

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Új kéntartalmú apomorfinok előállítása
és farmakológiai vizsgálata**

**Synthesis and pharmacological evaluation of new sulphur
containing apomorphines**

Tóth Miklós

Témavezető: Dr. Berényi Sándor



**DEBRECENI EGYETEM
Kémiai Tudományok Doktori Iskola**

Debrecen, 2009.

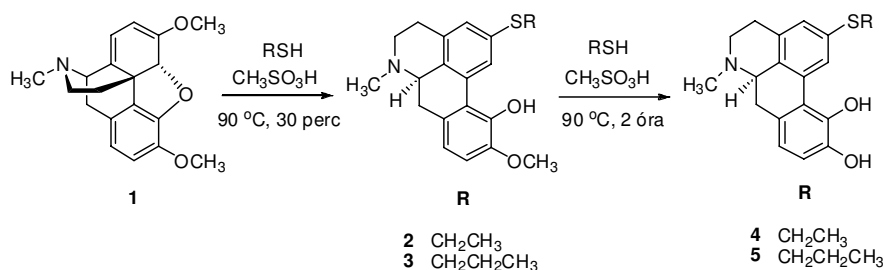
1. Az értekezés előzményei és célkitűzései

Az egyik legrégebbi félszintetikus gyógyszerünk az apomorfin, amit kezdetben azonnali hatása miatt hánytatószerként használtak. Később további hatásait is megfigyelték, és napjainkban a Parkinson-kór kezelésére alkalmazzák. Legújabb felismerés az erekciót előidéző hatása és tablettaként néhány éve e célra is kapható.

A biológiai hatás vizsgálata és fokozása érdekében több kutatócsoport is próbálkozott szubsztituált származékainak előállításával, többek között a Debreceni Egyetem alkaloidkémiai kutatócsoportja is.

Az eddig előállított vegyületek farmakológiai vizsgálatairól általánosan elmondható, hogy az aporfin váz 11-es helyzetű hidroxicsoportja szükséges a kedvező biológiai hatás eléréséhez, továbbá az N-demetil-N-propilapomorfin származékok erősebb dopamin receptor affinitással rendelkeznek, mint az apomorfin. A legtöbb vizsgált apomorfin-származék 2-es, vagy 3-as helyzetű hidrogén atomját cserélték le valamilyen szubsztituensre.

Az alkalmazott eljárások közül kiemelkedik az a Debrecenben kidolgozott szintézis, melyben a tebain (1) savkatalizált átrendeződését nukleofilek jelenlétében valósították meg.



1. ábra

Ez különösen tiolok jelenlétében hatékony, mivel az aporfinváz

kialakulását a nukleofil 2-es helyzetbe történő beépülése kíséri, és az így nyert szubsztituált apokodeinek (**2**, **3**) izolálás nélkül O-demetilezhetőek, ezáltal egylombikos módszerrel, jó hozammal nyerhetőek a szubsztituált apomorfinok (**4**, **5**) (1. ábra).

Célul tűztük ki a fentiek mellett a tebainból (**1**) kiinduló savkatalizált átrendeződés megvalósítását további S-nukleofilek (alkil- és ariltiolok) jelenlétében, valamint újabb morfináندیének szintézisét és átalakítását, remélve, hogy új, biológiailag aktív vegyületekhez jutunk el.

2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

A szintetikus munkám során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit alkalmaztam.

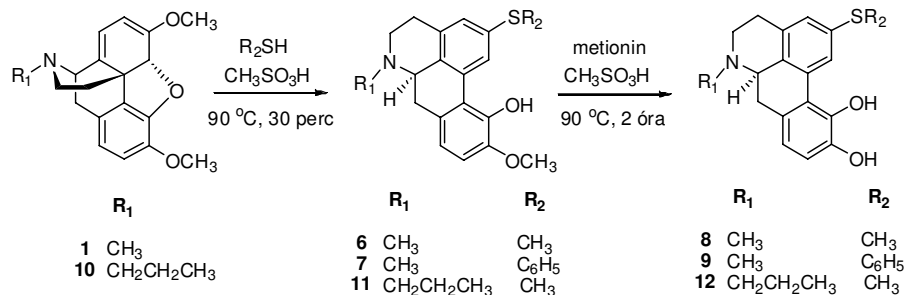
A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére vékonyréteg-kromatográfiát, a termékek izolálására oszlop- és preparatív vastagréteg-kromatográfiát használtam.

Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetének igazolására olvadáspont- és fajlagos forgatóképesség meghatározást, egy- és kétdimenziós NMR spektroszkópiát, tömegspektrometriát, elemanalízist és röntgendiffrakciós vizsgálatot alkalmaztunk.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

3.1. Új kéntartalmú apomorfinok szintézise

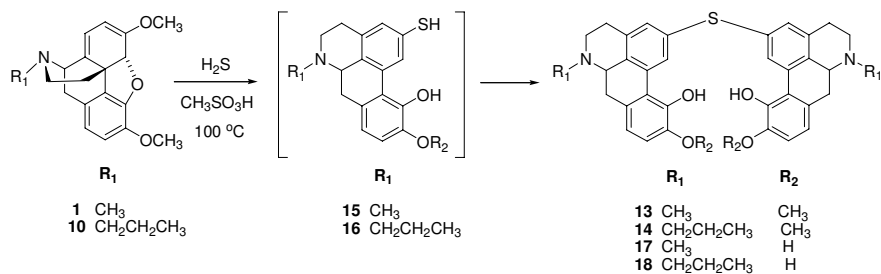
A tebain (**1**) savkatalizált átrendeződése metilmerkaptán és tiofenol jelenlétében a várt 2-metiltio- (**6**), illetve 2-feniltioapokodeint (**7**) eredményezte (2. ábra).



2. ábra

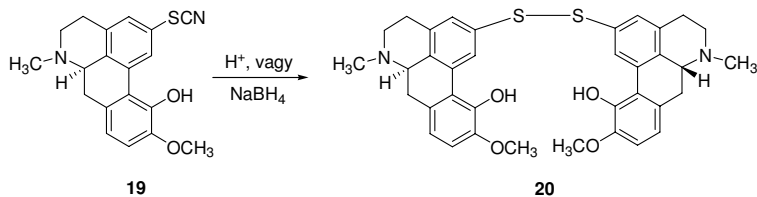
Az apomorphin származékok (**8**, **9**) előállítását a korábban a tanszékünkön sikeresen alkalmazott metionin/metánszulfonsav reagensekkel valósítottuk meg. Farmakológiai vizsgálat céljából metilmerkaptán jelenlétében az N-demetil-N-propiltebain (**10**) savkatalizált átrendezését is elvégeztük és a tebainnal analóg reakcióban a 2-metiltio-N-demetil-N-propilapokodeint (**11**), illetve a 2-metiltio-N-demetil-N-propilapomorfint (**12**) izoláltuk.

Az **1**-es és a **10**-es savkatalizált átrendeződése kénhidrogén jelenlétében a várt 2-szulfanilapokodeinek (**15**, **16**) helyett szulfid-típusú biszapokodeineket (**13**, **14**) eredményezett (3. ábra). Feltételezésünk szerint a reakció első lépésében keletkeznek a 2-szulfanilapokodeinek (**15**, **16**), de ezek nem izolálhatók, mert nukleofilként azonnal reagálnak a még jelenlévő diénnel (**1**, **10**). Elvégeztük a biszapokodeinek (**13**, **14**) O-demetilezését is, melynek során biszapomorphin-szulfidokhoz (**17**, **18**) jutottunk el.



