

**BIOLÓGIAILAG AKTÍV HETEROCIKLUSOS VEGYÜLETEK
SZINTÉZISE ÉS TRÍCIUMJELÖLÉSE**

PhD tézisek

Ötvös Ferenc

**MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA SZEGEDI BIOLÓGIAI
KÖZPONTJA**

"B" SZINTŰ IZOTÓP LABORATÓRIUMA, SZEGED

és

**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES, SCHOOL OF MEDICINE
CREIGHTON UNIVERSITY, OMAHA**

1997



TARTALOMJEGYZÉK

1.	Bevezetés	1.
2.	Anyagok és módszerek	6.
3.	Kísérleti eredmények	7.
3.1	Izomorfin származékok trícíálása	7.
3.2.	Trícíált ciprodim előállítása	10.
3.3.	17[³ H-metil]normorfin előállítása	11.
3.4.	[5'- ³ H]Naltrindol előállítása	13.
3.5.	[1,5'- ³ H ₂]Naltrindol előállítása	14.
3.6.	[1,1'- ³ H ₂]norBNI előállítása	15.
3.7.	[15,16- ³ H ₂]Buprenorfin előállítása	17.
3.8.	Az ipriflavon tríciumjelölése	19.
3.9.	<i>Delta</i> opioid receptor szelektív peptidek tríciumjelölése	22.
4.	Összefoglalás	24.
	Képletek és ábrák jegyzéke	26.
	Irodalomjegyzék	36.

1. BEVEZETÉS

A biológiailag aktív vegyületek receptorokon fejtik ki hatásukat. Ezen receptorok vizsgálata a ható vegyületek valamilyen módon való jelzését követeli meg, ami általában radioaktív, fluoreszcens, kemilumineszcens, fotoaffinitás-jelölő vagy egyéb kémiai aktív csoport vagy atom beépítését jelenti. A radioaktív jelölés mindmáig a legszélesebb körben elterjedt módszer, és a legkülönbözőbb izotópok alkalmazását öleli fel. Receptorok eloszlásának és vegyületek mozgásának *in vivo* vizsgálatában az orvosi gyakorlat nagy energiájú, de rövid felezési idejű izotópokat igényel (^{99m}Tc , ^{123}I , ^{131}I) a sugárterhelés csökkentésére; hormonvizsgálatokban, receptorok *in vitro* tanulmányozásában ^3H , ^{125}I , ^{14}C és ^{35}S jelzés a legelterjedtebb. A tríciumjelölés általános előnye, hogy nem változtatja meg a molekula kémiai tulajdonságait, így a biológiai aktivitását sem. A trícium felezési ideje 12,5 év, így 28,6 Ci/mmol (1,08 TBq/mmol) moláris aktivitás érhető el egy trícium atom beépítésével, ami 10^{-9} M alatti koncentrációkkal való munkát tesz lehetővé. Az érzékenység tovább növelhető nagyobb moláris aktivitású ligandumok alkalmazásával, amelyek előállítására a tríciumot kémiai reakcióval építik be a molekulába. A heterogén katalitikus kicserélődési reakciók [1,2,3] helyett inkább a jelzés helyét tekintve specifikusabb és nagyobb moláris aktivitást eredményező reakciókat alkalmaznak, mint például telítetlen kötés katalitikus telítése elemi tríciummal vagy komplex fém-tricidekkel, halogén és egyéb heteroatomok cseréje, stb.

Az ópiátreceptorok vizsgálatában a tríciummal jelzett morfinalkaloidok fontos szerepet játszanak. A morfin (1a) jelölését a 7-es helyzetben levő kettőskötés megőrzésével egyrészt normorfinból redukív aminálással [5], másrészt 3-acetil-morfinon 6-os karbonil csoportjának [^3H]nátrium-[tetrahidrido-borát]-tal történő redukciójával állították elő [6] 2,47 GBq/mmol (0,067 Ci/mmol), illetve 9,25 GBq/mmol (0,25 Ci/mmol) moláris aktivitással. Az utóbbi redukálószerrel C-6-tríciált kodeint (1c) állítottak elő [8]

2,37 GBq/mmol (0,064 mCi/mmol) moláris aktivitással. Choudry és munkatársai [7] [1-³H]tebain (3a) szintézisét írták le, 1-jód-tebain katalitikus trícidehalogénezésével Pd/C katalizátoron 592 GBq/mmol (16 Ci/mmol) moláris aktivitású terméket kaptak.

Az oximorfazont (4b, X=N-NH₂) 14-hidroxi-morfinon triciálásával kapott [³H]oximorfonnak hidrazin-felesleggel történő reagáltatásával állították elő [9], a termék moláris aktivitása 640 GBq/mmol (17,3 Ci/mmol) volt. Az etorfint (5) katalitikus izotópcserével (Pd/C) jelölték [10] 122 GBq/mmol (3,30 Ci/mmol) moláris aktivitással. A benzomorfánok közül a bremazocin (6) jelölését Römer és munkatársai [11] írták le. A 3-as helyzetben brómozott prekursor katalitikus dehalogénezése 888 GBq/mmol (24,0 Ci/mmol) moláris aktivitású terméket eredményezett. A dextrometorfánt (7, R¹=CH₃) szintén halogénezett prekursorának Pd/C katalizátoron történő redukciójával állították elő [12], a termék moláris aktivitása 960 GBq/mmol (26 Ci/mmol) volt. Általában megállapítható, hogy telítetlen kötés telítésével és redukzív dehalogénezéssel nagyobb moláris aktivitás érhető el. A morfinvázas vegyületek affinitását és szelektivitását nem csökkenti a 7-es helyzetű kettőskötés telítése, és ezt több analóg triciálásában hasznosították. Tóth G. és munkatársai [13] a morfin 7,8-as kettős kötésének telítése mellett az 1-es helyzetbe is beépítettek tríciumot, és az így kapott [1,7,8-³H]dihidromorfin (1a) moláris aktivitása 2500 GBq/mmol (67,5 Ci/mmol) lett. A dihidro-kodeint (1b) és a dihidroetilmorfint (1c) (1900 GBq/mmol; 51,3 Ci/mmol), illetve (1850 GBq/mmol; 50,0 Ci/mmol) moláris aktivitással kapták.

A C-6 epimer dihidro-izomorfin (8a, X=OH) jelölését Varga É. és munkatársai [14] írták le, az izomorfin triciálásával nyert vegyület moláris aktivitása 1280 GBq/mmol (34,7 Ci/mmol) volt.

Az agonista-antagonista vegyületepár oximorfon (9) és naltrexon (4c, X=O) 6- β -fluor származékait FOXY (10a), illetve CYCLOFOXY (10b) néven

elsősorban a pozitron emissziós transzaxiális tomográfiában [15,16] hasznosították. Később triciált változatukat is előállították [17,18] 1,2-dibróm származékuk dehalogénezésével, 590 GBq/mmol (16 Ci/mmol) moláris aktivitással.

A legáltalánosabban használt ópiátantagonista a naloxon (**4d**, X=O). Fischman és munkatársai [19] 14-hidroxi-morfinon (**11a**) 7,8-as kettőskötését Pd/C katalizátoron tríciummal telítették, majd ezt lúgos közegben allil-bromiddal allilezve kapták a **11a**-t 1480 GBq/mmol (40,0 Ci/mmol) moláris aktivitással. Brine és Kepler [20] a 15,16-didehidro-származékot jelölték hidrogén-trícium cserével, majd a kettőskötést nátrium-[ciano-tetrahidrido-borát]-tal telítve 148 GBq/mmol (4,00 Ci/mmol) moláris aktivitású termékhez jutottak. A naltrexon jelölésékor a 15,16-didehidro-származékot Pd/C jelenlétében triciálták, amivel 566 GBq/mmol (15,3 Ci/mmol) moláris aktivitású vegyületet kaptak.

A naloxon (**4d**, X=O), nalorfin (**4**, X=O, R=H, R³=allil) és az *N*-allil-normetazocin (**12**) egyaránt allilcsoportot tartalmazó vegyületek. Filer és munkatársai [21] mindhárom vegyület tríciumjelölését a propargilszármazék hármas kötésének Lindlar-katalizátoron történő részleges telítésével végezték el. A triciált naloxon, nalorfin és *N*-allil-normetazocin moláris aktivitása (50 Ci/mmol), 1370 GBq/mmol (37 Ci/mmol) illetve 1630 GBq/mmol (44 Ci/mmol) volt.

Tóth G. és munkatársai [22] a két módszer kombinálásával, először 14-hidroxi-normorfinon (**11b**) 7,8-as kettőskötését telítették, majd *N*-propargilezés után a hármas kötés részleges telítésével kapták a [7,8,19,20-³H]naloxont 3090 GBq/mmol (83,5 Ci/mmol) moláris aktivitással.

Az irreverzibilis μ antagonistá β -funaltrexamin (β FNA) (**13**) jelzésekor [43,44,45] feltehetően [³H]naltrexonból redukatív aminálással, majd acilezéssel kapták a triciált vegyületet.

A fotoaffinitás-jelölők fény hatására kovalensen kötődnek a receptorhoz. Közülük a *sigma*-receptor-szelektív $[7,9\text{-}^3\text{H}]\text{-(+)-4'-azido-fenazocin}$ (14) [23], a levorfanol radioaktív analógja, $[^3\text{H}]\text{N-}\beta\text{-(p-azidofenil)-etil-norlevorfanol}$, (15) [24,25], a $[7,8\text{-}^3\text{H}]\text{-4'-azido-feniletil-dihidro-normorfin}$ (16a) [26] és az α -Naltrexamin *N*-metil-*N*-*p*-azidofenil-származéka (17) [27,30] trícium jelölését ítrák le.

A peptidek radioaktív jelzése általában a következő módszerek valamelyikével történhet [30]:

1. Peptidszintézis jelzett aminosavval (^3H , ^{14}C , ^{35}S);
2. Katalitikus izotópcseré reakcióval a peptid és tríciumgáz között;
3. Funkciós csoportok reakciója radioaktív acilezőszerrel;
4. Radioaktív fémion beépítése fémkomplex formájában, ha a kelátor kémiaailag kötött a peptidhez.

Az izotópcseré reakciókhoz leggyakrabban PdO/BaSO_4 katalizátort használnak. A módszer hátránya, hogy a jelzés helye véletlenszerű, és nagy moláris aktivitást főként hisztidint tartalmazó peptidekkel lehet elérni. Újabban kifejlesztett módszer a szilárd fázisú, magas hőmérsékletű ($80\text{-}160\text{ }^\circ\text{C}$) trícium csererekáció [31].

A triciált metil-jodid kényelmes eszköz a jelzés beépítésére *N*-, *O*- és *S*-metilezési reakciókban. Homociszteint tartalmazó peptidek reakciója $[^3\text{H}]\text{CH}_3\text{I}$ -dal jelzett metionint eredményez a szekvenciában [32].

Jelzett aminosavak felhasználásával történő peptidszintézis kevésbé elterjedt a reagensként használt jelzett aminosav mennyiségének korlátozottsága miatt. A módszer mikromennyiségű enzimatis peptidszintézisben jól alkalmazható [33].

