, 22, 1505-1508.
83. Speyer, E.; Sarre, K. *Berichte Deutsch. Chem. Ges.* **1924**, 57, 1409-1422.
84. Yoo, J.H.; Borsodi, A.; Toth, G.; Benyhe, S.; Gaspar, R.; Matifas, A.; Kieffer, B.L.; Metaxas, A.; Kitchen, I. *Neuroscience Letters* **2017**, 643, 16-21.
85. Stein, A. *Pharmazie* **1955**, 10, 180-186.
86. Sargent, L.J.; Schwatzman, L.H.; Small, L.F. *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 1247-1251.
87. Hahn, E.F.; Itzhak Y.; Nishimura, S.; Johnson, N.; Pasternak, G.W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1985**, 235, 846-850.
88. Findlay, S.P.; Small, L.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 3247-3249.
89. Lipkowski, A.W.; Tam, S.W.; Portoghese, P.S. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 1222-1225.
90. Ko, R.P.; Gupte, S.M.; Nelson, W.L. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 1727-1729.
91. Freund, M.; Speyer, E. *Journal für Prakt. Chemie* **1916**, 94, 135-178.
92. Hara, S.; Oka, K.; Ike, Y. *Chemistry & Industry (London)* **1967**, 20, 832-833.
93. Bodor, A.; Barabas, A. *Tetrahedron* **1979**, 35, 233-240.
94. Mavunkel, B.J.; Rzeszotarski, W.J.; Kaplita, P.V.; DeHaven-Hudkins, D.L. *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, 29, 659-666.
95. Cadogan, J.I.G.; Rowley, A.G. *Synth. Commun.* **1977**, 7, 365-366.
96. Portoghese, P.S.; Sultana, M.; Nagase, H.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 281-282.
97. Portoghese, P.S.; Sultana, M.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1714-1720.
98. Portoghese, P.S.; Nagase, H.; Maloney-Huss, K.E.; Lin, C.E.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1715-1720.
99. Portoghese, P.S.; Larson, D.L.; Sultana, M.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 4325-4329.
100. Yamamura, M.S.; Horvath, R.; Toth, G.; Otvos, F.; Malatynska, E.; Knapp, R.J.; Porreca, F.; Hruby, V.J.; Yamamura, H.I. *Life Sciences* **1992**, 50, PL119-PL124.
101. Borsodi, A.; Ozdemirler, G.; Nevin, S.T.; Kabasakai, L.; Ötvös, F.; Tóth, G. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, 109 (issue S1) 17P.
102. Dorn, C.R.; Markos, C.S.; Dappen, M.S.; Pitzele, B.S. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1992**, 31, 375-380.
103. Lever, J.R.; Johnson, S.M. *J. Labelled Compds. Radiopharmaceuticals* **1997**, 39, 115-122.
104. Sheradsky, T. *Tetrahedron Letters* **1966**, 7, 5225-5227.

105. Kaminsky, D.; Shavel, Jr. J.; Meltzer, R.I. *Tetrahedron Letters* **1967**, 8, 859-861.
106. Lipkowski, A.W.; Nagase, H.; Portoghese, P.S. *Tetrahedron Letters* **1986**, 27, 4257-4260.
107. Portoghese, P.S.; Nagase, H.; Lipkowski, A.W.; Larson, D.L.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 238-239.
108. Portoghese, P.S.; Lipkowski, A.W.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 836-841.
109. Ferriz, J.M.; Vinsova, J. *Curr. Pharmaceut. Design* **2010**, 16, 2003-2052.
110. Hussain, M.A.; Koval, C.A.; Myers, M.J.; Shami, E.G.; Shefter, E. *J. Pharmaceut. Sci.* **1987**, 76, 356-358.
111. Mignat, C.; Heber, D.; Schlicht, H.; Ziegler, A. *J. Pharmaceut. Sci.* **1996**, 85, 690-694.
112. Rukhman, I.; Yudovich, L.; Nisnevich, G., Gutman, A.L. *Tetrahedron* **2001**, 57, 1083-1092.
113. Freund, M.; Speyer, E. *J. Prakt. Chem.* **1916**, 94, 135-178.
114. Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synth. Commun.* **1991**, 21, 407-412.
