

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

ANTIBIOTIKUM ANALÓGOK ÉS SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSA
DIELS–ALDER CIKLOADDÍCIÓS REAKCIÓK SEGÍTSÉGÉVEL

Fejes Zsolt

Témavezető: Dr. Herczegh Pál



DEBRECENI EGYETEM
GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

DEBRECEN, 2010

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki *Dr. Herczegh Pál* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy a Debreceni Egyetem OEC Gyógyszerészi Kémiai Tanszékén lehetővé tette számomra doktori munkám elvégzését, melyet hasznos tanácsokkal ellátva mindvégig figyelemmel kísért, s megismertetett a szerves kémia sokszínűségével.

Köszönet illeti *Dr. Szilágyi Lászlót* és *Dr. Batta Gyulát* az NMR spektrumok, *Dr. Bakai-Bereczki Ilonát* és *Pintér Gábort* a tömegspektrumok felvételéért. Köszönetet mondok *Dr. Béneyi Attilának* és *Dr. Gál Zoltánnak* a röntgendiffrakciós mérések, *Dr. Komáromi Istvánnak* és *Mándi Attilának* az elméleti számítások elvégzéséért. *Dr. Kurtán Tibort* a CD spektrumok felvételéért, *Dr. Gerhard Raabe-t* és *Dr. Jörg Fleischhauer-t* a CD-számításokért illeti köszönet. *Dr. Lieve Naesensnek* és *Dr. Fenyvesi Ferencnek* a citotoxicitási vizsgálatokért, *Dr. Mirosław Cyglernek*, *Dr. Robert J. Linhardtnak* és *Wenjing Zhao-nak* az enzimaktivitási mérésekért mondok köszönetet. Hálával tartozom *Dr. Majoros Lászlónak* a gombaellenes tesztek megszervezéséért.

Köszönöm *Dr. Sztaricskai Ferencnek*, hogy flavofungin-készletét rendelkezésemre bocsátotta.

Ezúton szeretném megköszönni a Gyógyszerészi Kémiai Tanszék volt és jelenlegi technikusainak, *Józsa Sándornénak*, *Bodza Mártának* és *Róth Józsefnének* a segítséget, mellyel hozzájárultak kísérletes munkám elvégzéséhez. Köszönöm *Deák Edinának* a forgatóképessegek meghatározását.

Végül, de nem utolsó sorban, hálával tartozom *feleségemnek* a kitartásért, *szüleimnek* és *családomnak* a támogatásukért.

Tartalomjegyzék

1.	BEVEZETÉS	1
1.1.	Célkitűzések	1
1.2.	A Diels–Alder reakció (irodalmi áttekintés)	2
2.	PERIKOZIN ANALÓGOK ELŐÁLLÍTÁSA.....	4
2.1.	Irodalmi áttekintés.....	4
2.2.	Saját vizsgálatok.....	12
2.2.1.	Dezaromatizáció.....	12
2.2.2.	A ciklohexadienon köztitermék Diels–Alder reakciói	15
2.2.3.	A Diels–Alder adduktum átalakítása perikozin analóggá.....	22
2.2.4.	A Diels–Alder köztitermék reszolválása.....	27
3.	CIKLOADDÍCIÓ POLIÉN MAKROLIDOKON	32
3.1.	Irodalmi áttekintés.....	32
3.1.1.	Polién makrolid antibiotikumok.....	32
3.1.2.	Poliének Diels–Alder reakciói	35
3.2.	Saját vizsgálatok.....	39
3.2.1.	A natamicin Diels–Alder reakciója	39
3.2.2.	A flavofungin Diels–Alder reakciója	43
4.	KÍSÉRLETI RÉSZ.....	48
4.1.	Általános módszerek	48
4.2.	A vegyületek előállítása	49
5.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	72
6.	SUMMARY	73
7.	RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK	74
8.	TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	75
9.	IRODALOMJEGYZÉK.....	77

1. BEVEZETÉS

A Diels–Alder cikloaddíció 1928-as felfedezése óta rendkívüli jelentőségre tett szert a szerves kémiában. Ennek a kiemelkedő szerepnek az oka elsősorban az, hogy egyre több olyan, főként természetes eredetű biológiailag aktív vegyületet írnak le, melyek többgyűrűs szerkezeti elemeket tartalmaznak. Ezen típusú, akár heterogyűrűs molekulák felépítésére a Diels–Alder reakció kiválóan alkalmas. A reakció egyre nagyobb számban képezi tárgyát az elméleti kémiával foglalkozó folyóiratoknak is, s az ilyen úton közzétett eredmények, elősegítve a reakció természetének jobb megismerését, lehetővé teszik annak szintetikus kémiában történő optimális felhasználását.

A cikloaddíciós reakciók tanulmányozása és felhasználása potenciálisan biológiailag aktív vegyületek előállítására már többször képezte tárgyát Tanszékünk kutatási munkáinak. Doktori munkámmal én is ebbe a kutatási témába kapcsolódtam be, antibiotikum analógok és származékok előállításával.

Dolgozatom két fő részre, a perikozin-analógok előállítására és a polién makrolidok szerkezetmódosítására tagolódik. A két téma közös eleme a Diels–Alder cikloaddíciók alkalmazása, melynek rövid irodalmi háttere a célkitűzések után, az 1.2 fejezetben található. A kutatott két téma irodalmi áttekintésére viszont külön-külön, az adott rész előtt kerül sor.

Mint a szerves szintetikus munkáknál általában, ezen dolgozatban is bizonyos feladatok (a szerkezetigazoló mérések egy része, az elméleti számítások egy része, valamint a biológiai hatásvizsgálatok) elvégzése kooperációban történt.

1.1. CÉLKITŰZÉSEK

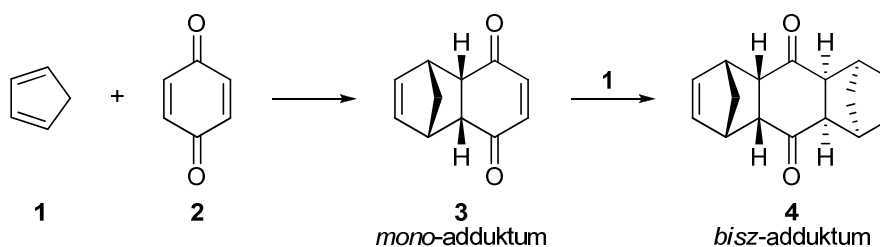
Munkánk során célul tűztük ki a természetes eredetű, tumorellenes aktivitású perikozinok Diels–Alder cikloaddíció segítségével történő, áthidalt gyűrűs analógjának előállítását és biológiai aktivitásának megismerését. A cél egy új daganatellenes vegyület kifejlesztése volt, mellyel lehetőség nyílhat felvenni a harcot a kemoterapeutikumok ellen gyors ütemben kialakuló rezisztencia, valamint az eddig még kezelhetetlen ráktípusok ellen. Ezenkívül nem elhanyagolható szempont, hogy a tumorellenes hatóanyagok esetenként komoly, nemkívánatos mellékhatásainak elkerülése érdekében is szükség van új vegyületekre. A perikozinok hatásmechanizmusa ismeretlen, kérdés tehát, hogy e vegyületek mely része felelős a farmakológiai hatásért. Az általunk célul kitűzött perikozin-analóg magában rejti a perikozinok közös szerkezeti elemeit, ezenkívül az áthidalt gyűrű létrehozásával a

perikozinok ciklohexénvázára jellemző konformációt is utánozza. A tervezett szintézisút egyik kulcsfontosságú köztiterméke egy ciklohexadién származék, melynek Diels–Alder reakciókban történő reaktivitását szintén meg kívántuk vizsgálni mind szintetikus, mind elméleti szempontból.

Ugyancsak céljaink között szerepelt gyűrűs polién rendszereken Diels–Alder cikloaddíciót végrehajtani. A gyűrűs poliének ilyen típusú reakcióit ezidáig még nem vizsgálták, ezért két ilyen típusú vegyületet (polién makrolidot) kívántunk cikloaddíciós reakcióba vinni és a regioszelektivitást – elméleti módszerekkel kiegészítve – tanulmányozni.

1.2. A DIELS–ALDER REAKCIÓ (IRODALMI ÁTTEKINTÉS)

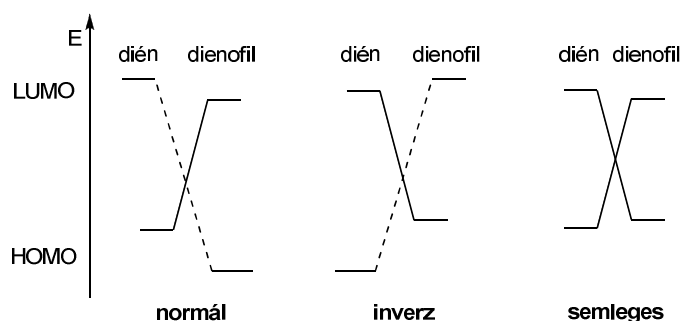
A $[4\pi + 2\pi]$ típusú cikloaddíciós reakciókat az 1890–1920-as években többen is vizsgálták¹, végül az akkori legteljesebb leírást Otto Diels és tanítványa, Kurt Alder nyújtotta 1928-ban. Közleményükben² ők azonosították helyesen a ciklopentadién (**1**, dién) és a *p*-benzokinon (**2**, dienofil) reakciójában keletkező két terméket (**3** és **4**; **1. ábra**). Ettől kezdve a $[4\pi + 2\pi]$ típusú cikloaddíciós reakciókat ezen – 1950-ben Nobel-díjjal kitüntetett – kémikusok nevével illetik.



1. ábra

Abban az esetben, ha a dienofil kettőskötése egy vagy két heteroatomot tartalmaz, hetero-Diels–Alder reakcióról beszélünk. A hattagú gyűrű kialakítására alkalmas reakció igen fontos szerepet tölt be mind a szén-szén kötés (ciklohexánváz) kialakítására szolgáló, mind a heterociklusok előállítására irányuló módszerek között. Igen fontos szempont, hogy e reakció során egy lépésben akár négy kiralitáscentrum is keletkezhet. A reakció számos előnnyel rendelkezik: (a) egyszerű reakciókörülmények, (b) a legtöbb esetben nincsenek mellékreakciók, (c) mind a diénre, mind a dienofilre nézve sztereospecifikus, (d) ciklusos dienofilek esetében általában *endo* konfigurációjú termékhez vezet (Alder-féle *endo*-szabály), (e) sok esetben regioszelektív (Houk-szabály³), (f) sztereokémiája kontrollálható.

A reaktánsok reaktivitása, valamint a reakció regio- és sztereoselektivitása jól értelmezhető az FMO (*Frontier Molecular Orbitals*; frontális molekulapályák) elmélettel. A cikloaddíció sebességét az egyik reaktáns HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*; legnagyobb energiájú betöltött molekulapálya) és a másik reaktáns LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*; legkisebb energiájú betöltetlen molekulapálya) pályáinak kölcsönhatása határozza meg. Abban az esetben, ha a dién HOMO és a dienofil LUMO pályája között valósul meg a legnagyobb mértékű átfedés, *normál* elektronszükségletű Diels–Alder reakcióról beszélünk. Fordított esetben *inverz* elektronszükségletű reakcióról van szó. Fennállhat olyan szituáció is, amikor a reaktánsok HOMO, illetve LUMO pályái közel azonos energiaszintet képviselnek; ez a *semleges* Diels–Alder reakció (**2. ábra**).



2. ábra: Diels–Alder reakciók típusai elektronszükségletük szerint

Bármely tényező, amely csökkenti a HOMO és LUMO közötti energiakülönbséget, növeli a reakció sebességét. Döntő befolyásuk a reaktánsok szubsztituensei: az elektronvonzók csökkentik a LUMO, az elektronküldők növelik a HOMO energiáját. Normál elektronszükségletű reakciókban tehát a dién általában elektronküldő, a dienofil pedig elektronvonzó szubsztituenst hordoz. Inverz esetben természetesen a fordított helyzet áll elő. Lewis-savakkal az addíció sebessége drámaian megnövelhető, amint arról Yates és Eaton az AlCl_3 példáján 1960-ban elsőként beszámolt.⁴

A Diels–Alder reakció a szerves kémiai szintézisekben széles körben alkalmazható. Mivel a természetes vegyületek körében gyakoriak a többgyűrűsek, ezek teljes szintézisében a reakció jelentősége kiemelkedő. Segítségével szintetizáltak szteránvázas vegyületeket⁵ (pl. kortizon, koleszterin), alkaloidokat (pl. morfin^{6,7,8}, reszerpin⁹) és sok más egyéb természetes molekulát¹⁰.

Egyes másodlagos metabolitok szerkezete arra enged következtetni, hogy a Diels–Alder cikloaddíció az élő szervezetekben is végbemehet, azaz a reakció enzimatisus katalízissel is lejátszódik.^{11,12} Az enzimek általában a reakciók átmeneti állapotának

stabilizálásával fejtik ki katalizáló hatásukat, az átmeneti állapot pedig szerkezetileg jelentősen eltér mind a kiindulási szubsztrátumtól, mind a terméktől. Ahhoz, hogy a katalízis megtörténhessen, a szubsztrátumnak és a terméknek egyaránt kevésbé kell kötődnie az enzimhez, mint az átmeneti állapotú szerkezetnek. Diels–Alder reakció esetén viszont a termék szerkezete nagyon hasonlít a magas rendezettségi fokkal bíró átmeneti állapothoz, elvileg tehát a termék inhibeálja az enzimet, ezáltal lehetetlenné teszi a további katalízist. Ezért egy Diels–Alderáz felfedezése egy újfajta mechanizmusú katalízis megismeréséhez nyithatja meg az utat. Bár a feltételezett Diels–Alderázok meglétét ezidáig homály fedi, a cikloaddíció biomolekulák (antitestek, RNS) általi katalízisére több példa is akad.^{13,14,15,16,17} 2000-ben két, természetes eredetű enzimet izoláltak és karakterizáltak, melyek potenciálisan Diels–Alderáznak tekinthetők.^{18,19}

2. PERIKOZIN ANALÓGOK ELŐÁLLÍTÁSA

2.1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A perikozin A-t (**5**) és B-t (**6**) 1997-ben Numata és munkatársai izolálták a *Periconia byssoides* OUPS-N133 gombatorzsból, melyet eredetileg egy tengeri élőlény, az *Aplysia kurodai* nevű tengeri csiga gasztrointesztinális traktusában találtak.^{20,21} A perikozinok mellett néhány makrolaktont is azonosítottak. 2007-ben Yamada és munkatársai izoláltak és karakterizáltak további három, rokon szerkezetű vegyületet, a perikozin C-t (**7**), D-t (**8**) és E-t (**9**).²¹ A **7** és **9** vegyületeket enantiomerkeverék formában izolálták. A perikozinok *in vitro* citotoxikus hatást mutatnak a patkányból származó P388 limfocitás leukémia sejtekben (**1. táblázat**).

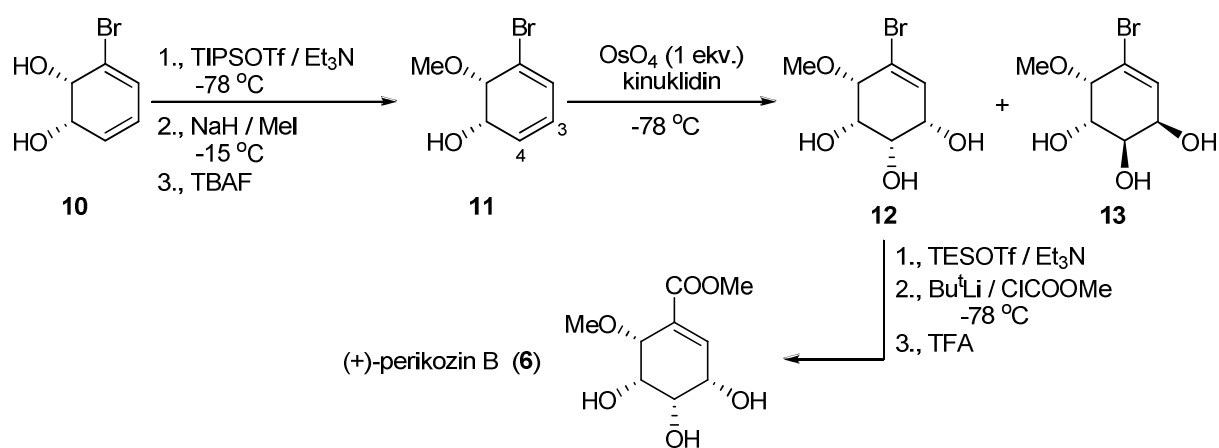
(+)-perikozin A (5)	(+)-perikozin B (6)	perikozin C (enantiomerkeverék) (7)	(+)-perikozin D (8)	perikozin E (enantiomerkeverék) (9)
ED ₅₀ (μM)				
0,45	18,3	48,1	13,5	37,9

1. táblázat: a természetes eredetű perikozinok szerkezete és citotoxicitásuk patkány P388 sejtek ellen²¹

5 *in vivo* körülmények között is hatásosnak bizonyult a P388 limfocitás leukémia sejtek ellen, ezenkívül gátolja a proteinkináz EGFR (40–70%-kal, 0,45 μ M koncentrációban) és a topoizomeráz II (IC_{50} = 100–300 mM) működését is. Szintén biológiai aktivitást mutat a HBC-5 és SNB-75 emberi tumorsejtek ellen, melyek növekedését szelektíven gátolja.²¹ A vegyületek hatásmechanizmusáról nincsenek információk.

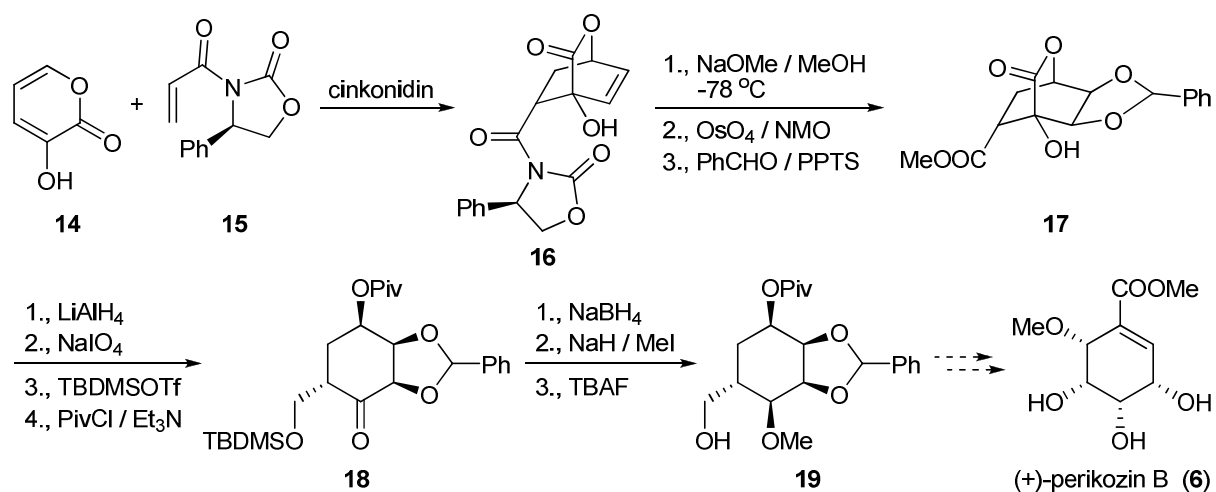
5–9 szerkezetfelderítéséről és szintéziséről több közlemény is megjelent az irodalomban.^{22,23} Mivel térszerkezetüket – akár a relatívat is – a spektrális adatokból nem minden esetben lehetett megtudni, a szintézisek célja a vegyületek előállításán túl a térszerkezet felderítése volt.

Az első perikozin teljes szintézist 1998-ban publikálták Donohoe és munkatársai, akik a (+)-perikozin B-t (**6**) állították elő (**3. ábra**).²⁴ Kiindulási vegyületük a (+)-dihidroxibromciklohexadienon (**10**) volt, melyből hét lépéssel nyerték a célvegyületet. A szintézis kulcslépése a két hidroxilcsoport bevitele C-3 és C-4 helyzetbe, a kívánt *syn* sztereokémiával. A dihidroxilezési lépés két termékét (**12** és **13**) oszlopkromatográfiásan szétválasztották, **12** abszolút konfigurációját pedig röntgendiffrakciós méréssel meghatározták, melyet a bróm-atom jelenléte tett lehetővé. Ily módon a célvegyület abszolút konfigurációja is ismertté vált. A végtermék spektroszkópai adatai jó egyezést mutattak **6** adataival, a forgatási értékek is – a mérési hibahatáron belül – egyeztek. Ezáltal **6** abszolút konfigurációja: 3*S*,4*S*,5*S*,6*R*.



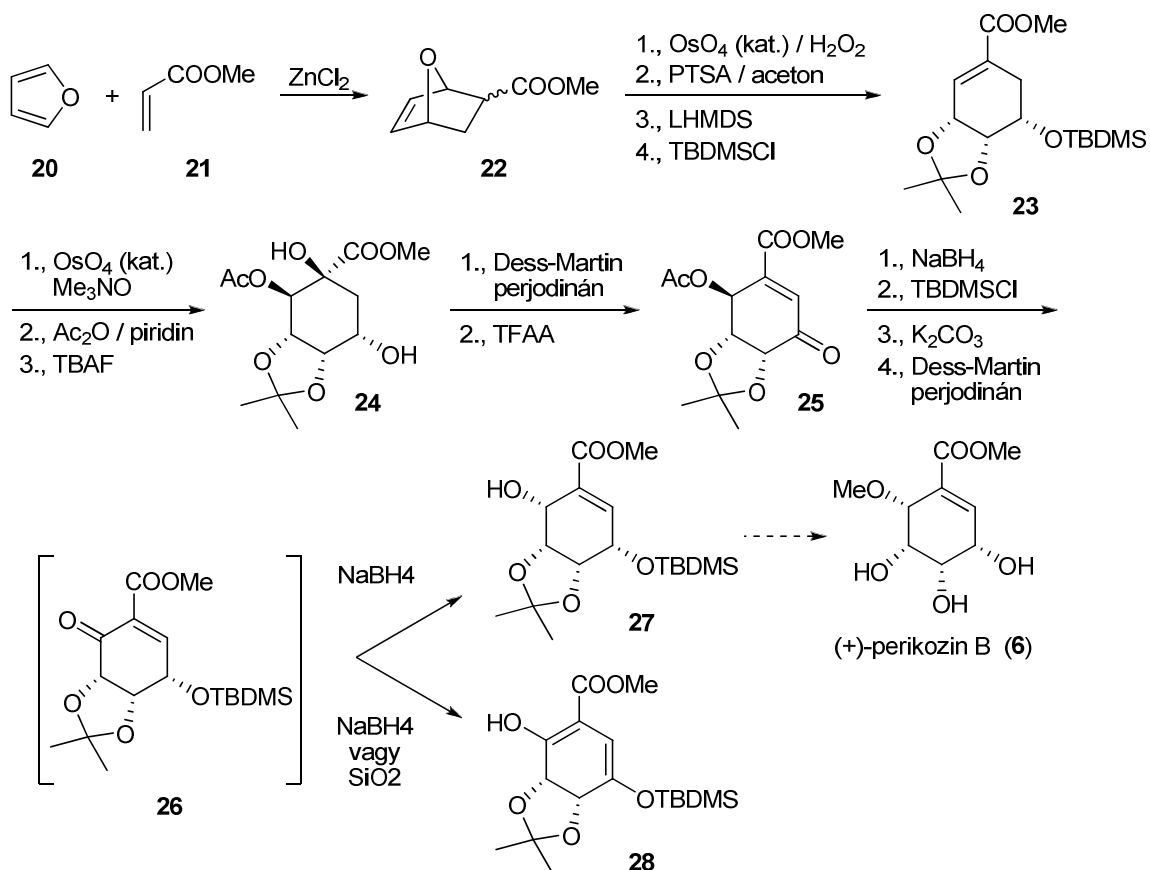
3. ábra

1998-ban Okamura és munkatársai is próbálkoztak **6** teljes szintézisének megvalósításával (**4. ábra**).²⁵ Szintézisük első és egyben kulcslépése a 3-hidroxi-2-piron (**14**) és a **15**-ös királis akrilamid aszimmetrikus Diels–Alder reakciója, királis báziskatalizátor alkalmazásával. A további tíz reakciólépéssel nyert köztermékből (**19**) történő továbbjutást a célvegyület felé eddig még nem közölték az irodalomban.



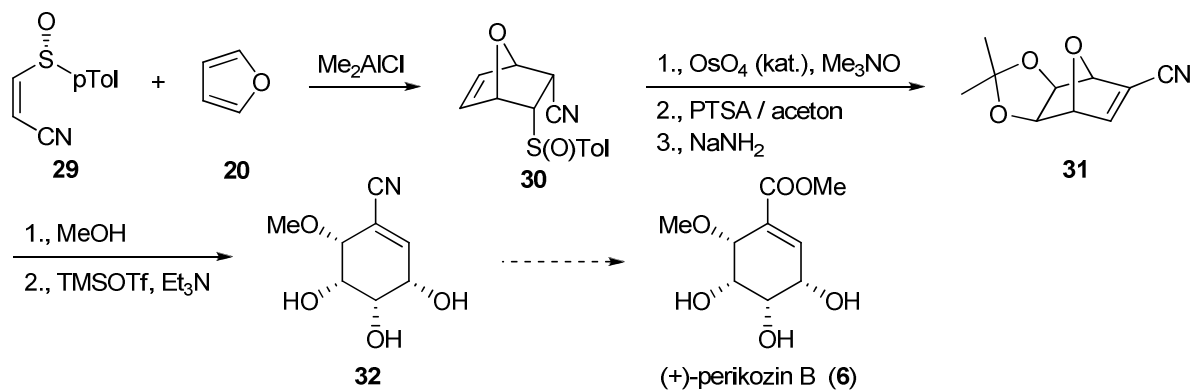
4. ábra

Szintén Diels–Alder cikloaddícióval kezdődik az a szintézis, mellyel Usami és munkatársai tervezték **6**-ot előállítani (5. ábra). A reakciósor azonban befejezetlen maradt, mivel a **26**-os instabil enon redukciója, illetve szilikagélén történő tisztítása a nem várt **28**-as vegyület eredményezte.²⁶



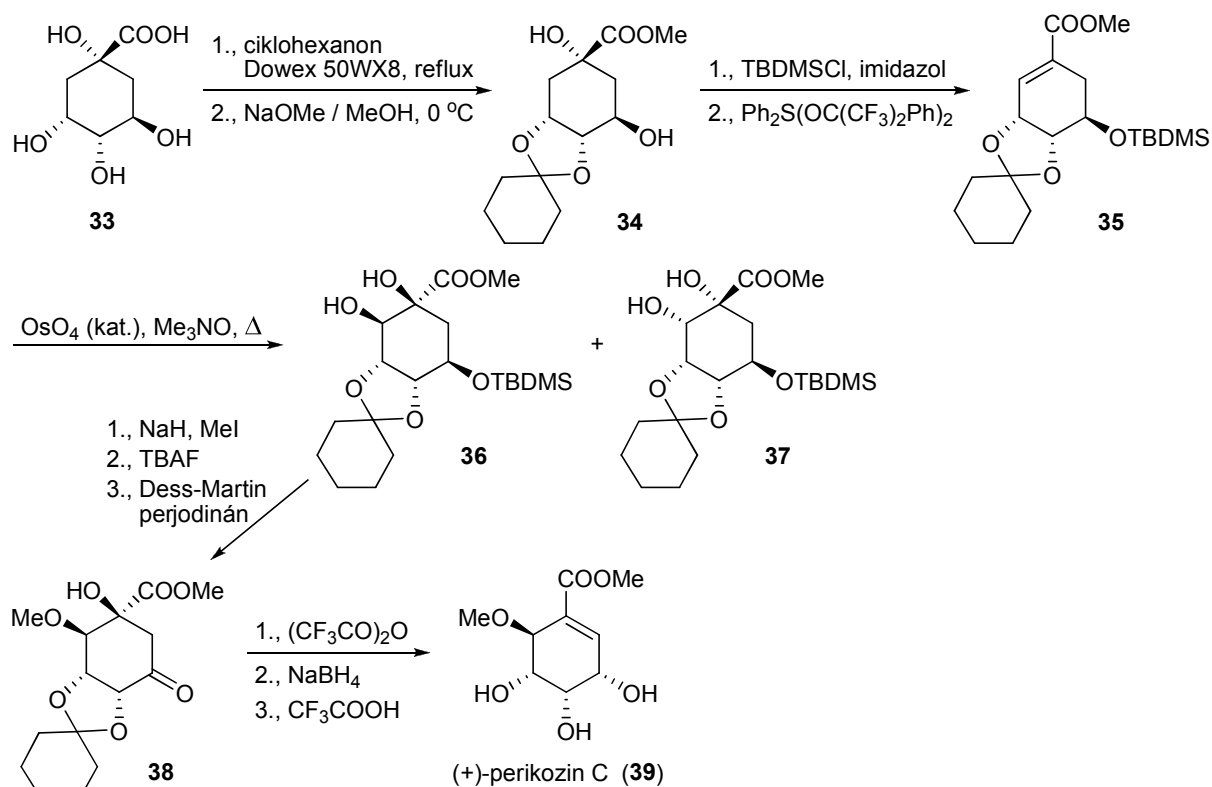
5. ábra

García Ruano és munkatársai ugyancsak egy aszimmetrikus Diels–Alder addícióval nyert adduktum (**30**) továbbalakításával próbáltak perikozin B-t (**6**) előállítani (**6. ábra**),²⁷ de a **32**-es nitril intermedier észterré történő alakításáról eddig nem jelent még meg közlemény.



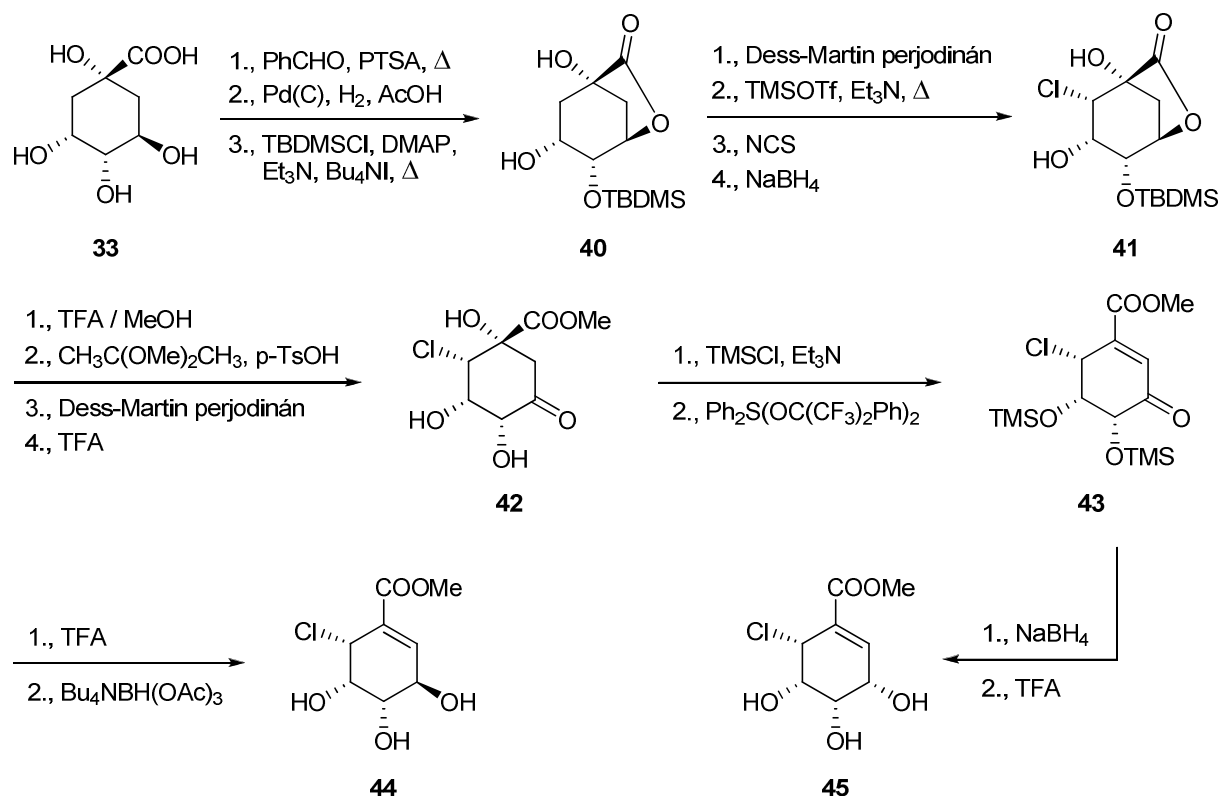
6. ábra

Bár az előzőekben említett Usami-féle megközelítés²⁷ nem vezetett sikerhez, 2004-ben ugyanezen kutatócsoport (–)-kinasvból (**33**) – a Shing és Tang által előállított **34**-es köztiterméken²⁸ keresztül – megvalósította **6** C-6 epimerjének (**39**) szintézisét (**7. ábra**).²⁹ Később kiderült, hogy **39** az újonnan izolált természetes, enantiomerkeverék perikozin C (**7**) egyik komponense.²¹



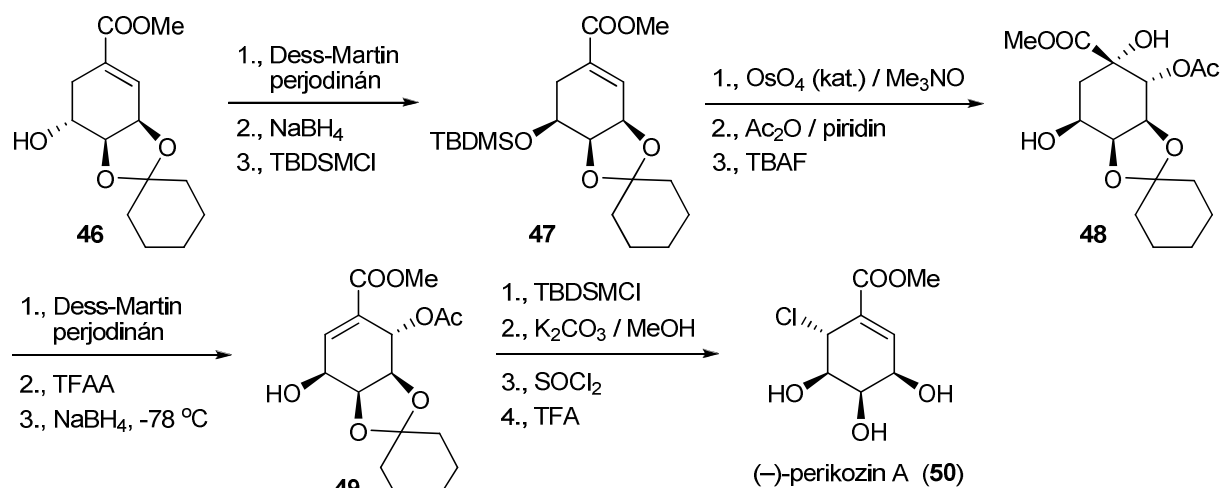
7. ábra

Usami és munkatársainak több közleménye is a perikozin A (**5**) előállításával és sztereokémiájával foglalkozik, a Numata kutatócsoportja által feltételezett²⁰ relatív konfigurációval rendelkező **5**-öt (–)-kinasavból (**33**) szintetizálják meg.^{30,31} Mivel a kapott vegyület (**44**) spektrális adatai nem egyeznek a természetes perikozin A-éval, megállapítják, hogy a természetes vegyület relatív konfigurációjának asszignálása nem helyes. Ezenkívül **5** C-6 epimerjét (**45**) is előállították (**8. ábra**).



