

Ph.D. értekezés tézisei

17 β -Pirazolil és -pirazolinil szteroidok szintézise és szerkezetvizsgálata

Iványi Zoltán

SZTE Kémia Doktori Iskola

Témavezetők:

Prof. Dr. Schneider Gyula

Prof. Dr. Wölfling János



Szegedi Tudományegyetem

Szerves Kémiai Tanszék

Szeged

2012

1. Bevezetés és célkitűzések

Kedvező élettani hatásai miatt a heterociklust tartalmazó szteránvázas vegyületek szintézise az utóbbi két évtizedben széles körben kutatott. A 17-*exo*-heterociklusos szteroidok számos képviselőjéről igazolták, hogy gátló hatást fejtenek ki az androgén hormonok bioszintézisében kulcsszerepet játszó enzimekre. Ez utóbbi tulajdonságuk miatt alkalmasak lehetnek a *benignus prostata hyperplasia*, valamint a *prostata carcinoma* terápiás kezelésére. A legújabb kutatások a heterociklusos szteroidok humán ráksejtvonalakon mért antiproliferatív hatásáról is beszámolnak.

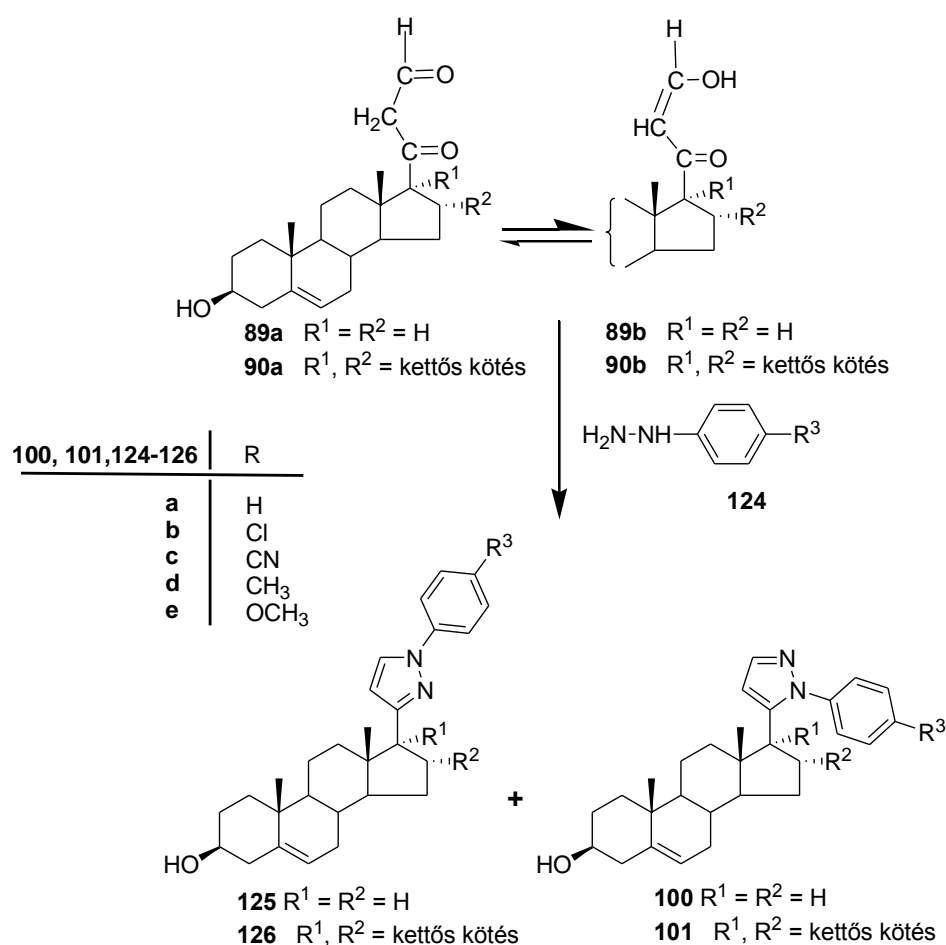
Kutatómunkánk során olyan új androszt-5-én és androszta-5,16-dién származékok szintézisét tűztük ki célul, amelyek az alapváz 17-es helyzetében pirazol, illetve pirazolin gyűrűt tartalmaznak. A szintézisek során a reakciók regio- és sztereoselektivitásának vizsgálata, valamint a képződő izomerek kromatográfiás elválasztása volt a célunk. Az előállított vegyületek szerkezetigazolására NMR spektroszkópiai vizsgálatok elvégzését terveztük.

2. Vizsgálati módszerek

A reakciók többségét millimólos mennyiségű kiindulási anyaggal végeztük, lejátszódásukat vékonyréteg-kromatográfiával követtük. Az előállított vegyületeket oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottuk, szerkezetük meghatározása ^1H és ^{13}C NMR spektroszkópiai módszerekkel történt. Néhány vegyület szerkezetbizonyításához kétdimenziós NMR spektroszkópiai módszereket (COSY, HSQC, NOESY) is alkalmazunk.

