

Egyetemi Doktori (PhD) értekezés tézisei
These of doctoral (PhD) dissertation

**Potenciálisan biológiailag aktív flavanolignánok szintézise és
szerkezetvizsgálata**

**Synthesis and structure study of potentially biologically active
flavanolignanes**

Kertiné Ferenczi Renáta

Témavezető / Supervisor: Antus Sándor akadémikus
Konzulens / Consultant: Dr. Kurtán Tibor docens



Debreceni Egyetem
Természettudományi Doktori Tanács
Kémiai Doktori Iskola
Debrecen, 2012.

1. Az értekezés előzményei és célkitűzései

A növényi eredetű természetes anyagok egyik farmakológiailag is jelentős csoportját az 1,4-benzodioxán vázas flavano- és neolignánok képviselik. Számos képviselőjüknek figyelemre méltó májvédő, antioxidáns, leukémia ellenes és gyulladás gátló hatása van. E vegyületcsalád hatékony szintetikus hozzáférhetősége érdekében doktori munkám célja volt, hogy megfelelő szubsztitúciójú 1,4-benzodioxánok enantioszelektív szintézisét kidolgozva olyan szintetikus építőkövekhez jussak, melyekből a fent említett természetes anyagok enantioszelektív szintézise megvalósítható. E vegyületek kiralitáscentrum(aik)ának abszolút konfigurációját kiroptikai spektroszkópiával (CD) vizsgáltam. Azonosításuk, valamint szerkezetfelderítésük érdekében részletesen tanulmányoztam tömegspektrometriai (MS) viselkedésüket. Optikai tisztaságuk meghatározásához királis diródium komplexeik ^1H és ^{13}C -NMR sajátosságait vizsgáltam meg.

2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

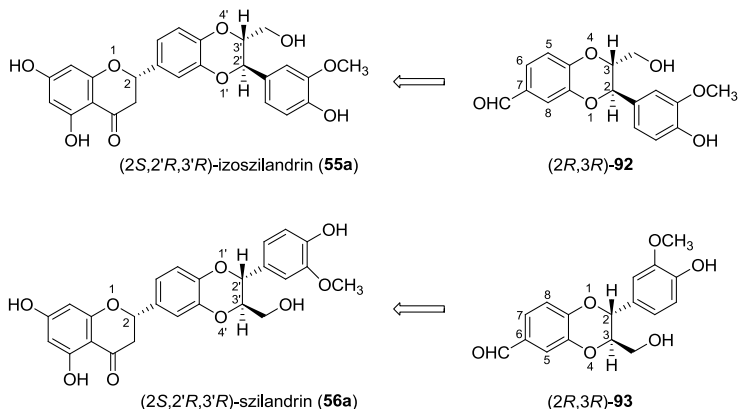
A kísérleti munka során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit egyaránt alkalmaztuk. A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére vékonyréteg-kromatográfiát (TLC), a reakcióelegyek tisztítására kristályosítást, oszlopkromatográfiát és preparatív vékonyréteg-kromatográfiát használtunk. Az előállított vegyületek jellemzése, azonosítása és szerkezetük igazolása a klasszikus analitikai eljárásokkal (elemanalízis, olvadáspont és fajlagos forgatóképesség meghatározása), valamint NMR és tömegspektrometriai spektroszkópiás módszerekkel történt. Az ECD spektrumokat oldatban mértük. Tömegspektrometriás vizsgálatokat APCI (+)-QTOF-MS/MS (atmoszférikus kémiai ionizációs kvadrupól TOF tandem tömegspektrometria) technikát használva végeztük el.

3. Új tudományos eredmények

3.1.1. Kísérletek a 2-hidroximetil-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,4-benzodioxánok enzimkatalizált rezolválására

A kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján 7-formil- és a 6-formil-1,4-benzodioxán származékok (92, 93) alkalmas építő kövekként szolgálhatnak a májvédő

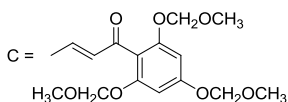
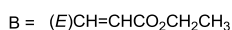
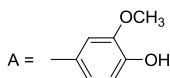
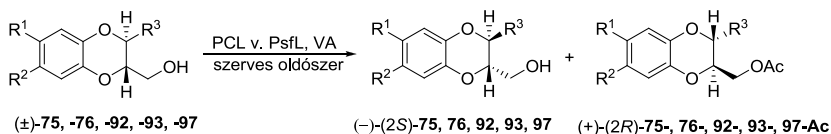
hatású (2*S*,2'*R*,3'*R*)-szilandrin (**56a**) és (2*S*,2'*R*,3'*R*)-izoszilandrin (**55a**) szintéziséhez (2. ábra).



2. ábra

Mint hogy a tervezett többlépéses átalakítás egyes lépései az 1,4-benzodioxán gyűrűrendszer kiralitáscentrumait nem érintik, így a kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján az is kézenfekvőnek látszott, hogy a *racém* 2-hidroximetil-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,4-benzodioxánok enzimkatalizált rezolválását követően e természetes anyagokat és sztereoizomerjeiket ezen az úton állítsuk elő.

A (±)-**75**, **-76**, **-92**, **-93**, **-97** 1,4-benzodioxán származékok enzim katalizált acilezését vinil-acetáttal (VA), mint irreverzibilis acil donorral vízmentes dioxánban, *Pseudomonas fluorescens* (PsfL) és *Pseudomonas cepacia* (PCL) enzimek jelenlétében kíséreltük meg.



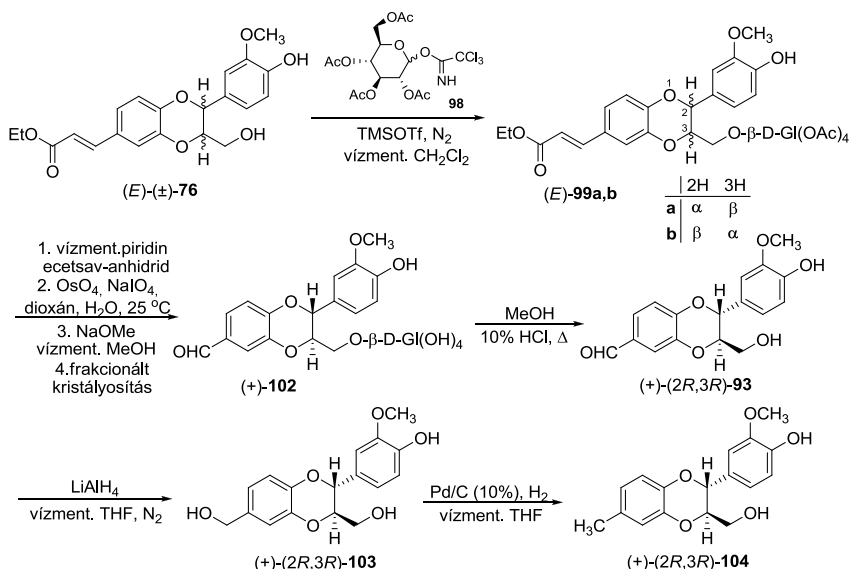
	R ¹	R ²	R ³
75	B	H	A
76	H	B	A
92	CHO	H	A
93	H	CHO	A
97	C	H	H

3. ábra

Meglepő módon a ($\pm$)-**75**, -**76**, -**92**, -**93** aldehid származékok azonban nem voltak szubsztrátjai sem a PsfL, sem pedig a PCL enzimeknek. Ugyanakkor a C-3 helyzetben 4-hidroxi-3-metoxifenil csoportot nem tartalmazó, de az aromás gyűrűn nagy térkitöltésű csoporttal szubsztituált ($\pm$)-**97** származékból PsfL enzim jelenlétében vízmentes dioxánban vinil-acetáttal acetilezve 98 % enantiomer tisztasággal az (S)-konfigurációjú alkoholt [(–)-(**2S**)-**97**] kaptuk meg. Ezen eredmények azt mutatták, hogy a **75**, **76**, **92**, **93** származékok esetében a nagy térkitöltésű C-3 arilcsoport akadályozta meg az enzim-szubsztrát komplex kialakulását.

