

Új oxigén- és halogéntartalmú ösztron-származékok szintézise és antiproliferációs vizsgálata



TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

Szabó Johanna

Vegyész MSc II. évf.

Témavezető: Dr. Mernyák Erzsébet, tudományos munkatárs

SZTE TTIK Szerves Kémiai Tanszék

Szeged, 2012

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	1
2. Célkitűzés.....	3
3. Irodalmi előzmények.....	4
3.1. Egy hasznos intermedier, a D-szekoaldehid (4a) előállítása az öszttron sorban.....	4
3.2. Ösztránvázas D-homológok szintézise és hatástani vizsgálatai.....	5
3.3. Tetrahidropirán és δ -lakton származékok előállítása.....	9
4. Kísérleti eredmények tárgyalása.....	11
4.1. Az új vegyületek előállítása és szerkezetvizsgálata.....	11
4.2. Az előállított vegyületek antiproliferatív hatásának vizsgálata.....	22
5. Kísérleti leírások.....	26
5.1. Általános kísérleti rész.....	26
5.2. Részletes kísérleti rész.....	27
5.2.1. A 3-benziloxi-16-p-toluolszulfoniloxi-D-homoöszttra-1,3,5(10)-trién-17a-ol (16) előállítása.....	27
5.2.2. A 3-benziloxi-D-homoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17a-on (17) előállítása.....	27
5.2.3. A 3-hidroxi-D-homoöszttra-1,3,5(10)-trién-17a-on (5a) előállítása.....	27
5.2.4. A 3-benziloxi-D-homoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17a-on (17) epoxidálása.....	28
5.2.5. A telítetlen (17), a telített (5a) keton és az epoxid (20) redukciója.....	28
5.2.6. A 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10)-trién-17-ol (22) előállítása.....	29
5.2.7. A 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10)-trién-17-karbonsav (23) előállítása.....	29
5.2.8. Tetrahidropirán-származékok előállítása.....	30
5.2.8.1. Bróméteresítés (26a , 27a).....	30
5.2.8.2. Jódéteresítés (26b , 27b).....	31
5.2.8.3. Éteresítés fenilszelenilbromiddal (26c , 27c).....	32
5.2.9. Laktonképzési reakció.....	33
5.2.9.1. Brómlaktonizáció (29a).....	33
5.2.9.2. Jódlaktonizáció (29b).....	33
5.2.9.3. Laktonképzés fenilszelenilbromiddal (29c).....	34
5.2.10. A szekoalkoholok (22 , 32) acetilezése.....	34

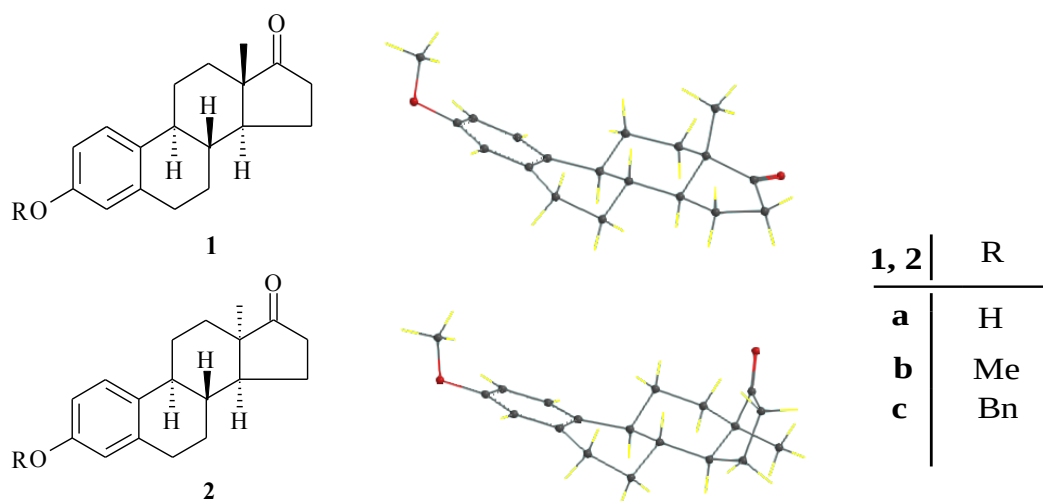
5.2.11. A 3-benziloxi-16,17-szekoösztra-1,3,5(10),16-tetraén-17-ol (22) és a 3-benziloxi-16,17-szekoösztra-1,3,5(10),16-tetraén-17-acetát (30) hidrogénezése	35
5.2.12. A 17-acetoxi-16,17-szekoösztra-1,3,5(10)-trién-3-szulfamát (34) előállítása	36
5.2.13. A 3-benziloxi-16,17-szekoösztra-1,3,5(10),16-tetraén-17-ol (22) tozilezése	36
6. Összefoglalás.....	38
8. Irodalomjegyzék.....	39
Köszönetnyilvánítás	42

1. Bevezetés

A szteránvázas vegyületek a természetes szénvegyületek fontos csoportját alkotják. Növényi, állati és emberi szervezetben egyaránt előfordulnak, sokrétű biológiai funkciót látnak el. A természetes eredetű szteroidok szerkezet felderítése már a XX. század első felében befejeződött, viszont a vegyületek kémiai módosítása, illetve a mesterséges származékok farmakológiai vizsgálata kimeríthetetlen lehetőségeket nyújt mind a kémia, mind az orvostudomány számára.

Az eddigi szteroidkémiai kutatások elsősorban a szteránváz szubsztituálására irányultak. Az utóbbi időben előtérbe került a szteroidok vázmódosítása is, hiszen a gyűrűrendszer anellációs szénatomjának konfiguráció-változása a konformációt is meghatározza. A konformáció változása befolyásolja a receptorkötődést, végső soron a molekula biológiai hatását.

A természetes ösztрон (1c) jellemzői az aromás A-gyűrű, a *transz* gyűrűanellációk és a merev vázszerkezet. A B-gyűrű általában felszék, míg a C-gyűrű szék konformációjú (1. ábra). A molekula két oxigén-funkciója egymástól meghatározott távolságban helyezkedik el, amely fontos szerepet játszik az ösztрон és az ösztradiol hormonhatásának kifejtésében. A 13 α -ösztрон (13-*epi*-ösztрон, 2a) ezzel szemben kvázi ekvatoriális térállású anguláris metil-csoportot tartalmaz, a D-gyűrű pszeudorotációt szenvedhet, a C-gyűrű két stabil konformációt is felvehet.



1. ábra

Az eddig előállított vázmódosított, 13 α -metil-vegyületekkel végzett szerkezetvizsgálatok máris lehetővé tették a térszerkezetnek a váz szubsztituáltságától való

függésére vonatkozó tapasztalati szabályok felállítását (1. ábra). Kitűnt, hogy az *epi*-ösztron D-gyűrűjének szubsztituálásával irányítható a gyűrűrendszer konformációja, ezáltal célzottan változtatható az oxigénfunkciók távolsága a molekulában. Ezzel befolyásolható a szteroid molekula receptorkötődése is. Ennek az a jelentősége, hogy olyan vegyületek állíthatók elő, amelyek pl. antiösztrógenként viselkedve kiszorítják a hormont a receptor aktív centrumából, és így terápiásan alkalmazhatók. A gyűrűtagszám változtatása vagy egyes gyűrűk felnyitása is vezethet olyan származékokhoz, amelyek hormonhatásukat elveszítve, egyéb hasznos biológiai funkcióval rendelkeznek. A gyógyszerkutatás egyik fontos feladata a hormonálisan inaktív szteroidok kifejlesztése, melyek a rákdiagnosztikában vagy a kemoterápiában használhatók.

2. Célkitűzés

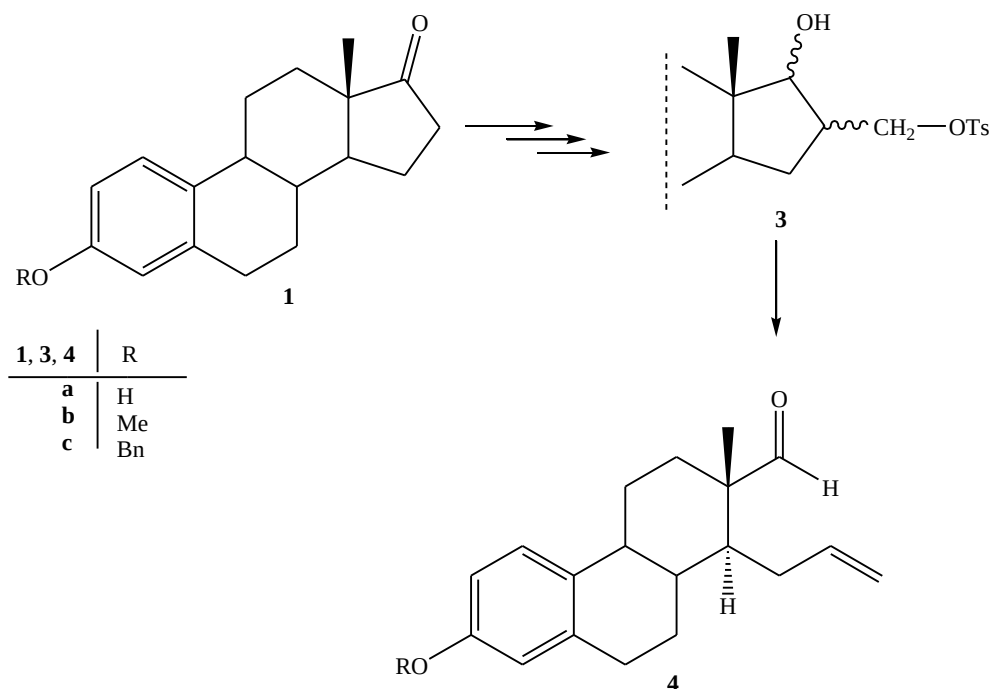
Munkánk célja új D-homo- és D-szekoöszttron-származékok szintézise, szerkezetkutatása és in vitro antitumor hatástani tesztelése volt. Olyan származékokat kívántunk előállítani, amelyek ígéretes farmakológiai alapanyagok lehetnek. Átalakításainkat a 3-benzil-védőcsoportot tartalmazó D-szekoöszttronokból terveztük. A 3-benzil-csoport jelentőségét az adja, hogy egyrészt könnyen eltávolítható, így olyan szabad fenolos hidroxil-csoportot tartalmazó vegyületek nyerhetők, amelyek biológiai szempontból hasznosabbak lehetnek, mint védett származékaik. Továbbá a fenolos hidroxil-funkció éteresítésével olyan szintetikus származékok alakíthatók ki, amelyek gyakran csökkent ösztrogénhatást mutatnak, így előtérbe kerülhet a molekula egyéb biológiai hatása.

3. Irodalmi előzmények

3.1. Egy hasznos intermediér, a D-szekoaldehid (4a) előállítása az ösztron sorban

Az α,γ -halohidrinek, illetve az α,γ -diolmonoszulfonátok bázikus közegű szolvólízise fragmentációs termékek vagy oxetánok képződéséhez vezet. A Grob-féle fragmentáció akkor játszódik le, ha a nukleofug csoport térben távol helyezkedik el a lúgos körülmények között kialakuló alkoholát csoporthoz viszonyítva.^{1,2} Oxetánok képződése akkor várható, ha az említett funkciós csoportok a gyűrűzáráshoz sztérikusan kedvező helyzetben vannak.

Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportja korábban már előállította a négy lehetséges 16-hidroximetil-3-benziloxiösztra-1,3,5(10)-trién-17-ol izomer monotozilátját (**3b**) és vizsgálta azok bázikus közegű szolvolitikus reakcióit (2. ábra).³ A *transz*-vegyületek (**3b**) esetében adottak a Grob-fragmentáció feltételei és mindkét származékból ugyanaz a D-szekoszteroid képződik (**4b**), amely vegyület *transz*-helyzetű formil-funkciót és propenil-oldalláncot tartalmaz. A szolvolitikus reakció terméke hasznos intermediér, hiszen a D-szekoszteroid gyűrűzárási reakciókba vihető.⁴⁻⁶

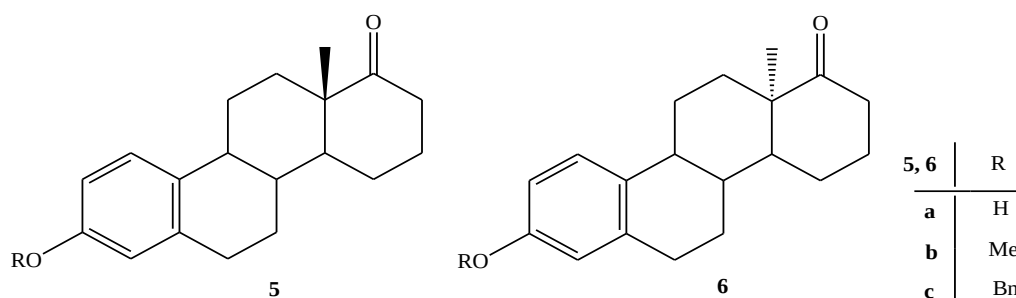


2. ábra

3.2. Ösztránvázas D-homológok szintézise és hatástani vizsgálatai

A szteroidok szintézisére két alapvető kémiai eljárás ismert. Az egyik a felszintézis, mely során egy szteránvázas vegyület kémiai módosításával egy másik szteroid nyerhető. Ezen módszer által lehetőség nyílik kívánt hatású mesterséges szteroidok előállítására. A szteránvázas vegyületek teljes szintézisére való törekvésnek azonban tudományos szempontból van nagy jelentősége. A totálszintézis egyrészt hozzájárul a vegyületek szerkezetbizonyításához, másrészt a több kiralitáscentrummal rendelkező molekulák felépítése preparatív szerves kémiai kihívást jelent. Napjainkra több módszert is kifejlesztettek, ezért a gyógyszergyárak egyre több alapvegyületet állítanak elő teljes szintézissel.

Az ösztрон (1a) első totálszintézise az $AB \rightarrow ABC \rightarrow ABCD$ szintézistípushoz tartozik, 3,4-dihidro-naftalinszármazékból indul ki.⁷ A többlépéses reakciósor eredményeként dl-ösztрон keletkezik. Mivel az ösztронból (1a) számos gyógyászatilag jelentős szteroidszármazék állítható elő, az első módszert követően több kutatócsoport foglalkozott ezen vegyület totálszintézisének kidolgozásával. Ezek közül legjelentősebb a Torgov és munkatársai által kidolgozott eljárás, amely az $AB + D \rightarrow ABD \rightarrow ABCD$ szintézistípust követi.⁷ A szintézishez a 6-metoxi-tetralont használják kiindulási anyagként. A folyamat jelentőségét a sztereospecifikus hidrogénezések adják, amelyek lehetővé teszik a kívánt ösztрон-izomer hatékony előállítását. Ezzel a módszerrel többféle szteroid is hozzáférhető. A szüntönök helyes megválasztásával a D-homoösztрон (5a) is előállítható (3. ábra).



