

*Ph.D. értekezés tézisei*

# **Szteránvázis azidok előállítása és réz(I)-katalizált dipoláris cikloaddíciói**

**Kádár Zalán**

Témavezetők:

Dr. habil. Frank Éva

Prof. Dr. Wölfling János



Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem

Szerves Kémiai Tanszék

Szeged

**2012**

## 1. Bevezetés és célkitűzések

Napjainkban a szteránvázas vegyületekkel folytatott kutatások egyik fő irányvonala olyan felszintetikus szteroidok előállítása, amelyek biológiai támadáspontja eltérő a hormonhatásért felelős receptoroktól. A természetes származékok kémiai módosításával alkalmunk nyílik a „klasszikustól” eltérő, más irányú farmakológiai hatás előtérbe helyezésére. Átalakításaink irányulhatnak olyan származékok szintézisére, amelyek már nem tartalmazzák a hormonreceptor kötődéshez szükséges molekularészt, vagy ezen funkciós csoportjaik módosítások révén „maszkírozva” lettek, ily módon megakadályozva a receptor-ligandum kölcsönhatást. Lehetőségünk van továbbá a gyűrűtagszám megváltoztatására, valamint különböző heteroatomo(ka)t tartalmazó gyűrűk beépítésével olyan molekulák előállítására is, amelyeket a sajátos szerkezetük és a természetes ligandumtól nagymértékben eltérő téralkatuk miatt a receptor-fehérje esetlegesen nem ismer fel. Az elmúlt évek kutatásai azt is bizonyították, hogy számos szteránvázas heterociklus hatással van a komplex sejt-jelátviteli mechanizmusokra és ezáltal befolyásolni képes a rákos sejtek proliferációját anélkül, hogy beleszólna az egészséges sejtosztódásba.

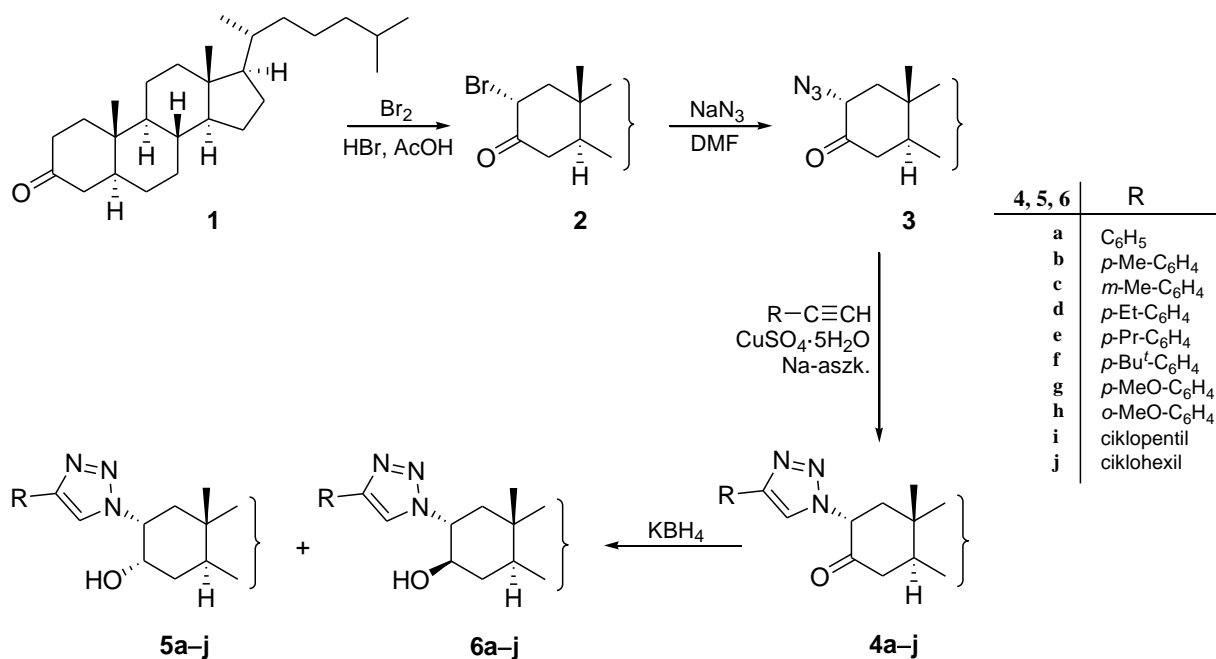
A szintetikus és farmakológiai előzmények alapján célul tűztük ki új, várhatóan biológiailag aktív, triazol-gyűrűt tartalmazó *exo*-heterociklusos szteroidok előállítását. Tervezett módosításainkat a szteránváz A-, valamint D-gyűrűjén kívántuk megvalósítani, öt különböző pozíciójú szénatomot választva erre a célra (C-1, C-2, C-15, C-16, C-17). További céljaink között szerepelt a cikloaddíciós átalakulások körülményeinek optimalizálása, valamint annak tanulmányozása, hogy a felhasznált alkin reagensek, valamint a szteránváz szubsztituensei befolyásolják-e az intermolekuláris gyűrűzárást. Minden esetben bizonyítani kívántuk az előállított vegyületek szerkezetét a rendelkezésünkre álló nagyműszeres módszerek alkalmazásával, valamint terveztük az izolált triazolil származékok farmakológiai vizsgálatra bocsátását is.