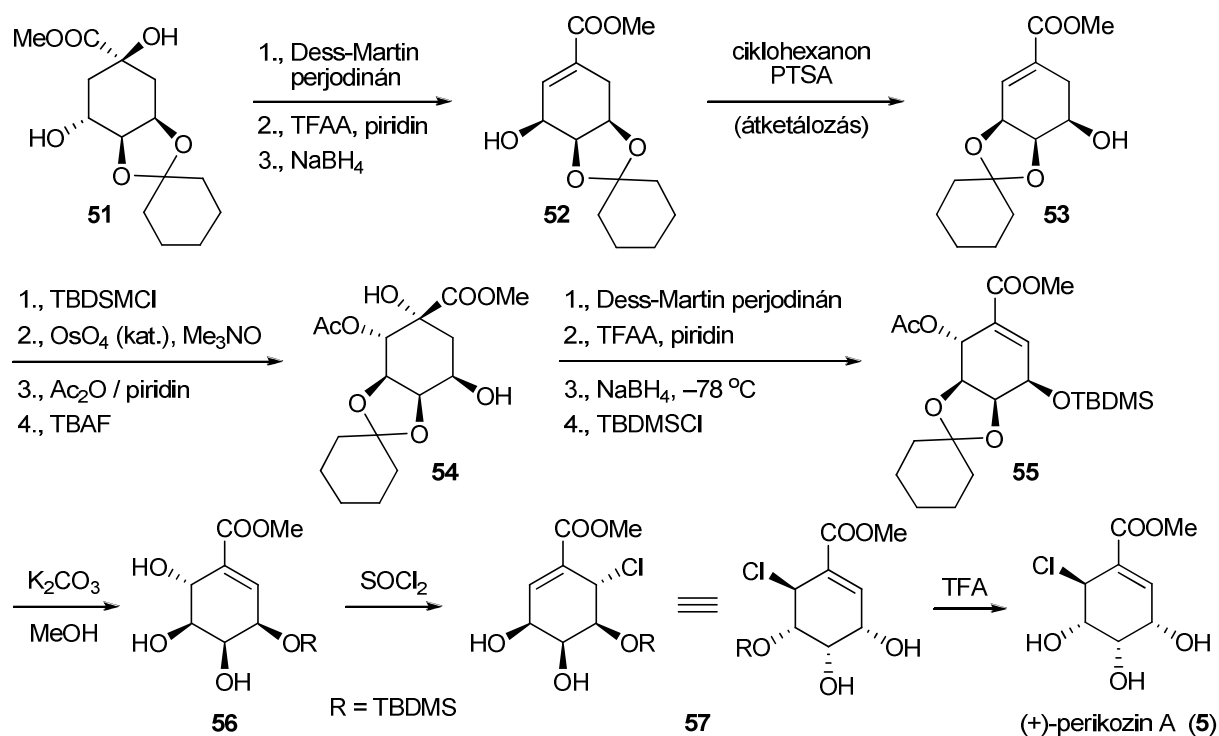
8. ábra

Usami és kutatócsoportja 2006-ban megjelent munkájában³² arról számol be, hogy a **46**-os (–)-sikimisav származékból előállították **50**-et, mely forgatóképességének előjelétől eltekintve megegyezett a természetes (+)-perikozin A-val (**5**), tehát annak enantiomerjét, a (–)-perikozin A-t (**50**) kapták (9. ábra). Ily módon megállapítást nyert, hogy **5** abszolút konfigurációja: 3*S*,4*S*,5*S*,6*S*.



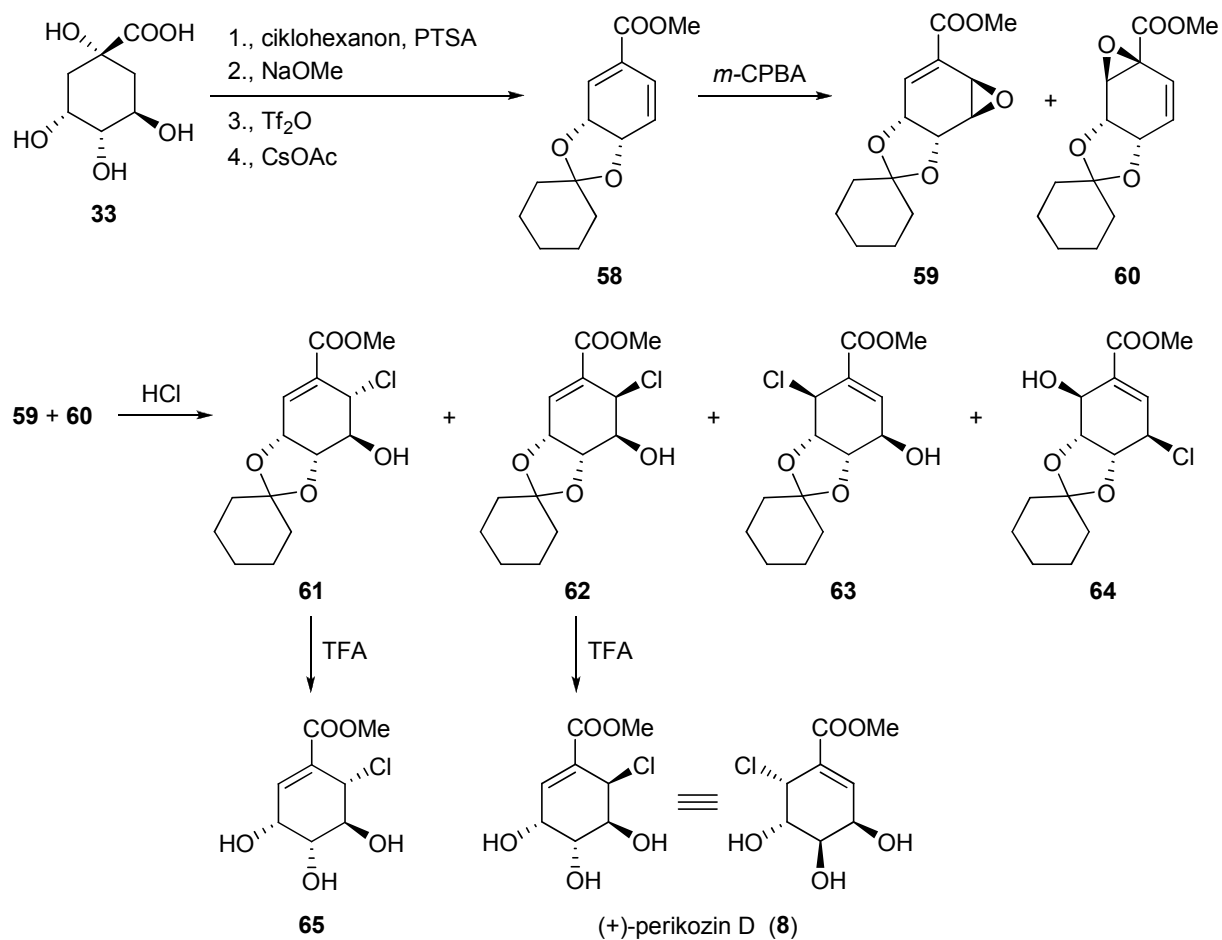
9. ábra

Usami és munkatársainak 2007-es közleménye³³ a 2006-os munka³² részletesebb leírása, melyben a természetes (+)-perikozin A-t (**5**) is szintetizálják a (–)-kinasavból nyert **51**-ből (10. ábra).



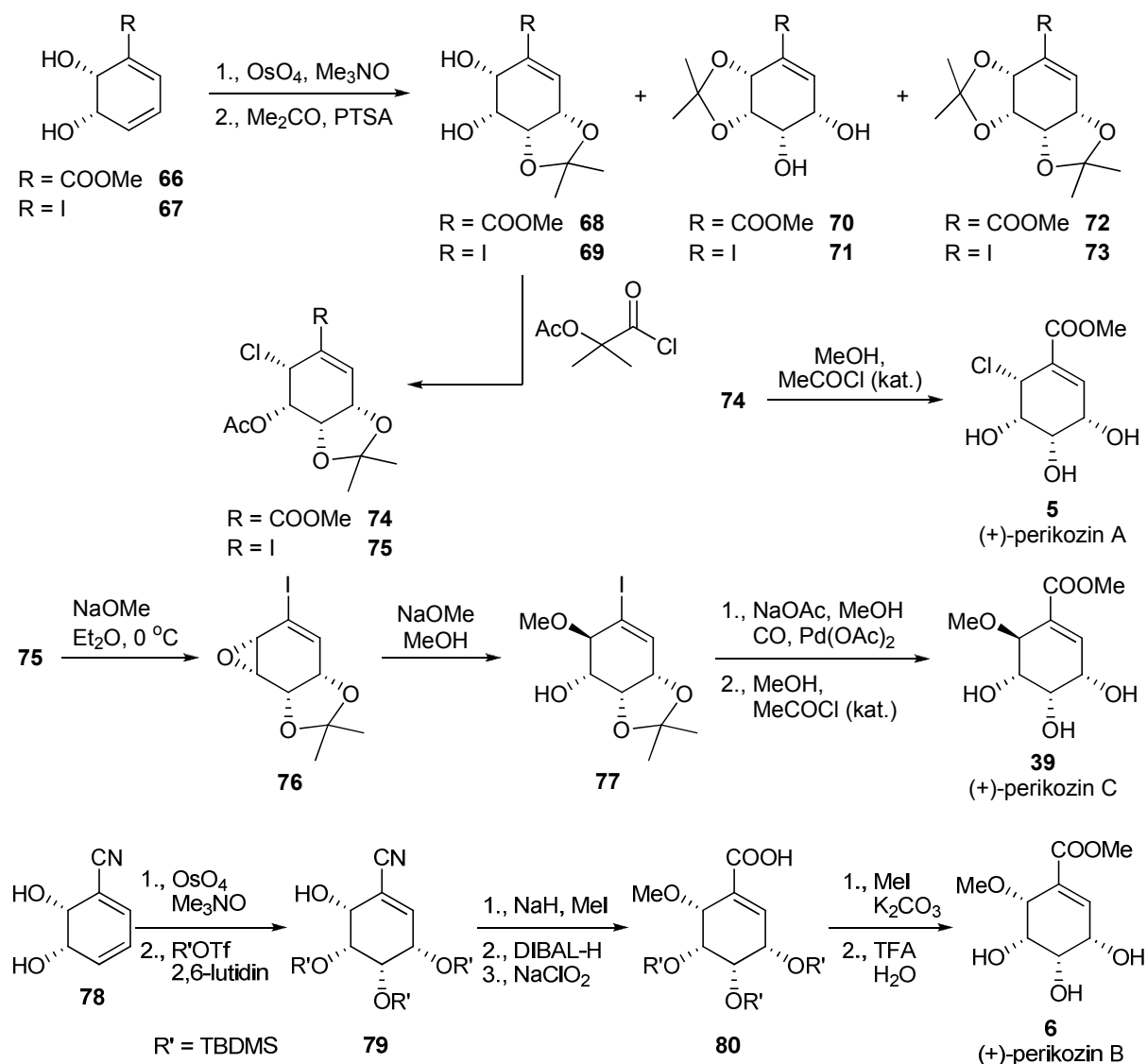
10. ábra

2008-ban szintén Usami és munkatársai (–)-kinasavból (**33**) szintetizáltak két perikozin A diasztereomert (**65**, **8**; **11. ábra**).³⁴ A **62**-ből kapott vegyület azonosnak bizonyult a (+)-perikozin D-vel (**8**), így annak abszolút konfigurációja (3*R*,4*R*,5*S*,6*R*) ismertté vált.



11. ábra

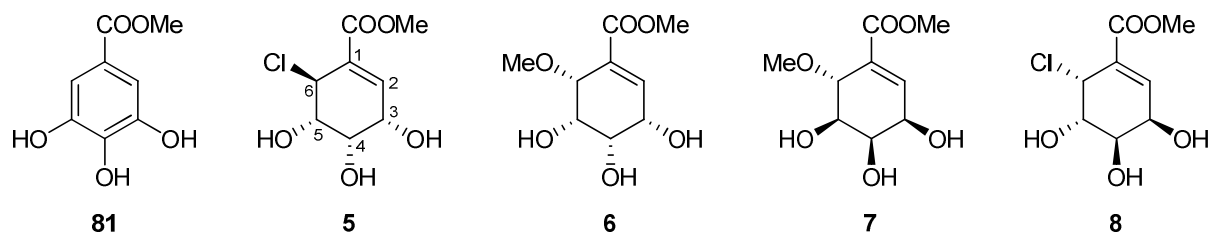
Boyd és kutatócsoportja a (+)-perikozin A (**5**), (+)-perikozin B (**6**) és (+)-perikozin C (**39**) kemoenzimatis elállítását mutatták be 2010-ben, az általuk használt stratégia ezidáig a legrövidebb úton megvalósított szintéziseket képviseli (**12. ábra**).³⁵ A kiindulási vegyületek (**66**, **67**, **78**) előállítása rendre metil-benzoátból, jódbenzolból és benzonitrilből történt mutáns *Pseudomonas putida* (UV4, 39D) vagy rekombináns *Escherichia coli* törzsek segítségével, melyek toloul-dioxigenázzal rendelkeznek.



12. ábra

2.2. SAJÁT VIZSGÁLATOK

A szintézis kiindulási anyagaként a kereskedelmi forgalomban kapható és viszonylag olcsó metil-gallátot (**81**) választottuk. A **13. ábrán** látható **81** és **5–8** szubsztituáltsága és a szubsztituensek helyzete közötti nagyfokú hasonlóság.



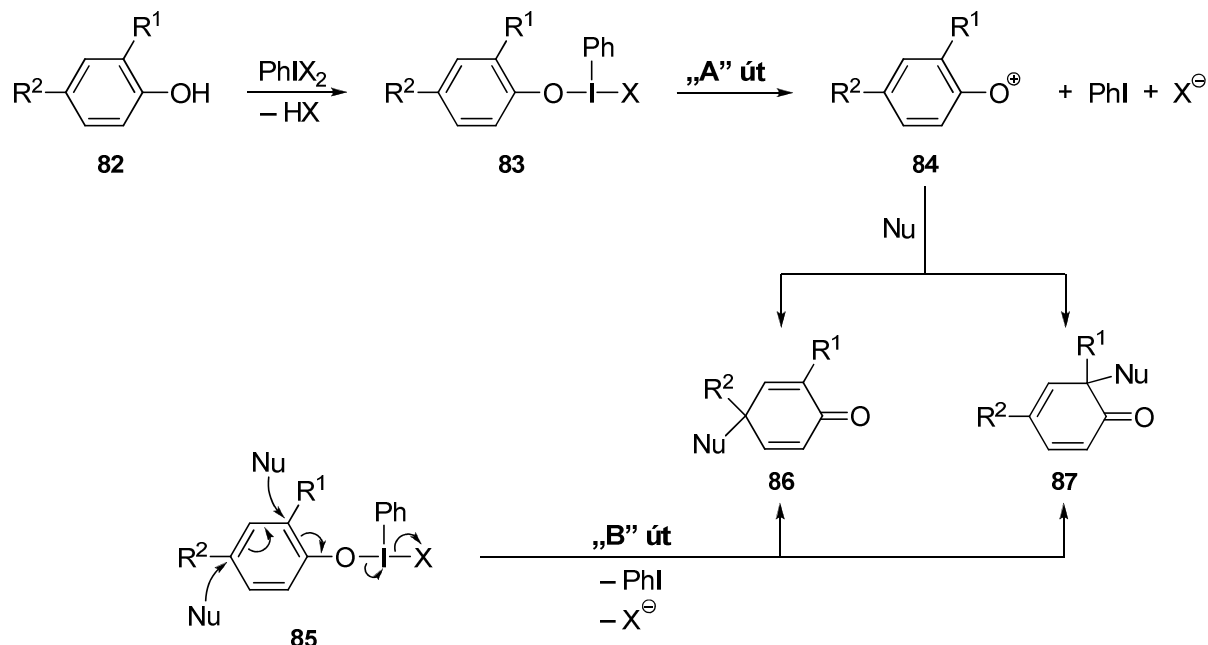
13. ábra: a metil-gallát (**81**) és a perikozinok (**5–8**) szerkezete

2.2.1. DEZAROMATIZÁCIÓ

Mivel a szintézis aromás vegyületből indul, az egyik kulcslépés egy megfelelő dezaromatizációs reakció. A fenolok dezaromatizációs oxidációja megvalósítható biológiai, elektrokémiai és fotokémiai úton, a legelterjedtebb módszer viszont a kémiai oxidáció. Oxidálószerként eleinte különböző fémvegyületeket használtak, például Pb(IV) (Wessely-oxidáció³⁶), Tl(III), Bi(V), V(IV), V(V), Mn(IV), Ag(I), Fe(III), Cu(II), Cu(I) és Ce(IV) származékokat. Később halogéntartalmú szerves vegyületekkel bővült ki az oxidálószerkör: 2,3-diklór-5,6-diciano-1,4-benzokinon (DDQ), tetraklór-1,2-benzokinon (*o*-klóranyl), *N*-bróm-szukcinimid (NBS), 2,4,4,6-tetrabrómciklohexa-2,5-dienon, fenil-trimetilammónium-tribromid. Ezenkívül perjódsvavat, valamint higany(II)-oxid jelenlétében hipobromitokat, brómot és jódot is használtak. Manapság a fentebb említett oxidálószereket fenolok oxidálására már kevésbé használják, szerepüket a könnyen kezelhető és kevésbé mérgező hipervalens jódvegyületek^{37,38} vették át. Ezekben a jód +3-as oxidációs állapotban van. Használatukat nagymértékben elősegítette kereskedelmi forgalomba hozataluk. Legismertebb képviselőik a bisz(aciloxi)jód-arének csoportjába tartozó diacetoxi-jódbenzol (PhI(OAc)₂; DAIB, DIB), más néven feniljodónium-diacetát (PIDA) és a bisz(trifluoracetoxi)-jódbenzol (PhI(OCOCF₃)₂; BTI), másik néven feniljodónium-bisz(trifluoracetát) (PIFA).

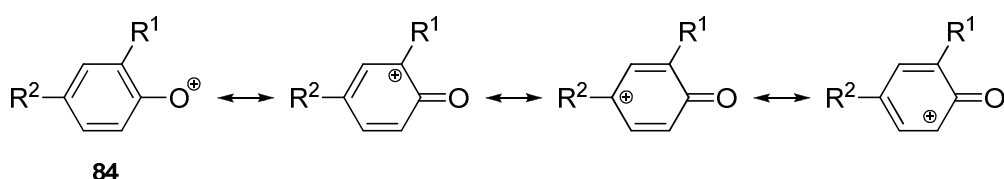
A fenolok hipervalens jódvegyületekkel, nukleofil (Nu) jelenlétében történő oxidációjának mechanizmusára Pelter és munkatársai³⁹ két feltételezést tettek. Az egyik szerint („A” út) szolvatált fenoxénium-ion (**84**) keletkezik, míg a másikban („B” út) a **85**-ös

disszociálatlan intermediereken át játszódik le az oxidációs folyamat (**14. ábra**). Kürti és munkatársai⁴⁰ által végzett kísérletek és kvantumkémiai számítások, valamint az a tény, hogy királis jódóniumvegyülettel, illetve homokirális alkoholban, mint oldószerben végzett reakciókban nem tapasztaltak királis indukciót, egyaránt az „A” utat valószínűsíti.



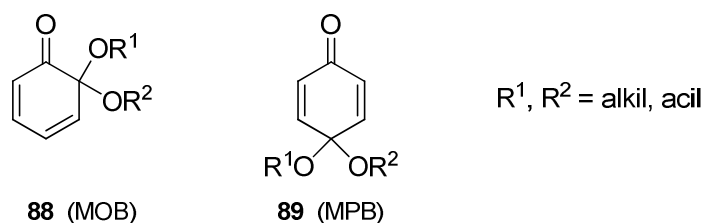
14. ábra: a hipervalens jódvegyületek általi dezaromatizációs oxidáció feltételezett mechanizmusai

A nukleofil a fenolos hidroxilcsoporthoz képest *orto* és/vagy *para* helyzetbe lép be. Ez a tény is összhangban áll az ionos reakciómechanizmussal, mivel a fenoxénium-ion rezonanciaformáiban *orto* és *para* helyzetben lokalizálódik a pozitív töltés (**15. ábra**).



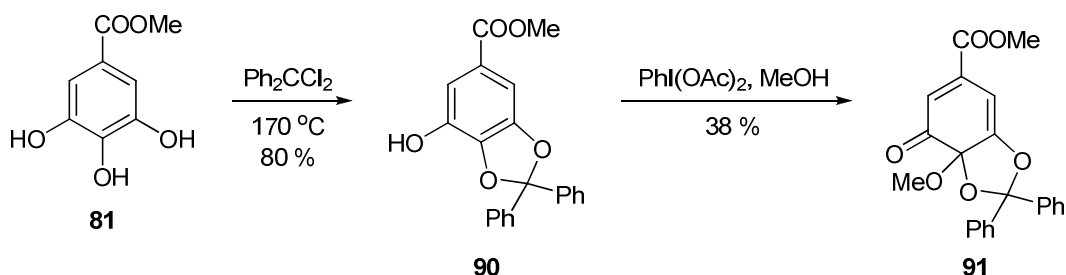
15. ábra: a fenolok oxidációja során keletkező oxénium-ion (84) rezonanciaformái

A reakció regioszelektivitása az R^1 és R^2 szubsztituensek térkitöltésén kívül függ azok elektronküldő képességétől is. A módszer tehát ciklohexa-2,5-dienonok (**86**) vagy ciklohexa-2,4-dienonok (**87**) előállítására alkalmas. Legnagyobb szintetikus jelentőséggel a maszkírozott *orto*-benzokinonok (MOB, **88**) és *para*-benzokinonok (MPB, **89**) bírnak (**16. ábra**), melyek jellemzően dimerizációs, 1,2-addíciós, 1,4-addíciós (konjugált addíció), inter- és intramolekuláris [4+2] cikloaddíciós reakciókba vihetők, így módon számos vegyület szintézisében kiindulási vegyületként szolgálnak.^{41,42,43}



16. ábra: a maszkírozott orto- (**88**) és para-benzokinonok (**89**) általános szerkezeti képlete

Szintézisünk dezaromatizációs lépését PIDA-val valósítottuk meg. Az oxidáció előtt **81** három hidroxilcsoportja közül kettőt szelektíven védeni kellett. Erre a célra kifejezetten alkalmasak az acetál típusú védőcsoportok. Választásunk a difenilmetilén-acetál csoportra esett, két okból is: egyrészt ezen acetál savas közegre (beleértve a savas karakterű szilikagélen történő tisztításokat is) kevésbé érzékeny, mint a leggyakrabban alkalmazott izopropilidén-acetálok, másrészt a védőcsoport nagy térkitöltése kedvezően hathat a molekulán későbbiekben végrehajtott reakciók sztereoszelektivitására. A difenilmetilén-acetál kialakítása Jurd módszerével⁴⁴ történt: a metil-gallátot difenildiklórmétánban szuszpendáltuk és 170 °C-on addig melegítettük, míg az eleinte intenzív sósavfejlődés minimális szintre nem csökkent. A nyers termék átkristályosítása után a védett gallát (**90**) 80 %-os hozammal nyerhető. A dezaromatizációs oxidációt metanolban, PIDA-val végeztük. A teljes konverzióhoz a reagensből két mólekvivalenst kellett használni. A kiterjedt konjugáció miatt élénksárga színű terméket racemát formában (**91**), 38 %-os hozammal kaptuk meg. Ezen viszonylag alacsony hozam oka valószínűleg az oszlopkromatográfiás tisztítás folyamán **91** szilikagélen való bomlása, ugyanis a reakció vékonyrétegekromatogramján nem detektálhatók olyan számban és mennyiségben bomlás- vagy melléktermékek, melyek ezen alacsony hozamot okozhatnák. A szilikagélen történő bomlás szemmel látható, ugyanis **91** gélen való haladásakor folyamatosan barna anyagot hagy hátra. A instabilitást a vegyes acetálos szerkezet okozhatja. A tiszta termék hűtőszekrényben hónapokig számottevő bomlás nélkül eltartható.



17. ábra

Az aromás szerkezet megbontásával kapott **91** egyrészt királis molekula, másrészt a konjugált kettőskötés Diels–Alder cikloaddícióra alkalmas.

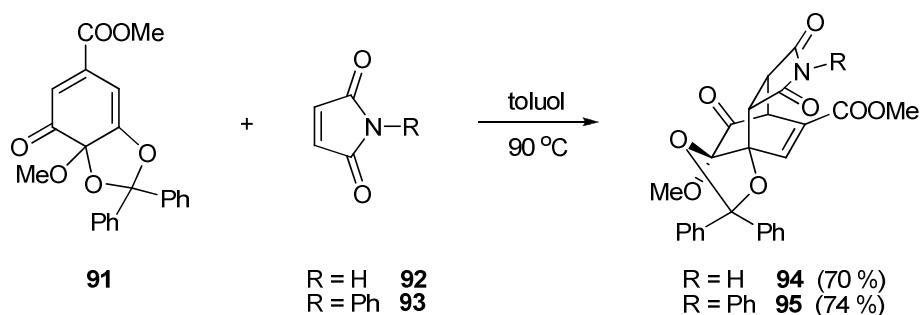
2.2.2. A CIKLOHEXADIENON KÖZTITERMÉK DIELS–ALDER REAKCIÓI

A dezaromatizáció után a szintézis harmadik, szintén kulcslépésnek tekinthető átalakítása az áthidalt gyűrű létrehozása, mely **91** dién mivoltát kihasználva Diels–Alder cikloaddícióval történt.

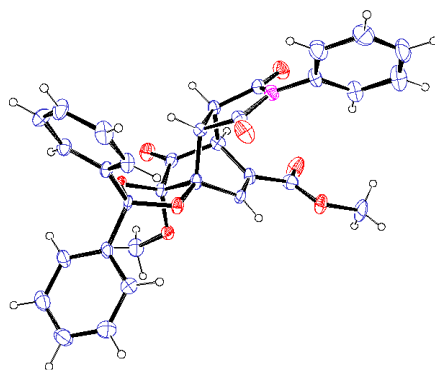
91 cikloaddíciós reakciói biciklo[2.2.2]oktén vázas vegyületeket eredményeznek. A dién szubsztituenseit megvizsgálva láthatjuk, hogy köztük elektronküldő és elektronszívó csoportok egyaránt megtalálhatók. Elektronküldő a három oxigénatomon keresztül kapcsolódó acetálszerkezet, elektronszívók pedig az oxo- és a metoxikarbonilcsoport. Ezen tényt figyelembe véve a Diels–Alder reakció *normál*, illetve *inverz* elektronszükségletű módon is megvalósulhat. Normál reakcióban a dién HOMO és a dienofil LUMO pályáinak, inverz esetben a dién LUMO és a dienofil HOMO pályáinak átfedése révén alakulnak ki az új szén-szén kötések.

Mivel **91** racemátként vesz részt a reakciókban, a belőle képződő termékek természetesen szintén racemátok lesznek. Az egyszerűség kedvéért azonban az ezen vegyületeket tartalmazó ábrákon (beleértve az ORTEP-ábrákat is) csak az egyik enantiomer van feltüntetve.

91-et először elektronban szegény maleimiddel (**92**) illetve *N*-fenil-maleimiddel (**93**) reagáltattuk. Szobahőmérsékleten nem történt reakció, 90 °C-on azonban mindkét dienofil reakcióba lépett, melyben a **94** illetve a **95** cikloadduktumok keletkeztek. Mindkét reakció diasztereoselektív volt, a termékek *endo* adduktumok, a pirrolidindion gyűrű a ketálos metoxicsoporthoz képest *anti* helyzetű. **95** szerkezetét röntgendiffrakciós méréssel határoztuk meg (19. ábra).



18. ábra



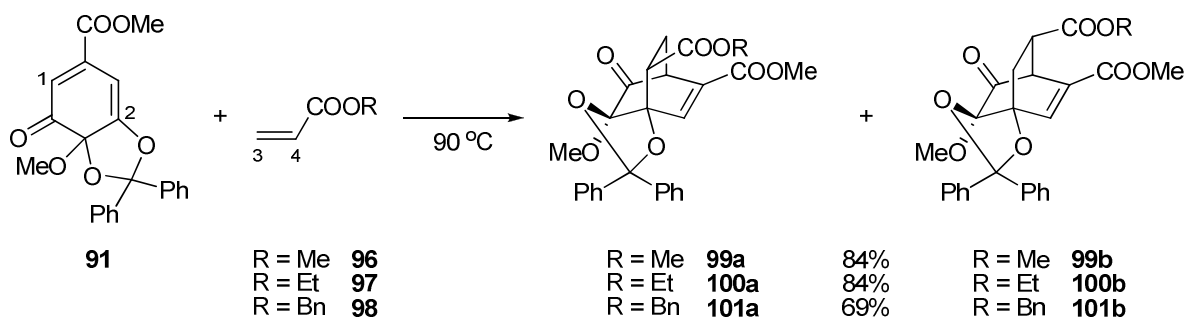
19. ábra: **95** szerkezete

Az **2. táblázat** a dién, a maleimid és az *N*-fenilmaleimid HOMO és LUMO energiáit és az energiakülönbségeket mutatja. (A dienofileknél valójában a HOMO–2 pályát kell figyelembe venni, mert a HOMO pálya nem a reakcióban részt vevő szénatomokon lokalizálódik.) Mindkét esetben a dién HOMO és a dienofil LUMO pályáinak energiakülönbsége a kisebb, így normál elektronszükségletű reakciókról van szó. A számításokat HF/STO-6G módszerrel végeztük.

	Pályaenergiák [eV]		Δ HOMO _{dién} – LUMO _{dienofil}	Δ HOMO _{dienofil} – LUMO _{dién}
	HOMO	LUMO		
dién (91)	– 7,37	4,38	–	–
maleimid (92)	– 9,93 (HOMO–2)	4,63	12,00	14,31
<i>N</i> -fenilmaleimid (93)	– 9,23 (HOMO–2)	4,52	11,89	13,61

2. táblázat

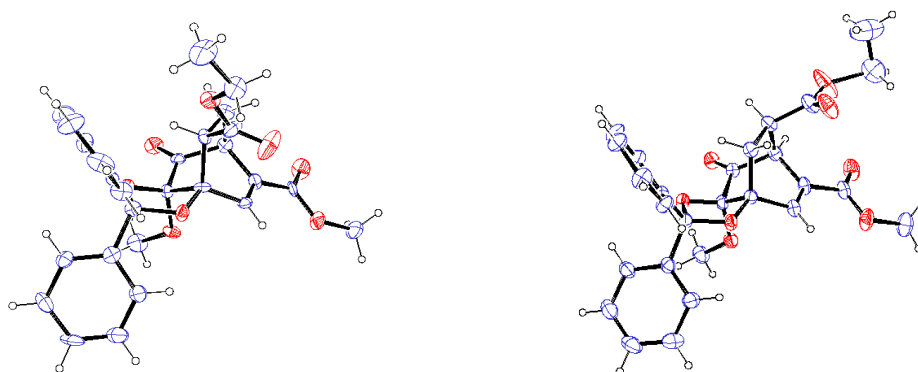
Az elektronban szegény dienofilek csoportjába tartozó akrilsavészterekkel is végeztünk kísérleteket. Mind a metil- (**96**), az etil- (**97**) és a benzil-akrilát (**98**) reagált a diénnel, minden egyes reakcióban két regioizomer képződött (**3. táblázat**), viszont a diasztereoselektivitás teljes volt. (**20. ábra**)



20. ábra

Dienofil	Regioizomerek aránya
96	99a : 99b = 79 : 21
97	100a : 100b = 80 : 20
98	101a : 101b = 89 : 11

3. táblázat



21. ábra: **100a** és **100b** szerkezete

Bár az akrilsavészterek a maleimidekhez hasonlóan elektronban szegény dienofilek, azokkal ellentétben számításaink szerint reakciójuk nem normál, hanem inverz elektron-szükségletű (**4. táblázat**). A Houk-szabály³ értelmében a kisebb pályakoefficiensű atom a kisebbel, a nagyobb koefficiensű a nagyobbal létesít kötést, így módon a regioszelektivitás az esetek többségében megjósolható. A megfelelő szénatomok koefficienseit összevetve (**5. táblázat**) azt találjuk, hogy nincsenek jelentős eltérések a dienofilek 3-as és 4-es szénatomjainak koefficiensei között, tehát mindkét regioizomer keletkezésére számítani lehet, ez valóban így is történt. A termékek szerkezetmeghatározásánál a röntgendiffrakció (21. ábra) és az NMR spektroszkópia együttesen volt segítségünkre.

	Pályaenergiák [eV]		Δ HOMO _{dién} – LUMO _{dienofil}	Δ HOMO _{dienofil} – LUMO _{dién}
	HOMO	LUMO		
dién (91)	– 7,37	4,38	–	–
metil-akrilát (96)	– 9,01	6,23	13,60	13,39
etil-akrilát (97)	– 8,90	6,29	13,66	13,28
benzil-akrilát (98)	– 9,03 (HOMO–2)	6,20	13,57	13,41

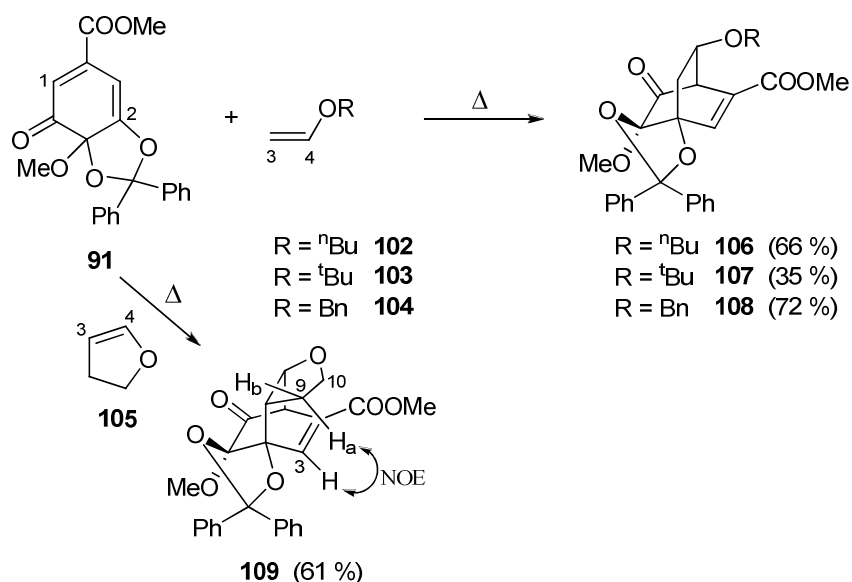
4. táblázat

	Pályakoefficiensek			
	1-es atom	2-es atom	3-es atom	4-es atom
dién (91)	0,479	0,393	–	–
metil-akrilát (96)	–	–	– 0,423	– 0,451
etil-akrilát (97)	–	–	– 0,368	– 0,397
benzil-akrilát (98)	–	–	– 0,427 (HOMO–2)	– 0,455 (HOMO–2)

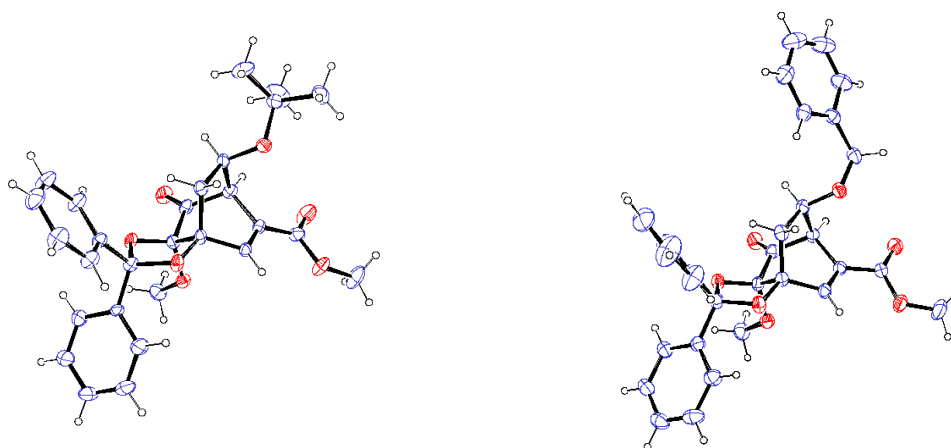
5. táblázat

Említésre méltó különlegesség, hogy **100a** és **100b** ^1H -spektrumában az etoxicsoport metilénprotonjainak jele nem a várt kvartett, hanem **100a** esetében dupla kvartett, **100b** esetében két dupla kvartett. A jelenség ismert az irodalomból: olyan etil- (de főleg etoxi-) csoportokra jellemző, melyek közvetlen közelében aszimmetrikus szénatom van, a C–O kötés menti gátolt rotáció eredményeként pedig a metilénprotonok mágnesesen nem egyenértékűek egymással.^{45,46,47}

Viniléterekkel, mint elektronban gazdag dienofilekkel szintén sikerült **91**-et reakcióba vinni (**22. ábra**): *n*-butil- (**102**), *t*-butil- (**103**) és benzil-vinil-éterrel (**104**), valamint 2,3-dihidrofuránnal (**105**). Érdekes módon 3,4-dihidro-2*H*-piránnal egyáltalán nem történt reakció. **107** és **108** szerkezetét röntgendiffrakciós vizsgálat támasztotta alá (**23. ábra**), **109** szerkezetét NOESY mérések igazolták.



22. ábra



23. ábra: **107** és **108** szerkezete

A **6. táblázatból** látszik, hogy a viniléterekkel való reakciók egyértelműen inverz elektronszükségletűek.

