

Ösztronszármazékok monoszacharid és nukleozid konjugátumainak szintézise

A doktori értekezés tézisei

Bodnár Brigitta

Témavezető:
Dr. Kupihár Zoltán



Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Vegytani Intézet

Szeged
2018

1. Bevezetés és célkitűzések

A szteránvázis vegyületeket igen széles körben használják az élő szervezetek információk kémiai úton történő továbbítására. Ezek a különféle szerkezetű, hormonhatású anyagok igen fontos szerepet töltenek be a sejtek létfontosságú folyamatainak szabályozásában, ezért minden olyan anyag, amely ezen anyagok előállításában, lebontásában, módosításában, transzportjában részt vesz, vagy valamilyen módon kötődik ezen anyagokhoz, potenciális célpontja lehet a gyógyszerfejlesztésnek. Manapság egyre inkább előtérbe kerül valamely szteroid molekula természetben is előforduló biomolekulával (például szénhidrát vagy nukleozid) történő kapcsolása. Az elvet maga a természet is használja, így pont a természetes készítmények efféle konjugátumainak vizsgálata során derült ki, hogy vannak közöttük nagyon ígéretesek is, melyeknél a konjugátumok biológiai hatékonysága meghaladja a különálló vegyületekét.

Az ösztrom az emberi szervezetben megtalálható női nemi hormon. Elősegíti a másodlagos női nemi jellegek fejlődését, szerepet játszik a méhnyálkahártya vastagodásában, valamint a menstruációs ciklus szabályozásában. A molekulában lévő oxigénatomok egymástól meghatározott távolságban helyezkednek el, amely fontos szerepet tölt be az ösztrom és az ösztrodial hormonhatásának kifejtésében. Az ösztrom kémiai módosításával olyan vegyületekhez juthatunk, amelyeknek nincs hormonhatása. A C-2 szénatom szubsztitúciója, a D gyűrű felnyitása vagy a C-13 szénatom inverziója az ösztrogén aktivitás elvesztéséhez vezet. Korábbi eredményekből tudjuk, hogy a szekoszteroid származékok és a 13α izomerek ideálisak további módosítások beépítésére és konjugátumok kialakítására.

Doktori munkám során ezen vegyületek hatásának illetve szelektivitásának növelését biokonjugátumok előállításával terveztük megvalósítani. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a már bizonyítottan antiproliferatív sajátságokkal rendelkező szteroidok szénhidrátokkal és nukleozidokkal történő kovalens összekapcsolása hogyan és milyen módon befolyásolja a daganatellenes hatás erősségét illetve szelektivitását.

Munkám célja monoszacharid- és nukleozid-tartalmú ösztromszármazék előállítása, amelyben a két részegység "klikk" reakcióval kapcsolódik össze. Monoszacharidok esetében az azidcsoport kialakítását a glikozidos és primer hidroxicsoporthokon, míg a nukleozidok esetében az 5'-hidroxicsoporthon terveztük. Az így előállított azidoszármazékokat réz(I)-katalizátort alkalmazva reagáltattuk a Szteroidkémiai Kutatócsoport által korábban előállított 3-as és 15-ös helyzetben propargil funkciós csoportot tartalmazó ösztromszármazékokkal (D-szekoszteroid, 13α és β -ösztrom).

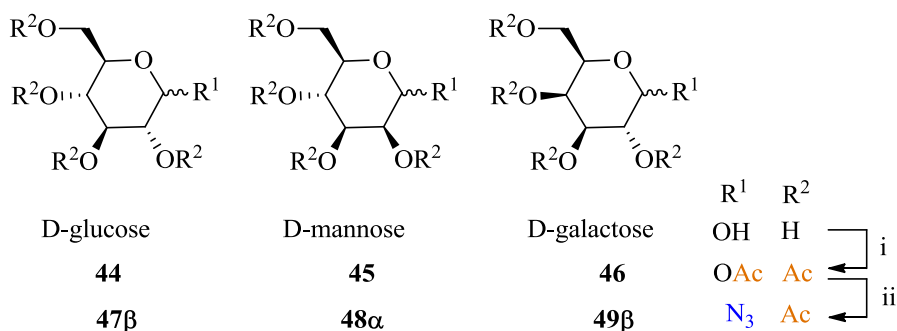
Terveztük továbbá együttműködés keretében az előállított vegyületek *in vitro* sejtostódásgátló vizsgálatát több tumoros sejtvonalon (HeLa, MCF-7 and A2780); valamint 17β -HSD1 enzimgátló hatását.

2. Alkalmazott módszerek

Minden oldószert desztilláltunk használat előtt. A szintézisekhez használt reagensek és oldószerek kereskedelmi forrásból származtak. Az olvadáspontokat Kofler-blokkon és Electrothermal IA8103 műszeren mértük, korrekció nélkül. A reakciók lefutását vékonyréteg-kromatográfiával követtük. Kieselgel-G (Merck Si 254 F), 0,25 mm vastagságú lapokat használtunk. A kromatogramokat 5% foszformolibdénsav 50% foszforsavas oldatával hívtuk elő. Az azidocsoport előhívása a következőképpen zajlott: a vékonyréteglapot 1 percig 10%-os trifenilfoszfán CH_2Cl_2 -os oldatába helyeztük 2 percre, majd ninhidrin-oldattal (0,5 g ninhidrin, 75 ml etanol, 25 ml víz, 5mM-os NaOH oldat) fújtuk le. Az UV aktív vegyületek esetében az R_f -értékeket 254 nm hullámhosszúságú UV-fényben észlelt foltok alapján állapítottuk meg. A reakciótermékek oszlopkromatográfiás elválasztása és tisztítása 40-63 mm szemcseméretű Kieselgel 60 (Merck) álló fázissal töltött oszlopon történt. Az NMR spektrumok felvétele Bruker DRX 500 készülékkel történt, szobahőmérsékleten. A tömegspektrumokat Finnigan MAT TSQ 7000 készüléken vettük fel elektrospray ionforrással.