115. Pongratz, A.; Zirm, K.J. *Monatsh. Chem.* **1957**, 88, 330-335.
116. Zirm, K.L.; Pongratz, A. *Arzneimitt. Forschung* **1959**, 9, 511-513.
117. Pongratz, A.; Zirm, K.J. *Monatsh. Chem.* **1960**, 91, 396-399.
118. Lobbezoo, M.W.; Van Rooy, H.H.; Van Wijngaarden, I.; Soudijn, W. *Eur. J. Pharmacol.* **1982**, 82, 207-211.
119. Broekkamp, C.L.; Oosterloo, S.K.; Rijk, H.W. *J. Pharm. Pharmacol.* **1988**, 40, 434-437.
120. Boucherle, A.; Alary, J. *Bull. Soc. Chim. France* **1960**, p. 1222-1224.
121. Li, G.; Aschenbach, L.C.K.; He, H.; Selley, D.E.; Zhang, Y. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2009**, 19, 1825-1829.
122. Nagase, H.; Abe, A.; Portoghese, P.S. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4120-4125.
123. Fujimoto, J.M.; Haarstad, V.B. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1969**, 165, 45-51.
124. Yeh, S.Y.; Chernov, H.I.; Woods, L.A. *J. Pharm. Sci.* **1971**, 60, 469-471.
125. Yeh, S.Y.; Woods, L.A. *J. Pharm. Sci.* **1971**, 60, 148-150.
126. Ober, K.F.; Fujimoto, J.M. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1972**, 139, 1068-1070.
127. Yeh, S.Y. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1975**, 192, 201-210.
128. Yeh, S.Y.; Gorodetzky, C.W.; Krebs, H.A. *J. Pharm. Sci.* **1977**, 66, 1288-1293.

129. Mori, M.; Oguri, K.; Yoshimura, H.; Shimomura, K.; Kamata, O.; Ueki, S. *Life Sciences* **1972**, 11, 525-533.
130. Brown, C.E.; Roerig, S.C.; Burger, V.T.; Cody Jr., R.B.; Fujimoto, J.M. *J. Pharm. Sci.* **1985**, 74, 821-824.
131. Linder, C.; Fishman, J. *J. Med. Chem.* **1973**, 16, 553-556.
132. Kaspersen, F.M.; Van Boeckel, C.A.A. *Xenobiotica* **1987**, 17, 1451-1471.
133. Al-Horani, R.A.; Desai, U.R. *Tetrahedron* **2010**, 66, 2907-2918.
134. Atzrodt, J.; Derdau, V.; Holla, W.; Sandvoss, M. *ARKIVOC* **2012** (iii) 257-278.
135. Crooks, P.A.; Kottayil, S.G.; Al-Ghananeem, A.M.; Byrn, S.R.; Butterfield, D.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4291-4295.
136. Preechagoon, D.; Bereton, I.; Staatz, C.; Prankerd, R. *Int. J. Pharmaceutics* **1998**, 163, 177-190.
137. Spetea, M.; Schmidhammer, H. *Current Med. Chem.* **2012**, 19, 2442-2457.
138. Kobylecki, R.J.; Carling, R.W.; Lord, J.A.; Smith, C.F.; Lane AC. *J. Med. Chem.* **1983**, 25, 116-120.
139. Schmidhammer, H.; Smith, C.F.; Erlach, D.; Koch, M.; Krassnig, R.; Schwetz, W.; Wechner, C. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1200-1206.
140. Schmidhammer, H.; Aeppli, L.; Atwell, L.; Fritsch, F.; Jacobson, A.E.; Nebuchla, M.; Sperk, G. *J. Med Chem.* **1984**, 27, 1575-1579.
141. Lester, M.G.; Petrow, V.; Stephenson, O. *Tetrahedron* **1964**, 20, 1407-1417.
142. Milne, R.W.; Nation, R.L.; Somogyi, A.A. *Drug Metabolism Reviews* **1996**, 28, 345-472.
143. Smith, H.S. *Mayo Clin. Proc.* **2009**, 84, 613-624.
144. Lötsch, J. *Curr. Opinion in Anaesthesiology*, **2004**, 17, 449-453.
145. Lötsch, J. *J. Pain Symptom. Management* **2005**, 29, S10-S24.
146. Ary, K.; Rona, K. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* **2001**, 26, 179-187.
147. Stachulski, A.V.; Jenkins, G.N. *Nat. Product Reports* **1988**, 15, 173-186.
148. Stachulski, A.V.; Meng, X. *Nat. Product Reports* **2013**, 30, 806-848.
149. Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Revs.* **1993**, 93, 1503-1531.
