

## Zárójelentés

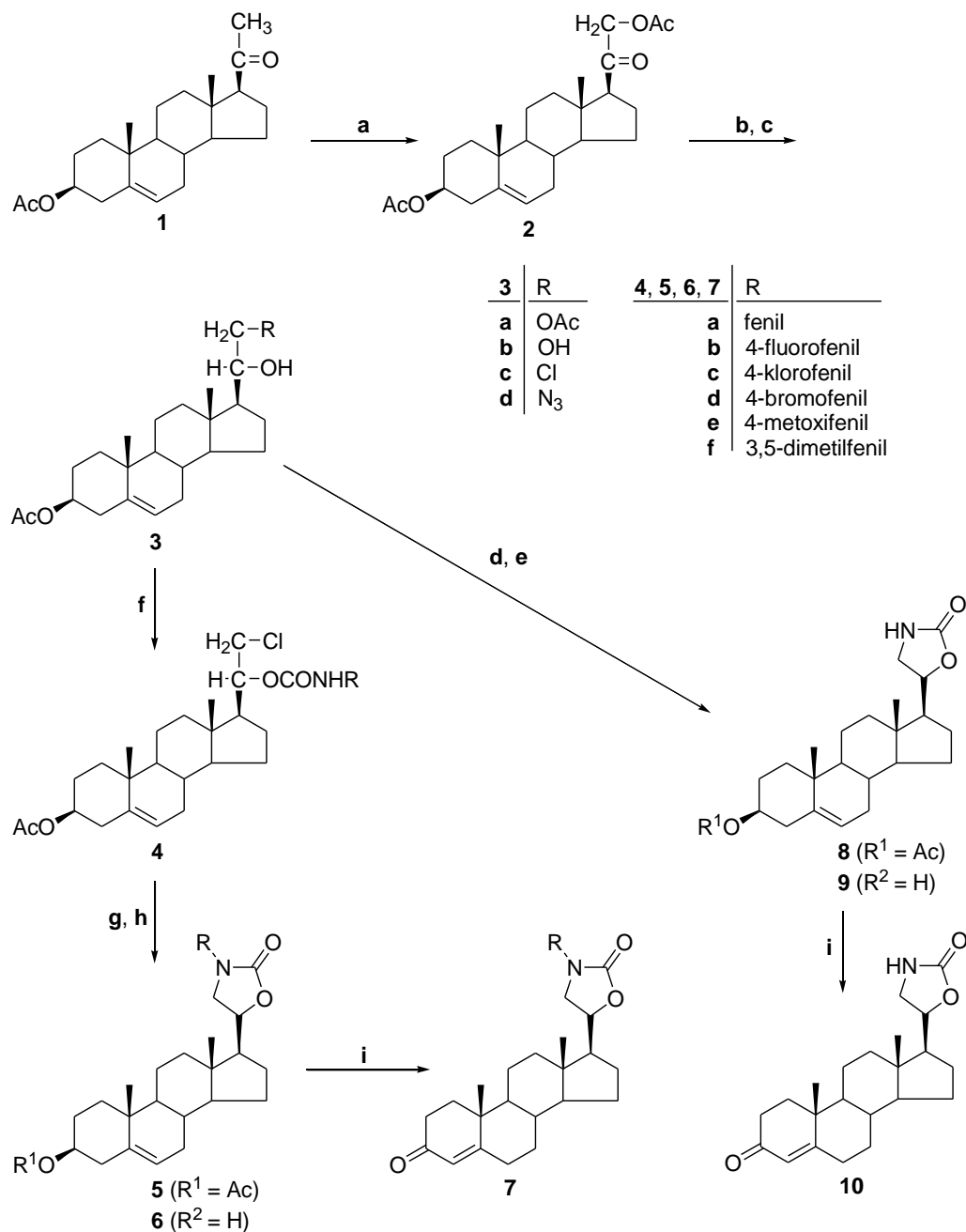
OTKA K72309

A Szegedi Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszékén több évtizede folyó szteroidkémiai kutatás fő célkitűzését a biológiailag hatásos alapvegyületek módosítása jelenti. A módosítás a beszámolási időszakban a szteránváz D-gyűrűjének C-17-es helyzetében történő *exo*-heterociklusos rendszer kialakítása, illetve a D-gyűrűhöz közvetlenül kondenzált öt-, illetve hattagú heterociklusok kiépítése. Ezeket az elemeket hordozó szteroidok olykor jelentős 17 $\alpha$ -hidroxiláz/C<sub>17,20</sub>-liáz enzim gátlásával tűnnek ki. Amennyiben az *exo*-heterociklusok  $\Delta^4$ -3-ketoszteroid szerkezeti elemet tartalmaznak, úgy az 5 $\alpha$ -reduktáz enzim gátlásával számolhatunk. Mindezek a tulajdonságok az androgénfüggő betegségek, így a *benignus prostatic hyperplasia* visszaszorítását jelenthetik. Ugyanakkor számos vegyület a referenciaként alkalmazott ciszplatinnal összemérhető sejtosztódás gátlást mutatott a különböző rosszindulatú ráksejt (HeLa-méhnyak, MCF7- emlő, A431-bőr; HL-60- leukémia) vonalakon.

