

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Természettudományi és Informatikai Kar
Szerves Kémiai Tanszék



Antitumor hatású ösztron-heterodimerek szintézise

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

Pálházi Balázs

Biomérnök BSc III. évf.

Témavezető: Dr. Mernyák Erzsébet, tudományos munkatárs

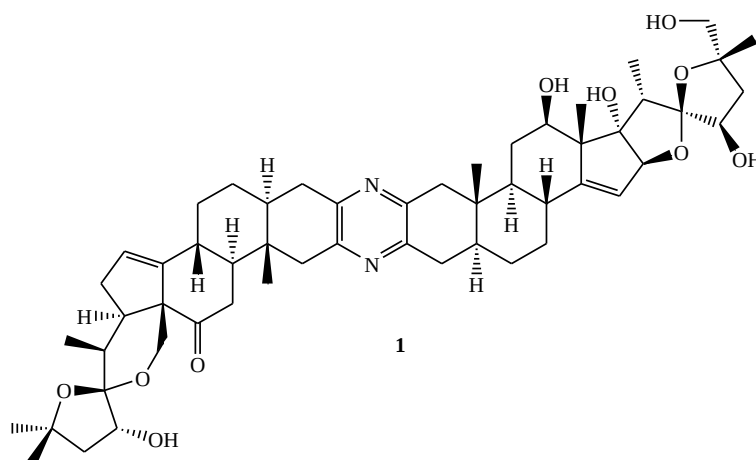
Szeged, 2014

Tartalom

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK	3
2.1. ANTITUMOR HATÁSÚ D-SZEKOÖSZTRONOK ELŐÁLLÍTÁSA	3
2.2. ANTITUMOR HATÁSÚ TRIAZOLIL-SZÁRMAZÉKOK ELŐÁLLÍTÁSA	7
3. CÉLKITŰZÉS	11
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA	12
4.1. TERMINÁLIS ALKIN-FUNKCIÓ KIALAKÍTÁSA A NYITOTT D-GYŰRŰN	12
4.2. TERMINÁLIS ALKIN-FUNKCIÓ KIALAKÍTÁSA AZ A-GYŰRŰN	13
4.3. SZTEROID-AZIDOK ELŐÁLLÍTÁSA	13
4.4. DIMEREK ELŐÁLLÍTÁSA	15
4.5. AZ ELŐÁLLÍTOTT VEGYÜLETEK HATÁSTANI VIZSGÁLATA	20
5. KÍSÉRLETI RÉSZ	25
5.1. ÁLTALÁNOS KÍSÉRLETI RÉSZ	25
5.2. RÉSZLETES KÍSÉRLETI RÉSZ	26
5.2.1. <i>A savamidok előállításának részletes leírása</i>	26
5.2.2. <i>A D-szekoösztron származékok debenzilezése</i>	26
5.2.3 <i>A fenolos hidroxilcsoport propargilezése</i>	26
5.2.4. <i>Epoxidálás</i>	27
5.2.5. <i>Az azidoalkoholok (19, 20) előállítása</i>	27
5.2.6. <i>Konjugátumok képzése</i>	27
6. ÖSSZEFOGLALÁS	29
7. IRODALOMJEGYZÉK	30
8. MELLÉKLETEK	32
8.1. AZ ELŐÁLLÍTOTT DIMEREK	32
8.2. AZ ÚJONNAN ELŐÁLLÍTOTT VEGYÜLETEK FIZIKAI ADATAI	33
8.3. NMR-ADATOK	35
8.3.1. <i>A monomerek NMR-adatai</i>	35
8.3.2. <i>Az új dimerek NMR-adatai</i>	38
A DOLGOZATBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	45
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	46

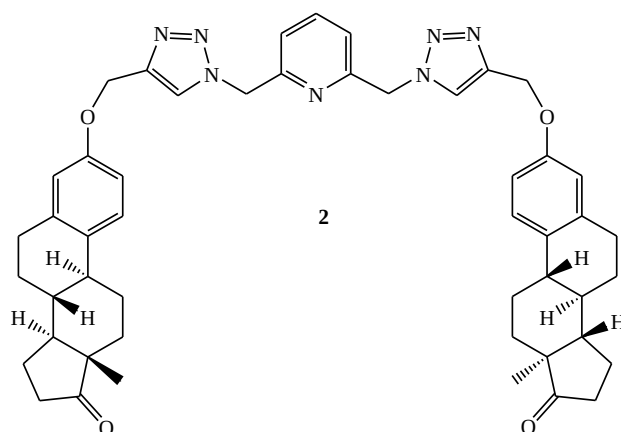
1. BEVEZETÉS

A modern kor egyik legelterjedtebb betegsége a rák, ezért a tudomány egyik fő irányvonalát az olyan gyógyszerek kifejlesztése adja, amelyek szelektív tumorellenes aktivitással rendelkeznek. A forgalomban lévő rákellenes szerek ugyanis számos káros mellékhatást mutatnak. A szelektív farmakológiai aktivitás elérésének egyik lehetséges módja a természetes eredetű, biológiailag aktív anyagok szerkezetének módosítása, hiszen így olyan új terápiás szerek előállítására van lehetőség, amelyek várhatóan nem toxikusak. A kémiai szerkezetmódosítások egyik lehetősége a különböző természetes eredetű bioaktív molekulák összekapcsolásával nyerhető hibrid vegyületek előállítása. A természetben is előfordulnak ilyen hibridek, de szintetikusak is ismertek.¹ A hibrid vegyületek biológiai aktivitása lehet azonos típusú, mint a monomereké, de megjelenhet új aktivitás is a konjugátum képzésnek köszönhetően, illetve a monomerek összekapcsolásával erősödhet vagy gyengülhet is a bioaktivitás. A konjugátum hatásszelektivitása is lehet jobb, mint az építőköveié. Számos szteroid-hibridről számol be a szakirodalom. A szteroid-hibridek közé tartoznak a már korábban izolált cefalosztatinok, amelyek különösen potens rákellenes szerek, és eltérő farmakológiai tulajdonságokat mutatnak monomereikétől.¹ A cefalosztatinok kutatása a 90-es évek elején kezdődött, és azóta számos cefalosztatin analogont állítottak elő.² A vegyületek pirazin egységet tartalmaznak, amelyhez a heterociklus két oldalán egymástól csak kismértékben eltérő spirociklusos szteroidok kapcsolódnak. Legismertebb képviselőjük, egyben a leghatékonyabb is, a Cefalosztatin 1, amelyet a *Cephalodiscus gilchristi* tengeri féregből izoláltak (1. ábra).



1. ábra *Cefalosztatin 1*

A közelmúltban több olyan közlemény is megjelent, amelyben ösztéránvázas dimerek szintézisét, receptorkötődését és citosztatikus hatását tárgyalják.^{3,4} Egyes dimerek a szteroid-szulfatáz enzim hatékony inhibitorainak bizonyultak, míg mások szelektíven gátolták az ösztrogén receptor pozitív és negatív tumorsejtvonalak osztódását. Drasar és munkatársai a közelmúltban újszerű antitumor hatású ösztérón-dimereket állítottak elő. A két azonos ösztérón-alkin monomert egy *bisz*-azidometil-piridin linkerén keresztül kapcsolták össze úgy, hogy a *bisz*-azidra Cu(I)-katalizált azid-alkin „click”-reakcióval cikloaddicionálták a szteroid-alkineket (2. ábra). Az így nyert homodimer (2) kiemelkedő antitumor hatással rendelkezik *in vitro*, és nem mutat affinitást a vizsgált szteroid magreceptorokhoz. A monomerei nem potensek. A cseh kutatóknak tehát sikerült olyan szelektív hatású konjugátumot előállítaniuk, amely biológiailag aktívabb, mint az építőelemei.³



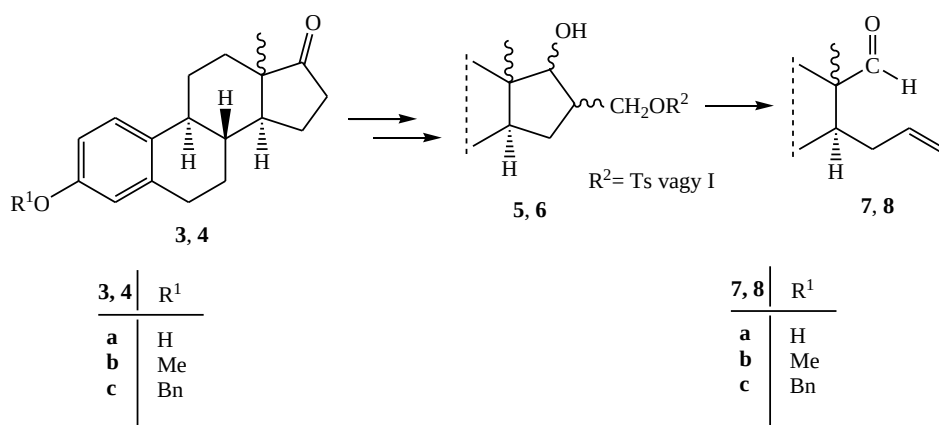
2. ábra Antitumor hatású ösztérón-homodimer (2)

Mindezek alapján indokolt a szteránvázas dimerek kutatása szerves kémiai és gyógyszerhatástani szempontból is.

2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK

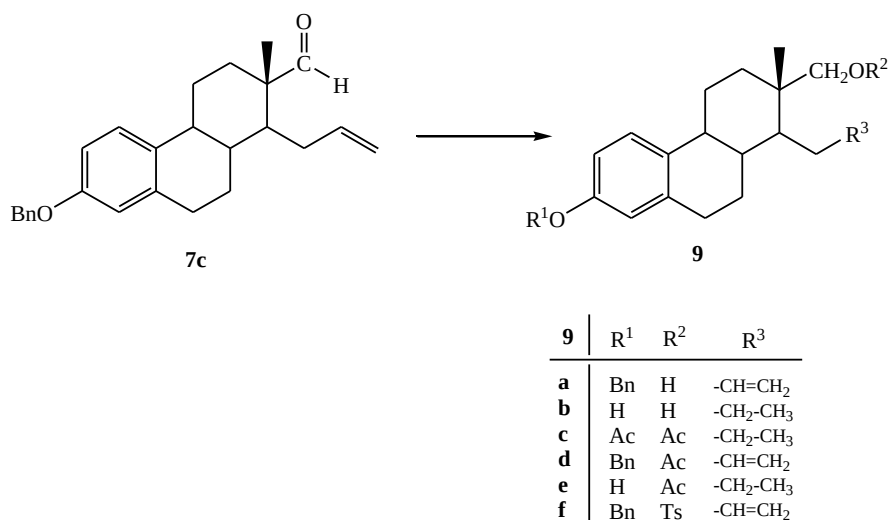
2.1. Antitumor hatású D-szekoöszttronok előállítása

Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportjában a közelmúltban a szteroidok vázmódosítása került előtérbe, ugyanis a gyűrűk felnyitása vagy az anellációs szénatomok konfigurációjának megváltoztatása olyan származékok előállítását teszi lehetővé, amelyek már nem rendelkeznek az alapvegyületeknek megfelelő biológiai aktivitással. Az öszttron ilyen irányú szerkezetváltoztatásai tehát hormonálisan inaktív, azonban egyéb hasznos farmakológiai tulajdonságú vegyületeket eredményeznek. A D-gyűrű felnyitására kidolgozott eljárás során az öszttron (**3**, **4**) védett származékaiból kiindulva, először formilezési reakció keretében 17-hidroximetilidén-vegyületeket állítottak elő.⁵ Ezek után a nyert származékok redukciójával *cisz*- és *transz*-1,3-dioloikat kaptak. A diolok D-gyűrűjének felnyitása a 13 β - illetve a 13 α -öszttron sorban eltérő módon történt. A 13 β -sorba tartozó vegyületek 16-os pozíciójában lévő primer hidroxilcsoportot először tozilezték (**5**), majd a kapott terméket Grob-fragmentációnak vetették alá (3. ábra). A fragmentáció sikeres lejátszódásához elengedhetetlen, hogy a lúgos közegben kialakult alkoholát funkcióhoz viszonyítva, a nukleofug csoport térben távol helyezkedjen el. A 13-*epi*-öszttron sorba tartozó vegyületek esetében először Appel-féle jódozás révén alakították ki 1,3-helyzetben az alkoholos hidroxil mellett a jól távozó funkciós csoportot (**6**), majd végrehajtották a Grob-fragmentációt.⁶ A reakciósor eredményeként nyert D-szekoaldehidek (**7**, **8**) olyan bifunkciós vegyületek, amelyek számos továbbalakítási lehetőséget nyújtanak.

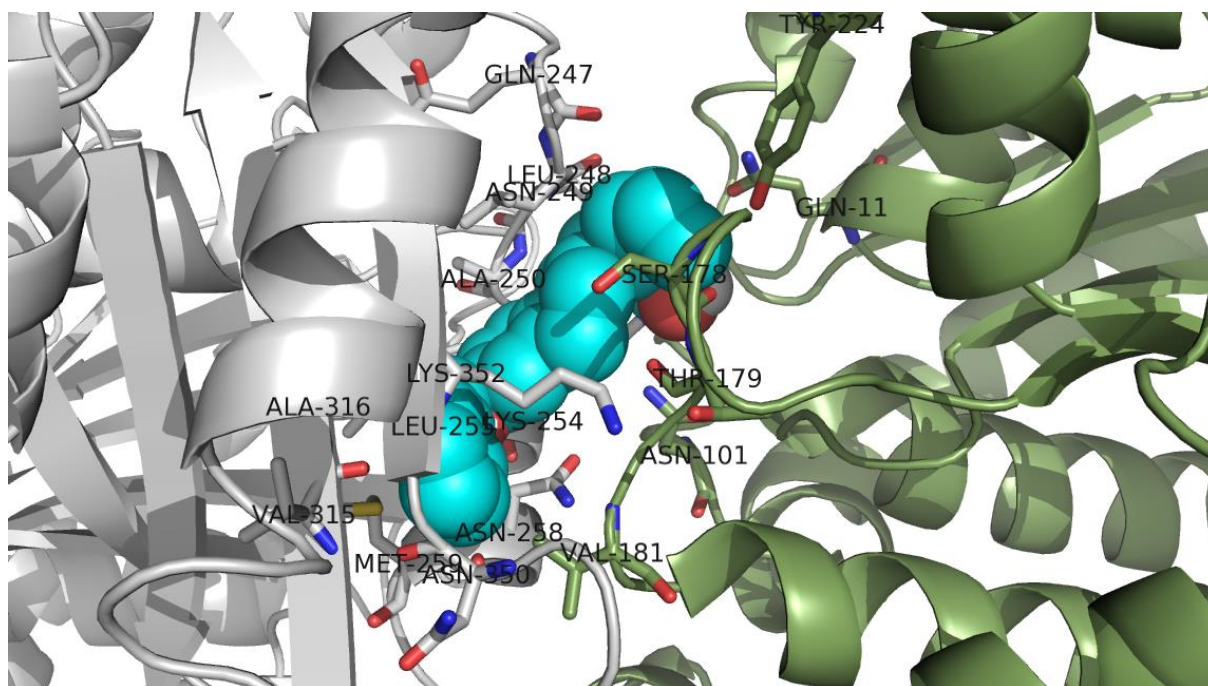
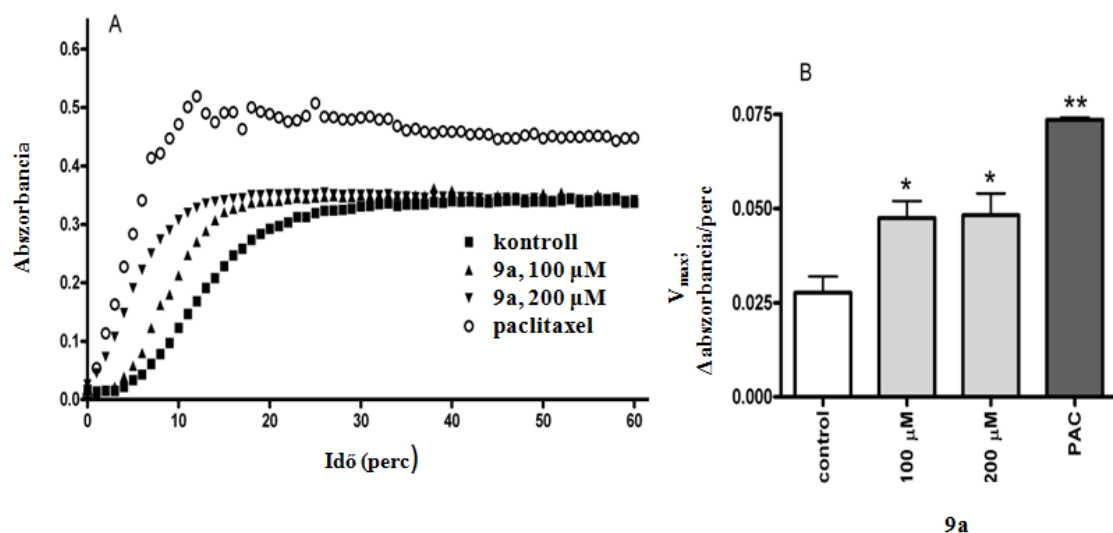


3. ábra A D-szekoaldehidek (**7**, **8**) előállítása

A D-szekoaldehid (**7c**) redukcióját kálium-tetrahidrido-boráttal hajtották végre, így nyerték a D-szekoalkoholt (**9a**, 4. ábra), amely vegyületet az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében tumoros sejtvonalakon teszteltek *in vitro* MTT-módszerrel.⁷ A szekoszteroid (**9a**) az MCF-7 valamint az A431 tumor sejtvonalakon alacsonyabb IC₅₀ értéket mutatott, mint a referenciaként alkalmazott ciszplatin. A vegyület (**9a**) hatásmechanizmusának felderítése érdekében többféle *in vitro* vizsgálatot végeztek, amelyek szerint a szekoalkohol (**9a**) a tubulin fehérje polimerizációját fokozva anomális mikrotubulus-hálózatot hoz létre, így akadályozza meg a sejtosztódást (5. ábra), a paclitaxelhez hasonlóan. Szerkezet-hatás összefüggés felállítása érdekében a **9a**-jelű vegyület további származékait is előállították, ugyanis a D-szekoalkohol (**9a**) három, könnyen átalakítható funkciós csoporttal rendelkezik. Elvégezték az alkoholos és a fenolos hidroxil-funkció észterezését, eltávolították a 3-as helyzetű benzil-védőcsoportot, amely reakció eredményeként a propenil oldallánc is telítődött (**9b–f**). A hatástani eredmények azt mutatták, hogy az alapvegyülethez képest, a szerkezetmódosításokkal előállított új szekoöszttronok nem bizonyultak hatásosabbnak.