3. ábra

A D-homo-származékok fontos szerepet töltenek be olyan szteroidok kifejlesztésében, ahol a molekula hormonális inaktivitása fontos kíváncalom. A hattagú D-gyűrűt tartalmazó

ösztrom-származékok ugyanis csökkent hormonhatást mutatnak az öttagú analóg vegyületeikhez viszonyítva.

A D-homoösztrom (5a) először ösztromból (1a) kiindulva nyerték 1941-ben.⁸ A racém D-homoösztrom előállítására több módszer ismeretes,^{7, 9-12} azonban az optikailag aktív származékok előállítása a szerves kémikusoknak sok bonyodalmat okozott. Torgov és munkatársai úgy oldották meg ezt a nehézséget, hogy mikrobiológiai redukciót végeztek, így nyertek optikailag tiszta anyagot.¹³ Gutzwiller és munkatársai olyan totálszintézist dolgoztak ki, amely kizárólag kémiai módszerek alkalmazásával szolgáltat optikai tisztaságú terméket.¹⁴

A D-homoösztrom (5a) félszintézisére az irodalomban kevés módszer található. Ezek többsége öttagú D-gyűrűs származékok gyűrűbővülési reakcióit használja fel. Több kutató a 17 α -aminometil-3-metoxiösztrom-1,3,5(10)-trién-17 β -olból kiindulva végezte átalakításait, NaNO₂ jelenlétében, vízmentes ecetsavban.¹⁵ Forcellese és munkatársai 17-metilén-szteroidból kiindulva szintetizáltak hattagú D-gyűrűs ösztrom-származékot, reagensként tallium(III)-nitrátot és trimetil-ortoformiátot alkalmazva.¹⁶ A kívánt termékhez 50%-os termeléssel jutottak. Hübner és munkatársai a 17 α -azidometil-3-metoxiösztrom-1,3,5(10)-trién-17 β -olból kiindulva állították elő a D-homoösztrom-3-metilétert (5b), 57%-os termeléssel.¹⁷ A fenti többlépéses félszintetikus módszerek azonban csak alacsony termeléssel szolgáltatják a D-homoösztrom (5a) és származékait.

Az elmúlt pár évben több szintetikus ösztrom származékot állítottak elő és vizsgálták azoknak ösztrogén receptorokhoz való relatív kötődési affinitását (RBA). A különböző oldalláncok és funkciós csoportok beépítésén kívül, más szerkezeti módosítások, mint a D-gyűrű tagszámának megnövelése és/vagy a 13-as szénatom epimerizálása megváltoztathatja a molekula receptorhoz való kötődési affinitását. A Szerves Kémiai Tanszék Szteroidkémiai Kutatócsoportja a közelmúltban kidolgozott egy hatékony eljárást a természetes ösztrom (1a) és 3-metiléterének (1b), illetve ezek 13 α -változatának (2a, 2b) hattagú D-gyűrűt tartalmazó származékainak (5, 6) előállítására.¹⁸ A szintézist a Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetben receptorkötődési-vizsgálat követte. Az ösztrogén és progeszteron receptorokat (ER, PR) nyúl uterusból preparálták. Az *in vitro* radioligandumos vizsgálatokban referenciavegyületként [³H]-ösztradiolt, illetve [³H]ORG2058-at (16 α -etil-21-hidroxi-progeszteron) alkalmaztak. Kitűnt, hogy az előállított anyagok (5a, 5b; 6a, 6b) ösztrogén receptorhoz való kötődési affinitása három nagyságrenddel kisebb, mint a referenciavegyületé. Az *in vitro* receptorkötődési vizsgálatokon túl *in vivo* ösztrogénhatást és szelektív toxicitást is ellenőriztek. Megállapították, hogy ezen D-homoösztromok (5a, 5b; 6a,

6b) nem rendelkeznek ösztrogénhatással, és nem toxikusak. A hatástani vizsgálatok következő lépése az *in vitro* antiproliferatív hatás mérése volt az emberi reprodukciós szervek különböző tumor sejtvonalain: HeLa (méhnyakrák), MCF-7 (mellrák) és Ishikawa (endometriózis) sejteken.¹⁹ Ez utóbbi tesztek elvégzését az indokolta, hogy a 17 β -ösztradiol egy sejtosztódást indukáló vegyület, azonban ennek egyik metabolitja, a 2-metoxi-ösztadiol több tumoros sejtvonalon (petefészekrák, méhnyakrák és mellrák) is potenciális inhibítorként viselkedik.²⁰ A vegyület hatásmechanizmusa összetett. Az irodalmi leírások arra utalnak, hogy ez a metabolit a vizsgált rákos sejteken apoptózist indukál, a sejtek osztódási ciklusát a G2/M kontrollpontban állítja le, illetve hogy a sejtekben a mikrotubulus-hálózat kialakulását megakadályozza. A tumorelles hatást *in vivo* állatkísérletekkel is igazolták, amelyek során nem tapasztaltak toxikus mellékhatásokat. A klinikai vizsgálatok eredményei szerint a vegyület szájon át való alkalmazhatósága korlátozott és a molekula metabolikusan instabil. Ezen kedvezőtlen tulajdonságok kiküszöbölésére a kutatók más, D-gyűrűben módosított származékokat is előállítottak, és vizsgálták azok tumorelles hatását. 2011-ben szabadalom jelent meg a 2-szubsztituált-D-homoösztion-3-szulfamátok antitumor hatásáról.²¹ A német kutatók olyan D-homoösztion-származékokat szabadalmaztattak, amelyekben megtalálható az aromás A-gyűrű 2-es helyzetében levő szubsztituens, mint szerkezeti elem, hasonlóan a 2-metoxi-ösztadiolhoz, illetve az ösztion fenolos hidroxil-funkciója szulfamáttá van alakítva. Ez utóbbi funkciós csoportot nemcsak az A-gyűrűre, hanem a D-gyűrű 17a-szénatomjára is beépítették. Így jutottak olyan hatékony antitumor vegyületekhez, amelyeknél drasztikusan csökkent az ösztion hatás, ezzel egyidejűleg azonban ugrásszerűen megnőtt az antiproliferatív hatás, amelyet a D-homoösztionok a tubulin polimerizációjának gátlása útján fejtenek ki. A leghatásosabb származékok IC₅₀-értékei 0–1 μ M-os tartományba tartoznak. Mindezek alapján Kutatócsoportunk a Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetrel együttműködve elvégezte a két epimer pár D-homo-vegyület (**5a**, **5b**; **6a**, **6b**) MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid)-módszerrel kivitelezett *in vitro* vizsgálatát, és arra az eredményre jutottak, hogy a 3-as helyzetű védőcsoport minősége és a 18-as metilcsoport térállása jelentősen befolyásolja a vegyület biológiai hatását. A négy származék közül kizárólag a normál sorba tartozó, szabad fenolos hidroxil-funkcióval rendelkező D-homoösztion (**5a**) mutatkozott aktívnak. Szelektíven gátolta a HeLa sejtek osztódását 5,5 μ M-os IC₅₀ értékkel, amely adat összemérhető a referenciaként alkalmazott ciszplatinéval. Továbbá azt is igazolták, hogy az **5a** jelű szteroid az egészséges és tumorsejtek között is szelektál. Az MRC-5 (humán nem tumoros tüdő fibroblaszt) sejteken mért IC₅₀ érték többszöröse volt a HeLa sejteken mért adatnak. Ezen eredmények alapján megállapítható,

hogy a D-homoösztron (**5a**) egy szelektív antitumor hatású vegyület. A farmakológiai vizsgálatok folytatásában azt kívánták megállapítani, hogy az **5a** jelű vegyület apoptózist indukál-e a HeLa sejteken. Áramlási citometriás méréssel igazolták, hogy a molekula a sejtosztódási ciklust a G2/M kontrollpontban állítja le, ezt igazolták. A subG1 frakció arányának növekedése, illetve a kaszpáz-3-aktivitás jelentős fokozódása is apoptózisra utaltak.

A fenti eredmények arra hívják fel a figyelmet, hogy a D-homoösztron-származékok hasznos farmakológiai alapanyagok, azért a további új származékok előállítása és a potens vegyületek hatásmechanizmusának felderítése ígéretes kutatási terület.

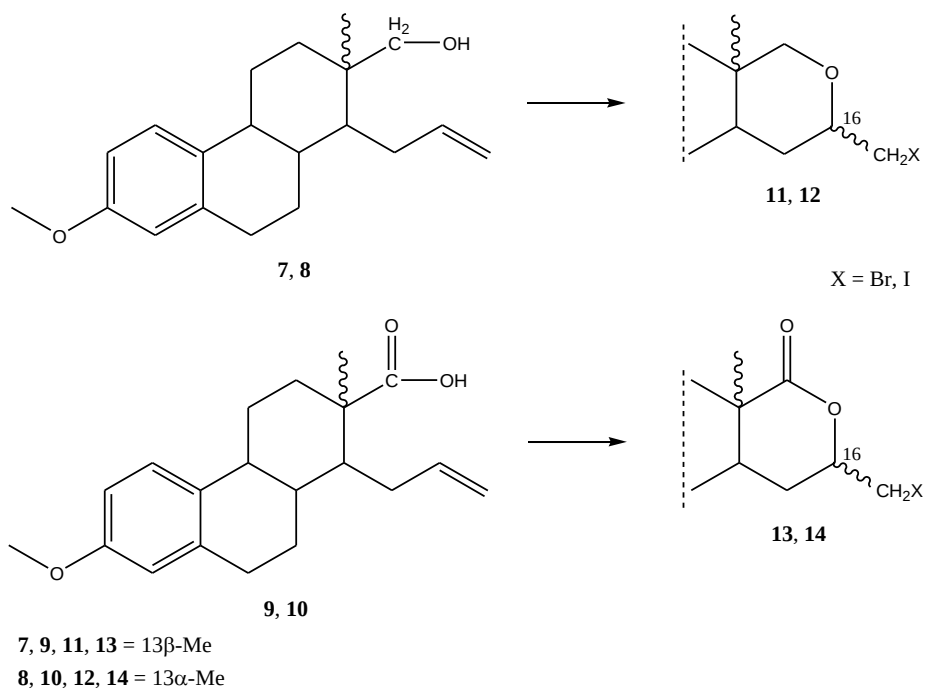
3.3. Tetrahidropirán és δ -lakton ösztrom-származékok előállítása

A természetes eredetű szerves vegyületekben gyakran fordulnak elő öt-, illetve hattagú oxigéntartalmú heterociklusos gyűrűk. A tetrahidrofuranok preparatív szempontból is jelentősek, hiszen gyűrűbővülési reakcióik különböző módon szubsztituált tetrahidropiránokat eredményeznek.²²

Korábbi kutatások igazolják, hogy az alkének elektrofil addíciós reakciói a szerves kémia leghasznosabb módszerei közé tartoznak.²³⁻²⁷ Az alkének közül az ω -szubsztituált származékoknak elektrofil reagensek hatására bekövetkező gyűrűzárási reakciói napjainkban egyre nagyobb jelentőségűek. Ezek eredményeképpen különböző heteroatomot tartalmazó gyűrűs molekulák keletkeznek. Így állítható elő számos heterociklusos éter,²⁸⁻³⁰ lakton^{31,32} és laktám.³³ Az olefinek elektrofil hatására bekövetkező ciklizálására a szerves kémiában számos reagens használatos, így pl. az *N*-bróm-szukcinimid, az *N*-jód-szukcinimid, a higany(II)-acetát, a fenil-szelenil-klorid és az *N*-fenil-szelenil-ftálimid.²⁹

Neverov és munkatársai az α,ω -alkenolok és alkénsavak elektrofil addíciós reakciói közül széles körben vizsgálták a Br_2 és I_2 hatására végbemenő folyamatokat.³⁴ Arra a következtetésre jutottak, hogy a brómozások gyorsan játszódnak le, hátrányuk viszont, hogy gyakran képződik dibrom-származék is a gyűrűzárt termék mellett. A jódozási folyamatok lassabban mennek végbe, ugyanakkor szelektívebbek.³⁴

Kutatócsoportunkban korábban a 3-metoxi-D-szekovegyületek (*normál* és *epi*-ösztrom sorban) redukált (**7**, **8**) és oxidált származékainak (**9**, **10**) halogén elektrofilek (Br és I) hatására bekövetkező gyűrűzárási reakcióit vizsgálták (4. ábra).³⁵ Azt tapasztalták, hogy a *normál* sorban két-két tetrahidropirán-származék (**11**), míg az *epi*-sorban minden egyes reakcióban csak egy diasztereomer (**12**) alakult ki. A laktonképzési reakciók sztereospecifikusan játszódtak le a 13α - és a 13β -sorban egyaránt. A főtermékek (**13**, **14**) minden esetben β -térállású szubsztituenseket tartalmaztak a 16-os helyzetben. Ezen kutatómunkát azzal a céllal végezték, hogy az anguláris metil-csoport térállásának a reakciók sztereokémiájára gyakorolt hatását megfigyeljék. A céltermékek (**11-14**), illetve előanyagaik (**7-10**) nem kerültek biológiai hatásvizsgálatra.

