

Nitrogéntartalmú ösztрон származékok előállítása és tumorelleses hatásának *in vitro* vizsgálata

Doktori (Ph. D.) értekezés

Dr. Huber Judit

Témavezetők:

Prof. Dr. Wölfling János
tanszékvezető egyetemi tanár

Dr. Mernyák Erzsébet
tudományos munkatárs



Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Szerves Kémiai Tanszék

Szeged, 2015

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	1
1. BEVEZETÉS.....	4
2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK.....	6
2.1. Az ösztron, valamint természetes és mesterséges származékainak biológiai vonatkozásai.....	6
2.2. Kémiai előzmények	19
2.2.1. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók	19
2.2.2. A Prins-Ritter-reakció	33
3. CÉLKITŰZÉS	39
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA	40
4.1. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók.....	40
4.1.1. Nitronképzés Lewis-savakkal vagy elektrofil reagensekkel, és a nitronok 1,3- dipoláris cikloaddíciói.....	40
4.1.2. A 13 α - illetve a 13 β -ösztron sorbeli elektrofil-indukált nitronképzés, és az azt követő 1,3-dipoláris cikloaddíciók.....	43
4.1.3. Az ösztron-azid dipólusok előállítása és CuAAC reakcióik	55
4.2. A δ -alkenil-D-szekoösztronok Lewis-sav-indukált „one pot” Prins-Ritter reakciói	65
5. KÍSÉRLETI RÉSZ	80
5.1. Általános kísérleti rész.....	80
5.1.1. Kémiai rész.....	80
5.1.2. Gyógyszerhatástani vizsgálatok	81
5.2. Részletes kísérleti rész	84
6. ÖSSZEFOGLALÁS	103
7. SUMMARY	108
8. IRODALOMJEGYZÉK	112
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	118
10. MELLÉKLET.....	119

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AAM	antibiotikum-antimikotikum keveréke
AcOH	ecetsav
A2780	humán petefészek karcinóma
A431	humán bőrlaphám karcinóma
Bi(OTf) ₃	bizmut(III)-triflát
BrdU	5-bróm-2'-deoxiuridin
COSY	Correlated Spectroscopy, kétdimenziós korrelációs NMR spektroszkópai technika
CuAAC	réz-katalizált azid-alkin „click-reakció”
DIPEA	diizopropil-etilamin
DMSO	dimetil-szulfoxid
EGTA	etilén-glikol-tetraecetsav
EMEM	Eagle's Minimum Essential Mediumban, sejt táptalaj
Et ₃ N	trietyl-amin
EtOAc	etyl-acetát
FBS	borjúsérum
G1	a sejtciklus kezdő fázisa, posztmitotikus, vagy preszintetikus szakasz
G1–S	sejtosztódási ciklus ellenörző pontja, amely felelős a sejt G1 fázisból a szintézis fázisba történő eljutásáért
G2–M	sejtosztódási ciklus ellenörző pontja, felelős azért, hogy a sejt a G2 fázisból a mitózis fázisba jusson
GTP	guanozin-trifoszfát
Hela	méhnyak karcinóma sejtvonala
HER-2	humán epidermális növekedési faktor receptor
HFF	humán fibroblaszt sejtvonala
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely két nem közvetlenül kötésben lévő különböző magok közötti kölcsönhatást mutatja
HOPI-festés	hoechst és propidium-jodid festés

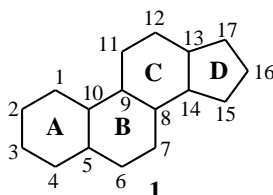
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely két közvetlenül kötésben különböző magok közötti kölcsönhatást mutatja
I (+/-)	pozitív vagy negatív induktív effektus
IC ₅₀	maximális hatásos koncentráció fele
Ishikawa	endometriózis
M	sejtciklus mitózis fázisa
M (+/-)	pozitív vagy negatív mezomer effektus
MALDI TOF	deszorpció/ionizációs tömegspektrometria
MCF-7	ösztrogén receptor pozitív emlőkarcinóma
MDA-MB-231	háromszorosan negatív emlőkarcinóma sejtvonal
MDA-MB-361	ösztrogén és HER-2 receptort kifejező emlőkarcinóma sejtvonal
MMFF94	Merck Molecular Force Field
MRC-5	humán intakt tüdő fibroblaszt sejtvonal
MTT-módszer	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NBS	<i>N</i> -brómszukcinimid
NFM	<i>N</i> -fenilmaleimid
NIS	<i>N</i> -jódszukcinimid
NMM	<i>N</i> -metilmaleimid
1D/2D NMR	egy- vagy kétdimenziós mágneses magrezonancia
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, olyan kétdimenziós NMR spektroszkópai technika, amely a magok téren keresztüli hatásán alapul
PBS	foszfátpuffer
PCR	polimeráz-láncreakció
PhSeBr	fenilszelenilbromid
PMA	foszformolibdénsav
PPh ₃	trifenil-foszfán
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium, táptalaj
S	a sejtciklus szintézis fázisa
SEM	standard error of the mean (szórás)
S _N 2	bimolekuláris nukleofil szubsztitúció

SubG1	a sejtciklus G1 fázisának egy speciális „része”, ahol a sejtek nyugvó fázisban vannak, bizonyos kémiai jelek hatására azonban ismét visszakerülhetnek a sejtciklusba
T-47D	emlőkarcinóma sejtvonal, amely ösztrogén és progeszteron receptorokat fejez ki HER-2 overexpresszió, ösztrogén-függő sejtosztódás jellemzi
TsCl	tozil-klorid
V_{\max}	maximális sebesség

1. BEVEZETÉS

A szteroidok a természetes szénvegyületek jelentős csoportját alkotják, amelyek a növényi, állati és emberi szervezetben egyaránt előfordulnak.

A szteroidok az 1. ábrán látható általános szerkezeti képlettel jellemezhetők.¹ Az ábra a gyűrűk jelölését, és a szénatomok számozását is bemutatja.



1. ábra: Szterán váz

A szteroidok sokrétű biológiai szerepet látnak el. Az egyik legjelentősebb csoport a szteroid alkoholok, amelyek karbonsavakkal képzett észterek formájában fordulnak elő a növényi (fitoszterinek), állati és emberi (zooszterinek) szervezetekben, valamint a gombákban (mikoszterinek). A *zooszterinek* legfontosabb képviselője a koleszterin, amely az állatok és az emberek szövetének mintegy 0,05–5,00%-át adja. A fitoszterinek közül a sztigmaszterin és a szitoszterin a legismertebb, amelyek a növényi olajokból nyerhetők ki. A mikoszterinek legjobban tanulmányozott és kiemelkedő fontosságú tagja az ergoszterin, amely az anyarozsból és más gombáktól izolálható. Jelentőségét az adja, hogy ultraibolya fénnel besugározva D-vitamin hatású anyaggá alakul. A szteroidok másik nagy csoportját az epesavak alkotják, amelyek az epében glikollal és taurinnal képzett peptidszerű vegyületek, nátriumsó formában. Az úgynevezett ekdiszteroidok pedig az ízeltlábúak metamorfózisáért felelős hormonok.

Számos biológiailag aktív szteránváz vegyület tartalmaz oxigén- és nitrogéntartalmú heterociklust. Ilyenek például a szívre ható, vagy kardiotonikus glikozidok, amelyek közös jellemzője a szteránvázhhoz 17 β -helyzetben kapcsolódó laktongyűrű. A növényi glikozidok egyik különleges csoportjában is fellelhető a heterociklusos váz. Ezek az úgynevezett szaponinok, amelyek vizes oldata erősen habzik, és a vörös vértesteket képes feloldani. Glikozid jellegüknek megfelelően egy aglikon részből és a hozzá kapcsolódó oligoszacharidból épülnek fel. A szteroid szapogének közös szerkezeti sajátosságát a D-

gyűrűhöz kapcsolódó 16 β ,17 β -helyzetű tetrahidrofuran-gyűrű adja, amely spiroketál szerkezetet alkot egy tetrahidropirán-gyűrűvel. Ezen vegyületcsalád egyes származékaiból néhány szteroid félszintetikus előállítása valósítható meg. A heterociklusos szerkezeti elem a mellékvesekéreg-hormonok csoportjában is megtalálható. Az egyik leghatékonyabb mineralokortikoszteroid, az aldoszteron 13-as helyzetű formilcsoportja a 11 β -helyzetű hidroxilcsoporttal ciklofélacetált képez. A nitrogéntartalmú szteránvázis vegyületek jelentős hányadát a szteroid alkaloidok teszik ki, nevezetesen a szolanidin, a tomatidin és a batrachotoxin.

A nemi hormonok a nemi funkciókat közvetlenül irányító hormonok. A hím nemi hormonok az androgének, amelyek a másodlagos nemi jelleg kialakulását segítik elő, továbbá anabolikus hatásuk révén fokozzák a fehérjebeépülést az izomzatba. A női nemi hormonok a petefészekben, a placentában illetve kisebb mértékben a mellékvesében képződnek. Ide tartoznak az ösztrogének és a gesztagének.

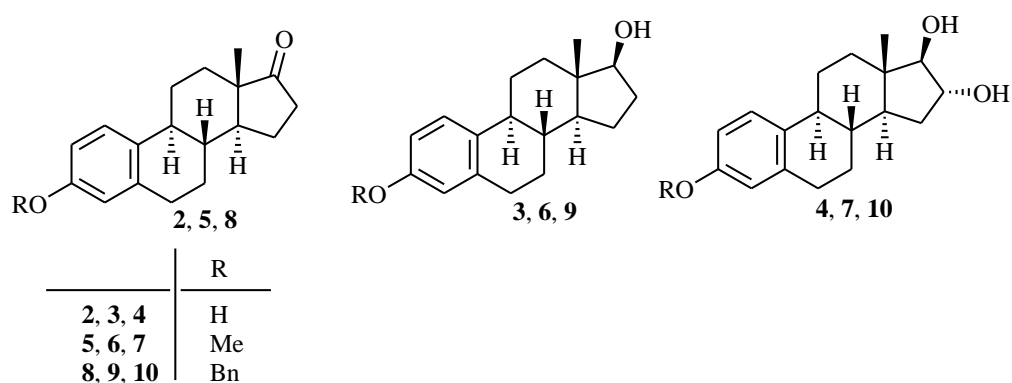
A természetes eredetű szteroidok kémiai módosításával olyan szintetikus származékok nyerhetők, amelyek hordozzák az eredeti biológiai hatást, de emellett új, hasznos aktivitást is mutatnak. Célzott kémiai változtatásokkal továbbá elérhető az elsődleges funkció elvesztése, és amennyiben egyéb hatás kerül előtérbe, így szelektíven ható szteroidok fejleszthetők.

Doktori kutatómunkámban a természetes ösztroon olyan irányú módosításait valósítottuk meg, amelyek hormonálisan inaktív, de antitumor jellegű vegyületekhez vezettek. Kettős célunkat elsősorban a D-gyűrű átalakításával valósítottuk meg: megnöveltük a tagszámát és/vagy nitrogéntartalmú heterociklust építettünk rá. Az újszerű származékok szintézise és szerkezetvizsgálata szerves kémiai értelemben is jelentős kihívást jelentett.

2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK

2.1. Az ösztron, valamint természetes és mesterséges származékainak biológiai vonatkozásai

Az élő szervezetben az ösztrogének a nemi jelleg meghatározásáért, a progeszteron (gesztagén) pedig az endometriális ciklusért és a terhesség fenntartásáért felelős. Az emberben és az állatvilág jelentős részében egyaránt három ösztrogén hatású vegyület fordul elő: az ösztron (**2**), a 17 β -ösztradiol (**3**) és a 16 α ,17 β -ösztriol (**4**, 2. ábra). Az ösztrogének közös szerkezeti eleme az aromás A-gyűrű és a *transz*-gyűrűanellációk. A B-gyűrű általában félszék, míg a C-gyűrű szék konformációjú. A molekulában lévő oxigénatomok egymástól meghatározott távolságban helyezkednek el, amely fontos szerepet tölt be az ösztron és az ösztradiol hormonhatásának kifejtésében. A természetes ösztrogének elősegítik a sejtek osztódását (proliferációját),² felelősek a másodlagos nemi jelleg kialakulásáért, fenntartják a lipidegyensúlyt és a só-vízháztartást, valamint hozzájárulnak a transzportfehérjék és a véralvadási faktorok szintéziséhez.

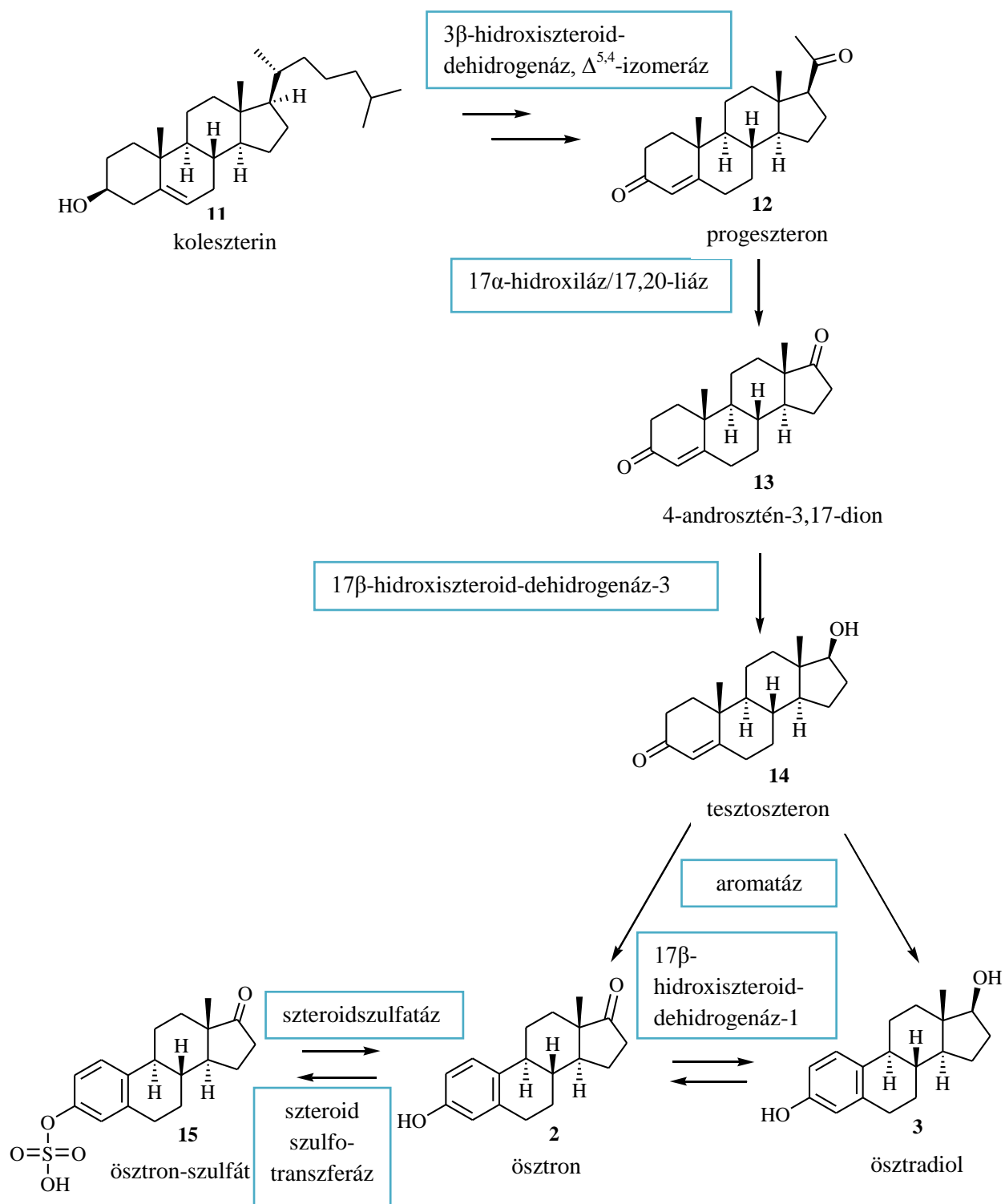


2. ábra: Az ösztrogének (**2–4**) és 3-as helyzetben védett származékaik (**5–10**)

Az irodalomban számos szintetikus ösztránvázas vegyület ismeretes, szerteágazó biológiai hatással, ide tartoznak többek között az antitumor hatású származékok is.³ Az ösztron (**2**) szerkezetének célzott kémiai változtatásával hormonálisan inaktív, ugyanakkor tumorelles vegyületek nyerhetők. Ezek különböző úton fejtik ki a hatásukat. Lehetnek enzim inhibitorok, amelyek a szteroid-bioszintézisben részt vevő egyes enzimek működését gátolják, akadályozva így a hormonképződést, és ezáltal a hormonfüggő daganatok fejlődését.

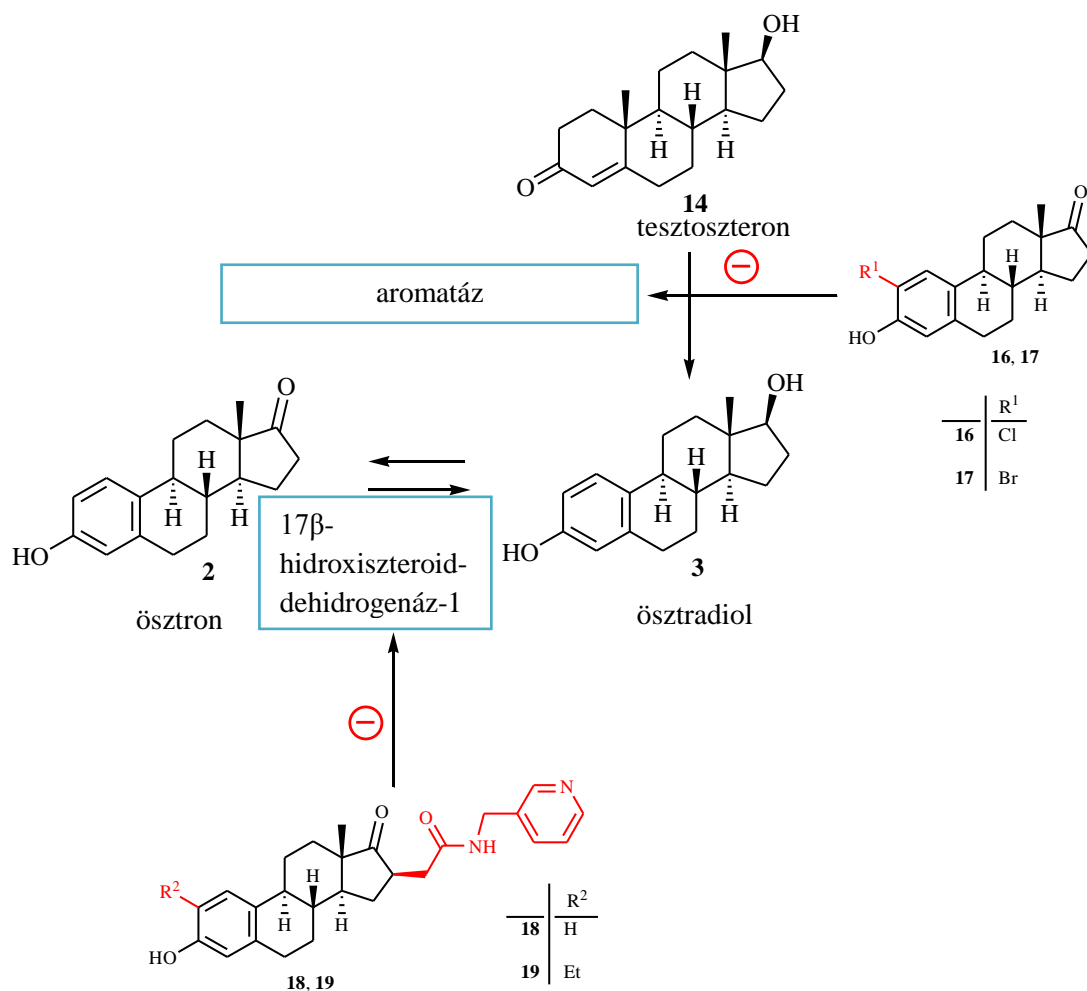
Ismeretesek az antiösztrogének is, amelyek az ösztrogén receptorok aktív centrumából szorítják ki az endogén ligandot, és a visszacsatolási mechanizmusnak köszönhetően visszaszorítják a hormonok bioszintézisét. Számos közlemény számol be továbbá olyan vegyületekről, amelyek nem a hormonális célpontokat támadva fejtik ki antitumor hatásukat. Ezek közül kiemelendők az antimitotikus vegyületek, amelyek a tubulin fehérje polimerizációját befolyásolják, és olyan rendellenes mikrotubulus-hálózat kialakulását idézik elő, amely nem teszi lehetővé a sejtosztódást. Az antiproliferatív hatóanyagokat két csoportba sorolják: a citosztatikus szerek gátolják a sejtosztódást, míg a citotoxikusak károsítják a sejteket. Az előbbieket a rák korai, az utóbbiakat a későbbi stádiumában szokás alkalmazni.

A fentiek alapján tehát az ösztroon-alapú tumorelles szerek támadáspontjai lehetnek az ösztroon bioszintézisében részt vevő enzimek. A szteroidhormonok szintézise a koleszterinből (**11**) indul, ebből valósul meg a progeszteron (**12**), az androgének (**13**, **14**) és az ösztrogének (**2**, **3**) képződése (3. ábra).⁴ Az ösztroon (**2**) és a 17 β -ösztradiol (**3**) kialakulását közvetlenül az aromatáz és a 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1 katalizálja. Az aromatáz végzi a tesztoszteron (**14**) ösztroon származékokká (**2**, **3**) történő átalakítását. A 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1 az ösztroon (**2**) keto-funkciójának hidroxilcsoporttá történő módosításáért felel. A szteroidszulfatáz végzi az ösztroon-szulfát (**15**, inaktív forma) ösztroonná (**2**, aktív forma) történő átalakítását. A folyamat reverzibilis, a szulfotranszferáz enzim szulfát-észter kötést alakít ki a fenolos hidroxil-funkción, ezzel inaktiválva az ösztroont (**2**).⁵ Az említett három enzim (aromatáz, 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1, szteroidszulfatáz) működésének gátlásával jelentősen befolyásolható a női nemi hormonok szintézise a szervezetben.



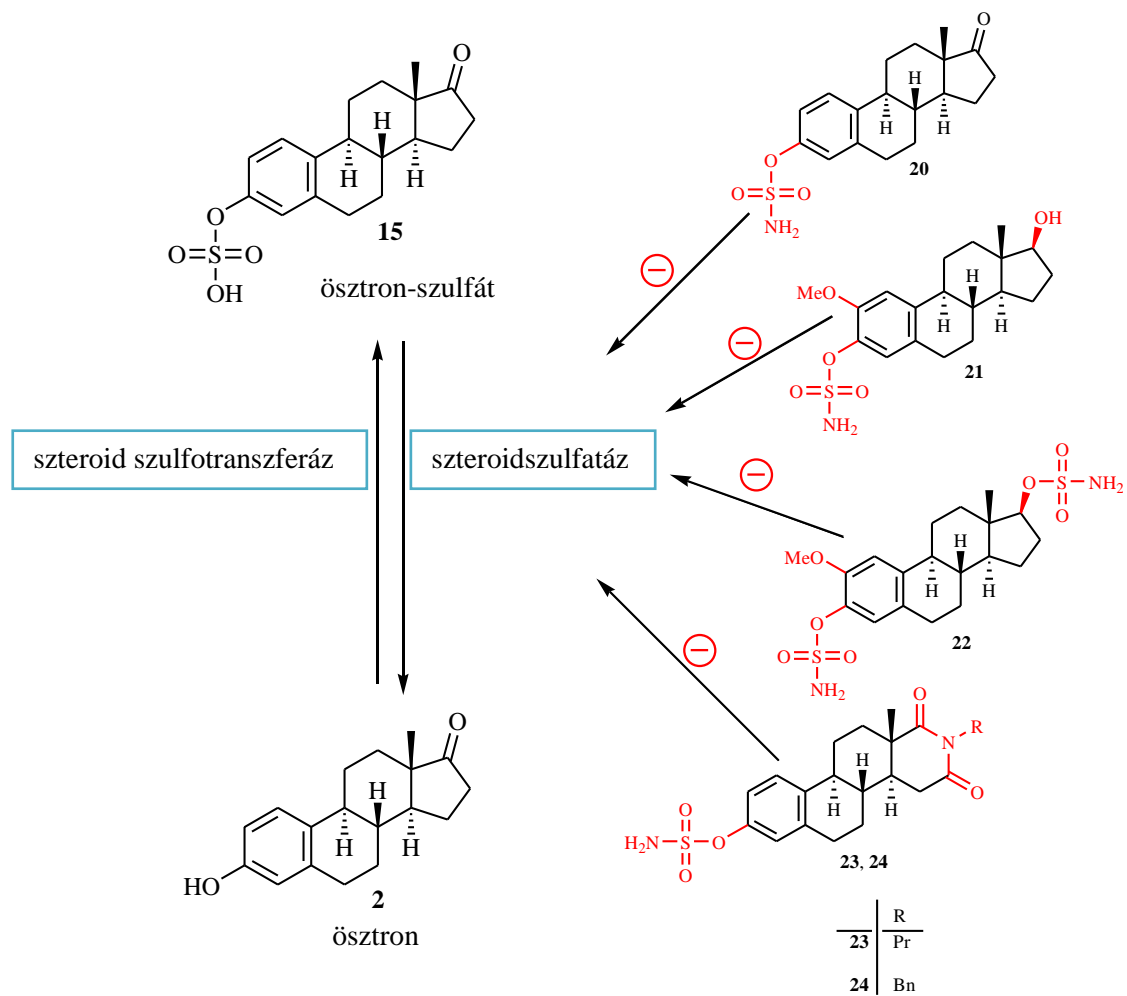
3. ábra: Az öszttron (2) és az öszttradiol (3) bioszintézise

Az ösztéránváz 2-es helyzetébe halogént beépítve olyan aromatáz inhibitorok (**16**, **17**) nyerhetők, amelyek irreverzibilisen gátolják az enzimet (4. ábra).⁶ Az ösztér (2) egyes szubsztituált származékai (**18**, **19**) a 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1 inhibitoraikként hatnak.⁷



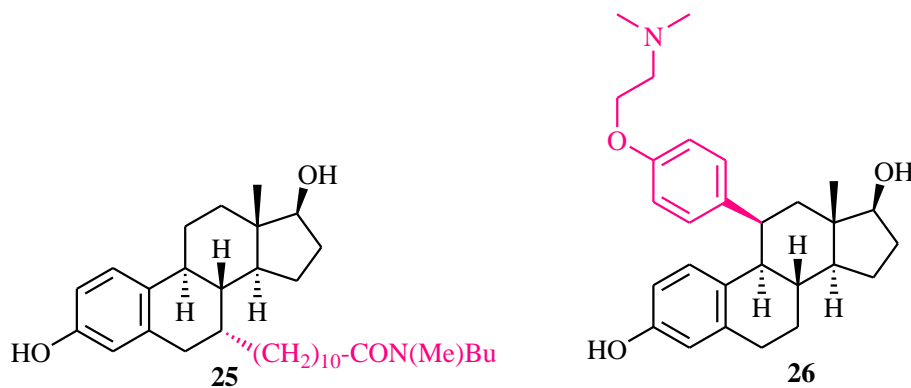
4. ábra: Aromatáz és 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz-1 inhibitorok (**16–19**, pirossal jelöltem a vegyületek azon funkciós csoportjait, amelyek elősegítik az inhibitorhatás kialakulását)

Egyes szulfamoilcsoportot tartalmazó ösztron származékok (**20–24**) a szteroidszulfatáz enzim inhibitorai (5. ábra).^{8–11} Az első generációs szteroidszulfatáz inhibitor (**20**) citosztatikus hatású (mellékhatásként ösztrogén aktivitással). A második generációs hatóanyagok (**21, 22**) azonban kettős hatással rendelkeznek (a 2-metoxi-funkció jelenlétének köszönhetően). Ezen vegyületek (**21, 22**) a hormonszintézis gátlása mellett a tubulin polimerizációját is megakadályozzák, így a mitotikus osztódást is. Fischer és kutatócsoportja olyan 3-szulfamoil-*aza*-D-homoszteroidokat (**23, 24**) állított elő, amelyek az ösztron-3-*O*-szulfamátnál (**20**) 18-szor hatásosabb szulfatáz inhibitornak bizonyultak ($IC_{50} = 1 \text{ nM}$).¹¹ Az irreverzibilis gátlás a szulfamoilcsoportnak köszönhető, továbbá a D-gyűrűben lévő piperidindion-funkció és az R-oldallánc a hidrofób-kölcsönhatások kialakulásának kedvez, ezzel növelve a vegyületek (**23, 24**) enzimre gyakorolt gátló hatását. A hormonális aktivitás a **23**-as és a **24**-es jelű vegyületek esetében visszaszorul.



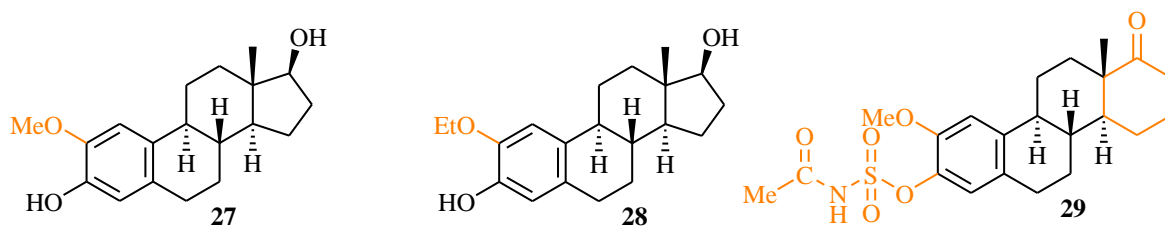
5. ábra: A szteroidszulfatáz enzim inhibitorai (20–24, pirossal jelöltem azon funkciós csoportokat, amelyek elősegítik az inhibitorhatás kialakulását)

Az ösztron bioszintézisében részt vevő enzimek gátlásán túlmenően antiösztrogének alkalmazásával is kezelhetők a hormonfüggő tumorok. Erre alkalmasak azok az ösztron származékok, amelyek célzottan a 7 α - (**25**) vagy a 11 β -helyzetben (**26**) módosítottak (6. ábra).^{12, 13}



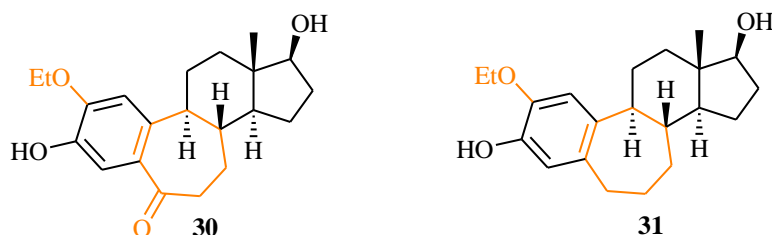
6. ábra: Antiösztrogének (**25**, **26**, rózsaszínnel jelöltem azon funkciós csoportokat, amelyek elősegítik az antiösztrogén hatás kialakulását)

A fentiekben említettektől eltérő hatásmechanizmussal fejtik ki antitumor aktivitásukat az antimitotikus vegyületek. Ezek vagy a tubulin fehérje polimerizációját akadályozzák meg, vagy éppen ellenkezőleg, felgyorsítják azt.¹⁴ Így a mitotikus orsó kialakulása zavart szenved, és a sejtosztódási folyamat lehetetlenné válik. A 17 β -ösztradiol (**3**) 2-es helyzetben történő szubsztituálásával nyert 2-metoxi- (**27**) vagy 2-etoxi-17 β -ösztradiol (**28**) a tubulin kolhicin-kötőhelyéhez kötődve akadályozza meg a mikrotubulusok képződését, ezáltal a sejtosztódást is (7. ábra).¹⁵ Hillisch és munkatársai 2011-ben olyan 2-metoxi-D-homoösztron származékot (**29**) szabadalmaztattak, amelyben a 2-metoxi-szubsztitúción túlmenően a fenolos hidroxilcsoportot szulfamoillá alakították.¹⁶ Ezen funkciós csoportok beépítésével olyan hatékony antiproliferatív hatású vegyülethez (**29**) jutottak, amely a tubulin polimerizációjának gátlása útján fejt ki hatását, csökkent ösztrogén aktivitás mellett.



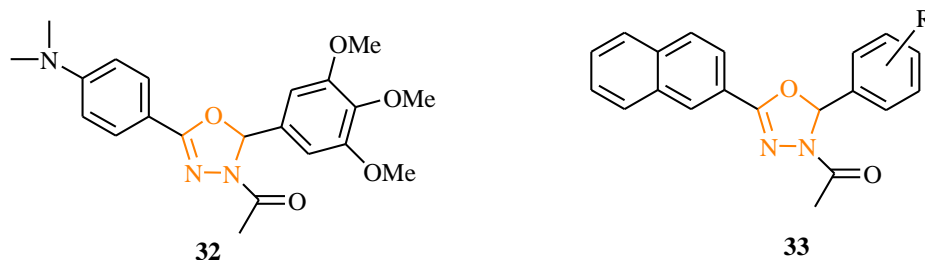
7. ábra: Antimitotikus vegyületek (**27–29**, narancssárgával jelöltem azon funkciós csoportokat vagy molekularészeket, amelyek elősegítik az antimitotikus hatás kialakulását)

A szteroidok B-gyűrűje tagszámának növelésével is előállíthatók antimitotikus hatású vegyületek. Wang és munkatársai 2-es helyzetben szubsztituált B-homo-17 β -ösztradiolokat (**30**, **31**) állítottak elő (8. ábra).¹⁷ Megfigyelték, hogy a ketocsoportot tartalmazó származék (**30**), a paklitaxelhez hasonlóan, a tubulin polimerizációját fokozza, míg a 2-etoxi-B-homo-3,17-diol (**31**) a tubulin polimerizációját gátolja.



8. ábra: Antimitotikus hatású B-homo-17 β -ösztradiolok (**30**, **31**, narancssárgával jelöltem azon funkciós csoportokat vagy molekularészeket, amelyek elősegítik az antimitotikus hatás kialakulását)

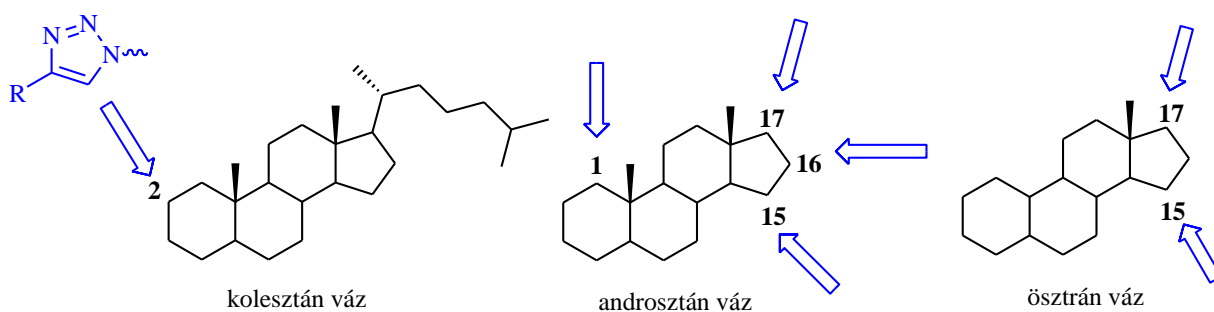
A közelmúltban több olyan közlemény is megjelent, amely nem szteroid jellegű antimitotikus hatású vegyületekről számol be. Ilyen a Tahir és munkatársai által szintetizált, az A-204197 kóddal jelölt vegyület (**32**), amely oxadiazolin-heterociklust tartalmaz (9. ábra).¹⁸ Egy naftil-gyűrűvel rendelkező oxadiazolin (**33**) szintén ígéretes, tubulin polimerizációt gátló vegyület. Egy tanulmányban molekuláris dokkolással igazolták, hogy az oxadiazolin-gyűrű jelenléte jelentős szerepet játszik a tubulin fehérjével való H-híd kötés kialakulásában (9. ábra).¹⁹ Mindezek alapján észszerűnek tűnhet ezen heterociklusoknak egy antitumor hatóanyagba történő beépítése a kívánt antimitotikus aktivitás elérése céljából.



9. ábra: Az antitubulin hatású oxadiazol származékok (**32**, **33**, narancssárgával jelöltem azon funkciós molekularészeket, amelyek elősegítik az antimitotikus hatás kialakulását)

A szakirodalomban számos példa található heterociklussal módosított szteroidokra, amelyek antimitotikus aktivitással rendelkeznek. Szerteágazó biológiai hatást tulajdonítanak a szteroid-triazoloknak: antibakteriális,²⁰ antimikotikus,²¹ antihisztamin²² és HIV-ellenes aktivitást.²³ A triazol-molekularész nagyfokú hasonlóságot mutat a peptid kötéssel, és H-híd kötés kialakítására képes, azonban a peptidekkel ellentétben kémiai és metabolikusan is stabil.²⁴ Egy indiai kutatócsoport 2010-ben pregnenolon-acetátból kiindulva olyan 20-ketopregnén származékokat állított elő, amelyek oldallánca 1,2,3-triazol-gyűrűt tartalmazott. Ezen vegyületek antiproliferatív hatásának bizonyultak öt humán tumorsejtvonalon.²⁵ Egy másik indiai kutatócsoport kólsavból, illetve dezoxikólsavból képezett triazolokat.²⁶ A szteroidok hordozták az alkin-funkciót, az azidocsoportot pedig a nem-szteroid jellegű β -laktám származékok. A konjugátumok a β -laktám származékokra jellemző antibakteriális hatásának bizonyultak, ugyanakkor antimitotikus aktivitást is mutattak.

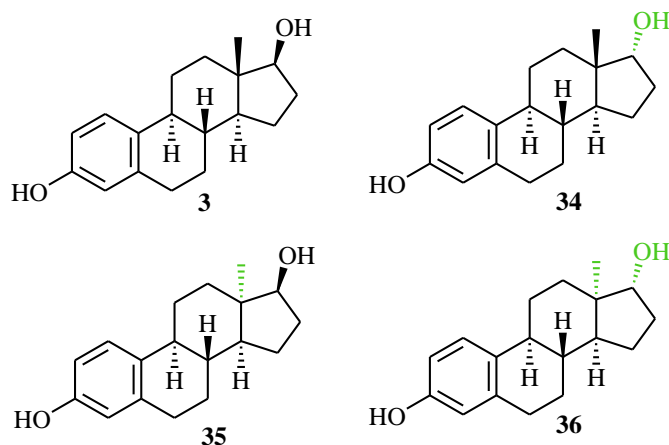
Kutatócsoportunk a közelmúltban több közleményben triazolil-szteroidokról számolt be.^{27–33} Többféle szteroid alapvázra, különböző helyzetbe építettek triazol-gyűrűt (10. ábra). A célvegyületek antiproliferatív hatását több humán adherens tumorsejtvonalon *in vitro* tesztelték, MTT-módszer segítségével. Kitűnt, hogy egyes vegyületek jelentős sejtsztódást gátló hatást mutatnak.



10. ábra: Triazolil-gyűrű beépítése a különböző alapvázakra (színelzés: kék)

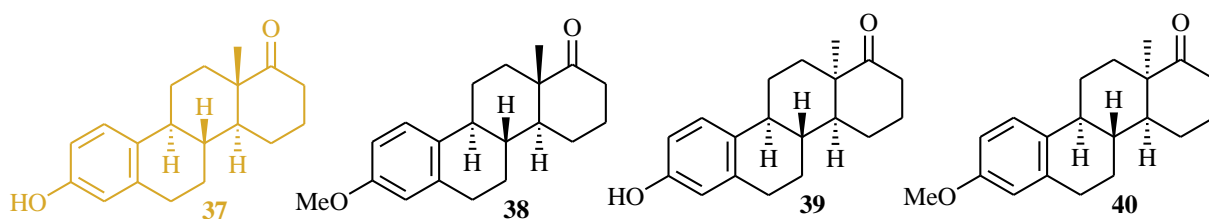
A rákellenes szteroidok kutatásában a közelmúltban előtérbe került az ösztroon olyan irányú szerkezeti módosítása, amely már nem az alapváz szubsztituálására, vagy a homológok előállítására, hanem az egyik gyűrűanellációs szénatom (C-13) konfiguráció-változtatására irányul. Így olyan 13α -ösztroon származékok nyerhetők, amelyek megváltozott konformációjuk miatt már nem képesek az ösztrogén receptorokhoz való kötődésre, így hormonálisan inaktívak. Amennyiben a 13 -epimereknél egyéb biológiai aktivitás mutatkozik, azok szelektív hatású vezérmolekulákká válhatnak. A fentiek miatt a 13α -ösztroon származékok irodalma az utóbbi években egyre bővül. Poirier és munkatársai *in vitro* tesztelték a C-13 és a C-17 konfigurációjában különböző négy diasztereomer $3,17$ -ösztroadiolt (**3**, **34–36**, 11. ábra).³⁴ A vegyületek (**3**, **34–36**) sejtosztódásra gyakorolt hatását vizsgálták három különböző emlő karcinóma sejtvonalon. Olyan sejtvonalakat választottak, amelyek több szempontból is eltérnek egymástól: az ösztrogén receptor negatív vagy pozitív jellegükben, illetve a sejtek osztódásának ösztrogénfüggésében. Megfigyelték, hogy kis koncentrációban ($0,01$ – $5 \mu\text{M}$) a vegyületek (**3**, **34–36**) sejtprolifrációt indukálnak az ösztrogén receptor pozitív sejtvonalakon (MCF-7, T-47D). A 13β -származékoknál (**3**, **34**) ez a hatás fokozottabb volt, mint a 13α -epimereknél (**35**, **36**). Magasabb koncentrációban alkalmazva ($> 5 \mu\text{M}$) azonban a vegyületek (**3**, **34–36**) mindkét sejtvonalon citotoxikusnak bizonyultak. Ez utóbbi aktivitás az ösztrogén receptor negatív sejtvonalon (BT-20) is megfigyelhető volt minden vegyület (**3**, **34–36**) esetében. A vizsgálatok alapján a kutatók azt a következtetést vonták le, hogy a származékok citotoxikus aktivitásukat ösztrogén receptor független mechanizmussal fejtik ki. Az eredményekből következik továbbá, hogy a 13α -epimerek (**35**, **36**) ösztrogén hatása jelentősen kisebb, mint 13β -megfelelőiké (**3**, **34**). Ez utóbbi megállapítást bizonyították egy további *in vitro* radioligand-méréssel. Megfigyelték,

hogy a négy diasztereomer (**3**, **34–36**) közül a 17 β -ösztradiol (**3**) kötődik leginkább az ösztrogén receptorhoz. A 13 β -származékoknál (**3**, **34**) a 17 β -hidroxil-funkció inverziója csökkentette a szteroid (**34**) hormonreceptorhoz való affinitását. Továbbá a flexibilisebb gyűrűrendszerrel rendelkező 13 α -öszttron származékok (**35**, **36**) receptorkötődése elhanyagolható volt a 13 β -öszttron-sorbeli megfelelőikhez (**3**, **34**) képest. Az *in vivo* eredmények összhangban állnak az *in vitro* kísérletekben nyert tapasztalatokkal. A ovariectomizált egerek ösztrogén-érzékeny méhének, illetve hüvelyének tömegnövekedését vizsgálták a diasztereomerek (**3**, **34–36**) beadását követően. Míg a 17 β -ösztradiol (**3**) szignifikánsan, addig a 13 α -epimerek (**35**, **36**) csekély mértékben növelték a méh ill. a petefészek tömegét. Mindezek alapján megállapítható, hogy a természetes, 17 β -ösztradiol (**3**) 13-as szénatomjának konfigurációváltozása hormonálisan inaktív 13 α -epimereket (**35**, **36**) eredményez.



11. ábra: A négy diasztereomer 3,17-ösztradiol (**3**, **34–36**) szerkezeti képlete (zöld: a 17 β -ösztradioltól a C-13 és a C-17 konfigurációjában különböző diasztereomerek)

Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportja a közelmúltban is számos 13α -ösztroon származékot állított elő. A D-homoösztroon és 3-metil-étere, valamint epimer párjainak (**37–40**) szintézisét valósították meg, és *in vitro* sejtosztódást gátló hatásának tesztelését is elvégezték MTT-módszer segítségével, a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével együttműködve (12. ábra).^{35–37} A teszteket három tumoros (Hela, MCF-7, Ishikawa) és egy intakt sejtvonalon (MRC-5) végezték. A négy (**37–40**) vegyületből csak a D-homoösztroon (**37**) mutatkozott potensnek, amely vegyület tumorszelektívnek bizonyult a Hela sejtvonalon ($IC_{50} = 5,5 \mu M$), és összemérhető hatásának a referenciavegyülettel, a ciszplatinnal ($IC_{50} = 6,5 \mu M$, Hela). Megfigyelték, hogy a fenolos hidroxilcsoport helyett metoxi-funkciót tartalmazó vegyületek (**38, 40**) nem mutattak jelentős antiproliferatív hatást. A kísérletek eredményeiből az a következtetés vonható le, hogy D-homoösztroon modellen a 13β -metilcsoport és a szabad fenolos hidroxil-funkció jelenléte kedvez az antitumor hatás kialakulásának. A 13α -ösztroon sorba tartozó homológok (**39, 40**) nem befolyásolják a vizsgált tumorsejtek osztódását.

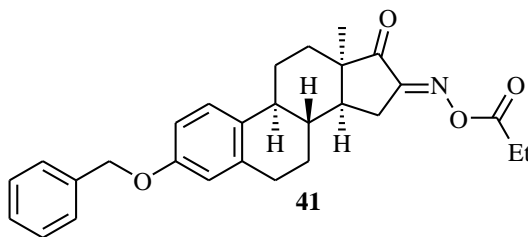


12. ábra: A D-homoösztroon származékok (**37–40**) (barna: a legjobb antiproliferatív hatással rendelkező vegyület)

Annak érdekében, hogy a D-homoösztroon (**37**) hatásmechanizmusát felderítsék, vizsgálták annak ösztrogén, illetve progeszteron receptorhoz való affinitását, radioligand-méréssel.³⁵ Megfigyelték, hogy a D-homoösztroon (**37**) nem kötődik ezen receptorokhoz. A tesztvegyületet (**37**) *in vivo* kísérleti körülmények között is vizsgálták.³⁶ A vegyület (**37**) nem mutatott jelentős uterotrop (a méh tömegének növekedése) hatást. Az eredmények alapján kizárható, hogy a D-homoösztroonnak (**37**) ösztrogén hatású aktív metabolitja képződne a szervezetben. A D-homoösztroon (**37**) hatásmechanizmusát egyéb *in vitro* módszerekkel is tanulmányozták.³⁸ Áramlási citometria segítségével megállapították, hogy a vegyület (**37**) a sejtciklus G2/M (sejtosztódási ciklus ellenőrző pontja, felelős azért, hogy a sejt a G2 fázisból a mitózis fázisba jusson) fázisátmenetét blokkolja. Továbbá a SubG1 (a G1 fázis egy speciális

része, ahol a sejtek nyugvó fázisban vannak, bizonyos kémiai jelek hatására azonban ismét visszakerülhetnek a sejtciklusba) fázis jelentős növekedését eredményezi, amely apoptózis jelenlétére utal. PCR (polimeráz-láncreakció) illetve Western-blot technikával igazolták, hogy a D-homoöszttron (**37**) a G2/M fázist szabályozó fehérjék (ciklin B, stathmin) expresszióját megváltoztatta, ezáltal feltehetően felborult a tubulin-mikrotubulus rendszer dinamikája. A HOPI-festés (Hoechst–Propídium-jodid), a kaszpáz-3 és a kaszpáz-9 aktivitás mérésének eredménye is alátámasztotta, hogy a D-homoöszttron (**37**) képes aktiválni az apoptózis mitokondriális útvonalát, így okozza a Hela sejtekben a programozott sejthalált, ugyanekkor 2,5 μM feletti koncentrációk esetén másodlagos nekrozist indukál.

A D-gyűrű homologizálását követően a Kutatócsoport figyelme a 13α -öszttron váz szubsztituálása felé fordult. A cél az volt, hogy hormonálisan inaktív, potenciálisan tumorelleses származékokat nyerjenek. Sikerült olyan 16-oxim-észtert (**41**) előállítaniuk, amely *in vitro* jelentős antiproliferatív tulajdonságot mutatott (13. ábra).³⁹ Ez volt az első 13α -öszttron származék (**41**) az irodalomban, amely a ciszplatinnal összemérhető sejtosztódás-gátló hatást mutat.



13. ábra: 16-etilkarboniloximino- 13α -öszttra-1,3,5(10)-trién-17-on (**41**)

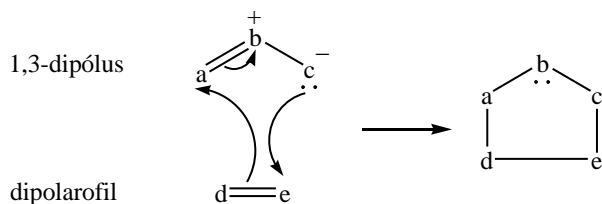
A vegyület (**41**) hatásmechanizmusának felderítése érdekében további kísérleteket végeztek.⁴⁰ Sejtciklus analízissel bizonyították, hogy G1–S (sejtosztódási ciklus másik ellenőrző pontja, amely felelős a sejt G1 fázisból a szintézis fázisba történő eljutásáért) átmenetet gátol, továbbá a SubG1 fázist is koncentráció-függően növelte, ami apoptózisra utalt. A HOPI festés és a kaszpáz-3 aktivitás mérés eredményével igazolták az apoptózis jelenlétét. A DNS-szintézis gátlására, és a sejtciklus S-fázisában (a sejtek DNS szintézisének fázisa) lévő sejtpopuláció csökkenésére az úgynevezett BrdU (5-bróm-2'-deoxiuridin) DNS-be történő beépülésének vizsgálata szolgáltatott további információkat.

2.2. Kémiai előzmények

2.2.1. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók

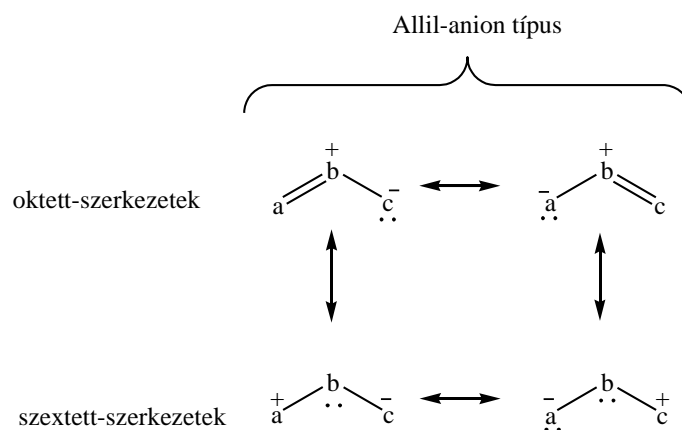
2.2.1.1. Az 1,3-dipoláris cikloaddíció általános ismertetése

Kísérleti munkánk jelentős részét 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciók képezik, amelyekkel hatékonyan állíthatók elő heterociklusos rendszerek.^{41, 42} Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók során egy ikerionos oktett szerkezettel rendelkező 1,3-dipólus, és egy többszörös kötést tartalmazó dipolarofil reagál egymással, így egy ötagú gyűrű alakul ki (14. ábra).⁴² Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók mechanizmusa a mai napig vitatott. Egyes kutatók azt feltételezik, hogy a mechanizmus koncertikus.^{43–45} Mások szerint azonban egy többlépéses reakció, amely során biradikális intermedierek képződnek.⁴⁶



14. ábra: Az 1,3-dipólus és a dipolarofil

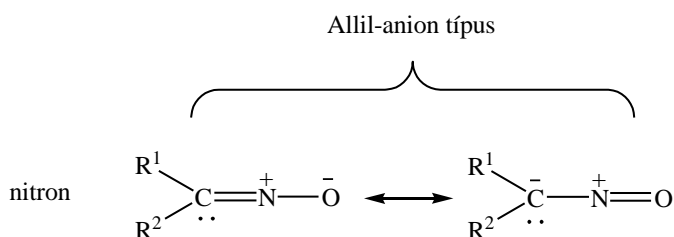
Az a jellemző szerkezeti elem, amellyel az 1,3-dipólus rendelkezik, egy allil-anion típusú π -rendszer, amelyben a σ -váz három szomszédos atomján négy π -elektron delokalizálódik. Az allil-anionnal ellentétben, az 1,3-dipólusok tartalmaznak egy „ónium” centrumot (b), amelynek töltése kompenzálja a kétféle oktett struktúrában a két szélső atomon (a és c) megoszló negatív töltést (15. ábra).⁴⁷ Így az egész rendszer egy olyan hetero-allil-anionnak tekinthető, amely nem hordoz töltést. A terminális atomok nukleofilek és elektrofilek is lehetnek.



