

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Szerves Kémiai Tanszék



Antitumor hatású triazolok szintézise a 13 α -ösztrom sorban

Készítette:

Pataki Zoltán Gergő

Biomérnök Bsc.

Témavezető:

Dr. Mernyák Erzsébet, tudományos munkatárs

Szeged

2014

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	1
2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK.....	3
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	9
4. KÍSÉRLETIEREDMÉNYEK.....	10
4.1 Kémiai rész.....	10
4.2 Hatástani eredmények.....	16
4.2.1 Antitumor hatás meghatározása <i>in vitro</i>	16
4.2.2 Az újonnan előállított származékok (13 , 16a , 16e) és alapvegyületeik (2a , 2c) 17β-HSD1 enzimre gyakorolt hatásának vizsgálata.....	20
5. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	22
5.1 Általános kísérleti rész.....	22
5.2 Részletes kísérleti rész.....	23
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	25
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	26
8. MELLÉKLETEK.....	29
8.1 Fizikai adatok táblázatos összefoglalása.....	29

8.2 NMR adatok.....	32
8.3 A használt rövidítések jegyzéke.....	36
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	37

1. BEVEZETÉS

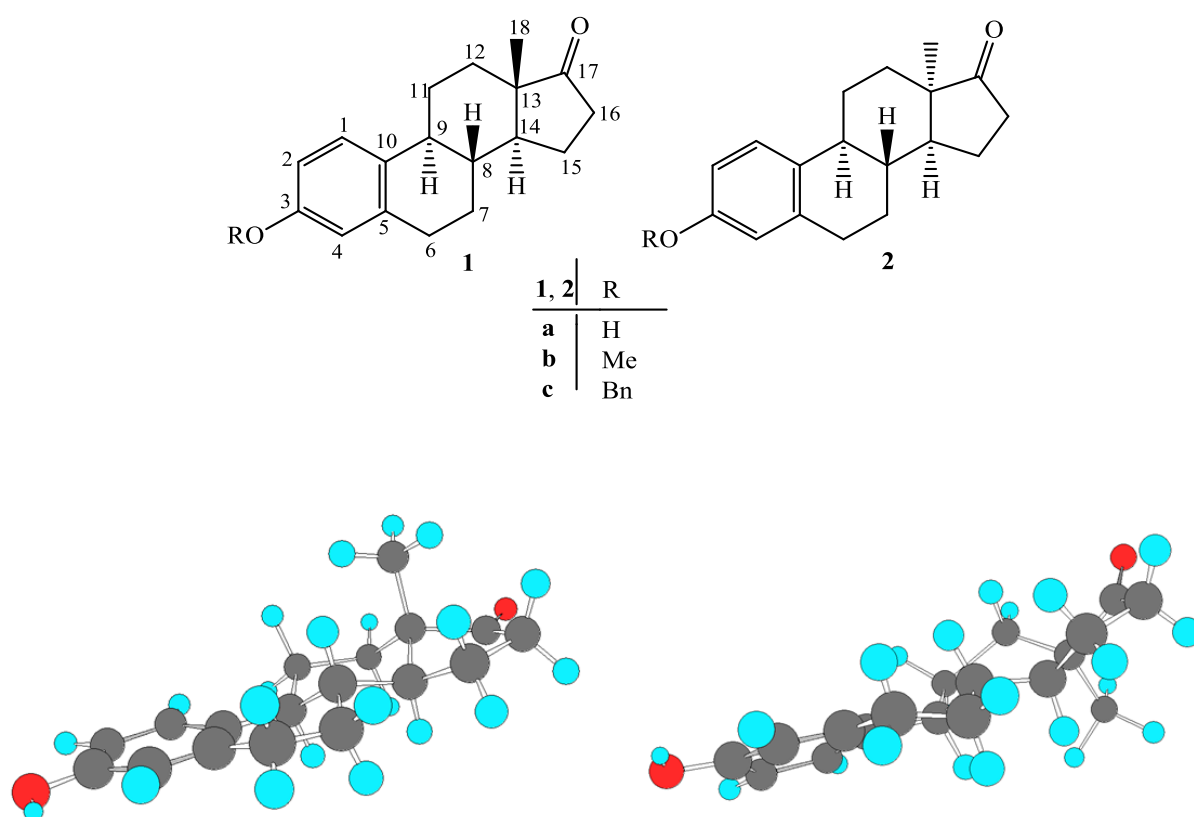
A szteránváz vegyületek élővilágunkban meghatározó szerepet töltenek be. Mint természetes szénvegyületek rendkívül változatos formában és szerepkörben fordulnak elő a növényi, állati és emberi szervezetben egyaránt. A sejtmembránban optimális szinten tartják a folyadék-kristályos állapotot, növényi hormonként (a fitoösztrogének) az emberi szervezetben megtalálható ösztrogénekhez hasonló hormonális szerepet töltenek be, de van köztük vitamin vagy a szív izomzatának működését szabályozó vegyület is, illetve toxikus hatású szteroidok is ismertek.

Az ösztron és az ösztradiol az emberi szervezetben megtalálható nemi hormonok, amelyek a nőkben nagyobb mennyiségben képződnek a progeszteronnal együtt, mint a férfiakban. Szerepük a másodlagos nemi jelleg kialakítása mellett a nemi ciklus szabályozásában és a méhnyálkahártya megvastagodásában van.

Az ösztron vázmódosításával nyerhető szintetikus 13-epimer származékok kutatása napjainkban egyre inkább előtérbe kerül. A 13 α -ösztron ugyanis nem rendelkezik ösztrogén hatással, így kiindulási vegyületeként szolgálhat a szelektív, hormonhatástól mentes, egyéb biológiai aktivitással rendelkező hatóanyagok előállításához.^[1-2] A modern gyógyszerkutatás egyik legfontosabb területe a szelektív hatású rákellenes szerek kifejlesztése, amelyek között néhány ösztron származék is szerepel, ez utóbbi vegyületcsoportban azonban a hormonális aktivitás visszaszorítása olykor nem valósítható meg maradéktalanul. Az irodalomból ismeretes, hogy az ösztrogénfüggő rákos megbetegedések egyik lehetséges terápiás módja antiösztrogének vagy szelektív ösztrogén receptor modulátorok alkalmazása, amelyek többek között az ösztron szerkezetének kémiai módosításával állíthatók elő.^[3] A természetes szteroidok epimerizálása régebben nehezen kivitelezhető volt, másrészt szerkezetük kutatása is számos akadályba ütközött.^[4] Manapság az epimerek egyszerű, egylépéses folyamatban, magas hozammal nyerhetők, és a szerkezetvizsgálati módszerek fejlődésének köszönhetően manapság a térszerkezet és a váz szubsztituáltságára vonatkozó hasznos tapasztalati összefüggések is megállapíthatók.^[5]

A 13-*epi* sorba tartozó vegyületek a 13 β -ösztron sorbeli származékoktól eltérő sztereo-, regio- és kemoszelektivitással reagálnak.^[6] A reaktivitásbeli különbség a 13-epimerek eltérő konformációs viszonyaival magyarázható. A természetes ösztron merev szerkezetével ellentétben a 13 α -ösztron (**2a**) flexibilisebb, kvázi ekvatoriális térállású anguláris

metilcsoportot tartalmaz, a D-gyűrű pszeudorotációt szenvedhet, a C-gyűrű két stabil konformációt is felvehet (1. ábra). Ezekből a tulajdonságokból adódóan a 13α -öszttron sorban olyan reakciók is végrehajthatók, amelyek a merev vázas 13β -sorban nem. Az utóbbi vegyületcsoportban az anguláris metilcsoport sztérikus gátló hatása jobban befolyásolja a reakciók sztereokémiáját, mint a 13α -sorban.



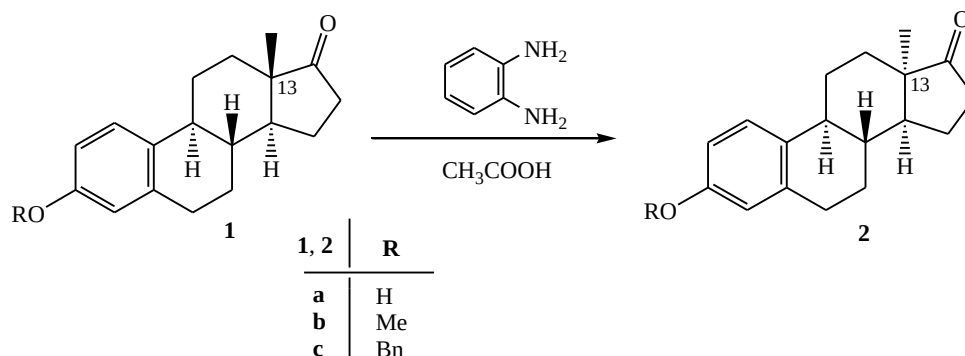
1. ábra Természetes öszttron (**1a**) és 13α -öszttron (**2a**)

Kutatócsoportunk egy 2013-as közleményében igazolta, hogy a 13α -sorbeli öszttron származékok ígéretes antitumor hatóanyagok lehetnek, ugyanis egy 16-oxim származékról kitűnt, hogy a ciszplatinnal mint referenciavegyülettel összemérhető *in vitro* citosztatikus hatást gyakorol több humán adherens reprodukzív tumorsejtvonalra. Külön kiemelendő, hogy a vegyület tumorszelektivitása több nagyságrenddel jobb a referenciavegyületénél.^[7]

Mindezek alapján indokoltnak tűnik öszttronból egyszerű átalakításokkal olyan 13α -származékokat előállítani, amelyek hormonálisan inaktívak, de potenciális antitumor hatással rendelkeznek. Mivel egyes természetes és szintetikus *N*-heterociklusos vegyületek változatos farmakológia hatást mutatnak, kutatásunkban nitrogéntartalmú, heterociklusos 13-epimerek előállítását terveztük az öszttron sorban.

1. IRODALMI ELŐZMÉNYEK

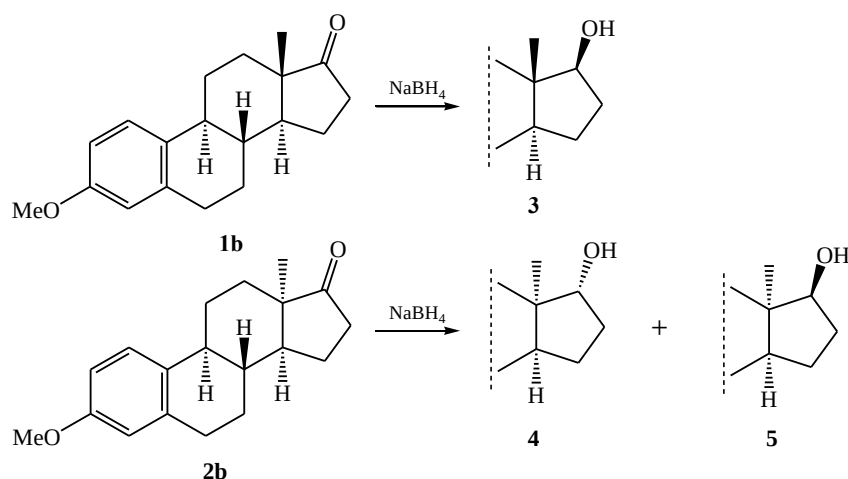
A 13α -öszttront (**2a**) elsőként Butenandt és munkatársai állították elő, fotokémiai izomerizációval.^[4] Yaremenko és Khvat később hatékony módszert fejlesztett ki androsztánvázis vegyületek epimerizálására. Az egy lépéses izomerizációt *o*-feniléndiaminnal, jégcetben végezték, és a terméket 50%-os hozammal nyerték. Schönecker és munkatársainak sikerült a fenti eljárást öszttránvázis vegyületekre kiterjeszteni, és a reakció termelését 30%-kal növelni (2. ábra).^[5] Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportja is ezt az eljárást követte, és az oszlopkromatográfiás tisztítást Girard-reagenssel való elválasztással kötötte össze. A 13 -*epi*-származék (**2b**) az említett reagenssel a reakció körülményei között nem reagál, így sikerült a kis mennyiségű maradék kiindulási anyagot (**1b**) a kívánt terméktől (**2b**) elválasztani. Az öszttron 3-benziléterét (**1c**) hasonló körülmények között reagáltatva, 98 %-os hozammal állították elő a 13α -öszttron 3-benziléterét (**2c**).



