

Ph.D. értekezés tézisei

**Nitrogén- és oxigéntartalmú heterociklusos szteroidok  
előállítása és biológiai hatásvizsgálata**

**Ondré Dóra**

Szegedi Tudományegyetem  
Szerves Kémiai Tanszék



Szeged

2009

## 1. Bevezetés és célkitűzések

A szteroidok a természetes szénvegyületek egyik jelentős csoportját alkotják. Változatos szerkezetű alapvázuk és az azokon elvégezhető módosítások farmakológiai hatásuk sokféleségét eredményezheti. A szintetikus szteroid heterociklusok számos képviselője fontos biológiai hatással rendelkezik, ezért az újonnan szintetizált származékok a figyelem középpontjába kerültek.

A természetben előforduló *exo*-heterociklusos szteroidok egyik fontos csoportját a szívre ható glikozidok képviselik, melyekre jellemző, hogy a terápiás és a toxikus érték között kicsi a különbség. A módosítás egyik lehetőségét a laktongyűrű oxigénatomjának heteroatommal, többnyire nitrogénnel történő helyettesítése jelenti. Ezek a vegyületek már csak kis mértékben rendelkeznek kardioprotéktív hatással, azonban kitűnt, hogy egyes képviselőik az androgén hormonok bioszintézisében résztvevő enzimek, a citokróm P450-függő  $17\alpha$ -hidroxiláz- $C_{17,20}$ -liáz ( $P450_{17\alpha}$ ) és az  $5\alpha$ -reduktáz gátlására képesek. Azok a vegyületek, amelyek C-17-es helyzetben különbözően szubsztituált heterociklust tartalmaznak, alkalmasak lehetnek az említett enzimek gátlására és ezáltal terápiás lehetőséget nyújtanak az androgénfüggő rendellenességek, úgymint a *benignus prostatic hyperplasia* és a *prostatic carcinoma* kezelésére.

A szintetikus és a farmakológiai előzmények alapján célul tűztük ki új, biológiailag ígéretes *exo*-heterociklusos szteroidok előállítását. Lineáris szintézisút kidolgozásával a szteránváz C-17-es szénatomján különbözően szubsztituált öt- és hattagú heterogyűrűt alakítottunk ki. További célunk volt az újonnan szintetizált szteroidok biológiai hatásvizsgálata, melynek során az androgén szteroidok bioszintézisének kulcsenzimeire kifejtett gátló hatást vizsgáltuk *in vitro* radioligand inkubációs módszerrel.

