

SYNTEZA POCHODNYCH DIBENZO[*B,F*]OKSEPINY PODSTAWIONYCH W PIERŚCIENIU AROMATYCZNYM

SYNTHESIS OF DIBENZO[*B,F*]OXEPINE DERIVATIVES SUBSTITUTED IN THE AROMATIC RING

Piotr Tobiasz*, Hanna Krawczyk

*Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Organicznej, Politechnika Warszawska
ul. S. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa
e-mail: ptobiasz@ch.pw.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Dibenzo[*b,f*]oksepiny

1.1. Właściwości dibenzo[*b,f*]oksepin

2. Fotofarmakologia

2.1. Koncepcja fotofarmakologii

2.2. Fotofarmakologia a leki konwencjonalne

2.3. Fotochromowe przełączniki molekularne

3. Synteza związków azowych zbudowanych ze szkieletu
dibenzo[*b,f*]oksepiny

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Piotr Tobiasz jest doktorantem w Szkole Doktorskiej nr 1 w Politechnice Warszawskiej. Ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, gdzie uzyskał stopień inżyniera w 2018 r. oraz stopień magistra w 2019 r. w specjalności Chemia Medyczna. W 2019 roku zajął IV miejsce w konkursie Złoty Medal Chemii organizowany przez Instytut Chemii Fizycznej PAN oraz firmę DuPont. W 2020 roku zajął I miejsce w konkursie PTChem (nagroda za wyróżnioną pracę magisterską). Od 2019 roku prowadzi projekt w ramach programu „Diamentowy Grant”. Jego zainteresowania naukowe dotyczą syntezy pochodnych stilbenu i dibenzo[*b,f*]oksepy z potencjalnym wykorzystaniem w np. terapii chorób nowotworowych.



<https://orcid.org/0000-0002-6609-9985>

Dr hab. inż. Hanna Krawczyk, prof. uczelni, pracuje w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej. Zagadnienia ją interesujące dotyczą syntezy oraz analizy struktury związków występujących w różnych chorobach metabolicznych i nowotworowych. W swoich badaniach wykorzystuje, oprócz różnych technik spektroskopowych, obliczenia kwantowo-mechaniczne.



<https://orcid.org/0000-0003-1673-5864>

ABSTRACT

Stilbene derivatives are characterized by many beneficial biomedical properties. They show, inter alia, chemopreventive [28], anti-inflammatory and antioxidant properties [29]. One of the most popular stilbene derivatives are combretastatins, which can inhibit the polymerization process of microtubules [30]. Another stilbene derivative is, for instance, resveratrol, which is characterized by wide anti-cancer properties [31].

Dibenzo[*b,f*]oxepines also show advantageous and interesting biomedical properties. These compounds are stilbene analogs in which the two aromatic rings bond with each other with a vinyl bridge and an oxygen atom. Many dibenzo[*b,f*]oxepines have strong antipsychotic, anti-inflammatory, anti-depressant, insecticidal, anti-epileptic and anticancer properties [5].

Stilbenes and their precursors – oxepines, can be derived from azo compounds that are potential molecular photoswitches. These photoswitches are used in the so-called photopharmacology. The scope of photopharmacology is designing, synthesis, studying and using drugs, which activity can be controlled by light. The purpose of photopharmacology is also to solve the problem of off-target activity and severe side effects by establishing an external modality for controlling the action of the drug. The use of such drugs in treatment could prevent systemic and environmental side effects through the selective activation of them at the molecular target [1].

These molecular photoswitches based on oxepine ring could be extremely useful in photopharmacological therapy. The combination of azo group changing its configuration with the dibenzo[*b,f*]oxepine group should lead to the creation of interesting compounds. This is a promising combination of the medical properties of this bioactive compound with the function of the molecular photoswitch.

A method of the synthesis of a series of azo dibenzo[*b,f*]oxepine derivatives was developed and implemented. Synthesized compounds can be used in the future as potential molecular photoswitches. For this purpose, a 4-step synthesis was conducted, starting from the simplest substrates – a benzaldehyde derivative and 2,4-dinitrotoluene (**schem. 1**).

Keywords: stilbenes, dibenzo[*b,f*]oxepines, photopharmacology, molecular photoswitches, azo compounds

Słowa kluczowe: stilbeny, dibenzo[*b,f*]oksepiny, fotofarmakologia, fotochromowe przełączniki molekularne, związki azowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

2,4-DNT	– 2,4-dinitrotoluen
COSY	– dwuwymiarowe widmo korelacyjne (ang. <i>Correlation Spectroscopy</i>)
DBU	– 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DCM	– dichlorometan
DMF	– N,N-dimetyloformamid
DMSO	– dimetylosulfotlenek
HMBC	– korelacyjne widmo 2D (ang. <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HSQC	– korelacyjne widmo 2D (ang. <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>)
Me	– grupa metylowa
NBS	– N-bromosukcynoimid
rt	– temperatura pokojowa
TLC	– chromatografia cienkowarstwowa

WPROWADZENIE

Jedną z głównych form leczenia chorób, występujących wśród ludzi, jest terapia farmakologiczna. Polega ona na działaniu substancją aktywną biologicznie na określony cel molekularny, znajdujący się w organizmie człowieka. Związki aktywne biologicznie odpowiedzialne są za efekt biologiczny, gdyż ulegają interakcji z celami molekularnymi takimi jak np. receptory, enzymy, kanały jonowe czy też cząsteczki nośnika. Związki te tworzą z nimi szereg wiązań. Terapia farmakologiczna, zwana również farmakoterapią, jest jednak często utrudniona przez niską selektywność leków. Skutkuje to pojawieniem się oporności wśród szczepów bakterii chorobotwórczych oraz ogólnoustrojową toksycznością. Prowadzi to w efekcie do niepożądanych skutków ubocznych [1]. Niska selektywność związków aktywnych wywołana jest w głównej mierze przez brak kontroli aktywności takiego leku w czasie i przestrzeni. Prowadzi to do poszukiwania nowych metod terapeutycznych, które mogą zapewnić kontrolę nad precyzją i dynamiką działania związków aktywnych biologicznie.

Jedną z takich nowoczesnych metod jest fotofarmakologia. Zajmuje się projektowaniem, badaniem, syntezą a także stosowaniem leków, których aktywność można kontrolować za pomocą promieniowania elektromagnetycznego (światła widzialnego). Fotofarmakologia stanowi sposób rozwiązania aktywności leku poza miejscem docelowym (celem molekularnym) oraz jest sposobem uniknięcia skutków ubocznych. Jest to możliwe dzięki kontrolowaniu aktywności terapeutyku z zewnątrz organizmu. Stosowanie takich środków do leczenia mogłoby zapobiec efektom ubocznym poprzez selektywną aktywację leków w miejscu docelowym [1]. Związkami stosowanymi w fotofarmakologii są tzw. fotochromowe przełączniki molekularne. Fotofarmakologia zajmuje się poszukiwaniem połączeń pomiędzy działaniem takich fotochromowych przełączników molekularnych, a strukturą aktywnych biologicznie substancji. Należy podkreślić, że jest to metoda, która jest dopiero w fazie rozwoju.

