



Mernyák Erzsébet – Jójárt Rebeka

■ SZTE TTIK Szerves Kémiai Tanszék

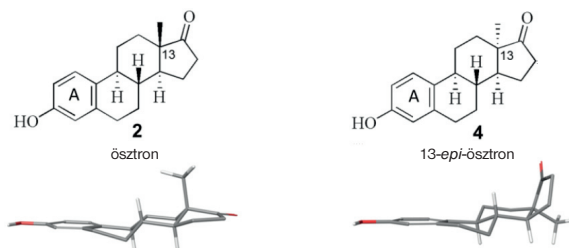
Daganatellenes ösztronszármazékok előállítása

Napjaink gyógyszerkutatásának egyik legnagyobb kihívása a tumoros megbetegedések kezelésére alkalmas gyógyszerhatóanyagok kifejlesztése. Számos készítmény van terápiás használatban, ezek túlnyomó része azonban olyan mellékhatásokkal rendelkezik, amelyek jelentősen korlátozzák az alkalmazhatóságukat. A kutatók már évtizedek óta fáradoznak a daganatellenes szerek szelektivitásának növelésén, de áttörő megoldás még nem született. A nők körében előforduló hormonfüggő tumorok világszerte számos áldozatot követelnek, ezért különösen fontos lenne a betegség hatékony gyógyíthatósága. Az ösztrogénfüggő tumorok kezelésére alkalmasak lehetnek azok a hatóanyagok, amelyek az ösztrogének szervezetben való képződését gátolják, ugyanis a túlzott ösztrogéntermelés a betegség előrehaladását idézi elő. A gyógyszertervezéshez segítséget nyújtanak azok a szakirodalmi adatok, amelyek pontosan ismertetik azokat az útvonalakat, amelyek során a szervezetben kialakulnak az ösztrogénhormonok (ösztrom (2) és ösztradiol (3), **1. ábra**). [2] Az ösztrom egyik származékának (ösztrom-szulfát, 1) sejtbe való bejutását a szerves anion-transzporter fehérjecsald (OATP) bizonyos tagjai segítik. A szulfátból ezután felszabadul az előhormon (ösztrom, 2), amely egy utolsó redukciós lépésben a hormonálisan aktív ösztradiollá (3) alakul. Ez utóbbi két lépés lejátszódását a megfelelő enzimek (STS és 17 β -HSD1) katalizálják. A három lépés bármelyike vagy több lépés azonos hatóanyaggal való gátlása hatékony tumorelleses stratégiát jelenthet.

Kutatásunkat a fentiekből kiindulva terveztük meg. Az OATP transzporter-fehérje és az említett enzimek szubsztrátumaként szerepel az ösztrom (2) vagy annak származéka, ezért szubsztrát-alapú gátlószerek (inhibitorok) kifejlesztésében gondolkodtunk. Kiindulási szteroidként egy olyan „alapvegyületet” választottunk, amely a természetes ösztrom (2) közvetlen, szintetikus, epimer-származéka (**4**, **2. ábra**). A két sztereoizomer (2 és 4) az egyik gyűrűanellációs szénatom (C-13) konfigurációjában különbözik, amely eltérés az egész gyűrűrendszer térszerkezetének megváltozását eredményezi, végső soron a biológiai hatás módosulását. [3] A természetes vegyülettel (2) ellentétben a 13-epimer (4) nem viselkedik ösztrogénként, így hormonálisan inaktív lévén lehetőséget nyújt szelektíven ható tumorelleses szerek kifejlesztéséhez.