## 2. Vizsgálati módszerek

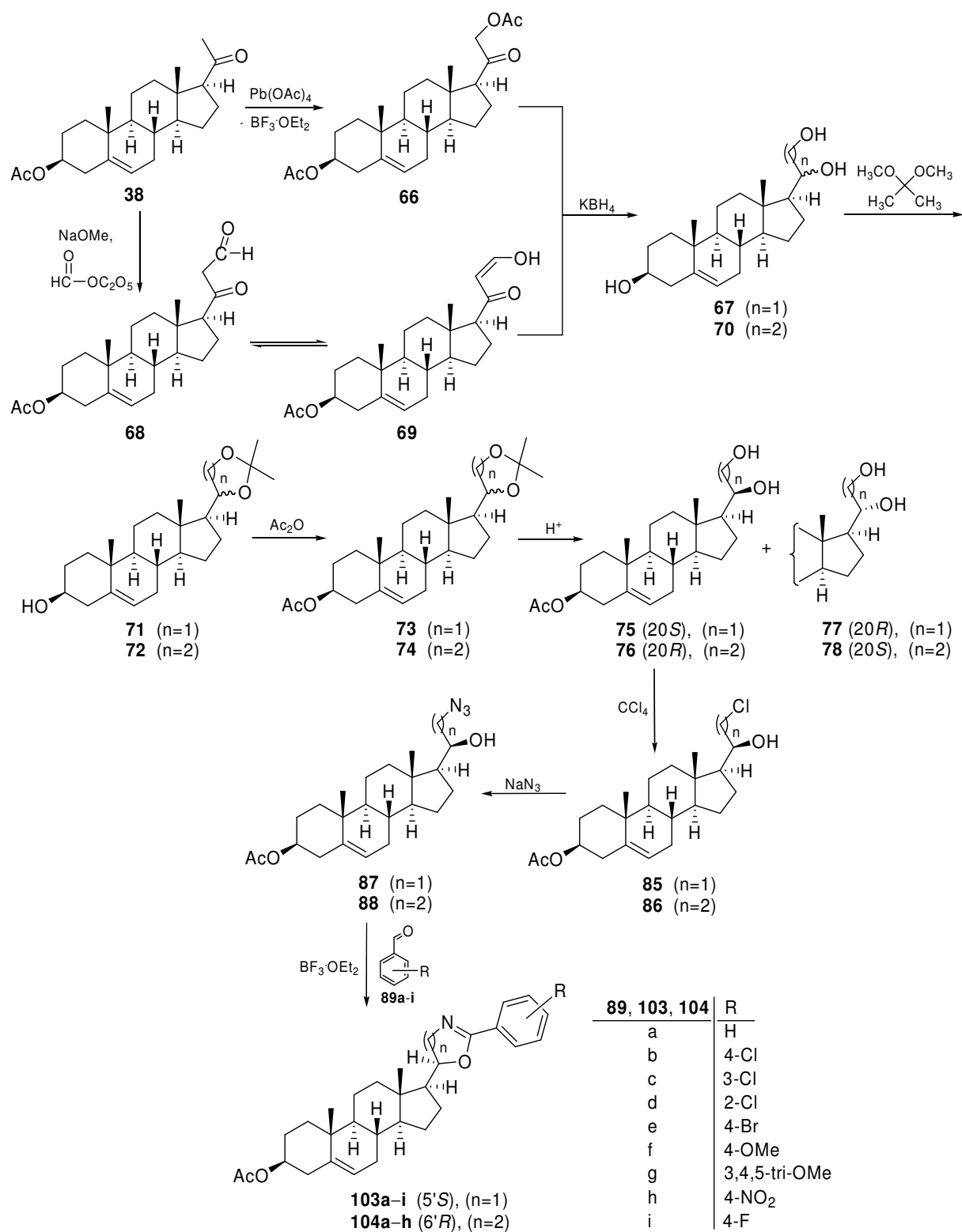
A reakciók kivitelezését mmol mennyiségben végeztük, lejátszódásukat vékonyréteg-kromatográfiával követtük. Az előállított anyagokat túlnyomásos oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottuk. A kapott vegyületek szerkezetének

meghatározása spektroszkópiai módszerekkel ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , alkalmanként NOE, COSY, HSQC, HMBC, illetve EI- és DCI-MS) történt.

### 3. Új tudományos eredmények\*

- 3.1. A  $3\beta$ -acetoxipregn-5-én-20-onból (**38**) kiindulva oxidációval, illetve CLAISEN kondenzációval lánchosszabbítást hajtottunk végre. Megállapítottuk, hogy a kapott termékek (**66**, **69**)  $\text{KBH}_4$ -es redukciója során triol epimerek keveréke (**67**, **70**) keletkezett mind az  $\alpha,\beta$ -, mind az  $\alpha,\gamma$ -diol rendszer esetében (1. ábra).
- 3.2. A  $3\beta$ -helyzetű hidroxilcsoport szelektív acetilezését (**73**, **74**) az oldalláncbéli szabad hidroxilfunkciók acetonid formájában (**71**, **72**) történő védelme előzte meg. Azt tapasztaltuk, hogy a gyűrűs ketál savas közegű hidrolízise eredményeként képződő  $3\beta$ -acetoxi-diol epimerek keverékei – 20S (**75**)/20R (**77**), illetve 20R (**76**)/20S (**78**) – kromatográfiásan szétválaszthatók voltak (1. ábra).
- 3.3. Azt találtuk, hogy a tiszta 20S (**75**), ill. 20R (**76**) epimerek APPEL reakcióval végrehajtott halogénezése regioszelektív, kizárólag a láncevégi klórszármazékok (**85**, ill. **86**) voltak izolálhatók (1. ábra).
- 3.4. Az  $\alpha,\beta$ -, ill.  $\alpha,\gamma$ -helyzetű azidoalkoholok (**87**, ill. **88**) előállítását a 21-, ill. 22-klórszármazékok (**85**, ill. **86**) *N,N*-dimetil-formamidban  $\text{NaN}_3$ -dal végrehajtott cserereakciójával valósítottuk meg (1. ábra).
- 3.5. Azt tapasztaltuk, hogy az  $\alpha,\beta$ -, ill. az  $\alpha,\gamma$ -helyzetű szteroid-azidoalkoholok (**87**, ill. **88**) különbözően szubsztituált benzaldehidekkel (**89a-i**) a SCHMIDT reakció kísérleti körülményei között gyorsan, nagy tisztaságban és jó hozammal szolgáltatják a megfelelő dihidrooxazolinil- (**103a-i**) és dihidrooxazinil-szteroidokat (**104a-h**), (1. ábra).

