

На правах рукописи

Черткова
Виктория Валерьевна

**Синтез стероидных [17,16-d]пиразолов и пиразолинов,
потенциальных биорегуляторов направленного
действия.**

Специальность 02.00.03 — органическая химия

Автореферат

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук



Москва-2009

Работа выполнена в группе химии стероидов и оксипиринов Учреждения Российской академии наук Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Научные консультант:

Доктор химических наук, профессор

А.В. Камерницкий

Научный руководитель:

Доктор химических наук, вед. науч. сотр.

И.В. Заварзин

Официальные оппоненты:

Доктор химических наук, профессор

В.Г. Граник

Доктор химических наук, профессор

В.Г. Ненайденко

Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук Институт органической химии Уфимского научного центра РАН.

Защита состоится «01» декабря 2009г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 002.222.01 при Учреждении Российской академии наук Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН по адресу: 119991, Москва, Ленинский проспект, 47.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОХ РАН.

Автореферат разослан «01» ноября 2009г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук



Л.А. Родиновская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время широко проводятся исследования по разработке методов синтеза и изучению биологической активности стероидов, конденсированных по 16,17-положениям с разнообразными гетероциклами. Интерес к аналогам стероидных гормонов, конденсированных в 16,17-положениях с азотистыми гетероциклами, вызван не только тем, что эти соединения применяются в клинической практике, но и возможностью изучения влияния пространственной структуры стероидной молекулы на биологические свойства. Однако замещенные 16,17-гетероциклические стероиды, у которых боковая цепь при C17 включена в гетероциклический фрагмент, практически не известны, т.к. методы синтеза стероидных гетероциклов, описанные в литературе до начала наших исследований, имеют существенные ограничения и не позволяют получать соединения, несущие сложные заместители в гетероцикле.

Весьма немногочисленные известные представители этого ряда обладают сочетанием свойств, нехарактерных для нативных гормонов – не проявляя гормонального действия, такого, например, как подавление иммунитета, они в то же время обладают противовоспалительным действием, высокой антимикробной активностью, нормализуют давление и уменьшают уровень холестерина. Установлено, что для проявления такого действия необходимо наличие заместителя (чаще всего ацильного) у атома азота гетероцикла, сопряженного в 16,17-положениях со стероидным скелетом.

Необходимость развития химии этих соединений не вызывает сомнения. Это побудило нас обратиться к синтезу неизвестных ранее стероидных [17,16-d]пиразолинов и пиразолов. Особый интерес при этом могут представлять [17,16-d]гетероцикlostероиды, полученные на основе тиогидразидов оксаминовых кислот. Можно было предположить, что объединение в одной молекуле тиогидразидов оксаминовых кислот и хирального стероидного скелета открывает широкие синтетические возможности для получения системных наборов гетероцикlostероидов, которые, возможно будут обладать ценными биологическими свойствами.

Цель работы – разработка удобных общих методов синтеза стероидных [17,16-d]-пиразолинов и пиразолов – производных 16-дегидропрегненолона и тиогидразидов оксаминовых кислот, изучение их реакционной способности и создание на их основе новых структур, среди которых предполагалось выявить вещества с высокой биологической активностью.

Научная новизна и практическая значимость. Впервые получены стероидные гидразоны тиогидразидов оксаминовых кислот. Разработан удобный метод синтеза N-(тиооксамидо)замещенных стероидных [17 α ,16 α -d]пиразолинов андростанового ряда. Получены ранее не известные N-(ариламино)оксалил-[17 α ,16 α -d]пиразолины андростанового ряда.

Впервые систематически изучено взаимодействие 16,17-эпоксипрегн-5-ен-3 β -ол-20-онов с гидразидами кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот. Получены не известные ранее 16 α /16 β -изомеры 5'-метил-(2'-арилкарбамоил)-3 β ,16-дигидроксиспироандрост-5-ен-17,6'-[1,3,4]тиадиазинол.

Впервые изучено взаимодействие α -хлорацетамидов стероидных [17,16-d]пиразолов андростанового ряда с элементной серой в присутствии аминов и получены N-(тиооксамидо)замещенные стероидные [17 α ,16 α -d]пиразолы андростанового ряда.

Предложен новый десульфуризирующий агент – 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон (DDQ), позволивший с хорошим выходом получать оксамиды из монотиооксамидов.

Установлено, что N-замещенные [17 α ,16 α -d]пиразолины андростанового ряда проявили активность на уровне сильнейших известных антипаразитарных препаратов.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на Научной конференции «Органическая химия для медицины», г. Черноголовка, Мос. обл., сентябрь, 2008г., 23-ем Международном симпозиуме по органической химии серы (ISOCS-23), Москва, июнь-июль 2008г. Международной научно-практической конференции «Достижения супрамолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнике», Москва 2008г.

Публикации. Основное содержание работы опубликовано в 4 научных статьях в отечественных и зарубежных журналах, а также в 3 тезисах докладов на научных конференциях.

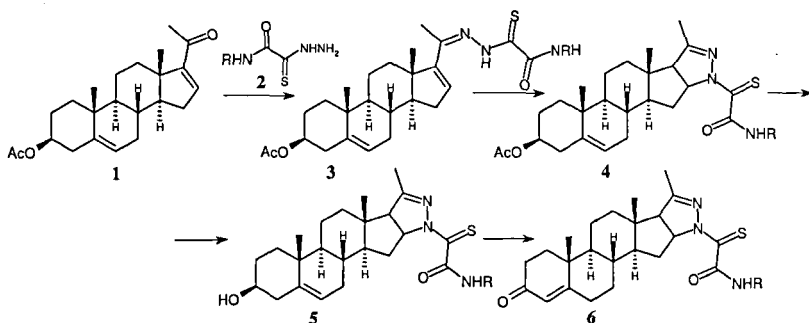
Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 140 страницах и включает в себя введение, литературный обзор, посвященный способам получения стероидов, конденсированных в 16,17-положениях с разнообразными гетероциклами, и их биологической активности, обсуждение результатов, экспериментальную часть и выводы. Список литературы содержит 130 литературных ссылок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Известные в литературе способы получения стероидов, конденсированных в 16,17-положениях с пиразолами и пиразолинами (дигидропиразолами) имеют ряд недостатков и ограничений. В частности, описано получение производных пиразолов и пиразолинов только с относительно простыми заместителями, в основном, алкилами и арилами. Синтез целевых стероидов андростанового ряда, содержащих монотиооксамидные фрагменты, в литературе неизвестен.

I. Синтез [17,16-d]дигидропиразолов.

Для получения целевых соединений нами был предложен новый общий подход, основанный на циклизации стероидных гидразонов прегнанового ряда **3** в соответствующие [17,16-d]пиразолины **4**, которые затем превращают в целевые Δ^4 -3-кето андрост-5-ено[17,16-d]дигидропиразолы **6** (схема 1).



I.1. Синтез стероидных гидразонов тиогидразидов оксаминовых кислот.

