

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**HETEROCIKLUSOKKAL MÓDOSÍTOTT NEMI HORMON
SZÁRMAZÉKOK SZINTÉZISE**

FRANK ÉVA

Szegedi Tudományegyetem, TTIK
Szerves Kémiai Tanszék

SZEGED

2016

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés	6
2.1. Öttagú heterociklusok szintézise 1,3-dipoláris cikloaddícióval (1,3-DC).....	6
2.1.1. Klasszikus (Huisgen-féle) 1,3-DC	7
2.1.1.1. <i>N,O</i> -heterociklusok (izoxazolidinek, 2-izoxazolinok) előállítása	8
2.1.1.2. <i>N,N</i> -heterociklusok (pirazolidinek, pirazolinok) szintézise	10
2.1.1.3. Heteroaromás vegyületek (izoxazolok, triazolok, tetrazolok) előállítása	12
2.1.2. Réz(I)-katalizált 1,3-DC (A "klikk" koncepció)	13
2.1.3. Az 1,3-DC és réz(I)-katalizált változatainak alkalmazása heterociklusokkal módosított nemi hormon származékok szintézisére	18
2.2. Öttagú heterociklusok szintézise karbonilvegyületekből.....	21
2.2.1. 2-Pirazolinok előállítása α,β -telítetlen oxovegyületekből	22
2.2.2. Pirazol-4-karboxaldehidek előállítása metilketonokból	23
2.2.3. Oxadiazolok és tiadiazolok előállítása karbonilvegyületekből	25
2.2.3.1. Az 1,2,4-oxadiazolok előállítása karbonsav-származékokból	25
2.2.3.2. Az 1,3,4-oxadiazolok és az 1,3,4-tiadiazolok előállítása aldehidekből és karbonsav-származékokból.....	26
2.3. Hattagú <i>P</i> -heterociklusok szintézise diolok és aminoalkoholok foszforilezési reakciójával	28
3. Célkitűzés	31
4. Anyagok és módszerek	33
5. Kísérleti eredmények.....	34
5.1. Szeránvázhoz kondenzált öttagú heterociklusok előállítása	34
5.1.1. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16,17-helyzetben kondenzált izoxazolidinek szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val.....	34
5.1.2. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16,17 β -helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val.....	36
5.1.3. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16 α ,17-helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val.....	40
5.1.4. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16 α ,17 α -helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise szeránvázas karbonilvegyületből	43
5.1.5. Androsztánváz A- és D-gyűrűjéhez 1 α ,2 α - és 15 β ,16 β -helyzetben kondenzált izoxazolinok szintézise intermolekuláris 1,3-DC-val	46
5.2. Szeránvázas öttagú <i>spiro-N,O</i> -heterociklusok szintézise.....	51
5.2.1. Androsztánvázas 16- <i>spiro</i> -izoxazolinok előállítása intermolekuláris 1,3-DC-val.....	51

5.3. Szteránvázhhoz kapcsolódó öttagú aromás heterociklusok szintézise	53
5.3.1. Androsztán- és ösztránvázas triazolok (és tetrazolok) előállítása réz(I)-katalizált 1,3-DC-val	53
5.3.1.1. Androsztánváz 16-os helyzetéhez metilén-hídon keresztül kapcsolódó triazolok és tetrazolok előállítása	53
5.3.1.2. Ösztránváz 16 α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása	55
5.3.1.3. Androsztán- és ösztránváz 17 α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása	56
5.3.1.4. Androsztán- és ösztránváz 15 β -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása	58
5.3.1.5. Androsztánváz 1 α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása	61
5.3.2. Ösztránvázas izoxazolok előállítása réz(I)-katalizált 1,3-DC-val	64
5.3.3. Androsztánvázas 17-exo-heterociklusok előállítása karbonilvegyületekből	66
5.3.3.1. Androsztánvázas 17-(4'-formil)-pirazolok előállítása	66
5.3.3.2. Androsztánvázas 17-(1',2',4')-oxadiazolok előállítása	70
5.3.3.3. Androsztánvázas 17-(1',3',4')-oxadiazolok és 17 β -(1',3',4')-tiadiazolok előállítása	72
5.4. Szteránvázas hattagú diheterofoszforinánok szintézise	79
5.4.1. Ösztránváz D-gyűrűjéhez 16 β ,17 β -helyzetben kondenzált diheterofoszforinánok előállítása és konformáció vizsgálata	80
5.4.2. Ösztrán- és androsztánvázas 16-spiro-(1',3',2')-dioxafoszforinánok előállítása és konformáció vizsgálata	86
5.4.3. Androsztánvázas 17 β -(1',3',2')-dioxafoszforinánok előállítása és konformáció vizsgálata	92
6. Összefoglalás	95
7. Irodalomjegyzék	101
8. Az értekezés alapját képező közlemények jegyzéke.	117
Köszönetnyilvánítás	119

Rövidítések jegyzéke*

BPS	batofenantrolin-diszulfonát
CAN	cérium-ammónium-nitrát
CuAAC	réz(I)-katalizált azid/alkin cikloaddició
1,3-DC	1,3-dipoláris cikloaddició
CDI	1,1'-karbonildiimidazol
DCC	diciklohexil-karbodiimid
DCM	diklórmétán
DEA	dehidroepiandroszteron
DHT	dihidrotesztoszteron
DIB	diacetoxi-jódbenzol
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropiletilamin
DMF	<i>N,N</i> -dimetil-formamid
DMSO	dimetil-szulfoxid
EWG	electron-withdrawing group (elektronvonzó csoport)
HOMO	highest occupied molecular orbital (legnagyobb energiájú betöltött molekulapálya)
3 β -HSD	3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
17 β -HSD	17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration (50%-os gátlási koncentráció)
LHRH	luteinizing hormone-releasing hormone (luteinizáló hormont felszabadító hormon)
LUMO	lowest unoccupied molecular orbital (legkisebb energiájú betöltetlen molekulapálya)
MW	microwave (mikrohullám)
NCS	<i>N</i> -klórszukcinimid
cP450 _{17α}	citokróm P450-függő 17 α -hidroxiláz-C _{17,20} -liáz
PDA	pregnadienolon-acetát
5 α R	5 α -reduktáz
PMDETA	pentametil-dietilén-triamin
PTSA	<i>p</i> -toluolszulfonsav
rt	room temperature (szobahőmérséklet)
SEM	standard error of the mean (az átlag standard hibája)
TBAF	tetrabutylammónium-fluorid
TBTA	<i>tris</i> (benziltriaazolilmetil)-amin
TEA	trietyl-amin
TFA	trifluorecetsav
THF	tetrahidrofurán

*Az angol szakirodalomban elfogadott rövidítéseket használom.

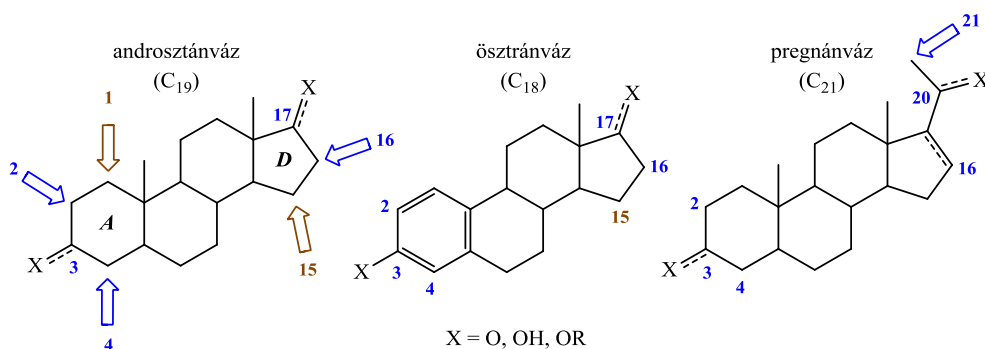
1. Bevezetés

A természetes szénvegyületek közé tartozó, négygyűrűs alapvázal rendelkező szteroidok az élő szervezetek működését szabályozó molekulák talán egyik legfontosabb csoportját alkotják. Strukturális sajátágaiktól függően változatos biológiai aktivitással rendelkeznek, ezért kutatásukat évtizedek óta különböző tudományterületek intenzív érdeklődése kíséri.¹ Bár az ismert természetes szteroidok szerkezetére vonatkozó információink mára gyakorlatilag teljesek, a gyógyászatban felhasznált vegyületek köre a félszintetikus módosításoknak köszönhetően folyamatosan bővül. A fogamzásgátló, a menstruáció és a menopauza okozta problémák kezelésére szolgáló hormonpótló készítmények mellett a gyulladáscsökkentő glükokortikoidok allergiás és asztmás megbetegedésekben, gyulladásos kórállapotokban és rákterápiában történő alkalmazása is igen elterjedt.

Az emberi szervezetben megtalálható szteroidok közül az egyik legtöbbet tanulmányozott vegyületcsoport a főként az ivarmirigyekben, kisebb mennyiségben a mellékvesékben és egyéb szövetekben termelődő nemi hormonok köre, amelyek képviselői 4–7 kiralitáscentrumot tartalmazó optikailag aktív molekulák. A szervezetre sokrétű élettani hatást gyakorolnak; befolyásolják a közti anyagcserét, szabályozzák a reproduktív szervek növekedését és működését, valamint szerepet játszanak a másodlagos nemi jelleg kialakulásában. A természetes androgének egyben anabolikus hatással is rendelkeznek és az ösztrogén bioszintézis előanyagaiként is felhasználódnak. Az ösztrogének és a progeszteron, mint női nemi hormonok ugyanakkor a menstruációs ciklus és a terhesség szabályozásában is alapvető fontosságúak. A nemi hormonok, mint a szteroidok általában, az apoláris szénvázuknak és így a molekula hidrofób karakterének köszönhetően kiváló sejtmembrán penetrációs képességgel rendelkeznek. Hatásukat többnyire intracelluláris receptorokhoz kapcsolódva fejtik ki. Ezen lassú genomiális mechanizmussal a sejtmagban transzkripciós faktorként hatnak, azaz a szteroid–fehérje komplexek a DNS-sel való kölcsönhatásuk révén bizonyos génszakaszok átíródását befolyásolják.² A hormonreceptorok szerkezeti sajátságairól, a ligandumok farmakofór molekularészéről és a receptor–ligandum kölcsönhatásról ma már számos információ áll rendelkezésre.^{3–5} Valamennyi vegyület kötődésében szerepet játszik maga a négy gyűrűs alapváz (hidrofób kölcsönhatások révén), valamint a vázhoz kapcsolódó O-tartalmú (karbonil vagy hidroxil) funkciós csoportok. Ez utóbbiak donorként vagy akzeptorként a receptorfehérje meghatározott aminosavaival H-hídkötés létesítésére képesek. Újabb kutatások azt is bizonyították, hogy a szteroidok egy, az előbb említetténél jóval gyorsabb, ún. nem-genomiális úton is kifejthetik hatásukat, amely

membrán-kapcsolt receptorokhoz való kötődésükkel és a sejten belüli kaszkádreakciók indukálásával magyarázható.⁶

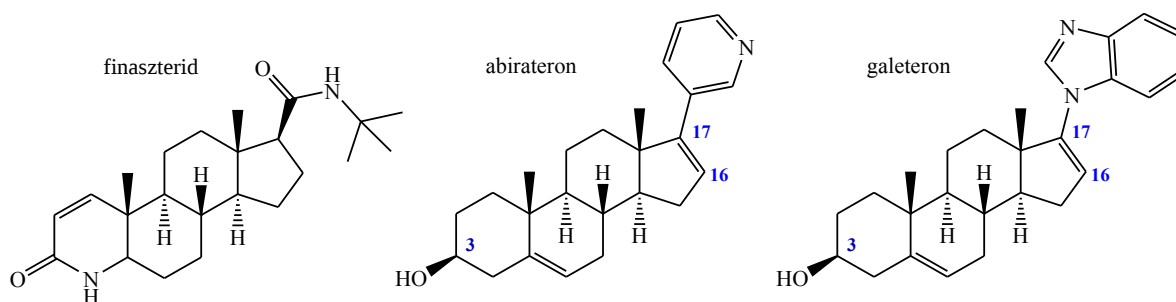
A nemi hormonok szerkezetmódosítására irányuló törekvések célja olyan származékok előállítása, amelyek a nem kívánatos mellékhatásoktól mentesek, ugyanakkor szelektív fiziológiai hatás megjelenését eredményező strukturális és sztereokémiai sajátosságokkal rendelkeznek.⁷ A félszintézisek kiindulási anyagaként gyakran nem a természetes hormonokat, hanem ezek bioszintézisének szervezetben is megtalálható előanyagait (DEA, pregnenolon), metabolitjait (2-metoxiösztadiol) vagy kémiai átalakítással kevésbé aktívvá tett származékait (PDA, öszttron-3-metiléter) használják. Ennek egyrészt az az oka, hogy az ilyen vegyületekkel végzett preparatív munka kevésbé veszélyes és az anyagok az általában csökkent polaritásukból adódóan könnyebben kezelhetők, másrészt a további szerkezeti változtatások is gyakran éppen a hormonális aktivitás háttérbe szorítását célozzák. A vegyületek 3-as, 17-es és 20-as helyzetű funkciós csoportjai kézenfekvő lehetőséget biztosítanak a szintetikus átalakításokra, valamint a szomszédos (C-2, C-4, C-16, C-21) helyzetű szubsztitúciók is viszonylag könnyen megvalósíthatók a már meglévő csoportok kémiai reaktivitása következtében. Éppen az egyszerűbb kivitelezhetőség miatt a legtöbb szintetikus módosítás ezekben a pozíciókban történik, vagyis a szteránváz A- és D-gyűrűjét érinti. A meglévő csoportoktól távolabb eső szénatomok (pl. C-1 vagy C-15) általában csak többlépéses reakcióúton funkcionálizálhatók, de így olyan származékokhoz juthatunk, amelyek szerkezete jelentősen eltér a természetes vegyületekétől, és ez a bioaktivitásukban is szignifikáns változást okozhat.



A kísérleti tapasztalatok azt mutatják, hogy a természetes vegyületeken végzett egyszerű átalakítások, pl. kisméretű funkciós csoportok bevitele, telítetlenség kialakítása vagy megszüntetése, a molekula hormonális alaphatását csak kis mértékben változtatják meg. A különböző heterociklusok beépítésével ugyanakkor akár teljesen új főhatással rendelkező vegyület jöhet létre. Egy másfajta kötődési sajátossággal rendelkező nagy térkitöltésű molekularész bevitelével ugyanis a hormonreceptor kapcsolódáshoz szükséges funkciós

csoportok megszüntethetők vagy szterikusan „árnyékolhatók”, miközben a vegyület téralkata is jelentősen módosul. A különböző szerkezeti elemek kombinálásával a molekula kémiai stabilitása is növekedhet, valamint farmakokinetikai tulajdonságai is kedvezőbbé válhatnak. A különböző heteroatomok szteránvázba történő bevitelére két szintetikus lehetőség kínálkozik: 1) a váz valamely gyűrűt alkotó szénatomjának heteroatommal történő helyettesítése (heteroszteroidok),⁸ vagy 2) heteroatomo(ka)t tartalmazó gyűrűk molekulába építése vázhoz kapcsolódva,⁹ ahhoz kondenzáltan,^{10,11} esetleg spirociklust^{12–14} képezve (heterociklusos szteroidok).

Számos kutatás igazolta, hogy egyes rákos megbetegedések összefüggésbe hozhatók a magas nemi hormon szinttel,^{15–17} így az ösztrogének a mell- és petefészekrák, míg az androgének a prosztatarák kialakulásában játszanak szerepet. A sebészeti beavatkozás és a sugárterápia mellett a hormonfüggő daganatos betegségek elsővonalbeli gyógyszeres kezelése éppen ezért az ivarmirigyek (here, petefészek) általi hormonszintézis LHRH-analagonokkal történő csökkentésére (kémiai kasztráció vagy abláció) és/vagy az adott hormon receptorához való kötődésének antagonistákkal való megakadályozására irányul. Tekintettel arra a tényre, hogy a szervezetben az ivarmirigyek mellett egyéb szövetekben (mellékvese, zsírszövet, ráksejt) is termelődnek nemi hormonok, amelyek szintén stimulálják a rosszindulatú sejtek burjánzását, a terápia további lehetőségét a szteroidok bioszintézisében résztvevő valamely enzim gátlása képezi.^{18–20} A gyógyászatban használatos enziminhibitorok egy része maga is szteránvázú vegyület, amelyek közül érdemes megemlíteni a jóindulatú prosztatamegnagyobbodás kezelésére szolgáló finaszteridot (5 α R-gátló heteroszteroid), valamint a kasztráció-rezisztens prosztatarák terápiájában alkalmazott és az emlőrák kezelésére jelenleg kipróbálás alatt álló abirateront (cP450_{17 α} -gátló heterociklusos szteroid). Nagy reményeket fűznek a 2015 óta klinika III fázisban lévő 17-*exo*-heterociklusos galeteronhoz is, amely cP450_{17 α} inhibitor hatása mellett antiandrogén aktivitással bír. A vegyületek hátrányaként említhető, hogy gyakran, – mint minden gyógyszer – nem kívánatos mellékhatások



kialakulásáért tehető felelőssé,²¹ ráadásul a ráksejtek előbb-utóbb rezisztenssé válnak a gyógyszeres terápia valamennyi előbb említett formájára, ami hosszabb távon a kezelés sikertelenségét vonja maga után.²² Célszerű ezért az egyszerre több támadásponton ható vegyületek bevetése, azaz a kombinációs terápia alkalmazása.

Bár a különböző heterociklusok szteránvázba történő beépítését sok esetben inkább az egyszerű szintetikus megvalósíthatóság, mintsem a racionalitás vezérli, a cP450_{17 α} -gátlás vonatkozásában ma már konkrét szerkezet-hatás összefüggések állnak rendelkezésre,^{23–26} amelyhez jelentősen hozzájárult, hogy 2012-ben röntgenkristallográfia segítségével meghatározták a csonkított humán enzim aktív helyének háromdimenziós struktúráját két hatásos szteránváz inhibitor (abirateron, galeteron) jelenlétében.²⁷ A cP450_{17 α} az androgének bioszintézise során egy kétlépéses folyamatot katalizál; elsőként a metilketon oldalláncú szteroid prohormonokat (pregnenolon, progeszteron) 17 α -hidroxilázzá alakítja (17 α -hidroxiláz aktivitás), majd ezt követi a 17-es helyzetű oldallánc hasítása (C_{17,20}-liáz aktivitás). Az abirateronhoz hasonló szerkezetű 17-exo-heterociklusok enzimgátlása azzal magyarázható, hogy a gyűrű heteroatomja nemkötő elektronpárja révén koordinálódni képes az enzim hem prosztetikus csoportjának vasatomjához. A szteránváz D-gyűrűjében lévő 16,17-helyzetű kettős kötés szerepe a kölcsönhatás szempontjából vitatott, de ez utóbbi szerkezeti elem hiánya általában csökkenti vagy megszünteti az enzimgátló aktivitást.²⁸ A 3 β -OH csoport ugyanakkor az aktív hely F-hélixének 202-es aszparaginjával létesít H-hídkötést. Az enzimgátlás szempontjából kedvező a szubsztituens nem tartalmazó, vagy kis méretű funkciós csoporttal szubsztituált öt-, illetve hattagú heteroaromás gyűrű, amely a 17-es szénatomhoz kapcsolódó szén- vagy nitrogénatomhoz képest 3-as és/vagy 4-es helyzetben további nitrogénatomot hordoz.²⁹ Egy cP450_{17 α} -gátló hatóanyaggal szemben ideális esetben az lenne az elvárás, hogy az enzimnek csupán az androgének képződését közvetlenül katalizáló C_{17,20}-liáz aktivitását gátolja, mivel a 17 α -hidroxiláz aktivitás folytán képződő köztitermékek egyúttal a kortikoszteroidok szintézisének kiindulási anyagai is. Szelektív inhibíció hiányában (pl. az abirateron esetén is) a kortikoszteroidok endogén szintézise is gátlást szenved, ami a cP450_{17 α} inhibitor prednizonnal való együttadását teszi szükségessé.^{28,29} Az új típusú androsztánváz 17-exo-heterociklusok racionális tervezése, a szubsztitutumok szerkezetalapú optimalizálása, az esetlegesen több támadásponton ható vegyületek kutatása továbbra is a tudományos érdeklődés középpontjában áll a forgalomban lévő inhibitornál hatásosabb és szelektívebb származékok megtalálása érdekében.

Az utóbbi időben számos, különböző funkciós csoporttal,³⁰ illetve heterociklusos molekularésszel módosított szteránvázas vegyületről,³¹ köztük néhány abirateron analogonról³² azt is igazolták, hogy közvetlenül képesek a ráksejtek osztódását gátolni a sejtciklus befolyásolása és a programozott sejthalál (apoptózis) indukciója révén, bár az ilyen vegyületek hatásmódja meglehetősen összetett, és a pontos hatásmechanizmusuk kevésbé tisztázott. Ez utóbbi tény figyelembevételével azonban a legkülönbözőbb szerkezetű vegyületek véletlenszerű tesztelése hasznos szerkezet–hatás összefüggések felismeréséhez, illetve esetlegesen új vezérmolekulák megtalálásához vezethet. Az apoptózis indukciót célzó hatóanyagok a hormon-független ráktípusok kezelésére is lehetőséget kínálnának, így számos, az apoptotikus mechanizmusokban szerepet játszó faktor befolyásolása révén ható vegyület van jelenleg is a klinikai kipróbálás valamelyik fázisában.³³

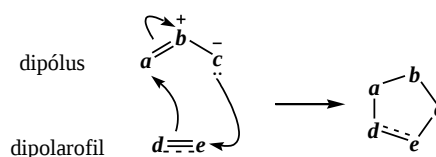
A szteroidok kutatása nem csupán gyógyászati, hanem kémiai szempontokat figyelembe véve is érdekes kihívás, hiszen jó néhány ismert reakció az egyszerűbb molekulákhoz képest más hozammal, eltérő szelektivitással játszódik le, valamint a vázhoz kondenzált vagy ahhoz kapcsolódó új heterogyűrű konformációs mozgási lehetőségei is módosulhatnak. Szteránvázas vegyületeken ugyanakkor olyan egyedi reakcióutak is gyakran megfigyelhetők, amelyek kisebb molekulákra nem általánosíthatók.^{34–36} A nemi hormonok alapvázának a gyűrűk *transz* kapcsolódásából adódó lapos, viszonylag merev szerkezete, valamint a molekulák általános síkja felett elhelyezkedő, β -térállású anguláris metilcsoport(ok) számottevő mértékben képes(ek) befolyásolni a kémiai reakciók régió- és sztereoszelektivitását.

A beépítésre kerülő, általában öt- vagy hattagú, egy vagy több heteroatomot (O, N, S, P) tartalmazó gyűrűk számos fajtája ismert a heteroatomok típusától, számától, relatív elhelyezkedésétől és a gyűrű (részlegesen) telített vagy aromás jellegétől függően. Mivel az előállításukra is igen változatos kémiai reakciók állnak rendelkezésre, ezért az irodalmi áttekintés részben csak azon gyűrűrendszereket, illetve a kialakításukra alkalmas módszereket említem részletesen, amelyeket munkánk során szteránvázas vegyületek szerkezeti módosítására, és ezáltal heterociklusos szteroidok szintézisére használtunk fel. A kísérleti eredmények fejezetben esetenként a hasonló szerkezetű, de más szintézisúton előállított származékokat a hatástani eredmények összehasonlíthatósága végett egymást követően tárgyalom. Az irodalomjegyzék közleményeire történő hivatkozásokra a felső indexben feltüntetett számok utalnak, míg a saját eredményekhez tartozó, mellékletben szereplő publikációk idézése kék színnel kiemelt szögletes zárójel használatával történik.

2. Irodalmi áttekintés

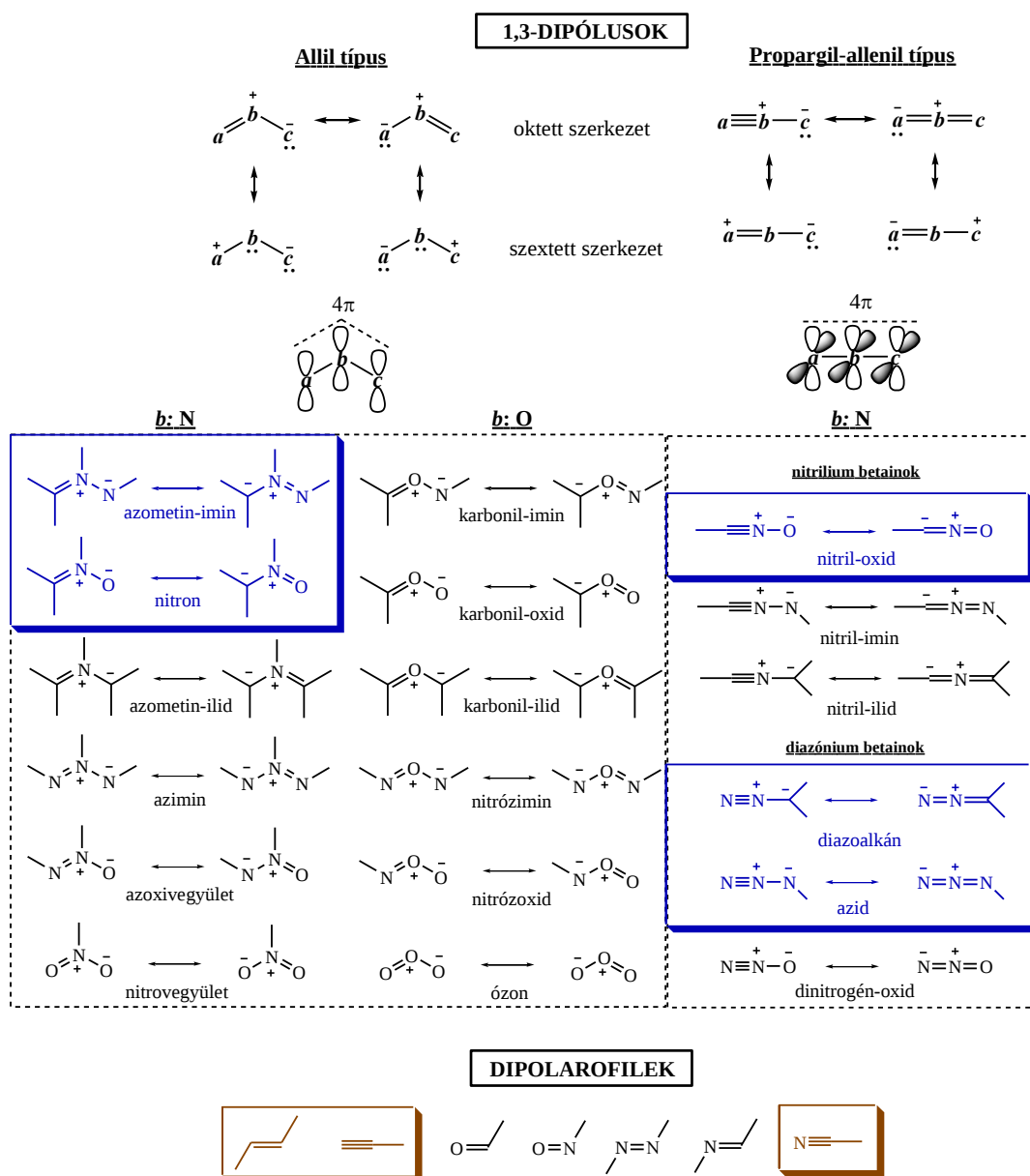
2.1. Öttagú heterociklusok szintézise 1,3-dipoláris cikloaddícióval (1,3-DC)

Az 1,3-DC, amely az 1960-as évektől kezdve *Rolf Huisgen* nagy volumenű munkásságának köszönhetően vált igazán népszerűvé a szerves kémiai gyakorlatban, kizárólag öttagú heterociklusok kialakítására alkalmas módszer.³⁷ A reakció során egy 1,3-dipoláris sajátságú molekula egy két- vagy háromszoros kötést tartalmazó ún. dipolarofillel reagál (**1. ábra**). A célra alkalmas 1,3-dipólusok sokfélesége és a dipolarofilként használható vegyületek nagy száma szinte határtalan lehetőséget kínál a legkülönbébb, változatos módon továbbalakítható gyűrűk kialakítására. A cikloaddíciók során a reakciópartnerek geometriája által meghatározott konfigurációjú új aszimmetriacentrumok jöhetnek létre, továbbá egyes esetekben a régióizoméria lehetőségével is számolni kell, ami a reakciók régió- és sztereoszelektivitásának királis szteránvázis modellen történő tanulmányozását mindenképpen érdekessé teszi.



1. ábra: Az 1,3-DC általános reakciósémája

Az 1,3-dipólusok két nagy csoportjába tartozó (allil és propargil-allenil típusú) molekulák ikerionos oktett/szextett szerkezetek, amelyek közös jellemzője, hogy 4π elektron három atomon (**a**, **b**, **c**) delokalizálódik (**2. ábra**). Az allil típusú dipólusok hajlított szerkezetűek, központi atomként általában nitrogén- vagy oxigénatomot (ritkán kén- vagy foszforatomot) tartalmaznak, míg a propargil-allenil dipólusok lineárisak, és mindig centrális nitrogénatomot hordoznak. Dipolarofil reakciópartnerként általában alkének és alkinek jöhetnek szóba, bár egyes heteroatomot tartalmazó dipolarofilek (karbonil-, nitrozo- és azovegyületek, iminek, nitrilek) szintén 1,3-DC-ra készíthetők.³⁸ A **2. ábrán** szereplő, leggyakrabban alkalmazott 1,3-dipólusok és dipolarofilek közül a feketétől eltérő színekkel kiemelve azokat a szerkezeteket tüntettem fel, amelyeket átalakításaink során a szteránvázis heterociklusok előállításához használtunk, így a továbbiakban csak ezek tárgyalására térek ki.



2. ábra: Néhány gyakran alkalmazott 1,3-dipólus és dipolarofil szerkezete

2.1.1. Klasszikus (Huisgen-féle) 1,3-DC

Az 1,3-DC mechanizmusát illetően kétféle elképzelés született; bizonyos rendszerek tanulmányozása során a koncertikus,³⁷ míg másoknál a kisebb sztereoselektivitást biztosító kettős-gyökös vagy ikerionos, lépcsőzetes mechanizmust³⁹ tartották valószínűbbnek. A Huisgen által feltételezett periciklusos reakciók jellemzője, hogy a dipóluson lévő különböző szubsztituensek minősége, valamint az oldószer polaritása kevéssé befolyásolják a cikloaddíció sebességét, ugyanakkor a gyűrűzárások sztereospecifikusak abban az értelemben, hogy a dipolarofil minden esetben megtartja a konfigurációját a reakció során

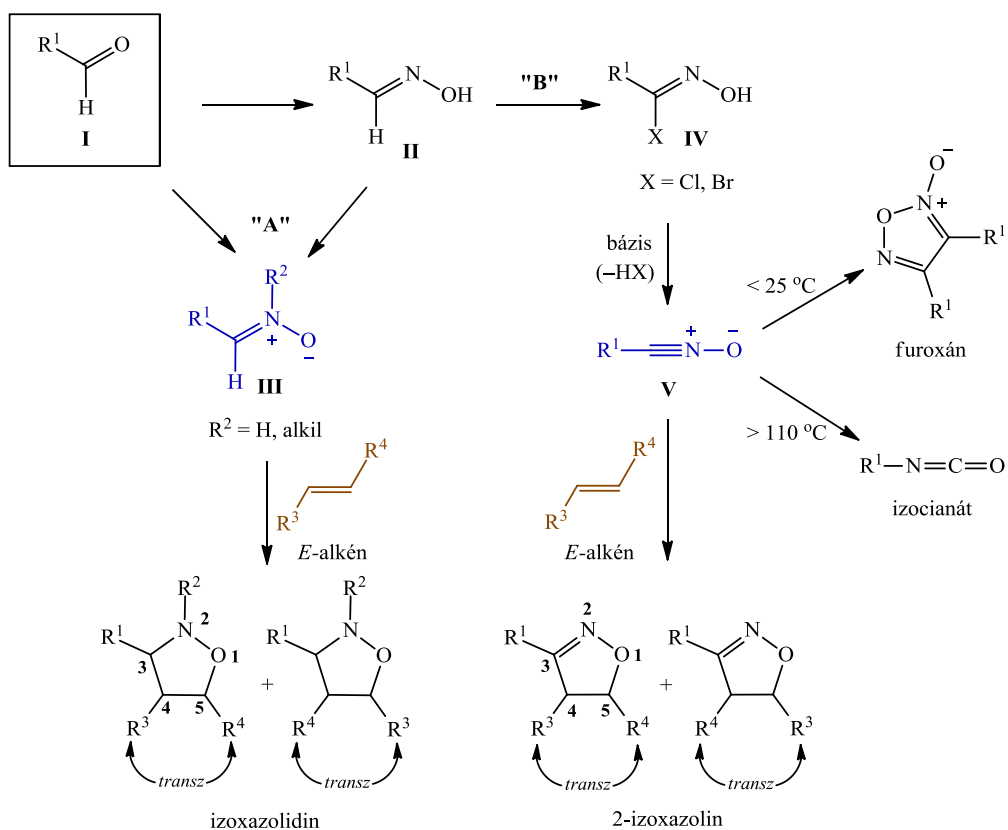
(pl. *Z*-alkénből *cisz*-diszubsztituált, *E*-alkénből *transz*-diszubsztituált termék képződik). A ma legelfogadottabb nézet szerint az 1,3-DC koncertikus mechanizmust követ, azonban az új kötések kialakulása nem egyszerre történik (aszinkron folyamat).⁴⁰ A cikloaddíciók egy jelentős része termikus aktiválással megy végbe, azaz a reaktánsokat valamilyen magas forráspontú oldószerben hosszú időn keresztül forralják. Ismereteseek azonban a *Brønsted*-sav katalizátor jelenlétében, illetve MW-besugárással lejátszódó reakciók is. A gyűrűzárás gyakran kettő vagy több új kiralitáscentrum létrejöttéhez vezet, ami diasztereomerek képződését eredményezheti. A diasztereoszelektivitást azonban a *Diels-Alder* reakciótól eltérően ebben az esetben nem csupán elektronikus, hanem sztérikus faktorok is befolyásolják. Nem szimmetrikus reakciópartnerek esetén a régióizoméria lehetősége is felvetődik; a régiószelektivitást szintén elektronikus és sztérikus tényezők együttesen határozzák meg. Királis 1,3-dipólust, dipolarofilt vagy *Lewis*-sav katalizátort alkalmazva a cikloaddíciók régió- és sztereoszelektivitása nagymértékben növelhető.^{41,42} A *Lewis*-sav dipolarofilhez vagy dipólushoz történő koordinációja révén csökkenti a reakciópartnerek LUMO és HOMO pályae energiáinak különbségét, megnövelve ezzel a reakció sebességét.⁴³

Az 1,3-dipólusok többsége nem stabilis molekula, hanem alkalmas előanyagaikból a reakcióelegyben (a dipolarofil jelenlétében) *in situ* képződnek. A kevés kivételek közé tartoznak a propargil-allenil típusba tartozó szerves azidok, amelyek stabilis vegyületek. Az azometin-imin, nitron, nitril-oxid és diazoalkán dipólusok (**2. ábra**) közös jellemzője, hogy prekursor vegyületeik megfelelő reagensek segítségével aldehidekből könnyen előállíthatók. A dipólusok alkénnel bekövetkező 1,3-DC-ja öttagú részlegesen vagy teljesen telített *N,O*-, illetve *N,N*-heterociklusok kialakulásához vezet. A propargil-allenil dipólusok (nitril-oxid, azid) hármas kötést tartalmazó dipolarofilekre (alkin, nitril) történő 1,3-DC-ja ugyanakkor heteroaromás gyűrűrendszerek szintézisére kínál lehetőséget.

2.1.1.1. *N,O*-heterociklusok (izoxazolidinek, 2-izoxazolinok) előállítása

Termikus körülmények között aldehidekből (**I**) *N*-szubsztituált hidroxilaminokkal, illetve aldoximokból (**II**) 1,2-protonvándorlással nitron dipólusok (**III**) generálhatók (**3. ábra, "A"**), amelyek olefinekkel végbemenő 1,3-DC-ja izoxazolidin származékokat eredményez.^{44,45} A nitronok 1,3-DC-ja általában magas hőmérsékleten valósítható meg,^{46,47} de ismereteseek *Lewis*-sav által katalizált, enyhébb körülmények között kivitelezhető reakciók is.^{48,49} A termikus cikloaddíciók koncertikus mechanizmust követnek, de a C–O kötés kialakulását a legtöbb esetben a C–C kötés létrejötte előzi meg.⁵⁰ A *Lewis*-sav jelenléte tovább növeli a

folyamat aszinkronitását és ebben az esetben a nitron és az olefin sokkal inkább tekinthető elektrofil és nukleofil reakciópartnernek, mintsem dipólusnak és dipolarofilnek.^{51,52} Az 1,2-diszubsztituált alkének dipolarofilként történő alkalmazása során a gyűrűzárás általában régiószelektív, ha az R^3 vagy R^4 csoportok egyike elektronvonzó, ilyenkor ugyanis ez utóbbi csoport a termékben mindig a 4-es szénatomhoz kapcsolódik. Nem aktivált dipolarofil esetén azonban régióizomerek keveréke képződik.⁵³ Az intramolekuláris reakció, amikor a reakciópartnerek ugyanazon molekula alkotórészei, számos előnnyel rendelkezik az intermolekuláris változathoz képest. Az entrópia tényező miatt ezen folyamatok aktiválási energiája kisebb, ezért alacsonyabb hőmérsékleten és kevésbé reaktív reakciópartnerek esetén is kivitelezhetők. A korlátozott konformációs mozgási lehetőségek miatt ugyanakkor az átalakításokat nagyobb régió- és diasztereoselektivitás kíséri.^{54–56}



3. ábra: Izoxazoli(di)nek előállítása *nitron/alkén*, illetve *nitril-oxid/alkén* 1,3-DC-val

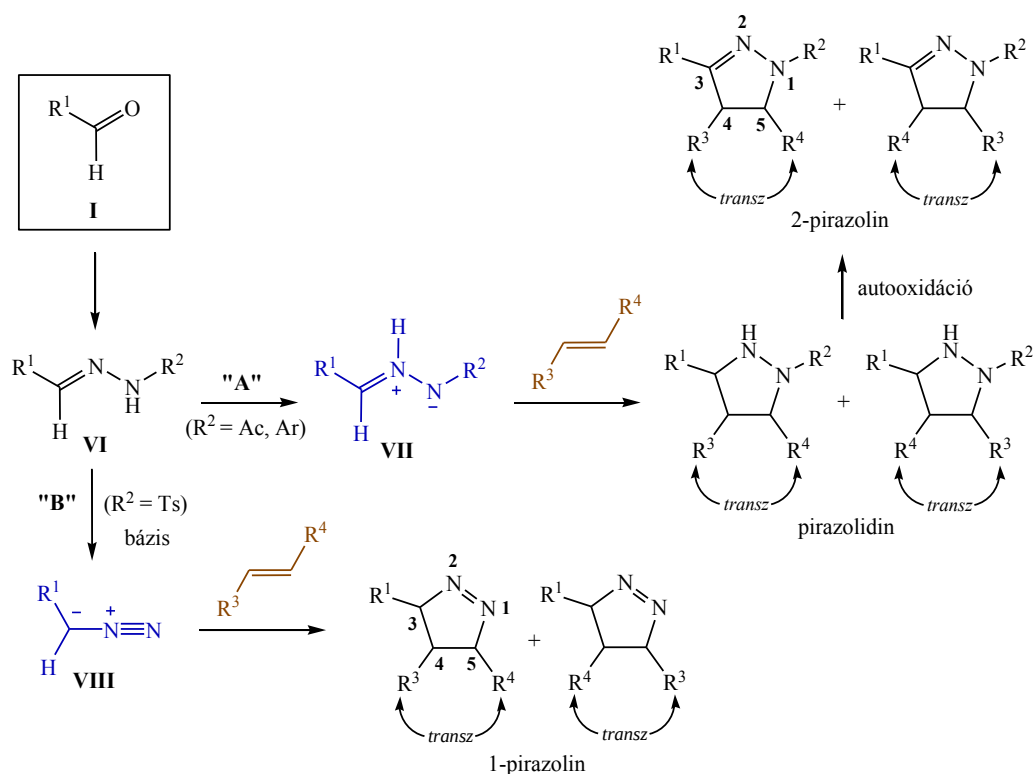
Az aldoximokból (II) előállított hidroximidoil-halogenidekből (IV) bázis hatására egy másfajta szerkezetű dipólus, nitril-oxid (V) képződik (3. ábra, "B"), amelynek szubsztituált olefinekkel történő gyűrűzárása 2-izoxazolinokhoz vezet.^{57,58} Reakciópartner (pl. alkén) hiányában 25 °C-on vagy annál alacsonyabb hőmérsékleten a nitril-oxidok (V) furoxánná dimerizálódnak. Az elektronvonzó R^1 szubsztituens jelenléte fokozza a dimerizációra való

hajlamot, míg az elektronküldő csoportok, valamint az aromás nitril-oxidok esetében az *orto*-helyzetű szubsztituens(ek) megléte (sztérikus okokból) ellenállóbbá teszik a dipólust a dimerizációval szemben. Magasabb hőmérsékleten ($> 110\text{ }^{\circ}\text{C}$) a dimerizációra nem hajlamos nitril-oxidok esetén az izocianáttá történő átrendeződéssel kell számolni. Ezen mellékreakciók kisebb-nagyobb mértékben dipolarofil jelenlétében is bekövetkeznek, csökkentve ezáltal a kívánt cikloaddíciós termék, azaz a 2-izoxazolin hozamát. A nitril-oxidokat (**V**) leggyakrabban aldoximok (**II**) klórozásával vagy brómozásával, majd a képződő hidroximidoil-klorid vagy -bromid (**IV**) bázis hatására bekövetkező dehidrohalogénezésével állítják elő.⁵⁹ A nitril-oxidok (**V**) monoszubsztituált alkénre történő addíciója régiószelektíven 5-szubsztituált izoxazolint eredményez, ugyanakkor 1,2-diszubsztituált dipolarofilek felhasználásakor régióizomerek keveréke képződik.

A bemutatott módszerekkel előállítható izoxazolidinek és 2-izoxazolinok fontos szerkezeti egységét képezik számos biológiailag aktív molekulának,⁶⁰ illetve értékes köztitermékei jó néhány természetes vegyület (pl. alkaloidok, aminosavak, antibiotikumok) szintézisének.⁶¹ Mindez azon tulajdonságuknak köszönhető, hogy stabilitásuk folytán a heterogyűrű céltól függően akár tovább funkcionálizálható, vagy megfelelő körülmények között felnyitható, és belőle 1,3-aminoalkoholok,⁶² α,β -telítetlen ketonok⁶³ vagy β -hidroxikarbonilvegyületek nyerhetők.⁶⁴

2.1.1.2. *N,N*-heterociklusok (pirazolidinek, pirazolinok) szintézise

Az aldehidhidrazonokból (**VI**) előállítható dipólusok olefinekkel végbemenő 1,3-DC-ja különböző, részlegesen vagy teljesen telített pirazol származékok előállítására ad lehetőséget (**4. ábra**).⁶⁵ Az acil- és arilhidrazonok (**VI**, $R^2 = \text{Ac, Ar}$) telítetlen vegyületekkel általában magas hőmérsékleten reagálnak egy azometin-imin intermedieren (**VII**) keresztül, amely a hidrazonból 1,2-protonvándorlással képződik a reakció körülményei között (**4. ábra**, "A").^{66,67} A gyűrűzárás elsődleges termékei pirazolidinek, amelyek azonban nem mindig izolálhatók, hanem gyakran már a reakció, illetve a feldolgozási és/vagy a tisztítási lépések során a megfelelő 2-pirazolinná⁶⁸ (ritkán pirazollá⁶⁹) oxidálódnak. Az alacsonyabb hőmérsékleten, sztöchiometrikus mennyiségű *Brønsted*-sav jelenlétében elvégzett, inkább ionos mechanizmussal értelmezhető hasonló átalakítások is ismertek.⁷⁰ A *Lewis*-sav katalizátor alkalmazása,^{71–73} valamint a reakciók intramolekuláris módon történő megvalósítása ebben az esetben is nagymértékben növeli a folyamat régió- és sztereoszelektivitását.⁷⁴



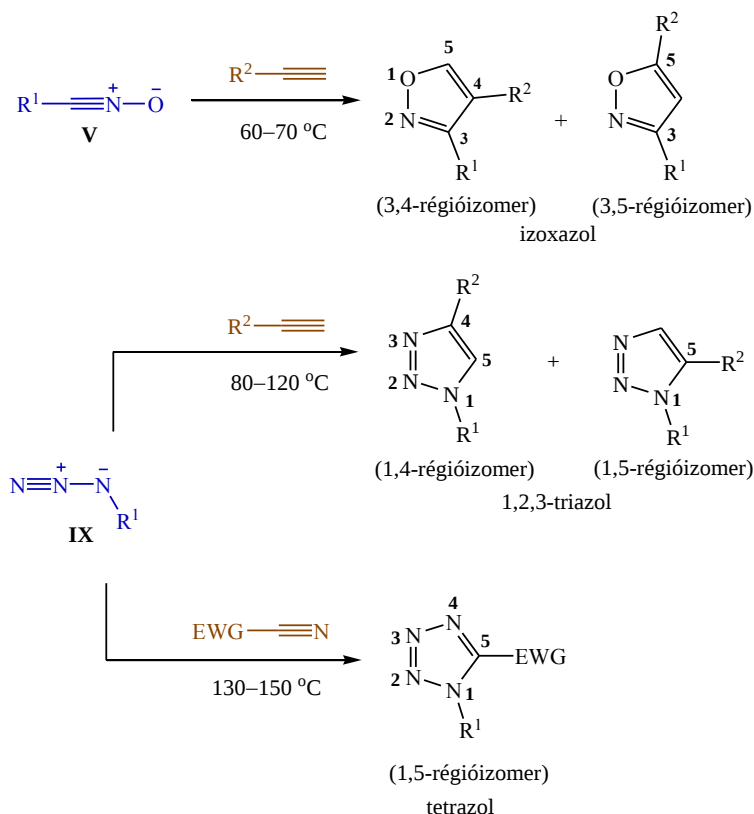
4. ábra: Pirazoli(di)nek előállítása *azometin-imin/alkén*, illetve *diazoalkán/alkén* 1,3-DC-val

Az előzőektől eltérően az aldehidekből (**I**) előállítható tozilhidrazonok (**VI**, $R^2 = \text{Ts}$) az 1,3-dipólusok egy másik fajtájának generálására alkalmas vegyületek. A tozilhidrazonok bázissal képzett sóinak termolízise ugyanis diazoalkán dipólusok (**VIII**) *in situ* képződéséhez vezet (**4. ábra**, "B"), amelynek alkén dipolarofíllal történő cikloaddíciója 1-pirazolin származékokat eredményez.⁷⁵ Az egy lépéses, négycentrumú mechanizmussal értelmezhető reakciótípusnak számos intramolekuláris változatát tanulmányozták, amelyek némelyikében a pusztán elektronikus tényezőkkel nem magyarázható régiószelektivitást tapasztaltak. Valószínű, hogy ezekben az esetekben szterikus faktorok is befolyásolják a reakciók kimenetelét és ezáltal a keletkező termék szerkezetét.⁷⁶ A tozilhidrazonok Lewis-sav jelenlétében bekövetkező gyűrűzárása inkább többlépéses, karbokation átmeneti állapoton keresztüli átalakulással magyarázható, de szintén 1-pirazolin cikloadduktumokhoz vezet.

A pirazolidinek jelentőségét az adja, hogy belőlük N–N kötéshasítás révén változatosan továbbalakítható, királis 1,3-diaminok nyerhetők,⁷⁷ ugyanakkor számos pirazolin szerkezeti elemet tartalmazó vegyület, köztük szteránvázis származékok is, jelentős farmakológiai aktivitást mutatnak. Ismeretesek láz- és fájdalomcsillapító,⁷⁸ gyulladáscsökkentő,⁷⁹ valamint vércukorszint-csökkentő hatású vegyületek is.⁸⁰

2.1.1.3. Heteroaromás vegyületek (izoxazolok, triazolok, tetrazolok) előállítása

A már korábban említett nitril-oxidok (V) alkinekkel katalizátor hiányában is többnyire elfogadható sebességgel reagálnak, azonban a reakciót ebben az esetben is a régiószелеktivitás hiánya jellemzi, és két izoxazol izomer képződésével kell számolni (5. *ábra*). További hátrány, hogy elsősorban a reaktív nitril-oxidok esetén melléktermékek képződése csökkenti a kívánt cikloadduktumok hozamát.⁵⁹



5. *ábra*: Heteroaromás vegyületek előállítása nitril-oxid/alkin, azid/alkin, illetve azid/nitril 1,3-DC-val

A szerves azidokról (IX) már régóta ismert, hogy termikus körülmények között terminális (vagy láncközi) alkinekkel 1,2,3-triazolok előállítására alkalmasak (5. *ábra*). Az azid/alkin cikloaddíció során a reakciópartnereket valamilyen magas forráspontú oldószerben, hosszú időn keresztül kell forralni, amely az 1,4- és 1,5-regioisomer triazolok közel 1:1 arányú keverékét eredményezi.⁸¹ Az elméleti számítások szerint a régiószелеktivitás hiánya a kétféle termékhez vezető aktiválási energiák hasonlóságával magyarázható.⁸² Néhány kivételes esetben, például nagy térkitöltésű trimetilszilil-csoportot tartalmazó,⁸³ illetve erősen elektronhiányos acetilén származék felhasználásával⁸⁴ sikerült csak valamelyest növelni a szelektivitást.

A szerves azidok (IX) elektronvonzó csoportot (EWG) tartalmazó aktivált nitrilekkel végbemenő reakciója ugyanakkor régiószelektív, és kizárólag 1,5-diszubsztituált tetrazolok képződéséhez vezet (5. *ábra*), de itt is hátrányként említhető, hogy a megfelelő konverzió eléréséhez erélyes reakciókörülmények és hosszú reakcióidő alkalmazására van szükség.^{85,86} Bár acil- és *p*-toluolszulfonil-cianid dipolarofilek felhasználásával, oldószermentes közegben sikerült a termékhozamokat jelentős mértékben növelni, de az átalakítások továbbra is magas hőmérsékletet igényeltek.^{87,88} Megjegyzendő, hogy a nitril reakciópartner Lewis-savval történő aktiválására vonatkozó próbálkozások ebben az esetben kudarcot vallottak, feltehetően azért, mert a Lewis-sav szívesebben képez komplexet az azid komponenssel, mint a nitrillel.⁸⁹

Az említett reakciók a keletkező heteroaromás vegyületek farmakológiai jelentősége ellenére sem kaptak sokáig szintetikus szempontból kellő figyelmet, hiszen a magas hőmérséklet és a hosszú reakcióidő szükségessége, valamint a termékek gyakran – ezek ellenére is – alacsony hozama és/vagy a régiószelektivitás hiánya gátat szabott a szélesebb körű gyakorlati alkalmazásnak. Ráadásul a szerves azidokkal való munkavégzés – főleg a kis molekulatömegű képviselőik mechanikai behatásra vagy hőközléskor tapasztalt robbanással kísért bomlékonysága miatt – nem örvendett túl nagy népszerűségnek a kutatók körében.

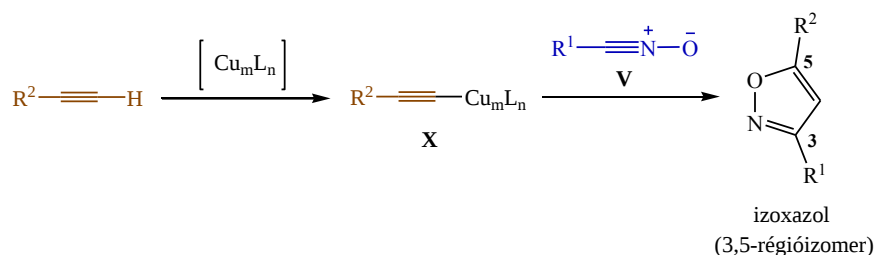
2.1.2. Réz(I)-katalizált 1,3-DC (A "klikk" koncepció)

A szerves azidok kiindulási anyagként való felhasználása hirtelen új lendületet vett, amikor 2001-ben Sharpless nyomán az ún. "klikk" kémia fogalma bekerült a köztudatba.⁹⁰ A "klikk" kémia egy olyan szintetikus koncepció, amelynek lényege, hogy – a természetes anyagok bioszintézisét utánozva – kisebb szerkezeti egységek összekapcsolásával gyorsan, régió- és sztereospecifikusan, nagy hozammal és melléktermékek képződése nélkül lehessen a kívánt vegyület előállítani. További elvárás a könnyen hozzáférhető kiindulási anyagok, a környezetbarát és enyhe reakciókörülmények (víz, mint oldószer vagy oldószermentes közeg) alkalmazhatósága, valamint a termékek egyszerű, lehetőleg kromatográfiát nem igénylő tisztíthatósága. Fontos megemlíteni, hogy a "klikk" reakció kritériumai meglehetősen szubjektívek, és a fent említett szempontok nem minden esetben teljesülnek. A kémia szinte minden területére kiterjedő széles körű alkalmazhatóságuk, a kiindulási anyagok szerkezetétől kevésbé függő nagy hatékonyságuk és a reakciók megbízható és előre jósolható kimenetele azonban mindenképpen megkülönbözteti az ilyen átalakításokat a többi reakciófajtától.

