

Uniwersytet w Białymstoku
Wydział Chemii



Urszula Kielczewska

Rozprawa doktorska

Synteza analogów alkaloidów steroidowych

Praca doktorska wykonana
w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych
Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku
pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Wojtkielewicz, prof. UwB

Białystok 2020

Pragnę bardzo serdecznie podziękować

Pani dr hab. Agnieszce Wojtkielewicz, Prof. UwB

za opiekę naukową, wszelkie rady oraz wszechstronną pomoc

podczas wykonywania niniejszej pracy.

Niniejszą pracę pragnę dedykować swoim Rodzicom Danieli oraz Wojciechowi

Streszczenie

Alkaloidy *Solanum* zostały wyizolowane z roślin pochodzących z rodziny psiankowate (*Solanaceae*), rodzaju psianka (*Solanum*). Są to alkaloidy steroidowe, których budowa opiera się na szkielecie cholestanu. Głównymi przedstawicielami tej klasy związków są solasodyna, tomatydyna oraz solanidyna. Alkaloidy steroidowe mają różnorodne właściwości biologiczne m.in.: antyproliferacyjne, neurogenne, przeciwdrgawkowe i przeciwzapalne. Szerokie spektrum aktywności biochemicznych i niskie stężenie w materiale roślinnym tych związków, zainspirowały chemików do projektowania ich syntetycznych analogów. Znanym przedstawicielem grupy alkaloidów *Solanum* jest solasodyna, będąca azotowym analogiem diosgeniny. Wydaje się, że to właśnie ten związek jest dobrym substratem w syntezie solasodyny i jej pochodnych. Proponowane dotychczas syntezy solasodyny z diosgeniny oparte są na trzystopniowej strategii: otwarcie pierścienia F (etap I), podstawienie grupy opuszczającej łańcucha bocznego nukleofilem azotowym (etap II) i zamknięcie pierścienia F (etap III).

Prowadzone przeze mnie badania koncentrowały się na projektowaniu nowych analogów alkaloidów steroidowych, syntezie solasodyny i jej analogów oraz na ocenie ich aktywności biologicznej. Jednym z założeń niniejszej dysertacji było opracowanie dogodnej strategii jednoczesnego otwarcia pierścienia F w diosgeninie i wprowadzenie atomu azotu w strukturę steroidu (wykorzystanie azydków bądź karbaminianów). Utworzona w ten sposób 26-azotowa pochodna diosgeniny mogłaby posłużyć jako intermediat w syntezie solasodyny i jej analogów. Prowadzone w tym kierunku badania zaowocowały skróceniem znanych i opisanych w literaturze metod otrzymywania solasodyny i opracowaniem dwuetapowej syntezy piwalanu solasodyny z piwalanu diosgeniny. Podjęłam również bezpośrednie próby przekształcenia układu spiroketalowego (diosgenina) w spirosolanowy (solasodyna) za pomocą nowego odczynnika – amidku diizobutyloglinowego, który można łatwo otrzymać z wodoru diizobutyloglinu (DIBAL) i chlorku amonu. Prowadziłam również badania w kierunku znalezienia metody syntezy 26a-F-homo-, 22a(N)-F-homo analogów solasodyny i ich *N*-podstawionych pochodnych. Założyłam bowiem, że związki z 7-członowym pierścieniem F mogą wykazywać podobne właściwości biologiczne jak ich macierzyste substraty. Zsyntezowane pochodne zostały przebadane pod kątem właściwości antyproliferacyjnych i przeciwneurodegeneracyjnych.

W swojej pracy poszukiwałam również metod syntezy innych aza-steroidów. Były nimi pochodne pirymidobenzimidazolu, które uzyskałam w wyniku reakcji kondensacji octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-aminobenzimidazolem. Optymalizacja warunków reakcji (wpływ katalizatora, czasu reakcji, rozpuszczalnika, stężenia poszczególnych reagentów), pozwoliły otrzymać łącznie 6 nowych analogów. Uzyskane pochodne wykazały bardzo dobrą aktywność przeciwnowotworową względem linii komórkowych raka prostaty. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych w ramach niniejszej dysertacji zostały opisane w 5

publikacjach o zasięgu międzynarodowym oraz były prezentowane na licznych konferencjach zagranicznych i krajowych.

Abstract

Solanum alkaloids were isolated from plants of the family *Solanaceae* (*Solanum*). These are steroidal alkaloids whose structure is based on the C27 cholestan skeleton. The main representatives of this class of compounds are solasodine, tomatidine and solanidine. Steroidal alkaloids are known to possess a variety of biological properties such as: antiproliferative, neurogenic, anticonvulsant and antiinflammatory. The wide range of biochemical activity and the low concentration of these compounds in plant material inspired chemists to design their synthetic analogues. The most famous representative of this group of compounds is solasodine – a nitrogen analog of diosgenin. Thus it seems to be the first-choice starting material for the synthesis of solasodine derivatives. The solasodine syntheses from diosgenin proposed so far are based on three-stage strategy: F-ring opening (stage I), nitrogen nucleophile substitution of the side chain leaving group (stage II) and F-ring closure (stage III).

My research was focused on designing, synthesis and evaluation of biological activity of solasodine and analogues. The main purpose of this dissertation was to develop a convenient strategy for the simultaneous opening of the F ring and the nitrogen atom introduction in the C26 position (with the use of eg. azides, carbamates) which may constitute promising method for obtaining the solasodine and its derivatives. The research carried out in this strategy allowed for the development of a two-step synthesis of solasodine pivalate.

I also studied an attempt of a direct transformation of spirostanes (diosgenin) into spirosolanes (solasodine) by a new reagent – diisobutylaluminum amide, readily available from diisobutylaluminum hydride (DIBAL) and ammonium chloride. I was looking for the paths of the syntheses of 26a-homo-, and 22a(*N*)-homo analogues of solasodine and their *N*-acyl derivatives. I assumed that the derivatives with 7-membered F ring might exhibit similar biological properties to their parent compounds. The synthesized derivatives were tested for their antiproliferative and antineurodegenerative properties. In my research, I was looking for methods of synthesis other aza-steroids, including pyrimidobenzimidazole derivatives which were obtained by condensation of 16-dehydropregnenolone acetate with 2-aminobenzimidazole. The optimized reaction conditions (influence of the catalyst, reaction time, type of solvent, concentration of individual reactants) allowed to obtain a total of 6 new analogues. The obtained derivatives showed very good antitumor activity against prostate cancer cell lines. All obtained results of my presented in this dissertation have been described in 5 international publications and have been presented at numerous foreign and national conferences.

Spis treści

Wykaz używanych skrótów.....	3
Cel i założenia pracy.....	7
1. Przegląd literaturowy.....	11
1.1. Wprowadzenie.....	11
1.2. Naturalne źródła alkaloidów steroidowych.....	11
1.3. Alkaloidy <i>Solanum</i>	12
1.3.1. Izolacja i oczyszczanie alkaloidów <i>Solanum</i>	15
1.4. Solasodyna.....	16
1.4.1. Farmakologiczne działanie solasodyny.....	17
1.4.2. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe.....	18
1.4.3. Hamowanie aktywności acetylocholinoesterazy.....	18
1.4.4. Właściwości przeciwnowotworowe.....	19
1.4.5. Diosgenina – substrat w syntezie solasodyny.....	20
1.4.6. Otwarcie pierścienia F w spirostanach.....	21
1.4.7. Izomeryzacja spirostanów w środowisku kwaśnym.....	26
1.4.8. Synteza spirosolanowych pochodnych.....	28
1.4.9. Reaktywność układów spiroaminoketalowych.....	45
1.4.10. Synteza pochodnych alkaloidów steroidowych z wykorzystaniem spirosolanów.....	49
2. Badania własne.....	57
2.1. Wprowadzenie.....	57
2.2. Reakcja octanu diosgeniny z azydkiem w obecności kwasu Lewisa.....	57
2.3. Synteza solasodyny z wykorzystaniem karbaminianów w obecności kwasu Lewisa.....	65
2.4. Synteza pochodnej solasodyny wykorzystująca amidek diizobutyloglinowy.....	72
2.5. Synteza F-homo analogów solasodyny.....	75
2.6. Synteza steroidowych pochodnych pirymidobenzimidazolu.....	95
Podsumowanie.....	107
3. Część eksperymentalna.....	117
Uwagi ogólne.....	117
Przebieg eksperymentów oraz analiza otrzymanych związków.....	118
3. 1. Próby syntezy solasodyny z wykorzystaniem azydków.....	118
3.1.1. Przebieg reakcji octanu diosgeniny (4a) z azydkami w obecności kwasu.....	118
3.2. Synteza solasodyny z wykorzystaniem karbaminianów.....	119

3.2.1. Reakcja piwalanu diosgeniny (4b) z karbaminianami w obecności kwasu	119
3.2.2. Reakcja cyklizacji karbaminianu (165).....	121
3.2.3. Synteza piwalanu solasodyny (1b) z piwalanu diosgeniny (4b)	122
3.3. Synteza pochodnej solasodyny z wykorzystaniem DIBAL i NH ₄ Cl	123
3.3.1. Otrzymywanie 26-hydroksy-3β- <i>tert</i> -butyloдимetylosiloksy-5α-cholestan-16,22-dionu (171).....	123
3.3.2. Ogólna procedura reakcji z DIBAL /NH ₄ Cl	124
3.4. Synteza 26a-F-homosolasodyny z benzoesanu diosgeniny	126
3.5. Synteza 22a(<i>N</i>)-F-homosolasodyny z benzoesanu diosgeniny.....	131
3.6. Synteza benzoesanu 22a(<i>N</i>)-homosoladulcydyny z benzoesanu tigogeniny	135
3.7. Synteza pochodnych pirymidabenzimidazolu	139
3.7.1. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-aminobenzimidazolem	139
3.7.2. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem..	141
3.7.3. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-aminoimidazolem.....	143
Bibliografia.....	145

Wykaz używanych skrótów

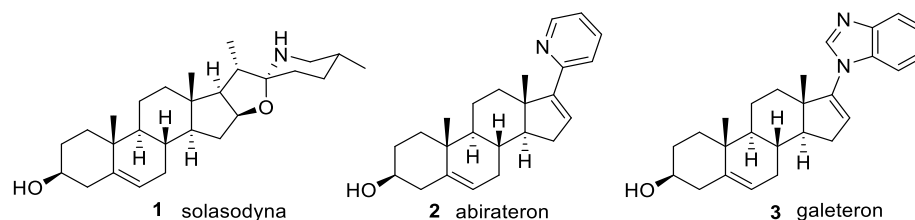
A375	linia komórkowa ludzkiego nowotworu skóry
Ac	acetyl
ACh	acetylocholina
AChE	acetylocholinoesteraza
AD	choroba Alzheimera
ADP	fosforan dietylowo-allilowy
AGS	linia komórkowa raka żołądka
ATFAA	bezwodnik octowo-trifluorooctowy
BChE	butyrylocholinoesteraza
BJ	normalne ludzkie fibroblasty
Bu	<i>n</i> -butyl
<i>t</i>-Bu	<i>tert</i> -butyl
Bz	benzoesan
C4-2	linia komórkowa raka prostaty
CbzNH₂	karbaminian benzylu
ChE	cholinoesteraza
CEM	linia komórkowa ostrej białaczki limfoblastycznej
CDDP	cisplatyna
COSY	spektroskopia korelacyjna (ang. <i>correlated spectroscopy</i>)
CP	cyklofosfamid
d	dublet
DBMP	2,6-di- <i>tert</i> -butylo-4-metylopirydyna
DCE	1,2-dichloroetan
DCM	dichlorometan
dd	dublet dubletów
DEAD	azodikarboksylan dietylu
DIAD	azodikarboksylan diizopropylu
DIBAL	wodorek diizobutyloglinu
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropylodetyloamina
DFT	teoria funkcjonałów gęstości (ang. <i>density functional theory</i>)
DMAP	4-dimetyloaminopirydyna
DMF	<i>N,N</i> -dimetyloforamid
DPPA	azydek difenylofosforylu
Et	etyl
ekw.	ekwiwalent, równoważnik
ESI	jonizacja elektrosprejem

EPI	epirubicyna
5-FU	fluorouracyl
G-361	linia komórkowa ludzkiego czerniaka złośliwego
GI₅₀	stężenie dla 50% maksymalnego hamowania proliferacji komórek
HeLa	linie komórkowe raka szyjki macicy
HMBC	heterojądrowa korelacja (¹ H-X) dalekiego zasięgu (ang. <i>heteronuclear multiple bond correlation</i>)
HRMS	spektrometria masowa wysokiej rozdzielczości
HSQC	spektroskopia NMR, heteronuklearny eksperyment z pojedynczą kwantową korelacją (ang. <i>heteronuclear single-quantum coherence</i>)
HT-29	linia komórkowa raka okrężnicy
IC₅₀	połowa maksymalnego stężenia hamującego
IR	spektroskopia w podczerwieni
m	multiplet
MCF7	linia komórkowa raka piersi
MCPBA	kwas 3-chloroperoksybenzoesowy
Me	metyl
MeCN	acetonitryl
MDA-MB-231	linia komórkowa raka piersi
Ms	metanosulfonyl
MsNH₂	metanosulfonamid
MORPHO CDI	<i>p</i> -toluenosulfonian <i>N</i> -cykloheksylo- <i>N'</i> -(2-morfolinoetylo)karbodiimid
MTX	metotreksat
<i>n</i>-BuLi	<i>n</i> -butylolit
NCS	<i>N</i> -chlorosukcynoimid
NIS	<i>N</i> -jodosukcynoimid
NMR	spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego
NOE	efekt jądrowy Overhausera, dipolowe sprzężenia homojądrowe
NOESY	homojądrowa technika wielowymiarowa (ang. <i>nuclear overhauser effect spectroscopy</i>)
PC3	linia komórkowa raka prostaty
PCC	chlorochromian pirydyny
PDC	dichromian pirydyny
PG	grupa ochronna (ang. <i>protective group</i>)
Ph	fenyl
Piv	piwaloil
PMBCl	chlerek 4-metoksybenzylu

POCl₃	trichlorek fosforu
<i>i</i>-Pr	izopropyl
PPh₃	trifenylfosfina
PPTS	<i>p</i> -toluenosulfonian pirydynowy
Py	pirydyna
q	kwartet
ROESY	spektroskopia NOE w rotującym układzie współrzędnych (ang. <i>rotating-frame overhauser effect spectroscopy</i>)
22Rv1-ARE14	linia komórkowa raka prostaty
s	singlet
S180	linia komórkowa mysiego czerniaka
SM	solamarginina
SN	solasonina
SR-T100	ekstrakt z Psianki szarej
t	triplet
TBAF	fluorek tetra- <i>n</i> -butyloamoniowy
TBDMSCl	chlorek <i>tert</i> -butylodimetylosililowy
TBDPSO	grupa <i>t</i> -butylodifenylsililowa
TCE	trichloroetylen
TEA	trietyloamina
TFA	kwask trifluorooctowy
TFAT	bezwodnik 2,2,2-trifluoroetano-trifluorometanosulfonowy
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografia cienkowarstwowa
TMSCl	chlorek trimetylosililu
TMSOTf	trifluorometanosulfonian trimetylosililu
<i>p</i>-Ts	<i>p</i> -toluenosulfonyl
TsOH	kwask <i>p</i> -toluenosulfonowy
t.t.	temperatura topnienia
VCaP	linia komórkowa raka prostaty

Cel i założenia pracy

Alkaloidy steroidowe to związki zawierające szkielet steroidowy z wbudowanym atomem azotu w swojej strukturze. Przykładami takich aza-steroidów są solasodyna (**1**), abirateron (**2**) oraz galeteron (**3**), które ze względu na swoją aktywność biologiczną są przedmiotem badań wielu naukowców (**Rysunek 1**). Solasodyna została wyizolowana z roślin należących do rodziny psiankowatych. Możliwość jej potencjalnego zastosowania w leczeniu klinicznym oraz trudności związane z izolacją z materiału roślinnego mobilizują naukowców do opracowania wydajnej metody syntezy solasodyny i jej nowych analogów. Abirateron (**2**) jest zaś syntetycznym lekiem hormonalnym otrzymanym w Stanach Zjednoczonych, stworzonym z myślą o walce z nowotworem gruczołu krokowego opornego na kastrację. W 2016 r. pochodna abirateronu – galeteron (**3**) była przedmiotem badań klinicznych III fazy w przypadku raka prostaty z przerzutami również opornymi na kastrację.

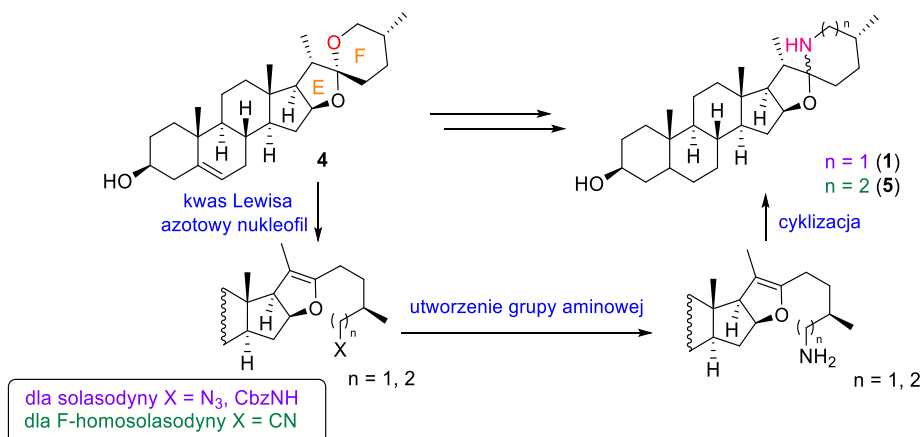


Rysunek 1. Przykłady alkaloidów steroidowych: solasodyna (**1**), abirateron (**2**) oraz galeteron (**3**).

Włączając się w nurt badań dotyczących syntezy alkaloidów steroidowych zamierzałam otrzymać solasodynę (**1**) z diosgeniny (**4**), łatwo dostępnej sapogeniny steroidowej, która jest tlenowym analogiem solasodyny. W tym celu zaplanowałam badania dotyczące jednoczesnego otwarcia pierścienia F w diosgeninie oraz wprowadzenia atomu azotu w strukturę steroidu. Znalezienie dogodnych warunków pozwalających na utworzenie 26-azotowej pochodnej pseudodiosgeniny, a następnie przekształcenie jej w grupę aminową i ponowne odtworzenie 6-członowego pierścienia F, pozwoliłoby mi w łatwy sposób zsyntezować solasodynę (**1**) (**Schemat 1**).

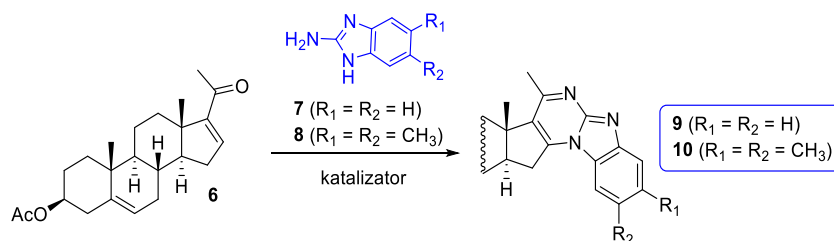
Zasadniczym celem mojej pracy było opracowanie metody syntezy nowej F-homopochodnej solasodyny (**1**) z diosgeniny (**4**), w której zamierzałam wykorzystać zoptymalizowane warunki jednoczesnego otwierania pierścienia F w diosgeninie i wbudowania azotowej grupy funkcyjnej w pozycję C26. Do uzyskania pochodnej o 7-członowym pierścieniu F zamierzałam wykorzystać cyjanki (np. KCN, TMSCN), co pozwoliłoby na wydłużenie łańcucha alifatycznego. Kolejne etapy strategii opierały się na redukcji grupy nitrylowej do aminowej oraz cyklizacji do układu spiroolanu (**Schemat 1**). Zaprojektowaną 26a-homosolasodynę (**5**) planowałam również wykorzystać jako substrat do

uzyskania *N*-podstawionych pochodnych solasodyny posiadających siedmioczłonowy pierścień F.



Schemat 1. Strategia syntezy solasodyny (**1**) i jej F-homoanalogu **5**.

Następnym założeniem było uzyskanie nowych pirymidobenzimidazoli, które podobnie jak galeteron (**3**), miały łączyć w swojej strukturze cząsteczkę steroidu z benzimidazolem. W tym celu postanowiłam zbadać możliwość wykorzystania kondensacji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) w obecności katalizatora zasadowego i kwasowego do syntezy pirymidobenzimidazolu **9** (**Schemat 2**). Tak opracowaną metodę zamierzałam wykorzystać w syntezie innych pochodnych tego typu np. pirymidobenzimidazolu **10**.



Schemat 2. Strategia syntezy nowych pirymidobenzimidazoli **9** oraz **10**.

Dzięki możliwości współpracy z dr Lucie Rarova z Uniwersytetu Palacký w Czechach zaplanowałam ocenę aktywności biologicznej zsyntezowanych związków. Ze względu na to, że solasodyna (**1**) wykazuje właściwości przeciwnowotworowe oraz znalazła zastosowanie w leczeniu chorób nowotworowych (głównie w Australii), to grupa nowych F-homopochodnych solasodyny zostanie zbadana pod kątem ich aktywności antyproliferacyjnej wobec linii komórek nowotworowych różnego pochodzenia. Dodatkowo związki te zostaną sprawdzone pod kątem hamowania aktywności acetylocholinoesterazy, enzymu sprzyjającemu powstawaniu chorób neurodegeneracyjnych. Zsyntezowane pirymidobenzimidazole będą testowane pod kątem ich aktywności *in vitro* przeciwko liniom komórkowym raka prostaty.

Rozdział I
Część literaturowa

1. Przegląd literaturowy

1.1. Wprowadzenie

Rośliny należące do rodzaju *Solanum* (psianka) są od wieków stosowane w tradycyjnej medycynie ludowej. Zainteresowanie naukowców tymi roślinami i możliwość zastosowania ich w leczeniu farmakologicznym wypływa z faktu, że zawarte w nich alkaloidy steroidowe, wykazują szeroki zakres aktywności biologicznej. Związki te posiadają właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwrheumatyczne, przeciwdrgawkowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Ponadto wykorzystywane są one również w przemyśle farmaceutycznym. Niniejszy przegląd literaturowy ma na celu przybliżenie obecnego stanu wiedzy dotyczącego wykorzystania tych alkaloidów jako potencjalnych leków oraz trudności związanych z ich izolacją z materiału roślinnego. Co więcej, pragnę opisać znane już metody syntezy solasodyny – głównego przedstawiciela alkaloidów steroidowych z rodzaju *Solanum*.

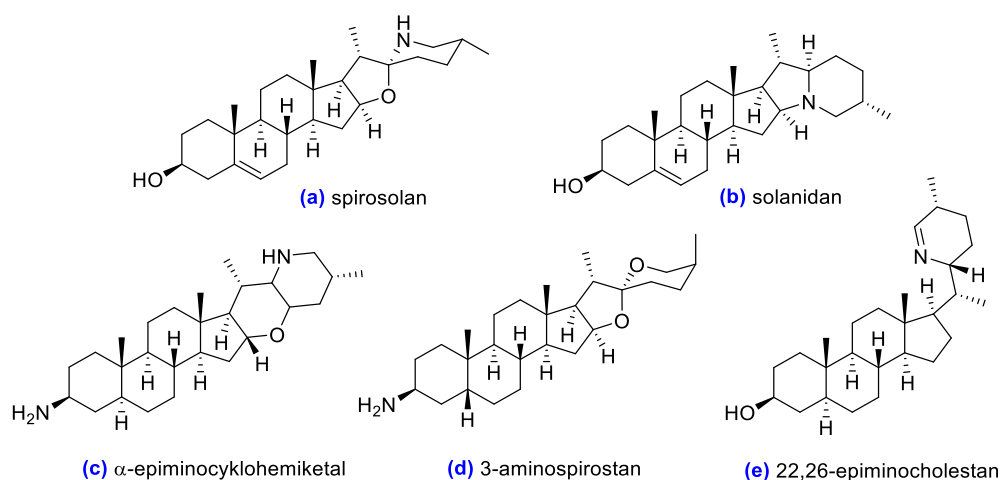
1.2. Naturalne źródła alkaloidów steroidowych

Jedną z największych grup alkaloidów są alkaloidy steroidowe. Pod względem budowy chemicznej zaliczają się do grupy steroidów, zawierającymi w swojej strukturze atom azotu.^[1] Alkaloidy steroidowe występują w roślinach najczęściej w postaci glikozydów, są bowiem metabolitami wtórnymi wielu roślin m. in. należących do rodzaju *Solanum* z rodziny *Solanaceae* (psiankowate).^[2,3] Grupa ta obejmuje rośliny występujące głównie w klimacie subtropikalnym, tropikalnym oraz nieliczne rodzaje w klimacie umiarkowanym. Większość z nich pochodzi z Ameryki Południowej. Znanych jest około 90 rodzajów należących do rodziny psiankowatych, podejrzewa się, że liczba gatunków mieści się pomiędzy 2000-3000, wiele gatunków zidentyfikowano również w Polsce.^[4] Są to rośliny jednoroczne, dwuletnie, jak i wieloletnie (zielne, rzadziej krzewy, niskie drzewa lub pnącza). Sam rodzaj *Solanum* jest jednym z największych rodzajów pod względem roślin kwitnących. Psiankowate mają również praktyczne zastosowanie: wykorzystywane są jako źródło pokarmu (ziemniak, pomidor, bakłażan), przyprawy (papryka, chili), lekarstwa (Ashwagandha, mandragora), używki (tytoń), a nawet trucizny (lulek czarny). Wybrane gatunki uprawiane są na całym świecie na skalę przemysłową w celu pozyskania pokarmu, środków leczniczych oraz służących do wyrabiania używek.^[2,5] Dzięki nowoczesnym technikom inżynierii genetycznej powstały nowe odmiany tych roślin, bardziej odporne na patogeny i inne szkodliwe czynniki środowiska. Co ciekawe, uzyskano również rośliny transgeniczne o zwiększonych możliwościach do syntezy określonych substancji chemicznych.^[6] Jak już wspomniałam, w Polsce występuje kilkanaście gatunków psiankowatych, do których można zaliczyć rośliny uprawne i dziko rosnące. Spotykane są najczęściej *Solanum tuberosum* L. (ziemniak), *Solanum lycopersicum* (pomidor), *Solanum*

melongena (bakłażan), *Capsicum L.* (chili, papryka), *Nicotiana L.* (tytoń), *Scopolia carniolica* (lulecznica kraińska), *Physalis alkekengi* (miechunka rozdęta), *Lycium halimifolium* (kolcowój szkarłatny). Szczęśliwie w częściach jadalnych ziemniaków i pomidorów, dwóch najbardziej rozpowszechnionych obecnie i wykorzystywanych gospodarczo gatunków psiankowatych w Polsce, zawartość alkaloidów steroidowych jest niewielka. Oprócz rodziny psiankowatych alkaloidy steroidowe można znaleźć również w roślinach należących do rodziny Liliowatych (*Veratrum*) oraz Melantkowatych (*Zigadenus*) są to tzw. alkaloidy *Veratrum*. Najbardziej popularnymi przykładami tej grupy związków są *V. album*, *V. californicum*, *V. nigrum*, *V. fimbriatum* oraz *V. viride*. Liliowate występują tylko na półkuli północnej. Historycznie rośliny te były wykorzystywane jako źródła leków i środków owadobójczych.^[7]

1.3. Alkaloidy *Solanum*

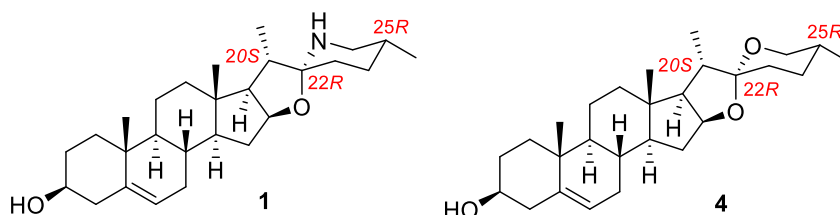
Najbardziej znanymi alkaloidami steroidowymi pochodzącymi z roślin z rodziny psiankowatych, są alkaloidy *Solanum*. Występują one we wszystkich częściach roślin, a najwyższe stężenia znajdują się w kwiatach, kielkach, w niedojrzałych owocach, młodych liściach i pędach (w częściach aktywnych metabolicznie). Związki te nie są niezbędne do wzrostu i funkcjonowania, są one jednak związane z odpornością rośliny.^[2,8] Powstają na drodze biosyntezy z cholesterolu.^[9,10] Uznawane są za substancje zwalczające patogeny i odstrasżające, żywiące się nimi zwierzęta,^[11] w zależności od stężenia wykazują toksyczność względem różnych organizmów: od grzybów^[12,13] po ssaki.^[14] Jak dotąd zidentyfikowano około 90 struktur unikalnych alkaloidów steroidowych pochodzących z ponad 350 gatunków rodzaju *Solanum* (Psianka).^[15] Cechą wspólną tych alkaloidów jest ten sam szkielet cholestanu o 27 atomach węgla. Atom azotu może być wbudowany w strukturę steroidu (tzw. „prawdziwe” alkaloidy) lub występować jako podstawnik (tzw. „pseudo” alkaloidy). Alkaloidy *Solanum* można podzielić na pięć kategorii ze względu na ich budowę (**Rysunek 2**).



Rysunek 2. Typy szkieletów alkaloidów *Solanum*.^[8]

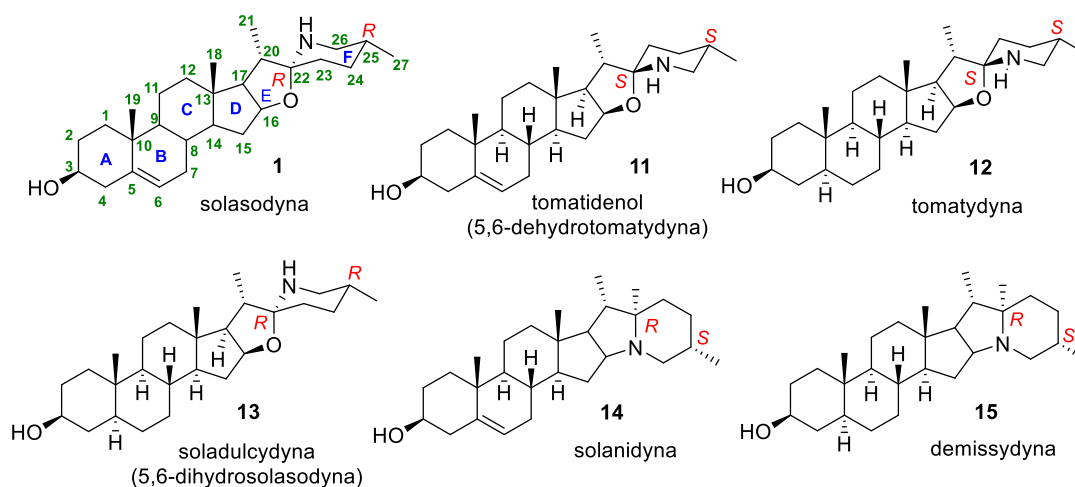
W pierwszej grupie znajdują się układy spiroaminoketalowe tzw. spirosolany (a), druga grupa alkaloidów *Solanum* posiada w swojej strukturze fragment indolizydynowy tzw. solanidany (b). Wyróżnia się również α -epiminocyklohemiketal (c), 3-aminospirostan (d) oraz (22,26)-epiminocholestany (e).^[2,8]

Alkaloidy *Solanum* typu spirosolanu są azotowymi analogami sapogenin steroidowych. Przykładem takiej analogi jest solasodyna (**1**) (układ pierścieni E/F typu spirosolanu) i diosgenina (**4**) (układ pierścieni E/F typu spirostanu) pokazane na **Rysunku 3**.^[16]



Rysunek 3. Analogia budowy solasodyny (**1**) (spirosolan) i diosgeniny (**4**) (spirostan).

Na **Rysunku 4** przedstawiłam dwa typy alkaloidów *Solanum* posiadających różny układ pierścieni E oraz F tzw. układ spirosolanu oraz solanidanu.

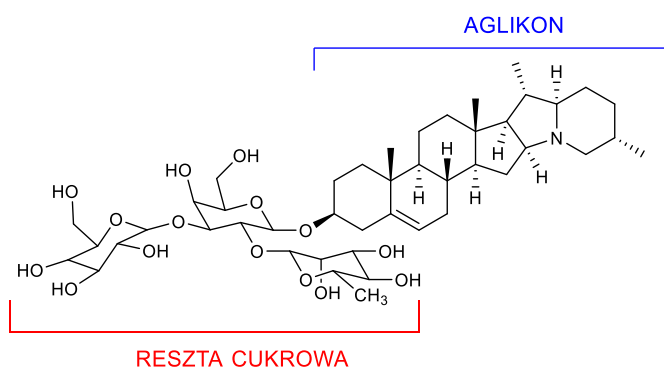


Rysunek 4. Alkaloidy *Solanum* zawierające ugrupowanie spirosolanu oraz solanidanu.

Spirosolany, mają podobny szkielet do spirostanów, z tą różnicą, że posiadają drugorzędowy atom azotu w pierścieniu F. Spirosolany posiadają konfigurację *R* bądź *S* na węglu C22 natomiast w spirostanach jest to najczęściej konfiguracja *R*, tak jak w diosgeninie (**4**). Grupa metylowa w pozycji C25 w spirosolanach jest zazwyczaj ekwatorialna, podczas gdy w spirostanach może być ona zarówno ekwatorialna lub aksjalna. Natomiast grupa metylowa C21 leży po stronie α steroidu (20*S*) zarówno w spirostanach jak i spirosolanach.^[17] Do grupy spirosolanów należy również tomatydyna (**12**), która różni się od solasodyny (**1**) konfiguracją

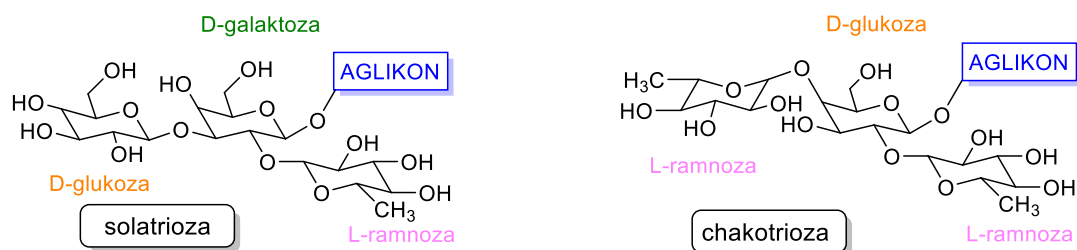
na 22 atomie węgla oraz konfiguracją grupy metylowej położonej przy 25 atomie węgla. Tomatydyna (**12**) posiada konfigurację 22*S* i 25*S*, zaś solasodyna (**1**) 22*R* i 25*R*. Druga grupa alkaloidów *Solanum* zawiera w swojej strukturze fragment indolizydynowy. Przykładami takich związków są solanidyna (**14**) oraz demissydyna (**15**), gdzie atom azotu łączy pierścienie E i F.^[2,8]

Naturalnie alkaloidy steroidowe występują w postaci glikozydów. Taka budowa odpowiada za amfifilowy charakter cząsteczki. Hydrofobowy szkielet steroidowy (aglikon) połączony jest wiązaniem glikozydowym z drugą jednostką (hydrofilową), którą jest reszta cukrowa w pozycji 3-OH.^[8] Przykładem takiego związku jest α -solanina, czyli glikoalkaloid solanidyny (**14**), wyizolowany z ziemniaka (**Rysunek 5**).



Rysunek 5. Struktura α -solaniny.

Resztę cukrową glikoalkaloidów steroidowych najczęściej stanowi kombinacja D-glukozy, D-galaktozy, D-ksylozy i L-ramnozy. Najczęściej są to tri- lub tetrasacharydy. Najbardziej znanymi glikozydami solasodyny są solasonina i solamargina. Solasonina zawiera glukozę, galaktozę i ramnozę (układ nazywany solatriozą), a solamargina zawiera glukozę i dwie cząsteczki ramnozy (tzw. chakotrioza) (**Rysunek 6**).^[2,8,18]

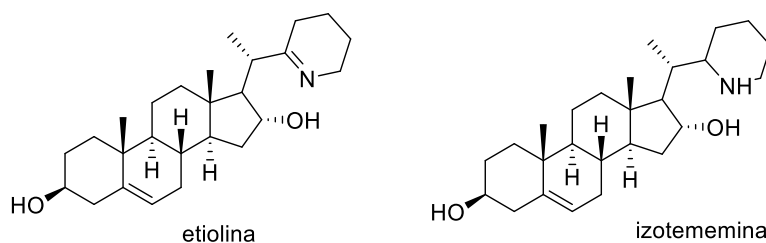


Rysunek 6. Struktury reszt cukrowych występujących w alkaloidach *Solanum*.^[2,8]

W 1826 roku po raz pierwszy wyizolowano z ziemniaka α -solaninę: glikoalkaloid solanidyny, dużo później, bo w 1954 roku odkryto drugi glikoalkaloid solanidyny – α -chakoninę.^[19–21] Mniej znane glikoalkaloidy należące do tej grupy znaleziono w innych gatunkach np. *S. demissum*, *S. chacoense* oraz *S. commersonii*.^[22–27]

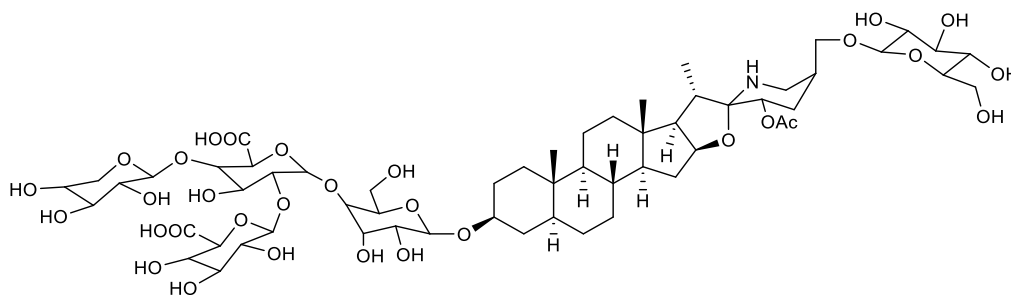
Tomatyna, czyli glikoalkaloid tomatydyny (**12**) znajdujący się w pomidorach został wyizolowany w 1948 roku,^[8,28] po pewnym czasie dowiedziono, że ekstrakt jest mieszaniną

tomatyny oraz dehydrotomatyny.^[8,29] W roślinach *S. acaule* oraz *S. ajanhuiri* znaleziono również nowy glikoalkaloid, który posiada aglikon tomatydyny w swojej strukturze.^[30] α -Solasonina oraz α -solamarginina, czyli glikoalkaloidy solasodyny zostały znalezione w bakłażanie oraz 100 innych gatunkach roślin Psiankowatych.^[2,8] α -Solasonina została wyodrębniona z takich roślin jak *S. curtilobum*, *S. candolleanum*, *S. medians*, oraz *S. multiinterruptum*,^[23,26] natomiast α -solamarginina z takich gatunków jak *S. berthaultii*, *S. paludosum*, *S. ambosinum*, *S. multidissectum*, *S. spgazzini*, *S. bukasovii*.^[8] W liściach ziemniaka jadalnego *Kennebec* znaleziono α - oraz β -solamarinę,^[31] natomiast w afrykańskiej roślinie *Solanum aculeastrum* (jabłko sodowe, „gorzkie jabłko”) solakulinę A,^[32] oba przykłady związków są glikozydami posiadającymi aglikon tomatidenolu (22S pochodnej solasodyny). W 1986 roku chiński zespół opisał nieznanne alkaloidy *Solanum* wyizolowane z korzenia Psianki pieprzowej (*Capsicastrum*): etiolinę oraz izotememinę (**Rysunek 7**).^[33,34]



Rysunek 7. Struktura etioliny oraz izotememiny.

Oprócz opisanych glikoalkaloidów mniej znanym związkiem jest esculeozyd A, posiadający aglikon typu spirosolanu z dodatkową grupą acetoksyłową w pozycji C23 oraz z dwiema resztami cukrowymi przyłączonymi do grupy hydroksylowej w C3 oraz C27 (**Rysunek 8**).^[35,36]



Rysunek 8. Esculeozyd A wyizolowany m.in. z pomidora.

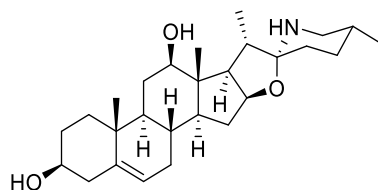
1.3.1. Izolacja i oczyszczanie alkaloidów *Solanum*

Początkowo solasodynę izolowano z roślin pochodzących z rodziny psiankowate w postaci glikozydu bądź samego aglikonu. Sposoby pozyskiwania alkaloidów steroidowych z materiałów roślinnych, polegają głównie na ich ekstrakcji za pomocą rozpuszczalników organicznych. Podczas izolowania przeprowadza się hydrolizę glikoalkaloidów, dzięki której

ugrupowanie cukrowe zostaje odłączone, a produktem końcowym jest aglikon.^[37–41] Wszystkie te metody izolacji na pewnym etapie wymagają gotowania ekstraktu z wodnym lub alkoholowym roztworem kwasu, co może skutkować powstawaniem produktów ubocznych, między innymi spirosola-3,5-dieniu, tworzącego się w wyniku dehydratacji solasodyny.^[42]

Najczęściej stosowane techniki izolacji alkaloidów obejmują: ekstrakcję metodą Soxhleta i metodą Stas-Otto, proces Kippenbergera, macerację lub destylację. Wszystkie wymienione wyżej metody pozwalają wstępnie wyizolować materiał zawierający alkaloidy. Dodatkowo oczyszcza się je stosując ekstrakcję kwasowo-zasadową, odczynniki strącające lub metody krystalizacji oraz techniki chromatograficzne.^[1,43–46]

Mimo tego, że proces wyodrębniania alkaloidów *Solanum* z materiału roślinnego jest pracochłonny i mało wydajny, ciągle poszukuje się nowych metod pozyskiwania alkaloidów steroidowych, np. w 2014 roku Guo i współpracownicy^[41] zoptymalizowali metodę izolacji solasoniny i solamarginy z psianki czarnej (*S. nigrum*). W tym samym roku Gomes i inni otrzymali tomatynę z pomidora zwyczajnego (*Solanum lycopersicum*).^[47] W 2015 roku Hossain^[48] wyizolował solanidynę ze skórek ziemniaka, natomiast w 2016 roku otrzymano mało znany solanawiol^[1], który w 1979 roku został wyizolowany po raz pierwszy jako główny alkaloid z wysuszonych liści należących do *Solanum aviculare* (wydajność wynosiła ok. 0,05%, **Rysunek 9**).^[49]



Rysunek 9. Solanawiol wyizolowany z *Solanum aviculare*.

Opracowane techniki izolacyjne alkaloidów, pozwalają na uzyskiwanie niewielkich ilości żądanych związków, co związane jest z małą zawartością alkaloidów steroidowych w materiale roślinnym. Największe stężenie solasodyny w materiale roślinnym (6%) zanotowano podczas ekstrakcji z owoców *Solanum aviculare*. Podobną zawartość posiadają dojrzałe jagody *Solanum khasianum*. Ekstrakcja tych owoców pozwoliła uzyskać solasodynę w ilości 5,4%. Niewielkie stężenie solasodyny w ekstraktach roślinnych oraz pracochłonny proces ich wydobycia i oczyszczenia, od wielu lat skłania naukowców do opracowania efektywnych metod otrzymania tego alkaloidu drogą syntetyczną.^[50] Badania w tym kierunku rozpoczęły się w latach 50-tych XX wieku i trwają do dziś.^[51–53]

1.4. Solasodyna

Rodzina *Solanaceae* obejmuje wiele roślin znanych z obecności różnorodnych produktów naturalnych o znaczeniu leczniczym takich jak laktony steroidowe, terpeny i flawanoidy. Szczególną grupą związków znajdujących się w tych roślinach są alkaloidy

steroidowe, które cechują się wysoką aktywnością biologiczną. Wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe, owadobójcze oraz właściwości grzybobójcze, które zapewniają odporność roślinie.^[3]

Jednym z najbardziej znanych alkaloidów *Solanum* jest solasodyna (**1**). Pierwsze doniesienia na temat izolacji tego związku sięgają początku XX wieku. W 1905 roku Oddo i Colombano wyekstrahowali solasoninę z *Solanum sodomium*, z której następnie, na drodze hydrolizy kwasowej, otrzymali solasodynę. Struktura solasodiny została ustalona jednak wiele lat później, bo dopiero w 1942 roku. Jej budowa opiera się na 27-węglowym szkielecie cholestanu, posiadającym dwa dodatkowe pierścienie E i F, połączone węglem spiro (C22) o konfiguracji R. Ze względu na taką samą budowę szkieletu steroidowego solasodyna jest azotowym analogiem diosgeniny i to właśnie diosgenina jest najczęstszym materiałem wyjściowym w syntezie solasodiny.^[37,54–56]

1.4.1. Farmakologiczne działanie solasodiny

Solasodyna (**1**) wykazuje różnorodną aktywność biologiczną, taką jak działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, antyproliferacyjne, teratogenne oraz przeciwnowotworowe.^[1,56] Znajduje się ona w wielu gatunkach roślin z rodziny psiankowatych (*Solanaceae*) takich jak: *Solanum khasianum*, *Solanum lyratum*, *Solanum nigrum*, *Solanum xanthocarpum*, *Solanum tuberosum*, *Solanum gracile*, *Solanum laciniatum*. Niektóre gatunki, np. *Solanum aviculare*, *Solanum khasianum* i *Solanum laciniatum* uprawiane są w Indiach ze względu na wysoką zawartość solasodiny. W latach 70-80-tych XX wieku *Solanum khasianum* uprawiana była na potrzeby lokalnego przemysłu farmaceutycznego, natomiast w Nowej Zelandii popularna była uprawa gatunku *Solanum aviculare*.^[57] Niektóre z tych roślin są powszechnie stosowane w tradycyjnej chińskiej medycynie, np. w Korei do regulacji funkcji immunologicznej i leczenia reakcji alergicznych.^[58] Co więcej, niektóre rośliny zawierające solasodynę np. *Solanum sisymbriifolium* (Psianka stulizolistna) stosowane są w medycynie ludowej w leczeniu chorób układu krwionośnego (nadciśnienie tętnicze), infekcji dróg oddechowych oraz zaburzeń ośrodkowego układu oddechowego (epilepsja, depresja).^[59] Jak już wspomniałam, solasodyna wykazuje silne właściwości przeciwnowotworowe, zarówno *in vitro* jak i *in vivo*.^[60] W porównaniu do aglikonu, glikozydy solasodiny wykazują wyższą aktywność cytotoksyczną wobec różnych linii komórek nowotworowych. Fakt ten wykorzystano w leczeniu klinicznym w Australii: mieszanina glikozydów, zawierająca 33% solasoniny, 33% solamarginy oraz 34% odpowiadających im di- i monoglikozydów został wykorzystany jako środek przeciwnowotworowy.^[61–63]

1.4.2. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe

Solasodyna (**1**), podobnie jak inne alkaloidy steroidowe, wykazuje silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Wenezuelska grupa badawcza w pracy z 1997 roku opisała, że glikozydy solasodyny oraz solanidyny były testowane jako inhibitory wzrostu świdrowca amerykańskiego (*Trypanosoma cruzi*) wywołującego choroby pasożytnicze. Ich działanie było porównywane z przeciwwgrzybiczą aktywnością ketokonazolu. Badania potwierdziły, że α -solamarginina (aglikon – solasodyna, **1**) oraz α -chakonina (aglikon – solanidyna, **14**) wykazują aktywność przeciw trypanosomalną, jednak co ciekawe, efekt ten jest większy dla solanidyny, co może wynikać z występującego układu indolizydyny skondensowanego z steroidem. Niska aktywność aglikonów wskazuje, że rola cząsteczki cukru jest bardzo ważna. Fakt ten znajduje potwierdzenie w otrzymanych wynikach: solamarginina wykazuje niższą aktywność względem wiciowców niż jej glikozyd. Autorzy postulują, że obecność ramnozy w ugrupowaniu sacharydowym wydaje się być ważną cechą w strukturze związków aktywnych.^[64] Inna amerykańska praca naukowa z 1997 roku wykazała, że solasodyna ma wpływ na rozwój larw trojszyka gryzącego *Tribolium castaneum*, chrząszcza będącego jednym z największych szkodników magazynowych. W badaniach potwierdzono, że dodatek solasodyny do ich pożywki, hamuje ich rozwój.^[56,65] Irlandzka grupa naukowców natomiast badała wpływ wodnej zawiesiny glikozydów solasodyny na rozwój wirusa opryszczki pospolitej typu I. W pracy z 1985 roku udowodniono, że inkubacja wirusa z solasodyną, pozwala zahamować namnażanie się wirusa.^[56,66]

1.4.3. Hamowanie aktywności acetylocholinoesterazy

Badania dotyczące otrzymania związków hamujących działanie acetylocholinoesterazy (AChE) są niezmiernie ważne ze względu na rolę jaką pełnią w hydrolizie neuroprzekazników acetylocholin (ACh). Stosowanie inhibitorów AChE jest najbardziej skutecznym rozwiązaniem w leczeniu objawów choroby Alzheimera (AD), choroby Parkinsona, demencji starczej i ataksji.^[67]

W rodzinie *Solanaceae* znajduje się wiele gatunków roślin z których wyizolowano związki o silnych właściwościach hamujących działanie AChE, przykładem takiej rośliny jest *Withania somnifera* (witania ospała).^[67] W 1989 roku Roddick zbadał, że glikoalkaloidy steroidowe w tym α -solanina oraz α -chakonina (aglikon – solanidyna, **14**) wykazują działanie hamujące względem ludzkiego enzymu AChE.^[68] Mniejszą aktywnością hamującą charakteryzują się glikoalkaloidy – solasonina i solamargina (aglikon solasodyna, **1**). Autor postuluje, że najważniejszym elementem w budowie cząsteczki, wpływającym na inhibicję enzymu AChE jest występowanie pierścienia zawierającego atom azotu w alkaloidach steroidowych (a nie jak mogłoby się wydawać obecność cukru). W 1987 roku amerykańscy badacze porównali aktywność 7 glikoalkaloidów: 6 glikozydów solanidyny oraz 1 glikozyd tomatydyny, oraz 3 aglikonów: solanidyny (**14**), demissydyny (**15**), tomatydyny (**16**). Badania

miały na celu ustalenie czy obecność oraz skład części cukrowej oraz budowa aglikonu ma wpływ na aktywność glikoalkaloidów.^[69] Badania wykazały, że glikoalkaloidy posiadają większą zdolność do hamowania AChE niż same aglikony. Budowa części cukrowej również miała wpływ na wynik – obecność 4 cząsteczek cukru skutkowało gorszymi wynikami w porównaniu do glikozydów z 2 lub 3 cząsteczkami. Najmniejszą zdolność do hamowania enzymu wykazała tomatydyna oraz jej glikozyd – 4,2% inhibicji przy stężeniu 34 ppm. Ten niski wynik wskazuje, że nie tylko część cukrowa wydaje się odgrywać znaczenie w hamowaniu, ale także struktura aglikonu (glikoalkaloid tomatyna ma to samo ugrupowanie cukrowe co demisyne, która wykazuje hamowanie na poziomie 21,6% również przy stężeniu 34 ppm).

1.4.4. Właściwości przeciwnowotworowe

Solasodyna (**1**) i jej glikozydy wykazują silną cytotoksyczność względem komórek rakowych wielu ludzkich narządów.^[63,70–73] W pracy z 2013 opublikowano wyniki w których wykazano, że zastosowanie glikozydów solasodyny w testach *in vivo* na modelu myszy zahamowało rozwój mysiego mięsaka (S180).^[62] W 2008 roku angielska grupa naukowa opisała stosowanie maści leczniczej (krem Zycure) na bazie glikozydu solasodyny w leczeniu raka podstawnokomórkowego skóry. Wykazali, że jest to bezpieczna terapia, ze wskaźnikiem wyleczenia 66% po 8 tygodniach i 78% po 1 roku obserwacji.^[74]

W 2017 roku grupa z Tajwanu opublikowała pracę dotyczącą stosowania ekstraktu z psianki szarej (*Solanum incanum*) tzw. SR-T100 na liniach komórkowych: mysim czerniaku B16, ludzkim nowotworze skóry A375 oraz ludzkim czerniaku G361. Głównym składnikiem aktywnym ekstraktu była solamargina. Badania wykazały, że zastosowanie ekstraktu SR-T100 hamuje rozwój komórki czerniaka *in vitro* i zmniejsza ilość przerzutów *in vivo*. SR-T100 indukował apoptozę i spowodował zatrzymanie cyklu komórkowego (na etapie G0/G1) w komórkach czerniaka.^[75]

W 2007 roku tajwańska grupa naukowa porównywała aktywność solamargininy ze znanymi lekami przeciwnowotworowymi: cisplatyną (CDDP), metotreksatem (MTX), 5-fluorouracylem (5-FU), epirubicyną (EPI) i cyklofosfamidem (CP) wobec ludzkich komórek raka piersi. Badania te wykazały, że solamargina spowodowała śmierć komórek nowotworowych szybciej niż wspomniane cytostatyki.^[76]

W pracy z 2015 roku australijscy naukowcy prowadzili badania cytotoksyczności solasodyny (**1**), jej glikozydów i innych alkaloidów steroidowych na wybranych liniach komórkowych: raka żołądka (AGS), okrężnicy (HT-29), gruczolaka sutka (MCF-7) oraz raka piersi (MDA-MB-231) przy użyciu testu MTT (najczęściej stosowany test do analizy aktywności metabolicznej komórki).^[77] Przeprowadzone badania wykazały, że solasodyna nie wykazywała działania cytotoksycznego przeciwko niektórym z testowanych linii komórkowych np. była nieaktywna wobec MCF-7 ($IC_{50} > 100$). Inaczej było w przypadku

zastosowania solasoniny (glikozydu solasodyny), która w tych samych testach wykazała silne działanie cytotoksyczne ($IC_{50} = 5.09 \mu M$). Przeprowadzony eksperyment udowodnił, że obecność części cukrowej (a także sposób połączenia cząsteczek cukru) wpływa na aktywność cytotoksyczną tych związków, np. solasodyna w połączeniu z ramnozą oraz glukozą wykazała znaczną toksyczność na wszystkich testowanych liniach komórkowych (np. dla MCF-7 $IC_{50} = 2.62 \mu M$). Australijska grupa zbadała również, że rodzaj aglikonu nie wpływa znacząco na aktywność cytotoksyczną, pod warunkiem, że części cukrowe są takie same np. porównano α -solaninę (aglikon solanidyna) i α -solasoninę (aglikon solasodyna) i wykazano, że aktywność względem MCF-7 była podobna (dla α -soloniny $IC_{50} = 4.57 \mu M$ a dla α -solasoniny $IC_{50} = 5.09 \mu M$).^[77]

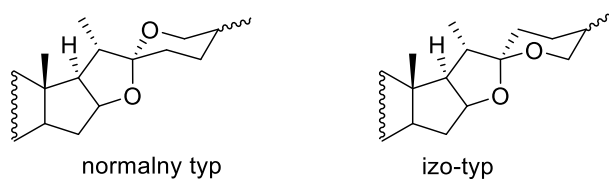
W 2007 roku naukowcy z Afryki Południowej sprawdzali aktywność cytostatyczną solasodyny, tomatydyny, mieszaniny tych dwóch aglikonów i porównali ją z aktywnością cisplatyny, testy były wykonywane na liniach MCF-7, HeLa oraz ludzkich komórkach HT-29. Badania wykazały, że zastosowanie mieszaniny aglikonów solasodyny oraz tomatydyny wykazują synergistyczny wpływ na hamowanie wzrostu komórek nowotworowych np. dla linii komórkowej rajka szyjki macicy HeLa, tomatydyna wykazywała $IC_{50} = 141.7 \mu M$, solasodyna $IC_{50} = 252.5 \mu M$, a mieszanina obu związków $IC_{50} = 149.3 \mu M$. Podobne wyniki otrzymano względem linii MCF-7. W porównaniu do cisplatyny, alkaloidy wykazywały jednak słabsze wyniki (w obu badaniach cisplatyna $IC_{50} = 2.5 \mu M$).^[78]

Do bardzo obiecujących wniosków doszła grupa naukowa z Indii w 2017 roku badając właściwości przeciwnowotworowe solasodyny.^[79] Postawiła tezę, że alkaloid ten wykazuje zależne od stężenia hamowanie proliferacji komórek raka piersi MCF-7. Autorzy postulowali, że podstawowym mechanizmem tego hamowania, jest prawdopodobnie wpływ na szlaki zależne od kaspazy (enzym degradujący białka, przecinając wiązanie peptydowe) i białka p53 (białko regulujące mechanizmy naprawy DNA bądź indukuje apoptozę w odpowiedzi na uszkodzenie DNA). Co więcej, solasodyna kontroluje poziom ekspresji niektórych białek np. białek z grupy Bcl-2, które regulują uwalnianie czynników (cytochrom c oraz czynnik indukujący apoptozę AIF) wpływających na śmierć komórki. Całość przedstawionych wyników sugeruje, że solasodyna może uzupełniać obecnie stosowane leczenie chemioterapeutyczne w niedalekiej przyszłości.

1.4.5. Diosgenina – substrat w syntezie solasodyny

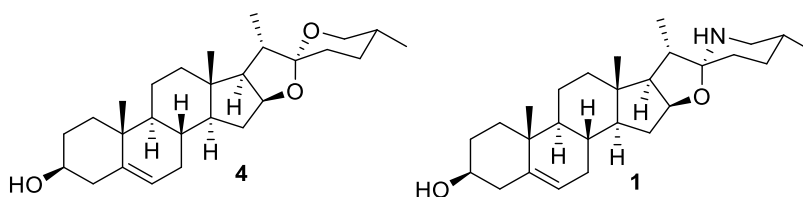
Jak już wspomniałam, glikoalkaloidy *Solanum* w większości przypadków są azotowymi analogami saponin steroidowych. Saponiny to szeroko rozpowszechniona grupa związków na świecie, występującą najczęściej w świecie roślin. Zbudowane są z części cukrowej oraz z aglikonu, tzw. sapogeniny, które mogą mieć różną budowę. Przykładem są sapogeniny spirostanowe, posiadające dwa dodatkowe pierścienie E i F połączone węglem

spiro. Taki układ pierścieni nazywany jest układem [4,5]-spiroketalowym. Rozróżniamy dwa rodzaje ułożenia pierścieni: typ normalny oraz typ izo-spirostanu (**Rysunek 10**).^[80,81]



Rysunek 10. Typy układów spiroketalowych.

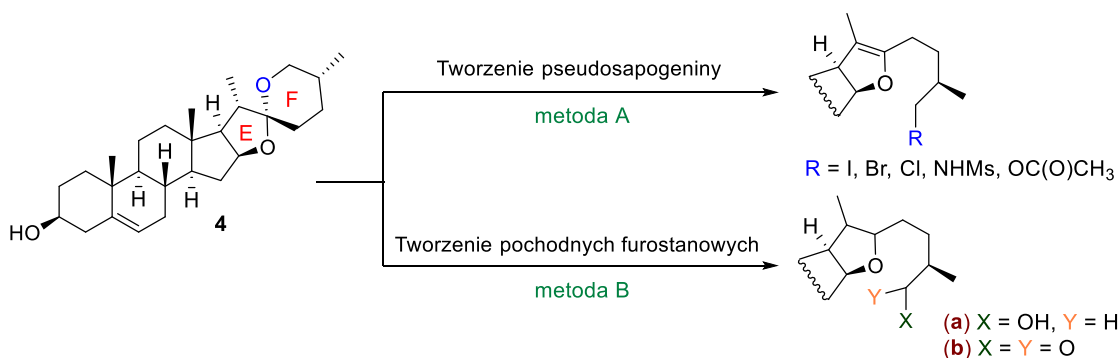
Przykładem sapogeniny spirostanowej jest diosgenina (**4**).^[82] Jej budowa opiera się na 27-węglowym szkielecie steroidowym, posiadającym normalny typ spirostanu. Ze względu na podobieństwo strukturalne diosgeniny (**4**) do solasodyny (**1**), to właśnie diosgenina (**4**) wydaje się być najlepszym materiałem wyjściowym do jej syntezy (**Rysunek 11**). Diosgenina (**4**) posiada bowiem taki sam układ pierścieni oraz taką samą konfigurację na wszystkich centrach stereogenicznych jak solasodyna (**1**) (**Rysunek 11**).



Rysunek 11. Analogia struktury diosgeniny (**4**) i solasodyny (**1**).

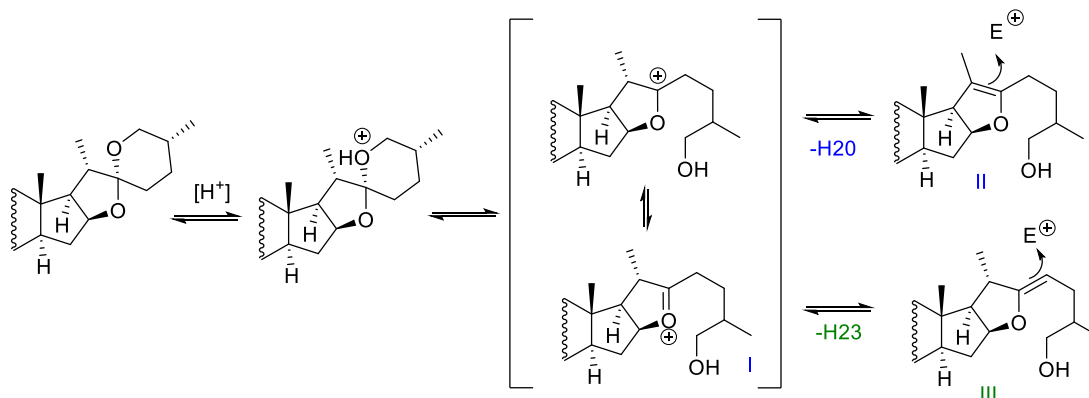
1.4.6. Otwarcie pierścienia F w spirostanach

W obecności kwasu pierścień F w diosgeninie ulega otwarciu. Wyróżnia się dwie główne metody otwarcia pierścienia F. Pierwszy sposób (**A**) polega na utworzeniu pseudosapogeniny, która często wykorzystywana jest w dalszych etapach syntezy solasodyny np. grupę hydroksylową w pozycji C26 przekształca się w grupę dobrze odchodzącą (np. tosyłan, halogenek). Ma to umożliwić substytucję nukleofilem azotowym w następnym etapie syntezy oraz zapobiega ponownemu zamknięciu sześcioczłonowego pierścienia (**Schemat 3, metoda A**). Druga metoda (**B**) otwierania układu spiroketalowego prowadzi do powstawania pochodnych furostanowych: poprzez reakcje redukcyjnego otwierania pierścienia F (**Schemat 3, metoda B, wariant a**) bądź w wyniku wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia jonu wodorkowego z pozycji C25 do C22 – proces redoks (**Schemat 3, metoda B, wariant b**).



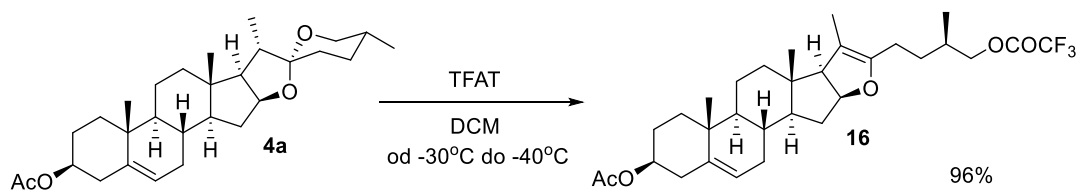
Schemat 3. Sposoby otwierania pierścienia F w diosgeninie (1).

Powstanie formy pseudodiosgeniny oraz furostanu możliwe jest przez tworzenie się pośredniego jonu oksokarbeniowego (I) (Schemat 4). Podczas dalszych przekształceń może dojść do eliminacji protonu z pozycji C20 i jon może przekształcić się w pseudodiosgeninę (II). Możliwa jest również eliminacja protonu przy węglu C23 (III). Oba półprodukty są podatne na atak elektrofilowy. Wiele prac dotyczy przekształceń układu spirostanu: otwierania pierścienia F w warunkach kwaśnych i podstawienia w pozycji C26,^[83–86] otwierania pierścieni E i F,^[87,88] halogenowania^[89] i utleniania w pozycji C23.^[90]



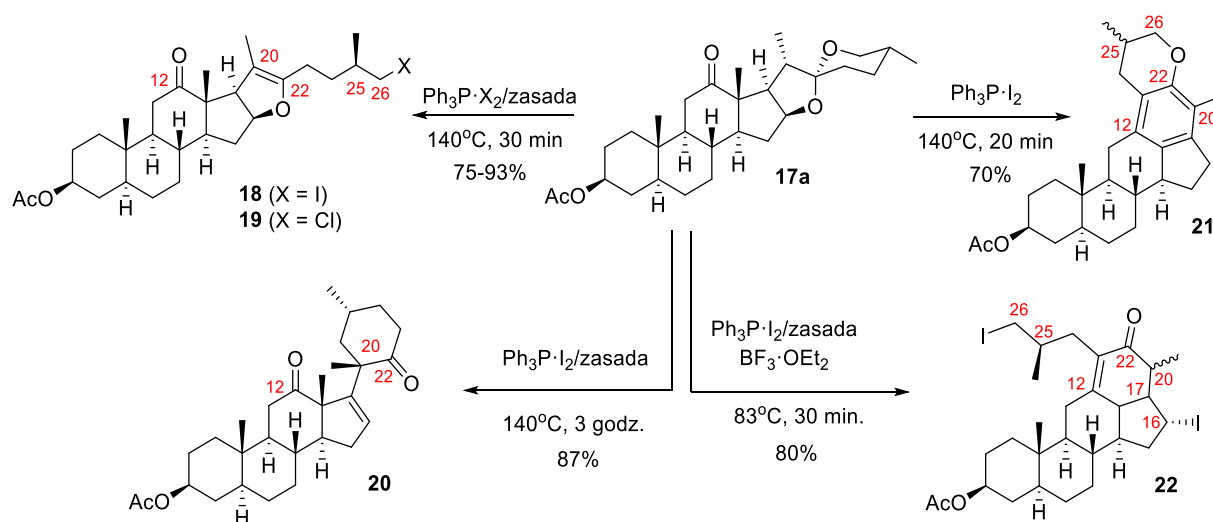
Schemat 4. Powstawanie pseudosapogeniny II.

W 2003 roku ukazała się praca Fuchsa, dotycząca otwarcia pierścienia F w spiroketalach w łagodnych warunkach.^[91] W badaniach nad utworzeniem pseudospirostanu, octan diosgeniny (4a) został poddany reakcji z trifluoroacetylotrifluorometanosulfonianem (TFAT). W łagodnych warunkach (DCM, od -30°C do -40°C, 2 godziny) doszło do otwarcia pierścienia F i powstania 26-trifluorometanosulfonianu pseudosapogeniny z wydajnością 98% (Schemat 5).



Schemat 5. Powstawanie pseudodiosgeniny **21** przy użyciu TFAT.

W pracy z 1999 roku Fuchs wraz z zespołem opisał przekształcenia pierścienia F octanu hekogeniny **17a** (analog tigogeniny z grupą karbonylową w C12).^[92] W obecności $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{I}_2$ lub $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{Cl}_2$ oraz zasady organicznej układ spiroketalowy uległ otwarciu i powstała 26-jodo-, lub 26-chloroopochodna pseudospirostanu (**18**, **19**). W zależności od zastosowanych warunków reakcji powstawały 26-halogenki (bromek lub chlorek) pseudohekogeniny bądź produkty przegrupowania (**Schemat 6**).

