

Ph.D. értekezés tézisei

**SZTERÁNVÁZHOZ KONDENZÁLT NITROGÉNTARTALMÚ
HETEROCIKLUSOK SZINTÉZISE BIFUNKCIÓS NEMI HORMON
SZÁRMAZÉKOKBÓL**

Baji Ádám

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Frank Éva

egyetemi docens



Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Szerves Kémiai Tanszék

Szeged

2018

1. Bevezetés és célkitűzések

A szteroidok az élő szervezetekben megtalálható, négygyűrűs alapvázal rendelkező vegyületek. Biológiai aktivitásuk nagy mértékben függ a molekulák térszerkezetétől, illetve a szteránvázon elhelyezkedő funkciós csoportok minőségétől, pozíciójától és térállásától. Napjainkban a szteroidkutatás egyik fő irányát olyan félszintetikus nemi hormon származékok előállítása képezi, melyeknél a módosítások eredményeként a klasszikus elsődleges hatás háttérbe szorul, vagy teljesen megszűnik, és egy új, teljesen más bioaktivitás kerül előtérbe. Számos korábban szintetizált, heterociklust tartalmazó szteránvázas vegyületről bizonyították, hogy különböző eredetű daganatos sejtek osztódását gátolja, vagy direkt citotoxikus aktivitással rendelkezik, így a nemi hormonok ilyen irányú módosítása a jelen kutatások egyik célja.

A szakirodalmi és a Szteroidkémiail Kutatócsoport szintetikus előzményei alapján a doktori munkám célja új, szteránvázhoz kondenzált nitrogéntartalmú heterociklusos származékok előállítása volt. Terveztük a nemi hormon alapvázak A- és D-gyűrűjén az egyes reakciók megvalósíthatóságának vizsgálatát és körülményeinek optimalizálását. Ugyancsak fel kívántuk deríteni az alkalmazott reagensek szubsztituenseinek hatását a gyűrűzárási folyamatokban. Célunk volt továbbá a vegyületek pontos szerkezetének igazolása, és az összes származék *in vitro* farmakológiai vizsgálatra bocsájtása együttműködések keretében.

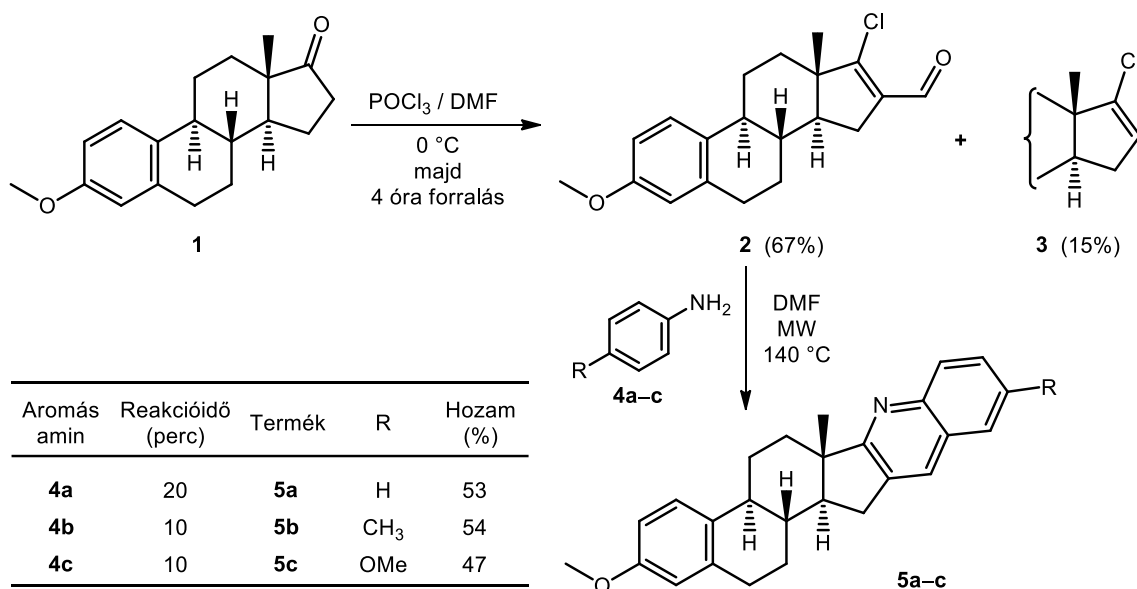
2. Vizsgálati módszerek

A szintéziseket millimólos mennyiségben végeztük, a reakciók lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiával (VRK) ellenőriztük. Egyes esetekben a hagyományos melegítés helyett, zárt rendszerben mikrohullámú (MW) fűtést alkalmaztunk. Az előállított vegyületeket oszlopkromatográfiával tisztítottuk. A termékek szerkezetét nagyműszeres analitikai módszerek (ESI-MS, IR, NMR) segítségével igazoltuk.

