

6 β -Acilaminomorfinánok illetve nitrogénen szubsztituált amino-alkil norvegyületek szintézise

Doktori tézisek

Urai Ákos

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Hosztafi Sándor, C.Sc., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók:

Dr. Bölcskei Hedvig, C.Sc., címzetes egyetemi docens

Dr. Czompa Andrea, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Török Tamás, D.Sc., professor emeritus

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Krajsovszky Gábor, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Perjési Pál, C.Sc., egyetemi tanár

Budapest
2017

1. Bevezetés

Az ókori görögök már időszámításunk előtt tudták, hogy a mákból (*Papaver somniferum*) készült kivonatok, képesek fájdalomcsillapítására, illetve köhögés enyhítésére. Ezen kívül vallási szertartásokon is nagy szerepet töltött be, hiszen azok, akik fogyasztották érezték euforizáló, kábító, nyugtató hatását, illetve érzékeik torzultak.

Az éretlen mákgubóból bemetszéssel kinyerték a tejszerű nedvet, majd abból „kalácsot” gyúrtak, ezt vagy pipában elszívva, vagy szájban megrágva illetve oldat formában az injekciós tű megjelenésével intravénásan használták. Ezzel egy időben az ópiátok veszélyt is jelentettek használóikra. Az egyre nagyobb dózisban fogyasztott kábító-bódító szer függőséget okozott, és végül a légzésre gyakorolt hatás miatt a légzésszám oly mértékben lecsökkent, hogy használója nem jutott elég oxigénhez és megfulladt.

Az ópiátok kutatása Magyarországon mindig fontos szerepet kapott. 1927-ben Kabay János Tiszavasváriban alapította meg az ország első alkaloidkémia gyárát. Az általa kifejlesztett extrakciós eljárások alapozták meg az ópiátok hazai kutatását.

A mákból kinyert alkaloidok, szerkezet-hatás összefüggéséből kiindulva további félszintetikus és szintetikus származékokat vezettek be a gyógyászatba. Ezek szelektív terápiás céllal kerültek felhasználásra. Hatásuk eltérő a természetes agonista hatású vegyületektől, így az esetleges túladagolás kezelésére is alkalmazhatóak.

Az endogén opioid peptidek megismerésével könnyebben értelmezhetők a molekuláris szintű folyamatok, így elkezdődött a receptorspecifikus vegyületek előállításának. A korszerű autoradiográfiai illetve immunohisztokémiai vizsgálatok pontosan leírják az aktív kötőhelyeket, illetve ezek szerkezetbeli eloszlását.

Kutatócsoportunk az irodalomban eddig ismert eredményekre alapozva újabb morfinszármazékok előállítását és vizsgálatát tűzte ki célul. Olyan anyagok laboratóriumi szintézisét terveztük, melyek jobb analgetikus hatással és kedvezőbb mellékhatás profillal rendelkeznek, mint a morfin. A dokkolási, illetve számítástechnikai módszerek pontosan meghatározzák azokat a molekuláris részeket, ahol hidrogén híd kötés révén illeszkedni tud a vegyület a receptorhoz, így kedvező mellékhatásprofillal rendelkező anyagok kerülnek előállításra. Ez az irány egy jó kiindulópont lehet olyan anyagok előállítására, melyek nem okoznak légzésdepressziót, addikciót, illetve használatuk során az esetleges visszaélések száma csökken.

2. Célkitűzések

Kutatómunkám során olyan biológiailag aktív morfinanalógok előállítását tűztem ki célul, melyek az eddig ismert ópiátokhoz képest várhatóan jelentősebb fájdalomcsillapító hatást mutatnak, és kedvezőbb mellékhatás profillal rendelkeznek.

A β -FNA (β -funaltrexamin) példájából kiindulva új agonista hatású fahéjsavamido morfinanalógok előállítását, illetve *in vivo* és *in vitro* biológiai vizsgálatát tűztem ki célul.

A NAP (izonikotinsav-6 β -naltrexamid) biológiai eredményei alapján agonista hatású 6 β -piridinkarbonsavamido vegyületek előállítását terveztem. Amennyiben 6 β -naltrexaminből indultak ki, így a hatás várhatóan antagonistá lesz, esetemben viszont N-metil szubsztituenens agonista származékok előállítása volt a cél.

A 17-es helyzetben lévő szubsztituensnek kiemelkedő jelentősége van a receptoron való kötődés szempontjából, a nitrogén szubsztituens befolyásolhatja a vegyület agonista vagy antagonistá jellegét. Korábbi kutatási eredmények alapján a petidin illetve metazocin esetében az N-metil funkciós csoport cseréje β -anilino-etil vagy γ -N-propil-fenil csoportra az analgetikus hatás növekedésével járhat.

Doktori munkám során további 17-es helyzetben szubsztituált vegyületeket szintézisét tűztem ki célul, úgy hogy az irodalmi analógiák alapján brómacetamido-heterociklusos illetve brómetil-heterociklusos (morfolin, pirrolidin és piperidin) származékokat szándékoztam kapcsolni norszámazékokkal (normorfin, noroxikodon, noroximorfon, norkodein, dihidronorkodein és a noroximorfon és noroxikodon ketáljaival).

Az általam szintetizált vegyületek esetében további bázikus csoportok kialakítása volt a cél, melyek feltételezésem szerint hidrogénhíd-kötést alakítanak ki a MOR opioid receptoron, így nő az analgetikus hatást.