2. ábra Egy lépéses epimerizáció az öszttránváz 13 -as szénatomján

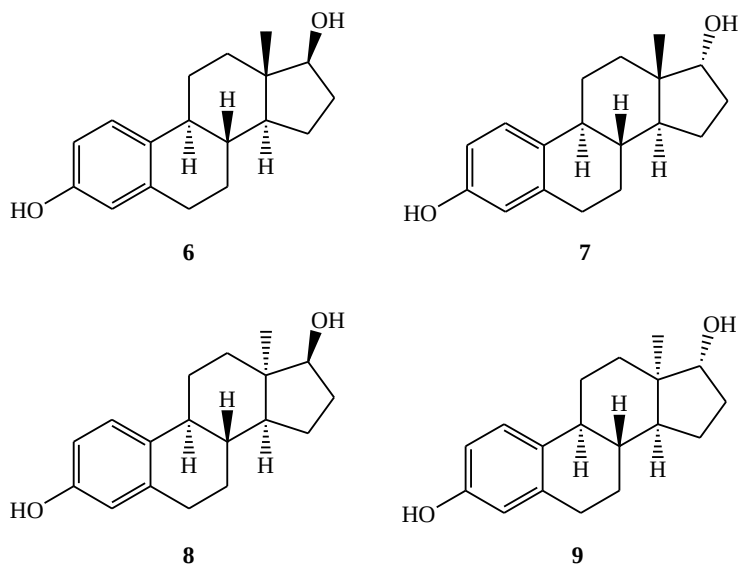
Az irodalomból ismeretes, hogy az öszttron és 13 -epimerének hidrides redukciója eltérő sztereoszelektivitással megy végbe az anguláris metilcsoport térállásától függően.^[5] A merev vázas 13β -sorban kizárólag 17β -alkohol (**3**) képződik (3. ábra). Ez a magasfokú sztereoszelektivitás azzal magyarázható, hogy a 13 -as szénatom β -térállású metilcsoportja a merev öszttrán vázon β -oldalról jelentős térgátlást fejt ki a 17 -es szénatomra, tehát a hidridion támadása kizárólag α -oldalról következik be, amely egy 17β -hidroxilcsoport kialakulását eredményezi. Ezzel szemben az *epi*-sorban 17α - (**4**) és 17β - (**5**) izomerek keletkeznek különböző arányban, az alkalmazott redukálószer minőségétől függően. Nátrium-tetrahidridoborát hatására az izomerarány $17\beta:17\alpha = 3:2$, míg a nagyobb térkitöltésű L-selectriddel

redukálva $17\beta:17\alpha = 9:1$. A 13α -ösztron sorban a sztereoselektivitás hiánya azzal magyarázható, hogy a 13α -epimerek flexibilisebb vázrendszerrel rendelkeznek, mint 13β -izomereik, így a 13α -anguláris metilcsoport kisebb térgátlást fejt ki a hidridionnak a 17-es szénatomra α -oldalról való támadásakor.



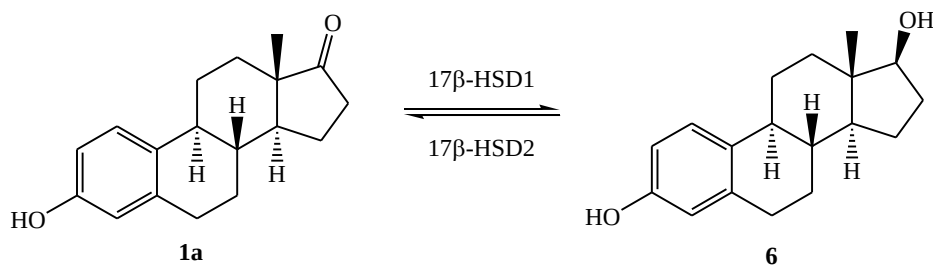
3. ábra Az ösztron 3-metiléterének (**1b**) és a 13α -epimerének (**2b**) fémhidrides redukciója

Kanadai kutatók a közelmúltban elvégezték a 4 izomer ösztradiol (**6–9**, C-13 és C-17 epimerek, 4.ábra) gyógyszerhatástani tesztelését.^[8] Három különböző módszerrel vizsgálták a vegyületeket: *in vitro* az ösztrogén receptorokhoz mutatott affinitásukat, illetve *in vivo* uterotrop és *in vitro* sejtalapú módszerekkel. Az eredmények azt mutatták, hogy a **8**-as jelű vegyület mutat legkisebb affinitást az ösztrogén receptorokhoz, a legalacsonyabb az ösztrogén hatása az ösztrogénfüggő sejtvonalakon, és *in vivo* nincs hormonhatása. Az izomerek egymáshoz képest mutatott ösztrogén aktivitása a következő tendenciát mutatta: **8**<**9**<**7**<<**6**. Mindezekből azt a következtetést vonták le, hogy az anguláris metilcsoport inverziójával jelentősen csökkenthető az ösztrogén hatás. Nagyobb koncentrációban ($>5\mu\text{M}$) alkalmazva az ösztradiolokat (**6–9**) a sejtvonalakon, citotoxikus hatást figyeltek meg, amely a legkifejezettebb a **9**-es jelű vegyületnél volt. Poirier és munkatársai munkája alapján tehát a **9**-es jelű vegyület megfelelő modellként szolgálhat potenciálisan antitumor hatással rendelkező, hormonálisan inaktív gyógyszerhatóanyagok kifejlesztéséhez.



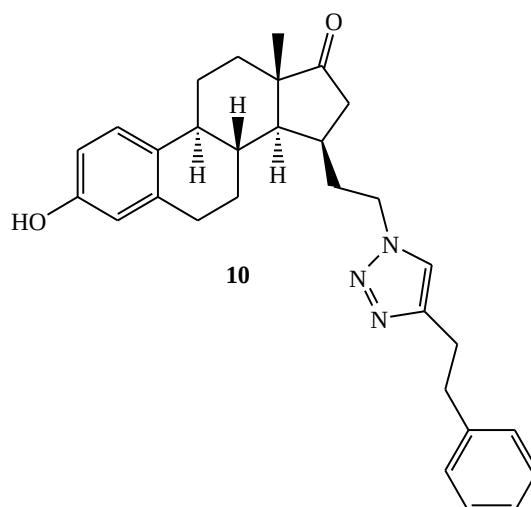
4. ábra A négy ösztradiol-izomer (6–9) szerkezeti képlete

A szakirodalom számos antitumor hatású ösztron származékról számol be, amelyek eltérő hatásmechanizmussal működnek.^[3] Egyes vegyületek antiösztrogénként viselkednek, és az ösztrogénnel versengve gátolják annak bekötődését saját receptorához. Ilyen kompetitív gátlásra a 7 α - vagy 11 β -pozícióban módosított ösztron származékok képesek^[9-11] A 2- és/vagy 17-szubsztituált ösztron-3-szulfamátok a szteroid-szulfatáz enzim inhibitoraként szolgálnak, a 2-haloösztronok pedig az aromatáz enzimet képesek szelektíven gátolni.^[12-23] Az ösztron egyes szubsztituált, homológ vagy konjugátum származékai a 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1 enzim inhibitoraiként hatnak. A 17 β -HSD1 egy oxidoreduktáz enzim, amely kulcsfontosságú szerepet játszik az ösztrogének bioszintézisében azáltal, hogy az ösztron (**1a**) ösztradiollá (**6**) való átalakulását katalizálja (5. ábra). Az enzim gátlása számos ösztrogén-függő tumoros megbetegedéssel szembeni védekezés egyik alternatívája lehet.



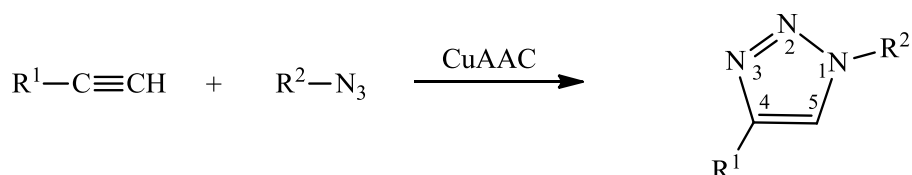
5. ábra A 17 β -ösztradiol (**6**) bioszintézise ösztronból (**1a**)

Az 6. ábrán látható 15-szubsztituált öszttron-triazol (**10**) egy 17 β -HSD1-inhibitor, amely *in vitro* vizsgálatok során már nM-os koncentrációban hatékonynak bizonyult.^[24]



6. ábra 17 β -HSD1 inhibitor hatású 15-szubsztituált triazolil-öszttron (**10**)

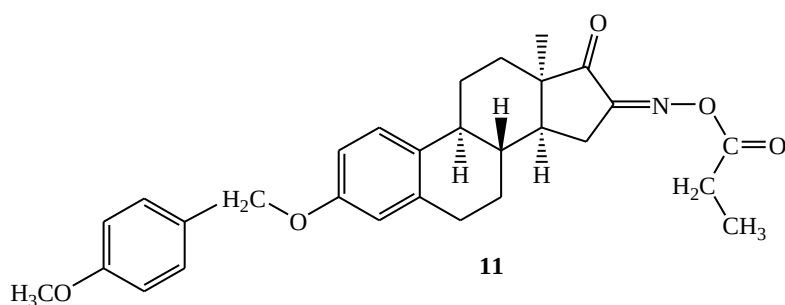
Gyógyszerhatástani vizsgálatok alapján kitűnt, hogy a triazol-gyűrű nagyfokú hasonlóságot mutat a peptidkötéssel (H-híd kialakítása), azonban ettől eltérően kémiai és metabolikusan is stabil. Így triazol-gyűrűt a szteránvázasként építve növelhető azok vízoldékonysága és biológiai hozzáférhetősége. A Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció („click”-reakció) rendkívül népszerű és elterjedt módszer triazolok képzésére (7. ábra), ugyanis regio szelektíven, magas hozammal szolgáltatja a kívánt célterméket (1,4-regioizomer).^[25]



7. ábra Triazol szintézis CuAAC-reakcióval

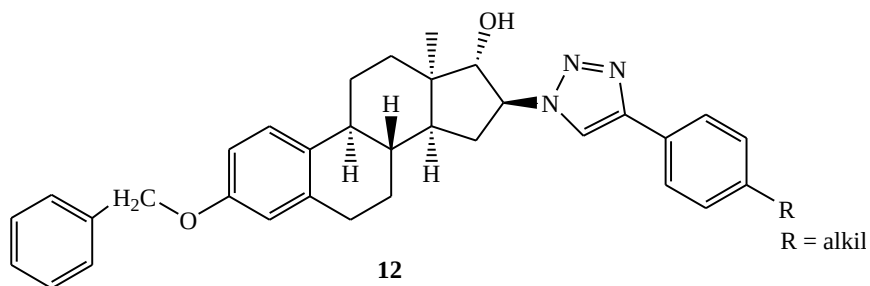
Kolesztán vázon a 2 α -, androsztán vázon a 15 β - és az 1 β -, valamint ösztán vázon a 17 β -helyzetbe is építettek már be triazol-gyűrűt. Egyes így nyert triazolok kiemelkedő antiproliferatív hatást mutattak.^[26-29] Jurasek és munkatársai kólsav karboxil-csoportján

alakítottak ki terminális alkin-funkciót: a karboxil-csoportot propargil-alkohollal vagy – aminnal reagáltatták kapcsolóreagens segítségével.^[30] Az előállított epesav-alkinekből nem-szteroid jellegű azidokkal (bifunkciós, két azidcsoportot tartalmazó származékokkal), CuAAC-reakcióban szteroid dimereket képeztek. A dimerekről kitűnt, hogy nM-os tartományba eső IC₅₀-értékekkel hatékonyan gátolták a tumorsejtek osztódását. A szteroid-triazolokról említett ígéretes farmakológiai eredmények indokoltá teszik az ilyen vegyületek szintézisét és hatástani vizsgálatát. Ehhez alkalmas szteroid modellvegyület lehet a 13 α -ösztrom, mint szintetikus ösztrom származék, ugyanis az irodalmi előzményekben korábban említettek alapján nem rendelkezik ösztrogén hatással. A kutatócsoportunk által a közelmúltban előállított származék: a 13 α -ösztrom-3-benziléter sorban a 16-oxim-propionát (**11**), a referenciavegyülettel szemben (ciszpaltin) szelektív sejtosztódás gátlást mutatott, és a sejtciklusban a G1/S fázisban idézett elő blokádot, ezzel leállítva a sejtosztódást (8. ábra).^[7]



8. ábra Antitumor hatású 13 α -ösztrom-16-oxim-propionát (**11**)

Kutatócsoportunk a 13 α -epimer sorban 16-triazolil-származékok előállítását is megvalósította azzal a céllal, hogy potenciálisan szelektív antitumor hatású szteroidokat nyerjenek. Modellvegyületként a 17 β - és a 17 α -ösztradiol-3-benziléterét választották).^[31] A triazol-gyűrű kiépítéséhez szükséges azid-funkciót a 16-os szénatomra építették. A céltermék 16-triazolok a 16-os és a 17-es helyzetű funkciós csoportok térállásától függően (a 17 α ,16 β -izomerek bizonyultak potensnek) jelentős sejtosztódás-gátlást fejtettek ki a tumorsejteken, a sejtciklus G2/M blokádján keresztül (9. ábra). Ezen eredmények összhangban vannak a **9**-es jelű vegyülettel kapcsolatban korábban említettekkel^[8], ugyanis Poirier és munkatársainak is a 17 α -ösztradiol vázon sikerült a 13 α -epimer sorban citosztatikus vegyületeket azonosítani.