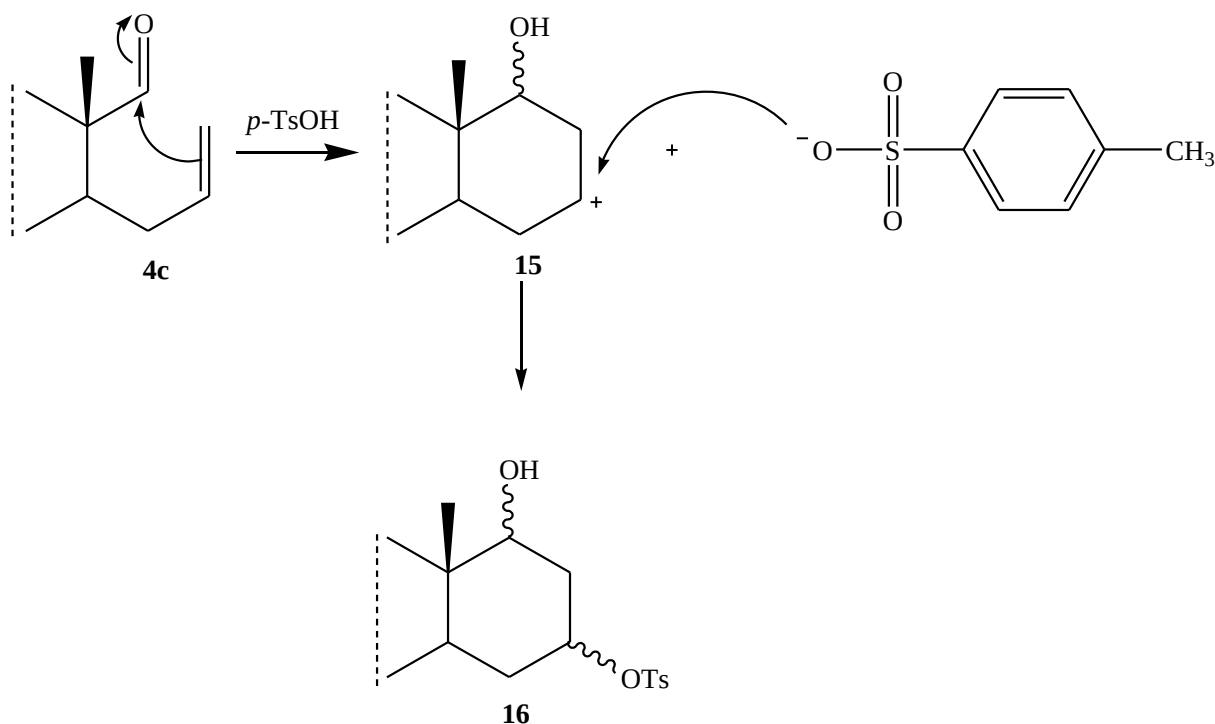


4. ábra

4. Kísérleti eredmények tárgyalása

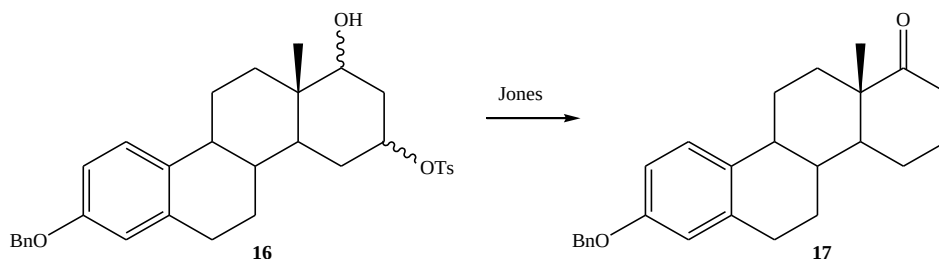
4.1. Az új vegyületek előállítása és szerkezetvizsgálata

Kísérleti munkánk első lépéseként olyan új D-homoösztron-származékok előállítása volt a célunk, amelyek potenciális antiproliferatív hatóanyagok lehetnek rákos sejteken. A korábban kidolgozott eljárást követve olyan intermediér α,β -telítetlen D-homo-ke-ton előállítását valósítottuk meg, amely további átalakítások hasznos alapanyaga lehet. Az ösztránvázas D-szekoaldehidet (**4c**) Prins-reakcióban 1,1 ekvivalens *p*-toluolszulfonsavval reagáltattuk diklórmétánban (5. ábra). Ezen intramolekuláris reakció feltehetően kétlépéses mechanizmust követ. Az első lépésben egy szekunder karbokation (**15**) keletkezik, amely a tozilát ion, mint nukleofil beépülésével alakul tovább. A **4c** jelű vegyületből főtermékként minden reakcióban a 16 β ,17 $\alpha\beta$ -diasztereomer (**16**) képződött. A gyűrűzárási reakciók kiemelkedő szelektivitásának magyarázata az lehet, hogy olyan izomerek alakultak ki, amelyekben az újonnan kialakult funkciós csoportok ekvatoriális térhelyzetet vesznek fel. Ez a térállás különösen kedvező a nagy térkitöltésű tozil-csoport számára.



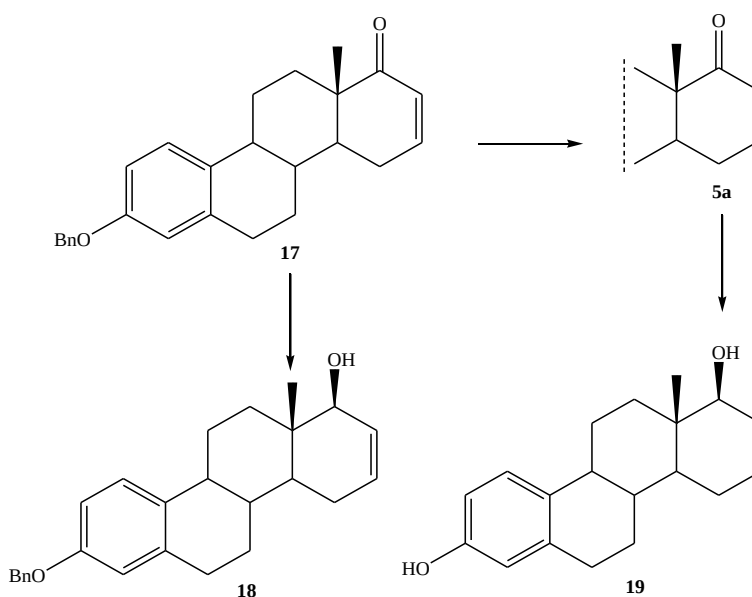
5. ábra

A Prins-terméket (**16**) Jones-oxidációval alakítottuk tovább, amely során oxidáció és elimináció is lejátszódott, így jutottunk a 16,17-telítetlen ketonhoz (**17**) (6. ábra). Az α,β -telítetlen keton (**17**) kulcs intermediér vegyületeként szolgálhat, hiszen számos továbbalakítási lehetőséget kínál, főként addíciós reakciók végrehajtásával.



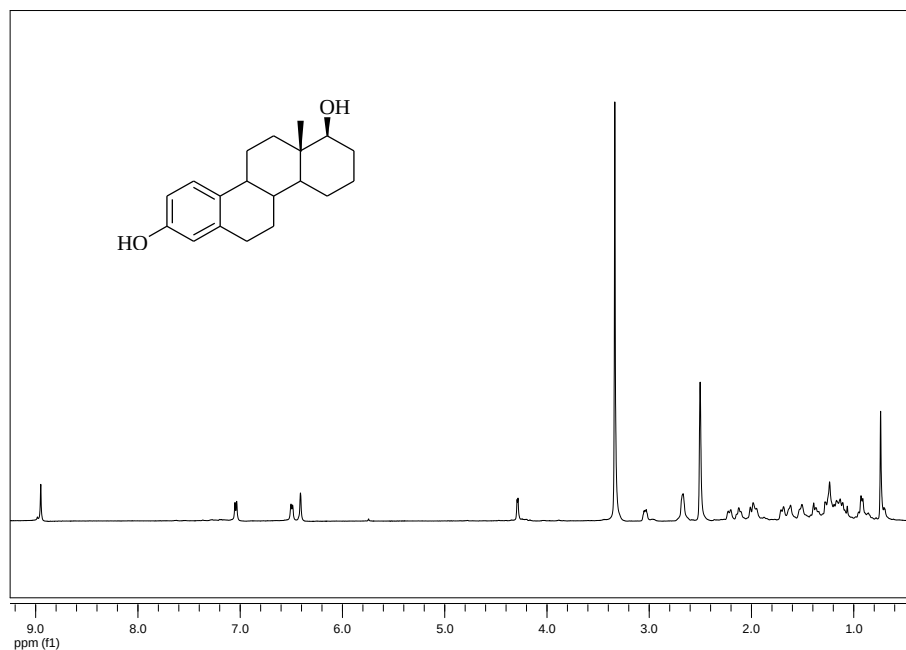
6. ábra

A **17**-es jelű vegyület kettős kötésének telítésével előállítottuk a D-homoösztont (**5a**). A hidrogénezéseket Pd/csontszén katalizátor jelenlétében végeztük, 20 bar H_2 -nyomás alkalmazásával. Ilyen körülmények között nemcsak a D-gyűrű kettős kötését telítettük, hanem a 3-as helyzetű benzil-védőcsoportot is eltávolítottuk, így kaptuk meg az alapvegyületet, a 3-as helyzetben szabad hidroxil-funkciót tartalmazó D-homoösztont (**5a**). Az **5a** és a **17**-es jelű vegyületeket ezután KBH_4 -del redukáltuk, így állítottuk elő a 17β -D-homoösztradiolt (**19**) és annak telítetlen benzil-származékát (**18**, 7. ábra). A hidriddel történő redukció végrehajtását az indokolta, hogy ily módon olyan szteroid-alkoholokhoz (**18**, **19**) jutottunk, amelyek feltehetően aktívabbnak bizonyulnak a hatástani teszteken, mint a megfelelő szteroid-ketonok.



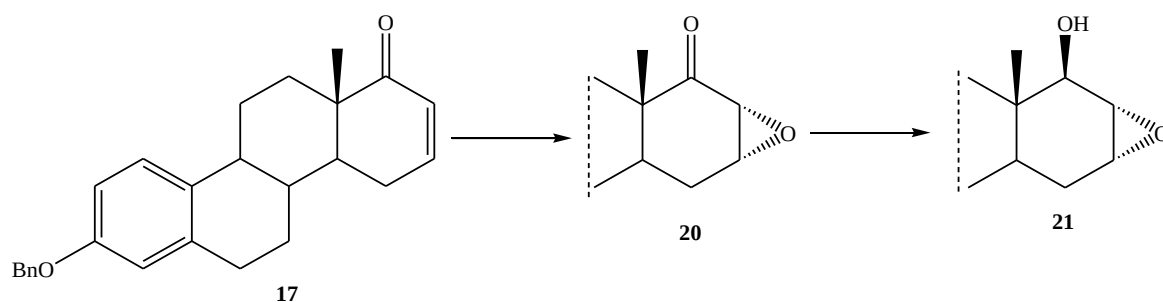
7. ábra

Az előállított vegyületek szerkezetét NMR-spektroszkópiával igazoltuk. A **19**-es jelű vegyület ^1H -NMR spektruma (8. ábra) jól mutatja 9 ppm körül a fenolos hidroxil-csoport egységnyi intenzitású szingulettjét, valamint kevéssel 4 ppm felett a 17a-H multipliettjét.



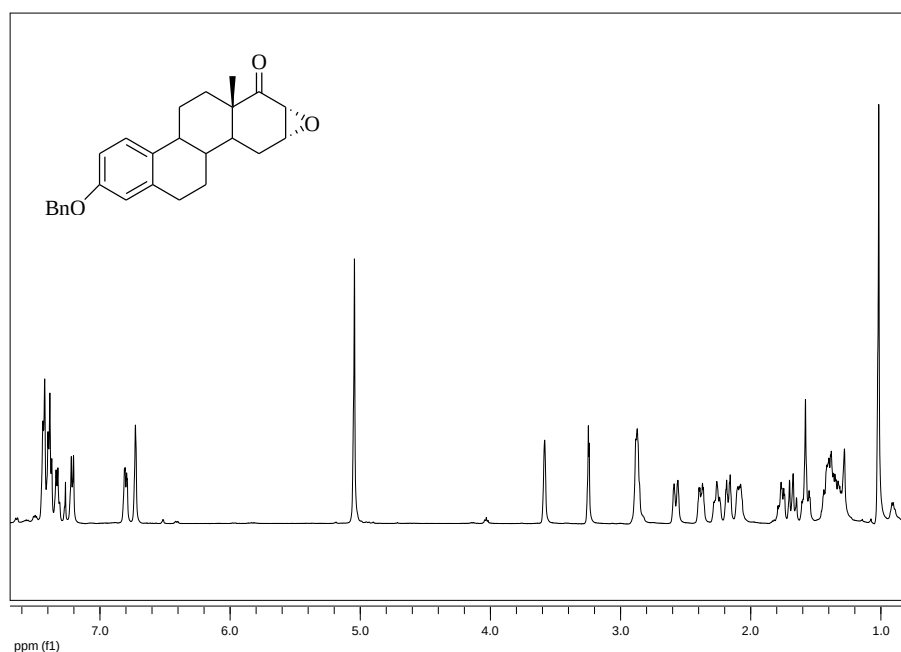
8. ábra

Kísérleti munkánk folytatásában az α,β -telítetlen-D-homo-keton (**17**) epoxidálási reakcióit vizsgáltuk, különös figyelmet fordítva a reakciók sztereoszelektivitására. Az epoxid előállításának az volt a célja, hogy egy olyan kulcs intermedier vegyületet nyerjünk, amely későbbi kutatások fontos kiindulási anyaga lehet, hiszen az epoxid gyűrű felnyitásával számos szubsztituált D-homoösztron-származék nyerhető. A telítetlen keton (**17**) 30%-os hidrogén-peroxiddal, metanolban történő epoxidálása sztereoszelektíven szolgáltatja az α -epoxidot (**20**) (9. ábra). Az epoxid-gyűrű térszerkezetét kétdimenziós NMR-felvételekkel igazoltuk. Ezután az előállított epoxidot KBH_4 -del redukáltuk, így jutottunk a **21**-es jelű vegyülethez.



9. ábra

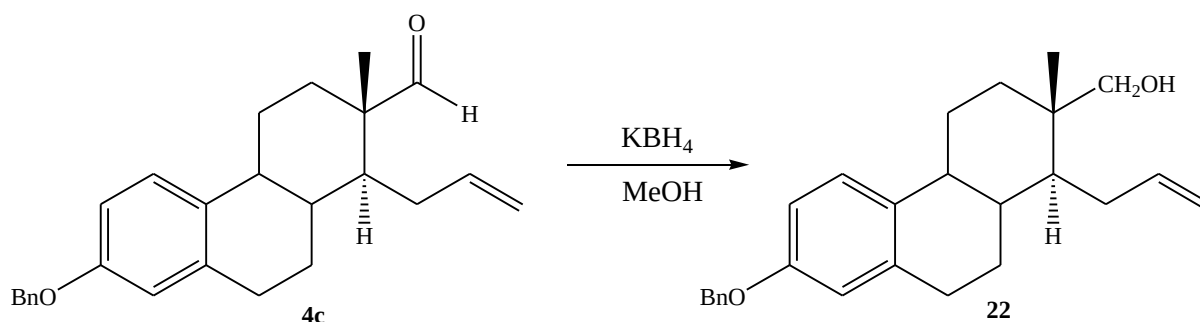
A 10. ábra a **20**-as jelű vegyület ^1H -NMR spektrumát mutatja: 3,2 és 3,6 ppm körül mutatkozik két, egységnyi intenzitású jel, egyik szingulettként (17-H), a másik pedig multiplettként (16-H). E két csúcs megjelenése utal az epoxid-gyűrű jelenlétére a D-gyűrűben.