Az így kapott új vegyületeket különböző analitikai módszerekkel (tömegspektrometriával, $^1\text{H-NMR}$, illetve $^{13}\text{C-NMR}$ -el) terveztem vizsgálni, illetve a szerkezeteket igazolni.

A szintetikus úton előállított vegyületek várható biológiai hatását a New Yorki Memorial Sloan-Kettering Rákkutató Központtal együttműködve *in vitro* és *in vivo* farmakológiai mérésekkel kívántuk vizsgálni.

3. Módszerek

3.1 Reagensek és oldószerek

A munkám során felhasznált vegyszereket a Sigma-Aldrich Kft-től vásároltam, melyek analitikai tisztaságúak voltak, és további tisztítás nélkül használtam fel. A ^1H , illetve HSQC, HMBC, APT, ^{13}C NMR spektrumokat Varian VNMRs (600 MHz ^1H illetve 150,09 MHz APT, ^{13}C esetében) készüléken mértem. A mérések során a mintákat deuterált metanolban vagy kloroformban oldottam fel, a hőmérséklet minden esetben $25\pm 0,1^\circ\text{C}$ volt. A mérés során VNMRJ 2.2C-t és kiértékeléshez MestReNova programcsomagot használtam. Az anyagok olvadáspontjának meghatározására Stanford Research Systems OptiMelt Automated Melting Point műszerrel történt. A nagyfelbontású tömegspektrometriai (HRMS) méréseket Agilent 6230 készüléken mértem TOF analizátorral, pozitív módban, és a referencia tömeg m/z 212,050873 és 922,009798 volt melyet kalibrálásakor állítottam be. A minták (kb. 1mg/100 μl) Agilent Infinity 1260 LC folyadékkromatográfiás műszer segítségével kerültek az analizátorba. A spektrumok kiértékeléséhez Agilent MassHunter B.02.00 programcsomagot használtam.

Az anyagok kromatográfiás tisztításához, a nyerstermék tisztaságának megfelelően 20-tól 100 szoros mennyiségű szilikagélt használtam, kloroform: metanol: ammónia mozgófázist használtam gradiens elúcióval, a reakciók detektálásához Merck Silica Gel 60 F254 lemezt alkalmaztam. A folyamatok optimalizálása nem volt a munkám része, célom volt a biológiai vizsgálatokhoz szükséges mennyiségű anyagok izolálása.

A biológiai mérések a Memorial Sloan-Kettering Rákkutató Intézet munkatársai és Dr. Váradi András végezték. A mérések pontos leírását a hivatkozott publikációk tartalmazzák.

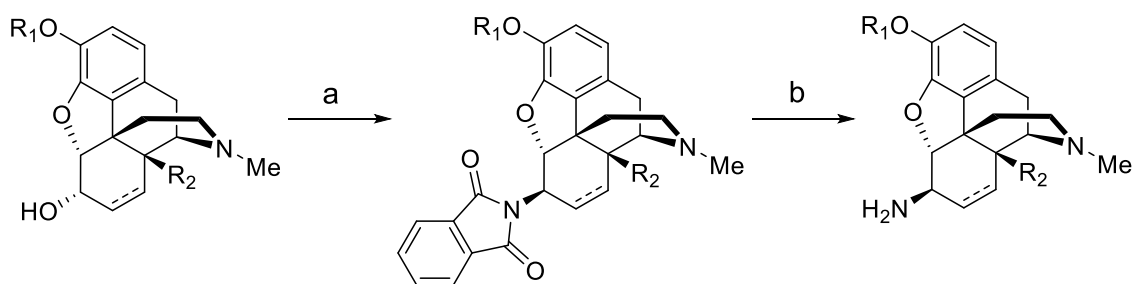
4. Eredmények

4.1. 6 β -amino-4,5-epoximorfinánok szintézise

Első lépésben morfinból, 14-hidroxi-dihidromorfinból, kodeinből, dihidrokodeinből kiindulva 6 β -aminoszármazékok sztereospecifikus szintézisét valósítottam meg. Ezt Mitsunobu reakcióval értem el, illetve 6 β -azido-dihidromorfinból kiindulva redukciós eljárással, jó hozammal kaptam az amint. Mindkét eljárás során béta térállású termékeket kaptam, melyeket hidroklorid sóként könnyen tudtam tisztítani, azonosítani.

A morfin, illetve 14-hidroxi-dihidromorfin Mitsunobu reakciójában első lépésben a C-3-as helyzetű fenolos hidroxilcsoportot védeni kellett acetil védőcsoporttal. A reakcióval szelektíven a fenolos hidroxilcsoportot acileztem a szekunder hidroxilcsoport jelenlétében.

A megfelelő kodein, dihidrokodein, és a 3-*O*-acetyl-morfint illetve 3-*O*-acetyl-14-hidroxi-dihidromorfint először ftálimiddel, dietil-azodikarboxiláttal és trifenilfoszfinnal reagáltattam, benzol vagy toluol oldószerben. A reakcióelegyet egy óra szobahőmérsékleten történő keverés után feldolgoztam. Első lépésben a melléktermékként keletkező trifenilfoszfin-oxidot borkősav hozzáadásával, savas körülmények között éterrel extraháltam. A vizes fázist ammóniával (pH=9) lúgosítottam, és a 6β-ftalilszármazékokat kloroformmal extraháltam. A terméket 1% sósavas etanolban feloldva a hidroklorid só kristályosodott. A következő lépésben a ftálimido-védőcsoportot távolítottam el. Etanolban forralva, hidrazin-monohidrát hozzáadásával két óra után VRK-n teljes konverziót tapasztaltam. A 6β-amino származékokat bázikus körülmények között (pH=9), kloroformmal történő extrakcióval kaptam. Az aminokat 1% sósavas etanolban sósavas sóvá alakítottam és így használtam fel további acilezési reakciókban.