150. Yoshimura, H.; Oguri, K.; Tsukamoto, H. *Tetrahedron Letters* **1968**, 9, 483-486.
151. Yoshimura, H.; Oguri, K.; Tsukamoto, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1968**, 16, 2114-2119.
152. Lacy, C.; Sainsbury, M. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, 3949-3950.

153. Carrupt, P.A.; Testa, B.; Bechalany, A.; El Tayar, N.; Descas, P.; Perrissoud, D. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1272-75.
154. Jenkins, G.N.; Stachulski, A.V.; Scheinmann, F.; Turner, N.J. *Tetrahedron Asymmetry* 2000, 11, 413-16.
155. Berrang, B.; Twine, C.E.; Hennessee, G.L.; Carroll, F.I. *Synth. Commun.* 1975, 5, 231-236.
156. Berrang, B.; Brine, G.A.; Carroll, F.I. *Synthesis* **1997** 1165-1168
157. Chen, X.Y.; Zhao, L.M.; Zhong, D.F. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2003**, 55, 570-578.
158. Casparis, P.; Kühni, E.; Leinzinger E. *Pharm. Acta Helv.* **1949**, 24, 145-155. *Chem. Abstracts* 44 284b (1949)
159. Kovac, P.; Rice, K.C. *Heterocycles* **1995**, 41, 697-707.
160. Fujii, I.; Togame, H.; Yamamoto, M.; Kanematsu, K.; Takayanagi, I.; Konno, F. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, 36, 2282-2285.
161. Kanematsu, K.; Naito, R.; Shimohigashi, Y.; Ohno, M.; Ogasawara, T., Kurono, M.; Yagi, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 1438-1440.
162. Sagara, T.; Egashira, H.; Okamura, M.; Fujii, I.; Shimohigashi, Y., Kanematsu, K. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 2151-2166.
163. Stork, G.; Clarke, F.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 4619-4624.
164. Bognár, R.; Makleit, S.; Radics, L. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1971**, 67, 63-69.
165. Makleit, S.; Mile, T.; Bognár, R. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1976**, 89, 275-277.
166. Jiang, J.B.; Hanson, R.N.; Portoghese, P.S.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1977**, 20, 1100-1102.
167. Sayre, L.M.; Portoghese, P.S. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 3366-3368.
168. Mohamed, M.S.; Portoghese, P.S. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 105-106.
169. Bognár, R.; Makleit, S. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1968**, 58, 203-205.
170. Bognár, R.; Makleit, S. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1969**, 59, 373-378.
171. Bognár, R.; Makleit, S.; Mile, T. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1969**, 59, 379-385.
172. Makleit, S.; Radics, L.; Bognár, R.; Mile, T.; Oláh, É. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1972**, 74, 99-113.
173. Hosztafi, S., Simon, C., Makleit, S. *Synth. Commun.* **1992**, 22, 2527-2541.
174. Hosztafi, S.; Berényi, S.; Tóth, G.; Makleit, S. *Monatsh. Chem.* **1992**, 123, 435-441.
175. Swamy, K.C.K.; Kumar, N.N.B.; Balaraman, E.; Kumar, K.V.P.P.: *Chem. Revs.* **2009**, 109, 2551-22651.

176. Reynolds, A.J.; Kassiou, M. *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1610-1632.
177. Szilágyi, L.; Makleit, S.; Hosztafi, S.; Simon, C. *Magn. Reson. Chem.* **1992**, *30*, 552-557.
178. Somogyi, G.; Makleit, S.; Bognár, R. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1978**, *97*, 339-344.
179. Makleit, S.; Radics, L.; Bognár, R.; Mile, T. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1972**, *74*, 111-113.