10. ábra

Kísérleteink folytatásában halogén-, illetve szeléntartalmú D-homoöszttronok előállítása volt a célunk a 3-benziléter sorban. A halogének beépítését az indokolja, hogy az így nyert szteroidok gyakran jelentős biológiai aktivitást mutatnak.³⁶ Kutatócsoportunk korábban már végzett hasonló kísérleteket a 3-metiléter sorban, halogén elektrofileket alkalmazva, mi azonban a 3-benziléterek előállítását céloztuk meg. Ez utóbbi védőcsoport ugyanis enyhe, semleges körülmények között hasítható, és így olyan szabad fenolos hidroxil-funkciót tartalmazó származékok nyerhetők, amelyek potenciális hatóanyagok lehetnek a tumor sejteken. A halogén-elektrofilek felhasználásán túl bevezettük a szelént is, hiszen a szeléntartalmú öszttron-származékok a rákdiagnosztikában lehetnek jelentősek. Az irodalomban ismeretesek olyan B, C vagy D-gyűrűben alkil- vagy arilszelenil-csoportokat tartalmazó öszttron származékok, amelyek relatív kötődése az ösztrogén receptorokhoz jobb, mint az ösztradiolé. A ⁷⁵Se-nel jelzett vegyületeket a radioaktív diagnosztikában lehet használni mellrák esetében.³⁷⁻⁴³

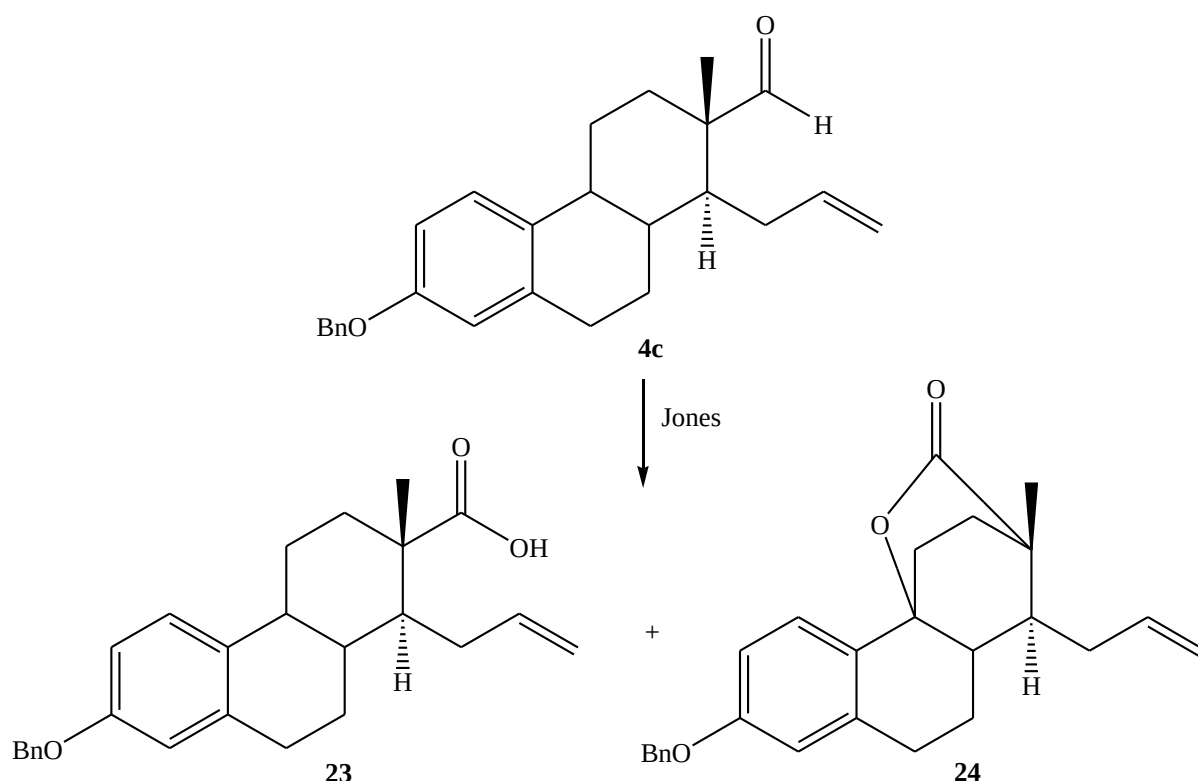
A 11. ábrán bemutatott D-szekoaldehidből (**4c**) KBH₄-del, metanolban, jó termeléssel nyertük a gyűrűzárások kiindulási anyagaként szolgáló D-szekoalkoholt (**22**, 11. ábra). Mivel a **22**-es jelű vegyület hidroximetil- és propenil-csoportokat tartalmaz, ezek várhatóan készségesen vesznek részt gyűrűzárási reakciókban. Így lehetőség nyílik különbözőképpen szubsztituált tetrahidropirán származékok szintézisére.



11. ábra

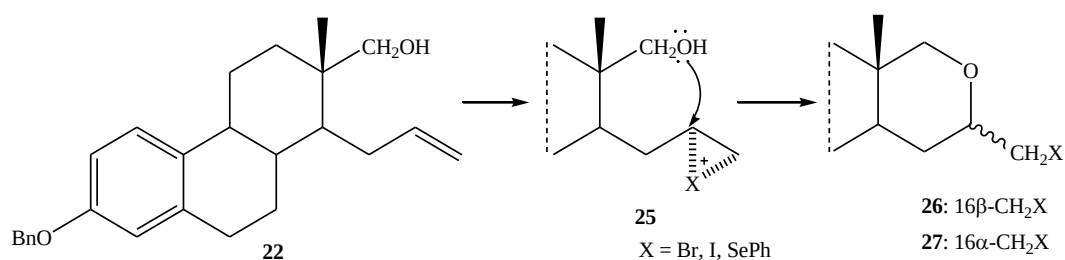
A fenti redukciós átalakításon túl a szekosztteroidot (**4c**) oxidáltuk is (12. ábra). A Jones-oxidációval két terméket nyertünk (**23**, **24**). A szekokarbonsav (**23**) mellett egy áthidalt szerkezetű lakton (**24**) is képződött. Ez utóbbi vegyület keletkezése azzal magyarázható, hogy a reakció körülményei között először oxidáció következik be a 9-es

szénatomon, a megfelelő 9-hidroxi-származékot eredményezve, majd a kedvező térkémiai viszonyok következtében kialakul a laktongyűrű.



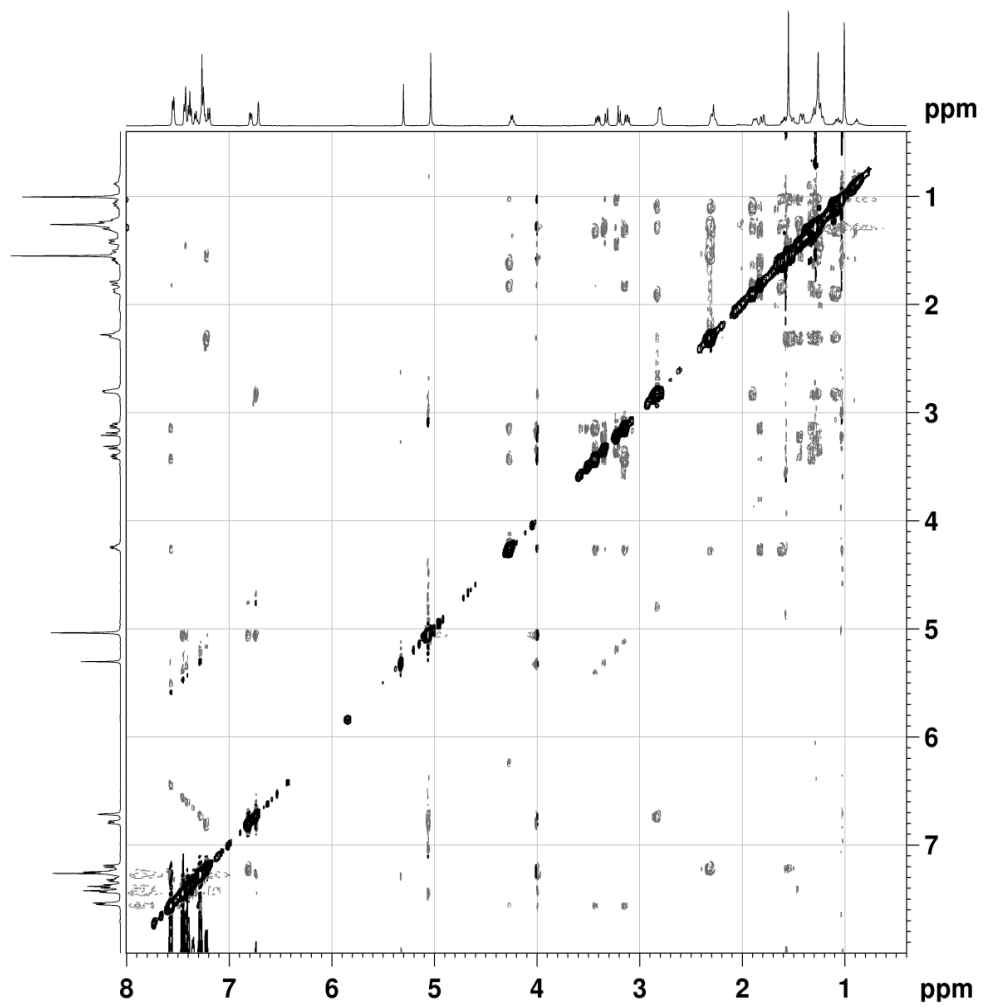
12. ábra

A szekoalkoholok és a szekokarbonsavak ω -alkenolként, illetve ω -alkénsavként viselkedve, elektrofil reagensek hatására, gyűrűzárási reakciókban vesznek részt. Átalakításaink egy részét a **22**-es jelű vegyületből kiindulva végeztük (13. ábra). Elektrofil reagensként *N*-bróm-szukcinimidet (NBS), jódot és fenil-szenilbromidot alkalmaztunk. Az elektrofil reagens a propenil oldallánc kettős kötésére intéz elektrofil támadást, majd az így kialakuló halónium vagy szelenónium iont a hidroxil-funkció nukleofil oxigénje támadja, így alakítva ki a gyűrűs étert. A **22**-es jelű vegyület 1 ekvivalens NBS-del végzett bróméteresítési reakciója sztereoizomerek (**26a**, **27a**) keverékét szolgáltatta a 16-os szénatomon. A fő izomer a 16 β - (**26a**), a mellék izomer pedig a 16 α -brómmetil vegyület (**27a**) volt. Ehhez hasonló izomerarányt tapasztaltunk a másik két elektrofilrel végzett reakciónál is.

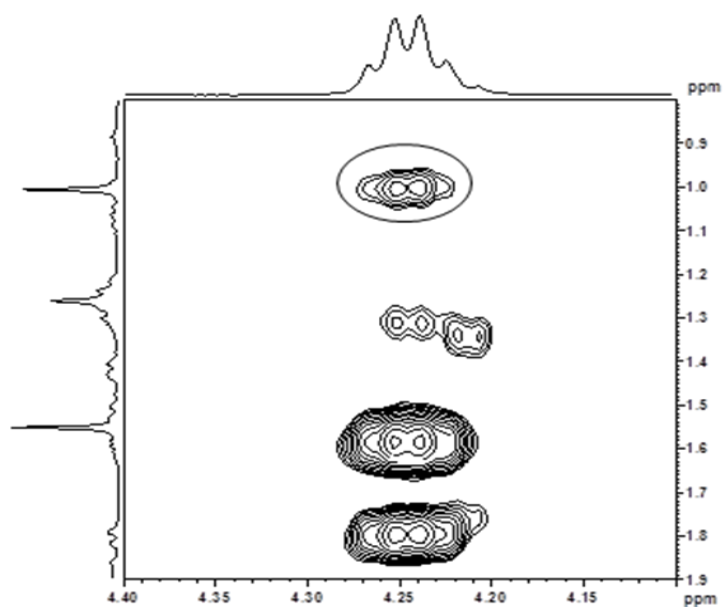


13. ábra

A tetrahidropirán termékek (**26**, **27**) szerkezetbizonyítást NMR spektroszkópai felvételek segítették. A ¹H-NMR spektrumok jól mutatják az egyes izomerek szerkezeti sajátosságait. A fő izomerek (**26**) protonspektrumaiban 4 ppm alatt jelentkezik a 16-os proton multiplettje, míg a mellék izomereknél (**27**) ez a jel 4.2 ppm-nél jelenik meg. A hasonló szubsztituenseket tartalmazó izomerek spektrumaiban megfigyelhető hasonló jelalakok és kémiai eltolódások a 16-os protonok azonos térállására utalnak. A 16-os szénatom konfigurációjának megállapításában a NOESY-felvétel segítette munkánkat (14. ábra). A 14. ábra mutatja a **27c** vegyület teljes NOESY spektrumát, a 15. ábra pedig annak egy kiemelt részletét. Ez utóbbi spektrumrészlet igazolja a keresztcsúcsok jelenlétét a mérvadó protonok jelei között: mivel a 16-os hidrogén és az anguláris metil-csoport jele keresztcsúcsot adott, beigazolódott, hogy a 16-os H-atom β-térállású.