## 2. Alkalmazott vizsgálati módszerek

A preparatív munka során a reakciók kivitelezését millimólos mennyiségben végeztük, lejátszódásukat vékonyréteg-kromatográfiával követtük. Az előállított vegyületek elválasztása és tisztítása oszlop-kromatográfiás módszerrel történt. A reakciótermékek szerkezetének meghatározásához tömegspektrometriát (EI- ill. ESI-MS), <sup>1</sup>H-NMR és <sup>13</sup>C-NMR méréseket, valamint néhány esetben IR spektroszkópiát is alkalmaztunk.

### 3. Új tudományos eredmények\*

3.1. A 2 $\alpha$ -azido-5 $\alpha$ -kolesztán-3-onból (**3**) kiindulva különböző terminális acetilénekkel gyűrűzárási reakciókat hajtottunk végre. Az *in situ* előállított Cu(I)-katalizátor jelenlétében lejátszódó régioszelektív átalakításokban kizárólag az 1,4-diszubsztituált triazolgyűrűt tartalmazó származékok keletkeztek (**4a–j**). Az irodalomban gyakorta használt oldószerektől (H<sub>2</sub>O/*t*-BuOH, THF, MeCN) eltérően egy szokatlan, kétfázisú (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O) oldószerkeletet alkalmaztunk. A kiváló hozammal izolált 2 $\alpha$ -triazolil vegyületeket (**4a–j**) redukáltuk, majd a keletkezett diasztereomer alkoholokat (**5a–j**, illetve **6a–j**) egymástól sikeresen elválasztottuk (1. ábra).