	Pályaenergiák [eV]		Δ HOMO _{dién} – LUMO _{dienofil}	Δ HOMO _{dienofil} – LUMO _{dién}
	HOMO	LUMO		
dién (91)	– 7,37	4,38	–	–
<i>n</i> -butil-vinil-éter (102)	– 7,54	8,95	16,32	11,92
<i>t</i> -butil-vinil-éter (103)	– 7,32	9,09	16,46	11,70
benzil-vinil-éter (104)	– 7,48	8,90 (LUMO+2)	16,27	11,86
2,3-dihidrofurán (105)	– 7,27	8,84	16,21	11,65

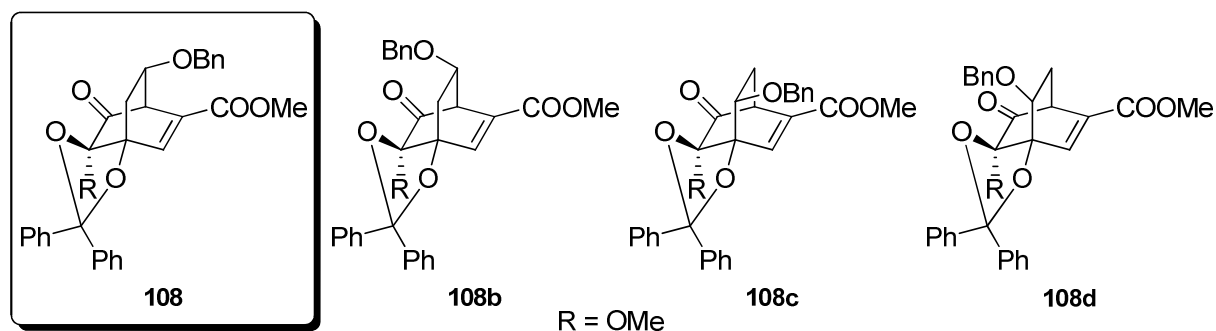
6. táblázat

A pályakoefficienseket összehasonlítva (**7. táblázat**) azt várnánk, hogy mindegyik esetben az 1-es atom a 3-assal, a 2-es pedig a 4-essel létesít kötést. A Houk-szabály jelen esetben nem jut érvényre, miszerint kizárólag a nem várt regioizomerek (**106–109**) keletkeztek.

	Pályakoefficiensek			
	1-es atom	2-es atom	3-es atom	4-es atom
dién (91)	0,479	0,393	–	–
<i>n</i> -butil-vinil-éter (102)	–	–	– 0,598	– 0,412
<i>t</i> -butil-vinil-éter (103)	–	–	– 0,600	– 0,405
benzil-vinil-éter (104)	–	–	– 0,369	– 0,247
2,3-dihidrofurán (105)	–	–	– 0,589	– 0,413

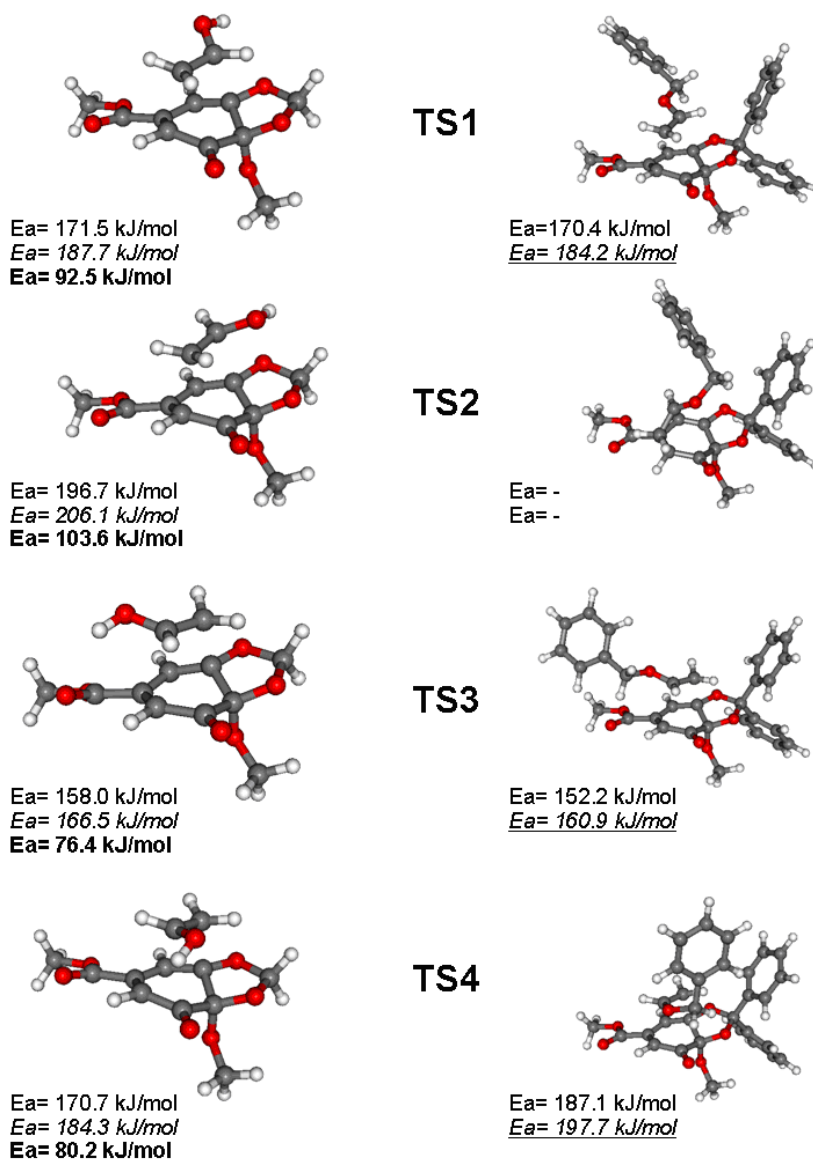
7. táblázat

Bár a **91**-es racém dién benzil-vinil-éterrel való cikloaddíciója kizárólag a racém **108**-at eredményezte, a reakcióban elméletileg négy regiomer, illetve diasztereomer (racém formában) keletkezhet. A lehetséges termékek (enantiomerjeik feltüntetése nélkül) a **24. ábrán** láthatók. **108** a reakció egyedüli terméke.



24. ábra: **91** és a benzil-vinil-éter Diels–Alder reakciójának lehetséges termékei (a vegyületek tükörképi párjainak feltüntetése nélkül)

A **25. ábrán** a reakció lehetséges átmeneti állapotai vannak feltüntetve, a hozzájuk vezető utak aktiválási energiáival együtt. A különböző stílusban írt értékek a különböző módszerrel kapott eredményeket jelzik. Az első oszlopban a reaktánsokat modellvegyületek helyettesítik: a fenilcsoportok illetve a benzilcsoport hidrogénatomokra vannak cserélve. A modellvegyületek alkalmazásának előnye, hogy így módon a szterikus hatások megkülönböztethetők az elektronos hatásoktól.

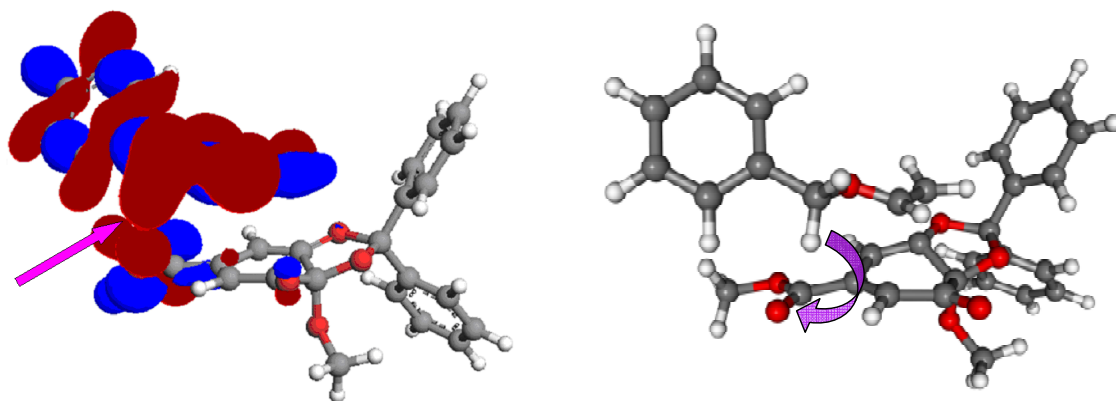


25. ábra: **91** egyszerűsített modellje és a benzil-vinil-éter (bal oldali oszlop), valamint **91** és a benzil-vinil-éter (jobb oldali oszlop) Diels–Alder addíciójának lehetséges átmeneti állapotai, azok aktiválási energiáival

Számítási módszerek: HF/6-31G, HF/6-31G(D), HF/6-31G(D,P), **B3LYP/6-31G(D)**

Mind a modellvegyületekkel, mind a „valódi” reaktánsokkal felírt átmeneti állapotok közül a „TS3” jelzésű rendelkezik a legkisebb aktiválási energiával, függetlenül az alkalmazott számítási módszertől. Ez összhangban áll a reakció kimenetelével. A „TS2” átmeneti állapothoz a nagy térkitöltésű fenilcsoportok taszítása miatt nem lehet eljutni. A kapott eredmény, miszerint a modellvegyületek esetén is a „TS3” átmeneti állapot a kedvezményezett, erős elektronos hatások hozzájárulására utal. A Mayer kötésrend mátrixot⁴⁸ kiszámolva, a dién metoxikarbonil csoportjának karbonil-oxigénje és a dienofil metilén-csoportjának egyik hidrogénje között egy nagyobb, mint 0,01 kötésrendű kölcsönhatás

figyelhető meg. Ez az érték nagyobbak bizonyult, mint az átmeneti állapotban létrejövő bármelyik O...H másodlagos kölcsönhatás. A megfelelő molekulapályákat megvizsgálva kiderült, hogy a HOMO–13 pálya – mely mind a diénhez, mind a dienofilhez tartozik – a fentebb említett két atom között nem elhanyagolható elektronsűrűséget mutat (**26. ábra**).



26. ábra: a „TS3” átmeneti állapotban megfigyelhető kedvező kölcsönhatás

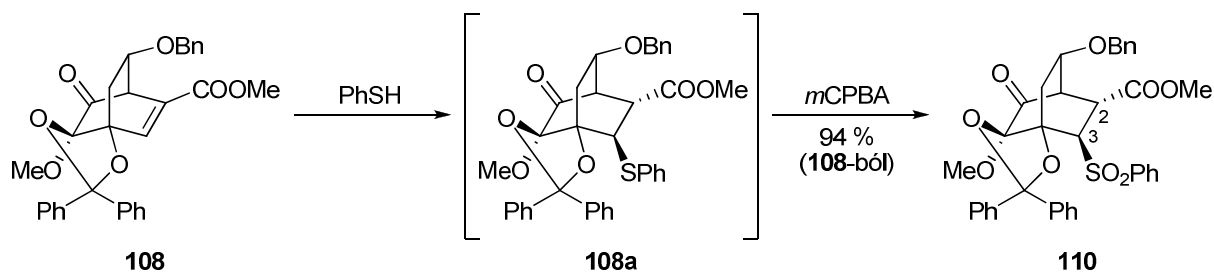
Megállapítható tehát, hogy ezen másodlagos kölcsönhatás stabilizálja a „TS3” átmeneti állapotot, mely így kedvezményezetté válik még akkor is, ha nem teljesül a Houk-szabály.

A szintézis ezen pontján megállapíthatjuk, hogy egy egyszerű, akirális aromás vegyületből három szintetikus lépésben teljesen diasztereoselektív módon egy négy kiralitáscentrummal rendelkező molekulát hoztunk létre.

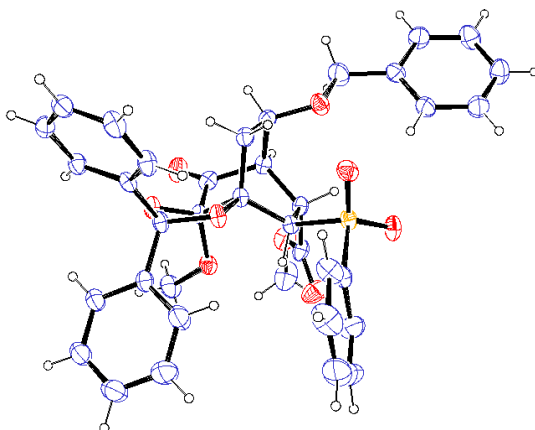
2.2.3. A DIELS–ALDER ADDUKTUM ÁTALAKÍTÁSA PERIKOZIN ANALÓGGÁ

108 funkciós csoportjait megvizsgálva láthatjuk, hogy a perikozinokban megtalálható hidroxilcsoportok kialakítása egyszerű módszerekkel megvalósítható: az oxocsoport redukciójával, a kettős acetál hidrolízisével, s a hidrolízissel keletkező keton redukciójával a három hidroxilcsoport létrehozható. A perikozinok 6-os helyzetében lévő klór, illetve metoxi szubsztituens helyén esetünkben hidrogénatom fog szerepelni. A cikloaddícióval kialakított áthidaláson lévő benziloxicsoport katalitikus hidrogénezéssel könnyen hidroxilcsoporttá alakítható. Ezen műveletek viszont szükségessé teszik a szén-szén kettőskötés átmeneti védelmét, ugyanis a hidrogénezés során, illetve bármilyen hidridreagens alkalmazásakor – α,β -telítetlen észterről lévén szó – redukciót szenvedne. Ezen okból – jelen esetben kihasználva **108** α,β -telítetlen oxovegyület jellegét – tiofenolt addíciónáltunk a kettőskötésre.

A képződött **108a** szulfidot ugyanis szulfonná oxidálva, s azt eliminálva a későbbiekben a szén-szén kettőskötés visszanyerhető. **108a**-t nem volt szükséges elkülöníteni a reakcióelegyből, a szulfonná (**110**) történő oxidáció *m*-klórperbenzoesavval egylobbikos módszerrel kivitelezhető volt, melynek további előnye, hogy az oxidálószer a feleslegben lévő, igen intenzív, kellemetlen szagú tiofenolt csaknem szagtalan oxidációs termékekké alakítja.



27. ábra

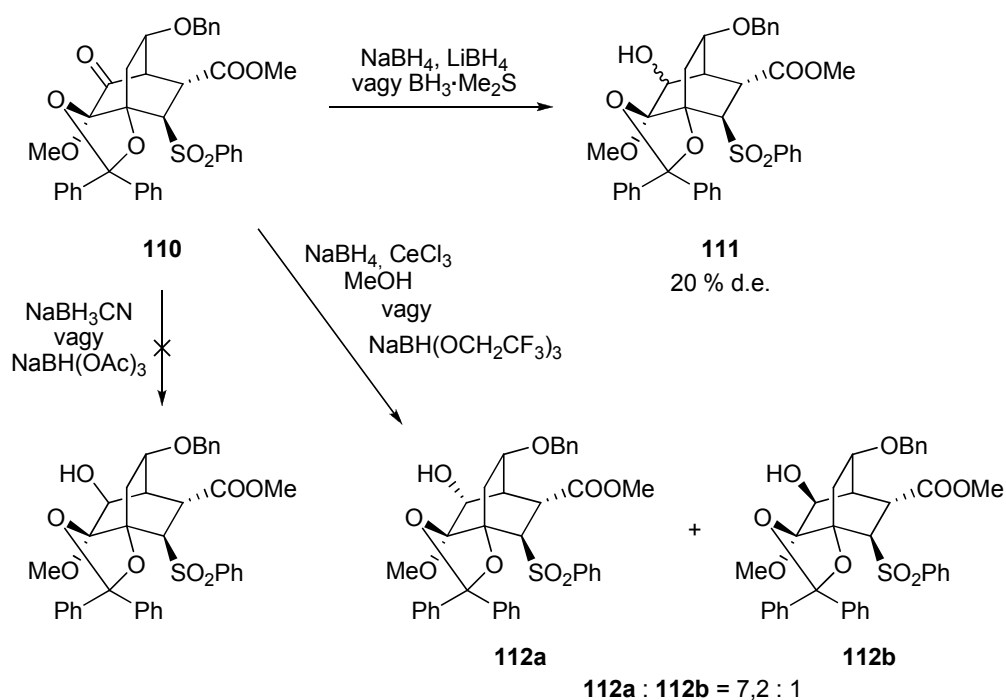


28. ábra: **110** szerkezete

A röntgendiffrakciós vizsgálat alapján a konjugált addíció *transz* sztereokémiájú terméket eredményezett (**28. ábra**).

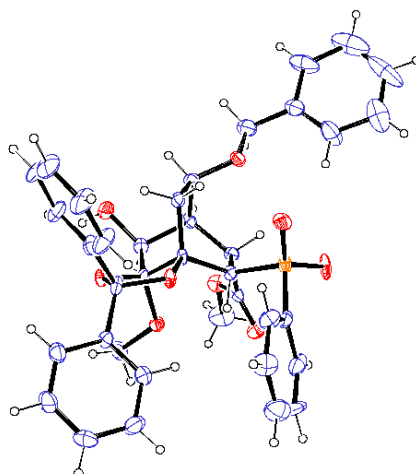
A következő lépés az oxocsoport hidroxilcsoporttá történő sztereoszelektív redukciója volt. Nátrium-tetrahidridoborát, lítium-tetrahidridoborát vagy borán-dimetilszulfid alkalmazásával diasztereomer elegyet kaptunk, a reakcióelegy vékonyrétegekromatogramja alapján a két izomer kb. azonos arányban keletkezett. Nátrium-trihidridocianoborátot és nátrium-triacetoxihidridoborátot használva meglepő módon egyáltalán nem történt redukció. L-Selectrid®-et használva bonyolult reakcióelegyet kaptunk. Abban az esetben viszont, ha a nátrium-tetrahidridoborátos redukció előtt a reagenst cérium(III)-klorid metanolos oldatával

reagáltattuk, a diasztereomer arány jelentősen javult: 7.2:1-re. A lantanoida-kationok nátrium-tetrahidridoboráttal együtt, alkoholokban történő használata ismert az irodalomból, először Luche alkalmazta α,β -telítetlen ketonok regioszelektív 1,2-redukciójára,⁴⁹ valamint ketonok aldehidek jelenlétében történő szelektív redukciójára.⁵⁰ A cérium(III)-klorid alkalmazásával a kemoszелеktivitás mellett általában jó regio-⁵¹ illetve sztereoszelektivitás^{52,53,54,55,56,57,58,59} is elérhető. A cérium-triklorid katalizálja a metanol és a hidridoborát reakcióját, melyben metoxihidridoborátok ($\text{NaBH}_n(\text{OMe})_{4-n}$) képződnek.⁵⁰ Ezen nagyobb térkitöltésű metoxihidridoborátokkal jobb sztereoszelektivitás érhető el, mint nátrium-tetrahidridoboráttal. Ezenkívül a cérium(III) Lewis-savként való koordinálódása a keton oxigénatomjához szintén hozzájárulhat az elért sztereoszelektivitáshoz, melyet az bizonyít, hogy a reakciót cérium(III) alkalmazása nélkül, de ugyanolyan körülmények között elvégezve (tehát a nátrium-tetrahidridoborátot metanollal előzőleg reagálni hagyva) sokkal rosszabb sztereoszelektivitást tapasztaltunk. A módszer hátránya viszont a gyakorlati kivitelezésben rejlik, ugyanis a különböző metoxihidridoborátok képződési aránya nagyban függ az alkalmazott reakcióidőtől: kisebb időtartam alatt főleg a kevesebb metoxicsoprotot tartalmazó, valamint az elreagálatlan nátrium-tetrahidridoborát, hosszabb idő elteltével főleg a több metoxicsoprotot tartalmazó hidridek, illetve a redukcióra képtelen tetrametil-borát lesznek jelen. Előbbiek jobb hatásfokkal, de kevésbé sztereoszelektíven redukálnak, utóbbi hidridek bár sztereoszelektívebben, viszont reaktivitásuk kisebb. A másik problémát az jelenti, hogy ezen hidridek képesek diszproporcionálódni⁶⁰, mely reakció során az alacsonyabb sztereoszelektivitással redukáló nátrium-tetrahidridoborát keletkezik. Ezen faktorokat figyelembe véve **110** redukciójakor a diasztereoszelektivitás reprodukálhatósága nem volt megfelelő. Szintén a módszer hátránya volt az is, hogy az előzőekből kifolyólag a reagenst több (4–5) részletben és nagy feleslegben kellett külön elkészíteni és a keton oldatához adni, ily módon nagyobb mennyiségű cérium(III)-klorid volt szükséges. Másik redukáló ágenst keresve jutottunk el a nátrium-trisz(trifluoretilláto)hidridoboráthoz, melyet Golden és munkatársai írtak le.⁶⁰ A reagens nátrium-tetrahidridoborát és trifluoretanol reakciójával készíthető el és legfőbb előnye, hogy gyakorlatilag nem szenved diszproporciót, tehát a többszöri képzés/adagolás is mellőzhető. Alkalmazásával ugyanolyan diasztereoszelektivitást (76 % d.e.) értünk el, mint a cérium-trikloridos módszerrel.



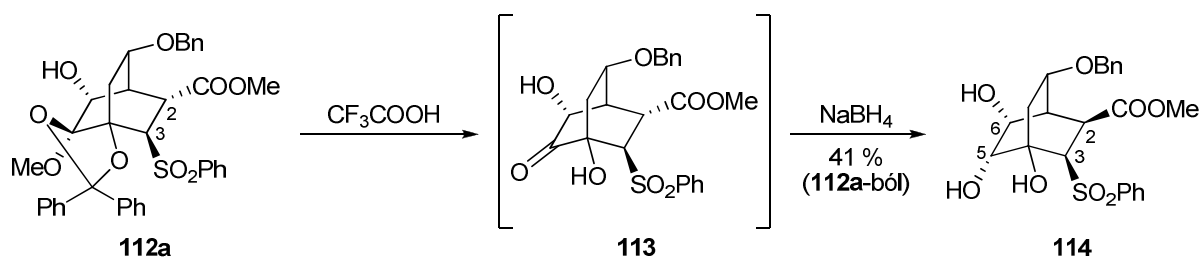
29. ábra

A diasztereomerek (**112a** és **112b**) elválasztása oszlopkromatográfiásan kivitelezhető volt, a hidroxilcsoport térállásának meghatározása a termékekben **112b** röntgendiffrakciós vizsgálatával történt (30. ábra). A szintézist **112a**-val folytattuk.



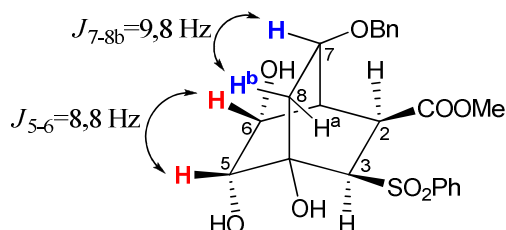
30. ábra: **112b** szerkezete

Az acetálszerkezet trifluorecetsavas hidrolízise a **113**-as α -hidroxiketont eredményezi, melyet izolálás nélkül redukáltunk nátrium-tetrahidridoboráttal (31. ábra).



31. ábra

114-ben az egymáshoz képest *cisz* helyzetben lévő H-7 és H-8b csatolási állandója 9,8 Hz. Ehhez közeli csatolással (8,8 Hz) rendelkeznek a H-5 és H-6 protonok is. Mivel a diéderes szög H-7 és H-8b, illetve H-5 és H-6 esetén nagyon hasonló (kb. 10°), következésképpen a ketonredukció során képződött hidroxilcsoport a már meglévővel szintén *cisz* térállású (**32. ábra**).

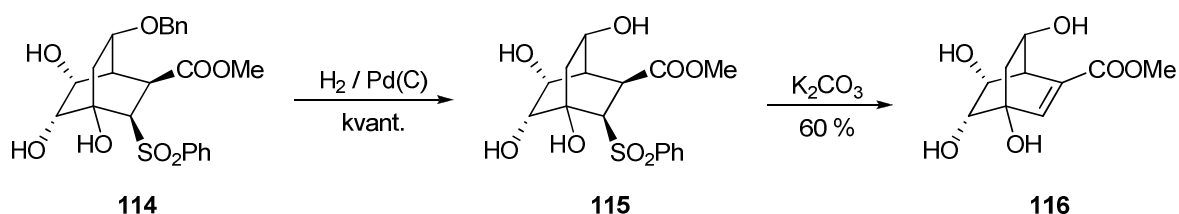


32. ábra: **114** térszerkezetének szemléltetése

112a és **114** ^1H -NMR spektrumát összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy H-2 és H-3 csatolási állandója 4,0 Hz-ről 8,6 Hz-re változott. Ezt a nagymértékű eltérést nem okozhatja a molekula (mely eléggé fix vázszerkezettel bír) konformációjában bekövetkező esetleges kismértékű változás. Megállapítható tehát, hogy az érintett szénatomok (C-2, C-3) egyikén inverzió következett be, tehát H-2 és H-3 *transz* térállásból *cisz* helyzetbe kerültek. Mindkét említett atom elektronszívó szubsztituenssel rendelkezik, így mind H-2, mind H-3 savas karakterű. A redukció metanolban nátrium-tetrahidridoboráttal történik, az oldat kémhatása erősen lúgos, ezen bázikus körülmény kiválthatja az inverziót. A **110**-es vegyület **112a**-vá történő redukciójakor nem tapasztaltunk hasonló jelenséget; ez érthető is, hiszen mind a cérium(III)-kloridos, mind a nátrium-trisz(trifluoretiláto)hidridoborátos reakcióban a közeg kémhatása közel semleges. Az inverzió a 2-es szénatomon következett be, ugyanis a négykötéses H-3–H-8b csatolás ugyanúgy észlelhető, mint a szintézis eddigi (**110**, **112a**, **112b**) termékeiben.

A szintézis ezen stádiumában egy hét kiralitáscentrummal rendelkező vegyület egyetlen diasztereomerje (**114**) áll rendelkezésünkre, ami a kiindulási metil-gallát egyszerűségét tekintve jó eredménynek mondható.

A benzil védőcsoport eltávolítása katalitikus hidrogénezéssel kvantitatívan végbement, az utolsó lépés ezek után a fenilszulfonil-csoport eliminációjával a szén-szén kettőskötés regenerálása volt. Többféle bázist kipróbáltunk: trietilamin és DABCO használata nem vezetett reakcióhoz. A DBU szobahőmérsékleten szintén nem reagált, a 40 °C-on hosszas reakcióidő után keletkező termék molekulatömege 32 Daltonnal kisebb volt a vártnál, ez pedig laktonképződésre utal. Metanolban kálium-karbonátot használva viszont sikerült előállítani a szintézis célvegyületét (**116**), egy áthidalt gyűrűvel rendelkező perikozin analógot (**33. ábra**).



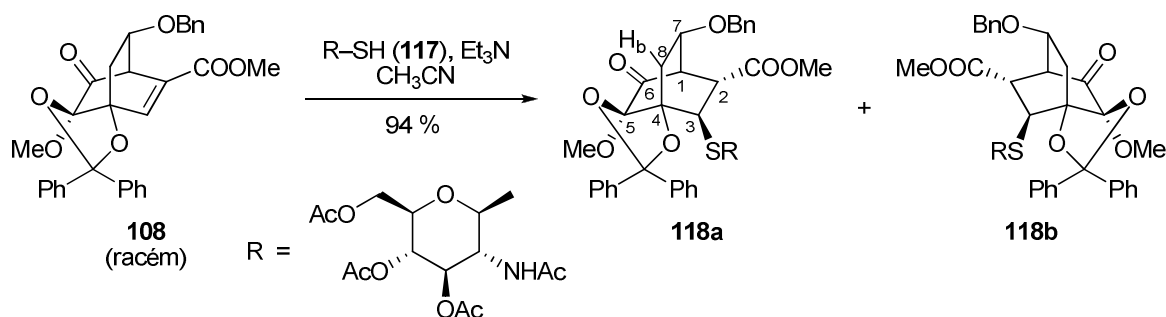
33. ábra

116 biológiai aktivitását megvizsgáltuk, sajnos 100 µM koncentrációig többféle sejtvonalra (HeLa, CRFK, HEL, MDCK, Vero) sem gyakorolt citotoxikus hatást.

2.2.4. A DIELS–ALDER KÖZTITERMÉK RESZOLVÁLÁSA

Mint azt már említettem, a **108**-as Diels–Alder adduktum racém formában állt rendelkezésünkre. Abban az esetben viszont, ha tiofenol helyett királis tiolt addíciónálunk az α,β-telítetlen kettőskötésre, diasztereomereket kapunk. Sztereoselektív addíció esetén két sztereoizomer keletkezik, melyek egymástól szétválaszthatók, ily módon enantiomertiszta vegyületekhez juthatunk. Nukleofilként az 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-dezoxi-1-tio-β-D-glükopiranozt (**117**) használtuk, melyet Horton és Wolfrom⁶¹, valamint Wang és Lee⁶² módszere alapján preparáltunk. A reakció szobahőmérsékleten teljes sztereoselektivitással ment végbe és két terméket (**118a** és **118b**; **34. ábra**) szolgáltatott, melyek R_f értékei meglepő mértékben eltértek egymástól. Ezen viszonylag nagy R_f -különbség azonban nem hozta magával az oszlopkromatográfiás elválasztás könnyedségét, ugyanis *kvantitatív* szétválasztást csak úgy lehetett elérni, ha az oszlopról eluálódott – és minden egyes reprodukciónál meglévő, kb. 10-15 %-nyi – együttes frakciót preparatív rétegen választottuk el. Más királis

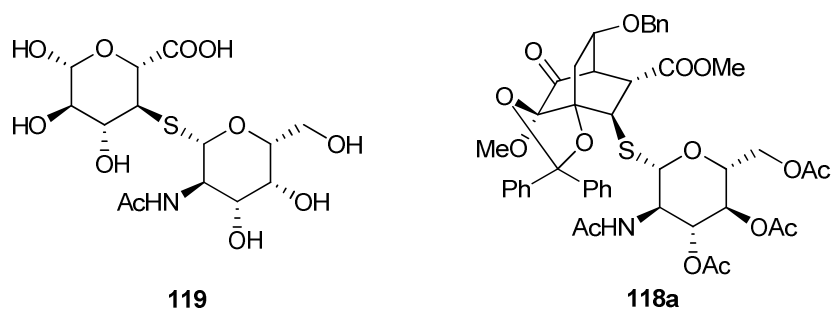
tiollal is képeztünk diasztereomereket (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-tio- β -D-glükopiranoz, -galaktopiranoz, -mannopiranoz, *N*-acetyl-L-cisztein metilészter), viszont azoknál sem bizonyult egyszerűbbnek a kromatográfias elválasztás, mint **118a** és **118b** esetében.



34. ábra

Mindkét termékben J_{2-3} hasonlóan kis érték (~3 Hz), mint a tiofenolos adduktum oxidált formája (**110**) esetében, ezenkívül mindkét esetben H-8b és H-3 között ugyanúgy megjelenik egy négykötéses W-csatolás (2,5 Hz), mint **110**-ben. Ezen tényekből állapítható meg az addíció sztereokémiája.

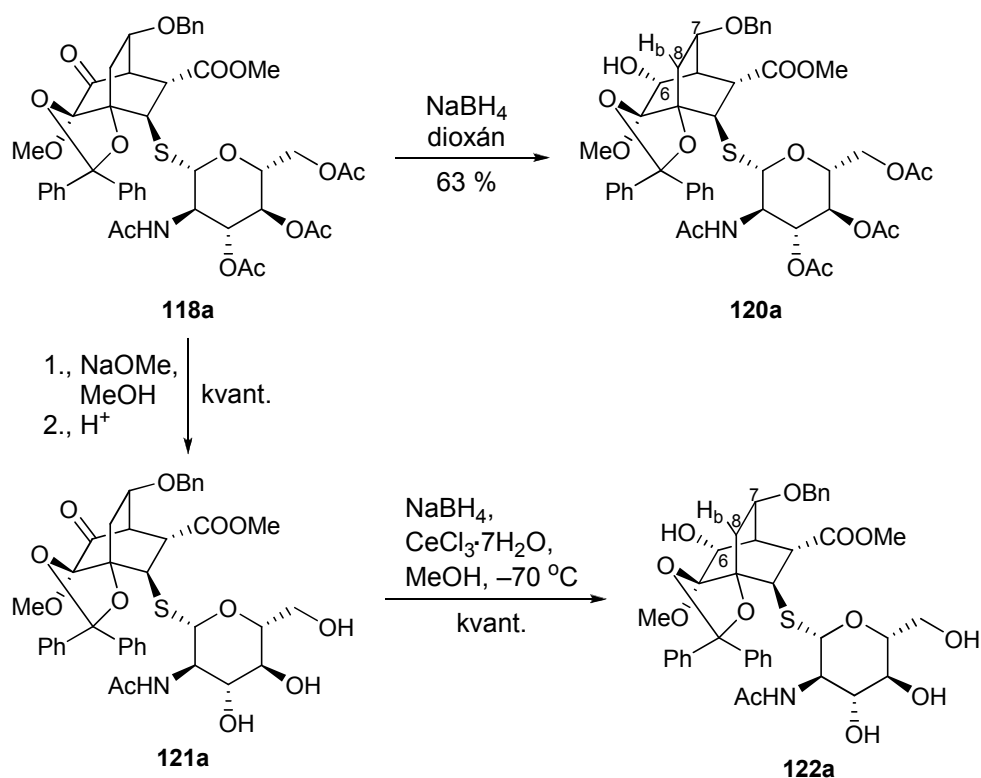
Mivel a **116**-os racém perikozin-analóg inaktívnak mutatkozott az időközben elvégzett citotoxicitási tesztekben, az enantiomertizta formájának előállítására történő kísérletek céljukat veszítették. Irodalmi kutatásaink közben azonban egy olyan, hasonlóságot mutató molekulára bukkantunk, mely más irányba terelte **118a** és **118b** potenciális felhasználásának módját. Ezen molekula (**119**) egy tiodiszacharid; egyik egysége egy 2-acetamido-2-dezoxicukor, a másik pedig egy uronsav (**35. ábra**). Rye és Withers⁶³ állította elő abból a célból, hogy megvizsgálják inhibíciós képességét a poliszacharid-liázok körébe tartozó kondroitin AC liáz enzimre. A glikozidázokkal ellentétben a poliszacharid-liázok hatásmechanizmusa csak kismértékben felderített. Ennek oka főleg az, hogy kevés olyan inhibitor áll rendelkezésre, mellyel alkotott komplexeik tanulmányozhatók volnának. **119** gyenge inhibitornak bizonyult.



35. ábra

Az általunk szintetizált **118a** és **118b** vegyületek – megfelelő átalakítások után – lehetséges inhibítorként viselkedhetnek, mivel karba-uronsavnak tekinthetők.

118a és **118b** továbbalakítása a **116** szintézisének alkalmazott reakciókkal analóg módon zajlott. Elsőként **118a** ketonfunkcióját nátrium-tetrahidridoboráttal redukáltuk alkohollá. A konverzió megítélése VRK-val nem volt lehetséges, ugyanis a termék (**120a**) R_f értéke megegyezett a kiindulási anyagéval.

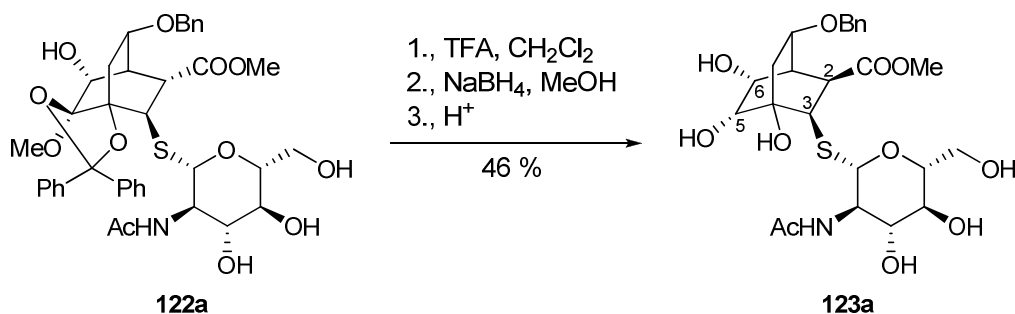


36. ábra

A redukció nem volt teljesen sztereoszelektív, ugyanis a főtermék (**120a**) mellett kb. 10–15 %-ban keletkezett egy további vegyület is, mely tömegspektruma szerint a másik diasztereomer. **120a**-nál sokkal polárisabb termékek is keletkeztek, valószínűleg dezacetileződés is végbement. Ezért a redukció előtt az *O*-acetilcsoportokat Zemplén módszerével eltávolítottuk, így **121a**-t kaptuk, mely tisztítás nélkül felhasználható. A dezacetilezést és az ezt követő lépéseket mindkét diasztereomeren végrehajtottuk, a jobb áttekinthetőség kedvéért azonban a dolgozatban szereplő ábrákon csak az egyik izomer („*a*” sorozat) átalakításai vannak feltüntetve. **121a** nátrium-tetrahidridoboráttal történő redukciójakor még -70 °C-on sem volt elérhető jó sztereoszelektivitás, azonban **110** redukciójakor az előzőekben már alkalmazott CeCl₃ hatására gyakorlatilag teljes szelektivitást értem el. A 6-os hidroxilcsoport térállása mind **120a**, mind **122a** esetében a H-6 és H-7,

valamint a H-6 és H-8b protonok között létrejövő NOE alapján meghatározható volt; ezek szerint mindkét esetben H-6 az áthidalt gyűrű felé mutat.