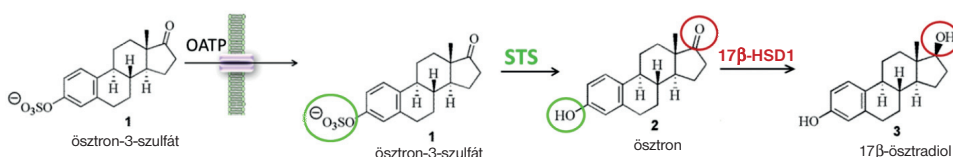
Kutatásunk kezdetén a szakirodalomban nem voltak ismertek 13-*epi*-ösztrom-alapú OATP-, STS- és/vagy 17 β -HSD1-gátlók. A természetes ösztromban is csupán STS- vagy 17 β -HSD1-gátlókról számoltak be, de ezek többsége, ösztrogén hatása miatt, nem volt alkalmas klinikai kipróbálásra. A szakirodalom tanúsága szerint az A gyűrű 2-es vagy 4-es helyzetben való módosítása hatékony STS- vagy 17 β -HSD1-inhibitorokhoz vezethet, azonban az OATP fehérjecsaldra vonatkozóan egyáltalán nem találtunk ösztrom-alapú gátlót. Mindezek alapján több kérdés is felvetődött. Vajon sikerül-e a 13-*epi*-ösztrom (4) 2-es és/vagy 4-es helyzetben való módosításával a célfehérjékhez jól kötődő származékokat képeznünk, vagy a megváltozott gyűrűrendszer kizárja az új típusú szteroidok kötődését? A megvalósítani kívánt kémiai reakciók úgy játszódnak-e le a 13-epimeren (4), mint a természetes ösztromon (2)? Hasonló biológiai aktivitást mutatnak-e majd a 13-epimer (4) és a természetes ösztrom (2) analóg módon átalakított származékai?

Kísérleti munkánkat a 13-*epi*-ösztromból (4) kiindulva az A gyűrű szubsztituálásával kezdtük. Annak érdekében, hogy minél



2. ábra. A természetes ösztrom (2) és 13-epimerének (4) szerkezete

több és pontosabb információt nyerjünk az új vegyületek OATP STS és/vagy 17 β -HSD1 fehérjékhez mutatott affinitásáról, lehetőségeinkhez mérten célzottan változtattuk a 2- és 4-ligandumok méretét és polaritását. Az aromás vegyületek körében szokványos elektrofil halogénezési reakciókkal kezdtük, majd C-C, C-N vagy C-P kötések kialakításán keresztül kívántuk átalakítani halogénezett vegyületeinket. A kapcsolások megvalósításához az utóbbi évtizedekben kifejlesztett palládiumkatalizált eljárások al-

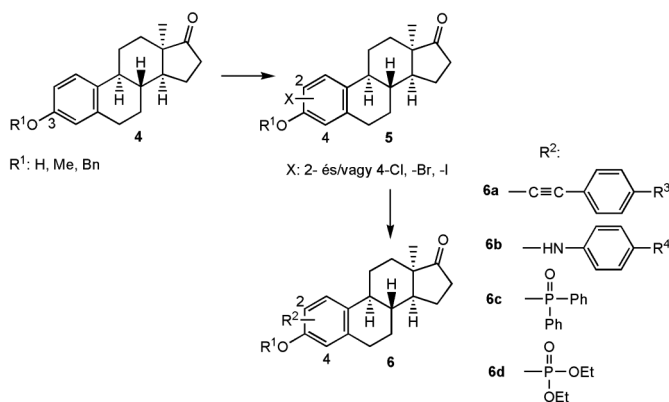


1. ábra. A 17 β -ösztradiol (3) bioszintézise



kalmazására volt szükség. Ezek megjelenésének köszönhetően ma már olyan reakciók is lejátszathatók, amelyek korábban egyáltalán nem, vagy csak igen szélsőséges körülmények között, alacsony hozammal játszódtak le. A korábban kis molekulákra (általában egy aromás gyűrűt tartalmazó) kidolgozott eljárások azonban a körülmények változtatása nélkül nem voltak alkalmazhatók az általunk választott nagyobb, négygyűrűs szteránváz alapvegyületre. Ez nem okozott meglepetést számunkra, hiszen a 13-*epi*-ösztion (4) aromás gyűrűjének (A gyűrű) fenoljellege éppen a szokványos elektrofil típusú átalakulások végrehajtásának kedvez, nem pedig a nukleofil jellegű csoportok beépítésének. A B gyűrű jelenléte továbbá térbeli gátlást eredményezhet a nagyobb térkitöltésű szubsztituensekkel való reakciónál. Mindezek ellenére belekezdünk a kapcsolási eljárások kidolgozásába. Abban bízunk, hogy sikerül olyan módszereket fejlesztenünk, amelyek a fenolos hidroxicsoport védeése nélkül, jó hozammal, kemoszelektíven szolgáltatják a kívánt célvegyületeket. A reakcióidők csökkentése és a nagy hatékonyság érdekében a kapcsolási reakciókat mikrohullámú reaktorban terveztük megvalósítani.