\* A vegyületszámozás megegyezik a disszertációban alkalmazottal

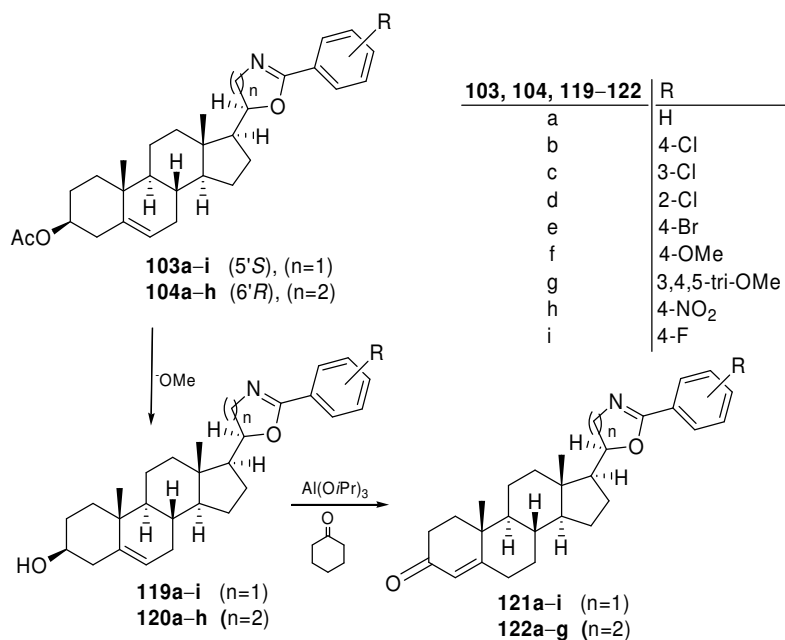


1. ábra

3.6. Megállapítottuk, hogy a gyűrűzárási reakció sebessége nagymértékben függ az aromás gyűrű szubsztituenseinek elektronikus sajátosságaitól. Az elektronszívó szubsztituenseket (halogén, nitro) tartalmazó származékok

készségesebben vettek rész a ciklizációban, míg az elektronküldő csoportokat (metoxi, trimetoxi) hordozó vegyületek lassabban alakultak át gyűrűs terméké.

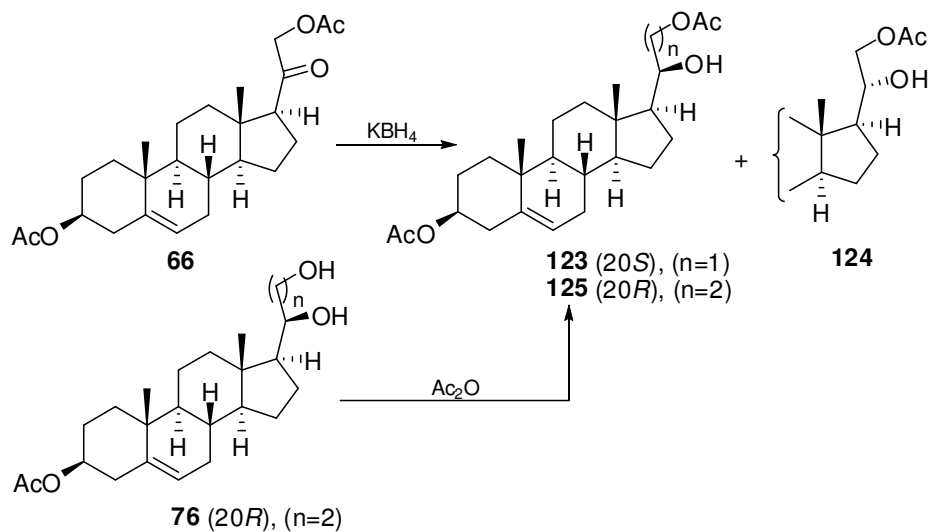
- 3.7. Azt tapasztaltuk, hogy a  $3\beta$ -helyzetben acetilezett szteroid-dihidroxozolinok (**103a-i**), illetve dihidroxozinok (**104a-h**) ZEMPLÉN szerinti dezacetilezésével  $3\beta$ -hidroxiszármazékok (**119a-i**, ill. **120a-h**) képződtek anélkül, hogy a heterociklusos gyűrű felnyílt volna. A **119a-i** és a **120a-h** OPPENAUER oxidációja lehetőséget nyújtott a megfelelő  $\Delta^4$ -3-ketoszteroidok (**121a-i**, ill. **122a-g**) előállítására (2. ábra).