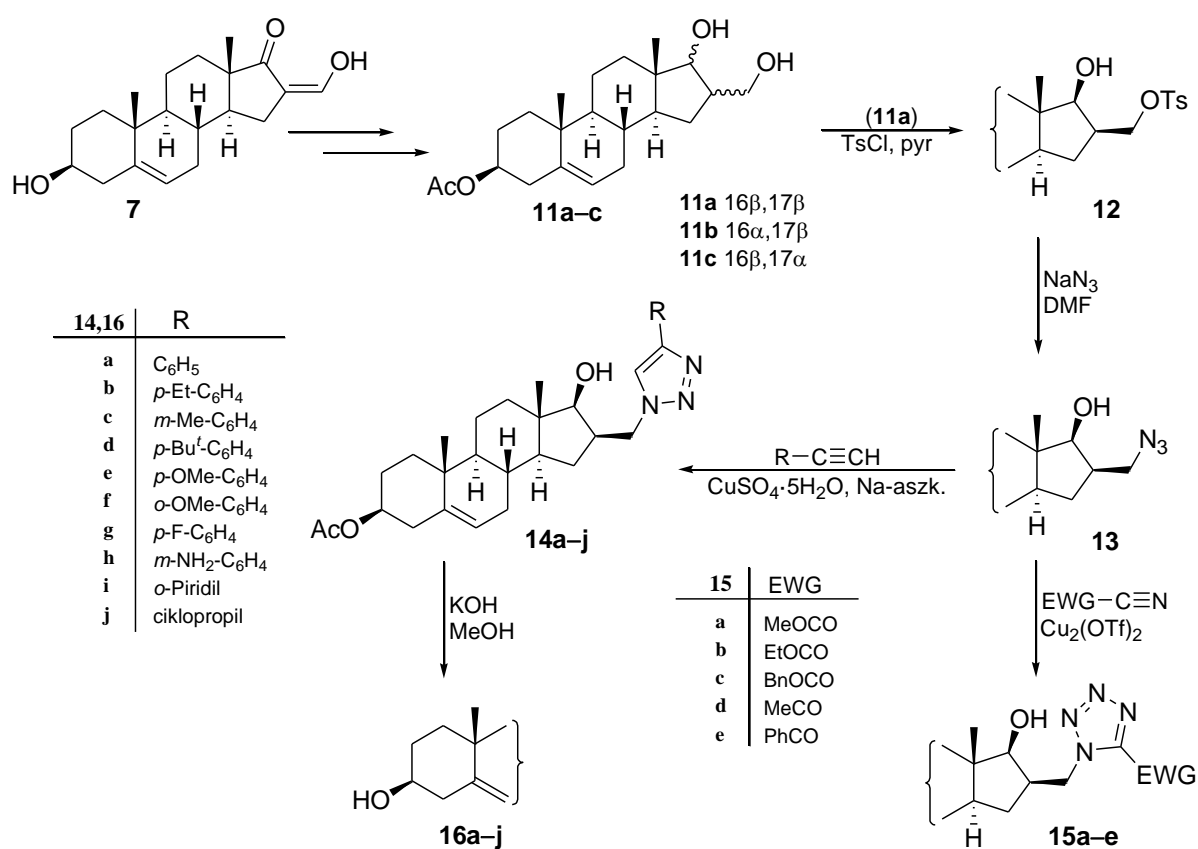
1. ábra

3.2. A kutatócsoport által már korábban szintetizált 3 $\beta$ -hidroxi-16-hidroximetilidénandroszt-5-én-17-onból (**7**) lineáris szintézisúton jutottunk három diasztereomer vegyülethez (**11a–c**), melyek közül a 16 $\beta$ ,17 $\beta$  (**11a**) izomert szubsztitúciós lépésekben továbbalakítottuk. Az így kapott szteroid azid (**13**) szolgált az 1,3-dipoláris cikloaddíciók kiindulási anyagaként. Azt találtuk, hogy az elvégzett "click" reakciók igen magas hozammal szolgáltatták a kívánt 16 $\beta$ -triazolilmetil-androszténeket (**14a–j**), függetlenül a felhasznált acetilén szubsztituensének jellegétől. Tapasztalataink szerint, az acetoxicsoprotot tartalmazó szteránvázas vegyületek

\* A vegyületszámozás megegyezik a disszertációban alkalmazottal

általában kisebb biológiai aktivitást mutatnak, mint hidroxil funkcióval rendelkező analógjaik, a kapott triazolil származékok (**14a–j**) acetil védőcsoportját ezért bázikus közegben eltávolítottuk (**16a–j**) (2. ábra).

3.3. Sikeresen megvalósítottuk néhány, 1,5-diszubsztituált tetrazol-gyűrűt tartalmazó vegyület (**15a–e**) enyhe körülmények közötti szintézisét is. Megállapítottuk, hogy csak erősen elektronvonzó szubsztituens (EWG) tartalmazó nitrilek (pl. alkil-cianoformát, acil-cianid), valamint  $\text{Cu}_2(\text{OTf})_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_6$  katalizátor alkalmazásával érhetünk el megfelelő konverziót (2. ábra).

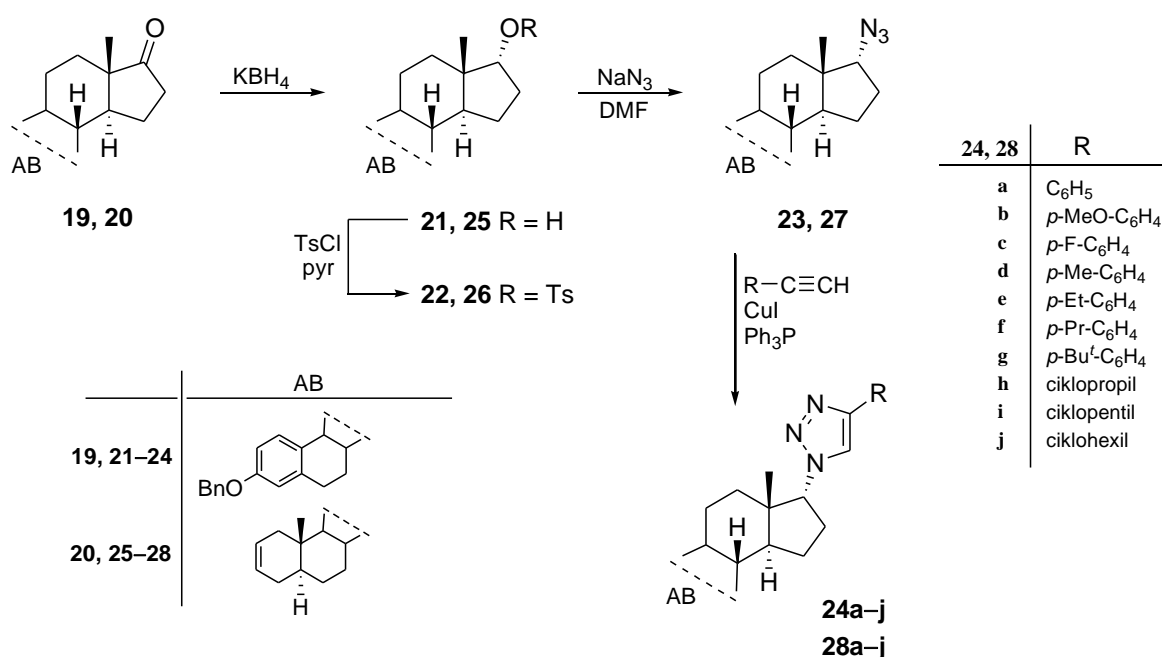


2. ábra

3.4. A szteránváz D-gyűrűjének C-17-es helyzetében építettünk ki azido funkciót egy ösztrán-, és egy  $5\alpha$ -androsztánváz keton átalakításával. A rendelkezésünkre álló ösztron-3-benzilétert (**19**), illetve  $5\alpha$ -androszt-2-én-17-ont (**20**) első lépésben  $\text{KBH}_4$  segítségével redukáltuk, majd a megfelelő 17 $\beta$ -hidroxil származékokat (**21**, **25**) piridines közegben TsCl-dal reagáltattuk. A kapott 17 $\beta$ -tozilátok (**22**, **26**)  $\text{NaN}_3$ -dal végzett cserereakciója a megfelelő 17 $\alpha$ -azidokat (**23**, **27**) eredményezte (3. ábra).