15. ábra: Az allil-anion típusú dipólus mezomer szerkezetei

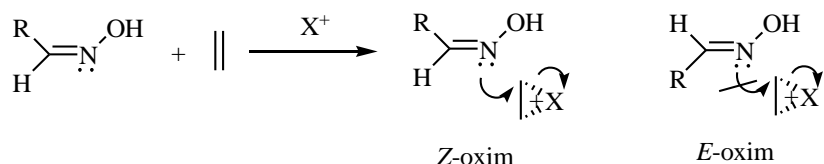
2.2.1.2. Nitron dipólusok előállítása és 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciói

A nitronok az allil-anion típusú dipólusok közé sorolhatók (16. ábra).



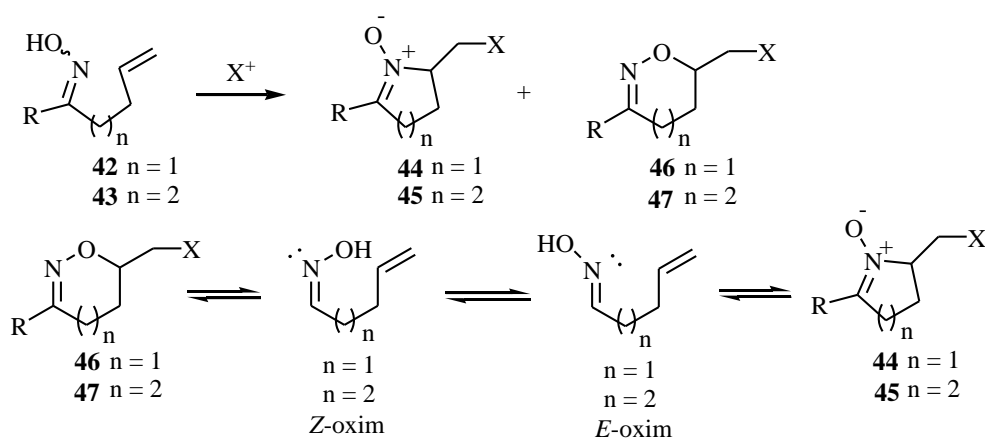
16. ábra: A nitron, mint 1,3-dipólus

A nitronok előállításának egyik irodalomból ismert módszere az oximok és az olefinek elektrofil reagens jelenlétében való nitronképzési reakciója (17. ábra).⁴⁸ A folyamat az elektrofil reagens C=C kettős kötésre való támadásával indul, majd a gyűrűs átmeneti termékre az oxim N-, vagy O-atomja indítja a nukleofil támadást. Az intermolekuláris reakciók során az oxim sztereokémiája dönti el, hogy melyik atom viselkedik nukleofilként. Z-oxim esetén a N, míg E-oxim esetén ez sztereokémiaiilag kedvezőtlen, így az O fejt ki a nukleofil támadást.



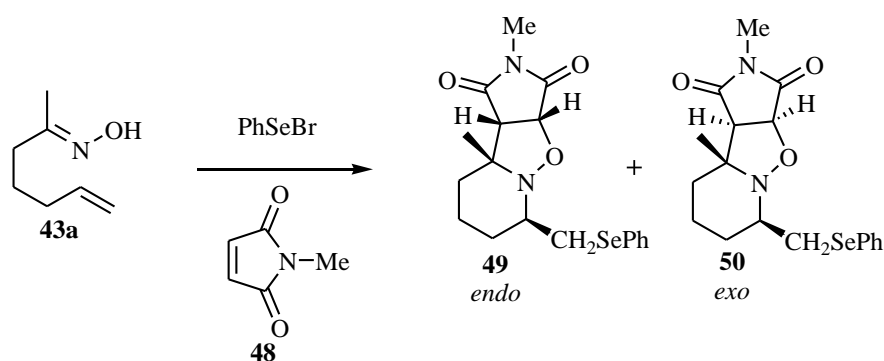
17. ábra: Az oxim és az olefin elektrofil-indukált reakciója

Grigg és munkatársai, valamint Tiecco és kutatócsoportja intramolekuláris gyűrűzárást hajtottak végre nyílt láncú alkenil-oximokból kiindulva (18. ábra).^{48–52} A γ -alkenil-oxim (**42**) elektrofil reagenssel öttagú gyűrűs nitron (**44**) képezett, melléktermékként pedig hattagú oxazint (**46**) izoláltak. Ezzel szemben δ -alkenil-oximból (**43**) kizárólag hattagú gyűrűs nitron (**45**) képződött, a héttagú oxazepin (**47**), mint melléktermék nem volt izolálható. Tiecco és munkatársai megfigyelték, hogy 17 órás reakcióidő elteltével már kizárólag gyűrűs nitronok (**44**, **45**) voltak a reakcióelegyben. Az olasz kutatók azt feltételezték, hogy a kiindulási oximokból (**42**, **43**) képződő 1,2-oxazin és 1,2-oxazepin (**46**, **47**) egyensúlyi folyamatban átalakult a termodinamikailag stabilabb termékekké (**44**, **45**).



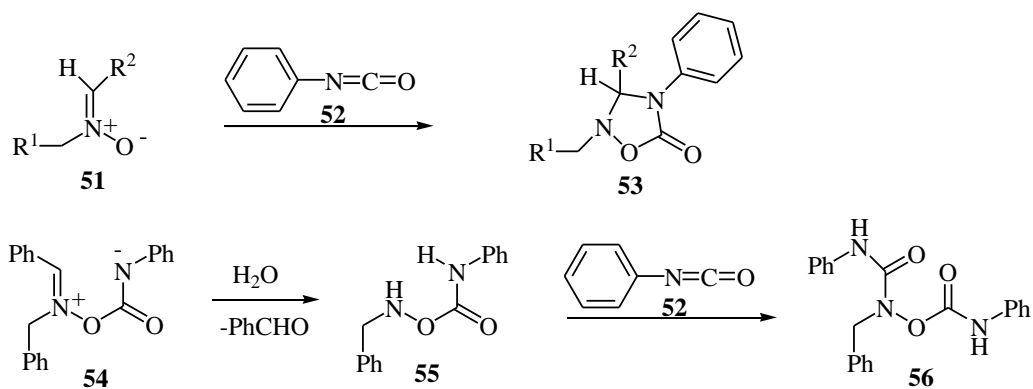
18. ábra: Nyíltláncú alkenil-oximok (**42**, **43**) elektrofil-indukált gyűrűzárása

Grigg és kutatócsoportja fenilszelenilbromid (PhSeBr) segítségével hajtott végre elektrofil-indukált nitronképzést, azt követően a dipólust *N*-metilmaleimid (NMM, **48**) C=C dipolarofillel reagáltatták.⁵¹ Az 1,3-dipoláris cikloaddíció nem bizonyult sztereoszelektívnek. A 19. ábrán látható *endo*- és *exo*-cikloadduktumok (**49**, **50**) képződtek 3:2 (**49**:**50**) arányban. A gyűrűzárás során kizárólag *N*-alkilezés történt, *O*-alkilezést nem tapasztaltak.



19. ábra: Az 1,3-dipoláris cikloaddíció során képződő *endo*- és *exo*-sztereoizomer (**49**, **50**)

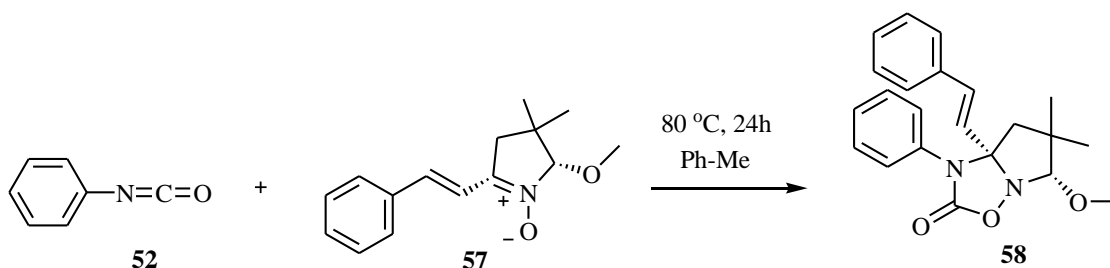
Coskun és Parlar, elektrofil-indukált nitronképzést követően, a dipólusokat (**51a–g**) fenilizocianát (**52**) $\text{C}=\text{N}$ dipolarofillel reagáltatták (20. ábra).⁵³ A nitronok (**51a–g**) fenilizocianáttal (**52**) való gyűrűzárásában oxadiazolidinon származékokat (**53a–g**) nyertek. Megvizsgálták a nitronok (**51a–g**) szubsztituenseinek a reakcióra gyakorolt hatását. Megfigyelték, hogy azon oximok, amelyekben az $\text{R}^2 = \text{H}$ (**51a**), vagy az R^1 elektronküldő csoportot (**51a**, **c**, **f**) tartalmaz, rövid reakcióidővel, nagy hozammal szolgáltatott az 1,2,4-oxadiazolidinonokat (**53a**, **c**, **f**). Az R^1 helyzetben elektronvonzó csoportot tartalmazó oximok (**51b**, **d**, **e**, **g**) esetében a reakcióidő jelentősen nőtt, a hozam ugyanakkor csökkent. Ha a fenilizocianátot (**52**) 3-szoros feleslegben alkalmazták, és a reakciókat az acetonitril forráspontján végezték, akkor a kívánt cikloadduktumokhoz (**53a–g**) jutottak. Szobahőmérsékleten, 24 óra alatt sem ment végbe az 1,3-dipoláris cikloaddíció. Ilyen körülmények között az *N,O*-difenilkarbamoil-*N*-benzil-hidroxilamint kapták (**56**, 20. ábra). A kutatók ebben az esetben azt feltételezték, hogy a 20. ábrán látható **54**-es intermedier képződik, amely az **55**-ös jelű vegyületen keresztül, újabb fenilizocianáttal (**52**) történő reakcióban továbbalakul az **56**-os vegyületté.



51, 53	R ¹	R ²
a	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	H
b	2-NO ₂ C ₆ H ₄	H
c	Ph	Ph
d	2-NO ₂ C ₆ H ₄	2,3-(MeO) ₂ C ₆ H ₃
e	2-NO ₂ C ₆ H ₄	Ph
f	2,3-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	Ph
g	3-NO ₂ C ₆ H ₄	Ph

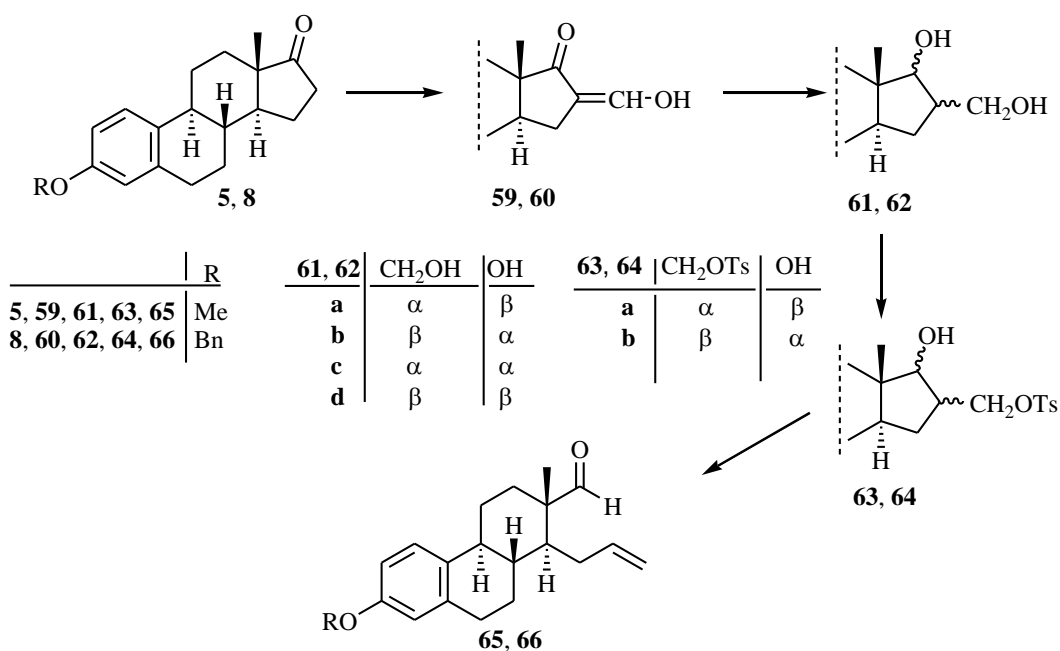
20. ábra: Nitronok (**51a–g**) fenilizocianát C=N dipolarofillel (**52**) történő 1,3-dipoláris cikloaddíciója

Buchlovic és munkatársai gyűrűs nitron dipólust képeztek (**57**), amelynek 1,3-dipoláris cikloaddícióját fenilizocianát dipolarofillel (**52**) valósították meg (21. ábra).⁵⁴ Az átalakulás során, 24 óra alatt, 80 °C-on, sztereoszelektíven nyerték az oxadiazolidinon származékot (**58**), azonban a hozam (60%) alacsony volt.



21. ábra: A gyűrűs nitron dipólus (**57**) 1,3-dipoláris cikloaddíciója fenilizocianát C=N dipolarofillel (**58**)

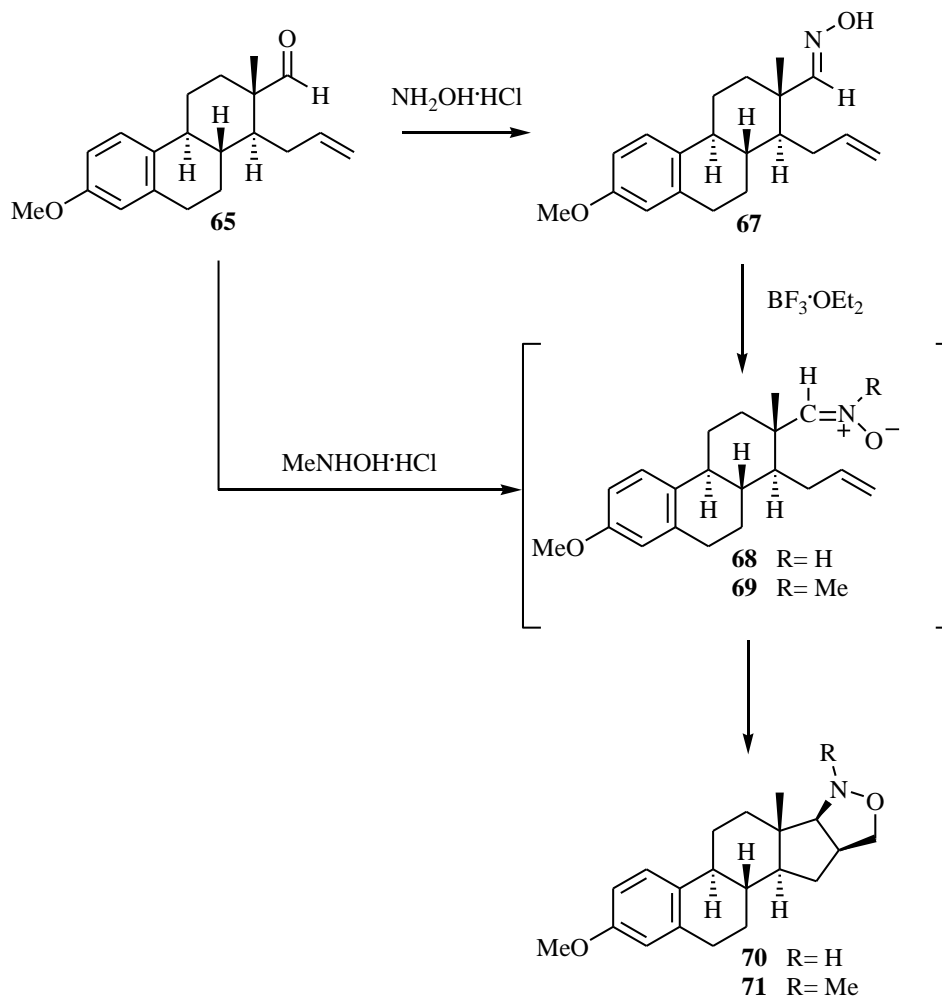
Nitron dipólusok szintézisét és 1,3-dipoláris cikloaddícióit a közelmúltban Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportja szteroid modellen is megvalósította.^{55, 56} A D-szekooximok kiindulási aldehydjének előállítására hatékony módszert dolgoztak ki a 13 β -ösztron sorban.^{57–59} Az ösztron 3-as helyzetben védett származékaiból (**5**, **8**) kiindulva a 16-os szénatomon formilezték a vegyületeket (**5**, **8**) etil-formiáttal, nátrium-metilát jelenlétében (22. ábra). A formilezést követően hidrides redukcióval *cis*-z- (**61c**, **d** és **62c**, **d**) és *transz*-1,3-diolok (**61a**, **b** és **62a**, **b**) keverékét kapták. A D-gyűrű felnyitásához előbb a *primer* hidroxil-funkciót jó távozó csoporttá alakították, majd a tozilezett *transz*-vegyületeket (**63a**, **b** és **64a**, **b**) Grob-fragmentációnak vetették alá. Az 1,3-*transz*-helyzetű alkoholos hidroxil- és a toziloicsoprt térben távol helyezkednek el egymástól, így adottak a feltételek a fragmentációhoz. Lúgos, metanolos forralást követően nyerték a hasznos intermediereként szolgáló D-szekoaldehydeket (**65**, **66**).



22. ábra: A D-szekoaldehydeket (**65**, **66**) szintézise

A D-szekoaldehydet (**65**) hidroxilamin-hidrokloriddal oximmá (**67**) alakították (23. ábra).⁵⁵ Az aldoximból (**67**) Lewis-sav katalizátor (BF₃·OEt₂) hatására nitront (**68**) képeztek. A dipólus (**68**) szintézisét intramolekuláris 1,3-dipoláris cikloaddíció követte. A gyűrűzáródás sztereoszelektíven ment végbe, és a 23. ábrán látható izoxazolidin származékot (**70**) nyerték. A ciklizáció Lewis-sav katalizátor nélkül is megvalósítható *N*-metilhidroxilamin-

hidrokloriddal. Az így képződött nitron (**69**) a propenil-oldallánc kettős kötésével (C=C dipolarofil) intramolekuláris 1,3-dipoláris cikloaddícióban *N*-metilizoxazolidin származékká (**71**) alakult. A ciklizáció ebben az esetben is sztereoselektívnek bizonyult.

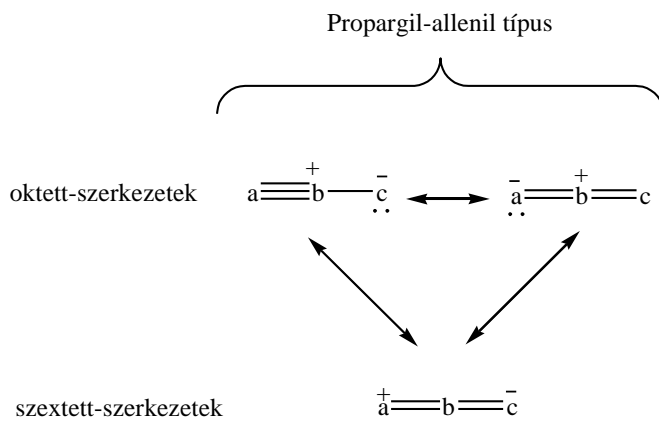


23. ábra: Ösztránvázis izoxazolidinok (**70–71**) előállítása Lewis-sav-indukált 1,3-dipoláris cikloaddícióval

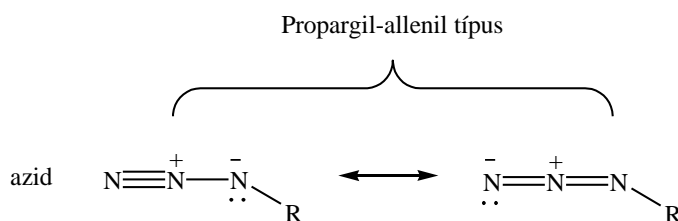
2.2.1.3. Azid dipólusok előállítása és 1,3-dipoláris cikloaddíciói

Disszertációm folytatásában azid típusú dipólusok cikloaddíciós reakcióit tárgyalom. Az azidok a propargil-allenil típusú dipólusok közé tartoznak (24. és 25. ábra). Ezek négy π -elektront tartalmazó delokalizált rendszert alkotnak, a dipólus síkjában lévő betöltött π -pálya miatt lineáris alkatúak. Három mezomer szerkezetük írható fel. A π -elektronok formális vándorlásával, amelyből kettőnél a *b* az „ónium” centrum, és az *a* illetve a *c* atom hordozza a

negatív töltést. Ezekből származtatható egy olyan mezomer-szerkezet, amelyben a *b* központi atom semleges, és az *a*-atom a pozitív, míg a *c*-atom a negatív töltést hordozza. A propargil-allenil típusú rendszerek központi atomként (*b*) kizárólag nitrogént tartalmaznak.



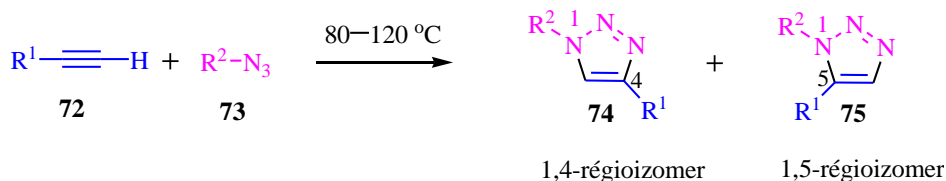
24. ábra: A propargil-allenil típusú dipólus mezomer szerkezetei



25. ábra: Az azid, mint 1,3-dipólus

Az azid dipólusok alkin dipolarofilekkel való reakciói már az 1960-as évektől ismertek az irodalomban.^{42, 60, 61} A [3+2]-cikloaddíciók során triazolok képződnek, ahol az azid, mint propargil-allenil típusú 1,3-dipólus reagál az alkin dipolarofillel. A „click-reakció” fogalmát a 2000-es évek elején vezették be, amely jellemzője, hogy kisebb szerkezeti elemek összekapcsolásával, kedvező reakciókörülmények között, jó sztereo- és régiószelktivitással állíthatók elő a kívánt vegyületek.⁶² Kolb, Finn, és Sharpless mutattak rá a „click-kémia” környezetbarát jellegére, így az oldószer nélküli, vagy vizes közeg alkalmazására, a magas hozam elérésére, és a nagy szelektivitásra.⁶² Az azidokkal való munka azonban fokozott óvatosságot igényel. Kis mechanikai behatásra, vagy magas hőmérsékleten ugyanis nitrogén elimináció mellett robbanásszerűen bomlanak. Alkin-azid 1,3-dipoláris cikloaddícióval

Huisgen és munkatársai foglalkoztak behatóbban.⁶¹ Magas hőmérsékleten (80–120 °C) a 26. ábrán látható régióizomereket (**74**, **75**) nyerték azonos arányban.

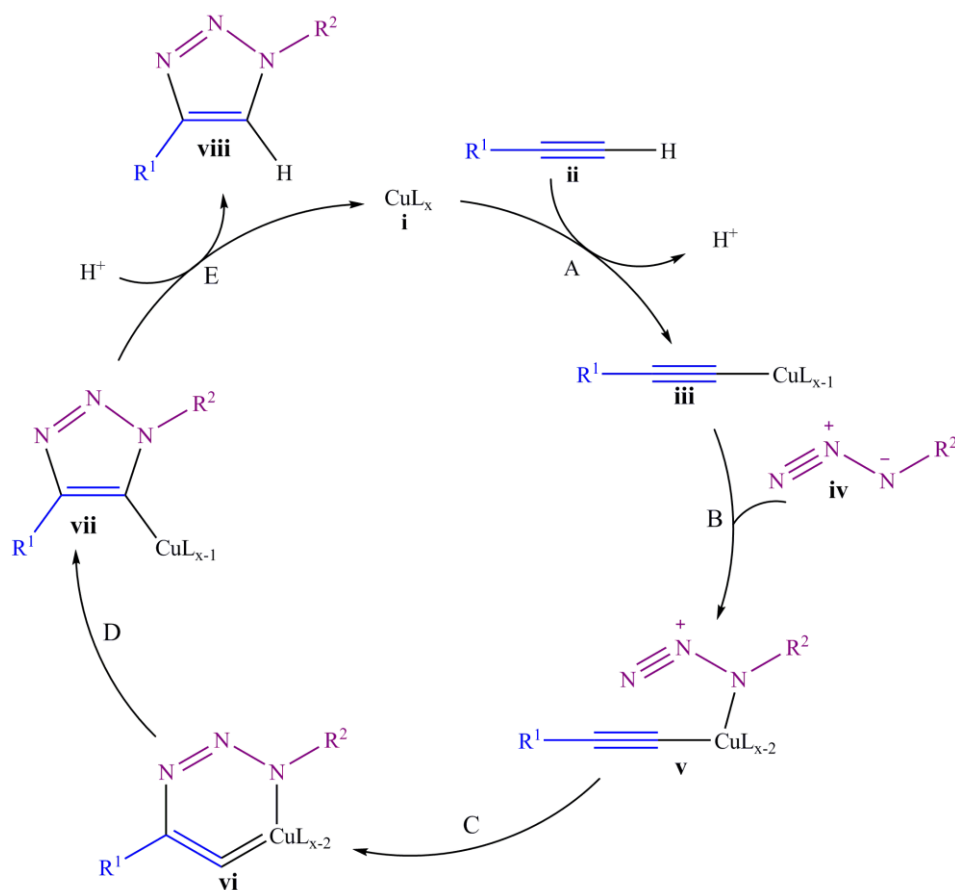


26. ábra: A Huisgen-féle 1,3-dipoláris cikloaddíció

A „click-reakciót” Sharpless⁶³ és Meldal⁶⁴ kutatócsoportja egymástól függetlenül, ugyanabban az évben fejlesztette ki, amely a Cu(I)-ion katalizált azid-alkin cikloaddícióként (CuAAC) vált ismertté. A réz(I)-katalizátor a reakciósebességet mintegy hét nagyságrenddel növeli, továbbá az 1,4-regioizomer képződésének kedvez. A katalitikus folyamat előnye az is, hogy széles hőmérséklet- (0–160 °C) és pH-tartományban (pH = 4–12) megvalósítható. A Cu(I)-iont vagy közvetlenül adják a reakcióelegyhez CuI^{65, 66} vagy CuBr⁶⁷ formájában, vagy *in situ* állítják elő Cu(II)-ionok redukciójával.^{24, 68–70} Ha réz(I)-só formájában visszük be a katalizátort, akkor szükségszerűvé válik az aminok (DIPEA, Et₃N), vagy magasabb hőmérséklet alkalmazása. Cu(II)-ion forrásként általában CuSO₄·5H₂O-t használnak, amelyet egy redukáló ágens segítségével (nátrium-aszkorbát) alakítanak át Cu(I)-ionná. Elemi rézforrást is használnak, amely akár forgács, vagy egy rézszál is lehet, így annak a felületén alakulnak ki a Cu(I)-ionok.^{71, 72} A gyorsító poliligandumok alkalmazása nem szükségszerű, de jelentősen növeli a reakciósebességet.⁷³ Ilyenek például a többfogú *N*-donor segédanyagok, vagy a trifenilfoszfán. Az utóbbi hátránya az, hogy a folyamatot a Staudinger-reakció kísérheti. Ennek során az azid aminná alakulhat, így az egyik reakciópartner „hiánya” következtében nem megy végbe az 1,3-dipoláris cikloaddíció.

A „click-reakció” feltételezhető mechanizmusának alapját a DFT-számítások adják.⁷⁴ A folyamat első lépéseként a komplexált réz-ion (**i**) π -komplexet alakít ki a terminális acetilénnel (**ii**), amely jelentősen csökkenti az alkin (**ii**) pK_a értékét, így az elég savassá válik ahhoz, hogy protonvesztés mellett réz(I)-acetiliddé (**iii**) alakuljon (27. ábra). A réz-komplexről (**i**) ugyanekkor egy ligandumot is leszorít az alkin (**ii**). A következő lépésben (**B**) az azid (**iv**) negatív töltést hordozó *N*-atomja koordinálódik a réz-acetilidhez (**iii**), egy újabb ligandumot leszorítva a réz-komplexről. Az azid (**iv**) terminális nitrogénje ezek után nukleofil

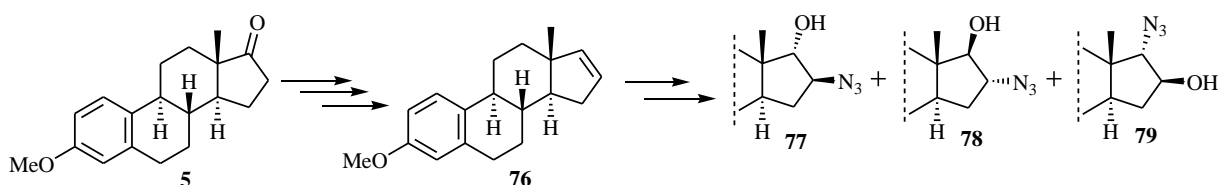
támadást indít az acetilén C-2 szénatomjára, és intramolekuláris gyűrűzárás eredményeként egy hattagú réz-metallaciklus (**vi**) jön létre. Az intermediér (**vi**) képződése endoterm folyamat, és kisebb aktiválási energiát igényel, mint a katalizátor nélküli folyamat, ezzel magyarázható a hét nagyságrendbeli sebességnövekedés. A mechanizmus utolsó lépésében (**D**) gyűrűszűküléssel alakul ki a Cu(I)-triazolil komplex (**vii**), majd ennek protonálódásával (**E**) jön létre a kívánt triazol (**viii**) a katalizátor aktív formájának regenerálódása mellett.



27. ábra: A „click-reakció” feltételezett körfolyamata

A CuAAC reakciók lehetővé teszik oldószerek, oldószerkelegyek széleskörű alkalmazását, amelyek apoláris és poláris jellegűek egyaránt lehetnek. Meldal és Tornøe vizsgálták az oldószereknek a reakciókra gyakorolt hatását.⁷⁵ A reakciók gyors lefutása érdekében olyan oldószert érdemes választani, amely a katalizátor szolvatálódását elősegíti. A poláris oldószer a heterociklusok kiépülésének kedvez. Amennyiben a szubsztrát apoláris jellegű, akkor a toluol, vagy a tetrahidrofuran a megfelelő oldószer.⁷⁶

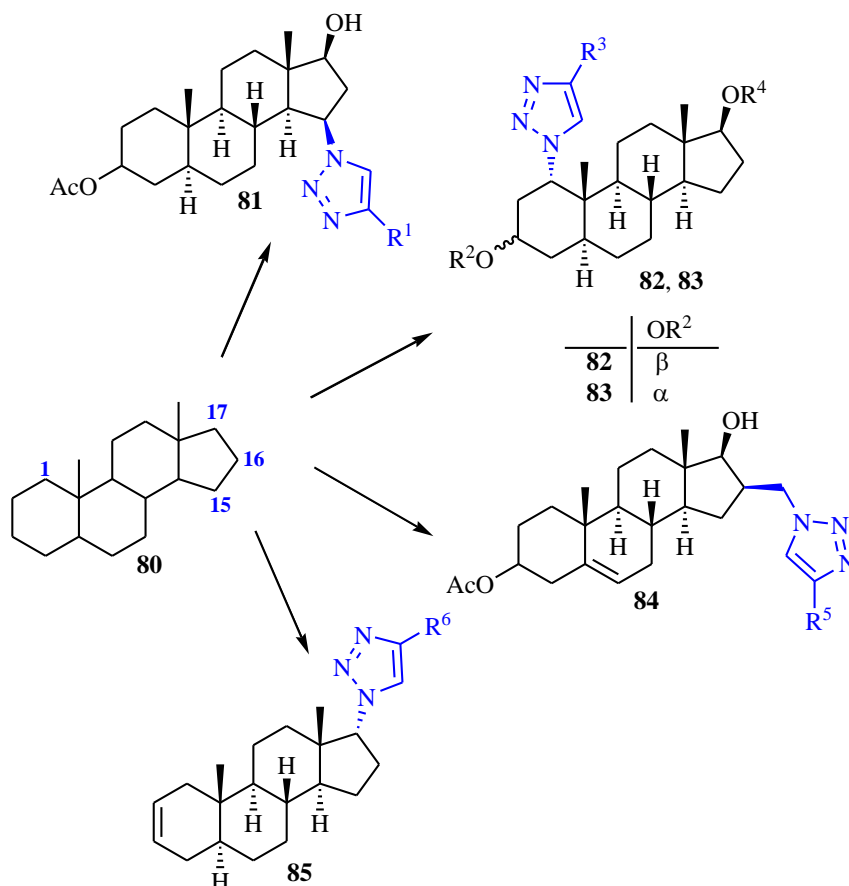
Azid dipólusokat szteroid modellen a közelmúltban több kutatócsoport is előállított.^{28–33, 77–83} Az azid-funkció kiépítésének legismertebb módszerei: az epoxidnyitás, a halogén-azid csere, az α,β -telítetlen ketonok 1,4-Michael addíciója, illetve a 16-os vagy 17-es helyzetben lévő hidroxil-funkció jó kilépő csoporttá történő átalakítása TsCl-dal, és az azt követő S_N2 szubsztitúciós reakció NaN_3 -dal.³³ Schönecker és munkatársai az azidok (**77–79**) szintézisét epoxidok gyűrűnyitásával valósították meg (28. ábra).^{77–79} Az ösztron-3-metil-éterből (**5**) egy többlépéses reakciósort követve nyerték a szteroid-olefint (**76**). Az alkénből (**76**) epoxidálást, majd az epoxid nátrium-aziddal történő gyűrűnyitását követően azidoalkohol (**77–79**) régióizomereket állítottak elő.



28. ábra: Azidoalkoholok (**77–79**) előállítása

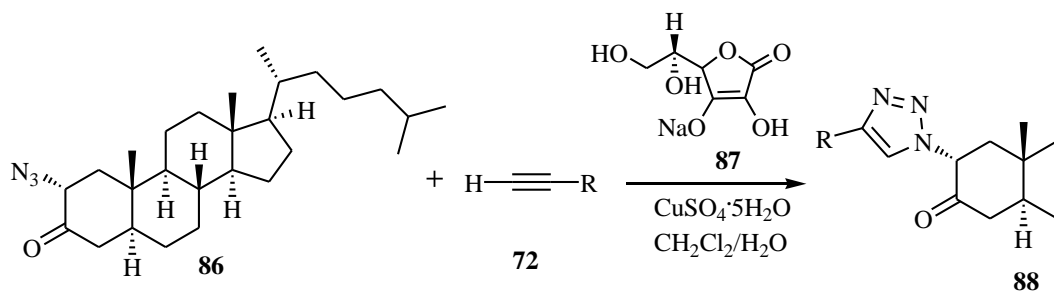
A Szerves Kémiai Tanszék Szteroid Kutatócsoportja számos alapvázon, különböző helyzetbe építettek be triazolil-funkciót.^{28–32, 82, 83} A cél a CuAAC reakciók optimalizálása, a reakcióidők csökkentése, a magas hozamok elérése és a régiószelektív szintézisek kidolgozása volt. A **81**-es jelű vegyületet a 15 β ,17 β -azidoalkoholokból kiindulva CuAAC reakció alkalmazásával (29. ábra), különbözően szubsztituált terminális acetilének felhasználásával alakították ki. Cu(I) forrásként CuI-ot használtak, trifenilfoszfán komplexáló ligandum, és diizopropil-etilamin (DIPEA) bázis mellett. A 70–75%-os hozamok elmaradtak a „click-reakcióknál” megszokott magas értékektől. Azt tételezték fel, hogy a 17 β -hidroxilcsoport és a 15 β -azido-funkció azonos térállása rontotta a cikloaddíciós átalakítások hozamát. A **82**-es és a **83**-as jelű vegyülethez *transz*- illetve *cisz*-térállású azidoalkoholok CuAAC reakciójával jutottak. Megfigyelték, hogy a **81**-es vegyület esetében alkalmazott reakciókörülmények mellett, a toluol forráspontján végezve az 1,3-dipoláris cikloaddíciókat, mindkét azidoalkohol esetében régiószelektíven mennek végbe a gyűrűzárások. A *transz* származékoknál (**82**) 90% feletti, míg a *cisz* származékoknál (**83**) csupán 60% körüli hozamokat tapasztaltak. A **84**-es vegyület szintézise során kizárólag 1,4-diszubsztituált vegyületeket nyertek, továbbá a „click-reakcióhoz” szükséges Cu(I)-ionokat *in situ* generálták $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ és Na-aszkorbát

segítségével. Ezen vegyület (**84**) alkalmazásának előnye, hogy a 3-as helyzetű acetoxicsoprot bázikus közegű hidrolízisével szabad hidroxil-funkcióhoz jutottak, amely hozzájárult a vegyület (**84**) kedvező biológiai aktivitásához. A **85**-ös származékok előállítása esetén toluol helyett a diklórmétán forráspontján végezték az átalakításokat, trifenilfoszfán komplexáló ligandum mellett, bázis jelenléte nélkül. A gyűrűzárások 24 óra alatt végbementek, régiószelektíven szolgáltatva a **85**-ös androsztánvázis vegyületeket.



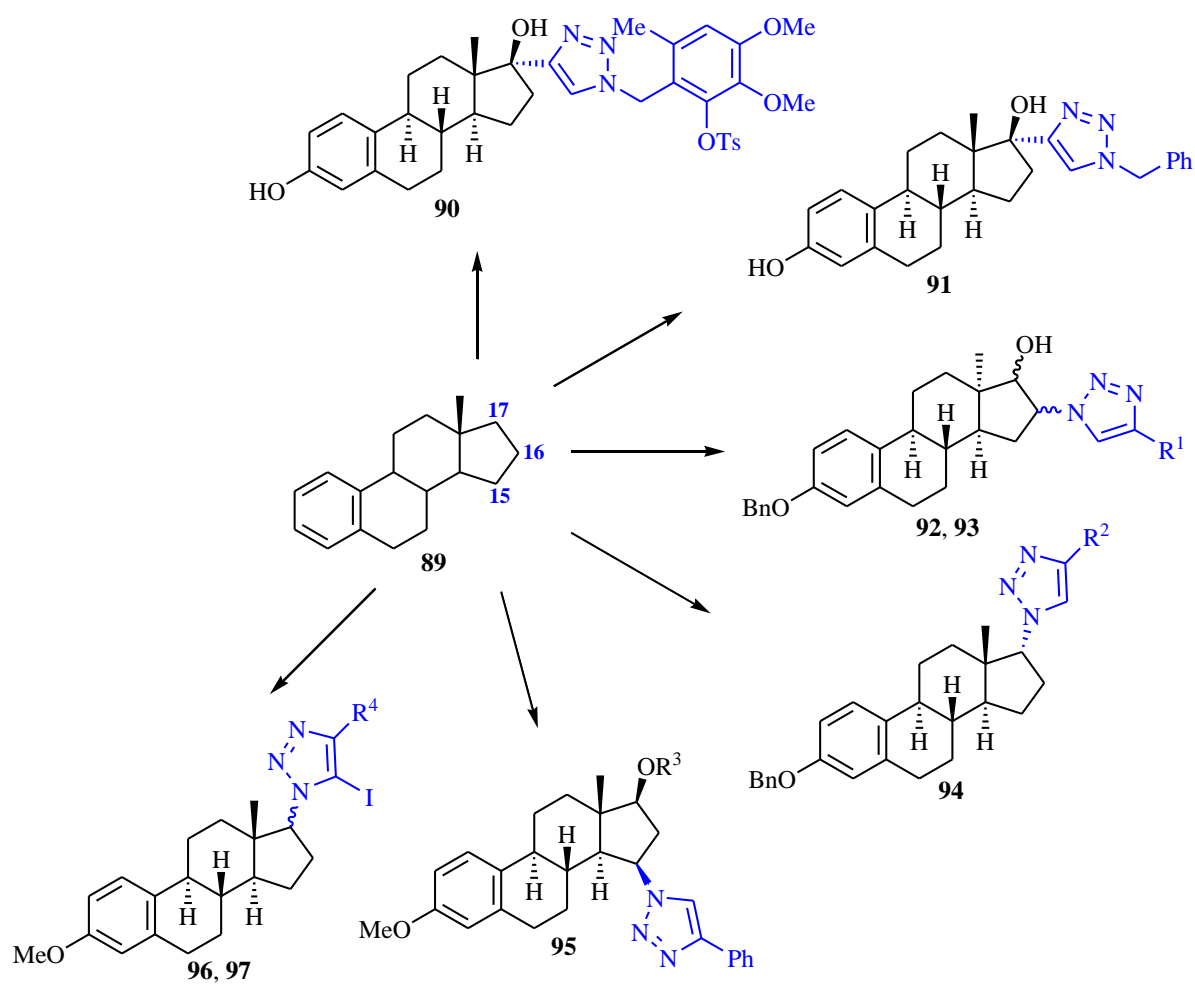
29. ábra: Triazolil-funkció beépítése az androsztánvázra (kék)

Kutatócsoportunk az androsztánvázis származékok (**81–85**) mellett a kolesztánvázis szteroidok azid-alkin-típusú cikloaddíciós reakcióit is végrehajtotta (30. ábra).²⁹ A 2α-azidoketont (**86**) különbözőképpen szubsztituált terminális acetilénnel (**72**) reagáltatták. Kétfázisú oldószerkeletet alkalmaztak (CH₂Cl₂/H₂O), a Cu(I)-iont az androsztánvázis származékoknál (**84**) ismertetett módszer szerint *in situ* generálták.



30. ábra: A kolesztánváz triazolil származékok (**88**) előállítása

Az ösztránváz triazolok szakirodalma ugyancsak számos példát ismer.^{33, 80–83} Lipschutz és Taft olyan CuAAC reakciókat hajtott végre, amelyek során Cu/C katalizátort alkalmaztak.⁸⁰ A 17α -etinilösztradiolt választották modellvegyületként. Az 1,3-dipoláris cikloaddíció eredményeként jó hozammal nyerték a 31. ábrán látható **90**-es jelű vegyületet. Alonso és munkatársainak kiindulási anyaga ugyancsak a 17α -etinilösztradiol volt, viszont a benzil-aziddal történő „click-reakció” során nanoszemcsés rézkatalizátort alkalmaztak trietilamin bázis jelenlétében.⁸¹ Az intermolekuláris gyűrűzárás során régiószelektíven, rövid idő alatt nyerték a cikloadduktumot (**91**). A Szerves Kémiai Tanszék Szteroidkémiai Kutatócsoportja az ösztránváz különböző helyén kapcsolódó triazolil származékot szintetizált.^{33, 82, 83} Az így előállított vegyületek antitumor hatását is vizsgálták. A 13α -ösztron sorban két *transz*-diasztereomert, a $16\alpha,17\beta$ - (**92**) és $16\beta,17\alpha$ -származékot (**93**) szintetizáltak. A 13β -sorban 17α - (**94**), valamint 15β -triazolokat (**95**, a 17-es szénatomon hidroxil- vagy acetoxicsoport) állítottak elő. Az átalakításokra jellemző, hogy CuI katalizátor alkalmazásával, DIPEA és PPh_3 jelenlétében, diklórmetán vagy toluol forráspontján játszódtak le. A közelmúltban a 17-(5'-jód)triazolil epimerek (**96** – 17α -triazolil, **97** – 17β -triazolil) szintézisét is megvalósították. A jód kationnak az 5'-helyzetbe való beépülését trietilamin jelenlétében figyelték meg. A kutatócsoportunk által előállított ösztránváz triazolok biológiai jelentőségét az adja, hogy számos képviselőjük hatékony antiproliferatív vegyületnek bizonyult.



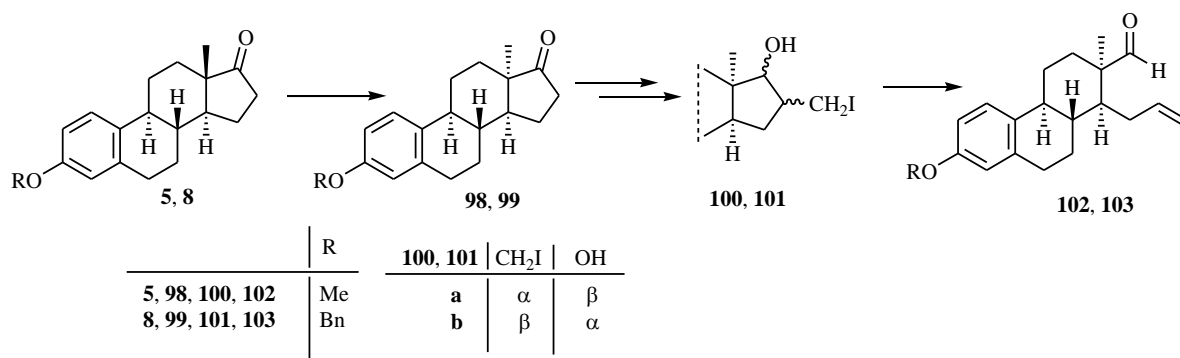
31. ábra: Ösztránvázás triazolok (90–97)

2.2.2. A Prins-Ritter-reakció

2.2.2.1. A Prins-reakció

A Prins-reakció egy protonált karbonilvegyületnek alkénre vagy alkinre történő addíciója.⁸⁴ A reakciómechanizmus értelmezése szerint a Prins-reakcióban az oxovegyületek Lewis-, vagy Brønsted-sav jelenlétében alkénnel reagálnak, és az így kialakuló β -karbokation többféle módon alakulhat tovább. Ez történhet egyszerű nukleofil-támadással, másrészt protonvesztéssel, vagy egy újabb molekula oxovegyülettel való reakcióval. A Prins-reakciónak ismeretes intra-, illetve intermolekuláris változata is. Az intramolekuláris folyamatban ugyanazon molekulán lévő funkciós csoportok reagálnak egymással, és az azt követő gyűrűzárás eredményeként öt, hat és héttagú származékok alakíthatók ki.^{85–87}

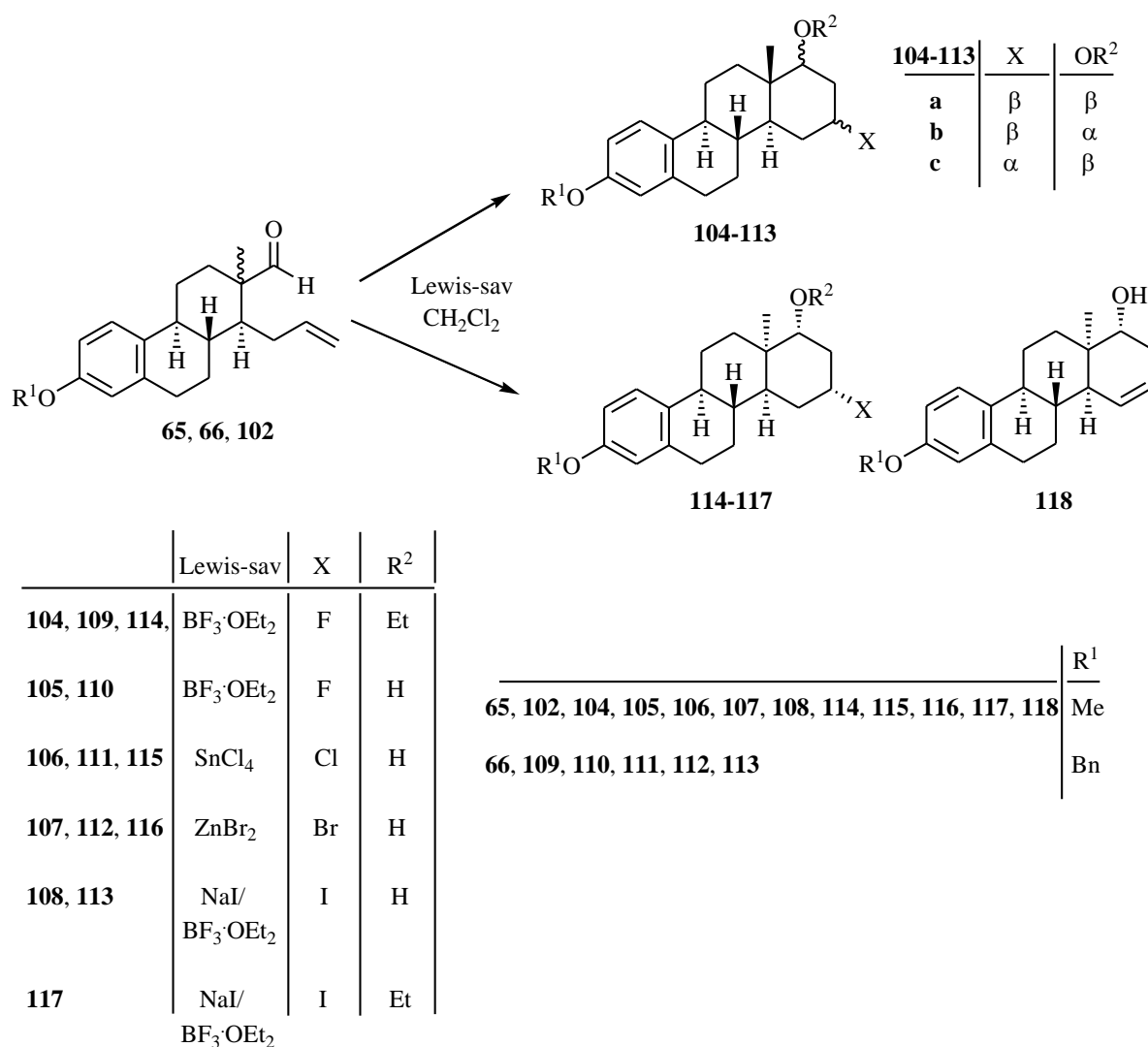
Szteroidkémiai Kutatócsoportunk a közelmúltban a kiindulási anyagként használt 13α -epimer D-szekoaldehyde szintézisét valósította meg, hasonló reakcióúton, mint 13β -megfeleelőiket.^{58, 59, 79, 88–91} Schönecker és munkatársai a 3-as helyzetben védett öszttron származékokat (**5**, **8**) egylépésben epimerizálták *o*-feniléndiamin segítségével, jégecetes közegben. Kutatócsoportunk ezen kidolgozott eljárást továbbfejlesztve jutott a 32. ábrán látható 13α -származékokhoz (**98**, **99**), amelyekből többlépéses reakciósorban, Grob-fragmentációt alkalmazva kulcslépésként, nyerték a *cisz*-helyzetű oldalláncokat tartalmazó 13α -D-szekoaldehydeket (**102**, **103**).