На первом этапе перед нами стояла задача - разработка удобной методики получения стероидных гидразонов тиогидразидов оксаминовых кислот **3**. В качестве исходных соединений был использован доступный ацетат дегидропрегненолона **1** (АДП), а также набор тиогидразидов оксаминовых кислот **2**. Выбор данных тиогидразидов оксаминовых кислот обусловлен тем, что соединения этого ряда проявляют высокую биологическую активность, в частности, они обладают противомикробными и антивирусными свойствами. Можно было предположить, что конденсация тиогидразидов **2** со стероидным скелетом может привести к появлению новых веществ с такими важными качествами, как, например, высокая липофильность, при сохранении высокой биологической активности.

Исходные тиогидразиды оксаминовых кислот **2a-j** были получены удобным известным методом из соответствующих хлорацетамидов по нижеприведенной схеме.

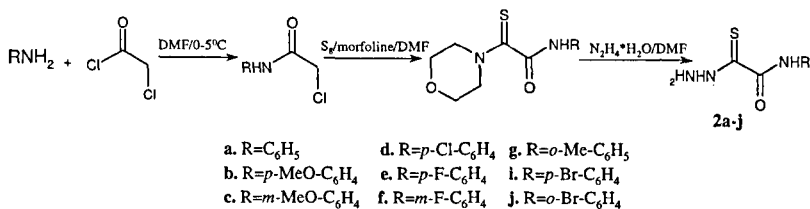


Схема 2

Полученные из соответствующих аминов хлорацетамиды подвергали взаимодействию с серой в присутствии морфолина с образованием монотиооксамидов. Переамидированием действием гидразингидрата в среде ДМФА при комнатной температуре с выходами 60-70% были синтезированы тиогидразиды оксаминовых кислот 2a-j (схема 2).

Взаимодействием АДП 1 с тиогидразидами 2a-j при кипячении в спирте в присутствии каталитического количества уксусной кислоты были получены стероидные гидразоны 3a-j с выходом 76-80% (схема 3).

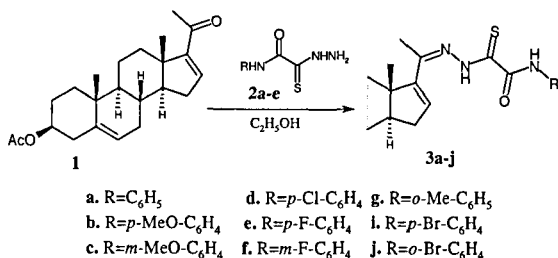
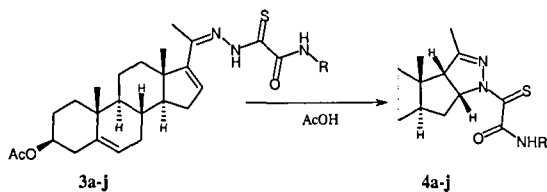


Схема 3

Строение соединений 3 установлено спектральными методами и элементарным анализом. С помощью одномерных и двумерных методик спектроскопии ¹H, и ¹³C- ЯМР на примере соединения 3g показано, что метильная группа при C-20 и аминогруппа гидразонного фрагмента находятся в *E*-конфигурации относительно связи C=N, а образующиеся гидразоны имеют *Z*-конфигурацию.

1.2. Циклизация стероидных гидразонов тиогидразидов оксаминовых кислот в [17α,16α-d]пиразолины.

Гидразоны 3a-j подвергаются внутримолекулярной циклизации, протекающей, как нуклеофильное присоединение NH группы к Δ¹⁶-связи стероидной молекулы, что приводит к единственному продукту реакции – 1'-(арилкарбамоилтио)-3'-метил-3β'-ацетоксиандрост-5-ен[17α,16α-d]пиразолином 4a-j (схема 4).

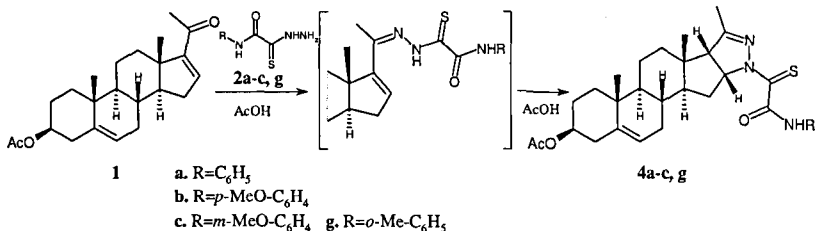


- | | | |
|--|---|---|
| a. R=C ₆ H ₅ | d. R=p-Cl-C ₆ H ₄ | g. R=o-Me-C ₆ H ₅ |
| b. R=p-MeO-C ₆ H ₄ | e. R=p-F-C ₆ H ₄ | i. R=p-Br-C ₆ H ₄ |
| c. R=m-MeO-C ₆ H ₄ | f. R=m-F-C ₆ H ₄ | j. R=o-Br-C ₆ H ₄ |

Схема 4

Для большинства гидразонов **3** циклизация успешно осуществляется при кипячении в ледяной уксусной кислоте. Выход пиразолинов **4a-j** составляет 75-84%.

Следует отметить, что в том случае, когда в реакцию с АДП **1** вводят тиогидразиды оксаминовых кислот **2**, содержащие в ароматической части электронодонорные заместители, то при проведении процесса в кипящей уксусной кислоте наблюдается самопроизвольная циклизация промежуточно образующихся гидразонов в дигидропиразолы **4** (схема 5).



- | | |
|--|---|
| a. R=C ₆ H ₅ | g. R=o-Me-C ₆ H ₅ |
| b. R=p-MeO-C ₆ H ₄ | |
| c. R=m-MeO-C ₆ H ₄ | |

Схема 5

Строение соединений **4** было установлено при помощи одномерных и двумерных методик спектроскопии ЯМР на протонах и ядрах ¹³C на примере соединения **4d** (рис. 1). Была проведена корреляция между углеродами и соответствующими протонами в спектрах HSQC. Анализ двумерных спектров H-H NOESY позволил установить пространственно сближенные протоны и соответственно 17α,16α-конфигурацию гетероцикла в соединении **4d**.

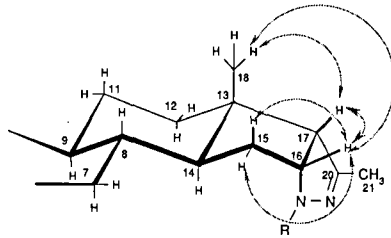


Рисунок 1

В ROESY спектре выявлено отсутствие корреляции между протоном Н-14 и протонами Н-16 и Н-17, наличие корреляции между протоном Н-16 и протонами Н-15, Н-15' Н-17, Н-18, а также между протоном Н-17 и протоном Н-18. Это возможно только в случае (см. рис. 1) 16 α ,17 α -конфигурации кольца D.

Таким образом, нами разработан подход к синтезу сложнзамещенных пиразолинов андростанового ряда и впервые получены 1'-(арилкарбамоилтио)-3'-метил-3 β -ацетоксиандрост-5-ен[17 α ,16 α -d]пиразолины **4a-j**.

1.3. Синтез 3 β -гидроксиандрост-5-ен[17,16-d]пиразолинов.

На следующем этапе был осуществлен синтез 3 β -гидроксиандрост-5-ен[17,16-d]пиразолинов **5a-j**. Мы исследовали реакцию гидролиза 3 β -ацетокси-[17,16-d]пиразолинов **4a-j** как в щелочных, так и в кислотных условиях. Проведение гидролиза в кислотных условиях приводит к сложной смеси продуктов, из которой пиразолины **5a-j** были выделены с незначительным выходом. Получить целевые 3 β -гидроксипроизводные **5a-j** с хорошим выходом удалось в условиях щелочного гидролиза, однако в этом случае имеет место побочная реакция десульфуризации тиооксамидного фрагмента, приводящая к образованию N-оксалатов **7a-j** (схема 6).