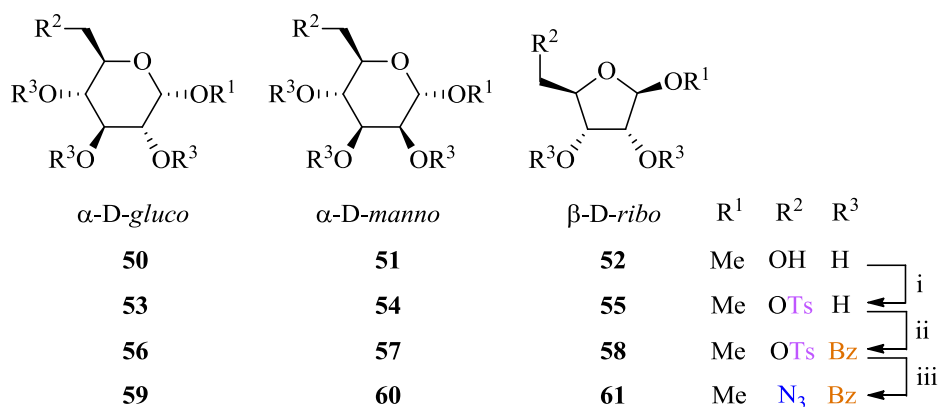
3. Az új tudományos eredmények összefoglalása*

3.1. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetilmonoszacharidok (**44–46**, 1. ábra) glikozidos hidroxicsoportját azidocsoportra cseréltük. Lewis sav katalizátorként ón-tetrakloridot, azidforrásként trimetilszilil-azidot alkalmazva kaptuk az 1-azido-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil monoszacharidokat (**47–49**). D-glükóz és a D-galaktóz esetében β -anomer, D-mannóz esetében α -anomer keletkezett 72–79% hozammal.



1. ábra: Glikozil-azidok előállítása (**47–49**). Reagensek: (i) Ac₂O, NaOAc; (ii) SnCl₄, Me₃SiN₃, CH₂Cl₂.

3.2. A 6- és az 5-azido-monoszacharidok előállítása érdekében a D-glükóz, a D-mannóz és a D-ribóz metilglikozidját (**50–52**, 2. ábra) szelektíven tozileztük piridinben a szekunder hidroxicsoportok védelme nélkül. A tozilcsoportot (**53–55**) szeretttük volna közvetlenül azidocsoportra cserélni, de valószínűleg oldhatósági problémák miatt a reakció egyáltalán nem játszódott le, ezért a szekunder hidroxicsoportokat benzoileztük (**56–58**) benzoi-kloriddal, piridines közegben. Ezen módszerrel mindhárom benzoil-védett monoszacharidon a tozil-azid csere már sikeresen lejátszódott nátrium-aziddal, lítium-bromid jelenlétében, DMF oldószerben.

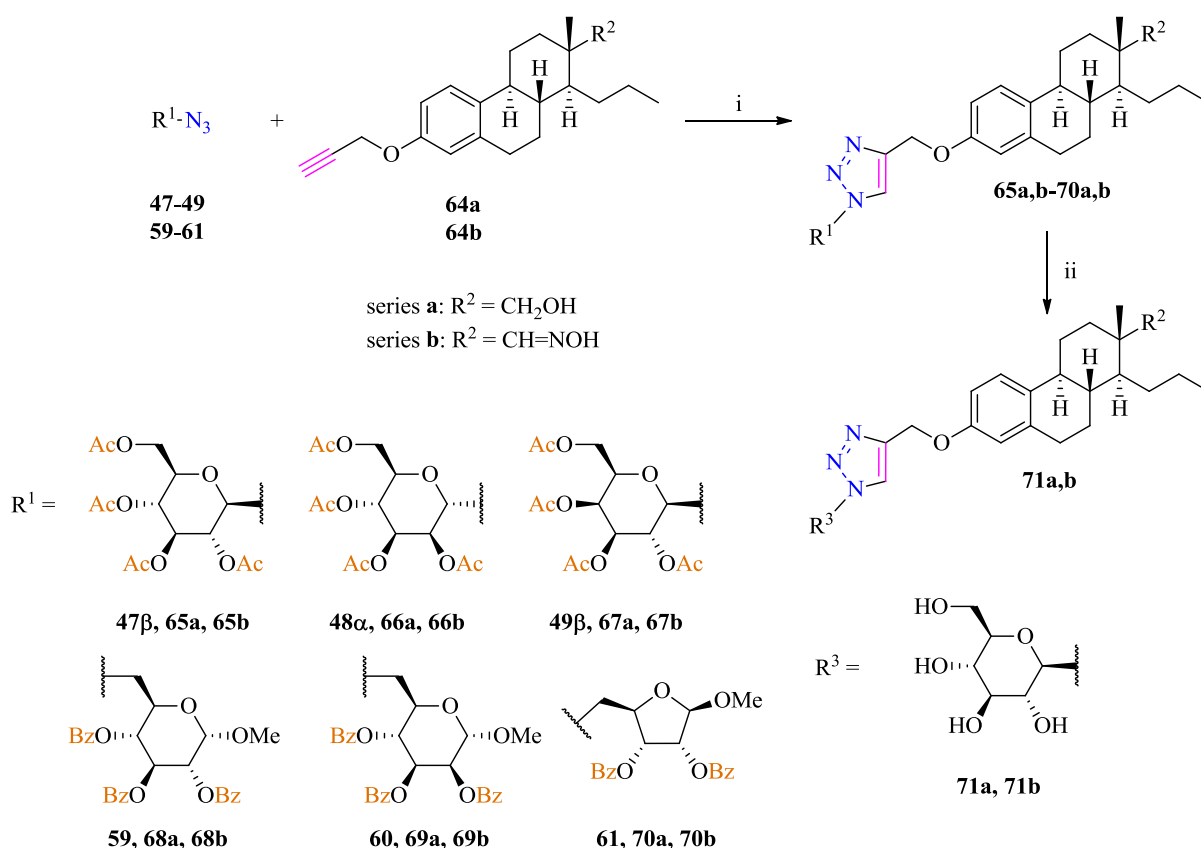


2. ábra: 6-Azido-6-dezoxi-D-hexopiranozok (**59, 60**) és 5-azido-5-dezoxi-D-ribofuranóz (**61**) előállítása. Reagensek: (i) TsCl, piridin; (ii) BzCl, piridin; (iii) NaN₃, LiBr, DMF.

* A vegyületek számozása megegyezik a disszertációban alkalmazottakkal.

3.3. Az azidocsoportot tartalmazó monoszacharidokat (**47–49** and **59–61**) alkincsoportot tartalmazó D-szekoalkohollal (**64a**) és D-szekooximmal (**64b**) reagáltattuk. Toluolban oldottuk az azidocukrot, hozzáadtunk réz(I)-jodidot és trifenilfoszfánt. Bázisként DIPEA-t alkalmaztunk és végül hozzáadtuk a szekoszteroid-alkint. A reakcióelegyet a reakció lejátszódásáig forraltuk (3. ábra).