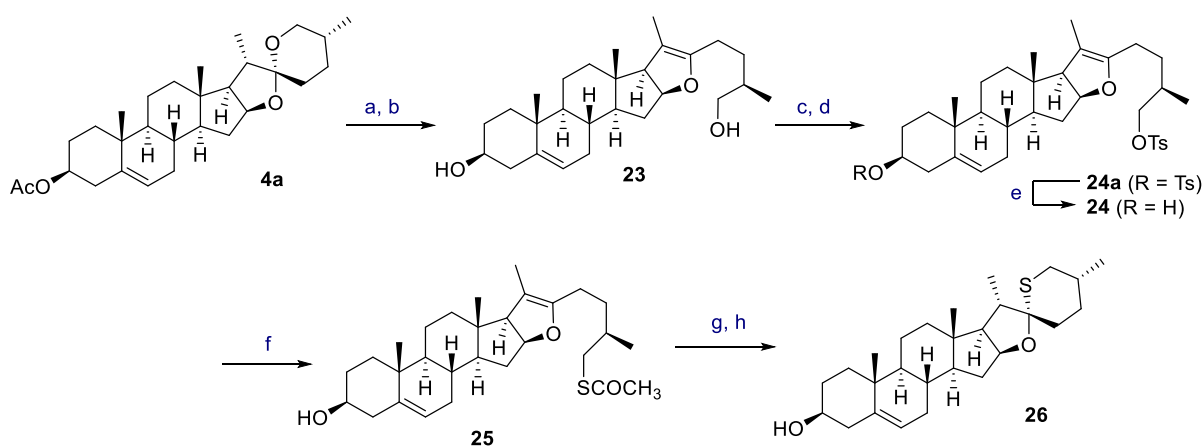


Schemat 6. Transformacje octanu hekogeniny pod wpływem $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{I}_2$ /zasady.

Warto się przyjrzeć warunkom sprzyjającym otwieraniu pierścienia oraz jednoczesnemu halogenowaniu. Reakcja octanu hekogeniny **17a** z $\text{Ph}_3\cdot\text{X}_2$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{I}$) przeprowadzona w obecności zasady (2,6-lutydyny, 0.8-2 ekw.) prowadziła najczęściej do powstania 26-pseudospirostanu (jodek powstawał z większą wydajnością niż chlorek w tych samych warunkach, dopiero zastosowanie dodatku Bu_4NI (4 ekw.) pozwoliło uzyskać wyłącznie 26-chlorek z wydajnością 93%). Zmniejszenie ilości 2,6-lutydyny do 0.5 ekw. bądź zmiana zasady np. na DBMP (2,6-di-*tert*-butylo-4-metylopirydyny) bądź jej brak, skutkowało powstawaniem produktów przegrupowania (**20**, **21**, **22**). Reakcje te prowadzone były w 140°C w przedziale czasowym od 10 minut do 1 godziny. Wydłużenie czasu np. do 3 godzin sprzyjało powstawaniu związku **20** z wysoką wydajnością. Prowadzenie reakcji w temperaturze w zakresie $25\text{--}85^\circ\text{C}$ (podczas stosowania innych zasad niż 2,6-lutydyna) również sprzyjało tworzeniu się produktów przegrupowania.^[92] Fuchs opisał kontynuację badań dotyczących otwierania spirostanu w innej publikacji, w eksperymentach wykorzystał

imidazol w obecności Ph_3X_2 ($\text{X} = \text{Cl}, \text{I}$), co pozwoliło w różnych warunkach (140°C w TCE, 70°C w MeCN, 42°C w DCM) otrzymać 26-halopseudospirostan.^[89]

Powyżej przedstawione badania pokazują, że jednoczesne otwieranie pierścienia F w spiroketalach oraz halogenowanie w pozycji C26 jest możliwe. Ta strategia została wykorzystana w kilku syntezach solasodyny, o których wspomnę później (podrozdział 1.4.8). Od dziesięcioleci trwają badania nad reaktywnością układu spiroketalowego w sapogeninach np. w diosgeninie (**4**).^[93] Prace nad addycją deuteru w pozycję C23,^[94] wbudowaniem atomu siarki w strukturę steroidu^[95] i izomeryzacją pierścieni E oraz F^[90] wykazały, że w kwasowych warunkach istnieje równowaga pomiędzy układem spiroketalowym, a jego formą otwartą (pseudosapogeniną). Utworzenie pseudospirostanu wykorzystuje się w przekształcaniach diosgeniny (**4**) do azotowych lub siarkowych pochodnych np. do solasodyny (**1**) oraz do tiodiosgeny (**26**). W 1962 roku Uhle opisał syntezę w której pseudodiosgenina posłużyła jako substrat w syntezie siarkowej pochodnej diosgeniny – tiodiosgeniny (**26**) (Schemat 7).^[96]



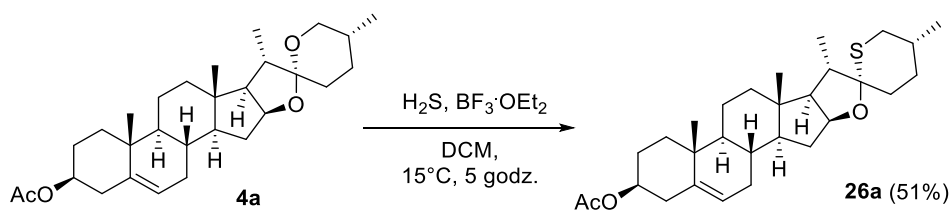
a) Ac_2O , AcCl, Py, 15 godz., t. wrz. (55%); b) KOH, MeOH; c) *p*-TsCl, Py, 0°C , 20 godz.; d) aceton, *i*-Pr, 0°C , 48 godz. (87%); e) H_2O , aceton, t. wrz., 90 min. (70%); f) CH_3COSK , DMF, 25°C , 3 godz. (81%); g) KOH, MeOH, 15 min, 25°C , potem HCl, H_2O 15 min, 25°C (84%); h) HCl, EtOH, 1 godz., t. wrz., (76%).

Schemat 7. Synteza tiodiosgeniny **26** wykorzystująca pseudodiosgeninę **23** jako intermediat.

Autorzy posłużyli się znaną i opisaną już metodą tworzenia pseudodiosgeniny – octan diosgeniny **4a** najpierw poddano działaniu chlorku acetylu i bezwodnika octowego w pirydynie,^[97] a następnie hydrolizie (KOH, metanol) pod wpływem czego autorzy otrzymali pierwszorzędowy alkohol **23**.^[52] Następnie związek **23** został przekształcony w ditosylan **24a**. Kolejne etapy polegały na hydrolizie grupy tosyłowej w pozycji C3 a następnie na reakcji **24** z tiooctanem potasu, co umożliwiło na utworzeniu żądanej siarkowej pochodnej – 26-tioacetylopseudodiosgeniny **25**. Kolejnym etapem było zamknięcie pierścienia F i odbezpieczenie grupy acetylowej za pomocą zasady potasowej w metanolu.

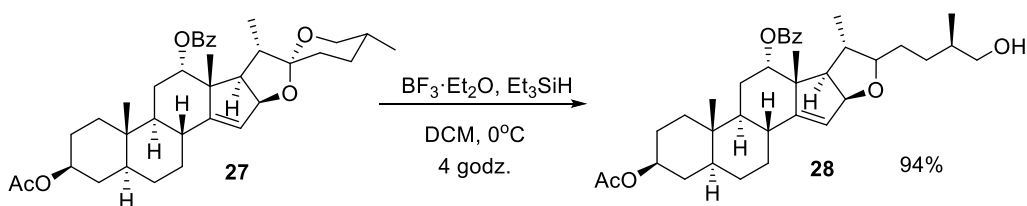
Otrzymany produkt został poddany działaniu kwasu solnego w etanolu, w celu izomeryzacji C20 oraz C22 i uzyskania jednego 22*R*-epimeru tiodiosgeniny (**26**).^[95,96]

W 2003 r. Saito i współpracownicy opisali syntezę tiodiosgeniny i selenodiosgeniny. Strategia syntetyczna obu związków była podobna do tej zaproponowanej przez Uhle'go, w której pseudodiosgenina była kluczowym półproduktem.^[98] W 2013 i 2014 roku ukazały się dwie publikacje dotyczące syntezy glikozydów tiodiosgeniny oraz selenodiosgeniny, w których autorzy wykorzystali opisaną przeze mnie metodę syntezy tiodiosgeniny (**26**).^[99,100] Rok później, zespół Tiana opracował jednoetapową syntezę tiodiosgeniny (**26**) z diosgeniny (**4**), która polegała na jednoczesnym otwarciu pierścienia F oraz wprowadzeniu atomu siarki w F oraz w pozycję C26.^[95] W wyniku przeprowadzonej reakcji octanu diosgeniny **4a** z kwasem Lewisa ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) układ spiroketalowy został otwarty. Jednoczesne zastosowanie siarkowodoru posłużyło za źródło atomu siarki, co pozwoliło na wbudowanie grupy tiolowej w pozycję C26. Kwasowe środowisko reakcji sprzyjało ponownej cyklizacji układu. Octan diosgeniny **4a** rozpuszczono w chlorku metylenu, dodano wspomniany kwas Lewisa, a następnie roztwór potraktowano gazowym siarkowodorem, wytworzonym *in situ* ze stężonego roztworu siarczku sodu i rozcieńczonego kwasu siarkowego (**Schemat 8**). Octan tiodiosgeniny (**26a**) uzyskano z wydajnością 51%.



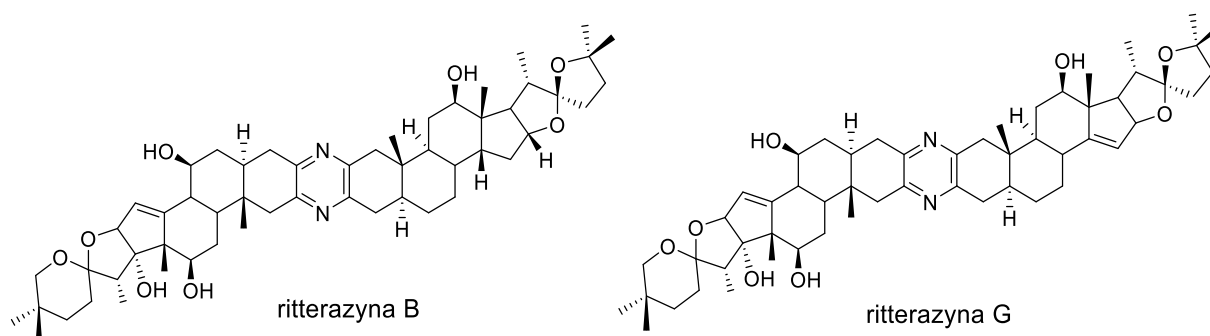
Schemat 8. Jednoetapowa synteza octanu tiodiosgeniny (**26a**) z octanu diosgeniny (**4a**).

Otwarcie pierścienia F w diosgeninie (**4**) jest możliwe również dzięki redukcyjnemu otwarciu pierścienia.^[101,102] W publikacji z 2002 roku Fuchs opisał badania nad funkcjonalizacją układów spiroketalowych i wykorzystał reakcję redukcji do uzyskania układu furostanolu. Użycie $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ oraz Et_3SiH do reakcji z pochodną hekogeniny **27** pozwoliło na redukcyjne otwarcie pierścienia F w steroidzie, dzięki czemu otrzymano pierwszorzędowy alkohol **28** z wydajnością 94% (**Schemat 9**).^[103]



Schemat 9. Redukcyjne otwieranie pierścienia F opisane przez Fuchsa w 2002 roku.

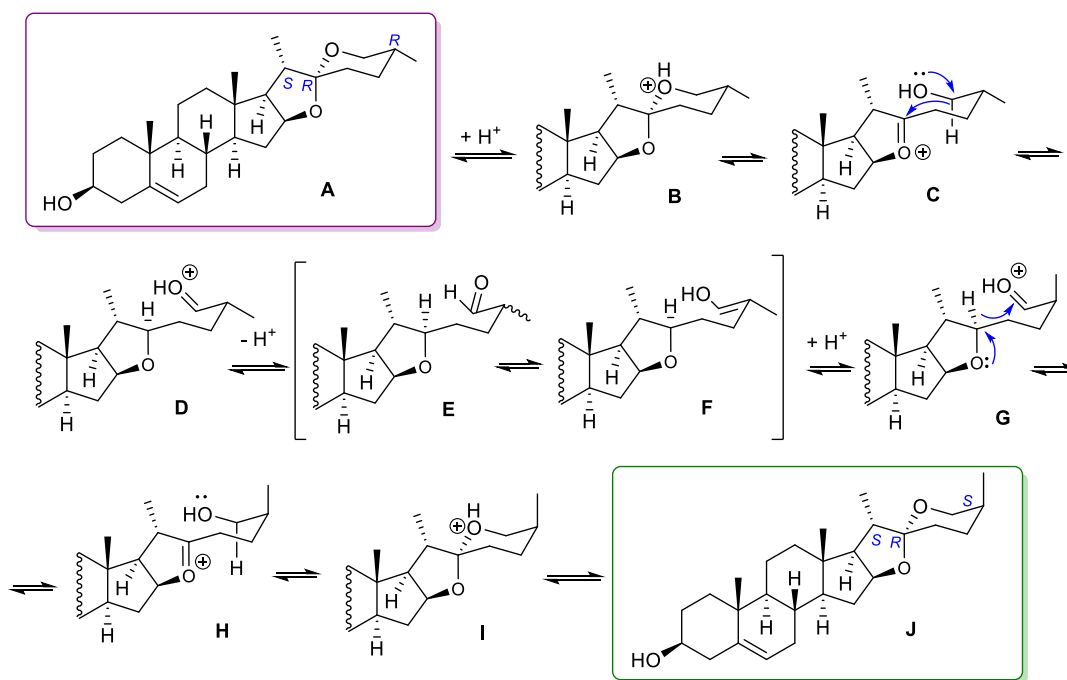
Opracowana metoda redukcyjnego otwierania pierścienia F w układzie spirostanowym przedstawiona na **Schemacie 9** została wykorzystana w syntezie m. in. ritterazyny opisanej w 2002 r. przez Fuchsa.^[103] Ritterazyny należą do rodziny bissteroidowych pirazyn o niezwykle silnych właściwościach cytostatycznych (**Rysunek 12**). Związki te zostały wyodrębnione z japońskich osłoniec *Ritterela tokioka*, które najprawdopodobniej pełnią funkcję obrony chemicznej przed morskimi drapieżnikami.^[104–106] Pod względem budowy chemicznej są zbliżone do cefalostyn.^[107] Cefalostatyny oraz ritterazyny ze względu na wysoką aktywność biologiczną skłaniają chemików organiczków do podjęcia prób ich syntezy. Po raz pierwszy cel ten udało się osiągnąć zespołowi Fuchsa w 1998 roku.^[108]



Rysunek 12. Przykłady ritterazyny B oraz G.

1.4.7. Izomeryzacja spirostanów w środowisku kwaśnym

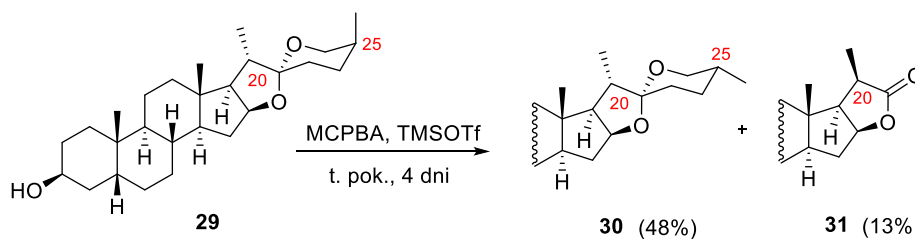
Chemia spirostanów była intensywnie badana i opisywana w ostatnim stuleciu.^[80,109–111] Prace prowadzone w tym kierunku potwierdziły, że w środowisku kwasowym pierścień F sapogenin ulega otwarciu i tworzy się pseudosapogenina. Reakcja ta jest odwracalna i może prowadzić do izomeryzacji na centrum stereogenicznym C20 i/lub C22.^[81,112–115] W środowisku kwasowym może zachodzić także izomeryzacja na węglu C25. Mechanizm tej transformacji był badany przez wiele lat.^[115–117] Naukowcy zakładają, że mechanizm zmiany konfiguracji z 25*R* do 25*S* w sapogeninie bazuje na wewnątrzcząsteczkowych reakcjach redoks, co pokazuje **Schemat 10**. Pod wpływem działania kwasu najpierw dochodzi do protonowania tlenu w pierścieniu F (**B**), a następnie do otwarcia pierścienia F i utworzenia jonu oksokarbeniowego (**C**). Kluczowy etap procesu polega na odwracalnym przeniesieniu jonu wodorkowego z C26 na C22 (**D**). W wyniku zachodzących reakcji redoks powstaje produkt pośredni – aldehyd (**E**), który występuje w równowadze z formą enolową (**F**). Powstały enol (**F**) sprzyja zmianie konfiguracji grupy metylowej w pozycji C25 (**G**) (zmiana konfiguracji z 25*R* do 25*S*). Kolejne przeniesienie jonu wodorkowego tym razem z C22 na C26 powoduje utworzenie jonu oksokarbeniowego (**H**). Ostatni etap to odtworzenie pierścienia F (**J**).



Schemat 10. Mechanizm izomeryzacji pod wpływem kwasu na węglu C25 w sapogeninie spirostanowej.

Wielu naukowców zajmujących się chemią steroidów podjęło się opracowania skutecznej metody degradacji łańcucha bocznego w spiroketalach, w celu uzyskania „syntetycznego dostępu” do użytecznych w medycynie steroidów C₂₁ oraz C₁₉.

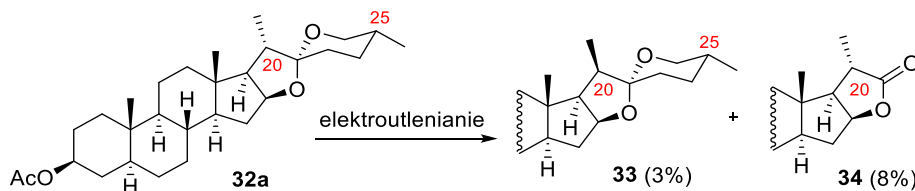
W 2006 roku w *Polish J. Chem.* opisano przekształcenia sapogenin w obecności kwasu *m*-chloronadbenzoesowego oraz TMSOTf.^[117] Założeniem badań było otrzymanie nowego laktonu **31** poprzez degradację pierścienia F w sarsapogeninie (**29**) (25*S*, A/B *cis*). Zaobserwowano, że większa ilość substratu ulega izomeryzacji w pozycji C25 – sarsapogenina (**29**) (25*S*) przekształca się do smilageniny (25*R*) (**30**) (**Schemat 11**). W zastosowanych warunkach otrzymano, z niewielką wydajnością 13%, również żądany produkt **31**. Podobne przekształcenia obserwowano już w latach 60-tych XX wieku.^[112,118]



Schemat 11. Przebieg reakcji sarsapogeniny (**29**) z MCPBA w obecności TMSOTf.

Badania w kierunku degradacji pierścienia F przeprowadzono również dla octanu tigogeniny (**32a**).^[119] Związek ten poddano elektrolizie w obecności tetrafluoroboranu tetra-*n*-butyloamoniowego (TBAF) i kwasu trifluoroctowego jako elektrolitu, w celu degradacji

łańcucha bocznego. W eksperymencie otrzymano dwa związki: produkt izomeryzacji – octan 20-epitigogeniny **33** oraz lakton bisnorcholanowy **34** (**Schemat 12**). Wydawałoby się, że będzie to dogodna metoda degradacji pierścienia F w spirostanach, jednak autorzy otrzymali niską wydajność.



Schemat 12. Przebieg elektrolizy octanu tigogeniny (**39a**).

W wyniku obu eksperymentów uzyskano dwa produkty: pierwszym z nich był lakton bisnorcholanowy **31** oraz **34**, a drugim pochodna substratu posiadająca ten sam układ spiroketalowy (**30**, **33**). Główną różnicą było to, że w reakcji z MCPBA w obecności TMSOTf doszło do zmiany konfiguracji przy węglu C25 (z *S* na *R*), natomiast podczas elektrooutleniania nastąpiła zmiana w położeniu grupy metylowej przy węglu C20.

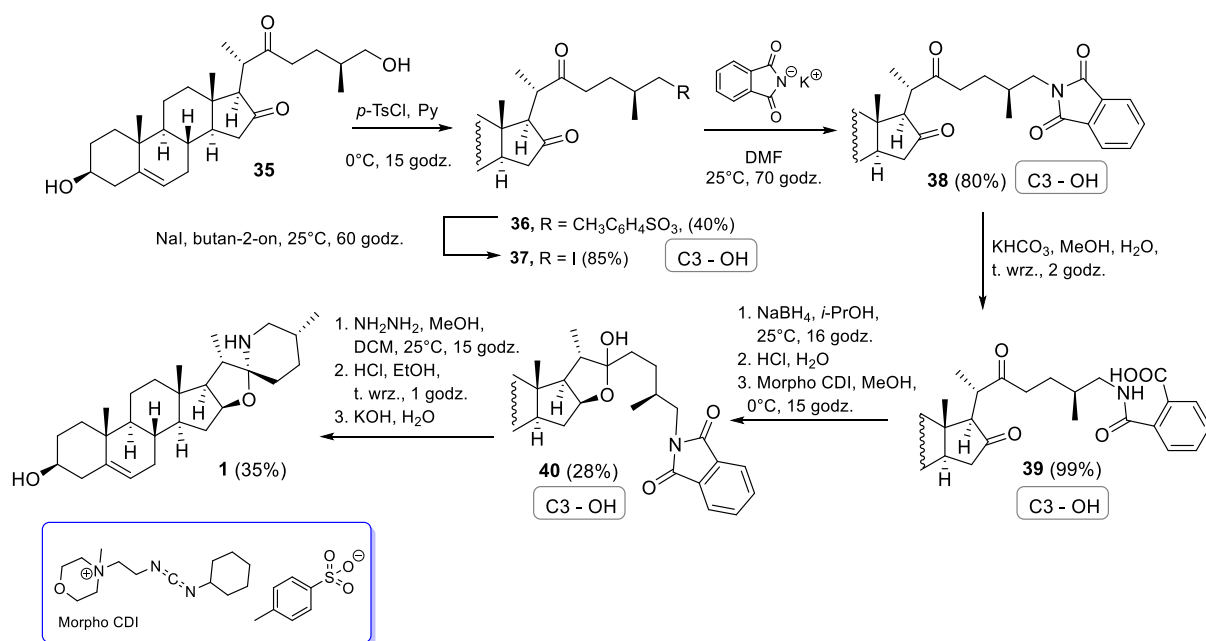
1.4.8. Synteza spirosolanowych pochodnych

Możliwość potencjalnego zastosowania solasodiny w leczeniu klinicznym oraz trudności związane z izolacją z materiału roślinnego mobilizują naukowców do opracowania nowej i wydajnej metody syntezy tego związku oraz innych analogów alkaloidów *Solanum*.^[120]

Pierwsze doniesienia dotyczące uzyskania alkaloidów *Solanum* pochodzą z lat 60-tych XX wieku. Pierwsze prace syntetyczne, oprócz znalezienia metody syntezy solasodiny, miały również na celu zbadanie reaktywności substratu. Często strategie te są dość skomplikowane oraz składają się z wielu etapów. Autorzy po opracowaniu konkretnej ścieżki syntetycznej powtarzają ją na innym związku wyjściowym (np. zamiana diosgeniny na tigogeninę). Ze względu na wybrany rodzaj substratu, opracowane strategie syntetyczne można podzielić na trzy grupy: a) za materiał wyjściowy posłużyła pochodna diosgeniny z otwartymi pierścieniami E oraz F – kryptogenina (**35**), b) autorzy wykorzystali pseudodiosgeninę jako związek pośredni, c) substratem w syntezie były pochodne pregnenonu do których „dobudowano” układ spiroaminoketalowy, w wyniku czego otrzymano pochodne solasodiny. Autorem pierwszych prac był Frederic Uhle, a opracowane przez niego metody syntezy solasodiny i jej pochodnych stanowią „bazę” dla współczesnych naukowców zajmujących się syntezą solasodiny.

W publikacji Uhlego z 1953 roku, która opisuje syntezę solasodiny, jako substrat wykorzystano (25*R*)-3β,26-dihydroksycholest-5-en-16,22-dion, zwany kryptogeniną (**35**). Kilka lat później (1960 r.) ukazała się również kontynuacja tych badań (**Schemat 13**).^[52,121] Strategia syntetyczna przedstawiona w publikacji z 1960 roku polegała na przeprowadzeniu

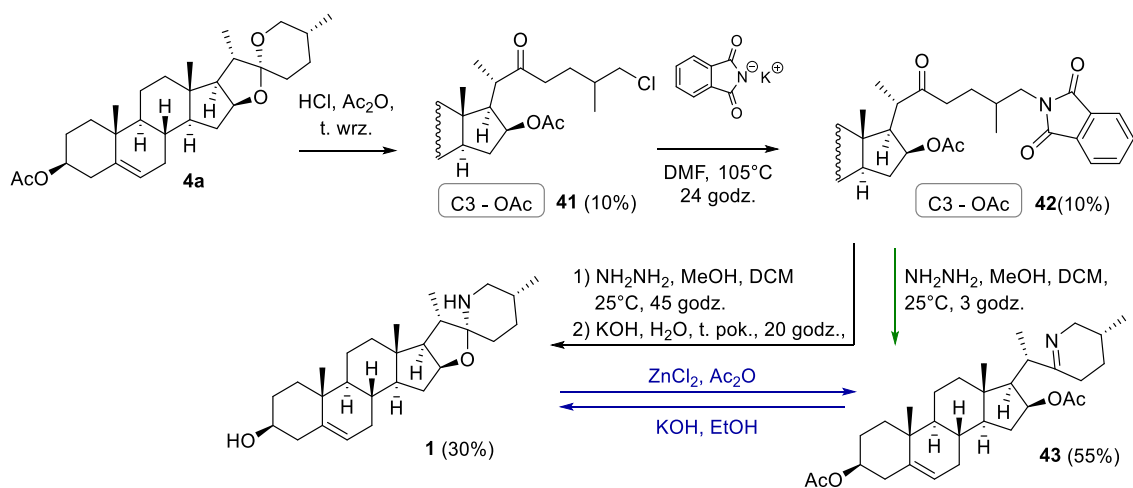
pierwszorzędowej grupy hydroksylowej w pozycji C26 w grupę dobrze odchodzącą, następnie w azotową pochodną z wykorzystaniem syntezy Gabriela, a na koniec utworzenie 6-członowego, azotowego pierścienia F. Kryptogenina (**35**) posiada dwie grupy hydroksylowe: II-rzędową w pozycji C3 oraz I-rzędową przy C26, dlatego też w pierwszym etapie próbowano tak dobrać warunki, by selektywnie zabezpieczyć grupę hydroksylową w łańcuchu bocznym (do roztworu kryptogeniny (**35**) w pirydynie, ochłodzonego do 0°C dodawano porcjami chlorku *p*-toluenosulfonylu, co pozwoliło uzyskać 26-*p*-toluenosulfonian kryptogeniny **36** z wydajnością 40%). Produkt **36** przekształcono w alifatyczny jodek **37** z wydajnością 85%. Przy użyciu ftalimidku potasu otrzymano steroidowy ftalimidek **38** (80%). Kolejne etapy polegały na utworzeniu amidu **39** z użyciem KHCO₃ w metanolu. Następnie selektywna redukcja grupy karbonylowej w pozycji C16 z użyciem NaBH₄ oraz użycie karbodiimidu Morpho CDI, spowodowało zamknięcie pierścienia E oraz odtworzenie imidu, co w rezultacie pozwoliło utworzyć laktol **40** (28%). Otrzymany związek **40** poddano reakcji z hydrazyną w celu przeprowadzenia go w pierwszorzędową 26-aminę. Końcowym etapem była cyklizacja układu z użyciem kwasu solnego, w wyniku czego otrzymano solasodynę (**1**) z wydajnością 35% (Schemat 13).^[52,121]



Schemat 13. Pierwsza opracowana synteza solasodyny (**1**) z kryptogeniny (**35**).^[52,121]

W 1962 roku Uhle przedstawił modyfikację powyższej syntezy solasodyny (**1**). Zmiana polegała na utworzeniu nowej acylowej pochodnej kryptogeniny **41**.^[122] Metoda tworzenia pochodnej **41** została opisana kilka lat wcześniej (1956 r.) przez Minera i Wallisa, pozwala ona na otwarcie układu spiroketalowego octanu diosgeniny (**4a**) z użyciem bezwodnego kwasu solnego we wrzącym bezwodniku octowym.^[123] W wyniku tego tworzy się 26-chloro-16β-acetoksykryptogenina **41** (Schemat 14). Zastosowanie takich reagentów

miało na celu w jednym etapie otworzyć pierścienie E oraz F oraz wprowadzić halogenek w pozycję C26 (pominięcie dwóch etapów: tworzenia kryptogeniny **35** z diosgeniny i przekształcenie go w 26-tosylan **36**). Uzyskany chlorek **41**, tak jak w pierwszej metodzie, przeprowadzono we ftalimidową pochodną **42**. Otrzymany związek **42** poddano reakcji z hydrazyną w mieszaninie rozpuszczalników: metanol, chlorek metylenu, w wyniku czego otrzymano iminę **43** (55%), posiadającą otwarty pierścień E. Wydłużenie czasu reakcji do 45 godzin oraz przeprowadzona hydroliza octanu za pomocą KOH w metanolu, pozwoliły uzyskać solasodynę (**1**) z wydajnością 30%. Autorzy zbadali, że pod wpływem działania chlorku cynku(II) w bezwodniku octowym dochodzi do otwarcia pierścienia E w solasodynie (**1**) i powstaje imina **43**. Natomiast hydroliza związku **43** pozwala ponownie otrzymać solasodynę (**1**). Pomimo skrócenia strategii syntezy solasodiny z diosgeniny, nie wpłynęło to znacząco na ilość otrzymanego produktu (w obu opisanych przez mnie syntezach otrzymano solasodynę z ok. 30-35% wydajnością).

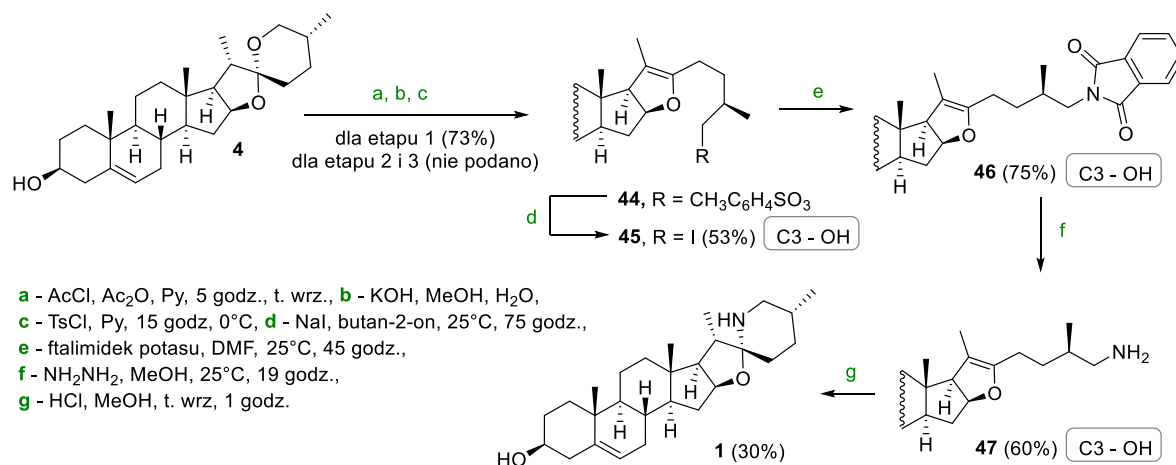


Schemat 14. Synteza solasodiny (**1**) z octanu diosgeniny (**4a**) opracowana przez Uhle w 1962 r.^[122]

W późniejszych latach Uhle wykorzystał opracowaną na diosgeninie (**4**) strategię syntetyczną i powtórzył ją na innych sapogeninach posiadających układ spiroketalu – sarsapogeninie (**29**) oraz tigogeninie (**32**).^[52,124]

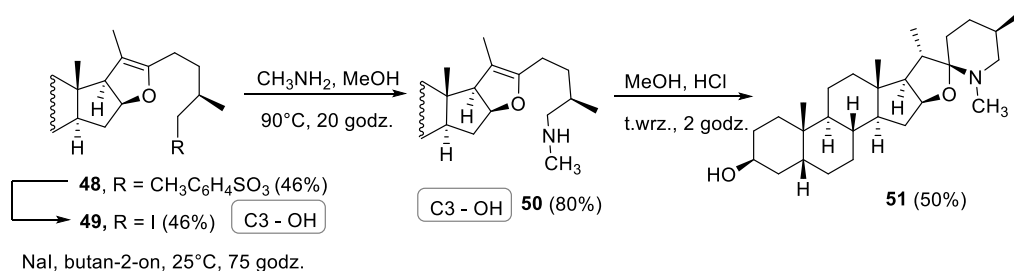
W 1954 roku Uhle przedstawił sposób syntezy solasodiny z diosgeniny z wykorzystaniem pseudodiosgeniny.^[124] Nowa metoda różniła się od pozostałych sposobem otwarcia pierścienia F – w pierwszym etapie diosgeninę poddano reakcji z chlorkiem acetylu oraz bezwodnikiem octowym w pirydynie, w wyniku czego doszło do utworzenia pseudodiosgeniny.^[97] Powstały pseudospirostan został poddany następującym przekształceniom: ester w pozycji C26 został zhydrolizowany, a odbezpieczona grupa hydroksylowa przekształcona w grupę dobrze odchodzącą (tosylan **44**, później jodek **45**).^[125] Dalsze etapy syntezy bazowały na opracowanej już procedurze otrzymywania solasodiny: przeprowadzono reakcję jodku **45** z ftalimidkiem potasu, co pozwoliło wprowadzić atom

azotu w strukturę steroidu (uzyskano związek **46**). Kolejny etap zakładał odbezpieczanie grupy aminowej i cyklizację układu w powstałej pierwszorzędowej aminie **47**. Uhle wykorzystał różne alkaloidy steroidowe jako materiał wyjściowy do swojej syntezy: zastosował sarsapogeninę (**29**) uzyskując produkt końcowy z wydajnością 55%; tigogeninę (**32**) do uzyskania epitomatydyny z wydajnością 50% oraz diosgeninę (**4**) – otrzymując z niej solasodynę (**1**) z wydajnością 35%.^[52,124] Na **Schemacie 15** przedstawiono ścieżkę syntezy z wykorzystaniem diosgeniny (**4**) jako substratu.



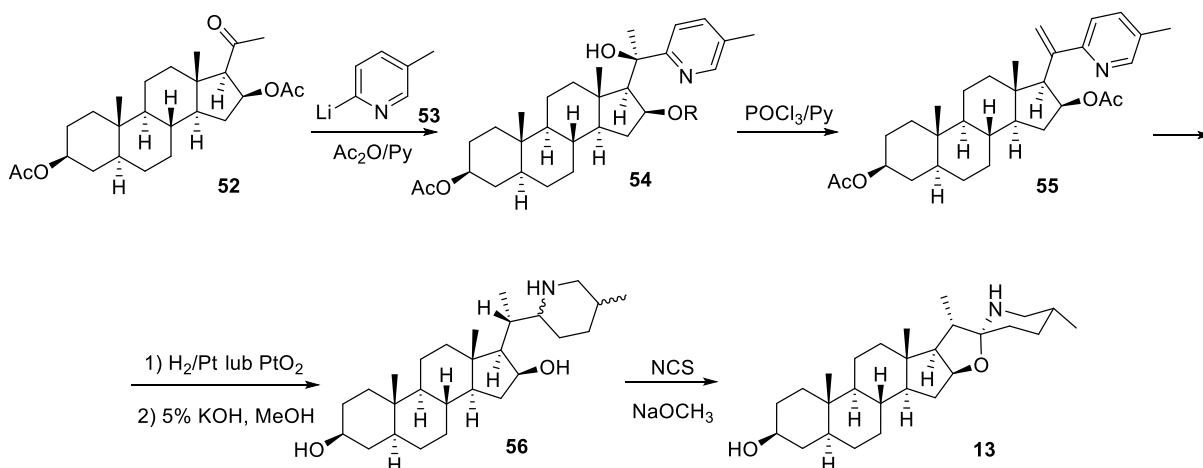
Schemat 15. Synteza solasodyny (**1**) z diosgeniny wykorzystująca pseudodiosgeninę.^[124]

W 1961 roku Uhle opisał syntezę analogu *N*-metylosolasodyny **51**, w której związkiem wyjściowym była sarsapogenina (**29**).^[52,126] Strategia tej metody opierała się na przekształceniu pseudospirostanu w 26-azotową pochodną, a następnie odtworzenia pierścienia F. Pod wpływem działania chlorku acetyl i bezwodnika octowego w pirydynie, pierścień F w sarsapogeninie został otwarty. Kolejne przekształcenia – hydroliza octanu w pozycji C3 i C26, następnie tosylowanie w C26 oraz halogenowanie – pozwoliły uzyskać 26-jodek pseudosarsapogeniny **49**. Kolejny etap zakładał reakcję jodku **49** z *N*-metylo-*p*-toluenosulfonyloamidkiem potasu uzyskując żadaną pochodną, jednak problem pojawił się przy odbezpieczaniu grupy aminowej. Zmieniono więc strategię – do jodku **49** dodano metyloaminy i ogrzewano w metanolu w 90°C przez 20 godzin. Żadaną pseudodiosgeninę **50** otrzymano z wydajnością 80%. Kolejnym etapem było zamykanie pierścienia z użyciem kwasu solnego w metanolu, dzięki czemu uzyskano analog *N*-metylosolasodyny **51** z wydajnością 50% (**Schemat 16**). W 1967 roku ukazała się kontynuacja badań Uhlego dotycząca *N*-metylosolasodyny, w której substratem była diosgenina (**4**). Badania dotyczące metylowania solasodyny (**1**) oraz tomatydydny (**12**) były prowadzone również w latach 80-tych XX wieku przez Perkina i jego zespół.^[127]



Schemat 16. Synteza analogu *N*-metylosolasodyny **51** z sarsapogeniny **29**.

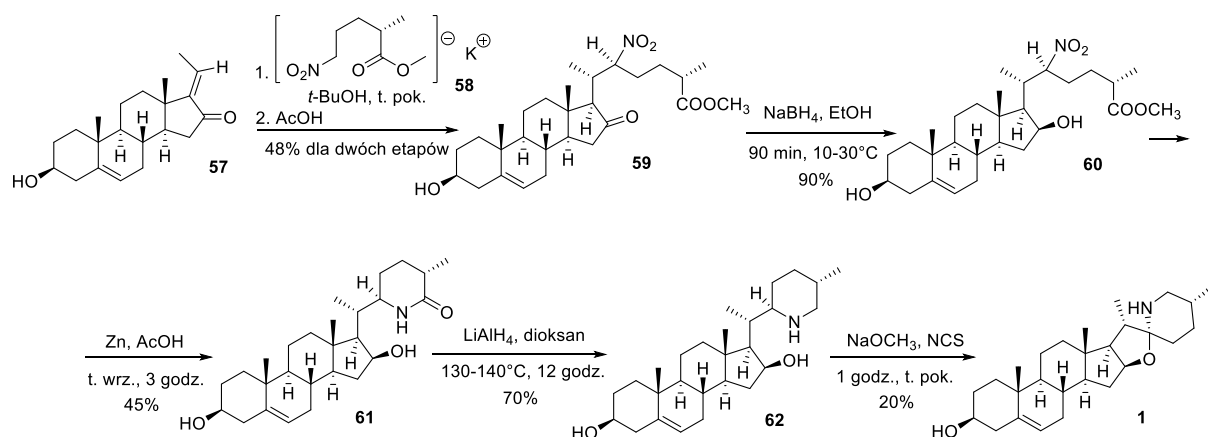
Równoległe do badań Uhlego, również inne grupy badawcze prowadziły badania nad syntezą alkaloidów *Solanum*. W 1960 roku Klaus Schreiber i Gunter Adam przedstawili sposób otrzymywania pochodnej solasodyny (**13**) z 3β,16β-diacetoksy-5α-pregnan-20-onu **52** (Schemat 17),^[128] a w 1961 roku metodę otrzymywania 27-norsolasulcydyny.^[129] Strategia ta podobna jest do opublikowanej już w 1950 roku przez Uhlego metody otrzymywania steroidowych amin na bazie pregnanu.^[130]



Schemat 17. Synteza pochodnej solasodyny (**13**) z wykorzystaniem 3β,16β-diacetoksy-5α-pregnenonu **52**.

Obie metody syntezy opierały się na rozbudowaniu struktury 3β,16β-diacetoksy-5α-pregnan-20-onu **52** o układ spiroketalowy („dobudowanie” pierścieni E oraz F). Kluczowym etapem była reakcja steroidu z 5-metylopyrydyn-2-ylolitem **53**, co pozwoliło na wprowadzenie 6-członowego pierścienia zawierającego atom azotu **54**. Autorzy potwierdzili tworzenie jednego diastereoizomeru **54**. Kolejne etapy polegały na eliminacji grupy hydroksylowej (**54** do **55**) oraz redukcji dołączonego pierścienia aromatycznego (**55** do **56**), co doprowadziło do powstania mieszaniny diastereoizomerów. Następnie w wyniku działania *N*-chlorosukcynoimidu w obecności metanolanu sodu doszło do zamknięcia pierścienia pięciocłonowego E – otrzymano pochodną 5,6-dihydrosolasodyny **13**. W podobny sposób uzyskano 27-norsolasulcydyny.^[129,131]

W 1969 roku Kessar i współpracownicy przedstawili nową syntezę solasodyny oraz tomatidenolu.^[132,133] Założeniem nowej metody była addycja Michaela (2*S*)- oraz (2*R*)-2-metylo-5-nitropentanianu metylu (**58**) do pregna-5,17-dien-16-onu (**57**). Przyłączenie estru zawierającego grupę nitrową pozwoliło na wprowadzenie atomu azotu w strukturę steroidu i utworzenie związku **59**. Kolejny etap polegał na redukcji grupy karbonylowej w pozycji C16 za pomocą NaBH₄ w etanolu, dzięki czemu powstał 16β-alkohol **60**. Następnie doszło do redukcji grupy nitrowej do aminowej oraz spontanicznej substytucji grupy aminowej do estru w wyniku czego otrzymano związek **61**. Utworzony laktam **61** zredukowano za pomocą LiAlH₄ do aminy **62**, który w kolejnym kroku został potraktowany *N*-chlorosukcynoimidem w obecności metanolanu sodu, co pozwoliło uzyskać cykliczną pochodną (**1**). Przeprowadzono dwie syntezy: addycję (2*S*)-2-metylo-5-nitropentanianu metylu do pochodnej pregna-5,17-dien-16-onu pozwoliła uzyskać tomatidenol (**11**) z wydajnością 80%, a addycja (2*R*)-2-metylo-5-nitropentanianu metylu (**60**) otrzymać solasodynę (**1**) (20%). Na **Schemacie 18** przedstawiłam syntezę solasodyny (**1**) opracowaną przez Kessara.

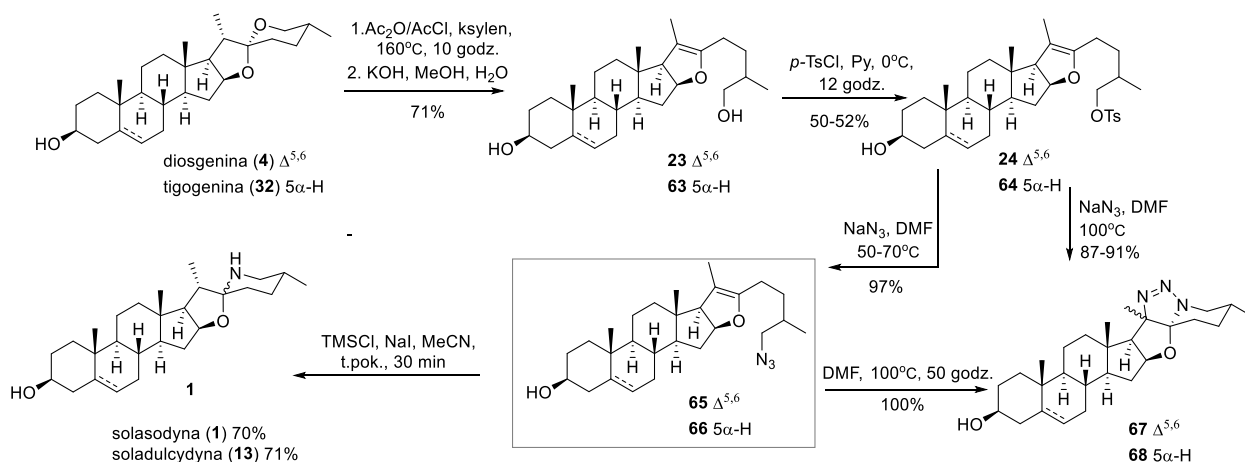


Schemat 18. Synteza solasodyny (**1**) opracowana przez Kessara.

Przytoczone przeze mnie pierwsze metody syntezy solasodyny są inspiracją również we współczesnych badaniach prowadzonych w tym kierunku. Naukowcy na całym świecie wykorzystują i ulepszają opracowane pierwsze strategie syntetyczne otrzymywania alkaloidów *Solanum* w celu znalezienia jak najbardziej wydajnej syntezy solasodyny.

Przykładem jest opublikowana w 2007 roku w *Chemistry & Biodiversity* praca chińskiego zespołu, w której naukowcy przedstawili syntezę solasodyny i jej nasyconej pochodnej^[134] (**Schemat 19**). Strategia syntezy nawiązywała do pracy Uhlego – pierwszy etap zakładał utworzenie pseudodiosgeniny i przekształcenie grupy hydroksylowej przy C26 w grupę dobrze odchodzącą.^[124] W tym celu diosgeninę (**4**) potraktowano chlorkiem acetylu w bezwodniku octowym i ksylenie, dzięki czemu nastąpiło jednoczesne otwarcie pierścienia F i estryfikacja grup hydroksylowych w pozycji C3 oraz C26. Otrzymany związek poddano hydrolizie z KOH w metanolu uzyskując pseudodiosgeninę **23** z wydajnością 71% dla dwóch

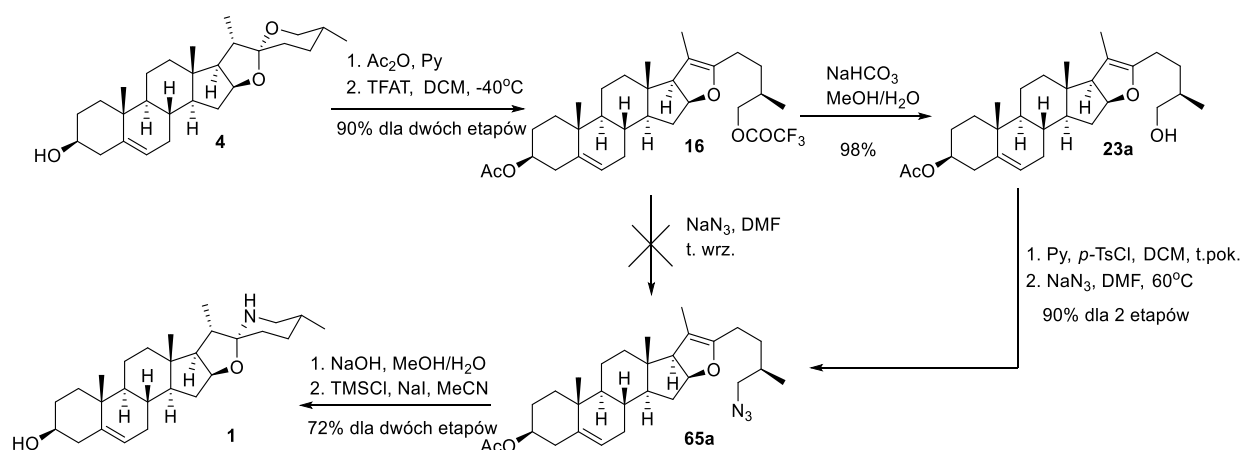
etapów. Pierwszorzędowy alkohol **23** przeprowadzono selektywnie w tosyłan **24**, a następnie azydek **65**. Optymalizacja reakcji tworzenia 26-azydku **65** z tosyłanu **24** wykazała, że stosowanie temperatur od 50 do 70 °C pozwala uzyskać żądany produkt, natomiast podwyższenie temperatury reakcji prowadzi do addycji elektrocyklicznej w wyniku której, tworzy się pochodna solasodyny **67**. Ostatnim etapem była redukcja 26-azydku pseudodiosgeniny **65** oraz zamknięcie pierścienia F z użyciem TMSCl oraz NaI w acetonitrylu. Opracowana 5-etapowa synteza pozwoliła uzyskać solasodynę (**1**) z bardzo dobrą wydajnością ostatniego etapu 70% (wydajność całkowita wyniosła 25%). Opracowaną metodę syntezy powtórzono z wykorzystaniem tigogeniny (**32**) w wyniku czego w ostatnim etapie otrzymano soladulcydynę (**13**) z wydajnością 71% (wydajność całkowita wyniosła 28%).



Schemat 19. Synteza solasodyny (**1**) i soladulcydyny (**13**) opracowana przez Suna i jego zespół w 2007 roku.^[134]

W 2011 roku w *Tetrahedron Letters* ukazała się nowa wydajna, lecz kilkietapowa synteza solasodyny (**1**).^[135] Podobnie, jak opisana przeze mnie, wcześniejsza strategia,^[134] metoda zaproponowana przez Zhanga również opierała się na utworzeniu pseudodiosgeniny oraz na przekształceniu grupy hydroksylowej w pozycji C26 najpierw w dobrą grupę odchodzącą, a następnie w azotową pochodną. W pierwszym etapie diosgeninę (**4**) poddano reakcji z bezwodnikiem octowym w pirydynie w celu zabezpieczenia grupy hydroksylowej w pozycji C3, następnie za pomocą TFAT (bezwodnik 2,2,2-trifluoroetano-trifluorometanosulfonowy) pierścień F został otwarty i otrzymano 26-trifluorooctan pseudodiosgeniny **16**, co pozwoliło w drugim etapie wprowadzić grupę dobrze odchodzącą w pozycję C26. Założeniem zespołu było skrócenie metody syntezy zaproponowanej przez Suna z 2007 roku, dlatego w kolejnym kroku otrzymany związek **16** poddano reakcji z azydkiem sodu we wrzącym DMF. Nie udało się jednak wprowadzić grupy azydkowej, co zmusiło badaczy do wydłużenia metody syntezy. Wykorzystali opisane wcześniej przekształcenia: ester **16** w pozycji C26 poddano hydrolizie, uzyskany w ten sposób pierwszorzędowy alkohol **23a**

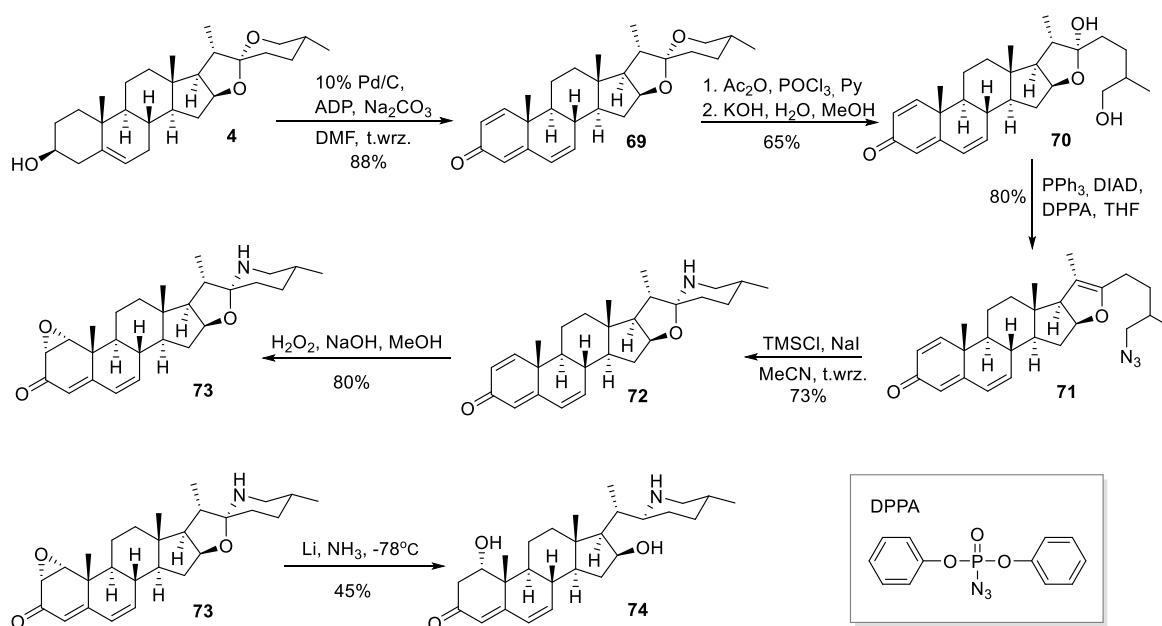
przeprowadzono najpierw w tosyłan **24**, a następnie w azotową pochodną (azydek **65a**). Otrzymany produkt **65a** poddano działaniu NaOH w metanolu, co pozwoliło na hydrolizę grupy hydroksylowej w pozycji C3. Naukowcy wykorzystali tą samą procedurę cyklizacji: użycie 2 ekw. TMSCl oraz 2 ekw. NaI w acetonitrylu pozwoliło na redukcję do aminy i zamknięcie pierścienia F w jednym etapie. W wyniku opracowanej 7-etapowej metody otrzymano solasodynę (**1**) z całkowitą wydajnością 58% (Schemat 20).



Schemat 20. Synteza solasodyny (**1**) opracowana przez Zhanga i jego zespół w 2011 roku.^[135]

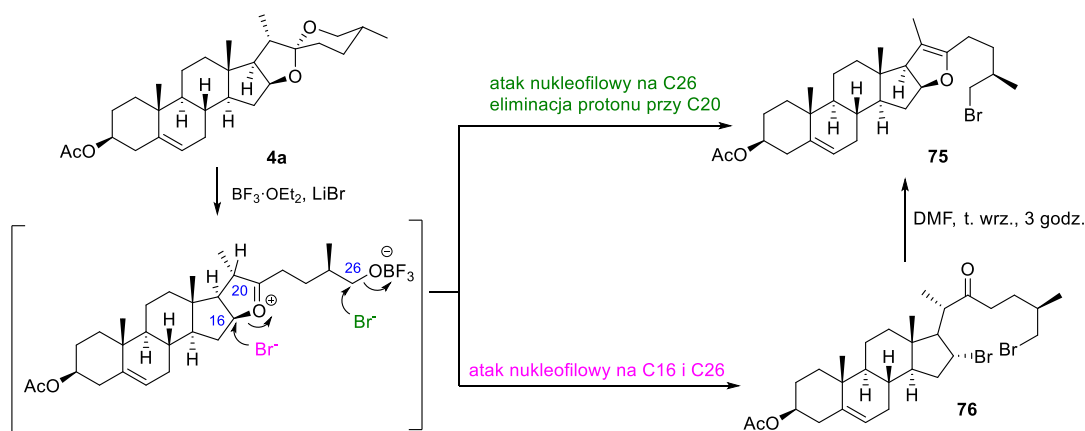
W 2015 roku w *Steroids* opublikowano nową metodę syntezy pochodnych solasodyny, posiadających zmodyfikowane pierścienie A oraz B (Schemat 21).^[61] W tym celu wykorzystano nową metodę – konwersję steroli do 1,4,6-trien-3-onów: w pierwszym etapie diosgeninę **4** poddano reakcji z fosforanem dietylowo-allilowym (ADP), który w obecności związków palladowych powoduje dehydrogenację m. in. pierścieni. W wyniku tych działań uzyskano układ sprzężonych wiązań w pierścieniu A oraz B.^[136,137] Kolejne zmiany dotyczyły układu spiroketalowego: najpierw pochodna diosgeniny **69** została poddana reakcji z POCl₃ oraz Ac₂O w wyniku czego doszło do otwarcia pierścienia F i utworzenia 26-*O*-acetylocholestano-16,22-laktolu (w odróżnieniu od dwóch wcześniejszych metod, w których produktem pośrednim była pseudodiosgenina). Następnie otrzymany związek zhydrolizowano do hemiacetalu **70**, który posłużył jako substrat w reakcji Mitsunobu. Reakcja azydku difenylofosforylu (DPPA) w obecności trifenylofosfiny oraz azodikarbonylanu diizopropylu (DIAD) pozwoliła na substytucję grupy hydroksylowej grupą azydkową w pozycji C26 z jednoczesną eliminacją grupy hydroksylowej przy C22. Otrzymany produkt **71** przekształcono kolejno w 26-aminę oraz w cykliczną pochodną za pomocą opisanej już metody z TMSCl oraz NaI. Zaprojektowaną pochodną solasodyny **72** uzyskano z wydajnością 73%. Otrzymany produkt **72** zmodyfikowano poprzez selektywną epoksydację wiązania podwójnego C1-C2 w pierścieniu A z użyciem H₂O₂ i NaOH (powstał

epoksyd **73**), a następnie produkt zredukowano litem metalicznym w amoniaku, dzięki czemu otrzymano pochodną solasodyny **74** posiadającą otwarty pierścień E (45%).



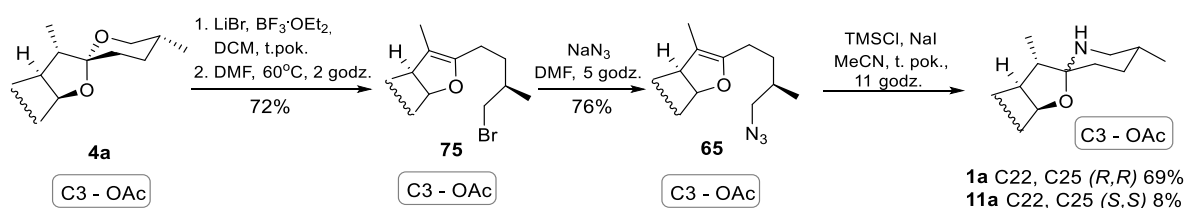
Schemat 21. Synteza pochodnych solasodyny opracowana przez chiński zespół w 2015 roku.

W 2015 roku Tian i współpracownicy opisali syntezę otrzymywania solasodyny **1** z octanu diosgeniny **4a**.^[138] Pierwsza metoda polegała na jednoczesnym otwarciu pierścienia F za pomocą kwasu Lewisa oraz wprowadzeniu grupy dobrze odchodzącej z użyciem halogenku metalu z I grupy. Pozwoliło to na skrócenie strategii syntetycznej o etap otrzymywania i zabezpieczania 26-hydroksypseudodiosgeniny, utworzonej bezpośrednio podczas otwarcia pierścienia F (**Schemat 22**).



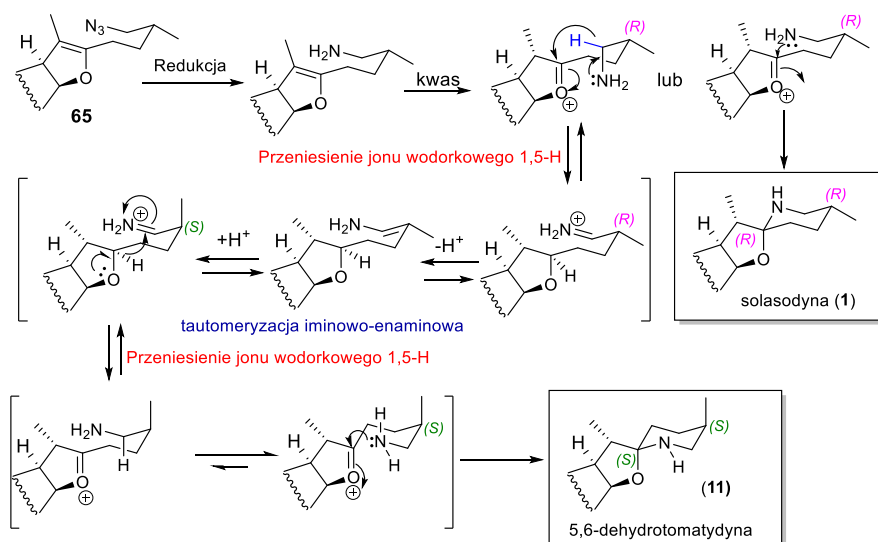
Schemat 22. Mechanizm powstawania bromków **75** oraz **76**.

Żądany 26-bromek pseudodiosgeniny **75** otrzymano w reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ i bromkiem litu. Dodatkowo w tej reakcji powstawał 16,26-dibromek **76** (16%). Autorzy wyjaśniają powstawanie ubocznego produktu i postulują mechanizm, w którym eterat trifluorku boru selektywnie aktywuje atomu tlenu w pierścieniu F diosgeniny. Powoduje to powstanie jonu oksoniowego, w którym zarówno C16 i C26 są podatne na atak nukleofilowy jonu Br^- . Dibromek **76** jest wytwarzany poprzez podstawienie nukleofilowe zachodzące w obu pozycjach, zaś 26-bromek **75** przez atak jonu Br^- tylko na węgiel C26 i odszczepienia protonu przy C20. Ogrzewanie mieszaniny bromków w DMF w 60°C skutkowało przekształceniem 16,26-dibromku **76** w 26-bromopseudodiosgeninę **75**. Po zoptymalizowaniu procesu otwierania pierścienia F octanu diosgeniny (**4a**) z jednoczesnym halogenowaniem pozycji C26, uzyskany bromek **75** poddano reakcji z NaN_3 i przekształcono w azydek **65**. Kolejnym etapem była cyklizacja układu z użyciem TMSCl/NaI , metodą, którą wykorzystano w opisanych syntezach pokazanych na **Schematach 19, 20 i 21**, w wyniku czego otrzymano dwa główne produkty: octan solasodyny (**1a**) (22*R*, 25*R*) z wydajnością 69% oraz octan 5,6-dehydrotomatydyny (**11a**) (22*S*, 25*S*) z wydajnością 8% (**Schemat 23**).



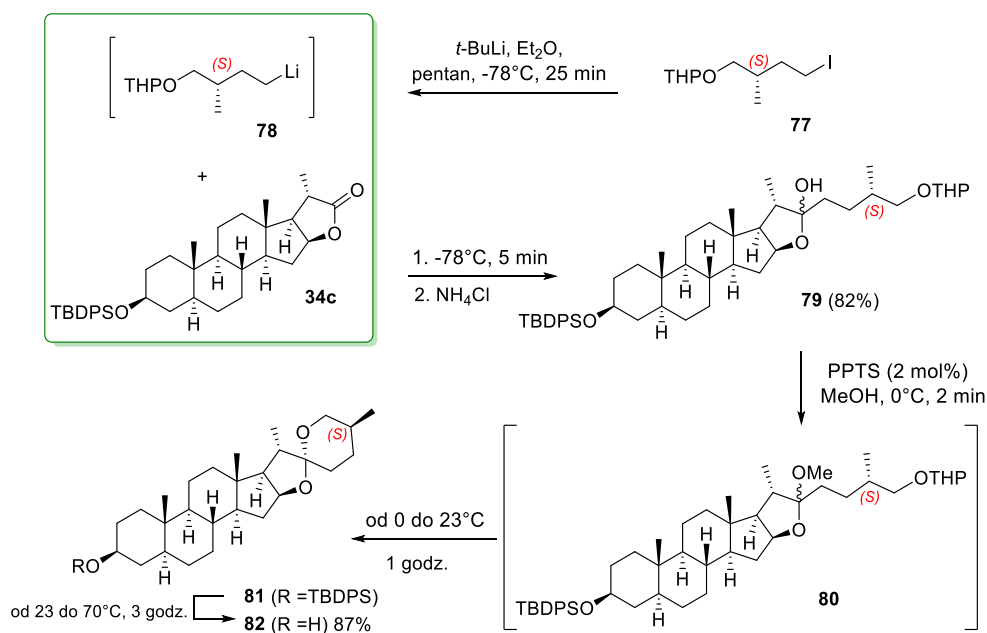
Schemat 23. Synteza octanu solasodyny (**1a**) i 5,6-dehydrotomatydyny (**11a**) opracowana przez Tiana opisana w 2015 roku.^[138]

Pomimo skrócenia strategii, synteza składała się z 6 etapów. Wydajność całkowita otrzymanych produktów wynosiła: dla solasodyny 38%, a dla jej izomeru 5%. Badania dowiodły, że przeprowadzona reakcja cyklizacji zachodzi stereoselektywnie: uprzywilejowane jest powstawanie struktury solasodyny, czyli izomeru 22*R*,25*R*. Autorzy zaproponowali prawdopodobny mechanizm tworzenia obu izomerów: solasodyny (**1a**) i 5,6-dehydrotomatydyny (**11a**) opierający się na wewnątrzcząsteczkowych procesach redoks oraz tautomeryzacji iminowo-enaminowej (**Schemat 24**).



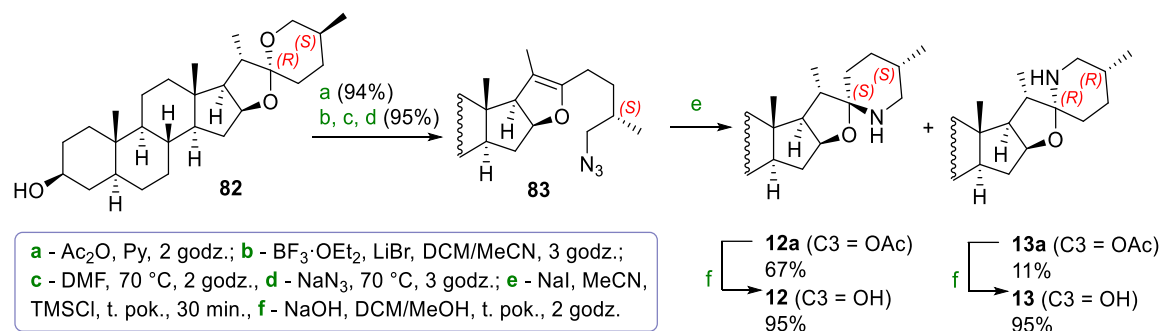
Schemat 24. Zaproponowany mechanizm tworzenia solasodyny (**1**) i 5,6-dehydrotomatydyny (**11**) pod wpływem TMSCl , NaI .^[138]

W 2020 roku grupa naukowa z Kanady opublikowała pierwszą diastereo selektywną syntezę tomatydyny.^[53] Pierwsza część strategii opierała się na otrzymaniu 25*S* diastereoizomeru tigeniny **82** z laktonu dinorcholanowego **34c**. W wyniku przyłączenia, przygotowanego *in situ* z jodku **77**, intermediatu litoorganicznego **78** do laktonu **34c** uzyskano 25*S*-hemiketal **79** z wydajnością 82%. W kolejnym etapie hemiketal **79** poddano działaniu *p*-toluenosulfonianu pirydyniowego (PPTS), w temperaturze 0 °C otrzymując ketal **80**. Dalsze prowadzenie reakcji w temperaturze pokojowej doprowadziło do zamknięcia pierścienia F i otrzymania spiroketalu **81**. Z kolei podwyższenie temperatury do 70 °C umożliwiło odbezpieczenie grupy hydroksylowej w pozycji C3, w wyniku czego uzyskano 25*S*-tigeninę (**82**) z 87% wydajnością (**Schemat 25**).



Schemat 25. Synteza 25*S*-tigeniny (**82**) z laktonu dinorcholanowego **34c**.

Uzyskaną w ten sposób 25*S*-tigogeninę (**82**) wykorzystano jako substrat w syntezie tomatydy (12). W tym celu autorzy zastosowali znaną metodę przekształcenia spirostanu w spiroolan (synteza solasodyny (**1**) z diosgeniny (**4**)) opublikowaną przez Tiana w 2015 roku.^[138] Strategia opierała się na jednoczesnym otwarciu pierścienia F w spirostanie z użyciem kwasu Lewisa oraz wprowadzenia grupy dobrze odchodzącej w pozycję C26 (bromek), który w następnym etapie został przekształcony w azotową pochodną. Zamknięcie pierścienia F pozwoliło otrzymać dwa alkaloidy: octan tomatydy **12a** z wydajnością 67% oraz octan 5,6-dihydrosolasodyny **13a** (11%) (Schemat 26).

