



**Univerzitet u Novom Sadu
Prirodno-matematički fakultet
Departman za hemiju, biohemiju i
zaštitu životne sredine**



Mr Marina P. Savić

**SINTEZA I ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST NOVIH
D-HOMO I D-SEKO DERIVATA ANDROSTANA**

Doktorska disertacija

Novi Sad, 2012.

Doktorska disertacija je urađena u laboratoriji za organsku hemiju, na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu pod mentorstvom **dr Evgenije Đurendić**, redovnog profesora Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, koja je predložila temu i rukovodila radom. Rad je urađen u okviru istraživanja na projektu „Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekulskih agregata“ (br. projekta 172021), koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije.

Najveću zahvalnost dugujem mojoj dragoj mentorki **dr Evgeniji Đurendić**, na dragocenim savetima, smernicama, stručnom i izuzetno strpljivom rukovođenju ove disertacije, a takođe i na ukazanoj ljubavi, prijateljstvu i druženju u toku rada.

Veliku zahvalnost dugujem **dr Katarini Penov-Gaši** i **dr Mariji Sakač**, redovnim profesorima na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu na interesovanju za moj rad, na pomoći i na dragocenim savetima.

Zahvaljujem se **dr János Csanádi**-ju, redovnom profesoru Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, na interesovanju za moj rad, na pomoći i savetima oko tumačenja NMR spektara.

Takođe se zahvaljujem i **dr Sonji Đilas**, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, na interesovanju koje je pokazala za moj rad.

Zahvalnost dugujem **dr Gordani Bogdanović** i **mr Vesni Kojić** sa Instituta za onkologiju u Sremskoj Kamenici na određivanju biološke aktivnosti sintetizovanih jedinjenja.

Dr Oliveri Klisurić, docentu Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu se zahvaljujem na rezultatima rentgeno-strukturne analize.

Dr Branislavu Joviću, docentu Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu se iskreno zahvaljujem što mi je snimao IR spektre.

Podrška mojih kolega sa Katedre za organsku hemiju mi je mnogo značila, a među njima bih istakla moje drage koleginice: **mr Jovanu Ajduković**, **mr Kseniju Pavlović** i **mr Andreu Nikolić**.

Beskrajnu ljubav i zahvalnost dugujem mami **Ruženi** i tati **Pavelu**, koji su uvek brinuli i sa strpljenjem dočekali prelezak i ove moje životne stepenice.

Posebnu zahvalnost dugujem suprugu **Miodragu**, na bezrezervnoj podršci, ljubavi i strpljenju.

Mr Marina P. Savić

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPŠTI DEO.....	5
2.1. Biosinteza i mehanizam delovanja steroidnih hormona.....	5
2.2. Antiandrogeni i njihova primena u lečenju hormon-zavisnih oboljenja.....	10
2.3. Steroidna jedinjenja sa anaboličko-androgenom aktivnošću.....	14
2.3.1. Povezanost strukture jedinjenja i njegove aktivnosti (SAR – structure activity relationship).....	29
2.4. Androstanski derivati sa biološkom aktivnošću	32
2.4.1. A-homo steroidna jedinjenja.....	33
2.4.1.1. Laktonska funkcija u A-prstenu steroidnog jezgra.....	34
2.4.2. D-homo steroidna jedinjenja.....	35
2.4.2.1. Laktonska funkcija u D-prstenu steroidnog jezgra.....	36
2.5. A-, B- i D-seko steroidna jedinjenja.....	47
2.5.1. A-seko steroidna jedinjenja.....	47
2.5.2. B-seko steroidna jedinjenja	48
2.5.3. D-seko steroidna jedinjenja.....	51
2.6. Oksimi kao prekursori u sintezi biološki aktivnih molekula.....	53
2.6.1. Steroidna jedinjenja sa laktamskom funkcijom.....	55
3. NAŠI RADOVI.....	63
3.1. Sinteza derivata androst-5-ena.....	69
3.1.1. Sinteza D-homo laktonskih derivata 2-6	69
3.1.2. Sinteza novih oksimino androstanskih derivata 7-10	71
3.1.3. Sinteza 2a-aza-A-homo androstanskog derivata 11	74
3.1.4. Sinteza 4-oksa-androstanskog derivata 12	75
3.1.5. Sinteza (2Z)-hidroksimetilenskog derivata 14	77
3.1.6. Sinteza A-kondenzovanih heterocikličnih androstanskih derivata 15-17	81

3.1.7. Sinteza A,B-kondenzovanih heterocikličnih androstanskih derivata 24 i 25.....	84
3.1.8. Sinteza epoksi derivata 26 iz jedinjenja 22.....	91
3.1.9. Sinteza B-seko-D-homo laktonskih derivata 27, 28 i 34.....	92
3.1.10. Sinteza D-seko derivata 35-43.....	94
3.2. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih jedinjenja.....	100
3.3. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja.....	106
4. EKSPERIMENTALNI DEO.....	119
4.1. 3 β -Hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (2).....	120
4.2. 16-Hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (3).....	120
4.3. 3 β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (4).....	121
4.4. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (5).....	122
4.5. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-trion (6).....	123
4.6. (3E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (7) i (3Z)- hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (8).....	124
4.7. (3Z,6E)-Dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (9) i (3E,6E)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (10).....	126
4.8. 2a-Aza-17-oksa-A,D-dihomoandrost-4-en-4,16-dion (11).....	127
4.9. 3,16-Diokso-4,17-dioksa-D-homoandrostan-5 α -karbaldehid (12) i 17-oksa- D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina (13).....	128
4.10. (2Z)-Hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (14).....	129
4.11. 17-oksa-pirazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-on (15).....	130
4.12. Izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrosta-4,6-dien-16-on (16) i izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (17).....	131
4.13. 17-Oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetat (18).....	132
4.14. 5 α ,6 α -Epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (19) i 5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (20).....	133
4.15. 5 α -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion-3 β -il acetat (21).....	134
4.16. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3 β -il acetat (22).....	135
4.17. (6E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (23).....	136
4.18. Izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on 3 β -il acetat (24) i 3 β -hidroksi-izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-	

4-en-16-on (25).....	137
4.19. 4 α ,5 α -Epoksi-3 β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion (26).....	138
4.20. Proizvodi oksidacije 17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetata (18) sa hrom(VI)-oksidom.....	139
4.21. 5 α -Hidroksi-(6 <i>E</i>)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (30) i 5 α -hidroksi-(6 <i>Z</i>)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (31).....	141
4.22. 3 β ,5 α -Dihidroksi-(6 <i>E</i>)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on (32) i 3 β ,5 α -Dihidroksi-(6 <i>Z</i>)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on (33)....	142
4.23. 3 β -acetoksi-17-oksa-5,16-diokso-5,6-seko-D-homoandrostan-6-nitril (34).....	143
4.24. 3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (35).....	143
4.25. 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (36).....	144
4.26. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (37).....	145
4.27. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (38) i 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (39).....	146
4.28. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril-3 β -il acetat (40).....	147
4.29. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (41).....	148
4.30. 3,17-Diokso-16,17-sekoandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (42).....	149
4.31. 15-Cijano-16,17-seko-17-androst-4-en-3,6-dion-13-karboksilna kiselina (43).....	150
5. ZAKLJUČAK.....	151
6. SUMMARY.....	157
7. LITERATURA.....	163
8. PRILOG.....	175
8.1. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja – tabele.....	175
8.2. IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR i M spektri.....	180

8.3. Skraćenice.....	250
9. BIOGRAFIJA.....	253

1. UVOD

Maligni tumori su posle kardiovaskularnih bolesti, najčešći uzrok smrti ženske i muške populacije i rezultat su mutacije u genima koji kontrolišu proliferaciju ćelija. Mogu se registrovati u svim životnim dobima, ali su znatno češći kod osoba u poznim godinama. Kada se govori o neoplastičnim ćelijama, tumori predstavljaju nekontrolisani rast tkiva koji se nastavlja i po prestanku delovanja faktora koji su taj rast inicirali.¹

Mogućnosti prevencije i lečenja malignih bolesti tema su istraživanja velikog broja naučnih timova širom sveta. Deo tih istraživanja je i kreiranje, sinteza i ispitivanje novih jedinjenja, kao potencijalnih terapeutika.

U Srbiji se svake godine registruje oko 4000 novootkrivenih slučajeva bolesti kancera dojke, što predstavlja više od četvrtine svih malignih bolesti kod žena, a godišnje od kancera dojke umire 1600 žena. Kancer prostate je drugi najčešći kancer širom sveta. Nedostatak raspoloživih lekova za lečenje kancera prostate predstavlja značajan izazov za istraživače. Poslednjih godina je fokus istraživanja usmeren ka modifikaciji steroidnih molekula, kao potencijalnih lekova.

Androgeni su muški polni hormoni, koji igraju važnu ulogu u fiziološkim procesima, uključujući i centralno učešće u razvoju muških polnih karakteristika. S druge strane dokazano je da su pojedini androgeni hormoni odgovorni za pojavu kancera prostate i benigne hiperplazije prostate. Antiandrogeni kao lekovi kompetituju androgenima u krvi za vezujuće mesto u androgenim receptorima u ćelijama, što dovodi do inhibicije rasta kancerogenih ćelija. Imaju potencijal da se razvijaju kao lekovi za tretman velikog broja bolesti, uključujući kardiovaskularne,² autoimune bolesti,³ tumor mozga, rak dojke, rak prostate, osteoartritis,⁴ kancer cerviksa, pluća i debelog creva.⁵

Otkriće primarne proteinske strukture mnogih steroidnih receptora i većine enzima koji učestvuju u biosintetskim transformacijama steroida, kao i saznanja o mehanizmu delovanja steroidnih hormona,⁶⁻⁸ kao i proučavanje uticaja strukture na

hormonsku aktivnost,⁹ pruža velike mogućnosti za nov pristup dizajniranju potencijalno biološki aktivnih agonista i antagonista androgena.

U našoj laboratoriji na Katedri za Organsku hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu je u toku dužeg niza godina sintetizovan veći broj androstanskih derivata, koji su pokazali antiandrogena svojstva, kao inhibitori enzima koji učestvuju u steroidogenezi, a takođe pojedini pokazuju i značajnu antiproliferativnu aktivnost.¹⁰⁻¹⁴ Ovaj doktorski rad predstavlja nastavak ovih istraživanja, sa ciljem dobijanja novih androstanskih derivata sa potencijalnom biološkom aktivnošću.

Cilj istraživanja predviđenih u okviru ovog dokorskog rada je obuhvatao sintezu novih D-homo androstanskih derivata sa laktonskom funkcijom i D-seko derivata, kao i modifikaciju A- i/ili B-prstena steroidnog jezgra, uzimajući u obzir značaj pronalaženja novih lekova sa dobrim terapijskim uticajem i minimalnim neželjenim efektima. Pored sinteze, zadatak ovog rada je i ispitivanje antiproliferativne aktivnosti novosintetizovanih jedinjenja, sa ciljem proučavanja uticaja različitih supstituenata na povećanje biološke aktivnosti jedinjenja.

Imajući u vidu tako postavljene ciljeve naših istraživanja, u *Opštem delu* ovog rada je dat pregled istorijskog razvoja steroidnih hormona. Opisana je biosinteza androgenih hormona i detaljno je obrađena relevantna literatura, koja se odnosi na antiandrogene i njihovu primenu u lečenju hormon-zavisnih bolesti. Opisane su strukturne karakteristike steroidnih jedinjenja i njihova anaboličko-androgena aktivnost. Posebno je dat pregled literature za A, B i D-seko, A i D-homo androstanske steroidne derivate sa potencijalnom biološkom aktivnošću, kao i steroide sa heteroatomom u molekulu i sa kondenzovanim heterocikličnim prstenom.

U odeljku *Naši radovi* opisana je sinteza polaznih i novih A,D-dihomo, A- i B-seko-D-homo i D-seko derivata androstana, kao i dokazivanje njihove strukture. Detaljno je data diskusija eksperimentalnih rezultata i spektroskopskih podataka. Opisana je i diskutovana antiproliferativna aktivnost odabranih sintetizovanih jedinjenja na ćelije kancera i to: humanog adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7), humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), kancera prostate AR- (PC3), kancera debelog creva (HT-29), kancera cerviksa (He-La), hronične mijeloidne leukemije (K562), kao i na zdrave ćelije fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5). Na kraju je opisana i

diskutovana povezanost strukture jedinjenja i njegove aktivnosti (SAR – structure-activity relationship).

U *Eksperimentalnom delu* ovog rada su detaljno prikazani postupci dobijanja svih sintetizovanih jedinjenja, čije strukture su potvrđene na osnovu spektroskopskih podataka (IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR i M-spektara), elementarne mikroanalize i TOF-masениh spektara (Time-Of-Flight).

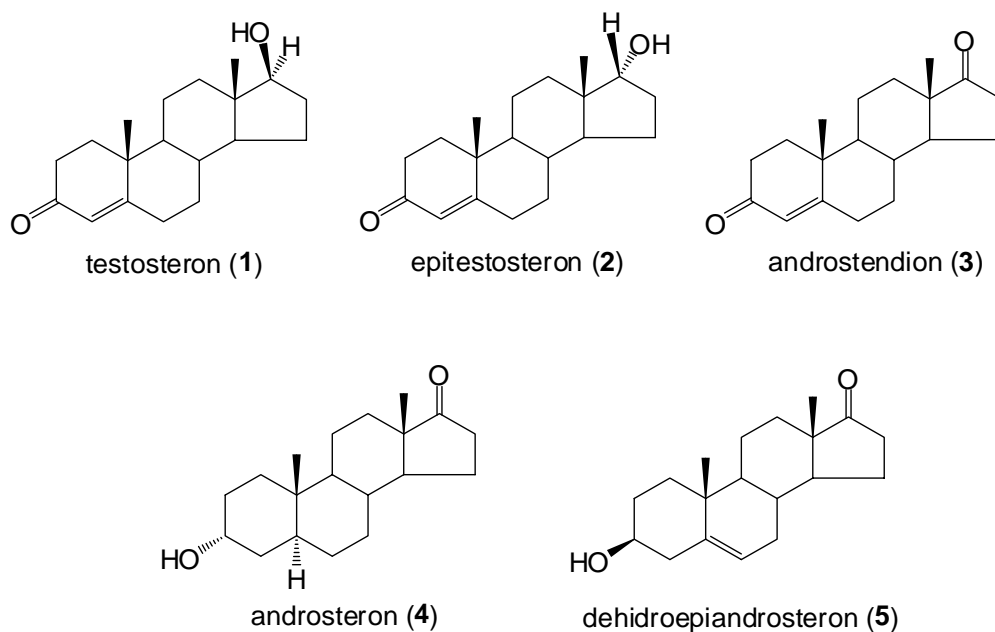
Zaključak obuhvata osnovne rezultate rada.

U *Prilogu* su prikazane slike IR, ^1H , ^{13}C NMR i masениh spektara novosintetizovanih jedinjenja.

2. OPŠTI DEO

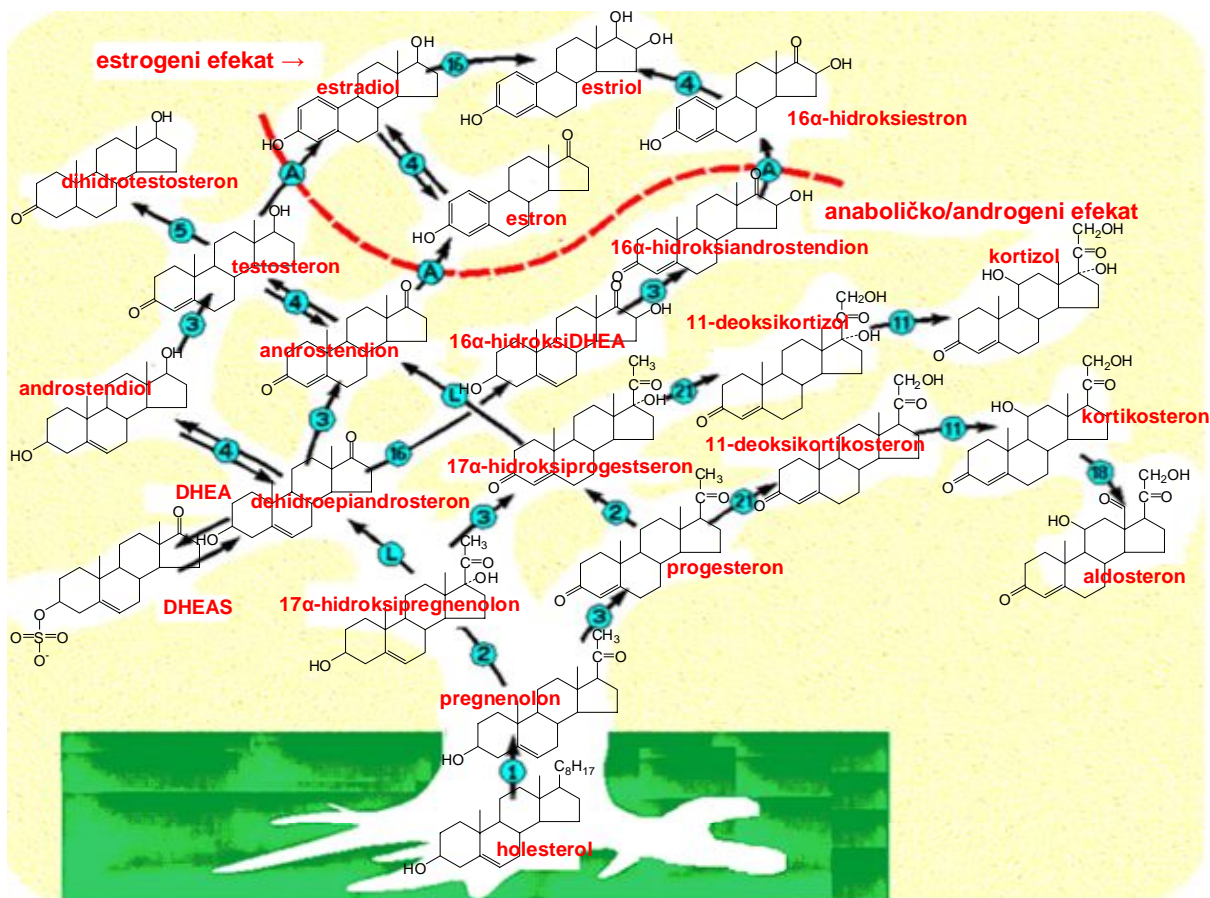
2.1. Biosinteza i mehanizam delovanja steroidnih hormona

Androgeni hormoni su prvenstveno odgovorni za proces stimulacije rasta i razvoja muških sekundarnih polnih karakteristika. Androgeni hormoni imaju opšte delovanje na metabolizam jer stimulišu sintezu proteina i povećavaju retenciju azota u organizmu, što predstavlja anaboličko delovanje. Oni podstiču sintezu DNK i RNK, translokaciju RNK iz ćelijskog jezgra u citoplazmu i stimulišu sintezu specifičnih ribozomalnih proteina. Najvažniji androgeni hormoni su: testosteron (1), epitestosteron (2), androstendion (3), androsteron (4), dehidroepiandrosteron (5, DHEA) (*slika 2.1.*). 17 β -Hidroksi grupa i 3-okso grupa su esencijalne za biološku aktivnost androgena u organizmu. Testosteron, koji na C-17 ima hidroksilnu grupu u β -položaju, biološki je aktivniji u odnosu na epitestosteron, kod kojeg je hidroksilna grupa u α -položaju. Androstendion i androsteron imaju na C-17 atomu keto-funkciju i zbog toga smanjenu biološku aktivnost.¹²



Slika 2.1. Strukture androgenih hormona

Steroidni hormoni nastaju u vrlo složenom toku enzimskih reakcija od holesterola, preko pregnenolona, do progesterona. Estrogeni nastaju iz testosterona, što znači da i muškarci i žene u organizmu imaju sposobnost stvaranja androgena i estrogena, ali postoji razlika u količini proizvedenih hormona.¹⁶ Biosinteza steroidnih hormona je prikazana na *shemi 2.1*.



Shema 2.1. Biosinteza steroidnih hormona¹⁷

1. P-450scc, 2. 17 α -hidroksilaza, 3. 3 β -HSD, L. C₁₇₋₂₀ liaza, 4. 17 β -HSD, A. P-450arom, 5. 5 α -reduktaza.
11. 11 β -hidroksilaza, 16. 16 α -hidroksilaza, 18. 18-hidroksilaza i 18-hidroksidehidrogenaza, 21. 21-hidroksilaza

Ćelije ciljnih tkiva sadrže 5 α -reduktazu, koja katalizuje transformaciju testosterona u dihidrotestosteron. To je aktivan androgen u svim tkivima odrasle jedinke, osim u mišićima gde deluje sam testosteron. Testosteron direktno deluje i u nekim embrionalnim strukturama. Takođe, pod dejstvom aromataze testosteron se transformiše u estradiol, formu u kojoj deluje na određene moždane strukture.¹⁸

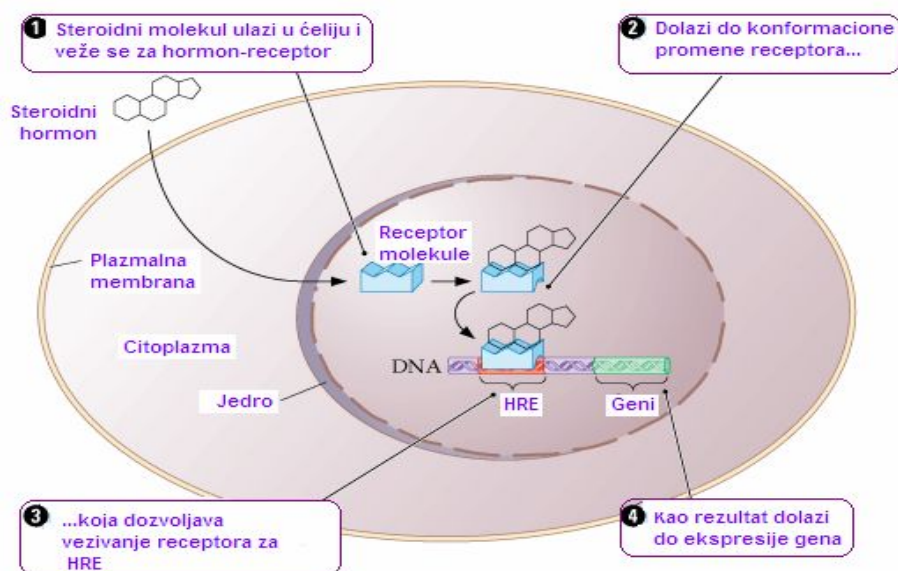
Pojedini enzimi u steroidogenezi, kao npr. 3 β -hidroksisteroid dehidrogenaza (3 β -HSD), 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaza (17 β -HSD) i/ili P₄₅₀-aromataza su i regulatori intracelularne koncentracije biološki aktivnih steroida, naročito androgena i estrogena.¹⁹ Ovi hormoni su aktivniji u svojoj 17 β -konfiguraciji, zbog povećanog afiniteta prema

receptorima u poređenju sa svojim 17-keto analogima. Enzim 17 β -HSD se ne nalazi samo u testisima,²⁰ jajnicima²¹ i placenti,²² već i u perifernim tkivima,²³ kao što su masno tkivo,²⁴ endometrijum,²⁵ jetra,²⁶ pluća,²⁷ koža,²⁸ kao i u krvi,²⁹ kanceru dojke^{30,31} i kanceru prostate.³² Procenjuje se da je 50% androgena kod odraslih muškaraca, a 75% estrogena kod žena u predmenopauzi i 100% estrogena kod žena u postmenopauzi sintetizovano u perifernim tkivima iz nadbubrežnih C-19 steroida.³³

Regulacija ćelijske aktivnosti steroidnim hormonima može se ostvariti na različitim nivoima genetske aktivnosti:

- regulacija transkripcije,
- modifikacija aktivnosti hromatinskih proteina – histona,
- regulacija translacije i posttranslacijska modifikacija proteina.

U ciljnim ćelijama (ćelije koje su osetljive na hormone) steroid se vezuje za makromolekule, koji se nazivaju receptorima. Vezivanje hormona za receptor izaziva njegovu konformacionu transformaciju, odnosno njegovu aktivaciju.³⁴⁻³⁸ Ova konformaciona transformacija je neophodna da bi se novonastali receptor-steroidni kompleks vezao za akceptorsko mesto na DNK, koje se još naziva HRE (*hormone-response element*) deo DNK.^{39,40} Vezivanjem receptor-steroidnog kompleksa za HRE, aktiviraju se specifični geni, odnosno izaziva se njihova ekspresija. Kao rezultat, DNK koja predstavlja genetski materijal reprodukuje iRNK, kao svoju kopiju. Taj proces se zove transkripcija ili prepisivanje genetskih informacija. iRNK zatim odlazi u citoplazmu i služi kao obrazac po kome se iz aminokiselina vrši sinteza proteina, koji menja funkciju, rast ili diferencijaciju ćelije. Shematski prikaz mehanizma delovanja steroidnih hormona u ciljnoj ćeliji dat je na *shemi 2.2*.