2. ábra

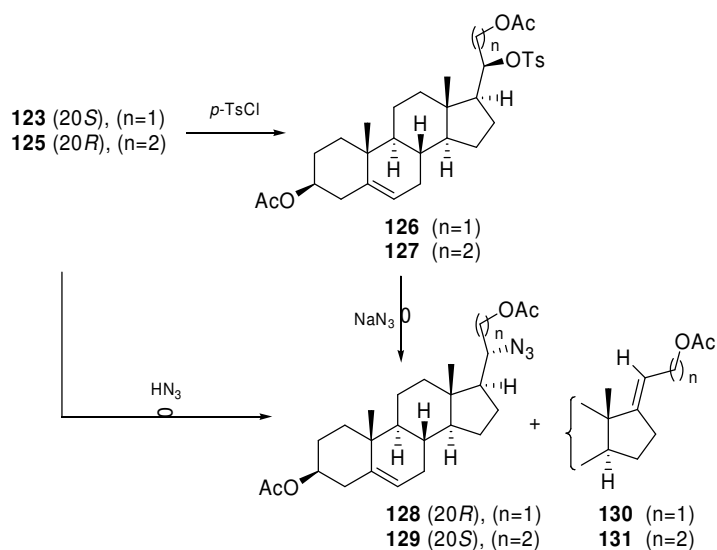
- 3.8. Megállapítottuk, hogy az oldalláncbeli  $\alpha,\beta$ -acetoxi-hidroxi rendszer kialakítása érdekében a C-20 hidroxilcsoport a  $3\beta,21$ -diacetoxipregn-5-én-20-onnak (**66**) kontrollált körülmények között (pH $\approx$ 6,6) végrehajtott redukciójával acilvándorlás és/vagy dezacetileződés nélkül megvalósítható. A redukció az epimerek (**123**, **124**) 9/1 arányú keverékét eredményezte, melyeket oszlopkromatográfiával szétválasztottunk. Az  $\alpha,\gamma$ -rendszer esetében a hasonló felépítésű oldallánc a (20R)- $3\beta$ -acetoxi-22-hidroxipregn-5-én-20-ol (**76**)

láncvégi hidroxilcsoportjának szelektív észterezésével volt megoldható (3. ábra).