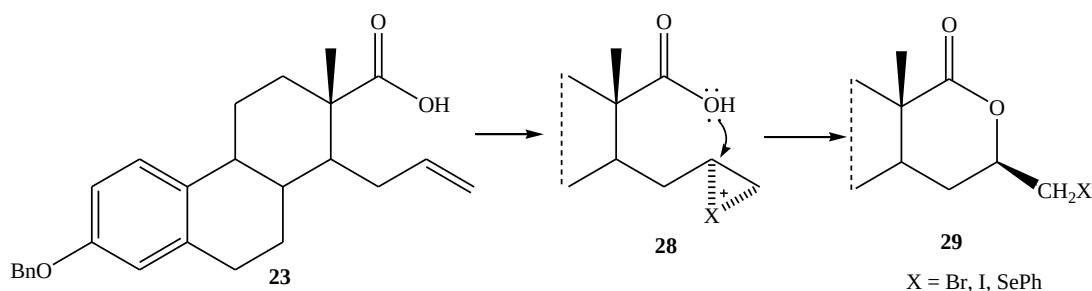


14. ábra



15. ábra

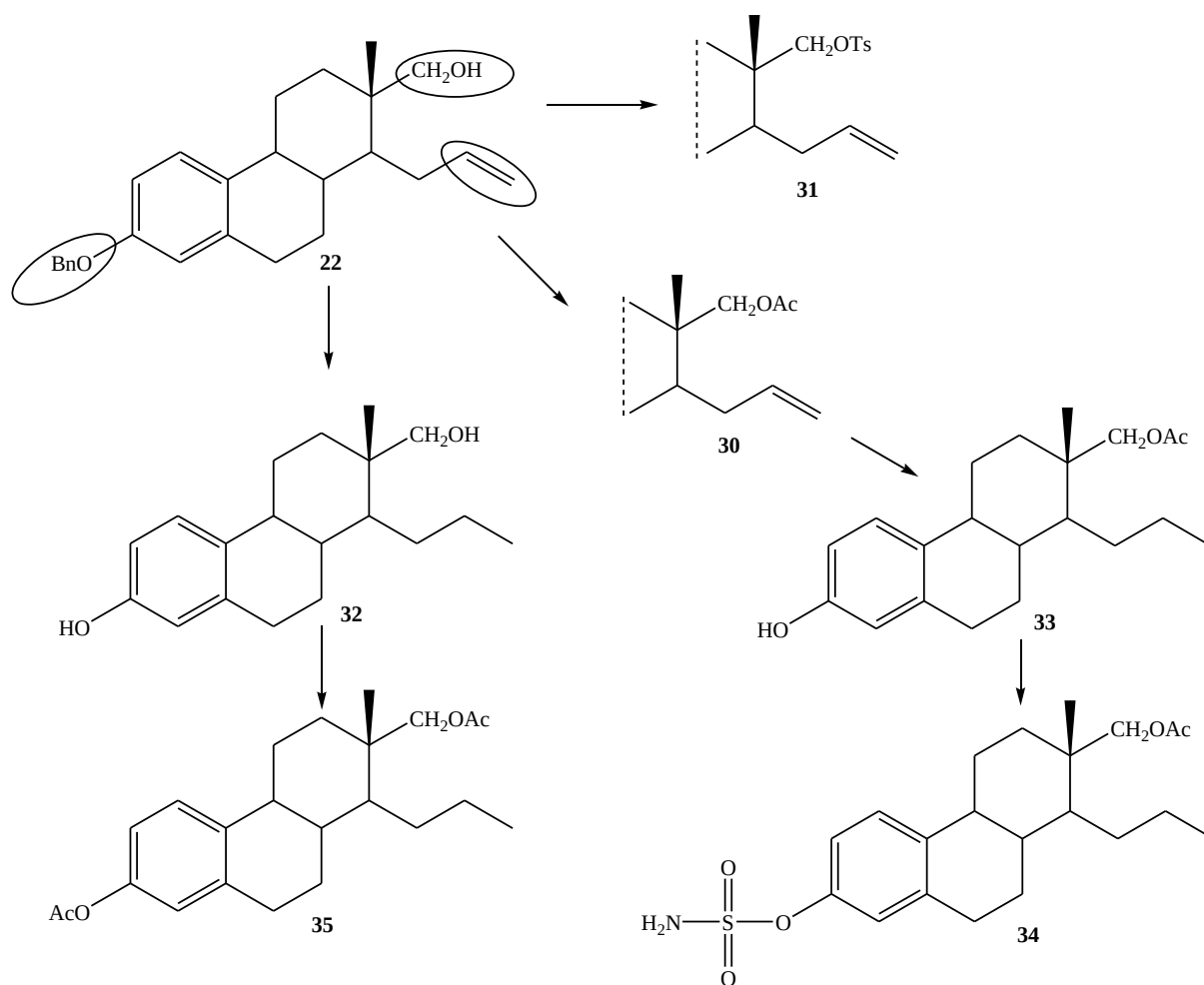
További átalakításainkat a **23**-as vegyületből kiindulva végeztük (16. ábra). A szekokarbonsavból (**23**) elektrofil reagensek hatására, a 16. ábrán feltüntetett mechanizmussal, sztereospecifikusan, egy szubsztituált δ -lakton (**29**) keletkezett minden reakcióban. A termékek (**29**) protonspektrumaiban a 16-H multipllettje jellemzően magasabb kémiai eltolódásnál (4.4 ppm) mutatkozott, mint a megfelelő gyűrűs étereknél (**26**, **27**).



16. ábra

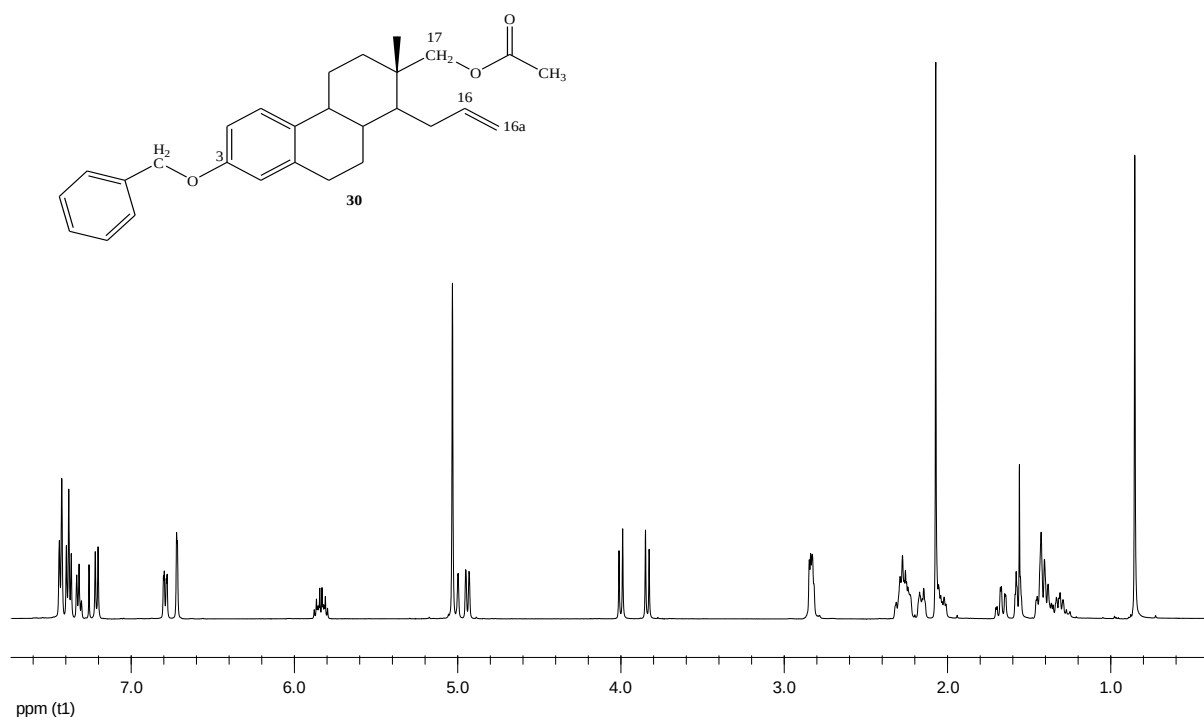
A folyamatok rövid idő alatt (mindössze 1 óra) kvantitatívan mentek végbe, a reakciók kivitelezése és feldolgozása egyszerű volt.

Kutatócsoportunk a közelmúltban arra a megfigyelésre jutott, hogy a szekoöszttronok olykor jelentős antiproliferatív hatással rendelkeznek (nem publikált eredmények), ezért kísérleti munkánk egyik célja a **22**-es jelű vegyület néhány további származékának előállítása volt. A 17. ábra mutatja a vegyület könnyen átalakítható funkciós csoportjait. Elvégeztük az alkoholos hidroxil-funkció észteresítését ecetsavanhidriddel és tozilkloriddal, így jutottunk a **30**-as és **31**-es jelű vegyületekhez, valamint eltávolítottuk a 3-benzil-védőcsoportot hidrogenolízissel, ekkor a propenil oldallánc is telítődött (**32**). A szabad fenolos OH-csoportot tartalmazó vegyületek (**32**, **33**) előállításán túl célunk volt a 3-szulfamát (**34**) előállítása is. Ez utóbbi reakciót szulfamoilkloriddal hajtottuk végre, dimetilformamidban. Az irodalomban ismeretes, hogy a szulfamát-funkció kialakítása általában megnöveli az öszttron-származék felezési idejét az élő szervezetben, illetve csökkenti az ösztrogén hatást.²⁰



17. ábra

A 18. ábra mutatja a **30**-as jelű vegyület ^1H -NMR spektrumát. A felvételen 1 és 2 ppm körül jelentkezik az anguláris metil- és az acetil-metil-csoport hármas intenzitású szingulettje, ez utóbbi utal az észterképződés lejátszódására. A telítetlen oldallánc protonjainak jelei 4 és 5 ppm körül adnak multiplettet. Az aromás protonok jelei 6,5 ppm felett találhatók.



18. ábra

4.2. Az előállított vegyületek antiproliferatív hatásának vizsgálata

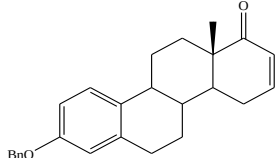
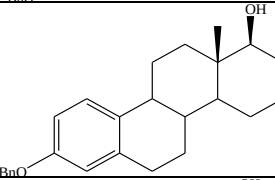
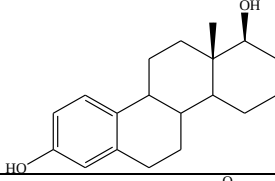
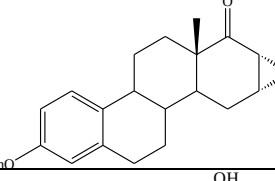
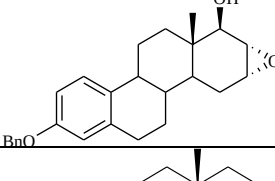
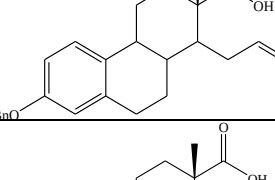
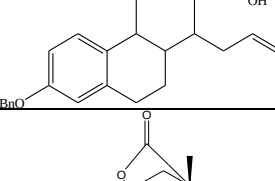
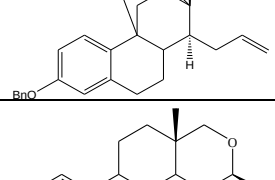
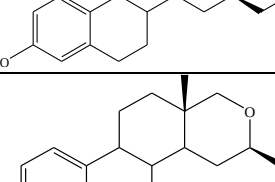
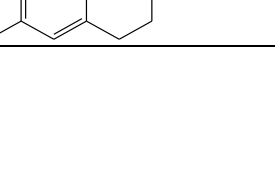
A SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében *in vitro* tesztelésre került az általunk előállított vegyületek többsége. A tumorellenes hatást MTT-módszerrel határozták meg több humán sejtvonalon. Ez a kolorimetriás eljárás azon alapul, hogy a metabolikusan aktív sejtek a 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid (MTT) festékanyagot redukálják, így oldhatatlan lila színű formazán kristályok képződnek. A kolorimetriás méréssel tehát meghatározható a potenciális hatóanyaggal történő kezelést követően az élő sejtek mennyisége. Az 1. és a 2. táblázat összefoglalja a különböző sejtvonalakon mért IC_{50} értékeket a ciszplatinhoz, mint referencia vegyülethez viszonyítva. Az 1. táblázatból kitűnik, hogy a 17 α -D-homo-ösztadiol (**19**) és a **18**-as jelű vegyület, amely a 3-as helyzetben benzil-védőcsoportot és a D-gyűrűben egy kettős kötést tartalmaz, egymással és a ciszplatinnal összemérhető IC_{50} értéket mutat, de különböző sejtvonalon (HeLa vagy A2780). Ezen eredmények alapján azt feltételezzük, hogy a 17a-szénatomon levő OH-csoport szükséges és valóban fontos szerepet tölt be az antitumor hatás kialakulásában, illetve, hogy a 3-as helyzetben levő csoport valamilyen módon befolyásolja a szteroidnak adott sejtvonalra mutatott szelektivitását. A vizsgált 17a-kezonok (**17**, **20**) közül egyik sem aktív annak ellenére, hogy maga a D-homoösztion (**5a**) hatásos. Ez az aktivitás-csökkenés egyrészt a benzil-funkció, másrészt az epoxid-gyűrű jelenlétének tulajdonítható. Az epoxikezon (**20**) redukálásával kapott 17a-hidroxi-származék (**21**) azonban szelektíven hat az Ishikawa sejtekre, jó IC_{50} -értékkel.

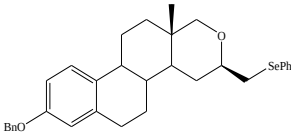
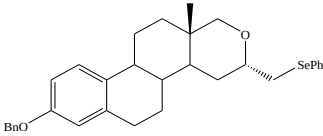
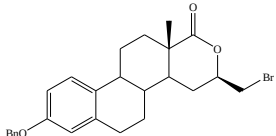
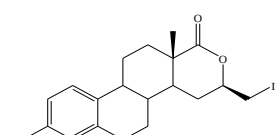
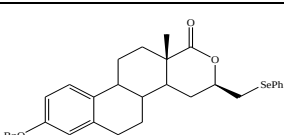
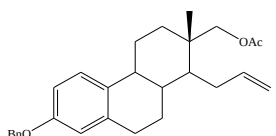
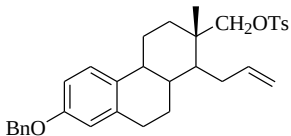
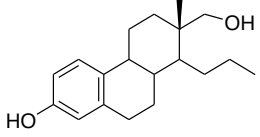
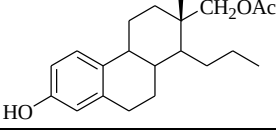
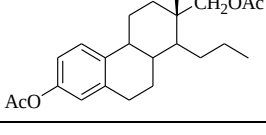
Az 1. és a 2. táblázatban összefoglaltuk az előállított szekovegyületek és az elektrofil ciklizációkkal kapott D-homo-származékok különböző sejtvonalakon mért IC_{50} értékeit. Az eredmények összehasonlításából kitűnik, hogy a **22**-es jelű D-szekoalkohol és annak **30**-as jelű acetilezett származéka egymással összemérhetően kiemelkedő tumorellenes hatást ($IC_{50} \sim 5-9 \mu M$) mutat három sejtvonalon: A431, Ishikawa, MCF-7. A szekokarbonsav (**23**) kevésbé gátolja a rákos sejtek osztódását, mint annak alkohol-származéka (**22**), ezzel arra is utalunk, hogy a szekoösztionoknál a 17-es helyzetű szubsztituens minősége nagymértékben befolyásolja a biológiai aktivitást. Az is kitűnik a táblázatból, hogy a szekovegyületeknél a fenolos hidroxil-funkció szabaddá tétele rontja az eredményeket. Az újonnan előállított D-homológok (**26**, **27**, **29**) minden sejtvonalon 10-es vagy 10-nél nagyobb IC_{50} -értéket adtak,

amely adatok arra utalnak, hogy a halogének vagy a szelén jelenléte, illetve a heteroatom beépítése a D-gyűrűbe nem növeli a származék biológiai aktivitását az alapvegyületként tekintett D-homoösztronhoz (**5a**) képest.