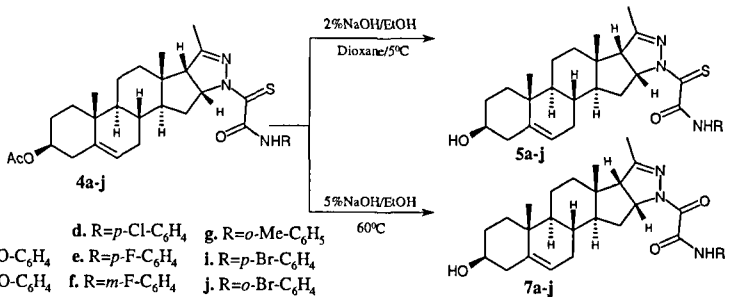


Схема 6

Для разработки оптимальных условий гидролиза для получения необходимых соединений **5** мы варьировали соотношение реагентов, температуру и время выдержки

реакционной смеси. Образование продукта десульфуризации можно свести к минимуму, проводя реакцию при низкой температуре. Так, щелочной гидролиз ацетата **4** в диоксане при 5°C с 2% раствором NaOH в EtOH приводит к 3'-метил-1'-(арил)карбамоилтиокарбонил-3β-гидроксиандрост-5-ен[17α,16α-d]пиразолинам **5a-j** с выходом 85%. В этом случае удается практически полностью избежать образования оксамидов **7**. В то же время, как уже было отмечено, увеличение температуры способствует образованию оксамидов и при проведении реакции при 60°C в 5% растворе NaOH в этаноле с высокой селективностью и высоким выходом получают 3'-метил-1'-(ариламино)оксалил-3β-гидроксиандрост-5-ен[17,16-d]-пиразолины **7a-j**.

I.4. Синтез Δ⁴-3-кетоандрост-5-ен[17,16-d]пиразолинов.

Окисление полученных выше спиртов **5a-j** и **7a-j** в стандартных условиях реакции Опенауэра протекает гладко. При кипячении соответствующих спиртов с циклогексаноном в толуоле в присутствии Al(OiPr)₃ с выходом 60-64% были получены целевые продукты - Δ⁴-3-кето-[17,16-d] пиразолины **6a-j** и **8a-j** (схема 7).

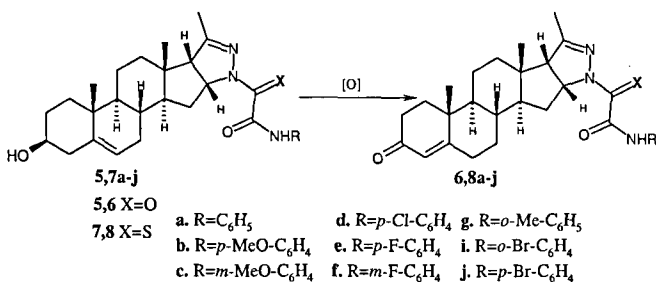


Схема 7

Таким образом, нами впервые были получены 1'-арилкарбамоилтиокарбонил-3'-метил-3-оксоандрост-4-ен[17,16-d]пиразолины **6a-j** и 1'-ариламинооксалил-3'-метил-3-оксоандрост-4-ен[17,16-d]пиразолины **8a-j**, содержащие, соответственно, тиооксамидные или оксамидные заместители в боковой цепи.

Альтернативным подходом к синтезу стероидных пиразолинов **6** может быть путь, совмещающий стадии циклизации гидразонного фрагмента в пиразолиновый цикл и окисления гидроксигруппы в кетогруппу. С целью проверки этого предположения нами были получены 3β-гидроксигидразоны **9a,b,d-g** (схема 8).

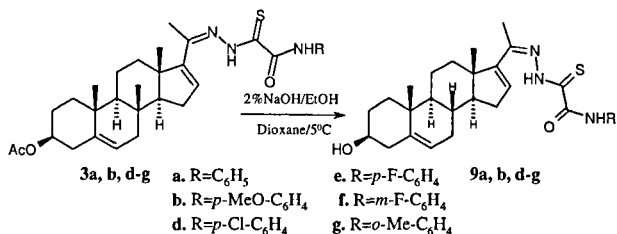


Схема 8

Проведение реакции гидролиза β-ацетоксигруппы в стероидах **3a,b,d-g** при 5°C в диоксане, содержащем 2% этанольный раствор NaOH, приводит к 20-гидразонам β-гидроксиандрост-5-ен-20-она **9a,b,d-g** с высокими выходами.

Было установлено, что окисление β-гидроксильной группы в тиогидразонах **9a,b,d-g** в стандартных условиях реакции Оппенауэра сопровождается циклизацией гидразонов с образованием Δ⁴-3-кето-[17,16-d]пиразолинов **6a,b,d-g** в качестве основного продукта с выходом 56%, а выход нециклизованных Δ⁴-3-кето-20 гидразонов **10a,b,d-g** не превышает 7%. При длительном кипячении единственными продуктами реакции являются Δ⁴-3-кето- [16,17-d]пиразолины **6a,b,d-g** при этом их выход увеличивается до 62% (схема 9).

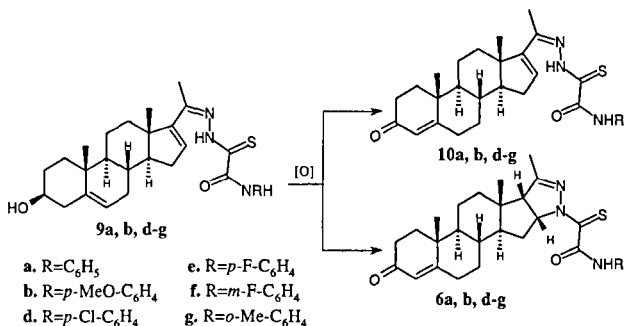


Схема 9

Совмещение стадий гидролиза β-ацетоксигруппы и циклизации позволило значительно увеличить общий выход целевых Δ⁴-3-кетоандрост-5-ен[17,16-d]пиразолинов **6** и упростить их синтез.

II. Изучение подходов к синтезу стероидных пиразолов.

II.1. Изучение возможности получения андростано[17 α ,16 α -d]пиразолов реакцией дегидрирования 1'-арилкарбамоилтиокарбонил-3'-метил-3 β -гидроксиандрост-5-ен[17 α ,16 α -d]пиразолинов.

В литературе для синтеза пиразолов широко используют дегидрирование соответствующих пиразолинов, несущих алкильные или арильные заместители при атоме азота, под действием ряда дегидрирующих агентов – кислород воздуха, хлоранил, DDQ. Однако все попытки провести дегидрирование полученных нами пиразолинов **5**, несущих тиооксамидный заместитель, под действием известных дегидрирующих агентов не привели к желаемым пиразолам. Нами показано, что проведение реакции в жестких условиях – 20% водный раствор NaOH в ДМФА – приводит к потере сложного тиооксамидного заместителя, а образующийся в этих условиях незамещенный пиразолин **11** легко дегидрируется под действием кислорода воздуха. Единственным выделенным продуктом, в этих условиях, является незамещенный NH-пиразол **12**, полученный с выходом 40% (схема 10).

