

# KUTATÁSI TÉMA SZAKMAI ZÁRÓJELENTÉSE

OTKA azonosító: T046127

Témavezető neve: Dr. Tóth Gábor

A téma címe: Természetes vegyületek és szintetikus származékaik NMR szerkezetfelfedezése

A kutatás időtartama: 2004. 01. 01. – 2007. 12. 31.

A kutatási periódusban munkánk eredményeként 49 dokumentum (1. zárójelentés, közlemények) készült, ebből 24 tudományos közlemény, 1 könyv és 24 konferenciakiadvány, illetve tudományos munkabizottsági beszámoló.

A pályázat munkatervében (1. szerződés 2. melléklet) kutatási céljainkat hat pontban foglaltuk össze: 1-3. pontok a nemzetközi kooperációban végzett kutatásokat, elsősorban az arab népi gyógyászatban használt növényekből izolált minták szerkezetmeghatározását tartalmazzák, míg a 4. pont Dr. Báthori Mária és Prof. Dr. Máthé Imre kutatócsoportja (Szegedi Egyetem, Farmakognóziai Intézet) kutatócsoportjával való együttműködésről, a magyarországi növényekből izolált ekdiszteroidok szerkezetfelfedezéséről szól. Az 5. pontban több alkaloidtípus, így elsősorban az indolizidin-, az izokinolin- és a piridoindol-vázis alkaloidszármazékok kutatását terveztük Prof. Dr. Scheiber Pál munkacsoportjával (Szt. István Egyetem, Szerves Kémia Intézete) való közös együttműködésben, a 6. pont Prof. Dr. Lévai Alberttel és munkatársaival (Debreceni Egyetem, Szerves Kémia Tanszék) való többéves sikeres együttműködés továbbvitelét tartalmazta: új, exociklusos  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -telítetlen ketonok vizsgálatát, sztereoszelektív oxidációs átalakításait, valamint különféle dinukleofilek segítségével pedig új, policiklusos gyűrűrendszerek felépítését, melyekhez a vegyületek szerkezetét és térszerkezetét a fentiekben említett különféle NMR módszerek alkalmazásával terveztük felfedezni.

## **Gyógyhatású növények vizsgálata nemzetközi kooperációban (1-3. pont):**

1. A *Citharexylum spinosum* L. (Verbenaceae) növény begyűjtésére Egyiptomban került sor. A cserjéből készült alkoholos kivonat gyógyászati felhasználása régóta ismert volt, fekélyellenes, vérnyomáscsökkentő és májvédő hatása miatt. Az izolálás és a kromatográfiás elválasztás után elvégeztük a minták részletes 1D és 2D NMR, valamint ESI-MS szerkezetvizsgálatát és elkészítettük a teljes NMR jelhozrendelést, amely alapján egy lignan-glikozid ((+)-lyonirenisol-3a- $\beta$ -D-glucopyranoside) mellett 5 iridoid-glikozidot azonosítottunk. Ezek közül az egyik (7- $\beta$ -

OAc-lamiide), eddig még nem ismert új szerkezetnek bizonyult. (23: Natural Product Research **20**, 201-205, 2006)