3.1.2. A (+)-(2R,3R)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-6-karbaldehid [(+)-(2R,3R)-**93**] szintézise I.

A kutatócsoportunk korábbi eredményeit felhasználva a könnyen hozzáférhető *racém* **76** 1,4-benzodioxán származékból indultunk ki. A β -D-glükózil csoportot triklóracetimidátos kapcsolással vezettük be és így a kívánt (+)-**99a** és -**99b** glükozidok 1 : 1 arányú keverékéhez jutottunk. Ezt követően 4 lépésben a jobbraforgató 2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-6-karbaldehid [(+)-(2R,3R)-**93**] kaptuk meg (4. ábra).



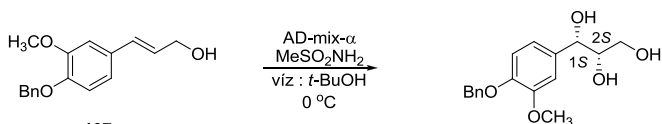
4. ábra

A (+)-**93** (2*R*,3*R*) abszolút konfigurációját az aldehid csoportjának redukciójával nyert (+)-**103** és (+)-**104** származékok CD színeke alapján a kutatócsoportunk által felismert kiroptikai összefüggésre [¹L_b sávnál (+) CE → heterogyűrű helicitása *P* → abszolút konfiguráció (*R*)] támaszkodva határoztuk meg.

Kínai kutatók e vegyület [(+)-**93**] enantioszelektív szintézisét közelmúltban közzétették. Az általuk kidolgozott szintézis út magasabb összhozama (11 %, általunk kidolgozott bruttó hozam: 2 %) miatt úgy gondoltuk, érdemes lenne szintézisüket megvalósítani.

3.1.3. A (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-6-karbaldehid [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] Pan-féle szintézisének reprodukciója

A (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] Pan és munkatársai által közölt enantioszelektív szintéziséről kimutattuk, hogy az nem reprodukálható. A szintézis első lépésében azt találtuk, hogy a benzilezett koniferil-alkohol (**107**) aszimmetrikus dihidroxilálásakor ugyanis AD-mix- α jelenlétében az (1*S*,2*S*)-**108** triol nem balraforgató, hanem a jobbraforgató formában keletkezett (5. ábra). E vegyület szerkezetét Lundgren és munkatársai által a (+)-(*R*)-glicerinaldehidből nyert (+)-(1*S*,2*S*)-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)propán-1,2,3-triollal (**111**) végzett kémiai korrelációval is egyértelműen igazoltuk.

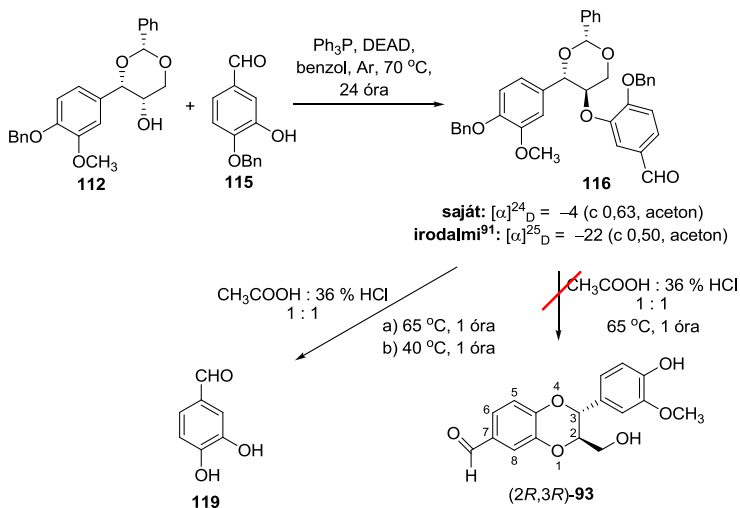


irodalmi: (-)-(1*S*,2*S*)-**108** {op.: 155-156 °C,
[α]_D²⁴ = -76 (c 1,50, metanol), ee = 92 %}

saját: (+)-(1*S*,2*S*)-**108** {op.: 87-88 °C,
[α]_D²⁴ = +20 (c 1,50, metanol)}

5. ábra

A reprodukciónk során a (+)-(1*S*,2*S*)-**108** triolból benzaldehid-dimetil-acetállal a (+)-**112** benzilidén származékhoz jutottunk.

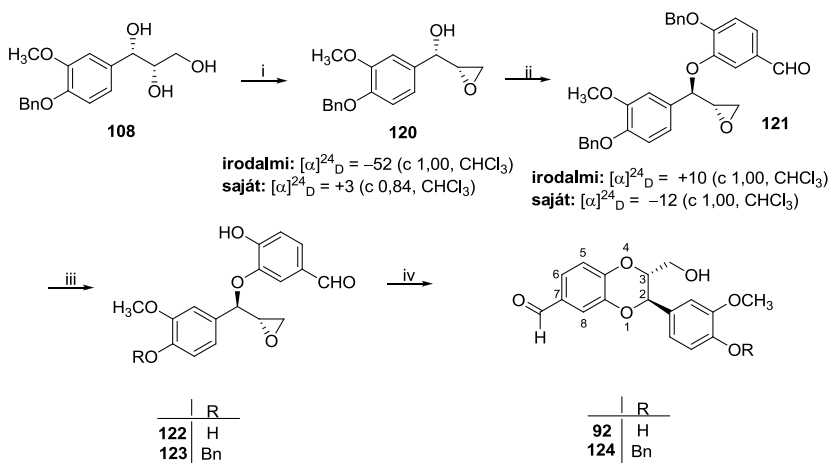


6. ábra

A szintézis következő lépésében a (+)-**112**-nek a **115**-tel végzett Mitsunobu reakciója a (–)-**116** aril-alkil-étert szolgáltatta közepes hozammal (57 %). A szintézis utolsó lépésében a **116** vegyület koncentrált HCl-val ecetsavban végzett gyűrűzárása során a kezünkben lévő célvegyületet [(+)-(2R,3R)-**93**] még nyomokban sem tudtuk kimutatni. A keverék fő komponensét pedig 3,4-dihidroxibenzaldehidként (**119**) azonosítottuk.

3.1.4. A (+)-(2R,3R)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-7-karbaldehid [(+)-(2R,3R)-**92**] Pan-féle szintézisének reprodukciója

A kínai kutatók által közölt (+)-(2R,3R)-2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-7-karbaldehid [(+)-**92**] szintézisének reprodukciója is sikertelen volt (7. ábra). A (+)-(1S,2S)-**108** triolt *N*-tozilimidazollal, vízmentes tetrahidrofuranban, nátrium-hidrid jelenlétében csak szerény termeléssel (13 %, irodalmi: 71 %) tudtuk a megfelelő **120** epoxiddá alakítani, melynek fizikai adatai azonban jelentősen eltértek az irodalomban megadottaktól.