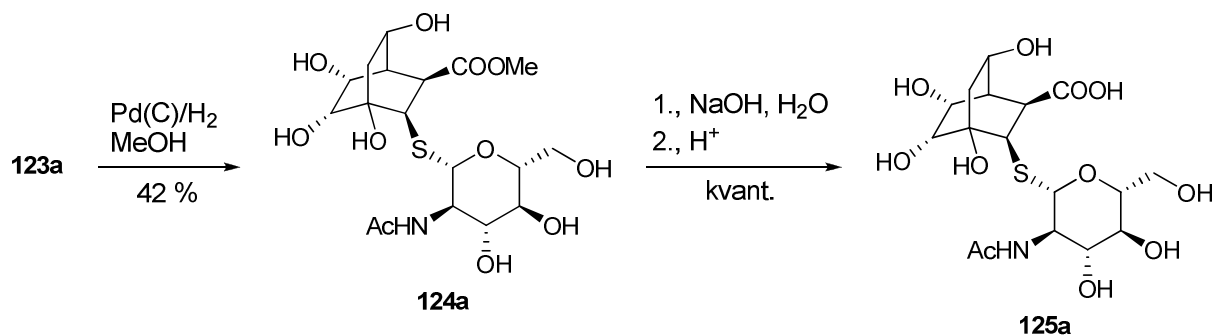
122a acetálrészének hidrolízise és az azt követő redukció szolgáltatta a **123a** származékot (37. ábra).



37. ábra

123a-ban $J_{5,6}=8,6$ Hz, tehát H-5 H-6-hoz képest *cisz* helyzetben van. Ugyanúgy, mint a **122a**→**114** reakció esetén, itt is inverzió történik a 2-es szénatomon ($J_{2,3} \sim 3$ Hz-ről 7,9 Hz-re változik).

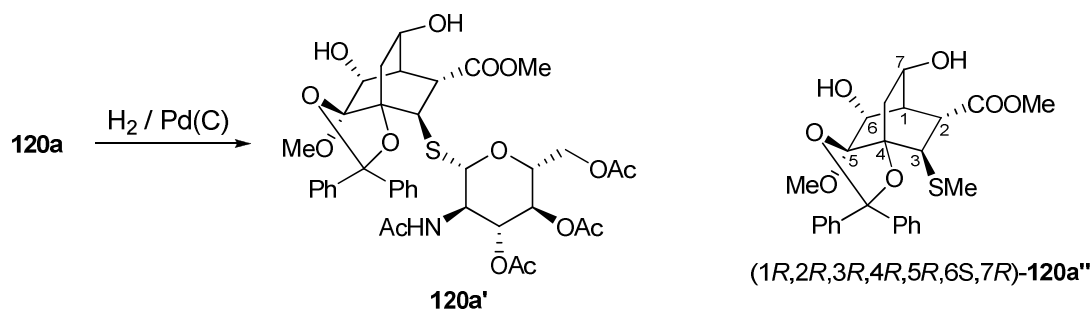
Az utolsó két reakciólépést a benzilcsoport eltávolítása és az észter hidrolízise jelentette (38. ábra)



38. ábra

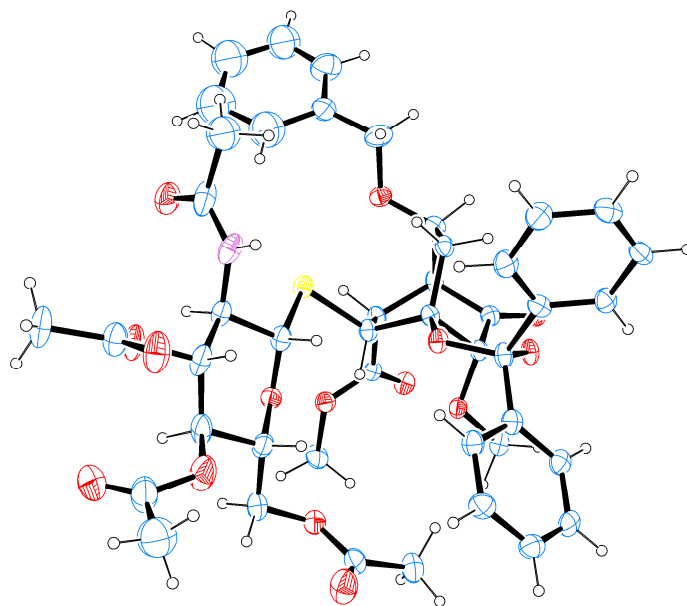
Az abszolút konfigurációk meghatározását röntgendiffrakcióval terveztük, viszont a legjobb kristályokat szolgáltató **118b** szerkezetét a Debreceni Egyetemen lévő Bruker-Nonius pontdetektoros MACH3 készülékkel nem sikerült meghatározni.

A másik kínálkozó módszer az abszolút konfiguráció asszignálására a cirkuláris dikroizmust (CD) felhasználó módszer, melyet a Debreceni Egyetem Szerves Kémia Tanszékén évek óta sikeresen alkalmaznak. A **120a**-ból képzett **120a'** származék CD-spektruma, valamint ez utóbbi modellvegyületének, (1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*R*,6*S*,7*R*)-**120a''**-nek (39. ábra) elméleti úton számolt spektruma jó egyezést mutatott, ezek alapján az „a” jelzésű származékok biciklootán részéhez az 1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*R*,7*R* abszolút konfiguráció rendelhető.



39. ábra: **120a'** és a CD-számításhoz felhasznált modellje (**120a''**)

Időközben az Oxford Diffraction Ltd. laboratóriumában (Yarntown, Anglia) lévő nagy teljesítményű, CCD detektoros Xcalibur készülékkel és a CrysAlisPro programcsomag használatával végül sikerült megoldani **118b** szerkezetét is (**40. ábra**), ami alapján a biciklootán váz abszolút konfigurációja a „b” jelzésű vegyületekben: 1*S*,2*S*,3*S*,4*S*,5*S*,7*S*. Ez összhangban áll az „a” sorozat abszolút konfigurációjával (1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*R*,7*R*), ugyanis a két vegyületsorban a biciklootán gyűrű egymásnak tükörképe.



40. ábra: **118b** térszerkezete

A röntgendiffrakciós mérés során, valamint a kapott adatok feldolgozásakor a problémát az jelentette, hogy csak a CCD detektoros készülék és az alkalmazott programcsomag tette lehetővé az egész elemi cella megtalálását és kiértékelését, melyben mint kiderült, négy molekula található. A „Cambridge Structural Database” kristallográfiai adatbázis alapján (v5.31, 2009. nov., frissítve: 2010. febr.) 450'000 szerkezetből 2'400 esetén található négy vagy több molekula az aszimmetrikus egységben. Ez 0,5 %-os arány, vagyis **118b** szerkezete meglehetősen váratlan.

125a, valamint diasztereomer párjának (**125b**) aktivitását egy, a Mirosław Cygler (Department of Biochemistry and Biotechnology Research Institute, McGill University, Montreal, Kanada) által előállított rekombináns kondroitin AC-I liáz enzimre Robert J. Linhardt kutatócsoportja (Department of Biology, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, USA) vizsgálta meg. Az inhibíciós állandó (K_i) értékek **125a** és **125b** vegyületekre rendre 2,4 és 1,7 μM -nak adódtak, melyek gyenge gátló hatásra engednek következtetni.

3. CIKLOADDÍCIÓ POLIÉN MAKROLIDOKON

3.1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

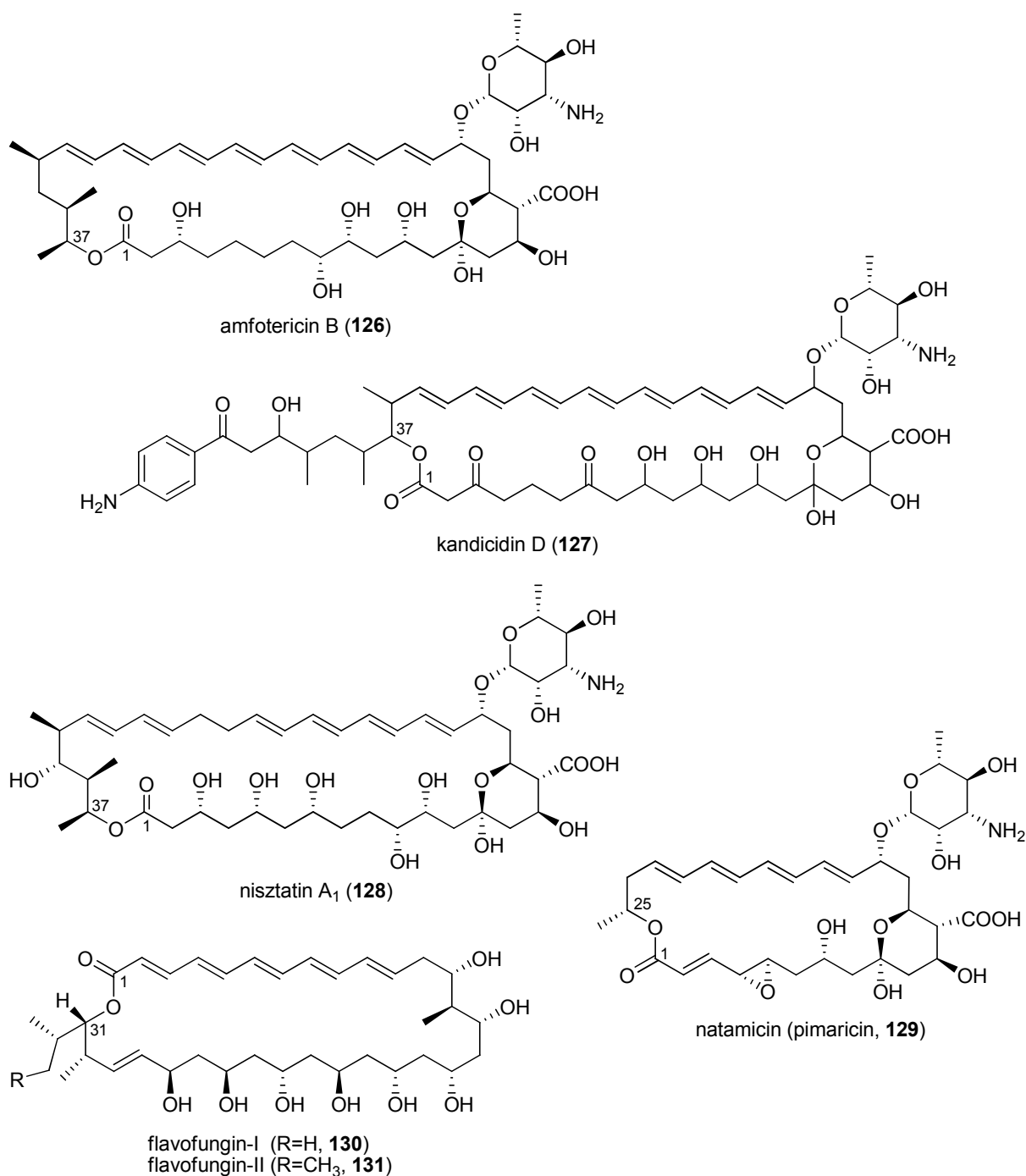
3.1.1. POLIÉN MAKROLID ANTIBIOTIKUMOK

A polién makrolidok történetileg elsők voltak a gombás fertőzések elleni küzdelemben alkalmazott antibiotikumok közül, s a terápiákban használt hatóanyagok között (flucitozin, azolok, echinokandinok, polién makrolidok) jelenleg a legfontosabbak. Jelentőségük abban rejlik, hogy a komoly, akár életet is veszélyeztető, legtöbbször *Candida*, *Cryptococcus* és *Aspergillus* fajok által okozott szisztémás gombafertőzésekkel szembeni védekezésben az egyedüli megoldást jelentik. Széles hatásspektrumukon kívül nagy előnyük, hogy velük szembeni rezisztencia gyakorlatilag még nem alakult ki. Akár 10 ng/ml koncentráció alatt is képesek antifungális hatásukat kifejteni. Hátrányuk, hogy rossz felszívódásuk miatt szájon át szedve hatástalanok, parenterálisan viszont számottevő toxicitásuk (pl. nefrotoxicitás) okoz gondot. A polién makrolidokat az aktinobaktériumok törzsébe tartozó *Streptomyces* baktériumnemzetség termeli. Gyógyászati jelentőséggel az amfotericin B (AmB, **126**), a kandicidin D (**127**), a nisztatin (fő komponense: **128**) és a natamicin (pimaricin, **129**) bír.

Legelső képviselőjük a Hazen és Brown által 1944-ben felfedezett és 1950-ben közölt, a talajból izolált *Streptomyces noursei* baktérium által termelt nisztatin⁶⁴ (eredeti nevén fungicidin), mely három vegyület keveréke: nisztatin A₁ (**128**), A₂ és A₃. A **128**-as főkomponens konstitúciós szerkezete a 70-es években^{65,66,67}, térszerkezete 1989-ban⁶⁸ vált ismertté. Az A₃ komponens a mikózaminon kívül még egy cukrot, L-digitoxózt is tartalmaz⁶⁹, az A₂ összetevő szerkezete jelenleg nem ismert. Ezidáig több száz polién makrolidot fedeztek fel, bár egy részük pontos kémia szerkezete még ismeretlen.

Szerkezetileg egy 20–44 tagú makrolakton gyűrű jellemzi őket, mely 3–8 konjugált szén-szén kettőskötést tartalmaz (**41. ábra**). Ezen kettőskötések száma szerint lehetnek tri-, tetra-, penta-, hexa-, hepta- és oktaének. (Bár gyűjtőnevük „polién” makrolidok, valójában az

„oligoén” kifejezés lenne szakszerű; ennek ellenére kizárólag a polién jelző terjedt el.) A polién láncon kívül tartalmaznak még egy hidroxilcsoportokat hordozó poliol láncot, egy hidrofób véget (metilcsoportok vagy aromás gyűrű), valamint kevés kivételtől eltekintve egy glikozidos kötéssel kapcsolódó aminocukrot (legtöbbször 3-amino-3,6-didezoxi-D-mannózt, azaz mikózamint) is. Amfifil jellegük alapvetően meghatározza mind az alkalmazhatóságukat (rossz vízdékonyság, vizes közegben micella-aggregátumok képződése), mind hatásmechanizmusukat. A legtöbbet tanulmányozott polién makrolid antibiotikum az AmB, melyet Vandeputte és munkatársai izoláltak 1956-ban.^{70,71}



41. ábra: néhány polién makrolid antibiotikum szerkezete

A polién makrolidok három alkotóegységének (makrolakton gyűrű, aromás gyűrű, cukor) bioszintézise egymástól független útvonalakon megy végbe. A makrolakton gyűrűt az I-es típusú poliketid szintetáz (PKS) enzimek („modulok”) állítják elő kisméretű (di)karbonsavakból. Minden ilyen modul minimálisan tartalmaz egy ketoszintetáz (KS) enzimet, egy aciltranszferáz (AT) enzimet és egy acilhordozó (ACP) fehérjét. Az elkészült makrolakton ezután további módosításokon megy keresztül (pl. P450 monooxygenázok és glikoziltranszferázok által). A legelső, hatásmechanizmusukat vizsgáló tanulmányok^{72,73} azt mutatták, hogy a polién makrolidok a sejtmembránban lévő szteroidokkal lépnek kölcsönhatásba. Később kiderült, hogy ezen szteroidokkal komplexet alkotnak, a membránban ezáltal egy nagymértékben szervezett szerkezetű, belül a makrolid hidroxilcsoportjai miatt hidrofil csatorna jön létre, melyen át a sejtből létfontosságú komponensek (Na^+ - és K^+ -ionok, kisebb molekulatömegű hidrofil vegyületek) távoznak, s ezen folyamat végül sejthalálhoz vezet.⁷⁴ A komplexben részt vevő makrolidok száma 3-tól akár 17-ig is terjedhet. A foszfolipidek a sejtek akár 50 %-át is kitehetik, ezért a polién makrolidok hatásmechanizmusának tárgyalásakor azokat is számításba kell venni.⁷⁵ Bár a szteroidok szerepe a hatásmechanizmusban elismerten fontos, egyes kutatások^{76,77} szerint szteroidokat nem tartalmazó foszfolipid-membránokra is hatással vannak, sőt ilyen membránokban ugyanolyan csatornák jönnek létre, mint a szteroidot tartalmazóban. A polién makrolidok pontos hatásmechanizmusa, ezen belül a foszfolipidekkel való kölcsönhatás mikéntje azonban eddig még tisztázatlan, a sejtmembránban létrejövő csatorna kísérleti tanulmányozása technikai problémák miatt bonyolult, szerkezetének feltérképezése pedig nehéz feladat. Van Leeuwen és munkatársai a nisztatin, filipin és a natamicin sejtmembrán-átjárhatóságra gyakorolt hatását vizsgálva megállapították, hogy a natamicin eltérő hatásmechanizmussal rendelkezik, ugyanis az endocitózist gátolja, a membrán szerkezetét viszont nem képes megbontani.⁷⁸

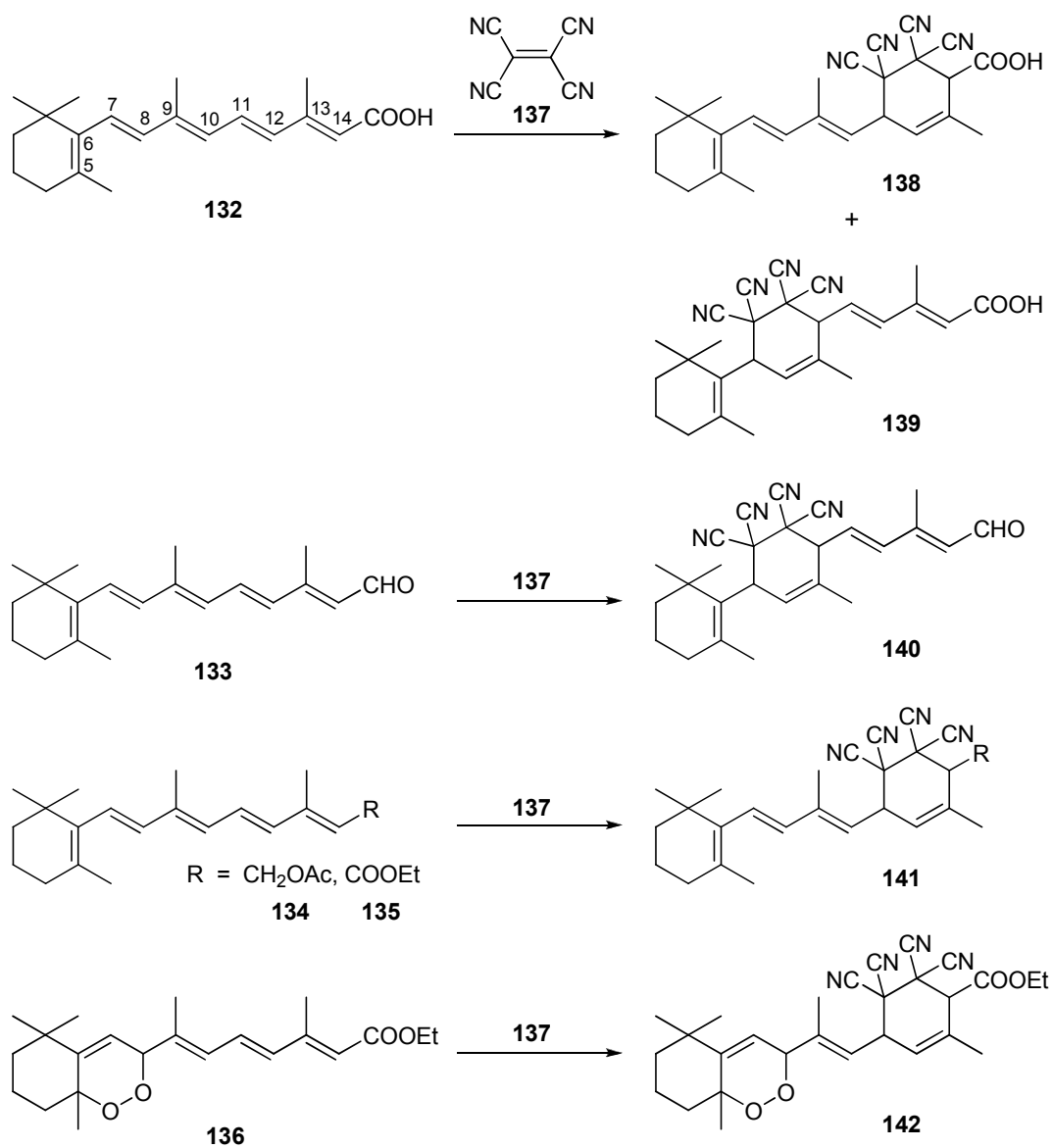
A gombák sejtfalát alkotó ergoszterinhez a polién makrolidoknak nagyobb affinitása van, mint az emlősök sejtmembránjában megtalálható koleszterinhez,⁷⁹ terápiás felhasználásuk ezen alapszik. Ez az affinitásbeli különbség azonban nem elég nagy, így a már említett, emberi sejtekre gyakorolt toxikus hatást nem lehet figyelmen kívül hagyni. Kimutatták, hogy ezen mellékhatás mértéke a legnagyobb klinikai felhasználással bíró AmB esetén függ attól is, vizes közegben milyen formában van jelen a vegyület: a monomer kevésbé toxikus az emlősökre, mint az aggregátumok.⁸⁰ A polién makrolidok nem, vagy csak kis antibakteriális hatással rendelkeznek (triének), ami magyarázható azzal, hogy a baktériumok sejtfa-
la nagy általánosságban nem tartalmaz szteroidokat.

A toxicitás csökkentése és a vízdékonyság növelése miatt számos kutatócsoport foglalkozott a polién makrolidok szerkezetének módosításával. Ezen munkák legtöbbje kémiai úton véghezvitt változtatásokat foglal magában,^{81,82,83,84,85,86} de újabban genetikailag átalakított baktériumok által termelt poliéneket is leírtak.^{87,88,89,90} Az AmB és a nisztatin, valamint az aromás gyűrűt tartalmazó polién makrolidok (vacidin és gedamicin) esetén a karboxilcsoport metilészterré való alakítása alig volt hatással a gombaellenes aktivitásra, a vegyületek toxicitása viszont csökkent.^{82,84} Az AmB karboxilcsoportjának amiddá történő alakítása kisebb toxicitású származékokat eredményezett, az antifungális hatás az amid-nitrogén szubsztituenseitől függően megmaradt vagy csökkent.⁸³ A cukorrész aminocsoportján acetilezett vacidin és gedamicin származékok antifungális aktivitása jelentősen lecsökkent.⁸² Az *N*-D-orнитil-AmB metilésztere kevésbé toxikusnak, valamint *in vitro* vizsgálatokban hatásosabbnak, *in vivo* körülmények között közel azonos hatékonyságúnak bizonyult, mint az AmB.⁸¹ A hemiketálos (C-13) hidroxilcsoportján *n*-propilcsoporttal éteresített AmB aktivitása számottevően romlott, a 2-hidroxietil-éternek viszont kisebb toxicitás mellett csak a felére csökkent.⁸⁶ Egy genetikailag módosított *Streptomyces noursei* baktérium által termelt nisztatin analógot (S44HP), mely hét konjugált kettőskötéssel rendelkezik, *in vitro* hatásosabbnak találták, mint a nisztatint.⁹¹ Ugyanezen mikroorganizmus másik módosított változatának fermentlevéből izoláltak két olyan származékot, melyekben a C-30 és C-31, illetve a C-32 és C-33 kettőskötés telítve van, a C-31 illetve C-33 atomokon pedig hidroxilcsoport található. Mindkét vegyület hatástalannak bizonyult.⁸⁷ Egy módosított *Streptomyces natalensis* baktérium olyan natamicin származékot termel, melyben nem található meg az epoxid, helyette a 4-es és 5-ös szénatomok kettőskötéssel kapcsolódnak. Ez a vegyület tízszer rosszabb gombaellenes aktivitású, mint a natamicin.⁸⁸ A két szénatommal rövidebb, viszont teljesen konjugált hexaénláncot tartalmazó nisztatin analóg a nisztatinhoz képest 30-szor gyengébb hatásúnak bizonyult.⁸⁹

3.1.2. POLIÉNEK DIELS–ALDER REAKCIÓI

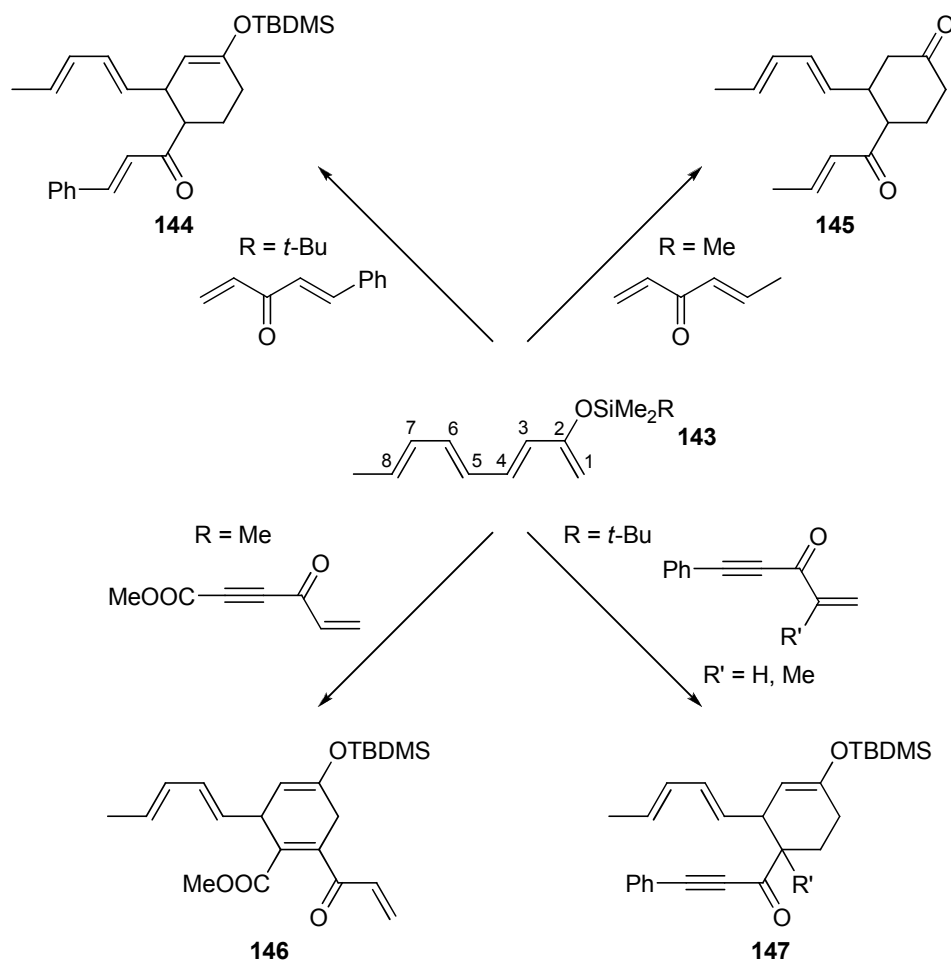
A poliének [4+2] típusú cikloaddíciói a kifejezetten kevésbé tanulmányozott reakciók körébe tartoznak. A lineáris poliének intermolekuláris Diels–Alder cikloaddícióit ezidáig kevesen tanulmányozták. A gyűrűs poliének, mint például a polién makrolidok cikloaddícióit pedig még egyáltalán nem vizsgálták.

Pfoertner A₁-vitamin származékok (**132–136**) tetracianoetilénnel (**137**) való cikloaddícióit vizsgálta,⁹² melyekben a lineáris tetraén lánc végein elhelyezkedő diénrészeknek a láncközi diénrészhöz képest kitüntetett reaktivitásuk volt (**42. ábra**).



42. ábra

Kraus és Taschner 2-szililoxi-1,3,5,7-nonatetraén rendszer (**143**) egymás utáni intermolekuláris-intramolekuláris cikloaddícióját vizsgálták különböző dienofilekkel.⁹³ Az első, intermolekuláris lépésben a szililoxi csoportot hordozó láncvégi diénrész bizonyult a legreaktívabbnak (**43. ábra**).



43. ábra

$R = \text{CH}_2\text{OH}$ (**148**)

$R = \text{CHO}$ (**149**), COOH (**150**)

$R' = \text{Ph}$ (**151**)

$R' = \text{Me}$ (**152**)

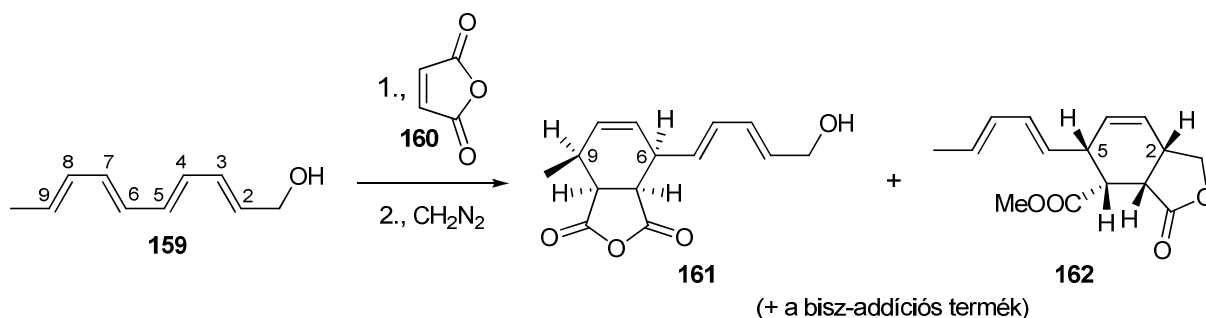
153, 154

155, 156

157, 158

38

Turner és munkatársai a 2,4,6,8-dekatetraén-1-olt (**159**) reagáltatták maleinsavanhidriddel (**160**).⁹⁵ Azt találták, hogy a tetraén két szélső diénrésze reagált a dienofillel, a két mono- (**161**, **162**) és a bisz-adduktum kb. 1:1:1 arányban keletkezett (**45. ábra**). A tapasztalt regioszelektivitást kvantumkémiai számításokkal magyarázták, miszerint a tetraén lánc végére történő addíció átmeneti állapotában a butadienil-csoport π -konjugációs hatása erősebb, mint a közbülső diénrészeire történő addíció esetében a két vinilcsoporté.



45. ábra

Bár a konjugált polién rendszerek alapvető „irányító hatásáról” nem ad információt, de megemlítendő Benvenuto és munkatársainak munkája⁹⁶, melyben trikarbonilvassal komplex formában védett 2,4,6,8-nonatetraénsav metilészterrel végeztek Diels–Alder reakciót. Esetükben a reakció regioszelektivitását alapvetően a komplexképződés határozta meg.

3.2. SAJÁT VIZSGÁLATOK

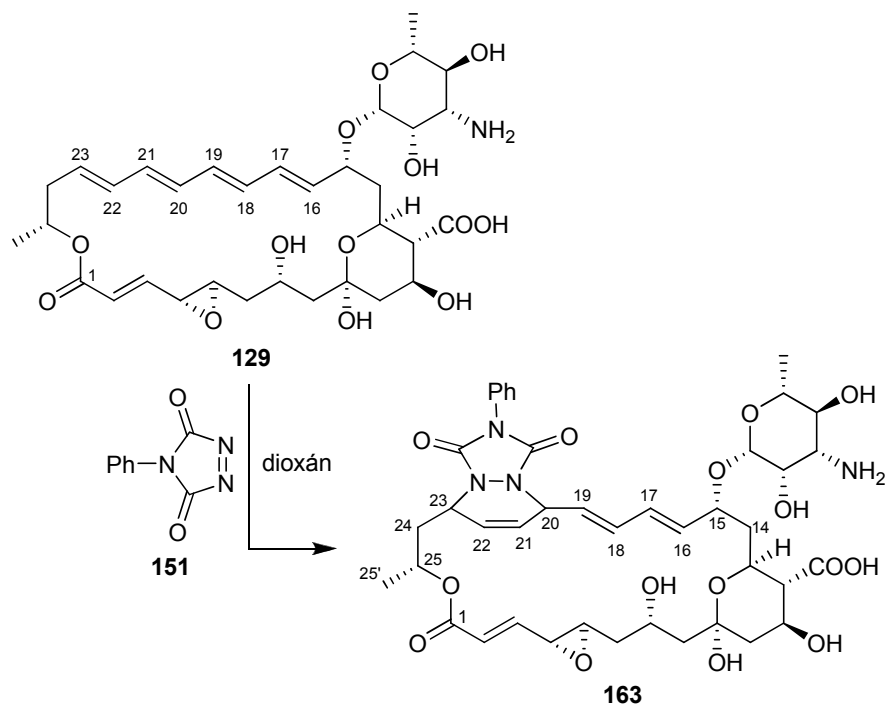
3.2.1. A NATAMICIN DIELS–ALDER REAKCIÓJA

A natamicin (**129**) 26-os gyűrűtagszámú, konjugált tetraént tartalmazó molekulája szolgált egyik alanyául kísérletünknek.

A natamicint (eredeti nevén pimaricint) egy 1955-ben a dél-afrikai Natal tartományból származó talajmintában talált, *Streptomyces natalensis*-nek elnevezett baktériumtörzs ferment-levéből izolálták.⁹⁷ Később többféle *Streptomyces* törzsből izolált antibiotikum is azonosnak bizonyult a natamicinnel. Orvosi felhasználásán túl alkalmazzák bizonyos élelmiszerek (pl. sajtok és száraz húskészítmények) felületi gombásodásának meggátlására.

Mivel a polién makrolidok kémiai stabilitása nem nagy, ezért egy magasabb hőmérsékleten végrehajtott cikloaddíciós reakció nem jöhetett számításba. Így egy igen nagy reaktivitású dienofilt, a kereskedelembe is kapható 4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-diont (**151**)^{98,99} alkalmaztuk.

A natamicin szobahőmérsékleten készségesen reagált a dienofillel, egyetlen adduktu-
mot, a **163**-at eredményezvén (**46. ábra**).

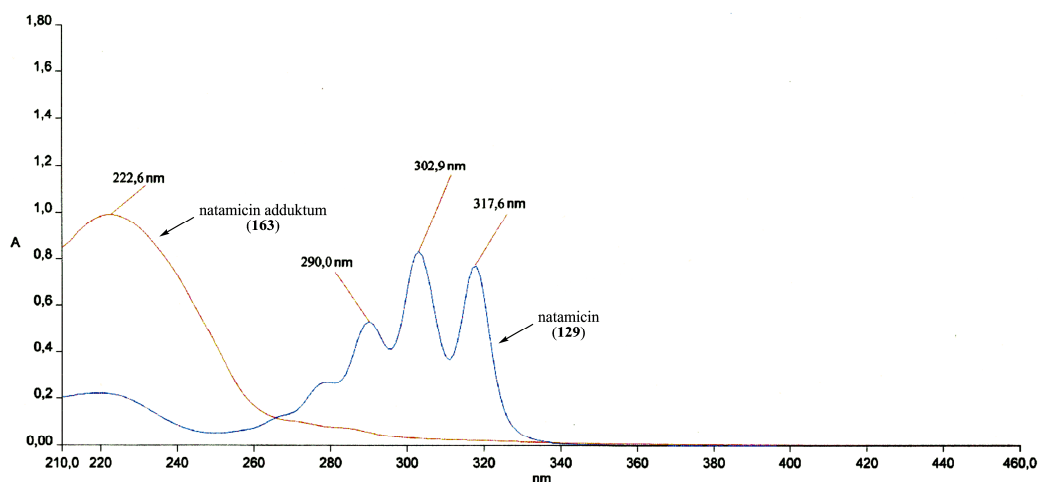


46. ábra

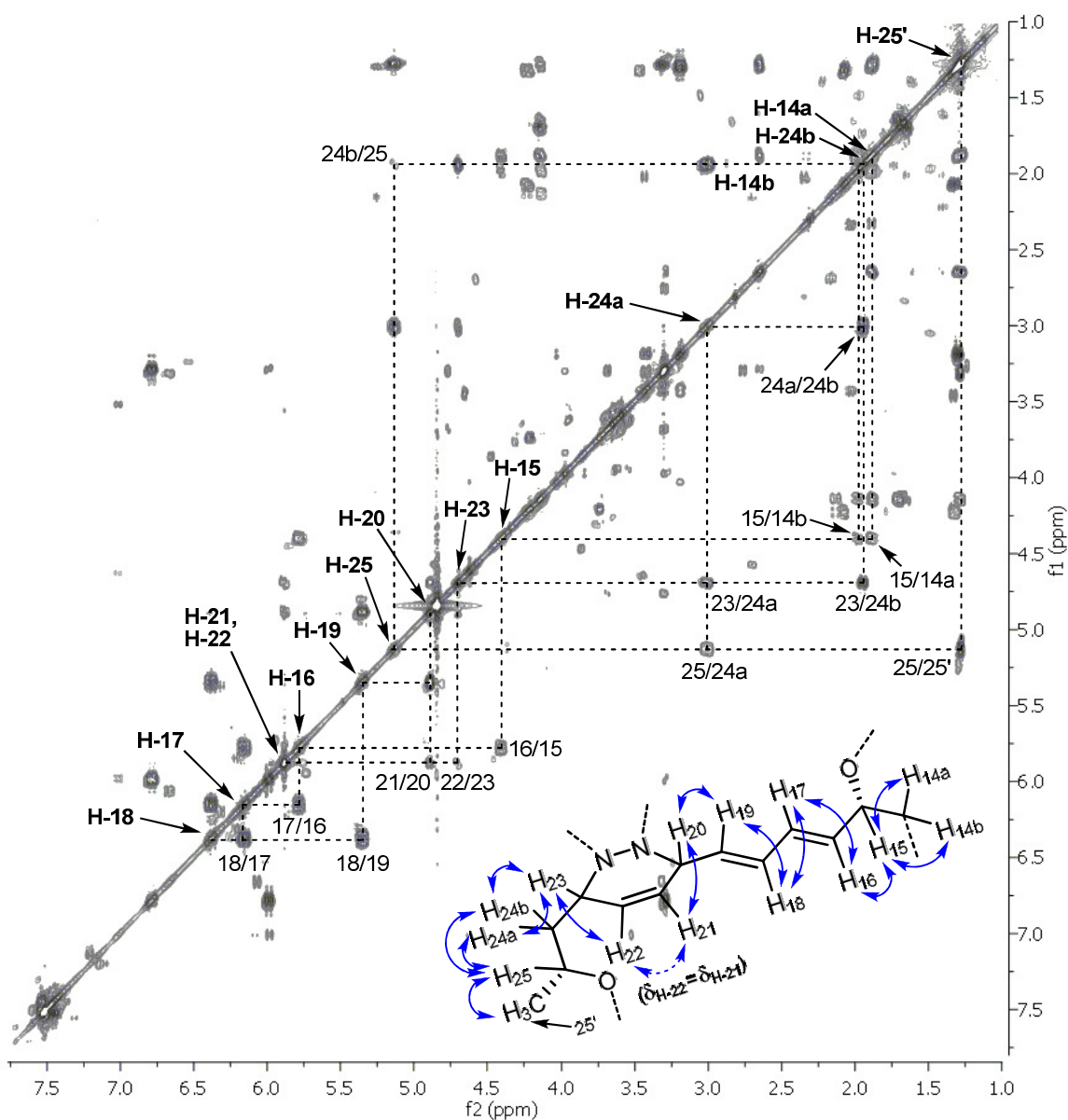
A termék szerkezetét UV- és NMR-spektroszkópia segítségével oldottuk meg.