A munka folytatásában a közeljövőben a potens vegyületek (**18, 19, 21, 22, 30**) egészséges sejteken történő *in vitro* vizsgálata következik, majd a kiválasztott származékok hatásmechanizmusának felderítése céljából áramlási citometriás és egyéb mérések kerülnek kivitelezésre.

1. és 2. táblázat

Szám	A vegyület képlete	IC ₅₀ [μM]				
		HeLa	MCF-7	A2780	A431	Ishikawa
17		>30	>30	>30	>30	-
18		10-30	10-30	3,0	10-30	-
19		3,5	>30	>30	>30	-
20		>30	~15	>30	>30	>30
21		13,2	14,4	13,6	12,2	6,1
22		10-30	6,4	10-30	5,4	7,3
23		>30	>30	>30	>30	>30
24		~10	>30	10-30	>30	>30
26a		>30	>30	>30	>30	>30
26b		>30	>30	>30	>30	>30

Szám	Szerkezeti képlet	IC ₅₀ [μM]				
		HeLa	MCF-7	A2780	A431	Ishikawa
26c		>30	>30	>30	>30	>30
27c		>30	>30	>30	>30	>30
29a		10-30	10-30	~30	10-30	>30
29b		>30	>30	10-30	~10	>30
29c		>30	>30	>30	>30	>30
30		10-30	7,9	10-30	7,3	9,5
31		>30	>30	>30	>30	>30
32		>30	>30	>30	>30	>30
33		>30	10-30	~30	>30	>30
35		>30	>30	>30	>30	>30
ciszplatin		5,3	7,3	0,7	8,9	3,5

5. Kísérleti leírások

5.1. Általános kísérleti rész

Az olvadáspontokat Kofler-blokkon mértük, korrekció nélkül.

A ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumok felvétele Bruker DRX 500 készülékkel történt, belső standardként TMS-t, oldószerként CDCl_3 -ot használva (az egyéb oldószereket a megfelelő adatoknál jelöltük).

A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük. Kieselgel 60 (MERCK), 0.2 mm vastagságú lapokat használtunk. A kromatogramokat a következő összetételű reagenssel való lefűvéssel és azt követő 10 perces 100-120 °C-on történő melegítéssel hívtuk elő: 2.5 g $\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 24\text{MoO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 25 ml 85%-os H_3PO_4 , 25 ml víz. Az R_f -értékek megállapítása 254 vagy 365 nm hullámhosszúságú UV-fényben észlelt foltok alapján történt.

A reakciótermékek elválasztása, illetve tisztítása 40-63 μm szemcseméretű Kieselgel 60 (MERCK) álló fázissal töltött oszlopon történt.

5.2. Részletes kísérleti rész

5.2.1. A 3-benziloxi-16-*p*-toluolszulfoniloxi-*D*-homoösztetra-1,3,5(10)-trién-17a-ol (16) előállítása

375 mg (1 mmol) 3-benziloxi-16,17-szekoösztetra-1,3,5(10),16-tetraén-17-ol (4c) 10 ml jégchilled diklórmétánban oldunk, majd kis adagokban 190 mg (1,1 mmol) vízmentes *p*-toluolszulfonsavat adunk hozzá. A reakcióelegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, az átalakulást vékonyréteg-kromatográfiával követjük. A kiindulási anyag teljes átalakulása után az elegyet 10 ml vízzel elhígítjuk, nátrium-hidrogénkarbonáttal semlegesítjük, diklórmétánnal extraháljuk, majd a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A nyers termékeket oszlopkromatográfiával, 30% *tert*-butil-metil-éter / 70% petroléter eluenssel tisztítjuk, hozam: 82%, C₃₃H₃₈O₅S, M_r= 546,6.

5.2.2. A 3-benziloxi-*D*-homoösztetra-1,3,5(10),16-tetraén-17a-on (17) előállítása

1,28 g (2,35 mmol) 3-benziloxi-tosilátot (16) oldunk 12,8 ml acetonban, majd jégchilled közben 1,3 ml (8 N) Jones-reagenst adagolunk az oldathoz. 1 órán át tartó keverés után a reakcióelegyet vízre öntjük, diklórmétánnal extraháljuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A nyersterméket (17) oszlopkromatográfiával tisztítjuk, diklórmétán eluenssel. Hozam 90%, C₂₆H₂₈O₂, M_r= 372,5. A vegyület fizikai adatai megegyeznek az irodalomban leírtakkal.¹⁸

5.2.3. A 3-hidroxi-*D*-homoösztetra-1,3,5(10)-trién-17a-on (5a) előállítása

372 mg (1 mmol) 3-benziloxi-ketont (17) oldunk 30 ml etilacetátban, 0,60 g (10%) palládium/csontszén katalizátort adunk hozzá, majd a reakcióelegyet 20 bar hidrogénnyomás alatt 24 órán át keverjük. A katalizátort szűréssel eltávolítjuk. Az oldat bepárlása után kapott nyerstermék (5a) oszlopkromatográfiával tisztítható, 15% *tert*-butil-metil-éter / 70% petroléter eluenssel. Hozam 85%, C₁₉H₂₄O₂, M_r= 284,4. A termék (5a) fizikai adatai megegyeznek az irodalomban leírtakkal.¹⁸

5.2.4. A 3-benziloxi-D-homoösztra-1,3,5(10),16-tetraén-17a-on (**17**) epoxidálása

118 mg (0,32 mmol) 3-benziloxi-ketont (**17**) feloldunk 7,6 ml metanolban, majd jeges hűtés közben hozzácepegtetünk 1,34 ml 30%-os hidrogén-peroxidot és 0,12 ml 5 M-os nátrium-hidroxid oldatot. A reakció lejtásódását vékonyréteg kromatográfiával ellenőrizzük. Az elegyet vízzel elhígítjuk és éterrel extraháljuk. A szerves fázist szárítjuk és bepároljuk, majd oszlopkromatográfiával tisztítjuk, 15% etilacetát / hexán eluenssel.

20: Hozam: 85 %; op.:155-165; $R_f = 0,54$ (diizopropil-éter); $C_{26}H_{28}O_3$; $M_r = 388,5$; 1H NMR δ ppm 0,99(s, 3H, 18- H_3); 2,86(m, 2H, 6- H_2); 3,23(m, 1H, 16-H); 3,57(s, 1H, 17-H); 5,04(s, 2H, OCH_2); 6,72(d, 1H, $J = 2.3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 2-H); 7,20(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ^{13}C NMR δ ppm 16,1(C-18); 23,8; 25,6; 26,1; 29,9; 32,0; 36,2; 38,5; 42,7; 45,5(C-13); 51,8 és 52,9: C-16 és C-17; 70,0(OCH_2); 112,5(C-4); 114,5(C-2); 126,3(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,9(C-4'); 128,5(2C: C-3', 5'); 132,3(C-10); 137,2(C-1'); 137,5(C-5); 156,9(C-3); 207,4(C-17a).

5.2.5. A telítetlen (**17**), a telített (**5a**) keton és az epoxid (**20**) redukciója

372 mg (1 mmol) 3-benziloxi-ketont (**17**) vagy 284 mg (1 mmol) D-homoösztront (**5a**) vagy 388 mg (1 mmol) epoxidot (**20**) oldunk 5 ml diklórmétán és metilalkohol 1:1 keverékében, majd 5 ekvivalens kálium-tetrahidridoborátot adunk hozzá. A reakció előrehaladását vékonyréteg-kromatográfiával követjük. A reakcióelegyet vízre öntjük, éterrel extraháljuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A nyers termékeket (**18**, **19**, **21**) oszlopkromatográfiával tisztítjuk, 50% diizopropil-éter/hexán $\rightarrow$ diizopropil-éter eluenssel. A hozam átlagosan 90% volt minden termékre.

18: Hozam: 89 %; op.: 202-205 °C; $R_f = 0,40$ (diizopropil-éter); $C_{26}H_{30}O_3$; $M_r = 374,5$; 1H NMR δ ppm 0,83(s, 3H, 18- H_3); 2,83(m, 2H, 6- H_2); 3,94(s, 1H, 17a-H); 5,04(s, 2H, OCH_2); 5,52(m, 1H) és 5,74(m, 1H): 16-H és 17-H; 6,71(d, 1H, $J = 2.3$ Hz, 4-H); 6,78(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 2-H); 7,23(d, 1H, $J = 8.5$ Hz, 1-H); 7,24(m, 1H, 4'-H); 7,34(m, 2H, 3'-H és 5'-H); 7,42(m, 2H, 2'-H és 6'-H).

19: Hozam: 95 %; op.: 210-215 °C; $R_f = 0,42$ (diizopropil-éter); $C_{19}H_{26}O_2$; $M_r = 286,4$; 1H NMR δ ppm (DMSO- d_6) 0,73(s, 3H, 18- H_3); 2,67(m, 2H, 6- H_2); 3,03(m, 1H, 17a-H); 4,29(m,

1H, 17a-OH); 6,42(d, 1H, $J = 2.3$ Hz, 4-H); 6,50(dd, 1H, $J = 7.5$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 2-H); 7,05(d, 1H, $J = 8.5$ Hz, 1-H); 8,96(s, 1H, 3-OH).

21: Hozam: 93 %; op.: 164-167 °C; $R_f = 0,28$ (diizopropil-éter); $C_{26}H_{30}O_3$; $M_r = 390,5$; 1H NMR δ ppm 0,79(s, 3H, 18-H₃); 2,82(m, 2H, 6-H₂); 3,48(átfedő multiplettek, 3H, 16-H, 17-H és 17a-H); 5,03(s, 2H, OCH₂); 6,71(d, 1H, $J = 2.3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8.5$ Hz, 1-H); 7,31(m, 1H, 4'-H); 7,38(m, 2H, 3'-H és 5'-H); 7,41(m, 2H, 2'-H és 6'-H).

5.2.6. A 3-benziloxi-16,17-szekoösztro-1,3,5(10)-trién-17-ol (**22**) előállítása

375 mg (1 mmol) D-szekoaldehidet (**4c**) feloldunk 5 ml diklórmetán és metilalkohol 1:1 keverékében, majd 5 ekvivalens kálium-tetrahidridoborátot adunk hozzá. A reakció előrehaladását vékonyréteg-kromatográfiával követjük. A reakcióelegyet vízre öntjük, éterrel extraháljuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk.

22: Hozam: 87%; olaj; $R_f = 0,53$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); $C_{26}H_{32}O_2$; $M_r = 376,5$; 1H NMR δ ppm 0,80(s, 3H, 18-H₃); 2,85(m, 2H, 6-H₂); 3,30 és 3,61(2xm, 2x1H, 17-H₂); 5,03(m, 2H, 16a-H₂); 5,04(s, 2H, OCH₂); 5,93(m, 1H, 16-H); 6,73(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,22(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ^{13}C NMR δ ppm 16,2(C-18); 26,2; 27,6; 30,4; 32,4; 35,9; 38,9(C-13); 41,2; 43,5; 44,3; 70,0(OCH₂); 71,0(C-17); 112,4(C-2); 114,3(C-16a); 114,4(C-4); 126,4(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 133,1(C-10); 137,3(C-1'); 138,0(C-5); 140,5(C-16); 156,8(C-3).

5.2.7. A 3-benziloxi-16,17-szekoösztro-1,3,5(10)-trién-17-karbonsav (**23**) előállítása

375 mg (1 mmol) D-szekoaldehidet (**4c**) oldunk 4 ml acetonban, majd jéghűtés közben 0,4 ml (8 N) Jones-reagenst adagolunk az oldathoz. 1 órán át tartó keverés után a reakcióelegyet vízre öntjük, diklórmetánnal extraháljuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A nyerstermékkeveréket (**23+24**) oszlopkromatográfiával tisztítjuk, diklórmetán eluenssel.

23: Hozam: 65%; $R_f = 0,32$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₆H₃₀O₃; $M_r = 390,5$; ¹H NMR δ ppm 1,19(s, 3H, 18-H₃); 2,84(m, 2H, 6-H₂); 5,01(m, 2H, 16a-H₂); 5,05(s, 2H, OCH₂); 5,88(m, 1H, 16-H); 6,73(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,80(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,20(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz 4'-H); 7,39(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 15,0(C-18); 25,8; 27,1; 28,7; 30,2; 35,7; 37,4; 40,9; 43,0; 45,4; 47,4(C-13); 70,0(OCH₂); 112,5(C-2); 114,5(C-4); 115,3(C-16a); 126,4(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,9(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 132,4(C-10); 137,2(C-1'); 137,9(C-5); 138,8(C-16); 156,8(C-3); 184,5(C-17).

24: Hozam: 33%; op.: 110-118 °C; $R_f = 0,63$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₆H₂₈O₃; $M_r = 388,5$; ¹H NMR δ ppm 1,22(s, 3H, 18-H₃); 2,73(m, 2H, 6-H₂); 5,05(s, 2H, OCH₂); 5,09-5,16(átfedő multiplettek, 2H, 16a-H₂); 5,85(m, 1H, 16-H); 6,71(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,85(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,26(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,34(t, 1H, $J = 7,3$ Hz 4'-H); 7,39(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 18,6(C-18); 25,3; 26,8; 30,1; 31,9; 34,5; 40,4(C-13); 44,7; 45,2; 69,9(OCH₂); 80,6(C-9); 113,5(C-2); 114,3(C-4); 117,0(C-16a); 127,4(2C: C-2',6'); 127,9(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 129,1(C-1); 130,2 (C-10); 136,2(C-16); 136,9(C-1'); 139,3 (C-5); 158,7(C-3); 178,2(C-17).

