

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Gyógyszerhatástan, biofarmácia, klinikai gyógyszerészet program

Programvezető: Dr. Zupkó István D.Sc.

Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézet

Kaohsiung Medical University

Graduate Institute of Natural Products

Témavezetők:

Dr. Zupkó István D.Sc.

Prof. Dr. Hui-Chun Wang Ph.D.

Dr. Sinka Izabella

**Módosított ösztradiol analógok antiproliferatív és
antimetasztikus hatása nőgyógyászati tumoros sejtvonalakon**

Szigorlati Bizottság:

Elnök: Dr. Gáspár Róbert Ph.D.

Tagok: Dr. Földesi Imre Ph.D., Dr. Puskás László D.Sc.

Bírálni Bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Hohmann Judit D.Sc.

Opponensek: Prof. Dr. Urbán Edit Ph.D., Dr. Tábi Tamás Ph.D.

Tagok: Dr. Benkő Ria Ph.D., Dr. Szakonyi Gerda Ph.D.

Szeged

2020

1. Bevezetés

A folyamatosan fejlődő terápiás lehetőségek ellenére a tumoros megbetegedések világszinten súlyos egészségügyi problémát jelentenek és a vezető halálokok közé tartoznak. A Globocan 2018. évi adatbázisa alapján 18,1 millió új esetet valamint 9,6 millió daganatos megbetegedéshez köthető halálozást regisztráltak világszerte 2018-ban. A nők körében az emlőtumor volt a leggyakrabban diagnosztizált, és ezzel összhangban vezető a tumorhoz köthető halálozások tekintetében 103 országban. Másik jelentős nőgyógyászati daganatos betegség a méhnyakrák, incidenciát és mortalitást tekintve a negyedik leggyakoribb tumortípus. A tumoros halálozások hozzávetőlegesen 90%-a összefügg a másodlagos daganatok kialakulásával. 30 év klinikai vizsgálati eredményeit felölelő értékelés sem mutatta ki a túlélési arány javulását metasztatikus emlőrákkal diagnosztizált nők esetében.

A tripla negatív emlőtumor (TNE) az ösztrogén és progeszteron, valamint a HER2 receptorok hiányával jellemezhető. Az összes diagnosztizált emlődaganat 15-20%-a tartozik ebbe az altípusba. Az emlőtumoros halálozások 25%-a köthető a TNE-hoz, ami mutatja a betegség súlyosságát. A TNE ellen vizsgált hatóanyagjelöltek ígéretes klinikai eredményei ellenére az altípusra specifikus gyógyszerhatóanyag kutatása sürgős igény. A méhnyakrák kialakulásában szerepet játszó tényezők közül a humán papillomavírus (HPV) a legjelentősebb. A magas kockázati szintű HPV típusok általi fertőzés vezető szerepe mind epidemiológiailag, mind biológiailag bizonyított, a méhnyaktumороk 99,7%-a esetén kimutatható a HPV jelenléte. A legmeghatározóbb HPV 16-os és 18-as altípust a méhnyakdaganatok 70-80%-ában azonosították.

Jóllehet a 17β -ösztradiol sejtproliferáció serkentő hatása jól ismert, számos módosított ösztrogénszármazék tumorellenes hatását bizonyították. A hormonális hatások hiánya alapvető követelmény az ösztrogénszerkezetű tumorellenes hatóanyagjelöltek fejlesztése során. Az ösztrogén aktivitás elvesztése elérhető a gyűrűrendszer 2. vagy 3. szénatomjának szubsztituálásával, illetve a 13. szénatom konfigurációjának inverziójával. Korábbi tanulmányokban megfigyelték, hogy benzilcsoport ráépítése az ösztronváz 3. szénatomjára, valamint triazolilcsoport beépítése a szteroid szerkezetbe növelheti a vegyület antiproliferatív potenciálját. Radioligand kötési technika alkalmazásával kimutatták, hogy a 16-hidroximetil-3,17-ösztradiol lehetséges izomerjei nem kapcsolódnak az ösztrogén receptorhoz.

A jelen tézisben tárgyalt 16-triazolil-13 α -ösztradiol származékok és prekursoraik, a 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztradiolok, valamint a 16-hidroximetil-3-metoxi- és 16-hidroximetil-3-benziloxi-13 α -ösztradiol analógok négy lehetséges izomerjének szintézise a

hormonális hatás elvesztéséhez, illetve az antiproliferatív hatás növeléséhez vezető szerkezeti módosítások alapján történt.

2. Célok

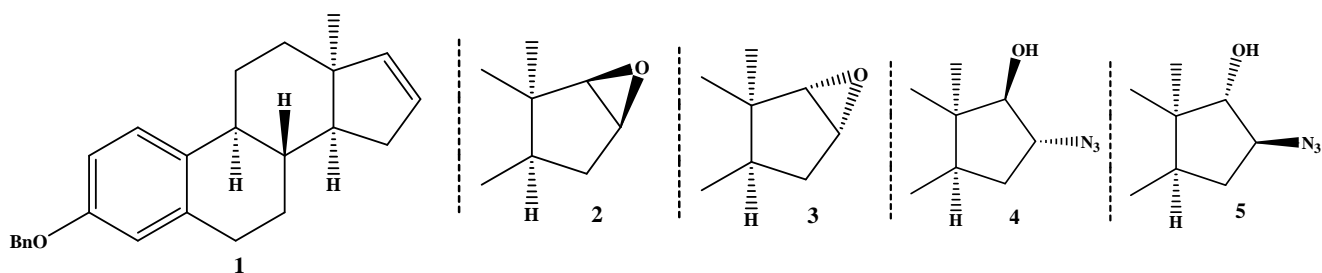
A jelen tanulmány célja újonnan szintetizált módosított ösztadiol származékok tumorelles hatásának meghatározása volt humán nőgyógyászati tumoros sejtvonalakon *in vitro*:

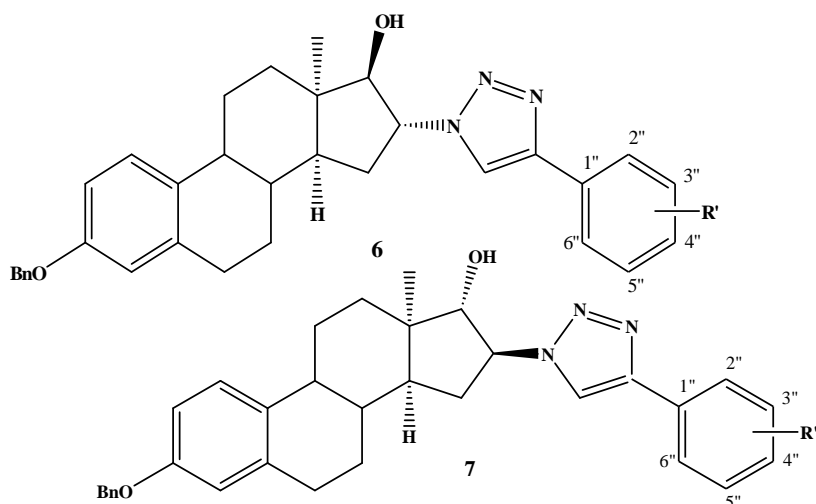
- ❖ Az ösztadiol származékok szűrése antiproliferatív hatásuk szempontjából, illetve a legpotensebbek tumorszelektivitásának vizsgálata MTT teszt segítségével.
- ❖ A legpotensebb vegyületek proapoptotikus hatásának meghatározása sejtciklus analízis, Hoechst 33258 - propidium jodid kettős festéssel végzett morfológiai vizsgálat, valamint a meghatározó kaszpáz enzimek aktivitásának mérése alapján.
- ❖ A kiválasztott származékok metasztázis-gátló tulajdonságának vizsgálata tripla negatív tumoros sejtvonalon sejtmigrációra és sejtinvázióra gyakorolt hatásuk alapján. Zselatin zimográfia és Western Blot analízis segítségével mélyebben feltérképezni az antimetasztatikus hatást.