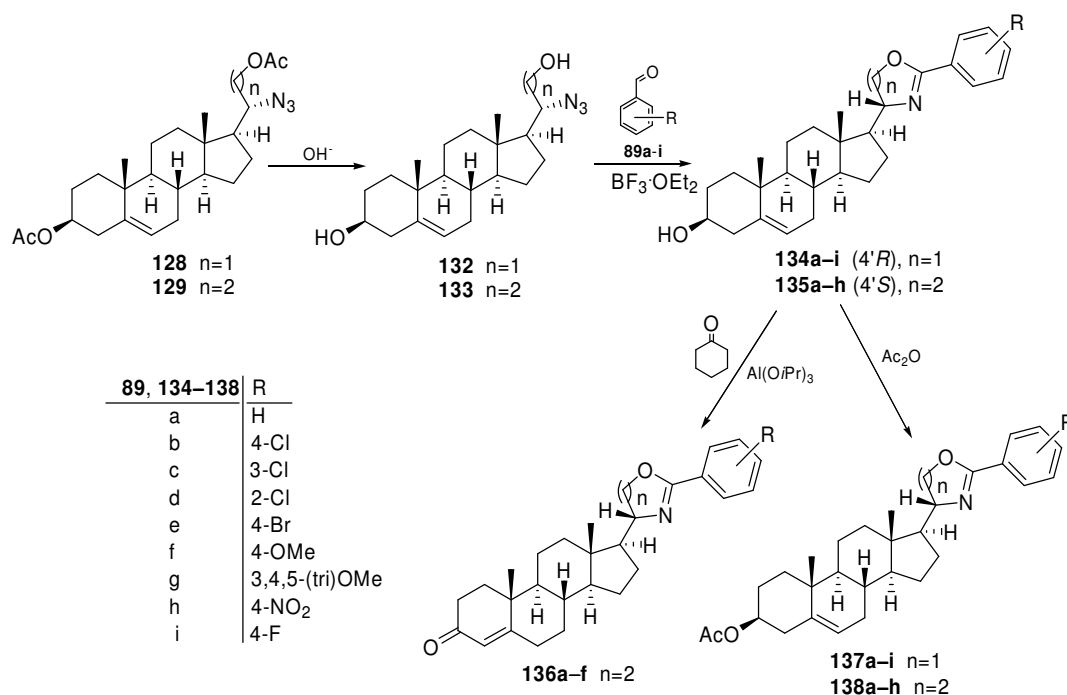
3. ábra

3.9. Azt találtuk, hogy az oldalláncon a 20-as helyzetű azidocsoport (**128**, ill. **129**) kétféleképpen is kialakítható. Egyrészt egy kétlépéses reakcióút során, először a **123**-ból és a **125**-ből előállítottuk a megfelelő 20-tozilátot (**126**, ill. **127**), majd a  $\text{NaN}_3$ -dal végrehajtott cserereakció a várt azidoszarmazékokat (**128**, ill. **129**) szolgáltatta. Másrészt a MITSUNOBU reakció alkalmazása közvetlen módszert jelentett a **128** és a **129** előállítására. A  $20S$ , ill.  $20R$ -hidroxiszarmazékok (**123**, ill. **125**)  $\text{HN}_3$ ,  $\text{PPh}_3$  és azodikarbonsav-dietilészter jelenlétében, WALDEN-inverzióval a megfelelő 20-azidovegyületté (**128**, ill. **129**) alakultak, miközben eliminációs melléktermékek is képződtek (**130**, **131**), (4. ábra).



4. ábra

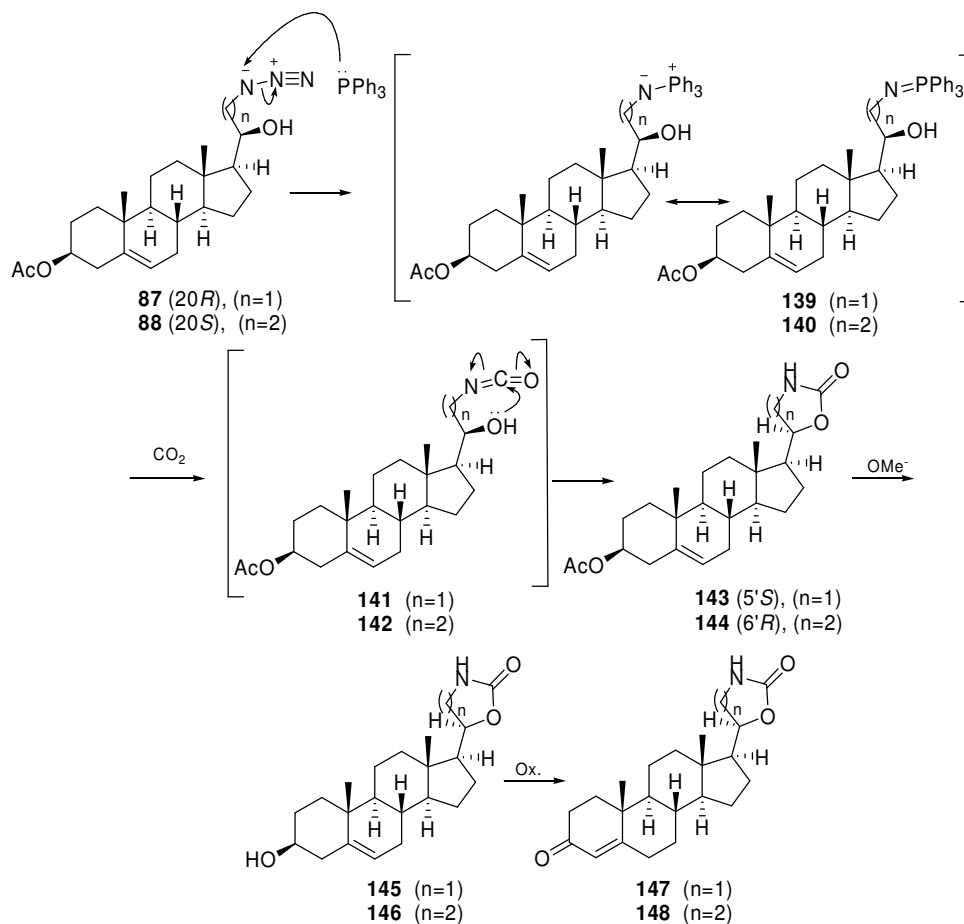
- 3.10. A gyűrűzárásra alkalmas  $\alpha,\beta$ -, ill.  $\alpha,\gamma$ -azidoalkoholokat a  $3\beta,21$ -, ill.  $3\beta,22$ -diacetátok (**128** és a **129**) dezacetilezésével állítottuk elő. Megállapítottuk, hogy a 20-azido sor vegyületei, hasonlóan azok regioizomerjeihez (**87**, ill. **88**), különbözően szubsztituált aldehidekkel a SCHMIDT reakció kísérleti körülményei között gyorsan, jó hozammal szolgáltatják a várt *exo*-heterociklusos szteroidokat (**134a-i**, **135a-h**), (5. ábra).
- 3.11. A gyűrűzárás során szubsztituenshatást figyeltünk meg. A reakció lefutását az erősen elektronvonzó szubsztituensek (halogének, nitro) befolyásolták kedvezően. Az elektronküldő csoportok (metoxi, trimetoxi), illetve hidrogén esetében a reakciókészség csökkenését észleltük.
- 3.12. A C-17-es helyzetben heterogyűrűt tartalmazó szteroidok OPPENAUER oxidációjával (**136a-f**), illetve acetilezésével (**137a-i**, **138a-h**) számos új, az irodalomban eddig ismeretlen származékot állítottunk elő (5. ábra).