3. ábra

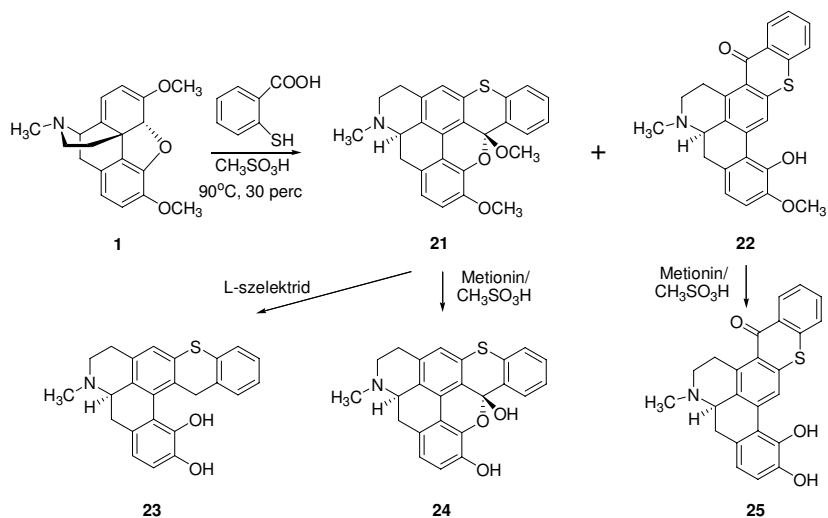
Ezután a már ismert 2-tiocianátoapokodein (**19**) savas hidrolízisével, illetve redukciójával kíséreltük meg előállítani a 2-szulfanilapokodeint (**15**). Mindkét esetben diszulfid-típusú biszapokodeint (**20**) izoláltunk a reakciókban (4. ábra), melynek szerkezetét a Wells-féle szelektív O-acetilézéssel sikerült egyértelműen bizonyítani.



4. ábra

A **20**-as szerkezetének az igazolása után megvizsgáltuk az irodalomban 3-szulfanilapokodeinként leírt vegyület előállítását, és kiderült, hogy az is diszulfid szerkezetű.

Az **1**-es tioszalicilsav jelenlétében végzett savkatalizált átrendeződésekor több terméket sikerült izolálnunk, melyek közül kettő tiokromén gyűrűvel anellált származék (**21**, **22**) (5. ábra).



5. ábra

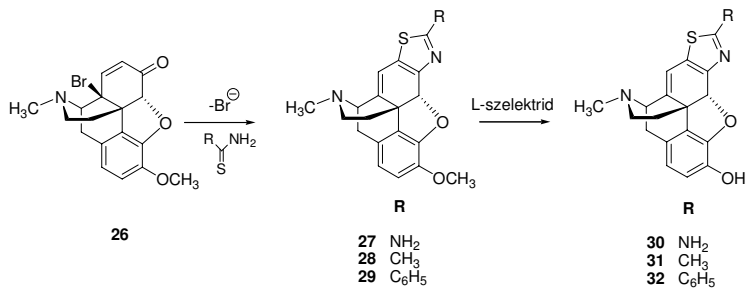
Ez utóbbiak O-demetilezését metionin/metánszulfonsav, valamint L-szelektid alkalmazásával valósítottuk meg és a reakciókban a **23**-as, **24**-es, **25**-ös apomorfinokat nyertük.

3.2. Heterogyűrűvel kondenzált morfináندیének szintézise

A morfinánváz új heterogyűrűjének kialakítását tiosavamidok Hantsch-féle ciklizációval valósítottuk meg. Kiindulási vegyületként a 14β-Br-kodeinont választottuk (**26**), melynek allil-átrendeződését korábban más reakciókban már megfigyelték.

Tiokarbamiddal, tioacetamiddal, valamint tiobenzamiddal 2-aminotiazolo- (**27**), 2-metiltiazolo- (**28**), 2-feniltiazolo- (**29**) morfináندیéneket izoláltunk.

A farmakológiai vizsgálatok céljából az előállított **27**-es, **28**-as, **29**-es morfináندیéneken módosításokat hajtottunk végre.

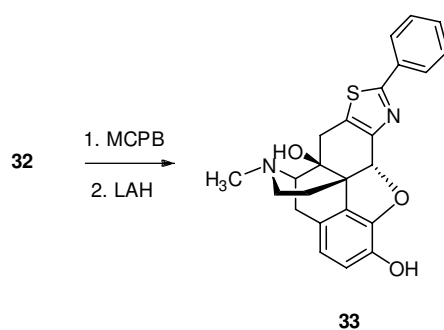


6. ábra

Az O-demetilezés megvalósítására a megszokott reagensek (pl.: hidrogénbromid, bórtribromid, metionin/metánszulfonsav) alkalmatlanok voltak a vegyületeink savérzékenysége miatt. A Coop által leírt L-

szelektrides eljárással, módosított feldolgozási körülmények között, a kívánt O-demetil származékokhoz (**30**, **31**, **32**) jutottunk el (6. ábra).