Shema 2.2. Mehanizam delovanja steroidnih hormona u ciljnoj ćeliji⁴¹

Na osnovu podataka o vezivanju androgena za njihove receptore i brojnih molekularno-modelirajućih proračuna pretpostavlja se da vezivanje androgena za steroidne receptore u najvećoj meri zavisi od prisustva 17 β -hidroksi supstituenta. Takođe, ovo vezivanje je podržano postojanjem planarnog sistema konjugovanih veza u regionu B i C prstena.⁴²⁻⁴⁵

Za receptorne proteine mogu se vezivati razni sintetički steroidi, od kojih neki dobro kompetituju sa prirodnim steroidima u vezivanju za receptor i nazivaju se *agonisti* ili *antagonisti*, zavisno od funkcije. Agonisti deluju kao i prirodni androgeni izazivajući biološki odgovor ćelije, dok antagonisti vezujući se za androgene receptore različitim mehanizmima blokiraju dalje etape u aktivnosti kompleksa ligand-receptor. Steroidni antagonisti imaju izuzetan značaj u širokoj oblasti istraživanja uključujući endokrinu fiziologiju, receptorsku biohemiju, molekularnu biologiju, kao i kliničku onkologiju, naročito u tretmanu hormon-zavisnih tumora. Otkriće steroidnih antagonista u drugoj polovini XX veka, uticalo je na ubrzano testiranje sintetičkih agenasa u fiziološkim ispitivanjima, a primaran podsticaj za farmaceutska ispitivanja imali su u primeni kao kontraceptivna sredstva.^{46,47}

2.2. Antiandrogeni i njihova primena u lečenju hormon-zavisnih oboljenja

Kao antiandrogeni označavaju se supstance koje blokiraju biološku aktivnost androgena. To se ostvaruje na nekoliko nivoa i to različitim mehanizmima:

- sprečavanjem androgene aktivnosti direktno u ciljnoj ćeliji, ili sprečavanjem vezivanja androgena na androgeni receptor, odnosno smanjenjem broja raspoloživih mesta za vezivanje;
- supresijom androgene sinteze i/ili sekrecije na nivou testisa i nadbubrežnih žlezda, ili inhibicijom sinteze i sekrecije gonadotropina na nivou hipofize;
- uticajem na metabolizam androgena;
- povećavanjem nivoa vezivanja androgena za plazma proteine, odnosno smanjenjem nivoa slobodnih androgena.⁴⁸

Termin antiandrogeni u užem smislu se često odnosi na prvu grupu, tj. na kategoriju supstanci koje sprečavaju ekspresiju androgene aktivnosti u ciljnim tkivima. Međutim i blokatori iz druge kategorije su veoma značajni kao potencijalni lekovi u tretmanu mnogih hormon-zavisnih bolesti. Oni svoju funkciju ispoljavaju inhibicijom oslobađanja gonadotropina na nivou hipotalamo-hipofizne osovine, a prirodni predstavnici su estrogeni i gonadotropin-oslobađajući hormon (GnRH, *slika 2.2.*) agonisti i antagonisti. Ovoj grupi jedinjenja pripadaju i jedinjenja koja svoju antiandrogenu aktivnost ispoljavaju inhibicijom aktivnosti enzima uključenih u proces steroidogeneze i u metabolizam testosterona.¹⁵

Postoje dve vrste terapija antiandrogenima: **lokalna** i **sistemska** (sveobuhvatna) **terapija**. Antiandrogeni koji se koriste za lokalnu terapiju moraju delovati preko kožnih androgenih receptora i moraju biti lišeni bilo kakvog sistemskog delovanja, a koriste se u tretmanu kožnih disfunkcija. Za razliku od lokalne, sistemska terapija antiandrogenima inhibira androgenu aktivnost ne samo u željenom tkivu nego i u svim ciljnim tkivima, odnosno tkivima koja poseduju androgene receptore (*tabela 2.1.*).

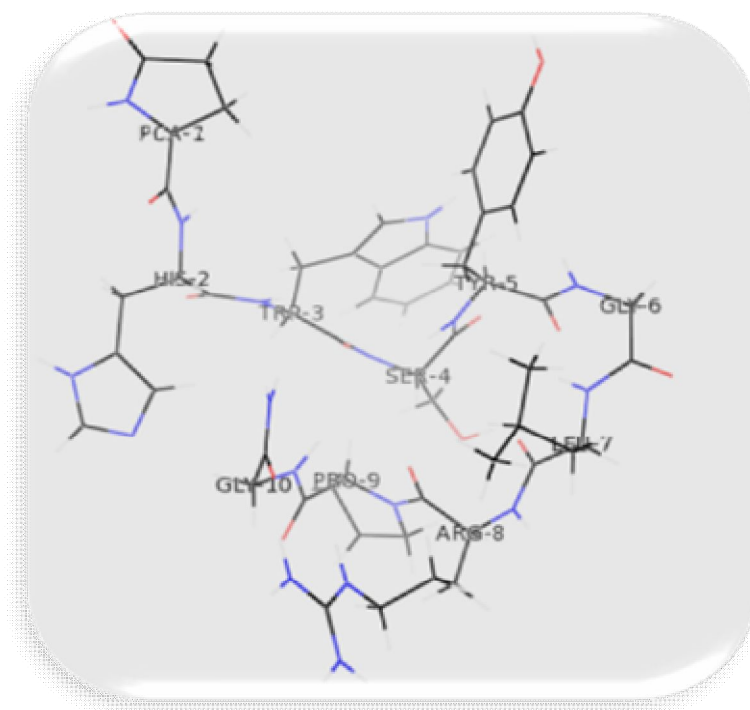
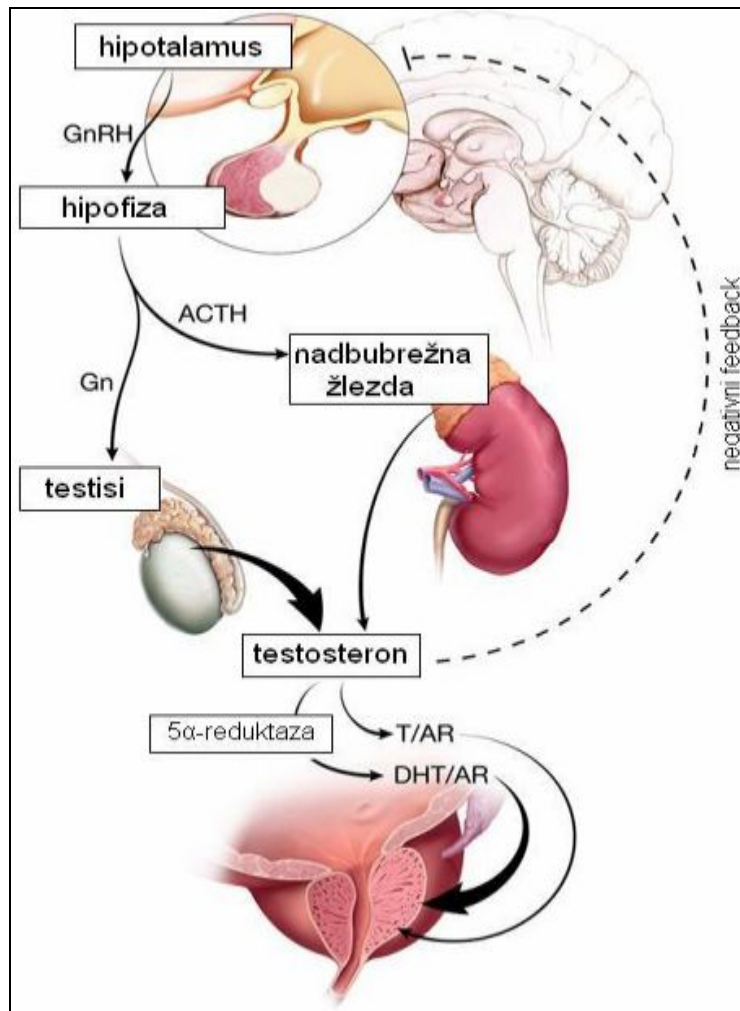
Slika 2.2. Struktura GnRH⁴⁶

Tabela 2.1. Klinička primena antiandrogena

ANDROGENI EFEKTI	PRIMENA NA:	VRSTA TERAPIJE
Seksualno ponašanje	Hiperseksualnost	Sistemska
Hipotalamus-hipofiza-testis (HPTA) sekrecija hormona	Aktivnost HPTA osovine	Sistemska
Starenje kostiju	Prevrmeni pubertet	Sistemska
Funkcija lojnih žlezda	Akne, hiperseboreja	Lokalna
Rast kose	Muška ćelavost, hirsutizam	Sistemska i lokalna
Rast androgen-zavisnih tumora	Androgen-zavisni tumori (kancer prostate)	Sistemska

Antiandrogena terapija, odnosno, antiandrogeno dejstvo utiče na mehanizam androgen-zavisne negativne povratne sprege kojom se reguliše sekrecija androgena. Delovanje povratne sprege se ispoljava preko hipotalamus-hipofiza-testikularne osovine (*shema 2.3*). Gonadotropin-oslobađajući hormon (GnRH) stimuliše lučenje hormona gonadotropina (Gn) iz prednjeg režnja hipofize i gonadotropin zauzvrat stimuliše proizvodnju testosterona. Testosteron u cirkulaciji deluje putem negativnog *feedback*-a regulišući lučenje gonadotropin-oslobađajućeg hormona. Adrenokortikotropni hormon (ACTH), takođe od strane hipofize, stimuliše sintezu androgena u nadbubrežnim žlezdama. Testosteron (T) i dihidrotestosteron (DHT) se vezuju za androgene receptore (AR), uzrokujući povećano lučenje androgen-senzitivnih gena, što dovodi do rasta ćelija.^{50,51}

Kancer prostate je danas najčešće dijagnostikovani kancer kod muškaraca, a benigna hiperplazija prostate (BHP) predstavlja bolest velikog procenta muške populacije. Antiandrogeni imaju izuzetno veliki značaj u lečenju ove bolesti. Aktivan metabolit testosterona ubrzava deobu ćelija, kao i sintezu proteina znatno više nego u slučajevima kastriranih mužjaka. Ćelije kancera prostate u početku rastu kao androgen-zavisne, ali kasnije podležu tranziciji ka androgen-nezavisnom stanju, što znači da i neke maligne ćelijske populacije preživljavaju uprkos potpunom uklanjanju androgena, pa mogu da proliferuju u okolinu oslobođenu androgena. Prema tome, androgeni regulišu proliferaciju malignih ćelija *in vitro* preko interakcije sa androgenim receptorima, što je potvrđeno i u slučajevima kancera dojke. Kod pacijenata sa kancerom prostate pojavljuju se sledeći fenomeni: povećanje broja androgenih receptora, mutacije androgenih receptora, poremećena ekspresija koaktivatora androgenih receptora i aktivacija drugih puteva koji mogu da modifikuju funkciju androgenih receptora.¹⁵

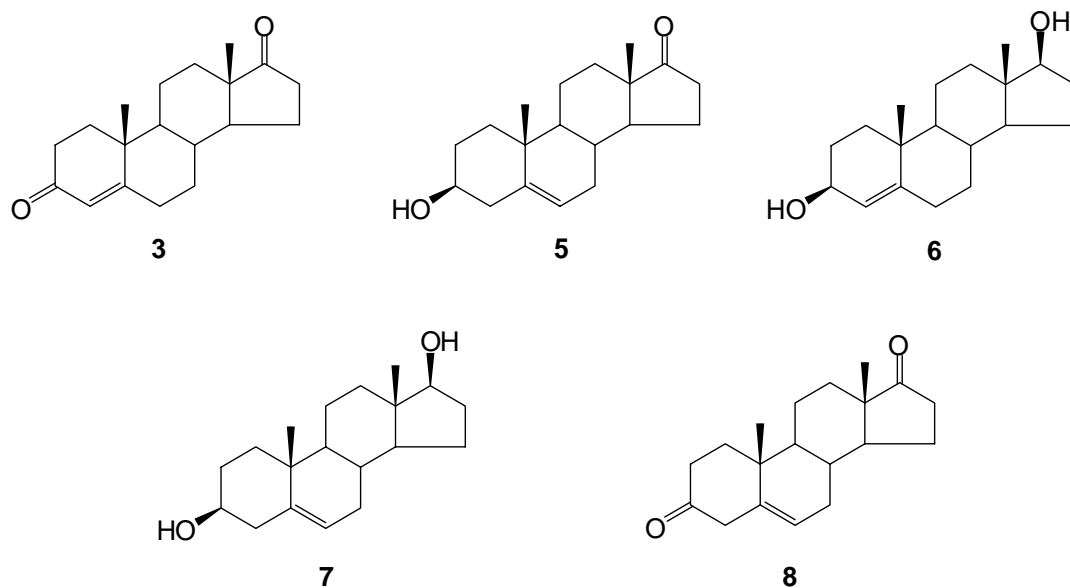


Shema 2.3. Prikaz procesa pod kontrolom osovine hipotalamus-hipofiza-testis⁵¹

Kako je kancer prostate visoko osetljiv na androgene, antiandrogeni koji se koriste u njegovoj terapiji moraju biti jedinjenja koja imaju visoku specifičnost i afinitet za androgene receptore, ali ne bi trebalo da imaju ikakvu androgenu, estrogenu, progesteronsku, glukokortikoidnu ili bilo kakvu drugu hormonsku i antihormonsku aktivnost. U terapiji kancera prostate uglavnom se koristi kombinacija luteinizirajućeg hormon-oslobađajućeg hormona (LHRH) agonista ili hirurške kastracije sa sistemskom antiandrogenom terapijom.⁵⁰

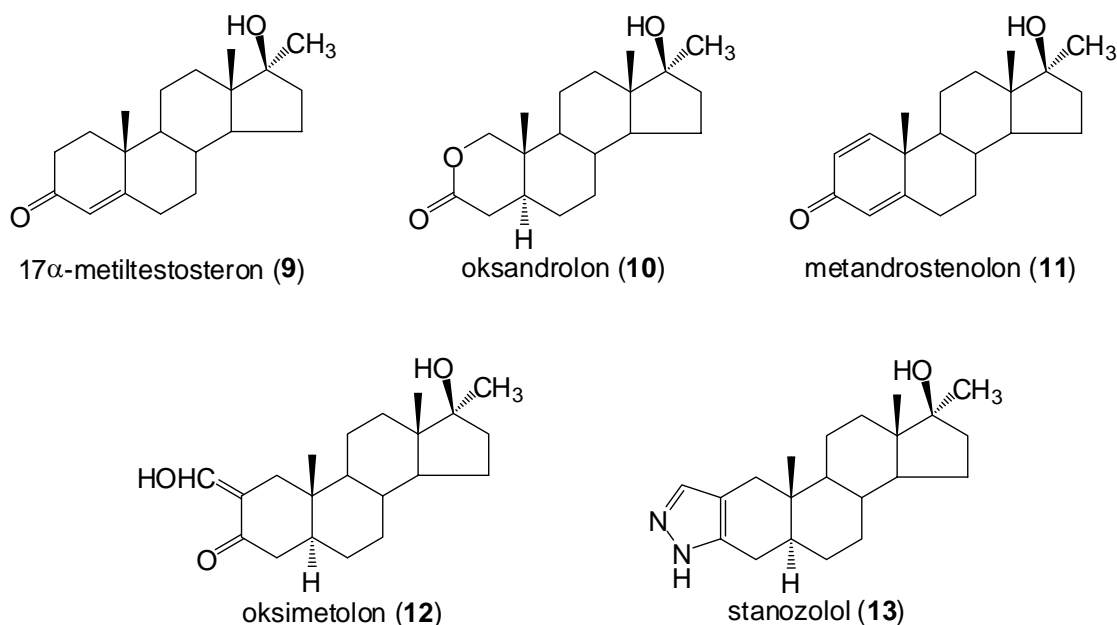
2.3. Steroidna jedinjenja sa anaboličko-androgenom aktivnošću

Anaboličko-androgeni steroidi imaju terapijsku primenu u lečenju anemije, renalne insuficijencije, endometrioze, kancera dojke, osteoporoze i smanjenja rasta.^{52,53} Oni se takođe koriste i za povećanje ukupne muskulatorne mase, daju dodatnu snagu, povećavaju libido, a nalaze svoju primenu i kod profesionalnih atleta.^{54,55} Anaboličko-androgene steroide koriste i žene atlete, iako izazivaju neželjene efekte kao što su dublji glas, neregularni menstrualni ciklus, srčana oboljenja, infarkt miokarda i arterijska tromboembolija.^{56,57} Upotreba steroidnih anabolika je bila registrovana još 1954. godine kod atleta,⁵⁸ a 1974. i 1976. godine Internacionalni Olimpijski Komitet je uveo testiranje na ove supstance.^{59,60} U toku 1994. godine je veliki broj steroidnih jedinjenja komercijalizovan, kao nutricionistički dodaci, a predstavljali su prekursore testosterona – 'prohormone'. Američki kongres je 2004. godine zabranio steroidne anabolike kao nutricionističke suplemente.⁶¹ Prvi testosteron-'prohormoni' su bili dehidroepiandrosteron (**5**, DHEA), androst-4-en-3,17-dion (**3**), androst-4-en-3 β ,17 β -diol (**6**), androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**7**) i androst-5-en-3,17-dion (**8**) (*slika 2.3*).⁶² Svetska antidoping agencija (World Anti-Doping Agency – WADA) je zabranila upotrebu steroidnih anabolika kod sportista, kao i kortikosteroida i jedinjenja sa antiestrogenim osobinama.⁶³



Slika 2.3. Prvi testosteron-'prohormoni'

Brower i saradnici⁶⁴ su izvršili podelu anaboličko-androgenih steroida u tri klase: 17 α -metilovani androgeni, 19-nortestosteron estri i testosteron estri. Četvrta klasa anaboličko-androgenih steroida je nastala iz 17-metilovane klase i tu spadaju 17 α -metiltestosteron (**9**, 17 β -hidroksi-17 α -metil-androst-4-en-3-on), oksandrolon (**10**, 17 β -hidroksi-17 α -metil-2-oksa-5 α -androstan-3-on), metandrostenolon (**11**, 17 β -hidroksi-17 α -metil-androstan-1,4-dien-3-on), oksimetolon (**12**, 17 β -hidroksi-2-[hidroksimetilen]-17 α -metil-5 α -androstan-3-on) i stanazolol (**13**, 17 β -hidroksi-17 α -metil-5 α -androstan[3,2-c]pirazol, slika 2.4.).



Slika 2.4. Anaboličko-androgeni steroidi

Efekat dugotrajne primene visokih doza anaboličko-androgenih steroida na seksualno ponašanje muškaraca nije sasvim poznat. Istraživanja su vršena na mužjacima i ženkama pacova,⁶⁵ pri čemu je utvrđeno da navedena jedinjenja (9-13) uzrokuju minimalne efekte.⁶⁶ Međutim, ispitivanja *Pope-a* i *Katza*⁶⁷ su ukazala da se upotrebom anaboličko-androgenih steroida javlja depresivni sindrom uz agresivno ponašanje (22% slučajeva).

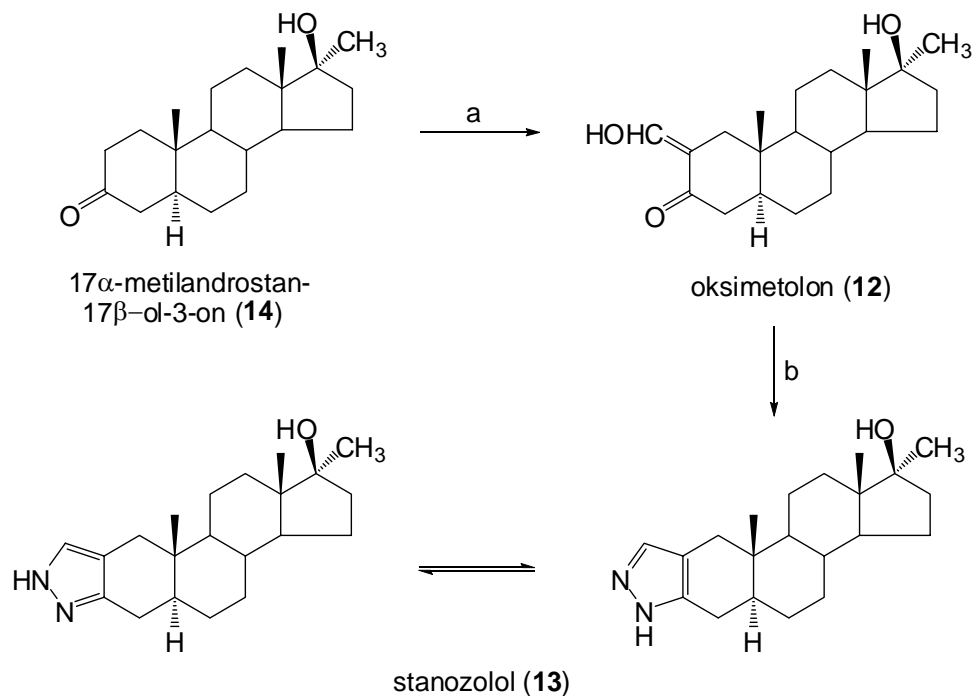
Istraživanja u oblasti potencijalne terapijske primene testosterona, koja je bazirana na njegovim anaboličkim i androgenim osobinama, su počela 1935. godine,⁶⁸ kada je izvršeno njegovo izolovanje. Rana istraživanja oralne i intravenske upotrebe testosterona nisu bila uspešna, zbog njegove prebrze hepaticne apsorpcije i degradacije. Da bi se prevazišao ovaj problem, sintetizovani su derivati testosterona, sa sporijim hepaticnim metabolizmom. Dalje modifikacije su se odvijale u pravcu promene anaboličko-androgene aktivnosti (povećanje tolerancije i efekata) i povećanje poluživota *in vivo*.^{69,70} Rezultat ovog istraživanja je bilo više od stovadeset analoga testosterona, koji su imali slične efekte kao i sam testosteron: smanjivanje retencije

azota, stimulacija eritropoeze i poboljšanje apsorpcije kalcijuma. Ovi derivati poseduju androgene efekte, a takođe i efekte maskulinizacije.⁷¹

Steroidno jezgro kondenzovano sa heterocikličnim prstenom uslovljava promenu u biološkoj aktivnosti osnovnog steroida. Takva jedinjenja su manje toksična i farmakološki su aktivni terapeutici.⁷² Isto tako, pokazuju i inhibitorski efekat na pojedine ćelijske linije kancera,⁷³ a npr. pirazolini su poznati i po svojoj anti-inflamatornoj aktivnosti.⁷⁴⁻⁷⁸

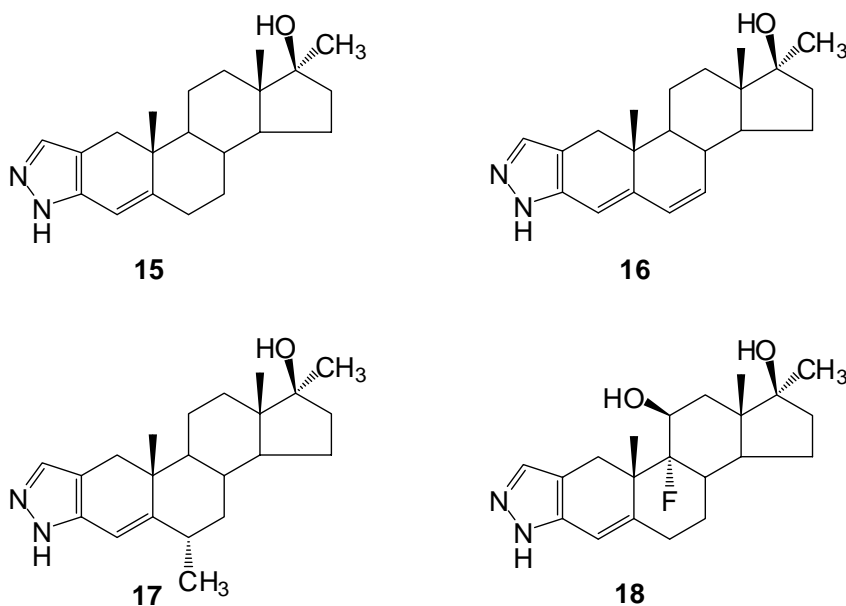
Stanozolol (**13**) (slika 2.4.) je primer steroida sa kondenzovanim pirazolskim prstenom. Sintetizovan je 1961. godine i prvi je član serije anabolički-aktivnih steroida, koji je imao heterociklični prsten kondenzovan sa A-prstenom steroidnog jezgra.⁷⁹ Klinički, *stanozolol* se koristi u lečenju osteoporoze.⁸⁰

U radu *Clinton*-a i saradnika⁸¹ *stanozolol* (**13**) je dobijen iz 17 α -metilandrostan-17 β -ol-3-ona (**14**), kod kojeg je uvedena 2-hidroksimetilenska funkcija, pri čemu je nastali *oksimetolon* (**12**), reagovao sa hidrazinom (shema 2.4.).