Przełączniki molekularne charakteryzują się tym, że są zdolne do odwracalnego przejścia między minimum dwoma termodynamicznie stabilnymi stanami. Wśród wielu rodzajów przełączników molekularnych można wyróżnić m.in. wcześniej wspomniane fotochromowe przełączniki molekularne. W tych związkach przejście pomiędzy dwoma stanami zachodzi pod wpływem światła. Reakcje te nazywają się reakcjami fotoizomeryzacji. Najbardziej powszechne reakcje fotoizomeryzacji zachodzą w związkach posiadających nienasycone wiązanie olefinowe ($-C=C-$) lub grupę azową ($-N=N-$). Ugrupowania te charakteryzują się tym, że posiadają dwa izomery geometryczne – *E* (gdzie podstawniki znajdują się po różnych stronach płaszczyzny) i *Z* (gdzie podstawniki znajdują się po tej samej stronie płaszczyzny). Napromieniowanie światłem o odpowiedniej długości fali może spowodować zmianę konfiguracji *E/Z* w tych cząsteczkach. Związki te można również wykorzystywać do wprowadzania leków do zakażonych komórek. Może się to odbywać np. poprzez wbudowanie cząsteczki w kanał błonowy, a następnie otwarcie tego kanału w komórce

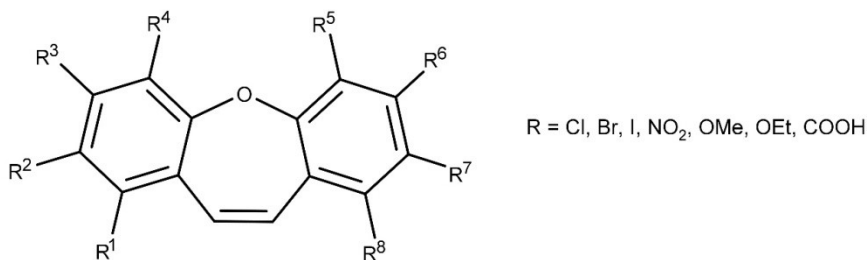
pod wpływem światła i wprowadzenie leku. Otwarcie takiego kanału polega na zmianie konfiguracji *E/Z* wiązania podwójnego w fotochromowym przełączniku molekularnym wbudowanym w kanał błonowy. Synteza takich światłoczułych cząsteczek – fotochromowych przełączników molekularnych – umożliwia odwracalną regulację ich struktury, a co za tym idzie, kontrolę ich właściwości za pomocą światła [2].

Zarówno pochodne stilbenu jak i dibenzo[*b,f*]oksepiny znane są ze swoich interesujących właściwości biomedycznych. Dibenzo[*b,f*]oksepiny są to związki które posiadają w swoim szkielecie motyw (*Z*)-stilbenu, a dodatkowo ich pierścienie aromatyczne są połączone tlenem. Pochodne stilbenu posiadają właściwości przeciwwirusowe, antyoksydacyjne, przeciwwgrzybicze czy też przeciwbakteryjne. Charakteryzuje je również zdolność do opóźniania rozwoju nowotworów [3] – taką cechą wykazuje np. resweratrol. Wśród innych pochodnych stilbenu można wyróżnić chociażby kombretastatyny, które charakteryzują się tym, że hamują proces polimeryzacji mikrotubul – głównego składnika cytoszkieletu komórek eukariotycznych. Prowadzi to do śmierci komórki np. komórki rakowej [4]. Dibenzo[*b,f*]oksepiny natomiast wykazują silne właściwości przeciwwzapalne, antypsychotyczne, owadobójcze, przeciwpadaczkowe czy też przeciwddepresyjne [5].

Można oczekiwać, że przez połączenie funkcji fotochromowego przełącznika molekularnego z właściwościami medycznymi dibenzo[*b,f*]oksepiny powstaną nowe „przełączalne” cząsteczki o oczekiwanych właściwościach. W niniejszej pracy przedstawiono opracowaną metodę oraz zrealizowaną syntezę szeregu azowych pochodnych dibenzo[*b,f*]oksepiny, które mogą być w przyszłości wykorzystane jako potencjalne fotochromowe przełączniki molekularne. Przeprowadzono także analizę strukturalną otrzymanych związków. Spośród wielu grup zmieniających swoją konfigurację pod wpływem światła wybrano ugrupowanie azowe ze względu na jego charakterystyczną właściwość absorpcji światła w zakresie od 650 do 900 nm. Zakres ten jest w przedziale pomiędzy absorpcją promieniowania widzialnego przez hemoglobinę a absorpcją promieniowania przez wodę [1]. Prowadzi to do tego, że takie światło może docierać głębiej do tkanek.

1. DIBENZO[*B,F*]OKSEPINY

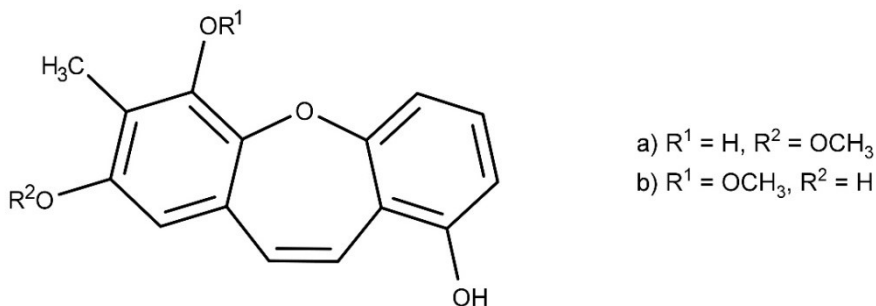
Dibenzo[*b,f*]oksepiny są to związki które posiadają w swoim szkielecie motyw (*Z*)-stilbenu, a dodatkowo ich pierścienie aromatyczne są połączone tlenem (**rys. 1**). Jak już wspomniano wykazują wiele interesujących właściwości biomedycznych.



Rysunek 1. Struktura pochodnych dibenzo[*b,f*]oksepiny
Figure 1. Structure of dibenzo[*b,f*]oxepine derivatives

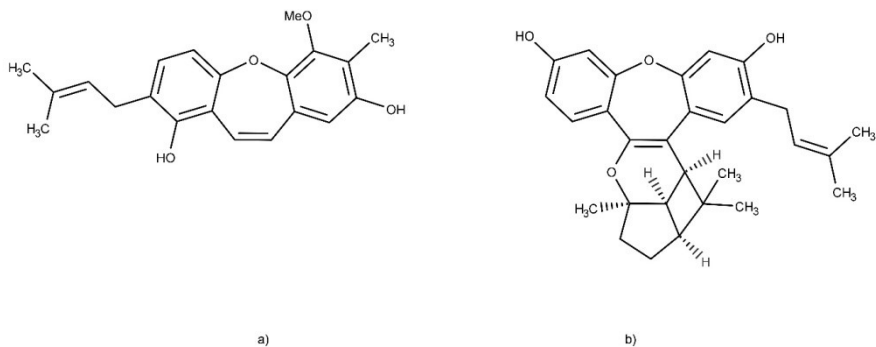
1.1. WŁAŚCIWOŚCI DIBENZO[*b,f*]OKSEPIN

Dibenzo[*b,f*]oksepiny pod względem swojej struktury przypominają (*Z*)-stilben, dlatego przypuszcza się, że dzięki temu wiele ich właściwości biomedycznych pokrywa się z właściwościami stilbenów. Jednymi z najpopularniejszych przykładów cząsteczek należących do tej klasy związków są pacharyna (8-metoksy-7-metylodibenzo[*b,f*]oksepino-1,6-diol) oraz bauhiniastatyna (6-metoksy-7-metylodibenzo[*b,f*]oksepino-1,8-diol) (rys. 2). Po raz pierwszy wyizolowano je z rośliny o nazwie *Bauhinia purpurea*. Rośliny z rodzaju bauhinia często stosuje się w niekonwencjonalnym leczeniu raka u ludzi w Indiach i Afryce. Pacharyna oraz bauhiniastatyna są zdolne do znacznego hamowania rozrostu komórek nowotworowych [5, 6].