32. ábra: A 13α -D-szekoaldehyde (**102**, **103**) előállítása

Az intramolekuláris Prins-reakciókat a 13β - és a 13α -öszttron sorba tartozó D-szekoaldehydekekkel (**65**, **66**, **102**) hajtották végre, Lewis-savakat alkalmazva katalizátorként

(33. ábra).⁹² A 13 β -ösztron sorban a D-szekoaldehyde (65, 66) gyűrűzárását diklórmetános közegben, 1,1 ekvivalens mennyiségű Lewis-savval (BF₃·OEt₂, SnCl₄, ZnBr₂) valósították meg. A reakciók kemoszелеktíven játszódtak le, minden esetben 16-halo-17a-hidroxi (105–108, 110–113) vagy 16-halo-17a-etoxi származékokat (104, 109) eredményezve. Főtermékként a 16 β ,17a β -izomerek (104a–113a), míg melléktermékként a 16 β ,17a α -származékok (104b–113b) képződtek. BF₃·OEt₂-ot alkalmazva 16 α -fluorszármazékok is képződtek. Ez a fluoratom kis méretével magyarázható, hogy mindkét oldalról indíthat nukleofil támadást a 16-os karbokationra. BF₃·OEt₂ hatására a 17a-hidroxil-funkció átéteresítését (104, 109) is tapasztalták. A 13 α -ösztron sorban a reakciók minden esetben sztereoszelektíven a 16 α ,17a α -D-homoszteroidokat (114–117) szolgáltatták. Abban az esetben, amikor Lewis-savként ZnBr₂-ot alkalmaztak, a halohidrinek (114–117) mellett homoallil-alkoholt (118) is izoláltak. A 13 β -ösztron származékoknál (65, 66) a NaI-dal történő átalakítás esetében katalitikus mennyiségű BF₃·OEt₂ alkalmaztak, azonban a 13 α -ösztron sorban csupán 1,1 ekvivalens mennyiséggel ment végbe ugyanezen reakció. Megfigyelték továbbá, hogy a 13 α -szekoaldehyd (102) gyűrűzárási reakcióinak sebessége csökkent, ugyanekkor a sztereoszelektivitása nőtt a 13 β -származékokéhoz (65, 66) képest.

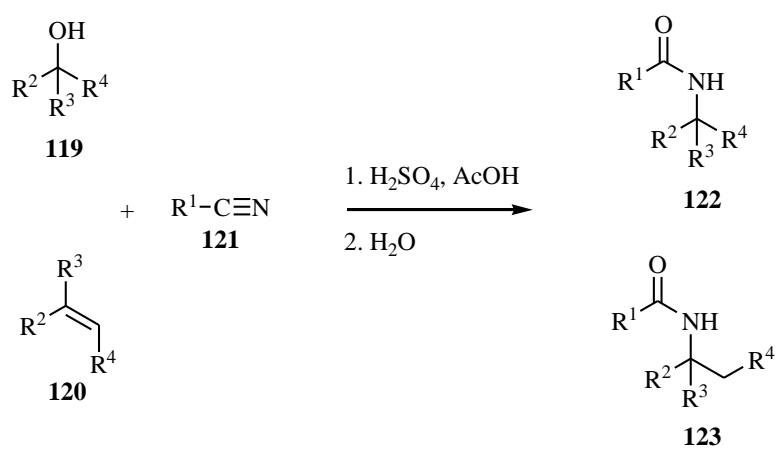


33. ábra: Lewis-sav-indukált Prins-reakció a 13 α - és a 13 β -ösztron sorban

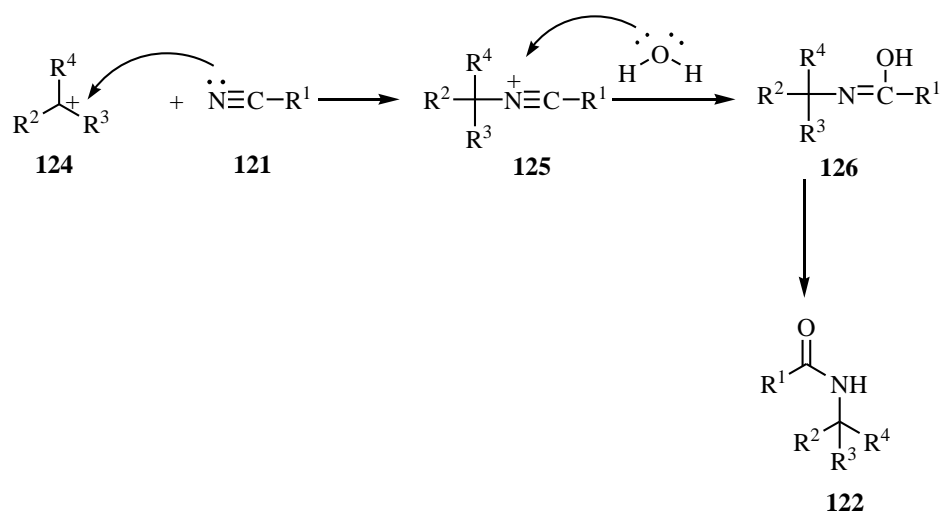
2.2.2.2. A Ritter-reakció

A múlt század közepén Ritter és munkatársai új módszert ismertettek a savamidok (**122**, **123**) szintézisére, amely Ritter-reakció néven vált ismertté (34. ábra).⁹³ Ezen folyamat során *tercier* alkoholból (**119**), vagy olefinből (**120**) nitril (**121**) hatására savamidok (**122**, **123**) képződnek. Az alkohol (**119**) savamiddá (**122**) történő átalakulásának feltételezett mechanizmusát a 34. ábra szemlélteti. Az *in situ* képződő karbokationra (**124**) a nitril (**121**) nukleofil támadást indít, így kialakul a nitrílium-ion (**125**), amelynek hidrolízise savamidot (**122**) eredményez. A Ritter-reakció általában ekvivalens mennyiségű erős savat igényel. Így a savérzékeny

funkciós csoporttal rendelkező vegyületek jelentősen korlátozzák ezen reakciótípus alkalmazhatóságát.

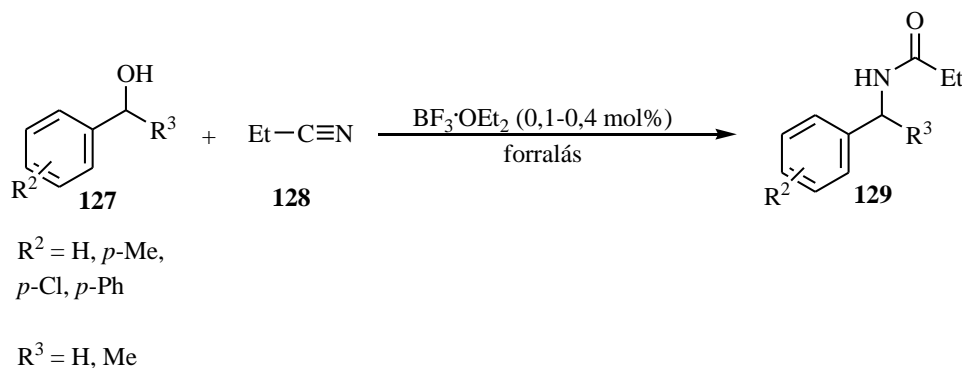


Mechanizmus:



34. ábra: A klasszikus Ritter-reakció

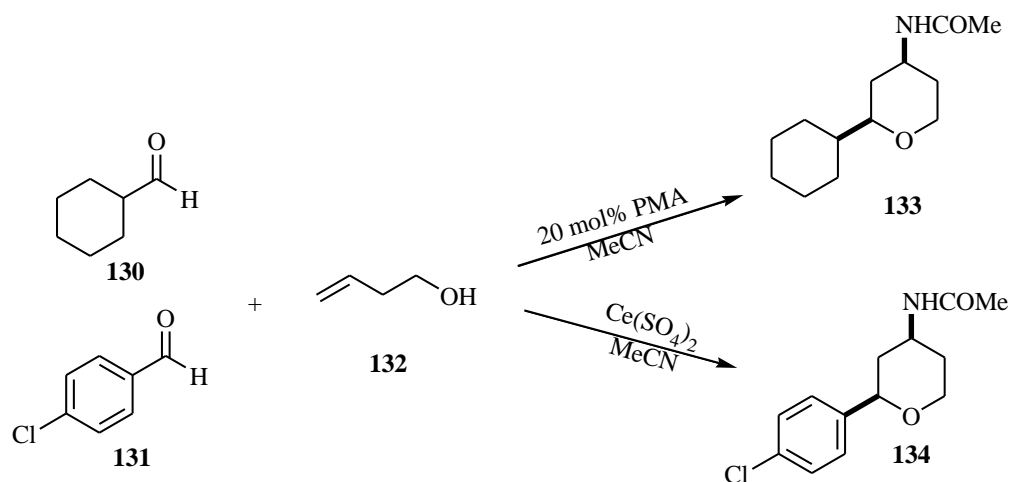
A Ritter-reakció a Brønsted-savak mellett Lewis-savakkal is katalizálható. Badparva és munkatársa 1994-ben számoltak be először a benzilalkohol (**127**) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -tal (Lewis-sav) katalizált savamidképzéséről (35. ábra).⁹⁴



35. ábra: Lewis-sav-katalizált Ritter-reakció

2.2.2.3. A „one pot” Prins-Ritter reakció:

A Prins-Ritter reakció lehetőséget nyújt acilamino-funkciónak karbokationra való kiépítésére.⁹⁵⁻¹⁰² Yadav és munkatársai multikomponensű „one pot” szintézismódszert alkalmaztak a 4-acetamidotetrahidropirán származék (**133**) előállítására (36. ábra).^{98-100, 102} Karbonil-vegyületből (**130**) és homoallil-alkoholból (**132**) kiindulva, acetonitril jelenlétében, szobahőmérsékleten hajtották végre a reakciókat.⁹⁹ Lewis-sav katalizátorként 20 mol% foszformolibdénsavat (PMA) használtak, és jó hozammal, *cisz*-szelektivitással nyerték a terméket (**133**). Savkatalízishez gyakran alkalmaznak még $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot, $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$ -ot, $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ -ot, és $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{AcCl}$ -ot.⁹⁵⁻¹⁰² A „one pot” Prins-Ritter reakció előnye, hogy az egyszerre felhasznált komponenseknek köszönhetően azonnal a képződő 4-acetamidotetrahidropirán származékokat (**133**, **134**) nyerték. Selvam és kutatócsoportja $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ katalizált három komponensű „one pot” Prins-Ritter szintézist hajtott végre.¹⁰¹ Számos Lewis-sav katalizátor (ZnCl_2 , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KHSO_4 , $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) közül a $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ bizonyult a leghatékonyabbnak. A Prins-Ritter reakciót szobahőmérsékleten végezték, a 4-klórbenzaldehidből (**131**), homoallil-alkoholból (**132**), acetonitriles közegben diasztereoszelektíven nyerték a 4-acetamidotetrahidropirán származékot (**134**, 36. ábra).



36. ábra: A „one pot” Prins-Ritter reakciók

A „one pot” Prins-Ritter reakciók szterán vázra való kiterjesztésével lehetőség nyílik a D-szekoaldehidek acilamino-szubsztituált homológjainak előállítására, amelyek értékes biológiai hatást hordozhatnak.

3. CÉLKITŰZÉS

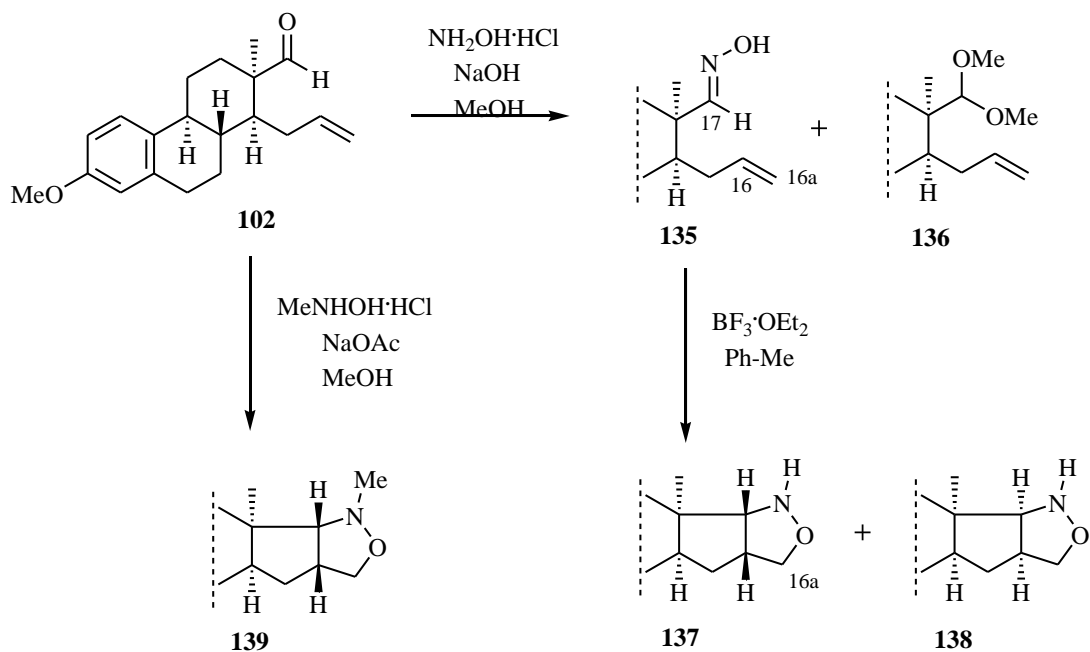
Munkánk célja olyan új ösztroon származékok szintézise volt, amelyek hormonálisan inaktívak, azonban potenciálisan antitumor hatással rendelkeznek. Az ösztrogén hatás kiküszöböléséhez 13-epimer, D-szeko- vagy D-homoszármazékokat választottunk alapvegyületként, majd azokra szubsztituensek vagy nitrogéntartalmú heterociklusok beépítését terveztük. A heterociklusos gyűrűk kialakítását 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciókkal kívántuk megvalósítani, szteroid-nitron vagy -azid dipólusokból kiindulva. Célunk volt a folyamatok sztereo-, kemo- és régioszelektivitásának vizsgálata, és a céltermékek szerkezetének nagyműszeres analitikai módszerekkel (NMR, MS, röntgenkristallográfia) történő szerkezetvizsgálata. Az új vegyületek humán tumorsejtekre *in vitro* gyakorolt osztódásgátló hatását is vizsgálni kívántuk, továbbá a potens származékok hatásmechanizmusának felderítését is terveztük.

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK TÁRGYALÁSA

4.1. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciók

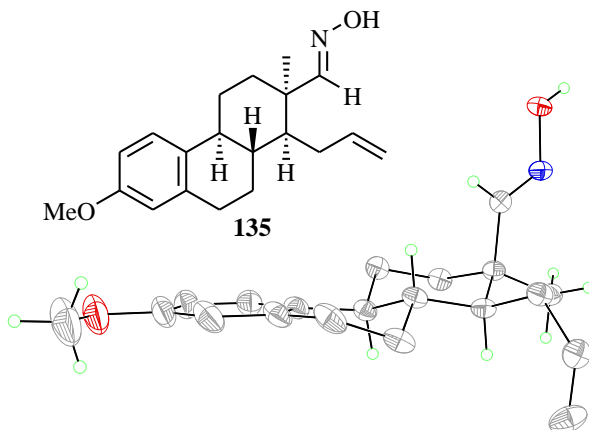
4.1.1. Nitronképzés Lewis-savakkal vagy elektrofil reagensekkel, és a nitronok 1,3-dipoláris cikloaddíciói

A Szerves Kémiai Tanszék Szteroidkémiail Kutatócsoportja korábban már végrehajtotta a D-szekoaldehid (**65**) Lewis-sav-indukált intramolekulás 1,3-dipoláris cikloaddícióját.⁵⁵ Kísérleti munkánk első lépésében ugyanezen szintézismódszert terjesztettük ki a 13 α -epimerekre.¹⁰³ Kiindulási vegyületünket, a 13 α -D-szekoaldehidet (**102**) metanolos közegben, hidroxilamin-hidrokloriddal, nátrium-hidroxid jelenlétében alakítottuk oximmá (**135**, 37. ábra). Melléktermékként dimetil-acetál (**139**) képződését tapasztaltuk. A metanol alkalmazása következtében lejátszódó mellékreakció elkerülése érdekében a továbbiakban acetonitrilt és nátrium-acetátot használtunk. Az oximképzést Lewis-sav-indukált (BF₃·OEt₂) intramolekuláris gyűrűzárás követte. A 13 β -sorban elvégzett szintézisekkel ellentétben nem egy, hanem két *cisz*-gyűrűanellációval rendelkező izoxazolidin-sztereoizomerhez (**137**, **138**) jutottunk, a szintézis így nem bizonyult sztereoszelektívnek. A két származékot (**137**, **138**) azonos arányban nyertük. A két izomer (**137**, **138**) képződése a 13 α -származékok flexibilisebb vázszerkezetének tulajdonítható. Amennyiben a gyűrűzárásokat *N*-metil-hidroxilamin-hidrokloriddal végeztük, a 13 β -származékhoz hasonlóan, Lewis-sav-katalízis nélkül, egy sztereoizomer (**139**) képződését tapasztaltuk.



37. ábra: Az izoxazolidin sztereoizomerek (**137**–**139**) előállítása

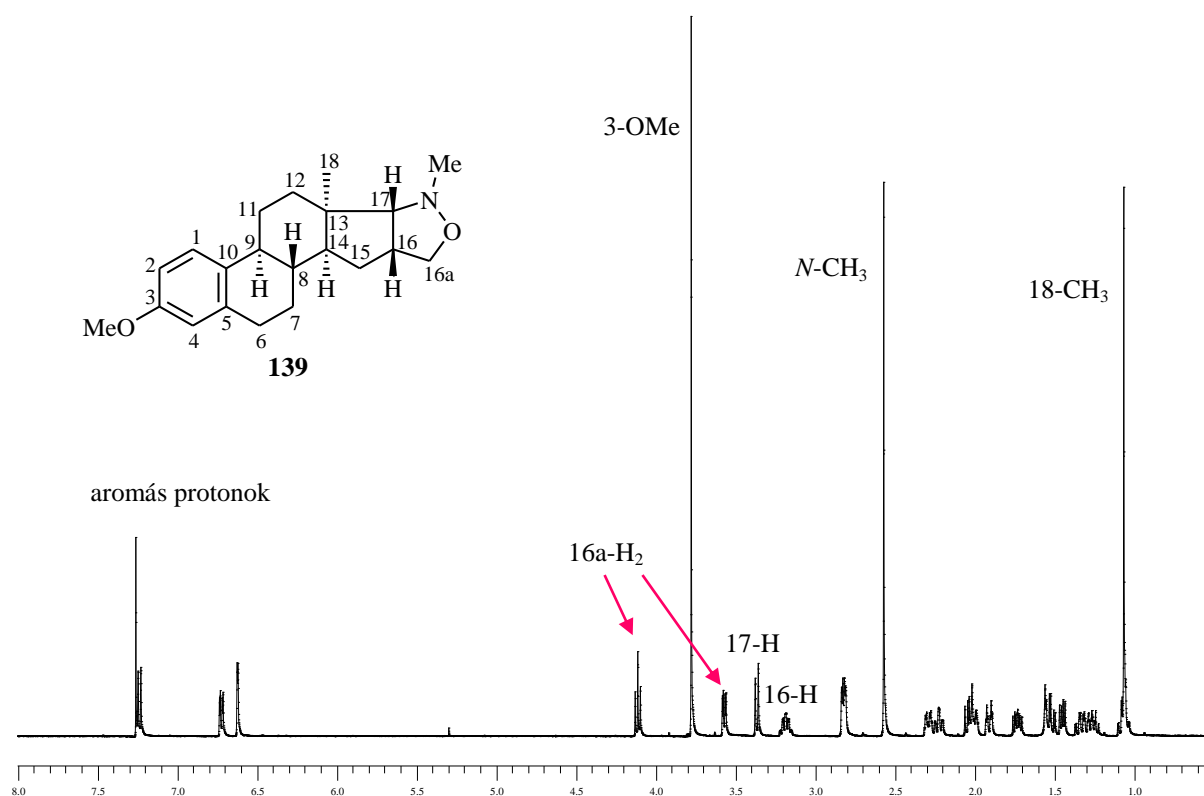
A 38. ábrán látható az oxim (**135**) röntgendiffrakciós analízissel kapott szerkezete, amely ábra jól szemlélteti, hogy a vegyület C-gyűrűje szék-alkatú, és az axiális oxim-funkció E-konfigurációjú.



38. ábra: A **135**-ös jelű vegyület röntgendiffrakcióval kapott szerkezete

NMR-spektroszkópiával végeztük az izoxazolidin sztereoizomerek (**137**–**139**) szerkezetbizonyítását. Mindhárom izoxazolidin (**137**–**139**) ^1H -NMR spektrumából kitűnik, hogy a D-szekoaldehid (**102**) propenil-oldalláncának a jelei (5 és 6 ppm között) és a formil-proton jele (9,5 ppm) is hiányzik. A **137**-es jelű vegyület ^1H -NMR spektrumából jól látszik a

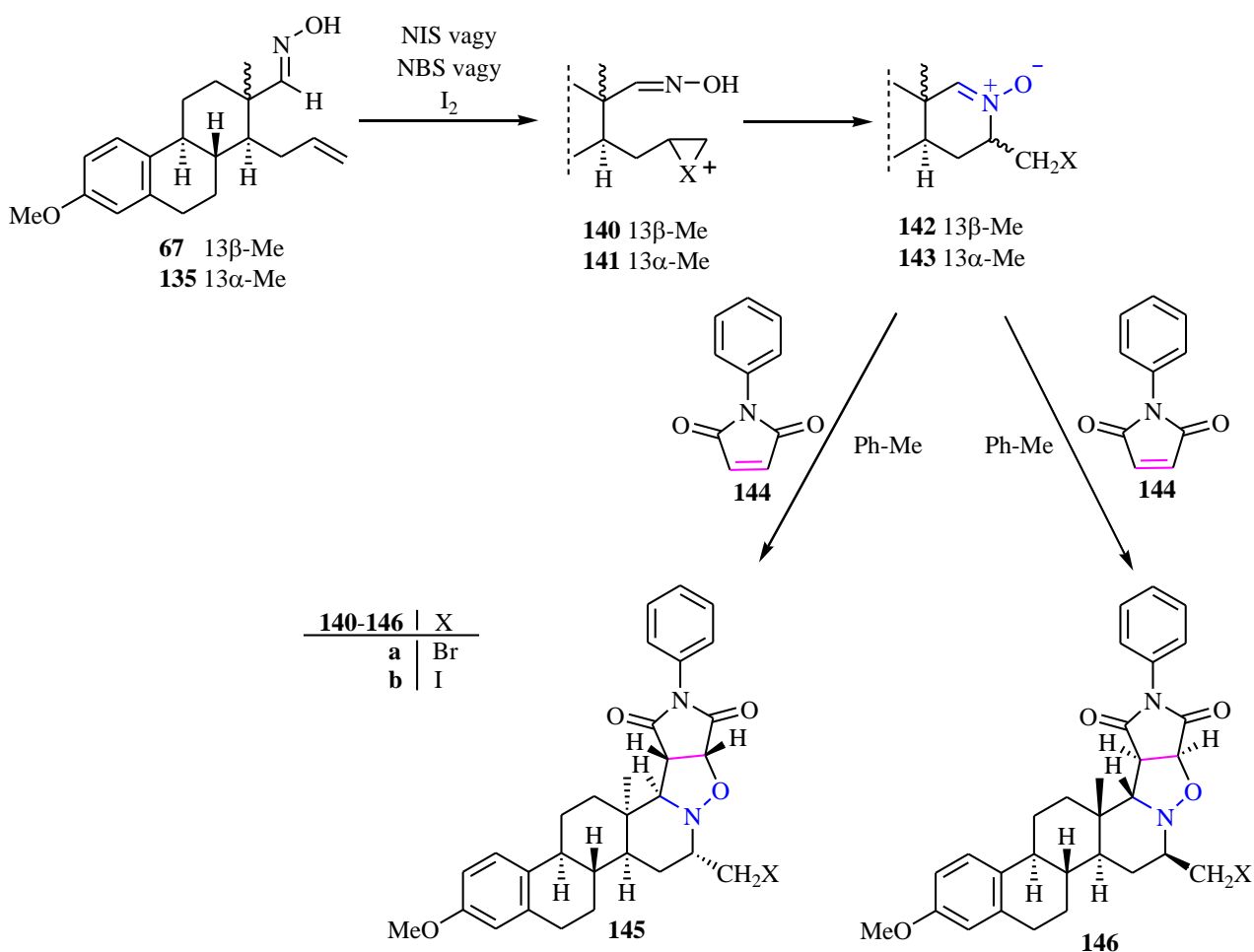
17-H dublettje 3,5 ppm-nél, a 16-H multiplettje 3,2 ppm-nél, és a 16a-H₂ multiplettjei 3,6 és 3,8 ppm-nél. A ¹³C-NMR spektrumban a C-17 és a C-16a jelei körülbelül 78 és 80 ppm kémiai eltolódásnál jelentek meg, ebből arra következtethettünk, hogy a C-17 egy *N*-atom, míg a C-16a egy szomszédos *O*-atom mellett helyezkedik el. A **137**-es és a **138**-as izoxazolidinek egymással diasztereoizomer viszonyban állnak. Az **138**-as izomer protonspektrumában a 17-H dublettje jellemzően magasabb kémiai eltolódásnál (3,8 ppm) mutatkozott, mint a megfelelő diasztereomere (**137**) esetén. A ¹³C-NMR spektrumban pedig a C-17 jele alacsonyabb kémiai eltolódásnál jelentkezett (70 ppm). Az *N*-metil-izoxazolidin (**139**) ¹H-NMR felvételén jól elkülöníthető a 17-H jele 3,4 ppm-nél, és a 16-H jele 3,2 ppm-nél, míg a 16a-H₂ dublettje és tripllettje 3,6 ppm-nél és 4,1 ppm-nél látható (39. ábra). Az izoxazolidinek (**137**–**139**) sztereokémiáját NOE-felvételekkel bizonyítottuk.



39. ábra: A **139**-es diasztereoizomer ¹H-NMR spektruma

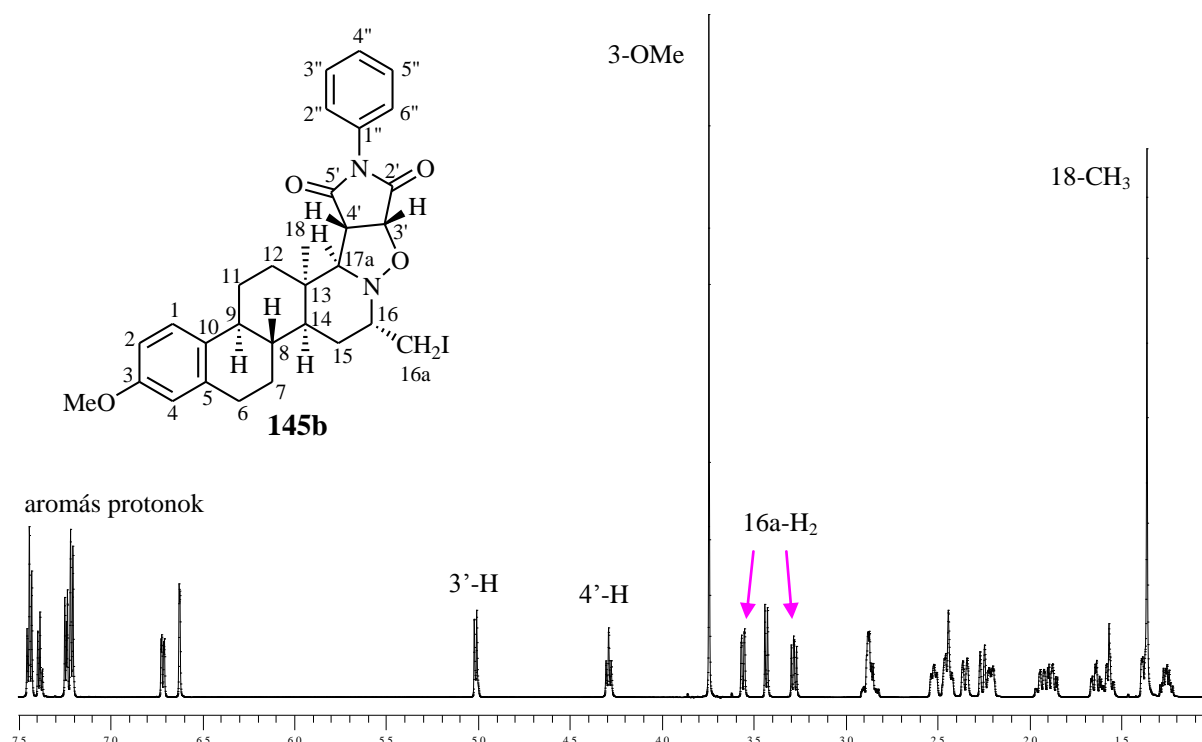
4.1.2. A 13 α - illetve a 13 β -ösztrom sorbeli elektrofil-indukált nitronképzés, és az azt követő 1,3-dipoláris cikloaddíciók

Munkánk folytatásában a 13 α - és a 13 β -ösztrom sorbeli oximokból (**67**, **135**) elektrofil-indukált gyűrűzárási reakciókkal terveztünk nitron dipólusokat (**142**, **143**) előállítani (40. ábra).¹⁰³ Elektrofil reagensként *N*-brómszukcinimidet (NBS), *N*-jód-szukcinimidet (NIS), vagy jódot alkalmaztunk, a cikloaddíciókat diklórmetános közegben végeztük. Az előállított gyűrűs nitron dipólusokat (**142**, **143**) C=C dipolarofillel (*N*-fenilmaleimid, NFM) reagáltattuk. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciók 2 óra alatt (50 °C-on) lejátsozódtak, oldószerként toluolt alkalmaztunk. Mind a 13 α -, mind a 13 β -ösztrom sorban a szintézisek sztereoselektívnek bizonyultak, 16-brómmetil- (**145a**, **146a**) illetve 16-jódmetil-izomert (**145b**, **146b**) szolgáltatva.



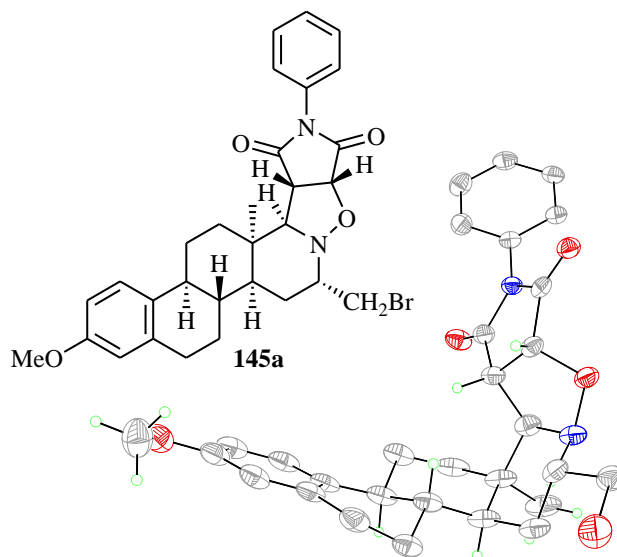
40. ábra: Elektrofil-indukált nitronképzés, majd azt követő 1,3-dipoláris cikloaddíció NFM-mel (**141**)

A újonnan szintetizált D-homoösztronok (**145**, **146**) szerkezetét 1D- illetve 2D-NMR-spektroszkópiás felvételekkel bizonyítottuk. A **145b** jelű vegyület ^1H -NMR-spektrumát mutatja a 41. ábra. Az aromás tartományban található nyolc proton tükrözi az NFM beépülését a molekulába. Jól látszik a 16a-H₂ tripllettje és multipllettje 3,3 ppm és 3,6 ppm kémiai eltolódásnál. A 17a-H dublettje 3,4 ppm-nél jelenik meg. A 4'-H trippletje alacsonyabb kémiai eltolódásnál (4,3 ppm) jelentkezik, mint a 3'-H dublettje (5,0 ppm). Az új sztereogén centrumok konfigurációinak meghatározásában a 2D-NMR segítette a munkánkat (COSY, NOESY és a HSQC). A **146a** és a **146b** NOESY-spektrumainak elemzéséből kitűnt, hogy a 3'-H multipllettje keresztcsúcsot ad a 16-H, és a 4'-H jeleivel, ugyanekkor a 17a-H pedig az anguláris metilcsoporttal. Ez bizonyítja a 16-halometilcsoport ekvatoriális térhelyzetét, a 17a-H β - és a 3'-H és a 4'-H α -térállását. A **145**-ös és a **146**-os cikloadduktumokat összehasonlítva megfigyelhető, hogy a 13 α -ösztron származékok (**145a**, **b**) szubsztituensei a 13 β -ösztron származékokhoz (**146a**, **b**) képest ellentétes térállásúak; a 16-halometilcsoport α -, a 3'-H és a 4'-H β -térállású (41. ábra).



41. ábra: A **145b** jelű vegyület ^1H -NMR-spektruma

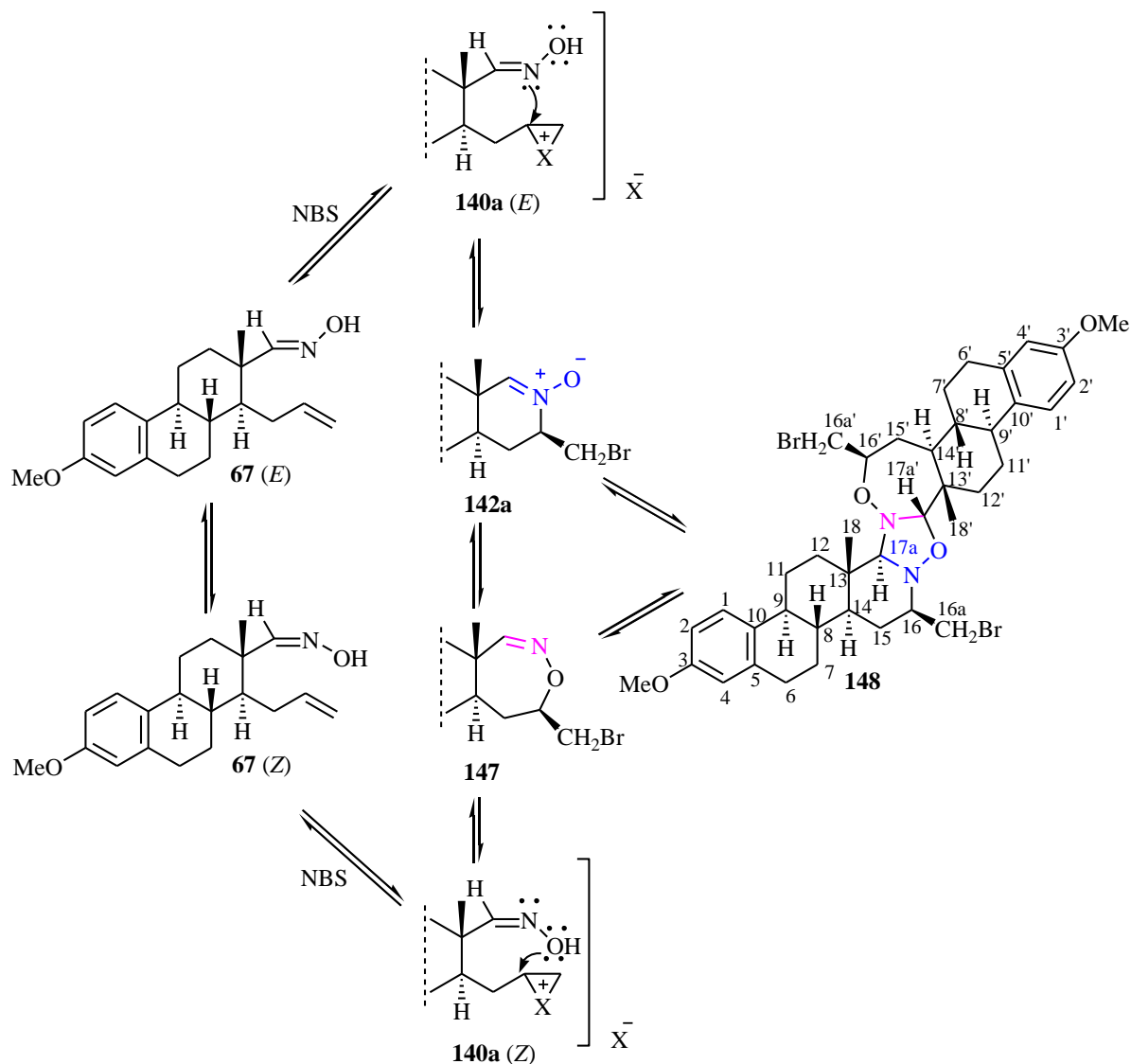
Az újonnan előállított **145a** jelű aza-D-homoösztron szerkezetét röntgenkristallográfiával is igazoltuk (42. ábra). A 42. ábrán jól látható, hogy a molekula C- (ciklohexán) és D-gyűrűje (piperidin) szék konformációjú. Az α -helyzetű 16-brómmetil-szubsztituens ekvatoriális térállású, a maleimid-rész pedig *cisz*-helyzetben anellálódott az izoxazolidin-gyűrűhöz.



42. ábra: A **145a** jelű aza-D-homoösztron röntgendiffrakcióval kapott szerkezete

Amennyiben az elektrofil-indukált nitronképzési reakciókat nem diklórmétánban, hanem acetonitrilben végeztük, csapadékkiválást tapasztaltunk. Az irodalmi előzményekben ismertetett kutatás alapján (lásd 21. oldal, 18. ábra) feltételezhető, hogy az alkalmazott reakciókörülmények között az oxim (**67**) ambidens nukleofilként viselkedett (43. ábra). Az *E*-oxim (**67**) esetén a *N*-atom, míg *Z*-oxim (**67**) esetén az *O*-atom intézhet nukleofil támadást a halónium-ionra. Az *O*-alkilezéssel képződött oxazepin származék (**147**), mint C=N dipolarofil reakcióba léphet az *N*-alkilezéssel kapott gyűrűs nitron (**142a**) 1,3-dipólussal, így kialakulhat egy nem szimmetrikus szteroid dimer (**148**). A dimerképződés reverzibilis jellegére utal, hogy az acetonitril bepárlásával, majd az NFM (**144**) hozzáadásával a várt cikloadduktumhoz (**146a**) jutottunk. A dimerből (**148**) valószínűleg gyűrűs nitron (**142a**) és oxazepin (**147**) képződött. A kinetikailag kontrollált termék (**147**) egy egyensúly folyamán a termodinamikailag kontrollált terméké (**142a**) alakult. Megfigyeltük, hogy diklórmétános közegben is megjelent a dimer (**148**), azonban diklórmétánban való jó oldékonysága miatt

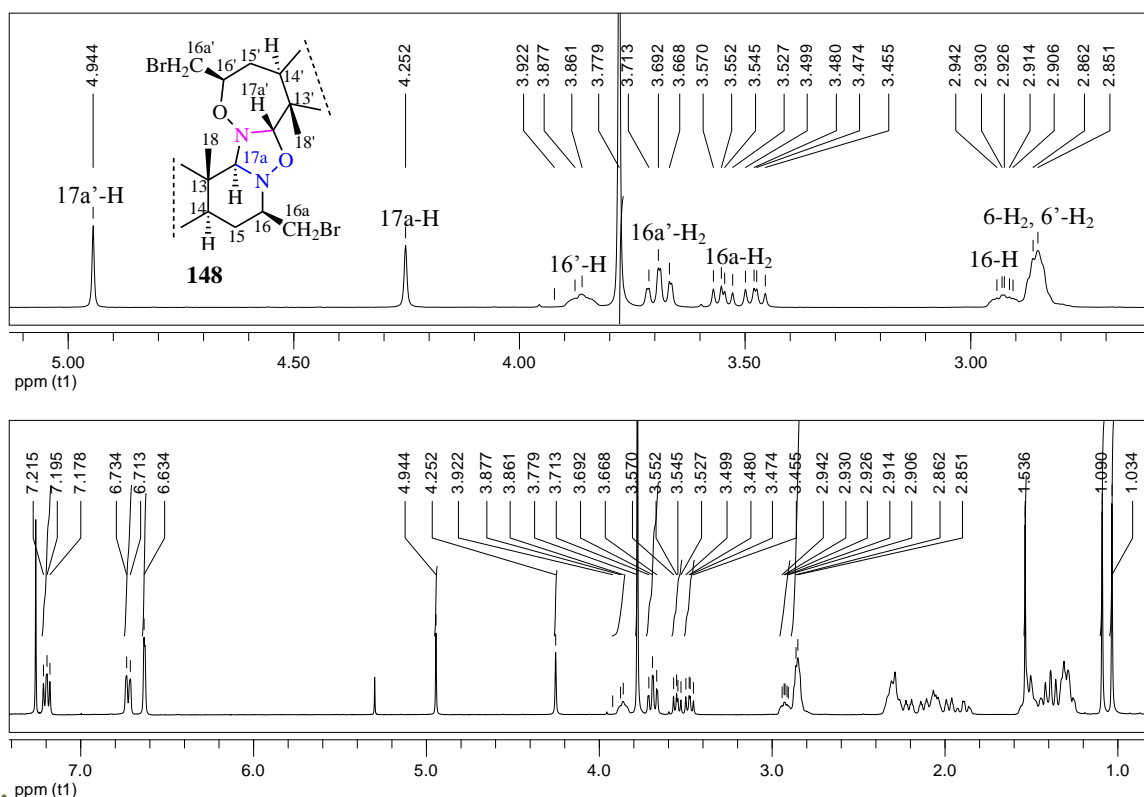
nem vált ki az oldatból. Megállapítottuk továbbá, hogy a forralás elősegíti a dimer (**148**) gyors visszaalakulását gyűrűs nitronná (**142a**).



43. ábra: A dimer (**148**) képződésének feltételezett mechanizmusa

A dimer (**148**) szerkezetét ^1H -NMR (44. ábra) és ^{13}C -NMR spektrumokkal igazoltuk, amelyeken azonnal feltűnik, hogy a jelek „megduplázódtak”. A 44. ábrán jól látható, hogy a középső tartományban megjelenik két szingulett egységnyi intenzitással. A jelek alakja és kémiai eltolódása a dimer (**148**) 17a-H és 17a'-H-jának tulajdonítható. A 2,9 ppm és 3,8 ppm közötti tartományban 12 proton jele látható, amelyek a 16a-H₂, a 16a'-H₂, a 16-H, a 16'-H, a 3-OCH₃ és a 3'-OCH₃ jelei. A dimer (**148**) 16-H jele 2,9 ppm, amíg a 16'-H jele 3,8 ppm

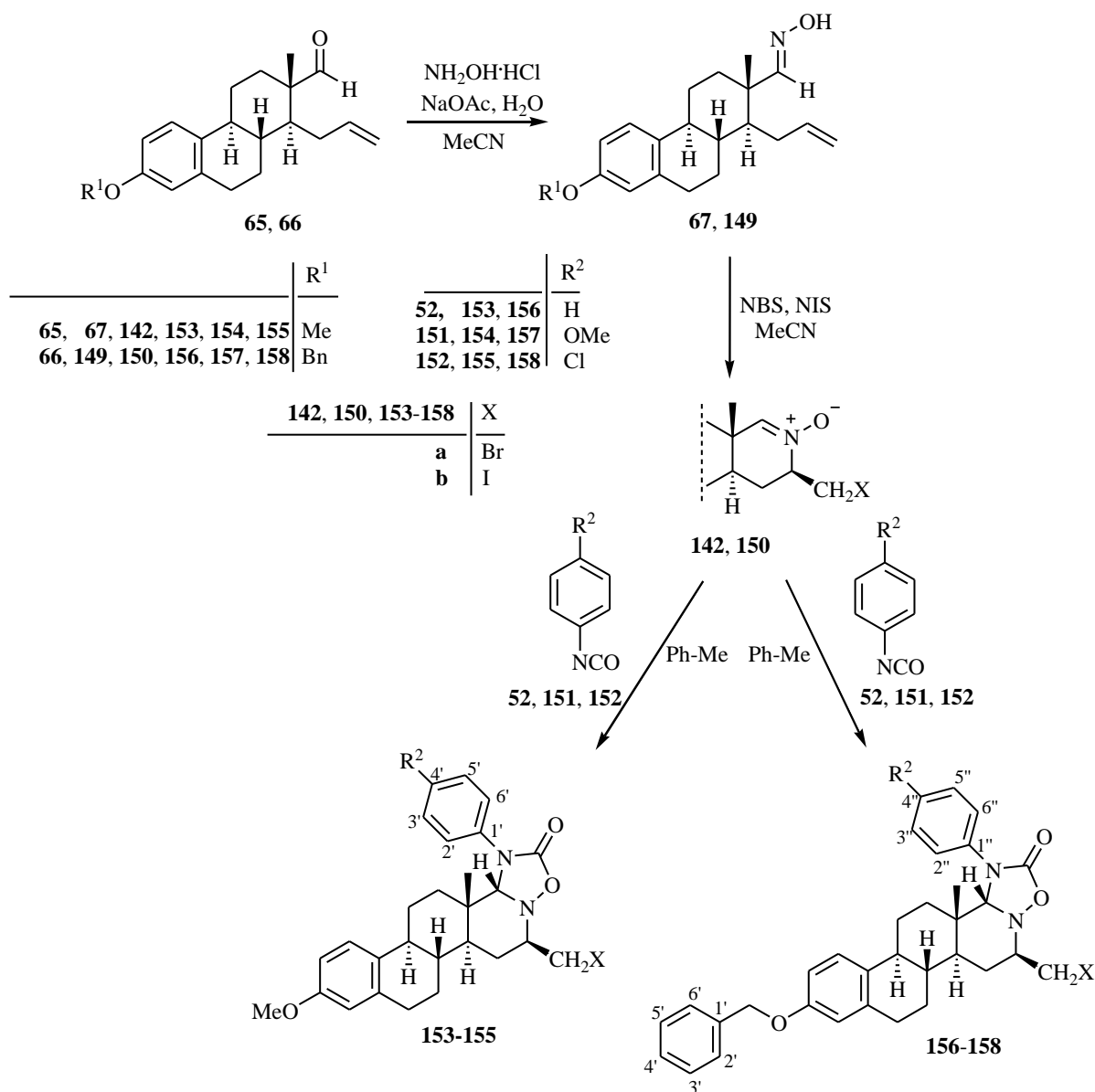
kémiai eltolódásnál jelentkeznek. Ez arra utal, hogy a 16-H egy *N*-atomhoz, és a 16'-H egy *O*-atomhoz kapcsolódik.



44. A **148**-as jelű vegyület ^1H -NMR spektruma és annak kiemelt részlete

Kutatómunkánkat a gyűrűs nitron-dipólusok (**142**, **150**) fenilizocianát $\text{C}=\text{N}$ dipolarofilekkel (**52**, **151**, **152**) való cikloaddícióival folytattuk (45. ábra).¹⁰⁴ A korábbi szintéziseinkhez hasonlóan az oximok (**67**, **149**) ciklizációját elektrofil reagensekkel (NIS, NBS) hajtottuk végre.^{103, 104} A kiindulási oximok (**67**, **149**) átalakítása után az oldószert bepároltuk. A maradékot toluolban oldottuk, és 1 ekvivalens fenilizocianát (**52**, **151**, **152**) alkalmazásával az 1. táblázatban feltüntetett ideig forraltunk. Ilyen körülmények között kiváló hozammal, kemoszelektíven nyertük a kondenzált vázas oxadiazolidinon származékokat (**153–158**). Az irodalmi előzményekhez képest⁵⁴ magasabb hozammal, rövidebb reakcióidő alatt sikerült a céltermékeket (**153–158**) előállítani. Melléktermékek képződését nem tapasztaltuk. Minden esetben az a régióizomer képződött, amelynél a dipolarofil *N*-atomja a szteránváz 17a-szénatomjához kapcsolódott. A reakciósebességben eltérések mutatkoztak. Az elektronküldő ($-\text{I} < +\text{M}$) csoporttal rendelkező 4-metoxi-fenilizocianát (**151**) alkalmazása

során tapasztaltuk a legrövidebb reakcióidőt, ezt a kettős természetű 4-klór-származékkal (**152**, -I > +M) végrehajtott 1,3-dipoláris cikloaddíciók követték, majd a leghosszabb reakcióidőt a szubsztituálatlan fenilizocianát (**52**) esetében figyeltük meg. Összehasonlítottuk a cikloaddíciók sztereo- és kemoselektivitását hagyományos melegítés és mikrohullámú besugárzás mellett. Az utóbbi módszerrel 100 °C-on, 1 perc alatt, sztereo- és kemoselektíven nyertük a kívánt oxadiazolidinon származékokat (**153–158**). A hagyományos melegítéshez képest a reakcióidő jelentősen csökkent, és a fenilizocianát (**52**, **151**, **152**) szubsztituenseinek a reakciókörülményekre gyakorolt hatása nem volt megfigyelhető.



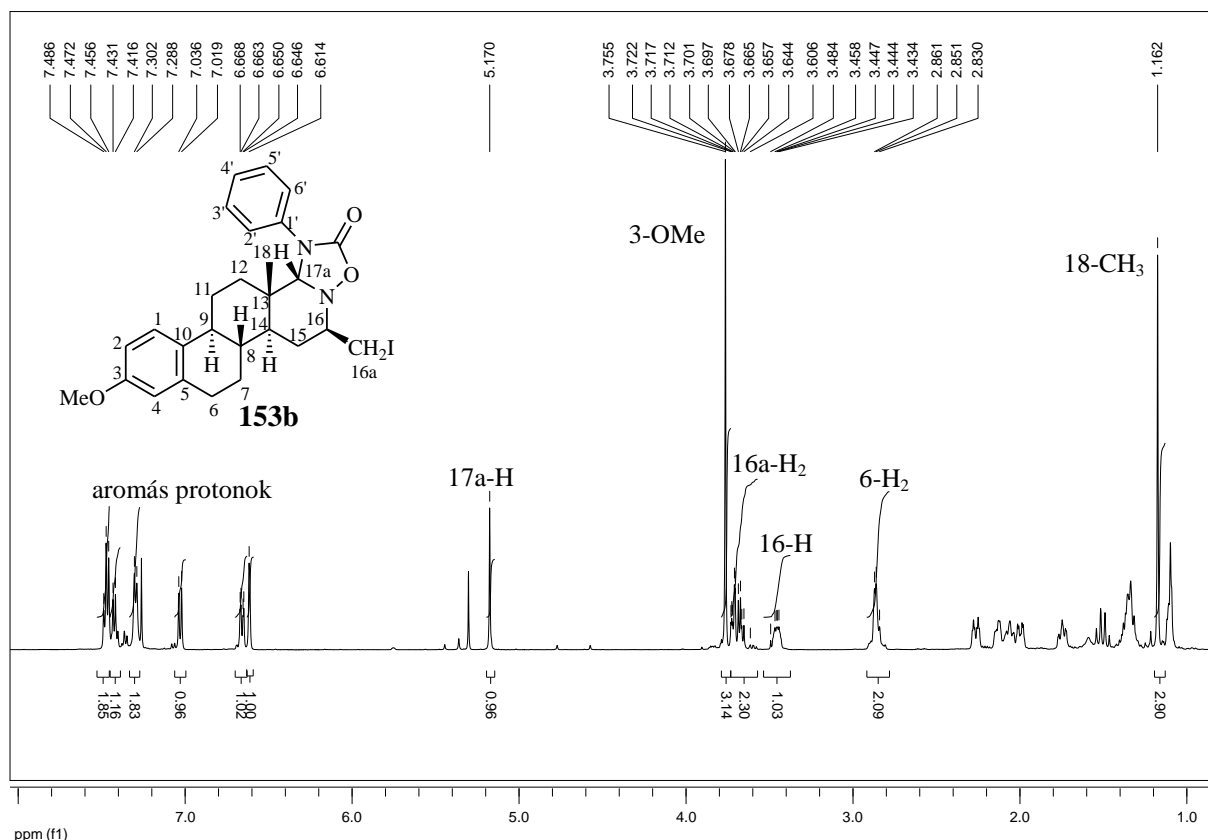
45. ábra: A nitron-dipólusok (**142**, **150**) 1,3-dipoláris cikloaddíciója fenilizocianátokkal (**52**, **151**, **152**)

Kiindulási oxim	Elektrofil reagens	Aromás szubsztituens	Reakcióidő (h)	Hozam (%) ^a	Termék
67	NBS	H	3	89 (93)	153a
67	NIS	H	3	84 (90)	153b
67	NBS	OMe	0.5	92 (93)	154a
67	NIS	OMe	0.5	95 (96)	154b
67	NBS	Cl	2	96 (96)	155a
67	NIS	Cl	2	90 (93)	155b
149	NBS	H	3	89 (93)	156a
149	NIS	H	3	85 (89)	156b
149	NBS	OMe	0.5	95 (96)	157a
149	NIS	OMe	0.5	97 (98)	157b
149	NBS	Cl	2	90 (92)	158a
149	NIS	Cl	2	91 (93)	158b

a: A zárójelben feltüntetett adatok az 1 percig tartó, 100 °C-os mikrohullámú besugárzás során kapott hozamok

1. táblázat: A képződő oxadiazolidinonok (**153–158**) hozamai hagyományos és mikrohullámú melegítés mellett

Az 1,3-dipoláris cikloaddíció során nyert oxadiazolidinonok (**153–158**) szerkezetét NMR-spektroszkópiai módszerekkel igazoltuk. A 46. ábra a **153b** jelű vegyület ¹H-NMR felvételét mutatja. A D-homoösztron származék (**153b**) 16-os protonjának multiplettje 3,1 ppm, 16a-H₂ multiplettje 3,5 ppm, a 17a-H szingulettje pedig 5,2 ppm kémiai eltolódásnál jelentkezik. Az ¹H-, ¹³C-NMR, COSY, NOESY, HSQC, HMBC technikák felhasználásával határoztuk meg az oxadiazolidinonok (**153–158**) proton illetve szén jeleinek kémiai eltolódásait. A NOESY-spektrumok elemzéséből megállapítottuk, hogy a vegyületek (**153–158**) 16-CH₂X és 17a-H jelei keresztcsúcsot adnak az anguláris metilcsoport (18-CH₃) jelével. Ebből következtettünk a 16-os szubsztituens és a 17a-H azonos, β-térállására.