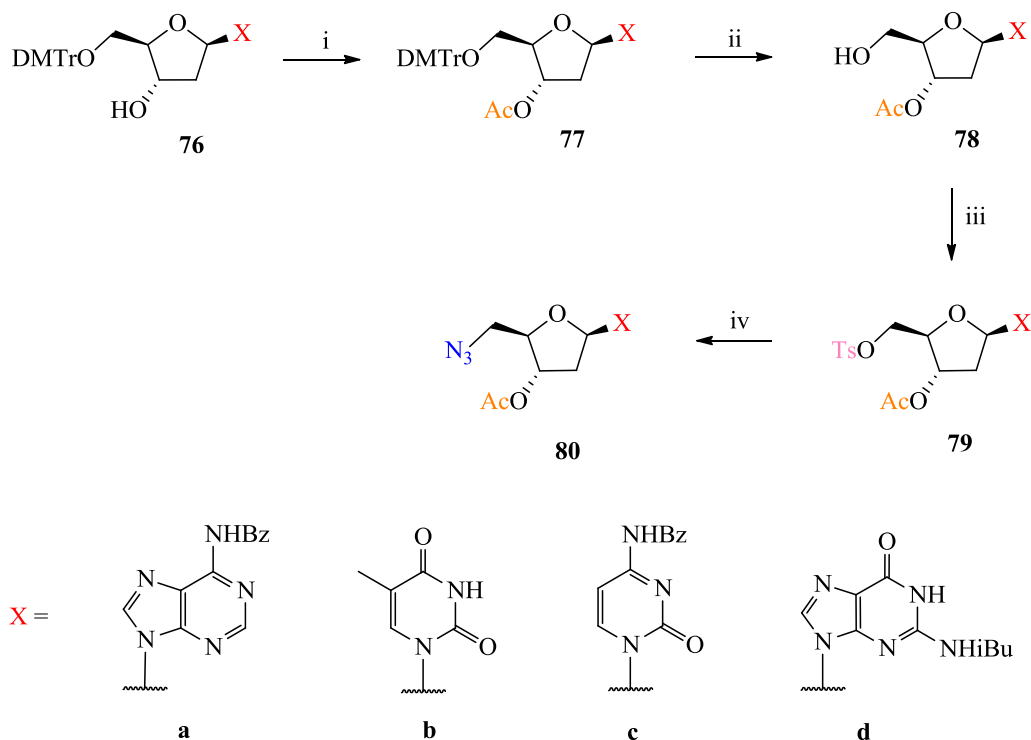
3.4. A legjobb biológiai hatást mutató két glükóztartalmú konjugátumot (**65a,b**) Zemplén módszerrel dezacetileztük (**71a,b**, 3. ábra).



3. ábra: Monoszacharid-D-szekoösztion konjugátumok (**65–71**) előállítása. Reagensek: (i) CuI, $(Ph)_3P$, DIPEA, toluol, reflux; (ii) NaOMe, MeOH.

3.5. Az 5'-azido-2',5'-didezoxinukleozidok (**80a–c**, 4. ábra) előállítása során először a tozil–azid cserét próbáltuk, de a reakciók nagyon alacsony hozammal játszódtak le, ezért a 3'-hidroxicsoprotot acetilcsoporttal védjük, mivel ez a védőcsoport kompatibilisnek tekinthető a szteroid–nukleozid konjugátumok védőcsoport-eltávolításánál használandó lúgos hidrolízissel. Kiindulási anyagként az 5'-O-DMTr-csoporttal védett nukleozidokat (**76a–d**) használtuk. A DMTr-csoport hasításához (**77a–d**) $BF_3 \cdot Et_2O$ -t használtunk 1,1,1,3,3,3-hexafluoroizopropanol–nitrometán oldatban. Az 5'-

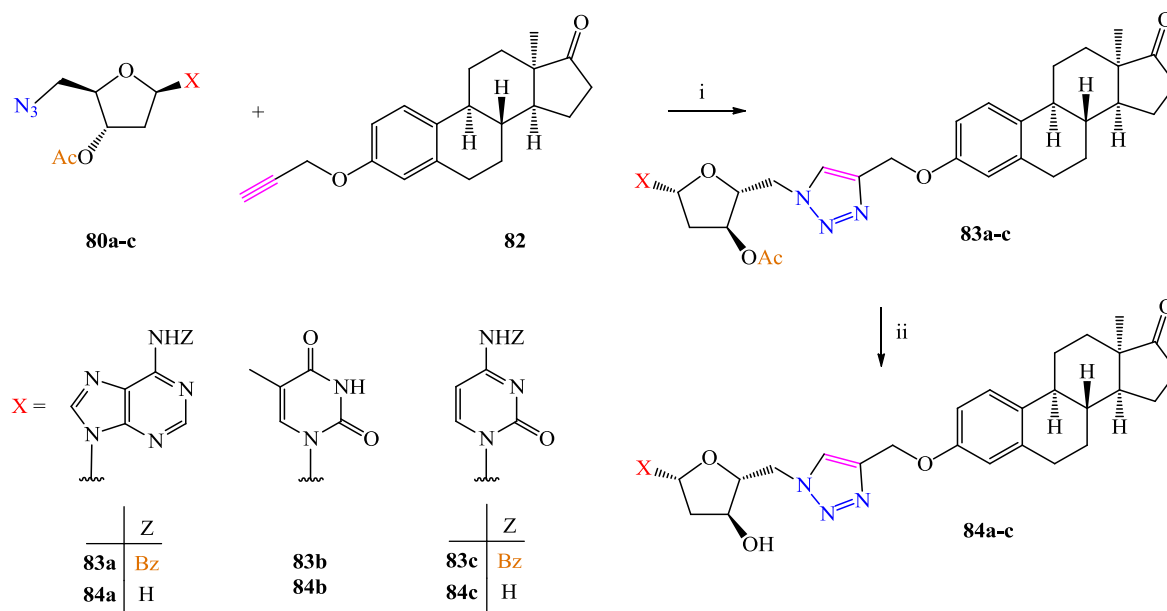
hidroxicsoportot (**78a–c**) szobahőmérsékleten piridinben tozileztük majd tozil–azid cserével kaptuk az 5'-azido-2',5'-didezoxinukleozidokat (**80a–c**).



4. ábra: 5'-Azido-2',5'-didezoxinukleozidok (**80a–c**) előállítása. Reagensek: (i) Ac_2O , piridin; (ii) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CF}_3$, CH_3NO_2 ; (iii) TsCl , piridin; (iv) NaN_3 , LiBr , DMF.