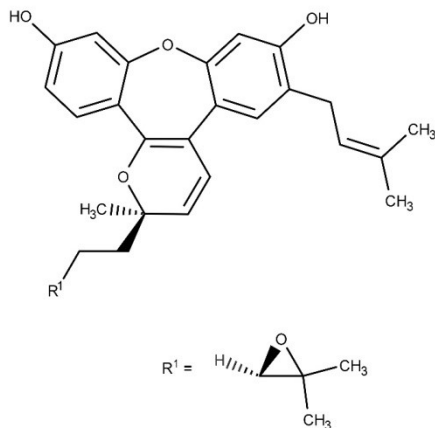
Rysunek 2. Struktura pacharyny (a) i bauhiniastatyny (b)
Figure 2. Structure of pacharin (a) and bauhinistatin (b)

Wymienione wcześniej związki są analogami strukturalnymi bauhinoxepinu B oraz artocarpolu A (**rys. 3**) – cząsteczek również należących do klasy dibenzo[*b,f*]oksepin. Wykazują one odpowiednio właściwości przeciwgrzybicze i przeciwzapalne [5].



Rysunek 3. Struktura bauhinoxepinu B (a) i artocarpolu A (b)
Figure 3. Structure of bauhinoxepin B (a) and artocarpol A (b)

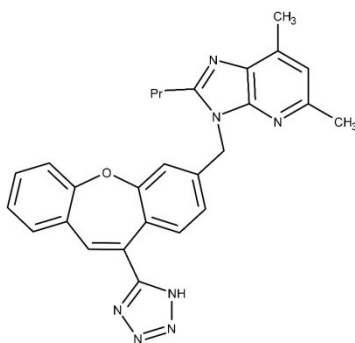
Pochodną artocarpolu A jest natomiast artocarpol G (**rys. 4**), który, jak dowiedziono, silnie hamuje uwalnianie β -glukoronidazy i histaminy pochodzących z degranulacji komórek tucznych [7].



Rysunek 4. Struktura artocarpolu G
Figure 4. Structure of artocarpol G

Podstawione dibenzo[*b,f*]oksepiry charakteryzują się tym, że wykazują silne właściwości antypsychotyczne [5, 8, 9], przeciwzapalne [5, 10], przeciwdepresyjne [5, 11], owadobójcze [5, 12], przeciwpadaczkowe [5, 13] czy też antyhipertensyjne [5].

Do interesujących związków należących do klasy dibenzo[*b,f*]oksepin można zdecydowanie zaliczyć związek będący antagonistą receptora AII (angiotensyny II) (**rys. 5**). Angiotensyna II jest to hormon peptydowy powodujący wzrost ciśnienia tętniczego co prowadzi do uszkodzenia naczyń krwionośnych i serca. Antagoniści tego hormonu łączą się z tzw. receptorami angiotensynowymi, dzięki czemu blokują połączenie samej angiotensyny II z tymi receptorami. W wyniku tego związek ten może mieć właściwości regulujące poziom elektrolitów w organizmie oraz właściwości regulujące ciśnienie krwi [13].



Rysunek 5. Struktura antagonisty AII
Figure 5. Structure of AII antagonist

2. FOTOFARMAKOLOGIA

W obecnie stosowanych terapiach medycznych najczęściej wykorzystuje się związki bioaktywne, które są zdolne do wywoływania odpowiedzi farmakologicznej poprzez oddziaływanie z odpowiednimi celami molekularnymi takimi jak np. kanały jonowe, enzymy, receptory czy też cząsteczki nośnika [14]. Terapia ta, zwana farmakoterapią, jest jednak często utrudniona co wynika z niskiej selektywności leków, które powodują ogólnoustrojową toksyczność a także pojawianie się oporności wśród szczepów bakterii chorobotwórczych. Powoduje to wiele niepożądanych skutków ubocznych [2]. Ogranicza to również skuteczność działania leku w miejscu docelowym [15].

Niska selektywność leków w miejscu docelowym wywołana jest głównie przez brak kontroli aktywności takiego leku w czasie i przestrzeni. Bardzo często osiągnięcie wysokiej selektywności jest po prostu niemożliwe. Wynika to z faktu,

że miejsca docelowe rozprzestrzenione są po całym organizmie – zarówno w tkankach chorych jak i zdrowych [16].

Jako przykład można podać receptor naskórkowego czynnika wzrostu – EGFR. Jest on nadekspresjonowany w raku głowy i szyi, ale także znajduje się w zdrowych komórkach nabłonka [17]. Innym przykładem są chociażby cytotoksyczne środki przeciwnowotworowe takie jak taksany czy alkaloidy barwinka różyczkowego (*Vinca rosea*). Stosuje się je szeroko w terapii różnego rodzaju nowotworów, ale znane są z niskiej selektywności, co powoduje wiele skutków ubocznych. Ich działanie polega na „osłabianiu” procesu mitozy [18], co niestety wpływa również na zdrowe, prawidłowo dzielące się komórki. Powoduje to niepożądane skutki takie jak: zapalenie błony śluzowej [19], wypadanie włosów [20] i niedokrwistość [21].

Niska selektywność stosowanych leków zmniejsza również graniczny poziom toksyczności, co prowadzi do zawężenia okna terapeutycznego (zakres stężenia leku w surowicy, w którym skuteczność kliniczna jest największa, a niepożądane działania uboczne najmniejsze z możliwych). Skutkiem tego jest zmniejszenie dopuszczalnej dawki leku i niewykorzystanie pełnego potencjału leku [22]. Obecnie ponad 85% terapeutyków o niskiej masie cząsteczkowej [23] odrzuca się już w fazie badań klinicznych z powodu ich ograniczonego okna terapeutycznego.

Dlatego też niezwykle ważne jest poszukiwanie metod, dzięki którym aktywacja terapeutyku w miejscu docelowym będzie prowadzona w sposób selektywny, a także w określonym czasie. Nieustannie poszukuje się metod terapii, które mogłyby zapewnić kontrolę nad dynamiką oraz precyzją działania aktywnych związków. Jedną z takich metod jest fotofarmakologia.