3. Anyagok és módszerek

3.1 Vegyületek

A 16-triazolil-13 α -ösztadiol származékokat és prekursoraikát, a 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztadiol-1,3,5(10)-trién-17-ol négy lehetséges sztereoizomerjét és három, a 3. szénatomon szubsztituált benzilsoporttal rendelkező analógot, továbbá a 16-hidroximetil-3-metoxi- és a 16-hidroximetil-3-benziloxi-13 α -ösztadiol-1,3,5(10)-trién-17-ol négy lehetséges izomerjét a Szegedi Tudományegyetem Szerves Kémiai Intézetében szintetizálták. A vizsgált molekulák szerkezeti képlete látható az **1-3. Ábrán**.

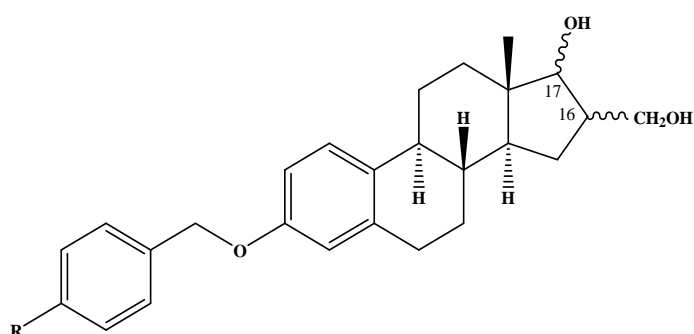




6,7	R'
a	H
b	3''-Me
c	4''-Me
d	4''-CF ₃
e	4''-Et
f	4''- ^t Bu
g	4''-Br
h	4''-F

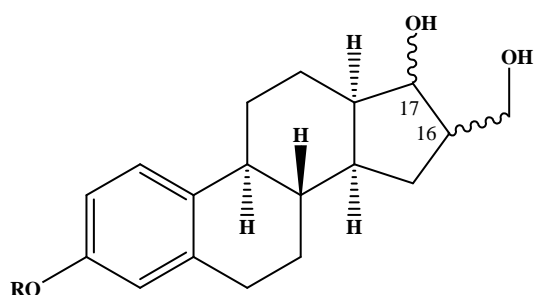
7e → 8 (3-OH)

1. Ábra A 16-triazolil-13α-ösztadiol analogok és prekurzorai szerkezeti képlete.



9	16β,17β
10	16α,17β
11	16β,17α
12	16α,17α
9a	16β,17β R=Cl
9b	16β,17β R=OMe
9c	16β,17β R=CN

2. Ábra A 3-benziloxi-16-hidroximetil származékok szerkezeti képlete.



3. Ábra A 16-hidroximetil-3-metoxi- és a 16-hidroximetil-3-benziloxi-13α-ösztadiolok szerkezeti képlete.

13	16α,17β R=Me
14	16β,17α R=Me
15	16α,17β R= Bn
16	16β,17α R=Bn
17	16α,17α R=Me
18	16β,17β R=Me
19	16α,17α R=Bn
20	16β,17β R=Bn

3.2 Sejtvonalak

HeLa méhnyak-, A2780 ovárium-, A431 epidermális, valamint MCF7, T47D, MDA-MB-231 és MDA-MB-361 emlőtumoros humán adherens sejtvonalakat alkalmaztunk vizsgálataink során. MRC-5 humán tüdő fibroblaszt sejtvonalat használtunk a tumorszelektivitás meghatározásához. A sejteket minimális esszenciális médiumban tenyésztettük, amelyet kiegészítettünk 10% főtális borjúsérummal (FBS), 1% nem-

esszenciális aminosavval és 1% antibiotikum-antimikotikum-keverékkel; valamint 37 °C-os 5% CO₂-t biztosító inkubátorban tároltuk őket.

3.3 Az antiproliferatív hatás vizsgálata

A tesztanyagok antiproliferatív hatásának vizsgálata az említett tumoros sejtvonalakkal szemben MTT teszt alkalmazásával történt. A sejteket 96-lyukú mikrotiter lemezre telepítettük, éjszakára növekedni hagytuk, majd kezeltük a vizsgálandó ösztadiol származékokkal. 72 óra inkubáció után 5 mg/ml koncentrációjú MTT reagenst adtunk a sejtekhez, majd 4 óra elteltével ELISA olvasóval mértük a kicsapódott, majd dimetil-szulfoxidban feloldott formazánkristályok abszorbanciáját 545 nm-en. A kezeletlen sejteket tekintettük kontrollnak.

3.4 Áramlási citometriás sejtciklus analízis

Áramlási citometriás analízis segítségével határoztuk meg a sejtek DNS tartalmát. HeLa és MDA-MB-231 sejteket telepítettünk 6-lyukú lemezre, majd egy éjszakai inkubáció után kezeltük a sejteket a tesztanyagokkal 24, illetve a HeLa sejtek esetében 48 órán át. Ezt követően a sejteket etanolban fixáltuk és festettük propídium joddal. Partec CyFlow készüléket alkalmaztunk a vizsgálathoz, mintánként 20.000 sejtet rögzítettünk minden mérés során. A sejtciklus különböző fázisaiban (subG1, G1, S, G2/M) lévő sejtek százalékos arányát ModFit LT szoftver segítségével analizáltuk. A subG1 populációt tekintettük apoptotikus sejteknek.

3.5 Hoechst 33258 – propídium jodid kettős festés

HeLa sejteket telepítettünk 96-lyukú lemezekre, majd egy éjszakai inkubációt követően kezeltük őket a vizsgálandó vegyületekkel 24 órán át. Ezután hozzáadtuk a sejtekhez a Hoechst 33258 (HO) és propídium jodid (PI) festékeket, majd 1 óra inkubációs idő elteltével, fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk és fotóztuk a sejteket megfelelő szűrők segítségével. A festés segítségével megkülönböztethetők az intakt, korai apoptotikus, illetve késői apoptotikus (másodlagos nekrozis) sejtek. Minden látótérről két fotó készült az eltérő szűrők alkalmazásával.

3.6 Kaszpáz enzimek meghatározása

A kaszpáz-3, -8 és -9 enzimek aktivitását kolorimetriás módszerrel határoztuk meg. HeLa sejteket telepítettünk sejttenyésztő flaskába, majd éjszakai inkubációt követően kezeltük a sejteket a tesztanyagokkal 48 órán át. A sejtek lizálását követően egyenlő mennyiségű

proteint tartalmazó mintákat használtunk a méréshez. Hozzáadtuk a mintákhoz a kaszpáz-3-ra, -8-ra, illetve -9-re specifikus szubsztrátot, majd 2 óra elteltével mértük a szubsztrátról levált *p*-nitroanilin abszorbanciáját 405 nm-en ELISA olvasóval.

3.7 Sejtmigráció vizsgálata sebgyógyulási teszttel

Sebgyógyulási teszttel vizsgáltuk a tesztanyagok sejtmigrációra kifejtett hatását. MDA-MB-231 sejteket telepítettünk a speciális inszert kamráiba, majd éjszakai inkubáció után eltávolítottuk az inszerteket és a tesztanyagokat, illetve 2% FBS-t tartalmazó médiumot adtunk sejtekhez 24 órán át. A kezelést követően azonnal, illetve a 24 órás kezelési idő leteltével mikroszkóp segítségével fényképeztük a sejteket, melyeket összehasonlítva határoztuk meg a sejtek migrációjának mértékét.

3.8 Sejtinvázió vizsgálata Boyden kamrával

Az MDA-MB-231 sejtek inváziós képességét BD BioCoat Matrigel inváziós kamrák alkalmazásával határoztuk meg. A sejteket szérumentes médiumban a felső üregbe helyeztük, majd kezeltük őket a vizsgálandó ösztadiol származékokkal. Az alsó üregben kemoattraktánsként 10% FBS-t tartalmazó médiumot alkalmaztunk. 24 óra után eltávolítottuk a kamrát, az invazív sejteket fixáltuk, festettük, majd mikroszkóp segítségével lefényképeztük, végül megszámloltuk.