3.6. Az előállított 5'-azidonukleozidokat (**80a–c**) 3-O-propargil-13 α -ösztroonnal (**82**) réz(I)-katalizált alkin-azid "klikk" reakcióval kapcsoltuk össze (5. ábra). A "klikk" reakció oldószere az timidin és az adenzin esetén toluol volt, de a citidin származéknál tapasztalt oldhatósági problémák miatt ott vízmentes tetrahidrofuránt használtunk. Kezdetben az irodalomban alkalmazott módon réz(I)-jodid katalizátor mellett trifenilfoszfánt és diizopropil-etilamint is adtunk a reakcióelegyhez. Fontos szempont volt, hogy lehetőleg ne emeljük meg túlságosan a reakció során a hőmérsékletet, mert az a nukleozidrész bomlásával járhat, ezért 50 °C-on végeztük a "klikk" reakciókat és vékonyréteg-kromatográfiával követtük azok lejátszódását. Azt tapasztaltuk, hogy a reakciók 16 óra alatt is csak csekély mértékben mentek végbe (kevesebb, mint 30%), feltételeztük, hogy az acilezett nukleobázis képes komplexálni a rézionokat, ezért megnöveltük a katalizátor réz(I)-ionok mennyiségét 1,5 ekvivalensre, trifenilfoszfánt pedig nem adtunk a reakcióelegyhez. Ezután a reakciók már elfogadható sebességgel haladtak és elfogadható hozammal kaptuk a konjugátumokat (**83a–c**).

3.7. A nukleinsav-kémiaiában gyakran vizes ammoniaoldatot használnak a védőcsoportok eltávolítására, de a védett nukleozid-ösztrom konjugátumok nem oldódtak vizes közegben. Kipróbáltuk a Zemplén-féle módszert is, ahol 0,1 M-os nátrium-metilát metanolos oldatát használtuk, de csak a nukleozid cukorrészenek acetilcsoportja hasadt le. Végül 4 M-os metanolos ammóniaoldattal 50 °C-on 16 óra alatt sikerült a konjugátumok (**83a–c**) összes védőcsoportját eltávolítani (**84a–c**, 5. ábra).

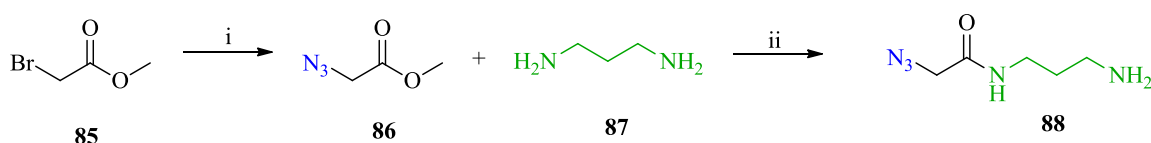


5. ábra: "Klikk" reakció a 3'-O-acetil-5'-azido-2',5'-didezoxinukleozidok (**80a–c**) és a 3-O-propargil-13α-ösztrom között (**82**). Reagens: (i) CuI, DIPEA, toluol vagy THF; (ii) NH₃/MeOH.

3.8. Az előállított konjugátumok (**65a,b–71a,b** and **83a–c** and **84a–c**) sejtsztódásra gyakorolt hatása három tumoros sejtvonalon lett tesztelve (HeLa-méhnyak, A2780-petefészek and MCF-7- emlő) *in vitro* az SZTE GYTK Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében. A monoszacharid konjugátumok esetében a **65b**, **66b** és **67b** konjugátumok bizonyultak a leghatásosabbnak, IC₅₀ értékük a 5.3–20.5 μM tartományba esik, a legpotensebbek az A2780 sejtvonalon voltak. A legjobb hatást mutató konjugátum (**65b**) védőcsoportjainak eltávolításával kapott vegyület (**71b**) csökkent antiproliferatív hatása a triazolgyűrűhöz kapcsolódó molekula nempoláris természetének fontosságát mutatja a bioaktivitás szempontjából. A D-szekooximból és a D-szekaoalkoholból képzett acetilezett konjugátumok eredményeinek összehasonlítása azt mutatja, hogy az oxim funkciós csoport jelenléte általában javítja a konjugátumok növekedésgátló tulajdonságait. Nukleozid konjugátumok esetében a védett citidin konjugátum (**83c**) volt a leghatásosabb, IC₅₀ értéke a 9.0–10.4 μM tartományba esett. A védőcsoportok eltávolításával kapott konjugátumok (**84a–c**) csökkent antiproliferatív hatást mutattak.

3.9. A nukleozid konjugátumok (**83a–c** és **84a–c**) 17 β -HSD1 enzimre gyakorolt *in vitro* hatása az SZTE ÁOK I. számú Belgyógyászati Klinikán lett tesztelve. Az eredmények azt mutatták, hogy a védetlen timidin konjugátumnak (**84b**) volt a legerősebb gátlása, IC₅₀ = 19 μ M értékkel. Ezen konjugátumok enzimgátló potenciáljának csökkenését valószínűleg a nagyobb nukleozid-triazolil-egység sztérikus hatása okozza a C-3 pozícióban.