5. ábra

- 3.13. A nitrogénen szubsztituenset nem tartalmazó *exo*-heterociklusos szteroidok szintézisére egy, az eddigiektől eltérő módszert alkalmaztunk. A **87** és a **88** a STAUDINGER reakció kísérleti körülményei között, Ph<sub>3</sub>P jelenlétében a 21-, ill.

22-foszfoimino-származékká (**139** és **140**) alakult, melyek CO<sub>2</sub>-dal a 21-, ill. 22-izocianátot (**141** és **142**) adták. Az izocianátok a megfelelő térhelyzetű hidroxilcsoporttal intramolekuláris gyűrűzáródás során a nitrogénen szubsztituátlan szteroid-karbamátokká (**143**, **144**) alakultak (6. ábra).

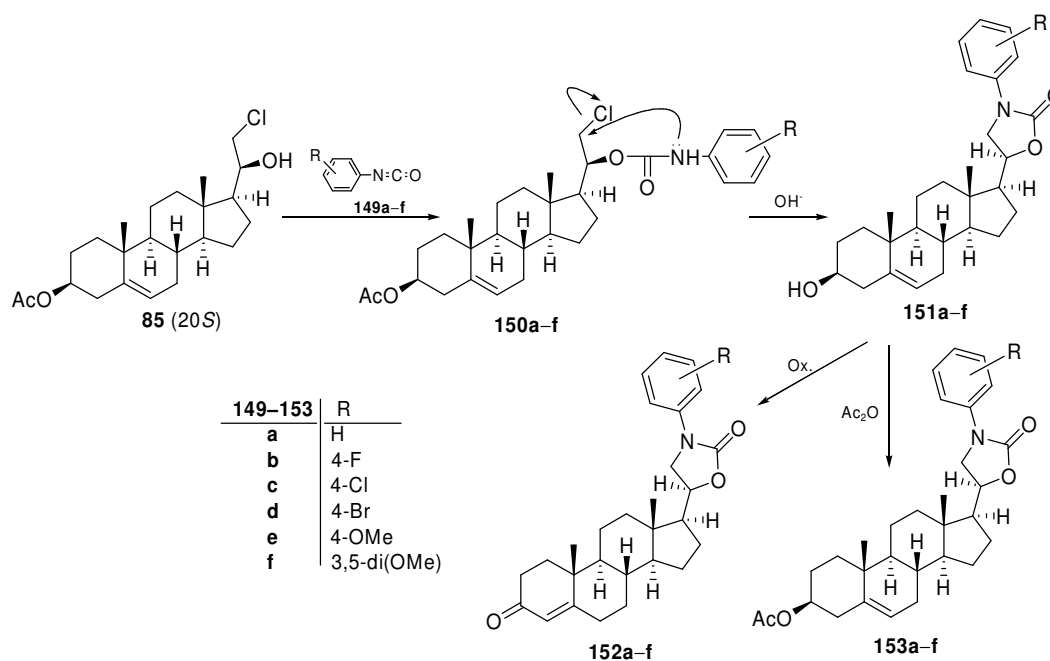


6. ábra

3.14. Azt tapasztaltuk, hogy az  $\alpha,\beta$ -azidoalkohol (**87**) előnyaga, a láncvégi klórszármazék (**85**) szintén alkalmas gyűrűs szteroid-karbamátok előállítására. Az  $\alpha,\beta$ -halohidrin (**85**) hidroxilcsoportja fenilizocianáttal (**149a**) és annak szubsztituált származékaival (**149b-f**) trietilamin jelenlétében a megfelelő *N*-fenil- és *N*-(szubsztituált-fenil)-karbamidsav észterre (**150a-f**) alakult. Ezek bázikus közegű szolvólízise jó hozammal szolgáltatva a kívánt gyűrűs célvegyületeket (**151a-f**), anélkül, hogy a karbamát hidrolízise bekövetkezett volna (7. ábra). A szomszédcsoporthérvétellel végbemenő folyamat a WINSTEIN besorolás alapján az (N<sup>-</sup>-5) általános szimbólummal írható le.



- 3.15. Azt átalakulás során megállapítottuk, hogy a szubsztituensek jellege befolyásolja a reakciósebességet. Az elektronvonzó csoportot tartalmazó *N*-fenil-karbamid-sav-észterek (**150a-d**) gyorsan (50-90 perc), míg az elektronküldő szubsztituensekkel rendelkezők (**150e, f**) gyűrűzárása lassabban (2-3 óra) következett be.
- 3.16. Az (5'*S*)-3 $\beta$ -hidroxi-17 $\beta$ -(*N*-aril)-oxazolidinonil-szteroidok (**151a-f**) megfelelő átalakításaival további új *exo*-heterociklusos származékokat nyertünk. OPPENAUER oxidációval a megfelelő  $\Delta^4$ -3-ketoszteroidokat (**152a-f**), míg acetilezéssel a 3 $\beta$ -acetátokat (**153a-f**) kaptuk (7. ábra).



7. ábra

- 3.17. Az újonnan szintetizált szteroidokat biológiai hatásvizsgálatnak vetettük alá. A vizsgálatok során az androgén szteroidok bioszintézisének kulcsenzimeire (P450<sub>17 $\alpha$</sub>  és 5 $\alpha$ -reduktáz) kifejtett gátló hatást vizsgáltuk *in vitro* radioligand inkubációs módszerrel.