3.9 Zselatin zimográfia

A mátrix metalloproteáz-2 (MMP-2) és -9 (MMP-9) enzimek aktivitásának vizsgálatához zselatin zimográfiát alkalmaztunk. MDA-MB-231 sejteket telepítettünk Petri-csészébe, majd éjszakai inkubációt követően kezeltük a sejteket a tesztanyagok növekvő koncentrációival 24 órán át. A MMP-2-t és -9-et tartalmazó felülúszót összegyűjtöttük, majd egyenlő mennyiségű mintákat zselatint tartalmazó gél elektroforézisének segítségével szétválasztottunk. Ezután kezeltük a gélt a reakcióoldattal 24 órán át, majd a festését követően Luminescent Image Analyzer System segítségével vizsgáltuk.

3.10 Western Blot vizsgálat

Western Blot analízist alkalmaztunk a fokális adhézios kináz (FAK), illetve foszforilált formájának (pFAK) aktivitásának meghatározásához MDA-MB-231 sejtekben. A sejteket Petri-csészébe telepítettük, és éjszakai inkubációt követően 24 órán át kezeltük a vizsgálandó vegyületekkel. Egyenlő mennyiségű fehérjét tartalmazó mintákat gélelektroforézis segítségével szétválasztottunk, majd nitrocellulóz membránra transzferáltuk. Blokkolás után

inkubáltuk a membránt az elsődleges antitestekkel, majd a másodlagos antitestekkel. A blotok vizualizációja kemilumineszcenciás módszer alapján történt.

4. Eredmények

4.1 Az antiproliferatív hatás vizsgálata

Számos vizsgált tesztanyagunk mutatott potens antiproliferatív hatást, melyet MTT teszt alkalmazásával határoztunk meg. A 16-triazolil-13 α -ösztadiol származékok és prekursoraik esetében a 10 μ M és 30 μ M koncentrációkkal nőgyógyászati daganatos sejtvonalakon végzett szűrést követően (**1. Táblázat**), a leghatékonyabb vegyületeket különböző receptorstátusszal rendelkező emlődaganatos sejtvonalakon vizsgálatuk (**2. Táblázat**). A 16 β ,17 α izomer analógok (**7c-g**) bizonyultak potensebbnek a vegyületsorból. Mivel **7e** még 30 μ M-os koncentrációban sem befolyásolta jelentősen az MRC-5 sejtek proliferációját, valamint IC₅₀ értéke tumorsejtekkel szemben 2,4–6,5 μ M közé esett, megállapítható a vegyület tumorszelektivitása. A kapott eredmények alapján a **7e** származékot választottuk további vizsgálatokra.

A 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztadiol származékok jelentős antiproliferatív hatást mutattak a vizsgált különböző receptorstátusszal rendelkező emlődaganatos sejtvonalakkal szemben (**3. Táblázat**), ugyanakkor szignifikáns különbség nem volt megfigyelhető az egyes vegyületek különböző sejtvonalakra számolt IC₅₀ értékei között. A vegyületek MRC-5 sejtvonalra kifejtett hatása összevethető a tumorterápiában alkalmazott ciszplatinével. Az eredmény alapján az összes sejtvonalat tekintve legpotensebb vegyületet (**9a**), valamint annak a 3-benzilfunkciót tekintve szubsztituens nélküli analógját (**9**) választottuk további kísérletekhez.

A 16-hidroximetil-3-metoxi- és 16-hidroximetil-3-benziloxi-13 α -ösztadiolok között a 3-benzilfunkcióval rendelkező vegyületek összességében hatásosabbnak bizonyultak a 3. szénatomon metilszubsztituált analógjaiknál (**4. Táblázat**). **20** kalkulált IC₅₀ értéke jelentősen alacsonyabb volt tumorsejteken, mint MRC-5 fibroblaszt sejtpopuláción [26,0 μ M], ezáltal tumorszelektívnek tekinthető *in vitro*. **15** esetében kismértékű tumorszelektivitás állapítható meg, az MRC-5 [15,7 μ M], illetve HeLa és A2780 sejtekre kalkulált IC₅₀ értékek alapján (**4. Táblázat**).

1. Táblázat 16-triazolil-13 α - β -ösztadiol származékok és prekurzorai antiproliferatív hatása

Vegyületszám	Konc, (μ M)	Gátlás-százalék (%) \pm SEM [számított IC ₅₀ érték ¹ (μ M)]			
		HeLa	MCF7	A2780	A431
1	10	– ²	–	–	–
	30	–	27,3 \pm 1,6	24,6 \pm 0,4	–
2	10	–	–	–	–
	30	28,9 \pm 0,8	48,3 \pm 1,2	36,3 \pm 1,0	46,7 \pm 1,1
3	10	–	–	–	–
	30	39,9 \pm 1,4	48,8 \pm 1,3	44,8 \pm 0,6	68,8 \pm 1,2
4	10	21,5 \pm 0,7	36,2 \pm 1,4	33,3 \pm 0,8	–
	30	98,3 \pm 0,1	90,3 \pm 0,4	96,4 \pm 0,2	97,7 \pm 0,1
5	10	20,4 \pm 0,5	34,6 \pm 1,4	39,0 \pm 1,0	–
	30	96,0 \pm 0,4	77,3 \pm 1,3	96,0 \pm 0,4	82,3 \pm 1,1
6a	10	64,7 \pm 1,7	–	46,5 \pm 1,1	44,9 \pm 0,9
	30	80,3 \pm 0,4	–	50,7 \pm 2,0	36,1 \pm 1,3
6b	10	23,9 \pm 0,9	28,3 \pm 1,0	38,9 \pm 0,2	–
	30	27,4 \pm 1,0	30,0 \pm 0,5	38,6 \pm 0,4	–
6c	10	57,3 \pm 2,4	35,2 \pm 2,0	46,9 \pm 0,8	–
	30	55,5 \pm 1,0	37,6 \pm 2,0	56,5 \pm 0,9	36,6 \pm 0,4
6d	10	58,3 \pm 1,0	42,9 \pm 1,2	53,5 \pm 1,5	25,5 \pm 2,6
	30	56,7 \pm 1,2	43,6 \pm 0,4	55,4 \pm 1,1	19,0 \pm 4,4
6e	10	28,1 \pm 1,4	30,4 \pm 0,6	41,4 \pm 0,5	–
	30	24,1 \pm 1,2	28,7 \pm 2,3	40,5 \pm 0,3	–
6f	10	46,2 \pm 2,4	36,4 \pm 1,4	43,6 \pm 0,7	38,7 \pm 0,4
	30	52,0 \pm 2,4	39,6 \pm 2,1	51,0 \pm 1,4	37,0 \pm 1,1
6g	10	61,2 \pm 2,7	22,9 \pm 1,5	38,8 \pm 0,98	18,5 \pm 2,8
	30	65,1 \pm 2,0 [2,0]	27,9 \pm 1,0	39,8 \pm 1,2	33,7 \pm 2,1
6h	10	55,5 \pm 1,0	22,3 \pm 2,0	40,2 \pm 2,2	13,1 \pm 0,5
	30	62,8 \pm 2,2	23,4 \pm 0,8	36,8 \pm 1,4	26,2 \pm 2,8
7a	10	45,7 \pm 2,7	–	33,3 \pm 1,6	–
	30	84,9 \pm 0,5	74,7 \pm 0,7	81,7 \pm 0,8	53,4 \pm 0,4
7b	10	58,4 \pm 0,1	41,5 \pm 1,9	56,4 \pm 0,6	–
	30	79,3 \pm 0,4	66,8 \pm 1,5	82,9 \pm 1,0	–
7c	10	72,0 \pm 2,0	82,0 \pm 0,9	80,9 \pm 2,3	49,3 \pm 1,3
	30	88,3 \pm 1,3 [7,6]	93,6 \pm 0,3 [6,0]	88,8 \pm 1,5 [6,0]	64,8 \pm 2,4 [10,2]
7d	10	75,8 \pm 1,0	67,7 \pm 2,6	69,5 \pm 2,6	44,9 \pm 0,5
	30	89,2 \pm 0,9 [8,8]	94,3 \pm 0,2 [9,3]	90,7 \pm 1,8 [7,5]	46,8 \pm 1,1
7e	10	93,5 \pm 0,2	83,3 \pm 2,1	92,7 \pm 0,2	87,5 \pm 0,7
	30	97,3 \pm 0,1 [2,6]	89,5 \pm 1,1 [2,4]	96,9 \pm 0,1 [2,6]	92,3 \pm 0,6 [2,9]
7f	10	76,0 \pm 0,8	73,5 \pm 0,9	88,4 \pm 0,9	68,6 \pm 0,6
	30	89,6 \pm 0,5 [3,4]	84,8 \pm 0,5 [2,9]	95,0 \pm 0,3 [2,9]	76,6 \pm 0,3 [3,2]
7g	10	60,5 \pm 1,1	35,1 \pm 2,6	47,8 \pm 1,0	31,2 \pm 1,2
	30	86,3 \pm 0,9 [8,5 μ M]	73,5 \pm 1,2	58,5 \pm 2,1	42,6 \pm 1,4
7h	10	31,6 \pm 2,4	18,4 \pm 2,4	16,7 \pm 2,4	4,3 \pm 1,4
	30	49,6 \pm 0,4	34,2 \pm 2,3	38,1 \pm 1,7	12,8 \pm 2,8
8	10	24,3 \pm 1,6	8,8 \pm 1,0	9,9 \pm 0,9	4,6 \pm 1,1
	30	24,5 \pm 1,9	57,9 \pm 0,9	39,0 \pm 1,0	30,0 \pm 1,3
Ciszplatin	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 [12,4]	86,9 \pm 1,3 [9,6]	95,0 \pm 0,3 [1,3]	90,2 \pm 1,8 [2,8]