180. Izumimoto, N., Kawai, K., Kawamura, K., Komagata, T.: Remedies or preventives for urinary frequency or urinary incontinence and morfinan derivatives having nitrogen-containing heterocyclic group. US Patent 7 320 984 Jan. 22, 2008
181. Fujimura, M.; Izumimoto, N.; Momen, S.; Yoshikawa, S.; Kobayashi, R.; Kanie, S.; Hirakata, M.; Komagata, T.; Okanishi, S.; Hashimoto, T.; Yoshimura, N.; Kawai, K. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2014**, *350*, 543-551.
182. Jalah, R.; Torres, O.B.; Mayorov, A.V.; Li, F.; Antoline, J.F.; Jacobson, A.E.; Rice, K.C.; Deschamps, J.R.; Beck, Z.; Alving, C.R.; Matyas, G.R. *Bioconjug. Chem.* **2015**, *26*, 1041-1053.
183. Matyas, G.R.; Rice, K.C.; Cheng, K.; Li, F.; Antoline, J.F.G.; Iyer, M.R.; Jacobson, A.E.; Mayorov, A.V.; Beck, Z.; Torres, O.B.; Alving, C.R. *Vaccine* **2014**, *32*, 1473-1479.
184. Lam, R.; Gondin, A.B.; Canals, M.; Kellam, B.; Briddon, S.J.; Graham, B.; Scammells, P.J. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1316-1329.
185. Nagase, H., Hayakawa, J., Kawamura, K., Kawai, K., Takezawa, Y., Matsuura, H., Tajima, C. and Endo, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 366-369.
186. Suzuki, S.; Sugawara, Y.; Tsuji, R.; Tanimura, R.; Kaneko, C.; Yuzawa, N.; Yagi, M.; Kawai, K. *Chem. Pharm. Bull.* **2017**, *27*, 3920-3924.
187. Takemori, A.E.; Portoghese, P.S. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1985**, *25*, 193-223.
188. Portoghese, P.S.; Larson, D. L.; Sayre, L.M.; Fries, D. S.; Takemori, A.E. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 233-234.
189. Sayre, L.M.; Larson, D.L.; Fries, D.S.; Takemori, A.E.; Portoghese, P.S. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1229-1235.
190. Sayre, L.M.; Larson, D.L.; Takemori, A.E.; Portoghese, P.S. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 1325-1335.
191. Manglik, A.; Kruse, A.C.; Kobilka, T.S.; Thian, F.S.; Mathiesen, J.M.; Sunahara, R.K.; Pardo, L.; Weis, W.I; Kobilka, B.K.; Granier, S. *Nature* **2012**, *485*, 321-327.
192. Derrick, I.; Lewis, J.W.; Moynihan, H.A.; Broadbear, J.; Woods, J.H. *J. Pharm. Pharmacol.* **1996**, *48*, 192-196.

193. Derrick, I.; Moynihan, H.A.; Broadbear, J.; Woods, J.H.; Lewis J.W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 167-172.
194. Cami-Kobeci, G.; Neal, A.P.; Bradbury, F.A.; Purington, L.C.; Aceto, M.D.; Harris, L.S.; Lewis, J.W.; Traynor, J.R.; Husbands, S.M. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1546-1552.
195. Li, G.; Aschenbach, L.C.; Chen, J.; Cassidy, M.P.; Stevens, D.L.; Gabra, B.H.; Selley, D.E.; Dewey, W.L.; Westkaemper, R.B.; Zhang, Y. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 1416-1427.
196. Yuan, Y.; Elbegdorj, O.; Chen, J.; Akubathini, S.K.; Beletskaya, I.O.; Selley, D.E.; Zhang, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 5625-5629.
197. Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S.; Berényi, S. *Synth. Commun.* **1991**, 21, 2309-2316.
198. Berényi, S.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* **1992**, 2693-2694.
199. Ramsby, S.; Neumeyer, J.L.; Grigoriadis, D.; Seeman, P. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1198-1201.
200. Schaus, J.M.; Titus, R.D.; Foreman, M. M.; Mason, N.R.; Truex, L.L. *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 600-607.
201. Granchelli, F.E.; Filer, C.N.; Soloway, A.H.; Neumeyer, J.H. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 2275-2278.