2. A *Bougainvillea glabra* (Nyctaginaceae) egy ismert dísznövény, melynek sajátossága, hogy gátolni tudja több, gazdasági szempontból is fontos növényi vírus hatékonyságát. Ezenkívül felhasználásra kerül a hagyományos népi gyógyászatban cukorbetegség kezelésében, de antibakteriális és májvédő hatása is ismert. A növényből izolált és elválasztott minták 1D és 2D NMR módszerekkel végzett szerkezetfelderítése során a három minta a momordin IIc (quinoside D) [ $\beta$ -D-glucopyranosyl 3-O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1->3)-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyluronic acid)] oleanolate], a quercetin 3-O- $\alpha$ -L-(rhamnopyranosyl)(1->6)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1->2)]- $\beta$ -D-galactopyranoside, valamint a quercetin 3-O- $\alpha$ -L-(4-caffeoylrhamno-pyranosyl)(1->6)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1->2)]- $\beta$ -D-galactopyranoside volt. Ez utóbbi egy új, eddig nem azonosított természetes vegyület. (31: Natural Product Research **20**, 63-67, 2006)
3. A "*Silphium albiflorum*" leveléből hat ismert és két új flavanol-glikozid (izorhamnetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnozil(1->6)-O- $\beta$ -D-galaktopiranozid 7-O- $\beta$ -D-apiofuranozid és quercetin 3-O- $\alpha$ -L-ramnozil(1->6)-O- $\beta$ -D-galaktopiranozid 7-O- $\beta$ -D-apiofuranozid) izolálására, szerkezetfelderítésére és teljes  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR jelhozzárendelésére került sor (34: Nat. Prod. Commun. **1**, 941-948, 2006).
4. Egyiptomi kollégákkal együttműködve a gyulladásgátló, allergiaellenes, antibakteriális, stb. hatással rendelkező „*Stachys yemenensis*” növényből számos komponens izolálása során sikerült egy új, eddig nem leírt származékot, a stachytriol-t kinyerni és szerkezetét, valamint  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  hozzárendelését meghatározni (44: Nat. Prod. Commun. **2**, 977-980 (2007)).

#### **Gyógyhatású növények vizsgálata hazai kooperációban (4. pont):**

1. Az Európában széles körben elterjedt „*Ballota nigra* L. (Lamiaceae)” szisztematikus vizsgálata során 5 anyag került izolálásra és szerkezetfelderítésre, nevezetesen a  $\beta$ -sitosterol, martynoside, forsythoside B, ladenein és a diterpén 7a-acetoxyroylanone. Az izolált vegyületek teljes  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  hozzárendelése elkészült (Biochem. Systematics and Ecology **35**, 894-897 (2007)).
2. Az ekdiszteroidok rovarfejlődési és metamorfózis hormon voltak, valamint a gerincesek esetében szinte minden fiziológiai folyamatra, továbbá koleszterin- és vércukorszintre, stb. kifejtett hatásuk miatt különösen értékes anyagok. Kutatásaink során a *Silene italica* ssp. *nemoralis* és *Serratula wolfii* növényekből izolált minták szerkezetfelderítését végeztük el. A szerkezetfelderítést nehezítette a minták igen kis mennyisége (gyakran 1 mg, vagy azalatti mennyiség), illetve bizonyos esetekben a kromatográfiás elválasztás tökéletlensége, amikor is a hasonló izomereket

nem lehetett teljesen szétválasztani. Munkánk során több, eddig ismeretlen ekdiszteroid szerkezetét határoztuk meg, melyek közül kiemelésre méltó a  $9\beta,20$ -dihidroxiiekdizon, mert egyrészt ez az első természetes szteroid, amelyik a kilences helyzetben nem alfa-térállású hidrogént vagy szubsztituenszt tartalmaz, másrészt a 9-epi-jelleg alapvetően megváltoztatja a szteroidváz térszerkezetét és ezáltal a biológiai aktivitását, a szteroid receptorhoz való kötődésének képességét (7: Steroids **69**, 389-394 (2004)). Új természetes vegyületnek bizonyult az általunk meghatározott  $11\alpha$ -hidroxipostszteron, amely az első 11-hidroxi C21-ekdiszteroid (5: J. Nat. Prod. **67**, 1070-1072 (2004)).