¹ Két független kísérlet átlagértéke 5 párhuzamos üreg eredményeiből, a standard deviáció kevesebb mint 15%.² A 20% alatti gátlás-százalékok nincsenek prezentálva.

2. Táblázat 7c–g származékok antiproliferatív hatása emlőtumoros sejtvonalakon.

Vegyületszám	Konc. (µM)	Gátlás-százalék (%) ± SEM [számított IC ₅₀ érték ³ (µM)]		
		T47D	MDA-MB-231	MDA-MB-361
7c	10	85,9 ± 1,1	84,5 ± 1,01	83,6 ± 0,6
	30	92,0 ± 0,4 [5,9]	94,5 ± 0,5 [6,5]	89,2 ± 0,5 [5,3]
7d	10	58,4 ± 0,9	41,8 ± 2,5	57,2 ± 1,8
	30	90,9 ± 0,5 [9,7]	82,2 ± 0,7 [10,3]	74,1 ± 1,2 [9,7]
7e	10	85,6 ± 0,6	85,3 ± 1,8	74,1 ± 0,9
	30	92,0 ± 0,4 [5,9]	92,4 ± 0,9 [6,5]	83,6 ± 1,6 [5,4]
7f	10	65,4 ± 0,8	57,0 ± 1,3	61,4 ± 0,3
	30	87,7 ± 0,6 [6,2]	84,5 ± 0,7 [8,3]	74,3 ± 1,2 [6,6]
7g	10	56,5 ± 1,0	48,5 ± 1,5	56,0 ± 2,0
	30	81,1 ± 1,4 [9,0]	76,9 ± 1,9 [10,3]	73,7 ± 1,3 [8,8]
Ciszplatin	10	51,0 ± 2,0	20,08 ± 0,8	67,5 ± 1,0
	30	57,9 ± 1,4 [9,8]	71,7 ± 1,2 [19,1]	87,7 ± 1,1 [3,7]

³ Két független kísérlet átlagértéke 5 párhuzamos üreg eredményeiből, a standard deviáció kevesebb mint 15%.

3. Táblázat 16-hidroximetil-ösztadiol származékok antiproliferatív hatása

Vegyület száma	Konc. (µM)	Gátlás-százalék (%) ± SEM [számított IC ₅₀ érték ⁴ (µM)]				
		MDA-MB-231	MCF7	T47D	MDA-MB-361	MRC-5
9	10	31,5 ± 1,8	60,2 ± 1,6	54,5 ± 0,3	93,1 ± 0,5	78,0 ± 2,6
	30	94,9 ± 0,5 [12,7]	97,2 ± 0,4 [8,2]	90,0 ± 0,4 [8,4]	93,3 ± 1,1 [4,6]	96,5 ± 0,2 [6,7]
10	10	93,8 ± 0,5	91,5 ± 0,6	82,7 ± 1,6	93,8 ± 0,7	94,8 ± 0,5
	30	96,2 ± 0,3 [3,9]	97,8 ± 0,2 [5,1]	82,1 ± 0,5 [4,6]	94,0 ± 0,3 [3,8]	96,9 ± 0,2 [5,5]
11	10	76,4 ± 0,7	27,0 ± 1,3	38,8 ± 2,0	62,7 ± 2,2	39,1 ± 3,2
	30	92,2 ± 0,6 [5,9]	88,6 ± 1,2 [13,6]	90,3 ± 0,6 [15,7]	86,2 ± 0,9 [7,2]	92,6 ± 0,2 [10,2]
12	10	84,3 ± 1,2	56,6 ± 2,2	47,5 ± 2,4	79,1 ± 2,7	53,7 ± 3,4
	30	92,8 ± 0,3 [5,5]	86,6 ± 0,9 [9,1]	94,6 ± 0,7 [10,4]	89,9 ± 1,0 [5,4]	76,8 ± 2,2 [7,3]
9a	10	89,5 ± 0,8	96,5 ± 0,7	95,6 ± 0,3	81,1 ± 1,8	76,5 ± 2,3
	30	87,7 ± 0,3 [4,6]	96,7 ± 0,2 [3,5]	95,3 ± 0,9 [2,8]	87,0 ± 1,3 [1,3]	79,8 ± 1,0 [6,7]
9b	10	61,1 ± 2,4	72,7 ± 0,8	80,2 ± 2,1	76,8 ± 1,2	61,0 ± 2,8
	30	82,8 ± 0,9 [7,5]	89,1 ± 0,9 [4,2]	87,0 ± 1,5 [3,0]	81,1 ± 1,7 [4,7]	78,1 ± 1,8 [1,5]
9c	10	30,9 ± 2,4	39,3 ± 0,7	34,7 ± 1,4		
	30	68,8 ± 1,7 -	57,7 ± 0,8 -	52,7 ± 3,1 -	⁵	-
Ciszplatin	10	20,8 ± 0,8	53,0 ± 2,3	51,0 ± 2,0	67,5 ± 1,0	60,3 ± 3,3
	30	74,5 ± 1,2 [19,1]	87,0 ± 1,2 [5,8]	58,0 ± 1,5 [9,8]	87,8 ± 1,1 [3,7]	61,9 ± 1,0 [6,2]

⁴ Két független kísérlet átlagértéke 5 párhuzamos üreg eredményeiből, amennyiben a gátlás-százalék > 75% a tesztanyag 30 µM-os koncentrációjában.

⁵ Nincs meghatározva.