**1.1.** Munkánk során a 3 $\beta$ -acetoxipregn-5-én-20-onból (**1**) kiindulva Pb(AcO)<sub>4</sub>-tal, metanolos oldatban, BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> jelenlétében végzett oxidációval a 3 $\beta$ ,21-diacetoxipregn-5-én-20-onhoz (**2**) jutottunk. A vegyület KBH<sub>4</sub>-el végzett redukciója, majd az azt követő enyhe hidrolízise a 3 $\beta$ -acetoxi-pregn-5-én-20 $\beta$ -olhoz (**3b**) vezetett. A vegyület az Appel-reakció kísérleti körülményei között a megfelelő 3 $\beta$ -acetoxi-21-klór-pregn-5-én-20 $\beta$ -olt (**3c**) szolgáltatva. A vegyület fenilizocianáttal, illetve annak *p*-szubsztituált származékaival végzett átalakítása a 3 $\beta$ -acetoxi-21-klór-pregn-5-én-20 $\beta$ -feniluretánokat (**4a-f**) adta. A vegyületekből alkalikus közegben végrehajtott szolvólízissel gyors reakcióban, jó nyeredéssel a 17 $\beta$ -[3-(*N*-fenil)-2-oxazolidon-5-il]androszt-5-én-3 $\beta$ -olok (**5a-f**) keletkeztek. A ciklizálási reakció a feniluretán-, illetve a *p*-helyzetben szubsztituált feniluretán-csoport szomszédcsoporthoz való közreműködését jelenti. A folyamat a *Winstein* által megadott besorolás szerint (N<sup>-5</sup>) szimbólummal értelmezhető.

Amennyiben a **3c** vegyület NaN<sub>3</sub>-dal végzett cserereakcióját hajtottuk végre, úgy a 3 $\beta$ -acetoxi-21-azido-pregn-5-én-20 $\beta$ -olhoz (**3d**) jutottunk. A vegyület Ph<sub>3</sub>P-nal a megfelelő R-N=PPh<sub>3</sub>-t adta, amelyből acetonos oldatban széndioxid gáz bevezetésével *in situ* a C-21-izocianát keletkezett, amely a szomszédos hidroxilcsoporttal egy öttagú gyűrűs karbonáttá (**8**) alakult. Mind az *N*-fenil-, mind a *p*-szubsztituált *N*-fenil-2-oxazolidonok (**5a-f**), valamint a

nitrogénen szubsztituátlan alapvegyület (**9**) az *Oppenauer* oxidáció kísérleti körülményei között a megfelelő  $\Delta^4$ -3-ketoszteroidokká (**7a-f**) és (**10**) voltak átalakíthatók (1. ábra):