A tríciumgázzal történő katalitikus triciáláshoz a prekursor peptidet elő lehet

állítani a peptid szintézis után történő módosításával (jódozás), vagy redukálható funkciós csoportot (halogén, telítetlen kötés) tartalmazó aminosavval történő peptidszintézissel.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A trícíálások a Laboratóriumban épített [3] speciális, mikrohidrogénezésre alkalmas zárt vákuumkészülékben történtek. Működésének lényege, hogy az urántrícid formában tárolt tríciumgáz 300-450 °C hőmérsékleten felszabadul és a reakcióedénybe jut. Itt a reaktánsok oldata és a katalizátor keverékével érintkezve játszódik le a reakció, aminek előrehaladása higanymanométerrel követhető. A reakció után a fölös tríciumot egy másik tárolóban, szintén urántrícid formában tároljuk. A katalizátor leszűrése után, vizes etanol ismételt lepárlásával a termékből a savas protonok helyét elfoglaló, labilis tríciumot eltávolítjuk. A kapott nyersteimből a kívánt vegyületet vékonyréteg-kromatográfiával és HPLC-vel történő tisztítással nyertük ki. A vékonyréteg-kromatográfiás tisztítás előtt a vékonyréteg lapokat etanolos mosással tisztítottuk [4], majd a kromatogram kifejlesztése után a radioaktivitás helyét autoradiográfiával határoztuk meg. A megfelelő helyen a réteget lekapartuk és a terméket oldószerrel kioldottuk. A radioaktív termékek vékonyréteg-kromatográfiás azonosításához a kis mennyiségű aktív mintát inaktív hordozóval keverve vittük fel a kromatográfiás lemezre, és a kromatogram kifejlesztése után a színreakcióval kapott foltok helyét összehasonlítottuk a radiokromatogrammal, amit *Packard Model 7201 Radiochromatogram Scanner*rel, illetve *Berthold Radiochromatogram Tracemaster*rel kaptunk. A trícíált termékek radioaktivitását *Searle Delta 300* folyadékszintillációs számlálóval határoztuk meg, az anyagmennyiséget UV-spektrum alapján *UV VIS Spectrometer*rel (Zeiss), illetve *Shimadzu UV VIS 160* spektrofotométerrel mértük. Az NMR felvételek *Varian-Gemini 200* és *Bruker AM 400* spektroszkópon, a tömegspektrumok *VG-TRIO-2* készüléken készültek.

3. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK

3.1. Izomorfin származékok trícíálása:

F. Ötvös, G. Tóth, S. Lovas, Cs. Simon and S. Hosztafi, *Helv. Chim. Acta* **1996**, 79, 133.

Irreverzibilisen kötődő ligandumok *in vivo* hosszabb biológiai hatást eredményeznek, *in vitro* receptorvizsgálatokban pedig a receptorok helyének feltérképezésében, illetve a típusok-altípusok eloszlásának vizsgálatában játszanak fontos szerepet. A fotoaffinitás-jelölők mellett az ópiátreceptorok elektrofil affinitás-jelölőkkel történő jelzését is leírták [35,36,37,38,39,40,41,42,43,44]. A opioid receptorok affinitásjelölését nehezíti, hogy nem áll rendelkezésre kellően szelektív és nagy affinitású radioligandum, ami szükséges lenne az irreverzibilis jelöléshez. Az elektrofil csoport általában C(6) helyzetben van, és csak néhány esetben található a 14-es szénatomon [36]. Az első sikeres antagonistá affinitásjelölő a naltrexon nitrogénmustár származéka, a β -klór-naltrexamin, irreverzibilisen kötődött a receptorokhoz [37]. Agonista párja, a β -klór-oximorfamin [38] szintén irreverzibilis kötődést mutatott opioid receptorokhoz. A szelektivitás növelésére a mustárnál kevésbé reaktív funkciós csoportokat alkalmaztak, köztük fumársavésztereket [39,40], izotiocianát és jódacetamid [41,42] csoportokat. Ezek a tanulmányok vezettek a β -funaltrexaminhoz (β -FNA), egy szelektív, irreverzibilis opioid antagonistához, amelynek tríciumjelölését is leírták [43,44]. A megfelelő agonista analóg, a 6 β -amino-6-dezoxi-14 β -hidrox-7,8-dihidromorfin (β -FOA, **19d**), nem jelzett anyaggal végzett *in vivo* és *in vitro* kísérletekben [39,42] reverzibilis kötődést mutatott. A 14 β -hidrox csoport hatását a 14-dezoxi vegyülettel összehasonlítva vizsgálták [42].

Receptorkötési tulajdonságaik vizsgálata céljából előállítottuk az agonista 6 β -amino-6-dezoxi-7,8-dihidromorfin (**19a**) és a 14 β -hidrox analóg (**19d**)

fumáramido-metil-észter és klóracetamido származékának 7,8-as helyzetben trícíált formáját.

A 6 β -amino-6-dezoxi-[7,8-³H]morfin **20a** és a 14-hidroxi származék **20d** szintézise a **18a** és **18d** telítetlen prekursorok 7,8-as kettőskötésének katalitikus telítésével történt.

18a (2,0 mg, 7 mol) trícíálása dimetilformamid oldatban (0,9 ml), PdO katalizátor (5,3 mg) és 555 GBq (15 Ci) tríciumgáz jelenlétében, szobahőmérsékleten, 165 perc reakcióidővel történt. A reakcióelegy feldolgozása az *Anyagok és módszerek* részben leírtak szerint történt. Vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés alapján a 4,92 MBq (134 mCi) aktivitású termék tisztasága > 95 % volt, így az amidszármazékok szintézise előtt további tisztítást nem igényelt. A moláris aktivitás 0,918 TBq/mmol (24,8 Ci/mmol) volt.

A **18d** 14-hidroxi analóg trícíálása az előzőhöz hasonlóan történt: 4,0 mg (13,2 mol) prekursor (**18d**) és 11 mg PdO katalizátor 0,8 ml dimetilformamid oldószerben 150 perces reakcióidő után 14,5 GBq (473 mCi) aktivitású 6 β -amino-6-dezoxi-14 β -hidroxi-[7,8-³H]morfin (**20d**) eredményezett. A moláris aktivitás 1,74 TBq/mmol (37,9 Ci/mmol) volt.

A **20b**, **20c**, **20e** és **20f** amidszármazékokat a trícíált aminok (**20a** és **20d**) metilfumaráttal és klórecetsavval történő acilezésével állítottuk elő az oldatfázisú peptidszintézisre kidolgozott [46,47] vegyes anhidrides módszerrel. A karboxilcsoport aktiválása klórhangyasav-izobutil-észter anhidridképző reagens és *N*-metil-morfolin bázis alkalmazásával történt, a reakció -15 °C hőmérsékleten tetrahidrofuránban 96-98 % hatásfokkal játszódott le, ami esetünkben a kiindulási anyagok kis mennyisége miatt lényeges. Minden esetben

925 MBq (25 mCi) aktivitású trícíált amint reagáltattunk a kb. ötszörös feleslegű reagenssel, majd kb. 45 perc reakcióidő után a reakciót metanol hozzáadásával leállítottuk. Az oldószer lepárlása után a reakcióelegyből vékonyréteg-kromatográfiás tisztítással nyertük ki a termékeket. A kapott radioaktív vegyületek analitikai és kitermelési adatai a 1. táblázatban láthatók.

1. táblázat

A trícíált izomorfin származékok kromatográfiás adatai és kitermelése

Kiindulási vegyület	Termék	R_f		Radioak- tivitás		Termelés %
		A	B	MBq	(mCi)	
18a	20a	0,18	0,06	4950	(134)	77,0
20a	20b	0,32	0,18	367	(9,94)	40,0
20a	20c	0,37	0,11	398	(10,8)	43,0
18d	20d	0,35	0,12	7490	(473)	90,0
20d	20e	0,63	0,38	702	(19,0)	76,0
20d	20f	0,59	0,38	1020	(27,6)	55,0

A: kloroform-aceton-metanol-ammónium-hidroxid 40:30:10:5

B: etilacetát-metanol-trietil-amin 90:20:5

Az amidszármazékok moláris aktivitását külön nem határoztuk meg, mivel az acilezési reakció a tríciumjelzést hordozó C(7) és C(8) szénatomokat nem érinti.

3.2. Tríciált ciprodin előállítása

F. Ötvös, G. Tóth and H. Schmidhammer: *Helv. Chim. Acta* **1992**, 75, 1718.

A ciprodin, [(-)-17-(ciklopropilmetil)-4,14 β -dimetoxi-morfinán-6-on (**21a**)], ezidáig a legnagyobb szelektivitású reverzibilis *mű* opioid receptor antagonist [48,49], amelyet a nem peptid ligandok között kifejlesztettek, így érdemesnek tűnt a tríciált vegyület előállítása. Prekurzorként a könnyen előállítható és redukálható brómszármazék jött számításba. Laboratóriumunkban korábban az aromás gyűrű monobrómozása nem vezetett eredményre, azonban a szokásos brómozási eljárással - elemi brómmal jégecetben - 1,5,7-tribróm-ciprodinot (**22**) sikerült előállítani. Ennek tríciálása azonban olyan termékelegyhez vezetett, aminek tisztítása vékonyréteg-kromatográfián nem sikerült.

A probléma kiküszöbölésére a monobróm származékot enzimatisz halogénezéssel állítottuk elő: 44,67 mg (102 μ mol) ciprodin·HBr só brómozása 4 ml 3,6 pH-jú acetátpufferben (0,1 M), ami 54,87 mg (460 μ mol) KBr-ot és 565 μ l 3 %-os H₂O₂-ot (500 μ mol) tartalmazott, 229 U klórperoxidáz (EC 1.11.1.10) enzim jelenlétében történt. A reakció vékonyréteg-kromatográfia alapján 10 perc alatt végbement. A pH 8 reakcióelegyből kloroformos extrakcióval nyert 35,2 mg (79 %) nyers termék etanolból történő átkristályosítása 20,2 mg 1-bróm-ciprodinot (**21b**) eredményezett. A termék tömegspektruma alapján egy ekvivalens brómot tartalmazott, ami ¹H-NMR spektruma alapján az aromás gyűrűben volt. A szubsztitúció helyét NOE különbségi spektroszkópia erősítette meg [50], hasonlóan, mint Davies és munkatársai [51] írták le az 1-bróm-kodein esetében.

A heterogén katalitikus redukzív dehalogénezés az előzőkhöz hasonlóan történt. 2,38 mg (5,45 μ mol) 1-bróm-ciprodin és 1 μ l (7,2 μ mol) trietil-amin 1 ml dimetilformamidban 20 mg PdO/BaSO₄ (10 % PdO) katalizátor és 555 GBq

(15 Ci) hordozómentes tríciumgáz jelenlétében 1 órás redukcióval 6,36 GBq (172 mCi) aktivitású nyersterméket adott. Vékonyréteg-kromatográfiás tisztítás (kloroform-metanol-cc. ammónia 90:10:1, majd diklór-metán-metanol 9:1 eluenssel) után 1,22 GBq (32,9 mCi) aktivitású tiszta **21c**-t eredményezett.