2.1. KONCEPCJA FOTOFARMAKOLOGII

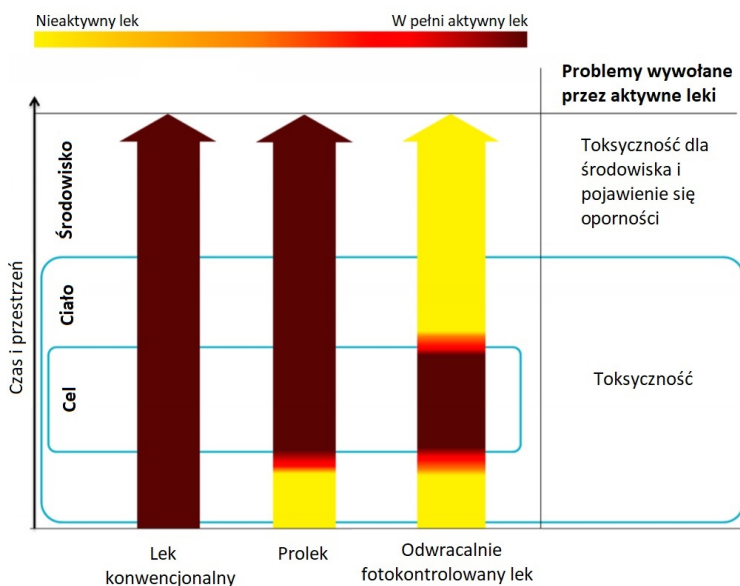
Fotofarmakologia zajmuje się projektowaniem, badaniem, syntezą a także stosowaniem leków, których aktywność można kontrolować za pomocą światła widzialnego. Stanowi ona sposób rozwiązania problemu aktywności leku poza miejscem docelowym oraz sposób uniknięcia skutków ubocznych. Jest to możliwe dzięki kontrolowaniu aktywności takiego leku z zewnątrz organizmu. Fotofarmakologia pozwala zapobiec efektom ubocznym, co wynika z selektywnej aktywacji terapeutyków w miejscu docelowym [1].

W celu aktywacji związków aktywnych fotofarmakologia wykorzystuje promieniowanie widzialne. Światło jest znakomitym czynnikiem wpływającym na molekuły. Wykazuje ono wielki stopień ortogonalności w stosunku do większości elementów systemów biochemicznych. Fotony mają znikomą toksyczność i nie powodują zanieczyszczenia badanego obiektu. Poza tym światło może być dostarczane z bardzo wysoką precyzją przestrzenną i czasową, co ma ogromne znaczenie w kontrolowaniu działania związków aktywnych biologicznie. Światło

można również łatwo regulować w sposób zarówno jakościowy jak i ilościowy poprzez regulowanie intensywności i długości fali [2]. Podsumowując – światło oferuje wysoki poziom rozdzielczości czasoprzestrzennej. Przy odpowiednich długościach fal jest nieinwazyjne. Nie powoduje również zanieczyszczeń próbki, jest więc pożądanym czynnikiem do zewnętrznej aktywacji cząsteczek [24].

2.2. FOTOFARMAKOLOGIA A LEKI KONWENCJONALNE

Poniższy rysunek (rys. 6) przedstawia zestawienie aktywności leku w czasie i przestrzeni dla a) konwencjonalnego leku, b) proleku i c) odwracalnie fotokontrolowanego leku. Jak można zauważyć, w przypadku leków konwencjonalnych aktywność takiego terapeutyku jest obecna w całym ciele pacjenta w czasie, gdy lek jest tam obecny. Powoduje to wiele działań niepożądanych – po wydaleniu, nagromadzenie takiego terapeutyku może mieć negatywny wpływ na środowisku a także prowadzić do powstawania patogenów lekoopornych. Część działań niepożądanych można uniknąć stosując tzw. proleki, które charakteryzują się tym, że uwalniają substancję czynną w określonym etapie. Jednak niepożądane skutki uboczne oraz efekt gromadzenia się leków w środowisku można całkowicie usunąć, stosując leki, których aktywność można odwracalnie kontrolować w czasie i przestrzeni [2].



Rysunek 6. Porównanie aktywności leku w czasie i przestrzeni dla a) konwencjonalnego leku, b) proleku oraz c) odwracalnie fotokontrolowanego leku (na podstawie [2])

Figure 6. Comparison of the drug activity over time and space for a) a conventional drug, b) a prodrug and c) a reversibly photocontrolled drug (based on [2])

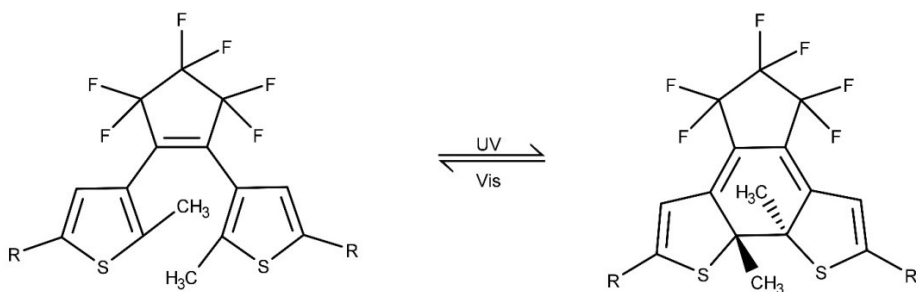
2.3. FOTOCHROMOWE PRZEŁĄCZNIKI MOLEKULARNE

Związkami stosowanymi w fotofarmakologii są tzw. fotochromowe przełączniki molekularne. Są to cząsteczki, która są zdolne do odwracalnego „przełączania się” pomiędzy minimum dwoma termodynamicznie stabilnymi stanami. Takie przejście (przełączenie) może być spowodowane przez wiele czynników: zmianę temperatury, pH, długości fali światła zdolnego do oddziaływania z molekułą i natężenia prądu [25]. Każdy z termodynamicznie stabilnych stanów posiada odmienną budowę cząsteczki, a więc różnią się one od siebie właściwościami zarówno chemicznymi jak i fizycznymi.

W przypadku fotochromowych przełączników molekularnych przejście między jednym a drugim stanem zachodzi pod wpływem światła. I właśnie takie związki stosowane są w szeroko rozumianej fotofarmakologii. Są to bioaktywne cząsteczki, które są zdolne do zmiany stanu, a więc i zmiany struktury, pod wpływem światła [1, 2, 24]. Właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne takich związków są bezpośrednio związane z ich strukturą. Fotoindukowana zmiana ich struktury może prowadzić do zmiany właściwości terapeutycznych [1].

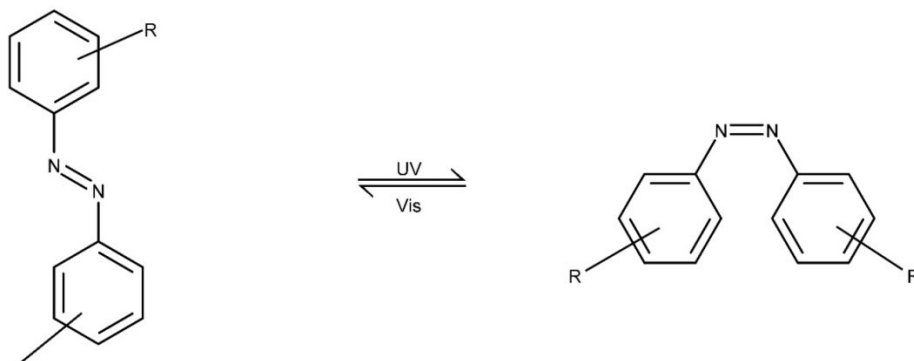
Fotochromowe przełączniki molekularne występują także w naturze. Jak powszechnie wiadomo proces fotosyntezy jest wywoływany światłem [24, 26]. Chromofor w strukturze białka absorbuje foton, co skutkuje zmianą konformacji przyłączonego białka. Procesy te są całkowicie odwracalne, a chromofory mogą się przełączać pomiędzy dwoma lub większą liczbą form izomerycznych [24, 27].