Shema 2.4. a. HCOOC₂H₅, NaH, aps. benzen, azot, s.t., tri dana; b. NH₂NH₂·H₂O, C₂H₅OH, refluks, 6h

Modifikacija u molekulu *stanozolola*, kao što je npr. uvođenje dvostruke veze u položaj C₄=C₅ kod derivata **15** uslovljava slabu androgenu i estrogenu aktivnost. Derivat **16** sa dve dvostruke veze, u položajima C₄=C₅ i C₆=C₇ je po pravilu estrogenski, bez androgene ili anaboličke aktivnosti (*slika 2.5.*).⁷⁹



Slika 2.5. Derivati stanozolola

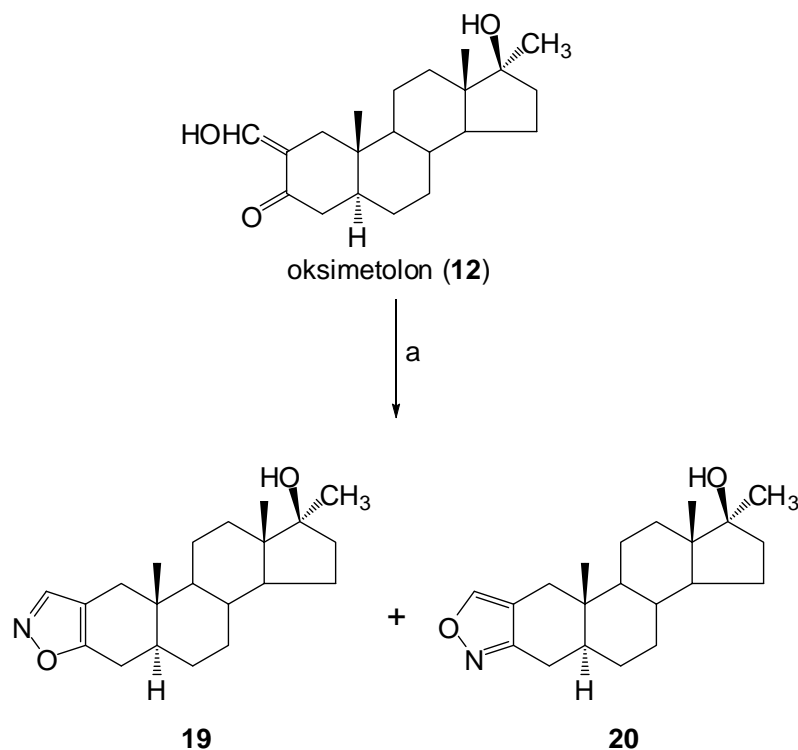
Endokrinološka aktivnost uočena je kod 6 α -metil derivata **17** ili derivata **18** sa 9 α -fluoro i 11 β -hidroksilnom grupom, a uočena je i smanjena androgena i anabolička aktivnost. Slično smanjenje androgene i anaboličke aktivnosti zabeleženo je kod 4-metil i 19-norsteroidnih[3,2-c]pirazola.^{81,82}

Kao što je ranije rečeno, važnu klasu derivata testosterona predstavljaju 17 α -metil derivati, sa modifikovanim A-prstenom, koji su se pokazali kao dobri anaboličko-androgeni steroidi, *oksandrolon* (**10**) i *oksimetolon* (**12**) (*slika 2.4.*, str. 16).⁸³

Oksimetolon (**12**, 17 β -hidroksi-2-[hidroksimetilen]-17 α -metil-5 α -androstan-3-on) je oralni 17 α -alkilovani anaboličko-androgeni steroid, koji su prvi put opisali *Ringold* i saradnici.⁸⁴ Ovaj steroid može da smanji rizik od hepato-toksičnosti, koja je inače povećana kod 17 α -alkilovanih steroida, a takođe postiže i veću anaboličku aktivnost i manju androgenu aktivnost u poređenju sa metil-testosteronom, testosteronom i

testosteron-propionatom.⁸⁵ *Oksimetolon* predstavlja lek, koji se koristi u terapiji stečene ili urođene aplastične anemije, mijelofibroze i hipoplastične anemije, koje mogu da nastanu kao posledice primene mijelotoksičnih lekova. *Oksimetolon* je primenjivan kod deficijencije antitrombina III, smanjenja rasta kod dece i oštećenja miokarda. U novije vreme *oksimetolon* je našao upotrebu u tretmanu HIV-obojelelih pacijenata, bez obzira na njegove sporedne efekte, koji su prisutni i kod mnogih drugih steroidnih lekova.⁸³

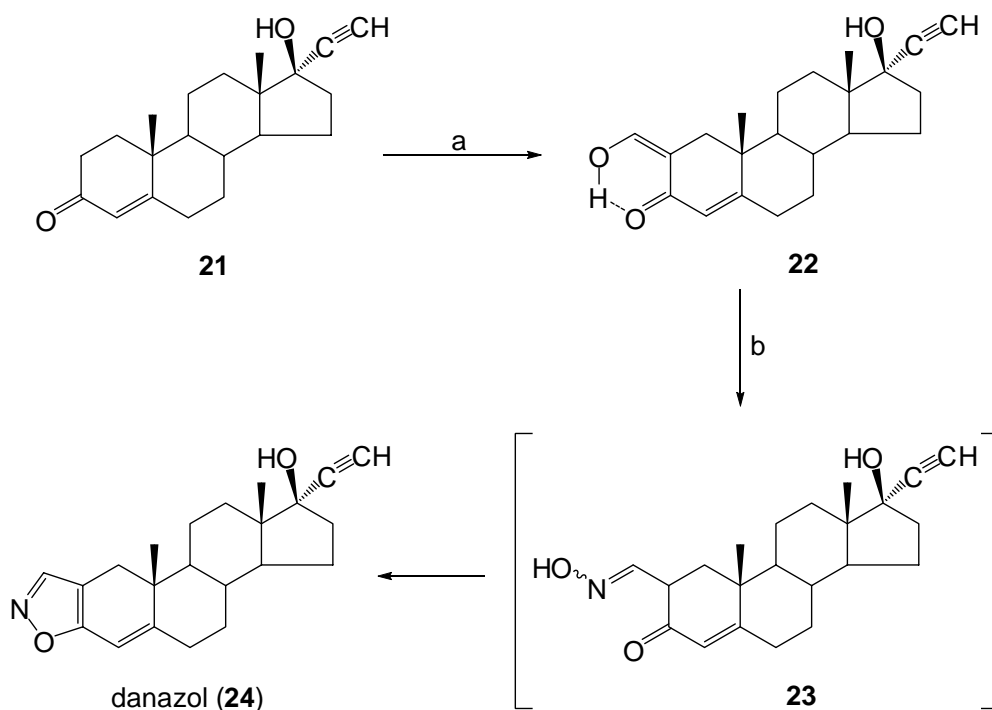
Obzirom da *oksimetolon* u A-prstenu poseduje 2-hidroksimetilensku i 3-keto funkciju, moguće su dalje transformacije u cilju sinteze heterocikličnih steroida sa oksazolskim i/ili izoksazolskim prstenovima, koji mogu da budu kondenzovani sa A-prstenom steroidnog jezgra.⁸⁶ *Manson* i saradnici⁸⁷ su u svom radu opisali sintezu steroidnih izoksazola, polazeći od *oksimetolona*, koji daje 17 β -hidroksi-17 α -metil-5 α -androstan[2,3-d]izoksazol (**19**) i 17 β -hidroksi-17 α -metil-5 α -androstan[3,2-c]izoksazol (**20**) (*shema 2.5*).



Shema 2.5. a. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, CH_3COONa

Sintezu izoksazol-steroidnog derivata, koju su primenili *Manson* i saradnici,⁸⁷ razvili su *Sterling Winthrop Pharmaceuticals*, što je rezultiralo dobijanjem poznatog leka *danazola* (**24**, 17 α -etinil-17 β -hidroksi-androst-4-eno[2,3-d]izoksazol).⁸⁸ *Danazol* je sintetički androgeno-anabolički steroid, sa slabom androgenom aktivnošću, bez estrogenskih ili progestagenih efekata. U kliničkoj upotrebi, *danazol* se primenjuje za lečenje endometrioze, a takođe inhibira steroidogenezu lučenja estradiola i može povećati produkciju androgena.⁸⁹

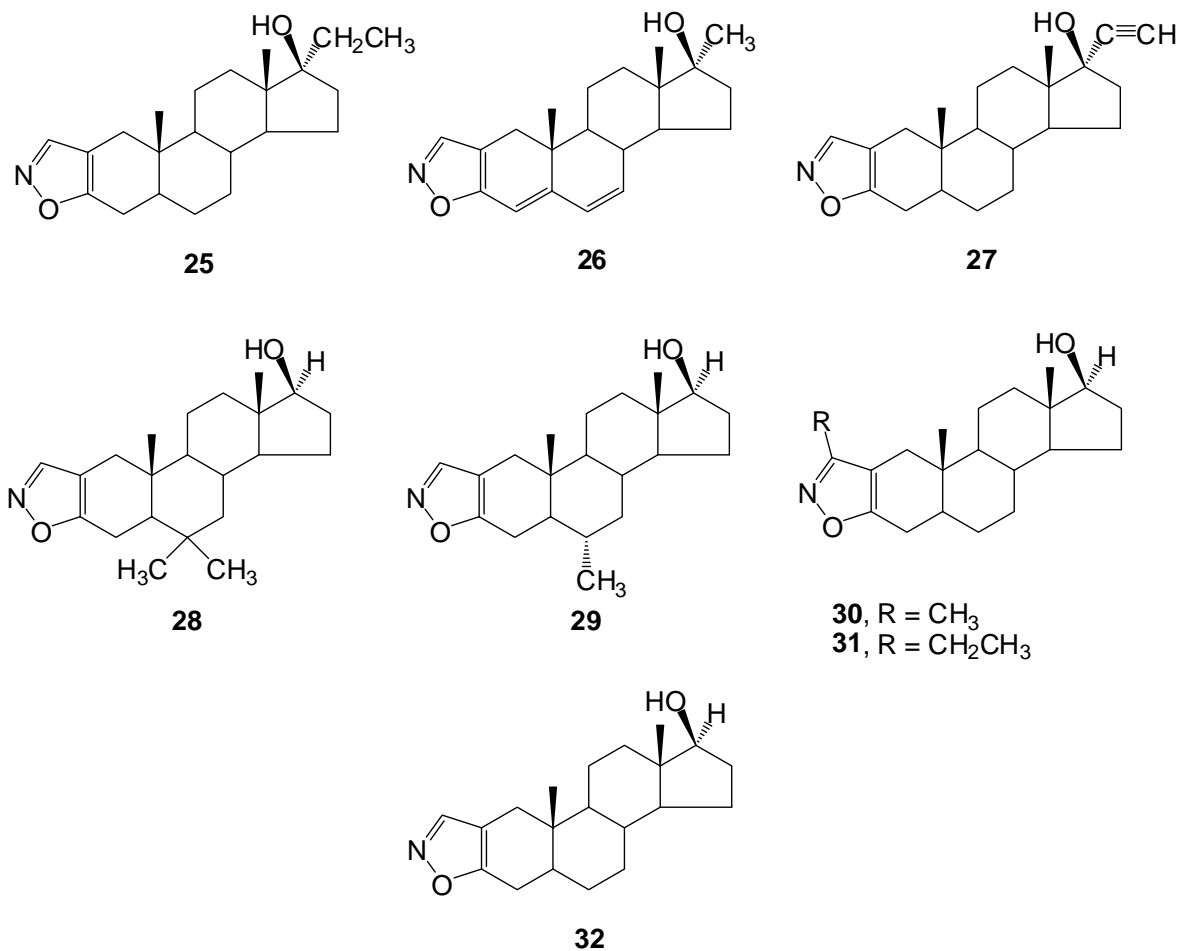
Prekursor **22**, 2-hidroksimetilenski derivat etisterona, je dobijen tretiranjem etisterona (17 α -etiniltestosteron, **21**) sa metil-formijatom u baznim uslovima, a pojavljuje se u konjugovanom enolnom obliku, koji je stabilizovan intramolekulskom vodoničnom vezom. Dalje, dobijeni 2-hidroksimetilenski derivat **22** u reakciji sa hidroksilaminom daje smešu monooksima **23**, koji ciklizacijom i dehidratacijom daje *danazol* (**24**). U ovoj reakciji nastaje i izomerni [3,2-c]izoksazolski derivat u manjem prinosu (*shema 2.6.*)⁸⁸



Shema 2.6. a. HCOOCH₃, NaH; b. NH₂OH·HCl

Danazol se prvobitno koristio u terapiji endometrioze i benignih bolesti dojke, a kasnije se pokazao i kao efikasno sredstvo za lečenje hormon-zavisnog kancera dojke.

Sintetizovani su i derivati danazola (**25-32**) prikazani na slici 2.6., a utvrđeno je da pokazuju minimalnu miotropnu aktivnost.⁸⁷

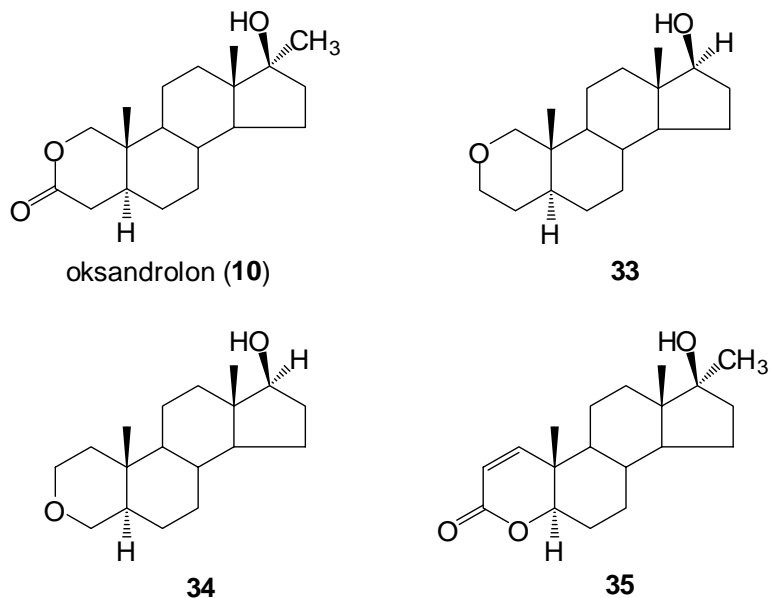


Slika 2.6. Derivati danazola

Oksandrolon - 17β-hidroksi-17α-metil-2-oksa-5α-androstan-3-on (**10**) (slika 2.7.) je sličan 17α-metil-dihidrotestosteronu, ali sadrži kiseonikov atom u položaju 2. To je prvi anabolički steroid, u kojem je zamena ugljenikovog atoma heteroatomom izvršena u okviru steroidnog jezgra. *Oksandrolon* poseduje znatnu miotropnu aktivnost, zatim utiče na retenciju azota i ima malu androgenu aktivnost.^{90,91}

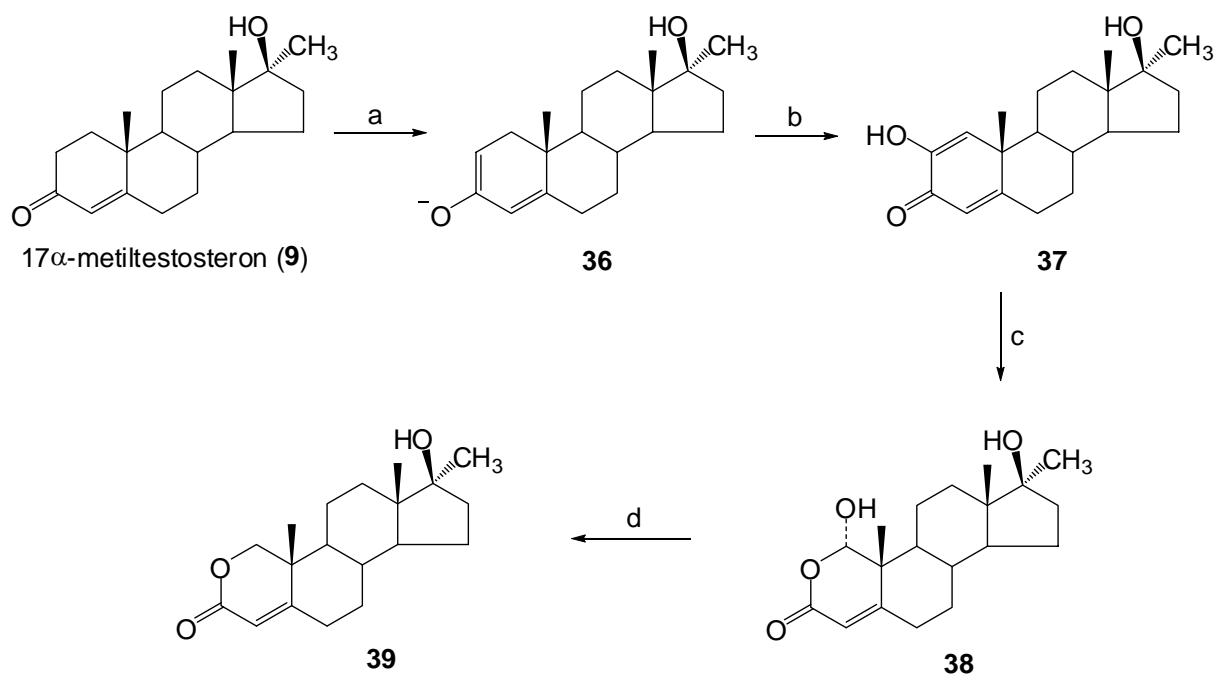
U istraživanjima je dokazano da 2-oksasteroidi, koji sadrže 4,5-nezasićen 3-keto sistem (npr. 2-oksa-17 α -metiltestosteron) poseduju ekvivalentu aktivnost normalnim steroidima.⁹¹

Upoređivanjem aktivnosti 2-oksa (**33**), 3-oksa (**34**) i 4-oksa-5 α -androstan-17 β -ol steroida (**35**), sa parentnim 5 α -steroidom, dolazi se do zaključka da zamena ugljenika kiseonikom na C-2 atomu u steroidnom jezgru dovodi do znatnog povećanja androgene aktivnosti steroida. Zamena kiseonikom u C-3 položaju (jedinjenje **34**) dovodi do nešto manjeg povećanja androgene aktivnosti, dok zamena kiseonikom na C-4 atomu (jedinjenje **35**) dovodi do nastajanja neaktivnog jedinjenja (slika 2.7.).⁹²



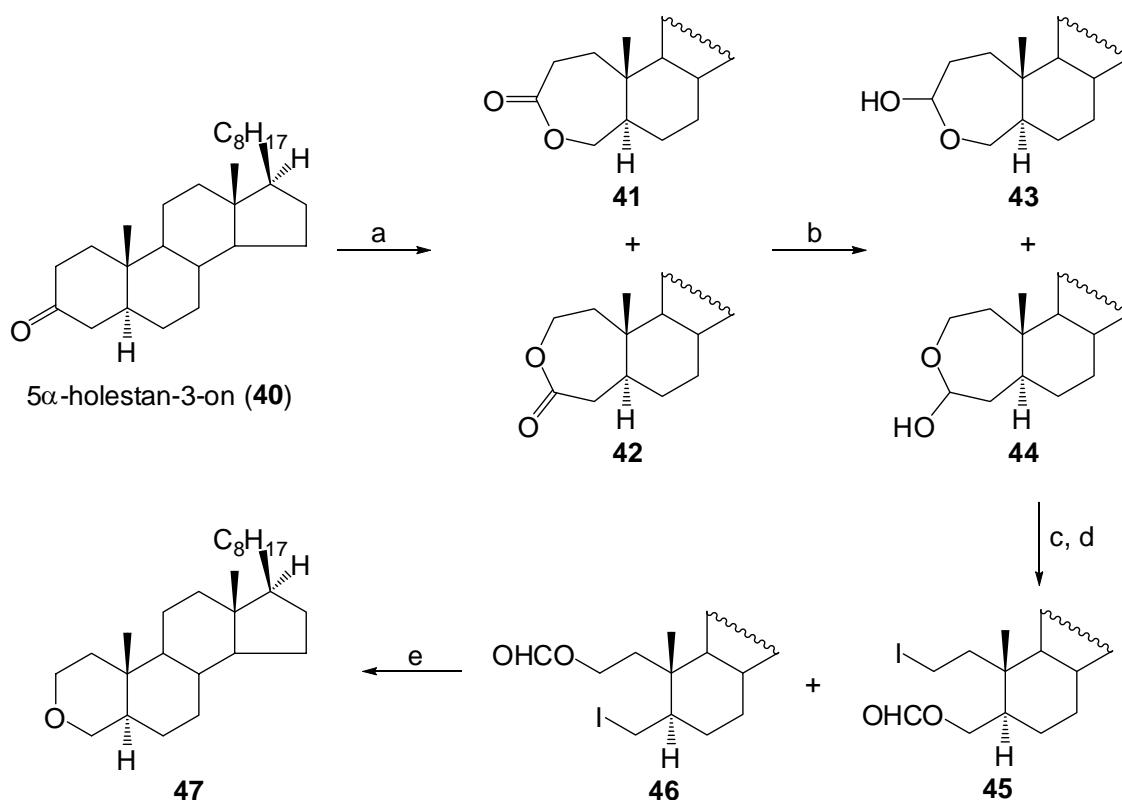
Slika 2.7. 2,3 i 4-oksasteroidi

Sintezu 2-oksasteroida derivata oksandrolona **39** su opisali *Frimer* i saradnici⁹³ iz 17 α -metiltestosterona (**9**), koji preko jedinjenja **36** dobijenog sa kalijum-*t*-butoksidom uz 18-krunaetar-6 i enolata **37**, oksidacijom kiseonikom u prisustvu kalijum-*t*-butoksida na sobnoj temperaturi u toku 3 dana, daje laktol **38**, koji se zatim redukuje natrijum-borhidridom uz nastajanje jedinjenja **39** (shema 2.7.).



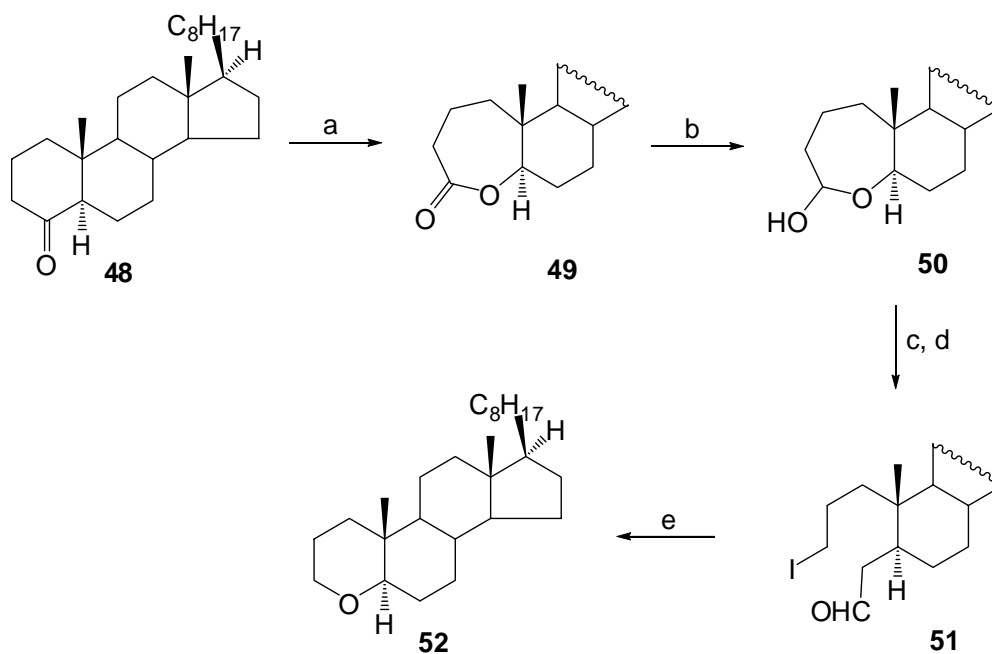
Shema 2.7. a. *t*-BuOK, 18-krunaetar-6, toluen, -25 °C; b. O₂, -25 °C; c. *t*-BuO-/O₂, s.t.; d. NaBH₄

Sintezu 3-oksa steroida **47** su u svojim radovima opisali *Suginome* i *Yamada*.^{94,95} Naime, *Baeyer-Villiger*-ovom oksidacijom 5 α -holestan-3-ona (**40**) *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom (*m*-CPBA) u metilen-hloridu je dobijena smeša (1:1) 3a-oksa-A-homo-5 α -holestan-3-ona (**41**) i 2a-oksa-A-homo-5 α -holestan-3-ona (**42**), koja je redukcijom di*iz*obutilaluminijum-hidridom (DIBAL) u toluenu dala smešu 3a-oksa-A-homo-5 α -holestan-3-ola (**43**) i 2a-oksa-A-homo-5 α -holestan-3-ola (**44**). Dalje je smeša laktola podvrgnuta hipojodidnoj fotolizi, pri čemu su dobijeni derivati **45** i **46**, koji su redukovani natrijum-borhidridom u tetrahidrofuranu (*shema 2.8*).



