



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szerves Kémiai Tanszék

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

**Biológiailag aktív 17 β -(1,3,4)-oxadiazolok előállítása
az androsztán sorban**

KÉSZÍTETTE:

Márton János

III. évf. kémia BSc

TÉMAVEZETŐK:

Dr. Frank Éva, egyetemi adjunktus

Mótyán Gergő, PhD hallgató

Szeged

2014

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés	1
2. Irodalmi előzmények	4
2.1. A 17- <i>exo</i> -heterociklusos szteroidok.....	4
2.2. Az 1,3,4-oxadiazolok előállításának módjai és biológiai jelentősége	8
2.3. A mikrohullámú technikáról általában, alkalmazása szerves szintézisekben.....	11
3. Célkitűzés	14
4. Kísérleti eredmények tárgyalása és értékelése	15
4.1. Szteránvázis 17 β -karbaldehidek előállítása	15
4.2. Karbonsav-hidrazidok előállítása	17
4.3. Kondenzációs reakciók elvégzése	18
4.4. Szteránvázis <i>N</i> -acilhidrazonok gyűrűzárása	21
4.5. Az előállított vegyületek farmakológiai vizsgálatának részeredményei.....	26
5. Általános kísérleti rész (alkalmazott eszközök, módszerek)	28
6. Az elvégzett reakciók részletes ismertetése.....	29
7. Összefoglalás	44
8. Irodalomjegyzék	45
Köszönetnyilvánítás	48

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

3 β -HSD: 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

5 α R: 5 α -reduktáz

17 β -HSD: 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

CAN: cérium-ammónium-nitrát

DIB: diacetoxi-jódbenzol

DMF: dimetilformamid

DMP: Dess-Martin perjodinán

MW: mikrohullám

P450_{17 α} : citokróm P450 dependens 17 α -hidroxiláz-C_{17,20}-liáz

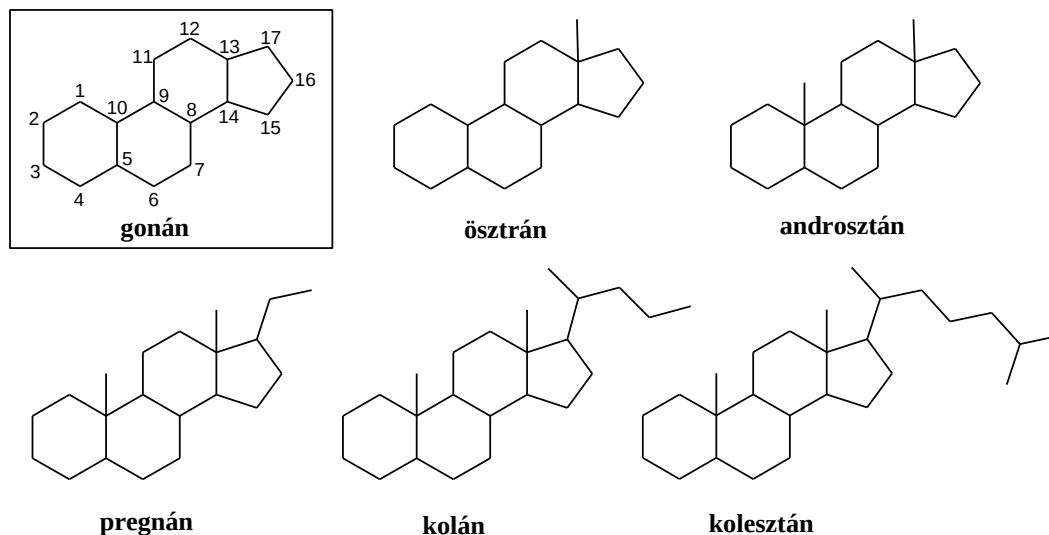
THF: tetrahidrofurán

VRK: vékonyréteg-kromatográfia

1. Bevezetés

A szteroidok a természetes szénvegyületek egyik figyelemre méltó csoportját alkotják, jelentős élettani hatásúak és nélkülözhetetlenek a gyógyászatban. A szteroid név a vegyületcsoport legrégebben izolált tagjára, a koleszterinre utal, amit epeköből nyertek ki. A különböző élő szervezetekben betöltött szerepük alapján megkülönböztetünk szteroid alkoholokat, szteroid hormonokat (nemi hormonok, mellékvesekéreg-hormonok, metamorfózis hormonok), szteroid szaponinokat, epesavakat, illetve szívre ható glikozidokat és varangymérgeket. A humán szteroid hormonok két nagy csoportját a nemi hormonok és a mellékvesekéreg-hormonok vagy kortikoszteroidok képezik. A nemi hormonok családján belül megkülönböztetünk férfi nemi hormonokat, melyeket androgéneknek hívunk, illetve női nemi hormonokat, amelyek az ösztrogének (tüszőhormonok) és a progeszteron (sárgatesthormon).

Valamennyi szteránvázis vegyületre jellemző az ún. szteroid alapváz, amely kémiai szerkezetét tekintve ciklopentano-perhidrofenantrén (gonán), azonban a szénatomszám alapján további alapvázakat is szokás megkülönböztetni; ezek az ösztrán, androsztán, pregnán, kolán, illetve kolesztán vázák (**1. ábra**).



1. ábra: A szteroidok alapvázai

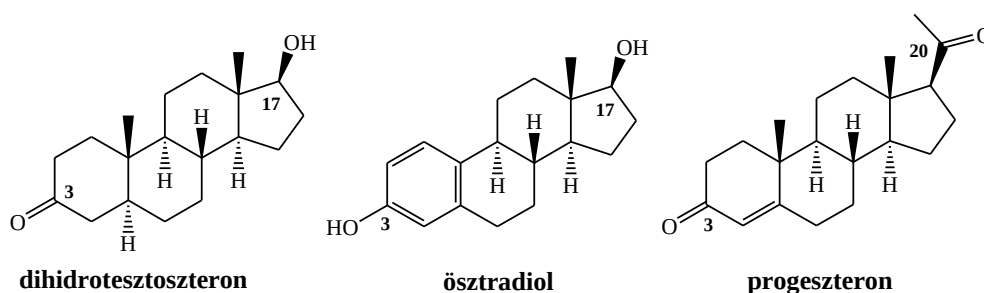
A szteroidok kutatása a koleszterin szerkezetvizsgálatával kezdődött a 19. században, a szerkezetigazoló kísérleti munkák pedig a 20. század elején kaptak meghatározó lendületet a szteránvázis vegyületek előállítására alkalmas totálszintetikus

módszerek kidolgozása révén. A totálszintézis mellett a napjainkban folyó kutatások egyik fő iránya a természetes szteránvázas vegyületek félszintetikus módosítása, mely történhet a kiralitáscentrumok konfigurációjának megváltoztatásával,¹⁻⁴ gyűrűfelnyílási és gyűrűbővülési reakciókkal,⁵⁻⁷ heteroatomok, egyszerűbb szubsztituensek vagy heterociklusos gyűrűrendszerek molekulába építésével.⁸⁻¹³

Az SZTE Szerves Kémiai Tanszékének Szteroidkémiai Kutatócsoportja régóta foglalkozik a természetes nemi hormonok és hormon analogonok szintetikus szerkezetmódosításával, amelynek célja a meglévő biológiai hatás háttérbe szorítása mellett egy újszerű főhatás előtérbe helyezése. Az utóbbi években elsősorban olyan heterociklusos vegyületek előállítására irányult a figyelem, amelyek képesek csökkenteni, illetve megakadályozni a rosszindulatú rákos sejtek burjánzását. A különböző heterociklusok szteránvázba építésével gyógyszerkémiai szempontból kiemelkedő jelentőségű molekularészek kombinációja valósítható meg, amelynek segítségével az eredeti molekula térszerkezete, hormon-receptorhoz való kötődése nagymértékben befolyásolható, és a megváltozott struktúra esetlegesen új főhatás megjelenését eredményezheti.

A különböző, jó- és rosszindulatú rákos megbetegedések kezelésében manapság is alkalmaznak szteránvázas vegyületeket, több-kevesebb sikerrel. A férfiak körében a rákos megbetegedések több mint harmada, míg a nőknél több mint a fele a szervezetben termelődő nemi hormonok mennyiségével hozható összefüggésbe. A betegségek kezelésére számos lehetőség van, a hormonterápiától kezdve egészen a különféle gyógyszerek adagolásáig. A hormonterápia során szteroid hormonokat juttatnak a szervezetbe, ezáltal beavatkozva az endokrin rendszer működésébe, míg a gyógyszerek alkalmazásának célja a sejtburjánzásért felelős endogén vegyületek termelődésének, aktivitásának kontrollálása, gátlása. Így az androgén-, illetve ösztrogénfüggő betegségek kezelésében, megelőzésében a nemi hormonok bioszintézisében szerepet játszó valamely enzim működését gátló, szintetikus szteroidok nyújthatnak segítséget. Ezen vegyületek alkalmazása viszont számos akadályba ütközik, így számolni kell a nem kívánatos hormonális mellékhatásokkal, valamint a rákos sejtek által kifejlesztett rezisztenciával, ami előbb-utóbb a gyógyszeres terápia sikertelenségéhez vezet. Az elmúlt évek kutatásai azonban azt is igazolták, hogy számos szteránvázas vegyület közvetlenül és szelektív módon képes hatást gyakorolni a rákos sejtekre, melynek következtében azok osztódása meggátolható, emellett az egészséges sejtciklus sértetlen marad.¹⁴

A szteroidkémiai kutatásokban régóta fontos törekvés, hogy felismerjék azokat a különféle szerkezeti és sztereokémiai jellegzetességeket, amelyekkel szelektívabb és specifikusabb fiziológiai hatás érhető el. A legtöbb szintetikus módosítás a nemi hormonok eleve meglévő 3-as, 17-es és 20-as helyzetű funkciós csoportjait érinti (**2. ábra**). Ennek egyik oka a kémiai szempontból könnyebb és gyorsabb, azaz kevesebb reakciólépést igénylő megvalósíthatóság, másrészt a hormonhatás minimalizálására való törekvés. A hormon-receptorokhoz való kötődés elengedhetetlen feltétele ugyanis ezen hidroxil- és/vagy keto-csoportok jelenléte; átalakításukkal a vegyület receptor-kötődési tulajdonságai nagymértékben módosulnak.



2. ábra: A nemi hormonok leggyakoribb módosítási helyei

A szintetikus szteroid heterociklusok megannyi képviselője hordoz kiemelkedő biológiai hatásokat,^{15,16} ezért az újonnan előállított származékok egyre jobban a figyelem középpontjába kerülnek. Az androgén hormonok bioszintézisében lényeges szerepet játszik a citokróm P450 dependens 17α -hidroxiláz- $C_{17,20}$ -liáz ($P450_{17\alpha}$) enzim. Számos, 17-es helyzetben heterociklusos gyűrűt tartalmazó szteránvázas vegyület a $P450_{17\alpha}$ hatásos inhibitorának bizonyult, így ezen származékok az androgénfüggő betegségek kezelésében nyújthatnak terápiás lehetőséget. A gyógyászatban alkalmazott vegyületeknél azonban számolni kell a különböző nem kívánatos mellékhatások megjelenésével is. Ezek elkerülése, valamint a vegyületek hatásspektrumának növelése végett igény van új típusú, 17-exo-heterociklusos szteroidok szintézisére.

2. Irodalmi előzmények

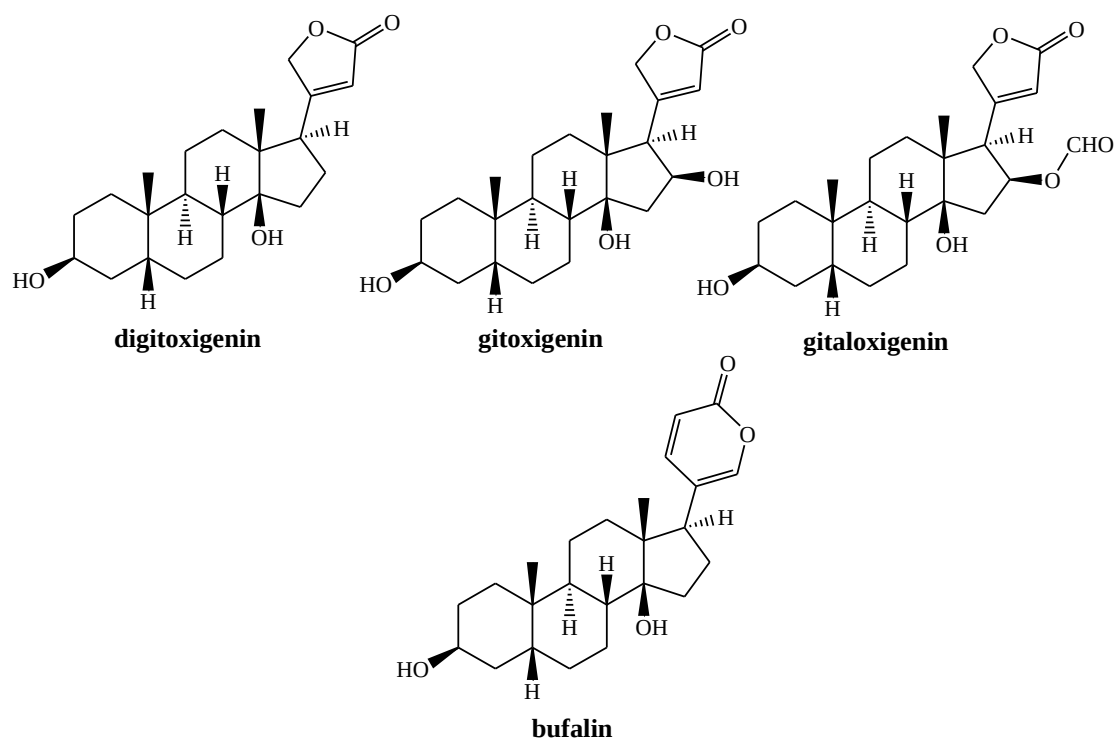
A szteránvázas vegyületek számos élettani folyamatban meghatározó szerepet játszanak és gyógyszerként történő alkalmazásuk is nagy múltra tekint vissza. A kedvező tulajdonságaik mellett azonban jó néhány mellékhatás is megjelenhet. Ezek kiküszöbölése napjainkban is új, szintetikusan módosított származékok előállítását igényli. A vegyületek kémiai módosítása során előfordulhat, hogy az alaptulajdonság megváltozik és a biológiai hatás jelentősebbé válik, mint az alapvegyületé. A legkiemelkedőbb változtatások a szteránváz 17-es pozíciójában történnek.

2.1. A 17-*exo*-heterociklusos szteroidok

A természetben előforduló 17-*exo*-heterociklust tartalmazó szteroidok öt- és hattagú telítetlen laktongyűrűt tartalmazó vegyületek, melyek a növényi, illetve állati szervezetekben glikozidjaik formájában vannak jelen; savas hidrolízisükkel aglikonra és cukorrészre bomlanak. Farmakológiai hatásuk igen jelentős: kardiotóniás glikozidoknak is nevezik őket, mivel a szívizomzat működését befolyásolják. A természetben előforduló vegyületek aglikonjaik szerkezete alapján két csoportba oszthatók: az öttagú, telítetlen laktongyűrűt tartalmazó kardenolidokra, melyek legfontosabb képviselői a gyűszűvirág fajokban előforduló digitoxigenin, gitoxigenin és gitaloxigenin (**3. ábra**), illetve a hattagú, kétszeresen telítetlen laktongyűrűt tartalmazó bufadienolidokra, melyek közül a bufalin békákban és egyes növényfajokban fordul elő.

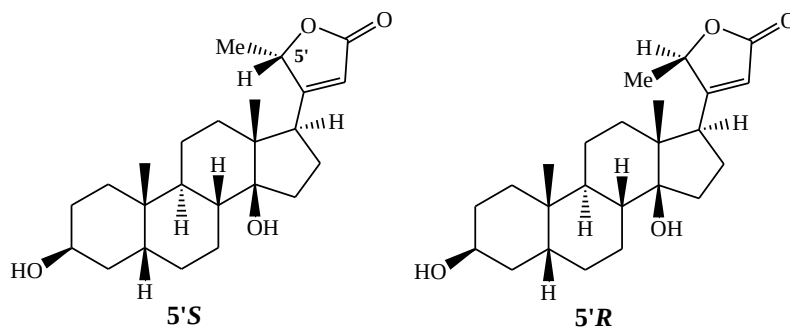
A digitális glikozidok növelik a szívizomzat összehúzódásának erejét, ezáltal növelik a perctérfogatot is, valamint a keringés és a szervezet vérellátása is javul. Mivel a vesék működését szintén fokozzák, ennek következtében csökkentik, majd megszüntetik az ödémákat, emellett mérséklék a légszomjat is.¹⁷ Alkalmazásukat nehezíti, hogy a szervezetből lassan ürülnek ki, illetve a terápiás és a toxikus dózisuk között igen kicsi a különbség, ezért túladagolásuk mérgezéshez, szívbénuláshoz vezet.¹⁸ Hatásmechanizmusuk legfőképp a Na^+/K^+ -ATP-áz gátlásával magyarázható. Kevésbé ismert, ám annál jelentősebb tény, hogy ezen vegyületek a rákos megbetegedések megelőzésében és kezelésében is egyre nagyobb szerephez jutnak. A kardenolid és bufadienolid aglikonok daganatellenes hatása régóta ismeretes,¹⁹ azonban mérgező voltuk miatt széles körű alkalmazásuk eddig akadályba ütközött. Az utóbbi évek kutatásai

azonban bebizonyították, hogy a rákos sejtekre kifejtett hatásuk olyan alacsony koncentrációnál megvalósul, amely még nem vált ki toxikus hatást.²⁰⁻²² Ennek következtében ezen származékok egyre inkább a tudományos érdeklődés középpontjába kerültek, és a törekvések fő célja a hasonló antiproliferatív hatású analógok szintézise lett.



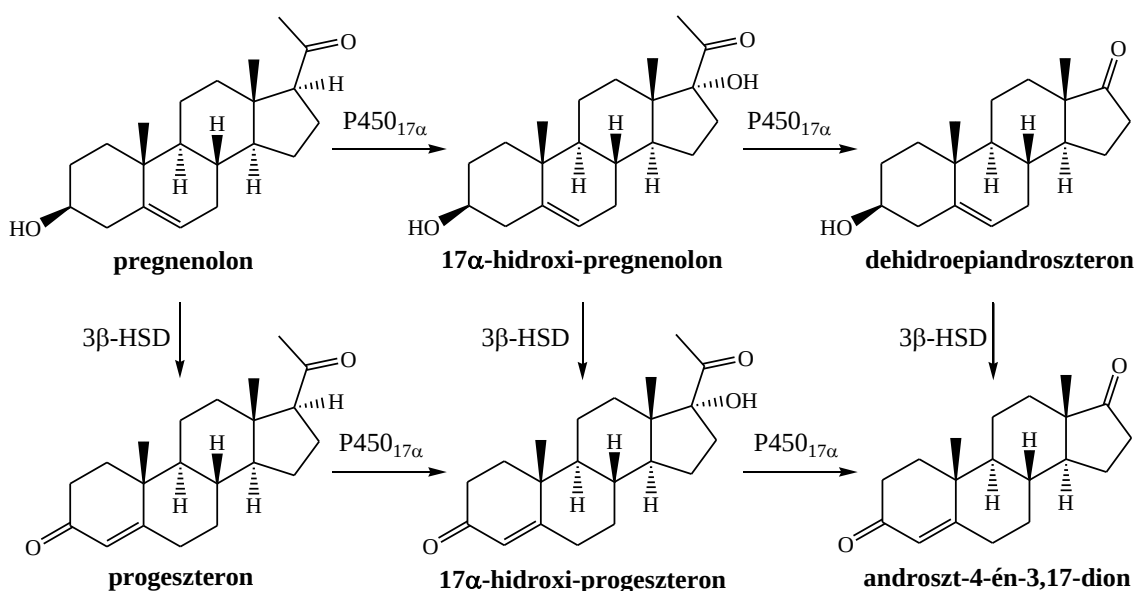
3. ábra: Öt- és hattagú laktongyűrűt tartalmazó aglikonok

Az elmúlt évtizedekben a figyelem a kardiotóniás hatás mechanizmusának felderítésére, valamint előnyösebb terápiás tulajdonságokkal rendelkező bufadienolid és kardenolid származékok szintézisére irányult. A kutatók a terápiás és halálos dózis közötti különbség kiszélesítésére elsőként a természetes eredetű glikozidok átalakítását kísérelték meg.^{23,24} Repke és munkatársai a digitoxigenin katalitikus hidrogénezését végezték el és állítottak elő (20R)- és (20S)-dihidrodigitoxigenint. A kapott termékek biológiai aktivitása jelentősen lecsökkent a kiindulási anyaghoz képest.^{25,26} Egy további lehetőségként, Wiesner és munkatársai olyan szintézismódszert dolgoztak ki, amely széles lehetőséget kínált a módosított származékok előállítására. A kutatások az 5'-metildigitoxigenin (S)- és (R)-izomereinek előállítását eredményezték^{27,28} (4. ábra). A vegyületek 3β-glikozidjainak vizsgálata során kiderült, hogy a kardiotóniás hatás az alapvegyülethez képest megmaradt, ugyanakkor a toxicitás jelentősen csökkent.