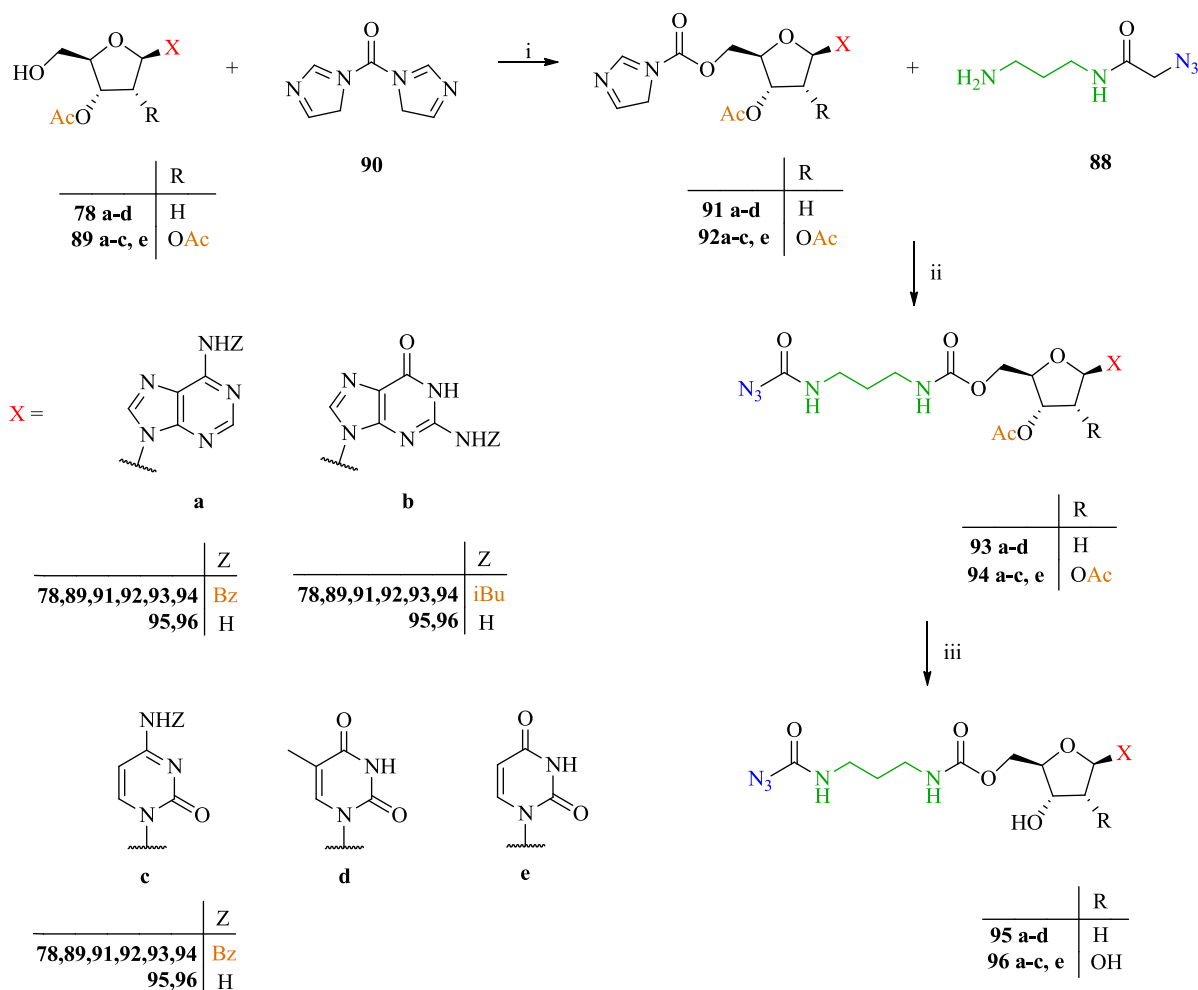
3.10. Azidtartalmú linkert állítottunk elő, hogy karbamátkötéssel nukleozidokhoz kapcsolhassuk. Metil-brómacetátot (**85**) azidáltuk, majd a metil-észtert (**86**) 1,3-diaminopropánnal (**87**) reagáltattuk. Mindkét reakció lépés gyors volt és extrakcióval könnyű volt tisztítani a terméket (**88**, 6. ábra).



6. ábra: Az *N*-(3-aminopropil)-2-azidoacetamid linker (**88**) előállítása. Reagensek: (i) NaN₃, DMF; (ii) 1,3-diaminopropán (**87**); MeOH.

3.11. A linker kapcsolási reakciója (7. ábra) a nukleozidokhoz egy köztiterméken keresztül játszódott le (**91a–d** és **92a–c,e**). Az 5'-hidroxicsoportot tartalmazó nukleozidokat (**78a–d** és **89a–c,e**) 1,1'-karbonildiimidazollal (**90**) reagáltattuk, majd a reakcióelegyhez adtuk az azidtartalmú linkert (**88**). A reakció egy éjszaka alatt lejátszódott. A reakciót a linkerrel ekvivalens mennyiségű nátrium-hidrogénszulfáttal állítottuk le, bepároltuk, extraháltuk és oszlopkromatográfiával tisztítottuk. Ezzel a módszerrel sikerült előállítani mind a nyolc természetes nukleozid azidoszármazékát (**93a–d** and **94a–c, e**) jó hozamokkal (76–86%).

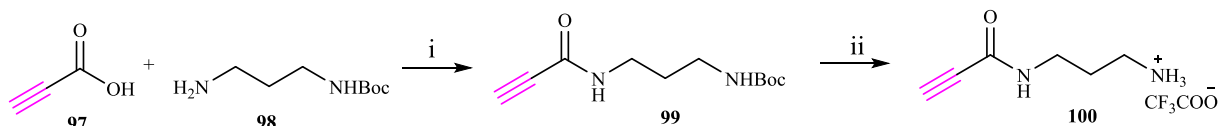
3.12. A védőcsoportok eltávolításához 4 M-os metanolos ammónioldatot használtunk. A reakció szobahőmérsékleten 16 óra alatt lejátszódott (7. ábra, **95a–d**, **96a–c,e**).



7. ábra: Az 5'-linker-tartalmú azidonukleozidok (**93a-d**, **94a-c,e** and **95a-d**, **96a-c,e**) előállítása.

Reagensok: (i) CDI, DMAP, DMF; (ii) azidamin linker (**88**); (iii) NH₃/MeOH.

3.13. Propargilsavból (**97**, 8. ábra) kiindulva kétlépéses szintézissel olyan alkilamido linkert (**100**) állítottunk elő, melynek végén alkin funkciós csoport található. A kívánt *N*-(3-aminopropil)-2-propionamid (**100**) linker trifluorecetsavas sóját 1,5 ekvivalens DIPEA hozzáadásával szabadítottuk fel sójából, miután a linker sót közvetlenül a reakcióelegyhez adtuk.

