

OTKA azonosító: PD-72403

vezető kutató: Dr. Nagyné Dr. Frank Éva

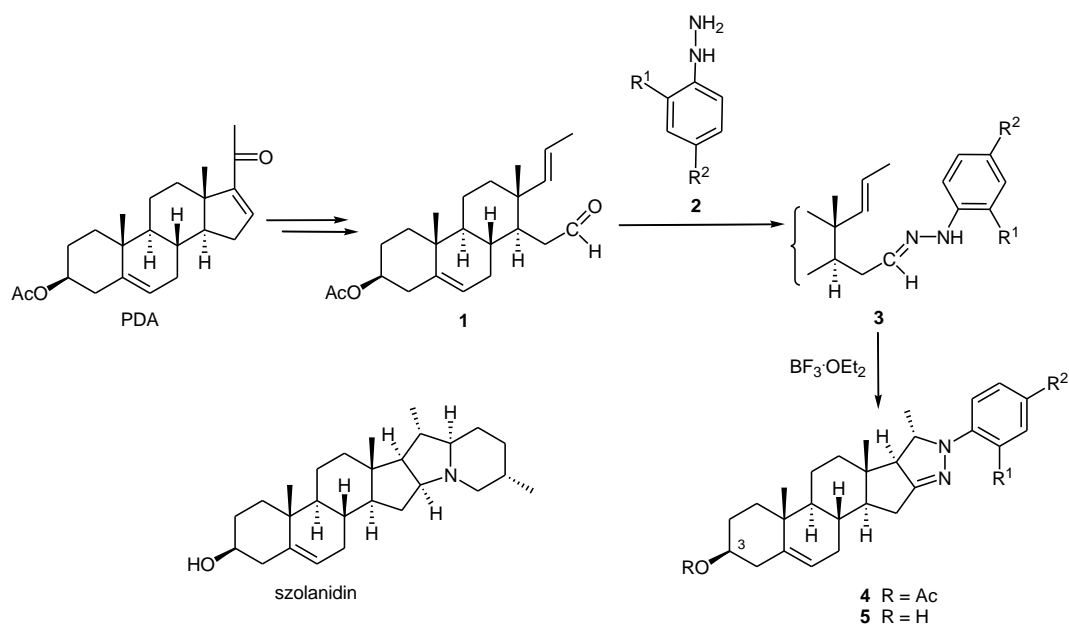
pályázat címe: Új androsztán- és ösztránvázis heterociklusok szintézise

futamidő: 2008-2011

Záróbeszámoló

1. A támogatott időszak első évében a kutatási munkatervnek megfelelően 5-androszténvázis szteroid kiindulási anyagból 1,3-dipoláris cikloaddíció felhasználásával O- és/vagy N-atomokat tartalmazó, új típusú, az irodalomban még nem ismert heterociklusos származékok szintézisét hajtottuk végre. A preparatív munka diplomamunkás vegyész szakos hallgató bevonásával, míg a szintetikus munkától eltérő, egyéb vizsgálatok elvégzése (farmakológiai tesztek, elméleti számítások) hazai együttműködő partnereink közreműködésével történt.