A morfinán váz 14-hidroxil-csoportjának a kiépítését a **32**-es vegyület esetében a debreceni kutatócsoport által korábban kidolgozott 3-klórperbenzoesav (MCPB) oxidációval valósítottuk meg, ennek során 14 β -hidroxi-származékot (**33**) izoláltunk a reakció végén (7. ábra).



7. ábra

Az előállított **27**-es, **28**-as és **29**-es vegyületek dién szerkezetük révén alkalmasak egyfelől Diels-Alder reakciókra, és azt követően orvinolok szintézisére, másfelől savkatalizált átrendeződésük során újabb aporfinvázis vegyületek nyerhetők belőlük.

Doktori munkám befejezése után debreceni kutatók mindkét átalakítási lehetőséget sikeresen megvalósították.

3.3. Farmakológiai vizsgálatok

Az általunk előállított aporfinvázis vegyületek közül a **6-os**, **8-as**, **11-es**, **12-es**, **13-as**, **14-es**, **17-es**, **18-as** farmakológiai hatását Neumeyer és munkatársai vizsgálták az Egyesült Államokban. *In vitro* radioligandumos kísérletekben a kontrollvegyületeknél jelentősebb dopamin (D₂) affinitást csak a 2-metiltio-N-demetil-N-propilapomorfin (**12**) mutatott, azonban ezt az *in vivo* kísérletekben, emésztőrendszeri adagolás során nem sikerült megerősíteni.

A 4-H-tiokromén gyűrűvel anellált apomorfinokat (**23**, **24**, **25**) Lehman és munkatársai Jenában vizsgálták. A vegyületek dopamin (D₂) kötődése a radioligandumos vizsgálatokban nem haladta meg a kontrollvegyületét.

Az általunk szintetizált tiazolgyűrűvel anellált morfinszármazékok (**30**, **31**, **32**, **33**) opiátreceptor kötődési tulajdonságainak a feltérképezése jelenleg folyamatban van.

4. Eredmények értékelése, összefoglalás

Munkám során a tebain alkil- és ariltiolok jelenlétében végzett savkatalizált átrendezésével új kéntartalmú apomorfin származékokat állítottam elő. A vegyületek farmakológiai vizsgálata újabb adatokat szolgáltatott a szubsztituált apomorfinok hatás-szerkezeti összefüggéseihez.

A 14 β -brómkodeinon tiosavamidokkal megvalósított ciklokondenzációs reakcióival tiazol gyűrűvel kondenzált morfinándiéneket nyertem, mely vegyületek alkalmas kiindulási anyagok az opiátreceptorokra ható orvinolok, illetve a dopamin receptorokra ható aporfinok előállítására.

1. Background and aims

One of the earliest semi-synthetic drugs was apomorphine (APO) which was used first as emitting agent. Later further effects were found and it has been used for treating Parkinson Disease so far. The latest disclosure is its positive effect on erectile dysfunction and it is also commercially available for this problem.

APO have been tried to modify for investigating and improving the biological effect by several workgroups including alkaloid research group of University in Debrecen.

During these works 11-hydrxi group was found to be important for biological effect and N-demethyl-N-propyl analogues of APO have higher receptor affinity than APO.

Most of synthesized apomorphines have been substituted in 2-, or 3-positions. Among applied synthetic ways an important method was developed by researchers of Debrecen when thebaine (**1**) was rearranged in acidic medium in the presence of O- or S-nucleophiles. It was more effective with thiols since three steps could be realized in a one-pot operation with high yield (Figure 1):

- ring-rearrangement
- introduction of the alkylthio function into position 2 (**2, 3**)
- O-demethylation (**4, 5**)

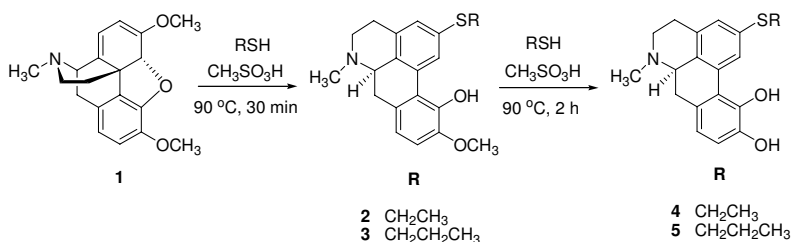


Figure 1

We aimed to prepare further substituted aporphines by the mentioned acid catalysed rearrangement in the presence of other thiols (as S-nucleophiles). The second goal was to synthesize new morphinans then to perform their biological evaluation.