Míg a klasszikus *Huisgen*-féle 1,3-DC különböző típusai általában nem felelnek meg a "klikk" reakcióval szemben támasztott követelményeknek, bizonyos módosított változatai eleget tesznek a *Sharpless*-féle definíciónak. 2002-ben két kutatócsoport munkatársai egymástól független közleményeikben arról számoltak be, hogy réz(I)-katalizátor jelenlétében az azidok (**IX**) terminális alkinekkal végbemenő reakciója nagy sebességgel, enyhe körülmények között játszódik le és melléktermékek képződése nélkül, régiószelektíven kizárólag 1,4-diszubsztituált 1,2,3-triazolok képződéséhez vezet (**6. ábra**).^{91,92} A katalitikus folyamat a szokásos reakcióparaméterekre nem érzékeny, 4–12 pH tartományt tolerál, különleges elővigyázatosságot nem igényel, számos szerves oldószerben, sőt vízben is kivitelezhető. A termékképződést néhány speciális esettől eltekintve⁹³ szterikus faktorok, illetve az alkin és az azid reakciópartnerek elektronikus sajátságaikevessé befolyásolják, így a legkülönbözőbb szerkezetű azidokkal és a terminális acetilének valamennyi képviselőjével elvégezhető.⁹⁴ Az egyes reakciók sebességét illetően azért mutatkozhatnak eltérések, ami a körülmények optimalizálását teheti szükségessé.⁹⁵ Ezen felismerés eredményeként manapság a "klikk" reakció elnevezést igen gyakran a réz(I)-katalizált azid/alkin cikloaddíció (CuAAC) szinonimájaként emlegetik, bár az 1,3-DC néhány egyéb típusára, és más reakciófajtákra is használják. Az azidok a "klikk" kémia számára szinte páratlan sajátságú kiindulási anyagok, mivel vízzel, oxigénnel, valamint a szerves szintetikus körülmények többségével szemben ellenállóak. Ráadásul a termékként képződő triazol is számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik: atom- és elektronszerkezete a peptidkötéshez hasonló, de attól eltérően meglehetősen inert, így hidrolízisre, oxidációra, redukcióra nem érzékeny. Kedvező fizikai-kémiai tulajdonságai, polaritása és H-híd képzési hajlama folytán nagy stabilitást mutat az élő szervezet vizes közegében,⁹⁶ ebből adódóan a gyógyszerkémiaiban is közkedvelt molekuláreszként szerepel a különböző hatóanyagok kutatása során.^{97–99} Számos 1,2,3-triazol szerkezeti elemet hordozó szerves vegyület fejt ki említésre méltó biológiai hatást; vannak köztük baktérium-,¹⁰⁰ allergia-,¹⁰¹ illetve HIV-vírus ellenes szerek,¹⁰² enzim támadáspontú és egyéb hatásmechanizmusú citosztatikus vegyületek.¹⁰³

A CuAAC mechanizmusa a klasszikus cikloaddíciókra általában jellemző koncertikus folyamattal ellentétben a **6. ábrán** szereplő többlépéses körfolyamattal magyarázható, bár a *Huisgen*-féle változathoz képest nagymértékű (10^7 -szeres) sebességnövekedéssel és régiószelektivitással járó folyamat nem minden részletében ismert. Mivel láncközi alkinekkal az átalakulás nem játszódik le, ezért a reakció során réz(I)-acetilid (**X**) kialakulása valószínűsíthető. A réz(I)-ionnak a terminális acetilén π -elektronjaihoz történő

lassabban, míg az elektronokban gazdag 1,3-dipólusok gyorsabban reagálnak. A reakció jelentőségét az adja, hogy az izoxazol molekularész – amely néhány biológiailag aktív természetes előfordulású molekula (pl. iboténsav), illetve gyógyszerhatóanyag (pl. a gyulladáscsökkentő valdecosib vagy az antibiotikus hatású cloxacillin) és szintetikus származék fontos szerkezeti elemét képezi^{61,106} – könnyen és hatékonyan előállítható ezzel a módszerrel.



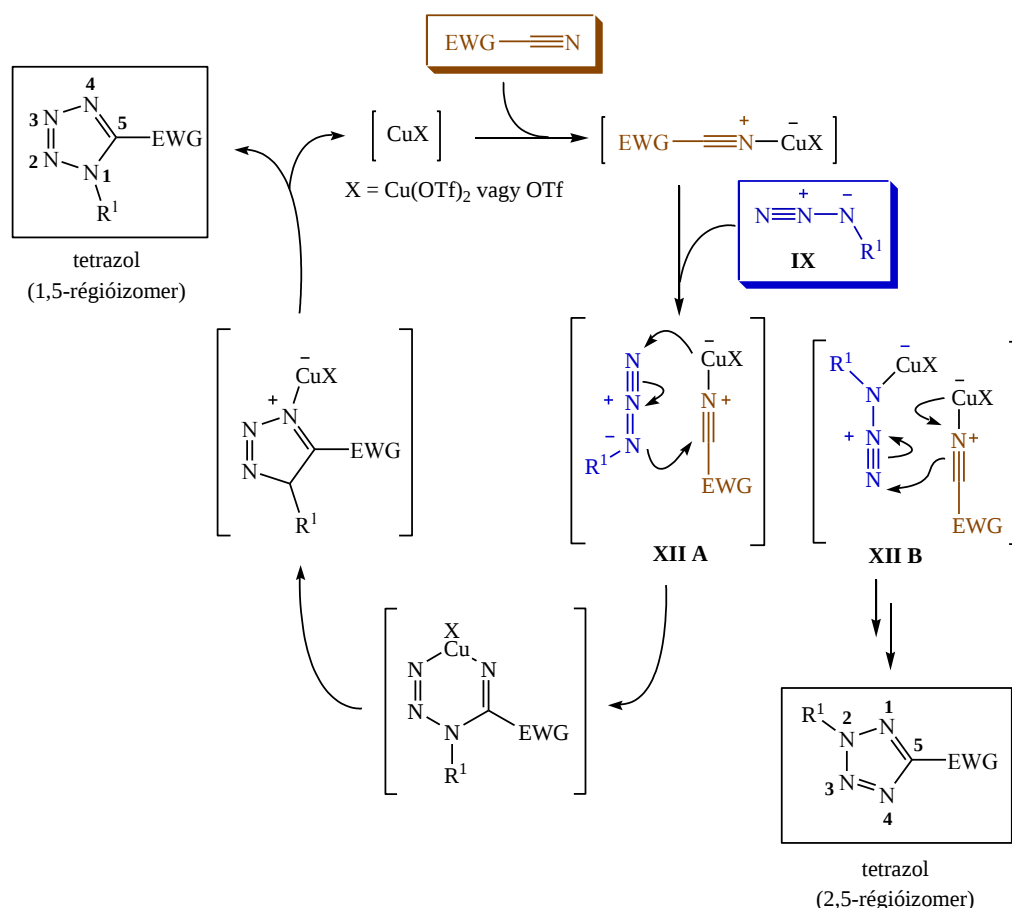
7. ábra: Izoxazolok régiószелеktív szintézise réz(I)-katalizált **nitril-oxid/alkin** cikloaddícióval

A katalitikus reakciónál réz(I)-forrásként számos vegyület jöhet szóba. Mivel az egyes átalakítások során a katalizátor jellege és mennyisége, valamint a termékhozamok között egyértelmű összefüggés nem állapítható meg, minden egyedi reakció esetén a körülmények optimalizálása válhat szükségessé. Legegyszerűbb lehetőségként a réz(I) hozzáadása CuI ^{107,108} vagy CuBr sók^{109,110} formájában történik. A CuI előnye, hogy részlegesen oldódik közepes polaritású oldószerekben (pl. aceton, acetonitril, DMSO), így vízmentes körülményeket igénylő reakciókhoz kiválóan alkalmas. A módszer hátránya, hogy a réz(I)-halogenid eleinte valószínűleg stabilis klasztereket képez, ezért amin bázis (leggyakrabban DIPEA vagy TEA) hozzáadásával, magas hőmérséklettel⁹⁴ vagy ultrahang alkalmazásával¹¹¹ kell biztosítani a megfelelő acetilid anion koncentrációt, amely a reaktív réz(I)-acetilid komplex (X) képződésének nélkülözhetetlen feltétele. A réz(I)-sók használatának további negatívuma, hogy jelenlétükben szükségessé válhat a katalitikusan inaktív réz(II)-vé történő oxidáció megakadályozását szolgáló komplexáló ligandumok hozzáadása vagy inert atmoszféra biztosítása. Nem kívánatos melléktermékek (diacetilének, bisz-triazolok vagy 5-hidroxi-triazolok) keletkezését is gyakran megfigyelték ezekben az esetekben.^{96,112} A gyakran adalékként használt komplexáló ligandumoknak (pl. TBTA,¹¹³ BPS,¹¹⁴ PMDETA¹¹⁵) a réz(I) stabilizálásán túl szerepük van a katalizátor aktivitásának fokozásában, így a reakció sebességének növelésében, hiszen az adott körülmények között javíthatják a katalizátor oldhatóságát, és közvetlenül a mechanizmusban is részt vehetnek.^{94,116} A katalizátorként

szolgáló réz(I)-et a reakcióelegyhez adott, a réz(I)-sóknál kevésbé költséges és általában nagyobb tisztaságú, réz(II)-sók ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$) *in situ* redukciójával is elő lehet állítani. Redukálószerként leggyakrabban aszkorbinsavat vagy annak nátrium sóját használják.^{117,118} Az eljárás főleg vizes közegű reakcióknál vált be; előnye, hogy nincs szükség a levegő oxigénjének kizárására. A réz(I) forrás biztosítására egyéb lehetőségek is kínálkoznak; gyakori pl. az elemi réz por, forgács¹¹⁹ vagy nanorészecskék¹²⁰ formájában történő alkalmazása réz(II)-adalék jelenlétében vagy anélkül, illetve különböző szerves oldószerekben is oldható réz-komplexek,¹²¹ valamint módosított zeolitok használata.¹²²

A réz(I)-komplexek közül *Bosch* és munkatársai a réz(I)-triflátok jelentős katalitikus aktivitásáról számoltak be azidok (**IX**) aktivált (EWG-szubsztituált) nitrilekkel végbemenő 1,3-DC-ja során (**8. ábra**).¹²³ A reakció klasszikus, nem katalizált változatához képest azt tapasztalták, hogy 1–10 mol% $\text{Cu}_2(\text{OTf})_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_6$ komplex jelenlétében a gyűrűzárás már szobahőmérsékleten végbemegy, és igen magas hozammal szolgáltatja az 1,5-diszubsztituált tetrazolt. A reakció további érdekességét az adja, hogy a katalizátor mennyiségét 100 mol%-ra növelve elsősorban a *Huisgen*-féle 1,3-DC során a magas aktiválási gát miatt⁸⁶ egyáltalán nem képződő 2,5-diszubsztituált régióizomer jön létre (vö. **5. ábra**). A szerzők a mechanizmust a **8. ábrán** szereplő katalitikus körfolyamattal értelmezték; az 1,5-tetrazol keletkezését az azidocsoport réz(I)-hez komplexált nitrilre történő addíciójával magyarázták (**XIIA**), míg a 2,5-izomer keletkezése során mindkét reakciópartner réz(I)-komplexének kialakulását és a reaktánsok egymáshoz képesti fordított orientációját (**XIIB**) valószínűsítették. A triazolok mellett a tetrazolok is fontos szerkezeti egységnek számítanak a gyógyszerkémiában, hiszen gyakran használják őket a karboxilcsoport bioizoszter helyettesítésére.^{124,125}

Annak ellenére, hogy az elmúlt hetven év során számos réz-katalizált szerves szintézist tanulmányoztak, szinte meglepő, hogy a CuAAC, valamint egyéb változatai csak a XXI. század elején kerültek felfedezésre. Az ok valószínűleg a szerves azidoktól való sokszor indokolatlan félelemnek, és éppen ezért az azidocsoport sokáig alábecsült szerepének tulajdonítható. Felismerése óta azonban a folyamat hatalmas jelentőségre tett szert és a kémia számos területén, így a peptid-¹²⁶ és cukorkémiában,¹²⁷ a természetes vegyületek módosításában,¹²⁸ valamint polimerek,^{129,130} folyadékkristályok,¹³¹ dendrimerek^{132,133} és fluoreszcens jelzőmolekulák⁹⁷ szintézisében nyert alkalmazást.

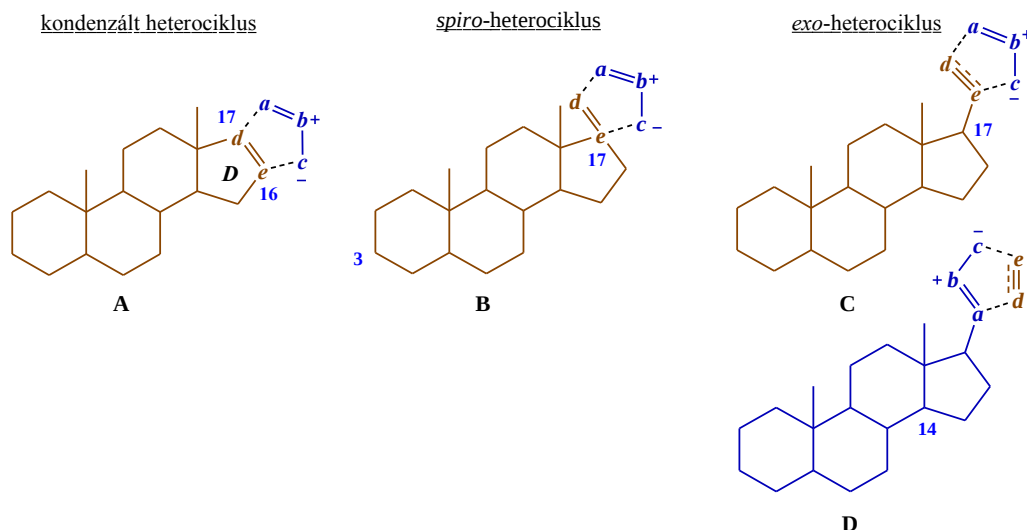


8. ábra: Réz(I)-katalizált *azid/nitril* cikloaddíció feltételezett mechanizmusa

2.1.3. Az 1,3-DC és réz(I)-katalizált változatainak alkalmazása heterociklusokkal módosított nemi hormon származékok szintézisére

Az 1,3-DC és főként a katalitikus "klikk" változatainak robusztus jellege ellenére is viszonylag kevés példa található a szakirodalomban szteránvázas vegyületeken, különösen nemi hormon analogonokon történő alkalmazásukra. A leggyakoribbak ezek közül az intermolekuláris reakciók, amelyek során a váz adott helyzetében, illetve oldalláncban 1,3-dipólus vagy dipolarofil molekularészt hoznak létre, majd ezt a megfelelő reakciópartnerrel reagáltatják (9. ábra). Abban az esetben, ha szteránvázas dipolarofilt használnak, akkor a reaktív centrum leggyakrabban kettős kötés, amely lehet vázon belüli (A), valamelyik gyűrűt alkotó szénatomon kialakított (B), de oldalláncban is elhelyezkedhet közvetlenül a vázhoz kapcsolódva (C) vagy attól néhány atomnyi távolságra. Értelemszerűen alkin molekularész, mint dipolarofil csak alkenil szubsztituensként jöhet számításba (C). Endociklusos kettős kötés esetén vázhoz kondenzált (A), gyűrűn kívüli dipolarofil esetén *spiro-* (B), vagy *exo-*

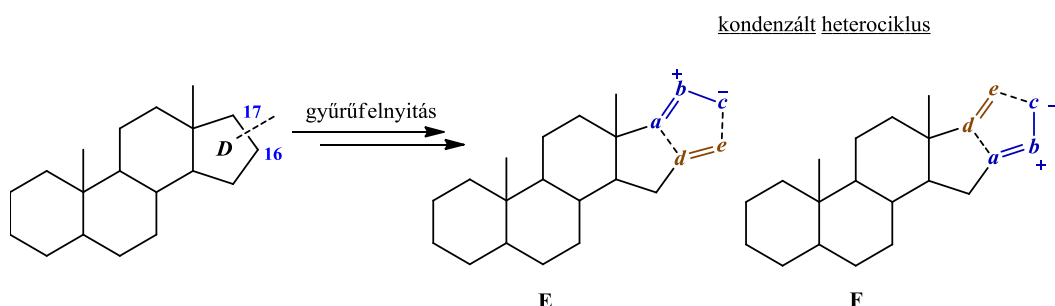
heterociklus (C) kialakítására van mód. A másik lehetőségként szteránvázas dipólust reagáltatnak kettős vagy hármas kötésű reakciópartnerrel, mely szintén vázhoz kapcsolódó heterogyűrű (D) képződéséhez vezet.



9. ábra: Szteránvázas heterociklusok intermolekuláris 1,3-DC-val történő előállításának szintetikus stratégiái a D-gyűrűn bemutatva

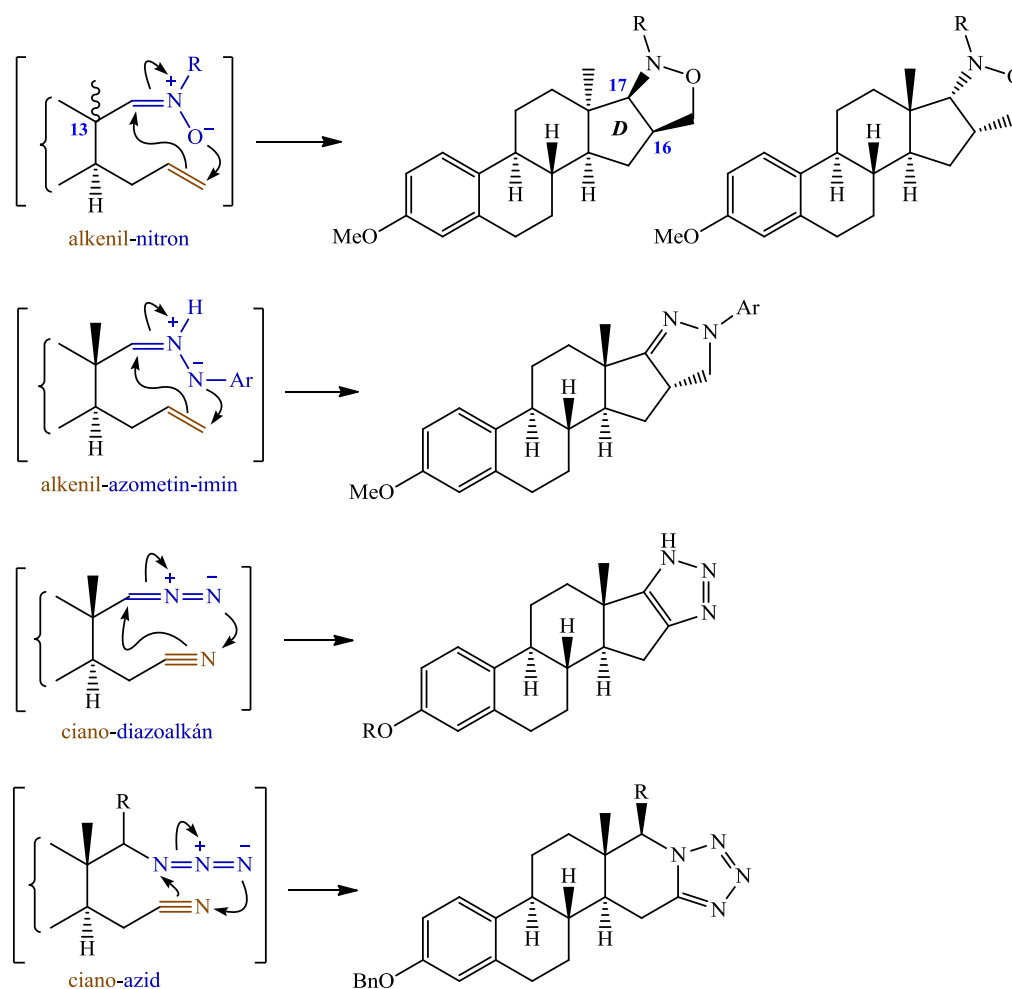
Az említett stratégiák közül az A–C módszerrel kialakított heterociklusokra elsősorban különböző C₁₉-alapvázakhoz 16,17-helyzetben kondenzált, azokhoz kapcsolódó 17-*exo*-, valamint 3- és 17-*spiro*-izoxazolinokra található irodalmi példa,^{134,135} tekintettel a nitril-oxidok (V, ld. 3. ábra) korábban már említett egyszerű *in situ* generálására és a többi dipólushoz viszonyított nagyobb reaktivására. Ezen termikus cikloaddíciókat azonban csekély régió- és sztereoszelektivitás kíséri. Ösztránvázhhoz 17-es helyzetben kapcsolódó izoxazol származék nagy hozamú, régiószelektív szintézisééről ugyanakkor Sharpless és munkatársai számoltak be.¹⁰⁵ A reakciót 17 α -etinil-oldalláncot tartalmazó ösztronszármazék és aromás nitril-oxid (V) réz(I)-katalizált 1,3-DC-val végezték (vö. 7. ábra). Baranovsky és kutatócsoportja néhány, a D módszeren alapuló, ösztránváz 14-es helyzetéhez metilén hídon keresztül kapcsolódó izoxazolint és izoxazolt állítottak elő szteránvázas nitril-oxid, valamint alkén és alkin dipolarofilek 1,3-DC-jával.¹³⁶ A D stratégia kézenfekvő lehetőségként merül fel szteránvázas triazolok CuAAC-val történő előállítására is, bár a módszert elsősorban epesav konjugátumok^{137,138} szintézisére használják, és csak kevés nemi hormon alapú módosítási kísérlettel találkozhatunk. Ez utóbbiak esetén a triazol-gyűrű a 17-es szénatomhoz közvetlenül^{139,140} vagy karbonilmetil linkerén keresztül kapcsolódik,¹⁴¹ és néhány vegyület ráksejt osztódás gátló hatásáról is beszámoltak.^{139,141}

Az eddig felsorolt intermolekuláris 1,3-DC-kon kívül a nagyobb sztereo- és régiószelektivitást biztosító intramolekuláris reakciók (**10. ábra**) esetén a megfelelő helyzetű 1,3-dipólus és dipolarofil szteránvázon történő kialakítása okozhat nehézséget, ami erősen korlátozza e reakciók alkalmazását. Ebből adódóan az ilyen átalakításokra igen kevés szakirodalmi példa található. Az általános elv szerint a váz valamely gyűrűjét (ált. a D-gyűrűt a 16,17 szénatomok között) alkalmas reakció segítségével felnyitják, majd az így képződő szeko-származékon (**E**, **F**) történik a cikloaddícióra képes reakciópartnerek kialakítása és az 1,3-DC.



10. ábra: Szteránvázas heterociklusok intramolekuláris 1,3-DC-val történő előállítása a D-gyűrűn bemutatva

A **11. ábra** ösztránváz D-gyűrűjéhez 16,17-helyzetben kondenzált heterociklusok **E** módszer szerint történő kialakítását szemlélteti. Korábban kutatócsoportunkban egy ösztránvázas D-szekoaldehidből *in situ* generált alkenil-nitronok intramolekuláris 1,3-DC-jával ilyen módon állítottunk elő izoxazolidineket mind a 13 α -,¹⁴² mind a 13 β -ösztron sorban.¹⁴³ Arilhidrazonok Lewis-sav jelenlétében elvégzett gyűrűzárása ugyanakkor azometinimin intermedieren keresztül D-gyűrűhöz kondenzált pirazolinokat eredményezett.¹⁴³ Hasonló elgondolással Sakač és munkatársai ösztránvázas nitril fragmentumokból előállított ciano-diazoalkán és ciano-azid köztitermékeken keresztül kondenzált triazolokhoz¹⁴⁴ és tetrazolokhoz jutottak.¹⁴⁵ Az elvégzett reakciók minden esetben nagyfokú sztereoszelektivitást mutattak.



11. ábra: Szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált heterociklusok intramolekuláris 1,3-DC-val történő előállításának szakirodalmi példái

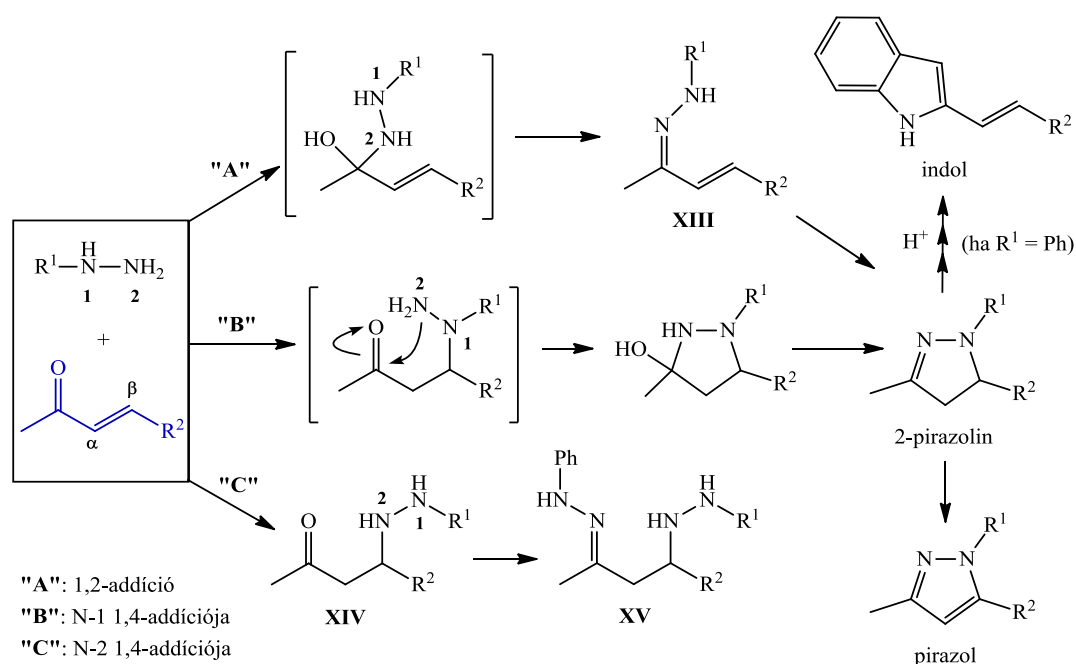
2.2. Öttagú heterociklusok szintézise karbonilvegyületekből

Az 1,3-DC mellett az öttagú heterociklusok előállításának egy másik módját a karbonilvegyületekből (aldehidek, ketonok, karbonsav-származékok) kiinduló olyan szintézisek képezik, amelyek során egy kondenzációs vagy szubsztitúciós lépéssel kialakított intermedier megfelelő reagenssel végrehajtott gyűrűzárásával keletkezik a heteroatomokat tartalmazó gyűrű. A következőkben ezek közül azokat a módszereket foglalom össze, amelyeket átalakításaink során szteránváz heterociklusok előállítására alkalmaztunk.

2.2.1. 2-Pirazolinok előállítása α,β -telítetlen oxovegyületekből

A 2-pirazolinok szintézisének egyik lehetőségét az előzőekben tárgyalt 1,3-DC képezi. A 2.1.1.2. fejezetben ismertetett azometin-imin/olefin cikloaddíció alkalmazása viszonylag ritka, helyette inkább az α,β -telítetlen karbonilvegyületek diazometán vagy nitril-imin 1,3-dipólusokkal (ld. 2. *ábra*) végbemenő reakcióit részesítik előnyben. A 2-pirazolinok előállításának az 1,3-DC-nál egy sokkal népszerűbb és szélesebb körben alkalmazott módszere azonban az α,β -telítetlen oxovegyületek és a különböző hidrazinszármazékok között lejátszódó gyűrűzárás.^{146,147}

Az α,β -enonok és a hidrazinok reakcióinak tanulmányozása régi keletű. Az egyik mechanizmus elképzelés szerint a folyamat hidrazon (XIII) intermediéren keresztül játszódik le (12. *ábra*, "A"), majd savas közegben egy intramolekuláris gyűrűzárás vezet a 2-pirazolinhoz.¹⁴⁸ Egyes szerzők azonban az 1,2-addíció helyett inkább az 1,4-konjugált addíciót ("B" és "C") valószínűsítik az első reakciólépésben.¹⁴⁹ Ebben az esetben a



12. *ábra*: α,β -telítetlen ketonok hidrazinokkal végbemenő reakciójára vonatkozó mechanizmus elképzelések

monoszubsztituált hidrazin mindkét nitrogénje (N-1 és N-2) nukleofilként viselkedve támadást intézhet az enon β -szénatomjára és így különböző termékek képződhetnek. A két reakcióút egymással vetélkedik; míg a sav katalízis inkább az N-1 addíciójának és ennek

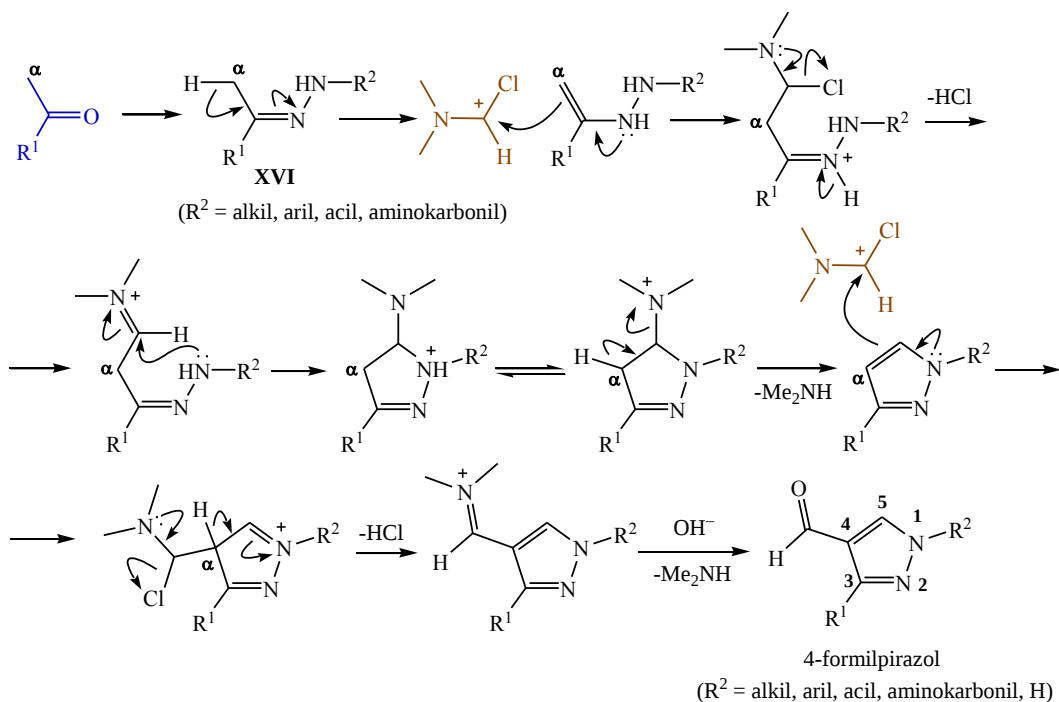
gyűrűzárásával a pirazolin termék kialakulásának kedvez ("B"), addig a bázis katalizátor jelenléte a reagens N-2 atomjának támadását és ezáltal **XIV**, illetve **XV** termékek keletkezését ("C") segíti elő.¹⁵⁰ Megjegyzendő azonban, hogy savas közegben szintén megfigyeltek a **XIV** szerkezetnek megfelelő melléktermék képződést.¹⁵¹ A fenilhidrazin ($R^1 = \text{Ph}$) reagensként való alkalmazása során ugyanakkor sav hatására a 2-pirazolin származék indollá rendeződhet át¹⁵² vagy autooxidáció eredményeként aromás pirazollá alakulhat.⁶⁹ Az elmondottak alapján tehát nyilvánvaló, hogy a telítetlen ketonok hidrazinokkal végbemenő reakciója több terméket is eredményezhet az alkalmazott körülményektől, valamint a karbonilvegyület szerkezetétől függően, így az ilyen típusú reakciók kemoszelektivitásának tanulmányozása mindenképpen érdekes feladat. Ráadásul a reakció új kiralitáscentrum kialakulásához vezethet, emiatt a folyamat az optikailag aktív szteroidok kiindulási anyagként való alkalmazása során nagyfokú sztereoszelektivitást mutathat.

A 2-pirazolinok ezen módszerrel történő előállítása a szteránvázás vegyületek körében is igen népszerű; a módosítások nagy része a váz D-gyűrűjét érinti. Elsősorban androsztánváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó,^{154,155} illetve 16,17-helyzethez kondenzált^{156,157} heterociklusos származékok kialakítására találunk szakirodalmi példákat, amelyek közül jó néhány vegyület jelentős *in vitro* antiproliferatív hatásáról számoltak be. A kondenzált pirazolinok egyes képviselői antiandrogén hatást mutatnak,¹⁵⁸ míg mások erőteljesen gátolják az androgén bioszintézisben kulcsszerepet játszó $5\alpha\text{R}$,¹⁵⁹ illetve az ösztrogének képződését katalizáló aromatáz enzim működését.¹⁶⁰

2.2.2. Pirazol-4-karboxaldehyde előállítása metilketonokból

A heteroaromás pirazolok szintézisének egyik általánosan alkalmazott lehetőségét az 1,3-dikarbonilvegyületek hidrazinokkal végbemenő savkatalizált reakciója képezi,¹⁶¹ míg alternatív megoldásként a nitril-imin 1,3-dipólusok (ld. 2. *ábra*) acetilénekkel lejátszódó 1,3-DC-ja is szóba jöhet.¹⁶² A 4-es helyzetben formilcsoportot tartalmazó pirazolok ugyanakkor metilketonokból képzett alkil-, aril- és acilhidrazonokból,^{163–168} valamint szemikarbazonokból¹⁶⁹ (**XVI**) *Vilsmeier-Haack* reagenssel állíthatók elő (13. *ábra*). A reagens, amely széles körű felhasználást nyer a szerves kémiai gyakorlatban,¹⁷⁰ DMF-ből POCl_3 hatására alacsony hőmérsékleten képződő sószerű adduktum. Elektronban gazdag rendszerekkel elektrofilként reagál. Az említett hidrazonok (**XVI**) esetén a *Vilsmeier-Haack* komplex két különálló lépésben támadja az α -helyzetű szénatomot, amely a folyamat végeredményeként gyűrűzárással és két szénatom beépülésével 4-formilpirazolhoz vezet.¹⁷¹

Bizonyos esetekben a szemikarbazonokkal (**XVI**, $R^2 = \text{CONH}_2$) végrehajtott reakció során az aminokarbonil-csoport eliminációjával monoszubsztituált pirazol-4-karboxaldehidek ($R^2 = \text{H}$) képződését tapasztalták.¹⁷² Bár a ketoximok sok reakcióban a hidrazonokhoz hasonló módon viselkednek, *Vilsmeier-Haack* reagens hatására *Beckmann* átrendeződésre lehet számítani,¹⁷³ így 4-formilpirazolok ezzel a módszerrel nem állíthatók elő.

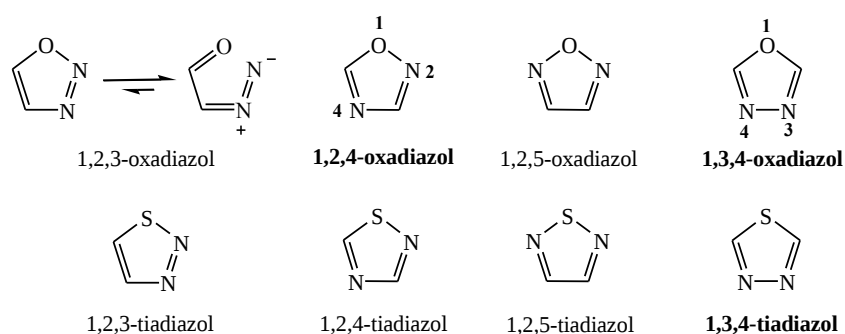


13. ábra: Metilketonokból képzett hidrazon származékok *Vilsmeier-Haack* reagenssel (ellenion: OPOCl_2) bekövetkező reakciójának feltételezett mechanizmusa

A pirazolok számos biológiailag aktív természetes vegyület¹⁷⁴ és gyógyszerhatóanyag szerkezeti részét képezik, vannak közöttük gyulladásgátló,¹⁷⁵ antibakteriális,¹⁷⁶ antidiabetikus,¹⁷⁷ rákellenes¹⁷⁸ és egyéb hatású vegyületek. A 4-formilpirazollal funkcionizált szteránvázis vegyületek igen ritkák,¹⁷⁹ bár számos, egyéb módszerrel előállított gyűrűhöz kondenzált^{10,180,181} vagy ahhoz kapcsolódó pirazol származék szintézisére található szakirodalmi példa.^{182,183} Az utóbbi *exo*-heterociklusok közül különösen fontosak azok az androsztánvázis vegyületek, amelyeknél a pirazol gyűrű a 17-es szénatomhoz kapcsolódik, hiszen néhány képviselőjük az *in vitro* farmakológiai vizsgálatok alapján a cP450_{17α} enzim hatásos inhibitorának bizonyult.^{184–186}

2.2.3. Oxadiazolok és tiadiazolok előállítása karbonilvegyületekből

Az oxadiazolok és a tiadiazolok öttagú gyűrűből álló heteroaromás vegyületek, egy oxigén-, illetve kénatomot és két nitrogénatomot tartalmaznak. Négy-négy régióizomerjük létezik,^{187,188} amelyek közül egyedül az 1,2,3-oxadiazol instabilis és gyűrűfelnnyílással a diazoketon tautomer formájává alakul át (**14. ábra**).¹⁸⁹ Átalakításaink során 1,2,4- és 1,3,4-oxadiazolokat, valamint 1,3,4-tiadiazolokat alakítottunk ki szteránvázas karbonilvegyületekből kiindulva, így részletesen ezeket tárgyalom.



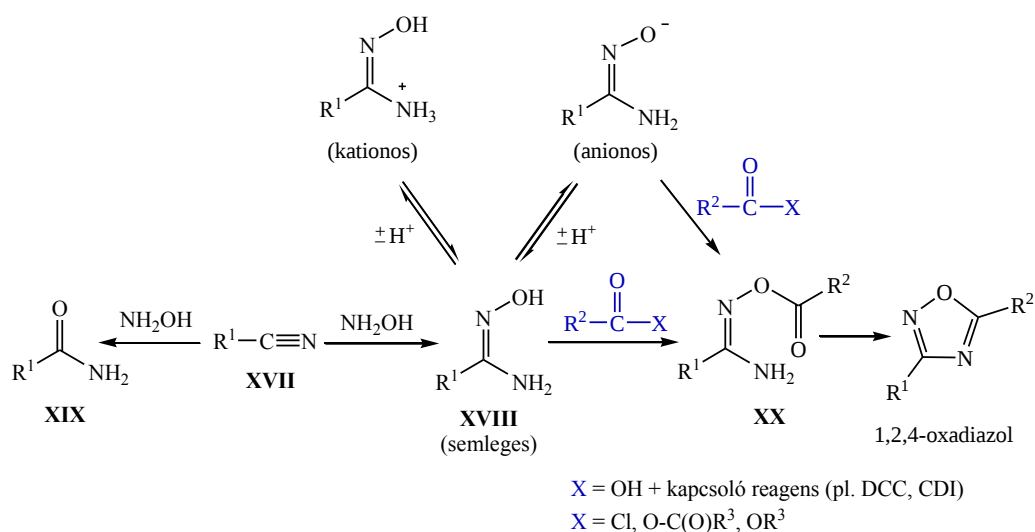
14. ábra: Oxadiazol és tiadiazol izomerek

2.2.3.1. Az 1,2,4-oxadiazolok előállítása karbonsav-származékokból

Az 1,2,4-oxadiazolok számos előállítási lehetősége ismert, köztük a nitril-oxid 1,3-dipólusok (ld. **2. ábra**) nitril dipolarofilekkel végbemenő 1,3-DC-ja is.¹⁹⁰ Ezeknél egy sokkal általánosabban alkalmazott módszer azonban a kapcsoló reagenssel (pl. DCC, CDI) aktivált karbonsav, valamilyen reaktív karbonsav-származék (savklorid, savanhidrid), vagy esetleg karbonsavészter amidoximokkal (**XVIII**) történő reakciója (**15. ábra**).¹⁹¹

Az amidoximok (**XVIII**) karbonsavnitrilekből (**XVII**) hidroxilaminnal állíthatók elő, azonban ilyen körülmények között gyakori a karbonsav-amidhoz (**XIX**) vezető mellékreakció,¹⁹² amely sokkal inkább az ambidens nukleofilként viselkedő hidroxilamin oxigénatomjának a nitril (**XVII**) cianocsoportjára való támadásával magyarázható, mintsem a nitril (**XVII**) vagy a már képződő amidoxim (**XVIII**) hidrolízisével.¹⁹³ A két termék azonban kristályosítással, illetve oszlopkromatográfiával egymástól általában könnyen elválasztható. Bár az amidoximoknál felvetődik a sztereoizoméria lehetősége, a nitrogénatomjukon szubsztituenst nem tartalmazó származékoknak kizárólag a *Z* konfigurációs izomerje ismeretes.¹⁹⁴ Az amidoximok két ionizációra képes atomcsoportot is tartalmaznak. Az anionos karakterű amidoximát ion és a semleges molekula oxigénatomja nukleofilként viselkedik, így bármelyik készségesen reagál karbonsav-származékokkal.¹⁹⁵ A szubsztitúciós reakció révén,

amely enyhe körülmények között is viszonylag gyorsan lejátszódik, az amidoxim *O*-acil-származéka (**XX**) keletkezik. Ez utóbbi nyílt láncú vegyületek 1,2,4-oxadiazollá történő gyűrűzárása azonban erős bázis (pl. NaH, NaOEt) alkalmazása mellett 5–12 órás reakcióidőt vagy gyenge bázis (pl. piridin) használatával magas hőmérsékletet (80–100 °C) igényel. 2001-ben számoltak be arról, hogy az *O*-acil-amidoximok (**XX**) oxadiazolhoz vezető ciklokondenzációs reakciója TBAF jelenlétében már szobahőmérsékleten is végbemegy, és rövid idő alatt, kiváló hozammal eredményezi a kívánt terméket.¹⁹⁶ A reagensből származó fluoridion poláris aprotikus oldószerben erős bázisként viselkedik, így a ciklokondenzációs reakció gyűrűzárási és dehidratációs lépésében egyaránt szerepet játszik.¹⁹⁷



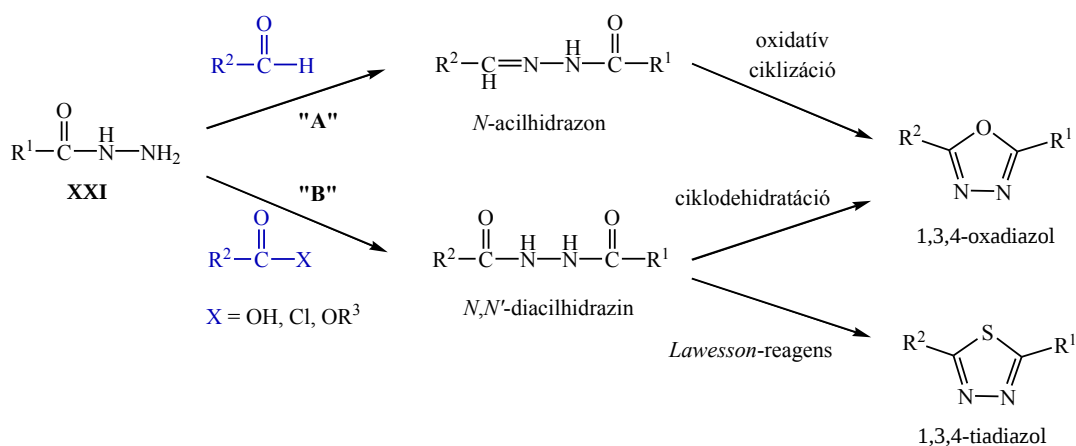
15. ábra: Az 1,2,4-oxadiazolok előállítása *karbonsav-származékok* és amidoximok reakciójával

Az 1,2,4-oxadiazol gyűrű számos, sokrétű farmakológiai hatással rendelkező vegyület molekularészét képezi,^{198,199} szteránvázis vegyületeken történő kialakítására ugyanakkor meglepő módon alig történtek kísérletek.²⁰⁰

2.2.3.2. Az 1,3,4-oxadiazolok és az 1,3,4-tiadiazolok előállítása aldehidekből és karbonsav-származékokból

A 2,5-diszubsztituált 1,3,4-oxadiazolok előállítási lehetőségei közül a két leggyakrabban alkalmazott módszert a **16. ábra** szemlélteti.¹⁸⁷ Az egyik az aldehidekből és savhidrazidokból (**XXI**) képzett *N*-acilhidrazonok oxidatív gyűrűzárása ("A"), amely oxidálószer (pl. CAN,²⁰¹ klóramin-T,²⁰² hipervalens jódtartalmú reagens,²⁰³ kálium-permanganát,²⁰⁴ stb.) jelenlétében megy végbe. A másik módszer karbonsavakból, illetve reaktív származékaiból (észter, sav-klorid) **XXI** segítségével előállítható *N,N'*-diacilhidrazinok ciklodehidratációja ("B"),

amelynek kivitelezéséhez vízelvonó reagens (pl. POCl_3 , H_2SO_4 , TFA, SOCl_2 , stb.) hozzáadása szükséges.^{205–207} A diacilhidrazinok ugyanakkor alkalmas prekursorai az 1,3,4-tiadiazolok szintézisének is, hiszen *Lawesson*-reagens segítségével kéntartalmú gyűrűvé alakíthatók.²⁰⁸ A reakció mechanizmusa nem teljesen tisztázott, de valószínűleg először a diacilhidrazin mindkét karbonil-O atomja kénatomra cserélődik, majd hidrogén-szulfid kilépése mellett következik be a gyűrűzárás.²⁰⁹



16. ábra: Az 1,3,4-oxadiazolok és az 1,3,4-tiadiazolok előállítása *karbonilvegyületekből*

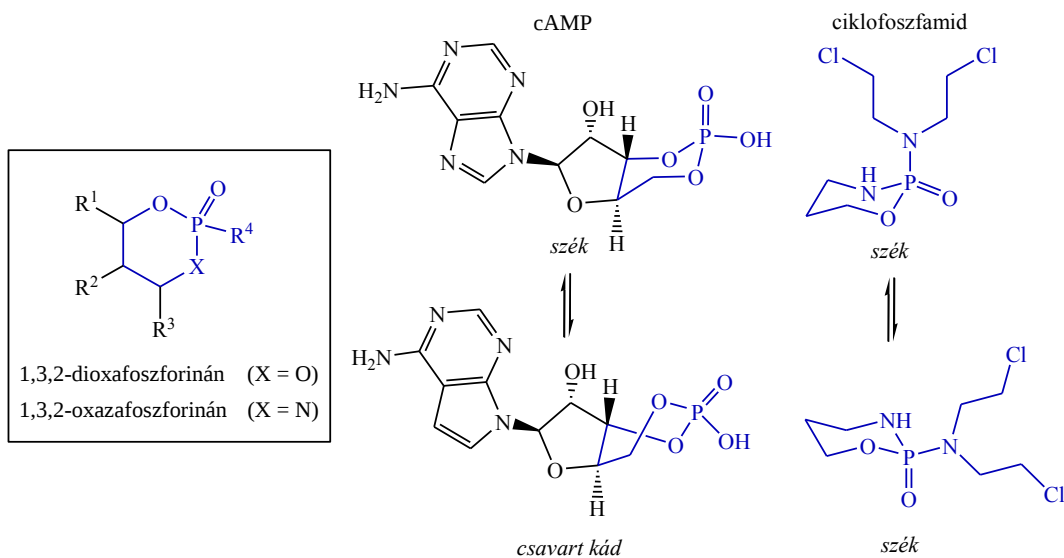
Az oxadiazol és tiadiazol szintézisek izolálható nyílt láncú köztitermékei sokoldalúan és széles körben alkalmazott vegyületek. Az *N*-acilhidrazonok mind a szerves kémiai, mind az analitikai kémiai gyakorlatban fontos szerepet töltenek be.²¹⁰ Átmenetifém ionokkal alkotott komplexeik az enzimgátlási mechanizmusok feltérképezésében kiemelkedő fontosságúak,²¹¹ valamint számos hidrazon származék rendelkezik számottevő biológiai aktivitással is.^{212,213} Az *N,N'*-diacilhidrazinok egyes képviselői szintén biológiai hatást mutatnak, néhány természetes forrásból izolálható vegyület vírusellenes, antioxidáns és baktériumellenes hatással bír, míg mások a rovarok növekedését szabályozó funkciót töltenek be, így a mezőgazdaságban rovarirtó szerként használatosak.²¹⁴

Az 1,3,4-oxadiazol és 1,3,4-tiadiazol gyűrűk szintén jó néhány biológiailag aktív molekula fontos építőkövét képezik. Egyes származékok antimikrobás, vírusölő, gyulladásgátló, görcsoldó hatással rendelkeznek, míg mások fájdalomcsillapító, vizelethajtó, altató, nyugtató vagy rákellenes aktivitást mutatnak.^{187,188,215} Ugyancsak nagy figyelem övezi őket a gyógyszerkémiai hatóanyagkutatásban is; míg az 1,3,4-oxadiazolokat a karbonsavak, az észterek és karboxamidok, addig a megfelelő kéntartalmú analogonokat a pirimidinek bioizoszter helyettesítőiként alkalmazzák. Hidrolízissel szemben nagy stabilitást mutató,

könnyen polarizálható rendszerek. A szervezeten belüli célmolekulákkal való kölcsönhatásukat elősegíti, hogy a heteroaromás gyűrű elektronpár donorként H-hídkötés kialakítására képes.²¹⁶ Szteránvázak képviselőik szintézisére meglepően kevés szakirodalmi példa található,²¹⁷ holott androsztánváz 17-es helyzetébe történő beépítésük a potenciális cP450_{17α}-gátló hatásuk miatt mindenképpen indokolt.

2.2. Hattagú P-heterociklusok szintézise diolok és aminoalkoholok foszforilezési reakciójával

A monociklusos és kondenzált hattagú diheterofoszforinánok közül az 1,3,2-dioxa- és 1,3,2-oxazafoszforinánok iránti intenzív kutatásokat nem csupán hatástani, de sztereokémiai szempontok is motiválják.^{218–220} A számos biokémiai folyamat szabályozásában alapvető szerepet játszó, dioxafoszforinán molekularésszel rendelkező ciklusos nukleotidok (pl. cAMP) hatásmechanizmusának megértése,^{221,222} valamint a daganatos betegségek terápiájában sokrétűen alkalmazott, oxazafoszforinán gyűrűt tartalmazó ciklofoszfamid szervezeten belüli átalakulásának tisztázása és hatásosabb származékok tervezése²²³ elsősorban farmakológiai törekvés (**17. ábra**).



17. ábra: Az 1,3,2-diheterofoszforinánok fontos képviselői

Mindkét gyűrűrendszerre jellemző ugyanakkor az oldatban tanúsított, a ciklohexánétól eltérő konformációs viselkedés, ami a különböző vegyületek esetén egyedi térszerkezeti formák megjelenésében nyilvánulhat meg. Általában ezek a heterogyűrűk a két lehetséges *szék* konformerjük egyensúlyi elegyként léteznek (pl. ciklofoszfamid), az egymásba alakulás

(interkonverzió) oldatban gyors. A konformációs flexibilitást korlátozó bizonyos szerkezeti feltételek megléte esetén (pl. cAMP) azonban széktől eltérő konformerek válhatnak dominánssá, illetve szélsőséges esetben kizárólagossá.^{224–226} Ez akkor fordulhat elő, ha a *P*-tartalmú gyűrűn valamilyen nagy térkitöltésű csoport van, vagy ha a heterogyűrű merev, policiklusos rendszer részét képezi.^{227–229} A konformációs egyensúly valamely konformer irányába történő eltolódását jelentős mértékben befolyásolhatja a foszforatomon lévő szubsztituensek elektronikus és szterikus hatása, az 1,3,2-oxazafoszforinánok esetén a nitrogénen lévő csoport mérete, valamint a foszforatom konfigurációja is.^{230–233}

A diheterofoszforinánok általános előállítás módszere az optikailag aktív 1,3-diolok és 1,3-aminoalkoholok foszfortartalmú reagenssel (XP(O)Cl_2) történő gyűrűzárása, amelyet a termékhozam növelése érdekében a reakció során képződő hidrogén-klorid megkötésére képes bázis (pl. TEA, piridin) jelenlétében érdemes elvégezni.²³⁴ A királis foszforatom jelenléte folytán a gyűrűzárás két epimer keletkezéséhez vezet, amelyek többnyire könnyen elválaszthatók egymástól. Amennyiben mindkét diasztereomer tisztán rendelkezésre áll, akkor a *P*-konfiguráció meghatározására és a P=O kötés orientációjának eldöntésére különböző NMR mérési módszerek adnak lehetőséget. Elsősorban a ^{31}P -NMR eltolódás értékek összevetése informatív ebből a szempontból. Az ilyen típusú vegyületepárookra ugyanis általában jellemző, hogy a foszforil-csoportot axiális helyzetben tartalmazó sztereoizomer ^{31}P csúcsa kisebb térerőnél jelentkezik, mint a P=O kötetst ekvatoriálisan tartalmazó epimeré.^{235,236} Egyes esetekben azonban anomális ^{31}P -NMR eltolódás értékeket is megfigyeltek, amit vagy magyarázat nélkül hagytak, vagy szék–szék,²³⁷ illetve szék–csavart kád konformációs egyensúlynak tulajdonítottak.²³⁸ Ilyen esetekben további segítséget nyújthat az izomerek egyéb NMR paramétereinek (pl. a karakterisztikus ^1H - és ^{13}C -NMR eltolódások) összehasonlítása. Az epimerek térszerkezetének meghatározása szempontjából a NOESY mérések és az *ab initio* számítások is fontos információval szolgálhatnak,^{239,240} de a tényleges szerkezetfelderítés sok esetben csak röntgenkristallográfia segítségével lehetséges.²⁴¹ Általánosságban igaz, hogy az elektronegatív csoportok (pl. OR, OAr, Cl) az anomer effektus miatt az axiális térhelyzetet részesítik előnyben.²¹⁸ Kivételt képeznek ez alól az aminocsoport vagy a szubsztituált aminocsoportok, amelyek inkább az ekvatoriális térállást kedvelik. Az alkil- és aril-szubsztituensek, és különösképpen a nagy térkitöltésűek inkább az ekvatoriális helyzetet preferálják. Tekintettel arra, hogy az egyes izomerek heterogyűrűje oldatban bizonyos konformációs flexibilitást mutat, a konformációs egyensúly kisebb-nagyobb mértékben olyan térforma irányába tolódhat el, amelynél a szubsztituensek előzőekben

említett kedvező térállása érvényesülhet. Az oldatban fellépő dinamikus konformációs egyensúlyra, illetve a domináns konformerre a $^3J(\text{H,H})$ és $^3J(\text{H,P})$ csatolási állandók adnak felvilágosítást.^{218–220} A zömében egyfajta konformációban jelenlévő diheterofoszforinánok jellemző sajátága, hogy azoknak a protonoknak, amelyek ekvatoriálisak, és ezáltal antiperiplanárisak a gyűrű P–O kötésével, nagy (≥ 22 Hz) a $^3J(\text{H,P})$ csatolási állandójuk, ugyanakkor az axiális protonokra ugyanezen csatolási állandók értéke kicsi ($\leq 1,5$ Hz).

Annak ellenére, hogy az utóbbi évtizedekben heterociklusos szteroidszármazékok sokaságát állították elő, a foszfortartalmú vegyületek szintézise kissé elhanyagolt területnek számít. A különböző, szteránvázhhoz kapcsolódó foszfonátok szerkezetüktől függően eltérő biológiai hatással rendelkezhetnek,^{242–244} ugyanakkor az irodalomban kevés példa található foszfortartalmú heterociklusok szintézisére.^{245,246} A térszerkezeti problémák megoldása a szteroidok viszonylag merev váza és a királis szénatomok láncolata miatt a flexibilis rendszerekhez képest pedig egyszerűbb lehet, mint más vegyületeknél, ugyanakkor a diheterofoszforinánokkal módosított szteránvázas vegyületek farmakológiai szempontból is érdeklődésre tarthatnak számot.