Munkánk során megvalósítottuk a pregnadienolon-acetátból (PDA) több lépésben előállítható telítetlen oldalláncú D-szekoaldehid (**1**) szintézisét, amely fenilhidrazinnal és annak szubsztituált származékaival (**2**) különböző alkenil-fenilhidrazonokat (**3**) eredményezett. A fenilhidrazonok $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ által katalizált intramolekuláris 1,3-dipoláris cikloaddíciója sztereoszelektíven D-gyűrűhöz kondenzált 5-androszténvázis arilpirazolinokat (**4**) eredményezett. A gyűrűzárási reakciók sebességét nagymértékben befolyásolta a fenil-csoporton lévő szubsztituensek (R^1 , R^2) elektronikus hatása; így elektronküldő csoportok (pl. CH_3 , OMe) elősegítették, míg elektronvonzó csoportok (pl. Cl, CN, NO_2) nehezítették a cikloaddíciót. A Lewis-sav katalizálta reakció mechanizmusára az elvégzett B3LYP-631G (d) szintű elméleti számítások alapján egy több lépéses átalakulást valószínűsítettünk, melynek első lépése, azaz a fenilhidrazon BF_3 -dal való komplexképzése függ legnagyobb mértékben a Ph-szubsztituens karakterétől. Tekintettel arra, hogy az előállított szteroid pirazolinok 3-as helyzetben dezacetilezett származékai (**5**) nagymértékű szerkezeti rokonságot mutatnak a bizonyos növényekben előforduló és bizonyítottan citotoxikus hatással is rendelkező szteroid alkaloiddal, a szolanidinnel, ezért ilyen irányú hatásvizsgálatra kerültek. Az *in vitro* farmakológiai tesztek során, melyeket az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében végeztek, számos vegyület jelentős mértékű, a referenciaként alkalmazott ciszplatinnal összemérhető sejtosztódás-gátlást mutatott különböző rosszindulatú ráksejt (HeLa-méhnyak; MCF7- emlő; A431-bőr, HL-60 leukémia) vonalakon. Az *N,N*-heterociklusok közül a leghatásosabb 4-metoxifenilpirazolin (**5**, $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OMe}$) származék további hatástani vizsgálatokra került, melynek célja hatásmechanizmusának értelmezése volt. Megállapítást nyert, hogy a vegyület részben a DNS-szintézis gátlása révén zavart okoz a sejt-ciklusban.

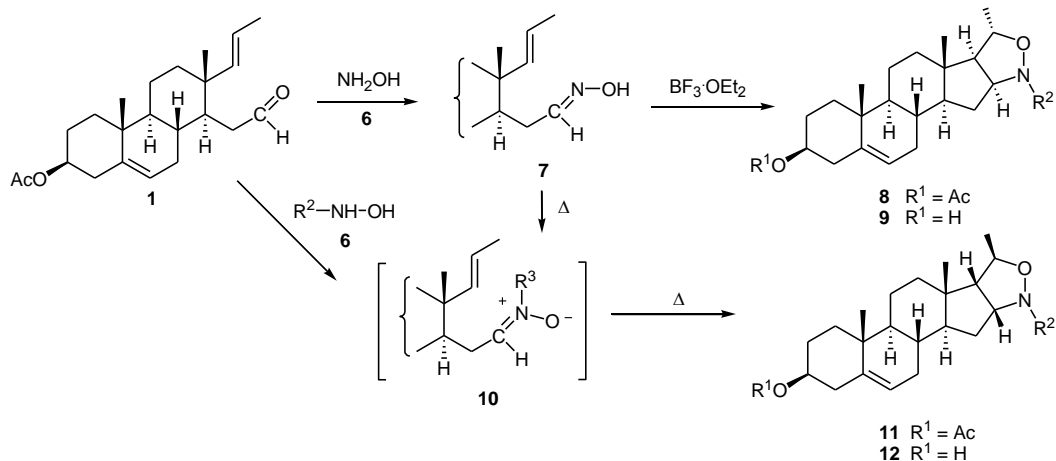


Az eredményekből 2 közlemény került publikálásra:

[Frank, É.; Mucsi, Z.; Zupkó, I.; Réthy, B.; Falkay, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3894-3904.](#)

[Minorics, R.; Szekeres, T.; Krupitza, G.; Saiko, P.; Giessrigl, B.; Wölfling, J.; \[Frank, É.\]\(#\); Zupkó, I. *Steroids*, **2011**, *76*, 156-162.](#)

A D-szekoaldehyd (**1**) hasonló átalakításait végrehajtottuk hidroxilamin származékokkal (**6**) is, mely *N,O*-heterogyűrű kialakítását tette lehetővé. A termikus és Lewis-sav katalizált folyamatok mechanizmusát elméleti számításokkal igazoltuk. A dezacetilezett végtermékek (**9**, **12**) C_{17,20}-liáz enzimre kifejlesztett, *in vitro* gátló hatását az SZTE Önálló Endokrinológiai Osztály és Kutató Laboratórium munkatársai vizsgálták, mely alapján a szintetizált izoxazolidin származékok közül egy vegyület (**9**, R² = H) mérsékelten jó enzim inhibitornak bizonyult. Egy másik származék (**12**, R² = Bn) ugyanakkor citosztatikus aktivitást mutatott különböző malignus ráksejt (HeLa; MCF7; A431) vonalakon.