2. Applied methods

The macro, semi-micro and micro methods of modern preparative organic chemistry were applied. in the course of synthetic work. Reactions were followed and the purity of starting materials was checked by thin layer chromatography; the isolation of products was performed using column and preparative thick layer chromatography.

For the identification and characterization of the synthesized compounds the determination of melting points, optical rotation values and the analyses of 1D and 2D NMR and MS spectra, elemental analyses and x-ray diffraction were applied.

3. Results

3.1. Synthesis of new sulphur containing apomorphines

Our starting material was thebaine (**1**) or N-demthyl-N-propylthebaine (**10**). During the acid catalysed rearrangement in the presence of methanethiol and thiophenol the desired 2-methylthio- (**6**, **11**) and 2-phenyltioapocodeine (**7**) were isolated respectively. (Figure 2)

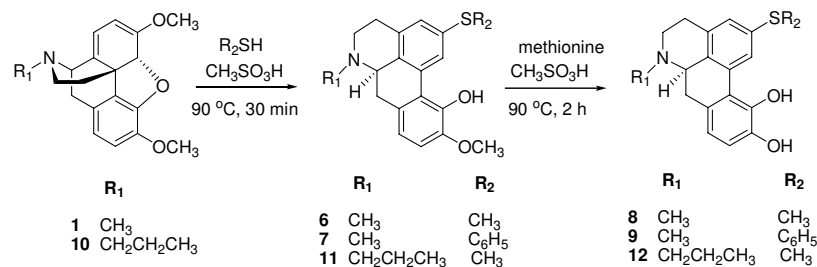


Figure 2

The excess of methanethiol made a spontaneous O-demethylation (**8**, **12**) but thiophenol didn't show the same behaviour which indicates the weaker methyl-acceptor properties of aromatic thiols. Splitting off of the phenol ether moiety was achieved with the methanesulphonic acid/methionine reagent-combination to furnish **9**.

Sulphide-type bisapocodeines (**13**, **14**) were isolated instead of the expected thiols (**15**, **16**) in the presence of hydrogen sulphides. (Figure 3) The dimer apocodeines (**13**, **14**) were O-demethylated to Sulphide-type bisapomorphines (**17**, **18**).

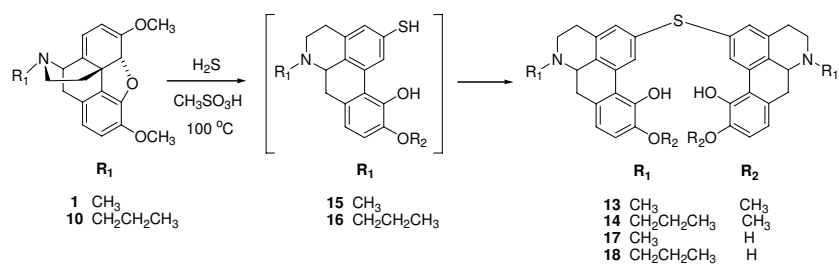


Figure 3

Further experiments were accomplished to reach the 2-thioapocodeine (**15**). 2-thiocyanatoapocodeine (**19**) was previously synthesized from thebaine (**1**). Both acidic hydrolysis and reduction with sodium borohydride of **19** resulted in a disulfide-type bisapomorphine (**20**) which

structure was determined unambiguously by selective O-acylation method of Wells. (Figure 4)

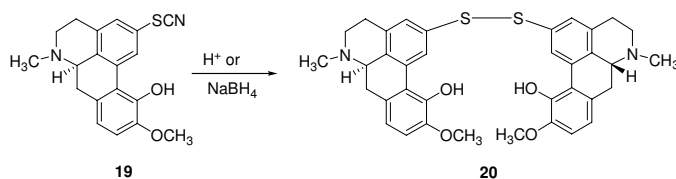


Figure 4

After making the structure of **20** clear a former publication about the synthesis of 3-thioapocodein was revised. This compound was also found a disulphide instead of the thiol.

The rearrangement of thebaine (**1**) in the presence of thiosalicylic acid afforded several products. Two of them had polycyclic ketone (**21**) and a polycyclic acetal (**22**) structures containing thiocromone ring. Their O-demethylations (**23**, **24**, **25**) were performed with methionine /methanesulfonic acid and L-selectride (Figure 5).

