



ANTIEKDIZONHATÁSU ANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSA

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Készítette:

Szendi Zsuzsanna

okl. vegyész

Készült

a

József Attila Tudományegyetem
Szerves Kémiai Tanszékén

1981.

TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
1. Bevezetés	1
2. Elméleti rész	3
2.1. Az ekdizonok felfedezése és forrásai .	3
2.1.1. Zooekdizonok	3
2.1.2. Fitoekdizonok	5
2.2. Az ekdizonok szerepe a rovarokban	7
2.3. Az ekdizonok szerepe a növényekben ...	9
2.4. Az ekdizon szerkezetigazolása	9
2.5. A 20-hidroxi-ekdizon szerkezetigazolá- sa	13
2.6. Az ekdizonhatás molekuláris szinten ..	15
2.7. Munkahipotézis a receptorfehérjén való kötődésre	16
2.8. Antiekdizonhatású anyagok tervezése ..	20
2.9. Hatásos vegyületek biológiai vizsgálá- ti módszerei	22
2.9.1. In vivó vizsgálati módszerek .	22
2.9.2. In vitro vizsgálati módszerek	24
2.9.3. Antiekdizonhatás vizsgálata Drosophila discos imago teszt- ben	25
2.10 Ekdizon és antiekdizonhatású anyagok gyakorlati alkalmazásának perspektívái	26
3. Az általunk elvégzett kísérletek leírása ...	28
3.1. A 20-hidroxi-ekdizon és Polipodin B kinyerése Polipodium vulgare extrakt- ból	28

3.2. 20-hidroxi-ekdizon módosításával készített vegyületek	28
3.3. Kolesztán-származékok előállítása ..	33
3.4. Nem kolesztán-vázás hidroxiszteroidok előállítása	38
4. Oldalláncban N-t tartalmazó szteroidok előállítása	42
4.1. C ₂₀ -alkilamino-szteroidok előállítása	42
4.2. C ₁₆ -alkilamino-szubsztituált szteroidok előállítása	46
4.3. C ₁₇ -alkilamino és más szteroidok előállítása	49
4.4. Stilbének előállítása	51
5. Kisérleti rész	54
Összefoglalás	89
Irodalomjegyzék	90

B E V E Z E T É S

Világszerte jelentős kutatómunka folyik olyan növényvédőszer kidolgozására, amelyek kevésbé mérgezőek az eddig alkalmazott anyagoknál és kevésbé szennyezik a környezetet. Ilyen lehetőség az u.n. harmadik generációs növényvédőszer alkalmazása, melyek a rovarok hormonális rendszerébe és ezáltal életjelenségeibe úgy avatkoznak be, hogy a rovarok pusztulását okozzák.

A rovarok fejlődése jól differenciált szakaszokra osztható, úgy mint: pete - lárva - báb - ivarérett imago / 1 /. Ezért a szakaszos fejlődésért a rovar hormonális rendszere a felelős, amely három hormon összehangolt tevékenységét jelenti / 2 /. Ezek: az agyi hormon, a juvenilis hormon és a vedlési hormon, amit más-ként ekdizonnak is hívják. Az agyi hormon fehérjetípusú, a juvenilis hormon nyíltláncú telítetlen alkohol, esetleg ciklohexán gyűrű szubsztituenssel, az ekdizon pedig szteránváz. Ezeken a típusokon belül rovarfaj-tánként specifikus a funkciós csoportok száma és elhelyezkedése.

A három hormon mennyiségi arányának változása finom szabályozó mechanizmust eredményez. Az összehangolt tevékenységen belül az ekdizon mennyiségének hirtelen növekedése a rovar vedlését váltja ki.

Mi ebben a munkában antiekdizon hatású anyagok elkészítését tűztük ki célul. Olyan anyagokét, amelyek a

rovar saját vedléshormonjának a hatását gátolják. A gátlás lehet kompetitív, - azaz az antagonisták megakadályozzák a rovar receptorproteinein az ekdizon kötődését ekdizon jelenlétében is, - de lehet más mechanizmusú is. Ilyen lehetőség például a sejtmembrán permeabilitásának a megváltoztatása vagy a sejtmagba történő transzport gátlása is.

A receptorszintű antiekdizonhatáshoz (és természetesen az ekdizonhatáshoz is) elsősorban az szükséges, hogy a vegyület a citoszolban lévő ekdizonreceptoron képes legyen megkötődni, a receptorfehérjével olyan struktúrát képezni, mely struktúra alkalmas arra, hogy a sejtmagba bejusson és ott a fehérjeszintézis folyamatába beleszóljon. Ehhez alkalmas helyre, alkalmas funkcióscsoportokat szükséges beépíteni a molekulába. Így a molekula képes a receptorfehérjébe "beburkolózni", elsősorban hidrogénhid kötésekkel.

Az antiekdizonhatású anyagok tervezésénél előnyben részesítettük az olcsó kiindulási anyagokat és reagenseket és az egyszerű, gyorsan kivitelezhető reakcióutakat.

Ezeket a szempontokat figyelembe véve készítettük el az antiekdizonhatásúnak tervezett vegyületeket, melyek között nem szteránvázás anyagok is szerepelnek a többségükben szteránvázások között.

2. ELMÉLETI RÉSZ

EKDIZONOK (Molting hormonok, vedlëshormonok)

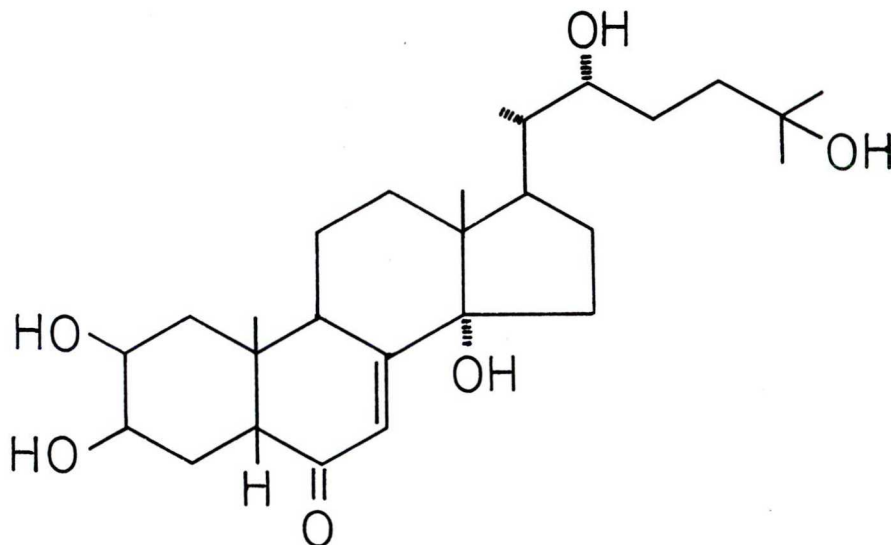
2.1. Az ekdizonok felfedezése és forrásai

2.1.1. Zooekdizonok:

Rovarhormonokról elsőként Kopeč lengyel biológus adott hírt / 3, 4 /. Ő már 1917-ben feltételezte, hogy a rovarok vedlési folyamataiért azokban egy hormonális rendszer a felelős. 1934-ben Frankel / 5 / egy szellemes kísérlettel igazolta a vedlëshormonok jelenlétét. Fejlett házilégylárvát törzsén elköttözve észrevette, hogy a lárvának csak az elülső része bábozódott be, míg a hátulsó rész változatlanul maradt. Azonban, ha a csaknem teljesen bebázódott lárvát a hátsó részbe injektálta, annak a bábozódását is ki tudta váltani. Később bebizonyosodott, hogy az agy neuroszekréciós sejtjeinek stimuláló hatására a vedlési hormont a prothorax mirigyek választják ki / 48 /.

A rovarvedlëshormonok izolálását 1943-ban Butenandt és Karlson kezdték el. Tizenegy évi fáradságos munkájuk jutalma fél tonna száraz selyemhernyóbábból (*Bombyx mori*) 25 mg kristályos hormon volt / 6 / 1954-ben. A hormont az általa kiváltott folyamat latin nevéből, az ecdysisből származtatva ekdizonnak nevezték el, majd később más hormonok felfedezése után α -ekdizonnak. Az ekdizon szerkezetigazolását is megoldották részben / 7 /, majd a teljes szerkezetbizonyítást 1965-ben Hoppe és Huber munkája

szolgáltatta / 8 /, akik a hormon szerkezetét 2β , 3β , 14α , $22R$, 25-pentahidroxi- 5β -koleszt-7-én-6-on névvel írták le.



I.

α -ekdizon

2β , 3β , 14α , $22R$, 25-pentahidroxi- 5β -koleszt-7-én-6-on.

Az előbb említett Bombyx mori extraktum további frakcionálásával izoláltak egy polárosabb, ugyancsak vedléshormon hatású anyagot, melyet megkülönböztetésül az általuk felfedezett első hormontól, β -ekdizonnak nevezték el / 9 /. Ez utóbbi hormont később Horn és munkatársai is izolálták a Jasus lalandei nevű folyami rákból. Egy tonna rákhulladékból 2 mg hormont sikerült



nyerniük, és bizonyították, hogy ez az a hormon, amely felelős a rákfélék vedléséért / 10 /. Ők a forrás alapján Krusztekdizonnak nevezték el a vegyületet és azonosították Karlsonék β -ekdizonjával / 11 /. A vegyületet ujabban az elnevezési zavarok elkerülésére egységesen 20-hidroxi-ekdizonnak nevezik.

Ekkor úgy tűnt, hogy az ekdizonoknak kizárólag állati forrásaik vannak, ezért az addig izolált ekdizonokat zooekdizonoknak nevezték.

Állati forrásokból még a következő ekdizonokat izolálták ismereteink szerint a mai napig:

20,26-dihidroxi-ekdizon,

inokoszteron,

makiszteron A,

dezoxikrusztekdizon,

kallinekdizon A,

kallinekdizon B.

Az eddig megismert állati források közül a legnagyobb koncentrációban tartalmazza az ekdizonokat a *Dociostaurus maroccanus* nevű poloska felnőttje / 13 /, melyben az α -ekdizon koncentrációja 1,1 mg/kg, és mellette α/β -ekdizoné 1,3 mg/kg.

2.1.2. Fitoekdizonok:

A növények meglepetésre, változatosabb és gazdagabb ekdizon-forrásnak bizonyultak, mint az állatok.

Az első növényi eredetű ekdizont, A Ponasteron A-t

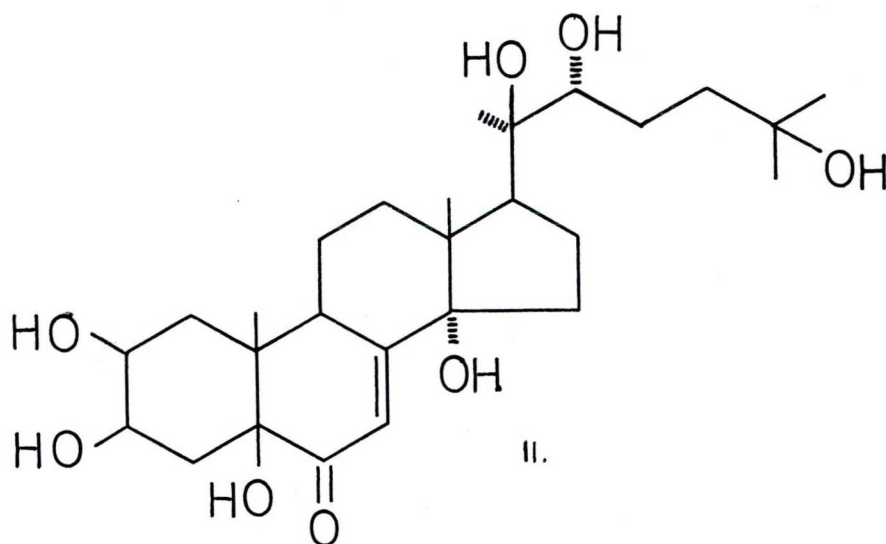
1966-ban Nakanishi és munkatársai izolálták *Podocarpus nakaii*-ből / 14 /. Azóta nagyon sokan izoláltak ekdizonokat különféle növényi forrásokból a világ minden táján. A lehető legjobb ekdizon forrásnak bizonyul manapság egy közép-európai édesgyökerű páfránynak, a *Polipodium vulgare*-nak a gyökere / 15 /. Ennek a növénynek szárítás után minden kilogrammja 880 mg 20-hidroxi-ekdizont és 370 mg Polipodin B-t tartalmaz.

Jó források még a *Podocarpus*-féleségek és az *Ajuga*-félék. Különösen az *Ajuga Japonica* japán növény levele / 16 / figyelemre méltó. Ennek a japán növénynek minden kg-ja 2000 mg 20-hidroxi-ekdizont és 590 mg Ciaszteront tartalmaz. A növényvilágból a 70-es évekig mintegy 30 különböző ekdizont sikerült izolálni, a napjainkig izolált fito-ekdizonok száma közel 60.

Ezek közül a legfontosabbak:

- Ponasteron A, B, C,
- Inokoszteron,
- Ciaszteron,
- Makiszteron A, B, C,
- Rubroszteron,
- Ajugaszteron B, C,
- Podekdizon B,
- Polipodin B.

Hazánkban, a Zempléni hegységben is fellelhető a *Polipodium vulgare*, mely 20-hidroxi-ekdizonon kívül az alább látható Polipodin B legjobb forrása is.



2 β ,3 β ,5 β ,14 α ,20R, 22R,25-heptahidroxi-koleszt-7-én-6-on.

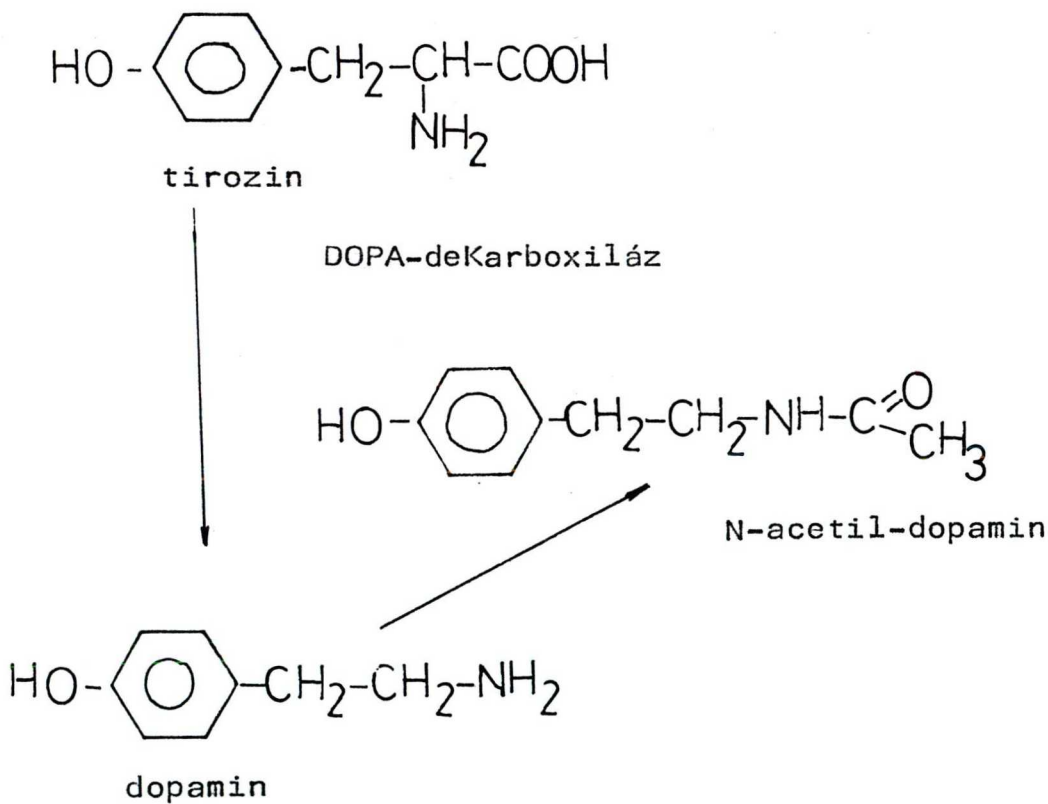
Ujabb ekdizonok izolálása és megismerése ma is folyamatban van. Ekdizonoknak hívunk manapság minden természetes forrásból származó α -ekdizonhoz hasonló szerkezetű szteroidot, amely ecdysist tud kiváltani, de ha ekdizonról beszélünk, akkor ezzel az első megismert szerkezetű α -ekdizont tüntetjük ki.

2.2. Az ekdizonok szerepe a rovarokban.

A rovarok saját ekdizonjai szükségesek a vedlések megindításához, a vedlési folyamat fenntartásához, befolyásolják a rovarok növekedését, regenerációját, színváltozását. A kutikulaképzésben, annak erősödésében és me-

szesedésében alapvető szerepük van. Befolyásolják a szénhidrátok, fehérjék, nukleinsavak metabolizmusát. Az átalakulási hormonoknak nagyon sok szerepet tulajdonítanak. Ezek közül a legfontosabb talán az, hogy fehérjeszintézist indukálnak. α -Ekdizon hatására pl. megfigyelték a DOPA-dekarboxiláz nevű enzim indukálódását / 17 /.

A DOPA-dekarboxiláz szerepe a rovarban az, hogy a tirozint átalakítsa N-acetil-dopaminná, amely a rovar sclerotizáló anyaga.



Szerepet játszanak még az ekdizonok a nőstény rovarok nemzőképességének a szabályozásában is, befolyásolják az ováriumok fejlődését, és a peték érési folyamatait is.

2.3. Az ekdizonok szerepe a növényekben

Az ekdizonok igazi szerepe a növényekben még nem tisztázódott, de több vizsgálat arra mutat, hogy a növények önvédelmi célból termelik a fiatal rovarok támadásai ellen.

Növénybiokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy képződésük a növényben önálló totálszintetikus úton történik, nem pedig koleszterinből. A jelzett koleszterin nem alakul tovább ekdizonokká a kísérleti növényben. Bioszintézisük tehát a koleszterinétől elágazó fitoszterol úton történhet. A mevalonsavból szkvalénon átfutó ismert bioszintetikus úton a 14-dezmetilszterol állapot előtt lehet az elágazás.

2.4. Az ekdizon szerkezetigazolása

1960 őszén Karlsonnak és munkatársainak 1 tonna se-lyemhernyóbábból / 18 / tökéletesített izolálási technikával nagyobb mennyiségű (250mg) ekdizont sikerült nyerniük. Ekkor megpróbálkoztak a szerkezet felderítésével, a szerkezetbizonyítással.

A szerkezetbizonyítás időrendi menetében először analitikai vizsgálatok alapján az összegképletet pró-

bálták meghatározni, mely $C_{18}H_{30}O_4$ -nek, esetleg $C_{18}H_{32}O_4$ -nek adódott.

1.) Magának a kristályos ekdizonnak a röntgenvizsgálatai során nyert adatokból sikerült a molekulasúlyt pontosan kiszámítani. A molekulasúly 464-nek adódott, és (ezt később tömegspektrometriás analízisek is bizonyították) ennek megfelelően az összegképletet $C_{27}H_{44}O_6$ -ra módosították. NMR vizsgálatok a vegyületben szintén 44 proton jelenlétét mutatták. Mivel a kolesztán képlete $C_{27}H_{44}O_6$ - megsejtették, hogy az ekdizon szteroid.

2.) A kristályos hormon dehidrogénezési termékeiből ciklopentanofenantrént sikerült izolálni, ami a szteroid-szerkezet alapvető bizonyítéka volt.

3.) IR és UV spektroszkópiás adatokból kiderült, hogy a vegyület konjugált telítetlen keton.

$$\text{IR: } \nu_{\max} = 1657 \text{ cm}^{-1}$$

$$\text{UV: } \lambda_{\max} = 242 \text{ nm.}$$

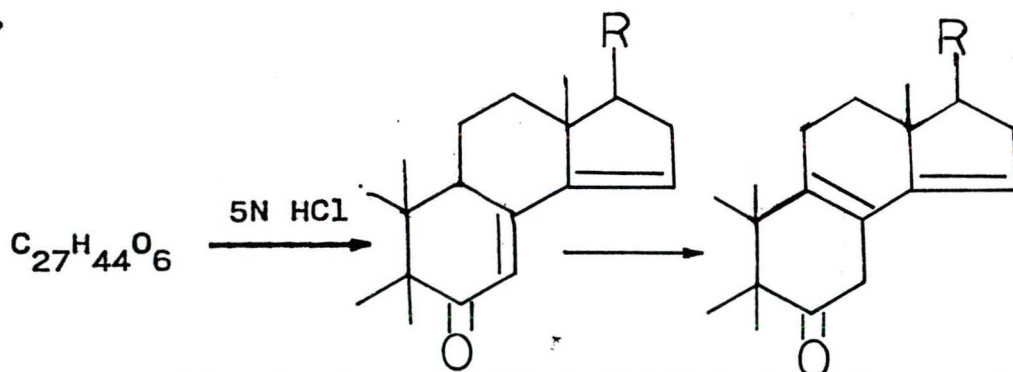
4.) A kettős kötést először a 9(11)-es pozícióba rendelték, mivel az ebben a pozícióban lévő kettős kötések alacsony reakciókészségűek, hasonlóan mint a vizsgált molekulában is.

5.) 1965-ben modell 9(11)-én és 12-on vegyületek NMR spektrumait hasonlították össze az ekdizonéval. A G18 és G19 metilprotonok szignáljai eltérnek az ekdizonétól és az IR és UV spektrumokban is eltérések mutatkoznak

6.) Mivel a vizsgált vegyület nem ad színreakciót 2,4-dinitrofenilhidrazinnal, nem lehet a vegyület Δ^4 -3-keton. Felmerült a kérdés, vajon lehet-e a vizsgált vegyület szteroid-7-én-6-on / 20 /.

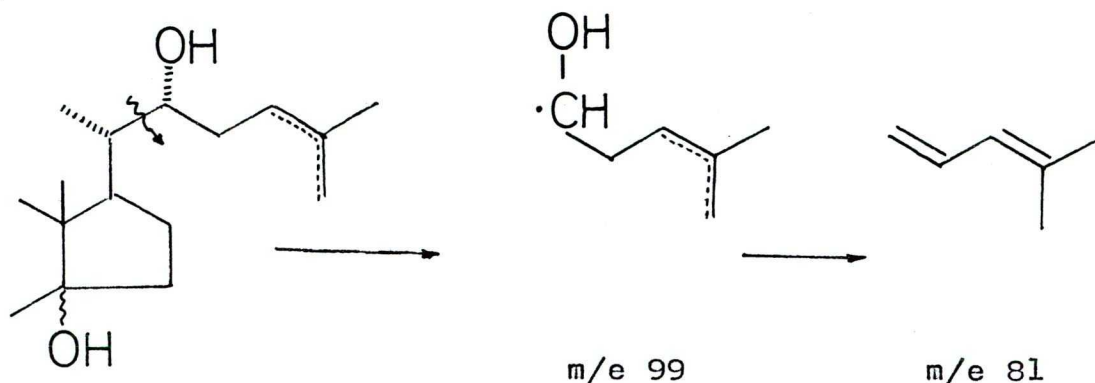
7.) PdC-en történő hidrogénezéskor / 7 / az ekdizon 1 mól hidrogént fogyasztott, azonban továbbra is telítetlen keton maradt. Modell-7-én-6-on szteroidok sem redukálódtak hasonló körülmények között. Ezek után feltételezték, hogy az ekdizon szteroid-7-én-6-on és az 1 mól hidrogén egy esetleges 14-es helyzetű hidroxilcsoport hidrogenolizisére fordítódik.

8.) Az ismeretlen vegyületben a 14-es helyzetű hidroxilcsoport jelenlétét a vegyület sósavval való reakciója alátámasztotta. 5N etanolos sósav hatására egy konjugált telítetlen keton keletkezett, mely izolált ketonná és konjugált diénné izomerizálódott a B gyűrű feszülése miatt.



A C_{14} -en található könnyen eliminálódó hidroxilcsoport axiális helyzetű lehet, ami ebben az esetben α -térállású.

9.) A C-22-es C-atomon egy OH csoport jelenlétére utaltak a tömegspektrometriás vizsgálatok. Alacsony tömegtartományoknál az ekdizonnak intenzív csúcsai m/e 81-nél és m/e 99-nél vannak.



10.) A C-25-ös helyzetű OH csoport jelenlétére NMR vizsgálatokból derült fény / 18 /. A 25-ös szénatom metilcsoportjain kívül a hidroxilcsoport jelenlétére utal a $\delta=4,18$ ppm-nél található jel.

11.) A természetes szteroidoknak általában van oxigén-funkciójuk a 3-as szénatomon. Az ekdizonról is feltételezték, hogy az koleszterinből szintetizálódik (ezt bizonyították is radioaktív koleszterinnel való rovarretetési kísérletekkel / 8 /), ezért az egyik hidroxilcsoportot a hármask poszicióba valószínűsítették.