4. ábra: *A metildigitoxigenin 5'-epimerjei*

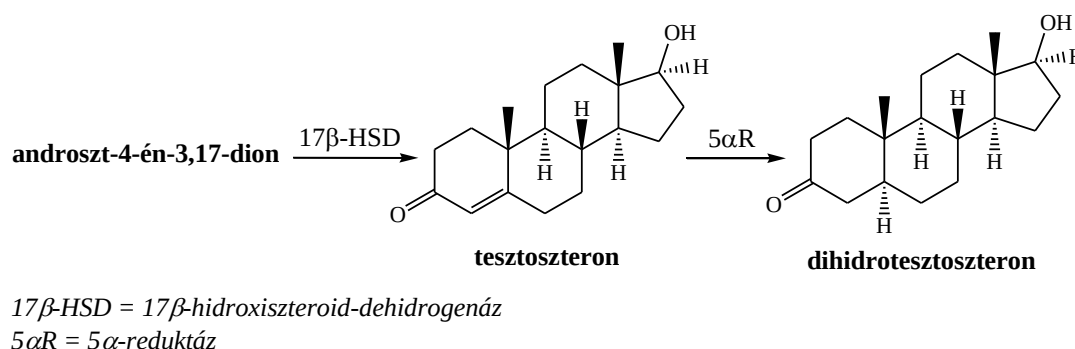
A számtalan módosítási kísérlet után bebizonyosodott, hogy a C/D *cis* gyűrűanellációjú származékok a természetes vegyületekhez képest gyenge kardiotóniás hatást mutattak, viszont a hatásos és a toxikus dózis között megnőtt a különbség. Ezzel szemben a C/D *transz* anellációjú származékok kardiotóniás hatása már elhanyagolható volt, ugyanakkor ezek a vegyületek a szteroid hormonok bioszintézisének kulcsenzimjeire fejtettek ki gátló hatást. Ezen kulcsenzimek közé soroljuk a $P450_{17\alpha}$ enzimet, amely egy kétlépéses folyamatot katalizál. Az első lépésben a metilketon oldalláncú szteroid prohormonokat (pregnenolon, progeszteron) 17α -hidroxi származékká alakítja, majd ezt követi a 17-es helyzetű oldallánc hasítása (5. ábra).



3β -HSD = 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

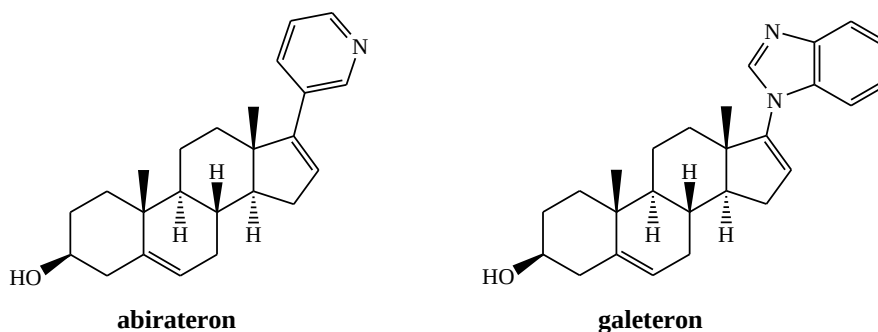
5. ábra: *Az androgén hormonok bioszintézisének részlépései I.*

A folyamatban egyéb enzimek is közreműködnek, melynek során a keletkező androszt-4-én-3,17-dion végeredményben hormonálisan aktív tesztoszteronná, majd dihidrotesztoszteronná alakul át (**6. ábra**).



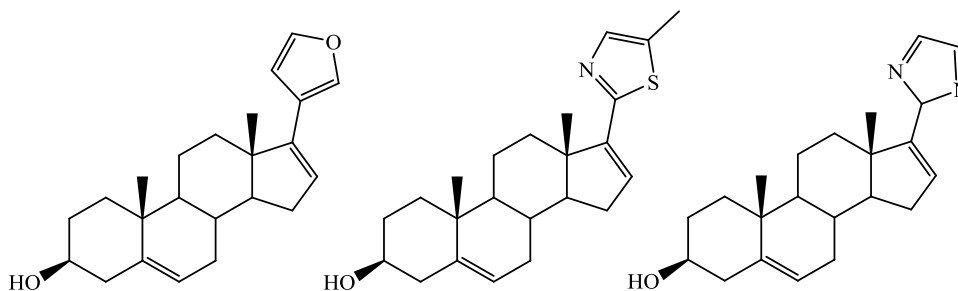
6. ábra: Az androgén hormonok bioszintézisének részlépései II.

Mindazon vegyületek, amelyek az androgén hormonok bioszintézisét a kezdeti reakciólépéseknél, azaz a $P450_{17\alpha}$ enzim gátlásával visszاسzorítják, hatékony gyógyszerei lehetnek az androgénfüggő betegségeknek. Megállapítható, hogy míg a $17\beta\text{-exo}$ -heterociklusos szteroidok kutatása a természetben megtalálható, oxigén tartalmú kardiotóniás szteroidok hatásának kedvezőbbé tételére irányult, addig az egyéb heteroatomot tartalmazó vegyületeknél egészen specifikus tulajdonságok jelentek meg. Jó példa erre a $P450_{17\alpha}$ enzimet gátló abirateron (3β-hidroxi-17-(3'-piridil)-androszt-5,16-dién), amelynek acetátja 2011 áprilisában került piacra az USA-ban, Zytiga® kereskedelmi néven (**7. ábra**). Az abirateron mellett megemlítendő egy másik $P450_{17\alpha}$ inhibitor, a jelenleg klinikai kipróbálás alatt álló galeteron is, amely ugyancsak csökkenti a szervezetben a tesztoszteronszintet, ezáltal várhatóan a prosztatatarák kezelésében válik alkalmazhatóvá.²⁹ Ezen két szteránvázis vegyület bizonyított hatásosságának köszönhetően az utóbbi pár évben jelentősen megnőtt az érdeklődés a $P450_{17\alpha}$ inhibitorok kutatása iránt.



7. ábra: Az androgén bioszintézist gátló $P450_{17\alpha}$ inhibitorok

Az enzimgátlás értelmezésének igazolására számos szteroid heterociklus szintézisére és biológiai tanulmányozására került sor. *Brodie* és munkatársai pregnadienolon-acetátból kiindulva 17-(4'-metiltiazolil)-, 17-(5'-metiltiazolil)-származékokat és ezek oxazolil analogonjait állították elő.³⁰ Mint kiderült, a vegyületek a P450_{17α} hatásos inhibitorai. Ez a gátlás azonban csak a 3β-hidroxi származékoknál volt jelentős, acetátjaik nem mutattak aktivitást. A későbbiekben C-17-es helyzetben azolil, furanil, izoxazolil, oxazolil és pirimidil funkciós csoportokat tartalmazó származékokat is előállítottak, melyek szintén erős P450_{17α} enzimet gátló hatással rendelkeztek.³¹⁻³⁴ A nitrogén tartalmú heterociklusok révén kiváltott enzimgátlást azzal magyarázták, hogy a nitrogén nemkötő elektronpárja koordinálódik az enzim hem részében lévő vashoz, és így egy koordinatív kötással enzim-ligandum komplex alakul ki. Hasonló kölcsönhatás várható egyéb heteroatomoktól (O, S), ill. a szteránváz D-gyűrűjében lévő kettőskötéstől is³⁵ (**8. ábra**).

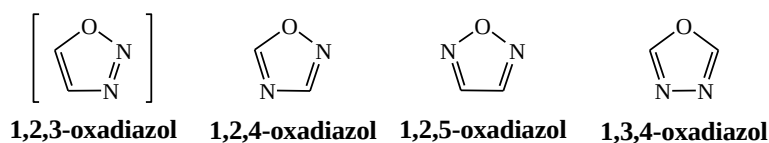


8. ábra: A P450_{17α} enzim hatásos inhibitorai

A P450_{17α} enzimre kifejtett gátlás mellett számos 17-*exo*-heterociklusos szteránváz vegyület rendelkezik direkt sejt-osztódás gátló hatással, bár ezekben az esetekben a hatás-mechanizmus összetett és kevésbé tisztázott.¹⁴

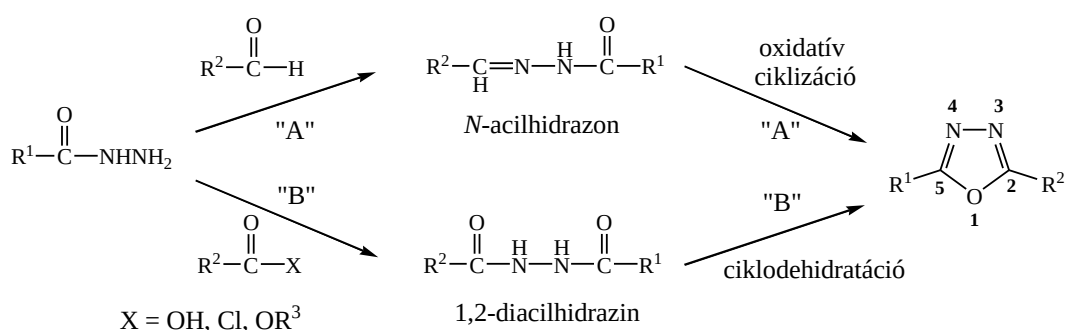
2.2. Az 1,3,4-oxadiazolok előállításának módjai és biológiai jelentősége

Az oxadiazolok öttagú gyűrűből álló heteroaromás vegyületek, amelyek egy oxigénatomot és két nitrogénatomot tartalmaznak. Négy ismert izomerük létezik, melyek közül egyedül az 1,2,3-oxadiazol instabilis (**9. ábra**).



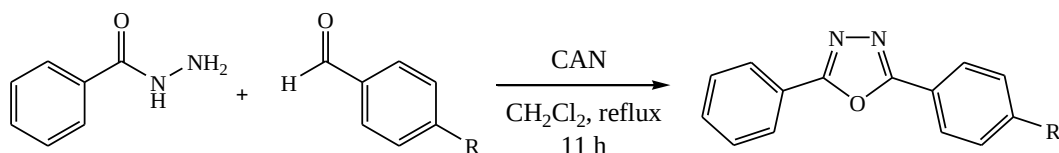
9. ábra: Az oxadiazolok lehetséges izomerei

Az 1,3,4-oxadiazol gyűrű számos biológiailag aktív molekula fontos építőkövét képezi, valamint a potenciális gyógyszerhatóanyagok előállításában is egyre nagyobb szerephez jut.³⁶ Egyes származékok antimikrobiális, vírusölő, gyulladásgátló hatással rendelkeznek, míg mások fájdalomcsillapító, vizelethajtó, altató, nyugtató vagy rákellenes aktivitást mutatnak. Ugyancsak nagy figyelem övezi őket a gyógyszerkémiaiában is, mint karbonsavak, észterek és karboxamidok bioizoszterei.³⁷ Előnye az említett funkciók csoportokhoz képest a hidrolízissel szemben mutatott nagy stabilitás. A 2,5-diszubsztituált 1,3,4-oxadiazolok előállítási lehetőségei közül a két leggyakrabban alkalmazott módszert ismertetem (10. ábra). Az egyik lehetőség aldehidből képzett *N*-acilhidrazonok oxidatív gyűrűzárása ("A"), mely valamilyen oxidálószer (pl. cérium-ammónium-nitrát (CAN),³⁸ klóramin-T,³⁹ hipervalens jód-tartalmú reagensek,⁴⁰ higany-acetát, kálium-permanganát,⁴¹ stb.) jelenlétében megy végbe. A másik módszer karbonsavakból, ill. reaktív származékaiból (észter, sav-klorid) előállítható 1,2-diacilhidrazinok ciklodehidratációja ("B"), melynek kivitelezéséhez valamilyen vízelvonó reagens (pl. POCl₃, H₂SO₄, CF₃COOH, SOCl₂, stb.) hozzáadása szükséges.



10. ábra: 1,3,4-Oxadiazolok leggyakrabban alkalmazott előállítási lehetőségei

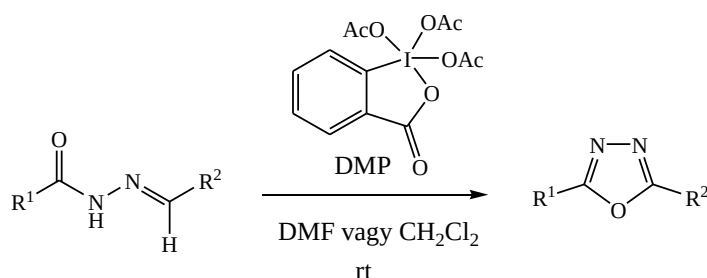
Az aldehidekből és karbonsav-hidrazidokból kiinduló heterociklus-szintézis ("A") történhet az előző ábrán bemutatott kétlépéses reakcióval, valamint úgy is, hogy a köztitermék *N*-acilhidrazon izolálása nélkül hajtják végre a reakciót, és a kondenzáció, majd az azt követő oxidatív gyűrűzárás egy reakcióedényben megy végbe. Erről az ún. "one-pot" módszerről Dabiri és munkatársai számoltak be 2006-ban, amely során benzhidrazid és *para*-szubsztituált aromás aldehidek reakciójával, CAN jelenlétében diszubsztituált oxadiazolokat állítottak elő (11. ábra).⁴⁵



11. ábra: 1,3,4-Oxadiazolok előállítása "one-pot" módszerrel

Az oxadiazol-szintézis izolálható *N*-acilhidrazon köztitermékei ugyancsak sokoldalú és széles körben alkalmazott vegyületek; mind a szerves kémiai, mind az analitikai kémiai gyakorlatban fontos szerepet töltenek be.⁴² Átmenetifém-ionokkal alkotott komplexeik az enzimgátlás mechanizmusának feltérképezésében kiemelkedő fontosságúak,⁴³ valamint számos hidrazon származék rendelkezik számottevő biológiai aktivitással is.⁴⁴

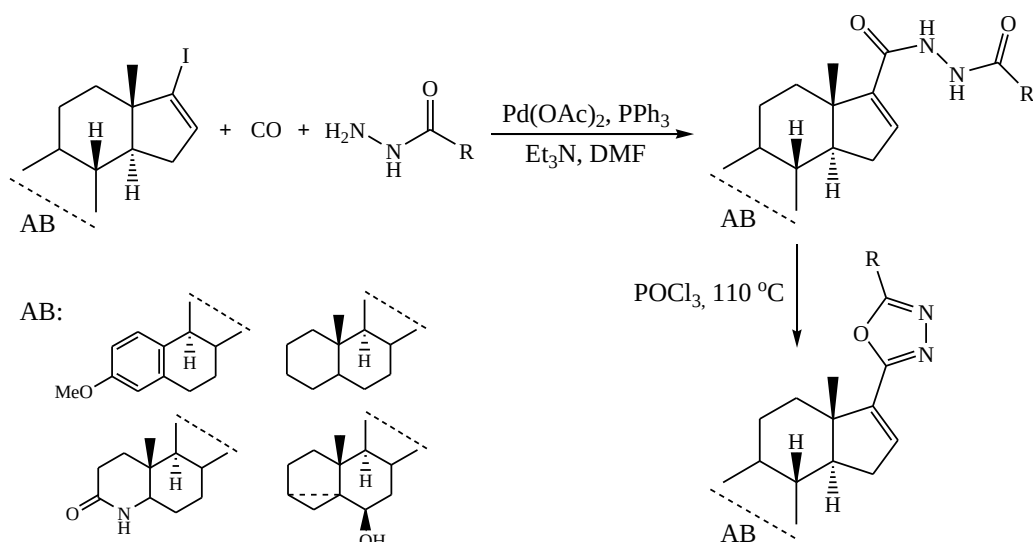
Újabban azt találták, hogy a hipervalens jód-vegyületek (pl. diacetoxi-jódbenzol (DIB), Dess-Martin perjodinán (DMP)) már enyhe reakciókörülmények között alkalmasak az *N*-acilhidrazonok oxidatív ciklizációjának indukálására (**12. ábra**).



12. ábra: *N*-acilhidrazonok oxidatív gyűrűzárása Dess-Martin perjodinánnal

Az 1,3,4-oxadiazolok szteránvázon történő kialakítására nagyon kevés példa található a szakirodalomban. Szarka és munkatársai különböző alapvázú Δ^{16-17} -jódozott szteroidokból kiindulva, aminokarbonilezési reakcióval jutottak a **10. ábrán** bemutatott "B" reakcióútnak megfelelő *N,N'*-diacil származékokhoz, melyek POCl_3 -dal, 110 °C-on elvégzett gyűrűzárása 17-(1,3,4)-oxadiazolokat eredményezett (**13. ábra**).⁴⁵

Fontos megemlíteni, hogy az 1,2-diacilhidrazinok számos képviselője maga is biológiailag hatásos vegyület; néhány természetes forrásból izolálható képviselőjük vírusellenes, antioxidáns és baktériumellenes hatással bír, míg mások a rovarok növekedését szabályozó funkciót töltenek be, így a mezőgazdaságban rovarirtó szerként használatosak.⁴⁶

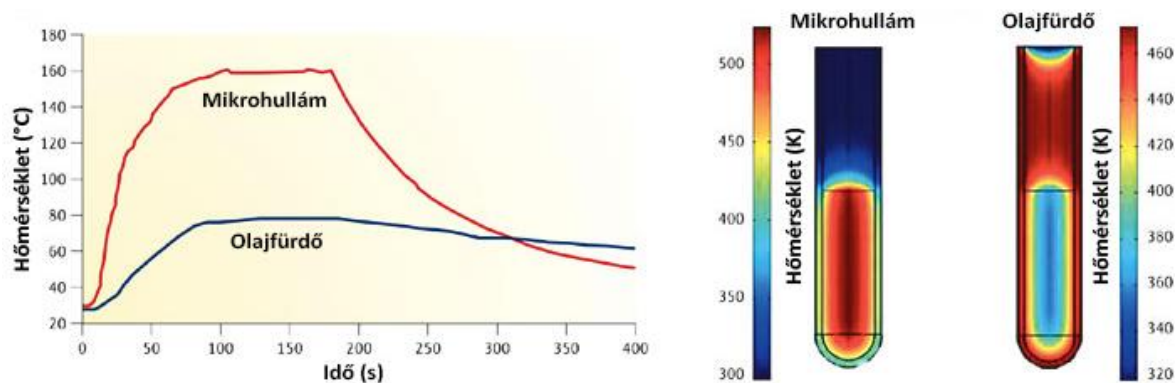


13. ábra: Szteránvázas 1,3,4-oxadiazolok előállítása

2.3. A mikrohullámú technikáról általában, alkalmazása szerves szintézisekben

A mikrohullámú (MW) technikát az 1980-as évektől kezdve alkalmazzák szerves kémiai szintézisekben. A mikrohullám olyan elektromágneses hullám, melynek frekvenciája 0,3–300 GHz közé tehető. Tudományos célra a 2450 MHz-es frekvenciájú hullámot használják, mivel az csak a molekulák forgására van hatással, így a kötések felszakadásával nem kell számolni.

Egészen a közelmúltig a laboratóriumi hőközlés kizárólagos eszközei az olajfürdők és az elektromos főzőlapok voltak, míg MW sütőkkel többnyire a konyhában találkoztunk. Szemben a kevésbé hatékony és lassú tradicionális fűtési módokkal, ahol a fűtendő elegynek közvetlen kapcsolatban kell lennie a fűtőtesttel, valamint a hőnek először a reakcióedény falán kell áthatolnia, a MW technika alkalmazásakor az energia közvetlenül a reagálandó anyagokhoz jut. A MW oszcilláló mezejének hatására a poláris molekulák igyekeznek a mezőnek megfelelően rendeződni; ezt a kölcsönhatást nevezzük dipólus forgásnak. Ennek köszönhetően gyorsan emelkedik a reakcióelegy hőmérséklete és azonnali, helyhez kötött, úgynevezett "túlhevülés" következik be a reakcióelegy szegmenseiben. A besugárzás hatására az elegyben minden pillanatban máshol, akár 20–30 °C-ot is meghaladó lokális túlmelegedések következnek be, mialatt az elegy főtömege nem hevül túl (**14. ábra**).