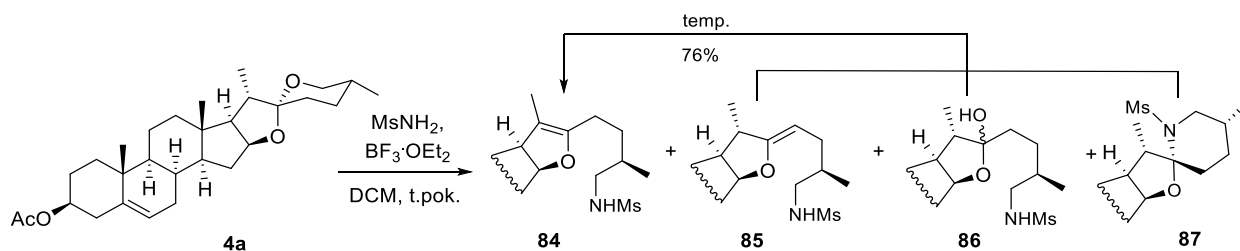


Schemat 26. Wykorzystanie metody opracowanej przez Tiana do tworzenia spiroolanów.

Strategia syntetyczna opisana przez Kandyjczyków składała się dwóch kluczowych części: a) pierwsza zakładała uzyskanie 25*S* tigogeniny, b) druga zaś wykorzystanie powstałego 25*S* spirostanu do otrzymaniażądanego alkaloidu (tomatydy). Syntezę przeprowadzono w 11 etapach i uzyskano 25% całkowitej wydajności (jest to najdłuższa synteza alkaloidu *Solanum*). Zaletą tej metody jest skala procesu – autorzy zoptymalizowali syntezę tworzenia alkaloidów w gramowej skali.

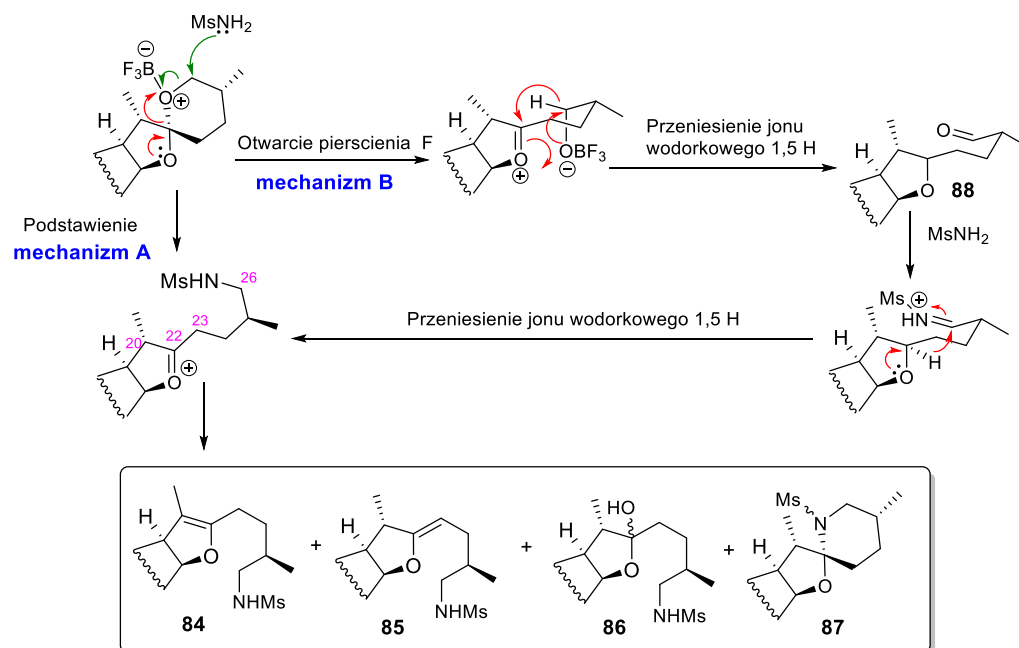
W 2015 roku w *Tetrahedron Letters* ukazała się inna publikacja Tiana, która przedstawiała strategię syntezy solasodyny (**1**) z diosgeniny (**4**), której założeniem było jednoczesne otwarcie pierścienia F w diosgeninie oraz wprowadzenie atomu azotu w strukturę steroidu.^[139] Kluczowy etap w którym octan diosgeniny (**4a**) poddano reakcji z kwasem Lewisa oraz azotowym czynnikiem nukleofilowym, pozwolił na otwarcie pierścienia spiroketalowego oraz wprowadzenie w pozycję C26 grupy zawierającej atom azotu. W tym celu wykonano reakcję octanu diosgeniny z BF₃·OEt₂ oraz metanosulfonamidem w wyniku której nieoczekiwanie otrzymano mieszaninę 4 pochodnych: trzech 26-mesylofurostanów **84**, **85**, **86** oraz cyklicznej *N*-mesylsolasodyny **87** (Schemat 27). Ze względu na trudności związane z rozdzieleniem oraz oczyszczeniem 4 produktów podjęto próby optymalizacji warunków reakcji: badano wpływ temperatury oraz rozpuszczalnika, stosowano różne ilości BF₃·OEt₂ oraz inne kwasy Lewisa (np. TMSCl, TMSOTf, TsOH, CF₃CO₂H). Zbadano, że przeprowadzone reakcje prowadziły do powstawania trudnej do rozdziału mieszaniny. Próbowano więc znaleźć sposób na przekształcenie pochodnych w jeden związek –

ogrzewanie mieszaniny produktów w toluenie pozwoliło na przekształcenie pochodnych **85**, **86**, **87** w pseudosapogeninę **84** z wydajnością 76% (**Schemat 27**).



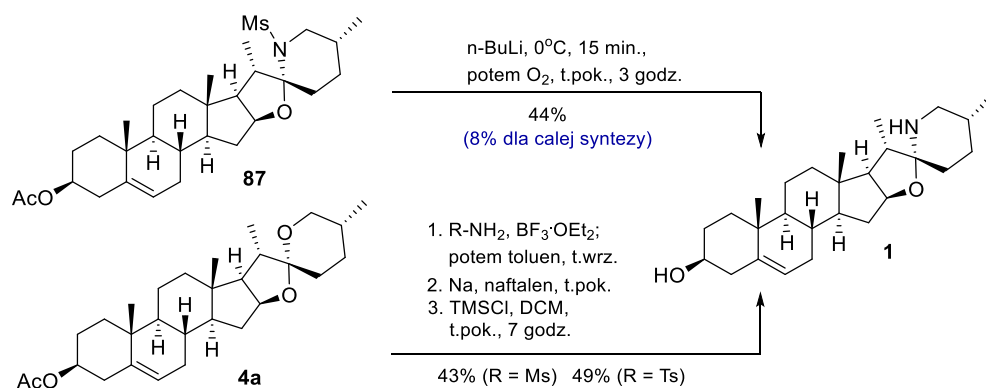
Schemat 27. Produkty reakcji octanu diosgeniny z $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ oraz MsNH_2 .^[139]

Autorzy postulują dwa możliwe mechanizmy powstawania otrzymanych związków. Pierwszy z nich zakłada aktywację tlenu w pierścieniu F octanu diosgeniny przez kwas Lewisa, z jednoczesnym wprowadzeniem grupy MsNH w pozycję C26 (**mechanizm A**). Powstający jon oksoniowy ulega dalszym przekształceniom dając opisane cztery pochodne (utrata protonu przy C20 – **84**, utrata protonu przy C23 – **85**, przyłączenie cząsteczki wody i utworzenie hemiacetalu – **86** oraz cyklizacja układu – **87**). Drugi mechanizm zakłada utworzenie 4 pochodnych (**84-87**) dzięki wewnątrzcząsteczkowym reakcjom redoks (**mechanizm B**). Po utworzeniu jonu oksoniowego następuje przeniesienie jonu wodorkowego, w wyniku czego powstaje alifatyczny aldehyd **88**, który następnie reaguje z metanosulfonamidem dając kation *N*-mesyloiminowy. Powstały związek ulega kolejnemu wewnątrzcząsteczkowemu procesowi redoks, w wyniku którego tworzy się struktura przejściowa (jon oksoniowy), która łatwo ulega kolejnym przekształceniom prowadzącym do powstania czterech produktów (**Schemat 28**).



Schemat 28. Dwie alternatywne ścieżki powstawania czterech pochodnych **84-87** w reakcji octanu diosgeniny z MsNH_2 i $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.^[139]

Zespół Tiana wykorzystał uzyskane produkty jako materiał wyjściowy do otrzymania solasodyny. Pierwsza strategia polegała na przeprowadzeniu cyklicznej pochodnej **87** w octan solasodyny (**1a**). Całkowita wydajność syntezy tą drogą wynosiła 8% (**Schemat 29**). Druga ścieżka syntezy wykorzystała pozostałe pochodne **84**, **85**, **86**, które we wrzącym toluenie zostały przeprowadzone w 26-pseudodiosgeninę **84**. Kolejne etapy zakładały kolejno odbezpieczenie grupy aminowej przy użyciu sodu i naftalenu oraz zamknięcie pierścienia z zastosowaniem TMSCl (**Schemat 29**). Dzięki tym działaniom uzyskano octan solasodyny (**1a**) z wydajnością 43%. Zespół Tiana powtórzył opracowaną procedurę z toluenosulfonoamidem (TsNH₂) uzyskując octan solasodyny (**1a**) z wydajnością 49% (**Schemat 29**). Naukowcy próbowali również wykorzystać inne sulfonoamidy w otrzymywaniu azotowej pseudosapogeniny. Optymalizacja warunków reakcji wykazała jednak, że metoda ta sprawdza się jedynie w przypadku wykorzystania benzenosulfonamidów (82-36%), stosowanie amidów i sulfonoamidów nie przynosiła pozytywnego rezultatu.

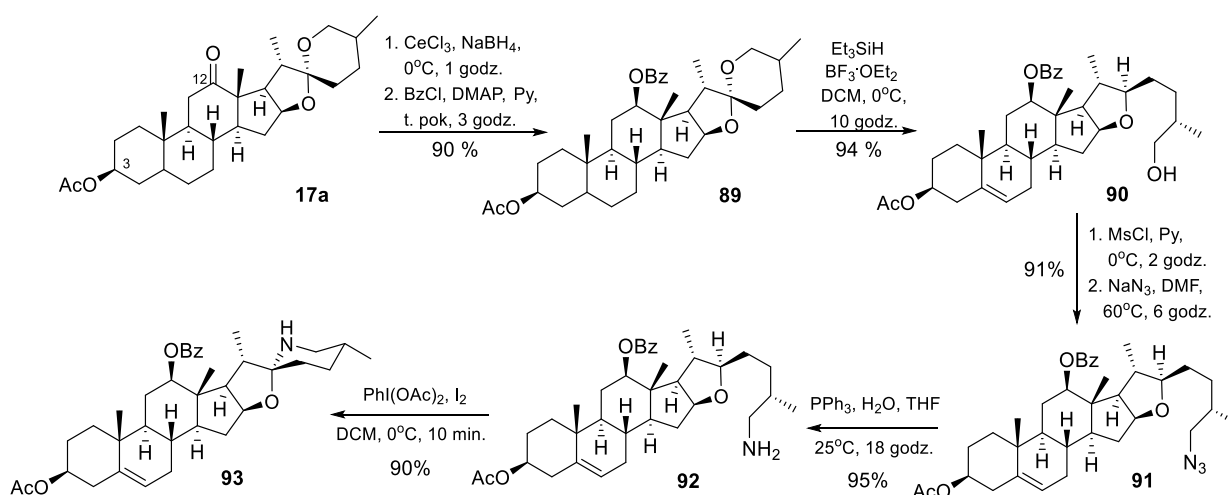


Schemat 29. Synteza solasodyny (**1**) z użyciem MsNH₂/TsNH₂ i $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.^[139]

Zaletą opracowanych przez Tiana strategii jest to, że pozwalają w jednym etapie otworzyć pierścień F i wprowadzić grupę zawierającą atom azotu w strukturę steroidu. Minusem jest niska całkowita wydajność całego procesu oraz praca z wymagającymi specjalnych środków ostrożności odczynnikami np. odbezpieczanie grupy aminowej za pomocą sodu w naftalenie lub stosowanie *n*-BuLi, później tlenu.

Jak na początku wspomniałam, pierwszy sposób otwarcia pierścienia F w diosgeninie polega na utworzeniu pseudodiosgeniny przy użyciu kwasu Lewisa. Drugi natomiast oparty jest na wewnątrzcząsteczkowych reakcjach redoks albo reduktywnym otwarciu pierścienia F (**Schemat 3**). Przykładem syntezy, która wykorzystuje tą ostatnią drogę jest metoda opisana w 2011 roku w *Organic Letters*.^[140] Jako substrat w tej syntezie posłużył octan hekogeniny **17a**. Grupę karbonylową przy węglu C12 zredukowano za pomocą odczynnika Luche (NaBH_4 , CeCl_3), następnie otrzymany alkohol zabezpieczono grupą benzoilową (**89**). W kolejnym etapie zastosowano $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ w celu otwarcia układu spiroketalowego oraz Et_3SiH , co pozwoliło na redukcję wiązania podwójnego w pierścieniu E i utworzenie furostanolu **90** z żądaną konfiguracją na C22. Utworzony pierwszorzędowy alkohol **90**

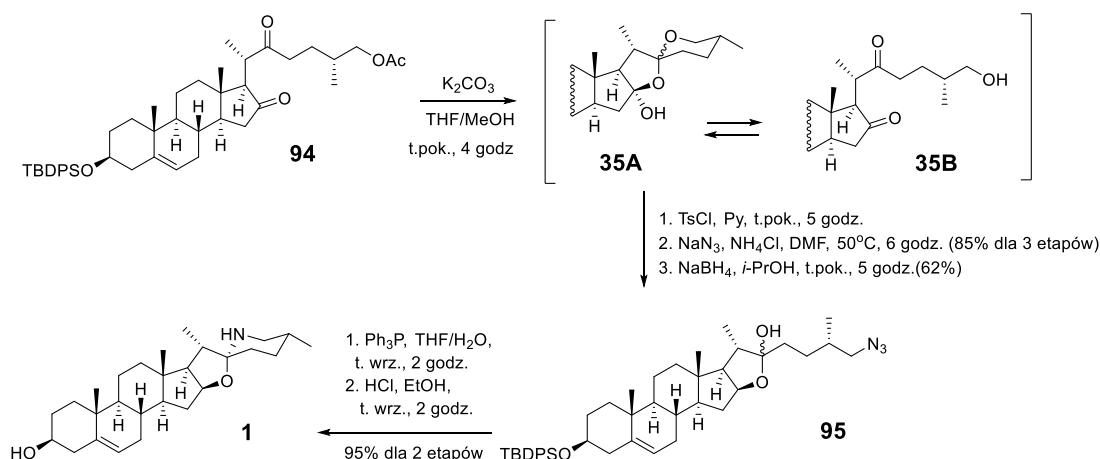
poddano najpierw mesylowaniu, później przeprowadzono w azydek **91**. Następnym krokiem była redukcja azydku **91** do aminy **92** metodą Staudingera. Do zamknięcia pierścienia F wykorzystano utlenianie Suareza: dodatek diacetoksyjodobenzenu oraz wolnego jodu umożliwił cyklizację aminy **92** i pozwolił na stereoselektywne utworzenie układu spiroaminoketalowego. Wydajność całkowita tej siedmioetapowej syntezy nowej pochodnej solasodyny **93** wynosiła 66% (**Schemat 30**).



Schemat 30. Synteza pochodnej solasodyny **93** wykorzystująca reakcje reduktywnego otwarcia pierścienia.^[140]

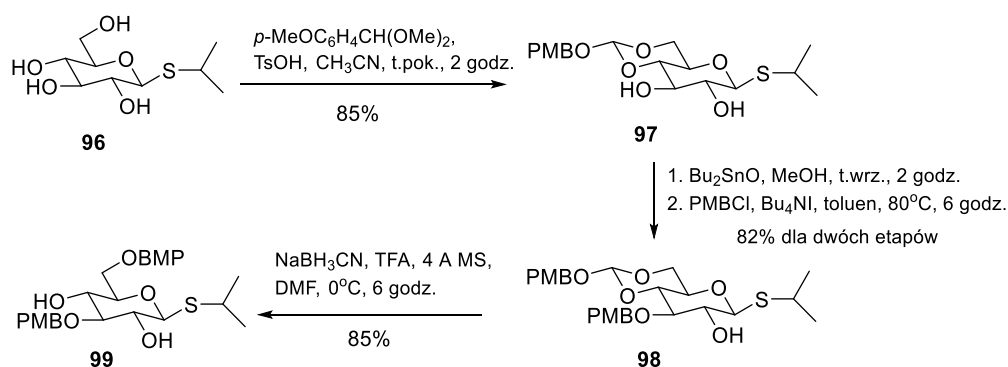
W 2011 roku w *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* ukazała się praca chińskiego zespołu badawczego dotycząca totalnej syntezy solamargininy (**103**) – jednego z glikozydów solasodyny.^[141,142] Strategia ta polegała na uzyskaniu dwóch oddzielnych bloków: części steroidowej oraz części cukrowej. Zadanie to stanowiło nie lada wyzwanie dla naukowców, ze względu na ilość etapów oraz trudność w sprzęganiu dwóch bloków.

Opracowano nową metodę tworzenia solasodyny, która stanowiła połączenie dwóch strategii: syntezy Uhlego (**Schemat 13**) oraz tworzenia 26-azydku pseudodiosgeniny z użyciem NaN_3 (**Schemat 19**, **20**, **23**). Materiałem wyjściowym był eter siliowy kryptogeniny **94**, który poddano reakcji z węglanem potasu. Wynikiem tego była hydroliza octanu w pozycji C26 (**Schemat 31**).



Schemat 31. Synteza solasodyny (**1**) – aglikonu solamargininy.

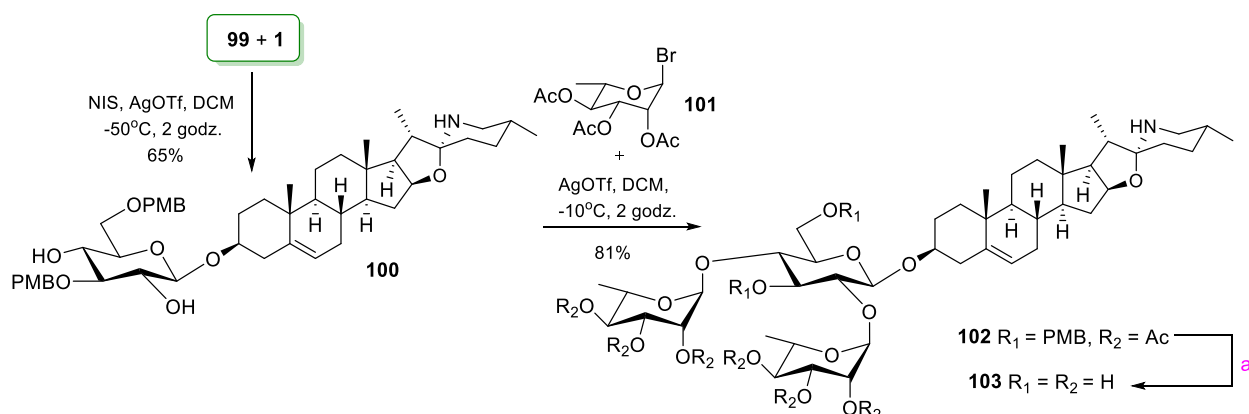
W wyniku reakcji powstała równowagowa mieszanina 16-hydroxyspiroketalu **35A** i 26-hydroksy-16,22-diketonu **35B**, którą przeprowadzono kolejno w 26-tosylan oraz 26-azydek. Następnie za pomocą NaBH_4 zredukowano otrzymany azydodiketon, w wyniku czego doszło do selektywnej redukcji grupy karbonylowej w pozycji 16 oraz do zamknięcia pierścienia E i utworzenia hemiketalu **95**. Uzyskany azydek **95** przeprowadzono w aminę wykorzystując reakcję Staudingera. Cyklizację pierścienia F przeprowadzono gotując aminę z kwasem solnym w etanolu. Wydajność całkowita syntezy aglikonu **1** wyniosła 50%. Drugą częścią projektu było przygotowanie części cukrowej, który składa się z dwóch cząsteczek ramnozy i jednej cząsteczki glukozy. Strategia opierała się na 3-etapowej syntezie, która miała na celu selektywne zabezpieczenie grup hydroksylowych i przygotowanie monomeru (cząsteczki glukozy) do otrzymania trisacharydu (**Schemat 32**). Tioglikozyd **99** udało się uzyskać z całkowitą wydajnością 59%.



Schemat 32. Synteza monomeru **99**.

Kluczowym momentem było sprzężenie obu bloków: aglikonu, czyli solasodyny (**1**) i części cukrowej (**99**). Pierwszy etap polegał na przyłączeniu pojedynczej cząsteczki cukru do solasodyny pod wpływem *N*-jodosukcynoimidu (NIS) oraz triflanu srebra. Następnie pod

wpływem AgOTf w temperaturze -10°C doszło do kondensacji z bromkiem L-triacetylo-*O*-ramnopiranozy, które przebiegło z wydajnością 81% (**Schemat 33**).

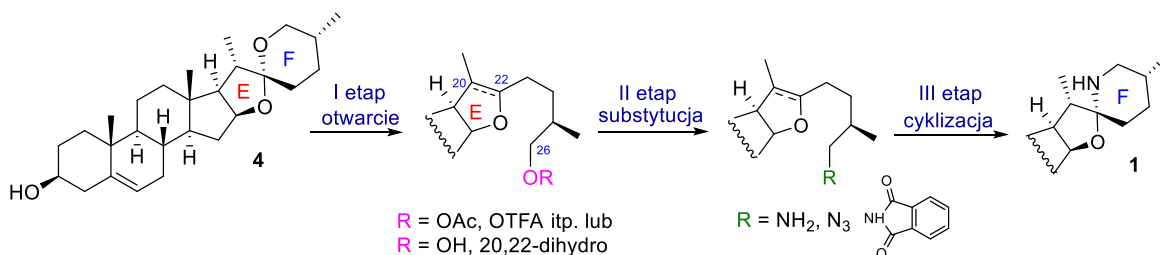


dla a) 1. 10% TFA w DCM, -15°C , 1 godz, 2. 0,3 M NaOH, MeOH, t.pok., 4 godz., 80% dla dwóch etapów

Schemat 33. Synteza solamargininy (**103**) opublikowana w *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* w 2011 roku.

Opisana metoda pozwoliła na uzyskanie glikozydu naturalnie występującego w roślinach. Solamarginina **103** została zsyntetyzowana z pochodnej kryptogeniny **94** w 13 etapach, z wydajnością totalną wynoszącą 11%.

Podsumowując opisane metody syntezy solasodyny i jej analogów można podzielić je na dwa typy. W pierwszym podejściu syntetycznym jako substrat wykorzystywany jest pregn-5-en-20-on oraz jego pochodne. Podstawowym etapem jest wprowadzenie pierścienia 6-członowego zawierającego atom azotu, co ma na celu konstrukcję układu pierścieni E oraz F. Zarówno Uhle jak i Schreibe zastosowali 3-metylopirydynę w swoich strategiach syntetycznych. Kilka lat później zespół Kessara wykorzystał w tym samym celu addycję nitroesteru do steroidowego enonu. Drugi typ syntezy wykorzystuje diosgeninę (**4**) jako substrat – związek będący azotowym analogiem solasodyny (**1**). Procedury takie składają się z trzech podstawowych etapów: **I** – otwarcie pierścienia F oraz wprowadzenie grupy dobrze odchodzącej w pozycję C26 (np. halogenek, ester), **II** – substytucja do wprowadzonego ugrupowania grupą posiadającą atom azotu (np. azydek, sulfonoamid) oraz przekształcenie tej grupy w grupę aminową, **III** – rekonstrukcja pierścienia F (**Schemat 34**).



Schemat 34. Kluczowe etapy syntezy solasodyny (**1**) z diosgeniny (**4**).

Jeżeli przyjrzymy się dokładniej poszczególnym etapom, to można stwierdzić, iż pierwszy etap polegający na otwieraniu pierścienia F w diosgeninie może przebiegać na dwa sposoby (**Schemat 3**). Pierwsza metoda polega na utworzeniu pseudodiosgeniny, druga na powstaniu pochodnej furostanowej. Kolejnym krokiem w obu podejściach syntetycznych jest wprowadzenie grupy funkcyjnej posiadającej atom azotu w pozycję C26. Zazwyczaj jest to grupa azydkowa, metyloaminowa, amidowa bądź ftalimidowa. Ostatni krok to przekształcenie wbudowanego wcześniej ugrupowania w grupę aminową oraz rekonstrukcja pierścienia F. W opisanych syntezach stosuje się najczęściej chlorek trimetylosililu oraz jodek sodu w redukcji azydku do aminy oraz następującej w tych warunkach cyklizacji układu. Do redukcji azydków stosuje się również reakcję Staudingera, a w przypadku odbudowy pierścienia F w pochodnej 26-aminofurostanowej wykonuje się tzw. utlenianie Suareza (z użyciem nadjodanów).

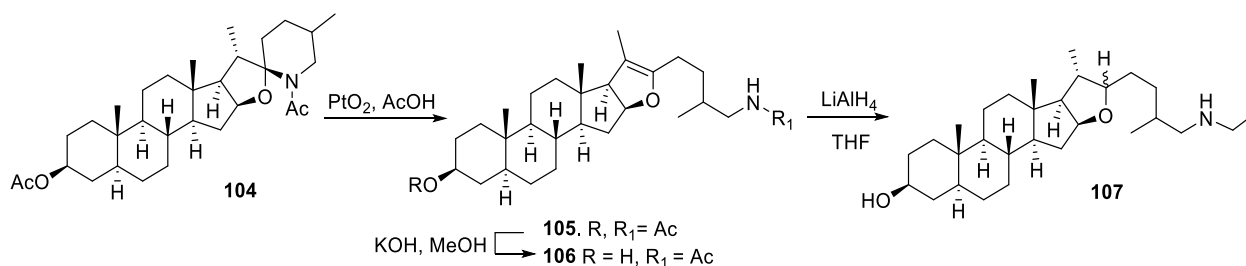
Powyżej opisałam znane w literaturze metody syntezy solasodyny i jej pochodnych z podziałem na sposób otwierania pierścienia F w diosgeninie. Analiza omówionych strategii, pozwala stwierdzić, iż najbardziej wydajną metodą jest ta opracowana przez Lee i jego zespół opublikowana w *Organic Letters* w 2011 roku.^[140] Wydajność dla pochodnej solasodyny wynosiła 66% (**Schemat 30**). Jest to jednak najdłuższa 7-etapowa metoda. Drugi najbardziej wydajny sposób został opisany przez Zhanga w *Tetrahedron Letters* w 2011 roku.^[143] Wydajność całkowita dla 6-etapowej syntezy solasodyny wynosiła 58% (**Schemat 20**). Najmniej wydajnymi okazały się syntezy: opracowana przez Suna, przedstawiona w *Chemistry and Biodiversity* w 2007 roku, na **Schemacie 19** (25% wydajności dla 5 etapów),^[134] przeprowadzona na gramową skalę synteza tomatydyiny opisana w 2020 r. (25 % wydajności dla 11 etapów, **Schemat 25** oraz **Schemat 26**)^[144] oraz synteza Tiana z *Tetrahedron Letters* z 2015 r. przedstawiona na **Schemacie 29** (8% całkowitej wydajności).^[139]

1.4.9. Reaktywność układów spiroaminoketalowych

Ze względu na ciekawą budowę chemiczną alkaloidów steroidowych, od wielu lat są one przedmiotem zainteresowań wielu naukowców. Już w latach 60-tych prowadzono badania dotyczące reaktywności układów spiroaminoketalowych, które dotyczyły głównie: a) tworzenia pseudospirostanu, b) otwarcia pierścienia E oraz c) degradacji pierścienia F.

Pierwsze doniesienia z 1956 roku dotyczyły otwarcia pierścienia F.^[145] Sato i współpracownicy wykorzystali w tym celu *N*-acetylowaną pochodną tomatydyiny (**12**) i solasodyny (**1**). Na **Schemacie 35** przedstawiłam opisane przekształcenia dla *N,O*-diacetylotomatydyiny **104**. Zastosowane tlenku platyny (katalizator Adamsa) w kwasie octowym prowadziło do otwarcia pierścienia F w wyniku czego powstał amid **105**. W następnym etapie otrzymany produkt poddano hydrolizie z KOH w metanolu (otrzymano pochodną **106**). Przeprowadzona redukcja, tym razem za pomocą LiAlH₄ w THF, pozwoliła

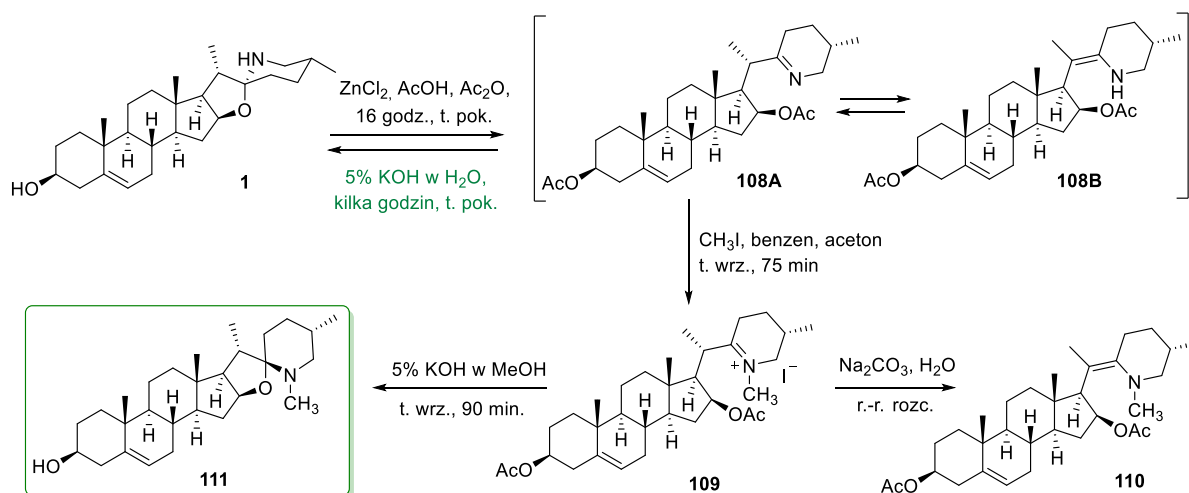
zredukować amid **106** oraz wiązanie podwójne w pierścieniu E, w wyniku czego powstała mieszanina izomerów pochodnej furastanowej **107**. Japońscy naukowcy dowiedli, że utworzenie pseudosolanu, jest więc dogodnym materiałem wyjściowym do dalszych przekształceń.



Schemat 35. Przekształcenia *N,O*-diacetylotomatydyny **104** z 1956 roku.

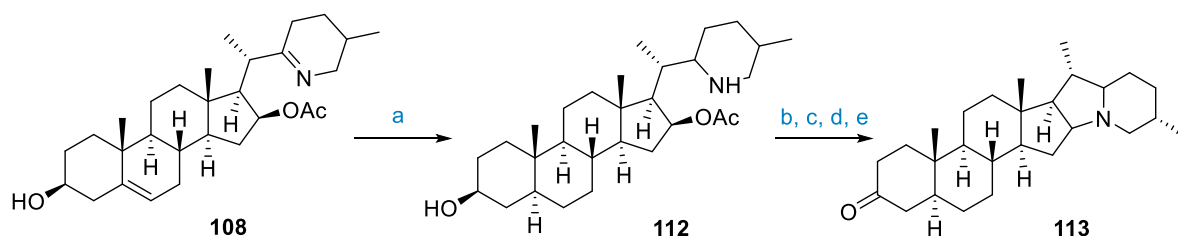
W 1957 roku Sato oraz współpracownicy kontynuowali badania nad reaktywnością układu spiroaminoketalowego w różnych warunkach i przedstawili otrzymane rezultaty w *J. Org. Chem.*^[146] Autorzy opisali w niej warunki pozwalające na otwarcie pierścienia E oraz F w spirosolanach. Otrzymany z solasodyny produkt pośredni – 3-*O*,16-*O*-diacetyloimina, został następnie wykorzystany w syntezie pochodnych metylosolasodyny **111** oraz demissydyny **113**.

W celu otwarcia pierścienia E w solasodynie, poddano ją reakcji z chlorkiem cynku w mieszaninie bezwodnika i kwasu octowego. W wyniku tego otrzymano wspomnianą już 3-*O*,16-*O*-diacetyloiminę, występującą w postaci dwóch tautomerów **108A** i **108B**. W celu dalszych przekształceń iminę **108** poddano najpierw reakcji metylowania, a następnie otrzymaną sól iminową **109** potraktowano rozcieńczonym wodnym roztworem NaHCO₃ i przeprowadzono w enaminę **110**. Obie pochodne **109** oraz **110** poddano reakcji z 5% roztworem KOH w metanolu, w wyniku czego doszło do hydrolizy grupy acylowej w pozycji C16 i zamknięcia pierścienia E, co pozwoliło uzyskać *N*-metylosolasodynę **111** (**Schemat 36**).



Schemat 36. Ścieżka syntezy metylosolasodyny **111**.

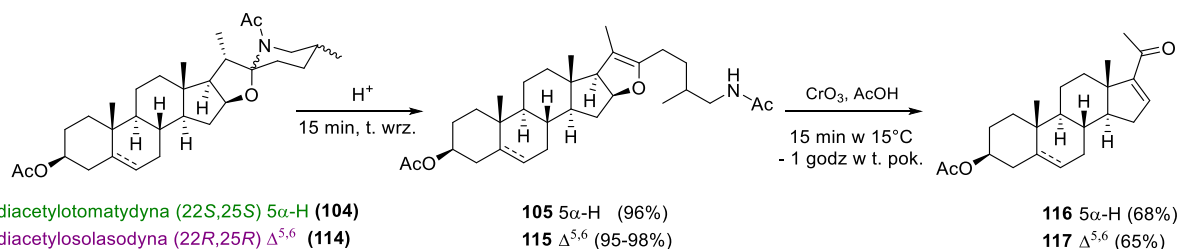
W 1960 roku Sato przedstawił pracę opisującą podobne przesształcenia dla tomatydy. ^[147] Druga część badań dotyczyła syntezy pochodnej demissydy (**113**) z solasody (**1**). Otrzymaną w poprzedniej syntezie, zhydrolizowaną iminę **108** poddano uwodornieniu z PtO₂ w kwasie octowym, w wyniku czego otrzymano pochodną **112** posiadającą nasycone pierścienie B oraz F. Uzyskaną w ten sposób aminę **112** poddano reakcji z odczynnikiem Kilianiego (wodny roztwór tlenku chromu(VI) i stężonego kwasu siarkowego(VI)) ^[146,148] co pozwoliło na utlenienie grupy hydroksylowej w pozycji C3. Następnie powstały związek najpierw poddano reakcji z 5% roztworem KOH w metanolu (doszło do hydrolizy estru w pozycji C16), a następnie poddano reakcji z odczynnikiem Kilianiego. Surowy produkt utleniania zredukowano za pomocą wodoru w obecności palladu na węglu aktywnym, dzięki czemu otrzymano pochodną demissydy **113** (**Schemat 37**). W 1960 roku Sato i współpracownicy opisali kontynuację badań dotyczącą syntezy alkaloidów posiadających ugrupowanie solanidanu. ^[149]



a) H₂, PtO₂, AcOH, **b)** odczynnik Kilianiego, aceton, t. pok., 10 min., **c)** 5% KOH, MeOH, t. wrz., 1,5 godz., **d)** odczynnik Kilianiego, aceton, t. pok., 10 min., **e)** H₂, Pd/C, Ac₂O

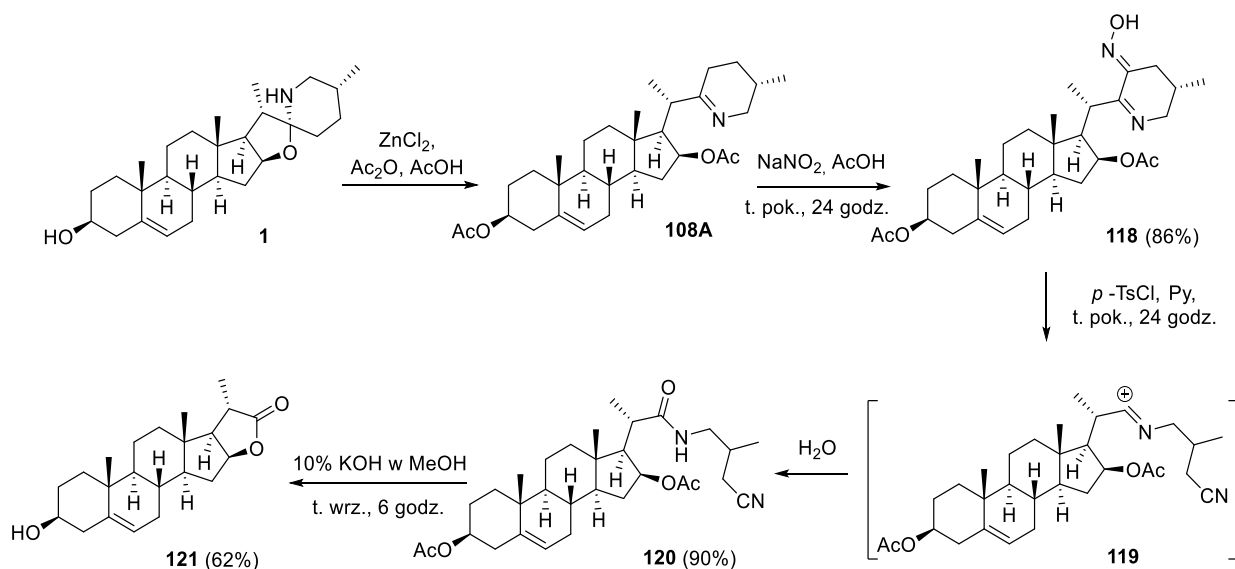
Schemat 37. Ścieżka syntezy pochodnej demissydy (**113**).

Trzeci obszar badań dotyczył przekształceń spirosolanów w kierunku degradacji pierścienia F. W publikacji z 1957 r. opublikowanej w *J. Chem. Org.*, Sato opisał wyniki badań otwierania pierścienia F w solasodynie prowadzące do otrzymywania pseudospirosolanu, który posłużył następnie do otrzymania produktu degradacji pierścienia. ^[146,150] Potraktowanie *N,O*-diacetylosolasody **114** kwasem octowym (lub propionowym) pozwoliło uzyskać pseudosolasodynę **115** z bardzo dobrymi wydajnościami (95-98%). W przypadku przekształceń *N,O*-diacetylotomatydy **104** uzyskano produkt **105** z wydajnością 95%. Próby otwarcia pierścienia za pomocą kwasu solnego bądź nadchlorowego nie przyniosły tak dobrych rezultatów. W następnym etapie uzyskane pochodne pseudospirostanowe **115** i **105** poddano utlenianiu za pomocą tlenku chromu(VI) w kwasie octowym w wyniku czego otrzymano produkty degradacji solasody **117** (65%) oraz tomatydy **116** (68%) (**Schemat 38**).



Schemat 38. Przekształcenie *N,O*-diacetylospirostanów do pochodnych octanu pregn-16-en-20-onu.

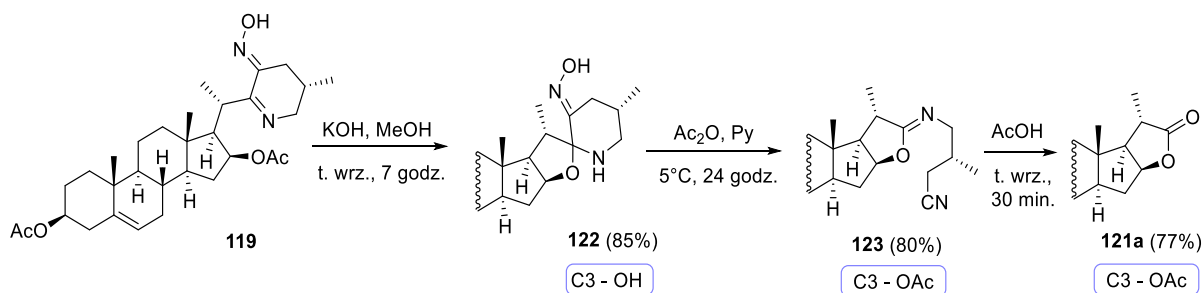
W 1961 roku Ci sami naukowcy wykorzystali solasodynę (**1**) oraz tomatydynę (**12**) w syntezie 23-oksymów, które zastosowali później m.in. do otrzymania produktów degradacji spirosolanów.^[151] Pierwszy etap zakładał otwarcie pierścienia E wspomnianych alkaloidów i utworzenie cyklicznej iminy. W tym celu solasodynę (**1**) poddano reakcji z chlorkiem cynku w mieszaninie bezwodnika octowego i kwasu octowego, w wyniku czego otrzymano żądaną iminę **108A**. Pod wpływem azotanu(III) sodu oraz kwasu octowego powstał z dobrą wydajnością 86% oksym (C23) **118**. Następnym etapem było przekształcenie powstałego oksymu w amid. W warunkach przegrupowania Beckmana: związek **118** potraktowano chlorkiem *p*-toluenosulfonylu w pirydynie, wiązanie C22-C23 uległo rozerwaniu, a dodatek wody pozwolił na utworzenie pochodnej cyjanoamidu **120**. Otrzymany związek poddano hydrolizie z KOH w metanolu, co doprowadziło do powstania produktu degradacji – laktonu **121**. Na **Schemacie 39** przedstawiłam ścieżkę wykorzystującą solasodynę (**1**) jako substrat.



Schemat 39. Wykorzystanie solasodyny w otrzymaniu produktu degradacji **121**.

Autorzy opisali kolejne przekształcenia dla otrzymanych związków: kolejna modyfikacja oksymu **118** polegała na zamknięciu pierścienia E. Pod wpływem KOH w metanolu powstał cykliczny oksym **122**. Następnym krokiem była reakcja **122** z bezwodnikiem octowym

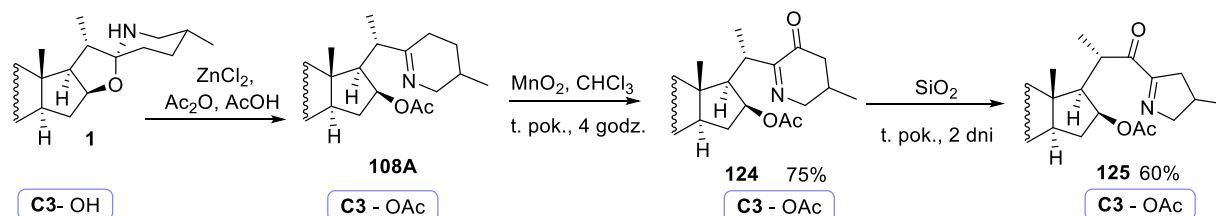
w pirydynie w obniżonej temperaturze. W tych warunkach doszło do przegrupowania – otrzymano iminonitryl **123**. Pod wpływem kwasu octowego doszło do degradacji pierścienia F, powstał lakton **121a** (Schemat 40).



Schemat 40. Przekształcenia prowadzące do powstania imino-nitrylu **123** i laktonu **121a**.

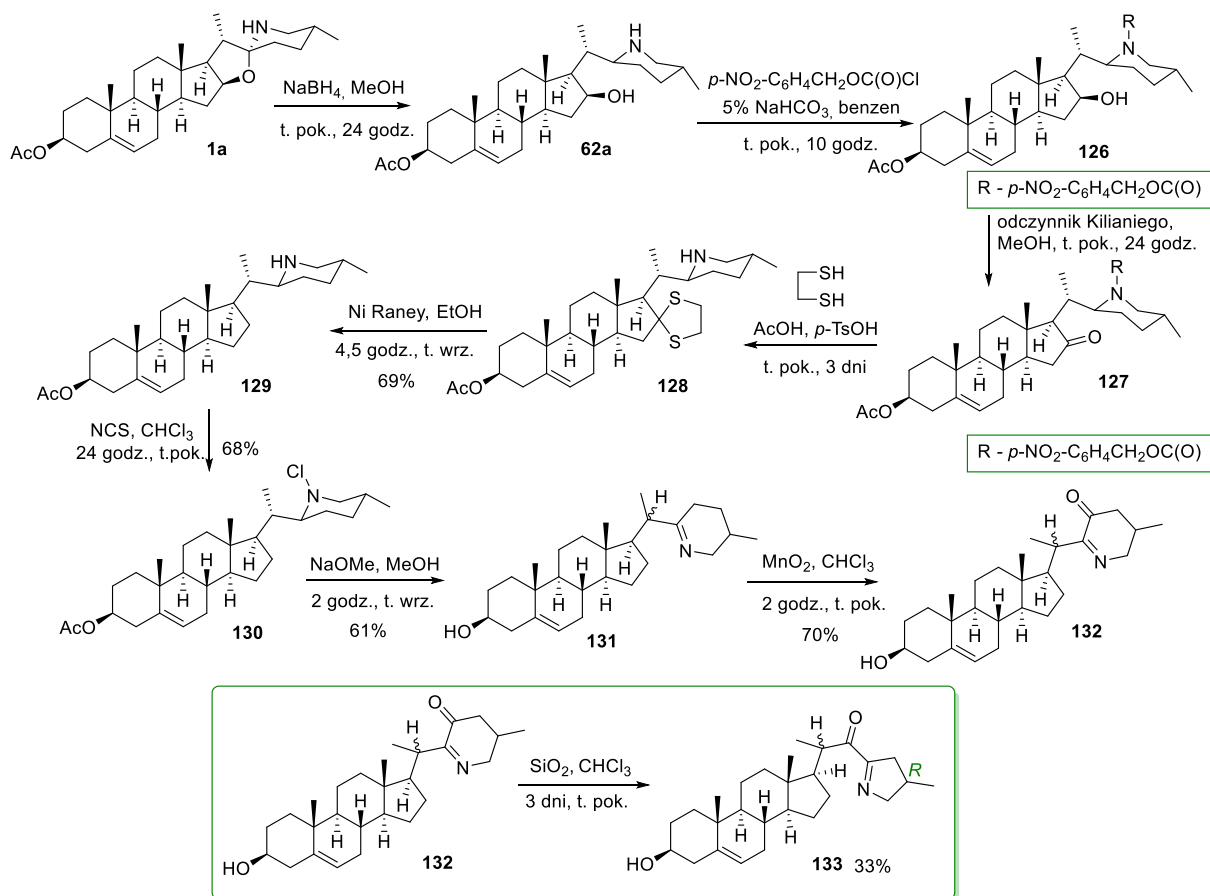
1.4.10. Synteza pochodnych alkaloidów steroidowych z wykorzystaniem spirosolanów

Solasodyna i inne alkaloidy steroidowe typu spirosolanu są często wykorzystywane jako substrat w syntezie nowych analogów, które mogłyby wykazywać aktywność biologiczną. Przykładem takiego związku jest tomatillidyna (**133**) wyizolowana z rośliny miechunki pomidorowej (*Solanum tomatillo*). W 1975 roku japoński zespół naukowców opracował metodę otrzymywania tomatillidyny i jej pochodnych z solasodyny.^[152] W pierwszym etapie solasodyna (**1**) została poddana reakcji z kwasem octowym, bezwodnikiem octowym oraz chlorkiem cynku, w wyniku czego pierścień E został otwarty, a grupy hydroksylowe przy C3 oraz C16 zostały poddane reakcji estryfikacji. W następnym etapie otrzymaną pochodną **108A** poddano reakcji utleniania z tlenkiem manganu(IV), dzięki czemu otrzymano keton w pozycji C23 (**123**, 75%). W celu uzyskania żądanej 16-acetoksytomatillidyny **125** autorzy opracowali metodę przegrupowania związku **124** z wykorzystaniem tlenku krzemu, co pozwoliło na powstanie żądanego alkaloidu **125** z wydajnością 60% (Schemat 41).



Schemat 41. Metoda syntezy 16-acetoksytomatillidyny **125**.

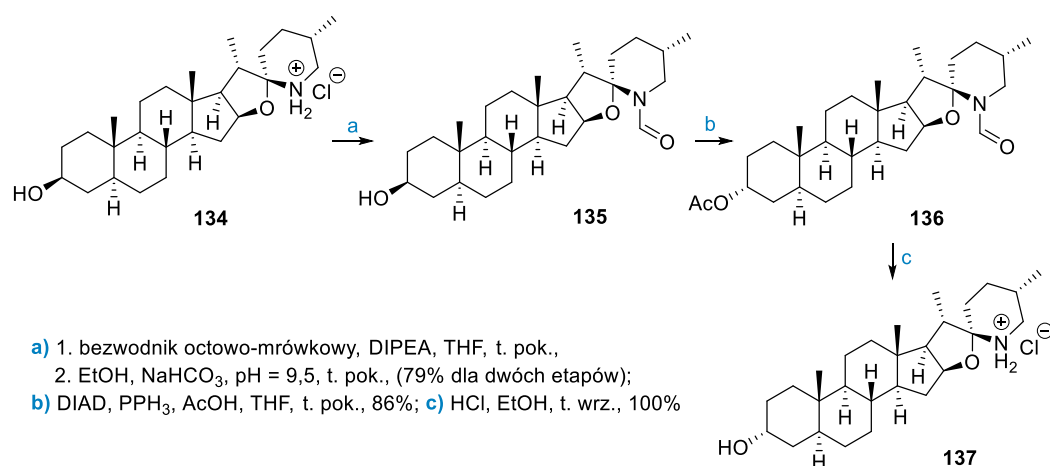
Autorzy opisali również drugą syntezę tomatillidyny (**133**), także wykorzystującą solasodynę jako substrat.^[152] Strategię przedstawiłam na **Schemacie 42**.



Schemat 42. Synteza tomatillidyny **133** z solasodiny (**1**).

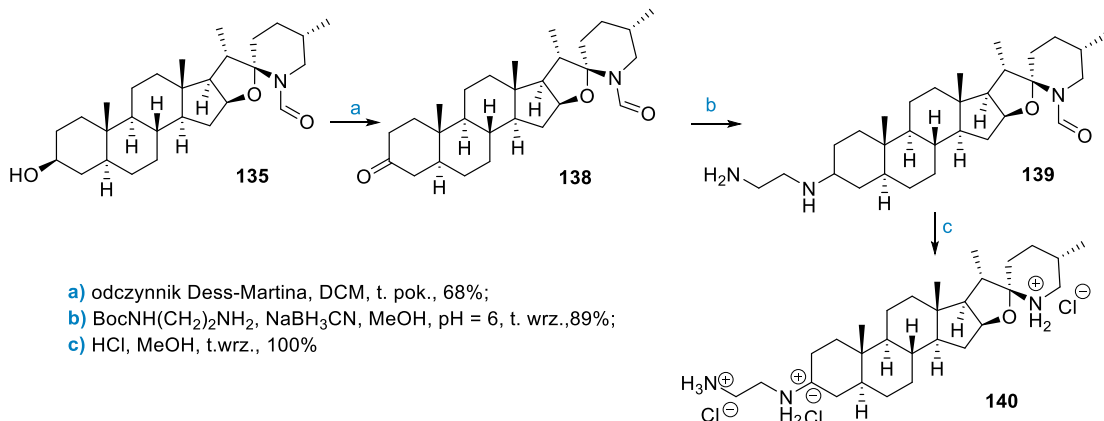
W pierwszym etapie 3-O-acetylosolasodyna (**1a**) została poddana reakcji z NaBH₄, w wyniku czego nastąpiło otwarcie pierścienia E w strukturze alkaloidu. Tak otrzymaną pochodną **62a** przeprowadzono następnie w karbaminian **126**, prowadząc reakcję z chloromrówczanem 4-nitrobenzylu w benzenie. Powstały karbaminian **126** został utleniony za pomocą odczynnika Killianiego w pozycji C16, w wyniku czego uzyskano keton **127**. Kolejne etapy polegały na przeprowadzeniu ketonu **127** w tioketalową pochodną **128** oraz na jej redukcji, dzięki czemu zmodyfikowano pozycję C16 (brak tlenu w pozycji C16) i otrzymano żadaną aminę **129** (69%). W kolejnym kroku przeprowadzono reakcję **129** z N-chlorosukcynoimidem – powstała N-chloropochodna **130** z wydajnością 68%. Reakcja związku **130** z metanolanem sodu pozwoliła na hydrolizę grupy hydroksylowej w pozycji C3 oraz eliminację cząsteczki chlorowodoru, dzięki czemu powstała imina **131** (61%). Następnie produkt **131** utleniono z użyciem MnO₂ w chloroformie do 23-oksopochodnej **132** (70%). Żądany produkt – tomatillidynę **133** otrzymano z wydajnością 33%, w wyniku izomeryzacji związku **132** na silikażelu wg opisanej wcześniej procedury.

W 2014 roku grupa naukowców z Kanady badała zależność pomiędzy strukturą a aktywnością pochodnych tomatydyny.^[153] Badania skupiły się na właściwościach antybiotycznych przeciwko gronkowcowi złocistemu. Autorzy zaprojektowali nowe pochodne tomatydyny, posiadające zmodyfikowane pierścienie A oraz F. Przykłady syntez analogów zawierających zmieniony pierścień A znajdują się na **Schemacie 43** oraz **Schemacie 44**. W pierwszym etapie chlorowodorek tomatydyny (**134**) przekształcono z użyciem bezwodnika octowo-mrówkowego w *N,O*-diformylo pochodną, a następnie powstały związek poddano łagodnej hydrolizie, co pozwoliło na wytworzenie pochodnej **135** z wydajnością 79%. W celu zmiany konfiguracji na atomie C3, związek **135** poddano estryfikacji w warunkach reakcji Mitsunobu, co pozwoliło uzyskać produkt **136** z wydajnością 86%. W następnym etapie otrzymany ester **136** potraktowano kwasem solnym w etanolu: w jednym etapie doszło do hydrolizy grupy octanowej w pozycji C-3 i powstania chlorowodoru tomatydyny **137** (**Schemat 43**).



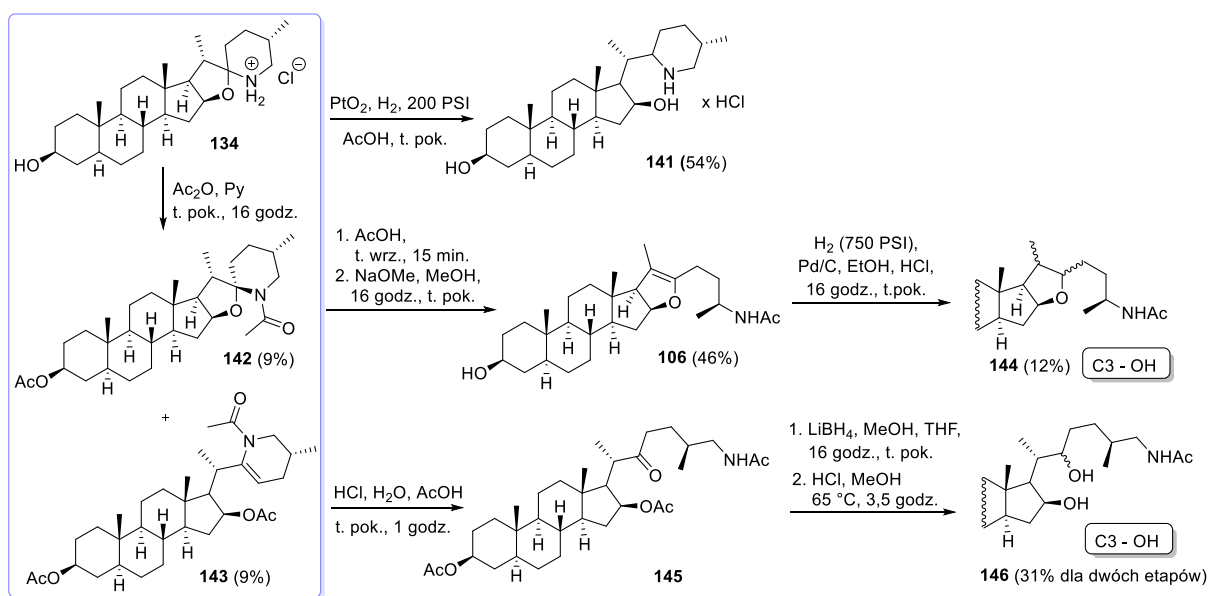
Schemat 43. Modyfikacje chlorowodoru tomatydyny (**134**).

Produkt **135** posłużył również jako substrat w syntezie pochodnych tomatydyny zawierających, różniące się długością, łańcuchy diaminowe w pozycji C3. Przykład takiej syntezy znajduje się na **Schemacie 44**. W pierwszym etapie przeprowadzono reakcję pochodnej tomatydyny **135** z odczynnikiem Dess-Martina, co pozwoliło na utlenienie grupy hydroksylowej w pozycji C3 i uzyskanie ketonu **138**. Następnie związek **138** poddano najpierw redukcyjnemu aminowaniu, dzięki czemu wprowadzono łańcuch diaminowy w pozycji C-3, a następnie przekształcono w odpowiadający chlorowodorek **140**.



Schemat 44. Modyfikacje pochodnej tomatydyny (**135**) w pierścieniu A.

Aby lepiej zrozumieć zależność aktywności biologicznej od budowy układu spiroaminoketalowego pierścieni E i F oraz aby sprawdzić, która forma, zamknięta czy otwarta, jest bardziej aktywna, naukowcy zsyntezowali nowe analogi tomatydyny z otwartym pierścieniem E bądź F (**Schemat 45**).



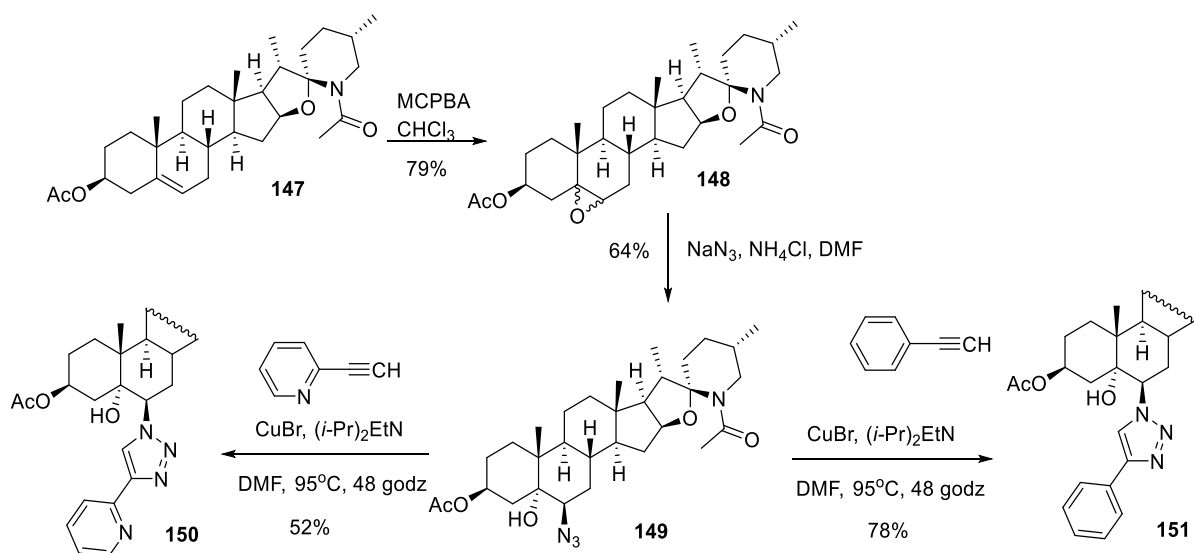
Schemat 45. Modyfikacje chlorowodorku tomatydyny **134** w pierścieniach E oraz F.

Chlorowodorek tomatydyny (**134**) poddano katalitycznemu uwodornieniu na tlenku platyny w wyniku czego doszło do otwarcia pierścienia E oraz wytworzenia **141** z wydajnością 54%. W drugim podejściu przeprowadzono reakcję acylowania chlorowodorku tomatydyny (**134**) z bezwodnikiem octowym w pirydynie, w wyniku czego otrzymano *N,O*-diacylową pochodną tomatydyny **142** (9%). W tej reakcji powstał drugi produkt – pod wpływem działania bezwodnika pierścień E został otwarty i powstała pochodna **143** (9%). Związek **142** gotowano w kwasie octowym w celu otwarcia pierścienia F, a później poddano hydrolizie, uzyskując

pseudotomatydynę (**106**, 46%). Redukcja wodorem, bez kontroli stereochemii na nowo utworzonych centrach stereogenicznych, pozwoliła otrzymać mieszaninę izomerów **144** (na węglach C20 oraz C22) z wydajnością 12%. Pochodna **143** została potraktowana kwasem solnym oraz kwasem octowym, co doprowadziło do otwarcia pierścienia F (uzyskano produkt **145**). Następnie, związek **145** poddano kolejnym przekształceniom: grupę karbonylową w pozycji C22 zredukowano z użyciem borowodoru litu, a grupę acetylową przy C16 odbezpieczono, w wyniku czego otrzymano triol **146**. Wszystkie próby zhydrolizowania końcowego acetamidu **146** prowadziły do rozkładu produktu.

Jak już wspomniałam wprowadzenie zmian strukturalnych w tomatydyinie (**12**) miało na celu zbadanie wpływu tych modyfikacji na właściwości przeciwbakteryjne. Ocenę aktywności biologicznej chlorowodoru solasodyny i jej nowych pochodnych badano na szczepie gronkowca złocistego (*S. aureus*), odpowiedzialnego za trudne do leczenia i nawracające zakażenia. Bakteria ta jest jednym z najbardziej problematycznych patogenów ze względu na jej wieloraką odporność na dostępne klinicznie antybiotyki. Zbadano związki posiadające zmiany strukturalne w pozycji C3 w pierścieniu A, z zachowanym układem pierścieni E i F (tj. w tomatydyinie **12**). Bardzo dobre wyniki wykazały analogi z wydłużonym łańcuchem diaminowym, np. produkt **139**, posiadający dwuwęglowy łańcuch alifatyczny. Wydłużenie łańcucha do 6 atomów węgla bądź jego brak powodowały jednak spadek aktywności antybakteryjnej. Następnie zbadano właściwości analogów tomatydyiny ze zmodyfikowanymi pierścieniami E oraz F – najwyższe wyniki w przeprowadzonych badaniach wykazały: chlorowodorek tomatydyiny **134** oraz jej pochodna z otwartym pierścieniem E (**143**). Z przeprowadzonego doświadczenia można wyciągnąć wniosek, że forma z zamkniętym pierścieniem F charakteryzuje się wyższą aktywnością niż np. octan pseudotomatydyiny **106** oraz produkt **145**.

Mimo dużej ilości opublikowanych do tej pory prac na temat alkaloidów *Solanum*, ciągle trwają badania w kierunku syntezy nowych analogów solasodyny. Do tej pory przedstawiłam głównie modyfikację solasodyny w obrębie układu spiroaminoketalowego, jednak zmiany nad strukturą tego alkaloidu dotyczą też innych pierścieni. Przykładem są badania opisane w publikacji z 2018 r. w której naukowcy z Rosji przedstawili syntezę *N,O*-diacetylo-5 α -hydroksy-6 β -azydosolasodyny i jej przekształcenia w warunkach katalizowanej miedzią 1,3-dipolarnej reakcji cykloadycji (**Schemat 46**).^[154]



Schemat 46. Modyfikacja dioctanu tomatidenolu (**147**) w pierścieniu B.

Należy zauważyć, że zainteresowanie związane z modyfikacją solasodyny (**1**) w obszarze atomów C-5,C-6 wynika z tego, że właściwości teratogenne alkaloidów steroidowych wynikają właśnie z obecności podwójnego wiązania między atomami C5-C6 w pierścieniu steroidowym.^[155]Pierwszym etapem syntezy było przeprowadzenie solasodyny (**1**) w jej dioctanową pochodną **147**. Otrzymany produkt **147** poddano epoksydowaniu za pomocą MCPBA, w wyniku czego otrzymano mieszaninę 5 α ,6 α - oraz 5 β ,6 β -epoksydów w stosunku 3:1 (**148**) z wydajnością 79%. Do dalszych przekształceń wykorzystano mieszaninę epoksydów α oraz β : w następnym kroku doszło do rozerwania nowopowstałego pierścienia i wprowadzenia grupy azydkowej w pozycję C6 z użyciem NaN₃ w obecności soli amonowej w DMF. Mimo powstania mieszaniny azydków, autorzy wyizolowali z mieszaniny poreakcyjnej czysty azydek **149** (64%), który został wykorzystany w cykloaddycji z terminalnymi alkinami. Reakcja przebiegała z dodatkiem *N,N*-diizopropylloetyloaminy oraz związkami miedzi(I) w DMF w 95°C. Opracowana procedura pozwoliła uzyskać pochodne *N,O*-diacetylosolasodyny ze zmodyfikowanym pierścieniem B (**150** oraz **151**) z wydajnościami 52-78%.

Rozdział II
Badania własne

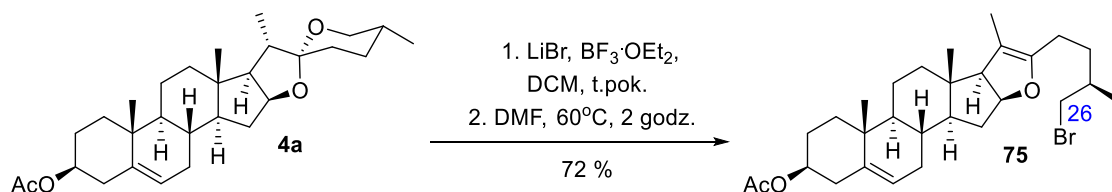
2. Badania własne

2.1. Wprowadzenie

Zasadniczym celem mojej pracy było otrzymanie znanego alkaloidu steroidowego – solasodyny (**1**) oraz synteza jej nowych F-homopochodnych. W obu wypadkach, strategia syntetyczna opierała się na opracowaniu jednoetapowej metody otwierania pierścienia spiroketalowego w diosgeninie (**4**) z jednoczesnym wprowadzeniem w pozycję C26 grupy zawierającej atom azotu. Wstępne badania pokazały, że jest to możliwe dzięki zastosowaniu kwasu Lewisa oraz azotowego czynnika nukleofilowego wobec diosgeniny (**4**). Odczynniki stosowane w tym celu powinny cechować się stosunkowo wysoką nukleofilowością oraz niską zasadowością ze względu na warunki kwasowe potrzebne do otwarcia pierścienia F. Oprócz amidów i sulfamidów zastosowanych w syntezie i opisanych już w literaturze, takie właściwości wykazują azydki^[156–158] i karbaminiany^[159]. Postanowiłam więc zastosować je do utworzenia pseudodiosgeniny z wbudowanym atomem azotu w pozycję C26, która mogłaby posłużyć jako materiał wyjściowy w syntezie solasodyny (**1**). Opracowaną metodę otwierania pierścienia F oraz jednoczesnego wprowadzenia odpowiedniej grupy funkcyjnej, zamierzałam wykorzystać do otrzymania 26-cyjanopseudodiosgeniny – substratu w syntezie F-homopochodnych solasodyny. Rozbudowanie pierścienia F mogłoby wpłynąć na wzrost aktywności biologicznej tego alkaloidu. Następnym wyzwaniem było znalezienie odpowiednich warunków cyklizacji pierścieni sześć- oraz siedmioczłonowych, co pozwoliłoby zapewnić odpowiednią stereoselektywność oraz wysoką wydajność. Otrzymane związki: solasodynę (**1**) oraz jej F-homopochodne zamierzałam poddać badaniom biologicznym w celu sprawdzenia ich aktywności. Druga część badań polegała na opracowaniu metody syntezy pochodnych abirateronu (**2**) oraz galeteronu (**3**). Zaprojektowane przeze mnie pochodne będą „połączeniem” dwóch cząsteczek: steroidu (octanu 17-dehydropregnenolonu, **6**) oraz pochodnych aminobenzimidazolu (**7**, **8**). Znane i opisane w literaturze związki tego typu, charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną, co czyni je ciekawym obiektem badań w kierunku wykorzystania ich w zastosowaniu klinicznym.

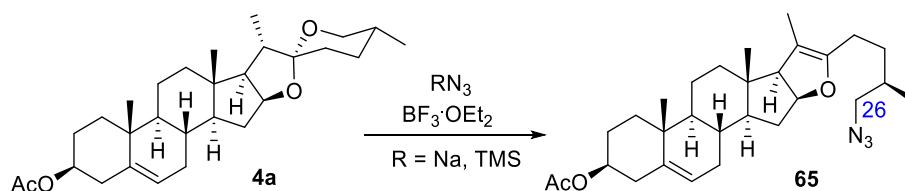
2.2. Reakcja octanu diosgeniny z azydkiem w obecności kwasu Lewisa

W 2015 roku Tian i jego zespół opisał syntezę solasodyny (**1**) z octanu diosgeniny (**4a**), w której pierwszy etap polegał na otwarciu pierścienia F oraz na jednoczesnym wprowadzeniu grupy dobrze odchodzącej w pozycję C26.^[138] W tym celu przeprowadzono reakcję octanu diosgeniny (**4a**) z bromkiem litu w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (kwas Lewisa), wynikiem czego był steroidowy 26-bromek **75** (Schemat 47).