Az UV-látható spektrum szerint a natamicinnak három elnyelési maximuma van, 290, 303 és 318 nm-nél. A **163**-as adduktum egy 223 nm-es elnyelési maximummal rendelkezik (**47. ábra**), mely a két konjugált kettőskötéssel rendelkező polién makrolidokra jellemző (~230 nm).¹⁰⁰

A COSY spektrum (**48. ábra**) elemzésével a C-25'-C-14 régió teljes csatolási sora felderíthető, a proton- és ¹³C-eltolódások értékeit a **8. táblázat** tartalmazza.



47. ábra: a natamicin (**129**) és adduktumának (**163**) UV-látható spektruma

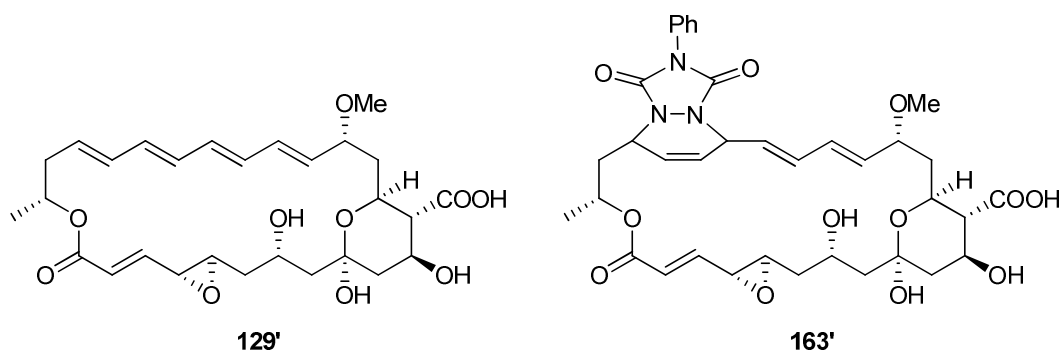


48. ábra: a natamicin-adduktum (**163**) COSY spektruma és a csatolási séma

atom	^1H [ppm]	^{13}C [ppm]	atom	^1H [ppm]	^{13}C [ppm]
14a	1,89	39,2	21	5,89	124,8 / 126,7
14b	1,98		22		
15	4,39–4,47	79,1	23	4,70	54,3
16	5,81	135,5	24a	3,04	37,1
17	6,18	133,1	24b	1,95	
18	6,41	135,1	25	5,11–5,20	69,3
19	5,38	130,0	25'	1,31	17,9 v. 21,0
20	4,90	57,6			

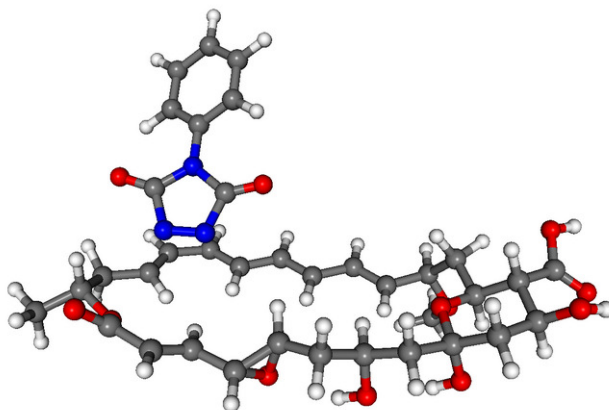
8. táblázat: a natamicin-adduktum (**163**) C-25'–C-14 régiójának eltolódásértékei

A natamicin modellvegyületét (**129'**) elméleti számításoknak vetettük alá. A konformációs analízis szerint a polién láncban mind a három lehetséges (a cikloaddíció feltételének számító) ciszoid konformáció nagy valószínűséggel alakulhat ki.



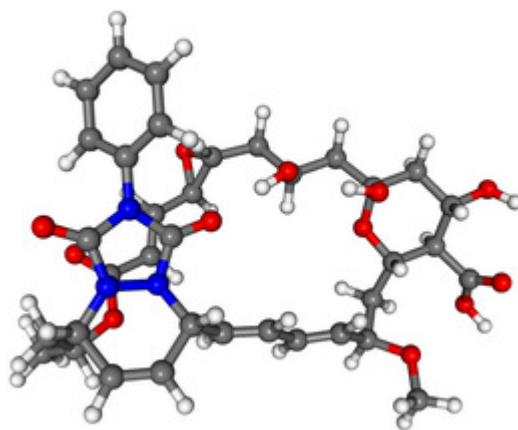
49. ábra: A natamicin elméleti modellje (**129'**) és annak elméleti adduktuma (**163'**)

A lehetséges átmeneti állapotokat vizsgálva (szintén a **129'** modellvegyületen) viszont megállapítható, hogy az alkalmazott módszertől (AM1, RM1, PM6, ONIOM(B3LYP/6-31G(d):AM1)) függetlenül az általunk izolált termékhez (**163**) vezető reakcióút átmeneti állapota (**50. ábra**) rendelkezik a legkisebb energiával, azaz a legstabilabb.



50. ábra: **129'** Diels–Alder reakciójának legstabilabb átmeneti állapota

A **163'** modelladduktum konformációs analízisekor arra derült fény, hogy annak konformációja jelentősen eltér a natamicin legstabilabb, valamint a **50. ábrán** látható átmeneti állapot konformációjától (ez utóbbi kettő egymással hasonlóságot mutat). Tehát míg a natamicinmolekula hosszúkas alakkal rendelkezik, a termék jóval kompaktabb alakot vesz fel (**51. ábra**).



51. ábra: **163'** legstabilabb konformációja

Bár célunk jelen esetben nem a natamicin antifungális aktivitásának javítása volt, több *Candida* törzs ellen is leteszteltük **163**-at, mely gyakorlatilag nem mutatott gombaellenes hatást (**9. táblázat**).

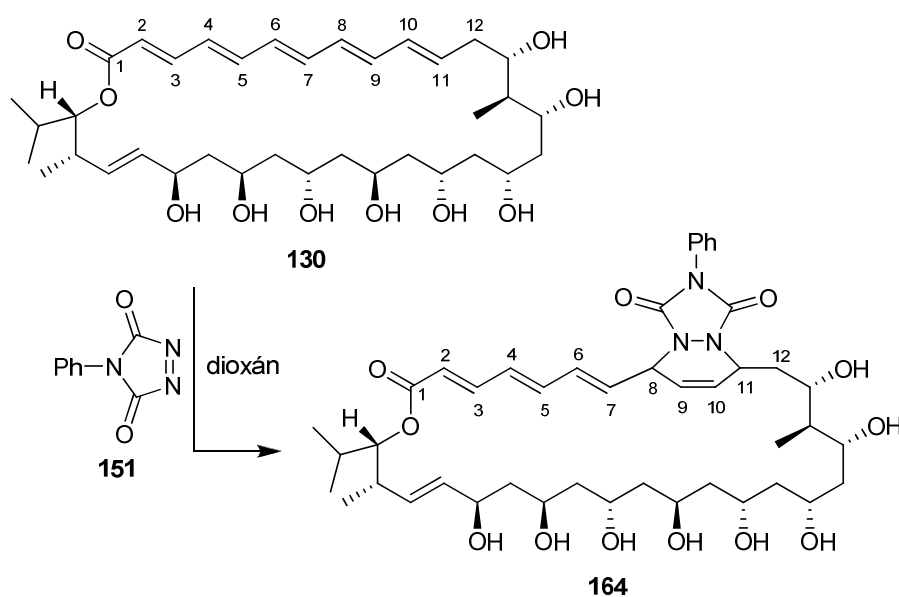
Törzs	MIC [µg/ml]		Törzs	MIC [µg/ml]	
	natamicin (129)	163		natamicin (129)	163
<i>Candida albicans</i> 7111	4	> 32	<i>C. tropicalis</i> 16493	8	> 32
<i>C. albicans</i> 10598	4	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 1081	4	> 32
<i>C. albicans</i> 25800	4	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 1754	4	> 32
<i>C. albicans</i> 14057	4	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2253	8	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 4955	8	> 32	<i>C. krusei</i> 2894	4	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 4386	8	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 980	4	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 4938	8	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2228	4	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 3264	8	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2953	8	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 9150	8	> 32	<i>C. dubliniensis</i> CD 36	4	> 32
<i>C. tropicalis</i> 3404	4	> 32	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	4	> 32

9. táblázat: a natamicin és adduktumának (163) antifungális hatása

3.2.2. A FLAVOFUNGIN DIELS–ALDER REAKCIÓJA

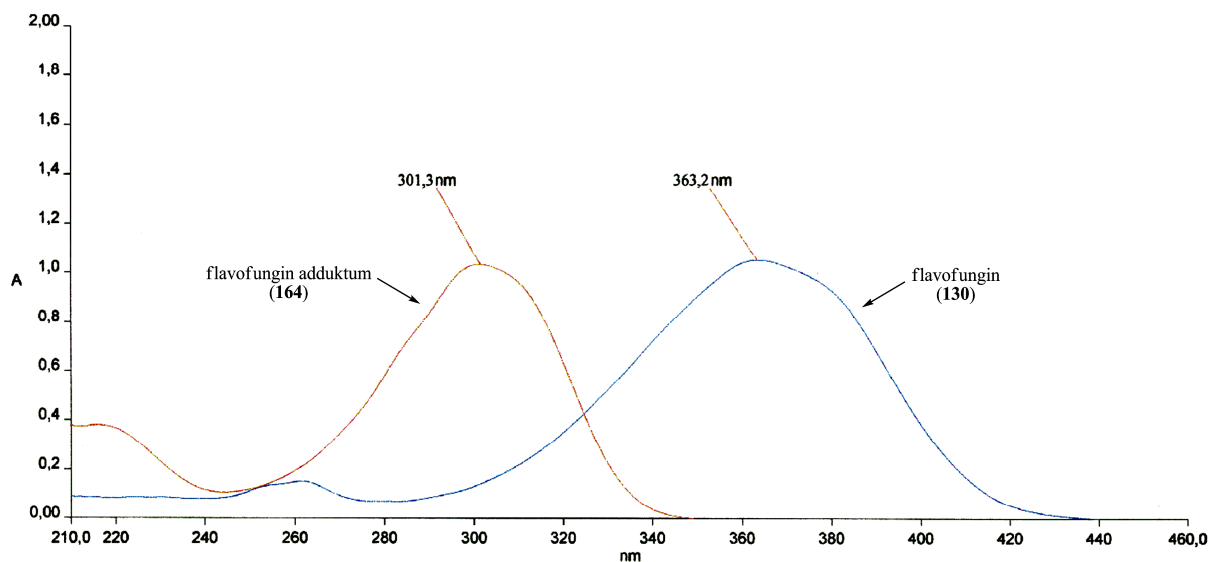
A magyar vonatkozású flavofungint Úri és Békési izolálták a *Streptomyces flavofungini* tenyészcsovééből 1958-ban.¹⁰¹ Nevében a „flavo” előtag a vegyület sárga színére, a „fungin” tag a gombaellenes hatásra utal. Két vegyület, a flavofungin-I (**130**) és a flavofungin-II (**131**) kb. 10:1 arányú keverékéből áll (**41. ábra**, 33. oldal). Szerkezetfelderítésében jelentős részt vállaltak magyar kutatók.^{102,103,104} Érdeklisége, hogy a legtöbb polién makroliddal ellentétben nem tartalmaz cukoregységet. A klinikai gyakorlatba nem került be.

130 reakciója a **151**-es dienofillel szintén szobahőmérsékleten a **164**-es Diels–Alder adduktumot eredményezte (**52. ábra**).



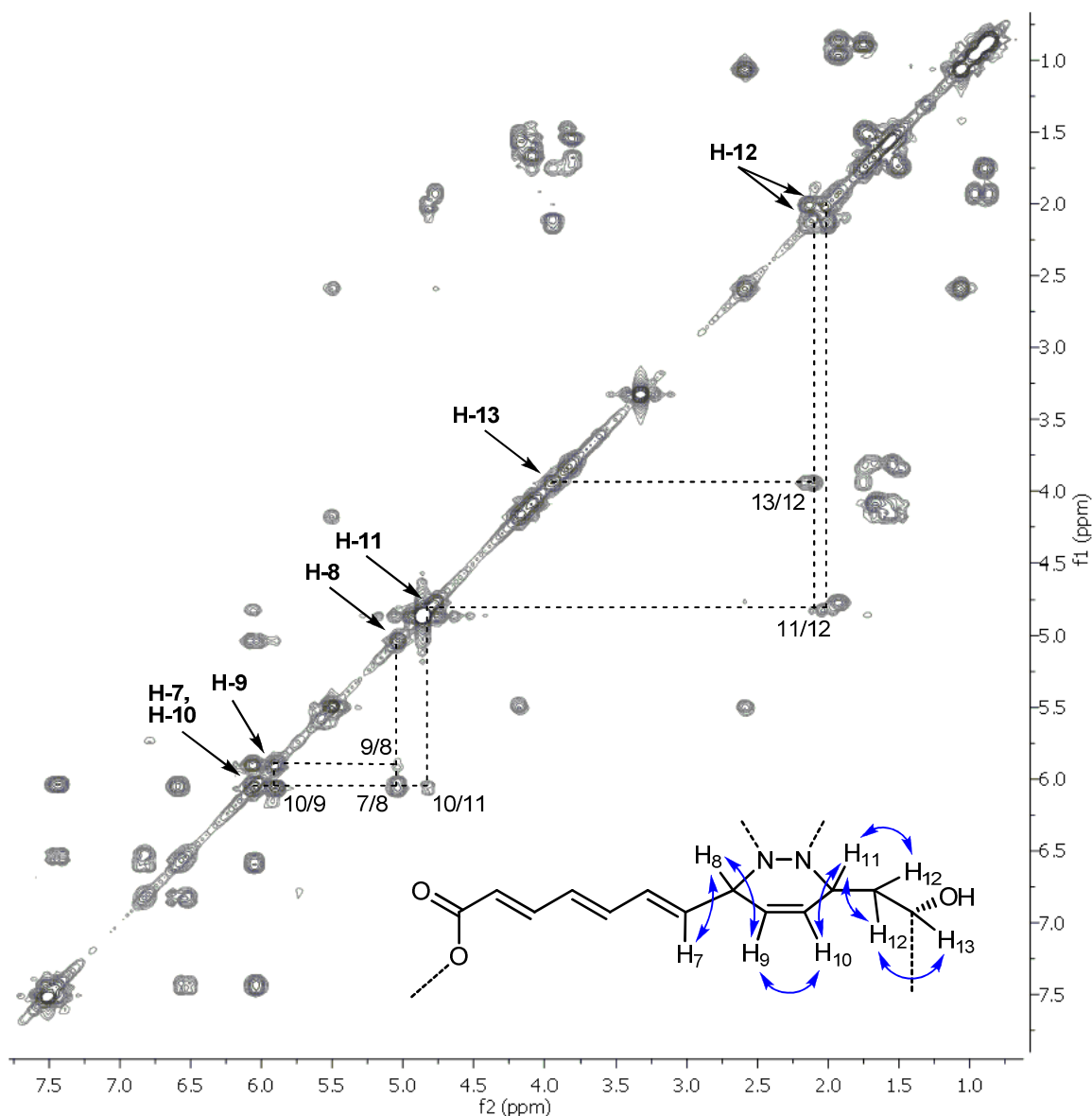
A regioszelektivitás megállapítása UV- és NMR-spektroszkópiával történt.

Az UV-látható spektrum szerint a flavofungin elnyelési maximuma 363 nm-nél, **164**-é 301 nm-nél van (**53. ábra**). Ez utóbbi érték jó egyezést mutat a négy konjugált kettőskötéssel rendelkező polién makrolidokra jellemző 290–320 nm elnyelési tartománnyal.¹⁰⁰



53. ábra: a flavofungin (**130**) és adduktumának (**164**) UV-látható spektruma

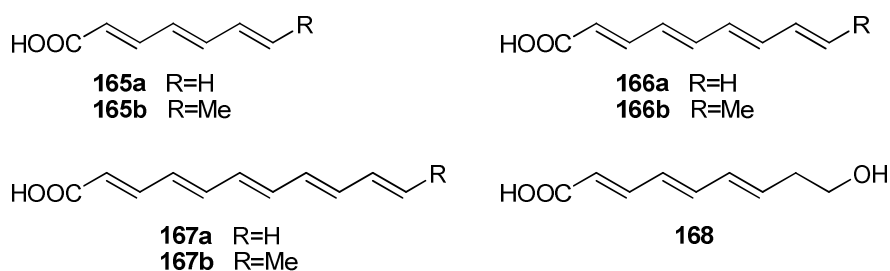
A COSY spektrum és a molekula karakterisztikus részletének csatolási sémája az **54. ábrán** látható. A szerkezetfelderítés során kiindulópont, hogy a 12-es metilénprotonokkal (1,98 és 2,12 ppm) olyan hidrogén (4,79 ppm) áll csatolásban, melyhez tartozó szénatom (az 53,1 ppm-es kémiai eltolódása alapján) sp^3 hibridállapotú. Ez csak akkor valósulhat meg, ha a dienofil a C-8–C-11 régióval lép kölcsönhatásba. Az újonnan kialakult kettőskötéses szénatomok (C-9 és C-10) a 121–136 ppm-tartományban adnak jelet, mely az sp^2 -es szénatomokra jellemző. H-9 csatol H-8-cal (5,00 ppm; C-8: 57,9 ppm), amely pedig H-7-tel (5,97–6,05 ppm).



54. ábra: a flavofungin-adduktum (**164**) COSY spektruma és a csatolási séma

A konformációanalízis a natamicinhez hasonlóan ebben az esetben is azt mutatta, hogy a polién lánc bárhol felvehet ciszoid konformációt. A lehetséges átmeneti állapotokat modellezve módszerfüggő eredményt kaptunk: a C₂–C₅ diénrészletet kivéve mindhárom másik helyen (RM1, ONIOM(B3LYP/6-31G:AM1:AMBER)): C₄–C₇; AM1, PM6: C₆–C₉) jósoltak reakciót. Csak a PM3 és a HF/6-31G módszert magában foglaló ONIOM számítások eredménye egyezett a kísérleti (C₈–C₁₁) tapasztalattal.

A lakton karbonilcsoportjának irányító hatását szintén megvizsgáltuk, ehhez a flavofungin elméleti modelljeiként az **55. ábrán** látható vegyületeket használtuk fel.



55. ábra: a flavofungin elméleti modelljeiként alkalmazott poliénkarbonsavak

A modellvegyületeknek **106**-tal történő elméleti reakciójának regioszelektivitását az FMO elmélet és az átmeneti állapotok segítségével vizsgáltuk. A pályakoefficiensek összehasonlítása alapján a trién- (**165a**) és a tetraénkarbonsav (**166a**) esetén az alkalmazott módszerek mindegyike a karbonilcsoporttól legtávolabb eső diénrész reaktivitását ítélte a legnagyobbak, viszont a pentaénkarbonsav (**167a**) és 2-hidroxietyl szubsztituenst tartalmazó triénkarbonsav (**168a**) esetében az alkalmazott módszertől függően különböző eredményeket kaptunk.

A lehetséges átmeneti állapotok analízise AM1, HF/6-31G(d) és B3LYP/6-31G(d) módszer esetén mind a négy vegyületnél (**165a–167a**, **168**) a karbonilcsoporttól legtávolabb eső (C_{ω-3}–C_{ω-2}–C_{ω-1}–C_ω) diénrészt találta a legreaktívabbnak. (A számozás a karbonil-szénatomon kezdődik.) MP2/6-31G(d) módszernél viszont csak **168** esetén kaptuk ugyanezt az eredményt, a többi modellnél a C_{ω-5}–C_{ω-4}–C_{ω-3}–C_{ω-2} atomok részvételével kialakuló átmeneti állapotok voltak a legstabilabbak. A **165a–167a** vegyületeket egy ω helyzetben metilcsoporttal kiegészítve (**165b–167b**), ily módon teljesebb modellt kapva, az MP2 módszer minden esetben a kísérleti tapasztalattal egyező eredményt szolgáltatott.

Ami **164** gombaellenes aktivitását illeti, a vegyület bizonyos törzsek ellen gyakorlatilag hatástalan volt, néhány esetben pedig csökkent aktivitást figyeltünk meg (**10. táblázat**).

Törzs	MIC [$\mu\text{g/ml}$]		Törzs	MIC [$\mu\text{g/ml}$]	
	natamicin (129)	163		natamicin (129)	163
<i>Candida albicans</i> 7111	16	> 32	<i>C. tropicalis</i> 16493	16	> 32
<i>C. albicans</i> 10598	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 1081	16	16
<i>C. albicans</i> 25800	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 1754	4	16
<i>C. albicans</i> 14057	8	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2253	16	16
<i>C. parapsilosis</i> 4955	16	> 32	<i>C. krusei</i> 2894	8	> 32
<i>C. parapsilosis</i> 4386	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 980	1	16
<i>C. parapsilosis</i> 4938	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2228	2	16
<i>C. parapsilosis</i> 3264	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> 2953	2	16
<i>C. parapsilosis</i> 9150	16	> 32	<i>C. dubliniensis</i> CD 36	8	16
<i>C. tropicalis</i> 3404	16	> 32	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	16	> 32

10. táblázat: a flavofungin (130) és adduktumának (164) antifungális hatása

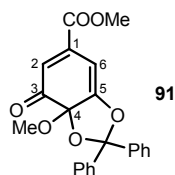
A natamicinen és a flavofunginon végrehajtott cikloaddíciók alapján megállapítható tehát, hogy az irodalmi adatokkal^{92–95} összhangban az említett két makrolid antibiotikum polién részének szélső diénrészlete kitüntetett reaktivitással bír. A natamicin esetében, a cukorrészt nem tartalmazó modellvegyületen (**129'**) végzett számítások azt bizonyították, hogy ez a kitüntetett szerep nem sztérikus, hanem elektronos jellegű hatásoknak tulajdonítható. Flavofungin esetében, amint azt a **165b–167b** és **168** modellvegyületeken végrehajtott számítások eredménye mutatja, ezen kitüntetett reaktivásban nyilvánvaló szerepet játszik a molekula laktonkötésének karbonilcsoportja.

4. KÍSÉRLETI RÉSZ

4.1. ÁLTALÁNOS MÓDSZEREK

Az absz. diklórmentánt P_2O_5 -ről, az absz. metanolt Mg-ról, az absz. tetrahidrofuránt Na/ Ph_2CO -ról (inert atmoszférában) történő desztillációval nyertük. Az absz. dioxán a Sigma-Aldrich-től származott. Az oldatokat csökkentett nyomáson, 40 °C-on pároltuk be. A szerves fázisokat vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk. A vékonyrétegekromatográfiához Merck Kieselgel F_{254} lemezeket használtunk, a vegyületeket UV-fénnyel (254 nm) és/vagy kénsavas ammónium-molibdenát-oldattal történő lefűjással és az azt követő hevítéssel (hőpuska) tettük láthatóvá. Oszlopkromatográfiás tisztításnál „flash” kromatográfiát alkalmaztunk (az eluens nyomás alatt áramlott), töltésként Merck Kieselgel 60 szilikagélt (40–63 μm) használtunk. Az NMR-spektrumok felvétele Bruker Avance 360, Bruker Avance 400, illetve Bruker Avance DRX 500 spektrométeren történt a megadott frekvencián és oldószerben. A kémiai eltolódások (δ) ppm-ben, a csatolási állandók (J) Hz-ben értendők. A jelek hozzárendelése 2D-COSY és 2D-HSQC kísérletek segítségével történt. A tömegspektrumok felvétele Bruker microTOF-Q (ESI-QqTOF), illetve Bruker BIFLEX III (MALDI-TOF) készüléken történt. Az olvadáspontokat Büchi Melting Point B-540 készüléken határoztuk meg, a megadott értékek korrigálatlanok. Az optikai forgatóképesség-meghatározást Perkin-Elmer 341 polariméteren végeztük (hullámhossz: 589 nm, optikai úthossz: 1 dm, hőmérséklet: 20 °C). A röntgen-diffrakciós adatokat (kivéve **118b** esetén) Bruker-Nonius MACH3 diffraktométerrel gyűjtöttük (293 K, Mo $K\alpha$ sugárzás, $\lambda=0,71073$ Å, ω mozgás), a szerkezeteket a SIR-92 és SHELX-97 programokkal oldottuk meg. **118b** szerkezetét egy Oxford Diffraction SuperNova diffraktométer (Cu $K\alpha$ sugárzás, $\lambda=1,54184$ Å,) segítségével derítettük fel. A kvantumkémiai számításokat a PC GAMESS v7.1.F (jelenlegi neve: Firefly), illetve a Gaussian '03 programcsomagok segítségével végeztük el. A citotoxicitási értékeket formazán-alapú (MTS) festési eljárással meghatározott, mikroszkópiusan látható sejtmorfológia alapján vagy a sejt életképessége alapján állapítottuk meg.

4.2. A VEGYÜLETEK ELŐÁLLÍTÁSA



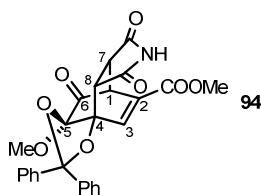
Metil 4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-4-metoxi-3-oxociklohexa-1,5-diénkarboxilát (91)

14,0 g (40,2 mmol) **81**-et⁴⁴ feloldottunk 500 ml absz. metanolban és vizes hűtés közben (kb. 20 °C) hozzáadtunk 23,2 g (72,1 mmol) PIDA-t. Az elegyet 15 percig vizes hűtéssel, majd 45 percig szobahőmérsékleten kevertettük. Ezután 15 g NaHCO₃-ot adtunk az elegyhez és erőteljesen kevertettük 15 percen át. A barna elegyet szűrtük, a szűrletet bepároltuk. A maradékot flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk (hexán/etil-acetát=9:1), így 5,86 g (39 %) sűrű, sárga olajat nyertünk. Ha spontán kristályosodás nem indult meg, beoltást vagy hexánnal történő eldörzsölést alkalmaztunk, így élénksárga szilárd termék nyerhető.

O.p.: 115-118 °C. MS: m/z számított (C₂₂H₁₈O₆Na; M+Na⁺): 401,10, mért: 401,10 (ESI).

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 2,99 (s, 3H, 4-OMe); 3,85 (s, 3H, COOMe); 5,87 (d, 1H, ⁴J_{2/6}=1,0, H2/H6); 6,44 (d, 1H, ⁴J_{2/6}=1,0, H2/H6); 7,30-7,59 (m, 10H, Ar).

¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 50,4, 52,8 (2C, 4-OMe, COOMe); 91,7 (C6); 99,0 (C4); 116,9 (CPh₂); 121,5 (C2); 125,8, 126,0, 128,0, 128,2 (10C, Ar); 128,7, 129,3 (2C, C2, C6); 139,6, 140,4, 143,4 (3C, C5+Ar); 159,4 (C1); 165,0 (COOMe); 191,2 (C3).



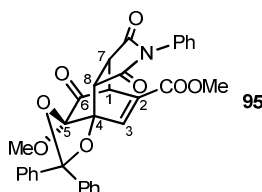
4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,7,8-trikarbonsav 2-metilészter 7,8-imid (94)

134 mg (0,35 mmol) **91**-et és 68 mg (0,7 mmol) maleimidet oldottunk 2 ml absz. toluolban és az oldatot 90 °C-on 6 órán át kevertettük. Ezután a reakcióelegyet bepároltuk, és oszlopkromatográfiásan tisztítottuk (hexán/etil-acetát=2:1). 118 mg (70 %) halványsárga, kristályos anyagot nyertünk.

O.p.: 143-144 °C (bomlik). MS: m/z számított (C₂₆H₂₁NO₈Na; M+Na⁺): 498,12, mért: 498,48 (MALDI).

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 2,82 (s, 3H, 5-OMe); 3,08 (dd, 1H, $J_7=8,5$, $^4J_3=0,8$, H8); 3,13 (dd, 1H, $J_8=8,5$, $J_1=3,0$, H7); 3,78 (s, 3H, COOMe); 4,29 (dd, 1H, $J_7=3,0$, $^4J_3=1,5$, H1); 7,20-7,40 (m, 6H, Ar); 7,61-7,62 (m, 1H, Ar); 7,63 (dd, $^4J_1=1,5$, $^4J_8=0,8$, 1H, H3); 7,63-7,64 (m, 1H, Ar); 7,77-7,81 (m, 2H, Ar); 8,31 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 42,5 (C7); 42,9 (C8); 48,2 (C1); 51,3 (5-OMe); 52,7 (COOMe); 89,9 (C4); 98,6 (C5); 116,7 (CPh₂); 125,1-128,6 (Ar); 129,6 (C2); 142,3 (Ar); 142,4 (Ar); 139,5 (C3); 162,8 (COOMe); 173,1, 173,4 (2C, imide CO); 190,8 (C6).



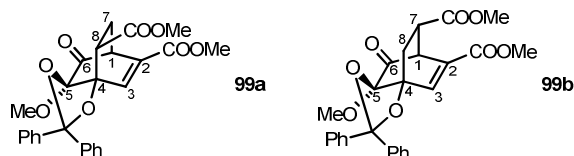
4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,7,8-trikarbonsav 2-metilészter 7,8-(*N*-fenilimid) (95)

312 mg (0,8 mmol) **91**-et és 153 mg (0,9 mmol) *N*-fenilmaleimidet oldottunk 8 ml absz. toluolban és az oldatot 90 °C-on 1 napig kevertettük. Ezután a reakcióelegyet bepároltuk, és flash oszlopkromatográfiásan tisztítottuk (hexán/acetón=8:2). 340 mg (74 %) fehér, kristályos anyagot nyertünk.

O.p.: 246-248 °C. MS: m/z számított (C₃₂H₂₅NO₈Na; M+Na⁺): 574,15, mért: 574,44 (MALDI).

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 2,86 (s, 3H, 5-OCH₃); 3,22 (dd, 1H, $J_7=8,4$, $^4J_3=1,0$, H8); 3,27 (dd, 1H, $J_8=8,4$, $J_1=3,1$, H7); 3,79 (s, 3H, COOCH₃); 4,41 (dd, $J_7=3,1$, $^4J_3=1,6$, 1H, H1); 7,04-7,09 (m, 2H, Ar); 7,20-7,45 (m, 9H, Ar); 7,62-7,67 (m, 2H, Ar); 7,68 (dd, $^4J_1=1,6$, $^4J_8=1,0$, 1H, H3); 7,81-7,86 (m, 2H, Ar).

¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 41,3 (C7); 41,7 (C8); 48,5 (C1); 51,2 (5-OMe); 52,6 (COOMe); 90,2 (C4); 98,7 (C5); 116,6 (CPh₂); 124,9-128,3 (Ar); 129,9 (C2); 131,1-143,7 (Ar); 139,1 (C3); 162,6 (COOMe); 172,0, 172,7 (2C, imid CO); 190,7 (C6).



4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,8-dikarbonsav dimetilészter (99a)

4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,7-dikarbonsav dimetilészter (99b)

151 mg (0,4 mmol) **91** és 1,0 ml (11,1 mmol) metil-akrilát oldatát 90 °C-on 5,5 órán át kevertettük. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát=9:1), ily módon 111 mg (60 %) **99a**-t és 20 mg (11 %) **99b**-t kaptunk. 25 mg (13 %) termék **99a** és **99b** kb. 1:1 arányú elegyként eluálódott.

99a: O.p.: 190-193 °C. MS: *m/z* számított ($C_{26}H_{24}O_8Na$; $M+Na^+$): 487,14, mért: 487,20 (MALDI).

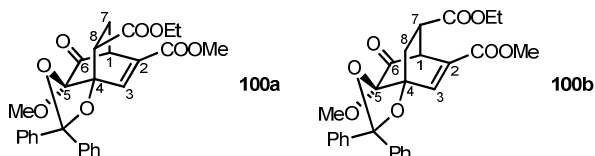
1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,61 (ddd, 1H, $J_{7a}=12,6$, $J_8=7,7$, $J_1=2,8$, H7b); 2,22 (ddd, 1H, $J_{7b}=12,6$, $J_8=10,1$, $J_1=3,2$, H7a); 2,77 (s, 3H, 5-OMe); 2,94 (ddd, 1H, $J_{7a}=10,1$, $J_{7b}=7,7$, $^4J_3=1,1$, H8); 3,43 (s, 3H, 8-COOMe); 3,79 (s, 3H, 2-COOMe); 3,81 (dd, 1H, $J_{7a}\sim J_{7b}\sim 2,9$, $^4J_3=1,5$, H1); 7,17-7,37 (m, 6H, Ar); 7,55-7,63 (m, 4H, Ar); 7,68 (t, $^4J_1\sim ^4J_8\sim 1,3$, 1H, H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 31,6 (C7); 42,6 (C8); 47,4 (C1); 51,0 (5-OMe); 51,8, 52,2 (2C, 2xCOOMe); 90,6 (C4); 99,8 (C5); 115,4 (CPh₂); 125,0-128,2 (Ar); 130,8 (C2); 140,1 (C3); 142,7-143,2 (Ar); 163,8 (2-COOMe); 172,1 (8-COOMe); 194,3 (C6).

99b: O.p.: 159-161 °C. MS: *m/z* számított ($C_{26}H_{24}O_8Na$; $M+Na^+$): 487,14, mért: 487,21 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,92-1,95 (m, 2H, H8); 2,80 (s, 3H, 5-OMe); 2,88 (ddd, 1H, $J_8=9,1/6,3$, $J_1=2,9$, H7); 3,60 (s, 3H, 7-COOMe); 3,78 (s, 3H, 2-COOMe); 4,11 (dd, 1H, $J_7=2,9$, $^4J_3=1,6$, H1); 7,18-7,37 (m, 6H, Ar); 7,55-7,66 (m, 5H, Ar+H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 28,7 (C8); 40,0 (C7); 50,1 (C1); 51,0 (5-OMe); 52,2, 52,5 (2C, 2xCOOMe); 89,2 (C4); 99,8 (C5); 115,3 (CPh₂); 125,0-128,3 (Ar); 129,2 (C2); 141,4 (C3); 143,0-143,6 (Ar); 163,7 (2-COOMe); 171,5 (8-COOMe); 193,6 (C6).



4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobicyclo[2.2.2]okt-2-én-2,8-dikarbonsav 2-metilészter, 8-etilészter (100a)

4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobicyclo[2.2.2]okt-2-én-2,7-dikarbonsav 2-metilészter, 7-etilészter (100b)

151 mg (0,4 mmol) **91** és 1,0 ml (9,2 mmol) etil-akrilát oldatát 90 °C-on 5,5 órán át kevertettük. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát=9:1), így 121 mg (63 %) **100a**-t és 23 mg (12 %) **100b**-t nyertünk. 18 mg (9 %) termék **100a** és **100b** kb. 1:1 arányú elegyeként eluálódott az oszlopról. Mindkét regioizomerből éter/hexán elegyből történő átkristályosítással jutottunk röntgendiffrakciós vizsgálatra alkalmas kristályokhoz.

100a: O.p.: 164-166 °C. MS: m/z számított ($C_{27}H_{26}O_8Na$; $M+Na^+$): 501,15, mért: 501,20 (MALDI).