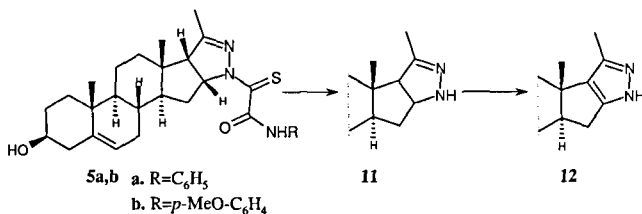


Схема 10

В то же время было установлено, что использование DDQ при обработке **5a, b, d-g** приводит к образованию неизвестных ранее оксамидов **7a, b, d-g** (схема 11).

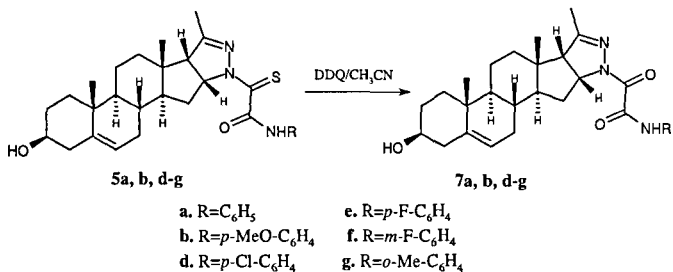


Схема 11

Необходимо отметить, что значительное влияние на протекание этой реакции оказывает присутствие воды в реакционной системе. Проведение реакции в безводных

растворителях приводит к сложной трудноразделимой смеси продуктов, и, наоборот, проведение реакции в насыщенном водой бензоле или ацетонитриле (содержание воды ~5%) при кипячении с DDQ приводит с хорошим выходом к оксамидам **7a, b, d-g**. Реакция, по-видимому, носит общий характер. Так, в этих условиях различные тиюксамиды **13a-c** с хорошим выходом превращаются в соответствующие оксамиды **14a-c** (схема 12).

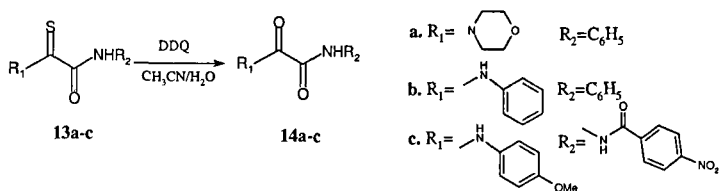


Схема 12

Введение в эту же реакцию гидразонов тиогидразидов оксаминовых кислот **15a-c** приводит с количественными выходами к образованию тиadiaзолов **16a-c**. Известно, что гидразоны тиюксаминных кислот в растворах существуют в виде двух таутомерных форм – линейной **15A** и циклической **15B**. Можно предположить, что при окислении циклической формы гидразонов **15B** происходит образование тиadiaзолов **16a-c** (схема 13).

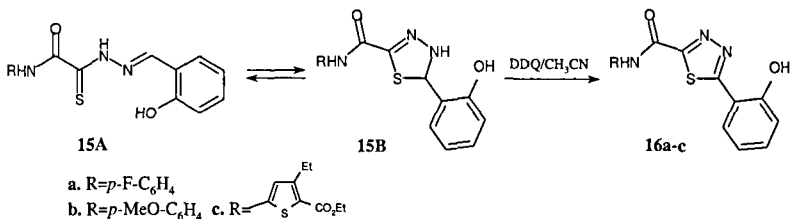


Схема 13

II.2. Изучение возможности получения пиразолов из 16-галогензамещенных производных 20-гидразонов 3β-ацетоксипрегна-5,16-диен-20-она.

Одним из возможных подходов к синтезу целевых пиразолов андростанового ряда является метод, включающий функционализацию Δ^{16} -связи 20-гидразонов дегидропрегненолона, путем введения в молекулу атома галогена с последующей циклизацией 16β-бром-20-гидразонов в соответствующие пиразолы. Бромирование Δ^{16} -связи в 20-гидразонах дегидропрегненолона N-бромсукцинимидом при кипячении в ацетонитриле гладко протекает только для 20-ацетилгидразона **17** с образованием 16-бромпроизводного **18**. Однако циклизовать соединение **18** в среде различных

растворителей (CH_2Cl_2 , CH_3CN , DMF) под действием оснований, которые применяют для такого рода превращений (KOAc , K_2CO_3), не удалось (схема 14).

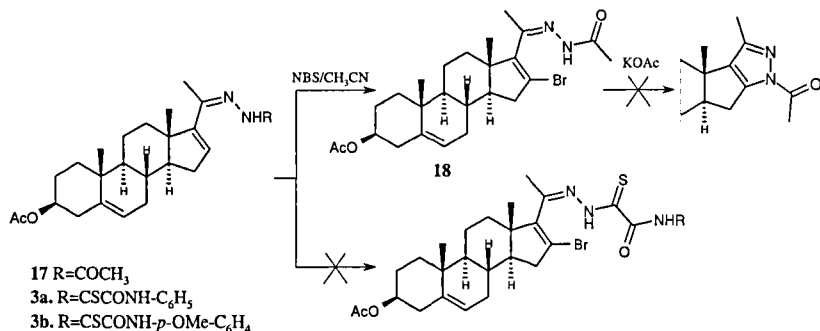


Схема 14

Для 20-тиогидразонов **3a,b** продуктов bromирования Δ^{16} -связи получить не удается.

Использование в качестве галогенирующего агента йода или йодсукцинимиды в CH_2Cl_2 или в CH_3CN , для гидразонов типа **3a,b,e** приводит к трудноразделимым смесям, а единственными выделенными продуктами являются бис-стероиды **19a,b,e**. В более полярном растворителе – ДМФА при добавлении I_2 или N-йодсукцинимид гидразоны также с более высоким выходом превращаются в димеры **19a,b,e** (схема 15).

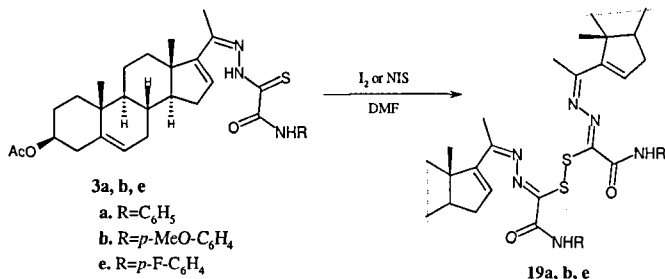


Схема 15

Таким образом, попытка использования 16-галогензамещенных производных гидразонов тиогидразидов оксаминовых кислот для синтеза пиразолов оказалась безуспешной.

II.3. Реакция изомерных 16 β ,17-эпоксипрегненолонов с гидразидами карбоновых кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот.

Взаимодействие 16,17-эпокси-20-кетостероидов с гидразидами карбоновых кислот, как показано в ряде опубликованных работ, открывает интересный путь к синтезу пиразолов. Данные, имеющиеся в литературе, относятся в основном к раскрытию стероидных 20-кетоокисей и их гидразонов, структурной и пространственной направленности этой реакции, однако сведений о ее синтетических возможностях для получения стероидных пиразолов крайне мало.