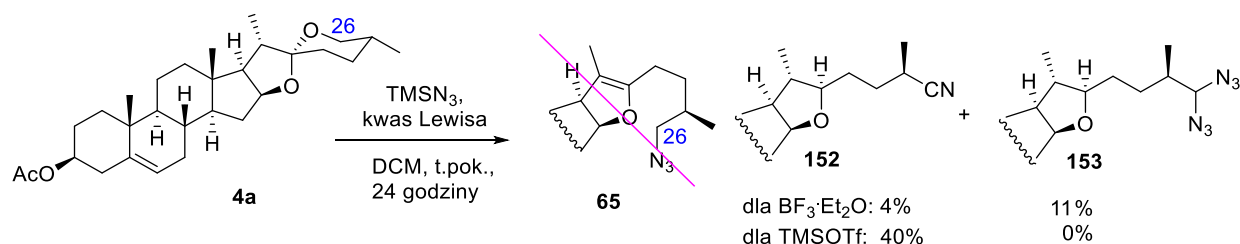
Schemat 47. Reakcja octanu diosgeniny (**4a**) z bromkiem litu w obecności BF₃·OEt₂.

W celu skrócenia syntezy solasodyny, zaplanowałam reakcję octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem w obecności kwasu Lewisa. Bazując na badaniach Tiana z 2015 roku,^[138] założyłam, że w tych samych warunkach, w jednym etapie nastąpi otwarcie pierścienia F oraz wprowadzenie grupy azydkowej w pozycję C26. Zaplanowałam więc analogiczną reakcję octanu diosgeniny (**4a**) z użyciem azydku w obecności eteratu trifluorku boru, w której oczekiwałam powstania 26-azydku **65** (**Schemat 48**).



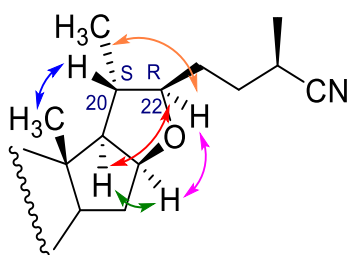
Schemat 48. Oczekiwany przebieg reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem w obecności BF₃·OEt₂.

Pierwsze próby otrzymania 26-azydku **65** przeprowadziłam z użyciem NaN₃ oraz BF₃·OEt₂ (chlerek metylenu, temperatura pokojowa). Po 48 godzinach zaobserwowałam marginalną konwersję octanu diosgeniny (**4a**). Niewielkie przereagowanie substratu mogło być spowodowane niską rozpuszczalnością azydku sodu w rozpuszczalniku organicznym. Podczas drugiej próby zastosowałam azydek trimetylosililu (TMSN₃), który lepiej rozpuszcza się w chlorku metylenu, nie zmieniając przy tym pozostałych warunków reakcji. W tym przypadku, po dobie zaobserwowałam powstanie dwóch produktów o podobnej polarności. Spodziewałam się, że jednym ze związków jest oczekiwany 26-azydek **65**. Analiza spektroskopowa nie potwierdziła tego przypuszczenia, produktami reakcji okazał się: nityl **152** oraz diazydek **153**. Podjęłam się kolejnej próby uzyskania żądanego 26-azydku **65**, w której użyłam TMSN₃ oraz TMSOTf jako kwasu Lewisa. W tym przypadku otrzymałam tylko produkt **152** z wydajnością 40% (**Schemat 49**).^[160]



Schemat 49. Produkty powstałe w reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu w obecności kwasów Lewisa.

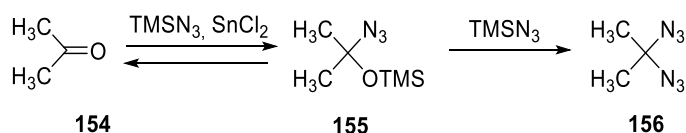
Powstanie 26-nitrylu **152**, a nie 26-azydku **65** zostało potwierdzone dzięki analizie NMR oraz MS. W celu przypisania wszystkich protonów wykorzystano różne techniki korelacyjne tj. COSY, HSQC oraz HMBC. Kolejnym wyzwaniem było ustalenie konfiguracji na atomach węgla C20 i C22 steroidowego 26-nitrylu **152**. W tym celu posłużyłam się technikami wykorzystującymi efekt Overhausera (NOE). Na **Rysunku 13** pokazano ustaloną wcześniej konfigurację dla węgli 20*S* oraz 22*R* otrzymanego nitrylu **152**.



Rysunek 13. Korelacje NOE dla nitrylu **152**.

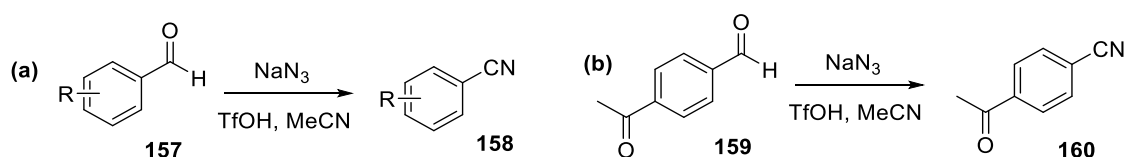
Jak już wspomniałam, w reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, uzyskałam także drugi produkt. Identyfikacja związku początkowo sprawiła pewne problemy, ponieważ mylnie założyłam, że jest to żądany 26-azydek **65**. Na widmie IR pojawił się charakterystyczny sygnał przy 2104 cm^{-1} pochodzący od grupy azydkowej. Wykonane badanie MS, wykazało jednak masę większą od żądanego produktu. Po przeanalizowaniu wszystkich widm NMR (^1H , ^{13}C , COSY i HSQC) ustalona została struktura nieznanego związku – otrzymałam steroidowy 26,26-diazydek **153** (**Schemat 46**).

Powstawanie geminalnych diazydków w reakcji grupy karbonylowej z TMSN_3 zaobserwowano już wcześniej.^[161] W 1984 roku Nishiyama opisał tworzenie gem-diazydków z prostych ketonów w reakcjach katalizowanych SnCl_2 (**Schemat 49**).^[162]



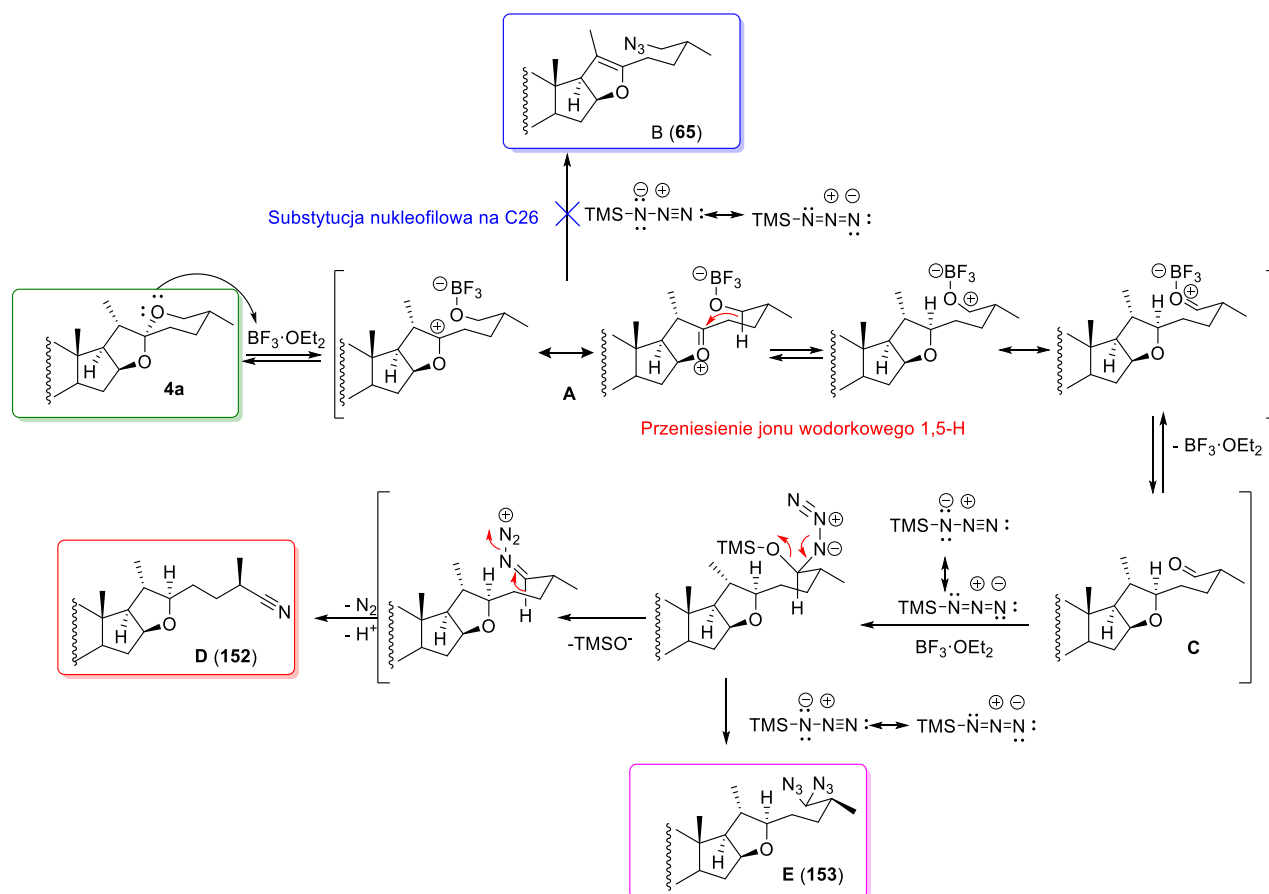
Schemat 50. Powstawanie azydku **155** lub diazydku **156** w reakcji acetonu z azydkiem trimetylosililu w obecności chlorku cyny(II), jako kwasu Lewisa.

Przegląd literaturowy wykazał, że tworzenie nitryli z grupy karbonylowej z użyciem azydku jest możliwe dzięki chemoselektywnej reakcji Schmidta. W 2012 roku indyjska grupa badawcza opisała przekształcenia wybranych aldehydów w nitryle z wykorzystaniem azydku sodu oraz kwasu triflowego (**Schemat 51**).^[163–165]



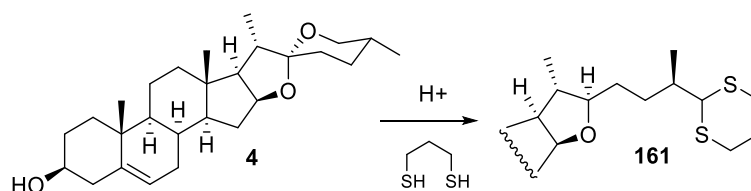
Schemat 51. Przekształcenie aldehydu w nitryl w reakcji Schmidta.

Na podstawie powyższych doniesień zaproponowano prawdopodobny mechanizm tworzenia 26-nitrylu **152** i diazydku **153**. Pod wpływem działania kwasu Lewisa zachodzi selektywna aktywacja atomu tlenu w pierścieniu F diosgeniny. Powoduje to otwarcie pierścienia F i powstanie struktury przejściowej – jonu oksoniowego (**A**). W dalszym etapie jon oksoniowy może ulec substytucji nukleofilowej jonem azydkowym w pozycji C26, proton od C20 może ulec odłączeniu, co może doprowadzić do powstania steroidowego 26-azydku **65** (**B**). Oprócz ataku azydku na atom C26 jonu oksoniowego możliwa jest również wewnątrzcząsteczkowa reakcja redoks, czyli przeniesienie jonu wodorkowego 1,5-H, w wyniku czego powstaje 26-aldehyd (**C**). W wyniku addycji nukleofilowej azydek trimetylosililu przyłącza się do grupy karbonylowej w pozycji C26. Początkowo, odłącza się TMSO⁻, a następnie cząsteczka azotu oraz proton, powodując powstawanie steroidowego 26-nitrylu **152** (**D**). Do utworzenia 26,26-diazydku **153** prawdopodobnie przyczynił się duży nadmiar azydku trimetylosililu (5 ekw.): najpierw do powstałego aldehydu (**C**) przyłączeniu ulega jedna cząsteczka azydku trimetylosililu, następnie do zaktywowanej grupy 26-OH – podstawia się druga cząsteczka TMSN₃. W wyniku tego powstał diazydek **153** (**Schemat 52**).



Schemat 52. Proponowany mechanizm reakcji diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu w obecności BF₃·OEt₂.

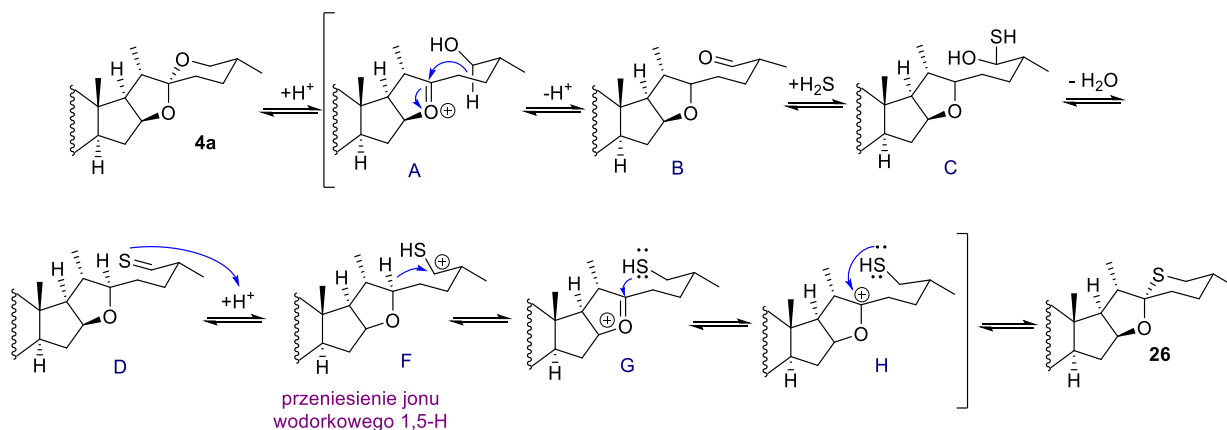
Wewnątrzcząsteczkową reakcję redoks (przeniesienie jonu wodorkowego 1,5-H) w układach spirostanowych w obecności kwasów opisywano w literaturze już wcześniej. W 2003 ukazała się praca dotycząca reakcji merkaptolizy sapogenin steroidowych, naukowcy zaobserwowali, że w reakcji diosgeniny (**4**) z tiolami pod wpływem kwasu Lewisa tworzą się tioketale, co zostało wyjaśnione właśnie poprzez przeniesienie jonu wodorkowego 1,5-H (Schemat 53).^[93,166]



Schemat 53. Merkaptoliza diosgeniny (**4**) opisana przez Tiana w 2003 roku.

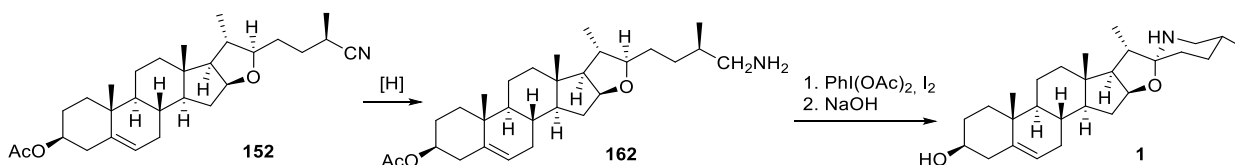
W pracy z 2015 roku Ci sami autorzy opisali mechanizm tworzenia tiodiosgeniny **26** z diosgeniny, który przebiegał poprzez etap otwarcia pierścienia F pod wpływem działania

kwasu Lewisa, utworzenie jonu oksoniowego oraz następnie intermediatu – aldehydu (**B**) w wyniku przeniesienia protonu 1,5-H (**Schemat 54**).^[95]



Schemat 54. Proponowany mechanizm reakcji octanu diosgeniny **4a** z siarkowodorem w obecności kwasu.

Po zapoznaniu z literaturą, postanowiłam wykorzystać związek **152**, uzyskany w reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu (w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) w syntezie solasodyny (**1**) (**Schemat 55**).



Schemat 55. Plan syntezy wykorzystujący 26-nitryl **152** w syntezie solasodyny (**1**).

Strategia syntetyczna miała polegać na następujących przekształceniach: I – na redukcji nitrylu do aminy, II –rodnikowym zamknięciu pierścienia z wykorzystaniem metody Suaresa,^[140] III – hydrolizie grupy estrowej w pozycji C3. Główny problem polegał na tym, że etap tworzenia nitrylu **152** przebiegał z niewielką wydajnością, dlatego postanowiłam znaleźć jak najlepsze warunki jego tworzenia. W tym celu zbadalam wpływ takich czynników, jak:

- ✓ ilość kwasu Lewisa oraz azotowego odczynnika nukleofilowego,
- ✓ rodzaj kwasu Lewisa,
- ✓ czas,
- ✓ temperaturę,
- ✓ rodzaj rozpuszczalnika na przebieg reakcji octanu diosgeniny z azydkiem trimetylosililu.

Badanie reakcji octanu diosgeniny z azydkiem trimetylosililu w obecności kwasu Lewisa w różnych warunkach. Wpływ ilości kwasu oraz azotowego odczynnika nukleofilowego

W celu dobrania odpowiedniej ilości potrzebnego kwasu Lewisa oraz azotowego odczynnika nukleofilowego, przeprowadziłam dwie reakcje: pierwszą z zastosowaniem 1.1 ekw. azydku trimetylosililu (TMSN_3) i 1 ekw. TMSOTf oraz reakcję z dwa razy większą ilością tych odczynników (**Tabela 1, pozycje 6, 7**). W obu próbach otrzymałam jeden produkt główny – 26-nitryl **152** z podobną wydajnością (26%), co świadczy o tym, że nadmiar w tym wypadku nie wpłynął na zwiększenie ilości powstającego produktu. Podobne próby przeprowadziłam z użyciem $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. W tym przypadku ilość dodanego kwasu wpływała na przebieg reakcji: zastosowanie 2 ekw. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ oraz 2 ekw. TMSN_3 sprzyjało niewielkiemu stopniu przereagowania (**Tabela 1, pozycja 1**), natomiast większy nadmiar odczynników (5 ekw.) prowadził do powstania dwóch produktów: 26-nitrylu **152** (4%) oraz diazydku **153** (11%) (**Tabela 1, pozycja 2**). Podwyższenie temperatury reakcji (z pokojowej do temperatury wrzenia rozpuszczalników) miało wpływ na wzrost wydajności diazydku **153** (z 4% do 9%) (**Tabela 1, pozycje 3, 4**).

Wpływ kwasu

Najlepsze wydajności dla reakcji tworzenia 26-nitrylu **152** uzyskałam podczas stosowania TMSOTf (wydajność 40%), pozostałe stosowane kwasy: $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, Tf_2NH , SnCl_4 (**Tabela 1, pozycje 2, 16, 19**) okazały się mniej skuteczne. W obecności SnCl_2 oraz $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ reakcja nie zachodziła (**Tabela 1, pozycje 18, 20**). Reakcje w których stosowałam $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, prowadziły do powstawania drugiego produktu – diazydku **153** (**Tabela 1, pozycje 2, 3, 4**).

Wpływ czasu

Sprawdziłam również wpływ czasu na wydajność reakcji (podczas stosowania zoptymalizowanych warunków w stosunku do kwasu Lewisa i nukleofila). W tym celu wykonałam trzy próby z użyciem 1.1 ekw. TMSN_3 i 1 ekw. TMSOTf . Reakcje przerywałam kolejno po upływie 24, 48 i 72 godzin (**Tabela 1, pozycje 7-9**). W każdym przypadku głównym produktem był 26-nitryl **152**. Po upływie doby wydajność reakcji wynosiła 27%. Wydłużenie czasu trwania procesu do 48 godzin wpłynęło na wzrost konwersji substratu, wydajność dla 26-nitrylu **152** wyniosła bowiem 40%. Niestety dalsze wydłużenie czasu, nie zwiększyło przereagowania (wydajność wynosiła 31%). Zbyt długi czas prowadził prawdopodobnie do rozkładu nitrylu **152**.

Wpływ rozpuszczalnika i temperatury

Zbadałam wpływ rozpuszczalności na przebieg reakcji w chlorku metylenu, benzenie, tetrahydrofuranie oraz acetonitrylu. Podsumowując próby z użyciem TMSOTf , reakcja

w benzenie przebiegała długo, z niewielkim stopniem konwersji substratu, dając nitryl z wydajnością tylko 4% (**Tabela 1, pozycja 10**). W przypadku zastosowania THF nie zaobserwowałam żadnych pozytywnych rezultatów (**Tabela 1, pozycja 11**). Przeprowadziłam reakcje również w acetonitrylu, w tym wypadku rozpuszczalność octanu diosgeniny (**4a**) była niewielka i podniosłam temperaturę do 40 °C. Mimo to reakcja przebiegała powoli: po 48 godzinach wydajność wynosiła tylko 8% (**Tabela 1, pozycje 12-15**). Najlepsze wyniki uzyskałam stosując chlorek metylenu (**Tabela 1, pozycja 8**). Podsumowując reakcje w obecności BF₃·OEt₂: podczas stosowania acetonitrylu zauważyłam niewielki stopień konwersji substratu (**Tabela 1, pozycja 5**). Zmieniając rozpuszczalnik na chlorek metylenu powstał 26-nitryl **152** z 4% wydajnością i dodatkowo diazydek **153** (11%) (**Tabela 1, pozycja 2**). Najlepsze wyniki uzyskałam stosując mieszaninę chlorku metylenu oraz acetonitrylu (4:1), izolując nitryl **152** (10%) oraz diazydek **153** (4%) (**Tabela 1, pozycja 3**). Zbadałam również wpływ temperatury na przebieg reakcji: eksperymenty prowadziłam w temperaturze 40 °C oraz 60 °C, jednak w tych warunkach nie otrzymałam 26-nitrylu **152** (**Tabela 1, pozycje 12, 14**). Zebrane wyniki badań przedstawiłam w tabeli poniżej.

Tabela 1. Optymalizacja reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu w obecności kwasu w różnych warunkach.

Nr	Kwas (ekw.)	TMSN ₃ (ekw.)	Rozpuszczalnik, warunki (temp., czas)	152 ^{a,b}	153 ^{a,b}
1	BF ₃ ·OEt ₂ (2)	2	DCM, t. pok., 24 godz.	<2%	-
2	BF ₃ ·OEt ₂ (5)	5	DCM, t. pok., 24 godz.	4% ^a	11% ^a
3	BF ₃ ·OEt ₂ (6)	6	DCM, MeCN, t. pok., 24 godz.	10% ^a	4% ^a
4	BF ₃ ·OEt ₂ (6)	6	DCM, MeCN, t. wrz., 2 godz.	11% ^a	9% ^a
5	BF ₃ ·OEt ₂ (6)	6	MeCN, t. wrz., 24 godz.	<2%	-
6	TMSOTf (2)	2.2	DCM, t. pok., 24 godz.	26% ^a	-
7	TMSOTf (1)	1.1	DCM, t. pok., 24 godz.	27% ^b	-
8	TMSOTf (1)	1.1	DCM, t. pok., 48 godz.	40% ^b	-
9	TMSOTf (1)	1.1	DCM, t. pok., 72 godz.	31% ^b	-
10	TMSOTf (2)	2.2	benzen, t. pok., 72 godz., 40 °C, 3 godz. ^c	4% ^a	-
11	TMSOTf (2)	2.2	THF, t. pok., 22 godz.	-	-
12	TMSOTf (2)	2.2	MeCN, 40 °C, 30 min	3% ^{a, d}	-
13	TMSOTf (2)	2.2	MeCN, 60 °C, 1 godz.	-	-
14	TMSOTf (2)	2.2	MeCN, 40 °C, 24 godz.	4% ^{a, d}	-
15	TMSOTf (2)	2.2	MeCN, t. pok., 24 godz., 40 °C, 48 godz. ^c	8% ^{a, d}	-
16	Tf ₂ NH (0.1)	1.1	DCM, t. pok., 24 godz.	16% ^{b, d}	-
17	Tf ₂ NH (0.3)	3	DCM, t. pok., 24 godz.	21% ^d	-
18	SnCl ₂ (0.6)	1.1	DCM, od 0 °C do t. pok., 24 godz.	-	-
19	SnCl ₄ (0.6)	1.1	DCM, od -78°C do t. pok., 24 godz.	13% ^a	-
20	MgBr·OEt ₂ (6)	6	DCM, od t. pok. do 40°C, 24 godz.	-	-

^a wydajność izolacyjna; ^b wydajność obliczona na podstawie widma ¹H NMR; ^c zmiana warunków prowadzonej reakcji (podwyższenie temperatury w trakcie trwania reakcji); ^d zaobserwowano powstanie mieszaniny polarnych produktów powstających najprawdopodobniej w wyniku hydrolizy octanu oraz rozkładu substratu.

Analizując wyniki przeprowadzonych badań optymalizacji reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkiem trimetylosililu w obecności kwasu Lewisa, mogłam wyciągnąć następujące wnioski:

- ✓ w każdym przypadku głównym produktem był steroidowy 26-nitryl **152**, nie udało się mi otrzymać żądanego steroidowego 26-azydku **65**. Intermediatem w tej reakcji był najprawdopodobniej steroidowy aldehyd (C) (**Schemat 52**),
- ✓ kwasem, który pozwolił na uzyskanie największych ilości związku **152** był TMSOTf. Produkt główny **152** otrzymałam z wydajnością 40% (1.1 ekw. TMSN₃, 1 ekw. TMSOTf, DCM, temp. pok., 48 godz.),
- ✓ zastosowanie BF₃·OEt₂, doprowadziło do powstania 26,26-diazydku **153** z wydajnością 11% (5 ekw. BF₃·OEt₂, 5 ekw. TMSN₃, DCM, temp. pok., 24 godz.),
- ✓ nadmiar TMSN₃ użyty w reakcji sprzyjał powstawaniu diazydku **153**,
- ✓ długi czas prowadzonej reakcji lub zastosowanie wysokiej temperatury prowadziło do degradacji 26-nitrylu **152** lub do powstawania trudnej do rozdzielania mieszaniny związków.

2.3. Synteza solasodyny z wykorzystaniem karbaminianów w obecności kwasu Lewisa

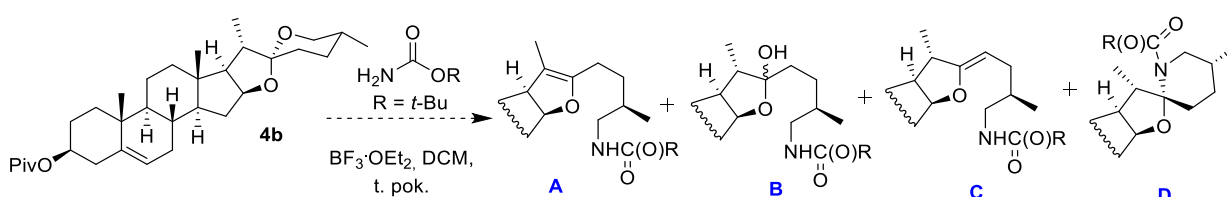
Do tej pory, w celu uzyskania azotowej pochodnej pseudodiosgeniny, w reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z kwasem Lewisa stosowałam azydek trimetylosililu. Podjęte próby pozwoliły otrzymać 26-nitryl **152**, jednak ze względu na niezadowalającą wydajność procesu, zdecydowałam się na zmianę azotowego nukleofila. Postanowiłam, że kolejne badania przeprowadzę z użyciem karbaminianów (*tert*-butylu, metylu oraz benzylu). Te azotowe reagenty posiadają również właściwości nukleofilowe oraz są aktywne w środowisku kwasowym.^[167–169]

Jak wspomniałam wcześniej, w 2015 roku ukazała się publikacja Tiana, w której opisał wprowadzenie atomu azotu w strukturę diosgeniny z użyciem metanosulfonoamidu.^[139] Reakcja octanu diosgeniny (**4a**) z metanosulfonoamidem w obecności kwasu Lewisa pozwoliła w jednym etapie otworzyć pierścień F oraz wbudować grupę zawierającą azot (**Schemat 25**). Kolejnym krokiem było odbezpieczenie grupy aminowej oraz cyklizacja takiego układu. Przeprowadzone badania dowiodły, że ostatni etap tej ścieżki syntetycznej (odbezpieczenie grupy aminowej) przysporzył autorom dużych trudności. Problem został rozwiązany poprzez zastosowanie drastycznych warunków (sód w naftaleniu). Przeprowadzenie etapu odbezpieczania oraz cyklizacji zaowocował otrzymaniem solasodyny (**1**) (**Schemat 27**).

W odróżnieniu od sulfonamidów, zastosowanie karbaminianów w syntezie solasodyny wydawało się bardziej korzystne, odbezpieczenie grupy aminowej powinno zachodzić w łatwy sposób. Różne karbaminiany mogą być usuwane w środowisku kwasowym np. przy zastosowaniu jodku trimetylosililu w temperaturze 50 °C lub przez użycie bromowodoru z kwasem octowym w 25 °C.^[170,171] Zastosowanie kwasowych warunków odbezpieczania karbaminianów może sprzyjać cyklizacji układu, co pozwoli na skrócenie ścieżki syntezy

solasodyny (**1**) z diosgeniny (**4**). Odbezpieczenie może również zachodzić w środowisku zasadowym, np. z użyciem wodorotlenku potasu w glikolu etylenowym w 100 °C lub przy użyciu wodorotlenku baru w metanolu.^[172,173]

Pierwsze próby wprowadzenia karbaminianu w cząsteczkę steroidu polegały na reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem *tert*-butylu w obecności kwasu Lewisa, którym był BF₃·OEt₂. Zdecydowałam się użyć karbaminianu *tert*-butylu ze względu na prosty sposób odbezpieczania grupy aminowej (użycie HCl). Reakcję prowadziłam w DCM w temperaturze pokojowej. Bazując na publikacji Tiana z 2015 roku^[139] spodziewałam się, że powstaną 4 różne pochodne, które mogłabym z powodzeniem przekształcić w solasodynę (**1**) (**Schemat 56**).



Schemat 56. Oczekiwane produkty tworzące się w reakcji **4b** z karbaminianem.

Pierwsza przeprowadzona reakcja piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem *tert*-butylu (4 ekw.) w obecności BF₃·OEt₂ (4 ekw.) wskazywała na niewielkie przereagowanie substratu (**Tabela 2, pozycja 1**). Zwiększyłam ilość kwasu Lewisa oraz karbaminianu do 6 ekw., w wyniku czego konwersja substratu wzrosła – powstała mieszanina polarnych produktów, których nie udało mi się rozdzielić za pomocą chromatografii kolumnowej (**Tabela 2, pozycja 2**). W kolejnym podejściu wykorzystałam inny kwas Lewisa, użyłam TMSOTf (2 ekw.), najpierw w temperaturze pokojowej, później w 40 °C. W obu próbach obserwowałam niewielką konwersję substratu (**Tabela 2, pozycje 3, 4**). Reakcję te prowadziłam w suchym chlorku metylenu w temperaturze pokojowej. Zastosowanie nadmiaru TMSOTf (6 ekw.) również nie wpłynęło na poprawę wyniku reakcji (**Tabela 2, pozycja 5**). Podobny rezultat uzyskałam stosując TfOH (**Tabela 2, pozycja 6**). W przypadku zmiany kwasu na Tf₂NH reakcja także nie powiodła się (**Tabela 2, pozycja 7**). Prawdopodobnie niewielka konwersja substratu **4b** w reakcjach z karbaminianem *tert*-butylu, była spowodowana zawadą przestrzenną, jaki tworzy sam odczynnik.

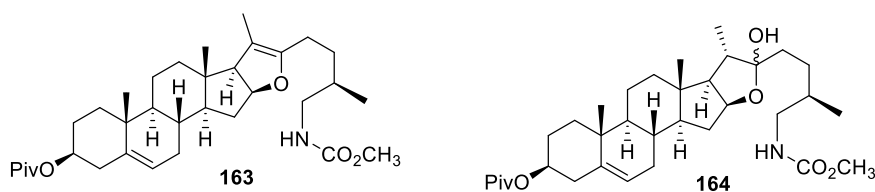
Tabela 2. Optymalizacja reakcji piwalanu diosgeniny z *tert*-butylokarbaminianem.

Nr	Kwas (ekw.)	Karbaminian <i>t</i> -butylu (ekw.)	Warunki ^a	Konwersja substratu [%] ^b
1	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	t. pok., 1 doba	10
2	BF ₃ ·OEt ₂ (6)	6	t. pok., 1 doba	20 ^c
3	TMSOTf (2)	2.2	t. pok., 2 doby	10
4	TMSOTf (2)	2.2	40 °C, 2doby	10
5	TMSOTf (6)	6	t. pok., 1 doba	10
6	TfOH (2.2)	2.2	t. pok., 1 doba	Odzysk substratu
7	Tf ₂ NH (2.2)	2.2	t. pok., 1 doba	Odzysk substratu

^a Reakcje prowadzone w chlorku metylenu. ^b Konwersja substratu oceniona na podstawie chromatografii TLC.

^c Nieudany rozdział produktów o podobnej polarności.

Brak pozytywnego wyniku reakcji w próbach z użyciem karbaminianem *tert*-butylu, zmusiło mnie do zmiany azotowego odczynnika. Postanowiłam zbadać otwieranie pierścienia F w piwalanie diosgeniny (**4b**) za pomocą kwasu Lewisa w obecności karbaminianu metylu oraz karbaminianu benzylu. Pierwsze próby przeprowadziłam z karbaminianem metylu w obecności $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (4 ekw.) w chlorku metylenu w temperaturze pokojowej. Chromatografia TLC tej reakcji wskazała powstawanie związku, który po oczyszczeniu poddano badaniom spektroskopowym. Analiza ta potwierdziła, że w tej reakcji tworzy się 26-metoksykarbonyloaminopseudodiosgenina **163** z wydajnością 14% (**Rysunek 14**). Ze względu na niewielką wydajność, postanowiłam wydłużyć czas prowadzonej reakcji. Odtworzyłam te same warunki (4 ekw. karbaminianu metylu, 4 ekw. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, DCM) kontrolując reakcję w czasie. Po 3 dobach wydajność 26-pochodnej **163** wzrosła do 29% (**Rysunek 14**). Przeprowadzone reakcje pozwoliły uzyskać żądany produkt **163** w niewielkich ilościach. W celu zwiększenia wydajności i zbadania przebiegu procesu, wykonałam szereg reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem metylu badających wpływ czasu, temperatury oraz rodzaj stosowanego kwasu (**Tabela 3**). Zauważyłam, że wydłużenie czasu reakcji powyżej 3 dni nie sprzyja powstawaniu większej ilości 26-pochodnej **163** (wydłużenie czasu z 1 do 3 dni sprzyja większej wydajności) (**Tabela 3, pozycje 1-4**). Podniesienie temperatury reakcji do 40 °C sprzyja powstawaniu żądanego produktu **163**, jednak z niską wydajnością (**Tabela 3, pozycja 5**). Zmiana kwasu Lewisa z $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ na Tf_2NH nie poprawiła wyników reakcji: konwersja substratu w tych warunkach była niewielka (**Tabela 3, pozycja 6**). Reakcja przeprowadzona z TMSOTf przyniosła najlepsze rezultaty, oprócz pseudodiosgeniny **163**, która powstała z wydajnością 36%, doprowadziła również do otrzymania laktolu **164** z wydajnością 20% (**Rysunek 14, Tabela 3, pozycja 7**).



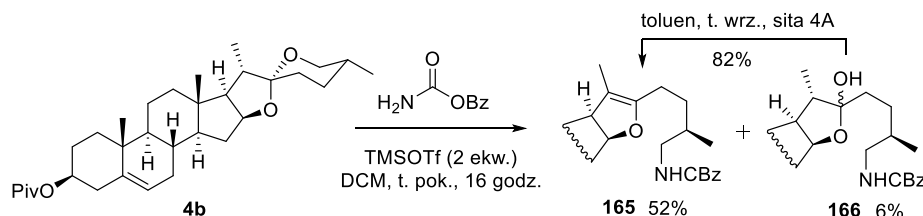
Rysunek 14. 26-Metoksykarbonyloaminopseudodiosgenina **163** oraz 26-laktol **164** - produkty otrzymane w reakcji piwalanu diosgeniny z karbaminianem metylu w obecności kwasu Lewisa.

Tabela 3. Optymalizacja warunków tworzenia produktów **163** oraz **164**.

Nr	Kwas (ekw.)	Karbaminian metylu (ekw.)	Warunki ^a	163 (%)	164 (%)
1	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	t. pok., 1 doba	14	-
2	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	t. pok., 3 doby	29	-
3	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	t. pok., 4 doby	7	-
4	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	t. pok., 1 tydzień	<1	-
5	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	40 °C, 1 doba	21	-
6	Tf ₂ NH (0.2)	2	t. pok., 1 tydzień	5	5
7	TMSOTf (2)	2	t. pok., 1 doba	36	20

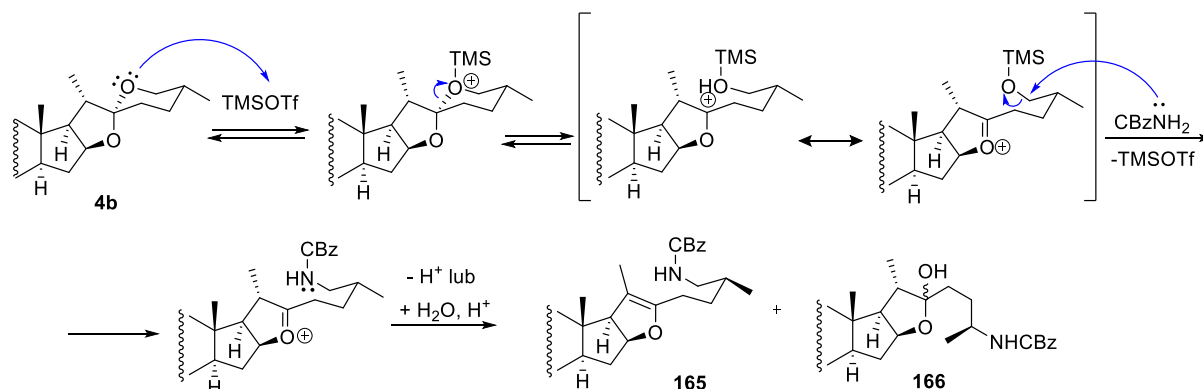
^a Reakcje były prowadzone w chlorku metylenu.

Następnym krokiem było zbadanie reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem benzylu w obecności kwasu Lewisa. Pierwszą próbę przeprowadziłam analogicznie jak w przypadku stosowania karbaminianu metylu, użyłam 4 ekw. karbaminianu benzylu oraz 4 ekw. BF₃·OEt₂ w chlorku metylenu w temperaturze pokojowej. Analiza spektroskopowa uzyskanych produktów potwierdziła powstanie 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeniny **165** z wydajnością 35% oraz 26-benzylloksykarbonyloaminolaktolu **166** w ilości 15% (**Tabela 4, pozycja 3**). Podczas stosowania karbaminianu metylu, w tych samych warunkach powstawała tylko jedna pochodna: pseudodiosgenina **163** z wydajnością 14% (**Tabela 3, pozycja 1**). Badanie warunków reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem metylu wykazało, że najlepsze wydajności uzyskałam stosując 2 ekw. TMSOTf w chlorku metylenu w temperaturze pokojowej (**Tabela 3, pozycja 7**). Przeprowadziłam więc analogiczną próbę dla karbaminianu benzylu z użyciem TMSOTf. W wyniku zmiany kwasu Lewisa uzyskałam również dwa produkty: 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeninę **165** z wydajnością 52% oraz dodatkowo 26-benzylloksykarbonyloaminolaktol **166** z wydajnością 6% (**Schemat 57**). Ten ostatni produkt w łatwy sposób przekształciłam w pochodną **165** przez ogrzewanie w suchym toluenie z dodatkiem sit molekularnych 4Å, proces ten pozwolił uzyskać 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeninę **165** z wydajnością 82%.

**Schemat 57.** Reakcja piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem benzylu w obecności TMSOTf.

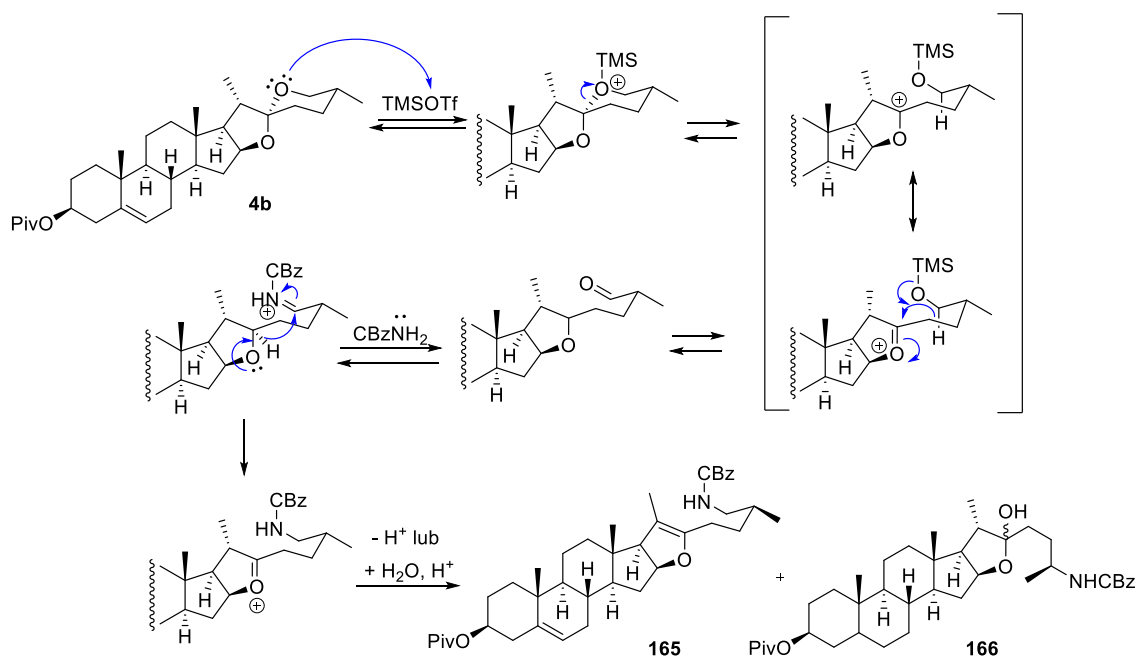
Na **Schemacie 58** przedstawiłam prawdopodobny mechanizm tworzenia pseudodiosgeniny **165** oraz 26-laktolu **166** w reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem, katalizowanej kwasem Lewisa. Pod wpływem kwasu, dochodzi do otwarcia

pierścienia F, co skutkuje utworzeniem przejściowego jonu oksoniowego. W tym wypadku atak nukleofilowy cząsteczki karbaminianu na węgiel C26 prawdopodobnie jest szybszy niż przeniesienie jonu wodorkowego 1,5-H, co powoduje podstawienie cząsteczką karbaminianu benzylu. Następująca po tym eliminacja protonu prowadzi do utworzenia pseudodiosgeniny **165**. Dodatkowo, w wyniku addycji cząsteczki wody do jonu oksoniowego tworzy się hemiacetal 26-laktol **166**.



Schemat 58. Hipotetyczny mechanizm reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) zakładający substytucję karbaminianu benzylu w obecności TMSOTf.

Na podstawie przeglądu literaturowego można zaproponować drugi mechanizm powstawania karbaminianów **165** oraz **166**, w którym zachodzą wewnątrzcząsteczkowe reakcje redoks, a produktem przejściowym jest steroidowy aldehyd (**Schemat 59**).



Schemat 59. Hipotetyczny mechanizm reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) zakładający wewnątrzcząsteczkowe reakcje redoks.

W celu zwiększenia wydajności tworzenia 26-benzylloksykarbonyloamino-pseudodiosgeniny **165** zbadalam wpływ innych kwasów na przebieg reakcji (Tabela 4). Najlepsze wyniki uzyskałam stosując TMSOTf w chlorku metylenu, w wyniku czego otrzymałam pseudodiosgeninę **165** (52%) oraz laktol **166** (6%) (Tabela 4, pozycja 1). Zamiana TMSOTf na BF₃·OEt₂ prowadziła do powstawania bardziej złożonej mieszaniny produktów, z której udało mi się wyizolować **165** oraz **166** (Tabela 4, pozycja 3). Użycie BF₃·OEt₂ zamiast TMSOTf, poskutkowało obniżeniem wydajności tworzącego się produktu **165** oraz wzrostem ilości tworzącego się laktolu **166**. Zastosowanie Tf₂NH również prowadziło do powstania dwóch produktów **165** oraz **166**, jednak z mniejszą wydajnością dla związku **165**, a większą dla **166** (Tabela 4, pozycja 4). Użycie nieorganicznego kwasu tj. TiCl₄, skutkowało natomiast brakiem reakcji (Tabela 4, pozycja 5). Zamiana rozpuszczalnika z chlorku metylenu na benzen nie poprawiła wydajności procesu (Tabela 4, pozycja 2).

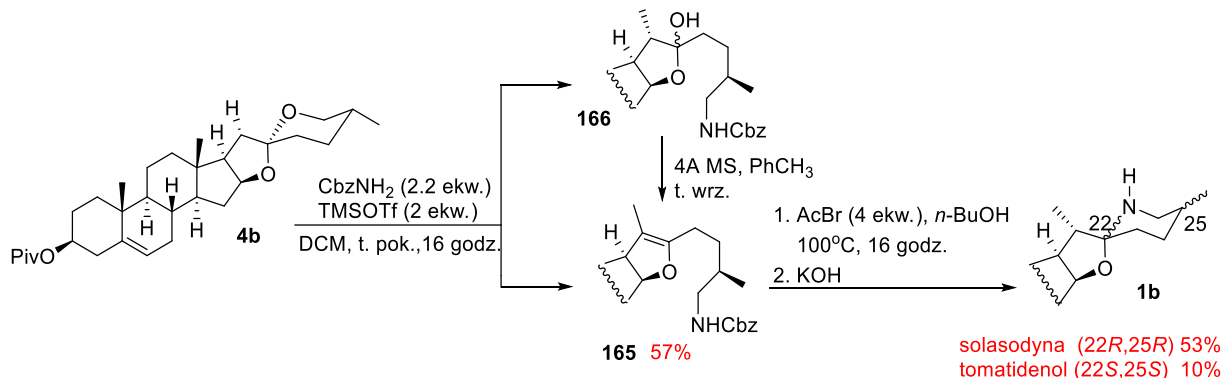
Tabela 4. Optymalizacja reakcji piwalanu diosgeniny z karbaminianem benzylu.

Nr	Kwas (ekw.)	Karbaminian benzylu (ekw.)	Warunki	165 [%]	166 [%]
1	TMSOTf (2)	2.2	DCM, t. pok, 16 godz.	52	6
2	TMSOTf (2)	2.2	benzen, 40°C, 16 godz.	20	10
3	BF ₃ ·OEt ₂ (4)	4	DCM, t. pok, 16 godz.	35	15
4	Tf ₂ NH (0.2)	1.5	DCM, t. pok, 16 godz.	20	20
5	TiCl ₄ (2)	2.2	DCM, t. pok, 16 godz.	-	-

Podsumowując, w przeprowadzonych reakcjach piwalanu diosgeniny z karbaminianami (*tert*-butylu, metylu oraz benzylu) w obecności różnych kwasów najlepsze wydajności uzyskałam stosując karbaminian benzylu (2.2 ekw.) oraz TMSOTf (2 ekw.) – 52% dla 26-pseudodiosgeniny **165** oraz 6% dla 26-benzylloksykarbonyloaminolaktolu **166** (Tabela 4, pozycja 1). Ta sama reakcja z karbaminianem metylu pozwoliła otrzymać 26-metoksykarbaminian **163** oraz 26-metoksykarbonyloaminolaktol **164** z wydajnością odpowiednio 36% i 20% (Tabela 3, pozycja 7). Natomiast w przypadku reakcji piwalanu diosgeniny (**4b**) z karbaminianem *tert*-butylu zaobserwowałam bardzo niską konwersję, spowodowaną prawdopodobnie przez zawadę przestrzenną, utworzoną przez rozbudowaną grupę *tert*-butylową.

Dzięki opracowaniu reakcji karbaminianu benzylu z piwalanem diosgeniny (**4b**), która pozwala z dobrą wydajnością uzyskać 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeninę **165**, podjęłam próby wykorzystania związku **165** w syntezie piwalanu solasodyny (**1b**). Myśląc o skróceniu znanych strategii syntetycznych oraz znalezieniu łagodnych warunków, poszukiwałam takich kwasów, które mogłyby pozwolić na odbezpieczenie grupy 26-aminowej z jednoczesnym zamknięciem pierścienia F. W tym celu stosowałam różne reagenty tj. TMSI,^[174-176] TBAF,^[177] chloroborokatechol,^[178] TfOH,^[179] BF₃·OEt₂ w Me₂S,^[180,181] oraz AcBr w BuOH.^[182] Pozytywne wyniki otrzymałam podczas stosowania AcBr w *n*-butanolu. Utworzony *in situ* suchy HBr z AcBr w butanolu, pozwolił na utworzenie

żądanego piwalanu solasodyny (**1b**) z dobrą wydajnością (53%) oraz jego izomeru piwalanu tomatidenolu (**11b**) z wydajnością 10%. Zoptymalizowana synteza została przedstawiona na **Schemacie 60**. Całkowita wydajność dla syntezy piwalanu solasodyny (**1b**) wynosi 30%, natomiast dla tomatidenolu (**11b**) 6%.^[183]



Schemat 60. Synteza piwalanu solasodyny (**1b**) i jego izomeru.

Warto zaznaczyć, iż nie jest to pierwsza synteza solasodyny (**1**), w której wyizolowano jej $22S,25S$ -izomer. Doniesienia na temat syntezy tomatidenolu (**11**) można znaleźć również w pracy Tiana (*Tetrahedron Letters*, 2015) opisaną na **Schemacie 23**.^[138]

Powtórzyłam syntezę solasodyny, tym razem bez oczyszczania związków otrzymanych w pierwszym etapie, po zakończeniu reakcji piwalanu diosgeniny z TMSOTf i karbaminianem benzylu, odparowałam rozpuszczalnik. Następnie, surowy produkt rozpuściłam w n -butanolu i dodałam AcBr. Upraszczając w ten sposób syntezę, znacząco wzrosła wydajność powstawania piwalanu solasodyny (**1b**) (do 45%) i tomatidenolu (**11b**) (do 8%).

Poniżej zamieściłam tabelę porównującą niektóre metody otrzymywania solasodyny (**1**) i jej izomeru (**11**). Najbardziej wydajną, a zarazem najdłuższą (7 etapów) procedurę opisał Zhang w *Tetrahedron Letters* w 2011 roku.^[143] Całkowita wydajność dla solasodyny (**1**) wynosiła 58%. W tym wypadku autorzy nie wspominają nic na temat tworzenia izomeru $22S,25S$ (**Tabela 5, pozycja 2**). W 2015 roku Tian i współpracownicy opisali dwie 3-etapowe syntezę pozwalające z dość dobrymi wynikami uzyskać solasodynę (**Tabela 5, pozycja 4**) bądź solasodynę i jej izomer (**Tabela 5, pozycja 3**).^[138,139]

Tabela 5. Podsumowanie wybranych syntez solasodyny (**1**) i jej izomeru (**11**).

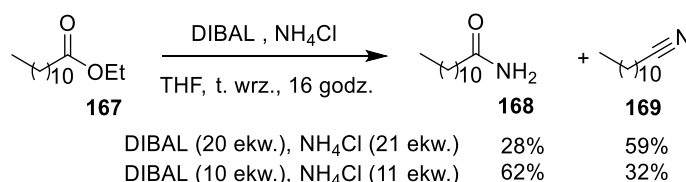
Nr	Metoda	Ilość etapów	Wydajność solasodyny ^a	Wydajność tomatidenolu ^a
1 ^[183]	$\text{TMSOTf}/\text{CbzNH}_2$	2	45% ^b	8% ^b
2 ^[143]	$\text{TFAT}/\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$	7	58%	-
3 ^[138]	$\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2/\text{LiBr}/\text{NaN}_3$	3	38%	5%
4 ^[139]	$\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2/p\text{-TsNH}_2$	3	43%	-

^a Wydajność podana dla solasodyny (**1**) i tomatidenolu (**1**). ^b Wydajność podana dla piwalanów solasodyny (**1b**) i tomatidenolu (**11b**).

2.4. Synteza pochodnej solasodyny wykorzystująca amidek diizobutyloglinowy

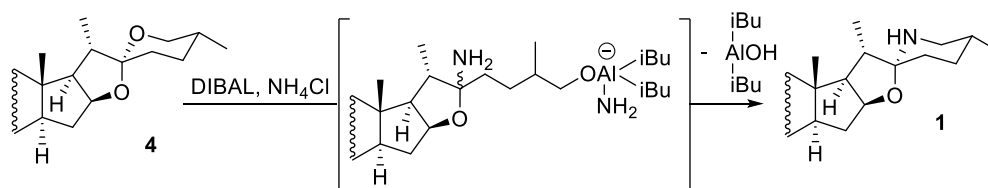
Jak wspomniałam wcześniej, znana jest w literaturze metoda tworzenia solasodyny (**1**) zawierająca etap jednoczesnego otwarcia pierścienia F w diosgeninie (**4**) oraz wprowadzenia atomu azotu. W swoich badaniach nad uzyskaniem solasodyny (**1**), opracowałam dwie metody, które pozwalają na otrzymanie 26-azapochodnej z diosgeniny (**4**). Pierwsza z nich polegała na reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z TMSN₃ w obecności kwasu Lewisa (TMSOTf, BF₃·OEt₂), w wyniku czego tworzył się 26-nitryl **152** oraz 26,26-diazydek **153**. Druga metoda polegała na zastosowaniu innego czynnika nukleoflowego – karbaminianu benzylu, który w reakcji z piwalanem diosgeniny (**4b**) oraz TMSOTf, pozwolił uzyskać 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeninę **165**. Związek ten został wykorzystany jako produkt pośredni w syntezie solasodyny (**1**). W wyniku dalszych przekształceń, stworzono najkrótszą metodę syntezy estru solasodyny (**1b**) (dwa etapy). Jak dotąd nie udało się jednak opracować procedury w której zamiana atomu tlenu w diosgeninie na atom azotu w solasodynie byłaby możliwa bezpośrednio. Za następny cel swojej pracy postawiłam próby „transformacji” diosgeniny do solasodyny w jednym etapie.

W 2015 roku w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych Uniwersytetu w Białymstoku została opisana łagodna metoda tworzenia amidów i nitryli z estrów z użyciem powstającego z DIBAL-u oraz soli amonowej amidku glinu.^[184] Otrzymany odczynnik okazał się być reaktywny względem estrów, laktonów oraz kwasów karboksylowych (**Schemat 61**).



Schemat 61. Nowa metoda tworzenia amidu **168** i nitrylu **169** z estru **167**.

Postanowiłam sprawdzić możliwość otrzymania solasodyny z diosgeniny przy użyciu amidku diizobutyloglinowego. Amidek ten tworzy się *in situ*, w reakcji z DIBAL i NH₄Cl, nie zbadałam jednak jaką strukturę może mieć tworzący się odczynnik. Można oczekiwać, że ze względu na silne powinowactwo tlenu do glinu, wysoką nukleofilowość grupy aminowej oraz szczególną łatwość zamykania się pierścieni sześcioczłonowych, utworzony amidek glinu w reakcji z układem spiroketalu diosgeniny spowoduje w jednym etapie przekształcenie go w spiroaminoketal, obecny w solasodynie (**1**). Na podstawie przeglądu literaturowego zaproponowałam prawdopodobną strukturę tworzącego się z DIBAL i NH₄Cl amidku diizobutyloglinowego (**Schemat 62**).^[185–188]



Schemat 62. Teoretyczny przebieg reakcji diosgeniny (**4**) z amidkiem glinu.

Pierwsze próby dotyczące opracowania metody syntezy solasodiny (**1**) polegały na reakcji diosgeniny (**4**) z wytworzonym, z DIBAL oraz NH_4Cl , amidkiem diizobutyloglinowym. W tym celu wykonałam szereg reakcji by zoptymalizować warunki, badałam wpływ rozpuszczalnika, czas reakcji, temperatury oraz dodatku różnych soli na przebieg reakcji.^[138,184,189] Pierwsze próby wykonywane na diosgeninie (**4**) nie powiodły się (Tabela 6).

Tabela 6. Optymalizacja warunków reakcji diosgeniny (**4**) z DIBAL/ NH_4Cl .

	Substrat	Warunki	Rozpuszczalnik	Dodatek soli	Przebieg reakcji
1	diosgenina (4)	DIBAL (40 ekw.) NH_4Cl (42 ekw.)	Toluen (t. wrzenia)	-	-
2			Toluen (t. wrzenia)	AlCl_3	-
3			Dioksan (t. wrzenia)	-	-
4			Dioksan (t. pokojowa)	-	-
5			THF (t. wrzenia)	LiBr	-
6			THF (t. pokojowa)	LiBr	-

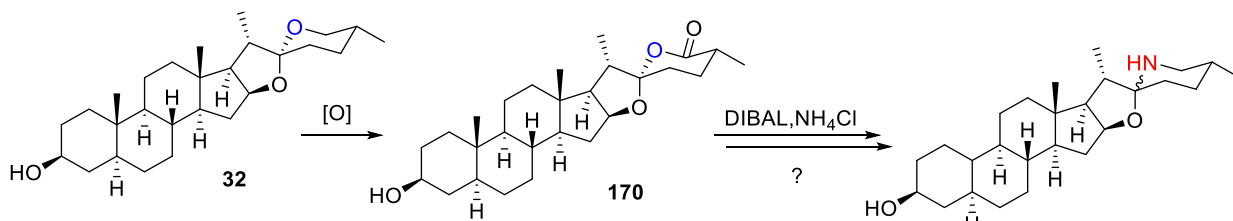
W celu uniknięcia reakcji konkurencyjnych w pozycji C3, zabezpieczyłam grupę hydroksylową w postaci eteru TBDMS i powtórzyłam próby (Tabela 7). W niektórych przypadkach zaobserwowałam marginalne przereagowanie substratu. Ze względu na niewielki stopień konwersji nie oczyszczałam reakcji. Przebieg kontrolowałam za pomocą chromatografii TLC.

Tabela 7. Próby reakcji eteru *t*-butylodimetylosililowego diosgeniny (**4c**) z DIBAL/ NH_4Cl .

	Substrat	Warunki	Rozpuszczalnik	Dodatek soli	Przebieg reakcji
1	Eter <i>t</i> -butylodimetylosililowy diosgeniny (4c)	DIBAL (40 ekw.), NH_4Cl (42 ekw.)	Toluen (t. wrzenia)	-	-
2			Toluen (t. wrzenia)	LiBr	-
3			Toluen (t. wrzenia)	AlCl_3	-
4			THF (t. wrzenia)	-	-
5			THF (t.pokojowa)	-	< 5%
6			THF (t. wrzenia)	Sita typ 4A	< 5%
7			THF (t.pokojowa)	Sita typ 4A	-
8			THF (t. wrzenia)	LiBr	-
9			THF (t. wrzenia)	AlCl_3	< 5%
10			DIBAL (5 ekw.), NH_4Cl (5 ekw.)	Toluen (t. wrzenia)	AlCl_3

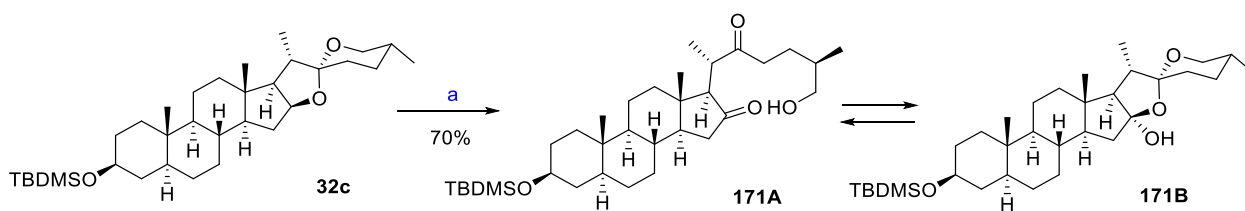
Ze względu na niepowodzenie przeprowadzonych prób postanowiłam zmodyfikować strategię i wprowadzić jeden dodatkowy etap – tworzenie laktonu **170** z tigogeniny (**32c**)

(analog diosgeniny bez wiązania podwójnego w pierścieniu B) z wykorzystaniem utleniaczy np. DMDO, RuO₄. Zamiana diosgeniny (**4**) na tigogeninę (**32**) miała na celu uniknięcie tworzenia m. in. mieszaniny epoksydów w pierścieniu B w trakcie reakcji utleniania pierścienia F spirostanu (**Schemat 63**).^[190–193]



Schemat 63. Plan zmodyfikowanej syntezy pochodnej solasodyny.

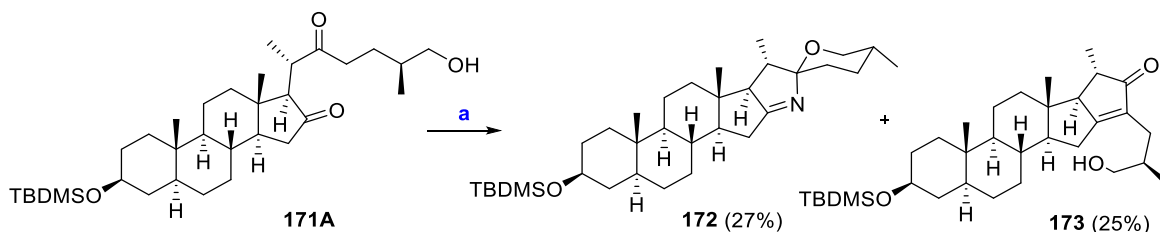
Synteza polegała na zastosowaniu silnego utleniacza (np. DMDO, RuO₄)^[194] w celu otrzymania laktonu **170** w pierścieniu F, a następnie powstały produkt miał być poddany reakcji z amidkiem glinu. Strategia ta nie przyniosła oczekiwanych rezultatów: mimo stosowania znanych procedur nie otrzymałamżądanego laktonu **170** – reakcja utleniania nie zachodziła w pozycji C26, ale w C16 (**Schemat 64**).^[184]



a) RuO₄, NaIO₄, t.pok., 16 godz., CCl₄/H₂O/aceton

Schemat 64. Produkty reakcji utleniania eteru tigogeniny (**32c**).

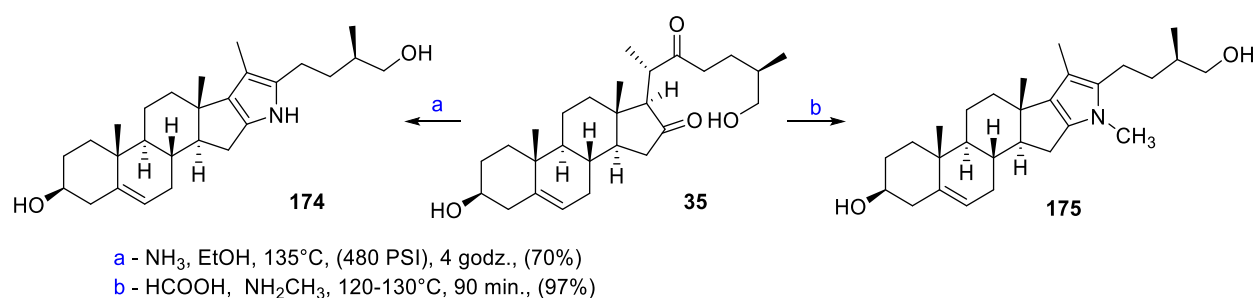
Otrzymany produkt reakcji **171A** poddałam reakcji z kompleksem DIBAL/NH₄Cl w wyniku czego uzyskałam dwa produkty **172** oraz **173**. Zakładałam, że azot zostanie wbudowany w pozycję C16 lub C22, co pozwoli na uzyskanie analogu solasodyny. Analiza spektroskopowa wykazała, że tworzy się pochodna tigogeniny posiadająca ugrupowanie iminowe w pierścieniu E (**172**). Związek **173** to produkt kondensacji wewnątrzcząsteczkowej, znany jako pochodna fesogeniany, związek wyizolowany z korzenia *Beth*^[195] (**Schemat 65**).



a) DIBAL, NH₄Cl, THF, t. wrz., 16 godz.

Schemat 65. Reakcja hydroksydiketonu **171A** z DIBAL/NH₄Cl.

W literaturze można znaleźć przykłady syntez podobnych pochodnych steroidowych zawierających atom azotu w pierścieniu E, w których substratem jest również hydroksydiketon **171** lub jego pochodna. Zostały one opisane m.in. przez George Muellera i Jamesa Jiu w 1960 roku.^[196,197] Autorzy opisali reakcje związku **35** z amoniakiem bądź z metyloaminą, co w tym wypadku prowadziło do powstania pirolu i jego pochodnych np. reakcja dihydroksyketonu **35** w etanolu oraz z ciekłym amoniakiem w odpowiednich warunkach pozwoliła uzyskać pirol **174**, natomiast z metyloaminą – związek **175** (Schemat 66).



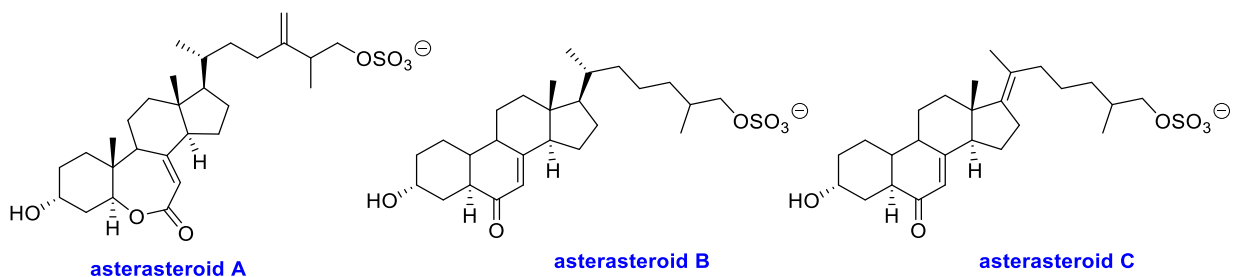
Schemat 66. Synteza opisana przez George'a Muellera i Jamesa Jiu w 1960 roku.

Otrzymanie związków **174** oraz **175** wymagało drastycznych warunków: wysokich temperatur oraz zwiększonego ciśnienia. Zaletą tego procesu było uzyskanie żądanych produktów **174** oraz **175** z wysokimi wydajnościami (70% oraz 97%). Opracowana przeze mnie synteza natomiast, pozwala w łagodnych warunkach otrzymać azotową pochodną – iminę **172**. Minusem metody jest to, że obok głównego produktu **172**, powstawał produkt kondensacji **173** oraz uzyskałam stosunkowo niskie wydajności dla obu związków **172** i **173**.

2.5. Synteza F-homo analogów solasodyny

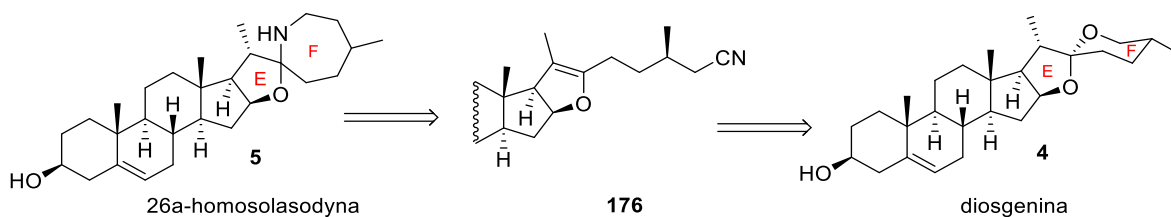
26a-F-Homosolasodyna

Badania nad otrzymywaniem solasodyny postanowiłam wykorzystać w syntezie jej F-homoanalogu, czyli związku posiadającego 7-członowy pierścień F. Strategia ta może stanowić wyzwanie syntetyczne, ponieważ otrzymywanie 7-członowych pierścieni jest względnie trudniejsze niż odpowiedni proces powstawania pierścieni pięcio- lub sześcioczłonowych.^[198–200] Przegląd literaturowy wskazuje, że związki zawierające 7-członowy pierścień należą również do produktów naturalnych, które wyizolowano z roślin lub zwierząt. Najczęściej należą one do grupy terpenoidów oraz alkaloidów.^[201] W 1990 r. z rozgwiezdy z rodziny *Asteriidae* wyizolowano trzy nowe siarczanowane polihydroksylowane steroidy, zwane asterasterolami A-C, w których steroid A posiada siedmioczłonowy pierścień B; pozostałe steroidy **B** oraz **C** posiadają sześcioczłonowe pierścienie (**Rysunek 15**).^[202]



Rysunek 15. Struktury steroidów wyizolowanych z rozgwiazdy z rodziny *Asteriidae*.