(i) *N*-tozilimidazol, NaH, THF, 25 °C, 2 óra

(ii) 4-benziloxi-3-hidroxi-benzaldehid (**115**), Ph_3P , DEAD, benzol, Ar, 70 °C, 24 óra

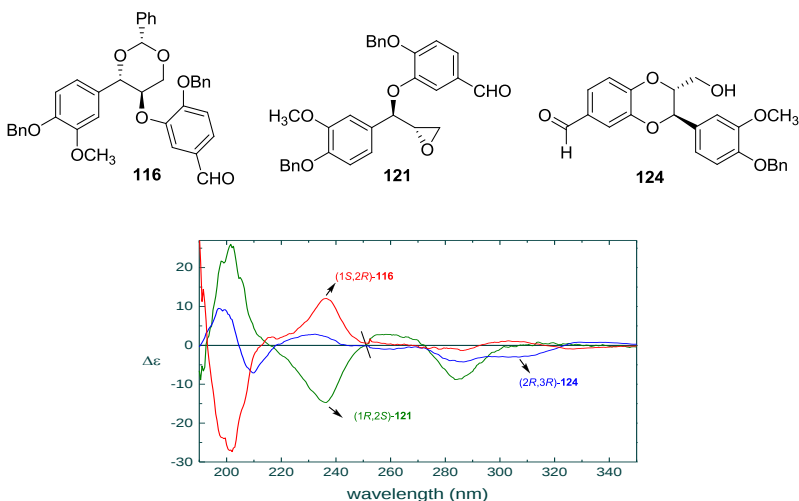
(iii) Pd/C (5%), H_2 , EtOAc, 25 °C, 6 óra

(iv) K_2CO_3 , MeOH, 25 °C, 1 óra

7. ábra

A következő lépésben az (1*S*,2*S*)-**120**-nak a **115**-tel végzett Mitsunobu reakciója a megfelelő étert (1*R*,2*S*)-**121** (38 %) szolgáltatta. Azonban e vegyület benzilcsoportjainak katalitikus hidrogénezéssel történő eltávolítása során nem a kívánt terméket (**121**), hanem NMR adata alapján annak **123** benzil-éterét kaptuk meg. Ebből K_2CO_3 -tal való kezelés során metanolban a 4'-benziloxi származék [(2*R*,3*R*)-**124**] keletkezett. E vegyület optikai tulajdonságait CD spektrumával karakterizáltuk $\{n \rightarrow \pi^* [307 \text{ nm } (-1,00)], \text{ mind pedig a } \pi \rightarrow \pi^* [286 \text{ nm } (-1,42)]\}$.

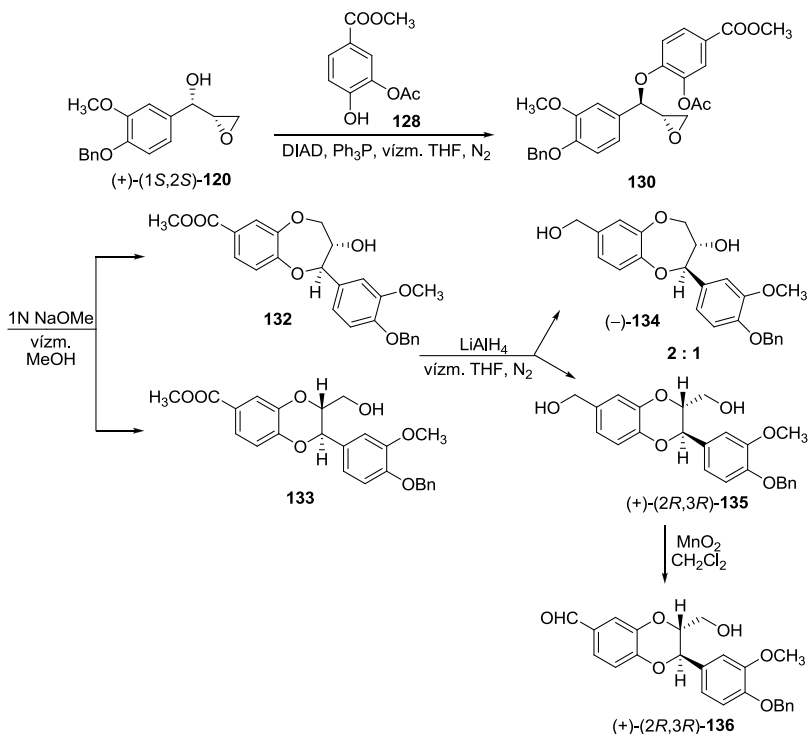
A konjugálódó formil csoport jelenlétében az 1,4-benzodioxán helicitási szabály láthatóan nem alkalmazható, mert (2*R*,3*R*)-**124** esetén a heterogyűrű *P* helicitású, melyhez pozitív $^1\text{L}_b$ CE-nak kellene tartoznia. Megemlítendő, hogy az (1*R*,2*S*)-**121** és (1*S*,2*R*)-**116** CD spektrumaik a 250 nm alatti tartományban közel tükörképi lefutásúak, amely jól jelzi, hogy a kiralitás centrumok ellentétes abszolút konfigurációjúak (8. ábra).



8. ábra

3.1.5. A (+)-(2R,3R)-2-(4-benziloxi-3-metoxifenil)-3-hidroximetil-1,4-benzodioxán-6-karbaldehid [(+)-(2R,3R)-136] első enantioszelektív szintézise

A kínai kutatók szintéziseinek reprodukciója során szerzett tapasztalataink alapján 3,4-dihidroxibenzoesav-metil-észteréből (**126**) indultunk ki, melynek a C-3 hidroxilcsoportját benzil védőcsoport helyett acetillel védtük. Ezt követően a **128** acetoxi észtert kapcsoltuk a (+)-(1S,2S)-**120** epoxiddal, amely a **130** aril-alkil-éter kulcsintermediert adta. Ennek nátrium-metilát jelenlétében végzett gyűrűzárása a reakció kromatográfiás követése szerint két termékhez (**132**, **133**) vezetett. Ezek elválasztását csak a lítium-alumínium-hidriddel végzett redukciót követően sikerült megoldani. Így 2 : 1 arányban a (–)-**134** 1,5-benzodioxepin és a várt (+)-**135** 1,4-benzodioxán származékot kaptuk meg. Ezt követő lépésben a (+)-**135** benzil-alkohol származék MnO_2 -dal végzett oxidációja a kívánt (+)-(2R,3R)-**136** aldehidhez vezetett (9. ábra).

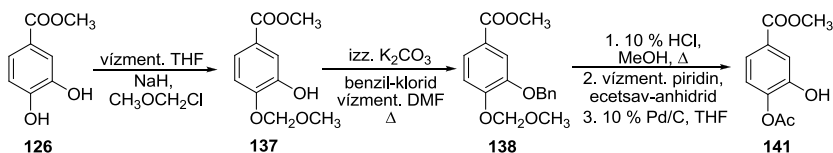


9. ábra

A (-)-134 és (+)-135 abszolút konfigurációját a kutatócsoportunk által felismert kiroptikai összefüggést használva a CD szinképük ¹L_b sávjához tartozó Cotton effektus (CE) előjele alapján igazoltuk.

3.1.6. Kísérletek a (+)-(2R,3R)-2-(4-benziloxi-3-metoxifenil)-3-hidroxitetil-1,4-benzodioxán-7-karbaldehid előállítására

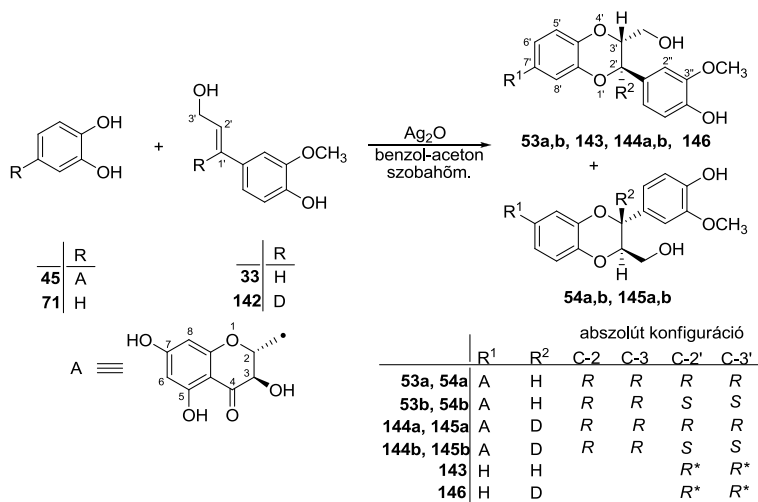
E vegyület szintéziséhez kiindulási anyagként a 4-acetoxi-3-hidroxi-benzoésztermetil-észtert (141) is protokatechusav-metil-észterből (126) akartuk előállítani, de a 4-acetoxi-3-benziloxibenzoésztermetil-észter (138) benzilcsoportjának katalitikus hidrogénezéssel történő eltávolítása során acetyl vándorlás történt és így a korábban előállított acetyl származékhoz (128) jutottunk (10. ábra). A megfelelő kapcsoló komponens előállítása folyamatban van. Ennek birtokában a 9. ábrán vázolt úton a kívánt vegyület minden bizonnyal előállítható.