Przejście między dwoma stanami takiego fotochromowego przełącznika może zachodzić na wiele sposobów. Jednymi z najpopularniejszych mechanizmów takiego procesu jest otwieranie/zamykanie pierścienia (**rys. 7**) oraz zmiana konfiguracji *E/Z* (**rys. 8**).



Rysunek 7. Mechanizm przejścia pomiędzy dwoma stanami zachodzący poprzez elektrocykliczną reakcję zamykania/otwierania pierścienia

Figure 7. Mechanism of the switch between two states through the electrocyclic reaction of closing/opening of the ring



Rysunek 8. Mechanizm przejścia pomiędzy dwoma stanami poprzez zmianę konfiguracji *E/Z*
 Figure 8. Mechanism of the switch between two states through the change of the *E/Z* configuration

Reakcje izomeryzacji indukowane światłem najczęściej występują w związkach zawierających wiązanie olefinowe ($-C=C-$) lub ugrupowanie azowe ($-N=N-$). Mechanizm takich reakcji polega na zmianie konfiguracji *E/Z* wiązania podwójnego. Ugrupowanie azowe dodatkowo posiada charakterystyczną właściwość absorpcji światła w zakresie od 650 do 900 nm. Jest w przedziale pomiędzy zakresem absorpcji światła przez wodę a zakresem absorpcji przez hemoglobinę [1]. Konsekwencją tego jest to, że światło może docierać głębiej do tkanek, ponieważ nie jest absorbowane przez te związki.

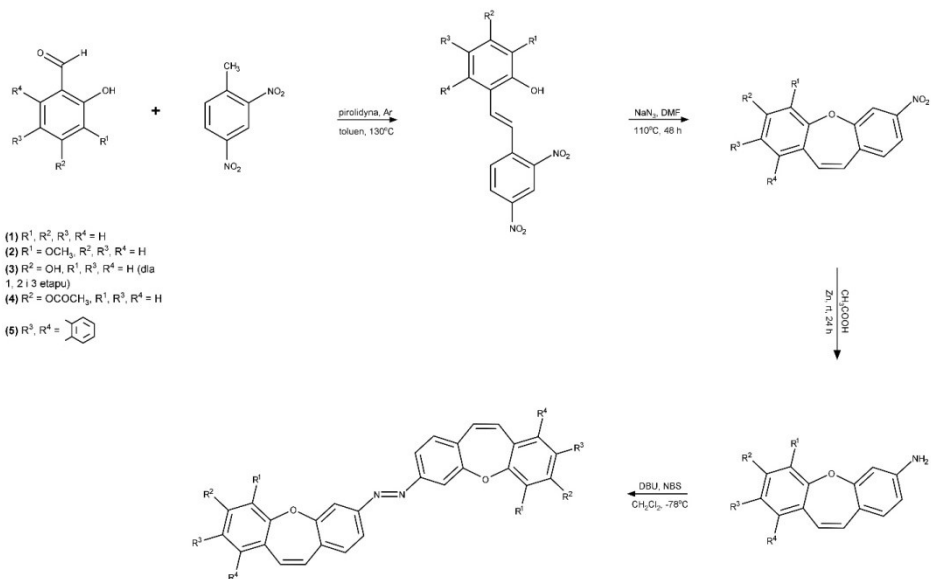
3. SYNTEZA ZWIĄZKÓW AZOWYCH ZBUDOWANYCH ZE SZKIELETU DIBENZO[*b,f*]OKSEPINY

Opracowano metodę syntezy związków zawierających szkielet dibenzo[*b,f*]oksepiny i wiązanie azowe. Molekuły takie mogą być w przyszłości wykorzystane jako fotochromowe przełączniki molekularne. W celu uzyskania tych związków opracowano oraz zrealizowano 4-etapową syntezę wykorzystując w tym celu substraty – pochodną benzaldehydu oraz 2,4-dinitrotoluen (**schem. 1**).

Reakcje przeprowadzone zostały dla serii 5 pochodnych zawierających różne podstawniki w substracie – pochodnej benzaldehydu. Otrzymano 5 związków azowych zawierających szkielet dibenzo[*b,f*]oksepiny.

W pierwszym etapie syntezy zachodzi reakcja pomiędzy 2,4-DNT a pochodną benzaldehydu. W wyniku tej reakcji powstaje pochodna stilbenu zawierająca grupę hydroksylową. Reakcję prowadzi się w obecności zasady – pirolidyny oraz najczęściej w toluenie (w przypadku 2,4-dihydroksybenzaldehydu reakcja prowadzona była w DMF, co wynika ze słabej rozpuszczalności tego związku

w toluenie). Reakcję prowadzi się w temperaturze 130°C (jedynie w przypadku 2,4-dihydroksybenzaldehydu reakcja prowadzona była w temperaturze pokojowej, co z kolei wynika z dużej podatności tego związku na utlenianie w podwyższonej temperaturze).



Schemat 1. Schemat opracowanej 4-etapowej syntezy prowadzącej do otrzymania związków azowych zbudowanych z pierścienia dibenzo[*b,f*]oksepiny

Scheme 1. Scheme of the developed 4-step synthesis leading to obtaining the azo compounds containing dibenzo[*b,f*]oxepine scaffold

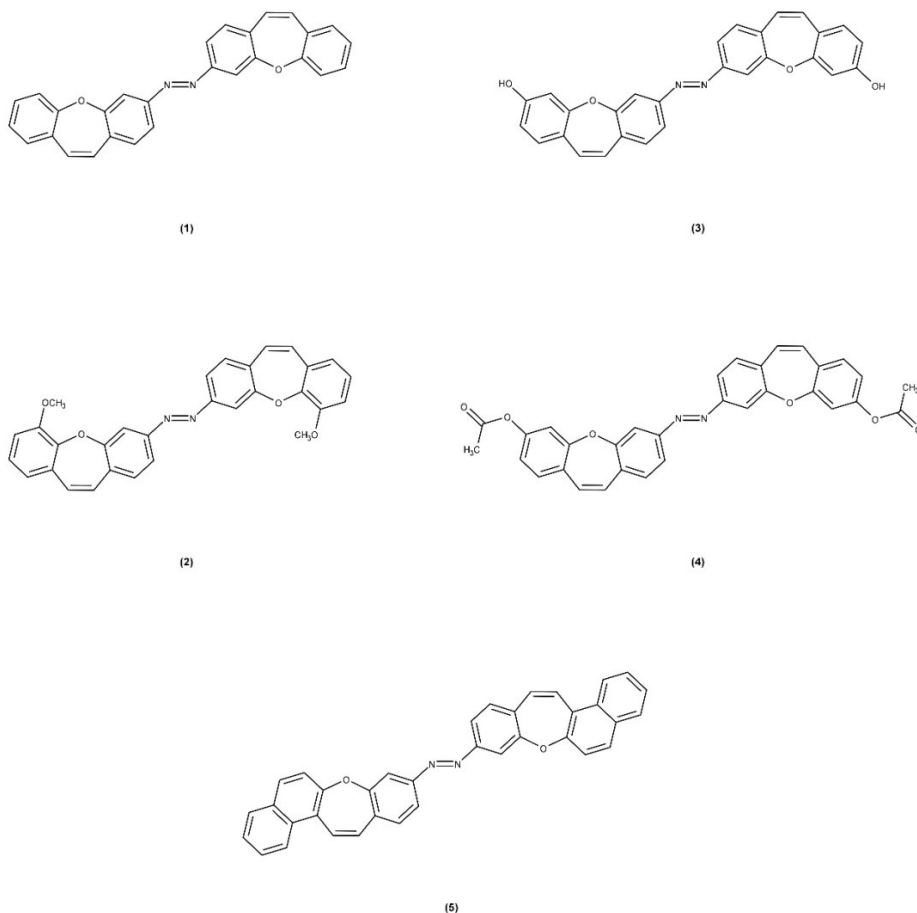
Drugi etap syntezy to wewnątrzcząsteczkowa aromatyczna substytucja nukleofilowa (S_NAr), która zachodzi w otrzymanej w pierwszym etapie pochodnej stilbenu. W wyniku tej reakcji otrzymuje się nitrową pochodną dibenzo[*b,f*]oksepiny. Reakcję prowadzi się w obecności NaN_3 (azydki sodu). Jako rozpuszczalnik stosuje się DMF, a samą reakcję prowadzi się w temperaturze 110°C.