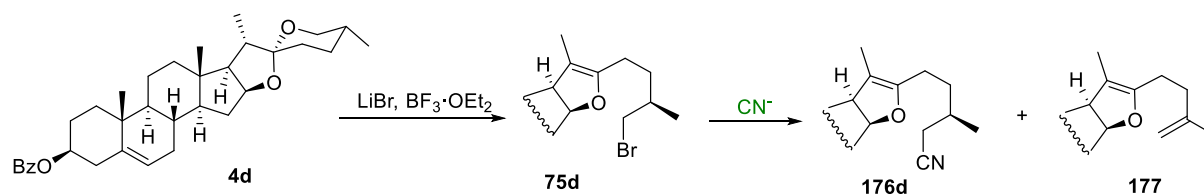
Zakładałam, iż zaprojektowana pochodna z 7-członowym pierścieniem F może wykazywać większą aktywność biologiczną niż sama solasodyna. Ze względu na różnorodność konformacji pierścienia 7-członowego, związki takie mogą wykazywać większą elastyczność i przez to, potencjalnie mogą lepiej dopasować się do receptora biologicznego i w konsekwencji wykazywać większą aktywność. Plan retrosyntezy pochodnej solasodiny zawierającej układ 5/7-spiroaminoketalowy przedstawiłam na **Schemacie 67**.



Schemat 67. Retrosynteza 26a-homosolasodiny **5**.

Dogodnym intermediiem w syntezie 26a-F-homosolasodiny **5** wydawała mi się 26-cyjanopseudodiosgenina **176** opisana przez japońskich naukowców w 2006 roku.^[203] Została ona utworzona w reakcji 26-jodku pseudodiosgeniny z użyciem NaCN. W przytoczonej publikacji, autorzy otrzymali żądany nityl z wydajnością 75%.

W świetle nowych doniesień literaurowych, wspomniany nityl mógłby być również łatwo dostępny z 26-bromku pseudodiosgeniny **75**, otrzymanego w jednym etapie z diosgeniny (**4**) metodą Tiana.^[138] W celu utworzenia 26-bromku pseudodiosgeniny **75d** przeprowadziłam reakcję benzoesu diosgeniny (**4d**) z LiBr w obecności eteratu trifluorku boru, w wyniku czego pierścień F został otwarty i wprowadzono grupę dobrze odchodzącą w pozycję C26. Następny etap zakładał wymianę jonu bromkowego na grupę cyjankową, co pozwoliłoby na wydłużenie łańcucha alifatycznego (który utworzy następnie pierścień F) oraz na wprowadzenie atomu azotu w jednym etapie (**Schemat 68**).



Schemat 68. Tworzenie benzoesu 26-cyjanopseudodiosgeniny **176d**.

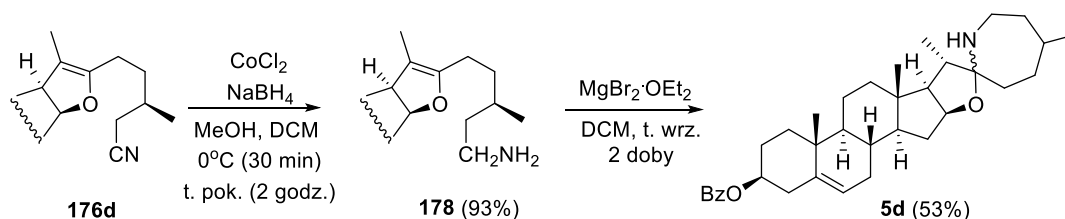
W celu otrzymania benzoesu 26-cyjanopseudodiosgeniny **176d** wykorzystałam procedurę opisaną przez japońskich naukowców w 2006 roku.^[203] Przeprowadziłam reakcję 26-bromku pseudodiosgeniny **75d** z cyjankiem sodu w DMF w 80°C, jednak analiza TLC wskazała na marginalne przereagowanie substratu (**Tabela 8, pozycja 1**).^[204] Niską konwersję można tłumaczyć tym, iż bromek jest grupą trudniej odchodzącą niż jodek w reakcji substytucji nukleofilowej. Zmodyfikowałam warunki i w kolejnej próbie z użyciem NaCN dodałam do reakcji eteru koronowego (18-korona-6) jako katalizatora międzyfazowego.^[205] Nie wpłynęło to jednak na przebieg eksperymentu (**Tabela 8, pozycja 2**). Następnie przeprowadziłam próby przekształcenia bromku w nityl z cyjankiem potasu w DMF.^[206] Podczas reakcji w temperaturze pokojowej zauważyłam także niewielką konwersję substratu (**Tabela 8, pozycja 4**). Po podwyższeniu temperatury do 60°C oraz wydłużeniu czasu, wydajność żądanego produktu wzrosła do 16% (**Tabela 8, pozycja 5**). Powtórzyłam reakcję z dodatkiem jodku potasu, jednak rezultat był podobny (**Tabela 8, pozycja 6**).^[207] W obu przypadkach wyizolowałam produkt uboczny, którym był produkt eliminacji **177**. Zamiana rozpuszczalnika na DMSO i podwyższenie temperatury do 120°C nie przyniosła pozytywnego rezultatu (**Tabela 8, pozycja 3**). Podobnie zamiana rozpuszczalnika na aceton, po 3 godzinach zauważyłam niewielkie przereagowanie substratu (**Tabela 8, pozycja 7**). W następnej próbie do mieszaniny reakcyjnej (benzoesane diosgeniny, KCN, acetonitryl) dodałam eteru koronowego, co pozwoliło podnieść wydajność do 40%.^[205] Zauważyłam też, że w tych warunkach nie powstaje produkt uboczny **177** (**Tabela 8, pozycja 8**). Powtórzyłam tę reakcję w acetonitrylu, jednak w tym wypadku konwersja była mniejsza niż w acetonie (**Tabela 8, pozycja 9**). Niskie wydajności skłoniły mnie do poszukiwania nowych procedur. DeShong i jego zespół opisali reakcję azydku trimetylosililu (TMSN₃) bądź cyjanku trimetylosililu (TMSCN) z fluorkiem tetrabutylamoniowym (TBAF), w której *in situ* powstał odpowiedni (cyjano bądź azydo) trimetylofluorokrzemian, który jest niezwykle reaktywnym reagentem w reakcjach substytucji.^[208] Wykonałam reakcję 26-bromopseudodiosgeniny **75d** z TMSCN z dodatkiem TBAF w acetonitrylu, którą prowadziłam przez 2 doby w temperaturze pokojowej, w wyniku czego tworzyły się dwa produkty: nityl **176d** (48%) oraz produkt eliminacji **177** (18%) (**Tabela 8, pozycja 10**). Te same ilości uzyskałam powtarzając tę reakcję w 40°C. Podwyższając temperaturę reakcji do ok. 80°C wydajność wzrosła do 65% (**Tabela 8, pozycja 12**). Najlepszym rozpuszczalnikiem

okazał się jednak THF, reakcja prowadzona przez 24 godziny w 40°C pozwoliła uzyskać 69% cyjanku **176d**. Nie tworzył się w tym wypadku również produkt eliminacji **177** (Tabela 8, pozycja 13).

Tabela 8. Optymalizacja reakcji tworzenia cyjanku **176d** z bromku **75d**.

Nr	Reagenty	Warunki	176d (%)	177 (%)
1	NaCN	DMF, 80°C, 16 godz.	<5	-
2	NaCN, 18-korona-6	DMF, 80°C, 36 godz.	<5	-
3	KCN	DMSO, 120°C, 5 godz.	<2	-
4	KCN	DMF, t.pok., 1 godz.	3	6
5	KCN	DMF, 60°C, 16 godz.	16	4
6	KCN, KJ	DMF, 60°C, 16 godz.	18	4
7	KCN	aceton, t. wrz., 3 godz.	<5	-
8	KCN, 18-korona-6	aceton, t. wrz., 3 godz.	40	-
9	KCN, 18-korona-6	acetonitryl, t. wrz., 24 godz.	13	-
10	TMSCN, TBAF	acetonitryl, t. pok., 48 godz.	48	18
11	TMSCN, TBAF	acetonitryl, 40°C, 48 godz.	48	18
12	TMSCN, TBAF	acetonitryl, t. wrz., 4 godz.	65	10
13	TMSCN, TBAF	THF, 40°C, 24 godz.	69	-

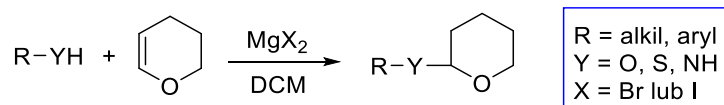
Po optymalizacji warunków substytucji, uzyskany nityryl **176d** poddałam reakcji redukcji z NaBH₄ z dodatkiem soli nieorganicznej CoCl₂·6H₂O.^[209,210] Otrzymałam aminę pierwszorzędową **178** z wydajnością 93%. Ostatnim i najtrudniejszym etapem była cyklizacja związku **178** do analogu F-homo solasodyny **5d** (Schemat 69).



Schemat 69. Synteza benzoesanu 26a-homosolasodyny **5d**.

Poszukując optymalnych warunków reakcji, zbadalam wpływ katalizatora, czasu reakcji, temperatury i rozpuszczalnika na przebieg cyklizacji. Wyniki tych badań przedstawiłam w Tabeli 9. Pierwsze próby wykonałam z TMSCl, dwa chińskie zespoły z powodzeniem stosowały wspomniany kwas Lewisa do zamykania pierścienia 6-członowego w solasodynie (Schemat 20, 21, 23).^[143] W przypadku zamykania pierścienia 7-członowego, procedury te jednak nie sprawdziły się, ponieważ wydajność tworzącego się produktu była niewielka (Tabela 9, pozycje 1-5). Inne zastosowane kwasy, takie jak BF₃·OEt₂, TsOH i TMSOTf okazały się również mało skuteczne w cyklizacji (Tabela 9, pozycje 6-9). Zaobserwowałam tworzenie 26a-homosolasodyny **5d**, podczas ogrzewania aminy alifatycznej **178** w 80°C w DMF bez dodatku kwasu (Tabela 9, pozycja 10), jednak wydajność była niesatysfakcjonująca (30%). W *J. Chem. Research* w 2003 roku opublikowano pracę, w której wykorzystywano związki magnezu (MgBr lub MgI) w reakcjach addycji alkoholi, fenoli, tioli

oraz pierwszorzędowych amin do eterów enoli. Reakcje te prowadzono w łagodnych warunkach (od 2 do 9 godz., temp. pokojowa) (**Schemat 70**).^[211]



Schemat 70. Wykorzystanie związków magnezu w reakcji addycji.

Wykorzystując powyższą procedurę ogrzewałam aminę alifatyczną **178** w chlorku metylenu z $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.^[212] Reakcję prowadziłam przez kilka dni, kontrolując jej przebieg za pomocą chromatografii TLC. Już po dobie zaobserwowałam tworzenie się produktu o dużo mniejszej polarności. Jak się okazało, powstała 26a-homosolasodyna **5d** z wydajnością 53% (**Tabela 9, pozycja 16**). Analogiczną reakcję przeprowadziłam w chlorku etylenu (DCE) w temperaturze ok. 80° C. Po 5 godzinach prowadzenia reakcji uzyskałam cykliczny produkt **5d** z wydajnością 40% (**Tabela 9, pozycja 15**). Jednak dłuższe prowadzenie reakcji we wrzącym DCE doprowadziło do rozkładu aminy **178** (**Tabela 9, pozycja 14**). Można wywnioskować, że w przypadku tego związku, najbardziej korzystne jest przeprowadzenie reakcji cyklizacji przez dłuższy czas i w niższej temperaturze.

Tabela 9. Optymalizacja reakcji cyklizacji aminy **178**.

Nr	Kwas (ekw.)	Warunki	Pochodna 5d [%]
1	TMSCl (2)	DCM, t. pok., 12 godz.	-
2	TMSCl (2)	DCM, t. wrz., 4 dni	< 2
3	TMSCl (2), NaI (kat.)	MeCN, t. pok., 2 godz.	< 2
4	TMSCl (3)	MeCN, t. pok., 24 godz.	< 2
5	TMSCl (3)	MeCN, t. wrz., 5 godz.	20
6	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0,5)	DCM, t. pok. - t. wrz., 7 dni	10
7	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2)	DCM, t. pok. - t. wrz., 7 dni	20
8	TsOH (0.5)	DCM, t. wrz., 5 dni	< 2
9	TMSOTf (0.7)	DCM, t. wrz., 4 dni	17
10	-	DMF, 80°C, 24 godz.	30
11	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (0.5)	DCM, t. wrz., 5 dni	40
12	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (2)	DCM, t. wrz., 2 dni	40
13	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (3)	DCM, t. wrz., 2 dni	19
14	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (1.5)	DCE, t. wrz., 4 dni	-
15	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (1.5)	DCE, t. wrz., 5 godz.	40
16	$\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (1.5)	DCM, t. wrz., 2 dni	53

Analiza NMR oraz LC-MS potwierdziła, że we wszystkich przypadkach produkt **5d** tworzył się jako mieszanina epimerów na węglu C22. Na podstawie integracji sygnału 16 α -H w widmie ¹H NMR określono stosunek tworzących się epimerów 2:1 (R:S). Podjęłam próby rozdzielenia najpierw za pomocą chromatografii kolumnowej, później za pomocą HPLC jednak bezskutecznie. Kolejną próbą uzyskania jednego izomeru było ogrzewanie aminy cyklicznej **5d** w chlorku metylenu z katalityczną ilością kwasu HCl. Miało to na celu izomeryzację

mieszaniny diastereoizomerycznych amin **5d** do jednego produktu trwalszego termodynamicznie. Przeprowadzone reakcje analizowano za pomocą LC-MS, jednak w każdym wypadku widmo wskazywało na mieszaninę izomerów (**Tabela 10**).

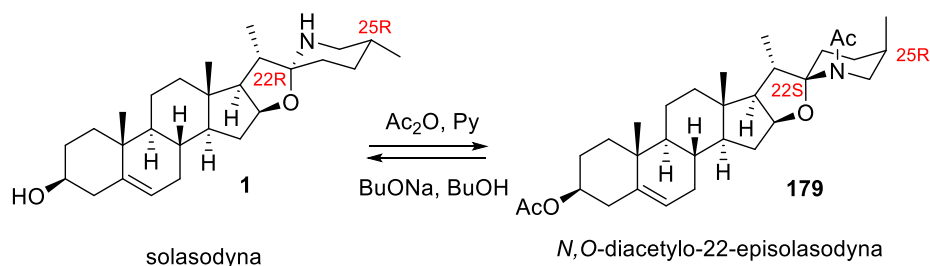
Tabela 10. Próby izomeryzacji aminy **5d**.

Przeprowadzone próby izomeryzacji aminy 5d		Uzyskany wynik
1.	HCl (kat.), DCM, t. pok., 2 godz.	mieszanina epimerów ^{a, b}
2.	HCl (kat.), DCM, t. pok., 16 godz.	mieszanina epimerów ^{a, b}
3.	HCl (kat.), DCM, 40°C, 3 dni	mieszanina epimerów ^b
4.	HCl (3 x kat.), DCM, 40°C, 3 dni	mieszanina epimerów ^b
5.	HCl (kat.), DCE, 80°C, 16 godz.	mieszanina epimerów ^b

^a analiza za pomocą NMR; ^b analiza za pomocą LC-MS

Wszystkie próby rozdzielania oraz izomeryzacji mieszaniny epimerów **5d** w celu otrzymania jednej pochodnej nie powiodły się. Brak pozytywnego wyniku podczas próby izomeryzacji można tłumaczyć tym, iż istnieje mała różnica energii pomiędzy izomerami *R* i *S*, a stosunek tworzących się epimerów *22R* i *22S* (2:1) odpowiada ich względnej trwałości chemicznej. Zostało to potwierdzone obliczeniami molekularnymi. Niższą energię tworzenia posiada izomer *R* (63,69 kcal/mol), ale energia dla izomeru *S* różni się jedynie o 0,49 kcal/mol (wynosi 64,18 kcal/mol).

W tym samym czasie w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych Uniwersytetu w Białymstoku dowiedziono, że acetylowanie solasodyny (**1**) w standardowych warunkach z bezwodnikiem octowym w pirydynie prowadzi do *N*-acetylowanego produktu o odwróconej konfiguracji (*S*) na C22 – tworzy się *N,O*-diacetylo-22-episolasodyna **179** (**Schemat 71**).

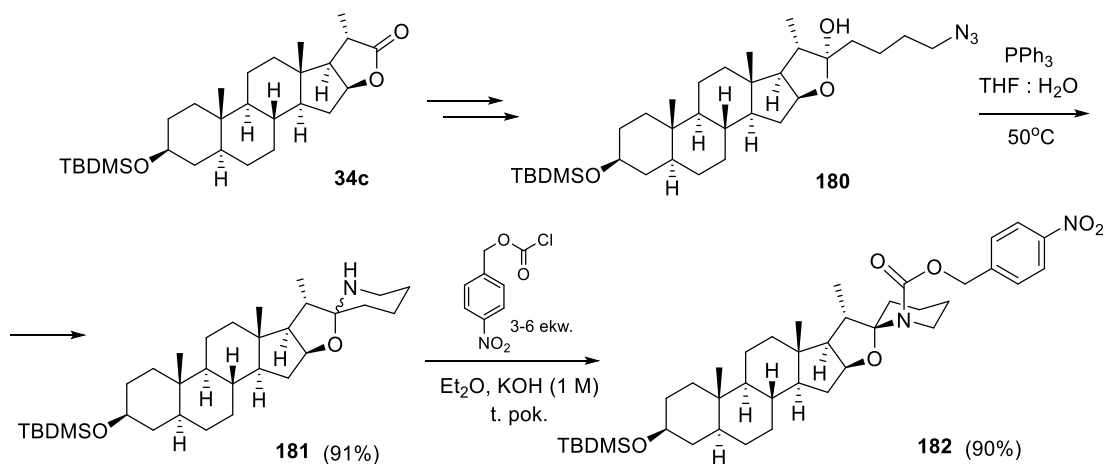


Schemat 71. Epimeryzacja solasodyny (**1**) podczas reakcji acylowania.

Siłą napędową reakcji epimeryzacji jest tworzenie produktu o niższej energii, pod warunkiem, że reakcja jest odwracalna i może osiągnąć równowagę (kontrola termodynamiczna). Warto zauważyć, że naturalne alkaloidy solasodyna (**1**) i tomatidenol (**11**) mają niższe energie niż 22-episolasodyna. Jednak sytuacja zmienia się, gdy na azocie znajduje się acylowy podstawnik. Wykonane obliczenia z użyciem pola siłowego MM⁺ dla acylowych pochodnych solasodyny wykazały, że energia steryczna *N*-acetylosolasodyny (*22R*) jest większa niż energia *N*-acetylo-22-episolasodyny **179** (*22S*).^[213] Acylowa pochodna

przyjmuje konfigurację *S* na C22, prawdopodobnie przez zawadę przestrzenną jaką tworzy grupa metylowa przy C20. W wyniku reakcji acylowania solasodyny, powstaje więc wyłącznie termodynamicznie uprzywilejowany epimer 22*S*. Warto zaznaczyć, że dla wiązania amidowego preferowana jest *Z* konfiguracja.

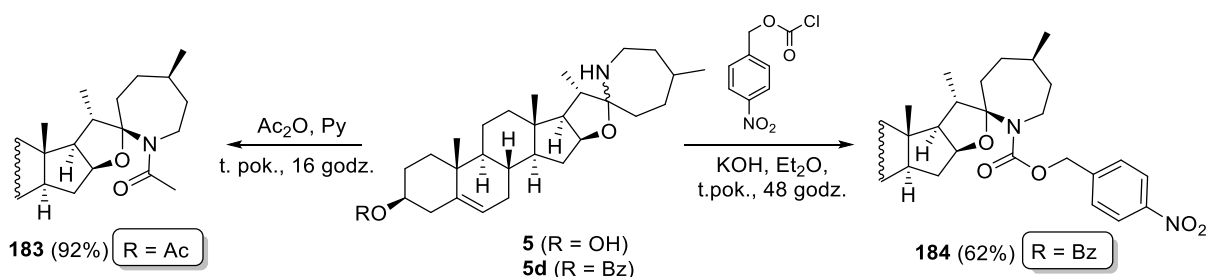
Podobne przekształcenia zaobserwowano podczas syntezy nowej pochodnej tomatydy – 27-nortomatydy, którą autorzy otrzymali jako mieszaninę epimerów na C22.^[131] W pracy opisaney w 2019 roku przez naukowców z Uniwersytetu w Białymstoku wykorzystano reakcję degradacji tigogeniny, epismilageniny oraz smilageniny do uzyskania odpowiednich laktonów dinorcholanowych, które posłużyły za związki wyjściowe w syntezie alkaloidów. W pierwszym kroku w strukturę laktonu wprowadzono łańcuch alifatyczny z halogenkiem w pozycji ω. Następnie jon chlorkowy został podstawiony grupą azydkową w reakcji z NaN₃ w DMF. Problem pojawił się na ostatnim etapie, podczas reakcji cyklizacji. W wyniku zamykania pierścienia F tworzyła się mieszanina izomerów na węglu C22 w stosunku 2:1, co potwierdzono analizą spektroskopową. Chcąc przeprowadzić mieszaninę izomerów w pochodną, którą można by łatwo rozdzielić za pomocą chromatografii kolumnowej bądź HPLC, przeprowadzono reakcję mieszaniny amin cyklicznych **181** z chloromrówczanem 4-nitrobenzylu w celu uzyskania dwóch azotowych karbaminianów o konfiguracji 22*R* oraz 22*S*. Analiza ¹H NMR wykazała, iż w tym wypadku tworzyła się tylko jedna pochodna **182** (90%) o konfiguracji 22*S* (**Schemacie 72**).



Schemat 72. Synteza pochodnej 27-nortomatydy **182** z laktonu **34c**.

Biorąc pod uwagę opisane przekształcenia, próbowałam wykorzystać je w pracy z 26a-F-homopochodną solasodyny **5d**. Zakładałam bowiem, że acylowanie otrzymanej mieszaniny epimerów 26a-homosolasodyny **5d** może również przekształcić ją w pojedynczy *N*-acylowany epimer o niższej energii. W tym celu przeprowadziłam dwie różne reakcje: pierwsza z nich polegała na reakcji mieszaniny amin **5d** z chloromrówczanem 4-nitrobenzylu w obecności zasady KOH w eterze dietylowym, druga natomiast na acylowaniu z bezwodnikiem octowym w pirydynie.^[131,214] W wyniku tego zsyntezowałam dwie

N-acylowane pochodne, mianowicie *N,O*-diacetylo-26a-homosolasodynę (**183**) z wydajnością 92% oraz *N*-(*p*-nitrobenzylotleno)homosolasodynę (**184**) z wydajnością 62%, jako czyste epimery 22*S* (**Schemat 73**).



Schemat 73. Synteza *N*-acylowanych **182** i **183** analogów 26a-homosolasodyny **5**.

Opisane przekształcenie mieszaniny amin **5d** w jedną pochodną zostało potwierdzone za pomocą analizy spektroskopowej. W widmie ^1H NMR mieszaniny amin cyklicznych **5d** obserwowano dwa diagnostyczne sygnały pochodzące od protonu 16α , które znajdowały się przy przesunięciu 4.32 dla 22*S* epimeru oraz przy 4.13 dla 22*R* epimeru. Natomiast w widmie ^1H NMR karbaminianu **184** obserwowano tylko jeden sygnał pochodzący od protonu 16α , który znajdował się przy wartości 4.29 ppm. Analiza widma ^{13}C NMR dla aminy cyklicznej również świadczyła o powstaniu mieszaniny, natomiast widmo ^{13}C NMR karbaminianu **184** wskazywało na pojedynczy związek.

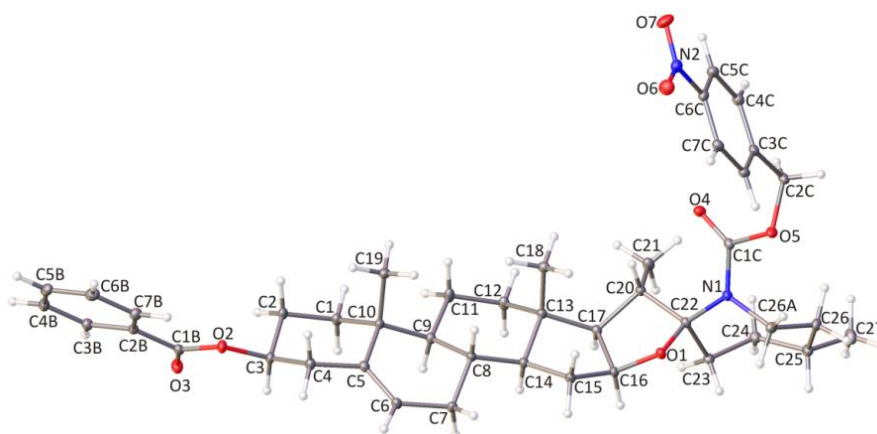
Dodatkowo wykonano obliczenia energii (22*R*)- oraz (22*S*)-*F*-homosolasodyny i ich *N*-acylowych pochodnych przy użyciu pola siłowego MM^+ (pakiet *HyperChem*). Choć metoda ta jest mniej dokładna niż bardziej zaawansowane obliczenia kwantowo-chemiczne *ab initio*, wyniki można wykorzystać do oszacowania względnej trwałości rozpatrywanych struktur. Obliczenia wykazały, że (22*R*)-26a-homosolasodyna jest bardziej stabilna niż jej epimer 22*S* o 0.49 kcal/mol. Przeciwnie jest w przypadku ich pochodnych *N*-acylowych: epimery 22*S* cechują się niższą energią niż epimery 22*R* o ok. ~ 1.5-2 kcal/mol. Jest to częściowo spowodowane większą „swobodą” podstawnika acylowego względem szkieletu steroidowego w 22-epispirosolanach. Ułożenie *N*-podstawnika z dala od grupy metylowej przy C20, powoduje, że *N*-acylowa pochodna przyjmuje konfigurację *Z* wokół wiązania amidowego (dla epimeru *S*). Wyniki obliczeń przedstawiłam w **Tabeli 11**.

Tabela 11. Energia steryczna (22*R*)- oraz (22*S*)-F-homospirosolanów oraz ich *N*-acylowych pochodnych obliczona przy użyciu pola siłowego MM⁺.

22 <i>R</i> -epimer	Konfiguracja wiązania amidowego	Energia steryczna (kcal/mol)	22 <i>S</i> -epimer	Konfiguracja wiązania amidowego	Energia steryczna (kcal/mol)	ΔE(22 <i>R</i> -22 <i>S</i>) kcal/mol)
26a-homosolasodyna	n/a	63.69	22- <i>epi</i> -26a-homosolasodyna	n/a	64.18	-0.49
<i>N</i> -formylo-F-homosolasodyna	<i>E</i>	59.09	<i>N</i> -formylo-22- <i>epi</i> -F-homosolasodyna	<i>E</i>	57.16	1.93
<i>N</i> -acetylo-26a-homosolasodyna	<i>Z</i>	64.55	<i>N</i> -acetylo-22- <i>epi</i> -26a-homosolasodyna	<i>Z</i>	63.09	1.46
<i>N</i> -benzyloksykarbonylo-26a-homosolasodyna	<i>Z</i>	57.36	<i>N</i> -benzyloksykarbonylo-26a-22- <i>epi</i> -homosolasodyna	<i>Z</i>	55.33	2.03
<i>N</i> -benzyloksykarbonylo-26a-homosolasodyna	<i>E</i>	56.64	<i>N</i> -benzyloksykarbonylo-26a-22- <i>epi</i> -homosolasodyna	<i>E</i>	55.39	1.25

*n/a-nie dotyczy

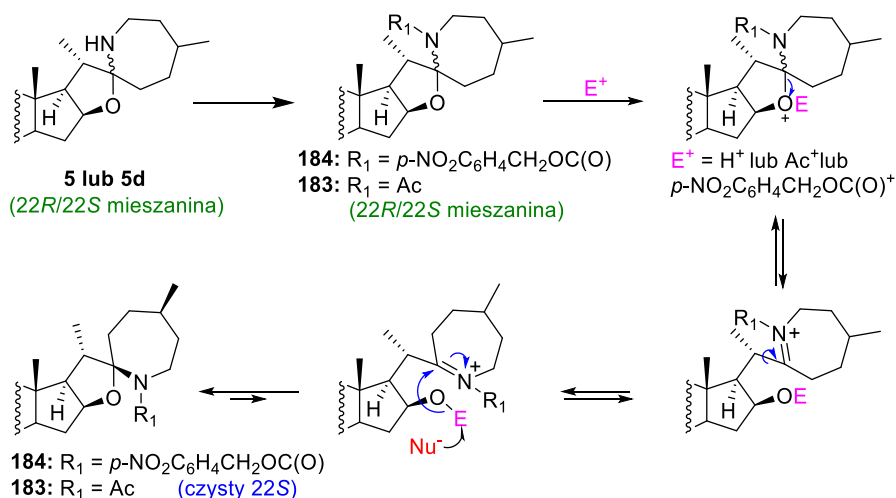
Analiza NMR i LC-MS amidów **183** oraz **184** wskazywała na powstanie pojedynczego epimeru przy C22, problematyczne było jedynie ustalenie konfiguracji na węglu C22 otrzymanego związku. W tym celu posłużono się metodą analizy dyfrakcji rentgenowskiej i za jej pomocą ustalono strukturę otrzymanej *N*-(*p*-nitrobenzyloksykarbonylo)-26a-homosolasodyny **184**. Wyniki badań rentgenowskich jednoznacznie potwierdziły konfiguracje 20*S*, 22*S* i 25*R* układu 26a-homospirosolanu (**Rysunek 16**).^[215] Przestrzenne rozmieszczenie pierścieni E i F w układzie spiroaminoketalowym 5/7 jest podobne do tego obserwowanego dla ugrupowania spiro 5/6 w octanie *N*-acetylosolasodyny **183**.



Rysunek 16. Struktura rentgenowska analogu 26a-homosolasodyny **184**.

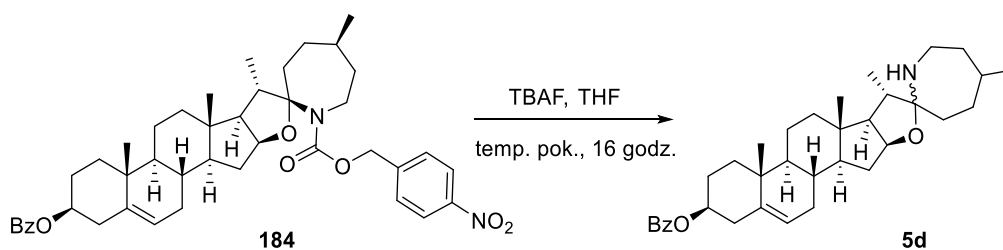
Tak jak w przypadku tworzenia *N*-acetylowanej 22-episolasodyny **179** opisanej w *Journal of Natural Products*,^[213] w wyniku reakcji acylowania (bądź tworzenia karbaminianu) (22*R*/22*S*)-26a-homosolasodyny prawdopodobnie może się tworzyć mieszanina *N*-podstawionych pochodnych *R* oraz *S*. Mniej stabilny izomer amidowy

w obecności elektrofila ulega jednak epimeryzacji do izomeru o mniejszej energii tworzenia (**Schemat 74**). Duża różnica w energiach sterycznych pomiędzy epimerami 22*R* i 22*S* (**Tabela 11**) powoduje, że tworzy się wyłącznie trwalszy izomer 22*S*.



Schemat 74. Proponowany mechanizm tworzenia pochodnych (22*S*)-*N*-acylo-26a-homosolasodyny **183** oraz **184** z mieszaniny epimerów 22*R*/22*S* 26-F-homosolasodyny **5/5d**.

Mechanizm jest całkowicie odwracalny, co potwierdziłam poprzez odbezpieczanie grupy karbaminianowej za pomocą TBAF w THF. Reakcja ponownie prowadzi do mieszaniny epimerów **5d** na węglu C22 (**Schemat 75**).^[177,216]

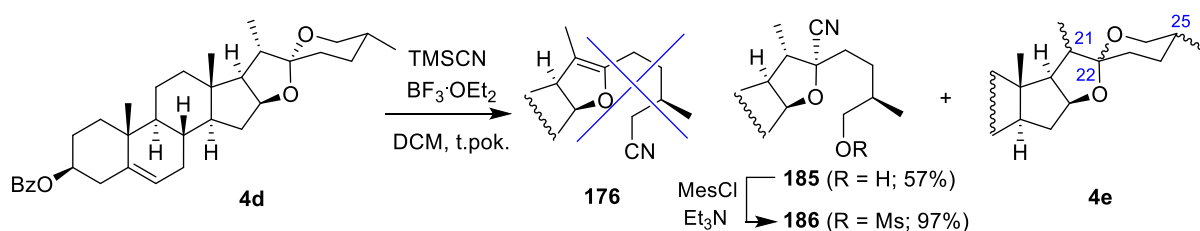


Schemat 75. Odbezpieczanie grupy aminowej w *N*-(*p*-nitrobenzyloksykarbonylo)-26a-homosolasodynie **184**.

22a(*N*)-F-Homosolasodyna

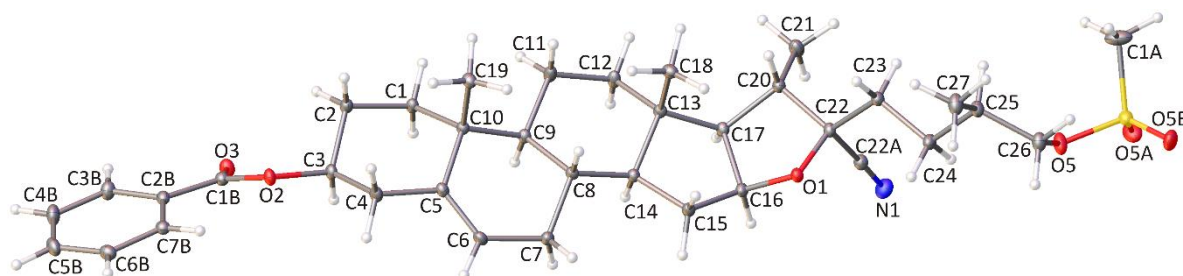
Podczas pracy nad syntezą 26a-F-homosolasodyny (**5**), prowadziłam badania nad bezpośrednim wprowadzeniem grupy cyjankowej w strukturę steroidu, co pozwoliłoby pominąć etap tworzenia bromku i skróciłoby syntezę 26a-homosolasodyny (**5**) z diosgeniny (**1**). Głównym założeniem było jednoczesne użycie kwasu Lewisa i cyjanku trimetylosililu (TMSCN), co doprowadziłoby do otwarcia pierścienia F w diosgeninie oraz wprowadzenie w tym samym etapie w pozycję C26 grupy cyjankowej. W tym celu przeprowadziłam reakcję benzoesu diosgeniny (**4d**) z TMSCN w obecności BF₃·OEt₂. Kontrola za pomocą chromatografii TLC wykazała, że już po 10 minutach w mieszaninie reakcyjnej nie było

substratu, a pojawiły się dwa produkty jeden o mniejszej, a drugi o większej polarności niż benzoesan diosgeniny (**4d**). Polarność otrzymanych produktów była inna niż spodziewanego 26-nitrylu **176**. Analiza ^1H NMR wykazała, że pierwszy produkt to mieszanina izomerów diosgeniny **4e** (prawdopodobnie pod wpływem kwasu Lewisa została zmieniona konfiguracja na atomach C21, C22 lub C25 w benzoesanie diosgeniny). Wydajność dla powstającej mieszaniny wynosiła ok. 40%, jej skład nie został dokładnie przeanalizowany. Drugim produktem był (22*R*,25*R*)-3 β -benzoiloksy-22-cyjanofurost-5-en-26-ol (**185**), który powstał z wydajnością 54% (**Schemat 78**).



Schemat 76. Przebieg reakcji benzoesanu diosgeniny z TMSCN oraz $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (**4d**).

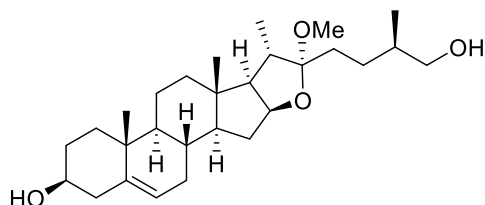
Konieczne było określenie konfiguracji na atomie C22 w powstałym związku **185**. Prawdopodobnie atak cyjanku od strony α cząsteczki steroidu na tworzący się w czasie reakcji jon oksoniowy jest faworyzowany ze względu na zawadę przestrzenną utworzoną przez grupę metylową w pozycji 13 β oraz *cis*-skondensowany układ pierścieni D-E. Ta sama preferencja konfiguracji na C22 została ustalona i opisana dla związków powstających w reakcji diosgeniny z KSeCN w obecności AcOCOCF_3 oraz $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.^[217] Konfiguracja absolutna 22*R* w otrzymanym przez mnie produkcie została jednoznacznie potwierdzona przez analizę rentgenowską związku **186**, który jest 26-mesyłową pochodną związku **185** (**Schemat 76, Rysunek 17**).



Rysunek 17. Rentgenostruktura pochodnej **186**.

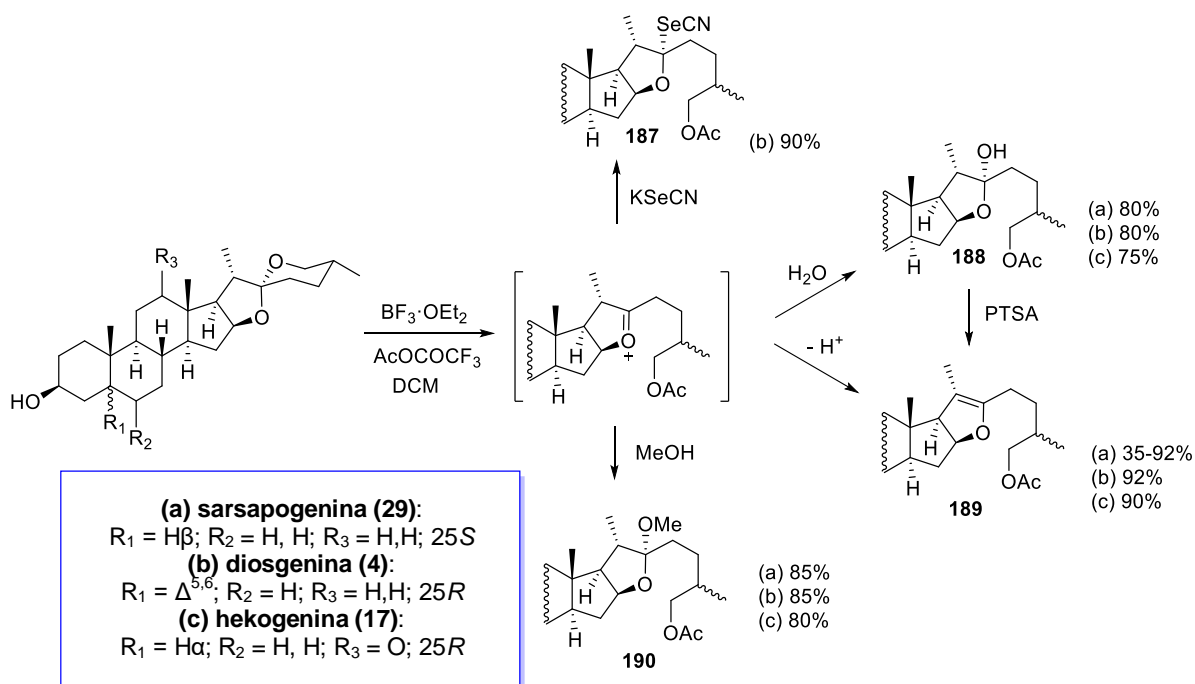
Należy zwrócić uwagę, iż reakcje podstawienia do C22 są bardzo rzadkie podczas otwarcia pierścienia F w spirostanach steroidowych w obecności nukleofila. Najczęściej do podstawienia zachodzi właśnie w pozycji C26.

Związki tego typu można znaleźć również w świecie roślin. Przykładem jest ikogenina (**Rysunek 18**), sapogenina wyizolowana z draceny smoczey (*Dracaena draco*) rośliny charakterystycznej dla flory Wysp Kanaryjskich i Wysp Zielonego Przylądka.^[218] Ze względu na wysoką aktywność cytostatyczną wielu naukowców pracuje nad opracowaniem metody syntezy ikogeniny^[191] i innych związków tego typu, również glikozydów np. protodioscyny.^[190,192,193]



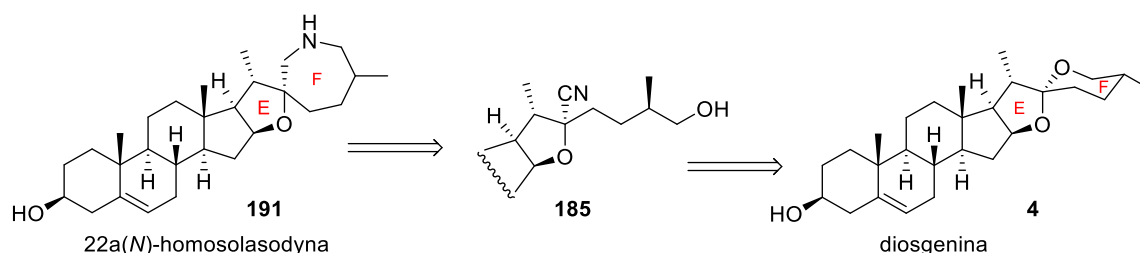
Rysunek 18. Ikogenina.

W pracy naukowej z 2012 roku zespół z Meksyku opisał tworzenie 22-podstawionych furostanów z diosgeniny (**1**) z użyciem bezwodnika octowo-trifluoroctowego (AcOCOCF_3), $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ oraz odpowiedniego nukleofila (np. KSeCN , MeOH , H_2O). W reakcji dochodzi do otwarcia pierścienia F w diosgeninie (**1**), następnie zachodzi acylowanie w pozycji C26 i atak obecny w środowisku reakcji nukleofila na C22. Grupa badawcza otrzymała pochodne utworzone z diosgeniny (**4**), sarsapogeniny (**29**) oraz hekogeniny (**17**) z wbudowaną w C22 grupą selenową $-\text{SeCN}$, hydroksylovą bądź metoksylovą. We wszystkich przypadkach przebieg stereochemiczny był ten sam (**Schemat 77**).^[217]



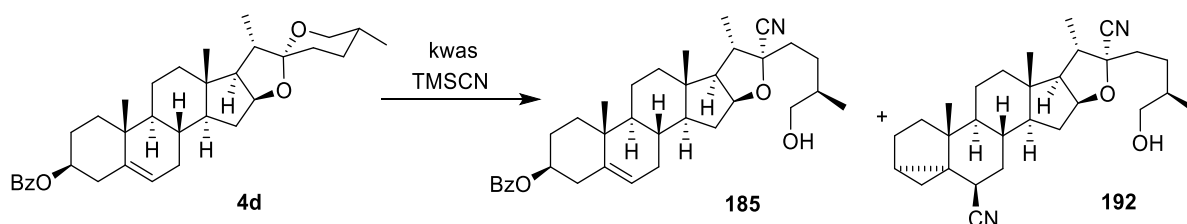
Schemat 77. Pochodne otrzymane w wyniku działania $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, ATFAA oraz wybranego nukleofila na pierścień F wybranych sapogenin.

Postanowiłam wykorzystać powstały nityryl **185** w syntezie nowej pochodnej solasodyny z siedmioczłonowym pierścieniem F, różniącym się położeniem azotu w pierścieniu F, w porównaniu do 26a-F-homosolasodyny (**Schemat 78**).



Schemat 78. Retrosynteza 22a(N)-homosolasodyny **191**.

Badania nad optymalizacją reakcji otrzymywania 22-nitrylu **185** (**Schemat 79**) prowadziłam w obecności różnych kwasów: $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, TMSOTf, TfOH, Tf_2NH (**Tabela 12**). Jako donator grupy cyjankowej stosowałam TMSCN. Przeprowadziłam szereg reakcji w celu doboru najlepszych warunków reakcji. Zbadałam wpływ ilości kwasu oraz nukleofila, rodzaju i ilości rozpuszczalnika oraz wpływ czasu na przebieg reakcji. Przeprowadzone reakcje z $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ wykazały, iż nadmiar kwasu nie wpływa znacząco na wydajność tworzących się produktów (**Tabela 12, pozycja 6 i 8**). Największe znaczenie odgrywał czas prowadzenia reakcji. Najlepsze wydajności uzyskiwałam już po upływie 10 minut podczas stosowania $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (**Tabela 12, pozycja 8 i 10**). Wydłużanie eksperymentu wraz z dużym nadmiarem kwasu ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) prowadziło do powstania produktu ubocznego jakim był *i*-steroid **192** (**Tabela 12, pozycja 7 i 9**). Powstawanie *i*-steroidów jest znaną reakcją zabezpieczania wiązania C(5)-C(6) w pierścieniu B w której 3-hydroksysteroidy zostają przekształcone do 3,5-cyklosteroidu.^[219–221] Podczas stosowania TMSOTf uzyskano słabsze wyniki – otrzymałam nityryl **185** z wydajnością 30% (**Tabela 12, pozycja 1**). Zastosownie TfOH nie przyniosło pozytywnych rezultatów, obserwałam niewielką konwersję substratu (**Tabela 12, pozycja 2, 3**), natomiast w reakcji prowadzonej w obecności Tf_2NH głównym produktem był *i*-steroid **192** (**Tabela 12, pozycja 4, 5**). Podsumowując, najlepsze wydajności dla 22-nitrylu **185** (57%), uzyskałam stosując $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.5 ekw.) oraz TMSCN (6 ekw.) (**Tabela 12, pozycja 10**).



Schemat 79. Przebieg reakcji TMSCN z benzoesaniem diosgeniny (**4d**) w obecności kwasu.

Tabela 12. Optymalizacja warunków reakcji tworzenia 22-nitrylu **185**.

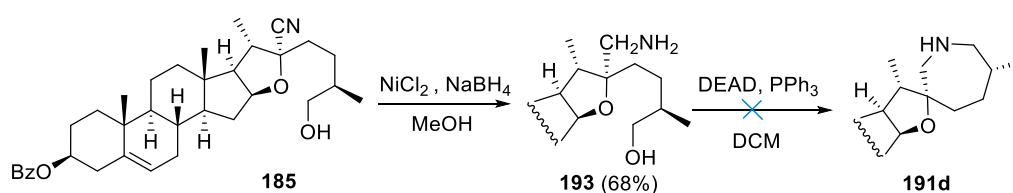
Nr	Odczynniki (ekw.)	Warunki	185 [%]	192 [%]
1	TMSOTf (2), TMSCN (2)	DCM, t. pok., 16 godz.	30	-
2	TfOH (2), TMSCN (2)	DCM, t. pok., 30 min.	<5	-
3	TfOH (2), TMSCN (2)	DCM, t. pok., 16 godz.	<5	-
4	Tf ₂ NH (2), TMSCN (2)	DCM, t. pok., 1 godz.	2	40
5	Tf ₂ NH (2), TMSCN (2)	DCM, t. pok., 16 godz.	5	55
6	BF ₃ ·OEt ₂ (6), TMSCN (6)	DCM : MeCN (4:1), t. pok., 1 godz.	54	-
7	BF ₃ ·OEt ₂ (6), TMSCN (6)	DCM : MeCN (4:1), t. pok., 16 godz.	30	30
8	BF ₃ ·OEt ₂ (2), TMSCN (6)	DCM : MeCN (4:1), t. pok., 10 min	55	-
9	BF ₃ ·OEt ₂ (4), TMSCN (4)	DCM : MeCN (4:1), t. pok., 16 godz.	50	<5
10	BF ₃ ·OEt ₂ (0.5), TMSCN (6)	DCM : MeCN (4:1), t. pok., 10 min	57	-

Kolejny etap zakładał redukcję powstałego nitrylu **185** do aminy **193** (Schemat 80). W pierwszej próbie wykorzystałam warunki redukcji 26-nitrylu **176d** do aminy pierwszorzędowej **178**, NaBH₄ (10 ekw.) w obecności soli nieorganicznej CoCl₂·6 H₂O (2ekw.) (Tabela 13, pozycja 1).^[210] W tym przypadku uzyskałam aminę z niską wydajnością, jedynie 30%. Wydłużenie czasu reakcji nie przyniosło pozytywnych rezultatów (Tabela 13, pozycja 2). Zmiana reduktora, NaBH₄ na KBH₄ pozwoliła uzyskać żadaną aminę **193** z wydajnością 9% (Tabela 13, pozycja 3). Lepszy wynik otrzymałam podczas zastosowania NaBH₄ oraz NiCl₂·6H₂O – wydajność wzrosła do 68% (Tabela 13, pozycja 4, 5). Przeprowadziłam również inne próby redukcji (NaBH₄/TMSCl, NaBH₄/I₂, LiBH₄/TMSCl), jednak nie przyniosły one zadowalających wyników.^[222,223] Warunki tych reakcji przedstawiłam w Tabeli 13 (pozycja 6, 7, 8).

Tabela 13. Reakcje optymalizacji reakcji redukcji 22-nitrylu **185** do aminy **193**.

Nr	Reagenty (ekw.)	Warunki	193 (%)
1	NaBH ₄ (10), CoCl ₂ ·6 H ₂ O (2)	MeOH, od 0°C do t. pok., 16 godz.	30
2	NaBH ₄ (10), CoCl ₂ ·6 H ₂ O (2)	MeOH, od 0°C do t. pok., 48 godz.	30
3	KBH ₄ (10), CoCl ₂ ·6 H ₂ O (2)	MeOH, od 0°C do t. pok., 48 godz.	9
4	NaBH ₄ (10), NiCl ₂ ·6 H ₂ O (2)	MeOH, od 0°C do t. pok., 48 godz.	68
5	NaBH ₄ (15), NiCl ₂ ·6 H ₂ O (5)	MeOH, od 0°C do t. pok., 48 godz.	65
6	NaBH ₄ (2), TMSCl (4)	THF, od 0°C do t. pok., 20 godz.	-
7	NaBH ₄ (10), I ₂ (5)	THF, od 0°C do 70°C, 36 godz.	40
8	LiBH ₄ (2), TMSCl (4)	THF, t. pok., 16 godz.	< 5

Ostatnim etapem była reakcja cyklizacji aminoalkoholu **193** do 22a(N)-homosolasodiny **191d** (Schemat 80).

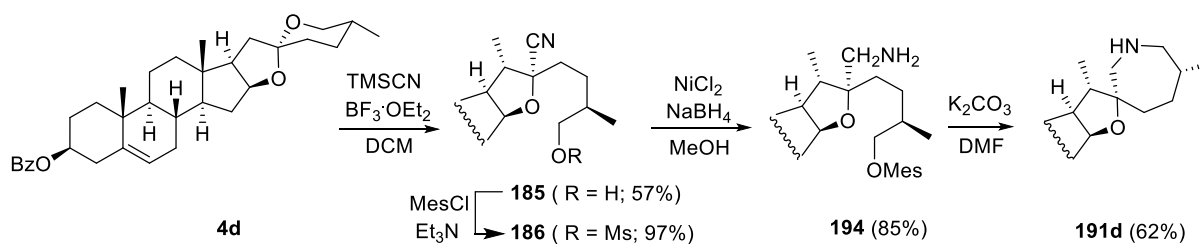
**Schemat 80.** Próby syntezy 22a(N)-homosolasodiny **191d**.

Przeprowadziłam próby zamykania pierścienia F wykorzystując warunki reakcji Mitsunobu, jednak zauważyłam tylko nieznaczną konwersję substratu (**Tabela 14, pozycje 1, 2**).^[224,225] Zmiana rozpuszczalnika na THF również nie przyniosła pozytywnych rezultatów (**Tabela 14, pozycja 3**). Podjęłam się również prób zamykania pierścienia z katalityczną ilością TiCl₄ w różnych rozpuszczalnikach, jednak zakończyły się one niepowodzeniem (**Tabela 14, pozycje 4, 5**).^[226]

Tabela 14. Próby cyklizacji aminy **193** do 22a(*N*)-homosolasodyny **191d**.

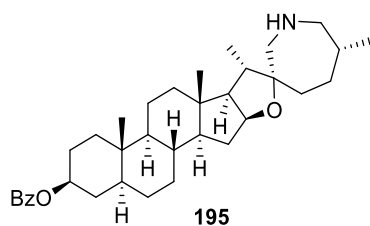
Nr	Reagenty (ekw.)	Warunki	191d [%]
1	DEAD (3), PPh ₃ (3)	DCM, od 0°C do t. pok., 24 godz.	<5
2	DEAD (3), PPh ₃ (3)	DCM, od 0°C do t. pok., 48 godz.	<5
3	DEAD (3), PPh ₃ (3)	THF, od 0°C do t. pok., 48 godz.	-
4	TiCl ₄ (kat.)	THF, od 0°C do t. pok., 24 godz.	-
5	TiCl ₄ (kat.)	toluen, od 0°C do 80°C, 24 godz.	-

Ze względu na brak powodzenia w reakcji cyklizacji, postanowiłam wprowadzić dodatkowy etap w syntezie, by ułatwić zamykanie pierścienia, mianowicie grupę hydroksylową w **185** przekształciłam w grupę dobrze odchodzącą (mesylan **186** uzyskałam z bardzo dobrą wydajnością 97%, **Schemat 81**).^[227] Następnie uzyskany nityl **186** zredukowałam stosując wcześniej dobrane warunki (15 ekw. NaBH₄, 5 ekw. NiCl₂·6H₂O) do aminy **194** (85%). Produkt **194** poddano reakcji cyklizacji z K₂CO₃ w DMF, dzięki czemu otrzymano benzoesan 22a(*N*)-F-homosolasodyny **191d** (62%).^[228] Kontrola reakcji za pomocą chromatografii TLC pokazała powstanie produktu o mniejszej polarności od substratu. Powstawanie cyklicznej aminy **191d** zostało potwierdzone za pomocą analizy NMR, MS oraz IR.



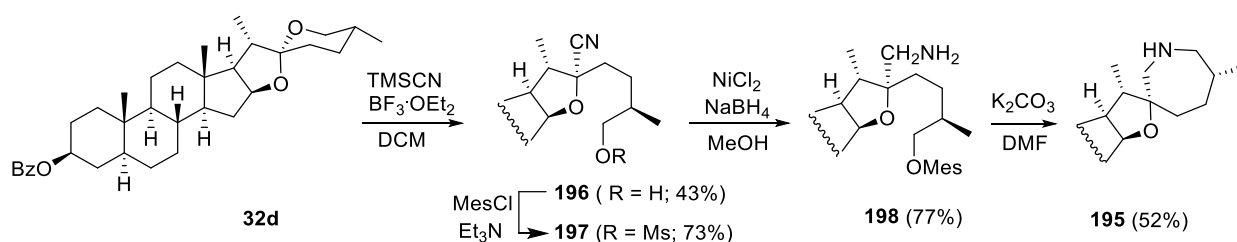
Schemat 81. Synteza benzoesanu 22a(*N*)-F-homosolasodyny **191d**.

Opisaną procedurę wykorzystałam w syntezie analogu uzyskanej aminy cyklicznej - 22a(*N*)-homosoladulcydyny **195** (**Rysunek 19**). Substratem w tej syntezie była tigogenina (**32**), analog diosgeniny bez wiązania podwójnego w pierścieniu B.



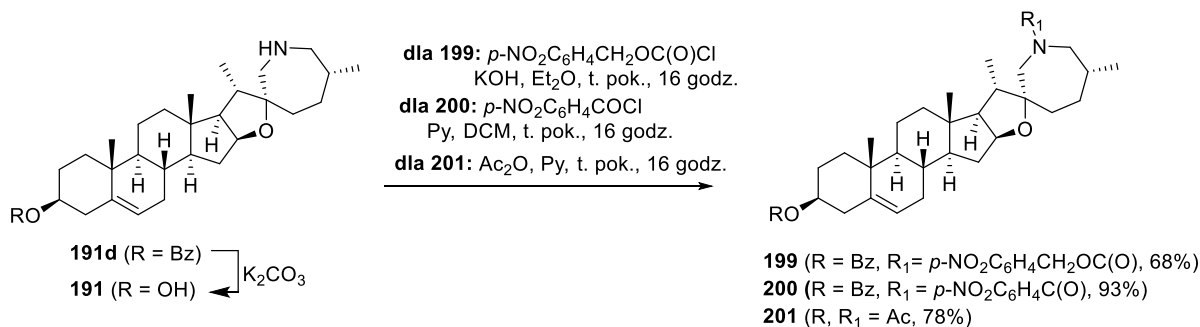
Rysunek 19. 22a(*N*)-homosoladulcydyna **195**.

Poniżej przedstawiłam ścieżkę syntetyczną i wydajności dla poszczególnych etapów tworzenia 22a(*N*)-homosoladulcydyny **195**. Wszystkie reakcje przebiegały analogicznie jak we wcześniej opisanej syntezie 22a(*N*)-*F*-homosoladulcydyny (**Schemat 82**).



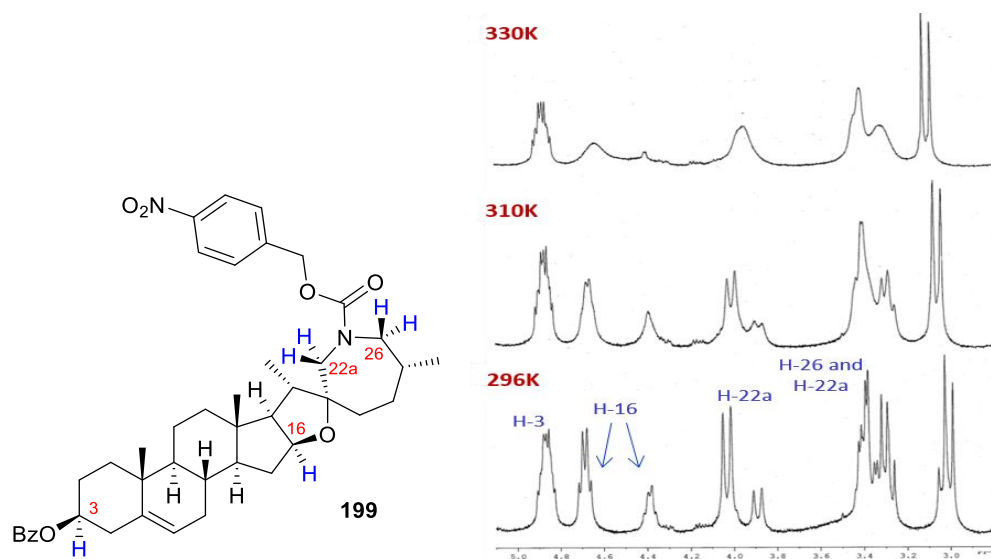
Schemat 82. Synteza benzoesu 22a(*N*)-homosoladulcydyny **195**.

Kolejnym założeniem było przygotowanie *N*-podstawionych pochodnych aminy **191d**. Zsyntezowałam 3 nowe pochodne: karbaminian **199**, amid kwasu *p*-nitrobenzoesowego **200** oraz dioctan **201**. Warunki reakcji zostały przedstawione na **Schemacie 83**.



Schemat 83. Synteza nowych pochodnych amidowych **199**, **200** oraz **201**.

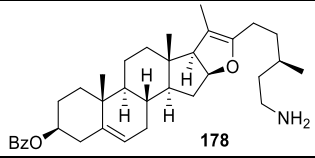
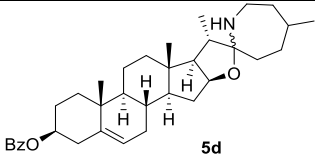
Widma ¹H NMR otrzymanych amidów **199**, **200** oraz **201**, w porównaniu do aminy cyklicznej **191d** zawierały dodatkowe sygnały. Najprawdopodobniej pochodziły one od protonów położonych przy węglach 16, 22a oraz 26. Wykonano widma temperaturowe w temperaturze pokojowej, w 310 K oraz 330 K. Ze wzrostem temperatury podwojone sygnały zaczynały nachodzić na siebie, co można tłumaczyć tym, że związki te występują w temperaturze pokojowej jako rotamery wokół wiązania amidowego. Wyjaśnia to obecność dodatkowych sygnałów na widmie ¹H w temperaturze pokojowej (**Rysunek 20**).

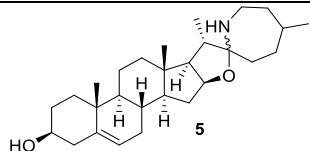
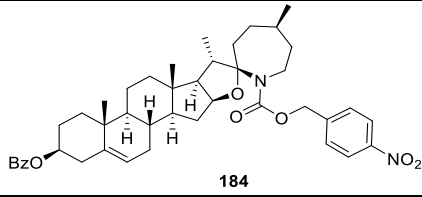
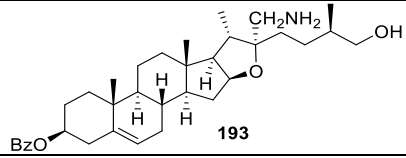
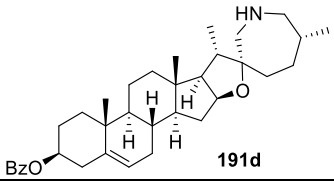
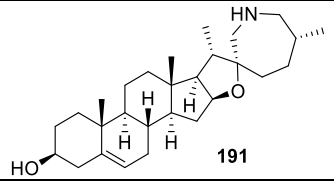
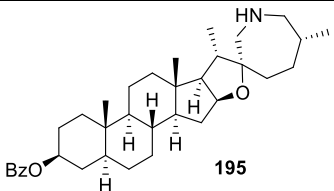
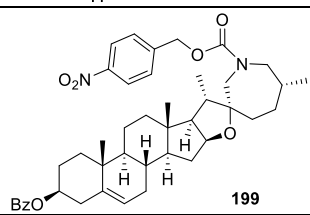
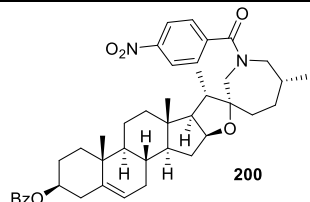
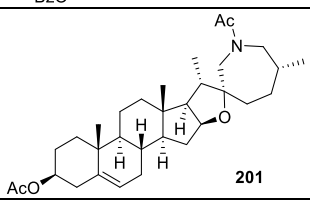


Rysunek 20. Widma temperaturowe wykonane dla wybranego amidu **199**.

Wybrane związki zbadano pod kątem ich aktywności antyproliferacyjnej wobec ludzkich linii komórek nowotworowych różnego pochodzenia (ostra białaczka limfoblastyczna CEM, gruczolakorak sutka MCF7, czerniak złośliwy G-361) i normalnych ludzkich fibroblastów skóry (BJ). Co ciekawe związki: amina alifatyczna **178**, 22-aminoalkohol **193**, benzoosan 22a(*N*)-F-homosolasodyny **191d**, benzoosan 22a(*N*)-homosoladulcyny **195** wykazały silniejszą aktywność cytotoksyczną niż sama solasodyna w stężeniu mikromolowym. Natomiast największą aktywność wobec komórek G-361 wykazał 22-aminoalkohol **193** i benzoosan 22a(*N*)-homosoladulcyna **195**. Przeprowadzone badania pokazują, że związki z otwartym pierścieniem wykazują lepszą aktywność niż związki cykliczne (**Tabela 15**).

Tabela 15. Wyniki badań antyproliferacyjnych.

Nr	Związek	CEM	MCF7	G-361	BJ
1	Solasodyna	>50 (103%)*	>50 (61%)*	>50 (75%)*	>50 (97%)*
2	 178	8.8 ± 1.4	18.8 ± 0.5	8.3 ± 1.6	17.3 ± 4.7
3	 5d	>50	>50	18.4 ± 0.4	>50

4		>50	>50	>50	>50
5		>50	>50	>50	>50
6		7.4 ± 0.5	NT	3.8 ± 0.6	NT
7		19.5 ± 0.2	46.4 ± 1.4	14.8 ± 1.2	47.0 ± 0.6
8		>50	NT	11.5 ± 0.1	NT
9		25.4 ± 5.7	NT	3.7 ± 1.1	NT
10		>50	>50	>50	>50
11		>50	NT	>50	NT
12		>50	>50	>50	>50

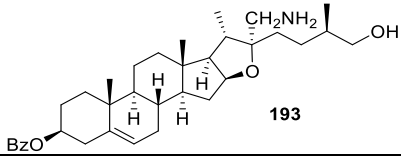
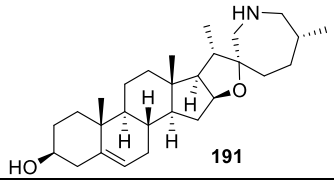
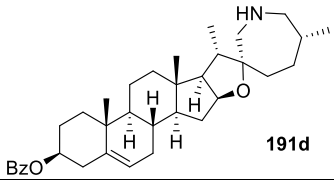
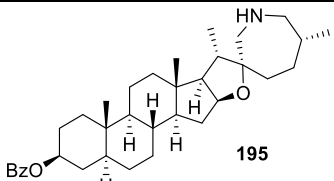
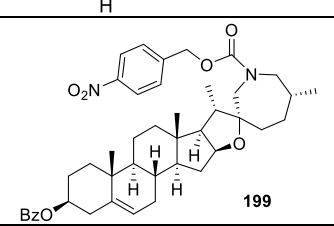
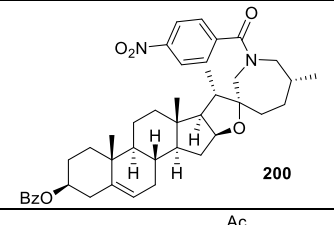
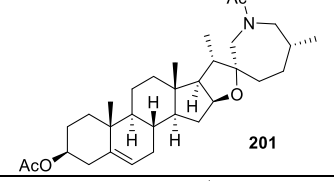
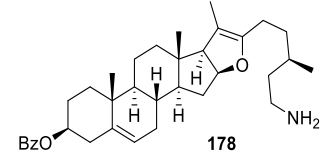
NT – nie testowano

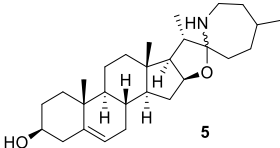
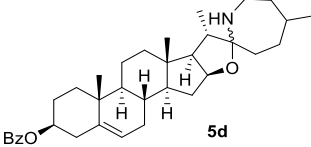
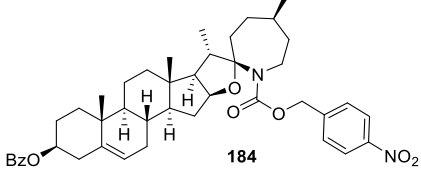
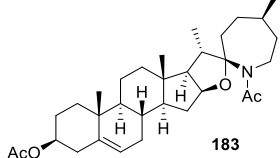
* Dane w nawiasach przedstawiają przeżywalność komórek (w %) w obecności 50 µM solasodyny.