10. ábra

3.1.7. Deutériummal jelzett szilibin (53a,b) és izoszilibin (54a,b) szintézise

A gyógyszerészetben forgalomban lévő májvédő hatású (+)-szilibin (53a,b) és (+)-izoszilibin (54a,b) fragmentációs viselkedésének részletes tanulmányozása érdekében a (+)-(2*R*,3*R*)-taxifolinból [(+)-45] kiindulva C-2' helyzetben deutériummal jelzett származékukat [(+)-144a,b, -145a,b] állítottuk elő (11. ábra).

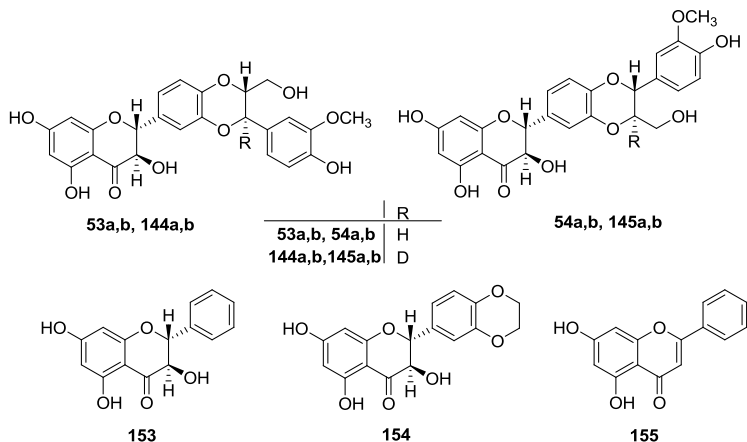


11. ábra

A tömegspektrometriai vizsgálatainkhoz e vegyületek lignánrészét képező 146 1,4-benzodioxán származékot C-2 helyzetben deutériummal jelzett formában is előállítottuk. Vegyületeink deuteráltsági fokát ¹H-NMR adatokból határoztuk meg és a mintánk deutérium tartalma meghaladta a 92 %-ot, amely jó egyezést mutatott a vanillinből (94) 5 lépésben előállított deuterio-koniferil-alkohol (142) deuteráltsági fokával.

3.1.8. A (+)-szilibin (53a,b) fragmentációjának tanulmányozása TOF tandem tömegspektrometriával (MS/MS)

A (+)-szilibin (53a,b), (+)-izoszilibin (54a,b), a (+)-deuteroszilibin (144a,b) és a (+)-deuteroizoszilibin (145a,b), valamint e vegyületekben fellelhető 153, 154, 155 O-heterociklusok (12. ábra) tömegspektrális viselkedését APCI (+)-QTOF-MS/MS technikát használva tanulmányoztuk, és javaslatot tettünk a (+)-szilibin (53a,b) és a (+)-izoszilibin (54a,b) fragmentálódásának főbb lépéseire.

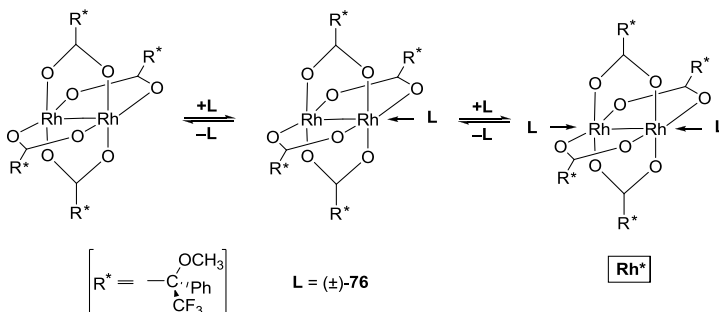


12. ábra

Az m/z 483, 465, 435, 329, 311 és 301 tömegszámú fragment ionok esetében jelentős intenzitás különbségeket figyeltünk meg, melyből egyértelműen a koniferil-alkohol (33) kapcsolódásának regioszelektivitására lehet következtetni, azaz a (+)-szilibin (53a,b) a (+)-izoszilibintól (54a,b) APCI (+)-QTOF-MS/MS spektrumaik alapján tudományos igényességgel megkülönböztethetők.

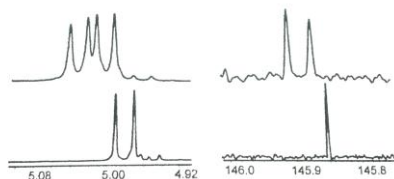
3.1.9. 1,4-Benzodioxán származékok optikai tisztaságának meghatározása diródium módszerrel

H. Duddeck professzorral (University of Hannover) együttműködve különféle funkciós csoportban (éter, alkohol, észter, fenol) oxigént tartalmazó ($\pm$)-76 1,4-benzodioxán származék, mint ligandum (L) az enantiomertiszta diródium komplexszel (13. ábra) képzett (Rh^*) adduktjainak NMR vizsgálatát végeztük el.



13. ábra

A nyert $\Delta\delta$ (^1H és ^{13}C) értékek egyértelműen azt mutatták, hogy a ródium az észter karbonil csoportjához kötődött legerősebben, melyet a CH_2OH csoport oxigénjéhez való kötődés követett.



14. ábra

Az addukt C-2H ^1H és C-8a ^{13}C jeleinek felhasadása alapján a vizsgált vegyület enantiomer tisztasága pontosan meghatározható (14. ábra).

1. Antecedents and Aims

Flavano- and neolignans possessing 1,4-benzodioxane moiety represent an important group of natural products exhibiting significant hepatoprotective, radical scavenging, antileucemic and anti-inflammatory activity.

In order to explore an effective approach to the synthesis of this type of compounds, the aim of my dissertation was to develop enantioselective synthesis of appropriately substituted 1,4-benzodioxane derivatives, which can serve as a suitable building blocks for the synthesis of the above mentioned natural products. The absolute configuration of the chirality center(s) of these molecules has been determined by chiroptical spectroscopy (CD) and their mass spectrometry (MS) and NMR data have been also studied for their simple and rapid identification and determination of their optical purity, respectively.

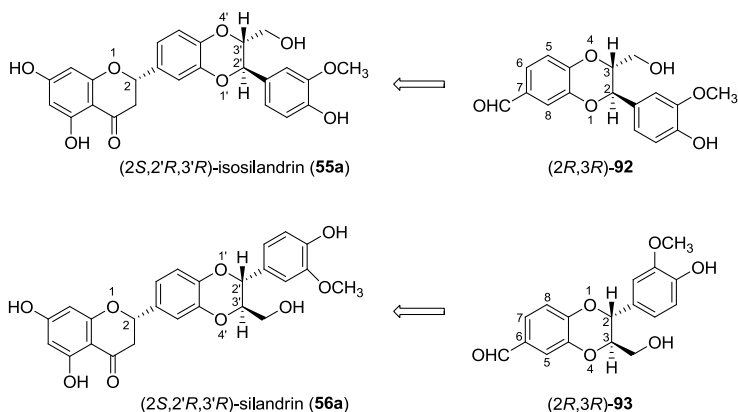
2. Applied methods

The macro, semi-micro and micro methods of modern preparative organic chemistry were applied in the synthetic work. Reactions were monitored by thin layer chromatography; isolation, purification and separation of the crude products were carried out by preparative and column chromatography or crystallisation. Elemental analysis, melting points, optical rotation, IR spectroscopy, NMR and CD spectroscopy, mass spectrometry measurements were applied for the identification and characterization of the prepared compounds. The fragmentation behavior of our compounds were investigated by APCI(+)-QqTOF MS/MS (atmospheric pressure chemical ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry in positive ion mode).