12.) Perjodátos oxidációval egy mól perjodát fogyasztásából 2 vicinális OH-csoportot valószínűsítették, amiből kiderül, hogy az ötödik hidroxilcsoport a C₂-es vagy C₄-es szénatomokon lehet. Nem található azonban természetes C₃₋₄-diol modell, így valószínűleg a C₂₋₃ poszició-

ban lévő cisz-diol a helyes feltételezés / 7 /.

13.) Az A/B cisz anellációt ORD-görbe alapján igazolták. Az ekdizon teljes szerkezetéről, a hidroxilcsoportok térállásáról Hoppe és Huber / 21 / röntgenkrisztallográfiás vizsgálatai kimerítő bizonyítékokat szolgáltatottak. A röntgenkrisztallográfiás vizsgálatot számítógépes technikával egészítették ki. A szerkezetet néhány szintézissel is megerősítették. Meghatározták az ekdizon minden optikai centrumát, többek között a kötéstávolságokat, kötésszögeket és megadták a vegyület $2\beta, 3\beta, 14\alpha, 22R$, 25-pentahidroxil-5 β -koleszt-7-én-6-on bizonyított szerkezetét.

2.5. A 20-hidroxil-ekdizon szerkezetigazolása

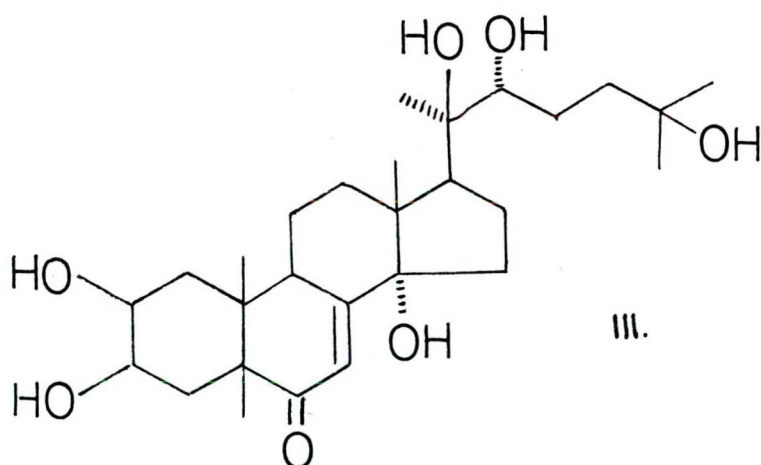
Karlson volt az első, aki apró tengeri rákokból is metamorfózishormont izolált / 9 /. Közölték, hogy a hormon ekdizon, vagy nagyon hasonló hozzá. 1963-ban, majd 1965-ben ausztrál kutatók is izolálják ugyanezt a hormont / 22 /.

Spektroszkópiás vizsgálatok azt mutatták, hogy a vegyület ugyanaz a 7-én-6-on, mint az ekdizon, de polárosabb. Tömegspektrumából kiderült, hogy egy hidroxilcsoporttal többet tartalmaz, mint az ekdizon, és azt a C-20-as szénatomon. Az extra hidroxilcsoport hatása az NMR-vizsgálatokban is megmutatkozott, mert a C₂₁-es és C₁₈-as helyzetű metilcsoportok kémiai eltolódása (0,3-0,4 ppm) sokkal kisebb, mint az ekdizon esetében.

Mivel a 20-hidroxi-ekdizon (ők krusztekdizonnak nevezik) valószínűleg az ekdizon biológiai hidroxileződésével keletkezik és a biológiai hidroxilezésekénél konfiguráció retenciót tapasztaltak / 23 /, ezért 20R, 22R konfigurációt javasoltak erre az ekdizonra / 11 /, mely feltételezést később modell vegyületekkel való NMR-tanulmányok megerősítették. A C_{20} -as helyzetű hidroxilcsoportok jelenlétét bizonyítja még a C_{20} - C_{22} -es szénatomok közötti kötés hasadására jellemző csúcsok megjelenése a vegyület tömegspektrumában.

A 20-hidroxi-ekdizon (krusztekdizon) szerkezetét szintézissel is bizonyították / 24 /.

Igazolták a más forrásokból származó más-más fantázianévvel ellátott vegyületek kémiai azonosságát.



$2\beta, 3\beta, 14\alpha, 20R, 22R, 25$ -hexahidroxi- 5β -koleszt-7-én-6-on

20-hidroxi-ekdizon

β -ekdizon, ekdiszteron⁽¹²⁾, krusztekdizon, polipodin A⁽²¹⁾
(izo-inokoszteron)



Az ekdizon és a krusztekdizon térszerkezete megegyezik. Megállapították, hogy a C_{20} -as helyzetű szénatom konfigurációja a koleszterinével azonos.

Az A/B gyűrűk cisz-anellációját itt is ORD-görbe alapján igazolták. Az A/B cisz-anelláció a természetben előforduló szteroidok között nagyon ritka. A természetes forrásból származó szteroidok ugyanis az epe-savak kivételével transz-anellációjúak. Az ekdizon esetében transz-anelláció nem alakulhat ki azért, mert a C_{19} -es metil és a C_2 -es helyzetű hidroxilcsoport egymáshoz nagyon közel helyezkednének el, amikor is igen nagy lenne az 1,3-diaxiális kölcsönhatás. Ezért az ebben az esetben kedvezményezettebb cisz-csatolás alakul ki a két gyűrű között.

2.6. Az ekdizonhatás molekuláris szinten

A hatás és a szerkezet közötti összefüggés megértése és az antiekdizonhatású anyagok tervezése előtt szükséges tisztázni, hogyan fejtik ki hatásukat az ekdizonok és az antiekdizonok, közösleges szóhasználat-tal metamorfóvizsgátlók vagy egyszerűen csak gátlók.

Az ekdizonok a sejtek belsejében specifikus gének-re hatnak, azokat aktiválják. Erre a hatásra a szintetizálódó m RNS specifikus proteinek szintézisét közvetíti. Az ekdizonok és antiekdizonok a sejtmagba a citoszolban lévő / 25 / ekdizonreceptorok segítségével jutnak. Az ekdizon- és más természetes receptorok is olyan összetett

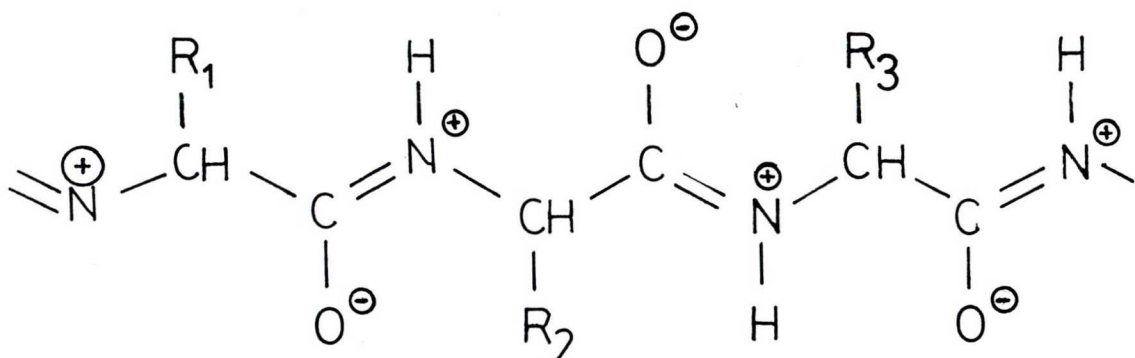
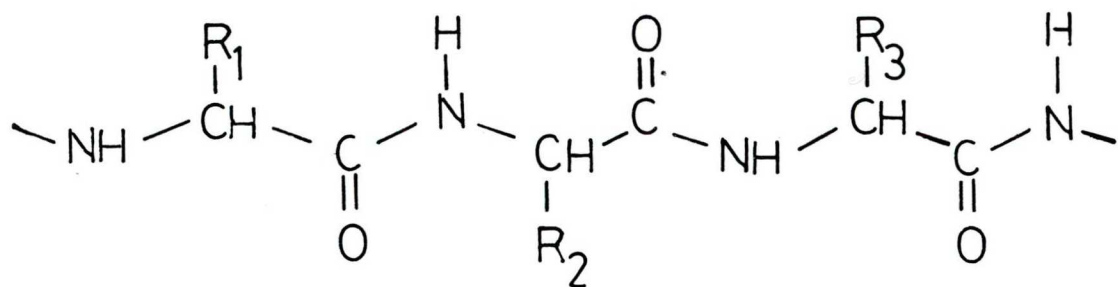
fehérjék, melyek alkalmasak arra, hogy az ekdizont megkössék és a sejtmagba juttassák. Elsősorban reverzibilis kötődésről van szó, amikor is a receptor mintegy szállítószalagként szerepel. A sejtmagba jutott szteroid-receptor addukt megkötődik a nukleoproteidek adott részletén, egy adott gént (mintegy 300 nukleotid-egységet) aktiválva. Ez az a kitüntetett gén, mely felelős egy mRNS, majd ennek hatására egy adott fehérje szintéziséért, mely fehérje lehet akár egy enzim is például, vagy egy enzim alegység. A rovar saját ekdizonja a rovar számára valószínűleg azért a legjobb vedlőhormon, mert a receptorfehérje számos kötőhelycsoportja közül csakis a számára megfelelő specifikus kötőhelyet kiválasztva kötődik meg, valószínűleg úgy, hogy minden kötődésre alkalmas funkciójával mint fogakkal ragadja meg a receptorfehérjének a számára épp alkalmas helyen lévő kötőhelyeit. Ez a valószínűleg (az ekdizon esetében) többpontos kötődés azért is a legalkalmasabb a rovar számára, mert így optimális kötődési egyensúly jöhet létre a receptor és az ekdizon között ahhoz, hogy a receptor az ekdizont fogvatartsa mindaddig, míg a sejtmagba való bejutásuk megtörténik.

2.7. Munkahipotézis a receptorfehérjén való kötődésre

A receptorfehérje és ennek leglényegesebb része, az ekdizonkötés szempontjából aktív centruma is meghatározott sorrendben tartalmazza a kötőhelyeket, a -C-;



-NH-csoportokat, adott térállásban, és egymástól meghatározott távolságban. A távolságok ugyan adóttak az egyes receptorhelyek között, azonban az egyes kötőhelyek a receptorfehérje szüntelen alakváltozása következtében egymáshoz közel kerülhetnek, vagy épp ellenkezőleg. Ez a kötődésre alkalmas pozíciók számát növelheti és csökkentheti akkor, ha valamely molekula elektronfelhőjével együtt a receptort megközelíti és azt a kötődés kialakulása közben konformációváltozásra is készítheti. Így nagyon sokféle aspecifikus kötődés képzelhető el, specifikus kötődés azonban ennek ellenére csak egyféle, egy meghatározott receptorkonformációnál.



tározott távolságban. A távolságok ugyan adóttak az egyes receptorhelyek között, azonban az egyes kötőhelyek a receptorfehérje szüntelen alakváltozása következtében egymáshoz közel kerülhetnek, vagy épp ellenkezőleg. Ez a kötődésre alkalmas pozíciók számát növelheti és csökkentheti akkor, ha valamely molekula elektronfelhőjével együtt a receptort megközelíti és azt a kötődés kialakulása közben konformációváltozásra is készítheti. Így nagyon sokféle aspecifikus kötődés képzelhető el, specifikus kötődés azonban ennek ellenére csak egyféle, egy meghatározott receptorkonformációnál.

A receptorfehérjén való kötődés gondolati vizsgálatánál a 20-hidroxi-ekdizont választottuk modell-vegyületnek. A receptorfehérjén a 20-hidroxi-ekdizon ösz-

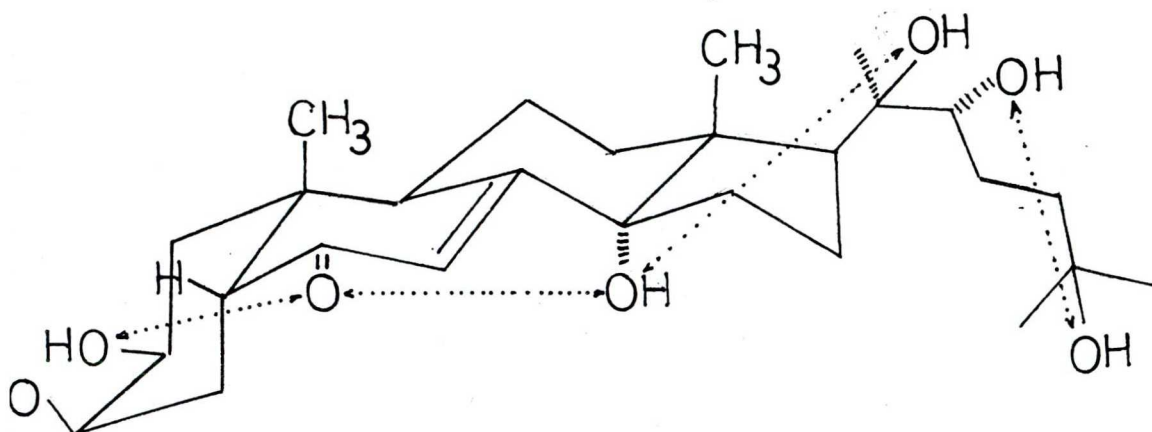
szesen 7-funkciójánál fogva kötődhet meg. Feltételezzük, hogy kötődésre alkalmas funkció lehet a 20-hidroxi-ekdizonnak mind a 6 hidroxilcsoportja és a karbonilfunkció is.

Felfigyeltünk arra, hogy a nagyszámú kötődésre alkalmas funkciók közül az 1,4-helyzetűek kb. azonos távolságra vannak egymástól, mintegy 460 pm-re. A receptoron is igen sok kötőhely lehet ugyanilyen távolságban. A sok kötődésre alkalmas funkció egyidejű kötődése biztosítja a kötődés specifikus jellegét. Kevesebb kötőelem esetén nagyobb a valószínűsége, hogy a molekula a számára aspecifikus kötőhelyeket foglalja el a receptoron.

Ha azonban a molekulában valamilyen szerkezeti elem irányító funkciót tölt be a kötődés helyének a kiválasztásakor, akkor a molekula a számára legmegfelelőbb helyet foglalja el (a kulcs beletalál a zárba).

Ugy gondoljuk, hogy ilyen irányító funkció ellátására a 20-hidroxi-ekdizon két vicinális diol-rendszere a hivatott. Így az 1,4-helyzetű elempárok a fehérje aktív centrumának azon a részén kötődnek meg, ahol a 460 pm-nyi távolságban lévő kötőhelypár közelében egy újabb kötőhely is van, 270 pm-nyi távolságban.

A C_2 és C_{20} hidroxiljai ezért valószínűleg fixáló elemként szerepelnek, melyeknek a specifikus kötőhelyek kiválasztásában nagy szerepük lehet. Az egymástól 460 pm-nyi távolságban lévő kötőhelypárok száma a 20-hidroxi-ekdizonban négy darab.



A hipotézist erősíti az a meglepő vizsgálati eredmény, hogy míg a 2-dezoxi-20-hidroxi-ekdizon az egy hidroxilcsoport - és éppen irányítófunkció híján - még metamorfózishormon aktivitással rendelkező vegyület, a 2-dezoxi- α -ekdizon már antagonistá. Ez utóbbi vegyület irányító elemei hiánya miatt valószínűleg aspecifikus helyen kötődik, ezáltal a receptornak csak egy részét fedheti, és ennek következtében antagonistá. Fixáló elem hiányában is kötődhet a molekula összelektromos sajátsága, töltéseloszlása folytán "jó helyen", azaz esetleg egyetlen kötőelemével is épp a specifikus kötőhelyek egyikét jó helyen foglalva el, - ennek vizsgálata azonban nem lehet feladatunk.

2.8. Antiekdizonhatású anyagok tervezése

Antiekdizonhatású anyagok tervezésénél tudnunk kell azt, hogy a vegyületnek a jelenlévő ekdizon ellenére kell metamorfózis inhibíciót elérnie. Ez az inhibíció többféleképp valósulhat meg.

Receptorszinten hat a gátlás akkor, ha:

- a.) az ekdizon megkötődik ugyan a receptoron, de a gátló-szer az aktív centrumot úgy módosítja (pl. azáltal, hogy ő maga is megkötődik), hogy az ekdizon aspecifikus helyre szorul.
- b.) A gátló anyag vetélkedik az aktív centrumon való kötésért az ekdizzonnal. Ebben az esetben a gátló anyag azáltal hat, hogy ő kötődik meg az ekdizon helyett; ez a fajta gátlás az ún. kompetitív antagonizmus. A versengésre a tömeghatás törvénye érvényes, vagyis ekdizonadagolással a folyamat megfordítható. Ez az eset áll fenn akkor is, ha nagy térkitöltésű antagónista zárja el az utat az ekdizon elől a receptor-fehérjéhez való jutás során.
- c.) Az ekdizonhatású anyag a receptorfehérje nem aktív centrumán megkötődve, annak a konformációját módosítja úgy, hogy az ekdizon kötődését lehetetlenné teszi.
- d.) A gátló anyag a receptorfehérjét irreverzibilisen blokkolja.

A gátlás nem receptorszinten következik be, hanem

pl. a sejtmembrán permeabilitásának megváltoztatásával az ekdizon sejtmagba való bejutását akadályozza.

A következő megfontolások alapján terveztük az anti-ekdizonhatásúnak kívánt anyagokat:

- a.) Módosítsuk a 20-hidroxi-ekdizont úgy, hogy "fixáló elemei" blokkolva legyenek.
- b.) Módosítsuk a 20-hidroxi-ekdizont úgy, hogy kötődésre alkalmas funkciót nagy térkitöltésű csoportokkal blokkoljuk, melyek alkalmasak lehetnek arra, hogy sztérikusan gátolják az ekdizonnak a receptor-fehérjén való megkötődését.
- c.) Készítsünk C_2 és C_{20} "fixálóelemhiányokat" tartalmazó vegyületeket, melyek mindegyike más pozícióban és mennyiségben tartalmazza az ekdizon-kötőelemeket, és készítsük el ezek kötőelem-variációs származékait.
- d.) Készítsünk olyan anyagokat, melyek a receptoron valódi (kovalens) kémiai kötést létesítenek, és ezáltal a receptort irreverzibilisen blokkolják.
- e.) Készítsünk kolesztán oldalláncú és nem kolesztán oldalláncú hidroxiszteroidokat.
- f.) Készítsünk az irodalomban jó anti-ekdizonhatásúnak leírt vegyületeket, pl. azaszteroidokat, ahol a N is kötődésre alkalmas funkció- / 28, 29, 30 /-ként szerepel.
- g.) Készítsünk nem szteránvázas, de összességében "ekdizonhelyigényű" és térkitöltésű poláros vegyületeket.

teket / 25 /, mert ismert, hogy kémiaiilag eltérő sajátságú vegyületek is válthatnak ki azonos biológiai hatást, amennyiben térszerkezetük megfelel a hatásos molekuláénak.

2.9. Hatásos vegyületek biológiai vizsgálati módszerei

A biológiai hatásosság vizsgálatára nagyon sokféle módszert dolgoztak ki / 26 /, melyekkel ekdizonhatást, antiekdizonhatást és toxikusságot tudnak vizsgálni.

2.9.1. In vivo vizsgálati módszerek:

- a.) Izolált rovarpotrohba (melyet elköltözéssel nyernek) ekdizont injektálnak, és a báb-képződés százalékos arányát adják meg, kontrollcsoporthoz viszonyítva (pl. Calliphora-teszt).
- b.) Frissen kikelt lárvákat ekdizonnal etetnek, és a bábozódás százalékos arányát adják meg, egy kontrollcsoporthoz viszonyítva (pl. házilégylárva-teszt). Az antiekdizonhatást a normális felnőtté váltak és a nem fejlődöttek arányával jellemzik.
- c.) Az ovárium végső oocitájának fejlődését (hosszuságát) mérik (pl. házilégyl ováriumfejlődési-teszt).
- d.) A kikelt tojások (peték) mennyiségét és a lerakott tojásmennyiség arányát viszonyítják a kontrollcsoporthoz (pl. házilégyl reprodukciós teszt).
- e.) A normális felnőtté vált egyedek számát hasonlítják a kontrollcsoporthoz ekdizonnal való etetés után. (pl. lisztbogár-lárva teszt, német svábbogár-teszt,

sárgalázmoszkitó teszt).

- f.) Az izolált potrohu állatot a vizsgálandó anyag metanolos oldatába mártják. Pl. Chilo-dipping teszt, amikor a kutikulán keresztül való felszívódás hatására a bábok arányát adják meg a kontrollcsoport-hoz viszonyítva.

Kevéssé megbízható tesztek a kutikula-meszesedést, a bábozódás közbeni szinmélyülést vizsgáló módszerek.

Az in vivo kísérletek nyilvánvaló hibái:

- a.) In vivo körülmények között számolni kell az ekdizonok metabolizmusával.
- b.) Az erőteljes és teljes gátló hatást olykor nehéz a toxikusságtól megkülönböztetni.
- c.) Különböző fiziológiás állapotú egyedeket használnak: az állatok súlya, felülete, potrohmérete különböző.
- d.) Zavarhat az ekdizon vagy analóg nem tökéletes oldódása, az oldószer saját hatása is.
- e.) Az ekdizonhatás vizsgálatánál leginkább zavaró tényező az élő rovar saját ekdizontermelése. Mindezekkel magyarázható, hogy sokszor azonos teszten belül is nagyon eltérő vizsgálati eredményeket kapnak.

2.9.2. In vitro vizsgálati módszerek:

A vizsgálatokat kioperált agyú rovarok szerveivel és sejtjeivel végzik, melyeknek természetes (saját) ekdizonellátása továbbá már nincs.

Drosophyla discos imágó teszt

Kioperált agyú drosophyla szárny, ill. láb discos-sejtjeit használják a vizsgálat céljára. A vizsgálati módszert Chihara, Yung és Fristrom dolgozta ki / 27 /. Izolált és táptalajon tartott discos-sejteket ekdizon, vagy várhatóan ekdizonhatású anyag oldatával kezelik. A rovarszárny és láb kifejlődéséhez szükséges discos-sejtek, ha a fejlődésükhöz szükséges ekdizonmennyiséget megkapják, az in vivo körülmények közötti fejlődést produkálják. A sejtben megkezdődik az evagináció (a kiszájadzás), mely a szervfejlődés legkorábbi szakasza. A szervfejlődés fokozatai mikroszkóp alatt követhetők. A vizsgált anyag ekdizonaktivitását az un. félevaginációs koncentrációval jellemzik (half evagination = HE). Ez az a koncentráció, melyben 24 óra alatt a szerv félig kifejlődik. Jó aktivitással rendelkeznek azok az anyagok, melyek félevaginációs koncentrációja $1 \mu\text{g/ml}$. Nagyon jó hatásúak a $10^{-2} \mu\text{g/ml}$ -es HE koncentrációjuak, és aktívnak mondhatók még az 1 mg/ml -es HE koncentrációban hatók.

2.9.3. Antiekdizonhatás vizsgálata Drosophila discos imágó tesztben.

Az antiekdizonhatás vizsgálata hasonlóan történik az ekdizonhatás vizsgálatához, a félevaginációs koncentrációnak megfelelő mennyiségű ekdizon jelenlétében. Ehhez az ekdizonoldathoz adják az antiekdizon hatásának feltételezett anyag oldatát.

Ha az antiekdizonhatásának feltételezett anyag a szervfejlődést teljes mértékben meggátolja, akkor teljes ekdizongátlással állunk szemben. Ez az anyagra nézve meghatározott koncentrációban következik be. A gátlás mértékét az ún. félgátló koncentrációban adják meg.

Vizsgálható ezen teszt alkalmazásával az is, hogy az antiekdizon hatású anyag a receptorfehérjén megerősítve fejti-e ki hatását, vagy sem.

A nem receptorszinten ható gátlás vizsgálatára a következő módszert alkalmazzák: A discos sejteket ekdizonnal 4-4,5 órán át előkezelik. Ezalatt az idő alatt az ekdizon beindítja az evaginációt. Ezután a sejteket ekdizonmentesre mossák, és hozzáadják a gátló anyagot. Ha ennek ellenére sem következik be evagináció - (pedig az ekdizon a folyamatot már beindította) - akkor a gátló anyag nem receptorszinten fejti ki hatását.

Toxikusság vizsgálata: az elhalt sejtek arányát viszonyítják a kontroll sejtcsoportéhoz minden koncentrációban.

A vizsgálati módszernél nagy figyelmet kell szentelni az anyagok oldódására. Nem tökéletes oldódás hamis eredményeket ad, mivel alacsony ($\mu\text{g/ml}$ -es) koncentrációtartományokról van szó.