Az eredményekből 1 közlemény került publikálásra:

[Frank, É.; Mucsi, Z.; Szécsi, M.; Zupkó, I.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *New J. Chem.*, **2010**, *34*, 2671-2681.](#)

2. A támogatott időszak második évében 5-androsztén-, 4-androsztén- és ösztránvázis szteroid kiindulási anyagokból O-, N- és/vagy P-atomokat tartalmazó, új típusú D-gyűrűhöz kondenzált, spiroheterociklusos, illetve 9,13-áthidalt származékok szintézisét valósítottuk meg projekt munkás és diplomamunkás hallgatók bevonásával. A szintetikus munkától eltérő egyéb vizsgálatokat (farmakológiai tesztek) hazai együttműködő partnereink végezték.

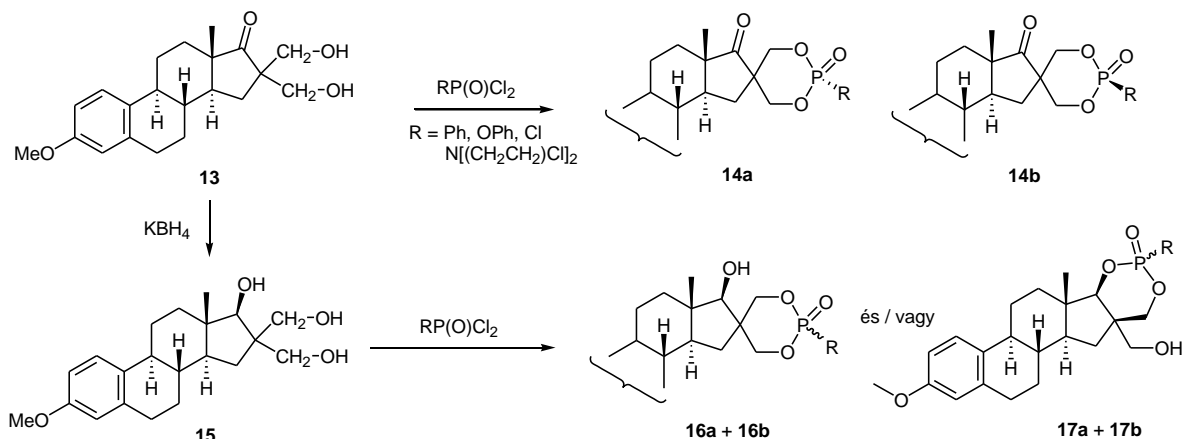
2.1. A kutatási munkatervvel összhangban elvégeztük ösztránvázis diol (**13**) és triol (**15**) prekursor vegyületekből spirociklusos (**14**, **16**) és D-gyűrűhöz kondenzált (**17**) dioxafoszforinánok szintézisét. Tanulmányoztuk a folyamatok sztereoselektivitását, valamint a foszfor-heterociklusok oldatbeli konformációs viselkedését különböző NMR-módszerek segítségével. Megállapítottuk, hogy a kapcsolódó merev szteránváz, a foszforatomon lévő szubsztituensek és a 17-es szénatom hibridállapota befolyásolja a heterogyűrű kedvezményezett konformációját.

