



**POTENCIÁLISAN FARMAKOLÓGIAILAG AKTÍV
O-HETEROCIKLUSOK SZINTÉZISE**

Doktori (Ph.D.) értekezés

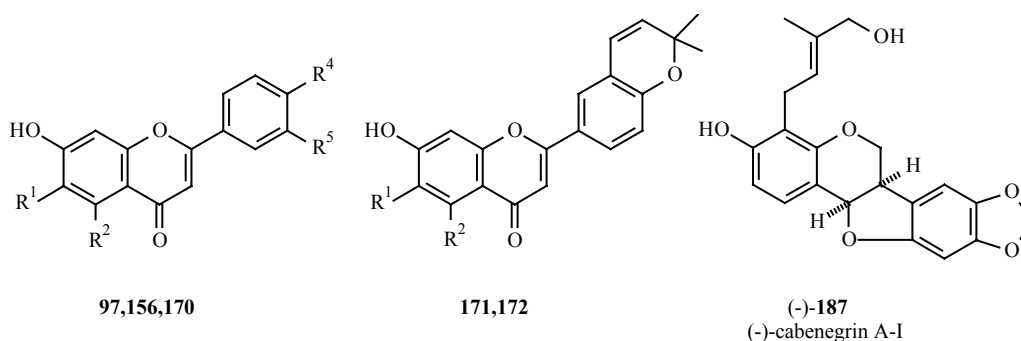
GULÁCSI KATALIN

Debreceni Egyetem

Debrecen, 2004

1. Bevezetés

A flavonoidok az *O*-heterociklusos természetes anyagok igen elterjedt csoportját alkotják és meghatározó szerepük van nemcsak a természet káprázatos színvilágának kialakításában, hanem a növényi eredetű táplálékainkkal szervezetünkbe kerülve sokrétű biológiai hatásuk révén fontos szerepet töltenek be az egészségünk megőrzésében is. Számos képviselőjük antifungális, antibakteriális, tumorellenes, antioxidáns valamint gyulladás gátló aktivitású és így a különféle enzimrendszerekre gyakorolt hatásuk révén az élővilág molekuláris szintű működésének szabályozásában vesznek részt. Az elmúlt évtizedben izolálásuk, azonosításuk és szintézisük mellett egyre inkább hangsúlyt kapott a hatás-szerkezet összefüggések vizsgálata. Mindezeket alapul véve doktori munkám célja a potenciálisan biológiailag aktív, természetes eredetű flavonok (**97**, **156**, **170-172**) új, illetve első szintézisének kidolgozása, a kígyóméreg ellen hatásos pterokarpánszármazék, a (-)-cabenegrin A-I (**187**) teljes szintézisének megvalósítása, valamint ez utóbbinak hatás-szerkezet összefüggések vizsgálatát lehetővé tevő analogonjainak előállításuk volt.



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
luteolin (97)	H	OH	OH	OH
chrysin (156)	H	OH	H	H
kanzonol-D (170)	H	H	3,3-dimetilallil	OH
kanzonol-E (171)	3,3-dimetilallil	H		
yinyanghuo-C (172)	H	OH		

2. Az alkalmazott szintézis és vizsgálati módszerek

A szintetikus munka során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit alkalmaztuk.

A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére vékonyréteg-kromatográfiát, a nyerstermékek tisztítására, izomerek elválasztására preparatív vékonyréteg- és

oszlopkromatográfiát, valamint kristályosítást használtunk. Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetének igazolására elemanalízist, olvadáspont- és fajlagos forgatóképesség meghatározást, egydimenziós NMR valamint tömegspektrometriai és kiroptikai technikát alkalmaztunk.