3. Új tudományos eredmények*

3.1. Azt találtuk, hogy a 3β -hidroxi-21-hidroxiacetilidénpregn-5-én-20-on (**89**) fenilhidrazinnal (**124a**) végzett gyűrűzárási reakciója a korábbi irodalmi megállapításokkal ellentétben regioizomerek keverékéhez vezetett (1. ábra). A 17β -(1-fenil-5-pirazolil)androszt-5-én-3 β -ol (**100a**) mellett a 17β -(1-fenil-3-pirazolil)androszt-5-én-3 β -ol (**125a**) is jelentős mennyiségben keletkezett (1. ábra).



1. ábra

3.2. A reakciót *p*-szubsztituált fenilhidrazin származékok **124b–e** hidrokloridjainak felhasználásával is elvégeztük, melynek során a regioizomerek (**125b–e**, **100b–e**) képződését továbbra is megfigyeltük. Az 5-pirazolil androsztének (**100b–e**) minden esetben polárisabbnak bizonyultak a megfelelő 3-pirazolil származékoknál (**125b–e**). A

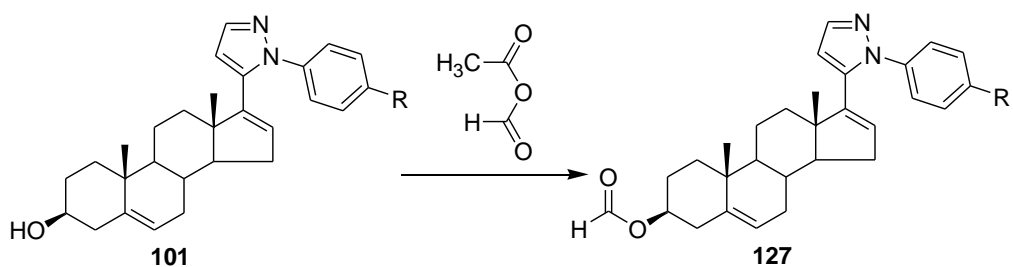
* A vegyületszámolás megegyezik a disszertációban alkalmazottal

vegyülepárokat oszlopkromatográfias módszerrel minden esetben sikerült elválasztanunk egymástól.

3.3. Azt tapasztaltuk, hogy a reakciók során az izomerek arányát a *p*-helyzetben alkalmazott szubsztituensek erősen befolyásolják. Az elektront küldő szubsztituensek (pl. *p*-OCH₃) növelték a 3-pirazolil regioizomerek mennyiségét, míg az elektront vonzó szubsztituensek esetén (*p*-Cl, *p*-CN) az 5-pirazolil származékok voltak izolálhatók fő termékként.

3.4. Megfigyeltük az izomerek arányának a reakciókörülményektől való függését is. A **89** szinten ekvivalens diklórmétánban, *Lewis* sav katalízissal végzett gyűrűzárási reakcióiban jelentősen megnőtt a 3-pirazolilandrosztének (**125a–e**) aránya.

3.5. A fenilhidrazinnal, valamint *p*-szubsztituált származékaival végzett gyűrűzárási reakciókat a 3β-hidroxi-21-hidroximetilidénpregna-5,16-dién-20-onnal (**90**) is elvégeztük, melyet piridinben, alacsony hőmérsékleten végzett *Claisen* kondenzációval állítottunk elő. Megállapítottuk, hogy a megfelelő telített származékoknál megfigyelt regioizomerek ez esetben is képződnek (**101a–e**, **126a–e**), ugyanakkor jóval nagyobb az 5-pirazolil izomerek aránya (1. ábra). Kimutattuk továbbá a 3β-formiloxi-17β-(1-fenil-5-pirazolil)androszta-5,16-dién, valamint a megfelelő szubsztituált származékainak képződését (**127a–e**) (2. ábra). A jelenséget a kiindulási anyag *retro-Claisen* kondenzációja során keletkező hangyasav-ecetsav-anhidriddel történő észteresítéssel magyaráztuk.