A halogénezéseket háromféle halogén (Cl, Br, I) *N*-haloszukcinimidekkel való beépítésével valósítottuk meg a 2-, a 4- és/vagy a 2,4-helyzetbe (3. ábra). [4] A halogén minőségén kívül a kiindulási szteroid 3-as helyzetű oxigéntartalmú funkciós csoportját



3. ábra. A 13-*epi*-ösztion (4) A gyűrűjének 2-es és/vagy 4-es helyzetben való módosításai

(OH, OMe, OBn) is változtattuk. Az új vegyületek OATP2B1 fehérjéhez mutatott affinitásának vizsgálatát Laczka Csilla és Rigó Réka végezték az MTA TTIK Enzimológiai Intézetében. Az STS és a 17 β -HSD1 enzimekkel kapcsolatos mérések az SZTE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinikájának Endokrinológiai laboratóriumában történtek Szécsi Mihály irányításával. Már az első vegyületcsalád (halogénszármazékok, 5) is rendkívül értékesnek mutatkozott, ugyanis mindhárom vizsgált célfehérjéhez (OATP2B1, STS, 17 β -HSD1) találtunk rendkívül hatékony gátlókat, esetenként kettős jelleggel. A 2,4-bisz-vegyületek ilyen biológiai viselkedése a szakirodalomban még a természetes ösztionsorban sem volt ismert. Ezen eredmények alapján folytattunk a kutatást, C–C kapcsolási reakciók végrehajtásával. Sikerült olyan mikrohullámú Sonogashira-eljárásokat kidolgoznunk, amelyek rövid reakcióidővel, hatékonyan szolgáltatják a kívánt célvegyületeket. [5] A 2-fenilalkinil-származékok (6a) szelektíven a 17 β -HSD1 enzimet gátolták. A C–N kapcsolási reakciók megfelelő körülményeinek kidolgozása igényelte a leghosszabb kutatást. [6] Arra a következtetésre jutottunk, hogy az A gyűrű elektrofil szubsztitúcióban aktivált jel-

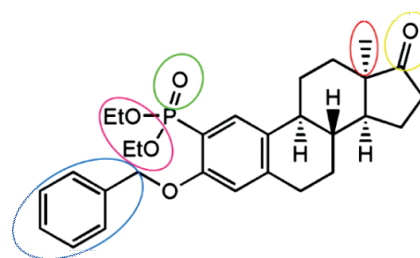
lege miatt az alkalmazott bázis minősége a döntő tényező, de a palládium-prekatalizátor és a ligandum is nagymértékben befolyásolja a hozamot. A sikeres C–C és C–N kapcsolások megvalósítását követően a C–P kötés kialakítása jelentette az új kihívást. A szakirodalomban mindeddig nem volt ismeretes az ösztionváz 2-es vagy 4-es helyzetben foszforral való módosítása. A BME Foszforkémiai Kutatócsoportjában Keglevich György professzorral együttműködve két különböző polaritású és méretű foszforvegyületet (diethyl-foszfónát és difenilfoszfin-oxid) választottunk átalakításaink reagenseként. Mikrohullámú, palládiumkatalizált eljárással, pár perces reakcióidőkkel, esetenként oldószermentesen is sikerült a kívánt céltermékeket (6c, 6d) előállítanunk. [7] A Hirao-reakciók során kapott foszforvegyületek (6c, 6d) biológiai vizsgálata rendkívül ígéretes eredményeket szolgáltatott. Két vizsgált célfehérjén (OATP2B1, 17 β -HSD1) több olyan gátlót is azonosítottunk, amelyek hatása összemérhető vagy csupán néhányszorosa a szakirodalomban ismert legjobb gátlókéval. A fenolos hidroxicsoport tartalmazó foszfor-származékok néhány képviselője kettős inhibitornak bizonyult. Különösen értékes az a szerkezet-hatás összefüggés, amely szerint nemcsak a fenolok, hanem az apolárisabb metil- vagy benziléterek is hatékony gátlók, hiszen az OATP2B1 fehérje főként anion-transzporterként ismeretes.