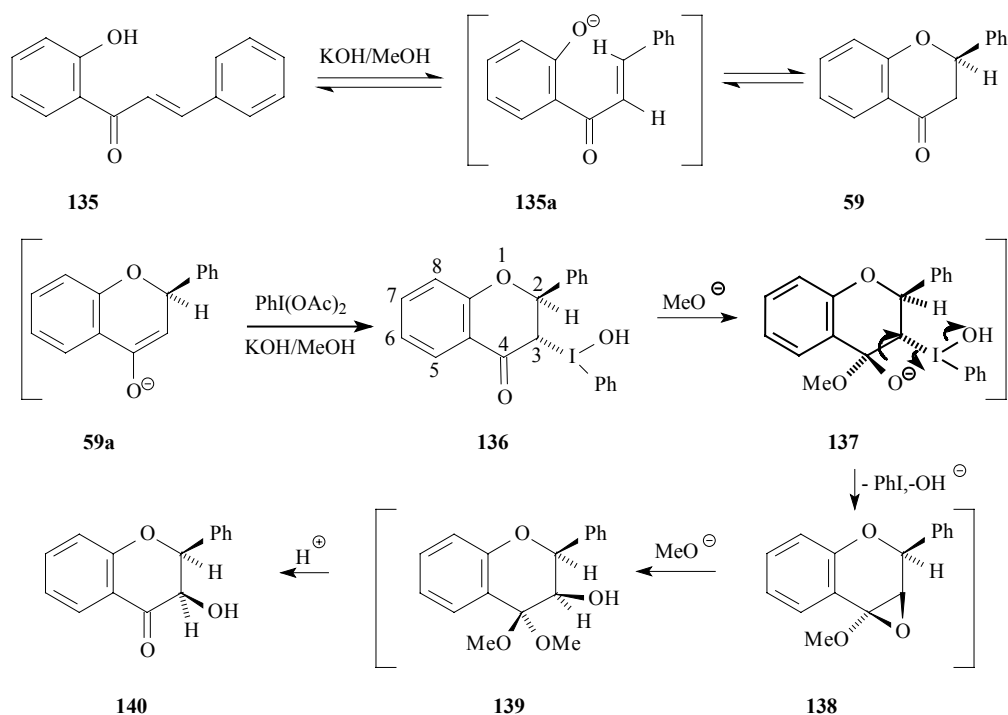
3. Kísérleti munkám új eredményei

Kutató munkám során a 2'-hidroxikalkonok valamint 3,3-dimetilallil (prenil) oldalláncot tartalmazó származékainak feniljodozónium-diacetát (PIDA) reagens alkalmazásával kiváltott oxidatív gyűrűzárásával és a (-)-cabenegrin A-I (**187**) teljes szintézisével és analogonjainak előállításával foglalkoztam

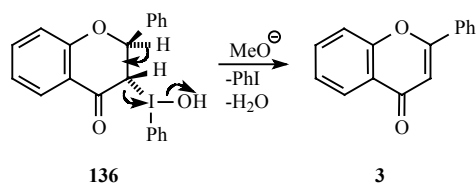
3.1. 2'-Hidroxikalkonok és 3,3-dimetilallilszármazékaiknak gyűrűzárása feniljodozónium-diacetát alkalmazásával

Az elmúlt két évtizedben a hipervalens jódvegyületek a különböző oxidációs átalakulások kedvelt reagensivé váltak. Felismerték ugyanis, hogy a jód(III)származékok viselkedése rendkívül hasonlít a szerves kémiában széles körben alkalmazott higany(II), tallium(III), ólom(IV) vegyületeikére, ugyanakkor nem mérgezőek és alkalmazásukkal a környezetet sem szennyezzük nehézfém ionokkal.

A 2'-hidroxikalkon (**135**) *cisz*-3-hidroxi flavanonná (**140**) történő jó hozamú előállítását Moriarty és munkacsoportja feniljodozónium-diacetát (PIDA) reagens hatására, metanolban kálium-hidroxid jelenlétében lejátszódó oxidatív gyűrűzárással írták le. Az átalakulás mechanizmusára az alábbi javaslatot tették:

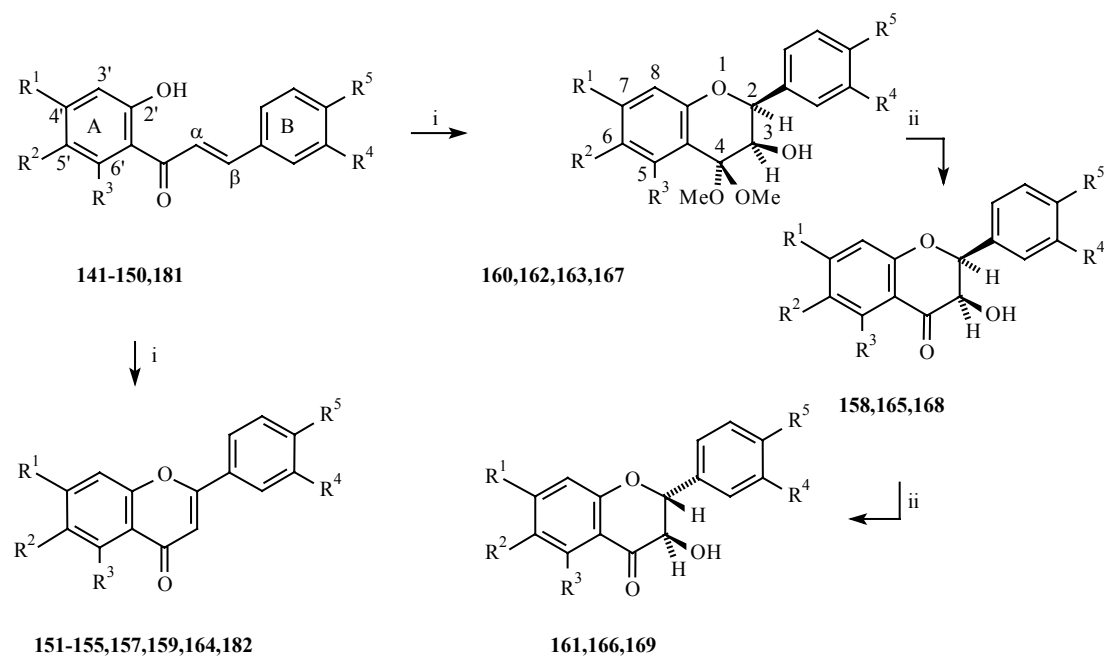


A reakció kulcslépése a PIDA sztereospecifikus addícióját (**59a**→**136**) követő metoxidion a karbonil-szénatomon történő támadása (**136**→**137**). Feltételezésünk szerint ez utóbbi lépés megakadályozásával a 2-helyzetű proton lehasadását követően a kettőskötés kialakulása, azaz a flavonképződés (**136**→**3**) kerül előtérben.