3. New results

3.1.1. Experiments for enzyme catalysed resolution of 2-hydroxymethyl-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,4-benzodioxanes

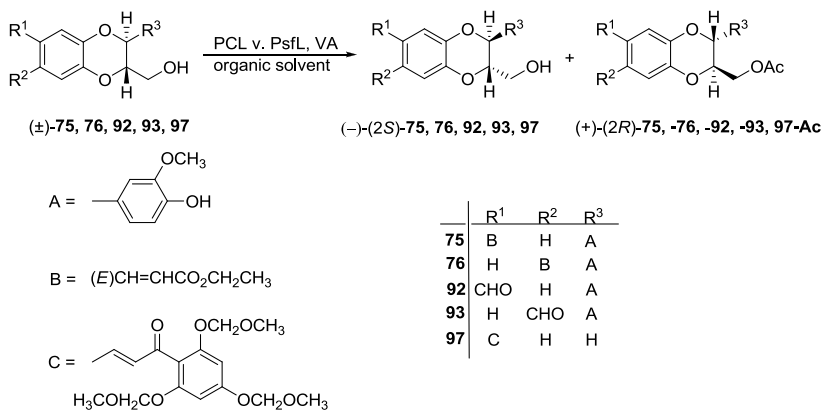
On the basis of recent results achieved by our research group the 1,4-benzodioxane 6- and 7-carbaldehyde derivatives (**92**, **93**) may serve as suitable building blocks for the synthesis of the hepatoprotective (2*S*,2'*R*,3'*R*)-silandrin (**56a**) and (2*S*,2'*R*,3'*R*)-isosilandrin (**55a**) (Scheme 2).



Scheme 2

Since the configuration of chirality centres of the 1,4-benzodioxane ring remained unchanged in these transformation, according to the recent results of our research group, it was obvious to use the enzyme catalyzed kinetic resolution for the preparation of the stereoisomers of 2-hydroxymethyl-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,4-benzodioxanes in optically pure form.

The lipase-catalyzed transesterification of (±)-**75**, **-76**, **-92**, **-93**, **-97** has been studied in dry dioxane with *Pseudomonas fluorescens* (PsFL) and *Pseudomonas cepacea* (PCL) lipases using vinyl acetate (VA) as an irreversible acyl donor at room temperature.



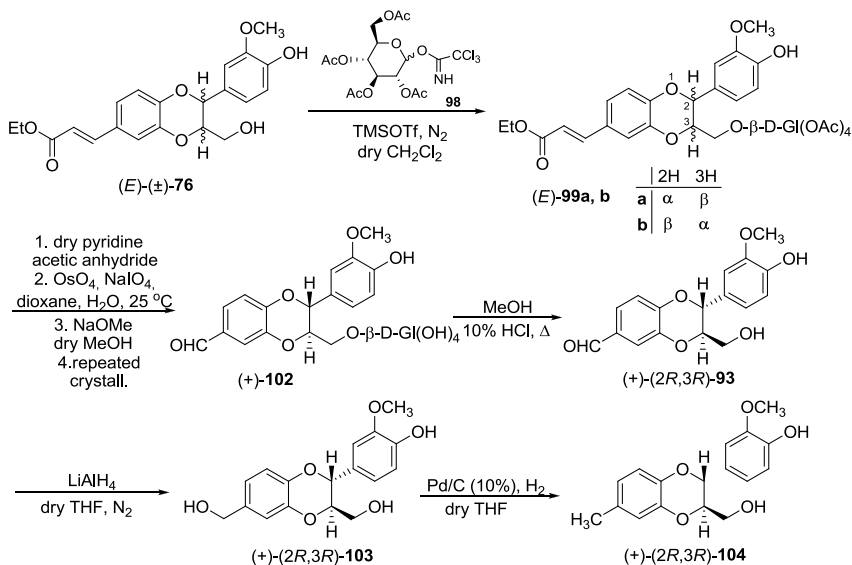
Scheme 3

Surprisingly, (±)-**75**, **-76**, **-92**, **-93**, and **-97** derivatives could not be resolved by PsFL and PCL enzyme. In the same time, the PsFL lipase-catalyzed acetylation of *racemic* 2-

hydroxymethyl-1,4-benzodioxane [(±)-**97**], possessing no substituent at C-3 and a bulky group on its aromatic ring, provided the leavorotatory alcohols of (2*S*) absolute configuration and optical purity over 98 % in good yield in dry dioxane at room temperature. This results has clearly shown that in case of **75**, **76**, **92** and **93** 1,4-benzodioxane derivatives, the presence of the 4-hydroxy-3-methoxyphenyl group at C-3 hindered their binding to the active site of the enzyme.

3.1.2. Synthesis of (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-6-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] I.

Since the 1,4-benzodioxane derivative **76** could be prepared in *racemic* form in a simple scheme using the recent results of our research group, it can be used as a suitable starting material for (+)-(2*R*,3*R*)-**93**. For the resolution of **76**, a β-D-glycosyl moiety was introduced to the molecule. The glucoside **99a,b** could be synthesized by regioselective glucosylation with trichloroacetyl imydate as a 1: 1 mixture of diastereomers, from which the dextrorotatory 2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-6-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] could be gained in 4 steps (Scheme 4).



Scheme 4

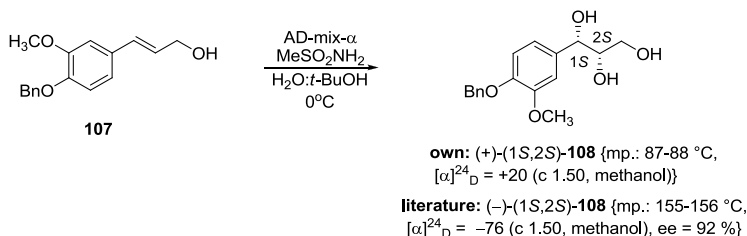
The reduction of aldehyde group of (+)-**93** by LiAlH₄ resulted in the (+)-**103** benzyl alcohol derivative, whose catalytic hydrogenation in the presence Pd(C) gave the

corresponding (+)-**104** derivative. The absolute configuration of these compounds has been determined by CD to be (2*R*,3*R*) using the 1,4-benzodioxane helicity rule reported by our group [¹L_b-CD (+) → heteroring helicity *P* → absolute configuration (*R*)]. Therefore the absolute configuration of (+)-(2*R*,3*R*)-**93** must also be as (2*R*,3*R*).

Recently enantioselective synthesis of (+)-**93** was also reported by Chinese researchers. The Chinese researchers developed synthetic route with higher total yield (11%, we have developed gross yield: 2%), because we thought, it would be executed their synthesis.