3. Célkitűzés

Munkánk során a különböző típusú 1,3-dipoláris cikloaddíció (1,3-DC), illetve néhány egyéb gyűrűzárási reakció által kínált változatos szintetikus lehetőségek felhasználásával új, heterociklusos nemi hormon származékok előállítását terveztük. Törekedtünk arra, hogy a szakirodalom által kevésbé feltérképezett reakciótípusokat vizsgáljunk és új, potenciálisan bioaktív vegyületek jó hozamú, sztereoszelektív szintézisét valósítsuk meg. Bizonyos esetekben célunk volt annak tanulmányozása is, hogy a szteránvázas kiindulási anyag, illetve a reagensek szubsztituenseinek helye, térkitöltése és elektronikus jellege befolyással van-e a folyamatok sebességére, a képződő termékek hozamára, valamint a reakciók szelektivitására. A többféle szubsztituenset tartalmazó hasonló származékok előállítását az említett kémiai okok mellett farmakológiai szempontok is motiválták, hiszen össze kívántuk hasonlítani, hogy egy-egy csoport cseréje milyen hatással van a biológiai aktivitásra.

A reakciókhoz általánosan kétféle stratégiát kívántunk alkalmazni:

I. A szteránváz D-gyűrűjének felnyitása, majd az így keletkező szeko-származék átalakítását követő, lehetőleg sztereoszelektív módon történő intramolekuláris gyűrűzárása.

II. A szteránváz szubsztitúciója, majd a megfelelő helyzetű funkciós csoport(ok) részvételével vázhoz kapcsolódó, ahhoz kondenzált vagy *spiro*-heterogyűrű intra-, illetve intermolekuláris módon történő kialakítása.

Az O-, S- és N-tartalmú öttagú szteroid heterociklusok körét a P-atomot is tartalmazó hattagú heterogyűrűs vegyületek előállításával terveztük kiegészíteni, amelyek szintézise során elsődleges célunk a diheterofoszforinán-gyűrűk oldatban tanúsított konformációs viselkedésének, és a szteránváz ezt befolyásoló hatásának tanulmányozása volt.

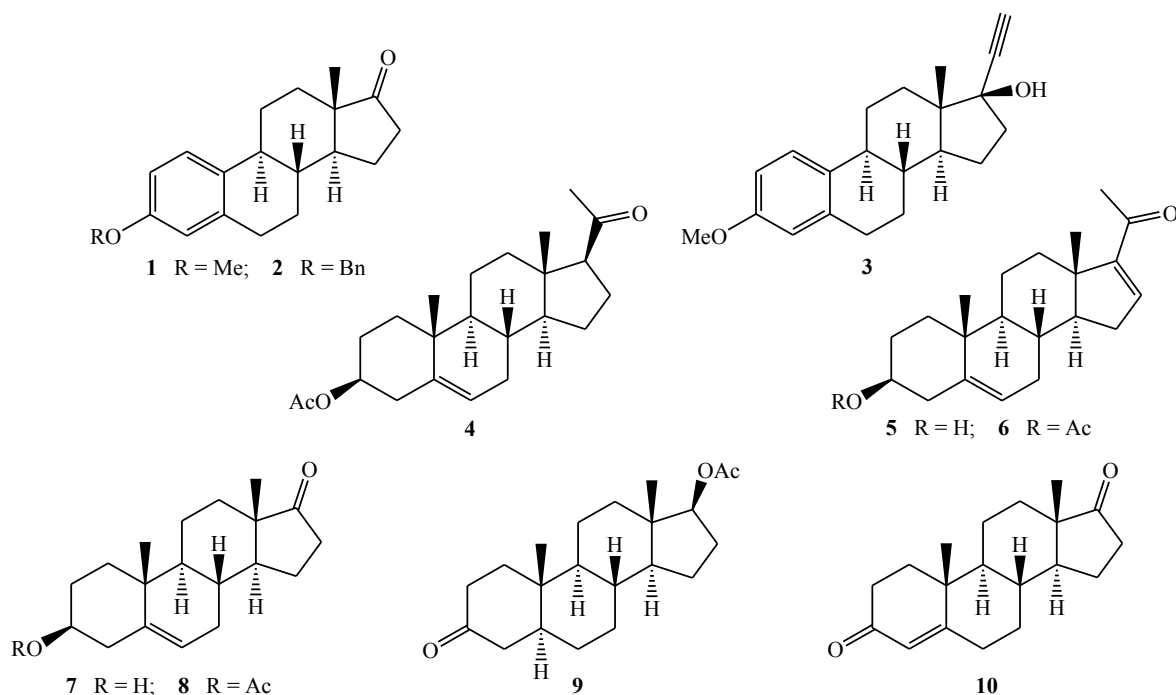
A következő szteránvázas heterociklusok szintézisét tűztük ki célul az alkalmazni kívánt reakciótípusokat is feltüntetve:

1. D-gyűrűhöz kondenzált izoxazolidinek:
 - szteránvázas alkenil-nitronok intramolekuláris 1,3-DC-jával
2. D-gyűrűhöz kondenzált pirazolidinek és/vagy pirazolinok:
 - szteránvázas alkenil-azometin-iminek, illetve alkenil-diazoalkán intramolekuláris 1,3-DC-jával
 - szteránvázas α,β -enonok és hidrazinok reakciójával
3. A- és D-gyűrűhöz kondenzált, illetve D-gyűrűn spirociklusos izoxazolinok:
 - szteránvázas alkének és nitril-oxidok intermolekuláris 1,3-DC-jával

4. A- és D-gyűrűhöz kapcsolódó triazolok:
 - szteránvázas azidok és alkinek intermolekuláris CuAAC-val
5. D-gyűrűhöz kapcsolódó izoxazolok:
 - szteránvázas alkin és nitril-oxidok intermolekuláris réz(I)-katalizált 1,3-DC-jával
6. D-gyűrűhöz kapcsolódó pirazolok:
 - szteránvázas metilketonból képzett hidrazonok *Vilsmeier-Haack* reakciójával
7. D-gyűrűhöz kapcsolódó 1,2,4- és 1,3,4-oxa-, illetve 1,3,4-tiadiazolok:
 - szteránvázas karbonsav-származékok szubsztitúciós/ciklizációs reakciójával
 - szteránvázas aldehidek kondenzációs/ciklizációs reakciójával
8. D-gyűrűhöz kondenzált, kapcsolódó és spirociklusos diheterofoszforinánok:
 - szteránvázas diolok és aminoalkoholok foszforilezési reakciójával

4. Anyagok és módszerek

A szteroidok félszintetikus módosításához kereskedelmi forgalomban kapható vegyszereket használtunk, a reakciókat a szokásos laboratóriumi eszközökkel és berendezésekkel változó szteroid mennyiségekkel (0,10 g–10 g) hajtottuk végre. Az MW reakciókat CEM Discover SP készülékkel végeztük. Szteránvázak kiindulási anyagaink ösztrán-, pregnán- és androsztánvázak hormon analogonok voltak, így ösztron-3-metil-éter (1), ösztron-3-benzil-éter (2), mesztranol (3), pregnenolon-acetát (4), pregnadienolon (5), PDA (6), DEA (7), DEA-acetát (8), DHT-acetát (9) és androszt-4-én-3,17-dion (10) (18. ábra).



18. ábra: A szintézisekhez alkalmazott szteránvázak kiindulási anyagok

Az előállított anyagokat túlnyomóságos, normál fázisú oszlopkromatográfiával tisztítottuk; a reakciók lefutását, valamint a termékek tisztaságának ellenőrzését vékonyréteg-kromatográfiával végeztük. Az előállított vegyületeket az olvadáspont és a retenciós faktor meghatározásával jellemeztük. A molekulák szerkezetének felderítéséhez nagyműszeres módszereket (egy- és kétdimenziós NMR, MS, HRMS, IR, röntgenkristallográfia) alkalmaztunk, de a legtöbb esetben az összetételt elemanalízis is igazolta. Az előállított vegyületek egy részének *in vitro* farmakológiai vizsgálataira is sor került az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével, valamint az SZTE Önálló Endokrinológiai Osztály és Kutató Laboratóriumával való együttműködések keretében. Az elméleti számításokat szintén kooperáló partnereink végezték.

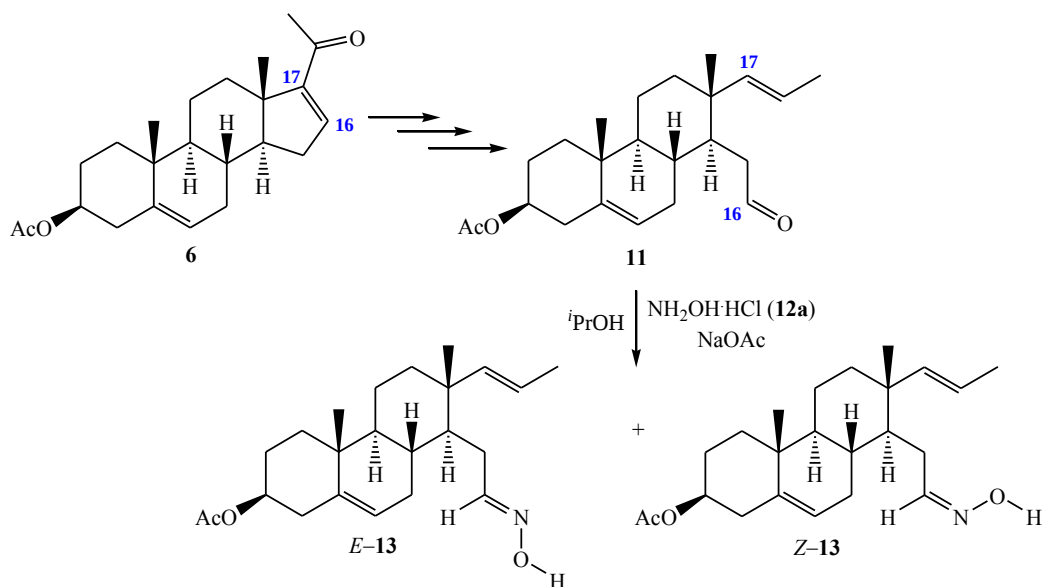
5. Kísérleti eredmények

5.1. Szteránvázhoz kondenzált öttagú heterociklusok előállítása

5.1.1. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16,17-helyzetben kondenzált izoxazolidinek szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val [1, 2]

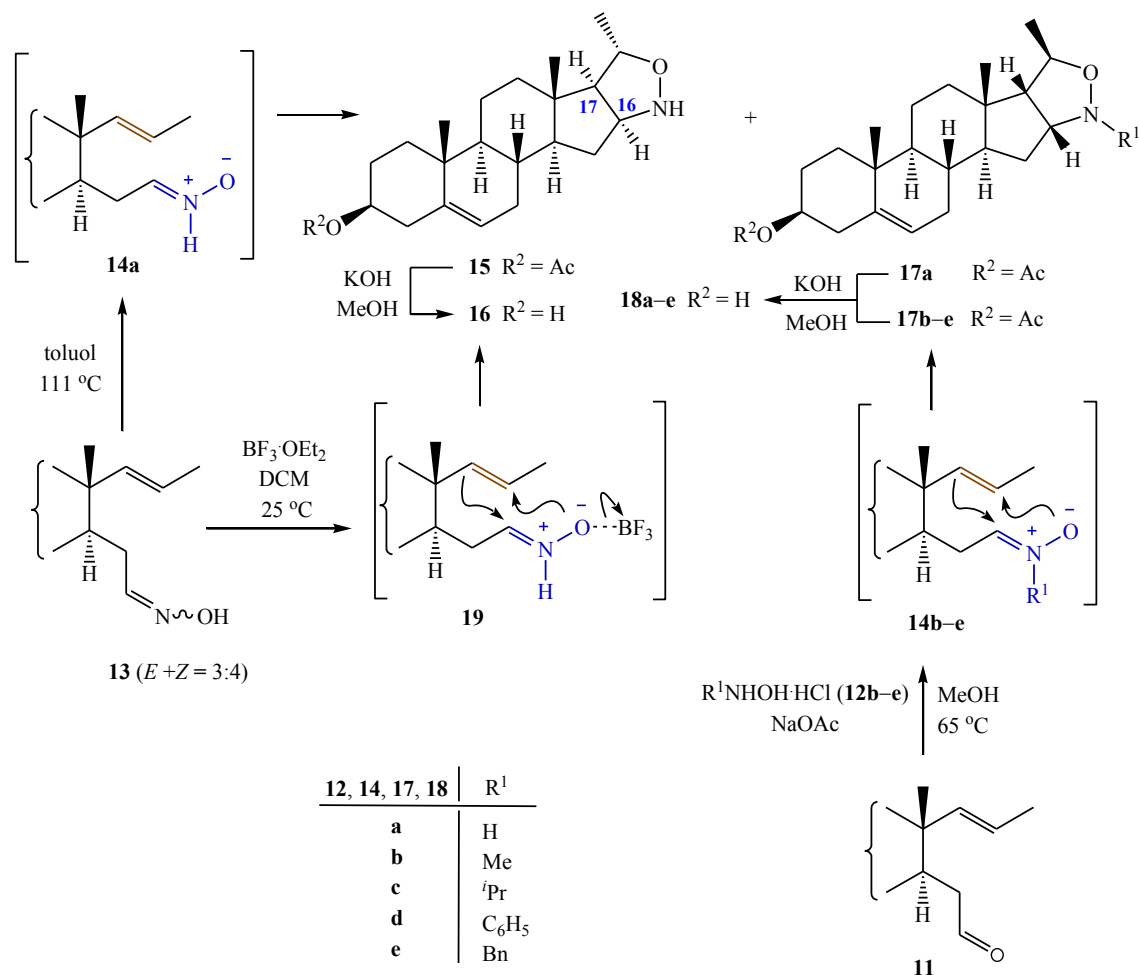
A szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált izoxazolidinek előállításához a **2.1.1.1.** alfejezetben leírt irodalmi előzményeket alapul véve, intramolekuláris stratégiát (ld. **2.1.3.** fejezet, **10. ábra**, F módszer) választottunk. Kiindulási anyagként egy propenil-oldalláncot tartalmazó D-szekoaldehidet (**11**) használtunk, amelynek a PDA-ból (**6**) kiinduló többlépéses szintézisét a kutatócsoportunkban korábban kidolgozott módszer szerint valósítottuk meg (**19. ábra**).²⁴⁷ A **11**-es vegyület két egymáshoz képest megfelelő helyzetben lévő reaktív funkciós csoportja, az aldehid és a kettős kötésű molekularész, kiváló lehetőséget biztosít a kondenzációs reakciót követő intramolekuláris 1,3-DC végrehajtására, és ezáltal heterociklusos szteroid származékok szintézisére.

A D-szekopregnadién-aldehidet (**11**) izopropil-alkoholban hidroxilamin-hidrokloriddal (**12a**) NaOAc jelenlétében reagáltatva a megfelelő aldoximot (**13**) kaptuk – a nyerstermék ¹H-NMR spektruma alapján – az *E* és a *Z* geometriai izomerek 3:4 arányú keverékeként. Annak ellenére, hogy az izomerek oszlopkromatográfiával könnyen elválaszthatók voltak, a további gyűrűzárási kísérleteinkhez a keveréket használtuk.



19. ábra: D-szekoaldehid előállítása és oximképzési reakciója

Az oxim (**13**) termikus és Lewis-sav katalizált 1,3-DC-jának elvégzése során a reakciók sztereoszelektivitása között jelentős különbséget tapasztaltunk. A toluolban forralással kivitelezett átalakítás a szteránváz D-gyűrűjéhez 16,17-*cis* helyzetben kondenzált diasztereomer izoxazolidinek (**15** és **17a**) 3:2 arányú keverékéhez vezetett közepes (51%) összhozammal, jelentős mennyiségű el nem reagált kiindulási anyag (**13**) mellett (**20. ábra**).



20. ábra: Androsztánváz D-gyűrűjéhez kondenzált izoxazolidinek szintézise *alkenil-(kvázi)nitronok* termikus és Lewis-sav katalizált intramolekuláris 1,3-DC-jával

A **13** *E* és *Z* izomerének a cikloaddíció során tanúsított azonos reakcióképessége utalt, hogy arányuk a reakciót követően is változatlan maradt. A gyűrűzárási reakció az oximból 1,2-protonvándorlással keletkező nitron dipólus (**14a**) képződésével, majd a telítetlen oldalláncra történő 1,3-DC-val értelmezhető. Az oxim–nitron tautóméria magas hőmérsékleten készségesen játszódik, bár az egyensúlyi elegyben az oxim forma a domináns.²⁴⁸ Az N–H nitronok nem aktivált vagy elektronban gazdag alkénekre történő cikloaddíciója azonban a dipólus és a dipolarofil nagy HOMO/LUMO pályaenergia-különbsége miatt akadályozott, így kevés szakirodalmi példa található az ilyen típusú

reakciókra. Intramolekulárisan bekövetkező 1,3-DC esetén a nitron és az alkén molekularész a korlátozott konformációs mozgási lehetőségek miatt szoros közelségbe kerülhet, ami csökkentve az említett energiakülönbséget növeli a cikloaddíció bekövetkeztének valószínűségét.²⁴⁹ A termikus reakcióval ellentétben a **13**-as vegyület $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ jelenlétében, szobahőmérsékleten elvégzett hasonló reakciója sztereoszelektívnek bizonyult, és a **15**-ös izoxazolidin jó hozamú (85%) képződéséhez vezetett. A Lewis-sav hatására végbemenő reakció egy *kvázi* nitron intermedier (**19**) létrejöttén keresztül értelmezhető, amelynek során tovább csökken a cikloaddíció aktiválási energiája, így a gyűrűzárás már alacsonyabb hőmérsékleten is végbemehet. A termikus és Lewis-sav katalizált reakciók kísérletileg tapasztalt sztereoszelektivitásbeli és reakciósebességbeli különbségét az együttműködés keretében elvégzett elméleti számítások is alátámasztották.

A D-szekopregnadién-aldehidből (**11**) kiindulva további termikus cikloaddíciókat is megvalósítottunk. A **11**-es vegyületet *N*-szubsztituált hidroxilaminokkal (**12b–e**) metanolban forralva az *in situ* képződő nitron dipólusokon (**14b–e**) keresztül sztereoszelektíven a D-gyűrűhöz 16 α ,17 α -helyzetben kondenzált izoxazolidineket (**17b–e**) kaptunk (20. *ábra*). A konverziót a dipólus elektrofilítása és ezáltal reaktivitása nagymértékben befolyásolta, amely az alkalmazott reagens különböző elektronikus sajátosságú R^1 szubsztituenseinek függvénye,⁵⁰ így a megfelelő termékek hozama a **17e** (78%) > **17b** (67%) > **17c** (50%) > **17d** (31%) sorrendben alakult. Valamennyi heterociklusos termék 3-OH analogonja (**16**, **18a–e**) is előállításra került lúgos közegű dezacetilezési reakcióval. Ez utóbbi vegyületek közül egyedül a benzil-szubsztituált származék (**18e**) mutatott *in vitro* antiproliferatív hatást HeLa (méhnyak), MCF7 (emlő) és A431 (bőr) humán ráksejtvonalakon, bár az IC_{50} értékei (14,00 μM ; 23,18 μM ; 8,76 μM) elmaradtak a referencia vegyületként alkalmazott ciszplatinétól (12,43 μM ; 9,63 μM ; 2,84 μM).

5.1.2. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16,17 β -helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val [1, 3, 4]

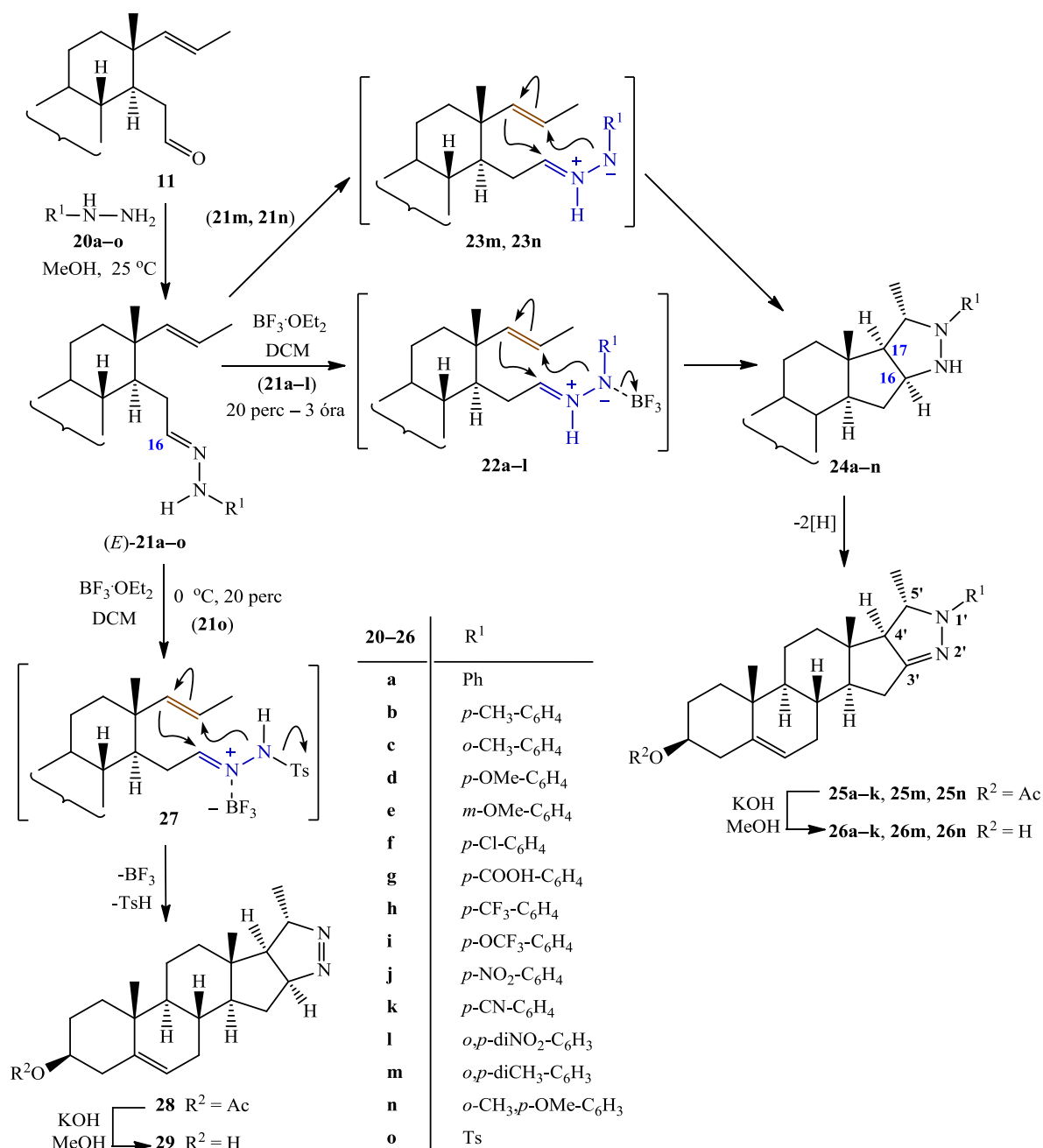
A szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált izoxazolidinek előállításán túlmenően a **11**-es D-szekoaldehid pirazolinok intramolekuláris 1,3-DC-val történő szintéziséhez (ld. 2.1.3. fejezet, 10. *ábra*, F módszer) is alkalmas kiindulási anyagnak bizonyult, mivel nem csupán oxim, de hidrazonok kondenzációs reakcióval történő előállítására is lehetőséget kínált. Az oxim–nitron tautomériához hasonlóan, a hidrazonokból magas hőmérsékleten

1,2-protonvándorlással azometin-imin 1,3-dipólusok képződhetnek (2.1.1.2. fejezet), bár ez utóbbiak általában csak aktivált dipolarofilekkel képesek reakcióba lépni, és a cikloaddíció még hosszú reakcióidő alkalmazása esetén is közepes hozammal vezet a heterociklusos termékhez.²⁵⁰ Lewis-sav jelenléte azonban lehetővé teszi az enyhébb reakciókörülmények alkalmazását, és a gyűrűzárási reakciók sztereoszelektivitása is jelentősen javul. Acilhidrazonok olefinekkel végbemenő intermolekuláris 1,3-DC-ja során különböző, katalitikus mennyiségben alkalmazott fémtartalmú Lewis-savakat (pl. $\text{Zr}(\text{OTf})_4$, $\text{Sc}(\text{OTf})_4$, $\text{Hf}(\text{OTf})_4$),⁷¹ valamint fémentes katalizátorokat (pl. trimetilszilil-triflát)²⁵¹ vizsgáltak és találtak hatásosnak a cikloaddíciók kivitelezésére, ugyanakkor a $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ csökkent hatékonyságáról számoltak be mind a termékhozam, mind a diasztereoszelektivitás vonatkozásában.⁷¹ Intramolekuláris átalakítások esetén azonban ez utóbbi Lewis-sav is megfelelő katalizátornak bizonyult néhány cikloaddíció elvégzésére.^{74,143}

A D-szekopregnadién-aldehidet (**11**) (szubsztituált) fenilhidrazinokkal (**20a–l**) reagáltatva a megfelelő fenil- (**21a**) és arilhidrazonokat (**21b–l**) *E* konfigurációs izomereikként kaptuk meg, amelyeket a metanos reakcióelegyekből kristályos formában kiszűrtünk (21. ábra). Az arilhidrazonok (**21a–l**), és különösen az aromás gyűrűjükön elektronküldő csoportot tartalmazó vegyületek (**21b–e**) szilárd állapotban is csökkent stabilitást mutattak, így tisztítás nélkül továbbalakításra kerültek. A katalitikus mennyiségű $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ jelenlétében, szobahőmérsékleten végzett gyűrűzárási reakciók az esetek többségében egyetlen, a szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált pirazolin származék (**25a–k**) sztereoszelektív képződéséhez vezettek. Az 1,3-DC-k elsődleges termékei a 16 β ,17 β -arilpirazolidinek (**24a–l**) voltak, amelyek azonban a feldolgozás és tisztítás során egy kivételtől eltekintve (**24l**) pirazolinná (**25a–k**) oxidálódtak.⁶⁸ Ez utóbbi állítást az is igazolja, hogy a *p*-ciano-fenilhidrazonnal (**21k**) végzett intramolekuláris gyűrűzárási kísérletben az elsődleges terméket (**24k**) is sikerült izolálnunk, amely azonban levegőn hosszabb ideig tartó állás közben szintén a megfelelő pirazolinná (**25k**) alakult. A 2',4'-dinitro-fenilhidrazon (**21l**) 1,3-DC-ja során képződő primer termék (**24l**) ugyanakkor stabilisabbnak mutatkozott.

A Lewis-sav által katalizált 1,3-DC-k sebessége és a termékek hozama nagymértékben függött a hidrazonok (**21a–l**) aromás gyűrűjén lévő szubsztituensek elektronikus karakterétől. Az elektronküldő csoportok (**21b–e**) kedveztek a cikloaddícióknak és a reakciók 0 °C-on 20 perc alatt lejártszódtak a termékek (**25b–e**) jó hozamú (89–95%) képződésével. Elektronvonzó szubsztituensek esetén hosszabb (3 óra) reakcióidőre (**21f–k**), illetve egy származéknál (**21l**) magasabb (40 °C) hőmérsékletre volt szükség a megfelelő konverziók

eléréséhez, de a termékek (**25f–k**, **24l**) hozama így is jelentősen csökkent (30–67%). A szubsztituenshatás további bizonyítéka, hogy két erősen elektronküldő csoport jelenléte a hidrazonok (**21m** és **21n**) reaktivitását annyira megnövelte, hogy ezek a vegyületek már az előállításuk körülményei között (szobahőmérséklet, MeOH), Lewis-sav katalizátor hiányában pirazolinná (**25m**, **25n**) alakultak, így a képződésük csak vékonyréteg-kromatográfiával volt kimutatható. Ez utóbbi két reakció során is nagyfokú sztereoselektivitást tapasztaltunk, hasonlóan a katalizált változatokhoz.



21. ábra: Androsztánváz [16(β),17β:3',4']-pirazolinok szintézise *alkenil-kváziazometin-iminek* és *alkenil-kvázidiazoalkán* Lewis-sav katalizált intramolekuláris 1,3-DC-jával

Az elvégzett elméleti számítások (SZTE JGYPK, Alkalmazott Természettudományi Intézet, Kémia és Kémiai Informatika Tanszék) alátámasztották a kísérletesen megfigyelt szubsztituenshatást és diasztereoselektivitást, valamint az 1,3-DC *Lewis*-sav jelenlétének tulajdonítható, a termikus reakcióhoz viszonyított alacsonyabb aktiválási energiaigényét. A katalizátor hatására a hidrazonokból (**21a–l**) egy komplexképződést, majd egy BF_3 /proton kicserélődést követően *kvázi* azometin-imin dipólusok (**22a–l**) jöhetnek létre (**21. ábra**), és a telítetlen oldallánccal bekövetkező intramolekuláris cikloaddíciók egy ikerionos karakterű átmeneti állapoton keresztül lejátszódó, inkább többlépéses, mintsem szinkron mechanizmussal értelmezhetők. A számítások alapján a folyamat egyes részlépései közül a hidrazonok BF_3 -dal való komplexképződése függ leginkább az aromás gyűrűn lévő szubsztituensek elektronikus tulajdonságaitól.

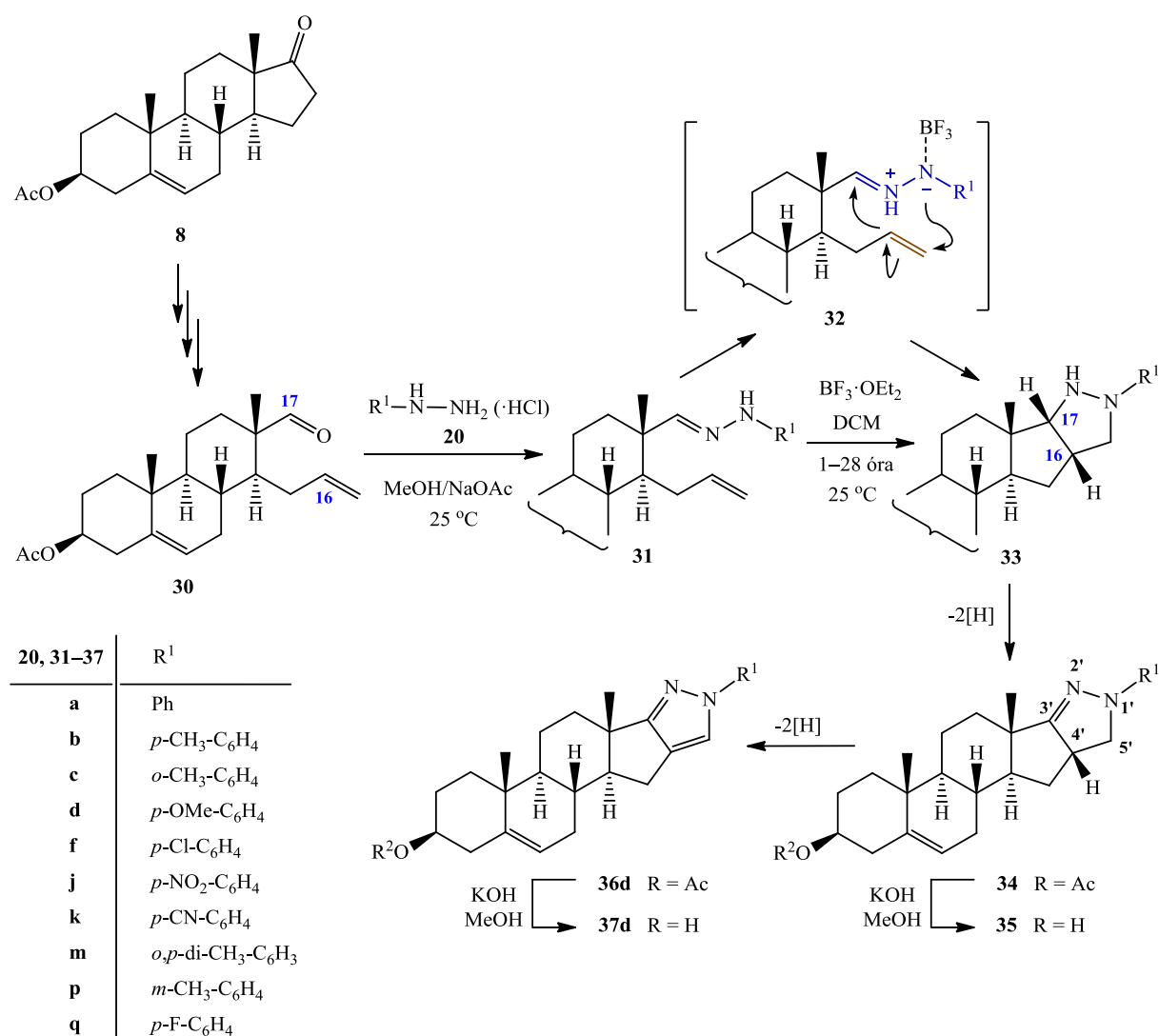
Az arilhidrazonokhoz (**21a–n**) hasonlóan a D-szekoaldehid tozilhidrazonját (**21o**) is előállítottuk, amely a feltételezett ionos köztiterméken (**27**) keresztül régió- és diasztereoselektíven D-gyűrűhöz 16 β ,17 β -helyzetben kondenzált 1-pirazolinhoz (**28**) vezetett. Bár a tozilhidrazonok bázisos közegben és magas hőmérsékleten az alkén dipolarofillel reagálni képes diazoalkán dipólusok *in situ* képződésére adnak lehetőséget (vö. **2.1.1.2.** fejezet), a *Lewis*-sav jelenlétében bekövetkező gyűrűzárásaik inkább ionos mechanizmussal értelmezhetők.⁷⁵

Az intramolekuláris 1,3-DC-val kapott szteránvázas 2-pirazolinok (**25a–k**, **25m** és **25n**) és 1-pirazolin származék (**28**), valamint a lúgos közegű dezacetilezésükkel nyert 3-OH analogonjaik (**26a–k**, **26m**, **26n** és **29**) *in vitro* farmakológiai vizsgálatra kerültek, amelynek során háromféle humán ráksejtvonalon (HeLa, MCF7, A431) vizsgálták azok sejtsztódás gátló hatását. A szubsztituált fenilpirazolinok számos képviselője rendelkezett antiproliferatív hatással, és a 3-as helyzetben OH-csoportot tartalmazó vegyületek az acetátokhoz képest aktívabbnak bizonyultak. A *p*-metoxifenilpirazolin (**26d**) kiemelkedő hatást mutatott mindhárom sejtvonalon ($\text{IC}_{50(\text{HeLa})} = 2,01 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{MCF7})} = 2,16 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{A431})} = 1,42 \mu\text{M}$), valamint további vizsgálatok alapján²⁵² a HL60 leukémia sejtvonalon is ($\text{IC}_{50(\text{HL60})} = 1,27 \mu\text{M}$), ugyanakkor az egészséges tüdő fibroblaszt sejtek (MRC-5) osztódására kifejtett gátlása lényegesen kisebb volt ($\text{IC}_{50(\text{MRC-5})} = 17,01 \mu\text{M}$) a ciszplatinnal ($\text{IC}_{50(\text{HeLa})} = 12,43 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{MCF7})} = 9,63 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{A431})} = 2,84 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{HL60})} = 2,13 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50(\text{MRC-5})} = 4,13 \mu\text{M}$) összehasonlítva. Néhány származék további hatástani vizsgálatokra került hatásmechanizmusuk tisztázása érdekében,^{252,253} amelyek során nyilvánvalóvá vált, hogy antiproliferatív hatásukat a sejtciklus befolyásolása és az apoptózis indukciója révén fejtik ki,

sőt egyes vegyületek a multidrog-rezisztens tumorsejtek doxorubicinnal szembeni érzékenységét is képesek növelni.

5.1.3. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16 α ,17-helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise intramolekuláris 1,3-DC-val [5]

Az előző fejezetben bemutatott pirazolinokhoz hasonló vegyületek intramolekuláris 1,3-DC-val történő előállítására egy másik, DEA-acetátból (**8**) többlépéses szintézissel nyert D-szekoaldehid (**30**)²⁵⁴ is lehetőséget kínált (**22. ábra**). Ebben a vegyületben a **11**-es aldehidhez (ld. **19. ábra**) képest az alkenil oldallánc és a formilcsoport fordított elhelyezkedésű (ld. **2.1.3. fejezet, 10. ábra, E módszer**), továbbá a dipólus kialakítására alkalmas karbonilcsoport közvetlenül a szteránvázhoz kapcsolódik.

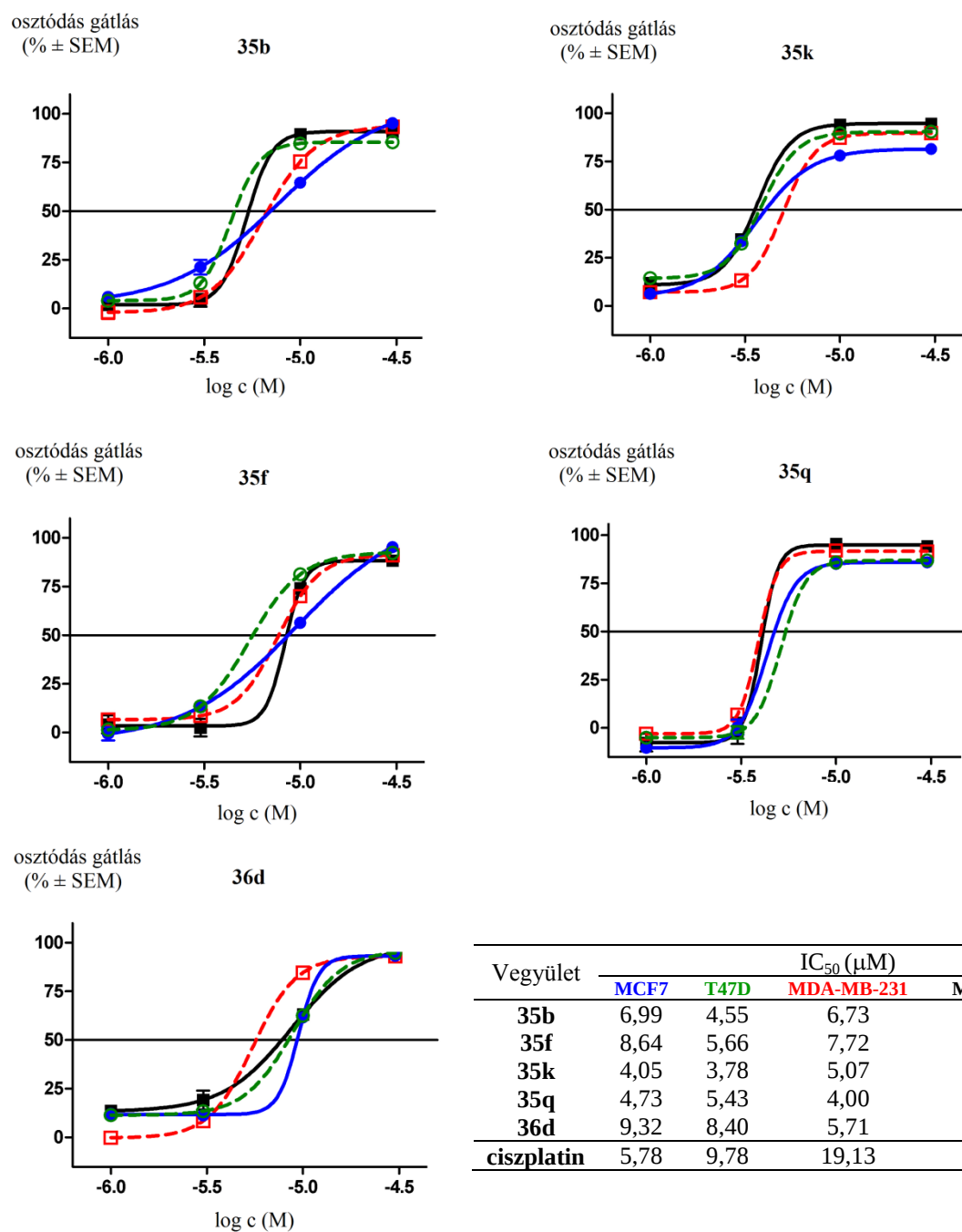


22. ábra: Androsztánváz [16 α ,17:4',3']-pirazolinok és [16,17:4',3']-pirazolok szintézise alkenil-kváziazometin-iminek Lewis-sav katalizált intramolekuláris 1,3-DC-jával

A **30**-as aldehidet fenilhidrazin (**20a**) és szubsztituált fenilhidrazinok hidroklorid sóival (**20b–d**, **20f**, **20j**, **20k**, **20m**, **20p**, **20q**) NaOAc jelenlétében reagáltatva a megfelelő arilhidrazonokat (**31a–d**, **31f**, **31j**, **31k**, **31m**, **31p**, **31q**) kaptuk *E* geometriai izomerjeik formájában, amelyek $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -katalizált 1,3-DC-ja sztereoszelektíven a D-gyűrűhöz kondenzált pirazolinokhoz (**34a–d**, **34f**, **34j**, **34k**, **34m**, **34p**, **34q**) vezetett. A **11**-es aldehdből nyert fenilhidrazonok (**21a–k**) Lewis-sav jelenlétében tapasztalt nagy reakciókészségéhez (0°C , 20 perc – 3 óra, **21. ábra**) képest a **31**-es származékok csökkent hajlandóságot mutattak a gyűrűzárásra, bár a korábban megfigyelt szubsztituenshatás ebben az esetben is érvényesült. Az elektronküldő csoportot tartalmazó vegyületek (**31b–d**, **31m**, **31p**) 1–5 óra szobahőmérsékleten történő reakciót követően 90–96%-os hozammal eredményezték a megfelelő terméket (**34b–d**, **34m**, **34p**), ugyanakkor az EWG-szubsztituált fenilhidrazonok (**31f**, **31j**, **31k**, **31q**) gyűrűzárása 28 órás reakcióidő után 70–74%-os termeléssel vezetett a kívánt pirazolinokhoz (**34f**, **34j**, **34k**, **34q**). A csökkent reaktivitás további bizonyítéka, hogy ebben az esetben a két elektronküldő CH_3 -csoportot tartalmazó vegyület (**31m**) gyűrűzárásához is szükség volt a Lewis-sav jelenlétére, szemben a hasonló dimetil-szubsztituált aromás gyűrűt hordozó **21m** származékkal, amely spontán, katalizátor hiányában továbbalakult. A különböző szerkezetű alkenilhidrazonok (**21** és **31**) eltérő reaktivitása azzal értelmezhető, hogy a **31**-es vegyületekben az 1,3-dipólus részét képező 17-es szénatom a szteránváz közelsége miatt nehezebben megközelíthető a dipolarofil által, mint a **21**-es származékokban a 16-os szénatom. Ezt az állítást az a korábbi megfigyelés is alátámasztja, hogy a fenilhidrazonok aldehid részén lévő nagy térkitöltésű csoportok szterikus okokból akadályozzák a gyűrűzárást.²⁵¹ Az intramolekuláris 1,3-DC elsődleges termékei itt is alkenil-azometin-imin-szerű köztitermékeken (**32**) keresztül képződő arilpirazolidinek (**33**), amelyek képződését egyes reakciók esetén $^1\text{H-NMR}$ -rel igazoltunk. Ezek a telített heterociklusos származékok azonban a feldolgozási, illetve tisztítási lépések, valamint a levegőn hosszabb ideig való állás során pirazolinná (**34**) oxidálódtak.^{67,68} Egyetlen esetben a pirazolin származék (**34d**) mellett a heteroaromás pirazol (**36d**) keletkezését is megfigyeltük.

Az előállított D-gyűrűhöz kondenzált heterociklusok (**34a–d**, **34f**, **34j**, **34k**, **34m**, **34p**, **34q**, **36d**) és lúgos közegű dezacetilezésükkel nyert 3-OH származékaik (**35a–d**, **35f**, **35j**, **35k**, **35m**, **35p**, **35q**, **37d**) *in vitro* farmakológiai vizsgálatra kerültek, amelynek során négyféle emlő ráksejtvonalon (MCF7, T47D, MDA-MB-231 és MDA-MB-361) vizsgálták azok osztódás gátló hatását. A vegyületek közül négy pirazolin (**35b**, **35f**, **35k**, **35q**) és egy

pirazol vegyület (**36d**) jelentős, a referenciaként alkalmazott ciszplatinnál nagyobb vagy azzal összemérhető gátlást mutatott valamennyi sejtvonalon (**23. ábra**).

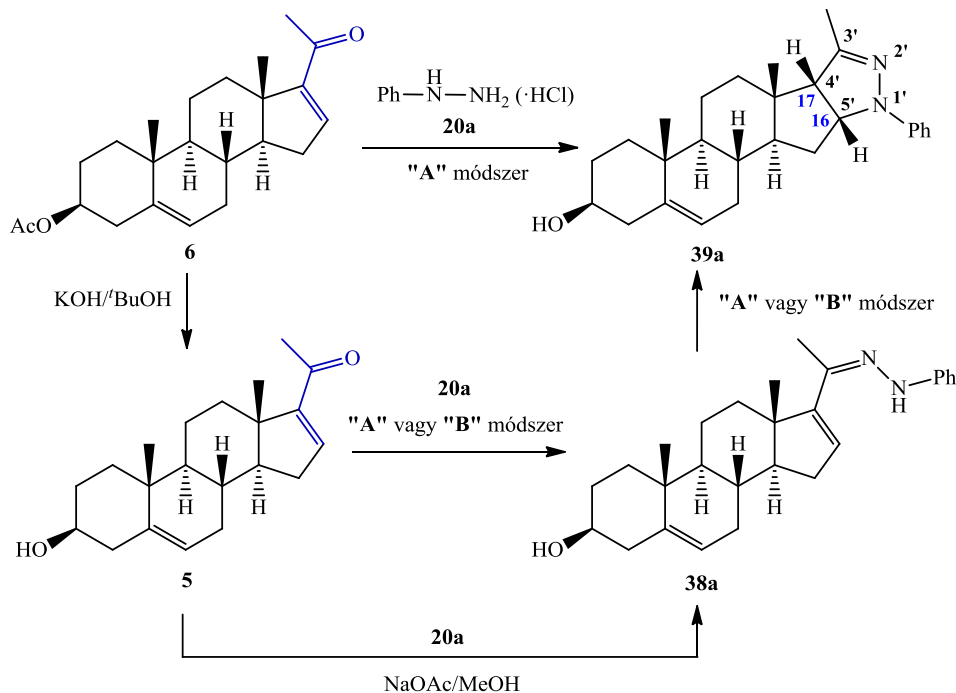


23. ábra: Androsztánváz D-gyűrűjéhez kondenzált pirazolinok és pirazol koncentráció–hatás görbéi és IC₅₀ értékei MCF7 (●), T47D (○), MDA-MB-231 (□) és MDA-MB-361 (■) sejtvonalakon

5.1.4. Androsztánváz D-gyűrűjéhez 16 α ,17 α -helyzetben kondenzált pirazolinok szintézise szteránvázak karbonilvegyületéből [6]

Az előző két fejezetben ismertetett intramolekuláris 1,3-DC mellett a szteránvázak α,β -telítetlen ketonok hidrazin származékokkal végzett gyűrűzárása (ld. 2.2.1. fejezet) további D-gyűrűhöz kondenzált pirazolinok szintézisére adott lehetőséget.

A tervezett reakciók kiindulási anyagául a PDA (6) szolgált, amelyet elsőként etanolos közegben fenilhidrazin hidroklorid sójával (20a) reagáltattunk 1 ekv. PTSA jelenlétében (24. ábra, "A" módszer). A reakcióelegy 6 órás forralását követően a kiindulási anyag teljesen átalakult és a képződő termék (39a) hozama 82%-nak adódott. Mivel a gyűrűzárási reakció az erős sav jelenléte folytán a korábbi, hasonló szerkezetű vegyületek farmakológiai vizsgálataiban során (ld. 5.1.2. és 5.1.3. fejezetek) a megfelelő észternél általában hatásosabbnak bizonyuló 3 β -OH vegyület (39a) képződéséhez vezetett, ezért jobb megoldásnak találtuk azt, hogy a további kísérleteinkhez a PDA (6) helyett a pregnadienolont (5) használjuk. Az 5 és 20a reakciója hagyományos melegítéssel 5 óra alatt ("A" módszer), míg MW-besugárzással, 100 °C-on 20 perc alatt ("B" módszer) eredményezte a megfelelő pirazolint (39a), ugyanakkor a két módszer között a termékhozam (~ 90%) tekintetében nem találtunk jelentős



"A" módszer: PTSA (1 ekv.), EtOH, 78 °C

"B" módszer: PTSA (1 ekv.), EtOH, MW, 100 °C

24. ábra: Androsztánváz [16 α ,17 α :5',4']-fenilpirazolin előállítása
 α,β -telítetlen karbonilvegyületekből

különbséget. A MW-szintézist magasabb hőmérsékleten (150 °C) elvégezve a reakció kemoszелеktivitása romlott, és a kívánt vegyület mellett melléktermékek képződését figyeltük meg. A PTSA helyett egyéb erős savak (H₂SO₄, TFA) szintén alkalmasnak bizonyultak a gyűrűzárás kivitelezéséhez, míg a jóval gyengébb ecetsav alkalmazása csak csekély konverziót eredményezett. A PTSA mennyiségét csökkentve (0,3 ekv.) a reakcióidő növekedését tapasztaltuk mindkét fűtési módszer esetén.

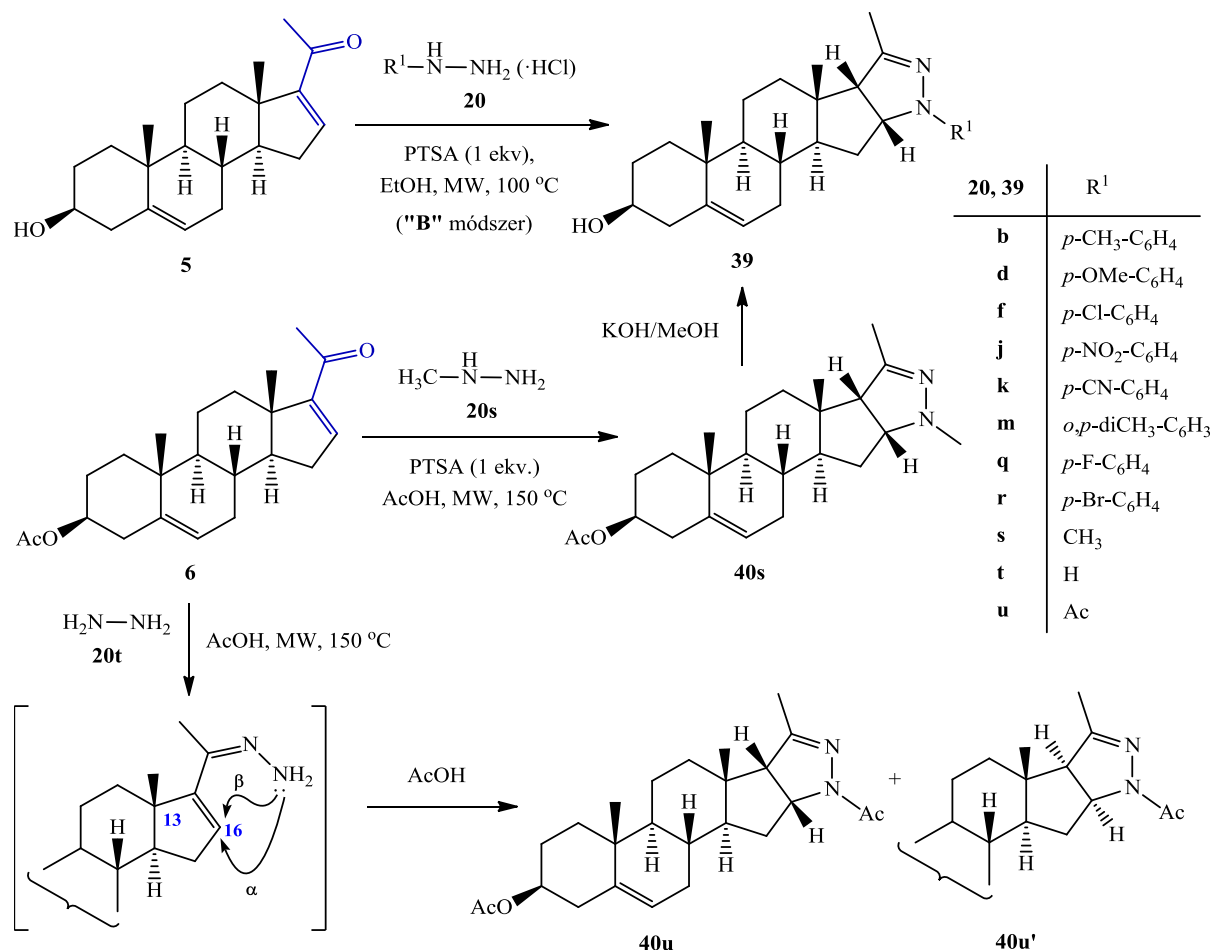
Annak eldöntésére, hogy a pirazolinképződés 1,2-addícióval vagy 1,4-konjugált addícióval játszódik-e le (ld. **12. ábra**), összehasonlító anyagnak elkészítettük az 5-ös vegyület fenilhidrazonját (**38a**) is (**24. ábra**). Az **5** és a **20a** gyűrűzárási reakcióját konvencionális melegítéssel ("A" módszer) megismételve az adott időközönkénti vékonyréteg-kromatográfiás futtatás során azt tapasztaltuk, hogy a fenilhidrazon (**38a**), mint egyedüli köztitermék megjelent a reakcióelegyen. Az 1,2-addíciós mechanizmus további bizonyítékaul szolgált, hogy az izolált fenilhidrazon (**38a**) EtOH-ban, PTSA jelenlétében szintén a **39a** terméket szolgáltatta.

A továbbiakban az általunk optimálisnak talált körülmények között ("B" módszer) a gyűrűzárási reakciót különböző módon szubsztituált fenilhidrazinok hidroklorid sóival (**20b**, **20d**, **20f**, **20j**, **20k**, **20m**, **20q**, **20r**) is elvégeztük (**25. ábra**). Az átalakítások minden esetben 20 perc reakcióidőt alkalmazva jó hozamokkal (81–95%) a várt 2-pirazolinokhoz (**39b**, **39d**, **39f**, **39j**, **39k**, **39m**, **39q**, **39r**) vezettek a reagens aromás gyűrűjéhez *para*-helyzetben kapcsolódó szubsztituens elektronikus jellegétől és helyzetétől függetlenül. Mivel ugyanezen kísérleti paraméterek mellett a nem só formájában alkalmazott metilhidrazinnal (**20s**) még MW alkalmazása mellett is csekély átalakulást tapasztaltunk, ezért a 3-OH származék (**39s**) előállítása érdekében ebben az esetben kerülő módszerhez folyamodtunk. A PDA-ból (**6**) kiinduló szintézist ecetsavban, 1 ekv. PTSA jelenlétében 150 °C-on, MW reaktorban végeztük, így a 3-as helyzetű dezacetileződés nem következett be, és 2 perces besugárzási időt követően a megfelelő 2-pirazolin 3β-acetátjának (**40s**) képződését tapasztaltuk. A 3-OH analogont (**39s**) lúgos metanolízissel nyertük.