Нами проведено исследование взаимодействия изомерных 16 β ,17 β -эпокси изопрегненолона и 16 α ,17 α -эпоксипрегненолона с гидразидами карбоновых кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот.

II.3.1 Взаимодействие 16 β ,17 β -эпоксиизопрегненолона с гидразидами карбоновых кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот.

Для синтеза 16 β ,17 β -эпоксиизопрегненолона **23** был использован модифицированный нами метод, описанный в литературе. Бромированием АДП **1** был получен 5,6-дибромпрегненолон **20**. Дальнейшее бромирование ацетилгипобромидом в четыреххлористом углероде приводит к 3 β ,16 β -диацетату 5,6,17 α -трибромпрегнан-3 β ,16-диол-20-ону **21**. Применение подобного бромлирующего агента позволяет повысить выход в этой реакции до 90%. Последующим дегидробромированием и замыканием окисного цикла при кипячении в метаноле с ацетатом калия с выходом 40% (в расчете на исходный АДП **1**) получают 16 β ,17 β -эпокси- изопрегненолон **23** (схема 16).

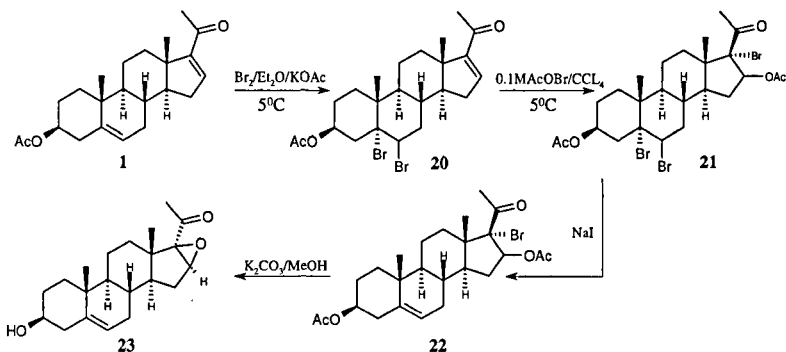


Схема 16

Мы изучили взаимодействие 16 β ,17 β -эпоксиизопрегненолона **23** с гидразидами карбоновых кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот в различных условиях. Взаимодействие 16 β ,17 β -эпоксиизопрегненолона с гидразидами карбоновых кислот в

уксусной кислоте при 20°C, как и ожидалось, приводит к продуктам циклизации –5'-гидроксипиразолинам **24a,b** (схема 17).

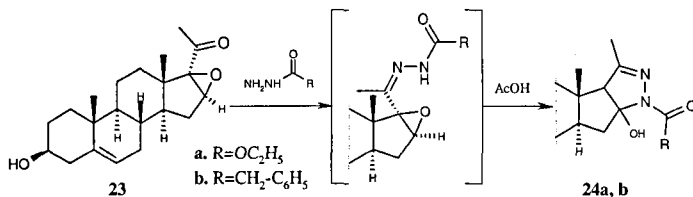


Схема 17

Однако при взаимодействии **16β,17β**-эпоксипрогестерона **23** с тиоглицидами оксиминовых кислот в этих же условиях, помимо 5'-α-гидрокси-3'-метил-1'-арилкарбонил-3β-гидроксиандрост-5-ен[17,16-d]пиразолинов **25a-c, e-g** в реакционной смеси происходит образование значительного количества соединений, которые были идентифицированы как 5'-метил-[2'-(арилкарбамоил)-3β,16α-дигидроксиспироандрост-5-ен-17,6'[1,3,4]тиадиазины **26a-c, e-g** (схема 18).

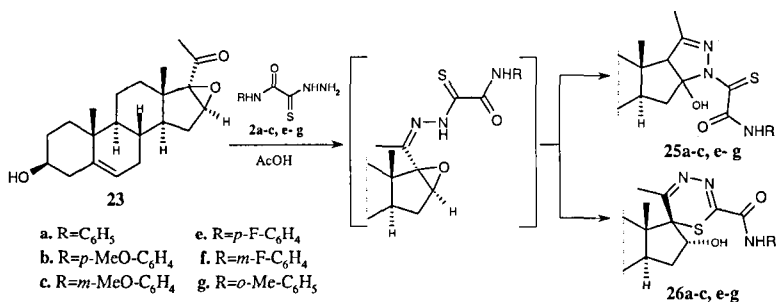


Схема 18

Следует отметить, что стероидные спиро-тиадиазины до начала наших исследований не были известны. Строение стероидных спиротиадиазинов **26** было установлено на примере соединения **26c** при помощи одномерных и двумерных методик спектроскопии на ¹H-, ¹³C- и ¹⁵N- ЯМР (рис. 2).

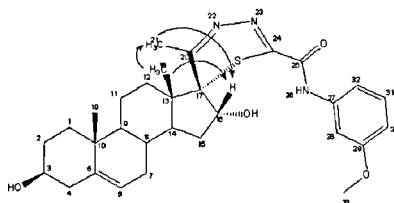


Рисунок 2

Было проведено полное отнесение сигналов в спектрах ^1H - и ^{13}C -ЯМР, выполненное путем расшифровки двумерных спектров COSY, TOCSY, NOESY, HSQC, HMBC. Анализ спектров ^1H - и ^{13}C -ЯМР позволил выявить закономерности, важные для определения конфигурации стероида **26с**. В пользу спироструктуры при С-17 свидетельствовал химический сдвиг непротонированного атома углерода С-17 с δ 62.40м.д., а также выявленные в спектре HMBC взаимодействия Н-16 с С-20. Анализ двумерных спектров Н-Н NOESY, позволивший установить пространственно сближенные протоны, дал возможность приписать стереохимию триадиазинового кольца и 16-ОН-группы в кольце D молекулы. Протон при С16 дает корреляцию с протонами метильной группы Н-18, имеющей β -конфигурацию, а также с протонами метильной группы при С-21, протонами Н-15 и Н-15'. Таким образом, протон Н-16 занимает β -положение, следовательно 16-ОН-группа находится в α -положении. При этом между протонами метильных групп Н-18 и Н-21 имеется также корреляционный пик, что возможно только в случае β -положения атома углерода С-20 (С17). Кроме того, в пользу указанной структуры свидетельствуют данные спектра HN HMBC в котором наблюдаются корреляции N-22 с Н-21 и оксамидного азота с ароматическими протонами, и отсутствие корреляций N-23, несвязанного через 2 связи ни с одним углеродом, несущим атомы водорода (см. рис. 2).

Основываясь на литературных данных, мы предположили, что проведение реакции β -окиси **23** с гидразидами в присутствии каталитического количества H_2SO_4 должно привести к образованию соответствующих пиразолов. Действительно, при взаимодействии 16 β ,17 β -эпоксинопрегненолона **23** с гидразидами карбоновых кислот в диоксане при 20 $^\circ\text{C}$ в присутствии каталитического количества H_2SO_4 , были выделены исключительно [17,16-d]пиразолы **27a,b** с хорошими выходами (~80%) (схема 19).