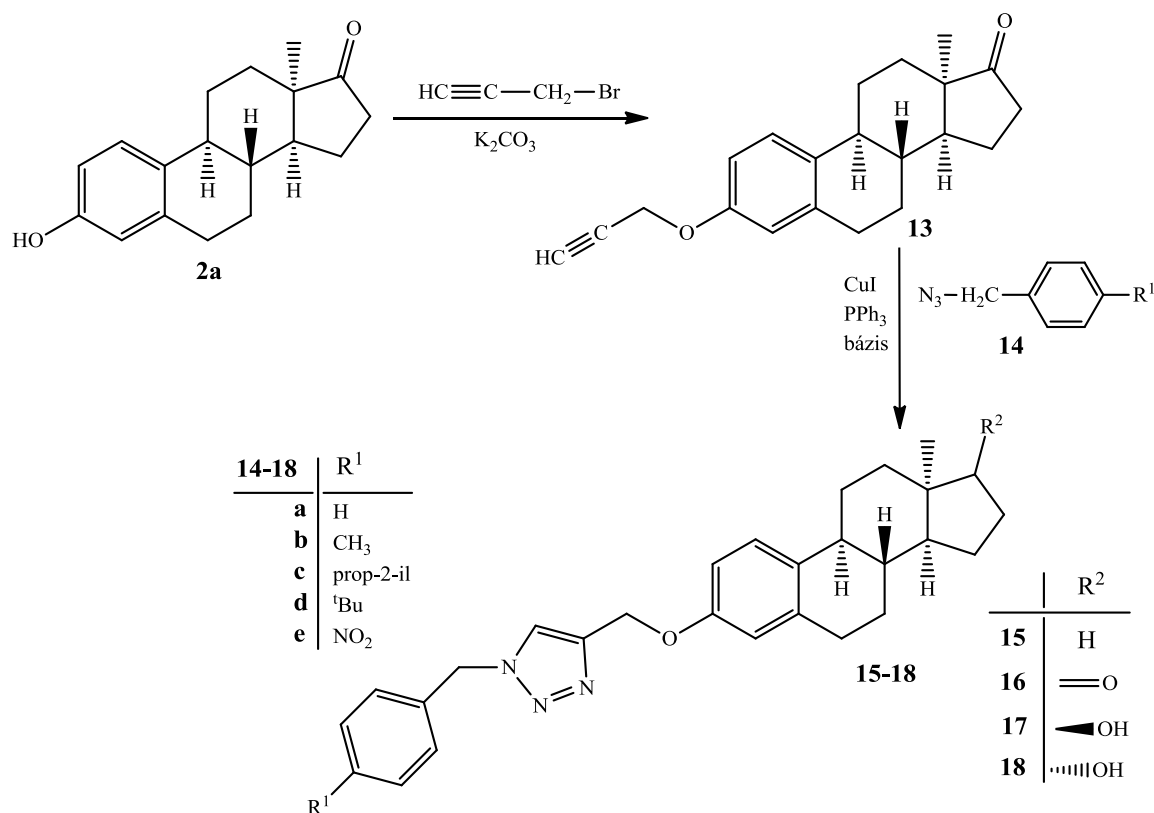
9. ábra A 13α -ösztion-3-benziléter sorba tartozó antitumor hatású triazolil-származék (**12**)

Az irodalmi előzmények alapján az a következtetés vonható le, hogy a 13α -ösztion (**2a**) vagy a 13α -sorba tartozó $3,17\alpha$ -ösztadiol (**9**) alkalmas modellvegyülete lehet olyan származékok szintézisének, amelyek szelektív hatással rendelkeznek, ugyanis az antitumor aktivitásukhoz nem társul hormonhatás.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Az irodalmi előzmények alapján célul tűztük ki új, triazolilcsoportot tartalmazó 13α -ösztion származékok előállítását. Az alkin-funkció kialakítását a 13α -ösztion vázon terveztük, ugyanis ilyen alkinek az irodalomban még nem ismeretesek. A konjugátumok szintézisét a szteroid-alkinekből kiindulva kismolekula azid reakciópartnerek felhasználásával terveztük. Az alkin (**13**) előállítását a 13α -ösztion-3-benziléteréből (**2c**) kiindulva kétlépéses reakcióúton céloztuk meg (10. ábra). A kialakított szteroid-alkinre (**13**) Cu(I)-katalizált azid-alkin 1,3-dipoláris cikloaddícióval kívántunk szubsztituált benzilazidokat (**14**) kapcsolni. Terveztünk továbbá szerkezet-hatás összefüggések felállításához szükséges származékképzéseket is a D-gyűrűn, a 17-es oxocsoport redukciójával. Az újonnan előállított vegyületek (**13**, **15–18**) szerkezetvizsgálatát ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópiával kívántuk igazolni.

A szerkezet-hatás összefüggések felderítése céljából az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve végezzük el az előállított célvegyületek és prekursoraik *in vitro* antiproliferatív hatásának vizsgálatát több humán adherens tumorsejtvonalon.

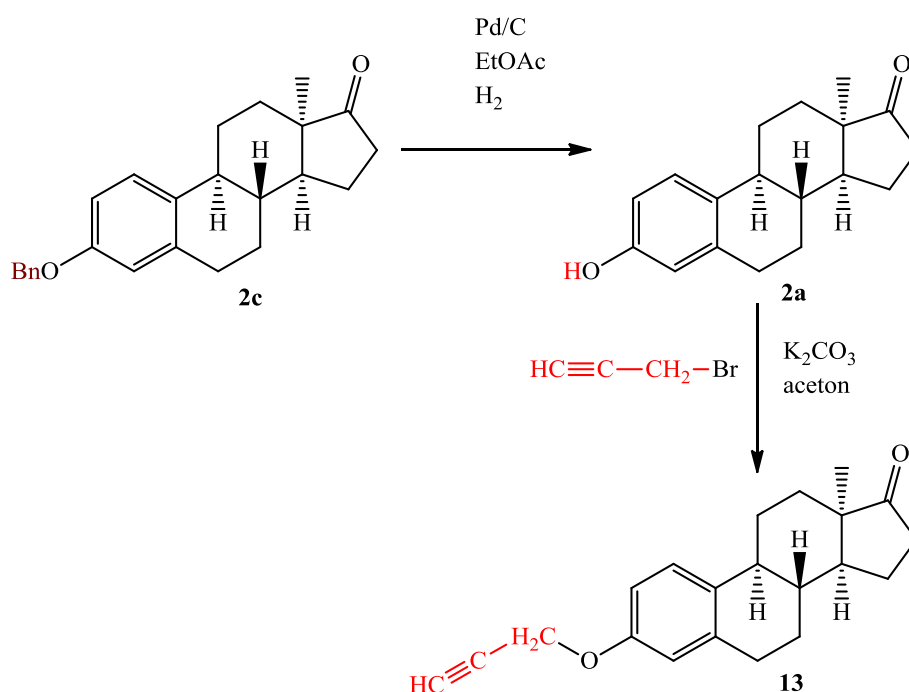


10. ábra A szteroid-alkin (**13**) előállítása és benzilazidokkal (**14**) történő „click”-reakciója

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK

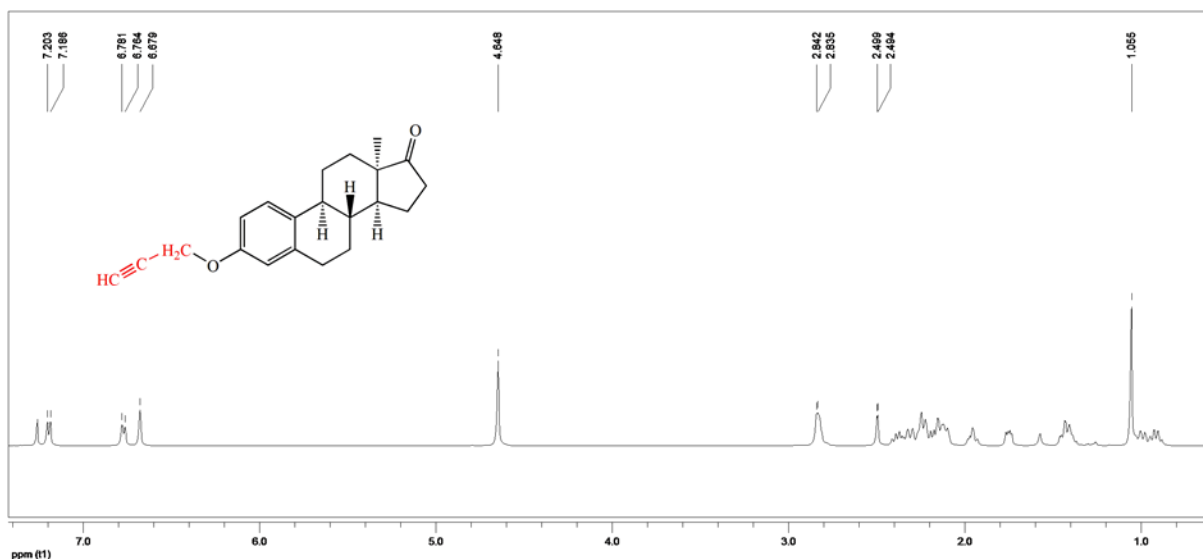
4.1. Kémiai rész

Munkánk során a 13 α -ösztрон 3-benziléteréből (**2c**) kiindulva hidrogenolízissel eltávolítottuk a benzil védőcsoportot, majd a szabad fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező 13 α -ösztront (**2a**) propargil-bromiddal alkileztük, K₂CO₃ bázis és acetón oldószer alkalmazásával (11. ábra). A kapott fenoléter (**13**) terminális alkin-funkcióval rendelkezik, ezért alkalmas kiindulási anyagként szolgál a későbbi azid-alkin „click”-reakciókhoz.



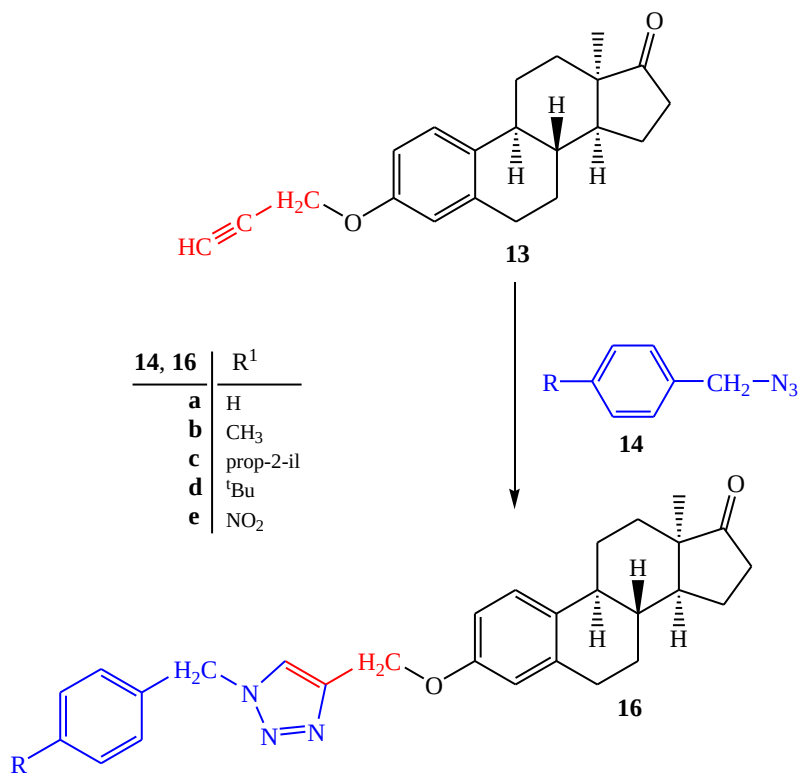
11. ábra Debenzilezés és a terminális alkin-funkció kialakítása

Az újonnan előállított vegyületek szerkezetét ¹H- és ¹³C-NMR spektroszkópiával igazoltuk. A 12. ábrán látható a szteroid-alkin (**13**) ¹H-NMR spektruma. A beépített propargilcsoportra jellemző jelek közül az alkinilcsoport CH-ja 2,5 ppm körül, az OCH₂-csoport protonjai pedig 4,6 ppm körül mutatkoznak a spektrumban, utalva a reakció sikeres lezajlására.