2.10. Ekdizon és antiekdizonhatású anyagok gyakorlati alkalmazásának perspektívái.

A.) Ekdizonok gyakorlati alkalmazásának perspektívái:

Jó ekdizonhatású anyagoknak csakis a természetes forrásból származó vegyületek bizonyulnak (a különböző tesztekben különböző mértékben, ill. azok, melyeket a természetes forrásból származó ekdizonhatásúak kémiai reprodukciója révén állítottak elő).

Mesterségesen előállított jó ekdizonhatású anyag tehát ezidő szerint még nincs, és kicsi a valószínűsége, hogy valaha is lesz.

A gyakorlatban inekticidként való alkalmazásuknak semilyen perspektívája nincs. A kutikulán nehezen hatolnak át, így etetéssel kellene ezeket a vegyületeket a rovarokba juttatni. Az alkalmazás szempontjából nagyobb problémát pedig az jelenti, hogy ezek a vegyületek megfizethetetlenül drágák.

B.) Antiekdizonhatású szteroidok gyakorlati alkalmazásának perspektívái

A kártevők elleni küzdelemben új korszak nyílhat meg az antiekdizonhatású anyagok gyakorlati alkalmazásával.

Antiekdizonhatást egyszerűbb szerkezetű, olcsó vegyületek is tudnak produkálni, mint ahogy az irodalomban / 28, 29, 30 / néhány azaszteroid jó antiekdizonhatásáról már beszámoltak. Antiekdizonhatású anyagok gyakorlati alkalmazásával lehetőség nyílna egyes rovarfajták célzott irtására, tehát más rovarokra, melegvérűekre az anyag hatástalan lenne, ill. nem mérgező, és csakis a célzott rovarféléket károsítaná. Antiekdizon hatás mellett használhatók lennének egyes rovarfélék kemosterilizálására is. Sok függ attól, hogy hatásos és olcsó - esetleg nem is szteránvázas - vegyületet sikerül-e találni, mert az olcsóság a termőföldi kísérletek fontos kritériuma lenne. Káprázatosan eredményes lehetne ez a célzott rovarirtás, ha az antiekdizonhatású anyagokat sex-attraktánsokkal kombinálva lehetne alkalmazni, amikor is a csalogatóanyag a hím rovarokat a nőstényekhez való repülésük közben eltéríti, ill. nőstényként csalogatja esetleg egy antiekdizonhatású anyaggal telt csapdába.

Fontos, hogy a nem szteránvázas antiekdizonhatású anyagok is biodegradálhatók és melegvérűekre is hatástalanok legyenek.

3. Az általunk elvégzett kísérletek leírása

3.1. 20-hidroxi-ekdizon és Polipodin B kinyerése

Polipodium vulgare extraktból

Az antiekdizonhatású anyagok egy részének a készítéséhez Polipodium vulgare extraktból származó Polipodin B-t (II) és 20-hidroxi-ekdizont (III) használtunk fel.

A Polipodium vulgare a Zempléni hegység édesgyökérű páfránya, melynek gyűjtését, szárítását és ebből a nyers ekdizonextrakt elkészítését az SzBK biológusai végezték. A tőlük kapott mézsűrűségű, barna extraktot - mely Polipodin B-n és 20-hidroxi-ekdizonon kívül ismeretlen anyagokat is tartalmazott - többszöri oszlop-kromatografálással sikerült megtisztítani Polipodin B és 20-hidroxi-ekdizon keverékére. A keveréket újra többször megoszlásosan kromatografálva tiszta anyagokat sikerült nyerni. Munkánkban az irodalomban Horn és munkatársai / 31 / által kidolgozott technikát próbáltuk alkalmazni. A Horn féle technikát azonban a sikeres elválasztás érdekében módosítanunk kellett, elsősorban az eltérő szilikagélminőség miatt. Módosítottuk a dezaktiválás mértékét is. A nyert tiszta anyagokat hiteles 20-hidroxi-ekdizonnal és Polipodin B-vel azonosítottuk.

3.2. 20-hidroxi-ekdizon módosításával készített vegyületek

A 20-hidroxi-ekdizon módosításánál a legnagyobb prob-



lémát a rendelkezésre álló kis ekdizonmennyiség jelentette.

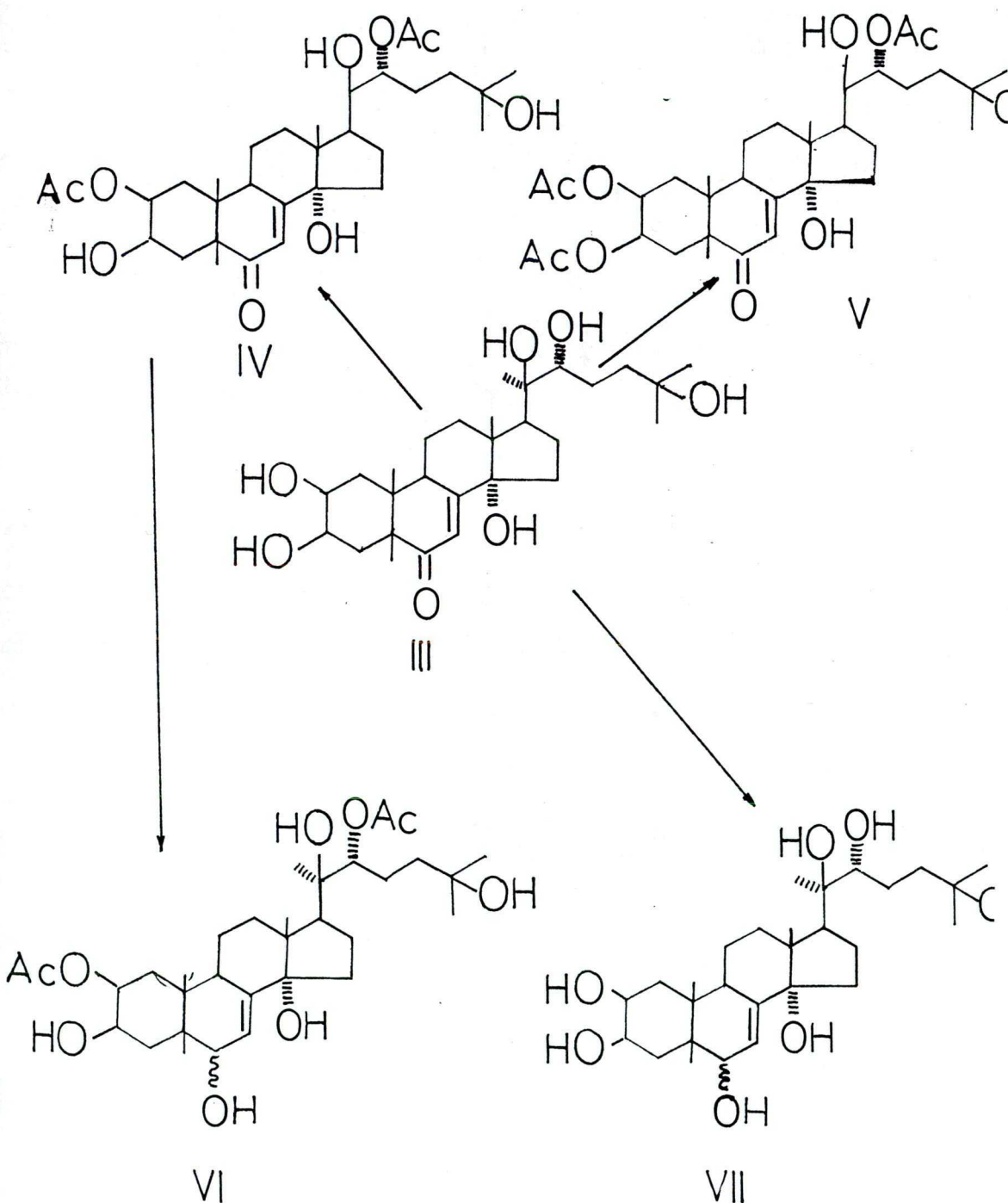
A reakciók lefutását vékonyrétegkromatográfiával követtük. Zavarta a kémiai vizsgálatokat az a tény, hogy a 20-hidroxi-ekdizon és a Polipodin B is polihidroxi-szteroid, melyek szívesen abszorbeálnak vizet, melytől a vegyületek érzékenysége miatt megszabadulni nehéz.

A 20-hidroxi-ekdizont acetileztük szobahőmérsékleten Ac_2O -el piridines közegben. Az irodalomból ismert / 32 /, hogy mint általában úgy itt is, a C_2 -es helyzetű ekvatoriális hidroxil-csoport reakciósebessége nagyobb, mint a C_3 -as helyzetű axiálisé, térkémi okok miatt. Ezért először a 20-hidroxi-ekdizon szelektív acetilezésével próbálkoztunk meg 2-acetil-20-hidroxi-ekdizon nyerése céljából. A C_2 -es pozícióban lévő OH csoport ugyanis a receptoron való kötődési teóriánk szerint fontos irányító szereppel kell, hogy rendelkezzen.

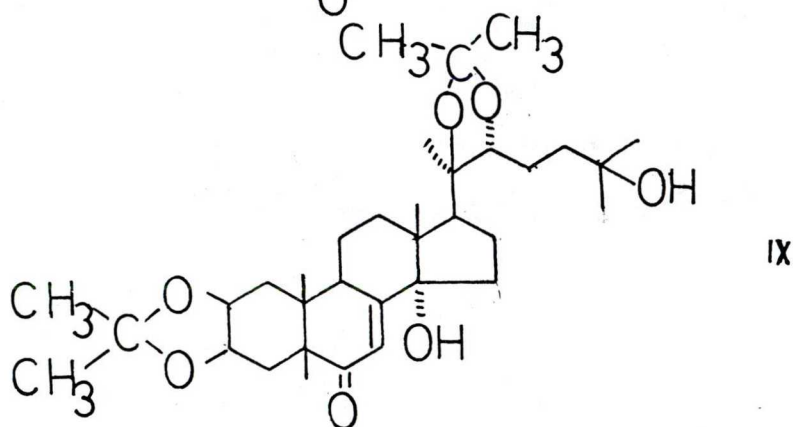
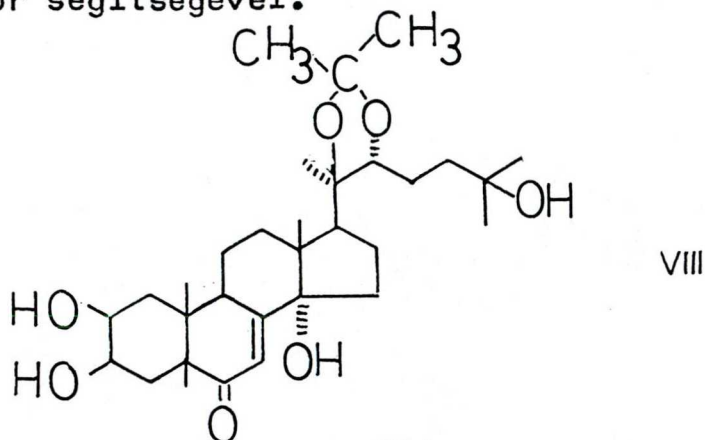
Az acetilezési reakcióban azonban a többi hidroxilcsoport acetileződési sebessége is elég nagy volt ahhoz, hogy 30 perc reakcióidő után már az acetilezett termékek variációit kaptuk. Sikerült dezaktivált szilikagélen megoszlásos kromatográfiával az acetilezett származékok közül tisztán izolálni a 20-hidroxi-ekdizon-2,22-diacetátot (IV) és a 20-hidroxi-ekdizon-2,3,22-triacetátot (V).

A 20-hidroxi-ekdizon-2,22-diacetát (IV) és a 20-hidroxi-ekdizon (III) i-propanol:THF = 1:1-ben történő NaBH_4 -es redukciójával előállítottuk a megfelelő 6-dihidro-származékokat (VI, VII).

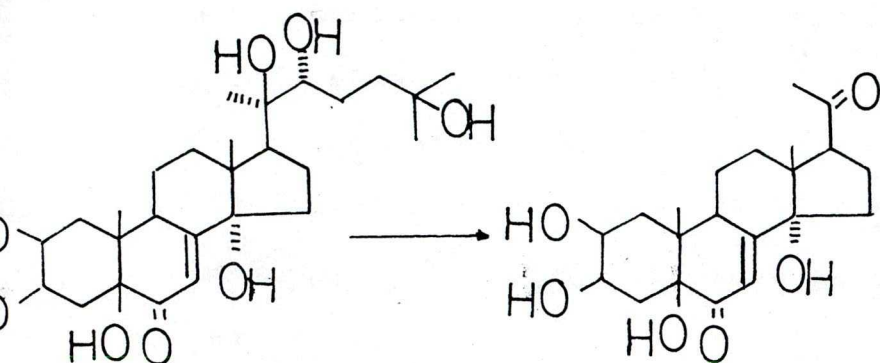
A 6-dihidro-származékok IR és UV-spektrumaiban jól látszik a konjugált keton megszűnése.



Ugyancsak 20-hidroxi-ekdizonból kiindulva elkészítettük a 20-hidroxi-ekdizon-20,22-mono-acetonidot (VIII) és a 2,3-20,22-diacetonidot (IX) aceton és p-TsOH katalizátor segítségével.



A kétféle acetonid elegyét kaptuk, amelyeket dezaktivált szilikagélen megoszlásos kromatográfiával választottunk szét. Ezután annak érdekében, hogy szükség van a kolesztán vázra ahhoz, hogy a vegyület hatásos legyen az oldallánc leoxidálásával próbálkoztunk meg Polipodir B-ből (a páfrány extraktum másik ekdizonjából) vizes acetonban a sztöchiometrikusnál kevesebb Jones oxidálószer segítségével. Sikerült a megfelelő pregnánszárma-
zékot rövid reakcióidőt biztosítva jó termeléssel elő-
állítani (X), kevés kiindulási anyag mellett.



III

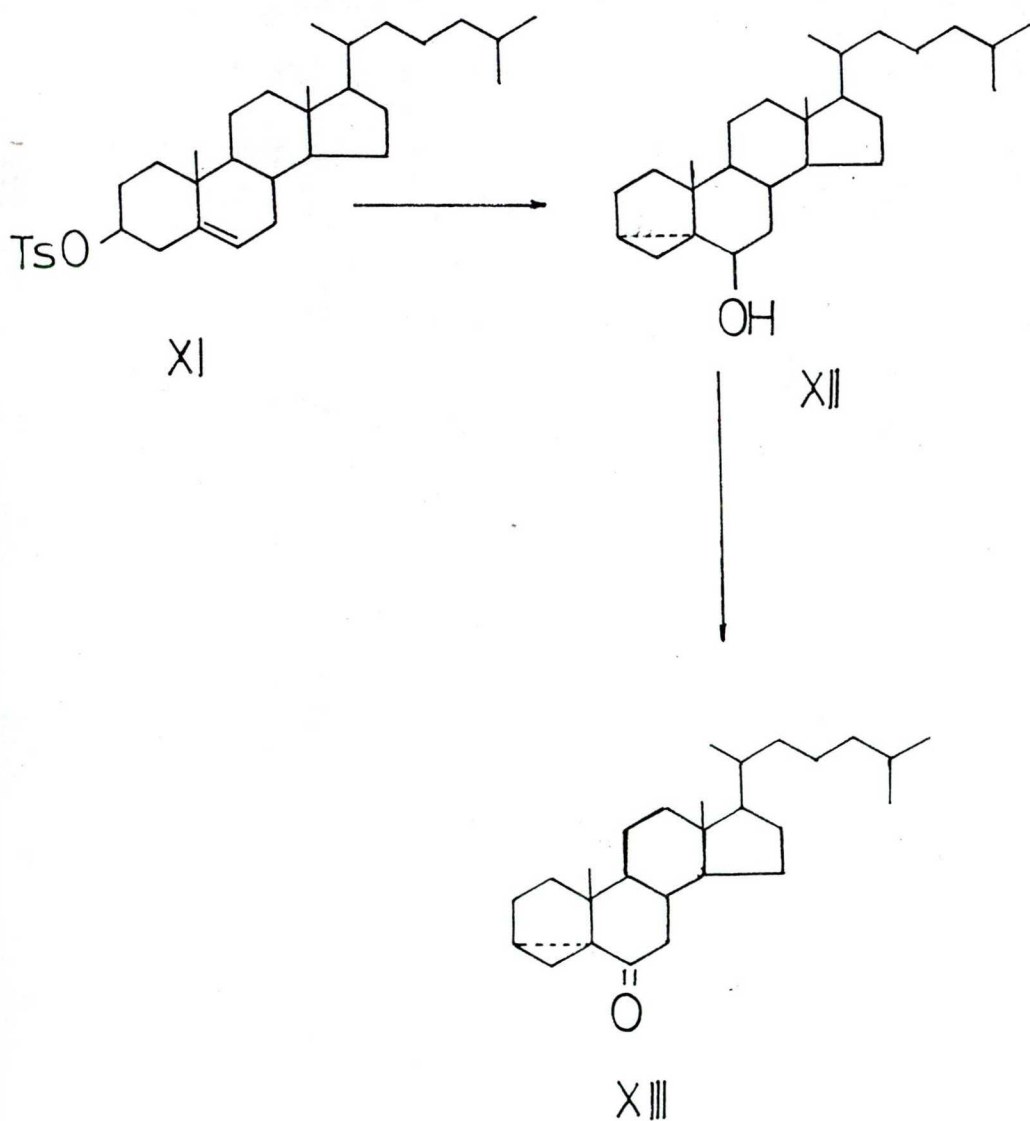
Mivel a X vegyület 100 ug/ml-es koncentrációban metamorfózis-hormon aktivitással rendelkezett, megállapítottuk, hogy a vedlëshormon-aktivitáshoz nem elengedhetetlenül szükséges a kolesztán-oldallánc jelenléte.

Biológiai vizsgálati eredmények:

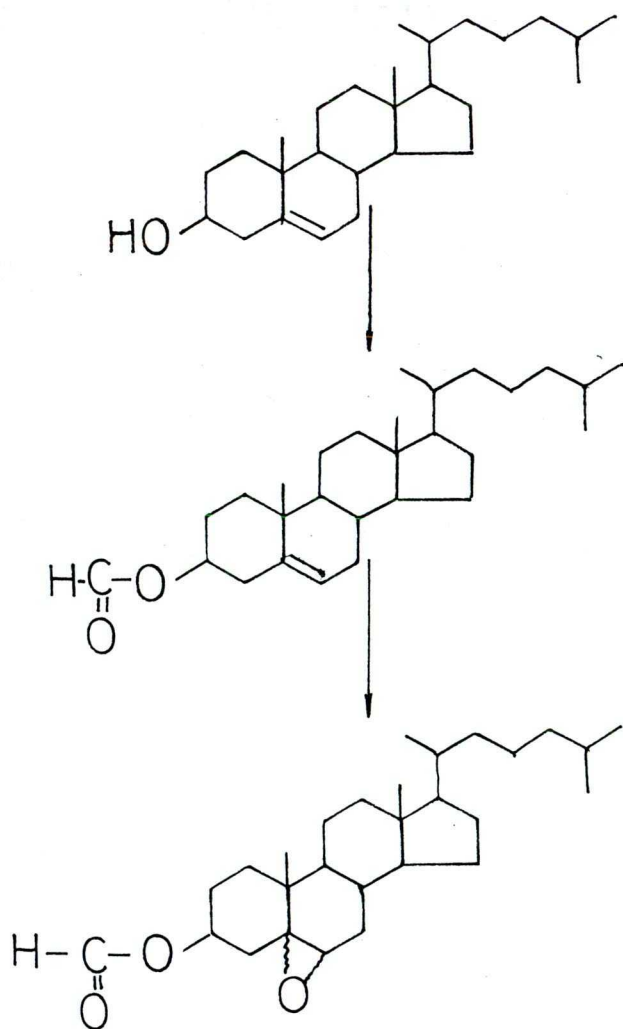
	HE koncentráció (ug/ml)	Félgátló koncentráció (ug/ml)	Toxikus ug/ml
IV	nem aktiv	nem gátol	nem toxikus
V	nem aktiv	190	nem toxikus
VI	39	nem gátol	nem toxikus
VIII	7,7	nem gátol	300
IX	nem aktiv	nem gátol	17
X	100	nem gátol	ekdiszteron mellett minden koncentrációban toxikus

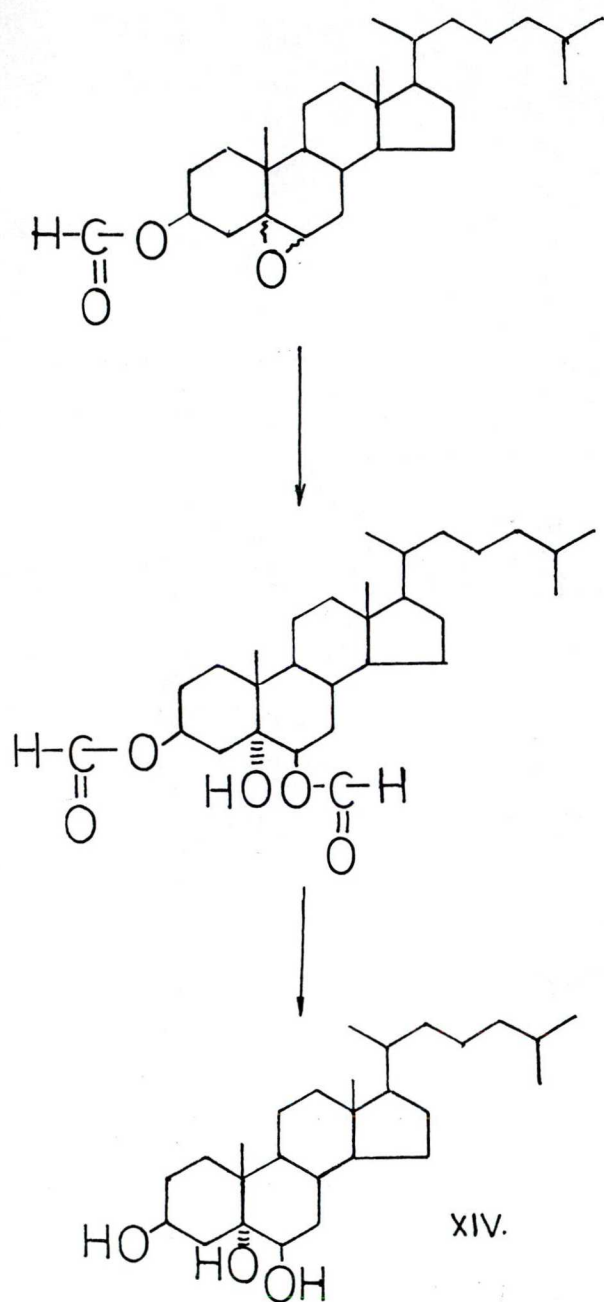
3.3. Kolesztán-származékok előállítása

Először más pozícióba helyeztük a koleszterin egyetlen hidroxilcsoportját. Előállítottuk koleszterintozilát (XI) vizes acetonban, káliumacetát jelenlétében történő elfőzésével az irodalomban ismert / 33 / 3 α ,5-ciklo-5 α -kolesztán-6 β -olt (XII), majd ennek Cr₂O₃-piridin komplex-szel való oxidálásával a 3 α ,5-ciklo-5 α -kolesztán-6-on-t (XIII).

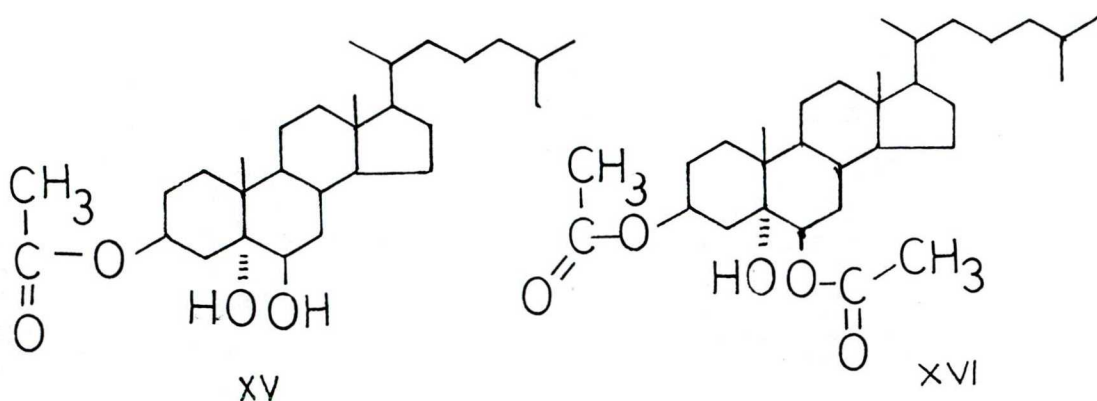


A C₆-os pozícióban az oxocsoport megtartására és a hidroxilcsoportok számának egyidejű bővítésére törekedtünk. Koleszterint hangyasavval kezelve 70 °C-on, a koleszterin-3-formátot állítottuk elő, majd a hangyasavas oldathoz H₂O₂-t adva a koleszterin-3-formát epoxidálását végeztük el. A reakcióelegyhez vizet adva a savas közegben az epoxidokat kinyitottuk, majd a keletkezett formát-észterek lúgos hidrolízisét végeztük el. Ez a gyorsan kivitelezhető reakció annak a megfigyelésnek köszönhető, hogy a koleszterol- α és β -oxidjai ilyen körülmények között jó termeléssel azonos triollá alakíthatók / 35, 53, 54 /.