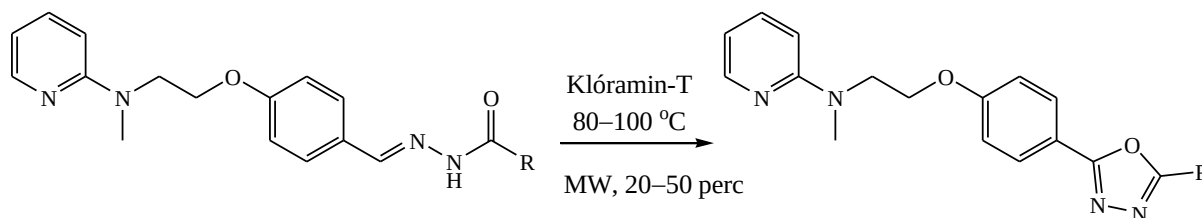
14. ábra: *Hőmérsékletprofilok mikrohullámú technika és hagyományos fűtési mód esetén, oldószerként etanolt használva*

Az a tény, hogy a MW fűtés alkalmazása jótékony hatással van a reakcióidőre, több okra vezethető vissza. Köszönhető egyrészt a már említett lokális túlmelegedés eredményeként létrejövő specifikus MW effektusnak, amit "molekuláris fűtésnek" nevezünk. Másrészt a reakciók során kívánt átalakítások a nyomás és ennek következtében elérhető magasabb hőmérséklet miatt – a minta teljes térfogatában – a szokásosnál gyorsabban és egy időben mennek végbe, mely szintén növeli a reakciósebességet. A reakciók tervezésénél további fontos szempont a megfelelő oldószer kiválasztása, hiszen a komponensek dielektromos tulajdonságai fogják meghatározni a fűtés karakterisztikáját. Ebből a szempontból a komponensek kiemelkedő fontosságú tulajdonságát képezi a veszteségi tényező ($\tan\delta$), amely meghatározza, hogy az elektromágneses energiát milyen mértékben képesek hővé átalakítani. A magas $\tan\delta$ érték hatékony abszorpciót és gyors melegedést eredményez. Az oldószerek abszorpciós képességük alapján három csoportba sorolhatók, megkülönböztetünk: kis (CHCl_3 , EtOAc, toluol), közepes (víz, ecetsav, DMF) és nagy (MeOH, EtOH) abszorpciós készségű oldószereket. A reakcióelegyben azonban más, a mikrohullámok elnyelésében részt vevő komponensek is jelen lehetnek, így az alacsony $\tan\delta$ értékekkel rendelkező oldószerekről sem kell lemondanunk. A MW energia abszorpciójának mértékét poláris adalékokkal is növelhetjük.

Fontos újítás az is, hogy a MW berendezések kétféle (nyitott, illetve zárt) üzemmódban is működtethetők, nyomásálló feltétellel lehetővé téve, hogy akár 20 bar nyomáson és magasan az oldószer forráspontja felett vezessük a reakciót. Ezáltal sok esetben a reakció hatékonysága és a szelektivitása is jelentősen javul. Az irodalomban

homogén- és heterogén fázisú, oldószerben megvalósított MW reakciók mellett oldószermentes és szilárd fázisú reakciók megvalósítására is találhatunk példát. Ez a módszer óriási előnye, mivel nem csak oldat fázisban, hanem szilárd vagy olvadék fázisban, oldószer hozzáadás nélkül is végrehajthatóak az egyes átalakítások. Így a reakciók kevésbé veszélyesek, környezeti szempontból biztonságosabbak, tehát a zöld kémia elveihez közelítenek.⁴⁷ A szintetikus alkalmazásokat is figyelembe véve, a gyógyszeripar új molekulák iránti növekvő igényére is megoldást jelenthet a MW technika, hiszen a kipróbálható reakciók száma is nő a reakcióidő csökkentésével. Megemlítendő, hogy a szerves kémia szinte teljes egészét átölelik az elmúlt évtizedben a MW reakciók terén végzett intenzív kutatások, így a téma irodalma is széles körű és szerteágazó. Számos példa van, amikor is a MW besugárzás előnyösnek bizonyult a szerves szintézisekben; így mostanáig különféle acilezések és észteresítések, kondenzációs és keresztkapcsolási reakciók, peptid-szintézisek, nukleofil szubsztitúciós és addíciós reakciók, elektrofil szubsztitúciók, oxidációs és redukciós átalakítások sikeres megvalósításáról, különféle heterociklusos vegyületek szintéziséről számoltak be.

Az 1,3,4-oxadiazolok MW reakcióval történő előállítására is találhatók szakirodalmi példák, *Gaonkar* és munkatársai *N*-acilhidrazonok oxidatív gyűrűzárásával klóramin-T jelenlétében nyertek heteroaromás származékokat (**15. ábra**).⁴⁸

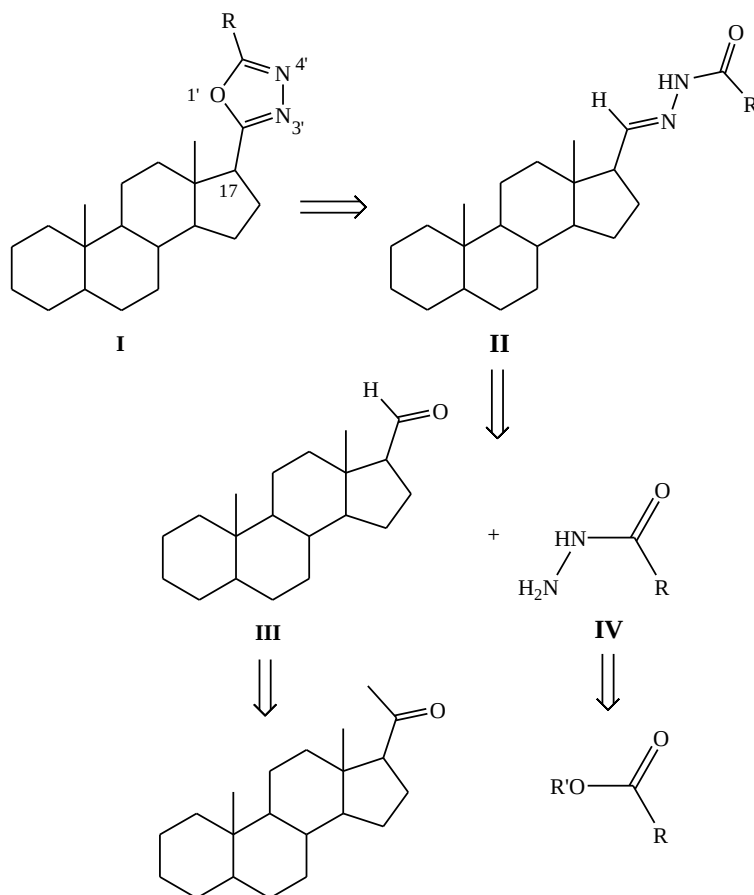


15. ábra: 1,3,4-Oxadiazol származékok MW szintézise

3. Célkitűzés

Az irodalmi előzmények alapján munkánk során célul tűztük ki szteránváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó 1,3,4-oxadiazolok (**I**) előállítását. A szintéziseket kétlépéses reakcióval, az általunk előállított szteránváz as aldehidekből (**III**) és különböző karbonsav-hidrazidokból, valamint szemikarbazidból (**IV**) hidrazonképzéssel (**II**), majd az azt követő oxidatív gyűrűzárással kívántuk megvalósítani (**16. ábra**). Átalakításaink során a reakciókörülmények optimalizálására törekedtünk. A karbonsav-hidrazidok (**IV**) és az *N*-acilhidrazonok (**II**) előállításakor terveztük a hagyományos melegítés és a MW besugárzás reakciósebességre és termékhozamra gyakorolt hatásának összehasonlítását. Az 1,3,4-oxadiazolok (**I**) szintézise során többféle gyűrűzárási módszer kipróbálását tűztük ki célul.

Tervünk volt továbbá az előállított vegyületek (**I**, **II**) fizikai jellemzése és szerkezetbizonyítása, valamint kétirányú farmakológiai vizsgálata az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetével (antiproliferatív hatás), valamint az I. sz. Belklinika Önálló Endokrin Osztállyal (P450_{17α} enzim gátlás) való együttműködések keretében.

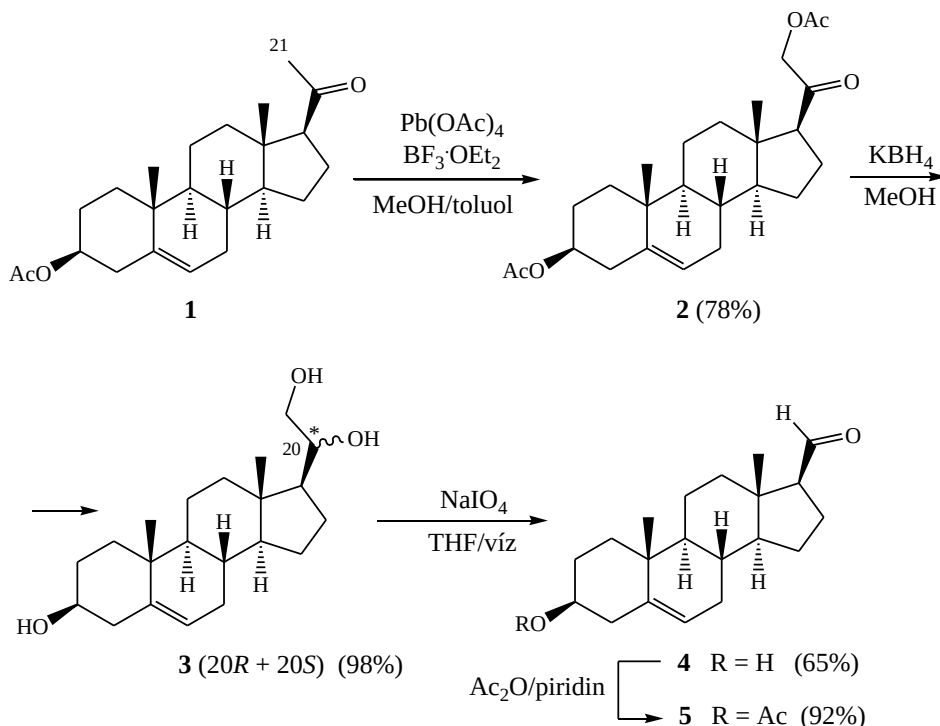


16. ábra: A tervezett átalakítások retroszintetikus reakciósémája

4. Kísérleti eredmények tárgyalása és értékelése

4.1. Szteránvázas 17 β -karbaldehidek előállítása

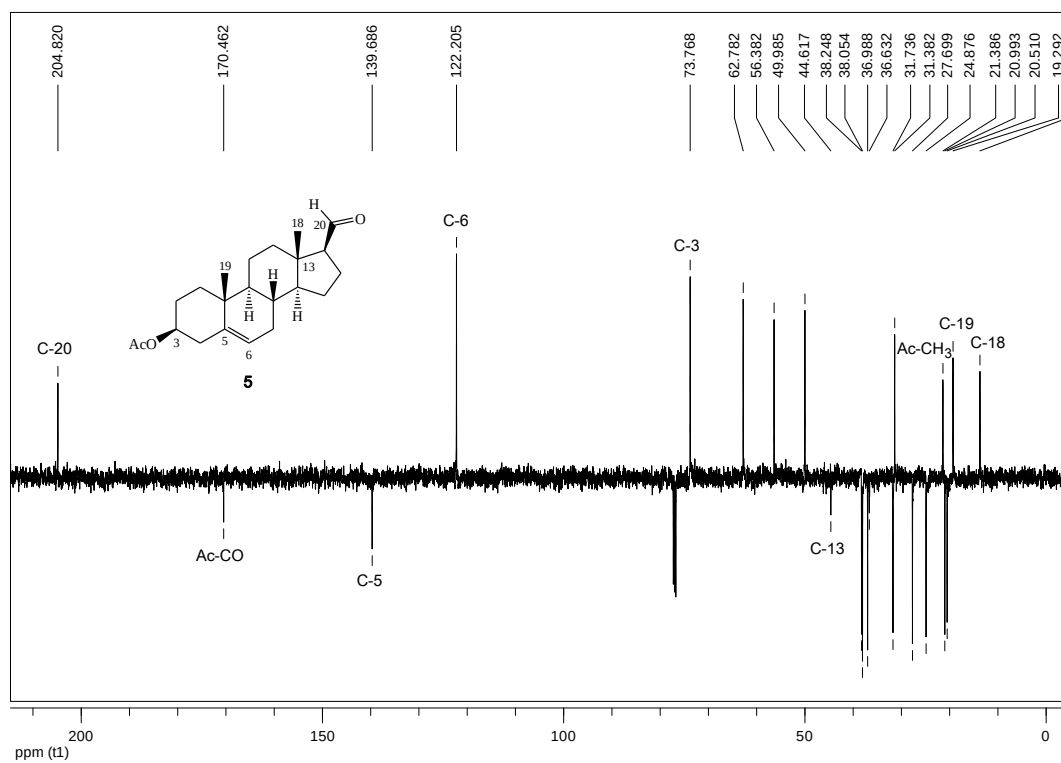
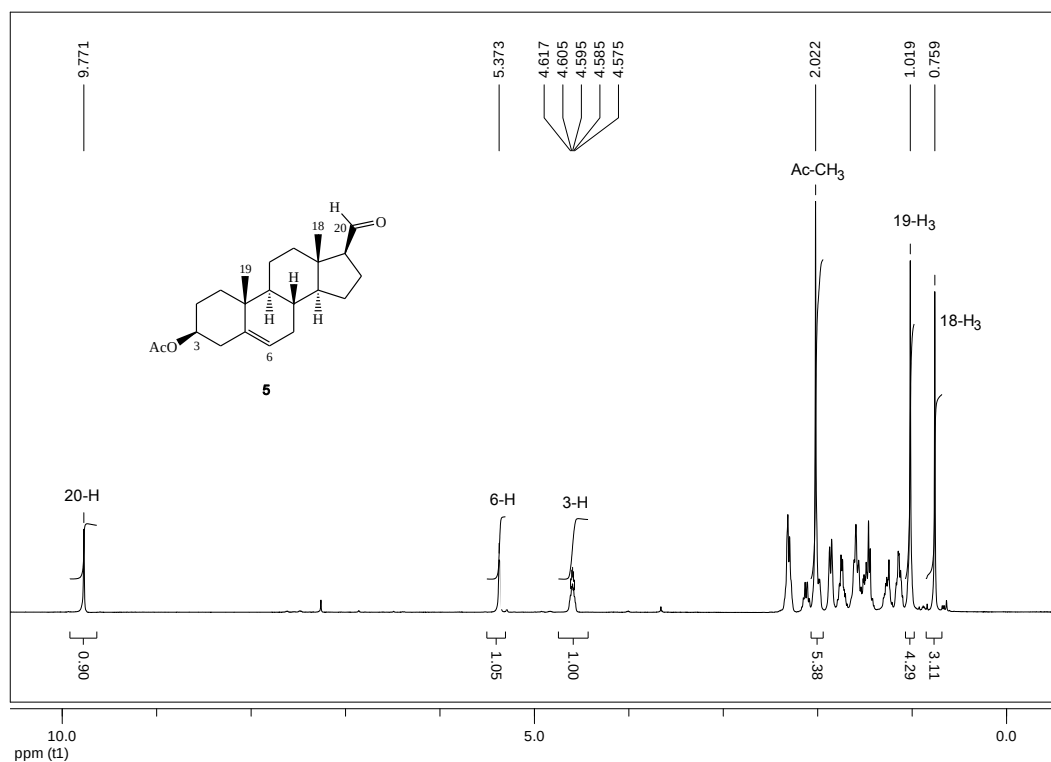
Munkánk első részében a tervezett átalakításokhoz szükséges szteránvázas 17 β -karbaldehideket (**4** és **5**) több lépésben, pregnenolon-acetátból (**1**) állítottuk elő.⁴⁹ A vegyület (**1**) ólom-tetraacetátos oxidációja $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ jelenlétében a 3 β ,21-diacetoxipregn-5-én-20-ont (**2**) eredményezte, melynek kálium-tetrahidridboráttal, metanolban végrehajtott redukciója két izomer vicinális diolhoz (**3-R** + **3-S**) vezetett a 20-as szénatomon kialakuló új kiralitáscentrum következtében (**17. ábra**). Az epimer keveréket elválasztás nélkül nátrium-perjodáttal reagáltatva, oxidatív lánchasadással a kívánt 17 β -aldehidhez jutottunk (**4**). A 3-as helyzetű hidroxilcsoport acetilezésével a megfelelő észtert (**5**) kaptuk.



17. ábra: A szteránvázas 17 β -karbaldehidek többlépéses szintézise

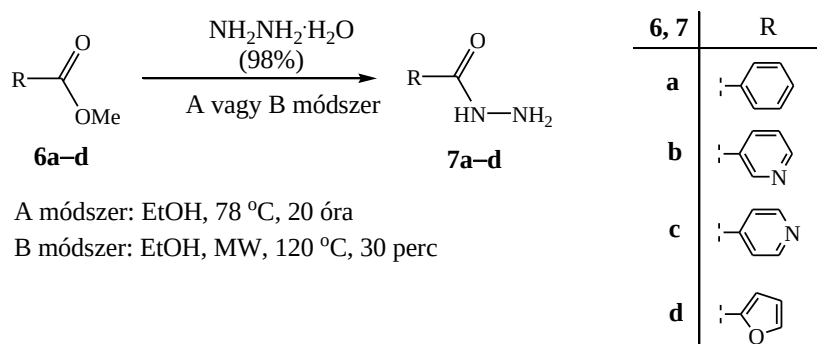
A 17 β -aldehidek (**4** és **5**) szerkezetét NMR-spektroszkópia segítségével bizonyítottuk. Mindkét vegyületről készült ^1H -NMR spektrumon jól láthatók 9,77 ppm kémiai eltolódásnál a formil-csoport protonjának szingulett jelei, a 20-as karbonil-szénatom pedig a ^{13}C -NMR spektrumokon 204,8 ppm-nél pozitív csúcsként jelentkezik.

Szemléltetésképpen a **18.** és **19. ábrákon** az 5-ös acetát származék ^1H -, illetve ^{13}C -spektrumait tüntettem fel.

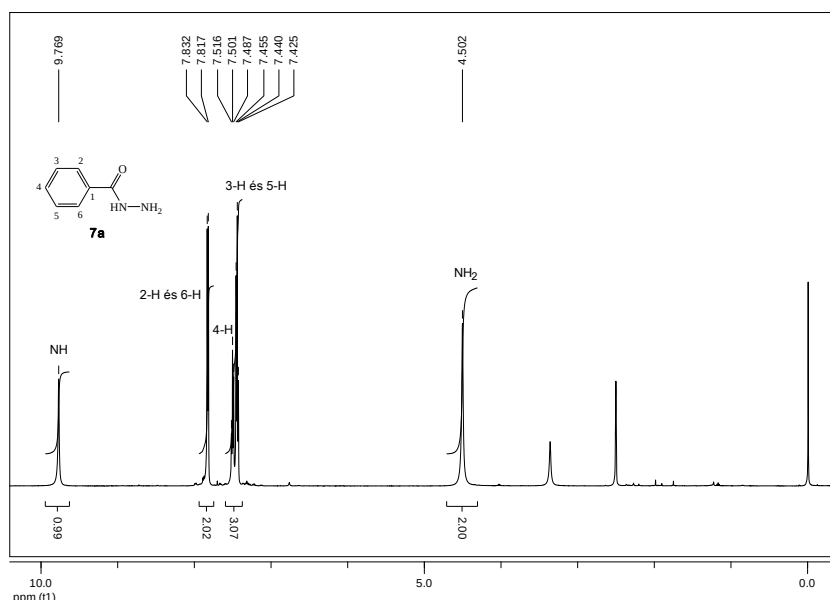


4.2. Karbonsav-hidrazidok előállítása

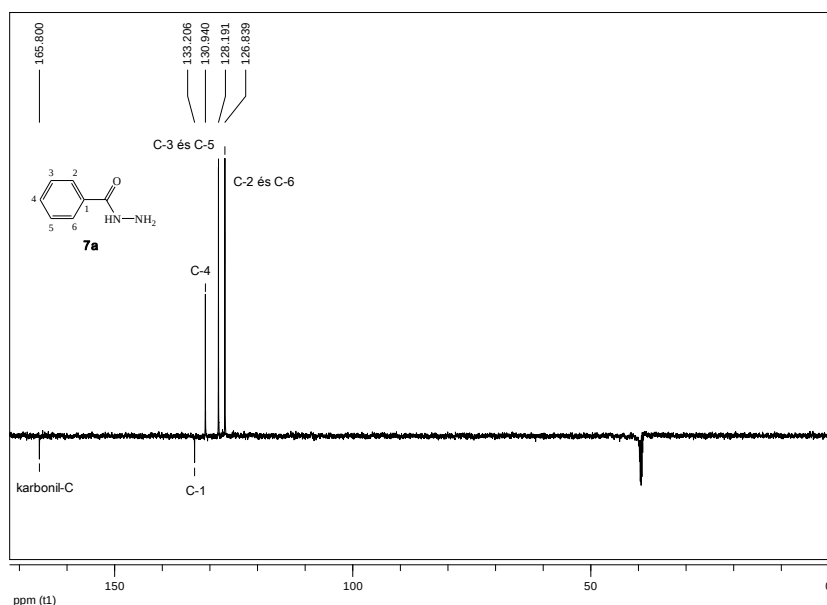
A konvergens szintézisek másik kiindulási anyagaiként szolgáló karbonsav-hidrazidokat (**7a–d**) karbonsav-metilészterek (**6a–d**) és hidrazin-hidrát nukleofil acil szubsztitúciós reakciójával nyertük (**20. ábra**).⁵⁰ A benzoeszav-hidrazid (**7a**) előállítását hagyományos melegítéssel (A módszer) és MW besugárzással (B módszer) is elvégeztük. Az EtOH-ban történő forralás 20 óra alatt eredményezett teljes konverziót, ugyanakkor a MW módszerrel, 120 °C-on, már 30 perc után teljessé vált a reakció. Ezt követően a másik három származék (**7b–d**) előállításánál már a MW technikát alkalmaztuk. A szilárd termékeket nagy polaritásuk miatt oszlopkromatográfiával nem tisztítottuk, hanem a reakcióelegyekből kiszűrtük és hideg hexánnal mostuk. Az NMR szerkezetvizsgálat szerint a savhidrazidok megfelelő tisztaságúak voltak a további felhasználáshoz (**7a** spektrumait ld. **21. és 22. ábrák**).