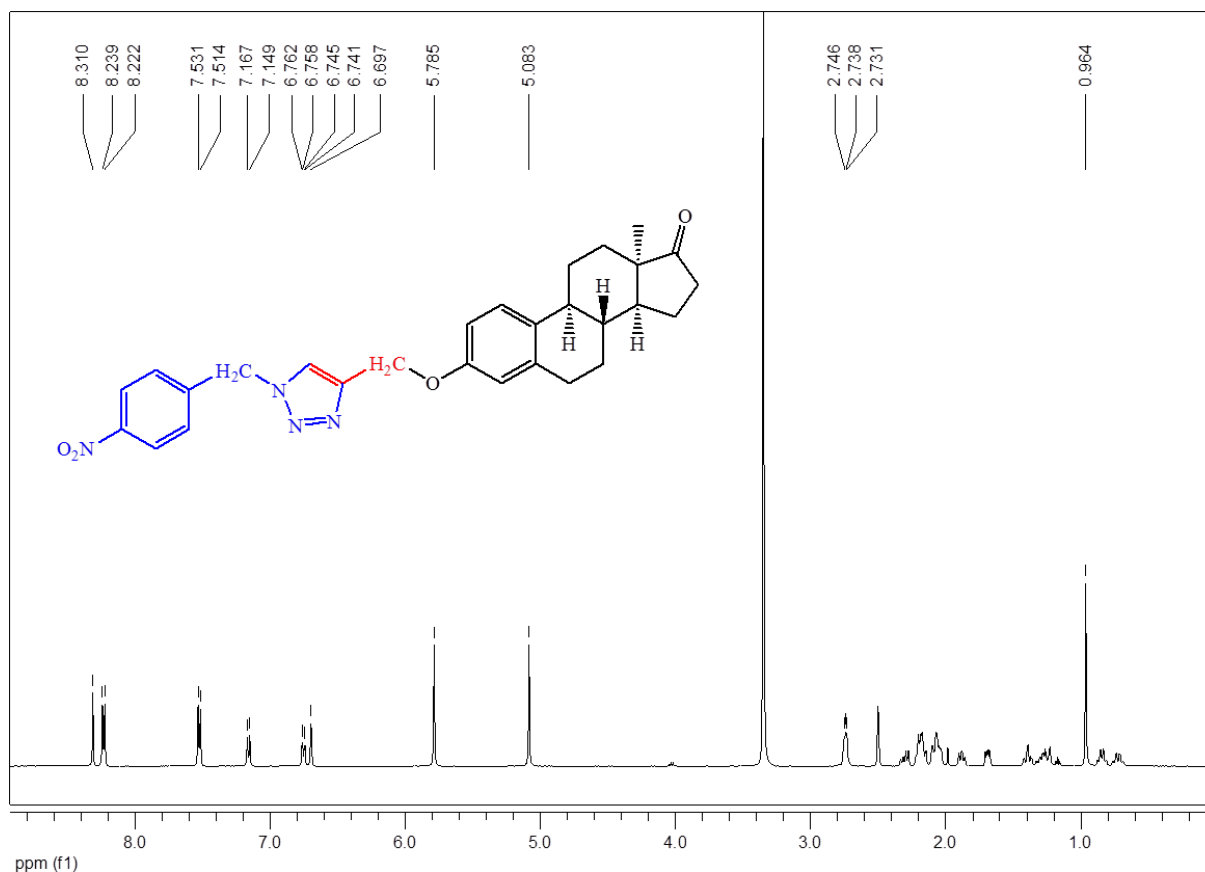
12. ábra A szteroid-alkin (**13**) ¹H-NMR spektruma (CDCl₃-ban)

Kísérleti munkánk folytatásában a szteroid-alkinből (**13**) kiindulva Cu(I)-katalizált azid-alkin 1,3-dipoláris cikloaddícióval állítottunk elő szteroid-triazolokat (**16**, 13. ábra). Azid-komponensként benzilazidot (**14a**) és annak különböző *p*-szubsztituált származékait (**14b–e**) alkalmaztuk. Olyan származékokat választottunk, amelyek elektronszívó vagy elektronküldő csoportot tartalmaznak, alapozva a kutatócsoport korábbi eredményeire.^[32] Az alkint (**13**) egy ekvivalens benzilaziddal (**14**), toluolos közegben, katalitikus mennyiségű CuI és PPh₃ jelenlétében, bázisként DIPEA-t alkalmazva reagáltattunk. Magas hozammal, melléktermék képződése nélkül, regioszelektíven kaptuk a kívánt triazolokat (**16**).



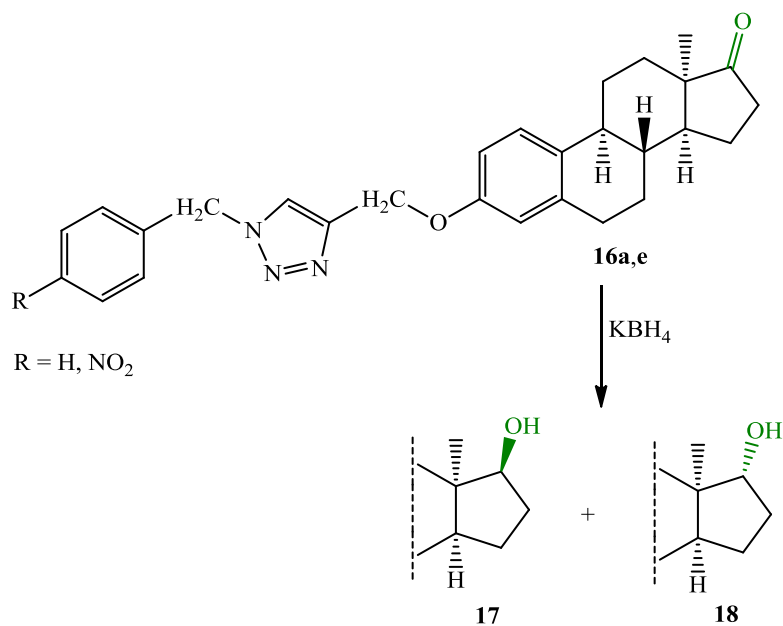
13. ábra A szteroid-triazolok (**16**) előállítása CuAAC reakcióval

A 14. ábrán látható egy új triazol-származék (**16**) ¹H-NMR spektruma. Az ábra híven tükrözi a „click”-reakció sikeres lejátszódását, ugyanis 5,8 ppm körül megjelenik az NCH₂ funkcióra jellemző dupla intenzitású szingulett, továbbá 7 ppm felett a benzil-aromás gyűrű protonjainak két dupla intenzitású dublettje, és 8,3 ppm-nél a triazol-gyűrű CH-jele.



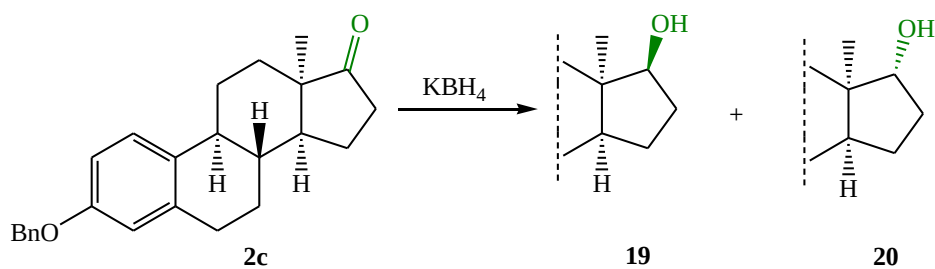
14. ábra A **16e**-jelű vegyület ^1H -NMR spektruma (DMSO- d_6 -ban)

További származékképzés céljából elvégeztük az egyes triazol-származékok (**16**) fémhidrides redukcióját (15. ábra). Kálium-tetrahidrido-borát hatására a 17-keton (**16**) 17-alkohollá redukálódott (**17** és **18**), azonban a reakciók nem játszódtak le sztereoszelektíven: a két lehetséges izomer **17:18** = 1:1 arányú elegye alakult ki. A keletkező diasztereomereket (**17**, **18**) oszlopkromatográfiával választottuk el egymástól.



15. ábra A triazolok (**16**) fémhidrides redukciója

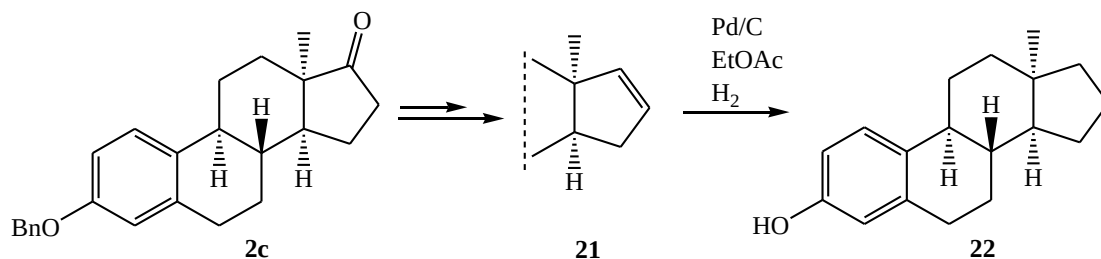
A későbbi hatástani vizsgálatok értelmezhetősége érdekében az alapvegyület hidrides redukcióját is elvégeztük: a 13α -ösztron 3-benziléterét (**2c**) redukálva szintén 1:1 arányú termékelegyet (**19** és **20**) nyertünk (16. ábra).



16. ábra A 13α -ösztron 3-benziléterének (**2c**) redukciója

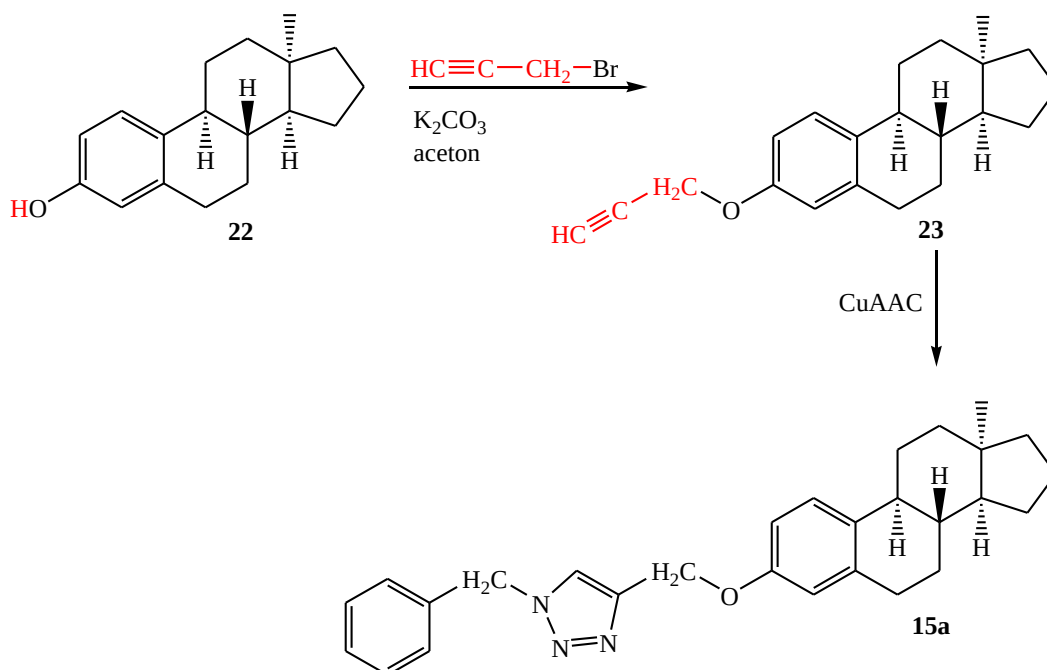
További szerkezetmódosításokat is végeztünk annak vizsgálatára, hogy a 17-es helyzetű funkciós csoport jelenléte szükséges-e a biológiai hatás kialakulásához. Ahhoz, hogy a D-gyűrű ne tartalmazzon oxigéntartalmú funkciós csoportot, olyan származékot választottunk prekuzorként, amely kettős kötést tartalmaz a D-gyűrűben ($\Delta^{16,17}$ -származék, **21**). Ezen 16-olefin előállítására kutatócsoportunk már korábban kidolgozott egy eljárást, amely a 13-*epi*-

ösztron 3-benziléteréből (**2c**) indul ki, és többlépéses reakciósort követ (17. ábra).^[33] A D-gyűrűs alkén (**21**) hidrogenolízisével egy lépésben lehasad a benzil-védőcsoport, illetve telítődik a D-gyűrű, így propargilezéshez alkalmas származékhoz (**22**) jutunk.