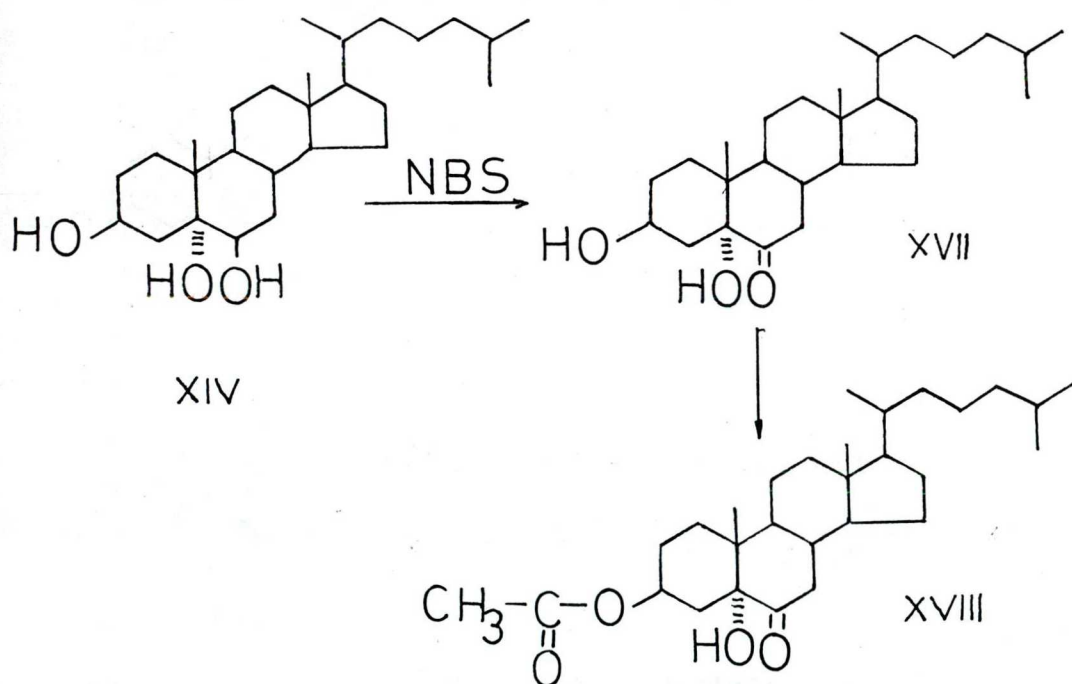




A XIV vegyületet piridines közegben Ac_2O -dal acetilezve előállítottuk ennek acetyl-származékait is (XV és XVI).



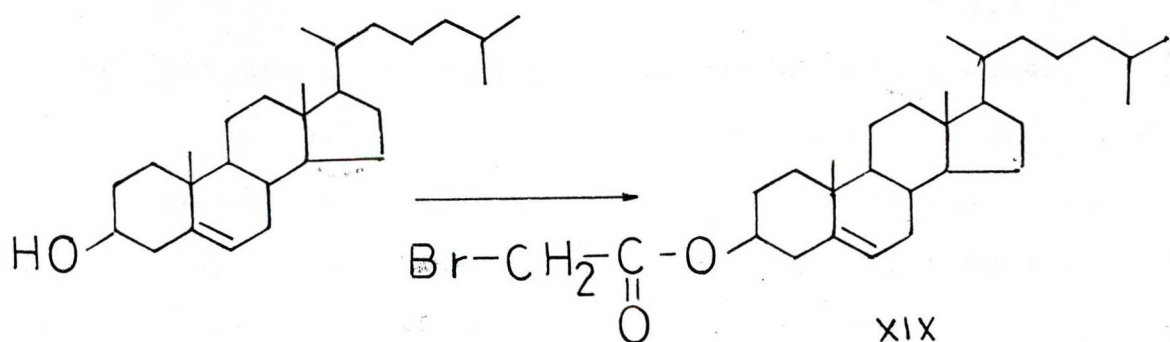
Ezek után a kolesztán-triol NBS-oxidációját valósítottuk meg irodalmi adatok alapján / 36 /, vizes dioxánban, $3\beta,5\alpha$ -diol-6-keto-kolesztán (XVII) nyerése céljából. Más módszerrel oxidáció során szelektivitás nem érhető el.



A XVII vegyületet piridinben ecetsavanhidriddel acetilezve jutottunk a XVIII vegyülethez. További munkánkban a 2β -helyzetű OH csoport és 14α -hidroxilcso-

port beépítését is tervezzük a molekulába.

Abból a célból, hogy a vegyület kovalens kötással kapcsolódjon a receptorhoz, a kolesztán sorban a 3β -
-brómacetoxi-koleszterint készítettük el. A brómaceti-
lezést brómacetilkloriddal benzolos oldatban hajtottuk
végre (XIX).



Biológiai vizsgálati eredmények

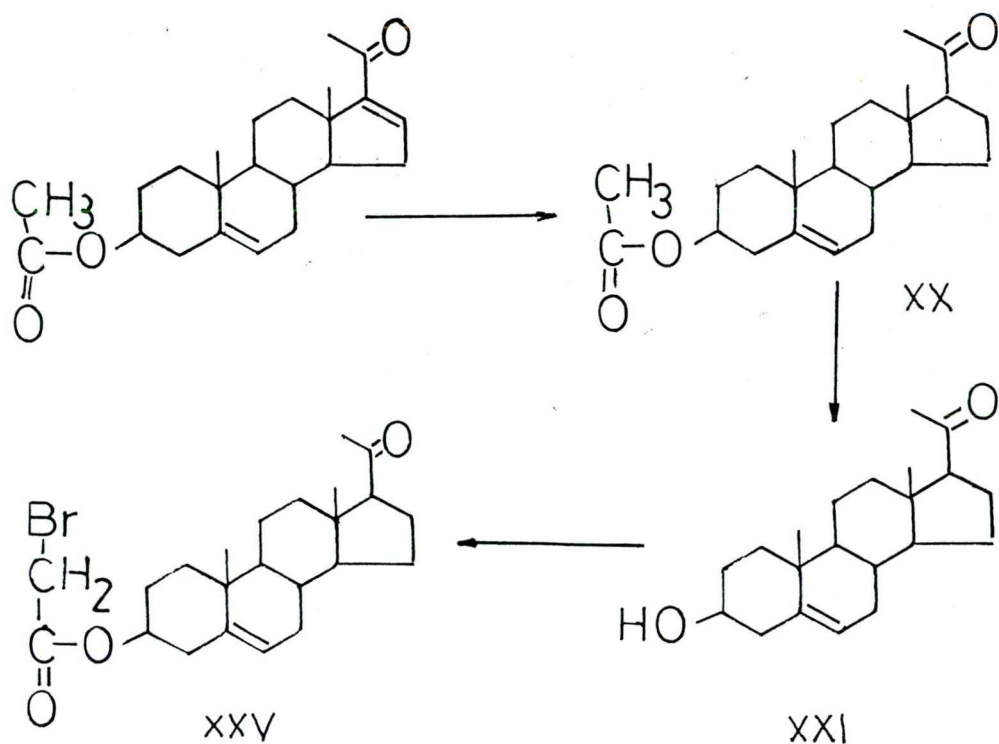
XI	aktív 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -es koncentrációban
XII	toxikus
XVII	aktív 111 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -es koncentrációban és toxikus is
XIX	aktív 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ -es koncentrációban
XIV	nem aktív
XIX	hidrofob jellege miatt nem vizsgálható

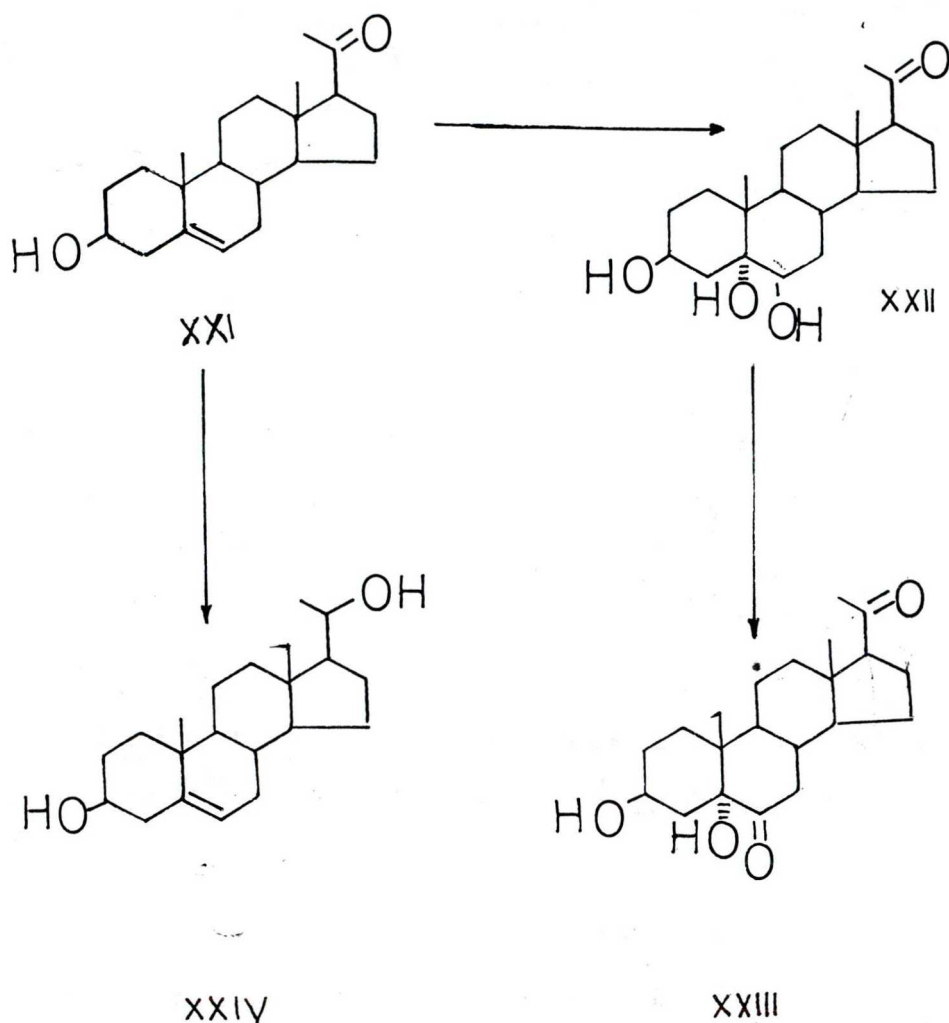
3.4. Nem kolesztán-vázás hidroxiszteroidok előállítása

Láttuk, hogy a koleszterin oldallánc nem feltétlenül szükséges a vegyület hatásosságához, és azt is, hogy a Polipodin B-ből elkészített C-20-keton (X), a megfelelő pregnánszarmazék is hatásos tudott lenni. Ezért pregnadiénolonból kiindulva néhány poláros hidroxiszteroidot készítettünk el.

Pregnadiénolonacetát etilacetátban palládiumcsont-száron történő hidrogénezésekor a Δ^{14} -es kettős kötést telítettük és a nyert 3β -acetoxi-vegyület (XX) dezacetilezésével kaptuk a 3β -hidroxi-20-keto-5-pregnént (XXI).

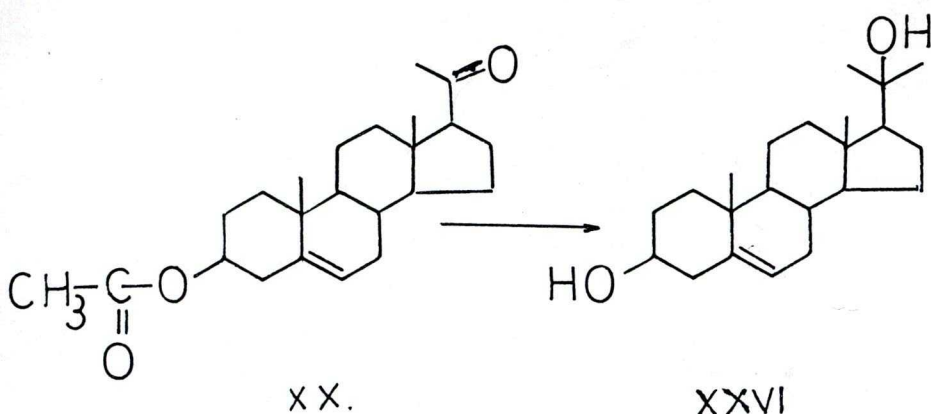
A XXI-ből elkészítettük a kolesztánszarmazékok analógiájára a $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihidroxi-20-keto-pregnánt (XXII), és ebből vizes dioxánban / 45 / való NBS-oxidációval a 6-keto-vegyületet (XXIII). Ez utóbbi vegyület / 36 / 1 $\mu\text{g/ml}$ -ben jó antagonistának bizonyult.





A pregnenolon (XXI) NaBH_4 -es redukciójával előállítottuk és biológiai vizsgálatra küldtük az 5-pregnén- 3β , 20β -diolt (XXIV) és brómacetilkloriddal benzolban reagáltatva a XXI-t, előállítottuk a XXV-öt.

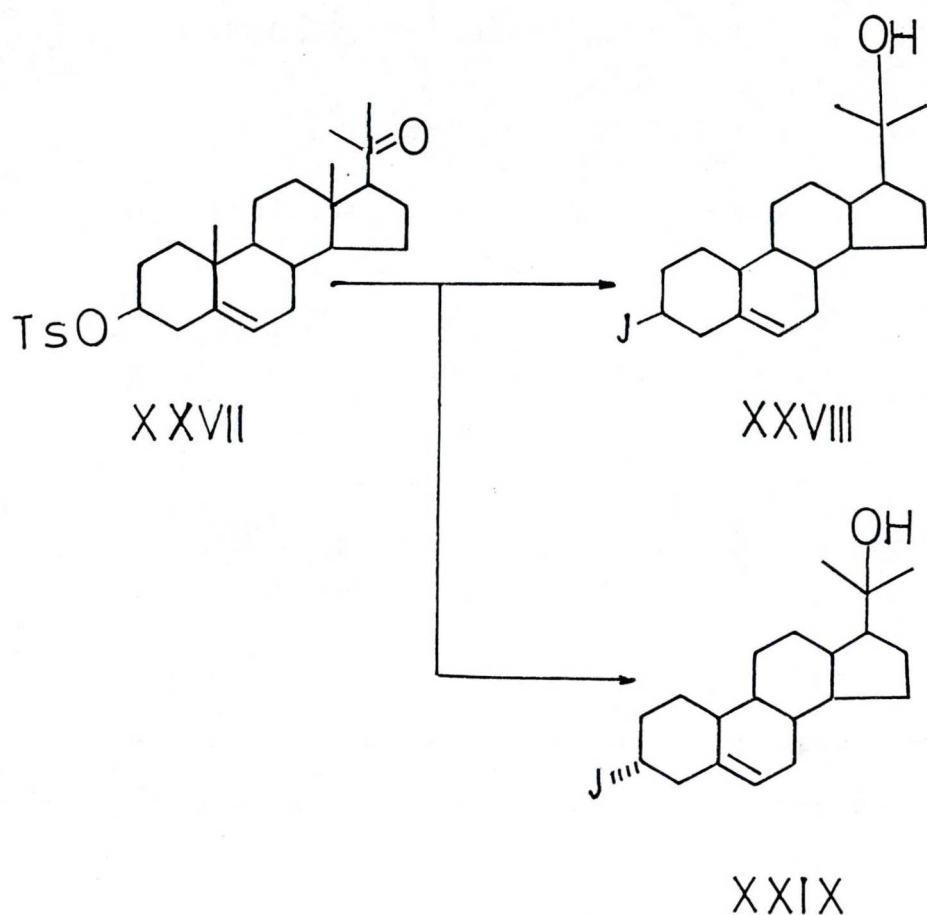
Az oldallánc bővítésére Grignard-reakciók kivitelezésére gondoltunk és elsőként metil-magnéziumjodidból készített Grignard-reagenssel vittük reakcióba a XX. vegyületet. A reakcióban jó termeléssel a várt terméket kaptuk (XXVI).



NMR, IR és CH-analitikai eredmények alapján igazoltuk az egyébként már ismert vegyület szerkezetét / 50, 37 /.

Elkészítettük a XXI vegyületből a megfelelő tozilatot (XXVII) szokásos (p-toluolszulfonsavklorid, piridin) tozilezési reakcióban, majd az előbb leirt módon Grignard reakcióba vittük. A kész Grignard-reagenshez szórva a módosítandó szteroidot, másfél óra reakcióidő után teljes átalakulást tapasztaltunk. A keletkezett vegyület a pregnenolon-tozilátnál kevésbé polárosabb volt ugyan, de nem az általunk várt vegyület, hanem a 3β -jód-20-hidroxi-20-metil-5-pregnén (XXVIII) és a 3α -jód-20-hidroxi-20-metil-5-pregnén keveréke.

A keverék, majd a tiszta 3β -jódvegyület NMR spektrumai a vegyület szerkezetét illetően meggyőző bizonyítékokul szolgáltak.



A reakció első lépése a Grignard reakció. Az itt keletkező Mg-kettős só J^- -anionja szubsztitúciós reakcióban vehet részt. Toszilát $\rightarrow$ jód csere eredményeként a reakció nagyobb mennyiségben szolgáltatja a 3β -jódvegyületet, a kevés 3α -jódvegyület mellett.

A nagyobb mennyiségben jelenlévő 3β -jódizomert sikerült a keverékből tisztán kinyernünk.

A reakció tanulmányozását tervezzük további munkánk során, mert egy lépésben halogénezés és Grignardozás valósítható meg a reagens nagy feleslegben való al-

kalmazásával. A 3β -helyzetbe a jód beépülése a Δ^2 -vegyület elkészítését teszi lehetővé.

Biológiai vizsgálati eredmények

- XXIII gátol 1 $\mu\text{g/ml}$ -es koncentrációban
- XXIV gátol 10 $\mu\text{g/ml}$ -es koncentrációban
- XXV nem aktiv
- XXVI toxikus

4. Oldalláncban N-t tartalmazó szteroidok előállítása

Ismert az irodalomból, hogy az oldalláncban N-t tartalmazó szteroidok is kötődni képesek a receptrohoz, és itt a N is kötődésre alkalmas pozícióként szerepel / 28, 29, 30/.

A N-atom kötetlen elektronpárjával hidrogénhidat létesítve kapcsolódhat a receptorhoz. Ezért előállítottunk néhány C_{20} -N; C_{17} -N-hez és a szteroid-molekula C_{16} -os szénatomjához C-N kötéssel kapcsolódó szekunder aminokat is.

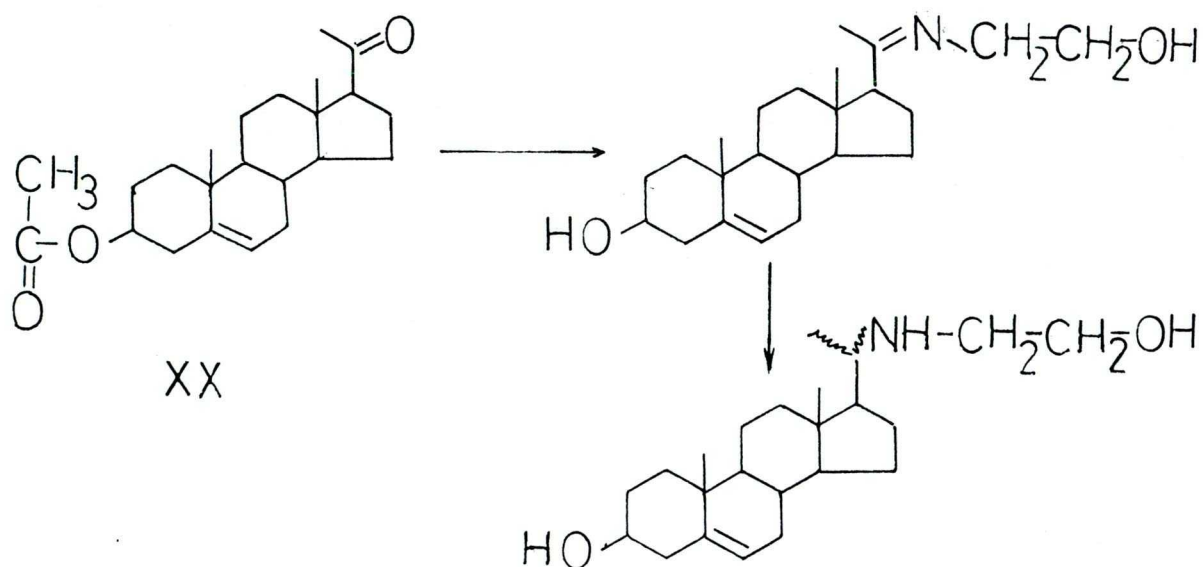
4.1. C_{20} -alkilamino-szteroidok előállítása

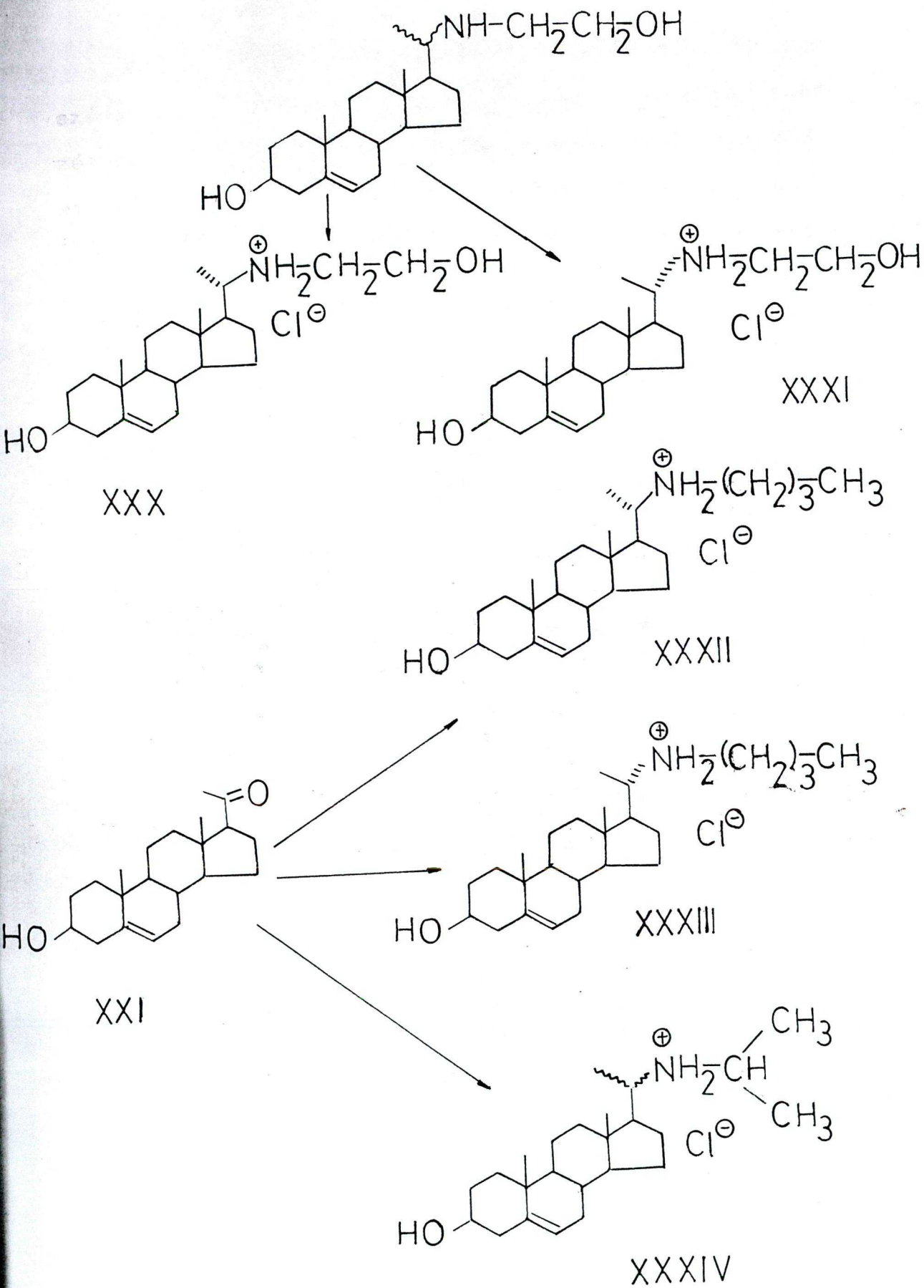
3β -hidroxi-20-keto-5-pregnénből (XXI) primer aminnal Schiff-bázisokat állítottunk elő. A Schiff-bázisokat tartalmazó r. elegyhez (a Schiff-bázisok izolálása nélkül) metanolt adtunk, majd NaBH_4 -del redukálva azokat szekunder-aminokká alakítottuk át. Az amin-bázisokból

elkészítettük azok hidroklorid sóit. A C_{20} -oxocsoportnak primer aminokkal való reakciójában keletkező Schiff-bázis redukciója során konfigurációs izomerek keletkeznek, melyek nagyon közeli polaritású vegyületek. Szétválasztásukat dezaktivált szilikagélen megosztásos kromatográfiával valósítottuk meg a 20R és 20S tiszta izomerekre. A nagyon kis R_f -beli különbség miatt a szétválasztás néhány esetben nem sikerült.