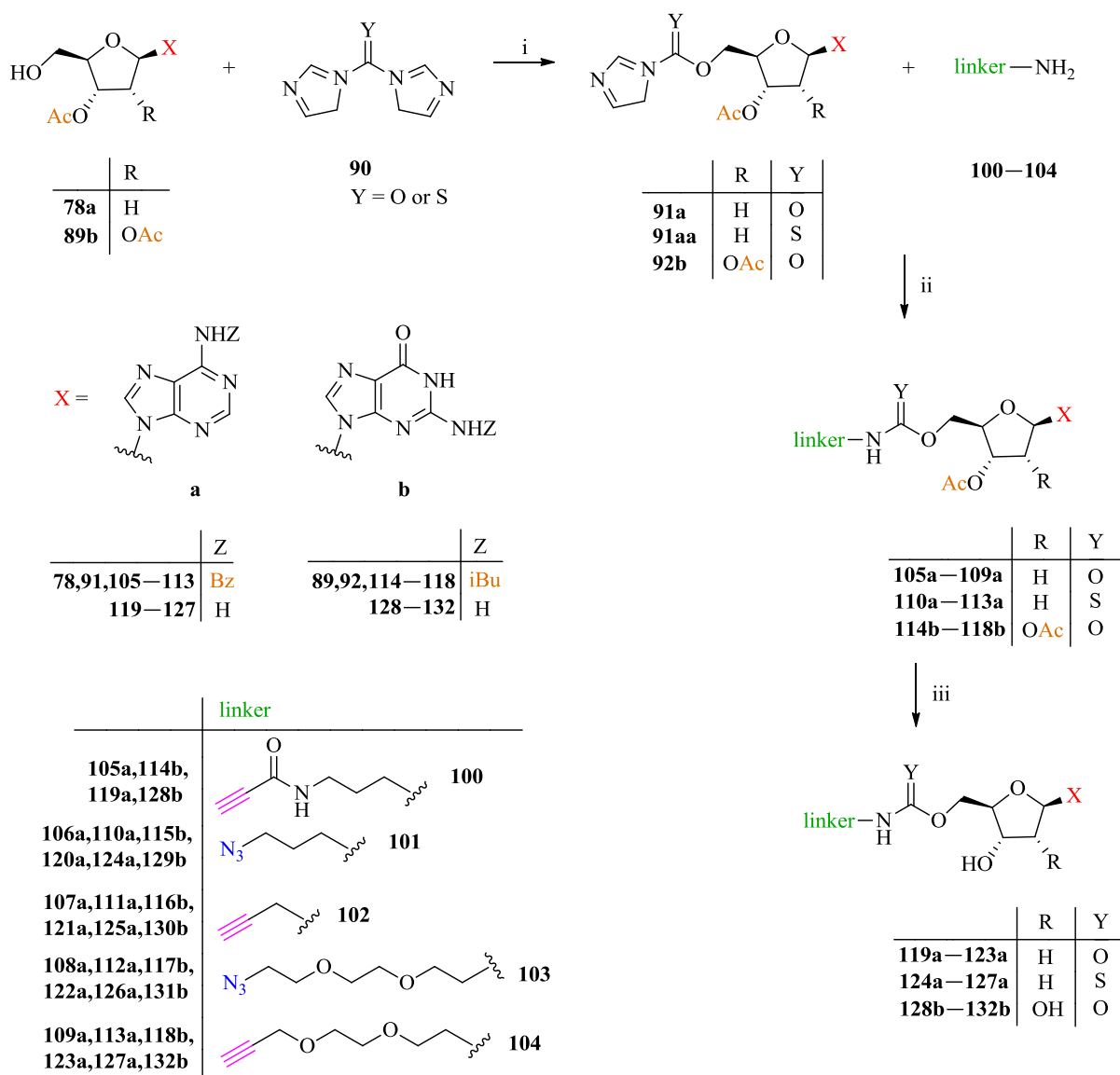


8. ábra: Az *N*-(3-aminopropil)-2-propionamid (**100**) linker előállítása. Reagensok: (i) DCC, CH₂Cl₂; (ii) CF₃COOH, CH₂Cl₂.

3.14. További nukleozid építőelemeket állítottunk elő a fentiek szerint, amelyek alkalmasak lehetnek nukleozid-tartalmú biokonjugátumok előállítására. A két legérzékenyebb purin bázisú nukleozid (2'-dezoxiadenozin **78a** és guanozin **89a**, 9. ábra) védett formáját választottuk

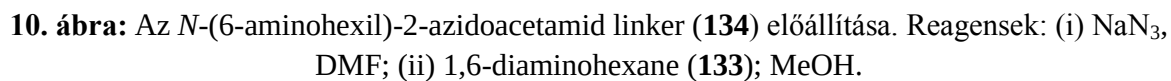
kiindulási anyagokként. A karbamát/tiokarbamát nitrogénatomján keresztül különböző linkereket (**100–104**) kapcsoltunk az 5'-hidroxicsoportha: alkilamido-alkil, alkilén és oligoetilénglikol. Ezeket a linkereket a fentiekben ismertetett módon a nukleozidokhoz kapcsoltuk (**105a–113a**, **114b–118b**).

3.15. A védőcsoportok eltávolítását szobahőmérsékleten 4 M-os metanolos ammóniaoldattal végeztük (**119a–127a**, **128b–132b**, 9. ábra).



9. ábra: 5'-Linkert tartalmazó 2'-dezoxiadenozin- és guanozinszármazékok előállítása (**105a–113a**, **114b–118b** and **119a–127a**, **128b–132b**). Reagensek: (i) CDI vagy tiokarbonil-diimidazol (**90**), DMAP, DMF; (ii) linker (**100–104**); (iii) NH₃/MeOH.

3.16. Az *N*-(6-aminohexil)-2-azidoacetamid linkert (**134**, 10. ábra) állítottuk elő. A metil-brómacetátot (**85**) azidáltuk, majd a metil-észtert (**86**) 1,6-diaminohexánnal feleslegben reagáltattuk. Ezt a linkert adenzinhez (**89a**) kapcsoltuk, a 7. ábrán látottakkal megegyezően.



Reaction scheme for the synthesis of compounds 137 and 138:

Starting material **135** (a steroid derivative) reacts with compound **94a** (a linker with a terminal azide group) to form intermediate **137** (a steroid derivative with a terminal azide group).

Intermediate **137** is then converted to compound **138** (a steroid derivative with a terminal amine group) via reaction **ii**.

Reaction conditions:

i (Reaction of **135** and **94a**):

	X
94a	1
136	4

ii (Reaction of **137** and **138**):