A monoszubsztituált hidrazinokkal (**20a**, **20b**, **20d**, **20f**, **20j**, **20k**, **20m**, **20q–s**) elvégzett reakciók sztereoszelektívnek bizonyultak; az újonnan kialakult heterociklus 16α,17α térállását a **39r** és **40s** származékok NOESY spektrumainak segítségével igazoltuk, amely jó egyezést mutatott a korábban 20-tiohidrazonok hasonló gyűrűzárása során megállapított térszerkezettel.¹⁵⁶ Ezekben az esetekben tehát a megfelelő hidrazonok aminos-nitrogénjének intramolekuláris támadása a 16-os helyzetbe csak a 18-as anguláris

metilcsoporttal ellentétes (α) térfélről következett be. Amennyiben az átalakítást ecetsavban hidrazinnal (**20t**) hajtottuk végre, a két lehetséges *N*-acetilezett *cis*-termék (**40u** + **40u'**) oszlopkromatográfiával nem elválasztható, 1:2 arányú keverékét kaptuk. Ez a tény arra utalt, hogy ebben az esetben a gyűrűzárás megelőzi az oldószer hatására bekövetkező *N*-acetileződést, melyet az a kísérleti tény is alátámasztott, hogy az **6**-ból acetilhidrazinnal előállítható acetilhidrazon ecetsavas közegű gyűrűzárása nem következett be az amid-*N* gyenge nukleofil karaktere folytán,²⁵⁵ hanem helyette visszaalakult a kiindulási ketonná (**6**).

Az előállított D-gyűrűhöz kondenzált heterociklusok (**39a**, **39b**, **39d**, **39f**, **39j**, **39k**, **39m**, **39q–s**) *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálata négyféle emlő (MCF7, T47D, MDA-MB-231 és MDA-MB-361) és háromféle méhnyak (HeLa, C33A és SiHA) ráksejtvonalon történt, de a vegyületek közül csak a **39s** mutatott a referenciaként alkalmazott ciszplatinnal összemérhető gátlást HeLa sejteken.



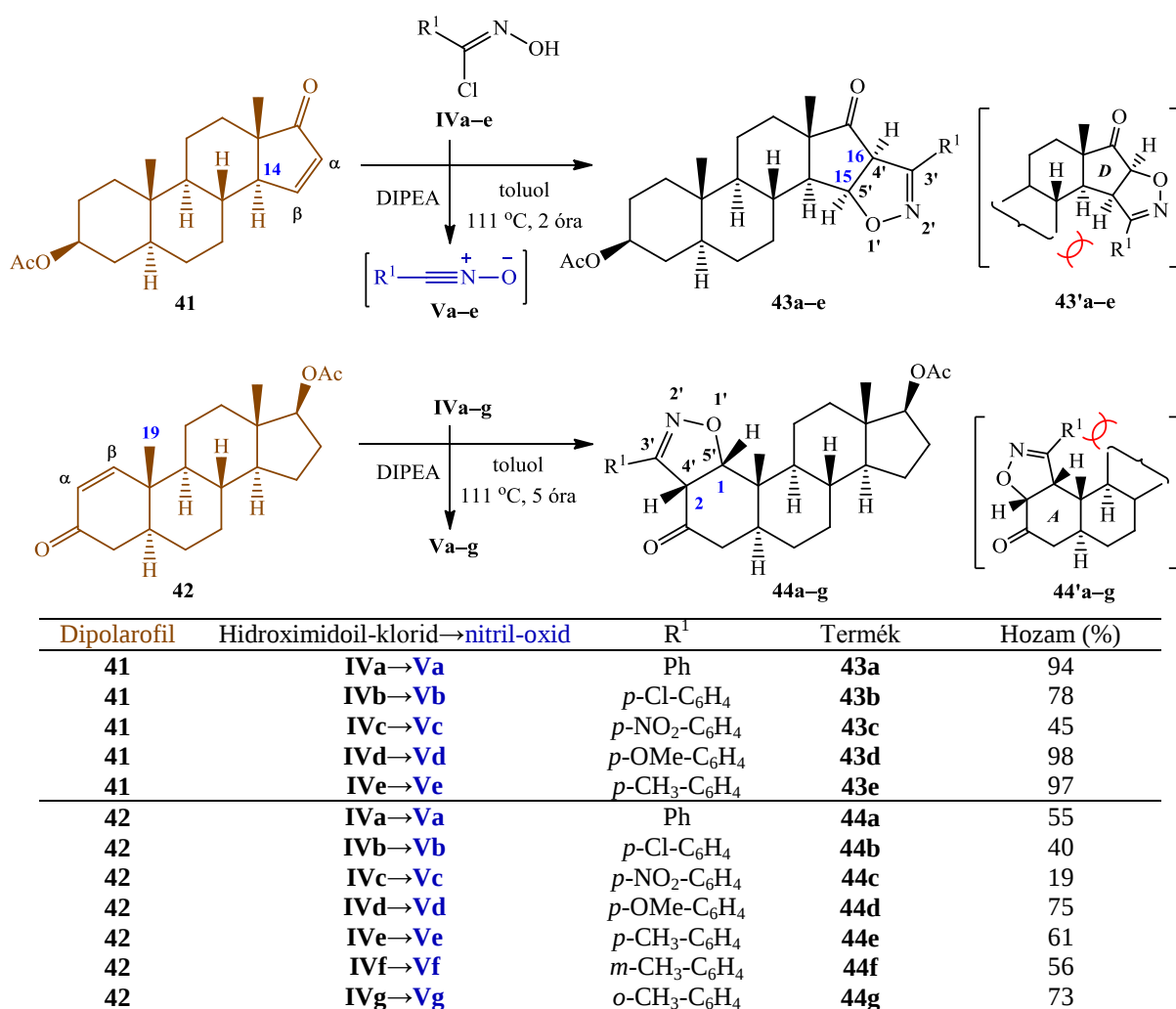
25. ábra: Androsztánvázás [16 α ,17 α :5',4']- és [16 β ,17 β :5',4']- pirazolinok előállítása α , β -telítetlen karbonilvegyületekből

5.1.5. Androsztánváz A- és D-gyűrűjéhez 1 α ,2 α - és 15 β ,16 β -helyzetben kondenzált izoxazolinok szintézise intermolekuláris 1,3-DC-val [7]

A szteránváz A- és D-gyűrűjének 1,2- és 15,16-helyzetéhez kondenzált 2'-izoxazolinok előállítására az 1,3-DC intermolekuláris változatát választottuk (2.1.3. fejezet, 9. *ábra*, A stratégia) szteránvázak alkén dipolarofilek és *in situ* előállított nitril-oxid dipólusok (V) felhasználásával (2.1.1.1. fejezet, 3. *ábra*).

Mivel az alkén C=O kötéssel történő konjugációja nagymértékben fokozza a dipolarofil reaktivitását,⁵⁷ ezért kiindulási anyagaink DEA-acetátból (8), illetve DHT-acetátból (9) többlépéses szintézissel előállított szteránvázak α,β -telítetlen ketonok (41 és 42)^{256,257} voltak (26. *ábra*). Az 1,3-dipólusok (Va–g) előanyagaiként szolgáló aromás hidroximidoil-kloridokat (IVa–g, X = Cl) benzaldehidből és annak szubsztituált származékaiból (Ia–g, R¹ = Ar) oximképzéssel (IIa–g, R¹ = Ar), majd NCS-del történő klórozással a 2.1.1.1. fejezetben (3. *ábra*) ismertetett módszerrel állítottuk elő.¹⁰⁵

Kezdeti kísérleteink során a körülmények optimalizálása érdekében a 41, valamint a 42 és N-hidroxi-benzolkarboximidoil-klorid (IVa) reakcióját végeztük el, amely lehetőséget biztosított a D-, illetve az A-gyűrűben lévő dipolarofil molekularészek reaktivitásának összehasonlítására is. Az 1,3-dipólust (Va) a szteránvázak dipolarofil (41 vagy 42) jelenlétében DIPEA szobahőmérsékleten történő lassú adagolásával szabadítottuk fel az előanyagából (IVa) a nem kívánatos furoxánképződés elkerülése végett, majd a reakcióelegyeket forraltuk (26. *ábra*). A 41-es vegyület esetén az 1,3-DC 2 órás reakcióidőt alkalmazva teljesen végbement és a megfelelő terméket (43a) tisztítást követően 94%-os hozammal kaptuk. Ezzel szemben a 42-es enon esetén csökkent reakciókészséget tapasztaltunk; az A-gyűrűhöz kondenzált izoxazolin (44a) hozama 5 órás forralást követően is csak 55%-nak adódott. Az öttagú D-gyűrűs enon (41) tehát a hattagú dipolarofilhez (42) képest reaktívabbnak bizonyult, amely az előbbi rendszer feszültebb állapotának és konformációs tényezőknek tudható be, és a ciklopentén/ciklohexén vonatkozásában is megfigyelt kísérleti tapasztalat.⁵⁹ A következőkben elvégeztük a 41 és 42 enonok szubsztituált benzonitril-oxidokkal (Vb–g) végbemenő intermolekuláris gyűrűzárási reakcióit is, amelyek során változó hozamokkal D-, illetve A-gyűrűhöz 15,16-, valamint 1,2-helyzetben kondenzált izoxazolinokhoz (43b–e, 44b–g) jutottunk (26. *ábra*).



26. ábra: Androsztánvázis [15β,16β:5',4']- és [1α,2α:5',4']- izoxazolinok előállítása
nitril-oxid/alkén intermolekuláris 1,3-DC-val

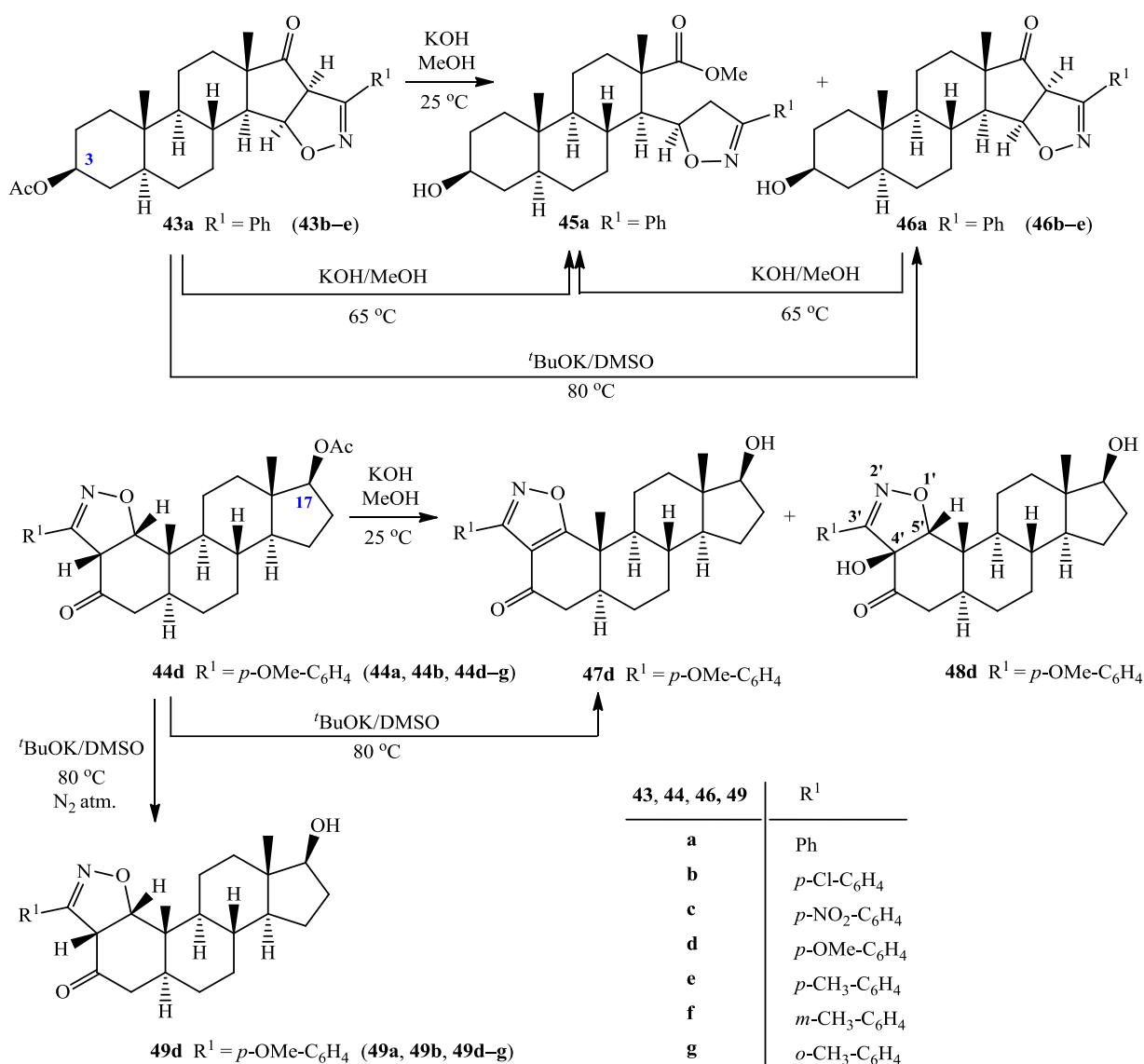
A termékek (43, 44) hozama összefüggést mutatott a nitril-oxidok (Va–g) aromás gyűrűjén lévő szubsztituensek elektronikus karakterével; az elektronküldő csoportok (CH₃, OMe) jelenléte kedvezett a cikloadduktumok képződésének, míg az elektronvonzó szubsztituenseket (Cl, NO₂) tartalmazó dipólusok esetén – ez utóbbiak furoxánképződésre való nagyobb hajlama miatt⁵⁹ – a heterociklusos származékok hozama csökkent (26. ábra).

Az intermolekuláris gyűrűzárások során két új aszimmetriacentrum jön létre, ennek ellenére a reakciók sztereo- és régiószelektíven egyetlen vegyület képződéséhez vezettek. Az újonnan kialakuló 2'-izoxazolin gyűrű térállása, amely 43a–e vegyületeknél 15β,16β-*cisz*, míg 44a–g esetén 1α,2α-*cisz* kapcsolódásának bizonyult, szterikus okokra vezethető vissza. A dipólus azonos oldali támadása ugyanis 41 származéknál a 14-es helyzetű hidrogén α helyzete,²⁵⁸ míg 42-nél a 19-es anguláris metilcsoport β pozíciója miatt gátolt. A lehetséges

régióizomerek (**43** és **43'**, illetve **44** és **44'**) közül mindkét szteránvázas dipolarofilből (**41** és **42**) az a származék képződött, amelyben a dipólus O-atomja a dipolarofil C=O kötéséhez képest β -helyzetben lévő szénatomhoz kapcsolódik. Az α -szénatomra történő támadás esetén (**43'**, illetve **44'**) a heterociklus nagy térkitöltésű arilcsoportja a szteránváz felé hajlana, ami szterikusan kedvezőtlen. A valószínűsített térszerkezetet az egy- és kétdimenziós NMR mérések is alátámasztották.

A heterociklusos termékek megfelelő 3-OH és 17-OH származékainak előállítása céljából a két vegyületcsoport egy-egy tagját (**43a** és **44d**) a szokásos dezacetilezési reakciónak vetettük alá, azonban mindkét esetben nem várt termék képződését tapasztaltuk (27. *ábra*). A **43a** lúgos metanolízise szobahőmérsékleten a kívánt izoxazolin (**46a**) mellett egy D-szekoészter (**45a**) keletkezéséhez vezetett, míg forralás során ez utóbbi vegyületet eredményező, az 1,3-diketonok és ketoészterek retro-*Dieckmann* reakciójához²⁵⁹ hasonló fragmentáció vált kizárólagossá. A D-gyűrű C16–C17 kötés közötti felhasadása egyúttal közvetett bizonyítékul szolgált a **43**-as régióizomer 1,3-DC során történő képződésére is (26. *ábra*), mivel **43'** esetén az ilyen típusú gyűrűfelnyílás lehetősége kizárható. A megfelelő 3-OH analogon (**46a**) előállítása végül ^tBuOK/DMSO alkalmazásával vált lehetővé. A **44d** vegyület KOH-os reakciója egy A-gyűrűhöz kondenzált heteroaromás izoxazol (**47d**) és egy 4'-hidroxi-2'-izoxazolin (**48d**) 4:1 arányú elegyéhez vezetett, amelyeket egymástól elválasztottunk. Előbbi termék képződése a **44d** dezacetileződését kísérő autooxidációjával magyarázható, bár szobahőmérsékleten, oxidálószer hiányában történő keletkezése meglehetősen szokatlan. A **48d** ugyanakkor a **44d** lúgos közegben kialakuló enolát formájának oxidálódásával jöhet létre.²⁶⁰ A KOH/MeOH helyett ^tBuOK/DMSO körülményeket alkalmazva a **48d** származék nem képződött, mivel a polárisabb oldószer használata nem kedvez az enolát tautomer kialakulásának. Ennél a bázis/oldószer kombinációnál levegő jelenlétében **47d**-t, míg annak kizárásával az eredetileg előállítani kívánt terméket (**49d**) kaptuk. A **43a**, illetve **44d** izoxazolinok lúgos közegben tapasztalt eltérő viselkedése feltehetően a flexibilis A-gyűrűhöz képest a D-gyűrű zsúfoltabb környezetének és feszültebb jellegének tulajdonítható.

A továbbiakban előállítottuk az intermolekuláris 1,3-DC-val nyert termékek (**43b–e**, **44a**, **44b**, **44d–g**) 3-OH (**46b–e**), illetve 17-OH származékait (**49a**, **49b**, **49d–g**) is (27. *ábra*), azonban az *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálatok alapján egyik sem mutatott említésre méltó antiproliferatív hatást.

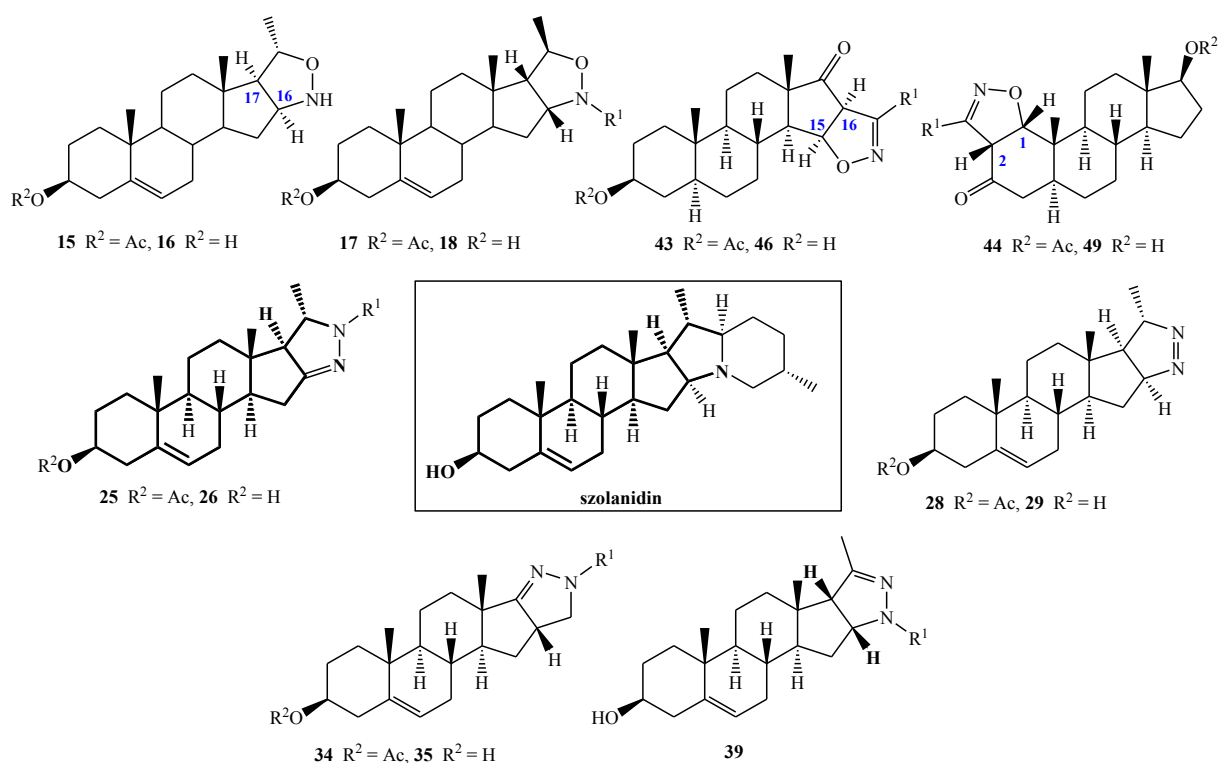


27. ábra: Androsztánváz D- és A-gyűrűhöz kondenzált 2-izoxazolinok bázisos közegű reakciói

Az 5.1. fejezet egyes alpontjaiban tárgyalásra került szintézisekkel androsztánváz A- és D-gyűrűjéhez kondenzált öttagú *N,O*-heterociklusokat (15–18 és 43, 44, 46, 49), valamint D-gyűrűjéhez kondenzált öttagú *N,N*-heterociklusokat (25, 26, 28, 29, 34, 35, 39) állítottunk elő, amelyek általános szerkezetét az összehasonlíthatóságuk érdekében a 28. ábra szemlélteti.

Az elvégzett *in vitro* farmakológiai vizsgálatok eredményei alapján megállapítható, hogy a pirazolin molekularész ígéretesebb szerkezeti elemnek bizonyult a sejtosztódás gátló hatás szempontjából, mint az izoxazol(id)in gyűrű. Az *N,O*-heterociklusok ugyanis, függetlenül a vázhoz való kapcsolódási helyüktől, módjuktól és a heterogyűrűn lévő szubsztituensek

jellegétől, számottevő aktivitással nem rendelkeztek. A szintén nagy szerkezeti diverzitást mutató pirazolinok közül azonban jó néhány vegyület (25, 26 és 35) mutatott említésre méltó antiproliferatív hatást. Utóbbiak közül is azok a származékok (26) voltak kiemelkedően aktívak többféle ráksejtvonalon is, amelyek a 16,17 β orientációban tartalmazzák a 2-pirazolin molekularészt. Ezek a vegyületek (26) kismértékű szerkezeti rokonságot mutatnak a *Solanaceae* család egyes képviselőiben előforduló növényi alkaloiddal, a szolanidinnel, amely egyes vegyületeinkhez hasonlóan szintén antiproliferatív hatású,²⁶¹ sőt a multidrog-rezisztens tumorsejtek gyógyszerrel szembeni érzékenységét is képes növelni.²⁶² Az is elmondható ugyanakkor, hogy a heterogyűrűn lévő szubsztituens minősége, valamint a szteránváz 3-as helyzetében lévő csoport jellege nagymértékben befolyásolta a vegyületek aktivitását.



28. ábra: Az előállított androsztánvázhoz kondenzált öttagú N,O- és N,N-heterociklusok általános szerkezete

5.2. Szteránvázas öttagú *spiro-N,O*-heterociklusok szintézise

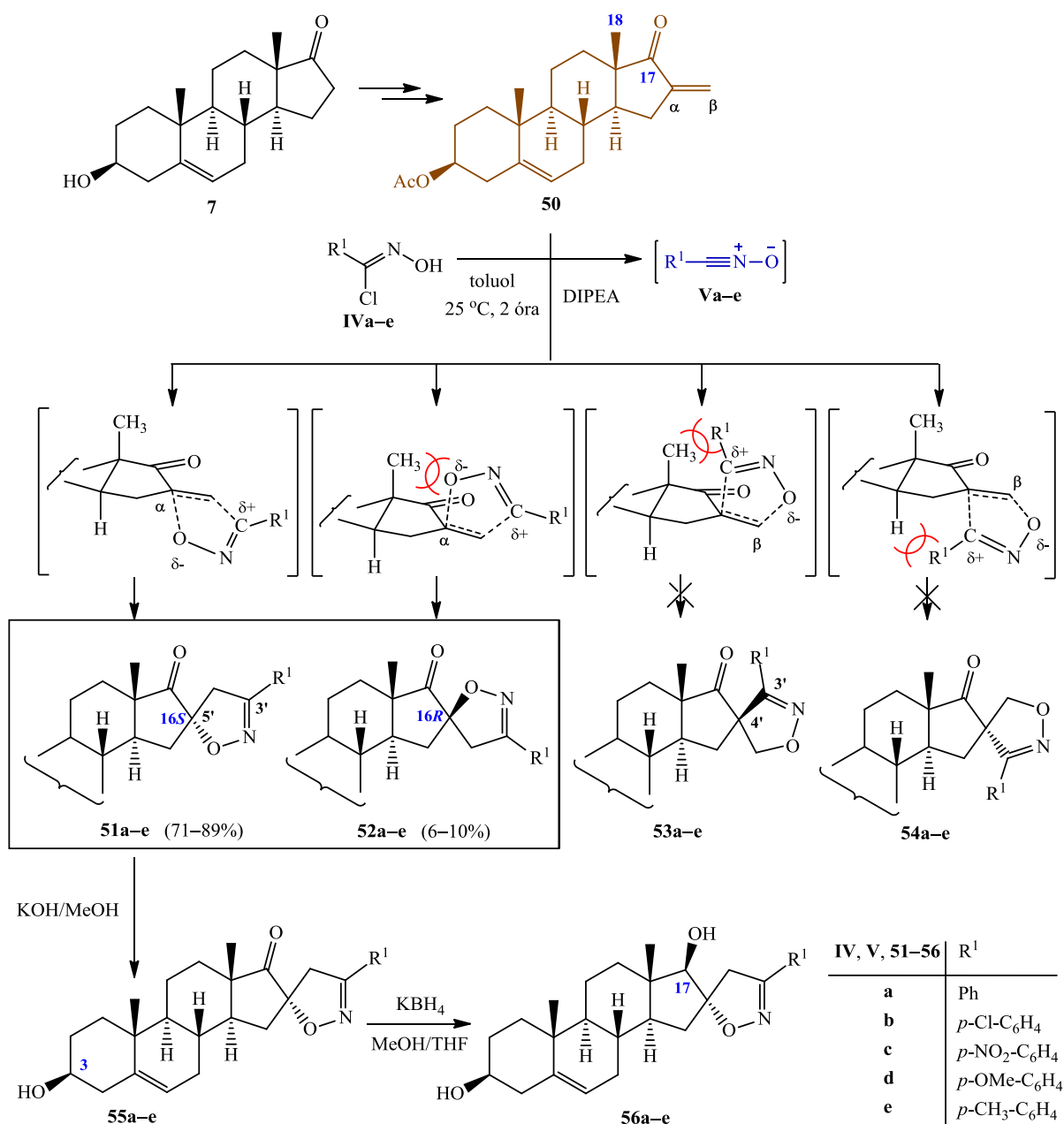
5.2.1. Androsztánvázas 16-*spiro*-izoxazolinok előállítása intermolekuláris 1,3-DC-val [8]

A nitril-oxid/alkén intermolekuláris 1,3-DC (2.1.1.1. fejezet, 3. *ábra*) *spiro*-izoxazolinok előállítását is lehetővé tette (2.1.3. fejezet, 9. *ábra*, B stratégia). A szteránváz D-gyűrűjének 16-os helyzetéhez *spiro*-módon kapcsolódó heterociklusok szintézisére kevés szakirodalmi példa található,²⁶³ sokkal gyakoribb a 17-es pozícióban történő gyűrűkialakítás.^{134,135} Tekintettel arra, hogy számos természetes vegyület, köztük egyes szteránvázas glikoalkaloid (tomatin, szolaszonin),²⁶⁴ valamint szintetikus szteránvázas *spiro* származék²⁶⁵ rendelkezik jelentős antiproliferatív hatással, az ilyen típusú vegyületek előállítása mind sztereokémiai, mind farmakológiai szempontból is érdekes lehet. Bár az izoxazolin gyűrű viszonylag ritka szerkezeti elemnek számít mind az élővilágban,²⁶⁶ mind a kereskedelmi forgalomban kapható gyógyszerhatóanyagok körében, jó néhány biológiailag aktív szintetikus képviselőjük ismeretes.²⁶⁷

Átalakításaink kiindulási anyaga 3 β -acetoxi-16-metilidénandroszt-5-én-17-on (**50**) volt, amely többlépéses szintézissel DEA-ból (**7**) nyerhető (29. *ábra*).²⁶⁸ Az **50**-es vegyülettől a metilidén csoport jelenléte folytán egy endociklusos kettős kötést tartalmazó vegyülethez (pl. **41** vagy **42**, 26. *ábra*) képest nagyobb reaktivitás várható, amelyet tovább növelhet a 17-es karbonilcsoporttal történő konjugáció.⁵⁷ Az alkén dipolarofil monoszubsztituált jellege ugyanakkor a folyamat nagyobb régiószelektivitását sejteti (ld. 2.1.1.1. fejezet). A nitril-oxid 1,3-dipólusok (**Va–e**) előanyagait (**IVa–e**) aromás aldehidekből kétlépéses szintézissel állítottuk elő,¹⁰⁵ majd DIPEA jelenlétében toluolban reagáltattuk a szteránvázas α,β -telítetlen ketonnal (**50**). Az intermolekuláris 1,3-DC-k 2 óra alatt szobahőmérsékleten lejátszódtak, és a legtöbb reakciónál két termék (**51a–e** és **52a–e**) képződéséhez vezettek. Az **V** aromás gyűrűjén lévő csoportok esetében jelentős szubsztituenshatást nem figyeltünk meg, bár az elektronvonzó Cl és NO₂ csoportokat tartalmazó nitril-oxidok (**Vb** és **Vc**) alkalmazásakor valamelyest csökkent a tisztított termékek (**51b** és **52b**, illetve **51c**) összhozama.

A reakció során elméletileg 4 izoxazolin izomer (2 régióizomer és ezeken belül két-két sztereoizomer, **51**, **52** és **53**, **54**) keletkezésére van mód, azonban az irodalommal összhangban csak az 5-szubsztituált régióizomer két diasztereomerének 71–89% (**51a–e**) és 6–10% hozamú (**52a**, **52b**, **52d**, **52e**) képződését tapasztaltuk. A nitril-oxid (**V**) O-atomjának az alkén α -szénatomjára való támadása a C-18 anguláris metilcsoporttal ellentétes

térhelyzetből kedvezőbb, így szterikus okok miatt főtermékként az **51a–e** epimer jön létre. A kétféle diasztereomer (**51**, **52**) abszolút konfigurációját a NOESY mérések is igazolták, így a reakció során létrejövő C-16 aszimmetriacentrum **51**-ben *S*, míg **52**-ben *R* konfigurációjának bizonyult. A főtermékek (**51a–e**) dezacetilezésével (**55a–e**), majd komplex fémhidriddel történő redukciójával (**56a–e**) növeltük a farmakológiai vizsgálatra kerülő vegyületek számát.



29. ábra: Andosztánvázis 16-spiro-izoxazolinok előállítása *nitril-oxid/alkén* intermolekuláris 1,3-DC-val

Az előállított vegyületek (**51a–e**, **52a**, **52b**, **52d**, **52e**, **55a–e**, **56a–e**) *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálata alapján megállapítható, hogy a szteránvázba beépített *spiro*-heterociklus sztereokémiája és szubsztituenseinek jellege sokkal inkább befolyásolta az antiproliferatív hatást, mintsem a váz 3-as, illetve 17-es funkciós csoportjainak a minősége. A 16-*spiro*-izoxazolinok a vázhoz kondenzált izoxazolinoknál (5.1.5. fejezet) nagyobb citotoxikus hatással rendelkeztek a vizsgált humán ráksejtvonalakon (HeLa, MCF7, A431), ugyanakkor a referenciaként alkalmazott ciszplatinnal összemérhető, illetve annál nagyobb aktivitást csupán két *p*-klórfenil-szubsztituált származék (**51b**, **55b**) mutatott.

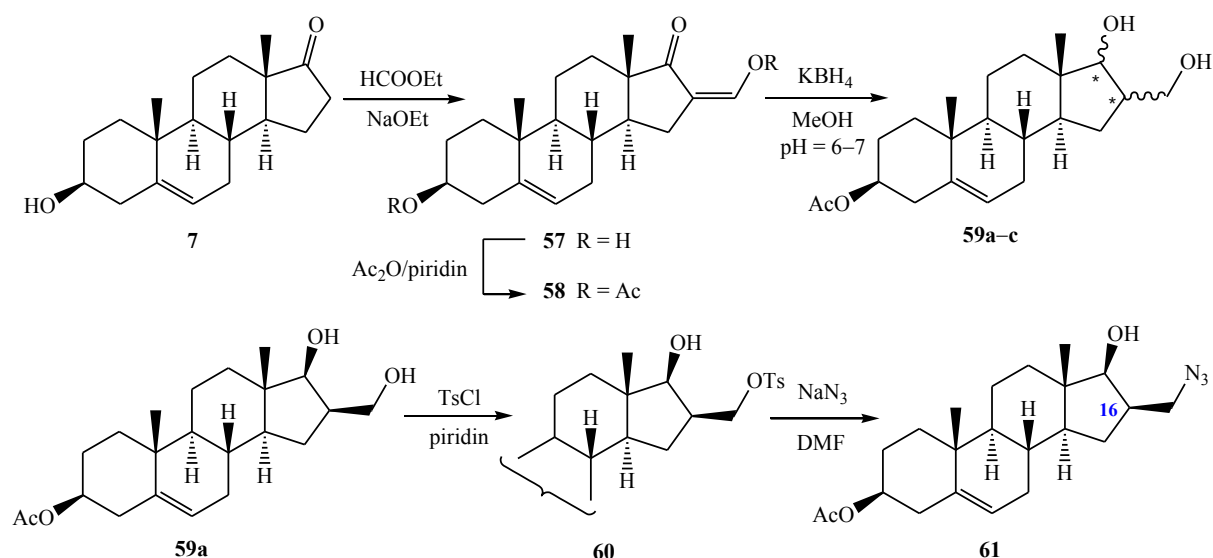
5.3. Szteránvázhoz kapcsolódó öttagú aromás heterociklusok szintézise

5.3.1. Androsztán- és ösztránvázas triazolok (és tetrazolok) előállítása réz(I)-katalizált 1,3-DC-val

Az 1,3-DC réz(I)-katalizált változatát (2.1.2. fejezet) többféle szteroid modellen tanulmányoztuk. A váz különböző helyzeteiben (C-15, C-16, C-17, C-1) szteránvázas azid dipólusok és alkin (egyes esetekben nitril) dipolarofilek intermolekuláris réz(I)-katalizált reakciójával (2.1.3. fejezet, **9. ábra**, **D** módszer) triazol (esetenként tetrazol) heterociklusokat alakítottunk ki, amely kiváló lehetőséget biztosított a diverz szerkezetű vegyületek *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálatait alapján bizonyos szerkezet–hatás összefüggések megállapítására is. A felhasználásra kerülő katalizátor rendszereket minden esetben az adott reakcióra elvégzett optimalizálási kísérletek alapján választottuk meg.

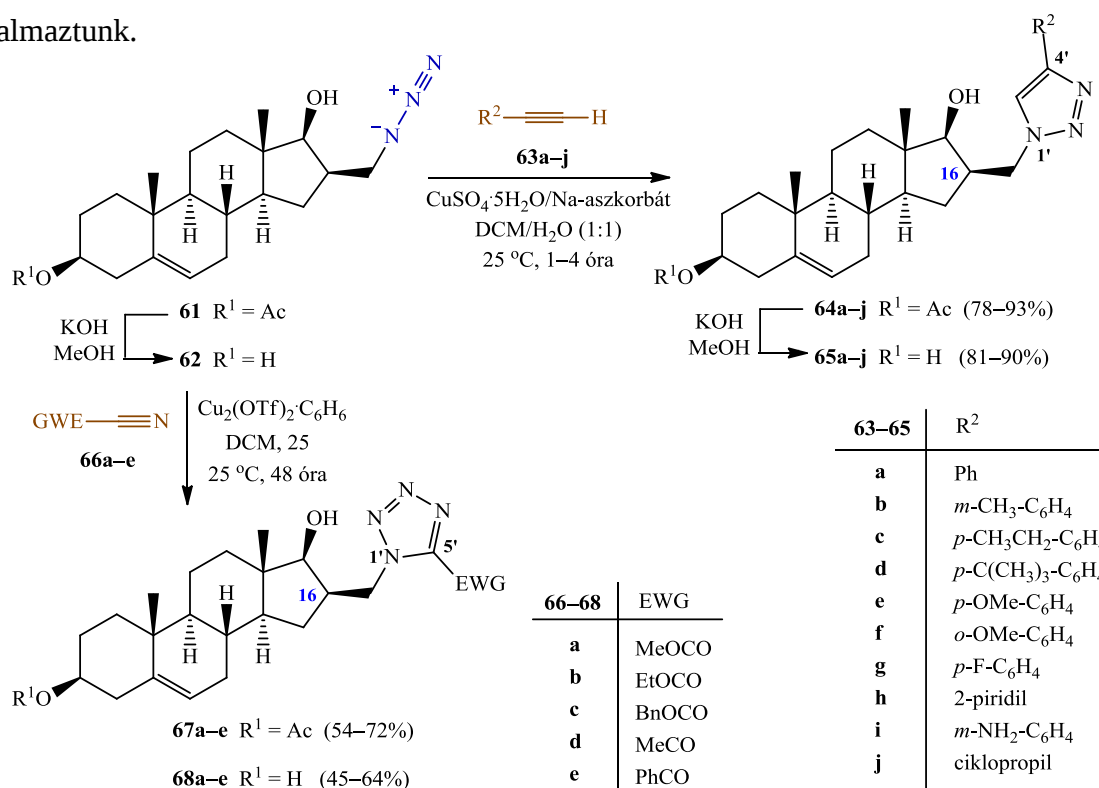
5.3.1.1. Androsztánváz 16-os helyzetéhez metilén-hídon keresztül kapcsolódó triazolok és tetrazolok előállítása [9]

A szteránvázas azid dipolarofil (**61**) előállításához kiindulási anyagként 3 β -acetoxi-16 β -hidroximetilandroszt-5-én-17 β -olt (**59a**) használtunk, amelyet a kutatócsoportunkban korábban kidolgozott módszer alapján DEA-ból (7) etil-formiáttal történő *Claisen*-kondenzációval (**57**), acetilezéssel (**58**), pH-kontrollált körülmények között végzett redukcióval, majd a képződő három diasztereomer 1,3-diol (**59a–c**) oszlopkromatográfiás elválasztásával nyertünk (**30. ábra**).^{269,270} Piridines közegben az **59a** primer hidroxilcsoportját szelektíven jól távozó csoporttá alakítottuk, ezt követően a monotozilezett származékot (**60**) NaN₃-dal reagáltatva jutottunk az 1,3-DC szteránvázas kiindulási anyagához (**61**).



30. ábra: 16β-Azidometil androsztán származék többlépéses szintézise

A 16β-azidometil szteroid (61) és különböző terminális alkinek (63a–j) szobahőmérsékleten kivitelezett, régiószelektív CuAAC-ja a D-gyűrű 16-os szénatomjához metilén-hídon keresztül kapcsolódó 1',4'-diszubsztituált triazolok (64a–j) jó hozamú (78–93%) képződéséhez vezetett (31. ábra). A reakciók végrehajtásához rézforrásként CuSO₄·5H₂O/Na-aszkorbát rendszert, valamint egy kétfázisú oldószerkeletet (DCM/víz)²⁷¹ alkalmaztunk.



31. ábra: 16β-Triazolilmetil és 16β-tetrazolilmetil androsztán származékok szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált azid/alkin és azid/nitril 1,3-DC-val

Néhány elektronvonzó szubsztituens (EWG) tartalmazó nitril dipolarofil (**66a–e**) felhasználásával ugyanakkor 16 β -tetrazolilmetil származékok (**67a–e** és **68a–e**) sikeres szintézisét végeztük el mind a **61**-es azidból, mind annak dezacetilezésével nyert 3-OH analogonjából (**62**) kiindulva (**31. ábra**). Az átalakításokhoz 10 mol% réz(I)-komplexet használtunk, ami szobahőmérsékleten, de viszonylag hosszú reakcióidő (48 óra) után a megfelelő 1',5'-diszubsztituált tetrazolok régiószelektív, közepes hozamú (45–72%) képződéséhez vezetett.

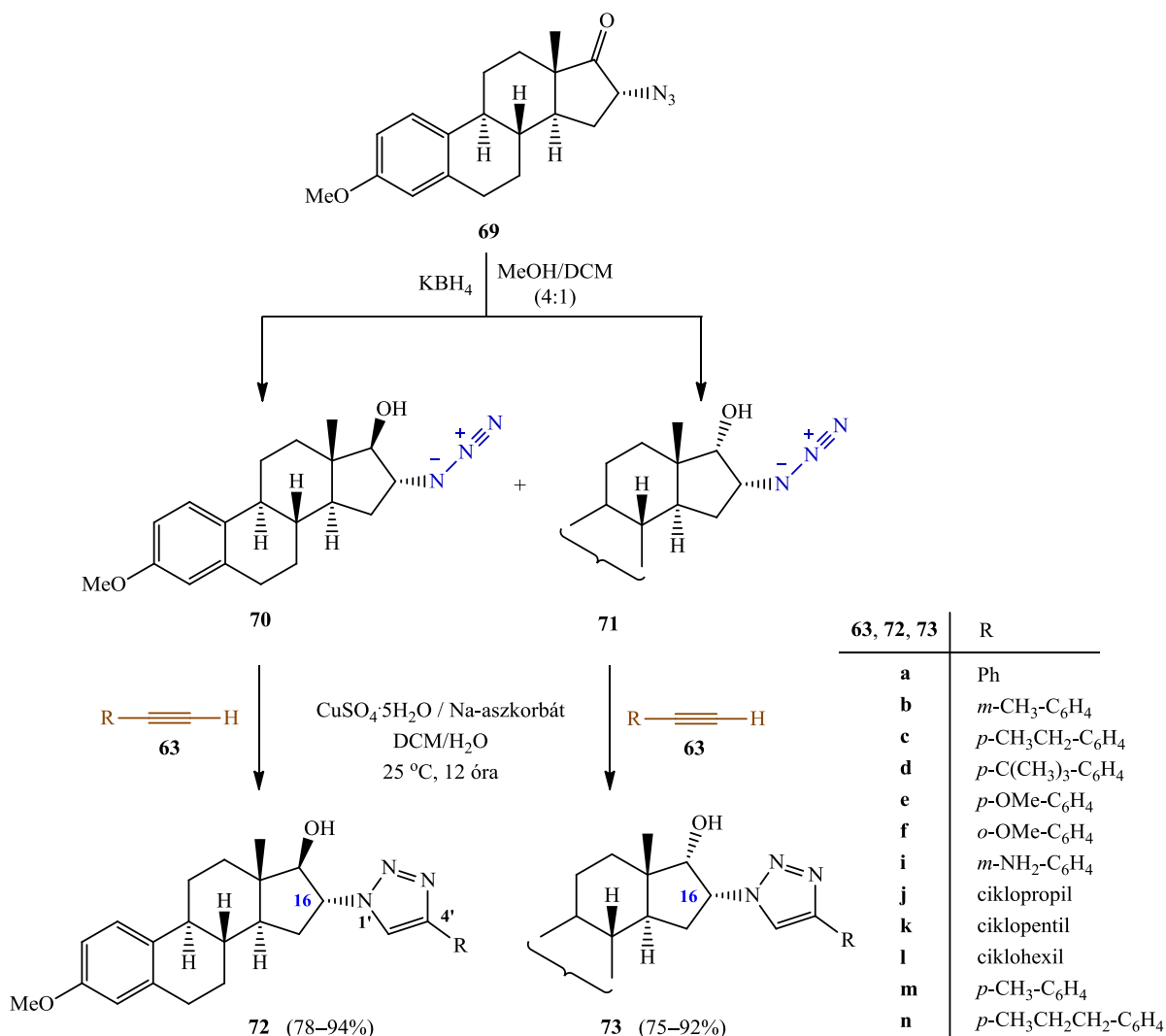
Az előállított vegyületek közül a 3-as helyzetben hidroxilcsoportot tartalmazó származékok (**65a–j**, **68a–e**) *in vitro* sejtsztódás gátlási vizsgálataira került sor, amelyek eredményei alapján kijelenthető, hogy az androsztánvázas tetrazolok (**68a–e**) nem mutattak antiproliferatív aktivitást a vizsgált HeLa (méhnyak), MCF7 (emlő) és A2780 (petefészek) ráksejtvonalakon, ugyanakkor a triazolok (**65a–j**) a heterociklusos gyűrűjükön lévő szubsztituens jellegétől függő változó hatást produkáltak. Összességében azonban egy vegyület sem fejtett ki a referencia anyaggal (ciszplatin) összemérhető osztódásgátlást egyik sejtvonalon sem.

5.3.1.2. Ösztránváz 16 α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása [10]

A 16-os szénatomhoz közvetlenül kapcsolódó triazolok kialakítása ösztránváz 1,3-dipólusok (**70**, **71**) és terminális alkinek (**63a–f**, **63i–n**) CuAAC-jával történt (**32. ábra**). Az epimer azidok (**70**, **71**) szintézisét ösztron-3-metil-éterből (**1**) több lépésben előállított azidoketon (**69**)²⁷² redukciójával végeztük, amely a **70** és a **71** 3:2 arányú keverékét eredményezte. A diasztereomer azidoalkoholokat elválasztás után külön-külön különböző alkin dipolarofilekkel (**63a–f**, **63i–n**) reagáltattuk. A réz(I)-katalizátort réz(II) Na-aszkorbáttal végzett *in situ* redukciójával állítottuk elő, és az elegyeket szobahőmérsékleten 24 órán keresztül kevertettük. A CuAAC-s reakciók a 17-es hidroxilcsoport β vagy α térállásától függetlenül kiváló hozammal a várt 1',4'-diszubsztituált triazolokhoz (**72a–f**, **72i–n**, illetve **73a–f**, **73i–n**) vezettek.

Az *in vitro* sejtsztódás gátlási vizsgálatok alapján az azidoalkoholok (**70**, **71**) nem mutattak aktivitást, így a triazol-gyűrű és annak 4'-helyzetében lévő szubsztituensei (**72**, **73**) fontos szerkezeti elemnek bizonyultak a hatás szempontjából. A vizsgált vegyületek közül a benzol gyűrűn C₂-, C₃- vagy C₄-alkilcsoportot *para*-helyzetben tartalmazó 16 α -triazolil-17 β -OH származékok (**72c**, **72n** vagy **72d**) elsősorban a nőgyógyászati ráksejtvonalakon (HeLa

és/vagy MCF7) mutattak a ciszplatinnál jelentősebb antiproliferatív hatást, ugyanakkor az egészséges MRC-5 (magzati tüdő fibroblaszt) sejtek osztódását jóval nagyobb koncentrációban gátolták, mint a referenciavegyület.



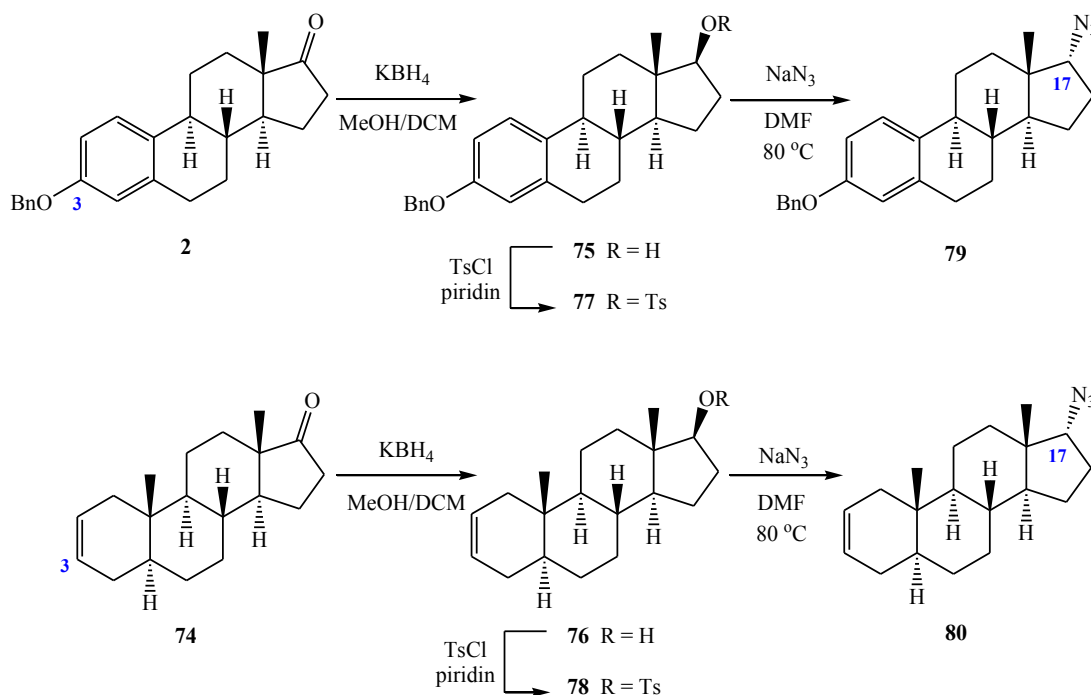
32. ábra: Ösztránvázis 16 α -triazolok szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált
azid/alkin 1,3-DC-val

5.3.1.3. Androsztán- és ösztránvázis 17 α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása [11]

A 17-es triazolil származékok szintéziséhez olyan ösztrán-, illetve androsztánvázis kiindulási anyagokat választottunk, amelyeknél az ösztrogén, illetve androgén receptorokhoz való kötődéshez nélkülözhetetlen 3-OH funkciós csoport^{3,4} kémiaiag módosítva van (2), illetve hiányzik (74) (33. ábra). Emiatt, valamint a receptorkötődésben szintén alapvető szerepet játszó 17-es oxocsoport tervezett megszüntetése folytán az előállítani kívánt heterociklusos

vegyületekről nagy valószínűséggel feltételezhető, hogy nem képesek kölcsönhatást létesíteni ezen célfehérjékkel, bár ilyen irányú farmakológiai vizsgálatukra nem került sor.

Az öszttron-3-benzil-éter (**2**), valamint a DEA-ból (**7**) többlépéses szintézissel előállítható 5 α -androszt-2-én-17-on (**74**) sztereoszelektív redukciójával 17 β -OH származékokhoz (**75**, **76**), majd a TsCl-dal képzett tozilátok (**77**, **78**) NaN₃-dal végrehajtott S_N2 szubsztitúciós reakciójával 17 α -azidokhoz (**79**, **80**) jutottunk.

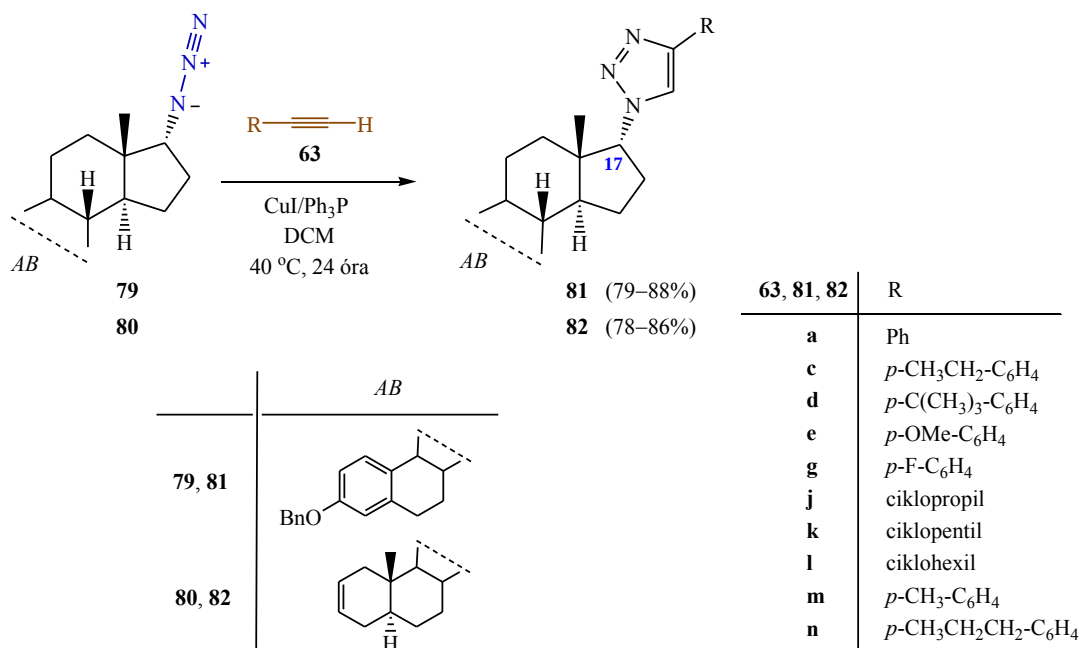


33. ábra: Öszttrán- és androsztánvázis 17 α -azidok előállítása

A 17 α -azidok (**79**, **80**) és szubsztituált terminális acetilének (**63a**, **63c–e**, **63g**, **63j–n**) CuAAC-ját CuI katalizátor és a **2.1.2.** fejezetben (16. old.) említett komplexáló ligandumoknál olcsóbban beszerezhető Ph₃P²⁷³ jelenlétében végeztük (**34. ábra**). Ez utóbbi adalékot a katalizátor oldhatóságának növelése és aktivitásának fokozása céljából adagoltuk a reakcióelegyekhez. Az átalakításokat a DCM forrásponjtján, a levegő kizárása nélkül hajtottuk végre, és a megfelelő termékeket (**81a**, **81c–e**, **81g**, **81j–n**, illetve **82a**, **82c–e**, **82g**, **82j–n**) oszlopkromatográfiás tisztítást követően minden esetben jó hozamokkal (78–88%) kaptuk.

Az *in vitro* farmakológiai vizsgálatok eredményei alapján megállapítható, hogy az androsztánvázis vegyületek (**82**) valamennyi képviselője az öszttránvázis analogonokhoz (**81**) képest jobban gátolta a vizsgált ráksejtek (HeLa, MCF7, A431) osztódását, ugyanakkor

csupán a ciklopropil-szubsztituált triazol (**82j**) mutatott 82–98%-os gátlást 30 μ M-os koncentrációban, bár ezzel is messze elmaradt a ciszplatin hatásától.