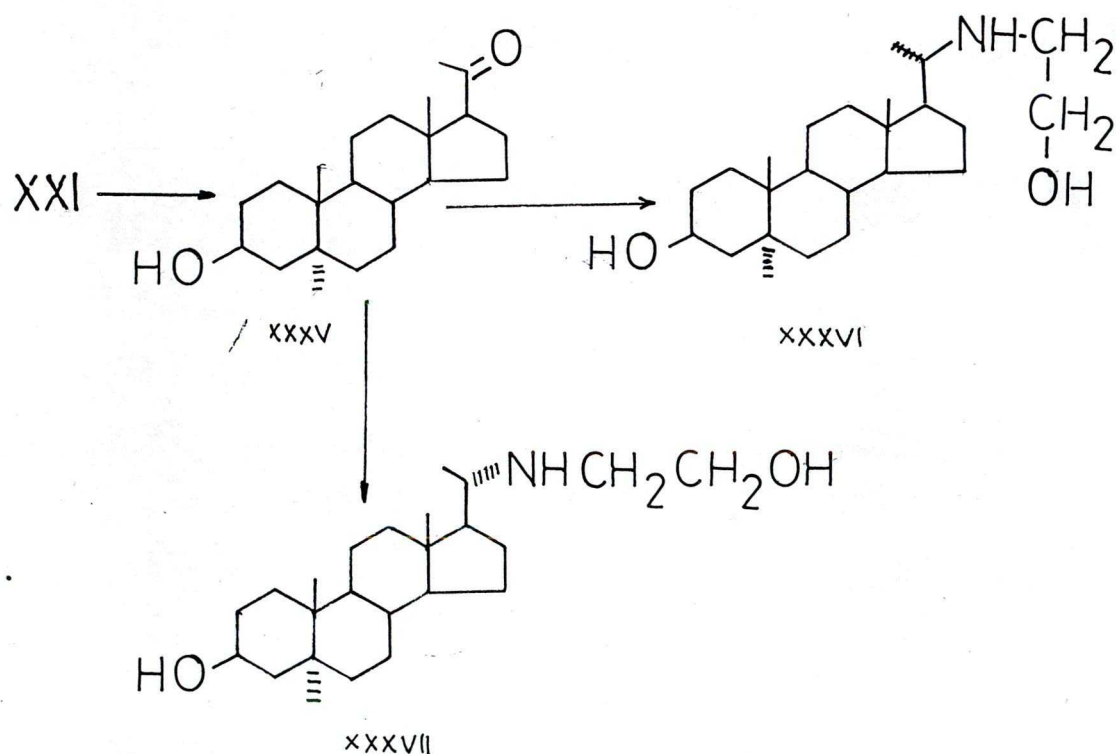
Az aminovegyületek tisztítására is felhasználtuk a hidroklorid képzést a nem aminoktól való elválasztásra, végül a termékeket hidroklorid vagy D-borkősavas sójuk formájában készítettük el.

A 20R és 20S konfigurációkat ismert abszolút konfigurációjú 20-hidroxi-5-pregnének fajlagos forgatóképessége ismeretében, azok analógiájára állapítottuk meg. Az általunk elkészített C_{20} -alkilamino szteroidok sorozatában az apolárosabb szekunderamin (rétegen a nagyobb retenciós faktorú) mindig a 20R konfigurációjú izomer volt.





A XXI vegyület kettős kötését telítettük, Pd-csontszénen etilacetátban, vagy alkoholban történő hidrogénezéssel. A kapott 3 β -hidroxi-20-keto-5 α -pregnánt (XXXV) etanolaminnal reagáltattuk. Az ekkor keletkezett Schiff-bázist NaBH₄-del redukáltuk MeOH-os oldatban. A keverék alkilamino-szteroidokat kromatografáltuk, így kaptuk az apolárosabb XXXVI vegyületet, míg a polárosabb 5 α -szekunder amint nem tudtuk tisztán izolálni.



A XXXVI vegyületből annak D-tartarát sóját készítettük el.

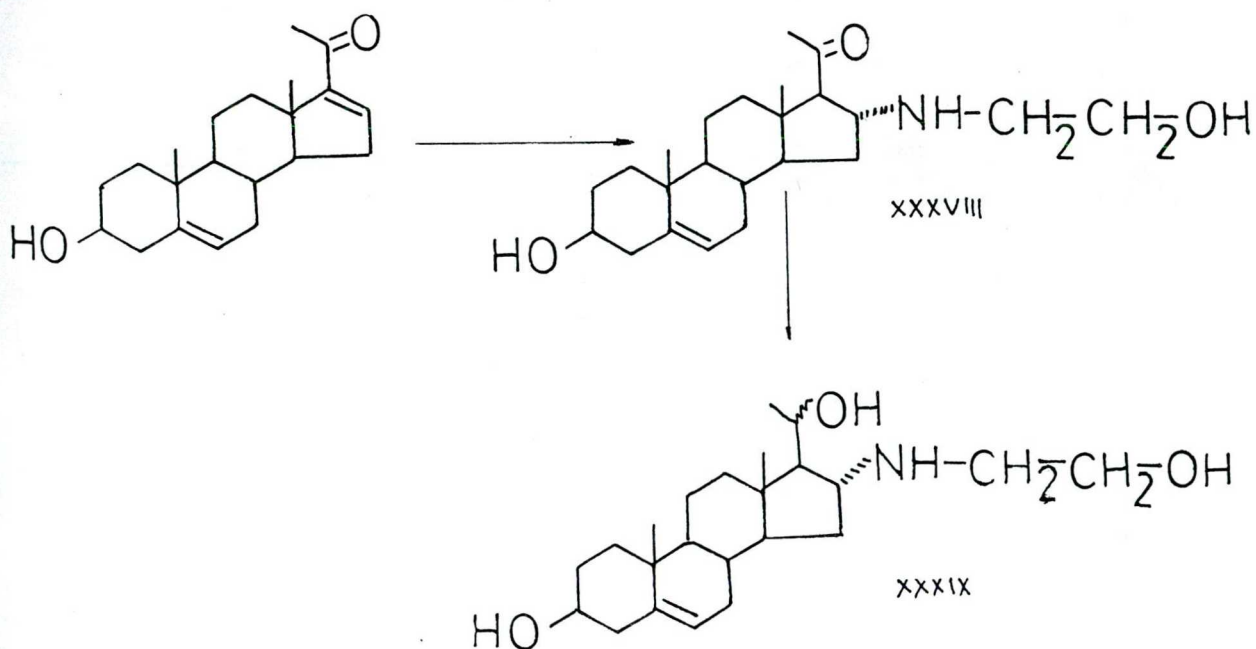
Biológiai vizsgálati eredmények

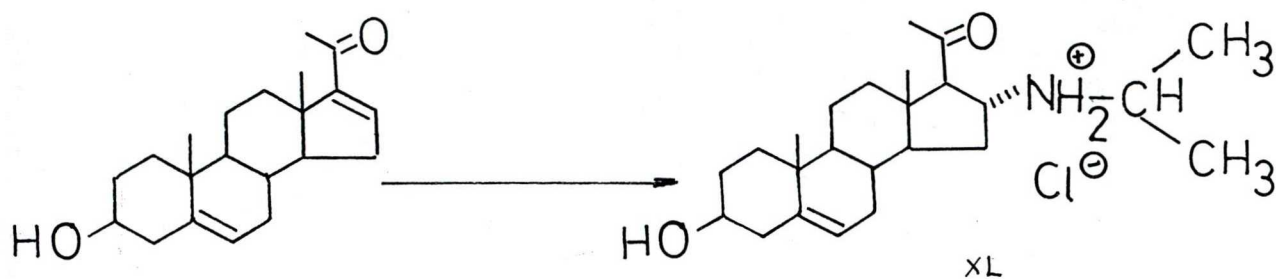
XXX	nem aktiv
XXXI	nem aktiv
XXXII	aktiv (HE koncentráció: 10 $\mu\text{g/ml}$)
XXXIII	nem aktiv
XXXIV	nem aktiv

4.2. C₁₆-alkilamino-szubsztituált szteroidok előállítása

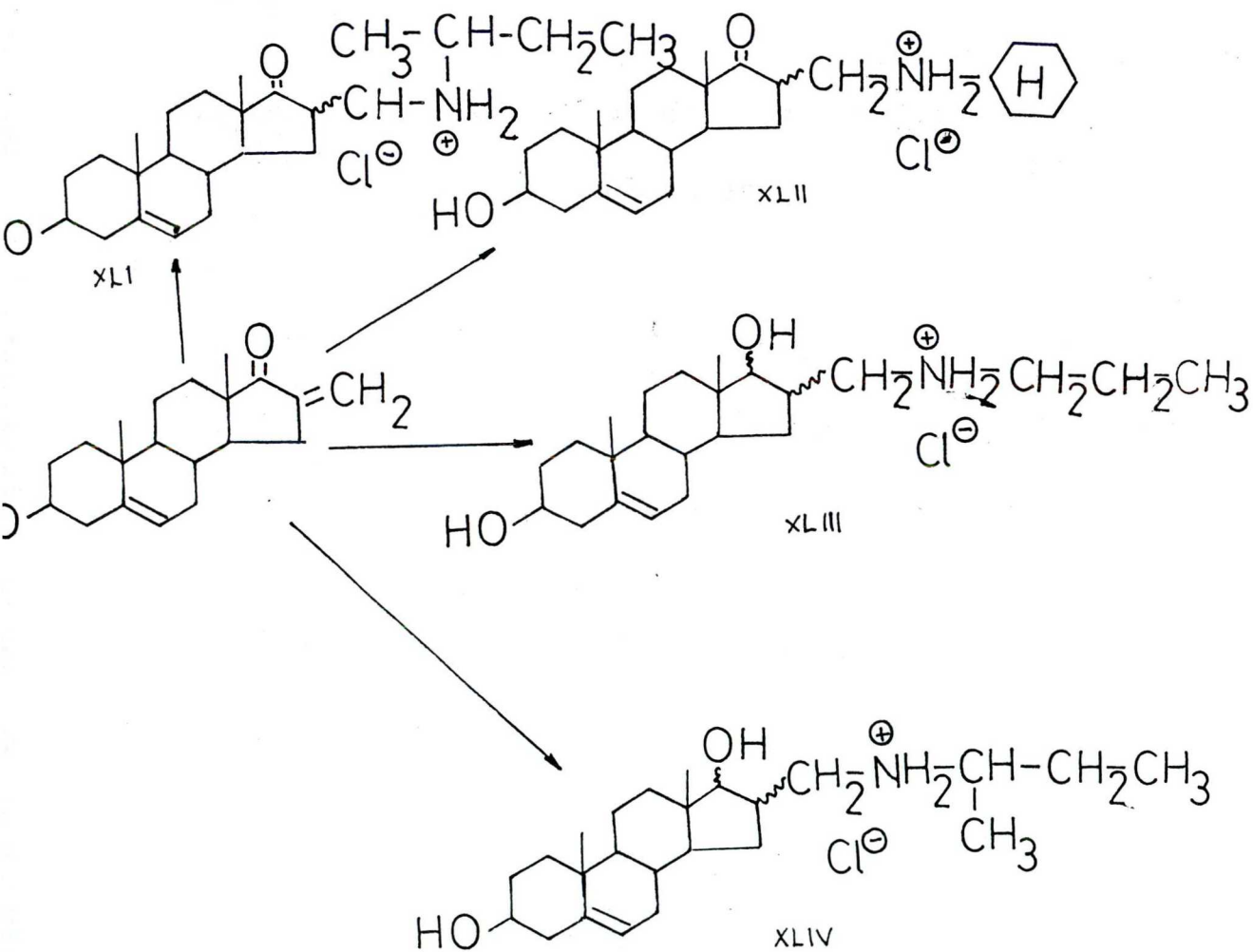
Láttuk, hogy a C₂₀-as szénatomon alkilamino-csoportot hordozó szekunder aminok közül a N is kötődésre alkalmas funkció lehet. Bővítsük a kötődésre alkalmas helyek számát úgy, hogy a C₂₀-keton érintetlenül hagyásával a vegyület más pozícióban hordozzon N-atomot. Ebből a célból a pregnadiénolont, mint alkalmas α, β -telítetlen ketont Michael addícióra készítettük alkilaminban, amikor is a primer amin nukleofil addíciója a β szénatomon folyik le, az α -támadási szabálynak megfelelően.

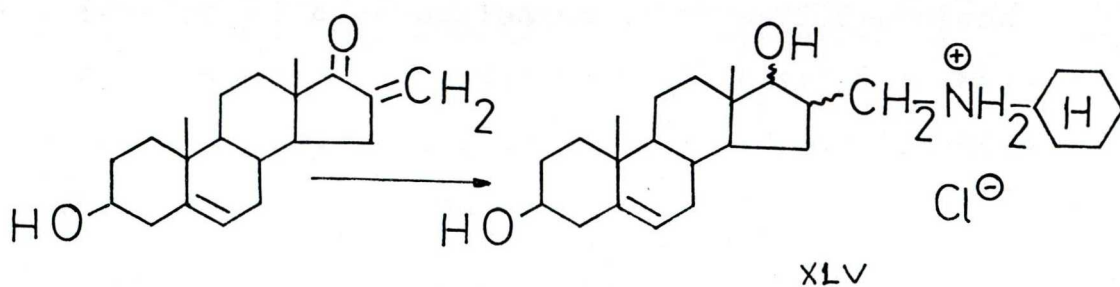
A következő 16 α -térállású alkilamino-vegyületeket állítottuk elő.





3 β -hidroxí-17-oxo-16-metilén-5-androsztént alkil-aminokkal Michael addícióba vittünk és így jó gátló hatású anyagokat sikerült előállítani.





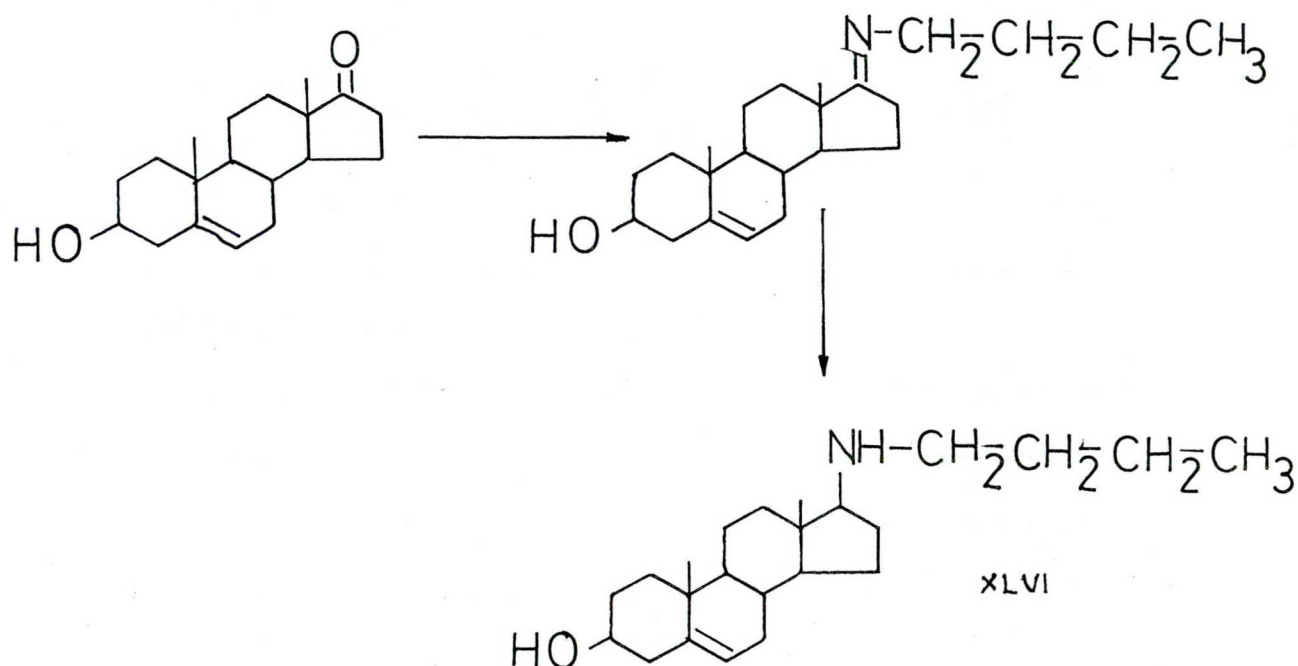
Az oxocsoport redukcióját NaBH₄-el, ecetsav pár-huzamos csepegtetésével pH:7-en végeztük el.

Biológiai vizsgálati eredmények

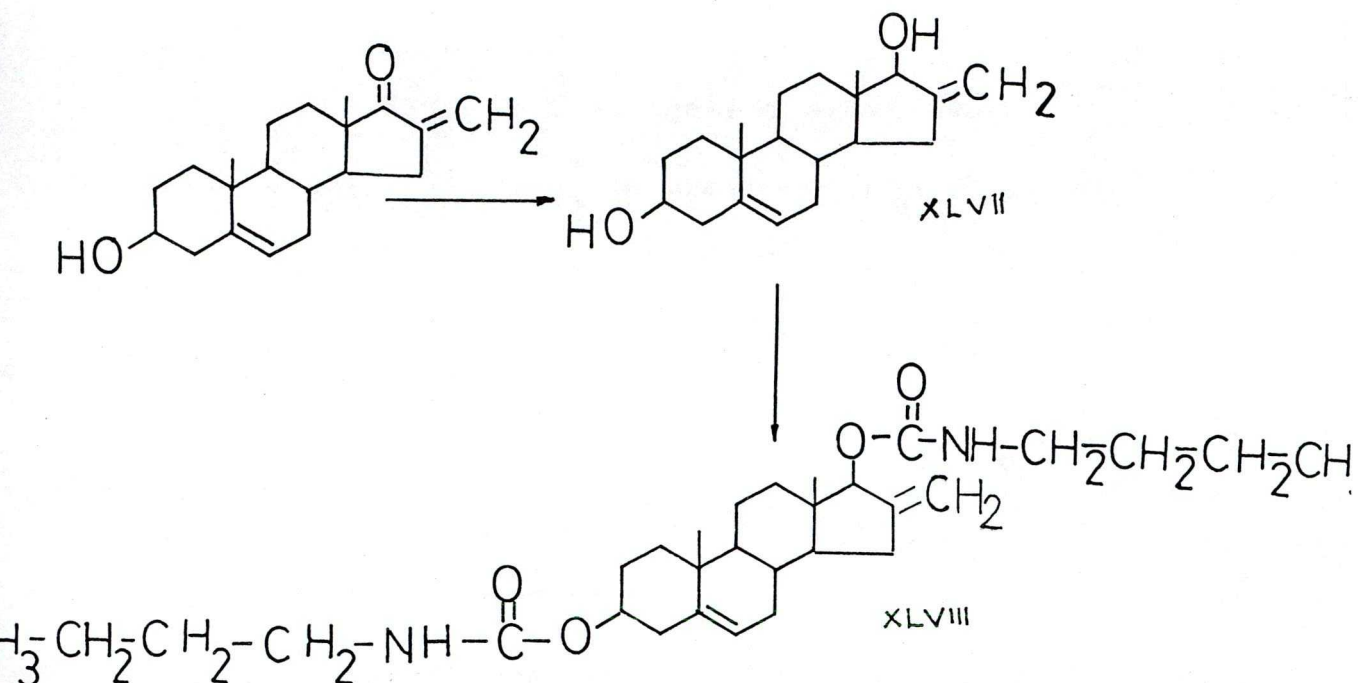
XXXVIII	nem aktiv
XXXIX	0,1 ug/ml koncentrációban gátol
XL	nem aktiv
XLI	nem aktiv
XLII	gátol 0,04 ug/ml-es koncentrációban
XLIII -	hidroklorid gátol 10 ug/ml-es koncentrációban
XLIII	gátol 2,27 ug/ml-es koncentrációban
XLIV -	hidroklorid gátol 1 ug/ml-es koncentrációban
XLV	gátol 10,3 ug/ml-es koncentrációban.

4.3. C₁₇-alkilamino és más szteroidok előállítása

Dehidroepiandroszteronból n-butilamin segítségével előállítottuk a 17 β -n-butilamino-3 β -hidroxi-5-androsztént (XLI), a keletkezett Schiff-bázis nátriumborohidriddel való redukálásával. A terméket hidroklorid-sóként alakítottuk.

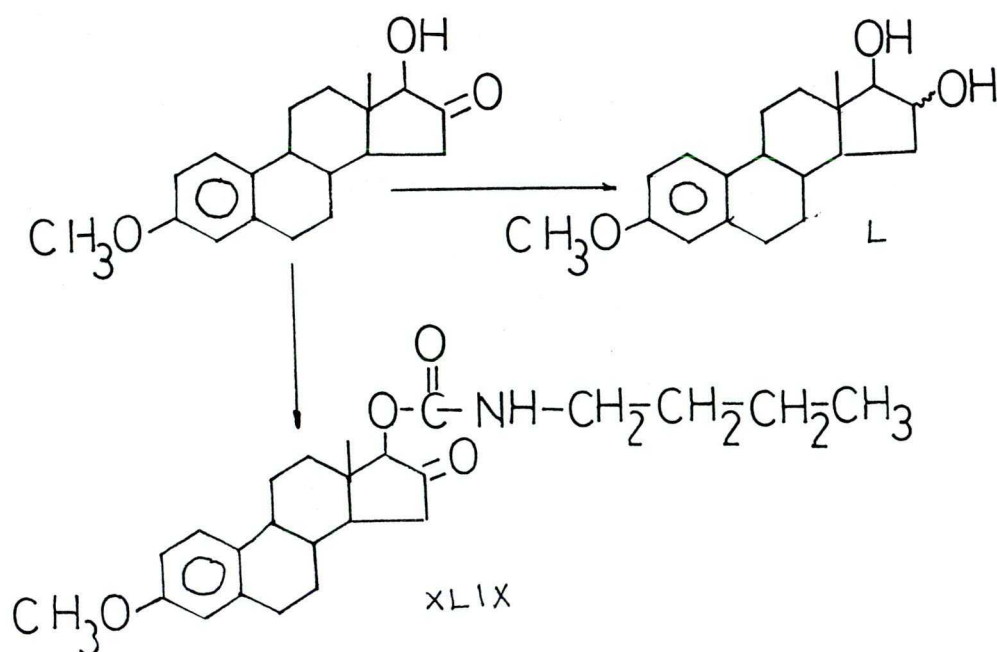


Biológiai vizsgálatra került a 16-metilén-17-keto-3 β -hidroxi-androszt-5-én kiindulási anyag felhasználásával a 16-metilén-5-androsztén-3 β ,17 β -di-(n-butil)-uretán (XLVIII) is, és a 3 β ,17 β -dihidroxi-16-metilén-5-androsztén is (XLVII), mint a közti lépés terméke.



Mindkét vegyület (XLVII, XLVIII) hatástalannak bizonyult, mert a biológiai vizsgálati körülmények között oldhatatlanok voltak.

Ugyancsak oldhatósági nehézségek miatt bizonyult hatástalannak a $3\beta,17\beta$ -dihidroxi-16-keto-ösztren-3-metiléterből n-butilizocianáttal elkészített uretán vegyület is (XLIX), de 2,65 $\mu\text{g/ml}$ -ben gátolt az L-es anyag.