Ezt a karbonilcsoporttal *peri* helyzetbe (C-5) nagy térkitöltésű elektronküldő-szubsztituens bevitelével kívántuk elérni. Ekkor nemcsak számottevően megnöveljük a karbonil-szénatom elektronsűrűségét, hanem szterikusan megnehezítjük a metoxidion támadását is. Feltételeztük azt is, hogy a karbonil-szénatom elektrofilitása a 7-helyzetű szénatomra elektronküldő-csoport bevitelével tovább is csökkenthető.

Elképzelésünk helyességét a **141-150** változatosan szubsztituált 2'-hidroxikalkonoknak átalakításával igazoltuk.



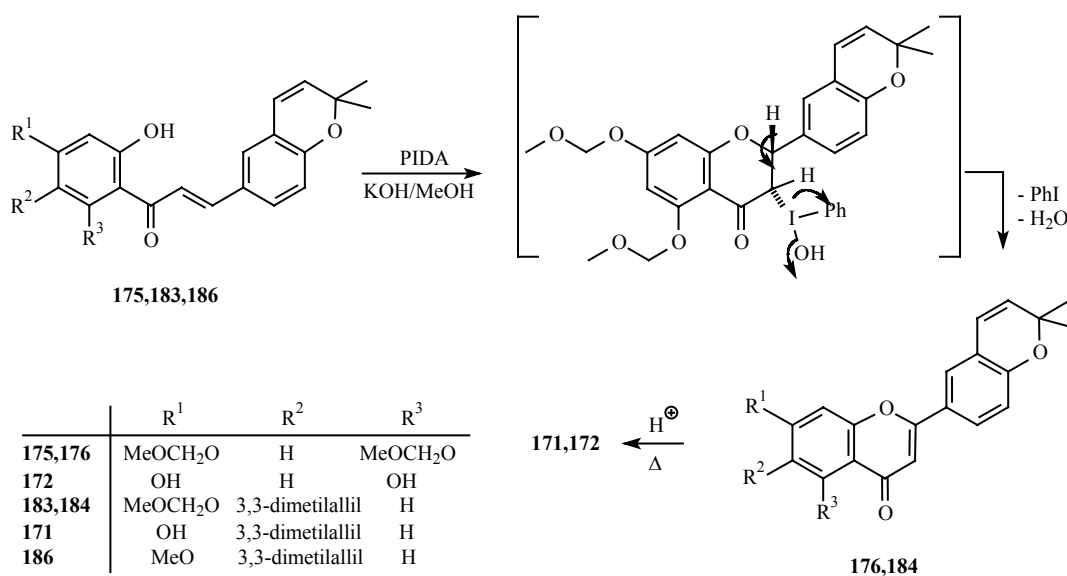
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	
141,151	OMe	H	OMe	H	H	i = PIDA/KOH/MeOH ii = HCl/víz
142,152	OMe	H	OMe	H	OMe	
143,153	OMe	H	OMe	-OCH ₂ CH ₂ O-		
144,154	MeOCH ₂ O	H	MeOCH ₂ O	H	H	
145,155	MeOCH ₂ O	H	MeOCH ₂ O	OBn	OBn	
146,157,158	MeOCH ₂ O	H	H	-OCH ₂ CH ₂ O-		
147,159,161	H	Me	H	OMe	OMe	
148,162	H	H	H	H	OMe	
149,163-166	H	H	H	-OCH ₂ CH ₂ O-		
150,167-169	Cl	H	Cl	H	H	
181,182	MeOCH ₂ O	H	H	3,3-dimetilalil	MeOCH ₂ O	

Megállapítottuk, hogy 4',6'-helyzetben elektronküldő-csoportokat (metoxi, metoximetoxi) tartalmazó kalkonok (141-145) oxidatív gyűrűzárása jó hozammal (60-75%) flavonszármazékokhoz vezetett (151-155). E módszer felhasználásával a könnyen hozzáférhető 144 és 145 kalkonokból kiindulva a figyelemre méltó HÍV-ellenes hatású természetben előforduló chrysin (156) és luteolin (97) új szintézisét valósítottuk meg.

Azt tapasztaltuk, hogy 4'- vagy 5'-helyzetben elektronküldő-szubsztituenst tartalmazó kalkon (146,147) esetén, a flavonképződés (157,159) jelentősen visszaszorult és 3-hidroxi-flavanonszármazékok (158,161) keletkezése került előtérben. Az A-gyűrűben szubsztituenst nem tartalmazó 2'-hidroxikalkonok (148,149) oxidatív gyűrűzárása során is ezt figyeltük meg. A 148 kalkon esetében főtermékként a 162 dimetil-ketált izoláltuk, míg a 149 kalkonból dimetil-ketálon (163) és *cisz*-3-hidroxi-flavanonszármazékon (165) keresztül a *transz*-3',4'-etiléndioxi-3-hidroxi-flavanonhoz (166), valamint kis mennyiségű flavonhoz (164) jutottunk.

Végül kimutattuk, hogy az A-gyűrűben elektronszívó csoportok (klór) jelenlétében, a **150** kalkonból kizárólag a *cisz*-3-hidroxi flavanon dimetil-ketál származék (**167**) keletkezett, melynek savas hidrolízise *cisz*-izomeren (**168**) keresztül a stabilabb *transz*-3-hidroxi-5,7-diklórf flavanonhoz (**169**) vezetett.