4. ábra A D-szekoalkohol (**9a**) és származékai (**9b–f**)

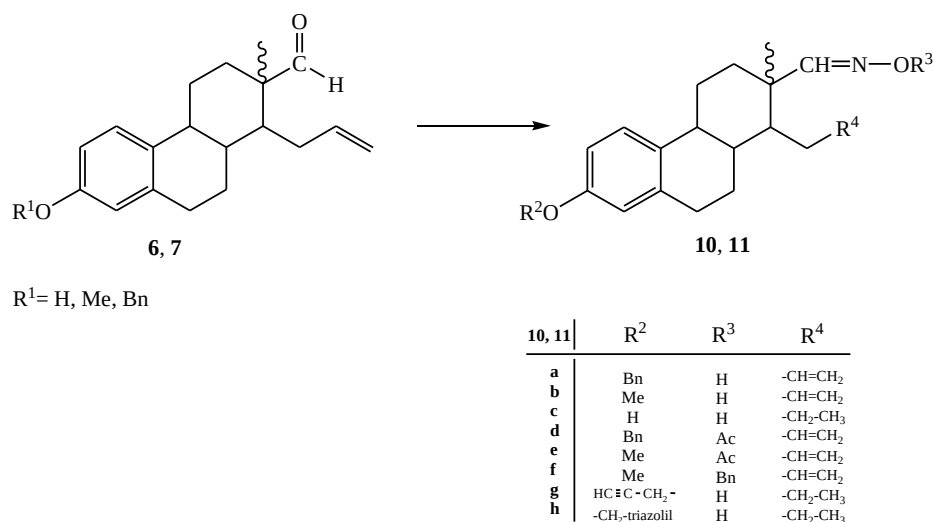


A D-szekoalkohol kölcsönhatása a tubulin kolhicin kötőhelyével.

5. ábra A D-szekoalkohol (**9a**) hatása a mikrotubulusok képződésére *in vitro*

A szekoalkohol (**9a**) előállításán túlmenően D-szekoaximok (**10**) képzésére is sor került (6. ábra).⁸ Kondenzációs reakció révén, hidroxilamin-hidroklorid reagenssel, nátrium-acetát jelenlétében nyerték a kívánt termékeket (**10a**) a 13β- és a 13α-ösztromon sorban egyaránt. Az alapvegyületeket (**10a**) ezután három ponton módosították: a 3-as helyzetben (H, Me, Bn), a

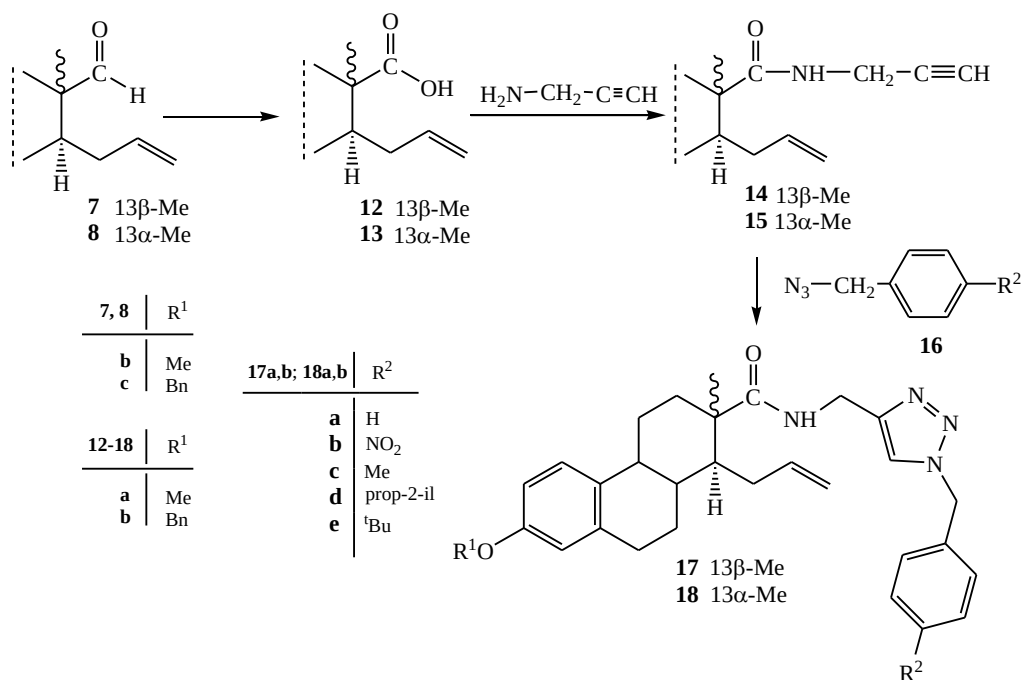
telítetlen oldallánc telítésével, illetve az oxim-funkció OH-csoportjának éteresítésével vagy észterezésével. Továbbá az A-gyűrűn, a 3-as pozícióban terminális alkin-funkciót alakítottak ki (**10g**), amelyre Cu(I)-katalizálta azid-alkin „click”-reakcióval triazol-heterociklust (**10h**) építettek. A hatástani eredmények szerint a D-szekooxim 3-metil- (**10b**) és 3-benzilétere (**10a**), valamint egyes triazolil-vegyületek (**10h**) jelentős sejtosztódás-gátlást mutatnak. A 13 α -sorba tartozó oxim-származékok (**11**) nem bizonyultak potensnek. Megállapították, hogy a 3-benziléter (**10a**) a tumorsejtek sejtciklusának G1/S kontrollpontjában blokádot eredményez, így állítja meg a sejtosztódást.



6. ábra A D-szekooximok és származékainak (**10, 11**) előállítás

A D-szekoaldehidekből (**7b,c**; **8b,c**) Jones-oxidációval olyan D-szekokarbonsavak (**12, 13**) állíthatók elő, amelyek karboxil-funkciója számos továbbalakítási lehetőséget nyújt.^{7,9} Kutatócsoportunkban, terminális alkin-funkció beépítése céljából, propargil-aminnal reagáltatták a szekokarbonsavakat, kapcsolóreagensek alkalmazásával (7. ábra).¹⁰ Az előállított négy szteroid alkin (**14, 15**) a 18-as metilcsoport térállásában és a 3-as helyzetű védőcsoport minőségében különbözik. Az alkineket szubsztituált benzilazidokkal (**16**) reagáltatták, így jutottak az újszerű triazolil-céltermékekhez (**17, 18**). A vegyületeket *in vitro* antitumor hatástani vizsgálatoknak vetették alá. A savamidok közül a 3-benziléterek (**14b, 15b**) potensebbek, mint a 3-metiléterek (**14a, 15a**), hatásuk azonban messze elmarad a referenciaként választott ciszplatinétól. A triazolok esetében a 13 β -sorbeli 3-benziléterek mutattak kiemelkedő sejtosztódás-gátlást. Ezen benziléterek (**17bc–17be, 18bc–18be**)

szelektívnek tekinthetők az A2780-ra. A szelektív hatású tumorellenes szerek azonosítása napjaink gyógyszerkutatásának egyik legfontosabb irányvonala.

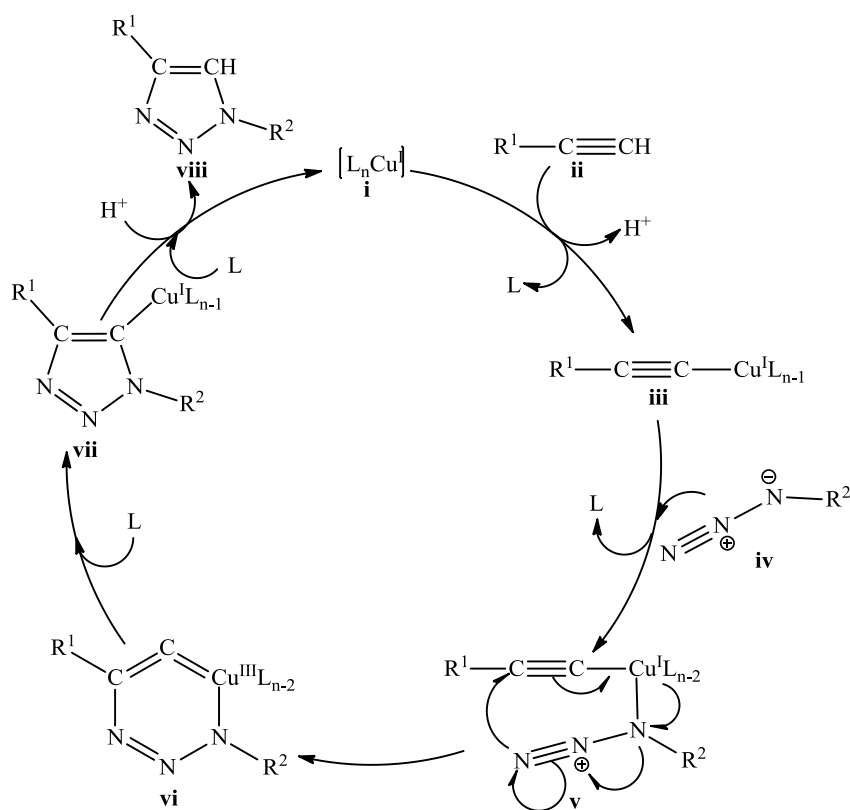


7. ábra D-szekoalkinek (14, 15) és konjugátumaik (17, 18) szintézise⁷

2.2. Antitumor hatású triazolil-származékok előállítása

Kolb, Finn és Sharpless 2001-ben definiálta a két molekularész összekapcsolására alkalmas "click" reakciót: könnyű kivitelezhetőség; nagy szelektivitás; magas hozam; enyhe reakciókörülmények; az alkalmazható oldószerek széles palettája, akár vizes közeg is; kevés melléktermék képződése, vagy a melléktermék-képződés teljes visszaszorulása.¹¹ Az egyik leggyakrabban alkalmazott "click" reakció, a Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció (CuAAC). Számos közlemény jelent meg ebben a vonatkozásában 2002 óta, köszönhetően annak széleskörű alkalmazhatóságának. Fokin és Sharpless 2002-ben közzétették azt a módszert a CuAAC reakcióra, amely általánosan használható, és biológiai konjugációkhoz is megfelelő: CuSO₄ és 10 ekvivalens nátrium-aszorbát alkalmazása vizes közegben (víz és alkohol elegyében).¹¹ A CuAAC a nem katalizált termikus reakcióval szemben regio szelektív: az 1,4-diszubsztituált triazol képződésének sebessége hét nagyságrenddel nagyobb, mint az 1,5-regioizomeré.¹² A katalitikus körfolyamat mechanizmusának alapját DFT számítások adják: ³⁴ elsőként a komplexált réz(I)-ion (i) és a terminális acetlién között kialakul egy π -

komplex, majd egy ligandum kilépése mellett képződik a réz(I)-acetilid (**iii**). A π -komplexben a terminális alkin protonja olyan savassá válik, hogy akár vizes közegben is disszociál, és σ -komplex képződik. Ezután belép az azid (**iv**) a réz-acetilidre (**iii**), újabb ligandum távozik, és az ábrán negatív töltést hordozó nitrogén kapcsolódik a Cu(I)-ionhoz (**v**). Az azid terminális nitrogénje ezt követően nukleofil támadást hajt végre az alkin C-2 szénatomjára. A hattagú Cu(III)-metallaciklus (**vi**) képződése endoterm folyamat, azonban az aktiválási energia jelentősen kisebb, mint a katalizálatlan reakció esetében. Gyűrűszűküléssel alakul ki a Cu(III)-metallaciklusból (**vi**) a Cu(I)-triazoil komplex (**vii**), amelyből a ciklus utolsó lépésében protonálódás útján létrejön a kívánt triazol (**viii**), és visszakapjuk a katalizátor aktív formáját.



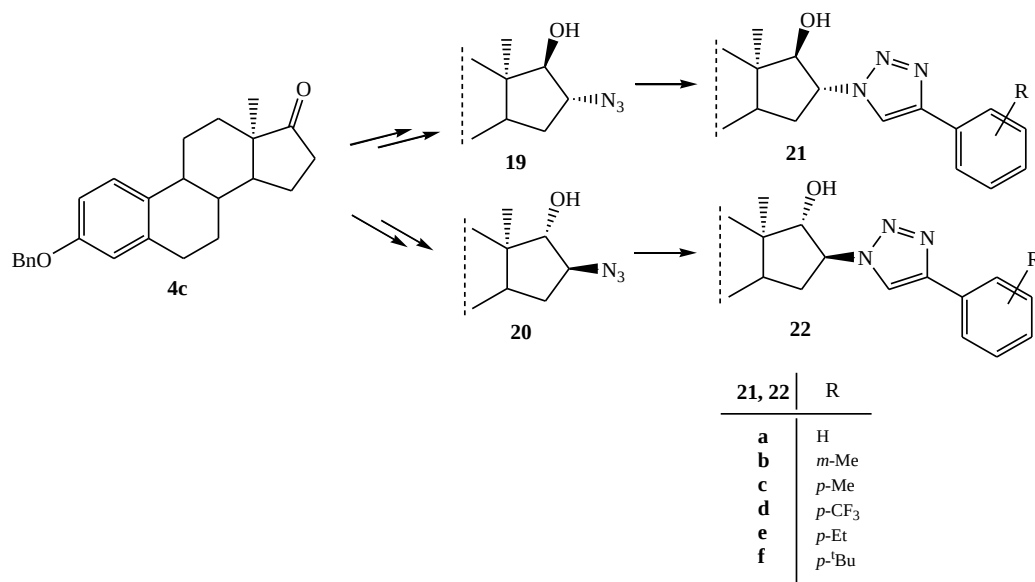
14. ábra A CuAAC reakció katalitikus ciklusának feltételezett mechanizmusa

A CuAAC reakcióhoz elengedhetetlen a Cu(I)-ionok nagy koncentrációja. Ezt három különböző eljárással biztosítható.¹¹ Az egyik lehetőség a prokatalizátor alkalmazása, amikor pl. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ -ból kiindulva, redukálószer (nátrium-aszkorbát) segítségével *in situ* állítják elő a Cu(I)-ionokat. A másik módszer a CuI, CuBr vagy CuOAc és bázis vagy amin ligandum alkalmazása redukálószerrel egyidejűleg. Ez utóbbi vegyület a Cu(I)-ionoknak Cu(II)-ionokká

történő aerob-oxidációját akadályozza meg, az amin bázis szerepe pedig abban rejlik, hogy segíti a réz(I)-acetilid komplex képződését (a Cu(I)-sók ugyanis kezdetben stabilis klasztereket képeznek). Harmadrészt rézdrót, -huzal, -por vagy -nanorészecskék is felhasználhatók, amelyek felületén Cu(II)-sóval történő oxidációval alakul ki a Cu(I)-katalizátor. Gyorsító poliligandumok alkalmazása jelentősen növelheti a reakciósebességet. Gyorsítóként általában többfajú *N*-donor segédanyagokat vagy trifenil-foszfánt alkalmaznak. Az utóbbi alkalmazásának korlátot szab a Staudinger-reakció mint kísérő folyamat, amely során az azid aminná redukálódik, így az egyik reakciópartner „elfogy” a reakcióelegyből. Ennek kiküszöbölésére a trifenil-foszfánt nem sztöchiometrikus, csupán katalitikus mennyiségben adják a reakcióelegyhez. A CuAAC reakció szubsztrátjaiként azidok és alkinek széles skálája alkalmazható, azonban az egyes funkciók elektronikus sajátosságai, valamint a szubsztrátok oldhatósága befolyásolják a reakciósebességet. Moladner és kutatócsoportja szerint az α -karbonilszénatomot tartalmazó alkinek reaktívak.¹¹ Sharpless és kutatócsoportja terminális alkinekből alkin-jodidot állítottak elő, amely az előbbinél is nagyobb reaktivitást mutat, azonban speciális komplexképzők alkalmazását igényli a CuAAC reakció során a mellékreakciók elkerülése érdekében.¹¹ Az azidok reakciókészségét Matyjaszewski kutatócsoportja vizsgálta. Megállapították, hogy az elektronszívó csoporttal rendelkező és a kevésbé térgátolt azidok különösen reaktívak. Meldal és Tornøe a különböző oldószerek és oldószer-elegyek hatását vizsgálták a reakcióra.¹³ A poláris oldószer alkalmazása annak a reakciólépésnek kedvez, amelyben a heterociklus képződik, egy erősen koordinálódó oldószer azonban lassíthatja vagy gátolhatja a fém-szubsztrát koordinációt. A dimetil-formamid pl. optimális abban az esetben, amikor CuBr-ot alkalmazunk további ligandumok felhasználása nélkül, amikor azonban poliamin-ligandummal segítjük a folyamatot, a toluol a megfelelő választás, ugyanis megfelelően oldja a katalizátort és a szubsztrátot is anélkül, hogy gátolná ez utóbbi koordinációját a fémionhoz.