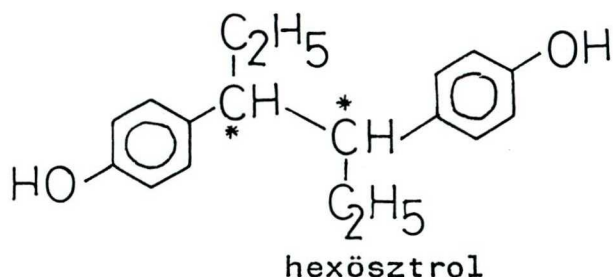


Biológiai vizsgálati eredmények

XLVI	-	hidroklorid	nem aktiv, vízben toxikus
XLVII		hatástalan,	nem oldódik
XLVIII		hatástalan	
XLIX		hatástalan	
L		2,65 µg/ml-es koncentrációban gátol	

4.4. Stilbének előállítása

Az előző vizsgálatok eredményeiből kiderült, hogy a hatás nem korlátozódik csupán a természetes ekdizonokra és hasonló vegyületekre, a kolesztán oldalláncre, az A/B gyűrűk cisz anellációjára sem volt mindig szükség. Ezért feltételeztük, hogy bizonyos nem szteránvázas, de hasonló térkitöltésű kötődésre alkalmas funkciót alkalmas helyen hordozó molekula is képes lehet a receptoron megkötődni. Kis fantáziával elképzelhető, hogy a transz-1,2-difeniletílennek olyan szterán váznak foghatók fel, melyeknek B és C gyűrűje "hiányzik" de térkitöltése hasonlóknak tűnik, mint a szterán vázé. Ilyen meggondolásból küldtük biológiai vizsgálatra a hexösztrólt, amely nem szteránvázas szintetikus közismert ösztrogén.



mezo-3,4-di-(p-hidroxifenil)-hexán

Ez a vegyület a biológiai vizsgálat alapján gátlónak bizonyult 0,43 µg/ml-es koncentrációban.

Ezek után elkészítettünk és biológiai vizsgálatra küldtünk néhány stilbényszármazékot.

Wittig-reakcióba vittük a p-hidroxi-benzaldehydet trifenil-benzil-foszfóniumbromiddal p-hidroxi-transz-stilbén előállítására céljából. A reakció rossz eredménnyel adta a kívánt vegyületet. Ezért fenilecetsavszármazékokat és szubsztituált benzaldehydeket direkt fenilecetsavas kondenzáció / 38 / útján alakítottunk a továbbiakban stilbén származékokká piperidin bázis jelenlétében. A reakció során kondenzáció és dekarboxileződés játszódott le egy lépésben az alábbi vegyületek esetében:

4-hidroxi-transz-stilbén LI

4-nitro-transz-stilbén LII

3,3',4-trimetoxi-4'-hidroxi-transz-stilbén LIII

3,4-dimetoxi-4'-hidroxi-transz-stilbén LIV

3-metoxi-4-hidroxi-transz-stilbén LV

3,4-metoxi-4-nitro-transz-stilbén LVI

4-hidroxi-4'-nitro-transz-stilbén LVII

Elkészítettük még a stilbénekhez hasonló térkitöltésű ciklohexil-amin és p-hidroxi-benzaldehyd reakciójával nyerhető Schiff-bázist (LVIII), az N-(4-hidroxi-fenil-metilén)-ciklohexil-amint.

A stilbényszármazékok mindegyike 1 $\mu\text{g/ml}$ -es koncentrációban gátlónak mutatkozott.

A stilbénsorozatba tartozó vegyületek a biológiai vizsgálat alapján a legjobb gátló anyagok közé tartoztak. Ugyancsak antagonistának bizonyult az LVIII Schiff-bázis is.

5. KISÉRLETI RÉSZ

Az olvadáspontokat korrekció nélkül Koffler-blokkon mértük. Az infravörös spektrumok UNICAM SP 200-as és UNICAM SP 1000-es készüléken készültek, KBr pasztillában.

Az ORD-vizsgálatok metanolos oldatban, JASCO-5 ORD/UV készüléken történtek.

A fajlagos forgatóképesség meghatározására Lippich-féle polarimétert használtunk. A közölt forgatási értékek hibahatára $C=1$ koncentrációnál $\pm 2^{\circ}$. A forgatási értékeket általában 1 %-os MeOH-os oldatban mértük. A kűvetta vastagsága 0,5 dm.

A C, H adatok számított és talált értékei hibahatáron belül megegyeznek egymással. Ahol ettől eltérés van, azt feltüntetjük.

Az NMR felvételek JEOL 60-as készüléken készültek, általában deuterokloroformos oldatban. A hidroxilcsoportok helyét triklóracetil-izocianátos kezeléssel állapítottuk meg.

A kémiai eltolódások értékei tetrametilszilán belső standardra vonatkoznak.

A vékonyrétegkromatogramokat

1.) 0,25 mm-es rétegvastagságú Kieselgeel G (Merck) rétegen készítettük. Ezen a rétegen a foltok előhívását 50 %-os vizes foszforsavas lefúvással és az azt követő 15 perces 100-120 °C-on történő melegítéssel, illetve vanillin-kénsav spray reagenssel lefújva, majd azt követő 15 perces 100-120 °C-on történő melegítéssel végez-

tük el.

2.) 0,25 mm rétegvastagságú Kieselgeel HF₂₅₄ (Merck) rétegen.

3.) 0,20 mm rétegvastagságú szilufol rétegen (Kieselgeel 60 F 254).

Az R_f értékek meghatározása 365 nm és 254 nm hullámhosszúságon UV-fényben észlelt foltok alapján történt.

Az Al₂O₃-oszlopkromatográfiát szivatásos rendszerű, alul csiszolattal elválasztható és lyukacsos üvegréteggel ellátott kromatografáló oszlopon végeztük. Az oszlopot szárazon töltöttük, rétegenkénti tömörítéssel. Adsorbensként vízzel IV-re beállított aktivitású, közel neutrális Al₂O₃-ot használtunk.

A szilikagélen történő megoszlásos oszlopkromatográfiát alul oldószerrel átitatott vattával zárt kónuszos kiképzésű üvegcsőben végeztük el. Az oszlopot az egyenletes töltés érdekében tiszta oldószerbe csurgatott szuszpendált Szilikagél R-40 (REANAL) szilikagéllal töltöttük meg. A szilikagél térfogatára számított 5-15 % vizet tartalmazott.

20-hidroxi-ekdizon (2β , 3β , 14α , 20R, 22R, 25-hexahidroxi-
5 β -koleszt-7-én-6-on) (III) és Polipodin B (2β , 3β , 5β , 14α ,
20R, 22R, 25-heptahidroxi-koleszt-7-én-6-on) (II) elvá-
lasztása

250 mg Polipodin B és 20-hidroxi-ekdizon keverékét CHCl_3 -
ban oldottuk. Az elegyet 7,5g (5 tf % vztartalmú) CHCl_3 -
ban szuszpendált szilikagél oszlopra csurgattuk.

Növekvő töménységű etanolos-kloroform oldattal eluáltunk.
 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH} = 85:15$ eleggyel eluálva 39,2 mg tiszta Poli-
podin B-t (II) és 106,5 mg 20-hidroxi-ekdizont (III) nyer-
tünk.

Az ekdizonokat acetón:hexánból kristályosítottuk.

II. Op: 251-254 °C

UV: (MeOH): 243 mμ

Rf: 0,39 $\text{CHCl}_3:96\% \text{ EtOH} = 4:1$ (szilufol réteg)

III. Op: 240-241 °C

UV (MeOH): 243 mμ ($\epsilon = 12400$)

Rf: 0,36 $\text{CHCl}_3:96\% \text{ EtOH} = 4:1$ (szilufol réteg)

20-hidroxi-ekdizon acetilezése

100 mg 20-hidroxi-ekdizont (III) 2 ml száraz piridinben
oldjuk és 1 ml Ac_2O -t adunk hozzá. Szobahőmérsékleten
állni hagyjuk 30 percen át. A reakció rétegekromatográ-
fiásan követve 5 terméket szolgáltat. A reakcióelegyet
kevés jégre öntjük, majd kiméletesen vákuumban bepárol-
juk. A szilárd anyagot CHCl_3 :c-hexán = 1:1-ben oldjuk,
majd szilikagélen kromatografáljuk. (10 g, 5 tf % H_2O).



Az acetátok elegyét növekvő töménységű etanolos kloroform oldatokkal eluáljuk.

20-hidroxi-ekdizon-2,3,22-triacetát (V) : 28,7 mg

(CHCl₃ : EtOH = 29:1)

Op: 189-195 °C irod. op: 193-195 °C / 32 /

Rf: 0,29 (10 % metanol : benzol)

20-hidroxi-ekdizon-2,22-diacetát (IV) : 49,7 mg

(CHCl₃ : EtOH = 29:1)

Op: 144-145 °C irod. op: 143-145 °C / 32 /

UV: $\lambda_{\max}$ = 245 nm

Rf: 0,22 (10 % metanol : benzol)

NMR spektrum (CDCl₃)

(C₁₈-CH₃) : 0,85 ppm

(C₁₉-CH₃) : 1,02 ppm

acetyl : 2,0 és 2,1 ppm

(7H) : 6,0 ppm

(2H) : 4,9 ppm

(3H) : 3,2 ppm

2 β , 3 β , 6 ξ , 14 α , 22,25-hexahidroxi^{5 β} -koleszt-7-én-2,22-diacetát (VI)

49,1 mg 20-hidroxi-ekdizon-2,22-diacetátot (IV) oldunk 2 ml THF:i-propanol = 1:1-ben, és részletekben hozzáadagolunk 30 mg NaBH₄-et. Állni hagyjuk, majd jégecettel semlegesítjük. Ezután kevés vizet adunk hozzá, majd az ekdizont diklórmetánnal extraháljuk.

22,2 mg (VI)

Op: 111-114 °C

UV: $\lambda_{\max}$: 207 nm

Rf: 0,22 (96 tf % EtOH: CHCl₃) = 4:1

azonos polaritású 2 barnássárga folt vanillines
kénsav spray reagenssel lefújva.

2 β , 3 β , 6 ξ , 14 α , 22, 25-hexahidroxi-5 β -koleszt-7-én (VII)

70 mg 20-hidroxi-ekdizont oldunk 4,5 ml THF:i-propanol =
= 1:1-ben. Hozzáadagolunk kis részletekben 50 mg NaBH₄-et.
Vizzel telítjük a reakcióelegyet, majd kevés jégecettel
lesemlegesítjük pH:7-re és a terméket diklórmetánnal
extraháljuk. A diklórmetános oldatot sicc. Na₂SO₄-on szá-
ritjuk és bepároljuk. A terméket aceton:petroléterből
kristályosítjuk.

23,1 mg,

Op: 166-173 °C

UV: $\lambda_{\max}$: 207 nm

Rf: egymáshoz nagyon közeli polaritású 2 folt szilufol
rétegen (96 tf % EtOH : CHCl₃ = 4:1)

Rf: 0,44 és Rf₂ = 0,40.

20-hidroxi-ekdizon-acetonidok készítése:

55 mg 20-hidroxi-ekdizont felszuszpendálunk 12 ml vizmen-
tes acetonban, majd spatulahegynyi p-TSOH katalizátort
adunk hozzá. 2 óra múlva vékonyrétegkromatogramon 2 folt
található. 10-12 ml vizet adunk hozzá, majd lesemlegesít-
jük hig NaHCO₃-oldattal. A vizes oldatot etilacetáttal

többször extraháljuk (5x25 ml) és sicc. Na_2SO_4 -on az etilacetátos oldatot szárítjuk, majd vákuumban kiméletesen bepároljuk. Szilikagél oszlopon (4 g, 5 tf % H_2O). CHCl_3 :EtOH = 29:1-gyel kromatografáljuk.

20-hidroxi-ekdizon-2,3,20,22-diacetonid IX:

aceton:petroléterből kristályosítjuk. 12,4 mg

Op.: 228-231 °C / irod.: 32 /

Rf: 0,68 szilufol rétegen (96 tf% EtOH: CHCl_3 =1:4)

20-hidroxi-ekdizon-20,22-acetonid VIII:

Aceton:petroléterből kristályosítjuk. 9,9 mg

Op: 194-218 °C / irod.: 32 /

Rf: 0,57 szilufol rétegen (96 tf% EtOH: CHCl_3 =4:1)

2 β , 3 β , 5 β , 14 α , 6, 20-dioxo-koleszt-7-én X:

97 mg Polipodin B (II)-t 1 ml H_2O és 9 ml aceton elegyében oldottunk, majd 60 μl (a sztöchiometrikusnál kevesebb mennyiségű) Jones oxidálószerrel adtunk hozzá. 30 percen át kevertetjük, majd 1 ml telített NaHCO_3 -ot adunk hozzá és 5 ml vizet. Butanollal extraháljuk. A butanolos oldatot Na_2SO_4 -on szárítjuk, majd bepároljuk. A kevés kiindulási anyagtól és nagyon kevés 2 polárosabb mellékterméktől szilikagél oszlopon elválasztjuk. (10 g szilikagél, 5 tf% H_2O). Eluálás: 5 % EtOH: CHCl_3 eleggyel. Vanillin- H_2SO_4 spray reagenssel lefújva a szilikagél réteget, a termék szép narancsszinű.

Kristályosítás: aceton-petroléterből.

A kapott tiszta termék: 22,3 mg.

Op: 205-209 °C

Rf: 0,33 (96 tf% EtOH: CHCl_3 = 1:9) szilikagél HF_{254}
rétegen

UV: λ_{max} : 241 nm

IR (KBr): 3440, 1680, 1640 cm^{-1}

NMR: γ_{max} (CDCl_3 + DMSO) : 0,6 (C-18 CH_3),
0,89 (C-19 CH_3), 2,15 (C-21 CH_3),
3,6 (OH), 5,96 (C-7H), 4,05 (C-3H) ppm

3 α ,5-ciklo-5 α -kolesztán-6 β -ol XII.

5 g koleszterin-toziláthoz (XI) adunk 225 ml acetont, 50 ml vizet (kb 5 %-os acetonos víz) és kétszeres súlymennyiségű (10,5 g) káliumacetátot, és 6-10 órán át forraljuk. 6 órai forralás után a rétegekromatogram jelentős mennyiségű koleszterint is mutat, és a kiindulási anyag teljes mennyisége még reagált el.

Ezután az acetont lepároljuk, és a vizes oldatot kloroformmal extraháljuk. A kloroformos oldatot Na_2SO_4 -on szárítjuk. A 4,2 g háromkomponensű keveréket (mely koleszterint, koleszterin-tozilátot és XII-t tartalmaz)

Al_2O_3 -on 5 % benzol:petroléterrel kromatografáljuk.

Termelés: 1,4 g 3 α ,5-ciklo-5 α -kolesztán-6 β -ol (XII)

39,3 % olaj. / irod.: 33, 34 /

IR: γ_{max} : 3470, (OH) 1470, 1280, 1020, 810 cm^{-1}

Rf: 0,69 (1 % metanol: benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = + 26^{\circ}$ (kloroform:C = 0,47)

3 α ,5-ciklo-5 α -kolesztán-6-on (XIII)

1,7-szeres sztöchiometrikus mennyiségű (4,38 g) CrO_3 -t oldunk 100 ml piridinben, jéggel való külső hűtés közben. Az így elkészített CrO_3 -piridin komplexhez szórjuk a 3:5-ciklo-6 β -hidroxi-koleszterint (9,6 g). Egy éjjel a reakcióelegyet állni hagyjuk, majd a terméket éterrel extraháljuk. Az éteres oldatot sokszor vízzel mossuk.

Az étert lepároljuk, a terméket vízből kloroformmal extraháljuk, majd a kloroformos oldatot vízzel sokszor mossuk. A kloroformos oldatot Na_2SO_4 -on szárítjuk, és bepárlás után az anyagot MeOH-ból kristályosítjuk.

1,1 g 3:5-ciklo-6-keto-koleszterint / 34, 47 / kapunk.

Op: 88-90 °C

Rf: 0,88 (1 % metanol: benzol)

Számított: C: 84,30 % H: 11,53 %

Talált: C: 84,16 % H: 11,3 %

IR ν_{max} : (KBr): 1690, 1480, 1380, 1300 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = + 44^\circ$ (kloroform) (c=1)

δ_{max} (CDCl_3): 0,71 (C-18 CH_3); 0,91 (C-19 CH_3);

4,15d(C-3H); 2,45 d (C-4H) ppm

+ TAI = $\emptyset$

3 β ,5 α ,6 β -kolesztán-triol (XIV)

10 g koleszterinhez 100 ml hangyasavat (88 %-os) adunk, és 70 °C-on melegítjük 20 percen át. Ezalatt 2 fázis keletkezik. Választó tölcserben elválasztjuk az olajszerű koleszterin-3-formátot. Szobahőmérsékletre lehüt-

jük és 10 ml 30 %-os H_2O_2 -ot adunk hozzá. Egy éjaszkán át állni hagyjuk, majd 100 ml vizet adunk hozzá és a kivált csapadékhoz szűrjük, vízzel mossuk, szárítjuk. A szilárd anyagot rövid ideig tartó melegítés közben (10-20 perc, vízfürdő) NaOH-al elszappanosítjuk, metanolos oldatban (150 ml MeOH, 10 ml 25 %-os NaOH), majd a csapadékos (esetleg tiszta oldatot) cc. HCl-al pH: 6-ra-5-re állítjuk be, és a XIV vegyületet vízzel kicsapjuk. A kicsapódó fehér szilárd anyagot szűrjük, vízzel jól kimossuk, szárítjuk. MeOH-ból kristályosítjuk. 8,55 g nyerste-terméket kapunk. Termelés: 78,6 %
Op.: 232-235 °C

Rf: 0,52 (20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_D^{25} = 0^\circ$ (kloroform) (c=1)

Analízis $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (420, 654)

Számított: C: 77,08 % H: 11,50 %

Talált: C: 76,92 % H: 11,32 %

IR ν_{max} (KBr): 3410, 1470, 1060 cm^{-1}

δ_{max} (CDCl_3 +DMSO): 0,68 s (C-18 CH_3); 0,92 s (C-19 CH_3);

+ TAI: 0,72 s (C-18 CH_3); 0,95 s (C-19 CH_3);

4,75 m (C-3 H); 6,0 m (C-6 H) ppm

Kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triol acetilezése (XV, XVI)

0,5 g kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triolt acetileztünk piridinben oldva, és hozzá 4 csepp Ac_2O -t adva 2 óra múlva a reakcióelegyet jégre öntöttük, rövid ideig állni hagytuk, szűrtük és a szűrőn vízzel jól kimostuk. A csapadékot szárítottuk, majd szilikagél oszlopon 40 % CHCl_3 -benzol-

lal kromatografáltuk.

Kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triol-3,6-diacetát (XVI)

290 mg . MeOH₃-ból kristályosítjuk,

Op: 165-168 °C

$[\alpha]_D^{20} = -46^\circ$ (C = 0,6; kloroform)

Rf: 0,89 10 % metanol:benzol

$\delta_{\max}$ (CDCl₃): 0,68 (C-18 CH₃); 0,95 (C-19 CH₃);
2,01 acetil; 1,68 (OH); 3,5 m (C-6 H);
5,15 m (C-3 H) ppm

+ TAI:

0,73 (C18 CH₃); 0,94 (C-19 CH₃);
4,8 m (C-3 H); 6,0 (C-6 H) ppm

Kolesztán-3 β ,5 α ,6 β -triol-3-acetát (XV)

300 mg. MeOH-ból kristályosítjuk.

Op: 205-206 °C

$[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$ (C= 0,5; kloroform)

Rf: 0,74 10 % metanol:benzol

NMR: $\delta_{\max}$ (CDCl₃): 0,68 s (C-18 CH₃); 0,92 s (C-19 CH₃)
2,0 és 2,05 acetát;
4,65 m (C-6 H); 5,1 m (C-3 H)

+ TAI:

0,7 (C-18 CH₃); 0,92 (C-19 CH₃);
1,98 és 2,07 acetil
5,8 m (C-6 H); 4,7 m (C-3 H) ppm

Kolesztán-3 β ,5 α -diol-6-on (XVII)

5,3 g (0,0125 mol) kolesztán-triol-t (XIV), 45 ml

dioxán és 5 ml víz elegyében felvettünk, és az elegyet

2,5 g (0,014 mol) 1,12-szeres mólfölöslegben alkalmazott N-bróm-szukciumiddal kezeltünk. 10 perc alatt tiszta oldatot kaptunk, és a reakció 2 apolárosabb mellékterméket is szolgáltatva lejátszódott. Réteg-kromatogrammon az apolárosabb 2 melléktermék vanillines- H_2SO_4 -spray reagenssel a réteget lefújva lila, a termék erőteljesen sárga foltot ad. Az oldatot hideg vízfürdőről vákuumban, kezdődő kristályosodásig bepároljuk. A kristályokat szivatással szűrtük, és 50 %-os vizes metanollal mostuk, és szárítottuk. A melléktermékektől (szilikagél oszlopon /5 tf% H_2O /) növekvő koncentrációban kloroformot tartalmazó benzollal elválasztottuk.

Kolesztán-3 β ,5 α -diol-6-on (XVII): a szilikagél oszlopról kloroformmal eluáltuk. Metanolból történő kristályosítás után súlya 1,167 g. Szép fehér tük.

Op: 232-234 °C

Analízis: $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_3$ (418, 638)

Számított: C: 77,45 % H: 11,08 %

Talált: C: 77,28 % H: 11,37 %

IR γ_{max} (KBr): 3400, 1700, 1470, 1240, 1080 cm^{-1}

Rf: 0,67 (20 % metanol: benzol)

Kolesztán-3 β ,5 α -diol-6-on-3-acetát (XVIII)

1 g kolesztán-3 β ,5 α -diol-6-on-t acetileztünk Ac_2O -el piridinben. A 0,92 g terméket metanolból kristályosítjuk.

Op: 232-234 °C

Analízis: $C_{29}H_{48}O_4$

Számított C: 75,60 % H: 10,50 %

Talált C: 75,05 % H: 10,77 %

Rf: 0,92 (20 % metanol:benzol)

3 β -brómacetoxi-koleszterin (XIX)

3 g koleszterint oldottunk 100 ml száraz benzolban és hozzá csepegtettünk szobahőmérsékleten 0,5 ml brómacetilbromidot. Ezután szobahőmérsékleten 20 órán át állni hagytuk a reakcióelegyet. A reakcióelegyet vákuumban bepároltuk, és a fronthoz közeli polaritású kevéske szennyezéstől szilikagél oszlopon benzollal kromatografálva, elválasztottuk. A brómacetil-koleszterint tartalmazó frakciókat bepároltuk és acetontól kristályosítottuk. 2,25 g szép fehér lemezes kristályokat kaptunk.

Op: 152-155 °C Irodalmi / 51 /: 153 °C

IR: $\gamma_{\max}$ (KBr): 3510, 1740, 1480, 1405, 1190, 1010

$[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$ ($CHCl_3$; $C = 0,5$)

Rf: 0,91 benzol

3 β -hidroxí-5-pregnén-20-on-3-acetát (XX)

9,0 g pregnadienolon-acetátot (XX) oldottunk etilacetátban. 2,0 g palládiumcsontszenet hozzáadva hidrogéneztük 2,5 órán át. ~1000 ml hidrogén felvétele után a palládiumcsontszenet kiszűrtük, és az oldatot bepároltuk, majd metanoltól kristályosítottuk. 9,3 g (fe-



hér tük).

Op: 146-147 °C (MeOH)

$[\alpha]_D^{25} = + 16^\circ$ (kloroform, C = 0,5)

3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén (XXI)

4 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-acetátot (XX) metanolos KOH-ban dezacetileztünk. 2,83 g kristályos 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnént kaptunk. Etilacetát:c-hexánból kristályosítottuk.

Op: 212-214 °C Irodalmi op: 211-213° (MeOH)

$[\alpha]_D = + 24^\circ$ (metanol; C = 0,5)

$\delta_{\max}$ (CDCl₃): 0,63 (C-18 CH₃)

1,01 (C-19 CH₃); 2,10 (C-21 CH₃)

1,63 (OH); 3,45 m (C-3H)

5,35 m (C-6H)

+ TAI:

0,6 (C-18 CH₃); 1,02 (C-19 CH₃)

2,08 (C-21 CH₃)

5,3 m (C-6H)

4,55 m (C-3H) ppm

3 β ,5 α ,6 β -20-keto-pregnantriol (XXII)

8,2 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-t 100 ml 88 %-os hangyasavval melegítünk 70-80 °C-on 5 percig. A reakcióelegyet lehűtjük. Hűtés közben szirupszerű, majd kristályos anyag válik ki. Hozzáadunk 10 ml 30 %-os H₂O₂-oldat-

tot. Egy éjszakai állás után szép tiszta oldatot kapunk. Ezután 300 ml forró vizet adunk az oldathoz. Pelyhes csapadék válik ki, melyet dekantálunk. A csapadékhoz adunk 300 ml metanolt és 10 ml 25 %-os NaOH-ot, és vízfürdön melegítjük 20 percen át. cc. HCl-al az oldat pH-ját pH.5-re állítjuk be. A kívánt szilárd XXII nem válik ki. 3x300 ml kloroformmal az oldatot extraháljuk. A kloroformos fázist Na_2SO_4 -on szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. 4,5 g nyersterméket kapunk, melyet metanollal kristályosítunk.