3.3. 17-³H-metil]-normorfin előállítása

A morfin triciálása reduktív úton a kettős kötés megtartásával nem lehetséges. Triciált metil-jodiddal azonban, ami egy kényelmes eszköz radioaktív jel bevezetésére, a normorfin könnyen metilezhető. A kereskedelembe elérhető, nagynyomású technológiával előállított triciált metil-jodid nagy, közel elméleti moláris aktivitású. Ennek magas ára miatt azonban számos módszerrel próbálkoztak, amivel laboratóriumi körülmények között nagy moláris aktivitású triciált metil-jodid állítható elő. Bisz-klórmetil-éter prekursor triciálásával [52] közel elméleti moláris aktivitást sikerült elérni, ez azonban illékony és karcinogén. Klórmetil-fenil-szulfid prekursor alkalmazásával [53] a kapott tricio-tioanizol illékonyága lényegesen kisebb, de ennek hasítása meglehetősen lassú (48 óra 150 °C-on). 4-bifenilsav-klórmetil-észter prekursorból [54] kiindulva az egyetlen illékony anyag a triciált metil-jodid, és a reakció gyorsabb, bár az így kapott metil-jodid moláris aktivitása kevesebb, mint fele az előző eljárással kapottnak. Könnyebb kezelhetősége miatt ez utóbbi alapanyagot választottuk a triciált metil-jodid előállítására, amit közvetlenül a normorfinhoz vezettünk, a készülékből való eltávolítás nélkül. A reakció sémája a 3. ábrán látható.

A triciálás prekursorául szolgáló **24** 4-bifenilsav-klórmetil-észtert [55] 1,4 g (6,5 mmol) 4-bifenil-karbonil-klorid (**23**), 1,5 g (50 mmol) paraformaldehid és nyomnyi mennyiségű vízmentes ZnCl₂ benzolos oldatának 90 perces

refluxálásával állítottuk elő. A reakcióelegy vékonyréteg-kromatográfia szerint igen sok komponenst tartalmazott, azonban a klórtartalmú vegyületekkel színreakciót adó difenil-amin-cink-klorid reagenssel egyetlen termék adott pozitív reakciót, amelyet preparatív vékonyréteg lapon történő tisztítással nyertünk ki. A termék olvadáspontja (106,5-107,5 °C) mintegy 4-5 °C-kal volt magasabb az irodalminál (101-102 °C) de ^1H -NMR spektruma megegyezett az irodalomban közölttel [54].

A triciált bifenilsav-metilészter azonosításához szükséges nem jelzett észtert (**25**) 4-bifenil-karbonil-klorid és fölös mennyiségű metilalkohol piridin katalizált reakciójával állítottuk elő.

A [^3H -metil]4-bifenilsav-metil-észter (**25**) előállítása: 10,4 mg (40 μmol) (**24**) klórmetil-észter és 8 μl trietil-amin 1 ml DMF-ben 12 mg PdO és 555 GBq (15 Ci) aktivitású tríciumgáz jelelétében 6 óra hosszáig redukálva 18,5 GBq (500 mCi) aktivitású nyersterméket, majd ebből 3,7 GBq-t (100 mCi) vékonyréteg-kromatográfiával (eluens: benzol) tisztítva 1,18 GBq (31,9 mCi) aktivitású, 707 GBq/mmol (19,1 Ci/mmol) moláris aktivitású **25** radioaktív terméket eredményezett.

A **25** észter LiI-os hasításával kapott triciált metil-jodid előállítása és vele a normorfin *N*-metilezése egy zárt készülékben történt. A metilezés a folyamatosan képződő és átdestilláló metil-jodiddal K_2CO_3 savmegkötő jelenlétében zajlott. Az inaktív kísérletekben optimálisnak találtuk a metil-észter/normorfin 1:1,5 arányt, ekkor a normorfin teljes mennyisége átalakult kevés kvaternereződött termék képződése mellett. Mivel a radioaktív vegyület anyagmennyisége kevesebb volt, kétszeres arányt alkalmaztunk: 1,18 GBq (31,9 mCi, 1,67 μmol) **25** és 50 mg LiI reakciójával képződő triciált metil-jodid

1,3 mg (5 μ mol) normorfinnal 10 mg K_2CO_3 jelenlétében vékonyréteg-kromatográfiás tisztítás után 154 MBq (4,17 mCi) **27**-t eredményezett. Moláris aktivitása 585 GBq/mmol (15,8 Ci/mmol) volt.

3.4. [5'- 3H]naltrindol előállítása

Yamamura, M.S.; Horvath, R.; Toth, G.; Otvos, F.; Malatynska, E.; Knapp, R.J.; Porreca, F.; Hruby, V.J.; Yamamura, H.I.: Life Sci. **50**, PL119-PL124 (1992)

A naltrindol, [(-)-17-(ciklopropil-metil)-6,7-dehidro-4,5 α -epoxi-3,14 β -dihidroxi-6,7-2',3'-indolomorfinán), **29**, X,Y=H], a morfinváz C gyűrűjéhez kondenzált indolvázat tartalmazó vegyület, egyike a legnagyobb aktivitású és szelektivitású *delta* opioid ligandumoknak [56,57]. Szelektivitása és affinitása miatt ez a szintetikus ópiát kitűnő eszköznek bizonyult a farmakológiai vizsgálatokban [56,58,59].

A trícíálás prekursora az 5'-bróm-naltrindol (**29**, X=H, Y=Br) volt, amit a Fisher-féle indol szintézissel, Portoghese és munkatársai eljárása szerint [57], naltrexon (190 mg, 0,50 mmol) és 4-bróm-fenilhidrazin (170 mg, 0,76 mmol) metanolos sósavban történő 5 órás refluxálásával kaptunk.

2,5 mg (4,72 μ mol) 5'-bróm-naltrindol és 5 μ l (35 μ mol) trietil-amin 1 ml dimetilformamidos oldatát 10 mg $PdO/BaSO_4$ (10 % Pd) katalizátor és 555 GBq (15 Ci) hordozómentes tríciumgáz jelenlétében (60 kPa, 450 torr, nyomáson) 60 percig redukáltuk, ennyi idő alatt a trícium fogyása befejeződött. A kapott 3,66 GBq (99 mCi) aktivitású nyerstermékből tisztítás után [60, 57. oldal] 1,01 GBq (27,4 mCi) aktivitású, 785 GBq/mmol (20,5 Ci/mmol) moláris aktivitású tiszta vegyületet kaptunk (1,33 μ mol, 28 %).

A naltrindol radioaktív jelölésével további biológiai jellemzése vált lehetővé [61].

3.5. [1,5'-³H₂]naltrindol előállítása

Tóth, G.; Ötvös, F.; Hosztafi, S.: *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2274.

Borsodi, A.; Özdemirler, G.; Nevin, S.T.; Kabasakal, L.; Ötvös, F.;

Tóth, G.: *British J. Pharmacol.* **1993**, 109, 17.

Nagyobb moláris aktivitás eléréséhez több halogént tartalmazó prekursor előállítását tűztük ki célul.

Egyik lehetőség halogénezett naltrexon és ugyancsak halogénezett fenilhidrazin kiindulási komponens használata, ennek megfelelően a dibrom-naltrindolt ugyancsak Fischer indol-kondenzációval állítottuk elő, 4-brom-fenilhidrazin és 1-brom-naltrexon reakciójával (2. ábra). Az 1-brom-naltrexon előállítására a szakirodalomban nem találtunk példát. Mivel a morfinváz a halogénezés oxidatív körülményeire rendkívül érzékeny [64,65], a szintézis (3. ábra) 14-hidroxi-dihidrokodeinonból kiindulva volt lehetséges [67]:

A 14-hidroxi-dihidrokodeinon HBr sóját vizes közegben brómozva 1-brom-14-hidroxi-dihidrokodeinon (**30**) képződik. Az acetilezés után kapott 1-brom-14-acetoxi-dihidrokodeinon (**31**, [66]) *N*-demetilezésére két lehetőség adódik: a von Braun reakcióban brómcíánnal (**32**), míg klórszénsav-vinil-észtert alkalmazva a (**33**) uretán származék képződött. Mindkét vegyület hidrolízise az 1-brom-14-hidroxi-dihidrokodeinont (**34**) eredményezte. **32** hidrolízise **34**-é 10 %-os sósavval történt, míg **33** átalakítása három reakciólépést igényelt: 1.) sósavgáz addíció a vinilcsoportra, 2.) metanolos forralás, 3.) *O*-deacetilezés 10 %-os sósavval. (**34**) reakciója ciklopropil-metil-bromiddal dimetil-formamidban az 1-brom-naltrexon-3-metil-étert (**28**) eredményezte. **28** bór-tribromidos *O*-demetilezése eredményezte a kívánt 1-brom-naltrexont (**29**).

A kapott 1-brom-naltrexon és 4-brom-fenilhidrazin Fisher-indol kondenzációját az 5'-brom-naltrindol szintézisével megegyező módon végeztük (2. ábra, X,Y=Br), a termék 1,5'-brom-naltrindol szerkezetét tömegspektroszkópia és ¹H-NMR spektroszkópia bizonyította.

Az 1,5'-bróm-naltrindol sósavas só (2 mol) tríciálása 1 ml dimetil-formamidban, 5 l trietil-amin, 10 mg PdO katalizátor és 555 GBq (15 Ci) tríciumgáz jelenlétében 3,92 GBq (106 mCi) nyersterméket eredményezett, aminek vékonyréteg-kromatográfiás tisztításával 396 MBq (10,7 mCi) aktivitású tisztított [1,5'- $^3\text{H}_2$]naltrindolt kaptunk. Moláris aktivitása 1,705 TBq/mmol (46,1 Ci/mmol) volt.

Az [1,5'- $^3\text{H}_2$]naltrindollal kapott receptorkötési eredmények igen jó *delta* receptor szelektivitást mutattak a többi ligandummal történt összehasonlításban [68].

3.6. [1,1'- $^3\text{H}_2$]norBNI (36c) előállítása

Márki, Á.; Ötvös, F.; Tóth, G.; Hosztafi, S.; Borsodi, A.: *Analgesia*, **1995**, *1*, 557.

A *kappa* szelektív opioid ligandumok között viszonylag kevés nagy szelektivitású és affinitású morfinvázas vegyületet találunk. Ezek egyike a Portugese és munkatársai [69,70] által leírt, azóta norBNI (nor-binaltorfimin; **36a**) néven ismert naltrexon származék, amit az opioid receptorok feltételezett bivalens kötőhelyeinek vizsgálatára fejlesztettek ki. A vegyület lényegében két összekapcsolt naltrexon molekula, amit 2 ekvivalens naltrexon és 1 ekvivalens hidrazin kondenzációjával lehet előállítani.

A tríciálás prekursoraként könnyen redukálható halogénszármazékot kívántunk használni, azonban a vegyület közvetlen halogénezése ugyanazon nehézségekbe ütközne, mint a naltrexon esetében. A már ismert 1-bróm-naltrexon kiindulási komponens választásával, egyébként a norBNI szintézisével azonos módon

kivitelezett kondenzációs reakció viszont halogénezett származék, az 1,1'-dibróm-norBNI képződéséhez vezet.

Az 1,1'-dibróm-norBNI (**36c**) előállítása a Portugese és munkatársai által leírt módszer [70] módosításával történt: 1-bróm-naltrexon (**29** sósavas só, 914 mg, 2 mmol) és hidrazin (sósavas só, 110 mg, 1,05 mmol) 30 ml jégecetes oldatának 6 órás, 90 °C-on történő hevítésével a reakció befejeződött. A reakcióelegy szobahőmérsékletre hűtésével kikristályosodott anyag tömege szűrés és acetonnal történő mosás után 850 mg volt. A nyers termék oszlopkromatográfiás tisztítása (szilikagél, kloroform-metanol-ammónium hidroxid 9:1:0,5 v/v) 350 mg 1,1'-dibróm-norBNI-t (szabad bázis) eredményezett, amiből etanolban oldás után sósav hozzáadására 340 mg hidroklorid só csapódott ki.