20. ábra: Aromás és heteroaromás karbonsav-hidrazidok szintézise



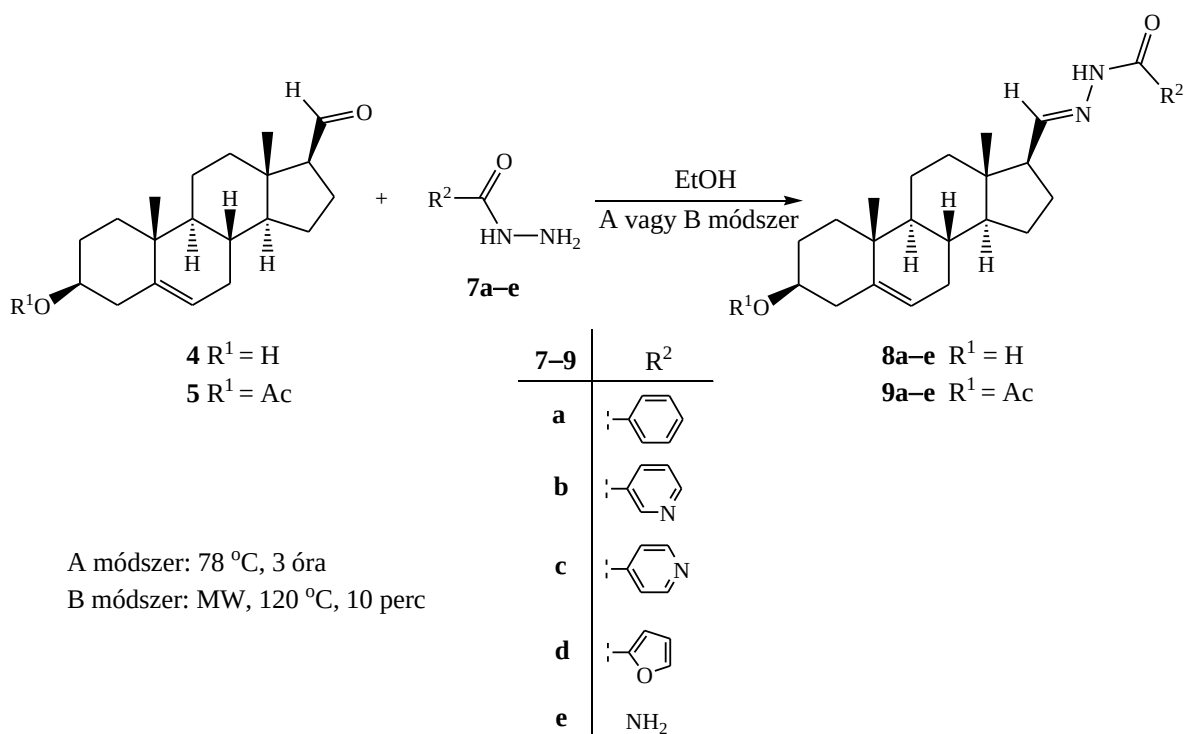
21. ábra: A benzoeszav-hidrazid (**7a**) DMSO-*d*₆-ban felvett ¹H-NMR spektruma



22. ábra: A benzoész-hidrazid (**7a**) $\text{DMSO}-d_6$ -ban felvett ^{13}C -NMR spektruma

4.3. Kondenzációs reakciók elvégzése

A következőkben a szteroid karbaldehidek (**4** és **5**) acilhidrazidokkal (**7a–d**), valamint szemikarbaziddal (**7e**) végbemenő kondenzációs reakcióit tanulmányoztuk mind hagyományos termikus (A módszer), mind MW (B módszer) körülmények között (**23. ábra**). A reakciók **7a–d** esetén függetlenül az acil-csoport R^2 szubsztituenseitől minden esetben jó, illetve kiváló hozamokkal eredményezték a megfelelő *N*-acilhidrazonokat (**8a–d** és **9a–d**). A szemikarbaziddal (**7e**) végzett átalakítások, melyeket a reagens HCl sójának felhasználása miatt NaOAc jelenlétében végeztünk, közepes hozamokkal szolgáltatották a várt termékeket (**8e** és **9e**). Megállapítható, hogy a MW besugárzás nagymértékben csökkentette a reakcióidőt, de a kívánt termékhozamok csak minimális mértékben növekedtek a termikusan indukált változathoz képest. Általánosan elmondható továbbá, hogy a hozamok a 3-OAc származékok (**9a–e**) esetén némileg kisebbek voltak, mint a 3-OH analogonoknál (**8a–e**), mely a kiindulási 5-ös vegyület EtOH-ban, még magasabb hőmérsékleten is kisebb oldhatóságával magyarázható.



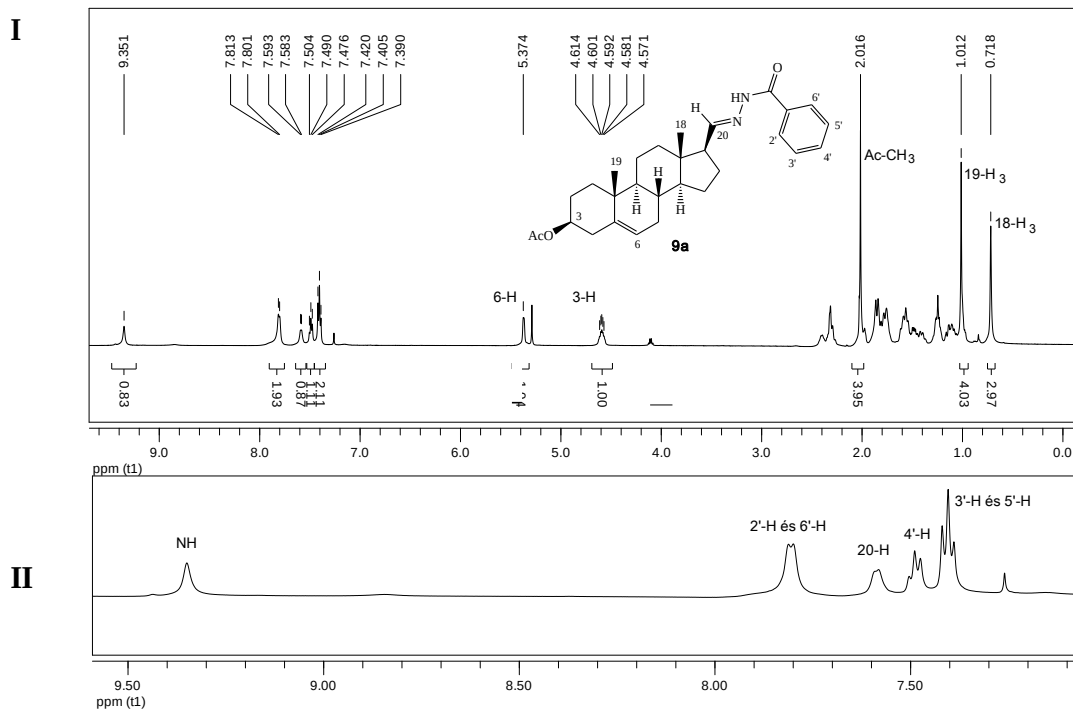
Termék	R^1	R^2	Hozam (%) ^a	
			Hagyományos (A módszer)	MW (B módszer)
8a	H	Ph	94	97
9a	Ac	Ph	85	89
8b	H	3-piridil	90	92
9b	Ac	3-piridil	80	82
8c	H	4-piridil	85	87
9c	Ac	4-piridil	75	76
8d	H	2-furil	91	93
9d	Ac	2-furil	79	82
8e	H	NH_2	72	75
9e	Ac	NH_2	62	64

^aoszlopkromatográfiás tisztítás után

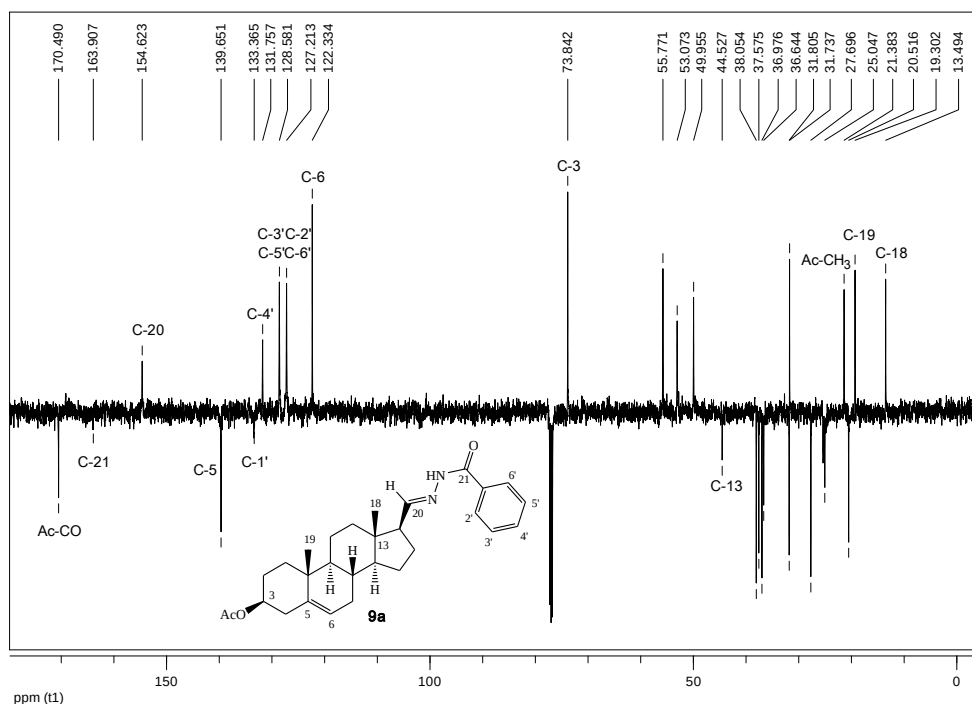
23. **ábra:** Szteránvázak *N*-acilhidrazonok előállítása kondenzációs reakcióval

A kondenzációs reakciók során az *N*-acilhidrazonok (**8a-e** és **9a-e**) nagy valószínűséggel *E*-izomereik formájában képződtek, mivel szterikus okok miatt a *Z*-izomerek kevésbé stabilisak.⁵¹ A termékek ¹H-NMR spektrumai szerint **8a-d**, illetve **9a-d** esetén az N=CH (20-H) protonok 7,52–7,76 ppm között, míg **8e** és **9e** vegyületeknél 7,16 ppm-nél dublettként jelennek meg 6 Hz körüli csatolási állandóval. A CONH proton jele széles szingulettként látszik a 9,11–11,63 ppm-es tartományban (A **9a** vegyületről felvett ¹H-NMR spektrumot a **24. ábra** mutatja). A ¹³C-NMR spektrumokon az amid szénatom (C-21) kis

kvaterner jele 163 ppm körül negatív csúcsként, míg a C-20 imin szénatom 155 ppm körül pozitív csúcsként jelentkezik (25. ábra).



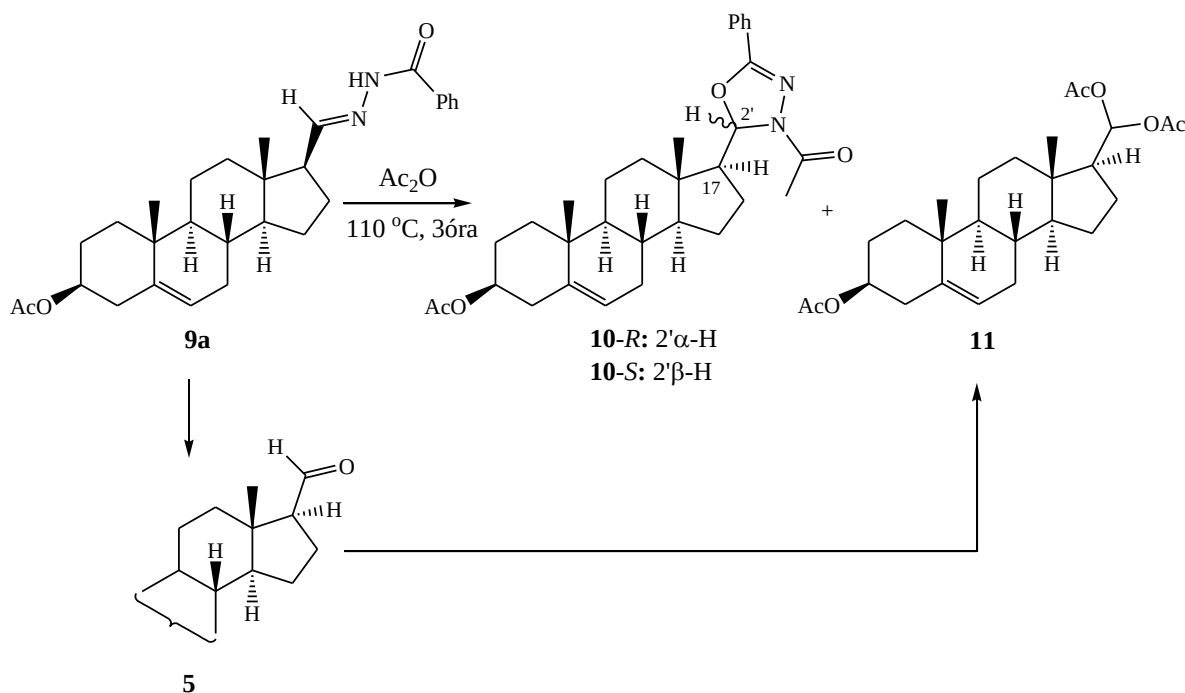
24. ábra: A **9a** CDCl_3 -ban felvett ^1H -NMR spektruma (**I**) és aromás tartományának kinagyított spektrumrészlete (**II**)



25. ábra: A **9a** CDCl_3 -ban felvett ^{13}C -NMR spektruma

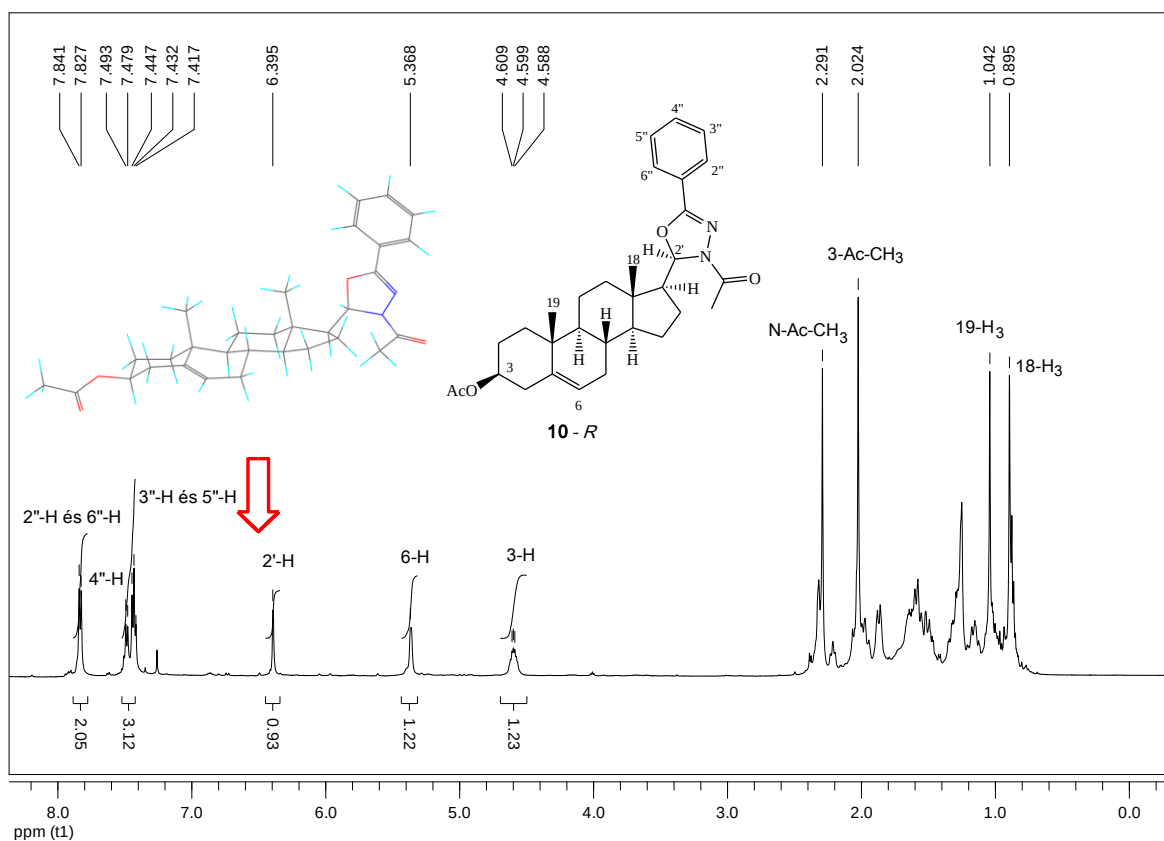
4.4. Szteránvázas *N*-acilhidrazonok gyűrűzárása

A kezdeti kísérleteink során a **9a** acilhidrazon származék gyűrűzárásával próbálkoztunk forró ecetsav-anhidridet használva reagensként, és egyben oldószerként is.⁵² Három óra reakcióidőt követően a kiindulási anyag teljesen átalakult, habár a várt 3-acil-1,3,4-oxadiazolin izomerek (**10-R** és **10-S**) csupán 48%-os összhozammal keletkeztek megközelítőleg 1:1 arányban, jelentős mennyiségű (37%) diacetát melléktermék (**11**) képződése mellett (**26. ábra**). A **11**-es vegyület keletkezése a **9a** acilhidrazon kiindulási aldehiddé (**5**) történő visszaalakulásával,⁵³ majd az ecetsav-anhidrid C=O kötésre történő addíciójával magyarázható.

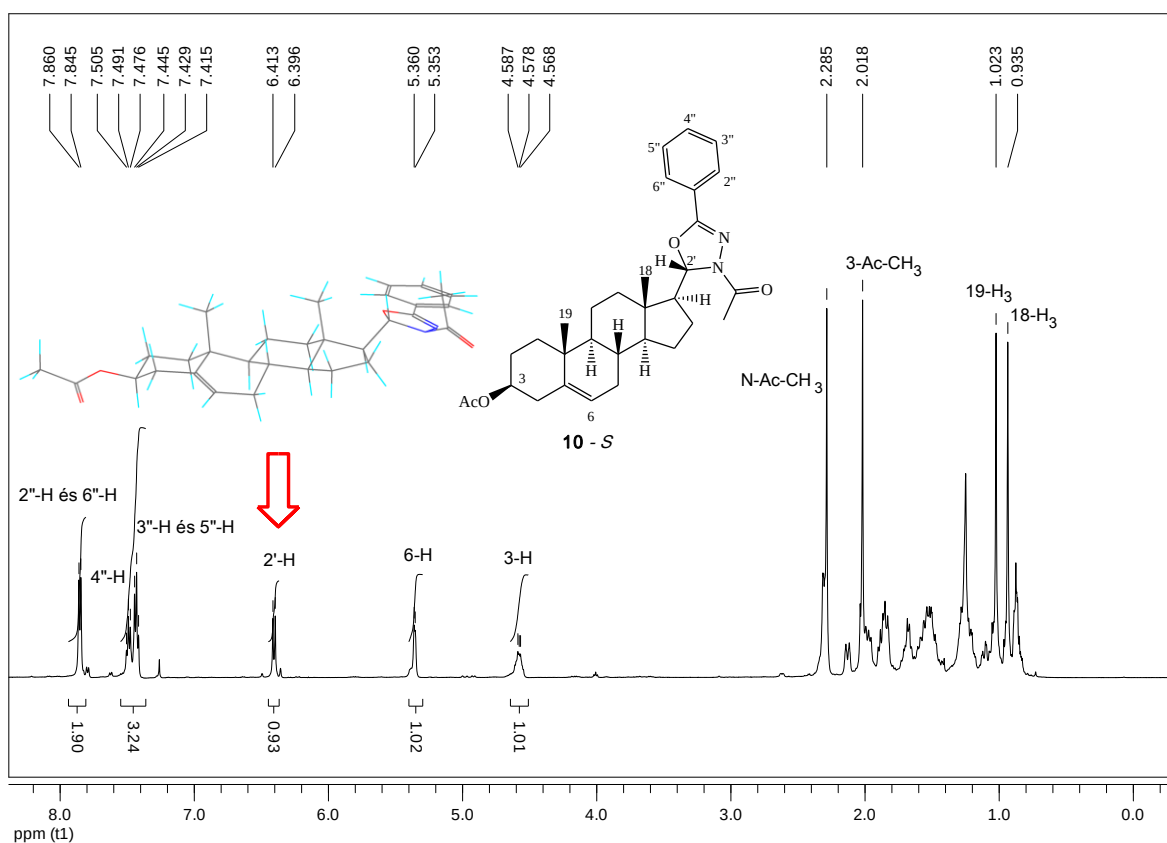


26. ábra: Szteránvázas 3-acil-1,3,4-oxadiazolinek előállítása

A **10**-es epimerek ^1H -NMR spektrumait összehasonlítva jelentős különbségeket figyeltünk meg a 2'-H proton csatolási képei között, amelynek csúcsa mindkét esetben 6,40 ppm-nél figyelhető meg. A 2'-H jele a **10-R** izomernél szingulettként jelentkezik (**27. ábra**), míg **10-S** esetén dublettként (**28. ábra**). Figyelembe véve a 3J csatolási állandók és a Θ diéderes torziós szögek közötti korrelációt, a $^3J(2'\text{-H}, 17\text{-H}) = 0\text{ Hz}$ (a **10-R** vegyületnél), illetve 8,7 Hz (a **10-S** epimernél), $\Theta(\text{H}2', \text{C}2', \text{C}17, \text{H}17) = \sim 80^\circ$ -os, illetve $\sim 160^\circ$ -os diéderes szögnek felel meg az egyes származékoknál, ez pedig megerősíti a C-2' abszolút konfigurációját.