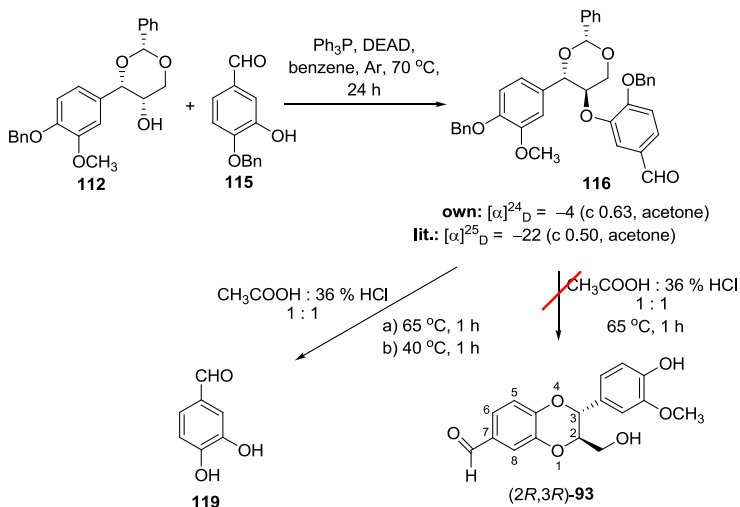
3.1.3. The (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-6-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] Pan's synthesis of reproduction

The enantioselective synthesis of (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-6-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**93**] reported by Pan and co-workers could not be reproduced. In the first step, the Sharpless asymmetric dihydroxylation of benzylconiferyl alcohol (**107**) with AD-mix- α resulted in a dextrorotatory triol in our hand, whose physical data have been found to be total by different from that published by Pan et. al (see in Scheme5). According to the Sharpless rule, the absolute configuration of our compound [(+)-**108**] must be (1*S*,2*S*), which was also confirmed by chemical correlation with (+)-(1*S*,2*S*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,2,3-triol (**111**) prepared by Lundgren *et al.* from (+)-(*R*)-glyceraldehyde.



Scheme 5

In the course of our reproduction, the transformation of (+)-(1*S*,2*S*)-**108** with benzaldehyde dimethyl acetal provided the (+)-**112** benzyldiene derivative (Scheme 6).



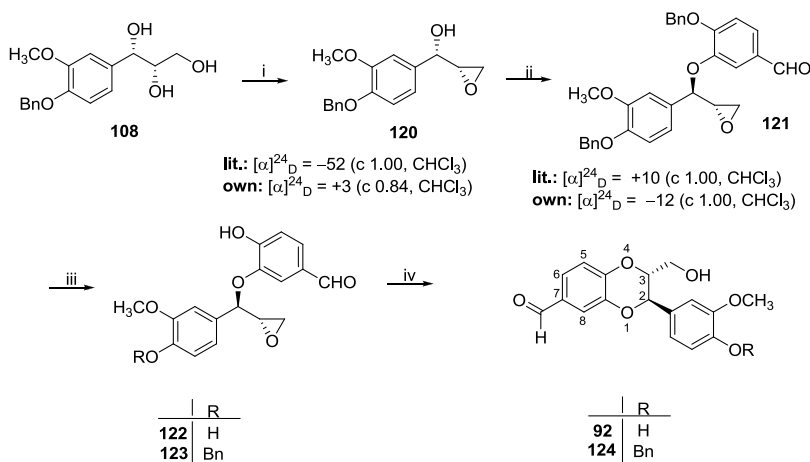
Scheme 6

In the next step of the Pan's synthesis, compound (+)-**112** was subjected to Mitsunobu reaction with **115**. In this transformation a mixture is formed whose main component could be isolated in 57 % yield. The structure of this compound (**116**) has been determined by combination of different spectroscopic methods. The last step of Pan's synthesis could not be reproduced at all. The TLC monitoring of the cyclization of **116** upon heating in acetic acid in the presence of 36 % HCl did not result in even traces of the target molecule (+)-(2*R*,3*R*)-**93**, which was already in our hand (see 3.1.1.). Our TLC examination has clearly shown that instead of the proposed ring-closure the formation of 3,4-dihydroxybenzaldehyde (**119**) was the main process.

3.1.4. The (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-7-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**92**] Pan's synthesis of reproduction

The synthesis of (+)-(2*R*,3*R*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-7-carbaldehyde [(+)-(2*R*,3*R*)-**92**] reported by Chinese researchers could not be reproduced either (Scheme 7).

In our hand, the treatment of (+)-(1*S*,2*S*)-**108** triol with *N*-tosylimidazole in dry THF in presence of NaH resulted in **120** oxirane in low yield (13 %, literature: 71 %).



(i) *N*-tosylimidazole, NaH, THF, 25 °C, 2 h

(ii) 4-benzyloxy-3-hydroxybenzaldehyde (**115**), Ph_3P , DEAD, benzene, Ar, 70 °C, 24 h

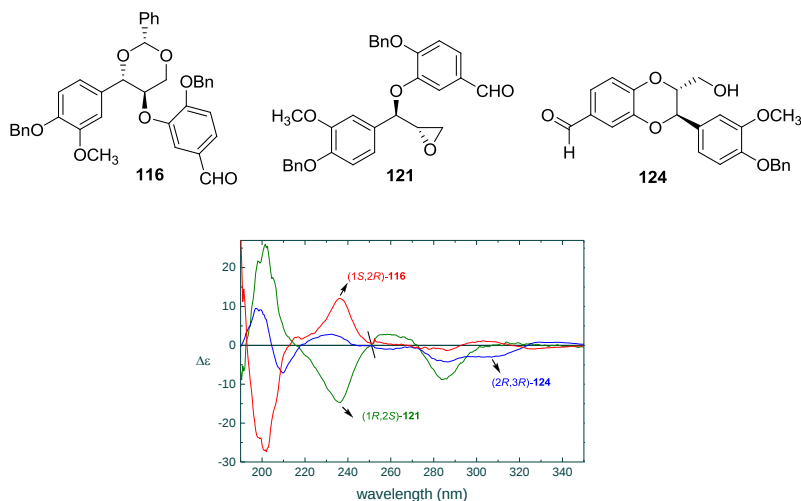
(iii) Pd/C (5%), H_2 , EtOAc, 25 °C, 6 h

(iv) K_2CO_3 , MeOH, 25 °C, 1 h

Scheme 7

In the next step, the Mitsunobu reaction of (1*S*,2*S*)-**120** with **115** gave the corresponding ether (1*R*,2*S*)-**121** in 38 % yield. Removal of the benzyl groups of (1*R*,2*S*)-**121** by hydrogenolysis did not result in (1*R*,2*S*)-**122** in our hand and instead of **123** its monobenzyl derivative could be obtained whose structure was identified by NMR. This structure has been also confirmed by its treatment with K_2CO_3 in MeOH resulting in the 4'-*O*-benzylether derivative of **92** [(2*R*,3*R*)-**124**].

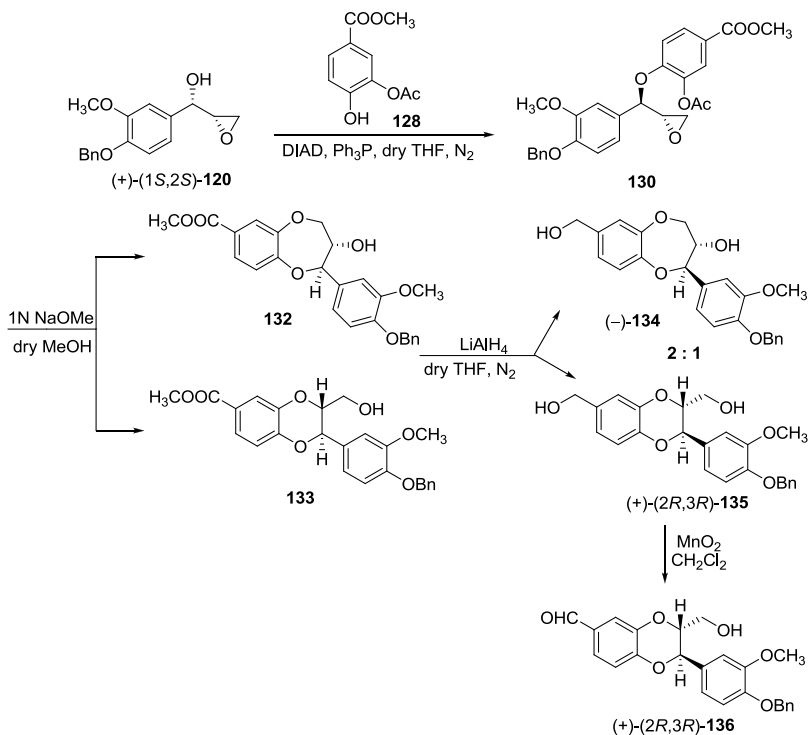
Its optical property could be characterized by its CD spectrum $\{n \rightarrow \pi^* [307 \text{ nm } (-1.00)], \pi \rightarrow \pi^* [286 \text{ nm } (-1.42)]\}$. The conjugated formyl group in the presence of 1,4-benzodioxane helicity rule apparently does not apply, because of (2*R*,3*R*)-**124**, the heteroring *P* helicity, which has a positive $^1\text{L}_b$ CE should have covered. It is interesting to note, that the CD of (1*R*,2*S*)-**116** and (1*S*,2*R*)-**121** are mirror image below 250 nm due to the opposite configurations of their stereogenic centres (Scheme 8).