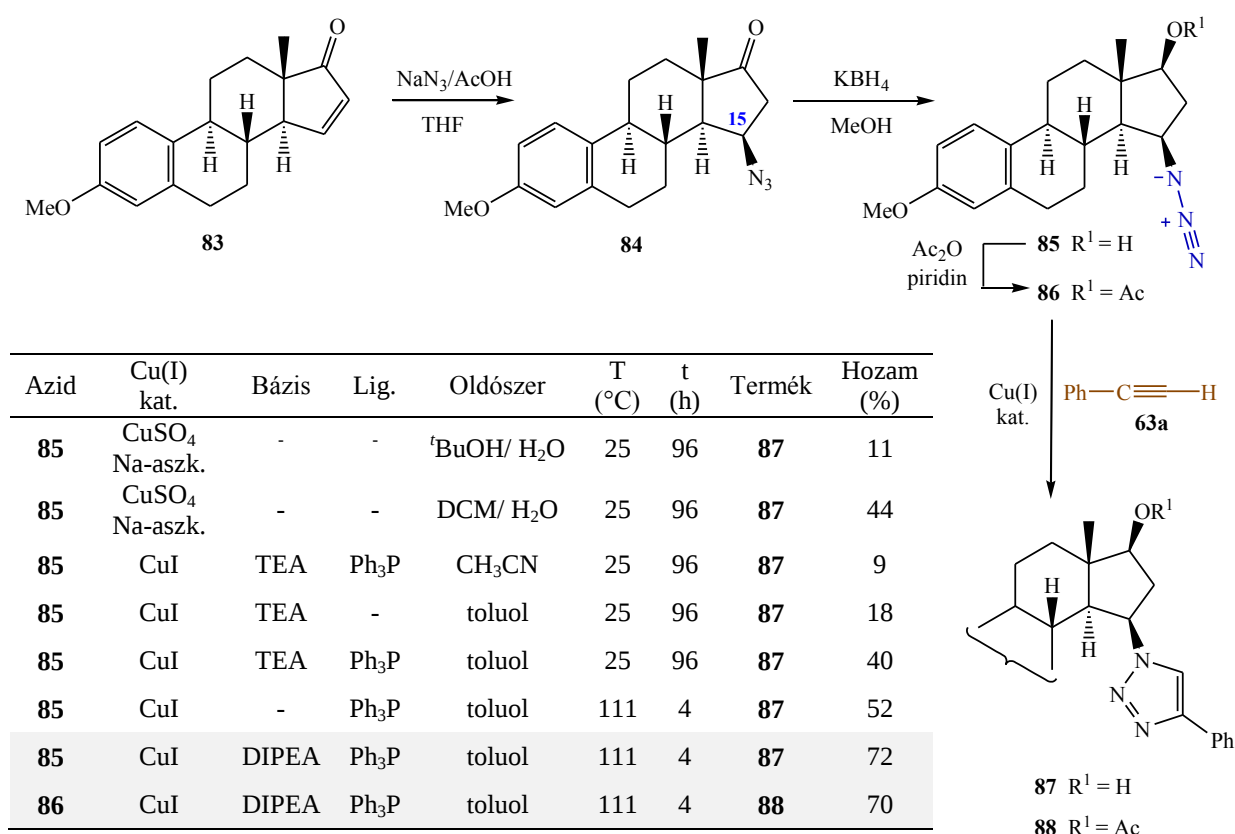
34. ábra: Ösztrán- és androsztánvázis 17 α -triazolok szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált azid/alkin 1,3-DC-val

5.3.1.4. Androsztán- és ösztránvázis 15 β -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása [12]

Munkánk további részében a D-gyűrű viszonylag ritka, 15-ös helyzetű módosítását végeztük el. Ennek érdekében először egy ösztránvázis 15 β -azid sztereoselektív szintézisét valósítottuk meg ösztron-3-metil-éterből (**1**) többlépéses szintézissel nyert α,β -telítetlen ketonból (**83**) kiindulva (**35. ábra**). Az azidocsoport beépítését a **83**-as vegyület 15-ös pozíciójába NaN₃-ból sav hatására *in situ* képződő azoimid²⁷⁴ 1,4-addíciójával valósítottuk meg. Az 14-es hidrogén α térállása miatt a nukleofil csak az ellenkező (β) oldalról támadhat,²⁵⁸ emiatt sztereoselektíven a 15 β -szubsztituált vegyület (**84**) jön létre. Mivel a kapott termékhez hasonló szerkezetű vegyületek gyakran hajlamosak az eliminációra, és könnyen visszaalakulhatnak a konjugáció révén stabilis telítetlen ketonná, ezért ennek lehetőségét megszüntetve a **84**-et komplex fémhidrides redukciónak vetettük alá.

Az így kapott *cisz*-azidoalkohol (**85**) és a fenilacetilén (**63a**) CuAAC-jában azt tapasztaltuk, hogy a korábbi kísérleteink során használt CuSO₄/Na-aszkorbát, valamint a CuI/Ph₃P rendszer nem bizonyult alkalmasnak a reakció kivitelezésére, mivel a megfelelő

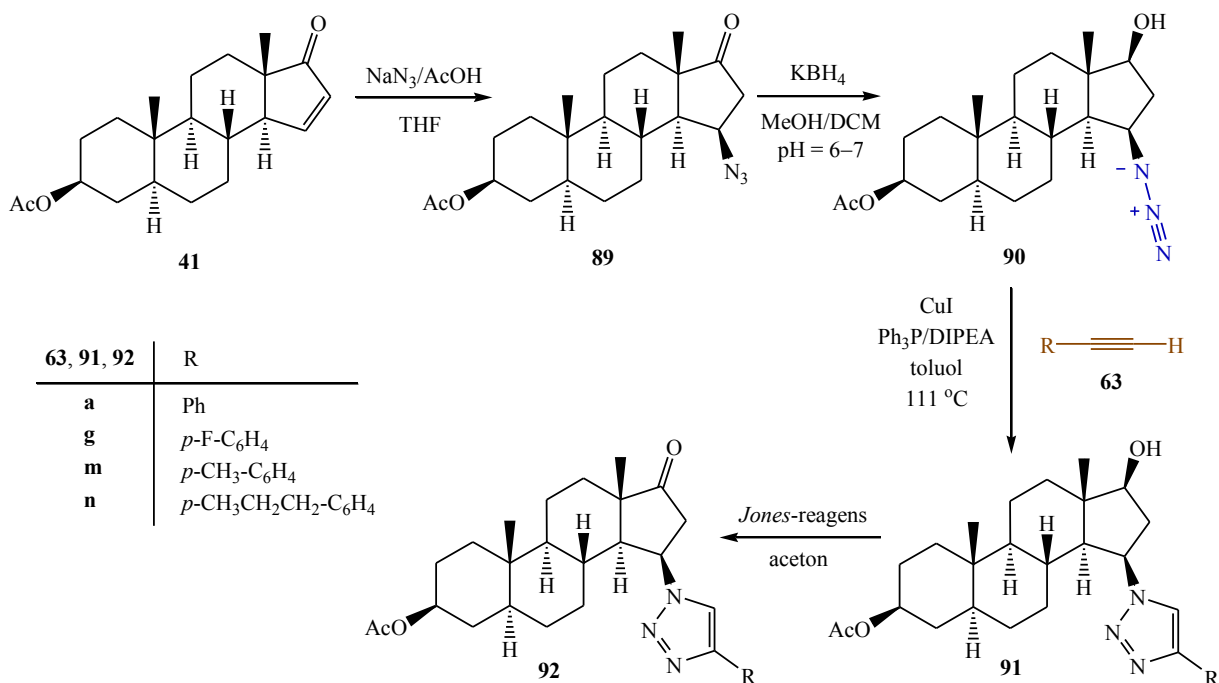
termék (**87**) alacsony, illetve közepes hozammal képződött. A legnagyobb termékhozamot eredményező optimális reakcióparaméterek (katalizátor, adalék, oldószer és hőmérséklet) megállapítása céljából (35. *ábra* táblázatos része) ezért a **85** és a **63a** cikloaddícióját többféle körülmény között is elvégeztük. Az optimalizálási kísérletek során legnagyobb konverziót az oldószerként alkalmazott toluol forráspontján, CuI katalizátor, valamint Ph₃P és DIPEA adalék jelenlétében érték el; ekkor **87** hozama 72%-nak adódott. A **85** acetilezett származékával (**86**) megismételve a CuAAC-t hasonló eredményre jutottunk; ekkor a megfelelő termék (**88**) 70%-os hozammal keletkezett.



35. *ábra*: Ösztránvázas 15β-triazolok optimalizált szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált azid/alkin 1,3-DC-val

A további gyűrűzárási kísérleteinkhez az 5α-androsztán sorbeli **41**-es vegyület 15β-azidját (**89**)²⁷⁴ használtuk (36. *ábra*). Az esetleges eliminációs mellékreakció elkerülése végett ebben az esetben is a **89**-es vegyület redukált analogonjával (**90**) dolgoztunk. A redukciót brómtimolkék indikátor jelenlétében pH-kontroll mellett hajtottuk végre, megakadályozva ezzel a 3-as helyzetű dezacetileződést. A korábban optimálisnak talált körülmények között elvégeztük a **90**-es azidoalkohol és néhány terminális acetilén (**63a**, **63g**, **63m**, **63n**)

CuAAC-ját, és a 15 β -triazolokat (**91a**, **91g**, **91m**, **91n**) kromatográfiás tisztítást követően 70–75%-os hozamokkal kaptuk. Jones-oxidációval a 17-keto vegyületeket (**92a**, **92g**, **92m**, **92n**) is előállítottuk.



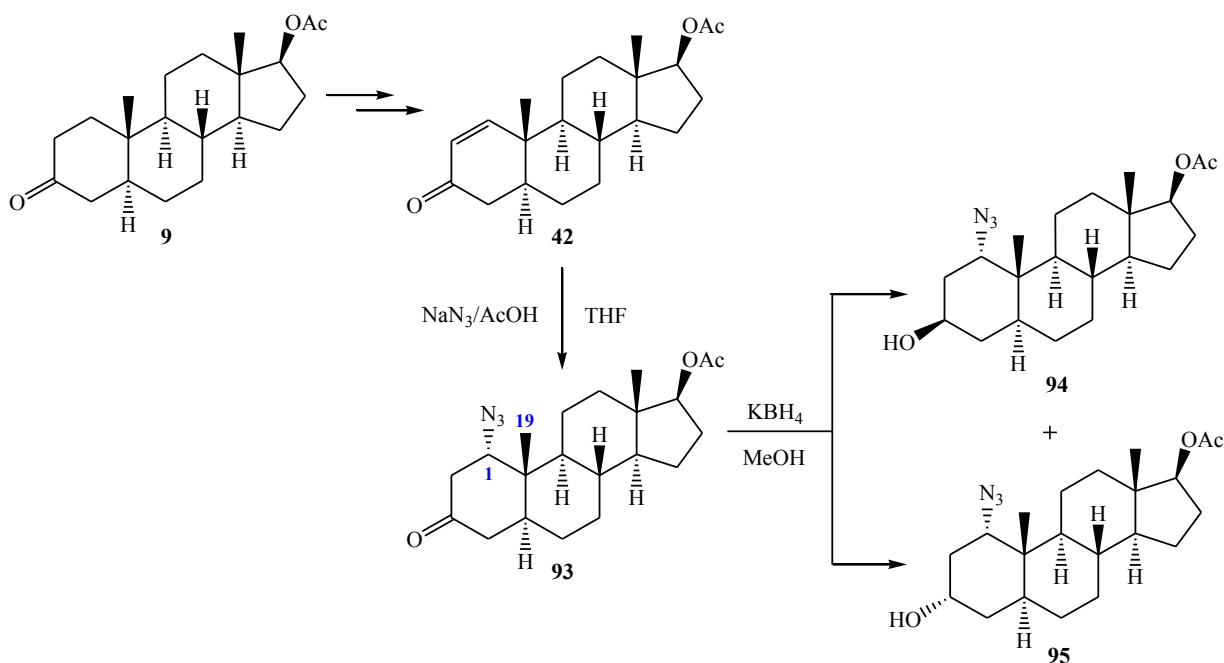
36. ábra: Androsztánvázás 15 β -triazolok szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált azid/alkin 1,3-DG-val

A vegyületek *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálatát három humán ráksejtvonalon (HeLa, MCF7, A431) a ciszplatinnal összehasonlítva végezték. Az ősztron sorbeli fenil-szubsztituált triazol 17 β -OH származéka (**87**) szelektív aktivitást mutatott az A431 bőrrák sejteken kisebb IC₅₀ értékkel (1,70 μ M), mint a referenciavegyület (2,84 μ M). Az androsztánvázás triazolok (**91**, **92**) antiproliferatív hatása között lényeges különbség nem volt, ebből következően megállapítható, hogy a heterogyűrű szubsztituenseinek jellege kevésbé befolyásolta az aktivitást. A HeLa sejtek osztódását **91g** kivételével valamennyi származék a ciszplatinhoz (IC₅₀ = 12,43 μ M) hasonló mértékben gátolta (IC₅₀ = 7,70–15,01 μ M). Az MCF7 sejtvonalon a 17-ketonok (**92**) 1,69–8,40 μ M közötti IC₅₀ értékeikkel mind a 17 β -OH analogonjaiknál (**91**, IC₅₀ > 10 μ M), mind a kontrollvegyületnél (IC₅₀ = 9,63 μ M) jóval aktívabbnak bizonyultak. Néhány származék további farmakológiai vizsgálata alapján nyilvánvalóvá vált, hogy a vegyületek a sejtciklus zavarát okozzák és indukálják az apoptózist.

5.3.1.5. Androsztánváz 1α -helyzetéhez kapcsolódó triazolok előállítása [13]

A szteránváz D-gyűrűjét érintő átalakításainkon túlmenően A-gyűrűhöz kapcsolódó triazolok CuAAC-val történő szintézisét is elvégeztük. Kísérleteink során a szteroid dipólus előállítására – az előző fejezetben ismertett módszerhez hasonlóan – egy olyan többlépéses szintézisutat választottunk, amelynek segítségével az egyébként ritkán módosított²⁵⁸ C-1 helyzetbe építhető be a heterogyűrű.

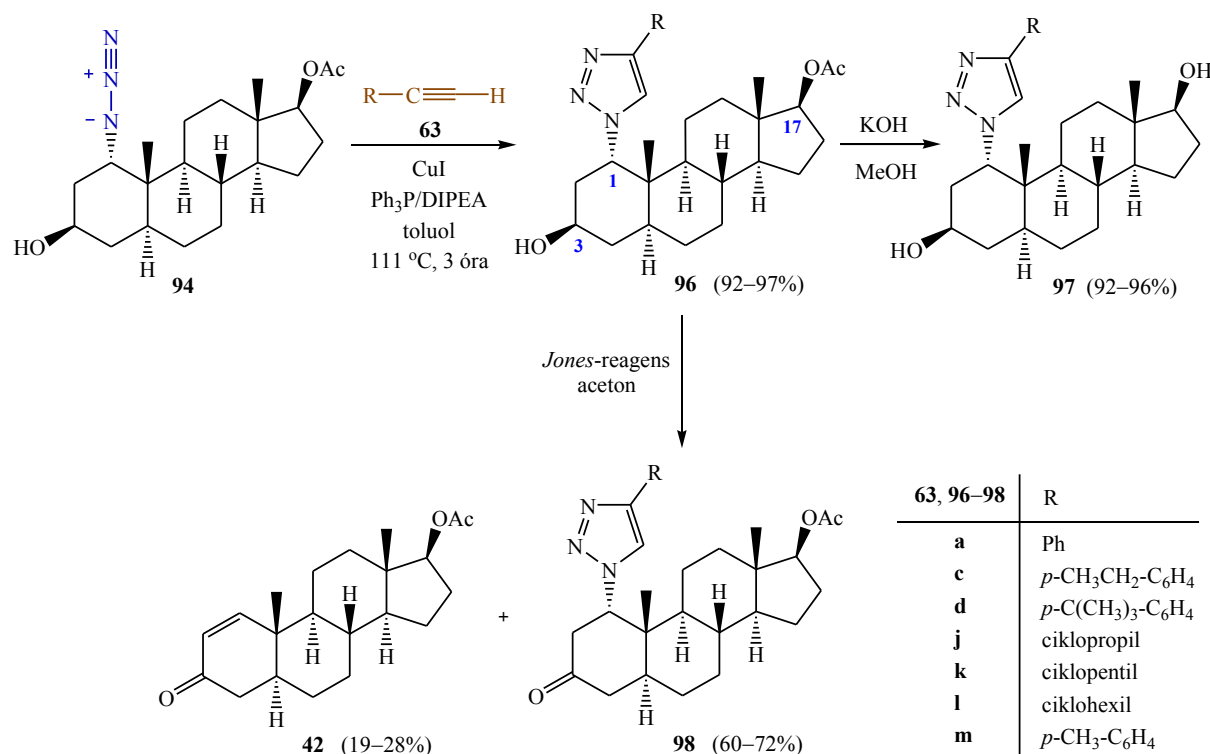
Kiindulási anyagként DHT-acetátot (**9**) használtunk, amelynek régió- és sztereoszelektív brómozásával, majd dehidrohalogénezésével kaptuk a **42**-es enont (**37. ábra**).²⁵⁷ A telítetlen ketonból (**42**) *in situ* képzett azoimid 1,4-konjugált addíciójával 1α -azidhoz (**93**) jutottunk, amelynek sztereoszelektív képződését a szomszédos 19-es anguláris metilcsoport β térállása magyarázza. Az eliminációra érzékeny azidoketon (**93**) redukciójával – a nyerstermék ¹H-NMR spektrumának tanúsága szerint – két diasztereomer alkohol (**94** és **95**) 5:2 arányú keveréke képződött, amelyeket oszlopkromatográfiával választottunk szét. A továbbiakban a két epimer azidoalkohol (**94** és **95**) CuAAC-ját külön-külön vizsgáltuk, így módunk volt összehasonlítani az azonos körülmények között, különböző terminális acetilénekkel szemben mutatott reakciókészségüket.



37. ábra: Androsztánváz 1α -azidovegyületek előállítása

Elsőként az 1,3-*transz*-diszubsztituált vegyület (**94**) és alkinek (**63a**, **63c**, **63d**, **63j–m**) cikloaddíciós reakcióit hajtottuk végre az **5.3.1.4.** fejezetben ismertetett hasonló

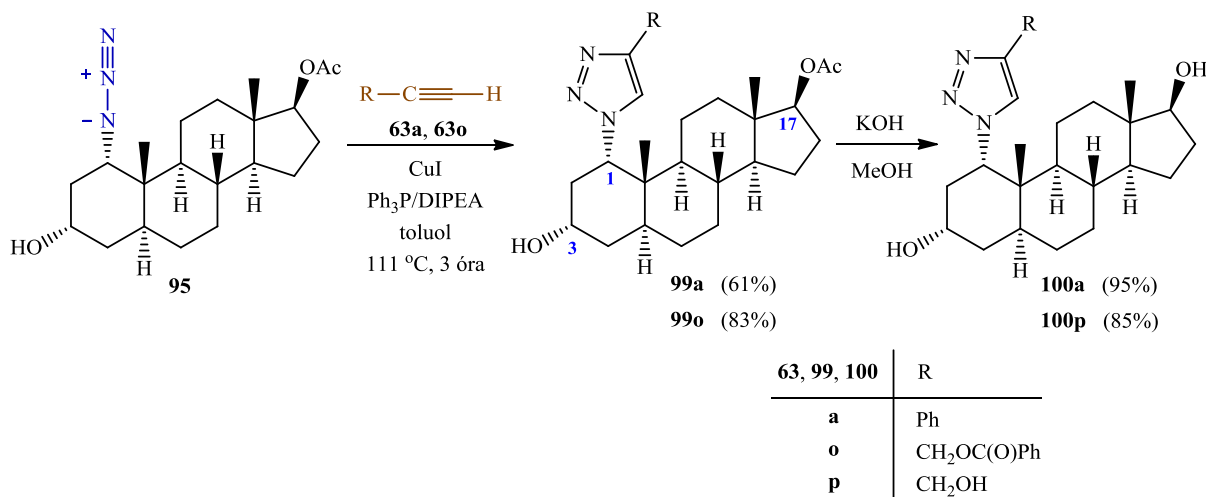
gyűrűzárásoknál optimálisnak talált körülmények között (**38. ábra**). A CuAAC-k 3 órás reakcióidőt alkalmazva teljesen lejátszódtak, és a megfelelő termékeket a tisztítást követően kiváló hozamokkal (92–97%) kaptuk meg. A vegyületek (**96a**, **96c**, **96d**, **96j–m**) lúgos közegű dezacetilezésével 3 β ,17 β -diolokhoz (**97a**, **97c**, **97d**, **97j–m**), míg Jones-oxidációjukkal 3-ketonokhoz (**98a**, **98c**, **98d**, **98j–m**) jutottunk. Ez utóbbi erősen savas közegű reakciók során kis mennyiségű (19–28%) melléktermék (**42**) képződését is megfigyeltünk.



38. ábra: 3 β -Hidroxi-1 α -triazolil androsztán származékok intermolekuláris réz(I)-katalizált azid/alkin 1,3-DC-val történő előállítása és reakciói

Meglepetésünkre az 1,3-*cis*-azidoalkohol (**95**) fenilacetilénnel (**63a**) végbemenő analóg gyűrűzárása még a reakcióidő növelése (5 óra) ellenére is csökkent konverziót mutatott, és a termék (**99a**) hozama csak 61%-nak adódott (**39. ábra**), ellentétben a másik diasztereomer (**94**) ugyanezen dipolarofillel (**63a**) végbemenő reakciójánál tapasztalt 93%-os termékhozammal. A **95**-ös vegyület csökkent reaktivitása az azidocsoport és a hidroxilcsoport diaxiális helyzetéből, valamint a fenilacetilén (**63a**) nagy térkitöltésű aromás gyűrűjének jelenlétéből adódhat, amely szterikus okokból esetlegesen kedvezőtlenül befolyásolhatja a katalitikus folyamat átmeneti állapotát. Ezt alátámasztja az a kísérleti eredmény, hogy a **95**-ös azidoalkohol reakcióját fenilacetilén (**63a**) helyett benzoészav-propargilészterrel (**63o**)

megismételve a megfelelő termék (**99o**) hozama 83%-ra nőtt. A **63o**-ban az alkin molekularész a dipólus által könnyebben hozzáférhető, hiszen az aromás gyűrű távolabb esik a reakciócentrumtól. A **99a** dezacetilezésével 3 α ,17 β -diolt (**100a**), míg **99o** hasonló reakciójával egy triolt (**100p**) kaptunk, mivel ez utóbbi esetben a triazolgyűrűn lévő észter funkció is hidrolízist szenvedett.



39. ábra: 3 α -Hidroxi-1 α -triazolil androsztán származékok előállítása intermolekuláris réz(I)-katalizált *azid*/*alkin* 1,3-DC-val

Az 1 α -triazolok antiproliferatív hatását háromféle nőgyógyászati ráksejtvonalon (HeLa, MCF7, A2780) vizsgálták. Valamennyi 3-as helyzetben keto-csoportot tartalmazó heterociklusos vegyület (**98a**, **98c**, **98d**, **98j–m**) méhnyakrák sejteken (HeLa) a referenciaként használt ciszplatinhoz (IC₅₀ = 12,43) képest kiemelkedő aktivitást mutatott (IC₅₀ = 1,12–1,64), függetlenül a heterogyűrűn lévő szubsztituens jellegétől. A petefészek- (A2780) és főként az emlőráksejtek (MCF7) kevésbé voltak érzékenyek ezen szerkezetekre.

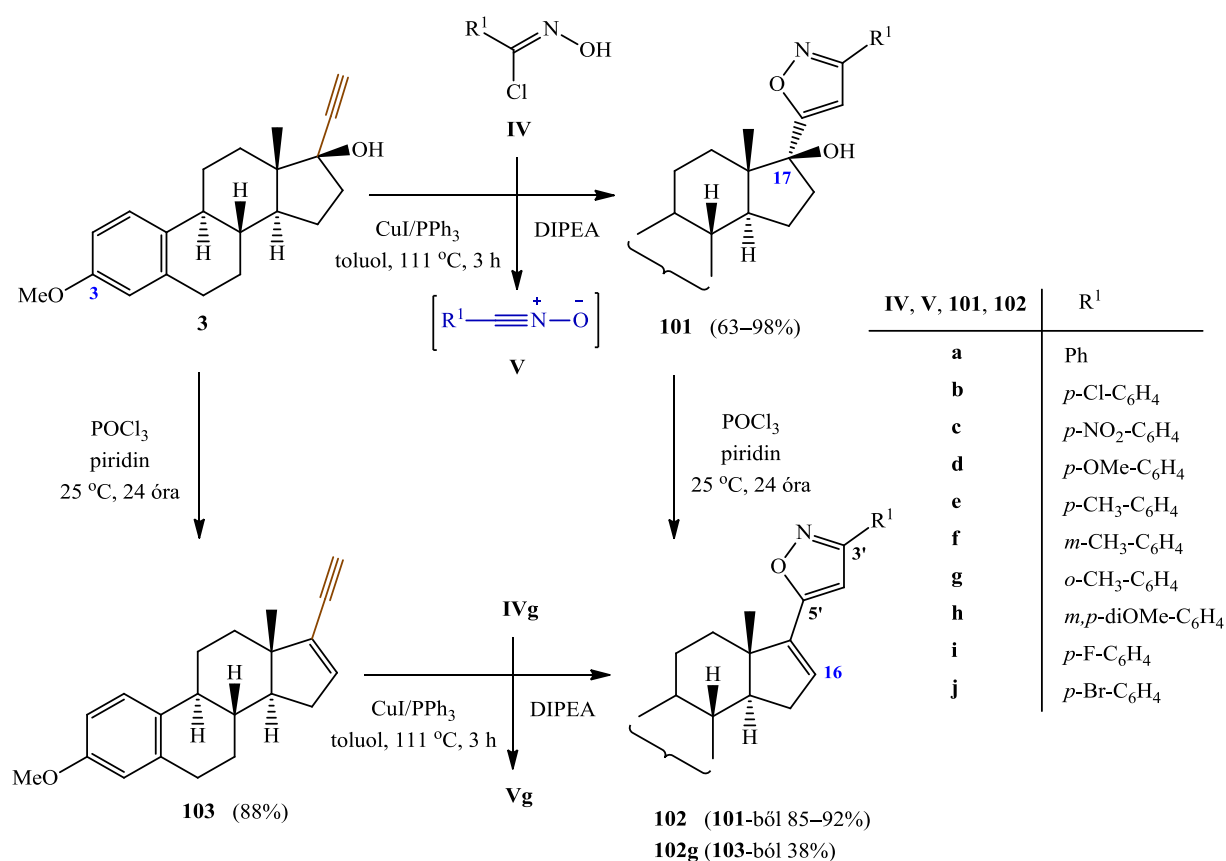
Az 5.3.1. fejezet egyes alpontjaiban szteránvázas *exo*-triazolil (és esetenként *exo*-tetrazolil) származékok réz(I)-katalizált intermolekuláris 1,3-DC-val történő előállítását ismertettem. A kísérleti eredmények igazolták, hogy a CuAAC szteránvázás modellrendszereken is jól alkalmazható, és a körülmények optimalizálását követően a legtöbb esetben kiváló hozammal, melléktermék képződése nélkül és régiószelektíven szolgáltatja a várt terméket. A szokatlan helyzetekben (C-1, C-15) történő heterogyűrű kialakításokat célzó szintézisek némelyikénél ugyanakkor – valószínűleg szterikus okokra visszavezethetően – a termékhozamok csökkenését tapasztaltuk. A hatástani vizsgálatok szerint azonban éppen ez utóbbi módosítások vezettek a sejtosztódás gátlás szempontjából legaktívabb molekulákhoz, igazolva

ezáltal, hogy a szintetikus lépések nagy száma ellenére is érdekes lehet a természetes származékoktól jelentősen eltérő szerkezetű vegyületek előállítása.

5.3.2. Ösztránvázas izoxazolok előállítása réz(I)-katalizált 1,3-DC-val [14]

A szteránvázas izoxazolok előállítását a 2.1.2. fejezet erre vonatkozó irodalmi előzményei (7. *ábra*) alapján intermolekuláris nitril-oxid/alkin 1,3-DC-val (2.1.3. fejezet, 9. *ábra*, C stratégia) végeztük réz(I)-katalizátor jelenlétében.

Kiindulási dipolarofilként a 17α -helyzetben etinil oldalláncot tartalmazó hormonálisan inaktív mesztranolt (**3**) használtuk (40. *ábra*). Az 1,3-dipólusok (**V**) stabilis prekursorait (**IV**) a szokásos kétlépéses szintézissel benzaldehidből és annak szubsztituált származékaiból állítottuk elő.¹⁰⁵ A **3**-as vegyület 3-OH származéka (17α -etinilösztradiol) és a benzonitril-oxid (**Va**) réz(I)-katalizált cikloaddícióját korábban vizes ^tBuOH-ban CuSO_4/Na -aszorbát jelenlétében hajtották végre, és a megfelelő 3',5'-diszubsztituált izoxazol régiószelektív, magas hozamú (98%) képződését tapasztalták.¹⁰⁵ Az **Va**-t előanyagából (**IVa**) KHCO_3 hozzáadásával szabadították fel. A mesztranol (**3**) metil-éter jellegéből adódó csökkent polaritása azonban a vizes-alkoholos közeg alkalmazását esetünkben nem tette lehetővé, ezért más reakciókörülmények választására volt szükség. Kísérleteink során a triazolok előállítása során már bevált módszert próbáltuk ki ($\text{CuI}/\text{Ph}_3\text{P}/\text{DIPEA}$, toluol, 111°C), amely 93%-os hozammal a várt terméket (**101a**) szolgáltatva. A DIPEA-nak ebben az esetben kettős szerepe van; egyrészt elősegíti a réz(I)-acetilid, másrészt az 1,3-dipólus (**Va**) prekursor vegyületéből (**IVa**) történő képződését. Ezt követően a reakciót egyéb aromás hidroximidoil-kloridokból (**IVb–j**) felszabadított nitril-oxidokkal (**Vb–j**) is elvégeztük, és a termékeket (**101b–j**) elektronküldő csoportot tartalmazó nitril-oxidok (**Vd–h**) esetén kiváló (95–98%), míg EWG-szubsztituált dipólusok (**Vb**, **Vc**, **Vi**, **Vj**) alkalmazásakor jó (63–81%) hozamokkal kaptuk. A cikloadduktum (**101c**) hozama a várakozásnak megfelelően a *p*-nitrobenzonitril-oxid (**Vc**) használatakor bizonyult a legalacsonyabbnak (63%), hiszen az előanyagából (**IVc**) történő felszabadítását biztosító DIPEA lassú adagolása ellenére is ennek a vegyületnek a legnagyobb a dimerizációs készsége. A **101** vegyületek POCl_3 jelenlétében piridinben kivitelezett E2-típusú eliminációjával melléktermékképződés nélkül Δ^{16} -17-izoxazolokhoz (**102**) jutottunk.



40. ábra: Ösztránvázis 17-izoxazolok szintézise intermolekuláris réz(I)-katalizált
nitril-oxid/alkin 1,3-DC-val

Összehasonlítás céljából a kétlépéses reakciósort fordított sorrendben is elvégeztük. A mesztranol (**3**) vízeliminációjával nyert vegyületet (**103**) **Vg**-vel reagáltattuk réz(I)-katalizátor jelenlétében (**40. ábra**), de ekkor a megfelelő 16,17-telítetlen izoxazol (**102g**) hozama csupán 38%-nak adódott és az átalakulást egyéb melléktermékek képződése kísérte. Bár ez utóbbi anyagok nem kerültek azonosításra, keletkezésük magyarázata az lehet, hogy a **103**-as vegyület az 1,3-DC-k során hasonló reakciókészséggel rendelkező C=C és C≡C dipolarofil szerkezeti elemeket is tartalmaz, így az **Vg** dipólusnak módja nyílik az alkin mellett az alkén molekularésszel is reagálni. Ezen kísérleti tény alapján tehát a mesztranol (**3**) 1,3-DC-ját követő dehidratáció bizonyult hatékonyabb módszernek a **102**-es származékok előállítására.

Az elvégzett hatástani vizsgálatok eredményei azt tükrözték, hogy a 17-es helyzetben hidroxilcsoportot tartalmazó származékok (**101a–j**) 30 μM-os koncentrációban a benzolgyűrűjükön lévő szubsztituensek minőségétől gyakorlatilag függetlenül jelentősen gátolták a nőgyógyászati ráksejtek (HeLa, MCF7, A2780) osztódását, de 10 μM-os koncentrációban hatásuk messze elmaradt a referenciaként alkalmazott ciszplatinétól.

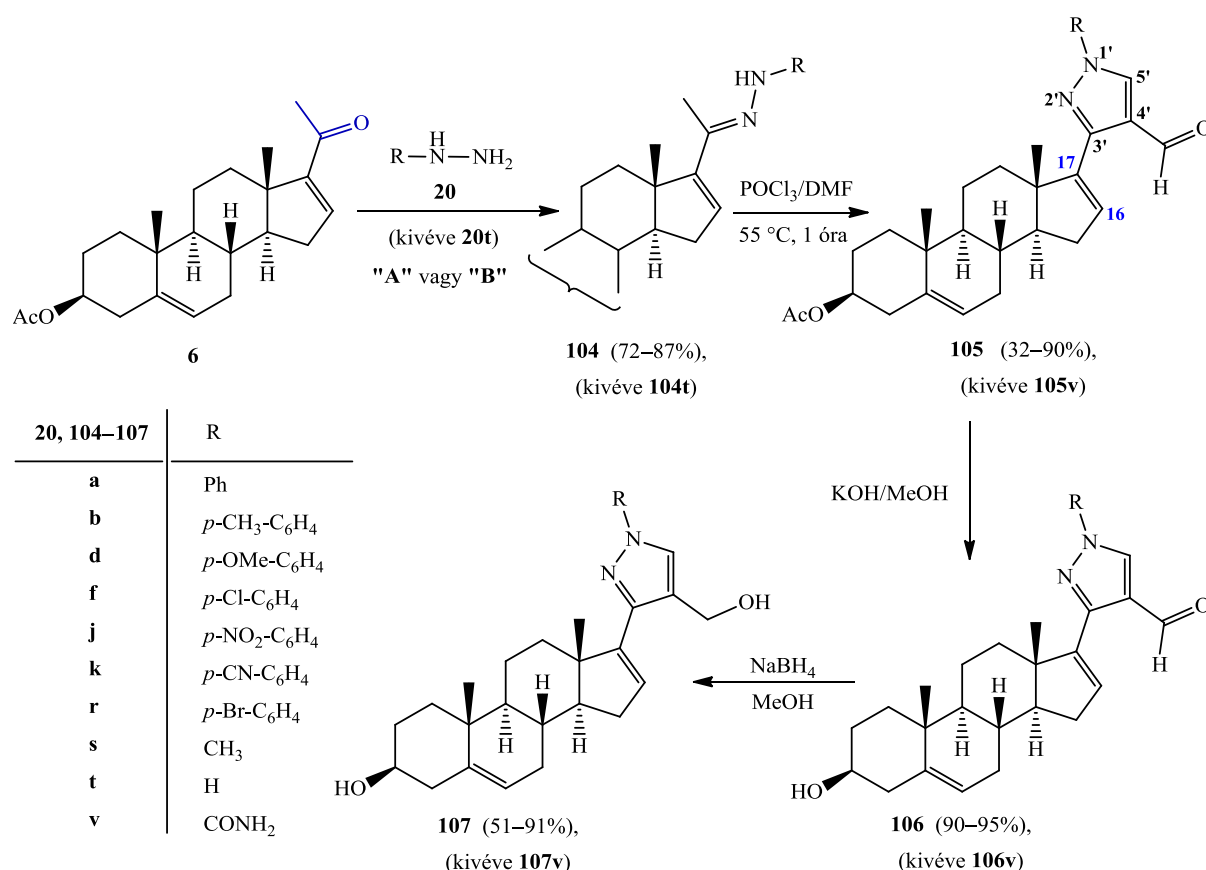
5.3.3. Androsztánvázis 17-*exo*-heterociklusok előállítása karbonilvegyületekből

A továbbiakban olyan androsztánvázis vegyületek szintézisét valósítottuk meg, amelyek a bevezetésben említett abirateronhoz hasonló szerkezetük folytán nem csak a sejtosztódás gátlás, de a cP450_{17 α} enzimgátlás szempontjából is érdekes célvegyületek.

5.3.3.1. Androsztánvázis 17-(4'-formil)-pirazolok előállítása [15]

Átalakításaink kiindulási anyaga a 2.2.2. fejezetnek megfelelően metilketon molekularészt tartalmazó PDA (**6**) volt, amelyből különböző aromás hidrazinok (**20a**, **20b**, **20d**, **20f**, **20j**, **20k**, **20r**), metilhidrazin (**20s**) vagy szemikarbazid (**20v**) segítségével előállítottuk a megfelelő hidrazonokat (**104a**, **104b**, **104d**, **104f**, **104j**, **104k**, **104r**, **104s**), illetve szemikarbazon (**104v**) (**41. ábra**). Az esetek többségében a kondenzációs reakció kivitelezése a szubsztituált hidrazin származék (**20**) hidroklorid sójával NaOAc jelenlétében történt ("A"), míg a metilhidrazin (**20s**) és a **6** reakcióját katalitikus mennyiségű ecetsav hozzáadásával metanolban végeztük ("B"). A reakcióelegyből valamennyi terméket (**104**) szűréssel ki tudtuk nyerni a metilhidrazon (**104s**) kivételével, amelyet az oldószer bepárlása után *in situ* alakítottunk tovább.

A Vilsmeier-Haack reagenst alacsony hőmérsékleten (0–8 °C) POCl₃ DMF-ba történő lassú becepegtetésével készítettük, majd a hidrazonok (**104**) hozzáadásával az elegyeket szobahőmérsékletre való felmelegedést követően 55 °C-on 1 órán keresztül forraltuk (**41. ábra**). A lúgos feldolgozást követően a 4'-formilpirazolok többségét (**105**) 67–90%-os, míg a **105s** vegyületet alacsony (a PDA-ra (**6**) vonatkoztatva 32%) hozammal kaptuk; utóbbi esetben nem azonosított melléktermékek képződését is megfigyeltük. A szemikarbazonnal (**104v**) végrehajtott gyűrűzárás során az aminokarbonil-csoport eliminációját¹⁷² tapasztaltuk, így a képződő termék **105v** helyett **105t**-nek bizonyult. A 17-*exo*-pirazolok (**105**) dezacetilezésével a 3-OH analogonokat (**106a**, **106b**, **106d**, **106f**, **106j**, **106k**, **106r**, **106s**, **106t**), majd ez utóbbiak formil-csoportjának redukciójával a 4'-helyzetben hidroximetilezett származékokat (**107a**, **107b**, **107d**, **107f**, **107j**, **107k**, **107r**, **107s**, **107t**) nyertük. Az általában teljes konverzióval lejártszódó komplex fémhidrides redukciók a **106j** és **106k** reakciói esetén még a NaBH₄ nagy feleslegben való alkalmazása ellenére is a megfelelő termékek (**107j** és **107k**) közepes hozamát eredményezték, ami a karbonilcsoportnak az EWG-k (NO₂, CN) által okozott csökkent alapállapotú polározottságával értelmezhető.

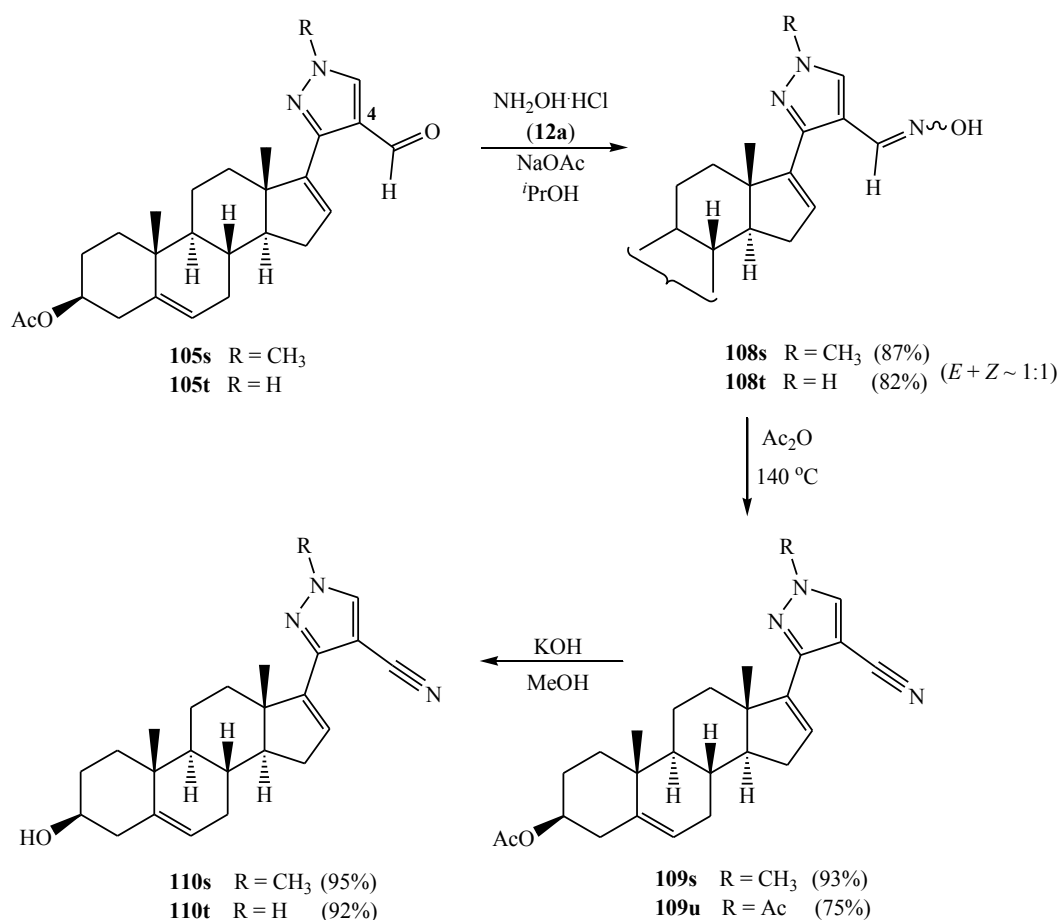


"A": **20** (·HCl), MeOH/NaOAc, 65 °C, 90 perc (kivéve **20s**)

"B": MeOH/kat. AcOH, 25 °C, 4 óra (**20s**)

41. ábra: Androsztánvázis 17-(4'-formil)-pirazolok előállítása *metilketon* oldalláncot tartalmazó szteroid kiindulási anyagból

Tekintettel arra, hogy a cP450_{17α} enzimgátlás szempontjából a korábbi vizsgálatok alapján azok a 17-*exo*-heterociklusos vegyületek bizonyultak általában hatásosnak, amelyek a heterogyűrűjükön nem tartalmaztak nagy térkitöltésű funkciós csoportot,²⁹ a farmakológiai vizsgálatokra alkalmas *N*-metil-szubsztituált és a nitrogénen szubsztituenst nem hordozó 17-*exo*-pirazolok (**105s** és **105t**) számát tovább növeltük a heterogyűrű formilcsoportján végzett szintetikus módosításokkal. A hidroxilamin-hidrokloriddal (**12a**) végrehajtott kondenzációs reakció a megfelelő oximok *E* és *Z* geometriai izomerjeinek (**108s** és **108t**) oszlopkromatográfiával nem elválasztható közel 1:1 arányú keverékéhez vezetett, amelyet ecetsav-anhidridben forralva 4-cianopirazolokhoz (**109s** és **109u**) jutottunk (**42. ábra**). A **108t** esetén a reagens hatására a heterociklus nitrogénje is acetileződött a **109u** származékot eredményezve. Az ezt követő lúgos közegű dezacetilezéssel a **110s** és a **110t** származékokat kaptuk.

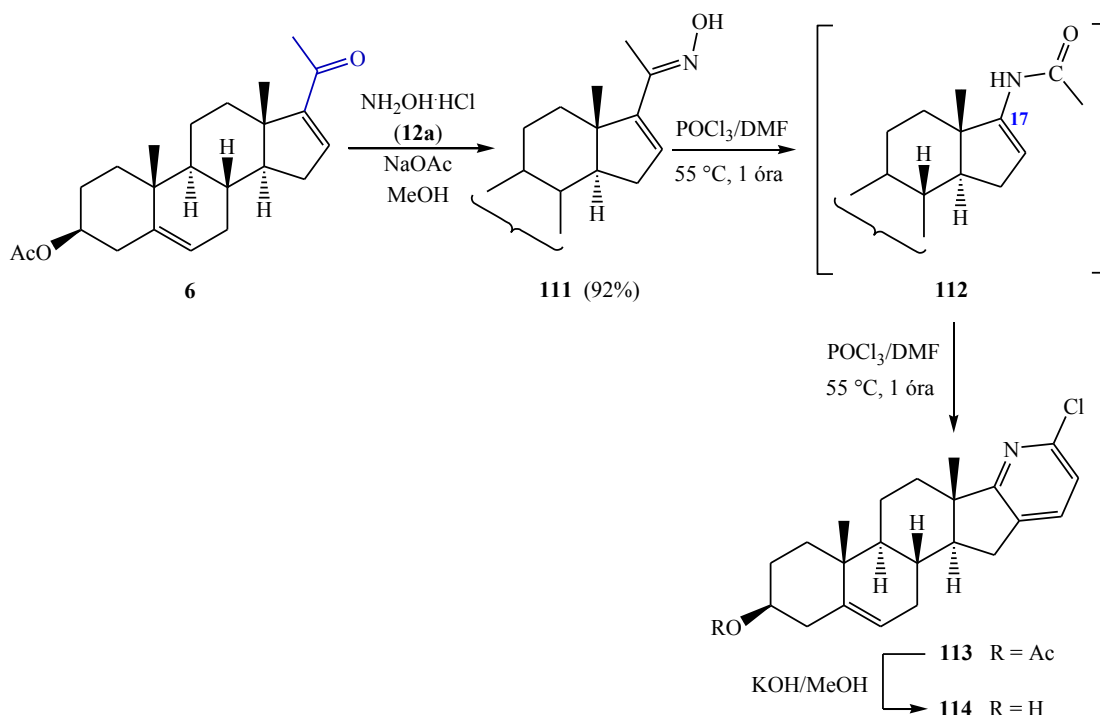


42. ábra: Androsztánváz 17-(4-formil)-pirazolok átalakításai

A *Vilsmeier-Haack* reakciót elvégeztük a PDA (6) oxim származékával (111) is, ekkor azonban a várákozásnak megfelelően 4-formilizoxazol helyett a reagens hatására bekövetkező *Beckmann* átrendeződés, majd az *in situ* keletkező savamid (112) gyűrűzárása folytán egy, a szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált piridin (113)²⁷⁵ keletkezett (43. ábra). Érdekes módon a heterogyűrű formileződése¹⁷³ ebben az esetben nem következett be,²⁷⁶ vagyis a 112-es vegyület csak egy ekvivalens *Vilsmeier-Haack* adduktummal reagált. A vegyület (113) 3-OH analogonját (114) dezacetilezéssel kaptuk.

A 106s, 106t, 107s, 107t, 110s és 110t vegyületek 17 α -hidroxiláz, illetve C_{17,20}-liáz gátló hatásának vizsgálatát patkányhere eredetű cP450_{17 α} enzimmel végezték *in vitro* radiosubsztrátum ([¹⁴C]progeszteron, [³H]17-hidroxiprogeszteron) inkubációs módszerrel. Az eredmények alapján az NH-analagonok (106t, 107t és 110t) az enzim mindkét aktivitását jelentős mértékben gátolták. Egy vegyület (107t) IC₅₀ értékei (0,0327 μ M (17 α -hidroxiláz), 0,026 μ M (C_{17,20}-liáz)) nagyságrendileg megközelítették a klinikumban használt és a mérések során referenciavegyületként alkalmazott abirateronét

(0,0342 μM (17α -hidroxiláz), 0,0125 μM ($\text{C}_{17,20}$ -liáz)). Elmondható ugyanakkor, hogy ezen származék szelektivitása a $\text{C}_{17,20}$ -liázra vonatkozóan rosszabb, mint az abirateroné.



43. ábra: Androsztánváz D-gyűrűjéhez kondenzált piridin származék képződése Beckmann átrendeződést követő Vilsmeier-Haack reakcióval

Az előállított 17-*exo*-pirazolok (**105–107**, **109**, **110**) *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálatait négyféle humán emlő ráksejtvonalon (MCF7, T47D, MDA-MB-231 és MDA-MB-361) történtek. Az egyes sejtek osztódására kifejtett gátlást a pirazol gyűrű szubsztituenseinek jellege jelentős mértékben befolyásolta és elsősorban a 4'-helyzetben formil- (**105**, **106**) vagy hidroximetil-csoportot tartalmazó vegyületek (**107**) néhány képviselője volt valamennyi sejtvonalon (**106a**, **106d**, **107a**, **107f–k**), vagy a sejtvonalak némelyikén (**106s**, **107r**) kiemelkedően hatásos. Összehasonlítva a 3-OAc (**105**) és 3-OH analóg vegyületepárokat (**106**) megállapítható, hogy ezekben az esetekben is általában az utóbbiak rendelkeztek nagyobb aktivitással.

5.3.3.2. Androsztánváz 17-(1',2',4')-oxadiazolok előállítása [16]

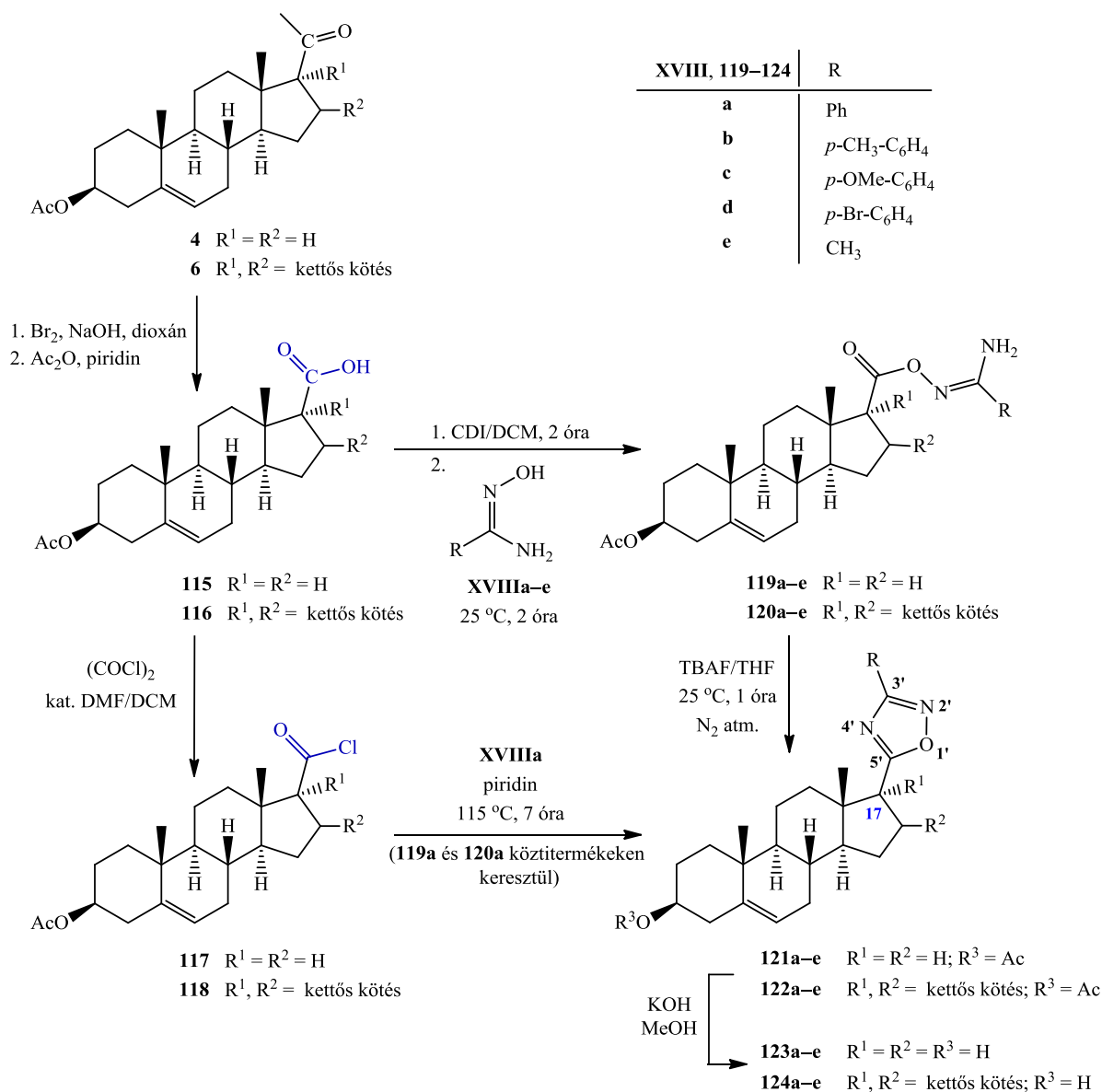
Az androsztánváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó 1',2',4'-oxadiazolok előállításához a 2.2.3.1. fejezetben ismertetett irodalmi előzmények alapján szteroid karbonsavakat (**115**, **116**)

használtunk, amelyeket pregnenolon-acetátból (**4**) és PDA-ból (**6**) bromoform reakcióval, majd az azt követő észteresítéssel nyertünk (**44. ábra**).^{18,277} Az amidoximokat (**XVIIIa–e**) aromás nitrilek (**XVIIa–d**), illetve acetonitril (**XVIIe**) hidroxilamin-hidrokloriddal történő reakciójával állítottuk elő a **15. ábrán** bemutatott általános szintézisutat követve.²⁷⁸ Az átalakításokat lúgos közegben, 2–7 órás EtOH/víz elegyben történő forralással végeztük. Minden esetben a kívánt amidoxim mellett kis mennyiségű karbonsav-amid (**XIXa–e**) képződését is tapasztaltuk, a két termék azonban oszlopkromatográfiával könnyen elválasztható volt, így az amidoximok (**XVIIIa–e**) hozama 60–65%-nak adódott. A reakciókat MW alkalmazásával 110 °C-on elvégezve a reakcióidő 15–20 percre rövidült, a termékelegy összetételében azonban jelentős változást nem tapasztaltunk.

Az 1',2',4'-oxadiazolok előállítását elsőként a karbonsavakból (**115** és **116**) oxalil-kloriddal, DMF katalizátor jelenlétében²⁷⁹ képzett savkloridokkal (**117** és **118**) és benzamidoximmal (**XVIIIa**) végeztük (**44. ábra**). A gyengén bázisos piridin oldószerként való alkalmazása miatt a ciklokondenzáció végbemeneteléhez magasabb hőmérsékletre volt szükség, azonban a gyűrűs termékek (**121a** és **122a**) hozama 7 órás forralást követően is csupán 30% körülinek adódott. Az O-acil-amidoximok (**119a** és **120a**) köztiterméként való képződését ugyan vékonyréteg-kromatográfiával kimutattuk, azonban ezek a reakció körülményei között oxadiazollá (**121a** és **122a**) alakultak, így nem voltak izolálhatók.