Op: 251-255 °C (metanol) Irodalmi /45/ op: 237-245 °C.

IR_{max} (KBr): 3420, 1700, 1380, 1050 cm^{-1}

Rf: 0,54 (20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 60^{\circ}$ (CHCl_3 ; C = 0,5)

6-20-diketo-pregnan-3 β ,5 α -diol (XXIII)

3 g 20-keto-3 β ,5 α ,6 β -pregnántriol (XXII)-hoz 32 ml di-oxánt adtunk és 3 ml vizet, majd 1,25-szörös sztöchiometri-
kus mennyiségben 1,90 g N-bróm-szukcinimidet. Hasonló fel-
dolgozás során mint a (XVII) anyag esetében, 1,0893 g
terméket (XXIII) kaptunk.

Op: 238-241 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = + 52^{\circ}$ (metanol; C = 0,5)

5-pregnén-3 β ,20 β -diol (XXIV)

5,1 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnént (XXI) metanolban ol-
dottunk és részletekben 5,5 g NaBH_4 hozzáadagolásával

redukáltuk. Egy éjjel állni hagytuk, majd a reakcióelegyet vízzel telítettük, és a kivált (XXIV) vegyületet szivattyúzás közben szűrtük, vízzel mostuk, szárítottuk; 4,36 g terméket kaptunk.

Op: 205-206 °C (MeOH) irodalmi / 49 /: 200,5-201,5 °C

$[\alpha]_D^{25} = -63^\circ$ (kloroform:, C = 0,41)

Rf: 0,66 (20 % metanol:benzol)

$\delta_{\max}$ (CDCl₃): 0,74 (C-18 CH₃); 0,98 (C-19 CH₃);
1,1 d (C-21 CH₃); 1,44 (OH)
3,55 m (C-3H); 5,3 m (C-6H)

+ TAI:

0,72 (C-18 CH₃); 1,03 (C-19 CH₃)
1,28 d (C-21 CH₃)
5,5 m (C-6H); 4,8 m (C-3H) ppm

3 -brómacetoxi-20-keto-5-pregnén (XXV)

1,3 g 3 β -hidroxi-pregn-5-én-20-on-t (XXI) oldottunk 85 ml száraz benzolban. Külső jeges hűtés közben 0,3 ml, a sztöchiometrikusnál 20 %-kal kevesebb brómacetilbromidot adtunk hozzá (a megbarnulás és melléktermék-képződés elkerülésére). Egy éjjel hűtőszekrényben állni hagyjuk. Ezután a reakcióelegyet vízzel telítjük és az olajosan kiváló terméket benzollal extraháljuk. A benzolos fázist vízzel többször mossuk, majd Na₂SO₄-on szárítjuk. Al₂O₃-on 25 % benzol-petroléterrel a kiindulási anyagtól elválasztjuk. A terméket acetontól kristályosítjuk.

Op: 149-150 °C

IR ν_{max} (KBr): 3500, 1740, 1700, 1410, 1290, 1180. cm⁻¹

Rf: 0,87 (2 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 11^{\circ}$ (C = 0,56; kloroform)

20-metil-pregn-5-én-3 β ,20-diol (XXVI)

Grignard-reagenst készítettünk 1,064 g (0,4 mmól) Mg-forgácsból és 2,5 ml frissen desztillált metiljodidból. Az 1,064 g Mg-forgácsra 40 ml abs. étert öntöttünk. Ezután a 2,5 ml metiljodidot oldottuk kb. 15 ml absz. éterben és hozzácsepegtettük lassanként a Mg-forgács-éterhez. A Mg enyhe pezsgés közben beoldódott 2,5 óra alatt. Az így elkészített reagenshez csepegtettük a 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-acetát 1,434 g-jának éteres oldatát. (Épp annyi étert adtunk hozzá, amennyiben feloldódott). Ezután 3 napon át állni hagytuk. Hozzáadtunk 10 ml telített NH₄Cl-ot, és azután 20 ml vizet. 20 percen át kevertettük, majd az étert ledesztilláltuk és 30 ml vizet adtunk az elegyhez. Fehér kocsonyát kaptunk, melyből CHCl₃-al extraháltuk a terméket.

1,17 g nyersterméket kaptunk, melynek op-ja: 187-213 °C volt. Al₂O₃-on kromatografáltuk (25 % CHCl₃:benzol) és c-hexán:metanolból kristályosítottuk. 0,7 g.

Op: 189-192 °C, irodalmi op / 37 /: 187-190 °C

Rf: 0,62 (10 % metanol:benzol)

IRY_{max} (KBr): 3500, 1660, 1460, 1380, 1060, 810.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -62^{\circ}$ ($c = 0,42$; kloroform)

δ_{max} (CDCl_3): 0,84 (C-18 CH_3); 1,0 (C-19 CH_3)
1,18 és 1,20 (C-21, 22 CH_3)
5,3 m (C-6H); 3,45 m (C-3H)

+ TAI

0,84 (C18 CH_3); 1,02 (C-19 CH_3)
1,58 és 1,67 (C-21, 22 CH_3)
5,38 m (C-6H); 4,6 m (C-3H)_{ppm}

3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-tozilát (XXVII)

17,7 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnént (XXI) szórunk 35 g tozilkorid piridines oldatához. Egy éjszakán át a reakcióelegyet állni hagyjuk, majd jeges vízre öntöttük, 24,4 g XXVII-t nyertünk.

Op: 138-142 °C, irodalmi op / 46 /: 138,5-140 °C

3 β -jód-20-hidroxi-20-metil-5-pregnén (XXVIII)

2,66 g Mg-forgácsból és 6,3 ml frissen desztillált MeJ-ből a szokásos módon Grignard-reagenst készítünk. Részletekben hozzáadagolunk 4,7 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-tozilátot (XXVII), 1,5 órán át a szteroid beadagolás után kevertetjük a reakcióelegyet. Kevés anyagkiválást (pelyhes csapadék) észleltünk. A reakcióelegyet egy éjszakán át állni hagyjuk, majd 30-40 ml telített NH_4Cl -ot adunk hozzá, és 20-30 percen át állni hagyjuk. Az éteres fázist elválasztjuk, vízzel mossuk, Na_2SO_4 -on szárítjuk és bepároljuk.

2,6 g kromatográfiásan egységesnek tűnő nyersterméket (kevés frontkosz) kapunk. Sikertelen kristályosítási próbálkozások után (az NMR szerint izomerkeverék oldatát) szilikagéloszlopon engedjük át (70 g, 5 tf% H₂O, eluálás benzollal). A benzoos frakciókat Na₂SO₄-on való szárítás után öszszepároljuk. Metanolból kristályosítva a 3 β -jódvegyület tisztán kikristályosodott.

Op: 127-144 °C

Rf: 0,92 (20 % metanol:benzol)

$\delta_{\max}$ (CDCl₃): 0,86 (C-18 CH₃); 1,08 (C-19 CH₃)
1,22 és 1,34 (C-21 és C-22 CH₃)
5,35 m (C-6H); 4,0 m (C-3H)

+ TAI

0,84 (C-18 CH₃); 1,05 (C-19 CH₃)
1,60 és 1,67 (C-21, 22 CH₃)
4,0 m (C-3H); 5,35 m (C-6H) ppm

3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-acetát (XX) reakciója etanolaminnal

2,61 g 3 β -hidroxi-5-pregnén-3-acetátot (XX) néhány csepp etanol jelenlétében kb 15 ml etanolaminban főzünk. Kb. 20 órai reakcióidő után a reakció még nem teljes, a kiindulási anyagnak mintegy 90 %-a alakult át. A keletkezett Schiff-bázis retenciós faktora megegyezik a kiindulási anyagéval, NaBH₄-es readukáltjaik Rf-jai és a vékonyréteget 50 %-os vizes-H₃PO₄ spray reagenssel lefujva a foltjaik színei jelentősen el-

térnek egymástól. A reakcióelegyhez kb 70 ml etanolt adunk és 3 g NaBH_4 -el redukáltuk. Ezután a reakcióelegyet vízzel telítettük, szivatas közben a kivált anyagot szűrtük, a szűrőn vízzel mostuk, majd szárítottuk. Szárítás után oszlopkromatografáltuk. (90 g szilikagél R60, 5 tf% H_2O)

20R-(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5-pregnén (XXX)
1,5 g

Op: 195,5-200,5 °C

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -60^\circ$ (c = 1; MeOH)

Rf: 0,3 (20 % Me-Be)

Alkilamino-szteroid-hidrokloridok készítése

20R-(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5-pregnén hidroklorid (XXX-hidroklorid). 0,4810 g 20R-(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5-pregnént absz. EtOH-ban oldottunk és 20 % HCl-os-etanolt adagoltunk hozzá pH.3-ig. Szép fehér kristályos hidrokloridot kaptunk. 188 mg.

Op: 238 -245 °C bomlik.

20S-(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5-pregnén (XXXI)
1,97 g.

Op: 208-210 °C

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24^\circ$ (MeOH, c=1)

20S-(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5-pregnén-hidroklorid

Op: 256 °C bomlik

(Készült a XXIX hidrokloridhoz hasonlóan).

$IR\gamma_{\max}$ (KBr): 3400, 1620, 1450, 1060. cm^{-1}

20R-27-nor-22-aza-koleszterin hidroklorid (XXXII) és

20S-27-nor-22-aza-koleszterin hidroklorid (XXXIII)

9,3 g 3β -hidroxi-5-pregnén-3-acetátot 20 ml n-butilaminban szuszpendáltunk fel 30 ml benzol és 3 csepp jégecet hozzáadása után 40 órán át főztük. Kevés kiindulási anyag még marad, amikor a reakcióelegyet metanolos felhígítás után 10 g NaBH_4 -el megredukáltuk. Egy éjszakai állás után vízzel telítjük, és a kicsapódó olajat benzollal extraháljuk. A benzolos oldatot szárítjuk Na_2SO_4 fölött és bepároljuk. A nyerste termék 8,1 g-ot szilikagélen (240 g, 5 tf%) növekvő alkohol koncentrációjú etanol:kloroform elegyekkel kromatografáljuk. A kapott XXXII (1,71 g) és XXXIII (2,36 g) tiszta termékből hidrokloridot készítettünk.

20R-27-nor-22-aza-koleszterin hidroklorid XXXII

Op: 294-302 °C

Rf: 0,46 (20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -40^\circ$ (c = 1; MeOH)

$IR\gamma_{\max}$ (KBr): 3400, 1590, 1460, 1070. cm^{-1}

20S-27-nor-22-aza-koleszterin hidroklorid (XXXIII)

Op: 297-301 °C

Rf: 0,36 (20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24^\circ$ (c = 1, metanol)

20 ξ -izopropilamino-5-pregnén-3 β -ol hidroklorid (XXXIV)

0,7 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnén-3-acetátot 9 ml i-propilaminban főztünk. A szokásos módon a reakcióelegyet MeOH-al higitva NaBH₄-el redukáltuk. A reakcióelegyet vízzel telítettük, és a szteroidokat kiszűrtük, vízzel mostuk. 20% HCl-as-etanolal 0,4 g nyerstermékből hidrokloridot készítettünk. A hidroklorid-készítés során nem sikerült tökéletes szétkristályosítást elérni a konfigurációs izomer aminok esetében. Az apolárosabb vegyület csak nagyon kevés polárosabb aminszenyvezést tartalmazott, és fordítva is ugyanúgy.

Az apolárosabb (valószínűleg 20R) XXXIV hidroklorid súlya 0,1731 g

Rf: 0,76 (20 % Me-Be)

Op: 260-263 °C

A polárosabb (valószínűleg 20S) XXXIV hidroklorid súlya 0,0724 g

Rf: 0,66 (20 % metanol:benzol)

Op: 267-270 °C

3 β -hidroxi-20-keto-5 α -pregnan (XXXV)

0,5 g 3 β -hidroxi-20-keto-5-pregnént 70 ml etanolban oldottuk és 0,2 g palládiumcsontszén jelenlétében hidrogéneztek. 4 óra reakcióidő után (miután a szükséges hidrogénmennyiséget az anyag elfogasztotta) a palládiumszenet kiszűrtük. A nyert (XXXV) 0,337 g.

Op: 191-197 °C

$[\alpha]_D^{20} = + 91^\circ$ (MeOH; c = 1)

$\delta_{\max}$ (CDCl_3): 0,62 (C-18 CH_3); 0,82 (C-19 CH_3)
2,08 (C-21 CH_3)
3,5 m (C-3H)

+ TAI

0,6 (C-18 CH_3); 0,82 (C-19 CH_3)
2,08 (C-21 CH_3)
4,75 m (C-3H) ppm

3 β -hidroxi-20-keto-5 α -pregnán reakciója etanolaminnal
és azt követő redukció NaBH_4 -el

5 g XXXV-höz 5 ml etanolamint adtunk és épp annyi EtOH-t, hogy a szteroid feloldódjék. Több napi főzés után metanollal hígítottuk a reakcióelegyet, majd 5 g NaBH_4 -el redukáltuk. Az oldatot cc. HCl-al pH:3-ra állítottuk be és 3x300 ml benzollal extraháltuk. A benzollal már kiextrahált oldatot K_2CO_3 -al pH:8-9-re állítottuk be és CHCl_3 -al extraháltuk. 2,3 g nyersterméket kaptunk, melyet szilikagél oszlopon 10 % EtOH: CHCl_3 eleggyel kromatografáltunk. Tisztán sikerült megkapnunk az apolárosabb szekunder-amint.

20R(β -hidroxi-etilamino)-3 β -hidroxi-5 α -pregnan (XXXVI)

0,6680 g

Op: 170-174 °C

Rf: 0,18 (20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2,5^\circ$ (c = 0,775; metanol)



16 α -alkilamino-20-keto-5-pregnén-3 β -ol hidroklorid

20-keto-3 β -hidroxi-5,14-pregnadiént fölös alkilaminban főztünk. A reakciót vékonyrétegkromatográfiával követjük és kb. 4 óra reakcióidő után az elegyet vízzel telítettük és a szteroid szekunder-amint CHCl_3 -al extraháltuk - ha csapadék, akkor szűrtük -, és vízzel mostuk. Alapos szárítás után 20 %-os HCl-as etanollal hidrokloridsót készítettünk belőle absz. etanolban.

16 α -(2'-hidroxi-etilamino-20-keto-5-pregnén-3 β -ol hidroklorid (XXXVIII)

20-keto-3 β -hidroxi-5,14-pregnadiénből elkészítettük az általános módszer szerint a 16 α -(2'-hidroxi-etil)-amino-20-keto-5-pregnén-3 β -ol hidrokloridot.

Rf: 0,21 (20% metanol:benzol)

Op: 232-233 °C

$[\alpha]_D^{20} = + 12^\circ$ (c = 1, metanol)

IR ν_{max} (KBr): 3400, 1690, 1620, 1440, 1060. cm^{-1}

16 α -izopropilamino-20-keto-5-pregnén hidroklorid (XL)

A XXXVIII-as vegyülethez hasonlóan, i-propilaminnal készült.

Op: 235-259 °C

$[\alpha]_D^{20} = + 16^\circ$ (c = 1; metanol)

Rf: 0,27 (20 % metanol: benzol)

Analízis $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$ (410,025)

Számított C: 70,29 % H: 9,83 %

Talált C: 68,21 % H: 9,15 %

IR $\gamma_{\max}$ (KBr): 3400, 1690, 1580, 1240, 1060. cm^{-1}

16 α -(2'-hidroxi-etil)-amino-5-pregnén-3 β ,20-diol
hidroklorid (XXXIX)

16 (2'-hidroxi-etil)-amino-5-pregnén-3 β ,20-diol metanolban történő NaBH₄-es redukciójával készítettük.

Op: 286-301 °C (bomlik)

Rf: 0,11 az alsó folté és 0,14 a felső folté

(20 % metanol:benzol)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -52^{\circ}$ (c=1 metanol)

IR $\gamma_{\max}$ (KBr) = 3350, 1600, 1450, 1060. cm^{-1}

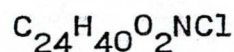
Általános munkamódszer a XLI-XLV vegyületek előállítására

3 β -hidroxi-16-oxo-16-metilén-5-androsztént alkilaminban főztünk 2-2,5 órán át. (A reakciót vékonyrétegkromatográfiával követtük). Katalizátorként 33 %-os vizes NaOH-t alkalmaztunk (2 g metilén-DEA-ra 0,5 ml-t). A reakcióelegyet betöményítettük, majd a maradékot vízzel kezeltük (XLI, XLII).

A kapott 16-alkilamino-metilén-17-keto vegyületek redukcióját NaBH₄-el, ecetsav csepegtetéssel pH:7-en végeztük el, metanolos oldatban (XLIII, XLIV, XLV).

A reakcióelegyet vízzel telítettük, és a terméket szűrtük, vízzel mostuk és metanolból kristályosítottuk.

16-szek.-butilamino-metil-3 β -hidroxi-17-keto-5-
-androsztén hidroklorid (XLI)



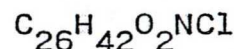
Ms: 410,045

Rf: 0,15 (metanol:benzol = 1:9)

Op: 172-179 °C

$[\alpha]_D = + 8^\circ$ (c=1; metanol)

16-ciklohexilamino-metil-3 β -hidroxi-17-keto-5-
-androsztén-hidroklorid (XLII)



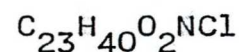
Ms: 436,091

Op: 205-207 °C

Rf: 0,4 + 0,6 (metanol:benzol = 15:85)

$[\alpha]_D = + 10^\circ$ (c=1, metanol)

16-n-propilamino-metil-3 β ,17-dihidroxi-5-androsztén
hidroklorid (XLIII)



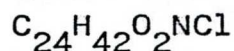
Ms: 398,035

Op: 265-267 °C és 270-274 °C

Rf: 0,15 és 0,20 (metanol:benzol = 15:85)

$[\alpha]_D = - 68^\circ$ (c=1, metanol)

16-szek.-butilamino-metil-3 β ,17-dihidroxi-5-androsztén
hidroklorid(LIV)



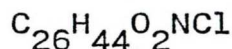
Ms: 412,061

Op: 268-278 °C

Rf: 0,05 és 0,1 (metanol:benzol = 15:85)

$[\alpha]_D = -60^\circ$ (c=1; metanol)

16-ciklohexil-aminometil-3 β ,17-dihidroxi-5-androsztén
hidroklorid (XLV)



Ms: 438,026

Op: 209-213 °C

Rf: 0,05 és 0,1 (metanol:benzol = 15:85)

$[\alpha]_D = -40^\circ$ (c=0,5; metanol)

3 β -hidroxi-17 β -n-butilamino-5-androsztén hidroklorid
(XLVI)

3,5 g 3 β -hidroxi-17-keto-5-androsztént n-butilaminban visszafolyatunk 25 órán át. A reakcióelegyet MeOH-al felhigitjuk és 4 g NaBH₄-el redukáljuk (a keletkezett Schiff-bázist). Ezután a reakcióelegyet vízzel mossuk és MeOH-ból kristályosítjuk. 3,77 g 3 β -hidroxi-17 β -n-butilamino-5-androsztént nyerünk.

Op (bázis): 74-75,5 °C

Rf: 0,25 (15 % metanol:benzol)

Analízis: $C_{23}H_{39}NO$ (345,55)

Számított C: 79,938 % H: 11,37 % N: 4,05 %

Talált C: 77,33 % H: 9,90 % N: 4,04 %

IR $\gamma_{\max}$ (KBr): 3400, 1660, 1470, 1060. cm^{-1}

3 β -hidroxi-17 β -n-butylamino-5-androsztén hidroklorid
(XLVI)

$C_{23}H_{39}NOCl \cdot HCl$ (382,018)

Op: 273-278 °C

Rf: 0,25 (15 % metanol-benzol)

$[\alpha]_D^{20} = -33^\circ \pm 2^\circ$ (c=1 metanol)

$\delta_{\max}$ (DMSO): 0,84 (C-18 CH_3); 0,96 (C-19 CH_3)

5,25 (C-6H); 2,9 (n-NH- $\underline{CH_2}$ -)

0,9 t ($\underline{CH_3}$ - CH_2 - CH_2 - CH_2 -) ppm

16-metilén-5-androsztén-3 β ,17 β -diol (XLVII)

4 g 16-metilén-17-keto-5-androsztén-3 β -ol-t metanolban

4 g $NaBH_4$ -el redukáljuk. A 3,9 g nyersterméket metanolból kristályosítjuk.

Op.: 186-188 °C

Rf: 0,28 (15 % metanol-benzol)

3 β ,17 β -di(N-n-butyl)-karbamoiloxi-16-metilén-5-androsztén (XLVIII)

2,0 g 16-metilén-5-androsztén-3 β ,17 β -diol-t 5 ml n-butyl-izocianáttal reagáltatunk diklórmétánban (15 ml)

0,9 ml trietil-amin jelenlétében. A reakcióelegyet



sósavas vízzel megsavanyítjuk és a terméket diklórmetánnal extraháljuk. Az oldatot Na_2SO_4 -on szárítjuk, bepároljuk. A 2,7 g nyersterméket benzol: petroléterből kristályosítjuk.

Op: 129-132 °C

$[\alpha]_D^{20} = -52^\circ$ (c=1, metanol)

Rf: 0,27 (1 % metanol:benzol)

Analízis: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_4$ (500,8488)

Számított: C: 71,937 %, H: 9,661 %, N: 5,622 %

Talált: C: 72,28 %, H: 10,07 %, N: 5,72 %

δ_{max} ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$): 0,74 (C-18 CH_3); 1,01 (C-19 CH_3)

0,91 t ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$)

3,15 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$)

4,6 m (C-3H); 5,3 m (C-6H)

5,02 ($-\text{CH}_2-$) ppm

Ösztra-1,3,5(10)-trién-3 β ,16,17 β -triol-3-metiléter (L)

1,4 g 16-keto-ösztra-1,3,5(10)-trién-3,17-diol-3-metiléter-t metanolban 1,5 g NaBH_4 -el redukáljuk. A nyersterméket Al_2O_3 oszlopon 50 % CHCl_3 :benzollal kromatografáljuk. A 0,72 g terméket metanolból kristályosítjuk.

Op: 137-140 °C

$[\alpha]_D^{20} = +73^\circ$ (metanol) (c=1)

Analízis: $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_3$ (301,39)

Számított: C: 75,711 % H: 8,36 %

Talált: C: 75,26 % H: 8,92 %

$\delta_{\max}(\text{CDCl}_3)$: 0,84 (C-18 CH_3); 3,71 (C-3- OCH_3)
4,2 m (C-16H)
3,4 d (C-17H)

+ TAI:

1,04 (C-18 CH_3); 3,71 (C-3- OCH_3)
4,72 m (C-17H)
5,3 d (C-16H) ppm

16-keto-ösztetra-1,3,5(10)-trién-3 β , 17 β -diol-17 β -
-(N-n-butyl)-karbamoiloxi-3-metiléter (XLIX)

1,5 g 3 β ,17 β -diol-16-keto-ösztetra-1,3,5-(10)-trién-3-metilétert reagáltattunk 6 ml diklórlmetánban 3 ml n-butilizocianáttal 0,4 ml trietilamin jelenlétében. 40 órai főzés után a reakcióelegyet vizes-sósavval savanyítjuk, majd diklórlmetánnal a terméket extraháljuk. A diklórlmetános oldatot vízzel többször mossuk, majd CaCl_2 -on szárítjuk és bepároljuk. Petroléterből kristályosítjuk. 0,7 g kristályos terméket kaptunk.

Op: 126 °C

Rf: 0,70 (5 % metanol:benzol)

Analízis: $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}$ (398,524)

Számított C: 72,33 %, H: 8,09 % N: 3,51 %

Talált C: 72,70 %, H: 7,64 % N: 3,23 %

$\delta_{\max}(\text{CDCl}_3+\text{DMSO})$: 0,85 (C-18 CH_3)
0,95 t ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$)
3,75 (C-3 OCH_3)
3,46 (OH)
5,0 s (C-17H) ppm

4-hidroxi-transz-stilben előállítása Wittig-reakcióval

/ 39 /

3,9 mmól (1,689 mg) előzőleg elkészített benzil-trifenil-foszfóniumbromidhoz N_2 alatt 23 ml terc. butanolban oldott 3,9 mmól k-terc-butilatot adunk cseppenként. A sárga színű oldathoz részletekben 3,9 mmól (475,8 mg) p-hidroxi-benzaldehydet adunk. 20 órán át N_2 -t buborékoltatunk át az elegyen, majd 50-70 °C-ra melegítjük. A lombik aljára kiülepedett a változatlan benzil-trifenil-foszfóniumsó. A butanolos oldatot vízzel kezeltük, majd sósavval pH-1-re állítottuk. A butanol és a sósav feleslegét vákuumban pároltuk le. A vízben és az olajban 4-hidroxi-transz-stilbént kaptunk, igen rossz termeléssel.

Ezért a többi stilben-származékot direkt fenilecetsavas módszerrel állítottuk elő.