3. Új tudományos eredmények

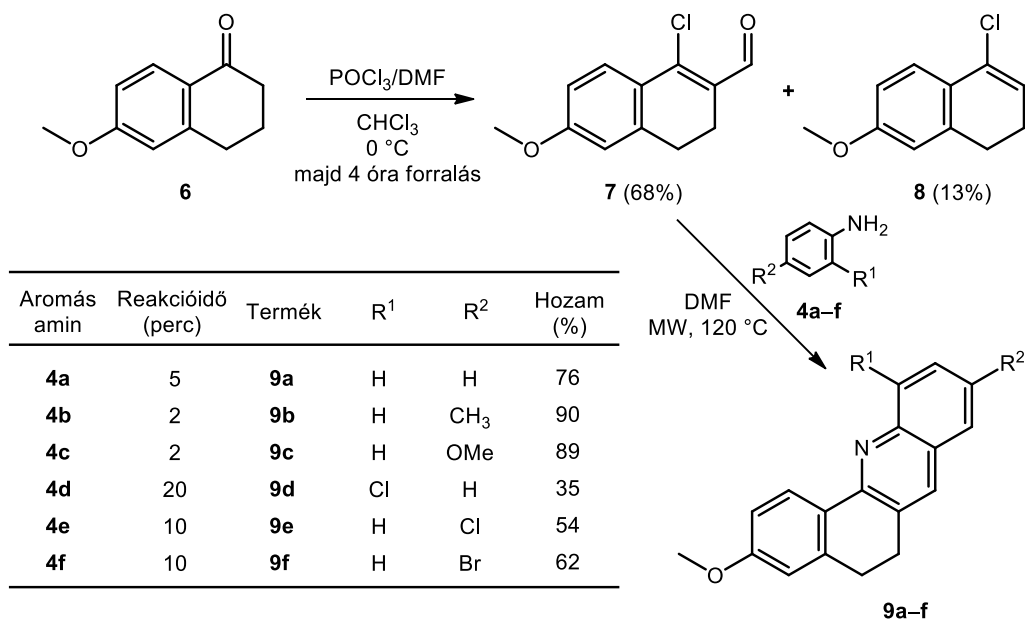
3.1. Az özstron-3-metil-éterből (**1**) *Vilsmeier-Haack* reakcióval (POCl_3 , DMF) előállított β -klórvinil-aldehid (**2**) reakciója anilinnel (**4a**) oldószermentes vagy oldószeres (DMF) közegben, mikrohullámú besugárzás mellett özstránváz D-gyűrűjéhez kondenzált kinolinszármazékot (**5a**) eredményezett közepes hozammal (1. ábra).

3.2. A szintézist *para*-szubsztituált aromás aminokkal elvégezve azt tapasztaltuk, hogy az elektronvonzó funkciós csoportot (Cl, NO_2) tartalmazó reagensek esetén a termékek a tisztítási lépés alatt elbomlottak, míg az elektronküldő funkciós csoportot (CH_3 , OMe) hordozó arilaminok (**4b** és **4c**) alkalmazásakor stabilis vegyületek (**5b** és **5c**) keletkeztek.



1. ábra

3.3. A szteránváz hattagú A-gyűrűjének modellezésére használt 6-metoxi-tetralonból (**6**) kialakított bifunkciós molekularészt tartalmazó vegyületet (**7**) anilinnel (**4a**) és különböző, szubsztituált anilinszármazékokkal (**4b-f**) reagáltatva már alacsonyabb hőmérsékleten és rövidebb reakcióidő alatt minden esetben stabilis benz[*c*]akridin származékok (**9a-f**) keletkezését figyeltük meg (2. ábra).