4. Táblázat 16-hidroximetil-3-metoxi- és 16-hidroximetil-3-benziloxi-13 α -ösztradiolok antiproliferatív hatása

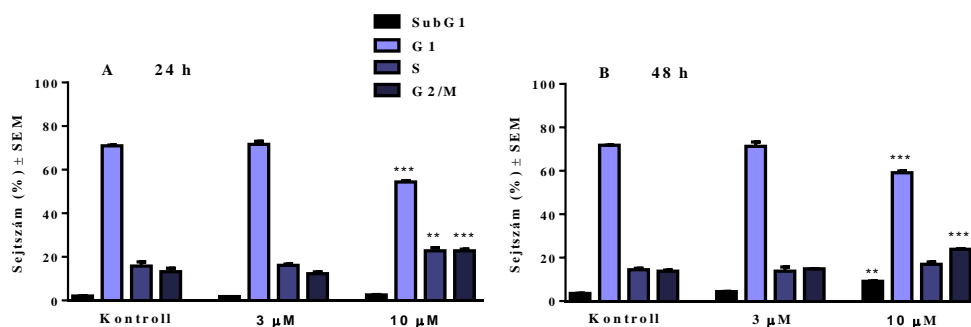
Vegyület száma	Konc. (μ M)	Gátlás-százalék (%) \pm SEM [számított IC ₅₀ érték ⁶ (μ M)]					
		MDA-MB-231	MCF7	T47D	MDA-MB-361	HeLa	A2780
13	10	<10	<10	20.2 \pm 1.7	22.9 \pm 2.6	17.4 \pm 2.0	23.6 \pm 1.3
	30	32.1 \pm 2.5	21.6 \pm 2.3	36.7 \pm 0.8	31.2 \pm 2.9	58.6 \pm 1.7	54.4 \pm 2.0
14	10	10.1 \pm 1.7	11.9 \pm 2.1	31.7 \pm 1.2	<10	55.4 \pm 2.1	38.7 \pm 0.7
	30	40.4 \pm 1.2	43.2 \pm 1.6	57.0 \pm 1.8	26.0 \pm 1.3	66.0 \pm 0.9	71.4 \pm 0.6
15	10	18.2 \pm 2.7	40.4 \pm 1.7	46.3 \pm 1.3	11.1 \pm 1.9	50.9 \pm 2.4	50.8 \pm 0.8
	30	89.0 \pm 1.5	96.7 \pm 0.2	93.7 \pm 0.3	96.5 \pm 0.5	97.5 \pm 0.1	94.9 \pm 0.7
16	10	20.6 \pm 0.9	26.4 \pm 1.6	29.7 \pm 0.7	15.7 \pm 2.9	76.7 \pm 0.7	51.9 \pm 1.4
	30	94.2 \pm 0.6	93.6 \pm 0.7	46.8 \pm 1.4	75.2 \pm 1.1	89.6 \pm 0.5	75.3 \pm 0.7
17	10	27.1 \pm 3.0	15.0 \pm 2.2	28.0 \pm 2.0	17.1 \pm 1.3	56.5 \pm 1.4	47.9 \pm 1.9
	30	42.8 \pm 2.1	31.3 \pm 1.4	44.3 \pm 2.1	39.3 \pm 2.5	56.4 \pm 1.5	63.7 \pm 1.3
18	10	<10	<10	16.7 \pm 1.4	<10	47.5 \pm 1.1	36.1 \pm 0.9
	30	30.1 \pm 1.0	26.8 \pm 1.8	38.0 \pm 0.7	17.8 \pm 1.7	58.4 \pm 1.5	55.2 \pm 2.3
19	10	22.3 \pm 2.2	27.1 \pm 2.0	44.3 \pm 1.0	20.3 \pm 2.8	55.3 \pm 2.4	54.9 \pm 1.9
	30	94.4 \pm 0.7	95.4 \pm 0.2	94.1 \pm 0.9	88.1 \pm 0.9	96.8 \pm 0.5	93.7 \pm 0.5
20	10	24.4 \pm 2.9	37.3 \pm 1.5	44.3 \pm 1.2	15.2 \pm 2.3	70.5 \pm 1.3	54.6 \pm 1.3
	30	88.3 \pm 1.4	97.4 \pm 0.3	93.5 \pm 0.5	93.7 \pm 0.3	98.1 \pm 0.2	94.5 \pm 0.8

⁶ Két független kísérlet átlagértéke 5 párhuzamos üreg eredményeiből, amennyiben a gátlás-százalék >75% a tesztanyag 30 μ M-os koncentrációjában.

⁷ Nincs meghatározva.

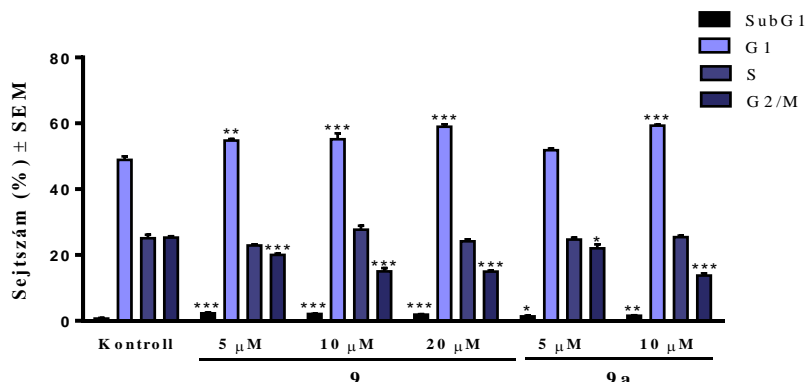
4.2 Áramlási citometriás sejtciklus analízis

Áramlási citometriás analízist alkalmaztunk a tesztanyagok sejtciklusra kifejtett hatásának meghatározásához. A **7e** vegyület vizsgálatát 24 és 48 órás inkubációs idővel végeztük HeLa méhnyaktumoros sejtvonalon. A G1 populáció csökkenését, illetve az S és G2/M fázisban lévő sejtek százalékának szignifikáns növekedését figyeltük meg 10 μ M-os 24 órás kezelést követően. Hasonló hatást tapasztaltunk 48 órás kezelés után, emellett szignifikánsan megemelkedett az apoptotikus subG1 populáció (**4. Ábra**).



4. Ábra. *7e* hatása HeLa sejtek sejtciklusfázisainak arányára 24 és 48 órás kezelést követően két független mérés eredményeiből. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

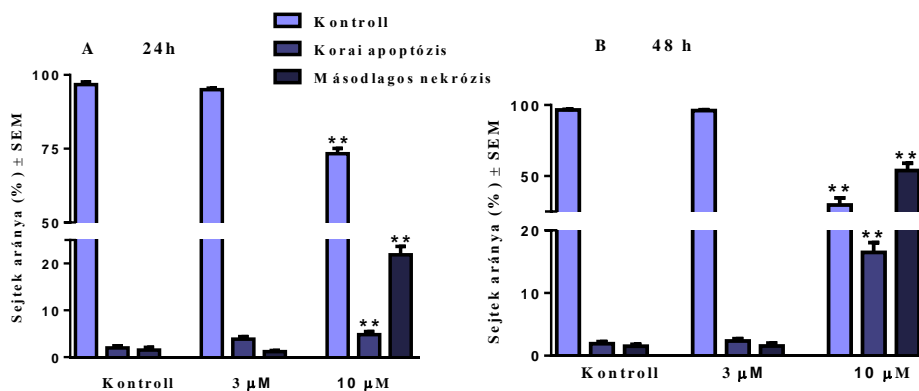
9 és **9a** a G1 fázis emelkedését okozta a G2/M populáció csökkenésével együtt. **9** emellett a subG1 fázis szignifikáns növekedését is indukálta már 5 μM -os kezelés után a relatív magasabb IC_{50} értéke ellenére. Mindkét vegyület proapoptotikus hatását mutatja a subG1 populáció emelkedése minden tesztelt koncentrációval végzett kezelés után (**5. Ábra**).