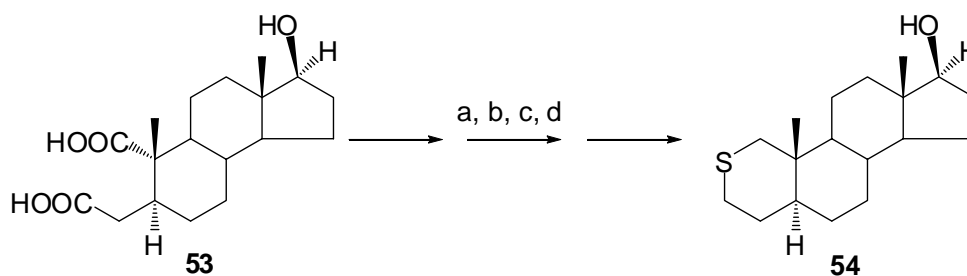
Shema 2.8. a. *m*-CPBA; b. DIBAL; c. HgO-I₂, Py; d. hv; e. NaBH₄

4-Oksa-5α-holestan (**52**) je sintetizovan sličnom strategijom sinteze.^{94,95} Tako *Baeyer-Villiger*-ovom oksidacijom 5α-holestan-4-ona (**48**), regioselektivno nastaje 4a-oksa-A-homo-5α-holestan-4-on (**49**), koji redukcijom DIBAL-om daje odgovarajući laktol **50**. U reakciji laktola sa HgO/I₂ nastaje derivat **51**, koji zatim sa metil-litijumom u tetrahidrofuranu daje 4-oksa derivat **52** (*shema 2.9*).



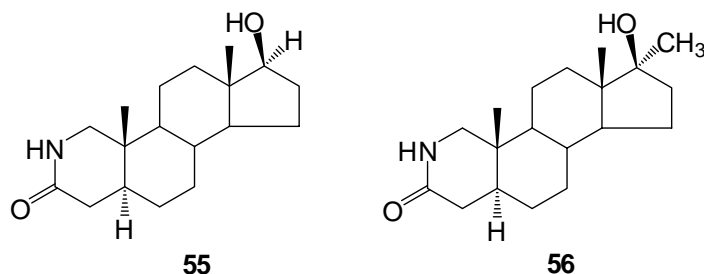
Shema 2.9. a. *m*-CPBA; b. DIBAL; c. HgO-I₂, Py; d. hv; e. CH₃Li

Odgovarajući steroid, 2-tia-androstan-17β-ol (**54**) sa sumporom u položaju 2 steroidnog jezgra (*shema 2.10.*)⁹⁶ poseduje jednu petinu androgene aktivnosti testosterona i miotropnu aktivnost testosterona. Višefaznu sintezu jedinjenja **54** su opisali *Zanati* i saradnici⁹⁶ iz 17β-hidroksi-1,3-seko-A-nor-5α-androstan-1,3-dikiseline (**53**), koja je praćena esterifikacijom i formiranjem C-17 tetrahidropiranih etra, redukcijom nastalog međuproizvoda litijum-aluminijumhidridom, zatim mezilovanjem i na kraju reakcijom sa natrijum-sulfidom (*shema 2.10.*).



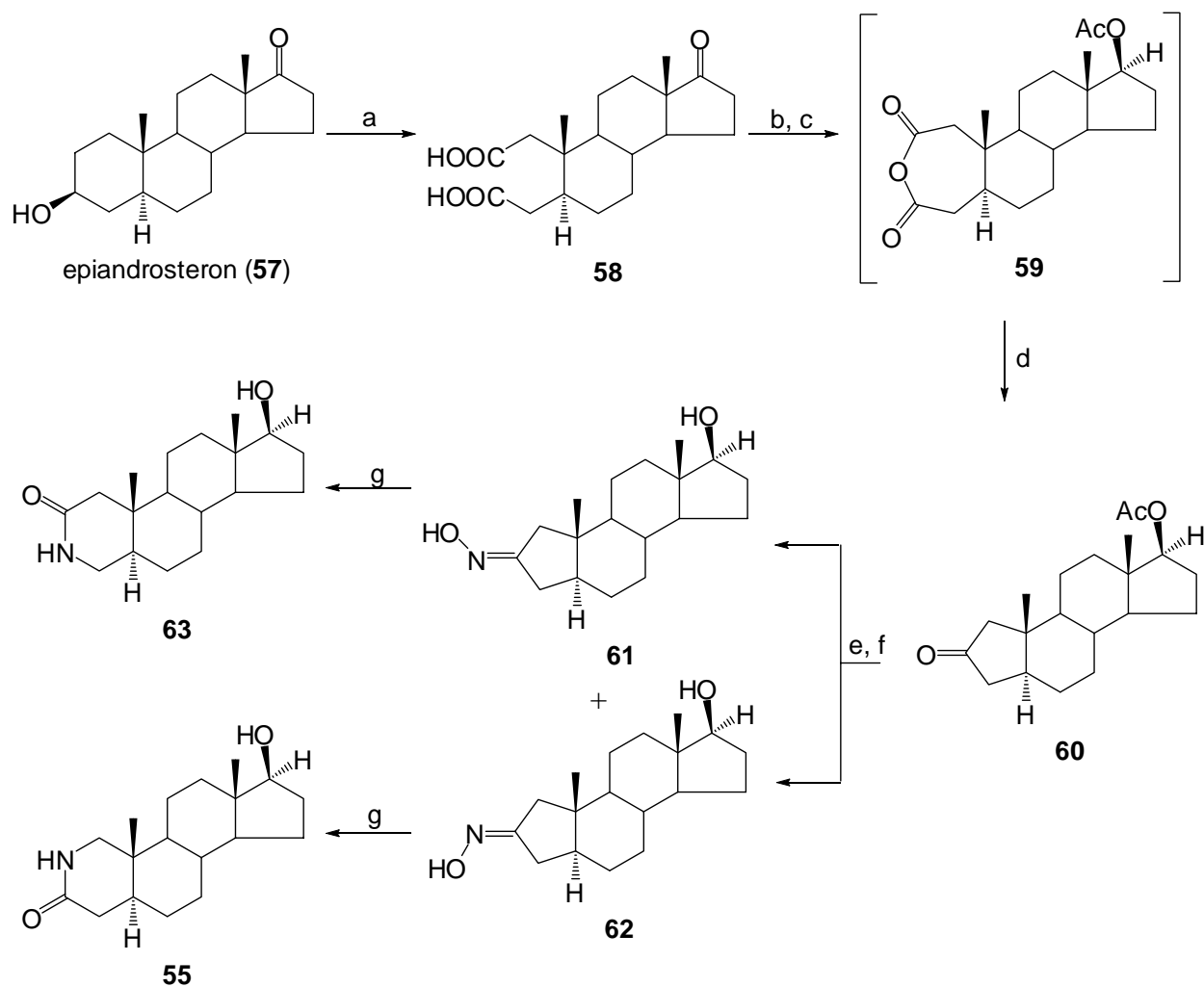
Shema 2.10. a. esterifikacija i zaštita 17-OH grupe; b. LiAlH₄, aps. etar; c. CH₃SO₂Cl, aps. Py; d. Na₂S

U literaturi⁹⁷ su opisana jedinjenja, kod kojih je izvršena zamena C-2 atoma azotom u dihidrotestosteronu i 17 α -metildihidrotestosteronu (**55** i **56**) (slika 2.8.), ali to nije uticalo na značajne promene u njihovoj androgenoj i/ili miotropnoj aktivnosti.



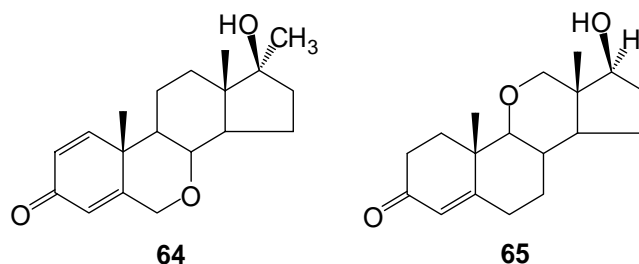
Slika 2.8. 2-Aza steroidi

Robinson i saradnici⁹⁸ su u svom radu opisali sintezu 2-aza i 3-aza steroidnih derivata **55** i **63** iz epiandrosterona **57**. Oksidativno otvaranje A-prstena je izvedeno hrom(VI)-oksidom u glacijalnoj sirćetnoj kiselini, pri čemu je nastala A-seko dikiselina **58**, koja preko formiranog sedmočlanog cikličnog anhidrida **59** daje A-norandrosteron **60**. Oksiminovanjem jedinjenja **60** i *Beckmann*-ovim premeštanjem nastaju 2-aza laktam **55** i 3-aza laktam **63** (shema 2.11.).



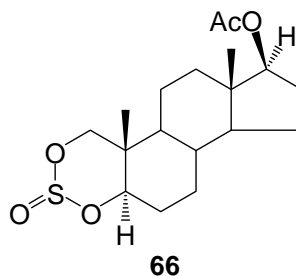
Shema 2.11. a. CrO_3 , CH_3COOH , $60\text{ }^\circ\text{C}$; b. NaBH_4 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$; c. Ac_2O , $60\text{ }^\circ\text{C}$; d. $260\text{ }^\circ\text{C}$, 0.1 mmHg ; e. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, Py ; f. KOH , CH_3OH ; g. SOCl_2 , s.t.

Zamenom C-7 atoma atomom kiseonika u steroidnom jezgru dobijen je 7-oksasteroid **64**, koji je pokazao značajnu antigonadotropnu, androgenu i anaboličku aktivnost.⁹⁹ Sa druge strane, zamenom C-11 atoma, atomom kiseonika kod testosterona, nastaje jedinjenje **65**, kod kojeg je smanjena androgena i anabolička aktivnost (slika 2.9).¹⁰⁰



Slika 2.9. 7- i 11-oksa steroidi

U literaturi¹⁰¹ su objavljeni i androgeni koji poseduju tri heteroatoma u prstenu steroidnog jezgra - jedinjenje **66**, kao što je prikazano na slici 2.10.



Slika 2.10. 2,4-Dioksa-3-tia steroid

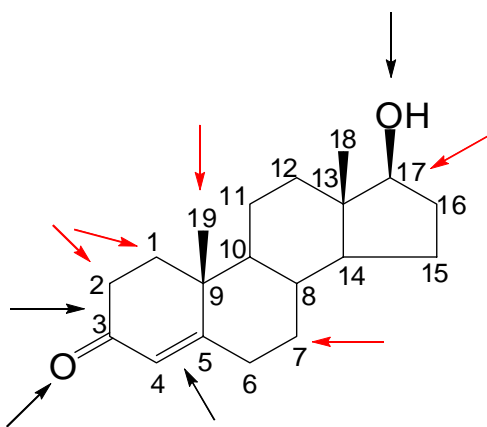
Kada su tri od šest atoma u A-prstenu steroidnog jezgra zamenjeni heteroatomima, elektronsko okruženje se menja u poređenju sa 5 α -dihidrottestosteronom (5 α -DHT). Pošto jedinjenje **66** poseduje 50-100% miotropne i androgene aktivnosti testosterona, ovo je potvrda da ni elektronske, ni hidrofobne karakteristike ne igraju važnu ulogu u povećanju biološke aktivnosti androgenog molekula, već samo sterna svojstva.

2.3.1. Povezanost strukture jedinjenja i njegove aktivnosti (SAR – structure-activity relationship)

Reakcije u reproduktivnom tkivu, uključujući i prostatu, semene vezikule i testise, su poznate kao androgeni efekti, dok su efekti retencije azota u mišićima i kostima poznati kao anabolički efekti.^{79,102}

Androgena aktivnost steroida određena je povećanjem mase ventralne prostate ili semena vezikula.

Anabolička ili miotropna aktivnost sintetičkih anaboličko-androgenih steroida ocenjuje se na nekoliko načina, kao što je na primer balans azota - proteinska anabolička aktivnost i/ili rast mase bubrega - renotropna aktivnost. Za utvrđivanje anaboličkih osobina, koristi se anabolički indeks, koji se definiše kao odnos miotropne i androgene aktivnosti. Anabolički indeks veći od jedan označava prirodne anabolike, dok indeks manji od jedan predstavlja androgene steroide. Postoje značajne razlike u aktivnosti jedinjenja, čak i kada su poređenja pravljeni istom standardnom procedurom.^{103,104} Relativna aktivnost jedinjenja je procenjena pomoću raznih tehnika, pa je stoga procena efekata strukturnih modifikacija na aktivnost komplikovanija za proučavanje reaktivnosti steroidnih jedinjenja u zavisnosti od strukture (SAR - *structure-activity relationship*). Strukturne karakteristike testosterona, koje utiču na ekspresiju androgene i/ili anaboličke aktivnosti su prikazane na slici 2.11.¹⁰⁵

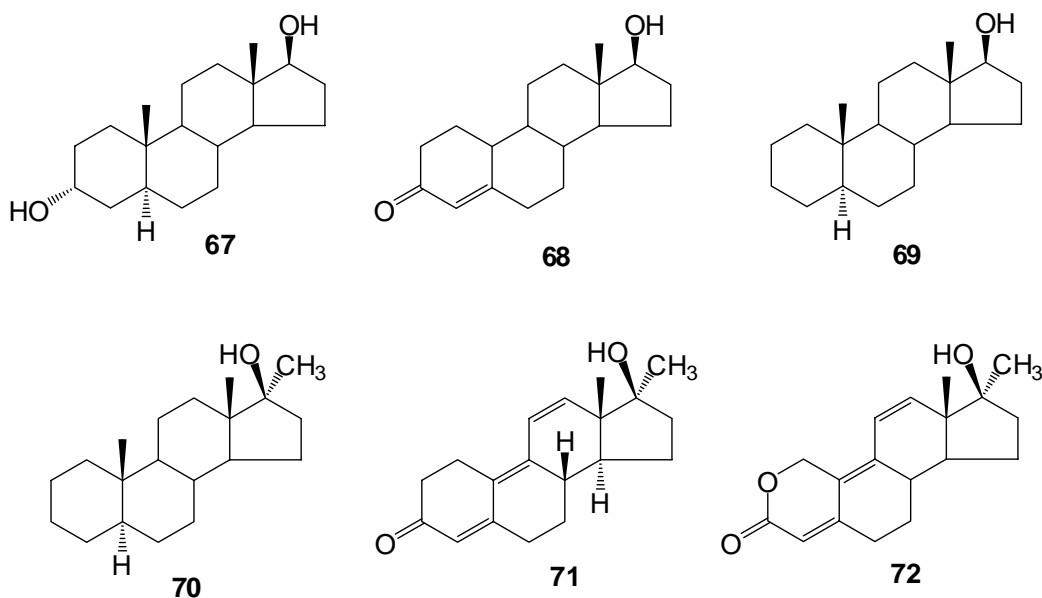


Slika 2.11. Strukturne karakteristike testosterona i mesta reaktivnosti¹⁰⁵

Kao što se na *slici 2.11.* uočava, strelice ukazuju na centre reaktivnosti steroidnog molekula. Tako, 3-keto grupa povećava androgenu aktivnost, a isto i C₄=C₅ dvostruka veza, nakon bioredukcije sa 5 α -reduktazom, pri čemu nastaje 5 α -dihidrottestosteron (5 α -DHT). Isto tako, androgena aktivnost je favorizovana, kada su prisutne 7 α -metil grupa i 17 β -hidroksilna grupa (crne strelice na *slici 2.11.*).

Anabolička aktivnost, na primeru testosterona, se ispoljava i favorizovana je, ukoliko se na C-1 i C-2 atomima steroidnog jezgra nalaze alkil grupe i ukoliko je A-prsten kondenzovan sa pirazolskim prstenom. Eliminacija C-19 angularne grupe favorizuje anaboličku aktivnost, zatim esterifikacija 17 β -hidroksilne, kao i uvedene 17 α -alkil grupe (crvene strelice na *slici 2.11.*).

Na *slici 2.12.* prikazana su steroidna jedinjenja sa 17 β -hidroksilnom i 17 α -metil grupom (**67-72**), kod kojih se uočavaju strukturne razlike u A, B i C prstenu, a koja pokazuju androgenu i/ili anaboličku aktivnost. Oksidacijom 17 β -hidroksilne grupe do 17-okso, kao na primeru oksidacije 5 α -androstan-3 α ,17 β -diola (**67**) (*slika 2.12.*) do 3 α -hidroksi-5 α -androstan-17-ona, utvrđeno je da je androgena aktivnost znatno smanjena.¹⁰² Tako je, smanjenje androgene aktivnosti testosterona uočeno i kada se uvede još jedna dvostruka veza u A-prsten.^{102,106}



Slika 2.12. Steroidna jedinjenja sa androgenom i/ili anaboličkom aktivnošću

17 α -Metil supstituent ima veoma malo uticaja na androgenu aktivnost testosterona i 5 α -dihidrotosterona, ali je povećao njihovu anaboličku aktivnost. Utvrđeno je i da uklanjanje C-19 metil grupe značajno smanjuje androgenu aktivnost što je izraženo kod 19-nortestosterona (**68**), a za razliku od testosterona i dihidrotosterona.^{107,108}

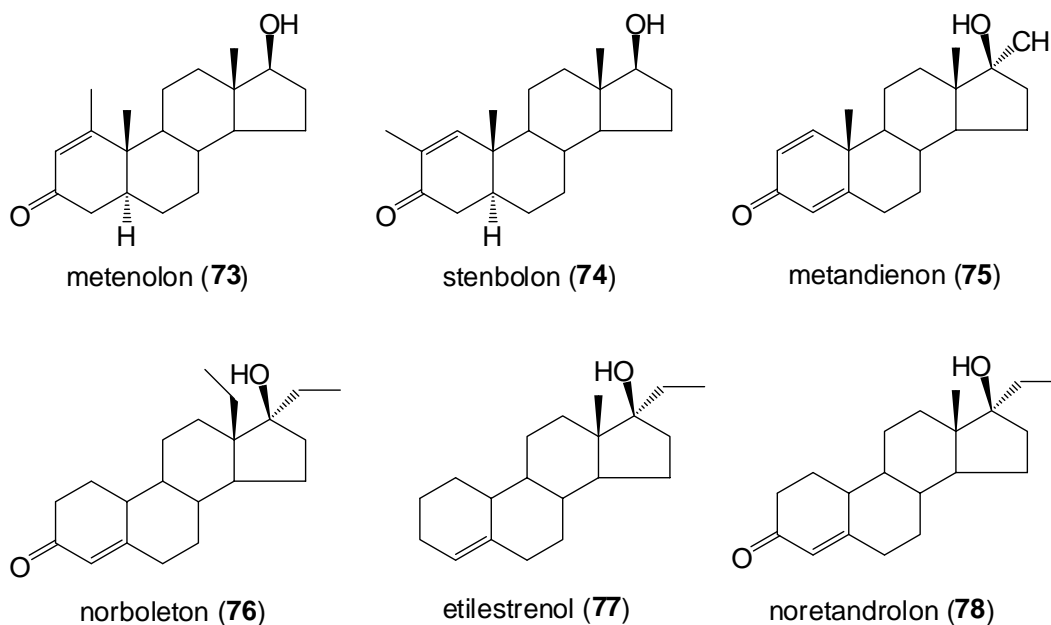
Kod nekih androgena, kao što je 17 β -hidroksi-5 α -androstan (**69**) i 17 α -metil-5 α -androstan-17 β -ol (**70**) i srodnih jedinjenja (*slika 2.12.*), koja ne poseduju kiseonik na C-3 i/ili C-17 atomima, androgena aktivnost zavisi od njihove oksigenacije u tkivu.¹⁰⁵

Međutim, kod androgena sa proširenom konjugacijom od A i B do C prstena, kao na primeru, *metiltrienolona* (**71**) i 17 β -hidroksi-17 α -metil-2-oksa-estra-4,9,11-trien-3-ona (**72**) uočena je povećana androgena aktivnost (*slika 2.12.*).

Ukoliko se A-prsten modifikuje kondenzacijom sa pirazolskim prstenom, kao u *stanozololu* (**13**) (*slika 2.4.*, str. 16) ili zamenom C-2 atoma kiseonikom, kao u *oksandrolonu* (**10**) (*slika 2.4.*, str. 16), dolazi do promene stereoelektronskog okruženja molekula, što dovodi do značajnog povećanja anaboličke aktivnosti. Takođe, uvođenjem alkil supstituenata na C-1 atom (npr. *metenolon*, **73**) ili na C-2 atom (*stenbolon*, **74**),¹⁰⁹ u prisustvu ili odsustvu dvostrukih veza na C-1 i C-2 atomima, dovodi do pojačane anaboličke aktivnosti.

17-Alkil grupa je strukturna karakteristika steroida koja doprinosi produženju anaboličkih efekata. Metil i etil supstituent u C-17 položaju doprinosi povećanju anaboličkog efekta, a takođe je povezan sa porastom stabilnosti prema enzimskoj oksidaciji D-prstena steroidnog jezgra i konverzijom u slabo aktivne 17-keto steroide.¹¹⁰⁻¹¹² 17 α -Metil supstituisani analog testosterona, *metiltestosteron* (**9**) (*slika 2.4*, str. 16), bio je jedan od prvih 17 α -alkilovanih androgena sa povećanom anaboličkom aktivnošću. Drugi 17 α -metil derivati su *metandienon* (**75**) (*slika 2.13.*), *oksimetolon* (**12**) i *oksandrolon* (**10**) (*slika 2.4.*, str. 16). Kod *norboletona* (**76**), *etilestrenola* (**77**) i *noretandrolona* (**78**) (*slika 2.13.*) je u 17 α -položaju prisutna etil grupa. Niz drugih alkil grupa, kao što su propil-, butil-, oktil i vinil- su takođe uvedene u C-17 položaj 19-norandrostanske serije.¹¹³ Iz proučavane serije jedinjenja, 17-etil-19-nortestosteron (*noretandrolon*, **78**) je najviše klinički zastupljen zbog visoke anaboličke aktivnosti (koja je uporediva sa testosteronom) i niske androgene aktivnosti. Pomenuti 17 α -metil

steroidi u poređenju sa njihovim nesupstituisanim derivatima imaju manji afinitet vezivanja za receptore zbog konformacionih efekata, koji slabe vodoničnu vezu sa kiseonikovim atomom na C-17. Međutim, struktura receptora je takva da može da primi 17 α -metil, 17 α -etil i 17 α -etinil grupu, jer ovi supstituenti ne ometaju interakciju jedinjenja sa receptorom. Nasuprot tome, *epitestosteron* (**2**) (slika 2.1., str. 6), praktično nema afinitet za vezivanje za receptor, možda zbog toga što 17 α -položaj odgovara hidrofobnom džepu receptora, što dovodi do gubitka afiniteta.¹⁰⁵



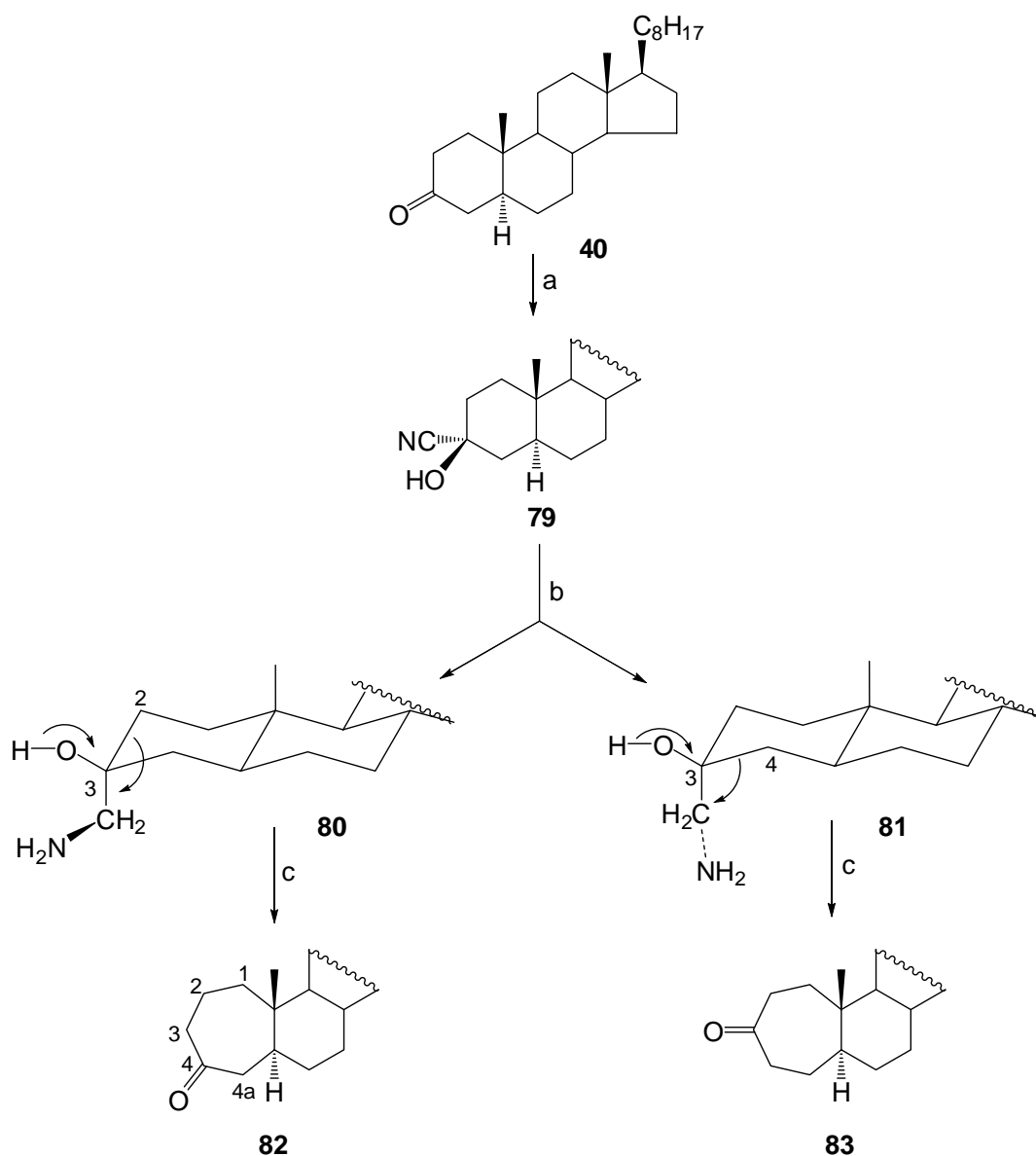
Slika 2.13. Steroidna jedinjenja sa anaboličkom aktivnošću