- 3.18. Megállapítottuk, hogy az általunk előállított vegyületek többsége az orvosi gyakorlatban használt referenciavegyületekhez viszonyítva közepes, illetve gyenge inhibítor hatást mutatott a vizsgált enzimekre nézve. Néhány ötagú *exo*-heterociklusos származék azonban hatékony P450<sub>17 $\alpha$</sub>  inhibítornak

bizonyult,  $IC_{50}$  értékeik megközelítették a referenciavegyületek  $IC_{50}$  értékeit. Vegyületeink közül egy szubsztituálatlan származék, az (5'S)-17 $\beta$ -(2'-oxazolidinon-5'-il)androszt-4-én-3-on (**147**) figyelemre méltó gátló hatást mutatott mind a P450<sub>17 $\alpha$</sub> , mind az 5 $\alpha$ R2 enzim esetében. A méréseket a Szegedi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Endokrinológiai Laboratóriumában végeztük.

#### 4. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények

1. Stereoselective synthesis of some 17 $\beta$ -dihydrooxazinyl steroids, as novel presumed inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-C<sub>17,20</sub>-lyase  
Wölfling János, Oravecz Éva Andrea, **Ondré Dóra**, Mernyák Erzsébet, Schneider Gyula, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János  
*Steroids* **2006**, 71, 809-816.  
Impakt faktor : **2,849**
2. Neighboring group participation, Part 17. Stereoselective synthesis of some steroidal 2-oxazolidones, as novel potential inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-C<sub>17,20</sub>-lyase  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Iványi Zoltán, Schneider Gyula, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János  
*Steroids* **2008**, 73, 1375-1384.  
Impakt faktor: **2,588**
3. Stereoselective synthesis of some steroidal oxazolines, as novel potential inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-C<sub>17,20</sub>-lyase  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Schneider Gyula, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János  
*Steroids*, **2009**, doi:10.1016/j.steroids.2009.08.001.  
Impakt faktor (2008): **2,588**
4. Synthesis of steroidal dihydrooxazines and 2-oxazolidones, as novel potential inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-C<sub>17,20</sub>-lyase  
**Ondré Dóra**, Schneider Gyula, Iványi Zoltán, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János, Wölfling János  
1<sup>st</sup> Hungarian-Singaporean Workshop on Drug Discovery and Biomaterials  
Budapest, 2008. március 10–11.  
Proceedings, 98-100.