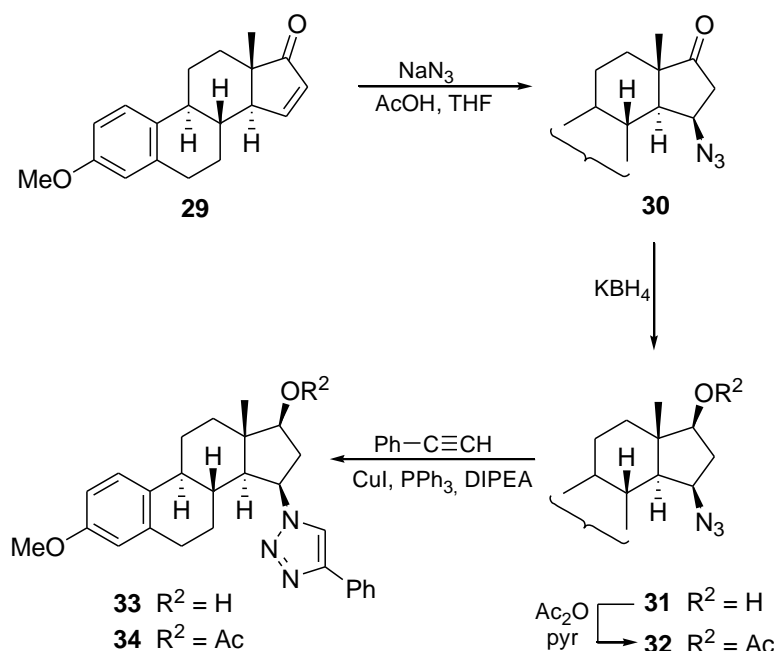
3.5. Az így kapott 3-benziloxi-ösztra-1,3,5(10)-trién-17 $\alpha$ -azidot (**23**) és az 5 $\alpha$ -androszt-2-én-17 $\alpha$ -azidot (**27**) a következő cikloaddíciós lépésben tíz különböző terminális acetilénnel reagáltattuk katalitikus mennyiségű CuI jelenlétében (3. ábra).

3.6. Megállapítottuk, hogy a katalizátor oldhatóságának növelése és aktivitásának fokozása érdekében célszerű komplexáló ligandumot (Ph<sub>3</sub>P) alkalmazni. Azt tapasztaltuk továbbá, hogy az átalakítások során nincs szükség bázis adalékra, viszont a megfelelő konverziók elérése érdekében nem szobahőmérsékleten, hanem az oldószer forráspontján, 40 °C-on végeztük a reakciókat (3. ábra).



3. ábra

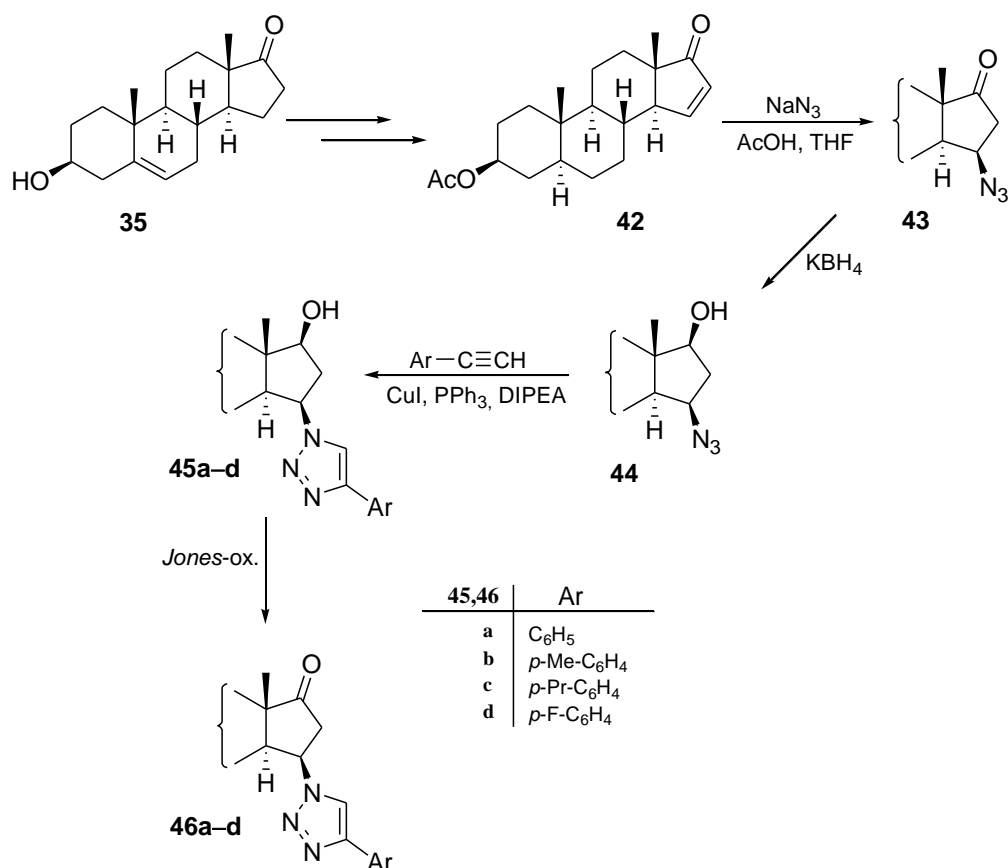
3.7. A 3-metoxi-ösztra-1,3,5(10),15-tetraén-17-onból (**29**) kiindulva a D-gyűrű ritkán módosított C-15-ös helyzetében alakítottunk ki azidocsoportot *in situ* képzett azoimid 1,4-Michael addíciójának segítségével. A kapott azidoketon (**30**) eliminációs reakcióban könnyen visszaalakulhat a konjugáció révén stabilizált kiindulási telítetlen ketonná (**29**), ezért redukciónak vetettük alá, kizárva ezen mellékreakció lehetőségét. Az így előállított *cisz*-azidoalkohol (**31**) fenilacetilénnel lejátszódó cikloaddíciós reakciója során optimalizáltuk a reakciókörülményeket. Megállapítottuk, hogy a legjobb hozamok eléréséhez CuI katalizátor mellett ligandumként Ph<sub>3</sub>P, bázisként pedig DIPEA alkalmazása szükséges (4. ábra).