OTKA azonosító: PD-72403

vezető kutató: Dr. Nagyné Dr. Frank Éva

pályázat címe: Új androsztán- és ösztránvázis heterociklusok szintézise

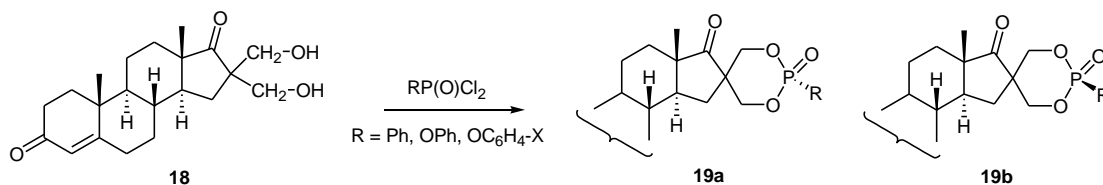
futamidő: 2008-2011



Az eredményekből 1 közlemény került publikálásra:

[Frank, É.; Sipos, L.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *Lett. Org. Chem.* **2009**, *6*, 340-344.](#)

2.2. Az előzőekkel analóg foszforilezési reakciókkal a 4-androsztén sorban is hasonló spirociklusos dioxafoszforinánokat (**19**) nyertünk. A térszerkezet tanulmányozásán túlmenően a királis foszforatom jelenléte miatt keletkező diasztereomer párok (**19a** és **19b**) elválasztást követően farmakológiai vizsgálatra kerültek. Megállapítást nyert, hogy valamennyi esetben az egyik epimer (**19a**) nagyobb mértékben gátolta a vizsgált rákos sejtek osztódását, mint a másik (**19b**), mely a különböző térszerkezetnek tulajdonítható. A P-heterociklusok közül egy vegyület a referenciaként alkalmazott ciszplatinnal összemérhető sejtosztódás-gátlást mutatott HeLa és A431 sejteken.



Az eredményekből 1 közlemény került összeállításra:

[Wölfling, J.; Kovács-Pénczes, P.; Zupkó, I.; Schneider, Gy.; Frank, É. *J. Mol. Struct.* \(közlésre beküldve\)](#)

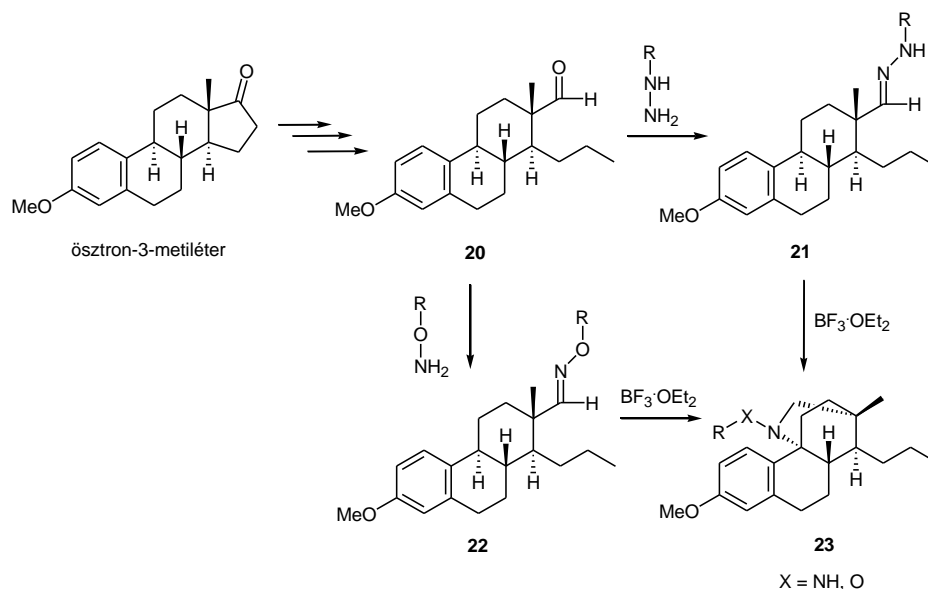
2.3. A kutatási munkaterv ütemezésétől eltérően, már a 2. évben végrehajtottuk egy telített oldalláncú ösztránvázis D-szekoaldehidből (**20**) kiindulva új típusú áthidalt izokinuklidin származékok (**23**) előállítását. Bizonyítást nyert, hogy az elektronvonzó szubsztituenseket tartalmazó hidrazonok (**21**), valamint az oximéterek (**22**) Lewis-sav hatására 1,5-hidridion vándorlás indukálására képesek, vagyis megfelelő körülmények között hidridion lehasítására képes elektrofil sajátsággal bírni. Az irodalomban eddig ismeretlen reakciótypust ismertünk fel.