5. Determination of rat 5 $\alpha$ -reductase type 1 isozyme activity and its inhibition by novel *N*-aryl substituted 17 $\beta$ -oxazolidonyl-androst-4-en-3-one derivatives  
Szécsi Mihály, **Ondré Dóra**, Tóth István, Magony Sándor, Wölfling János,  
Schneider Gyula, Julesz János  
*Acta Biologica Hungarica*, **2009**, közlésre előkészítve.  
Impakt faktor (2008): **0,619**
- 

**A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 8,025**

## 5. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos előadások és poszterek

### Előadások:

1. Gyűrűs szteroid-karbamátok szintézise  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Schneider Gyula  
A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 7. Tudományos Előadóülése (2. díj)  
Szeged, 2007. január 18.
2. Szteroid-oxazolidinonok szintézise  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Schneider Gyula  
XXX. Kémiai Előadói Napok  
Szeged, 2007. október 29–31.
3. Szteroid-oxazolinok előállítása  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Schneider Gyula, Szécsi Mihály  
MTA Szteroidkémiai Munkabizottsági Ülés  
Szeged, 2008. november 20.
4. Nitrogén- és oxigéntartalmú heterociklusos szteroidok szintézise és biológiai hatásvizsgálata  
**Ondré Dóra**  
Bruckner-termi előadás  
Budapest, 2009. október 30.

## Poszterek:

1. 17 $\beta$ -Dihidrooxazinil-szteroidok sztereoselektív szintézise  
**Ondré Dóra**, Schneider Gyula, Wölfling János, Tóth István, Szécsi Mihály,  
Julesz János  
MKE Centenárium Vegyészkonferencia  
Sopron, 2007. május 29 – június 1.  
Program és előadásösszefoglalók, 360. o.
2. Stereoselective synthesis of some 17 $\beta$ -dihydrooxazinyl steroids, as novel  
presumed inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-C<sub>17,20</sub>-lyase  
Schneider Gyula, Wölfling János, **Ondré Dóra**, Tóth István, Szécsi Mihály,  
Julesz János  
5<sup>th</sup> Joint Meeting on Medicinal Chemistry  
Portorož, Szlovénia, 2007. június 17–21.  
*Farmaceutski Vestnik* **2007**, 58, 158.
3. C<sub>17,20</sub>-liáz enzim gátlása új 17 $\beta$ -oxazolidinil androszteron származékokkal  
Szécsi Mihály, Wölfling János, **Ondré Dóra**, Schneider Gyula, Tóth István,  
Julesz János  
A Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság 22. Kongresszusa  
Eger, 2008. június 5-7.  
*Magyar Belorvosi Archivum* **2008**, 61, 264. o.
4. Új szteroid-oxazolidinonok szintézise  
**Ondré Dóra**, Wölfling János, Schneider Gyula, Szécsi Mihály, Tóth István,  
Julesz János  
MKE Vegyészkonferencia (Poszterszekció 1. díj)  
Hajdúszoboszló, 2008. június 19–21.  
Program és előadásösszefoglalók, 97. o.

5. Synthesis of new steroidal 2-oxazolidones, as novel potential inhibitors of  $17\alpha$ -hydroxylase- $C_{17,20}$ -lyase

**Ondré Dóra**

European School of Medicinal Chemistry (XXVIII. Advanced Course of Medicinal Chemistry and „E. Duranti” National Seminar for PhD Students)

Urbino, Olaszország, 2008. július 6–11.

Proceedings of Ph.D. Student Poster Session, 84. o.

6. Stereoselective synthesis of some new steroidal oxazolines

**Ondré Dóra**, Szécsi Mihály, Tóth István, Wölfling János, Frank Éva, Schneider Gyula, Julesz János

German-French-Hungarian Congress in Organic and Biomolecular Chemistry  
Budapest, 2009. június 20–23.

Book of Abstracts, 46. o.

7. Inhibition of  $C_{17,20}$ -lyase activity by new  $17\beta$ -oxazoline derivatives in the androsterone series

**Ondré Dóra**, Szécsi Mihály, Tóth István, Wölfling János, Schneider Gyula, Julesz János

Hungarian-Austrian-Czech-German-Greek-Italian-Polish-Slovak-Slovenian  
Joint Meeting on Medicinal Chemistry

Budapest, 2009. június 24–27.

Book of Abstracts, 106. o.