4. ábra

3.8. 1,4-*Michael* addícióval sztereoselektíven alakítottunk át a dehidroepiandrosteronból (DEA) irodalmi leirat alapján előállított androsztánvázás  $\alpha,\beta$ -telítetlen ketont (**42**). A kapott  $3\beta$ -acetoxi- $15\beta$ -azido- $5\alpha$ -androsztán-17-on (**43**) oxo funkcióját ebben az esetben is redukáltuk elkerülve ezzel esetleges visszaalakulását a telítetlen ketonná (**42**). Az így nyert *cis*-azidoalkoholt (**44**) a korábban optimalizált reakciókörülmények alkalmazásával aromás acetilén származékokkal vittük gyűrűzárási reakciókba (5. ábra).

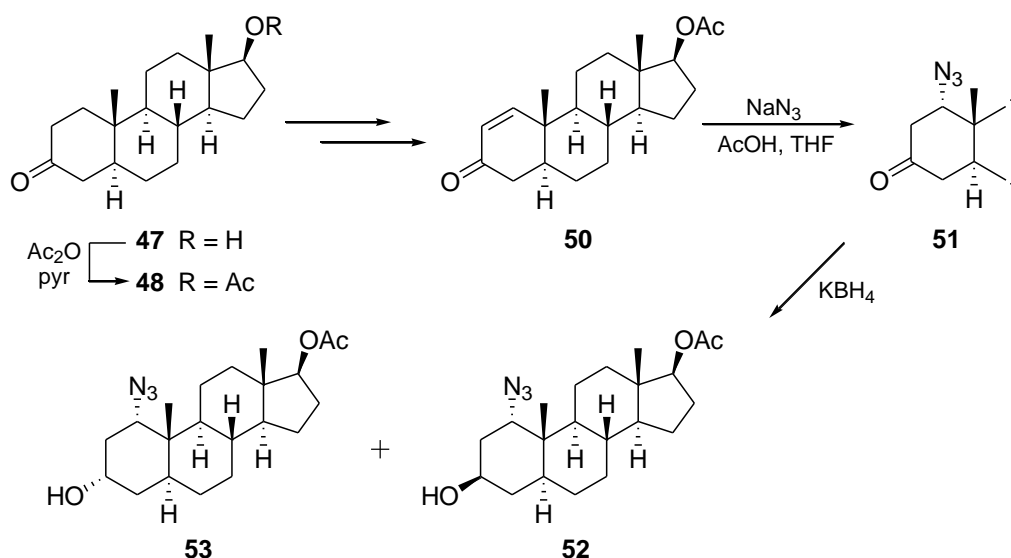
3.9. Azt tapasztaltuk, hogy a termékhozamok elmaradnak a CuAAC-nál megszokott kiváló értékektől. Feltételezésünk szerint a 15-ös azidocsoporttal azonos (*cis*) térállású hidroxil funkció kedvezőtlenül befolyásolhatja az intermolekuláris gyűrűzárást. Az izolált  $15\beta$ -triazolil származékokat (**45a–d**) *Jones* oxidációnak is alávetettük, így közvetett módon a 17-keto analógokhoz (**46a–d**) jutottunk (5. ábra).