2.4. Androstanski derivati sa biološkom aktivnošću

Istraživanja u oblasti sinteze steroidnih hormona i njihovih derivata sa biološkom aktivnošću uključuju i hemijske transformacije u A i D-prstenu.¹¹⁴

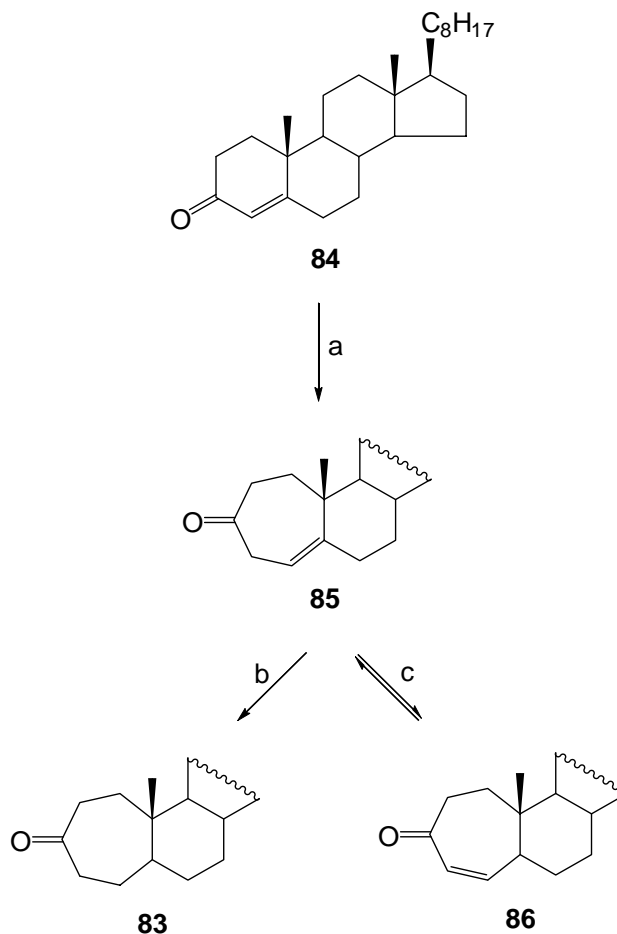
2.4.1. A-homo steroidna jedinjenja

Steroidne hormone sa A-homo prstenom *Goldberg i Kirchensteiner*¹¹⁵ su sintetizovali *Tiffeneau*-ovim premeštanjem¹¹⁶ 3 α -aminoetil-3 β -hidroksi steroida **80** ili **81** (dobijeni iz 3 α -cijano-5 α -holestan-3 β -ola, **79**, a koji je prethodno dobijen cijanohidrijskom reakcijom jedinjenja **40**), tretiranjem sa nitritnom kiselinom. Dobijeno jedinjenje, A-homo-4-keton **82** je nastao migracijom C₂-C₃ veze, dok je premeštanjem C₃-C₄ veze nastao A-homo-3-keton **83** (*shema 2.12.*).



Shema 2.12. a. HCN; b. [H]; c. NaNO₂, HCl

Johnson i saradnici^{117,118} su izveli sintezu A-homosteroida **85** u reakciji Δ^4 -holesten-3-ona (**84**) sa diazometanom u prisustvu fluoroborne kiseline, ili u prisustvu bor(III)-fluorida. U jedinjenju **85** metilenska grupa je uvedena između karbonilnog ugljenika i $C_4=C_5$ veze, dok je jedinjenje **86** dobijeno kiselo-katalizovanom izomerizacijom (i u ravnoteži je sa jedinjenjem **85**). Hidrogenacijom jedinjenja **85** je dobijeno A-homo jedinjenje **83** (shema 2.13).

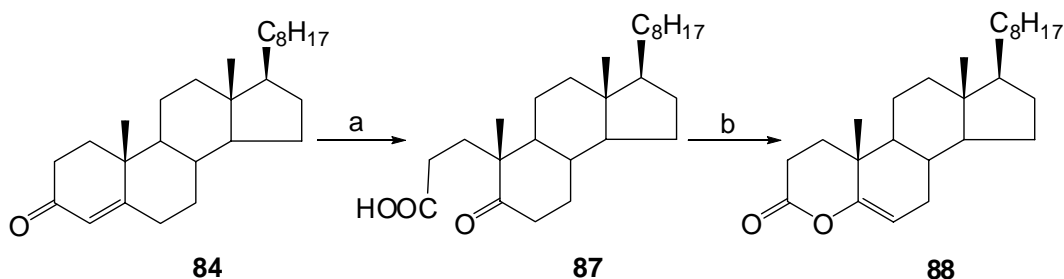


Shema 2.13. a. CH_2N_2 , HBF_4 ; b. H_2/Pt ; c. HCl

2.4.1.1. Laktonska funkcija u A-prstenu steroidnog jezgra

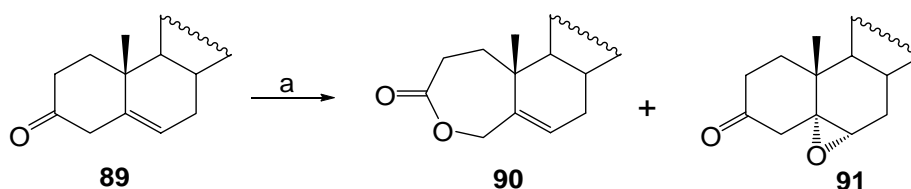
Laktonska funkcija u steroidnom jezgru utiče na biološku aktivnost jedinjenja, pa su stoga mnogi naučnici¹¹⁹⁻¹²⁸ sintetizovali steroidna androstanska jedinjenja, koja imaju laktonsku funkciju najčešće u A, B i/ili D prstenu.

Steroidna jedinjenja, koja poseduju A-laktonski prsten, mogu biti i prekursori u sintezi raznih drugih jedinjenja opisanih u literaturi.^{119,120} Tako na primer, polazno jedinjenje u sintezi laktona **88** je Δ^4 -holesten-3-on (**84**), koji je ozonolizom preveden u A-seko-keto kiselinu **87**, koja zagrevanjem sa natrijum-acetatom i anhidridom sirćetne kiseline daje lakton **88** (shema 2.14).^{121,129}



Shema 2.14. a. ozonoliza; b. CH₃COONa, Ac₂O

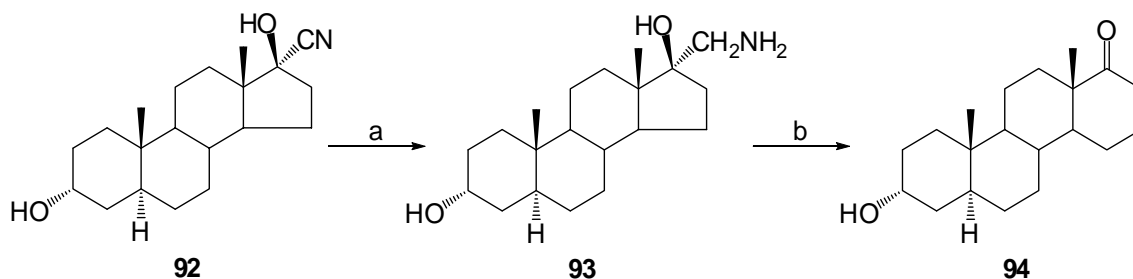
Mori¹³⁰ je opisao sintezu A-homo laktonskog derivata **90** iz Δ^5 -holesten-3-ona (**89**) sa *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom, pri čemu kao sporedni proizvod nastaje i keto-epoksid **91** (shema 2.15).



Shema 2.15. a. *m*-CPBA

2.4.2. D-homo steroidna jedinjenja

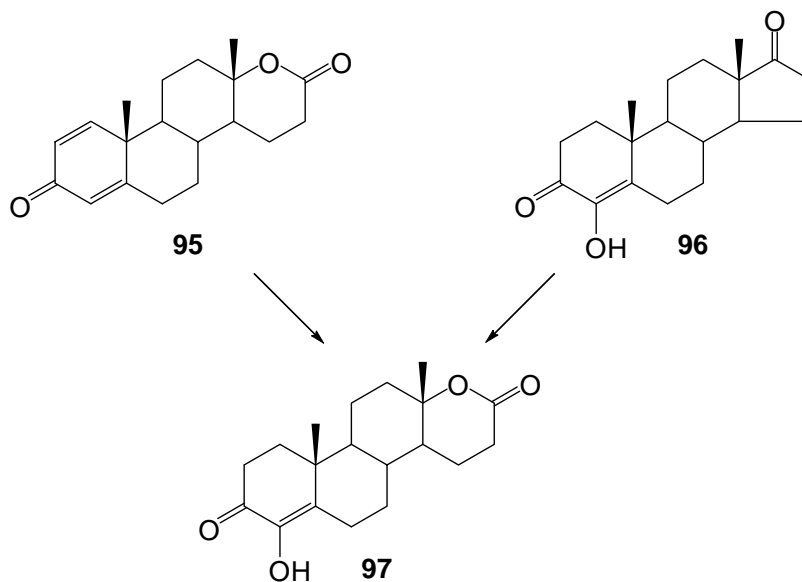
Pomenuto Tiffeneau-ovo¹¹⁶ premeštanje su prvi primenili Goldberg i Monnier¹³¹ i na 17 β -hidroksi-20-amin **93** (dobijen hidrogenacijom androsteron-cijanohidrina **92**), u reakciji sa nitritnom kiselinom, pri čemu je dobijen D-homoandrosteron **94** (shema 2.16).



Shema 2.16. a. H_2 , Pt, CH_3COOH ; b. $NaNO_2$, CH_3COOH

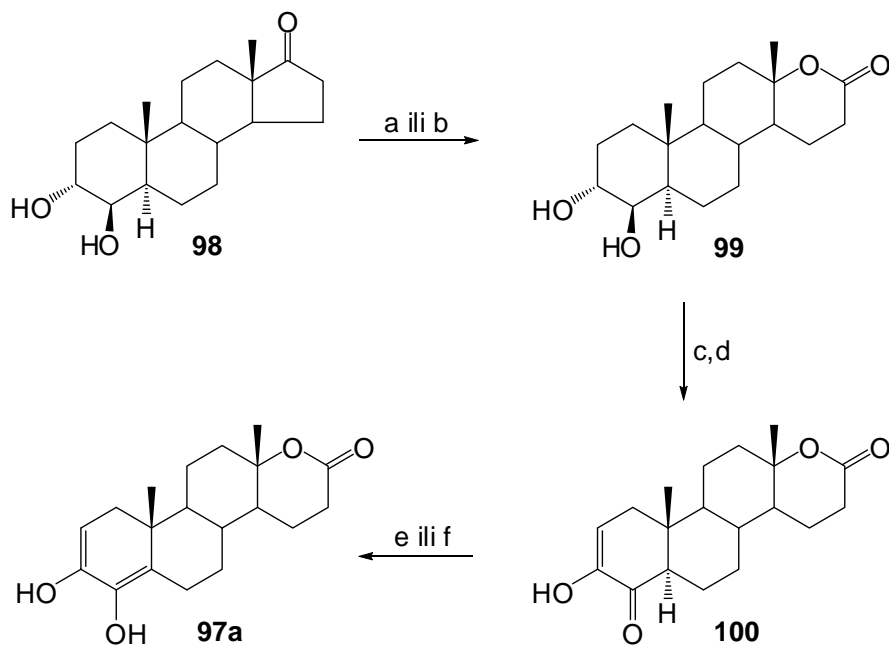
2.4.2.1. Laktonska funkcija u D-prstenu steroidnog jezgra

Derivati koji imaju lakton u D-prstenu testosterona su se pokazali kao efikasni inhibitori aromataze,¹²³ a *testolakton* odnosno Δ^1 -*testolakton* **95** (shema 2.17.) je bio jedan od prvih steroida koji se koristio u kliničkom tretmanu raka dojke.^{124,125} Isto tako, 4-hidroksi-androst-4-en-3,17-dion (4-OHA, *formestan*, **96**) se pokazao kao vrlo efikasan u lečenju uznapredovanog kancera dojke¹²⁶ i u kliničkoj je upotrebi.¹²⁷ Upravo iz ovih razloga, ispitivanja na ovom polju su aktivna i aktuelna.¹²⁸ *Tavares da Silva* i saradnici¹³² su sintetizovali nov derivat **97**, koji ima A-prsten *formestana* (**96**) i D-prsten *testolaktona* (**95**) (shema 2.17.).



Shema 2.17. Inhibitori enzima aromataze¹³²

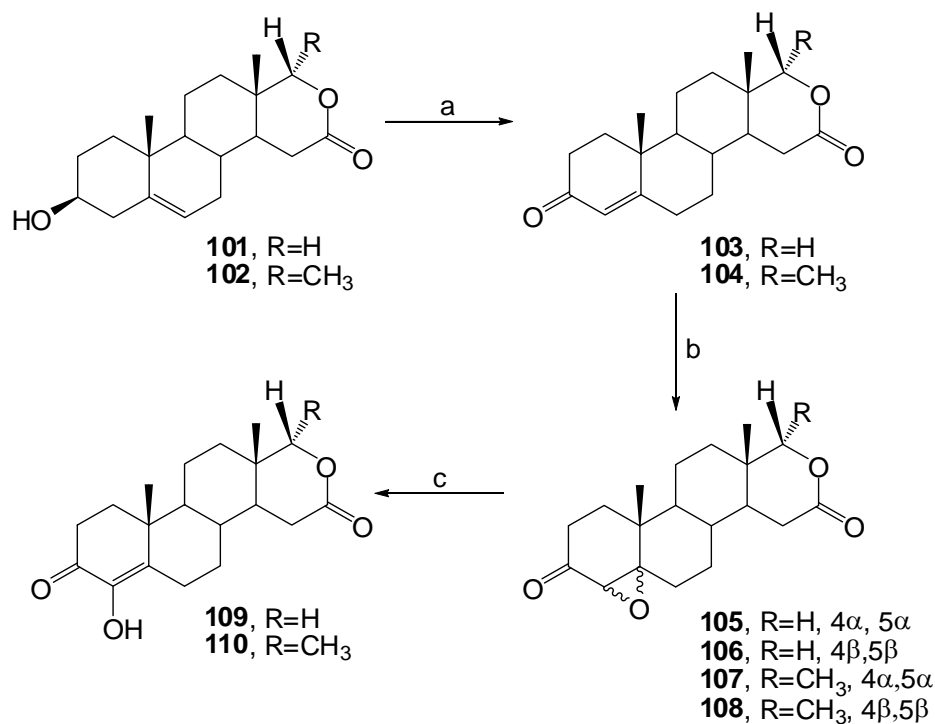
Konvencionalna sintetska strategija za dobijanje androstanskih D-laktona **97**, **99** i **100** je postignuta u tri faze, upotrebom odgovarajućih reagenasa i uz dobijanje proizvoda u visokim prinosima. U prvoj fazi je *Baeyer-Villiger*-ovom oksidacijom 3 α ,4 β -dihidroksi-5 α -androstan-17-ona (**98**) heksahidratom magnezijumove soli peroksifaltno kiseline (MMPP) dobijen 3 α ,4 β -dihidroksi-D-homo-17 α -oksa-5 α -androstan-17-on (**99**). U drugoj fazi je oksidacijom derivata **99** sa DMSO, koji je aktiviran anhidridom trifluorsirćetne kiseline (TFAA) nastao diosfenol **100** u skoro kvantitativnom prinosu. Treća faza predstavlja bazno-katalizovanu izomerizaciju i vodi do nastajanja enolnog oblika **97a** jedinjenja 4-hidroksi-D-homo-17 α -oksa-androst-4-en-3,17-diona (**97**). Ova reakcija izomerizacije je moguća i u kiselim uslovima (*shema 2.18.*)¹³²



Shema 2.18. a. m-CPBA, CH₂Cl₂, s.t., 6 dana, NaHCO₃; b. MMPP, CH₃OH, H₂O, s.t., 3 dana; c. TFAA, DMSO, -60 °C, 3 h; d. Et₃N, -60 °C, 15 min; e. Na, CH₃OH, s.t., 1h; f. CH₃COOH, HCl, s.t., 24 h

Đurendić i saradnici¹⁴ u svom radu opisuju sintezu potencijalnih inhibitora aromataze, koji su takođe pokazali i određenu antitumorsku aktivnost, 4-hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (**109**) i njegovog 17 α -metil derivata **110**, iz polaznog 3 β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-ona (**101**) i njegovog 17 α -metil derivata **102**.¹²² *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **101** i **102** nastaju derivati **103** i **104**. U reakciji epoksidacije jedinjenja **103**, 30%-tnim vodonik-peroksidom u metanolu,

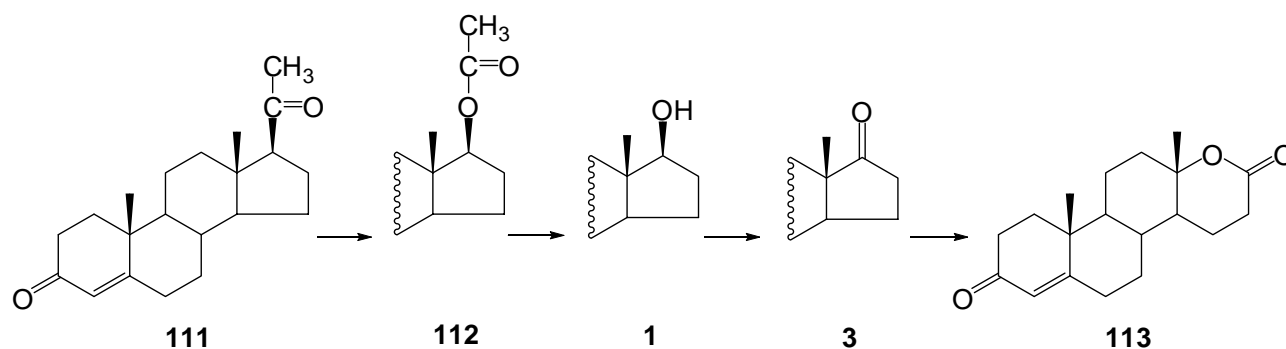
koji sadrži natrijum-hidroksid, na 0 °C u toku 24 h nastaje smeša 4 α ,5 α -epoksida **105** i njegovog β -izomera **106**. Slično, jedinjenje **104** daje smešu epoksida **107** i **108** u toku nešto kraćeg vremena (1h). U reakciji intermedijernih epoksida **105** i **106** odnosno epoksida **107** i **108** sa mravljom kiselinom uz reflux nastaju odgovarajući 4-hidroksi derivati **109**, odnosno **110** (*shema 2.19.*).



Shema 2.19. a. cikloheksanon, Al(t-BuO)₃, ksilen, reflux, 6 h, HCl; b. 30% H₂O₂, NaOH, CH₃OH, 0 °C → 10 °C 24 h za **73** ili 0 °C 1 h za **74**, 6HCl; c. HCOOH, reflux, 2.5 h za **75** i **76** ili 1.5 h za **77** i **78**

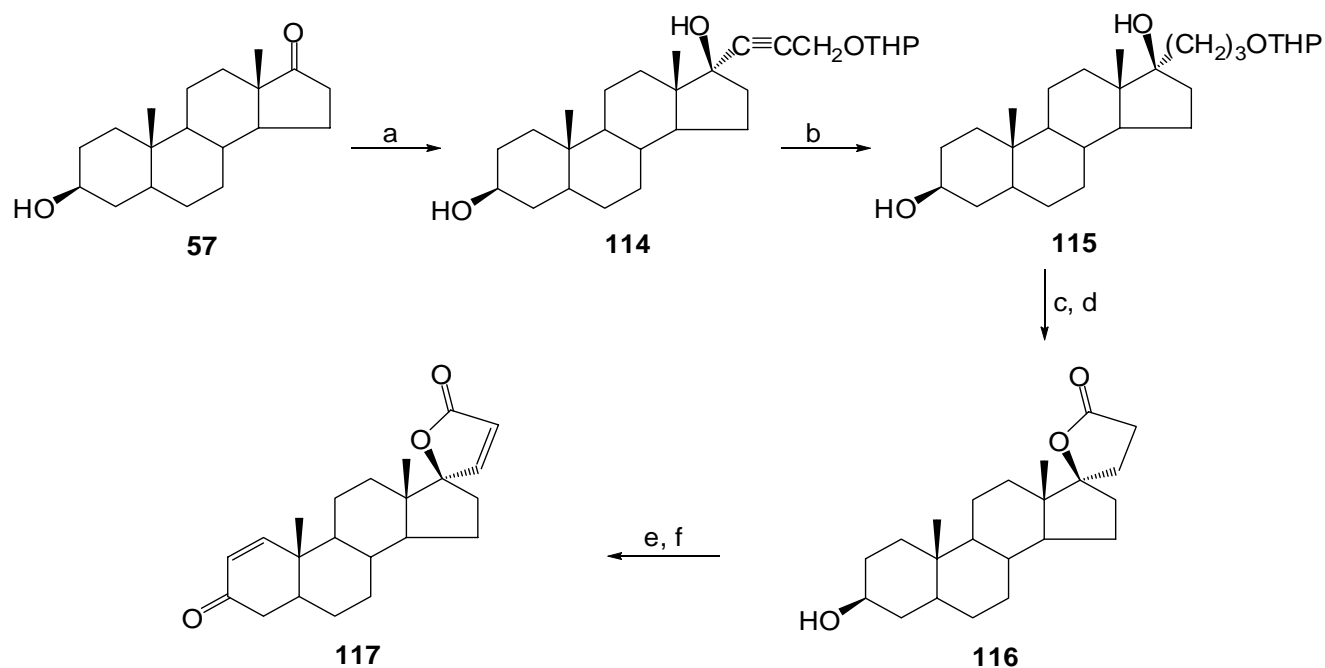
U literaturi^{133,134} su opisani mikroorganizmi, kao na primer *Cylindrocarpon radicola* koji imaju mogućnost produkcije enzima, koji su sposobni da katalizuju *Baeyer-Villiger*-ovu oksidaciju. Ovi enzimi su flavoenzimskog tipa i poznati su pod nazivom " *Baeyer-Villiger*-ove monooksigenaze" (BVMO).¹³³

Četiri enzimske konverzije, prikazane na *shemi 2.20.* obuhvaćane su u transformaciju progesterona (**111**) u *testololakton* (**113**) i to preko jedinjenja **112**, testosterona (**1**), koji zatim oksidacijom daje androstendion (**3**) i na kraju *Baeyer-Villiger*-ovom oksidacijom nastaje *testololakton* (**113**) (*shema 2.20.*).¹³⁵⁻¹³⁷



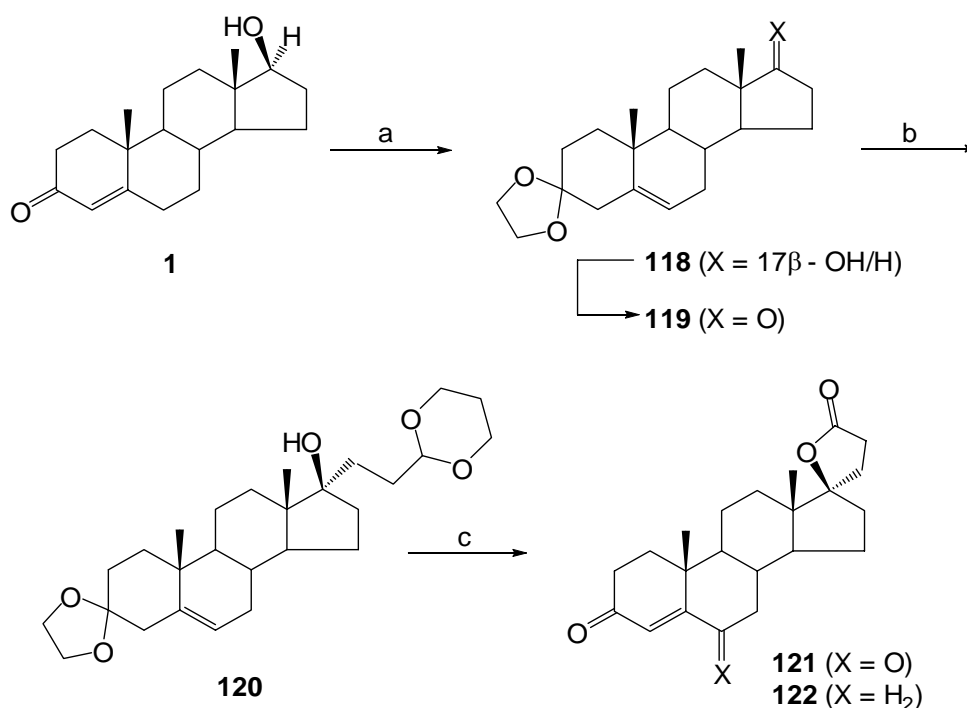
Shema 2.20. Enzimaska konverzija progesterona u *testololakton* (**113**)

U literaturi^{19,138-140} su opisani izvesni spiro-laktone, koji su pokazivali biološku aktivnost. Tako su *Sam* i saradnici¹⁹ sintetizovali spiro- γ -laktone (**116** i **117**) na D-prstenu androstanskog derivata (*shema 2.21.*) i ispitali su njihovu inhibitornu aktivnost na enzim 17β -hidroksisteroid dehidrogenaza (17β -HSD). *Epiandrosteron* (**57**) je alkilovan u položaju 17α , pri čemu nastaje diol **114**. Nakon toga je u tri faze (katalitička hidrogenizacija trostruke veze, odlazak tetrahidropiraniil grupe (THP grupe) i *Jones*-ova oksidacija) diol **114** preveden u 3-keto spiro- γ -lakton **116**. Nezasićen lakton **117** je dobijen od laktone **116** uvođenjem dvostrukih veza u α -položaje u odnosu na obe karbonilne grupe (*shema 2.21.*).