Zsyntezowane pochodne zostały przetestowane również pod kątem hamowania cholinesteraz (ChE), enzymów o właściwościach hydrolitycznych, odpowiadających za

rozkład neuroprzekazników. Dwa typy cholinoesteraz: acetylocholinoesterazy (AChE) i butyrylocholinoesterazy (BChE), są odpowiedzialne za transport sygnałów nerwowych przez hydrolizę cholinergicznego neuroprzekaznika acetylocholino w mózgu i tkankach peryferyjnych. We współpracy z czeską grupą naukową zbadano rodzaj hamowania otrzymanych alkaloidów wobec AChE (uzyskany z węgorka elektrycznego) oraz BChE (wyzolowany z surowicy koni). Badania prowadzono przesiewowo *in vitro* przy użyciu zmodyfikowanej metody Ellmana. Skuteczność inhibitorów wyrażono jako IC_{50} . Otrzymane wyniki podsumowano w **Tabeli 16**. W warunkach zastosowanych podczas eksperymentu solasodyna wykazywała bardzo dobrą aktywność hamującą względem AChE ($IC_{50} = 28.46 \pm 0.99 \mu\text{M}$) i BChE ($IC_{50} = 6.30 \pm 0.41 \mu\text{M}$). Trzy zsyntetyzowane 22a(N)-homopochodne **191**, **191d** i **195** wykazały lepszą skuteczność w stosunku do AChE niż solasodyna i jej 26-homopochodne. Związki posiadające otwarty pierścieniem F (np. związek **178**) lub N-acylowe pochodne (związki **184** i **199** zawierające grupę *p*-nitrobenzylloksykarbonylową lub dioctany **183**, **201**) w mniejszym stopniu hamowały aktywność obu esteraz niż F-homopochodne solasodiny ($IC_{50} > 42 \mu\text{M}$). Wyjątkiem jest analog 22a(N)-homosolasodiny **200**, który ma grupę *p*-nitrobenzoilową i wykazuje wysoką zdolność hamowania AChE ($IC_{50} = 9.57 \mu\text{M}$). Dodatkowo stwierdzono, że nie tylko układ pierścieni E/F może wpływać na aktywność, ale także podstawnik w pozycji C3 w pierścieniu A, może mieć wpływ na powinowactwo do cholinesterazy. Lepsze wydajności uzyskano dla analogów posiadających wolną grupą hydroksylową w pozycji C3 (pary związków **5** i **5d** oraz **191** i **191d**). Usunięcie grupy benzoilowej spowodowało wzrost aktywności hamującej względem BChE (pochodna **5**, $IC_{50} = 1.34 \mu\text{M}$) lub dla obu enzymów (związek **191**). Oprócz pochodnej **5** wszystkie badane analogi solasodiny wykazywały selektywność wobec AChE w zakresie niskich stężeń (**Tabela 16**). Analog **191** wykazał najwyższą aktywność przy wartościach $IC_{50} = 8.51 \mu\text{M}$ na AChE i $7.05 \mu\text{M}$ na BChE (**Tabela 16**, **pozycja 5**). Otrzymane wyniki porównano z aktywnością solasodiny (**1**) oraz z dwoma lekami stosowanymi w zwalczaniu otępienia związanego z chorobą Alzheimera oraz Parkinsona – rywastygminą i galantaminą. Solasodyna wykazywała wysoką aktywność hamującą $IC_{50} = 28.46 \mu\text{M}$ względem AChE oraz $6.30 \mu\text{M}$ względem BChE. Co ciekawe, nowe alkaloidy okazały się bardziej aktywne w porównaniu z stosowanymi niesteroidowymi lekami – rywastygminą i galantaminą.

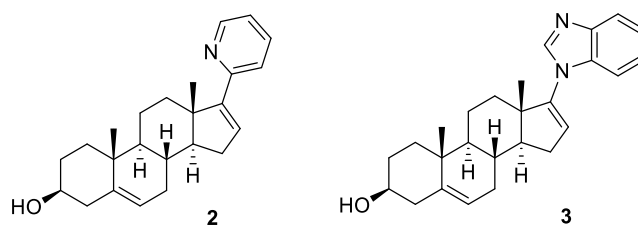
Tabela 16. Wyniki badań F-homopochodnych solasodyny dla hamowania enzymu AChE.

Nr	Związek	IC ₅₀ ± SEM (μM)	
		eeAChE	eqBChE
1	Solasodyna	28.46 ± 0.99	6.30 ± 0.41
2	 193	44.09 ± 0.36	80.46 ± 2.70
3	 191	8.51 ± 0.24	7.05 ± 0.18
4	 191d	42.38 ± 0.63	89.55 ± 3.84
5	 195	21.96 ± 0.53	24.89 ± 0.86
6	 199	125.14 ± 8.55	> 500
7	 200	9.57 ± 0.05	75.95 ± 1.21
8	 201	69.11 ± 2.88	229.28 ± 7.10
9	 178	42.12 ± 0.10	124.45 ± 1.62

10		44.49 ± 0.85	1.34 ± 0.01
11		72.30 ± 0.40	211.20 ± 12.56
12		81.60 ± 0.34	> 500
13		97.70 ± 5.96	259.64 ± 13.41

2.6. Synteza steroidowych pochodnych pirymidobenzimidazolu

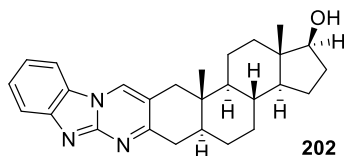
Steroidy i ich pochodne, od dziesięcioleci znajdują zastosowanie w leczeniu wielu chorób takich jak alergie, problemy skórne lub nowotwory. Przykładem ostatnio opisanych związków, które wykazują działanie przeciwnowotworowe jest abirateron (**2**) i galeteron (**3**). Octan abirateronu (**2a**) jest jedynym z nowych hormonalnych leków, które znacznie zmniejszają ryzyko zgonu u osób cierpiących na raka gruczołu krokowego zarówno w stadium oporności na kastrację oraz choroby wrażliwej na terapię hormonalną. Jego pochodna – galeteron (**3**) również jest inhibitorem enzymu odpowiadającego za syntezę androgenów, dzięki czemu może zostać wykorzystana w leczeniu raka prostaty. Tak duża skuteczność w leczeniu nowotworu gruczołu krokowego wynika z budowy chemicznej obu związków opierającej się na szkieletie steroidowym. W pozycji C17 steroidu znajduje się azotowy podstawnik: abirateron posiada cząsteczkę pirydyny, galeteron zawiera dołączony benzimidazol (**Rysunek 21**).^[229–231]



Rysunek 21. Abirateron (**2**) i galeteron (**3**).

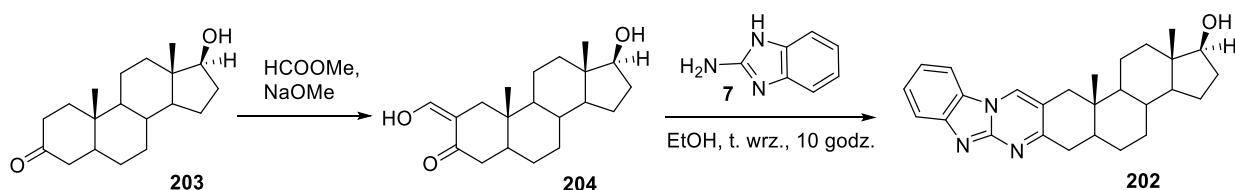
Ze względu na podobieństwo strukturalne do hormonów oraz wysoką aktywność biologiczną, poszukuje się nowych pochodnych, które mogłyby również być stosowane w medycynie. W 1979 roku ukazała się praca dotycząca tworzenia steroidowych heterocykli,

które łączą w swej strukturze część steroidową oraz część pirymidobenzimidazolu (**Rysunek 22**).^[232,233]



Rysunek 22. Androstano[3,2-b]pyrimido[1,2-a]benzimidazol **202**.

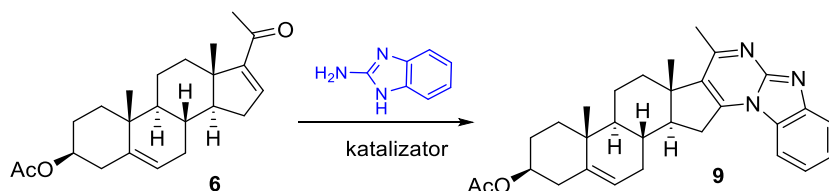
Większość aromatycznych pochodnych opisanych w tym artykule uzyskano przez kondensację pochodnych 2-(hydroksymetyleno)-androstan-3-onu (**204**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**). Pochodną **202** uzyskaną przy użyciu standardowych procedur formylowania, poddano następnie reakcji kondensacji z aminobenzimidazolem we wrzącym etanolu (**Schemat 84**).



Schemat 84. Synteza androstano[3,2-b]pyrimido[1,2-a]benzimidazolu **202**.

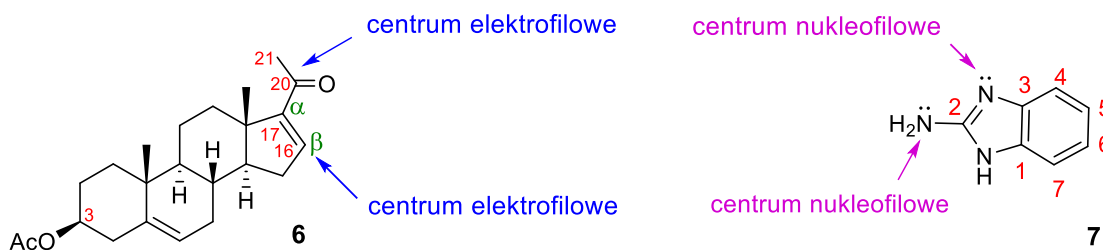
Autorzy artykułu w *J. Med. Chem.* zsyntezowali analogi pirymidobenzimidazolu bazujące na szkielecie androstanu.^[233] Kondensacja z cząsteczką pochodnej aminobenzimidazolu pozwoliła na wprowadzenie trzech dodatkowych aromatycznych pierścieni od strony pierścienia A steroidu. Otrzymane pochodne różniły się również podstawnikami w pozycji C17. Strategia syntetyczna opierała się na zastosowaniu drastycznych warunków reakcji (wysoka temperatura i długi czas reakcji).

Zaprojektowane przeze mnie pochodne miały również łączyć w swej strukturze cząsteczkę steroidu z aminobenzimidazolem lub jej pochodną. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) pozwoliłaby rozbudować szkielet steroidowy i uzyskać pochodną **9** (**Schemat 85**).



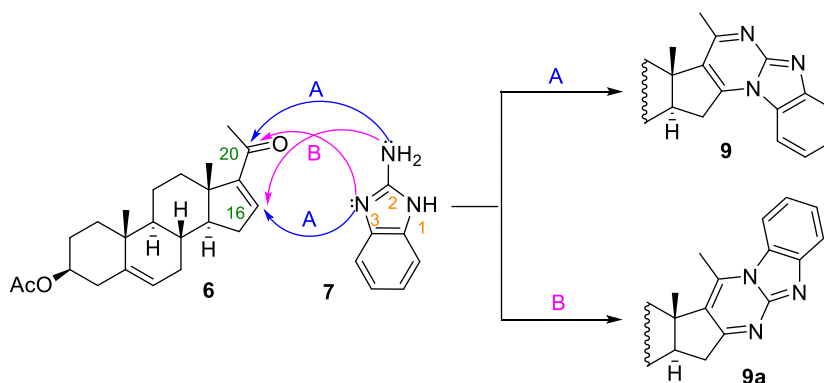
Schemat 85. Zaprojektowana pochodna pirymidobenzimidazolu **9**.

Octan 16-dehydropregnenolonu (**6**) jest związkiem α,β -nienasyconym, posiadającym dwa centra elektrofilowe (C16, C20). Natomiast 2-aminobenzimidazol (**7**) posiada w swojej cząsteczce dwa centra nukleofilowe, które w łatwy sposób mogą ulegać reakcji (grupa aminowa NH_2 , atom azotu N-3) (**Rysunek 23**).



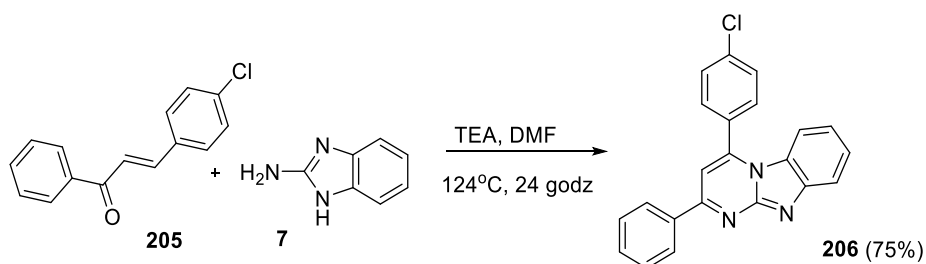
Rysunek 23. Octan 16-dehydropregnenolonu (**6**) oraz 2-aminobenzimidazol (**7**).

Analiza budowy obu związków wskazuje, że reakcja może przebiegać na dwa różne sposoby. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) może dać dwa różne rodzaje pirymidobenzimidazoli w zależności od tego, który atom azotu (atom N-3 lub grupa NH_2) w cząsteczce 2-aminobenzimidazolu zaatakują elektrofilowy atom węgla (C16 lub C20) w steroidzie. Na **Schemacie 86** przedstawiłam dwie alternatywne ścieżki prowadzące do cyklicznych produktów. Wydaje się, że szlak A jest bardziej preferowany niż B, ponieważ ten przebieg reakcji pozwala na interakcję nukleofilu i elektrofilu, posiadających te same właściwości tzn. twardy nukleofil (grupa NH_2) reaguje z grupą karbonylową, natomiast miękki nukleofil (imidazolowy atom N-3) przyłącza się do węgla β sprzężonego układu. Liczne doniesienia literaturowe potwierdzają tę hipotezę.^[234–237]



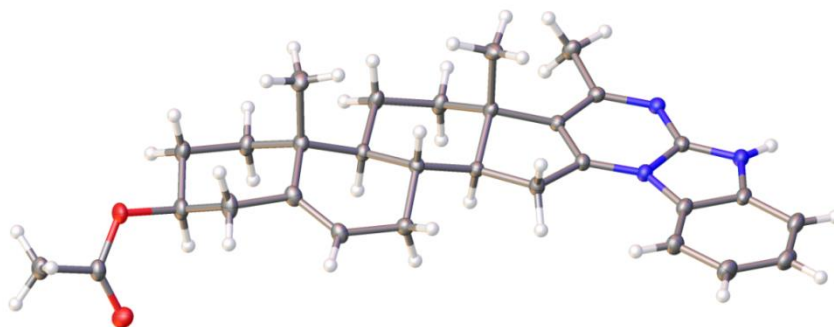
Schemat 86. Teoretyczne produkty reakcji pomiędzy substratami (**6**) i (**7**).

W 2015 roku Xinhua He i jego współpracownicy opisali badania nad reakcjami pomiędzy α,β -nienasyconymi związkami karbonyłowymi, będącymi pochodnymi chalkonu, a 2-aminobenzimidazolem (**7**). Otrzymywali oni produkty selektywnego przyłączenia azotu N-3 do węgla β , a grupy aminowej do węgla karbonylowego (**Schemat 87**).^[238]



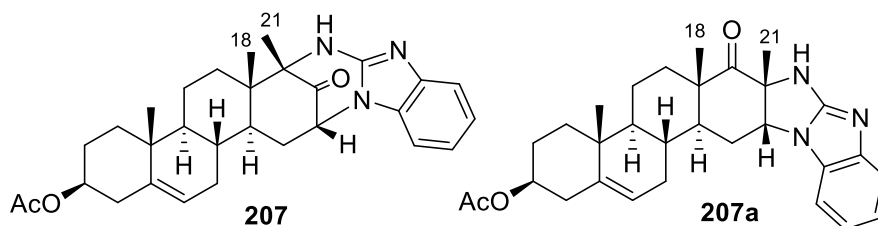
Schemat 87. Reakcja pomiędzy pochodną chalkonu **205** a 2-aminobenzimidazolem (**7**).

Pierwsze próby otrzymania benzimidazopiryminy, opierały się na metodzie zaczerpniętej z wspomnianej już publikacji.^[238] Reakcję pomiędzy octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**) a 2-aminobenzimidazolem (**7**) przeprowadziłam w DMF w obecności DIPEA jako zasady w temperaturze 140 °C. Po 16 godzinach otrzymałam mieszaninę dwóch produktów: pirymidobenzimidazolu **9** (51%) i nieoczekiwanego ketonu **207** (17%). Dodatkowo w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych UwB wykonano badania rentgenostrukturalne głównego produktu, w celu ustalenia jego dokładnej struktury. Badania te potwierdziły wyżej postawioną hipotezę – żądany związek **9** powstaje wg ścieżki A pokazanej na **Schemacie 88**. Poniżej wynik badań rentgenostrukturalnych (**Rysunek 24**).^[239]



Rysunek 24. Struktura pochodnej pirymidobenzimidazolu **9**.

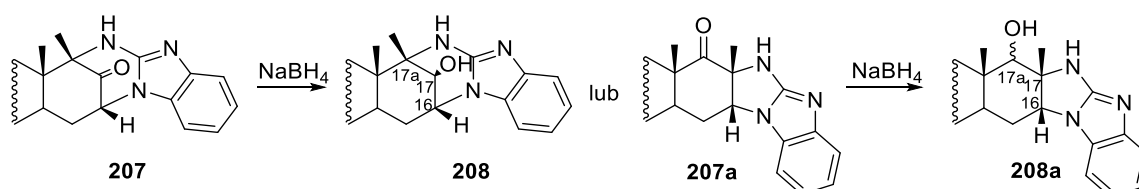
W celu ustalenia struktury produktu ubocznego **207** wykonano szereg widm korelacyjnych NMR (COSY, HMBC, NOESY i ROESY), które udowodniły, że tworzącym się produktem jest związek powstały w wyniku przegrupowania typowego dla 17 α -hydroksy-20-ketonów. Analiza danych NMR nie pozwoliła jednak na ustalenie struktury, która mogłyby powstać (**Rysunek 25**).



Rysunek 25. Prawdopodobne struktury produktu ubocznego wynikające z widm NMR.

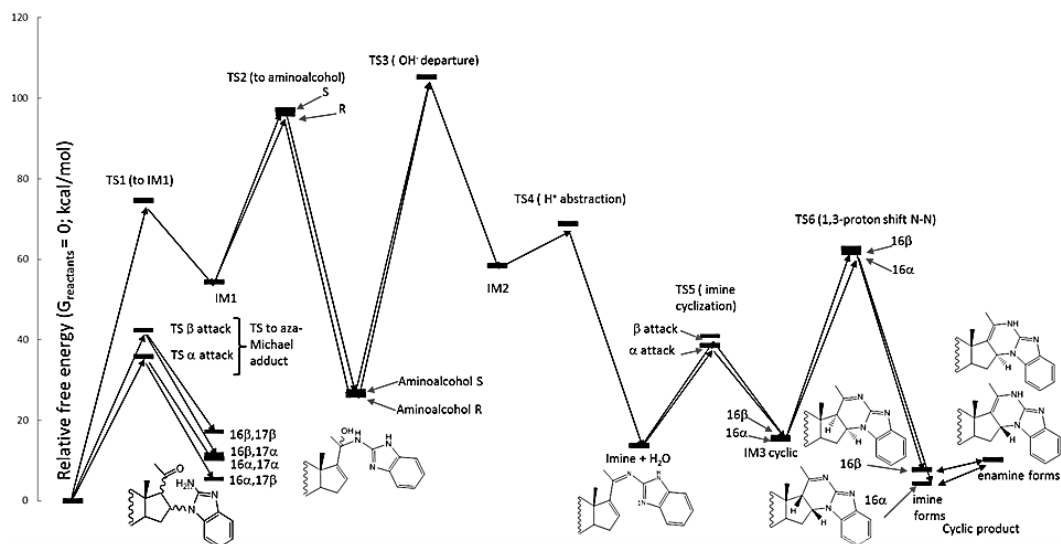
Ustalenie struktury produktu ubocznego **207/207a** przysporzyło wielu trudności. Wzór korelacji w widmie HMBC zdecydowanie lepiej pasował do struktury **207**, natomiast korelacja wykorzystująca jądrowy efekt Overhausera (NOE) nie była w stanie potwierdzić oddziaływań pomiędzy dwiema blisko położonymi grupami metylowymi (protony z grup metylowych 18H oraz 21H powinny silnie ze sobą oddziaływać).

Ze względu na trudność w uzyskaniu kryształów dobrej jakości do analizy rentgenowskiej, postanowiłam udowodnić strukturę ketonu metodą chemiczną. Keton poddałam redukcji z NaBH_4 z wytworzeniem odpowiedniego alkoholu (**207** lub **207a**, Schemat 88). Analiza NMR otrzymanego produktu, bezsprzecznie wskazała na strukturę alkoholu **208**. Strukturę otrzymanego związku potwierdzono również technikami dwuwymiarowymi NMR (COSY, HMBC, HSQC, ROESY). Z przeprowadzonej redukcji wynika jednoznacznie, że strukturą wyjściową produktu ubocznego był keton **207**.



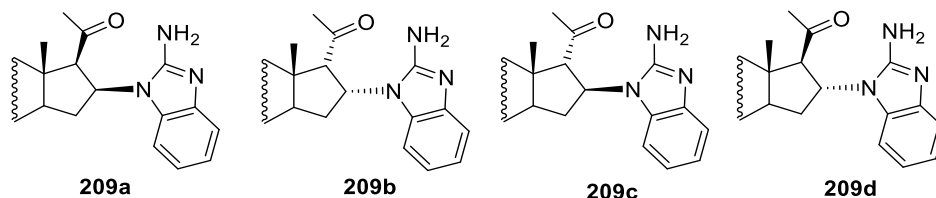
Schemat 88. Chemiczne próby określenia struktury produktu ubocznego, ketonu **207**.

Kolejnym krokiem było ustalenie mechanizmu reakcji. Można założyć dwie ścieżki powstawania pochodnej pirymidobenzimidazolu **9**. Pierwsza z nich zakłada, że w reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**), początkowo tworzy się przejściowy addukt Michaela, a następnie zachodzi jego cyklizacja. Druga ścieżka syntezy opiera się na założeniu, że w wyniku reakcji tworzy się steroidowa imina, później następuje cyklizacja oraz aromatyzacja układu. W celu ustalenia mechanizmu zastosowano obliczenia DFT. Na **Rysunku 26** znajduje się profil energetyczny reakcji, gdzie punktem wyjścia są substraty (octan 16-dehydropregnenolonu, **6**, i 2-aminobenzimidazol, **7**) z całkowitą energią swobodną przyjętą jako zero.



Rysunek 26. Profil energetyczny proponowanego mechanizmu reakcji 2-aminobenzimidazolu (**7**) z octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**).

Reakcja rozpoczyna się od ataku grupy NH_2 , która posiada wyższą gęstość elektronów niż azot przy N-3 (zgodnie z NBO dostępną z pakietem GAUSSIAN 09) na węgiel karbonylowy, w wyniku czego tworzy się imina. Następnie dochodzi do addycji atomu (N-3) w 2-aminobenzimidazolu do wiązania podwójnego C(16)-(C17). Atak zachodzi od strony mniej zatłoczonej (α) co prowadzi do powstania cyklicznego produktu, który może występować w różnych formach tautomerycznych – iminy lub enaminy. Alternatywnie produkt cykliczny mógłby powstać przez addycję azotu (N-3) 2-aminobenzimidazolu do wiązania podwójnego w steroidzie, a następnie, poprzez reakcję między grupą karbonylową i grupą NH_2 w aminie. Badanie DFT dotyczące mechanizmu reakcji wykazało, że cyklizacja iminy zachodzi spontanicznie i przy względnie małej energii aktywacji. Początkowy atak nukleofilowy może prowadzić do utworzenia iminy bądź adduktów aza-Michaela (czterech możliwych stereoisomerów), które są energetycznie korzystniejsze niż proponowana ścieżka prowadząca do iminy (**Rysunek 27**).

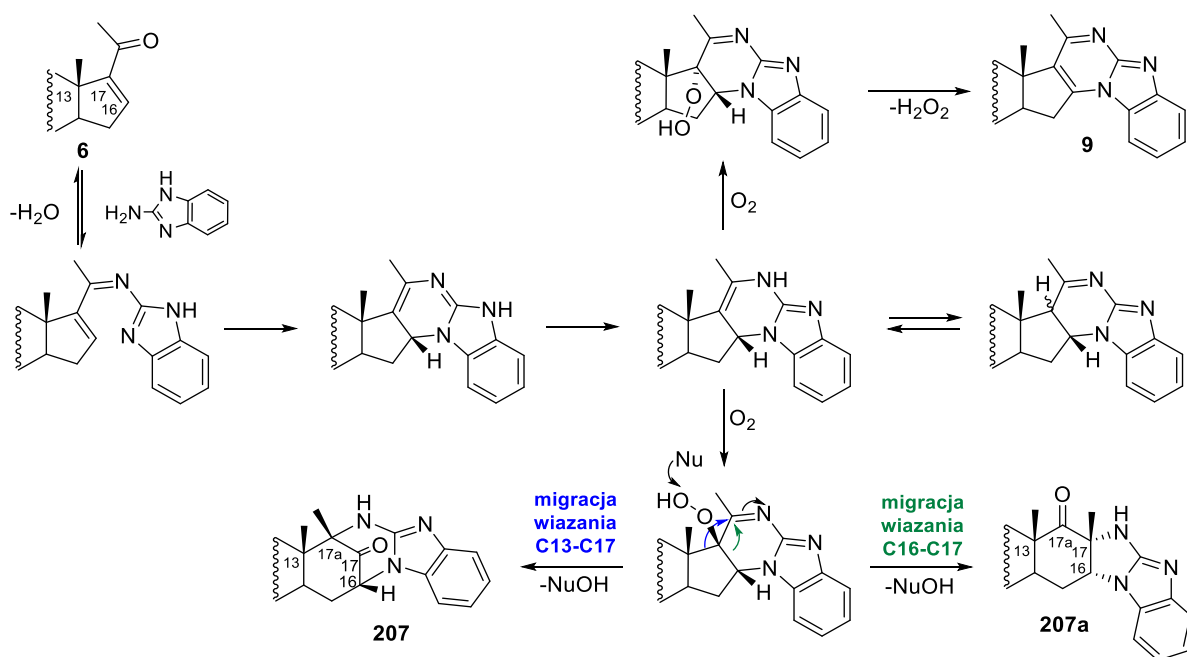


Rysunek 27. Struktury izomeryczne produktu pośredniego **209a-d**.

Tworzące się produkty pośrednie **209a-d** nie ulegają jednak reakcji cyklizacji do produktu **9**. W związku z tym, preferowana jest ścieżka o wyższej energii aktywacji, w której kolejny etap cyklizacji jest nieodwracalny. Bogatoelektronowa enamina, powstała po cyklizacji, ulega następnie autoutlenieniu do wodoronadtlenku. Cząsteczka tlenu może być przyłączona do

C17 z obu stron, ale podejście od strony α jest korzystniejsze ze względu na istniejącą zawadę przestrzenną utworzoną przez grupę metylową C18. α -Wodoronadtlenek łatwo ulega eliminacji, co sprzyja powstawaniu aromatycznego produktu **9**. Utworzony β -wodoronadtlenek w warunkach zasadowych przekształca się w keton **207** przez rozerwanie wiązania tlen-tlen i utworzenie nowego wiązania z jednoczesną migracją 1,2-węgla. Takie przegrupowanie typu α -ketolu może przebiegać z migracją wiązania C13-C17 lub C16-C17 do C20. Przegrupowania α -hydroksyketonów w steroidach w różnych warunkach są dobrze znane.^[240,241] W tym przypadku udowodniono, że w wyniku przegrupowania, selektywnie uzyskano 17-keto-D-homosteroid **207**.

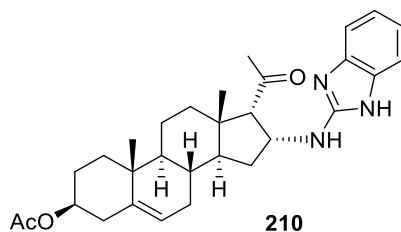
Podsumowując, wyniki obliczeń DFT pozwoliły ustalić najbardziej prawdopodobny mechanizm reakcji 2-aminobenzimidazolu (**7**) z octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**) (Schemat 89). W pierwszym etapie azot z grupy aminowej atakuje węgiel karbonylowy, w następnej kolejności azot N-3 przyłącza się do wiązania podwójnego, do węgla β . Po utworzeniu cyklicznej iminy ustala się równowaga iminowo-enaminowa. W zależności z której strony przyłącza się cząsteczka tlenu, imina ulega albo aromatyzacji do pochodnej pirymidobenzimidazolu **9**, lub przekształca się w wodoronadtlenek, który przegrupowuje się do ketonu **207**.



Schemat 89. Mechanizm reakcji 2-aminobenzimidazolu (**7**) z octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**).

W celu optymalizacji reakcji z octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) przeprowadziłam kolejną próbę katalizowaną przez DIPEA w DMF w temperaturze 120°C. Po 16 godzinach analiza TLC wykazała powstanie 3 produktów oraz obecność substratu: powstała pochodna pirymidobenzimidazolu **9** (12%)

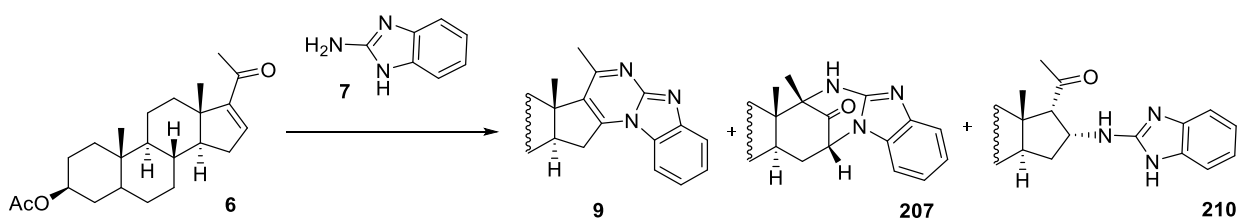
oraz keton **207** (12%). Trzecim produktem okazał się addukt Michaela **210** (11%), który powstał w wyniku ataku grupy aminowej 2-aminobenzimidazolu (**6**) do podwójnego wiązania steroidu C(16)-C(17). Przeprowadzono kolejną reakcję w której zamiast DMF użyto etanolu. W wyniku tej reakcji uzyskano również 3 produkty: żądany produkt aromatyczny **9** (12%), produkt przegrupowania **207** (8%) oraz addukt Michaela **210** (42%) (**Rysunek 28**).



Rysunek 28. Struktura adduktu Michaela **210** powstającego w reakcji pomiędzy octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**) a 2-aminobenzimidazolem (**7**).

Optymalizacja warunków reakcji

Aby poprawić wydajność i selektywność reakcji, przeprowadziłam optymalizację warunków reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) (**Schemat 90**).



Schemat 90. Przebieg reakcji steroidu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**).

Większość reakcji przeprowadziłam z użyciem 2 ekw. 2-aminobenzimidazolu oraz 1 ekw. zasady, w suchych warunkach. Badałam rodzaj katalizatora, wpływ temperatury oraz rozpuszczalnika na przebieg procesu. Zauważyłam, że stosowanie rozpuszczalników, takich jak DMF (**Tabela 17, pozycje 1-12**) i dioksan (**Tabela 17, pozycje 14-17**), sprzyjały syntezie pirymidyny, podczas gdy stosowanie alkoholu (EtOH) ograniczało, etap utleniania i dalszą aromatyzację, skutkująca powstawaniem adduktu Michaela **210** (**Tabela 17, pozycja 13**). Najlepszą konwersję substratu zaobserwowałam dla reakcji przeprowadzonych w dioksanie (w obecności DIPEA lub L-proliny) – związek **9** uzyskałam z wydajnością 70% oraz 63% (**Tabela 17, pozycje 14, 17**). Równie dobre wydajności (51% oraz 61%) otrzymałam stosując DMF jako rozpuszczalnik (również w obecności DIPEA lub L-proliny) (**Tabela 17, pozycje 1, 10**). Kolejnym czynnikiem, który odegrał ważną rolę w przebiegu reakcji, była ilość i rodzaj zastosowanej zasady. Reakcja prowadzona z Cs_2CO_3 wykazywała niewielki stopień konwersji (**Tabela 17, pozycja 12**). Bardziej wydajnymi katalizatorami były aminy

drugorzędowe i trzeciorzędowe np. stosując trietyloaminę, DIPEA, piperydynę lub L-prolinę otrzymywałam steroidowy pirymidobenzimidazol **9** z dobrymi wydajnościami. W każdym przypadku dodatkowo powstawał produkt uboczny – keton **207** i w mniejszej ilości addukt aza-Michaela **210**. Zaobserwowałam również, że stężenie odczynnika i temperatura miały ogromny wpływ na proces cyklokondensacji: niskie stężenie substratu i zbyt niska temperatura reakcji doprowadziły do znacznego zmniejszenia konwersji (**Tabela 17, pozycja 2 i 3**).

Tabela 17. Optymalizacja reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) a 2-aminobenzimidazolem (**7**) w warunkach zasadowych.

Nr	Warunki reakcji ^a				Wydajność produktów ^c		
	Katalizator	Rozpuszczalnik	Temp. [°C]	C [mol/dm ³]	9 [%]	207 [%]	210 [%]
1	DIPEA	DMF	140	0,28	51	17	-
2	DIPEA	DMF	120	0,28	12	12	11
3	DIPEA	DMF	140	0,07	<2	<2	-
4	DIPEA ^b	DMF	140	0,28	45	23	<1
5	DIPEA	DMF	MV (80%)	-	25	15	-
6	-	DMF	120	0,28	-	-	-
7	Et ₃ N	DMF	120	0,28	36	28	-
8	Et ₃ N	DMF	140	0,28	46	-	-
9	piperydyna	DMF	140	0,28	40	9	-
10	L-prolina ^b	DMF	140	0,28	61	6	-
11	L-prolina	DMF	140	0,28	37	12	-
12	Cs ₂ CO ₃	DMF	140	0,28	<6	<5	-
13	DIPEA	EtOH	wrzenie	0,28	12	8	42
14	DIPEA	dioksan	wrzenie	0,28	70	20	5
15	piperydyna	dioksan	wrzenie	0,28	36	16	6
16	L-prolina	dioksan	wrzenie	0,28	55	23	<3
17	L-prolina ^b	dioksan	wrzenie	0,28	63	6	<1

^a W reakcji użyto 2 ekw. 2-aminobenzimidazolu oraz 1 ekw. zasady. ^b Użyto 0,5 ekw. zasady, ^c Pozostała ilość to nieprzereagowany octan 16-dehydropregnenolonu (**6**).

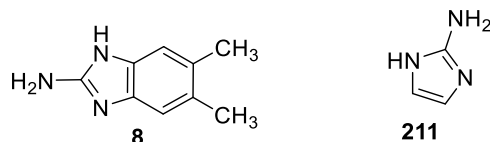
Przeprowadziłam również reakcje optymalizacji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) w warunkach kwasowych. Wyższe wydajności dla produktu aromatycznego **9** uzyskałam w reakcji z kwasem *p*-TsOH w acetonitrylu (73%) oraz z kwasem trifluorometanosulfonowym (50%) (**Tabela 18, pozycje 1, 5**). W tych warunkach nie zaobserwowano powstawania adduktu Michaela **210**.

Tabela 18. Optymalizacja reakcji 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) w warunkach kwasowych.

Nr	Katalizator	Rozpuszczalnik	Temp. [°C]	9 [%]	207 [%]	210 [%]
1	<i>p</i> -TsOH	CH ₃ CN	82	73	21	-
2	TMSCl	CH ₃ CN	82	35	35	-
3	Tf ₂ NH	CH ₃ NO ₂	100	30	18	-
4	Tf ₂ NH	CH ₃ CN	82	45	23	-
5	CF ₃ SO ₃ H	CH ₃ CN	82	50	-	-
6	Pd(CH ₃ CN) ₂ Cl ₂	dioksan	t. wrzenia	-	-	-
7	TMSCl, PPh ₃	dioksan	t. wrzenia	-	-	-
8	TMSCl, PPh ₃	-	t. wrzenia	<1	-	-
9	MgBr ₂ ·OEt ₂	DCM	t. wrzenia	-	-	-
10	TBAF	THF	t. wrzenia	-	-	-
11	<i>p</i> -TsOH	DCE	85	<5	-	-
12	-	AcOH	44	<1	-	-
13	TMSOTf	DCM	t. wrzenia	-	-	-

Synteza pochodnych galeteronu w reakcji cyklokondensacji octanu 16-dehydropregnenolonu z pochodnymi 2-aminobenzimidazolu

Opracowanie jednoetapowej i skutecznej metody tworzenia pochodnej pirymidobenzimidazolu zachęciła mnie do kontynuowania badań nad nowymi pochodnymi, które łączyłyby w sobie część steroidową ze zmodyfikowanym ugrupowaniem benzimidazolopirymidyny. Do syntezy nowych steroidowych pochodnych wykorzystałam reakcję cyklokondensacji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem (**8**) oraz z 2-aminoimidazolem (**211**) których struktury zostały przedstawione na **Rysunku 29**.^[242]



Rysunek 29: 2-Amino-5,6-dimetylobenzimidazol **8** oraz 2-aminoimidazol (**211**).

Reakcje octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem

Podjęłam próby otrzymania następnej pochodnej tworzącej się w reakcji cyklokondensacji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem (**8**). W tym wypadku wybrałam warunki, które dały jedne z najlepszych wydajności podczas optymalizacji reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminobenzimidazolem (**7**) (**Tabela 17, pozycja 10** oraz **Tabela 18, pozycja 1**). W pierwszej próbie użyłam 2 ekw. 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolu (**8**) w obecności L-proliny (1 ekw.), reakcję prowadziłam w DMF w temperaturze 140°C przez 48 godzin. Reakcję kontrolowałam za pomocą chromatografii TLC, która wskazywała na prawie całkowite przereagowanie substratu. W reakcji powstały dwa spodziewane produkty: pochodna pirymidobenzimidazolu **10** (44%) oraz keton **212** (35%), natomiast addukt Michaela nie powstał.

Przeprowadziłam reakcję octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem (**8**) w zoptymalizowanych warunkach kwasowych (1 ekw. TsOH, acetonitryl). Chromatografia TLC wskazała całkowite przereagowanie substratu. Analiza spektroskopowa potwierdziła powstawanie dwóch produktów: pochodnej pirymidobenzimidazolu **10** z wydajnością 55% oraz ketonu **212** z wydajnością 40% (**Tabela 19**). Przeprowadzając reakcję w warunkach kwasowych - otrzymałam dwa żądane produkty **10** oraz **212** z dość dobrą wydajnością.

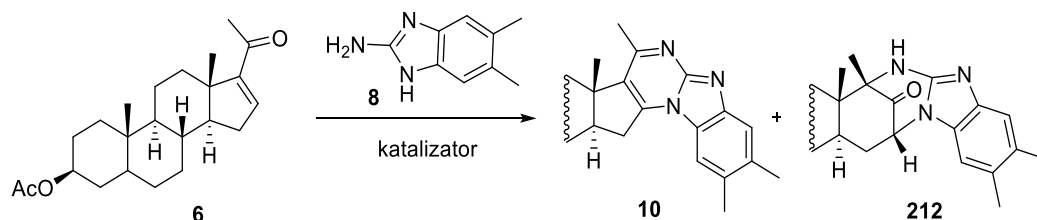
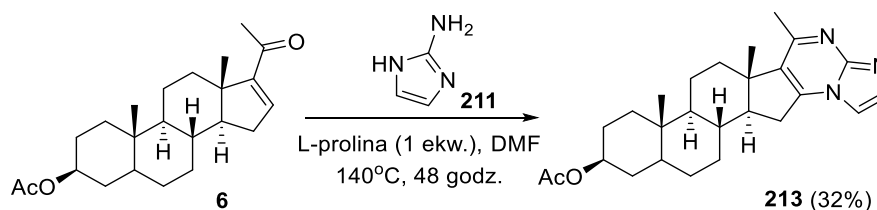


Tabela 19. Przeprowadzone reakcje octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem (**8**).

Nr	Katalizator (ekw.)	Rozpuszczalnik	Warunki	10 [%]	212 [%]
1	L-Prolina (1)	DMF	140°C, 48 godz.	44%	35%
2	TsOH (0.1)	MeCN	82°C, 48 godz.	55%	40%

Reakcje 16-dehydropregnenolonu z 2-aminoimidazolem

W celu otrzymania nowej pochodnej pirymidobenzimidazolu, przeprowadziłam reakcję octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminoimidazolem (**211**) w warunkach, które sprawdzały się w otrzymywaniu pochodnych **9** oraz **10** (L-prolina, DMF, 140°C) wg **Schematu 91**. Produkt główny otrzymałam jedynie z wydajnością 32%, nie obserwowałam tworzenia produktów ubocznych.



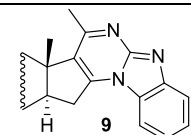
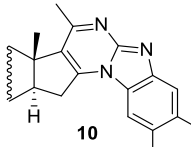
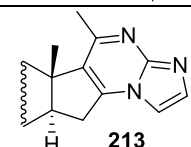
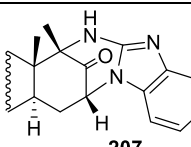
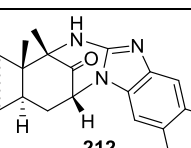
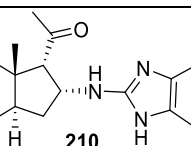
Schemat 91. Przebieg reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z 2-aminoimidazolem (**211**).

Badania biologiczne

Wszystkie zsyntezowane pochodne pirymidobenzimidazolu zostały przebadane pod kątem ich działania antyproliferacyjnego. Badania były prowadzone na czterech liniach komórkowych raka prostaty: 22Rv1-ARE14, C4-2, VCaP oraz PC3. W **Tabeli 20**

przedstawiłam wyniki uzyskane dla zsyntezowanych związków oraz galeteronu po 72 godzinach trwania doświadczenia.

Tabela 20. Badania proliferacyjne wykonane na liniach komórkowych raka prostaty.

Nr	Związek	GI ₅₀ (μM) ^a			
		22Rv1-ARE14	C4-2	VCaP	PC3
1	 9	7.2 ± 1.5	22.5 ± 2.3	>50	>50
2	 10	40.0 ± 10.0	36.5 ± 0.2	>50	>50
3	 213	26.3 ± 3.7	>50	>50	>50
4	 207	5.4 ± 0.3	18.0 ± 2.1	>50	>50
5	 212	7.4 ± 0.6	>50	>50	>50
6	 210	6.2 ± 0.7	11.9 ± 0.1	20.3 ± 1.6	29.5 ± 7.8
7	Galeteron ^b	37.8 ± 0.7	>40 (74.3)	>40 (57.2)	37.7 ± 1.7

^aWartość mierzona co najmniej w dwóch próbach, ^bDane w nawiasach oznaczają przeżywalność w obecności 40 μM związku.

Badania wykazały, że wszystkie nowe zsyntezowane pochodne (oprócz związku **10**) wykazują lepszą aktywność przeciwko liniom komórkowym raka prostaty 22Rv1-ARE14 oraz C4-2, w porównaniu z galeteronem (**3**), z którym wiązane były spore nadzieje w leczeniu tego typu nowotworów. Najbardziej aktywnym związkiem okazał się addukt Michaela **210** (wyniki o wartościach od GI₅₀ = 6.2 do 29.5 μM). Porównując wyniki dla pirymidobenzimidazoli najbardziej aktywny okazał się związek **9** (7.2 μM). Jego pochodna **10**, posiadająca dwie dodatkowe grupy metylowe w pierścieniu, wykazała dużo słabszą aktywność względem niektórych linii komórkowych niż produkt **9**. W przypadku pochodnej

utworzonej z 2-aminoimidazolu (**211**), badania wykazały, że związek **213** bez dodatkowego pierścienia 6-członowego wykazywał pośrednią aktywność (mniejsza niż **9**, a większą niż **10**). Produkty przegrupowania **207** oraz **212** wykazały jedne z lepszych wyników względem linii komórkowych 22Rv1-ARE14 oraz C4-2 (wyniki testów dla **207** były lepsze niż dla związku **9**). Podsumowując, nowe pochodne pirymidobenzimidazolu wykazały silne działanie antyproliferacyjne względem linii komórkowych raka prostaty.

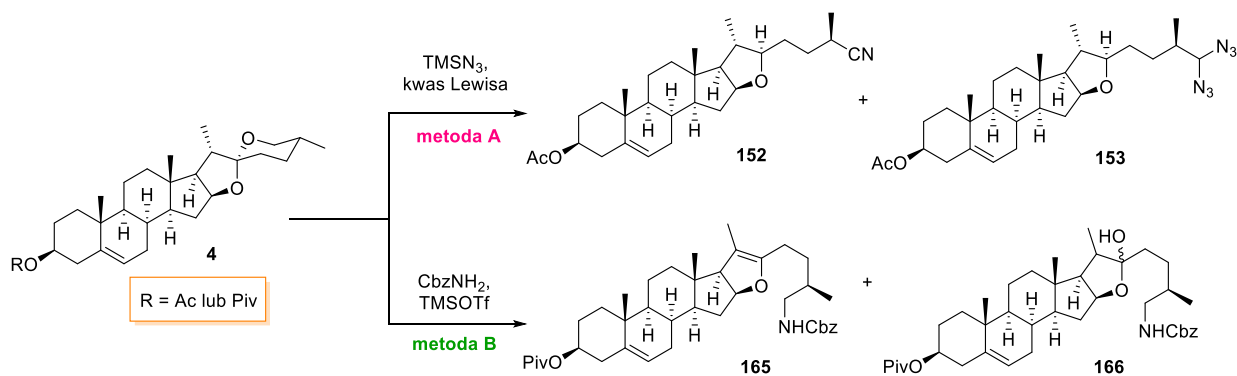
Podsumowanie

W swojej pracy „*Synteza analogów alkaloidów steroidowych*” dążyłam do opracowania nowych metod syntezy alkaloidów steroidowych: solasodyny, jej F-homopochodnych oraz analogów pirymidobenzimidazolu – związków łączących w swej strukturze fragment steroidu oraz benzimidazolu lub imidazolu.

W literaturze można znaleźć kilka strategii syntetycznych dotyczących otrzymywania solasodyny, jednak są to wieloetapowe syntezy, nie mające zastosowania w przemyśle. W swojej pracy skupiłam się więc na skróceniu ścieżki syntezy solasodyny z diosgeniny, poprzez jednoczesne otwarcia pierścienia F w diosgeninie i wprowadzenie grupy zawierającej atom azotu w strukturę steroidu. Wstępne badania pokazały, że jest to możliwe dzięki zastosowaniu kwasu Lewisa oraz azotowego czynnika nukleofilowego wobec diosgeniny.

Pierwsze próby uzyskania steroidowej azotowej pochodnej, która mogłaby być dogodnym intermediatem do syntezy solasodyny, podjęłam wykonując reakcję octanu diosgeniny z azydkiem trimetylosililu w obecności kwasu Lewisa (TMSOTf lub $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (**Schemat 92, metoda A**). Mimo moich oczekiwań (zakładałam bowiem powstanie azydku 26-pseudodiosgeniny **65**) otrzymałam dwa azotowe analogi – 20*S*,22*R*-26-nitryl **152** oraz diazydek **153**. Powstawanie steroidowego 26-nitrylu **152** potwierdza postulowane już wcześniej przeniesienie jonu wodorkowego 1,5-H oraz utworzenie pośredniego aldehydu, będącego w równowadze z jonem oksoniowym w reakcji otwarcia pierścienia F pod wpływem kwasu.

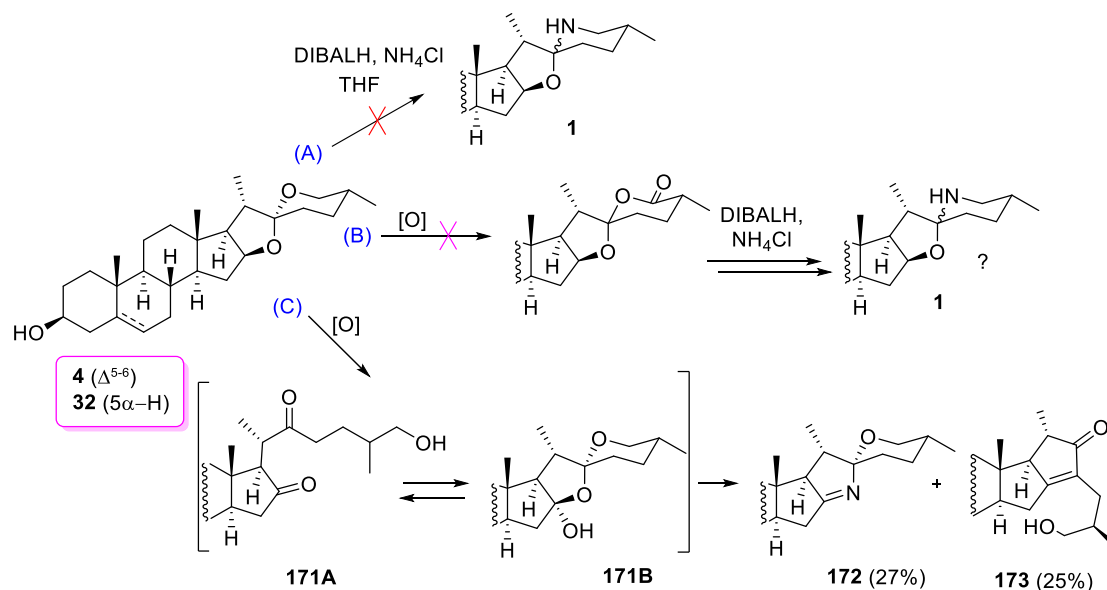
Podobne badania nad uzyskaniem azotowego intermediatu w syntezie solasodyny, prowadziłam również z użyciem karbaminianów w obecności kwasów Lewisa. Znalezienie optymalnych warunków otwierania pierścienia F w diosgeninie oraz wprowadzenie cząsteczki karbaminianu benzylu w strukturę steroidu pozwoliło mi na uzyskanie żądanych azotowych pochodnych **165** oraz **166** z diosgeniny (**4**) (**Schemat 92, metoda B**).



Schemat 92. Reakcje diosgeniny z azotowym nukleofilem (azydek lub karbaminian) w obecności kwasu Lewisa.

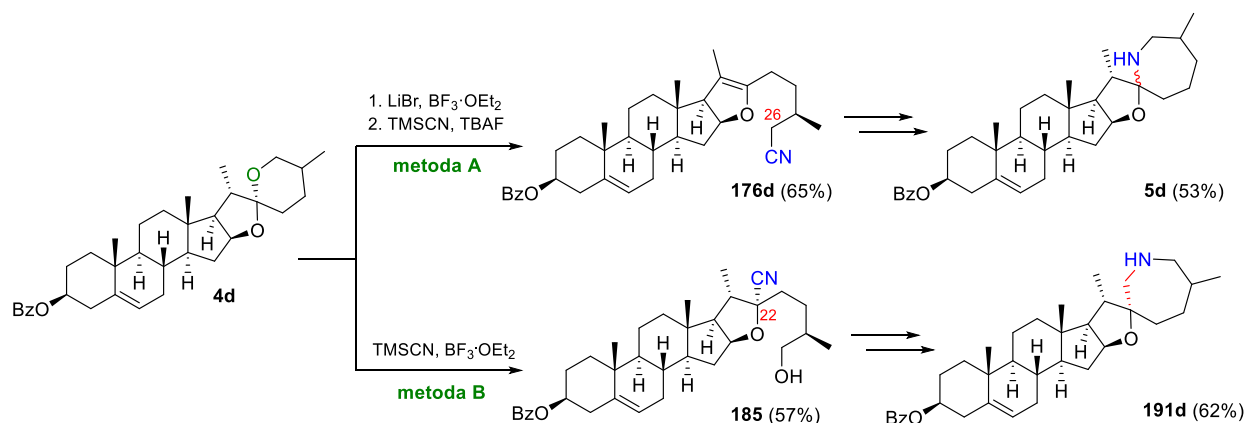
Otrzymałam 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgeninę **165** wykorzystałam następnie w otrzymaniu solasodyny (**1**). Doprowadziło to do opracowania nowej, alternatywnej ścieżki syntezy piwalanu solasodyny z piwalanu diosgeniny. Jest to jak dotąd najkrótsza, 2-etapowa metoda otrzymywania tego związku polegająca na jednoczesnym otwarciu pierścienia F w diosgeninie i wprowadzeniu karbaminianu benzylu w cząsteczkę steroidu. Drugi etap syntezy polegał na odbezpieczeniu grupy aminowej i zamknięciu pierścienia pod wpływem HBr wytwarzanym *in situ* z reakcji AcBr z *n*-butanolem. Piwalan solasodyny (**1b**) otrzymałam z wydajnością 45%, a piwalan 22*S*,25*S*-tomatidenolu (**11b**) uzyskałam z wydajnością 8%.

Prowadziłam również badania nad bezpośrednim przekształceniem układu spirostanu (diosgenina) do spirosolanu (solasodyna). W pierwszym podejściu diosgeninę oraz eter *t*-butylodimetylosililowy diosgeniny poddawałam reakcji z tworzącym się *in situ* z DIBAL i NH₄Cl amidkiem diizobutyloglinowym. Przeprowadziłam szereg prób w celu znalezienia odpowiednich warunków, jednak zakończyły się one niepowodzeniem. Przeprowadzone przeze mnie doświadczenia świadczą o trwałości układu spiroketalowego w obecności amidku diizobutyloglinowego (**Schemat 93, metoda A**). W dalszej części pracy zmieniłam strategię, używając tigogeniny zamiast diosgeniny, którą poddałam reakcji utlenianiu w celu przeprowadzenia jej w bardziej reaktywny układ – lakton w pozycji C26 (**Schemat 93, metoda B**). W wyniku reakcji eteru *t*-butylodimetylosililowego tigogeniny z RuO₄ oraz NaIO₄ otrzymałam produkt utleniania w pozycji C16, który poddałam reakcji z amidkiem diizobutyloglinowym. Zastosowanie łagodnych warunków amidowania wobec hydroksydiketonu **171A** prowadziło do powstania nowej steroidowej iminy **172** oraz produktu kondensacji wewnątrzcząsteczkowej **173** (**Schemat 93, metoda C**).



Schemat 93. Zastosowanie DIBAL/ NH_4Cl w syntezie pochodnych alkaloidów steroidowych.

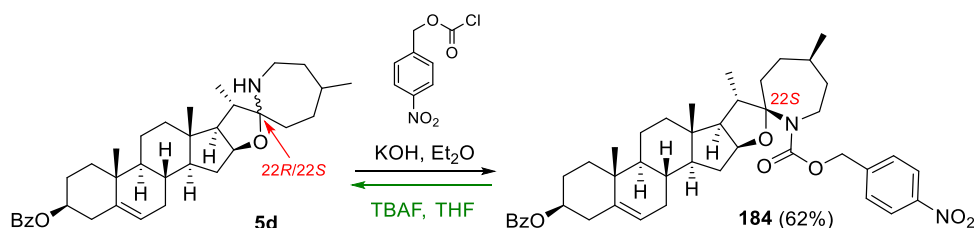
Kolejnym sukcesem było opracowanie dwóch wydajnych syntez F-homoanalogów solasodyny (**5d** oraz **191d**) z benzoesu diosgeniny (**4d**) zawierających siedmioczłonowy pierścień F (**Schemat 94**).



Schemat 94. Otrzymane nowe pochodne F-homosolasodyny **5d** oraz **191d**.

Do uzyskania pierwszej pochodnej 26a-F-homosolasodyny **5** wykorzystałam znaną w literaturze 26-cyjanopseudodiosgeninę **176d**, którą z powodzeniem zredukowałam do aminy alifatycznej. Następnie, przeprowadziłam reakcję zamykania pierścienia siedmioczłonowego i uzyskałam zadowalającą wydajność etapu (53%) stosując $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ jako kwas Lewisa. Produktem cyklizacji była mieszanina amin **5d**, składająca się z epimerów 22*S* i 22*R* w stosunku 2:1 (określono na podstawie ^1H NMR) (**Schemat 94**, **metoda A**). Na podstawie doniesień literaturowych, mieszaninę amin **5** poddałam reakcji z chlorkiem 4-nitrobenzylomrówczanu, co pozwoliło przekształcić ją w pojedynczą *N*-acylową pochodną

184 o określonej konfiguracji *22S* (**Schemat 95**). Struktura ta została potwierdzona spektroskopią NMR oraz analizą rentgenostrukturalną.

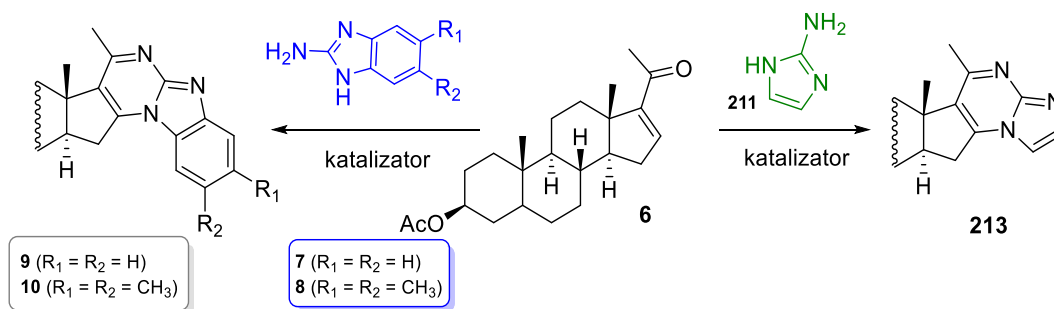


Schemat 95. Przekształcenie mieszaniny aminy **5d** w jedną *N*-acylową pochodną **184**.

W trakcie badań nad syntezą 26a-(*N*)-F-homopochodnej solasodiny przeprowadziłam reakcję benzoesu diosgeniny (**4d**) z TMSCN w obecności BF₃·OEt₂ w wyniku czego otrzymałam (22*R*,25*R*)-3β-benzoiloksy-22-cyjanofurost-5-en-26-ol **185**. Otrzymany związek **185**, z powodzeniem wykorzystałam w syntezie nowej F-homo pochodnej, posiadającej fragment spiroeterowy 5/7 (**Schemat 94**, **metoda B**). Benzoestan 22a(*N*)-F-homosolasodiny **191d** otrzymałam w czterech etapach z wydajnością 62%. Opracowana strategia syntetyczna posłużyła również do otrzymania 22a(*N*)-homosoladulcyny **195** (52%) z benzoesu tigogeniny (**32d**). Łącznie zsyntezowałam trzy F-homopochodne solasodiny – jedną posiadającą układ spiroaminoketalowy (**5**), dwie pochodne z układem spiroeterowym (**191** oraz **195**) oraz pięć nowych *N*-podstawionych pochodnych (**183**, **184**, **199**, **200**, **201**).

Zsyntezowane F-homoanalogi zostały przebadane pod kątem właściwości przeciwnowotworowych na liniach komórkowych różnego pochodzenia oraz pod kątem hamowania aktywności cholinoesteraz. Badania wykazały, że niektóre pochodne posiadają aktywność przeciwnowotworową (np. amina alifatyczna **178**, aminoalkohol **193**, 22a(*N*)-F-homosolasodyna **191** oraz benzoestan 22a(*N*)-homosoladulcyny **195**) lepszą niż sama solasodyna (**1**) (**Tabela 14**). W przypadku działania hamującego enzymów ChE – pochodne benzoestan 22a(*N*)-F-homosolasodiny **191d**, benzoestan 22a(*N*)-homosoladulcyny **195** oraz *N*-podstawiona pochodna **200** w badaniach wykazały lepsze wyniki, niż stosowane w medycynie leki – rywastygmina oraz galantamina (**Tabela 15**).

Opracowałam również ścieżkę syntezy nowych pochodnych pirymidobenzimidazolu **9**, związków zawierających w swojej strukturze fragment steroidowy oraz benzimidazolu. Zbadałam reakcję między octanem 16-dehydropregnenolonu (**6**) i 2-aminobenzimidazolem (**7**), w wyniku czego, powstał aromatyczny produkt **9**. Produktami ubocznymi procesu był D-homoketon **207**, wytwarzany przez konkurencyjne przegrupowanie typu α-hydroksyketonu oraz addukt aza-Michaela **210**. Wykorzystałam opracowaną metodę do utworzenia nowych pochodnych tego typu. Przeprowadziłam reakcję 16-dehydropregnenolonu (**6**) z dwoma aminami: 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem (**8**) oraz z 2-aminoimidazolem (**211**), w wyniku czego otrzymałam kolejno pochodne **10**, **212** oraz **213** (**Schemat 96**).



Schemat 96. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z aminami (**7**, **8**, **211**).

Zsyntezowane przeze mnie pochodne pirymidobenzimidazolu zostały przebadane pod kątem działania antyproliferacyjnego na liniach komórkowych raka prostaty. Wyniki tych badań okazały się bardzo obiecujące, ponieważ większość związków wykazywała silne właściwości hamujące proliferacji komórek nowotworowych, co więcej aktywność ta była dużo większa niż działanie galeteronu.

Wyniki swojej pracy mogę podsumować w kilku punktach:

- 1) opracowałam dwie metody, pozwalające w jednym etapie otworzyć pierścienia F w diosgeninie oraz wprowadzić grupę zawierającą atom azotu w strukturę steroidu (wykorzystałam w tym celu azydki oraz karbaminiany). Uzyskana w ten sposób pochodna – 26-benzylloksykarbonyloaminopseudodiosgenina **165** posłużyła jako produkt pośredni w opracowaniu najkrótszej syntezy piwalanu solasodyny (**Schemat 92**);
- 2) w wyniku badań nad przekształceniem układu spiroketalowego w spirosolan, uzyskałam pochodną solasodyny – steroidową iminę **172** z diosgeniny z wykorzystaniem amidku diizobutyloglinowego (**Schemat 93**);
- 3) opracowałam dwie wydajne syntezy F-homopochodnych solasodyny (**5d** oraz **191d**) oraz ich *N*-podstawione pochodne, z benzoesu diosgeniny (**4d**) – alkaloidów zawierających siedmioczłonowy pierścień F (**Schemat 94**);
- 4) zoptymalizowałam warunki tworzenia steroidowych pirymidobenzimidazoli w wyniku reakcji octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) z pochodnymi benzimidazolu (**7**), (**8**) oraz 2-aminoimidazolem (**211**) (**Schemat 96**).

Spis publikacji

Publikacje dotyczące tej dysertacji:

1. Agnieszka Wojtkielewicz, Paulina Uścińowicz, Leszek Siergiejczyk, Urszula Kielczewska, Artur Ratkiewicz, Jacek W. Morzycki, **A study on the reaction of 16-dehydropregnenolone acetate with 2-aminobenzimidazole**, *Steroids* **2017**, 117, 71-76.
2. Agnieszka Wojtkielewicz, Urszula Kielczewska, Beata Banel, Jacek W. Morzycki, **Study on the reaction of diosgenin acetate with trimethylsilyl azide catalyzed by Lewis acid**, *Steroids* **2019**, 147, 58-61.
3. Agnieszka Wojtkielewicz, Urszula Kielczewska, Jacek W. Morzycki, **Two-step synthesis of solasodine pivalate from diosgenin pivalate**, *Molecules* **2019**, 24 (6), 1132
4. Radek Jorda, Eva Reznickova, Urszula Kielczewska, Jadwiga Maj, Jacek W. Morzycki, Leszek Siergiejczyk, Vaclav Bazgier, Karel Berka, Lucie Rarova, Agnieszka Wojtkielewicz, **Synthesis of novel galeterone derivatives and evaluation of their in vitro activity against prostate cancer cell lines**, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2019**, 179, 483-492.
5. Urszula Kielczewska, Jacek W. Morzycki, Lucie Rarova, Agnieszka Wojtkielewicz, **The synthesis of solasodine F-homo-analogues**, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2019**, 17, 9050–9058.
6. Urszula Kielczewska; Radek Jorda; Gabriel Gonzalez; Jacek W. Morzycki; Haresh Ajani; Katarína Svrčková; Šárka Štěpánková, Agnieszka Wojtkielewicz, **The synthesis and cholinesterase inhibitory activities of solasodine analogues with seven-membered F ring**, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* – publikacja w recenzji.

inne:

7. Agnieszka Wojtkielewicz, Paulina Uścińowicz, Leszek Siergiejczyk, Urszula Kielczewska, Artur Ratkiewicz, Jacek W. Morzycki, **A study on the reaction of 16-dehydropregnenolone acetate with 2-aminobenzimidazole**, *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series* **2016** N3, str. 117, publikacja z doniesienia konferencyjnego
8. Agnieszka Wojtkielewicz, Jacek W. Morzycki, Lucie Rarova, Jiri Gruz, Tomasz Sawczuk, Urszula Kielczewska, Leszek Siergiejczyk, **Synthesis of Aromatic Retinoids and Curcuminoids and Evaluation of their Antiproliferative, Antiradical, and Antiinflammatory Activities**, *ChemistryOpen* **2016**, 5, 339-350.
9. Aneta M. Tomkiel, Urszula Kielczewska, Barbara Seroka, Zenon Łotowski, **Dimeric cholaphanes with disulfide spacers**, *Journal of Sulfur Chemistry* **2017**, 39, 252-266.

Monografie:

Wiele tematów, jedna dziedzina chemia (II), Białystok 2017, wydawnictwo Koło Naukowe Chemików UwB POZYTON

1. "Curry - zwykła przyprawa czy coś więcej? O kurkuminie i jej pochodnych", autor: [Urszula Kielczewska](#)
2. "Solasodyna - struktura, aktywność, synteza", autorzy [Urszula Kielczewska](#), Barbara Seroka
3. Kwasy żółciowe – biosynteza, właściwości, zastosowanie, Autorzy: Barbara Seroka, [Urszula Kielczewska](#)

Rozdział III

Część eksperymentalna

3. Część eksperymentalna

Uwagi ogólne

Widma NMR wykonano na spektrometrze Bruker Ultrashield Plus 400 o częstotliwości podstawowej 400 MHz. Widma NMR wykonano w CDCl_3 , stosując TMS jako wzorzec wewnętrzny. W zamieszczonym opisie widm podano tylko wybrane sygnały. Przesunięcia chemiczne sygnałów podano w jednostkach ppm.

Widma IR zarejestrowano na spektrometrze typu Magna IR 550 firmy Nicolet; widma w podczerwieni wykonano w chloroformie lub metodą całkowitego wewnętrznego odbicia ATR; wartości liczb falowych promieniowania ν podano w jednostkach cm^{-1} .

Widma masowe wykonywane były na spektrometrze masowym AMD 604 na (firmy Agilent) na Uniwersytecie w Białymstoku lub na spektrometrze mas (TOF)LCT firmy Micromass na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

Temperatury topnienia wyznaczono za pomocą aparatu mikroskopowego Koflera typu Boetiusa.

Analiza rentgenograficzna została wykonana na dyfraktometrze Super Nova firmy Agilent, wyposażonego w detektor CCD, przy użyciu monochromatyzowanego grafitem promieniowania $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda=0.7107$).

Produkty **rozdzielano i oczyszczano** za pomocą chromatografii kolumnowej z zastosowaniem żelu krzemionkowego 70-230 mesh (Kieselgel 60F 254) firmy Merck lub 230-400 mesh (J.T. Baker).

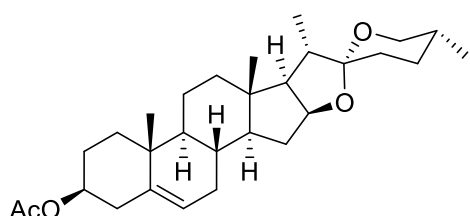
Przebieg reakcji oraz czystość produktów kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) na płytkach aluminiowych pokrytych żelazem krzemionkowym 60 F 254 o grubości 0.2 mm firmy Merck. Położenie substancji na płytkach TLC sprawdzano przy użyciu wywoływacza – roztworu siarczanu ceru (IV), kwasu fosfomolibdenowego w 5% kwasie siarkowym lub roztworu waniliny w etanolu.

Do **reakcji wymagających bezwodnych warunków** stosowano rozpuszczalniki suszone i destylowane, reakcje prowadzono w atmosferze argonu o czystości 99.999%.

Przebieg eksperymentów oraz analiza otrzymanych związków

3. 1. Próby syntezy solasodyny z wykorzystaniem azydków

Synteza octanu diosgeniny 4a

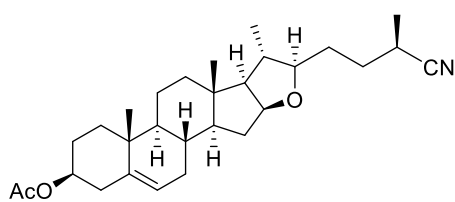


Odważono 1.5 g (3.33 mmol) diosgeniny (**4**), dodano kolejno 25 mL pirydyny, 2.2 mL (0.2 mola) bezwodnika octowego oraz 0.04 g DMAP (0.34 mmola). Reakcję prowadzono przez 16 godzin w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (układ rozwijający heksan : octan etylu 8:2). Mieszaninę reakcyjną wylano do wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 50 mL). Przemyto je następnie 15% roztworem HCl oraz wodnym roztworem NaHCO₃. Osuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Powstały produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej (wypełnienie - silikażel). Produkt **4a** wymyło mieszaniną rozpuszczalników heksan : octan etylu w stosunku 95:5. Otrzymano 1.2 g (76%) octanu diosgeniny. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5.37 (m, 1H, H-6), 4.60 (m, 1H, H-3), 4.40 (m, 1H, H-16), 3.47 (dd, *J*₁ = 1.8 Hz, *J*₂ = 10.6 Hz, 1H, H-26), 3.37 (m, 1H, H-26), 2.32 (m, 2H, H-15), 2.02 (s, 3H, Ac), 1.03 (s, 3H, H-18/19), 0.97-0.96 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-27), 0.80 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H, H-21), 0.79 (s, 3H, H-18/19).