5. ábra

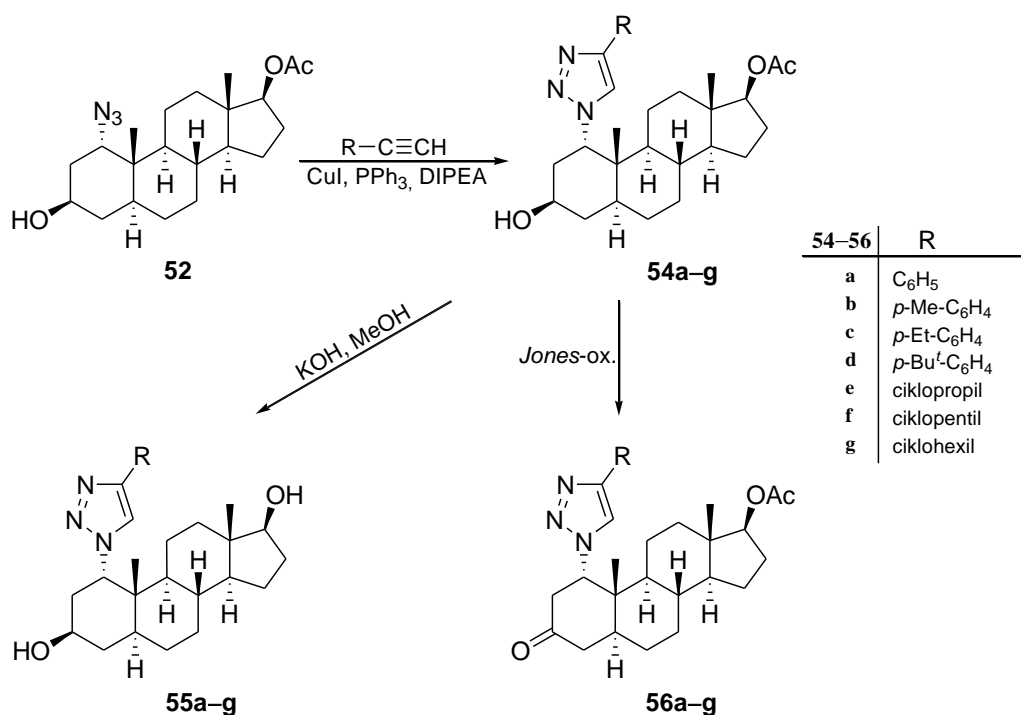
3.10. A következőkben 5 $\alpha$ -dihidrotesztoszteronból (47), illetve annak acetátjából (48) kiindulva az irodalomból ismert lépésekben 17 $\beta$ -acetoxi-5 $\alpha$ -androszt-1-én-3-ont (50) állítottuk elő, majd ezen  $\alpha,\beta$ -telítetlen ketont (50) azoimid 1,4-*Michael* addíciójának felhasználásával alakítottuk át a megfelelő 1 $\alpha$ -azido származékká (51). Megállapítottuk, hogy az azidocsoport beépülése a szomszédos (C-10) szénatomon található anguláris metilcsoport nagy térkitöltése folytán ellentétes térfélről következik be. Az eliminációra érzékeny  $\beta$ -szubsztituált ketont (51) redukciónak vetettük alá, majd a képződött epimer azidoalkoholokat (52 és 53) oszlopkromatográfia segítségével szétválasztottuk (6. ábra).

3.11. Azt tapasztaltuk, hogy a két diasztereomer (52 és 53) fenilacetilénnel végbemenő cikloaddíciója során jelentősen különböző viselkedést mutat. A *transz*-termék (52) cikloaddíciós reakcióit vizsgálva a régioszelektív gyűrűzárások magas, 90% feletti hozammal eredményezték a kívánt 1 $\alpha$ -triazolil vegyületeket (54a-g), függetlenül a terminális acetilén jellegétől (7. ábra).



6. ábra

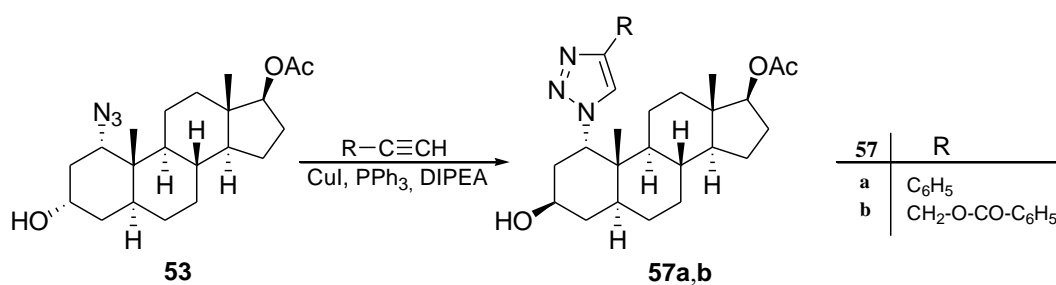
3.12. Az előállított "click" termékek dezacetilezése a megfelelő 3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diolokhoz (**55a–g**), míg Jones oxidációjuk a 3-as helyzetben oxocsoportot tartalmazó származékokhoz (**56a–g**) vezetett. Az oxidációk során melléktermékként az  $\alpha,\beta$ -telítetlen keton (**50**) képződését is tapasztaltuk (7. ábra).