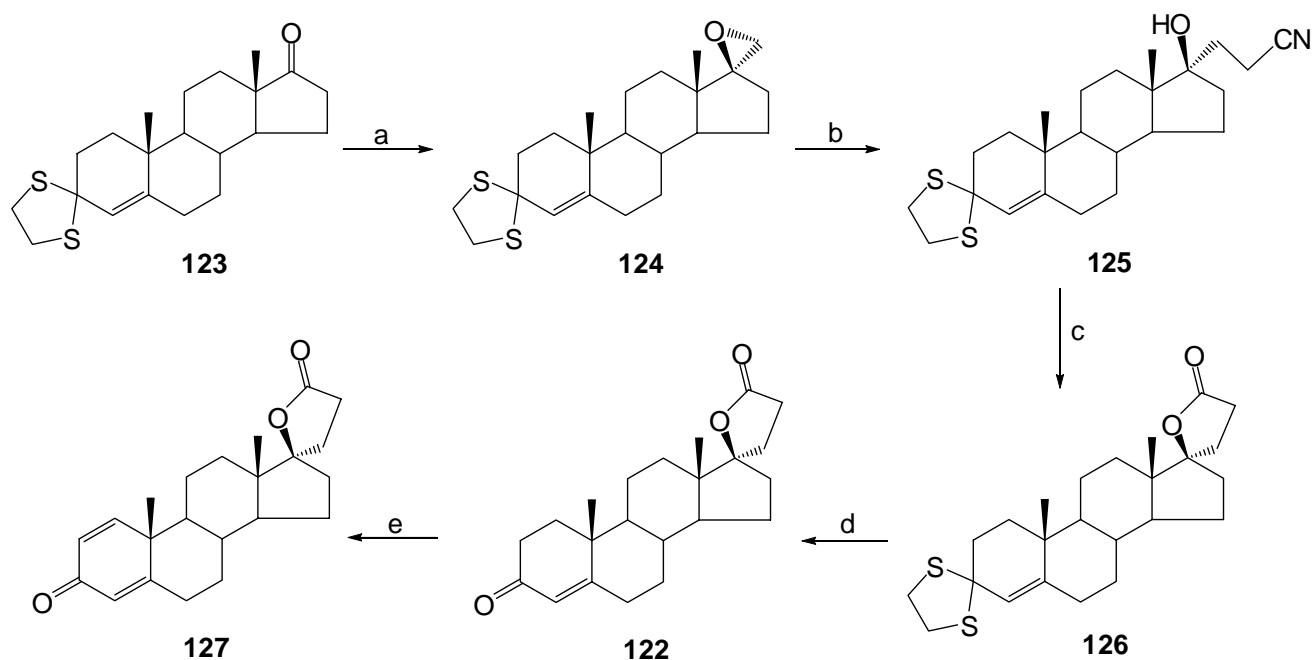
Shema 2.21. a. $\text{HC}\equiv\text{CCH}_2\text{OTHP}$, $n\text{-BuLi}$, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$; b. H_2 , Pd/C-Pd/CaCO₃ (1:1), EtOAc, s.t.; c. amberlist, CH₃OH, s.t.; d. Jones-ov reagens, aceton, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{s.t.}$, 30 min; e. LDA, PhSeBr, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$; f. H₂O₂ (30%), refluks

Sinteza laktona **121** i **122** iz testosterona (**1**) je prikazana na *shemi* 2.22. U klasičnoj reakciji, koja se sastoji iz dve faze (zaštita keto grupe u položaju C-3 i oksidacija 17 β -hidroksilne grupe), dobijen je keton **119**, koji je alkilovanjem preveden u derivat **120**. Tretiranjem derivata **120** Jones-ovim reagensom nastaje smeša 3,6-dioksolaktona **121** i 3-okso laktona **122** (*shema* 2.22.).¹⁹



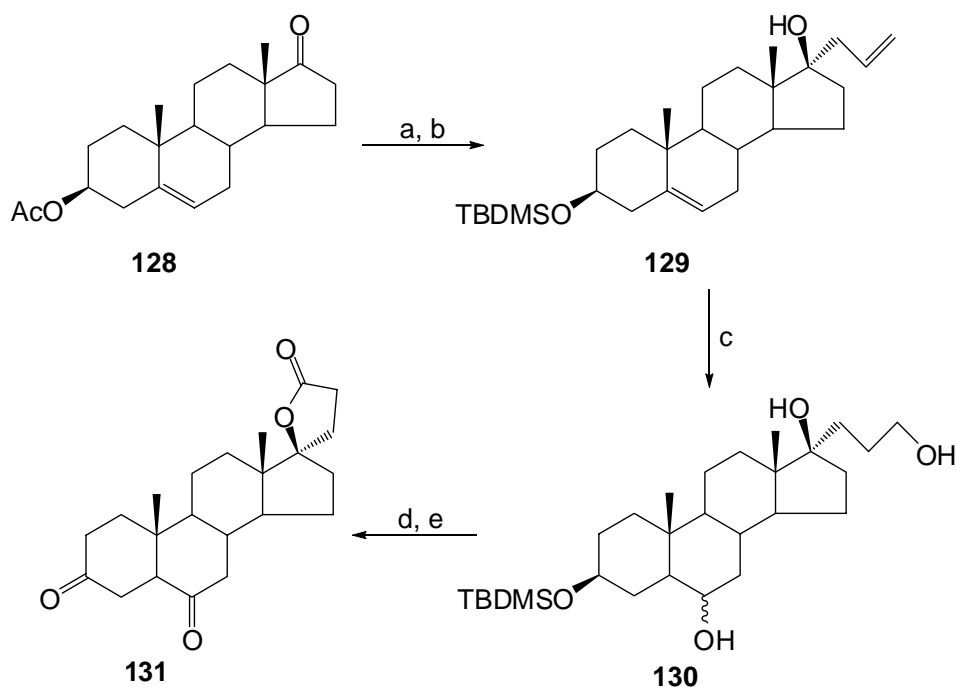
Shema 2.22. a. HO(CH₂)₂OH, *p*-TSA, toluen, refluks; b. (*n*-Pr₄N)(RuO₄), 4-metilmorfoline N-oksidi, CH₂Cl₂, s.t.; c. *t*-BuLi, 2-(2-iodoetil)-1,3-dioksan, THF, -78 °C; d: Jones-ov reagens, aceton, 0 °C

Lakton **122** je sintetizovan i iz jedinjenja **123** (sa 1,3-ditiolanskom zaštitom). Ovaj keton je tretiran sa trimetilsulfonijumilidom (NaH u DMSO, a nakon toga Me₃S⁺I⁻, u THF), koji je poslužio kao metil transfer agens, pri čemu nastaje jedinjenje **124**. Epoksid **124** je otvoren u reakciji alkilovanja, uz nastajanje derivata **125**, koji sadrži ugljovodonični niz sastavljen od tri ugljenika. Hidrolizom nitrilne grupe i intramolekulskom ciklizacijom nastale karboksilne grupe sa tercijarnim alkoholom, nastaje spiro- γ -lakton **126**. Uklanjanjem 1,3-ditiolanske zaštite nastaje lakton **122**, a dienonski lakton **127** nastaje u reakciji sa 2,3-dihloro-5,6-dicijano-1,4-benzohinonom (DDQ) (*shema 2.23*).¹⁹



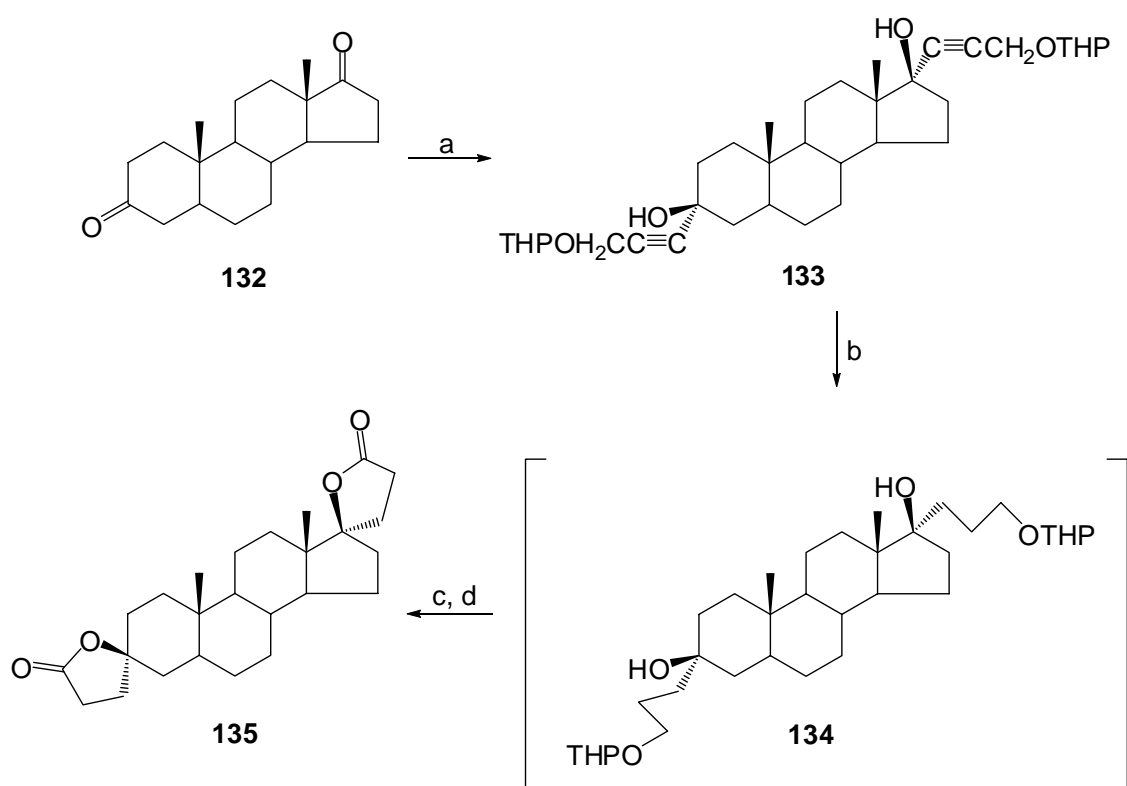
Shema 2.23. a) 1) NaH (60%), DMSO, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2) $\text{Me}_3\text{S}^+\text{I}^-$, DMSO, THF, $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 35 min, 3) s.t.; b. LDA, CH_3CN , THF, $-10\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow$ s.t.; c. 1) KOH, refluks, 2) cHCl , refluks; d. N-hlorsukcinimid, AgNO_3 , H_2O , CH_3CN , s.t.; e. DDQ, toluen, refluks

Radi poređenja biološke aktivnosti jedinjenja **121**, sa jedinjenjima slične strukture, sintetizovan je i njegov zasićeni analog, 3,6-diketo lakton **131** (*shema 2.24.*)¹⁹ Sintetički put počinje od dehidroepiandrosteron-3 β -il acetata (DAA, **128**), koji Grinard-ovom reakcijom sa alilmagnezijum-bromidom i zaštitom 3 β -hidroksilne grupe sa *tert*-butildimetilsilil-hloridom (TBDMS-Cl) daje jedinjenje **129**. Oksidativnim hidroborovanjem dveju dvostrukih veza nastaje triol **130**. Uklanjanjem zaštite i oksidacijom nastaje diketo lakton **131** (*shema 2.24.*).



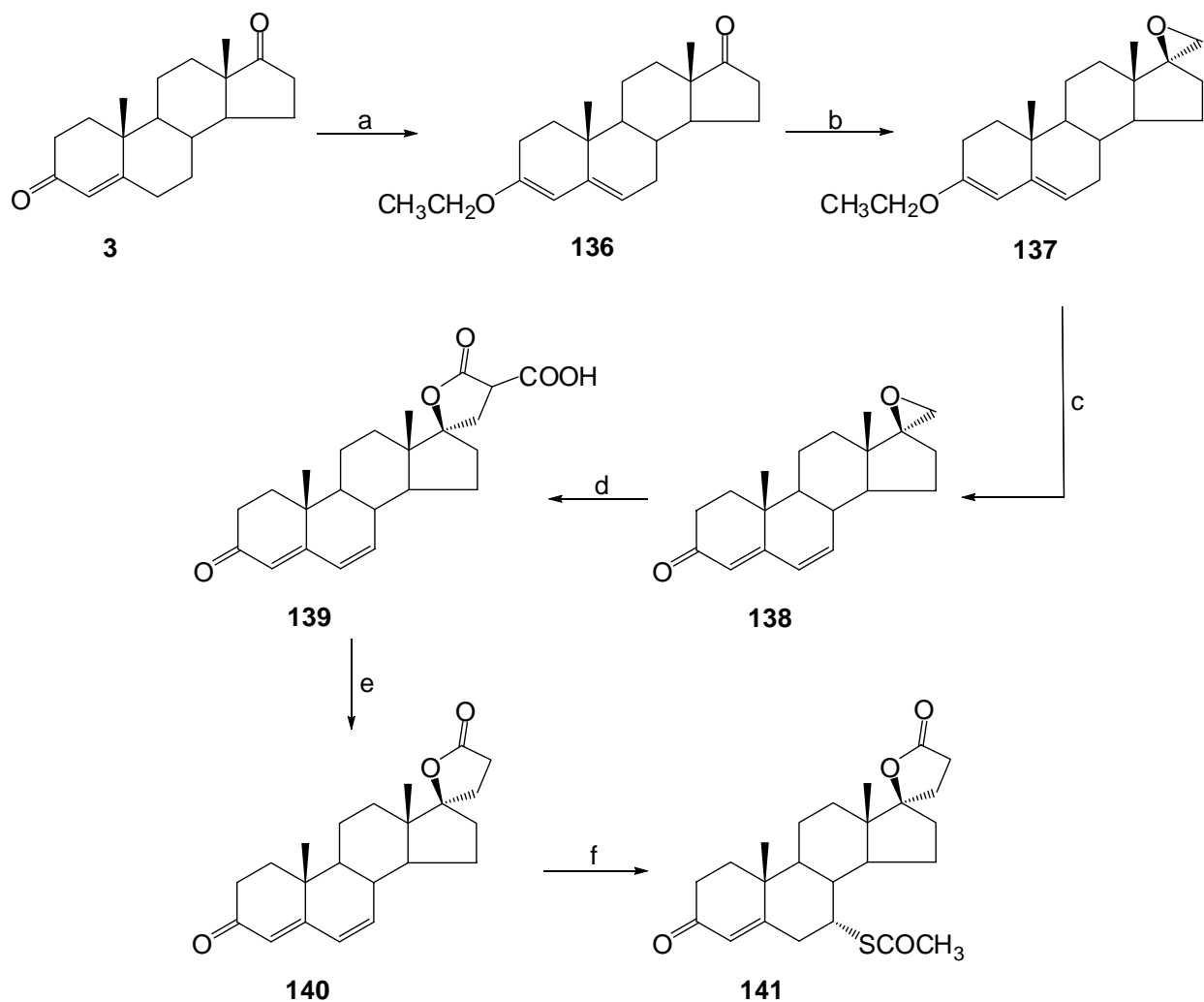
Shema 2.24. a. $\text{BrMgCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, THF, 0 °C; b. TBDMS-Cl, imidazol, DMF, s.t.; c. 1) $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$, 0 °C, 2) NaOH, H_2O_2 (30%); d. Bu_4NF , THF, 0 °C → s.t.; e. *Jones*-ov reagens, aceton, 0 °C

Zbog ispitivanja uticaja C-3 keto grupe i laktonske funkcije na biološku aktivnost, *Sam* i saradnici¹⁹ su sintetizovali i dilakton **135** (*shema 2.25*). Obe karbonilne grupe *androstandiona* **132** su alkilovane, pri čemu je nastao derivat **133**. U ovoj transformaciji, C-18 i C-19 metil grupe indukuju napad litijum-acetilida (koji je nastao iz *n*-BuLi i $\text{HC}\equiv\text{CCH}_2\text{OTHP}$), sa manje zaštićene α -strane steroidnog jezgra, što rezultira u 3α - i 17α -orijentaciji ugljovodoničnog niza. Katalitičkom hidrogenacijom jedinjenja **133**, nastaje zasićeni diol **134**. Uklanjanjem tetrahidropiranske (THP) zaštite sa *p*-toluensulfonskom kiselinom (*p*-TSA) u metanolu i oksidacijom primarnih hidroksilnih grupa sa *Jones*-ovim dobija se dispiro- γ -lakton u A- i D-prstenu (**135**) (*shema 2.25*).



Shema 2.25. a. $\text{HC}\equiv\text{CCH}_2\text{OTHP}$, $n\text{-BuLi}$, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$; b. H_2 , Pd/C, EtOAc, s.t.; c. $p\text{-TSA}$, CH_3OH , s.t.; d. Jones-ov reagens, aceton, $0\text{ }^\circ\text{C}$

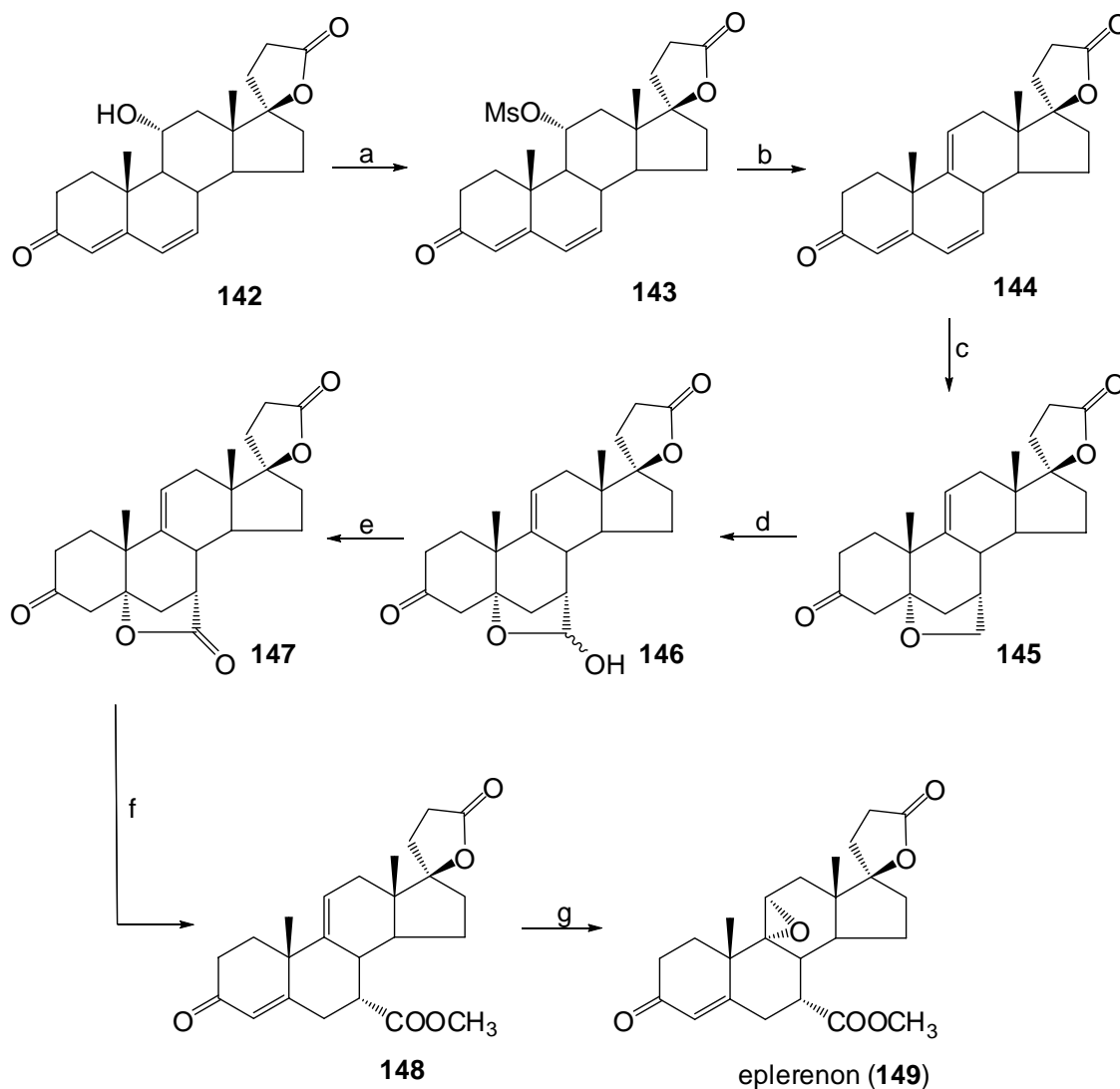
Spirolakton (**141**, 3-(3-okso-7 α -acetiltio-17 β -hidroksi-androst-4-en-17 α -il) γ -lakton propionske kiseline) je u širokoj upotrebi kao aldosteron antagonist, a njegova sinteza je prikazana na *shemi 2.26*.¹³⁸ Polazno jedinjenje u sintezi je androstendion (**3**), koji preko intermedijera **136** i **138** daje jedinjenje **139** sa laktonskom funkcijom, koja sadrži karboksilnu grupu. Dekarboksilacijom nastaje jedinjenje **140**, a zatim uvođenjem tioacetatne funkcije u položaj 7, nastaje *spiro-lakton* (**141**) (*shema 2.26*).



Shema 2.26. a. $\text{HC}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_3$, CH_3OH , H^+ ; b. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{ONa}$, $\text{BrS}(\text{CH}_3)_3$, THF ; c. tetrahloro-1,4-benzohinon; d. 1) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{ONa}$, $\text{CH}_2(\text{COOEt})_2$, 2) NaOH ; e. DMF , refluks; f. CH_3COSH , CH_3OH

Chen i saradnici¹³⁸ su opisali sintezu *eplerenona* **149**. *Eplerenon* je kardiovaskularni lek, aldosteron-antagonist, koji se koristi kao dodatak u lečenju hroničnih srčanih bolesnika, a javlja se pod komercijalnim imenom *Inspira*. Polazno jedinjenje u sintezi *eplerenona* je komercijalno lako dostupan 11α -hidroksil kanrenon (**142**), a sinteza *eplerenona* (**149**) je izvršena u sedam faza (*shema 2.27*).¹³⁸ Ključni intermedijeri u sintezi su jedinjenja **145** sa premošćenom etarskom funkcijom, zatim jedinjenje **146**, koje sadrži hidroksilnu funkciju, a koja je pogodna za formiranje nove laktonske funkcije, koju ima jedinjenje **147**. U pretposlednjoj fazi sinteze dobijeno je

jedinjenje **148**, koje sadrži 7 α -metoksikarbonilnu funkciju. Dvostruka veza C₉=C₁₁ (formirana kod jedinjenja **144**) je poslužila za dobijanje 9 α ,11 α -epoksida, tj. *eplerenona* (**149**). *Eplerenon* (**149**) ima strukturnih sličnosti sa *spironolaktonom* (**141**), pošto takođe ima spironolaktonsku funkciju i 3-keto-4-enski sistem.