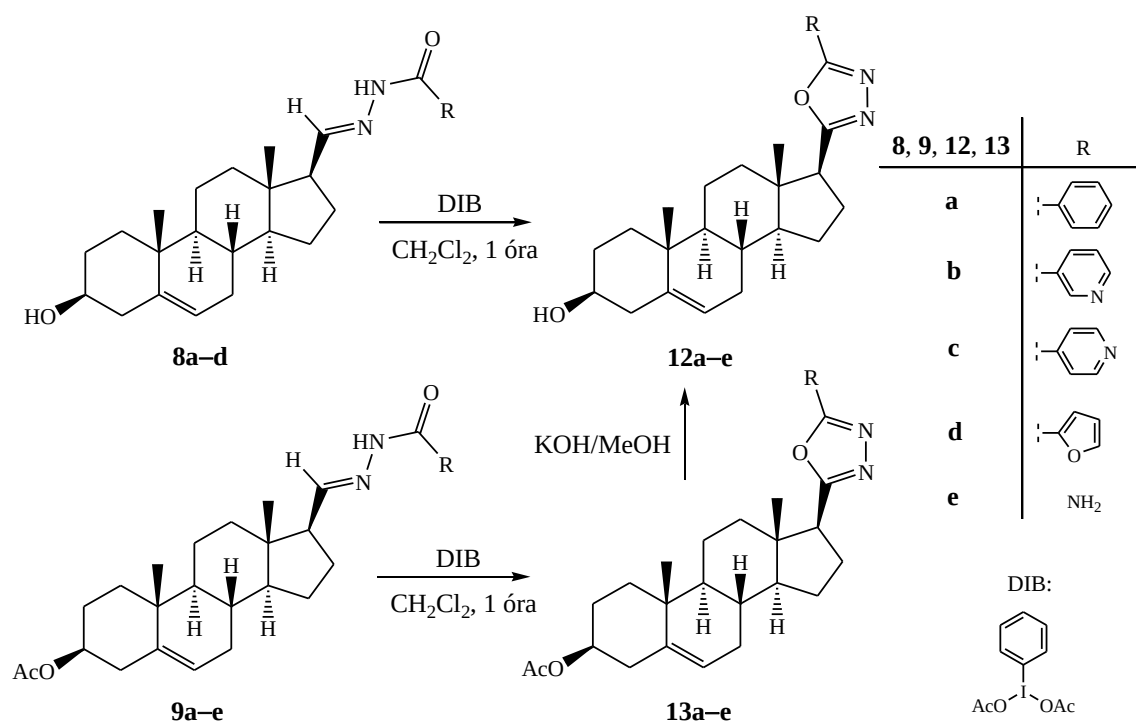
27. ábra: A 10-R oxadiazolin izomer CDCl_3 -ban felvett ^1H -NMR spektruma



28. ábra: A 10-S oxadiazolin izomer CDCl_3 -ban felvett ^1H -NMR spektruma

Tekintettel arra, hogy a **9a** fent említett gyűrűzárása csak közepes hozammal szolgáltatotta a kívánt heterociklusos vegyületeket, ezért a **10**-es diasztereomer keverék további 1,3,4-oxadiazollá történő átalakításának gondolatát elvetettük, és figyelmünket az acilhidrazonok (**8a–d** és **9a–d**), valamint a szemikarbazonok (**8e** és **9e**) heteroaromás vegyületekké történő egy lépéses oxidatív ciklizációjára fordítottuk. A CAN, amelyet gyakran alkalmaznak ilyen célokra, meglehetősen erélyes oxidálószernek bizonyult, így a próbareakció – melyet ismételten a **9a** vegyülettel végeztünk – vékonyréteg-kromatográfiás (VRK) monitorozása során több anyag keletkezését észleltük. Bár a termékeket nem azonosítottuk, feltételezhető, hogy a CAN a B gyűrű kettős kötésével is képes elreagálni, és így nitrátok képződhetnek.⁵⁴ Alternatív megoldásként egy hipervalens jódivegyületet, mégpedig a DMP-nél jóval olcsóbb DIB-et választottuk oxidálószerként, melyet korábban C-glikozilezett oxadiazolok szintézise során is sikerrel alkalmaztak.⁵⁵ A reakciókat **8a–e** és **9a–e** felhasználásával, kétszeres feleslegben alkalmazott DIB jelenlétében, CH₂Cl₂-ban végeztük. Az oxidatív gyűrűzárások **8a–d** és **9a–d** esetén 1 óra szobahőmérsékleten történő keverést követően melléktermék képződése nélkül, teljesen lejátszódtak, és tisztítást követően jó hozamokkal kaptuk a megfelelő 17β-(1,3,4)-oxadiazolokat (**12a–d** és **13a–d**) (29. ábra). Megjegyzendő, hogy **8a–d** származékok esetén a reakcióelegyeket először enyhén melegítettük addig, amíg az alkalmazott oldószerben a kiindulási anyag teljesen fel nem oldódott. A **9e** szemikarbazon gyűrűzárása az acilhidrazonok (**9a–d**) hasonló reakcióihoz képest kisebb hozammal eredményezte a megfelelő amino-szubsztituált 1,3,4-oxadiazolt (**13e**), ugyanakkor **8e** oxidatív ciklizációja nem vezetett a kívánt termékhez (**12e**).

A feldolgozást követő gyors kromatográfiás tisztítás egyébként kritikus fontosságúnak bizonyult, mivel a termékek hosszabb ideig történő állása az oxidálószer feleslege mellett a hozamok csökkenését eredményezte. A **12a–e** analogonokat a **13a–e** acetátok egyszerű lúgos közegű dezacetilezésével is könnyen elő tudtuk állítani, így **12e** szintézise ez utóbbi reakcióúton történt.



Termék	R	Kitermelés (%) ^a	
12a	Ph	82 (i) ^b	95 (ii)
12b	3-piridil	76 (i)	95 (ii)
12c	4-piridil	73 (i)	94 (ii)
12d	2-furil	78 (i)	93 (ii)
12e	NH ₂	-	90 (ii)
13a	Ph	85 (i)	
13b	3-piridil	83 (i)	
13c	4-piridil	82 (i)	
13d	2-furil	82 (i)	
13e	NH ₂	60 (i)	

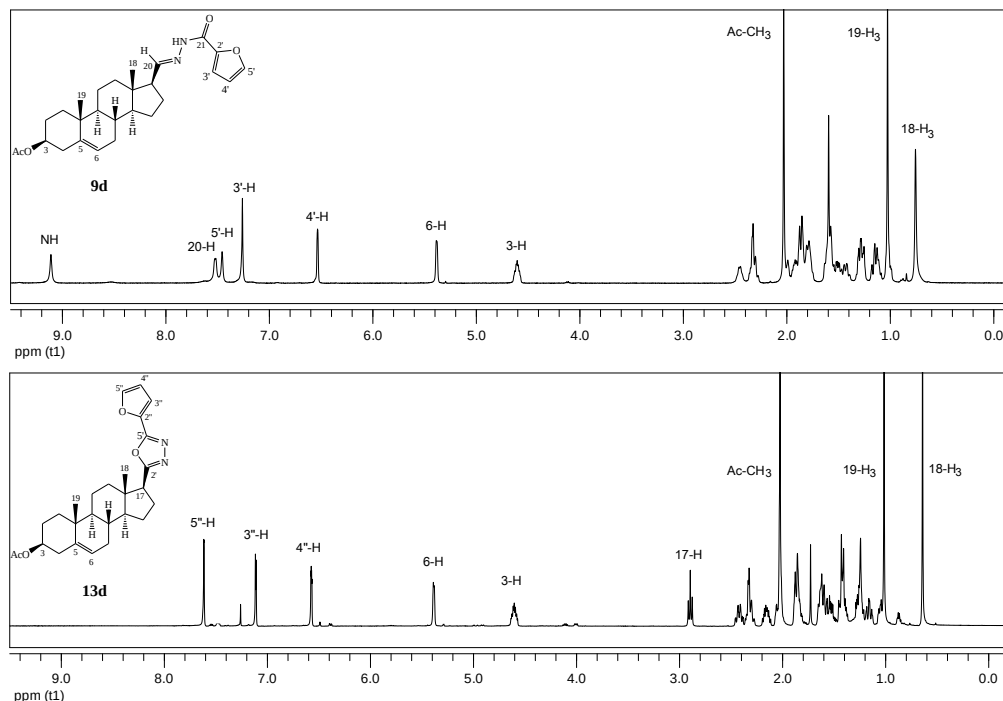
^aoszlopkromatográfiás tisztítás után

^b(i) DIB, CH₂Cl₂, 1h (oxidatív gyűrűzárás); (ii) KOH, MeOH, 8 óra (deacetilezés)

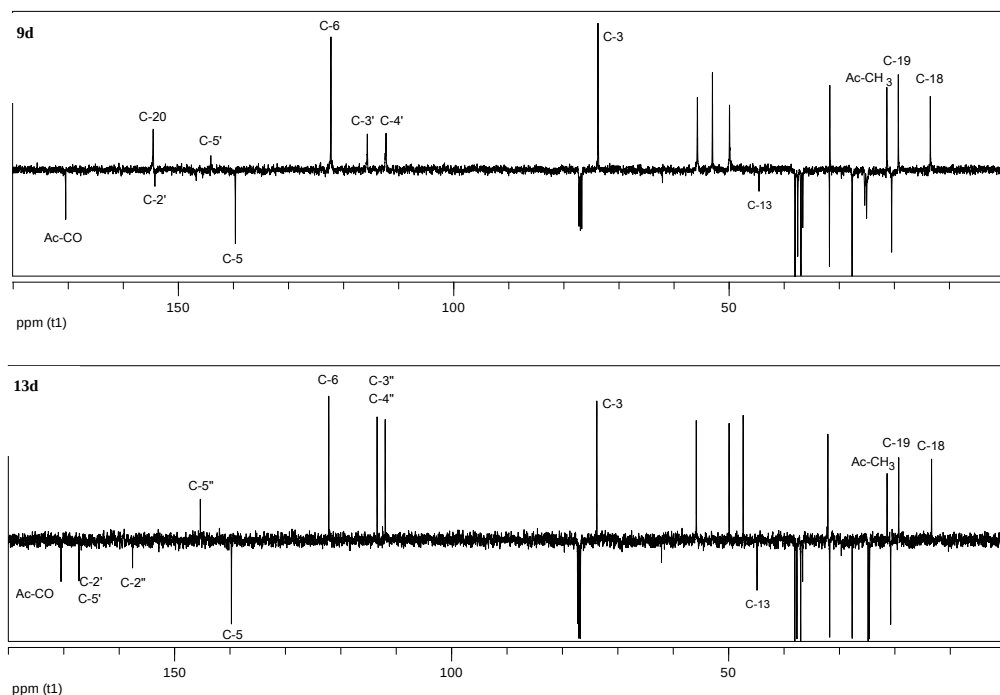
29. ábra: Szteránvázás 17β-(1,3,4)-oxadiazolok előállítása

A **12a–d** és **13a–d** vegyületek ¹H-NMR spektrumában, a beépített fenil, 3-piridil, 4-piridil, illetve 2-furil gyűrű protonjainak jelei a 6,5-8,8 ppm közötti tartományban látszanak, míg a 17-H tripllett jele a megfelelő *N*-acilhidrazonokéhoz (**8a–d** és **9a–d**) képest kisebb térerőnél jelenik meg a kapcsolódó heteroaromás oxadiazol-gyűrű okozta csökkent árnyékolás következtében. A ¹³C-NMR spektrum alapján az újonnan kialakult, oxadiazol-gyűrűhöz tartozó kvaterner szén jelek (C-2' és C-5') 164 és 168 ppm körül találhatók meg. A **30.** és **31. ábrák** a furil-gyűrűt tartalmazó nyílt láncú (**9d**) és heteroaromás származék (**13d**) ¹H- és ¹³C-

NMR spektrumainak összehasonlítását szemléltetik, melyeken jól látszik, hogy a reakciócentrum közelében lévő protonok és szénatomok kémiai eltolódásában történik változás.



30. ábra: A **9d** és **13d** vegyületek ^1H -NMR spektrumának összehasonlítása



31. ábra: A **9d** és **13d** vegyületek ^{13}C -NMR spektrumának összehasonlítása

4.5. Az előállított vegyületek farmakológiai vizsgálatának részeredményei

Az általunk szintetizált androsztánvázis *N*-acilhidrazonok (**8a–d**, **9a–d**), szemikarbazonok (**8e**, **9e**) 17β-(1,3,4)-oxadiazolinek (**10-R** és **10-S**) és 17β-(1,3,4)-oxadiazolok (**12a–e**, **13a–e**) új típusú, a szakirodalom által még nem ismert vegyületek.

A bevezetőben ismertetett előzmények alapján a heteroaromás gyűrűt tartalmazó vegyületek 3β-hidroxi származékainak (**12a–e**) a P450_{17α} enzimre kifejtett gátlását az I. sz. Belklinika Önálló Endokrin Osztályán végezték el. Az eredmények alapján az aminos csoporttal szubsztituált **12e** származék az enzim liáz aktivitását jelentősen gátolta (IC₅₀ = 1,12 μM), bár a referenciaként alkalmazott ketokonazolnál (IC₅₀ = 0,32 μM) gyengébb inhibitornak bizonyult. A többi vizsgált vegyület (**12a–d**) nem okozott jelentős enzim-gátlást.

Az összes szintetizált vegyület (**8a–e**, **9a–e**, **10-R**, **10-S**, **12a–e**, **13a–e**) sejtosztódásgátlását az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetében végzik, egyes származékoknál a mérések jelenleg is folyamatban vannak. A kis időigényű és csekély anyagmennyiségekkel (1,0 mg) elvégezhető *in vitro* tesztek során vegyületeink hatását négyféle humán ráksejtvonalon (HeLa - méhnyak adenocarcinoma; A2780 - petefészek adenocarcinoma, MCF7 - emlő adenocarcinoma, A431 - bőr epidermoid carcinoma) vizsgálják. Az anyagokat először DMSO-ban oldják és 10, valamint 30 μM-os koncentrációban alkalmazzák; kontroll vegyületként ciszplatint használnak. Az inkubációs idő (72 óra) elteltével az élő sejteket MTT teszt-módszerrel⁵⁶ határozzák meg. A hatásos vegyületekből, melyek 30 μM-os koncentrációban jelentős gátlást fejtenek ki, hígítási sort készítenek és a kifejtett gátlási értékek alapján kiszámolják azt a koncentrációt, melynél az adott anyag 50%-os osztódásgátlást fejt ki. Ezt nevezzük IC₅₀ értéknek. Az eredményeket az **I. táblázatban** foglaltunk össze. Az eddigi adatok alapján megállapítható, hogy valamennyi *N*-acilhidrazon (**8a–d**, **9a–d**) és a szemikarbazonok (**8e**, **9e**), függetlenül a 3-as helyzetű funkciós csoport alkohol vagy észter jellegétől, a ciszplatinnál nagyobb mértékben gátolja a HeLa sejtek osztódását, ugyanakkor egyéb ráksejtekre kifejtett osztódásgátlásuk nem számottevő. Az IC₅₀ értékeket figyelembe véve az is elmondható, hogy az oxadiazolin származékok (**10-R** és **10-S**) hatása csekély, bár megjegyzendő, hogy az *R*-izomer két sejtvonalon (HeLa és A2780) nagyobb aktivitást mutat. Az oxadiazolok közül a 3-OH származékok (**12a–e**) mutatkoznak hatásosabbnak, ráadásul HeLa sejtekre nagy szelektivitást mutatnak, bár két képviselőjük (**12a** és **12d**) A431 sejtekre nézve is jelentős hatást mutat.

I. Táblázat Az előállított vegyületek sejtosztódást gátló hatása

Vegyület	Számított IC ₅₀ értékek ^a (μM)			
	Hela	A2780	MCF7	A431
8a	4.68	20.32	<i>b</i>	<i>b</i>
8b	5.54	11.31	18.88	12.85
8c	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
8d	5.57	<i>b</i>	28.21	<i>b</i>
8e	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
9a	5.04	11.39	<i>b</i>	<i>b</i>
9b	6.44	16.48	<i>b</i>	<i>b</i>
9c	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
9d	6.95	11.28	11.90	<i>b</i>
9e	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
10-R	21.50	27.32	<i>b</i>	<i>b</i>
10-S	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
12a	1.69	<i>b</i>	<i>b</i>	1.91
12b	4.83	<i>b</i>	<i>b</i>	6.76
12c	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
12d	1.56	<i>b</i>	<i>b</i>	1.82
12e	<i>c</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>b</i>
13a	29.41	28.83	<i>b</i>	25.42
13b	20.75	<i>b</i>	26.05	23.56
13c	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>
13d	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
13e	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>c</i>
cisplatin^d	12.43	1.30	9.63	2.84

^aszórás <15%.

^bnincs meghatározva, nem mutat jelentős gátlást

^cmeghatározás folyamatban, jelentős gátlást mutat

^dreferencia vegyület

5. Általános kísérleti rész (alkalmazott eszközök, módszerek)

A szteroidok félszintetikus módosításához kereskedelmi forgalomban kapható vegyszereket használtunk, a reakciókat a szokásos szintetikus laboratóriumi eszközökkel és berendezésekkel változó szteroid mennyiségekkel hajtottuk végre (0,10g–5g).

A nyerstermékek tisztítása oszlopkromatográfiával történt, az oszlopok méretét a tisztítandó anyag mennyiségének megfelelően választottuk meg. Szilárd fázisként minden esetben 40–63 μm szemcseméretű Kieselgel 60 (MERCK) álló fázist használtunk, melyet az eluenssel készült szuszpenzió formájában töltöttünk az oszlopba. Az anyagok felvitele az adszorbensre az eluenssel készült tömény oldatként, illetve kristályos anyagok esetén szilikagéllel eldörzsölve szilárd formában történt. Az oszlop tetején túlnyomást alkalmaztunk és a lecsepegő oldatot frakciókba gyűjtöttük, melyek tisztaságát VRK-val ellenőriztük. A tiszta anyagokat tartalmazó frakciókat egyesítettük és bepároltuk.

A VRK álló fázisaként 0,2 mm vastagságú Kieselgel 60 (MERCK) lapot használtunk. A kromatogramokat a következő összetételű reagenssel történő lefúvással és azt követő 100–120 °C-on történő melegítéssel hívtuk elő:

2,5 g foszformolibdénsav ($\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 24\text{MoO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$)

25 mL 85%-os H_3PO_4

25 mL víz

Az R_f -értékek megállapítása a 254 vagy 365 nm hullámhosszúságú ultraibolya fényben észlelt foltok alapján történt.

A szilárd termékek olvadáspontját SRS OptiMelt digitális olvadáspontmérő berendezéssel mértük.

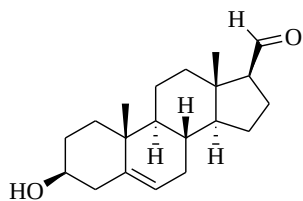
A MW reakciókat CEM Discover SP készülékkel végeztük.