[1,1'-³H₂]norBNI előállításához 4,54 mg **36b**·HCl és 5 l trietil-amin 1 ml dimetil-formamidos oldatát 17 mg PdO/BaSO₄ katalizátor és 555 GBq (15 Ci) tríciumgáz jelenlétében triciáltuk szobahőmérsékleten 30 percig. Szűrés és az oldószer lepárlása után 11,1 GBq (300 mCi) nyers terméket kaptunk, aminek vékonyréteg-kromatográfiás tisztítása (szilikagél, Merck; *n*-butanol-ecetsav-víz 2:1:1) 5,56 GBq (153 mCi) aktivitású, 1,75 TBq/mmol (47,2 Ci/mmol) moláris aktivitású tiszta **36c**-t eredményezett. Vékonyréteg-kromatográfia alapján (A: *n*-butanol-ecetsav-víz 2:1:1, *R_f* 0,42; B: kloroform-metanol 80:24, *R_f* 0,18; kloroform-metanol-ammónium-hidroxid 9:1:0,5, *R_f* 0,26) tisztasága > 95 % volt.

3.7. [15,16-³H₂]buprenorfin (37) előállítása

Ötvös, F.; Hosztafi, S.; Simon, Cs.; Tóth, G.: *J. Labelled Compd.*

Radiopharm. **1995**, 36, 79.

Ötvös, F.; Tóth, G.; Simon, Cs.; Hosztafi, S.; Benyhe, S.: *Izotóptechnika (Budapest)*, **1994**, 37, 193.

Ötvös, F.; Tóth, G.; Simon, Cs.; Hosztafi, S.: *Synthesis and Application of Isotopically Labelled Compounds* **1994**, 113-116.

A buprenorfin egy kevert hatású ópiát, amely nem toxikus, kevéssé okoz függőséget [71,72]. Bár *kappa* opioid receptor antagonistaként ismert [73,74], receptorkötési kísérletekben majdnem egyformán kötődik *mű*, *delta* és *kappa* receptorokhoz [75,76]. A különböző opioid receptorokkal való kölcsönhatásának tanulmányozása céljából előállítottuk a trícíált formáját, fölhasználva Lewis és munkatársai [77] etorfinra kidolgozott módszerét, valamint Rance és munkatársai [78] deuterált buprenorfin szintézisére leírt eljárását.

A morfinvázak vegyületek általában nagy moláris aktivitással trícíálhatók katalitikus dehalotriciálással, vagy a 7,8-as kettőskötés telítésével. E módszerek hátránya azonban, hogy a halogénezett prekursorokat rendszerint külön szintézissel kell előállítani a morfinváznak a közvetlen halogénezés körülményeire való érzékenysége miatt, és a moláris aktivitás általában elmarad az elméletileg várttól. A 7,8-as kettőskötés telítésével rendszerint csak a 8-as helyzetben stabil a jelzés a 6-os szénatomon általában jelenlevő elektronszívó csoportok hatása miatt, és ez szintén a moláris aktivitás csökkenését eredményezi. További lehetőség a morfinvázba történő trícium beépítésre a 15,16-didehidro származék előállítása [79], majd a 15,16 kettőskötés katalitikus telítése tríciummal. A módszer előnye, hogy a dehidrogénezett prekursor egyetlen lépésben előállítható, a mellékreakciók általában elhanyagolhatók, és az elméletihez közeli moláris aktivitású termék kapható. A 15,16 kettőskötés

telítésével történő trícíálást korábban már leírták a naltrexonra és naloxonra [20] és az oripavinokra [77,79] Pd/C katalizátor alkalmazásával, de a legnagyobb moláris aktivitás mindössze 566 GBq/mmol (15,3 Ci/mmol) volt. Trícíált fémhidridekkel még kisebb moláris aktivitásokat értek el [20,77,79].

A 15,16-didehidro-buprenorfin Haddlesey és munkatársai módszerével kaptuk [79]: 3,1 gm (6,6 mmol) buprenorfin és 8,0 gm (37 mmol) sárga HgO keverékét 1,5 M-os vizes ecetsavban 1 óra reflux után szobahőmérsékletre hűtve kénhidrogénnel telítettünk, majd a kivált csapadék leszűrése után a szűrlet ammóniás semlegesítésével 2,4 gm 15,16-didehidro-buprenorfin vált ki (77 %, op. 218-220 °C, etanolból kristályosítva).

A kapott 15,16-didehidro-buprenorfinból 2,8 mg-ot (5,99 μ mol) 0,8 ml dimetilformamidban 17 mg Pd/BaSO₄ katalizátor és 555 GBq (15 Ci) tríciumgáz jelenlétében 2 órán át redukáltunk. 12,1 GBq (326 mCi) aktivitású nyersterméket kaptunk, amiből 4,21 GBq-t (114 mCi) vékonyréteg-kromatográfiával (szilikagél, acetonitril-*n*-butanol-víz 20:6:1) tisztítva 2,79 GBq (75,4 mCi, 57 %) aktivitású [15,16-³H₂]buprenorfin kaptunk, aminek radioaktív tisztasága > 95 % volt. Moláris aktivitása 2,35 TBq/mmol (63,6 Ci/mmol), ami az elméletileg vártnál (2,18 TBq/mmol, 59 Ci/mmol) kissé nagyobb. Ez valószínűleg a morfinváz benzil helyzetű hidrogénjeinek heterogén katalitikus, illetve a 15-ös szénatomon a trícíálás során keletkező trícíált víz hatására bekövetkező izotópkicserélődésével magyarázható. Az utóbbi cserére utal, hogy a nyerstermék radiokromatogramja a kiindulási dehidroszármazék helyén is radioaktív anyagot mutatott.

A 15,16 kettőskötést tartalmazó származék 15-ös szénatomján levő hidrogén izotópkicserélődésre hajlamos [77,79]. Bár hasonló jelenségről a **37** telített

vegyület esetében nincs tudomásunk, megvizsgáltuk a tríciumjelzés stabilitását savas és lúgos kezelés hatására. 1 M-os HCl oldatban 30 perc alatt a moláris aktivitás nem csökkent sem szobahőmérsékleten, sem 70 °C-on. 30 perces lúgos kezelés (0,2 M 1 M NaOH) szobahőmérsékleten nem okozott változást, azonban 70 °C-on a moláris aktivitás 38 %, illetve 56 %-kal csökkent. Érdekes ezeket az eredményeket összehasonlítani a Laboratóriumunkban korábban szintetizált [7,8,15,16-³H]dihidromorfinnal kapott adatokkal [80]. Utóbbi trícálása a 16,17-didehidroheroínium acetátban levő 7,8-as és 15,16 kettőskötés PdO katalizálta telítésével történt. Moláris aktivitása 2,38 TBq/mmol (64,3 Ci/mmol) volt, ami lényegesen elmaradt a várttól. Szobahőmérsékleten lúgos hidrolízis hatására, ami az acetylsoportok eltávolítására szolgált, a moláris aktivitás nagymértékben csökkent (64,4 %-kal), sőt, érdekes módon még savas kezelés (70 °C) hatására is (5,4 % a csökkenés). lényeges különbséget tapasztaltunk a kettőskötések telítésének a sebességében is: a dehidroheroínium acetát telítése 40 perc alatt gyakorlatilag teljesen végbement a hordozómentes PdO katalizátor alkalmazásával, míg a dehidrobuprenorfin esetében a lényegesen aktívabb Pd/BaSO₄ alkalmazásával még 2 óra reakcióidő után is csupán 70 %-os volt az átalakulás.

3.8. Az ipriflavon tríciumjelölése

Az ipriflavon (= 7-Izopropoxi-izoflavon, **39**; Osteochin[®]) egy szintetikus flavonoid, amit a csontritkulás kezelésében alkalmaznak [81,82,83,84]. A gyógyszer hatásmechanizmusának és metabolizmusának vizsgálata nagy moláris aktivitású, a radioaktív jelzést az izoflavon vázon tartalmazó trícíált vegyület alkalmazását igényelte. A vegyület szerkezetéből adódóan telítetlen kötet tartalmazó prekursor nem jöhetett számításba, így halogénezett származékát állítottuk elő.

7-alkoxi-izoflavonok közvetlen halogénezése a szakirodalomban kevésbé ismert, rendszerint a már halogénezett fenolok szabad hidroxilcsoportját éteresítették [85]. A 7-hidroxi-izoflavon (**42**) halogént vagy más funkciós csoportot tartalmazó származékainak szintézisét általában a következő módszerekkel írták le: az izoflavon váz szintézise szubsztituált kalkon és fenil-benzil-keeton kiindulási vegyületekkel [86,87,88], vagy a **42** fenol közvetlen halogénezésével [85]. A trícíálás prekursoraként csak a könnyen redukálható jód- és brómszármazékok vehetők számításba, mert a karbonilcsoporttal konjugált 2,3 kettőskötés a redukzív körülményekre érzékeny.

A brómozott prekursor szintézise (4. ábra) az alkoxi csoportok aktiváló hatására alapozva, a piridínium-bromid perbromid enyhe brómozó reagenssel [89] történt: 100 mg (0.357 mmol) ipriflavon **39** 5 ml jégecetes oldatához 10 ml 0,15 M-os jégecetes bróm-oldatot és 1 ml 27 % (m/v) jégecetes piridint adtunk. 3 óra reakcióidő után a reakciót vizes KI oldat hozzáadásával leállítottuk, a kivált jódot $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -tal elreagáltattuk. A reakcióelegy kloroformos extrakciójával kapott anyagot etanolból átkristályosítva 51 mg (14 %) brómozott **40** terméket kaptunk. A piridin katalizált reakció egyszeres szubsztitúciót tett lehetővé, amint azt a termék tömegspektruma mutatta. ^1H -NMR spektrum alapján a szubsztitúció az izoflavon váz 8-as szénatomján történt.

A brómszármazék redukciója hordozós Pd katalizátorokkal (Pd/C , Pd/BaSO_4) a 2,3-as kettőskötés redukcióját eredményezte, ami összhangban volt más 7-szubsztituált izoflavon származékokkal kapott eredményekkel (PtO_2 [90], Pd/C [91]), ugyanakkor a Lindlar-katalizátor hatástalannak bizonyult. Ezek alapján a köztes aktivitású hordozómentes PdO -ot alkalmaztuk. Az előzetes kísérletek alapján kb. 30 perces redukció alatt (a katalizátor redukciójának

indukciós periódusát is beleszámítva) a brómvegyület majdnem teljesen eltűnt, és csak kevés telített melléktermék keletkezett.

A 7-(2-propoxi)-[8-³H]izoflavon (= [8-³H]ipriflavon; **41**) előállításához a **40** prekursor 3,6 mg-ját (10 μmol) 1 ml dimetilformamidban 4 l trietil-amin és 5,7 mg PdO katalizátor jelenlétében 555 GBq (15 Ci) tríciumgázzal 30 percig redukálva 12,6 GBq (340 mCi) aktivitású nyersteget kaptunk, aminek vékonyréteg-kromatográfiás tisztítása (szilikagél, CH₂Cl₂ eluens) 4,92 GBq (133 mCi, 39 %) aktivitású terméket eredményezett, aminek radioaktív tisztasága > 97 % volt. Moláris aktivitása 1,08 TBq/mmol (29,2 Ci/mmol) volt.