Kutatócsoportunk a közelmúltban olyan 13α -ösztrom származékok előállítását célozta meg, amelyek potenciálisan antitumor hatásúak. Az ösztrom 13-as szénatomjának konfigurációját megváltoztatva, a 17-keetonok között (a vegyületek a 3-as védőcsoport és a 16-oximéter vagy -oximészter minőségében különböztek), sikerült olyan 16-oxim-származékokat azonosítani, amelyek a ciszplatin referenciavegyülettel összemérhető, azonban annál szelektívebb sejtosztódás-gátlást eredményeznek.¹⁴ A vegyületek hatásmechanizmusa még nem tisztázott, ugyanis a 13-epimerek nem mutatnak affinitást az ösztrogén magreceptorokhoz, tehát feltehetően egyéb úton fejtik ki antitumor hatásukat. Áramlási citometriás mérésekkel sikerült

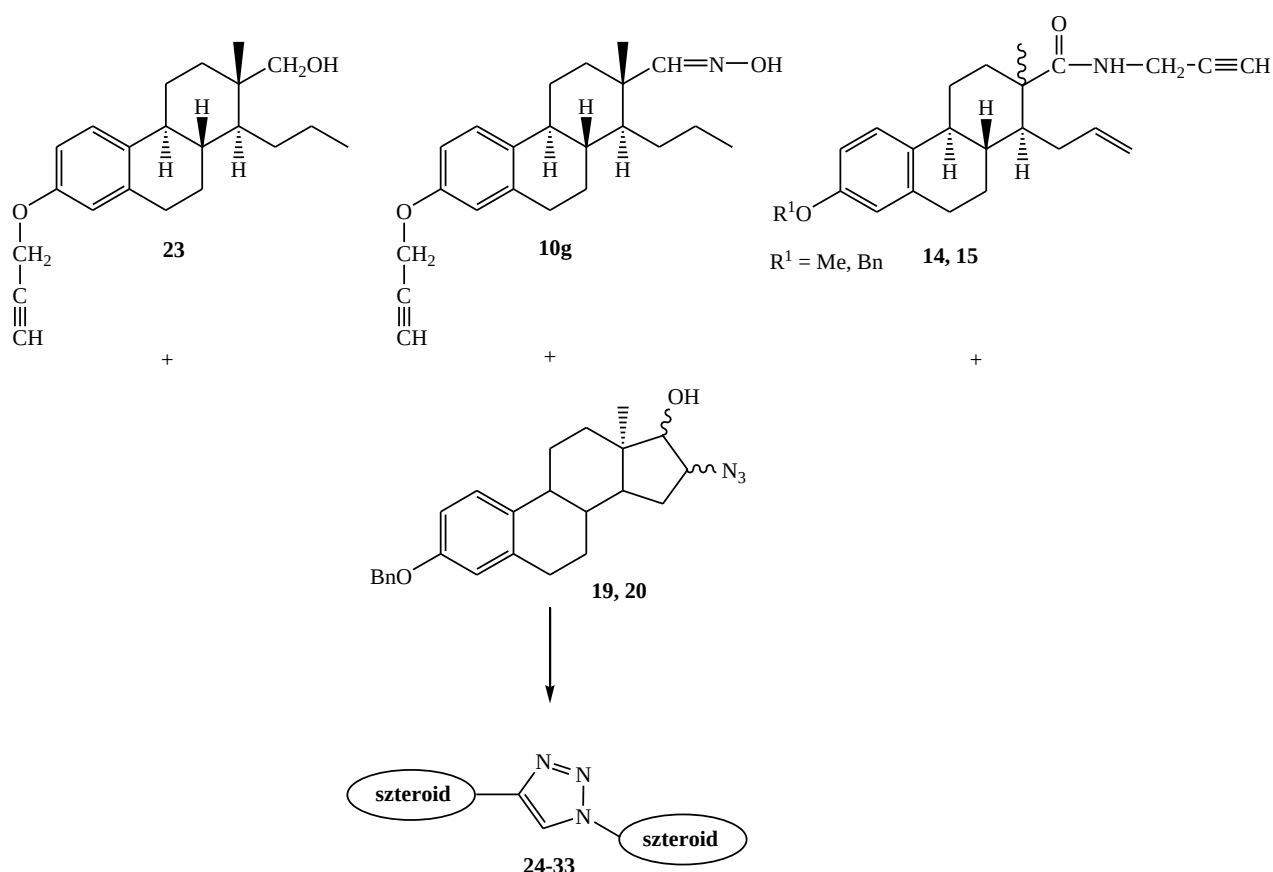
igazolni, hogy a 16-oximok a sejtek osztódási ciklusát a G1/S kontrollponton állítják meg. Ezen eredmények új utat nyitottak meg munkacsoportunk kutatásában, amely az új, szelektív citosztatikus hatású 13 α -ösztрон származékok azonosítására irányul. Az irodalomban ismeretes, hogy számos triazolil-vegyület, többek között szteroidok is,^{15–19} jelentős antiproliferatív hatással rendelkezik, így kutatócsoportunk a 13 α -ösztрон modellvegyületen célozta meg a triazolil-funkció kiépítését a 16-os helyzetben, ahol korábban az oxim beépítése előnyös volt. A 13-epimer 3-benziléteréből (**4c**) kiindulva, a Schönecker és munkatársai által kidolgozott módszerrel,²⁰ először előállították a 16-olefint, majd ezt a vegyületet persavval epoxidálták (8. ábra). Így jutottak a β - és az α -epoxid 3:1 arányú keverékéhez. Az epoxidnyitást azid nukleofillel végezték, amely reakció regioszelektíven eredményezte a *transz* 16-azido-17-alkoholokat (**19**, **20**). A nyert vegyületeket terminális alkinilcsoportot tartalmazó kismolekulákkal konjugálták. A triazolok (**21**, **22**) hatástani tesztelése során szerkezet-hatás összefüggés megállapítására nyílt lehetőség, amely szerint a konjugátumok közül csak azok voltak apoptózis indukáló szerek, amelyek a 16 β -azido-17 α -alkoholból (**20**) képződtek.²¹ A hatás erősségére az újonnan beépített benzilcsoport szubsztituáltsága is befolyással volt, ugyanis a *p*-alkil szubsztituenssel rendelkező származékok voltak a legpotensebbek.



8. ábra Az azidoalkoholok (**19**, **20**) és konjugátumaik (**21**, **22**) előállítása

3. CÉLKITŰZÉS

Az irodalmi előzmények alapján célul tűztük ki olyan új biológiailag aktív szteroid-szteroid konjugátumok előállítását, amelyek mindkét monomer egysége igazoltan antitumor hatású *in vitro*. A monomerek összekapcsolását triazol-linkeren keresztül kívántuk elvégezni, ugyanis az nagy metabolikus stabilitást biztosít a vegyületnek (9. ábra). A tervezett szteroid heterodimerek egyik komponense alkin- (**10g**, **14**, **15**, **23**), a másik pedig azid-funkciót (**21**, **22**) tartalmaz. A konjugátumok (**24–33**) szerkezetének igazolását NMR-spektroszkópiával terveztük. Célunk volt továbbá, az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve, az előállított célvegyületek (**24–33**) *in vitro* antiproliferatív hatásának vizsgálata több humán adherens tumorsejtvonalon. Az új heterodimerektől (**24–33**) azt várjuk, hogy fokozódik az antitumor aktivitás a monomerekéhez képest.

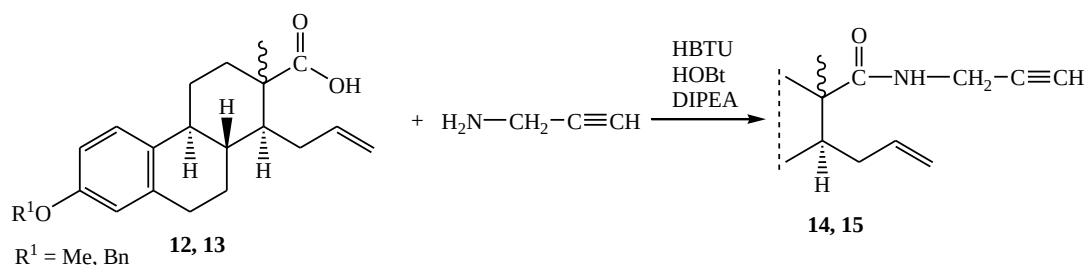


9. ábra Szteroid heterodimerek (**24–33**) előállítása

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA

4.1. Terminális alkin-funkció kialakítása a nyitott D-gyűrűn

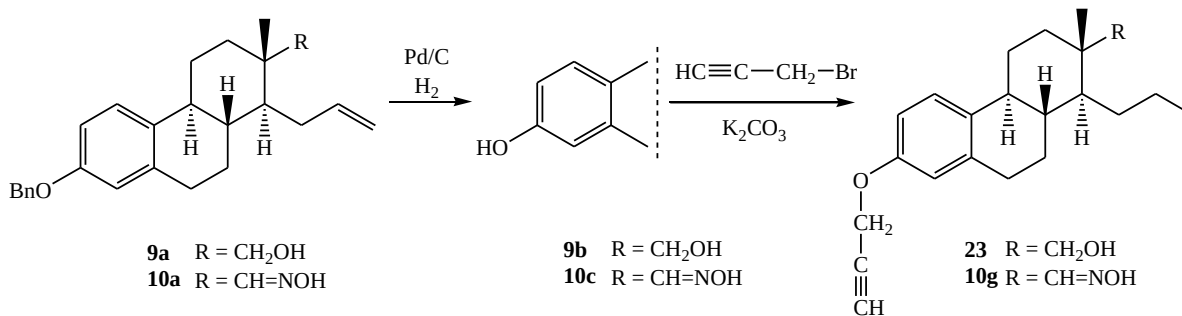
Kísérleti munkánkat a D-szekoszteroid-alkinek (**14**, **15**) előállításával kezdtük. Első kiindulási típusvegyületként a D-szekokarbonsavakat (**12**, **13**) választottuk, amelyek két ponton változtak: az anguláris metilcsoport térállásában, illetve a 3-as védőcsoport minőségében. Ezen alkinek alkalmazását az indokolja, hogy korábban a karboxamido-alkinek triazol-származékai potensnek bizonyultak, szelektíven az A2780 sejtvonalon. A terminális alkint propargilaminnak a szteroidhoz való kapcsolásával építettük a molekulára a korábban kidolgozott módszer szerint.¹⁰ A kapcsolószer megválasztásánál figyelembe vettük, hogy az esetlegesen bekövetkező O-N acilvándorlás elkerülése érdekében ne karbodiimid-típusút alkalmazzunk (10. ábra). Az átalakításhoz két kapcsoló reagens 1:1 arányú elegyét használtuk, a triazol-típusú 1-hidroxi-benzotriazolt (HOBt) és az urónium-típusú O-benzotriazol-*N,N*-tetrametil-urónium hexafluorofoszfátot (HBTU). A reakciót dimetil-formamidos közegben végeztük, bázisként *N,N*-diizopropil-etilamint (DIPEA-t) alkalmazva. Két óra után a reakció végbement, és magas hozammal képződtek a céltermékek (**14**, **15**). A reakciók irányát és hatékonyságát nem befolyásolta az A-gyűrűn található fenolos OH védőcsoportja, illetve a 13-as pozícióban lévő metilcsoport térállása. A folyamatok során nem tapasztaltunk melléktermék-képződést. Így jutottunk a négy különböző nyitott D-gyűrűs szteroid-alkinhez (**14**, **15**), amelyeket később a dimerképzésekben monomerként alkalmaztunk.



10. ábra Savamidképzés a nyitott D-gyűrűn

4.2. Terminális alkin-funkció kialakítása az A-gyűrűn

Kutatócsoportunk korábban kidolgozott eljárását alkalmazva terminális alkinilcsoportot építettünk a szteroid A-gyűrűjére.⁸ Kiindulási anyagként a 13 β -ösztion sorba tartozó D-szekooxim (**10a**), illetve D-szekoalkohol (**9a**) 3-benziléterét választottuk, ugyanis ezen származékok korábban *in vitro* potensnek bizonyultak a tumoros sejtvonalakon.^{7,8} Ahhoz, hogy a 3-as pozícióban lévő fenolos hidroxil-funkciót propargilbromiddal alkilezhessük, először el kellett távolítani a már meglévő benzil-védőcsoportot (11. ábra). A hidrogenolízist palládium-csontszén katalizálta reakcióval, 20 bar hidrogén nyomás alatt végeztük. A védőcsoport sikeres átváltoztatása után a 3-as pozícióban kialakult a szabad hidroxilcsoport, illetve telítődött a propenil-oldallánc. A következő lépésben kálium-karbonát jelenlétében, propargilbromid hozzáadásával létrejött az A-gyűrűhöz fenoléter-kötéssel, metilén-hídon keresztül kapcsolt terminális alkinilcsoport. A kétlépéses szintézisút során kiváló hozammal nyertük a konjugálási reakciók alapanyagául szolgáló szteroid-alkineket (**10g**, **23**).