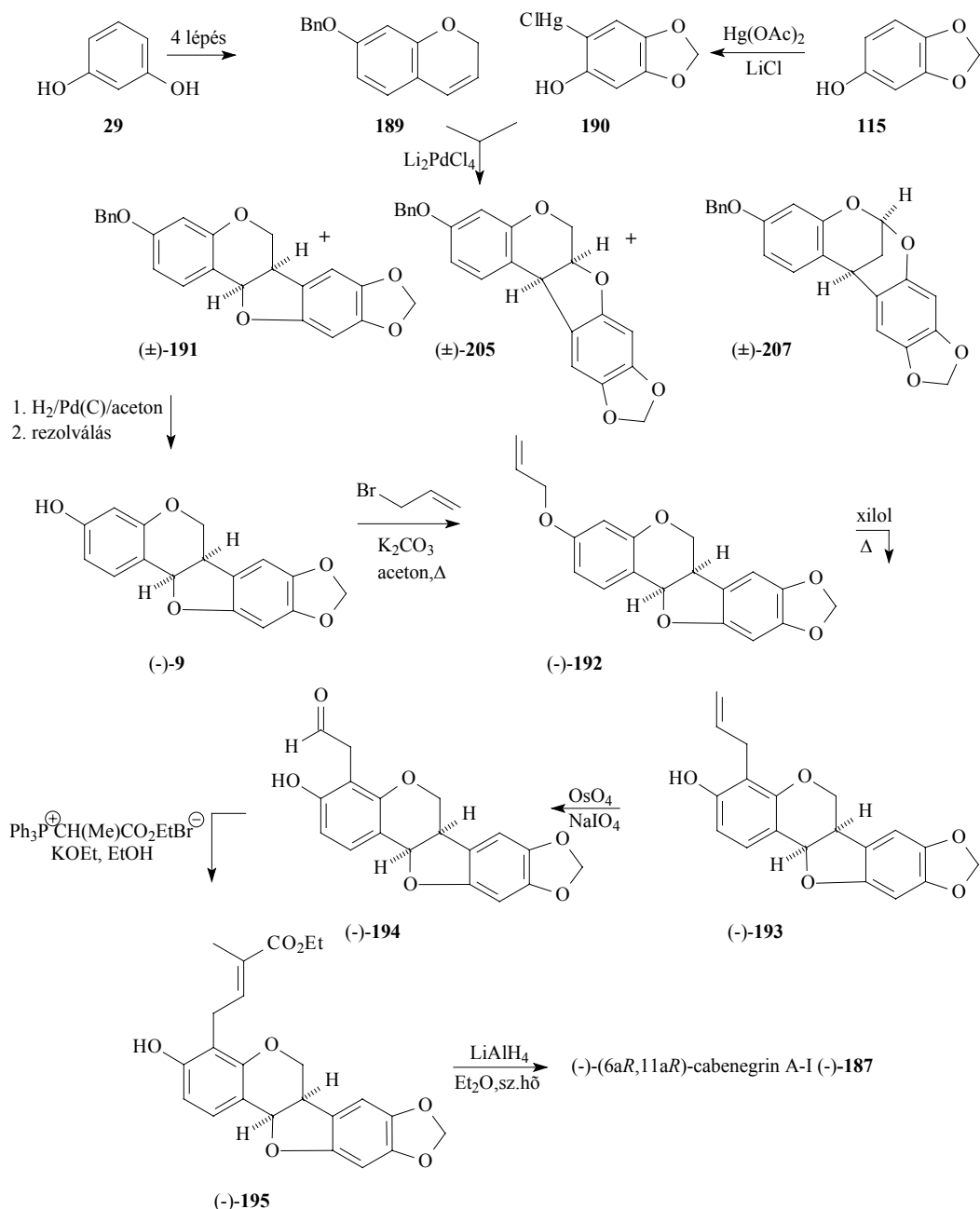
Telítetlen oldalláncot tartalmazó 2'-hidroxikalkonok (**175,181,183**) esetében is sikeresen használtuk e módszert, így a *Vancouveria hexandra*-ból és *Epimedium sagittatum*-ból kinyert, vérlemezke aggregációt gátló hatású yinyanghuo-C (**172**) és a *Glycyrrhiza eurycarpa*-ból izolált kanzonol-D (**170**) illetve –E (**171**) első szintézisét valósítottuk meg.



Ezek az eredményes átalakulások egyértelműen arra utaltak, hogy a karbonil-szénatom melletti kettőskötés fokozott reaktivitást mutat az elektrofil reagenssel (PIDA) szemben. E nagyfokú regioselektivitást a **186** kalkonon PM 3 típusú szemiempirikus kvantumkémiai számításokkal meghatározott töltéseloszlással értelmeztük.

3.2. (-)-Cabenegrin A-I teljes szintézise és analogonjainak előállítása

A cabenegrin A-I (**187**) a dél-amerikai népgyógyászatban egy *Cabeca de Negra*-nak nevezett alkoholos kivonatnak a fő hatóanyaga, amit egy növény gyökeréből készítenek és kígyómarás, valamint pókcsípés ellen alkalmaznak (a növényt eddig nem sikerült azonosítani). E vegyület konvergens szintézisét a kereskedelemben könnyen hozzáférhető rezorcinnból (**29**) és szezamolból (**115**) tizenkét lépésben oldottuk meg:

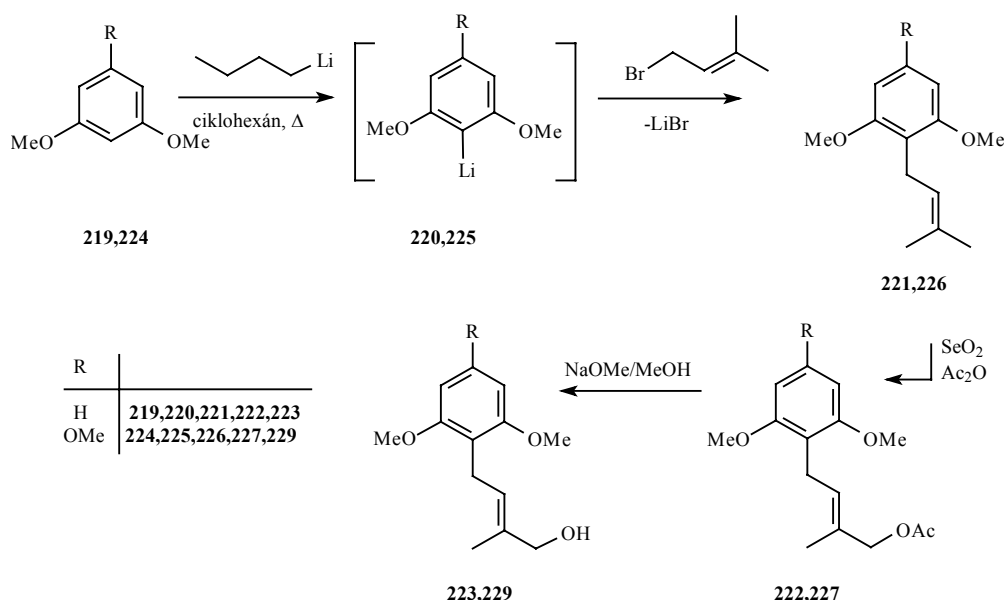


Kimutattuk, hogy a pterokarpánváz felépítésére alkalmazott Heck-féle oxiarilezési reakció [(**189**+**190**)→**191**] nem regioszelektív, és ha kisebb mennyiségben is, a racém *O*-benzilmaackiain [(±)-**191**] mellett benzofurán- (**205**), illetve dioxocinnvázú (**207**) vegyületek is keletkeztek. Az *O*-benzilmaackiain [(±)-**191**] benzilvédőcsoportját katalitikus hidrogénezéssel, jó termeléssel (92%) távolítottuk el. Az így nyert racém maackiaint [(±)-**9**] (*S*)- α -metilbenzil-izocianáttal rezolváltuk és kiroptikai vizsgálatok segítségével megállapítottuk, hogy egyezésben az irodalmi adatokkal, a balra forgató enantiomer abszolút konfigurációja (6aR,11aR). E vegyület CD szinképe nek a (-)-cabenegrinével (**187**) való összehasonlítása azt is megmutatta, hogy homokirális vegyületek és ezért a 4-hidroxi-3-

metilbut-2-én-1-il oldallánc kiépítését a (-)-maackiainból [(-)-**9**] kiindulva valósítottuk meg. Ez utóbbi vegyületből a (-)-**192** allilétert állítottunk elő, melynek Claisen-átrendeződését 192°C-on, xilolban végeztük. Az így nyert (-)-4-allilmaackiain [(-)-**193**] oldallancát katalitikus mennyiségű ozmium-tetroxiddal (OsO₄) és nátrium-perjodáttal (NaIO₄) hasítottuk. A keletkezett aldehidet [(-)-**194**] trifenil-(1-etoxykarbonil)etilfoszfónium-bromiddal reagáltatva, sztereoszelektíven az (*E*)-geometriájú (-)-**195** észtert kaptuk meg, melynek lítium-tetrahidrido-alumínáttal végzett redukciójával a (-)-cabenegrin A-I-hez [(-)-**187**] jutottunk. E vegyület UV, CD és NMR adatai teljesen megegyeztek a Nakanishi és munkatársai által közöltekkel.