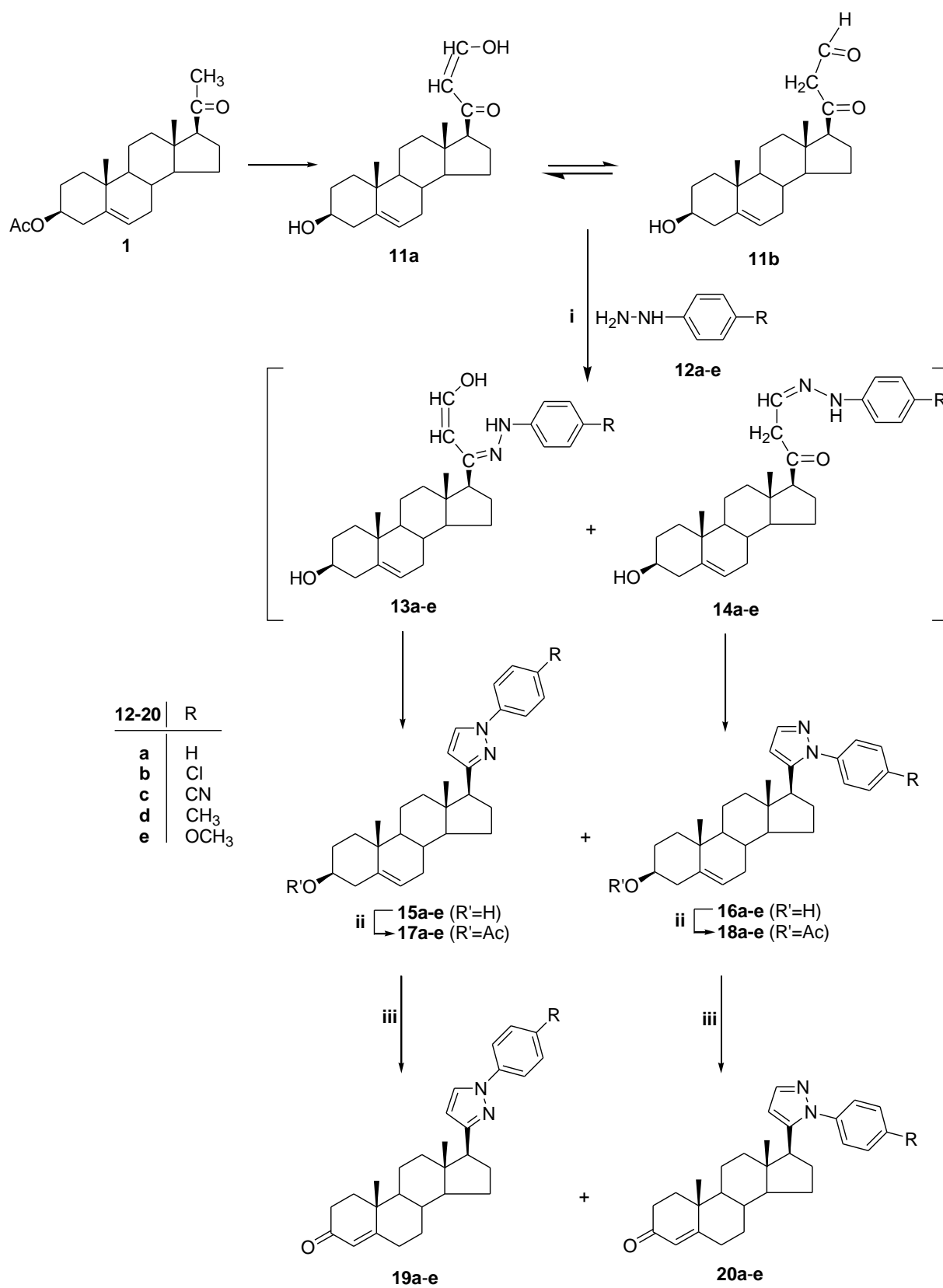
(1. ábra)

(a)  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , MeOH; (b)  $\text{KBH}_4$ , MeOH, szobahő; (c)  $\text{Ph}_3\text{P}$ ,  $\text{CCl}_4$ , forralás; (d)  $\text{NaN}_3$ , DMF,  $80^\circ\text{C}$ ; (e)  $\text{PhP}_3$ , aceton, szobahő; (f)  $\text{PhNCO}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , szobahő; (g) NaOMe, MeOH, forralás; (h)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , piridin, szobahő; (i)  $\text{Al}(\text{OiPr})_3$ , ciklohexanon, toluol, forralás.

**1.2.** A  $3\beta$ -acetoxipregn-5-én-20-on (**1**) etil-formiáttal,  $\text{NaOCH}_3$  jelenlétében végzett *Claisen* kondenzációja a  $3\beta$ -hidroxi-21-hidroximetilidén-pregn-5-én-20-onhoz (**11**) vezetett. Az irodalmi adatok szerint a vegyület (**11**) metilhidrazinnal a  $17\beta$ -(1-metil-3-pirazolil)androszt-5-én- $3\beta$ -ol, és a  $17\beta$ -(1-metil-5-pirazolil)androszt-5-én- $3\beta$ -ol regioizomerek keverékéhez vezet. A fenilhidrazinnal végzett átalakításnál ezzel szemben csak az egy regioizomer (**16a**) képződéséről számol be az irodalom.

Munkánk során megvizsgáltuk, hogy a  $3\beta$ -hidroxi-21-hidroximetilidén-pregn-5-én-20-on (**11**) a kísérleti körülmények változtatásával hogyan reagál a fenilhidrazinnal (**12a**) és annak *p*-szubsztituált származékaival (**12b-c**). Az irodalmi adatokkal ellentétben azt találtuk, hogy mind a fenilhidrazin, mind a szubsztituált fenilhidrazin (**12a-c**) minden esetben két regioizomer képződéséhez vezetett. A keletkezett regioizomerek aránya erősen függött egyrészt a fenilszubsztituens, másrészt az oldószer jellegétől. Feltételezésünk szerint a kiindulási vegyület (**11**) a reakcióelegyben két tautomer formában (**11a** és **11b**) van jelen. Az erősen elektronvonzó szubsztituensű fenilhidrazin a reaktívabb láncvégi hidroximetilidén-csoporttal lép reakcióba, míg az elektronküldő szubsztituensek a 20-as ketofunkcióval is készséggel reagálnak. A ciklizálási reakció eredményeként a regioizomerek (**15a-c** és **16a-c**) szubsztituensfüggő keveréke képződik. A keletkezett vegyületek *Oppenauer* oxidációja a megfelelő  $\Delta^4$ -3-ketoszteroidokhoz (**19a-e** és **20a-e**) vezetett.