202. Görlitzer, K.; Weltrowski, I.M.; Wray, V.; Schumann, R. *Pharmazie* **1999**, 54, 655-657.
203. Speyer, E.; Rosenfeld, H. *Ber. deutschen chem. Gesellschaft* **1925**, 58, 1110-1113.
204. Casale, J.F., Toske, S.G., Hays, P.A. *J. Forensic Sci.* **2009**, 54 359-364.
205. Singh, B.B.; Chauhan, R.S.; Madyastha, K.M.; Bhatnagar, S.P.; Kirk, K.L.; Weiss, U. *Heterocycles* **1982**, 19, 837-847.
206. Makleit, S.; Dubina, V. *Acta Chim. Hung. – Models in Chemistry* **2000**, 137, 447-450.
207. Lousberg, R. J. J. C.; Weiss, U. *Experientia* **1974**, 30, 1440–1441.
208. Davis, R., Feldhaus, J.; Heveran, J., Wicks, R.; Peckham, M. *Clin. Chem.* **1975**, 21, 1498-1505.
209. Mason, P.A.; Law, B.; Ardrey, R.E. *J. Labelled Compds. Radiopharm.* **1975**, 18, 1497-1505.
210. Moore, R.A., Baldwin, D., Allen, M.C., Watson, P.J.Q., Bullingham, R.E.S., McQuay, H.J. *Ann. Clin. Biochem.* **1984**, 21, 318-325.
211. Liebman, A.A.; Malarek, D.H.; Blount, J.F.; Nelson, N.R.; Delaney, C.M. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 737-739.

212. Wilson, M.L.; Carroll, P.J.; Dalton, D.R. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 6492-6495.
213. Tóth, G.; Kramer, M.; Szücs, M.; Benyhe, S.; Sirokman, F. *Radiochem. Radioanal. Letters* **1982**, 56, 209-16.
214. Giza, C.A.; Hinman, R.L. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 1453-1461.
215. Csutoras, Cs.; Berenyi, S.; Neumeyer, J.L. *Synth. Commun.* **2008**, 38, 866-872.
216. Cerfontain, H.; Koeberg Telder, A.; Laali, K.; Lambrechts H.J.A.; de Wit, P. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas.* **1982**, 101, 390-392.
217. Lewis, J.W.; Bentley, K.W.; Cowan, A. *Annu. Rev. Pharmacol.* **1971**, 11, 241-270.
218. Ohmori, S.; Morimoto, Y. *CNS Drug Reviews* **2002**, 8, 391-404.
219. Lewis, J.W.; Husbands, S.M. *Curr. Pharmaceut. Design* **2004**, 10, 717-732.
220. Husbands, S.M.; Lewis, J.W. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* **2003**, 3, 137-144.
221. Yokell, M.A.; Zaller, N.D.; Green, T.C.; Rich, J.D. *Curr. Drug Abuse Revs.* **2011**, 4, 28-41.
222. Tetrault, J.M.; Fiellin, D.A. *Drugs* **2012**, 72, 217-228.
223. Bentley, K.W.: The morphine alkaloids. In: *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*. Edited by R.F.H. Manske. Academic Press Inc. **1971**, 13, 1-163.
224. Bentley, K.W.; Hardy, D.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 3267-3273.
225. Hutchins, C.W.; Cooper, G.K.; Pürro, S.; Rapoport, H. *J. Med. Chem.* **1981**, 23, 773-777.
226. Bentley, K.W.; Hardy, D.G.; Meek, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 3273-3280.
227. Bentley, K.W.; Hardy, D.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 3281-3292.
228. Lewis, J.W., Readhead, M.J. *J. Med. Chem.* **1970**, 13, 525-527.
229. Bentley, K.W., Ball, J.C. *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 1720-1725.
230. Haddlesey, D.I.; Lewis, J.W.; Mayor, P.A.; Young, G.R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1972**, p.872-874.
231. Lewis, J.W.; Rance, M.J., Young, G.R. *J. Med. Chem.* **1974**, 17, 465-466.
232. Hosztafi, S.; Timár, T.; Makleit, S. *Magy. Kém. Foly.* **1985**, 91, 126-130.
233. Hosztafi, S., Simon, C., Makleit, S. *Synth. Commun.*, **1992**, 22, 2527-2541.
234. Kumar, V.; Ridzwan, I.E.; Grivas, K.; Lewis, J.W.; Clark, M.J.; Meurice, C.; Jimenez-Gomez, C.; Pogozheva, I.; Mosberg, H.; Taynor, J. R.; Husbands, S.M. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 4049-4057.