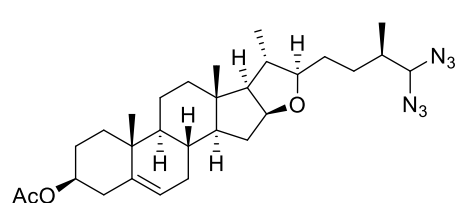
3.1.1. Przebieg reakcji octanu diosgeniny (**4a**) z azydkami w obecności kwasu

Ogólna procedura:

W kolbie okrągłodennej odważono 50 mg (0.11 mmola) octanu diosgeniny (**4a**). Do kolby dodano suchy rozpuszczalnik (2 lub 4 mL chlorku metylenu, benzenu, tetrahydrofuranu lub acetonitrylu) oraz odpowiednią ilość (od 1.1 do 2.2 ekw.) azydku trimetylosililu. Następnie dodano wybrany kwas (od 0.06 do 5 ekw.) TMSOTf, BF₃·OEt₂ lub chlorek cyny(II). Reakcję mieszało na mieszadło magnetyczne w temperaturze pokojowej lub ogrzewano do 40 °C lub 60 °C. Do kontroli reakcji wykorzystano chromatografię cienkowarstwową (układ rozwijający heksan : octan etylu, w stosunku 8:2). Następnie mieszaninę reakcyjną ekstrahowano DCM (3 x 10 mL). Warstwę organiczną suszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Powstałe związki rozdzielono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym, stosując mieszaninę rozpuszczalników heksan : octan etylu (od 94:6 do 90:10). Produkt **152** wyeluowano układem heksan : octan etylu (9:1), natomiast produkt **153** układem heksan: octan etylu w stosunku 96:4. Przeprowadzone reakcje w różnych warunkach zostały pokazane w **Tabeli 1**.

Octan (20*S*,22*R*,25*R*)-25-cyjanofurost-5-en-3β-ylu (152)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5.37 (m, 1H, H-6), 4.59 (m, 1H, H-3), 4.30 (m, 1H, H-16), 3.31 (td, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 5.8$ Hz, 1H, H-22), 2.66 (m, 1H, H-20), 2.32 (m, 2H, H-4), 2.03 (s, 3H, Ac), 1.98 (m, 2H, H-15), 1.32 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-21), 1.03 (s, 3H, H-18/19), 1.02-1.00 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-27), 0.80 (s, 3H, H-18/19). **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 170.4 (C), 139.6 (C), 123.0 (C), 122.2 (CH), 89.5 (CH), 83.3 (CH), 73.8 (CH), 64.8 (CH), 56.8 (CH), 50.1 (CH), 40.6 (C), 39.2 (CH₂), 38.0 (CH₂, CH), 37.1 (CH₂), 36.6 (C), 32.1 (CH₂), 32.1 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.5 (CH), 31.0 (CH₂), 27.6 (CH₂), 25.8 (CH), 21.3 (CH₃), 20.5 (CH₂), 19.2 (CH₃), 18.6 (CH₃), 18.1 (CH₃), 16.3 (CH₃); **MS (EI)** *m/z* (%): 393 (100, M-AcOH), 378 (20.5), 284 (22.3); **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 2241, 1732, 1243, 1033.

Octan (20*S*,22*R*,25*R*)-26,26-diazydofurost-5-en-3β-ylu (153)

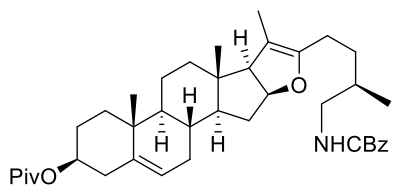
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5.37 (m, 1H, H-6), 4.61 (m, 2H, H-3, 26), 4.30 (m, 1H, H-16), 3.30 (m, 1H, H-22), 2.32 (m, 2H, H-4), 2.01 (s, 3H, Ac), 1.98 (m, 2H, H-15), 1.04 (s, 3H, H-18/19), 1.00 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-21), 0.98 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-27), 0.81 (s, 3H, H-18/19). **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 170.4 (C), 139.6 (C), 122.3 (CH), 89.7 (CH), 83.2 (CH), 82.2 (CH), 73.8 (CH), 65.1 (CH), 56.8 (CH), 50.1 (CH), 40.6 (C), 39.3 (CH₂), 38.4 (CH), 38.0 (CH₂), 37.8 (CH), 37.1 (CH₂), 36.6 (C), 32.2 (CH₂), 32.1 (CH₂), 31.5 (CH), 30.4 (CH₂), 29.2 (CH₂), 27.6 (CH₂), 21.3 (CH₃), 20.5 (CH₂), 19.2 (CH₃), 18.8 (CH₃), 16.3 (CH₃), 14.4 (CH₃); **ESI-MS**: 1071 (2M+Na)⁺, 547 (M+Na)⁺; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 2105, 1734, 1374, 1244, 1033.

3.2. Synteza solasodyny z wykorzystaniem karbaminianów**3.2.1. Reakcja piwalanu diosgeniny (4b) z karbaminianami w obecności kwasu***Przykładowa procedura*

Do rozpuszczonego w chlorku metylenu piwalanu diosgeniny (**4b**) (0.2 g, 0.4 mmol) oraz karbaminianu benzylu (CBzNH₂, 0.127 g, 0.84 mmol) dodano 0.14 mL TMSOTf (0.8 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Mieszaninę reakcyjną wylano do wodnego roztworu NaHCO₃ i ekstrahowano DCM (3 x 100 mL). Warstwę organiczną wysuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Mieszaninę poreakcyjną rozdzielono metodą chromatografii kolumnowej, przy zastosowaniu układu rozpuszczalników heksan : octan etylu, w wyniku czego otrzymano produkty **165** oraz **166**.

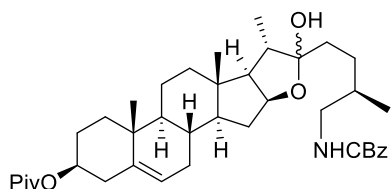
Związki **163** oraz **164** uzyskano w ten sam sposób zastępując karbaminian benzylu karbaminianem metylu. Tabela z optymalizacją warunków dla reakcji z karbaminianem metylu znajduje się na stronie 69, natomiast dla reakcji karbaminianem benzylu na stronie 71.

Piwalan (25*R*)-26-benzylloksykarbonyloaminofurosta-5,20(22)-dien-3β-yli (165)

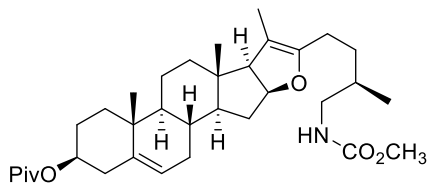


Produkt został wyeluuwany układem heksan : octan etylu (94:6), amorficzne ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 7.36 (m, 5H, H-Bz), 5.39 (m, 1H, H-6), 5.10 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bz}$), 4.84 (m, 1H, H-3), 4.74 (m, 1H, H-16), 4.58 (m, 1H, H-16), 3.10 (m, 2H, H-26), 2.47 (dd, $J_1 = 10.2$, $J_2 = 0.0$, 1H), 2.31 (m, 2H, H-15), 1.59 (s, 3H, H-18/19), 1.19 (s, 9H, Piv), 1.05 (s, 3H, H-21), 0.92 (d, $J = 6.6$, 3H, H-27), 0.68 (s, 3H, H-18/19). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 177.8 (C), 156.6 (C), 151.9 (C), 151.8 (C), 140.2 (C), 137.1 (C), 128.5 (2CH), 128.02 (CH), 127.99 (2CH), 122.2 (CH), 103.7 (C), 84.5 (CH), 73.6 (CH), 66.7 (CH₂), 64.6 (CH), 55.3 (CH), 50.4 (CH), 39.8 (CH₂), 38.7 (C), 38.2 (CH₂), 37.2 (CH₂), 36.9 (C), 34.2 (CH₂), 33.4 (CH), 32.3 (CH₂), 31.7 (CH₂), 31.6 (CH₂), 31.5 (CH), 27.8 (CH₂), 27.2 (3CH₃), 23.3 (CH₂), 21.2 (CH₂), 19.4 (CH₃), 17.5 (CH₃), 14.0 (CH₃), 11.5 (CH₃). ESI-MS 632 [M + H]⁺. HRMS obliczone dla $\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{NO}_5$ 632.4310 (M + H)⁺, znalezione 632.4309; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 3359, 1725, 1532, 1456, 1286, 1163.

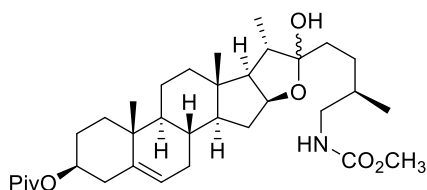
Piwalan (25*R*)-26-benzylloksykarbonyloamino-22ξ-hydroksyfurost-5-en-3β-yli (166)



Produkt został wyeluuwany układem heksan : octan etylu (75:25), amorficzne ciało stałe. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 7.36 (m, 5H, H-Bz), 5.38 (m, 1H, H-6), 5.10 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bz}$), 4.91 (m, 1H, H-16), 4.60 (m, 1H, H-3), 3.12 (m, 2H, H-26), 2.60 (m, 1H, OH), 1.20 (s, 9H, Piv), 1.06 (s, 3H, H-18/19), 0.92 (d, $J = 7.2$, 3H, H-21/27), 0.90 (d, $J = 6.8$, 3H, H-21/27), 0.81 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 178.0 (C), 156.7 (C), 139.8 (C), 136.6 (C), 128.5 (CH_{x3}), 128.1 (CH_{x2}), 122.2 (CH), 110.3 (C), 81.4 (CH), 73.4 (CH), 66.7 (CH₂), 62.7 (CH), 56.4 (CH), 50.0 (CH), 40.6 (C), 40.14 (CH), 40.08 (CH), 39.6 (CH₂), 38.6 (C), 38.0 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.7 (C), 33.7 (CH), 31.9 (CH₂), 31.8 (CH₂), 29.7 (CH₂), 29.3 (CH₂), 27.6 (CH₂), 27.1 (CH_{3x3}), 22.7 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.4 (CH₃), 17.5 (CH₃), 15.5 (CH₃), 14.1 (CH₃). ESI-MS 1321 (2M+Na)⁺, 632 (M+H-H₂O)⁺. HRMS obliczone dla $\text{C}_{80}\text{H}_{118}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{Na}$ 1321.8577 (2M + Na)⁺, znaleziona 1321.8518; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 3372, 1712, 1526, 1447, 1280, 1237, 1153, 1021.

Piwalan (25*R*)-26-metoksykarbonyloaminofurosta-5,20(22)-dien-3β-yłu (163)

Produkt został wyeluowany układem heksan : octan etylu (9:1), amorficzne ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 5.37 (m, 1H, H-6), 4.72 (m, 1H, H-16), 4.57 (m, 1H, H-3), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.06 (m, 2H, H-26), 2.47 (dd, $J_1 = 10.0$ Hz, $J_2 = 0$ Hz, 1H, H-15), 1.58 (s, 3H, H-21), 1.18 (s, 9H, Piv), 1.04 (s, 3H, H-18/19), 0.92-0.90 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-27), 0.68 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 178.0 (C), 157.1 (C), 151.3 (C), 139.7 (C), 122.0 (CH), 103.8 (C), 84.2 (CH), 73.3 (CH), 64.1 (CH), 55.0 (CH), 52.1 (CH_3), 50.1 (CH), 43.2 (C), 39.4 (CH_2), 38.5 (C), 38.1 (CH_2), 37.1 (CH_2), 36.6 (C), 34.0 (CH_2), 32.1 (CH_2), 31.3 (CH_2), 31.2 (CH_2 , CH), 31.1 (CH), 27.5 (CH_2), 27.0 (3x CH_3), 23.1 (CH_2), 21.1 (CH_2), 19.3 (CH_3), 13.8 (CH_3), 13.8 (CH_3), 11.5 (CH_3); ESI-MS 1133 ($2\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 556 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. HRMS obliczony dla $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{NO}_5$ 556.43997 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, znaleziony 556.4004; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 3372, 1710, 1531, 1449, 1359, 1157, 1021.

Piwalan (25*R*)-26-metoksykarbonyloamino-22ξ-hydroksyfurost-5-en-3β-yłu (164)

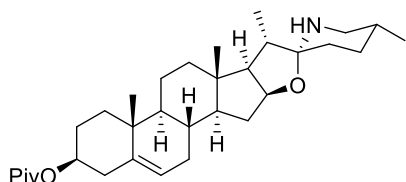
Produkt został wyeluowany układem heksan : octan etylu (6:4), amorficzne ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 5.38 (m, 1H, H-6), 4.79 (m, 1H, H-3), 4.59 (m, 2H, H-16, OH), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.09 (m, 2H, H-26), 2.31 (m, 2H, H-15), 1.19 (s, 9H, Piv), 1.06 (s, 3H, H-18/19), 1.03 (d, $J = 8.5$, 3H, H-21/27), 0.92 (d, $J = 6.6$, 3H, H-21/27), 0.81 (s, 3H, H-18/19). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ/ppm : 178.0 (C), 157.3 (C), 139.8 (C), 122.2 (CH), 110.3 (C), 81.4 (CH), 73.4 (CH), 62.6 (CH), 56.4 (CH), 52.1 (CH_3), 49.9 (CH), 40.6 (C), 40.2 (CH) 39.6 (CH_2), 38.6 (C), 38.0 (CH_2), 37.0 (CH_2), 36.7 (C), 36.6 (CH_2), 33.8 (CH), 32.0 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.4 (CH), 29.7 (CH_2), 27.6 (2x CH_2), 27.1 (3x CH_3), 20.8 (CH_2), 19.4 (CH_3), 16.2 (CH_3), 15.6 (CH_3), 15.5 (CH_3). ESI-MS 1369 ($2\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 574 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. HRMS obliczone dla $\text{C}_{34}\text{H}_{56}\text{NO}_6$ 574.4102 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, znalezione 574.4112; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 3360, 1710, 1523, 1444, 1381, 1286, 1158, 1033.

3.2.2. Reakcja cyklizacji karbaminianu (165)

25 mg (0.04 mmol) 26-Benzyloksykarbonyloaminopseudodiosgeniny **165** rozpuszczono w 10 mL *n*-butanolu, oziębiono w łaźni lodowej i wkropiono 0,012 mL (0.16 mmol, 10 ekw.) bromku acetylu. Reakcję prowadzono w temperaturze 100 °C, kontrolując za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (układ rozwijający heksan : octan etylu w stosunku 7:3). Po odparowaniu alkoholu, zawartość kolby rozpuszczono w chloroformie, dodano 2 mL 0,1 M NaOH i taki dwufazowy układ mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Mieszaninę wylano do wody i ekstrahowano

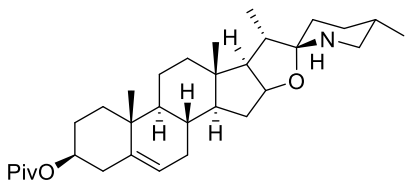
chloroformem (3 x 50mL). Połączone warstwy organiczne osuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Powstałe produkty oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym.

Piwalan solasodyny (1b)



Produkt został wyeluowany układem heksan : octan etylu (65:35-50:50) z wydajnością 53%; bezbarwne kryształy t.t. 211-213 °C (MeOH/CHCl₃). **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5.38 (m, 1H, H-6), 4.58 (m, 1H, H-3), 4.28 (m, 1H, H-16), 2.64 (m, 2H, H-26, H-26'), 2.31 (m, 2H, H-15, H-15'), 1.19 (s, 9H, Piv), 1.06 (s, 3H, H-18/19), 0.96 (d, *J* = 7.0, 3H, H-21/27), 0.86 (d, *J* = 6.2, 3H, H-21/27), 0.82 (s, 3H, H-18/19); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 178.0 (C), 139.9 (C), 122.2 (CH), 98.3 (C), 78.6 (CH), 73.4 (CH), 62.8 (CH), 56.4 (CH), 50.0 (CH), 47.6 (CH₂), 41.2 (CH), 40.5 (C), 39.9 (CH₂), 38.6 (C), 38.0 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.8 (C), 34.1 (CH₂), 32.2 (CH₂), 32.1 (CH₂), 31.4 (2xCH), 30.3 (CH₂), 27.6 (CH₂), 27.1 (3xCH₃), 20.9 (CH₂), 19.4 (CH₃), 19.3 (CH₃), 16.4 (CH₃), 15.3 (CH₃). **ESI MS** 498 [M+H]⁺. HRMS obliczona dla C₃₂H₅₂NO₃ 498.3942 (M+H)⁺, znaleziona 498.3954; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3341, 1713, 1470, 1372, 1289, 1174.

Piwalan 5,6-dehydrotomatydyny (11b)



Produkt został wyeluowany układem heksan/octan etylu (88:12-84:16) z wydajnością 10%; bezbarwne kryształy t.t. 202-203 °C (MeOH/CHCl₃). **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 5.38 (m, 1H, H-6), 4.58 (m, 1H, H-3), 4.15 (m, 1H, H-3), 2.74 (m, 1H, H-26), 2.31 (m, 1H, H-26'), 1.19 (s, 9H, Piv), 1.06 (s, 3H, H-18/19), 0.99 (d, *J* = 6.6, 3H, H-21/27), 0.87 (d, *J* = 6.6, 3H, H-18/19), 0.86 (s, 3H, H-21/27). **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 178.0 (C), 139.9 (C), 122.2 (CH), 99.1 (C), 78.5 (CH), 73.4 (CH), 61.9 (CH), 55.9 (CH), 50.2 (CH₂), 50.0 (CH), 43.0 (CH), 40.6 (C), 39.9 (CH₂), 38.6 (C), 38.0 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.8 (C), 32.8 (CH₂), 32.1 (CH₂), 31.4 (CH), 31.0 (CH), 28.5 (CH₂), 27.6 (CH₂), 27.1 (CH₃x3), 26.6 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.4 (CH₃), 19.3 (CH₃), 16.7 (CH₃), 15.9 (CH₃). **ESI-MS** 498 [M+H]⁺. HRMS obliczony dla C₃₂H₅₂NO₃ 498.3942 (M+H)⁺, znaleziony 498.3945; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3413, 1713, 1457, 1378, 1279, 1151.

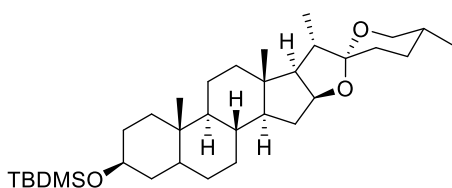
3.2.3. Synteza piwalanu solasodyny (1b) z piwalanu diosgeniny (4b)

Do rozpuszczonego w chlorku metylenu piwalanu diosgeniny (**4b**) (0.09 g, 0.18 mmol) dodano CbzNH₂ (0.054 g, 0.36 mmol), a następnie wkroplono TMSOTf (0.063 mL, 0.35 mmol), reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Mieszaninę

reakcyjną ekstrahowano DCM (3 x 30 mL). Połączone warstwy organiczne wysuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Surowy produkt rozpuszczono w suchym butanolu (10 mL), ochłodzono do 0 °C i dodano 0.3 mL bromku acetylu. Reakcję ogrzewano przez 16 godzin w temperaturze 100 °C. Po odparowaniu alkoholu, zawartość kolby rozpuszczono w chloroformie, dodano 2 mL 0,1M NaOH i taki dwufazowy układ mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 30 minut. Mieszaninę wylano do wody i ekstrahowano chloroformem (3 x 30 mL). Połączone warstwy organiczne osuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Powstałe produkty oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Otrzymano 0.007 g piwalanu 5,6-dehydrotomatydyny (**11b**) (8%, układ wymywający heksan : octan etylu w stosunku 8:2-84:16) oraz 0.04 g piwalanu solasodyny (**1b**) (45%, układ wymywający heksan : octan etylu w stosunku 65:35 - 50:50).

3.3. Synteza pochodnej solasodyny z wykorzystaniem DIBAL i NH₄Cl

Eter *t*-butylodimetylosililowy tigogeniny (**32c**)

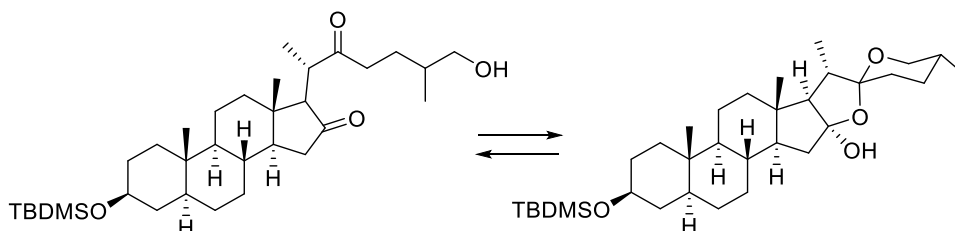


Tigogeninę **32** (145 mg, 0.35 mmol) rozpuszczono w 10 ml chlorku metylenu. Do kolby reakcyjnej dodano 68 mg TBDMSCl (0.45 mmol) oraz 59 mg imidazolu (0.87 mmol). Reakcję prowadzono w atmosferze argonu w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę. Po wytrąceniu białego osadu, rozpuszczalnik odparowano, a produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej na żelu krzemionkowym. Produkt (**32c**) wyeluowano układem heksan: octan etylu (9:1). Otrzymano 180 mg (98%) eteru *t*-butylodimetylosililowego tigogeniny. Postać: białe ciało stałe. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.39 (dd, 1H, *J* = 14.9 Hz, *J* = 7.4 Hz, H-16), 3.54 (m, 1H, H-3), 3.49 (m, 1H, H-26), 3.46 (m, 1H, H-26'), 1.99 (m, 3H, H-6), 0.96 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.89 (s, 9H, *t*-Bu), 0.81 (s, 3H, H-18/19), 0.80 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.76 (s, 3H, H-18/19), 0.05 (s, 6H, Si-(CH₃)₂).

3.3.1. Otrzymywanie 26-hydroksy-3β-*tert*-butylodimetylosililoksy-5α-cholestan-16,22-dionu (**171**)

W kolbie na 100 mL odważono 0.3 ekw. RuO₄ (8 mg, 0.06 mmol) oraz 15 ekw. NaIO₄ (0.64 g, 3 mmol). Rozpuszczono w mieszaninie rozpuszczalników woda/acetone/czterochlorek węgla w proporcjach 8:4:8. Otrzymany roztwór zabarwił się na czarno. Energicznie wytrząsano do pojawienia się żółtej barwy. Do roztworu dodano pierwszą porcję eteru *t*-butylodimetylosililowego tigogeniny (**32c**) (37 mg, 0.07 mol), wytrząsano do czasu zmiany barwy z czarnej na żółtą. Kolejno, dodano drugą (37 mg, 0.07 mol) i trzecią porcję substratu (37 mg, 0.07 mol) i powtórzono procedurę z wytrząsaniem. Pozostawiono na noc na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej. Przebieg reakcji sprawdzono za

pomocą chromatografii TLC. W celu rozłożenia RuO₄ do kolby dodano 2 mL izopropanolu i 2 mL wody destylowanej (do momentu, aż zawartość kolby przestanie się pienić). Następnie ekstrahowano chloroformem (3 x 30 mL), warstwę organiczną przemyto wodą i wysuszono nad Na₂SO₄. Mieszaninę poreakcyjną oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (na żelu krzemionkowym), izolując łącznie dwie formy produktu **171** wyeluowano układem o zmiennej procentowości heksan : octan etylu w stosunku 95:5 - 8:2. Otrzymano łącznie 78 g produktu **171A** i **171B** (70%). Postać: białe ciało stałe, w roztworze związek ten występuje w postaci tautomerów.



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.57 (m, 1H, H-3), 3.46 (m, 2H, H-26'), 2.86 (m, 1H, H-23), 2.57 (m, 1H, H-23'), 2.19 (m, 1H, H-15), 1.99 (m, 1H, H-15'), 2.94 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.88 (s, 9H, *t*-Bu), 0.82 (s, 3H, H-18/19), 0.81 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.76 (s, 3H, H-18/19), 0.04 (s, 6H, Si-(CH₃)₂); **ESI-MS** 547 [M+H]⁺. HRMS obliczone dla C₃₃H₅₉O₄Si (M+H)⁺, 547.4177; znalezione 547.4230; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 2924, 2854, 1456, 1375, 1249, 1173, 1063, 971, 903, 834, 768.

3.3.2. Ogólna procedura reakcji z DIBAL /NH₄Cl

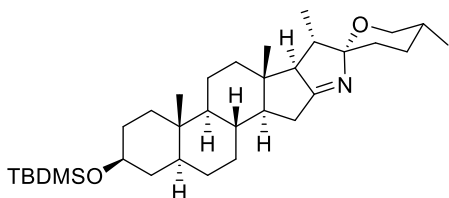
Ogólna procedura:

Do ochłodzonego do 0°C roztworu 42 ekw. NH₄Cl (0.17g, 3.3 mmol) w THF dodano 40 ekw. DIBAL w toluenie (3 mL, 3.14 mmol) i mieszano przez 15 minut na mieszadle magnetycznym. Następnie kolbę wyjęto z łaźni lodowej i reakcję prowadzono w temp. pokojowej. przez 1 godz 45 min. W drugim naczyniu przygotowano roztwór substratu – w tym przypadku **171A** (43 mg, 0.0786 mol) rozpuszczonego w 4 mL THF i dodano do przygotowanego wcześniej kompleksu DIBAL/NH₄Cl. Reakcję ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 66°C przez 16 godzin. Reakcję ochłodzono i kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, która wskazała na powstanie dwóch produktów i niepełną konwersję substratu. Wykonano ekstrakcję z octanem etylu (3 x 30 mL) i oczyszczono na kolumnie chromatograficznej.

Jako substrat została użyta również diosgenina **4** (25 mg, 0.046 mmol) lub eter *t*-butylodimetylosililowy diosgeniny **4c** (25 mg, 0.062 mmol) rozpuszczone w 3 mL suchego rozpuszczalnika (THF, toluenu, dioksanu) dodanego do przygotowanego wcześniej reagenta z DIBAL/NH₄Cl. W niektórych reakcjach dodawano sól (AlCl₃ lub LiBr) bądź sita molekularne (typ 4A). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej lub ogrzewano pod

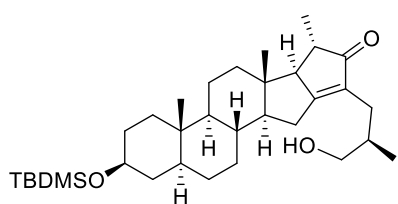
chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 16 godzin. Reakcję kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, wykonywano ekstrakcję z octanem etylu (3 x 30 mL) i powtórzono płytkę TLC (**Tabela 6** oraz **Tabela 7**).

(25*R*)-3β-*t*-butyldimetylosililoksy-16-aza-spirost-16(*N*)-en (**172**)



Produkt **172** otrzymano wg ogólnej procedury w reakcji związku **171A** z użyciem tworzącego się z DIBAL i NH₄Cl amidku diizobutyloglinowego. Związek **172** został wyeluowany układem heksan : octan etylu, w stosunku 85:15. Otrzymano 11.6 mg (0.022 mol, 27%) produktu. Postać: białe ciało stałe (heksan/octan etylu). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.59 – 3.51 (m, 2H, H-3, H-26), 3.44 (t, *J* = 21.0 Hz, *J* = 10.9 Hz, 1H, H-26'), 2.52 (d, *J* = 7.9 Hz 1H, H-15), 2.41 (dd, *J* = 17.6 Hz, *J* = 7.5 Hz 1H, H-15'), 1.00 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.89 (s, 9H, *t*-Bu), 0.83 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.82 (s, 3H, H-18/19), 0.60 (s, 3H, H-18/19), 0.059 (s, 6H, Si-(CH₃)₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 193.19 (C), 107.63 (C), 72.06 (CH), 70.64 (CH), 69.08 (CH₂), 56.83 (CH₂), 56.8 (CH), 54.49 (CH), 45.0 (CH), 42.7 (CH), 39.8 (C), 38.6 (CH₂), 38.3 (CH₂), 37.0 (CH₂), 35.7 (C), 35.1 (CH), 33.7 (CH₂), 32.3 (CH₂), 31.9 (CH₂), 30.8 (CH), 29.3 (CH₂), 28.7 (CH₂), 28.5 (CH₂), 25.9 (3xCH₃), 20.9 (CH₂), 18.3 (C), 17.2 (CH₃), 13.5 (CH₃), 12.4 (CH₃), 12.4 (CH₃), -4.6 (2xCH₃); **ESI-MS** 528 [M+H]⁺. **HRMS** obliczone dla C₃₃H₅₈NO₂Si (M+H)⁺, 528.4231; znalezione 528.4297; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 2925, 2854, 1728, 1667, 1457, 1373, 1248, 1173, 1063, 978, 835, 651.

3β-*t*-butyldimetylosililoksy-26-hydroksy-16,23-cyklo-5α-cholest-16(23)-en-22-on (**173**)

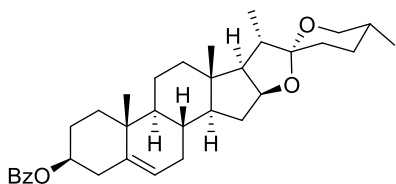


Produkt (**173**) otrzymano wg ogólnej procedury w reakcji związku **171A** z DIBAL/NH₄Cl. Został wyeluowany układem heksan : octan etylu 7:3. Otrzymano 10.6 mg (0.02 mol, 25%) produktu. Postać: białe ciało stałe, amorficzne. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.59-3.51 (m, 2H, H-3, H-26), 3.44 (m, 1H, H-26'), 3.10 (m, 1H, H-16), 2.52 (m, 1H, H- a/b), 2.40 (m, 1H, H-a/b), 2.30 (m, 1H, H-a'/b'), 2.20 (m, 1H, H-a'/b'), 1.20 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, H-27), 1.00 (s, 9H, *t*-Bu), 0.89 (s, 3H, H-18/19) 0.83 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H, H-21/H-27), 0.60 (s, 3H, H-18/19), 0.059 (s, 6H, Si-(CH₃)₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 214.9 (C), 183.9 (C), 134.1 (C), 72.0 (CH), 70.0 (CH₂), 65.8 (CH₂), 55.9 (CH), 54.7 (CH), 45.0 (CH), 42.8 (CH), 41.2 (C), 38.6 (CH₂), 37.9 (CH₂), 37.1 (CH₂), 35.7 (C), 35.2 (CH), 35.0 (CH), 32.2 (CH₂), 31.8 (CH₂), 28.5 (CH₂), 28.0 (CH₂), 26.2 (CH₂), 25.9 (3xCH₃), 20.9 (CH₂), 18.3 (C), 16.4 (CH₃), 14.5 (CH₃), 12.4 (CH₃), 12.4 (CH₃), -4.6 (2xCH₃); **ESI-MS** 529 [M+H]⁺. **HRMS** obliczone dla C₃₃H₅₇O₃Si

(M+H)⁺, 529.4071; znalezione 529.4062; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 3431, 2924, 2852, 1697, 1654, 1456, 1373, 1248, 1080, 834, 772.

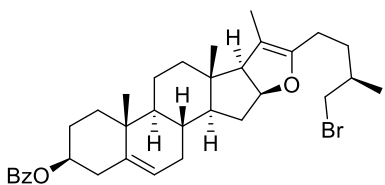
3.4. Synteza 26a-F-homosolasodyny z benzoesanu diosgeniny

Synteza benzoesanu diosgeniny (4d)



Do kolby okrągłodennej o pojemności 50 mL wprowadzono 1.8 g (4.3 mmola) diosgeniny (**4**) i 25 mL pirydyny. Dodano 0.99 mL (8.5 mmola) chlorku benzoilu i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (układ rozwijający heksan : octan etylu w stosunku 9:1). Do mieszaniny reakcyjnej dodano 15% roztworu HCl i ekstrahowano trzykrotnie chlorkiem metylenu (3 x 200mL). Połączone warstwy organiczne przemyto wodnym roztworem NaHCO₃ oraz osuszono nad bezwodnym Na₂SO₄. Powstały produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym w celu oddzielenia nieprzereagowanego substratu. Produkt **4d** wyeluowano układem heksan : octan etylu (49:1). Otrzymano 1.39 g (98%) benzoesanu diosgeniny. Postać: białe ciało stałe. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.53 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.43 (m, 1H, H-3), 4.86 (m, 1H, H-6), 4.43 (m, 1H, H-16), 3.49 (m, 1H, H-26), 3.39 (m, 1H, H-26'), 2.48 (m, 3H, H-15), 1.10 (s, 3H, H-18/19), 0.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-21/H-27), 0.81 (s, 3H, H-18/19), 0.80 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-21/H-27); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 165.9 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 122.5 (CH), 109.2 (C), 80.8 (CH), 74.4 (CH), 66.8 (CH₂), 62.1 (CH), 56.4 (CH), 49.9 (CH), 41.6 (CH), 40.2 (C), 39.7 (CH₂), 38.2 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.8 (C), 32.0 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.39 (CH), 31.36 (CH₂), 30.3 (CH), 28.8 (CH₂), 27.8 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.4 (CH₃), 17.1 (CH₃), 16.3 (CH₃), 14.5 (CH₃); **ESI-MS** 519 [M+H]⁺. HRMS obliczone dla C₃₄H₄₆NO₄ (M+H)⁺, 519.3469; znalezione 519.3423; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 2948, 1707, 1590, 1448, 1370, 1269, 1717, 1105, 1058, 974, 902, 702.

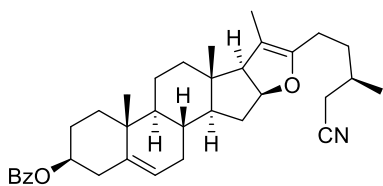
Benzoesan 26-brompseudodiosgeniny (75d)



Do kolby okrągłodennej o pojemności 25 mL odważono 0.9 g benzoesanu diosgeniny (**4d**) (1.7 mmola), 0.92 g bromku litu (10.7 mmola) i rozpuszczono w chlorku metylenu (28 mL) i acetonitrylu (7 mL). Dodano 1.36 mL BF₃·OEt₂ (11 mmola) i mieszano na mieszadle magnetycznym przez 3 godziny w temperaturze pokojowej. Reakcję zakończono dodając 10 mL wodnego roztworu NaHCO₃ i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 200mL). Połączone warstwy organiczne przemyto wodnym roztworem NaCl i wysuszono Na₂SO₄. Rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej, surowy produkt przeniesiono do kolby o pojemności 10 mL, dodano 5 mL DMF i ogrzewano w 65°C przez

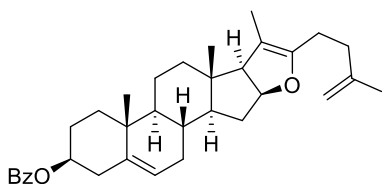
dwie godziny. Następnie rozpuszczalnik wraz z dodatkiem benzenu, odparowano. Produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując układ rozpuszczalników: heksan : octan etylenu (98:2). Otrzymano steroidowy bromek **75d** w postaci białego proszku w ilości 0.612g (1.05 mmol, 76%). T.t. 235-237°C (heksan/octan etylu); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (m, 2H, H-Bz), 7.54 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.43 (m, 1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.75 (ddd, $J_1=10.2$ Hz, $J_2=7.8$ Hz, $J_3=5.7$ Hz, 1H, H-16), 3.42 (dd, $J_1=9.8$ Hz, $J_2=4.6$ Hz, 1H, H-26), 3.33 (dd, $J_1=9.8$ Hz, $J_2=6.3$ Hz, 1H, H-26'), 2.49 (m, 3H), 1.61 (s, 3H, H-21), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.03 (d, $J=6.6$ Hz, 3H, H-27), 0.71 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0 (C), 151.2 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.3 (2xCH), 122.4 (CH), 104.0 (C), 84.4 (CH), 74.5 (CH), 64.2 (CH), 55.0 (CH), 50.0 (CH), 43.3 (C), 41.2 (CH_2), 39.5 (CH_2), 38.2 (CH_2), 37.0 (CH_2), 36.8 (C), 34.6 (CH), 34.1 (CH_2), 32.24 (CH_2), 32.20 (CH_2), 31.2 (CH), 27.9 (CH_2), 23.2 (CH_2), 21.0 (CH_2), 19.4 (CH_3), 18.6 (CH_3), 14.0 (CH_3), 11.7 (CH_3); **ESI-MS** 581 oraz 583 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS obliczona dla $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{BrO}_3$ ($\text{M}+\text{H})^+$, 581.2625 (dla $\text{C}_{34}\text{H}_{46}^{79}\text{BrO}_3$) oraz 583.3447 (dla $\text{C}_{34}\text{H}_{46}^{81}\text{BrO}_3$), znaleziona 581.2573, 583.2582; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2933, 1709, 1595, 1451, 1371, 1270, 1172, 1107, 1059, 991, 977, 904, 796, 703.

Benzoesan 26-cyjanopseudodiosgeniny (176d)



Do roztworu steroidowego bromku **75d** (0.387 g, 0.67 mmol) rozpuszczonego w 10 mL suchego THF, dodano TMSCN (0.167 mL, 1.33 mmol) oraz TBAF (1.33 mL, 1.33 mmol) w atmosferze argonu. Reakcję mieszało na mieszadle magnetycznym w 40°C przez dwie doby, kontrolując jej przebieg. Po zakończeniu, rozpuszczalnik odparowano na wyparce, produkt oczyszczano za pomocą DFC (na żelu krzemionkowym), używając układu heksan : octan etylu (8:2). Produkt (**176d**) otrzymano w postaci białego proszku, w ilości 0.290 g (0.55 mmol, 69%). T.t. 92 - 95°C (heksan/octan etylu); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.03 (m, 2H, H-Bz), 7.53 (m, 1H, H-Bz), 7.42 (m, 1 H, H-Bz), 5.41 (m, 1H, H-6), 4.85 (m, 1H, H-3), 4.74 (ddd, $J_1=10.0$ Hz, $J_2=7.8$ Hz, $J_3=5.8$ Hz, 1H, H-16), 2.48 (m, 3H), 1.59 (s, 3H, H-21), 1.078 (s, 3H, H-18/19), 1.076 (d, $J=6.6$ Hz, 3H, H-27), 0.69 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 165.8 (C), 150.6 (C), 139.6 (C), 132.6 (CH), 130.7 (C), 129.4 (2xCH), 128.1 (2xCH), 122.3 (CH), 118.6 (C), 104.2 (C), 84.3 (CH), 74.3 (CH), 64.0 (CH), 54.8 (CH), 49.8 (CH), 43.1 (C), 39.3 (CH_2), 38.1 (CH_2), 36.9 (CH_2), 36.6 (C), 34.0 (CH_2), 33.1 (CH_2), 32.1 (CH_2), 31.1 (CH), 29.8 (CH), 27.7 (CH_2), 24.2 (CH_2), 23.0 (CH_2), 20.8 (CH_2), 19.3 (CH_3), 19.1 (CH_3), 13.8 (CH_3), 11.5 (CH_3); **ESI-MS** 528 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS obliczona $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{NO}_3$ ($\text{M}+\text{H})^+$, 528.3472; znaleziona 528.3447, **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2936, 2242, 1710, 1451, 1373, 1272, 1170, 1111, 1058, 1021, 710.

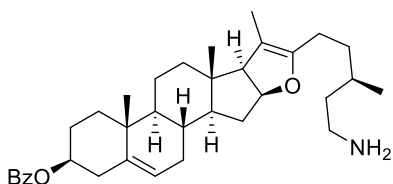
Benzoesan furosta-5,20(22),26-trien-3 β -ylu (177)



Warunki tworzenia związku **177** podane są w **Tabeli 8**; postać: amorficzne białe ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 5.44 (m, 1H, H-6), 4.88 (m, 1H, H-16),

4.76 (s, 1H, H-26, H-26'), 4.72 (m, 1H, H-3), 2.49 (m, 4H), 2.22 (s, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.74 (s, 3H, H-18/H-19), 1.10 (s, 3H), 0.71 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0 (C), 151.4 (C), 145.4 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.9 (2 \times CH_2), 128.3 (2 \times CH_2), 122.5 (CH), 109.9 (CH_2), 103.7 (C), 84.3 (CH), 74.5 (CH), 64.2 (CH), 54.9 (CH), 50.0 (CH), 43.2 (C), 39.5 (CH_2), 38.2 (CH_2), 37.0 (CH_2), 36.7 (CH_2), 35.2 (CH_2), 34.1 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.2 (CH), 27.6 (CH_2), 24.4 (CH_2), 22.4 (CH_3), 21.0 (CH_2), 19.4 (CH_3), 13.9 (CH_3), 11.6 (CH_3); **MS ESI** 501 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2922, 2854, 1707, 1660, 1451, 1277, 1112, 1030, 710.

Benzoesan 26a-amino-26a-homopseudodiosgeniny (178)

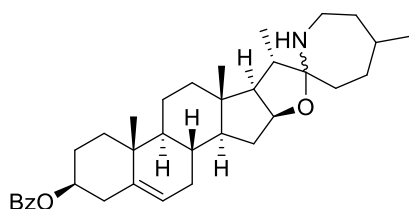


Steroidowy nitryl **176d** (436 mg, 0.83 mmol) rozpuszczono w metanolu (30 mL) i chlorku metylenu (10 mL). Do ochłodzonego w łaźni lodowej roztworu substratu dodano $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.647 g, 2.73 mmol), a następnie po rozpuszczeniu soli, dodano ostrożnie NaBH_4 (dodawany

w trzech porcjach w odstępie 10 minut). Roztwór zmienił zabarwienie z różowego na czarny. Kolbę reakcyjną wyjęto z łaźni lodowej i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Reakcję zakończono przez dodanie 4 g żelu krzemionkowego do kolby reakcyjnej i przy użyciu reduktora ze spiekami, odparowano mieszaninę rozpuszczalników na wyparce próżniowej. Zawartość kolby naniesiono na kolumnę z żelami krzemionkowymi, produkt wmywano mieszaniną rozpuszczalników chloroform : metanol (9:1). Uzyskano produkt **178** w postaci beżowego ciała stałego w ilości 0.402 g (0.757 mmol) z wydajnością 93% T.t. 98 - 101°C (chloroform/metanol); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.01 (m, 2H, H-Bz), 7.51 (m, 1H, H-Bz), 7.40 (m, 2H, H-Bz), 5.39 (m, 1H, H-6), 4.86-4.83 (m, 1H, H-3), 4.71 (ddd, $J_1 = 10.0$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, $J_3 = 5.7$ Hz, 1H, H-16), 3.15 (bs, 2H, H- NH_2), 2.73 (m, 2H, H-26a, H-26a'), 2.45 (m, 3H), 1.58 (s, 3H, H-21), 1.06 (s, 3H, H-18/19), 0.88 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-27), 0.68 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 165.8 (C), 151.7 (C), 139.5 (C), 132.6 (CH), 130.6 (C), 129.4 (2 \times CH), 128.1 (2 \times CH), 122.3 (CH), 103.3 (C), 84.1 (CH), 74.3 (CH), 64.0 (CH), 54.8 (CH), 49.8 (CH), 43.1 (C), 39.55 (CH_2), 39.47 (CH_2), 39.4 (CH_2), 38.1 (CH_2), 36.9 (CH_2), 36.6 (C), 34.1 (CH_2), 34.0 (CH_2), 32.1 (CH_2), 31.1 (CH), 30.0 (CH), 27.7 (CH_2), 23.2 (CH_2), 20.8 (CH_2), 19.3 (2 \times CH_3),

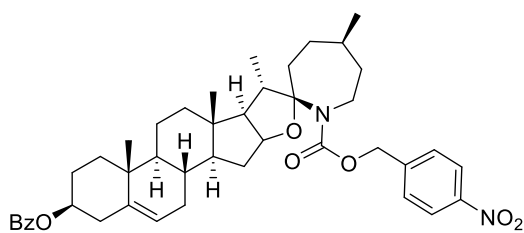
13.8 (CH₃), 11.6 (CH₃); **ESI-MS** 532 [M+H]⁺. HRMS obliczone dla C₃₅H₅₀NO₃ (M+H)⁺, 532.3785; znalezione 532.3772; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 3411, 2942, 1713, 1665, 1450, 1369, 1276, 1115, 1025, 713.

Benzoesan (22*R*/22*S*)-26a-homospirosol-5-en-3 β -ylu (**5d**)



Do roztworu steroidowej aminy **178** (0.138 g, 0.26 mmol) w chlorku metylenu (16 mL) pod argonem dodano MgBr·OEt₂ (0.142 g, 0.55 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze 40 °C przez dwa dni. Następnie reakcję zakończono i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 50 mL). Warstwę organiczną przemyto roztworem NaCl, wysuszono nad Na₂SO₄ i zatężono na wyparce. Zawartość kolby naniesiono na kolumnę, produkt wymywno mieszaniną rozpuszczalników heksan : octan etylu (75:25), uzyskując mieszaninę amin (**5d**) w postaci beżowego ciała stałego w ilości (0.073 g, 0.14 mmol, 53%). Stosunek epimerów określono za pomocą widma ¹H NMR i wynosił on 1:2. T.t. 162-165 °C; Analiza widm dla mieszaniny 22-epimerów: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.32 (m, 1H, 16 α -H epimeru 22*S*), 4.13 (m, 1H, 16 α -H od epimeru 22*R*), 3.03 (m, 2H, 26a-H od epimerów 22*R* i 22*S*), 2.85 (m, 1H, 26a-H od epimeru 22*R*), 2.63 (m, 1H, 26a-H od epimeru 22*S*), 2.47 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.04 (d, J = 6.4 Hz, 3H, H-21/27), 0.92 (d, J = 5.9 Hz, 3H, H-21/27), 0.85 (s, 3H, H-18/19); **ESI-MS** 532 [M+H]⁺. HRMS obliczone dla C₃₅H₅₀NO₃ (M+H)⁺, 532.3785; znalezione 532.3752; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 3410, 2922, 2856, 1713, 1456, 1272, 1110.

Benzoesan (22*S*,25*R*)-*N*-(*p*-nitrobenzyloksykarbonylo)-26a-homospirosol-5-en-3 β -ylu (**184**)



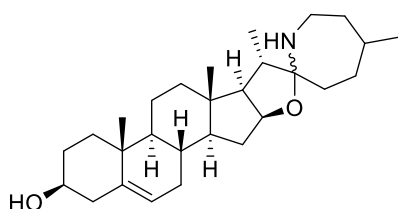
Do mieszaniny amin **5d** (0.042 g, 0.079 mmol) rozpuszczonych w suchym Et₂O (12 mL) dodano chloromrówczanu 4-nitrobenzylu (0.036 g, 0.166 mmol) oraz 1 M KOH (0.03 mL, 1.09 mmol). Reakcja prowadzono w temperaturze pokojowej przez 48 godz. Następnie mieszaninę reakcyjną przesączono przez lejek ze spiekem wypełnionym Al₂O₃ i górną warstwą sproszkowanego KOH. Produkt został przesączony mieszaniną rozpuszczalników heksan : octan etylu (46:8) dając produkt **184** (0.034 g, 0.049 mmol, 62%) w postaci białego ciała stałego. Otrzymany związek przekrystalizowano w mieszaninie rozpuszczalników metanol : chlorek metylenu, uzyskując białawe kryształy o t.t. 175-177 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (m, 2H, H-Bz), 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.54 (m, 3H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 1H, H-6), 5.25 (d, J = 4.6, 2H, H-29 lub Ha), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.29 (m, 1H, H-16), 3.74 (m, 1H, H-26a/26a'), 3.53 (m,

1H, H-26a/26a'), 3.13 (m, 1H, H-20), 2.48 (m, 2H, H-4, H-4'), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.08 (d, $J = 7.9$ Hz, 3H, H-27/21), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-27/21), 0.88 (s, 3H, H-18/19); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0 (C), 154.5 (C), 147.5 (C), 144.6 (C), 139.8 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.3 (2xCH), 127.9 (2xCH), 123.7 (2xCH), 122.4 (CH), 103.6 (C), 79.6 (CH), 74.4 (CH), 65.1 (CH_2), 63.0 (CH), 56.0 (CH), 50.0 (CH), 43.0 (CH_2), 41.0 (C), 39.91 (CH_2), 39.86 (CH), 38.2 (CH_2), 37.3 (CH_2), 37.0 (CH_2), 36.8 (C), 32.3 (CH_2), 32.1 (CH_2), 31.2 (2xCH), 30.5 (CH_2), 29.4 (CH_2), 27.8 (CH_2), 22.4 (CH_3), 20.8 (CH_2), 19.4 (CH_3), 17.1 (CH_3), 15.9 (CH_3) **ESI-MS** 711 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **HRMS** obliczony dla $\text{C}_{43}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_7$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 711.4004; znaleziony 711.4018; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2930, 2859, 1745, 1605, 1523, 1453, 1348, 1259, 1009, 851.

Odbezpieczanie grupy aminowej w karbaminianie 184

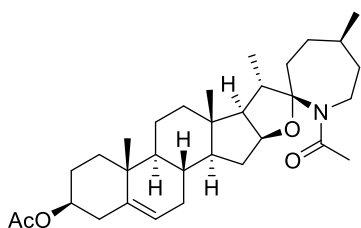
Do roztworu karbaminianu (34 mg, 0.047 mmol) w THF (10 ml) dodano 1 mL TBAF (0.956 mmola), pozostawiono na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej na 48 godzin. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodano wody i ekstrahowano chlorkiem metylenu. Warstwę organiczną wysuszono nad Na_2SO_4 i odparowano na wyparce próżniowej. Produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (na żelu krzemionkowym) wymywając związek mieszaniną heksan : octan etylu w stosunku 3:1, otrzymując mieszaninę amin **5d** w ilości 25 mg (0.047mmol, 52%) w postaci beżowego ciała stałego. Analiza spektralna benzoesu (*22R/22S*)-26a-homospirosol-5-en-3 β -ylu **5d** znajduje się na stronie 129.

Synteza 26a-homosolasodyny (5)



Do roztworu benzoesu 26a-homospirosol-5-en-3 β -ylu **5d** (0.025 g, 0.035 mmol) rozpuszczonego w metanolu (5 mL), dodano K_2CO_3 (0.04 g, 0.29 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej, mieszaninę produktów oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej (na żelu krzemionkowym) używając rozpuszczalników chloroform : metanol (9:1) otrzymując biały proszek **5d** z wydajnością 88% (0.022 g, 0.05 mmol). Surowy produkt poddano acetylowaniu.

Synteza octanu *N*-acetylo-26a-homosolasodyny (183)

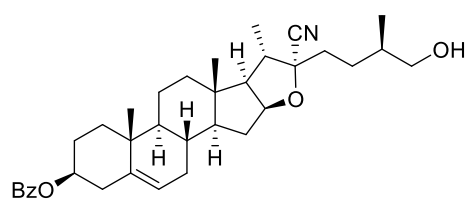


Do roztworu 26a-homosolasodyny **5** (12 mg, 0.023 mmol) rozpuszczonej w pirydynie (2 mL) dodano chlorku acetylu (0.03 mL, 2.5 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Następnie mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 20 mL). Warstwę organiczną przemyto NaHCO_3 , wysuszono na środka suszącym oraz zatężono na wyparce próżniowej. Produkt oczyszczono za pomocą chromatografii

kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent heksan : octan etylu w stosunku 95:5. Otrzymano (**183**) w postaci białego ciała stałego z 91% wydajnością (9 mg, 0.017 mmola). T.t.142-144°C (heksan/octan etylu). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.38 (m, 1H, H-6), 4.59 (m, 1H, H-3), 4.59 (m, 1H, H-16), 4.37 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.24 (m, 1H, H-26, H-26'), 2.70 (m, 1H, H-26, H-26'), 2.19 (s, 3H, Ac-NH₂), 2.04 (s, 3H, Ac-OH), 1.17 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, H-21/27), 1.04 (s, 3H, H-18/19), 0.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-21/27), 0.80 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 170.8 (C), 170.5 (C), 139.8 (C), 122.2 (CH), 104.4 (C), 80.2 (CH), 73.9 (2xCH), 56.3 (CH), 50.0 (2xCH), 42.1 (C), 39.4 (CH₂), 38.1 (2xCH₂), 37.0 (CH₂), 36.7 (C), 32.5 (CH₂), 32.0 (CH₂), 31.4 (CH), 29.7 (CH₂), 29.4 (CH₂), 27.7 (2xCH₂), 21.4 (CH₃), 20.6 (CH₂), 19.3 (2xCH₃), 15.1 (CH₃), 14.1 (CH₃); **ESI-MS** 512 [M + H]⁺. HRMS obliczony dla C₃₂H₄₉NO₄ [M + H]⁺, 512.3734; znalezione dla 512.3756; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3412, 1919, 2857, 1721, 1643, 1445, 1362, 1240, 1095, 1033.

3.5. Synteza 22a(N)-F-homosolasodyny z benzoesanu diosgeniny

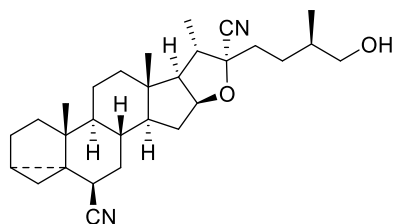
Synteza (22R,25R)-3 β -benzoiloksy-22-cyjanofurosta-5-en-26-olu (**185**)



Benzoesan diosgeniny **4d** (155 mg, 0.3 mmol) rozpuszczono w mieszaninie chlorek metylenu (8 mL) oraz MeCN (2 mL). Do roztworu dodano kolejno TMSCN (0.02 mL, 0.149 mmol) oraz BF₃·OEt₂ (0.02 mL, 1.793 mmol). Reakcję prowadzono

w temperaturze pokojowej. Kontrola za pomocą chromatografii TLC wykazała, iż już po 10 minutach substrat całkowicie przereagował. Do mieszaniny reakcyjnej dodano niewielką ilość roztworu NaHCO₃, następnie ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 50 mL). Warstwę organiczną przemyto solanką, a następnie osuszono nad Na₂SO₄. Oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (na żelu krzemionkowym), stosując wymywanie mieszaniną heksanu i octanu etylu (7:3) otrzymując **185** z wydajnością 57% (113 mg, 0.207 mmol). Otrzymano biały produkt o t.t. 183-185°C (heksan/octan etylu); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.54 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 1H, H-6), 4.85 (m, 1H, H-3), 4.63 (m, 1H, H-16), 3.50 (m, 2H, H-26), 2.47 (m, 2H, H-6), 1.22 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-21/27), 1.08 (s, 3H, H-18/19), 0.95 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, H-21/27), 0.82 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 165.9 (C), 139.6 (C), 132.7 (CH), 130.7 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 122.2 (CH), 118.6 (C), 89.0 (C), 84.1 (CH), 74.3 (CH), 67.7 (CH₂), 62.9 (CH), 56.7 (CH), 49.7 (CH), 41.9 (CH), 40.7 (C), 39.2 (CH₂), 38.1 (CH₂), 36.9 (CH₂), 36.7 (C), 35.5 (CH), 34.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 31.5 (CH₂), 31.4 (CH), 28.2 (CH₂), 27.8 (CH₂), 20.6 (CH₂), 19.3 (CH₃), 17.1 (CH₃), 16.5 (CH₃), 16.4 (CH₃); **ESI-MS** 546 [M+H]⁺. HRMS obliczony C₃₅H₄₈NO₄ (M+H)⁺, 546.3578; znaleziony 546.3540; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3442, 2922, 2857, 2021, 1701, 1452, 1275, 1110, 1021, 805, 715.

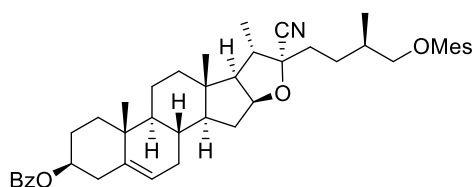
6 β ,22 α -dicyjano-26-hydroksy-3 α ,5 α -cyklofurostan (192)



W przypadku stosowania dużych nadmiarów TMSCN (6 ekw.) oraz $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (6 ekw.) w wyżej opisanej procedurze powstawał *i*-steroid **192**. Warunki reakcji dla tworzącego się produktu ubocznego podane są w **Tabeli 12**. Postać: amorficzne ciało stałe; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.64

(m, 1H, H-16), 3.52 (m, 1H, H-26, H-26'), 1.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-21/27), 1.15 (s, 3H, H-18/19), 0.97 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-21/27), 0.88 (s, 3H, H-18/19), 0.69 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 1H, H-4/H-4'), 0.39 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, H-4/H-4'); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 122.1 (C), 118.6 (C), 89.1 (C), 83.9 (CH), 67.8 (CH₂), 63.1 (CH), 56.0 (CH), 47.4 (CH), 43.3 (C), 42.0 (CH), 41.2 (CH), 39.6 (CH₂), 35.6 (CH), 34.8 (CH₂), 33.9 (CH₂), 33.2 (CH₂), 32.5 (CH), 32.2 (CH), 31.4 (CH₂), 29.7 (CH₂), 28.2 (CH₂), 26.2 (C), 24.6 (CH₂), 22.3 (CH₂), 18.6 (CH₃), 17.1 (CH₃), 16.8 (CH₃), 16.6 (CH₃), 12.6 (CH₂); **ESI-MS** 424 $[\text{M}-\text{HCN}]^+$, 473 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 923 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2921, 2856, 2236, 1735, 1456, 1376, 1251, 1094, 1051, 906.

Synteza (22*R*,25*R*)-3 β -benzoiloksy-22-cyjano-26-metylosulfonyloksyfurost-5-en-26-ylu (186)

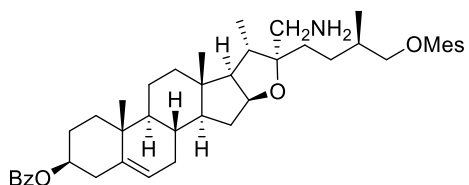


Steroidowy nityl **185** (95 mg, 0.17 mmol) rozpuszczono w chlorku metylenu (10 mL) i ochłodzono do 0 °C. Dodano kolejno Et_3N (0.04 mL, 0.26 mmol) oraz roztwór MesCl (0.02 mL, 0.209 mmol) rozpuszczony w 5 mL chlorku metylenu. Po 30

minutach kolbę reakcyjną wyjęto z łaźni lodowej i doprowadzono do temperatury pokojowej. Po 16 godzinach dodano wodnego roztworu NaHCO_3 i ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 50 mL). Warstwę organiczną przemyto solanką, a następnie osuszono nad Na_2SO_4 . Oczyszczono za pomocą DFC, stosując wymywanie mieszaniną heksanu i octanu etylu (7:3) otrzymano **186** z wydajnością 97% (83 mg, 0.133 mmol). Otrzymano biały produkt o t.t. 197-199 °C (heksan/octan etylu); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.63 (m, 1H, H-16), 4.10 (m, 2H, H-26, H-26'), 3.03 (s, 3H, H-Mes), 2.48 (m, 2H), 1.22 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-21/27), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.04 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-21/27), 0.82 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 165.8 (C), 139.6 (C), 132.7 (CH), 130.6 (C), 129.4 (2xCH), 128.2 (2xCH), 122.1 (CH), 118.3 (C), 88.7 (C), 84.1 (CH), 74.2 (CH), 73.5 (CH₂), 62.8 (CH), 56.6 (CH), 49.6 (CH), 41.9 (CH), 40.6 (C), 39.1 (CH₂), 38.0 (CH₂), 37.2 (CH₃), 36.8 (CH₂), 36.6 (C), 34.3 (CH₂), 32.7 (CH), 31.8 (CH₂), 31.4 (CH₂), 31.3 (CH), 27.8 (CH₂), 27.7 (CH₂), 20.5 (CH₂), 19.3 (CH₃), 17.0 (CH₃), 16.4 (CH₃) 16.3 (CH₃); **ESI-MS**: 597 $[\text{M}-\text{CN}]^+$, 683

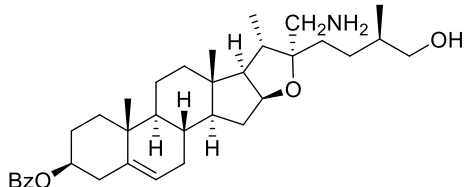
$[M+AcOH]^+$, 1269 $[2M+Na]^+$; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2921, 2854, 1705, 1454, 1344, 1273, 1172, 1109, 969, 822, 711.

Synteza (22*R*,25*R*)-22-aminometylo-3 β -benzoiloksy-26-metylosulfonyloksyfurost-5-enu (194)



Steroidowy nityl **186** (29 mg, 0.047 mmol) rozpuszczono w metanolu (25 mL) i chlorku metylenu (4 mL). Do ochłodzonego w łaźni lodowej roztworu substratu dodano $NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ (0.06 mg, 25 μ mol), a następnie po rozpuszczeniu soli, dodano w trzech porcjach i odstępnie 10 minut $NaBH_4$ (0.023 mg, 0.65 μ mol). Roztwór zmienił zabarwienie z zielonego na czarny. Kolbę reakcyjną wyjęto z łaźni lodowej i mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Reakcję zakończono przez dodanie 1 g żelu krzemionkowego do kolby reakcyjnej i odparowano mieszaninę rozpuszczalników na wyparce próżniowej. Zawartość kolby naniesiono na kolumnę z żelem krzemionkowym, produkt wymywano mieszaniną rozpuszczalników chloroform/metanol 85:15. Uzyskano produkt **194** w postaci beżowego ciała stałego w ilości 25 mg (0.04 mmol, 89%). T.t. 209-211 °C (chloroform/metanol); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03 (m, 2H, H-Bz), 7.54 (m, 1H, H-Bz), 7.42 (m, 2H, H-Bz), 5.41 (m, 1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.39 (m, 3H, H-16, NH_2), 4.11 (m, 2H, H-26, H-26'), 3.03 (s, 3H, H-Mes), 2.77 (m, 1H, H-22a), 2.62 (m, 1H, H-22a'), 2.48 (m, 2H), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.02 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-21/27), 0.95 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-21/27), 0.87 (s, 3H, H-18/19); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165.9 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.7 (C), 129.5 (2xCH), 128.3 (C), 128.2 (2xCH), 122.3 (CH), 80.8 (CH), 74.4 (CH), 74.3 (CH_2), 63.7 (CH), 56.4 (CH), 53.4 (C), 49.8 (CH), 41.1 (CH_2), 40.7 (CH_2), 39.6 (CH_2), 38.1 (CH_2), 37.2 (CH), 36.9 (CH_2), 36.7 (C), 33.3 (CH), 32.2 (CH_2), 32.0 (CH_2), 31.3 (CH), 27.8 (CH_2), 26.1 (CH_2), 20.7 (CH_2), 19.3 (CH_3), 16.6 (CH_3), 16.55 (2x CH_3), 15.1 (CH_3); **ESI-MS** 628 $[M+H]^+$, HRMS obliczone dla $C_{36}H_{54}NO_6S$ ($M+H$) $^+$, 628.3666; znalezione 628.3681; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}) 3414, 2924, 2856, 1712, 1664, 1454, 1357, 1272, 1169, 1108, 1035, 953, 715.

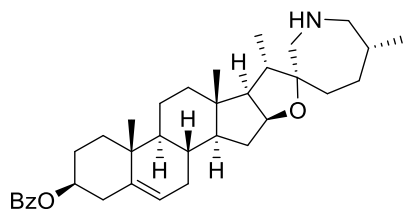
Synteza (22*R*,25*R*)-22-aminometylo-3 β -benzoiloksyfurost-5-en-26-olu (193)



Produkt **193** uzyskano wg tego samego przepisu co związek **194**. Aminoalkohol **193** został wyeluuowany z kolumny chromatograficznej mieszaniną rozpuszczalników chloroform : metanol w stosunku 4:1. Uzyskano produkt w postaci beżowego ciała stałego w ilości 75 mg (0.14 mmol, 85%). T.t. 203-205 °C (chloroform/metanol); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m,

1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.38 (m, 1H, H-16), 3.49 (m, 2H, H-22a), 3.02 (m, 4H, NH₂, OH), 2.66 (m, 1H, H-26), 2.48 (m, 2H), 2.19 (m, 1H, H-26'), 1.10 (s, 3H, H-18/19), 0.97 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, H-21/27), 0.90 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, H-21/27), 0.88 (s, 3H, H-18/19); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 122.4 (CH), 80.5 (CH), 74.4 (CH), 66.4 (CH₂), 64.5 (CH), 56.4 (CH₂), 49.9 (CH), 41.0 (C), 39.7 (CH₂), 39.0 (C), 38.2 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.8 (C), 35.19 (CH), 35.16 (CH), 32.3 (CH₂), 32.0 (CH₂), 31.4 (CH), 30.4 (CH₂), 29.7 (CH₂), 27.8 (CH₂), 25.7 (CH₂), 20.8 (CH₂), 19.4 (CH₃), 16.7 (CH₃), 16.4 (CH₃), 15.7 (CH₃); **ESI-MS** 550 [M+H]⁺, 1099 [2M+H]⁺. HRMS obliczona dla C₃₅H₅₅NO₄ (M+H)⁺, 550.3891; znaleziona 550.3865; **IR** ATR, ν_{max} (cm⁻¹): 3515, 2936, 1708, 1426, 1359, 1276, 1221, 1099, 903.

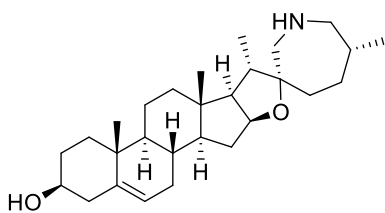
Synteza benzoesu (22*R*,25*R*)-22a(*N*)-homospirosol-5-en-3β-ylu (191d)



Aminę **194** (25 mg, 0.046 mmol) rozpuszczono w 1 mL suszonego DMF, następnie do kolby reakcyjnej dodano 0.01 g K₂CO₃ (0.07 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze 80 °C przez 16 godzin. Po ochłodzeniu, rozpuszczalnik odparowano z benzenem i surowy produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (na żelu krzemionkowym) za

pomocą mieszaniny rozpuszczalników chloroform : metanol (85:15). Produkt **191d** otrzymano z wydajnością 62% (13 mg, 0.03 mmol) jako białe ciało stałe o t.t. 215-217 °C (chloroform/metanol); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.05 (m, 2H, H-Bz), 7.56 (m, 1H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 5.43 (m, 1H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.44 (m, 1H, H-16), 3.34 (m, 2H, H-22a oraz H-26), 2.80 (m, 2H, H-22a' oraz H-26'), 2.48 (m, 2H), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.00 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, H-21/27), 0.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H, H-21/27), 0.85 (s, 3H, H-18/19); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0 (C), 139.7 (C) 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 122.3 (CH), 87.5 (C), 81.6 (CH), 74.4 (CH), 62.7 (CH), 56.4 (CH), 51.6 (CH₂), 49.8 (CH), 44.7 (CH₂), 42.0 (CH), 40.8 (C), 39.6 (CH₂), 38.9 (CH₂), 38.1 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.7 (C), 32.1 (CH₂), 32.0 (CH₂), 31.4 (CH), 31.0 (CH), 30.2 (CH₂), 27.8 (CH₂), 20.8 (CH₂), 20.3 (CH₃), 19.4 (CH₃), 16.6 (CH₃), 14.3 (CH₃); **ESI-MS** 532 [M+H]⁺. HRMS obliczone dla C₃₅H₅₀NO₂ (M+H)⁺, 532.3785; znalezione 532.4083; **IR** ATR, ν_{max} (cm⁻¹): 3410, 2922, 2855, 1712, 1454, 1368, 1270, 1109, 714.

Synteza (22*R*,25*R*)-22a(*N*)-homospirosol-5-en-3β-olu (191)



Do roztworu benzoesu (22*R*,25*R*)-22a(*N*)-homospirosol-5-en-3β-ylu **191d** (0.03 g, 0.056 mmol) rozpuszczonego w MeOH (10 mL) dodano K₂CO₃ (0.04 g, 0.29 mmol). Reakcja była prowadzona w temperaturze pokojowej przez 16 godzin.