Kolejny etap syntezy to reakcja redukcji grupy nitrowej w otrzymanej w drugim etapie nitrowej pochodnej dibenzo[*b,f*]oksepiny do aminowej pochodnej dibenzo[*b,f*]oksepiny. Redukcję prowadzi się w obecności cynku oraz kwasu octowego. Warunki reakcji zostały tak dobrane, aby nie został naruszony siedmioczłonowy pierścień z tlenem.

Ostatni etap syntezy to tworzenie związku azowego. Reakcję tę prowadzi się w obecności NBS oraz DBU w temperaturze -78°C. Charakteryzuje się ona niskim czasem przebiegu wynoszącym 10-15 minut. W przypadku pochodnej hydroksylo-

wej niezbędne jest jej zabezpieczenie grupą acetylową już po drugim etapie reakcji, co wynika ze zdolności tego związku do szybkiej polimeryzacji w warunkach reakcji tworzenia związków azowych.

Struktura wszystkich otrzymanych związków azowych zawierających szkielet dibenzo[*b,f*]oksepiny została przedstawiona na poniższym rysunku (**rys. 9**).



Rysunek 9. Struktura otrzymanych związków azowych zawierających szkielet dibenzo[*b,f*]oksepiny
Figure 9. Structure of the obtained azo compounds containing dibenzo[*b,f*]oxepine scaffold

Poniższa tabela zawiera zestawienie dla czteroetapowej syntezy w której otrzymuje się związki azowe (**tab. 1**).

Tabela 1. Spis reakcji prowadzących do otrzymania związków azowych zawierających szkielet dibenzo[*b,f*]oksepiny

Table 1. List of reactions leading to obtaining the azo compounds containing dibenzo[*b,f*]oxepine scaffold

Związek azowy	1 etap		2 etap		3 etap		4 etap		W _{całk.}
	Wynik	Wyd.	Wynik	Wyd.	Wynik	Wyd.	Wynik	Wyd.	
(1)	+	30%	+	99%	+	59%	+	10%	1,8%
(2)	+	54%	+	97%	+	83%	+	35%	15,2%
(3)	+*	X	+	39%	+**	85%	+	25%	8,3%
(4)	+*	X	+	39%	+**	85%	+	24%***	8,0%
(5)	+	23%	+	92%	+	59%	+****	X	X

„+” – Reakcja przebiegła, „X” – wydajność nieokreślona, * - produkt nie był wydzielany, ** - Przed reakcją nastąpiło zabezpieczenie grupy hydroksylowej, *** - Wydajność łączna po odbezpieczeniu grupy hydroksylowej, **** - Produkt surowy

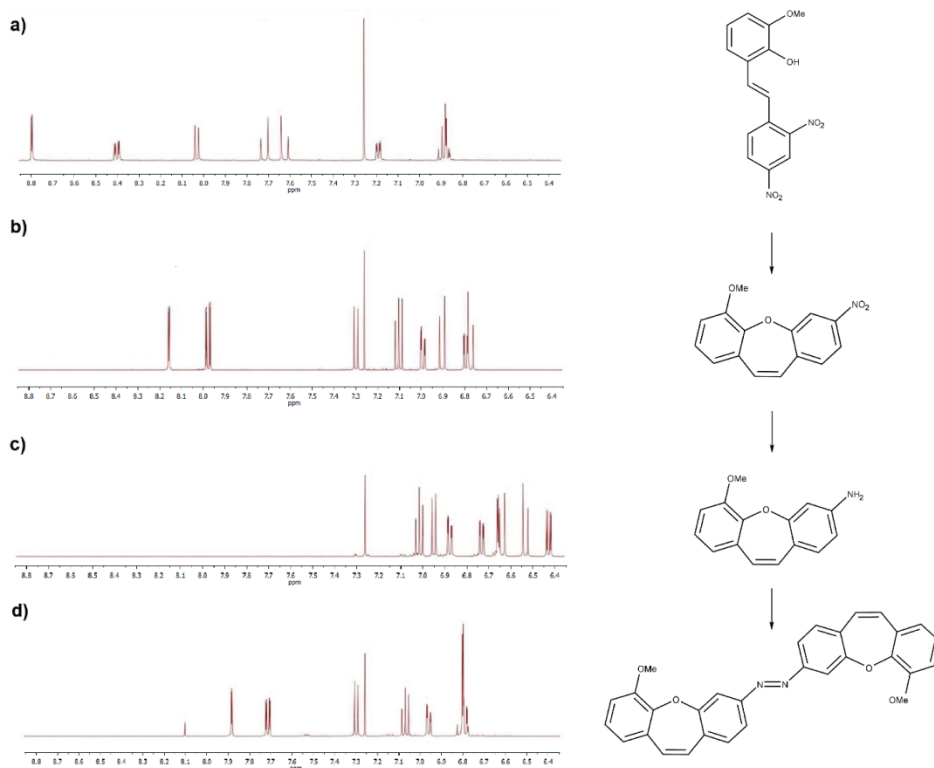
Dowodzono również, że nie można otrzymać związków azowych o szkielecie dibenzo[*b,f*]oksepiny przy zastosowaniu klasycznych warunków diazowania (z użyciem NaNO₂ oraz HCl) oraz w reakcji z azotynem *tert*-butylu – w tych przypadkach reakcja nie przebiega wcale lub nie prowadzi do powstania pożądaných związków azowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wywnioskować, że opracowana metoda syntezy związków azowych zawierających pierścień dibenzo[*b,f*]oksepiny służy jedynie do otrzymywania symetrycznych pochodnych. Powstające produkty azowe w większości przypadków słabo rozpuszczają się w większości popularnych rozpuszczalników organicznych.

Struktury wszystkich otrzymanych związków potwierdzono za pomocą spektroskopii ¹H NMR, ¹³C NMR oraz z wykorzystaniem dwuwymiarowych widm korelacyjnych – COSY, HSQC oraz HMBC.