17. ábra A telített D-gyűrűt tartalmazó származék (**22**) előállítása a $\Delta^{16,17}$ -olefinen (**21**) keresztül

A **22**-es jelű vegyület előállítása után elvégeztük annak alkilezését a korábban említett módszerrel, majd az így kapott terminális alkint (**23**) benzilaziddal (**14a**) reagáltattuk (18. ábra). Így olyan triazolhoz (**15a**) jutottunk, amely nem tartalmaz oxigéntartalmú funkciót a D-gyűrűben, és a szerkezet-hatás összefüggések megállapításához nagymértékben hozzájárulhat.



18. ábra Alkin- és triazolképzés a telített D-gyűrűs (**22**) modellvegyületen

4.2. Hatástani eredmények

4.2.1. Antitumor hatás meghatározása *in vitro*

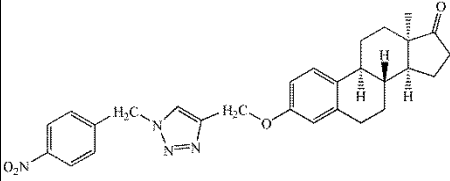
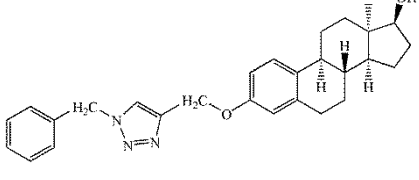
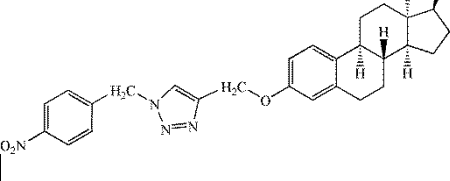
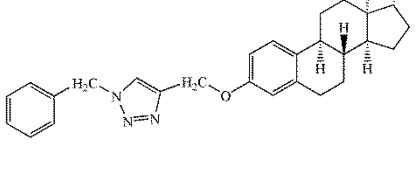
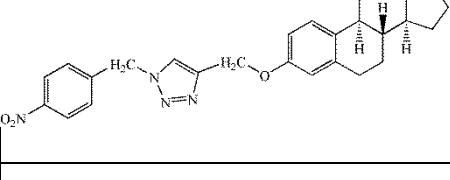
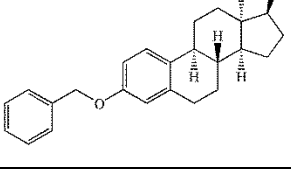
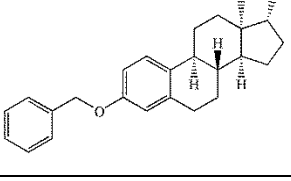
Az újonnan előállított vegyületeket gyógyszerhatástani tesztelésnek vetettük alá a SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve. A tumorelles hatást *in vitro* MTT-módszerrel határozták meg több humán adherens tumoros sejtvonalon. A kolorimetriás eljárás alapja, hogy a metabolikusan aktív sejtek a 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid (MTT) festékanyagot redukálják oldhatatlan, lila színű formázán kristályokat képezve.^[34] Így meghatározható a kezelés után az élő sejtek mennyisége. Az 1. táblázat összefoglalja a különböző sejtvonalakon mért gátlásszázalék értékeket a ciszplatinhoz, mint referencia vegyülethez viszonyítva. A teszteket HeLa (méhnyakrák), az A2780 (petefészek karcinóma), A431 (bőrlaphámrák) és MCF-7 (ösztrogén pozitív mellrák) sejtvonalakon végezték el.

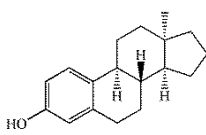
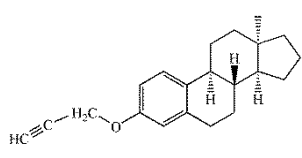
Az alapvegyületek (**2a–c**) és azok redukált származékai (**19**, **20**) nem mutattak jelentős sejtosztódás-gátlást egyik vizsgált sejtvonalon sem. A propargiléter (**13**) azonban már potensebbnek bizonyult, és ez a hatás a triazolil-funkció beépítésével tovább fokozódott a **16a**- és **16e**-jelű vegyületek esetében. Célunkat tehát sikeresen megvalósítottuk, amely szerint a triazol-gyűrű beépítése növeli a vegyület tumorelles potenciálját. A *p*-alkilcsoportot tartalmazó vegyületek (**16b–d**) kisebb aktivitást mutattak, mint a szubsztituátlan (**16a**) vagy nitrocsoporttal (**16e**) rendelkező származékok. A **16a**-jelű vegyület szubmikromólos IC₅₀-értékkel gátolta több tumoros sejtvonal osztódását is, így ígéretes vegyület lehet további potens származékok kifejlesztéséhez. A 17-eton redukciója a triazolok esetében (**17**, **18**) nem változtatott lényegesen a gátlásszázalékon. Annak érdekében, hogy megállapítsuk, szükséges-e a hatás kiváltásához a 17-es oxigéntartalmú funkciós csoport jelenléte, előállítottunk olyan származékokat is, amelyek a 17-es helyzetben metilén-csoportot (**23**, **15a**) tartalmaznak. A **23**-as és a **15a**-jelű vegyületek a megfelelő 17-etonokhoz képest (**13** és **16a**) sokkal alacsonyabb aktivitást mutattak, amely eredmény arra utal, hogy a 17-es helyzetben szükséges az oxigéntartalmú funkció jelenléte a molekulában.

A hatástani eredmények alapján megállapítható, hogy a 13 α -ösztroon modell A-gyűrűjére célszerű a triazol-gyűrűt építeni, ugyanis ez előnyös az antiproliferatív hatás szempontjából. A korábbi eredményekhez^[31] képest egy nagyságrendet tudtunk javítani a vegyületek IC₅₀-értékén.

1. táblázat A vegyületeknek a jelölt tumorsejtvonalon mutatott sejtosztódás-gátlásszázaléka, illetve egyes vegyületek IC₅₀ [μM] értékei az adott sejtvonalakon

Szám	Szerkezeti képlet	A sejtosztódás gátlás%-a (számított IC ₅₀ érték)							
		HeLa		A2780		A431		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
2a		nf. ^a	17 ± 4	nf.	nf.	nf.	nf.	nf.	nf.
13		70 ± 2	77 ± 12	46 ± 7	65 ± 1	25 ± 1	28 ± 1	29 ± 6	46 ± 3
15a		24 ± 1	37 ± 1	25 ± 3	69 ± 1	nf.	64 ± 1	13 ± 2	42 ± 1
16a		91 ± 1	93 ± 1	86 ± 1	85 ± 1	96 ± 1	95 ± 1	62 ± 2	68 ± 3
		(1,4)		(0,6)		(0,3)		-	
16b		63 ± 2	77 ± 1	68 ± 1	77 ± 1	83 ± 1	92 ± 1	55 ± 2	60 ± 1
		(7,9)		(6,9)		(6,2)		(9,6)	
16c		67 ± 2	78 ± 1	79 ± 2	79 ± 1	86 ± 2	89 ± 2	55 ± 1	64 ± 2
		(7,4)		(4,4)		(5,4)		(9,7)	
16d		20 ± 3	35 ± 1	30 ± 1	34 ± 2	18 ± 1	20 ± 3	nf.	nf.

16e		59 ± 2	62 ± 3	58 ± 2	59 ± 1	25 ± 3	25 ± 2	43 ± 3	44 ± 3
		(1,1)		-		-		-	
17a		84 ± 1	85 ± 1	83 ± 1	87 ± 1	86 ± 1	87 ± 1	60 ± 4	82 ± 2
		(1,6)		(2,3)		(0,5)		(3,5)	
17e		71 ± 2	92 ± 1	81 ± 1	88 ± 1	69 ± 1	88 ± 1	52 ± 3	77 ± 2
		-		-		(5,9)		(6,9)	
18a		85 ± 1	86 ± 1	83 ± 1	95 ± 1	88 ± 2	90 ± 1	61 ± 3	85 ± 1
		(1,8)		-		(1,1)		-	
18e		70 ± 3 -	80 ± 1	73 ± 2 -	85 ± 1	37 ± 4 (5,9)	82 ± 2	61 ± 5 (6,9)	70 ± 3
19		45 ± 4	29 ± 2	29 ± 8	45 ± 6	15 ± 10	83 ± 2	29 ± 8	45 ± 6
20		34 ± 2	29 ± 1	18 ± 3	48 ± 3	29 ± 3	38 ± 4	3 ± 1	17 ± 6

22		nf.	nf.	nf.	47 ± 3	nf.	28 ± 4	nf.	47 ± 3
23		nf.	34 ± 6	nf.	15 ± 7	nf.	nf.	nf.	15 ± 7
-	ciszplatin	43 ± 2	100 ± 1	89 ± 1	90 ± 2	84 ± 1	95 ± 1	53 ± 2	87 ± 1

^a A 10 alatti gátlásszázalék értékeket nem tüntettük fel.

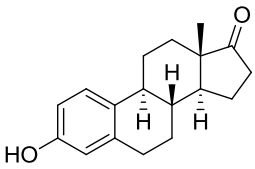
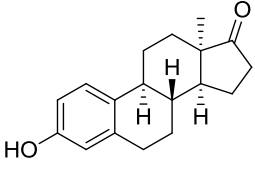
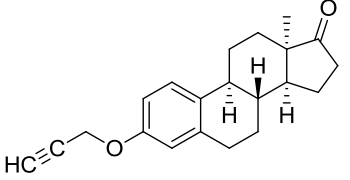
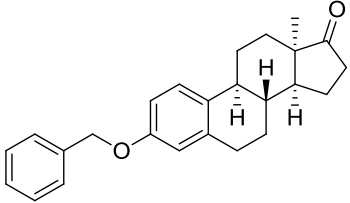
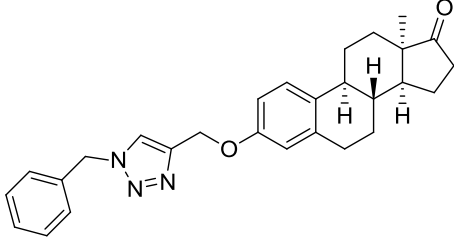
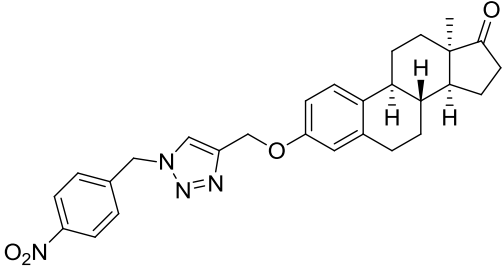
4.2.2. Néhány újonnan előállított származék (13, 16a, 16e) és alapvegyületeik (2a, 2c)

17 β -HSD1 enzimre gyakorolt inhibitor hatásának vizsgálata

Az előállított vegyületek egy része *in vitro* 17 β -HSD1 enzimgátlás tesztelésre került a szegedi I. sz. Belgyógyászati Klinika Endokrinológiai Osztályán. A származékok enzim-működést gátló hatását az ösztrom 17 β -ösztradiollá történő átalakulásának konverziójának vizsgálatával határozták meg humán placenta citoszolból. A radioszubstrát inkubációs módszer során a radioaktívan jelzett ösztrom – [$^{14}\text{C}(\text{n})$]ösztrom – és a tesztvegyületeket NADH jelenlétében inkubálják, majd az enzimreakció leállítása után, folyadék szcintillációs módszerrel meghatározzák a képződött 17 β -ösztradiol és az át nem alakult ösztrom aktivitását.^[35]

A 2. táblázat adataiból látható, hogy a 13 α -ösztrom (2a) hatékonyan gátolja az enzim működését. Ezen enzimen az ösztrom (1a) szubsztrátként, míg annak epimere (2a) inhibitorként viselkedik. A két epimer anguláris metilcsoportja térállásának különbözősége miatt más a gyűrűrendszer konformációja, ez lehet az oka az eltérő viselkedésüknek. Az inhibitorhatás a propargiléternél (13) is mutatkozik, de a fenolos hidroxilcsoporttal rendelkező vegyülethez (2a) képest csökkent módon, nagyobb IC₅₀-értékkel. A 3-benziléter (2c) és a két vizsgált triazol-származék (16a, 16e) nem befolyásolja lényegesen az ösztrom-ösztradiol átalakulást, a relatív konverzió értékek egymással összemérhetők. Ezen eredményekből az a következtetés vonható le, hogy a 13 α -ösztrom (2a) alkalmas modellvegyület lehet olyan gyógyszerhatóanyagok kifejlesztéséhez, amelyek ösztrogénfüggő tumoros megbetegedések kezelésére lehetnek alkalmasak. További vizsgálatokat tervezünk annak megállapítására, hogy a fenolos hidroxilcsoport jelenléte szükséges-e, illetve milyen funkciók milyen pozícióba való beépítése előnyös az inhibitorhatás kialakulásához.