A vegyületek szerkezetét NMR spektroszkópiával határoztuk meg. A ^1H -NMR és ^{13}C -NMR (JMOD pulzus szekvencia) spektrumok felvétele Bruker DRX 500 készülékkel történt, az oldószerként használt CDCl_3 jelét használva belső standardként. A ^1H -lecsatolt és ^{13}C -NMR spektrumokat 125 MHz-en vettük fel.

A tömegspektrumok felvétele Agilent HPLC/MSD készülékkel történt.

6. Az elvégzett reakciók részletes ismertetése

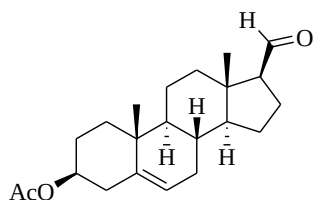
6.1. A 3 β -hidroxiandroszt-5-én-17 β -karbaldehid (4) többlépéses előállítása



Háromnyakú lombikban 4,5 g (12,6 mmol) pregnenolon-acetátot (1) 75 mL toluolban oldottunk, majd 20 mL $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 14 mL toluolos oldatát és 9 mL MeOH/24 mL toluol oldatát csepegtettük hozzá párhuzamosan kb. 1,5 óra alatt, miközben 7,5 g (16,9 mmol) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ -ot adagoltunk hozzá apró részletekben. A beadagolást követően az elegyet még 1,5 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd a feleslegben maradt $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ -ot 5%-os sósav oldattal elbontottuk. Az elegyet leszűrtük, majd 3×50 mL dietil-éterrel extraháltuk, az egyesített szerves fázist vízzel mostuk, majd izzított Na_2SO_4 -on szárítottuk és bepároltuk. A keletkezett 21-acetát származékot (2) oszlopkromatográfiával tisztítottuk $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 5:95$ eluenssel, és 4,1 g (9,8 mmol, 78%) tiszta 2-t kaptunk, melyet 200 mL etanolban oldottunk és 3,17 g (58,8 mmol, 6 ekv.) KBH_4 -et adtunk hozzá kis részletekben. A szuszpenziót 1 éjszakán át szobahőmérsékleten kevertettük, majd az etanol egy részét lepároltuk és a maradékot jeges-vízre öntöttük. A bórhidrid feleslegét dil. HCl-val elbontottuk, majd a fehér csapadékot szűrtük, vízzel mostuk és szárítottuk. A kapott izomer keverék (3-R és 3-S) tömege: 3,23 g (9,7 mmol, 98%). A triol keveréket (3-R és 3-S) ezt követően 200 mL THF-ben oldottuk, majd 4,2 g (19,4 mmol) NaIO_4 70 mL vízzel és 140 mL THF-nal készült oldatát adagoltuk hozzá. A reakcióelegyet 2 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd térfogatát vízzel 500 mL-re egészítettük ki és 3×150 mL dietil-éterrel extraháltuk. Az egyesített éteres fázisokat telített NaCl-oldattal mostuk, izzított Na_2SO_4 -on szárítottuk, majd bepároltuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 15:85$ eluenssel. A fehér, tiszta termék (4) tömege: 1,89 g (6,2 mmol, 65%). A teljes reakciósort háromszor ismételtük.

4: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ (302,45), op.: 159–161 °C; ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 0,76 (s, 1H, 18- H_3), 1,00 (s, 1H, 19- H_3), 3,51 (m, 1H, 3-H), 5,34 (m, 1H, 6-H), 9,77 (s, 1H, COH); ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 13,6 (C-18), 19,4 (C-19), 20,6 (CH_2), 21,0 (CH_2), 24,9 (CH_2), 31,4 (CH_2), 31,6 (CH_2), 31,7 (CH_2), 36,5 (C-10), 37,2 (CH_2), 38,3 (CH_2), 42,2 (CH_2), 44,7 (C-13), 50,1 (CH), 56,5 (CH), 62,8 (CH), 71,6 (C-3), 121,2 (C-6), 140,8 (C-5), 204,9 (COH).

6.2. A 3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -karbaldehid (5) előállítása



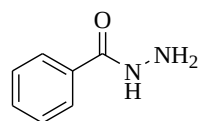
A **4**-es vegyület 3 g-ját (9,90 mmol) 15 mL Ac₂O és 15 mL piridin elegyében oldottuk és az elegyet 1 éjszakán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük, majd 20 mL cc. H₂SO₄ és jég elegyére öntöttük. A savas elegyet 3 × 50 mL CH₂Cl₂-vel extraháltuk, az egyesített szerves fázist vízzel mostuk, izzított Na₂SO₄-on szárítottuk, majd bepároltuk. A nyersterméket CH₂Cl₂ eluenssel kromatografáltuk. Tisztítást követően az anyag (**5**) tömege: 3,14 g (92%).

5: C₂₂H₃₂O₃ (344,49), op: 157–159 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,76 (s, 1H, 18-H₃), 1,01 (s, 1H, 19-H₃), 2,02 (s, 3H, Ac-CH₃), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,37 (m, 1H, 6-H), 9,77 (s, 1H, COH); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,7 (C-18), 19,3 (C-19), 20,5 (CH₂), 21,0 (CH₂), 21,4 (Ac-CH₃), 24,9 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,4 (CH), 31,7 (CH₂), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 38,1 (CH₂), 38,2 (CH₂), 44,6 (C-13), 50,0 (CH), 56,4 (CH), 62,8 (CH), 73,8 (C-3), 122,2 (C-6), 139,7 (C-5), 170,5 (Ac-CO), 204,8 (COH).

6.3. Általános szintézismódszer karbonsav-hidrazidok (**7a–d**) előállítására

6,00 mmol benzoésav-metilésztert (**6a**), metil-nikotinátot (**6b**), metil-izonikotinátot (**6c**) vagy metil-2-furoátot (**6d**) 6 mL absz. EtOH-ban oldottunk és 1,2 mL (24 mmol) 98%-os hidrazin-hidráttal adtuk hozzá. Az oldatot 20 órán keresztül forraltuk (A módszer) vagy 120 °C-on, 30 percig MW-mal besugároztuk. A kivált sárgás-fehér terméket (**7a**, **7b**, **7c** vagy **7d**) szűrtük és hideg hexánnal mostuk. A szilárd savhidrazidokat (**7a–d**) felhasználásukig hűtőszekrényben tároltuk.

6.3.1. A benzhidrazid (**7a**)

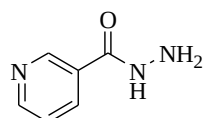


Az általános módszer szerint 0,76 mL **6a**-t használtunk, a reakciót az A és B módszer szerint is elvégeztük. A kapott sárgásfehér termék (**7a**) tömege:

792 mg (97%), a két módszer között a hozamot illetően lényeges különbség nem volt.

7a: C₇H₈N₂O (136,15); ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,50 (s, 2H, NH₂), 7,44 (t-szerű m, 2H, 3-H és 5-H), 7,50 (t-szerű m, 1H, 4H), 7,82 (d, 2H, *J* = 7,4 Hz, 2-H és 6-H), 9,77 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 126,8 (2C, C-2 és C-6), 128,2 (2C, C-3 és C-5), 130,9 (C-4), 133,2 (C-1), 165,8 (CO).

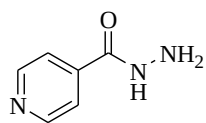
6.3.2. A nikotinsav-hidrazid (**7b**)



Az általános módszer szerint 823 mg **6b**-t használtunk, a reakciót a B módszer szerint végeztük. A kapott fehér termék (**7b**) tömege: 699 mg (85%).

7b: C₆H₇N₃O (137,14); ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,57 (s, 2H, NH₂), 7,49 (dd, 1H, *J* = 7,9 Hz, *J* = 4,7 Hz, 5-H), 8,15 (dd, 1H, *J* = 7,9 Hz, *J* = 1,6 Hz, 4-H), 8,69 (dd, 1H, *J* = 4,7 Hz, *J* = 1,4 Hz, 6-H), 8,97 (s, 1H, 2-H), 9,96 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 123,4 (C-5), 128,8 (C-3), 134,6 (C-4), 148,0 (C-6), 151,7 (C-2), 164,3 (CO).

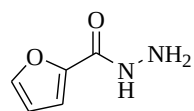
6.3.3. Az izonikotinsav-hidrazid (**7c**)



Az általános módszer szerint 0,71 mL **6c**-t használtunk, a reakciót a B módszer szerint végeztük. A kapott fehér termék (**7c**) tömege: 691 mg (84%).

7c: C₆H₇N₃O (137,14); ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 4,63 (s, 2H, NH₂), 7,73 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, 3-H és 5-H), 8,70 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, 2-H és 6-H), 10,09 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 120,9 (2C, C-3 és C-5), 140,2 (C-4), 105,1 (2C, C-2 és C-6), 163,8 (CO).

6.3.4. A 2-furohidrazid (**7d**)



Az általános módszer szerint 0,64 mL **6d**-t használtunk, a reakciót a B módszer szerint végeztük. A kapott sárgás termék (**7d**) tömege: 620 mg (82%).

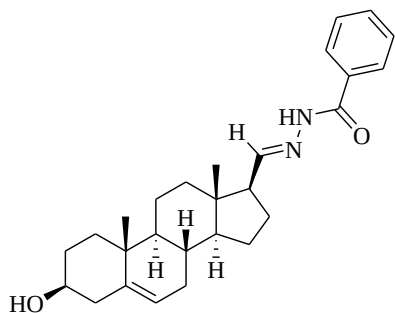
7d: C₅H₆N₂O₂ (126,11); ¹H-NMR (MeOD, 500 MHz): δ 6,56 (dd szerű m, 1H, 4-H), 7,09 (d, 1H, *J* = 3,3 Hz, 3-H), 7,63 (bs, 1H, 5-H); ¹³C-NMR (MeOD, 125 MHz): δ 112,8 (C-4), 115,2 (C-3), 146,3 (C-5), 148,0 (C-2), 160,6 (CO).

6.4. Általános szintézismódszer 17β-karbaldehyd *N*-acilhidrazonok (**8a–d** és **9a–d**) előállítására

A 4-es vagy 5-ös vegyületet (0,80 mmol) és az acilhidrazint (0,80 mmol, **7a–d**) absz. EtOH-ban (15 mL) oldottuk vagy szuszpendáltuk és az elegyet 3 órán keresztül forraltuk (A módszer), vagy 120 °C-on, 10 percig MW-mal besugározzuk. Bepárlást követően a

nyersterméket leszűrtük és oszlopkromatográfiával tisztítottuk EtOAc/CH₂Cl₂ megfelelő összetételű keverékével.

6.4.1. Az *N'*-[3β-hidroxiandroszt-5-én-17β-il-metilidén]benzhidrazid (8a)

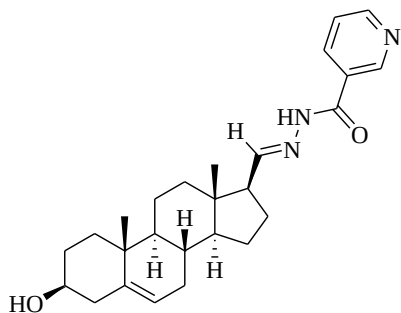


Az általános módszer szerint, a **4-es** vegyületet (242 mg) és benzhidrazidot (**7a**, 109 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér szilárd termék **8a** (316 mg, *A módszer*, 326 mg, *B módszer*).

C₂₇H₃₆N₂O₂ (420,59), op.: 155–158 °C; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,73 (s, 1H, 18-H₃), 1,00 (s, 1H, 19-H₃), 3,53

(m, 1H, 3-H), 5,35 (m, 1H, 6-H), 7,41 (m, 2H, 3'-H és 5'-H), 7,50 (m, 1H, 4'-H), 7,57 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, 20-H), 7,81 (m, 2H, 2'-H és 6'-H), 9,22 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,5 (C-18), 19,4 (C-19), 20,6 (CH₂), 25,1 (CH₂), 25,5 (CH₂), 31,6 (CH₂), 31,8 (2C, CH és CH₂), 36,6 (C-10), 37,3 (CH₂), 37,6 (CH₂), 42,2 (CH₂), 44,6 (C-13), 50,1 (CH), 53,1 (CH), 55,9 (CH), 71,6 (C-3), 121,4 (C-6), 127,2 (2C, C-2' és C-6'), 128,6 (2C, C-3' és C-5'), 131,8 (C-4'), 133,4 (C-1'), 140,8 (C-5), 154,6 (C-20), 163,9 (C-21); ESI-MS 421 [M+H]⁺.

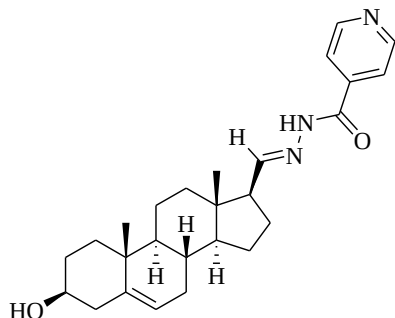
6.4.2. Az *N'*-[3β-hidroxiandroszt-5-én-17β-il-metilidén]piridin-3-karbohidrazid (8b)



Az általános módszer szerint, a **4-es** vegyületet (242 mg) és nikotinsav-hidrazidot (**7b**, 110 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **8b** (304 mg, *A módszer*, 310 mg, *B módszer*).

C₂₆H₃₅N₃O₂ (421,57), op.: 161–163 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,69 (s, 1H, 18-H₃), 0,95 (s, 1H, 19-H₃), 3,25 (m, 1H, 3-H), 4,60 (d, 1H, *J* = 4,2 Hz, OH), 5,27 (m, 1H, 6-H), 7,52 (dd, 1H, *J* = 7,8 Hz, *J* = 4,9 Hz, 5'-H), 7,74 (d, 1H, *J* = 6,2 Hz, 20-H), 8,19 (dd, 1H, *J* = 7,8 Hz, *J* = 1,6 Hz, 4'-H), 8,72 (d, 1H, *J* = 4,9 Hz, *J* = 1,4 Hz, 6'-H), 9,00 (s, 1H, 2'-H), 11,58 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 13,1 (C-18), 19,1 (C-19), 20,1 (CH₂), 24,5 (2C, 2×CH₂), 31,2 (CH), 31,3 (CH₂), 36,1 (CH₂), 36,9 (CH₂), 37,1 (C-10), 39,1 (CH₂), 42,1 (CH₂), 43,8 (C-13), 49,7 (CH), 52,8 (CH), 55,2 (CH), 69,9 (C-3), 120,2 (C-6), 123,4 (C-5'), 129,2 (C-3'), 135,2 (C-4'), 141,2 (C-5), 148,3 (C-6'), 152,0 (C-2'), 154,4 (C-20), 161,0 (C-21); ESI-MS 422 [M+H]⁺.

6.4.3. Az *N'*- [3 β -hidroxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]piridin-4-karbohidrazid (**8c**)

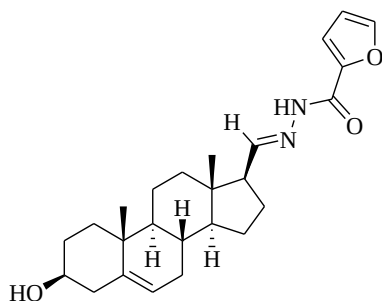


Az általános módszer szerint, a **4**-es vegyületet (242 mg) és izonikotinsav-hidrazidot (**7c**, 110 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **8c** (287 mg, *A módszer*, 293 mg, *B módszer*).

C₂₆H₃₅N₃O₂ (421,57), op.: 239–240 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,69 (s, 1H, 18-H₃), 0,95 (s, 1H, 19-H₃),

3,26 (m, 1H, 3-H), 4,60 (d, 1H, *J* = 4,4 Hz, OH), 5,28 (m, 1H, 6-H), 7,76 (s, 1H, 20-H és d, 2H, *J* = 5,8 Hz, 2'-H és 6'-H), 8,74 (d, 2H, *J* = 5,8 Hz, 3'-H és 5'-H), 11,63 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 13,1 (C-18), 19,1 (C-19), 20,1 (CH₂), 24,5 (2C, 2 $\times$ CH₂), 31,2 (CH), 31,3 (CH₂), 36,1 (CH₂), 36,9 (CH₂), 37,1 (C-10), 39,1 (CH₂), 42,1 (CH₂), 43,8 (C-13), 49,6 (CH), 52,8 (CH), 55,2 (CH), 69,9 (C-3), 120,2 (C-6), 121,3 (2C, C-2' és C-6'), 140,5 (C-1'), 141,2 (C-5), 150,1 (2C, C-3' és C-5'), 155,1 (C-20), 160,9 (C-21); ESI-MS 422 [M+H]⁺.

6.4.4. Az *N'*- [3 β -hidroxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]furán-2-karbohidrazid (**8d**)

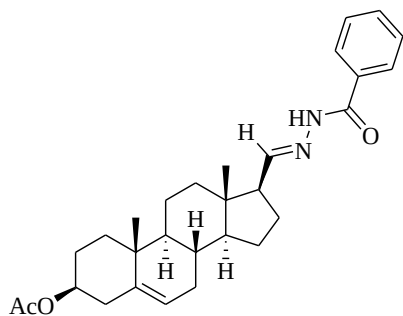


Az általános módszer szerint a **4**-es vegyületet (242 mg) és 2-furohidrazidot (**7d**, 101 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **8d** (299 mg, *A módszer*, 305 mg, *B módszer*).

C₂₅H₃₄N₂O₃ (410,55). op.: 219–222 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,67 (s, 1H, 18-H₃), 0,95 (s, 1H, 19-H₃), 3,26

(m, 1H, 3-H), 4,59 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, OH), 5,28 (m, 1H, 6-H), 6,65 (m, 1H, 4'-H), 7,20 (s, 1H, 3'-H), 7,73 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, 20-H), 7,88 (bs, 1H, 5'-H), 11,38 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 13,1 (C-18), 19,1 (C-19), 20,1 (CH₂), 24,5 (CH₂), 31,2 (CH₂), 31,3 (CH), 31,4 (CH₂), 36,1 (CH₂), 36,9 (CH₂), 37,1 (C-10), 42,1 (2C, 2 $\times$ CH₂), 43,7 (C-13), 49,7 (CH), 52,8 (CH), 55,1 (CH), 69,9 (C-3), 111,8 (C-4'), 114,3 (C-3'), 120,2 (C-6), 141,2 (C-5), 145,3 (C-5'), 146,7 (C-2'), 153,8 (C-20), 165,4 (C-21); ESI-MS 411 [M+H]⁺.

6.4.5. Az *N'*- [3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]benzhydrazid (**9a**)

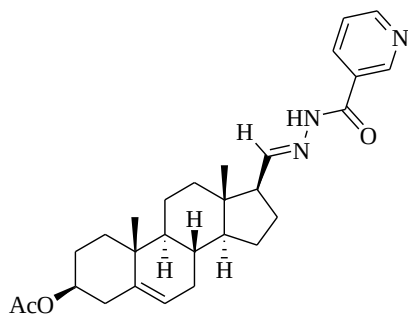


Az általános módszer szerint az **5-ös** vegyületet (276 mg) és benzhidrazidot (**7a**, 109 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **9a** (315 mg, *A módszer*, 329 mg, *B módszer*).

$C_{29}H_{38}N_2O_3$ (462,29). op.: 172–174 °C, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 0,72 (s, 1H, 18- H_3), 1,01 (s, 1H, 19- H_3), 2,02

(s, 3H, Ac- CH_3), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,37 (m, 1H, 6-H), 7,41 (m, 2H, 3'-H és 5'-H), 7,49 (m, 1H, 4'-H), 7,59 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, 20-H), 7,81 (m, 2H, 2'-H és 6'-H), 9,35 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ 13,5 (C-18), 19,3 (C-19), 20,5 (CH_2), 21,0 (CH_2), 21,4 (Ac- CH_3), 25,0 (CH_2), 27,7 (CH_2), 31,7 (CH), 31,8 (CH_2), 36,6 (C-10), 37,0 (CH_2), 37,6 (CH_2), 38,1 (CH_2), 44,5 (C-13), 50,0 (CH), 53,1 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 122,3 (C-6), 127,2 (2C, C-2' és C-6'), 128,6 (2C, C-3' és C-5'), 131,8 (C-4'), 133,4 (C-1') 139,7 (C-5), 154,6 (C-20), 163,9 (C-21), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 463 $[M+H]^+$.

6.4.6. Az *N'*- [3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]piridin-3-karbohidrazid (**9b**)

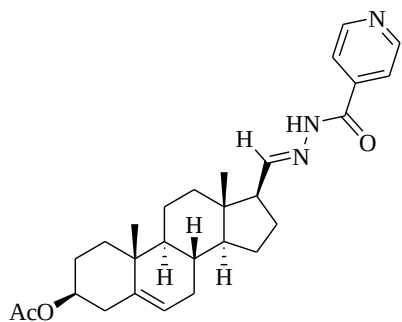


Az általános módszer szerint az **5-ös** vegyületet (276 mg) és nikotinsav-hidrazidot (**7b**, 110 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **9b** (297 mg, *A módszer*, 304 mg, *B módszer*).