5. Ábra. **9** és **9a** hatása MDA-MB-231 sejtek sejtciklusfázisainak arányára 24 órás kezelést követően három független mérés eredményeiből. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.3 Hoechst 33258 – propidium jodid kettős festés

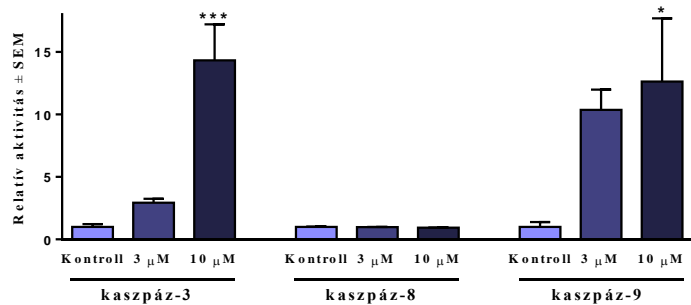
HeLa sejteket kezeltünk **7e** testanyaggal 24 és 48 órás inkubációs idővel. A kromatin kondenzációt a korai apoptózis, míg a membránintegritás elvesztését a másodlagos nekrotikus indikátorának tekintettük. 10 μM -os kezelés a korai apoptotikus sejtek, valamint a másodlagos nekrotikus sejtek arányának szignifikáns növekedését indukálta. 48 órát követően hasonló, de kifejezettebb változás alakult ki (**6. Ábra**).



6. Ábra. **7e** indukálta a korai apoptotikus és másodlagos nekrotikus sejtek megjelenését 24 és 48 órás inkubációt követően. Az eredmények a sejtek százalékos arányának átlaga \pm SEM. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: ** $p < 0,01$.

4.4 Kaszpáz enzimek meghatározása

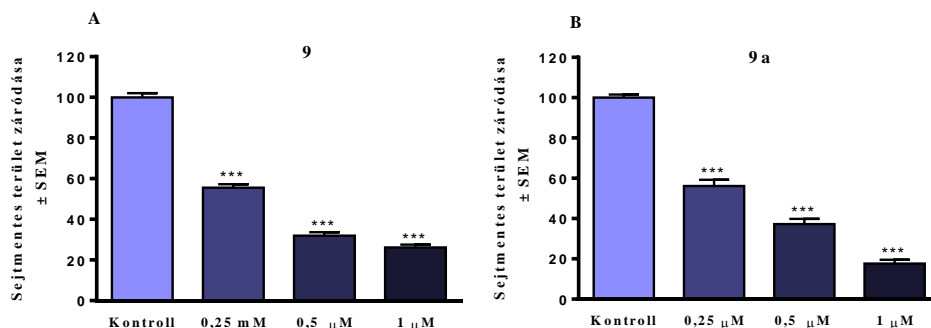
A kaszpáz-3, -8, és -9 enzimek aktivitásának meghatározását a **7e** vegyület proapoptotikus hatásának igazolása érdekében végeztük. HeLa sejtek 10 μM koncentrációval való kezelése 48 órán át a kaszpáz-3 aktivitás szignifikáns, dózisfüggő emelkedéséhez vezetett. A kaszpáz-9 aktivitás is szignifikáns növekedést mutatott, míg a kaszpáz-8 aktivitását nem befolyásolta a testanyag (**7. Ábra**).



7. **Ábra.** 7e fokozza a kaszpáz-3 és -9 relatív aktivitását, viszont nem befolyásolja a kaszpáz-8 relatív aktivitását 48 óra inkubáció után a kezeletlen kontroll mintához viszonyítva. Az eredmények átlagértékek ± SEM. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

4.5 Sejtmigráció vizsgálata sebgyógyulási teszttel

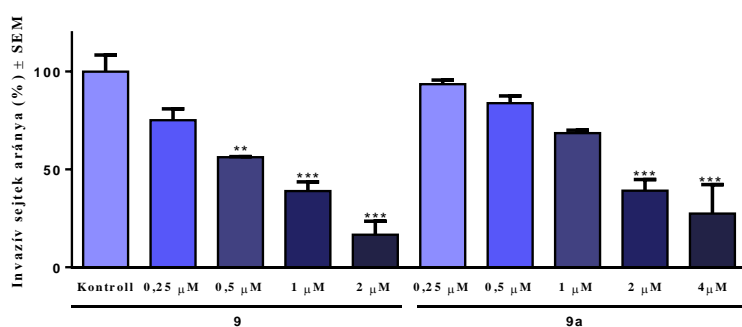
MDA-MB-231 sejtek migrációs képességének meghatározásához sebgyógyulási tesztet alkalmaztunk. A **9** és **9a** vegyületek szubantiproliferatív koncentrációival való 24 órás kezelést követően a sejtek migrációs képessége szignifikánsan, dóziszfüggően csökkent (**8. ábra**).



8. **Ábra.** **9** (A) és **9a** (B) hatása MDA-MB-231 sejtek migrációjára 24 óra inkubáció után. Az eredmények három kísérlet átlagértékei ± SEM. A migráció mértékét a 0. és a 24. óra utáni sejtmentes területből számítottuk. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: *** $p < 0,001$.

4.6 Sejtinvázió vizsgálata Boyden kamrával

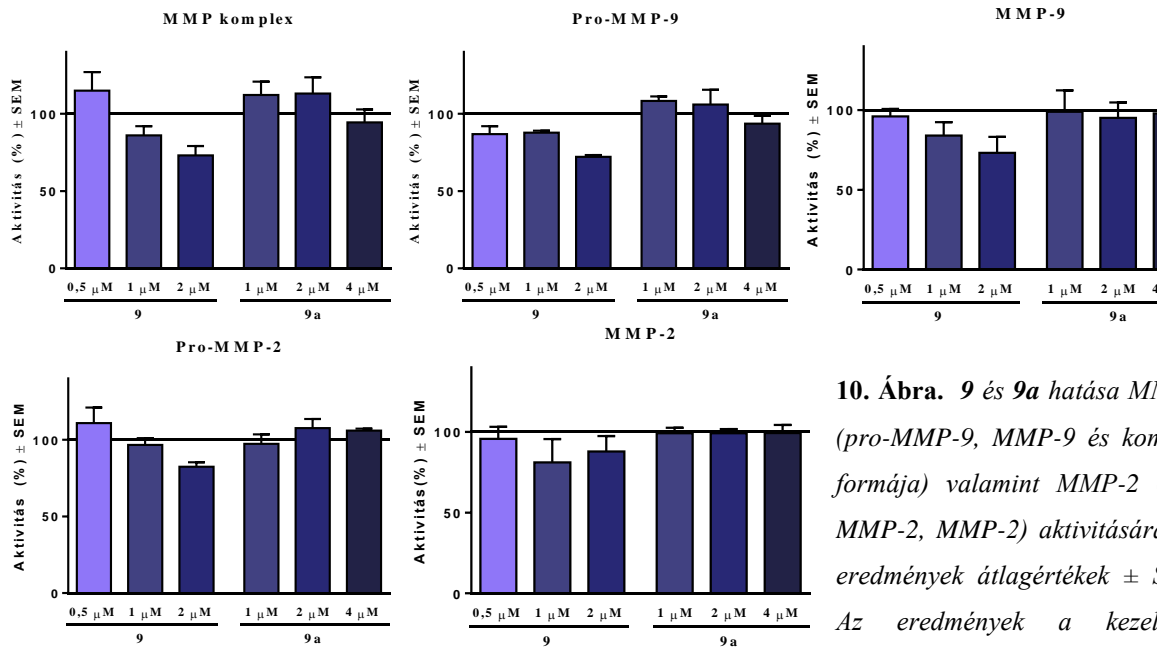
A migrációs teszt pozitív eredményei után a tesztvegyületek MDA-MB-231 sejtek inváziójára gyakorolt hatásának vizsgálatához Matrigél bevonatot tartalmazó Boyden kamrát alkalmaztunk. A módszer alapja, hogy csak az invazív sejtek képesek átjutni a membránon. 24 órás kezelést követően **9** és **9a** már szubantiproliferációs koncentrációban, dóziszfüggően gátolták a sejtek inváziós képességét (**9. Ábra**).