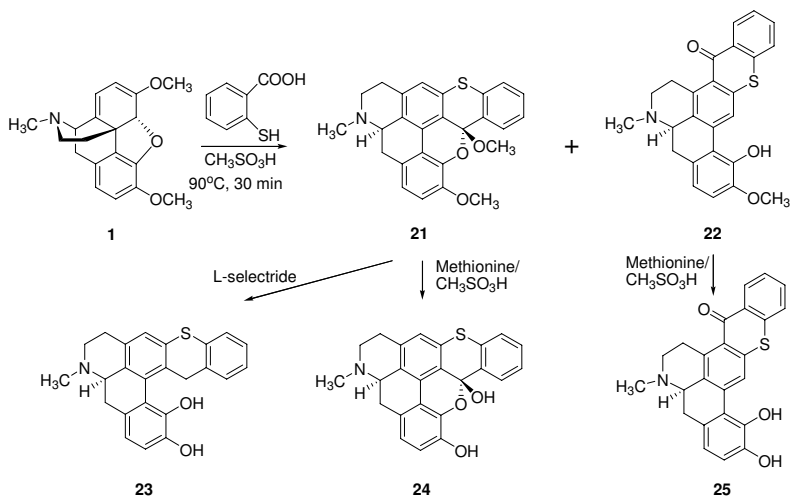


Figure 5

3.2. Synthesis of heterocyclic ring-fused morphinandienes

New thiazole-ring fused morphinandienes were produced by the well known Hantzsch reaction. Starting compound was 14-Br-codeinon (**26**) which was observed to undergo allylic rearrangement in former studies. 2-aminothiazol- (**27**), 2-methylthiazol- (**28**) and 2-phenylthiazolo-morphinandienes (**29**) were isolated using thiourea, thioacetamide and thiobenzamide respectively (Figure 6).

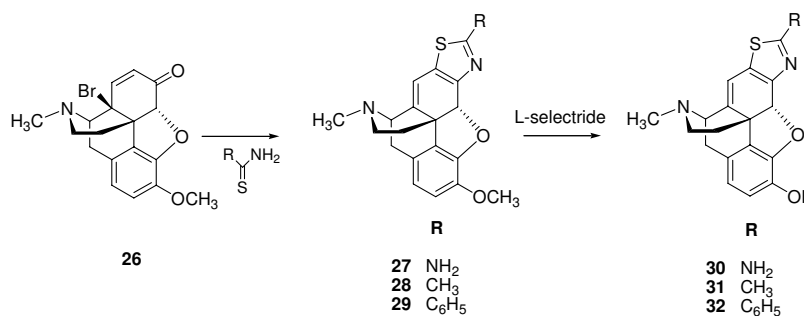


Figure 6

For pharmacological study further modifications were carried out. The preferred O-demethylation agent (methionine/methanesulfonic acid) was useless due to acid sensitivity of dienes. Modified O-demethylation method of Coop with L-selectride resulted in free hydroxi function (**30**, **31**, **32**).

Starting from **32** the 14 β -hydroxi moiety was successfully build in according to our research group and 14 β -hydroxi-compound was isolated (**33**) (Figure 7).

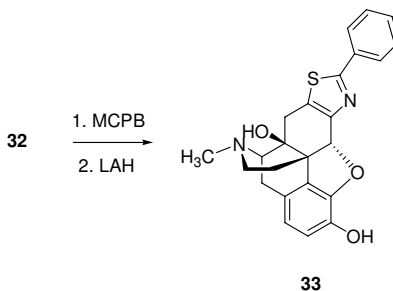


Figure 7

3.3. Pharmacological studies

Pharmacological studies of apomorphines (**6**, **8**, **11**, **12**, **13**, **14**, **17**, **18**) were accomplished in Belmont (USA) by Neumeyer and co-workers. Only 2-methylthio-N-demethyl-N-n-propylapomorphine (**18**) was more effective than control compounds *in vitro* experiments, but surprisingly it was ineffective *in vivo* circumstances (by oral administration).

The 4-H-thiocromene ring fused apomorphines (**23**, **24**, **25**) were studied in Jena (Germany) by Lehman and co-workers. The potency of each compound was lower than apomorphine *in vitro* study.