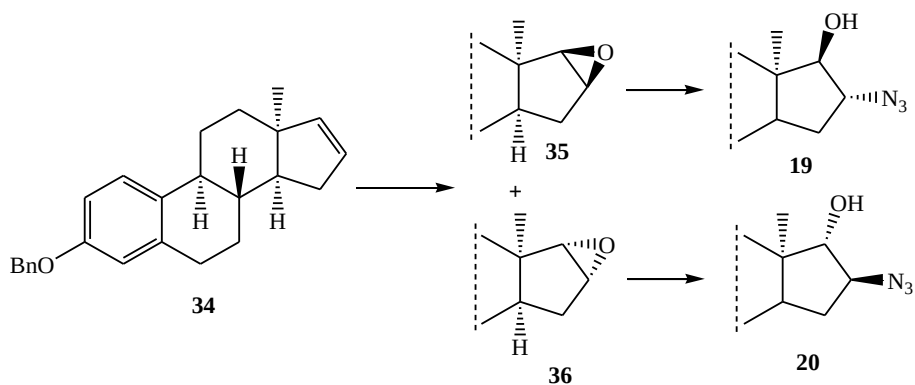


11. ábra Alkin-funkció kialakítása az A-gyűrűn

4.3. Szteroid-azidok előállítása

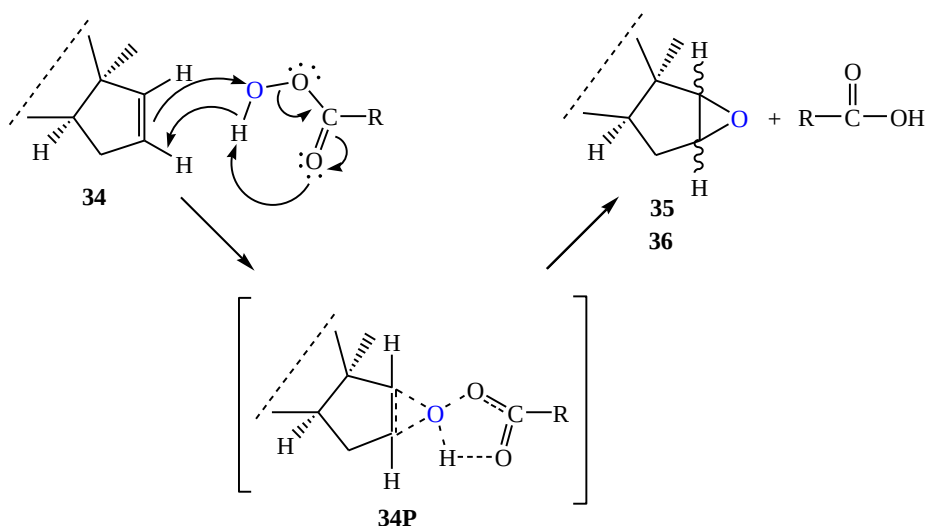
Kísérleti munkánkat a szteroid-azid monomerek előállításával folytattuk (12. ábra). Kiindulási anyagként a 16-olefint (**34**) alkalmaztunk, amelynek előállítására a 3-metiléter sorban korábban már német kutatókkal együttműködve kutatócsoportunk hatékony eljárást dolgozott ki.²⁰ Első lépésként a kiindulási vegyületet persavval epoxidáltuk: a β - (**35**) és az α -epoxid (**36**) 3:1 arányú elegye képződött. Az epoxidokat oszlopkromatográfián

szétválasztottuk, majd azok gyűrűnyitását azid-nukleofillel végeztük, így jutottunk regioszelektíven a két *transz* 16-azido-17-alkoholhoz (**19**, **20**). Az így nyert vegyületek (**19**, **20**) a továbbiakban a szteroid-alkinek reakciópartnerei lesznek.



12. ábra Azidoalkoholok (**19**, **20**) előállítása

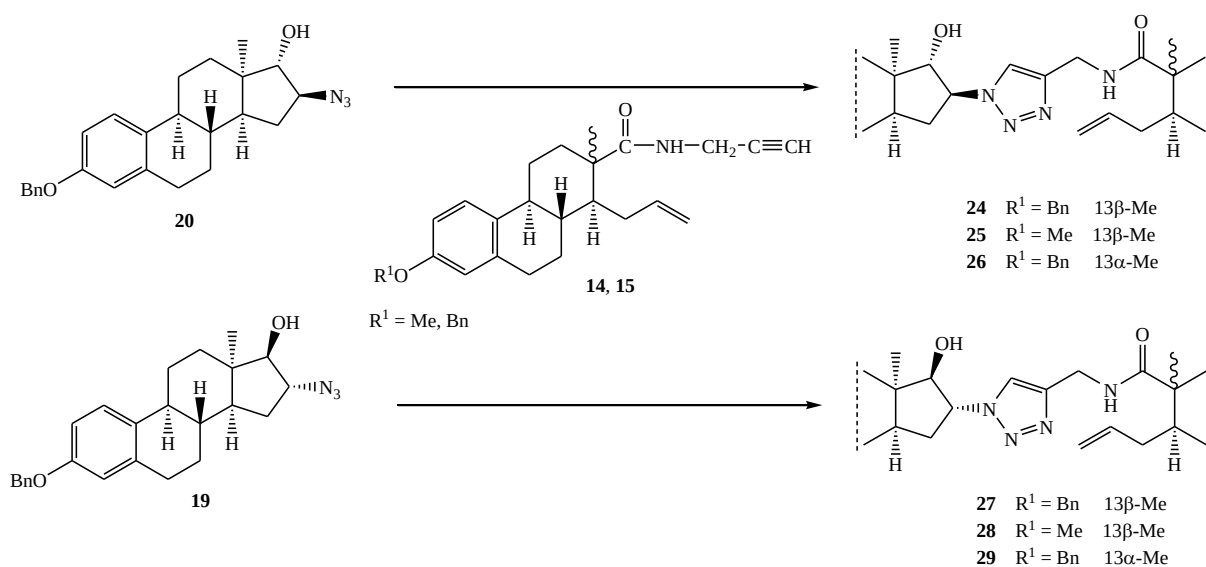
A persavas oxidáció mechanizmusa a 13. ábrán látható. Az egy lépéses, *szin*-sztereokémiával végbemenő folyamat során a persav karbonilcsoportjától távolabb eső oxigén kapcsolódik az alkénhez (**34**). A reakció egy "pillangó" átmeneti állapoton (**34P**) keresztül játszódik le.



13. ábra A persavas epoxidálás mechanizmusa

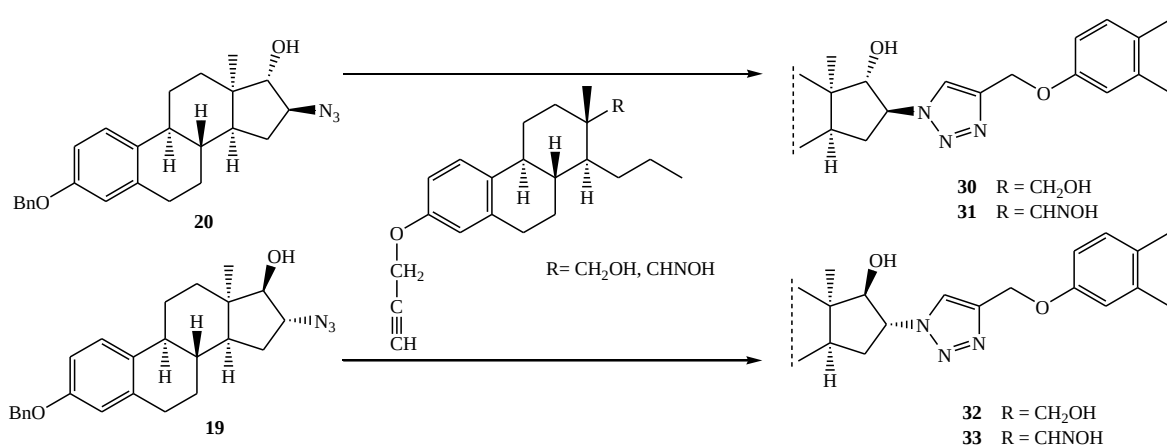
4.4. A dimerek előállítása

Az alkin-monomerek előállítását követően a heterodimerek szintézisével foglalkoztunk. A két típusú szteroid-alkin közül először a nyitott D-gyűrűn terminális alkin-funkciót tartalmazó D-alkinekkel (**14a,b; 15b**) reagáltattuk a *transz*-azidoalkoholokat (**19, 20**, 14. ábra). A D-alkinből négy vegyület állt rendelkezésünkre, amelyek két ponton tértek el egymástól, a 18-as metilcsoport térállásában és a fenolos OH védőcsoportjának minőségében. Az összekapcsolást Cu(I)-katalizált „click”-reakcióval végeztük. Az azidokat (**19, 20**) az általunk kiválasztott alkinekkel (**14a,b; 15b**) 1:1 arányban, toluolos közeget alkalmazva, katalitikus mennyiségű CuI és trifenil-foszfán jelenlétében, bázisként DIPEA-t alkalmazva reagáltattuk. Így 6 új heterodimerhez (**24–29**) jutottunk.



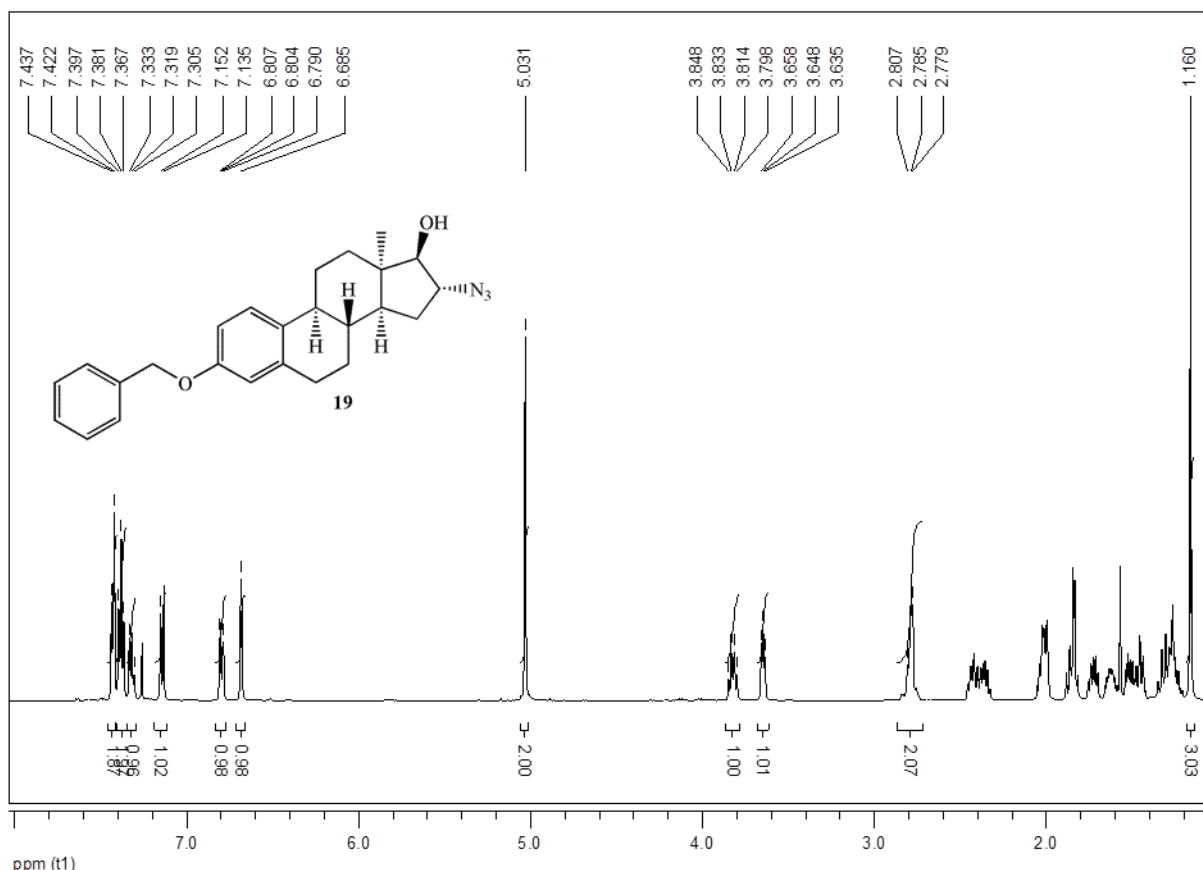
14. ábra D+D konjugátumok (**24–29**) előállítása

A továbbiakban az A-gyűrűn propargilezett A-alkineket (**10g, 23**) alkalmaztuk a konjugálási reakciókban a fentiekben ismertetett módon (15. ábra). Minden izomer felhasználásával, sikeresen előállítottunk 4 új, az irodalomban még nem ismert heterodimert (**30–33**).



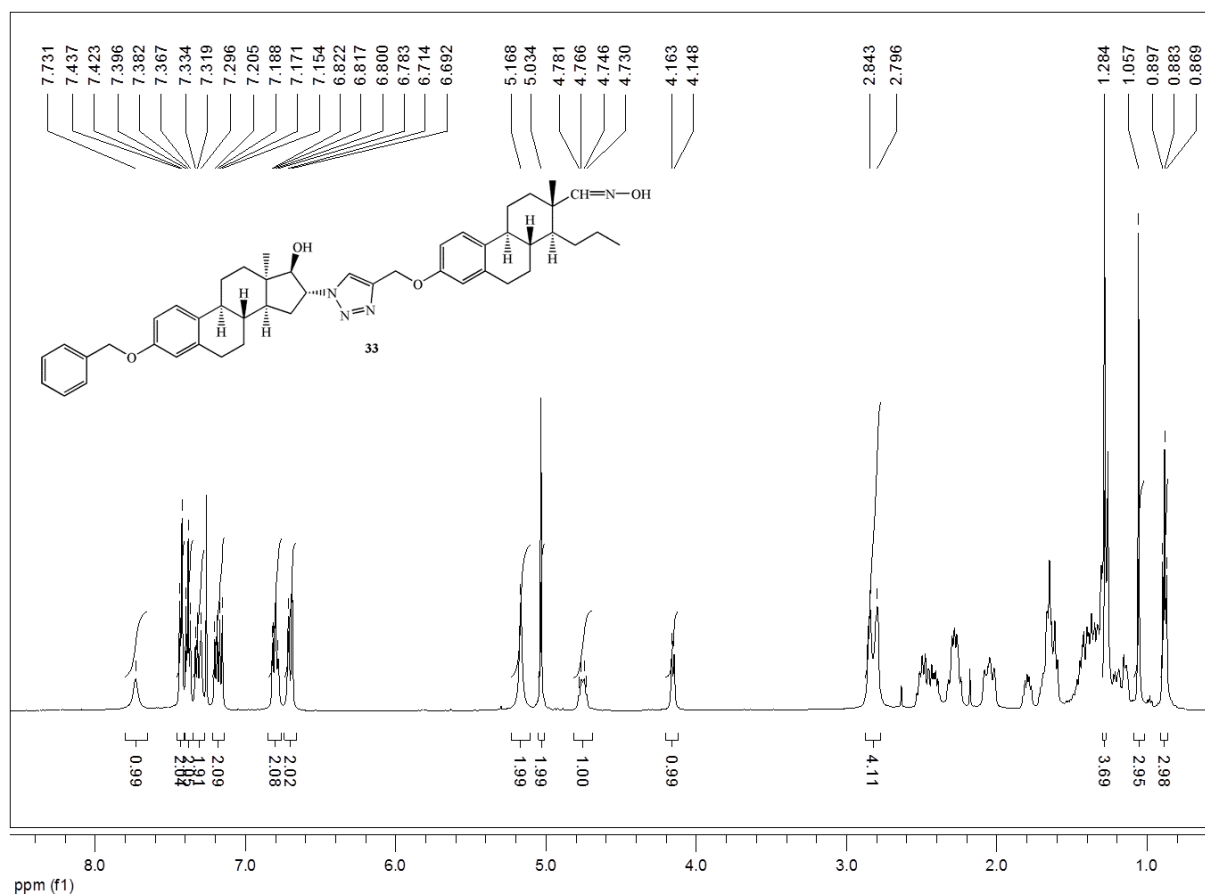
15. ábra D+A konjugátumok (**30–33**) előállítása

A „click”-reakciók mindegyike magas hozammal, regioszelektíven szolgáltatva a kívánt célkonjugátumokat (**24–33**). A termékek szerkezetét NMR-spektroszkópiával igazoltuk. A 16. ábra a **19**-es jelű vegyület, a dimerképzéshez használt egyik azid-komponens, ^1H -NMR spektrumát szemlélteti. A spektrum középső tartományában, 3,5 és 4,0 ppm között, jól látható a 17-es és a 16-os hidrogén multipliettje, 5,03 ppm-nél a benzilcsoport OCH_2 -jele, illetve 6,5 ppm felett az aromás A-gyűrű és a benzilcsoport aromás gyűrűje protonjainak multipliettjei.