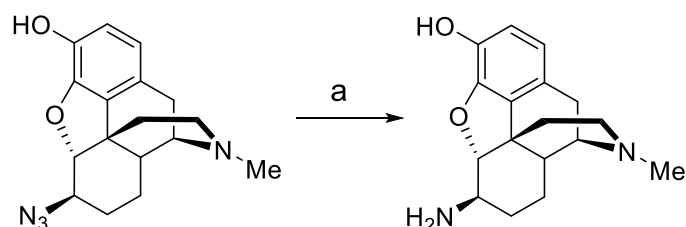


R ₁ =-CO-CH ₃	R ₂ = -H	C7=C8
R ₁ =-CH ₃	R ₂ = -H	C7=C8
R ₁ =-CH ₃	R ₂ = -H	C7-C8
R ₁ =-CO-CH ₃	R ₂ = -OH	C7-C8

1. ábra. 6β-amino-4,5-epoximorfínának előállítás: a) ftálimid, DIAD, benzol, 1 óra b) hidrazin-monohidrát, etanol, reflux, 4 óra

4.2. 6β-amino-4,5-dihidromorfin szintézise

A 6β-azido-dihidromorfinból redukcióval könnyen aminovegyület állítható elő. Korábban irodalmi adatok alapján ezt LAH-os redukcióval valósították meg. Mivel az azidovegyület már előzetesen a rendelkezésemre állt, így annak redukcióját Raney-Nikkel katalizátorral, hidrazin hozzáadásával valósítottam meg. A 6β-azido-dihidromorfin redukciójakor melléktermék képződést nem tapasztaltam. A hidrazin a redukció során, mint hidrogén donor vett részt. A redukciós lépést etanol oldószerben végeztem, teljes konverziót két óra szobahőmérsékleten történő kevertetés után kaptam. A katalizátort ezután kiszűrtem, majd a bepárlás után lúgos (pH=9) közegből való extrakcióval kaptam az amin terméket.

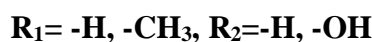
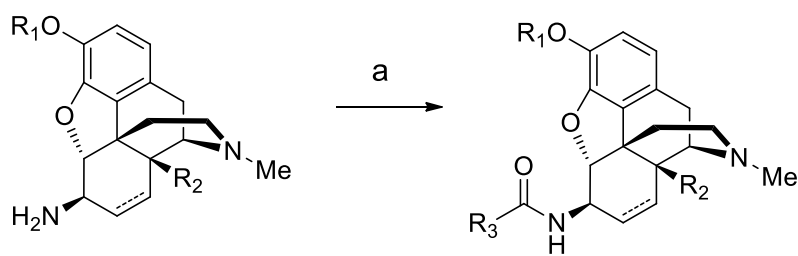


2. ábra. 6 β -amino-dihidromorfin előállítása: a) Raney-Nikkel, hidrazin- monohidrát, etanol 2 óra, szobahőmérséklet

4.3. 6 β -acilamino-4,5-epoximorfinánok szintézise

Az acilezések során 6 β -amino-dihidromorfinból, 6 β -amino-morfinból, 6 β -amino-kodeinből, 6 β -amino-dihidrokodeinből, 6 β -amino-14-hidroxi-dihidromorfinból, állítottam elő savamidokat. Acilező szer pedig fahéjsavkloridot, és annak szubsztituált (klór, trifluormetil, metoxi, nitro) származékaival illetve nikotinsav- és izonikotinsav kloriddal alakítottam ki a megfelelő 6 β -amidovegyületeket. Az acilezésekhez diklórmétán oldószert használtam, és a reakció során keletkező savat trietil-amin hozzáadásával kötöttem meg. Teljes konverziót négy óra után tapasztaltam. Feldolgozás során, az oldatot bepároltam, és lúgos körülmények között (pH=9) kloroformmal extraháltam az amindokat.