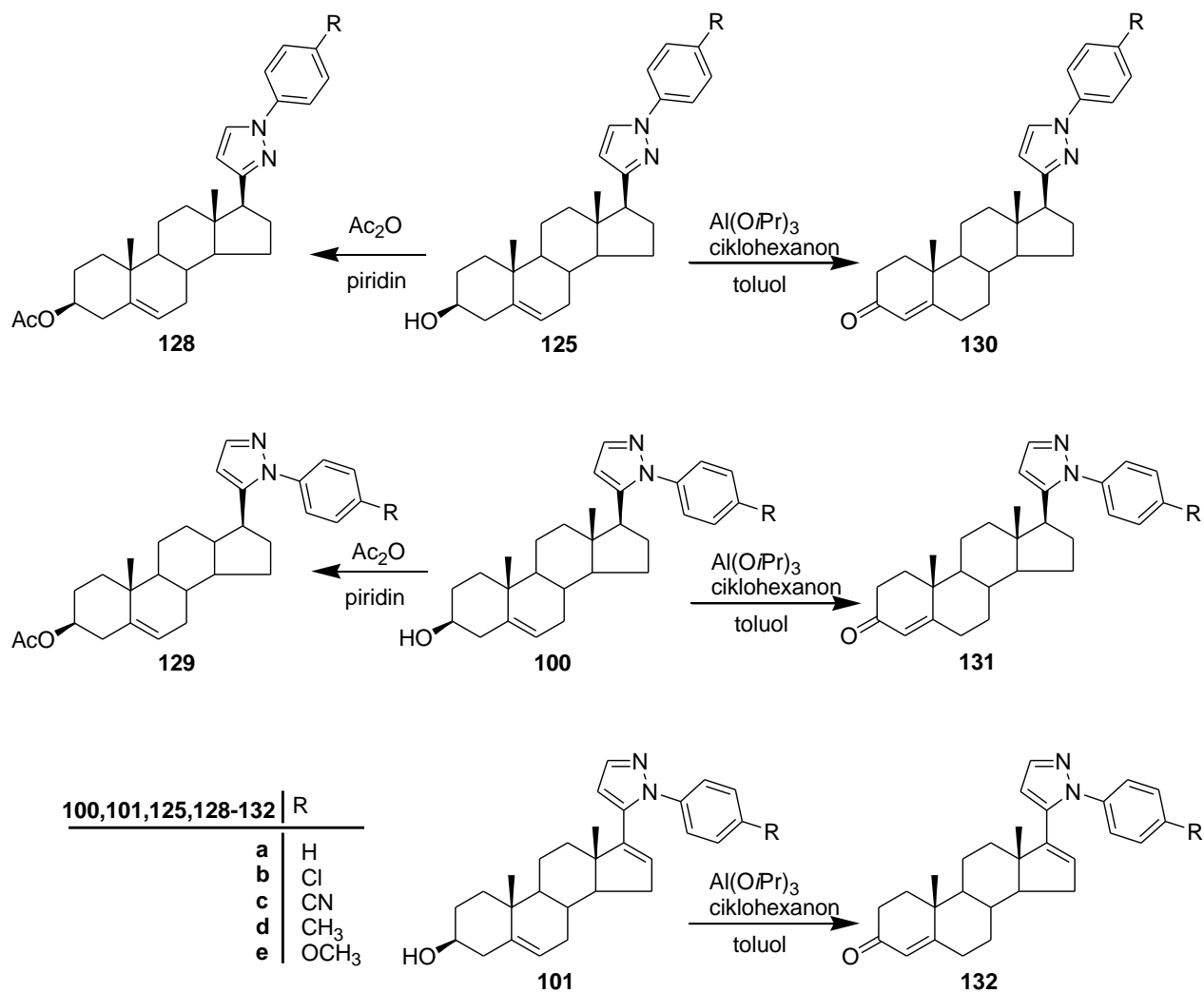


101, 127	R
a	H
b	Cl
c	CN
d	CH ₃
e	OCH ₃

2. ábra

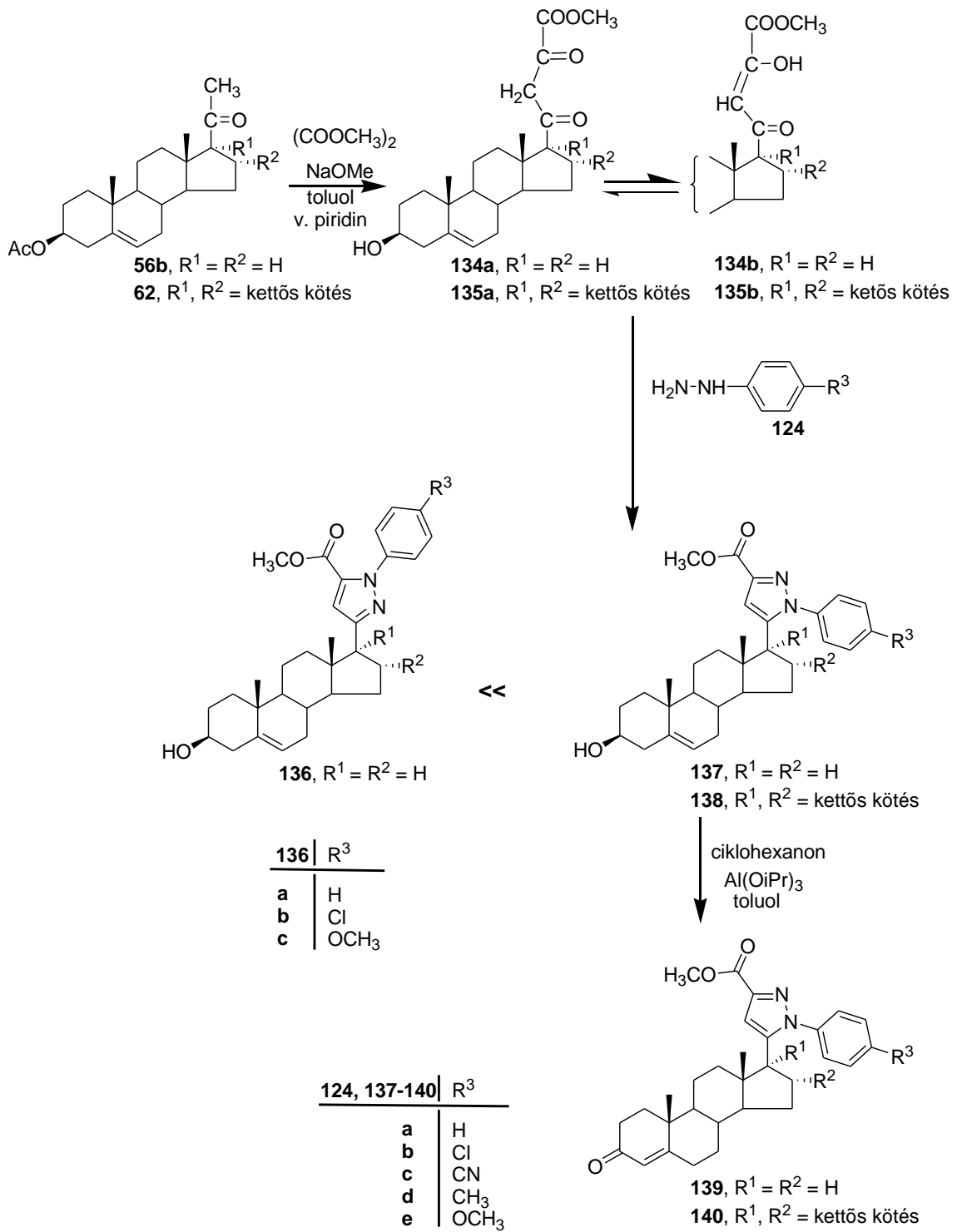
3.6. Az androszt-5-én és androszta-5,16-dién vázas pirazolok regioizomerei jellemző különbséget mutattak a fajlagos forgatási értékekben. Megfigyeltük, hogy a **100a–e** és **101a–e** vegyületeknél ezen értékek minden esetben negatívabbak, mint a megfelelő **125a–e** és **126a–e** izomereknél.

3.7. A 3-as helyzetben hidroxilcsoportot tartalmazó **100a–e** és **125a–e** vegyületek 3 β -acetoxi származékait (**128a–e**, **129a–e**) is előállítottuk és jellemeztük. A **125a–e**, **100a–e** és **101a–e** vegyületekből *Oppenauer* oxidációval, a heterociklus felnyílása nélkül a megfelelő Δ^4 -3-ketoszteroidokhoz (**130a–e**, **131a–e**, **132a–e**) jutottunk (3. ábra).



3. ábra

- 3.8. Az előállított vegyületek (**100a–e**, **101a–e**, **125a–e**, **126a–e**, **127a–e**, **128a–e**, **129a–e**, **130a–e**, **131a–e**, **132a–e**) szerkezetét ^1H és ^{13}C NMR spektroszkópiai módszerekkel vizsgáltuk. A spektrumok minden esetben igazolták a heterociklus kiépülését. Az egyes izomer párok heteroaromás jeleinek kémiai eltolódásai között jellegzetes különbségeket figyeltünk meg, melyek az 1,3- illetve 1,5-diszubsztituált