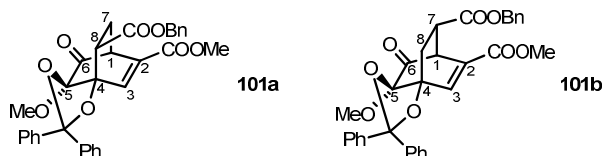
1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,01 (t, 3H, $J=7,1$, CH_2CH_3); 1,61 (ddd, 1H, $J_{7a}=12,8$, $J_8=7,7$, $J_1=2,8$, H7b); 2,24 (ddd, 1H, $J_{7b}=12,8$, $J_8=10,1$, $J_1=3,1$, H7a); 2,76 (s, 3H, 5-OMe); 2,94 (ddd, 1H, $J_{7a}=10,1$, $J_{7b}=7,7$, $^4J_3=1,1$, H8); 3,79 (s, 3H, COOMe); 3,81 (dd, 1H, $J_{7a}\sim J_{7b}\sim 2,9$, $^4J_3=1,6$, H1); 3,902, 3,904 (2q, 2H, $J=7,1$, CH_2CH_3); 7,17-7,37 (m, 6H, Ar); 7,54-7,63 (m, 4H, Ar); 7,70 (t, $^4J_1\sim^4J_8\sim 1,3$, 1H, H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 13,9 (CH_2CH_3); 31,7 (C7); 43,0 (C8); 47,4 (C1); 50,9 (5-OMe); 52,2 (COOMe); 60,9 (CH_2CH_3); 90,6 (C4); 99,8 (C5); 115,4 (CPh_2); 125,0-130,5 (Ar); 130,5 (C2); 140,4 (C3); 142,8-143,2 (Ar); 163,9 (2-COOMe); 171,6 (8-COOMe); 194,3 (C6).

100b: O.p.: 178-180 °C. MS: m/z számított ($C_{27}H_{26}O_8Na$; $M+Na^+$): 501,15, mért: 501,22 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,17 (t, 3H, $J=7,1$, CH_2CH_3); 1,91-1,95 (m, 2H, H8); 2,80 (s, 3H, 5-OMe); 2,85 (ddd, 1H, $J_8=8,0/5,6$, $J_1=2,8$, H7); 3,77 (s, 3H, COOMe); 4,00, 4,03, 4,06, 4,09 (4q, 2H, $J=7,1$, CH_2CH_3); 4,13 (dd, 1H, $J_7=2,8$, $^4J_3=1,6$, H1); 7,18-7,37 (m, 6H, Ar); 7,55-7,66 (m, 5H, Ar+H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 13,9 (CH_2CH_3); 28,6 (C8); 40,1 (C7); 50,1 (C1); 51,0 (5-OMe); 52,1 (COOMe); 61,6 (CH_2CH_3); 89,2 (C4); 99,8 (C5); 115,3 (CPh_2); 125,0-128,3 (Ar); 129,2 (C2); 141,4 (C3); 142,8-143,2 (Ar); 163,7 (COOMe); 171,0 (COOEt); 193,8 (C6).



4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,8-dikarbonsav 2-metilészter, 8-benzilészter (101a)

4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2,7-dikarbonsav 2-metilészter, 7-benzilészter (101a)

151 mg (0,4 mmol) **91** és 1,0 g (6,2 mmol) benzil-akrilát oldatát 90 °C-on 2,5 órán át kevertettük. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát=95:5→9:1), így 128 mg (59 %) **101a**-t és 13 mg (6 %) **101b**-t nyertünk. 8 mg (4 %) termék **101a** és **101b** kb. 1:1 arányú elegyként eluálódott az oszlopról.

101a: O.p.: 197-199 °C. MS: m/z számított ($C_{32}H_{28}O_8Na$; $M+Na^+$): 563,17, mért: 563,20 (MALDI).

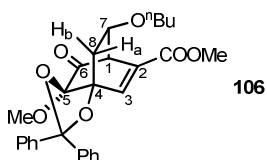
1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,62 (ddd, 1H, $J_{7a}=12,8$, $J_8=7,6$, $J_1=2,8$, H7b); 2,25 (ddd, 1H, $J_{7b}=12,8$, $J_8=10,1$, $J_1=3,0$, H7a); 2,77 (s, 3H, 5-OMe); 3,00 (ddd, 1H, $J_{7a}=10,1$, $J_{7b}=7,6$, $^4J_3=1,1$, H8); 3,79 (s, 3H, COOMe); 3,81 (dd, 1H, $J_{7a}\sim J_{7b}\sim 2,9$, $^4J_3=1,6$, H1); 4,85 (d, 1H, $J_{gem}=12,3$, CH_2Ph); 4,94 (d, 1H, $J_{gem}=12,3$, CH_2Ph); 7,07-7,34 (m, 11H, Ar); 7,50-7,61 (m, 4H, Ar); 7,72 (t, $^4J_1\sim^4J_8\sim 1,3$, 1H, H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 31,6 (C7); 43,0 (C8); 47,4 (C1); 51,0 (5-OMe); 52,2 (COOMe); 66,7 (CH_2Ph); 90,6 (C4); 99,8 (C5); 115,5 (CPh_2); 124,9-128,4 (Ar); 130,5 (C2); 135,2 (Ar); 140,5 (C3); 142,8-143,1 (Ar); 163,9 (COOMe); 171,4 (COOBn); 194,2 (C6).

101b: O.p.: 149-152 °C (bomlik). MS: m/z számított ($C_{32}H_{28}O_8Na$; $M+Na^+$): 563,17, mért: 563,17 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,93-1,98 (m, 2H, H8); 2,79 (s, 3H, 5-OMe); 2,91 (ddd, 1H, $J_8=8,6/4,9$, $J_1=2,8$, H7); 3,65 (s, 3H, COOMe); 4,16 (dd, 1H, $J_7=2,8$, $^4J_3=1,6$, H1); 4,98 (d, 1H, $J_{gem}=12,2$, CH_2Ph); 5,03 (d, 1H, $J_{gem}=12,2$, CH_2Ph); 7,18-7,39 (m, 11H, Ar); 7,56-7,65 (m, 5H, Ar+H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 28,6 (C8); 40,1 (C7); 50,1 (C1); 51,0 (5-OMe); 52,1 (COOMe); 67,5 (CH_2Ph); 89,2 (C4); 99,7 (C5); 115,3 (CPh_2); 125,0-128,6 (Ar); 129,2 (C2); 135,1 (Ar); 141,5 (C3); 143,0-143,6 (Ar); 163,6 (COOMe); 171,0 (COOBn); 193,6 (C6).



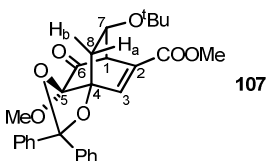
7-*n*-butiloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2-karbonsav metilészter (106)

151 mg (0,4 mmol) **91** és 1,0 ml (7,7 mmol) *n*-butil-vinil-éter oldatát 90 °C-on 5,5 órán át kevertettük. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát=95:5), így 110 mg (58 %) halványsárgás anyagot kaptunk. A további frakciók 38 mg sárga anyagot eredményeztek (kiindulási anyaggal szennyezett termék), melynek kétszer hexánnal történő mosásával további 15 mg (8 %) **106**-ot nyertünk.

O.p.: 155-156 °C. MS: *m/z* számított (C₂₈H₃₀O₇Na; M+Na⁺): 501,19, mért: 501,42 (MALDI).

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 0,82 (t, 3H, *J*=7,2, butil CH₃); 1,27-1,15 (m, 2H, butil CH₂); 1,32-1,41 (m, 3H, butil CH₂ + H_{8a}); 2,09 (ddd, 1H, *J*_{8a}=14,6, *J*₇=8,0, ⁴*J*₃=0,8, H_{8b}); 3,18 (td, 1H, *J*=9,0, 6,4, butil CH₂); 3,49 (td, 1H, *J*=9,0, 6,4, butil CH₂); 2,80 (s, 3H, 5-OMe); 3,77 (s, 3H, COOMe); 3,74 (ddd, 1H, *J*_{8a}=7,9, *J*₁=3,5, *J*_{8b}=1,6, H₇); 4,23 (ddd, 1H, *J*₇=3,5, ⁴*J*₃=1,7, ⁴*J*_{8b}=0,9, H₁); 7,16-7,35 (m, 6H, Ar); 7,55-7,63 (m, 4H, Ar); 7,71 (d, 1H, ⁴*J*₁=1,7, ⁴*J*_{8a}~⁴*J*_{8a}=0,8, H₃).

¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 13,7 (butil CH₃); 19,1, 31,5 (2C, butil CH₂); 36,2 (C₈); 51,0 (5-OMe); 52,0 (COOMe); 53,2 (C₁); 68,6 (OCH₂); 74,2 (C₇); 89,3 (C₄); 99,7 (C₅); 115,1 (CPh₂); 124,9-128,3 (Ar); 128,3 (C₂); 140,5 (C₃); 143,0-143,6 (Ar); 164,2 (COOMe); 194,7 (C₆).



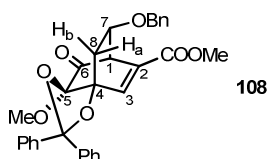
7-*tert*-butoxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2-karbonsav metilészter (107)

151 mg (0,4 mmol) **91** és 1,5 ml (11,4 mmol) *tert*-butil-vinil-éter oldatát 85 °C-on 6 órán át kevertettük, majd újabb 0,5 ml (3,8 mmol) vinil-éter hozzáadása után a melegítést még 3,5 óra hosszat folytattuk. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát=95:5), így 92 mg sárga anyagot kaptunk, melyet a kiindulási anyag nyomainak eltávolítása végett kétszer hexánnal mostunk, így 67 mg (35 %) halványsárgás anyagot nyertünk. Éter/hexánból való átkristályosítással röntgendiffrakciós vizsgálatra alkalmas kristályok nyerhetők.

O.p.: 216-219 °C. MS: m/z számított ($C_{28}H_{30}O_7Na$; $M+Na^+$): 501,19, mért: 501,27 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,07 (s, 9H, tBu); 1,36 (ddd, 1H, $J_{8b}=14,5$, $J_7=1,5$, $^4J_3=1,0$, H8a); 2,10 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,5$, $J_7=7,7$, $^4J_3=1,0$, H8b); 2,77 (s, 3H, 5-OMe); 3,79 (s, 3H, COOMe); 3,90-3,97 (m, 2H, H1+H7); 7,16-7,38 (m, 6H, Ar); 7,54-7,64 (m, 4H, Ar); 7,69 (t, $^4J_1\sim^4J_8\sim 1,0$, 1H, H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 28,1 (CM_{e3}); 38,6 (C8); 51,0 (5-OMe); 51,9 (COOMe); 56,6 (C1); 67,0 (C7); 74,9 (CM_{e3}); 89,5 (C4); 99,8 (C5); 115,0 (CPh_2); 125,0-128,2 (Ar); 129,1 (C2); 140,3 (C3); 143,4-143,8 (Ar); 164,5 (2-COOMe); 194,9 (C6).



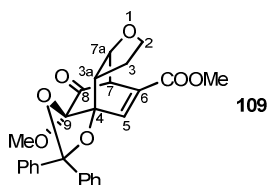
Metil 7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxobiciklo[2.2.2]okt-2-én-2-karboxilát (108)

3,01 g (8,0 mmol) **91**-et oldottunk 15,0 g (111,8 mmol) benzil-vinil-éterben és az oldatot 90 °C-on 6 órán át kevertettük. Ezután a reakcióelegyet bepárooltuk, és flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk (hexán/etil-acetát=92:8). 3,22 g (79 %) sárgás szilárd anyagot nyertünk. A termék kétszer hideg etanollal történő mosásával a kiindulási anyag kevés maradékát eltávolítottuk, így módon 2,94 g (72 %) fehér szilárd anyagot kaptunk.

O.p.: 151-153 °C. MS: m/z számított ($C_{31}H_{28}O_7Na$; $M+Na^+$): 535,17, mért: 535,48 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,45 (ddd, 1H, $J_{8b}=14,7$, $^4J_7=1,6$, $^4J_3=0,9$, H8a); 2,10 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,7$, $J_7=8,0$, $^4J_3=0,9$, H8b); 2,81 (s, 3H, 5-OMe); 3,79 (s, 3H, COOMe); 3,90 (ddd, 1H, $J_{8a}=8,0$, $J_1=3,5$, $J_{8b}=1,6$, H7); 4,28 (d, 1H, $J_{gem.}=11,3$, OCH_2Ph); 4,34 (ddd, $J_7=3,5$, $^4J_3=1,7$, $^4J_{8b}=0,9$, 1H, H1); 4,56 (d, 1H, $J_{gem.}=11,3$, OCH_2Ph); 7,62-7,15 (m, 15H, Ar); 7,72 (dd, 1H, $^4J_1=1,7$, $^4J_{8a}\sim^4J_{8b}\sim 0,9$, H3).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 36,1 (C8); 51,0 (5-OMe); 52,0 (COOMe); 53,0 (C1); 70,5 (OCH_2Ph); 73,5 (C7); 89,3 (C4); 99,7 (C5); 115,1 (CPh_2); 128,3-124,9 (Ar); 137,0 (C2); 140,7 (C3); 143,6, 143,0 (Ar); 164,3 (COOMe); 194,3 (C6).



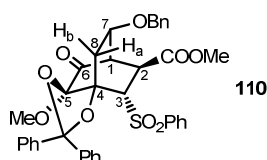
4,9-*O*-difenilmetilidén-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-4,9-dihidroxi-9-metoxi-8-oxo-4,7-etenobenzofurán-6-karbonsav metilészter (109)

106 mg (0,28 mmol) **91** és 3,0 ml (39,8 mmol) 2,3-dihidrofuran oldatát 7 órán át refluxáltattuk. Bepárlás után a maradékot flash oszlopkromatografáltuk (hexán/etil-acetát = 85:15), így módon 76 mg (61 %) halványsárgás anyagot kaptunk. A kiindulási anyag 19 %-át (20 mg-ot) elreagálatlan formában nyertünk vissza.

O.p.: 186-188 °C. MS: m/z számított ($C_{26}H_{24}O_7Na$; $M+Na^+$): 471,14, mért: 471,37 (MALDI).

1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 1,58-1,71 (m, 1H, H9a/H9b); 1,73-1,85 (m, 1H, H9a/H9b); 2,43-2,52 (m, 1H, H8); 2,82 (s, 3H, 5-OMe); 3,28-3,36 (m, 1H, H10b); 3,72 (td, 1H, $J=8,2$, $J=4,5$, H10a); 3,78 (s, 3H, COOMe); 4,12 (dd, 1H, $J_8=7,6$, $J_1=4,1$, H7); 4,18 (ddd, 1H, $J_7=4,1$, $^4J_3=1,7$, $^4J_8=0,9$, H1); 7,17-7,38 (m, 6H, Ar); 7,56 (dd, 1H, $^4J_1=1,6$, $^4J_8\approx 0,6$, H3); 7,58-7,67 (m, 4H, Ar).

^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$): δ 28,4 (C9); 43,7 (C8); 50,9 (5-OMe); 52,2 (COOMe); 54,7 (C1); 68,9 (C10); 78,8 (C7); 92,1 (C4); 98,8 (C5); 115,2 (CPh_2); 124,7-128,3 (Ar); 129,9 (C2); 139,3 (C3); 142,8-143,7 (Ar); 163,9 (2-COOMe); 193,2 (C6).



Metil 7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-3-fenilszulfonil-4,5-dihidroxi-5-metoxi-6-oxo-biciklo[2.2.2]oktán-2-karboxilát (110)

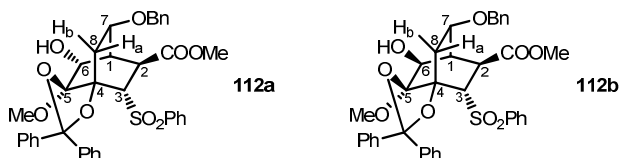
2,85 g (5,6 mmol) **108**-at oldottunk 100 ml, előzőleg argonnal alaposan átbuborékolgatott acetonitrilben, majd 0,80 ml (7,8 mmol) tiofenolt és 1,28 ml (9,2 mmol) Et_3N -t adtunk az oldathoz, melyet szobahőmérsékleten, argon atmoszférában 1 órán át kevertettük. Ezután a reakcióelegyhez vizes hűtés (kb. 20 °C) mellett 10,60 g *m*CPBA (max. 77 %-os, kb. 47 mmol) 150 ml diklór-metánnal készült és előzőleg Na_2SO_4 -tal szárított, majd leszűrt oldatát csepegtettük kb. 45 perc alatt. Ezután az oldatot szobahőmérsékleten további 2 órán át kevertettük, majd bepároltuk. A maradékot 300 ml etil-acetátban oldottuk és 2 x 50 ml 10 %-os Na_2SO_3 -oldattal, majd 2 x 50 ml telített $NaHCO_3$ -oldattal kiráztuk. Az egyesített vizes fázisokat 20 ml etil-acetáttal extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat Na_2SO_4 -tal szárítottuk, szűrtük és

bepároltuk. A nyersteget flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk (hexán/aceton=7:3), így 3,43 g (94 %) fehér szilárd anyagot kaptunk.

O.p.: 195-198 °C. MS: m/z számított ($C_{37}H_{34}O_9SNa$; $M+Na^+$): 677,18, mért: 677,32 (MALDI).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,56 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,6$, $J_7=8,5$, $^4J_3=2,0$, H8b); 2,73 (s, 3H, 5-OMe); 3,07 (d, 1H, $J_{8b}=15,6$, H8a); 3,38 (t, 1H, $J_7\sim J_2\sim 4$, H1); 3,67 (s, 3H, COOMe); 3,76 (dd, 1H, $J_{8b}=8,5$, $J_1=4,6$, H7); 4,31 (t, 1H, $J_1\sim J_3\sim 4$, H2); 4,36 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 4,675 (dd, 1H, $J_2=4,0$, $^4J_{8b}=2,0$, H3); 4,680 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 6,90-8,27 (m, 20H, Ar).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 29,3 (C8); 38,9 (C2); 50,3 (5-OMe); 51,2 (C1); 52,8 (COOMe); 63,7 (C3); 69,96 (OCH_2Ph); 69,91 (C7); 86,1 (C4); 102,7 (C5); 114,8 (CPh_2); 143,2-124,6 (Ar); 171,7 (COOMe); 196,6 (C6).



Metil 7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-3-fenilszulfonil-4,5,6-trihidroxi-5-metoxibiciklo[2.2.2]oktán-2-karboxilát (112a/112b)

2,01 g (3,1 mmol) **110**-et, oldottunk 70 ml vízmentes tetrahidrofuránban. Az oldathoz -10 °C-on, argon atmoszféra alatt 17 ml $NaBH(OCH_2CF_3)_3$ -oldatot ($c \approx 0,9$ mM, tetrahidrofuránban; ≈ 15 mmol hidrid) adagoltunk kb. 2 ml-es részletekben, 5 perc alatt. Az oldatot -10 °C-on további 45 percig kevertettük, majd bepároltuk. A maradék 200 ml etil-acetáttal készült oldatához erőteljes kevertetés közben lassan 30 ml telített $NaHCO_3$ -oldatot adva a reagens feleslegét megbontottuk (intenzív $H_2(g)$ -fejlődés!). A kevertetést 10 percig folytattuk, ezután az elegyet választótölcsérbe öntve a két fázist összeráztuk. A szerves fázist még egyszer 30 ml telített $NaHCO_3$ -oldattal, az egyesített vizes fázisokat pedig 20 ml etil-acetáttal extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat Na_2SO_4 -tal szárítottam, szűrtük és bepároltuk. A nyersteget flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk: hexán/diklór-metán/etil-acetát=7:3:1 eluenst alkalmazva 1,43 g (71 %) **112a**-t, majd hexán/diklór-metán/etil-acetát=7:4:2 rendszerre áttérve 0,20 g (10 %) **112b**-t kaptunk. Mindkét termék fehér szilárd anyag.

112a: O.p.: 194-196 °C. MS: m/z számított ($C_{37}H_{36}O_9SNa$; $M+Na^+$): 679,20, mért: 679,18 (MALDI).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,44 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,2$, $J_7=8,4$, $^4J_3=2,1$, H8b); 2,71 (s, 3H, 5-OMe); 2,76 (t, 1H, $J_7\sim J_2\sim 4$, H1); 2,81 (d, 1H, $J_{8b}=15,2$, H8a); 3,76 (s, 3H, COOMe); 3,78

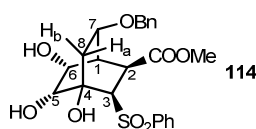
(dd, 1H, $J_{8b}=8,4$, $J_1=4,6$, H7); 3,89 (d, 1H, $J_{OH}=10,3$, H6); 4,17 (d, 1H, $J_6=10,3$, OH); 4,28 (dd, 1H, $J_3=4,0$, $J_1=3,8$, H2); 4,30 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 4,50 (dd, 1H, $J_2=4,0$, $^4J_{8b}=2,1$, H3); 4,71 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 8,23-6,89 (m, 20H, Ar).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 27,5 (C8); 38,6 (C2); 42,4 (C1); 52,8 (5-OMe); 53,2 (COOMe); 64,6 (C3); 69,3 (OCH_2Ph); 71,0 (C7); 73,7 (C6); 85,0 (C4); 107,0 (C5); 113,4 (CPh_2); 144,3-124,8 (Ar); 176,1 (COOMe).

112b: O.p.: 178-181 °C. MS: m/z számított ($C_{37}H_{36}O_9SNa$; $M+Na^+$): 679,20, mért: 679,21 (MALDI).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,62 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,8$, $J_7=8,2$, $^4J_3=2,1$, H8b); 2,13 (d, 1H, $J_6=2,4$, OH); 2,53 (s, 3H, 5-OMe); 2,88 (d, 1H, $J_{8b}=14,8$, H8a); 3,10 (q, 1H, $J_2\sim J_6\sim J_7\sim 4,5$, H1); 3,67 (s, 3H, COOMe); 4,09 (dd, 1H, $J_{8b}=8,2$, $J_1=4,6$, H7); 4,19 (dd, 1H, $J_1=5,0$, $J_{OH}=2,4$, H6); 4,25 (t, 1H, $J_1\sim J_3\sim 4,5$, H2); 4,27 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 4,62 (dd, 1H, $J_2=4,2$, $^4J_{8b}=2,1$, H3); 4,75 (d, 1H, $J_{gem}=11,9$, OCH_2Ph); 8,23-6,89 (m, 20H, Ar).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 27,1 (C8); 38,4 (C2); 39,9 (C1); 47,9 (5-OMe); 52,4 (COOMe); 63,3 (C3); 66,5 (C6); 69,3 (C7); 69,7 (OCH_2Ph); 85,6 (C4); 105,0 (C5); 114,2 (CPh_2); 143,8-124,7 (Ar); 172,3 (COOMe).



Metil 7-benziloxi-3-fenilszulfonil-4,5,6-trihidroxibiciklo[2.2.2]oktán-2-karboxilát (114)

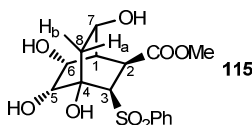
518 mg (0,8 mmol) **112a**-t, oldottunk 25 ml trifluor-ecetsavban. Az oldatot szobahőmérsékleten 2 órán át kevertettük, majd 15 ml vízmentes toluollal hígítottuk és 35 °C-on bepároltuk. A savnyomokat újabb 15 ml toluollal történő bepárlással távolítottuk el. Az így visszamaradt sárgásbarna, sűrű olajat feloldottuk 20 ml metanolban és kevertetés közben részletekben 120 mg (3,2 mmol) nátrium-tetrahidridoborátot adtunk az oldathoz. 20 perc eltelte után a reakcióelegyet Serdolit-vörös ioncserélő gyantával semlegesítettük, a gyantát kiszűrtük, metanollal mostuk, a szűrletet pedig bepároltuk. A maradékról négyszer metanolt pároltunk le, a nyersterméket flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk (diklór-metán/metanol=96:4), így 150 mg (41 %) piszkosfehér szilárd port kaptunk.

O.p.: 164-167 °C. MS: m/z számított ($C_{23}H_{26}O_8SNa$; $M+Na^+$): 485,13, mért: 485,17 (MALDI).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,82 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,1$, $J_7=9,8$, $^4J_3=2,1$, H8b); 2,65 (dd, 1H, $J_{8b}=14,1$, $J_7=4,4$, H8a); 2,86 (ddd, 1H, $J_6=4,0$, $J_7=2,6$, $J_2=2,0$, H1); 3,14 (d, 1H, $J_6=3,0$,

6-OH); 3,31 (d, 1H, $J_5 \sim 1,0$, 5-OH); 3,53 (s, 3H, COOMe); 3,55 (d, 1H, $J_6 = 8,8$, $J_{5-OH} \sim 1,0$, H5); 3,68 (ddd, 1H, $J_{8b} = 9,8$, $J_{8a} = 4,4$, $J_1 = 2,6$, H7); 3,80 (dd, 1H, $J_1 = 2,0$, $J_3 = 8,6$, H2); 3,93 (ddd, 1H, $J_1 = 4,0$, $J_5 = 8,8$, $J_{6-OH} = 3,0$, H6); 4,37 (dd, 1H, $J_2 = 8,6$, $^4J_{8b} = 2,1$, H3); 4,45 (s, 1H, 4-OH); 4,55 (d, 1H, $J_{gem.} = 11,9$, OCH₂Ph); 4,59 (d, 1H, $J_{gem.} = 11,9$, OCH₂Ph); 7,97-7,29 (m, 10H, Ar).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 35,2 (C8); 37,2 (C2); 40,8 (C1); 52,3 (COOMe); 60,5 (C3); 65,5 (C6); 69,7 (C7); 70,1 (OCH₂Ph); 71,1 (C5); 72,3 (C4); 140,4-127,7 (Ar); 173,5 (COOMe).



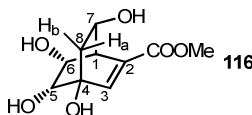
Metil 3-fenilszulfonil-4,5,6,7-tetrahidroxibiciklo[2.2.2]oktán-2-karboxilát (115)

223 mg (0,5 mmol) **114**-et oldottunk 5 ml metanol és 5 ml etil-acetát elegyében. Az oldathoz 99 mg 10 %-os Pd(C) katalizátort adtunk, majd argonnal történő átöblítés után 5 órán át hidrogéneztek. Ezután az elegyet Celiten szűrtük és a Celitréteget metanollal, majd etil-acetáttal átmostuk. A szűrletet bepárolva 185 mg (kvant.) fehér port kaptunk, mely megfelelő tisztaságú volt a következő reakciólépéshez. Analitikai tisztaságú mintát diklór-metán/metanol/hexán elegyből történő átkristályosítással nyertünk.

O.p.: 181-185 °C. MS: m/z számított (C₁₆H₂₀O₈SNa, M+Na⁺): 395,08, mért: 395,28 (MALDI).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1,75 (ddd, 1H, $J_{8a} = 14,1$, $J_7 = 10,1$, $^4J_3 = 2,1$, H8b); 2,53 (dd, 1H, $J_6 \sim J_7 \sim 3,5$, $J_2 = 2,1$, H1); 2,58 (dd, 1H, $J_{8b} = 14,1$, $J_7 = 4,1$, H8a); 3,44 (d, 1H, $J_6 = 8,7$, H5); 3,61 (s, 3H, COOMe); 3,69 (dd, 1H, $J_1 = 2,1$, $J_3 = 8,7$, H2); 3,90 (dd, 1H, $J_1 = 3,5$, $J_5 = 8,7$, H6); 4,00 (ddd, 1H, $J_{8b} = 10,1$, $J_{8a} = 4,1$, $J_1 = 3,1$, H7); 4,51 (dd, 1H, $J_2 = 8,7$, $^4J_{8b} = 2,1$, H3); 7,99-7,55 (m, 5H, Ar).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 37,1 (C8); 37,3 (C2); 46,4 (C1); 52,8 (COOMe); 61,5 (C3); 64,6 (C7); 66,7 (C6); 73,0 (C5); 73,6 (C4); 130,0, 130,2, 134,6, 143,2 (Ar); 175,6 (COOMe).



Metil 4,5,6,7-tetrahidroxibiciklo[2.2.2]okt-2-én-2-karboxilát (116)

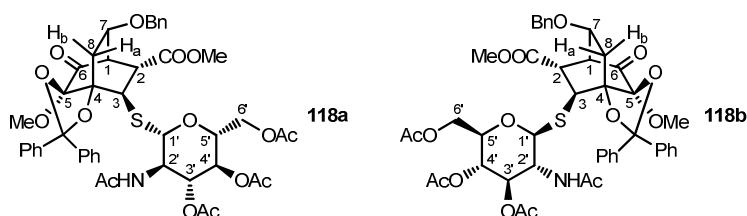
160 mg (0,4 mmol) **115**-öt oldottunk 20 ml absz. metanolban. Az oldathoz 142 mg (1,0 mmol) K₂CO₃-ot adtunk és 24 órán át kevertettük. A reakcióelegy kémhatását Serdolit-vörös ioncserélő gyantával semlegesre állítottuk, majd a gyantát kiszűrtük és metanollal

mostuk. A szűrlet bepárlásával nyert nyersterméket flash oszlopkromatográfiával tisztítottuk (diklór-metán/metanol=85:15), így 59 mg (60 %) enyhén sárgás, higroszkópos anyagot kaptunk.

MS: m/z számított ($C_{10}H_{14}O_6Na$, $M+Na^+$): 253,08, mért: 253,06 (ESI).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,23 (ddd, 1H, $J_{8b}=13,5$, $J_7=2,9$, $^4J_3=1,0$, H8a); 1,96 (ddd, 1H, $J_{8a}=13,5$, $J_7=8,4$, $^4J_3=1,0$, H8b); 3,42 (m, 1H, H1); 3,57 (dd, 1H, $J_6=7,8$, $^4J_3=1,4$, H5); 3,75 (s, 3H, COOMe); 3,93 (dd, 1H, $J_1=2,7$, $J_5=7,8$, H6); 4,02 (dt, 1H, $J_{8b}=8,4$, $J_1\sim J_{8a}\sim 2,9$, H7); 7,12 (dd, 1H, $^4J_1=2,5$, $^4J_5\sim ^4J_{8a}\sim ^4J_{8b}\sim 1$, H3).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 41,7 (C8); 47,2 (C1); 52,3 (COOMe); 66,2 (C7); 67,9 (C6); 74,5 (C5); 76,6 (C4); 132,1 (C2); 147,1 (C3); 167,4 (COOMe).



(1*R*,2*R*,3*R*,4*R*,5*R*,7*R*)-7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonil-6-oxobicyclo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-3',4',6'-tri-*O*-acetil-1'-tio-β-D-glükopiranozid (118a)

(1*S*,2*S*,3*S*,4*S*,5*S*,7*S*)-7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonil-6-oxobicyclo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-3',4',6'-tri-*O*-acetil-1'-tio-β-D-glükopiranozid (118b)

1,47 g (2,87 mmol) **108**-at, 1,25 g (3,44 mmol) 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetil-2-dezoxi-1-tio-β-D-glükopiranozt és 0,93 ml (6,67 mmol) Et_3N -t oldottunk 65 ml acetonitrilben. Az oldatot szobahőmérsékleten 4 órán át kevertettük, majd a reakcióelegyet bepároltuk. A maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítottuk (hexán/diklór-metán/aceton=6:4:1→5:4:1→4:4:1). Két diasztereomert nyertünk: 1,00 g (40 %) **118a**-t és 1,07 g (43 %) **118b**-t. 0,28 g (11 %) termék **118a** és **118b** keverékeként eluálódott az oszlopról, ebből preparatív rétegen történő tisztítással (diklór-metán/etil-acetát=7:3) újabb 0,17 g (7 %) **118a**-t és 0,10 g (4 %) **118b**-t nyertünk.

118a: o.p.: 160-163 °C. MS: m/z számolt ($C_{45}H_{49}NO_{15}SNa$, $M+Na^+$): 898,27, mért: 898,92 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = -36,0$ (c 0,10, CH_2Cl_2).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,73 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,7$, $J_7=8,7$, $^4J_3=2,5$, H-8b); 1,80 (s, 3H, Ac); 1,94 (s, 3H, Ac); 2,07 (s, 3H, Ac); 2,09 (s, 3H, Ac); 2,12 (d, 1H, $J_{8b}=15,7$, H-8a); 2,86 (s, 3H, 5-OMe); 3,23 (t, 1H, $J_2\sim J_7\sim 3,5$, H-1); 3,52 (t, 1H, $J_1\sim J_3\sim 3$, H-2); 3,71 (s, 3H,

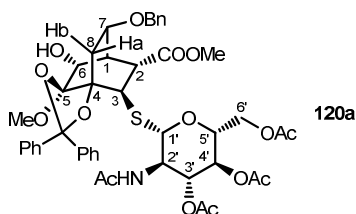
COOMe); 3,72 (dd, 1H, $J_{8b}=8,7$, $J_1=4,3$, H-7); 3,90 (ddd, 1H, $J_4=10,1$, $J_{6'a}=5,4$, $J_{6'b}=2,4$, H-5'); 4,19 (dt, 1H, $J_{NH}=9,1$, $J_{1' \sim J_3'} \sim 10$, H-2'); 4,26 (dd, 1H, $J_{6'b}=12,2$, $J_5=2,4$, H-6'a); 4,35 (d, 1H, $J_{gem.}=11,8$, CH_2Ph); 4,39 (dd, 1H, $J_{6'a}=12,2$, $J_5=5,4$, H-6'b); 4,42 (t, 1H, $J_2 \sim {}^4J_{8b} \sim 3$, H-3); 4,45 (d, 1H, $J_{gem.}=11,8$, CH_2Ph); 5,19 (d, 1H, $J_2=10,3$, H-1'); 5,21 (t, 1H, $J_3 \sim J_5 \sim 10$, H-4'); 5,41 (t, 1H, $J_2' \sim J_4' \sim 10$, H-3'); 5,69 (d, 1H, $J_2=9,1$, NH); 7,22-7,59 (m, 15H, Ar).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 20,5, 20,6, 20,7, 23,1 (4x CH_3CO); 31,7 (C-8); 44,6 (C-3); 48,9 (C-2); 50,1 (5-OMe); 50,4 (C-1); 52,4 ($COOCH_3$); 54,2 (C-2'); 62,6 (C-6'); 68,7 (C-4'); 70,2 (CH_2Ph); 70,8 (C-7); 73,6 (C-3'); 76,0 (C-5'); 84,4 (C-1'); 87,1 (C-4); 102,0 (C-5); 113,5 (CPh_2); 125,0-143,4 (Ar); 169,4, 170,0, 170,7, 170,9, 172,5 (4x CH_3CO +COOMe); 197,4 (C-6).

118b: o.p.: 125-128 °C. MS: m/z számolt ($C_{45}H_{49}NO_{15}SNa$, $M+Na^+$): 898,27, mért: 898,94 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = +8,3$ (c 0,10, CH_2Cl_2).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,69 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,5$, $J_7=8,7$, ${}^4J_3=2,5$, H-8b); 1,90 (s, 3H, Ac); 1,89 (s, 3H, Ac); 2,08 (s, 3H, Ac); 2,09 (s, 3H, Ac); 2,30 (d, 1H, $J_{8b}=15,5$, H-8a); 2,87 (s, 3H, 5-OMe); 3,24 (t, 1H, $J_2 \sim J_7 \sim 3,5$, H-1); 3,47 (t, 1H, $J_1 \sim J_3 \sim 3$, H-2); 3,71 (s, 3H, COOMe); 3,72 (dd, 1H, $J_{8b}=8,7$, $J_1=4,9$, H-7); 3,88 (ddd, 1H, $J_4=10,1$, $J_{6'b}=5,7$, $J_{6'a}=2,3$, H-5'); 4,14 (dt, 1H, $J_{NH}=9,3$, $J_{1' \sim J_3'} \sim 10$, H-2'); 4,24 (dd, 1H, $J_{6'b}=12,2$, $J_5=2,3$, H-6'a); 4,41 (d, 1H, $J_{gem.}=11,8$, CH_2Ph); 4,35 (dd, 1H, $J_{6'a}=12,2$, $J_5=5,7$, H-6'b); 4,33 (d, 1H, $J_{gem.}=11,8$, CH_2Ph); 4,57 (t, 1H, $J_2 \sim {}^4J_{8b} \sim 3$, H-3); 5,20 (t, 1H, $J_3 \sim J_5 \sim 10$, H-4'); 5,38 (d, 1H, $J_2=10,3$, H-1'); 5,48 (t, 1H, $J_2' \sim J_4' \sim 10$, H-3'); 5,82 (d, 1H, $J_2=9,3$, NH); 7,24-7,60 (m, 15H, Ar).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 20,5, 20,67, 20,74, 23,2 (4x CH_3CO); 31,3 (C-8); 43,2 (C-3); 45,8 (C-2); 50,2 (5-OMe); 50,3 (C-1); 52,4 ($COOCH_3$); 54,2 (C-2'); 62,5 (C-6'); 68,7 (C-4'); 70,0 (CH_2Ph); 70,5 (C-7); 73,5 (C-3'); 76,1 (C-5'); 84,1 (C-1'); 88,3 (C-4); 103,3 (C-5); 113,8 (CPh_2); 125,1-143,4 (Ar); 169,5, 170,0, 170,7, 170,9, 172,5 (4x CH_3CO +COOMe); 197,6 (C-6).