9. **Ábra.** **9** és **9a** hatása MDA-MB-231 sejtek inváziójára 24 óra inkubáció után. Az eredmények átlagértékek ± SEM. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.7 Zselatin zimográfia

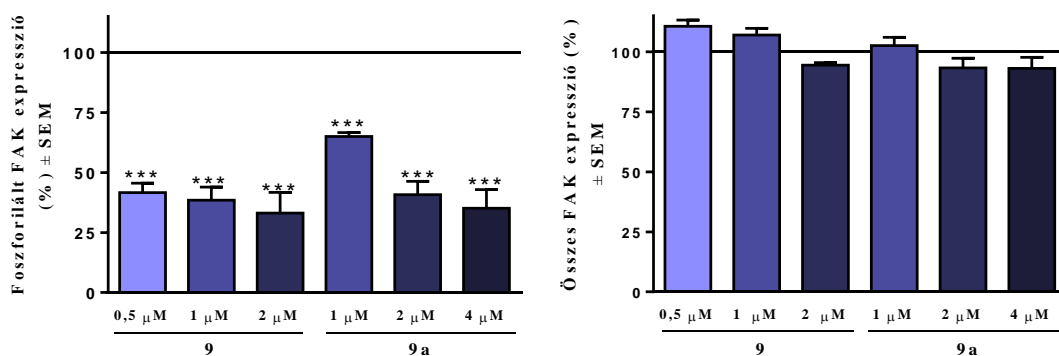
9 és **9a** antimetasztatikus hatásmechanizmusának feltárása érdekében zselatin zimográfias vizsgálatot végeztünk MDA-MB-231 sejtek MMP-2 és MMP-9 aktivitásának meghatározásához 24 órás inkubációval. Az eredmények alapján a tesztanyagok nem befolyásolják szignifikánsan a vizsgált enzimek aktivitását (**10. Ábra**).



10. Ábra. **9** és **9a** hatása MMP-9 (pro-MMP-9, MMP-9 és komplex formája) valamint MMP-2 (pro-MMP-2, MMP-2) aktivitására. Az eredmények átlagértékek ± SEM. Az eredmények a kezeletlen kontrollcsoport százalékos értékei.

4.8 Western Blot vizsgálat

Mivel a fokális adhézions kináz (FAK) és foszforilált formája (pFAK) lehetséges célpontok metasztázis-gátlás érdekében, megvizsgáltuk a **9** és **9a** hatását a FAK és a pFAK expressziójára MDA-MB-231 sejtekben. Szignifikáns, koncentrációfüggő csökkenés volt megfigyelhető pFAK expressziójában 24 órás kezelést követően, míg az összes FAK expressziója nem változott (**11. Ábra**).



11. Ábra. **9** és **9a** hatása pFAK és FAK expressziójára. Az eredmények átlagértékek ± SEM. Az eredmények a kezeletlen kontrollcsoport százalékos értékei. A szignifikancia értékek a kontrollhoz viszonyítva: *** $p < 0,001$.

5. Diszkusszió

2-metoxiösztadiol (2-ME), a 17β -ösztadiol endogén metabolitja az első bizonyítottan antiproliferatív ösztrogén analóg, amely hormonhatással nem rendelkezik. Tumorellenes hatását, tumorszelektivitását és toxicitását széleskörűen vizsgálták, és ezen eredmények alapján megkezdődött az ösztronvázis daganatellenes hatóanyagjelöltek fejlesztése.

A jelen tanulmányban három, módosított ösztadiol származékokból álló vegyületsor tumorellenes hatását vizsgáltuk. A 16-triazolil- 13α -ösztadiolok és prekursoraik vizsgálata során a triazolfunkcióval rendelkező tesztanyagok potensebb antiproliferatív aktivitást mutattak. A $16\beta,17\alpha$ izomerek általánosságban hatékonyabbnak bizonyultak a $16\alpha,17\beta$ párjaikkal összehasonlítva. A 3-benziloxi szubsztituens szerepe az antiproliferatív hatás szempontjából számottevő, mivel **8**, amely a 3. szénatomján hidroxil csoporttal rendelkezik, nem mutatott antiproliferatív aktivitást. A legpotensebb hatást azok az analógok mutatták, melyekben a triazolil-fenil gyűrűt *p*-alkil funkcióval, különösen etil, illetve *tert*-butil csoporttal szubsztituálták (**7e**, **7f**). Korábbi tanulmányokban is leírták, hogy a triazolil-fenil gyűrűn elhelyezkedő alkil csoport növelte a vegyületek antiproliferatív hatását.

A 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztadiol származékokat tekintve, különböző receptorokat hordozó emlődaganatos sejtvonalakon vizsgáltuk antiproliferatív aktivitásukat a lehetséges szelektivitásuk meghatározása érdekében. A különböző sejtvonalak közti hatáskülönbség nem volt számottevő, ugyanakkor a vegyületsor általánosságban jelentős antiproliferatív hatást mutatott. A szubsztituensek konfigurációja a 16. és 17. szénatomon kévéssé volt jelentős a hatás szempontjából. A 3-benzil éter funkció *p*-szubsztituenssel növelte a proliferáció-gátló aktivitást (**9a**, **9b**).

A 16-hidroximetil-3-benziloxi- 13α -ösztadiol analógok potensebbnek bizonyultak 3-metil éter párjaiknál az összes vizsgált sejtvonalon. Az egyik benziloxi-származék esetében jelentős tumorszelektivitást mutattunk ki (**20**).

A szerkezet-hatás összefüggéseket összefoglalva, a benzil éter funkció a 3. szénatomon mindhárom vizsgált vegyületcsoportban növelte az antiproliferatív aktivitást. A 16. és 17. szénatom szubsztituenseinek konfigurációja változó mértékben befolyásolta a hatást, általánosságban a $16\beta,17\beta$; illetve $16\beta,17\alpha$ izomerek bizonyultak potensebbnek. A leghatékonyabb vegyületek (**7e**, **7f**, **9a**, **20**, **15**) aktivitása összevethető a számos daganatellenes terápiában, köztük emlő és cervikális tumorterápiában is alkalmazott ciszplatinnal.

A **7e** tesztanyag a G2/M fázisban blokádra utaló változásokat generált HeLa méhnyakdaganatos sejtek sejtciklusában, illetve növelte az subG1 populációt, mely indikátora a programozott sejthalálnak. G2/M fázis blokádját korábban leírásra került D-szekooösztion-triazol és D-homoösztion analógokkal kapcsolatban. MDA-MB-231 tripla negatív tumoros sejtvonalon végzett sejtciklus analízis során **9** és **9a** megemelte a G1 fázisban lévő sejtek százalékát, illetve csökkentette G2/M fázist, ezzel lehetséges blokádra utalva a G1 fázisban. A subG1 fázis emelkedése a vegyületek proapoptotikus hatását mutatja. 16-oxim-ösztion analógok és oxadiazol ösztion származékok esetében jelentettek korábban G1 blokádot okozó hatást.

A morfológiai vizsgálat eredményei megerősítették **7e** proapoptotikus aktivitását. A tumorellenes hatóanyagok fejlesztése során az apoptózist indukáló jelöltek preferáltak, mivel a programozott sejthalál során nem alakul ki gyulladásos reakció a folyamattal, illetve az apoptotikus sejtek eltávolításával kapcsolatban. **7e** proapoptotikus hatása HeLa sejtvonalon a kaszpáz-3 aktivitásának növelésével is megerősítést nyert, mivel a kaszpáz-3 az apoptotikus folyamat végrehajtó enzime. A kaszpáz-9 aktivitásának emelkedése a kezelés hatására a programozott sejthalál mitokondriális útvonalának inicializálására utal. A kaszpáz-8 aktivitás nem változott **7e** hatására, ez alapján a halálreceptor mediált útvonal nem játszik szerepet a tesztanyag hatásmechanizmusában.