A moláris aktivitás növelése céljából kétszeresen brómozott prekursorral állítottunk elő. Mivel az előzőekben leírt módszer hosszabb reakcióidő alatt sem eredményezte az ipriflavon kétszeres brómszubsztitúcióját, a szabad fenolos hidroxil csoportot tartalmazó 7-hidroxi-izoflavont brómoztuk, majd izopropil-bromiddal éteresítve kaptuk a triciálás közvetlen prekursorát. 476 mg (2 mmol) 7-hidroxi-izoflavont (**42**) az ipriflavonnál leírt módszerrel brómozva 5 perces reakcióidővel 504 mg (1,28 mmol, 64 %) kristályosított (etanol) terméket kaptunk (5. ábra). A 6-os és 8-as helyzetben várt brómszubsztitúciót tömeg- és ¹H-NMR-spektrum alapján állapítottuk meg. A kapott **43** brómozott fenolt 400 mg, 1,01 mmol) 10 ml izopropil-bromid/kloroform 1:1 elegyben K₂CO₃ jelenlétében 30 percig refluxálva kaptuk a 6,8-dibróm-ipriflavont (**44**). Etanolból átkristályosítva 351 mg (79 %) terméket nyertünk, aminek szerkezetét tömeg- és ¹H-NMR-spektrum erősítette meg.

A 7-(2-propoxi)-[6,8-³H₂]izoflavon (= [6,8-³H₂]ipriflavon; **45**) szintéziséhez 2,4 mg (5,5 μmol) **44** prekursorral 1 ml dimetilformamidban 4 l trietil-amin és 5,9 mg PdO katalizátor jelenlétében 555 GBq (15 Ci) tríciumgázzal 30 percig

redukálva 8,81 GBq (238 mCi) aktivitású nyerste-terméket kaptunk. Vékonnyréteg-kromatográfiás tisztítás (szilikagél, CH₂Cl₂ eluens) után 2,11 GBq (57,1 mCi, 24 %) aktivitású [6,8-³H₂]ipriflavont eredményezett, aminek radioaktív tisztasága > 96 % volt (CH₂Cl₂, *R_f* 0,15; CHCl₃, *R_f* 0,46; toluol/aceton 95:5, *R_f* 0,40). Moláris aktivitás: 1,94 TBq/mmol (52,4 Ci/mmol).

3.9. Delta opioid receptor szelektív peptidek tríciumjelölése

A deltorfinoknak nevezett peptidek felfedezése [92] igen aktív és szelektív *delta* opioid agonistákat adott a kutatók kezébe. A sorozat első három tagjának szekvenciája a következő:

Tyr-D-Met-Phe-His-Leu-Met-Asp-NH ₂	(deltorfin),
Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH ₂	(deltorfin I),
Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH ₂	(deltorfin II).

A későbbiekben több, a fentieknél aktívabb szintetikus analógot fejlesztettek ki [93]. Közülük az [Ile^{5,6}]deltorfin II, amely az eredeti peptideknél lényegesen hidrofóbabb karakterű, bizonyult a legaktívabbnak.

Közülük a legszelektívebbeknek bizonyult deltorfin II és Ile^{5,6} analógja tríciumjelölését érdemesnek tűnt későbbi vizsgálatok céljára elvégezni.

A triciálás prekursorául szolgáló halogénezett peptidszármazékokat (Tyr-D-Ala-pI-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH₂ és [3,5'-I₂]Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Ile-Ile-Gly-NH₂) a megfelelő halogénezett aminosavak alkalmazásával, szilárd fázisú peptidszintézissel állítottuk elő *p*-metil-benzhidril amin (MBHA) gyantán Boc stratégiával. Aktív észteres aminosav aktiválást alkalmazva a kapcsoló reagensek diciklohexil-karbodiimid (DCC) és 1-hidroxi-benzotriazol (HOBt) voltak. A Glu oldallánca benzil észterként volt védve, a Tyr oldallánca védetlen volt. A Boc csoport eltávolítására trifluor ecetsavat, a peptidnek a gyantáról való

lehasítására HF-ot használtunk. A peptidek tisztítása HPLC-vel (Vydac C₁₈), a termék azonosítása aminosav analízis és FABMS alkalmazásával történt.

A tríciálás dimetilformamid oldószerben, PdO, illetve PdO/BaSO₄ katalizátorral történt. A tríciált nyersterméket vékonyréteg-kromatográfiával tisztítottuk, a tisztaságellenőrzést vékonyréteg-kromatográfiával és HPLC-vel végeztük [94]. A tisztított termékek anyagmennyiségét UV spektrumuk alapján meghatározva a moláris aktivitásokra a következő értékeket kaptuk:

Deltorfin II:	0,726 TBq/mmol (19,6 Ci/mmol); PdO katalizátor.
	0,908 TBq/mmol (24,5 Ci/mmol); PdO/BaSO ₄ katalizátor.
[Ile ^{5,6}]deltorfin II	1,83 TBq/mmol (49,5 Ci/mmol); PdO/BaSO ₄ katalizátor.

A PdO/BaSO₄ katalizátor általában aktívabb, mint a hordozómentes PdO, és nagyobb moláris aktivitású terméket eredményez. Ez látható a kétféle katalizátor alkalmazásával is jelölt deltorfin II példáján.

Összehasonlítva a Phe aromás gyűrűjének para helyzetével, a tríciumjelzést általában kevésbé stabilnak tekintik a Tyr fenolos hidroxilcsoportja melletti pozíciókban. Azonban a fenti két deltorfin analóggal végzett receptorkötési kísérletekben kapott alacsony nonspecifikus kötési értékek azt mutatják, hogy, legalábbis a receptorkötés kísérleti körülményei mellett, a tríciumjelzés mindkét ligandumban egyformán stabilis.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

A tézisekben biológiailag jelentős vegyületek tríciumjelölését írtuk le. Az egyes vegyületek kiválasztása biológiai, biokémiai problémák megoldása érdekében történt. Az opioid receptorok működési mechanizmusának vizsgálatához a különböző altípusokhoz szelektíven kötődő triciált radioligandumokat állítottunk elő, amelyek között az izomorfin származékok, a morfin és a ciprodim *mű* opioid receptor specifikusak, a naltrindol *delta* specifikus, a norBNI *kappa* és a buprenorfin egy kevert agonista-antagonista, amely mindhárom receptortípushoz kötődik.

A jelölések során elért eredmények az alábbiakban összegezhetők:

A dolgozatban leírt izomorfin származékok, a ciprodim és a naltrindol radioaktív jelölését elsőként valósítottuk meg.

A *mű* szelektív affinitásjelölő radioligandok közül előállítottuk az agonista hatású 6-amino-6-dezoxi-7,8-dihidro-izomorfin és a 6-amino-6-dezoxi-7,8-dihidro-14-hidroxi-izomorfin metil-fumáramido és klóracetamido származékait. Megállapítottuk, hogy az amidkötés kialakítása nem változtatta meg a moláris aktivitásokat ($918 \text{ GBq/mmol} = 24,8 \text{ Ci/mmol}$, illetve $1470 \text{ GBq/mmol} = 39,7 \text{ Ci/mmol}$), így a négy irreverzibilis ligand alkalmas lehet affinitásjelölésre.

A ciprodim jelöléséhez a brómtartalmú prekuzort enzimatisus halogénezéssel állítottuk elő, amely az alkaloidok körében eddig nem alkalmazott módszer volt. Az eljárással kíméletes reakciókörülmények között, szelektíven vihető be a bróm a morfinánváz 1-es helyzetébe. A vegyület dehalotriciálása az elméleti értéket valamivel meghaladó moláris aktivitású ($1170 \text{ GBq/mmol} = 31,6 \text{ Ci/mmol}$) végterméket adott, ami bizonyos mértékű izotópcserére utal.

A naltrindol jelölését kétféleképpen is elvégeztük. Előállítottuk a 758 GBq/mmol ($20,5 \text{ Ci/mmol}$) moláris aktivitású 5'-jelzett vegyületet és az



1,5'-ditrício származékot 1705 GBq/mmol (46,1 Ci/mmol) moláris aktivitással, ami az eddigiek között a legnagyobb. Kidolgoztuk a vékonyréteg-kromatográfiás körülményeket a naltrindol és brómszármazékai elválasztásához, és ennek kapcsán kimutattuk a naltrindol izomerizációját (tautomerizációját) az adott körülmények között [60].

A morfin jelölését ugyan már sokszor elvégezték, ebben az esetben mégis jelentős eredmény a molekula kettős kötésének megtartásával történő trícium-jelzés. Az elméleti moláris aktivitás felét érték el, a jelölés specifikusan a 17-es metilcsoportban van. Lényeges, hogy sikerült megvalósítani a triciált metil-jodid egy kényelmesen kezelhető alapanyagának előállítását és további felhasználását.

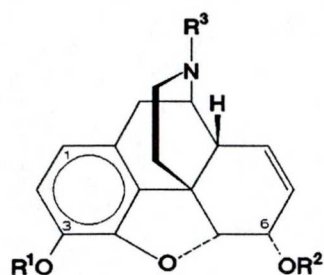
A buprenorfin triciálása nagy moláris aktivitás elérésével valósult meg, és a jelzés még erősen lúgos és savas körülmények között is stabil. Az elméletileg vártnál nagyobb moláris aktivitás valószínűleg a prekursor izotópcserére való képessége miatt adódott.

A norBNI jelzése szintén nagy moláris aktivitású terméket eredményezett, ami a naltrindollal és a ciprodimmal kapott eredményekkel összevetve arra utal, hogy a morfinváz aromás gyűrűjében általában jó hatásfokkal és kismértékű $^3\text{H}/\text{H}$ cserével lehet a triciodehalogénezést kivitelezni.

Az ipriflavont szintén aromás gyűrűben történő dehalogénezéssel és nagy moláris aktivitással sikerült jelölni. A molekula redukcióra való érzékenysége a katalizátor és a reakcióidő kiválasztásában fontos tényező volt.

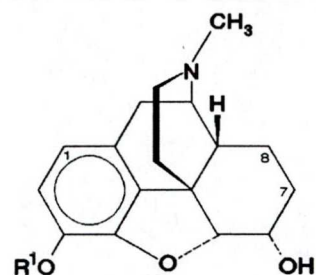
Az opioid peptidek tríciumjelölését aromás gyűrűben végeztük. Megállapítottuk, hogy a hordozómentes PdO katalizátor kisebb moláris aktivitású terméket eredményezett, valamint, hogy a tríciumjel egyaránt stabil - a receptorkötési tesztek körülményei mellett - a fenilalanin aromás gyűrűjében a *para*, és a tirozin fenolos hidroxilcsoportjához képest *orto* helyzetben.