235. Husbands, S.M.: Buprenorphine and related orvinols. In: Research and development of opioid-related ligands. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington DC **2013**, pages 127-144.
236. Li, W.; Long, J.D.; Qian, Y.Y.; Long, Y.; Xu, X.J.; Wang, Y.J.; Shen, Q.; Wang, Z.N.; Xiao, L.; Sun, H.P.; Xu, Y.L.; Chen, Y.Y.; Xie, Q.; Wang, Y.H.; Shao, L.M.; Liu, J.G.; Qiu, Z.B.; Fu, W. ACS Chem. Neurosciences **2017**, 8, 766-776.
237. Bentley, K.W.; Hardy, D.G.; Crocker, H.P.; Haddelsey, D.I.; Mayor, P.A. J. Am. Chem. Soc. **1967**, 89, 3312-3321.
238. Bentley, K.W., Ball, J.C. J. Org. Chem. **1958**, 23, 1725-1730.
239. Marton, J.; Szabo, Z.; Garadnay, S.; Miklos, S.; Makleit, S. Tetrahedron **1998**, 54, 9143-9152.
240. Biyashev, D.; Garadnay, S.; Marton, J.; Makleit, S.; Borsodi, A.; Benyhe, S.: Eur. J. Pharmacol. **2002**, 442, 23-27.
241. Derrick, I.; Coop, A.; Al-Musawi, S.M.; Husbands, S.M.; Lewis, J.W. Tetrahedron Letters **2000**, 41, 7571-7576.
242. Garadnay, S.; Marton, J.; Makleit, S. Acta Chim. Hung. Models in Chemistry **2000**, 137, 789-802.
243. Alemany, G.; Gamundi, A.; Rossello, C.; Nicolau, M.C. Biomed. Chromatogr. **1996**, 18, 146-147.
244. Répási, J.; Hosztafi, S. Acta Pharm. Hung., **1994**, 64, 22-25.
245. Hromatka, O.; Sengstschmid, G. Monatsh. Chem. **1971**, 102, 1022-1027.
246. Giger, R.; Rubinstein, R.; Ginsburg, D. Tetrahedron **1973**, 29, 2387-2391.
247. Ghosh, A.C.; Portlock, D.E.; Dalzell, H.C.; Malmberg, C.; Herlihy, P.; Razdan, R.K.; Duax, W.L.; Smith, G.D. J. Org. Chem. **1983**, 48, 4137-4139.
248. Woudenberg, R.H.; Maat, L. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **1993**, 112, 113-122.
249. Barton, D.H.R.; Lusinchi, X.; Ramirez, J.S. Tetrahedron Letters **1983**, 24, 2995-2998.
250. Kopcho, J.J.; Schaeffer, J.C. J. Org. Chem. **1986**, 51, 1620-1622.
251. Breeden, S.W.; Coop, A.; Husbands, S.M.; Lewis, J.W. Helv. Chim. Acta **1999**, 82, 1978-1980.

9.2 Az értekezés alapját képező saját közlemények jegyzéke

- [1] Varga, É.; Tóth, G.; Benyhe, S.; Hosztafi, S.; Borsodi, A. Life Sciences **1987**, 40, 1579-1588.
- [2] Borsodi, A.; Varga, É.; Tóth, G.; Hosztafi, S. NIDA Res. Mon. Ser., **1986**, 75, 220-223.

- [3] Hosztafi, S.; Szilágyi, L.; Makleit, S.; Tóth, G. *Magy. Kém. Foly.* **1988**, 94, 121-126.
- [4] Hosztafi, S.; Szilágyi, L.; Makleit, S.; Tóth, G. *Acta Chim. Hung.* **1990**, 127, 9-19.
- [5] Krizsán, D.; Varga, É.; Hosztafi, S.; Benyhe, S.; Szücs, M.; Borsodi, A. *Life Sciences* **1991**, 48, 439-451.
- [6] Gergely, A.; Gyimesi-Forrás, K.; Horváth, P.; Hosztafi, S.; Kökösi, J.; Nagy, P.I.; Szász, Gy.; Szentesi, A. *Curr. Med. Chem.* **2004**, 11, 2555-2564.
- [7] Somogyi, L.; Szabó, Z.; Hosztafi, S. *Liebigs Ann.*, **1995**, 1393-1395.