4-hidroxi-transz-stilben előállítása / 40 / direkt

fenilecetsavas módszerrel (LI)

1,5 g fenil-ecetsavat és 1,5 g p-hidroxi-benzaldehydet 0,5 ml piperidin jelenlétében 150 °C-on 5 órán át főztük. A reakció befejeztével az elegyet cc. NaOH-ban oldottuk. A nátriumsó~~l~~ szűrtük, vízben felvettük és sósavval az oldat pH-ját kb 1-re állítottuk, majd vízzel kicsaptuk a fehér-színű 4-hidroxi-transz-stilbént (LI).

Op: 186-189 °C

Rf: 0,71 (5 % metanol:benzol)

Analizis: $C_{14}H_{12}O$ (196,237)

Számított C: 85,682 % H: 6,164 %

Talált C: 85,620 % H: 6,27 %

$\lambda_{\max}$: 251 nm

IR $\nu_{\max}$ (KBr): 3900 (OH); 1608, 1520 (aromás
hidrogének), 1260 (C-O-H) cm^{-1}

NMR: ($CD_3CN+CDCl_3$):

6,90 (d), 7,16 (d), transz-olefinprotonok:

$J = 16$ Hz; 7,35 (m) (monoszubsztituált aro-
más protonok)

6,80 (d), 7,40 (d) (p-diszubsztituált arom-
más protonok) ppm

4-nitro-transz-stilbén előállítása / 41 / (LII)

0,135 mol (2,46 g) fenilecetsavat és 0,133 mol (1,3 ml) benzaldehydet 1 ml piperidin jelenlétében 5 órán keresztül főztünk. A reakcióelegyet jégcetben oldot-
tuk és savas vízzel kicsaptuk. Szűrés után a csapadé-
kot vízzel neutrálisra mostuk. Metanolból átkristá-
lyosítottuk. A nyers termék súlya: 1,714 g.

Op: 158-159,5 °C

Rf: 1,07 (10 % metanol:benzol)

Analizis: $C_{14}H_{11}O_2N$ (225,235)

Számított C: 74,666 % H: 4,888 % N: 6,219 %

Talált C: 74,43 % H: 4,82 % N: -

$\lambda_{\max}$: 287 nm

IR $\nu_{\max}$ (KBr): 1590 (aromás)

1520, 1350 cm^{-1} (nitro)

NMR ($\text{CD}_3\text{CN} + \text{CDCl}_3$): 7,14 (d); 7,40 (d)

transz-olefinprotonok, $J = 16 \text{ Hz}$; 7,6 (m)

(monoszubsztituált aromás protonok)

7,7 (d), 8,22 (d) (p-diszubsztituált aromás
protonok), $J = 9 \text{ Hz/ppm}$

3,4,3'-trimetoxi-4'-hidroxi-transz-stilben (LIII)

0,02 mól (3,92) homoveratrumsavat 0,02 mól (3,04 g)
vanillinnel piperidin jelenlétében visszafolyattunk.

A feldolgozás az előbbiekhöz hasonlóan történt. A
terméket (LIII) igen alacsony termeléssel izoláltuk.

Op: 132-133 $^{\circ}\text{C}$ irodalmi op / 52 /: 133 $^{\circ}\text{C}$

Rf: 0,33 (15 % metanol-benzol)

Analízis: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4$ (286,315)

Számított C: 71,309 % H: 6,337 %

Talált: C: 70,79 % H: 6,12 %

IR $\nu_{\max}$ (KBr): 3400 (OH), 1520-1590 (Ar.CH)

1435, 1418 (CH_3)

1112 (C-O-C) cm^{-1}

UV $\lambda_{\min}$: 262 nm

$\lambda_{\max}$: 332 nm

NMR (CDCl_3): : 3,88 (s), 3,94 (s), OCH_3 5,60 (s)

(OH) 6,9 m (diszubsztituált Ar

protonok), 6,85 (d), 7,1 (d) (transz-
-olefin protonok) ppm

3-metoxi-4-hidroxi-transz-stilben (LV)

Kiindulási anyag: 0,0115 mol (2,289) vanillin,

0,0115 mol (2,04 g) fenilecetsav

A reakcióelegyet az előbbi kísérletekben leírt módon dolgoztuk fel. A nyert stilbényszármazék mennyisége 0,148 g.

Op: 131-133 °C irod. op / 42 / : 134 °C

Rf: 0,82 (15 % metanol: benzol)

Analízis: $C_{15}H_{14}O_2$ (226,263)

Számított C: 79,619 % H: 6,237 %

Talált: C: 79,13 % H: 6,34 %

IR $\nu_{\max}$ (KBr): 3400 (OH

1520, 1590 (Ar CH)

1470, 1450 (CH_3) cm^{-1}

UV $\lambda_{\max}$: 260 nm

NMR ($CDCl_3$): = 3,94 (s) (OCH_3)

5,64 (s) (OH)

6,85 (d) 7,1 (d) transz-olefinprotonok

J: 16 Hz, 7,3 (m) monoszubsztituált Ar
protonok (ppm)

3,4-dimetoxi-4'-nitro-transz-stilben / 43 / (LVI)

Kiindulási anyagok: 0,099 mól (1,5 g) veratraldehid

0,09 mol (1,18 g) p-nitro-fenil-
-ecetsav

1 ml piperidin

A nyert stilbényszármazék (LVI) súlya: 1,262 g.

Op: 131-133 °C irodalmi op: 133 °C

Analízis: $C_{16}H_{15}O_4N$

Számított C: 67,356 %, H: 5,30 %, N: 4,91 %

Talált: C: 66,27 %, H: 5,75 %, N: -

IR $\nu_{\max}$ (KBr): 1620 (olefin)
1510 (nitro)
1340 (nitro) cm^{-1}

UV $\lambda_{\max}$: 313, 250 (lapos hullám) nm

NMR ($CDCl_3$): 3,92 (s), 3,96 (s) (OCH_3) 6,9 (d)
7,27 (d)

transz olefin protonok: J = 16 Hz

7,58 (d), 8,20 (d) p-diszubsztituált

Ar protonok $\eta\eta m$

3,4-dimetoxi-4'-hidroxi-transz-stilben (LIV)

Kiindulási anyagok:

0,02 mól homoveratrumsav (3,92 g)

0,02 mól p-hidroxi-benzaldehyd (2,44 g)

1 ml piperidin

Nyertünk 0,2464 g stilbényszármazékot.

Op: 186-188 °C

Számított C: 74,97 % H: 6,29 %

Talált C: 74,63 % H: 5,90 %

$\lambda_{\max}$ = 257 nm

IR $\nu_{\max}$: 3400 (OH), 1520 (aromás CH),
1470, 1440 cm^{-1}

4-hidroxi-4'-nitro-transz-stilbén / 38 / (LVII)

Kiindulási anyagok: 2 g p-nitro-fenilecetsav

2 g p-hidroxi-benzaldehyd

1 ml piperidin

A nyert stilbén származék 2,15 g

Op: 204-208 °C

Rf: 0,77 (25 % metanol:benzol)

Analízis: $C_{14}H_{11}NO_3$ (241,236)

Számított C: 69,70 % H: 4,56 % N: 5,80 %

Talált C: 70,01 % H: 4,90 % N: 5,34 %

$\lambda_{\max}$: 306, 227 nm

IR $\gamma_{\max}$: 3400 (OH), 1510, 1340 (nitro)

1620 olfein cm^{-1}

N-(4-hidroxi-fenil-metilén)-ciklohexil-amin (LVIII)

3 g p-hidroxi-benzaldehydet 15 ml ciklohexil-ammal főzünk, 30 ml etanol hozzáadása után, 4 óráig át. Ezután egy éjjel állni hagyjuk a reakcióelegyet. A reakcióelegyből kikristályosodó terméket szűrjük, vízzel mossuk. 2 g terméket kapunk.

Op: 176-178 °C

Rf: 0,67 (20 % metanol:benzol)

IR $\gamma_{\max}$ (KBr): 3000, 1580, 1520, 1240, 1060, 840 cm^{-1}

$\delta_{\max}$ ($CDCl_3$): 1,1-től 1,9 m ciklohexén

3,15 m (ciklohexán metin proton)

6,6; 7,45: aromás

8,16: $-CH=N-$

9,55: fenolos OH ppm

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánkban antiekdizonhatású anyagok elkészítését tűztük ki célul. Az antiekdizonhatású szteroidok "tervezhetősége" érdekében hipotézist dolgoztunk ki az ekdizonok receptorfehérjén való kötődési lehetőségeiről.

Teóriánkban értelmeztük a kevesebb ekdizonelemet tartalmazó szteroidok és nem szteránvázas vegyületek által kiváltott biológiai hatás minőségét a receptoron való kötődésük (specifikus, aspecifikus kötődés, kötőelemek egymástól való távolsága) alapján.

Bebizonyosodott, hogy az antiekdizonhatás eléréséhez nem feltétlenül szükséges a szterán váz és minden ekdizonelem jelenléte. A biológiai vizsgálatok azt mutatták, hogy nem szteroid-vázú, olcsóbb vegyületek is képesek a receptoron megkötődni és antiekdizonhatást kiváltani.

A munkánkban elkészített nem szteránvázas vegyületek közül az LI-LVII vegyületek mutattak különösen jó antiekdizonhatást. A szteránvázasok közül figyelemre méltó eredményt mutattak az XLII, XLIII, XLIV és L számú vegyületek.

Sikerült tehát találnunk olyan nem szteránvázas, egyszerűbb szerkezetű, olcsó vegyületeket, melyek gazdaságosan alkalmazhatók lehetnek a rovarkártevők elleni küzdelemben.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Ábrahám A.: Összehasonlító Állatszervezetten II.
Tankönyvkiadó Bp. 1964. (800-830)
2. Berkoff, C. E.: Quarterly Rev. 23, 372 (1969).
3. Kopec, S.: Bull. Int. Akad. Sci. (Cracovice)
B. 57-60 (1917).
4. Kopec, S.: Biol. Bull. Woods Holl. 42, 323 (1922).
5. G. Frankel; Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B, 118,
1 (1935).
6. A. Butenandt and P. Karlson, Z. Naturforsch., 9b,
389 (1954).
7. Peter Karlson, H. Hoffmeister, H. Hummel, P. Hocks,
und G. Spiteller: Chem. Ber. 98, 2394 (1965).
8. R. Huber und W. Hoppe: Chem. Ber. 98, 2403 (1965).
9. P. Karlson, Vitamins Hormones, 14, 227 (1956).
10. Hampshire, Horn: Chem. Comm. 37 (1966).
11. D. H. S. Horn, E. J. Middleton and J. A. Wunder-
lich: Chem. Comm. 339 (1966).
12. H. Hoffmeister, Angew. Chemie 78, 269-270 (1966).
13. M. D. Stamm, Anales Fis. Quim. (Madrid) 55 B,
171 (1959).
14. K. Nakanishi, M. Koreeda, S. Sasaki, M. L. Chang
and H. Y. Hsu: Chem. Comm. 917 (1966).
15. J. Jizba and V. Herout: Coll. Czech. Chem. Comm.,
32, 2867 (1967).

16. S. Imai, E. Murata, S. Fujioka, M. Koreeda, and K. Nakanishi: Chem. Comm. 546 (1969).
17. R. R. Mills, C. R. Lake, and W. L. Alworth, J. Insect. Physiol. 13, 1539 (1969).
18. P. Karlson, H. Hoffmeister, W. Hoppe, and R. Huber, Justus Sicligs Ann. Chem. 662, 1 (1963).
19. H. Hoffmeister, C. Rufer, H. Keller, H. Shairer and P. Karlson, Chem. Ber. 98 (1965).
20. H. Hoffmeister, C. Rufer, Chem. Ber. 98(2), 2376 (1965).
21. Jizba, J., Heront, V., Sorm, F. Tetrahedron Letters 1689-1696 (1967).
22. F. Hampshire and D. H. S. Horn, Chem. Comm. 37 (1966).
23. K. Shimizu, M. Gut, and R. I. Dorfman, J. Biol. Chem., 237, 699 (1962).
24. G. Hüppi and J. B. Siddal, J. Am. Chem. Soc. 89, 6790 (1967).
25. Csaba György, Természet Világa 1976. No 4. 521 p.
26. W. E. Robbins, J. N. Kaplanis, M. J. Thompson, T. J. Shortino, S. C. Joyner: Steroids 16, 105 (1970).
27. C. J. Chihara, W. H-Petri, J. W. Fristrom, D. S. King, J. of Insect Phys. 18, 1115-23 (1972).
28. J. A. Svoboda, M. J. Thompson, W. E. Robbins, Lipids, Vol 7, No 8 553 (1972).

29. J. A. Svoboda, and W. E. Robbins, *Lipids* Vol 6, No 2.1113 (1970).
30. M. J. Thompson, N. N. Sherban, W. E. Robbins, J. A. Svoboda, T. J. Shortino, S. R. Dutky and C. F. Cohen, *Lipids*, Vol 10. No 10. 615 (1975).
31. D. H. S. Horn, S. Fabbi, F. Hampshire and M. E. Lowe, *Biochem. J.* 109, 399 (1968).
32. M. N. Galbraith and D. H. S. Horn, *Aust. J. Chem.* 22, 1045 (1969).
33. D. U. Patel, V. Petrow and I. A. Stuart-Wetb, *J. Chem. Soc.* 665 (1957).
34. C. W. Shoppe and G. H. R. Summers, *J. Chem. Soc.* 3361 (1952).
35. Westphalen, *Chem. Berichte* 48, 1064 (1915).
36. L. F. Fieser and Srimivasa Rajagopalan, *J. Am. Chem. Soc.* 71, 3938 (1949).
37. Middleton, D. H. S., Horn, M. N. Galbraith, *Aust. J. Chem.* 1245-52, 25, (1972).
38. O. H. Wheeler and H. N. Battle de Pabon, *J. Org. Chem.* 30, 1965, 1473.
39. Drefahl, *Ber.* 98, 604 (1965).
40. Hewitt, W. Lewcock, F. G. Pope, *J. Chem. Soc.* 101, 604 (1912).
41. P. Pfeiffer, S. Sergiewshaja, *Ber.* 44, 1107 (1911).
42. B. B. Dey, K. K. Row.: *J. Indian Chem. Soc.* 1, 284. (Beilstein VI. II. Erg. werk. 987).

43. Kauffmann: Ber. 54, 802.
44. M. S. Patel and W. J. Peal, J. Chem. Soc. 1544 (1963).
45. M. Rosenkrantz and Djerassi, J. Org. Chem. 16, 1 (1951).
46. H. Velgova, L. Labler, V. Cerny, F. Sorm and K. Slama, Coll. 33, I. 242 (1968).
47. J. H. Beynon, I. M. Heilbron and F. S. Spring, J. Chem. Soc. 1459 (1937).
48. C. E. Berkoff: Quart. Rev. 23, 372 (1969).
49. P. Wieland und K. Miescher, Helv. Chim. Acta XXXII. 1922. (1949).
50. Petrow, V., and Stuart-Wetb, I. A., J. Chem. Soc., 4675 (1956).
51. F. Dordoni, G. Giacomello, M. L. Stein, Ricerca Sci. 70 (1951).
52. Horst Nimz.: Ber. 99, 2638 (1966).
53. Petrow, J. Chem. Soc. 1077 (1937).
54. Swern, Billen and Findlay, J. Am. Chem. Soc. 67, 1786 (1945).

Köszönetet mondok Dr. Bartók Mihály tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy az általa vezetett tanszéken lehetővé tette számomra disszertációm elkészítését.

Hálás köszönetem fejezem ki dr. Vincze Irén egyetemi docensnek, hogy ezzel a szép, érdekes munkaterülettel megismerttetett és munkám során elméleti és gyakorlati tanácsaival segítségemre volt.

A biológiai vizsgálati eredményekért köszönetet mondok dr. Marói Péternek és dr. Fekete Évának a MTA Biológiai Központ munkatársainak.



GYÓGYSZERKUTATÓ INTÉZET KFT.

1045 BUDAPEST, Berliu u. 47-49

Postacím: 1325 Budapest, Pf. 82 Telefon: 169-0011 Tx: 224219 Fax: 169-3229 Adólg. sz.: 10776652201 MHB: 201-59120

Dr. Gulya Károly
általános dékánhelyettes
József Attila Tudományegyetem
Természettudományi Kar

Budapest, 1997.03.27.
Iktatószám :
Osztály :
Ügyintéző :
Telefon :

Szeged
Aradi vértanuk tere 1.
6720

Tisztelt Dékánhelyettes Úr!

Nagy örömmel vettem és megtiszteltetésnek érzem, hogy a JATE Természettudományi Kar Doktori Tanácsa felkért Dr. Szendi Zsuzsanna egyetemi doktori fokozatának átminősítése érdekében benyújtott - tudományos tevékenységét összefoglaló - téziseinek bírálatára.

Rendhagyó módon már bírálatom elején le kívánom szögezni, hogy a jelölt tudományos tevékenysége messze túlmenően megfelel a doctor univ. fokozat PhD-vé történő átminősítés feltételeinek.

Állításomat a következők indokolják:

- 1.) A jelölt 20 év óta végez kimagasló kutatómunkát a nemzetközileg is elismert - kiváló tudósok, Vincze Irén és Schneider Gyula professzorok által vezetett - szegedi szteroidkémiai munkacsoport tagjaként.
- 2.) A jelölt 1981-ben készített doktori értekezése felülmúlta az egyetemi doktori fokozat tudományos követelményeit és elérte a tudományok kandidátusa fokozatát.
- 3.) A benyújtott összefoglaló tézisek, illetve a mellékelt tudományos publikációk alapján a bíráló arra a megállapításra kell hogy jusson, hogy a jelölt azóta sem tétlenkedett. Sőt színvonalban az előzőeknél is magasabban teljesített, a publikációk nagy száma pedig egy igen szorgos kutatómunkára utal.
- 4.) A jelölt tudományos eredményeit igen "jó nevű" folyóiratokban közli, ami - ismerve ezek igen szigorú elfogadási követelményeit - egyben garancia a megfelelő tudományos színvonalra.

- 5.) Külön értéke a jelölt tudományos tevékenységének, hogy kutatásai nem "öncélúak", igen gyakran gazdasági megfontolásokból végez hasznos munkát.

Úgy gondolom, hogy egy ilyen egyértelmű esetben részletekbe menni, vitatni valaminek a jogosultságát, megkérdőjelezni valaminek a helyességét a fentiek alapján csak formalitás lenne, ezért ezt nem teszem!

Bírálatom zárásaként egyértelműen úgy nyilatkozom, hogy a jelölt által bemutatott anyag alkalmas a nyilvános védésre és sikeres védés esetén a jelölt teljesítménye alapján melegen javaslom a PhD fokozat odaitélését.

Üdvözlettel:


dr. Makk Nándor
kém. tud. kandidátusa

Vélemény

Dr. Szendi Zsuzsanna:

**Oldalláncban módosított koleszterinanalógok és más potenciálisan biológiailag aktív
szteroidok szintézise
című téziseiről**

Szendi Zsuzsanna munkája során sikerrel kapcsolódott be a Schneider Gyula és Vincze Irén professzor által régóta eredményesen művelt témába, a potenciálisan gyógyhatású, módosított szteroidok szintézisének és sztereokémiájának vizsgálatába. A szép formában összeállított tézisek egyes pontjai tulajdonképpen csak laza szálon az alapváz azonossága folytán függenek össze.

Az eredményekből ezideig hat idegen nyelvű és két magyar nyelvű dolgozat jelent meg. Ezek együttes impaktja: 6.67 (az 1995-ös SCI Journal Citation Reports alapján). Az eredményekből két szabadalmi bejelentés és több hazai és külföldi kongresszusi előadás is született. A tézishoz felhasznált publikációk között a szerző közlésre előkészített munkákat is tárgyal, illetve az eredmények között említ, így aztán az első kérdésem erre vonatkozik, milyen előrehaladás történt a 8., 12. és 14. irodalmaknál, ahol a jelölt két *Steroids* és egy *Tetrahedron* dolgozatot ígér?

Az értekezés anyaga jórészenek a kritikája tulajdonképpen a dolgozatok magas színvonalú folyóiratokban történő elfogadásával megtörtént, így az opponensnek csak az a dolga, hogy megpróbálja a legfontosabb tudományos eredményeket kiemelni, illetve néhány kérdést feltenni, melyeknek kapcsán a jelöltnak módjában áll a témában való elmélyültségét bizonyítani. Természetesen a nem közölt eredmények tárgyalását is vizsgálat alá kell tenni.

A jelölt kutatásai során elért, az általam fontosabbnak talált eredmények a következők:

1. Új, sztereoszelektív szintézisutakat dolgozott ki 27-nor- illetve 26-, 27-bisz-norkoleszterinszármazékokra. Megoldotta több előállított vegyület teljes proton és szénspektrum jelhozzárendelését.

2. Szteroid modellen érdekes hidrid-ion vándorlási reakciót talált, melyet szemiempirikus kvantumkémiai számításokkal igyekezett értelmezni.

3. Epoxid intermediereken keresztül oldalláncban hidroxilezett 27-norkoleszterineket nyert.

4. Módszert dolgozott ki tríciummal jelzett 17-béta-ösztadiol hideg prekursorainak szintézisére.

5. Különböző módszerekkel több amino és acilamino-szteroid szintézisét valósította meg.

Az értekezés olvasása közben a bírálóban felmerült kérdések, illetve kritikai észrevételek közül néhány:

1. Bár a tézis igen rövid terjedelmű, a jelölt által alkalmazott számozás nem tűnik túl ésszerűnek. Sajnos igen megnehezíti a munka olvasását, hogy a vegyületek sok helyen sem precíz névvel, sem számmal nincsenek ellátva, így az olvasó néhol csak valószínűsíti, hogy miről is lehet szó.

2. A 19. oldal utolsó mondata számomra értelmezhetetlen. Ha 100%-ban visszanyerték a kiindulási anyagot, akkor a **22a,b** termékek miből keletkeztek?

3. A 20 oldal 3. mondata még ennél is ellentmondásosabb. "Csak a **2** vegyület titrálható meg könnyen brómmal, mivel a 3-béta-acetoxi csoportot viselő (20R)-**10** esetében gyakorlatilag nincs differencia a brómozott termékek és a kiindulási anyagok R_f-je között..." Ezek szerint bizonyos vegyületek brómozhatósága és az R_f értékek között van összefüggés?

4. A 21. oldal 2. bekezdésében az írja, hogy a 23-C konfigurációját FT IR vizsgálatokkal bizonyították. Sajnos nem ír semmit arról, hogyan végezték a bizonyítást, az ezirányú eredmények pedig publikálatlanok. Kérem fejtse ki a bizonyítás lényegét!

5. Az aminoszteroidokkal foglalkozó 3.7. fejezetben hiányérzetem támadt az elvégzett kísérletekkel kapcsolatban. A munkában oximokból redukcióval aminokat nyertek. Meghatározták a termékek diasztereomer arányát. A redukciós módszerek változtatása ezeket az arányokat jelentősen megváltoztatta. Nem próbálták a módszereket úgy változtatni, hogy a termékarány egyik vagy másik irányba jelentősen eltolódjon? Vizsgálták-e a kiindulási oxim konfigurációját? Esetleg elvégezték-e a redukciókat a tiszta oxim diasztereomerekből?

6. A 22. oldal közepén az állítja a jelölt, hogy fémoxid, vagy fém sók jelenlétében végzett nátrium-borohidrides redukcióval az aminokat sokkal jobb termeléssel nyeri, mint egyéb ismert redukciós módszerekkel. Ez ellentmond a témából a *Monatshefte*-ben

megjelent közlemény 1192. oldalán található adatokkal. Hogyan értelmezi akkor az állítását?

A tézisek nyelvezete nehézkes, a közölt információk nem elégségesek, különösen hiányzanak ezek a mégcsak beígért publikációknál. Így sajnos az összeállítás csak a fióknak (meg a bizottságnak és a bírálóknak) készült, más nem igazából tudja majd azt használni. A bíráló úgy látná helyesnek, ha az elért eredmények tényszerű felsorolása szerepelne a tézisekben, természetesen a célok megjelölésével és a legfontosabb irodalmi háttérinformációkkal együtt. Az opponens szívesebben olvasta volna az értekezés eredményeiből levonható konkrét következtetéseket.

Összefoglalva: A tézis több értékes új tudományos eredményt tartalmaz. A felsorolt kritikai észrevételek részben csak szépségfoltok az egyébként értékes eredményeket leíró értekezésben. A témakörben eddig megjelent és beküldött dolgozatok összimpakt faktora 6.67. A fentiek alapján Dr. Szendi Zsuzsa egyetemi doktori fokozata, PhD fokozattá történő átminősítésének nyilvános vitára való kitűzését javaslom. Sikeres védés után támogatom a PhD fokozat odaítélését.

Szeged, 1997. április 23.


(Dr. Fülöp Ferenc)