	X
137	1
138	4

Reaction conditions for **ii** are: 1. 10% Pd/C, 2. 10% NaOH, 3. 10% HCl, 4. 10% NaOH, 5. 10% HCl, 6. 10% NaOH, 7. 10% HCl, 8. 10% NaOH, 9. 10% HCl, 10. 10% NaOH, 11. 10% HCl, 12. 10% NaOH, 13. 10% HCl, 14. 10% NaOH, 15. 10% HCl, 16. 10% NaOH, 17. 10% HCl, 18. 10% NaOH, 19. 10% HCl, 20. 10% NaOH, 21. 10% HCl, 22. 10% NaOH, 23. 10% HCl, 24. 10% NaOH, 25. 10% HCl, 26. 10% NaOH, 27. 10% HCl, 28. 10% NaOH, 29. 10% HCl, 30. 10% NaOH, 31. 10% HCl, 32. 10% NaOH, 33. 10% HCl, 34. 10% NaOH, 35. 10% HCl, 36. 10% NaOH, 37. 10% HCl, 38. 10% NaOH, 39. 10% HCl, 40. 10% NaOH, 41. 10% HCl, 42. 10% NaOH, 43. 10% HCl, 44. 10% NaOH, 45. 10% HCl, 46. 10% NaOH, 47. 10% HCl, 48. 10% NaOH, 49. 10% HCl, 50. 10% NaOH, 51. 10% HCl, 52. 10% NaOH, 53. 10% HCl, 54. 10% NaOH, 55. 10% HCl, 56. 10% NaOH, 57. 10% HCl, 58. 10% NaOH, 59. 10% HCl, 60. 10% NaOH, 61. 10% HCl, 62. 10% NaOH, 63. 10% HCl, 64. 10% NaOH, 65. 10% HCl, 66. 10% NaOH, 67. 10% HCl, 68. 10% NaOH, 69. 10% HCl, 70. 10% NaOH, 71. 10% HCl, 72. 10% NaOH, 73. 10% HCl, 74. 10% NaOH, 75. 10% HCl, 76. 10% NaOH, 77. 10% HCl, 78. 10% NaOH, 79. 10% HCl, 80. 10% NaOH, 81. 10% HCl, 82. 10% NaOH, 83. 10% HCl, 84. 10% NaOH, 85. 10% HCl, 86. 10% NaOH, 87. 10% HCl, 88. 10% NaOH, 89. 10% HCl, 90. 10% NaOH, 91. 10% HCl, 92. 10% NaOH, 93. 10% HCl, 94. 10% NaOH, 95. 10% HCl, 96. 10% NaOH, 97. 10% HCl, 98. 10% NaOH, 99. 10% HCl, 100. 10% NaOH, 101. 10% HCl, 102. 10% NaOH, 103. 10% HCl, 104. 10% NaOH, 105. 10% HCl, 106. 10% NaOH, 107. 10% HCl, 108. 10% NaOH, 109. 10% HCl, 110. 10% NaOH, 111. 10% HCl, 112. 10% NaOH, 113. 10% HCl, 114. 10% NaOH, 115. 10% HCl, 116. 10% NaOH, 117. 10% HCl, 118. 10% NaOH, 119. 10% HCl, 120. 10% NaOH, 121. 10% HCl, 122. 10% NaOH, 123. 10% HCl, 124. 10% NaOH, 125. 10% HCl, 126. 10% NaOH, 127. 10% HCl, 128. 10% NaOH, 129. 10% HCl, 130. 10% NaOH, 131. 10% HCl, 132. 10% NaOH, 133. 10% HCl, 134. 10% NaOH, 135. 10% HCl, 136. 10% NaOH, 137. 10% HCl, 138. 10% NaOH, 139. 10% HCl, 140. 10% NaOH, 141. 10% HCl, 142. 10% NaOH, 143. 10% HCl, 144. 10% NaOH, 145. 10% HCl, 146. 10% NaOH, 147. 10% HCl, 148. 10% NaOH, 149. 10% HCl, 150. 10% NaOH, 151. 10% HCl, 152. 10% NaOH, 153. 10% HCl, 154. 10% NaOH, 155. 10% HCl, 156. 10% NaOH, 157. 10% HCl, 158. 10% NaOH, 159. 10% HCl, 160. 10% NaOH, 161. 10% HCl, 162. 10% NaOH, 163. 10% HCl, 164. 10% NaOH, 165. 10% HCl, 166. 10% NaOH, 167. 10% HCl, 168. 10% NaOH, 169. 10% HCl, 170. 10% NaOH, 171. 10% HCl, 172. 10% NaOH, 173. 10% HCl, 174. 10% NaOH, 175. 10% HCl, 176. 10% NaOH, 177. 10% HCl, 178. 10% NaOH, 179. 10% HCl, 180. 10% NaOH, 181. 10% HCl, 182. 10% NaOH, 183. 10% HCl, 184. 10% NaOH, 185. 10% HCl, 186. 10% NaOH, 187. 10% HCl, 188. 10% NaOH, 189. 10% HCl, 190. 10% NaOH, 191. 10% HCl, 192. 10% NaOH, 193. 10% HCl, 194. 10% NaOH, 195. 10% HCl, 196. 10% NaOH, 197. 10% HCl, 198. 10% NaOH, 199. 10% HCl, 200. 10% NaOH, 201. 10% HCl, 202. 10% NaOH, 203. 10% HCl, 204. 10% NaOH, 205. 10% HCl, 206. 10% NaOH, 207. 10% HCl, 208. 10% NaOH, 209. 10% HCl, 210. 10% NaOH, 211. 10% HCl, 212. 10% NaOH, 213. 10% HCl, 214. 10% NaOH, 215. 10% HCl, 216. 10% NaOH, 217. 10% HCl, 218. 10% NaOH, 219. 10% HCl, 220. 10% NaOH, 221. 10% HCl, 222. 10% NaOH, 223. 10% HCl, 224. 10% NaOH, 225. 10% HCl, 226. 10% NaOH, 227. 10% HCl, 228. 10% NaOH, 229. 10% HCl, 230. 10% NaOH, 231. 10% HCl, 232. 10% NaOH, 233. 10% HCl, 234. 10% NaOH, 235. 10% HCl, 236. 10% NaOH, 237. 10% HCl, 238. 10% NaOH, 239. 10% HCl, 240. 10% NaOH, 241. 10% HCl, 242. 10% NaOH, 243. 10% HCl, 244. 10% NaOH, 245. 10% HCl, 246. 10% NaOH, 247. 10% HCl, 248. 10% NaOH, 249. 10% HCl, 250. 10% NaOH, 251. 10% HCl, 252. 10% NaOH, 253. 10% HCl, 254. 10% NaOH, 255. 10% HCl, 256. 10% NaOH, 257. 10% HCl, 258. 10% NaOH, 259. 10% HCl, 260. 10% NaOH, 261. 10% HCl, 262. 10% NaOH, 263. 10% HCl, 264. 10% NaOH, 265. 10% HCl, 266. 10% NaOH, 267. 10% HCl, 268. 10% NaOH, 269. 10% HCl, 270. 10% NaOH, 271. 10% HCl, 272. 10% NaOH, 273. 10% HCl, 274. 10% NaOH, 275. 10% HCl, 276. 10% NaOH, 277. 10% HCl, 278. 10% NaOH, 279. 10% HCl, 280. 10% NaOH, 281. 10% HCl, 282. 10% NaOH, 283. 10% HCl, 284. 10% NaOH, 285. 10% HCl, 286. 10% NaOH, 287. 10% HCl, 288. 10% NaOH, 289. 10% HCl, 290. 10% NaOH, 291. 10% HCl, 292. 10% NaOH, 293. 10% HCl, 294. 10% NaOH, 295. 10% HCl, 296. 10% NaOH, 297. 10% HCl, 298. 10% NaOH, 299. 10% HCl, 300. 10% NaOH, 301. 10% HCl, 302. 10% NaOH, 303. 10% HCl, 304. 10% NaOH, 305. 10% HCl, 306. 10% NaOH, 307. 10% HCl, 308. 10% NaOH, 309. 10% HCl, 310. 10% NaOH, 311. 10% HCl, 312. 10% NaOH, 313. 10% HCl, 314. 10% NaOH, 315. 10% HCl, 316. 10% NaOH, 317. 10% HCl, 318. 10% NaOH, 319. 10% HCl, 320. 10% NaOH,

10

3.18. A védőcsoportok eltávolításához (**137**, **138**) 4 M-os metanos ammóniaoldatot használtunk. A reakció szobahőmérsékleten 16 óra alatt lejátszódott (7. ábra, **139**, **140**).