Az enyhébb reakciókörülmények alkalmazhatósága (oxalil-klorid használatának mellőzése, reakcióhőmérséklet csökkentése), valamint a termékhozamok növelése reményében a továbbiakban figyelmünk a kapcsoló reagensek jelenlétében elvégzett kísérletek felé irányult. Elsőként a DCC és a CDI **115**-ös szteroid karbonsavval végbemenő reakcióját hasonlítottuk össze DMF oldószerben.^{280,281} A CDI esetén a kapcsolás hatékonysága nagyobb volt ugyanolyan mennyiségű reagens hozzáadása és azonos reakcióidő alkalmazása esetén, bár a konverzió nem volt teljes. Különböző oldószerek (DMF, THF, DCM) hatását vizsgálva ugyanakkor azt tapasztaltuk, hogy a **115**-ös vegyület CDI-vel történő reakciójában a DCM bizonyult a legjobb oldószernek, mivel ebben az esetben a kapcsolás teljes mértékben lejátszódott. Hasonló oldószerfüggést figyeltek meg korábban sav-hidrazidok és karbonsavak CDI jelenlétében végzett gyűrűzárási reakciójánál.²⁸² A kapcsolási reakció optimalizálását követően az aktivált **115**-ös karbonsavat DCM-ban benzamidoximmal (**XVIIIa**) reagáltattuk és így a megfelelő O-acil-benzamidoximot (**119a**) tisztítás után 85%-os hozammal kaptunk (**44. ábra**). A nyílt láncú vegyület gyűrűzárási reakcióját ezután frissen desztillált THF-ban, 0,1 ekvivalens TBAF jelenlétében, inert atmoszférában végeztük, és a

reakció eredményeképpen 95%-os hozammal a megfelelő 1',2',4'-oxadiazol (**121a**) keletkezett. A TBAF tehát a ciklokondenzációs reakció hatékony katalizátorának bizonyult és mindössze 1 óra alatt, enyhe reakciókörülmények között a kívánt terméket szolgáltatta.



44. ábra: Androsztánvázis 17-(1',2',4')-oxadiazolok előállítása
 szteránvázis *karbonsavakból* és *savkloridokból*

A továbbiakban a kétlépéses átalakítást elvégeztük a **115**-ös és **116**-os szteránvázis karbonsavakból kiindulva többféle amidoximmal (**XVIIIa-e**) is. A CDI jelenlétében történő kapcsolási reakciók a megfelelő nyílt láncú termékeket (**119b-e** és **120a-e**) minden esetben 80% feletti hozammal eredményezték. Az *O*-acil-amidoximok (**119b-e** és **120a-e**) TBAF jelenlétében végrehajtott ciklokondenzációja szintén kiváló hozammal 17-*exo*-oxadiazolokhoz

(**121b–e** és **122a–e**) vezetett, amelyek lúgos közegű dezacetilezésével a 3β -OH analogonokhoz (**123a–e** és **124a–e**) jutottunk.

A **123a–e** és **124a–e** vegyületek $C_{17,20}$ -liáz gátló hatásának vizsgálatát patkányhere eredetű $cP450_{17\alpha}$ enzimmel végezték *in vitro* radioszubstrátum ($[^3H]$ 17-hidroxiprogesteron) inkubációs módszerrel. Az 1',2',4'-oxadiazolok közül csak a metil-szubsztituált származékok (**123e** és **124e**) mutatkoztak aktívnak összhangban azon korábbi megfigyelésekkel, hogy a 17-es helyzetű heterogyűrűn a nagy térkitöltésű csoportok jelenléte nem kedvező az enzimgátló hatás szempontjából. A **124e** vegyület ($IC_{50} = 0,60 \mu M$) az enzim liáz aktivitását a referencia vegyületként használt ketokonazollal ($IC_{50} = 0,32 \mu M$) összemérhető mértékben gátolta, ugyanakkor hatása elmaradt az abirateronétól ($IC_{50} = 0,0125 \mu M$). A D-gyűrűben telített analogonja (**123e**) gyengébb enziminhibitornak bizonyult, ami alátámasztotta a C16–C17 helyzetű kettős kötés biológiai hatás kialakulásában való fontosságát.

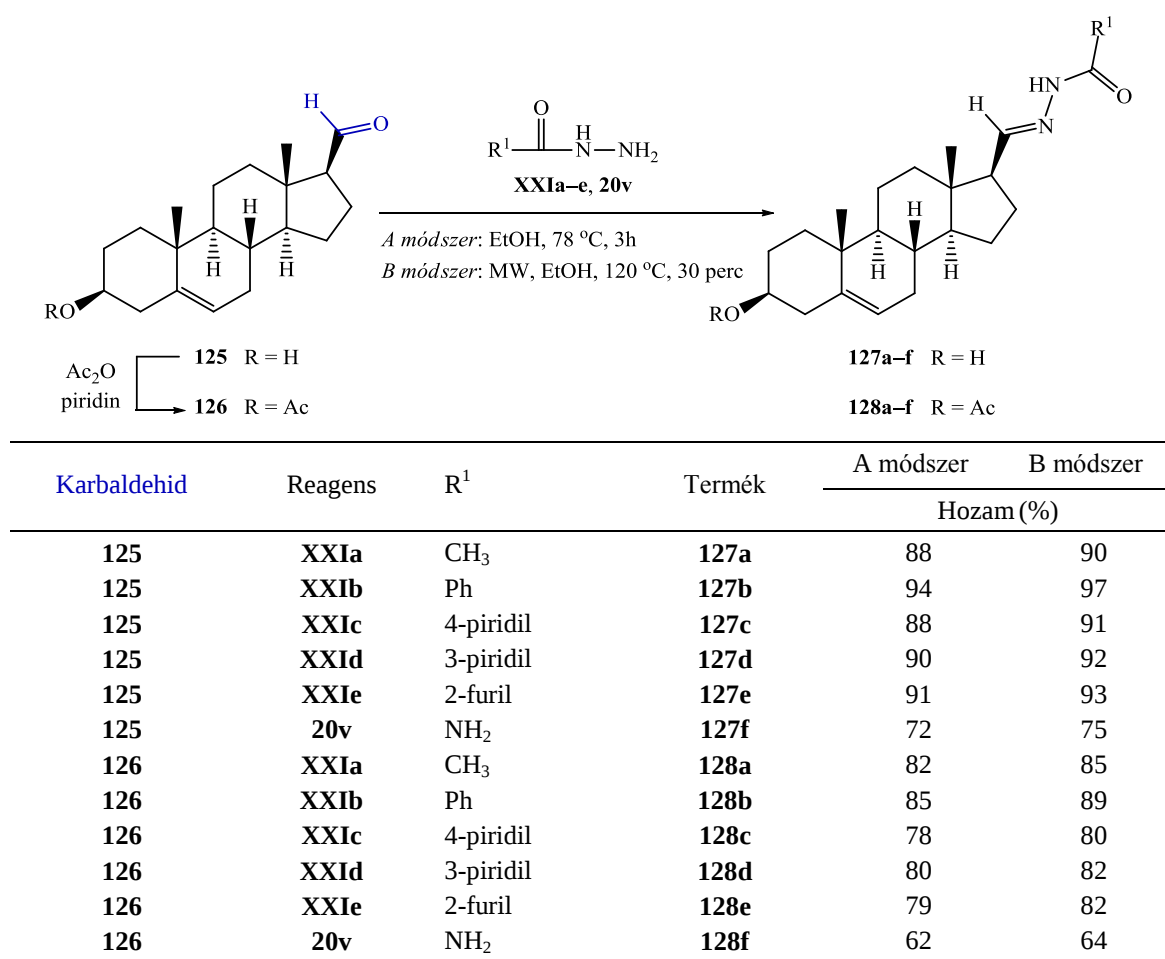
Az előállított vegyületek (beleértve az *O*-acil-amidoxim köztitermékek) sejtosztódásra kifejtett gátló hatásának *in vitro* vizsgálatát háromféle nőgyógyászati (HeLa, MCF7, A2780) és egy bőr (A431) ráksejtvonalon végezték el a ciszplatinnal összehasonlítva. A heterociklusok nyílt láncú előanyagai (**119a–e**, **120a–e**) közül a Δ^{16} származékok néhány képviselője (**120a**, **120c**, **120e**) a sejtvonalak többségén a referenciavegyületnél nagyobb aktivitást mutatott, míg az oxadiazolok közül egyes, a D-gyűrűben telített 3-OH vegyületek (**123a–d**) fejtettek ki számottevő antiproliferatív hatást.

5.3.3.3. Androsztánvázis 17-(1',3',4')-oxadiazolok és 17 β -(1',3',4')-tiadiazolok előállítása [17, 18]

Az androsztánvázis 17 β -(1',3',4')-oxadiazolok előállítását a 2.2.3.2. fejezetben leírtaknak megfelelően szteránvázis aldehidek és acil-hidrazinok (**XXIa–e**), valamint szemikarbazid (**20v**) kétlépéses reakcióival végeztük (16. ábra, "A"). Az átalakításokhoz szükséges savhidrazidok közül az acetilhidrazint (**XXIa**) kereskedelmi forgalomból szereztük be, míg a többi származékot (**XXIb–e**) a megfelelő karbonsav-metilészterek és hidrazin-hidrát nukleofil acil szubsztitúciós reakciójával nyertük.²⁸³

A pregnenolon-acetátból (**4**) előállított androsztánvázis 17 β -karbaldehidek (**125**, **126**)²⁸⁴ és savhidrazidok (**XXIa–e**), valamint szemikarbazid (**20v**) kondenzációs reakcióját mind hagyományos termikus (*A módszer*), mind MW (*B módszer*) körülmények között

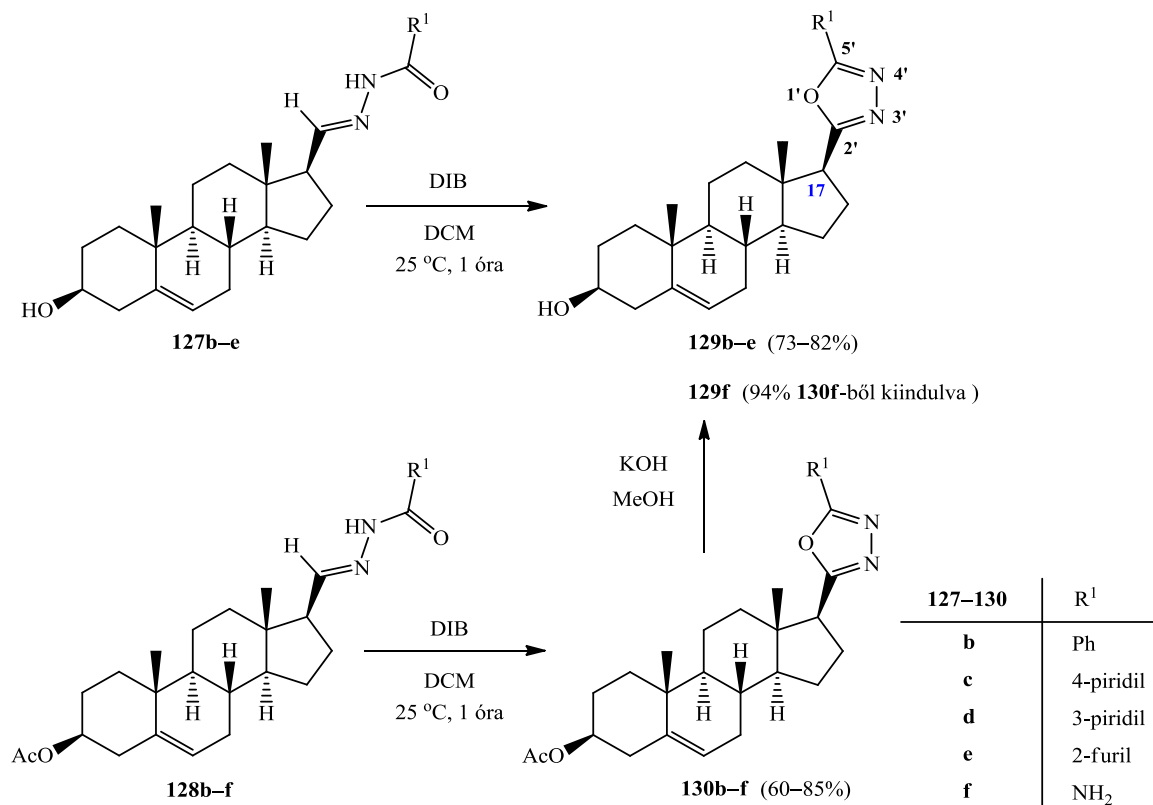
tanulmányoztuk (45. ábra). A reakciók a reagens R^1 szubsztituensének jellegétől függetlenül minden esetben a megfelelő *N*-acilhidrazonokat (127a–e és 128a–e), valamint szemikarbazonokat (127f és 128f) eredményezték jó, illetve kiváló hozamokkal. A MW besugárzás nagymértékben csökkentette a reakcióidőt, de a kívánt termékhozamok csak kis mértékben növekedtek a termikusan indukált változathoz képest. A 127f és 128f vegyületek előállítása során bázisként NaOAc-ot használtunk annak érdekében, hogy a reagenst (20v) a hidroklorid sójából felszabadítsuk. A hidrazonok a sztérikus okokból stabilisabb *E* konfigurációs izomereik formájában képződtek,²⁸⁵ és a metil-szubsztituált származékok (127a és 128a) kivételével a tisztításuk érdekében alkalmazott oszlopkromatográfia körülményei között is stabilisnak mutatkoztak.



45. ábra: Acilhidrazonok és szemikarbazonok előállítása androsztánvázás 17 β -karbaldhidekből

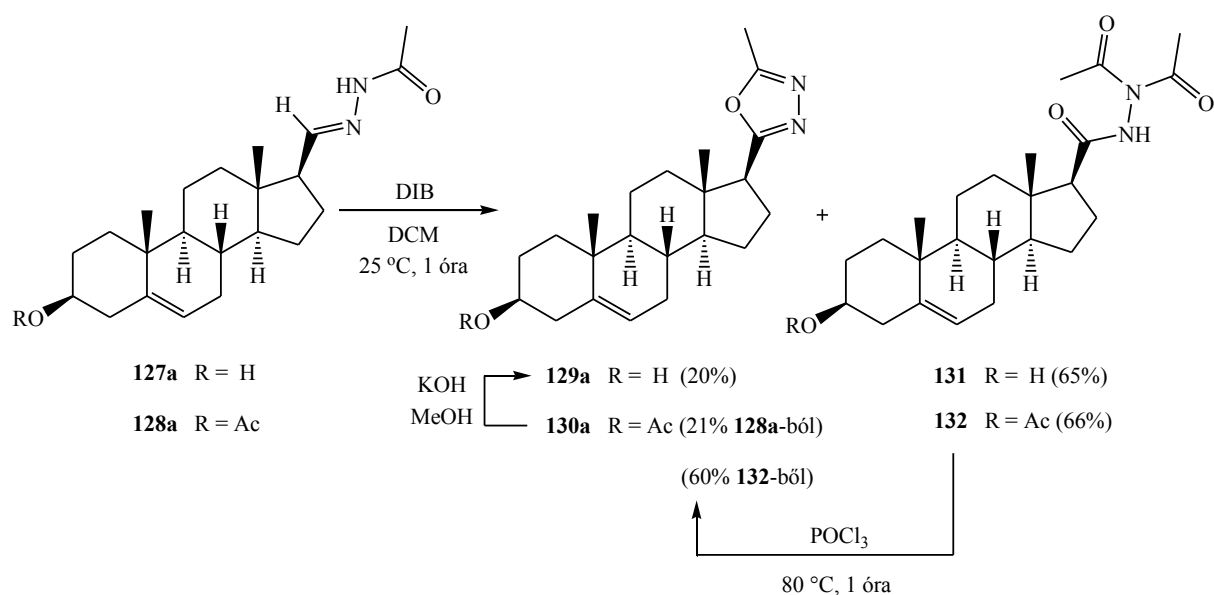
A hidrazonok gyűrűzárásának elvégzéséhez a cérium-ammónium-nitrát (CAN) túl erélyes oxidálószernek bizonyult, ezért egy hipervalens jódvegyületre, a diacetoxi-jódbenzolra (DIB) esett a választásunk. A 127b–e és 128b–f vegyületek kétszeres feleslegben alkalmazott DIB jelenlétében, DCM-ban, 1 órás szobahőmérsékleten történő keverés után jó hozammal

1',3',4'-oxadiazolokká (**129b–e** és **130b–f**) alakultak (**46. ábra**). Bár a **127f** szemikarbazon ciklizációja ezzel a módszerrel sikertelen volt, és több komponensű reakcióelegyet eredményezett, a **130f** lúgos dezacetilezésével a **129f** amino-szubsztituált heterociklusos származék is előállíthatóvá vált.



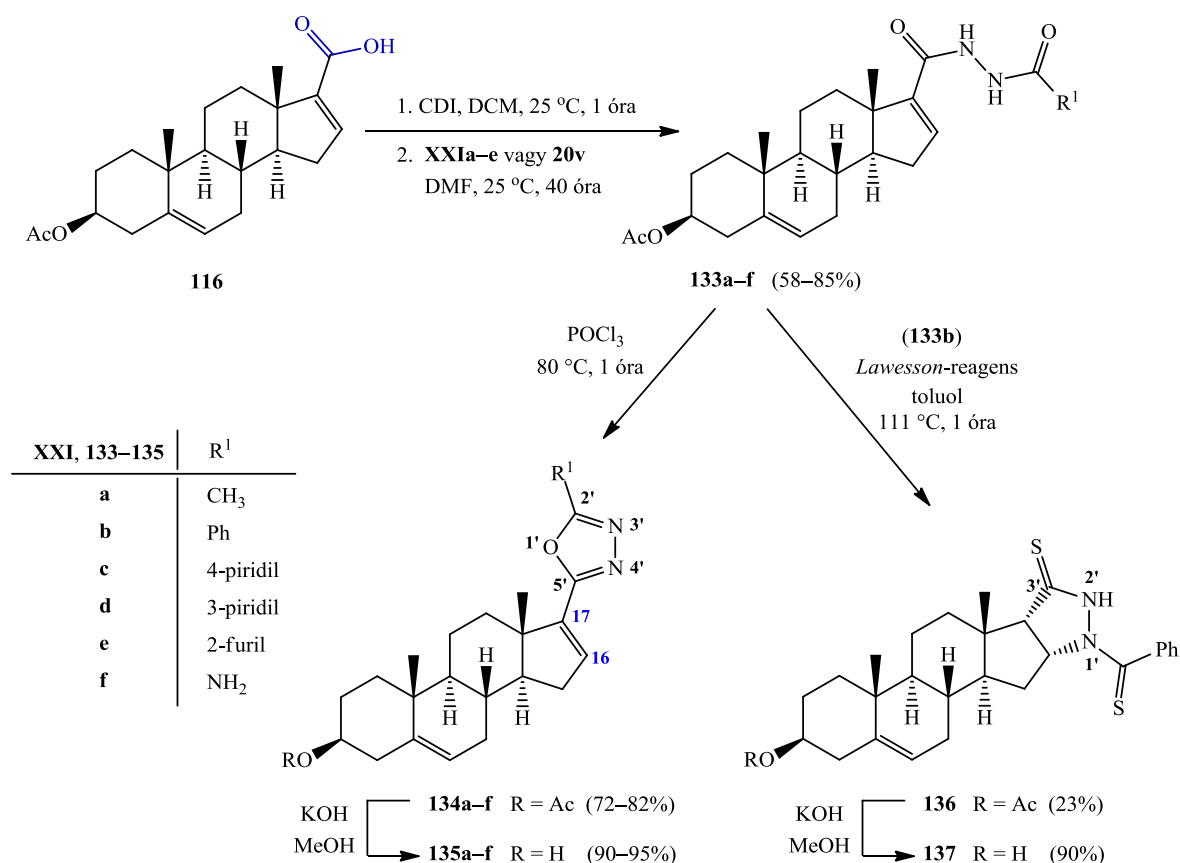
46. ábra: Androsztánváz 17β-(1',3',4')-oxadiazolok előállítása *N*-acilhidrazonok és szemikarbazon oxidatív gyűrűzárásával

Az acetilhidrazonok (**127a** és **128a**) és a DIB reakciója során azonban azt tapasztaltuk, hogy a kívánt heterociklusos termékek (**129a** és **130a**) mellett nagyobb mennyiségben nyílt láncú *N,N*-diacetilhidrazinok (**131** és **132**) képződtek (**47. ábra**), amely az *in situ* keletkező nitrilimin ecetsavra történő 1,3-elektrofil addíciójával és az azt követő acilcsoport vándorlással értelmezhető, ismert folyamat.^{286,287} A **127a** és **128a** vegyületek csökkent stabilitása és eltérő viselkedése nagy valószínűséggel a többi *N*-szubsztituált hidrazonra (**127b–f** és **128b–f**) jellemző kiterjedt konjugáció hiányával értelmezhető. Bár az 1',3',4'-oxadiazolok (**129a** és **130a**) acetilhidrazonokból (**127a** és **128a**) kiinduló hozama alacsony (~ 20%) volt, a **132** származékából POCl₃ hatására *N*-dezacetileződés és ciklodehydratáció következményeként **130a** keletkezett, amelyet lúgos metanolban **129a**-vá alakítottunk.



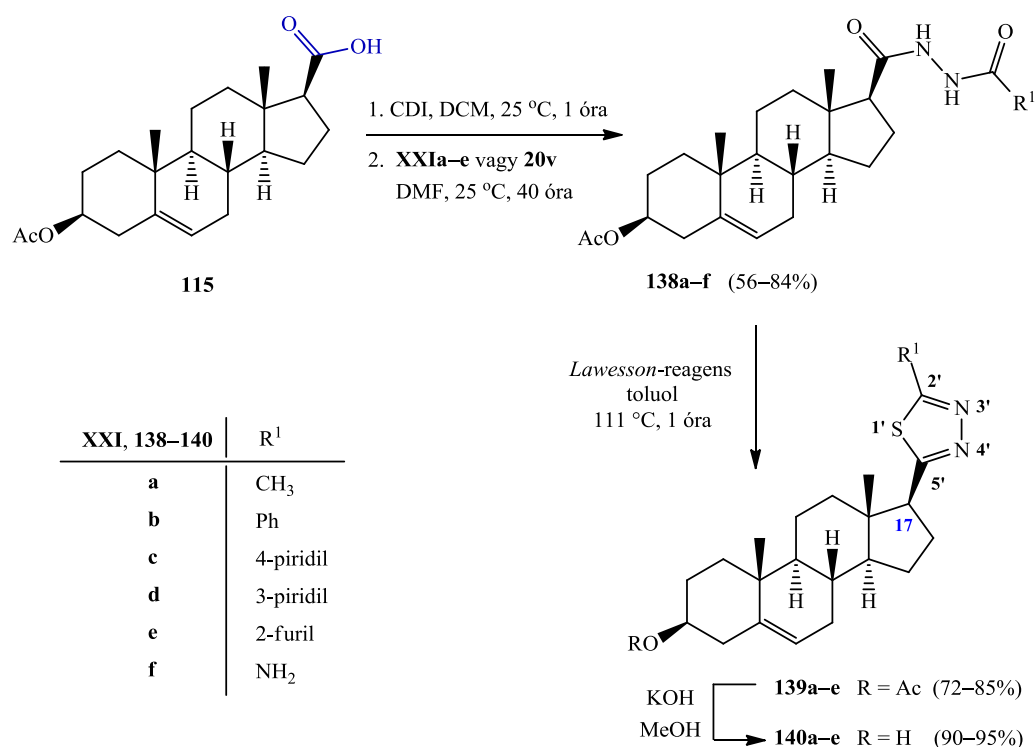
47. ábra: Androsztánvázás *N*-acetilhidrazonok átalakulása DIB jelenlétében

A Δ^{16} -17-(1',3',4')-oxadiazolok előállításához a szteroid karbonsavból kiinduló szintetikus stratégiát (ld. 2.2.3.2. fejezet, **16. ábra, "B"**) választottuk, mivel a **125**-ös aldehid 16,17-telítetlen származékának PDA-ból (**6**) történő szintézise csak hosszadalmas reakciólépésekkel valósítható meg.²⁸⁸ A **6**-ból bromoform reakcióval és acetilezéssel nyert **116**-os vegyületet (ld. **44. ábra**) CDI-vel való aktiválás után acilhidrazinokkal (**XXIa–e**), valamint szemikarbaziddal (**20v**) reagáltattuk, amelynek eredményeként aszimmetrikus *N,N'*-diszubsztituált hidrazinokhoz (**133a–f**) jutottunk (**48. ábra**). Ez utóbbi vegyületek POCl₃ jelenlétében, 80 °C-on elvégzett vízkilépéssel kísért gyűrűzárása a megfelelő 1',3',4'-oxadiazolok (**134a–f**) jó hozamú képződéséhez vezetett. A 3-OH származékokat (**135a–f**) lúgos közegű dezacetilezéssel nyertük. Az *N*-benzoil-savhidrazidból (**133b**) Lawesson-reagenssel megkíséreltük a **134b** megfelelő kéntartalmú analogonjának előállítását is, azonban a reakció termékkeveréket eredményezett, amelynek kromatográfiás elválasztása során a várt vegyület helyett egy D-gyűrűhöz kondenzált pirazolidin-3-tiont (**136**) tudtunk fő komponensként kinyerni. A vegyület képződése a 18-as β -helyzetű anguláris metilcsoporttal ellentétes oldalról bekövetkező sztereoszelektív, intramolekuláris 1,4-addícióval és a két karbonilcsoport egyidejű tionálásával értelmezhető. A szerkezetet a kétdimenziós NMR- és tömegspektrumok egyaránt alátámasztották.



48. ábra: Androsztánváz Δ^{16} -17-(1',3',4')-oxadiazolok és D-gyűrűhöz kondenzált pirazolidin-3-tion előállítása szteroid *karbonsavból*

Annak érdekében, hogy a konjugált addíció lehetőségét kizárjuk, a Lawesson-reagenssel végzett további gyűrűzárási kísérleteinket a pregnenolon-acetátból (4) előállítható telített karbonsavval (115) végeztük (ld. 44. ábra). A CDI-aktivált vegyületet savhidrazidokkal (XXIa–e) és szemikarbaziddal (20v) reagáltatva előállítottuk az *N,N'*-diszubsztituált köztitermékeket (138a–f), majd ezeket tisztítást követően a kéntartalmú reagenssel 1 órán keresztül toluolban forraltuk (49. ábra). A gyűrűzárások az aminokarbonilezett savhidrazid (138f) kivételével a várt 1',3',4'-tiadiazolok (139a–e) jó hozamú képződéséhez vezettek. Némely esetben az analóg 1',3',4'-oxadiazol csekély mennyiségű keletkezését is tapasztaltuk.²¹⁶ Végül a vegyületek dezacetilezésével megkaptuk a 3-OH származékokat (140a–e) is.



49. ábra: Androsztánváz 17β-(1',3',4')-tiadiazolok előállítása szteroid *karbonsavból*

A 17-*exo*-heterociklusok 3-OH analogonjai (**129a–f**, **135a–f** és **140a–e**) *in vitro* cP450_{17α} enzimgátlási vizsgálatra kerültek hatásuknak a ketokonazoléval és az abirateronéval való összehasonlítása céljából. A várakozásnak megfelelően ebben az esetben is csak a heterogyűrűn kisméretű funkciós csoportot tartalmazó metil- (**129a** és **135a**) és aminoszubsztituált származékok (**129f** és **135f**) bizonyultak aktívnak. A 16,17-helyzetben telítetlen vegyületek (**135a** és **135f**) nagyobb mértékben gátolták az enzim C_{17,20}-liáz aktivitását, mint a telített analogonjaik (**129a** és **129f**). A **135a** (IC₅₀ = 0,11 μM) a referenciaként alkalmazott ketokonazolnál (IC₅₀ = 0,32 μM) hatásosabbnak bizonyult, míg a **135f** (IC₅₀ = 0,0645 μM) az abirateronét (IC₅₀ = 0,0125 μM) megközelítő hatást produkált. Az 1',3',4'-tiadiazolok (**140a–e**) közül a metil-szubsztituált származék (**140a**) csak csekély aktivitást mutatott.

Valamennyi újonnan előállított vegyület (beleértve a heteroaromás származékok nyílt láncú előanyagait is) *in vitro* sejtosztódás gátlását négyféle humán ráksejtvonalon (HeLa, A2780, MCF7 és A431) tesztelték. Általánosságban megállapítható, hogy az *N*-szubsztituált hidrazonok (**127b–f**, **128b–f**), valamint az 1',3',4'-oxadiazolok (**129a–f**, **135a–f**) jó néhány képviselője szelektív és a ciszplatinnál (IC₅₀ = 12,43 μM) jelentősebb antiproliferatív hatást fejtett ki méhnyakrák sejteken (HeLa). A legnagyobb proliferáció gátlást az aminoszubsztituált szemikarbazon (**127f**: IC₅₀ = 2,34 μM) és a Δ¹⁶-oxadiazol (**135f**: IC₅₀ = 0,65 μM)

mutatta, amellyel ez utóbbi vegyület mindkét hatástani vizsgálat szempontjából kiemelkedően aktívnak bizonyult. A kéntartalmú heterociklusok némelyikének hatása nemcsak HeLa (**139d**: $IC_{50} = 8,04 \mu M$; **140a**: $IC_{50} = 4,43 \mu M$), de emlősejteken (MCF7) is meghaladta (**139d**: $IC_{50} = 4,56 \mu M$; **140a**: $IC_{50} = 3,34 \mu M$) a referencia vegyületét ($IC_{50} = 9,63 \mu M$).

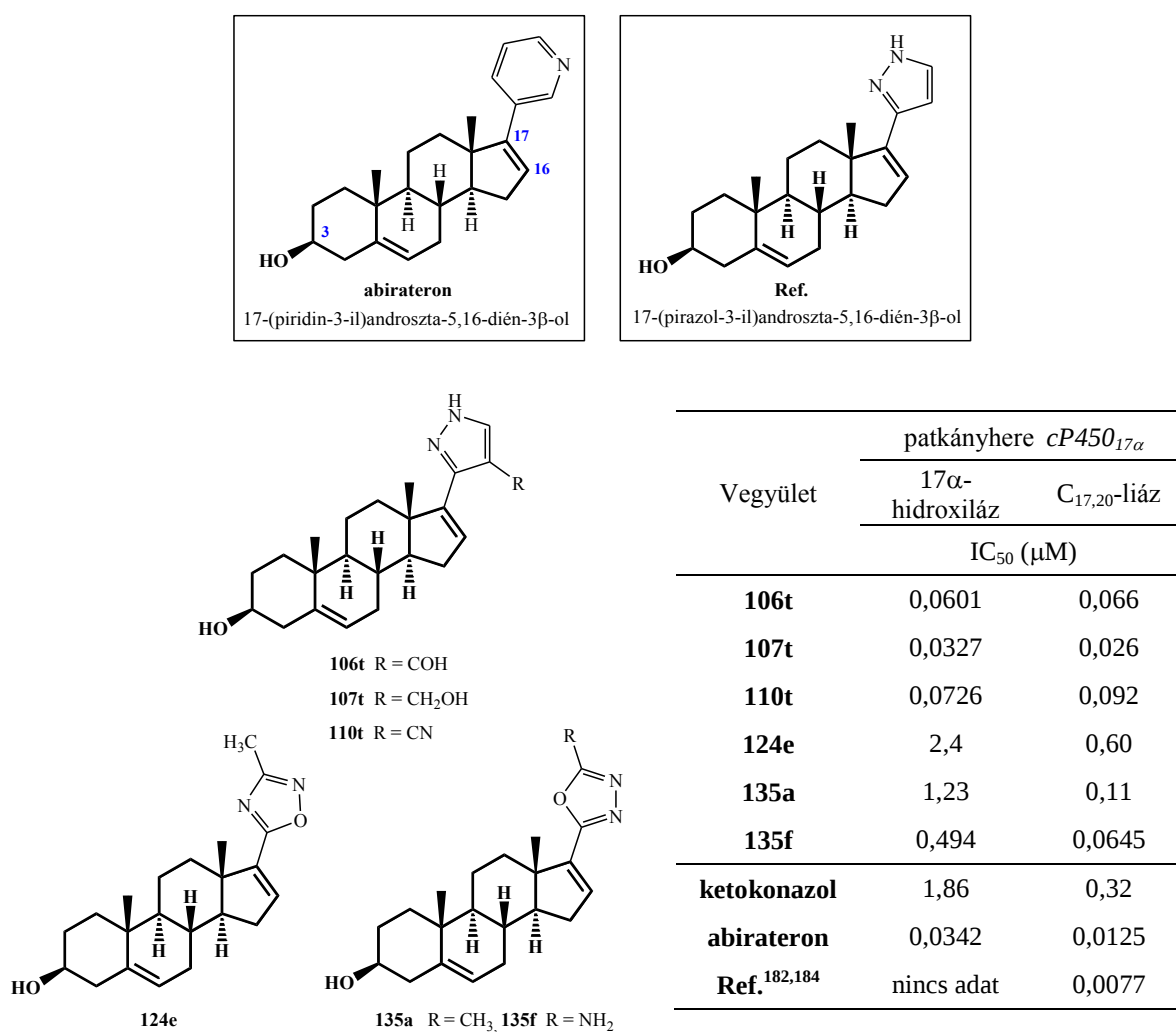
Az 5.3.3 fejezet egyes alpontjaiban tárgyalt szintézisekkel androsztánváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó öttagú aromás heterociklusok (pirazolok, 1',2',4'- és 1',3',4'-oxadiazolok, valamint 1',3',4'-tiadiazolok) kerültek előállításra. Ezek közül a cP450_{17 α} enzim C_{17,20}-liáz aktivitására kifejtett gátló hatás szempontjából azok a vegyületek (**106t**, **107t**, **110t**, **124e**, **135a** és **135f**) bizonyultak legaktívabbnak, amelyek a klinikumban használt abirateronéhoz, valamint egy annál még potensebb, de rosszabb farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkező inhibitoréhoz [Ref.: 17-(pirazol-3-il)androszta-5,16-dién-3 β -ol)]^{182,184} nagyon hasonló szerkezetűek. Ez utóbbiakat az összevethetőségük érdekében az 50. *ábra* szemlélteti.

A nagyszámú, újonnan szintetizált vegyülettel végzett *in vitro* farmakológiai vizsgálatok eredményei alapján az alábbi szerkezet–hatás összefüggések támaszthatók alá, illetve állapíthatók meg:

- A 16,17-helyzetű kettős kötés jelenléte fokozza a hatást a telített analogonokhoz képest.
- A két nitrogénatomot is tartalmazó oxadiazolil, illetve pirazolil származékok közül csak a heterogyűrűn viszonylag kisméretű szubsztituens (CH₃, NH₂, COH, CH₂OH, CN) hordozó vegyületek aktívak, a nagyobb térkitöltésű aromás vagy heteroaromás csoportok jelenléte az enzimre kifejtett gátlás szempontjából kedvezőtlen.
- A metilcsoporttal szubsztituált oxadiazolok (**124e** és **135a**) hatását összevetve az 1',3',4'-oxadiazol szerkezeti elem az 1',2',4'-oxadiazolhoz képest előnyösebbnek bizonyult, ugyanakkor a metil-/amino-csoport csere a heterogyűrűn (**135f**) tovább növelte a hatást.
- A nitrogénnel szubsztituált pirazol vegyületek (**106t**, **107t**, **110t**) közül a 4'-helyzetű hidroximetil-csoport (**107t**) jobban tolerálható az enzim–szubsztrátum kölcsönhatás szempontjából, mint a formil- (**106t**) vagy a nitril-szubsztituens (**110t**). Bár a **107t** enzimgátló aktivitása közelítette meg leginkább az abirateronét, de hatása még így is messze elmaradt a szubsztituens mentes Ref. anyagétól, ami arra utal, hogy a funkciós csoport jelenléte a szteránváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó pirazol-gyűrűn nem kedvező.

Összességében megállapítható, hogy munkánk során néhány igazán hatásos C_{17,20}-liáz inhibitorot sikerült előállítanunk, amelyek azonban hatásosságukban a szteránváz referenciacsoportoktól elmaradtak. Figyelembe véve a 17 α -hidroxiláz gátlásokat is a legaktívabb

pirazol származékok (**106t**, **107t**, **110t**) nem bizonyultak szelektívnek a patkányhere eredetű célfehérjén. Legszelektivebb vegyületeknek a **135a** és a **135f** jelű 1',3',4'-oxadiazolok tekinthetők, amelyek 11,1-szer, illetve 7,7-szer nagyobb koncentrációban gátolták az enzim 17α -hidroxiláz, mint a $C_{17,20}$ -liáz aktivitását (ugyanaz az érték a ketokonazolnál 5,8, míg az abirateronnál 2,7). A vegyületek humán enzimre kifejtett gátlásának *in vitro* vizsgálatai jelenleg is folyamatban vannak.



50. ábra: A patkányhere eredetű *cP450*_{17 α} enzim 17α -hidroxiláz és $C_{17,20}$ -liáz aktivitását gátló 17-exo-heterociklusok és számított IC₅₀ értékeik három hatásos inhibitorral összehasonlítva

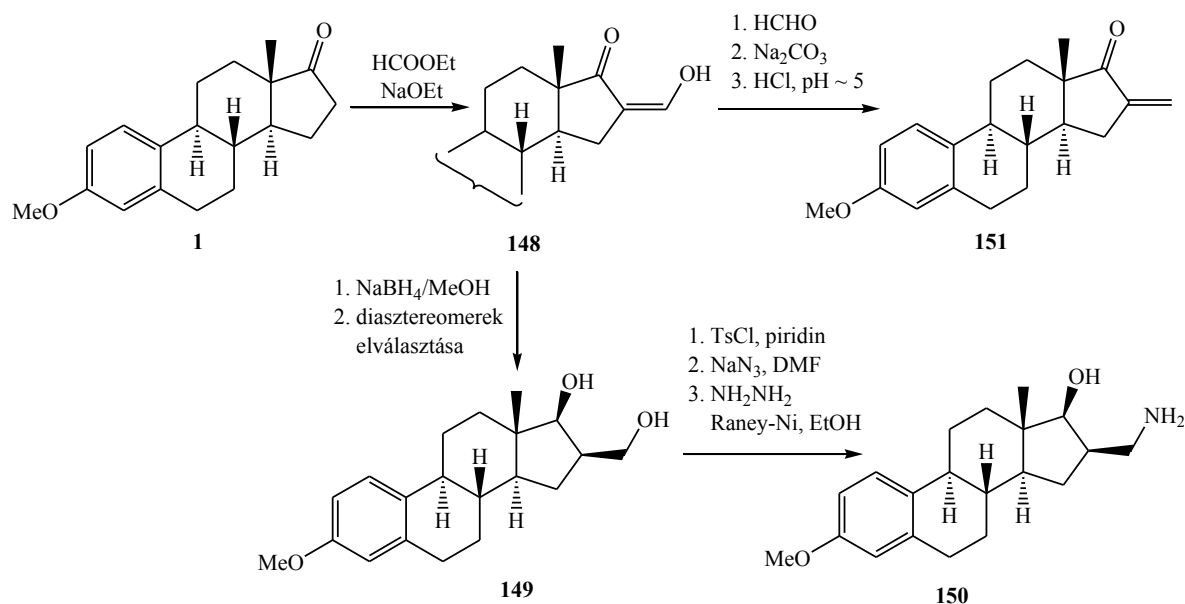
5.4. Szteránvázas hattagú diheterofoszforinánok szintézise

A hattagú P-heterociklusok szintézisét a 2.3. fejezet irodalmi előzményei alapján szteránvázas 1,3-diol és 1,3-aminoalkohol kiindulási anyagokból végeztük különböző foszfortartalmú reagensek (XP(O)Cl₂: fenilfoszfonsav-diklorid (**141**, X = Ph), foszforil-klorid (**142**, X = Cl),

bisz(2-klóretil)-foszforsavamid-diklorid (**143**, $X = N(CH_2CH_2Cl)_2$), fenil-diklórfoszfát (**144**, $X = PhO$), aril-diklórfoszfátok (**145**, $X = p\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{O}$; **146**, $X = p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4\text{O}$; **147**, $X = o,p\text{-diCl-C}_6\text{H}_3\text{O}$) felhasználásával, TEA bázis jelenlétében. A foszfortartalmú gyűrűvel módosított származékok előállításának elsődleges célja annak tanulmányozása volt, hogy a merev szteránváz, a *P*-konfiguráció, illetve a foszforatomon lévő *X* szubsztituens jellege hogyan befolyásolja a diheterofoszforinán gyűrű oldatbeli konformációs viselkedését. A ^{31}P -, ^1H - és ^{13}C -NMR mérések alapján az egyensúlyi elegyben valószínűsített domináns térszerkezeteket sok esetben az együttműködések (BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, SZTE Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék) keretében megvalósuló *ab initio* számításokkal támasztottuk alá.

5.4.1. Ösztránváz D-gyűrűjéhez 16 β ,17 β -helyzetben kondenzált diheterofoszforinánok előállítása és konformáció vizsgálata [19–22]

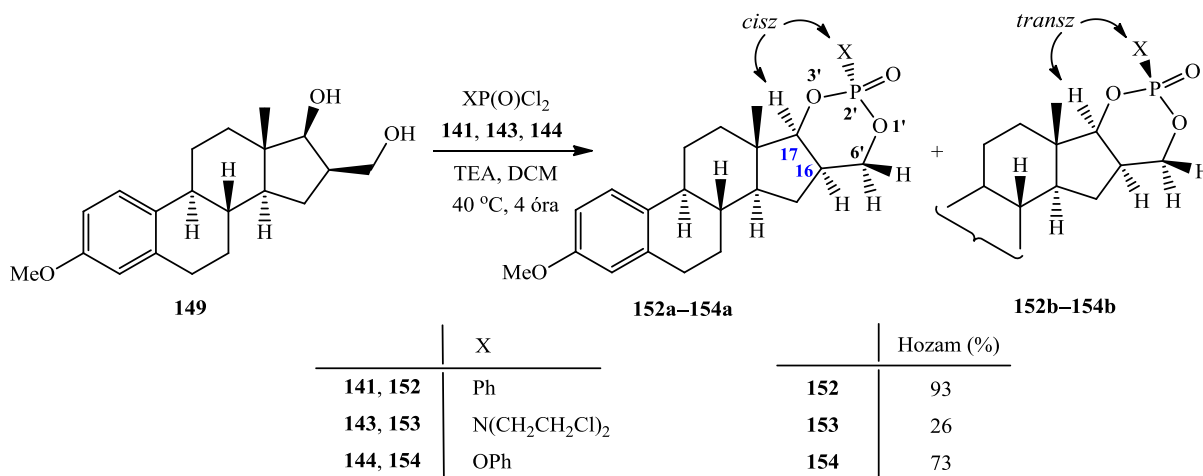
A szteránvázhoz kondenzált *O,P,O*- és *O,P,N*-heterogyűrűk kialakítására az ösztron-3-metil-éterből (**1**) többlépéses szintézisutakon keresztül nyert szteroid prekursorokat (**149–151**) használtunk (51. ábra).^{289–291}



51. ábra: Ösztránvázhoz kondenzált 1,3,2-diheterofoszforinánok előállítására felhasznált kiindulási anyagok

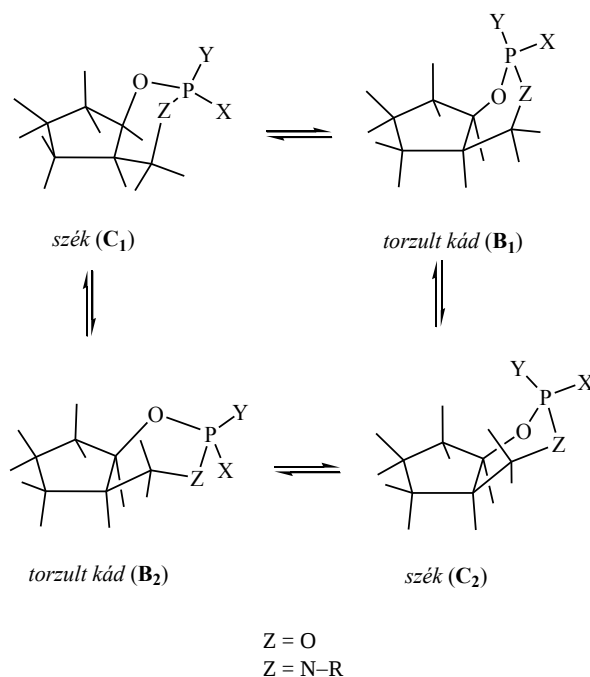
Az 1',3',2'-dioxafoszforinán-2'-oxidok előállítása érdekében a **149**-es diolt foszfortartalmú reagensekkel (**141**, **143** és **144**) DCM-ban foszforileztük TEA jelenlétében,

inert atmoszférában (52. *ábra*). A királis foszforatom jelenléte folytán a reakció mindhárom esetben két epimer közel 1:1 arányú elegyéhez (152a–154a és 152b–154b) vezetett, amelyeket oszlopkromatográfiával elválasztottunk egymástól.



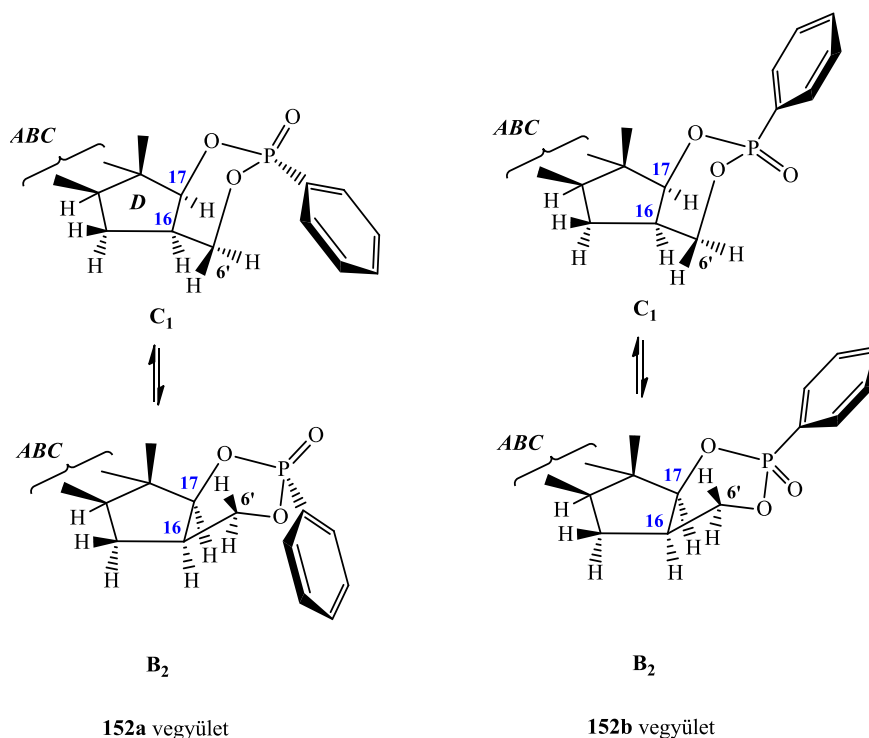
52. *ábra*: Ösztránváz D-gyűrűjéhez kondenzált 1',3',2'-dioxafoszforinán-2'-oxidok előállítás

Tekintettel arra, hogy korábban ciklopentán gyűrűhöz *cisz* helyzetben kondenzált dioxafoszforinánok esetén oldatban négyféle konformer (**C₁**, **B₁**, **B₂** és **C₂**) létezését feltételezték (53. *ábra*, Z = O),²⁹² a szteránváz szintén öttagú D-gyűrűjéhez kapcsolódó *P*-heterociklusok esetén is ezen konformációs izomerek egyensúlya, esetleg valamelyik forma kizárólagossága valószínűsíthető.



53. *ábra*: Ciklopentánhoz *cisz*-módon kondenzált diheterofoszforinánok lehetséges konformációi

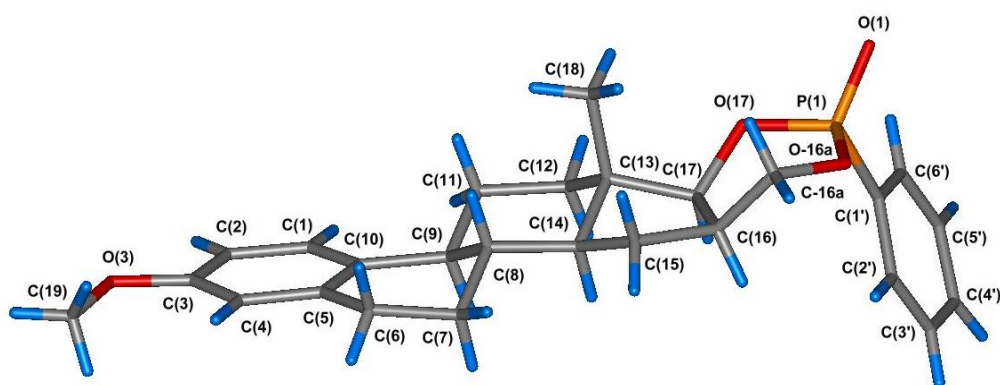
Az egyes diasztereomerek P-konfigurációjának meghatározását az **a** és **b** vegyületepárok ^{31}P -NMR, valamint karakterisztikus ^1H -NMR eltolódás értékeinek összehasonlítása alapján végeztük el. A fenil-szubsztituált vegyület (**152**) esetén a $^{31}\text{P}_{152a}$ (13,8 ppm) < $^{31}\text{P}_{152b}$ (16,0 ppm) reláció arra utalt,^{235,236} hogy a **152a**-ban a foszforilcsoport ekvatoriális vagy *pszeudo*-ekvatoriális, míg a **152b**-ben axiális vagy *pszeudo*-axiális térállású. Ez a kritérium azonban csak **C**₁ és/vagy **B**₂ konformerek esetén teljesülhet (**54. ábra**), vagyis a fenilcsoport és a 17-H a **152a** vegyületben *cisz*, míg a **152b**-ben *transz* orientációban van (**52. ábra**). Ezt a feltételezést a 16-H, 6'-H₂ és 17-H protonok kémiai eltolódásában tapasztalt különbségek is alátámasztották, mivel a **152a** vegyület esetén $\delta(6'\text{-H}_\beta) > \delta(6'\text{-H}_\alpha)$, a **152b** epimernél $\delta(6'\text{-H}_\beta) < \delta(6'\text{-H}_\alpha)$, ugyanakkor $\delta(16\text{-H})_{152a} < \delta(16\text{-H})_{152b}$, illetve $\delta(17\text{-H})_{152a} < \delta(17\text{-H})_{152b}$. Mindez annak tulajdonítható, hogy a P=O csoport csökkenti azon protonok árnyékoltságát, amelyek hozzá képest *cisz* orientációban vannak. A 17-H eltolódásában a két epimer között tapasztalt 0,64 ppm-es különbség azonban nem értelmezhető pusztán a P=O csoport említett hatásával, hanem a **152a** epimernél az ezen protonhoz térközeli fenilcsoport mágneses anizotróp hatása okozhatja, hogy a csúcs nagyobb térerőnél jelentkezik.



54. ábra: D-gyűrűhöz kondenzált fenil-szubsztituált 1',3',2'-dioxafoszforinán-2-oxidok ^{31}P - és ^1H -NMR alapján feltételezett P-konfigurációja és lehetséges konformációi

A **153**-as és **154**-es vegyületek **a** és **b** izomerjeinek ^{31}P -NMR eltolódása nem volt informatív a *P*-konfiguráció meghatározása szempontjából, mivel páronként nagyon hasonló értéket mutatott. Azonban a térszerkezet meghatározását és az epimerek azonosítását a ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumok alapján a karakterisztikus jelek eltolódásának összevetése ezekben az esetekben is lehetővé tette.

A következőkben a hattagú *P*-heterociklus oldatbeli konformációs viselkedését tanulmányoztuk a **152**–**154** epimerpárok esetén. Ennek során figyelembe kellett vennünk a következő, a konformációt esetlegesen módosító tényezőket: (a) a foszforatomon lévő szubsztituensek közül a fenil- (**152**), illetve az *N*-bisz(2-klóretil)-csoport (**153**) a nagy térkitöltésüknek megfelelően elsősorban az ekvatoriális, míg az elektronegatív fenoxi-csoport (**154**) az anomer effektus miatt az axiális térhelyzetet részesíti előnyben; (b) a szteránvázhoz kondenzált heterogyűrű *P*-szubsztituensei és a vázon lévő csoportok (pl. a 18-as anguláris metilcsoport) között kedvezőtlen szterikus taszítás léphet fel, illetve (c) a *P*-heterogyűrű kondenzált jellegéből adódóan kevésbé flexibilis. A konformáció vizsgálatot az egyes vegyületek jellemző $^3J(\text{H,H})$ és $^3J(\text{H,P})$ csatolási állandóinak meghatározása alapján végeztük. A **152a** vegyület esetén ezen paraméterek alapján kizárható volt a **B**₁ és **C**₂ konformációk jelenléte (53. *ábra*). Bár a $J(17\text{-H,P}) < 1,0$ Hz a **C**₁ és **B**₂ konformációk közötti egyensúlyt sejtette (54. *ábra*), a $^3J(6'\text{-H}_\beta, \text{P}) = 4,6$ Hz, valamint a $^3J(6'\text{-H}_\alpha, \text{P}) = 25,1$ Hz csatolási állandók a **B**₂ torzult kád konformer csaknem kizárólagos oldatbeli jelenlétére utaltak. A **152a** NMR mérések alapján feltételezett szerkezetét az elvégzett *ab initio* számítás is igazolta. A vegyület röntgen-szerkezetvizsgálata pedig bizonyította, hogy a *P*-heterogyűrű szilárd állapotban is **B**₂ konformációban van (55. *ábra*).