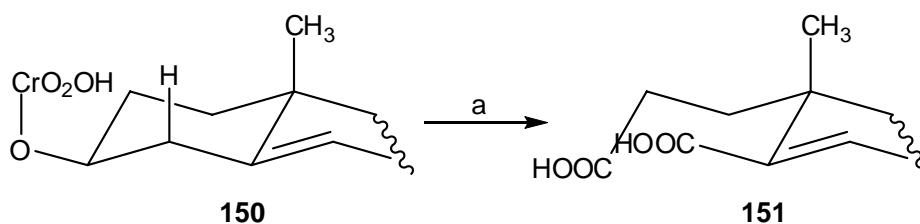


Shema 2.27. a. $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$, MsCl, CH_2Cl_2 , 0 °C, 2 h; b. HCOOH, CH_3COOK , Ac_2O , 80 °C, 18 h \rightarrow 100 °C, 4 h; c. $\text{CuI}\cdot 2\text{LiCl}$, THF, *i*-PrOMe₂SiCH₂MgCl, $\text{BF}_3\cdot\text{O}(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2$, -68 °C, 10 h \rightarrow 0 °C, HCl; d. metil-trifluoro-metil-dioksiran, CH_2Cl_2 , -25 °C, 2 h; e. piridinijum-dihromat, CH_2Cl_2 , s.t.; f. 1) KHCO_3 , acetone, 45 °C, 2 h, 2) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, 45 °C, 3 h; g. H_2O_2 , $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$, K_2HPO_4 , $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, s.t., 18.5 h

2.5. A-, B- i D-seko steroidna jedinjenja

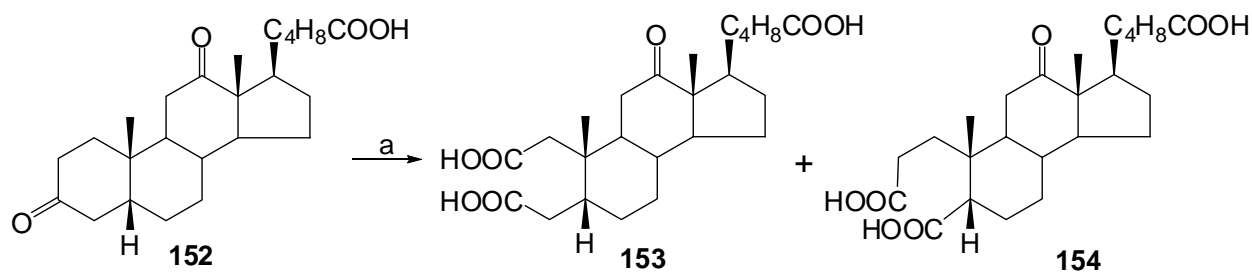
2.5.1. A-seko steroidna jedinjenja

Početak prošlog veka *Windaus*¹⁴¹ je izolovao dikarboksilni derivat holesterola kao 3,4-seko-3,4-dikarboksilnu kiselinu – *Diels*-ovu kiselinu, dobijenu nakon oksidacije holesterola hromnom kiselinom, u cilju utvrđivanja strukture A-prstena. *Diels*-ova kiselina^{142,143} (**151**) je primer steroidnog A-seko dikarboksilnog jedinjenja, a dobijena je i oksidacijom holesterola sa natrijum-hipobromitom (**150**) (*shema 2.28.*).



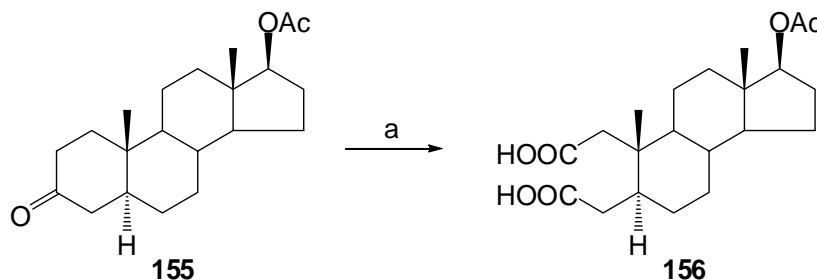
Shema 2.28. a. oksidacija

Istraživanja su nastavljena takođe i na žučnim kiselinama, tako da su *Wieland* i *Kulenkampff*¹⁴⁴ pažljivom oksidacijom 3,12-diokso-5 β -holanske kiseline (**152**) nitratnom kiselinom dobili 2,3-deoksibiliansku (**153**) i 3,4-deoksibiliansku kiselinu (**154**) (*shema 2.29.*).



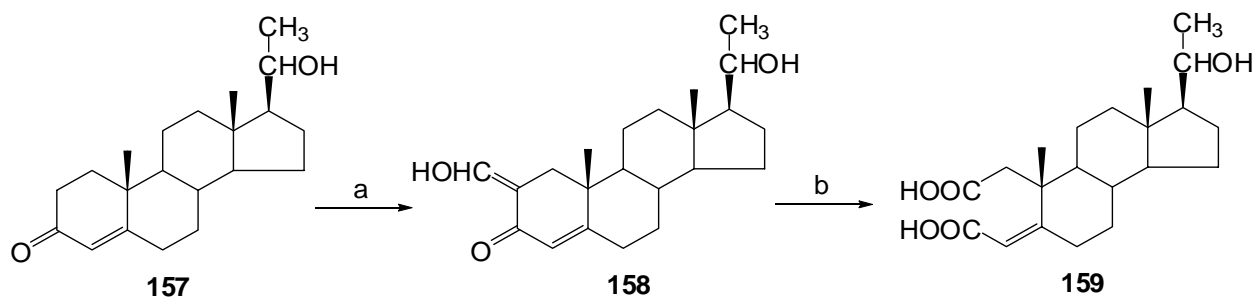
Shema 2.29. a. HNO₃

U literaturi^{145,146} su opisane sinteze A-, B- odnosno D-seko steroidnih derivata kao biološki aktivnih jedinjenja. Oksidacijom 5 α -androstan-3-on-17 β -il acetata (**155**) hrom(VI)-oksidom u sirćetnoj kiselini, na 60-100 °C nastaje 2,3-seko-2,3-dikiselina (**156**) (shema 2.30.).



Shema 2.30. a. CrO₃, CH₃COOH

Selektivnom ozonolizom 2-hidroksimetilen-3-keto jedinjenja **158** (dobijenog iz 20 β -hidroksipregn-4-en-ona **157**) na -10 °C, u smeši sirćetne kiseline i etil-acetata se dobija A-seko nezasićena dikiselina **159** (shema 2.31.).¹⁴⁷⁻¹⁴⁹

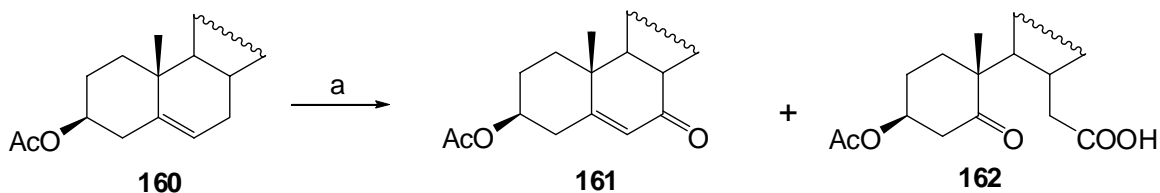


Shema 2.31. a. HCOOCH₂CH₃, NaH; b. ozon

2.5.2. B-seko steroidna jedinjenja

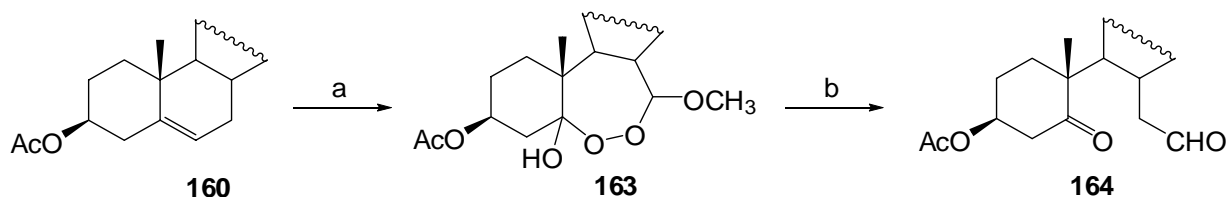
B-Seko steroidna jedinjenja se dobijaju oksidativnim raskidanjem C₅=C₆ dvostruke veze, pri čemu može da nastane keto kiselina ili keto aldehyd, koji mogu da se kondenzuju i grade petočlani prsten. U reakciji oksidacije hrom(VI)-oksidom u

rastvoru sirćetne kiseline na 55 °C, holesterol-acetat (**160**) daje dva proizvoda: 7-keto-derivat **161** i B-seko derivat – keto-seko kiselinu **162** (*shema 2.32.*).¹⁵⁰



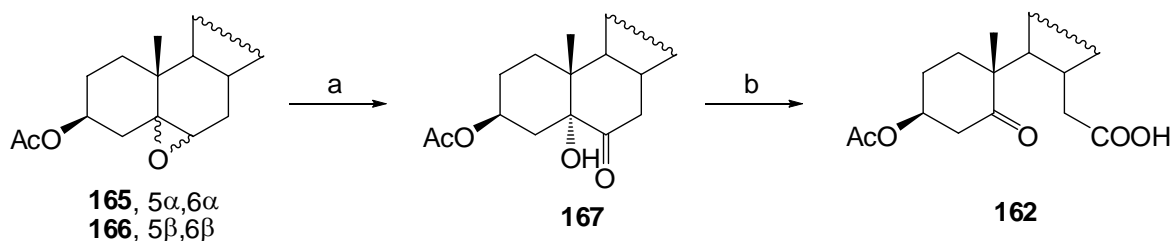
Shema 2.32. a. CrO₃, CH₃COOH

Ozonolizom Δ^5 steroida obično nastaje kompleksna smeša reakcionih proizvoda.¹⁵¹ Tako, ozonolizom holesterol-acetata (**160**) na -78 °C nastaje metoksi-peroksidni derivat **163**, koji *Clemmensen*-ovom redukcijom, daje B-seko-keto-aldehidni derivat **164** (*shema 2.33.*).¹⁵²



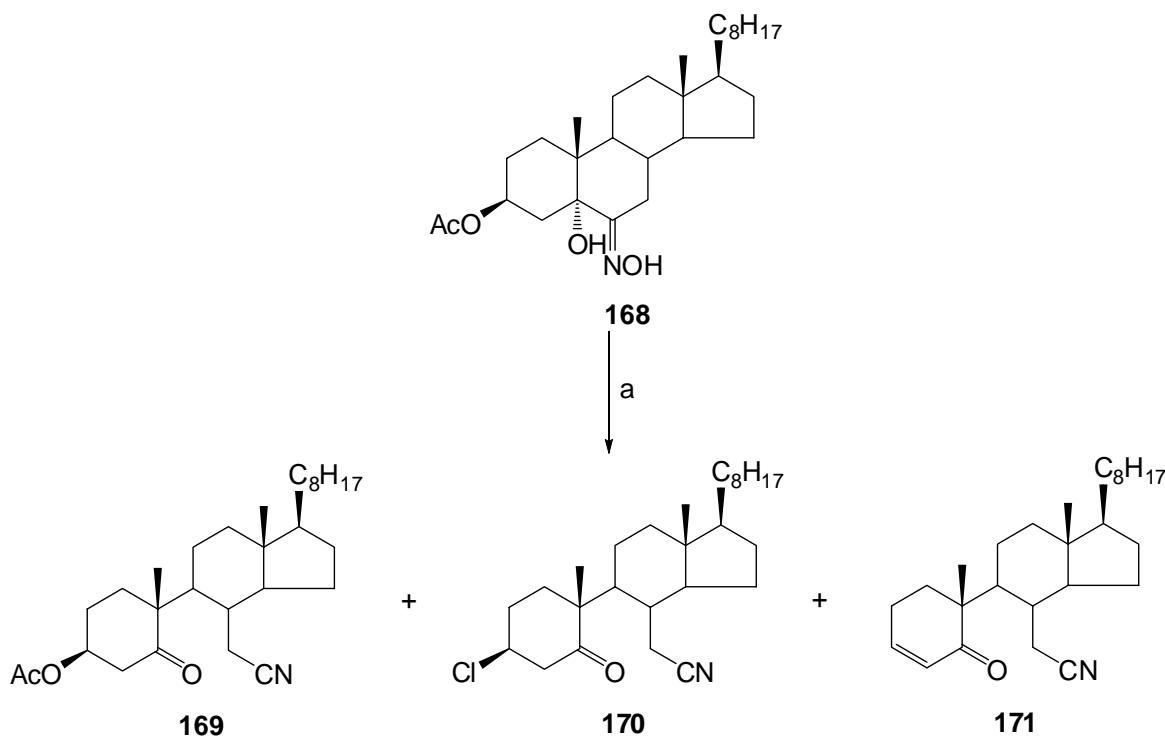
Shema 2.33. a. O₃; b. Zn, CH₃COOH

Alternativni put sinteze B-seko derivata **162** je primenio *Knof*,¹⁵³ tako što je smeša 5 α ,6 α i 5 β ,6 β -epoksi derivata **165** i **166** reagovala sa hrom(VI)-oksidom, pri čemu je nastao 5 α -hidroksi-6-keto-derivat **167**, koji je oksidacijom perbenzoevom kiselinom (PBA) dao B-seko-keto kiselinu **162** (*shema 2.34.*).



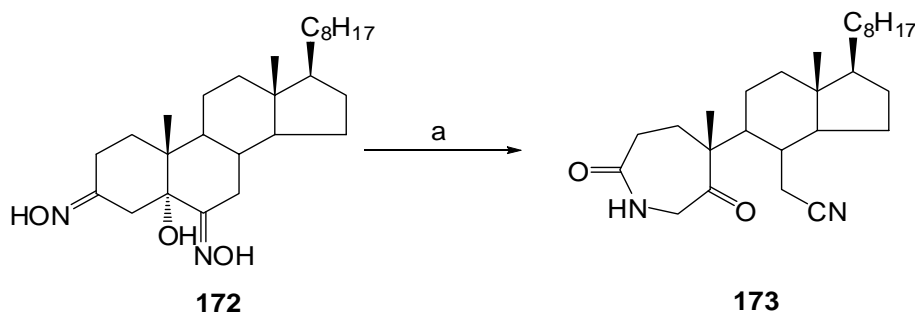
Shema 2.34. a. CrO₃; b. PBA

Shoppee i Roy¹⁵⁴ su u svom radu opisali sintezu B-seko cijano ketona dobijenog *Beckmann*-ovom fragmentacijom. Kao nastavak njihovog rada u literaturi¹⁵⁵ su proučavane reakcije nekih steroidnih 5 α -hidroksi-6-oksima u uslovima pogodnim za *Beckmann*-ovo premeštanje. Tako je 5 α -hidroksi-6-hidroksimino-holestan-3 β -il acetat (**168**)¹⁵⁶ ispitivan u uslovima *Beckmann*-ovog premeštanja, a kada se tretira tionil-hloridom na -20 °C, dobija se smeša B-seko steroida **169**, **170** i **171** (*shema 2.35*).



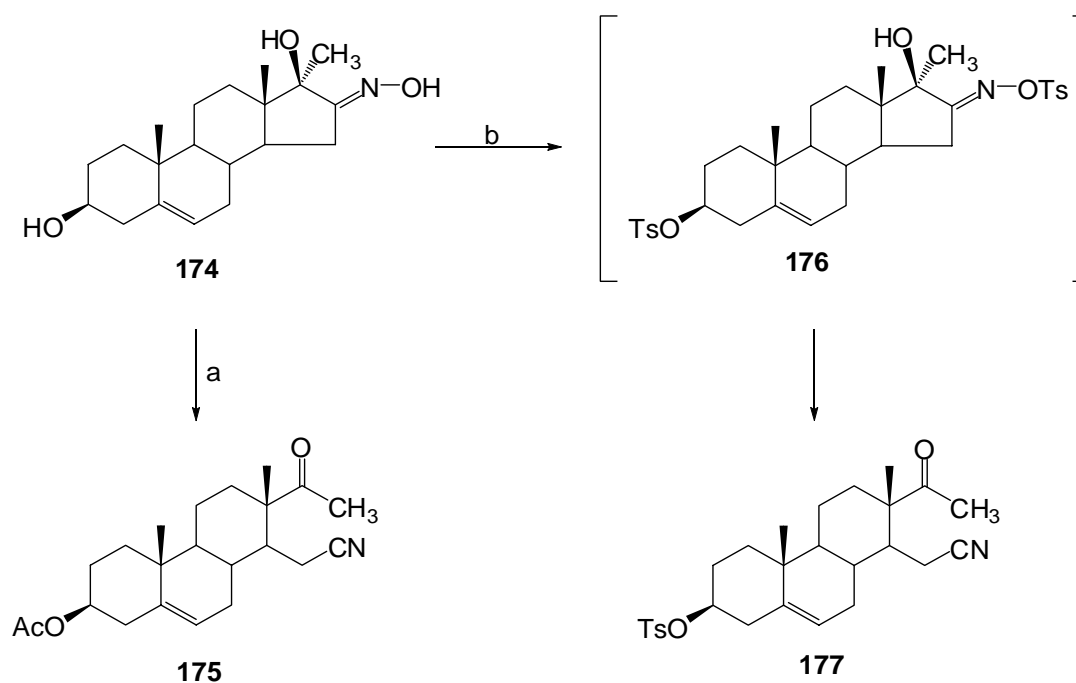
Shema 2.35. a. SOCl₂, KOH, -20 °C

Utvrđeno je da 3,6-dihidroksimino-holestan-5 α -ol (**172**)¹⁵⁵ u uslovima *Beckmann*-ove fragmentacije daje samo A-laktam-B-seko-keto-nitrilni derivat **173**, kao što je prikazano na *shemi 2.36*.

Shema 2.36. a. SOCl_2 , KOH

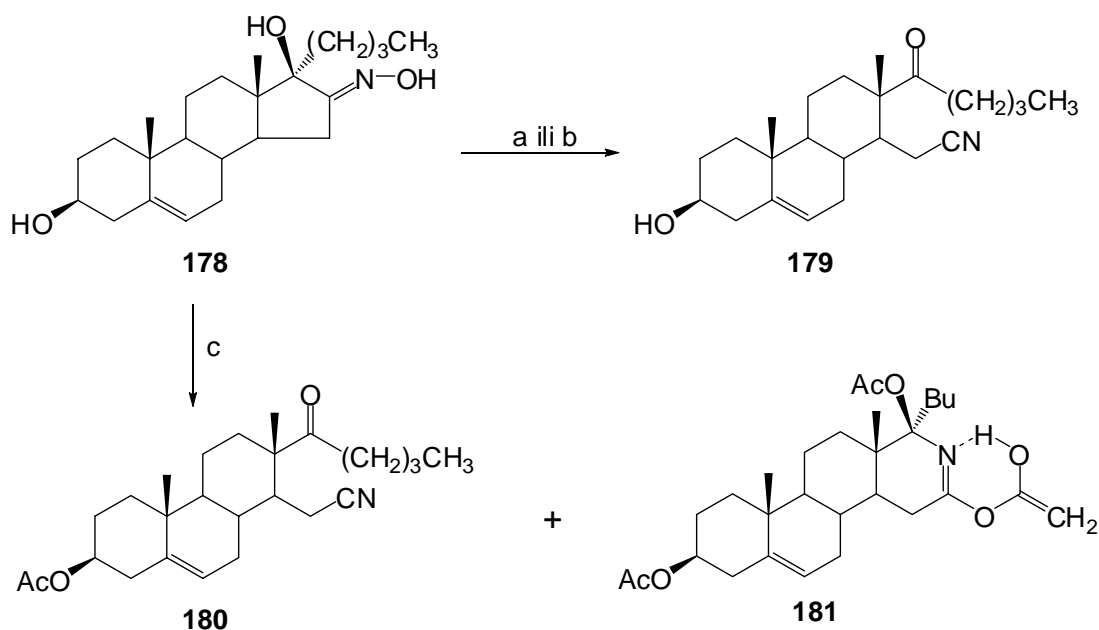
2.5.3. D-seko steroidna jedinjenja

D-seko derivati takođe pokazuju biološku aktivnost.^{13,157-162} Ova steroidna jedinjenja nastaju otvaranjem D-prstena steroidnog skeleta pod dejstvom različitih hemijskih reagenasa ili fotohemijjskim putem. Mogu se dobiti *Beckmann*-ovom fragmentacijom α -hidroksi oksima. Ovu reakciju su još 1904. godine opisali *Werner* i *Piguet*,¹⁶³ a mehanizam reakcije i sintetski uslovi¹⁶⁴ su pokazali da geometrija oksima (*sin*- (*Z*) ili *anti*- (*E*)) ima uticaj na prirodu proizvoda fragmentacije.^{163,165} Generalno govoreći, kada se *anti*-izomeri (*E*) α -hidroksi oksima tretiraju reagensima, koji dovode do *Beckmann*-ove fragmentacije, kao proizvodi nastaju aldehidi ili ketoni i nitrili, dok *sin*-izomeri (*Z*) povremeno daju izocijanide.^{163,165} Kada se reakcija izvodi sa anhidridom sirćetne kiseline u piridinu kao rastvaraču na sobnoj temperaturi u toku 2 časa, 17 α -metil-16-hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**174**) se prevodi u 17-metil-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril-3 β -il acetat (**175**) (*shema 2.37*).^{166,167} Pogodan reagens je i *p*-toluensulfonil-hlorid, pri čemu u toku 16 časova na sobnoj temperaturi nastaje 17-metil-16-nitril-16,17-seko-3 β -*p*-toluensulfoniloksi-androst-5-en (**177**)¹⁶⁶ iz jedinjenja **174**. U ovoj reakciji se najpre toziluju hidroksilne grupe na C-3 atomu i iz 16-oksimino funkcije, pri čemu nastaje intermedijer **176**, a iz njega D-seko cijano derivat **177** (*shema 2.37*).¹⁶⁷



Shema 2.37. a. Ac_2O , Py, s.t., 2 h; b. TsCl, Py, s.t., 16 h

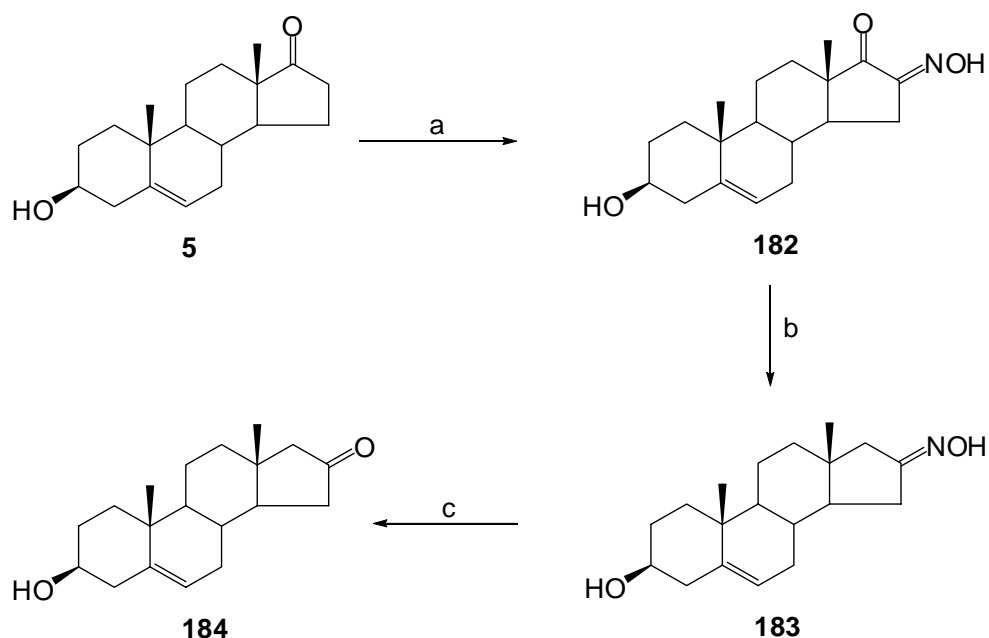
Slično prethodnom, 17α -butil-16-oksmino derivat **178** sa titan(III)-hloridom u kiseljoj sredini, daje 17 -butil- 3β -hidroksi- 16 -nitril- $16,17$ -sekoandrost- 5 -en- 17 -on (**179**), na tački ključanja u toku 20 minuta (a), kao i sa *p*-toluensulfonil-hloridom na sobnoj temperaturi u toku 17 časova (b). Međutim, ukoliko jedinjenje **178** reaguje sa anhidridom sirćetne kiseline, u apsolutnom piridinu (na tački ključanja u toku jednog časa) nastaje D -seko- 3β -il acetatni derivat **180**, a neočekivano i D -homo-aza derivat **181** (shema 2.38).¹⁶⁸