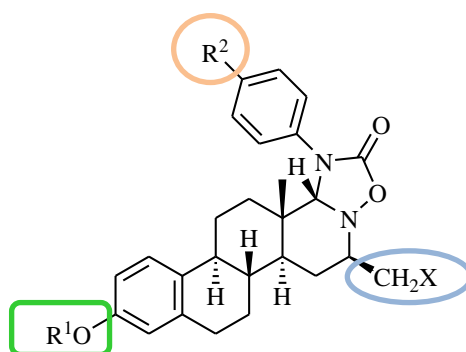


46. ábra: A **153b** jelű oxadiazolidinon ^1H -NMR spektruma

A vegyületek (**153–158**) C-2' és C-6' jelei a ^{13}C -NMR spektrumból hiányoznak. Ennek a jelenségnek feltehetően az a magyarázata, hogy az oxadiazolidinon gyűrűn lévő fenilcsoport szabadon rotál, és ezek a molekuláris mozgások sokkal gyorsabbak, mint az NMR időskálája, tehát egy dinamikus effektus lép fel.^{105, 106} Ennek eredményeként a C-2' és a C-6' jelei kiszélesednek és beleolvadnak a zajba. A szobahőmérséklethez képest megnövelt hőmérséklet nagymértékben meghaladta a koaleszcencia (egyesülési) hőmérsékletet, így a két szénatom jele 128,0 ppm-nél megjelent. Ahhoz, hogy a vegyületeink (**153–158**) C-2' és C-6' jelei láthatóvá váljanak, felvettük az egyik oxadiazolidinon származékok (**153a**) NMR-spektrumát 55 °C-on, CDCl_3 -ban. A HSQC-felvételen látható keresztcsúcsokból következtettünk a C-2' és C-6' jelek kémiai eltolódására (128 ppm). Molekuláris modellezéssel igazoltuk a D-homoösztron származékok (**153–158**) legstabilabb szerkezetét, figyelembe véve a 16-os és a 17a-C-atom összes lehetséges konfigurációját. A konformáció szabályszerűségét egy sztochasztikus kísérlettel bizonyítottuk. Ehhez a Merck Molecular Force Field (MMFF94) program nyújtott segítséget. Az így kapott alacsony energiájú konformációkat minimalizáltuk a HF/6-311G-t *ab initio* szintre állítva. Tapasztalataink szerint

a termékek (**153–158**) egy stabil konformációt vettek fel, szerkezetüket a 45. ábrán tüntettük fel. Az oxadiazolidinon származékok (**153–158**) további szerkezetbizonyítását MALDI TOF (deszorpció/ionizáció) tömegspektrometria segítségével, C₇₀-es fullerén mátrixot alkalmazva, pozitív üzemmódban határoztuk meg.^{107–109} A tömegspektrometriás analízis során fragmensek keletkeztek a CO₂, és/vagy a fenilcsoport (vagy a szubsztituált fenilcsoport), és/vagy a megfelelő halogénatom lehasadásával.

Az újonnan előállított heterociklusos D-homoszteroidok (**153–158**) olyan szerkezeti sajátosságokkal rendelkeznek, amelyek indokolttá teszik a vegyületek gyógyszerhatástani tesztelését potenciális antitumor aktivitás szempontjából. A D-homo jelleg ugyanis antiproliferatív hatást kölcsönözhet a vegyületnek, csökkent ösztrogén aktivitás mellett, ugyanakkor az oxadiazolidin heterociklus jelenléte, a tubulin polimerizációjára gyakorolt hatása miatt, növelheti az antitumor potenciált. Halogén jelenléte a szteroidban szintén előnyös lehet, antihormonális tulajdonság előidézése következtében. Mindezek alapján megvizsgáltuk az általunk előállított oxadiazolidinonok (**153–158**) antiproliferatív tulajdonságait négy humán adherens (Hela – méhnyakrák karcinóma, MCF-7 – emlőkarcinóma, A2780 – petefészek karcinóma, A431 – bőrlaphám karcinóma), és egy intakt sejtvonalon (HFF – humán fibroblaszt) MTT-módszer segítségével. A 2. táblázat összefoglalja a különböző sejtvonalakon mért IC₅₀ értékeket a ciszplatinhoz, mint referenciavegyülethez képest. A D-homoöszttronok (**153–158**) egymástól a C-3, a C-16 és a fenilizocianát (**52**, **151**, **152**) szubsztituenseinek minőségében különböznek. Megfigyeltük, hogy az A-gyűrűn lévő étercsoport módosításával az antiproliferatív hatás mértéke befolyásolható. A benzil-éter-funkcióval rendelkező származékok (**156a**, **b** és **158a**, **b**) sok esetben kedvezőbb antitumor hatással bírtak 3-metoxi-megfelelőikhez (**153a**, **b** és **155a**, **b**) képest. A 2. táblázatból kitűnik, hogy a 16-os pozícióban lévő CH₂X szubsztituens minősége nagymértékben befolyásolta az antiproliferatív aktivitást. A jódszármazékok (**153b**, **155b**, **156b**, **158b**) jobban gátolták a sejtosztódást a brómszármazékokhoz (**153a**, **155a**, **156a**, **158a**) viszonyítva. A fenilizocianát (**52**, **151**, **152**) R²-csoportjának változtatásával a vegyületek (**153–158**) rákellenes hatása is módosul. Azt tapasztaltuk, hogy a *p*-metoxi-származékok (**154a**, **b** és **157a**, **b**) teljesen inaktívnak tekinthetők mindegyik sejtvonalon (IC₅₀ > 30 μM). Az eredményekből azt a következtetést vontuk le, hogy a 3-as helyzetű benzil védőcsoport és a hattagú D-gyűrű jelenléte, az oxadiazolidinon heterociklusnak a molekulába való beépítése, illetve a 16-os helyzetben lévő CH₂I szubsztituens előnyös a tumorszelektív sejtosztódást-gátló hatás szempontjából.



	IC ₅₀ értékek (μM) ^a			
	Hela	A431	A2780	MCF-7
153a	11,3	>30	13,8	9,6
153b	6,7	>30	6,3	10,5
154a	>30	>30	>30	>30
154b	>30	>30	>30	>30
155a	9,2	>30	13,9	7,6
155b	4,9	>30	5,0	7,2
156a	5,5	>30	3,2	5,7
156b	13,4	>30	2,2	12,5
157a	>30	>30	>30	>30
157b	>30	>30	>30	>30
158a	12,5	>30	5,5	8,4
158b	11,0	>30	4,6	9,2
ciszplatin	5,7	8,8	0,9	8,0

a: 2-2 független méréssel, 5-5 párhuzamossal kapott értékek, a standard deviáció <15%
 lila: jódszármazékok; sárga: 3-OMe; rózsaszín: leghatásosabb vegyület

2. táblázat: Az oxadiazolidinonok (**153–158**) antiproliferatív hatásai humán adherens tumorsejtvonalakon

A 16-jódmethyl-*N*-fenil-3-benziloxi származék (**156b**) volt az egyik leghatékonyabb antitumor vegyület, különösen az A2780-as sejtvonalon (IC₅₀ = 2,2 μM). Ahhoz, hogy összehasonlítsuk a tesztanyagunk (**156b**) tumorsejteken mért IC₅₀-értékeit az intakt

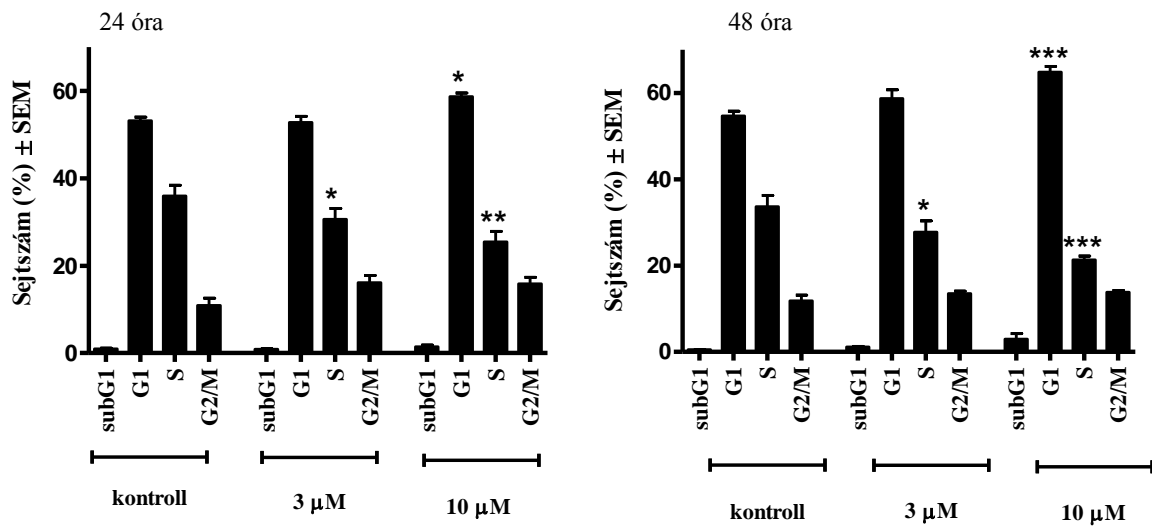
sejtvonalon (HFF – human fibroblaszt) mért sejtosztódás gátlással, a HFF sejteket az oxadiazolidinon származék (**156b**) 1 és 10 μM -os koncentrációjával kezeltük. A referenciavegyület (ciszplatin) és a szteroid (**156b**) antiproliferatív hatását gátlás %-ban adtuk meg (3. táblázat). A 3. táblázatból kitűnik, hogy a ciszplatinhoz képest a vegyület (**156b**) nem mutatott jelentős sejtosztódás gátló hatást. Az eredmények szerint a **156b** tumorszelektívnek tekinthető.

	Gátlás (%) \pm SEM		
	HFF		
	156b	ciszplatin	P-érték ^a
1 μM	0,1 \pm 2,6	1,9 \pm 1,8	NS
10 μM	15,4 \pm 0,9	26,3 \pm 2,4	<0,01

a: párosítatlan *t*-próbával számítottuk ki a kapott *P*-értékeket. NS: nem szignifikáns különbség

3. táblázat: A **156b** jelű vegyület és a ciszplatin sejtosztódás gátló hatása HFF intakt sejtvonalon

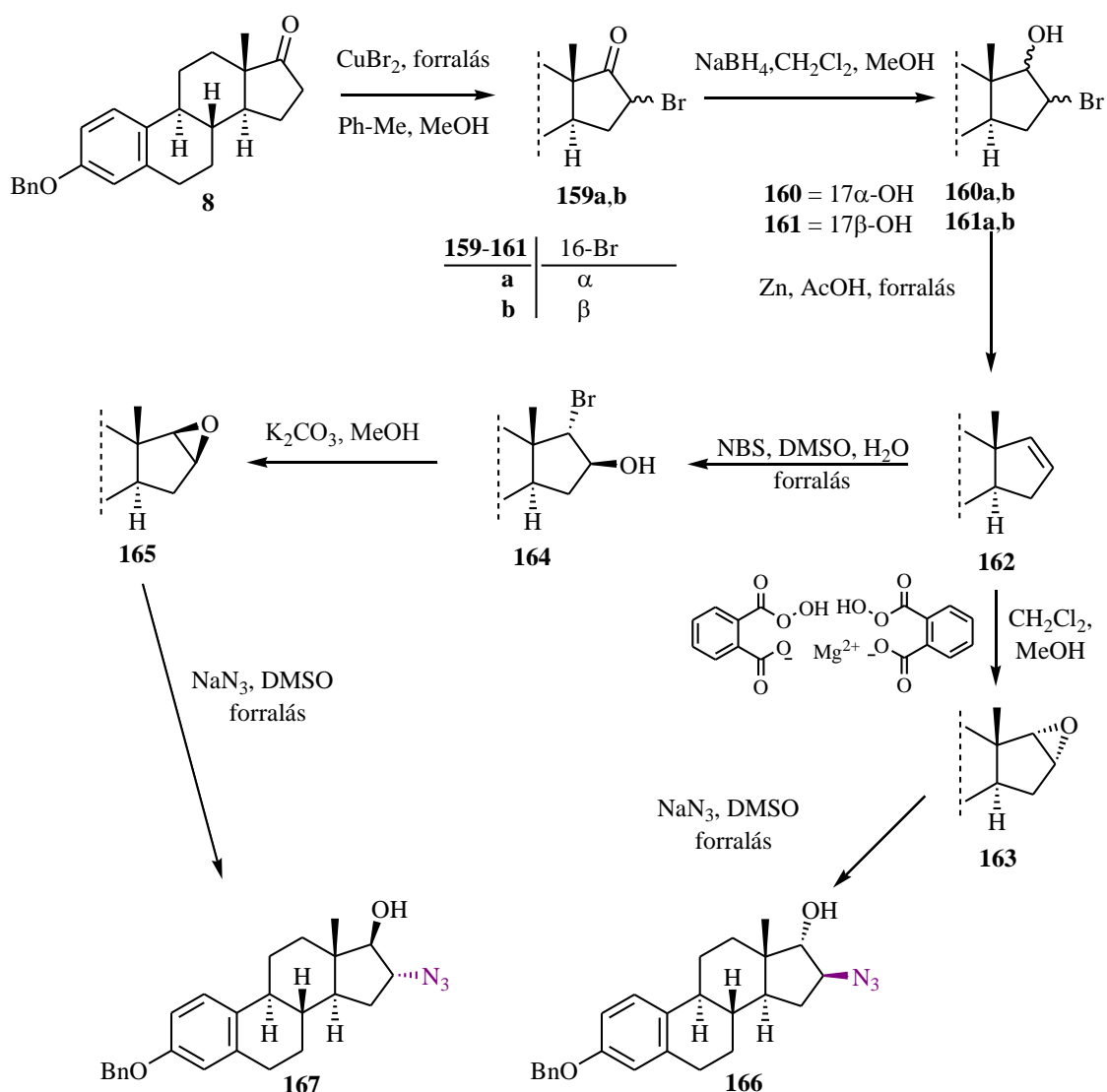
A **156b** jelű vegyület antiproliferatív hatásmechanizmusának megállapítása érdekében sejtciklus analízist végeztünk (47. ábra). 24 illetve 48 órás inkubációt követően a **156b** jelű vegyület 3 μM koncentrációjú oldatával kezelt A2780-as sejtekben az S-fázis szignifikáns csökkenését tapasztaltuk (47. ábra). Ugyanez megfigyelhető a 10 μM -os koncentrációnál is, továbbá azt tapasztaltuk, hogy a sejtek G1-fázisban szaporodtak fel. 48 órás expozíciót követően a sejteloszlásban mért változás markánsabbnak bizonyult. Ebből következtettünk a sejtciklus G1–S blokádjára.



47. ábra: A **156b** jelű vegyület A2780-as sejtek eloszlására gyakorolt hatása (24 illetve 48 órás inkubációs idő után) * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, a kontroll sejtekhez viszonyítva

4.1.3. Az ösztron-azid dipólusok előállítása és CuAAC reakcióik

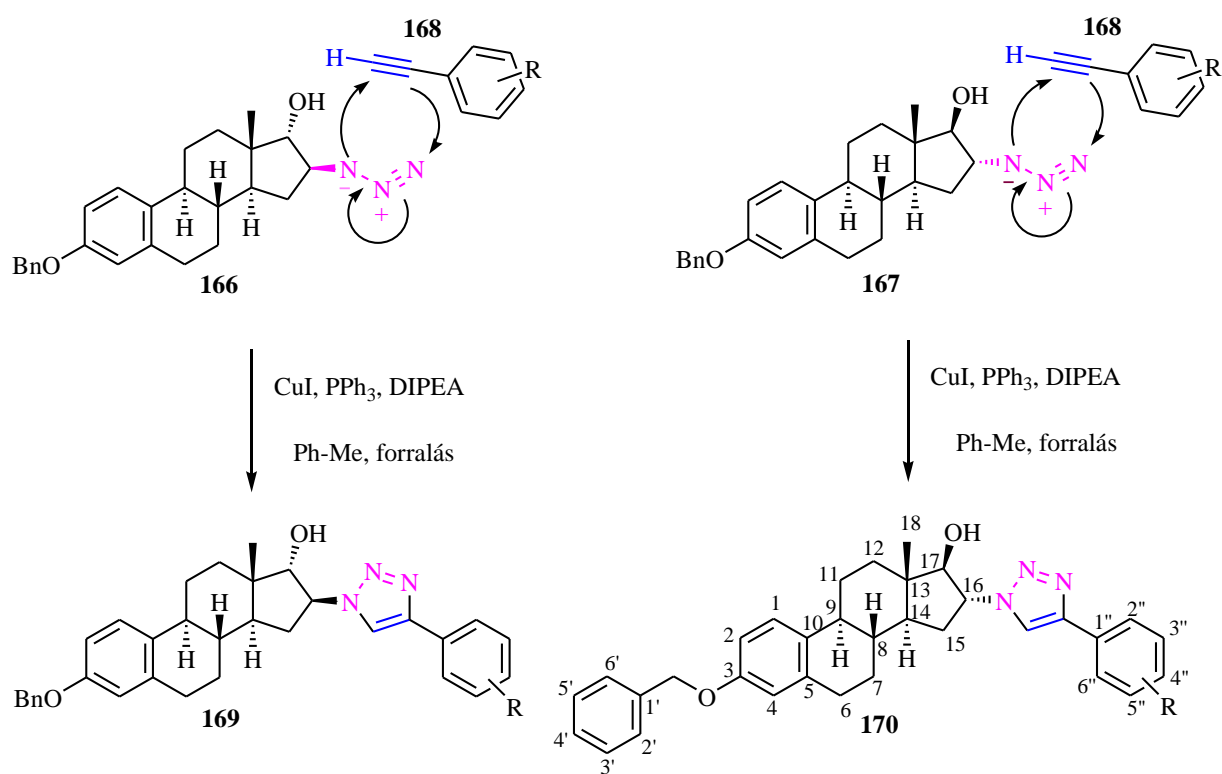
Kísérleti munkánk folytatásaként azid dipólusokat állítottunk elő az ösztron sorban. Az ösztron-3-benzil-étert (**8**) többlépéses reakciósor eredményeként azidoalkoholokká (**166**, **167**) alakítottunk. Első lépésben az ösztron-3-benzil-éterét (**8**) réz-bromid felhasználásával, toluolos–metanolos közegben brómoztuk (48. ábra). A brómhidrineket (**160**, **161**) a **159**-es jelű vegyület nátrium-tetrahidrido-borátos redukciójával nyertük. Az olefin (**162**) szintézisét a brómhidrinek (**160**, **161**) cink–jégecetes átalakításával valósítottuk meg. Az alként (**162**) diklórmétán–metanolos közegben magnézium-monoperoxiftaláttal reagáltatva, sztereoszelektíven jutottunk a 16 α ,17 α -epoxidhoz (**163**). A 16 β ,17 β -epoxid (**165**) előállítását kétlépéses folyamatban valósítottuk meg. Elsőként a szteroid-olefint (**162**) NBS-del, dimetil-szulfoxid–metanol oldószerkelegyen brómhidrinné (**164**) alakítottuk, majd azt metanolban, 5%-os K₂CO₃ oldattal forralva jutottunk a 16 β ,17 β -epoxidhoz (**165**). Az epoxidok (**163**, **165**) gyűrűnyitásához 7 ekvivalens mennyiségű NaN₃ nukleofil reagenst használtunk. Dimetil-szulfoxid–jégecetes közegben (10:1), forralás mellett régioszelektíven nyertük a *transz*-16-azido-17-alkoholokat (**166**, **167**). Ez utóbbi vegyületek szolgáltak kiindulási anyagként a CuAAC átalakításokhoz.



48. ábra: A *trans*-16-azido-17-alkoholok (**166**, **167**) előállítása az epoxidok (**163**, **165**) gyűrűnyitásával

A 16 β -azido-öszttron-3-benzil-éter-17 α -olt (**166**) és a 16 α -azido-öszttron-3-benzil-éter-17 β -olt (**167**) monoszubsztituált acetilénekkel (**168a–e**) reagáltattuk (49. ábra). Az 1,3-dipoláris cikloaddíciókat katalitikus mennyiségű (0,1 ekvivalens) CuI és PPh₃ komplexáló ligandum (0,2 ekvivalens) segítségével, 3 ekvivalens mennyiségű *N,N*-diizopropil-etilamin (DIPEA) bázis jelenlétében hajtottunk végre. A reakciók 2 óra alatt végbementek. A szintézisek régioszelektíven szolgáltatták a 16-triazolil-17-hidroxiöszttron-3-benzil-étereket (**169a–e** és **170a–e**). A fenilacetilén aromás gyűrűjén lévő szubsztituensek helyzete és

minősége nem befolyásolta sem a reakciósebességet, sem a céltermékek (**169a–e** és **170a–e**) hozamát (4. táblázat).



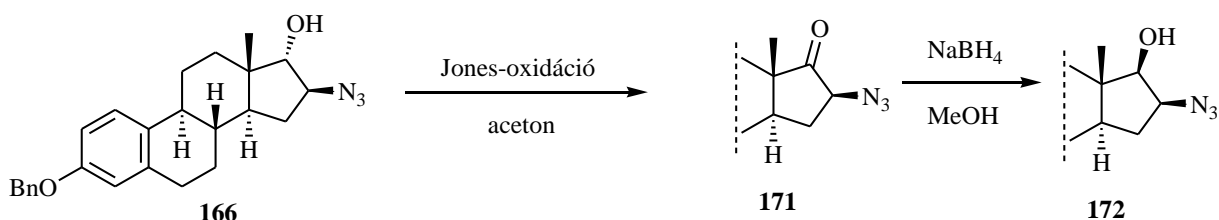
168, 169, 170	R
a	H
b	3''-Me
c	4''-Me
d	4''-CF ₃
e	4''-Et

49. ábra: A 16-triazolil-17-hidroxiösztion-3-benzil-éterek (**169–170**) szintézise réz(I)-katalizált 1,3-dipoláris cikloaddícióval

Azid	Alkin	Termék	Hozam (%)
166	168a	169a	85
166	168b	169b	92
166	168c	169c	93
166	168d	169d	93
166	168e	169e	89
167	168a	170a	90
167	168b	170b	92
167	168c	170c	91
167	168d	170d	92
167	168e	170e	88

4. táblázat: A CuAAC reakciók során képződött termékek (**169a–e** és **170a–e**) hozamai

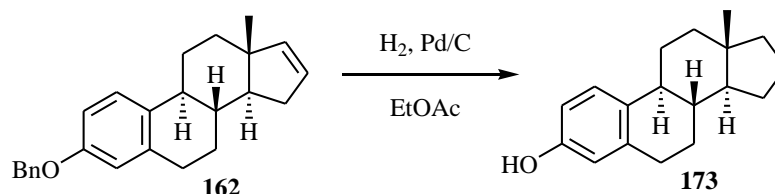
A célból, hogy a későbbi biológiai vizsgálatokhoz további származékokat nyerjünk, az azidoalkoholokat különböző átalakításoknak vetettük alá. A **166**-os azidoalkohol Jones-oxidációja során 17-ketont (**171**) kaptunk, amely redukciója egy új *cisz*-azidoalkoholt (**172**) eredményezett (50. ábra).



50. ábra: A 16 β -azido-3-benziloxiösztro-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (**166**) Jones-oxidációja, és az azidoketon (**171**) redukciója

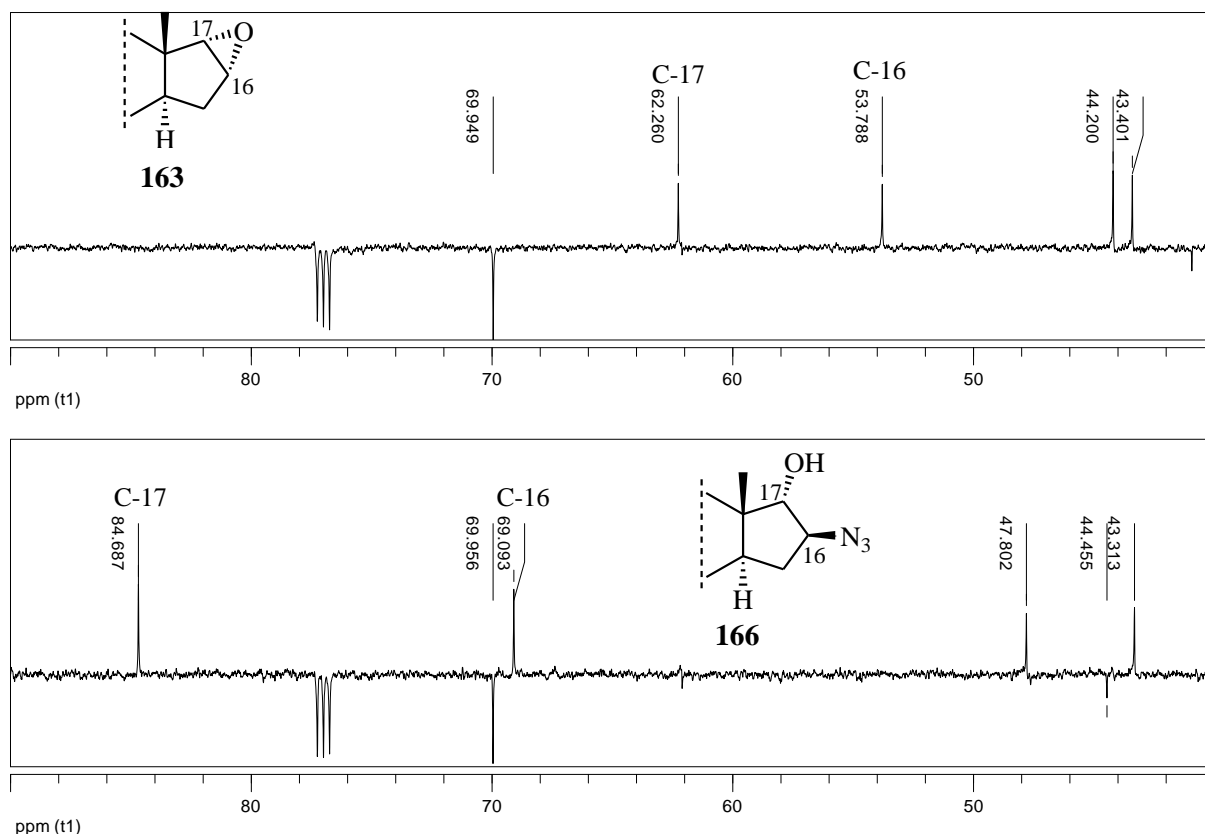
Célunk volt annak vizsgálata is, hogy a biológiai aktivitáshoz szükséges-e a 17-es oxigén-funkció jelenléte, így kerülő úton megvalósítottuk annak eltávolítását is, a 17-dezoxi származék előállítását céljából. A szteroid-olefin (**162**) benzil-védőcsoportját katalitikus hidrogénezéssel, Pd/C katalizátort alkalmazva eltávolítottuk (51. ábra). A szteroid (**162**) etil-acetátos oldatát 20 bar hidrogénnyomás alatt, 2 órán át kevertük. A reakció során a

debenzilezés mellett a vegyület (**162**) kettős kötése is telítődött, így jutottunk a 17-dezoxi származékhoz (**173**).



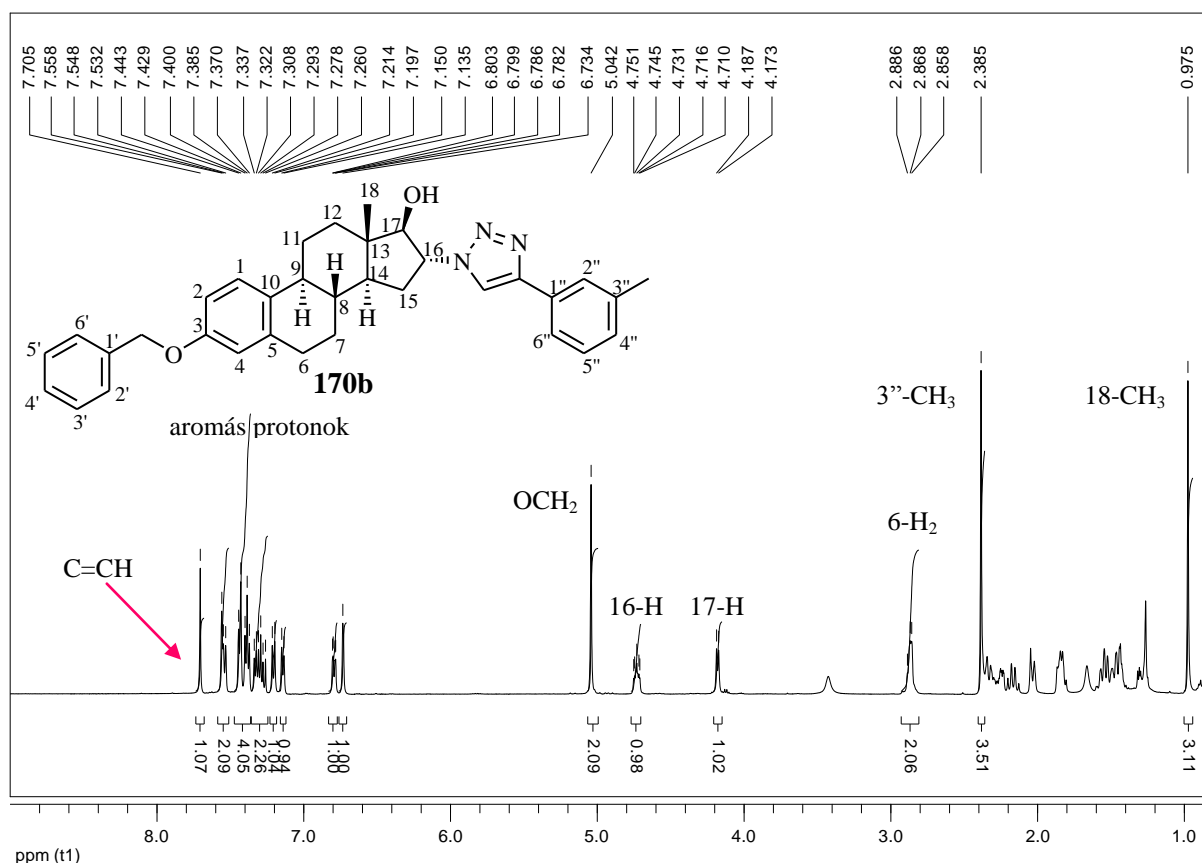
51. ábra: A 16-olefin (**162**) katalitikus hidrogénezése

Az előállított vegyületek szerkezetét ^1H -NMR és ^{13}C -NMR felvételekkel igazoltuk. A ^{13}C -NMR spektrumban a *transz*-azidoalkoholok (**166**, **167**) C-16 és C-17 jelei magasabb kémiai eltolódásnál (67 ppm és 87 ppm között) jelentkeznek, mint a nekik megfelelő epoxidoké (**163**, **165**, 53 ppm és 66 ppm, 52. ábra). Az azidoalkoholok (**166**, **167**) jeleinek magasabb kémiai eltolódása jelzi, hogy az epoxidok (**163**, **165**) gyűrűnyitása végbement, a 16-os és 17-es helyzetben kialakult a vicinális azidoalkohol-funkció.



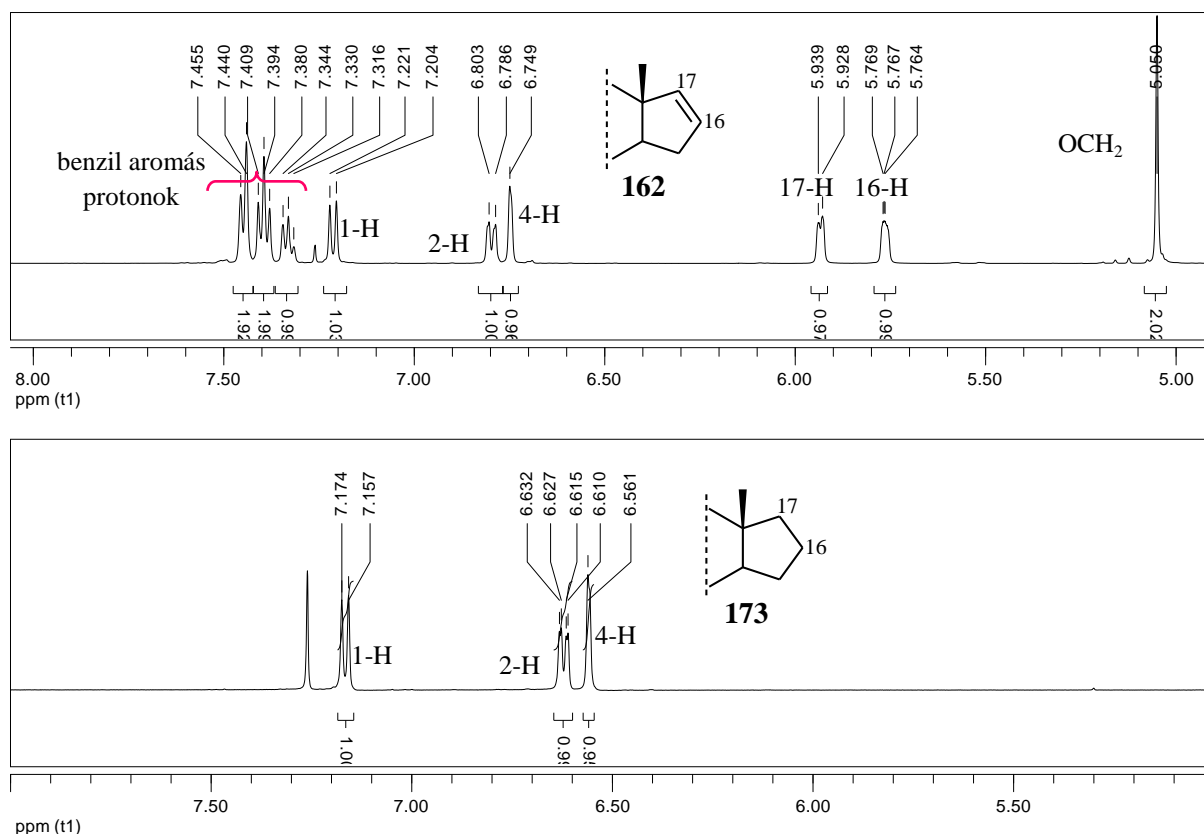
52. ábra: Az α -epoxid (**163**) ^{13}C -NMR spektrumának összehasonlítása a 16 β -azido-17 α -hidroxi származék (**166**) ^{13}C -NMR felvételével

Az 53. ábrán a **170b** ^1H -NMR spektruma látható. A legmagasabb kémiai eltolódású protonjel (7,7 ppm) a triazol-gyűrű egyetlen protonjához rendelhető. A 6,7 és 7,5 ppm közötti tartományban a benzil-védőcsoport, az aromás A-gyűrű és a tozil-gyűrű protonjainak jelei láthatók. 1,0 és 2,4 ppm-nél az anguláris és a 3''-metilcsoport hármas intenzitású szingulettjei figyelhetők meg. Mindezek arra utalnak, hogy az 1,3-dipoláris cikloaddíció eredményeként valóban a kívánt célterméket (**170b**) kaptuk.



53. ábra: A **170b** ¹H-NMR spektruma

Az azidoketon (**171**) ¹H-NMR felvétele jól mutatja, hogy a **166**-os azidoalkohol 17-OH-csoportjának oxidációja sikeresen végbement, hiszen 3,8 ppm körül hiányzik a 17-H szingulettje, továbbá a **171**-es vegyület ¹³C-NMR spektrumában 215 ppm-nél megjelenik a ketocsoport kvaterner szénatomjának a jele. A **171**-es származék redukciójával nyert 16β-azido-3-benziloxiösztrea-1,3,5(10)-trién-17β-ol (**172**) ¹H-NMR spektrumában két egységnyi intenzitású jelet detektáltunk 3,6 ppm és 4,1 ppm körül, amelyek a 16-H-hoz és a 17-H-hoz rendelhetők. Az 54. ábra a szteroid-olefin (**162**) és a katalitikus hidrogénezésével előállított vegyület (**173**) ¹H-NMR spektrumrészlete látható. Megfigyelhető, hogy az alkén (**162**) 16-H és 17-H multipliettjei, illetve a benzil-védőcsoport aromás jelei a **173**-os származék ¹H-NMR felvételén nem láthatók, amely a sikeresen végbement hidrogénezésre utal.



54. ábra: A szteroid-olefin (**162**) és a katalitikus hidrogénezésével nyert vegyület (**173**) ¹H-NMR spektrumrészlete

A közelmúltban számos kutatócsoport számolt be szteroid-triazolok humán adherens tumorsejtvonalakon mutatott antiproliferatív hatásáról (lásd 29.–32. oldal). Ezek alapján meghatároztuk az újonnan szintetizált származékok (**162–173**) sejtsztódást gátló hatását *in vitro* MTT-módszer segítségével, négy különböző humán adherens sejtvonalon (Hela, MCF-7, A2780, A431). Az 5. táblázat foglalja össze az előállított vegyületek (**162–173**) antiproliferatív hatását. Az 5. táblázatból kitűnik, hogy az olefin (**162**) nem mutatott jelentős antitumor hatást, ugyanakkor a 17-dezoxi-számazék (**173**) 30 μ M-os koncentrációja 90%-nál nagyobb sejtsztódás gátlást eredményezett mind a négy sejtvonalon. Az epoxidok (**163**, **165**) kevésbé gátolták a sejtsztódást, mint az azidoalkoholok (**166**, **167**). Megfigyeltük, hogy a 17 α -OH-csoporttal rendelkező vegyület (**166**) potensebbnek bizonyult a 17 β -hidroxi származékokhoz (**167**, **172**) képest. E két utóbbi szteroid (**167**, **172**) azonban tumorszelektívnek mutatkozott az A431-es (**167**, IC₅₀ = 8,1 μ M) és az A2780-as sejtvonalakon (**172**, IC₅₀ = 10,7 μ M). A 16-triazolil-vegyületek (**169a–c**, **e** és **170a–c**, **e**) biológiai aktivitását összevetve a nekik megfelelő azidoalkoholokéval (**166**, **167**) kitűnik,

hogy az azido-funkció triazolil-gyűrűre történő cseréje az antiproliferatív hatás csökkenését eredményezi. Az is megállapítható, hogy a fenilacetilénből származó szubsztituensek minősége és helyzete nem befolyásolta jelentősen az antiproliferatív hatást. Egyedül a 4''-CF₃ szubsztituens (**169d**, **170d**) esetén tapasztaltunk említést érdemlő sejtosztódás-gátlást. A 17-keon (**171**) kevésbé bizonyult hatékonynak, mint az azidoalkoholok (**166**, **167**, **172**), ezzel is utalva arra, hogy a 17-es helyzetű oxigéntartalmú funkciós csoport minősége nagymértékben befolyásolja a biológiai aktivitást. A brómhidrin (**164**) az azidoalkoholokhoz (**167**, **172**) hasonlóan viselkedik az A2780 (IC₅₀ = 8,6 µM) és az A431 sejtvonalon (IC₅₀ = 12,6 µM).

		Gátlás (%) ± SEM [számított IC ₅₀ érték ¹]			
Vegyület	Konc. (µM)	Hela	MCF-7	A2780	A431
162	10	3,7 ± 0,4	2,0 ± 1,0	3,8 ± 0,9	3,2 ± 0,3
	30	12,2 ± 1,5	18,8 ± 1,1	13,8 ± 0,8	20,6 ± 0,7
163	10	9,5 ± 0,9	10,5 ± 1,0	12,5 ± 1,3	12,4 ± 0,7
	30	39,7 ± 1,1	34,7 ± 1,7	37,9 ± 1,0	42,1 ± 0,7
164	10	17,3 ± 0,8	7,1 ± 0,9	43,5 ± 0,7	32,9 ± 2,2
	30	86,2 ± 0,6	80,4 ± 0,6	93,8 ± 0,6	95,7 ± 0,5
				[8,6 µM]	[12,6 µM]
165	10	7,5 ± 0,6	4,6 ± 1,8	7,3 ± 1,2	13,3 ± 0,3
	30	33,9 ± 1,4	14,0 ± 0,8	20,2 ± 0,6	30,6 ± 1,2
166	10	12,2 ± 0,7	67,9 ± 1,0	45,1 ± 1,3	84,4 ± 0,9
	30	96,8 ± 0,2	93,9 ± 0,4	95,0 ± 0,5	97,2 ± 0,3
			[13,2 µM]	[12,3 µM]	[13,2 µM]
167	10	23,6 ± 2,3	25,0 ± 1,8	25,2 ± 1,5	92,1 ± 0,5
	30	91,3 ± 0,5	85,2 ± 0,6	94,6 ± 0,3	95,9 ± 0,1
					[8,1 µM]
169a	10	36,2 ± 1,1	23,1 ± 2,3	39,7 ± 0,7	23,6 ± 2,0
	30	55,0 ± 0,4	43,0 ± 2,9	45,6 ± 2,5	36,3 ± 2,9
170a	10	30,0 ± 2,0	32,0 ± 2,0	38,1 ± 1,5	20,9 ± 0,5
	30	34,6 ± 1,4	52,5 ± 1,8	44,6 ± 1,2	22,9 ± 1,0
169b	10	12,8 ± 0,4	18,1 ± 2,0	23,6 ± 0,8	4,6 ± 0,9
	30	14,1 ± 0,8	25,6 ± 2,7	26,2 ± 0,5	9,5 ± 1,6
170b	10	27,4 ± 0,7	23,9 ± 1,4	30,2 ± 2,3	14,6 ± 1,8

	30	37,3 ± 0,7	27,9 ± 2,4	34,7 ± 2,3	21,9 ± 2,2
169c	10	30,1 ± 0,9	23,1 ± 0,9	20,9 ± 0,7	23,6 ± 1,2
	30	34,2 ± 0,8	39,9 ± 0,7	26,7 ± 1,4	31,4 ± 1,1
170c	10	44,4 ± 2,1	12,1 ± 1,2	30,1 ± 0,8	7,8 ± 1,9
	30	50,6 ± 1,8	24,0 ± 2,8	37,4 ± 0,4	9,8 ± 1,9
169d	10	60,8 ± 1,8	41,1 ± 1,4	30,2 ± 3,1	16,6 ± 1,7
	30	50,6 ± 4,7	75,5 ± 0,4	57,8 ± 1,2	37,2 ± 1,5
			[11,5 µM]		
170d	10	73,7 ± 2,9	29,9 ± 0,5	44,1 ± 2,6	14,6 ± 1,5
	30	75,2 ± 2,6	48,4 ± 1,9	54,9 ± 1,2	21,8 ± 3,6
		[9,5 µM]			
169e	10	30,0 ± 1,0	18,2 ± 2,1	36,5 ± 0,9	12,5 ± 1,4
	30	34,3 ± 1,5	32,1 ± 0,7	38,5 ± 1,3	18,0 ± 0,9
170e	10	6,4 ± 2,6	12,7 ± 0,8	31,2 ± 3,0	16,7 ± 0,9
	30	29,6 ± 3,1	14,7 ± 0,3	34,7 ± 1,8	18,2 ± 1,7
171	10	15,5 ± 1,2	17,8 ± 1,0	15,8 ± 2,1	8,9 ± 0,9
	30	35,3 ± 2,0	30,8 ± 0,5	28,4 ± 0,9	11,9 ± 3,3
172	10	13,7 ± 1,6	15,1 ± 1,3	46,3 ± 1,1	57,1 ± 1,2
	30	47,4 ± 0,7	60,1 ± 1,3	71,4 ± 0,8	77,9 ± 1,0
				[10,7 µM]	
173	10	6,3 ± 0,5	20,9 ± 2,3	17,8 ± 0,5	2,7 ± 0,9
	30	97,4 ± 0,1	91,4 ± 0,5	93,6 ± 0,3	96,7 ± 0,2
Ciszplatin	10	42,6 ± 2,3	53,0 ± 2,3	83,6 ± 1,2	88,6 ± 0,5
	30	99,9 ± 0,3	86,9 ± 1,3	95,0 ± 0,3	90,2 ± 1,8
		[12,4 µM]	[9,6 µM]	[1,3 µM]	[2,8 µM]

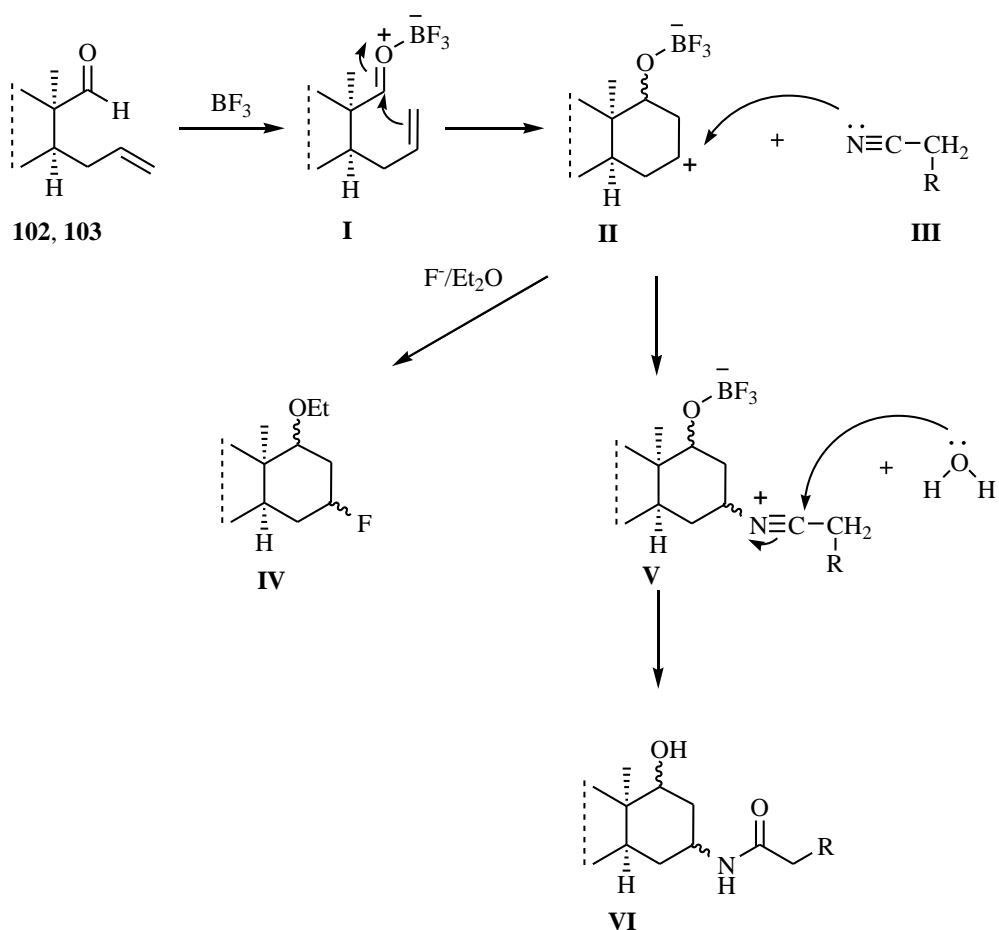
¹Középértéke a két különböző, egymástól független, 5 párhuzamos csatornával végrehajtott meghatározásnak, a standard deviáció kisebb, mint 15%

²< 20 % gátlás % értékeket nem tüntettük fel, a könnyebb áttekinthetőség érdekében

5. táblázat: Az újonnan előállított vegyületek (**162–173**) sejtosztódást gátló hatása négy különböző humán adherens tumorsejtvonalon

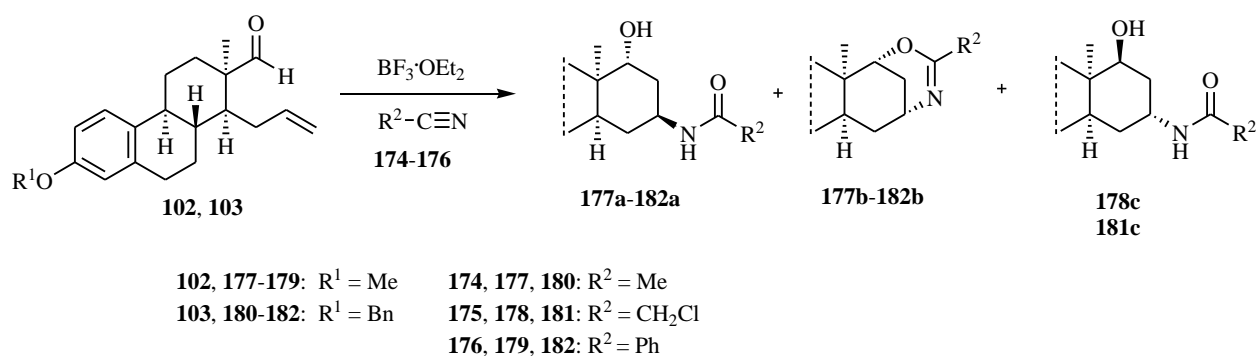
4.2. A δ -alkenil-D-szekoöszttronok Lewis-sav-indukált „one pot” Prins-Ritter reakciói

Kutatómunkánk következő részében folytattuk az új, nitrogéntartalmú D-homoöszttron származékok előállítását. A korábbi eredményeinkre alapozva, a 13 α -öszttron sorbeli D-szekoaldehid 3-metil- és 3-benzil-éterét (**102**, **103**) Lewis-sav-indukált Prins-reakcióval D-homológokká (**177–182**) alakítottuk, majd a 16-os szénatomon kialakuló karbokationra nukleofil beépítését valósítottuk meg a Ritter-reakció kísérleti körülményei között, „one pot” eljárással (56. ábra, 6. táblázat).¹¹⁰ Lewis-sav katalizátorként BF₃·OEt₂-ot, oldószerként és nukleofil reagensként pedig különböző nitrileket (acetonitril (**174**), klóracetonitril (**175**), benzonitril (**176**)) használtunk. A szintéziseket szobahőmérsékleten végeztük, ekvimoláris mennyiségű BF₃·OEt₂ diklórmétános oldatát adagolva a reakcióelegyhez. Valamennyi reakció pár perc alatt lejátszódott. Az 55. ábra a Prins-Ritter reakció feltételezett mechanizmusát szemlélteti. A 16-os szénatomra a nitril (**III**) intézett nukleofil támadást, majd a képződött átmeneti termékek (**V**) víz hatására iminol-acilamino tautomer átrendeződéssel acilamino származékokká (**VI**) alakultak tovább. A szekoaldehidek (**102**, **103**) gyűrűzárása során így két új kiralitáscentrum (C-16 és C-17a) alakult ki, amelyek négy sztereoizomer képződésére adtak volna lehetőséget. 16-Fluorszármazékok (**IV**) képződését egyik reakcióban sem figyeltük meg. Ennek oka lehet, hogy a nitrilt (**III**) nagy feleslegben alkalmazva, a fluoridion nukleofilként való támadása nem valósul meg.



