

Projekt záró beszámoló

a K101659 azonosító számú pályázathoz

A rák egyike a fejlett országok legelterjedtebb betegségcsoportjának. A szteroid hormonok számos daganattípus sejtosztódásában kulcsszerepet játszanak, így az antihormon hatású farmakonok a kezelés egyik lehetőségét jelentik.

Munkánk során különböző szintézismódszerekkel sikeresen valósítottuk meg új, nitrogén-, oxigén- vagy kéntartalmú heterociklusos vegyület szintézisét az ösztrán, androsztán, pregnán és kolesztán sorban. Az eredetileg tervezettnél több átalakítást sikerült végrehajtanunk, és a tervezett 150 vegyületnél jelentősen többet sikerült előállítanunk. A szerkezetigazolást spektroszkópiai módszerekkel (egy- és kétdimenziós NMR, MS, XRD) végeztük. Olyan szteroidok szintézisét céloztuk meg, amelyek várhatóan hormonálisan inaktívak, így szelektív tumorelles hatást mutathatnak. Az új vegyületek kétirányú rákellenes hatásvizsgálatra kerültek. Sikerült olyan vegyületekhez is jutnunk, amelyek meghaladták a referenciavegyületek hatékonyságát.

A természetben számos polihidroxilezett szteroid rendelkezik fontos biológiai hatással. Egy, a kutatócsoportunkban korábban előállított apoláris D-szekoösztroon származékot a Barbier-allilezés - gyűrűzárási metatézis - dihidroxilezés reakciósorban átalakítva, megnövelt hidrofilitású (amfifil) származékokat nyertünk. Az egyes lépéseket jó/kiváló hozammal sikerült végrehajtanunk. [9] Négy humán ráksejtvonalon vizsgáltuk az újonnan szintetizált D-szekoszteroidok és D-dihomoszteroidok, valamint glikozidjaik antiproliferatív potenciálját annak megállapítása érdekében, hogy a glikozilezés milyen módon befolyásolja a hatást. Megállapítást nyert, hogy

- több vegyület esetében a hatás a glikozilezés hatására nőhet,
- változhat a szelektivitás,
- a hatás mértéke jelentősen függhet a szénhidráttól (pl. egy ramnozilezett szteroidunk teljesen hatástalannak bizonyult, míg ugyanazt az aglikont mannozilezve a sorozat leghatásosabb tagját nyertük).^{1,7}

Pregnenolonból kiindulva, benzaldehiddel, vagy *p*-szubsztituált benzaldehidekkel benzilidének szozotátát állítottuk elő. A vegyületeket hidrazin-hidráttal reagáltattuk. A kiindulási anyagtól függetlenül - az irodalmi adatokkal ellentétben - a gyűrűzárások két pirazolin epimerből álló keverékeket eredményeztek. Az epimereket csak acetátjaik formájában sikerült egymástól elválasztanunk. Összehasonlítottuk az epimerek *in vitro* patkány prosztata C_{17,20}-liáz, és négy humán ráksejtvonalon mért antiproliferatív aktivitását.²

A 3 β -acetoxipregna-5,16-dién-20-on Claisen-kondenzációja jó hozammal vezetett a 3 β -hidroxil-21-hidroximetilidénpregna-5,16-dién-20-onhoz. Egy, az irodalomban ismert gyűrűzárási módszer alkalmazásával a vegyületet fenilhidrazinnal vagy szubsztituált származékaival reagáltatva régioizomer vegyületpárokhoz (1'-aril-3'-pirazolil- és 1'-aril-5'-pirazolil-szteroidok) jutottunk, melyeket elválasztást követően 17 α -hidroxiláz/C17,20-liáz (P450-17 α) enzimgátlási vizsgálatoknak vetettünk alá. Az arilpirazolinok mérsékelt gátló hatást mutattak.³

A Claisen-kondenzációval nyert 3 β -hidroxi-21-metoxalilpregn-5-én-20-onból vagy a 21-metoxalilpregna-5,16-dién-20-onból kiindulva, p-szubsztituált fenilhidrazinokkal pirazol-5-il és/vagy pirazol-3-il vegyületeket állítottunk elő. A céltermékek Oppenauer-oxidációja Δ^4 -3-ketoszteroidokhoz vezetett. Egyes származékok a Δ^5 -3 β -HSD enzim hatékony inhibitorainak bizonyultak, míg mások bizonyos tumorsejtek osztódását gátolták.²⁴

Mesztranol és különböző aril-nitril-oxidok között végrehajtott régioszelektív 1,3-dipoláris cikloaddíciók új 17 α -izoxazolokhoz vezettek, kiváló hozammal. Katalizátorként Cu(I)-ionokat használtunk. A gyűrűzárások kizárólag a 3,5-diszubsztituált izoxazolokat szolgáltatták. A hozamokat az 1,3-dipólus aromás gyűrűjének szubsztituensei befolyásolták. Ezen túlmenően a termékeket dehidratáltuk, így $\Delta^{16,17}$ exo-heterociklusos származékokat nyertünk. Valamennyi szintetizált vegyület hatását három humán ráksejtvonalon (HeLa, MCF7 és A2780) teszteltük.⁶

Dehidro-epiandroszteronból kiindulva, redukció, tozilezés és azidcsere eredményeként 17 α -azidot nyertünk. A különböző acetilénekkal végrehajtott cikloaddíciók a 17 α -(1',2',3'-triazol-1'-il)-szteroidok sorozatához vezettek.