Mind a  $3\beta$ -hidroxi-, mind a 3-ketoszteroidok a  $17\alpha$ -hidroxiláz/ $\text{C}_{17,20}$ -liáz enzim gátlásában figyelemreméltó hatást mutattak. A különböző ráksejt vonalakon végzett antiproliferációs vizsgálatok a *p*-metoxi-, illetve a *p*-nitril esetében jelentősen kiugrottak (2. ábra):



(2. ábra)

### Kapcsolódó közlemények:

D. Ondré, J. Wölfling, Z. Iványi, Gy. Schneider, I. Tóth, M. Szécsi, J. Julesz:

*Steroids* **2008**, 73, 1375-1384.

Z. Iványi, J. Wölfling, T. Görbe, M. Szécsi, T. Wittmann, Gy. Schneider

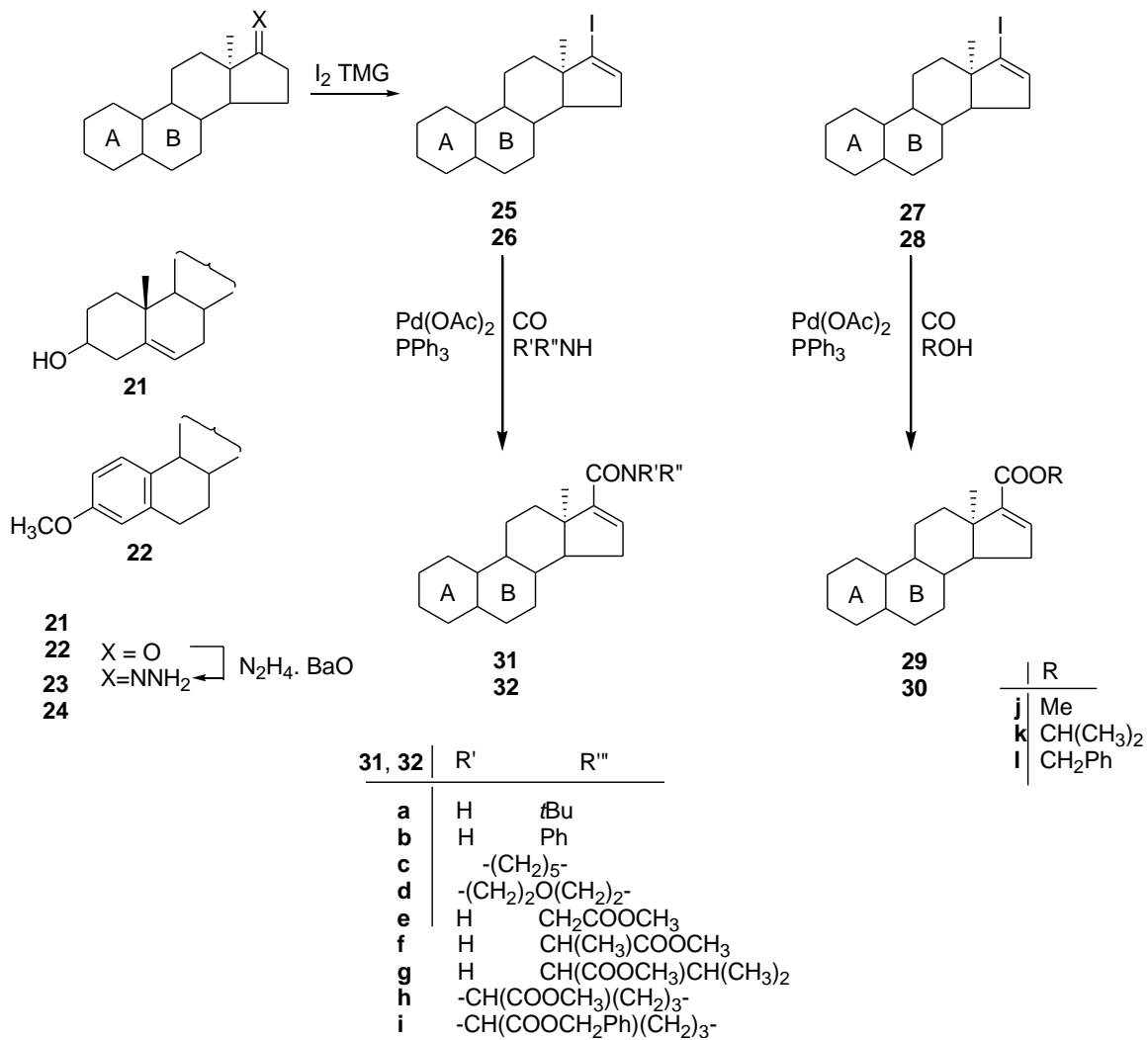
*Steroids* **2010**, 75, 450-456.

M. Szécsi, D. Ondré, I. Tóth, S. Magony, J. Wölfling, Gy. Schneider, J. Julesz

*Acta Biol. Hung.* **2010**, 61, 274-281.