A 2. táblázatban a vegyületek relatív konverziója (az inhibitorral gátolt átalakulás mértéke a kontrollhoz (100%) viszonyítva), illetve IC₅₀ értékeik, amelyek az enzimaktivitást 50%-kal csökkentő inhibitor koncentrációk (adott körülmények között).

Vegyület száma	Inhibitor	IC ₅₀ (μM) ± S.D.
1a		1,8 ± 0,2
2a		1,1 ± 0,1
13		4,1 ± 0,6
Vegyület száma	Inhibitor	Rel. Konv.(%) ± S.D.
2c		63 ± 25
16a		45 ± 18
16e		55 ± 13

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. Kiesegel 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 Kiesegel 60 (MERCK) álló fázissal töltött oszlopon történt.

5.2. Részletes kísérleti rész

5.2.1. Debenzilezés

A 3-benziloxi-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-trién-17-onhoz (**2c**, 360 mg, 1 mmol) vagy a 3-benziloxi-13 α -ösztetra-1,3,5(10),16-tetraénhez (**21**, 346 mg, 1 mmol) EtOAc-ban (20 ml) szuszpendált Pd/C katalizátort adunk, majd 20 bar H₂ nyomás alatt tartva, szobahőmérsékleten 2 órán keresztül kevertetjük. A reakcióelegyet celiten szűrjük, az oldószert bepárlással eltávolítjuk, majd a nyersterméket (**2a** vagy **22**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, 2% EtOAc/ 98% CH₂Cl₂ eluenssel.

5.2.2. A szteroid-alkinek (**13**, **23**) előállítása

A 3-hidroxi-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-trién-17-ont (**2a**, 270 mg, 1 mmol) vagy a 3-hidroxi-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-triént (**22**, 256 mg, 1 mmol) acetonban (20 ml) feloldjuk, majd propargilbromidot (0,17 ml) (80 m/m%-os toluolos oldat) és K₂CO₃-ot (968 mg, 7 mmol) adunk hozzá. Az elegyet 70 °C-on 24 órán keresztül hagyjuk keveredni. Az oldószert bepárlással eltávolítjuk, majd a nyersterméket (**13** vagy **23**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk, 2% EtOAc/ 98% CH₂Cl₂ (a **13** esetében) vagy 1% EtOAc/ 99% CH₂Cl₂ eluens (a **23** esetében) alkalmazásával.

5.2.3. A triazol-származékok (**15**, **16**) előállításának általános leírása

A 3-(prop-2-in-1-iloxi)-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-trién-17-ont (**13**, 154 mg, 0,50 mmol) vagy a 3-(prop-2-in-1-iloxi)-13 α -ösztetra-1,3,5(10)-triént (**23**, 147 mg, 0,50 mmol) toluolban (3 ml) feloldjuk, és rendre hozzáadjuk a következőket: benzilazid (**14**, 0,50 mmol); PPh₃ (13 mg, 0,05 mmol); CuI (5 mg, 0,025 mmol); DIPEA (193 mg, 1,5 mmol), majd a reakcióelegyet fél órán át a toluol forráspontján tartjuk. A nyersterméket (**15** vagy **16**) bepárlást követően oszlopkromatográfiásan tisztítjuk 2% EtOAc/ 98% CH₂Cl₂ (a **15** esetében) vagy 20% EtOAc/ 80% CH₂Cl₂ eluenssel (a **16** esetében).

5.2.4. Az oxocsoport fémhidrides redukciója

A 3-{{[(1-(4-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metoxi}}-13 α -ösztra-1,3,5(10)-trién-17-ont (**16e**, 486 mg, 1 mmol) vagy a 3-[(1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi]-13 α -ösztra-1,3,5(10)-trién-17-ont (**16a**, 441 mg, 1 mmol) vagy a 3-benziloxi-13 α -ösztra-1,3,5(10)-trién-17-ont (**2c**, 360 mg, 1 mmol) feloldjuk CH₂Cl₂ és CH₃OH 1:1 (5 ml) elegyében, majd 5 ekvivalens nátrium-tetrahidrido-borátot (190 mg, 5 mmol) adunk hozzá. A reakcióelegyet 3 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük, vízre öntjük, éterrel extraháljuk, a szerves fázist izzított Na₂SO₄-on szárítjuk és bepároljuk. Az előállított diasztereomereket (**17a,e** és **18a,e** vagy **19** és **20**) oszlopkromatográfiásan tisztítjuk 15% EtOAc/ 75% CH₂Cl₂ (**17a,e** és **18a,e**) vagy 2% EtOAc/ 98% CH₂Cl₂ eluenssel (**19** és **20**).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során új 13 α -ösztéránvázis triazol (15, 16) származékokat állítottunk elő szteroid-alkin (13) és benzilazidok (14) CuAAC reakciójával. Az alkint (13) a 13 α -ösztérón fenolos hidroxilcsoportjának propargilezésével képeztük. A céltermék triazolokból (16) további származékokat (17, 18) is kialakítottunk szerkezet-hatás összefüggések megállapítása céljából. Változtattuk a benzilazid reakciópartner (14) szubsztituáltságát, illetve a 17-es szénatomon található funkciós csoport minőségét. Az előállított 16 új vegyület, az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve, *in vitro* antitumor hatástani vizsgálatra került többféle humán adherens tumoros sejtvonalon. A hatástani eredmények szerint néhány triazol (16a, 16e, 17, 18) jelentős sejtosztódás gátlást mutat egyes sejtvonalakon. Megállapítottuk, hogy a benzilazid *p*-helyzetű szubsztituensének minősége nagymértékben befolyásolja az aktivitást: a szubsztituálatlan vegyület (16a) volt a legpotensebb, szubmikromólos IC₅₀-értékkel. Azt is sikerült igazolnunk, hogy a 17-es szénatomon az oxigéntartalmú funkciós csoport (keto- vagy hidrox-) szükséges a hatás kifejtéséhez.

Célunkat tehát sikeresen megvalósítottuk, néhány reakciólépésben sikerült az ösztérónból hatékony antitumor származékokat képeznünk. Munkánk gyógyszerkémiai jelentőségét az adja, hogy eddig az irodalomban ilyen potens 13 α -ösztéránvázis vegyületek nem szerepeltek.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Maltais, R., Poirier, D.

Steroids **2011**, 76, 929.

2. Minorics, R., Bózsity, N., Wölfling, J., Mernyák, E., Schneider, G., Márki, Á., Falkay, G., Ocsóvszki, I., Zupkó, I.

J Steroid Biochem Mol Biol, **2012**, 168.

3. Gupta, A., Kumar, S. B., Negi, A. S.

J Steroid Biochem Mol Biol **2013**, 137, 242.

4. Butenandt, A., Wolff, A., Karlson, P.

Ber. Dtsch. Chem. Ges. **1941**, 74, 1308.

5. Schönecker, B., Lange, C., Kötteritzsch, M.; Günther, W., Weston, J.; Anders, E., Görls, H.

J. Org. Chem. **2000**, 65, 5487

6. Mernyák Erzsébet Doktori értekezés **2003**.

7. Berényi, Á., Minorics, R., Iványi, Z., Ocsóvszki, I., Ducza, E., Thole, H., Messinger, J., Wölfling, J., Mótán, G., Mernyák, E., Frank, É., Schneider, G., Zupkó, I.

Steroids **2013**, 78, 69.

8. Ayan, D., Roy, J., Maltais, R., Poirier, D.

J. Steroid. Biochem. **2011**, 127, 324-330

9. Ray, S., Dwivedy, I.

Adv. Drug Res. **1997**, 29, 171.

10. Claussner, A., Nedelec, L., Nique, F., Philibert, D., Teutsch, G., Van De Velde, P.

J. Steroid Biochem. Mol. Biol. **1992**, 41, 609.

11. Agouridas, V., Magnier, E., Blazejewski, J. C., Lajos, I., Cleeren, A., Nonclercq D.,

Laurent, G., Leclercq, G.

J. Med. Chem. **2009**, 52, 883.

12. Billich, A., Nussbaumer, P., Lehr, P.

J. Steroid Biochem. Mol. Biol. **2000**, 73, 225.

13. Ishida, H., Nakata, T., Suzuki, M., Shiotsu, Y., Tanaka, H., Sato, N., Terasaki, Y., Takebayashi, M., Anazawa, H., Murata, C., Li, P.K., Kuwabara, T., Akinaga, S.

Breast Cancer Res. Treatm. **2007**, 106, 215.

14. Jourdan, F., Leese, M.P., Dohle, W., Ferrandis, E., Newman, S.P., Chander, S., Purohit, A., Potter, B.V.L.

J. Med. Chem. **2008**, 51, 1295.

15. Numazawa, M., Ando, M., Watari, Y., Tominaga, T., Hayata, Y., Yoshimura, A.
J. Steroid Biochem. Mol. Biol. **2005**, 96, 51.
16. Cadot, C., Laplante, Y., Kamal, F., Luu, V., Poirier, D.
Bioorg. Med. Chem. **2007**, 15, 714.
17. Lawrence, H., Vicker, H., Allan, N., Smith, G. M., Mahon, A., Tutill, M., Purohit, H.J.,
Reed, A., Reed, M.J., Potter, B. V. L.
J. Med. Chem. **2005**, 48, 2759.
18. Poirier, D., Boivin, R. P., Tremblay, M. R., Berube, M., Qiu, W., Lin S. X.
J. Med. Chem. **2005**, 48, 8134.
19. Husen, B., Huhtinen, K., Saloniemi, T., Messinger, J., Thole, H. H., Poutanen, M.
Endocrinology **2006**, 147, 5333.
20. Deluka, D., Moller, G., Rosinus, A., Elger, W., Hillisch, A., Adamski, J.
Mol. Cell. Endocrinol. **2006**, 248, 218.
21. Allan, G. M., Bubert, C., Vicker, N., Smith, A., Tutill, H. J., Purohit, A., Reed, M. J.,
Potter, B. V. L.
Mol. Cell. Endocrinol. **2006**, 248, 204.
22. Poirier, D., Chang, H. J., Azzi, A., Boivin, R. P., Lin, S. X.
Mol. Cell. Endocrinol. **2006**, 248, 236.
23. Moller, G., Deluca, D., Gege, C., Rosinus, A., Kowalik, D., Peters, O., Driescher, P.,
Elger, W., Adamski, J., Hillisch, A.
Bioorg. Med. Chem. Lett. **2009**, 19, 6740.
24. Marchais-Oberwinkler, S., Henn, C., Möller, G., Klein, T., Negri, M.; Oster, A.; Spadaro,
A., Werth, R., Wetzel, M., Xu, K., Frotscher, M., Hartmann, R.W., Adamski, J.
J. S. Biochem **2011**, 125, 66-82.
25. Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K.B.
Angew. Chem. Int. Ed. **2001**, 40, 2004.
26. Kádár, Z., Frank, É., Schneider, G., Molnár, J.; Zupkó, I.; Koti, J., Schönecker, B.,
Wölfling, J.
ARKIVOC **2012**, 3, 279.
27. Kádár, Z., Molnár, J., Schneider, G., Zupkó, I., Frank, É.
Bioorg. Med. Chem. **2012**, 20, 1396.
28. Kádár, Z., Baji, Á., Zupkó, I., Bartók, T., Wölfling, J., Frank, É.
Org. Biomol. Chem. **2011**, 9, 8051.
29. Frank, É., Molnár, J., Zupkó, I., Wölfling, J.