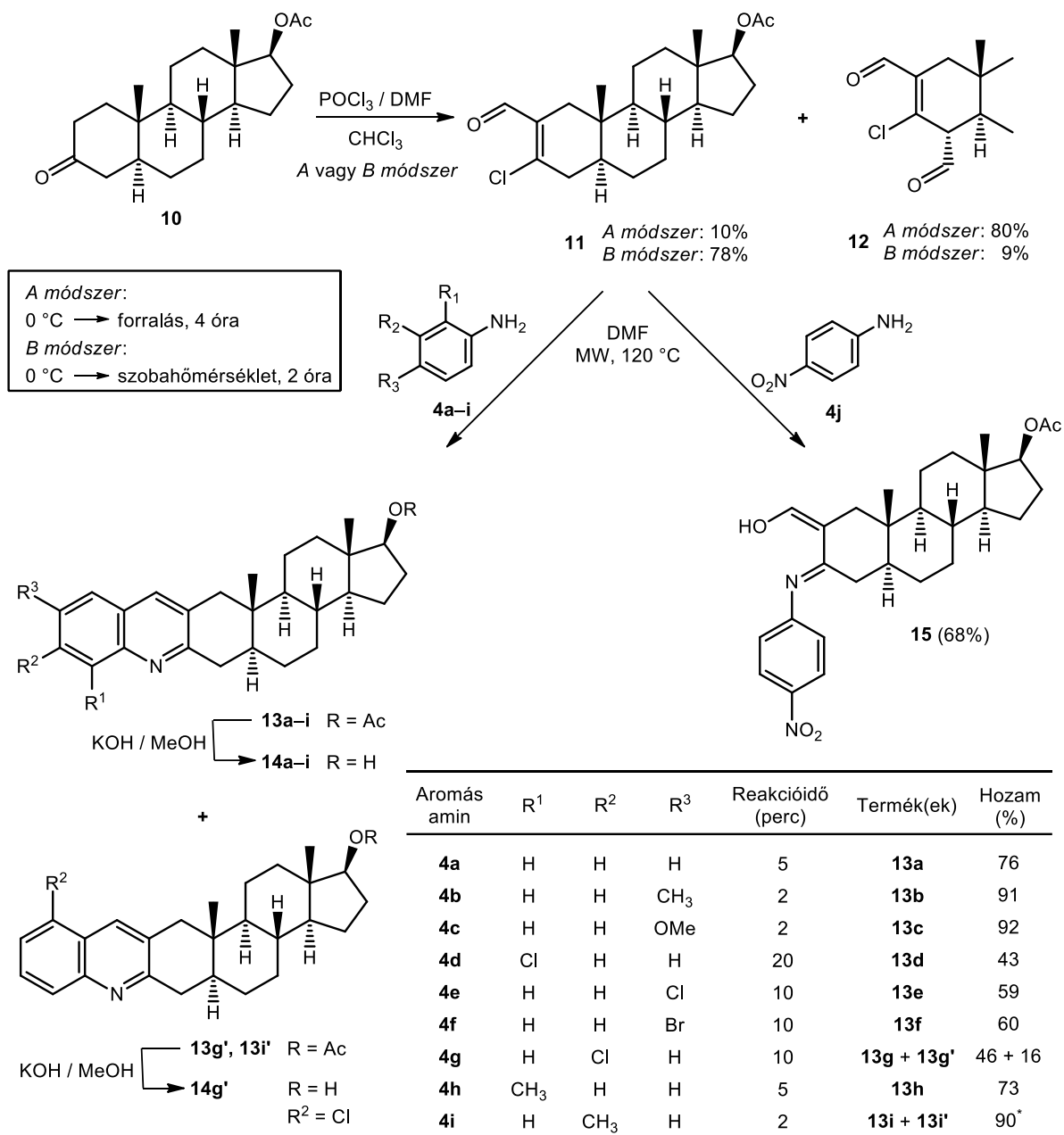


2. ábra

3.4. A 17β -acetoxi- 5α -dihidrotesztoszteronból (10) *Vilsmeier-Haack* reakcióval szintetizált β -klórvinil-aldehid (11) és aromás aminok (4a–i) reakciói minden esetben a kívánt, androsztánváz A-gyűrűjéhez kondenzált kinolinszármazékokat (13a–i, 13g', 13i') eredményezték. Megfigyeltük, hogy a reagens aromás gyűrűjén az *orto*-helyzetű funkciós csoport kedvezőtlen a gyűrűzárás során. *Meta*-helyzetben szubsztituált arilaminok alkalmazásakor a reakció régióizomerek (13g és 13g', valamint 13i és 13i') keverékét eredményezte, melyeket egy esetben sikeresen elválasztottunk. A különböző anilinszármazékok elektronvonzó szubsztituensei csökkentették, míg az elektronküldő csoportok növelték a reakció sebességét (3. ábra).

3.5. A bifunkciós szteroid és a 4-nitroanilin (4j) reakciója során a heterociklizáció nem következett be, a szintézis eredménye egy *N*-aril-imino-enol származék (15) volt.

3.6. Az androsztánváz A-gyűrűjéhez kondenzált heterociklusos termékek (13a–i, 13g') lúgos közegű dezacetilezésével 17β -OH származékok (14a–i, 14g') szintézisét valósítottuk meg.