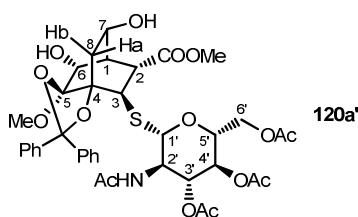
(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*,5*S*,6*R*,7*R*)-7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5,6-trihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonilbiciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-3',4',6'-tri-*O*-acetyl-1'-tio-β-D-glükopiranozid (120a)

399 mg (0,46 mmol) **118a**-t oldottunk 10 ml dioxánban és 24 mg (0,63 mmol) nátrium-tetrahidridoborátot adtunk az oldathoz, melyet 3 óra hosszat kevertettünk, majd bepároltunk. A párlási maradékot etil-acetát és 0,3 %-os citromsav-oldat között megoszlattam. A szerves fázist telített NaHCO₃-oldattal kiráztuk, szárítottuk és bepároltuk. A nyerstermék oszlop-kromatográfiás tisztításával (hexán/etil-acetát 4:6) 251 mg (63 %) szilárd, fehér anyagot kaptunk.

O.p.: 120-123 °C. MS: m/z számolt (C₄₅H₅₁NO₁₅SNa, M+Na⁺): 900,29, mért: 900,51 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = -26.9$ (c 0,13, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,55-7,19 (m, 15H, Ar); 5,83 (d, 1H, $J_2=8,3$, NH); 5,64 (dd, 1H, $J_2=10,3$, $J_4=9,3$, H-3'); 5,26 (d, 1H, $J_2=10,4$, H-1'); 5,17 (dd, 1H, $J_5=10,1$, $J_3=9,3$, H-4'); 4,54 (d, 1H, $J_6=10,6$, OH); 4,44 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH₂Ph); 4,40 (dd, 1H, $J_{6'a}=12,2$, $J_5=5,5$, H-6'b); 4,30 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH₂Ph); 4,29 (t, 1H, $J_2 \sim J_{8b} \sim 3$, H-3); 4,21 (dd, 1H, $J_{6'b}=12,2$, $J_5=2,4$, H-6'a); 3,99 (dt, 1H, $J_{NH}=8,3$, $J_1 \sim J_3 \sim 10$, H-2'); 3,88 (ddd, 1H, $J_4=10,1$, $J_{6'b}=5,5$, $J_{6'a}=2,4$, H-5'); 3,85 (d, 1H, $J_{OH}=10,6$, H-6); 3,72 (dd, 1H, $J_{8b}=8,3$, $J_1=4,4$, H-7); 3,78 (s, 3H, COOMe); 3,44 (t, 1H, $J_1 \sim J_3 \sim 3$, H-2); 2,86 (s, 3H, 5-OMe); 2,58 (t, 1H, $J_2 \sim J_7 \sim 3,5$, H-1); 2,07 (s, 3H, Ac); 2,03 (s, 3H, Ac); 1,97 (s, 3H, Ac); 1,90 (d, 1H, $J_{8b}=15,2$, H-8a); 1,80 (s, 3H, Ac); 1,61 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,2$, $J_7=8,5$, $J_3=2,7$, H-8b).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 176,6, 170,9, 170,6, 170,4, 169,6 (4xCH₃CO+COOMe); 144,5-125,1 (Ar); 112,2 (CPh₂); 106,2 (C-5); 86,2 (C-4); 83,0 (C-1'); 76,0 (C-5'); 73,9 (C-6); 72,9 (C-3'); 72,0 (C-7); 69,6 (CH₂Ph); 69,2 (C-4'); 62,9 (C-6'); 55,1 (C-2'); 52,9 (COOCH₃); 50,1 (5-OMe); 48,6 (C-2); 44,1 (C-3); 41,3 (C-1); 30,4 (C-8); 23,3 (CH₃CO); 20,7 (3C, CH₃CO).



120a': (1R,2R,3R,4R,5S,6R,7R)-4,5-O-difenilmetilidén-4,5,7-trihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonil-6-oxobiciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-3',4',6'-tri-O-acetil-1'-tio-β-D-glükopiranozid

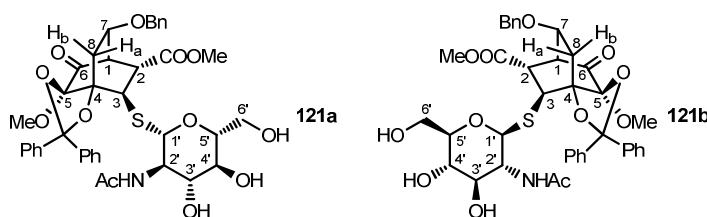
49 mg (56 μmol) **120a**-t 2 ml etil-acetátban oldottam, majd 10 ml metanolt és 43 mg Pd(C) katalizátort (10 % Pd) adtam az oldathoz. Az elegyet egy éjszakán át hidrogén atmoszférában kevertettem. A katalizátort Celiten történő szűréssel eltávolítottam, metanollal mostam, a

szűrletet pedig bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottam (etil-acetát), így 35 mg (80 %) szilárd, fehér anyagot kaptam.

O.p.: 130-135 °C. MS: m/z számolt ($C_{38}H_{45}NO_{15}SNa$, $M+Na^+$): 810,24, mért: 810,09 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = -18,1$ (c 0,24, CH_2Cl_2).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,58-7,17 (m, 10H, Ar); 5,85 (d, 1H, $J_2=8,8$, NH); 5,41 (dd, 1H, $J_2=10,3$, $J_4=9,3$, H-3'); 5,17 (d, 1H, $J_2=10,5$, H-1'); 5,15 (dd, 1H, $J_5=10,0$, $J_3=9,3$, H-4'); 4,51 (d, 1H, $J_6=10,7$, OH); 4,43 (dd, 1H, $J_{6'a}=12,2$, $J_5=5,6$, H-6'b); 4,38 (t, 1H, $J_2 \sim {}^4J_{8b} \sim 3$, H-3); 4,20-4,09 (m, 2H, H-2'+H-6'a); 4,01 (dd, 1H, $J_{8b}=8,6$, $J_1=4,4$, H-7); 3,85 (d, 1H, $J_{6-OH}=10,6$, H-6); 3,81 (s, 3H, COOMe); 3,79 (ddd, 1H, $J_4=10,0$, $J_{6'b}=5,6$, $J_{6'a}=2,6$, H-5'); 3,44 (t, 1H, $J_1 \sim J_3 \sim 3$, H-2); 2,85 (s, 3H, 5-OMe); 2,48 (t, 1H, $J_2 \sim J_7 \sim 3,5$, H-1); 2,07 (s, 3H, Ac); 2,05 (s, 3H, Ac); 1,96 (s, 3H, Ac); 1,95 (s, 3H, Ac); 1,81 (ddd, 1H, $J_{8a}=15,8$, $J_7=8,6$, ${}^4J_3=2,5$, H-8b); 1,55 (d, 1H, $J_{8b}=15,8$, H-8a).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 176,1, 170,9, 170,6, 170,4, 169,4 (4x CH_3CO +COOMe); 144,5-125,1 (Ar); 112,5 (CPh_2); 106,0 (C-5); 85,6 (C-4); 83,1 (C-1'); 76,0 (C-5'); 74,0 (C-6); 73,3 (C-3'); 68,8 (C-4'); 65,8 (C-7); 62,5 (C-6'); 54,1 (C-2'); 53,0 (COOCH₃); 52,5 (5-OMe); 48,0 (C-2); 44,2 (C-3); 43,6 (C-1); 34,3 (C-8); 23,2, 20,7, 20,65, 20,6 (4C, CH_3CO).



(1R,2R,3R,4R,5R,7R)-7-benziloxi-4,5-O-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonil-6-oxobicyclo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-deoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (121a)

(1S,2S,3S,4S,5S,7S)-7-benziloxi-4,5-O-difenilmetilidén-4,5-dihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonil-6-oxobicyclo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-deoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (121b)

710 mg (0,81 mmol) **118a**-t, illetve **118b**-t feloldottunk 30 ml absz. metanolban, és 1,0 ml metanolos NaOMe-oldatot ($c=0,15$ M) adtunk az elegyhez. Az oldatot szobahőmérsékleten 3 órán át kevertettük. A reakcióelegyet Serdolit-vörös kationcserélő gyantával semlegesítettük, a gyantát kiszűrtük, metanollal mostuk, a szűrletet pedig bepároltuk. Utoljára – a termék megszilárdulása érdekében – diklór-metán/hexán elegyet pároltunk le a maradékról. Így 613 mg (kvant.) **121a**-t, illetve 608 mg (kvant.) **121b**-t kaptunk (mindkettő piszkosfehér por),

melyeket tisztítás nélkül használtunk fel a következő reakciólépésben. Analitikai tisztaságú termékek nyerhetők oszlopkromatográfiás tisztítással (diklór-metán/metanol=94:6).

121a: o.p.: 143-146 °C. MS: m/z számolt ($C_{39}H_{43}NO_{12}SNa$, $M+Na^+$): 772,24, mért: 772,24 (ESI). $[\alpha]_D^{23} = -52,6$ (c 0,31, CH_2Cl_2).

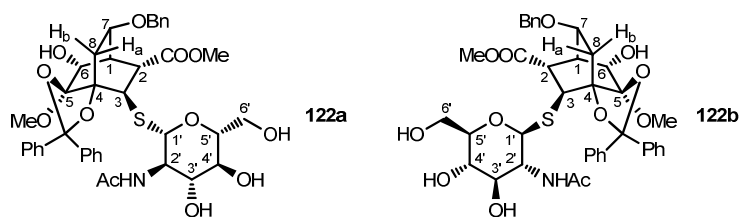
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1,72$ (ddd, 1H, $J_{8a}=15,3$, $J_7=8,9$, $^4J_3=2,5$, H-8b); 1,96 (s, 3H, Ac); 2,12 (d, 1H, $J_{8b}=15,3$, H-8a); 2,85 (s, 3H, 5-OMe); 3,22 (t, 1H, $J_2 \sim J_7 \sim 4$, H-1); 3,56 (t, 1H, $J_1 \sim J_3 \sim 3$, H-2); 3,63 (s, 3H, COOMe); 3,60-3,66 (m, 1H, H-5'); 3,68 (dd, 1H, $J_{8b}=8,9$, $J_1=4,5$, H-7); 3,87 (brs, 1H, 5'-OH); 4,01 (t, 1H, $J_3 \sim J_5 \sim 9,5$, H-4'); 3,82-4,10 (m, 4H, H-2' + H-3' + H-6'); 4,31 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH_2Ph); 4,37 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH_2Ph); 4,41 (t, 1H, $J_2 \sim ^4J_{8b} \sim 3$, H-3); 5,14 (d, 1H, $J_2'=9,8$, H-1'); 5,32 (brs, 1H, 4'-OH); 5,78 (brs, 1H, 3'-OH); 7,14-7,60 (m, 16H, Ar+NH).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 23,4$ (CH_3CO); 31,8 (C-8); 44,8 (C-3); 49,0 (C-2); 50,2 (5-OMe); 50,4 (C-1); 52,7 ($COOCH_3$); 55,9 (C-2'); 61,8 (C-6'); 70,1 (CH_2Ph); 70,3 (C-4'); 70,6 (C-7); 75,8 (C-3'); 79,9 (C-5'); 84,8 (C-1'); 87,3 (C-4); 102,0 (C-5); 113,6 (CPh_2); 125,1-143,3 (Ar); 172,2, 172,9 ($CH_3CO+COOMe$); 197,7 (C-6).

121b: o.p.: 150-153 °C. MS: m/z számolt ($C_{39}H_{43}NO_{12}SNa$, $M+Na^+$): 772,24, mért: 772,25 (ESI). $[\alpha]_D^{23} = +15,8$ (c 0,31, CH_2Cl_2).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1,63$ -1,70 (m, 1H, H-8b); 2,01 (s, 3H, Ac); 2,30 (d, 1H, $J_{8b}=15,2$, H-8a); 2,83 (s, 3H, 5-OMe); 3,19 (t, 1H, $J_2 \sim J_7 \sim 4$, H-1); 3,41 (t, 1H, $J_1 \sim J_3 \sim 3$, H-2); 3,62 (s, 3H, COOMe); 3,58-3,61 (m, 1H, H-5'); 3,64 (dd, 1H, $J_{8b}=8,8$, $J_1=4,4$, H-7); 3,83 (t, 1H, $J_3 \sim J_5 \sim 9$, H-4'); 3,93 (dt, 1H, $J_{NH}=9,2$, $J_1' \sim J_3' \sim 10$, H-2'); 3,96-4,04 (m, 3H, H-3' + H-6'); 4,27 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH_2Ph); 4,33 (d, 1H, $J_{gem}=12,0$, CH_2Ph); 4,54 (t, 1H, $J_2 \sim ^4J_{8b} \sim 3$, H-3); 5,29 (d, 1H, $J_2'=10,2$, H-1'); 7,12-7,60 (m, 16H, Ar+NH).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 23,5$ (CH_3CO); 31,3 (C-8); 43,8 (C-3); 46,2 (C-2); 50,15 (5-OMe); 50,22 (C-1); 52,6 ($COOCH_3$); 56,1 (C-2'); 62,1 (C-6'); 69,8 (CH_2Ph); 70,1 (C-7); 70,7 (C-4'); 76,0 (C-3'); 80,1 (C-5'); 84,9 (C-1'); 88,4 (C-4); 102,2 (C-5); 113,7 (CPh_2); 125,1-143,4 (Ar); 172,2, 172,7 ($CH_3CO+COOMe$); 197,6 (C-6).



(1*S*,2*R*,3*R*,4*R*,5*S*,6*R*,7*R*)-7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5,6-trihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonilbiciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (122a)

(1*R*,2*S*,3*S*,4*S*,5*R*,6*S*,7*S*)-7-benziloxi-4,5-*O*-difenilmetilidén-4,5,6-trihidroxi-5-metoxi-2-metoxikarbonilbiciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (122b)

1,47 g (3,95 mmol) $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -ot feloldottunk 30 ml metanolban, az oldatot -30°C -ra hűtöttük, majd hozzáadtunk 121 mg (3,20 mmol) nátrium-tetrahidridoborátot. Az elegyet -30°C -on 40 percen át kevertettük. Az oldathoz, annak -70°C -ra történő hűtése után 608 mg (0,81 mmol) **121a**, illetve **121b** 9 ml metanollal készült oldatát csepegtettük 20 perc alatt. A reakcióelegyet 2 órán át -70°C -on kevertettük, majd felmelegedés után bepároltuk. A maradékot 100 ml diklór-metán és 40 ml 0,25 %-os citromsav-oldat között megoszlattuk, majd a szerves fázist telített NaHCO_3 -oldattal kiráztuk. Az egyesített vizes fázisokat diklór-metánnal extraháltuk. Ezután az egyesített szerves fázisokat szárítottuk és bepároltuk. **121a** esetében a reakció tiszta **122a**-t szolgáltatott (612 mg fehér, szilárd anyag, kvant.), **121b** esetén a kapott nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk (diklór-metán/metanol=93:7), így 523 mg (86 %) fehér, szilárd anyagot (**122b**) nyertünk.

122a: o.p.: $144\text{--}147^\circ\text{C}$. MS: m/z számolt ($\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{NO}_{12}\text{SNa}$, $\text{M}+\text{Na}^+$): 774,26, mért: 774,25 (ESI). $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -37,2$ (c 0,31, CH_2Cl_2).

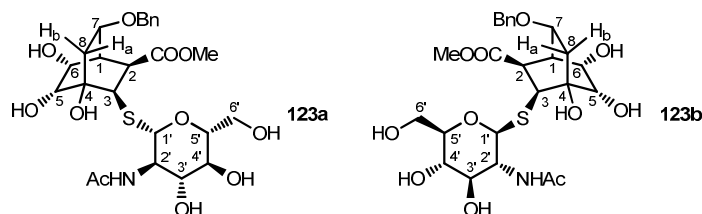
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ = 7,60–7,09 (m, 16H, Ar+NH); 5,06 (d, 1H, $J_2=9,1$, H-1'); 4,48 (d, 1H, $J_6=10,8$, 6-OH); 4,37 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12,1$, CH_2Ph); 4,28 (brs, 1H, H-3); 4,26 (d, 1H, $J_{\text{gem}}=12,1$, CH_2Ph); 4,05 (brs, 2H, H-6'); 4,01–3,90 (m, 2H, H-2'+H-3'); 3,90–3,82 (m, 1H, H-4'); 3,82 (d, 1H, $J_{6\text{-OH}}=10,8$, H-6); 3,70 (s, 3H, COOMe); 3,68 (dd, 1H, $J_{8b}=8,7$, $J_1=4,3$, H-7); 3,59–3,51 (m, 1H, H-5'); 3,47 (t, 1H, $J_1\sim J_3\sim 3$, H-2); 2,81 (s, 3H, 5-OMe); 2,54 (t, 1H, $J_2\sim J_7\sim 4$, H-1); 1,94 (s, 3H, Ac); 1,79 (d, 1H, $J_{8b}=15,1$, H-8a); 1,65–1,56 (m, 1H, H-8b).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): δ = 176,5, 172,2 ($\text{CH}_3\text{CO}+\text{COOMe}$); 144,5–125,2 (Ar); 112,2 (CPh_2); 106,0 (C-5); 85,9 (C-4); 84,7 (C-1'); 79,9 (C-5'); 75,7 (C-3'); 74,0 (C-6); 71,8 (C-7); 70,4 (C-4'); 69,5 (CH_2Ph); 61,9 (C-6'); 55,9 (C-2'); 53,1 (COOCH_3); 52,5 (5-OMe); 48,9 (C-2); 45,4 (C-3); 41,2 (C-1); 30,7 (C-8); 23,4 (CH_3CO).

122b: o.p.: 155-157 °C. MS: m/z számolt ($C_{39}H_{45}NO_{12}SNa$, $M+Na^+$): 774,26, mért: 774,25 (ESI). $[\alpha]_D^{23} = +5,6$ (c 0,30, CH_2Cl_2).

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7,57$ - $7,11$ (m, 15H, Ar); $6,87$ (d, 1H, $J_{2'}=6,5$, NH); $5,17$ (d, 1H, $J_{2'}=9,7$, H-1'); $4,54$ (d, 1H, $J_6=10,8$, 6-OH); $4,35$ (t, 1H, $J_{2\sim 4}J_{8b\sim 2}$, H-3); $4,32$ (d, 1H, $J_{gem}=12,1$, CH_2Ph); $4,21$ (d, 1H, $J_{gem}=12,1$, CH_2Ph); $3,99$ (brs, 2H, H-6'); $3,90$ - $3,79$ (m, 4H, H-6+H-2'+H-3'+H-4'); $3,70$ (s, 3H, COOMe); $3,65$ (dd, 1H, $J_{8b}=8,6$, $J_1=4,4$, H-7); $3,59$ - $3,53$ (m, 1H, H-5'); $3,24$ (t, 1H, $J_1\sim J_3\sim 3$, H-2); $2,82$ (s, 3H, 5-OMe); $2,53$ (t, 1H, $J_{2\sim 7}\sim 4$, H-1); $1,88$ (s, 3H, Ac); $2,09$ (d, 1H, $J_{8b}=14,7$, H-8a); $1,62$ - $1,54$ (m, 1H, H-8b).

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 176,7$, $172,3$ ($CH_3CO+COOMe$); $144,5$ - $125,2$ (Ar); $112,6$ (CPh_2); $106,3$ (C-5); $87,5$ (C-4); $85,2$ (C-1'); $79,8$ (C-5'); $76,7$ (C-6; 2D-HSQC alapján); $73,8$ (C-3'); $71,4$ (C-7); $70,7$ (C-4'); $69,2$ (CH_2Ph); $62,1$ (C-6'); $56,1$ (C-2'); $52,9$ ($COOCH_3$); $52,5$ (5-OMe); $45,4$ (C-2); $44,9$ (C-3); $41,2$ (C-1); $29,9$ (C-8); $23,3$ (CH_3CO).



(1*S*,2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*R*,7*R*)-7-benziloxi-4,5,6-trihidroxi-2-metoxikarbonil-biciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio- β -D-glükopiranozid (123a)

(1*R*,2*R*,3*S*,4*S*,5*S*,6*S*,7*S*)-7-benziloxi-4,5,6-trihidroxi-2-metoxikarbonil-biciklo[2.2.2]oktán-3-il 2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio- β -D-glükopiranozid (123b)

390 mg (0,52 mmol) **122a**-t, illetve **122b**-t feloldottunk 20 ml diklór-metánban, majd 0,2 ml trifluorecetsavat adtunk az oldathoz, melyet ezután 1 órán át kevertettük szobahőmérsékleten. A reakcióelegyet 20 ml absz. toluóval hígítottuk és bepároltuk. Ezután 10 ml absz. toluóval pároltuk le a maradékról. A nyersterméket 20 ml tetrahidrofurán/metanol 9:1 arányú elegyében oldottuk, lehűtöttem -15 °C-ra, és 85 mg (2,25 mmol) nátrium-tetrahidrodiborátot adtunk hozzá. A reakcióelegyet -15 °C-on 30 percig kevertettük, majd 15 ml metanollal történő hígítás után szobahőmérsékleten, Serdolit-vörös kationcserélő gyantával semlegesítettük. A gyantát kiszűrtük, metanollal mostuk, a szűrlethez pedig 0,3 ml 96 %-os ecetsavat adtunk és kb. 10 ml végtérfogatra pároltuk be. Ezután 20 ml metanólt pároltuk le a maradékról, a bepárlást kb. 5 ml végtérfogatig végeztük. Az ecetsavtól 2 x 20 ml absz. toluóval történő bepárlással szabadultunk meg. Az így kapott anyagot oszlopkromatográfián tisztítottuk (diklór-metán/metanol=83:17). 133 mg (46 %) **123a**-t, illetve 162 mg **123b**-t

(56 %) kaptunk, melyek diklór-metán/hexán eleggyel történő bepárlással fehér por formában nyerhetők.

123a: o.p.: 180-190 °C (bomlik). MS: m/z számolt ($C_{25}H_{35}NO_{11}SNa$, $M+Na^+$): 580,18, mért: 580,39 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = -24,5$ (c 0,20, MeOH).

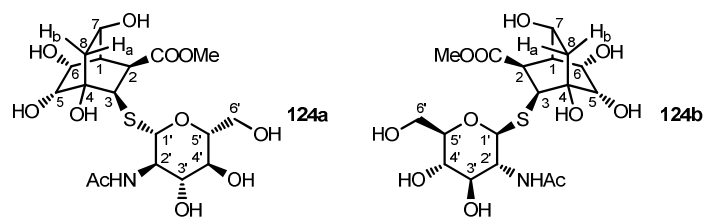
1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 7,36$ - $7,24$ (m, 5H, Ar); 4,66 (d, 1H, $J_2=10,5$, H-1'); 4,49 (brs, 2H, CH_2Ph); 3,93 (dd, 1H, $J_2=7,9$, $^4J_{8b}=2,3$, H-3); 3,90 (dd, 1H, $J_5=8,6$, $J_1=3,7$, H-6); 3,89 (dd, 1H, $J_{6'b}=12,1$, $J_5'=2,2$, H-6'a); 3,79 (t, 1H, $J_1'\sim J_3'\sim 9$, H-2'); 3,75-3,70 (m, 1H, H-7); 3,69 (s, 3H, COOMe); 3,66 (d, 1H, $J_6=8,6$, H-5); 3,63 (dd, 1H, $J_{6'a}=12,1$, $J_5'=5,9$, H-6'b); 3,43 (t, 1H, $J_2'\sim J_4'\sim 9$, H-3'); 3,32 (t, 1H, $J_3'\sim J_5'\sim 9$, H-4'); 3,39-3,33 (m, 1H, H-5'); 2,99 (dd, 1H, $J_3=7,9$, $J_1=2,1$, H-2); 2,69 (m, 1H, H-1); 1,95 (s, 3H, Ac); 1,79 (dd, 1H, $J_{8b}=14,1$, $J_7=4,9$, H-8a); 1,74 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,1$, $J_7=9,2$, $^4J_3=2,3$, H-8b).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): $\delta = 176,6$, 174,0 ($CH_3CO+COOMe$); 139,8, 129,5, 128,9, 128,8 (Ar); 87,6 (C-1'); 82,3 (C-5'); 77,3 (C-3'); 72,7 (C-4); 72,3 (C-7); 71,9 (C-4'); 71,5 (C-5); 71,4 (CH_2Ph); 66,7 (C-6); 63,0 (C-6'); 56,4 (C-2'); 52,6 ($COOCH_3$); 46,4 (C-3); 46,2 (C-2); 42,9 (C-1); 37,0 (C-8); 23,1 (CH_3CO).

123b: o.p.: 180-190 °C (bomlik). MS: m/z számolt ($C_{25}H_{35}NO_{11}SNa$, $M+Na^+$): 580,18, mért: 580,20 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = +26,1$ (c 0,20, MeOH).

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 7,37$ - $7,24$ (m, 5H, Ar); 4,84 (d, 1H, $J_2=10,5$, H-1'); 4,51 (brs, 2H, CH_2Ph); 4,11 (dd, 1H, $J_2=7,1$, $^4J_{8b}=2,5$, H-3); 3,87 (dd, 1H, $J_5=8,6$, $J_1=3,7$, H-6); 3,79 (dd, 1H, $J_{6'b}=12,1$, $J_5'=2,5$, H-6'a); 3,73 (ddd, 1H, $J_{8b}=9,6$, $J_{8a}=4,2$, $J_1=2,7$, H-7); 3,71-3,65 (m, 2H, H-2'+H-6'b); 3,67 (s, 3H, COOMe); 3,61 (d, 1H, $J_6=8,6$, H-5); 3,44 (t, 1H, $J_2'\sim J_4'\sim 9$, H-3'); 3,37 (t, 1H, $J_3'\sim J_5'\sim 9$, H-4'); 3,25 (ddd, 1H, $J_4'=9,5$, $J_{6'b}=5,5$, $J_{6'a}=2,5$, H-5'); 3,14 (dd, 1H, $J_3=7,1$, $J_1=2,5$, H-2); 2,66 (m, 1H, H-1); 1,98 (dd, 1H, $J_{8b}=14,0$, $J_7=4,2$, H-8a); 1,97 (s, 3H, Ac); 1,70 (ddd, 1H, $J_{8a}=14,0$, $J_7=9,6$, $^4J_3=2,5$, H-8b).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): $\delta = 177,0$, 173,9 ($CH_3CO+COOMe$); 139,8, 129,5, 128,9, 128,8 (Ar); 86,1 (C-1'); 81,6 (C-5'); 77,7 (C-3'); 73,5 (C-4); 72,6 (C-7); 71,9 (2C, C-5+C-4'); 71,4 (CH_2Ph); 67,0 (C-6); 63,1 (C-6'); 57,0 (C-2'); 52,6 ($COOCH_3$); 43,8 (C-3); 45,8 (C-2); 42,9 (C-1); 36,2 (C-8); 23,2 (CH_3CO).



**(1*R*,2*S*,3*R*,4*R*,5*R*,6*R*,7*R*)-4,5,6,7-tetrahydroxi-2-metoxikarbonilbicyklo[2.2.2]oktán-3-il
2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (124a)**

**(1*S*,2*R*,3*S*,4*S*,5*S*,6*S*,7*S*)-4,5,6,7-tetrahidroxii-2-metoxikarbonilbicyklo[2.2.2]oktán-3-il
2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (124b)**

128 mg (0,23 mmol) **123a**, illetve **123b** 15 ml metanollal készült oldatát 94 mg Pd(C) katalizátor (10 % Pd) jelenlétében, egy éjszakán át H₂-atmoszférában kevertettük. A katalizátort Celiten történő szűréssel eltávolítottuk, metanollal mostuk, a szűrletet pedig bepároltuk. A nyerterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk (diklór-metán/metanol=6:4), így 45 mg (42 %) **124a**-t, illetve 55 mg (54 %) **124b**-t izoláltunk, melyek átlátszó, filmszerű anyagok. Liofilizálással higroszkópos, fehér anyagok nyerhetők.

124a: MS: m/z számolt (C₁₈H₂₉NO₁₁SNa, M+Na⁺): 490,14, mért: 490,14 (ESI). [α]_D²³ = -41,8 (c 0,12, MeOH).

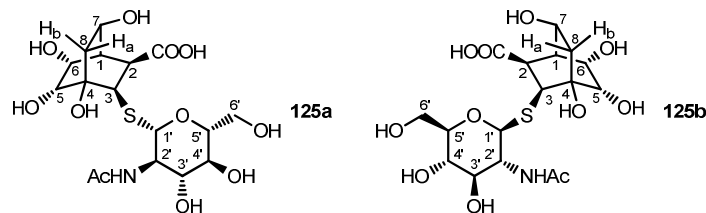
¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ = 4,69 (d, 1H, J₂=10,2, H-1'); 3,87 (dd, 1H, J₂=8,3, ⁴J_{8b}=2,5, H-3); 3,95-3,88 (m, 3H, H-6+H-7+H-6'a); 3,76 (t, 1H, J₁~J₃~10, H-2'); 3,69 (s, 3H, COOMe); 3,65 (d, 1H, J₆=8,4, H-5); 3,64 (dd, 1H, J_{6'a}=12,1, J₅=6,1, H-6'b); 3,45 (t, J₂~J₄~9, 1H, H-3'); 3,40-3,32 (m, 2H, H-4'+H-5'); 2,98 (dd, 1H, J₃=8,3, J₁=1,9, H-2); 2,47-2,45 (m, 1H, H-1); 1,96 (s, 3H, Ac); 1,75 (ddd, 1H, J_{8a}=14,1, J₇=9,7, ⁴J₃=2,5, H-8b); 1,63 (dd, 1H, J_{8b}=14,1, J₇=5,1, H-8a).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ = 176,7, 173,9 (CH₃CO+COOMe); 87,8 (C-1'); 82,3 (C-5'); 77,4 (C-3'); 72,7 (C-4); 72,0 (C-4'); 71,3 (C-5); 67,0 (C-6); 64,7 (C-7); 63,1 (C-6'); 56,6 (C-2'); 52,6 (COOCH₃); 47,0 (C-3); 46,5 (C-1); 45,6 (C-2); 39,0 (C-8); 23,1 (CH₃CO).

124b: MS: m/z számolt (C₁₈H₂₉NO₁₁SNa, M+Na⁺): 490,14, mért: 490,14 (ESI), [α]_D²³ = 28,2 (c 0,12, MeOH).

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ = 4,86 (d, 1H, J₂=10,5, H-1'); 4,11 (dd, 1H, J₂=7,4, ⁴J_{8b}=2,4, H-3); 3,96 (ddd, 1H, J_{8b}=9,7, J_{8a}=4,6, J₁=2,6, H-7); 3,90 (dd, 1H, J₅=8,7, J₁=3,7, H-6); 3,77 (dd, 1H, J_{6'a}=12,1, J₅=2,5, H-6'a); 3,71-3,65 (m, 2H, H-2'+H-6'b); 3,67 (s, 3H, COOMe); 3,60 (d, 1H, J₆=8,7, H-5); 3,43 (t, 1H, J₂~J₄~9, H-3'); 3,38 (m, 1H, J₃~J₅~9, H-4'); 3,24-3,19 (m, 2H, H-2+H-5'); 2,45-2,43 (m, 1H, H-1); 1,97 (s, 3H, Ac); 1,86 (dd, 1H, J_{8b}=13,7, J₇=4,6, H-8a); 1,71 (ddd, 1H, J_{8a}=13,7, J₇=9,7, ⁴J₃=2,4, H-8b).

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ = 177,3, 173,9 (CH₃CO+COOMe); 86,0 (C-1'); 81,5 (C-5'); 77,9 (C-3'); 73,6 (C-4); 71,7 (C-4'); 71,8 (C-5); 66,9 (C-6); 65,1 (C-7); 62,9 (C-6'); 57,0 (C-2'); 52,5 (COOCH₃); 44,1 (C-3); 46,4 (C-1); 45,4 (C-2); 38,1 (C-8); 23,2 (CH₃CO).



(1R,2S,3R,4R,5R,6R,7R)-4,5,6,7-tetrahydroxy-2-karboxibiciklo[2.2.2]oktán-3-il

2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (125a)

(1S,2R,3S,4S,5S,6S,7S)-4,5,6,7-tetrahydroxy-2-karboxibiciklo[2.2.2]oktán-3-il

2'-acetamido-2'-dezoxi-1'-tio-β-D-glükopiranozid (125b)

5 mg (11 μmol) **161a**, illetve **161b** 200 μl vízzel készült oldatához 210 μl 0,1 M NaOH-oldatot adtunk. 1,5 óra kevertetés után a hidrolízis teljesen végbement (VRK), így a reakcióelegyet Serdolit-vörös kationcserélő gyantával semlegesítettük, a gyantát kiszűrtük, vízzel mostuk, a szűrletet pedig liofilizáltuk. 5 mg (kvant.) **125a**-t, illetve 5 mg (kvant.) **125b**-t kaptunk, melyek higroszkópos fehér anyagok.

125a: MS: m/z számolt (C₁₇H₂₇NO₁₁SNa, M+Na⁺): 476,12, mért: 476,17 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = -51,8$ (c 0,18, MeOH).

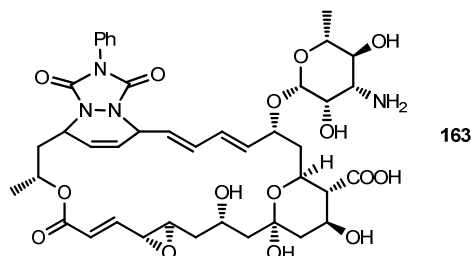
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 4,65 (d, 1H, $J_2=10,5$, H-1'); 3,94-3,85 (m, 3H, H-6+H-7+H-6'a); 3,83-3,74 (m, 2H, H-3+H-2'); 3,68-3,60 (m, 2H, H-4'+H-6'b); 3,42-3,32 (m, 3H, H-5+H-3'+H-5'); 3,04 (brd, 1H, $J_3\sim 9$, H-2); 2,17 (m, 1H, H-1); 1,99 (s, 3H, Ac); 1,71 (ddd, 1H, $J_{8a}=13,9$, $J_7=9,2$, $^4J_3=2,2$, H-8b); 1,60 (dd, 1H, $J_{8b}=13,9$, $J_7=5,0$, H-8a).

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): δ = 182,8, 174,0 (CH₃CO+COOH); 87,1 (C-1'); 82,3 (C-5'); 78,0 (C-3'); 73,0 (C-4); 72,5 (C-4'); 72,0 (C-5); 68,1 (C-6); 66,2 (C-7); 63,0 (C-6'); 56,5 (C-2'); 50,2 (C-2); 49,1 (C-3; 2D-HSQC alapján); 44,7 (C-1); 38,3 (C-8); 23,1 (CH₃CO).

125b: MS: m/z számolt (C₁₇H₂₇NO₁₁SNa, M+Na⁺): 476,12, mért: 476,18 (MALDI). $[\alpha]_D^{23} = +35,4$ (c 0,18, MeOH).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 4,79 (d, 1H, $J_2=10,4$, H-1'); 3,94-3,79 (m, 4H, H-3+H-6+H-7+H-6'a); 3,71-3,59 (m, 3H, H-5+H-2'+H-6'b); 3,50 (t, 1H, $J_2\sim J_4\sim 9$, H-3'); 3,33-3,25 (m, 2H, H-4'+H-5'; CHD₂OD jele részlegesen fedi); 3,00 (brd, 1H, $J_3\sim 9$, H-2); 2,15 (brs, 1H, H-1); 1,98 (s, 3H, Ac); 1,77-1,67 (m, 2H, H-8).

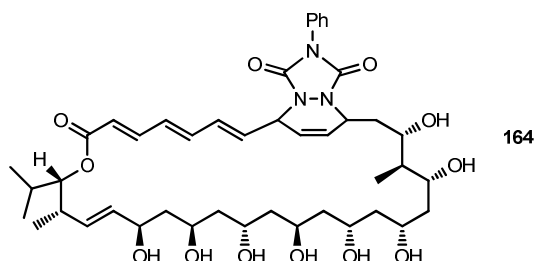
^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD): δ = 182,7, 173,9 ($\text{CH}_3\text{CO}+\text{COOH}$); 84,8 (C-1'); 82,1 (C-5'); 77,7 (C-3'); 73,7 (C-4); 72,7 (C-4'); 72,0 (C-5); 68,2 (C-6); 66,3 (C-7); 63,0 (C-6'); 57,1 (C-2'); 49,1 (C-2; 2D-HSQC alapján); 46,1 (C-3); 44,6 (C-1); 37,9 (C-8); 23,2 (CH_3CO).



Natamicin-adduktum (163)

152 mg (0,23 mmol) natamicint szuszpendáltunk 10 ml absz. dioxánban, majd 62 mg (0,27 mmol) (1*R*)-kámfor-10-szulfonsavat adtunk az elegyhez. A natamicin legnagyobb részének feloldódása után 44 mg (0,25 mmol) 4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-diont adtunk az oldathoz, melyet 3 órán át kevertettünk. 38 μl (0,27 mmol) Et_3N hozzáadása után a reakcióelegyet bepároltuk, a nyersterméket flash oszlopkromatográfiával, fordított fázison tisztítottuk (Merck Kieselgel 60 RP-18 (40-63 μm), metanol/víz=8:2). Így 100 mg (52 %) halványsárga szilárd anyagot kaptunk.