pirazolokra jellemzőek, ezek alapján az izomerek azonosítása megerősíthető volt. Megállapítottuk továbbá, hogy az androszta-5,16-dién vázas regioizomerek (**101a–e**, **126a–e**) 16-H jelei szintén jellemző eltolódásbeli különbséget mutattak.
- 3.9. A vizsgálatainkat kiterjesztettük metoxikarbonil csoportot tartalmazó pirazolil szteroidok szintézisére. A megfelelő szünton ekvivalensek előállítása a pregnenolon-acetátból (**56b**), valamint a pregnadienolon-acetátból (**62**) dimetil-oxaláttal végzett *Claisen* kondenzációval történt. Azt tapasztaltuk, hogy az átalakítás jó termeléssel vezetett a 3β -hidroxi-21-metoxalilpregn-5-én-20-onhoz (**134**). A 3β -hidroxi-21-metoxalilpregna-5,16-dién-20-on (**135**) előállítására a 3β -hidroxi-21-hidroximetilidénpregna-5,16-dién-20-on (**90**) szintézise esetén alkalmazott reakciókörülmények alkalmazhatónak bizonyultak (4. ábra).
- 3.10. A metoxikarbonil csoportot tartalmazó szünton ekvivalensek (**134** és **135**) gyűrűzárási reakcióinak vizsgálata során arra a következtetésre jutottunk, hogy ezek fő termékként minden esetben az 5-pirazolil regioizomereket eredményezik (**137a–e**, **138a–e**). A 3-pirazolil izomerek csak kis mennyiségben képződtek, de néhány esetben sikeresen izolálhatók voltak (**136a–c**).