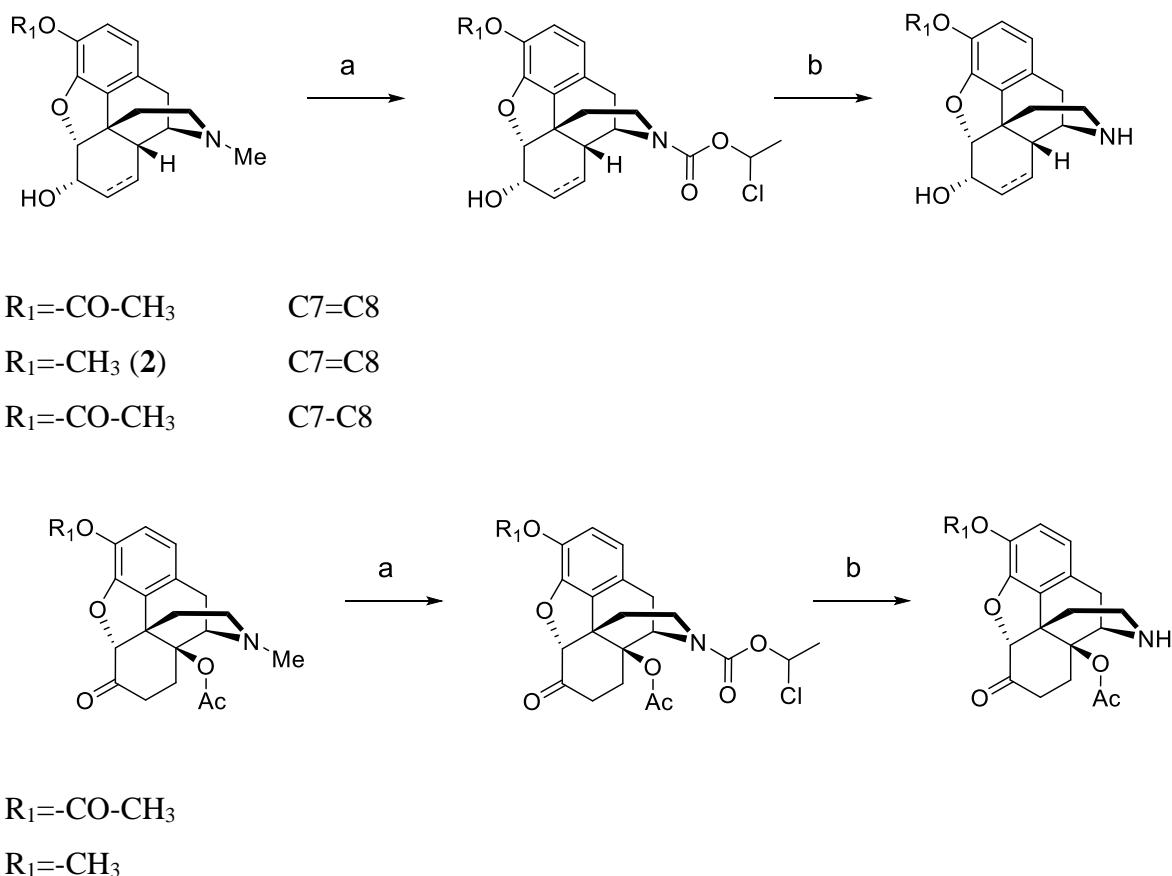
Abban az esetben, ha a reagáltatni kívánt amin C-3-as helyzetben fenolos hidroxilcsoportot tartalmazott, az acilezési lépés során észter melléktermék képződését is tapasztaltam. Ezt az észter mellékterméket a feldolgozás során nátrium-karbonáttal metanolban 16 óra szobahőmérsékleten történő kevertetés mellett hidrolizáltam.



3. ábra: 6 β -acilamido-4,5-epoximorfinánok előállítása: a) savklorid, trietil-amin, diklórmétán, RT, 4 óra

Norszármazékokat kodeinből, dihidrokodeinből, illetve C-3-as helyzetben *O*-acetyl védőcsoportot tartalmazó morfinból, 3,14-di-*O*-acetyl-oximorfonból és 14-*O*-acetyl-oxikodonból kiindulva állítottam elő, úgy hogy először klórhangyasav- α -klóretil-észterrel reagáltattam 1,2-diklóretán oldószemben NaHCO₃ savmegkötőt alkalmazva. 8 óra reflux hőmérsékleten történő keverés után VRK-n követve teljes konverziót tapasztaltam. A

reakcióelegyből a szervesen sókat kiszűrtem, majd a szűrletet bepároltam. Az így kapott karbamát intermediert sósav jelenlétében metanolban négy órát forralva hidrolizáltam. Ekkor a norszármazékok sóit kaptam, amiből lúgos közegben a bázist extraháltam. A szintézist sematikus a 4. ábra foglalja össze.



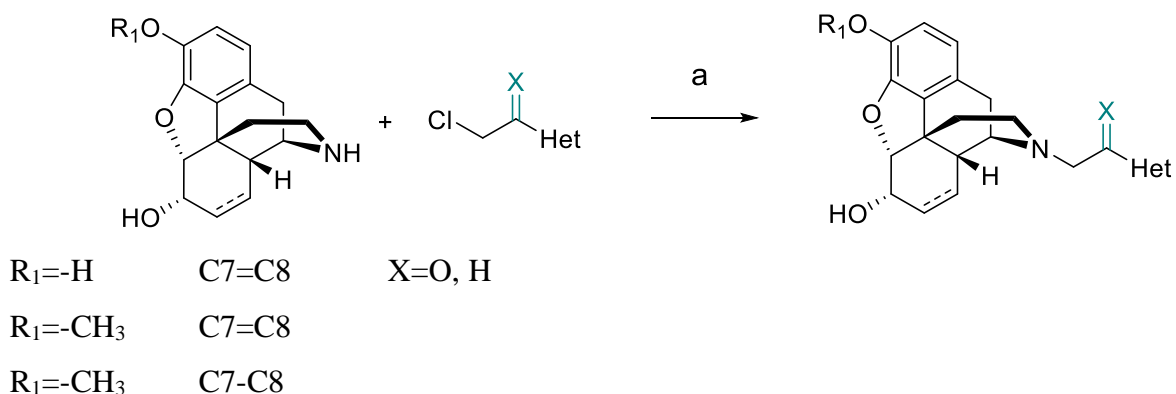
4. ábra. Norvegyületek előállítása: a) klórhangyasav- α -klóretil-észter, $NaHCO_3$, 1,2-diklórétán, $84^\circ C$, 8 óra, b) kat. HCl , metanol, $64^\circ C$, 4 óra

Az 14-*O*-acetyl-oxikodonból illetve a 3,14-di-*O*-acetyl-oximorfon *N*-demetilizését a fentiek alapján végeztem el, viszont a reakcióban a 14-*O*-acetyl-noroximorfon sósavas só, illetve a 14-*O*-acetyl-noroxikodon sósavas sója képződik. Ezekből a bázist nem célszerű előállítani az *O-N* acil vándorlás miatt, ezért az acetyl csoportokat 10 % sósavval történő hidrolízissel távolítom el. A reakcióban a norvegyületek sósavas sói kristályosan kiválnak az oldatból.