- [8] Tóth, G.; Ötvös, F.; Hosztafi, S. *Helv. Chim. Acta*, **1993**, 76, 2274-2278.
- [9] Rónai, A. Z.; Gyires, K.; Schmidhammer, H.; Hosztafi, S.; Borsodi, A.; Spetea, M.; Friedmann, T.; Riba, P.; Fürst, Zs. *Medical Science Monitor*, **1997**, 3, 1-5.
- [10] Spetea, M.; Nevin, S. T.; Hosztafi, S.; Ronai, A. Z.; Toth, G.; Borsodi, A. *Neurochem. Research*, **1998**, 23, 1211-18.
- [11] Marki, A.; Ötvös, F.; Toth, G.; Hosztafi, S.; Borsodi, A. *Life Sciences* **2000**, 66, 43-49.
- [12] Béni, Sz.; Tóth G.; Noszál B.; Hosztafi S. *Monatsh. Chem.* **2012**, 143, 1431-1440.
- [13] Hosztafi, S.; Kőhegyi, I.; Simon, C.; Fürst, S. *Arzneim. Forsch.* **1993**, 43, 2100-2103.
- [14] Váradi, A.; Gergely, A.; Béni, Sz.; Jankovics, P.; Noszál, B.; Hosztafi, S. *Eur. J. Pharmaceut. Sci.* **2011**, 42, 65-72.
- [15] Lackó, E.; Váradi, A.; Rapavi, R.; Zádor, F.; Riba, P.; Benyhe, S.; Borsodi, A.; Hosztafi, S.; Timár, J.; Noszál, B.; Fürst, S.; Al-Khrasani, M. *Curr. Med. Chem.* **2012**, 19, 4699-4707.
- [16] Zádor, F.; Király, K.; Váradi, A.; Balogh, M.; Fehér, A.; Kocsis, D.; Erdei, A.I.; Lackó, E.; Zádori, Z.S.; Hosztafi, S.; Noszál, B.; Riba, P.; Benyhe, S.; Fürst, S.; Al-Khrasani, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2017**, 809, 111-121.
- [17] Hosztafi S. *Magyar Kémikusok Lapja* **2015**, 70, 40-42.
- [18] Váradi, A.; Lévai, D.; Tóth, G.; Horváth, P.; Noszál, B.; Hosztafi, S. *Monatsh. Chem.* **2013**, 144, 255-262.
- [19] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synth. Commun.* **1992**, 22, 913-921.
- [20] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Heterocycles* **1994**, 38, 1347-1354.
- [21] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Tetrahedron* **1994**, 50, 9757-9768.
- [22] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Tetrahedron Letters* **1993**, 34, 6475-6478.
- [23] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *J. Chem. Research(S)* **1997**, p.437. *J. Chem. Research (Miniprint)* p. 2734-2742.

- [24] Ötvös, F.; Tóth, G.; Lovas, S.; Simon, C.; Hosztafi, S. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 133-136.
- [25] Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S.; Márki, Á.; Benyhe, S.; Borsodi, A. *Med. Chem. Res.* **1997**, *7*, 251-258.
- [26] Váradi, A.; Hosztafi, S.; Le Rouzic, V.; Tóth, G.; Urai, Á.; Noszál, B.; Pasternak, G. W.; Grinnell, S. G.; Majumdar, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 786-789. Supplementary material 8 pages.
- [27] Urai, A.; Váradi, A.; Szócs, L.; Komjáti, B.; Le Rouzic, V.; Hunkele, A.; Pasternak, G. W.; Majumdar, S.; Hosztafi, S. *MedChemComm.* **2017**, *8*, 152-157. Supplementary material 5 pages
- [28] Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synth. Commun.*, **1994**, *24*, 3031-3045.
- [29] Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synth. Commun.*, **1996**, *26*, 3909-3918.
- [30] Hosztafi, S.; Marton, J. *Chemical Papers* **2016**, *70*, 973-982.
- [31] Hosztafi, S.; Kraszni, M.; Toth, G.; Marton, J. *Letters in Organic Chemistry* **2018**, *15*, 1012-1020.