Steroids **2011**, 76, 1141.

30. Jurasek, M., Dzubak, P., Sedlak, D., Dvorakova, H., Hajduch, M., Bartunek, P., Drasar, P.
Steroids **2013**, 78, 356.

31. Mernyák, E., Kovács, I., Sere, P., Czégány, D., Sinka, I., Wölfling, J., Schneider, Gy.,
Újfaludi, Zs., Boros, I., Ocsovszki, I., Varga, M., Zupkó, I.
J Steroid Biochem Mol Biol, **2014**, közlés alatt.

32. Bacsa Ildikó Diplomamunka **2014**

33. Mernyák, E., Schönecker, B., Lange, C., Kötteritzsch, M., Görls, H., Wölfling, J.,
Schneider, Gy.
Steroids **2003**, 68, 289.

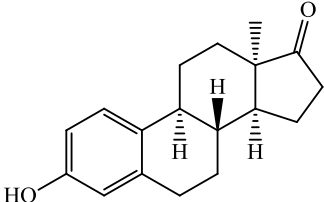
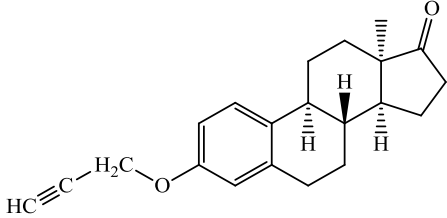
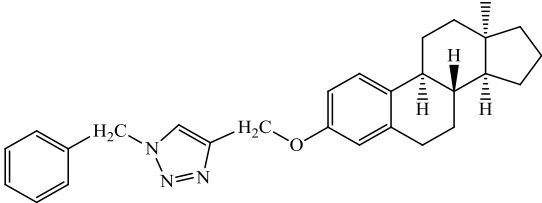
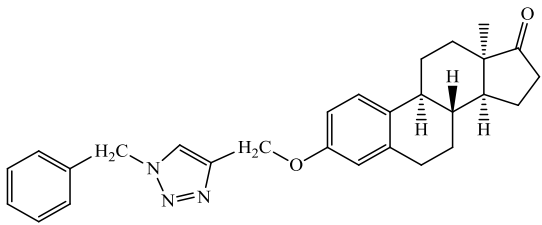
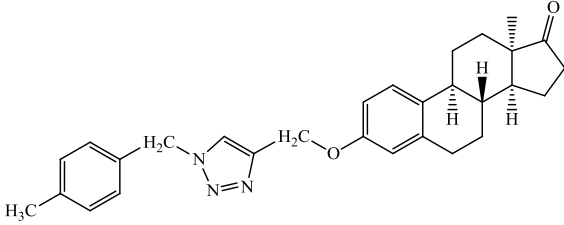
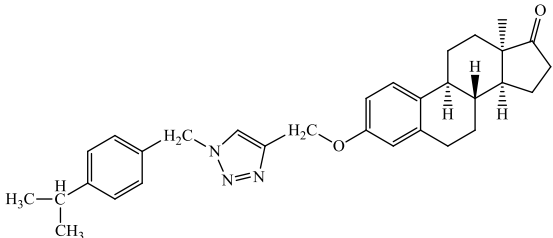
34. Mosmann, T.

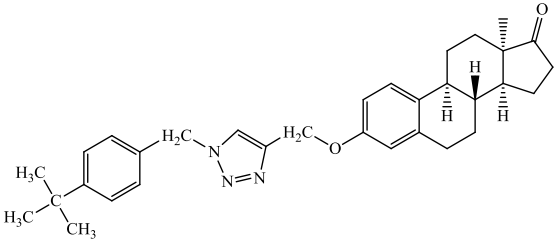
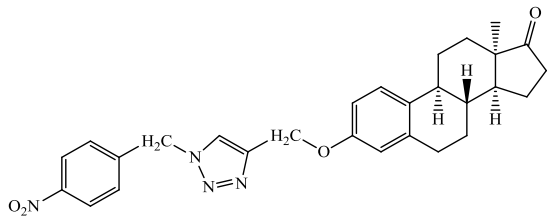
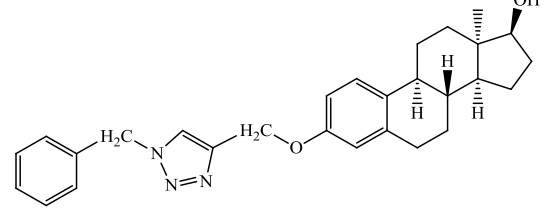
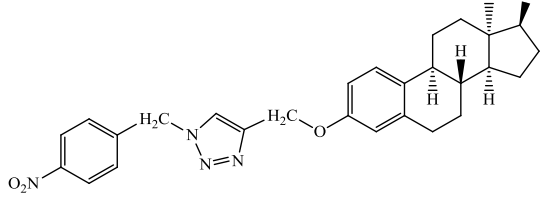
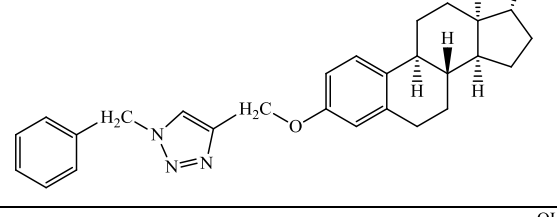
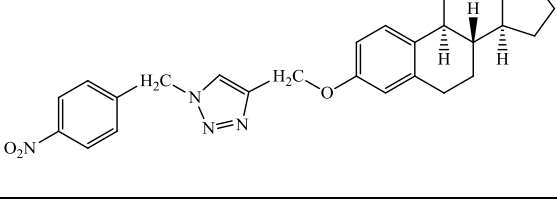
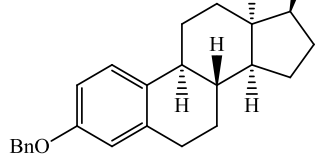
J Immunol Methods **1983**, 65, 55.

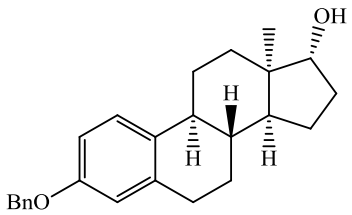
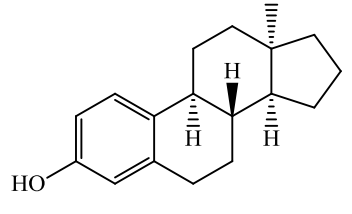
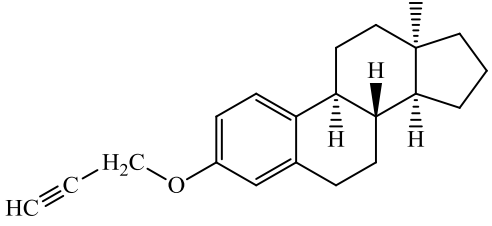
35. Darvas, B., Székács, A., Fónagy, A., Szécsi, M., Tóth, I.
Gen Comp Endocrinol **1997**, 107, 450.

8. MELLÉKLETEK

8.1 Fizikai adatok táblázatos összefoglalása

Jele	Szerkezeti képlet	Összegképlet, M_r	O_p [°C]	R_f^*
2a		$C_{18}H_{22}O_2$ 270,37	101-103	0,44 ^a
13		$C_{21}H_{24}O_2$ 308,41	132 - 134	0,7 ^b
15a		$C_{28}H_{33}N_3O$ 427,58	147 - 148	0,41 ^b
16a		$C_{28}H_{31}N_3O_2$ 441,56	163 - 165	0,35 ^a
16b		$C_{29}H_{33}N_3O_2$ 455,59	119 - 121	0,26 ^a
16c		$C_{31}H_{37}N_3O_2$ 483,64	102 - 104	0,3 ^a

16d		$C_{32}H_{39}N_3O_2$ 497,67	110-112	0,28 ^a
16e		$C_{28}H_{30}N_4O_4$ 486,56	144 - 148	0,27 ^a
17a		$C_{28}H_{33}N_3O_2$ 443,58	163 - 165	0,63 ^c
17e		$C_{28}H_{32}N_4O_4$ 488,58	135 - 136	0,5 ^c
18a		$C_{28}H_{33}N_3O_2$ 443,58	146 - 148	0,52 ^c
18e		$C_{28}H_{32}N_4O_4$ 488,58	175 - 177	0,4 ^c
19		$C_{25}H_{30}O_2$ 362,50	64 - 66	0,58 ^b

20		$C_{25}H_{30}O_2$ 362,50	80 – 84	0,45 ^b
22		$C_{18}H_{24}O$ 256,38	164 - 165	0,48 ^d
23		$C_{21}H_{26}O$ 294,43	140-143	0,32 ^e

* Az egyes R_f értékek az alábbi futtatószerekre vonatkoznak:

a= 5% EtOAc/ CH_2Cl_2 ;

b= 2% EtOAc/ CH_2Cl_2 ;

c= 30% EtOAc/ CH_2Cl_2 ,

d= CH_2Cl_2

e= 10% CH_2Cl_2 / hexán

8.2. NMR adatok

13

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 1,06(s, 3H, 18-H₃); 2,49(s, 1H, C≡CH); 2,83(m, 2H, 6-H₂); 4,65(s, 2H, OCH₂); 6,68(s, 1H, 4-H); 6,77(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 2-H); 7,19(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 1-H). ¹³C-NMR δ ppm 20,6; 24,7(18-Me); 27,8; 27,9; 29,9; 31,7; 33,1; 41,1(2C: C-8, C-9); 48,9(C-14); 49,7(C-13); 55,3(OCH₂); 74,9(C≡CH); 78,5(C≡CH); 112,1(C-2); 114,3(C-4); 126,5(C-1); 132,6(C-10); 137,7(C-5); 155,1(C-3); 221,2(C-17).

15a

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,96(s, 3H, 18-H₃); 2,78(m, 2H, 6-H₂); 5,15(s, 2H, NCH₂); 5,53(s, 2H, OCH₂); 6,68(s, 1H, 4-H); 6,77(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 2-H); 7,22(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 1-H); 7,27(átfedő multiplettek, 3H, C=CH, 2'-H, 6'-H); 7,37(m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H). ¹³C-NMR δ ppm 20,9; 26,9; 27,8; 28,3; 29,9(C-18); 30,6; 33,6; 35,8; 41,2; 41,9(C-13); 42,3; 51,7; 57,3(NCH₂); 62,1(OCH₂); 112,4(C-2); 114,5(C-4); 125,9(C=CH); 126,9(C-1); 128,2(2C: C-3', C-5'); 128,8(C-4'); 129,1(2C: C-2', C-6'); 133,7(C-10); 134,4(C-1'); 138,5(C-5); 142,1(C=CH); 155,9(C-3).

16a

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 1,05(s, 3H, 18-H₃); 2,80(m, 2H, 6-H₂); 5,14(s, 2H, NCH₂); 5,51(s, 2H, OCH₂); 6,67(s, 1H, 4-H); 6,75(dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 1H, 2-H); 7,16(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 1-H); 7,27(m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,36(átfedő multiplettek, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,50(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 21,0; 25,1(18-Me); 28,2; 28,3; 30,3; 32,0; 33,4; 41,4(2C); 49,3; 50,1(C-13); 54,2(NCH₂); 62,1(OCH₂); 112,5(C-2); 114,4(C-4); 122,4(C=CH); 126,9(C-1); 128,1(2C: C-3', C-5'); 128,8(C-4'); 129,1(2C: C-2', C-6'); 132,6(C-10); 134,4(C-1'); 138,1(C-5); 144,9(C=CH); 156,1(C-3); 221,5(C-17).