**2.1.** A szteránváz C-17-es helyzetében alkokarbonil-, és karboxamido-csoport kapcsolódó szüntön ekvivalensek kialakítására alkokarbonilezési és karboxamido-csoport kialakítását tűztük ki célul. Az így kialakított funkciós csoportok kétfogú ligandumként, alkalmasan választott körülmények között ciklizálási reakcióban vehetnek részt. Az átalakításokat a 13-*epi* androsztán és ösztrán származékokkal végeztük. Ebben az esetben várható volt, hogy a kevésbé gátolt D-gyűrűben jó termeléssel jutunk a kívánt célvegyületekhez.

Munkánk során a 3 $\beta$ -hidroxi-13 $\alpha$ -androszt-5-én-17-on (**21**), valamint a 3-metoxi-13 $\alpha$ -öszt-1,3,5(10)-trién-17-onból (**22**) kiindulva a megfelelő 17-hidrazonokat (**23** és **24**) képeztük, amelyek elemi jóddal, bázis jelenlétében a 3 $\beta$ -hidroxi-17-jód-13 $\alpha$ -androszt-5,16-diénhez (**25**), illetve a 3-metoxi-17-jód-13 $\alpha$ -öszt-1,3,5(10),16-tetraénhez (**26**) jutottunk. A kiindulási anyagok alkokarbonilezését Pd(OAc)<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub> jelenlétében, a megfelelő alkoholok, mint nukleofilok hozzáadásával 60 atmoszféra nyomással végeztük. Az átalakítás során jó termeléssel jutottunk a megfelelő C-17-karbonsav-észterekhez (**29j-1** és **30j-1**). Az aminokarbonilezési reakciók kivitelezését hasonló módon, különböző reaktivitású aminokkal hajtottuk végre. A legjobb termeléssel a kevésbé gátolt primer aminokkal végzett átalakítás mutatta. Így a *t*-butilamin (**a**) és glicin-metilészter (**e**) alkalmazásánál 80-95% termeléssel kaptuk meg a megfelelő karboxamido származékokat. A szekunder aminok, így a piperidín (**c**) és a morfolin (**d**) mérsékelt reaktivitást mutattak. A legalacsonyabb termelést a prolin észtereinél (**h** és **i**) tapasztaltunk. Az így előállított, C-17 aminokarbonil-csoportot tartalmazó 13 $\alpha$ -androsztén (**29a-i**) valamint a 13 $\alpha$ -öszt-1,3,5(10),16-tetraén származékok (**30a-i**) egyrészt további átalakításokra alkalmas szüntön ekvivalensek, másrészt tartalmazzák azokat a szerkezeti elemeket, amelyek az 5 $\alpha$ -reduktáz enzim gátlását szolgálják (3. ábra):



(3. ábra)