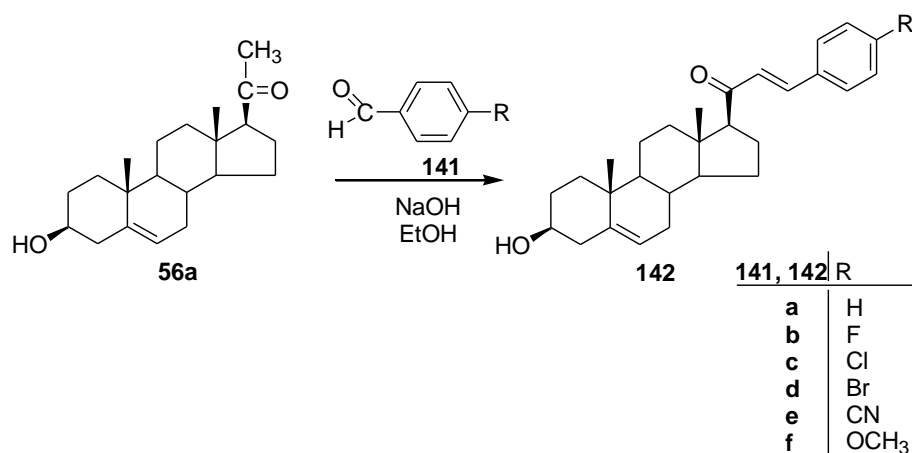


4. ábra

3.11. Az újonnan előállított **137a–e** és **138a–e** 3 β -hidroxi származékok *Oppenauer* oxidációja jó termeléssel vezetett a megfelelő Δ^4 -3-ketoszteroidokhoz (**139a–e**, **140a–e**).

3.12. Az előállított metoxikarbonil-pirazolok (**136a–c**, **137a–e**, **138a–e**, **139a–e**, **140a–e**) szerkezetét NMR spektroszkópiával igazoltuk, és megállapítottuk, hogy az izomerek spektrumain az észter metilcsoport ^1H NMR jele, valamint a C-4' jellemző eltolódásbeli különbséget mutat.

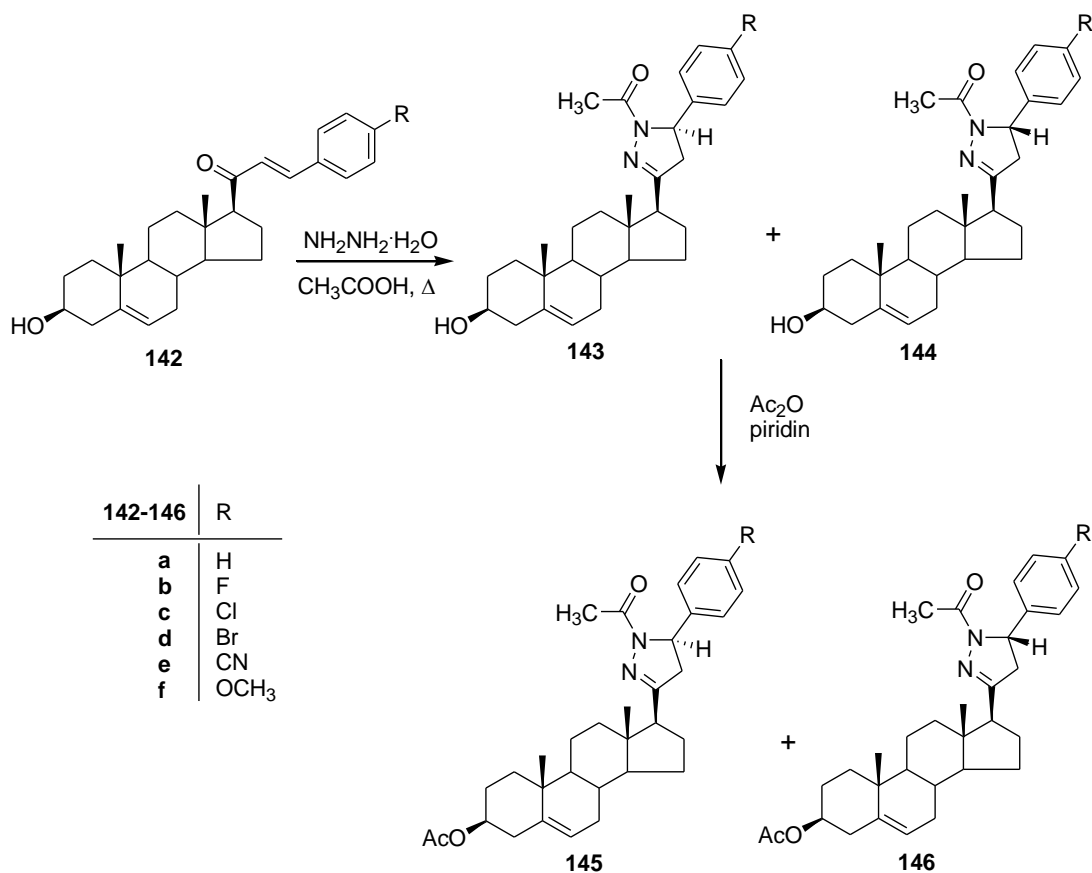
3.13. A pregnenolonból (**56a**) kiinduló további szintézissel 21-benzilidénpregn-5-én származékokhoz (**142a–f**) jutottunk, amelyeket bázisos közegben végzett aldol kondenzációval nyertünk. A vegyületek NMR spektroszkópiai vizsgálatával igazoltuk a 21-es helyzetű kettőskötés *E* geometriáját (5. ábra).