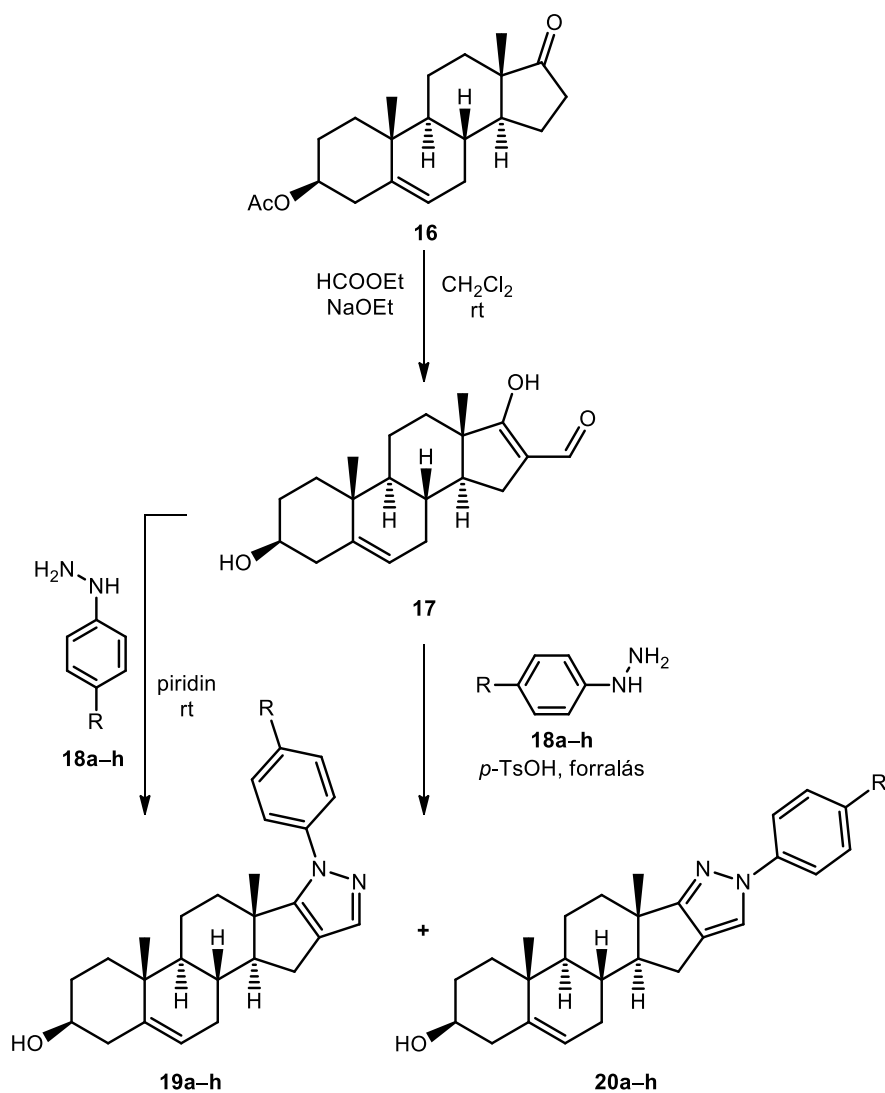


* az oszlopkromatográfiával nem elválasztható keverék összhozama (1H-NMR spektroszkópiával meghatározott arányuk: 3:1)

3. ábra

3.7. A 3 β -acetoxi-dehidroepiandrosteronból (**16**) Claisen-kondenzációval kialakított 16-hidroximetilén-dehidroepiandrosteron (**17**) és a fenilhidrazin (**18a**) reakciójában a Knorr-szintézis klasszikus körülményei mellett régiószelktív termékképződést (**19a**) figyeltünk meg. A bifunkciós szteroid (**17**) és a reagens hidroklorid sójának (**18a**·HCl) piridinben, szobahőmérsékleten végzett reakciója is régiószelktívnek bizonyult (kizárólag **19a** termék), míg a 0,3 ekvivalens *p*-TsOH hozzáadása mellett, etanolos forralással végzett szintézis során a

két lehetséges régióizomer (**19a** és **20a**) 1:1 arányú keverékének keletkezését tapasztaltuk (4. ábra).



Reagens	R	Régióizomerek aránya 19 : 20	Összhozam (%)
18a	H	1 : 1	85
18b	CH ₃	1 : 2	87
18c	OMe	1 : 2	80
18d	F	2 : 1	83
18e	Cl	2 : 1	82
18f	Br	2 : 1	85
18g	CN	10 : 1	82
18h	NO ₂	1 : 0	84