The pharmacological study of new thiazole ring fused morphinans (**30**, **31**, **32**, **33**) is in progress.

4. Conclusions

New sulfur containing apomorphines were synthesized in the rearrangement reactions of tebain with alkyl and aryl thiols.

Pharmacological studies of new apomorphines furnishes new data about structure-effect relationship.

New thiazole-ring fused morphinandienes were synthesized by cycloaddition reaction of 14-Br-codeinon with thioamides.

These compounds are suitable starting materials for preparation of the opioid orvinols and dopaminergic aporphines.

5. Publikációk/Publications

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények/Papers underlying the theses

1. Berényi, S.; **Tóth, M.**; Gyulai, S. and Szilágyi, L.: Formation of a new polycyclic heteroring system by the acid-catalyzed rearrangement of thebaine in the presence of thiosalicylic acid. *Heterocycles*. **2002**, *57*, 135-142.
2. **Tóth, M.**; Csutorás, C.; Gyulai, Z. and Berényi, S.: Synthesis of sulfide- and disulfide-type bisaporphines from thebaine. *ARKIVOC* **2004**, *5* (7), 60-67.
3. **Tóth, M.**; Berényi, S.; Csutorás, Cs.; Kula, N. S.; Zhang, K.; Baldessarini, R. J. and Neumeyer, J. L.: Synthesis and dopamine receptor binding of sulfur-containing aporphines. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 1918-1923.
4. **Tóth, M.**; Gyulai, Zs.; Berényi, S. and Sipos, A.: Synthesis and transformation of thiazolomorphinanedienes. *Lett. Org. Chem.*, **2007**, *4*, 539-543.
5. Sipos, A.; **Tóth, M.**; Mueller, F. K.; Lehmann, J. and Berényi, S.: Synthesis and dopamine receptor binding affinity of 4H-thiochromenoapomorphines *Monatsh. Chem.* **2009**, *140*, 473-478.

*Tudományos rendezvényen bemutatott munkák / Presentations at Scientific
Events*

Előadások/Oral presentations

1. Berényi, S.; Szilágyi, L.; Tóth, M.; Gyulai, B.-né.: A tebain savkatalizált átrendeződése szulfanilkarbonsavak jelenlétében. MTA Alkaloidkémiai Munkabizottság Ülése, Balatonfüred, 2001. ápr. 25-26.
2. Tóth, M.; Csutorás, Cs.; Berényi, S.: Új kéntartalmú aporfinok szintézise. MTA Alkaloidkémiai Munkabizottság Ülése, Balatonfüred, 2004. ápr. 15-16.
3. Tóth, M.; Berényi, S.; Csutorás, Cs.; Makleit, S.: New methods for preparation of dopaminergic apomorphines. 1st German Hungarian Workshop, Hannover, 2004. Júl. 5-6.
4. Tóth, M.; Illyés, T. Z.; Berényi, S.: Újabb módszer nitrogén- és kéntartalmú morfináندیének szintézisére. MTA Alkaloidkémiai Munkabizottság Ülése, Balatonfüred, 2005. máj. 9-10.

Poszterek/Posters

1. Berényi, S.; Tóth, M.; Sipos, A.; Gyulai, S. and Szilágyi, L.: New heteroring system formation by the acid-catalyzed rearrangement of thebaine in the presence of thiosalicylic acid. XXth European Colloquium on Heterocyclic Chemistry 2002. aug. 18-21. Stockholm. Abstracts p. B:1/87.
2. Berényi, S.; Tóth, M.; Gyulai, S.; Csutorás, Cs.: A tebain átalakítása új kéntartalmú apomorfinokká. 8 Gyógyszerkutató Konferencia 2002. nov. 13-15. Kecskemét. Összefoglaló. E-8/44.
3. Tóth, M.; Csutorás, Cs.; Gyulai, S. és Berényi S.: Új kéntartalmú apomorfinok szintézise. M.K.E. Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, 2003. jún. 26-28. Összefoglaló: 161.o.
4. Tóth, M.; Illyés, T. Z.; Gyulai, S.; Berényi, S.: Morfináندیének szintézise haloketonok ciklokondenzációs reakcióival. M.K.E. Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, 2005. jún. 28-30. Összefoglaló: 142.o.