Kooperációs partnereink által újonnan kifejlesztett kromatográfiás módszer eredményeként számos ismert vegyület mellett két új természetes vegyület, a 25-hydroxydacryhainansterone és a 14-epi-20-hydroxyecdysone szerkezetét határoztuk meg (36: J. Chrom. Sci. **45**, 76-86 (2007)). A „*Serratula wolffii Andrae*” gyökeréből végzett izoláció során a részletes 1D és 2D NMR vizsgálatok felhasználásával először három, eddig nem ismert ekdiszteroidot, nevezetesen a  $2\beta,3\beta,20R,22R,25$ -pentahydroxy- $5\beta$ -cholest-6,8(14)-dien, 24-methylene-shidasterone és a stachyterone B  $14,15\text{-}\alpha$ -epoxidját. (43: Steroids **72**, 751-755 (2007)). Itt kívánjuk megjegyezni, hogy epoxidtartalmú ekdiszteroidok igen ritkák, csak néhány izolálásról számoltak be, főleg tengeri mikroorganizmusokból és gombákból. Munkánk folytatása során további két újabb ekdiszteroidot, a 20,22-didehydro-22-deoxyecdysone-t, valamint az 1-hydroxy-20,22-didehydro-22-deoxyecdysone-t sikerült a növény gyökeréből kimutatnunk, szerkezeteiket meghatároznunk és teljes NMR jelhozzárendelésüket elvégeznünk (41: J. Nat. Prod. **70**, 884-886 (2007)). Ez a két vegyület ez első példa arra, hogy az oldallánc 20(22) helyzetében kettőskötés fordul elő, ami a 20,22-diol származékoknál talált nagyfokú toxicitás megszűnését eredményezte.

Sikerrel oldottuk meg a gyökérből izolált minták szerkezetfelderítése kapcsán két, teljesen új típusú oldallánccal rendelkező ekdiszteroid szerkezetfelderítését, melyek 20,22 helyzetben 5-hidroximetil-furfural acetál szubsztituenszt tartalmaznak (47: Tetrahedron Letters **49**, 1738-1740 (2008)). Hasonló szerkezetek még egyáltalán nem kerültek publikálásra az ekdiszteroidoknál. Itt kívánjuk megemlíteni, hogy NOESY mérésekkel sikerült meghatároznunk az új C-28 kiralitáscentrum abszolút konfigurációját is.

Különös kihívást jelent mind az izolálás, mind a szerkezetfelderítés szempontjából az igen kis mennyiségben előforduló fitoekdiszteroidok vizsgálata. Az újonnan izolált 4 minor származék közül három új vegyületet, a  $11\alpha$ -hydroxyshidasterone, a  $2\beta,3\alpha,20R,22R,25$ -pentahydroxy- $5\beta,14\beta$ -cholest-7-en-6-one és 14-epimerje, a  $2\beta,3\alpha,20R,22R,25$ -pentahydroxy- $5\beta,14\alpha$ -cholest-7-

en-6-one szerkezetét sikerült meghatároznunk (Helv.Chim. Acta, accepted). Utóbbi két vegyület érdekessége, hogy egyrészt a 3-epi-ekdiszteroidok közé tartoznak, melyek bár a Serratula és Ajuga családokba tartozó növényekben is megjelennek, de főleg rovarokban szintetizálódnak. Másrészt a C-14 atomhoz a hidroxicsoport helyett hidrogén kapcsolódik.