Na widmach ¹H NMR związków otrzymanych w danej serii reakcji można zauważyć charakterystyczną zmianę przesunięć chemicznych sygnałów, co pozwala na określenie zmiany wpływu podstawników na gęstość elektronową w pierścieniu aromatycznym podczas tworzenia nowych związków (**rys. 10**). W przypadku pochodnej stilbenu (**a**) obserwuje się największe przesunięcia protonów aromatycznych w kierunku niższego pola magnetycznego, co wynika z obecności dwóch silnie elektronoakceptorowych grup nitrowych. Pochodna stilbenu przekształca się w nitrową pochodną dibenzo[*b,f*]oksepiny (**b**). Podczas tego procesu następuje odejście jednej grupy nitrowej w wyniku czego obserwuje się przesunięcie chemiczne dla protonów aromatycznym w wyższym polu. W trzecim etapie reakcji przeprowadza się redukcję grupy nitrowej co prowadzi do powstania aminowej pochodnej dibenzo[*b,f*]oksepiny (**c**). Podczas tego procesu następuje zmiana charakteru podstawnika – z elektronoakceptorowej grupy nitrowej na elektronodonorową grupę aminową. Na widmie ¹H NMR obserwuje się więc

większe przesłanianie protonów aromatycznych (wszystkie protony mają przesunięcia mniejsze od przesunięcia chemicznego CDCl_3). W ostatnim etapie reakcji grupa aminowa zastąpiona jest ugrupowaniem azowym (**d**). W widmach protonowych obserwuje się przesunięcia sygnałów protonów aromatycznych w kierunku wyższych wartości przesunięć chemicznych, jednak nie tak znacznie jak w przypadku grupy nitrowej.



Rysunek 10. Porównanie zmiany przesunięć chemicznych sygnałów protonów aromatycznych w widmach ^1H NMR dla (*E*)-bis(6-metoksydibenzo[*b,f*]oksepin-3-yl)diazenu (**2**)

Figure 10. Comparison of changes in chemical shift of aromatic protons signals in ^1H NMR spectra for (*E*)-bis(6-metoksydibenzo[*b,f*]oksepin-3-yl)diazene (**2**)

Część eksperymentalna (na przykładzie otrzymywania (*E*)-bis(7-metoksydibenzo[*b,f*]oksepin-3-yl)diazenu (**2**):

- Otrzymywanie pochodnej stilbenu:

W kolbie dwuszyjnej o pojemności 100 ml umieszczono element mieszający oraz 300 mg (1.97 mmol) 2-hydrokso-3-metoksybenzaldehydu i 359 mg (1.97 mmol) 2,4-dinitrotoluenu. Następnie całość rozpuszczono w ok. 40 ml toluenu. Kolbę dwuszyjną zaopatrzono w chłodnicę zwrotną, u góry której podłączono balon

z argonem. Drugą szyję zatkało septą. Mieszający się roztwór przepłukiwano argonem przez 10 minut. Po tym czasie do układu dodano 59.1 μl (0.71 mmol) piroolidyny – katalizatora reakcji. Roztwór przyjął barwę ciemnobrązową. Przebieg reakcji był badany poprzez analizę położenia plamek znajdujących się na płytkach TLC z wykorzystaniem układu heksan:octan etylu 1:1 jako eluenta. Układ umieszczony był w łaźni olejowej. Temperatura układu wynosiła 130°C. Reakcję zakończono po 24 h. Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną zatężono na wyparce obrotowej. Powstały oleisty osad rozpuszczono w chlorku metylenu po czym oczyszczono go na kolumnie chromatograficznej. Stosowanym eluentem był układ heksan-octan etylu. Zwiększano polarność układu w trakcie prowadzenia oczyszczania na kolumnie.

- Otrzymywanie nitrowej pochodnej dibenzo[*b,f*]oksepyny:

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml umieszczono element mieszający oraz 200 mg (0.63 mmol) (*E*)-2-hydrokso-3-metokso-2',4'-dinitrostilbenu i 69.6 mg (1.07 mmol) azydki sodu – NaN_3 . Następnie całość rozpuszczono w ok. 30 ml DMF. Roztwór przyjął barwę żółtą. Przebieg reakcji był badany poprzez analizę położenia plamek znajdujących się na płytkach TLC z wykorzystaniem chlorku metylenu jako eluenta. Układ umieszczony był w łaźni olejowej. Temperatura układu wynosiła 110°C. Reakcję zakończono po 24 h. Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną zatężono na wyparce obrotowej. Powstały osad rozpuszczono w chlorku metylenu po czym oczyszczono na kolumnie chromatograficznej. Stosowanym eluentem był chlorek metylenu.

- Otrzymywanie aminowej pochodnej dibenzo[*b,f*]oksepyny:

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml umieszczono element mieszający oraz 100 mg (0.37 mmol) 6-metokso-3-nitrodibenzo[*b,f*]oksepyny. Następnie całość rozpuszczono w ok. 50 ml kwasu octowego. Roztwór przyjął barwę żółtą. Do układu dodano następnie 4.8 g (74 mmol) uprzednio zaktywowanego cynku. Roztwór zaczął przyjmować barwę zielonkawą. Przebieg reakcji był badany poprzez analizę położenia plamek znajdujących się na płytkach TLC z wykorzystaniem układu heksan:octan etylu 1:1 jako eluenta. Reakcja prowadzona była w temperaturze pokojowej. Reakcję zakończono po 24 h. Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną przesączono przez celit kilkakrotnie przemywając go chlorkiem metylenu. Przesącz zatężono następnie na wyparce obrotowej. Powstały osad rozpuszczono w chlorku metylenu po czym oczyszczono go na kolumnie chromatograficznej. Stosowanym eluentem był układ heksan-octan etylu. Zwiększano polarność układu w trakcie prowadzenia oczyszczania na kolumnie.

Aktywacja cynku:

Uprzednio odważoną ilość cynku umieszczono we fiolce po czym wypełniono ją 1M HCl do $\frac{3}{4}$ objętości. Zatkało korkiem i całość mieszano przez około

2 minuty. Następnie całość przesączono na lejku Schotta. Pozostały cynk przemywano następnie jednokrotnie 1M HCl, trzykrotnie wodą, dwukrotnie etanolem oraz jednokrotnie eterem dietylowym.

- Otrzymywanie związku azowego:

W kolbie okrągłodennej o pojemności 25 ml umieszczono element mieszający oraz 50 mg (0.21 mmol) 6-metoksydibenzo[*b,f*]oksepino-3-aminy i 74.8 mg (0.42 mmol) NBS. Następnie całość rozpuszczono w ok. 3 ml chlorku metylenu. Mieszający się roztwór przepłukiwano argonem przez 5 minut. Następnie całość ochłodzono do temperatury -78°C poprzez zanurzenie w łaźni zawierającej aceton i suchy lód. Po ochłodzeniu do tej temperatury do układu dodano 63.8 μl (0.42 mmol) DBU. Roztwór przyjął czerwoną barwę. Reakcję zakończono po ok. 10-15 minutach. Po tym czasie kolbę ogrzano do temperatury pokojowej po czym do mieszaniny poreakcyjnej dolano ok. 10 ml wodnego roztworu wodorowęglanu sodu. Całość mieszano przez następne 5 minut po czym ekstrahowano z dodatkiem wodnego roztworu kwasu solnego oraz chlorku metylenu. Połączone warstwy organiczne wysuszone nad bezwodnym MgSO_4 i zatężono na wyparce obrotowej. Powstały osad rozpuszczono w chlorku metylenu po czym oczyszczono go na kolumnie chromatograficznej. Stosowanym eluentem był chlorek metylenu.

UWAGI KOŃCOWE

W niniejszym opracowaniu przedstawiono opis biomedycznych właściwości jakie wykazują dibenzo[*b,f*]oksepiny. Wykazują one właściwości antypsychotyczne, owadobójcze, przeciwdepresyjne, przeciwwzapalne, antynowotworowe czy też antyhipertensyjne.