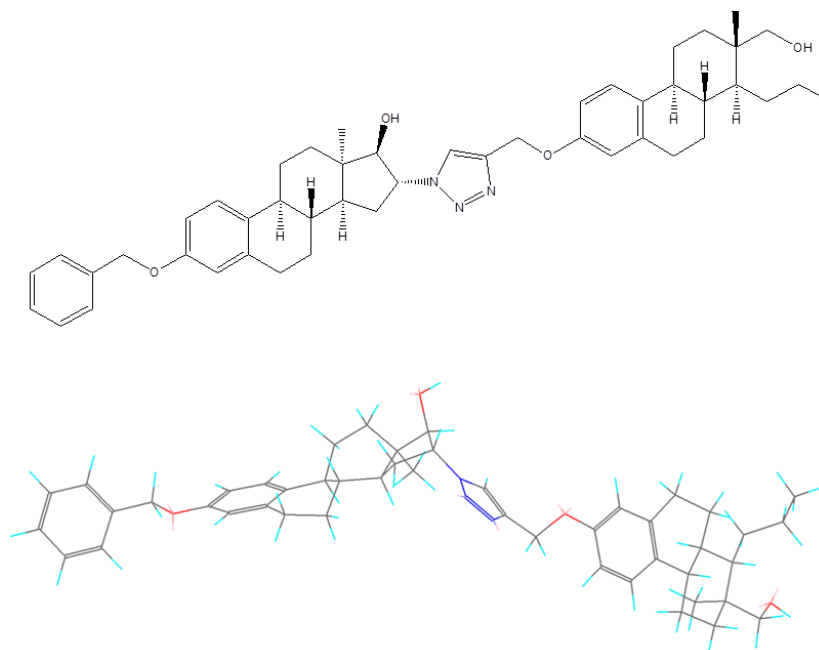
16. ábra A **19**-es jelű vegyület ¹H-NMR spektruma (CDCl₃-ban)

A **33**-as jelű dimerről készült ¹H-NMR spektrumban az azidoalkohol (**19**) spektrumához képest további jelek jelennek meg, utalva a dimerképződés sikeres lejátszódására (17. ábra). A két anguláris metilcsoport (18-H₃ és 18'-H₃) szingulettjén túlmenően, 1 ppm alatt mutatkozik egy hármass intenzitású tripllett, amely a 16a'-metilcsoportéhoz tartozik (ezt a funkciót a szekooxim-rész propenil-oldallánca hordozza). A spektrum középső tartományában a 17-H és a 16-H jelek kémiai eltolódása az azidoalkoholnál (**19**) tapasztaltakhoz képest magasabb ppm-értékek felé tolódik, jelezve, hogy kémiai változás történt ebben a régióban (triazol-gyűrű alakult ki). A benzil-OCH₂ szingulettje (5,03 ppm) mellett egy másik kétszeres intenzitású jel (5,17 ppm) található, amely az újonnan kialakult triazol-funkció O-CH₂ protonjaihoz tartozik. Az aromás tartományban, 6,5 ppm felett, megjelennek a két A-gyűrűre jellemző jelek, továbbá a benzilcsoport protonjainak multipllettjei és két szingulett: a 17'-H és a C=CH. Mindezek igazolják a dimernek (**33**) triazol-linkeren keresztül történő kialakulását.

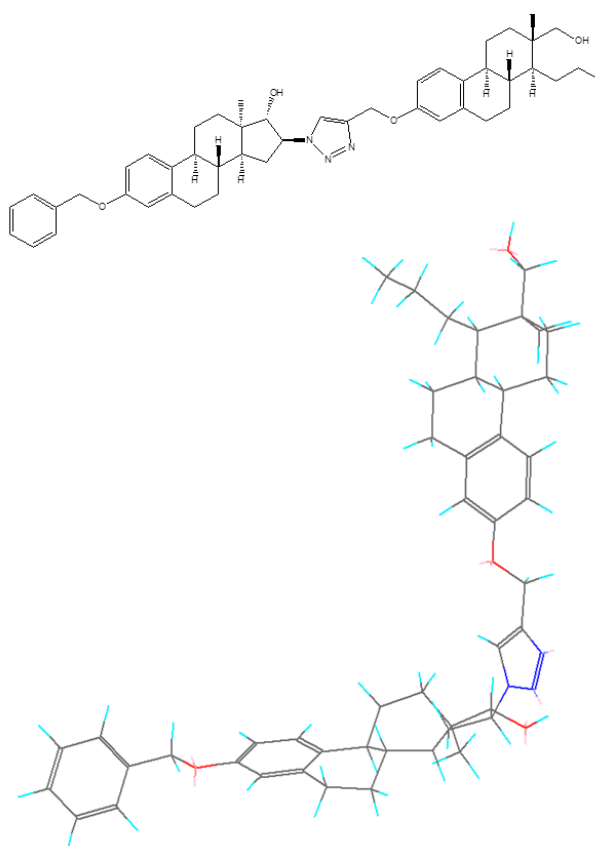


17. ábra A **33**-as jelű vegyület ^1H -NMR spektruma (CDCl_3 -ban)

A 18. és a 19. ábrán látható a **32**-es és a **30**-as jelű vegyület Chem3D programmal energiaminimalizált térszerkezete. A két szerkezet összevetéséből kitűnik, hogy a 16-os és a 17-es szénatomok konfigurációjának megváltoztatása lényegesen befolyásolja a dimer konformációját, ez utóbbi pedig meghatározó szerepet játszhat a konjugátum biológiai aktivitásában. Az azidoalkohol-monomerek sztereokémiája tehát döntően befolyásolhatja a dimerek adott célfehérjéhez mutatott affinitását.



18. ábra A **32**-es jelű vegyület szerkezeti képlete és a Chem3D-programmal energiaminimalizált konformációja



19. ábra A **30**-as jelű vegyület szerkezeti képlete és a Chem3D-programmal energiaminimalizált konformációja

4.5. Az előállított vegyületek hatástani vizsgálata

A Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében *in vitro* elvégezték az általunk előállított szteroid-dimerek (**24–33**) hatástani vizsgálatát. Az antiproliferatív hatást MTT-módszerrel határozták meg több humán tumoros sejtvonalon 10, illetve 30 μM -os koncentrációban.²² Olyan színösszehasonlításon alapuló módszerrel, amelyben a metabolikusan aktív sejtek az oldatban lévő 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromidot (MTT-t) redukálják, így oldhatatlan, lila színű formázán kristályok keletkeznek. Kolorimetriás mérés során tehát meghatározható a szteroidokkal történő kezelés után az élő sejtek mennyisége. A farmakológiai tesztek HeLa (méhnyakrák), A2780 (petefészek karcinóma), A431 (bőrlaphámrák) és MCF-7 (ösztrogén pozitív mellrák) sejtvonalakon hajtották végre.

Ahhoz, hogy az újonnan előállított heterodimerek (**24–33**) antiproliferatív hatásának a szerkezettől való függését elemezhesük, először a dimerek építőköveinek eredményeit foglaljuk össze. A konjugálási reakciókhoz két típusú alkint alkalmaztunk: négy olyan származékot, amelyek a nyitott D-gyűrűn tartalmaznak terminális alkin-funkciót (D-alkin: **14**, **15**), illetve két olyan szekoalkint, amelyek az A-gyűrűhöz kapcsolva (A-alkin: **10g**, **23**). A D-alkinek közül azok bizonyultak potensebbnek, amelyek a 3-benziléter sorba tartoznak (1. táblázat). Az anguláris metilcsoport térállása adott tumorsejtre vonatkozó szelektivitást biztosított az epimereknek, hiszen 30 μM -os koncentrációt alkalmazva, a 13α -vegyület a HeLa sejtvonalon, míg a 13β - az A431 és az A2780 sejtvonalakon mutat 50 %-os, vagy azt kismértékben meghaladó proliferáció-gátlást. A referenciaként alkalmazott ciszplatín értékeitől azonban a kapott eredmények elmaradnak. A legkevésbé hatásos D-alkin (**15a**) anguláris metilcsoportja α -térállású, és a 3-metiléter sorba tartozik. Az A-alkinek (**10g**, **23**) messzemenően potensebbnek bizonyultak a D-alkineknél. A primer alkoholos hidroxilcsoportot tartalmazó alkin (**23**) már 10 μM -os koncentrációban is meghaladta az 50%-os sejtosztódás gátlást az A431-en (1. táblázat). Magasabb koncentrációban azonban (30 μM) az MCF-7 sejtvonalon mutatott 70%-ot, valamint a HeLa-n és az A431-en 90%-ot. A 17-oxim-alkin (**10g**) 10 μM -os koncentrációban hasonlóan viselkedett alkohol megfelelőjéhez, azonban 30 μM -os koncentrációban alkalmazva minden sejtvonalon 90% körüli értéket mutatott. Az említettekből következik, hogy a két A-alkin (**10g**, **23**) közül az ígérkezik monomerként alkalmasabbnak, amelynek a 17-es szénatomján oxim-funkció (**10g**) található. Egy további fontos következtetés is levonható, miszerint azok a vegyületek a potensebbek,

amelyek a terminális alkin-funkciót az A-gyűrűn tartalmazzák (A-alkinek: **10g**, **23**). Az alkin-monomerek (**10g**, **14**, **15**, **23**) hatástani eredményeit követően az azid-monomerek (**19**, **20**) sejtosztódásra gyakorolt hatását is elemezzük. A *transz*-azidoalkoholok (**19**, **20**) 10 µM-os koncentrációban nem mutatkoztak kiemelkedőnek. Magasabb koncentrációnál (30 µM) mindkét azidoalkohol (**19**, **20**) minden sejtvonalon megközelítette vagy meghaladta a 80%-os gátlást. A korábban bemutatott triazolil-származékoknál (**21**, **22**) a 16β-azido-17α-alkohol származékai (**22**) bizonyultak potensebbnek.²¹

1. táblázat A vegyületek (**10g**, **14**, **15**, **19**, **20**, **23**) sejtosztódásra gyakorolt gátló hatása %-ban

A vegyület jele	HeLa		A431		A2780		MCF-7	
	10 µM ± SEM	30 µM ± SEM	10 µM ± SEM	30 µM ± SEM	10 µM ± SEM	30 µM ± SEM	10 µM ± SEM	30 µM ± SEM
10g	65 ± 1	91 ± 1	84 ± 1	91 ± 1	82 ± 1	87 ± 1	42 ± 1	46 ± 2
14a	<20	41 ± 2	<20	<20	<20	41 ± 2	<20	<20
14b	27 ± 3	29 ± 3	20 ± 1	68 ± 2	42 ± 2	50 ± 1	22 ± 1	40 ± 1
15a	<20	15 ± 2	<20	10 ± 3	<20	<20	<20	<20
15b	43 ± 2	62 ± 1	14 ± 2	28 ± 1	25 ± 2	49 ± 1	<20	33 ± 2
19	22 ± 1	98 ± 1	<20	98 ± 1	33 ± 1	96 ± 1	36 ± 1	90 ± 1
20	20 ± 1	96 ± 1	<20	82 ± 1	39 ± 1	96 ± 1	35 ± 1	77 ± 1
23	65 ± 1	91 ± 1	84 ± 1	91 ± 1	82 ± 1	87 ± 1	42 ± 1	46 ± 2
ciszplatin	43 ± 2	100 ± 1	89 ± 1	90 ± 2	84 ± 1	95 ± 1	53 ± 2	87 ± 1

A monomerek hatástani eredményeinek összefoglalása után az újonnan előállított heterodimerekre kapott adatokat tárgyaljuk, kiemelve, hogy a triazolil-linker a megfelelő monomerek mely gyűrűit kapcsolja össze (D-D vagy D-A konjugátumok). Először a D-D dimereket (24–29) tárgyaljuk. A hatás erőssége szempontjából az azidoalkohol sztereokémiája a döntő, ugyanis a potens vegyületek a 16 β -azido-17 α -alkohol (20) származékai (24–26), ez megfelel az irodalmi előzményekben bemutatott korábbi eredményeknek.¹⁵ A D-alkin reakciópartner tekintetében a monomerként is hatásosabb 3-benziléter (24, 26) fejtett ki jobb hatást. Az alkin anguláris metilcsoportjának térállása pedig szelektivitást biztosított. A 13-*epi*-ösztion sorba tartozó és 3-OBn csoportot tartalmazó D-alkinnel (26) alkotott D-D konjugátum az A431, HeLa és az MCF-7 sejtvonalakon 60% feletti gátlást ért el, míg epimer párja (24) az A2780-on fejtette ki hatását. Az D-A konjugátumoknál (30–33) a D-D dimerekkel (24–29) megegyezően ugyanazt a szerkezet-hatás összefüggést tapasztaltuk az azidoalkohol (19, 20) sztereokémiájára vonatkozóan. Az A-alkin monomerek közül pedig az bizonyult hatásosabbnak dimer formában, amely alkoholos hidroxilcsoportot tartalmazott a 17-es szénatomon (30). Ez a vegyület (30) már 10 μ M-os koncentrációban jelentős gátlást mutatott három sejtvonalon is: a HeLa-n és az A431-en meghaladta a 90%-ot, az MCF-7 sejtvonalon pedig elérte a 80%-ot (a 30-as jelű vegyület IC₅₀-értékeit a 3. táblázat mutatja). A 17-oximmal alkotott D-A konjugáció is potens vegyületet (31) eredményezett, de mérsékeltebb hatással, mint az előbb említett alkoholos változat. Fontos megemlíteni, hogy a hatásos azidoalkohol diasztereomer párja D-D és D-A konjugátumainak (32, 33) viselkedése jelentősen eltér az említett potens dimerektől (30, 31), hiszen azok (32, 33) sejtosztódásra gyakorolt hatása nem haladja meg a 30 %-ot.

2. táblázat A vegyületek (24–33) sejtosztódásra gyakorolt gátló hatása %-ban

A vegyület száma	HeLa		A431		A2780		MCF-7	
	10 μ M $\pm$ SEM	30 μ M $\pm$ SEM	10 μ M $\pm$ SEM	30 μ M $\pm$ SEM	10 μ M $\pm$ SEM	30 μ M $\pm$ SEM	10 μ M $\pm$ SEM	30 μ M $\pm$ SEM
24	<10	<10	<10	<10	21 $\pm$ 2	34 $\pm$ 1	<10	<10
25	<10	<10	<10	11 $\pm$ 4	<10	12 $\pm$ 2	<10	13 $\pm$ 2
26	79 $\pm$ 1	84 $\pm$ 3	71 $\pm$ 2	73 $\pm$ 2	35 $\pm$ 2	37 $\pm$ 2	57 $\pm$ 3	68 $\pm$ 2
27	<10	<10	13 $\pm$ 3	10 $\pm$ 4	<10	<10	<10	12 $\pm$ 1
28	39 $\pm$ 3	47 $\pm$ 2	<10	<10	<10	<10	<10	<10
29	39 $\pm$ 9	67 $\pm$ 3	<10	36 $\pm$ 3	16 $\pm$ 5	28 $\pm$ 1	<10	30 $\pm$ 3
30	94 $\pm$ 1	97 $\pm$ 2	95 $\pm$ 1	97 $\pm$ 2	78 $\pm$ 3	93 $\pm$ 2	89 $\pm$ 2	93 $\pm$ 1
31	60 $\pm$ 3	93 $\pm$ 1	67 $\pm$ 0,7	74 $\pm$ 3	28 $\pm$ 2	33 $\pm$ 3,2	56 $\pm$ 3	58 $\pm$ 2
32	20 $\pm$ 7	39 $\pm$ 1	<10	<10	24 $\pm$ 1	28 $\pm$ 1	<10	<10
33	39 $\pm$ 5	63 $\pm$ 3	22 $\pm$ 4	28 $\pm$ 2	27 $\pm$ 2	35 $\pm$ 3	<10	47 $\pm$ 4
ciszplatin	43 $\pm$ 2	100 $\pm$ 1	89 $\pm$ 1	90 $\pm$ 2	84 $\pm$ 1	95 $\pm$ 1	53 $\pm$ 2	87 $\pm$ 1

3. táblázat A **30**-as jelű vegyület számított IC₅₀-értékei

A vegyület száma	IC ₅₀ [μM]			
	HeLa	A431	A2780	MCF-7
30	1,7	1,4	3,4	1,9
ciszplatin	5,3	8,9	0,7	7,3

5. KÍSÉRLETI RÉSZ

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 savamidok előállításának részletes leírása

A 3-benziloxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 α -karbonsavat (**12b**) (376 mg, 1,00 mmol) vagy a 3-benziloxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 β -karbonsavat (**13b**) (376 mg, 1,00 mmol) vagy a 3-metoxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 α -karbonsavat (**12a**) (316 mg, 1,00 mmol) vagy a 3-metoxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 β -karbonsavat (**13a**) (316 mg, 1,00 mmol) 10 ml DMF-ben oldjuk, és rendre hozzáadjuk a következőket: HOBt-t (130 mg, 1,10 mmol), HBTU-t (416 mg, 1,10 mmol) és DIPEA-t (130 mg, 1,00 mmol). A reakcióelegyet 15 percig szobahőmérsékleten kevertetjük, majd hozzáadjuk a propargil-amint (56 mg, 1,00 mmol) DMF-ben (2 ml) feloldva. Szobahőmérsékleten 2 óra kevertetés után a reakció lejártszódik, az elegyet vízre öntjük, CH₂Cl₂-nal extraháljuk, a szerves fázist izzított Na₂SO₄-on szárítjuk, és bepároljuk. A nyersterméket (**14**, **15**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, CH₂Cl₂ eluens alkalmazásával.