5.2.8. Tetrahidropirán-származékok előállítása

5.2.8.1. Bróméteresítés (26a, 27a)

300 mg (0,79 mmol) 3-benziloxi-16,17-szeko-ösztro-1,3,5(10),16-tetraén-17-olt (**17**) 10 ml diklórmetánban oldunk, az oldatot 0°C-ra hűtjük, majd hozzáadunk 141 mg (0,79 mmol) *N*-bróm-szukcinimidet és a reakcióelegyet 1 órán át keverjük. A termékeket (**26a**, **27a**), az oldatok bepárlását követően, oszlopkromatográfiával választottuk szét, 70% diklórmetán/hexán eluens alkalmazásával. C₂₆H₃₁BrO₂; $M_r = 455,5$.

26a: Hozam: 72 %; op.: 107-108 °C; $R_f = 0,51$ (70% CH₂Cl₂/hexán); ¹H NMR δ ppm 1,01(s, 3H, 18-H₃); 2,84(m, 2H, 6-H₂); 3,17(m, 1H) és 3,58(átfedő multiplettek, 2H): 17-H₂ és 16-H; 3,46(m, 2H, 16a-H₂); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,73(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,30(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,37(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 16,5(C-18);

25,5; 25,7; 28,8; 29,9; 34,0(C-13); 35,1; 36,2; 38,5; 43,7; 47,2; 69,9(OCH₂); 77,6(C-16); 79,9(C-17); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,1(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 132,8(C-10); 137,3(C-1'); 137,8(C-5); 156,8(C-3).

5.2.8.2. Jódéteresítés (26b, 27b)

110 mg (0,29 mmol) 3-benziloxi-16,17-szeko-öszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17-olt (**22**) 1,3 ml dietil-éterben oldunk, hozzáadunk 0,4 ml vizet, 33,6 mg (0,4 mmol) nátrium-hidrogénkarbonátot és 102 mg (0,4 mmol) jódot. A reakcióelegyet 1 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, dietil-éterrel elhígítjuk, nátrium-tioszulfát oldattal mossuk, Na₂SO₄-on szárítjuk és bepároljuk. A termékelegyet szétválasztását oszlopkromatográfiával végeztük, 70% diklórmétán / hexán eluenssel. C₂₆H₃₁IO₂; M_r= 502,4.

26b: Hozam: 20%; op.: 105-108 °C; R_f = 0,47 (70% CH₂Cl₂/hexán); ¹H NMR δ ppm 1,01(s, 3H, 18-H₃); 2,85(m, 2H, 6-H₂); 3,18 és 3,58(2xm, 2x1H, 17-H₂); 3,26-3,33(átfedő multiplettek, 3H, 16a-H₂ és 16-H); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,73(d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, J = 7,3 Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, J = 7,3 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 10,6(C-16a); 16,7(C-18); 25,4; 25,7; 29,9; 30,5; 33,9(C-13); 35,0; 38,5; 43,7; 47,2; 69,9(OCH₂); 77,4(C-16); 79,9(C-17); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,1(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 132,8(C-10); 137,3(C-1'); 137,8(C-5); 156,8(C-3).

27b: Hozam: 60%; op.: 112-113 °C; R_f = 0,51 (70% CH₂Cl₂/hexán); ¹H NMR δ ppm 1,02(s, 3H, 18-H₃); 2,84(m, 2H, 6-H₂); 3,20(m, 2H, 16a-H₂); 3,40 és 3,56(2xm, 2x1H, 17-H₂); 4,23(m, 1H, 16-H); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,72(d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,24(d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, J = 7,3 Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, J = 7,3 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 6,9(C-16a); 15,9(C-18); 25,3; 25,6; 29,8; 30,5; 34,2(C-13); 35,5; 38,3; 41,7; 43,7; 69,9(OCH₂); 72,5(C-17); 73,7(C-16); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,0(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 132,8(C-10); 137,3(C-1'); 137,8(C-5); 156,8(C-3).

5.2.8.3. Éteresítés fenilszelenilbromiddal (26c, 27c)

100 mg (0,28 mmol) 3-benziloxi-16,17-szeko-ösztetra-1,3,5(10),16-tetraén-17-olt (22) 5 ml acetonitrilben oldunk, hozzáadunk 66 mg (0,28 mmol) fenil-szelenilbromidot, majd 1 óra keverés után hozzáadunk 38,6 mg (0,28 mmol) kálium-karbonátot és a reakcióelegyet szobahőmérsékleten további 1 óra át keverjük. A termékeket (26c, 27c), az oldatok bepárlását követően, oszlopkromatográfiával választottuk szét, 70% diklórmetán / hexán eluens alkalmazásával. $C_{32}H_{36}O_2Se$, $M_r = 531,6$.

26c: Hozam: 19%; op.: 135-137 °C; $R_f = 0,40$ (70% CH_2Cl_2 /hexán); 1H NMR δ ppm 1,01(s, 3H, 18- H_3); 2,83(m, 2H, 6- H_2); 3,06 (m, 1H) és 3,14(átfedő multiplettek, 2H) és 3,55(átfedő multiplettek, 2H): 16-H és 16a- H_2 és 17- H_2 ; 5,04(s, 2H, OCH_2); 6,72(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,24-7,28 (átfedő multiplettek, 3H) és 7,54 (m, 2H): 2'',3'',4'',5'',6''-H; 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ^{13}C NMR δ ppm 16,6(C-18); 25,5; 25,7; 29,9; 30,3; 33,8; 34,0(C-13); 35,2; 38,5(C-8); 43,7(C-9); 47,4(C-14); 69,9(OCH_2); 77,9(C-16); 80,0(C-17); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,1(C-1); 126,7(2C: C-2',6'); 127,4(2C: C-3',5'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3'',5''); 129,0(C-4''); 130,8(C-1''); 132,5(2C: C-2'',6''); 132,9(C-10); 137,3(C-1'); 137,8(C-5); 156,8(C-3).

27c: Hozam: 62%; op.: 142-143 °C; $R_f = 0,47$ (70% CH_2Cl_2 /hexán); 1H NMR δ ppm 1,00(s, 3H, 18- H_3); 2,80(m, 2H, 6- H_2); 3,11 és 3,40(2xm, 2x1H, 16a- H_2); 3,19 és 3,32(2xd, 2x1H, $J = 11,2$ Hz, 17- H_2); 4,24(m, 1H, 16-H); 5,03(d, 2H, OCH_2); 6,71(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,78(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,19(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,22-7,26 (átfedő multiplettek, 3H): 3'',4'',5''-H; 7,32(t, 1H, $J = 7,2$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,2$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,2$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,54 (m, 2H, 2''-H és 6''-H); ^{13}C NMR δ ppm 16,1(C-18); 25,4; 25,5; 25,9; 29,4(C-16a); 29,8(C-6); 34,2; 35,6; 38,4(C-8); 41,8(C-9); 43,7(C-14); 69,9(OCH_2); 72,8(C-17); 73,1(C-16); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,1(C-1); 126,9(2C: C-2',6'); 127,4(2C: C-3',5'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3'',5''); 129,1(C-4''); 130,1(C-1''); 132,7(2C: C-2'',6''); 132,9(C-10); 137,3(C-1'); 137,9(C-5); 156,8(C-3).

5.2.9. Laktonképzési reakciók

5.2.9.1. Brómlaktonizáció (29a)

100 mg (0,26 mmol) 3-beziloxi-16,17-szekoösztetra-1,3,5(10),16-tetraén-17-karbonsavat (**22**) 5 ml diklórmetánban oldunk, hozzáadunk 58 mg (0,33 mmol) *N*-bróm-szukcinimidet, majd a reakcióelegyet szobahőmérsékleten 1 órán át keverjük. A terméket (**29a**) az oldat bepárlását követően, oszlopkromatográfiás tisztításnak vetjük alá, diklórmetán eluens alkalmazásával.

29a: Hozam: 98%; op.: 150-155 °C; $R_f = 0,63$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₆H₂₉BrO₃, $M_r = 469,4$; ¹H NMR δ ppm 1,26(s, 3H, 18-H₃); 2,88(m, 2H, 6-H₂); 3,56-3,62(átfedő multiplettek, 2H, 16a-H₂); 4,54(m, 1H, 16-H); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,74(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,80(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,22(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 18,5(C-18); 25,4; 26,2; 26,3; 29,7; 34,2; 35,3; 37,7; 41,3(C-13); 42,6; 43,1; 70,0(OCH₂); 78,3(C-16); 112,6(C-2); 114,6(C-4); 126,2 és 127,4(2C) és 127,9 és 128,5(2C): C-1,2',3',4',5',6'; 131,9(C-10); 137,2(C-1'); 137,4(C-5); 157,0(C-3); 176,3(C-17).

5.2.9.2 Jódlaktonizáció (29b)

100 mg (0,26 mmol) 3-benziloxi-16,17-szekoösztetra-1,3,5(10),16-tetraén-17-karbonsavat (**22**) 3 ml diklórmetán és 3 ml tetrahidrofurán elegyében oldunk, hozzáadunk 3,5 ml telített nátrium-hidrogénkarbonát oldatot (pH=9) és 93 mg (0,35 mmol) jódot. 1 óra keverés után a reakcióelegyet vízre öntjük, diklórmetánnal extraháljuk, nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk. A terméket (**29b**) oszlopkromatográfiával tisztítottuk, diklórmetán eluenssel.

29b: Hozam: 98%; op.: 158-160 °C; $R_f = 0,66$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₆H₂₉IO₃, $M_r = 516,4$; ¹H NMR δ ppm 1,26(s, 3H, 18-H₃); 2,89(m, 2H, 6-H₂); 3,43(m, 2H, 16a-H₂); 4,22(m, 1H, 16-H); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,73(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,80(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR δ ppm 9,3(C-16a); 18,7(C-18); 25,4; 26,3; 28,2; 29,7; 34,2; 37,7; 41,2(C-13); 42,7; 43,2; 69,9(OCH₂); 78,3(C-16); 112,6(C-2);

114,6(C-4); 126,2 és 127,4(2C) és 127,9 és 128,5(2C): C-1,2',3',4',5',6'; 131,9(C-10); 137,2(C-1'); 137,3(C-5); 156,9(C-3); 176,4(C-17).

5.2.9.3 Laktonképzés fenilszelenilbromiddal (29c)

133 mg (0,24 mmol) 3-beziloxi-16,17-szekoösztrol-1,3,5(10),16-tetraén-17-karbonsavat (**22**) 5 ml acetonitrilben oldunk, hozzáadunk 83,5 mg (0,35 mmol) fenil-szelenilbromidot, majd 1 óras keverés után 48,85 mg (0,35 mmol) kálium-karbonátot és a reakcióelegyet szobahőmérsékleten további 1 órán át keverjük. A terméket az oldat bepárlását követően, oszlopkromatográfiás tisztításnak vetjük alá, diklórmétán eluens alkalmazásával.

29c: Hozam: 97%; op.: 1175-178 °C; $R_f = 0,66$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₃₂H₃₄O₃Se, $M_r = 545,6$; ¹H NMR δ ppm 1,26(s, 3H, 18-H₃); 2,86(m, 2H, 6-H₂); 3,15 és 3,29(2xm, 2x1H, 16a-H₂); 4,52(m, 1H, 16-H); 5,04(s, 2H, OCH₂); 6,73(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,80(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,26-7,34(átfedő multiplettek, 4H: 4',3'',4'',5''-H); 7,39(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,56(m, 2H, 2''-H és 6''-H); ¹³C NMR δ ppm 18,6(C-18); 25,4; 26,2; 27,4; 29,7; 33,3; 34,2; 37,8; 41,3(C-13); 42,7; 43,5; 69,9(OCH₂); 79,9(C-16); 112,2(C-2); 114,6(C-4); 126,2 és 127,4(3C) és 127,9 és 128,5(2C) és 129,3(2C): C-1,2',3',4',5',6',3'',4'',5''; 129,6(C-1''); 132,0(C-10); 132,8(2C: C-2'',6''); 137,2(C-1'); 137,4(C-5); 157,0(C-3); 176,8(C-17).

5.2.10. A szekoalkoholok (**22**, **32**) acetilezése

500 mg (1,33 mmol) szekoalkoholt (**22**) vagy 382 mg (1,33 mmol) szekodiolt (**32**) feloldunk 5, ml piridinben és hozzáadunk 2,5 ml ecetsavanhidridet. Szobahőmérsékleten 1 órán át keverjük. A reakcióelegyet dietiléterrel extraháljuk, híg sósav-oldattal, majd vízzel mossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk.

30: Hozam: 98%; op.: 90-92 °C; $R_f = 0,78$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₈H₃₄O₃, $M_r = 418,6$; ¹H NMR δ ppm 0,87(s, 3H, 18-H₃); 2,09(s, 3H, Ac-Me); 2,85(m, 2H, 6-H₂); 3,84 és 4,00(2xd, 2x1H, $J = 11,2$ Hz, 17-H₂); 4,97(m, 2H, 16a-H₂); 5,04(s, 2H, OCH₂); 5,84(m, 1H, 16-H); 6,72(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,79(dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,21(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,30(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43(d, 2H, $J =$

7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); ^{13}C NMR δ ppm 16,2 és 20,9: C-18 és Ac-Me; 26,2; 27,5; 30,4; 32,7; 36,3; 37,6(C-13); 41,3; 43,4; 44,8; 69,9(OCH₂); 71,9(C-17); 112,4(C-2); 114,4(C-16a); 114,5(C-4); 126,4(C-1); 127,4(2C: C-2',6'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-3',5'); 132,9(C-10); 137,3(C-1'); 137,9(C-5); 139,7(C-16); 156,8(C-3); 171,2(C-17).

35: Hozam: 98%; olaj; R_f = 0,69 (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₃H₃₁O₄, M_r = 371,5; ^1H NMR δ ppm 0,83(s, 3H, 18-H₃); 2,09 és 2,28(2xs, 2x3H, 2xAc-Me); 2,86(m, 2H, 6-H₂); 3,86 és 3,92(2xd, 2x1H, J = 11,3 Hz, 17-H₂); 6,79(d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,83(dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,27(d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); ^{13}C NMR δ ppm 14,1 és 15,5 és 20,7: C-18 és 17-Ac-Me és 3-Ac-Me; 24,4; 25,8; 26,8; 30,0; 30,9; 35,6; 36,9(C-13); 40,9; 43,3; 45,4; 71,7(C-17); 118,2; 120,9; 126,2(C-4); 137,6 és 137,8: C-5 és C-10; 148,0(C-3); 169,4 és 170,9: C-17-Ac-CO és C-3-Ac-CO.