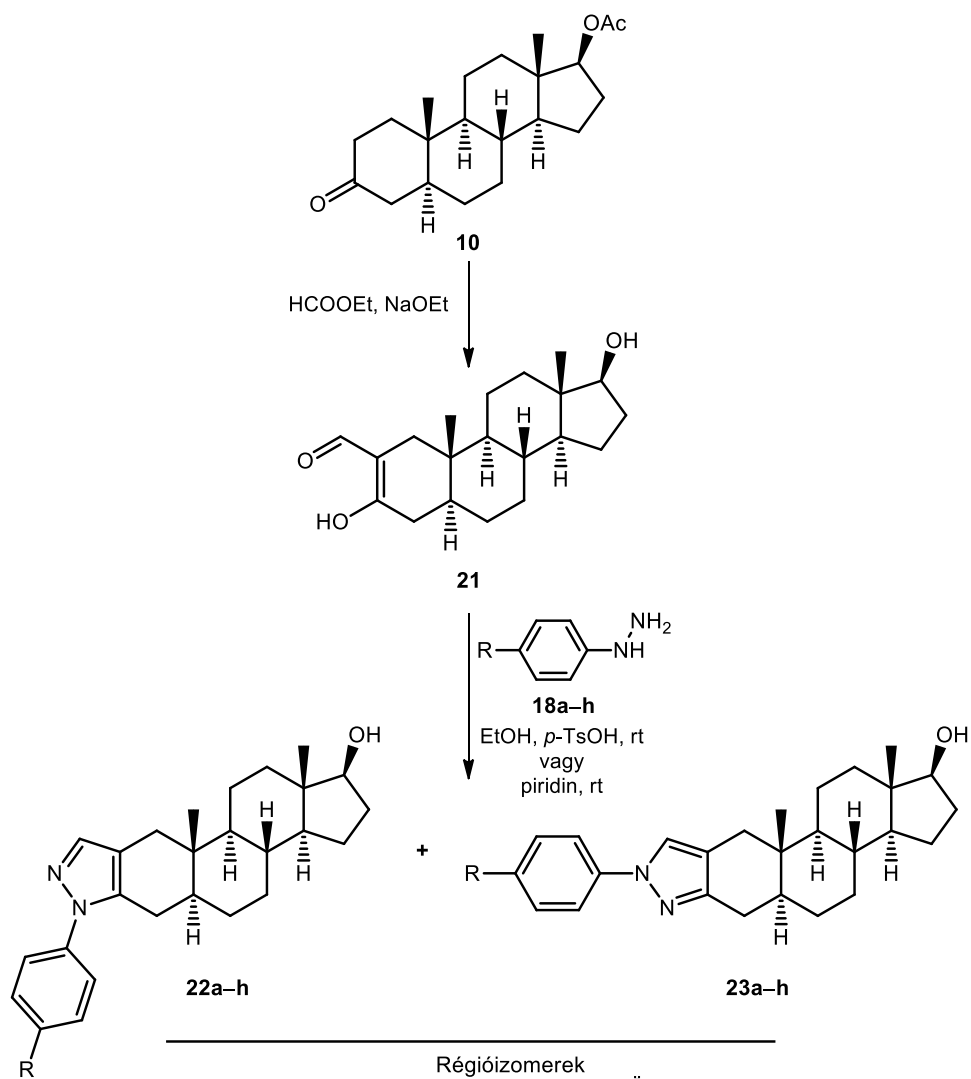
4. ábra

3.8. A szintézist *p*-szubsztituált arilhidrazin-hidrokloridokkal (**18b–h**·HCl) etanolos közegben, 0,3 ekvivalens *p*-TsOH jelenlétében elvégezve a 4-nitrofenilhidrazin-hidroklorid (**18h**·HCl) reakcióján kívül minden esetben régióizomerek (**19b–g** és **20b–g**) keletkezését figyeltük meg a reagens szubsztituensének elektronikus karakterétől függő, változó arányban. Az elektronvonzó szubsztituens (F, Cl, Br, NO₂) tartalmazó reagensek (**18d–g**) használatakor a termékarány a **19**-es, az elektronküldő csoportot (CH₃, OMe) tartalmazó arilhidrazinok (**18b** és **18c**) alkalmazásakor a **20**-as izomer nagyobb mennyiségű képződése irányába tolódott el (4. ábra).

3.9. A 17β-acetoxi-5α-dihidrotesztoszteronból (**10**) *Claisen*-kondenzációval kialakított 2-hidroximetilén-5α-dihidrotesztoszteron (**21**) és a fenilhidrazin- (**18a**·HCl) vagy szubsztituált arilhidrazin-hidroklorid sók (**18b–h**·HCl) etanolos közegű, 0,3 ekvivalens *p*-TsOH hozzáadásával szobahőmérsékleten végzett reakciói során minden esetben a két lehetséges régióizomer (**22a–h** és **23a–h**) keverékének képződését tapasztaltuk (5. ábra).

3.10. A szintéziseket piridinben elvégezve azt figyeltük meg, hogy szobahőmérsékleten, 5 perc alatt a folyamat minden esetben régióizomerek (**22a–h** és **23a–h**) keverékét eredményezte a szteránváz D-gyűrűjén végzett hasonló átalakításokkal ellentétben. A kísérletek során csak erősen elektronvonzó (CN, NO₂) szubsztituens tartalmazó reagensek (**18g**, **18h**) alkalmazásakor találtunk nagyobb eltérést a termékarányban a fenilhidrazinnal (**18a**) végzett kísérlethez képest.