55. ábra: A Prins-Ritter reakció mechanizmusa

A folyamatok sztereoszelektíven játszódtak le, két-két Prins-Ritter terméket szolgáltatva (**177a–182a** és **177b–182b**), 4:1 arányban (56. ábra, 6. táblázat). A főtermékek, a 16 β -acilamino-17 $\alpha\alpha$ -hidroxi vegyületek (**177a–182a**) minden reakcióban nagy feleslegben képződtek, míg mindhárom nitril (**174–176**) esetén megjelent egy új, áthidalt típusú melléktermék (**177b–182b**) is a reakcióelegyben. Klóracetonitril (**175**) alkalmazásakor három termék (**178a–c** vagy **181a–c**) képződött, 7:2:1 arányban. Az áthidalt vegyület (**177b–182b**) kialakulásának feltételezett mechanizmusát irodalmi példákra alapozzuk.^{111, 112}

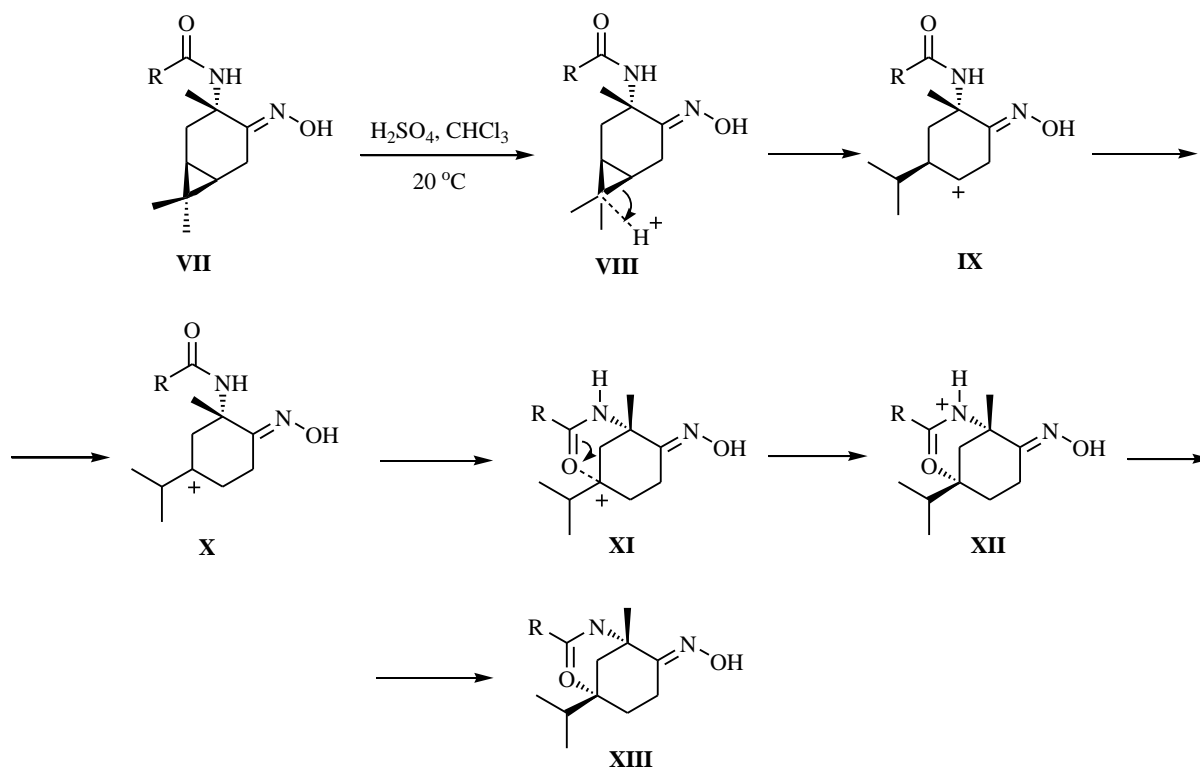


56. ábra: A D-szekoaldehydekek (**102**, **103**) átalakításai Prins-Ritter reakcióval

Kiindulási aldehyd	Nitril	Termékek	Hozamok (%)
102	174	177a+177b	78+21
102	175	178a+178b+178c	64+19+9
102	176	179a+179b	76+20
103	174	180a+180b	74+20
103	175	181a+181b+181c	65+19+9
103	176	182a+182b	71+18

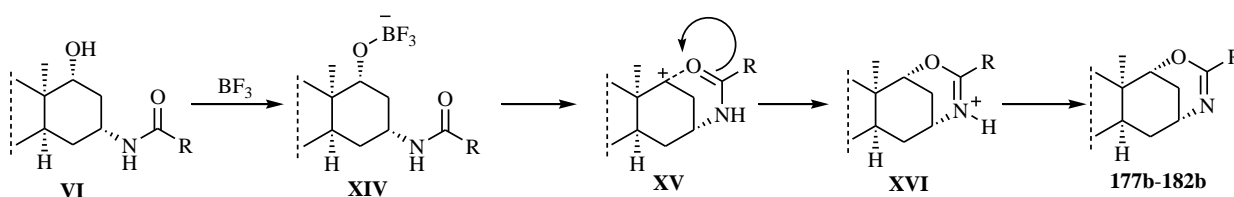
6. táblázat: A Prins-Ritter termékek (**177–182**) hozamai

Ismeretes, hogy a 3-(*N*-acilamino)-szubsztituált karán-4-on-oximok (**VII**) tömény kénsav jelenlétében, kloroformos közegben, szobahőmérsékleten átrendeződnek, és áthidalt szerkezetű dihidrooxazinokat (2-oxa-4-azabicyclo[3.3.1]non-3-én származékokat, **XIII**) adnak.¹¹² A feltételezett mechanizmus szerint a **VII** vegyület kvaterner szénatomja protonálódik (**VIII**), a ciklopropán gyűrű felnyílik (**IX**), és az 57. ábrán látható karbokation (**IX**) képződik. Az 1,2-hidrideltolódás során 1,3-(*N*-acilamino)-karbokation (**X**) alakul ki, ahol a karbokationra az amidcsoport oxigénje támad, így kialakítva a dihidro-1,3-oxazin gyűrűt (**XIII**).



57. ábra: A 3-(*N*-Acilamino)-szubsztituált karán-4-on-oximok dihidro-1,3-oxazinokká történő átrendeződése

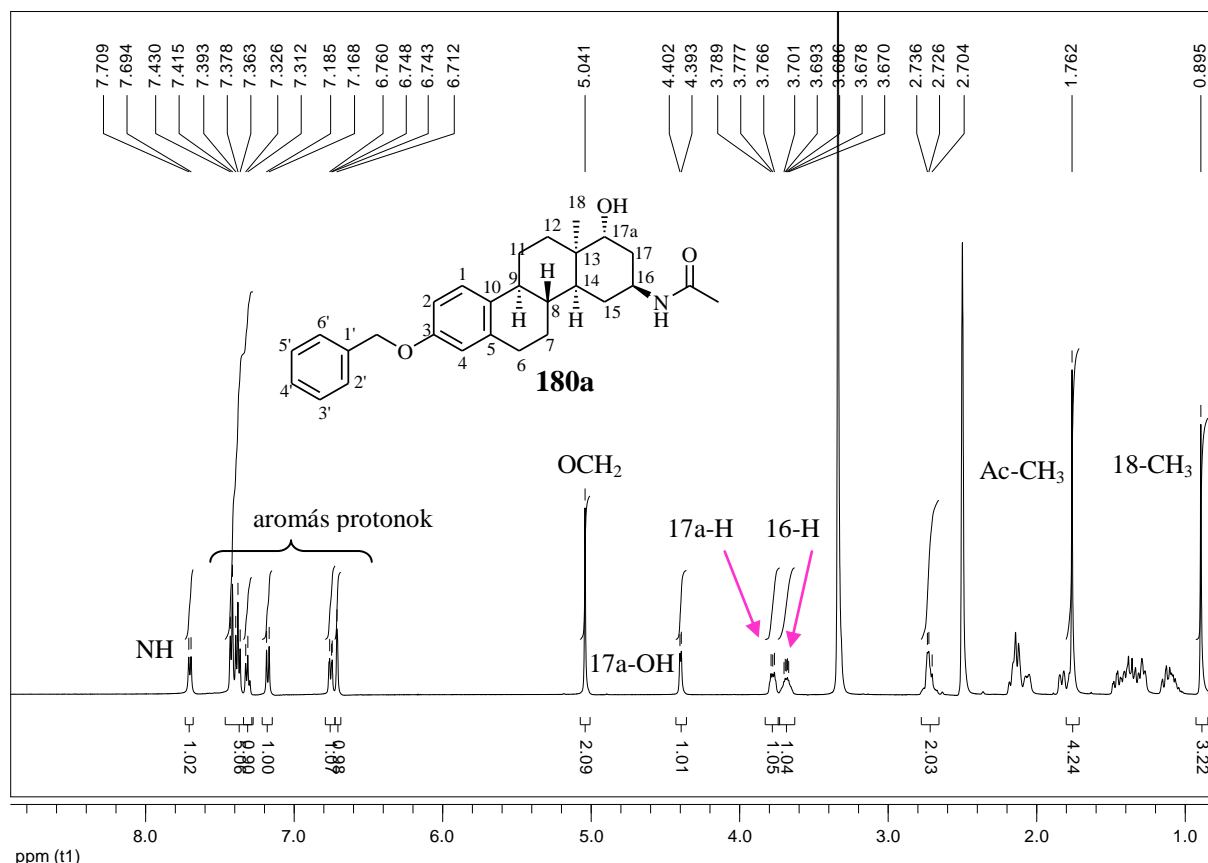
Ez utóbbi eredmény alapján feltételezzük, hogy a Prins-Ritter reakcióban átmenetileg α,α -mellékizomerek (**177b–182b**) képződnek, amelyek 17a-szénatomján a hidroxilcsoport Lewis-sav-indukált eliminációját követően *szekunder* karbokation alakul ki, amelyre az amid oxigénatomja indít nukleofil támadást, így létrehozva a dihidro-1,3-oxazinokat (**177b–182b**, 58. ábra).



58. ábra: A dihidrooxazinok (**177b–182b**) képződésének feltételezett mechanizmusa

A Prins-Ritter termékek (**177–182**) szerkezetbizonyítását egy- és kétdimenziós NMR-felvételek, valamint az irodalomban ismeretes hasonló szerkezetű vegyületek megfelelő adatai segítették.^{92, 113, 114} Az 59. ábra az acetonitriles reakcióban nyert 16 β -acetilamino-17 $\alpha\alpha$ -

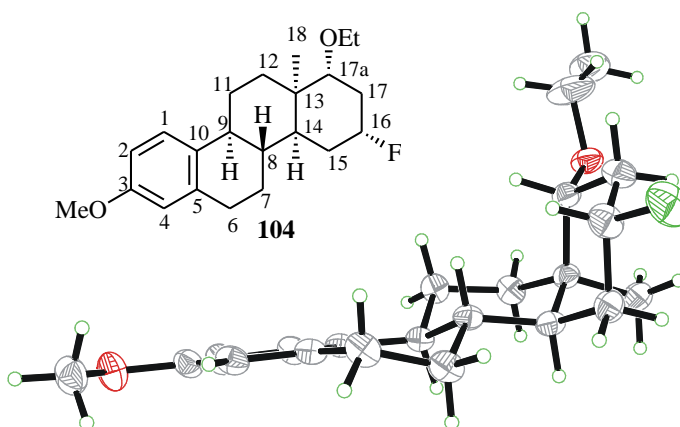
hidroxi főtermék (**180a**) ^1H -NMR spektrumát mutatja. A felvételen 1,7 ppm-nél az acetonitrilből származó acetil-metilcsoport hármas intenzitású szingulettje, 3,7 és 3,8 ppm között a 16-H és a 17a-H multiplettjei, 4,4 ppm kémiai eltolódásnál a 17a-hidroxil-funkció, míg 7,7 ppm-nél az NH szingulettje látható. A ^{13}C -NMR spektrumban az acetil-metilcsoport jele 23 ppm kémiai eltolódásnál figyelhető meg, továbbá az *N*-acetil-funkciónak a molekulába történt beépülésére a 168 ppm-nél megjelenő NCO jel utal.



59. ábra: A 16 β -acetilamino-17a α -hidroxi főtermék (**180a**) ^1H -NMR spektruma

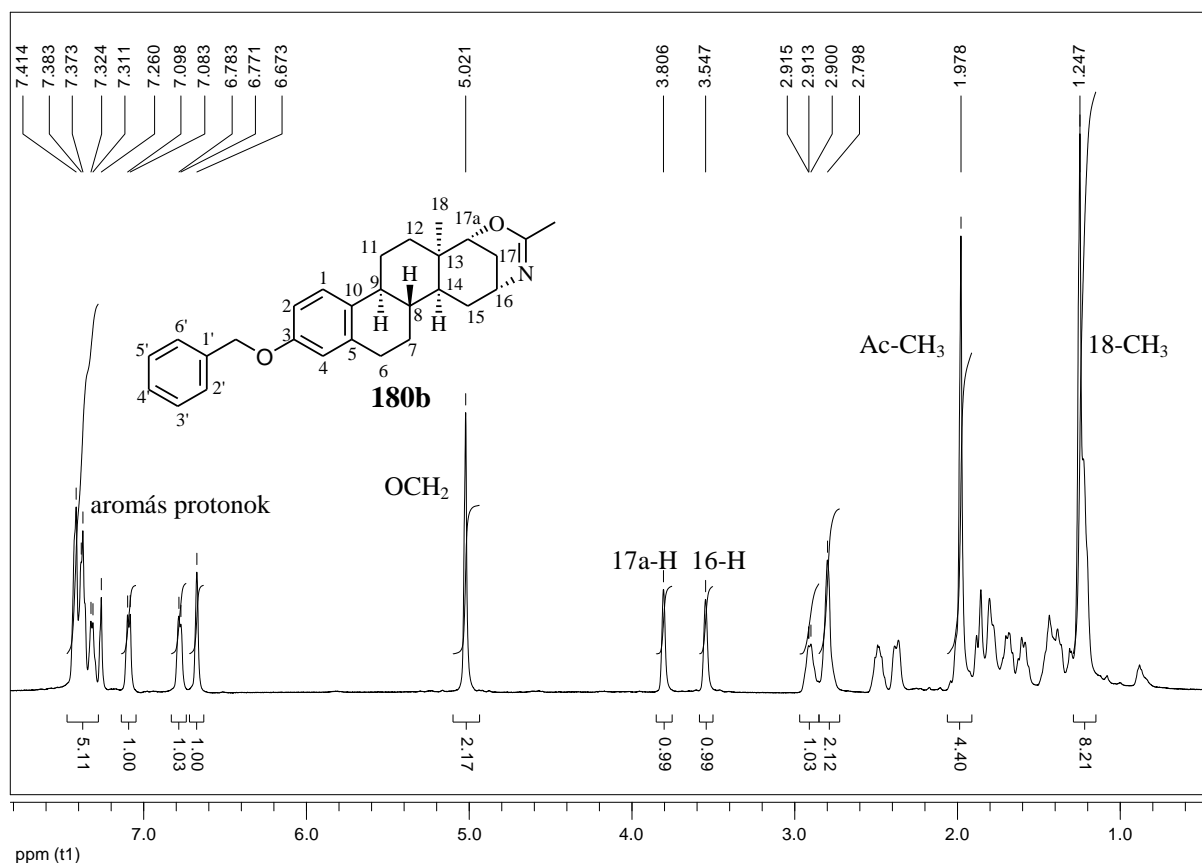
A vegyület 16-os és 17a-szénatomjai konfigurációjának meghatározása érdekében 2D-NMR felvételeket készítettünk, továbbá összehasonlítottuk azokat a korábban előállított D-homoösztron származék (**104**) megfelelő spektrumaival és röntgendiffrakciós felvételével (60. ábra).⁹² A 60. ábrán jól látható, hogy a D-gyűrű α -helyzetű etoxi- és fluor-szubsztituensei ekvatoriálisak. Az új vegyületek NMR-spektrumai arra utalnak, hogy az általunk szintetizált főtermékek (**177a–182a**) 16 β -acilamino-csoportot tartalmaznak, amelyek feltehetően axiális

térhelyzetűek. Ennek oka lehet az *N*-acetil-funkció oxigénatomja és a 17a-hidroxilcsoport között kialakuló erős másodrendű kölcsönhatás.



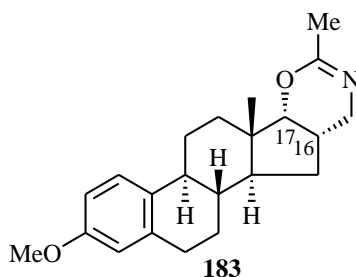
60. ábra: A **104**-es jelű vegyület röntgendiffrakcióval kapott szerkezete

A 61. ábra az acetonitriles reakcióban nyert dihidrooxazin (**180b**) protonspektrumát szemlélteti. Az ábrából kitűnik, hogy a vegyület (**180b**) nem a Prins-Ritter reakció várt sztereoizomereinek egyike, hanem egy új típusú származék. Az ^1H -NMR spektrumokat összehasonlítva megállapítottuk, hogy a fő- (**180a**) és a melléktermék (**180b**) mérhető protonjeleinek eltérő multiplicitása és kémiai eltolódása utal az eltérő szerkezetre. Míg a főtermék (**180a**) protonspektrumában a 16-H és a 17a-H multiplettek, addig az áthidalt melléktermék (**180b**) esetében ugyanezen jelek kiszélesedett szingulettként láthatók. Továbbá a főtermékre (**180a**) jellemző NH-csoport szingulettje hiányzik a 6 ppm feletti tartományban. Megfigyeltük, hogy a melléktermék (**180b**) ^{13}C -NMR spektrumában az NCO jel sokkal alacsonyabb kémiai eltolódásnál (159 ppm) látható, mint a főtermék (**180a**) NCO szénatomjának a jele (168 ppm).



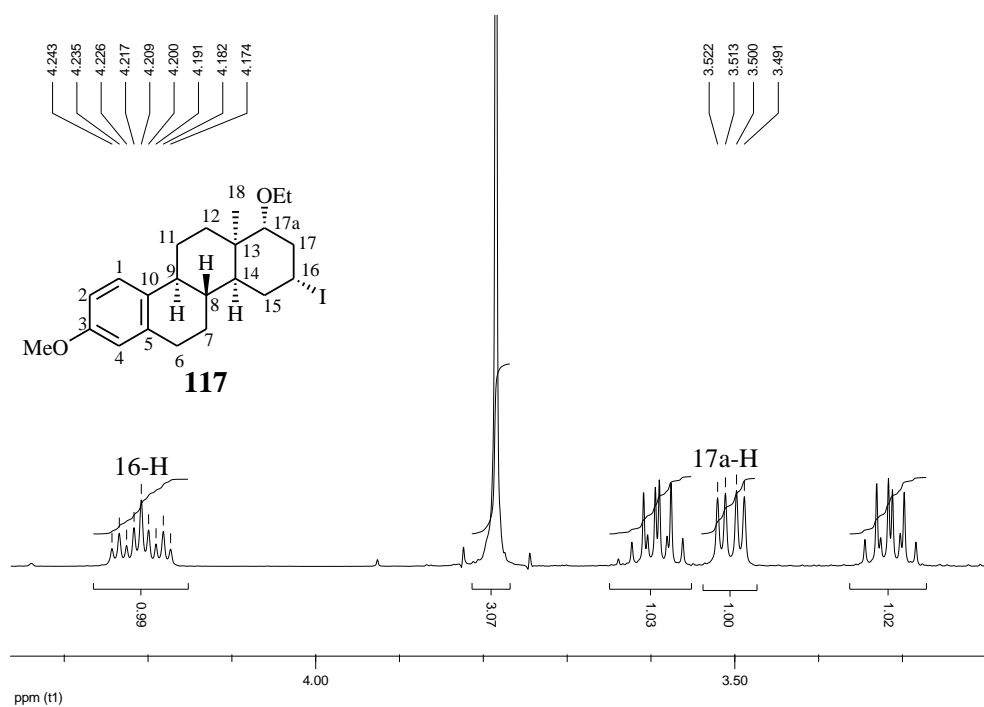
61. ábra: A **180b** jelű vegyület ^1H -NMR felvétele

Az **180b** szerkezetigazolásában további segítséget nyújtott a Kutatócsoportunk által korábban szintetizált ösztránvázás $16\alpha,17\alpha$ -dihidro-1,3-oxazin (**183**, 62. ábra) ^{13}C -NMR-felvétele.^{113, 114} A **183** szénspektrumán az NCO szén jele a C-3-as jel (157 ppm) közelében, 159 ppm kémiai eltolódásnál figyelhető meg. A **180b** NCO jele az irodalmi példához hasonlóan, 159 ppm-nél jelent meg közvetlenül a C-3 jel (156 ppm) mellett, ez is arra utal, hogy a **180b** nem savamid jellegű, hanem dihidrooxazin-szerkezetet tartalmaz. A HMBC felvétel is igazolja a dihidrooxazin-jelleget, a spektrumon jól látható, hogy mind a C-16, mind a C-17a jele keresztcsúcsot ad az NCO szénatom jelével, ez pedig csak egy „gyűrűs” szerkezetnél lehetséges, a főtermékhez hasonló szubsztituált vegyületnél az NCO és a C-17a jelei között nem lehetne keresztcsúcs.

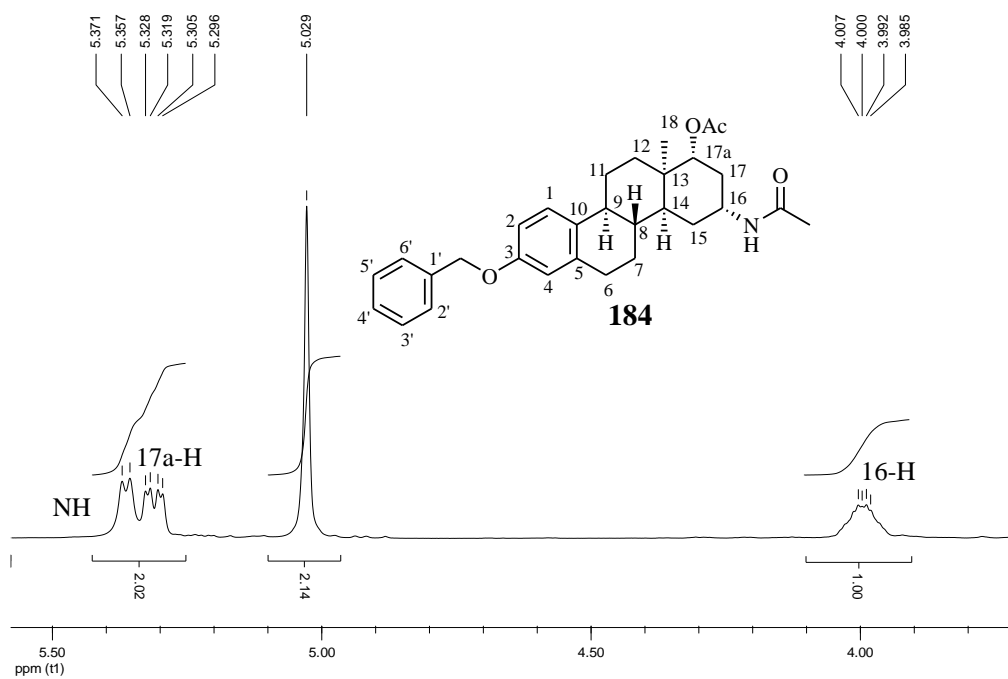


62. ábra: A 16 α ,17 α -dihidro-1,3-oxazin (**183**) szerkezete

A **180b** C-16 és C-17a konfigurációjának megállapításában a NOESY felvétel segítette munkánkat, amelyen megfigyelhető a 16-H és a 17a-H jeleinek keresztcsúcsa, ebből következtettünk a protonok *cis*-elrendeződésére. A pontos térállás meghatározásához további információkra volt szükségünk, ezért a **180b** jelű vegyületet acetileztük. Ekkor a vegyület áthidalt gyűrűs része felnyílt, 17a-acetoxi-16-acilamino származékot (**184**) eredményezve. Így a 63. ábrán látható, irodalomban már ismert vegyülethez (**117**) hasonló szubsztituáltságú homoösztronhoz jutottunk. A 64. ábra a **180b** jelű vegyület acetilezésével nyert termék (**184**) spektrumrészletét mutatja. A két ^1H -NMR felvételt összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a vegyületek (**117**, **184**) 16-H és 17a-H jeleinek multiplettjei, és csatolási állandói hasonlóak, utalva az újonnan kialakult kiralitáscentrumok hasonló konfigurációira (16 α ,17 α).



63. ábra: A **117**-es jelű vegyület ^1H -NMR spektrumának részlete



64. ábra: A **184**-es jelű vegyület ^1H -NMR spektrumának részlete

A klóracetonitriles reakciók során a főizomerek (**178a**, **181a**) és a dihidrooxazinok (**178b**, **181b**) mellett megjelenő sztereoizomerek (**178c**, **181c**) a főtermékek (**178a**, **181a**) diasztereomer párijai. Térszerkezetük igazolását a **184**-es jelű 17a-acetoxi-16-acilamino származék és a vegyületek (**178c**, **181c**) NOESY felvételei segítették. A *transz*-klóracetil származékok (**178c**, **181c**) 17a-H és 16-H jelei nem adtak egymással keresztcsúcsot. Továbbá azt tapasztaltuk, hogy míg a vegyületek (**178c**, **181c**) 16-H-jai nem, addig a 17a-H-jai keresztcsúcsot adtak az anguláris metilcsoporttal. Ezek alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az új, kiépített funkciós csoportok melletti protonok *transz*-térállásúak. A 16-*N*-acetyl-funkció α -, míg a 17a-OH β -helyzetű.

Az általunk előállított vegyületek (**177–182**) *in vitro* antiproliferatív hatását Hela, A2780, A431 és MCF-7 sejtvonalakon teszteltük, MTT-módszer segítségével. A Prins-Ritter termékek (**177–182**) szerkezeti különbségei nagyban befolyásolták a vegyületek (**177–182**) sejtosztódás gátló aktivitását (7. táblázat). A táblázatból kitűnik, hogy a főtermékek (**177a**, **180a**) kevésbé hatásosak a dihidrooxazinoknál (**177b**, **180b**). A **180b** az összes sejtvonalon a ciszplatinnal összemérhető értéket ad ($IC_{50} \sim 1 \mu M$), de nem szelektál az egyes sejtvonalak között. A 3-as helyzetű benzil-védőcsoport jelenléte növeli a vegyületek sejtosztódás-gátló aktivitását. Az újonnan előállított *N*-klóracetyl származékok (**178**, **181**) szélesebb hatásspektrummal rendelkeznek, a 3-benzil-éter sorban (**181a–c**) 90% körüli gátlást mutatnak mind a négy sejtvonalon. A táblázat adatainak összevetéséből arra a következtetésre jutottunk, hogy az *N*-klóracetyl származékok (**178**, **181**) leginkább az A2780-as sejtek osztódását gátolják (IC_{50} értékeik: 0,8 – 2,1 μM). Az *N*-benzoil származékok (**179**, **182**) mutatkoztak legkevésbé hatásosnak.

		Gátlás (%) ± SEM [számított IC ₅₀ érték ¹]			
Vegyület	Konc. (μM)	Hela	MCF-7	A2780	A431
N-acetil származékok					
177a	10	- ²	-	-	31,7 ± 2,8
	30	-	-	26,5 ± 1,0	37,0 ± 1,0
180a	10	50,9 ± 2,4	56,5 ± 0,8	45,5 ± 0,4	59,7 ± 0,5
	30	54,2 ± 2,2	64,0 ± 1,0	61,1 ± 0,8	66,2 ± 1,2
177b	10	27,4 ± 1,1	-	39,5 ± 2,1	21,0 ± 1,1
	30	97,4 ± 0,1	92,3 ± 0,4	96,3 ± 0,2	98,2 ± 0,2
180b	10	95,6 ± 0,2	93,2 ± 0,6	97,1 ± 0,1	96,7 ± 0,2
	30	96,3 ± 0,2	92,3 ± 0,3	97,3 ± 0,1	96,3 ± 0,3
		[1,3 μM]	[1,3 μM]	[1,1 μM]	[1,3 μM]
N-klóracetil származékok					
178a	10	38,7 ± 2,2	36,4 ± 2,6	94,6 ± 0,6	29,7 ± 1,8
	30	95,8 ± 0,3	75,7 ± 1,2	96,6 ± 0,3	83,0 ± 0,4
				[2,3 μM]	
181a	10	95,8 ± 0,4	57,2 ± 2,7	96,5 ± 0,1	90,4 ± 0,4
	30	96,2 ± 0,2	86,7 ± 0,9	97,5 ± 0,1	95,9 ± 0,2
		[1,6 μM]	[8,3 μM]	[0,8 μM]	[5,1 μM]
178b	10	22,0 ± 0,9	-	77,1 ± 0,9	25,6 ± 1,4
	30	90,7 ± 1,1	75,6 ± 1,6	97,1 ± 0,1	89,6 ± 1,0
				[6,8 μM]	[12,3 μM]
181b	10	96,8 ± 0,1	93,1 ± 0,6	94,2 ± 0,6	98,1 ± 0,2
	30	97,4 ± 0,2	94,5 ± 0,5	94,1 ± 0,6	98,6 ± 0,2
		[5,8 μM]	[2,6 μM]	[2,1 μM]	[3,9 μM]
178c	10	-	63,8 ± 1,0	85,5 ± 1,1	84,0 ± 1,1
	30	97,4 ± 0,2	93,1 ± 0,2	94,2 ± 0,4	98,5 ± 0,3
			[7,3 μM]	[8,0 μM]	[8,8 μM]
181c	10	28,0 ± 3,0	30,2 ± 0,8	94,7 ± 0,2	96,2 ± 0,1
	30	97,3 ± 0,1	93,7 ± 0,3	92,5 ± 0,2	98,5 ± 0,1
				[1,6 μM]	[1,8 μM]
N-benzoil származékok					
179a	10	-	-	-	-
	30	-	-	38,2 ± 1,5	-
182a	10	43,3 ± 0,7	-	75,1 ± 0,8	46,6 ± 0,9
	30	88,0 ± 1,5	65,4 ± 0,6	95,0 ± 0,8	60,8 ± 2,8

		[19,1 μ M]		[7,9 μ M]	[9,2 μ M]
179b	10	-	-	27,1 \pm 2,4	-
	30	53,6 \pm 2,0	29,2 \pm 1,4	43,4 \pm 1,6	22,6 \pm 1,5
182b	10	-	-	32,8 \pm 2,2	-
	30	92,5 \pm 0,7	24,5 \pm 0,5	50,9 \pm 0,6	27,0 \pm 2,5
Cisplatin	10	42,6 \pm 2,3	53,0 \pm 2,3	83,6 \pm 1,2	88,6 \pm 0,5
	30	99,9 \pm 0,3	86,9 \pm 1,3	95,0 \pm 0,3	90,2 \pm 1,8

¹Középértéke a két különböző, egymástól független, 5 párhuzamos csatornával végrehajtott meghatározásnak, a standard deviáció kisebb, mint 15%

²<20% gátlás % értékeket nem tüntettük fel, a könnyebb áttekinthetőség érdekében

7. táblázat: A Prins-Ritter reakcióval előállított D-homoszteroidok (**177–182**) antiproliferatív aktivitása

Két potens vegyület (**180b**, **181a**) tumorszelektivitását teszteltük MTT-módszer segítségével, intakt humán fibroblaszt sejteken (MRC-5). A **180b** dózisfüggő módon, kisebb mértékben gátolta az MRC-5 sejtek osztódását (8. táblázat), mint a **181b** vagy a referenciavegyület (cisplatin). A 7. és a 8. táblázatban látható gátlás %-ok alapján elmondható, hogy míg a **180b** jelű származék tumorszelektív, addig az *N*-klóracetil származék (**181a**) mind a tumorsejtvonalakra, mind az intakt sejtekre nézve toxikus.

Vegyület	Gátlás (%) \pm SEM		
	1 μ M	3 μ M	10 μ M
180b	14,0 \pm 1,4	16,4 \pm 1,1	89,4 \pm 0,2
181a	89,9 \pm 0,8	89,7 \pm 0,7	89,7 \pm 1,0
cisplatin	22,8 \pm 1,5	33,0 \pm 0,5	73,0 \pm 1,9

8. táblázat: A két legpotensebb vegyület (**180b**, **181a**) sejtosztódás-gátlása (%) MRC-5 sejteken

Kutatómunkánk folytatásában a **180b** antiproliferatív hatását vizsgáltuk további három emlőkarcinóma sejtvonalon (9. táblázat). Ezek különböző receptorokat fejeznek ki: T-47D (ösztrogén, progeszteron és androgén receptort), MDA-MB-361 (ösztrogén receptort és HER-2-t). Az MDA-MB-231 nem fejez ki ösztrogén, progeszteron és HER-2 receptort. Megfigyeltük, hogy a **180b** nem mutatott jelentős hatásbeli különbségeket az eltérő

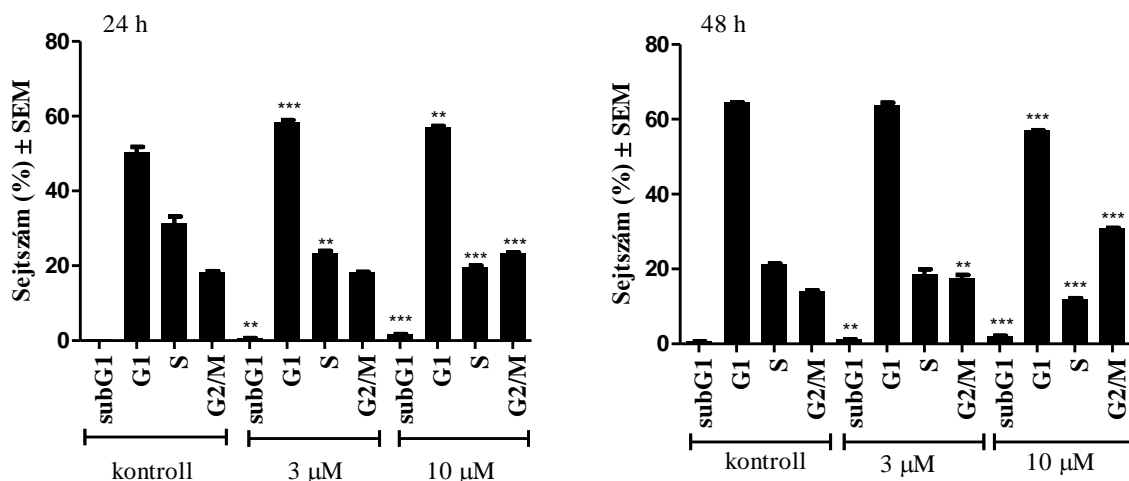
emlőkarcinóma sejtvonalakon, így feltételezzük, hogy hormonreceptor-független módon fejti ki antitumor aktivitását.

Gátlás (%) \pm SEM [számított IC ₅₀ érték ¹]				
Vegyület	Konc. (μ M)	T-47D	MDA-MB-361	MDA-MB-231
180b	10	94.6 \pm 0.7	89.7 \pm 0.3	95.3 \pm 0.2
	30	95.7 \pm 0.5	90.7 \pm 0.4	95.5 \pm 0.1
		[3.6 μ M]	[2.9 μ M]	[5.0 μ M]

¹Középértéke a két különböző, egymástól független, 5 párhuzamos csatornával végrehajtott meghatározásnak, a standard deviáció kisebb, mint 15%

12. táblázat: A **180b** sejtosztódás gátló hatása a különböző emlőkarcinóma sejtvonalakon

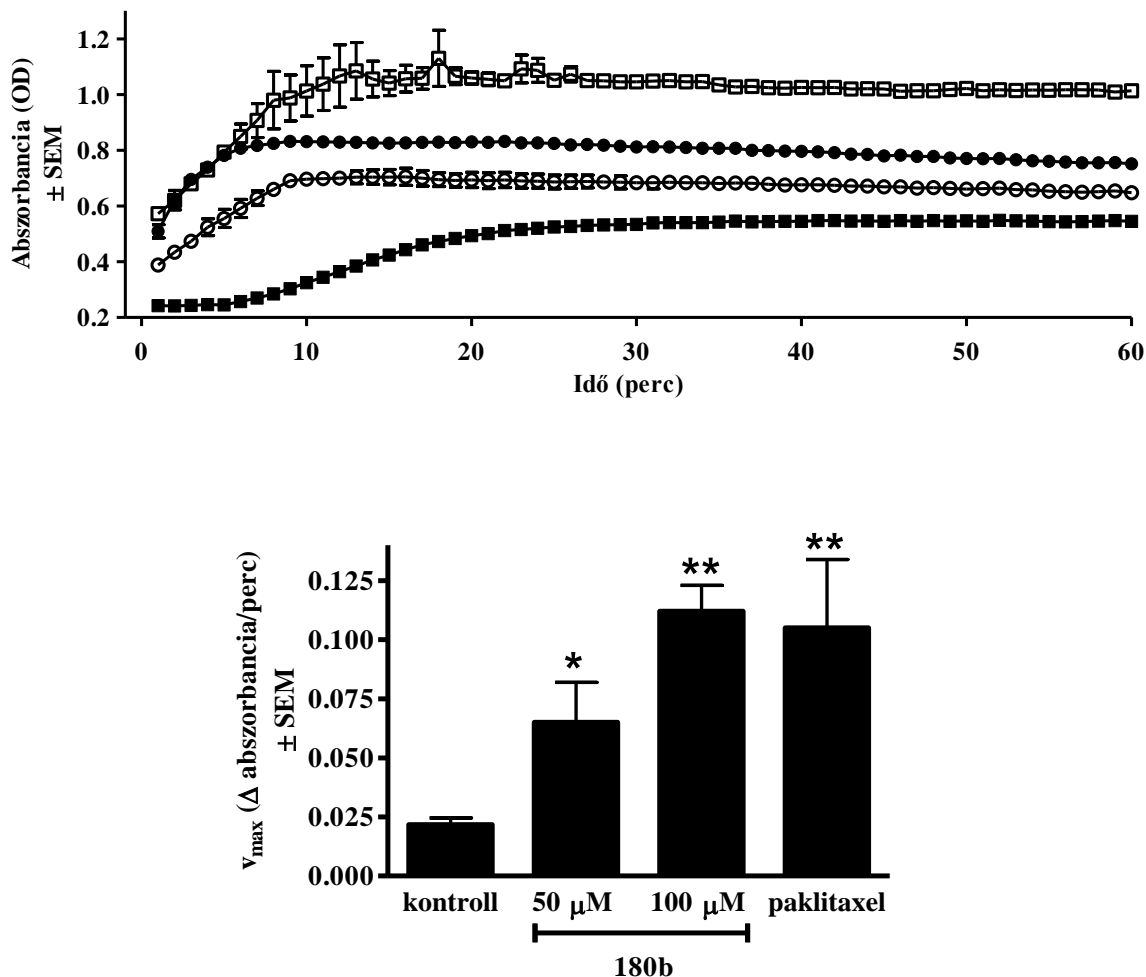
Kutatásunk folytatásában további vizsgálatokat végeztünk a **180b** antiproliferatív hatásmechanizmusára vonatkozóan. Áramlási citometriás módszerrel, sejtciklus analízist hajtottunk végre a **180b** jelű vegyület 3 μ M és 10 μ M koncentrációjú oldatával kezelt A2780-as sejteken (65. ábra). 24 illetve 48 órás inkubációs idő után mindkét esetben a hipodiploid (subG1) populáció koncentráció-függő növekedését tapasztaltuk, amely az apoptotikus sejthalálra utalt. 24 órás kezelést követően a G1 fázisban lévő sejtek mennyisége szignifikánsan nőtt a szintézis fázis (S) rovására, amelyet a sejtciklus esetleges G1–S blokádja eredményezett. Hosszabb expozíciós idő után (48 óra) azonban a sejtek G2/M fázisban halmozódtak fel, amely utal a G2/M blokádjára. A tubulin polimerizáció és így a mitotikus orsó képződésének zavara okozhatja a G2/M fázisban történő sejtciklus gátlást. Mindezeket összevetve feltételezhető, hogy a kezelés időtartama a meghatározó az A2780-as sejtek eloszlásában. Megfigyeltük, hogy a kontroll értékekhez viszonyítva a nagyobb koncentrációnál (10 μ M) markánsabb volt a sejtciklus zavara, ezáltal a sejteloszlás.



65. ábra: A **180b** jelű vegyület sejtciklus analízise 24 órás (bal oldali oszlopdiagram) illetve 48 órás (jobb oldali oszlopdiagram) inkubációs idő után, A2780-as sejteken. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$

Az irodalomban számos példa látható olyan tumorellenes szerekre, amelyek a tubulin fehérje polimerizációjának gátlásán keresztül fejtik ki antitumor hatásukat.^{3, 10, 115, 116} Néhány 2-es helyzetben szubsztituált ösztroen származék is hasonló hatásmechanizmust mutat. A mitózis megakadályozható azonban olyan szerek alkalmazásával is, amelyek a tubulin polimerizációját gyorsítva hoznak létre rendellenes mikrotubulus-hálózatot. Tanszékünk Szteroidkémiai Kutatócsoportja nemrégiben állított elő egy olyan D-szekoösztroen 3-benzil-étert, amely az utóbbi módon gátolja *in vitro* a sejtosztódást.¹¹⁷ Mivel az általunk jelen munkában előállított dihidrooxazin (**180b**) a sejtciklus G2/M blokádját okozza, így megvizsgáltuk annak a tubulin fehérje polimerizációjának sebességére gyakorolt direkt hatását egy sejtmentes *in vitro* rendszerben. A kísérleti eljárás a mikrotubulusok fényszórásán alapul, amely arányos a kísérlet során képződő mikrotubulus polimer koncentrációjával. A folyamat során abszorbanciát mérünk (340 nm hullámhosszon), és az abszorbancia változásából következtetünk a tubulin polimerizációjának maximális sebességére (a tubulin 85–90%-a polimerizálódik és maximális OD (optikai denzitás) értéket ér el). A folyamat számszerűsítésére az idő függvényében ábrázoltuk a mért abszorbanciát és V_{\max} ($\Delta OD/min$) értékeket számoltunk. Megfigyeltük, hogy a tesztanyag (**180b**) a választott 50 és 100 μM -os koncentrációnál is fokozza a tubulin polimerizációjának sebességét, hasonlóan, mint a referenciavegyületként használt paklitaxel (66. ábra, felső ábra). Ezen eredményekből

megállapítható, hogy a **180b** *in vitro* képes rendellenes mikrotubulus hálót kialakítani, és ezáltal gátolni a tumorsejtek osztódását.



66. ábra: A **180b** jelű vegyület tubulin polimerizációra gyakorolt hatása. Felső ábra: kinetikai görbék: ■: kontroll, ○: a **180b** jelű vegyület 50 μM-os oldata, ●: a **180b** jelű vegyület 100 μM-os oldata, □: paklitaxel (10 μM). Alsó ábra: a tubulin polimerizációjának számított maximális sebessége (V_{max}). Minden oszlop átlagot jelöl ±SEM, n=3. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

5. KÍSÉRLETI RÉSZ

5.1. Általános kísérleti rész

5.1.1. Kémiai rész

Az olvadáspontokat Kofler-blokkon mértük, korrekció nélkül. Az elemanalízist Perkin-Elmer CHN 2400-es modellel hajtottuk végre. A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük: szilikagél 60 F₂₅₄; vastagsága 0,2 mm (Merck); az előhívást jóddal és UV-vel (365 nm) végeztük, melyet 5% foszformolibdénsav 50% vizes foszforsavas elegyével való lefújás, majd azt követő 10 perces 100–120 °C-on történő melegítés előzött meg. Az R_f-értékeket a következő oldószer-rendszerekben határoztuk meg: (A) CH₂Cl₂, (B) 2% EtOAc/CH₂Cl₂, (C) 1:1 *terc*-butil-metil-éter/hexán, (D) EtOAc, (E) 30% EtOAc/hexán, (F) 10% MeOH/EtOAc, (G) 50% EtOAc/CH₂Cl₂, (H) 20% EtOAc/CH₂Cl₂. A reakciótermékek elválasztása, illetve tisztítása 40–63 µm szemcseméretű Kieselgel 60 (MERCK) álló fázissal töltött oszlopon történt. A mikrohullámú reakciókat CEM Discover SP készülékkel végeztük. Az ¹H-NMR spektrumok felvétele Bruker DRX-500 készülékkel történt 500 MHz-en, belső standardként Me₄Si-t, oldószerként pedig CDCl₃-ot használva (az egyéb oldószereket a megfelelő adatoknál jelöltük). ¹³C-NMR spektrumok felvétele ugyanezen a készüléken történt 125 MHz-en, azonos körülmények között. A tömegspektrometriás vizsgálatokhoz a szteroid minták és a mátrixként alkalmazott telített C₇₀ fullerén oldat (oldószer: toluol) 1-1 µl-ét mintatartó tálcára (MTP 384 target plate ground steel TF, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) csepegtettük. A minták beszáradása után az elemzéseket Bruker Autoflex II típusú mátrix-segítette lézerdeszorpciós ionizációs technikát alkalmazó repülési idő analizátoros (MALDI TOF/TOF) tömegspektrométerrel, reflektor detektálási módban végezték el. Az ionizáláshoz 337 nm-es nitrogén lézert alkalmaztak, a vizsgálatok során 500 lövés tömegspektrumát összesítették, a lézer frekvenciája 50 Hz volt. EI-MS tömegspektrométerrel is végeztünk méréseket (Varian MAT 311A készüléken). A tömegspektrumokat pozitív és negatív ionizációs módban, 50 és 1200 m/z tartományban egyaránt regisztrálták, a gyorsító feszültség 20 kV, a késleltetési idő 80 ns volt.

5.1.2. Gyógyszerhatástani vizsgálatok

5.1.2.1. A sejtkultúrák és az antiproliferatív vizsgálatok

A szteroidok antiproliferatív hatását kolorimetriás MTT-módszerrel *in vitro* teszteltük tumorsejtvonalakon (Hela – méhnyak karcinóma, MCF-7 – emlő karcinóma, A431 – bőrlaphám karcinómába, A2780 – petefészek karcinóma) és intakt fibroblaszt sejtvonalon (MRC-5 és HFF), amelyeket a European Collection of Cell Cultures (Sailsbury, UK) által szereztünk be. A **180b** jelű vegyületet további emlőkarcinóma sejteken is teszteltük: T-47D (ösztrogén és progeszteron receptorokat fejez ki, HER-2 overexpresszió, ösztrogén-függő sejtsztódás); MDA-MB-361 (ösztrogén receptort fejez ki, HER-2 overexpresszió); MDA-MB-231 (háromszorosan negatív sejtvonal). A sejteket műanyag flaskában tenyésztettük optimális körülmények között, 37 °C-on, 5%-os CO₂ atmoszféra mellett. A sejteket 10% borjúsérumot (FBS), 1% nem esszenciális aminosavakat és 1% antibiotikum-antimikotikum keverékét (AAM) tartalmazó minimális esszenciális médiumban növesztettük, az A2780-as sejteket pedig RPMI médiumban tartottuk, amely 10% FBS-ot, 1% AAM-ot, és 1% L-glutamint tartalmazott. Az alkalmazott mediumok és a hozzáadott anyagok a Life Technologies (Paisley, Scotland, UK), a vegyszerek pedig a Sigma-Aldrich Kft. (Budapest, Magyarország) termékei. A vizsgálatához a sejteket 96 lyukú mikrotiter lemezre telepítettük, 5000/lyuk koncentrációban.

A vegyületeket dimetil-szulfoxidban (DMSO) oldva, 10 mM-os törzsoldatokat készítettünk. Az antiproliferatív vizsgálat során a legmagasabb koncentrációban alkalmazott (0,3%) dimetil-szulfoxid mennyisége sem befolyásolta jelentősen a sejtek proliferációját. 24 óra után a kitelepített sejteket a tesztanyagok különböző koncentrációival (0,03 µM, 0,1 µM, 0,3 µM, 1 µM, 3 µM, 10 µM, 30 µM) kezeltük, majd 72 órán át inkubáltuk (37 °C, 5% CO₂). Az inkubációs idő lejárta után 20 µl MTT ([3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid]) oldatot (5 mg/ml) adtunk lyukanként a lemezre, az MTT-t az intakt sejtek mitokondriális enzimek színes formázán kristályá redukálták. A kristályokat dimetil-szulfoxidban oldottuk, és a fotometriás meghatározást 545 nm-en Elisa spektrofotométerrel végeztük.³⁷ Két független mérést hajtottunk végre, 5-5 párhuzamossal. Referenciaként a ciszplatint alkalmaztuk, amely a nőgyógyászati gyakorlatban régóta alkalmazott antitumor vegyület.

A vizsgálatokban kapott abszorbancia értékek fordítottan arányosak a tesztanyagok sejtosztódás gátló hatásával. A 10 μM -os koncentrációban legalább 50%-os gátló hatással rendelkező vegyületek tekinthetők hatékony antiproliferatív anyagoknak. Egy koncentrációsort alkalmazva felvettük ezen származékok dózis-hatás görbéit, és meghatároztuk a számított IC_{50} értéküket, amely megmutatja a maximális gátlás feléhez tartozó koncentrációt. Az IC_{50} értékek számítását és a statisztikus analízist (ANOVA) a GraphPadPrism 5.0 (GraphPad Software; San Diego, CA, USA) programmal végeztük.

5.1.2.2. A sejtciklus analízis és az áramlásos citometria

A sejtek DNS tartalmának meghatározását áramlási citometriás analízissel hajtottuk végre. A módszer alapja, hogy a vizsgálni kívánt sejtrészeket, esetünkben a DNS állományt, fluoreszcens jelzőanyaggal (propídium-jodiddal) jelöltük, és ennek a fluoreszcenciáját mértük áramlási citometria segítségével. A fluoreszcencia intenzitása és a fényszórás mértéke jellemző a sejt alakjára és méretére, így a módszer alkalmas egyedi sejtek meghatározására.¹¹⁸

Az analízishez a sejteket kitelepítettük egy hatlyukú lemezre (250.000/lyuk), 24 óra elteltével a szteroidok különböző koncentrációival (1 μM , 3 μM , 10 μM , 30 μM) kezeltük, majd 24 órás vagy 48 órás inkubáció után a mediumot eltávolítottuk. A sejteket kétszer átmostuk hideg foszfátpufferrel (PBS), és tripszinnel 2–3 percig kezeltük. A képződött sejtszuspenziót centrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C), a sejteket 1 ml hideg PBS-sel mostuk, majd ismét centrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C). Az így képződő pelletet 70%-os etanolban fixáltuk, és a mintákat a mérésig –20 °C-on tartottuk.