#### **Alkaloid-származékok kutatása hazai kooperációban (5. pont):**

1. Meghatároztuk a cianometilén-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroizokinolin és alfa,béta-telítetlen aldehidek és ketonok reakciója során, cérium(III)-klorid katalizátor jelenlétében keletkező benzo[a]kinolizinek szerkezetét. Meglepő módon mikrohullámú sugárzás hatására a 6,7-dihidro-2H-benzo[a]kinolizinek helyett 6,7-dihidro-4H-benzo[a]kinolizinek keletkeztek, valamint R1 és R2 alkilsubstitúensek gyűrűbeli helyzete is felcserélődött. Ugyanakkor az alfa-alkilsubstitúált,  $\alpha,\beta$ -telítetlen aldehidekkel való reakció ugyanazon körülmények közt 5,6-dihidropirrolo[2,1-a]izokinolinokat eredményezett (8: Synlett 1023-1026 (2004)).
2. Az isoquinolinium és carbolinium ylid vegyületek 1,3-diploáris cikloaddíciója fumár- és malein-dinitrillel pirroloisoquinoline és indolizino[8,7-*b*]indole származékokat eredményezett, melyek bizonyos biológiailag aktív alkaloidok analogonjainak tekinthetők. A cikloaddíciók jó kitermeléssel és sztereoselektivitással mentek végbe. A 4 sztereogéncentrummal rendelkező termékek szerkezetét részletes egy- és kétdimenziós NMR módszerek kombinációjával határoztuk meg. A nitrogénhíd-fős gyűrűkapcsolat következményeként egy transz/cisz1/cisz2 típusú konformációs egyensúlyt is figyelembe kellett vennünk. Hőmérsékletfüggő mérésekkel tanulmányoztuk a szerkezetek dinamikáját és felderítettük a domináns konformerek térszerkezetét (37: J. Het. Chem. **44**, 1373-1381 (2007)).
3. Az ötgyűrűs iboxyphyline alkaloidot a „Tabernanthe iboga” és „Tabernanthe subsessilis” növények leveleiből izolálták először. Sikerral oldottuk meg a racém (+/-)-iboxyphyline biomimetikus totálszintézisét. A tetraciklikus köztitermékből katalitikus hidrogenolízis, epimerizáció és ciklizáció két ötgyűrűs izomert eredményezett, melyek LiAlH<sub>4</sub>-vel végzett redukciója vezetett a várt végtermék és annak 20-epimerjéhez. A hétagú gyűrű sztereogén centrumainak meghatározása részletes NMR vizsgálatokkal történt (49: Heterocycles **75**, 65-76 (2008)).

#### **Új heterociklusos vegyületek vizsgálata (6. pont):**

- 1) Ismert, hogy a kumarin- és a benzotiazepinszármazékok külön-külön jelentős biológiai hatással rendelkeznek, ezért megkíséreltük a két a szerkezeti elem egy vegyületbe történő összeépítését. A

3-aryl-1-(3-kumarinil)propen-1-on és a 2-amino-tiofenol reakciója meglepő módon nem a várt 2,4-diszubsztituált 1,5-benzotiazepint eredményezte. A főtermékként izolált termékről megállapítottuk, hogy molekulásúlya két tömegegységgel kevesebb a vártnál. A részletes, egy- és kétdimenziós NMR módszereken alapuló szerkezetvizsgálat eredményeként megállapítottuk, hogy szelektív módon olyan új típusú 1,5-benzotiazepin keletkezett, melynek "4" helyzetében a kumarinszármazék *exo* kettőskötéssel kapcsolódik. A reakció során egységesen a "Z" konfigurációjú izomer keletkezett. Ezt a szerkezetet erős belső hidrogénhid stabilizálja. A kapott szerkezetet infravörös és tömegspektroszkópai mérésekkel is alátámasztottuk. Emellett meghatároztuk a héttagú gyűrű konformációját is a kétdimenziós NOESY spektrum és a HyperChem 7.0 program segítségével (39: *J. Het. Chem.* **44**, 1453-1458 (2007); 27: *Heterocycles*, **68**, 1319-1324 (2006)).

Az előző pontban ismertetett elvek alapján kísérletet tettünk a kumarin és a benzodiazepin szerkezeti elemek összeépítésére is, de a 2-amino-tiofenol helyett 1,2-diamino-benzolt alkalmaztunk reagansként. A reakcióban a várt benzodiazepin származék helyett, egy új, attól teljesen eltérő és eddig ismeretlen vázrendszerű 10a-aryl-1,2,10,10a-tetrahidrobenzo-[4,5]-imidazo[1,2-a]piridin-3-il(2-hidroxifenil)-1-metanon származékok keletkeztek. Elvégeztük a termékek teljes <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C és <sup>15</sup>N jelhozrendelését és felderítettük a vegyületek térszerkezetét, amit szemempírikus számolásokkal is alátámasztottunk (33: *Magn. Reson. Chem.* **44**, 856-860 (2006)).