7. ábra



3.13. Ezzel ellentétben, a *cisz*-azidoalkohol (**53**) esetében, a reakcióidő növelése ellenére sem sikerült 61%-nál nagyobb hozamot elérnünk a fenilacetilénnel lejátszódó triazolképzés során (**57a**). Az 1-es azidocsoporttal azonos,  $\alpha$  térállású 3-as helyzetű hidroxilcsoport valószínűleg szterikus befolyásolta az intermolekuláris gyűrűzárást. Feltételezésünket bizonyítja, hogy egy olyan reakciópartnert alkalmazva (pl: benzoészav-propargilészter), ahol a nagy térkitöltésű aromás gyűrű távolabb található a szén-szén hármas kötéstől, jelentősen magasabb konverziót tapasztaltunk (**57b**). A kísérleti tapasztalatok alapján arra következtethetünk, hogy az acetilén komponens C-2 atomjához kapcsolódó csoport milyensége döntő szerepet játszik abban az esetben, ha a CuAAC-t a *cisz*-azidoalkoholból (**53**) kívánjuk megvalósítani (8. ábra).



8. ábra

3.14. Munkám során az irodalomban eddig nem ismert, új típusú, *exo*-heterociklusos szteroidokat állítottunk elő, melyek szerkezetét modern spektroszkópai módszerekkel (MS, <sup>1</sup>H- és <sup>13</sup>C-NMR, néhány esetben IR) igazoltuk, valamint a származékokat *in vitro* biológiai vizsgálatokra továbbítottuk az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetébe.

3.15. A különböző humán ráksejt vonalakon (HeLa, MCF7, A2780, A431) elvégzett *in vitro* antiproliferatív vizsgálatok során több vegyület is hatásosnak bizonyult, elsősorban a C-1 és a C-15 szubsztituált származékok közül (**45a–c**, **46a–d** és **56a–g**).

#### 4. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kádár Z**, Frank É, Schneider Gy, Molnár J, Zupkó I, Kóti J, Schönecker B, Wölfling J  
Efficient synthesis of novel A-ring-substituted 1,2,3-triazolylcholestane derivatives via catalytic azide-alkyne cycloaddition  
*Arkivoc* **2012**, (iii), 279–296.  
Impakt faktor (2011): **1,252**
2. **Kádár Z**, Kovács D, Frank É, Schneider Gy, Huber J, Zupkó I, Bartók T, Wölfling J  
Synthesis and *in vitro* antiproliferative activity of novel androst-5-ene triazolyl and tetrazolyl derivatives  
*Molecules* **2011**, 16, 4786–4806.  
Impakt faktor: **2,386**
3. Frank É, Molnár J, Zupkó I, **Kádár Z**, Wölfling J  
Synthesis of novel steroidal 17 $\alpha$ -triazolyl derivatives via Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, and an evaluation of their cytotoxic activity *in vitro*  
*Steroids* **2011**, 76, 1141–1148.  
Impakt faktor: **2,829**
4. **Kádár Z**, Molnár J, Schneider Gy, Zupkó I, Frank É  
A facile "click" approach to novel 15 $\beta$ -triazolyl-5 $\alpha$ -androstane derivatives, and an evaluation of their antiproliferative activities *in vitro*  
*Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 1396–1402.  
Impakt faktor (2011): **2,921**
5. **Kádár Z**, Baji Á, Zupkó I, Bartók T, Wölfling J, Frank É  
Efficient approach to novel 1 $\alpha$ -triazolyl-5 $\alpha$ -androstane derivatives as potent antiproliferative agents  
*Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 8051–8057.  
Impakt faktor: **3,696**

---

**Összesített impakt faktor: 13,084**

## 5. Az értekezéshez kapcsolódó előadások és poszterek

### Előadás:

1. **Kádár Z.**

Triazolgyűrűt tartalmazó kolesztánvázis vegyületek előállítására 1,3-dipoláris cikloaddícióval

*A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 10. tudományos előadóülése*, Szeged, 2010. május 5.

2. Kovács D, Wölfling J, **Kádár Z**

16 $\beta$ -Triazolilmetil-androsztének szintézise 1,3-dipoláris cikloaddícióval

*XXXIII. Kémiai Előadói Napok*, Szeged, 2010. október 25–27.

### Poszter:

3. Frank É, **Kádár Z**, Wölfling J, Schneider Gy, Zupkó I

Synthesis of novel 1 $\alpha$ -triazolyl derivatives in the 5 $\alpha$ -androstane series and an evaluation of their antiproliferative activity *in vitro*

*14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress*, 5–8. September 2011, Bangkok, Thailand (Pg. 486)

4. Frank É, Kovács D, Wölfling J, **Kádár Z**

Regioselective approach to novel steroidal triazoles and tetrazoles by 1,3-dipolar cycloaddition

*17<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry*, 10–15. July 2011, Crete (P–1.036)

5. **Kádár Z**, Kovács D, Schneider Gy, Frank É, Wölfling J

Efficient synthesis of novel steroid triazole and tetrazole derivatives using click chemistry approach

*German-Austrian-French-Hungarian-Italian Conference in Organic and Biomolecular Chemistry*, 26–29. May 2011, Goslar, Germany (Pg. 52)

6. **Kádár Z**, Fodor K, Juracsek B, Schneider Gy, Molnár J, Zupkó I, Wölfling J  
Kolesztánvázás  $\alpha$ -azidoketon előállítás és 1,3-dipoláris cikloaddíciói terminális acetilénekkel  
*Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*  
Hajdúszoboszló, 2010. Program és előadásösszefoglalók 117. o.
  