W opracowaniu poświęcono także rozdział dotyczący nowej metody leczenia, która intensywnie się rozwija - fotofarmakologii. Jest to terapia wykorzystująca światło. Wykorzystuje się związki zwane fotochromowymi przełącznikami molekularnymi, które są zdolne do zmiany swojej struktury pod wpływem światła. Dzięki temu takie molekuly można wykorzystywać w leczeniu, gdyż często jest tak, że jedna z tych form wykazuje aktywność biologiczną a druga nie. W konsekwencji aktywność związku może być regulowana za pomocą światła. Fotofarmakologia stanowi sposób rozwiązania problemu aktywności leku poza miejscem docelowym oraz sposób zmniejszenia skutków ubocznych jego działania.

W fotochromowych przełącznikach molekularnych najczęściej występującym ugrupowaniem jest ugrupowanie azowe ($-\text{N}=\text{N}-$). Łatwo ulega ono fotoizomeryzacji, ze zmianą konfiguracji *E/Z* wiązania azowego. Ponadto charakterystyczna jest właściwość tego wiązania do absorpcji światła w zakresie od 650 do 900 nm. Zakres ten jest w przedziale między zakresem absorpcji promieniowania widzialnego przez wodę

i absorpcji promieniowana przez hemoglobinę. Dzięki temu światło może docierać głębiej do tkanek, bo nie jest absorbowane przez te związki.

Wydaje się więc, że synteza pochodnych dibenzo[*b,f*]oksepiny zawierających ugrupowanie azowe jest niezwykle korzystna, gdyż wystąpi tu połączenie właściwości biomedycznych aktywnego związku z funkcją fotochromowego przełącznika molekularnego.

W prezentowanym opracowaniu opisano opracowaną metodę syntezy związków azowych zawierających pierścieni dibenzo[*b,f*]oksepiny. Otrzymane związki azowe mogą posłużyć jako potencjalne fotochromowe przełączniki molekularne i ze względu na właściwości biomedyczne dibenzo[*b,f*]oksepin być może zostaną wykorzystane w fotofarmakologii.

PODZIĘKOWANIE

Autor dziękuje za wsparcie finansowe ze środków budżetowych na naukę w latach 2019-2023, jako projekt badawczy w ramach programu „Diamantowy Grant” oraz za wsparcie finansowe z projektu IDUB (program Stypendium Plus).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.M. Lerch, M.J. Hansen, G.M. van Dam, W. Szymański, B.L. Feringa, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**, 10978.
- [2] W.A. Velema, W. Szymański, B.L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**, 2178.
- [3] M. Athar, J.H. Back, L. Kopelovich, D.R. Bickers, A.L. Kim, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2009, **486**, 95.
- [4] J. Griggs, J.C. Metcalfe, R. Hesketh, *The Lancet Oncology*, 2001, **2**, 82.
- [5] Y.L. Choi, H.S. Lim, H.J. Lim, J.N. Heo, *Org. Lett.*, 2012, **14**, 5102.
- [6] G.R. Pettit, A. Numata, C. Iwamoto, Y. Usami, T. Yamada, H. Ohishi, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.*, 2006, **69**, 323.
- [7] Y. Bharath, B. Thirupathi, G. Ranjit, D.K. Mohapatra, *Asian J. Org. Chem.*, 2013, **2**, 848.
- [8] J. Fernández, J.M. Alonso, J.I. Andrés, J.M. Cid, A. Diaz, L. Iturrino, P. Gil, A. Megens, V.K. Sipido, A.A. Trabanco, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 1709.
- [9] A.A. Trabanco, J.M. Alonso, J.M. Cid, L.M. Font, A. Megens, *II Farm.*, 2005, **60**, 241.
- [10] Y. Nagai, A. Irie, H. Nakamura, K. Hino, H. Uno, H. Nishimura, *J. Med. Chem.*, 1982, **25**, 1065.
- [11] H.H. Ong, J.A. Profitt, V.B. Anderson, T.C. Spaulding, J.C. Wilker, H.M. Geyer, H. Kruse, *J. Med. Chem.*, 1980, **23**, 494.
- [12] T. Roeder, J. A. Nathanson, *Neurochem. Res.*, 1993, **18**, 921.
- [13] R. Kiyama, T. Honma, K. Hayashi, M. Ogawa, M. Hara, M. Fujimoto, T. Fujishita, *J. Med. Chem.*, 1995, **38**, 2728.
- [14] H.P. Rang, J.M. Ritter, R.J. Flower, G. Henderson, *Rang & Dale's Pharmacology*, Churchill Livingstone, Londyn, 2015.
- [15] I.R. Edwards, J.K. Aronson, *Lancet*, 2000, **356**, 1255.
- [16] D. Hanahan, R.A. Weinberg, *Cell*, 2011, **144**, 646.
- [17] D.E. Gerber, *Am. Fam. Physician*, 2008, **77**, 311.

- [18] V. Malhotra, M.C. Perry, *Cancer Biol. Ther.*, 2003, **2**, 2.
- [19] S. Sonis, L. Elting, D. Keefe, D. Peterson, M. Schubert, M. Hauer-Jensen, B. Bekele, J. Raber-Durlacher, J. Donnelly, E. Rubenstein, *Cancer*, 2004, **100**, 1995.
- [20] R. Paus, I.S. Haslam, A.A. Sharov, V.A. Botchkarev, *Lancet Oncol.*, 2013, **14**, 50.
- [21] H. Ludwig, S. Van Belle, P. Barrett-Lee, G. Birgegard, C. Bokemeyer, P. Gascon, P. Kosmidis, M. Krzakowski, J. Nortier, P. Olmi, M. Schneider, D. Schrijvers, *Eur. J. Cancer*, 2004, **40**, 2293.
- [22] J. Lehar, A.S. Krueger, W. Avery, A.M. Heilbut, L.M. Johansen, E.R. Price, R.J. Rickles, G.F. Short, J.E. Staunton, X. Jin, M.S. Lee, G.R. Zimmermann, A.A. Borisy, *Nat. Biotechnol.*, 2009, **27**, 659.
- [23] J.A. DiMasi, L. Feldman, A. Seckler, A. Wilson, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2010, **87**, 272.
- [24] W. Szymański, J.M. Beierle, H.A.V. Kistemaker, W.A. Velema, B.L. Feringa, *Chem. Rev.*, 2013, **113**, 6114.
- [25] B.L. Feringa, *Molecular Switches*, WileyVCH, Weinheim, 2001.
- [26] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, 5th ed., W.H. Freeman, Nowy Jork, 2002.
- [27] C. Dugave, L. Demange, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 2475.
- [28] S. Quideau, D. Deffieux, C. Douat-Casassus, L. Pouységu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, **50**, 586.
- [29] T. Shen, W. Xiao-Ning, L. Hong-Xiang, *Nat. Prod. Rep.*, 2009, **26**, 916.
- [30] A. Rogalska, K. Miśkiewicz, A. Marczak, *Postępy Hig. Med. Dosw.*, 2015, **69**, 571.
- [31] P. Saiko, A. Szakmary, W. Jaeger, T. Szekeres, *Mutat. Res.*, 2008, **1-2**, 68.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 stycznia 2020 r.