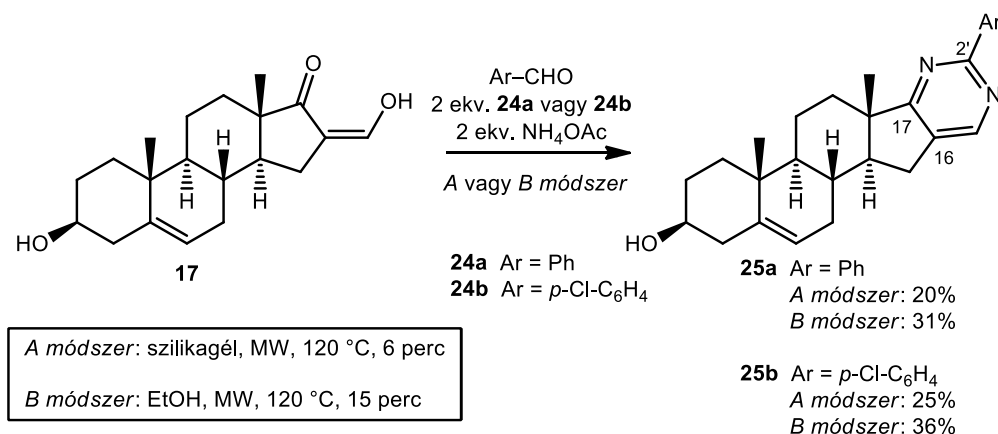
3.11. Az eltérő termékarányok alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a szteránváz A- és D-gyűrűjén a reakció más mechanizmus szerint játszódik le piridines, illetve savas etanolos körülmények között. Utóbbi esetén hidrazon intermedier keletkezését követő intramolekuláris ciklokondenzáció történik, míg az A-gyűrűn egy dihidroxipirazolidin köztitermék kétszeres vízeliminációja eredményezheti a pirazol heterociklust.



Reagens	R	Régióizomerek aránya 22 : 23	Összhozam (%)
18a	H	4 : 3	89
18b	CH ₃	1 : 1	82
18c	OMe	1 : 1	82
18d	F	4 : 3	79
18e	Cl	4 : 3	85
18f	Br	4 : 3	84
18g	CN	1 : 2	78
18h	NO ₂	1 : 2	84

5. ábra

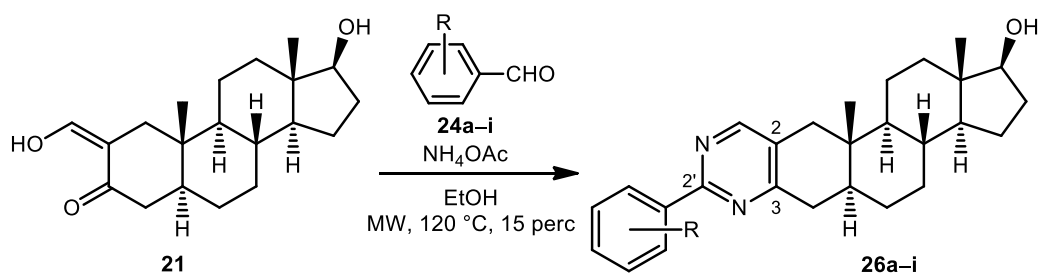
3.12. A 16-hidroximetlén-dehidroepiandrosteron (**17**), az ammónium-acetát és a benzaldehid (**24a**) vagy a *p*-Cl-benzaldehid (**24b**) 1:2:2 arányú, oldószermentes közegben, szilikagél hordozón mikrohullámú melegítéssel kivitelezett multikomponensű reakciója során szteránvázhoz kondenzált arilpirimidinek (**25a** és **25b**) képződését figyeltük meg alacsony hozammal (20–25%). A szintézist etanolban megismételve a termékhozam 10%-os növekedését tapasztaltuk (6. ábra).



6. ábra

3.13. Az androsztánváz A-gyűrűjén végzett hasonló kísérlet során a 2-hidroximetlén-5 α -dihidrotesztoszteront (**21**) ammónium-acetáttal és benzaldehyddel (**24a**) (1:2:2 arányú keverék) etanolos közegben reagáltatva a megfelelő termék hozama 45%-ra nőtt. A reagensek arányának optimalizálásával (**21**:NH₄OAc:**24a** = 1:5:5) a maximálisan elérhető termék mennyisége 60%-ra emelkedett (7. ábra).

3.14. Az optimalizált körülmények mellett megfigyeléseket tettünk a szubsztituált arilaldehidek funkciós csoportjainak a gyűrűzárási folyamatra kifejtett befolyásoló hatására. A reakciócentrumhoz közeli *orto*-helyzetű szubsztituens jelentősen csökkentette a termék mennyiségét. Az elektronküldő funkciós csoportot (CH₃, OMe) tartalmazó reagensek (**24f–h**) a hozam kis mértékű csökkenését okozták, míg az elektronvonzó szubsztituensekkel (F, Cl, Br, CN, NO₂) rendelkezők (**24b–e**) növelték a kinyerhető heterociklusos termék mennyiségét a benzaldehyddel (**24a**) végzett kísérletekhez képest.