MS: m/z számolt ($\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{Na}$, $\text{M}+\text{Na}^+$): 863,33, mért: 863,46 (MALDI).



Flavofungin-adduktum (164)

654 mg (1,0 mmol) flavofungint szuszpendáltunk 50 ml absz. dioxánban, majd az elegyhez 176 mg (1,0 mmol) 4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-dion 15 mL absz. dioxánnal készült oldatát csepegtettük 1,5 óra alatt, kevertetés mellett. A dioxánt előzőleg argonnal alaposan átöblítettük. 1 óra további kevertetés után a reakcióelegyet bepároltuk, a maradékot pedig flash oszlopkromatográfia alá vetettük (diklór-metán/metanol=9:1). Ily módon 166 mg (20 %) halványsárga, üvegszerű anyagot kaptunk.

MS: m/z számolt ($\text{C}_{36}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_{12}\text{Na}$, $\text{M}+\text{Na}^+$): 848,43, mért: 848,48 (MALDI).

Nátrium-*tris*(trifluoretiláto)hidridoborát [NaBH(OCH₂CF₃)₃]

Golden és munkatársai⁶⁰ munkája alapján, a következő kisebb módosításokkal: a reakcióelegyet 19 órán át kevertettük (12 óra helyett) és a kezdeti behűtés után nem alkalmaztunk további hűtést. Mivel a reakcióelegy 19 óra eltelte után is tartalmazott kevés szilárd nátrium-tetrahidridoborátot, azt szűréssel távolítottuk el és a szűrletet használtuk a redukcióhoz.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám során Diels–Alder reakciók segítségével állítottuk elő a természetes eredetű perikozinok áthidalt gyűrűs, biciklo[2.2.2]oktén vázas analógját, valamint egy hetero-Diels–Alder cikloaddíció regioszelektivitását vizsgáltuk két polién makrolid antibiotikumon.

A perikozin analóg előállítását egy egyszerű, aromás vegyületből (metil-gallát) kiindulva valósítottuk meg. A szintézis kulcslépése egy oxidatív dezaromatizáció illetve egy regio- és diasztereoselektív Diels–Alder cikloaddíció volt.

Részletesen tanulmányoztuk a dezaromatizációval képződött ciklohexadienon (dién) közttermék [4+2] típusú cikloaddíciókban való részvételét, mely vizsgálathoz kvantum-kémiai számítások eredményeit is felhasználtuk. Megállapítottuk, hogy a dién kettős sajátsággal rendelkezik, azaz mind normál, mind inverz elektronszükségletű Diels–Alder reakciókban részt vehet. Az inverz elektronszükségletű reakciókban tapasztalt regioszelektivitás nem követi a Houk-szabályt. Ennek okát, a másodlagos kölcsönhatások jelentőségét, a benzil-vinil-éterrel képzett adduktumon végzett elméleti kémiai számításokkal tártuk fel.

A kapott, négy kiralitáscentrumot tartalmazó, benzil-vinil-éterrel nyert cikloadduktumból további hét, teljes vagy jó diasztereoselektivitású reakciólépéssel állítottuk elő a célvegyületet, egy öt aszimmetriacentrummal rendelkező áthidalt gyűrűs perikozin analógot. A vegyület többféle sejtvonalon sem bizonyult citotoxikusnak.

A racém ciklohexadienon közttermékből két enantiomertiszta, potenciálisan kondroitin liáz inhibitor tulajdonságú pszeduotiodiszacharidot állítottunk elő, melyekben a biciklooktán váz hét kiralitáscentrummal rendelkezik. A vegyületek gyenge inhibíciós képességet mutattak.

A munka második részében két polién makrolid típusú antibiotikum, a natamicin és a flavofungin Diels–Alder reakcióját vizsgáltuk. Mindkét makrolidra egy azadienofilt addicionáltunk, s a termékek szerkezetét felderítve megállapítottuk, hogy a reakció mindkét esetben regio- és diasztereoselektíven ment végbe. Elméleti kémiai számítások segítségével is kimutattuk, hogy az alkalmazott natamicin-modell esetében, összhangban a kísérleti ténnyel a cukorrésztől legtávolabb eső (C₂₀–C₂₃) diénrészlet a legreaktívabb. Flavofungin esetében a poliénkarbonsavakon, mint modellvegyületeken végzett számítások kimutatták a karbonil-csoport irányító hatását.

6. SUMMARY

Pericosines are naturally occurring compounds with antitumour activity. In my doctoral work we report on the synthesis of a bridged analogue having bicyclo[2.2.2]octane skeleton. Dealing with Diels–Alder cycloaddition reactions, too, regioselectivity in a hetero Diels–Alder reaction of two polyene macrolide antibiotics was also studied.

The pericosine analogue has been synthesized from a simple aromatic precursor, methyl gallate. The key steps of the synthesis are an oxidative dearomatization and a regio- and diastereoselective Diels–Alder cycloaddition.

The participation of the cyclohexadienone intermediate, obtained in the dearomatization step, in [4+2] type cycloadditions has been studied in detail by means of both experimental methods and quantum chemical calculations. It has been pointed out that the diene has dual character as it reacts in Diels–Alder reactions with both normal and inverse electron demand. The regioselectivity of the products in inverse electron demand reactions did not follow the Houk's rule. The reason of this discrepancy and the importance of the secondary orbital interactions were pointed out with the use of theoretical calculation applied for the reaction of the diene with benzyl vinyl ether.

From the four chiral center containing cycloadduct, obtained with benzyl vinyl ether, a bridged pericosine analogue having five chiral centers has been synthesized in seven reaction steps with full diastereoselectivity has been achieved. Unfortunately, the target compound has not proved to be active on different types of cell lines.

From the racemate cyclohexadienone intermediate two enantiomerically pure pseudothiodisaccharides with potential chondroitin lyase inhibitory effect have been synthesized. These pseudothiodisaccharides, in which the bicyclooctane scaffold contains seven chiral centers, showed poor inhibitory activity.

In the second part of this work, a Diels–Alder reaction of two polyene macrolide antibiotics, natamycin and flavofungin with 4-phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione has been examined. According to the results of detailed spectroscopic studies the cycloaddition proceeded with high regio- and diastereoselectivity in both cases. Using theoretical calculations on a natamycin model we confirmed that the C₂₀–C₂₃ section (situated the farthest from the sugar moiety) of the polyene part is the most reactive. In the case of flavofungin the directing effect of the carbonyl group has been pointed out using polyenoic acids as model compounds.

7. RÖVIDÍTÉSJEGYZÉK

Ac	acetil		
Bn	benzil		
ⁿ Bu	<i>n</i> -butil	MIC	Minimal Inhibitory Concentration (minimális gátló koncentráció)
^t Bu	<i>tert</i> -butil	MS	Mass Spectrometry (tömegspektrometria)
CCD	Charge Coupled Device (töltés-csatolt egység)	NCS	<i>N</i> -klórszukcinimid
COSY	Correlation Spectroscopy (korrelációs spektroszkópia)	NMO	<i>N</i> -metilmorfolin- <i>N</i> -oxid
CRFK	Crandell Rees feline kidney (macskaveséből származó sejtvonal)	NMR	Nuclear Magnetic Resonance (mágneses rezonancia spektroszkópia)
d.e.	diastereomeric excess (diasztereomer-felesleg)	NOE	Nuclear Overhauser Effect (nukleáris Overhauser-effektus)
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]oktán	NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (nukleáris Overhauser-effektus spektroszkópia)
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-én		
DIBAL-H	diizobutilalumínium-hidrid		
DMAP	4-(dimetilamino)piridin		
ED ₅₀	50 %-ban hatásos dózis		
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor (epidermális növekedési faktor receptor)	o.p.	olvadáspont
ESI	Electrospray Ionization (elektrospray ionizáció)	ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Program
Et	etil	Ph	fenil
HEL	Human Erythroleukemic (cells) (emberi eritroleukémiás sejtek)	Piv	pivaloil
HeLa	Henrietta Lacks (tumorsejtek)	PPTS	piridínium- <i>p</i> -toluolszulfonát
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence (heteronukleáris egyszeres-kvantum koherencia)	PTSA	<i>p</i> -toluolszulfonsav
IC ₅₀	50 %-os gátlást okozó koncentráció	R _f	retenciós faktor
<i>J</i>	csatolási állandó	TBAF	tetra- <i>n</i> -butilammónium-fluorid
LHMDS	lítium-hexametildiszilazid	TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilszilil
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -klórperbenzoesav	TMS	trimetilszilil
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (mátrix-segített lézer deszorpció/ionizáció)	Tf	trifluormetánszulfonil
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney (kutyaveséből származó sejtvonal)	TFA	trifluorecetsav
Me	metil	TFAA	trifluorecetsavanhidrid
		Ts	tozil (<i>p</i> -toluolszulfonil)
		TS	Transition State (átmeneti állapot)
		UV	ultraviolet (ultraibolya)
		Vero	„Verda Reno” (az afrikai zöld majom veséjéből származó sejtvonal)
		VRK	vékonyrétegekromatográfia

8. TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Közlemények a dolgozat témájában:

- 1., Synthesis of a pericosine analogue with a bicyclo[2.2.2]octene skeleton
Zsolt Fejes, Attila Mándi, István Komáromi, Attila Bényei, Lieve Naesens, Ferenc Fenyvesi, László Szilágyi, Pál Herczegh
Tetrahedron, **2009**, 65(39), 8171-8175.
IF: 3,219
- 2., A synthetic and *in silico* study on the highly regioselective Diels–Alder reaction of the polyenic antifungal antibiotics natamycin and flavofungin
Zsolt Fejes, Attila Mándi, István Komáromi, László Majoros, Gyula Batta, Pál Herczegh
Tetrahedron Letters, **2010**, 51(38), 4968-4971.
IF: 2,660 (2009)

Egyéb közlemény:

New types of α -amylase enzyme-inhibitory polysaccharides from D-glucal
Sándor Kéki, Gyula Batta, Ilona Bereczki, Zsolt Fejes, Lajos Nagy, Ágnes Zajác, Lili Kandra, Imre Kiricsi, György Deák, Miklós Zsuga, Pál Herczegh
Carbohydrate Polymers, **2006**, 63(1), 136-140.
IF: 1,784

Előadások (E) és posztterek (P) a dolgozat témájában:

- 1., P. Herczegh, Zs. Fejes
Synthesis of the analogues of the antibiotic pericosine (P)
23rd IUPAC - International Symposium on the Chemistry of Natural Products, Firenze, 2002.07.28-08.02
- 2., P. Herczegh, Zs. Fejes
Synthesis of the analogues of the antibiotic pericosin (P)
1st Austrian-Hungarian Carbohydrate Conference, Burg Schlaining, 2003.09.24-26.
- 3., Zs. Fejes, Gy. Gyémánt, L. Kandra, S. Antus, T. Kurtán, L. Szilágyi, F. Fenyvesi, L. Majoros, P. Herczegh
Synthesis of antibiotic analogs using cycloaddition reaction: the case of pericosin and flavofungin (E)
3rd German-Hungarian Workshop – Synthesis, Isolation and Biological Activity of Natural Products, Paderborn, 2008.05.15-17.
- 4., Fejes Zsolt, Gyémánt Gyöngyi, Kandra Lili, Antus Sándor, Kurtán Tibor, Szilágyi László, Fenyvesi Ferenc, Herczegh Pál
Perikozin antibiotikum analógok szintézise (P)
Vegyészkonferencia 2008, Hajdúszoboszló, 2008.06.19-21.

- 5., Zs. Fejes, Gy. Gyémánt, L. Kandra, S. Antus, T. Kurtán, L. Szilágyi, F. Fenyvesi, L. Majoros, P. Herczegh
Synthesis of antibiotic analogs using cycloaddition reaction: the case of pericosin and flavofungin (E)
Kisfaludy Lajos Alapítvány előadói ülése, Budapest, 2009.03.09.
- 6., Fejes Zsolt, Mándi Attila, Komáromi István, Antus Sándor, Kurtán Tibor, Szilágyi László, Bényei Attila, Lieve Naesens, Fenyvesi Ferenc, Herczegh Pál
A perikozin antibiotikum analógjainak szintézise (E)
MTA Antibiotikum és MTA Nukleotid Munkabizottsági Ülés, Debrecen, 2009.11.19-20.
- 7., Fejes Zsolt
Antibiotikumok szintézise és szerkezetmódosítása Diels–Alder reakcióval (E)
MTA Szerves és Biomolekuláris Kémiai Bizottság Bruckner termi előadása, Budapest, 2010.05.28.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- ¹ J. A. Berson; Discoveries missed, discoveries made: creativity, influence, and fame in chemistry, *Tetrahedron*, **1992**, 48(1), 3-17.
- ² O. Diels, K. Alder; Synthesen in der hydroaromatischen Reihe, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1928**, 460, 98-122.
- ³ K. N. Houk; Generalized frontier orbitals of alkenes and dienes. Regioselectivity in Diels–Alder reactions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95(12), 4092-4094.
- ⁴ P. Yates, P. Eaton; Acceleration of the Diels–Alder reaction by aluminum chloride, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82(16), 4436-4437.
- ⁵ R. B. Woodward, F. Sondheimer, D. Taub, K. Heusler, W. M. McLamore; The total synthesis of steroids, *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74(17), 4223-4476.
- ⁶ M. Gates, G. Tschudi; The synthesis of morphine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74(4), 1109-1110.
- ⁷ M. Gates, G. Tschudi; The synthesis of morphine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 78(7), 1380-1393.
- ⁸ M. Gates; The synthesis of ring systems related to morphine. III. 5,6-Dimethoxy-4-cyanomethyl-1,2-naphthoquinone and its condensation with dienes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72(1), 228-234.
- ⁹ R. B. Woodward, F. E. Bader, H. Bickel, A. J. Frey, R. W. Kierstead; The total synthesis of reserpine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78(9), 2023-2023.
- ¹⁰ K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, T. Montagnon, G. Vassilikogiannakis; The Diels–Alder reaction in total synthesis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41(10), 1668-1698.
- ¹¹ S. Laschat; Pericyclic reactions in biological systems – Does nature know about the Diels–Alder reaction?, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1996**, 35(3), 289-291.
- ¹² A. Ichihara, H. Oikawa; Diels–Alder type natural products – structures and biosynthesis, *Curr. Org. Chem.*, **1998**, 2(4), 365-394.
- ¹³ M. R. Tremblay, T. J. Dickerson, K. D. Janda; Advances in antibody catalysis of cycloaddition reactions, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, 343(6), 577-585.
- ¹⁴ D. Hilvert, K. W. Hill, K. D. Nared, M. Teresa, M. Auditor; Antibody catalysis of the Diels–Alder reaction, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111(26), 9261-9262.
- ¹⁵ T. M. Tarasow, B. E. Eaton; The Diels–Alder reaction and biopolymer catalysis, *Cell. Mol. Life Sci.*, **1999**, 55(11), 1463-1472.

- ¹⁶ B. Seelig, A. Jäschke; A small catalytic RNA motif with Diels–Alderase activity, *Chem. Biol.*, **1999**, 6(3), 167-176.
- ¹⁷ B. Seelig, S. Keiper, F. Stuhlmann, A. Jäschke; Enantioselective ribozyme catalysis of a bimolecular cycloaddition reaction, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39(24), 4576-4579.
- ¹⁸ K. Auclair, A. Sutherland, J. Kennedy, D. J. Witter, J. P. Van den Heever, C. R. Hutchinson, J. C. Vederas; Lovastatin nonaketide synthase catalyzes an intramolecular Diels–Alder reaction of a substrate analogue, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122(46), 11519-11520.
- ¹⁹ K. Watanabe, T. Mie, A. Ichihara, H. Oikawa, M. Honma; Detailed reaction mechanism of macrophomate synthase: Extraordinary enzyme catalyzing five-step transformation from 2-pyrones to benzoates, *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275(49), 38393-38401.
- ²⁰ A. Numata, M. Iritani, T. Yamada, K. Minoura, E. Matsumura, T. Yamori, T. Tsuruo; Novel antitumour metabolites produced by a fungal strain from a sea hare, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38(47), 8215-8218.
- ²¹ T. Yamada, M. Iritani, H. Ohishi, K. Tanaka, K. Minoura, M. Doi, A. Numata; Pericosines, antitumour metabolites from the sea hare-derived fungus *Periconia byssoides*. Structures and biological activities, *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5(24), 3979-3986.
- ²² Y. Usami, H. Ichikawa, M. Arimoto; Synthetic efforts for stereo structure determination of cytotoxic marine natural product pericosines as metabolites of *Periconia* sp. from sea hare, *Int. J. Mol. Sci.*, **2008**, 9, 401-421.
- ²³ Y. Usami, K. Suzuki, K. Mizuki, H. Ichikawa, M. Arimoto; Synthesis of (–)-pericosine B, the antipode of the cytotoxic marine natural product, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7(2), 315-318.
- ²⁴ T. J. Donohoe, K. Blades, M. Helliwell, M. J. Waring; The synthesis of (+)-pericosine B, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39(48), 8755-8758.
- ²⁵ H. Okamura, Y. Nakamura, K. Morishige, R. Ohura, H. Shimizu, T. Iwakawa, M. Nakatani; *Proceedings of the 40th Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshisyu*, 1988, Fukuoka, Japan, 187-192.
- ²⁶ Y. Usami, A. Numata; Examination of the reactivity of hydroxy groups in multioxygenated cyclohexanoids: Synthetic study toward cytotoxic pericosine B, *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52(9), 1125-1129.
- ²⁷ J. L. G. Ruano, J. López-Cantarero, C. Alemparte; Toward the synthesis of (+)-pericosine B, *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **2005**, 180(5&6), 1493-1494.

- ²⁸ T. K. M. Shing, Y. Tang; (–)-Quinic acid in organic synthesis. 1. A facile synthesis of 2-crotonyloxymethyl-(4*R*,5*R*,6*R*)-4,5,6-trihydroxy-cyclohex-2-enone, *Tetrahedron*, **1990**, 46(18), 6575-6584.
- ²⁹ (a) Y. Usami, C. Hatsuno, H. Yamamoto, M. Tanabe, A. Numata; Synthesis of the epimer of pericosine B from (–)-quinic acid, *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52(9), 1130-1133. (b) Errata, *Chem. Pharm. Bull.*, **2005**, 53(6), 721.
- ³⁰ Y. Usami, Y. Ueda; Synthetic study toward antitumor natural product pericosine A, *Chem. Lett.*, **2005**, 34(7), 1062-1063.
- ³¹ Y. Usami, Y. Ueda; Stereoselective syntheses of diastereomers of antitumor natural product pericosine A from (–)-quinic acid, *Synthesis*, **2007**, 20, 3219-3225.
- ³² Y. Usami, Y. Horibe, I. Takaoka, H. Ichikawa, M. Arimoto; First total synthesis of (–)-pericosine a from (–)-shikimic acid: Structure revision and determination of the absolute configuration of antitumor natural product pericosine A, *Synlett*, **2006**, 10, 1598-1600.
- ³³ Y. Usami, I. Takaoka, H. Ichikawa, Y. Horibe, S. Tomiyama, M. Ohtsuka, Y. Imanishi, M. Arimoto; First total synthesis of antitumor natural product (+)- and (–)-pericosine A: Determination of absolute stereo structure, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72(16), 6127-6134.
- ³⁴ Y. Usami, K. Mizuki, H. Ichikawa, M. Arimoto; Determination of the absolute configuration of the cytotoxic natural product pericosine D, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19(12), 1461-1464.
- ³⁵ D. R. Boyd, N. D. Sharma, C. A. Acaru, J. F. Malone, C. R. O'Dowd, C. C. R. Allen, P. J. Stevenson; Chemoenzymatic synthesis of carbasugars (+)-pericosines A–C from diverse aromatic *cis*-dihydrodiol precursors, *Org. Lett.*, **2010**, 12(10), 2206-2209.
- ³⁶ F. Wessely, J. Kotlan; Über die Einwirkung von Bleitetraacetat auf Phenole IV. Oxydation von mehrwertigen Phenolen, *Monatsh. Chem.*, **1953**, 84(2), 291-297.
- ³⁷ R. M. Moriarty; Organohypervalent iodine: development, applications, and future directions, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70(8), 2893-2903.
- ³⁸ V. V. Zhdankin, P. J. Stang; Chemistry of polyvalent iodine, *Chem. Rev.*, **2008**, 108(12), 5299-5358.
- ³⁹ A. Pelter, A. Hussain, G. Smith, R. S. Ward; The synthesis of 8a-methoxy-2*H*,6*H*-chromen-6-ones and corresponding 2*H*-chromenes by a unique process utilising phenolic oxidation, *Tetrahedron*, **1997**, 53(11), 3879-3916.

- ⁴⁰ L. Kürti, P. Herczegh, J. Visy, M. Simonyi, S. Antus, A. Pelter; New insights into the mechanism of phenolic oxidation with phenyliodonium(III) reagents, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.*, **1999**, 4, 379-380.
- ⁴¹ C-C. Liao, R. K. Peddinti; Masked *o*-benzoquinones in organic synthesis, *Acc. Chem. Res.*, **2002**, 35(10), 856-866.
- ⁴² D. Magdziak, S. J. Meek, T. R. R. Pettus; Cyclohexadienone ketals and quinols: four building blocks potentially useful for enantioselective synthesis, *Chem. Rev.*, **2004**, 104(3), 1383-1429.
- ⁴³ S. Quideau, L. Pouységu; Synthetic uses of orthoquinone monoketals and their orthoquinol variants. A review, *Org. Prep. Proced. Int.*, **1999**, 31(6), 617-680.
- ⁴⁴ L. Jurd; Plant polyphenols. VI. Experiments on the synthesis of 3,3'- and 4,4'-di-*O*-methylellagic acid, **1959**, 81(17), 4606-4610.
- ⁴⁵ P. R. Shafer, D. R. Davis, M. Vogel, K. Nagarajan, J. D. Roberts; Nuclear magnetic resonance spectroscopy: abnormal splitting of ethyl groups due to molecular asymmetry, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **1961**, 47(1), 49-51.
- ⁴⁶ F. Kaplan, J. D. Roberts; Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Abnormal splitting of ethyl groups due to molecular asymmetry. II., *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83(22), 4666-4668.
- ⁴⁷ G. M. Whitesides, F. Kaplan, K. Nagarajan, J. D. Roberts; Nuclear magnetic resonance spectroscopy: abnormal splitting of ethyl groups due to molecular asymmetry, III, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **1962**, 48(7), 1112-1114.
- ⁴⁸ I. Mayer; Charge, bond order and valence in the *ab initio* SCF theory, *Chem. Phys. Lett.*, **1983**, 97(3), 270-274.
- ⁴⁹ J. L. Luche; Lanthanides in organic chemistry. 1. Selective 1,2 reductions of conjugated ketones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100(7), 2226-2227.
- ⁵⁰ J. L. Luche, A. L. Gemal; Lanthanoids in organic synthesis. 5. Selective reductions of ketones in the presence of aldehydes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101(19), 5848-5849.
- ⁵¹ C. Liu, D. J. Burnell; Regioselectivity in the reduction of cyclic enediones with NaBH₄/CeCl₃, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38(37), 6573-6576.
- ⁵² M. G. Constantino, L. G. de O. Matias, G. V. J. da Silva, E. Barbieri, M. T. do P. Gambardella; Stereoselective sodium borohydride reductions of cyclopentanones: Influence of ceric chloride on the stereochemistry of reaction, *Quim. Nova*, **1998**, 21(6), 719-721.

- ⁵³ A. Krief, D. Surleraux; Unusual stereofacial differentiation in the reduction of bicyclo[3.1.0]hexanones by Luche's reagent ($\text{NaBH}_4\text{-CeCl}_3$), *Synlett*, **1991**, 4, 273-275.
- ⁵⁴ M. T. Barros, C. M. Alves, A. G. Santos, L. S. Godinho, C. D. Maycock; On the diastereoselectivity of the 1,2-reduction of 2-alkyl-4-hydroxycyclopentenones with sodium borohydride in the presence of cerium(III): synthesis of prostaglandin precursors, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(13), 2321-2324.
- ⁵⁵ M. Leclaire, P. Jean; Inversion of the stereoselectivity in the reduction of the carbonyl group in a precursor to forskolin by the $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$ reagent, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1996**, 133(9), 801-803.
- ⁵⁶ K. Tatsuta, J. Hayakawa, Y. Tatsuzawa; Stereoselective syntheses of 2-deoxy- β -C-arabino- and ribopyranosides: 2-deoxy- β -arabino- and ribopyranosyl cyanides, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1989**, 62(2), 490-492.
- ⁵⁷ V. N. Odinokov, R. G. Savchenko, R. V. Shafikov, S. R. Afon'kina, L. M. Khalilov, V. V. Kachala, A. S. Shashkov; Stereochemistry of hydride reduction of 20-hydroxyecdysone derivatives, *Russ. J. Org. Chem.*, **2005**, 41(9), 1296-1305.
- ⁵⁸ T. Kodama, S. Shuto, M. Nomura, A. Matsuda; Synthesis of a 1'- α -phenylselenouridine derivative as a synthetic precursor for various 1'-modified nucleosides, via enolization at the 1'-position of 3',5'-O-TIPDS-2'-ketouridine, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41(19), 3643-3646.
- ⁵⁹ E. N. Tzanetou, K. M. Kasiotis, P. Magiatis, S. A. Haroutounian; Synthesis of (R)-dihydropyridones as key intermediates for an efficient access to piperidine alkaloids, *Molecules*, **2007**, 12(4), 735-744.
- ⁶⁰ J. H. Golden, C. Schreier, B. Singaram, S. M. Williamson; Disproportionation of (alkoxy)borohydrides: a ^{11}B NMR study of the reaction between sodium borohydride and fluorinated alcohols and phenols. The preparation of tris(fluoroalkoxy)- and tris(fluorophenoxy)borohydrides, *Inorg. Chem.*, **1992**, 31(8), 1533-1535.
- ⁶¹ D. Horton, M. L. Wolfrom; Thiosugars. I. Synthesis of derivatives of 2-amino-2-deoxy-1-thio-D-glucose, *J. Org. Chem.*, **1962**, 27(5), 1794-1800.
- ⁶² L.-X. Wang, Y. C. Lee; Stereoselective synthesis of N-acetyl thiochitooligosaccharides. Different behaviours of methyl N-acetyl- α - and - β -thiochitobiosides during acetolysis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.*, **1996**, 6, 581-591.
- ⁶³ C. S. Rye, S. G. Withers; The synthesis of a novel thio-linked disaccharide of chondroitin as a potential inhibitor of polysaccharide lyases, *Carb. Res.*, **2004**, 339(3), 699-703.

- ⁶⁴ E. L. Hazen, R. Brown; Two antifungal agents produced by a soil actinomycete, *Science*, **1950**, 112(2911), 423.
- ⁶⁵ C. N. Chong, R. W. Rickards; Macrolide antibiotic studies. XVI. The structure of nystatin, *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 11(59), 5145-5148.
- ⁶⁶ E. Borowski, J. Zieliński, L. Falkowski, T. Zimiński, J. Golik, P. Kołodziejczyk, E. Jereczek, M. Gdulewicz, Yu. Shenin, T. Kotienko; The complete structure of the polyene macrolide antibiotic nystatin A₁, *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 12(8), 685-690.
- ⁶⁷ R. C. Pandey, K. L. Rinehart, Jr.; Carbon-13 nuclear magnetic resonance evidence for cyclic hemiketals in the polyene antibiotics amphotericin B, nystatin A₁, tetrin A, tetrin B, lucensomycin, and pimaricin, *J. Antibiot.*, **1976**, 29(10), 1035-1042.
- ⁶⁸ J.-M. Lancelin, J.-M. Beau; Complete stereostructure of nystatin A₁: A proton NMR study, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30(34), 4521-4524.
- ⁶⁹ Zielinski J., Golik J., Pawlak J., Borowski E., Falkowski L.; The structure of nystatin A₃, a component of nystatin complex, *J. Antibiot.*, **1988**, 41(9), 1289-1291.
- ⁷⁰ W. Gold, H. A. Stout, J. F. Pagano, R. Donovan; Amphotericins A and B, antifungal antibiotics produced by a streptomycete. I. *In vitro* studies., *Antibiot. Annu.* (szerk.: H. Welch, F. Marti-Ibanez), Medical Encyclopedia, Inc., New York, **1955-1956**, 3, 579-586.
- ⁷¹ J. Vandeputte, J. L. Wachtel, E. T. Stiller; Amphotericins A and B, antifungal antibiotics produced by a streptomycete. II. The isolation and properties of the crystalline amphotericins., *Antibiot. Annu.* (szerk.: H. Welch, F. Marti-Ibanez), Medical Encyclopedia, Inc., New York, **1955-1956**, 3, 587-591.
- ⁷² A. W. Norman, A. M. Spielvogel, R. G. Wong; Polyene antibiotic–sterol interaction, *Adv. Lipid Res.*, **1976**, 14, 127-170.
- ⁷³ M. A. Pfaller, D. J. Krogstad; Imidazole and polyene activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*, *J. Infect. Dis.*, **1981**, 144(4), 372-375.
- ⁷⁴ De Kruijff B., Demel R.A.; Polyene antibiotic–sterol interactions in membranes of *Acholeplasma laidlawii* cells and lecithin liposomes. III. Molecular structure of the polyene antibiotic–cholesterol complexes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1974**, 339(1), 57-70.
- ⁷⁵ K. Hąc-Wydro, P. Dynarowicz-Łątka; Interaction between nystatin and natural membrane lipids in Langmuir monolayers – The role of a phospholipid in the mechanism of polyenes mode of action, *Biophys. Chem.*, **2006**, 123(2-3), 154-161.

- ⁷⁶ B. V. Cotero, S. Rebolledo-Antúnez, I. Ortega-Blake; *BBA-Biomembranes*, **1998**, 1375(1-2), 43-51.
- ⁷⁷ G. Fujii, J.-E. Chang, T. Coley, B. Steere; The formation of amphotericin B ion channels in lipid bilayers, *Biochemistry*, **1997**, 36(16), 4959-4968.
- ⁷⁸ M. R. Van Leeuwen, E. A. Golovina, J. Dijksterhuis; The polyene antimycotics nystatin and filipin disrupt the plasma membrane, whereas natamycin inhibits endocytosis in germinating conidia of *Penicillium discolor*, *J. Appl. Microbiol.*, **2009**, 106(6), 1908-1918.
- ⁷⁹ T. Teerlink, B. de Kruijff, R. A. Demel; The action of pimarin, etruscomycin and amphotericin B on liposomes with varying sterol content, *BBA-Biomembranes*, **1980**, 599(2), 484-492.
- ⁸⁰ J. Bolard, P. Legrand, F. Heitz, B. Cybulska; One-sided action of amphotericin B on cholesterol-containing membranes is determined by its self-association in the medium, *Biochemistry*, **1991**, 30(23), 5707-5715.
- ⁸¹ R.M. Parmegiani, D. Loebenberg, B. Antonacci, T. Yaroshtomaine, R. Scupp, J. J. Wright, P. J. S. Chiu, G. H. Miller; Comparative in vitro and in vivo evaluation of *N*-D-ornithyl amphotericin B methyl ester, amphotericin B methyl ester, and amphotericin B, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1987**, 31(11), 1756-1760.
- ⁸² B. Cybulska, T. Ziminski, E. Borowski, C. M. Gary-Bobo; The influence of electric charge of aromatic heptaene macrolide antibiotics on their activity on biological and lipidic model membranes, *Mol. Pharmacol.*, **1983**, 24(2), 270-276.
- ⁸³ A. Jarzebski, L. Falkowski, E. Borowski; Synthesis and structure-activity relationships of amides of amphotericin B, *J. Antibiot.*, **1982**, 35(2), 220-229.
- ⁸⁴ W. C. Chen, I. J. Sud, D.-L. Chou, D. S. Feingold; Selective toxicity of the polyene antibiotics and their methyl ester derivatives, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1977**, 74(2), 480-487.
- ⁸⁵ M. Chéron, B. Cybulska, J. Mazerski, J. Grzybowska, A. Czerwinski, E. Borowski; Quantitative structure-activity relationships in amphotericin B derivatives, *Biochem. Pharmacol.*, **1988**, 37(5), 827-836.
- ⁸⁶ A. W. Taylor, B. J. Costello, P. A. Hunter, W. S. MacLachlan, C. T. Shanks; Synthesis and antifungal selectivity of new derivatives of amphotericin B modified at the C-13 position, *J. Antibiot.*, **1993**, 46(3), 486-493.

- ⁸⁷ S. E. F. Borgos, P. Tsan, H. Sletta, T. E. Ellingsen, J-M. Lancelin, S. B. Zotchev; Probing the structure-function relationship of polyene macrolides: Engineered biosynthesis of soluble nystatin analogues, *J. Med. Chem.*, **2006**, 49(8), 2431-2439.
- ⁸⁸ M. V. Mendes, E. Recio, R. Fouces, R. Luiten, J. F. Martín, J. F. Aparicio; Engineered biosynthesis of novel polyenes: a pimaricin derivative produced by targeted gene disruption in *Streptomyces natalensis*, *Chem. Biol.*, **2001**, 8(7), 635-644.
- ⁸⁹ T. Brautaset, P. Bruheim, H. Sletta, L. Hagen, T. E. Ellingsen, A. R. Strøm, S. Valla, S. B. Zotchev; Hexaene derivatives of nystatin produced as a result of an induced rearrangement within the *nysC* polyketide synthase gene in *S. noursei* ATCC 11455, *Chem. Biol.*, **2002**, 9(3), 367-373.
- ⁹⁰ T. Brautaset, H. Sletta, A. Nedal, S. E. F. Borgos, K. F. Degnes, I. Bakke, O. Volokhan, O. N. Sekurova, I. D. Treshalin, E. P. Mirchink, A. Dikiy, T. E. Ellingsen, S. B. Zotchev; Improved antifungal polyene macrolides via engineering of the nystatin biosynthetic genes in *Streptomyces noursei*, *Chem. Biol.*, **2008**, 15(11), 1198-1206.
- ⁹¹ R. C. Pandey, K. L. Rinehart, Jr.; Polyene antibiotics. IX; an improved method for the preparation of methyl esters of polyene antibiotics, *J. Antibiot.*, **1977**, 30(2), 158-162.
- ⁹² K.-H. Pfoertner; Reaktionen von Tetracyanoäthylen mit Polyenen, *Helv. Chim. Acta*, **1975**, 58(3), 833-839.
- ⁹³ G. A. Kraus, M. J. Taschner; Timed Diels–Alder reactions, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102(6), 1974-1977.
- ⁹⁴ S. Yamada, K. Hamano, M. Shimizu, H. Ichikawa; Reaction of vitamin A with 1,2,4-triazoline-3,5-diones, **1991**, 32(21), 2379-2382.
- ⁹⁵ C. I. Turner, M. N. Paddon-Row, A. C. Willis, M. S. Sherburn; Double Diels–Alder reactions of linear conjugated tetraenes, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70(4), 1154-1163.
- ⁹⁶ T. Benvegna, J. Martelli, R. Grée, L. Toupet; Diels–Alder reactions on linear polyenes, selectively protected as their tricarbonyl-iron complexes, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31(22), 3145-3148.
- ⁹⁷ A. P. Struyk, I. Hoette, G. Drost, J. M. Waisvisz, T. van Eek, J. C. Hoogerheide; Pimaricin, a new antifungal antibiotic, *Antibiot. Annu.* (szerk.: H. Welch, F. Marti-Ibanez), Medical Encyclopedia, Inc., New York, **1958**, 5, 878-885.
- ⁹⁸ R. C. Cookson, S. S. H. Gilani, I. D. R. Stevens; 4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dione: a powerful dienophile, *Tetrahedron Lett.*, **1962**, 3(14), 615-618.

- ⁹⁹ I. K. Korobitsyna, A. V. Khalikova, L. L. Rodina, N. P. Shusherina; 4-Phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione in organic synthesis (review), *Chem. Heterocycl. Comp.*, **1983**, 19(2), 117-136.
- ¹⁰⁰ J. M. T. Hamilton-Miller; Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics, *Bacteriol. Rev.*, **1973**, 37(2), 166-196.
- ¹⁰¹ J. Úri, I. Békési; Flavofungin, a new crystalline antifungal antibiotic: origin and biological properties, *Nature*, **1958**, 908(4613), 908.
- ¹⁰² R. Bognár, B. O. Brown, W. J. S. Lockley, S. Makleit; The structure of flavofungin, *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 11(7), 471-474.
- ¹⁰³ R. Bognár, S. Makleit, K. Zsupán, B. O. Brown, W. J. S. Lockley, T. P. Toubé, B. C. L. Weedon; Flavofungin: a mixture of 13,15,17,19,21,23,25,27-octahydroxy-31-isopropyl-14-methyl- and 13,15,17,19,21,23,25,27-octahydroxy-14-methyl-31-s-butyl-hentriaconta-2,4,6,8,10,28-hexaen-31-olide, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.*, **1972**, 1848-1856.
- ¹⁰⁴ L. Szilágyi, P. Sándor; Complete assignments of the ¹H and ¹³C NMR spectra of the macrolide antibiotic flavofungin; intramolecular hydrogen bonding and conformation, *Magn. Reson. Chem.*, **1990**, 28(11), 963-972.