5. ábra

3.14. Az előállított, a fenilcsoporton *p*-helyzetben különbözőképpen szubsztituált benzilidének (**142a–f**) gyűrűzárási reakcióit hidrazin-hidráttal végeztük. A reakció a korábbi irodalmi megállapításokkal szemben 5'*R* és 5'*S* pirazolinilandrosten epimerek (**143a–f** és **144a–f**) keverékéhez vezetett. Megállapítottuk, hogy a kiindulási anyag *p*-helyzetű szubsztituensétől függetlenül a képződött izomerek aránya (*R/S*) 1:2-volt (6. ábra).

3.15. A kritikus izomer párok elválasztását a nyers reakcióelegyek acetilezésével, majd a keletkezett 3 β -acetátok (**145a–f** és **146a–f**) szilikagél oszlopon végzett kromatográfiájával valósítottuk meg. Az elválasztott acetátokat *Zemplén* szerinti dezacetilezéssel visszaalakítottuk a megfelelő 3 β -hidroxi származékokká (**143a–f** és **144a–f**).



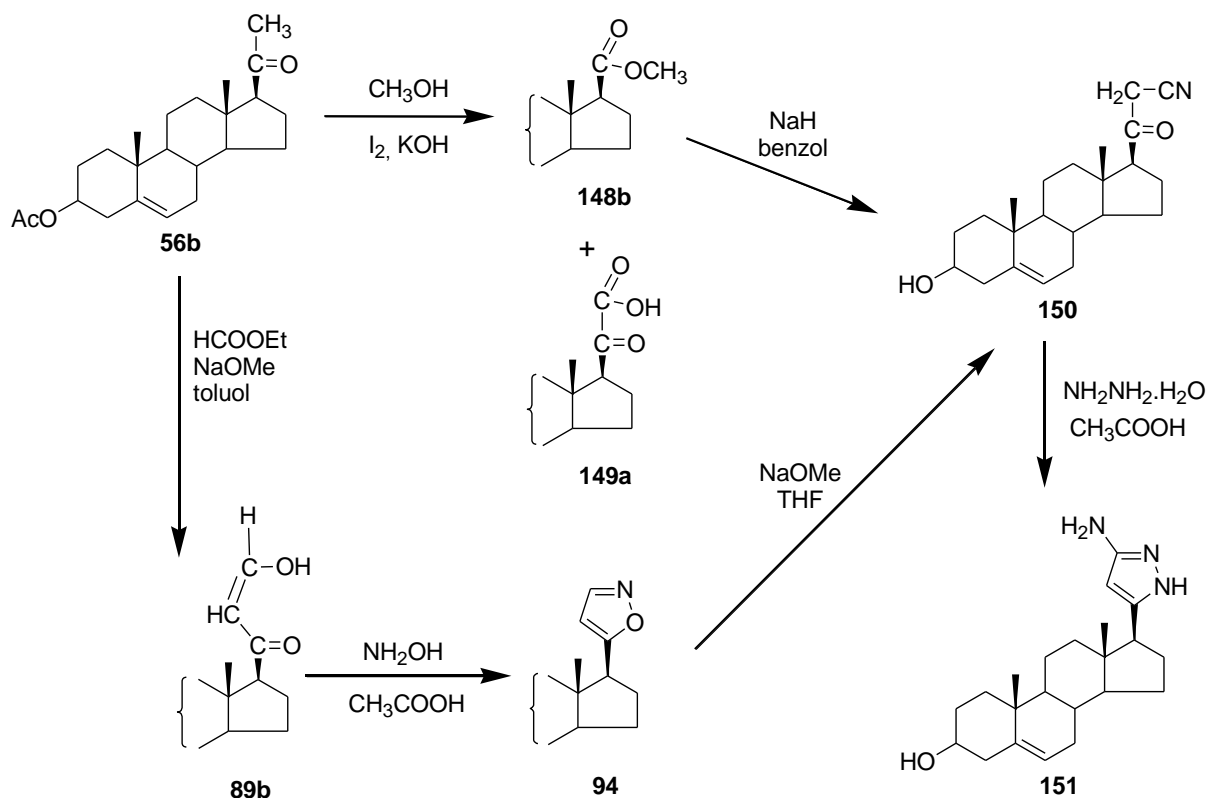
6. ábra

3.16. Összehasonlítottuk az elválasztott izomerek NMR spektrumait, és azt tapasztaltuk, hogy a 4'-CH₂ csoport protonjai az 5'*R* és 5'*S* izomer sorozatokban jellegzetes különbséget mutatnak. A jelenség kétdimenziós NMR spektroszkópiai vizsgálatával (H,H-COSY, HSQC, NOESY) sikerült az izomerek szerkezetazonosítását is megvalósítanunk. Ennek során a 4'-CH₂ csoport protonjainak az 5'-helyzetű protonnal és fenilcsoporttal, valamint a váz protonjaival való távolsági kölcsönhatásait elemeztük.

3.17. Megvizsgáltuk egy új típusú szüntön ekvivalens, a 3β-hidroxi-21-cianopregn-5-én-20-on (**150**) előállításának lehetőségeit. Elvégeztük két, pregnenolon acetátból (**56b**) kiinduló szintézismódszer összehasonlítását. Az első módszer során a kiindulási anyagból a 3β-hidroxi-etiolol-5-énsav metil észterét (**148b**) képeztük, majd ezt NaH jelenlétében acetonitrillel reagáltattuk. A második módszer során a már korábban előállított a 3β-hidroxi-21-hidroximetilidénpregn-5-én-20-ont (**89**) hidroxilamin-hidrokloriddal reagáltatva egy izoxazol származékhoz (**94**) jutottunk, amelyet bázissal felnyitottunk (7.

ábra). Az előállított **150** vegyület hidrazin-hidráttal végzett reakciója a 17 β -[3(5)-amino-5(3)-pirazolil]androszt-5-én-3 β -olhoz (**151**) vezetett.