KÉPLETEK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE



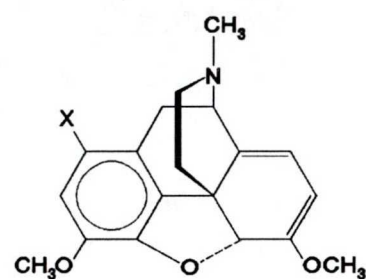
- a: $R^1=R^2=H$, $R^3=CH_3$
 b: $R^1=R^2=R^3=H$
 c: $R^1=R^3=CH_3$, $R^2=H$

2



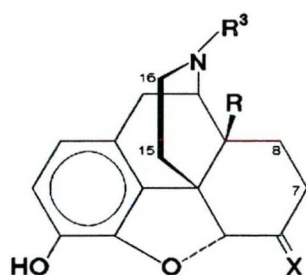
- a: $R^1=H$
 b: $R^1=CH_3$
 c: $R^1=C_2H_5$

1



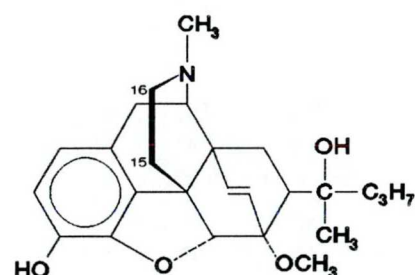
- a: $X=H$
 b: $X=I$

3

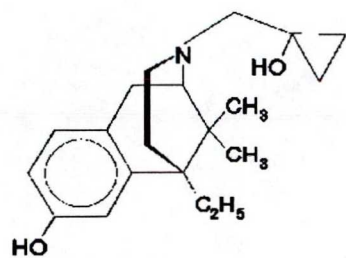


- a: $R=H$, $R^3=CH_3$
 b: $R=OH$, $R^3=CH_3$
 c: $R=OH$, $R^3=\text{ciklopropil-metil}$
 d: $R=OH$, $R^3=\text{allil}$
 e: $R=H$, $R^3=\text{allil}$, $X=O$

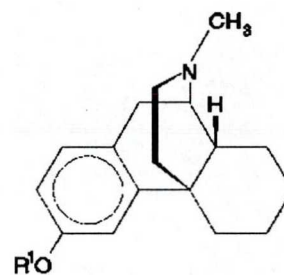
4



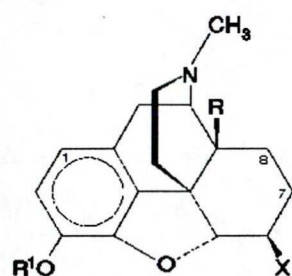
5



6

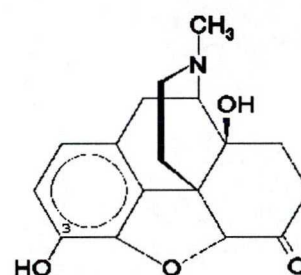


7

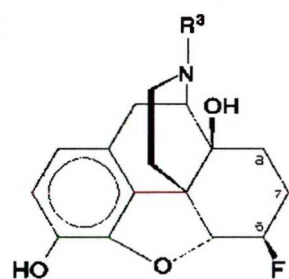


a: $R^1 = R = H$
 b: $R^1 = H, R = OH$

8

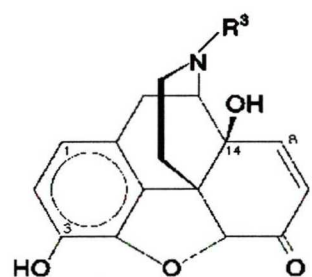


9



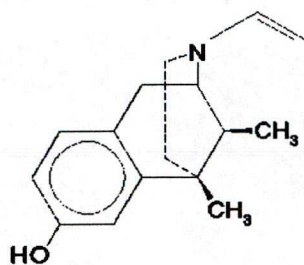
a: $R^3 = CH_3$
 b: $R^3 = \text{ciklopropil-metil}$

10

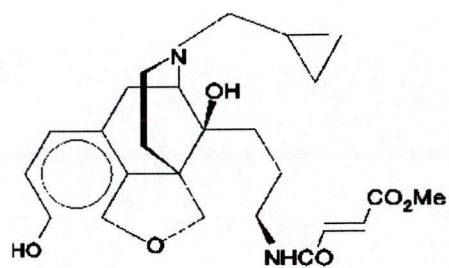


a: $R^3 = CH_3$
 b: $R^3 = H$

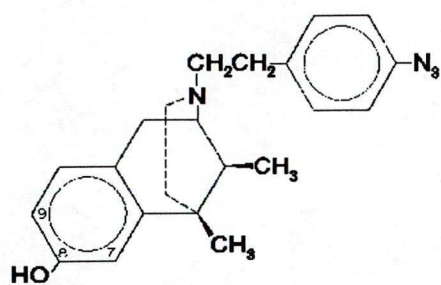
11



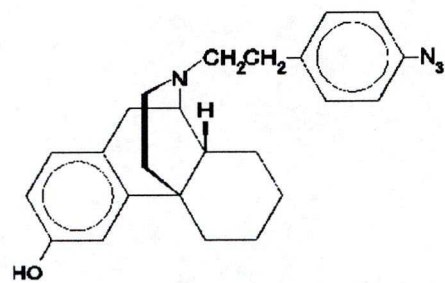
12



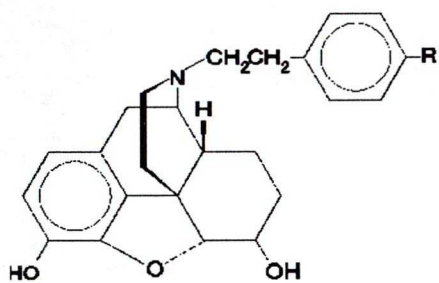
13



14

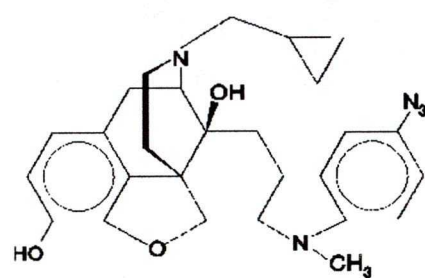


15

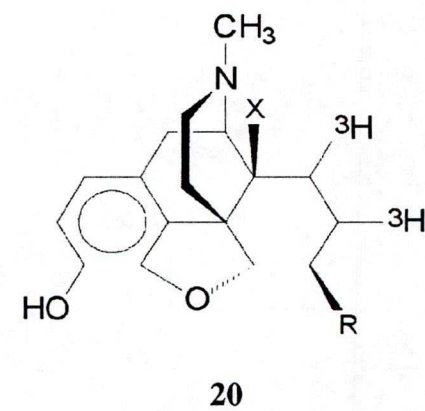
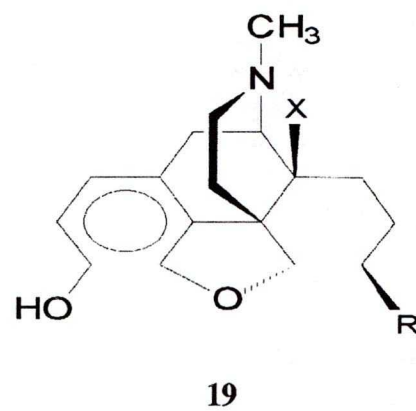
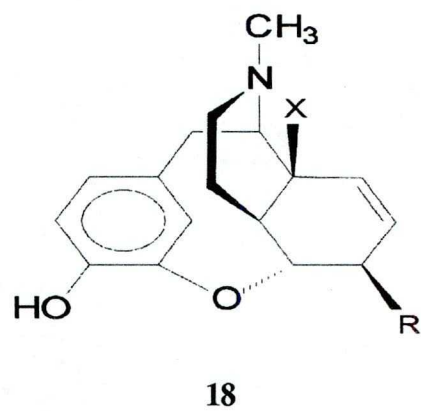


a: R = N₃
b: R = NH₂

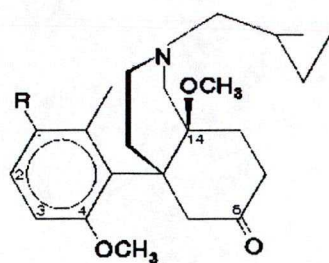
16



17

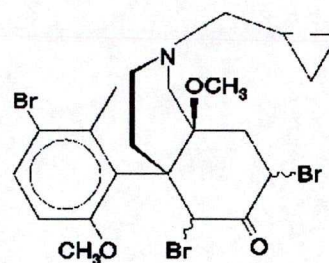


	X	R
a	H	NH ₂
b	H	(<i>E</i>)-NHC(O)CH=COOMe
c	H	NHC(O)CH ₂ Cl
d	OH	NH ₂
e	OH	(<i>E</i>)-NHC(O)CH=COOMe
f	OH	NHC(O)CH ₂ Cl