5.2.2. A D-szekoöszttron származékok debenzilezése

A 3-benziloxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 α -karbaldehyd-oximhoz (**10a**) (390 mg, 1,00 mmol) vagy a 3-benziloxi-13 α -hidroximetil-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-triénhez (**9a**) (376 mg, 1,00 mmol), EtOAc-ban (20 ml) oldott Pd/C katalizátort adunk, majd 30 bar H₂ nyomás alatt tartva, szobahőmérsékleten 2 órán keresztül kevertetjük. A reakciót celiten keresztül szűrjük, az oldószert bepárlással eltávolítjuk, majd a nyersterméket (**9b** vagy **10c**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk.

5.2.3 A fenolos hidroxilcsoport propargilezése

A 3-hidroxi-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-trién-13 α -karbaldehyd-oximot (**10c**) (302 mg, 1,00 mmol) vagy a 3-hidroxi-13 α -hidroximetil-14 β -(prop-2-en-il)-desz-D-öszttra-1,3,5(10)-triént (**9b**) (290 mg, 1,00 mmol) acetonban (20 ml) feloldjuk, majd propargil-

bromidot (0,17 ml) (80 m/m%-os toluolban oldva) és K_2CO_3 -ot (968 mg, 7 mmol) adunk hozzá. A reakciót 70 °C-on 24 órán keresztül hagyjuk keveredni. Az oldószert bepárlással távolítjuk el. A nyerterméket (**10g** vagy **23**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, eluensként 2% EtOAc/ 98% CH_2Cl_2 alkalmazásával.

5.2.4. Epoxidálás

A 3-benziloxi-13 α -ösztetra-1,3,5(10),16-tetraént (**34**) (345 mg, 1,00 mmol) CH_2Cl_2 -ban (7 ml) oldva, CH_3OH -ban (7 ml) oldott magnézium-monoperoxiftalát-hexahidráttal (~85%, 1,9 g, ~4 mmol) reagáltatjuk. A reakciót szobahőmérsékleten 24 órán keresztül kevertetjük. Ezután vizes $NaHSO_3$ oldatot adunk az elegyhez, majd az elegyet CH_2Cl_2 -nal extraháljuk. Az egyesített szerves fázist vízzel semlegesre mossuk, izzítot Na_2SO_4 -on szárítjuk, majd bepároljuk. A keveréket (**35** + **36**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, eluensként 10% EtOAc/ 90% hexán elegyét alkalmazva.

5.2.5. Az azidoalkoholok (**19**, **20**) előállítása

A 16 β ,17 β -epoxidot (**35**) (360 mg, 1,00 mmol) vagy a 16 α ,17 α -epoxidot (**36**) (360 mg, 1,00 mmol) DMSO-ban (10 ml) feloldjuk és CH_3COOH -et (1 ml), valamint NaN_3 -ot (455 mg, 7,0 mmol) adunk hozzá. A reakcióelegyet 3 órán át forraljuk, majd jeges vízre öntjük, és CH_2Cl_2 -nal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat vízzel semlegesre mossuk, izzított Na_2SO_4 -on szárítjuk, majd bepároljuk. A nyers terméket (**19** vagy **20**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, eluensként 30% EtOAc/ 70% hexán elegyét alkalmazva.

5.2.6. Konjugátumok képzése

A **14a**-t (350 mg, 1,00 mmol) vagy a **14b**-t vagy a **15b**-t (428 mg, 1,00 mmol) vagy a **10g**-t (339 mg, 1,00 mmol) vagy a **23**-at (322 mg, 1,00 mmol) toluolban (6 ml) oldjuk, és hozzáadjuk a következőket: 16 α -azido-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-trién-17 β -ol 3-benzil-étert (**19**) (403 mg, 1,00 mmol) vagy 16 β -azido-13 α -estra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol 3-benzil-étert (**20**) (403 mg, 1,00 mmol), PPh_3 -t (26 mg, 0,10 mmol), CuI -ot (10 mg, 0,05 mmol) és DIPEA-t

(386 mg, 3 mmol), majd a reakcióelegyet fél órán át a toluol forráspontján tartjuk (111°C). A nyersterméket (**24–33**) bepárlást követően oszlopkromatográfiával tisztítjuk.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során D-szekoöszttron-alkineket (**10g**; **14a,b**; **15a,b**; **23**) és 13α -öszttránvázas *transz*-16,17-azidoalkoholokat (**19**, **20**) állítottunk elő monomerként, amelyeket CuAAC reakcióban heterodimer konjugátumokká (**24–33**) kapcsoltunk össze. Tíz új öszttron-dimert (**24–33**) sikerült előállítanunk, amelyek az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve, *in vitro* antitumor hatástani vizsgálatra kerültek több humán adherens tumoros sejtvonalon. Egyes konjugátumok (**26**, **30**) kiemelkedő antiproliferatív hatást mutattak. Megállapítottuk, hogy az azidoalkohol (**19**, **20**) sztereokémiája döntően befolyásolja az egyes dimerek aktivitását, továbbá az A-alkinek származékai (**30**, **31**) messze meghaladják a D-alkinekből kialakított dimerek (**24–26**) hatását.

7. IRODALOMJEGYZÉK

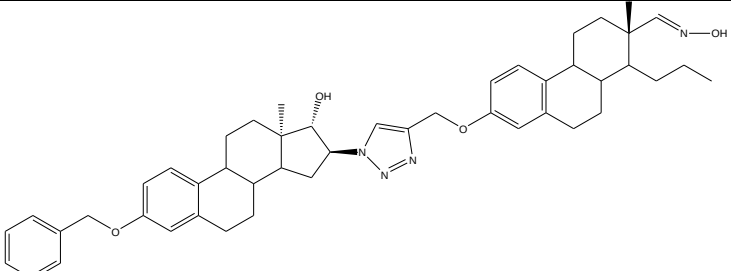
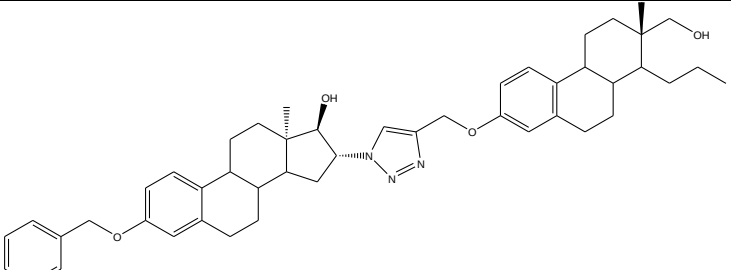
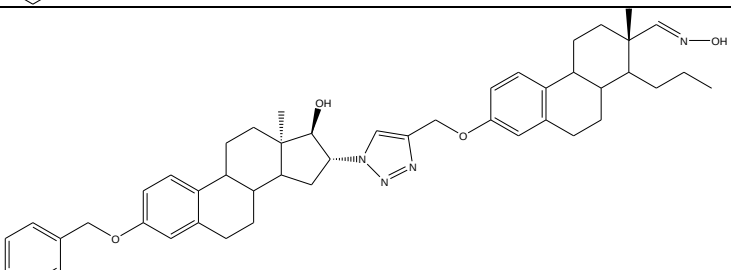
1. Tietze L.F., Bell H.P., Chandrasekhar S. **(2003)** *Angew. Chem. Int. Ed.*; 42: 3996
2. Pettit G.R., Inoue M., Kamano Y., Herald D.L., Arm C., Dufresne C., Christie N.D., Schmidt J.M., Doubek D.L., Krupa T.S. **(1988)** *J. Am. Chem. Soc.*; 110: 2006
3. Jurásek M., Dzubák P., Sedlák D., Dvůráková H., Hajdúch M., Bartunek P., Drasar P. **(2013)** *Steroids*; 78: 356
4. Bérubé G., Rabouin D., Perron V., N'Zemba B., Gaudreault R.C., Parent S., Asselin É. **(2006)** *Steroids*; 71: 911.
5. Schneider, Gy.; Hackler, L.; Sohár, P. **(1988)** *Liebigs Ann. Chem*; 679.
6. Wölfling J, Mernyák E, Forgó P, Schneider Gy. **(2003)** *Steroids*; 68: 451
7. Mernyák E., Szabó J., Huber J., Schneider Gy., Minorics R., Bózsity N., Zupkó I., Varga M., Bikádi Zs., Hazai E., Wölfling J. **(2014)** *Steroids*; 87: 128
8. Mernyák E., Fiser G., Szabó J., Bodnár B., Schneider Gy., Kovács I., Ocsóvszki I., Zupkó I., Wölfling J. **(2014)** *Steroids*; 89: 47
9. Frank É, Mernyák E, Wölfling J, Schneider Gy. **(2002)** *Synlett*; 1803
10. Bacsa Ildikó, Diplomamunka, 2014
11. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K.B. **(2001)** *Angew. Chem. Int. Ed.*; 40: 2004.
12. Moses, E. J.; Moorhouse, A. D. **(2007)** *Chem. Soc. Rev.*; 36: 1249.
13. Meldal, M., Tornøe, C. W. **(2008)**, *Chem. Rev.*; 108: 2952.
14. Berényi A., Minorics R., Iványi Z., Ocsóvszki I., Ducza E., Thole M., Messinger J., Wölfling J., Mótyán G., Mernyák E., Frank E., Schneider Gy., Zupkó I. **(2013)** *Steroids*; 78: 69
15. Kádár Z., Frank É., Schneider G., Molnár J., Zupkó I., Koti J., Schönecker B., Wölfling J. **(2012)** *Arkivoc*; 3: 279
16. Kádár Z., Molnár J., Schneider G., Zupkó I., Frank É. **(2012)** *Bioorg. Med. Chem.*; 20: 1396
17. Kádár Z., Baji A., Zupkó I., Bartók T., Wölfling J., Frank É. **(2011)** *Org. Biomol. Chem.*; 9: 8051
18. Frank É., Molnár J., Zupkó I., Kádár Z., Wölfling J. **(2011)** *Steroids*; 76: 1141
19. Kádár Z., Kovács D., Frank É., Schneider G., Huber J., Zupkó I., Bartók T., Wölfling J. **(2011)** *Molecules*; 16: 4786
20. Mernyák E., Schönecker B., Lange C., Kötteritzsch M., Görls H., Wölfling J., Schneider Gy. **(2003)** *Steroids*; 68: 289

21. Mernyák E., Kovács I., Sere P., Czégány D., Sinka I., Wölfling J., Schneider G., Újfaludi Zs., Boros I., Ocsovszki I., Varga M., Zupkó I. **(2014)** J Steroid Biochem Mol Biol; közlés alatt
22. Mosmann, T. J **(1983)**, Immunol Methods; 65: 55.

8. MELLÉKLETEK

8.1. Az előállított dimerek

A vegyület jele	A vegyület szerkezeti képlete
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	

31	
32	
33	

8.2. Az újonnan előállított vegyületek fizikai adatai

Név	Összegképlet, molekulatömeg	Hozam [%]	R _f	Op. [°C]
24	C ₅₄ H ₆₂ N ₄ O ₄ 831,09	93	0,29 ^a	81-84
25	C ₄₈ H ₅₈ N ₄ O ₄ 755,00	91	0,41 ^a	80-82
26	C ₅₄ H ₆₂ N ₄ O ₄ 831,09	89	0,51 ^a	214-216
27	C ₅₄ H ₆₂ N ₄ O ₄ 831,09	90	0,29 ^a	76-79
28	C ₄₈ H ₅₈ N ₄ O ₄ 755,00	88	0,22 ^a	72-75
29	C ₅₄ H ₆₂ N ₄ O ₄ 831,09	92	0,48 ^a	90-92
30	C ₄₇ H ₅₉ N ₃ O ₄ 729,99	94	0,76 ^a	98-102
31	C ₄₇ H ₅₈ N ₄ O ₄ 742,99	89	0,67 ^b	112-115

32	$C_{47}H_{59}I_3N_3O_4$ 729,99	87	0,80 ^a	104-108
33	$C_{47}H_{58}I_4N_4O_4$ 742,99	90	0,73 ^b	108-110

^a 70% EtOAc/hexán

^b 30% EtOAc/hexán

8.3. NMR-adatok

8.3.1. A monomerek NMR-adatai

10g

¹H NMR

δ ppm = 0,89 (t, 3H, J = 6,8 Hz, 16a-H₃); 1,07 (s, 3H, 18-H₃); 2,51 (s, 1H, C $\equiv$ CH); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 4,66 (s, 2H, OCH₂); 6,70 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,79 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,21 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,30 (s, 1H, 17-H).

¹³C NMR

δ ppm = 14,5 és 15,4 (C-16a és C-18); 24,3; 25,9; 27,2; 30,5; 32,2; 37,4; 40,9; 41,3 (C-13); 43,3; 47,9; 55,7 (OCH₂); 75,3 (C $\equiv$ CH); 79,9 (C $\equiv$ CH); 112,5 (C-2); 114,5 (C-4); 126,5 (C-1); 133,2 (C-10); 137,9 (C-5); 155,5 (C-3); 160,5 (C-17).

14a

(DMSO-d₆)

¹H NMR

δ ppm = 1,18(s, 3H, 18-H₃); 2,24(s, 1H, C $\equiv$ CH); 2,83(m, 2H, 6-H₂); 3,78(s, 3H, OCH₃); 4,06(m, 2H, HN-CH₂); 4,97(m, 2H, 16a-H₂); 5,85(m, 1H, 16-H); 5,91(m, 1H, NH); 6,63(s, 1H, J =2.2Hz, 4-H); 6,71(dd, 1H, J =8,6Hz, J =2,2Hz, 2-H); 7,18(d, 1H, J =8,6Hz, 1-H).

¹³C NMR

δ ppm = 15,2(C-18); 25,9; 27,2; 29,5; 30,2; 35,3; 37,9; 40,9; 42,9; 45,7; 47,3, 55,2(OCH₃); 60,4(N-CH₂); 71,6(C $\equiv$ CH); 79,8(C $\equiv$ CH); 111,7(C-2); 113,5(C-4); 115,0(C-16a); 126,3(C-1); 132,2(C-10); 137,8(C-5); 138,9(C-16); 157,5(C-3); 177,9(C-17).

15a

¹H NMR

δ ppm = 1,30(s, 3H, 18-H₃); 2,20(s, 1H, C≡CH); 2,84(m, 2H, 6-H₂); 3,77(s, 3H, OCH₃); 3,98(m, 2H, NH-CH₂); 5,01(m, 2H, 16a-H₂); 5,76(s, 1H, NH); 5,87(m, 1H, 16-H); 6,60(d, 1H, J=2,2Hz, 4-H); 6,67(dd, 1H, J=2,2Hz, J=8,6Hz, 2-H); 7,15(d, 1H, J=8,6Hz, 1-H).

¹³C NMR

δ ppm = 27,2(C-18); 27,4; 27,8; 29,1; 30,4; 35,1; 39,7; 42,3; 43,6; 46,6; 51,7; 55,2(OCH₃); 71,5(C≡CH); 82,6(C≡CH); 111,5(C-2); 113,3(C-4); 113,9(C-16a); 126,2(C-1); 132,4(C-10); 138,1(C-5); 140,9(C-16); 157,4(C-3); 175,7(C-17).

14b

(DMSO-d₆)

¹H NMR

δ ppm = 1,05(s, 3H, 18-H₃); 2,75(m, 2H, 6-H₂); 3,01(s, 1H, C≡CH); 3,84(m, 2H, HN-CH₂); 4,92(m, 2H, 16a-H₂); 5,05(s, 2H, OCH₂); 5,81(m, 1H, 16-H); 6,69(d, 1H, J=2,2Hz, 4-H); 6,75(dd, 1H, J=8,6Hz, J=2,2Hz, 2-H); 7,16(d, 1H, J=8,6Hz, 1-H); 7,31(t, 1H, J=7,6Hz, 4'-H); 7,38(t, 2H, J=7,6Hz, 3'-H, 5'-H); 7,42(d, 2H, J=7,6Hz, 2'-H, 6'-H); 8,01(t, 1H, J=5,2Hz, NH).

¹³C NMR

δ ppm = 15,1(C-18); 2,7 és 26,8 és 28,2 és 29,6 és 34,6 és 36,7; 40,6 és 42,5 és 45,2; 46,7; 68,8(OCH₂); 72,1(C≡CH); 81,7(C≡CH); 112,3(C-2); 114,1(C-4); 114,5(C-16a); 126,2(C-1); 127,4(2C: C-2', C-6'); 127,6(C-4'); 128,2(2C: C-3', C-5'); 132,0(C-10); 137,2 és 137,3(C-5 és C-1'); 139,5(C-16); 156,1(C-3); 177,0(C-17).