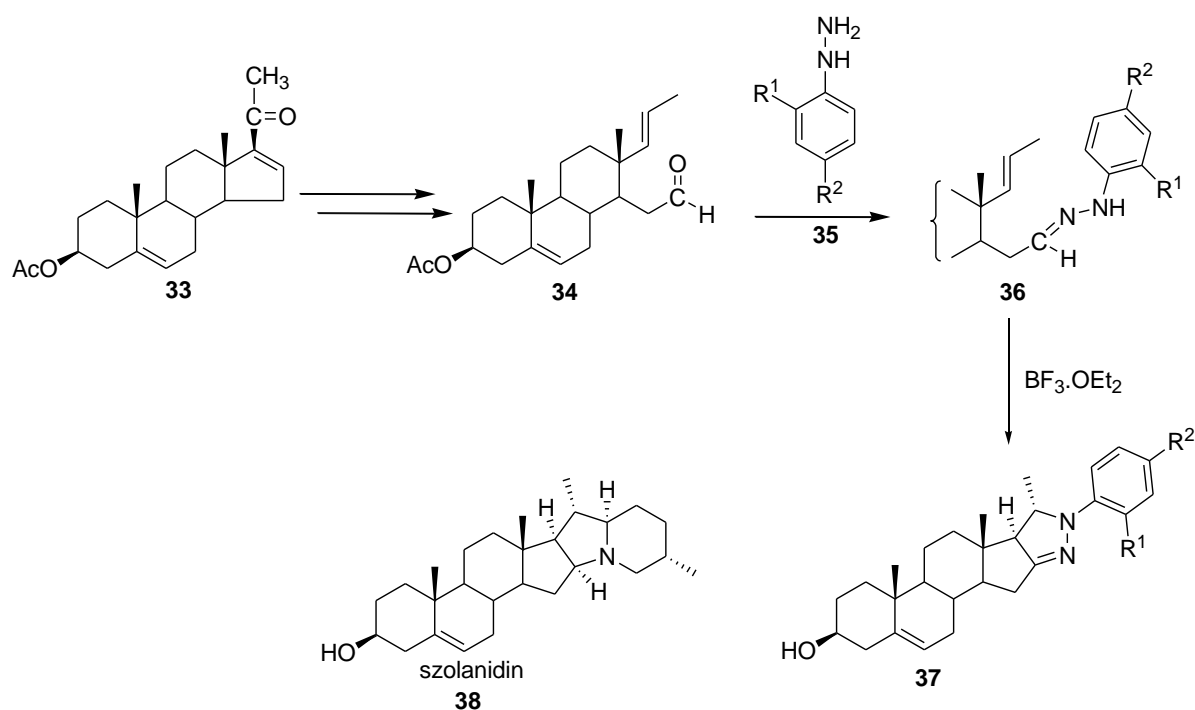
**Kapcsolódó közlemények:**

P. Ács, A. Takács, A. Szilágyi, J. Wölfling, Gy. Schneider, L. Kollár  
*Steroids* **2008**, *73*, 669-675.

P. Ács, A. Takács, A. Szilágyi, J. Wölfling, Gy. Schneider, L. Kollár  
*Steroids* **2009**, *74*, 419-423.

**3.1.** A  $3\beta$ -acetoxipregn-5,16-dién-20-onból (**33**) kiindulva a D-gyűrű többlépéses fragmentálódásával egy gyűrűzárásra alkalmas szüntön ekvivalenst (**34**) építettünk ki. A fragmentum karbonilcsoportja fenilhidrazinnal és annak különböző módon szubsztituált származékaival (**35**) alkenil-fenilhidrazonokat (**36**) képeztek. Ezek a vegyületek a  $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$  által katalizált 1,3-dipoláris cikloaddícióval nagyfokú sztereoselektivitással a D-gyűrűhöz kondenzált androszt-5-én vázas arilpirazolinokat (**37**) eredményeztek. Az találtuk, hogy a gyűrűzárási reakciók sebességét nagymértékben befolyásolja a fenilcsoporton lévő szubsztituensek elektronikus hatása. Az elektronküldő csoportok ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ) elősegítik, míg az elektronvonzó csoportok ( $\text{Cl}$ ,  $\text{CN}$ ,  $\text{NO}_2$ ) lassítják a cikloaddíciós folyamatot.

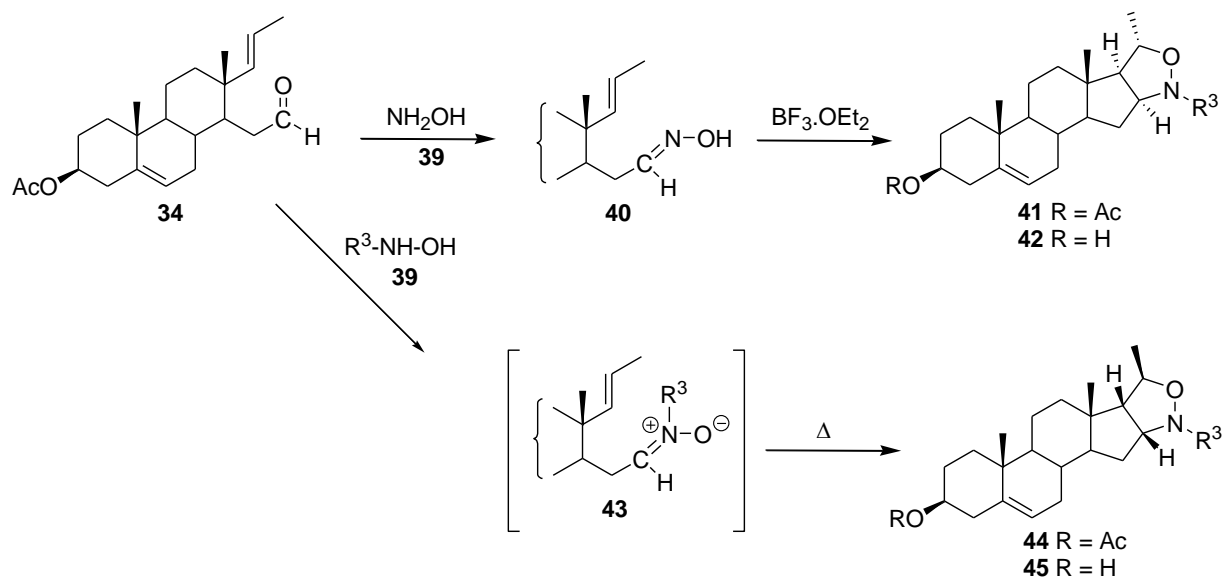
Tekintettel arra, hogy az arilpirazolinok (**37**) nagymértékű szerkezeti rokonságot mutatnak a természetben előforduló és bizonyítottan citosztaticus hatással rendelkező szteroid alkaloiddal, a szolanidinnel (**38**), ezért ilyen irányú hatásvizsgálatra kerültek. Az *in vivo* farmakológiai tesztek számos vegyület esetében a ciszplatinnal összemérhető sejtosztódás gátlást mutatott különböző rosszindulatú ráksejt (HeLa-méhnyak, MCF7- emlő, A431-bőr, HL-leukémia) vonalakon (4. ábra):