Előállítottuk a 16 α -azidoösztion-3-metil-étert, és a vegyület Cu(I)-katalizálta azid-alkin cikloaddíciójával a 16-(1',2',3'-triazol-1'-il)-szteroidok sorozatát. Biológiai hatásukat három humán ráksejtvonalon vizsgáltuk. Szerkezet-hatás összefüggéseket állapítottunk meg, és a leghatásosabb négy vegyületet további vizsgálatoknak vetettük alá, a hatásmechanizmus felderítése érdekében.²¹

Egyszerű, kényelmes módszert dolgoztunk ki új 2 α -triazolilkolesztán származékok előállítására. Kolesztanonból kiindulva, több lépésben 2 α -azido-5 α -kolesztán-3-ont nyertünk, amelyet különböző terminális alkinekkal reagáltatva hatékonyan alakítottunk át a klikk-reakció körülményei között. A kapott heterociklusos származékok oxocsoportját redukáltuk. A redukciók epimer triazolil-alkoholok keverékéhez vezettek, melyeket elválasztottuk egymástól. A három humán ráksejtvonalon végrehajtott proliferációgátlási vizsgálatok azt mutatták, hogy néhány vegyület gátolja a sejtosztódást.⁴

A 16,16-bisz(hidroximetil)androszt-4-én-3,17-dionból kiindulva, foszforilezéssel új szteroid-16-spirodioxafoszforinánok epimer párjait állítottuk elő. Szerkezetüket NMR-es módszerekkel vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy a dioxafoszforinán rész oldatban, a szteránváz merevségének következtében vagy a lehetséges szék konformációk egyikében, vagy szék/csavart egyensúlyi konformációban létezik. A konformerek aránya jelentős mértékben függ a foszforatom konfigurációjától és szubsztituenseinek sztereoelektonos sajátságaitól. A származékok MTT teszt segítségével megállapított antiproliferatív hatását is tárgyaljuk.⁸

A 15 β -azido-17 β -hidroxi-5 α -androsztán-3 β -il-acetát intermolekuláris Cu(I)-katalizálta azid-alkin cikloaddíciójával, különböző terminális alkinek alkalmazásával, optimalizált reakciókörülmények között, jó hozammal 15 β -triazolil származékokat nyertünk. A klikk-termékek oxidációja a megfelelő 17-kezonokat szolgáltatta. Valamennyi új vegyület *in vitro* antiproliferatív hatásvizsgálatra került. A leghatásosabb öt származék esetében flow-citometriával és mikroszkópos technikával bizonyítottuk a sejtciklus-blokkolást és az apoptózis-indukáló hatást. A 15 β -triazolil-5 α -androsztánok hatásos szteroid alapú antiproliferatív hatóanyagok tervezésének alapját képezhetik.⁵

Az 1 α -triazolok előállításának előanyagát, az 1-azidoandrosztán származékot a terveknek megfelelően ketoszteroidból kiindulva, kettős kötés kiépítését követő addícióval valósítottuk meg. A réz(I)-katalizálta 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciók a tervezetteknek megfelelően általában kiváló hozammal vezettek a triazolokhoz. A leghatásosabb vegyületek IC₅₀ értéke az 1-5 mikromólos tartományba esik.

A D-szeko-, D-homo- és 13 α -ösztrom származékoktól nem várható hormonhatás. A nyitott D-gyűrűs származékokat a kutatócsoportunk által korábban kidolgozott hatékony eljárást alkalmazva állítottuk elő. A szekoalkoholokat, -oximokat- és karbonsavakat több ponton egyszerű átalakításokkal módosítva olyan vegyületeket nyertünk, amelyek bizonyos képviselői hatékonyan gátolták több tumorsejt osztódását az alacsony mikromólos vagy szubmikromólos koncentráció tartományban.^{16,17}

Az alap szekovegyületek tumorellenes hatását tovább fokoztuk triazol gyűrűnek a molekulákba való beépítésével. CuAAC reakciót alkalmazva, szteroid alkinéből, szubsztituált benzilazidokkal képeztük a triazolokat, az ösztromváz 3-as pozíciójában és a nyitott D-gyűrűn is.²³

Ugyanezen heterociklust a 13 α -ösztromdiol 16-os pozíciójában is kialakítottuk, 2-3 μ M-os IC₅₀-értéket eredményező, antiproliferatív hatású szteroidokat nyerve.¹⁹

A természetes ösztrom sorban 17-triazolil-származékokat képeztünk, amelyek mérsékelt sejtosztódást-gátló hatást mutattak.²²

A D-homoösztromok körében is végeztünk átalakításokat, alapul véve azt a kísérleti tapasztalatunkat, hogy a D-homoösztrom szelektív antitumor hatást mutat a HeLa sejtvonalon.²⁰

Kísérleteinket a 13-epi- δ -alkenil-D-szekoaldehidből kiindulva, one-pot Prins-Ritter gyűrűzárási reakcióval végeztük, Lewis savként BF₃·(OEt)₂-ot, nitrilként pedig acetonitrilt és annak származékait alkalmazva. A gyűrűzárási reakciók eredményeként 16-acilamino-17 α -hidroxil-13 α -D-homo-származékokat és kondenzált vázas dihidrooxazin-vegyületeket nyertünk. Ez utóbbi heterociklusok több képviselője is hatékony tumorellenes szernek bizonyult, feltehetően a tubulin fehérje polimerizáció sebességének fokozása útján kifejtve sejtosztódást gátló hatását.¹⁸

Eredményeinkből a pályázati azonosító szám megjelölésével 22 folyóiratcikk (melyből 1 összefoglaló közlemény)¹⁰ jelent meg nemzetközi folyóiratban. Két doktori értekezés került sikeres megvédésre (egy a pirazolok¹¹, egy a triazolok¹² témaköréből). Számos posztert mutattunk be hazai és nemzetközi konferenciákon.