A szintézisek sikere és az ígéretes biológiai eredmények alapján az utóbbi néhány hónapban olyan 13-*epi*-ösztion-származékok előállításán fáradoztunk, amelyek a korábban általunk azonosított kiemelkedő gátlók módosított változatai. Olyan új vegyes halogénszármazékokat állítottunk elő, amelyek a 2-es és 4-es helyzetben különböző halogéneket tartalmaznak. Kitévő, hogy egyes vegyes származékok potensebb gátlók, mint az azonos halogént tartalmazó megfelelőik. A vegyes halogénszármazékok további átalakításai érdekes szerves kémiai kihívásokat rejtenek, ugyanis tapasztalataink szerint a kapcsolási reakciók sikeressége függ a halogén minőségétől és annak pozíciójától is. Eddig C–C és C–P kapcsolásokat próbáltunk megvalósítani a kétféle halogént tartalmazó vegyületekből, és arra jutottunk, hogy a B gyűrű jelenléte által okozott térbeli gátlás miatt inkább a 2-es helyzetben levő halogén cserélődik le még akkor is, ha a jobb távozó csoport a 4-es szénatomon található. Ezek a kísérletek még folyamatban vannak, és további próbatételek elé állítanak bennünket.

Megkezdjük továbbá az eddig egyik legjobb gátlónak bizonyult foszfónát módosításait (4. ábra). Előállítottuk annak 13 β -epimerét, redukáltuk a foszfort és a karbonilcsoportot, hosszabb szénláncú foszfónátot építettünk a 2-es helyzetbe, beiktattunk egy triazolgyűrűt a 3-as oxigén és a benzilcsoport közé, valamint megkezdtük a 3-as szénatom keresztkapcsolási reakcióit is.

Az általunk 2-es és 4-es helyzetre kidolgozott mikrohullámú módszereket megkíséreljük a 3-as szénatomra is kiterjeszteni. Ez utóbbihoz azonban a fenolos hidroxicsoportot jó távozó csoporttá szükséges alakítani. A szakirodalom ezt általában olyan rea-

4. ábra. Egy kiválasztott foszfónát célzott módosításai



genssel valósítja meg, amely érzékeny, alkalmazása nagy körültekintést igényel. Mi egy olyan foszfónium sóképzési reakciót választottunk, amely stabil, könnyen kezelhető reagenssel (brómtri(pirrolidin-1-il)foszfónium-hexafluorofoszfát) megvalósítható. Ez az átalakítás lehetőséget nyújt arra, hogy a két reakciólépés (jó távozó csoporttal alakítás és kapcsolás) egy reakcióedényben (egylobbikos eljárás) megvalósítható legyen, mellyel időt és energiát takarítunk meg.

Az utóbbi néhány hónapban előállított új vegyületek OATP biológiai vizsgálata még folyamatban van. Az előzetes eredmények alapján olyan fontos szerkezet-hatás összefüggések mutatkoznak, amelyek értékes adatokat szolgáltatnak az OATP-k működésének megértéséhez. Kutatási eredményeink irányadók lehetnek a további inhibitorok felfedezéséhez.



Köszönetnyilvánítás. Ez a tudományos ismeretterjesztő közlemény az Új Nemzeti Kiválóság Program támogatásával készült: Nemzeti Felsőoktatási Kiválóság Ösztöndíj – Bolyai+ Felsőoktatási Fiatal Oktatói, Kutatói Ösztöndíj, ÚNKP-18-4-SZTE-45.