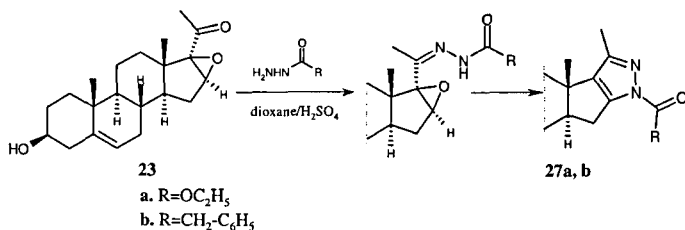


Схема 19

Однако взаимодействие 16 β ,17 β -эпоксинопрегненолона **23** с тиогидразидами оксамидных кислот в этих же условиях не приводит к соответствующим пиразолам. Единственными продуктами, образующимися в результате этой реакции с высокими

выходами (68-73%), являются тиадiazины **26a-c,e-g**. Изменение условий реакции (проведение реакции при 6^oC, использование TsOH или CF₃COOH вместо H₂SO₄, увеличение количества используемых тиогидразидов оксаминовых кислот) не привело к другим продуктам реакции (схема 20).

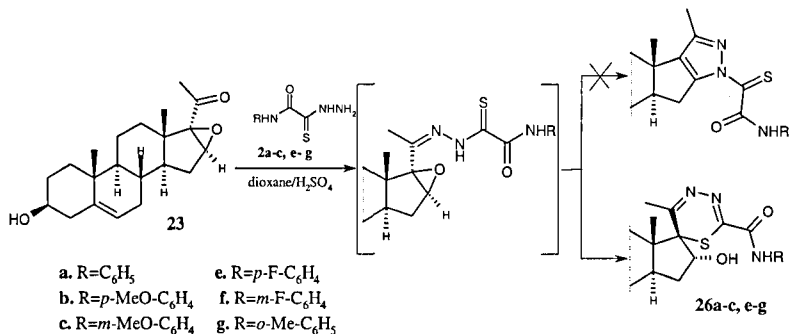


Схема 20

Было также показано, что тиадiazины **26** образуются при проведении реакции в спирте, в присутствии каталитических количеств H₂SO₄, TsOH, CF₃COOH, но с меньшими выходами (62-64%).

II.3.2. Взаимодействие 16α,17α-эпоксипрегненолона с гидразидами карбоновых кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот.

16α,17α-Эпоксипрегненолон **28** является более доступным соединением по сравнению с 16β,17β-эпоксиизопрегненолоном **23**. Для его синтеза использовали описанный в литературе одностадийный метод окисления АДП **1** щелочной перекисью водорода в метаноле. В результате с высоким выходом получили 16α,17α-кетоксид **28**. (схема 21).

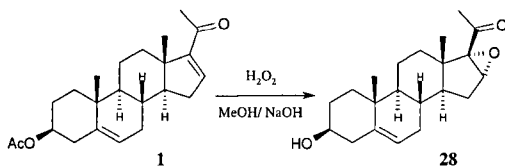


Схема 21

II.3.2.1. Синтез 20-гидrazонов 16α,17α-эпоксипрегн-5-ен-3β-ол-20-она.

Анализ литературных данных показал, что 20-гидrazоны 16α,17α-эпоксипрегненолона, в отличие от 20-гидrazонов 16β,17β-эпоксиизопрегненолона, претерпевают преимущественно cis-раскрытие окисного цикла с образованием 17α-замещенных гидроксисоединений **29**. Публикации, посвященные изучению раскрытия α-

окисей в присутствии гидразонов, содержат достаточно много сведений о влиянии растворителей и pH среды на протекание реакции раскрытия окисного цикла. Однако возможности направить реакцию гидразонов α -окиси в сторону циклизации с образованием [17,16-d]пиразолов уделено немного внимания. Единственным примером подобной циклизации является взаимодействие α -окиси **28** с гидразингидратом при кипячении в этиленгликоле с образованием незамещенного [17,16-d]пиразола **12**. (схема 22). Однако жесткие условия реакции не позволяют проводить реакцию со сложнозамещенными гидразидами

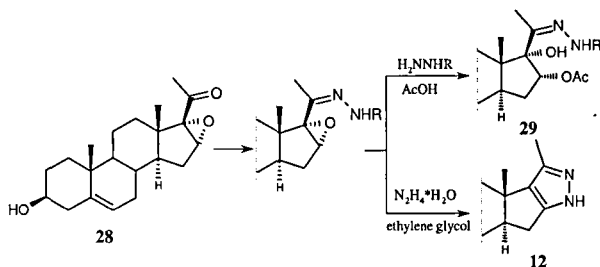


Схема 22

В процессе данного исследования важным этапом стал поиск оптимальных условий получения 20-гидразонов 16 α ,17 α -эпоксипрегненолона. Литературный метод – взаимодействие α -эпоксипрегненолона **28** с гидразидами в уксусной кислоте при комнатной температуре – приводит к 20-гидразонам **30** только при введении в реакцию гидразидов карбоновых кислот. Нами было показано, что взаимодействие кетоокиси **28** с тиогидразидами оксаминовых кислот **2** приводит к совершенно другим результатам. Реакция 16 α ,17 α -эпоксипрегненолона **28** с тиогидразидами **2** в уксусной кислоте при комнатной температуре протекает очень медленно. Повышение температуры реакционной смеси или проведение реакции при кипячении в спирте в присутствии каталитического количества уксусной кислоты, приводит к сложной смеси продуктов, из которой в качестве основного продукта были выделены 16 α -ацетат N-(2-ариламинооксотиацетил)гидразоны прегн-5-ен-3 β ,16 α ,17 α -триол-20-она **32** (схема 23).

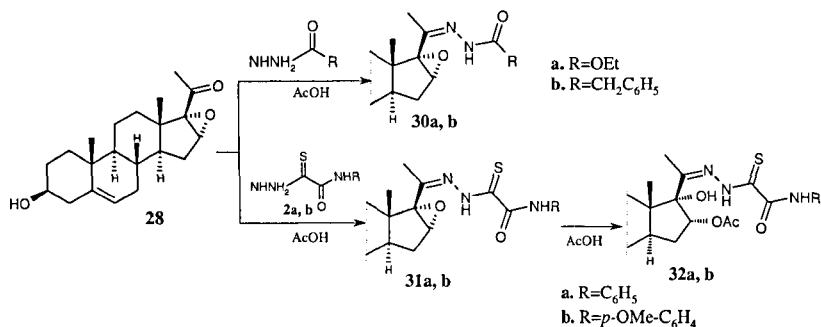


Схема 23

Выходы 20-тиогидразонов 16а,17а-эпоксиpregненолона **31** в этих условиях не превышают 5%.

Мы изучили взаимодействие 16а,17а-эпоксиpregненолона **28** с тиогидразидами оксаминовых кислот **2** в различных апротонных растворителях (DMФА, этиленгликоль, диоксан, бензол, ДМСО). Были найдены оптимальные условия, при которых преимущественно происходит образование гидразона, а процесс раскрытия окисного цикла существенно подавлен. Проведение реакции 16а,17а-эпоксиpregненолона **28** с тиогидразидами оксаминовых кислот **2** в абсолютном ДМСО, содержащим каталитическое количество пара-толуолсульфокислоты, при 15⁰С позволяет получать соответствующие 20-гидразоны **31а-с,е-г** с хорошими выходами (схема 24).