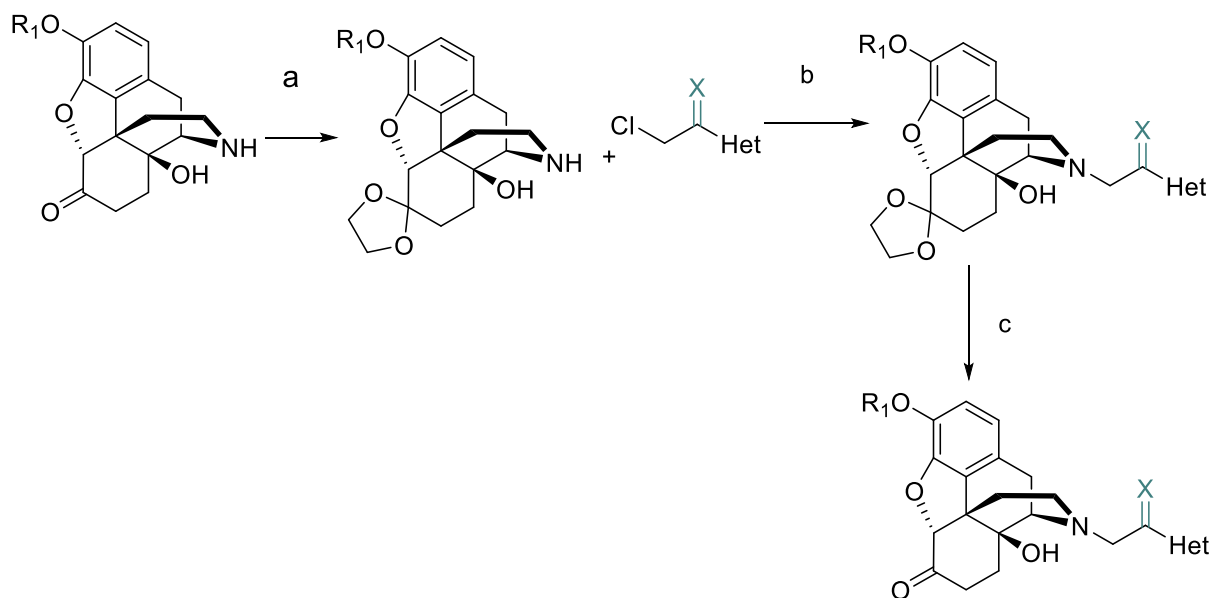
4.4. *N*-etil-, illetve *N*-acetyl-heterociklusos-4,5-epoximorfinánok szintézise

A nitrogénen szubsztituált származékok képzésekor dimetil-formamid oldószert használtam, mivel a norszármazékok egy része rosszul oldódik szerves oldószerekben. A

megfelelő norszámazékhoz hozzáadtam az β -klór-etil-, illetve klóracetil-4-morfolint, klóracetil-piperidint és a klóracetil-pirrolidin, illetve a Na_2CO_3 bázist és 80°C -on kevertetem 10 órán át. A reakciót az 5. ábrán és 6. ábrán foglaltam össze.



5. ábra. N-alkilezési reakció: a) Na_2CO_3 , DMF, 70°C , 10 óra



$\text{R}_1 = -\text{CH}_3$ $\text{X} = \text{O}, \text{H}$

$\text{R}_1 = -\text{H}$

6. ábra. N-alkilezési reakciók: a) *p*-toluolszulfonsav, etilén-glikol, benzol, reflux 3 óra, b) Na_2CO_3 , DMF, 70°C , 10 óra, c) 10% HCl 16 óra, metanol

A noroxikodon és a noroximorfon származékok előállításakor, védőcsoport használatára volt szükség. Doktori munkám során az etilén-ketál védőcsoport alkalmazása azért volt indokolt, mert a norvegyületekből képzett ketálok oldhatósága jobb, ezért a kapcsolási reakciók termelési értékei javultak, illetve könnyebben kristályosíthatóak, így tisztításuk is hatékonyabb.

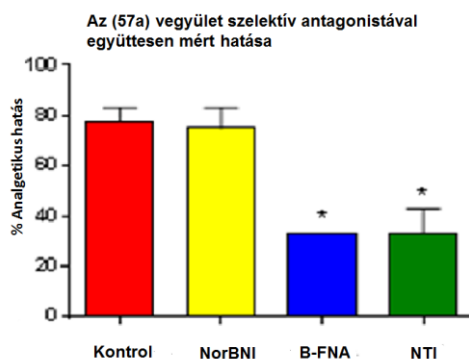
5. Eredmények

5.1. Fahéjsavszármazékok *in vitro* és *in vivo* vizsgálata

A fahéjsavamidok jól kötődtek a KOR-1 illetve DOR-1 receptorokon, és már nanomoláris mennyiségben is kötődést mutattak a MOR-1 receptoron. A K_i inhibíciós állandó minél alacsonyabb az adott vegyület annál nagyobb affinitással rendelkezik a receptoron. A három receptor közül egyértelműen a DOR-1 receptoron nem voltak aktívak. A KOR receptoron való affinitás sem szignifikáns. A 6 β -amino-morfin-fahéjsavamid (**57a**) esetében kiemelkedő a DOR-1/MOR-1 arány, ez 102,6, ezért ezt a vegyületet további biológiai módszerekkel vizsgálták.