a: R=H (ciprodim)
b: R=Br
c: R=³H

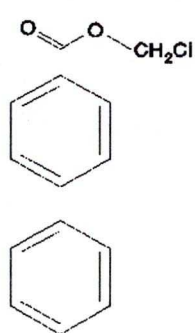
21



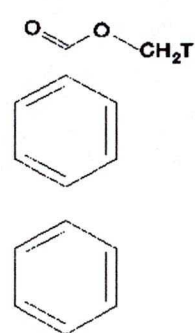
22



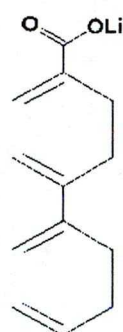
23



24



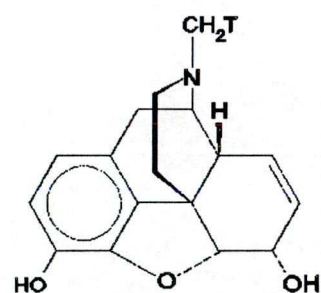
25



26

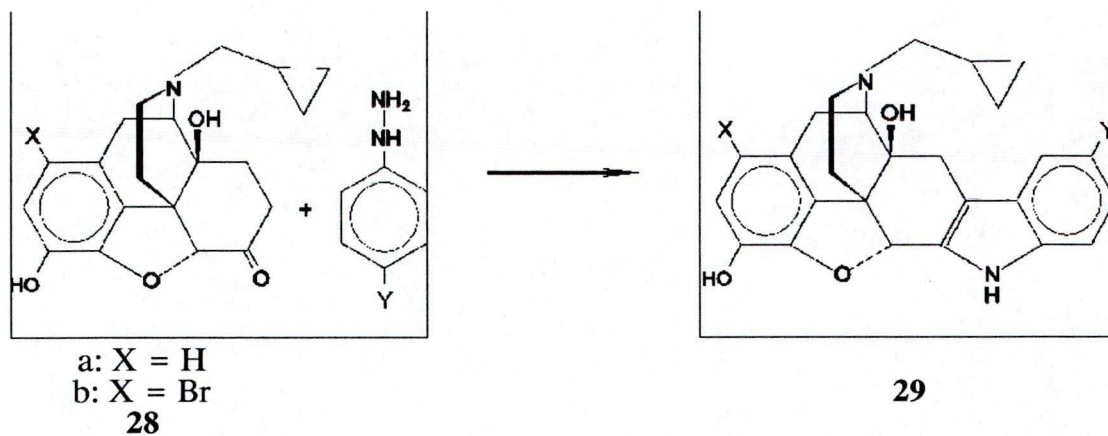
+ CH₂TI

normorfin

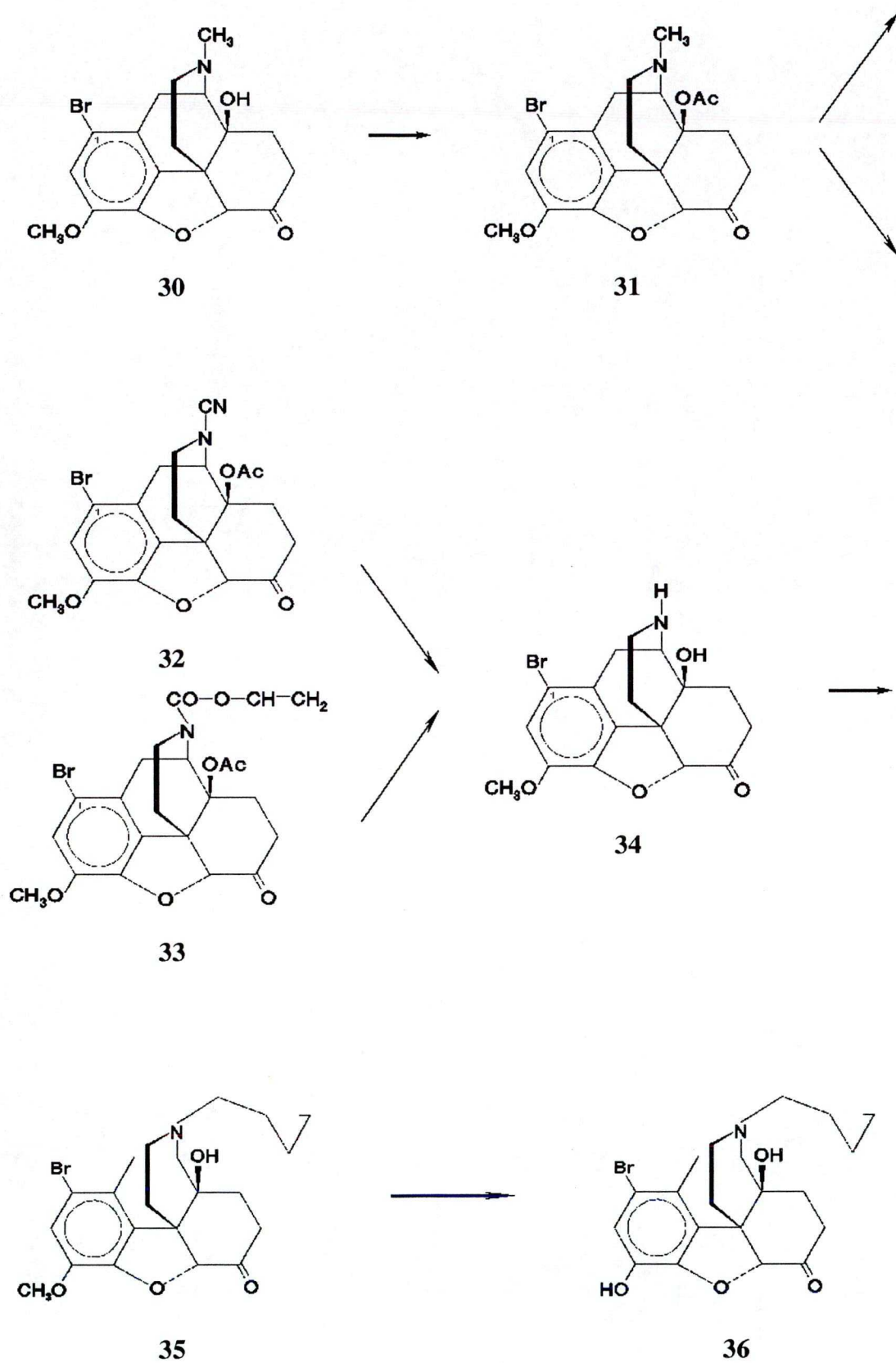


27

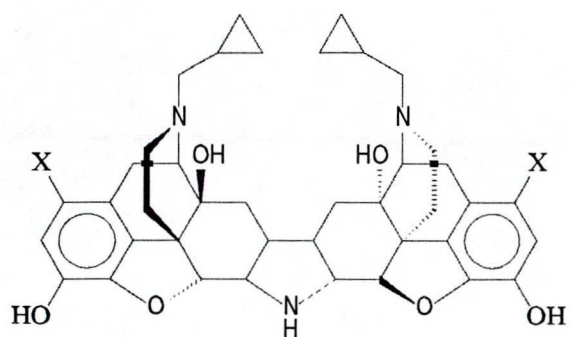
1. ábra



2. ábra



3. ábra

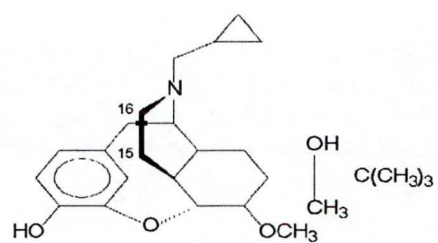


a: X = H

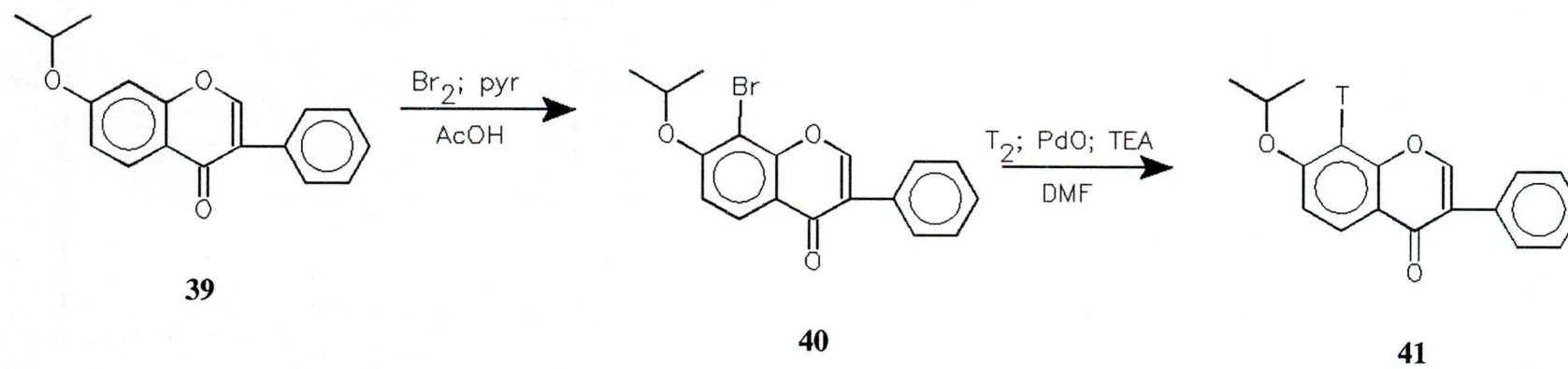
b: X = Br

c: X = ^3H

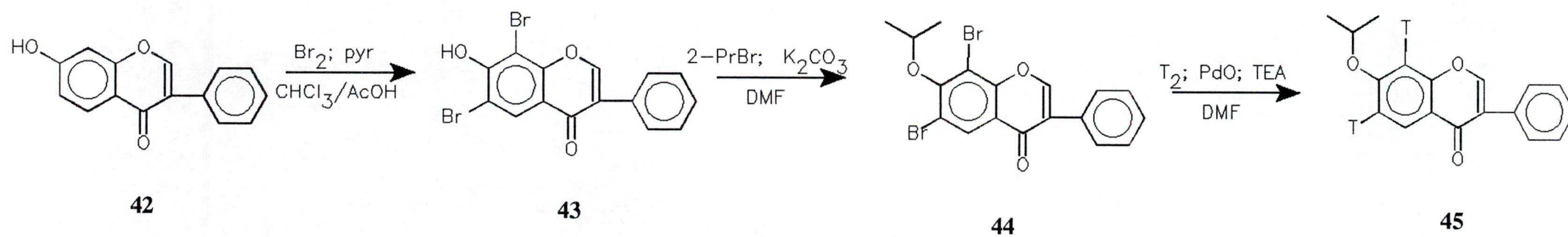
37



38



4. ábra



5. ábra

IRODALOMJEGYZÉK

1. Evans, E.A.; Hilary, C.S.; Turner, J.C.; Warrell, D.C.: J. Labelled Compounds 10, 569 (1974)
2. Evans, E.A.: "Tritium and its Compounds", Butterworths, London, 1974.
3. Tóth, G.; Sirokmán, F.: Izotóptechnika (Budapest) 24, 259 (1981)
4. Stanley, W.L.; Vannier, S.H.; Gentili, B.: J. Ass. Off. Agric. Chem. 40, 282 (1957)
5. Werner, G.; von der Heyde, O.: J. Label. Compd. 7, 232 (1971)
6. Fischman, J.; Norton, B.I.; Cotter, M.; Hahn, E.F.: J. Med. Chem. 17, 778 (1974)
7. Choudry, S.C.; Serico, L.; Cupano, J.; Malarek, D.H.; Malarek, A.A.: J. Label. Compd. Radiopharm. 27, 1403 (1989)
8. Duquette, P.H.; Peterson, F.J.; Crankshaw, D.L.; Lindemann, N.J.; Boltzman, J.L.: Drug metabolism and Disposition 11, 477 (1983)
9. Varga, É.; Tóth, G.; Benyhe, S.; Hosztafi, S.; Borsodi, A.: Life Sciences 40, 1579 (1987)
10. Simon, E.J.; Miller, J.M.; Edelman, J.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 1947 (1973)
11. Römer, D.; Buscher, H.; Hill, R.C.; Maurer, R.; Percher, T.J.; Welle, H.B.A.; Bakel, H.C.C.K.; Akkerman, A.M.: Life Sci. 27, 971 (1980)
12. Craviso, G.L.; Nodar, R.; Mussachio, J.M.: J. Liquid Chrom. 5, 2311 (1982)
13. Tóth, G.; Kramer, M.; Szűcs, M.; Benyhe, S.; Sirokmán, F.: Radiochem. Radioanal. Letters 56, 209 (1983)
14. Varga, É.; Hosztafi, S.; Borsodi, A.: Adv. in Biosci. 75, 391 (1989)
15. Pert, C.B.; Danks, J.A.; Channing, M.A.; Eckelman, W.C.; Larson, S.M.; Bennett, J.M.; Burke, T.R.; Rice, K.C.: FEBS Letters 177, 281 (1984)
16. Burke, T.R.; Rice, K.C.; Pert, C.B.: Heterocycles 23, 99 (1985)
17. Rothman, R.B.; McLean, S.; Bykov, V.; Lessor, R.A.; Jacobson, A.E.; Rice, K.C.; Holaday, J.W.: Eur. J. Pharmacol. 142, 73 (1987)

18. Rothman, R.B.; Bykov, V.; Rice, K.C.; Jacobson, A.E.; Kooper, G.N.; Bowen, W.D.: *Neuropeptides* 11, 1 (1988)
19. Fischman, J.; Cotter, M.L.; Norton, B.I.: *J. Med. Chem.* 16, 556 (1973)
20. Brine, G.A.; Kepler, J.A.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* 12, 401 (1976)
21. Filer, C.N.; Ahern, D.G.; Fazio, R.; Seguin, R.J.: *J. Org. Chem.* 46, 4968 (1981)
22. Tóth, G.; Kramer, M.; Sirokmán, F.; Borsodi, A.; Rónai, A.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* 19, 1021 (1982)
23. De Costa, B.R.; Bowen, W.D.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* 29, 443 (1991)
24. Winter, B.A.; Goldstein, A.: *Mol. Pharm.* 8, 601 (1972)
25. DeGraw, J.A.; Engstrom, J.S.: *J. Label. Compd.* 11, 233 (1975)
26. Cooper, G.K.; Rapoport, H.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* 22, 1201 (1985)
27. Galzi, J.-L.; Mejean, A.; Ilie, B.; Mollereau, C.; Meunier, J.-C.; Goeldner, M.; Hirth, C.: *J. Med. Chem.* 33, 2456 (1990)
28. Mejean, A.; Goeldner, M.; Hirth, C.: *Progress in Clin. Biol. Res.* 328, 101 (1990)
29. Tóth, G.; Lovas, S.; Ötvös, F.: *Tritium Labeling of Neuropeptides*. Irvine, G.B.; Williams, C.H. (szerk.): *Neuropeptide Protocols*, 219-237. The Humana Press Inc., Totowa, USA, 1996.
30. Oehlke, J.; Mittag, E.; Tóth, G.; Bienert, M.; Niedrich, H.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 24, 1483 (1987)
31. Zolotarev, Y.A.; Kozik, V.S.; Dorokhova, E.M.; Myasoedov, N.F.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 29, 997 (1991)
32. Nagren, K.; Franzén, H.M.; Ragnarsson, U.; Langström, B.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 25, 141 (1988)
33. Hellio, F.; Lecocq, G.; Morgat, J.L.; Gueguen, P.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 28, 991 (1990)
34. Tóth, G.; Sirokmán, F.: *Izotóptechnika (Budapest)* 24, 259 (1981)
35. Takemori, A.E.; Portoghese, P.S.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25, 193 (1985)