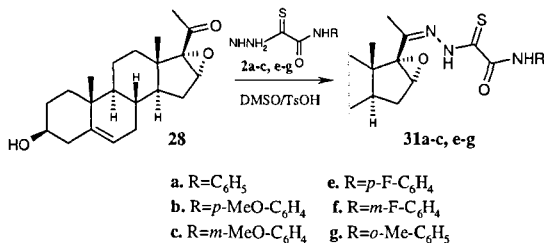


Схема 24

III.3.2.2. Синтез гетероциклических структур на основе 20-гидразонов 16а,17а-эпоксиpregненолона.

Как было установлено, экспозиция 20-гидразонов 16а,17а-эпоксиpregненолона в уксусной кислоте, или в присутствии протонных кислот приводит, в основном, к продуктам раскрытия окисного цикла. Мы предположили, что проведение реакции в неполярных апротонных растворителях с использованием в качестве катализатора кислот Льюиса может направить реакцию в сторону циклизации.

Мы использовали в качестве кислоты Льюиса эфират трехфтористого бора (48% раствор в диэтиловом эфире) Изучение циклизации гидразонов окиси **30** под действием $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ в различных температурных условиях и различных по полярности апротонных растворителях (бензол, CH_2Cl_2 , Et_2O , CH_3CN , диоксан, ДМФА, ДМСО) позволило найти оптимальные условия для получения пиразолов **34** с сохранением ацильного заместителя при атоме азота. Проведение реакции в бензоле при постепенном повышении температуры от 5°C до 18°C в течение 6 часов приводит к соответствующим пиразолам с высокими выходами. При меньшем времени выдержки из реакционной смеси помимо целевого пиразола был выделен продукт неполной циклизации – оксипиразолин **33** (схема 25).

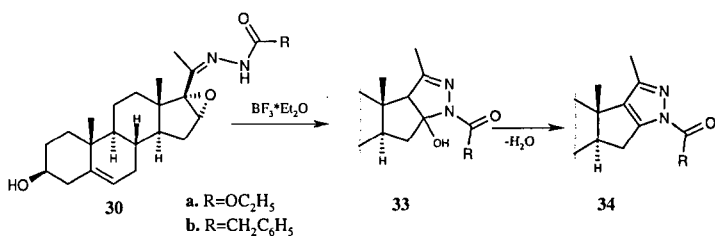


Схема 25

Мы попытались распространить найденные нами условия на процессы с участием 20-тиогидразонов α -окиси **31a-c,e-g** однако оказалось, что основными продуктами их циклизации в этих условиях являются изомерные триадиазины **26** и **35**, образующиеся в соотношении 1:0.7. Мы исследовали влияние температуры на соотношение образующихся изомеров **26** и **35**. Проведение реакции при комнатной температуре приводит в основном к диастереомерам **26a-c,e-g**. При понижении температуры реакции увеличивается количество диастереомера **35a-c,e-g** (схема 26).

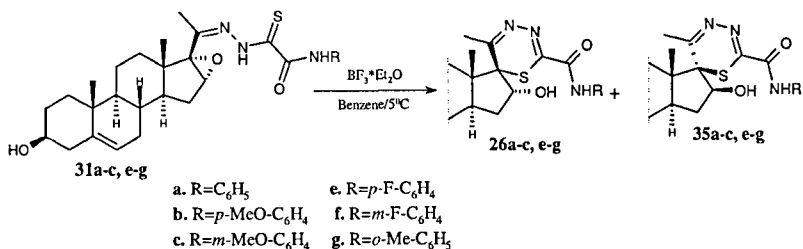


Схема 26

Стереохимическое строение соединений **35** было установлено на примере соединения **35с** при помощи одномерных и двумерных методик спектроскопии на ^1H - ^{13}C -, ^{15}N - ЯМР.

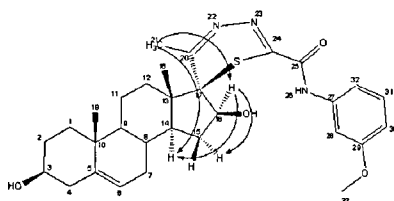


Рисунок 3

Для Н-16 наблюдаются корреляции с протонами метильной группы Н-21, Н-15 и Н-15'. При этом отсутствует корреляция с протонами Н-18, но, в отличие от изомерного соединения **26с**, наблюдается корреляция с протоном Н-14, находящимся в α -положении. В данном соединении Н-21 не дает корреляции с Н-18, вместо этого также имеет место корреляция Н-21 с Н-14, что говорит об их пространственной близости. Таким образом, 16-ОН группа находится в β -, а С-20 (С17-С20) – в α -положении в молекуле (см. рис. 3).

Нами было показано, что образующийся тиадiazиновый цикл достаточно устойчив и не претерпевает изменений как при обработке H_2SO_4 в диоксане так и при действии NaOH в диоксане.

III.3.2.3. Синтез 2'-арилкарбамонл-5'-метил-16 α -гидрокси-спироандрост-4-ен-3-он-17,6'-[1,3,4]тиадiazинов.

Мы исследовали возможность получения Δ^4 -3-кето[17,6']тиадiazинов **36** из соответствующих β -гидроксипроизводных **26** в условиях реакции Оппенуэра. Было установлено, что тиадiazиновый цикл не претерпевает изменений и сохраняется при окислении β -гидроксильной группы соединений **26** кипячением с циклогексаноном в толуоле в присутствии $\text{Al}(\text{O}i\text{Pr})_3$. При этом с высоким выходом образуются соответствующие Δ^4 -3-кетоны **36** (схема 27).

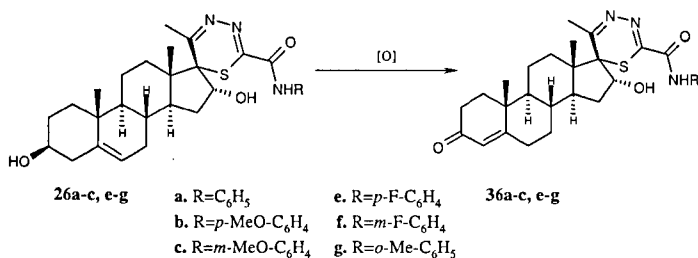


Схема 27

Как уже отмечалось выше, стероидные спирогиадазины до начала наших исследований не были известны.

III. Синтез N-(арилтиокарбонил)пиразолов из NH-пиразолов.

Метод, ранее использованный нами при получении тиогидразидов оксаминовых кислот (см. раздел 1.1 на стр. 6), был успешно применен и для синтеза стероидных арилтиооксамидо[17,16-d]пиразолов 39а-с. Ацелированием незамещенного пиразола 37 с хорошим выходом получили N-хлорацетилпиразол 38, который затем при обработке элементарной серой в присутствии ароматических аминов образует стероидные пиразолы 39а-с содержащие монотиооксамидный фрагмент. Выходы N-(арилтиооксамидо)-пиразолов 39 относительно невысокие (~20%), что, по-видимому, связано со склонностью ацильных заместителей в пиразолах к гидролизу (схема 28).