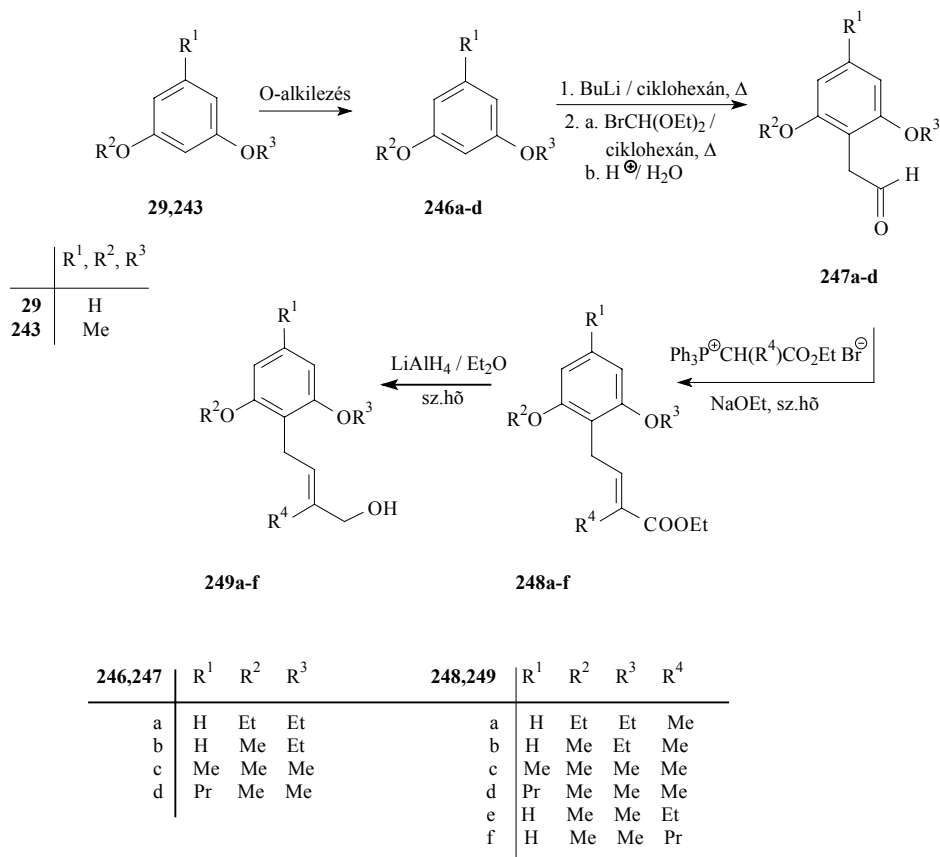
Hatás-szerkezet összefüggések tanulmányozásához számos rezorcín- és krománvázú analogon szintézisét oldottuk meg. A 4-hidroxi-3-metilbut-2-én-1-il oldallánc kiépítését kétféleképpen végeztük el: a 3,3-dimetilallilcsoport szelén-dioxidos oxidációjával, illetve ennek alacsony hozama miatt a cabenegrin A-I [(-)-**187**] előállításánál már ismertett Wittig módszerrel is.

A megfelelő 3,3-dimetilallilszármazékokat (**221,226**) a **220**, illetve **225** lítiumsókön keresztül állítottuk elő. Ezeknek oxidációja sztöchiometrikus mennyiségű szelén-dioxiddal az (*E*) geometriájú acetoxiszármazékokat (**222,227**), majd nátrium-metiláttal való elszappanosítás után a **223** illetve a **229** hidroxianalogonokat szolgáltatta.

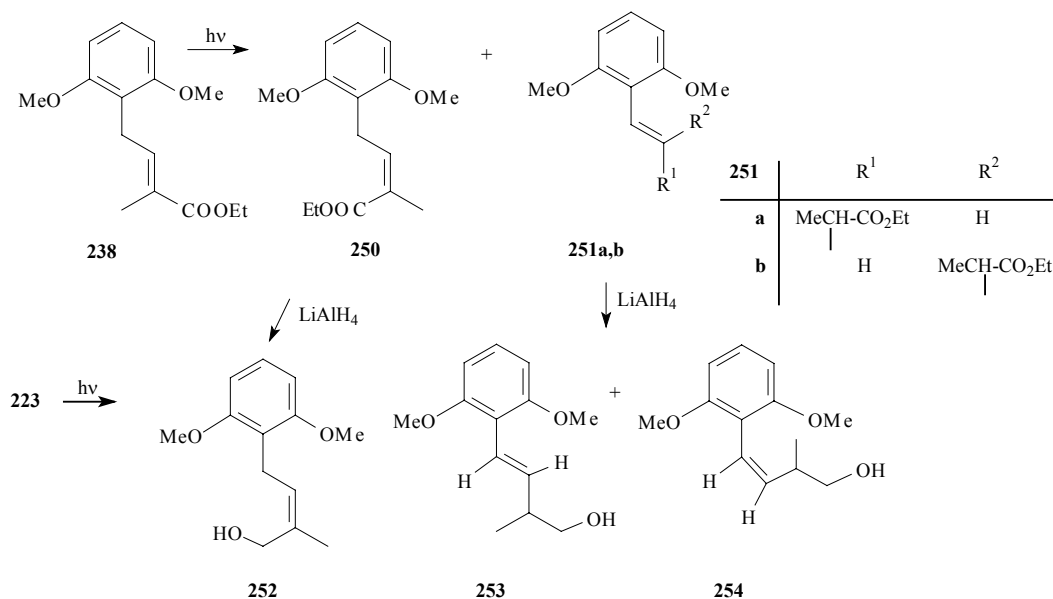


A Wittig-reakción alapuló megközelítés során szintén lítiumsót képeztünk és ezt bromacetaldehyd-dietil-acetállal alkileztük. Az acetál funkció savas hidrolízise után a megfelelő aldehidek (**247a-d**) képződtek, amelyeket különböző foszfónium-sókkal reagáltatva az (*E*)-geometriájú α,β -telítetlen észtereket (**248a-f**) kaptuk meg. E vegyületek lítium-

tetrahidrido-alumínáttal való redukciójával jutottunk a kívánt allilalkohol származékokhoz (249a-f).