2. A természetes vázú benzofurán-3-on-ból nyert 2-(piridilmetilén)-3(2H)-benzofurán-3-onok katalitikus hidrogénezése a várt 2,alfa-dihidro termékek mellett meglepő módon jelentős mennyiségben egy pentaciklusos, spiro-szerkezetű dimert is eredményezett. A központi ciklopentán gyűrű mindegyik szénatomja királis centrumnak felel meg, ennek ellenére sztereoselektív módon minden esetben csupán egyetlen ilyen típusú termék keletkezett. A szerkezetfelderítéshez a különböző egy- és kétdimenziós NMR módszerek kombinált felhasználása vezetett el. Érdeemes megjegyezni, hogy a váratlan melléktermék a katalitikus hidrogénezés mechanizmusának átértelmezését teszi szükségessé (30: *Tetrahedron* **62**, 8425-8429 (2006)).
3. A tiglic sav és alkil analógjainak epoxid származékai több természetes anyagban is előfordulnak, s előnyösen felhasználhatóak biológiai ill. farmakológiai szempontból fontos anyagok, pl. a phytotoxin phomozin szintéziséhez. A tiglic-savak amiddá történő átalakításával nyert optikailag aktív oxazolidinek epoxidálása kapcsán kimutattuk, hogy mind DMD (dimetildioxirán), mind *m*-CPBA (*m*-klórperbenzoesav) használata esetén nagy diasztereoselektivitással történik az

epoxidálódás, de a két reakció út ellentétes konfigurációjú termékeket eredményez. Ha a fenti kiindulási oxazolidineket szingulett oxigénnel ( $^1\text{O}_2$ ) fotooxidáljuk, akkor  $\beta$ -helyzetben O-szubsztituált származékokat kaptunk, azonban a reakció szelektivitása erősen szubsztituensfüggőnek bizonyult. A PTAD-vel (4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-dion) végzett "en-reakció" kiemelkedő diasztereoselektivitással eredményezte az analóg  $\beta$ -N-szubsztituált termékeket, melyekből a királis oxazolidin segédcsoport eltávolítása után az igen fontos optikailag aktív  $\beta$ -aminosavszármazékokat lehet megkapni igen hatékony módon. (18: Eur. J. Org. Chem. 3074-3084 (2005)).

Az elmúlt időszakban több példán igazoltuk, hogy az általunk bevezetett  $\text{Rh}^{\text{III}}_2[(\text{R})-(+)\text{-MTPA}]_4$  (MTPA-H : metoxitri fluorfenilecetsav  $\equiv$  Moshersav) dirhodium komplex a hagyományos királis NMR shiftreagens komplementereként használható, s a királis felismerés eltérő mechanizmusa folytán olyan gyenge kölcsönhatások esetén is eredményesen használható, amikor a hagyományos reagens már nem működik. A gombaellenes szerként használt metalaxyl klórozott származékainak (N-klóracetil- és N-diklóracetil-N-(xilil)alanin észterek) vizsgálata során eredményesen használtuk „dirhodium módszerünket” az enantiomerösszetétel meghatározásához, s kimutattuk, hogy jelentős szelektívitas különbség van az amid- és az észterkarbonil közt. (12: Tetrahedron: Asymmetry **16**, 2285-2293 (2005)).

A „Természetes vegyületek és szintetikus származékaik NMR szerkezetfelderítése” témakörben szerzett tapasztalatainkat és eredményeinket is felhasználtuk a „*Szerves Vegyületek Szerkezetfelderítése*” című könyvünk (20: Műegyetemi Kiadó, 2005) elkészítéséhez, amit az előszóban (7. old) külön kiemeltünk.

Budapest, 2008.

.....  
Dr. Tóth Gábor  
témavezető