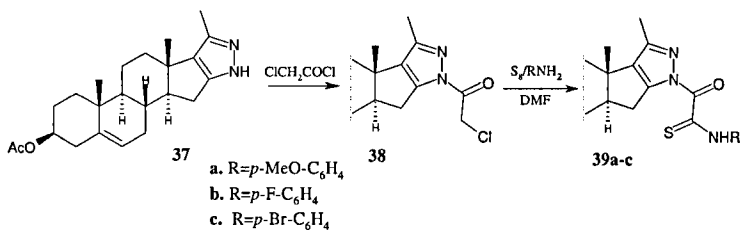
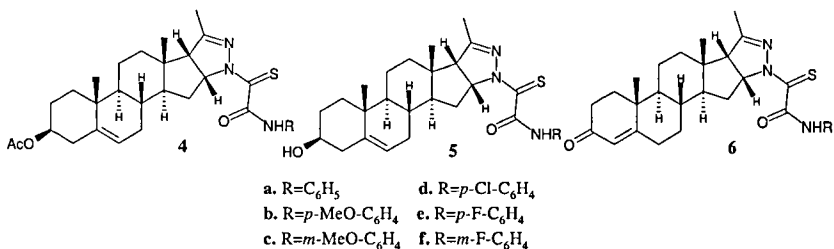


Схема 28

Следует отметить, что в соединениях 39а-с непосредственно у атома азота пиразола находится кетогруппа, тогда как во всех ранее полученных гетероциклах, содержащих монотиооксамидный фрагмент (соединения 4, 5, 6) у атома азота гетероцикла располагалась тионная группа.

IV. Изучение биологической активности андрост-4-ен[17,16-d]пиразолинов.

Набор соединений 4а-ф, 5а-ф и 6а-ф был передан на биологические испытания.



Предварительные испытания этих соединений были проведены в ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии». Впервые обнаружено биоцидное (антипаразитарное) действие стероидных дигидропиразолов на олигохеты Tubificidal tubifex. Показано, что 1'-

арилкарбамоилтиокарбонил-3'-метил-3-оксоандрост-4-ено[17,16-d]пиразолины **6a-f** более активны, чем их 3β-гидроксиналоги **5a-f**, а 3β-ацетаты **4a-f** проявляют очень слабую активность. Это свидетельствует о том, что для проявления активности молекула стероида должна содержать ответственный за взаимодействие с рецепторными белками «якорный участок», которым в данных структурах, по-видимому, является Δ⁴-3-кетогруппировка в кольце А. В том случае, когда этот участок «дезактивирован» ацетатной группой (для соединений **4a-f**), активность практически отсутствует. Наибольший интерес представляют пиразолины **6b** и **6c**, которые проявили при пониженной токсичности активность на уровне сильнейших антипаразитарных препаратов, используемых на сегодняшний день, таких как «авермектин» и его аналоги, а также «клозантел». Можно сделать заключение, что стероидные дигидропиразолы представляют интерес для создания противопаразитарных препаратов широкого спектра действия.

Таким образом, в результате проведенного исследования впервые систематически изучено взаимодействие 16-дегидропрегненолона и изомерных 16,17-эпоксипрегненолонов с гидразидами и тиогидразидами оксаминовых кислот. Синтезированы неизвестные ранее пиразолы, пиразолины и тиadiaзины андростанового ряда. Показана перспективность использования стероидов, конденсированных с гетероциклами, в создании веществ с полезными свойствами.

Выводы

1. Впервые получены стероидные гидразоны тиогидразидов оксаминовых кислот.
2. Разработан удобный метод синтеза N-(тиоксамидо)замещенных стероидных [17α,16α-d]пиразолинов андростанового ряда.
3. Получены ранее не известные N-(ариламино)оксалил-[17α,16α-d]пиразолины андростанового ряда.
4. Впервые систематически изучено взаимодействие 16,17-эпоксипрегн-5-ен-3β-ол-20-она с гидразидами кислот и тиогидразидами оксаминовых кислот. Получены неизвестные ранее 5'-метил-2'-арилкарбамоил-3β,16α-дигидроксиспироандрост-5-ен-17,6'-[1,3,4]тиadiaзины.
5. Впервые изучено взаимодействие α-хлорацетамидов стероидных [17,16-d]пиразолов андростанового ряда с элементной серой в присутствии аминов и получены N-(тиоксамидо)замещенные стероидные [17α,16α-d]пиразолы андростанового ряда.
6. Предложен новый десульфуризирующий агент – DDQ, позволивший с хорошим выходом получать оксамиды из монотиооксамидов.
7. Установлено, что N-замещенные [17,16-d]пиразолины андростанового ряда проявили активность на уровне сильнейших известных антипаразитарных препаратов.

Основное содержание диссертации опубликовано в следующих работах:

1. Камерницкий А.В., Чернобутова Е.И., Черткова В.В., Яровенко В.Н., Заварзин И.В., Краюшкин М.М., «Влияние заместителей в гидразонах сопряженных 20-кетостероидов прегнанового ряда на их способность к циклизации в пиразолины», // *Изв. АН, сер. хим.* 2006, **11**, 2038.
2. Камерницкий А.В., Чернобутова Е.И., Черткова В.В., Яровенко В.Н., Заварзин И.В., Краюшкин М.М., «Ацилгидразоны 20-кетостероидов и их превращения». 1. Синтез и свойства 1-ацилзамещенных 3-метиландростено-16,17-пиразолинов», // *Биоорганическая химия*, 2007, 337.
3. Zavarzin I.V., Kamernitsky A.V., Chertkova V.V., Chernoburova E.I., Yarovenko V.N., Kravuskin M.M., Kachala V.V. «Synthesis of 1'arylcarbamoylthiocarbonyl-3'-methyl-3-oxoandrost-4-eno[16 α ,17 α -d]pyrazolines». // *ARKIVOC*, 2008, (iv), 62
4. Джафаров М.Х., А.В. Камерницкий, Е.И. Чернобутова, В.В. Черткова, В.Н. Яровенко, Заварзин И.В., Краюшкин М.М., «Синтез и биологическая активность стероидных дигидропиразолов», // *Российский иммунологический журнал*, 2008, **2** (11), №2-3, 192.

Тезисы докладов

1. Zavarzin I.V., Kamernitsky A.V., Chertkova V.V., Chernoburova E.I., Yarovenko V.N., Kravuskin M.M., «A New method synthesis of oxamides from monothiooxamides». // 23rd International Symposium on the Organic Chemistry of Sulfur. Abstracts, Moscow, Russia, 2008, p.80.
2. А.В. Камерницкий, Е.И. Чернобутова, В.В. Черткова, В.Н. Яровенко, И.В. Заварзин, М.М. Краюшкин, А.К. Голенищев «Синтез 1'-арилкарбамоилтиокарбонил-3'-метил-3-оксоандрост-4-ено[16 α ,17 α -d]-4',5'-дегидропиразолов». Научная конференция «Органическая химия для медицины» // Сборник тезисов. Черногловка, 2008, с.115.
3. Джафаров М.Х., Зайцев С.Ю., Мирзаев М.Н., Мельницкая Т.И., А.В. Камерницкий, В.В. Черткова, И.В. Заварзин, Е.И. Чернобутова. «Синтез стероидных пиразолинов и изучение их биологической активности». // Международная научно-практическая конференция «Достижения супрамолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнике». 2008, Москва, Сборник тезисов, с. 65.

Отпечатано в типографии ООО «Гипрософт»
г. Москва, Ленинский пр-т, д.37А
Тираж 100 экз.