A receptorkötődési vizsgálatok után a kiválasztott (**57a**) vegyület analgetikus hatását szubkután *in vivo* vizsgálták. (**57a**) esetében az ED_{50} érték $3,13 \pm 1,09$ mg/kg, *s.c* ami a morfinhoz ($ED_{50} = 4,60 \pm 1,81$ mg/kg, *s.c.*) képest kiemelkedő értéket mutat. Ez alapján egyértelműen elmondható, hogy abban az esetben, ha az előállított molekula szubsztituenseket, mint nitro-, klór-, trifluormetil- vagy metoxicsoport tartalmaz a receptorkötődés így az azzal járó analgetikus hatás csökken. Az ED_{50} érték a többi származékok esetében 10 mg/kg értékben se volt hatásos, így a további vizsgálatokhoz a (**57a**) vegyületet választottuk ki.

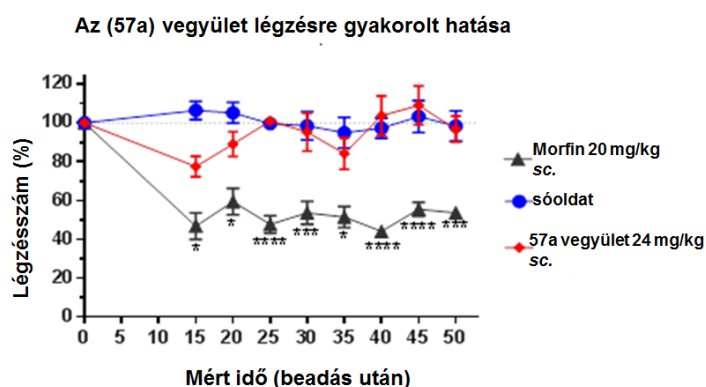
Az 7. ábrán összefoglaltam az általam előállított (**57a**) vegyület analgetikus hatásvizsgálatát úgy, hogy specifikusan receptor antagonistákkal szemben mérték az aktivitást. Antagonisták közül a MOR-1 szelektív β -FNA-t, illetve a DOR-1 szelektív NTI-t (naltrindolt) használták referenciának, ezekkel szemben mérve a vizsgált vegyületet (**57a**) nagyfokú szelektivitást értünk el, míg a KOR-1 szelektív norBNI-nel (norbinaltorfiminnel) szemben inaktívak voltak.



7. ábra. A kiválasztott **57a** vegyület szelektív antagonistákkal szemben mért analgetikus vizsgálata

Az agonista/antagonista jelleg meghatározására [³⁵S] GTP kötődési vizsgálatokat alkalmazták. A mérések során a referencia agonista vegyületekkel szemben mért hatást vizsgálták, így a MOR-1 agonista DAMGO-val a DOR-1 agonista DPDPE-vel és a KOR-1 agonista U50488H-al végezték el a méréseket. Ennek eredményeként elmondható, hogy a (57a) vegyület MOR-1 és DOR-1 receptorokra szelektív agonistaként hat, míg a KOR-1 receptoron nem fejt ki agonista hatást. Az (57a) vegyület agonista hatásai a MOR-1 és DOR-1 receptoron antagonistákkal felfüggeszthetők, míg ez a hatás a KOR-1 receptorra nézve nem mondható el.

Az opiátok alkalmazása során egyik leggyakoribb mellékhatás a légzésdepresszió. Ilyenkor csökken a légzőközpont érzékenysége, és csökken a légzésszám, és a légzésvolumen is. A biológiai vizsgálatok során ezért vizsgálták a légzésre gyakorolt hatást. Ennek eredményeit az 8. ábra foglalja össze. A morfin esetében 20 mg/kg dózist a (57a) vegyületnél 24 mg/kg dózist alkalmazva azt az eredményt kaptuk, hogy a vizsgált vegyület (57a) nem csak analgetikus szempontból kiemelkedő, de a légzésre gyakorolt hatása is szignifikáns, kevésbé okoz légzésdepressziót. Így kutatómunkám során a vegyület (57a) kiemelkedő hatásának köszönhetően a légzésre gyakorolt káros mellékhatás is kiküszöbölhető.