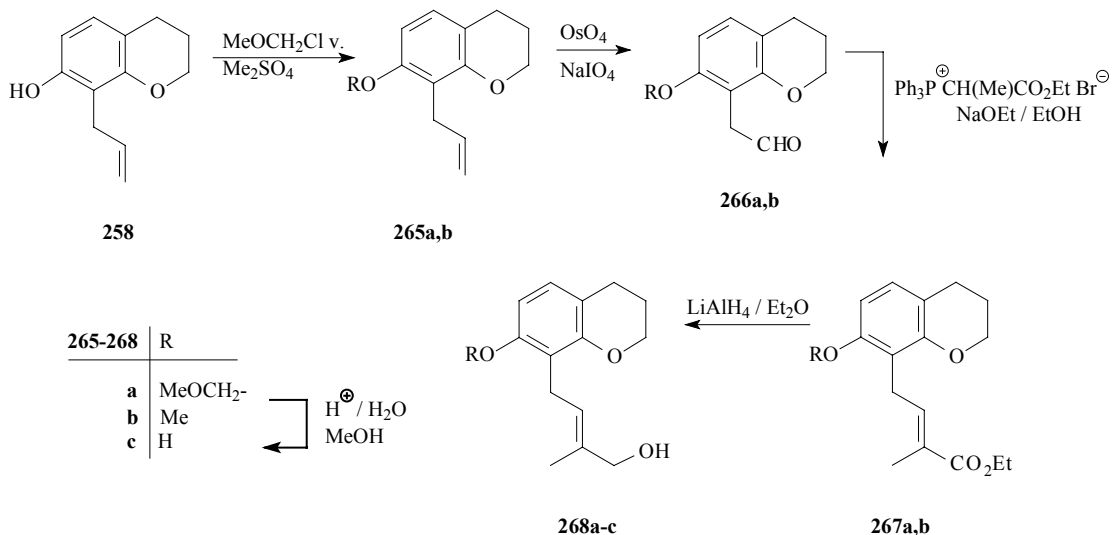


A hatás-szerkezet összefüggések feltárása érdekében, érdekesnek tűnt azt is megvizsgálni, hogy a **223** származék esetében a kettős kötés helyzete és sztereokémiája miként befolyásolja e vegyület biológiai viselkedését. A **223** izomereit (**252-254**) a **238** észterből benzolos oldatban, szobahőmérsékleten végzett fotoizomerizációval állítottuk elő.

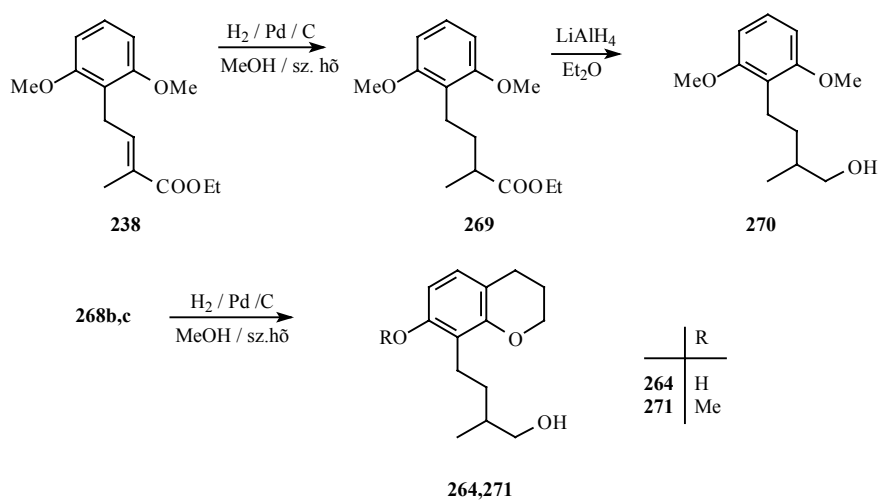


Említésre érdemes, hogy a **223** alkohol fotoizomerizációja során (**223**→**252**) kötészvándorlást nem tapasztaltunk.

A kromán alapvázú analogonok (**268a-c**) előállítására a cabenegrin (**187**) szintézisének ismert utat követtük. A megfelelő aldehideket (**266a,b**) a 8-allilkromán-7-olból (**258**) állítottuk elő.



Farmakológiai vizsgálatokhoz néhány telített oldalláncú analogon (**264,270,271**) szintézisének is megvalósítottuk. A **238** rezorcinvázú észterből palládium-szénen végzett katalitikus hidrogénezéssel a **269** észtert állítottuk elő, melyet LiAlH₄-del redukálva a **270** alkoholt nyertük. A **268b,c** alkoholok esetében pedig katalitikus hidrogénezés vezetett a kívánt telített származékokhoz (**264,271**).



4. Összefoglalás

A kutatómunkám eredményei az alábbiakban összegezhetők:

1. Kimutattuk, hogy a floroglucin A-gyűrűt tartalmazó 2'-hidroxikalkonok feniljodozónium-diacetáttal (PIDA) jó hozammal a megfelelő 5,7-dihidroxiszubsztituált flavonokká ciklizálhatók.
2. Ezt az oxidatív gyűrűzárási reakciót behatóan tanulmányozva megállapítottuk, hogy az átalakítás benzil- és metoximetilvédőcsoportok jelenlétében is elvégezhető. Ezt kihasználva a figyelemreméltó HÍV-ellenes hatású chrysin (**156**) és luteolin (**97**) új szintézisét valósítottuk meg.
3. Megállapítottuk, hogy a 2'-hidroxikalkonok ciklodehidrogénezésén alapuló flavonszintézis alkalmas mind *O*-, mind *C*-prenilezett flavonok előállítására és így a természetes eredetű kanzonol-D (**170**) és kanzonol-E (**171**), valamint a yinyanghuo-*C* (**172**) első szintézisét valósítottuk meg.
4. PM 3 típusú szemiempirikus kvantumkémiail számításokkal értelmeztük az elektrofil reagensnek (PIDA) a prenilezett 2'-hidroxikalkonok esetében tapasztalt nagyfokú regio szelektivitását.
5. Kereskedelmileg könnyen hozzáférhető anyagokból [rezorcin (**29**), szezamol (**115**)] kiindulva a (-)-(6*aR*,11*aR*)-cabene grin A-I [(-)-**187**] tizenkét lépéses teljes szintézisét valósítottuk meg.
6. Az előbbieken említett teljes szintézis Heck-féle oxiarilezési lépésének [(**190**+**189**→**191**+**205**+**207**)] tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a reakció nem regio szelektív és így a *szin* addíciós lépést követő gyűrűzárodás során a főtermékként keletkező racém *O*-benzilmaackiain (\pm)-**191**) mellett a **205,207** regioizomerek is keletkeznek.
7. Kimutattuk, hogy a racém maackiain [(\pm)-**9**], ha alacsony hozammal is, de (*S*)-(-)- α -metilbenzil-izocianát segítségével egyszerű, etanolból történő frakcionált kristályosítással rezolválható.
8. A jobbra és balra forgató maackiain [(+)-**9**, (-)-**9**] kiroptikai vizsgálatával egyértelműen igazoltuk, hogy a (-)-cabene grin A-I [(-)-**187**] abszolút konfigurációja (6*aR*,11*aR*).

9. Hatás-szerkezet összefüggések tanulmányozására számos rezorcín- és krománvázú analogon előállítását valósítottuk meg, melyek farmakológiai vizsgálata azt mutatta, hogy a racém cabenegrin A-I [(±)-**187**] kígyóméreg elleni hatásáért elsősorban e vegyület kromán része tehető felelőssé.

7. Függelék

Az értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

1. Gy. Litkei, **K. Gulácsi**, S. Antus, G. Blaskó, Cyclodehydrogenation of 2'-Hydroxychalcones with Hypervalent Iodine Reagent: A New Synthesis of Flavones, *Liebigs Ann.*, 1711-1715, (1995)
2. Gy. Litkei, **K. Gulácsi**, S. Antus, G. Blaskó, An Efficient Conversion of 2'-Hydroxychalcones to Flavones by a Hypervalent Iodine Reagent, in *Flavonoids and Bioflavonoids 1995* (Ed. S. Antus, M. Gábor, K. Vetschera). Akadémia Kiadó, Budapest, **1996**, p. 335-337.
3. **K. Gulácsi**, Gy. Litkei, S. Antus, T. E. Gunda, A Short and Facile Synthetic Route to Prenylated Flavones. Cyclodehydrogenation of Prenylated 2'-Hydroxychalcones by a Hypervalent Iodine Reagent, *Tetrahedron*, **54**, 13867-13876, (1998)
4. A. L. Tökés, Gy. Litkei, **K. Gulácsi**, S. Antus, E. Baitz-Gács, Cs. Szántay, L. L. Darkó, Absolute Configuration and Total Synthesis of (-)-Cabenegrin A-I, *Tetrahedron*, **55**, 9283-9296, (1999)
5. **K. Gulácsi**, Gy. Litkei, S. Antus, Cs. Szántay, L. L. Darkó, J. Szelényi, Gy. Haskó and Sz. E. Vízi, Synthesis and Biological Activity of the Structural Analogues of (-)-Cabenegrin A-I, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **334**, 53-61 (2001)
6. S. Antus, **K. Gulácsi**, L. Juhász, L. Kiss, T. Kurtán, Synthesis of Naturally Occuring O-Heterocyclic Compounds of Biological Activity, *Pure and Applied Chem.*, in press

Az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemény:

1. Gy. Litkei, **K. Gulácsi**, S. Antus, Z. Dinya, Reaction of Chalcones with NBS, a Simple One-pot Synthesis of 2-Aroylbenzo[b]furanes, *Synth. Commun.*, **26** (16), 3061-3074 (1996)

Előadások és poszterek:

1. Gy. Litkei, **K. Gulácsi**, S. Antus, G. Blaskó, An Efficient Conversion of 2'-Hydroxychalcones to Flavones by a Hypervalent Iodine Reagent, International Bioflavonoid Symposium, Vienna, July 16-19, **1995**.
2. Litkei Gy., **Gulácsi K.**, Antus S., Blaskó G., 5,7-Diszubsztituált flavonok új szintézise, MKE Vegyészkonferencia, Debrecen, **1995**. Augusztus 29-31.
3. **Gulácsi K.**, L. Tőkés A., Litkei Gy., Antus S., Problémák a Cabenegrin A-I és analogonjainak szintézisénel, MTA Flavonoidkémiai Munkabizottsága 1996. évi ülése, **1996**, nov. 21.
4. **Gulácsi K.**, Litkei Gy., Gunda T., Antus S., Természetben előforduló polihidroxiflavonszármazékok szintézise, MTA Flavonoidkémiai és DAB Gyógyszerkémiai és Vegyipari Munkabizottság tudományos előadóülése, Debrecen, **1998**. Nov. 2-3.
5. **Gulácsi K.**, Antus S., Szántay Cs., Szelényi J., Vízi E. Sz., Dioxocin vázas cabenegrin A-I analogon szintézise és farmakológiai vizsgálata, MTA Flavonoidkémiai Munkabizottság tudományos előadóülése, Budakalász, **2000**. Dec. 11