3.19. Doktori munkám során 81, az irodalomban nem ismert anyagot állítottam elő.

4. A disszertáció alapját képező publikációk:

1. **Bodnár B.**, Mernyák E., Wölfling J., Schneider G., Herman B. E., Szécsi M., Sinka I., Zupkó I., Kupihár Z. and Kovács L. Synthesis and biological evaluation of triazolyl 13 α -estrone–nucleoside bioconjugates, *Molecules*, **2016**, 21, 1212–1228. **IF: 2.861**
2. **Bodnár B.**, Mernyák E., Szabó J., Wölfling J., Schneider G., Zupkó I., Kupihár Z. and Kovács L. Synthesis and *in vitro* investigation of potential antiproliferative monosaccharide–D-secoestrone bioconjugates, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2017**, 27, 1938–1942. **IF: 2.454**
3. Kupihár Z., **Bodnár B.**, Kovács L. 5'-Linkerrel módosított nukleozidok, magyar szabadalmi bejelentés, P1700542, **2017.12.19.**
4. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z. An efficient way to synthesize azide-containing nucleosides for click conjugations (előkészületben)
5. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z. Synthesis of versatile 5'-linker containing purine nucleosides as clickable building blocks for efficient synthesis of bisubstrate inhibitors (előkészületben)

5. Egyéb publikációk

1. Mernyák E., Fiser G., Szabó J., **Bodnár B.**, Schneider G., Kovács L., Ocsovszki I., Zupkó I., Wölfling J. Synthesis and *in vitro* antiproliferative evaluation of D-secooxime derivatives of 13 β - and 13 α -estrone, *Steroids*, **2014**, 89, 47–55. **IF: 2.639**
2. Paragi G., **Bodnár B.**, Szolomájer J., Batta G., Bényei A., Kele Z., Kupihár Z., Fonseca Guerra C., Bickelhaupt M. F., Ciesielski A., Haar S., Samori P., Masiero S., Spada P. G., Kovács L. *Szupramolekuláris rendszerek purinokból, Értékteremtés és értékközvetítés: Válogatás a Bolyai Ösztöndíj 15 éves évfordulója alkalmából tartott ünnepélyes tudományos ülés előadásaiból*, **2015**, 179–185.

6. A disszertáció alapját képező előadások és poszterek

1. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z., *Synthesis of 5'-azidonucleosides as building blocks for the preparation of biologically active bioconjugates*, 19th International Conference on Organic Chemistry, **2017**. augusztus 28-29. Párizs, Franciaország

2. **Bodnár B.**, Kupihár Z., *Synthesis of 5'-azidonucleosides*, MTA Szénhidrát, nukleinsav és antibiotikum munkabizottsági ülés, **2017.** május 31.-június 2. Mátraháza
3. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z., *5'-Azidonukleozidok előállítása*, XX. Tavaszi Szél Konferencia, **2017.** március 31-április 2. Miskolc
4. **Bodnár B.**, Rakk D., Kovács L., Kupihár Z., *5'-Azidonukleozidok előállítása*, XXII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, **2016.** november 3.-november 6. Temesvár, Románia
5. **Bodnár B.**, Mernyák E., Wölfling J., Zupkó I., Kupihár Z., *Synthesis of nucleoside–estrone bioconjugates applying copper catalyzed alkyne–azide click reaction*, 8th Central European Conference "Chemistry towards Biology", **2016.** augusztus 28-szeptember 1. Brno, Csehország
6. Tétényi E., **Bodnár B.**, Mernyák E., Kupihár Z., *Azido-nukleozidok előállítása és kapcsolása szteroidokhoz réz katalizált alkin-azid klikk reakcióval*, XXXVIII. Kémiai Előadói Napok, **2015.** október 26-28. Szeged
7. Szabó J., **Bodnár B.**, Wölfling J., Schneider G., Zupkó I., Mernyák E., *Preparation of novel cytostatic D-secoestrone conjugates*, 20th International Conference on Organic Chemistry, **2014.** június 29-július 4. Budapest

7. A disszertáció alapját nem képező előadások és posztterek

1. Ferenc G., Gombos M., Rakk D., **Bodnár B.**, Kupihár Z., Györgyey J., Dudits D., *Oligonukleotidok lipid konjugátumainak felvetetési próbái növényi sejtekkel*, XXII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, **2016.** november 3.-november 6. Temesvár, Románia
2. Rakk D., **Bodnár B.**, Kincses F., Ferenc G., Nyerges Á., Mészáros M., Veszélka Sz., Deli M., Dudits D., Kovács L., Kupihár Z., *Lipid derivatives of oligonucleotides – preliminary results*, EuroTides Conference in Berlin, **2015.** november 16-18. Berlin, Németország
3. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z., *Towards the synthesis of short, double stranded cyclic oligonucleotides*, MTA Szénhidrát, nukleinsav és antibiotikum munkabizottsági ülés, **2015.** május 27-29. Mátraháza
4. Jozilan H., Horváth P., Kósa J. P., Lakatos P., Németh D., Wölfling J., Kovács D., **Bodnár B.**, Mátyus P., Horváth E., Kovalszky I., Szalay F., *Increased anti-tumor effect of vitamin D after CYP24A1 inhibition on HCC cell lines*, 50th Annual Meeting of The European Association for the Study of the Liver, **2015.** április 22-26. Bécs, Ausztria

5. **Bodnár B.**, Kovács L., Kupihár Z., *Synthesis of short circular DNAs for biological applications*, MTA Szénhidrát, nukleinsav és antibiotikum munkabizottsági ülés, **2014.** május 21-23. Mátraháza
6. **Bodnár B.**, Kupihár Z., Gyurcsik B., *Kémiailag módosított nukleinsav próbák szintézise fehérje-nukleinsav kölcsönhatás vizsgálatokhoz*, XXXVI. Kémiai Előadói Napok, **2013.** október 28-30. Szeged
7. **Bodnár B.**, Kupihár Z., Kovács L., Ferenc G., *Synthesis of short, cyclic double-stranded oligonucleotides for biological applications*, Symposium on Biomolecular Synthesis and Nanotechnology, **2013.** június 3-4. Odense, Dánia
8. **Bodnár B.**, Szolomájer J., Paragi G., Kupihár Z., Kele Z., Ciesielski A., Haar S., Samori P., Masiero S., Spada P. G., Fonseca Guerra C., Bickelhaupt M. F., Kovács L., *3-Alkyl- and 3-glycosylxanthines: syntheses and behavior in gas and liquid states and at a solid-liquid interface*, MTA Szénhidrát, nukleinsav és antibiotikum munkabizottsági ülés, **2013.** május 22-24. Mátrafüred