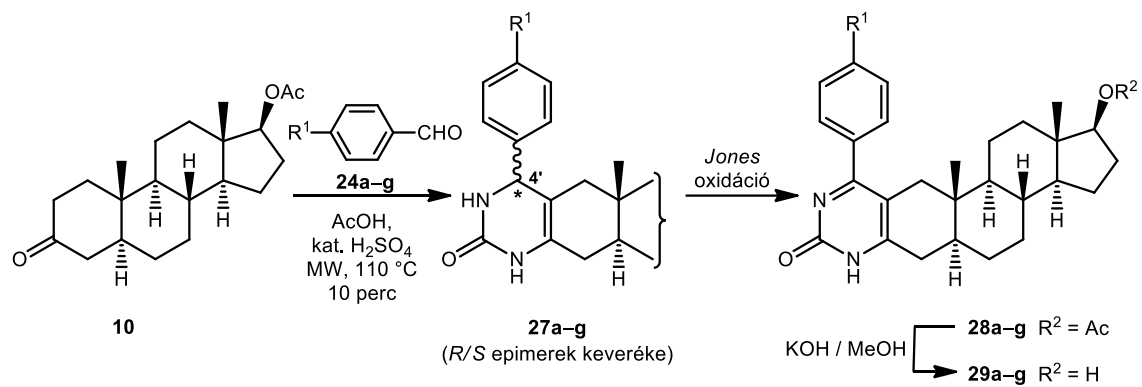
Aldehyd	R	Termék	Hozam (%)
24a	H	26a	60
24b	<i>p</i> -Cl	26b	62
24c	<i>p</i> -Br	26c	62
24d	<i>p</i> -F	26d	60
24e	<i>p</i> -NO ₂	26e	69
24f	<i>p</i> -OMe	26f	44
24g	<i>p</i> -CH ₃	26g	49
24h	<i>m</i> -CH ₃	26h	43
24i	<i>o</i> -CH ₃	26i	10

7. ábra

3.15. A módosított *Biginelli*-reakció során azt találtuk, hogy a 17 β -acetoxi-5 α -dihidrotesztoszteron (**10**), a karbamid és a benzaldehid (**24a**) ecetsavas közegű mikrohullámú reakciója katalitikus kénsav jelenlétében az androsztánváz A-gyűrűjéhez kondenzált dihidropirimidinon sztereoisomereket (**27a-4'R** és **27a-4'S**) eredményezett. Az oszlopkromatográfiával nem elválasztható diasztereomereket *Jones*-oxidációval pirimidinon származékká (**28a**) alakítottuk. A legmagasabb termékhozamot a **10:24a**:karbamid = 1:2:1 mólarány alkalmazásakor tapasztaltuk (8. ábra).

3.16. Az optimálisnak talált reaktáns arányokat alkalmazva, a *para*-szubsztituált aromás aldehidekkel (**24b–g**) végzett hasonló kísérletek pirimidinon származékok (**28b–g**) keletkezéséhez vezettek. A képződő termékek mennyiségéből arra a következtetésre jutottunk, hogy a benzaldehid származék szubsztituensének nincs befolyása a gyűrűzárási folyamatra.

3.17. A heterociklusos vegyületek (**28a–g**) lúgos közegű dezacetilezésével 17 β -OH származékok (**29a–g**) előállítását hajtottuk végre kiváló hozamokkal.



Aldehyd	R ¹	Termék	Hozam (%)
24a	H	28a	67
24b	Cl	28b	62
24c	Br	28c	62
24d	F	28d	64
24e	NO ₂	28e	69
24f	OMe	28f	60
24g	CH ₃	28g	63

8. ábra

4. A doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Baji Á.**, Gyovai A., Wölfling J., Minorics R., Ocsovszki I., Zupkó I., Frank É.
Microwave-assisted one-pot synthesis of steroid–quinoline hybrids and an evaluation of their antiproliferative activities on gynecological cancer cell lines
RSC Advances **2016**, 6, 27501.
IF: 3,108
2. **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, **2017**, 126, 35.
IF: 2,282*
3. **Baji Á.**, Kiss T., Wölfling J., Kovács D., Igaz N., Gopisetty M. K., Kiricsi M., Frank É.
Multicomponent access to androstano-arylpyrimidines under microwave conditions and evaluation of their anti-cancer activity *in vitro*
Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology **2017**, 172, 79.
IF: 4,561*

Összesített IF : 9,951*

MTMT azonosító: 10053209

5. A doktori értekezés alapjául szolgáló előadások és poszterek

Előadások:

1. **Baji Á., Frank É.**
Androsztánváz D-gyűrűjéhez kondenzált pirazolok előállítása mikrohullámú besugárzással
2015.04.29., *Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 14. tudományos előadóülése*, Szeged
2. **Baji Á., Frank É.**
Szteránváz heterociklusok előállítása multikomponensű reakciókkal
2016.11.08., *A Magyar Tudomány Ünnepe – Új kihívások a gyógyszerkémiaiban*, Szeged
3. **Baji Á., Frank É.**
Szteránvázhoz kondenzált nitrogéntartalmú heterociklusok szintézise bifunkciós nemi hormon származékokból
2017.11.27., *MTA Szteroid- és Terpenoidkémiai Munkabizottsági ülése*, Szeged.