A mérés napján a mintákat ismét centrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C), a felülúszó leszívása után a DNS-t festettük (10 $\mu\text{g/ml}$). A festékoldat 1,0 mg/ml Na-citrátot, 3 $\mu\text{l/ml}$ TritonX 100-at, 1,0 mg/ml propídium-jodidot, és 0,02 mg/ml ribonukleáz-A-t tartalmazott, desztillált vízben oldva. A Na-citrátot pufferként alkalmaztuk, a TritonX pedig a membrán átjárhatóságát segítette elő, így a propídium-jodid képes a DNS-hez kötődni. A mintákat 60 percig sötétben inkubáltuk. Azt követően ismét centrifugáltuk (1500 rpm, 10 perc, 4 °C), és 1 ml PBS-sel mostuk, a mintákat reakciócsövekbe helyeztük, majd áramlási citometriás analízissel (CyFLoW-Partec GmbH, Münster, Germany) meghatároztuk a sejtek DNS tartalmát. A mérés során kapott hisztogram a sejtek százalékos eloszlását mutatta a sejtciklus különböző fázisaiban (subG1, G1, S és G2/M). A hisztogramokat egyenként értékeltük, és a

sejtek százalékos arányait a ModFit LT program (Verity Software House, Topsham, ME, USA) segítségével határoztuk meg.

5.1.2.3. Tubulin polimerizációs assay

A **180b** jelű származék tubulin polimerizációra kifejtett hatását *in vitro* tubulin polimerizációs kit (Tebu-bio, Le Perry-en-Yvelines, Franciaország) segítségével vizsgáltuk. A 96 lyukú UV-áteresztő mikrotiter lemezt 37 °C-ra előmelegítettük, majd felvittünk rá a tesztanyagunk (**180b**) 50 µM-os és 100 µM-os oldatából 10-10 µl-t. Negatív kontrollként a kitben megtalálható General Puffer 10 µl-ét, pozitív kontrollként pedig a 10 µM koncentrációjú paklitaxel törzsoldat 10 µl-ét használtuk. Ezután elindítottuk a reakciót a kitben található Tubulin Polimerizációs Pufferrel (100 µl 3,0 mg/ml tubulin 80 mM PIPES-ben 6,9-es pH-n, 2 mM MgCl₂, 0,5 mM EGTA, 1 mM GTP, 10,2% glicerint adtunk minden egyes mintához). A mérést 37 °C-on, 340 nm hullámhosszon végeztük, 60 cikluson (percenként mérve, mérések között rázva) keresztül, SPECTROStar Nano (BMG Labtech, Offenburg, Germany) fotométerrel. Az így kapott eredményekből felvettük a tubulin polimerizációs görbéket, amelyek az optikai denzitást mutatják az idő függvényében. Meghatároztuk a reakció maximális sebességét (V_{\max} : Δ abszorbancia/perc). A különböző abszorbanciaértékeket két egymást követő időpontban határoztuk meg, és a legnagyobb abszorbanciakülönbség szolgáltatja a tesztanyagunk (**180b**) V_{\max} értékét a tubulin polimerizációs reakcióban. A V_{\max} értékét párosítatlan *t*-próbával alapítottuk meg, Prism 5 software segítségével. A tesztanyagunk (**180b**) V_{\max} értékét a kezeletlen kontrollként használt sebességértékekkel hasonlítottuk össze.

5.2. Részletes kísérleti rész

5.2.1. A 13 α -D-szekooxim (135), a dimetil-acetál (136) és az izoxazolidin származékok (137–139) előállítása

5.2.1.1. A 13 α -D-szekooxim (135) és a dimetil-acetál (136) előállítása

A módszer: A D-szekoaldehidet **102** (900 mg, 3,00 mmol) és a hidroxilamin-hidrokloridot (210 mg, 3,00 mmol) metanolban oldottuk (10 ml), majd hozzáadtuk a nátrium-hidroxid (500 mg) metanolos oldatát (10 ml). Az elegyet 1 órán keresztül kevertük, vízre öntöttük, majd hígított (10%) sósavval semlegesítettük. Diklórmétános extrakció után a szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, diklórmétán eluenssel. A kromatográfia során nyert első anyag a dimetil-acetál volt (**136**), az elválasztást tovább folytatva kaptuk a szekooximet (**135**).
B módszer: A D-szekoaldehidet (**102**, 300 mg, 1,00 mmol) acetonitrilben (10 ml) oldottuk, majd hidroxilamin-hidrokloridot (70 mg, 1,00 mmol) és nátrium-acetátot (250 mg, 3,00 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet 6 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertük, majd vízre öntöttük, hígított (10%-os) sósavval semlegesítettük, végül diklórmétánnal extraháltuk. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, az oldószert bepároltuk. A terméket (**135**) oszlopkromatográfia során, diklórmétán eluenssel, 80%-os hozammal nyertük.

5.2.1.2. Az izoxazolidin sztereoizomerek (137, 138) előállítása

Az oximet (**135**, 200 mg, 0,64 mmol) toluolban (5 ml) oldottuk, és a BF₃·OEt₂ (48%-os oldat, 0,5 ml) toluolos oldatát (5 ml) cseppenként adagoltuk hozzá. 3 órán át forraltuk N₂ atmoszférában, vízzel mostuk, vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, majd az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, 2:8 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eluenssel. Az elválasztás során nyert első anyag a **137**-es, a kromatográfiát tovább folytatva izoláltuk a **138**-as anyagot.

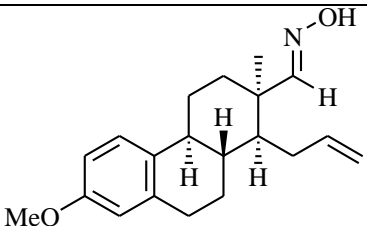
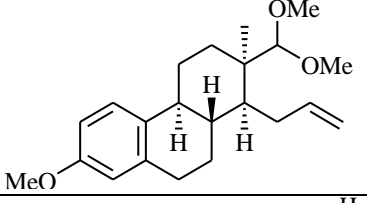
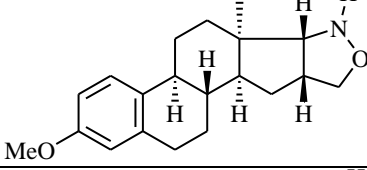
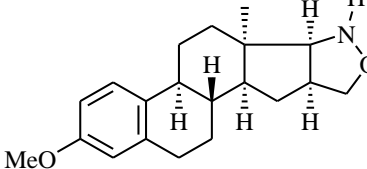
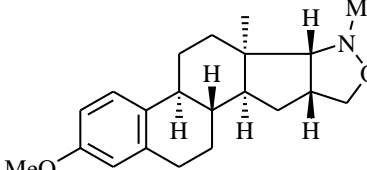
5.2.1.3. Az N-metil-izoxazolidin (139) előállítása

A D-szekoaldehidet (**102**, 300 mg, 1,00 mmol) metanolban (10 ml) oldottuk, N-metilhidroxilamin-hidrokloridot (150 mg, 1,80 mmol) és nátrium-acetátot (250 mg, 3,00 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet 6 órán keresztül forraltuk, szobahőmérsékletűre hűtöttük, vízre öntöttük, hígított sósavval (10%-os) semlegesítettük, végül diklórmétánnal extraháltuk. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és az oldószert bepároltuk. A

terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, 1:9 arányú etil-acetát/diklórmetán eluenssel. A kromatográfia során nyertük az *N*-metil-izoxazolidint (**139**).

I. Összefoglaló táblázat

A vegyületek fizikai adatai.

Termék	Jele	Hozam [%]	O.p. [°C]	R _f	Össz.k. [M _r]
	135	65	90–92	0,19 ^a	C ₂₀ H ₂₇ NO ₂ (313,43)
	136	12	olaj	0,48 ^a	C ₂₂ H ₃₂ O ₃ (344,49)
	137	44	100–103	0,47 ^c	C ₂₀ H ₂₇ NO ₂ (313, 43)
	138	39	225–228	0,22 ^c	C ₂₀ H ₂₇ NO ₂ (313, 43)
	139	80	114–116	0,62 ^a	C ₂₁ H ₂₉ NO ₂ (327,46)

5.2.2. Cikloadduktumok (145, 146) előállítása a szekooximokból (67, 135)

5.2.2.1. A brómozott cikloadduktumok előállítása (145a, 146a, 148)

Általános szintézismódszer

Az oximot (**67** vagy **135**; 200 mg, 0,66 mmol) diklórmétánban (10 ml) oldottuk, és *N*-brómszukcinimidet (120 mg, 0,66 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 30 percig kevertük, majd az oldószert bepároltuk. A maradékot toluolban (10 ml) oldottuk, és *N*-fenilmaleimidet (**144**, 116 mg, 0,66 mmol) adtunk hozzá. Az oldatot 2 órán keresztül 50 °C-on kevertük, majd az oldószert bepároltuk.

5.2.2.1.1. A 145a cikloadduktum előállítása

Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a megfelelő oxim (**135**) átalakítását, majd kromatográfiás tisztítás során, 3:7 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eluenst alkalmazva nyertük a **145a** cikloadduktumot.

5.2.2.1.2. A 146a cikloadduktum előállítása

Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a megfelelő oxim (**67**) átalakítását, majd kromatográfiás tisztítás során, 3:7 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eluenst alkalmazva nyertük a **146a** cikloadduktumot.

5.2.2.1.3. A 148 dimer előállítása

Az oximot **67** (200 mg, 0,66 mmol) diklórmétánban (10 ml) oldottuk, és *N*-brómszukcinimidet (120 mg, 0,66 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 30 percig kevertük, majd a kiváló csapadékot (**148**) szűrtük, és hideg acetonitrillel mostuk.

5.2.2.2. A jódozott cikloadduktumok előállítása (145b, 146b)

Általános szintézismódszer

Az oximot (**67** vagy **135**; 200 mg, 0,66 mmol) diklórmétánban (10 ml) oldottuk, a reakcióelegyet jeges–vizes fürdőben hűtöttük, majd 1 óra alatt adagoltuk hozzá kis részletekben az *N*-jódszukcinimidet (150 mg, 0,66 mmol). Az oldatot 30 percen keresztül szobahőmérsékleten kevertük, majd az oldószert bepároltuk. A maradékot toluolban (10 ml)

oldottuk, és *N*-fenilmaleimidet (**144**, 116 mg, 0,66 mmol) adtunk hozzá. Az elegyet 2 órán át 50 °C-on kevertük, majd az oldószert bepároltuk.

5.2.2.2.1. A **145b** cikloadduktum előállítása

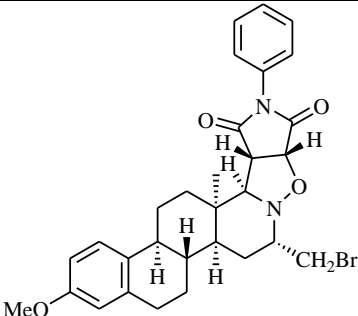
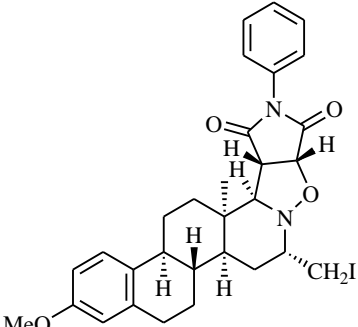
Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a megfelelő oxim (**135**) átalakítását, majd kromatográfiás tisztítás során, 3:7 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eluenst alkalmazva nyertük a **145b** cikloadduktumot.

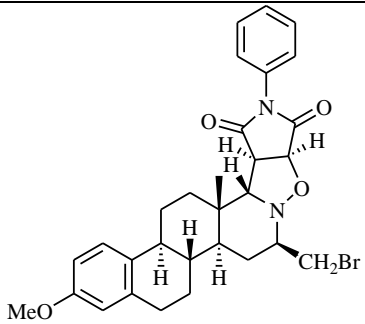
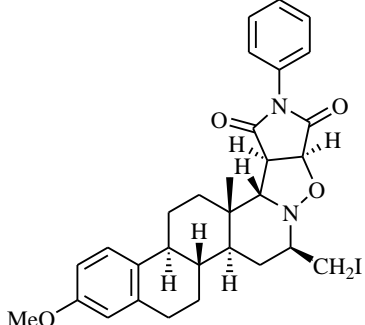
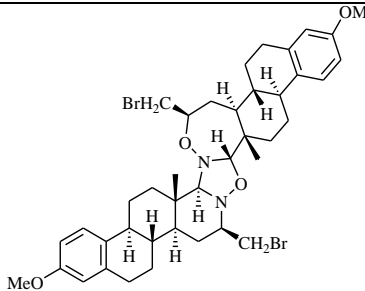
5.2.2.2.2. A **146b** cikloadduktum előállítása

Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a megfelelő oxim (**67**) átalakítását, majd kromatográfiás tisztítás során, 3:7 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eluenst alkalmazva nyertük a **146b** cikloadduktumot.

II. Összefoglaló táblázat

A vegyületek fizikai adatai.

Termék	Jele	Hozam. [%]	O.p. [°C]	R _f	Össz. k. (M _r)
	145a	78	132–137	0,33 ^a	C ₃₀ H ₃₃ BrN ₂ O ₄ (565,50)
	145b	85	174–178	0,69 ^a	C ₃₀ H ₃₃ IN ₂ O ₄ (612,50)

	146a	75	155–158	0,25 ^a	$C_{30}H_{33}BrN_2O_4$ (565,50)
	146b	77	160–163	0,31 ^a	$C_{30}H_{33}IN_2O_4$ (612,50)
	148	82	227–230	0,85 ^a	$C_{40}H_{52}Br_2N_2O_4$ (784,66)

5.2.3. Cikloadduktumok (153–158) előállítása a szekooximokból (67, 149)

Általános szintézismódszer

A **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 g, 0,50 mmol) vízmentes acetonitrilben (5 ml) oldottuk, az oldatot jeges–vizes fürdőben hűtöttük, majd NBS-et (0,50 mmol) vagy NIS-et (0,50 mmol) adagoltunk a reakcióelegyhez, N₂ atmoszféra jelenlétében. 30 perces keverés után az oldószert bepároltuk, majd toluolt (5 ml) és fenilizocianátot (**52**, 0,50 mmol) vagy egy szubsztituált fenilizocianátot (**151**, **152**, 0,50 mmol) adtuk hozzá.

A: Hagyományos melegítés

A reakcióelegyet fenilizocianát (**52**) alkalmazásakor 3 órán át, 4-metoxifenil-izocianátnál (**151**) 0,5 órán át, míg 4-klórphenil-izocianátnál (**152**) 2 órán át forraltuk, majd szobahőmérsékletűre hűtöttük, vízre öntöttük, és dietil-éterrel extraháltuk. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, és bepároltuk. A terméket diklórmétán eluenssel oszlopkromatográfiásan tisztítottuk.

B: Mikrohullámú besugárzás

A reakcióelegyet nyomásálló edénybe helyeztük, majd 100 °C-on mikrohullámú reaktorban 1 percre keverés mellett melegítettük. Ezután vízre öntöttük, majd dietil-éterrel extraháltuk. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, és bepároltuk. A terméket diklórmétán eluenssel oszlopkromatográfiásan tisztítottuk.

5.2.3.1. A 16-brómmetil-nitron (142a vagy 150a) reakciója fenil-izocianáttal (52)

Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NBS-del (89 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, a maradékot toluolban oldottuk (5 ml), majd fenilizocianátot (**52**, 0,06 ml, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **153a** vagy a **156a** vegyületet.

5.2.3.2. A 16-brómmetil-nitron (142a vagy 150a) reakciója 4-metoxi-fenilizocianáttal (151)

Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NBS-del (89 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, a maradékot toluolban (5 ml) oldottuk és 4-metoxi-fenilizocianátot (**151**, 0,07 ml, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **154a** vagy a **157a** vegyületet.

5.2.3.3. A 16-brómmetil-nitron (142a vagy 150a) reakciója 4-klór-fenilizocianáttal (152)

Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NBS-del (89 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, a maradékot toluolban (5 ml) oldottuk és 4-klórphenil-izocianátot (**152**, 77 mg, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **155a** vagy a **158a** vegyületet.

5.2.3.4. A 16-jódmetil-nitron (142b vagy 150b) reakciója fenilizocianáttal (52)

Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NIS-del (113 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, a maradékot toluolban (5 ml) oldottuk és fenilizocianátot (**52**, 0,06 ml, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **153b** vagy a **156b** vegyületet.

5.2.3.5. A 16-jódmetil-nitron (142b vagy 150b) reakciója 4-metoxi-fenilizocianáttal (151)

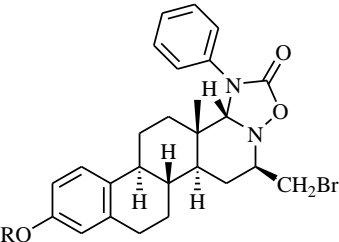
Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NIS-del (113 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, a maradékot toluolban (5 ml) oldottuk és 4-metoxi-fenilizocianátot (**151**, 0,07 ml, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **154b** vagy a **157b** vegyületet.

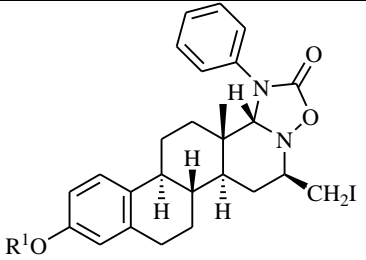
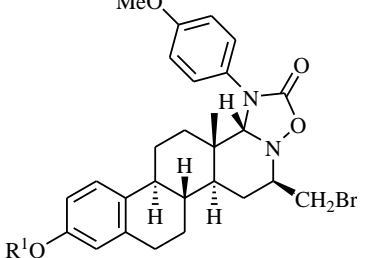
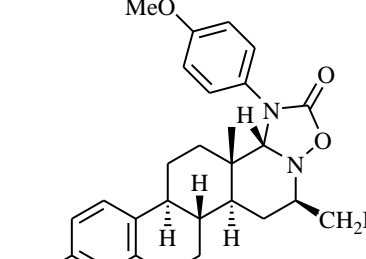
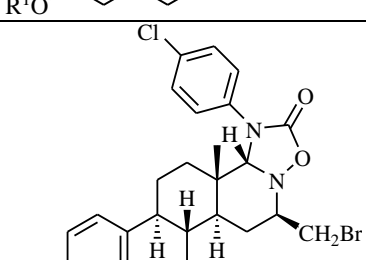
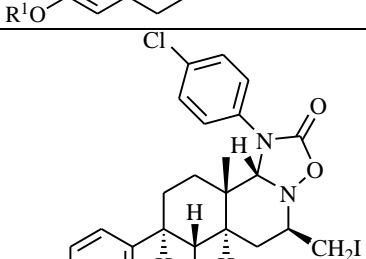
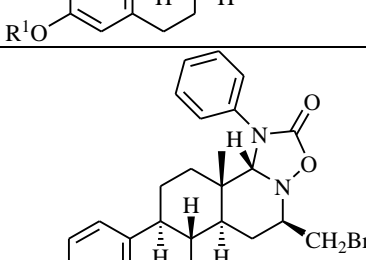
5.2.3.6. 16-jódmetil-nitron (142b vagy 150b) reakciója 4-klór-fenilizocianáttal (152)

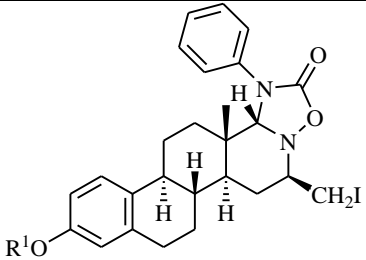
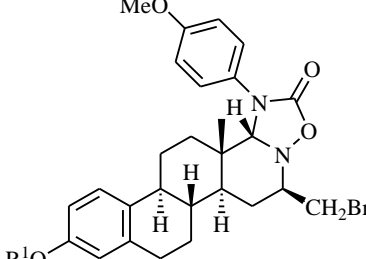
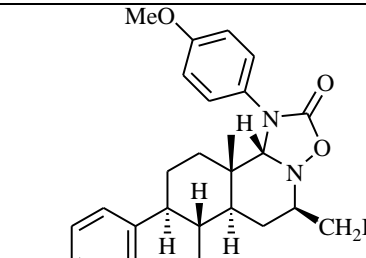
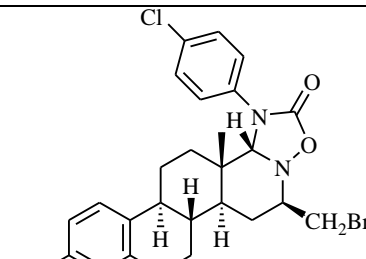
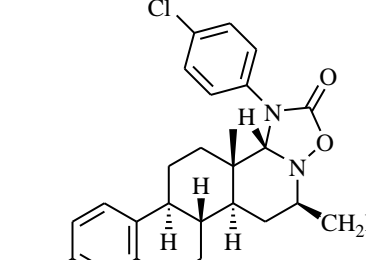
Ahogy az 5.2.3.-as fejezetben leírtuk, a **67**-es (157 mg, 0,50 mmol) vagy a **149**-es oximot (195 mg, 0,50 mmol) NIS-del (113 mg, 0,50 mmol) reagáltattuk. Ezután az oldószert bepároltuk, majd a maradékot toluolban (5 ml) oldottuk és 4-klór-fenilizocianátot (**152**, 77 mg, 0,50 mmol) adtunk hozzá. Oszlopkromatográfiás tisztítást követően nyertük a **155b** vagy a **158b** vegyületet.

III. Összefoglaló táblázat

A vegyületek fizikai adatai.

Termék	Jele	R	Hozam. [%]		O.p. [°C]	R _f	Össz.k. (M _r)
			A	B			
	153a	Me	89	93	124–127	0,55 ^b	C ₂₇ H ₃₁ BrN ₂ O ₃ (511,45)

	153b	Me	84	90	186–188	0,73 ^b	C ₂₇ H ₃₁ IN ₂ O ₃ (558,45)
	154a	Me	92	93	130–133	0,55 ^b	C ₂₈ H ₃₃ BrN ₂ O ₄ (541,48)
	154b	Me	95	96	139–142	0,55 ^b	C ₂₈ H ₃₃ IN ₂ O ₄ (588,48)
	155a	Me	96	96	127–130	0,77 ^b	C ₂₇ H ₃₀ BrClN ₂ O ₃ (545,90)
	155b	Me	90	93	110–112	0,77 ^b	C ₂₇ H ₃₀ ClIN ₂ O ₃ (592,90)
	156a	Bn	89	93	165–169	0,60 ^b	C ₃₃ H ₃₅ BrN ₂ O ₃ (587,55)

	156b	Bn	85	89	102–107	0,60 ^b	$C_{33}H_{35}IN_2O_3$ (634,55)
	157a	Bn	95	96	165–167	0,50 ^b	$C_{34}H_{37}BrN_2O_4$ (617,57)
	157b	Bn	97	98	119–122	0,50 ^b	$C_{34}H_{37}IN_2O_4$ (664,57)
	158a	Bn	90	92	170–173	0,70 ^b	$C_{33}H_{34}BrClN_2O_3$ (621,99)
	158b	Bn	91	93	151–155	0,70 ^b	$C_{33}H_{34}ClIN_2O_3$ (668,99)

5.2.4. A $\Delta^{16,17}$ -származék előállítása, azidoalkoholok képzése és azok CuAAC reakciói

5.2.4.1. A brómhidrinek (160a,b és 161a,b) előállítása

Az ösztron-3-benzil-étert (**8**, 10 g, 27,7 mmol) toluol (180 ml) és metanol (180 ml) elegyében oldottuk, majd CuBr_2 -ot (14 g, 62,7 mmol) adtunk hozzá. 45 perc forralás után a reakcióelegyet hagytuk szobahőmérsékletűre hűlni, ezt követően szűrtük, és toluollal mostuk. A szűrletet harmadára pároltuk, vízzel elhígítottuk és 1:1 arányú toluol/éterrel extraháltuk. Az összegyűjtött szerves fázisokat vízzel mostuk, és vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk. Bepárlás után a nyers termékeket (11,3 g, 93%, **159a** és **159b**) metanol (150 ml) és diklórmétán (50 ml) elegyében oldottuk, majd jéghűtés mellett nátrium-tetrahidrido-borátot (10 g, 148,8 mmol) adtunk hozzá kis részletekben. 5 óra elteltével híg sósavoldatra (15 ml) öntöttük, és diklórmétánnal extraháltuk, majd bepároltuk. Az előállított brómhidrin keveréket (**160a**, **b** és **161a**, **b**) további tisztítás és szétválasztás nélkül alakítottuk tovább.

5.2.4.2. A szteroid-olefin (162) előállítása

800 mg (1,80 mmol) brómhidrin keveréket (**160a**, **b** és **161a**, **b**) jégecetben (150 ml) oldottunk, majd cinkport (1270 mg, 19,4 mmol) adtunk hozzá. 5 órás forralás után a reakcióelegyet dupla redős szűrőn szűrtük, majd jeges vízre öntöttük. Azután diklórmétános extrakciót végeztünk, a szerves fázisokat összegyűjtöttük és vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk. Az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, eluensként 2:8 arányú diklórmétán/hexánt alkalmaztunk. A kromatográfia során tisztán nyertük a **162**-es jelű vegyületet.

5.2.4.3. Az α -epoxid (163) előállítása

A 3-benziloxiösztro-1,3,5(10),16-tetraént (**162**, 345 mg, 1,00 mmol) diklórmétánban (7 ml) oldottuk, majd hozzáadtuk a metanolban oldott (7 ml) magnézium-monoperoxifitalát-hexahidrátot (~85%, 1,9 g, ~4,00 mmol), és a reakciót szobahőmérsékleten 24 órán át kevertük. Ezután híg nátrium-szulfid oldatot adtunk hozzá, majd diklórmétánnal (7 ml) elhígítottuk. A szerves fázist elkülönítettük, a vizes fázist pedig diklórmétánnal extraháltuk. A szerves fázisokat egyesítettük, vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottuk, az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, eluensként 1:9 arányú EtOAc/hexánt alkalmaztunk. A kromatográfia során tisztán nyertük a **163**-as jelű vegyületet.

5.2.4.4. A brómhidrin (164) előállítása

Az olefint (**162**, 345 mg, 1,00 mmol) dimetil-szulfoxidban (13 ml) melegítve oldottuk, ezután felmelegített vizet (0,5 ml) adtunk hozzá, majd hagytuk a reakcióelegyet szobahőmérsékletűre hűlni. Ezt követően jeges-vizes fürdő mellett kis részletekben *N*-brómszukcinimidet (285 mg, 1,00 mmol) adagoltunk a reakcióelegyhez. 1 óra elteltével az elegyet vízre öntöttük, és dietil-éterrel extraháltuk. A szerves fázisokat összegyűjtöttük, vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, az oldószert bepároltuk. Oszlopkromatográfiás tisztítást végeztünk 3:7 arányú *tert*-butil-metil-éter/hexán eleggyel. A kromatográfiás tisztítás során tisztán nyertük a **164**-es jelű vegyületet.

5.2.4.5. A β -epoxid (165) előállítása

A brómhidrint (**164**, 441 mg, 1,00 mmol) metanolban (7 ml) oldottuk, 60 °C-ra melegítettük, majd 12 ml (5%-os) metanolos kálium-karbonát oldatot adtunk hozzá. 8 óra keverés után a reakcióelegyet vízre öntöttük, és diklórmétánnal extraháltuk. Az egyesített szerves fázisokat vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és az oldószert bepároltuk. Oszlopkromatográfiás elválasztást végeztünk 1:9 arányú EtOAc/hexán eluenseleggyel. A kromatográfiás tisztítás során tisztán nyertük a **165**-ös jelű β -epoxidot.

5.2.4.6. Az epoxidnyitás (163, 165) általános leírása

A **163**-as vagy a **165**-ös jelű epoxidot (360 mg, 1,00 mmol) dimetil-szulfoxidban (10 ml) oldottuk, és jégecetet (1 ml), valamint NaN₃-ot (455 mg, 7,00 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet 3 órán keresztül forraltuk, majd szobahőmérsékletűre hűtöttük. Azután az elegyet jeges vízre öntöttük, NaCl hozzáadása után diklórmétánnal extraháltuk. Az összegyűjtött szerves fázisokat a semleges pH eléréséig vízzel mostuk, majd vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan, 2:8 arányú EtOAc/hexán eluenssel tisztítottuk.

5.2.4.6.1. A 16 β -azido-3-benziloxiösztrol-1,3,5,(10)-trién-17 α -ol (166) szintézise

Az 5.2.4.6. fejezetben leírtak alapján a **163**-as jelű epoxidot (360 mg, 1,00 mmol) NaN₃-dal (455 mg, 7,00 mmol) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **166**-os jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.6.2. A 16 α -azido-3-benziloxiösztrol-1,3,5,(10)-trién-17 β -ol (167) szintézise

Az 5.2.4.6. fejezetben leírtak alapján a **165**-ös jelű epoxidot (360 mg, 1,00 mmol) NaN₃-dal (455 mg, 7,00 mmol) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **167**-es jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7. A triazolok (169, 170) előállításának általános leírása

A 16 β -azido-3-benziloxiöszttra-1,3,5(10)-trién-17 α -olt vagy a 16 α -azido-3-benziloxiöszttra-1,3,5(10)-trién-17 β -olt (**167** vagy **166**; 100 mg, 0,25 mmol) toluolban oldottuk (5 ml), majd trifenilfoszfánt (13 mg, 0,05 mmol), CuI-ot (4,7 mg, 0,025 mmol), diizopropil-etilamint (0,13 ml, 0,75 mmol) és a megfelelő terminális alkint (**168**, 1,1 ekvivalens) adtuk hozzá. A reakcióelegyet 2 órán át forraltuk, hagytuk szobahőmérsékletűre hűlni, azután az oldószert bepároltuk. A termékeket (**169a–e** és **170a–e**) 3:7 arányú EtOAc/hexán eluenssel tisztítottuk.

5.2.4.7.1. 3-benziloxi-16 β -[4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il]-öszttra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (169a)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **166**-os jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) fenilacetilén (**168a**, 0,030 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **169a** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.2. 3-benziloxi-16 β -[4-(3-tolil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-öszttra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (169b)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **166**-os jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 3-etiniltoluollal (**168b**, 0,036 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **169b** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.3. 3-benziloxi-16 β -[4-(4-tolil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-öszttra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (169c)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **166**-os jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 4-etiniltoluollal (**168c**, 0,035 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **169c** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.4. 3-benziloxi-16 β -[4-{4-(trifluormetil)fenil}-1H-1,2,3-triazol-1-il]-öszttra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (169d)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **166**-os jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 1-etinil-4-(trifluormetil)-benzollal (**168d**, 0,039 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **169d** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.5. 3-benziloxi-16 β -[4-(4-etilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (169e)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **166**-os jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 4-etil-1-etinil-benzollal (**168e**, 0,039 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **169e** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.6. 3-benziloxi-16 α -[4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 β -ol (170a)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **167**-es jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) fenilacetilénnel (**168a**, 0,030 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **170a** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.7. 3-benziloxi-16 α -[4-(3-tolil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 β -ol (170b)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **167**-es jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 3-etiniltoluollal (**168b**, 0,036 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **170b** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.8. 3-benziloxi-16 α -[4-(4-tolil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 β -ol (170c)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **167**-es jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 4-etiniltoluollal (**168c**, 0,035 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **170c** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.9. 3-benziloxi-16 α -[4-{4-(trifluormetil)fenil}-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (170d)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **167**-es jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 1-etinil-4-(trifluormetil)-benzollal (**168d**, 0,039 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **170d** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.7.10. 3-benziloxi-16 β -[4-(4-etilfenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 α -ol (170e)

Az 5.2.4.7. fejezetben leírtak alapján a **167**-es jelű azidoalkoholt (100 mg, 0,25 mmol) 4-etil-1-etinil-benzollal (**168e**, 0,039 ml) reagáltattuk. A kromatográfiás tisztítás során a **170e** jelű vegyületet nyertük.

5.2.4.8. 16 β -azido-öszttron-3-benzil-éter (171) szintézise

A 16 β -azido-3-benziloxi-öszttra-1,3,5,(10)-trién-17 α -olt (**166**, 403 mg, 1,00 mmol) acetonban (2 ml) oldottunk. Jeges-vizes hűtés mellett Jones-reagenst (0,4 ml) adtunk hozzá. Szobahőmérsékleten 1 órán keresztül kevertük, vízre öntöttük, diklórmétánnal extraháltuk. A szerves fázisokat egyesítettük, majd vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, 1:9 arányú EtOAc/hexán eluenssel. A kromatográfiás tisztítás során nyertük az azidoketont (**171**).

5.2.4.9. A 16 β -azido-3-benziloxi-öszttra-1,3,5,(10)-trién-17 β -ol (172)

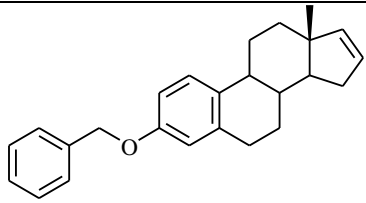
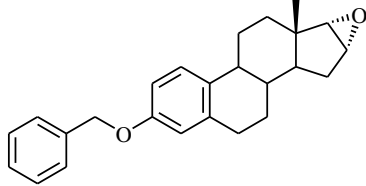
A 16 β -azido-öszttron-3-benzil-étert (**171**, 401 mg, 1,00 mmol) metanolban (5 ml) oldottuk, majd nátrium-tetrahidrido-borátot (190 mg, 5,00 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet 1 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertük, vízre öntöttük, majd diklórmétánnal extraháltuk. A szerves fázisokat összegyűjtöttük, majd vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk és az oldószert bepároltuk. A terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, 3:7 arányú EtOAc/hexán eluenssel. A kromatográfiás tisztítás során a **172**-es jelű vegyületet nyertük.

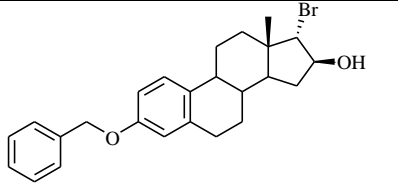
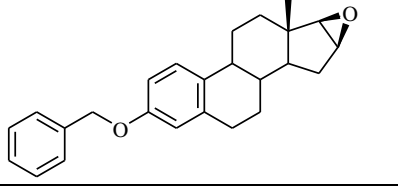
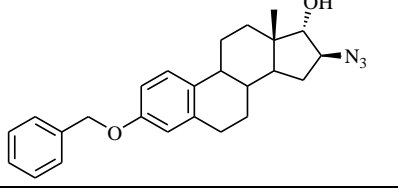
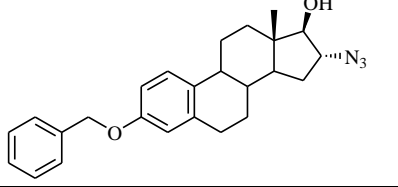
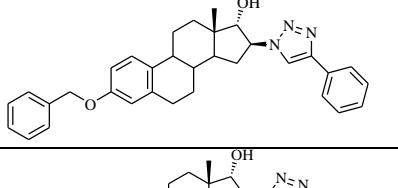
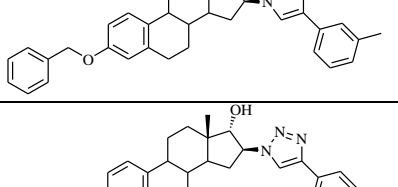
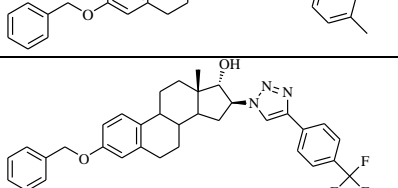
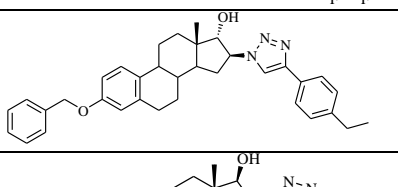
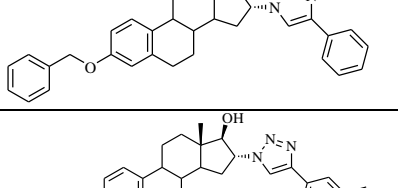
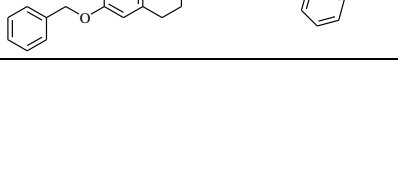

5.2.4.10. A szteroid-olefin (162) katalitikus hidrogénezése

345 mg (1,00 mmol) szteroid-olefint (**162**) etil-acetátban (30 ml) oldottunk, 0,60 g (10%) Pd/C katalizátort adtunk hozzá, majd a reakcióelegyet 20 bar hidrogén nyomás alatt 8 órán át kevertük. A katalizátort szűréssel eltávolítottuk. Az oldat bepárlása után kapott nyersterméket (**173**) oszlopkromatográfiásan tisztítottuk, 3:7 arányú EtOAc/hexán eluenssel.

IV. Összefoglaló táblázat

A vegyületek fizikai adatai.

Képlet	Jele	Hozam [%]	Op. [°C]	R _f	Össz. k. (M _r)
	162	90	87–89	0,91 ^e	C ₂₅ H ₂₈ O (344,49)
	163	89	113–115	0,72 ^e	C ₂₅ H ₂₈ O ₂ (360,49)

	164	86	117–120	0,52 ^e	C ₂₅ H ₂₉ BrO ₂ (441,40)
	165	87	123–125	0,80 ^e	C ₂₅ H ₂₈ O ₂ (360,49)
	166	86	142–144	0,59 ^e	C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₂ (360,49)
	167	83	104–106	0,60 ^e	C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₂ (360,49)
	169a	85	224–225	0,22 ^e	C ₃₃ H ₃₅ N ₃ O ₂ (505,65)
	169b	92	210–211	0,22 ^e	C ₃₄ H ₃₈ N ₃ O ₂ (519,68)
	169c	93	244–246	0,45 ^e	C ₃₄ H ₃₈ N ₃ O ₂ (519,68)
	169d	93	215–218	0,28 ^e	C ₃₄ H ₃₄ F ₃ N ₃ O ₂ (573,65)
	169e	89	194–197	0,22 ^e	C ₃₅ H ₃₉ N ₃ O ₂ (533,70)
	170a	90	148–151	0,27 ^e	C ₃₃ H ₃₅ N ₃ O ₂ (505,65)
	170b	92	148–151	0,27 ^e	C ₃₄ H ₃₈ N ₃ O ₂ (519,68)

	170c	91	198–200	0,24 ^e	C ₃₄ H ₃₈ N ₃ O ₂ (519,68)
	170d	92	170–174	0,32 ^e	C ₃₄ H ₃₄ F ₃ N ₃ O ₂ (573,65)
	170e	88	178–182	0,29 ^e	C ₃₅ H ₃₉ N ₃ O ₂ (533,70)
	171	84	112–116	0,73 ^e	C ₂₅ H ₂₇ N ₃ O ₂ (401,50)
	172	81	130–133	0,61 ^e	C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₂ (403,52)
	173	83	133–138	0,68 ^e	C ₁₈ H ₂₄ O (256,38)

5.2.5. A 13 α -D-szekoaldehid 3-metil- és 3-benzil-éterének (102, 103) Prins-Ritter reakciói

Általános szintézismódszer

A 13 α -szekoaldehid 3-metil-éterét (**102**, 298 mg, 1,00 mmol) illetve a 13 α -szekoaldehid-3-benzil-éterét (**103**, 375 mg, 1,00 mmol) acetonitrilben (**174**, 10 ml), klóracetonitrilben (**175**, 10 ml) vagy benzonitrilben (**176**, 10 ml) oldottuk, majd BF₃·OEt₂-ot (48%-os oldat, 0,29 ml, 1,00 mmol) adtuk hozzá. A reakcióelegyet 5 percig kevertük. Ezután vízre öntöttük (20 ml), diklórmétánnal extraháltuk. Az összegyűjtött szerves fázist a semleges pH eléréséig vízzel mostuk, Na₂SO₄-on szárítottuk, és az oldószert bepároltuk.

5.2.5.1. A 102-es és a 103-as jelű vegyület gyűrűzárása acetonitril (174) jelenlétében

Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a **102**-es (298 mg, 1,00 mmol) illetve a **103**-as (375 mg, 1,00 mmol) jelű vegyület gyűrűzárását, acetonitriles

közegben (**174**, 10 ml), $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (48%-os oldat, 0,29 ml, 1,00 mmol) jelenlétében. A **102**-ből nyert termékelegyet szétválasztását oszlopkromatográfiával, 1:9 arányú MeOH/EtOAc eluenssel végeztük. A tisztítás során előbb a **177a** jelű vegyületet, majd a **177b** jelű származékot nyertük. A **103**-ból nyert termékelegyet szétválasztását szintén oszlopkromatográfiával, 1:9 arányú MeOH/EtOAc eluenssel végeztük. A kromatografiás tisztítás során előbb a **180a** jelű vegyületet, majd a **180b** jelű származékot nyertük.

5.2.5.2. A 102-es és a 103-as jelű vegyület gyűrűzárása klóracetonitril (175) jelenlétében

Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a **102**-es (298 mg, 1,00 mmol) illetve a **103**-as (375 mg, 1,00 mmol) jelű vegyület gyűrűzárását, klóracetonitriles közegben (**175**, 10 ml), $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (48%-os oldat, 0,29 ml, 1,00 mmol) jelenlétében. A **102**-ből nyert termékelegyet oszlopkromatográfiával, 3:7 arányú EtOAc/ CH_2Cl_2 eluenssel végeztük. A tisztítás során előbb a **178b** jelű vegyületet, majd a **178a** jelű, végül a **178c** jelű származékot nyertük. A **103**-ból nyert termékelegyet szintén oszlopkromatográfiával, 3:7 arányú EtOAc/ CH_2Cl_2 eluenssel végeztük. A kromatografiás tisztítás során előbb a **181b** jelű vegyületet, majd a **181a** jelű, végül a **181c** jelű származékot nyertük.

5.2.5.3. A 102-es és a 103-as jelű vegyület gyűrűzárása benzonitril (176) jelenlétében

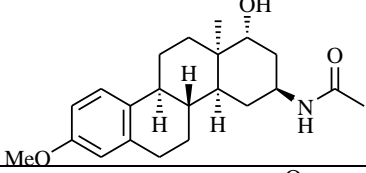
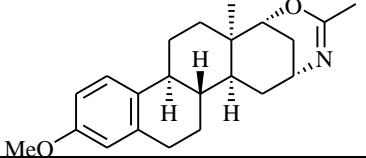
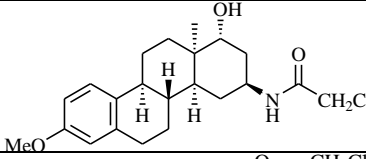
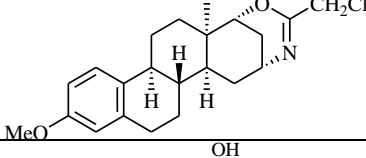
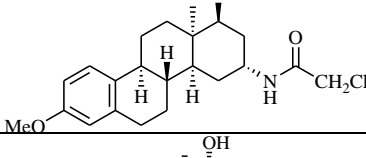
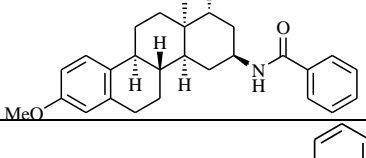
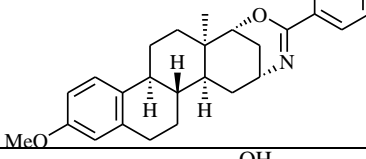
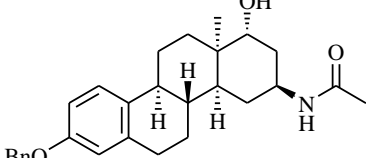
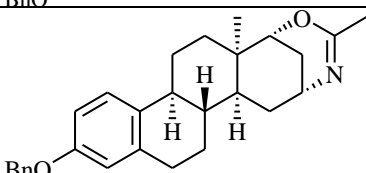
Az „Általános szintézismódszernél” ismertetett leírás alapján elvégeztük a **102**-es (298 mg, 1,00 mmol) illetve a **103**-as (375 mg, 1,00 mmol) jelű vegyület gyűrűzárását, benzonitriles közegben (**176**, 10 ml), $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (48%-os oldat, 0,29 ml, 1,00 mmol) jelenlétében. A **102**-ből nyert termékelegyet oszlopkromatográfiával, 2:8 arányú EtOAc/ CH_2Cl_2 eluenssel végeztük. A tisztítás során előbb a **179b** jelű vegyületet, majd a **179a** jelű származékot nyertük. A **103**-ból nyert termékelegyet szintén oszlopkromatográfiával, 2:8 arányú EtOAc/ CH_2Cl_2 eluenssel végeztük. A kromatografiás tisztítás során előbb a **182b** jelű vegyületet, majd a **182a** jelű származékot nyertük.

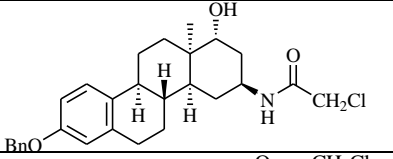
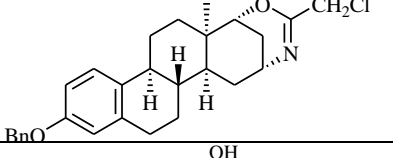
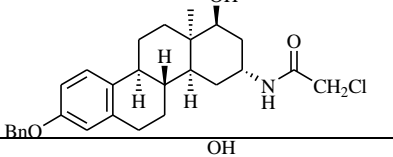
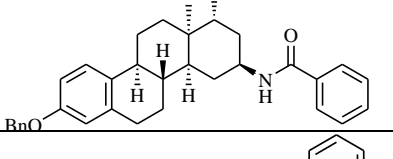
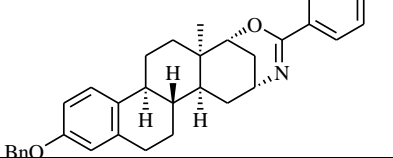
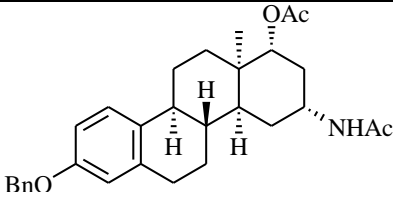
5.2.6. Acetilezés

A **180b** jelű vegyületet (100 mg, 0,23 mmol) 1 ml piridinben oldottuk, és 1 ml ecetsav-anhidriddel reagáltattuk. A reakcióelegyet 24 órán át szobahőmérsékleten kevertük, majd híg sósavoldatra öntöttük (15 ml). Diklórmétános extrakciót végeztünk. Az egyesített szerves fázist semleges pH eléréséig vízzel mostuk, majd izzított Na_2SO_4 -on szárítottuk. Az oldószert bepároltuk. Az így nyert terméket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk. Eluensként EtOAc-ot alkalmaztunk, a kromatografiás tisztítás során a **184**-es jelű származékot nyertük.

V. Összefoglaló táblázat

A vegyületek fizikai adatai.