OTKA azonosító: PD-72403

vezető kutató: Dr. Nagyné Dr. Frank Éva

pályázat címe: Új androsztán- és ösztránvázis heterociklusok szintézise

futamidő: 2008-2011

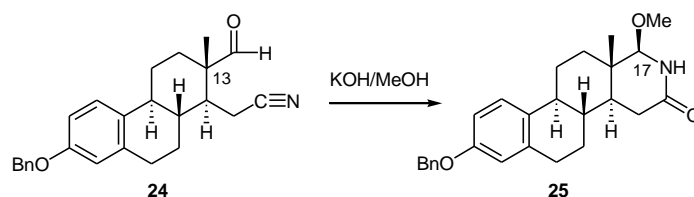


Az eredményekből 1 közlemény került publikálásra:

[Frank, É.; Schneider, Gy.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3544-3553.](#)

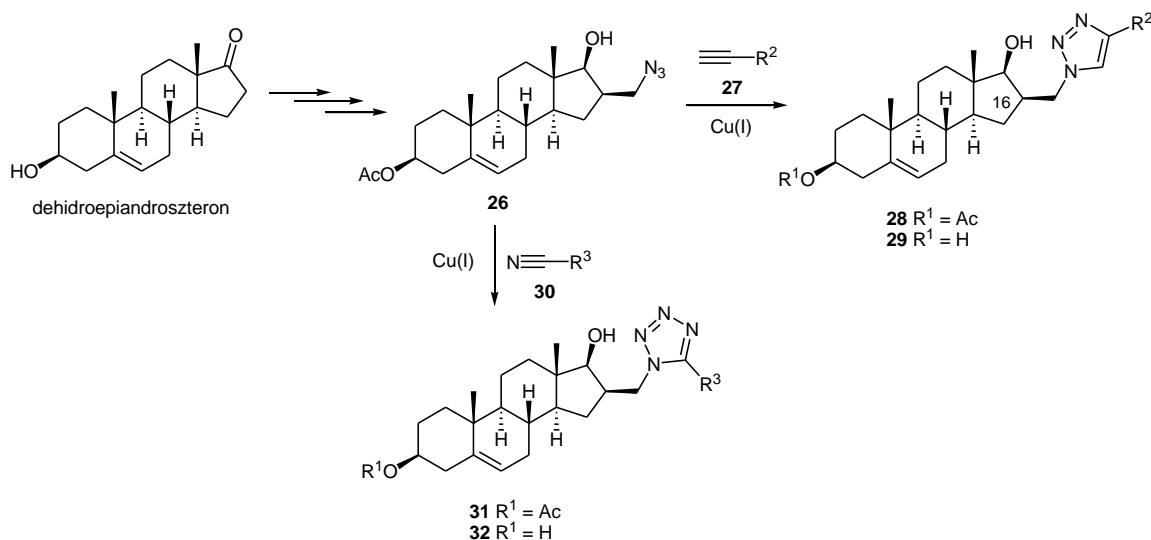
3. A támogatott időszak harmadik évében a kutatási tervben nem szereplő, de a pályázat témakörébe illeszthető szintéziseket végeztünk, melyek során projekt- és diplomamunkás hallgatók bevonásával ösztrán-, illetve androsztánvázis triazolokat és tetrazolokat állítottunk elő Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíció segítségével. A szintetikus munkától eltérő, egyéb vizsgálatokat (farmakológiai tesztek) hazai együttműködő partnereink végezték.