(4. ábra)

**3.2.** A **34** szekoaldehid hasonló típusú átalakításait hajtottuk végre hidroxilaminnal és alkilszubsztituált származékaival (**39**)<sub>x</sub>. Az átalakulás során a szteránvázhoz kondenzált

izoxazolidin gyűrűrendszer képződött. A termikus és a Lewis-sav katalizált folyamatok eltérő sztereoselektivitási mechanizmusát elméleti számításokkal igazoltuk. A dezacetilezett végtermékek (**42**, **44**) a C<sub>17,20</sub>-liáz enzimre kifejtett *in vitro* vizsgálata egy vegyület esetében mérsékelten jó enzim inhibitornak mutatkozott. Egyes származékok ugyanakkor jelentős citosztatikus aktivitást mutatott különböző malignus ráksejt (HeLa, MCF7 és A431) vonalakon (5. ábra):



(5. ábra)

#### Kapcsolódó közlemények:

É. Frank, Z. Mucsi, I. Zupkó, B. Réthy, G. Falkay, Gy. Schneider, J. Wölfling

*J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3894-3904.

R. Minorics, T. Szekeres, G. Krupitza, P. Saiko, B. Giessrigl, J. Wölfling, É. Frank, I. Zupkó

*Steroids* **2011**, *76*, 156-162.

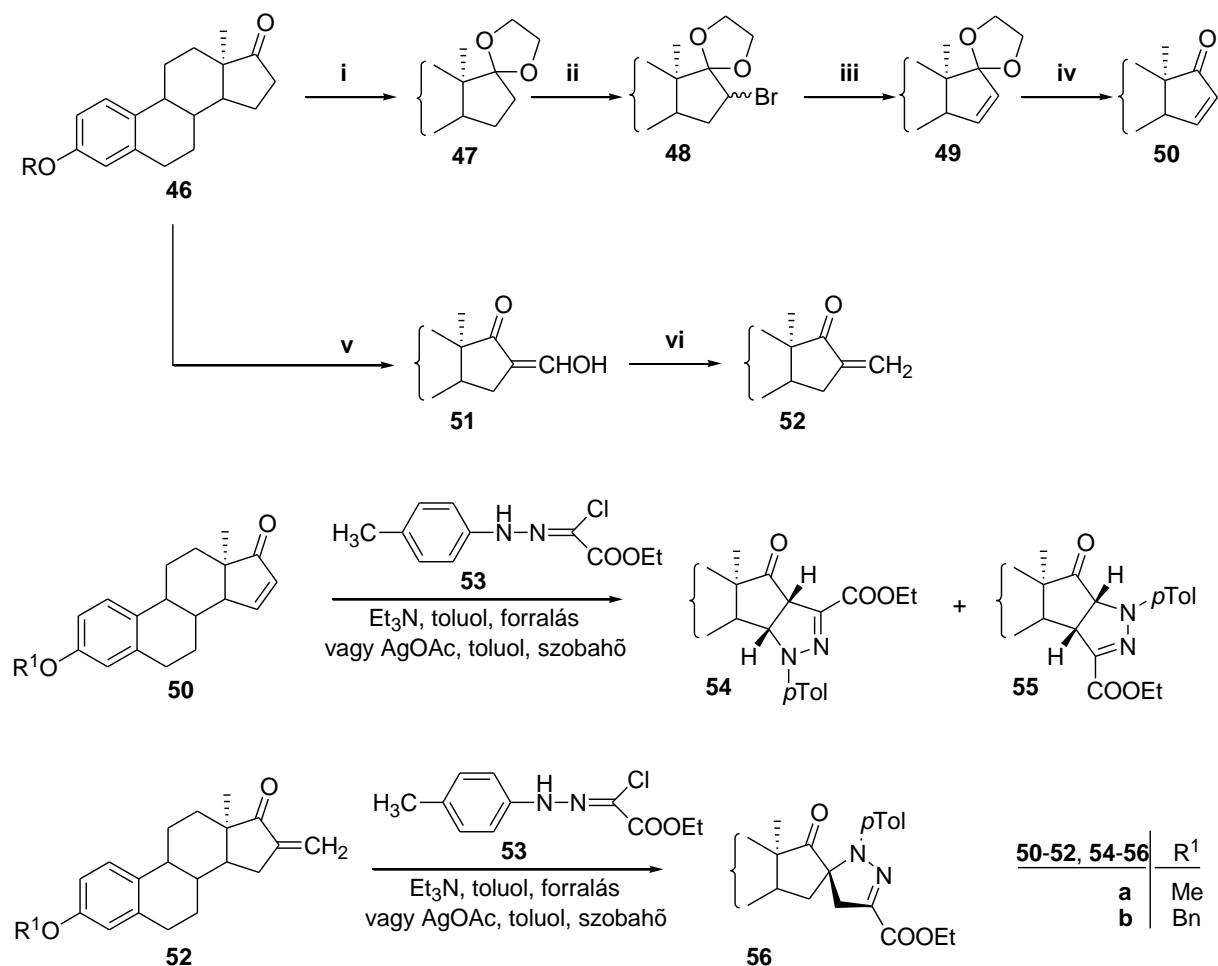
É. Frank, Z. Mucsi, M. Szécsi, I. Zupkó, J. Wölfling, Gy. Schneider