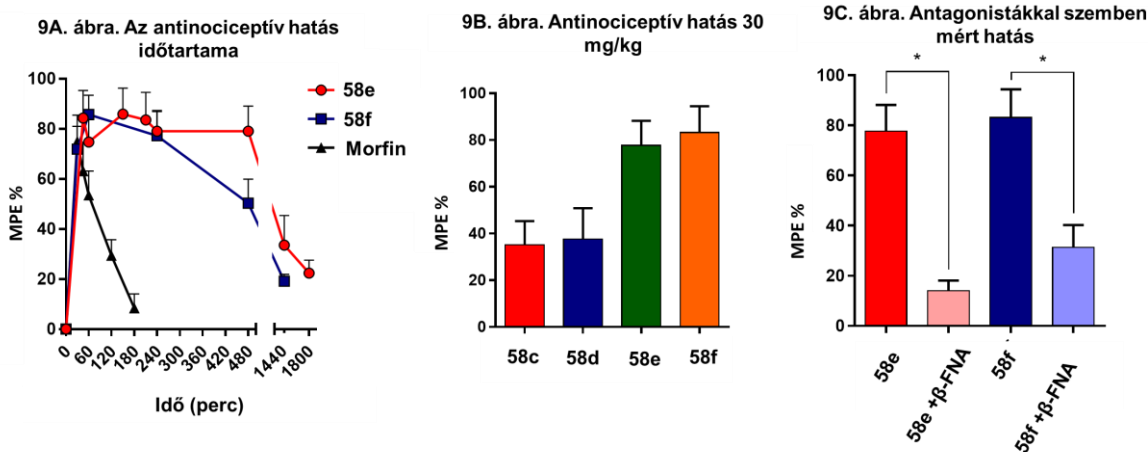


8. ábra. A 57a vegyület légzésre gyakorolt hatásának vizsgálata

5.2. Piridinkarbonsavamidok *in vitro* és *in vivo* vizsgálata

A piridinkarbonsavamidok egyértelműen nanomolos nagyságrendben kötődnek a MOR-1 receptorokon, illetve alacsony affinitást mutatnak a DOR-1, illetve KOR-1 receptorokon. Legjobb MOR-1/KOR-1 szelektivitást a 6β-amino-morfin-izonikotinsavamidra (58c) kaptuk, ahol ez az érték 39,0. A legjobb MOR-1/DOR-1 szelektivitást viszont a 6β-amino-dihidromorfin-izonikotinsavamidra (58e) kaptuk, ahol 53,2 értéket mértek.

A kiemelkedő receptoraффinitású és szelektivitású vegyületek agonista/antagonista jellegét további [³⁵S]GTPγS-kötődési vizsgálatokkal bizonyítjuk. A mérési eredmények alapján egyértelműen kijelenthetjük, hogy az összes származék MOR-1 receptoron agonista hatást fejt ki a DAMGO referenciával szemben mérve. A legjelentősebb aktivitást a 6β-amino-morfin-izonikotinsavamidnál (**58c**) és 6β-amino-morfin-nikotinsavamidnál (**58d**) értünk el. A KOR-1 receptoron vizsgálták a (**58d**) számú vegyület aktivitását, de ez nem volt kiemelkedő a referenciához viszonyítva. A mérések során a vegyületek szubkután történő beadása nem váltott ki biológiai választ, így a vegyületeket intracerebroventrikuláris módon juttatták be a vizsgált egerekbe. Az így kapott ED₅₀ értékek a morfin erősségével összemérhetőek voltak. A NAP ismert farmakokinetikai tulajdonságai alapján, perifériás MOR antagonistá hatású vegyület. Ebből nem meglepő, hogy az analgetikus tulajdonság megállapításakor a vizsgált vegyületek szubkután adagolásakor nem jutnak át a vég-agy gáton.



9A, B, C ábra. A piridinkarbonsavamidok antinociceptív, illetve antagonistá vegyületekkel szemben mért vizsgálata

Szubkután adagolás során a vegyületeket maximálisan 30 mg/kg-os mennyiségben juttattuk be az antinociceptív hatás vizsgálatokor. Ez az értéket a rossz oldhatósági tényezők miatt állapítottuk meg. A (**58c**) illetve a (**58d**) vegyületek esetében 30%-os maximális pozitív hatást mértek, míg a 6β-amino-dihidromorfin-izonikotinsavamidra (**58e**) és 6β-amino-dihidromorfin-nikotinsavamidra (**58f**) ez az érték megközelítette a 80%-ot. Az (**58c**) és (**58f**) 2,0 illetve 1,8μg, míg a (**58d**) és (**58e**)-re ettől jobb 0,51 és 0,7μg értékeket mértek.

A „tail-flick” eredmények alapján az analgetikus hatás időtartamát is megvizsgálták. Az eredmények tekintetében a (**58e**) illetve (**58f**) vegyületek sokkal tovább akár 24 órán túl is képes a hatást kiváltani, míg a morfinnál ez az érték általában 3 óra. A mérés eredményeit az 9A. ábra mutatja be.

Az 9B. ábrán a „tail flick” eredményeket ábrázoltam. Az **(58e)** illetve **(58f)** vegyületek minden esetben jó analgetikus hatást mutattak.

A 9C. ábrán a **(58e)** illetve **(58f)** antinociceptív hatását hasonlítottuk össze β -FNA MOR receptor antagonistával együttesen mérve. Az eredmények tekintetében megállapítható hogy a **(58e)** illetve **(58f)** vegyületek a MOR receptoron egyértelműen antinociceptív hatást fejtenek ki.