3.18. A 3 β -hidroxi-etiol-5-énsav haloform reakcióval történő előállításakor megvizsgáltuk a vonatkozó irodalmak ellentmondásait. Azt tapasztaltuk, hogy a metanolos közegben történő átalakulás során a 3 β -hidroxi-etiol-5-énsav metil észtere (**148b**), valamint a haloform reakcióban nem várt termékként a 3 β -hidroxipregn-5-én-20-on-21-karbonsav (**149a**) keletkezik. A vizes dioxánban vezetett reakció az irodalmi tapasztalatokkal ellentétben a szabad etiololénsav mellett jelentős mennyiségű 3 β -hidroxipregn-5-én-20-on-21-karbonsavat is szolgáltat (**149a**).



7. ábra

4. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények

1. Synthesis of regioisomeric 17β -*N*-phenylpyrazolyl steroid derivatives and their inhibitory effect on 17α -hydroxylase/ $C_{17,20}$ -lyase
Iványi Zoltán, Wölfling János, Görbe Tamás, Szécsi Mihály, Wittmann Tibor, Schneider Gyula
Steroids **2010**, 75, 450–456.
Impakt faktor (2010): **3,106**
2. Regioizomer androszt-5-én-, és androszta-5,16-dién vázas *N*-fenil-pirazolok szintézise (Synthesis of regioisomeric *N*-phenylpyrazolyl derivatives of androst-5-ene and androsta-5,16-diene)
Iványi Zoltán
Magyar Kémikusok Lapja **2010**, LXV, 391–393.
Impakt faktor: –
3. Synthesis of D-ring-substituted ($5'R$)- and ($5'S$)- 17β -pyrazolinylandrostene epimers and comparison of their potential anticancer activities.
Iványi Zoltán, Szabó Nikoletta, Huber Judit, Wölfling János, Zupkó István, Szécsi Mihály, Wittmann Tibor, Schneider Gyula
Steroids **2012**, 77, 566–574.
Impakt faktor (2011): **2,829**
4. Novel series of 17β -pyrazolylandrosta-5,16-diene derivatives and their inhibitory effect on 17α -hydroxylase/ $C_{17,20}$ -lyase
Iványi Zoltán, Szabó Nikoletta, Wölfling János, Szécsi Mihály, Julesz János, Schneider Gyula
Steroids, **2012**, 77, 1152–1159.
Impakt faktor (2011): **2,829**

A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 8,764

5. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos előadások és poszterek

Előadások:

1. Egy szokatlan jodoform reakció a pregnánvázis vegyületek sorában

Iványi Zoltán

A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 8. tudományos előadóülése

Szeged, 2008. április 16.

2. Öttagú exo-heterociklusos szteroidok szintézise (nívódíjas előadás)

Iványi Zoltán

XXXI. Kémiai Előadói Napok

Szeged, 2008. október 27–29.

Program és előadás-összefoglalók 45–46. o.