*New J. Chem.*, **2010**, *34*, 2671-2681.



**3.3.** A szteránváz C-13 szénatomjának izomerizációjával kapott vegyületek a D-gyűrű kevésbé gátolt jellege folytán sajátos kémiai reakciókat mutatott. Így a 3-metoxi-13 $\alpha$ -ösztra-1,3,5(10)-trién (**46**) C-17-etilénketáljának (**47**) brómozása, majd a keletkezett vegyület (**48**) dehidrobrómozásával kapott 3-metoxi-ösztra-1,3,5(10)15-tetraén (**50**)  $\alpha,\beta$ -telítetlen keton jellegénél fogva alkalmas szüntön a nitriliminekkal (**51**) végzett 1,3-dipoláris cikloaddícióra. A reakció sztereoselektív módon két regioizomer pirazolin (**52**, **53**) keletkezéséhez vezetett.

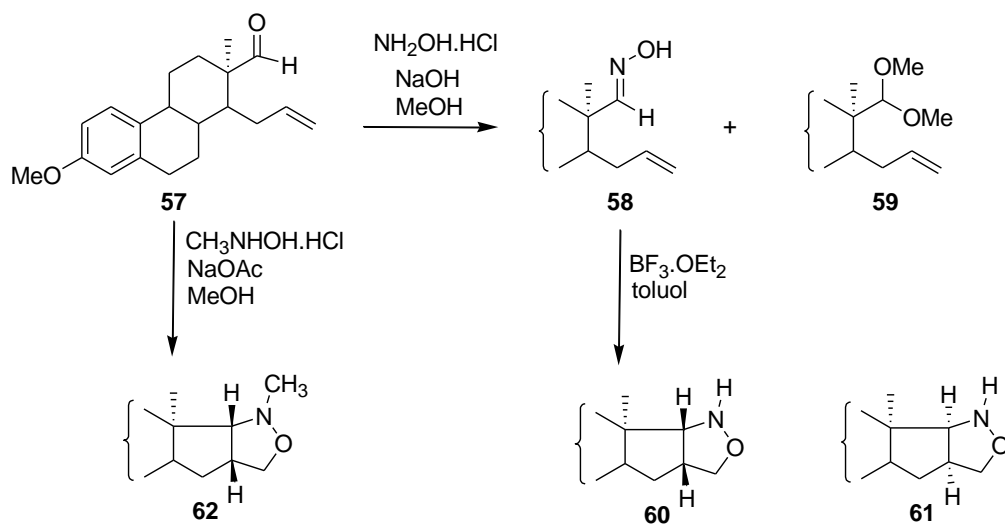
A **46** vegyület formilezésével kapott 3-metoxi-16-hidroximetilidén-13 $\alpha$ -ösztra-1,3,5(10)-trién-17-on (**51**) redukzív átalakításával kapott 3-metoxi-16-metilén-13 $\alpha$ -ösztra-1,3,5(10)-trién-17-on (**50**)  $\alpha,\beta$ -telítetlen keton jellege folytán ugyancsak alkalmas a hasonló módon kivitelezett 1,3-dipoláris cikloaddícióra. A folyamat eredményeként egy 16-spiro-pirazolin vegyület képződik (6. ábra):



(6. ábra)

**3.4.** A 3-metoxi-13 $\alpha$ -ösztra-1,3,5(10)-trién (**46**) többlépéses reakciójával nyert szekoaldehyd (**57**) hidroxilaminnal megfelelő oximot (**58**) képez, amelynek BF<sub>3</sub>-dal katalizált 1,3-

dipoláris cikloaddíciója két sztereoizomer izoxazolidint (**60**, **61**) eredményez. A metil-hidroxilaminnal végzett átalakítás ezzel szemben csak egy sztereoizomert szolgáltat (7. ábra):



(7. ábra)

#### Kapcsolódó közlemények:

E. Mernyák, E. Kozma, A. Hetényi, L. Márk, Gy. Schneider, J. Wölfling

*Steroids* **2009**, *74*, 520-525.

E. Mernyák, J. Huber, G. Benedek, R. Pfoh, S. Rühl, Gy. Schneider, J. Wölfling

*Arkivoc* **2010**, (xi) 101-113.