$C_{28}H_{37}N_3O_3$ (463,61), op.: 175–178 °C, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 0,68 (s, 1H, 18- H_3), 1,00 (s, 1H, 19- H_3), 2,01

(s, 3H, Ac- CH_3), 4,59 (m, 1H, 3-H), 5,36 (m, 1H, 6-H), 7,35 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz, 5'-H), 7,65 (d, 1H, $J = 6,5$ Hz, 20-H), 8,19 (d, 1H, $J = 6,5$ Hz, 4'-H), 8,67 (d, 1H, $J = 4,9$ Hz, 6'-H), 9,01 (s, 1H, 2'-H), 10,16 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ 13,5 (C-18), 19,3 (C-19), 20,5 (CH_2), 21,4 (Ac- CH_3), 25,0 (CH_2), 25,3 (CH_2), 27,7 (CH_2), 31,7 (CH), 31,8 (CH_2), 36,6 (C-10), 36,9 (CH_2), 37,6 (CH_2), 38,0 (CH_2), 44,6 (C-13), 49,9 (CH), 53,2 (CH), 55,7 (CH), 73,8 (C-3), 122,3 (C-6), 123,6 (C-5'), 129,2 (C-3'), 135,8 (C-4'), 139,6 (C-5), 147,9 (C-6'), 152,2 (C-2'), 155,9 (C-20), 162,2 (C-21), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 464 $[M+H]^+$.

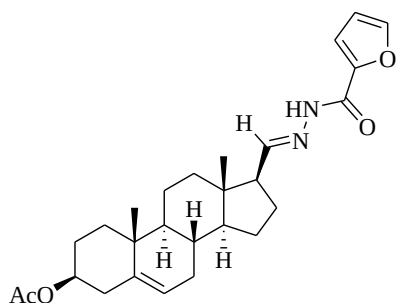
6.4.7. Az *N'*- [3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]piridin-4-karbohidrazid (**9c**)



Az általános módszer szerint az **5-ös** vegyületet (276 mg) és izonikotinsav-hidrazidot (**7c**, 110 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **9c** (278 mg, *A módszer*, 282 mg, *B módszer*).

$C_{28}H_{37}N_3O_3$ (463,61), op.: 202–204 °C, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 0,69 (s, 1H, 18- H_3), 1,00 (s, 1H, 19- H_3), 2,01 (s, 3H, Ac- CH_3), 4,58 (m, 1H, 3-H), 5,36 (m, 1H, 6-H), 7,66 (m, 3H, 2'-H, 6'-H és C-20), 8,70 (d, 2H, $J = 4,3$ Hz, 3'-H és 5'-H), 9,91 (bs, 1H, NH); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ 13,5 (C-18), 19,3 (C-19), 20,5 (CH_2), 21,4 (Ac- CH_3), 25,1 (CH_2), 25,3 (CH_2), 27,7 (CH_2), 31,7 (CH), 31,8 (CH_2), 36,6 (C-10), 37,0 (CH_2), 37,6 (CH_2), 38,0 (CH_2), 44,7 (C-13), 49,9 (CH), 53,2 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 121,2 (C-6), 122,3 (2C, C-2' és C-6'), 139,6 (C-5), 140,6 (C-4'), 149,6 (2C, C-3' és C-5'), 156,5 (C-20), 162,0 (C-21), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 464 $[M+H]^+$.

6.4.8. Az *N'*- [3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]furán-2-karbohidrazid (**9d**)



Az általános módszer szerint az **5-ös** vegyületet (276 mg) és 2-furohidrazidot (**7d**, 101 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **9d** (286 mg, *A módszer*, 297 mg, *B módszer*).

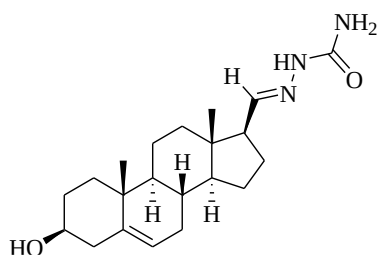
$C_{27}H_{36}N_2O_4$ (452,59), op.: 176–178 °C, 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 0,76 (s, 1H, 18- H_3), 1,03 (s, 1H, 19- H_3), 2,03 (s, 3H, Ac- CH_3), 4,61 (m, 1H, 3-H), 5,39 (m, 1H, 6-H), 6,53 (bs, 1H, 4'-H), 7,26 (s, 1H, 3'-H), 7,46 (bs, 1H, 5'-H), 7,52 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, 20-H), 9,11 (s, 1H, NH); ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ 13,5 (C-18), 19,3 (C-19), 20,5 (CH_2), 21,0 (CH_2), 21,4 (Ac- CH_3), 25,0 (CH_2), 27,7 (CH_2), 31,7 (CH), 31,8 (CH_2), 36,6 (C-10), 36,9 (CH_2), 37,5 (CH_2), 38,0 (CH_2), 44,6 (C-13), 49,9 (CH), 53,0 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 112,3 (C-4'), 115,7 (C-3'), 122,3 (C-6), 139,6 (C-5), 144,1 (C-5'), 154,3 (C-2'), 154,6 (C-20), 170,4 (2C, Ac-CO és C-21); ESI-MS 453 $[M+H]^+$.

6.5. Általános szintézismódszer 17-karbaldehyd szemikarbazonok (**8e** és **9e**) előállítására

A **4-es** vagy **5-ös** vegyületet (0,80 mmol), szemikarbazid-hidrokloridot (89 mg, 0,80 mmol, **7e**) és NaOAc-ot (66 mg, 0,80 mmol) absz. EtOH-ban (15 mL) szuszpendáltunk és az elegyet

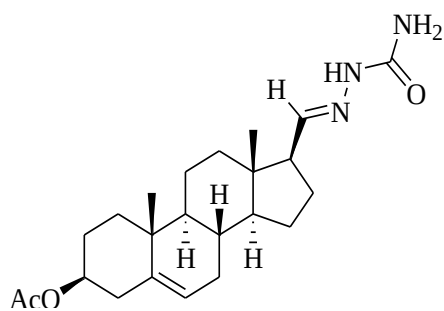
3 órán keresztül forraltuk (A módszer), vagy 120 °C-on, 10 percig MW-mal besugározzuk. Bepárlást követően a nyersterméket leszűrtük és oszlopkromatográfiával tisztítottuk EtOAc/CH₂Cl₂ megfelelő összetételű keverékével.

6.5.1. Az N'-[3β-hidroxiandroszt-5-én-17β-il-metilidén]aminokarbohidrazid (8e)



Az általános módszer szerint az **4-es** vegyületet (242 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **8e** (207 mg, *A módszer*, 216 mg, *B módszer*). C₂₁H₃₃N₃O₂ (359,51), op.: 225–227 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,62 (s, 1H, 18-H₃), 0,95 (s, 1H, 19-H₃), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,27 (m, 1H, 6-H), 6,07 (bs, 2H, NH₂), 7,15 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, C-20), 9,73 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 13,1 (C-18), 19,1 (C-19), 20,1 (CH₂), 24,3 (CH₂), 24,4 (CH₂), 31,3 (2C, CH és CH₂), 31,4 (CH₂), 36,1 (CH₂), 36,9 (C-10), 37,2 (CH₂), 42,1 (CH₂), 43,4 (C-13), 49,7 (CH), 52,5 (CH), 55,2 (CH), 69,9 (C-3), 120,2 (C-6), 141,2 (C-5), 144,5 (C-20), 156,6 (C-21); ESI-MS 361 [M+H]⁺.

6.5.2. Az N'-[3β-acetoxiandroszt-5-én-17β-il-metilidén]aminokarbohidrazid (9e)

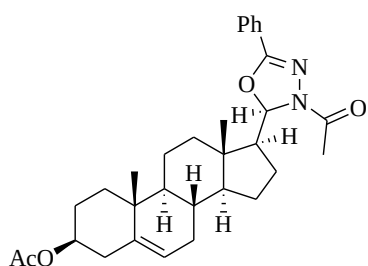


Az általános módszer szerint az **5-ös** vegyületet (275 mg) használtunk. A reakció eredményeként a kapott fehér, szilárd termék **8e** (199 mg, *A módszer*, 206 mg, *B módszer*). C₂₃H₃₅N₃O₃ (401,54), op.: 230–231 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,62 (s, 1H, 18-H₃), 0,98 (s, 1H, 19-H₃), 1,98 (s, 3H, Ac-CH₃), 4,45 (m, 1H, 3-H), 5,36 (m, 1H, 6-H), 6,08 (bs, 2H, NH₂), 7,15 (d, 1H, *J* = 5,5 Hz, C-20), 9,74 (s, 1H, NH); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ 13,1 (C-18), 18,9 (C-19), 20,0 (CH₂), 20,9 (Ac-CH₃), 23,6 (CH₂), 24,3 (CH₂), 27,3 (CH₂), 31,2 (CH), 36,1 (CH₂), 36,5 (C-10), 37,1 (CH₂), 37,6 (CH₂), 43,4 (C-13), 49,5 (CH), 52,5 (CH), 55,1 (CH), 73,1 (C-3), 121,9 (C-6), 139,4 (C-5), 144,4 (C-20), 156,5 (C-21), 169,6 (Ac-CO); ESI-MS 403 [M+H]⁺.

6.6. A *N'*-[3 β -acetoxiandroszt-5-én-17 β -il-metilidén]benzhydrazid (9a) gyűrűzárása ecetsav-anhidrid jelenlétében

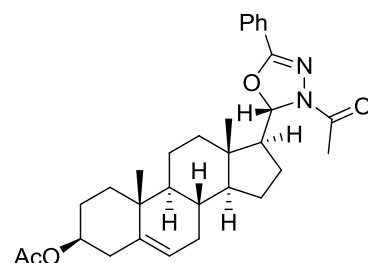
A **9a** vegyületet (370 mg, 0,80 mmol) Ac₂O-ban (5 mL) feloldottuk és az oldatot 110 °C-on, 3 órán keresztül kevertettük, majd jeges vízre öntöttük és a csapadékot leszűrtük. A nyerstermékeket oszlopkromatográfiás módszerrel választottuk szét, EtOAc/CH₂Cl₂=2:98 eluenssel (elúciós sorrend: **11** > **10-S** > **10-R**), és a következő termékeket kaptuk: **10-R** (101 mg, 25%), **10-S** (93 mg, 23%) és **11** (132 mg, 37%).

6.6.1. A (2*R*)-2,17 β -(3-acetil-5-fenil-1,3,4-(2*H*)-oxadiazolil)-3 β -acetoxiandroszt-5-én (**10-R**)



10-R (fehér, szilárd): C₃₁H₄₀N₂O₄ (504,66), op.: 132–135 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,90 (s, 1H, 18-H₃), 1,04 (s, 1H, 19-H₃), 2,02 (s, 3H, 3-Ac-CH₃), 2,29 (*N*-Ac-CH₃), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,37 (m, 1H, 6-H), 6,40 (s, 1H, 5'-H), 7,43 (m, 2H, 3''-H és 5''-H), 7,48 (m, 1H, 4''-H), 7,84 (d, 2H, *J* = 7,0 Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,2 (C-18), 19,3 (C-19), 19,8 (CH₂), 20,4 (CH₂), 21,4 és 21,6: 3-Ac-CH₃ és *N*-Ac-CH₃, 24,0 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,4 (CH), 31,7 (CH₂), 36,7 (C-10), 37,0 (CH₂), 37,2 (CH₂), 38,1 (CH₂), 41,6 (C-13), 50,2 (CH), 52,8 (CH), 55,6 (CH), 73,9 (C-3), 91,6 (C-5'), 122,3 (C-6), 124,6 (C-1''), 126,8 (2C, C-2'' és C-6''), 128,6 (2C, C-3'' és C-5''), 131,5 (C-4''), 139,8 (C-5), 156,3 (C-2'), 168,0 (*N*-Ac-CO), 170,4 (3-Ac-CO); ESI-MS 528 [M+Na]⁺.

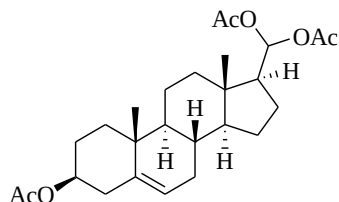
6.6.2. A (2*S*)-2,17 β -(3-acetil-5-fenil-1,3,4-(2*H*)-oxadiazolil)-3 β -acetoxiandroszt-5-én (**10-S**)



10-S (színtelen olaj); C₃₁H₄₀N₂O₄ (504,66), ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,93 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,02 (s, 3H, 3-Ac-CH₃), 2,29 (*N*-Ac-CH₃), 4,58 (m, 1H, 3-H), 5,36 (m, 1H, 6-H), 6,40 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz, 5'-H), 7,43 (m, 2H, 3''-H és 5''-H), 7,49 (m, 1H, 4''-H), 7,86 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, 2'-H és 6'-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 12,8 (C-18), 19,3 (C-19), 20,7 (CH₂), 21,4 és 21,6: 3-Ac-CH₃ és *N*-Ac-CH₃, 23,2 (CH₂), 24,4 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,4 (CH), 31,7 (CH₂), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 38,1 (CH₂), 38,8 (CH₂), 42,6 (C-13), 50,0 (CH),

54,4 (CH), 55,9 (CH), 73,8 (C-3), 93,4 (C-5'), 122,4 (C-6), 124,9 (C-1''), 126,9 (2C, C-2'' és C-6''), 128,6 (2C, C-3'' és C-5''), 131,5 (C-4''), 139,6 (C-5), 156,4 (C-2'), 169,0 (N-Ac-CO), 170,4 (3-Ac-CO); ESI-MS 528 [M+Na]⁺.

6.6.3. A 3β-acetoxiandroszt-5-én-17β-metándiil-diacetát (11)

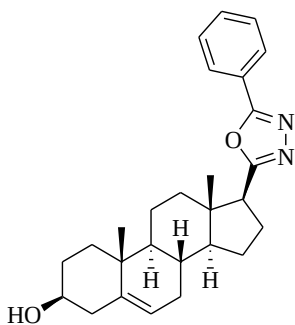


11: (fehér, szilárd); C₂₆H₃₈O₆ (446,58), op.: 179–182 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,75 (s, 1H, 18-H₃), 1,00 (s, 1H, 19-H₃), 2,02 (s, 3H, 3β-Ac-CH₃), 2,03 (s, 3H, az egyik 20-OAc), 3,07 (s, 3H, a másik 20-OAc), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,37 (m, 1H, 6-H), 8,86 (d, 1H, *J* = 9,0 Hz, C-20); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 12,6 (C-18), 19,3 (C-19), 20,6 (CH₂), 20,8 (az egyik 20-OAc-CH₃), 21,0 (a másik 20-OAc-CH₃), 21,4 (3-Ac-CH₃), 23,3 (CH₂), 24,0 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,5 (CH), 31,7 (CH₂), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 38,1 (CH₂), 38,4 (CH₂), 41,8 (C-13), 50,0 (CH), 52,7 (CH), 56,1 (CH), 73,8 (C-3), 91,3 (C-20), 122,3 (C-6), 139,7 (C-5), 168,7 (az egyik 20-Ac-CO), 168,8 (a másik 20-Ac-CO), 170,5 (3-Ac-CO); ESI-MS 447 [M+H]⁺.

6.7. Általános szintézismódszer oxadiazolok (12a–d és 13a–e) előállítására

Az acilhidrazont (**8a–d**, **9a–d**, 0,50 mmol) vagy a szemikarbazont (**9e**) CH₂Cl₂-ban (5 mL) oldottuk és DIB-et (322 mg, 1,00 mmol) adtunk hozzá. A keveréket 1 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertettük (**8a–d** esetén kezdetben óvatos melegítés volt szükséges az oldódáshoz), majd a nyersterméket (**12a–d** és **13a–e**) bepárlást követően azonnal oszlopkromatográfiás tisztításnak vetettük alá.

6.7.1. A 2,17β-[5-fenil-1,3,4-oxadiazolil]-3β-hidroxiandroszt-5-én (12a)

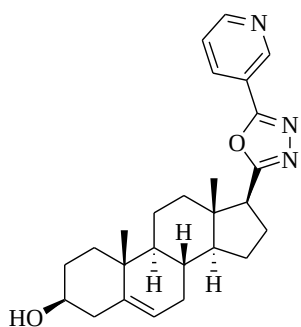


Az általános módszer alapján **8a** acilhidrazont (210 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 20:80.

12a: (172 mg, fehér kristály); C₂₇H₃₄N₂O₂ (418,57), op.: 183–186 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,65 (s, 1H, 18-H₃), 1,01 (s, 1H, 19-H₃), 2,92 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, 17-H), 3,53 (m, 1H, 3-H), 5,34 (m,

1H, 6-H), 7,49 (m, 3H, 3''-H, 4''-H és 5''-H), 8,03 (m, 2H, 2'-H és 6'-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,4 (C-19), 20,8 (CH₂), 24,6 (CH₂), 24,7 (CH₂), 31,6 (CH₂), 31,8 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (C-10), 37,2 (CH₂), 37,8 (CH₂), 42,2 (CH₂), 44,8 (C-13), 47,5 (CH), 50,0 (CH), 55,9 (CH), 71,6 (C-3), 121,2 (C-6), 124,1 (C-1''), 126,7 (2C, C-2'' és C-6''), 128,9 (2C, C-3'' és C-5''), 131,4 (C-4''), 140,9 (C-5), 164,6 és 167,9 (C-2' és C-5'); ESI-MS 419 [M+H]⁺.

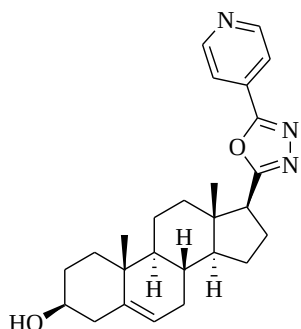
6.7.2. A 2,17β-[5-(3-piridil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-hidroxiandroszt-5-én (12b)



Az általános módszer alapján **8b** acilhidrazont (211 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 50:50.

12b: (159 mg, fehér, szilárd); C₂₆H₃₃N₃O₂ (419,56), op.: 251–254 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,66 (s, 1H, 18-H₃), 1,01 (s, 1H, 19-H₃), 2,94 (t, 1H, *J* = 9,6 Hz, 17-H), 3,54 (m, 1H, 3-H), 5,37 (m, 1H, 6-H), 7,45 (dd, 1H, *J* = 7,9 Hz, *J* = 4,9 Hz, 5''-H), 8,34 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, 6''-H), 8,75 (d, 1H, *J* = 4,9 Hz, 4''-H), 9,24 (s, 1H, 2''-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,4 (C-19), 20,8 (CH₂), 24,6 (CH₂), 24,8 (CH₂), 31,6 (CH₂), 31,8 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (C-10), 37,3 (CH₂), 37,8 (CH₂), 42,2 (CH₂), 44,9 (C-13), 47,5 (CH), 50,0 (CH), 56,0 (CH), 71,6 (C-3), 120,7 (C-1''), 121,2 (C-6), 123,8 (C-5''), 134,0 (C-6''), 140,9 (C-5), 147,7 (C-4''), 152,2 (C-2''), 162,6 és 168,5 (C-2' és C-5'); ESI-MS 420 [M+H]⁺.

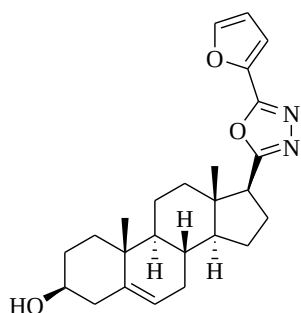
6.7.3. A 2,17β-[5-(4-piridil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-hidroxiandroszt-5-én (12c)



Az általános módszer alapján **8c** acilhidrazont (211 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 50:50.

12c: (153 mg, fehér, szilárd); C₂₆H₃₃N₃O₂ (419,56), op.: 238–240 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,66 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,95 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, 17-H), 4,54 (m, 1H, 3-H), 5,38 (s, 1H, 6-H), 7,89 (d, 2H, *J* = 4,5 Hz, 2''-H és 6''-H), 8,81 (s, 2H, 3''-H és 5''-H); ESI-MS 421 [M+H]⁺.

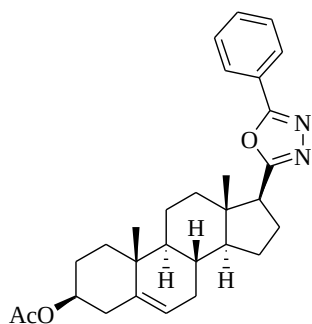
6.7.4. A 2,17β-[5-(2-furil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-hidroxiandroszt-5-én (12d)



Az általános módszer alapján **8d** acilhidrazont (226 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 10:90.