5.2.11. A 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17-ol (**22**) és a 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17-acetát (**30**) hidrogénezése

100 mg (0,34 mmol) 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17-olt (**22**) vagy 100 mg (0,30 mmol) szekoacetátot (**30**) oldunk 30 ml etilacetátban, 0,60 g (10%) palládium/csontszén katalizátort adunk hozzá, majd a reakcióelegyet 20 bar hidrogénnyomás alatt 2-3 órán át keverjük. A katalizátort szűréssel eltávolítjuk, majd az oldatot bepároljuk.

32: Hozam 90%; op.: 60-62 °C; R_f = 0,17 (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₁₉H₂₇O₂, M_r = 288,4; ^1H NMR δ ppm 0,77(s, 3H, 18-H₃); 2,82(m, 2H, 6-H₂); 3,35 és 3,52(2xd, 2x1H, J = 10,9 Hz, 17-H₂); 6,56(d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,63(dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,16(d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); ^{13}C NMR δ ppm 14,7 és 15,9: C-18 és Ac-Me; 25,0; 26,4; 27,4; 30,5; 31,2; 35,6; 38,8(C-13); 41,8; 43,5; 45,3; 71,4(C-17); 112,8(C-2); 114,9(C-4); 126,7(C-1); 132,9(C-10); 138,3(C-5); 153,5(C-3).

33: Hozam 90%; op.: 84-90 °C; R_f = 0,37 (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₁H₂₉O₃, M_r = 329,5; ^1H NMR δ ppm 0,83(s, 3H, 18-H₃); 2,09(s, 3H, Ac-Me); 2,82(m, 2H, 6-H₂); 3,86 és 3,92(2xd, 2x1H, J = 11,2 Hz, 17-H₂); 4,75(s, 1H, OH); 6,56(d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,63(dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,16(d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); ^{13}C NMR δ ppm 14,5 és 15,9: C-18 és

Ac-Me; 24,8; 26,3; 27,3; 30,5; 31,3; 36,0; 37,4(C-13); 41,7; 43,4; 45,8; 72,3(C-17); 112,7(C-2); 114,9(C-4); 126,7(C-1); 132,7(C-10); 138,2(C-5); 153,4(C-3); 170,0(Ac-CO).

5.2.12. A 17-acetoxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10)-trién-3-szulfamát (**34**) előállítása

110 mg (0,27 mmol) szekoacetátot (**33**) feloldunk 3 ml dimetilformamidban és hozzáadunk 120 mg (1,04 mmol) szulfamoilkloridot. Szobahőmérsékleten 3 napon át keverjük. A reakcióelegyet vízzel elhígítjuk, majd nátrium-hidrogénkarbonáttal semlegesítjük. Dietil-éterrel extraháljuk, vízzel semlegesre mossuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk.

34: Hozam: 60%; olaj; $R_f = 0,55$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₂₁H₃₀NO₅S, $M_r = 408,5$; ¹H NMR δ ppm 0,83(s, 3H, 18-H₃); 2,09(s, 3H, Ac-Me); 2,89(m, 2H, 6-H₂); 3,86 és 3,92(2xm, 2x1H, 17-H₂); 5,29(s, 2H, NH₂); 7,04(s, 1H, 4-H); 7,07 (m, 1H, 2-H); 7,31(m, 1H, 1-H); ¹³C NMR δ ppm 14,5 és 15,9 és 20,9: C-18 és Ac-Me és C-16a; 24,8; 26,2; 27,1; 30,4; 31,3; 36,1; 37,4(C-13); 41,3; 43,7; 45,8; 72,1(C-17); 119,0(C-2); 121,7(C-4); 127,0(C-1); 138,9(C-10); 139,7(C-5); 147,9(C-3); 171,2(Ac-CO).

5.2.13. A 3-benziloxi-16,17-szekoöszttra-1,3,5(10),16-tetraén-17-ol (**22**) tozilezése

150 mg (0,40 mmol) szekoalkoholt (**22**) 3 ml piridinben oldunk, majd jéghűtés mellett, kis adagokban 190 mg (1,1 mmol) vízmentes *p*-toluol-szulfonilkloridot adunk hozzá. A reakcióelegyhez még 3 ml piridint adunk és egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük. Az átalakulást vékonyréteg-kromatográfiával követjük. A kiindulási anyag teljes átalakulása után az elegyet 6 ml vízzel elhígítjuk, diklórmetánnal extraháljuk, majd a szerves fázist Na₂SO₄-on szárítjuk és bepároljuk.

31: Hozam: 95%; op.: 105-110 °C; $R_f = 0,82$ (2% EtOAc/CH₂Cl₂); C₃₃H₃₈O₄S; $M_r = 530,7$; ¹H NMR δ ppm 0,81(s, 3H, 18-H₃); 2,47(s, 3H, Ts-Me); 2,82(m, 2H, 6-H₂); 3,74 és 3,90(2xd, 2x1H, $J = 9,4$ Hz, 17-H₂); 4,92(m, 2H, 16a-H₂); 5,03(s, 2H, OCH₂); 5,75(m, 1H, 16-H); 6,71(d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,78 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,18(d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32(t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,36-7,39(átfedő multiplettek, 4H: 3',5',3'',5''-H); 7,43(d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,82(d, 2H, $J = 8,2$ Hz, 2''-H és 6''-H); ¹³C NMR δ ppm

15,7 és 21,4: C-18 és Ts-Me; 25,7; 27,1; 30,1; 32,4; 35,6, 37,9(C-13); 40,7; 42,8; 43,8; 69,7(OCH₂); 76,5(C-17); 112,2(C-2); 114,2(C-4); 114,5(C-16a); 126,1 és 127,2(2C) és 127,6 és 127,7(2C) és 128,3(2C): C-1,2',3',4',5',6',2'',6''; 129,5(2C: C-3'',5''); 132,4(C-10); 132,7(C-1''); 137,0(C-1'); 137,6(C-5); 138,9(C-16); 144,4(C-4''); 156,5(C-3).

6. Összefoglalás

Munkánk során a 3-benziloxi-D-szekoaldehidből (**4c**) kiindulva olyan α,β -telítetlen ketont (**17**) állítottunk elő, amelyből addíciós és redukciós lépéseket követően többféle oxigéntartalmú D-homoösztron származékot (**18, 19, 20, 21**) nyertünk. A D-szekoaldehid (**4c**) alkoholos hidroxil-csoportját redukálva illetve oxidálva olyan szekovegyületekhez (**22, 23**) jutottunk, amelyek elektrofil-reagens hatására, gyűrűzárási reakciókban sztereoszelektíven szolgáltatják az ösztránvázas gyűrűs étereket (**26, 27**), illetve laktonokat (**29**).

Munkánk célja volt annak a vizsgálata is, hogy a D-gyűrű tagszámának módosításával, a gyűrű szubsztituálásával, illetve felnyitásával hogyan változik a vegyületek biológiai hatása. A 3-as helyzetű benzil-védőcsoport eltávolításával szabad fenolos hidroxil-funkciót tartalmazó ösztronokat nyertünk, ezzel vizsgáltuk a védőcsoport jelenlétének befolyását a biológiai hatásra.

Az előállított vegyületek többsége *in vitro* antitumor hatástani vizsgálatra került többféle humán rákos sejtvonalon. Néhány vegyület (**18, 19, 21, 22, 30**) kiemelkedő antiproliferatív hatást mutatott, alacsony IC_{50} értékkel. Munkánk egyik jelentőségét az adja, hogy az irodalomban ilyen hatékony antitumor vegyület (**22**) a D-szekoösztron sorban még nem ismeretes. Továbbá sikerült olyan D-homoösztron-származékokat (**18, 19, 21**) előállítanunk, amelyek szelektíven gátolják egyes rákos sejtek osztódását.

7. Irodalomjegyzék

1. Grob, C. A.; Schiess, P. W.
Angew. Chem. **1967**, 79, 1.
2. Adam, G.; Schreiber, K.
LiebigsAnn. Chem. **1967**, 191.
3. Schneider, Gy.; Bottka, S.; Hackler, L.; Wölfling, J.; Sohár, P.
LiebigsAnn. Chem. **1989**, 263.
4. Wölfling, J.; Frank, É.; Schneider, G.; Tietze, L. F.
Eur. J. Org. Chem. **1999**, 3013.
5. Frank, É.; Mernyák, E.; Wölfling, J.; Schneider Gy.
Synlett **2002**, 419.
6. Mernyák, E.; Benedek, G.; Schneider, Gy.; Wölfling J.
Synlett **2005**, 637.
7. Ananchenko, S. N.; Limanov, V. Y.; Leonov, V. N.; Rzhiznikov, V. N.; Torgov, I. V.
Tetrahedron **1962**, 18, 1355.
8. Goldberg, M. W.; Studer, S.
Helv. Engi-Festband **1941**, 24, 295.
9. Hughes, G. A.; Smith, H.
Proc. Chem. Soc. **1960**, 74.
10. Douglas, G. H.; Graves, J. M. H.; Hartley, D.; Hughes, G. A.; McLoughlin, B. J.; Siddall, J.; Smith, H.
J. Chem. Soc. **1963**, 5072.
11. Danishefsky, S.; Cain, P.; Nagel, A.
J. Am. Chem. Soc. **1975**, 97, 380.
12. Kametani, T.; Nemoto, H.; Ishikawa, H.; Shiroyama, K.; Fukumoto, K.
J. Am. Chem. Soc. **1976**, 98, 3378.
13. Kogan, L. M.; Gulaya, V. E.; Torgov, I. V.
Pharm. Chem. J. **1971**, 732.
14. Gutzwiller, J.; Meier, W.; Fürst, A.
Helv. Chim. Acta **1977**, 60, 2258.
15. Birch, H.
Aust. J. Chem. **1955**, 8, 519.

16. Forcellese, M. L.; Camerini, E.; Ruffini, B.; Mincione, E.
J. Org. Chem. **1981**, *46*, 3326.
17. Hübner, M.; Ponsold, K.
Z. Chem. **1982**, *22*, 186.
18. Wölfling, J.; Mernyák, E.; Frank, É; Falkay, G; Márki, Á; Minorics, R; Schneider, Gy.
Steroids **2003**, *68*, 277.
19. Minorics, R.; Bózsity, N.; Wölfling, J.; Mernyák, E.; Schneider, Gy.; Márki, Á.; Falkay, G.; Ocsóvszki, I.; Zupkó, I.
J. Steroid Biochem. Mol. Biol. **2012**, *132*, 168.
20. Mueck, A.O.; Seeger, H.
Steroids **2010**, *75*, 625.
21. Hillisch, A.; Peters, O.; Gege, C.; Siemeister, G.; Unger, E.; Menzenbach, B.
US Patent: US RE42,132 E.
22. Ireland, R. E.; Anderson, R. C.; Badoud, R.; Fitzsimmons, B. J.; McGarvey, G. J.; Thaisrivongs, S.; Wilcox, C. S.
J. Am. Chem. Soc. **1983**, *105*, 1988.
23. Bartlett, P. A.; Morrison, J. D., Ed.
Asymmetric Synthesis, (Academic Press: New York) **1984**, *3*, 411-454.
24. Kang, S. H.; Lee, J. H.; Lee, S. B.
Tetrahedron Lett. **1998**, *39*, 59.
25. Cardillo, G.; Orena, M.
Tetrahedron **1990**, *46*, 3321.
26. Harding, K. E.; Tiner, T. H.
Comprehensive Organic Synthesis (Pergamon Press: Oxford) **1991**, *4*, 363-421.
27. Harmage, J. C.; Figadere, B.
Tetrahedron: Asymmetry **1993**, *4*, 1711.
28. Lipshutz, B. H.; Barton, J. C.
J. Am. Chem. Soc. **1992**, *114*, 1084.
29. Reitz, A. B.; Norley, S. O.; Maryanoff, B. E.; Liotta, D.; Monahan, R.
J. Org. Chem. **1987**, *52*, 4191.
30. Rychnovsky, S. D.; Bartlett, P. A.
J. Am. Chem. Soc. **1981**, *103*, 3963.
31. Corey, E. J.; Fleet, W. J.; Kato, M.
Tetrahedron Lett. **1973**, 3963.

32. Bartlett, P. A.; Richardson, D. P.; Meyerson, J.
Tetrahedron **1984**, *40*, 2317.
33. Balko, T. W.; Brinkmeyer, S.; Terando, N. H.
Tetrahedron Lett. **1989**, *30*, 2045.
34. Neverov, A. A.; Brown, R. S.
J. Org. Chem. **1996**, *61*, 962.
35. Mernyák Erzsébet
Doktori értekezés 2002.
36. Van Brocklin, H. F.; Carlson, K. E.; Katzenellenbogen, J. A.; Welch, M. J.
J. Med. Chem. **1993**, *36*, 1619.
37. Banks, CH.; Daniel, J. R.; Zingaro, R. A.
J. Med. Chem. **1979**, *22*, 572.
38. Chambers, V. E. M.; Riley, A. L. M.
US. Patent, **1976**, 3,952,030
39. Longcope, C.; Arunachalam, T.; Caspi, E.
Canad. J. Biochem. **1982**, *60*, 152.
40. Napolitano, E.; Fiaschi, R.; Herman, L. W.; Hanson, R. N.
Steroids **1996**, *61*, 384.
41. Arunachalam, T.; Caspi, E.
J. Org. Chem. **1981**, *46*, 3415.
42. Sadek, S. A.; Shaw, S. M.; Kessler, W. V.; Wolf, G. C.
J. Org. Chem. **1981**, *46*, 3259.
43. Sadek, S. A.; Kessler, W. V.; Shaw, S. M.; Anderson, J. N.; Wolf, G. C.
J. Med. Chem. **1982**, *25*, 1488.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok Prof. Dr. Wölfling János tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy hasznos tanácsaival segítette diákköri munkámat a Szerves Kémiai Tanszéken.

Köszönetet mondok Dr. Mernyák Erzsébet témavezetőmnek, aki mindvégig sokat segített a kísérletek kivitelezésében és a dolgozat megírásában.

Köszönetet mondok Huber Judit Phd hallgatónak a labormunkában nyújtott segítségért, illetve a hatástani vizsgálatok kivitelezéséért.

Köszönettel tartozom Dr. Zupkó István tanszékvezető egyetemi docensnek, Dr. Minorics Renátának és Bózsity Noémi gyógyszerész hallgatónak az *in vitro* hatástani vizsgálatok kivitelezéséért és kiértékeléséért.