IRODALOM

- [1] W. L. Miller, R. J. Auchus, *Endocr. Rev.* (2011) 32, 81–151.
- [2] Y. Hong, S. Chen, *Mol. Cell. Endocrinol.* (2011) 340, 120–126.
- [3] B. Schönecker, C. Lange, M. Kötteritzsch, W. Günther, J. Weston, E. Anders, H. Görls, *J. Org. Chem.* (2000) 65, 5487–5497.
- [4] I. Bacsa, B. E. Herman, R. Jójárt, K. S. Herman, J. Wölfling, G. Schneider, M. Varga, C. Tömböly, T. Lanisnik-Rizner, M. Szécsi, E. Mernyák, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* (2018) 33, 1271–1282.
- [5] I. Bacsa, R. Jójárt, J. Wölfling, G. Schneider, B. E. Herman, M. Szécsi, E. Mernyák, *Beilstein J. Org. Chem.* (2017) 13, 1303–1309.
- [6] I. Bacsa, D. Szemerédi, Wölfling, G. Schneider, L. Fekete, E. Mernyák, *Beilstein J. Org. Chem.* (2018) 14, 998–1003.
- [7] R. Jójárt, S. Pécsy, G. Keglevich, M. Szécsi, R. Rigó, C. Özvegy-Laczkza, G. Kecskeméti, E. Mernyák, *Beilstein J. Org. Chem.* (2018) 14, 2838–2845.

Ménes András

Frederick Sanger

A genetikai kutatások eredményeként napjainkra kész az emberi genom térképe. Ehhez sok tudós munkája kellett. Kiemelkedik közülük Frederick Sanger munkássága. 1954-ben Sanger volt az első, aki teljes mértékben elemezte egy fehérje, az inzulin aminosavkészletét. Majd amikor magának a DNS-nek a tanulmányozásába kezdett, olyan módszert fejlesztett ki, amellyel hosszú szakaszokat lehetett elolvasni a nukleinsavakban, amelyekben a genetikai kód található. Sanger így mindenki másnál nagyobb mértékben járult hozzá a Human Genome Projekthez. Kétszer is megkapta a Nobel-díjat.

Frederick Sanger 1918. augusztus 13-án született Rendcombban.* Édesapja is fizikus volt. Meglehetősen jó körülmények között nőtt fel, és átlagos tanuló volt a Brynston Schoolban. 1936-ban iratkozott be a cambridge-i St. John's College-ba, ahová apja is járt. Eredetileg orvos szeretett volna lenni, de érdeklődni kezdett a biokémia iránt, amely akkor viszonylag új keletű tudomány volt. Másokhoz hasonlóan, akik akkortájt kezdték meg a kutatást, ő is, mint később elmondta, izgalmasnak találta azt a gondolatot, hogy a biológiát a kémia fogalmaival lehet magyarázni. A baccalaurátust kitűnő eredménnyel szerezte meg 1939-ben, így folytathatta tanulmányait. 1943-ban ledoktorált, disszertációja az egyik aminosav, a lizin anyagcseréjéről szólt.

*A cikk 2018-ban, Frederick Sanger születésének 100. évfordulójára íródott.



Kvékerként fel volt mentve a katonai szolgálat alól a második világháborúban. 1944-től 1951-ig Cambridge-ben dolgozott ösztöndíjasként, orvosi kutatásokat folytatott.

Amikor Sanger a biokémia területére lépett, éppen kezdett tisztulni a fél évszázada homályos kép. Kezdték osztályozni és megérteni a sejten belül talált vegyületek tömegét, és igazolódott a „kulcs-zár” elmélet, amelyet Emil Fischer állított fel az enzim és a szubsztrát viszonyában. Végre felismerték, hogy az enzimek fehérjék, amelyek különleges feladatú aminosavakból épülnek fel. Nyilvánvaló lett, hogy minden fehérje aminosavakból áll. Az egyik

legkevésbé bonyolult, az inzulint tüzetes vizsgálat alá vetették A. C. Chibnall cambridge-i laboratóriumában, ahol Sanger dolgozott. Ő végezte ezeket a kutatásokat.

Az inzulint a hasnyálmirigy sejtjei termelik. Rendkívül fontos a szerepe abban, hogy a szénhidrátok egyszerű glükózzá alakuljanak, és szabályozza szintjét a vérben. Elegendő inzulin nélkül az ember cukorbeteg lesz. Ez a fontos orvosi felfedezés 1922-höz fűződik, amikor Frederick Banting és Charles Best tisztított inzulinnal kezelt egy cukorbeteg fiatalembert. A következő két évtizedben az inzulint kikkrisztályosították, és számos aminosav-össze-