12d: (159 mg, fehér, szilárd), C₂₅H₃₂N₂O₃ (408.53), op.: 182–185 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,64 (s, 1H, 18-H₃), 1,00 (s, 1H, 19-H₃), 2,89 (t, 1H, *J* = 9,3 Hz, 17-H), 3,53 (m, 1H, 3-H), 5,35 (m, 1H, 6-H), 6,57 (m, 1H, 4''-H), 7,11 (d, 1H, *J* = 3,5 Hz, 3''-H), 7,61 (s, 1H, 5''-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,4 (C-19), 20,8 (CH₂), 24,6 (CH₂), 24,8 (CH₂), 31,5 (CH₂), 31,7 (CH₂), 32,1 (CH), 36,5 (C-10), 37,2 (CH₂), 37,7 (CH₂), 42,2 (CH₂), 44,9 (C-13), 47,4 (CH), 49,9 (CH), 55,9 (CH), 71,6 (C-3), 112,0 és 113,5 (C-3'' és C-4''), 121,2 (C-6), 139,6 (C-5), 145,4 (C-5''), 157,6 (C-2''), 164,2 és 167,3 (C-2' és C-5'); ESI-MS 409 [M+H]⁺.

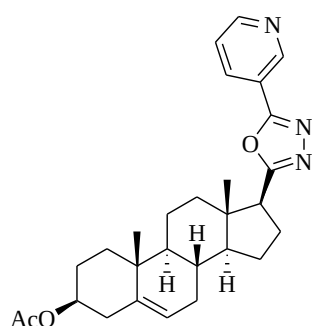
6.7.5. A 2,17β-[5-fenil-1,3,4-oxadiazolil]-3β-acetoxiandroszt-5-én (13a)



Az általános módszer alapján **9a** acilhidrazont (231 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 5:95.

13a: (196 mg, fehér, szilárd); C₂₉H₃₆N₂O₃ (460,61), op.: 173–176 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,67 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,03 (s, 3H, 3-Ac-CH₃), 2,92 (t, 1H, *J* = 9,6 Hz, 17-H), 4,61 (m, 1H, 3-H), 5,39 (m, 1H, 6-H), 7,49 (m, 3H, 3''-H, 4''-H és 5''-H), 8,02 (m, 2H, 2'-H és 6'-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,3 (C-19), 20,8 (CH₂), 21,4 (Ac-CH₃), 24,6 (CH₂), 24,7 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,8 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 37,7 (CH₂), 38,1 (CH₂), 44,8 (C-13), 47,5 (CH), 49,9 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 122,2 (C-6), 124,2 (C-1''), 126,7 (2C, C-2'' és C-6''), 128,9 (2C, C-3'' és C-5''), 131,4 (C-4''), 139,7 (C-5), 164,6 és 167,8 (C-2' és C-5'), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 462 [M+H]⁺.

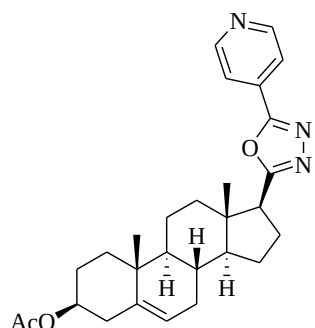
6.7.6. A 2,17β-[5-(3-piridil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-acetoxiandroszt-5-én (13b)



Az általános módszer alapján **9b** acilhidrazont (232 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 30:70.

13b: (192 mg, fehér, szilárd), C₂₈H₃₅N₃O₃ (461,60), op.: 209–212 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,65 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,02 (s, 3H, Ac-CH₃), 2,94 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, 17-H), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,38 (m, 1H, 6-H), 7,44 (dd, 1H, *J* = 7,8 Hz, *J* = 4,9 Hz, 5''-H), 8,33 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz, 6''-H), 8,74 (d, 1H, *J* = 4,9 Hz, 4''-H), 9,23 (s, 1H, 2''-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,3 (C-19), 20,7 (CH₂), 21,4 (Ac-CH₃), 24,6 (CH₂), 24,8 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,7 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 37,7 (CH₂), 38,0 (CH₂), 44,9 (C-13), 47,5 (CH), 49,9 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 120,7 (C-1''), 122,1 (C-6), 123,7 (C-5''), 134,0 (C-6''), 139,7 (C-5), 147,7 (C-4''), 152,1 (C-2''), 162,5 és 168,5 (C-2' és C-5'), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 463 [M+H]⁺.

6.7.7. A 2,17β-[5-(3-piridil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-acetoxiandroszt-5-én (13c)

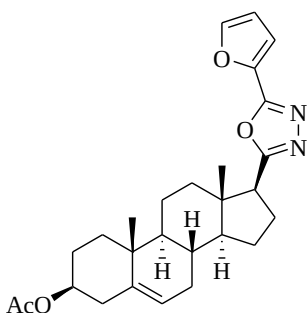


Az általános módszer alapján **9c** acilhidrazont (232 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 30:70.

13c: (189 mg, fehér, szilárd), C₂₈H₃₅N₃O₃ (461,60), op.: 188–189 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,65 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,03 (s, 3H, Ac-CH₃), 2,94 (t, 1H, *J* = 9,5 Hz, 17-H), 4,61 (m, 1H, 3-H), 5,39 (m, 1H, 6-H), 7,88 (d, 2H, *J* = 6,0 Hz, 3''-H és 5''-H), 8,79 (d, 2H, *J* = 5,0 Hz, 2''-H és 6''-H); ¹³C-NMR

(CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,3 (C-19), 20,8 (CH₂), 21,4 (Ac-CH₃), 24,6 (CH₂), 24,8 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,7 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (CH₂), 37,0 (CH₂), 37,7 (CH₂), 38,0 (CH₂), 45,0 (C-13), 47,5 (CH), 49,9 (CH), 55,9 (CH), 73,7 (C-3), 120,2 (C-6), 122,1 (2C, C-3'' és C-5''), 131,2 (C-1''), 139,7 (C-5), 150,8 (2C, C-2'' és C-6''), 162,8 és 169,0 (2C, C-5' és C-2'), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 463 [M+H]⁺.

6.7.8. A2,17β-[5-(2-furil)-1,3,4-oxadiazolil]-3β-acetoxiandroszt-5-én (13d)

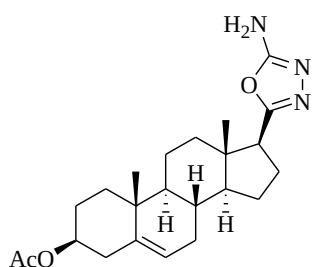


Az általános módszer alapján **9d** acilhidrazont (226 mg) használtunk.

Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 5:95.

13d: (185 mg, fehér, szilárd); C₂₇H₃₄N₂O₄ (450,57), op.: 219–221 °C, ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 0,64 (s, 1H, 18-H₃), 1,02 (s, 1H, 19-H₃), 2,03 (s, 3H, 3-Ac-CH₃), 2,90 (t, 1H, *J* = 9,6 Hz, 17-H), 4,60 (m, 1H, 3-H), 5,39 (m, 1H, 6-H), 6,57 (m, 1H, 4''-H), 7,11 (d, 1H, *J* = 3,5 Hz, 3''-H), 7,62 (bs, 1H, 5''-H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 13,4 (C-18), 19,3 (C-19), 20,7 (CH₂), 21,4 (Ac-CH₃), 24,6 (CH₂), 24,8 (CH₂), 27,7 (CH₂), 31,8 (CH₂), 32,1 (CH), 36,6 (C-10), 37,0 (CH₂), 37,7 (CH₂), 38,0 (CH₂), 44,9 (C-13), 47,4 (CH), 49,9 (CH), 55,8 (CH), 73,8 (C-3), 112,0 és 113,4 (C-3'' és C-4''), 122,2 (C-6), 139,7 (C-5), 145,3 (C-5''), 157,6 (C-2''), 164,2 és 167,2 (C-2' és C-5'), 170,5 (Ac-CO); ESI-MS 451[M+H]⁺.

6.7.9. A 2,17β-[5-amino-1,3,4-oxadiazolil]-3β-acetoxiandroszt-5-én (13e)



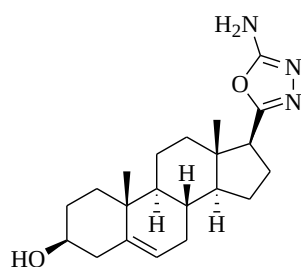
Az általános módszer alapján **9e** szemikarbazont (201 mg) használtunk. Oszlopkromatográfia: EtOAc/CH₂Cl₂ = 80:20.

13e: (120 mg, fehér, szilárd); C₂₃H₃₃N₃O₃ (399,53), op.: 275–277 °C, ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ 0,53 (s, 1H, 18-H₃), 0,98 (s, 1H, 19-H₃), 1,98 (s, 3H, Ac-CH₃), 4,45 (m, 1H, 3-H), 5,36 (m, 1H, 6-H), 6,81 (bs, 2H, NH₂); ESI-MS 401 [M+H]⁺.

6.8. Általános módszer 13a–e oxadiazolok dezacetilezésére

A **13a–e** (0,30 mmol) vegyületet MeOH-ban (10 mL) feloldottuk és KOH-ot (50 mg, 0,89 mmol) adtunk hozzá. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettük 8 órán keresztül, vízzel hígítottuk és dil. HCl-val semlegesítettük. A kiváló csapadékot leszűrtük, vízzel mostuk és szárítottuk. A termékeket (**12a–e**) 93–95%-os hozammal nyertük.

6.8.1. A 2,17β-[5-amino-1,3,4-oxadiazolil]-3β-hidroxiandroszt-5-én (12e)



Az általános módszer alapján **13e** oxadiazolt (120 mg) használtunk. A kapott fehér termék tömege: 97 mg.

$C_{21}H_{31}N_3O_2$ (357,49), op.: 293–295 °C, 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ 0,52 (s, 1H, 18- H_3), 0,94 (s, 1H, 19- H_3), 2,66 (t, 1H, J = 9,5 Hz, 17-H), 3,26 (m, 1H, 3-H), 4,61 (d, 1H, J = 4,5 Hz, OH),

5,28 (m, 1H, 6-H), 6,81 (bs, 2H, NH_2); ESI-MS 358 $[M+H]^+$.

7. Összefoglalás

Munkánk során az általunk szintetizált androsztánváz 17 β -karbaldehidek (**4**, **5**) és karbonsav-hidrazidok (**7a–d**), valamint szemikarbazid (**7e**) kondenzációs reakcióival *N*-acilhidrazonokat (**8a–d** és **9a–d**) és szemikarbazonokat (**8e** és **9e**) állítottunk elő. Az *E*-izomerük formájában stabilis vegyületek jó hozammal képződtek mind a hagyományos melegítés, mind a MW-mal kivitelezett reakciók során, bár utóbbi módszerrel lényegesen rövidebb idő alatt jutottunk a kívánt termékekhez.

A hidrazonok gyűrűzárási reakcióinak tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a **9a** vegyület ecetsav-anhidrid jelenlétében bekövetkező ciklizációja jelentős mennyiségű melléktermék (**11**) képződése mellett két epimer oxadiazolin (**10-R** és **10-S**) közel 1:1 arányú keverékét eredményezte, melyek sztereokémiáját elválasztásukat követően NMR spektroszkópiával határoztunk meg.

Hatékonyabbnak találtuk az acilhidrazonok (**8a–d** és **9a–d**), illetve a szemikarbazonok közül **9e** egy lépéses oxidatív gyűrűzárási reakcióit DIB jelenlétében, melyek kemoszelektíven, jó hozammal, enyhe reakciókörülmények között és rövid idő alatt a szteránváz 17-es helyzetéhez kapcsolódó szubsztituált 1,3,4-oxadiazolokat (**12a–d** és **13a–e**)

eredményezték. A **12e** vegyület szintézisét ugyanakkor a **13e** lúgos közegű dezacetilezésével sikerült megvalósítanunk.

Az általunk előállított oxadiazolok 3-OH analogonjai (**12a–e**) közül az aminoszubsztituált származék (**12e**) a P450_{17 α} enzim hatásos inhibitorának bizonyult, ugyanakkor a többi vegyület nem gátolta jelentős mértékben az enzim aktivitását. Valamennyi termék (**8a–e**, **9a–e**, **10-R**, **10-S**, **12a–e** és **13a–e**) *in vitro* antiproliferatív hatásának tesztelése négyféle humán ráksejt vonalon jelenleg is folyamatban van. Az eddigi részeredmények alapján megállapítható, hogy számos vegyület fejt ki jelentős sejtosztódás-gátló hatást.

További terveink között szerepel egyéb szubsztituált származékok szintéziséén túlmenően a Δ^{16} telítetlen analogonok előállítása és hatástani vizsgálata. A nagyszámú, de szerkezetileg rokon vegyületek farmakológiai vizsgálata hasznos szerkezet–hatás összefüggések felismeréséhez vezethet.

8. Irodalomjegyzék

- [1] Batist, J. N. M.; Slobbe, A. F. M.; Marx, A. F. *Steroids* **1989**, 54, 321.
- [2] Yaremenko, F. G.; Khvat, A. V. *Mendeleev Commun.* **1994**, 187.
- [3] Schönecker, B.; Lange, C.; Kötteritzsch, M.; Günther, W.; Weston, J.; Anders, E.; Görls, H. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5487.
- [4] Zsigmond, Á.; Kecskeméti, A.; Bogár, K.; Notheisz, F.; Mernyák, E. *Catal. Commun.* **2005**, 6, 520.
- [5] Wölfling, J.; Mernyák, E.; Frank, É.; Falkay, G.; Márki, Á.; Minorics, R.; Schneider, Gy. *Steroids* **2003**, 68, 277.
- [6] Frank, É.; Wölfling, J.; Aukszi, B.; König, V.; Schneider, Gy. *Tetrahedron* **2002**, 58, 6843.
- [7] Frank, É.; Schneider, Gy.; Kádár, Z.; Wölfling, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3544.
- [8] Tapolcsányi, P.; Wölfling, J.; Falkay, G.; Márki, Á.; Minorics, R.; Schneider, Gy. *Steroids* **2002**, 67, 671.
- [9] Wölfling, J.; Hackler, L.; Mernyák, E.; Schneider, Gy.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Sohár, P.; Csámpai, A. *Steroids* **2004**, 69, 451.
- [10] Frank, É.; Mucsi, Z.; Szécsi, M.; Zupkó, I.; Wölfling, J.; Schneider, Gy. *New J. Chem.* **2010**, 34, 2671.

- [11] Kovács, D.; Kádár, Z.; Mótyán, G.; Schneider, Gy.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; Frank, É. *Steroids* **2012**, 77, 1075.
- [12] Ondré, D.; Wölfling, J.; Tóth, I.; Szécsi, M.; Julesz, J.; Schneider, Gy. *Steroids* **2009**, 74, 1025.
- [13] Wölfling, J.; Kovács-Pénzes, P.; Zupkó, I.; Schneider, Gy.; Frank, É. *J. Mol. Structure* **2012**, 1013, 39.
- [14] Frank, É.; Schneider, Gy. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, 137, 301.
- [15] Al Footy, K. O.; Abulrahman, R. M. *Oriental Journal of Chemistry* **2010**, 26, 5.
- [16] Singh, R; Panda, G. *Tetrahedron* **2013**, 69, 2853.
- [17] Hamad, E.; Mather, P. J.; Srinivasan, S.; Rubin, S.; Whellan, D. J.; Feldman, A. M. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* **2007**, 7, 235.
- [18] Newman, R. A.; Yang, P.; Pawlus, A. D.; Block, K. I. *Molec. Interven.* **2008** , 8, 36.
- [19] Haux, J. *Med. Hypotheses* **1999**, 53, 543.
- [20] Haux, J.; Klepp, O.; Spigset O.; Tretli, S. *BMC Cancer* **2001**, 1, 11 Epub.
- [21] Haux, J.; Lam, J.; Marthinsen, A. B. L.; Strickert, T.; Lundgren, S. Z. *Onkol.* **1999**, 31, 14.
- [22] Atwal, K. S.; Sahoo, S. P.; Tsai, T. Y. R.; Wiesner, K. *Heterocycles* **1982**, 19, 641.
- [23] Guzman, A.; Muchowski, J. M.; Strosberg, A. M.; Sims, J. J. *Can. J. Chem.* **1981**, 59, 342.
- [24] Repke, K. R. H.; Dittrich, F. *Trends Pharmacol. Sci.* **1980**, 2, 398.
- [25] Lindig, C.; Repke, K. R. H. *J. Prakt. Chemie* **1983**, 325, 574.
- [26] Wiesner, K.; Tsai, T. Y. R.; Kumar, R.; Sivaramakrishnan, H. *Helv. Chim. Acta* **1984**, 67, 1128.
- [27] Tsai, T. Y. R.; Wiesner, K. *Heterocycles* **1984**, 22, 1683.
- [28] Burke, D. F.; Laughton, C. A.; Snook, C. F.; Neidle, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 1125.
- [29] Salvador, J. A. R.; Pinto, R. M. A.; Silvestre, S. M. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol* **2013**, 137, 199.
- [30] Ayub, M.; Levell, M. J. *J. Steroid. Biochem.* **1987**, 28, 521.
- [31] Njar, V. C. O.; Klus, G. T.; Brodie, A. M. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 2777.
- [32] Ru, C.; Lei, X.; Ling, Y.; Zhang, L.; Handratta, V.; Brodie, A. J. *Chinese Pharm. Sciences* **2001**, 10, 1.
- [33] Chao, J.; Ling, Y.; Liu, X.; Luo, X.; Brodie, A. M. H. *Steroids* **2006**, 71, 585.
- [34] Njar, V. C. O.; Brodie, A. M. H. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, 5, 163.

- [35] Ling, Y. Z.; Li, J. S.; Liu, Y.; Kato, K.; Klus, G. T.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3297.
- [36] de Oliveira C. S.; Lira B. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Lorenzo, J. G. F.; de Athayde-Filho, P. *F. Molecules* **2012**, *17*, 10192.
- [37] Boström, J.; Hogner, A.; Llinàs, A.; Wellner, E.; Plowright, A. T. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1817.
- [38] Dabiri, M.; Salehi, P. Baghbanzadeh, M.; Bahramnejad, M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6983.
- [39] Jedlovská, E.; Lesko, J. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 1879.
- [40] Dobrotă, C.; Paraschivescu, C. C.; Dumitru, I.; Matache, M.; Baci, I.; Ruță L. L. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1886.
- [41] Rostamizadeh, S.; Ghasem Housaini, S. A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *34*, 8753.
- [42] Li, A-F.; He, H.; Ruan, Y-B.; Wen, Z-C.; Zhao, J-S.; Jiang, Q-J.; Jiang, Y-B. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 193.
- [43] Tamasi, G.; Chiasserini, L.; Savini, L.; Sega, A.; Cini, R. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 1347.
- [44] Rollas, S.; Küçükgül, G. *Molecules* **2007**, *12*, 1910.
- [45] Szarka, Zs.; Skoda-Földes, R.; Horváth, J.; Tuba, Z.; Kollár, L. *Steroids* **2002**, *67*, 581.
- [46] Sun, N-B.; Shi, Y-X.; Liu, X-H.; Ma, Y.; Tan, C-X.; Weng, J-Q.; Jin, J-Z.; Li, B-J. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 21741.
- [47] Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225.
- [48] Gaonkar, S. L.; Nagashima, I.; Shimizu, H. *Org. Chem. Int.* **2011**, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/751894>
- [49] Njar, V. C. O.; Klus, G. T.; Johnson, H. H.; Brodie, A. M. H. *Steroids* **1997**, *62*, 468.
- [50] Jain, A. K.; Gupta, P. K.; Ganesan, K.; Paude, A.; Malhotra, R. C. *Defence Sci. J.* **2007**, *57*, 267.
- [51] Gu, W.; Wu, R.; Qi, S.; Gu, C.; Si, F.; Chen, Z. *Molecules* **2012**, *17*, 4634.
- [52] Hu, Y.; Lu, X.; Chen, L. K.; Yan, R.; Li, Q-S.; Zhu, H-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 903.
- [53] Somogyi, L. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 1235.
- [54] Hwu, J. R.; Chen, K-L.; Ananthan, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1425.
- [55] Tóth, M.; Kun, S.; Bokor, É.; Benlifa, M.; Tallec, G.; Vidal, S.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L.; Praly, J-P. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4773.

[56] Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Prof. Dr. Wölfling János tanszékvezető egyetemi tanárnak a lehetőséget, hogy tudományos diákköri dolgozatom az SZTE Szerves Kémiai Tanszéken készíthettem el.

Szeretném megköszönni témavezetőimnek, Dr. Frank Éva egyetemi adjunktusnak és Mótyán Gergő PhD hallgatónak, hogy szakmai tudásukkal gyakorlati és elméleti téren egyaránt segítették munkámat.

Külön köszönetet mondok Kovács Dóra PhD hallgatónak a dolgozat kapcsán tett hasznos észrevételeiért, tanácsaiért.

Köszönettel tartozom továbbá Dr. Bartók Tibornak, az SZTE Mérnöki Karáról, aki a tömegspektrumok felvételét végezte, Dr. Szécsi Mihálynak és Szabó Nikoletta PhD hallgatónak az SZTE I. sz. Belklinika Önálló Endokrin Osztályáról az enzim-gátlási vizsgálatok, valamint Dr. Zupkó Istvánnak és munkatársainak az SZTE Gyógyszerhatástani és Biofarmáciai Intézetből a sejtosztódás gátlási vizsgálatok elvégzéséért.