55. *ábra*: A **152a** vegyület röntgen szerkezete

A **152b**, **153b**, **154a** és **154b** vegyületek jellemző $^3J(\text{H,H})$ és $^3J(\text{H,P})$ csatolási állandói – amelyek a vonatkozó közleményben [21] megtalálhatók – analógiát mutattak a **152a**

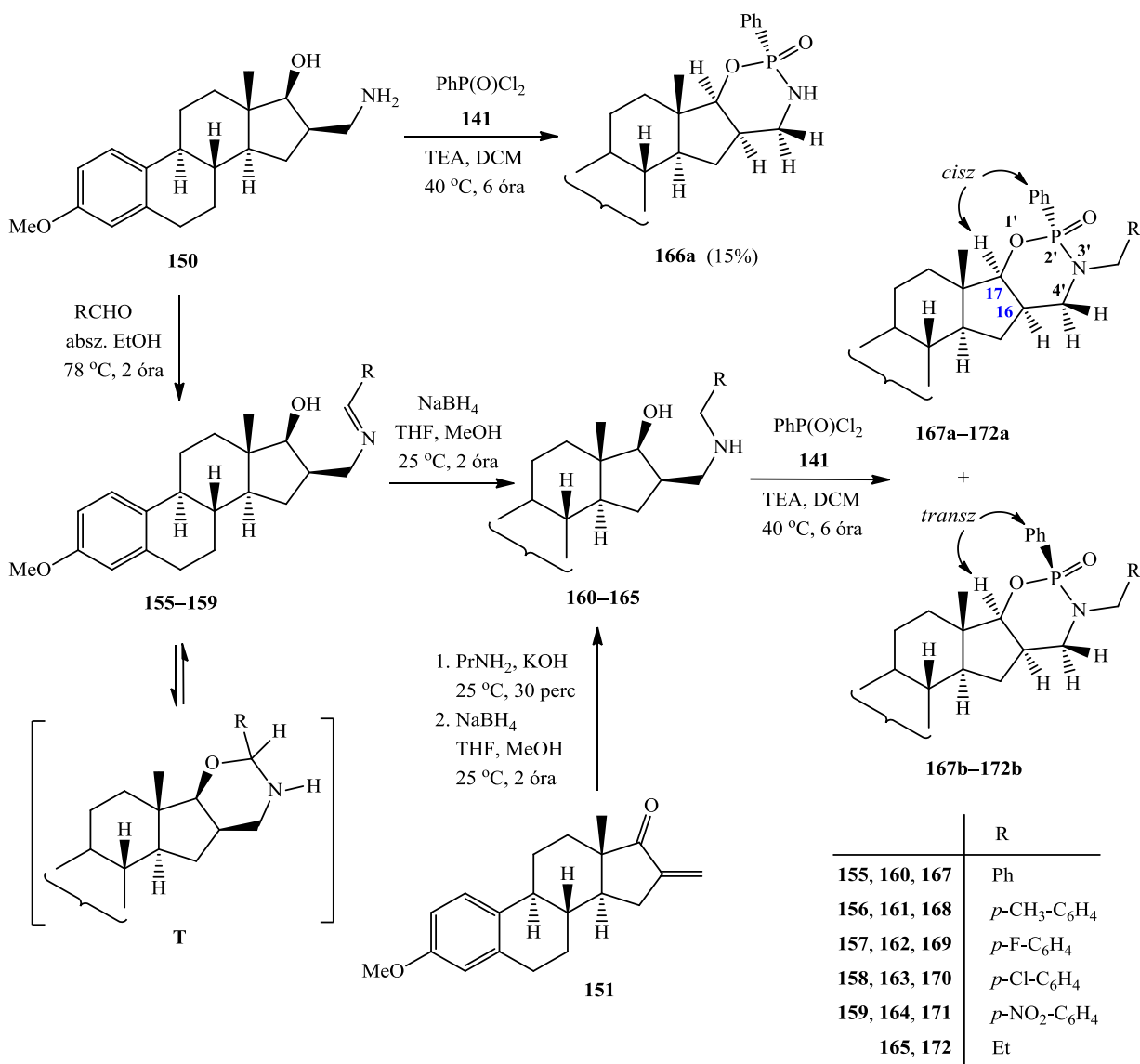
származék értékeivel, mely alapján *ab initio* számításokkal is alátámasztva feltételezhető, hogy a *P*-konfigurációtól függetlenül ezen heterogyűrűk konformációs egyensúlya oldatban a **B**₂ torzult kád konformer irányába tolódik el erőteljesen. A domináns térszerkezetet így elsősorban a kapcsolódó merev szteránváz határozza meg, amelyet a *P*-szubsztituensek preferált térhelyzetre való törekvése még a **152a** és **154b** esetén sem képes módosítani. Az elméleti számítások a **153a** vegyületnél azonban a többitől eltérő konformációs viselkedést jósoltak, mégpedig a **B**₁ és **C**₂ konformációs izomerek **B**₁ felé eltolt egyensúlyi elegyét (ld. 53. *ábra*). Ezt alátámaszthatja az a korábbi megfigyelés, hogy az R₂N csoportok ekvatoriális térhelyzetre való törekvése általában sokkal kifejezettebb, mint a fenilcsoporté.²²⁸ Márpedig a **B**₂ torzult kád konformációban a **153a** *N*-bisz(2-klóretil)-csoportja kedvezőtlen *pszeudo*-axiális állásban helyezkedne el, míg **B**₁ és **C**₂ térszerkezetek esetén ugyanezen csoport a preferált ekvatoriális, illetve *pszeudo*-ekvatoriális orientációt veheti fel. A **153a** heterogyűrűjének feltételezett térszerkezetét NMR mérésekkel egyértelműen nem tudtuk bizonyítani, mivel a 6'-H₂ protonok csatolási képe az egyik *N*-CH₂ jellel, valamint az egymással való átlapolódás miatt nem volt informatív. Ennél az egy vegyületnél ugyanakkor a 17-H proton jele dupla dublettként jelentkezett eltérően a többi származékra jellemző dublett csúcstól, ami a foszforatommal való csatolásra és így a gyűrűben lévő P–O kötés és a 17-H_α antiperiplanáris elhelyezkedésére utal. A szokványos **C**₂ szék konformációból a **B**₁ irányába történő egyensúlyeltolódás a *cis*z orientációban lévő dioxafoszforinán gyűrű és a D-gyűrű sztérikus taszításából adódhat.

A továbbiakban az előzőekkel analóg 1',3',2'-oxazafoszforinán-2'-oxidok szintézisét valósítottuk meg. A foszforilezési reakciókhoz a **150**-es primer amint, valamint **150**-ból és **151**-ből (51. *ábra*) kétlépéses szintézisekkel nyert szekunder aminokat használtunk. A **150**-es aminoalkoholt benzaldehidekkel reagáltatva a megfelelő *Schiff*-bázisokat (**155**–**159**) kaptuk (56. *ábra*). Bár a hasonló szerkezetű benzimino-alkoholok oldatban gyűrű–lánc tautóméria folytán a megfelelő 1,3-oxazinná (**T**) alakulhatnak,²⁹³ a vegyületek (**155**–**159**) ¹H-NMR spektrumaiban erre utaló jelet nem láttunk. A következő komplex fémhidrides redukcióval különböző *N*-arilmetil származékokhoz (**160**–**164**) jutottunk. A **165**-ös *N*-propil analogont ugyanakkor 16-metilidén-ösztron-3-metil-éterből (**151**) *n*-propilamin sztereoszelektív 1,4-addíciójával, majd a képződő köztitermék *in situ* redukciójával nyertük.

Az aminoalkoholok (**150**, **160**–**165**) foszforilezési reakcióit fenilfoszfonsav-dikloriddal (**141**) TEA jelenlétében végeztük (56. *ábra*). A szekunder aminok (**160**–**165**) gyűrűzárása két *P*-epimer (**167a**–**172a** és **167b**–**172b**) közel 3:2 arányú keverékéhez vezetett változó

(35–82%) összhozammal, amelyeket osztkromatográfiával választottunk el egymástól. A **150** hasonló reakciója a primer aminok csökkent reaktivitása²⁴⁰ folytán mindössze 15%-os termeléssel egyetlen oxazafosforinán izomer (**166a**) képződését eredményezte.

Az összetartozó **a** és **b** diasztereomerek *P*-konfigurációjának meghatározását önmagában a ³¹P-NMR nem tette lehetővé, ezért ezekben az esetekben is a karakterisztikus ¹H- illetve ¹³C-NMR eltolódások összehasonlítása volt segítségünkre. A 17-H vonatkozásában a **167–172** vegyületek epimerjeire hasonló relációk érvényesültek, mint az analóg dioxafosforinánál (**152**), azaz $\delta(17\text{-H})_a < \delta(17\text{-H})_b$. Ráadásul a közel 0,6 ppm-es eltolódás különbség itt is arra utalt, hogy az **a** izomerekben a P-Ph csoport a 17-H árnyékoltságát mágneses anizotróp hatása miatt növeli, azaz azzal azonos (*cisz*) térállású. A ¹³C-NMR spektrumok alapján ugyanakkor a **b** epimerok C-17 csúcsa nagyobb térerőnél jelentkezett,



56. ábra: Ösztránváz D-gyűrűjéhez kondenzált 1',3',2'-oxazafosforinán-2'-oxidok előállítása

mint az **a** izomereké, ami az axiális P=O kötés árnyékoló hatásával magyarázható.

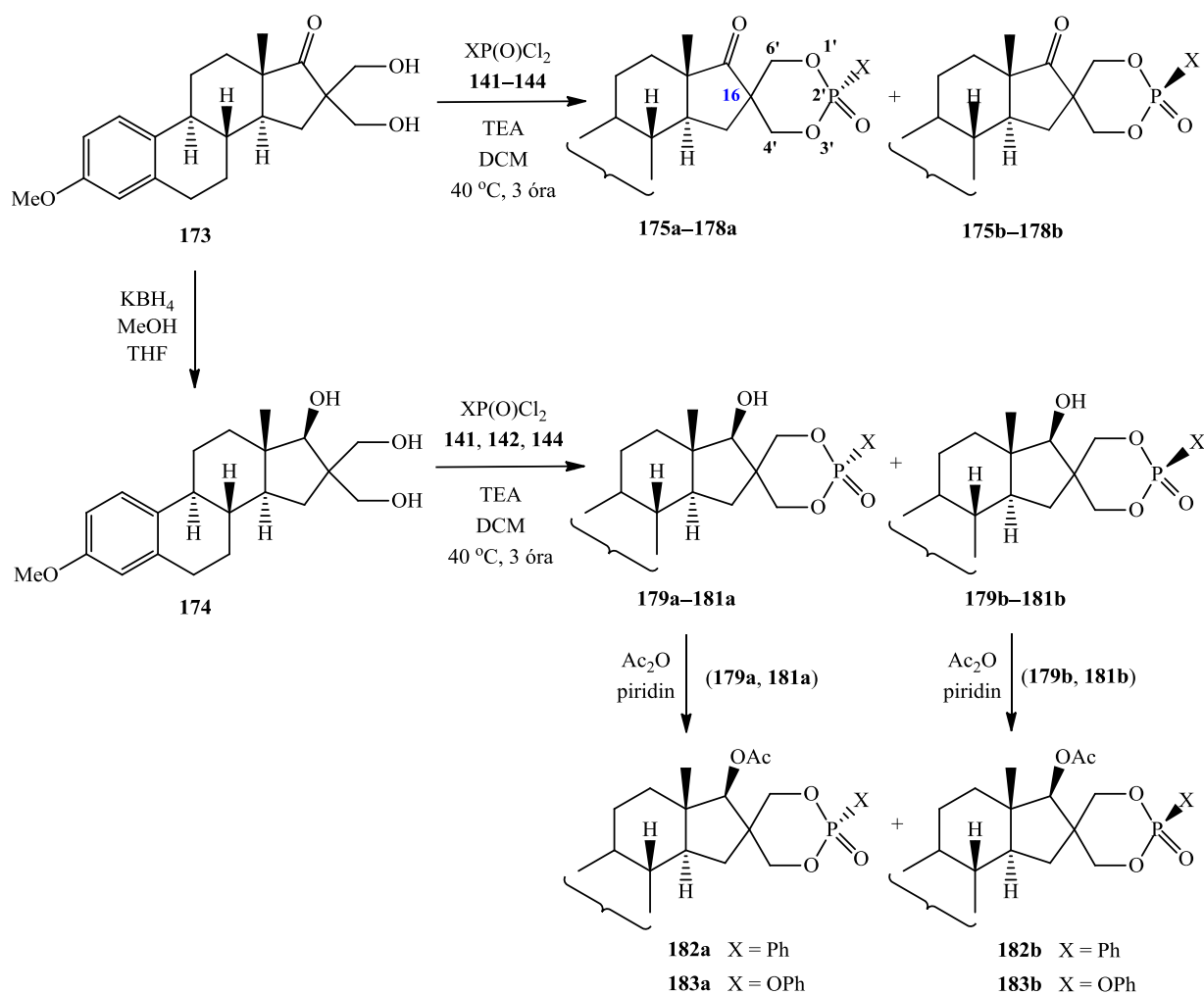
Az öttagú D-gyűrűhöz *cisz*-helyzetben kondenzált oxazafoszfordinánok esetén a dioxafoszfordinánokhoz hasonló konformációk (**C**₁, **B**₁, **B**₂ és **C**₂) valószínűsíthetők (53. *ábra*, Z = N–R), bár nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy a P–O kötésnél hosszabb P–N kötés és a nitrogénen lévő szubsztituensek észlelhető torzulást okozhatnak a térszerkezetben.²³¹ A **B**₁ és **C**₂ konformációknál a heterogyűrű P–O kötése és a 17-H antiperiplanáris orientációban van, ezért a *J*(17-H,P) csatolási állandó 22 Hz-nél nagyobb kellene, hogy legyen (ld. 2.3. fejezet). Ezzel szemben a **B**₂ és **C**₁ konformereknél a P–O₁₇–C₁₇–H₁₇ diéderes szög ~ 90 °, ami kis *J*(17-H,P) csatolási állandóhoz vezet. Mivel az előállított vegyületek mindegyikében (166a, 167–172) az említett érték ≤ 1,5 Hz [22] és a 17-H protonnak az **a** epimereknél észlelt kémiai eltolódás csökkenése is jól magyarázható a P-Ph csoport térközeli helyzetével, ezért mindez a **B**₂ és **C**₁ térformák jelenlétére utal. A 4'-H₂ protonok *J*(4'-H_β,P) ~ 2,5 Hz és *J*(4'-H_α,P) ~ 20 Hz csatolási állandói ugyanakkor valamennyi vegyület esetén a **B**₂ torzult kád konformer oldatbeli dominanciáját jelzik, amelyet az **a** izomerek esetén még a P-Ph csoport kedvezőtlen axiális térhelyzete sem képes módosítani. Az NMR spektrumok alapján valószínűsített **B**₂ konformációt az *ab initio* számítások ebben az esetben is alátámasztották. Elmondható tehát, hogy a szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált 1',3',2'-dioxafoszfordinánokhoz hasonlóan az 1',3',2'-oxazafoszfordinánok térszerkezetét is elsősorban a kapcsolódó merev szteránváz határozza meg.

5.4.2. Ösztrán- [23] és androsztánváz 16-spiro-(1',3',2')-dioxafoszfordinánok [24] előállítása és konformáció vizsgálata

A következőkben a szteránvázhoz egy közös szénatomon keresztül kapcsolódó, azaz spirociklusos dioxafoszfordinánok előállítását és oldatbeli konformációs viselkedésének tanulmányozását terveztük. Az előző fejezetben tárgyalt kondenzált heterociklusokhoz képest ezekben az esetekben már a hattagú *O,P,O*-gyűrű nagyobb flexibilitására lehet számítani, bár a szteránváz és az azon lévő funkciós csoportok közelsége, valamint a *P*-szubsztituensek preferált helyzetre való törekvése befolyással lehet a térszerkezeti egyensúlyra.

Ösztránváz kiindulási anyagokként az ösztron-3-metil-éterből (**1**) előállítható 16,16-bisz(hidroximetil)ösztron-3-metil-étert (**173**)²⁹⁴ és annak sztereoszelektív redukcióval nyerhető 17β-hidroxi származékát (**174**) használtuk. A **173**-as 1,3-diol foszforilezési reakcióit fenilfoszfonsav-dikloriddal (**141**), foszforil-kloriddal (**142**), bisz(2-klóretil)-foszforsavamid-

dikloriddal (**143**) és fenil-diklórfoszfáttal (**144**), míg a **174**-es szteroid triol hasonló átalakításait **141**, **142** és **144** reagensekkel TEA jelenlétében, DCM-ban végeztük (**57. ábra**). A gyűrűzárások a legtöbb esetben két *P*-epimer változó arányú keverékéhez vezettek (**175a–181a** és **175b–181b**), amelyeket egymástól oszlopkromatográfiával választottunk szét. A termékek összhozamát és az egyes epimereknek a nyersanyagok ^1H -NMR spektruma alapján meghatározott arányát az **57. ábra** táblázatos része szemlélteti.



Szteroid	XP(O)Cl_2	X	Termék	Összhozam [%]	Epimer arány (a:b)
173	141	Ph	175	86	1:2
173	142	Cl	176	40	3:1
173	143	Mu*	177	13	1:2
173	144	PhO	178	91	2:3
174	141	Ph	179	55	2:3
174	142	Cl	180a	12	-
174	144	PhO	181	69	1:1

*Mu = $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$

57. ábra: Ösztránvázás 16-spiro-1',3',2'-dioxafoszforinán-2'-oxidok előállítása

Az NMR asszignáció megkönnyítése érdekében a foszforatomon fenil- és fenoxi-szubsztituált 17 β -OH vegyületek elválasztott izomerjeiből (**179a** és **179b**, valamint **181a** és **181b**) a megfelelő ecetsav-észtereket (**182a** és **182b**, valamint **183a** és **183b**) is előállítottuk egyszerű acetilezési reakcióval (**57. ábra**).

A *P*-heterogyűrű oldatbeli konformációs viselkedésére ebben az esetben is a vegyületek ^{31}P -, ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumai alapján nyertünk felvilágosítást. A **175–183** heterociklusok **a** és **b** epimerjeinek vonatkozásában minden esetben a $\delta^{31}\text{P}(\mathbf{a}) < \delta^{31}\text{P}(\mathbf{b})$ reláció érvényesült, ami arra utalt, hogy az X szubsztituens az **a** izomerekben axiális, míg a **b** izomerekben ekvatoriális térállású. Az X axiális, illetve ekvatoriális orientációja két-két székhely konformációban (C_1^{ax} és C_2^{ax} , illetve C_1^{eq} és C_2^{eq}) valósulhat meg, azonban ezeknél a térformáknál a *P*-konfiguráció páronként különböző (**58. ábra**). A valós térszerkezet eldöntéséhez ezért mind az **a**, mind a **b** sorozatbeli vegyületek közül kiválasztottunk egy-egy olyan képviselőt, melynél a *P*-szubsztituens preferenciáját is figyelembe véve valamelyik székhelyforma oldatbeli dominanciája valószínűsíthető (**183a** és **182b**). A vegyületekről készült NOESY spektrumok a 6-os helyzetű protonok és az α -térállású 17-H, illetve az ekvatoriális 4-H^b és a 18-as anguláris metilcsoport térközei állását támasztották alá, amely a fenoxi-szubsztituált vegyület (**183a**) esetében az C_1^{ax} , míg a *P*-Ph származéknál (**182b**) az C_1^{eq} székhely konformáció esetén valósulhat csak meg. Mindezek alapján az feltételezhető, hogy a konformációs egyensúly oldatban erőteljesen eltolódik a C_1 székhelyforma irányába mind az **a**, mind a **b** epimerok esetén.

Ezt követően a $^3J(\text{H},\text{P})$ csatolási állandók alapján azt vizsgáltuk, hogy a különböző *P*-szubsztituensek mennyire képesek az C_1 székhelyforma dominanciáját megváltoztatni azáltal, hogy kedvezményezett térhelyzetükre törekszenek. Az **58. ábra a** és **b** epimerekre vonatkozó táblázataiban feltüntetett csatolási állandó értékekből jól látható, hogy azon vegyületek heterogyűrűje, amelyeknél a $J(4'\text{-H}^{\text{a}},\text{P})$, illetve a $J(6'\text{-H}^{\text{a}},\text{P})$ érték kicsi ($< 3,2$ Hz), valamint a $J(4'\text{-H}^{\text{b}},\text{P})$, illetve a $J(6'\text{-H}^{\text{b}},\text{P})$ érték nagy ($> 22,2$ Hz), szinte kizárólag a C_1 székhely konformer formájában van jelen oldatban. Ez az **a** sorozatbeli vegyületeknél (**176a**, **178a**, **180a**, **181a** és **183a**) nem is meglepő, figyelembe véve a Cl és PhO szubsztituensek erős axiális preferenciáját. Az *N*-bisz(2-klóretil)-csoport (**177a**), illetve a Ph-csoport (**175a**, **179a** és **182a**) ekvatoriális helyzetre való törekvése azonban a **175a**, **177a**, **179a** és **182a** származékokban már képes az C_1^{ax} konformáció módosítására, így ezekben az esetekben a $\text{T}^{\text{ps.eq}}$ térforma konformációs egyensúlyhoz való kisebb-nagyobb mértékű hozzájárulásával kell számolni. Ezt a feltételezést a megnövekedett $J(4'\text{-H}^{\text{a}},\text{P})$ és csökkent $J(4'\text{-H}^{\text{b}},\text{P})$ értékek is alátámasztják,

hiszen ezen protonok orientációja a csavart kád konformációban ($T^{ps.eq}$) a székformához (C_1^{ax}) képest megváltozik. Érdekesség azonban, hogy a bisz(2-klóretil)amino-csoport (**177a**) ekvatoriális helyzetre való törekvése ebben az esetben kevésbé nyilvánul meg, mint a Ph-csoporté (**175a**, **179a**, **182a**). A **182a** vegyületről felvett NOESY spektrum alátámasztotta a 4'-H₂ protonok és a 18-as anguláris metilcsoport térközelségét és ezzel a $T^{ps.eq}$ konformer dominanciáját.

Vegy.	R	X	J (Hz)					Feltételezett konformáció
			4'-H ^a ,P	4'-H ^b ,P	6'-H ^a ,P	6'-H ^b ,P	J_w^{**}	
175a	O	Ph	17,6	5,9	5,7	17,7	2,2	$(C_1^{ax}) \rightleftharpoons T^{ps.eq}$
176a	O	Cl	2,8	28,3	0	28,2	3,2	C_1^{ax}
177a	O	Mu*	4,3	20,0	2,1	20,8	3,1	$C_1^{ax} \rightleftharpoons (T^{ps.eq})$
178a	O	PhO	0,8	23,2	0	23,5	3,0	C_1^{ax}
179a	βOH,H	Ph	17,0	7,2	6,1	16,6	1,8	$(C_1^{ax}) \rightleftharpoons T^{ps.eq}$
180a	βOH,H	Cl	3,2	28,4	0	28,2	3,1	C_1^{ax}
181a	βOH,H	PhO	2,0	23,2	0	22,8	2,8	C_1^{ax}
182a	βOAc,H	Ph	17,0	7,3	5,0	17,1	2,0	$(C_1^{ax}) \rightleftharpoons T^{ps.eq}$
183a	βOAc,H	PhO	2,8	22,2	0	23,5	2,8	C_1^{ax}

Vegy.	R	X	J (Hz)					Feltételezett konformáció
			4'-H ^a ,P	4'-H ^b ,P	6'-H ^a ,P	6'-H ^b ,P	J_w^{**}	
175b	O	Ph	2,4	20,4	0	20,8	2,6	C_1^{eq}
176b	O	Cl	13,2	11,3	9,3	15,6	0	$C_1^{eq} \rightleftharpoons T^{ps.ax} \rightleftharpoons C_2^{ax}$
177b	O	Mu*	0,8	22,6	0	22,6	3,1	C_1^{eq}
178b	O	OPh	4,7	19,4	4,7	19,4	2,3	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
179b	βOH,H	Ph	3,8	18,8	3,9	18,2	2,2	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
181b	βOH,H	OPh	13,0	10,6	9,5	14,3	1,0	$C_1^{eq} \rightleftharpoons T^{ps.ax} \rightleftharpoons C_2^{ax}$
182b	βOAc,H	Ph	3,3	18,7	4,4	19,2	2,3	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
183b	βOAc,H	OPh	14,8	8,8	8,8	15,4	1,3	$C_1^{eq} \rightleftharpoons T^{ps.ax} \rightleftharpoons C_2^{ax}$

*Mu = N(CH₂CH₂Cl)₂

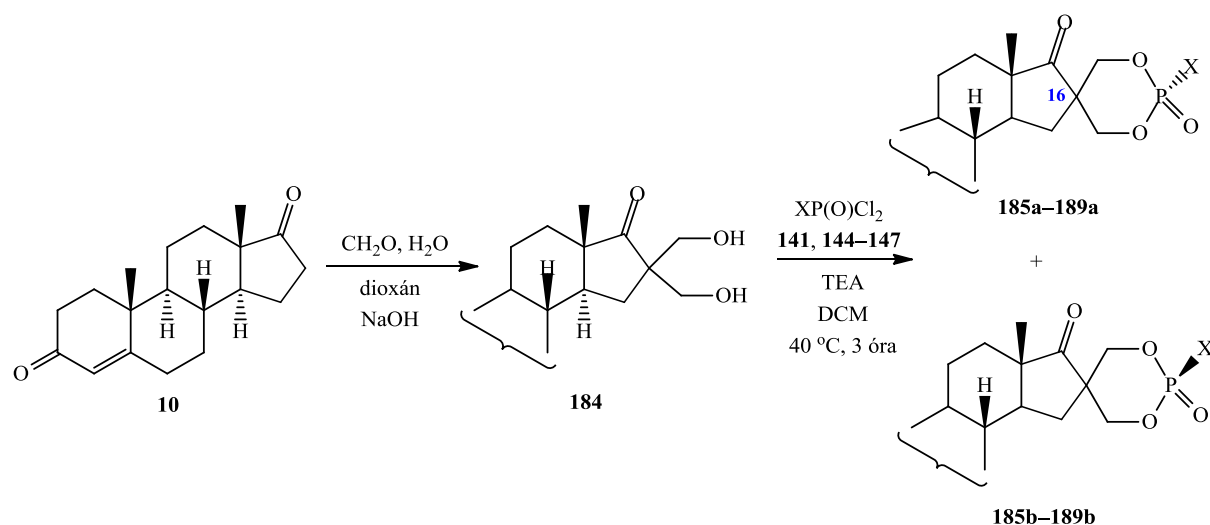
**C-4' és C-6' ekvatoriális protonjainak csatolása

58. ábra: A 16-spiro-(1',3',2')-dioxafoszfirinán-2'-oxidokra vonatkozó karakterisztikus $^3J(H,P)$ csatolási állandók és az ezek alapján feltételezhető konformációs viszonyok oldatban

A **b** epimerek hasonló konformáció vizsgálata alapján megállapítható, hogy a **175b** és **177b** vegyületek dioxafoszforinán gyűrűje kizárólag C_1^{eq} székformában van jelen oldatban, hiszen ekkor a Ph- és *bisz*(2-klóretil)amino-csoportok a számukra kedvező ekvatoriális helyzetet vehetik fel (**58. ábra**). A csatolási állandó értékek ugyanakkor azt mutatják, hogy a konformációs egyensúlyban a **178b**, **179b** és **182b** esetében is a C_1^{eq} szék konformer túlsúlya érvényesül. Ezzel szemben a **176b**, **181b** és **183b** vegyületekre vonatkozó $J(4'-H^a,P) > J(4'-H^b,P)$ értékek már a csavart kád konformer ($T^{ps,ax}$) nagyobb hozzájárulását mutatják, ami a *P*-szubsztituensek (Cl, PhO) axiális térállásra való törekvésével magyarázható. Ráadásul a megnövekedett $J(6'-H^a,P)$ és csökkent $J(6'-H^b,P)$ csatolási állandók a C_2^{ax} szék konformer minimális jelenlétére utalnak. További érdekes megfigyelés tehető a szteránváz 17-es helyzetében keto-, illetve hidroxil- vagy acetoxi-csoportot tartalmazó vegyületek csatolási állandóinak összehasonlítása alapján. Míg a **178b** vegyület heterogyűrűje még a PhO-csoport kedvezőtlen ekvatoriális elhelyezkedése ellenére is csaknem kizárólag C_1^{eq} szék formában van jelen, addig a **181b** és **183b** származékok esetén a gyűrű nagyobb konformációs flexibilitást mutat. Ez alapján pedig úgy tűnik, hogy a D-gyűrűnek nagyobb merevséget biztosító sp^2 hibridállapotú 17-es karbonilszén (**181b**-ben) valamelyest korlátozza a konformációs mobilitást és egyben túlkompenzálja a PhO-csoport axiális térhelyzetre való törekvését az sp^3 hibridállapotú C-17-et tartalmazó **181b** és **183b** vegyületekhez képest.

Az eddig ismertetett ösztránvázas 16-*spiro*-1',3',2'-dioxafoszforinánok szintéziséen túlmenően az androsztán sorban is hasonló kísérleteket végeztünk, amelyekhez kiindulási 1,3-diolként az androszt-4-én-3,17-dionból (**10**) nyert 16,16-*bisz*(hidroximetil)androszt-4-én-3,17-diont (**184**)²⁹⁴ használtuk (**59. ábra**). A vegyületet fenilfoszfonsav-dikloriddal (**141**), fenil-diklórfoszfáttal (**144**) és annak szubsztituált származékaival (**145–147**) reagáltattuk TEA jelenlétében. Az egyes foszforilezési reakciók során képződő **185–189** származékok változó arányú *P*-epimereit egymástól elválasztottuk, majd a vegyületek NMR adatai alapján meghatároztuk a *P*-konfigurációt, és tanulmányoztuk a *P*-heterogyűrű oldatfázisú konformációs viselkedését. Az eredmények teljes analógiát mutattak az előzőekben részletesen tárgyalt ösztránvázas vegyületekkel, így a vonatkozó közleményben [24] megtalálható csatolási állandók részletezése nélkül az **59. ábrán** csak az **a** és **b** epimerek ezen értékek alapján valószínűsített konformációit (vö. **58. ábra**) tüntettem fel. A **186a–189a** vegyületek esetén a $J(4'-H^a,P)$, illetve $J(6'-H^a,P) \leq 0,7$ Hz és $J(4'-H^b,P)$, illetve a $J(6'-H^b,P) \geq 23,3$ Hz csatolások a C_1^{ax} szék konformáció szinte kizárólagos jelenlétét támasztják alá, ami megfelel az elektronegatív ariloxi-csoportok axiális preferenciájának.

Ezzel szemben a **185a**-ban az ekvatoriális helyzetet kedvelő Ph-csoport a konformációs egyensúlyt a $T^{ps.eq}$ csavart kádforma irányába tolja el ($J(4'-H^a,P) \sim 18$ Hz és $J(4'-H^b,P) \sim 6$ Hz). A **b** sorozatbeli konfigurációs izomereknél a helyzet éppen fordított; míg a **185b** heterogyűrűje kizárólag a Ph-csoportját ekvatoriálisan tartalmazó C_1^{eq} székformaként létezik oldatban, addig az axiális állást előnyben részesítő ariloxi-csoportok (**186b–189b**) kisebb-nagyobb mértékben kibillentik a gyűrűt a szokásos szék konformációból és az egyensúlyi elegyben egyéb térszerkezeti formák ($T^{ps.ax}$ és C_2^{ax}) is megjelennek. Ez utóbbiak hozzájárulása annál nagyobb, minél nagyobb a foszforatomhoz kapcsolódó Ar-csoport elektronegativitása²⁹⁵ (**186b** < **188b** < **187b** < **189b**).



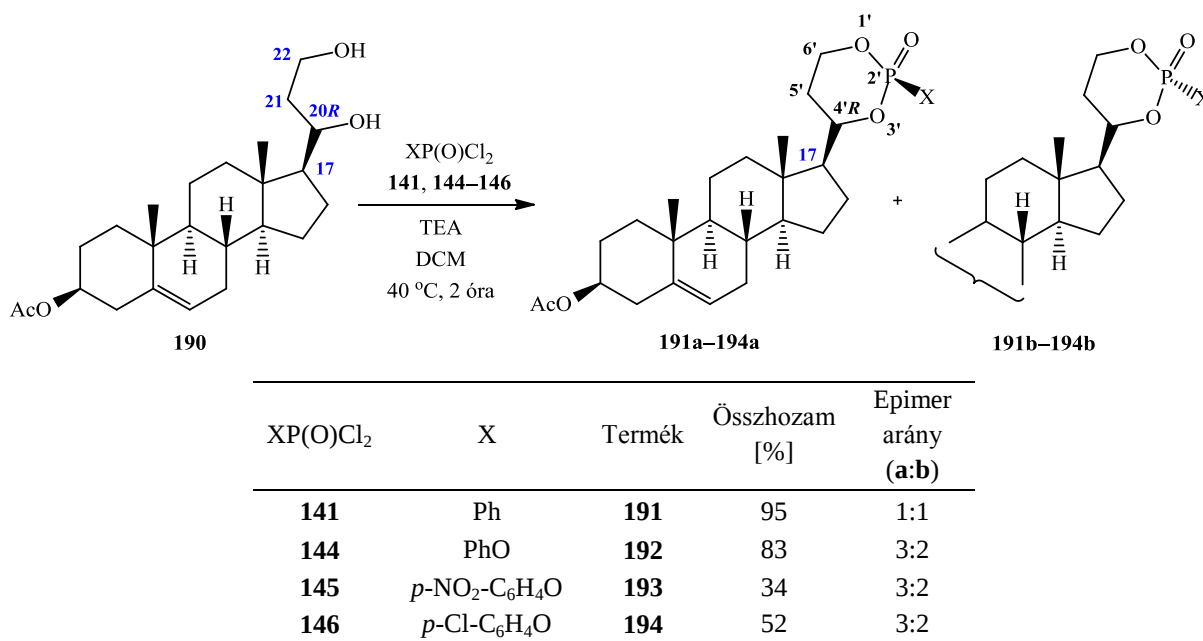
XP(O)Cl ₂	X	Termék	Összhozam [%]	Epimer arány (a:b)	Feltételezett konformáció	
					a epimer	b epimer
141	Ph	185	77	2:3	$(C_1^{ax}) \rightleftharpoons T^{ps.eq}$	C_1^{eq}
144	PhO	186	81	2:3	C_1^{ax}	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
145	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ O	187	72	4:5	C_1^{ax}	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
146	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄ O	188	74	4:5	C_1^{ax}	$C_1^{eq} \rightleftharpoons (T^{ps.ax})$
147	<i>o,p</i> -diCl-C ₆ H ₃ O	189	69	2:3	C_1^{ax}	$C_1^{eq} \rightleftharpoons T^{ps.ax} \rightleftharpoons C_2^{ax}$

59. ábra: Androsztánvázis 16-spiro-(1',3',2')-dioxafoszforinán-2'-oxidok előállítása és konformációs viselkedése

A szerkezetigazolás mellett az androsztánvázis dioxafoszforinánok (**185–189**) egyes epimerjeinek *in vitro* sejtsztódás gátlási vizsgálatára is sor került HeLa (méhnyak), MCF7 (emlő) és A431 (bőr) humán ráksejtvonalakon. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a vegyületek közül **186**, **188** és **189** közepes, a referencia ciszplatinnál gyengébb antiproliferatív aktivitást mutattak, de minden esetben az **a** epimerek jóval hatásosabbnak bizonyultak, mint a **b** sorozatbeli konfigurációs izomerjeik.

5.4.3. Androsztánvázaz 17 β -(1',3',2')-dioxafoszfordinánok [25] előállítása és konformáció vizsgálata

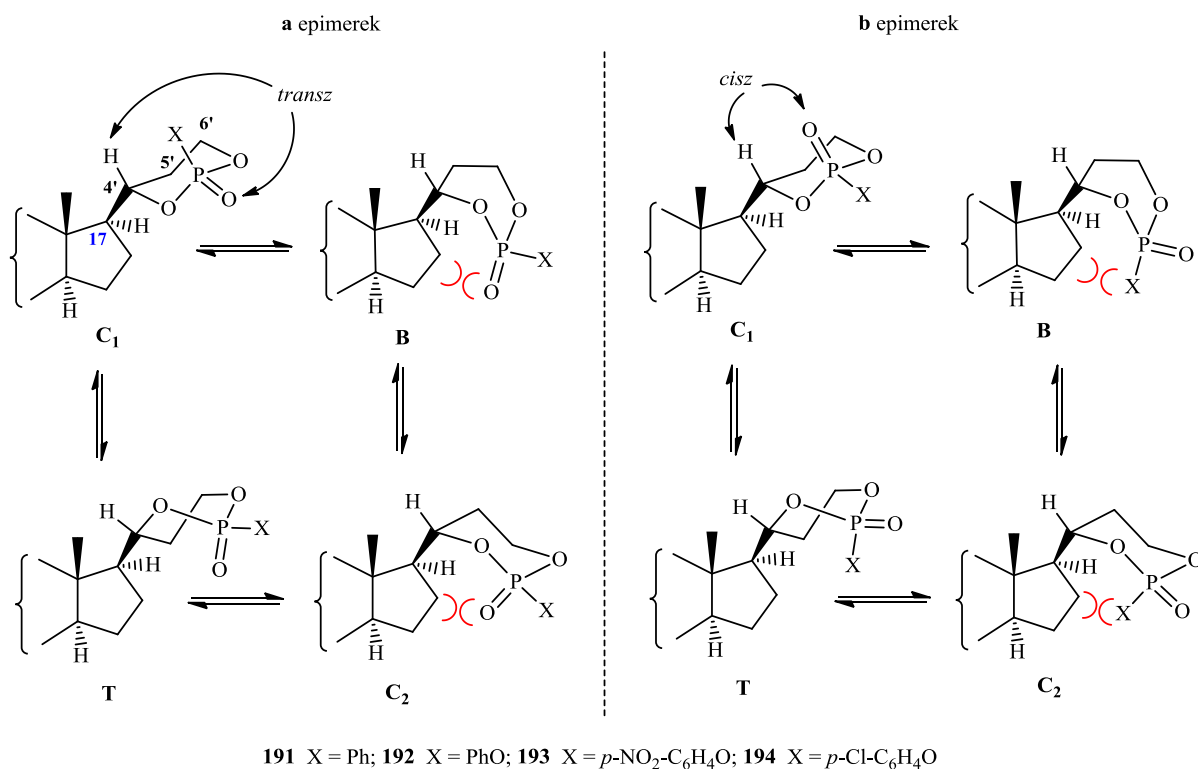
A szteránvázhoz kapcsolódó *P*-heterociklusok előállításához a pregnenolon-acetátból (**4**) többlépéses szintézissel nyert (20*R*)-3 β -acetoxi-21-hidroxi-21-metilpregn-5-én-20-olt (**190**)²⁹⁶ használtuk (60. ábra). A vegyület fenilfoszfonsav-dikloriddal (**141**), fenil-diklórfoszfáttal (**144**), *p*-nitrofenil-diklórfoszfáttal (**145**) és *p*-klórfenil-diklórfoszfáttal (**146**) végzett foszforilezési reakciója a megfelelő *P*-heterociklusok (**191–194**) oszlopkromatográfiával elválasztható **a** és **b** epimereinek keverékét eredményezte.



60. ábra: Androsztánvázaz 17 β -(1',3',2')-dioxafoszfordinán-2'-oxidok előállítása

Az összetartozó diasztereomerek $\delta^{31}\text{P}(\mathbf{a}) < \delta^{31}\text{P}(\mathbf{b})$ relációja arra utalt, hogy az **a** epimerekben a P=O kötés ekvatoriális, míg a **b** izomerekben axiális térállású. A feltételezést a karakterisztikus ¹H és ¹³C-NMR eltolódások összehasonlítása ($\delta(4'\text{-H})_{\mathbf{a}} < \delta(4'\text{-H})_{\mathbf{b}}$ és $\delta(\text{C-4}')_{\mathbf{a}} > \delta(\text{C-4}')_{\mathbf{b}}$) is alátámasztotta.

A szubsztituált monociklusos dioxafoszfordinánok oldatban tanúsított konformációs viselkedése^{226,297} alapján a **191–194** vegyületek **a** és **b** epimerének *P*-heterogyűrűjére négyféle (**C**₁, **B**, **T**, **C**₂) konformer dinamikus egyensúlya feltételezhető. A szokásos székformát (**C**₁ vagy **C**₂) és más téralkatok (**B**, **T**) megjelenését a foszforatomon lévő X szubsztituens kedvező térhelyezetre való törekvése módosíthatja (61. ábra).



Vegy.	különböző konformerek számított relatív energiája (kJ mol ⁻¹) (%-os megoszlása)				Vegy.	különböző konformerek számított relatív energiája (kJ mol ⁻¹) (%-os megoszlása)			
	C ₁	B	C ₂	T		C ₁	B	C ₂	T
191a	-	0,00 (69,87)	2,11 (30,13)	-	191b	0,00 (99,96)	-	-	19,22 (0,04)
192a	0,00 (99,04)	14,12 (0,34)	13,12 (0,51)	17,10 (0,10)	192b	0,00 (70,11)	6,71 (4,76)	2,58 (24,92)	14,45 (0,21)

61. ábra: Szteránvázhoz kapcsolódó 1,3,2-dioxafoszforinán-2-oxid epimerek lehetséges konformációi és az elméleti számításokkal valószínűsített %-os megoszlása

A kétféle székforma (C₁ és C₂) közül mindkét epimernél a C₁ konformer kialakulása kedvezőbbnek tűnik, mivel C₂ esetén még a C17–C4' szénatomok körüli rotáció lehetősége ellenére is az axiális *P*-szubsztituens és a kapcsolódó szteránváz között szterikus tasztítás léphet fel. A C₁ konformációt tekintve tehát az **a** epimerekben a P=O csoport és a 4'-H távolsági (*transz*), míg a **b** izomerekben térközeli (*cisz*) elhelyezkedésű. Az is elmondható ugyanakkor, hogy a C₁ térszerkezetben a Ph-csoportot tartalmazó vegyület **a** epimere (**191a**) esetén az aromás gyűrű a számára kevésbé preferált axiális pozícióba kerül, míg **192–194** származékok **b** epimereinél az ArO szubsztituens ekvatoriális térállása kedvezőtlen. Mindez a heterogyűrű C₁ konformációból való kimozdulását és egyéb térszerkezeti formák megjelenését eredményezheti.

Az oldatbeli dinamikus folyamatra ebben az esetben is a vicinális $^3J(\text{H,H})$ és $^3J(\text{H,P})$ csatolási állandók adhatnak felvilágosítást, és **191–194** vegyületeknél a 4'-H és 6'-H protonok csatolási képe lenne informatív ebből a szempontból. Ezen protonok csúcsa azonban az 5'-H₂ protonokkal és a foszforatómmal való csatolás miatt összetett, átfedő multiplétként jelentkezett, így a ^1H -NMR spektrumok alapján nem volt mód a konformációs viselkedés tanulmányozására. A heterogyűrű konformációs flexibilitását ráadásul tovább bonyolítja ezekben az esetekben a C17–C4' kötés körüli szabad rotáció.

A térszerkezeti viszonyok becslésére a B3LYP/631G(d) elméleti szintű számítások adtak lehetőséget, amelyet együttműködő partnerünk a **191** és **192** vegyületekre végzett el. Mivel korábbi kísérleteink során ez a módszer minden esetben jól alátámasztotta a ^1H -NMR spektrumok alapján feltételezett konformációs viszonyokat, valószínűsítettük, hogy itt is elfogadható eredményt szolgáltat. A **61. ábra** táblázatos része az egyes konformerek számított relatív energiáját és %-os megoszlását szemlélteti. Az eredmények összhangban vannak a *P*-szubsztituensek preferenciája alapján várható konformáció viszonyokkal. A **191a** izomerben a nagy térkitöltésű Ph-csoport ekvatoriális helyzetre való törekvése miatt a dioxafoszforinán gyűrű a **C**₁ székforma helyett **B** és **C**₂ téralkatú, ugyanakkor **191b** esetén a **C**₁ erős dominanciája érvényesül. A PhO-szubsztituált származék **a** epimerjének (**192a**) heterogyűrűje szinte kizárólag a PhO-csoportot axiális helyzetben tartalmazó **C**₁ székformában van jelen, és az egyéb térszerkezetek (**B**, **C**₂, **T**) hozzájárulása az egyensúlyi elegyhez csekély. A **192b** vegyület heterogyűrűje ugyanakkor szintén kimozdul a **C**₁ konformációból, bár még a PhO-csoport kedvezőtlen ekvatoriális helyzete ellenére is ezen konformer dominanciája érvényesül. Mindez viszont arra utal, hogy a Ph-csoport kedvező térhelyzetre való törekvése sokkal markánsabban érvényesül, mint a PhO-szubsztituensé. Ugyanez a tendencia a Ph-, illetve PhO-csoportot tartalmazó *spiro*-diheterofoszforinánok (**175a** és **178b**, **58. ábra**, valamint **185a** és **186b**, **59. ábra**) NMR-rel is igazolt konformáció viszonyai során is megfigyelhető volt. A **193** és **194** származékok **a** és **b** diasztereomerjeinek térszerkezete esetén a konformációs egyensúlyban a **192**-höz képest jelentős változás nem várható, legfeljebb az aromás gyűrűn lévő *p*-klór- és *p*-nitrocsoportok különböző elektonegativitása módosíthatja valamelyest a **C**₁-től eltérő egyéb térszerkezetek hozzájárulását, elsősorban a **b** epimerek esetén.

6. Összefoglalás

Munkánk során nemi hormon származékokból kiindulva alkalmas kémiai reakciók segítségével számos esetben farmakológiai szempontból is említésre méltó új, heterociklusos szteránváz vegyületeket állítottunk elő, amelyek a különböző heteroatomokat (N, O, P, S) tartalmazó öt- vagy hattagú gyűrűt a váz A- vagy D-gyűrűjének különböző helyzeteihez kondenzáltan, illetve ahhoz kapcsolódva hordozzák. Az optikailag aktív merev szteránváz jó néhány átalakítás során kedvezően befolyásolta a reakciók diasztereo- és régiószelektivitását, illetve egyes esetekben hatással volt a heterogyűrű konformációjára is.

- Az androsztánváz D-gyűrűjéhez 16,17-helyzetben kondenzált izoxazolidineket (**15**, **17**) egy alkenil-oldalláncot tartalmazó D-szekoaldehidből (**11**) kondenzációs reakcióval nyert oxim (**13**) intramolekuláris 1,3-DC-jával állítottuk elő. Összehasonlítva a **13**-as vegyület termikus és $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -katalizált gyűrűzárását megállapítottuk, hogy a katalitikus reakció enyhe reakciókörülmények között és sztereoszelektíven egyetlen termék (**15**) magas hozamú képződéséhez vezetett. A toluolban forralással kivitelezett 1,3-DC során ugyanakkor a szteránváz D-gyűrűjéhez kondenzált $16\beta,17\beta$ -cisz és $16\alpha,17\alpha$ -cisz izoxazolidin diasztereomerek (**15** és **17a**) keverékét kaptuk csökkent összhozammal. A **11**-es szteroid és N-szubsztituált hidroxilaminok (**12b–e**) termikus gyűrűzárásával további $16\alpha,17\alpha$ -cisz izoxazolidineket (**17b–e**) nyertünk.

- A **11**-es vegyületből képzett hidrazonok (**21a–o**) Lewis-sav katalizált, illetve egyes esetekben spontán intramolekuláris gyűrűzárásával androsztánváz D-gyűrűjéhez kondenzált pirazolidin (**24l**) és pirazolinok (**25a–k**, **25m**, **25n**, **28**) sztereoszelektív szintézisét valósítottuk meg. Összefüggést találtunk a fenilhidrazonok (**21a–n**) aromás gyűrűjén lévő szubsztituensek helyzete, illetve elektronikus hatása és a heterociklusos termékek hozama között. A megfigyelt szubsztituenshatás alapján a gyűrűzárásra többlépéses mechanizmust feltételeztünk, amelyet az elméleti számítások megerősítettek. A reakció alkalmazhatóságát egy, az alkenil oldalláncot és a formilcsoportot a **11**-es vegyülethez képest fordított pozícióban tartalmazó D-szekoaldehidből (**30**) képzett fenilhidrazonokra (**31**) is kiterjesztettük. Azt találtuk, hogy a fenilhidrazonok (**31**) stabilitását, az intramolekuláris 1,3-DC-ban való reakciókészségét és a keletkező D-gyűrűhöz kondenzált pirazolidinek (**33**) 2-pirazolinná (**34**), illetve pirazollá (**36**) történő oxidációra való hajlamát az aromás molekuláris szubsztituenseinek elektronküldő, illetve elektronvonzó jellege egyaránt befolyásolja. Megállapítottuk ugyanakkor, hogy a szteránváz 1,3-dipólus molekuláris részhez

való közelsége sztérikusan befolyásolja az egyébként sztereoszelektíven végbemenő gyűrűzárást. Az alkenil-azometin-iminek (22, 23, 32) intramolekuláris 1,3-DC-jával nyert 2-pirazolinok 3-OH analogonjai (26, 35) közül jó néhány vegyület kimagasló antiproliferatív hatást mutatott a vizsgált humán ráksejt vonalakon.

- Hatékony MW módszert dolgoztunk ki szteránvázak karbonilvegyületek (5, 6) és monoszubsztituált hidrazinok (20) reakciójára, amely további D-gyűrűhöz kondenzált 2-pirazolinok (39) előállítását tette lehetővé. Optimalizáltuk a reakciókörülményeket az alkalmazott hőmérséklet, illetve a sav adalék minőségének és mennyiségének vonatkozásában, valamint a hagyományos melegítéssel végrehajtott reakció alapján javaslatot tettünk a folyamat mechanizmusára. Megállapítottuk, hogy a folyamat sztérikus okokból kizárólag monoszubsztituált hidrazinszármazékok alkalmazása esetén sztereoszelektív. A termékek (39) szerkezeti hasonlóságot mutatnak a korábbi, intramolekuláris 1,3-DC-val és azt követő dezacetilezéssel előállított vegyületekkel (26, 35), de azoktól a heterogyűrű szteránvázhoz való kapcsolódási módjában, a szubsztituenseinek és a kettős kötésének a helyzetében különböznek. Ezen strukturális eltérések azonban az említett rokon vegyületekhez képest az *in vitro* sejtosztódás gátló hatás csökkenéséhez, illetve megszűnéséhez vezettek.

- Az androsztánvázhoz 15 β ,16 β -*cisz* és 1 α ,2 α -*cisz* helyzetben kondenzált izoxazolinok (43 és 44) szintézisét a váz D-, illetve A-gyűrűjében endociklusos kettős kötést hordozó α,β -telítetlen ketonok (41, 42) és *in situ* generált nitril-oxidok (V) intermolekuláris 1,3-DC-jával valósítottuk meg. A folyamatok nagyfokú régió- és diasztereoszelektivitását az alapváz szerkezete és szubsztituenseinek térhelyzete által okozott sztérikus hatással magyaráztuk. Összehasonlítva a 41 és 42 vegyületek reaktivitását megállapítottuk, hogy az öttagú D-gyűrűben lévő alkén dipolarofil (41) nagyobb reakciókészséggel rendelkezett, mint az A-gyűrűs változata (42), bár valamennyi termék (43 és 44) hozamát jelentősen befolyásolta a nitril-oxidok (V) szubsztituenseinek elektronikus jellege is. Rávilágítottunk a termékek lúgos metanolos körülmények között tanúsított érdekes viselkedésére, amely a D-gyűrűhöz kondenzált termékek (43) retro-*Dieckmann* típusú fragmentációját, illetve az A-gyűrűhöz kondenzált származékok (44) spontán oxidációját eredményezte.

- Az előző intermolekuláris 1,3-DC hatékonyságát vizsgáltuk exociklusos kettős kötésű molekularészt tartalmazó szteránvázak dipolarofil (50) és nitril-oxidok (V) reakcióiban is. Megfigyeltük, hogy ezekben az esetben a gyűrűzárások a kiindulási anyag (50) nagyobb reaktivitása folytán már enyhe körülmények között végbementek és régiószelektíven, de már

kisebbsztereoselektivitást mutatva 16-*spiro*-izoxazolin epimerek (**51** és **52**) képződéséhez vezettek. A termékek dezacetilezésével (**55**), majd redukciójával (**56**) növeltük az új típusú szteránvázas heterociklusok számát, amelyek közül két *p*-klórfenil-szubsztituált vegyület (**51b**, **55b**) jelentős antiproliferatív hatást mutatott az *in vitro* farmakológiai vizsgálatok alapján.

- Az androsztán- és ösztránváz különböző pozícióiban sztereoselektív szintézisekkel azidocsoportot alakítottunk ki és így 16 β -azidometil- (**61**, **62**), 16 α -azido- (**69**), 17 α -azido- (**79** és **80**), 15 β -azido (**85**, **86** és **90**) és 1 α -azidovegyületekhez (**94** és **95**) jutottunk, majd tanulmányoztuk ezek hármastartalmú dipolarofilekkel végbemenő réz(I)-katalizált intermolekuláris 1,3-DC-ját. A szteránváz 16-os helyzetéhez metilén-hídon keresztül kapcsolódó triazolok (**64**) és tetrazolok (**67**, **68**) előállítását a **61**, illetve **62** és terminális acetilének (**63**), valamint aktivált nitrilek (**66**) gyűrűzárásával végeztük. Figyelembe véve a kiindulási azid (**61**) polaritását, a CuAAC-kat egy kétfázisú (DCM/H₂O) oldószerkeverékben CuSO₄·5H₂O/Na-aszkorbát katalizátorrendszer alkalmazásával szobahőmérsékleten valósítottuk meg, amely régiószeliktíven és kiváló hozammal 16 β -triazolilmetil származékokat (**64**) eredményezett. Megállapítottuk ugyanakkor, hogy az EWG-szubsztituált nitrilek (**66**) dipolarofilként való alkalmazása Cu₂(OTf)₂·C₆H₆ komplex jelenlétében lényegesen hosszabb reakcióidő alatt és csak közepes hozammal vezet a megfelelő tetrazolilmetil analogonokhoz (**67**, **68**). Az ösztránváz 16-os helyzetéhez közvetlenül kapcsolódó triazolokat a **69** redukciójával előállított két diasztereomer azidoalkohol (**70** és **71**) és terminális alkinek (**63**) CuAAC-jával hajtottuk végre. A **70** és a **71** azonos körülmények között (CuSO₄·5H₂O/Na-aszkorbát, DCM/H₂O) végzett gyűrűzárása során megfigyeltük, hogy a két vegyület hasonló reakciókészséget mutatott, így a megfelelő termékek (**72** és **73**) a 17-es hidroxilcsoport térállásától függetlenül jó hozammal keletkeztek. A diasztereomer triazolilalkoholok (**72** és **73**) azonban eltérő farmakológiai hatással rendelkeztek, és csak a **72** néhány alkil-szubsztituált származéka bizonyult antiproliferatív hatásúnak a vizsgált ráksejtvonalakon. A 17 α -triazolok (**81** és **82**) ösztrán- és androsztánvázas 17 α -azidokból (**79** és **80**) kiinduló szintéziséhez az előzőtől eltérően a CuI/Ph₃P katalizátor/komplexáló ligandum rendszert és a DCM oldószert találtuk megfelelőnek. A szteránváz viszonylag ritka, 15-ös és 1-es helyzetű módosításai során a CuAAC körülményeinek további optimalizálása vált szükségessé. Az ösztránvázas 15 β -azidok (**85** és **86**) és fenilacetilén (**63a**) reakciója során kimutattuk, hogy a megfelelő termékek (**87** és **88**) hozama a CuI katalizátor, Ph₃P és DIPEA adalék hozzáadása esetén toluolban való forralással a legnagyobb, így ugyanilyen

körülményeket használtunk az androsztánvázis 15 β -triazolok (**91**), valamint az 1 α -triazolok (**96** és **99**) előállításánál is. Ez utóbbi vegyületeket a megfelelő szteránvázis 1,3-azidoalkoholok (**90**, illetve **94** és **95**) és acetilének (**63**) reakciójával nyertük. Megállapítottuk ugyanakkor, hogy az azidocsoporttal azonos térállású anguláris metil- (**85**, **86**, **90**) vagy hidroxilcsoport (**95**), illetve méginkább az acetilén komponens (**63**) reakciócentrumhoz közel eső nagy térkitöltésű aromás gyűrűje nagy valószínűséggel szterikus gátlást fejt ki a CuAAC átmeneti állapotára, mivel ezekben az esetekben a triazoloknak (**87**, **88**, **91**, **99**) a szokásoshoz képest csökkent hozamát tapasztaltuk. A réz(I)-katalizált cikloaddícióban keletkezett 15 β -triazolok (**87**, **88**) és az 1 α -triazolok (**91**) 17-es, illetve 3-as helyzetben ketocsoportot tartalmazó származékai (**92**, **98**) közül számos vegyület jelentős antiproliferatív hatást mutatott a vizsgált ráksejtvonalakon.