3.1. A harmadik évre részben tervezett D-homo-azaszteroidok előállítására tett kísérletek nem hozták a várt eredményt. Bár a **25**-ös vegyület szintézise a **24**-es D-szeko származékból sikeres volt, a körülmények változtatásával nem sikerült 17-es helyzetben egyéb szubsztituált analógokat előállítanunk. Ráadásul a termék nem mutatott kellő stabilitást.



3.2. A továbbiakban ezért a szteránváz különböző helyzeteiben három, illetve négy nitrogénatomot tartalmazó triazolok és tetrazolok szintézisét valósítottuk meg. Az azidok és alkinek között végbemenő cikloaddíció Cu(I) ionok által katalizált változata 2002-ben történt felfedezése óta hihetetlen népszerűsége tett szert a kémia szinte valamennyi területén. A reakció előnye, hogy régiószelktíven 1,4-diszubsztituált 1,2,3-triazolokat eredményez és sok esetben enyhe reakciókörülmények között gyorsan és nagy hozammal játszódik le. Az irodalomból jól ismert, hogy számos triazol szerkezeti elemet tartalmazó vegyület citosztatikus aktivitással bír, ugyanakkor a szteránvázis triazolok szintézisére kevés példa található a szakirodalomban. Mindezen tényeket figyelembe véve a **26**-os szteránvázis azid prekursorból különbözőképpen szubsztituált terminális acetilénekkel (**27**) 16-triazolilmetil származékokat (**28**, **29**) állítottunk elő az 5-androsztén sorban. A reakciót acetilén helyett

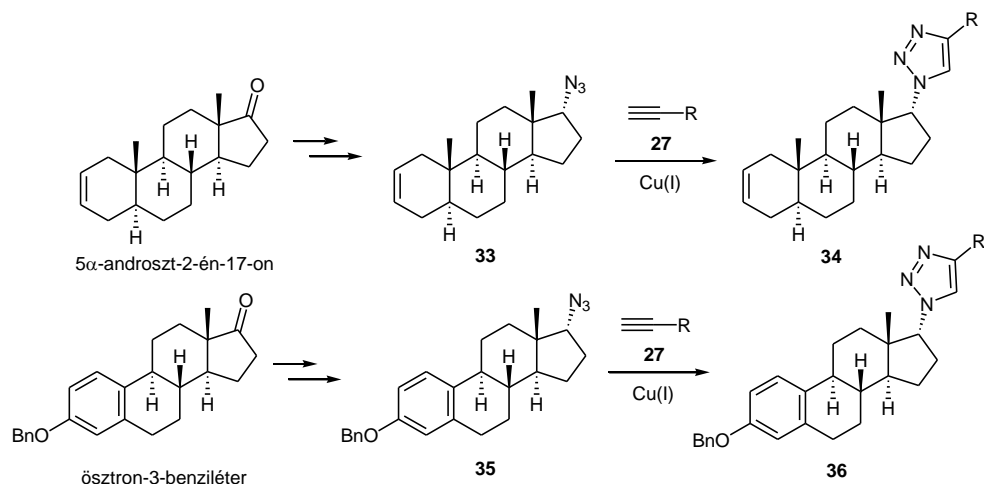
elektronvonzó szubsztituenseket tartalmazó nitrilekkel (**30**) elvégezve ugyanakkor 1,5-diszubsztituált tetrazolokat (**31**, **32**) kaptunk. A 3-as helyzetben dezacetilezett triazolok közül egy vegyület (**29**, $R^2 = 3'-CH_3-C_6H_4$) közepes sejtosztódás gátlást mutatott háromféle nőgyógyászati ráksejt vonalon (HeLa, MCF7, A2780) *in vitro* vizsgálva.



Az eredményekből 1 közlemény került publikálásra:

Kádár, Z.; Kovács, D.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Huber, J.; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J. *Molecules* **2011**, *16*, 4786-4806.