15b

¹H NMR

δ ppm = 1,31(s, 3H, 18-H₃); 2,83(m, 2H, 6-H₂); 2,98(s, 1H, C $\equiv$ CH); 3,81(m, 2H, HN-CH₂); 5,01(m, 2H, 16a-H₂); 5,02(s, 2H, OCH₂); 5,70(m, 1H, NH); 5,86(m, 1H, 16-H); 6,69(d, 1H, $J=2,2$ Hz, 4-H); 6,75(dd, 1H, $J=8,6$ Hz, $J=2,2$ Hz, 2-H); 7,12(d, 1H, $J=8,6$ Hz, 1-H); 7,31(t, 1H, $J=7,5$ Hz, 4'-H); 7,38(t, 1H, $J=7,5$ Hz, 3'-H 5'-H); 7,42(t, 1H, $J=7,5$ Hz, 2'-H, 6'-H); 7,87(t, 1H, $J=5,6$ Hz, 1H, NH).

¹³C NMR

δ ppm = 15,6(C-18); 27,1; 27,4; 27,8; 29,1; 30,4; 35,1; 39,7; 42,3; 43,6; 51,7; 46,5; 69,9(OCH₂); 71,5(C $\equiv$ CH); 79,8(C $\equiv$ CH) 112,3(C-2); 114,4(C-4); 113,9(C-16a); 126,3(C-1); 127,4(2C: C-2', C-6'); 127,8(C-4'); 128,4(2C: C-3', C-5'); 132,7(C-10); 137,3(C-1'); 138,1(C-5); 140,9(C-16); 156,7(C-3); 175,7(C-17).

19

¹H NMR

δ ppm = 1,16 (s, 3H, 18-H₃); 2,78 (m, 2H, 6-H₂); 3,65 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz, 17-H); 3,82 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, OCH₂); 6,69 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,80 (dd, 1 H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,14 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H and 5'-H); 7,43 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H).

¹³C NMR

δ ppm = 27,2; 27,9; 28,7 (C-18); 28,8; 30,2; 31,5; 37,7; 41,1; 42,1 (C-13); 49,0; 66,9 (C-16); 70,0 (OCH₂); 86,2 (C-17); 112,9 (C-2); 114,2 (C-4); 127,4 (2C: C-2', 6'); 127,6 (C-1); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C: C-3', 5'); 133,8 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,7 (C-5); 156,5 (C-3).

20

¹H NMR

δ ppm = 0,98 (s, 3H, 18-H₃); 2,82 (m, 2H, 6-H₂); 3,86 (m, 1H) és 4,03 (m, 1H): 16-H és 17-H; 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,71 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,80 (dd, 1 H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,21 (d, 1H, J = 8,6 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 = 23,0 (C-18); 26,5; 28,3; 30,3; 31,3; 33,2; 42,0; 43,0 (C-13); 43,1; 48,3; 66,9 (C-16), 69,9 (OCH₂); 79,2 (C-17); 112,6 (C-2); 114,6 (C-4); 126,9 (C-1); 127,4 (2C: C-2',6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C: C-3',5'); 132,1 (C-10); 137,2 (C-1'); 138,2 (C-5); 156,7 (C-3).

23

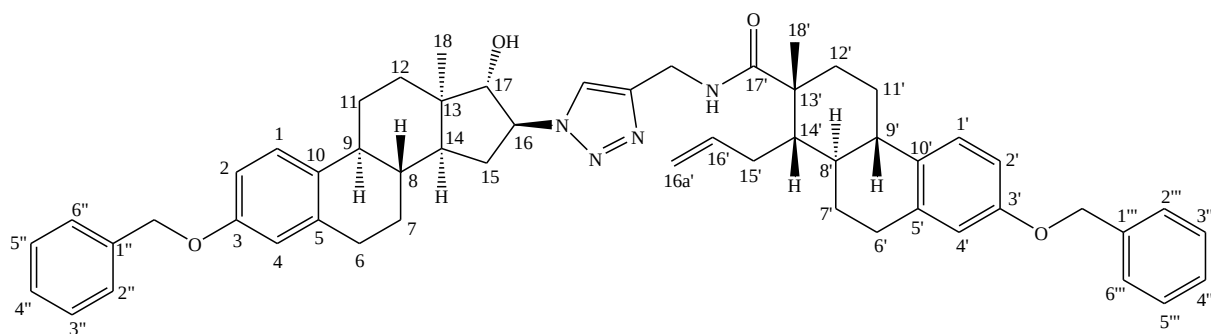
¹H NMR

δ ppm = 0,78 (s, 3H, 18-H₃); 0,92 (t, J = 6,9 Hz, 3H, 16a-H₃); 2,51 (s, 1H, C $\equiv$ CH); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 3,35 és 3,53 (2xm, 2H, 17-H₂); 4,66 (s, 2H, OCH₂); 6,69 (s, 1H, 4-H); 6,78 (d, J = 8,5 Hz, 1H, 2-H); 7,24 (d, J = 8,5 Hz, 1H, 1-H).

¹³C NMR

δ ppm = 14,7 és 15,9 (C-18 és C-16a); 25,0; 26,4; 27,4; 30,7; 31,2; 35,6; 38,7 (C-13); 41,7; 43,5; 45,2; 55,7 (C $\equiv$ CH); 74,3 (CH₂-OH); 75,2 (OCH₂); 78,9 (C $\equiv$ CH); 112,4 (C-2); 114,5 (C-4); 126,6 (C-1); 133,8 (C-10); 138,1 (C-5); 155,4 (C-3).

8.3.2. Az új dimerek NMR-adatai



24

¹H NMR

δ ppm = 1,10 és 1,12 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,80 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 4,37 (d, 1H, J = 8,1 Hz, 17-H); 4,48 (m, 2H, NCH₂); 4,76 és 4,88 (2xm, 2x1H, 16a'-H₂); 4,89 (m, 1H, 16-H); 5,02 és 5,03 (2xs, 2x2H, 2xbenzil-OCH₂); 5,73 (m, 1H, 16'-H); 6,68 és 6,70 (2xd, 2x1H, J = 2,2 Hz, 4-H és 4'-H); 6,76 és 6,79 (2xdd, 2x1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H és 2'-H); 6,80 (s, 1H, NH); 7,13–7,19 (átfedő multiplettek, 2x1H, 1-H és 1'-H); 7,32 (átfedő multiplettek, 2x1H, 4''-H és 4'''-H); 7,36–7,39 (átfedő multiplettek, 2x2H, 3''-, 5''- és 3'''-, 5'''-H); 7,42 (átfedő multiplettek, 2x2H, 2''-, 6''- és 2'''-, 6'''-H); 7,72 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 22,8 és 23,0 (C-18 és C-18'); 25,9; 26,5; 27,3; 27,4; 28,7; 29,7; 30,2; 30,3; 31,4; 33,1; 34,7; 35,3; 37,8; 40,9; 42,1; 42,9; 43,3; 45,7; 47,3; 66,2 (C-16); 69,9 (2C: 2xbenzil-OCH₂); 85,4 (C-17); 112,4 és 112,6 (C-2 és C-2'); 114,3 és 114,7 (C-4 és C-4'); 114,5 (C-16a'); 121,4 (C=CH); 126,4 és 126,9 (C-1 és C-1'); 127,4 (4C: C-2'', C-6'' és C-2''', C-6'''); 127,8 (2C: C-4'' és C-4'''); 128,5 (4C: C-3'', C-5'' és C-3''', C-5'''); 132,5 és 133,8 (C-10 és C-10'); 137,2 és 137,8 és 138,1 (C-5, C-5' és C-1'', C-1'''); 139,1 (C-16'); 144,8 (C=CH); 156,7 és 156,8 (C-3 és C-3'); 178,6 (NCO).

26

¹H NMR

δ ppm = 1,05 és 1,25 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,75–2,89 (2xm, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 3,22 (m, 1H, OH); 4,18–4,33 (m, 2H, NCH₂); 4,38 (m, 1H, 17-H); 4,70 (m, 1H, 16-H); 4,89–5,02 (átfedő multiplettek, 2H, 16a'-H₂); 5,01 és 5,02 (2xs, 2x2H, 2xOCH₂); 5,83 (m, 1H, 16'-H); 6,47 (m, 1H, NH); 6,69 és 6,70 (2xd, 2x1H, J = 2,2 Hz, 4-H és 4'-H); 6,74–6,78 (átfedő multiplettek, 2x1H, 2-H és 2'-H); 7,08–7,12 (átfedő multiplettek, 2x1H, 1-H és 1'-H); 7,31 (t, 2x1H, 4''-H és 4'''-H); 7,37 (t, 2x2H, 3''-, 5''- és 3'''-, 5'''-H); 7,41 (d, 2x2H, 2''-, 6''- és 2'''-, 6'''-H); 7,53 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 23,0 és 27,1 (C-18 és C-18'); 26,4; 27,3; 27,8; 28,3; 30,4; 30,5; 31,4; 33,0; 34,5; 35,2; 39,8; 42,0; 42,4; 42,7; 43,2; 43,6; 46,5; 48,2; 51,7; 66,2 (C-16); 69,9 (2C: 2xbenzil-OCH₂); 78,7 (C-17); 112,4 és 112,6 (C-2 és C-2'); 113,8 (C-16a'); 114,3 és 114,6 (C-4 és C-4'); 122,5 (C=C_H); 126,2 és 127,0 (C-1 és C-1'); 127,4 (4C: C-2'', C-6'' és C-2''', C-6'''); 127,8 (2C: C-4'' és C-4'''); 128,5 (4C: C-3'', C-5'' és C-3''', C-5'''); 132,1 és 132,8 (C-10 és C-10'); 137,2 (2C: C-1'', C-1'''); 138,1 és 138,2 (C-5, C-5'); 141,0 (C-16'); 144,6 (C=C_H); 156,6 és 156,7 (C-3 és C-3'); 176,5 (NCO).

27

¹H NMR

δ ppm = 1,16 és 1,26 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,80 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 4,09 (d, 1H, J = 8,1 Hz, 17-H); 4,49 (m, 2H, NCH₂); 4,89 és 4,79 (2xm, 2x1H, 16a'-H₂); 4,77 (m, 1H, 16-H); 5,02 és 5,03 (2xs, 2x2H, 2xbenzil-OCH₂); 5,73 (m, 1H, 16'-H); 6,70 és 6,71 (2xd, 2x1H, J = 2,2 Hz, 4-H és 4'-H); 6,77 és 6,81 (2xdd, 2x1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H és 2'-H); 6,88 (s, 1H, NH); 7,15–7,18 (átfedő multiplettek, 2x1H, 1-H és 1'-H); 7,32 (átfedő multiplettek, 2x1H, 4''-H és 4'''-H); 7,36–7,39 (átfedő multiplettek, 2x2H, 3''-, 5''- és 3'''-, 5'''-H); 7,42 (átfedő multiplettek, 2x2H, 2''-, 6''- és 2'''-, 6'''-H); 7,72 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 15,2 és 28,8 (C-18 és C-18'); 25,9; 26,9; 27,2; 27,4; 28,7; 29,7; 30,2; 31,9; 34,8; 35,3; 37,4; 37,8; 40,9; 41,0; 42,1; 42,9; 45,7; 47,3; 48,5; 66,2 (C-16); 69,9 (2C: 2xbenzil-OCH₂); 85,2 (C-17); 112,4 és 113,0 (C-2 és C-2'); 114,2 és 114,5 (C-4 és C-4'); 114,5 (C-16a'); 122,5 (C=C_H); 126,3 és 127,7 (C-1 és C-1'); 127,4 (4C: C-2'', C-6'' és C-2''', C-6'''); 127,8 (2C: C-4'' és C-4'''); 128,5 (4C: C-3'', C-5'' és C-3''', C-5'''); 132,5 és 133,8 (C-10 és C-10'); 137,2 és 137,5 és 137,8 (C-5, C-5' és C-1'', C-1'''); 139,1 (C-16'); 144,8 (C=C_H); 156,6 és 156,8 (C-3 és C-3'); 178,6 (NCO).

28

(DMSO-d₆)

δ ppm = 1,07 és 1,38 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,73 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 3,68 (s, 3H, 3'-OCH₃); 3,89 (m, 1H, 17-H); 4,81–4,92 (átfedő multiplettek, 3H, 16a'-H₂ és 16'-H); 5,04 (m, 2H, NCH₂); 5,24 (m, 1H, 16-H); 5,74 (s, 2H, benzil-OCH₂); 6,59 és 6,68 és 6,77 (3xm, 4H, 4-H, 4'-H és 2-H, 2'-H); 7,15 (m, 2H, 1-H és 1'-H); 7,31 (m, 1H, 4''-H); 7,38 (m, 2H, 3''-, 5''-H), 7,41 (m, 2H, 2''-, 6''-H); 7,83 (s, 1H, C=CH); 8,12 (s, 1H, NH).

δ ppm = 15,2 és 28,8 (C-18 és C-18'); 25,8; 26,9; 27,2; 28,3; 28,5; 28,9; 29,6; 29,7; 30,1; 34,7; 36,9 (C-13'); 37,8; 40,1; 40,9; 41,8 (C-13); 42,6; 45,1; 46,8; 48,5; 54,8 (3'-OMe); 66,2 (C-16); 68,9 (benzil-OCH₂); 84,3 (C-17); 111,6 és 112,7 (C-2 és C-2'); 113,0 és 113,9 (C-4 és C-4'); 114,3 (C-16a'); 122,5 (C=CH); 126,3 és 127,4 (C-1 és C-1'); 128,3 (2C: C-2'', C-6''); 128,6 (2C: C-4''); 128,7 (2C: C-3'', C-5''); 131,8 és 133,5 (C-10 és C-10'); 137,3 és 137,4 és 138,0 (C-5, C-5' és C-1''); 139,7 (C-16'); 144,8 (C=CH); 155,8 és 157,0 (C-3 és C-3'); 177,4 (NCO).

δ ppm = 1,21 és 1,29 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,79–2,86 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 3,99 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, 17-H); 4,35–4,48 (m, 2H, NCH₂); 4,70 (m, 1H, 16-H); 4,90–5,01 (m, 2H, 16a'-H₂); 5,01 és 5,02 (2xs, 2x2H, 2xOCH₂); 5,84 (m, 1H, 16'-H); 6,51 (m, 1H, NH); 6,68 és 6,70 (2xd, 2x1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H és 4'-H); 6,74 és 6,79 (2xdd, 2x1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H és 2'-H); 7,12 és 7,14 (2xd, 2x1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H és 1'-H); 7,31 és 7,33 (2xt, 2x1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H és 4'''-H); 7,37 (2xd, 2x2H, $J = 7,3$ Hz, 2''-, 6''- és 2'''-, 6'''-H); 7,40–7,43 (átfedő multiplettek, 2x2H, 3''-, 5''- és 3'''-, 5'''-H); 7,58 (s, 1H, C=CH).