Scheme 8

3.1.5. First enantioselective synthesis of (+)-(2R,3R)-2-(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-6-carbaldehyde [(+)-(2R,3R)-136]

On the basis of experiences earned in the course of the reproduction of Pan's synthesis, we supposed that 3,4-dihydroxybenzoic acid methylester (**126**) can be a suitable starting material for the preparation of the (2R,3R)-**136** 1,4-benzodioxane building block if acetyl protecting group is used instead of the benzyl one. Therefore methyl 3-acetoxy-4-hydroxybenzoate (**128**) was reacted with the corresponding (+)-(1S,2S)-**120** epoxide under conditions of Mitsunobu reaction to give **130** aryl alkyl ether as a key intermediate. The TLC monitoring of cyclization of **130** with NaOMe has shown that a mixture of two compounds was formed, which could not be separated. Afterward the ester derivatives were reduced by LiAlH_4 to afford the (-)-**134** 1,5-benzodioxepine and the expected (+)-**135** 1,4-benzodioxane derivatives with 2 : 1 ratio. In the next step, the (+)-**135** benzyl alcohol was oxidized with MnO_2 to get the required (+)-(2R,3R)-**136** aldehyde derivative (Scheme 9).

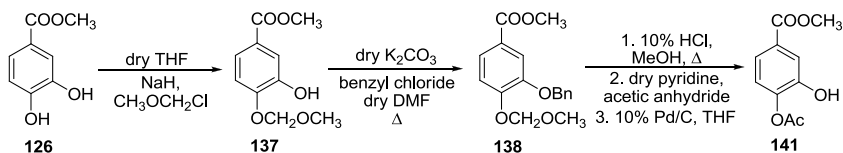


Scheme 9

The absolute configuration of the (-)-134 and (+)-135 was confirmed by CD on the basis of the helicity rule published by our group.

3.1.6. Experiments for synthesis of (+)-(2R,3R)-2-(4-benzoyloxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxane-7-carbaldehyde

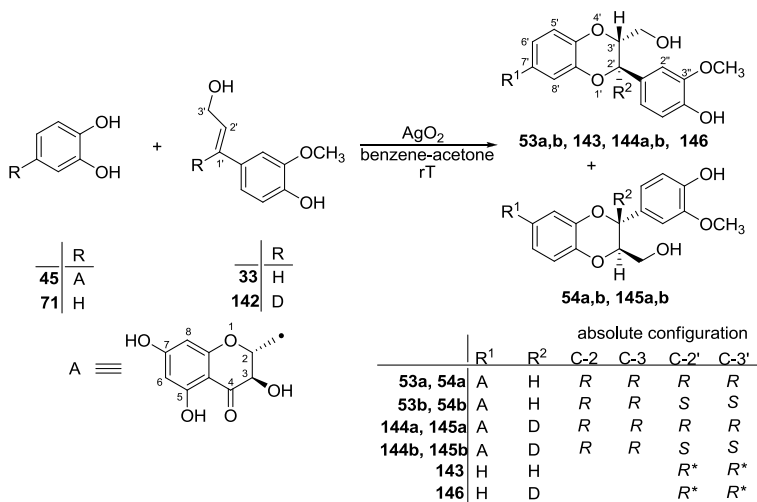
Starting from protocatechuic acid, we wanted to produce the methyl 4-acetoxy-3-hydroxybenzoate (**141**) for the synthesis of the target compound. Surprisingly after methoxymethylation of **126** followed by benzylation, cleavage of methoxymethyl group, acetylation and catalytic debenzylation 4-acetyl-protocatechuic acid methyl ester has been obtained instead of **141** due to an unexpected acetyl migration took place under the conditions of catalytic hydrogenation. The modification of this sequence is in progress.



Scheme 10

3.1.7. Synthesis of deuterium labeled silybin (53a,b) and isosilybin (54a,b)

In order to study the fragmentation behaviour of the hepatoprotective (+)-silybin (53a,b) and (+)-isosilybin (54a,b), derivative [(+)-144a,b, -145a,b] have been synthesized with deuterium labelling on its C-2' starting from (+)-(2*R*,3*R*)-taxifolin [(+)-45] (Scheme 11).

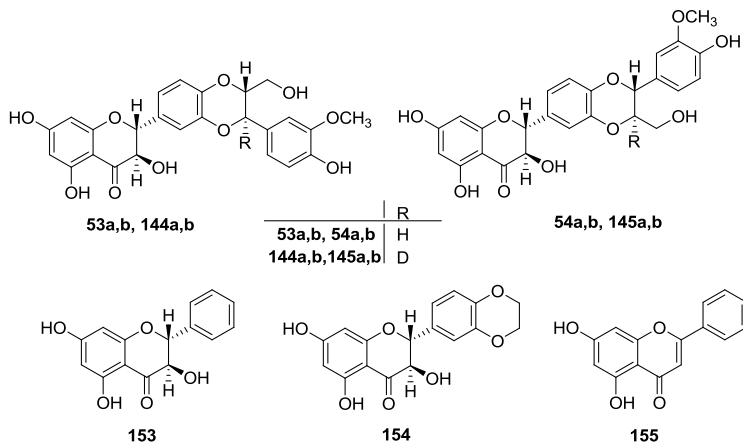


Scheme 11

We could prepared the 146 1,4-benzodioxane derivative for mass spectrometry analysis. The deuteration degree of (+)-144a,b, -145a,b was confirmed by their ¹H-NMR data and the deuterium content of our samples was found higher than 92 %, which corresponds well to that of deutoconiferyl alcohol (142) prepared in five steps starting from vanilline (94).

3.1.8. (+)-Silybin (53a,b) fragmentation studies by atmospheric pressure chemical ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry

The fragmentation behaviour of (+)-silybin (**53a,b**), (+)-isosilybin (**54a,b**), (+)-deuterosilybin (**144a,b**) and (+)-deuteroisosilybin (**145a,b**) as well as their flavanone-3-ol-type building blocks such as **153**, **154** and **155** (Scheme 12) were investigated by APCI (+)-QTOF-MS/MS. Based on our experimental results, fragmentation pathways for (+)-silybin (**53a,b**) and (+)-isosilybin (**54a,b**) are proposed.

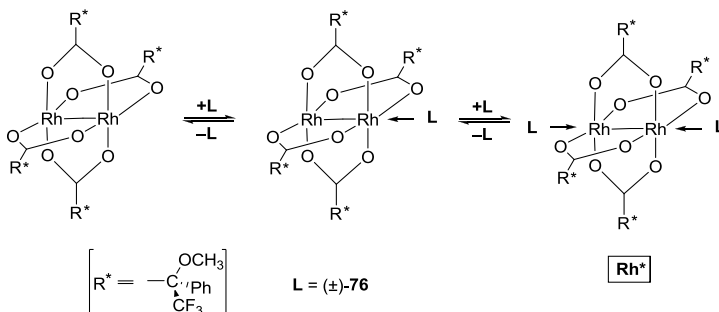


Scheme 12

We have observed that the relative intensities of product's ions m/z 483, 465, 435, 329, 311 and 301 of (+)-silybin (**53a,b**) were significant different those of (+)-isosilybin (**54a,b**), therefore these characteristic MS data can be safely used for differentiation of the regioisomers of this type of natural products.