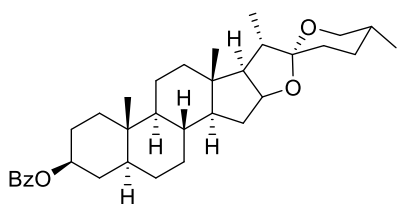
Reakcję zakończono odparowując rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej za pomocą

mieszaniny rozpuszczalników chloroform : metanol (85:15) otrzymując biały proszek **191** z wydajnością 82% (0.023 g, 0.05 mmol). Surowy produkt wykorzystano do syntezy diocjanu **200**.

3.6. Synteza benzoesu 22a(*N*)-homosoladulcydyny z benzoesu tigogeniny

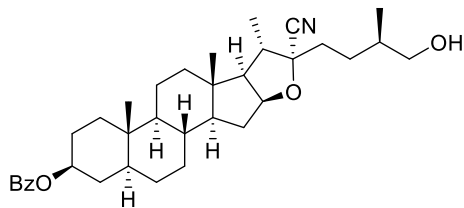
Benzoesan (22*R*,25*R*)-22a(*N*)-homospirosolan-3 β -ylu (**195**) został zsyntezowany z benzoesu tigogeniny (**32d**) według opracowanych i opisanych powyżej procedur.

Synteza benzoesu tigogeniny (**32d**)



Benzoesan tigogeniny **32d** wyeluuowano układem heksan : octan etylu w stosunku 49:1. Otrzymano 1.39 g (98%) benzoesu tigogeniny. Postać: białe ciało stałe, t.t. 217-219°C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 4.95 (m, 1H, H-3), 4.41 (m, 1H, H-16), 3.49 (m, 1H, H-26), 3.39 (m, 1H, H-26'), 0.98 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-21/H-27), 0.90 (s, 3H, H-18/19), 0.80 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-21/H-27), 0.78 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.1 (C), 132.6 (CH), 130.9 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 109.2 (C), 80.8 (CH), 74.4 (CH), 66.8 (CH_2), 62.1 (CH), 56.2 (CH), 54.2 (CH), 44.7 (CH), 41.6 (CH), 40.6 (C), 40.0 (CH_2), 36.8 (CH_2), 35.6 (C), 35.1 (CH), 34.1 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.4 (CH_2), 30.3 (CH), 28.8 (CH_2), 28.5 (CH_2), 27.6 (CH_2), 21.0 (CH_2), 17.1 (CH_3), 16.5 (CH_3), 14.5 (CH_3), 12.3 (CH_3); **ESI-MS** 520 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **HRMS** obliczony dla $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 521.3625; znaleziony 521.3625; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 2926, 1709, 1596, 1447, 1376, 1273, 1107, 1058, 904, 864, 703.

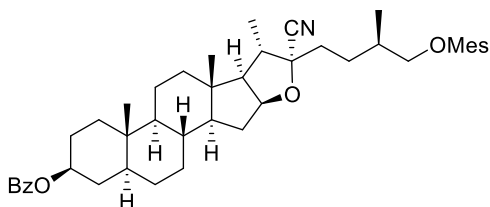
Synteza (5 α ,22*R*,25*R*)-3 β -benzoiloksy-22-cyjanofurostan-26-ol (**196**)



Nitryl steroidowy **196** oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując układ heksanu i octanu etylu (7:3). Związek **196** otrzymano z wydajnością 43% (137 mg, 0.25 mmol) jako białe ciało stałe o t.t. 230-232°C (heksan/octan etylu); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.54 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 4.94 (m, 1H, H-3), 4.62 (m, 1H, H-16), 3.50 (m, 2H, H-26,26'), 1.21 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-21/27), 0.95 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-21/27), 0.89 (s, 3H, H-18/19), 0.79 (s, 3H, H-18/19); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.1 (C), 132.7 (CH), 130.9 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 118.7 (C), 89.0 (C), 84.2 (CH), 74.1 (CH), 67.8 (CH_2), 63.1 (CH), 56.6 (CH), 54.0 (CH), 44.6 (CH), 42.0 (C), 41.0 (CH), 39.5 (CH_2), 36.7 (CH_2), 35.6 (C), 35.56 (CH), 35.2 (CH), 34.7 (CH_2), 34.0 (CH_2), 32.0 (CH_2), 31.5 (CH_2), 28.4 (CH_2), 28.2 (CH_2), 27.5 (CH_2), 20.9 (CH_2), 17.1 (CH_3), 16.7 (CH_3) 16.6 (CH_3), 12.3 (CH_3); **ESI-MS** 548 $[\text{M}+\text{H}]^+$. **HRMS** obliczone dla

$C_{35}H_{50}NO_4$ (M+H)⁺, 548.3734; znalezione 548.3738; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3548, 2922, 2856, 2048, 1700, 1594, 1454, 1382, 1272, 1107, 1045, 1011, 903, 720.

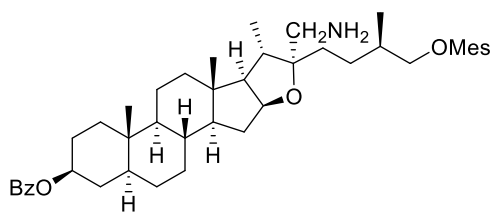
Synteza (5 α ,22R,25R)-3 β -benzoiloksy-22-cyjano-26-metylosulfonyloksyfurostanu (**197**)



Produkt **197** oczyszczono za pomocą chromatografii DFC, stosując wymywanie mieszaniną heksanu i octanu etylu (7:3). Produkt otrzymano **197** z wydajnością 73% (100 mg, 0.159 mmol). Otrzymano białe ciało stałe o t.t. 217-219°C (heksan/octan etylu); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ

8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.56 (m, 1H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 4.95 (m, 1H, H-3), 4.62 (m, 1H, H-16), 4.09 (m, 1H, H-26,26'), 3.03 (s, 3H, H-Mes), 2.07 (m, 2H), 1.21 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, H-21/27), 1.04 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-21/27), 0.89 (s, 3H, H-18/19), 0.79 (s, 3H, H-18/19); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃) δ 166.1 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 118.4 (C), 88.7 (C), 84.3 (CH), 74.3 (CH), 73.6 (CH₂), 63.0 (CH), 56.5 (CH), 54.0 (CH), 44.6 (CH), 42.0 (CH), 41.0 (C), 39.5 (CH₂), 37.3 (CH₃), 36.7 (CH₂), 35.6 (C), 35.1 (CH), 34.4 (CH₂), 34.0 (CH₂), 32.8 (CH), 32.0 (CH₂), 31.5 (CH₂), 28.3 (CH₂), 27.9 (CH₂), 27.5 (CH₂), 20.8 (CH₂), 17.0 (CH₃), 16.6 (CH₃), 16.5 (CH₃), 12.3 (CH₃); **ESI-MS** 599 [M-CN]⁺, 685 [M+AcOH]⁺, 1273 [2M+Na]⁺, **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 2926, 2851, 1703, 1598, 1455, 1346, 1271, 1171, 1110, 1058, 1011, 951, 814.

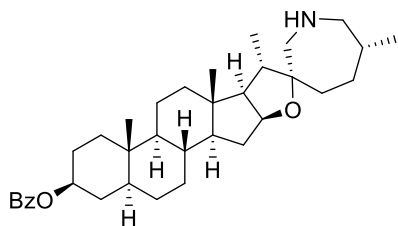
Synteza (5 α ,22R,25R)-22-aminometylo-3 β -benzoiloksy-26-metylosulfonyloksyfurostanu (**198**)



Produkt **198** wyeluowano z kolumny chromatograficznej układem chloroform : metanol w stosunku 8:2. Uzyskano produkt w postaci beżowego ciała stałego w ilości 44 mg (0.07 mmol, 77%). Otrzymaną aminę **198** poddano reakcji

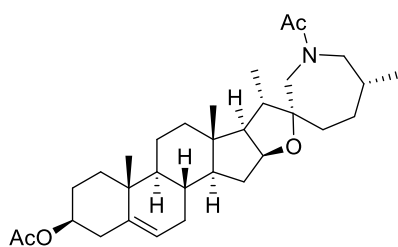
cyklizacji, wykonano jedynie widmo ¹H NMR. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (m, 2H, H-Bz), 7.53 (m, 1H, H-Bz), 7.41 (m, 2H, H-Bz), 6.20 (bs, 2H, NH₂), 4.93 (m, 1H, H-3), 4.40 (m, 1H, H-16), 4.13 (m, 2H, H-26,26' lub 22a/22a'), 3.05 (s, 3H, H-Mes), 2.76 (m, 1H, H-26 lub H-22), 2.23 (m, 1H, H-22'), 1.95 (m, 4H), 1.03 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, H-21/27), 0.95 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H H-21/27), 0.89 (s, 3H, H-18/19), 0.84 (s, 3H, H-18/19).

Synteza benzoesu (5 α ,22R,25R)-22a(N)-homospirosolan-3 β -ylu (195)



Aminę **195** oczyszczono na kolumnie chromatograficznej stosując układ chloroform : metanol (85:15). Produkt **195** otrzymano z wydajnością 52% (18 mg, 0.03 mmol) jako białe ciało stałe o t.t. 214-216 °C (chloroform/metanol); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.55 (m, 1H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 4.95 (m, 1H, H-3), 4.42 (m, 1H, H-16), 3.38 (m, 2H, H-22a,26), 2.84 (m, 2H, H-22a',26'), 2.04 (m, 4H), 1.01 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-21/27), 0.96 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, H-21/27), 0.90 (s, 3H, H-18/19), 0.82 (s, 3H, H-18/19); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.1 (C), 132.6 (CH), 131.0 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 87.2 (C), 81.7 (CH), 74.2 (CH), 62.8 (CH), 56.2 (CH), 54.0 (CH), 51.5 (CH₂), 44.6 (CH₂), 42.0 (2xCH), 41.1 (C), 39.81 (CH₂), 38.8 (CH₂), 36.7 (CH₂), 35.6 (C), 35.1 (CH), 34.0 (CH₂), 32.03 (CH₂), 32.0 (CH₂), 30.6 (CH), 30.2 (CH₂), 28.4 (CH₂), 27.6 (CH₂), 21.0 (CH₂), 20.3 (CH₃), 16.8 (CH₃), 14.2 (CH₃), 12.3 (CH₃); **ESI-MS** 534 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS obliczona dla $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{NO}_3$ (M+H)⁺, 534.8045; znaleziona 534.8095; **IR ATR**, ν_{max} (cm⁻¹): 3413, 2926, 2852, 1708, 1587, 1453, 1389, 1273, 1109, 11057, 1016, 716.

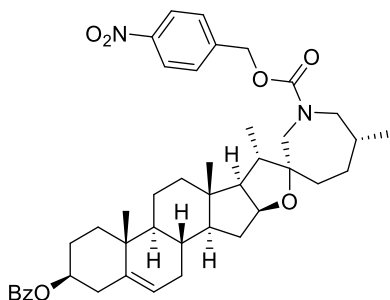
Synteza octan (22R,25R)-N-acetylo-22a(N)-homospirosol-5-en-3 β -ylu (201)



Do roztworu steroidowej aminy **191** (23 mg, 0.049 mol) rozpuszczonej w pirydynie (2 mL) dodano bezwodnika octowego (0.02 mL, 0.029 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Następnie dodano 5 mL 10% roztworu HCl, mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 10 mL). Warstwę organiczną przemyto NaHCO_3 , wysuszono na śródki suszącym oraz zateżono na wyparce próżniowej. Produkt oczyszczono za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując heksan/octan etylu 7:3 jako eluent, otrzymano białe ciało stałe z 78% wydajnością o t.t. 162-165 °C (heksan/octan etylu). W roztworze związek ten występuje w postaci rotamerów. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 5.36 (m, 1H, H-6), 4.62 (m, 2H, H-3, H-16), 4.23 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, H-22a/H-26), 3.41 (dd, $J_1 = 12.8$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz, 1H, H-22a/H-26), 3.11 (dd, $J_1 = 12.6$ Hz, $J_2 = 11.0$ Hz, 1H, H-22a'/H-26'), 3.0 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H, H-22a'/H-26'), 2.13 (s, 3H, Ac-NH₂), 2.03 (s, 3H, Ac-OH), 1.03 (s, 3H, H-18/19), 0.99 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H, H-21/H27), 0.98 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H-21/H27), 0.81 (s, 3H, H-18/19); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.3 (C), 170.5 (C), 139.6 (C), 122.5 (C), 89.2 (C), 81.2 (CH), 73.9 (CH), 62.5 (CH), 56.9 (CH₂), 56.2 (CH), 49.9 (CH), 44.9 (CH₂), 43.7 (CH), 40.4 (C), 39.9 (CH₂), 39.1 (CH₂), 38.1 (CH₂), 36.9 (CH₂), 36.7 (CH), 33.8 (CH), 32.4 (CH₂), 32.01 (CH₂), 31.97 (CH₂), 31.3 (CH), 27.7 (CH₂), 22.5 (CH₃), 21.4 (CH₃), 21.2 (CH₃), 20.8 (CH₂), 19.3 (CH₃), 16.6 (CH₃), 15.0 (CH₃); **ESI-MS** 512 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS obliczona dla $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{NO}_4$

(M+H)⁺, 512.3734; znaleziona 512.3740; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 2930, 2854, 1725, 1648, 1423, 1368, 1239, 1167, 1023, 906, 737.

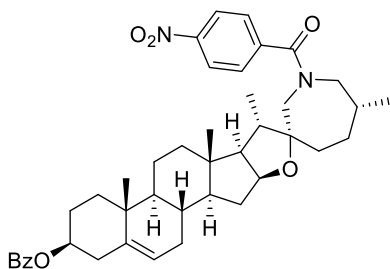
Synteza benzoesu (**22R,25R**)-*N*-(*p*-nitrobenzyloksykarbonylo)-**22a**(*N*)-homospirosol-**5-en-3 β** -ylu (**199**)



Do aminy **191d** (10 mg, 18.8 mmol) rozpuszczonej w mieszaninie rozpuszczalników Et₂O (5 mL) i DCM (2 mL) dodano chloromrówczanu 4-nitrobenzylu (7 mg, 0.038 mol) oraz 1 M KOH (0.03 mL, 1.09 mmol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Następnie mieszaninę reakcyjną przesączono przez lejek ze spiekem z Al₂O₃ i zewnętrzną warstwą sproszkowanego KOH.

Produkt został wyeluuowany mieszaniną rozpuszczalników heksan : octan etylu (8:2). Otrzymano czysty produkt **199** z wydajnością 68% (0.02 g, 0.028 mmol), jako żółte ciało stałe o t.t. 215-217 °C (heksan/octan etylu); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.23 (m, 2H, H-Bz), 8.04 (m, 2H, H-Bz), 7.53 (m, 3H, H-Bz), 7.43 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 1H, H-6), 5.30 (m, 2H, H-28), 4.87 (m, 1H, H-3), 4.68 (m, 1H, H-16), 4.03 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H, H-22a/H-26), 3.41 (m, 1H, H-22a/H-26), 3.32 (m, 1H, H-22a'/H-26'), 3.06 (m, 1H, H-22a'/H-26'), 2.48 (m, 2H), 1.09 (s, 3H, H-18/19), 1.00 (d, *J* = 5.9 Hz, 3H, H-21/27), 0.97 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-21/27), 0.84 (s, 3H, H-18/19); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0 (C), 156.4 (C), 147.5 (C), 144.7 (C), 139.6 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.5 (2xCH), 128.2 (2xCH), 127.8 (CH), 123.7 (CH), 122.6 (CH), 89.2 (C), 81.2 (CH), 74.5 (CH), 65.6 (CH₂), 62.7 (CH), 56.3 (CH), 54.7 (CH₂), 49.9 (CH), 47.4 (CH₂), 43.3 (CH), 40.5 (CH₂), 39.9 (CH₂), 39.3 (CH₂), 38.2 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.8 (CH₂), 33.4 (CH₂), 32.4 (CH₂), 32.0 (CH₂), 31.8 (CH), 31.3 (CH₂), 27.8 (CH₂), 21.2 (CH₂), 20.9 (CH₂), 19.4 (CH₃), 16.7 (CH₃), 16.6 (CH₃), 15.0 (CH₃); **ESI-MS** 711 [M+H]⁺. HRMS obliczona dla C₄₃H₅₅N₂O₇ (M+H)⁺ 711.4004; znaleziona 711.4011; **IR ATR**, ν_{\max} (cm⁻¹): 3475, 2923, 2856, 1741, 1605, 1524, 1456, 1347, 1231, 1170, 1108, 1041, 853, 723.

Synteza benzoesu (**22R,25R**)-*N*-(*p*-nitrobenzoilo)-**22a**(*N*)-homospirosol-**5-en-3 β** -ylu (**200**)



Do roztworu aminy **191d** (10 mg, 18.8 mmol) rozpuszczonej w pirydynie (2 mL) i chlorku metylenu (5 mL) dodano chlorku 4-nitrobenzoilu (7 mg, 0.038 mol). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 16 godzin. Następnie dodano 5 mL 10% roztworu HCl, mieszaninę reakcyjną ekstrahowano chlorkiem metylenu (3 x 10 mL).

Warstwę organiczną przemyto NaHCO₃, wysuszono na środka suszącym oraz zateżono na wyparce próżniowej. Produkt **200** oczyszczono za pomocą

kolumny chromatograficznej (heksan : octan etylu w stosunku 7:3) otrzymując białe ciało stałe z 93% wydajnością (9 mg, 0.013mmol) o t.t. 231-233 °C (heksan/octan etylu). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.28 (m, 2H, H-Bz), 8.05 (m, 2H, H-Bz), 7.56 (m, 3H, H-Bz), 7.44 (m, 2H, H-Bz), 5.42 (m, 2H, H-6), 4.86 (m, 1H, H-3), 4.69 (m, 1H, H-16), 4.22 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H, H-22a/H-26), 3.35 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H, H-22a/H-26), 3.28 (dd, $J_1 = 13.6$ Hz, $J_2 = 4.3$ Hz, 1H, H-22a'/H-26'), 2.96 (t, $J_1 = 20.7$ Hz, $J_2 = 11.9$ Hz, 1H, H-22a'/H-26'), 2.48 (m, 2H), 1.10 (s, 3H, H-18/19), 1.06 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-21/27), 0.86 (s, 3H, H-18/19), 0.80 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, H-21/27); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.0 (C), 148.0 (C), 146.3 (C), 143.9 (C), 142.1 (C), 139.7 (C), 132.7 (CH), 130.8 (C), 129.6 (2xCH), 129.5 (2xCH), 128.3 (2xCH), 127.6 (CH), 123.9 (CH), 123.5 (CH), 122.5 (CH), 89.5 (C), 81.6 (CH), 74.5 (CH), 62.6 (CH), 58.0 (CH_2), 56.3 (CH), 49.9 (CH), 46.2 (CH_2), 43.6 (CH), 40.6 (C), 39.9 (CH_2), 39.5 (CH_2), 38.2 (CH_2), 37.0 (CH_2), 32.4 (CH_2), 32.0 (CH_2), 31.6 (CH_2), 31.3 (CH), 27.8 (CH_2), 20.9 (CH_2), 20.7 (CH_3), 19.4 (CH_3), 16.7 (CH_3), 14.9 (CH_3); **ESI-MS** 681 $[\text{M}+\text{H}]^+$. HRMS obliczony dla $\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_6$ $(\text{M}+\text{H})^+$, 681.3898; znaleziony 681.3908; **IR ATR**, ν_{max} (cm^{-1}): 3366, 2920, 2854, 1711, 1634, 1520, 1450, 1345, 1270, 1107, 1017, 852, 706.

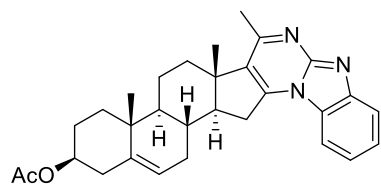
3.7. Synteza pochodnych pirymidabenzimidazolu

3.7.1. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-aminobenzimidazolem

Ogólna procedura:

Odważono 50 mg (1 ekw.) octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) oraz 37 mg (2 ekw.) 2-aminobenzimidazolu (**7**). Następnie dodano odpowiednią ilość katalizatora (DIPEA, Et_3N , piperydyna, L-prolina) i suchy rozpuszczalnik (etanol, dioksan, DMF). Reakcję prowadzono w różnych temperaturach, najczęściej w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii TLC, układem rozwijającym był układ chloroform : metanol (99:1) nasycony amoniakiem. Rozpuszczalnik usunięto na wyparce próżniowej, a pozostałość oczyszczono metodą chromatografii. Przeprowadzone reakcje w celu optymalizacji warunków zostały pokazane w **Tabeli 17** oraz w **Tabeli 18**.

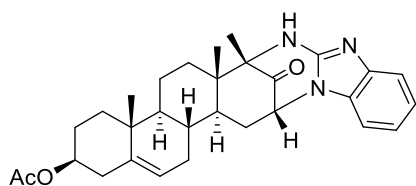
3 β -Acetoksy-4'-metyloandrost-5-eno[16,17-e]benzimidazolo[1,2-a]pirymidyna (**9**)



Produkt **9** został wyeluowany układem chloroform : metanol (99.5:0.5), uzyskano brązowe ciało stałe o t.t. 185-187°C (chloroform/metanol); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-Ar), 7.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-Ar), 7.51 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-Ar), 7.32 (dd, $J = 7.3$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-Ar), 5.47 (m, 1H, H-6), 4.64 (m, 1H, H-3), 3.47 (dd, $J = 6.1$ Hz, $J = 16.0$ Hz, 1H, H-15), 3.06 (d, $J = 11.8$ Hz, $J = 16.0$ Hz, 1H, H-15'), 2.68 (s, 3H, H-21), 2.05 (s, 3H, C-3-OAc), 1.14 (s, 3H, H-18/H-19), 1.12 (s, 3H, H-18/H-19). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ

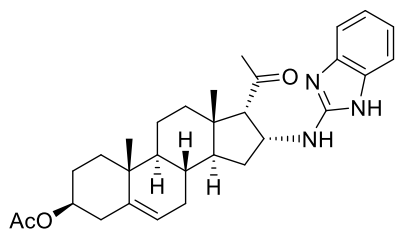
170.4 (C), 161.8 (C), 151.1 (C), 149.5 (C), 144.7 (C), 140.2 (C), 129.7 (C), 127.1 (C), 125.6 (CH), 121.4 (CH), 120.8 (CH), 120.0 (CH), 112.7 (CH), 73,5 (CH), 56.1 (CH), 50.0 (CH), 38.1 (CH₂), 36.6 (CH₂), 35.5 (CH₂), 31.4 (CH₂), 31.0 (CH₂), 30.0 (CH), 27.5 (CH₂), 23.8 (CH₃), 21.3 (CH₃), 20.5 (CH₂), 19.2 (CH₃), 17.3 (CH₃); **EI-MS**: *m/z* 469 [M]⁺ (100), 453 (42.2), 410 (4.6), 394 (42.1), 274 (9.8), 235 (37.1); **IR** (CHCl₃), *v*_{max} (cm⁻¹): 1728, 1632, 1627, 1560, 1504, 1454, 1379, 782, 747, 741.

3β-Acetoksy-17α-(benzimidazol-2'-ylo-amino)-16α,1'-cyklo-17αβ-metylo-D-homo-androst-5-en-17-on (207)



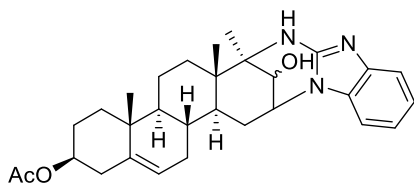
Produkt **207** został wyeluuowany układem chloroform: metanol (99.5:0.5), amorficzne ciało stałe o kolorze żółtym; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.03 (bs, 1H, NH), 7.33 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-Ar), 7.12 (m, 1H, H-Ar), 7.01 (m, 2H, H-Ar), 5.23 (m, 1H, H-6), 4.66 (m, 1H, H-16), 4.54 (m, 1H, H-3), 2.40 (m, 1H, H-15), 2.01 (s, 3H, C-3-OAc), 1.28 (s, 3H, H-21), 1.00 (s, 3H, H-19), 0.87 (s, 3H, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 203.1 (C), 170.5 (C), 152.5 (C), 143.3 (C), 139.6 (C), 131.9 (C), 122.1 (CH), 121.5 (CH), 119.4 (CH), 115.6 (CH), 106.4 (CH), 73.7 (CH), 66.3 (C), 59.1 (CH), 48.7 (C), 48.4 (CH), 41.0 (CH), 37.6 (CH₂), 36.6 (C), 36.5 (CH₂), 34.6 (CH₂), 31.6 (CH), 31.4 (CH₂), 30.6 (CH₂), 27.4 (CH₂), 21.3 (CH₃), 20.1 (CH₂), 19.0 (CH₃), 15.3 (CH₃), 14.4 (CH₃); **EI-MS**: 488 [M+H]⁺. HRMS obliczony dla C₃₀H₃₈N₃O₃ (M+H)⁺, 488.2913; znaleziony 488.2897. **IR** (CHCl₃), *v*_{max} (cm⁻¹): 3021, 2950, 1747, 1727, 1641, 1630, 1603, 1570.

3β-Acetoksy-16α-(benzimidazol-2'-ylo-amino)-pregn-5-en-20-on (210)



Produkt **210** został wyeluuowany układem chloroform : metanol (99:1), amorficzne ciało stałe o kolorze brązowym; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.21 (m, 2H, H-Ar), 7.02 (m, 2H, H-Ar), 6.67 (bs, 1H, NH), 5.30 (m, 1H, H-6), 4.73 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-16), 4.61 (m, 1H, H-3), 2.67 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-17), 2.16 (s, 3H, H-21), 2.04 (s, 3H, C-3-OAc), 0.98 (s, 3H, H-19), 0.64 (s, 3H, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 210.7 (C), 170.6 (C), 154.8 (C), 139.4 (C), 137.2 (C), 121.8 (2xCH), 120.6 (2xCH), 112.13 (CH), 112.1 (C), 73.6 (CH), 72.5 (CH), 54.5 (CH), 52.6 (CH), 49.3 (CH), 45.1 (C), 38.2 (CH₂), 38.1 (CH₂), 36.7 (CH₂), 36.4 (CH), 33.7 (CH₂), 31.6 (CH₃), 31.3 (CH), 31.29 (CH₂), 27.7 (CH₂), 21.3 (CH₃), 20.7 (CH₂), 19.1 (CH₃), 13.8 (CH₃); **EI-MS**: *m/z* 489 [M]⁺ (32.2), 471 (25.2), 296 (36.3), 202 (33.4), 133 (100); **IR** (CHCl₃), *v*_{max} (cm⁻¹) 3352, 1727, 1693, 1641, 1631, 1601 1581, 1462, 778, 759, 755.

3 β -Acetoksy-17 $\alpha\alpha$ -(benzimidazol-2'-ylo-amino)-16 α ,1'-cyklo-17 $\alpha\beta$ -metylo-D-homo-androst-5-en-17-ol (208)



Keton **207** (35 mg, 0.07 mmol) rozpuszczono w MeOH (2 mL) i DCM (0.5 mL), a następnie dodano 6,8 mg NaBH₄ (0.18 mmol). Reakcję prowadzono przez 1,5 godz w temperaturze pokojowej, kontrolując ją za pomocą TLC. Kiedy substrat całkowicie przereagował, mieszaninę reakcyjną przemyto roztworem 1N HCl i ekstrahowano chloroformem (3 x 30 mL). Produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej (chloroform : metanol, układ od 99-1 do 9:1). Warstwę organiczną przemyto NaHCO₃, wysuszono na Na₂SO₄ oraz zatężono na wyparce próżniowej. Produkt oczyszczono za pomocą kolumny chromatograficznej (chloroform/metanol 9:1) otrzymując 28 mg (80%) żółtawego produktu. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.29 (m, 1H, H-Ar), 7.06 (m, 1H, H-Ar), 6.95 (m, 1H, H-Ar), 6.89 (m, 1H, H-Ar), 5.19 (bs, 1H, H-6), 4.49 (m, 1H, H-3), 4.29 (m, 1H, H-16), 3.88 (m, 1H), 3.00 (bs, 1H, H-17), 2.01 (s, 3H, C-3-OAc), 1.37 (s, 3H, H-21), 1.20 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.6 (C), 151.8 (C), 139.4 (2xC), 130.9 (C), 122.1 (CH), 121.7 (CH), 120.4 (CH), 114.3 (CH), 106.9 (CH), 73.7 (CH), 72.9 (CH), 68.1 (CH₂), 58.7 (C), 52.7 (CH), 48.8 (CH), 42.9 (C), 41.7 (CH), 37.7 (CH₂), 36.8 (C), 36.4 (CH₂), 31.5 (CH₂), 30.5 (CH), 30.3 (CH₂), 27.5 (CH₂), 24.3 (CH₂), 21.4 (CH₃), 19.4 (CH₃), 19.1 (CH₃), 19.0 (CH₂), 15.3 (CH₃); **EI-MS**: m/z 490 [M+H]⁺; **IR** (CHCl₃), ν_{\max} (cm⁻¹) 3305, 3020, 2939, 2855, 1718, 1636, 1561, 1456, 1257.

3.7.2. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolem

Warunki zasadowe

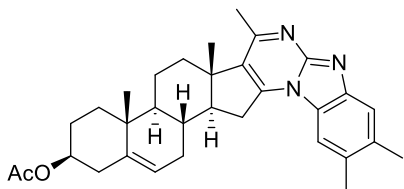
Odważono 55 mg octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) (0.154 mmol) oraz 45 mg (0.28 mmol) 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolu (**8**). Następnie dodano 1.6 mg L-proliny (0.14 mmol) oraz 0.5 mL DMF. Reakcję prowadzono w 140°C przez 48 godzin. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii TLC. Reakcję zakończono dodając do mieszaniny benzenu i rozpuszczalniki odparowano na wyparce próżniowej. Mieszaninę produktów oczyszczono na kolumnie chromatograficznej. Produkt **10** uzyskano z wydajnością 44 %, natomiast (**212**) z wydajnością 35%.

Warunki kwasowe

Odważono 52 mg octanu 16-dehydropregnenolonu (**6**) (0.146 mmol) oraz 47 mg (0.29 mmol) 2-amino-5,6-dimetylobenzimidazolu (**8**). Następnie dodano 2.5 mg *p*-TsOH (0.0145 mmol) oraz 3 mL acetonitrylu. Reakcję prowadzono w 82°C przez 48 godzin. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii TLC, na koniec mieszaninę przemyto

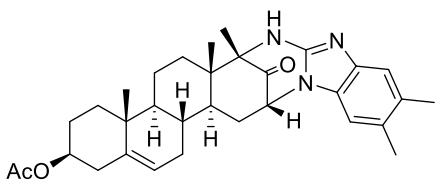
NaHCO₃ i ekstrahowano chloroformem (3 x 30mL). Rozpuszczalnik usunięto na wyparce próżniowej, a pozostałość oczyszczono metodą chromatografii na żelu krzemionkowym. Produkt **10** uzyskano z wydajnością 55 %, natomiast produkt (**212**) z wydajnością 40%.

3β-Acetoksy-4'8'9'-trimetyloandrost-5-eno[16,17-e]benzimidazolo[1,2-a]pirymidyna (10)



Produkt **10** został wyeluuowany układem chloroform : metanol (94:6), żółte ciało stałe o t.t. 154-156°C (chloroform/metanol); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.89 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-Ar), 7.49 (dd, J = 2.0 Hz, J = 8.7 Hz, 1H, H-Ar), 5.50 (m, 1H, H-6), 4.65 (m, 1H, H-3), 3.43 (dd, J = 6.2 Hz, J = 16.0 Hz, 1H, H-16), 3.07 (dd, J = 11.8 Hz, J = 16.0 Hz, 1H, H-15), 2.70 (s, 3H, C-3-OAc), 2.69 (s, 3H, 2x CH₃), 2.06 (s, 3H, H-21), 1.16 (s, 3H, H-19), 1.13 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 170.5 (C), 160.7 (C), 151.0 (C), 149.1 (C), 143.7 (C), 140.4 (C), 135.0 (C), 130.2 (C), 129.3 (C), 125.5 (C), 121.5 (CH), 120.1 (CH), 112.7 (CH), 73.7 (CH), 56.0 (CH), 50.1 (CH), 44.4 (C), 38.1 (CH₂), 36.83 (C), 36.80 (CH₂), 35.7 (CH₂), 31.6 (CH₂), 31.1 (CH₂), 30.2 (CH), 27.7 (CH₂), 23.8 (CH₃), 21.4 (CH₃), 20.7 (CH₃), 20.63 (CH₂), 20.56 (CH₃), 19.3 (CH₃), 17.4 (CH₃). **ESI-MS:** *m/z* 498 [MH]⁺. HRMS obliczony dla C₃₂H₄₀N₃O₂ [MH]⁺ 498.3115; znaleziony 498.3137; **IR ATR**, *v*_{max} (cm⁻¹): 1713, 1446, 1359, 1219, 1094, 670.

3β-Acetoksy-17αα-(5',6'-dimetylobenzimidazol-2'-ylo-amino)-16α,1'-cyklo-17αβ-metylo-D-homoandrost-5-en-17-on (212)



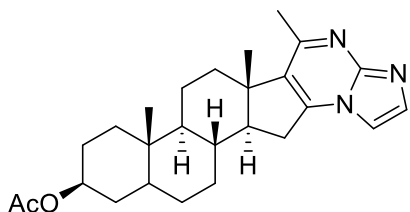
Produkt **212** został wyeluuowany układem chloroform : metanol (95:5), żółte ciało stałe o t.t. 243-245°C (chloroform/metanol); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.05 (bs, 1H, NH), 7.10 (s, 1H, H-Ar), 6.76 (s, 1H, H-Ar), 5.23 (m, 1H, H-6), 4.59 (m, 1H, H-16), 4.54 (m, 1H, H-15), 2.32 (s, 6H, 2xCH₃), 2.02 (s, 3H, C-3-OAc), 1.26 (s, 3H, H-21), 1.01 (s, 3H, H-19), 0.87 (s, 3H, H-18); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 203.2 (C), 170.4 (C), 151.7 (C), 141.5 (C), 139.4 (C), 130.14 (C), 130.10 (C), 127.8 (C), 121.5 (CH), 116.6 (CH), 107.2 (CH), 73.6 (CH), 66.1 (C), 59.2 (CH), 48.6 (C), 48.5 (CH), 41.0 (CH), 37.7 (CH₂), 36.7 (C), 36.6 (CH₂), 34.6 (CH₂), 31.7 (CH), 31.5 (CH₂), 30.6 (CH₂), 27.5 (CH₂), 21.4 (CH₃), 20.3 (CH₃), 20.2 (CH₂), 20.1 (CH₃), 19.1 (CH₃), 15.3 (CH₃), 14.3 (CH₃); **ESI-MS** 516 [MH]⁺. HRMS obliczony dla C₃₂H₄₂N₃O₃ [MH]⁺, 516.3221; znaleziony 516.3227. **IR (CHCl₃)**, *v*_{max} (cm⁻¹): 3410, 2923, 1710, 1608, 1428, 1360, 1223, 1026, 673.

3.7.3. Reakcja octanu 16-dehydropregnenolonu z 2-aminoimidazolem

Warunki zasadowe

Odważono 55 mg octanu 16-dehydropregnenolonu **6** (0.154 mmol) oraz 45 mg (0.28 mmol) 2-aminoimidazolu **211**. Następnie dodano 1.6 mg L-proliny (0.14 mmol) oraz 0.5 mL DMF. Reakcję prowadzono w 140°C przez 48 godzin. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii TLC, na koniec do mieszaniny dodano benzenu i rozpuszczalniki odparowano na wyparce próżniowej. Mieszaninę produktów oczyszczono na kolumnie chromatograficznej. Produkt **213** uzyskano z wydajnością 32 %.

3β-Acetoksy-4'-metyloandrost-5-eno[16,17-e]imidazolo[1,2-a]pirymidyna (**213**)



Produkt **213** został wyeluuowany układem chloroform : metanol (98:2), żółte ciało stałe o t.t. 129-130°C (chloroform : metanol); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.75 (s, 1H, H-Ar), 7.29 (s, 1H, H-Ar), 5.45 (m, 1H, H-6), 4.63 (m, 1H, H-3), 2.95 (dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 15.9$ Hz, 1H, H-15), 2.30 (m, 1H, H-15'), 2.75 (m, 1H, 3-OAc), 2.05 (s, 3H, H-21), 1.13 (s, 3H, H-18/H-19), 1.09 (s, 3H, H-18/H-19); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ 170.5 (C), 156.0 (C), 149.1 (C), 146.9 (C), 140.3 (C), 135.1 (CH), 131.0 (C), 121.5 (CH), 107.0 (CH), 73.6 (CH), 56.1 (CH), 50.1 (CH), 45.4 (C), 38.0 (CH_2), 36.8 (C), 36.7 (CH_2), 35.6 (CH_2), 31.4 (CH_2), 30.1 (CH_2 , CH), 27.6 (CH_2), 23.1 (CH_3), 21.4 (CH_3), 20.5 (CH_2), 19.2 (CH_3), 17.2 (CH_3). **ESI-MS** 420 $[\text{MH}]^+$. **HRMS** obliczony dla $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{MH}]^+$, 420.2646; znaleziony 420.2730. **IR** (CHCl_3), ν_{max} (cm^{-1}): 1727, 1610, 1577, 1508, 1437, 1370, 1032.

Bibliografia

- [1] K. Jayakumar, K. Murugan, *J. Anal. Pharm. Res.* **2016**, *3*, 75–88.
- [2] S. S. S. Al Sinani, E. A. Eltayeb, *South Afr. J. Bot.* **2017**, *112*, 253–269.
- [3] S. Chowański, Z. Adamski, P. Marciniak, G. Rosiński, E. Büyükgüzel, K. Büyükgüzel, P. Falabella, L. Scrano, E. Ventrella, F. Lelario, S. Bufo, *Toxins* **2016**, *8*, 60–88.
- [4] J. M. Edmonds, J. A. Chweya, *Black Nightshades: Solanum Nigrum L. and Related Species*, IPK, Gatersleben, **1997**.
- [5] A. Maurya, N. Manika, R. K. Verma, S. C. Singh, S. K. Srivastava, *Phytochem. Anal.* **2013**, *24*, 87–92.
- [6] J. Jerzykiewicz, *Postępy Biochem.* **2007**, *53*, 280–286.
- [7] P. Heretsch, A. Giannis, in *Alkaloids Chem. Biol.*, Elsevier, **2015**, pp. 201–232.
- [8] S. E. Milner, N. P. Brunton, P. W. Jones, N. M. O' Brien, S. G. Collins, A. R. Maguire, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 3454–3484.
- [9] I. Ginzberg, J. G. Tokuhisa, R. E. Veilleux, *Potato Res.* **2009**, *52*, 1–15.
- [10] M. Itkin, U. Heinig, O. Tzfadia, A. J. Bhide, B. Shinde, P. D. Cardenas, S. E. Bocobza, T. Unger, S. Malitsky, R. Finkers, Y. Tikunov, A. Bovy, Y. Chikate, P. Singh, I. Rogachev, J. Beekwilder, A. P. Giri, A. Aharoni, *Science* **2013**, *341*, 175–179.
- [11] M. Friedman, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1054*, 143–155.
- [12] M. Friedman, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5751–5780.
- [13] A. M. Fewell, J. G. Roddick, M. Weissenberg, *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1007–1011.
- [14] P. K. Nema, N. Ramayya, E. Duncan, K. Niranjan, *J. Sci. Food Agric.* **2008**, *88*, 1869–1881.
- [15] M. Friedman, G. M. McDonald, M. Filadelfi-Keszi, *Crit. Rev. Plant Sci.* **1997**, *16*, 55–132.
- [16] L.-L. Hou, Y. Shi, Z.-D. Zhang, J.-J. Wu, Q.-X. Yang, W.-S. Tian, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 7463–7469.
- [17] I. Jastrzebska, J. W. Morzycki, *Steroids* **2017**, *127*, 13–17.
- [18] P. Slanina, *Food Chem. Toxicol.* **1990**, *28*, 759–761.
- [19] W. Rüdorff, H. Zannier, *Angew. Chem.* **1954**, *66*, 638–639.
- [20] R. Kuhn, I. Löw, H. Trischmann, *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 1492–1507.
- [21] R. Kuhn, I. Löw, H. Trischmann, *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 1690–1693.
- [22] D. Carputo, A. Terra, A. Barone, F. Esposito, V. Fogliano, L. Monti, L. Frusciante, *Theor. Appl. Genet.* **2003**, *107*, 1187–1194.
- [23] K. L. Deahl, S. L. Sinden, R. J. Young, *Am. Potato J.* **1993**, *70*, 61–69.
- [24] P. Gregory, S. L. Sinden, S. F. Osman, W. M. Tingey, D. A. Chessin, *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 1212–1215.
- [25] S. F. Osman, S. F. Herb, T. J. Fitzpatrick, S. L. Sinden, *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1065–1067.
- [26] S. F. Osman, S. F. Herb, T. J. Fitzpatrick, P. Schmiediche, *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26*, 1246–1248.
- [27] G. Ramsay, D. W. Griffiths, N. Deighton, *Genet. Resour. Crop Evol.* **2005**, *51*, 805–813.
- [28] G. W. Irving, T. D. Fontaine, S. P. Doolittle, *Science* **1945**, *102*, 9–11.
- [29] M. Friedman, C. E. Levin, G. M. McDonald, *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 1959–1964.
- [30] S. F. Osman, T. A. Johns, K. R. Price, *Phytochemistry* **1986**, *25*, 967–968.
- [31] M.-J. Shih, J. Kuć, *Phytochemistry* **1974**, *13*, 997–1000.
- [32] A. W. Wanyonyi, S. C. Chhabra, G. Mkoji, U. Eilert, W. M. Njue, *Phytochemistry* **2002**, *59*, 79–84.
- [33] C.-N. Lin, M.-I. Chung, S.-Y. Lin, *Phytochemistry* **1986**, *26*, 305–307.
- [34] I. Erdoğan, B. Şener, Atta-ur-Rahman, *Biochem. Syst. Ecol.* **2001**, *29*, 535–536.
- [35] Y. Fujiwara, S. Yahara, T. Ikeda, M. Ono, T. Nohara, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2003**, *51*, 234–235.
- [36] T. Nohara, M. Ono, T. Ikeda, Y. Fujiwara, M. El-Aasr, *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1734–1741.
- [37] R. C. Bell, L. H. Briggs, *J. Chem. Soc. Resumed* **1942**, 1–2.
- [38] L. H. Briggs, R. P. Newbold, N. E. Stace, *J. Chem. Soc. Resumed* **1942**, 3–12.
- [39] R. C. Bell, L. H. Briggs, J. J. Carroll, *J. Chem. Soc. Resumed* **1942**, 12–16.
- [40] L. H. Briggs, J. J. Carroll, *J. Chem. Soc. Resumed* **1942**, 17–18.
- [41] S.-B. Guo, Y. Tian, L.-Y. Jian, *Asian J. Chem.* **2014**, *26*, 4615–4618.

-
- [42] M. Weissenberg, *Phytochemistry* **2001**, *58*, 501–508.
- [43] J. Azmir, I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, A. K. M. Omar, *J. Food Eng.* **2013**, *117*, 426–436.
- [44] R. F. J. Tiossi, M. A. Miranda, J. P. B. de Sousa, F. S. G. Praça, M. V. L. B. Bentley, J. D. McChesney, J. K. Bastos, *J. Anal. Methods Chem.* **2012**, *2012*, 1–8.
- [45] J. I. Yubin, Y. Miao, W. Bing, Z. Yao, *J Chem Pharm Res* **2014**, *6*, 338–45.
- [46] A. Sammani, E. Shammaa, F. Chehna, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2013**, *23*, 23–27.
- [47] L. H. Gomes, K. M. R. Duarte, F. G. Andrino, G. A. Leal Jr., L. M. Garcia, A. Figueira, S. P. de Lira, *Am. J. Plant Sci.* **2014**, *5*, 596–604.
- [48] M. Hossain, A. Rawson, I. Aguiló-Aguayo, N. Brunton, D. Rai, *Molecules* **2015**, *20*, 8560–8573.
- [49] K. Kaneko, K. Niitsu, N. Yoshida, H. Mitsushashi, *Phytochemistry* **1980**, *19*, 299–302.
- [50] P. C. Maiti, S. Mookerjea, R. Mathew, *J. Pharm. Sci.* **1965**, *54*, 1828–1829.
- [51] Y. Mazur, N. Danieli, F. Sondheimer, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 5889–5908.
- [52] F. C. Uhle, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1460–1472.
- [53] C. Normandin, F. Malouin, E. Marsault, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *2020*, 2693–2698.
- [54] L. H. Briggs, *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 1404–1405.
- [55] L. H. Briggs, W. E. Harvey, R. H. Locker, W. A. McGillivray, R. N. Seelye, *J. Chem. Soc. Resumed* **1950**, 3013–3020.
- [56] K. Patel, R. B. Singh, D. K. Patel, *J. Acute Dis.* **2013**, *2*, 92–98.
- [57] J. D. Mann, in *Adv. Agron.*, Elsevier, **1979**, pp. 207–245.
- [58] B. Kang, E. Lee, I. Hong, J. Lee, H. Kim, *Int. J. Immunopharmacol.* **1998**, *19*, 729–734.
- [59] K. Chauhan, N. Sheth, V. Ranpariya, S. Parmar, *Pharm. Biol.* **2011**, *49*, 194–199.
- [60] M. M. S. Maha M Salama, *J. Carcinog. Mutagen.* **2013**, *04*, 1–6.
- [61] C. Liu, F. Xie, G.-D. Zhao, D.-F. Wang, H.-X. Lou, Z.-P. Liu, *Steroids* **2015**, *104*, 214–219.
- [62] B. E. Cham, *Mod. Chemother.* **2013**, *2*, 33–49.
- [63] B. E. Cham, M. Gilliver, L. Wilson, *Planta Med.* **1987**, *53*, 34–36.
- [64] B. Chataing, J. Concepción, R. Lobatón, A. Usubillaga, *Planta Med.* **1998**, *64*, 31–36.
- [65] M. Weissenberg, A. Levy, J. A. Svoboda, I. Ishaaya, *Phytochemistry* **1998**, *47*, 203–209.
- [66] H. V. Thorne, G. F. Clarke, R. Skuce, *Antiviral Res.* **1985**, *5*, 335–343.
- [67] J. Niño, J. A. Hernández, Y. M. Correa, O. M. Mosquera, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2006**, *101*, 783–785.
- [68] J. G. Roddick, *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2631–2634.
- [69] R. J. Bushway, S. A. Savage, B. S. Ferguson, *Am. Potato J.* **1987**, *64*, 409–413.
- [70] K.-R. Lee, N. Kozukue, J.-S. Han, J.-H. Park, E. Chang, E.-J. Baek, J.-S. Chang, M. Friedman, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2832–2839.
- [71] X. Ding, F.-S. Zhu, M. Li, S.-G. Gao, *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *139*, 599–604.
- [72] B. E. Cham, *Int. J. Clin. Med.* **2017**, *08*, 692–713.
- [73] S. S. Al Sinani, E. A. Eltayeb, B. L. Coomber, S. A. Adham, *Cancer Cell Int.* **2016**, *16*, 1–12.
- [74] S. Punjabi, L. J. Cook, P. Kersey, R. Marks, R. Cerio, *Int. J. Dermatol.* **2008**, *47*, 78–82.
- [75] S. Yu, H.-M. Sheu, C.-H. Lee, *Oncotarget* **2017**, *8*, 103509–103517.
- [76] L. Y. Shiu, L. C. Chang, C. H. Liang, Y. S. Huang, H. M. Sheu, K. W. Kuo, *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *45*, 2155–2164.
- [77] R. Akter, S. J. Uddin, J. Tiralongo, I. D. Grice, E. Tiralongo, *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2015**, *18*, 616–633.
- [78] S. Koduru, D. S. Grierson, M. van de Venter, A. J. Afolayan, *Pharm. Biol.* **2007**, *45*, 613–618.
- [79] K. Jayakumar, K. Murugan, *J. Phytopharm.* **2017**, *6*, 251–259.
- [80] I. Jastrzebska, *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 353–372.
- [81] A. Tobar, M. Teshima, J. Koyanagi, M. Kawase, H. Miyamae, K. Yoza, A. Takasaki, Y. Nagamura, S. Saito, *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 511–527.
- [82] A. Rosado-Abon, N. Esturau-Escofet, M. Flores-Álamo, R. Moreno-Esparza, M. A. Iglesias-Arteaga, *J. Chem. Crystallogr.* **2013**, *43*, 187–196.

- [83] A. F. B. Cameron, R. M. Evans, J. C. Hamlet, J. S. Hunt, P. G. Jones, A. G. Long, *J. Chem. Soc. Resumed* **1955**, 2807–2816.
- [84] D. H. Gould, H. Staeudle, E. B. Hershberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3685–3688.
- [85] I. V. Mićović, M. D. Ivanović, D. M. Piatak, *Synthesis* **1990**, *1990*, 591–592.
- [86] L. Brown, M. Koreeda, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3875–3880.
- [87] R. Zeferino-Díaz, L. Olivera-Castillo, A. Dávalos, G. Grant, N. Kantún-Moreno, R. Rodríguez-Canul, S. Bernès, J. Sandoval-Ramírez, M. A. Fernández-Herrera, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 78–86.
- [88] R. Gao, Y. Shi, W.-S. Tian, *Tetrahedron* **2019**, *75*, 1717–1721.
- [89] T. G. LaCour, P. L. Fuchs, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4655–4658.
- [90] A. C. Díaz, J. Pablo García Merinos, Y. López, J. Betzabe González Campos, R. E. del Río, R. Santillan, N. Farfán, J. W. Morzycki, *Steroids* **2015**, *100*, 36–43.
- [91] J. S. Lee, P. L. Fuchs, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3619–3622.
- [92] T. G. LaCour, Z. Tong, P. L. Fuchs, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1815–1818.
- [93] C. Djerassi, O. Halpern, G. R. Pettit, G. H. Thomas, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1–6.
- [94] W. H. Faul, A. Failli, C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2571–2585.
- [95] J. Wang, J. Wu, W. Tian, *Chin. J. Chem.* **2015**, *33*, 632–636.
- [96] F. C. Uhle, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 2797–2799.
- [97] W. G. Dauben, G. J. Fonken, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4618–4619.
- [98] H.-J. Quan, J. Koyanagi, K. Ohmori, S. Uesato, T. Tsuchido, S. Saito, *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 659–669.
- [99] P. Chen, P. Wang, N. Song, M. Li, *Steroids* **2013**, *78*, 959–966.
- [100] X. Zan, J. Gao, G. Gu, S. Liu, B. Sun, L. Liu, H.-X. Lou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1600–1604.
- [101] G. R. Pettit, A. H. Albert, P. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 8095–8099.
- [102] A. H. Albert, G. R. Pettit, P. Brown, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2197–2201.
- [103] S. Lee, T. G. LaCour, D. Lantrip, P. L. Fuchs, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 313–316.
- [104] S. Fukuzawa, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6707–6716.
- [105] M. A. Iglesias-Arteaga, J. W. Morzycki, in *Alkaloids Chem. Biol.*, Elsevier, **2013**, pp. 153–279.
- [106] C. Guo, S. Bhandaru, P. L. Fuchs, M. R. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10672–10673.
- [107] G. R. Pettit, M. Inoue, Y. Kamano, C. Dufresne, N. Christie, M. L. Niven, D. L. Herald, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 865–867.
- [108] T. G. LaCour, C. Guo, S. Bhandaru, M. R. Boyd, P. L. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 692–707.
- [109] I. Jastrzębska, M. Górecki, J. Frelek, R. Santillan, L. Siergiejczyk, J. W. Morzycki, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 11257–11269.
- [110] M. A. Fernández-Herrera, J. Sandoval-Ramírez, S. Meza-Reyes, S. Montiel-Smith, *J. Mex. Chem. Soc.* **2009**, *53*, 126–130.
- [111] M. E. Wall, C. R. Eddy, S. Serota, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 2849–2850.
- [112] M. E. Wall, H. A. Walens, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 5661–5665.
- [113] R. E. Marker, R. B. Wagner, P. R. Ulshafer, E. L. Wittbecker, D. P. J. Goldsmith, C. H. Ruof, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2167–2230.
- [114] S. Seo, A. Uomori, K. Takeda, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3823–3827.
- [115] I. Jastrzębska, J. W. Morzycki, *Steroids* **2015**, *100*, 17–20.
- [116] R. B. Woodward, F. Sondheimer, Y. Mazur, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6693–6694.
- [117] M. A. Iglesias-Arteaga, I. Jastrzębska, J. W. Morzycki, *Pol. J. Chem.* **2006**, *80*, 667–671.
- [118] M. E. Wall, S. Serota, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 2850–2852.
- [119] J. W. Morzycki, Y. López, J. Płoszyńska, R. Santillan, L. Siergiejczyk, A. Sobkowiak, *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *610*, 205–210.
- [120] P. Dey, A. Kundu, H. J. Chakraborty, B. Kar, W. S. Choi, B. M. Lee, T. Bhakta, A. G. Atanasov, H. S. Kim, *Int. J. Cancer* **2019**, *145*, 1731–1744.
- [121] F. C. Uhle, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 2280–2281.

- [122] F. C. Uhle, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 656–658.
- [123] R. S. Miner, E. S. Wallis, *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 715–720.
- [124] F. C. Uhle, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4245–4246.
- [125] F. C. Uhle, *Tetrahedron Lett.* **1964**, *5*, 3099–3103.
- [126] F. C. Uhle, *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 792–797.
- [127] H. E. Gottlieb, I. Belic, R. Komel, M. Mervic, *J. Chem. Soc. [Perkin 1]* **1981**, 1888.
- [128] K. Schreiber, G. Adam, *Tetrahedron Lett.* **1960**, *1*, 5–8.
- [129] K. Schreiber, C. Horstmann, G. Adam, *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 1961–1973.
- [130] F. C. Uhle, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 883–883.
- [131] D. Czajkowska-Szczykowska, A. Corona Díaz, G. Aleksiejczuk, Y. López Castro, J. W. Morzycki, *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 4104–4111.
- [132] S. V. Kessar, P. J. S. Bhatti, R. K. Mahajan, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 603–605.
- [133] S. V. Kessar, Y. P. Gupta, M. Singh, R. K. Mahajan, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 2869–2875.
- [134] X. Zha, H. Sun, J. Hao, Y. Zhang, *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 25–31.
- [135] G.-P. Zhang, S.-D. Shen, M. Lei, L.-H. Hu, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5894–5896.
- [136] Y.-Z. Yin, C. Liu, L.-Q. Tang, Z.-P. Liu, *Steroids* **2012**, *77*, 1419–1422.
- [137] Y. Shvo, V. Goldman-Lev, *J. Organomet. Chem.* **2002**, *650*, 151–156.
- [138] J.-J. Wu, Y. Shi, W.-S. Tian, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 1215–1217.
- [139] J.-J. Wu, R. Gao, Y. Shi, W.-S. Tian, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 6639–6642.
- [140] M. Koag, S. Lee, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4766–4769.
- [141] G. Wei, J. Wang, Y. Du, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 2930–2933.
- [142] F. Kalalinia, I. Karimi-Sani, *Phytother. Res.* **2017**, *31*, 858–870.
- [143] G.-P. Zhang, S.-D. Shen, M. Lei, L.-H. Hu, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5894–5896.
- [144] C. Normandin, F. Malouin, E. Marsault, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, *2020*, 2693–2698.
- [145] Y. Sato, H. G. Latham, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 3150–3153.
- [146] Y. Sato, H. G. Latham, E. Mosettig, *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 1496–1500.
- [147] Y. Sato, H. G. Latham, N. Ikekawa, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 1962–1965.
- [148] H. Kiliani, *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1913**, *46*, 667–680.
- [149] Y. Sato, N. Ikekawa, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 1945–1947.
- [150] Y. Sato, N. Ikekawa, E. Mosettig, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 783–786.
- [151] Y. Sato, N. Ikekawa, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 5058–5061.
- [152] G. Kusano, T. Takemoto, Y. Sato, D. F. Johnson, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1976**, *24*, 661–666.
- [153] F. Chagnon, I. Guay, M.-A. Bonin, G. Mitchell, K. Bouarab, F. Malouin, É. Marsault, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *80*, 605–620.
- [154] A. O. Finke, M. E. Mironov, A. B. Skorova, E. E. Shults, *Chem. Heterocycl. Compd.* **2018**, *54*, 411–416.
- [155] Q.-W. Jiang, M.-W. Chen, K.-J. Cheng, P.-Z. Yu, X. Wei, Z. Shi, *Med. Res. Rev.* **2016**, *36*, 119–143.
- [156] S. Chiba, *Synlett* **2012**, *2012*, 21–44.
- [157] S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, V. Zimmermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188–5240.
- [158] H. Tanimoto, K. Kakiuchi, *Nat. Prod. Commun.* **2013**, *8*, 1021–1034.
- [159] A. K. Ghosh, M. Brindisi, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2895–2940.
- [160] A. Wojtkielewicz, U. Kiełczewska, B. Banel, J. W. Morzycki, *Steroids* **2019**, *147*, 58–61.
- [161] S. Kirchmeyer, A. Mertens, G. A. Olah, *Synthesis* **1983**, *14*, 500–502.
- [162] K. Nishiyama, A. Watanabe, *Chem. Lett.* **1984**, *13*, 455–458.
- [163] B. V. Rokade, K. R. Prabhu, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5364–5370.
- [164] W. E. McEwen, W. E. Conrad, C. A. VanderWerf, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1168–1171.
- [165] H. Motiwala, Q. Yin, J. Aubé, *Molecules* **2015**, *21*, 45.
- [166] W.-S. Tian, H.-P. Guan, X.-F. Pan, *Chin. J. Chem.* **2010**, *21*, 784–788.
- [167] D. Chaturvedi, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 15–45.

- [168] D. Chaturvedi, N. Mishra, V. Mishra, *Curr. Org. Synth.* **2007**, *4*, 308–320.
- [169] M. Noshita, Y. Shimizu, H. Morimoto, T. Ohshima, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 6062–6065.
- [170] R. S. Lott, V. S. Chauhan, C. H. Stammer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, 495.
- [171] M. C. Wani, H. F. Campbell, G. A. Brine, J. A. Kepler, M. E. Wall, S. G. Levine, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3631–3632.
- [172] E. Wenkert, T. Hudlicky, H. D. H. Showalter, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4893–4894.
- [173] P. M. Wovkulich, M. R. Uskoković, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3455–3462.
- [174] A. P. Kozikowski, Y. Xia, E. R. Reddy, W. Tuckmantel, I. Hanin, X. C. Tang, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4636–4645.
- [175] E. Brenner, R. M. Baldwin, G. Tamagnan, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3607–3610.
- [176] M. Movassaghi, M. Tjandra, J. Qi, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9648–9650.
- [177] U. Jacquemard, V. Bénéteau, M. Lefoix, S. Routier, J.-Y. Mérour, G. Coudert, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10039–10047.
- [178] R. K. Boeckman Jr, J. C. Potenza, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1411–1414.
- [179] H. Yajima, N. Fujii, H. Ogawa, H. Kawatani, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1974**, 107–108.
- [180] D. S. Bose, D. E. Thurston, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 6903–6906.
- [181] N. Yotapan, A. Paptchikhine, M. Bera, S. K. Avula, T. Vilaivan, P. G. Andersson, *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 674–680.
- [182] A. L. And, A. Nudelman, *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 1405–1408.
- [183] A. Wojtkielewicz, U. Kielczewska, J. W. Morzycki, *Molecules* **2019**, *24*, 1132–1139.
- [184] A. Wojtkielewicz, Z. Łotowski, J. Morzycki, *Synlett* **2015**, *26*, 2288–2292.
- [185] N. M. Yoon, J. H. Ahn, D. K. An, Y. S. Shon, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1941–1944.
- [186] D. R. Sidler, T. C. Lovelace, J. M. McNamara, P. J. Reider, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1231–1233.
- [187] J. Li, K. Subramaniam, D. Smith, J. X. Qiao, J. J. Li, J. Qian-Cutrone, J. F. Kadow, G. D. Vite, B.-C. Chen, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 214–217.
- [188] J. K. Park, W. K. Shin, D. K. An, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, *34*, 1592–1594.
- [189] G. R. Pettit, W. J. Bowyer, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 84–86.
- [190] M. Li, B. Yu, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2679–2682.
- [191] S. Hou, P. Xu, L. Zhou, D. Yu, P. Lei, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2454–2458.
- [192] M. S. Cheng, Q. L. Wang, Q. Tian, H. Y. Song, Y. X. Liu, Q. Li, X. Xu, H. D. Miao, X. S. Yao, Z. Yang, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3658–3662.
- [193] B. Yu, J. Liao, J. Zhang, Y. Hui, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 77–79.
- [194] J. S. Lee, H. Cao, P. L. Fuchs, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5820–5823.
- [195] R. E. Marker, R. B. Wagner, D. P. J. Goldsmith, P. R. Ulshafer, C. H. Ruof, *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1248–1248.
- [196] F. C. Uhle, F. Sallmann, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 1190–1199.
- [197] G. P. Mueller, J. Jiu, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 1611–1614.
- [198] T. Reekie, M. Kavanagh, M. Longworth, M. Kassiou, *Synthesis* **2013**, *45*, 3211–3227.
- [199] K. Tsuruda, T. Tokumoto, N. Inoue, M. Nakajima, T. Nemoto, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 2836–2840.
- [200] E. Caspi, Y. W. Chang, R. I. Dorfman, *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, *5*, 714–719.
- [201] K. T. de Oliveira, B. M. Servilha, L. de C. Alves, A. L. Desiderá, T. J. Brocksom, in *Stud. Nat. Prod. Chem.*, Elsevier, **2014**, pp. 421–463.
- [202] S. De Marino, E. Palagiano, F. Zollo, L. Minale, M. Iorizzi, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8625–8628.
- [203] H. Quan, J. Koyanagi, K. Hagiwara, X.-R. Cui, Y. Isshiki, S. Kondo, F. Komada, S. Saito, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2006**, *54*, 72–79.
- [204] L. Friedman, H. Shechter, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 877–879.
- [205] S. Harusawa, R. Yoneda, Y. Omori, T. Kurihara, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4189–4190.
- [206] V. Čapljar, L. Frkanec, N. Š. Vujičić, M. Žinić, *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16*, 3066–3082.
- [207] S. Sakuda, A. Higashi, T. Nihira, Y. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 898–899.

- [208] E. D. Soli, A. S. Manoso, M. C. Patterson, P. DeShong, D. A. Favor, R. Hirschmann, A. B. Smith, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3171–3177.
- [209] T. Satoh, S. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Miyaji, Z. Imai, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *10*, 4555–4558.
- [210] L. A. Bonner, B. R. Chemel, V. J. Watts, D. E. Nichols, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6763–6770.
- [211] P. M. Goud, P. S. Goud, K. R. Reddy, D. Ashok, *J. Chem. Res.* **2003**, *2003*, 806–807.
- [212] S. K. Tipparaju, *Synlett* **2004**, 912–913.
- [213] D. Czajkowska-Szczykowska, I. Jastrzebska, J. E. Rode, J. W. Morzycki, *J. Nat. Prod.* **2019**, *82*, 59–65.
- [214] H. Duan, J. Zheng, Q. Lai, Z. Liu, G. Tian, Z. Wang, J. Li, J. Shen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2777–2779.
- [215] U. Kiełczewska, J. W. Morzycki, L. Rárová, A. Wojtkielewicz, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 9050–9058.
- [216] F. Lehmann, M. Scobie, *Synthesis* **2008**, *2008*, 1679–1681.
- [217] O. Viñas-Bravo, R. Martínez-Pascual, J. L. Vega-Baez, V. Gómez-Calvario, J. Sandoval-Ramírez, S. Montiel-Smith, S. Meza-Reyes, A. López-De Rosas, M. Martínez-Montiel, M. Reyes, J. A. Ruiz, *Steroids* **2012**, *77*, 59–66.
- [218] J. C. Hernández, F. León, J. Quintana, F. Estévez, J. Bermejo, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4423–4429.
- [219] C. W. Shoppee, G. H. R. Summers, *J. Chem. Soc. Resumed* **1952**, 3361–3374.
- [220] Q. Sun, S. Cai, B. R. Peterson, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 567–570.
- [221] B. Seroka, Z. Łotowski, A. Wojtkielewicz, P. Bazydło, E. Dudź, A. Hryniewicka, J. W. Morzycki, *Steroids* **2019**, *147*, 19–27.
- [222] A. S. B. Prasad, J. V. B. Kanth, M. Periasamy, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 4623–4628.
- [223] M. Periasamy, M. Thirumalaikumar, *J. Organomet. Chem.* **2000**, *609*, 137–151.
- [224] M. Cui, H. Song, A. Feng, Z. Wang, Q. Wang, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7018–7021.
- [225] R. C. Carmona, E. P. Wendler, G. H. Sakae, J. V. Comasseto, A. A. D. Santos, *J. Braz. Chem. Soc.* **2014**, *26*, 117–123.
- [226] O. Bruno, C. Brullo, S. Schenone, A. Ranise, F. Bondavalli, E. Barocelli, M. Tognolini, F. Magnanini, V. Ballabeni, *Il Farm.* **2002**, *57*, 753–758.
- [227] C. Raji Reddy, B. Latha, K. Warudikar, K. K. Singarapu, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 251–258.
- [228] D.-I. Kim, M. M. Schweri, H. M. Deutsch, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1456–1464.
- [229] E. S. Antonarakis, C. Lu, H. Wang, B. Lubber, M. Nakazawa, J. C. Roeser, Y. Chen, T. A. Mohammad, Y. Chen, H. L. Fedor, T. L. Lotan, Q. Zheng, A. M. De Marzo, J. T. Isaacs, W. B. Isaacs, R. Nadal, C. J. Paller, S. R. Denmeade, M. A. Carducci, M. A. Eisenberger, J. Luo, *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1028–1038.
- [230] E. Antonarakis, D. Bastos, *Drug Des. Devel. Ther.* **2016**, *Volume 10*, 2289–2297.
- [231] P. Purushottamachar, A. M. Godbole, L. K. Gediya, M. S. Martin, T. S. Vasaitis, A. K. Kwegyir-Afful, S. Ramalingam, Z. Ates-Alagoz, V. C. O. Njar, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4880–4898.
- [232] J. S. Bajwa, P. J. Sykes, *J. Chem. Soc. [Perkin 1]* **1980**, 1859–1861.
- [233] B. R. Venepalli, L. D. Aimone, K. C. Appell, M. R. Bell, J. A. Dority, R. Goswami, P. L. Hall, V. Kumar, K. B. Lawrence, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 374–378.
- [234] V. V. Lipson, S. M. Desenko, V. D. Orlov, E. N. Ryndina, A. V. Chuvurin, N. I. Gorbenko, A. A. Kirichenko, *Pharm. Chem. J.* **1994**, *28*, 92–94.
- [235] W. Nawrocka, M. Zimecki, *Arch. Pharm. Int. J. Pharm. Med. Chem.* **1998**, *331*, 249–253.
- [236] W. Nawrocka, B. Sztuba, M. W. Kowalska, H. Liszkiewicz, J. Wietrzyk, A. Nasulewicz, M. Pełczyńska, A. Opolski, *Il Farm.* **2004**, *59*, 83–91.
- [237] D. A. El Ella, E. Gößnitzer, W. Wendelin, *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 373–382.
- [238] X. He, S. E. Kassab, G. Heinzl, F. Xue, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 1034–1037.
- [239] A. Wojtkielewicz, P. Uścińowicz, L. Siergiejczyk, U. Kiełczewska, A. Ratkiewicz, J. W. Morzycki, *Steroids* **2017**, *117*, 71–76.

- [240] L. A. Paquette, J. E. Hofferberth, in *Org. React.* (Ed.: John Wiley & Sons, Inc.), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2003**, pp. 477–567.
- [241] A. R. Katritzky, D. Jishkariani, R. Sakhuja, C. D. Hall, P. J. Steel, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4082–4087.
- [242] R. Jorda, E. Řezníčková, U. Kiełczewska, J. Maj, J. W. Morzycki, L. Siergiejczyk, V. Bazgier, K. Berka, L. Rárová, A. Wojtkielewicz, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *179*, 483–492.