δ ppm = 27,0; 27,1 és 28,7 (C-18 és C-18'); 27,3; 27,6; 27,8; 28,8; 30,2; 30,4; 31,9; 34,6; 35,2; 37,5; 39,8; 40,9; 42,1; 42,5; 43,6; 46,6; 48,6; 51,7; 66,1 (C-16); 69,9 és 70,0 (2xbenzil-OCH₂); 85,3 (C-17); 112,2 és 113,0 (C-2 és C-2'); 114,2 és 114,5 (C-4 és C-4'); 113,9 (C-16a'); 122,5 (C=CH); 126,2 és 127,7 (C-1 és C-1'); 127,4 (4C: C-2'', C-6'' és C-2''', C-6'''); 128,2 és 128,3 (C-10 és C-10'); 128,4 és 128,5 (C-11 és C-11'); 128,6 és 128,7 (C-12 és C-12'); 128,8 és 128,9 (C-13 és C-13'); 129,0 és 129,1 (C-14 és C-14'); 129,2 és 129,3 (C-15 és C-15'); 129,4 és 129,5 (C-16 és C-16'); 129,6 és 129,7 (C-17 és C-17'); 129,8 és 129,9 (C-18 és C-18'); 130,0 és 130,1 (C-1 és C-1'); 130,2 és 130,3 (C-2 és C-2'); 130,4 és 130,5 (C-3 és C-3'); 130,6 és 130,7 (C-4 és C-4'); 130,8 és 130,9 (C-5 és C-5'); 131,0 és 131,1 (C-6 és C-6'); 131,2 és 131,3 (C-7 és C-7'); 131,4 és 131,5 (C-8 és C-8'); 131,6 és 131,7 (C-9 és C-9'); 131,8 és 131,9 (C-10 és C-10'); 132,0 és 132,1 (C-11 és C-11'); 132,2 és 132,3 (C-12 és C-12'); 132,4 és 132,5 (C-13 és C-13'); 132,6 és 132,7 (C-14 és C-14'); 132,8 és 132,9 (C-15 és C-15'); 133,0 és 133,1 (C-16 és C-16'); 133,2 és 133,3 (C-17 és C-17'); 133,4 és 133,5 (C-18 és C-18'); 133,6 és 133,7 (C-1 és C-1'); 133,8 és 133,9 (C-2 és C-2'); 134,0 és 134,1 (C-3 és C-3'); 134,2 és 134,3 (C-4 és C-4'); 134,4 és 134,5 (C-5 és C-5'); 134,6 és 134,7 (C-6 és C-6'); 134,8 és 134,9 (C-7 és C-7'); 135,0 és 135,1 (C-8 és C-8'); 135,2 és 135,3 (C-9 és C-9'); 135,4 és 135,5 (C-10 és C-10'); 135,6 és 135,7 (C-11 és C-11'); 135,8 és 135,9 (C-12 és C-12'); 136,0 és 136,1 (C-13 és C-13'); 136,2 és 136,3 (C-14 és C-14'); 136,4 és 136,5 (C-15 és C-15'); 136,6 és 136,7 (C-16 és C-16'); 136,8 és 136,9 (C-17 és C-17'); 137,0 és 137,1 (C-18 és C-18'); 137,2 és 137,3 (C-1 és C-1'); 137,4 és 137,5 (C-2 és C-2'); 137,6 és 137,7 (C-3 és C-3'); 137,8 és 137,9 (C-4 és C-4'); 138,0 és 138,1 (C-5 és C-5'); 138,2 és 138,3 (C-6 és C-6'); 138,4 és 138,5 (C-7 és C-7'); 138,6 és 138,7 (C-8 és C-8'); 138,8 és 138,9 (C-9 és C-9'); 139,0 és 139,1 (C-10 és C-10'); 139,2 és 139,3 (C-11 és C-11'); 139,4 és 139,5 (C-12 és C-12'); 139,6 és 139,7 (C-13 és C-13'); 139,8 és 139,9 (C-14 és C-14'); 140,0 és 140,1 (C-15 és C-15'); 140,2 és 140,3 (C-16 és C-16'); 140,4 és 140,5 (C-17 és C-17'); 140,6 és 140,7 (C-18 és C-18'); 140,8 és 140,9 (C-1 és C-1'); 141,0 és 141,1 (C-2 és C-2'); 141,2 és 141,3 (C-3 és C-3'); 141,4 és 141,5 (C-4 és C-4'); 141,6 és 141,7 (C-5 és C-5'); 141,8 és 141,9 (C-6 és C-6'); 142,0 és 142,1 (C-7 és C-7'); 142,2 és 142,3 (C-8 és C-8'); 142,4 és 142,5 (C-9 és C-9'); 142,6 és 142,7 (C-10 és C-10'); 142,8 és 142,9 (C-11 és C-11'); 143,0 és 143,1 (C-12 és C-12'); 143,2 és 143,3 (C-13 és C-13'); 143,4 és 143,5 (C-14 és C-14'); 143,6 és 143,7 (C-15 és C-15'); 143,8 és 143,9 (C-16 és C-16'); 144,0 és 144,1 (C-17 és C-17'); 144,2 és 144,3 (C-18 és C-18'); 144,4 és 144,5 (C-1 és C-1'); 144,6 és 144,7 (C-2 és C-2'); 144,8 és 144,9 (C-3 és C-3'); 145,0 és 145,1 (C-4 és C-4'); 145,2 és 145,3 (C-5 és C-5'); 145,4 és 145,5 (C-6 és C-6'); 145,6 és 145,7 (C-7 és C-7'); 145,8 és 145,9 (C-8 és C-8'); 146,0 és 146,1 (C-9 és C-9'); 146,2 és 146,3 (C-10 és C-10'); 146,4 és 146,5 (C-11 és C-11'); 146,6 és 146,7 (C-12 és C-12'); 146,8 és 146,9 (C-13 és C-13'); 147,0 és 147,1 (C-14 és C-14'); 147,2 és 147,3 (C-15 és C-15'); 147,4 és 147,5 (C-16 és C-16'); 147,6 és 147,7 (C-17 és C-17'); 147,8 és 147,9 (C-18 és C-18'); 148,0 és 148,1 (C-1 és C-1'); 148,2 és 148,3 (C-2 és C-2'); 148,4 és 148,5 (C-3 és C-3'); 148,6 és 148,7 (C-4 és C-4'); 148,8 és 148,9 (C-5 és C-5'); 149,0 és 149,1 (C-6 és C-6'); 149,2 és 149,3 (C-7 és C-7'); 149,4 és 149,5 (C-8 és C-8'); 149,6 és 149,7 (C-9 és C-9'); 149,8 és 149,9 (C-10 és C-10'); 150,0 és 150,1 (C-11 és C-11'); 150,2 és 150,3 (C-12 és C-12'); 150,4 és 150,5 (C-13 és C-13'); 150,6 és 150,7 (C-14 és C-14'); 150,8 és 150,9 (C-15 és C-15'); 151,0 és 151,1 (C-16 és C-16'); 151,2 és 151,3 (C-17 és C-17'); 151,4 és 151,5 (C-18 és C-18'); 151,6 és 151,7 (C-1 és C-1'); 151,8 és 151,9 (C-2 és C-2'); 152,0 és 152,1 (C-3 és C-3'); 152,2 és 152,3 (C-4 és C-4'); 152,4 és 152,5 (C-5 és C-5'); 152,6 és 152,7 (C-6 és C-6'); 152,8 és 152,9 (C-7 és C-7'); 153,0 és 153,1 (C-8 és C-8'); 153,2 és 153,3 (C-9 és C-9'); 153,4 és 153,5 (C-10 és C-10'); 153,6 és 153,7 (C-11 és C-11'); 153,8 és 153,9 (C-12 és C-12'); 154,0 és 154,1 (C-13 és C-13'); 154,2 és 154,3 (C-14 és C-14'); 154,4 és 154,5 (C-15 és C-15'); 154,6 és 154,7 (C-16 és C-16'); 154,8 és 154,9 (C-17 és C-17'); 155,0 és 155,1 (C-18 és C-18'); 155,2 és 155,3 (C-1 és C-1'); 155,4 és 155,5 (C-2 és C-2'); 155,6 és 155,7 (C-3 és C-3'); 155,8 és 155,9 (C-4 és C-4'); 156,0 és 156,1 (C-5 és C-5'); 156,2 és 156,3 (C-6 és C-6'); 156,4 és 156,5 (C-7 és C-7'); 156,6 és 156,7 (C-8 és C-8'); 156,8 és 156,9 (C-9 és C-9'); 157,0 és 157,1 (C-10 és C-10'); 157,2 és 157,3 (C-11 és C-11'); 157,4 és 157,5 (C-12 és C-12'); 157,6 és 157,7 (C-13 és C-13'); 157,8 és 157,9 (C-14 és C-14'); 158,0 és 158,1 (C-15 és C-15'); 158,2 és 158,3 (C-16 és C-16'); 158,4 és 158,5 (C-17 és C-17'); 158,6 és 158,7 (C-18 és C-18'); 158,8 és 158,9 (C-1 és C-1'); 159,0 és 159,1 (C-2 és C-2'); 159,2 és 159,3 (C-3 és C-3'); 159,4 és 159,5 (C-4 és C-4'); 159,6 és 159,7 (C-5 és C-5'); 159,8 és 159,9 (C-6 és C-6'); 160,0 és 160,1 (C-7 és C-7'); 160,2 és 160,3 (C-8 és C-8'); 160,4 és 160,5 (C-9 és C-9'); 160,6 és 160,7 (C-10 és C-10'); 160,8 és 160,9 (C-11 és C-11'); 161,0 és 1

127,8 és 127,9 (2C: C-4'' és C-4'''); 128,5 (4C: C-3'', C-5'' és C-3''', C-5'''); 132,8 és 133,7 (C-10 és C-10'); 137,3 (2C) és 137,6 és 138,1 (C-5, C-5' és C-1'', C-1'''); 141,0 (C-16'); 144,6 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$); 156,6 és 156,7 (C-3 és C-3'); 176,5 (NCO).

30

^1H NMR

δ ppm = 0,76 és 1,09 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 0,91 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, 16a'-H₃); 2,71–2,92 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 3,33 és 3,51 (2xd, 2x1H, $J = 10,9$ Hz, 17'-H₂); 4,52 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, 17-H); 4,77 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, benzil-OCH₂); 5,13 (s, 2H, OCH₂); 6,71(2xd, 2x1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H és 4'-H); 6,78 (2xdd, 2x1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H és 2'-H); 7,20 (2xd, 2x1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H és 1'-H); 7,31 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H); 7,38 (t, 2H, 3''- és 5''-H), 7,42 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2''- és 6''-H); 7,66 (s, 1H, C=CH).

^{13}C NMR

δ ppm = 14,7 és 16,0 és 23,0 (C-18 és C-18' és C-16a'); 25,0; 26,4; 26,5; 27,4; 28,3; 30,3; 30,7; 31,2; 31,7; 33,1; 35,6; 38,7; 41,7; 42,0; 42,9; 43,2; 43,5; 45,2; 48,3; 62,0 (OCH₂); 66,4 (C-16); 69,9 (benzil-OCH₂); 71,3 (C-17'); 78,7 (C-17); 112,3 és 112,7 (C-2 és C-2'); 114,3 és 114,6 (C-4 és C-4'); 122,4 ($\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$); 126,6 és 126,9 (C-1 és C-1'); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,8 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 132,0 és 133,4 (C-10 és C-10'); 137,2 és 138,1 és 138,2 (C-1'' és C-5 és C-5'); 142,8 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$); 156,1 és 156,7 (C-3 és C-3').

31

^1H NMR

δ ppm = 0,88 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, 16a'-H₃); 1,06 és 1,10 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,83 (átfedő multiplettek, 4H, 6-H₂ és 6'-H₂); 4,53 (m, 1H, 17-H); 4,84 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, benzil-OCH₂); 5,18 (m, 2H, OCH₂); 6,70–6,72 (átfedő multiplettek, 2H, 4-H és 4'-H); 6,77–6,80 (átfedő multiplettek, 2H, 2-H és 2'-H); 7,19–7,21 (átfedő multiplettek, 2H, 1-H és 1'-H); 7,31 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H); 7,38 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3''- és 5''-H), 7,42 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2''- és 6''-H); 7,81 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 14,5 és 23,0 (C-18 és C-18'); 22,9 (C-16a'); 24,3; 26,0; 26,4; 27,2; 28,3; 30,3; 30,5; 31,2; 31,7; 32,3; 33,1; 37,5; 40,9; 42,0; 43,0; 43,2; 43,3; 47,9; 48,3; 64,4 (OCH₂); 66,4 (C-16); 70,0 (benzil-OCH₂); 78,7 (C-17); 112,5 és 112,7 (C-2 és C-2'); 114,4 és 114,6 (C-4 és C-4'); 122,5 (C=CH); 126,6 és 126,9 (C-1 és C-1'); 127,4 (2C, C-2'' és C-6''); 127,8 (C-4''); 128,5 (2C, C-3'' és C-5''); 132,0 és 133,0 (C-10 és C-10'); 138,0 és 138,2 és 138,5 (C-5, C-5' és C-1''); 142,8 (C=CH); 156,2 és 156,6 (C-3 és C-3'); 160,4 (C-17').

32

¹H NMR

δ ppm = 0,77 és 1,28 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 0,92 (t, 1H, *J* = 6,8 Hz, 16a'-H₃); 2,80–2,84 (átfedő multiplettek, 2x2H, 6-H₂ és 6'-H₂); 3,33 és 3,51 (2xm, 2x1H, 17'-H₂); 4,14 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, 17-H); 4,74 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, benzil-OCH₂); 5,15 (s, 2H, OCH₂); 6,69 és 6,71(2xd, 2x1H, *J* = 2,2 Hz, 4-H és 4'-H); 6,78 és 6,81 (2xdd, 2x1H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,2 Hz, 2-H és 2'-H); 7,16 és 7,21 (2xd, 2x1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H és 1'-H); 7,32 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz, 4''-H); 7,38 (t, 2H, 3''- és 5''-H), 7,43 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, 2''- és 6''-H); 7,69 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 14,7 és 16,0 és 28,7 (C-18 és C-18' és C-16a'); 25,0; 26,4; 26,9; 27,4 (2C); 28,8; 30,2; 30,7; 31,2; 31,9; 35,6; 37,4; 38,7; 40,9; 41,7; 42,1; 43,5; 45,2; 48,5; 62,0 (OCH₂); 66,1 (C-16); 69,9 (benzil-OCH₂); 71,3 (C-17'); 85,2 (C-17); 112,4 és 113,0 (C-2 és C-2'); 114,2 és 114,3 (C-4 és C-4'); 122,4 (C=CH); 126,6 és 127,7 (C-1 és C-1'); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,8 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 133,5 és 133,8 (C-10 és C-10'); 137,2 (C-1''); 137,5 és 138,1 (C-5 és C-5'); 142,8 (C=CH); 156,1 és 156,5 (C-3 és C-3').

33

¹H NMR

δ ppm = 0,88 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, 16a'-H₃); 1,06 és 1,28 (2xs, 2x3H, 18-H₃ és 18'-H₃); 2,80–2,84 (átfedő multiplettek, 4H, 6-H₂ és 6'-H₂); 4,15 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, 17-H); 4,75 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, benzil-OCH₂); 5,17 (m, 2H, OCH₂); 6,70 és 6,71 (2xd, 2x1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H és 4'-H); 6,78–6,82 (átfedő multiplettek, 2H, 2-H és 2'-H); 7,16–7,19 (átfedő multiplettek, 2H, 1-H és 1'-H); 7,30 (s, 1H, 17'-H), 7,33 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H); 7,38 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3''- és 5''-H), 7,43 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2''- és 6''-H); 7,73 (s, 1H, C=CH).

¹³C NMR

δ ppm = 14,5 és 15,4 és 28,7 (C-16a' és C-18 és C-18'); 24,3; 26,0; 26,9; 27,2; 27,5, 28,9; 30,2; 30,5; 31,9; 32,2; 37,4; 37,5; 40,9; 41,0; 41,3; 42,1; 43,3; 47,9; 48,6; 62,0 (OCH₂); 66,3 (C-16); 70,0 (benzil-OCH₂); 85,3 (C-17); 112,4 és 113,0 (C-2 és C-2'); 114,2 és 114,4 (C-4 és C-4'); 122,5 (C=CH); 126,6 és 127,7 (C-1 és C-1'); 127,4 (2C, C-2'' és C-6''); 127,8 (C-4''); 128,5 (2C, C-3'' és C-5''); 132,9 és 133,7 (C-10 és C-10'); 137,3 (C-1''); 137,5 és 138,0 (C-5 és C-5'); 142,8 (C=CH); 156,2 és 156,6 (C-3 és C-3'); 160,6 (C-17').

A dolgozatban használt rövidítések jegyzéke

CuAAC – Cu(I)-ion katalizált azid-alkin cikloaddíció

DCC – *N,N'*-diciklohexil-karbodiimid

DIPEA – *N,N*-diizopropil-etilamin

DMF – dimetil-formamid

HBTU – 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónium-hexafluorofoszfát

HOBt – 1-hidroxi-benzotriazol

PPh₃ – trifenilfoszfán

TMS – tetrametil-szilán

DMSO – dimetil-szulfoxid

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid

NaN₃ – nátrium-azid

Bn – benzil

Me – metil

MTT-módszer – Citotoxicitás meghatározására szolgáló *in vitro* fotometriás mérésen alapuló eljárás.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

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

Köszönetet mondok Prof. Dr. Schneider Gyula emeritus professzornak, hogy hasznos tanácsaival segítette diákköri munkámat a Szerves Kémiai Tanszéken.

Köszönetet mondok Prof. Dr. Wölfling János tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy segítette diákköri munkámat.

Köszönetet mondok Dr. Huber Judit doktorjelöltnek a labormunkában nyújtott segítségéért, illetve a hatástani vizsgálatok kivitelezéséért.

Köszönetet mondok Szabó Johanna Phd hallgatónak a labormunkában és a dolgozat megírásában nyújtott segítségéért.

Köszönetet mondok Bacsa Ildikó PhD-hallgatónak a labormunkában nyújtott segítségéért.

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