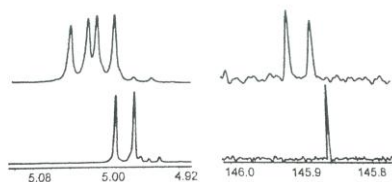
3.1.9. Determination of optical purity of 1,4-benzodioxane derivatives with dirhodium method

In collaboration with H. Duddeck Professor (University of Hannover), NMR examinations of dirhodium complexes *in situ* prepared from the ($\pm$)-**76** 1,4-benzodioxane derivative possessing oxygen in various functional groups (ether, alcohol, ester, phenol) with rhodium-acetate and methoxytrifluoromethylphenylacetic acid (MTPA-H) in CDCl_3 have been performed (Scheme 13).



Scheme 13

The obtained values $\Delta\delta$ (^1H and ^{13}C) have clearly showed that the **Rh** was coordinated stronger to the carbonyl oxygen of the ester function of ($\pm$)-**76** than to the oxygen of CH_2OH group, but in both cases a significant splitting of $2\text{H } ^1\text{H}$ and $\text{C-8a } ^{13}\text{C}$ signals could be observed.



Scheme 14

On the basis of the splitting of $\text{C-2H } ^1\text{H}$ and $\text{C-8a } ^{13}\text{C}$ signals of the adduct, the enantiomeric purity of the tested compounds can be safely determined (Scheme 14).

5. Publikációk/ Publications

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények/ Papers underlying the Thesis

1. Ferenczi R., Kurtán T., Dinya Z., Antus S.; „Synthesis of deuterium labeled silybin and isosilybin” *Heterocyclic Communications*, **2005**, 11(6), 491-494.
2. Kéki S., Tóth K., Zsuga M., Ferenczi R., Antus S.; „(+)-Silybin a Pharmacologically Active Constituent of *Silybum marianum*: fragmentation studies by atmospheric pressure chemical ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry” *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2007**, 21, 2255-2262.
3. Kónya K., Ferenczi R., Czompa A., Kiss-Szikszai A., Kurtán T., Antus S.; „Kinetic resolution of 2-hydroxymethyl-1,4-benzodioxanes by *Pseudomonas fluorescens*” *Arkivoc*, **2008**, (3), 200-210.
4. Gómez E. D., Antus S., Ferenczi R., Rys B., Stankiewicz A., Duddeck H.; „Enantidifferentiation by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy (dirhodium method) – selectivity of oxygen functionalities” *Natural Product Communications*, **2008**, 3(3), 339-344.
5. Ferenczi R., Kurtán T., Antus S.; „Total synthesis of isoamericanol of neurotrophic activity” *Tetrahedron*, (összeállítás alatt)
6. Ferenczi R., Kurtán T., Antus S.; „Enantioselective synthesis of (–)-isosilandrín of antihepatotoxic activity” *Natural Product Research*, (összeállítás alatt)

Tudományos rendezvényeken bemutatott munkák/ Presentation at scientific meetings

Előadások/ Oral lectures

1. Ferenczi Renáta, Dinya Zoltán, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán vázas vegyületek szintézise és tömegspektrometriás vizsgálata, 2002. november 13-15. Gyógynövények Kutatása És Felhasználása, Konferencia jegyzék: 48. oldal, Kecskemét

2. Ferenczi Renáta, Illyés Tünde Zita, Kurtán Tibor, Szilágyi László, Antus Sándor; Észrevételek az 1,4-benzodioxán vázas lignánok aszimmetrikus szintéziséről, 2005. október 11. MTA Flavonoid Munkabizottsági Ülés, Budakalász
3. Renáta Ferenczi, Tünde Zita Illyés, Tibor Kurtán, László Szilágyi, Sándor Antus; Study of the asymmetric synthesis of 1,4-benzodioxane-type lignans, Second German-Hungarian Workshop, April 4-9, 2006, Debrecen
4. Ferenczi Renáta, Illyés Tünde Zita, Kurtán Tibor, Szilágyi László, Antus Sándor; Új út 1,4-benzodioxánvázas flavano- és neolignánok enantioszelektív előállítására, 2006.12.01. Flavonoid Munkabizottsági Ülés Budapest KKKI
5. Sándor Kéki, Katalin Tóth, Renáta Ferenczi, Sándor Antus, Miklós Zsuga; Fragmentation studies of (+)-silybin by atmospheric pressure chemical ionization and post-source decay matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, 25th Informal Meeting on Mass Spectrometry 6th-10th May 2007 Nyíregyháza-Sóstó, Hungary
6. Renáta Ferenczi, Tibor Kurtán, Sándor Antus; An Improved Asymmetric Synthesis of 1,4-benzodioxane-type lignanes of antioxidant activity, Third German-Hungarian Workshop, 15.-17. Mai 2008 Synthesis, Isolation, and Biological Activity of Natural Products, Paderborn
7. Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán-vázas lignánok enantioszelektív szintézise, Heterociklusos Kémiai Munkabizottság Ülése, 2008, Balatonszemes
8. Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán-vázas lignánok enantioszelektív szintézise, 2008. október 20. MTA Flavonoidkémiai Munkabizottság tudományos előadóülése, MTA DAB Székház, Debrecen
9. Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán-vázas lignánok enantioszelektív szintézise, 2009.03.09. Kisfaludy Lajos Alapítvány előadóülés, Budapest
10. Renáta Ferenczi, Tibor Kurtán, Alina D. Zamfir, Francisc Péter, Sándor Antus; Toward the asymmetric synthesis of 1,4-benzodioxane-type lignanes of antioxidant activity, The XIIIth International Symposium "Young People and Multidisciplinary Research,, Timisoara 10 - 11 November 2011.

11. Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán-vázás vegyületek enantioszelektív szintézise, 2012.05.14-15. MTA Alkaloid- és Flavonoidkéimiai Munkabizottsági ülés, Balatonalmádi

Posztterek/ Posters

1. Ferenczi Renáta, Dinya Zoltán, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán vázas vegyületek szintézise és tömegspektrometriás vizsgálata, 2003. Június 26-28. Vegyészkonferencia 2003 Hajdúszoboszló
2. Ferenczi Renáta, Illyés Tünde Zita, Kurtán Tibor, Szilágyi László, Antus Sándor; Észrevételek az 1,4-benzodioxán vázas lignánok aszimmetrikus szintéziséről, 2005. június 28. Vegyészkonferencia 2005 Hajdúszoboszló Konferencia jegyzék: 73. oldal
3. Gábor Kerti, Tibor Kurtán, Zita Illyés-Tünde, Renáta Ferenczi, Sándor Sólyom, Naoko Fujioka, Nina Berova, Koji Nakanishi, Sándor Antus; Enantioselective synthesis and circular dichroism of 3-methylisochromans, 2005. júl. 3-7. European School of Medical Chemistry, Urbino, Italy
4. Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Antus Sándor; 1,4-Benzodioxán vázas Lignánok Enantioszelektív Szintézise, Vegyészkonferencia, 2008, Hajdúszoboszló
5. Kerti Gábor, Ferenczi Renáta, Kurtán Tibor, Mándi Attila, Bényei Attila, Antus Sándor; 3-Metil-1-arilizokrománok szintézise és kiroptikai vizsgálata, MKE 1. Nemzeti Konferencia, 2011. május 22-25. - Sopron
6. Renáta Ferenczi, Tibor Kurtán, Sándor Antus: An improved asymmetric synthesis of 1,4-benzodioxane-type lignanes of antioxidant activity, 4th German-Hungarian Workshop Debrecen 14.-16. June 2011.