6. Következtetések

- Az ópium alkaloidjai, illetve ezek félszintetikus származékai ma is a leggyakrabban használt fájdalomcsillapító hatású vegyületek. Szerkezet-hatás összefüggések alapján specifikusan kötődő vegyületeket állítottam elő, melyek közül többnek az analgetikus hatása kedvező, és jobb mellékhatás profillal rendelkeznek az eddig ismert vegyületektől. Ezek további tanulmányozásával potenciális gyógyszerjelöltek lehetnek a fájdalom enyhítésére.
- A munka során korábban alkalmazott sztereospecifikus Mitsunobu reakcióval állítottam elő 6β -amino-4,5-epoximorfinánokat.
- A 6β -amino-dihidromorfin esetében 6β -azido-dihidromorfinból indultam ki, melyet az irodalomban leírt lítium-alumínium-hidrides redukció helyett Raney-Nikkelt és hidrazint használtam a redukcióhoz, mely sokkal előnyösebb az eddigi eljárásokhoz képest.
- A kapott 6β -amino-morfinánokból egyrészt szubsztituált (nitro-, klór-, metoxi-, trifluormetilcsoportot) és szubsztituálatlan fahéjsav-amidokat illetve nikotin- és izonikotinsavamidokat szintetizáltam.
- A savamidokat analitikai módszerekkel vizsgáltam (VRK, HRMS), szerkezetüket igazoltam (^1H , ^{13}C NMR).
- A New Yorki Memorial Sloan-Kettering kutatóintézettel együttműködve a vegyületek biológiai tulajdonságait *in vitro* és *in vivo* tesztekkel igazoltuk. Ezek elsősorban receptorkötődési vizsgálatok voltak, majd a legjobban kötődő vegyületek analgetikus, légzésre gyakorolt hatását illetve agonista/antagonista jellegét is tanulmányoztuk.
- Megállapítottam, hogy az előállított fahéjsavamidok közül jelentős szelektivitása a 6β -amino-morfin-fahéjsavamidnak van. Ez a molekula (**57a**), a MOR-1 receptoron 0,1 nM-os mértékben hat a DOR-1/MOR-1 arány, és az ebből következtethető szelektivitás igen magas 102,6. A vizsgálatok során egyértelműen igazoltuk, hogy az analgetikus hatás az (**57a**) vegyület esetében jóval hatásosabb, a morfin hatásához képest, értéke $\text{ED}_{50}=3,13\pm 1,09$ mg/kg. A savamidoknál irreverzibilis receptorkötődést nem tapasztaltunk.
- Az opiátok használatakor jelentkező mellékhatások kiküszöbölése is fontos feladat volt. Az (**57a**) molekulának így a légzésre gyakorolt hatását is vizsgáltuk, mely során arra a következtetésre jutottunk, hogy a fájdalom

csökkentésére kiváló vegyületet állítottam elő, és a légzésre gyakorolt mellékhatásprofil is szignifikánsan jobb a morfinhoz képest.

- Doktori munkám másik részében nikotinsav- illetve izonikotinsavamidokat állítottam elő. Ezeket a már előzőekben említett 6 β -aminok acilezésével valósítottam meg. Az így kapott vegyületeket a fahéjsavamidokhoz hasonló *in vitro* és *in vivo* vizsgálatoknak vetettük alá.
- A kötődési eredmények tekintetében a vegyületek szelektív MOR-1 receptor kötődést mutattak. Az *in vitro* analgetikus vizsgálatok során kiválasztottuk az 6 β -amino-dihidromorfin izonikotinsav (**58e**) és nikotinsavval (**58f**) kapott amidjait. A fark elrántási teszt alapján mindkét származék (**58e**) és (**58f**) jó analgetikus hatást mutat. Értéke (**58e**) esetében 0,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ illetve (**58f**) esetében 1,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- Az eredmények alapján elmondhatom, hogy a kiválasztott (**58e**) illetve (**58f**) vegyületek a morfinhoz képest, mely 3 órán keresztül fejt ki analgetikus hatását, az (**58e**) illetve (**58f**) vegyületek akár 24 órán keresztül is hatásosak lehetnek. Megvizsgáltuk a szelektív MOR antagonistá β -funaltrexaminnal együttes hatásukat, melyből megállapítható, hogy a (**58e**) illetve (**58f**) vegyület a MOR receptoron teljes agonista hatást fejtenek ki.
- Doktori munkám során a 17-es helyzetben lévő metil csoport helyettesítésével képeztem származékokat. Először norvegyületeket állítottam elő a 17-es helyzetben lévő nitrogén demetilezésével. Így normorfint, dihidronorkodeint, norkodeint, továbbá noroxikodont és noroximorfont illetve ezek ketáljait állítottam elő.
- A kapott norszámazékokat különböző β -klór-etil-heterociklusos (β -klór-etil-morfolin, -pirrolidin, és -piperidin) illetve klór-acetil-heterociklus (klór-acetil-4-morfolin,1-pirrolidin, 1-piperidin) oldalláncokkal kapcsoltam. A kapott vegyületek esetében így további bázikus funkciós csoportok kerültek kialakításra. Ez feltételezésem során az analgetikus hatás további növekedésével járhat. Az így nyert 30 vegyületet későbbiekben *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokkal kívánjuk tanulmányozni.

7. Saját publikációk jegyzéke

Folyóiratcikkek az értekezés témájában

1. Urai A, Varadi A, Szocs L, Komjati B, Le Rouzic V, Hunkele A, Pasternak GW, Majumdar S, Hosztafi S. (2017) Synthesis and pharmacological evaluation of novel selective MOR agonist 6 β -pyridinyl amidomorphines exhibiting long-lasting antinociception. *MedChemComm.* 8: 152-157. **IF** 2,319
2. Varadi A, Hosztafi S, Le Rouzic V, Toth G, Urai A, Noszal B, Pasternak GW, Grinnell SG, Majumdar S. (2013) Novel 6 β -acylaminomorphinans with analgesic activity. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 69: 786-789. **IF** 3,982

Az értekezés témájához nem tartozó folyóiratcikk

1. Komjati B, Urai A, Hosztafi S, Kokosi J, Kovats B, Nagy J, Horvath P. (2016) Systematic study on the TD-DFT calculated electronic circular dichroism spectra of chiral aromatic nitro compounds: A comparison of B3LYP and CAM-B3LYP. *Spectrochimica Acta A Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 155: 95-102. **IF** 2,653