- A réz(I)-katalizált 1,3-DC-kat kiterjesztettük ösztránvázis alkin dipolarofil (**3**) nitril-oxidokkal (**V**) végbemenő reakciójára is. A gyűrűzárások a nitril-oxid (**V**) aromás gyűrűjén lévő szubsztituensének elektronikus karakterétől függően változó hozammal 17 α -izoxazolok (**101**) régiószelektív képződéséhez vezettek. Megállapítást nyert, hogy a mesztranol (**3**) dehidratációjával nyert alkinil származék (**103**) 1,3-DC-ja ugyanakkor nem kemoselektív, így a Δ^{16} -17-izoxazolok (**102**) szintézisének legalkalmasabb módja a heterogyűrű kiépítését követően végrehajtott vízelimináció.

- A rendelkezésre álló szerkezet-hatás összefüggések birtokában a cP450 enzimgátlás szempontjából várhatóan érdeklődésre számot tartó androsztánvázis 17-*exo*-heterociklusos vegyületeket állítottunk elő szteránvázis karbonilvegyületek kondenzációs vagy szubsztitúciós reakciót követő gyűrűzárásaival. A PDA-ból (**6**) hidrazinokkal, illetve szemikarbaziddal (**20**) képzett hidrazonok (**104**) *Vilsmeier-Haack* reagenssel történő reakciója 17-(4'-formil)-pirazolokat (**105**) szolgáltatott, amelyek lúgos közegű dezacetilezésével a megfelelő 3-OH analogonokat (**106**) kaptuk. A formilcsoport további átalakításaival (redukció, nitrilképzés) növeltük a farmakológiai vizsgálatra alkalmas vegyületek (**107**, **110**) számát. A termékek közül számos vegyület jelentős antiproliferatív hatást mutatott, ugyanakkor a kis méretű funkciós csoportot tartalmazó pirazolok néhány képviselője (**106t**, **107t** és **110t**) hatásos C_{17,20}-liáz inhibitornak bizonyult. Hatékony kétlépéses módszert dolgoztunk ki a 17-(1',2',4')-oxadiazolok (**121**, **122**) pregnenolon-acetátból (**4**) és PDA-ból (**6**) kiinduló szintézisére. Az amidoximokkal (**XVIII**) kapcsolószer (CDI) jelenlétében *O*-acil-amidoximokat (**119**, **120**) képeztünk, amelyek TBAF-dal végzett ciklokondenzációja enyhe reakciókörülmények alkalmazásával a kívánt termékekhez (**121**, **122**) vezetett. A vegyületek

3-OH analogonjait (**123**, **124**) dezacetilezéssel kaptuk. Az előállított *O*-acil-amidoximok és 1',2',4'-oxadiazolok közül néhány származék ráksejt osztódás gátló, míg egy heteroaromás vegyület (**124e**) C_{17,20}-liázgátló aktivitással rendelkezett. Az analóg 17-(1',3',4')-oxadiazolok (**129**, **130**, **134**) előállítását formilszteroidokból (**125**, **126**) acilhidrazinokkal (**XXI**) és szemikarbaziddal (**20v**) MW körülmények között képzett *N*-szubsztituált hidrazonok (**127**, **128**) oxidatív gyűrűzárásával, illetve szteroid karbonsavból (**116**) előállított diszubsztituált hidrazinok (**133**) ciklohidratációjával valósítottuk meg. A D-gyűrűben telített diacilhidrazinok (**138**) Lawesson-reagenssel történő gyűrűzárásával ugyanakkor 17 β -(1',3',4')-tiadiazolokhoz (**139**) jutottunk. A kétirányú farmakológiai vizsgálatok eredményei alapján egy 3-as helyzetben dezacetilezett amino-szubsztituált Δ^{16} -1',3',4'-oxadiazol (**135f**) kiemelkedően aktívnak bizonyult mind az antiproliferatív, mind az enzimgátló hatás szempontjából.

- Szteránvázas diolokból (**149**, **173**, **174**, **184**, **190**) és aminoalkoholokból (**160–165**) kiindulva különböző foszfortartalmú reagensek (**141–147**) segítségével a D-gyűrűhöz 16,17-helyzetben kondenzált (**152–154**, **167–172**), 16-*spiro*- (**175–181**, **185–189**) és 17-*exo*-diheterofoszforinánok (**191–194**) előállítását valósítottuk meg, majd a képződő **a** és **b** epimerek elválasztását és a *P*-konfiguráció meghatározását követően vizsgáltuk a heterogyűrű oldatbeli konformációs viselkedését. NMR-mérésekkel igazoltuk, hogy a merev szteránváz konformációs flexibilitást gátló hatása leginkább a kondenzált, míg legkevésbé a kapcsolódó gyűrűnél érvényesül. Az öttagú gyűrűhöz kondenzált diheterofoszforinánok (**152**, **154**, **167–172**) mindkét *P*-epimerje esetén kimutattuk egy olyan torzult kád konformer sztérikus okokból adódó kizárólagos jelenlétét oldatban, amelyet a *P*-szubsztituensek kedvező térállásra való törekvése sem képes módosítani. Az XRD vizsgálat igazolta, hogy a heterogyűrű szilárd állapotban is ezen konformerje formájában létképes. A *spiro*-dioxafoszforinánok (**175–183**, **185–189**) **a** és **b** epimerjeit tanulmányozva megállapítottuk, hogy a foszforatomon lévő csoportok az *O,P,O*-heterociklus konformációját ebben az esetben már a sztérikus, illetve az elektronikus tulajdonságaiknak megfelelően módosítják. A karakterisztikus ³*J*(H,P) csatolási állandó értékek arra utaltak, hogy a Ph-szubsztituens ekvatoriális orientációra való törekvése jóval kifejezettebb, mint a PhO-csoport axiális preferenciája, ugyanakkor a konformációs egyensúlyt a PhO-csoport aromás gyűrűjén lévő szubsztituensek és a szteránváz 17-es szénatomjának hibridállapota és ezáltal a D-gyűrű térszerkezete is képes valamelyest befolyásolni. A 17 β -*exo*-dioxafoszforinánokra (**191–194**) elvégzett *ab initio* számítások azt valószínűsítették, hogy az esetek többségében a konformációs egyensúlyhoz legnagyobb

mértékben az a székforma járul hozzá, amely a szteránvázhhoz képest térben távolabb tartalmazza a *P*-szubsztituenseket, de a csoportok preferenciájának megfelelően egyéb téralkatok is megjelennek oldatban. A Ph-csoport ekvatoriális térállásra való törekvése itt is markánsan megmutatkozott, miáltal képesnek látszik teljes egészében más konformerek irányába tolni a konformációs egyensúlyt.

7. Irodalomjegyzék

1. Falvello, L. R.; Foubelo, F.; Soler, T.; Yus, M. *Tetrahedron-Asymmetr.* **2000**, *11*, 2063–2066.
2. Guerriero, G. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2009**, *1163*, 154–168.
3. Anstead, G. M.; Carlson, K. E.; Katzenellenbogen, J. A. *Steroids* **1997**, *62*, 268–303.
4. Fragkaki, A. G.; Angelis, Y. S.; Koupparis, M.; Tsantili-Kakoulidou, A.; Kokotos, G.; Georgakopoulos, C. *Steroids* **2009**, *74*, 172–197.
5. Hillisch, A.; von Langen, J.; Menzenbach, B.; Driescher, P.; Kaufmann, G.; Schneider, B.; Elger, W. *Steroids* **2003**, *68*, 869–878.
6. Thakur, M. K.; Paramanik, V. *Horm. Res.* **2009**, *71*, 194–200.
7. Cepa, M. M. D. S.; Tavares da Silva, E. J. Correia-da-Silva, G.; Roleira, F. M. F.; Teixeira, N. A. A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6379–6385.
8. Singh, R.; Panda, G. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2853–2884.
9. Stulov, S. V.; Misharin, A. Yu. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2013**, *48*, 1431–1472.
10. Cui, H-W.; Peng, S.; Gu, X-Z.; Chen, H.; He, Y.; Gao, W.; Lv, F.; Wang, J-H.; Wang, Y.; Xie, J.; Liu, M-Y.; Yi, Z.; Qiu, W-W. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *111*, 126–137.
11. Mohareb, R. M.; Al-Omran, F.; Azzam, R. A. *Steroids* **2014**, *84*, 46–56.
12. Gavarkar, D.; Suresh Babu, A. R.; Raghuanathan, R.; Dharani, M.; Balasubramanian, S. *Steroids* **2016**, *109*, 1–6.
13. Yu, B.; Qi, P-P.; Shi, X-J.; Shan, L-H.; Yu, D-Q.; Liu, H-M. *Steroids* **2014**, *88*, 44–52.
14. Romero-López, A.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Merino-Montiel, P.; Vega-Baez, J. L. *Steroids* **2014**, *87*, 86–92.
15. Herington, A. C.; Chopin, L. K.; Jeffery, P.; de Amorim, L.; Veveris-Lowe, T.; Bui, L.; Clements, J. A. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol.* **2010**, *18*, 63–66.
16. Fu, X. D.; Russo, E.; Zullino, S.; Genazzani, A. R.; Simoncini, T. *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.* **2010**, *3*, 383–389.
17. Levesque, E.; Huang, S. P.; Audet-Walsh, E.; Lacombe, L.; Bao, B. Y.; Fradet, Y.; Laverdiere, I.; Rouleau, M.; Huang, C. Y.; Yu, C. C.; Caron, P.; Guillemette, C. *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 699–709.
18. Zhu, N.; Ling, Y.; Lei, X.; Handratta, V.; Brodie, A. M. H. *Steroids* **2003**, *68*, 603–611.

19. Ondré, D.; Wölfling, J.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Schneider, Gy. *Steroids* **2009**, *74*, 1025–1032.
20. Yadav, M. R.; Sabale, P. M.; Giridhar, R.; Zimmer, C.; Haupenthal, J.; Hartmann, R. W. *Steroids* **2011**, *76*, 464–470.
21. Jordan, V. C. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1995**, *35*, 195–211.
22. Gottesman, M. M.; Hrycyna, C. A.; Schoenlein, P. V.; Germann, U. A.; Pastan, I. *Annu. Rev. Genet.* **1995**, *29*, 607–649.
23. Bruno, R. D.; Njar, V. C. O. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5047–5060.
24. Clement, O. O.; Freeman, C. M.; Hartmann, R. W.; Handratta, V. D.; Vasaitis, T. S.; Brodie, A. M. H.; Njar, V. C. O. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2345–2351.
25. Hakki, T.; Bernhardt, R. *Pharmacol. Ther.* **2006**, *111*, 27–52.
26. Feraldeschi, R.; de Bono, J. *Cancer J.* **2013**, *19*, 34–42.
27. DeVore, N. M.; Scott, E. E. *Nature* **2012**, *482*, 116–120.
28. Salvador, J. A. R.; Pinto, R. M. A.; Silvestre, S. M. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *137*, 199–222.
29. Njar, V. C. O.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2077–2087.
30. Mueck, A. O.; Seeger, H.; *Steroids* **2010**, *75*, 625–631.
31. Roy, J.; Maltais, R.; Jegham, H.; Poirier, D. *Mol. Divers.* **2011**, *15*, 317–339.
32. Bossard, D.; Zhang, Y.; Haider, S. M.; Sgobba, M.; Khalid, M.; Legay, R.; Duterque-Coquillaud, M.; Galera, P.; Rault, S.; Dallemagne, P.; Moslemi, S.; El Kihel, L. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *82*, 620–629.
33. Bai, L.; Wang, S. *Annu. Rev. Med.* **2014**, *65*, 20.1–20.17.
34. Wölfling, J.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Tietze, L. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 200–201.
35. Wölfling, J.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Tietze, L. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 90–100.
36. Frank, É.; Schneider, Gy.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3544–3553.
37. Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 633–645.
38. Huisgen, R. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 1, Chapter 1, 1–7.
39. Firestone, R. A. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2285–2290.

40. Nguyen, M. T.; Chandra, A. K. Sakai, S.; Morokuma, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 65–69.
41. Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 863–909.
42. Hashimoto, T.; Maruoka, K. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 5366–5412.
43. Stanley, L. M.; Sibi, M. P. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2887–2902.
44. Roca-López, D.; Darù, A.; Tejero, T.; Merino, P. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 22161–22173.
45. Pellissier, H. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3235–3285.
46. Padwa, A. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 2, Chapter 12, 279–303.
47. Saito, S.; Ishikawa, T.; Moriwake, T. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4375–4377.
48. Kanemasa, S.; Ueno, N.; Shirahase, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 657–660.
49. Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5687–5691.
50. Di Valentin, C.; Freccero, M.; Gandolfi, R.; Rastelli A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6112–6120.
51. Pérez, P.; Domingo, L. R.; Aurell, M. J.; Contreras, R. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 3117–3125.
52. Tanaka, J.; Kanemasa, S. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 899–905.
53. Tufariello, J. J. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 2, Chapter 9, 83–168. (94. old.)
54. Hodges, A. J.; Adams, J. P.; Bond, A. D.; Holmes, A. B.; Press, N. J.; Roughley, S. D.; Ryan, J. H.; Saubern, S.; Smith, C. J.; Turnbull, M. D.; Newton, A. F. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8963–8974.
55. Basak, A.; Ghosh, S. C. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *43*, 7385–7388.
56. Xiang, Z. *Comput. Theor. Chem.* **2012**, *992*, 128–133.
57. Caramella, P.; Grünanger, P. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 1. Chapter 3, 291–392.
58. Belen’kii, L. I.; Zeninsky, N. D. *Nitrile oxides, Nitrones, and Nitronates in Organic Synthesis: Novel Strategies in Synthesis* (Feuer H), John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey **2008**, 1–8.
59. Jäger, V.; Colinas, P. A. *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products* (Padwa A, Pearson WH), John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey **2003**, Chapter 6, 361–472.

60. Cicchi, S.; Cordero, F. M.; Giomi, D. *Prog. Heterocycl. Chem.* **2012**, 24, 317–342.
61. Kumar, K. A.; Jayaroopa, P. *Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* **2013**, 3, 294–304.
62. Jäger, V.; Buss, V.; Schwab, W. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 3133–3136.
63. Jäger, V.; Grund, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976**, 15, 50–51.
64. Curran, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 4024–4026.
65. Nájera, C.; Sansano, J. M.; Yus, M. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 8596–8636.
66. Noguchi, M.; Matsumoto, S.; Shirai, M.; Yamamoto H. *Tetrahedron* **2003**, 59, 4123–4133.
67. Grashley, R. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol 2, Chapter 7, 741–743.
68. Sun, B.; Adachi, K.; Noguchi, M. *Tetrahedron* **1996**, 52, 901–914.
69. Volkov, S. V.; Kuttyakov, S. V.; Levov, A. N.; Polyakova, E. I.; An, L. T.; Soldatova, S. A.; Terentiev, P. B.; Soldatenkov, A. T. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2007**, 43, 1260–1268.
70. Shimizu, T.; Hayashi, Y.; Miki, M.; Teramura, K. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2277–2285.
71. Kobayashi, S.; Hirabayashi, R.; Shimizu, H.; Ishitani, H.; Yamashita, Y. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 3351–3354.
72. Safaei, S.; Mohammadpoor-Baltork, I.; Khosropour, A. R.; Moghadam, M.; Tangestaninejad, S.; Mirkhani, V. *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 354, 3095–3104.
73. Yamashita, Y.; Kobayashi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 11279–11282.
74. Zhu, S-L.; Wu, Y.; Liu, C-J.; Wei, C-Y.; Tao, J-C.; Liu, H-M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 65, 70–82.
75. Padwa, A.; Ku, H. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 3756–3766.
76. Padwa, A. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 2, Chapter 12, 304–316.
77. Kobayashi, S.; Shimizu, H.; Yamashita, Y.; Ishitani, H.; Kobayashi, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 13678–13679.
78. Jung, J. C.; Watkins, E. B.; Avery, M. A. *Heterocycles* **2005**, 65, 77–94.
79. Hoyte, R. M.; Labaree, D. C.; Fede, J-M.; Harris, C.; Hochberg, R. B. *Steroids* **1998**, 63, 595–602.

80. Ahn, J. H.; Kim, H.-M.; Jung, S. H.; Kang, S. K.; Kim, K. R.; Rhee, S. D.; Yang, S.-D.; Cheon, H. G.; Kim, S. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4461–4465.
81. Madaan, C.; Guchait, S. K. *Curr. Res. Informat. Pharmaceutical Sci.* **2008**, *9*, 11–15.
82. Wang, Q.; Chittaboina, S.; Barnhill, H. N. *Lett. Org. Chem.* **2005**, *2*, 293–301.
83. Chan, D. C. M.; Laughton, C. A.; Quenner, S. F.; Stevens, M. F. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *9*, 3001–3010.
84. Lermontov, S. A.; Shkavrov, S. V.; Pushin, A. N. *J. Fluor. Chem.* **2000**, *105*, 141–147.
85. Klaubert, D. H.; Sellstedt, J. H.; Guinosso, C. J.; Bell, S. C.; Capetola, R. J. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 748–752.
86. Himo, F.; Demko, Z. P.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12210–12216.
87. Demko, Z. P.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2113–2116.
88. Demko, Z. P.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2110–2113.
89. Lwowski, W. *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Padwa, A.), John Wiley & Sons, New York, **1984**, Vol. 1, Chapter 1, 641.
90. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.
91. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
92. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
93. Aucagne, V.; Berna, J.; Crowley, J. D.; Goldup, S. M.; Hänni, K. D.; Leigh, D. A.; Lusby, P. J.; Ronaldson, V. E.; Slawin, A. M.; Viterisi, A.; Walker, D. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11950–11963.
94. Meldal, M.; Tornøe, C. W. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952–3015.
95. Wu, P.; Fokin, V. V. *Aldrichim. Acta* **2007**, *40*, 7–17.
96. Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51–68.
97. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
98. Brik, A.; Wu, C. Y.; Wong, C. H. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1446–1457.
99. Groth, T.; Renil, M.; Meinjohanns, E. *Comb. Chem. High T. Scr.* **2003**, *6*, 589–610.
100. Genin, M. J.; Allwine, D. A.; Anderson, D. J.; Barbachyn, M. R.; Emmert, D. E. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 953–970.

101. Buckle, D. R.; Rockell, C. J.; Smith, H.; Spicer, B. A. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2262–2267.
102. Alvarez, R.; Velazquez, S.; San-Felix, A.; Aquaro, S.; De Clercq, E.; Perno, C. F. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185–4194.
103. Sanghvi, Y. S.; Bhattacharya, B. K.; Kini, G. D.; Matsumoto, S. S.; Larson, S. B.; Jolley, W. B.; Robins, R. J.; Revankar, G. R. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 336–344.
104. Rodionov, V. O.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2210–2215.
105. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210–216.
106. Dou, G.; Xu, P.; Li, Q.; Xi, Y.; Huang, Z.; Shi, D. *Molecules* **2013**, *18*, 13645–13653.
107. Dondoni, A.; Marra, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7546–7557.
108. Liang, C. H.; Yao, S.; Chiu, Y. H.; Leung, P. Y.; Robert, N.; Seddon, J.; Sears, P.; Hwang, C. K.; Ichikawa, Y.; Romero, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1307–1310.
109. O'Reilly, R. K.; Joralemon, M. J.; Hawker, C. J.; Wooley, K. L. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6776–6786.
110. Malkoch, M.; Thibault, R. J.; Drockenmuller, E.; Messerschmidt, M.; Voit, B.; Russell, T. P.; Hawker, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14942–14949.
111. Sreedhar, B.; Reddy, P. S. *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 805–812.
112. Siemsem, P.; Livingston, R. C.; Diederich, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2632–2657.
113. Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3192–3193.
114. Lewis, W. G.; Magallon, F. G.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9152–9153.
115. Altintas, O.; Yankul, B.; Hizal, G.; Tunca, U. *J. Polym. Sci.* **2006**, *44*, 6458–6465.
116. Meng, J.-C.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4543–4546.
117. Malow, M.; Wehrstedt, K. D.; Neuenfeld, S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1233–1235.
118. Sirion, U.; Kim, H. J.; Lee, J. H.; Seo, J. W.; Lee, B. S.; Lee, S. J.; Oh, S. J.; Chi, D. Y. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3953–3957.

119. Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V.; van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4233–4242.
120. Pachón, L. D.; van Maarseveen, J. H.; Rothenberg, G. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 811–815.
121. Díez-González, S. *Catal. Sci. Technol.* **2011**, *1*, 166–178.
122. Chassaing, S.; Kumarraja, M.; Sido, A. S-S.; Pale, P.; Sommer, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 883–886.
123. Bosch, L.; Vilarrasa, J. *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 4000–4004.
124. Biot, C.; Bauer, H.; Schirmer, R. H.; Davioud-Charvet, E. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5972–5983.
125. Matta, C. F.; Arabi, A. A.; Weaver, D. F. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1868–1872.
126. Angelo, N. G.; Arora, P. S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7963–7967.
127. Wilkinson, B. L.; Bornaghi, L. F.; Houston, T. A.; Innocenti, A.; Supuran, C. T.; Poulsen, S-A. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6539–6548.
128. Quader, S.; Boyd, S. E.; Jenkins, I. D.; Houston, T. A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1962–1979.
129. Lutz, J-F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018–1025.
130. Qin, A.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. *Macromolecules* **2010**, *43*, 8693–8702.
131. Gallardo, H.; Ely, F.; Bortoluzzi, A. J.; Conte, G. *Liq. Cryst.* **2005**, *32*, 667–671.
132. Astruc, D.; Liang, L.; Rapakousiou, A.; Ruiz, J. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 630–640.
133. Kushwaha, D.; Tiwari, V. K. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 8184–8190.
134. Drach, S. V.; Litvinovskaya, R. P.; Khripach, V. A. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2000**, *36*, 233–255.
135. Litvinovskaya, R. P.; Drach, S. V.; Lapchinskaya, Yu. I.; Khripach, V. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2001**, 46–51.
136. Baranovsky, A. V.; Bolibrukh, D. A.; Khripach, V. A.; Schneider, B. *ARKIVOC* **2008** (ix) 29–41.
137. Hu, J.; Lu, J. R.; Ju, Y. *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 2636, 26–47.
138. Kumar, A.; Pandey, P. S. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5842–5845.
139. Solum, E. J.; Vik, A.; Hansen, T. V. *Steroids* **2014**, *87*, 46–53.
140. Kumar, D.; Mishra, K. B.; Mishra, B. B.; Mondal, B. B.; Mondal, S.; Tiwari, V. K. *Steroids* **2014**, *80*, 71–79.

141. Kacprzak, K.; Skiera, I.; Piasecka, M.; Paryzek, Z. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 5689–5743.
142. Mernyák, E.; Huber, J.; Benedek, G.; Pfoh, R.; Rühl, S.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *ARKIVOC* **2010** (xi) 101–113.
143. Frank, É.; Wölfling, J.; Aukszi, B.; König, V.; Schneider, T. R.; Schneider, Gy. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6843–6849.
144. Sakač, M. N.; Gaković, A. R.; Csanádi, J. J.; Djurendić, E.; Klisurić, O.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Penov-Gaši, K. M. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4107–4109.
145. Penov-Gaši, K. M.; Oklješa, A. M.; Petri, E. T.; Ćelić, A. S.; Djurendić, E.; Klisurić, O.; Csanádi, J. J.; Batta, Gy.; Nikolić, A. R.; Jakimov, D. S.; Sakač, M. N. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 317–323.
146. Lévai, A. *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, *39*, 1–13.
147. Lévai, A.; Jekő, J. *ARKIVOC* **2009** (vi) 63–70.
148. Özdemir, A.; Turan-Zitouni, G.; Kaplancikli, Z. A. *Turk. J. Chem.* **2008**, *32*, 529–538.
149. Kenny, P. W.; Robinson, M. J. T. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6277–6280.
150. Kenny, P. W.; Robinson, M. J. T. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4043–4050.
151. Fang, J.; Jin, Z.; Li, Z.; Liu, W. *J. Organomet. Chem.* **2003**, *679*, 1–9.
152. Bergman, J.; Pelcman, B. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6389–6392.
153. Banday, A. H.; Mir, B. P.; Khazir, J.; Suri, K. A.; Kumar, H. M. S. *Steroids* **2010**, *75*, 805–809.
154. Iványi, Z.; Szabó, N.; Huber, J.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; Szécsi, M.; Wittman, T.; Schneider, Gy. *Steroids* **2012**, *77*, 566–574.
155. Choudhary, M. I.; Alam, M. S.; Rahman, A. u.; Yousuf, S.; Wu, Y. C.; Lin, A. S.; Shaheen, F. *Steroids*, **2011**, *76*, 1554–1559.
156. Zavarzin, I. V.; Kamernitsky, A. V.; Chertkova, V. V.; Chernoburova, E. I.; Yarovenko, V. N.; Krauskin, M. M.; Kachala, V. V. *ARKIVOC* **2008**, (iv), 62–70.
157. Abdulla, M. M.; Amr, A. E-G. E.; Al-Omar, M. A.; Hussain, A. A.; Amer, M. S. *Life Sci. J.* **2013**, *10*, 599–607.
158. Amr, A. E.; Abdel-Latif, N. A.; Abdalla, M. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 373–384.
159. Amr, A. E.; Abdel-Latif, N. A.; Abdalla, M. M. *Acta Pharm.* **2006**, *56*, 203–218.
160. Abdalla, M. M.; Al-Omar, M. A.; Bhat, M. A.; Amr, A. E.; Al-Mohizea, A. M. *Int. J. Biol. Macromol.* **2012**, *50*, 1127–1132.

161. Singh, S. P.; Kumar, D.; Batra, H.; Naithani, R.; Rozas, I.; Elguero, J. *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 1109–1120.
162. Dadiboyena, S.; Valente, E. J.; Hamme, A. T.; *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1341–1343.
163. Ivonin, S. P.; Kurpil, B. B.; Rusanov, E. B.; Grygorenko, O. O.; Volochnyuk, D. M. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2187–2189.
164. Kira, M. A.; Abdel-Rahman, M. O.; Gadalla, K. Z. *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 109–110.
165. Abu-Zaied, M. A.; El-Telbani, E. M.; Elgemeie, G. H.; Nawwar, G. A. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 229–235.
166. Chaitanya, M. V. S. R. K.; Dubey, P. K. *Heterocycl. Commun.* **2013**, *19*, 49–55.
167. Meesala, R.; Nagarajan, R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7557–7561.
168. Jadhav, S. Y.; Shirame, S. P.; Kulkarni, S. D.; Patil, S. B.; Pasale, S. K.; Bhosale, R. *B. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2575–2578.
169. Lebedev, V.; Lebedeva, A. B.; Sheludyakov, V. D.; Kovaleva, E. A.; Ustinova, O. L.; Kozhevnikov, I. B. *Russ. J. Gen. Chem.* **2005**, *75*, 412–416.
170. Rajput, A. P.; Girase, P. D. *Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* **2012**, *3*, 25–43.
171. Rajput, A. P.; Rajput, S. S. *Int. J. Pharmacy Pharm. Sci.* **2011**, *3*, 346–351.
172. Abdel-Wahab, B. F.; Khidre, R. E.; Farahat, A. A. *ARKIVOC* **2011**, (i), 196–245.
173. Amaresh, R. R.; Perumal, P. T. *Synthetic Commun.* **2000**, *30*, 2269–2274.
174. Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G. K. Sharma, A. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 735–753.
175. El-Moghazy, S. M.; Barsoum, F. F.; Abdel-Rahmann, H. M.; Marzouk, A. A. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21*, 1722–1733.
176. Rahimizadeh, M.; Pordel, M.; Bakavoli, M.; Rezaeian, S.; Sadeghian, A. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *26*, 317–321.
177. López-Viseras, M. E.; Fernández, B.; Hilfiker, S.; González, C. S.; González, J. L.; Calahorra, A. J.; Colacio, E.; Rodríguez-Diéguez, A. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *131*, 64–67.
178. Mert, S.; Yağlıoğlu, A. Ş.; Demirtas, I.; Kasmogulları, R. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 1278–1289.

179. Li, J.; Zhao, X.; Li, L.; Yuan, Z.; Tan, F.; Shi, B.; Zhang, J. *Steroids* **2016**, *107*, 45–54.
180. Siddiqui, A. U.; Rao, V. U. M.; Maimirani, M.; Siddiqui, A. H. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, *32*, 353–354.
181. Singh, C. B.; Singh, L. W. *Indian J. Chem. B*, **2006**, *45*, 959–966.
182. Iványi, Z.; Szabó, N.; Wölfling, J.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Schneider, Gy. *Steroids* **2012**, *77*, 1152–1159.
183. Iványi, Z.; Wölfling, J.; Görbe, T.; Szécsi, M.; Wittmann, T.; Schneider, Gy. *Steroids* **2010**, *75*, 450–456.
184. Ling, Y. Z.; Li, J. S.; Liu, Y.; Kato, K.; Klus, G. T.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3297–3304.
185. Nnane, I. P.; Kato, K.; Liu, Y.; Lu, Q.; Wang, X.; Ling, Y. Z.; Brodie, A. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3826–3832.
186. Long, B. J.; Grigoryev, D. N.; Nnane, I. P.; Liu, Y.; Ling, Y. Z.; Brodie, A. M. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 6630–6640.
187. de Oliveira, C. S.; Lira, B. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Lorenzo, J. G. F.; de Athayde-Filho, P. F. *Molecules* **2012**, *17*, 10192–10231.
188. Jain, A. K.; Sharma, S.; Vaidya, A.; Ravichandran, V.; Agrawal, R. K. *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 557–576.
189. Nguyen, M. T.; Hegarty, A. F.; Elguero, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1985**, *24*, 713–715.
190. Nishiwaki, N.; Kobiro, K.; Hirao, S.; Sawayama, J.; Saigo, K.; Ise, Y.; Okajima, Y.; Ariga, M. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 6750–6754.
191. Tamura, M.; Ise, Y.; Okajima, Y.; Nishiwaki, N.; Ariga, M. *Synthesis* **2006**, 3453–3461.
192. Lukyanov, S. M.; Bliznets, I. V.; Shorshnev, S. V. *ARKIVOC* **2009**, (iv), 21–45.
193. Srivastava, R. M.; Pereira, M. C.; Faustino, W. W. M.; Coutinho, K.; dos Anjos, J. V.; de Melo, S. J. *Monatsh. Chem.* **2009**, *140*, 1319–1324.
194. Mishnev, A. F.; Bundule, M. F.; Bleidelis, Ya. Ya.; Andrianov, V. G.; Ereemeev, A. V. *J. Struct. Chem.* **1984**, *25*, 769–772.
195. Simanenko, Yu. S.; Prokop'eva, T. M.; Belousova, I. A.; Popov, A. F.; Karpichev, E. A. *Theor. Exp. Chem.* **2001**, *37*, 288–295.
196. Gangloff, A. R.; Litvak, J.; Shelton, E. J.; Sperandio, D.; Wang, V. R.; Rice, K. D. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1441–1443.

197. Kayukova, L. A. *Pharm. Chem. J.* **2005**, 39, 539–547.
198. Katritzky, A. R.; Shestopalov, A. A.; Suzuki, K. *ARKIVOC* **2005**, (vii), 36–55.
199. Khatik, G. L.; Kaur, J.; Kumar, V.; Tikoo, K.; Nair, V. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 1912–1916.
200. Ferrara, G.; Ius, A.; Parini, C.; Sportoletti, G.; Vecchio, G. *Tetrahedron* **1972**, 28, 2461–2467.
201. Dabiri, M.; Salehi, P.; Baghbanzadeh, M.; Bahramnejad, M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 6983–6986.
202. Jedlovská, E.; Lesko, J. *Synth. Commun.* **1994**, 24, 1879–1885.
203. Dobrotă, C.; Paraschivescu, C. C.; Dumitru, I.; Matache, M.; Baci, I.; Ruță, L. L. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 1886–1888.
204. Rostamizadeh, S.; Ghasem Housaini, S. A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 34, 8753–8756.
205. Kudelko, A.; Jasiak, K. *Synthesis* **2013**, 45, 1950–1954.
206. Padmavathi, V.; Reddy, G. S.; Mohan, A. V. N.; Mahesh, K. *ARKIVOC* **2008** (xvii) 48–60.
207. Aitken, K. M.; Aitken, R. A. *ARKIVOC* **2012** (v) 75–79.
208. Kumar, D.; Kumar, N. M.; Chang, K-H.; Shah, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 4664–4668.
209. Nagendra, G.; Lamani, R. S.; Narendra, N.; Sureshbabu, V. V. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 6338–6341.
210. Li, A-F.; He, H.; Ruan, Y-B.; Wen, Z-C.; Zhao, J-S.; Jiang, Q-J.; Jiang, Y-B. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 193–200.
211. Tamasi, G.; Chiasserini, L.; Savini, L.; Segal, A.; Cini, R. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99, 1347–1359.
212. Rollas, S.; Küçükgül, G. *Molecules* **2007**, 12, 1910–1939.
213. Zhang, B.; Zhao, Y. F.; Zhai, X.; Fan, W. J.; Ren, J. L.; Wu, C. F.; Gong, P. *Chinese Chem. Lett.* **2012**, 23, 915–918.
214. Sun, N-B.; Shi, Y-X.; Liu, X-H.; Ma, Y.; Tan, C-X.; Weng, J-Q.; Jin, J-Z.; Li, B-J. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 21741–21756.
215. Boström, J.; Hogner, A.; Llinàs, A.; Wellner, E.; Plowright, A. T. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 1817–1830.
216. Li, Y.; Geng, J.; Liu, Y.; Yu, S.; Zhao, G. *ChemMedChem* **2013**, 8, 27–41.

217. Szarka, Zs.; Skoda-Földes, R.; Horváth, J.; Tuba, Z.; Kollár, L. *Steroids* **2002**, 67, 581–586.
218. Bentrude, W. G. *Phosphorus-31 NMR Spectral Properties in Compound Characterization and Structural Analysis (Methods in Stereochemical Analysis)* (Quin, L. D.; Verkade, J. G.), VCH, New York, **1994**, Chapter 4, 41–68.
219. Quintero, L.; Höpfl, H.; Sosa-Rivadeneira, M.; Ortiz, A.; Meza-León, R. L.; Cruz-Gregorio, S.; Sartillo-Piscil, F. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 4727–4732.
220. Bentrude, W. G.; Setzer, W. N. *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy in Stereochemical Analysis (Methods in Stereochemical Analysis)* (Verkade, J. G.; Quin, L. D.), VCH, Deerfield Beach, **1987**, Chapter 11, 365–389.
221. Hermans, R. J. M.; Buck, H. M. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 5150–5157.
222. Zhou, J.; Chen, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 2917–2922.
223. Wardle, N. J.; Bligh, S. W. A.; Hudson, H. R. *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 1803–1828.
224. Kinas, R.; Stec, W. J.; Krüger, C. *Phosphorus Sulfur* **1978**, 4, 295–298.
225. Polozov, A. M.; Litvinov, I. A.; Kataeva, O. N.; Stolov, A. A.; Yarkova, E. G.; Khotinen, A. V.; Klimovitskii, E. N. *J. Mol. Struct.* **1995**, 356, 125–130.
226. Day, R. O.; Bentrude, W. G.; Yee, K. C.; Setzer, W. N.; Deiters, J. A.; Holmes, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 103–106.
227. Zalán Z.; Martinek, T. A.; Lázár, L.; Fülöp, F. *Tetrahedron* **2003**, 59, 9117–9125.
228. Fülöp, F.; Forró E.; Martinek, T.; Günther, G.; Sillanpää, R. *J. Mol. Struct.* **2000**, 554, 119–125.
229. Martinek, T.; Forró E.; Günther, G.; Sillanpää, R.; Fülöp, F. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 316–321.
230. Bentrude, W. G.; Day, R. O.; Holmes, J. M.; Quin Szakál, G.; Setzer, W. N.; Sopchik, A. E.; Holmes, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 106–111.
231. Holmes, R. R.; Day, R. O.; Setzer, W. N.; Sopchik, A. E.; Bentrude, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 2353–2358.
232. Bajwa G. S.; Chandrasekaran, S.; Hargis, J. H.; Sopchik, A. E.; Blatter, D.; Bentrude, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6385–6392.
233. Setzer, W. N.; Sopchik, A. E.; Bentrude, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 2083–2091.
234. McKay, A. F.; Braun, R. O.; Vavasour, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 5540–5541.

235. Gorenstein, D. G. *Phosphorus-31 NMR: Principles and Applications* (Gorenstein, D. G.), Academic Press, New York, **1984**, 1–53.
236. Gorenstein, D. G. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1984**, *16*, 1–98.
237. Bentrude, W. G.; Tan, H-W.; Yee, K. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 573–582.
238. Gorenstein, D. G.; Rowell, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4925–4928.
239. Tähtinen, P.; Bagno, A.; Koch, A.; Pihlaja, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 4921–4930.
240. Kivelä, H.; Zalán, Z.; Tähtinen, P.; Sillanpää, R.; Fülöp, F.; Pihlaja, K. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1189–1200.
241. Šlepokura, K.; Lis, T. *Acta Cryst. C*, **2004**, *C60*, o315–317.
242. Skoda-Földes, R.; Kollár, L.; Horváth, J.; Tuba, Z. *Steroids*, **1995**, *60*, 791–795.
243. Steinmeyer, A.; Schwarz, K.; Haberey, M.; Langer, G.; Wiesinger, H. *Steroids*, **2001**, *66*, 257–266.
244. Babu, P.; Maitra, U. *Steroids* **2005**, *70*, 681–689.
245. Krstić, N. M.; Pavlović, V. D.; Novakivić, I. T.; Matić, I. Z.; Sladić, D. M. *Mol. Divers.* **2013**, *17*, 547–561.
246. Krstić, N. M.; Bjelaković, M. S.; Pavlović, V. D.; Robeyns, K.; Juranić, Z. D.; Matić, I.; Novakivić, I.; Sladić, D. M. *Steroids* **2012**, *77*, 558–565.
247. Wölfling, J.; Magyar, A.; Schneider, Gy. *Monatsh. Chem.* **2003**, *134*, 1387–1393.
248. Grigg, R.; Heaney, F.; Markandu, J.; Surendrakumar, S.; Thornton-Pett, M.; Warnock, W. J. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4007–4030.
249. Padwa, A.; Bur, S. K. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5341–5378.
250. Grigg, R. *Chem. Soc. Rev.* **1987**, *16*, 89–121.
251. Zamfir, A.; Schenker, S.; Bauer, W.; Clark, T.; Tsogoeva, S. B. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3706–3709.
252. Minorics, R.; Szekeres, T.; Krupitza, G.; Saiko, P.; Giessrigl, B.; Wölfling, J.; Frank, É.; Zupkó, I. *Steroids* **2011**, *76*, 156–162.
253. Zupkó, I.; Molnár, J.; Réthy, B.; Minorics, R.; Frank, É.; Wölfling, J.; Molnár, J.; Ocsovszki, I.; Topcu, Z.; Bitó, T.; Puskás, L. G. *Molecules* **2014**, *19*, 2061–2076.
254. Schneider, Gy.; Vincze, I.; Hackler, L.; Szabó, J. A.; Dombi, Gy. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1982**, *110*, 429–440.
255. Zavarzin, I.V.; Chertkova, V. V.; Levina, I. S.; Chernoburova, E. I. *Russ. Chem. Rev.* **2011**, *80*, 661–682.

256. Matsui, M.; Kinuyama, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1976**, 1, 1429–1432.
257. Zhang, H.; Qiu, Z. *Steroids* **2006**, 71, 1088–1090.
258. Li C.; Qiu, W.; Yang, Z.; Luo, J.; Yang, F.; Liu, M.; Xie, J.; Tang, J. *Steroids* **2010**, 75, 859–869.
259. Sano, S.; Shimizu, H.; Nagao, Y. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2883–2886.
260. Jones, A. B. *Comprehensive Organic Synthesis Vol. 7* (Trost, B. M.), Pergamon Press, Oxford, **1991**, 159–160.
261. Lee, K. R.; Kozokue, N.; Han, J. S.; Park, J. H.; Chang, E. Y.; Baek, E. J. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 2832–2839.
262. Lavie, Y.; Harel-Orbital, T.; Gaffield, W.; Liscovitch, M. *Anticancer Res.* **2001**, 21, 1189–1194.
263. Kanchithalaivan, S.; Kumar, R. R. Perumal, S. *Steroids* **2013**, 78, 409–417.
264. Munari, C. C.; de Oliveira, P. F.; Campos, J. C.; Martins, S. D.; Da Costa, J. C.; Bastos, J. K.; Tavares, D. C. *J. Nat. Med.* **2014**, 68, 236–241.
265. Tietze, L. F.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Fetcher, A.; Nöbel, T.; Petersen, S.; Schubert, I.; Wulf, C. *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 3755–3760.
266. Rahbæk, L.; Christophersen, C. *Alkaloids Chem. Biol.* **2001**, 57, 185–262.
267. Camoutsis, Ch.; Nikolaropoulos, S. *J. Heterocycl. Chem.* **1998**, 35, 731–759.
268. Bakos, T.; Vincze, I. *Synth. Commun.* **1992**, 22, 1377–1383.
269. Wölfling, J.; Szájli, Á.; Vörös, L.; Gáspár, M.; Schneider, Gy. *Monatsh. Chem.* **2006**, 137, 1099–1107.
270. Schneider, Gy.; Vincze, I.; Vass, A. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1979**, 99, 51–67.
271. Lee, B. Y.; Park, S. R.; Jeon, H. B.; Kim, K. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5105–5109.
272. Schönecker, B.; Lange, C.; Kötteritzsch, M.; Günther, W.; Weston, J.; Ernst, A.; Görls, H. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5487–5497.
273. Gonda, Z.; Novák, Z. *Dalton Trans.* **2010**, 39, 726–729.
274. Černý, I.; Pouzar, V.; Lapcik, O.; Hampl, R. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1997**, 62, 1931–1939.
275. Malkov, A. V.; Pernazza, D.; Bell, M.; Bella, M.; Massa, A.; Teply', F.; Meghani, P.; Kočovský, P. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4727–4742.
276. Barthakur, M. G.; Borthakur, M.; Boruah, R. C. *Steroids* **2008**, 73, 1137–1142.

277. Lu, Y.; Chen, J.; Janjetovic, Z.; Michaels, P.; Tang, E. K. Y.; Wang, J.; Tuckey, R. C.; Slominski, A. T.; Li, W.; Miller, D. D. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3573–3577.
278. Kumar, D.; Patel, G.; Johnson, E. O.; Shah, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2739–2741.
279. Pal, S.; Pal, S. C. *Acta Chim. Slov.* **2011**, *58*, 596–599.
280. Kumar, D.; Patel, G.; Chavers, A. K.; Chang, K-H.; Shah, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3085–3092.
281. Das, B. C.; Tang, X-Y.; Sanyal, S.; Mohapatra, S.; Rogler, P.; Nayak, S.; Evans, T. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2433–2435.
282. Rajapakse, H. A.; Zhu, H.; Young, M. B.; Mott, B. T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4827–4830.
283. Peng, Y.; Song, G. *Green Chem.* **2001**, *3*, 302–304.
284. Njar, V. C. O.; Klus, G. T.; Johnson, H. H.; Brodie, A. M. H. *Steroids* **1997**, *62*, 468–473.
285. Gu, W.; Wu, R.; Qi, S.; Gu, C.; Si, F.; Chen, Z. *Molecules* **2012**, *17*, 4634–4650.
286. Chen, D. W.; Chen, Z. C. *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 1617–1626.
287. Kotali, A.; Kotali, E.; Lafazanis, I. S.; Harris, P. A. *Advances in Organic Synthesis* (Rahman, A.) Bentham Science Publishers, Cambridge, **2013**, Vol. 4, Chapter 5, 267–306.
288. Ling, Y.; Li, J.; Kato, K.; Liu, Y.; Wang, X.; Klus, G. T.; Marat, K.; Nnane, I. P.; Brodie, A. M. H. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1683–1693.
289. Schneider, Gy.; Vass, A.; Vincze, I.; Sohár, P. *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 267–273.
290. Hajnal, A.; Wölfling, J.; Schneider, G. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1998**, *63*, 1613–1622.
291. Schneider, Gy.; Vincze, I.; Hackler, L.; Dombi, Gy. *Synthesis* **1983**, 665–669.
292. Hermans, R. J. M.; Buck, H. M. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2077–2084.
293. Fülöp, F.; Pihlaja, K.; Neuvonen, K.; Bernáth, G.; Argay, Gy.; Kálmán, A. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1967–1969.
294. Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Hackler, L.; Meskó, E.; Dombi, Gy. *Synthesis* **1985**, 194–197.
295. Gallagher, M. J. *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy in Stereochemical Analysis* (Verkade, J. G.; Quin, L. D.), VCH, Deerfield Beach, **1987**, Chapter 9.

296. Wölfling, J.; Hackler, L.; Mernyák, E.; Schneider, Gy.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Sohár, P.; Csámpai, A. *Steroids* **2004**, 69, 451–460.
297. Sartillo-Piscil, F.; Sánchez, M.; Cruz-Gregorio, S.; Quintero, L. *Tetrahedron* **2004**, 60, 3001–3008.

8. Az értekezés alapját képező közlemények jegyzéke

- [1] [Frank, É.](#); Schneider, Gy. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *137*, 301–315.
- [2] [Frank, É.](#); Mucsi, Z.; Szécsi, M.; Zupkó, I.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 2671–2681.
- [3] [Frank, É.](#); Kardos, Zs.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *Synlett* **2007**, 1311–1313.
- [4] [Frank, É.](#); Mucsi, Z.; Zupkó, I.; Réthy, B.; Falkay, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3894–3904.
- [5] Mótyán, G.; Zupkó, I.; Minorics, R.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; [Frank, É.](#) *Mol. Divers.* **2015**, *19*, 511–527.
- [6] Mótyán, G.; Kovács, F.; Wölfling, J.; Gyovai, A.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Steroids* **2016**, *112*, 36–46.
- [7] Mótyán, G.; Kádár, Z.; Kovács, D.; Wölfling, J.; [Frank, É.](#) *Steroids* **2014**, *87*, 76–85.
- [8] [Frank, É.](#); Kovács, D.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Bartók, T.; Zupkó, I. *Mol. Divers.* **2014**, *18*, 521–534.
- [9] Kádár, Z.; Kovács, D.; [Frank, É.](#); Schneider, Gy.; Huber, J.; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J. *Molecules* **2011**, *16*, 4786–4806.
- [10] Molnár, J.; [Frank, É.](#); Minorics, R.; Kádár, Z.; Ocsovszki, I.; Schönecker, B.; Wölfling, J.; Zupkó, I. *PLOS ONE*, **2015**, *10*, e0118104.
- [11] [Frank, É.](#); Molnár, J.; Zupkó, I.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Steroids* **2011**, *76*, 1141–1148.
- [12] Kádár, Z.; Molnár, J.; Schneider, Gy.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 1396–1402.
- [13] Kádár, Z.; Baji, Á.; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J.; [Frank, É.](#) *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 8051–8057.
- [14] Kovács, D.; Kádár, Z.; Mótyán, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Steroids* **2012**, *77*, 1075–1085.
- [15] Kovács, D.; Wölfling, J.; Szabó, N.; Szécsi, M.; Schelz, Zs.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *120*, 284–295.
- [16] Kovács, D.; Wölfling, J.; Szabó, N.; Szécsi, M.; Kovács, I.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *70*, 649–660.
- [17] Kovács, D.; Mótyán, G.; Wölfling, J.; Kovács, I.; Zupkó, I.; [Frank, É.](#) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1265–1268.

- [18] Kovács, D.; Wölfling, J.; Szabó, N.; Szécsi, M.; Minorics, R.; Zupkó, I.; **Frank, É.** *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *98*, 13–29.
- [19] **Frank, É.**; Wölfling, J. *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11*, 1610–1623.
- [20] **Frank, É.**; Kazi, B.; Ludányi, K.; Keglevich, Gy. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1105–1108.
- [21] **Frank, É.**; Körtvélyesi, T.; Czugler, M.; Mucsi, Z.; Keglevich, Gy. *Steroids* **2007**, *72*, 437–445.
- [22] **Frank, É.**; Kazi, B.; Mucsi, Z.; Ludányi, K.; Keglevich, Gy. *Steroids* **2007**, *72*, 446–458.
- [23] **Frank, É.**; Sipos, L.; Wölfling, Schneider, Gy. *Lett. Org. Chem.* **2009**, *6*, 340–344.
- [24] Wölfling, J.; Kovács-Pénzes, P.; Zupkó, I.; Schneider, Gy. **Frank, É.** *J. Mol. Struct.* **2012**, *1013*, 39–44.
- [25] **Frank, É.**; Schäfer, B.; Mucsi, Z.; Keglevich, Gy. *Heteroatom Chem.* **2008**, *19*, 7–14.



Hálás vagyok egykori tanárainknak, prof. Molnár Árpádnak, dr. Szabó Józsefnek és dr. Hackler Lászlónak[†], akik egyetemi éveim alatt felkeltették az érdeklődésemet a szerves kémia iránt, és akiknek meghatározó szerepük volt majdani témaválasztásomban. Köszönöm prof. Bernáth Gábornak[†], prof. Fülöp Ferencnek és prof. Falkay Györgynek, hogy gyógyszerészeti tanulmányaim során megmutatták, hogy más aspektusból is lehet szemlélni az addig tanultakat.

Köszönettel tartozom Schneider Gyula professzor úrnak, aki egyetemi oktatóként, diplomamunka, majd PhD témavezetőként megismertette velem a szteroidok csodás világát. A kutatómunka iránti alázata, elhivatottsága és még ma is töretlen lelkesedése példaértékű számomra. Hálás vagyok azért, hogy munkámat folyamatosan figyelemmel kísérte, és hasznos tanácsaival segítette tudományos előrehaladásomat.

Megköszönöm prof. Wölfling Jánosnak, hogy szakmai tudását és tapasztalatait megosztotta velem és még hallgatóként beavatott a korszerű szerkezetbizonyítási módszerekbe. Köszönöm neki a disszertációm alapos korrektúráját is.

Köszönöm Lutz F. Tietze professzornak a göttingeni tartózkodásaim alatt tett értékes útmutatásait, kedves vendégszeretetét. Sokat tanultam tőle a kísérleti eredmények prezentálására és a közlemények összeállítására vonatkozóan.

Hálával tartozom prof. Keglevich Györgynek, aki nélkül a szteránvázis foszfortartalmú heterociklusokkal kapcsolatos kutatásaink nem valósulhattak volna meg. A mindenkor önzetlen segítsége, biztatása és szerető barátsága sokat jelent számomra.

Köszönöm dr. Mernyák Erzsébet kolleganőmnak az egy laboratóriumban eltöltött jó hangulatú éveket és prof. Vincze Irénnek a kedves törődését, a disszertációm megírására irányuló kitartó biztatását és az értekezéssel kapcsolatos hasznos észrevételeit.

Az értekezésben foglalt eredmények nem születhettek volna meg már végzett és jelenlegi PhD hallgatóim, dr. Kovács Dóra, dr. Kádár Zalán, Mótyán Gergő és Baji Ádám nélkül. Szeretettel gondolok az együtt eltöltött évekre, amikor még mindannyian egy csapatot alkottunk. Köszönöm nekik, hogy mindig mindenben számíthattam rájuk. Köszönöm a sok nevetést és

vidámságot, amellyel örömtelivé tették és teszik a szürkébb hétköznapiakat is. Lelkesedésükkel és kitartásukkal sok esetben bebizonyították, hogy nincs reménytelen kísérlet. Hálás vagyok valamennyi volt szakdolgozó és diplomamunkás hallgatóm, Kazi Brigitta, Kardos Zsolt, dr. Schäfer Balázs, dr. Sipos László, Kovács Ferenc, Márton János, Takács Nóra, Knapp Daniella, Percze Vanda, valamint Forgó Irén és Gabnai János vegyésztechnikusok közreműködéséért is, akik jelentősen hozzájárultak a disszertációban foglalt kutatások sikeréhez.

Köszönöm azon farmakológus kollegák együttműködő munkáját, akikkel kölcsönösen támogattuk és támogatjuk egymást céljaink elérésében. Hálás vagyok dr. Zupkó Istvánnak a mindig megbízható kooperációért, a hasznos konzultációkért, és valamennyi hajdani, és jelenlegi munkatársának, dr. Minorics Renátának, dr. Réthy Borbálának, dr. Molnár Juditnak, Kovács Idának és dr. Schelz Zsuzsannának az *in vitro* sejtosztódás gátlási vizsgálatok elvégzéséért. Dr. Szécsi Mihály és Szabó Nikoletta az *in vitro* enzimgátlási vizsgálatok elvégzésével szintén jelentősen hozzájárultak a közlemények tudományos értékéhez. Dr. Bartók Tibort és dr. Ludányi Krisztinát a tömegspektrometriai mérésekért, prof. Czugler Mátyást a röntgen-szerkezetvizsgálat elvégzéséért, dr. Mucsi Zoltánt és dr. Körtvélyesi Tamást[†] az elméleti számításokért, minden további társszerzőmet pedig az értékes szakmai hozzájárulásért és segítségért illeti köszönet.

Köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia (Békésy György Posztdoktori Ösztöndíj, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj), az OTKA (PD-72403, K-101659, K-109107, K-113150) és a Társadalmi Megújulás Operatív Program pályázatok (TÁMOP-4.2.1.B-09/1/KONV-2010-0005, TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047) anyagi támogatását.

Végül, de nem utolsó sorban hálával tartozom szüleimnek, akik tanulmányaimhoz ideális és stabilis háttérrel biztosítottak, és kiskoromtól kezdve önzetlenül és néha erőn felül segítettek életem nehezebb időszakában is. Anya, apa, nélkületek nem ment volna! Köszönöm!