Poszterek:

1. **Baji Á., Frank É., Wölfling J. Schneider Gy.**
Efficient synthesis of steroidal ring A-fused quinolines by microwave irradiation
2014.09.07–10., *22nd Conference on Isoprenoids*, Prága
Chemicke Listy **2014**, 108, s126.
2. **Baji Á., Frank É., Wölfling J. Schneider Gy., Zupkó I.**
Microwave assisted synthesis of steroidal ring A-fused quinolines
2015.06.16–19., *16th Tetrahedron Symposium*, Berlin (P2.058)
3. **Baji Á., Frank É., Wölfling J.**
Microwave-assisted synthesis of steroidal ring D-fused pyrazoles
2015.03–05., *5th Meeting of the Paul Ehrlich MedChem Euro-PhD Network*, Krakko
(P-2)

4. **Baji Á.**, Mótyán G., Frank É.
Pirazolgyűrűvel módosított androsztánvázis vegyületek mikrohullámú szintézise
2015.08.31–09.02., *MKE 2. Nemzeti Konferencia*, Hajdúszoboszló (GY-P-2)
5. **Baji Á.**, Frank É., Kiricsi M.
Androsztánvázis pirimidinek szintézise és *in vitro* hatástani vizsgálata
2017.06.19–21., *MKE 2017. évi Vegyészkonferencia*, Hajdúszoboszló (P-4)
6. **Baji Á.**, Frank É., Kiricsi M.
Multicomponent synthesis of novel androstano-pyrimidines and their pharmacological evaluation *in vitro*
2017.06.25–28., *10th Joint Meeting on Medicinal Chemistry*, Dubrovnik (P-5)
7. Frank É., **Baji Á.**, Mótyán G., Wölfling J., Kiricsi M.
Ring A- or D-modified steroids with selective anticancer activity against androgen-independent prostate cancer cell lines
2017.09.10–14., *42nd FEBS Congress*, Jeruzsálem (P-5.2.66)

6. A doktori értekezéshez nem kapcsolódó közlemények

1. Kádár Z., **Baji Á.**, Zupkó I., Bartók T., Wölfling J., Frank É.
Efficient approach to novel 1 α -triazolyl-5 α -androstane derivatives as potent antiproliferative agents
Organic & Biomolecular Chemistry **2011**, 9, 8051.
IF: 3,696
2. Mótyán G., **Baji Á.**, Zupkó I., Frank É.
Regio- and stereoselective synthesis of pregnane-fused isoxazolines by nitril-oxide/alkene 1,3-dipolar cycloaddition and an evaluation of their cell-growth inhibitory effect *in vitro*
Journal of Molecular Structure **2016**, 1110, 143.
IF: 1,753

Összesített IF : 5,449

7. A doktori értekezéshez nem kapcsolódó előadások és poszterek

Előadások:

1. **Baji Á.**

1 α -Triazolil-5 α -androsztán származékok előállítása intermolekuláris Cu(I)-katalizált cikloaddícióval

2013.04.04–06., *XXXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia*, Eger

2. Kovács D., Márton J., **Baji Á.**, Mótyán G., Wölfling J., Frank É.

Androsztánvázis 17-oxa-, és 17-tiadiazolok szintézise

2013.11.12., *MTA Szteroid- és Terpenoidkémiai Munkabizottsági ülése*, Budapest

Poszterek:

1. Kovács D., Mótyán G., **Baji Á.**, Schneider Gy., Frank É.

1,2,4-oxadiazolgyűrűvel módosított androsztánvázis vegyületek szintézise

2013.06.26–28., *Vegyészkonferencia*, Hajdúszoboszló (P-31)

3. Kovács D., Mótyán G., **Baji Á.**, Schneider Gy., Frank É.

Efficient approach to steroidal 1,2,4-oxadiazoles in the androstane series

2013.06.30.–07.04., *VIIIth Joint Meeting on Medicinal Chemistry*, Lublin (P-23)

4. Kovács D., Mótyán G., **Baji Á.**, Frank É., Wölfling J.

Efficient approach to novel ring-condensed steroidal isoxazolines by 1,3-dipolar cycloaddition

2014.06.29.–07.04., *20th International Conference on Organic Synthesis*, Budapest (P-51)

5. **Baji Á.**, Frank É., Kovács D., Mérai L.

Microwave-assisted access to novel steroidal 17 β -3-pyrazole-5-ones

2015.06.07–10., *IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry*, Athén (P-50)

6. Molnár B., Mótyán G., **Baji Á.**, Frank É.
Pirazolin- és triazolgyűrűvel módosított ösztron származékok előállítása mikrohullámú aktiválással
2017.06.19–21., *MKE Vegyészkonferencia*, Hajdúszoboszló (P-35)

7. Mótyán G., **Baji Á.**, Wölfling J., Frank É., Zupkó I.
Steroidal pyrazoles and pyrazolines as potent antifiproliferative agents
2017.09.10–14., *42nd FEBS Congress*, Jeruzsálem (P-5.2.61)

Σ IF: 15,400