3. An unusual iodoform reaction in the pregnane series

Iványi Zoltán

The 13th International Symposium for Students in Chemistry

Timișoara, 2008. november 21–22.

4. 17 β -*N*-fenil-pirazolil szteroidok előállítás

Iványi Zoltán

A MTA Szteroidkémiai Munkabizottságának éves ülése

Szeged, 2008. november 27.

5. Regioizomer androszt-5-én- és androszt-5,16-dién vázas *N*-fenil-pirazolok szintézise (első díjban részesült előadás)

Iványi Zoltán

A Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 10. tudományos előadóülése

Szeged, 2010. május 5.

Poszterek:

1. Regioselective syntheses of some 17β -*N*-phenyl-carbomethoxy-pyrazolyl steroids
Iványi Zoltán, Schneider Gyula, Wölfling János
COBC 2009 - German-French-Hungarian Congress in Organic and Biomolecular Chemistry
Budapest, 2009. június 20–23.
Book of Abstracts P-7, p. 43.
2. Syntheses of some 17β -*N*-phenylpyrazolyl steroids as inhibitors of human 17α -hydroxylase/ $C_{17,20}$ -lyase
Iványi Zoltán, Schneider Gyula, Wölfling János, Szécsi Mihály
JMMC 2009 – Joint Meeting on Medicinal Chemistry
Budapest, 2009. június 24-27.
Book of Abstracts P-27, p. 95.
3. Androszt-5-én és androszta-5,16-dién vázas pirazolok szintézise
Iványi Zoltán, Schneider Gyula, Wölfling János
Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés
Hajdúszoboszló, 2010. június 30 – július 2.
Program és előadás-összefoglalók, 114. o.
4. Epimer 17β -pirazolinil szteroidok szintézise
Szabó Nikoletta, **Iványi Zoltán**, Wölfling János, Schneider Gyula
MKE 1. Nemzeti Konferencia
Sopron, 2011. május 22–25.
Program és előadás-összefoglalók, 206. o.

6. Az értekezéshez nem kapcsolódó tudományos közlemények

1. Synthesis of steroidal dihydrooxazines and 2-oxazolidones, as novel potential inhibitors of 17 α -hydroxylase-C_{17,20}-lyase
Ondré Dóra, Schneider Gyula, **Iványi Zoltán**, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János, Wölfling János
1st Hungarian-Singaporean Workshop on Drug Discovery and Biomaterials
Budapest, 2008. március 10–11.
Proceedings, 98-100.
Impakt faktor: –
2. Neighboring group participation, Part 17. Stereoselective synthesis of some steroidal 2-oxazolidones, as novel potential inhibitors of 17 α -hydroxylase-C_{17,20}-lyase
Ondré Dóra, Wölfling János, **Iványi Zoltán**, Schneider Gyula, Tóth István, Szécsi Mihály, Julesz János
Steroids, **2008**, 73, 1375–1384.
Impakt faktor (2008): **2,588**
3. Synthesis and investigation of antiproliferative effect of estrone-16-oxime ethers
Berényi Ágnes, Minorics Renáta, **Iványi Zoltán**, Ocsovszki Imre, Ducza Eszter, Hubert Thole, Josef Messinger, Wölfling János, Mótyán Gergő, Schneider Gyula, Zupkó István
Steroids, közlésre benyújtva

Az értekezéshez nem kapcsolódó,

elfogadott közlemények összesített impakt faktora:

2,588

7. Az értekezéshez nem kapcsolódó tudományos poszterek

1. Sztérikusan gátolt 17-azidoandroszt-5-én-3 β -ol epimerek dipoláris cikloaddíciója
Görbe Tamás, **Iványi Zoltán**, Schneider Gyula, Wölfling János
Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés
Hajdúszoboszló, 2010. június 30 – július 2.
Program és előadás-összefoglalók 113. o.
2. 17-Etinil-szteroidok 1,3-dipoláris cikloaddíciói
Iványi Zoltán, Zsigó Éva, Schneider Gyula, Wölfling János
Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés
Hajdúszoboszló, 2010. június 30 – július 2.
Program és előadás-összefoglalók 146. o.
3. Egy szokatlan lefutású 1,3-dipoláris cikloaddíció a szteroidok sorában
Görbe Tamás, **Iványi Zoltán**, Wölfling János, Schneider Gyula
MKE 1. Nemzeti Konferencia
Sopron, 2011. május 22–25.
Program és előadás összefoglalók 195. o.
4. Új 17 β -*N*-fenil-pirazolil szteroid származékok gátló hatása az 5 α -reduktáz 1-es típusú izozim aktivitására
Mahmoud Gábor, **Iványi Zoltán**, Görbe Tamás, Szécsi Mihály, Wölfling János,
Schneider Gyula, Wittmann Tibor
MKE 1. Nemzeti Konferencia
Sopron, 2011. május 22-25.
Program és előadás-összefoglalók 209. o.