16b

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 1,05(s, 3H, 18-H₃); 2,35(s, 3H, 4'-Me); 2,80(m, 2H, 6-H₂); 5,13(s, 2H, NCH₂); 5,47(s, 2H, OCH₂); 6,66(s, 1H, 4-H); 6,74(dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 1H, 2-H); 7,15–7,17(átfedő multiplettek, 5H, 1-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H); 7,49(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 21,0; 21,1(4'-Me); 25,1(18-Me); 28,3(2C); 30,3; 32,0; 33,4; 41,4(2C); 49,3;

50,1(C-13); 54,1(NCH₂); 62,1(OCH₂); 112,5(C-2); 114,4(C-4); 122,4(C=CH); 126,9(C-1); 128,1(2C: C-3', C-5'); 129,8(2C: C-2', C-6'); 131,4(C-4'); 132,6(C-10); 138,1(C-5); 138,7(C-1'); 144,7(C=CH); 156,1(C-3); 221,5(C-17).

16c

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 1,05(s, 3H, 18-H₃); 1,24(m, 2x3H, 2x prop-2-il-Me); 2,80(m, 2H, 6-H₂); 2,91(m, 1H, prop-2-il-CH); 5,13(s, 2H, NCH₂); 5,48(s, 2H, OCH₂); 6,68(s, 1H, 4-H); 6,75(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 2-H); 7,15–7,22(átfedő multiplettek, 5H, 1-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H); 7,65(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 20,6; 23,5(2xprop-2-il-Me); 24,7(C-18); 27,8; 27,9; 29,3; 29,9; 31,7; 33,1; 33,4(prop-2-il-CH); 41,1(2C); 48,9; 49,7(C-13); 53,9(NCH₂); 61,7(OCH₂); 112,2(C-2); 114,1(C-4); 125,9(C=CH); 126,5(C-1); 126,8(2C: C-3', C-5'); 127,8(2C: C-2', C-6'); 131,3(C-10); 132,2(C-4'); 137,7(C-5); 144,8(C=CH); 149,3(C-1'); 155,8(C-3); 221,1(C-17).

16d

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 1,05(s, 3H, 18-H₃); 1,31(s, 3x3H, 3x^tBu-Me); 2,81(m, 2H, 6-H₂); 5,11(s, 2H, NCH₂); 5,50(s, 2H, OCH₂); 6,69(s, 1H, 4-H); 6,78(m, 1H, 2-H); 7,16–7,20(átfedő multiplettek, 3H, 1-H, 2'-H, 6'-H); 7,39(d, 2H, 3'-H, 5'-H). ¹³C-NMR δ ppm 20,9; 25,1(18-Me); 28,2; 28,3; 30,3; 31,2(3C: C(CH₃)₃); 32,0; 33,4; 34,6; 37,5(C(CH₃)₃); 41,4(2C); 49,2; 50,1(NCH₂); 62,1(OCH₂); 112,5(C-2); 114,4(C-4); 122,8(C=CH); 125,9(2C: C-3', C-5'); 126,9(C-1); 127,9(2C: C-2', C-6'); 131,3(C-10); 132,6(C-1'); 138,1(C-5); 144,9(C=CH); 151,9(C-4'); 156,1(C-3); 221,5(C-17).

16e

DMSO-d₆, ¹H-NMR δ ppm 0,96(s, 3H, 18-H₃); 2,74(m, 2H, 6-H₂); 5,08(s, 2H, NCH₂); 5,78(s, 2H, OCH₂); 6,69(s, 1H, 4-H); 6,75(dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 1H, 2-H); 7,16(d, *J* = 8,5 Hz, 1H, 1-H); 7,52(d, *J* = 8,6 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H); 8,23(d, *J* = 8,6 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H); 8,31(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 20,4; 24,5(18-Me); 27,6; 27,9; 29,7; 31,5; 32,8; 40,7(2C); 48,5; 49,4(C-13); 51,8(NCH₂); 60,9(OCH₂); 112,4(C-2); 114,1(C-4); 123,8(2C: C-3', C-5'); 124,8(C=CH); 126,7(C-1); 128,9(2C: C-2', C-6'); 131,9(C-10); 137,8(C-5); 143,3 és 143,4(C-1' és C=CH); 147,2(C-4'); 155,7(C-3); 220,6(C-17).

17a

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,94(s, 3H, 18-H₃); 2,76(m, 2H, 6-H₂); 3,82(m, 1H, 17α-H); 5,15(s, 2H, NCH₂); 5,52(s, 2H, OCH₂); 6,65(s, 1H, 4-H); 6,75(dd, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,3 Hz, 1H, 2-H); 7,16(d, *J* = 8,6 Hz, 1H, 1-H); 7,26(m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,36(m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,50(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 26,6; 28,8; 29,0; 29,8(18-Me); 30,5; 31,4; 33,2; 40,1; 42,1; 44,4(C-13); 51,5; 54,2(NCH₂); 62,2(OCH₂); 83,5(C-17); 112,5(C-2); 114,3(C-4); 122,5(C=CH); 127,5(C-1); 128,1(2C: C-3', C-5'); 128,8(C-4'); 129,1(2C: C-2', C-6'); 134,0(C-10); 134,5(C-1'); 138,4(C-5); 145,0(C=CH); 155,8(C-3).

17e

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,93(s, 3H, 18-H₃); 2,75(m, 2H, 6-H₂); 3,82(m, 1H, 17α-H); 5,18(s, 2H, NCH₂); 5,63(s, 2H, OCH₂); 6,64(s, 1H, 4-H); 6,74(dd, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,3 Hz, 1H, 2-H); 7,17(d, *J* = 8,6 Hz, 1H, 1-H); 7,38(d, *J* = 8,4 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,58(s, 1H, C=CH); 8,21(d, *J* = 8,4 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H). ¹³C-NMR δ ppm 26,6; 28,8; 29,1; 29,8(18-Me); 30,5; 31,5; 33,2; 40,2; 42,0; 44,4(C-13); 51,4; 53,1(NCH₂); 62,0(OCH₂); 83,5(C-17); 112,5(C-2); 114,3(C-4); 122,7(C=CH); 124,3(2C: C-3', C-5'); 127,5(C-1); 128,6(2C: C-2', C-6'); 134,2(C-10); 138,5(C-5); 141,5(C-1'); 145,6(C=CH); 148,3(C-4'); 155,6(C-3).

18a

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,93(s, 3H, 18-H₃); 2,77(m, 2H, 6-H₂); 4,19(m, 1H, 17β-H); 5,15(s, 2H, NCH₂); 5,52(s, 2H, OCH₂); 6,66(s, 1H, 4-H); 6,75(m, 1H, 2-H); 7,19(m, 1H, 1-H); 7,26(m, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,36(m, 3H, 3'-H, 4'-H, 5'-H); 7,51(s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ ppm 22,1(18-Me); 23,6; 26,2; 28,1; 29,7; 30,1; 32,6; 41,8(2C); 43,1(C-13); 49,9; 53,9 (NCH₂); 61,8(OCH₂); 73,8(C-17); 112,1(C-2); 114,1(C-4); 122,1(C=CH); 126,6(C-1); 127,8(2C: C-3', C-5'); 128,4(C-4'); 128,7(2C: C-2', C-6'); 132,8(C-10); 134,0(C-1'); 138,0(C-5); 144,6(C=CH); 155,6(C-3).

18e

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,93(s, 3H, 18-H₃); 2,77(m, 2H, 6-H₂); 4,19(m, 1H, 17β-H); 5,19(s, 2H, NCH₂); 5,64(s, 2H, OCH₂); 6,67(d, *J* = 2,3 Hz, 1H, 4-H); 6,76(dd, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,3 Hz, 1H, 2-H); 7,21(d, *J* = 8,6 Hz, 1H, 1-H); 7,39(d, *J* = 8,5 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H); 7,59(s, 1H, C=CH); 8,22(d, *J* = 8,5 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H). ¹³C-NMR δ ppm 22,5(18-Me); 23,9; 26,5; 28,5; 29,7; 30,0; 32,9; 42,2(2C); 43,4(C-13); 50,2; 53,2(NCH₂); 62,0(OCH₂); 74,2(C-17); 112,4(C-

2); 114,5(C-4); 122,7(C=C $\underline{\text{H}}$); 124,3(2C: C-3', C-5'); 127,0(C-1); 128,6(2C: C-2', C-6'); 133,3(C-10); 138,5(C-5); 141,5(C-1'); 145,6(C=C $\underline{\text{H}}$); 148,5(C-4'); 155,9(C-3).

19

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,95(s, 3H, 18-H₃); 2,79(m, 2H, 6-H₂); 3,83(m, 1H, 17 α -H); 5,03(s, 2H, OCH₂); 6,69(s, 1H, 4-H); 6,77(dd, J = 8,6 Hz, J = 2,3 Hz, 1H, 2-H); 7,19(d, J = 8,6 Hz, 1H, 1-H); 7,31(t, J = 7,3 Hz, 1H, 4'-H); 7,37(t, J = 7,3 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H); 7,42(d, J = 7,3 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H). ¹³C-NMR δ ppm 26,7; 28,5; 29,0; 29,8(C-18); 30,5; 31,4; 33,2; 40,1; 42,2; 44,4(C-13); 51,5; 69,9(OCH₂); 83,5(C-17); 112,6(C-2); 114,4(C-4); 127,4(3C: C-1, C-3', C-5'); 127,8(C-4'); 128,5(2C: C-2', C-6'); 133,7(C-10); 137,4(C-1'); 138,3(C-5); 156,5(C-3).

20

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,95(s, 3H, 18-H₃); 2,79(m, 2H, 6-H₂); 4,21(m, 1H, 17 β -H); 5,03(s, 2H, OCH₂); 6,72(s, 1H, 4-H); 6,81(dd, J = 8,6 Hz, J = 2,3 Hz, 1H, 2-H); 7,23(d, J = 8,6 Hz, 1H, 1-H); 7,31(t, J = 7,3 Hz, 1H, 4'-H); 7,39(t, J = 7,3 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H); 7,43(d, J = 7,3 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H). ¹³C-NMR δ ppm 22,1(C-18); 23,6; 26,2; 28,2; 29,7; 30,1; 32,7; 41,9(2C); 43,1(C-13); 49,9; 69,6(OCH₂); 73,8(C-17); 112,1(C-2); 114,2(C-4); 126,5(C-1); 127,0(2C: C-3', C-5'); 127,4(C-4'); 128,1(2C: C-2', C-6'); 132,4(C-10); 136,9(C-1'); 137,9(C-5); 156,3(C-3).

22

DMSO-d₆, ¹H-NMR δ ppm 0,92(s, 3H, 18-H₃); 2,66(m, 2H, 6-H₂); 6,42(s, 1H, 4-H); 6,50(m, 1H, 2-H); 7,07(m, 1H, 1-H). ¹³C-NMR δ ppm 20,4; 26,6; 27,2; 27,9; 29,7(18-Me); 29,8; 33,0; 35,5; 40,8; 41,4(C-13); 41,7; 51,1; 112,7(C-2); 114,6(C-4); 126,5(C-1); 130,3(C-10); 137,4(C-5); 154,7(C-3).

23

CDCl₃, ¹H-NMR δ ppm 0,96(s, 3H, 18-H₃); 2,50(s, 1H, C $\equiv$ CH); 2,81(m, 2H, 6-H₂); 4,65(s, 2H, OCH₂); 6,69(s, 1H, 4-H); 6,78(dd, J = 8,5 Hz, J = 2,0 Hz, 1H, 2-H); 7,25(d, J = 8,5 Hz, 1H, 1-H). ¹³C-NMR δ ppm 20,9; 26,9; 27,8; 28,3; 29,9(18-Me); 30,7; 33,6; 35,8; 41,2; 41,9(C-13); 42,3; 51,7; 55,7(OCH₂); 75,2(C $\equiv$ C $\underline{\text{H}}$); 78,8(C $\equiv$ C $\underline{\text{H}}$); 112,4(C-2); 114,6(C-4); 126,9(C-1); 134,0(C-10); 138,5(C-5); 155,3(C-3).

8.3. A használt rövidítések jegyzéke

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

17 β -HSD1 – 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1

DIPEA – *N,N*-diizopropil-etilamin

PPh₃ – trifenilfoszfán

DMSO – Dimetil-szulfoxid

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

EtOAc – Etilacetát

DCM – Diklórmétán

IC₅₀ – Az az inhibitor koncentráció mely 50%-ban gátolja az enzim aktivitását

TMS – tetrametil-szilán

CDCl₃ – Kloroform-d

Bn – benzil

^tBu – *terc*-butil

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

9. 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.

Köszönetet mondok Dr. Szécsi Mihály tudományos főmunkatársnak és Herman Bianka PhD-hallgatónak az *in vitro* enzimgátlási vizsgálatok kivitelezéséért.