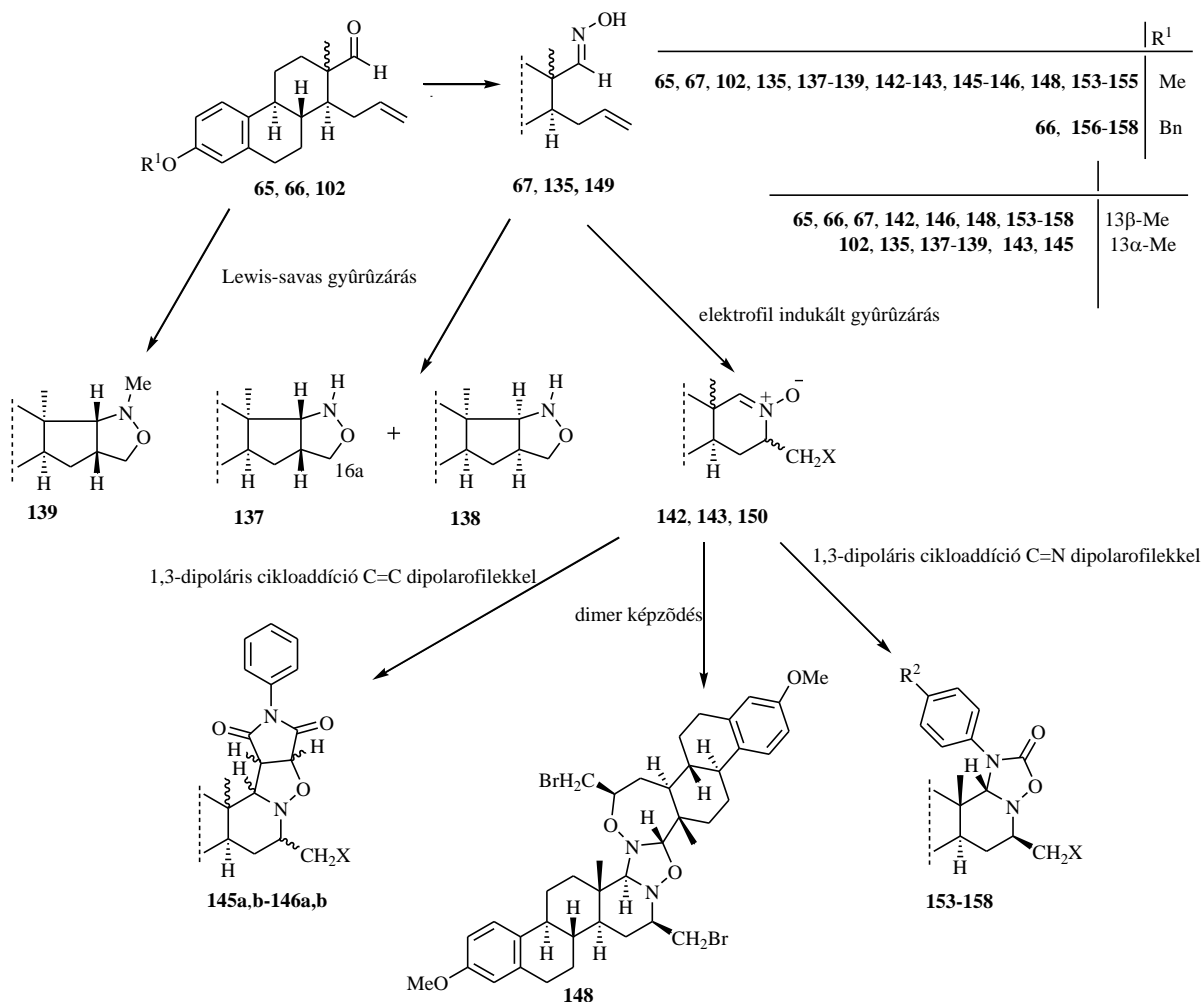
Képlet	Jele	Hozam [%]	Op. [°C]	R _f	Össz. k. (M _r)
	177a	78	178–181	0,7 ^f	C ₂₂ H ₃₁ NO ₃ (357,23)
	177b	21	92–95	0,3 ^f	C ₂₂ H ₂₉ NO ₂ (339,22)
	178a	64	168–170	0,3 ^g	C ₂₂ H ₃₀ ClNO ₃ (391,19)
	178b	19	128–130	0,5 ^g	C ₂₂ H ₂₈ ClNO ₂ (373,18)
	178c	9	111–113	0,2 ^g	C ₂₂ H ₃₀ ClNO ₃ (391,19)
	179a	76	218–220	0,2 ^h	C ₂₇ H ₃₃ NO ₃ (419,25)
	179b	20	92–95	0,6 ^h	C ₂₇ H ₃₁ NO ₂ (401,24)
	180a	74	231–233	0,7 ^f	C ₂₈ H ₃₅ NO ₃ (433,26)
	180b	20	134–136	0,3 ^f	C ₂₈ H ₃₃ NO ₂ (415,25)

	181a	65	155–158	0,3 ^g	C ₂₈ H ₃₄ ClNO ₃ (467,22)
	181b	19	olaj	0,5 ^g	C ₂₈ H ₃₂ ClNO ₂ (449,21)
	181c	9	olaj	0,2 ^g	C ₂₈ H ₃₄ ClNO ₂ (467,22)
	182a	71	180–184	0,3 ^f	C ₃₃ H ₃₇ NO ₃ (495,28)
	182b	18	olaj	0,6 ^f	C ₃₃ H ₃₅ NO ₂ (477,27)
	184	87	115–120	0,4 ^d	C ₃₀ H ₃₇ NO ₄ (475,27)

6. ÖSSZEFOGLALÁS

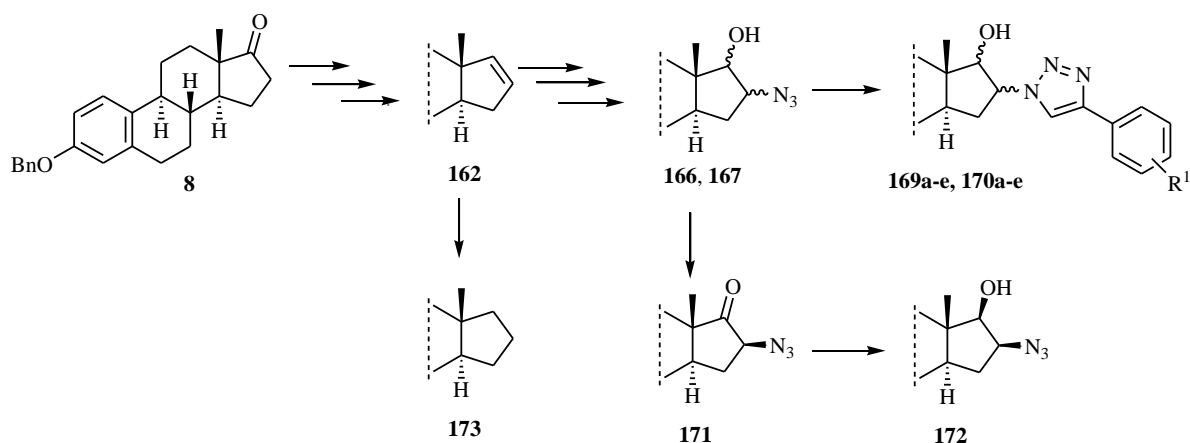
Kutatásunk során antitumor hatású ösztronszármazékokat állítottunk elő, amelyeket a 13 β - és a 13 α -ösztroon vázmódosításával, a D-gyűrű homologizálásával és szubsztituálásával, valamint heterociklusok beépítésével valósítottunk meg. A 13 α -D-szekoösztroon-aldehid-3-metil-éteréből (**102**) oximot (**135**) állítottunk elő (67. ábra). Az oxim (**135**) Lewis-sav-indukált intramolekuláris gyűrűzárása két, *cisz*-gyűrűanellációval rendelkező izoxazolidin sztereoizomerhez (**137**, **138**) vezetett, 1:1 arányban. Melléktermékként dimetil-acetál (**136**) képződését tapasztaltuk. Amennyiben a gyűrűzárásokat *N*-metil-hidroxilamin-hidrokloriddal végeztük, egy sztereoizomer (**139**) képződését tapasztaltuk. A *cisz*-gyűrűanellációkat NOE-NMR felvételekkel bizonyítottuk. Kísérleti munkánk folytatásában a 13 α - és a 13 β -ösztroon sorbeli δ -alkenil-D-szekooximok-3-metil-étereiből (**67**, **135**) elektrofil-indukált (NIS, NBS, I₂) gyűrűzárási reakcióban nitron dipólusokat (**142**, **143**) állítottunk elő (67. ábra). A gyűrűs nitron dipólusokat (**142**, **143**) C=C dipolarofillel (**144**, *N*-fenilmaleimid, NFM), 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakcióval alakítottuk át. A szintézisek sztereoselektíven szolgáltatták a 16-brómmetil- (**145a**, **146a**), illetve a 16-jódmetil-izomereket (**145b**, **146b**). Az újonnan szintetizált D-homoösztroonok (**145**, **146**) szerkezetét 1D- illetve 2D-NMR-spektroszkópiás felvételekkel bizonyítottuk. A **145**-ös és a **146**-os cikloadduktumokat összehasonlítva megfigyelhető, hogy a 13 α -ösztroon származékok (**145a**, **b**) szubsztituensei a 13 β -ösztroon származékokhoz (**146a**, **b**) képest ellentétes térállásúak; a 16-halometilcsoport α -, a 3'-H és a 4'-H β -térállású. A 13 β -sorbeli oxim (**67**) brómozási reakciójánál egy nem szimmetrikus szteroid dimer (**148**) képződését tapasztaltuk. Ennek magyarázata, hogy az oxim (**67**) viselkedhet ambidens nukleofilként, így az *O*-alkilezéssel képződött oxazepin származék (**147**) mint C=N dipolarofil reakcióba lép az *N*-alkilezéssel kapott gyűrűs nitron (**142**) 1,3-dipólussal, így alakul ki a dimer (**148**). A dimerképződés reverzibilis, ugyanis acetonitriles oldatához NFM-et (**144**) adva a korábbi cikloadduktumhoz (**146a**) jutunk. Diklórmétános közegben is kialakul a dimer (**148**), de jó oldékonysága miatt nem válik ki az oldatból. Az 1,3-dipoláris cikloaddíciós szintézisek sorát a 13 β -sorbeli δ -alkenil-D-szekooximok-3-metil- illetve 3-benzil-éterének (**67**, **149**) C=N dipolarofilekkel történő gyűrűzárásaival folytattuk, amelyek kemoselektíven, kiváló hozammal szolgáltatják az ösztroánváz D-gyűrűjéhez kondenzált oxadiazolidinon származékokat (**153–158**, 67. ábra). A reakciók régióselektívnek bizonyultak, minden esetben a dipolarofil *N*-atomja kapcsolódott a szteránváz 17 α -szénatomjához. A reakciósebességben eltérések mutatkoztak. Az elektronküldő ($-I < +M$)

csoporttal rendelkező 4-metoxi-fenilizocianát (**151**) alkalmazása során tapasztaltuk a legrövidebb reakcióidőt, ezt a 4-klór származékkal (**152**, -I > +M) végrehajtott 1,3-dipoláris cikloaddíciók követték, majd a leghosszabb reakcióidőt a szubsztituátlan fenilizocianát (**52**) esetében figyeltük meg. A hagyományos melegítés mellett kipróbáltuk a mikrohullámú technikát is, amellyel 1 perc alatt, sztereo-, régió- és kemoszelektíven nyertük a kívánt oxadiazolidinon származékokat (**153–158**). A fenilizocianát (**52**, **151**, **152**) szubsztituenseinek minősége nem befolyásolta a mikrohullámmal végrehajtott reakciók sebességét. A biológiai vizsgálatok alapján (MTT-analízis és az áramlási citometria) azt a következtetést vontuk le, hogy az ösztránvázon a 3-as helyzetű benzil védőcsoport jelenléte, a D-gyűrű homologizálása, a heterociklusos gyűrű molekulára történő kiépítése, illetve a 16-os helyzetben lévő CH₂I szubsztituens növeli a tumorszelektív sejtosztódást-gátló hatást.



67. ábra: Lewis-sav és elektrofil-indukált nitronképzés, és az azt követő 1,3-dipoláris cikloaddíció

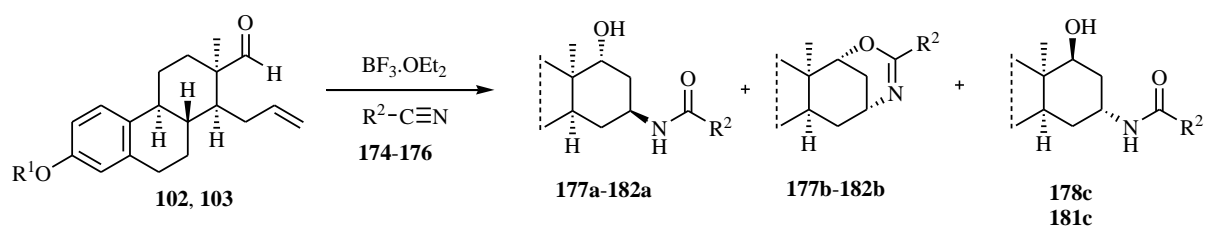
A nitron dipólusok előállítását, és 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakcióját követően megvalósítottuk a szteroid azidok (**166**, **167**) CuAAC szintéziseit monoszubsztituált acetilénekkel (**168a–e**, 68. ábra), amelyek régiószelektíven szolgáltatták a 16-triazol származékokat (**169a–e**, **170a–e**). Abból a célból, hogy a későbbi biológiai vizsgálatokhoz további származékokat nyerjünk, a 16 β -azido-17 α -hidroxiosztron-3-benzil-étert (**166**) különböző átalakításoknak vetettük alá. Így oxidáltuk a 17-es hidroxilcsoportot (**171**), majd visszaredukáltuk (**172**), így olyan vegyületekhez jutottunk, amelyek a hatástani vizsgálatok során hasznos szerkezet-hatás összefüggéseket nyújthatnak. Célunk volt az is, hogy meghatározzuk, hogy a biológiai aktivitáshoz szükséges-e a 17-es oxigén-funkció jelenléte, így kerülő úton megvalósítottuk annak eltávolítását is, 17-dezoxi származék (**173**) előállítása céljából. A hatástani vizsgálatok eredményeiből feltételezzük, hogy a 17-es szénatomon lévő hidroxil-funkció jelenléte szükséges az antitumor hatás kialakulásához, annak oxidációja (**171**) aktivitás-csökkenéshez vezetett. A kettős kötést tartalmazó 16-olefin (**162**) illetve a triazol-funkció molekulára történő kiépítése kedvezőtlenül befolyásolja a sejtosztódást-gátló hatást.



68. ábra: A szteroid-azidok (**166**, **167**) előállítása, és 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciói

Kutatómunkánk következő részében folytattuk az új, nitrogéntartalmú D-homoosztron származékok előállítását. A 13 α -osztron sorbeli D-szekoaldehid 3-metil- és 3-benzil-éterét (**102**, **103**) Lewis-sav-indukált Prins-reakcióval D-homológokká alakítottuk, majd a 16-os szénatomon kialakuló karbokationra nukleofil beépítését valósítottuk meg a Ritter-reakció

körülményei között, „one pot” eljárással (69. ábra). Lewis-sav katalizátorként $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ -ot, oldószerként és nukleofil reagensként pedig különböző nitrileket (acetonitril (**174**), klóracetonitril (**175**), benzonitril (**176**)) használtunk. Azt tapasztaltuk, hogy a Prins-Ritter reakciók eredményeként két új kiralitáscentrum alakult ki (C-16, C-17a), így négy sztereoizomer képződését vártuk. A szintézisek során azonban két-két termék keletkezett (4:1 arányban), a klóracetonitriles reakciónál pedig három (7:2:1 arányban): a várt 16-*N*-acil-17-hidroxi származékok (**177a, c** – **182a, c**) mellett új, áthidalt típusú vegyületek (**177b–182b**) jelentek meg. NMR-felvételek segítségével megállapítottuk, hogy a főtermékek (**177a–182a**) minden esetben 16 β ,17 $\alpha\alpha$ -*transz*-vegyületek, a melléktermékek (**177b–182b**) áthidalt-típusú 16 α ,17 $\alpha\alpha$ -dihidroxazin származékok, míg a klóracetonitriles reakciónál megjelenő harmadik vegyületek (**178c, 181c**) a főtermékek (**177a–182a**) diasztereomer párjai (16 α ,17 $\alpha\beta$ -*transz*-vegyületek). Megállapítottuk, hogy a Prins-Ritter termékek (**177–182**) szerkezeti különbségei nagyban befolyásolják azok sejtosztódást gátló aktivitását. A főtermékek (**177a, 180a**) kevésbé hatásosak az áthidalt típusú vegyületekhez (**177b, 180b**) képest. A **180b** jelű D-homoszteroid az összes sejtvonalon a ciszplatinnal összemérhető értéket ad ($\text{IC}_{50} \sim 1 \mu\text{M}$), de nem szelektál az egyes sejtvonalak között. Azt tapasztaltuk, hogy a 3-as helyzetű benzilvédőcsoport jelenléte növeli a vegyületek sejtosztódást gátló aktivitását. Az *N*-klóracetil származékok (**178, 181**) szélesebb hatásspektrummal rendelkeznek, a 3-benzil-éter sorban (**181a–c**) 90% körüli gátlást mutatnak minden sejtvonalon. Az *N*-benzoil származékok (**179, 182**) a legkevésbé hatásosak. A **180b** jelű gyűrűs melléktermék tumorszelektív, továbbá nem mutatott jelentősebb hatásbeli különbségeket az eltérő receptorokat tartalmazó emlőkarcinóma sejtvonalakon, így feltételezzük, hogy a származék (**180b**) hormonreceptor-független módon fejti ki antitumor aktivitását. Az áramlási citometriás analízisből azt a következtetést vontuk le, hogy rövid expozíciós idő alatt (24 óra) a sejtciklus G1–S átmenetét, míg hosszabb expozíciós idő alatt (48 óra) a G2/M fázis blokádját okozza. Továbbá a tesztanyag (**180b**) a tubulin polimerizáció sebességét növelte, hasonlóan, mint a referenciavegyületként használt paklitaxel, így olyan anomális mikrotubulus-hálózat kialakulását idézi elő, amely nem teszi lehetővé a sejtosztódást.



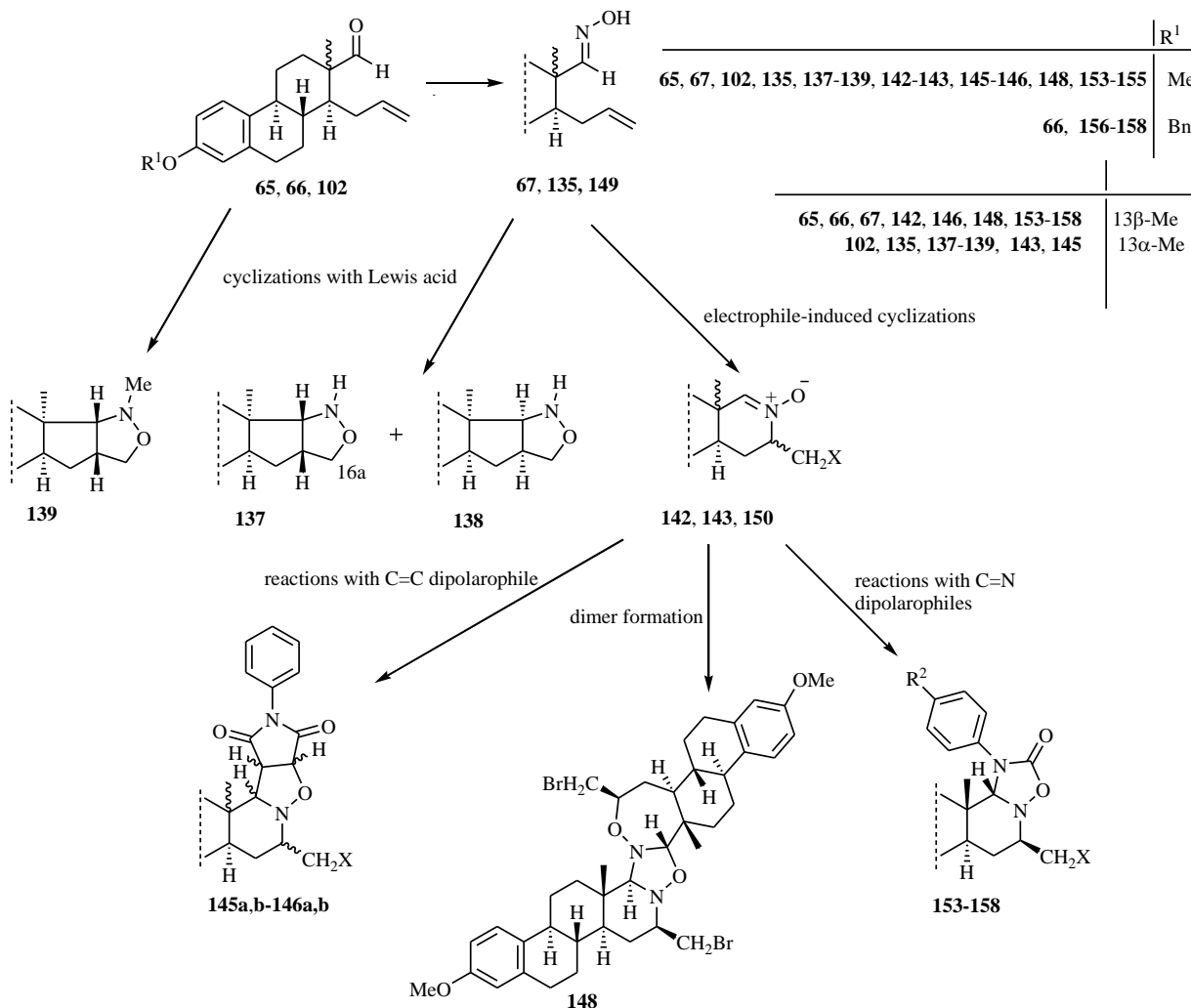
102, 177-179: $\text{R}^1 = \text{Me}$ **174, 177, 180:** $\text{R}^2 = \text{Me}$
103, 180-182: $\text{R}^1 = \text{Bn}$ **175, 178, 181:** $\text{R}^2 = \text{CH}_2\text{Cl}$
 176, 179, 182: $\text{R}^2 = \text{Ph}$

69. ábra: A „one pot” Prins-Ritter reakció

7. SUMMARY

The aim of the present study was the synthesis of new oestrone derivatives by homologization and/or substitution of ring D, or by introduction of a heterocyclic moiety into the 13 β - and 13 α -oestrone scaffolds. In the first part of our work, steroidal nitron and azide dipoles were synthesized and subjected to 1,3-dipolar cycloadditions. Nitron dipoles were obtained from the appropriate oestrone seco-oximes by Lewis acid or electrophile-induced cyclizations. The δ -alkenyl-D-seco-aldehyde (**102**) of 13 α -oestrone was transformed into the appropriate oxime (**135**, Scheme 70), and intramolecular cyclization of **135** with BF₃·OEt₂ led to two *cis*-isoxazolidine stereoisomers (**137**, **138**) in a ratio of 1:1. Cyclization of **102** with *N*-methylhydroxylamine hydrochloride resulted stereoselectively in one product (**139**). Determination of the stereochemistry of **137** and **138** was based on NOE data. The oximes (**67**, **135**) in the 13 α and 13 β series were transformed into the appropriate nitrones (**142**, **143**) by electrophile-induced reactions with various halogenating agents: *N*-bromosuccinimide (NBS), *N*-iodosuccinimide (NIS) or iodine (I₂, Scheme 70). The cycloadditions of the nitron dipoles (**142**, **143**) with a C=C dipolarophile (**144**, *N*-phenylmaleimide, NPM) stereoselectively furnished the 16-bromomethyl- (**145a**, **146a**) and 16-iodomethyl-aza-D-homo isomers (**145b**, **146b**). In the 13 β -oestrone series, bromination of **67** led to the formation of a dimeric product (**148**). We assume that **67** behaved as an ambidentate nucleophile. Trapping of the intermediate bromonium ion proceeded via the *O*-atom in the case of the *Z*-oxime, and via the *N*-atom in the case of the *E*-oxime. The oxazepine derivative (**147**, as a steroidal C=N dipolarophile) and the cyclic nitron (**142**, a 1,3-dipole) reacted with each other in an intermolecular 1,3-dipolar cycloaddition stereoselectively, furnishing a non-symmetrical steroid dimer (**148**). Subsequent reaction of the cyclic nitrones (**142**, **150**) with phenyl isocyanates (**52**, **151**, **152**) as reactive C=N dipolarophiles chemoselectively yielded condensed homosteroidal oxadiazolidinones (**153–158**, Scheme 70). The newly formed stereogenic centres displayed the same configurations as earlier: a 16 β -substituent and a 17 $\alpha\beta$ -hydrogen at the anellation of the piperidine and oxadiazolidinone rings. The condensed homosteroidal oxadiazolidinone derivatives (**153–158**) were formed in high yields, the reaction times depended on the nature of the substituents on the phenyl isocyanate (**52**, **151**, **152**). An electron-donating methoxy group on the phenyl ring (**151**) promoted the reaction, and the dual nature of the chloro substituent (**152**) also surprisingly accelerated the reaction. The lowest extent of reaction was observed with the unsubstituted reagent (**52**). The

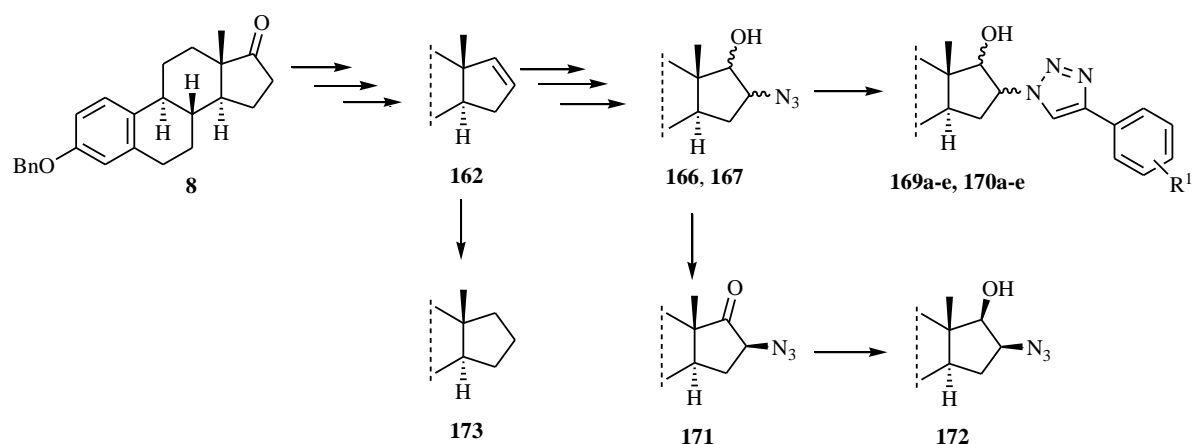
antiproliferative properties of the newly synthesized compounds (**153–158**) were characterized *in vitro*. Some compounds exerted a high antiproliferative potential. In conclusion, the presence of the benzylic protecting group and the six-membered ring D, the introduction of a heterocyclic moiety into the molecule and the CH₂I substituent at position C-16 proved advantageous for the antiproliferative potential.



Scheme 70: Lewis acid or electrophile-induced nitron formation and 1,3-dipolar cycloadditions

After the 1,3-dipolar cycloadditions of the steroidal nitrones, azide dipolarophiles were synthesized in the oestrone series. The ring-opening reactions of the epoxides furnished the azidoalcohols (**166**, **167**), which were reacted with substituted phenylacetylenes (**168a–e**) in CuAAC reactions (Scheme 71). The cyclizations proceeded regioselectively, leading to the appropriate 16-triazolyl derivatives (**169a–e** and **170a–e**) in high yields. In order to obtain

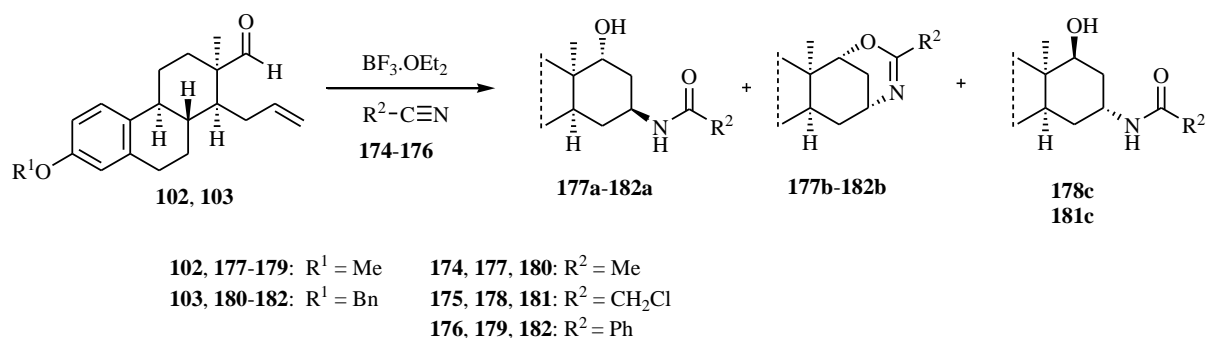
further derivatives for the structure–activity relationship, the 17-OH group was modified with the aim of determining the dependence of the nature of the 17-substituent on the antiproliferative properties. Jones oxidation of the 16 β -azido-17 α -hydroxy derivative (**166**) led to the 16 β -azidoestrone 3-benzyl ether (**171**). Reduction of **171** furnished the *cis*-azidoalcohol (**172**). The benzylic protecting group of the 16-olefin (**162**) was removed by catalytic hydrogenation, during which saturation of the double bond also occurred, leading to the 17-desoxy derivative (**173**). The antiproliferative properties of the newly synthesized compounds (**162–173**) were tested *in vitro*. The azidoalcohols (**166**, **167**, **172**) proved to be more potent than the triazoles (**169a–e** and **170a–e**), while the presence of the 17-keto function was disadvantageous. The 17-desoxy derivative (**173**) displayed an outstanding antiproliferative potential.



Scheme 71: Synthesis of steroid azides (**166**, **167**) and their CuAAC reactions with substituted phenylacetylenes (**168a–e**)

The „one pot” Prins-Ritter reactions of the δ -alkenyl-D-seco-oestrone 3-benzyl or 3-methyl ether (**102**, **103**) in the 13 α -oestrone series were carried out with BF₃·OEt₂ as catalyst and different nitriles (aceto- (**174**), chloroaceto- (**175**) and benzonitrile (**176**)) as reagents and solvents (Scheme 72). The first reaction step was the Lewis acid-induced Prins cyclization of the δ -alkenyl aldehyde (**102**, **103**), leading to the carbocation at position C-16. This was followed by the Ritter reaction step, with nitriles (**174–176**) acting as nucleophilic reagents. All the reactions proceeded in a similar manner, yielding two products in a ratio of 4:1, a substituted 16-*N*-acyl-17 α -hydroxy (**177a**, **c** – **182a**, **c**) and a cyclized (**177b–182b**) derivative. With chloroacetonitrile (**175**) as reagent and solvent, three products were formed

in a ratio of 7:2:1 in both the 3-benzyl and the 3-methyl ether series. **178c** and **181c** are diastereomers of the main products **177a–182a**. The tumour cell proliferation inhibition caused by the homosteroids (**177–182**) was greatly affected by the structures of the compounds (**177–182**). **177a** and **180a** proved less potent than the bridged products (**177b**, **180b**) in both the 3-benzyl and the 3-methyl ether series. **180b** displayed outstanding antiproliferative properties against all the tested cell lines, with IC_{50} values of $\sim 1 \mu M$. A benzylic protecting group at position C-3 generally improved the growth-inhibitory potential. *N*-Chloroacetyl derivatives (**178**, **181**) displayed a broader spectrum of activities, since all three products (**181a–c**) in the 3-benzyl ether series exhibited $> 90\%$ inhibition on all cells except MCF-7 (at $30 \mu M$). The *N*-benzoyl compounds (**179**, **182**) were less potent derivatives. The most effective Prins-Ritter derivative (**180b**) was subjected to additional investigations in order to describe its antiproliferative properties against a panel of human breast cancer cell lines differing in receptorial status. Since no substantial differences were detected in the activities of **180b**, its estrogenic effect can be excluded. The direct effect of **180b** on tubulin polymerization was tested *in vitro*. The results indicate that **180b** caused a concentration-dependent increase in the rate of polymerization, similar to that of the reference agent paclitaxel.



Scheme 72: The „one pot” Prins-Ritter reaction

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Bruckner, Gy. *Szerves Kémia II-2*, Tankönyvkiadó, Budapest, **1981**, 165.
2. Dickson, R. B.; Stancel, G. M. *J. Natl. Canc. Inst. Monogr.* **2000**, 27, 135.
3. Gupta, A.; Kumar, S.B.; Negi, S. A. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, 137, 242.
4. Miller, W. L.; Auchus, R. J. *Endocr. Rev.* **2011**, 32, 81.
5. Hobrik, R. *Trends Endocr. Metab.* **1993**, 4, 69.
6. Numazawa, M.; Ando, M.; Watari, Y.; Tominaga, T.; Hayata, Y.; Yoshimura, A. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2005**, 96, 51.
7. Lawrence, H.; Vicker, H.; Allan, N.; Smith, G. M.; Mahon, A.; Tutill, M.; Purohit, H. J.; Reed, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 2759.
8. Woo, L. W.; Howarth, N. M.; Purohit, A.; Hejaz, H. A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 1068.
9. MacCarthy, M. L.; Townsend, P. A.; Purohit, A. *Canc. Res.* **2001**, 60, 5441.
10. Wang, M.; Xu, L.; Gao, M.; Miller, K. D.; Sledge, G. W.; Zheng, Q. H. *Steroids* **2012**, 77, 864.
11. Fischer, D. S.; Chander, S. K.; Woo, L. W. L.; Fenton, J. C.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2003**, 84, 343.
12. Ray, S.; Dwivedy, I. *Adv. Drug Res.* **1997**, 29, 171.
13. Claussner, A.; Nedelec, L.; Nique, F.; Philbert, D.; Teutsch, G.; Van de Velde, P. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1992**, 41, 609.
14. www.sotepedia.hu/_media/aok/targyak/a_21.doc
15. Cushman, M.; He, H-M.; Katzenellenbogen, J. A.; Lin, C. M.; Hamel, E. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2041.
16. Hillisch, A.; Peters, O.; Gege, C.; Siemeister, G.; Unger, E.; Menzenbach, B. US Patent: US RE42, 132 E.
17. Wang, Z.; Yang, D.; Mohanakrishnan, A. K.; Fanwick, P. E.; Nampoothiri, P.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Cushman, M. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2419.
18. Tahir, S. K.; Han, E. K. H.; Credo, B.; Jae, H. S.; Pietenpol, J. A.; Scatena, C. D.; Wu-Wong, J. R.; Frost, D.; Sham, H.; Rosenberg, S. H. *Canc. Res.* **2001**, 61, 5480.
19. Hu, Y.; Lu, X.; Chen, K.; Yan, R.; Li, Q. S.; Zhu H. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 903.

20. Genin, M. J.; Allwin, D. A.; Anderson, D. J.; Barbachyn, M. R.; Emmert, D. E.; Garmon, S. A.; Graber, D. R.; Grega, K. C.; Hester, J. B.; Hutchinson, D. K.; Morris, J.; Reischer, R. D.; Stper, D.; Yagi, B. H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 953.
21. Aher, N. G.; Pore, V. S.; Mishra, N. N.; Kumar, A.; Shukla, P. K.; Sharma, A.; Bhat, M. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 759.
22. Buckle, D. R.; Rockell, C. J. M.; Smith, H.; Spicer, B. A. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 2262.
23. Alvarez, R.; Velazquez, S.; San-Felix, A.; Aquaro, S.; De Clercq, E.; Perno, C-F.; Karlsson, A.; Balzarini, J.; Camarasa, M. J. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4185.
24. Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 51.
25. Banday, A. H.; Shameem, S. A.; Gupta, B. D.; Kumar, H. M. S. *Steroids* **2010**, *75*, 801.
26. Vatmurge, N. S.; Hazra, B. G.; Pore, V. S.; Shirazi, F.; Chavan, P. S.; Desphande, M. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2043.
27. Kovács, D.; Kádár, Z.; Mótyán, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; Frank, É. *Steroids* **2012**, *77*, 1075.
28. Frank, É.; Molnár, J.; Zupkó, I.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Steroids* **2011**, *76*, 1141.
29. Kádár, Z.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Molnár, J.; Zupkó, I.; Kóti, J.; Schönecker, B.; Wölfling, J. *Arkivoc* **2012**, (iii), 279.
30. Kádár, Z.; Kovács, D.; Frank, É.; Schneider, Gy.; **Huber, J.**; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J. *Molecules* **2011**, *16*, 4786.
31. Kádár, Z.; Molnár, J.; Schneider, Gy.; Zupkó, I.; Frank, É. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 1396.
32. Kádár, Z.; Baji, Á.; Zupkó, I.; Bartók, T.; Wölfling, J.; Frank, É. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 8051.
33. Kádár Z. Doktori Értekezés, Szegedi Tudományegyetem, **2012**.
34. Ayan, D.; Jenny, R.; Maltis, R.; Poirier, D. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2011**, *127*, 324.
35. Wölfling, J.; Mernyák, E.; Frank, E.; Falkay, Gy.; Márki, Á.; Minorics, R.; Schneider, Gy. *Steroids* **2003**, *68*, 277.
36. Minorics, R.; Bózsity, N.; Wölfling, J.; Mernyák, E.; Schneider, Gy.; Márki, Á.; Falkay, Gy.; Ocsóvszki, I.; Zupkó, I. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **2012**, *132*, 168.
37. Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.

38. Bózsity, N. Pályamunka, Szegedi Tudományegyetem, **2013**.
39. Berényi, Á.; Minorics, R.; Iványi, Z.; Ocsovszki, I.; Ducza, E.; Thole, H.; Messinger, J.; Wölfling, J.; Mótyán, G.; Mernyák, E.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Zupkó, I. *Steroids* **2013**, 78, 69.
40. Berényi, Á. Doktori Értekezés, Szegedi Tudományegyetem, **2013**.
41. Padwa, A.; Person, W. H.; Eds. *Synthetic Application of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry toward Heterocycles and Natural Products*, Wiley: Hoboken, New Jersey, **2003**.
42. Huisgen, R. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357.
43. Xu, L.; Doubleday, C. E.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3029.
44. Ess, D. H.; Houk, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 10187.
45. Xu, L.; Doubleday, C. E.; Houk, K. N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 2746.
46. Braida, B.; Walter, C.; Engels, B.; Hiberty, P. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 7631.
47. Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 863.
48. Dondas, H. A.; Grigg, R.; Hadjisoteriu, M.; Markésu, J.; Thomas, W. A.; Kennewell, P. *Tetrahedron* **2000**, 56, 10087.
49. Fredericson, M.; Grigg, R. *Org. Prep. Proced. Int.* **1997**, 29, 63.
50. Dondas, H. A.; Grigg, R.; Markandu, J.; Perrior, T.; Suzuki, T.; Thibault, S.; Thomas, W. A.; Thornton-Pett, M. *Tetrahedron* **2002**, 58, 161.
51. Dondas, H. A.; Grigg, R.; Hadjisoteriu, M.; Markandu, J.; Thornton-Pett, M. *Tetrahedron* **2001**, 57, 1119.
52. Tiecco, M.; Testaferri, L.; Bagnoli, L.; Marini, F.; Santi, C.; Temperini, A.; Scarponi, C.; Sternativo, S.; Terlizzi, R.; Tomassini, C. *Arkivoc* **2006**, vii, 186.
53. Coşkun, N.; Parlar, A. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 997.
54. Buchlovič, M.; Hebanová, S.; Potáček, M. *Tetrahedron* **2012**, 68, 3117.
55. Frank, É.; Wölfling, J.; Aukshi, B.; König, V.; Schneider, R. T.; Schneider, Gy. *Tetrahedron* **2002**, 58, 6843.
56. Mernyák, E.; Benedek, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *Synlett* **2005**, 637.
57. Schneider, Gy.; Hackler, L.; Sohár, P. *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 679.
58. Grob, C. A.; Schiess, P. W. *Angew. Chem.* **1967**, 79, 1.
59. Adam, G.; Schreiber, K. *Liebigs Ann. Chem.* **1967**, 709, 191.
60. Michael, A. *J. Prakt. Chem.* **1893**, 48, 94.
61. Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565.

62. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004
63. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596.
64. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
65. Dondoni, A.; Marra, A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7546.
66. 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.
67. Malkoch, M.; Thibault, R. J.; Drockenmuller, E.; Messerschmidt, M.; Voit, B.; Russell, T. P.; Hawker, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14942.
68. Golas, P. L.; Tsarevsky, N. V.; Sumerlin, B. S.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2006**, *39*, 6451.
69. Zhan, W-H.; Barnhill, H. N.; Sivakumar, K.; Tian, H.; Wang, Q. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1691.
70. Speers, A. E.; Cravaat, B. F. *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 535.
71. Molteni G.; Bianchi C. L.; Marinoni G.; Santo N.; Ponti A. *New J. Chem.* **2006**, *30*, 1137.
72. Pacho L. D.; Van Maarseveen J. H; Rothenberg G. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 811.
73. Bacsá, I. Diplomamunka, Szegedi Tudományegyetem, **2014**.
74. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *1*, 210.
75. Meldal, M.; Tornøe, C. W. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952.
76. Liyuan L.; Didier A. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 2933.
77. Schönecker B.; Ponsold, K.; Neuland, P. *Z. Chem.* **1970**, *10*, 221.
78. Schönecker B.; Ponsold, K. *Tetrahedron* **1975**, *31*, 1113.
79. Schönecker, B.; Lange, C.; Kötteritzsch, M.; Günther, W.; Weston, J.; Anders, E.; Görls, H. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5487.
80. Lipshutz, B. H.; Taft, B. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8235.
81. Alonso, F.; Moglie, Y.; Radivoy, G.; Yus, M. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2358.
82. Mernyák, E.; Kovács, I.; Minorics, R.; Sere, P.; Czégány, D.; Sinka, I.; Wölfling, J.; Schneider, Gy.; Újfaludi, Zs.; Boros, I.; Ocsóvszki, I.; Varga, M.; Zupkó, I. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, *150*, 123.
83. Schneider, Gy.; Mernyák, E.; Wölfling, J.; Holczbauer, T.; Czugler, M.; Sohár, P.; Minorics R.; Zupkó, I. *Steroids* **2015**, *98*, 153.

84. <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/prins-reaction.shtm>
85. Andersen, N. H.; Hadley, S. W.; Kelly, J. D.; Bacon, E. R. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 4144.
86. Peron, G. L. N.; Kitteringham, J.; Kilburn, J. D. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3045.
87. Molander, G. A.; Cameron, K. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 830.
88. Yaremenko, F. G.; Khvat, A. V. *Mendeleev Commun.* **1994**, *4*, 187.
89. Butenandt, A.; Wolff, A.; Karlson, P. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1941**, *74*, 1308.
90. Mernyák, E.; Wölfling, J.; Bunkóczi, G.; Luo, L.; Schneider, T. R.; Schneider, Gy. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, *68*, 1141.
91. Appel, R.; Halstenberg, M. *Organophosphorus Reagents in Organic Synthesis* Academic Press, New York, **1979**, 387.
92. Wölfling, J.; Frank, É.; Mernyák, E.; Bunkóczi, G.; Cvesta Seijo, J. A.; Schneider, Gy. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6851.
93. Ritter, J. J.; Minieri, P. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 4045.
94. Firouzabadi, H.; Sardarian, R. A.; Badparva, H. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 601.
95. Reddy, S. B. V.; Ghanty, S. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 2545.
96. Reddy, S. B. V.; Ghanty, S.; Kishore, C.; Sridhar, B. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 4298.
97. Sarmah, B.; Baishya, G.; Baruah, R. K. *First example of a Prins-Ritter reaction on terpenoids: a diastereoselective route to novel 4-amido-octahydro-2H-chromenes*, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 22387.
98. Yadav, J. S.; Jayasudhan, R. Y.; Adi, N. R. P.; Suba, R. B. V. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 546.
99. Yadav, J. S.; Suba, R. D. V.; Aravind, S.; Narayana Kumar G. G. K. S.; Madhavi, C.; Kunwar, A. C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3025.
100. Yadav, J. S.; Suba, R. B. V.; Chaya, D. N.; Narayana Kumar, G. G. K. S. *Canad. J. Chem.* **2008**, *86*, 769.
101. Selvam, N. P.; Perumal, T. P. *Canad. J. Chem.* **2009**, *87*, 698.
102. Yadav, J. S.; Suba, R. B. V.; Chaya, D. N.; Narayana Kumar, G. G. K. S. Reddy, G. M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4903.
103. Mernyák, E.; **Huber, J.**; Benedek, G.; Pfoh, R.; Rühl, S.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *Arkivoc* **2010**, *xi*, 101.
104. Mernyák E.; **Huber, J.**; Szabó, J.; Schneider, Gy.; Hetényi, A.; Márk, L.; Maász, G.; Berényi, Á.; Kovács, I.; Minorics, R.; Zupkó, I.; Wölfling, J. *Steroids* **2013**, *78*, 1021.

105. http://www.chem.umn.edu/groups/taton/chem8361/Handouts/9_26.pdf
106. Sohár P. *A mágneses magrezonancia a kémiai szerkezetkutatásban*, Magyar Tudomány, Budapest **2014**, 3, 278.
107. Mernyák, E.; Kozma, E.; Hetényi, A.; Márk, L.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *Steroids* **2009**, 74, 520.
108. Montskó, G.; Váczy, A.; Maász, G.; Mernyák, E.; Frank, É.; Bay, Cs. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 395, 869.
109. Mernyák, E.; Márk, L.; Frank, É.; Schneider, Gy.; Wölfling, J. *Steroids* **2009**, 74, 474.
110. **Huber J.**; Wölfling, J.; Schneider, Gy.; Ocsovszki, I.; Varga, M.; Zupkó, I.; Mernyák, E. *Steroids* **2015**, 102, 76.
111. Agafontsev, A. M.; Rybalova, T. V.; Gatilov, Y. V.; Tkachev, A. V. *Mendeleev Commun.* **2002**, 12, 88.
112. Agafontsev, A. M.; Tkachev, A. V. *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.* **2005**, 54, 1892.
113. Hajnal, A.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *Synlett* **2002**, 7, 1077.
114. Hajnal, A. Doktori Értekezés, Szegedi Tudományegyetem, **2002**.
115. Möller, G.; Deluca, D.; Gege, C.; Rosinus, A.; Kowalik, D.; Peters, O.; Driescher, P.; Elger, W.; Adamski, J.; Hillisch, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 6740.
116. Leese, M. P.; Hejaz, H. A. M.; Mahon, M. F.; Newman, S. P.; Purohit, A.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 5243.
117. Mernyák, E.; Szabó, J.; **Huber, J.**; Schneider, Gy.; Minorics, R.; Bózsity, N.; Zupkó, I.; Varga, M.; Bikádi, Zs.; Hazai E.; Wölfling, J. *Steroids* **2014**, 87, 128.
118. Vermes, I.; Haanen, C.; Reutelingsperger, C. *J. Immunol. Methods* **2000**, 243, 167.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Mernyák Erzsébet tudományos munkatársnak, aki kezdetben irányt mutatott tudományos érdeklődésemnek, majd doktori éveim során (időt és fáradságot nem kímélve) egyengette pályafutásom, és bevezetett a kutatómunka rejtelmeibe. Továbbá köszönöm Neki disszertációm alapos áttanulmányozását, és értékes elméleti és gyakorlati útmutatását.

Köszönettel tartozom továbbá másik témavezetőmnek, Prof. Dr. Wölfling János tanszékvezető egyetemi tanárnak, kutatásaim feltételeinek biztosításáért, személyes konzultációink és publikációs anyagaimhoz nyújtott hasznos tanácsaiért.

Hálával tartozom Dr. Schneider Gyula professzor emeritusnak az évek során adott bölcs észrevételeiért. Köszönettel tartozom Neki, hogy hallgató korom óta folyamatosan figyelemmel kísérte és segítette munkám.

Továbbá köszönöm Dr. Zupkó István egyetemi docensnek antitumor vizsgálataimban nyújtott segítségét és szakmai támogatását.

Az áramlások citometriai mérésekért külön köszönet illeti Ocsóvszki Imrét (SZTE-ÁOK Biokémiai Intézet), a tömegspektrometriai analízisért Dr. Varga Mónikát (Szegedi Gabonakutató Nonprofit Kft.) és az NMR vizsgálatokban nyújtott segítségéért Dr. Hetényi Anasztáziát (SZTE-ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet).

Hálával tartozom a Szteroidkémiail Kutatócsoport és a Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet minden tagjának, különösképpen Szabó Johannának, Bacsa Ildikónak, Farkas Nórának, Gabnai Jánosnak, Dr. Minorics Renátának, Dr. Berényi Ágnesnek és nem utolsósorban Dr. Kovács Ida Jusztinának, akikhez bármikor fordulhattam munkám során felmerülő problémáimmal. Mindemellett megköszönöm a disszertáció témájához kapcsolódó közlemények, poszterek és előadások valamennyi társszerzőjének a segítségét.

Külön köszönettel tartozom családomnak és jegyesemnek Mag Pálnak, akik mindvégig mellettem álltak, türelmesek voltak, és biztosították a munkámhoz szükséges nyugodt hátteret.

10. MELLÉKLET

I. melléklet

A vegyületek NMR-és MS-adatai.

135

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,20 (s, 3H, 18- H_3); 2,83 (m, 2H, 6- H_2); 3,77 (s, 3H, 3-OMe); 5,01 (m, 2H, 16a- H_2); 5,83 (m, 1H, 16-H); 6,61 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, 4-H); 6,70 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 2-H); 7,18 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,57 (s, 1H, 17-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 26,3 (C-18); 27,0; 27,4; 30,3; 33,3; 39,1; 40,9; 42,3; 43,5; 50,8; 55,2 (3-OMe); 111,7 (C-2); 113,4 (C-4); 114,9 (C-16a); 126,4 (C-1); 132,2 (C-10); 137,8 (C-5); 139,4 (C-16); 155,9 (C-17); 157,5 (C-3). MS (70 eV); m/z (%): 313 (100, M^+); 296 (53); 173 (47); 147 (49); 70 (61); 41 (42).

136

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0,99 (s, 3H, 18- H_3); 2,84 (m, 2H, 6- H_2); 3,43 és 3,48 (2xs, 2x3H, 2x acetyl-OMe); 3,76 (s, 3H, 3-OMe); 4,33 (s, 1H, 17-H); 5,00 (m, 2H, 16a- H_2); 5,86 (m, 1H, 16-H); 6,61 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, 4-H); 6,70 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 23,4 (C-18); 27,0; 28,1; 30,5; 32,6; 36,6; 42,1; 42,2 (C-13); 44,1; 52,0; 55,1 (3-OMe); 57,8 és 58,4 (2C, 2xacetyl-OMe); 110,7 (C-17); 111,5 (C-2); 113,4 (C-4); 113,5 (C-16a); 126,3 (C-1); 133,1 (C-10); 137,9 (C-5); 141,8 (C-16); 157,5 (C-3). MS (70 eV); m/z (%) 344 (23, M^+), 239 (11), 75 (100).

137

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,01 (s, 3H, 18- H_3); 2,83 (m, 2H, 6- H_2); 3,13 (m, 1H, 16-H); 3,45 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, 17-H); 3,64 és 3,78 (2xm, 2x1H, 16a- H_2); 3,79 (s, 3H, 3-OMe); 6,62 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, 4-H); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 2-H); 7,24 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 29,2; 29,4; 31,0; 33,2 (C-18); 35,2 (2C); 40,8; 41,9; 44,5 (C-13); 47,6; 52,7; 55,6 (3-OMe); 77,6 (C-17); 79,9 (C-16a); 112,0 (C-2); 113,8 (C-4); 127,7 (C-1); 133,5 (C-10); 138,8 (C-5); 157,6 (C-3). MS (70 eV); m/z (%): 313 (100, M^+), 186 (22), 173 (18), 84 (14).

138

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,07 (s, 3H, 18- H_3); 2,82 (m, 2H, 6- H_2); 3,04 (m, 1H, 16-H); 3,47 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz) és 3,77 (m, 1H): 16a- H_2 ; 3,78 (s, 3H, 3-OMe); 3,84 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 17-H); 6,62 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, 4-H); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,5$ Hz, 2-H); 7,24 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 24,9 (C-18); 27,6; 28,9; 30,9; 34,1; 36,6; 40,9; 42,4; 43,8 (C-13); 47,6; 54,3; 55,6 (3-OMe); 69,6 (C-17); 77,7 (C-16a); 112,1 (C-2); 114,0 (C-4); 127,3 (C-1); 132,9 (C-10); 138,6 (C-5); 157,9 (C-3). MS (70 eV); m/z (%): 313 (100, M^+), 240 (14), 227 (19), 225 (18), 173 (28), 147 (16), 84 (11).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,07 (s, 3H, 18- H_3); 2,57 (s, 3H, *N*-Me); 2,82 (m, 2H, 6- H_2); 3,19 (m, 1H, 16-H); 3,36 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz, 17-H); 3,57 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 2,9$ Hz) és 4,11 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz): 16a- H_2 ; 3,78 (s, 3H, 3-OMe); 6,62 (d, 1H, $J = 2,6$ Hz, 4-H); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,6$ Hz, 2-H); 7,24 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm] = 25,4 (C-18); 27,0; 28,4; 30,4; 33,6; 35,7; 40,5; 42,0; 43,0 (C-13); 45,6; 45,7; 54,5; 55,2 (3-OMe); 71,3 (C-16a); 76,8 (C-17); 111,7 (C-2); 113,6 (C-4); 126,8 (C-1); 132,5 (C-10); 138,2 (C-5); 157,5 (C-3). MS (70 eV); m/z (%): 327 (100, M^+), 98 (74).

II. melléklet

A **135**-ös vegyület kristálytani adatai

Crystal data and structure refinement:

Empirical formula	$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_2$
Formula weight	313.44
Temperature	100(2) K
Space group	<i>P</i> 1 with 4 molecules per asymmetric unit
Unit cell dimensions	$a = 8.8489(3) \text{ \AA}$, $\alpha = 96.806(1) \text{ deg.}$ $b = 9.4453(3) \text{ \AA}$, $\beta = 90.032 \text{ deg.}$ $c = 23.6805(7) \text{ \AA}$, $\gamma = 116.543(1) \text{ deg.}$
Volume, <i>Z</i>	$1754.9(1) \text{ \AA}^3$
Density (calculated)	1.186 g/cm^3
Crystal size	$0.30 \times 0.20 \times 0.20 \text{ mm}^3$
Reflections collected	23124
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Goodness-of-fit on F^2	1.038
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$] $R_1 = 0.0259$, $wR_2 = 0.0630$	
Absolute structure parameter	-0.1(1)
Largest diff. Peak and hole	0.154 and -0.170 e\AA^{-3}

III. Melléklet

A vegyületek NMR- és MS-adatai.

145a

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,38 (s, 3H, 18- H_3); 2,87 (m, 2H, 6- H_2); 3,42 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, $J = 8,0$ Hz) és 3,80 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, $J = 2,2$ Hz): 16a- H_2 ; 3,44 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 17a-H); 3,78 (s, 3H, 3-OMe); 4,33 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, 4'-H); 5,09 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz,

3'-H); 6,64 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, 4-H); 6,73 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,4$ Hz, 2-H); 7,23–7,26 és 7,46 (átfedő multiplettek, 5H, 1-, 2''-, 3''-, 5''-, 6''-H); 7,40 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 26,4; 27,4; 27,7; 29,8; 34,3 (C-18); 34,9; 36,4; 36,6; 38,3; 42,0; 45,0; 50,3; 55,2; 55,6; 74,6 (C-17a); 77,3 (C-3'); 111,9 (C-2); 113,4 (C-4); 126,4 és 129,2 (2x2C, C-2'', -3'', -5'', -6''); 126,7 (C-1); 129,0 (C-4''); 131,1 és 132,3 (2C, C-1'' és C-10); 137,6 (C-5); 157,8 (C-3); 170,8 és 173,6 (2C, C-2' és C-5'). MS (70 eV); m/z (%): 566 (10), 564 (10, M^+), 470 (26), 468 (26), 454 (31), 295 (41), 119 (50), 93 (100).