7. **Kádár Z**, Kovács D, Schneider Gy, Wölfling J  
Diszubsztituált triazol és tetrazol gyűrűk kiépítése androszténvázás szteroid azidon  
*MKE 1. Nemzeti Konferencia*, Sopron, 2011. május 22–25. (P–12)
  
8. **Kádár Z**, Kovács D, Schneider Gy, Zupkó I, Frank É  
Synthesis of novel  $15\beta$ -triazolyl- $5\alpha$ -androstane derivatives as potent antiproliferative agents  
*13<sup>th</sup> Tetrahedron Symposium*, 25–29. June 2012, Amsterdam (P–1.41)

## 6. Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények

1. Frank É, Schneider Gy, **Kádár Z**, Wölfling J  
Intramolecular hydro-*N*-alkylation of hydrazones and oxime ethers: synthesis of novel D-secoestrone isoquinuclidines *via* domino 1,5-hydride shift/cyclization  
*Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3544–3553.  
Impakt faktor: **3,096**
2. Montsko G, Váczy A, Maasz G, Mernyák E, Frank É, Bay C, **Kádár Z**, Ohmacht R, Wölfling J, Márk L  
Analysis of nonderivatized steroids by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using C70 fullerene as matrix  
*Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 395, 869–874.  
Impakt faktor: **3,480**
3. Kovács D, **Kádár Z**, Mótyán G, Schneider Gy, Wölfling J, Zupkó I, Frank É  
Synthesis, characterization and biological evaluation of some novel 17-isoxazoles in the estrone series  
*Steroids* **2012**, 77, 1075–1085.  
Impakt faktor (2011): **2,829**

---

**Összesített impakt faktor: 9,405**


## 7. Az értekezéshez nem kapcsolódó poszterek

1. **Kádár Z**, Sárközy A, Schneider Gy, Molnár J, Zupkó I, Wölfling J  
A 16 $\alpha$ -azidoösztéron-3-metiléter klikk reakciói terminális acetilénnel  
*Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2010. Hajdúszoboszló  
Program és előadásösszefoglalók 116. o.
2. Mótyán G, **Kádár Z**, Schneider Gy, Frank É, Wölfling J  
Új típusú, triazol gyűrűt tartalmazó dehidroepiandroszteron származékok előállítása 1,3-  
dipoláris cikloaddícióval  
*Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés*, 2010. Hajdúszoboszló  
Program és előadásösszefoglalók 132. o.
3. Zupkó I, Molnár J, Berényi Á, **Kádár Z**, Wölfling J  
Antiproliferative action of novel triazole-containing estranes  
*Frontiers in Medicinal Chemistry, Joint German-Swiss Meeting on Medicinal Chemistry*  
20–23. March 2011, Saarbrücken, Germany (Pg. 78)
4. Kovács D, **Kádár Z**, Schneider Gy, Wölfling J, Zupkó I, Frank É  
Efficient approach to novel isoxazolyl steroids by Cu(I)-catalyzed 1,3-dipolar  
cycloaddition  
*13<sup>th</sup> Tetrahedron Symposium*, 25–29. June 2012, Amsterdam (P–1.42)
5. Zupkó I, Molnár J, Minorics R, Ocsovszki I, **Kádár Z**, Frank É, Wölfling J  
Antiproliferative effect and mechanism of action of novel triazole-containing estranes  
*6<sup>th</sup> European Congress of Pharmacology*, 17–20. July 2012, Granada, Spain (P–425)

## Társszerzői lemondó nyilatkozat

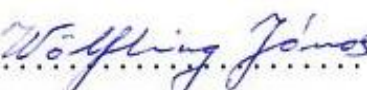
Alulírott nyilatkozom, hogy a Jelölt téziseit ismerem, és az adott publikáción alapuló, adott tézispontban foglalt tudományos eredményeket tudományos fokozat megszerzéséhez nem használtam fel, és tudomásul veszem, hogy azokat ilyen célból a jövőben sem használhatom fel.

Szeged, 2012. december 10.

  
.....

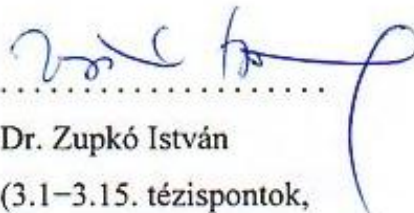
Dr. Frank Éva

(3.1–3.15. tézispontok,  
1–5. közlemény)

  
.....

Prof. Dr. Wölfling János

(3.1–3.6; 3.10–3.15 tézispontok  
1–3. és 5. közlemény)

  
.....

Dr. Zupkó István

(3.1–3.15. tézispontok,  
1–5. közlemény)

  
.....

Prof. Dr. Schneider Gyula

(3.1–3.3; 3.7–3.9. tézispontok,  
1., 2. és 4. közlemény)

  
.....

Dr. Bartók Tibor

(3.2–3.3; 3.10–3.15. tézispontok,  
2. és 5. közlemény)