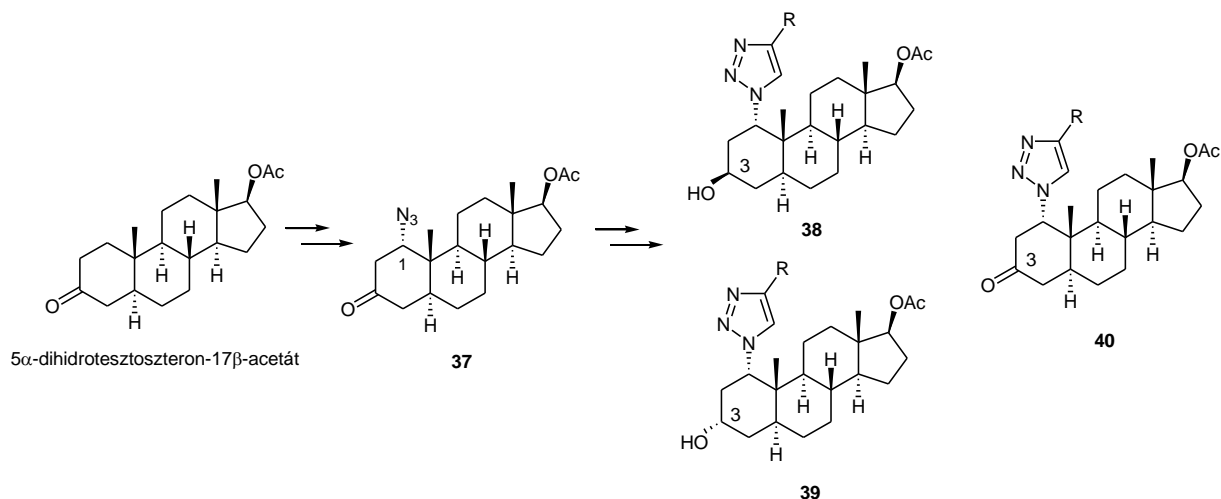
Hasonló cikloaddíciós reakciókkal elvégeztük 17α -triazolil származékok (**34**, **36**) előállítását mind az 5α -androsztán, mind az ösztron sorban. A szintézisekhez olyan kiindulási azidokat (**33**, **35**) választottunk, melyek nem tartalmazzák a hormon-receptorkötődéshez szükséges funkciós csoportokat, így feltehetően hormonális aktivitásuk csekély mértékű. A vegyületek közül egy ciklopropil-szubsztitált androszt-2-én származék (**34**, $R = cPr$) ígéretes antiproliferatív hatást mutatott HeLa, MCF7 és A431 sejtvonalakon.



Az eredményekből 1 közlemény került publikálásra:

Frank, É.; Molnár, J.; Zupkó, I.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Steroids* **2011**, *76*, 1141-1148.

A reakciót a szteránváz D-gyűrűje helyett A-gyűrűben azidocsoportot tartalmazó kiindulási anyaggal (**37**) is végrehajtottuk. Ebben az esetben már a kiindulási 1-azido vegyület (**37**) is új, a szakirodalomban eddig nem ismert származéknak tekinthető, melyből szubsztituált acetilénekkel 1-triazolil vegyületeket (**38–40**) nyertünk. Tanulmányoztuk mind a szteránváz, mind az acetilén reakciópartner szubsztituenseinek hatását a termékek hozamára. Az *in vitro* citosztatikus vizsgálatok alapján valamennyi 1-triazolil-3-ketovegyület (**40**) a referenciaként alkalmazott ciszplatinnál jóval nagyobb mértékben gátolta a HeLa sejtek osztódását.



Az eredményekből 1 közlemény került összeállításra:

Kádár, Z.; Baji, Á.; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J.; Frank, É. *Org. Biomol. Chem.* DOI:10.1039/C1OB06086D. (közlésre elfogadva)

Szeged, 2011. szeptember 20.

.....
Dr. Nagyné Dr. Frank Éva