- [32] Marton, J.; Szabó, Z.; Hosztafi, S. *Liebigs Ann. Chem.*, **1993**, 915-919
- [33] Marton, J.; Hosztafi, S.; Berényi, S.; Simon, C.; Makleit, S. *Monatsh. Chem.* **1994**, *125*, 1229-1239.
- [34] Marton, J.; Miklos, S.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 829-848.
- [35] Marton, J., Szabó, Z.; Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Liebigs Ann.* **1996**, 1653-1656.
- [36] Ötvös, F.; Hosztafi, S.; Simon, C.; Tóth, G. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1995**, *36*, 79-83.
- [37] Marton, J.; Simon, C.; Hosztafi, S.; Szabó, Z.; Márki, A.; Borsodi, A., Makleit, S. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 369-382.
- [38] Marton, J.; Garadnay, S.; Szabó, Z.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Acta Chem. Scand.* **1998**, *52*, 1234-38.
- [39] Marton, J.; Kovács, M.; Filep, J.; Hosztafi, S.; Garadnay, S.; Makleit, S. *Acta Pharm. Hung.* **1999**, *69*, 218-223.
- [40] Marton, J.; Szabó, Z.; Csorvássy, I.; Simon, C.; Hosztafi, S.; Makleit, S. *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 2449-2464.
- [41] Micskei, K.; Gyarmati, J.; Kovacs, G.; Makleit, S.; Simon, C.; Szabo, Z.; Marton, J.; Hosztafi, S.; Reinke, H.; Drexler, H.-J. *Eur.J.Org.Chem.* **1999**, p. 149-153.
- [42] Szűcs, E.; Marton, J.; Szabó, Z.; Hosztafi, S.; Kékesi, G.; Tuboly, G.; Bánki, L.; Horváth, Gy.; Szabó, P.T.; Tömböly, Cs.; Varga, K.Zs.; Benyhe, S.; Ötvös, F.: Synthesis, pharmacological characterization and in silico pharmacological profile

modelling of highly potent orvinol and thevinol derivatives. Közlésre elfogadva 2012 febr. 12. Eur. J. Med. Chem. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112145

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Fürst Zsuzsanna (SE Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet) és Dr. Noszál Béla (SE gyógyszerészi Kémiai Intézet) egyetemi tanároknak, akik a kandidátusi fokozat megszerzése után támogatták kutatómunkámat, segítettek a célkitűzéseim megvalósításában. Köszönettel tartozom néhai Dr. Makleit Sándor (Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék) egyetemi tanárnak, aki elindított kutatói pályámon, és lehetővé tette, hogy az Alkaloidkémiai Kutatócsoportjában dolgozhassak a mákalkaloidok kémiájának témakörében.

Mint minden kutatómunka a dolgozatban bemutatott eredmények is csapatmunka segítségével volt megvalósítható, ezért köszönetet kell mondanom valamennyi társszerzőmnek, doktori ösztöndíjasnak, szakdolgozóknak. Az Alkaloida Vegyészeti Gyárból említeném Dr. Marton János, Dr. Simon Csaba és Dr. Tímár Tibor korábbi munkatársaknak az együttműködést és korrekt munkakapcsolatot. A Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék munkatársai közül kiemelném néhai Dr. Berényi Sándor segítségét, akivel elsősorban a pályám kezdetén dolgozhattam együtt. Az MTA Szegedi Biológiai Központ munkatársai közül megköszönöm Borsodi Anna D. Sc., Tóth Géza D. Sc., Benyhe Sándor D. Sc. és Dr. Ötvös Ferenc segítségét és a közös munka lehetőségét. A Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet munkatársai közül köszönettel tartozom Dr. Mahmoud Al-Khrasani, Dr. Riba Pál és Dr. Friedmann Tamás egyetemi docenseknek a segítségükért. A Semmelweis Egyetem Gyógyszerészet Intézet munkatársai közül köszönöm Dr. Horváth Péter igazgatónak az együttműködést és a kutatómunkám támogatását, Dr. Kraszni Mártának és Dr. Mazák Károlynak a kutatómunkában való együttműködést, valamint köszönettel tartozom doktorandusz hallgatóimnak Dr. Várad Andrásnak Dr. Urai Ákosnak és Dr. Köteles Istvánnak az együttműködést a kutatómunkában. Megköszönöm a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészet Intézet munkatársainak a segítséget kutatómunka során.