36. Bidlack, J.M.; Frey, D.K.; Kaplan, R.A.; Seyed-Mozaffary, A; Archer, S.: *Mol. Pharmacol.* **1990**, *37*, 50.
37. Portoghese, P.S.; Larson, D.L.; Jiang, J.B.; Caruso, T.P.; Takemori, A.E.: *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 168.
38. Caruso, T.P.; Takemori, A.E.; Larson, D.L.; Portoghese, P.S.: *Science*, **1979**, *204*, 316.
39. Portoghese, P.S.; Larson, D.L.; Sayre, L.M.; Fries, D.S.; Takemori, A.E.: *J. Med. Chem.* **23**, 233 (1980)
40. Schoenecker, J.W.; Takemori, A.E.; Portoghese, P.S.: *J. Med. Chem.* **29**, 1868 (1986)
41. Sayre, L.M.; Larson, D.L.; Fries, D.S.; Takemori, A.E.; Portoghese, P.S.: *J. Med. Chem.* **26**, 1229 (1983)
42. Schoenecker, J.W.; Takemori, A.E.; Portoghese, P.S.: *J. Med. Chem.* **30**, 1040 (1987)
43. Liu-Chen, L.Y.; Philips, C.A.: *Mol. Pharmacol.* **32**, 321 (1987)
44. Liu-Chen, L.Y.; Li, S.; Tallarida, R.J.: *Mol. Pharmacol.* **37**, 243 (1990)
45. Liu-Chen, L.Y.; Li, S.; Rohrbach, K.W.; Lewis, M.E.: *Prog. Clin. Biol. Res.* **328**, 61 (1990)
46. Vaughan, J.R.; Osato, R.L.: *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 676 (1952)
47. Anderson, G.W.; Zimmerman, J.E.; Callahan, F.M.: *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 1338 (1966)
48. Schmidhammer, H.; Burkard, W.P.; Eggstein-Aeppli, L.; Smith, C.F.C.: *J. Med. Chem.* **32**, 418 (1989)
49. Schmidhammer, H.: Trends in Medicinal Chemistry '88, (van der Goot, H.; Domany, G.; Pallos, L.; Timmerman, H.; szerk.), Elsevier Science Publishers B.V.; Amsterdam, 1989.
50. Ötvös, F.; Tóth, G.; Schmidhammer, H.: *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 1718.
51. Davies, S.G.; Pyatt, D.: *Heterocycles* **28**, 163 (1989)
52. Schwob, R.; Wuersch, J.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **14**, 355 (1978)
53. Saljoughian, M.; Morimoto, H.; Rapoport, H.: *J. Org. Chem.* **54**, 4689 (1989)

54. Saljoughian, M.; Morimoto, H.; Dorsky, A.M.; Rapoport, H.; Andres, H.; Tang, Y.S.; Susan, A.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **27**, 767 (1989)
55. Ulich, L.H.; Adams, R.: *J. Am. Chem. Soc.* **43**, 660 (1921)
56. Rogers, H.; Hayes, A.G.; Birch, P.J.; Traynor, J.R.; Lawrence, A.J.: *J. Pharm. Pharmacol.* **42**, 358 (1990)
57. Portoghese, P.S.; Sultana, M.; Takemori, A.E.: *J. Med. Chem.* **33**, 1714 (1990)
58. Abdelhamid, E.E.; Sultana, M.; Portoghese, P.S.; Takemori, A.E.: *J. Pharm. Exp. Ther.* **258**, 299 (1991)
59. Drower, E.J.; Stapelfeld, A.; Rafferty, M.F.; DE Costa, B.R.; Rice, K.C.; Hammond, D.L.: *J. Pharm. Exp. Ther.* **259**, 725 (1991)
60. F. Ötvös: Egyetemi doktori értekezés, József Attila Tudományegyetem, Szeged, 1992.
61. Yamamura, M.S.; Horvath, R.; Toth, G.; Otvos, F.; Malatynska, E.; Knapp, R.J.; Porreca, F.; Hruby, V.J.; Yamamura, H.I.: *Life Sci.* **50**, PL119-PL124 (1992)
62. Dorn, Clifford R.; Markos, Charles S.; Dappen, Michael S.; Pitzele, Barnett S.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **31**, 375 (1992)
63. 64. Davis, R.; Feldhaus, J.; Heveran, J.; Wicks, R.; Peckham, M.: *Clin. Chem.* **21**, 1498 (1975)
65. Mason, P.A.; Law, B.; Ardrey, R.E.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* **18**, 1497 (1981)
66. Speyer, E.; Sarre, K.: *Ber.* **57**, 1409 (1924)
67. Tóth, G.; Ötvös, F.; Hosztafi, S.: *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2274.
68. Borsodi, A.; Özdemirler, G.; Nevin, S.T.; Kabasakal, L.; Ötvös, F.; Tóth, G.: *British J. Pharmacol.* **1993**, 109, 17.
69. Portoghese, P.S.; Lipkowski, A.W.; Takemori, A.E.: *Life Sci.* **1987**, 40, 1287.
70. Portoghese, P.S.; Nagase, H.; Lipkowski, A.W.; Larson, D.L.; Takemori, A.E.: *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 836.
71. Mello, N.K.; Mendelson, J.H.: *Science* **1980**, 207, 657.
72. Johnson, R.E.; Jaffe, J.H.; Fudala, P.J.: *JAMA* **1992**, 267, 2750.
73. Richards, M.L.; Sadee, W.: *Pharm. Res.* **1985**, 2, 178.

74. Leander, J.D.: *Neuropharmacology* **1987**, 26, 1445.
75. Belcheva, M.M.; Barg, J.; McHale, R.J.; Dawn, S.; Ho, M.T.; Ignatova, E.; Coscia, C.J.: *Mol. Pharmacol.* **1993**, 44, 173.
76. Villiger, J.W.; Taylor, K.M.: *Life Sci.* **1981**, 29, 2699.
77. Lewis, J.W.; Rance, M.J.; Young, G.R.: *J. Med. Chem.* **1974**, 17, 465.
78. Rance, M.J.; Robinson, J.D.; Taylor, K.T.: *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1976**, 12, 467.
79. Haddelsey, D.I.; Lewis, J.W.; Mayor, P.A.; Young, G.R.: *J. Chem. Soc., Perkin I.* **1972**, 872.
80. Ötvös, F.; Tóth, G.; Simon, Cs.; Hosztafi, S.; Benyhe, S.: *Izotóptechnika (Budapest)*, **1994**, 37, 193.
81. A. Bossányi, L. Bucsí, *Magyar Traumatológia*, **1989**, 32, 109; D. Agnusdei, F. Zacchei, S. Bigazzi, C. Cepollaro, P. Nardi, M. Montagnani, C. Gennari, *Drug Exptl. Clin. Res.* **1989**, 15, 97; K. Hirohata, K. Mizuno, S. Myazaki, K. Watanabe, S. Nishi, *Jpn. Pharmacol. Ther.* **1985**, 13, 7373; T. Matsunaga, M. Tsuneda, M. Nojiri, M. Shirai, Y. Akobashi, *Jpn. Pharmacol. Ther.* **1985**, 13, 7389.
82. Y. Yamazaki, *Life Sci. (U.S.A.)* **1985**, 38, 951.
83. I. Uemura, Y. Hirano, *Jpn. Pharmacol. Ther.* **1985**, 13, 95.
84. T. Fujita, S. Tsuboi, M. Nakata, M. Takenaka, *Tissue Int. (Germany)* **1981**, 33, 293.
85. N.K. Chudgar, N.V. Mani, S. Sethna, *J. Inst. Chem. (India)*, **1967**, 39, 203.
86. D. Chakravarti, S. Chakraborty, N. Chakravarti, N. Roy, *Science and Culture*, **1962**, 28, 242.
87. K. Venkataraman, P.C. Joshi, *J. Chem. Soc.* **1934**, 513.
88. N.K. Roy, N.N. Chakravarti, *J. Indian Chem. Soc.* **1963**, 40, 601.
89. A.K. Ingberman, *Anal. Chem.* **1958**, 1003.

90. R.A. Micheli, A.N. Booth, A.L. Livingston, E.M. Bickoff, *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, 5, 321.
91. A. Pelter, P.I. Amenechi, *J. Chem. Soc. (C)*, **1969**, 887.
92. Erspamer, V.; Melchiorri, P.; Falconieri-Erspamer, G.; Negri, L.; Corsi, R.; Severini, C.; Barra, O.; Simmaco, M.; Kreil, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 5188.
93. Sasaki, Y.; Ambo, A.; Suzuki, K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, 180, 822.
94. Tóth, G.; Ötvös, F.; Soós, K.; Havlicek, L.; Búzás, B.; Borsodi, A.: *Peptides* 1992, pp. 653-654. (ESCOM Science publishers B.V., **1993**)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A dolgozatban leírt szintetikus munka része annak a radioaktív jelölés-sorozatnak, amely Dr. Tóth Géza tudományos főmunkatárs kezdeményezésére, a hazai opioid receptorkutatás támogatására kezdődött az MTA Szegedi Biológiai Központjában az Alkaloida Vegyészeti Gyár együttműködésével, majd a Tucsoni Egyetem (USA, Arizona) és az Innsbrucki Egyetem (Ausztria) különböző csoportjainak részvételével nemzetközi szintűvé szélesedett.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Tóth Géza tudományos főmunkatársnak, hogy lehetővé tette dolgozatom elkészítését. Külön köszönöm, hogy munkámat a kísérletekben való részvételével és hasznos tanácsaival egyaránt segítette.

Köszönöm Dr. Hosztafi Sándornak, az Alkaloida Vegyészeti Gyár kutatójának értékes tanácsait és a közös kutatásban végzett lelkiismeretes munkáját. Köszönöm az Alkaloida Vegyészeti Gyár anyagi támogatását is.

Köszönet illeti Dr. Helmut Schmidhammert, az Innsbrucki Egyetem kutatóját a ciprodin jelölésében nyújtott segítségért, és Dr. Henry Yamamura-t, a Tucsoni Egyetem kutatóját a jelzett naltrindollal elvégzett biológiai tesztek eredményeiért.

Köszönöm Dr. Borsodi Annának és az MTA SzBK Biokémiai Intézete Opioid Receptor Munkacsoportja dolgozóinak a jelzett anyagokkal elvégzett receptorkötési vizsgálatok naprakész eredményeit.

Köszönetet mondok Dr. Lovas Sándornak és Dr. Richard R. Murphy-nek, hogy a tézisek megírását számomra lehetővé tették.

Külön köszönet illeti az MTA SzBK "B" szintű Izotóp Laboratóriumának valamennyi munkatársát a kísérletek elvégzésében nyújtott segítségükért és az értekezés összeállítása során tett hasznos kritikai észrevételekért.