145b

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,36 (s, 3H, 18- H_3); 2,54 (m, 1H, 16-H); 2,87 (m, 2H, 6- H_2); 3,26 (t, 1H, $J=8,7$ Hz) és 3,56 (m, 1H): 16a- H_2 ; 3,42 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 17a-H); 3,73 (s, 3H, 3-OMe); 4,26 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, 4'-H); 4,96 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 3'-H); 6,62 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, 4-H); 6,71 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,4$ Hz, 2-H); 7,21 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2''- és 6''-H); 7,26 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,38 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4''-H); 7,44 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3''- és 5''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 10,4 (C-16a); 27,4; 27,7; 28,2; 29,8; 34,3 (C-18); 36,3 (C-13); 36,7; 38,5; 42,0; 45,2; 50,4 (C-4'); 55,0 (C-16); 55,2 (3-OMe); 74,6 (C-17a); 77,2 (C-3'); 111,9 (C-2); 113,4 (C-4); 126,4 (2C, C-2'' és C-6''); 126,7 (C-1); 129,0 (C-4''); 129,2 (2C, C-3'' és C-5''); 131,1 (C-1''); 132,3 (C-10); 137,7 (C-5); 157,8 (C-3); 170,8 és 173,7 (2C, C-2' és C-5'). MS (70 eV); m/z (%): 612 (M^+ , 14), 471 (21), 253 (52), 173 (100).

146a

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,22 (s, 3H, 18- H_3); 2,78 (m, 1H, 4'-H); 2,88 (m, 2H, 6- H_2); 3,52 (dd, 1H, $J = 10,1$ Hz, $J = 7,3$ Hz) és 3,74 (m, 1H): 16a- H_2 ; 3,54 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, 17a-H); 3,77 (s, 3H, 3-OMe); 5,20 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, 3'-H); 6,64 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,29 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, 2''-, 6''-H); 7,48 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz, 3''-, 5''-H); 7,41 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, 4''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 21,3 (C-18); 25,3; 26,5; 28,2; 29,8; 35,4; 37,2; 37,4; 38,4; 41,1; 43,2; 48,5 (C-4'); 55,2 (3-OCH₃); 61,2 (C-16); 77,3 (C-17a); 77,9 (C-3'); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 126,2 és 128,9 (2x1C, C-1 és C-4''); 126,3 és 129,2 (2x2C, C-2'', 3'', 5'', 6''); 131,1 és 131,9: C-1'' és C-10; 137,5 (C-5); 157,6 (C-3); 170,9 és 173,2 (2C, C-2' és -5'). MS (70 eV); m/z (%): 566 (4), 564 (6, M^+), 468 (38), 449 (30), 293 (100), 278 (62), 173 (37), 95 (47), 93 (47), 81 (38), 79 (38).

146b

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,23 (s, 3H, 18- H_3); 2,88 (m, 2H, 6- H_2); 3,41 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz, $J = 6,7$ Hz) és 3,51 (m, 1H): 16a- H_2 ; 3,55 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, 17a-H); 3,73 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 4'-H); 3,77 (s, 1H, 3-OMe); 5,18 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 3'-H); 6,63 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, 4-H); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,29 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz, 2''- és 6''-H); 7,41 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, 4''-H); 7,48 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, 3''- és 5''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 11,0 (C-16a); 21,4 (C-18); 25,3; 26,6; 29,8; 30,1; 37,3;

37,4; 38,4; 41,3; 43,3; 48,7 (C-4'); 55,2 (3-OCH₃); 60,4 (C-16); 77,3 (C-17a); 77,9 (C-3'); 111,8 (C-2); 113,5 (C-4); 126,2 (C-1); 126,3 (2C, C-2'' és C-6''); 128,9 (C-4''); 129,2 (2C, C-3'' és C-5''); 131,2 (C-1''); 131,9 (C-10); 137,5 (C-5); 157,7 (C-3); 170,8 és 173,2 (2C, C-2' és C-5'). MS (70 eV); *m/z* (%): 612 (10, M⁺), 566 (23), 173 (100).

148

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,03 (s, 3H) és 1,09 (s, 3H): 18-H₃ és 18'-H₃; 2,85 (m, 4H, 6-H₂ és 6'-H₂); 2,92 (m, 1H, 16-H); 3,45-3,50 (dd, 1H *J* = 10,0 Hz, *J* = 7,6 Hz) és 3,52-3,57 (dd, 1H, *J* = 10,0 Hz, *J* = 7,6 Hz): 16a-H₂; 3,66-3,71 (td, 2H, *J* = 10,0 Hz, *J* = 1,8 Hz, 16a'-H₂); 3,77 (s, 6H, 3-OCH₃ és 3'-OCH₃); 3,86 (m, 1H, 16'-H); 4,25 (s, 1H, 17a-H); 4,94 (s, 1H, 17a'-H); 6,62 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, 4-H és 4'-H); 6,71 (dd, 2H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,4 Hz, 2-H és 2'-H); 7,17-7,21 (átfedő multiplettek, 2H, 1-H és 1'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 12,9 és 17,2 (C-18 és C-18'); 25,3; 25,5; 26,2; 26,4; 28,4; 29,1; 29,8; 29,9; 33,5; 34,6; 35,1; 35,2; 37,6; 38,4; 39,7; 39,4; 40,4; 43,1; 43,2; 46,2; 55,0 (C-16); 55,2 (2C, 3-OCH₃ és 3'-OCH₃); 62,8 (C-16a); 92,2 és 96,5 (C-17a és C-17a'); 111,7 és 111,8 (C-2 és C-2'); 113,5 (2C, C-4 és C-4'); 126,2 (2C, C-1 és C-1'); 132,1 és 132,4 (C-10 és C-10'); 137,5 és 137,7 (C-5 és C-5'); 157,6 és 157,7 (C-3 és C-3'). MS (70 eV); *m/z* (%): 784 (10, M⁺).

IV. Melléklet

A 145a vegyület kristálytani adatai

Crystal data and structure refinement:

Empirical formula	C ₃₀ H ₃₃ BrN ₂ O ₄
Formula weight	565.49
Temperature	100(2) K
Space group	P2(1)2(1)2(1)
Unit cell dimensions	<i>a</i> = 13.703(3) Å, <i>b</i> = 27.097(5) Å, <i>c</i> = 29.098(6) Å,
Volume, <i>Z</i>	10805(4) Å ³
Density (calculated)	1.391 g/cm ³
Absorption coefficient	2.381 mm ⁻¹
Crystal size	0.20 x 0.10 x 0.10 mm ³
Reflections collected	117098
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.042
Final <i>R</i> indices [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)] <i>R</i> 1 = 0.0251, <i>wR</i> 2 = 0.0572	
Absolute structure parameter	-0.031(6)
Largest diff. Peak and hole	0.464 and -0.333 eÅ ⁻³

V. Melléklet

A vegyületek NMR- és MS-adatai.

153a

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18- H_3); 2,86 (m, 2H, 6- H_2); 3,45 (m, 1H, 16-H); 3,66–3,70 (átfedő multiplettek, 2H, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 5,17 (s, 1H, 17a-H); 6,61 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,65 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,03 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,29 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,42 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, 4'-H); 7,47 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, 3'-H és 5'-H); ^{13}C -NMR δ [ppm]: 18,6 (C-18); 25,0; 26,5; 28,3; 29,8; 35,5; 35,6; 38,8; 38,9 (C-13); 39,7; 42,7; 55,2 (3- OCH_3); 63,2 (C-16); 86,0 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 126,0 (C-1); 128,0 (2C, C-2' és C-6'); 128,8 (C-4'); 129,9 (2C: C-3' és C-5'); 131,5 (C-10); 137,5 és 138,9 (C-5 és C-1'); 157,7 (C-3); 160,6 (NCO). MS pozitív üzemmód: 467 (12%, $[\text{M}-\text{CO}_2]^+$); 392 (63%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{C}_6\text{H}_5]^+$).

153b

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,17 (s, 3H, 18- H_3); 2,85 (m, 2H, 6- H_2); 3,05 (m, 1H, 16-H); 3,51 (m, 2H, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 5,15 (s, 1H, 17a-H); 6,61 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, 4-H); 6,65 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,4$ Hz, 2-H); 7,02 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,29 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,41 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, 4'-H); 7,47 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, 3'-H és 5'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm]: 11,1 (C-16a); 18,8 (C-18); 25,0; 26,5; 29,8; 30,3; 35,5; 38,8; 39,0 (C-13); 39,8; 42,7; 55,2 (3- OCH_3); 62,5 (C-16); 86,0 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 126,0 és 128,8 (C-1 és C-4'); 129,9 (2C: C-3' és C-5'); 131,5 (C-10); 137,5 és 138,9 (C-5 és C-1'); 157,7 (C-3); 160,6 (NCO). MS pozitív üzemmód: 515 (5%, $[\text{M}-\text{CO}_2]^+$); 440 (31%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{C}_6\text{H}_5]^+$); 387 (100%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{I}]^+$).

154a

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,15 (s, 3H, 18- H_3); 2,86 (m, 2H, 6- H_2); 3,42 (m, 1H, 16-H); 3,65–3,72 (átfedő multiplettek, 2H, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 3,84 (s, 3H, 4'- OCH_3); 5,07 (s, 1H, 17a-H); 6,61 (d, 1H, $J = 2,6$ Hz, 4-H); 6,66 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,6$ Hz, 2-H); 6,96 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,05 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,20 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, 2'-H és 6'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm]: 18,7 (C-18); 25,0; 26,5; 28,4; 29,8; 35,2; 35,6; 38,8; 38,9 (C-13); 39,8; 42,8; 55,2 (3- OCH_3); 55,5 (4'- OCH_3); 63,1 (C-16); 85,9 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,6 (C-4); 115,2 (2C: C-3' és C-5'); 126,0 (C-1); 131,3 és 131,6 (C-1' és C-10); 137,5 (C-5); 157,7 (C-3); 159,7 (C-4'); 160,8 (NCO). MS pozitív üzemmód: 497 (7%, $[\text{M}-\text{CO}_2]^+$); 417 (17%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{Br}]^+$); 392 (56%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{C}_7\text{H}_7]^+$); 296 (100%, $[\text{M}-\text{CO}_2-\text{CH}_2\text{Br}-\text{C}_7\text{H}_7]^+$).

154b

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18- H_3); 2,86 (m, 2H, 6- H_2); 3,04 (m, 1H, 16-H); 3,50 (m, 2H, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 3,84 (s, 3H, 4'- OCH_3); 5,05 (s, 1H, 17a-H); 6,62 (s, 1H, 4-H); 6,66 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 2-H); 6,96 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,05 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,19 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, 2'-H és 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm]: 11,0 (C-16a); 18,8 (C-13); 25,0; 26,5; 29,8; 30,4; 35,2; 38,8; 38,9 (C-13); 39,8; 42,8; 55,2 (3- OCH_3); 55,5 (4'- OCH_3); 62,4 (C-16); 85,9 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 115,2 (2C: C-3' és C-5'); 126,0 (C-1); 131,3 és 131,5 (C-1' és C-10); 137,5 (C-5); 157,7 (C-3); 159,6 (C-4'); 160,8 (NCO). MS pozitív üzemmód: 440 (18%, $[\text{M-CO}_2\text{-C}_7\text{H}_7]^+$); 417 (100%, $[\text{M-CO}_2\text{-I}]^+$).

155a

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18- H_3); 2,86 (m, 2H, 6- H_2); 3,41 (m, 1H, 16-H); 3,63–3,70 (átfedő multiplettek, 2H, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 5,14 (s, 1H, 17a-H); 6,62 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,67 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, 1-H); 7,24 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,45 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, 2'-H és 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm]: 18,6 (C-18); 24,9; 26,5; 28,3; 29,8; 35,4; 35,9; 38,8; 39,0 (C-13); 39,8; 42,8; 55,2 (3- OCH_3); 63,2 (C-16); 85,9 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 126,0 (C-1); 130,2 (2C: C-3' és C-5'); 131,3 (C-10); 134,7 (C-4'); 137,4 és 137,5 (C-1' és C-5); 157,7 (C-3); 160,4 (NCO). MS pozitív üzemmód: 421 (35%, $[\text{M-CO}_2\text{-Br}]^+$); 392 (100%, $[\text{M-CO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{Cl}]^+$).

155b

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,17 (s, 3H, 18- H_3); 2,86 (m, 2H, 6- H_2); 3,02 (m, 1H, 16-H); 3,50 (d, 2H, $J = 4,2$ Hz, 16a- H_2); 3,76 (s, 3H, 3- OCH_3); 5,12 (s, 1H, 17a-H); 6,62 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, 4-H); 6,67 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,23 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, 2'-H és 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm]: 10,8 (C-16a); 18,8 (C-18); 24,9; 26,5; 29,8; 30,3; 35,8; 38,8; 39,1 (C-13); 39,9; 42,8; 55,2 (3- OCH_3); 62,5 (C-16); 85,9 (C-17a); 111,7 (C-2); 113,5 (C-4); 126,0 (C-1); 130,2 (2C: C-3' és C-5'); 131,3 (C-10); 134,7 (C-4'); 137,4 és 137,6 (C-1' és C-5); 157,7 (C-3); 160,5 (NCO). MS pozitív üzemmód: 440 (100%, $[\text{M-CO}_2\text{-C}_6\text{H}_5\text{Cl}]^+$); 421 (37%, $[\text{M-CO}_2\text{-I}]^+$).

156a

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18- H_3); 2,85 (m, 2H, 6- H_2); 3,45 (m, 1H, 16-H); 3,65–3,72 (átfedő multiplettek, 2H, 16a- H_2); 5,02 (s, 2H, 3- OCH_2); 5,17 (s, 1H, 17a-H); 6,71 (s, 1H, 4H); 6,73 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 2-H); 7,03 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,30–7,33 (átfedő multiplettek, 3H, 2'-H, 6'-H és 4''-H); 7,35–7,43 (átfedő multiplettek, 5H, 2''-H, 3''-H, 5''-H, 6''-H, 4'-H); 7,47 (m, 2H, 3'-H és 5'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm]: 18,6 (C-18); 24,6; 26,1; 27,9; 29,4; 35,1; 35,2; 38,4; 38,5 (C-13); 39,3; 42,3; 62,8 (C-16); 69,5 (OCH_2); 85,5 (C-17a); 112,1 (C-2); 114,2 (C-4); 126,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 128,8 (C-4'); 129,9 (2C: C-3' és C-5'); 131,8 (C-10); 137,2 (C-1''); 137,5 (C-5);

138,8 (C-1'); 156,9 (C-3); 160,6 (NCO). MS pozitív üzemmód: 543 (20%, [M-CO₂]⁺); 429 (80%, [M-Br-C₆H₅]⁺).

156b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm]: 1,17 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,05 (m, 1H, 16-H); 3,52 (m, 2H, 16a-H₂); 5,01 (s, 2H, 3-OCH₂); 5,15 (s, 1H, 17a-H); 6,70 (s, 1H, 4H); 6,73 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 2-H); 7,03 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 1-H); 7,29–7,33 (átfedő multiplettek, 3H, 2'-H, 6'-H, 4''-H); 7,36–7,43 (átfedő multiplettek, 5H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 3''-H és 5''-H); 7,48 (m, 2H, 2''-H és 6''-H). ¹³C-NMR δ [ppm]: 11,1 (C-16a); 18,8 (C-18); 25,0; 26,5; 29,8; 30,3; 35,5; 38,8; 39,0 (C-13); 39,8; 42,7; 62,5 (C-16); 69,9 (OCH₂); 85,9 (C-17a); 112,5 (C-2); 114,5 (C-4); 126,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 128,8 (C-4'); 129,9 (2C: C-3' és C-5'); 131,8 (C-10); 137,2 (C-1''); 137,6 (C-5); 138,9 (C-1'); 156,9 (C-3); 160,6 (NCO). MS pozitív üzemmód: 591 (15%, [M-CO₂]⁺); 509 (100%, [M-I]⁺).

157a

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm]: 1,15 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,43 (m, 1H, 16-H); 3,64–3,71 (átfedő multiplettek, 2H, 16a-H₂); 3,84 (s, 3H, 4'-OCH₃); 5,02 (s, 2H, 3-OCH₂); 5,07 (s, 1H, 17a-H); 6,71 (s, 1H, 4-H); 6,74 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz, 2-H); 6,97 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,05 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 1-H); 7,20 (m, 2H, 2'-H és 6'-H); 7,32 (m, 1H, 4''-H); 7,38 (m, 2H, 3''-H és 5''-H); 7,41 (m, 2H, 2''-H és 6''-H). ¹³C-NMR δ [ppm]: 18,7 (C-18); 24,6; 26,1; 28,0; 29,4; 34,8; 35,2; 38,4 (2C); 39,3; 42,4; 55,1 (4'-OCH₃); 62,7 (C-16); 69,5 (OCH₂); 85,5 (C-17a); 112,5 (C-2); 114,6 (C-4); 115,2 (2C: C-3' és C-5'); 126,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 131,2 (C-1'); 131,8 (C-10); 137,2 (C-1''); 137,6 (C-5); 156,9 (C-3); 159,6 (C-4'); 160,8 (NCO). MS pozitív üzemmód: 573 (10%, [M-CO₂]⁺); 429 (100%, [M-Br-C₇H₇O]⁺).

157b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,04 (m, 1H, 16-H); 3,51 (m, 2H, 16a-H₂); 3,84 (s, 3H, 4'-OCH₃); 5,02 (s, 2H, 3-OCH₂); 5,06 (s, 1H, 17a-H); 6,70 (s, 1H, 4-H); 6,73 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 2-H); 6,98 (m, 2H, 3'-H és 5'-H); 7,05 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 1-H); 7,19 (m, 2H, 2'-H és 6'-H); 7,31 (m, 1H, 4''-H); 7,37 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz, 3''-H és 5''-H); 7,41 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, 2''-H és 6''-H). ¹³C-NMR δ [ppm]: 11,1 (C-16a); 18,8 (C-18); 24,9; 26,5; 29,8; 30,4; 35,2; 38,8; 38,9 (C-13); 39,8; 42,8; 55,5 (4'-OCH₃); 62,4 (C-16); 69,9 (OCH₂); 85,9 (C-17a); 112,5 (C-2); 114,6 (C-4); 115,1 (2C: C-3' és C-5'); 126,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 131,3 (C-1'); 131,8 (C-10); 137,2 (C-1''); 137,6 (C-5); 156,9 (C-3); 159,6 (C-4'); 160,6 (NCO). MS pozitív üzemmód: 515 (42%, [M-CO₂-C₇H₇O]⁺); 497 (100%).

158a

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm]: 1,16 (s, 3H, 18-H₃); 2,84 (m, 2H, 6-H₂); 3,41 (m, 1H, 16-H); 3,63–3,71 (átfedő multiplettek, 2H, 16a-H₂); 5,02 (s, 2H, 3-OCH₂); 5,14 (s, 1H, 17a-

H); 6,71 (s, 1H, 4-H); 6,74 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, 1-H); 7,25 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,29–7,33 (átfedő multiplettek, 3H, 4''-H, 2'-H és 6'-H); 7,37 (m, 2H, 3''-H és 5''-H); 7,43 (m, 2H, 2''-H és 6''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm]: 18,6 (C-18); 24,9; 26,5; 28,3; 29,8; 35,4; 35,9; 38,8; 39,0 (C-13); 39,9; 42,8; 63,2 (C-16); 69,9 (OCH₂); 85,9 (C-17a); 112,5 (C-2); 114,6 (C-4); 126,1 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 130,2 (2C: C-3' és C-5'); 131,6 (C-10); 134,7 (C-4'); 137,1 (C-1''); 137,5 (2C: C-5 és C-1'); 157,0 (C-3); 160,4 (NCO). MS pozitív üzemmód: 621 (100%, M⁺); 493 (55%, [M-Cl-CH₂Br]⁺).

158b

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm]: 1,17 (s, 3H, 18-H₃); 2,85 (m, 2H, 6-H₂); 3,02 (m, 1H, 16-H); 3,50 (m, 2H, 16a-H₂); 5,02 (s, 2H, 3-OCH₂); 5,12 (s, 1H, 17a-H); 6,70 (s, 1H, 4-H); 6,74 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,23 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,31 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, 4'-H); 7,37 (m, 2H, 2'-H és 6'-H); 7,41 (m, 2H, 3''-H és 5''-H); 7,45 (m, 2H, 2''-H és 6''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] 55 °C: 10,8 (C-16a); 18,8 (C-18); 24,9; 26,5; 29,8; 30,3; 35,8; 38,7; 39,1 (C-13); 39,9; 42,8; 62,5 (C-16); 69,9 (OCH₂); 85,9 (C-17a); 112,5 (C-2); 114,6 (C-4); 126,1 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,9 (C-4''); 128,5 (2C: C-3'' és C-5''); 129,1 (2C: C-2' és C-6'); 130,2 (2C: C-3' és C-5'); 131,6 (C-10); 134,7 (C-4'); 137,1 (C-1''); 137,5 (2C: C-5 és C-1'); 156,9 (C-3); 160,5 (NCO). MS pozitív üzemmód: 625 (11%, [M-CO₂]⁺); 497 (100%, [M-CO₂-I]⁺).

VI. Melléklet

A vegyületek NMR-adatai

162

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,81 (s, 3H, 18-H₃); 2,85–2,97 (m, 2H, 6-H₂); 5,05 (s, 2H, OCH₂); 5,77 (m, 1H) és 5,93 (m, 1H): 16-H és 17-H; 6,75 (s, 1H, 4-H); 6,79 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 2-H); 7,21 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,34 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,45 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, 2'-H és 6'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 17,1 (C-18); 26,6; 28,0; 29,8; 31,8; 35,9; 37,3; 44,6; 45,8 (C-13); 55,4; 70,0 (OCH₂); 112,2 (C-2); 114,8 (C-4); 126,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C: C-3' és C-5'); 129,3 és 144,0 (C-16 és C-17); 133,4 (C-10); 137,3 (C-1'); 138,4 (C-5); 156,7 (C-3).

163

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,77 (s, 3H, 18-H₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 3,18 (m, 1H) és 3,41 (m, 1H): 16-H és 17-H; 5,03 (s, 2H, OCH₂); 6,72 (s, 1H, 4-H); 6,78 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,18 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,33 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, 2'-H és 6'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 15,6 (C-18); 26,2; 27,1; 27,7; 29,7; 32,6; 36,8; 40,9 (C-13); 43,4; 44,2; 53,8 és 62,3 (2C, C-16 és

C-17); 69,9 (OCH₂); 112,2 (C-2); 114,8 (C-4); 126,1 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,9 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,7 (C-3).

164

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,11 (s, 3H, 18-H₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 4,07 (s, 1H, 17-H); 4,77 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (d, 1H, J = 8,5 Hz, 2-H); 7,21 (d, 1H, J = 8,5 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H, 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 18,6 (C-18); 26,5; 27,9; 29,8; 35,6; 36,9; 38,9; 43,1; 44,8 (C-13); 48,1; 70,0 (OCH₂); 71,7 (C-16); 82,9 (C-17); 112,3 (C-2); 114,8 (C-4); 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,5 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

165

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,85 (s, 3H, 18-H₃); 2,84 (m, 2H, 6-H₂); 3,26 (m, 1H) és 3,54 (m, 1H): 16-H és 17-H; 5,03 (s, 2H, OCH₂); 6,71 (d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,78 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,5 Hz 2-H); 7,17 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, J = 7,2 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 13,9 (C-18); 26,5; 27,5; 28,8; 29,6; 35,2; 37,0; 39,8 (C-13); 43,9; 59,6; 62,5 és 66,6 (2C, C-16 és C-17); 70,0 (OCH₂); 112,2 (C-2); 114,8 (C-4); 125,9 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,8 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

166

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,86 (s, 3H, 18-H₃); 2,87 (m, 2H, 6-H₂); 3,75 (s, 1H) és 3,83 (m, 1H): 16-H és 17-H; 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,3 Hz, 2-H); 7,21 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, J = 7,4 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 17,0 (C-18); 25,7; 27,9; 29,7; 31,6; 32,3; 38,5; 43,3; 44,5 (C-13); 47,8; 69,1 (C-16); 70,0 (OCH₂); 84,7 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,5 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

167

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,83 (s, 3H, 18-H₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 3,63 (d, 1H, J = 6,6 Hz) és 3,80 (m, 1H): 16-H és 17-H; 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, J = 7,2 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 11,9 (C-18); 25,8; 27,1; 29,6; 30,6; 36,3; 38,2; 43,7 (C-13); 43,8; 48,2; 67,1 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,3 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 126,2 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

169a

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,00 (s, 3H, 18-H₃); 2,88 (m, 2H, 6-H₂); 4,17 (s, 1H, 17-H); 4,72 (t, 1H, J = 8,6 Hz, 16-H); 5,05 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (s, 1H, 4-H); 6,80 (d, 1H, J =

8,4 Hz, 2-H); 7,22 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, 1-H); 7,32–7,35 (átfedő multiplettek, 2H, 4'-H és 4''-H); 7,37–7,44 (átfedő multiplettek, 5H, 2'-H, 3'-H, 3''-H, 5'-H, 5''-H, 6'-H); 7,82–7,85 (átfedő multiplettek, 3H, C=CH, 2''-H, 6''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 17,9 (C-18); 25,8; 28,0; 29,7; 31,8; 32,5; 38,3; 43,3; 44,7 (C-13); 48,3; 70,0 (OCH₂); 70,1 (C-16); 85,4 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,5 (C=C $\underline{\text{H}}$); 125,6 (2C) és 128,8 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,1 (C-4''); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 130,5 (C-1''); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

169b

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,00 (s, 3H, 18-H₃); 2,88 (m, 2H, 6-H₂); 4,16 (s, 1H, 17-H); 4,72 (t, 1H, $J = 8,7$ Hz, 16-H); 5,05 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (s, 1H, 4-H); 6,80 (dd, 1H, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,1$ Hz, 2-H); 7,15 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, 4''-H); 7,23 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,29–7,34 (átfedő multiplettek, 2H, 4'-H és 5''-H); 7,39 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,60 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, 6''-H); 7,67 (s, 1H, 2''-H); 7,83 (C=CH). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 17,9 (C-18); 21,4 (3''-CH₃); 25,8; 28,0; 29,7; 31,8; 32,5; 38,3; 43,3; 44,7 (C-13); 48,2; 70,0 (OCH₂); 70,1 (C-16); 85,4 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,5 (C=C $\underline{\text{H}}$); 122,7 (C-6''); 126,3 (2C: C-1 és C-2''); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 128,7 és 128,9 (C-4'' és C-5''); 130,4 (C-1''); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-3''); 138,5 (C-5); 147,7 (C=C $\underline{\text{H}}$); 156,8 (C-3).

169d

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,01 (s, 3H, 18-H₃); 2,90 (m, 2H, 6-H₂); 4,18 (s, 1H, 17-H); 4,75 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz, 16-H); 5,05 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, 4-H); 6,80 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,4$ Hz, 2-H); 7,23 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,68 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, 2''-H és 6''-H); 7,94–7,97 (átfedő multiplettek, 3H, C=CH, 3''-H és 5''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 17,9 (C-18); 25,8; 28,0; 29,7; 31,8; 32,5; 38,3; 43,3; 44,8 (C-13); 48,3; 70,0 (OCH₂); 70,3 (C-16); 85,4 (C-17); 112,4 (C-2); 114,9 (C-4); 120,5 (C=C $\underline{\text{H}}$); 125,8 (4C, C-2''; C-3''; C-5''; C-6''); 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2'; C-6'); 127,9 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,2 (C-10); 133,8 (C-1''); 137,2 (C-1'); 137,7 (C-5); 156,9 (C-3).

169e

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,99 (s, 3H, 18-H₃); 1,26 (t (1H, $J = 7,6$ Hz, CH₂-CH₃); 2,68 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH₂-CH₃); 2,90 (m, 2H, 6-H₂); 4,15 (s, 1H, 17-H); 4,70 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (s, 1H, 4-H); 6,80 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 2-H); 7,22–7,25 (átfedő multiplettek, 3H, 1-H; 3''-H; 5''-H); 7,32 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz, 2'-H és 6'-H); 7,74 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, 2''-H és 6''-H); 7,81 (C=CH). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 15,5 (CH₂-CH₃); 17,9 (C-18); 25,8; 28,0; 28,7; 29,7; 31,8; 32,5; 38,2; 43,4; 44,7 (C-13); 48,3; 70,0 (OCH₂); 70,1 (C-16); 85,3 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,3 (C=C $\underline{\text{H}}$); 125,6 (2C) és 128,3 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 127,9 (C-1''); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-5); 144,3 és 147,6 (C=C $\underline{\text{H}}$ és C-4''); 156,8 (C-3).

170a

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,98 (s, 3H, 18-H₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 4,20 (d, 1H, *J* = 7,0 Hz, 17-H); 4,73 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,33 (átfedő multiplettek, 2H, 4'-H és 4''-H); 7,37–7,41 (átfedő multiplettek, 4H, 3'-H; 3''-H; 5'-H; 5''-H); 7,43 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,72–7,74 (átfedő multiplettek, 3H, C=CH; 2''-H, 6''-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 11,8 (C-18); 25,9; 27,1; 29,6; 31,5; 36,3; 38,3; 43,8; 44,0 (C-13); 48,6; 67,1 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,1 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,6 (C=CH); 125,6 (2C) és 128,8 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,1 (C-4''); 128,5 (2C: C-3' és C-5'); 130,3 (C-1'); 132,4 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,8 (C-5); 156,8 (C-3).

170b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,98 (s, 3H, 18-H₃); 2,39 (s, 3H, 3''-CH₃); 2,87 (m, 2H, 6-H₂); 4,18 (d, 1H, *J* = 7,0 Hz, 17-H); 4,73 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (dd, 1H, *J* = 8,5 Hz, *J* = 2,0 Hz, 2-H); 7,14 (d, 1H, *J* = 7,4 Hz, 4''-H); 7,21 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,28–7,34 (átfedő multiplettek, 2H, 4'-H és 5''-H); 7,39 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, *J* = 7,2 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,53–7,56 (átfedő multiplettek, 2H, 2''-H és 6''-H); 7,71 (C=CH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 11,8 (C-18); 21,4 (3''-CH₃); 25,9; 27,1; 29,6; 31,5; 36,3; 38,3; 43,8; 43,9 (C-13); 48,6; 67,0 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,1 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,4 (C=CH); 122,7 (C-6''); 126,3 (2C, C-1 és C-2''); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (C-3' és C-5'); 128,7 és 128,9 (2C, C-4'' és C-5''); 130,3 (C-1'); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-3''); 138,4 (C-5); 147,5 (C-5); 156,8 (C-3).

170c

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,97 (s, 3H, 18-H₃); 2,38 (s, 3H, 4''-CH₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 4,18 (d, 1H, *J* = 6,8 Hz, 17-H); 4,71 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz, 2-H); 7,20–7,21 (átfedő multiplettek, 3H, 1-H; 3''-H, 5''-H); 7,32 (m, 1H, 4'-H); 7,38 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,63 (d, 2H, *J* = 7,7 Hz, 2''-H és 6''-H); 7,68 (s, 1H, C=CH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 11,8 (C-18); 21,3 (4''-CH₃); 25,9; 27,1; 29,6; 31,5; 36,3; 38,3; 43,8; 43,9 (C-13); 48,6; 67,0 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,1 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,2 (C=CH); 125,5 (2C) és 129,5 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,6 (C-1''); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,4 (C-10); 137,3 és 137,8 és 137,9 (C-1'; C-5; C-4'); 147,4 (C=CH); 156,8 (C-3).

170d

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,98 (s, 3H, 18-H₃); 2,87 (m, 2H, 6-H₂); 4,20 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz, 17-H); 4,75 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (s, 1H, 4-H); 6,79 (dd, 1H *J* = 8,5 Hz, *J* = 2,4 Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,33 (t, 1H, *J* = 7,2 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,64 (d, 2H, *J* = 8,2

Hz, 2''-H és 6''-H); 7,86 (átfedő multiplettek, 3H, C=CH, 3H, 3''-H és 5''-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 11,8 (C-18); 25,9; 27,1; 29,6; 31,4; 36,3; 38,3; 43,8; 44,0 (C-13); 48,7; 67,1 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,2 (C-17); 112,4 (C-2); 114,9 (C-4); 120,5 (C=CH); 125,6 (2C) és 125,8 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,9 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,3 (C-10); 133,9 (C-1''); 137,3 (C-1'); 137,7 (C-5); 146,0 (C=CH); 156,9 (C-3).

170e

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,97 (s, 3H, 18-H₃); 1,27 (d, 3H, J = 7,6 Hz, CH₂-CH₃); 2,68 (q, 2H, J = 7,6 Hz, CH₂-CH₃); 2,86 (m, 2H, 6-H₂); 4,19 (m, 1H, 17-H); 4,71 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (s, 1H, 4-H); 6,79 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 2,4 Hz, 2-H); 7,20–7,26 (átfedő multiplettek, 3H, 1-H; 3''-H; 5''-H); 7,33 (t, 1H, J = 7,3 Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, J = 7,5 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,64 (d, 2H, J = 8,0 Hz, 2''-H és 6''-H); 7,68 (s, 1H, C=CH). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 11,8 (C-18); 15,5 (CH₂-CH₃); 25,9; 27,1; 28,7; 29,7; 31,5; 36,3; 38,3; 43,8; 43,9 (C-13); 48,6; 67,0 (C-16); 70,0 (OCH₂); 87,1 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 119,3 (C=CH); 125,6 (2C) és 128,2 (2C): C-2''; C-3''; C-5''; C-6''; 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 128,8 (C-1''); 132,4 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,8 (C-5); 144,3 és 147,4 (2C, C-4' és C=CH); 156,8 (C-3).

171

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,98 (s, 3H, 18-H₃); 2,90 (m, 2H, 6-H₂); 3,79 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,74 (s, 1H, 4-H); 6,79 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,0 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, J = 7,4 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,43 (d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 14,2 (C-18); 25,6; 26,6; 28,7; 29,5; 31,7; 37,6; 44,0; 45,9; 47,4 (C-13); 63,2 (C-16); 70,0 (OCH₂); 112,5 (C-2); 114,9 (C-4); 126,2 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,9 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 131,8 (C-10); 137,2 (C-1'); 137,6 (C-5); 157,0 (C-3); 215,0 (C=O).

172

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,80 (s, 3H, 18-H₃); 2,87 (m, 2H, 6-H₂); 3,64 (d, 1H, J = 8,1 Hz, 17-H); 4,14 (m, 1H, 16-H); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,73 (d, 1H, J = 2,3 Hz, 4-H); 6,79 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,5 Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, 4'-H); 7,39 (t, 2H, J = 7,5 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (d, 2H, J = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 11,4 (C-18); 25,9; 27,3; 29,6; 32,1; 37,0; 38,1; 43,0 (C-13); 44,0; 47,1; 62,1 (C-16); 69,9 (OCH₂); 81,4 (C-17); 112,4 (C-2); 114,8 (C-4); 126,3 (C-1); 127,4 (2C, C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C, C-3' és C-5'); 132,5 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,7 (C-5); 156,8 (C-3).

173

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0,74 (s, 3H, 18-H₃); 2,83 (m, 2H, 6-H₂); 4,50 (s, 1H, 3-OH); 6,56 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,62 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, J = 2,5 Hz, 2-H); 7,17 (d, 1H,

$J = 8,4$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 17,6 (C-18); 20,6; 25,2; 26,8; 28,1; 29,8; 38,8; 39,1; 40,5; 41,1 (C-13); 44,0; 53,5; 112,5 (C-2); 115,2 (C-4); 126,5 (C-1); 133,2 (C-10); 138,4 (C-5); 153,1 (C-3).

VII. Melléklet

A vegyületek NMR- és MS-adatai

177a

^1H -NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,90 (s, 3H, 18- H_3); 1,76 (s, 3H, Ac- CH_3); 2,72 (m, 2H, 6- H_2); 3,69 (m, 4H, 3- OCH_3 és 16-H); 3,77 (m, 1H, 17a-H); 4,40 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, OH); 6,61 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,67 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,17 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,70 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, NH). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 22,0 és 22,7 (2C: C-18 és Ac- CH_3); 25,9; 26,1; 28,2; 29,5; 34,8; 36,9; 37,1 (C-13); 37,2; 42,3; 42,6; 47,2; 54,8 (3- OCH_3); 65,0 (C-17a); 111,5 (C-2); 112,9 (C-4); 126,1 (C-1); 132,4 (C-10); 137,4 (C-5); 156,9 (C-3); 167,9 (NCO). MS m/z (%): 340 (37); 358 (100, $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]$); 380 (20).

177b

^1H -NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1,17 (s, 3H, 18- H_3); 1,81 (s, 3H, Ac- CH_3); 2,72 (m, 2H, 6- H_2); 3,67 (m, 4H, 3- OCH_3 és 16-H); 3,76 (m, 1H, 17a-H); 6,56 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,67 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 20,8 (Ac- CH_3); 24,8; 25,9; 26,0; 27,4 (C-18); 29,8; 30,0; 34,7; 38,3; 38,6 (C-13); 38,8; 44,1; 44,8; 54,8 (3- OCH_3); 79,4 (C-17a); 111,8 (C-2); 112,8 (C-4); 127,0 (C-1); 134,2 (C-10); 136,8 (C-5); 156,0 (NCO); 156,8 (C-3). MS m/z (%): 340 (100); 341 (20 $[\text{M}+\text{H}]^+$).

178a

^1H -NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,91 (s, 3H, 18- H_3); 2,75 (m, 2H, 6- H_2); 3,69 (s, 3H, 3- OCH_3); 3,70 (m, 1H, 16-H); 3,80 (m, 1H, 17a-H); 4,00 (s, 2H, CH_2Cl); 4,44 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, OH); 6,62 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,18 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 8,10 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, NH). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 22,0 (C-18); 25,9; 26,1; 27,8; 29,5; 34,8; 36,6; 36,9; 37,2; 42,6; 42,7 (CH_2Cl); 43,4; 47,2; 54,8 (3- OCH_3); 64,9 (C-17a); 111,5 (C-2); 112,9 (C-4); 126,1 (C-1); 132,4 (C-10); 137,3 (C-5); 156,9 (C-3); 164,7 (NCO). MS m/z (%): 374 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$); 59 (23); 376 (33).

178b

^1H -NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1,23 (s, 3H, 18- H_3); 2,72 (m, 2H, 6- H_2); 3,50 (s, 1H, 16-H); 3,68 (s, 3H, 3- OCH_3); 3,92 (s, 1H, 17a-H); 4,02 és 4,14 (2xd, 2x1H, $J = 11,8$ Hz, CH_2Cl); 6,56 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H). ^{13}C -NMR δ [ppm] = 24,5; 25,8; 25,9; 26,9 (C-18); 29,8; 30,0; 34,7; 38,0; 38,3; 38,8; 43,7 (CH_2Cl); 44,0; 45,3; 54,7 (3- OCH_3); 80,2 (C-17a); 111,8 (C-2); 112,8

(C-4); 126,9 (C-1); 134,2 (C-10); 136,7 (C-5); 154,9 (NCO); 156,7 (C-3). MS m/z (%): 374 (100, [M+H]⁺); 376 (33).

178c

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,88 (s, 3H, 18-H₃); 2,67 (m, 2H, 6-H₂); 3,69 (s, 3H, 3-OCH₃); 3,92 (m, 1H, 16-H); 3,93 (d, 1H, J = 11,8 Hz) és 4,02 (d, 1H, J = 11,8 Hz): CH₂Cl; 4,07 (m, 1H, 17a-H); 4,31 (d, 1H, J = 5,0 Hz, OH); 6,59 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 8,15 (d, 1H, J = 7,5 Hz, NH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 21,5 (C-18); 23,6; 26,2; 26,4; 29,6; 33,8; 35,3; 37,5; 38,5; 42,5 (CH₂Cl); 43,4; 46,1; 47,3; 54,8 (3-OCH₃); 62,4 (C-17a); 111,6 (C-2); 112,7 (C-4); 126,4 (C-1); 132,2 (C-10); 137,5 (C-5); 156,9 (C-3); 164,9 (NCO). MS m/z (%): 374 (100, [M+H]⁺); 337 (20); 376 (33).

179a

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,95 (s, 3H, 18-H₃); 2,77 (m, 2H, 6-H₂); 3,70 (s, 3H, 3-OCH₃); 3,85 (m, 1H, 17a-H); 3,99 (m, 1H, 16-H); 4,45 (d, 1H, J = 5,0 Hz, OH); 6,63 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,19 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,45 (t, 2H, J = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,50 (t, 1H, J = 7,1 Hz, 4'-H); 7,85 (d, 2H, J = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H); 8,23 (d, 1H, J = 7,5 Hz, NH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 22,1 (C-18); 26,0; 26,2; 27,9; 29,6; 34,8; 36,7; 37,0; 37,3; 42,7; 43,1; 47,4; 54,8 (3-OCH₃); 65,1 (C-17a); 111,5 (C-2); 112,9 (C-4); 126,2 (C-1); 127,1 (2C: C-2' és C-6'); 128,1 (2C: C-3' és C-5'); 130,9 (C-4'); 132,5 (C-10); 134,7 (C-1'); 137,4 (C-5); 157,0 (C-3); 165,2 (NCO). MS m/z (%): 402 (67, [M+H]⁺); 420 (100); 442 (43).

179b

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1,26 (s, 3H, 18-H₃); 2,70 (m, 2H, 6-H₂); 3,68 (átfedő multiplettek, 4H, 3-OCH₃ és 16-H); 4,06 (m, 1H, 17a-H); 6,55 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,68 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,07 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,41 (t, 2H, J = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,44 (t, 1H, J = 7,1 Hz, 4'-H); 7,88 (d, 2H, J = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 25,0; 25,9; 26,0; 27,3 (C-18); 29,6; 30,0; 34,6; 38,5; 39,0 (2C); 44,0; 45,4; 54,7 (3-OCH₃); 80,0 (C-17a); 111,8 (C-2); 112,8 (C-4); 126,5 (2C: C-2' és C-6'); 127,0 (C-1); 128,1 (2C: C-3' és C-5'); 130,2 (C-4'); 133,4 és 134,1 (C-10 és C-1'); 136,7 (C-5); 153,9 (NCO); 156,7 (C-3). MS m/z (%): 402 (100, [M+H]⁺); 403 (30).

180a

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,90 (s, 3H, 18-H₃); 1,76 (s, 3H, Ac-CH₃); 2,72 (m, 2H, 6-H₂); 3,69 (m, 1H, 16-H); 3,78 (m, 1H, 17a-H); 4,40 (d, 1H, J = 5,0 Hz, OH); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,71 (d, 1H, J = 2,2 Hz, 4-H); 6,75 (dd, 1H, J = 8,6 Hz, J = 2,2 Hz, 2-H); 7,18 (d, 1H, J = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, J = 7,1 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, J = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42 (d, 2H, J = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H); 7,71 (d, 1H, J = 7,5 Hz, NH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 22,0 (C-18); 22,7 (Ac-CH₃); 25,9; 26,1; 28,2; 29,5; 34,8; 36,9; 37,1; 37,2; 42,3 (C-16); 42,7;

47,2; 64,9 (C-17a); 68,9 (OCH₂); 112,3 (C-2); 114,0 (C-4); 126,2 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,6 (C-4'); 128,3 (2C: C-3' és C-5'); 132,7 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,4 (C-5); 156,0 (C-3); 167,9 (NCO). MS m/z (%): 416 (100, [M+H]⁺); 434 (23); 456 (77).

180b

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1,25 (s, 3H, 18-H₃); 1,98 (s, 3H, Ac-CH₃); 2,80 (m, 2H, 6-H₂); 3,55 (s, 1H, 16-H); 3,81 (s, 1H, 17a-H); 5,02 (s, 2H, OCH₂); 6,67 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, 4-H); 6,78 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,2 Hz, 2-H); 7,09 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, 4'-H); 7,37 (t, 2H, *J* = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,39 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 21,1 (Ac-CH₃); 25,1; 26,1; 26,8; 27,6 (18-CH₃); 30,3; 30,6; 35,3; 38,9; 39,0; 39,1 (C-13); 44,6; 45,5 (C-16); 69,9 (OCH₂); 81,1 (C-17a); 112,7 (C-2); 114,3 (C-4); 127,1 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,8 (C-4'); 128,5 (2C: C-3' és C-5'); 134,8 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,4 (C-5); 156,6 (C-3); 159,3 (NCO). MS m/z (%): 416 (100, [M+H]⁺); 417 (30).

181a

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,91 (s, 3H, 18-H₃); 2,74 (m, 2H, 6-H₂); 3,72 (m, 1H, 16-H); 3,81 (m, 1H, 17a-H); 4,00 (s, 2H, CH₂Cl); 4,43 (d, 1H, *J* = 5,0 Hz, OH); 5,04 (s, 2H, OCH₂); 6,71 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, 4-H); 6,76 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,2 Hz, 2-H); 7,18 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,31 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, *J* = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H); 8,10 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz, NH). ¹³C-NMR δ [ppm] = 22,0 (C-18); 25,8; 26,1; 27,8; 29,5; 34,7; 36,6; 36,9; 37,1; 42,6; 42,7 (CH₂Cl); 43,0; 47,1; 64,9 (C-17a); 68,9 (OCH₂); 112,3 (C-2); 113,9 (C-4); 126,2 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,6 (C-4'); 128,3 (2C: C-3' és C-5'); 132,6 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,4 (C-5); 156,0 (C-3); 164,7 (NCO). MS m/z (%): 450 (100); 452 (37); 490 (20).

181b

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1,23 (s, 3H, 18-H₃); 2,71 (m, 2H, 6-H₂); 3,50 (s, 1H, 16-H); 3,91 (s, 1H, 17a-H); 4,01 és 4,15 (2xd, 2x1H, *J* = 11,8 Hz, CH₂Cl); 5,03 (s, 2H, OCH₂); 6,66 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, 4-H); 6,75 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,2 Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, 1-H); 7,31 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, 4'-H); 7,37 (t, 2H, *J* = 7,1 Hz, 3'-H és 5'-H); 7,41 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, 2'-H és 6'-H). ¹³C-NMR δ [ppm] = 24,5; 25,7; 25,9; 26,9 (C-18); 29,8; 30,0; 34,7; 38,0; 38,3; 38,8; 43,7 (CH₂Cl); 44,0; 45,3; 68,9 (OCH₂); 80,2 (C-17a); 112,5 (C-2); 113,9 (C-4); 126,9 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,5 (C-4'); 128,2 (2C: C-3' és C-5'); 134,5 (C-10); 136,8 és 137,3 (C-5); 137,3 (C-1'); 154,9 (C-3); 155,8 (NCO). MS m/z (%): 450 (100); 452 (37).

181c

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ [ppm] = 0,80 (s, 3H, 18-H₃); 2,68 és 2,88 (2xm, 2x1H, 6-H₂); 3,49 és 3,58 (2xd, 2x1H, *J* = 11,8 Hz, CH₂Cl); 3,73 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, 17a-H); 4,1 (s, 1H, 16-H); 4,77 (s, 2H, OCH₂); 6,30 (d, 1H, *J* = 4,7 Hz, NH); 6,77 (d, 1H, *J* = 2,2 Hz, 4-H); 6,81 (dd, 1H, *J* = 8,6 Hz, *J* = 2,2 Hz, 2-H); 7,06–7,30 (átfedő multiplettek, 6H, 1-H, 2'-H, 3'-H, 4'-H,

5'-H, 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm] = 21,4 (C-18); 24,3; 26,9; 27,4; 30,4; 34,8; 35,6; 38,1 (C-13); 40,9; 42,8; 44,3; 47,1 (C-16); 47,9; 64,3 (C-17a); 70,0 (OCH_2); 113,3 (C-2); 114,8 (C-4); 127,0 (C-1); 127,6 (2C: C-2' és C-6'); 128,3 (C-4'); 128,7 (2C: C-3' és C-5'); 132,8 (C-10); 137,7 (C-5); 138,0 (C-1'); 157,5 (C-3); 164,2 (NCO). MS m/z (%): 450 (100); 357 (43); 490 (40).

182a

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 0,95 (s, 3H, 18- H_3); 2,77 (m, 2H, 6- H_2); 3,85 (m, 1H, 17a-H); 3,98 (m, 1H, 16-H); 4,43 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, OH); 5,05 (s, 2H, OCH_2); 6,73 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,77 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,20 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,32 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, 4'-H); 7,38 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42–7,47 (átfedő multiplettek, 4H, 2'-H és 6'-H, 3''-H és 5''-H); 7,51 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, 4''-H); 7,85 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, 2''-H és 6''-H); 8,22 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm] = 22,1 (C-18); 25,9; 26,2; 27,9; 29,6; 34,8; 36,7; 37,0; 37,2; 42,7; 43,0; 47,3; 65,1 (C-17a); 68,9 (OCH_2); 112,3 (C-2); 114,0 (C-4); 126,1 (C-1); 127,1 (2C: C-2'' és C-6''); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,6 (C-4'); 128,0 (2C: C-3'' és C-5''); 128,3 (2C: C-3' és C-5'); 130,9 (C-4''); 132,7 (C-10); 134,6 (C-1''); 137,3 és 137,4 (C-5 és C-1'); 156,0 (C-3); 165,1 (NCO). MS m/z (%): 478 (23, $[\text{M}+\text{H}]^+$); 496 (100); 518 (47).

182b

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): δ [ppm] = 1,25 (s, 3H, 18- H_3); 2,69 (m, 2H, 6- H_2); 3,68 (s, 1H, 16-H); 4,04 (s, 1H, 17a-H); 5,01 (s, 2H, OCH_2); 6,64 (s, 1H, 4-H); 6,75 (dd, 1H, $J = 8,4$ Hz, $J = 1,6$ Hz, 2-H); 7,06 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,30 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, 4'-H); 7,35–7,47 (átfedő multiplettek, 7H, 2''-H, 3'-H, 3''-H, 4''-H, 5'-H, 5''-H, 6''-H); 7,88 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, 2'-H és 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm] = 25,0; 25,9; 26,0; 27,3 (C-18); 29,6; 30,0; 34,7; 38,5 (C-13); 38,9; 39,0; 43,9 (C-16); 45,4; 68,9 (OCH_2); 80,0 (C-17a); 112,6 (C-2); 113,9 (C-4); 126,5 (2C: C-2' és C-6'); 127,0 (C-1); 127,4 (2C: C-2'' és C-6''); 127,5 (C-4''); 128,0 (2C: C-3' és C-5'); 128,2 (2C: C-3'' és C-5''); 130,2 (C-4'); 133,4 (C-1'); 134,4 (C-10); 136,8 (C-5); 137,3 (C-1''); 153,9 (C-3); 155,8 (NCO). MS m/z (%): 478 (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$); 479 (30).

184

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1,07 (s, 3H, 18- H_3); 1,94 és 2,03 (2xs, 2x3H, 2xAc- CH_3); 2,87 (m, 2H, 6- H_2); 4,00 (m, 1H, 16-H); 5,03 (s, 2H, OCH_2); 5,31 (dd, 1H, $J = 11,5$ Hz, $J = 4,4$ Hz, 17a-H); 5,36 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, NH); 6,71 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, 4-H); 6,75 (dd, 1H, $J = 8,6$ Hz, $J = 2,2$ Hz, 2-H); 7,16 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, 1-H); 7,30 (t, 1H, $J = 7,1$ Hz, 4'-H); 7,35 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, 3'-H és 5'-H); 7,42 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, 2'-H és 6'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ δ [ppm] = 21,0; 22,8; 23,4; 26,1; 26,6; 28,6; 29,7; 30,0; 33,9; 35,4; 36,5 (C-13); 37,5; 43,1; 43,2; 47,9; 69,5 (C-17a); 69,9 (OCH_2); 112,5 (C-2); 114,3 (C-4); 126,4 (C-1); 127,4 (2C: C-2' és C-6'); 127,7 (C-4'); 128,5 (2C: C-3' és C-5'); 132,6 (C-10); 137,3 (C-1'); 137,9 (C-5); 156,7 (C-3); 169,1 (NCO); 170,2 (AcCO).