A metasztázisok kialakulása összeköthető a tumoros megbetegedések okozta halálozások 90%-ával. A tripla negatív emlődaganatra jellemző a visszaesésre való nagyobb esély, a kedvezőtlenebb túlélési arány és a másodlagos daganatok korábbi megjelenése a többi altípushoz hasonlítva. **9** és **9a** antimetasztatikus aktivitását tripla negatív MDA-MB-231 sejtek migrációján és invázióján vizsgáltuk, mely folyamatok a metasztatikus fejlődés kezdő szakaszai. Szignifikáns gátlás volt megfigyelhető a sejtmigrációban már 0,25 μ M-os szubantiproliferatív koncentrációval való kezelést követően is. **9** sejtmigráció-gátló hatása kifejezettebbnek bizonyult a Boyden kamrás vizsgálat alapján.

A mátrix metalloproteázok a másodlagos daganatok fejlődésének számos szakaszában részt vesznek. Az MMP-2 és MMP-9 látens és aktív formájának szignifikáns emelkedését kimutatták emlődaganatos szövet és normál emlőszövet összehasonlítása során. Eredményeink alapján **9** és **9a** tesztvegyület nem befolyásolta szignifikánsan az MMP-2 és MMP-9 különböző formáinak aktivitását. Ez alapján ezek az enzimek nem játszanak jelentős szerepet a vizsgált analógok hatásmechanizmusában. A fokális adhézios kináz szerepét a sejtmigráció folyamatában több tanulmány részletesen leírta, emellett megemelkedett aktivitását több tumortípusban, köztük emlődaganatban is kimutatták. **9** és **9a** dóziszfüggően,

már szubantiproliferatív koncentrációban csökkentette a pFAK Y397 expresszióját. Az összes FAK expresszióját nem befolyásolta a tesztanyagokkal való kezelés, ami arra utal, hogy a FAK foszforilációját gátolják a vizsgált analógok.

6. Összefoglalás

Összefoglalásként elmondható, hogy a jelen tanulmányban 16-triazolil-13 α -ösztradiol, 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztradiol és 16-hidroximetil-3-benziloxi-13 α -ösztradiol analógok hatékony antiproliferatív hatást fejtettek ki nőgyógyászati tumoros sejtvonalakon *in vitro*, különösen emlődaganatos és méhnyaktumoros sejtvonalakat tekintve.

A 16-triazolil-13 α -ösztradiol vegyületek közé tartozó **7e** proapoptotikus hatást mutatott HPV 18 DNS-t hordozó HeLa cervikális daganatos sejtvonallal szemben, mechanizmusában szerepet játszik blokádkialakítása a sejtciklus G2/M fázisában, illetve az apoptózis mitokondriális útvonalának inicializálása. Mindezek mellett a vegyület kedvező tumorszelektivitást mutatott. A 3-benziloxi-16-hidroximetil-ösztradiol analóg **9** és **9a** indukálta a programozott sejthalál folyamatát, és megemelte a G1 populáció arányát tripla negatív tumoros sejtvonalat kezelve.

Mivel a tripla negatív altípus kedvezőtlen metasztatikus tulajdonságokkal rendelkezik a többi emlőtumor altípussal összehasonlítva, antimetasztatikus kísérleteinket MDA-MB-231 sejtvonallal végeztük. **9** és **9a** koncentrációfüggően gátolta a tumorsejtek sejtmigrációját, illetve invázióját, valamint blokkolta a fokális adhézis kináz foszforilációját, mely ígértes célpont az antimetasztatikus kutatások során. A kezelés szubantiproliferatív koncentrációban is hatásosnak bizonyult, ami előnyös tumorszelektivitásra utal.

Eredményeink alapján az A- és D-gyűrűben módosított ösztradiol szerkezet alkalmas újszerű antiproliferatív és antimetasztatikus hatóanyagok tervezésére.

A tézis témájában megjelent publikációk

- I. Sinka, I; Kiss, A; Mernyák, E; Wölfling, J; Schneider, G; Ocsovszki, I; Kuo, C-Y; Wang, H-C; Zupkó, I:
Antiproliferative and antimetastatic properties of 3-benzyloxy-16-hydroxymethylene-estradiol analogs against breast cancer cell lines
EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES 123 pp. 362-370. 9 p. (2018)
IF: 3,532
- II. Kiss, A; Mernyák, E; Wölfling, J; Sinka, I; Zupkó, I; Schneider, Gy:
Stereoselective synthesis of the four 16-hydroxymethyl-3-methoxy- and 16-hydroxymethyl-3-benzyloxy-13 α -estra-1,3,5 (10)-trien-17-ol isomers and their antiproliferative activities
STEROIDS 134 pp. 67-77., 11 p. (2018)
IF: 2,136
- III. Mernyák, E; Kovács, I; Minorics, R; Sere, P; Czégány, D; Sinka, I; Wölfling, J; Schneider, Gy; Újfaludi, Zs; Boros, I; Ocsovszki, I; Varga, M; Zupkó, I:
Synthesis of trans-16-triazolyl-13 α -methyl-17-estradiol diastereomers and the effects of structural modifications on their in vitro antiproliferative activities
JOURNAL OF STEROID BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY 150: pp. 123-134. (2015)
IF: 3,985

A tézis témájához nem kapcsolódó publikációk

- I. Tastan, P; Hajdú, Zs; Kúsz, N; Zupkó, I; Sinka, I; Kivcak, B; Hohmann, J:
Sesquiterpene Lactones and Flavonoids from *Psephellus pyrrohoblepharus* with Antiproliferative Activity on Human Gynecological Cancer Cell Lines
MOLECULES 24: 17 Paper: 3165, 9 p. (2019)
IF: 3,060
- II. Mótyán, G; Mérai, L; Kiss, M; Schelz, Zs; Sinka, I; Zupkó, I; Frank, É:
Microwave-assisted synthesis of biologically relevant steroidal 17- exo -pyrazol-5'-ones from a norpregnene precursor by a side-chain elongation/heterocyclization sequence
BEILSTEIN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY 14 pp. 2589-2596., 8 p. (2018)
IF: 2,595
- III. Vlaisavljević, S; Šibul, F; Sinka, I; Zupko, I; Ocsovszki, I; Jovanović-Šanta, S:
Chemical composition, antioxidant and anticancer activity of licorice from Fruska Gora locality
INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS 112 pp. 217-224., 8 p. (2018)
IF: 4,191

IV. Baji, Á; Kovács, F; Mótyán, G; Schneider, G; Wölfling, J; Sinka, I; Zupkó, I; Ocsovszki, I; Frank, É:

Investigation of pH and substituent effects on the distribution ratio of novel steroidal ring D- and A-fused arylpyrazole regioisomers and evaluation of their cell-growth inhibitory effects in vitro

STEROIDS 126 pp. 35-49., 15 p. (2017)

IF: 2,253

V. Kovács, B; Béni, Z; Dékány, M; Orbán-Gyapai, O; Sinka, I; Zupkó, I; Hohmann, J; Ványolós, A:

Chemical Analysis of the Edible Mushroom *Tricholoma populinum*: Steroids and Sulfinyladenosine Compounds

NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS 12: 10 pp. 1583-1584., 2 p. (2017)

IF: 0,809

VI. Bodnár, B; Mernyák, E; Wölfling, J; Schneider, Gy; Herman, B; Szécsi, M; Sinka, I; Zupkó, I; Kupihár, Z; Kovács, L:

Synthesis and biological evaluation of triazolyl 13 α -estrone–nucleoside bioconjugates

MOLECULES 21: 9 Paper: 1212, 16 p. (2016)

IF: 2,861

VII. Csábi, J; Martins, A; Sinka, I; Csorba, A; Molnár, J; Zupkó, I; Tóth, G; Tillekeratne, LMV; Hunyadi, A:

Synthesis and in vitro evaluation of the antitumor potential and chemo-sensitizing activity of fluorinated ecdysteroid derivatives

MEDCHEMCOMM 7: pp. 2282-2289., 8 p. (2016)

IF: 2,608