Shema 2.38. a. TiCl_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, HCl , refluks, 20 min; b. TsCl , Py , s.t., 17 h; c. Ac_2O , Py , refluks, 1 h

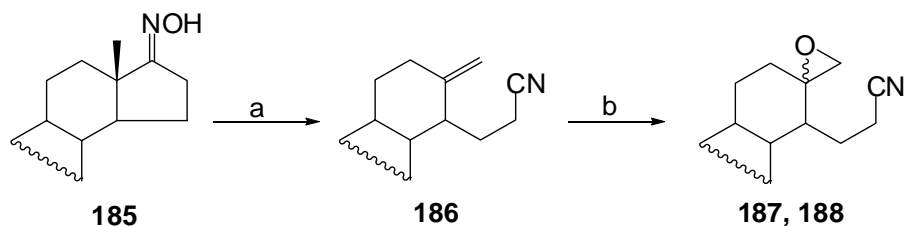
2.6. Oksimi kao prekursori u sintezi biološki aktivnih molekula

Steroidni oksimi su značajni kao prekursori u sintezama potencijalno biološki aktivnih jedinjenja. Pored dobijanja oksima reakcijom kondenzacije hidrosilamina sa aldehidima i ketonima, mogu se dobiti i sa alifatičnim nitritima (amil-nitritom), kalijum-*tert*-butoksidom u *tert*-butanolu, kao na primeru dehidroepiandrosterona (**5**), kada nastaje 16-oksmino derivat **182** (shema 2.39.). U daljoj fazi sinteze 17-keto grupa se redukuje *Wolf-Kischner*-ovom reakcijom do jedinjenja **183** sa 16-oksmino funkcijom, koja se sa natrijum-hidrogensulfitom prevodi u 16-keto funkciju (derivat **184**).¹⁶⁹⁻¹⁷²



Shema 2.39. a. AmONO, *t*-BuOH, *t*-BuOK; b. NH₂NH₂, KOH; c. NaHSO₃, CH₃CH₂OH, H₂O

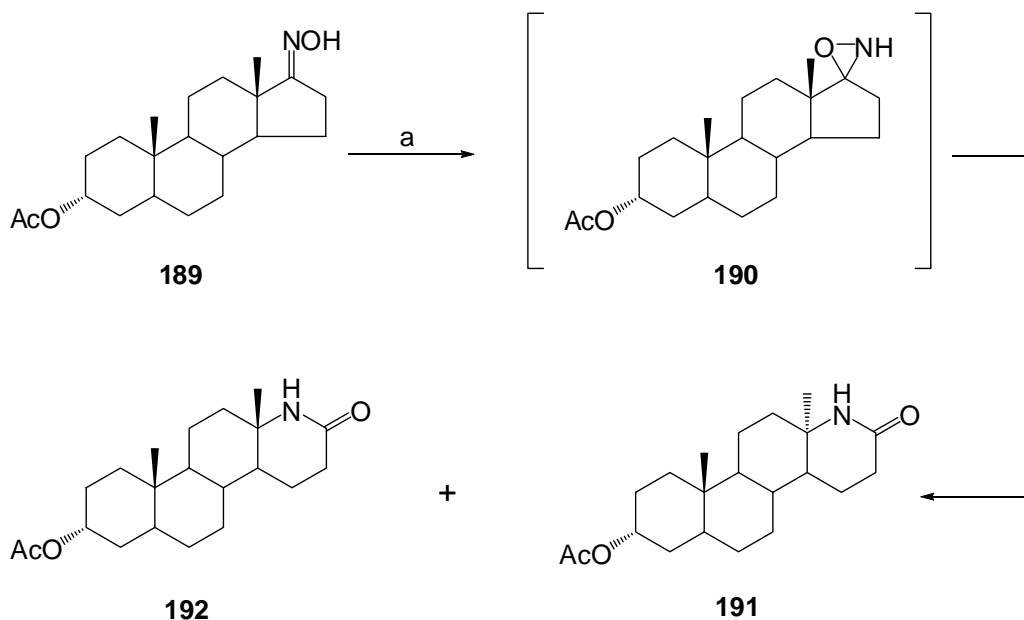
Steroidna jedinjenja sa oksimino funkcijom u uslovima *Beckmann*-ove fragmentacije daju laktone ili seko-cijano derivate. Tako, *Beckmann*-ovom fragmentacijom (u dimetilsulfoksidu (DMSO) sa dicikloheksilkarbodiimidom (DCC) u prisustvu trifluorosirćetne kiseline (TFA)) 17-oksimino derivat **185** daje nezasićeno seko-cijano jedinjenje **186**, koje reaguje sa *m*-hlorperbenzoevom kiselinom (*m*-CPBA) dajući smešu D-seko 17,18-epoksinitrila **187** i **188** (shema 2.40).¹⁷³



Shema 2.40. a. DMSO, DCC, TFA; b. *m*-CPBA, 0 °C, 24 h

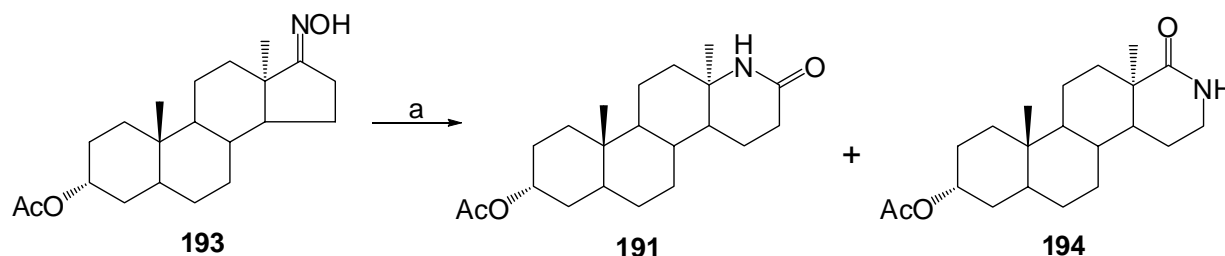
2.6.1. Steroidna jedinjenja sa laktamskom funkcijom

Suginome i *Uchida*¹⁷⁴ su opisali oksime kao odgovarajuće prekursore u sintezi laktama. Naime, foto-*Beckmann*-ovom fragmentacijom 17-hidroksimino-18 β -androsterona **189**, dobija se smeša 18 α - i 18 β -izomernih laktama **191** (sa 18 α -metil grupom) i **192** (sa 18 β -metil grupom) (*shema 2.41.*), preko intermedijera oksaziridina **190**.



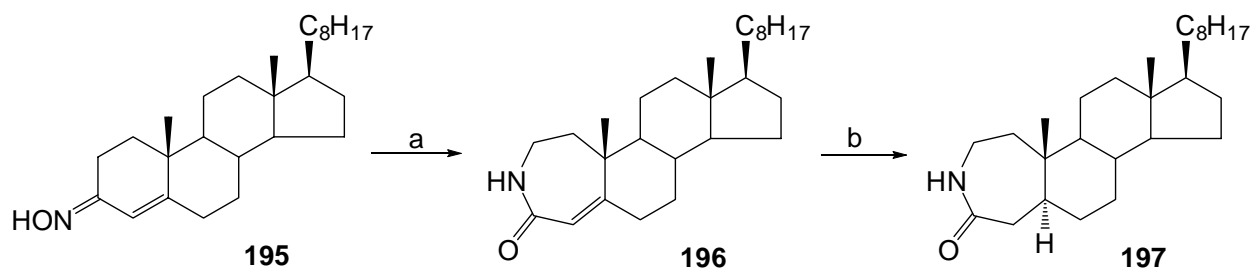
Shema 2.41. a. hv; CH₃OH; 104 h

Ukoliko je polazno jedinjenje 17-hidroksimino-18 α -androsteron **193**, pored laktama **191** nastaje i izomerni laktam **194**, kao što je prikazano na *shemi 2.42.*¹⁷⁴



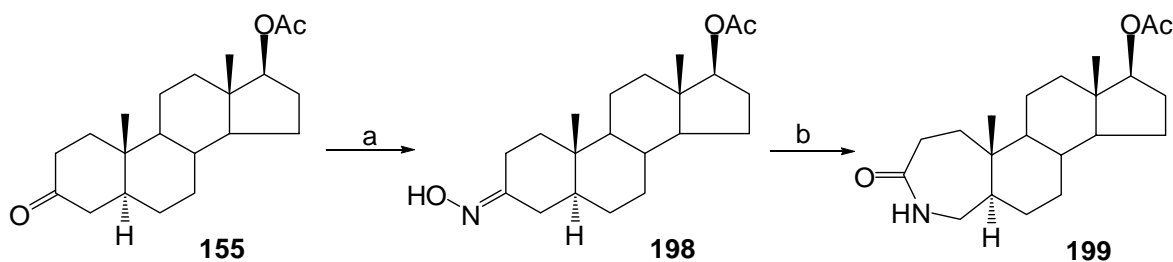
Shema 2.42. a. hv; CH₃OH; 30 h

Shoppee i saradnici¹⁷⁵ su Beckmann-ovom fragmentacijom (3*Z*)-hidroksimino-cholest-4-ena (**195**) sintetizovali 2a-aza-A-homoholest-4-en-3-on (**196**), koji hidrogenacijom daje 2a-aza-A-homo-5 α -holestan-3-on (**197**) (shema 2.43).



Shema 2.43. a. SOCl₂, KOH; b. hidrogenacija

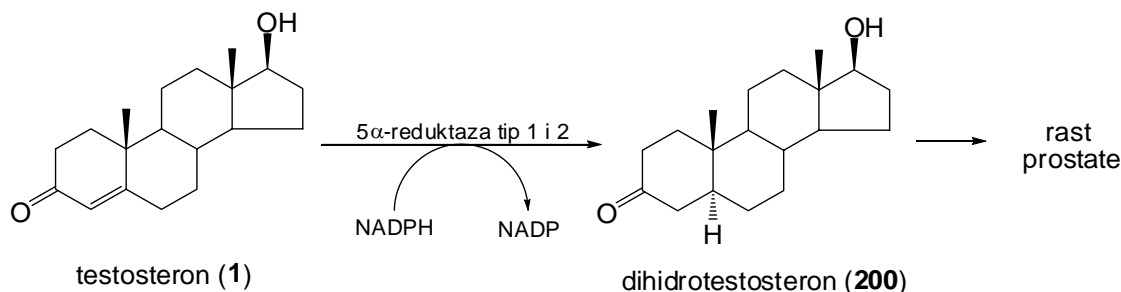
Laktamski derivat **199** je dobijen iz 5 α -androstan-3-on-17 β -il acetata (**155**) u dve faze, sa ciljem ispitivanja njegove citotoksičnosti.^{176,177} Polazno jedinjenje **155** u reakciji sa hidroksilaminom u etanolu daje (3*E*)-hidroksimino androstanski derivat **198**, a sa tionil-hloridom u dioksanu, laktam, 3a-aza-A-homoandrostan-3-on (**199**) (shema 2.44).



Shema 2.44. a. NH₂OH·HCl, CH₃COONa, CH₃CH₂OH; b. SOCl₂, dioksan

Kao što je ranije opisano, zamena ugljenikovog atoma u steroidnom jezgru heteroatomom, utiče na hemijske osobine, kao i na biološku aktivnost molekula. Azasteroidi se odlikuju jakom biološkom aktivnošću,¹⁷⁸ a među njima 4-azalaktami pokazuju jaku inhibiciju humane 5 α -reduktaze, što ih čini potencijalnim lekovima za lečenje benigne hiperplazije prostate (BHP).¹⁷⁹ Enzim 5 α -reduktaza je NADPH-zavisna,

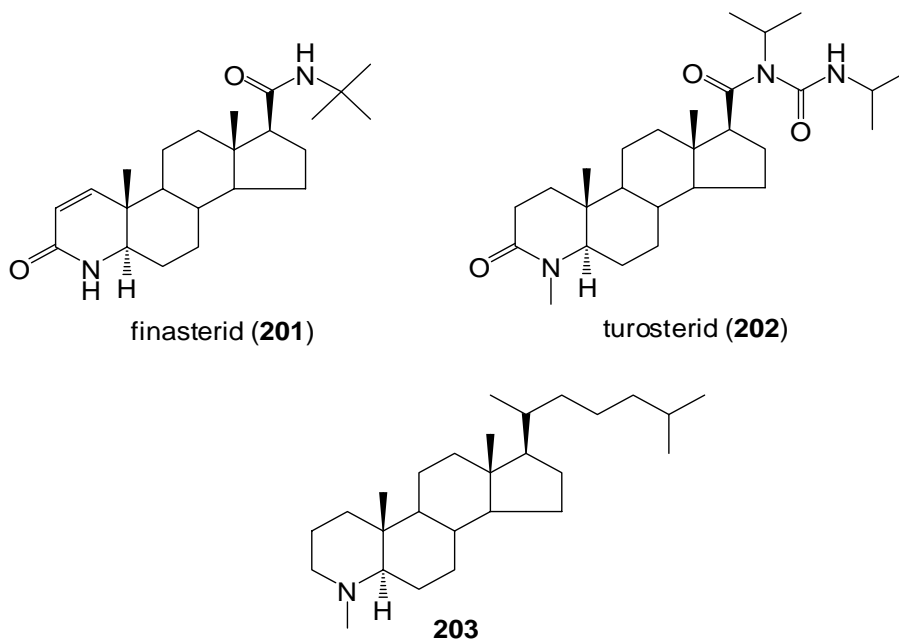
a katalizuje ireverzibilnu konverziju testosterona (**1**) u mnogo potentniji dihidrotestosteron (**200**), koji uzrokuje rast prostate (*shema 2.45.*).^{180,181}



Shema 2.45. Delovanje 5 α -reduktaze¹⁸¹

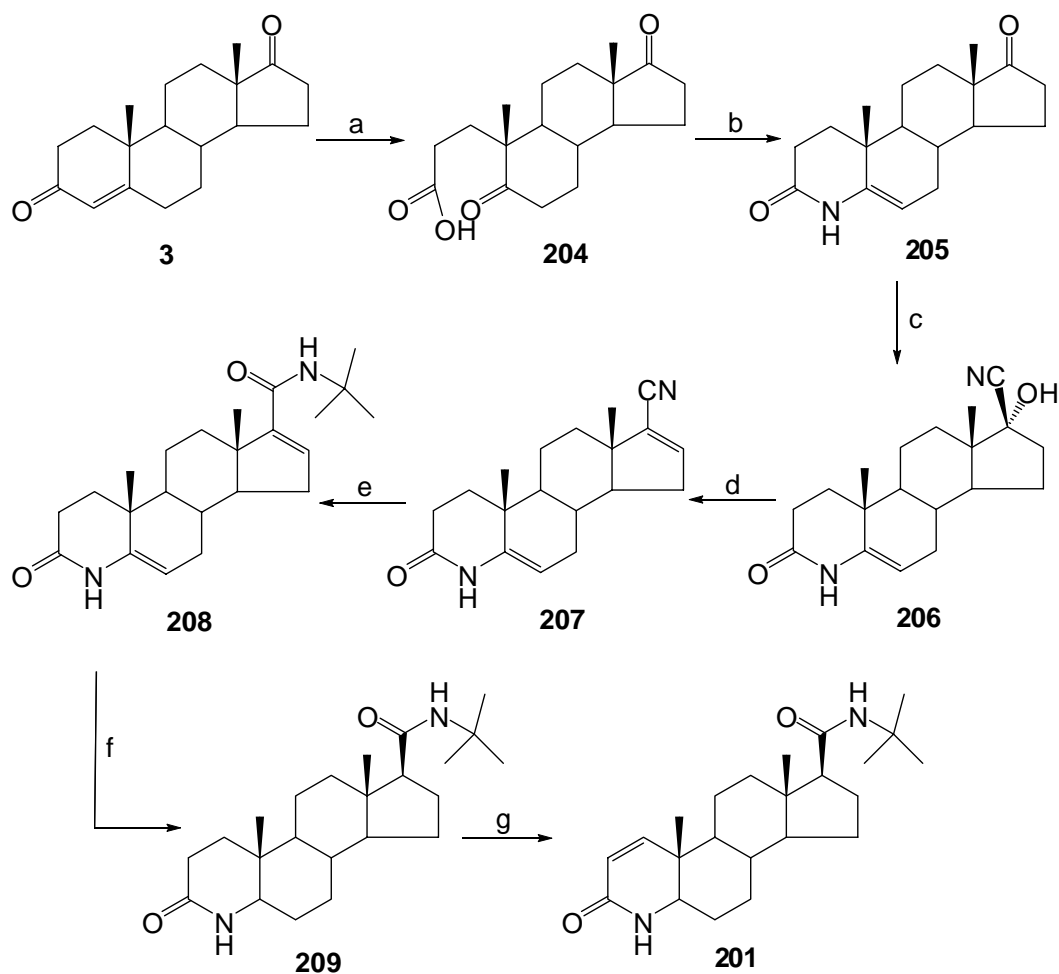
U poslednje dve dekade sintetizovan je veliki broj nesteroidnih¹⁸² i steroidnih jedinjenja,^{183,184} kao kompetitivnih i nekompetitivnih inhibitora 5 α -reduktaze.

Finasterid (**201**) i *turosterid* (**202**) su dva komercijalna leka, koja pripadaju ovoj klasi jedinjenja. Takođe, neki 4-azasteroidi, kao što je npr. derivat holestana **203** (*slika 2.14.*), pokazuju antifungicidnu i/ili antibakterijsku aktivnost.¹⁸⁵⁻¹⁸⁷



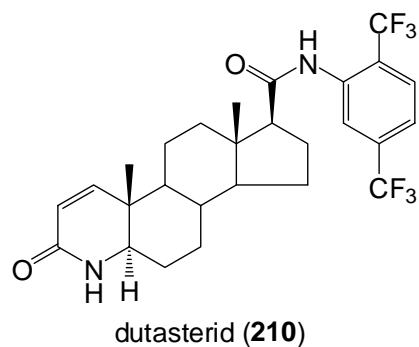
Slika 2.14. Primeri biološki aktivnih 4-azasteroida¹⁸⁶

Finasterid (**201**) je prvi inhibitor 5 α -reduktaze, koji je u SAD odobren za kliničku upotrebu 1992. godine za lečenje BHP. Njegova biološka aktivnost se sastoji u 80%-noj redukciji intraprostatičkog dihidrotestosterona i 28%-nom smanjenju prostate kod pacijenata sa BHP i još uvek je u kliničkoj upotrebi.^{188,189} U literaturi¹⁹⁰⁻¹⁹³ je opisana sinteza *finasterida* (**201**) iz polaznog pregnenolona, koja uključuje veliki broj faza, skupe i toksične reagense, kao što su npr. 2,2-dipiridilsulfid i benzenselenska kiselina. Prinos *finasterida* u ovoj sintezi iznosi svega 16%. Stoga su *Jiang* i saradnici¹⁹⁴ opisali nov postupak sinteze u sedam sintetskih faza (*shema* 2.46.) iz polaznog androstendiona (**3**). Oksidacijom androstendiona nastaje A-seko-keto-karboksilna kiselina **204**, koja sa amonijum-acetatom daje 4-aza-3-keto derivat **205**. Cijanohidrinskom reakcijom na 17-keto grupu nastaje derivat **206**, a dehidratacijom 17-cijano derivat **207**. Primenom *Ritter*-ove reakcije^{195,196} uvedena je 17 β -(N-*t*-butil)-karboksamidna funkcija, pri čemu je dobijeno ključno jedinjenje **208**, odnosno njegovom hidrogenacijom jedinjenje **209**. Za uvođenje C₁=C₂ dvostruke veze primenjen je 2,3-dihloro-5,6-dicijano-1,4-benzohinonom (DDQ) i bis(trimetilsilil)-trifluoroacetamid (BSTFA), pri čemu je dobijen *finasterid* (**201**).



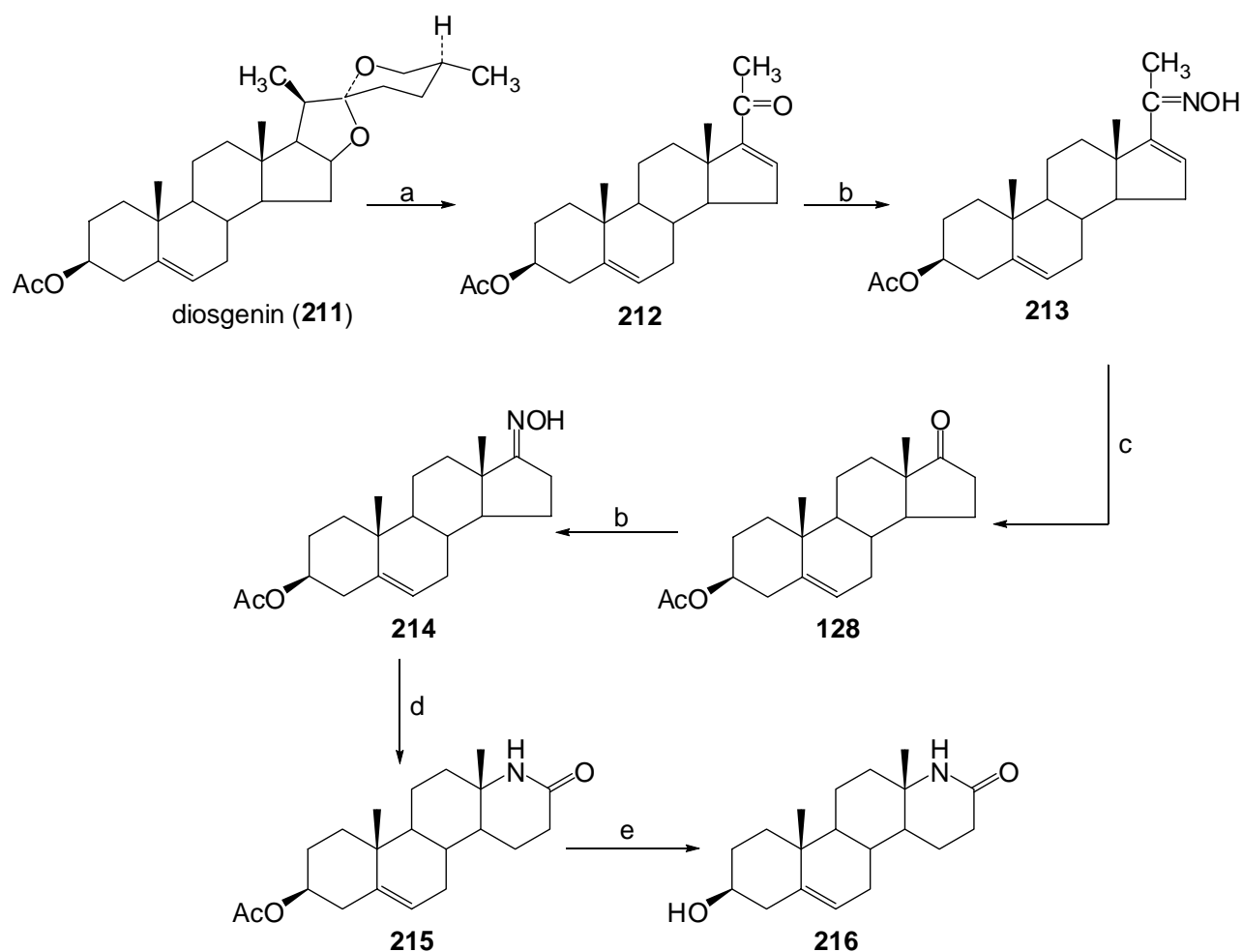
Shema 2.46. a. NaIO_4 , KMnO_4 , K_2CO_3 ; b. $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, CH_3COOH ; c. NaCN , CH_2Cl_2 , CH_3OH , CH_3COOH ; d. POCl_3 , piridin; e. $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$, CH_3COOH , H_2SO_4 ; f. Pd/C , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, H_2 ; g. DDQ, BSTFA, dioksan

Seriya 17-supstuisanih 4-azasteroida je sintetizovana sa ciljem proučavanja inhibicije 5α -reduktaze, što je dovelo do proizvodnje leka *dutasterida*, koji ima A-laktamsku funkciju (**210**) (slika 2.15).¹⁹⁷



Slika 2.15. Struktura *dutasterida*

Smatra se da se inhibitorna aktivnost pomenutih azasteroida može pripisati laktamskoj strukturi A-prstena, koja 'imitira' intermedijerno prelazno stanje. Upravo iz pomenutih razloga, *Dhingra* i saradnici¹⁸¹ su opisali sintezu novih steroidnih laktama. Polazno jedinjenje u ovoj sintezi je komercijalno dostupan *diosgenin* (**211**), a sinteza je prikazana u *shemi 2.47*.



Shema 2.47. a. Marker-ova degradacija; b. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; c. POCl_3 ; d. SOCl_2 , dioksan; e. KOH , CH_3OH

Marker-ovom degradacijom *diosgenina* nastaje 5,16-pregnadien-20-on-3 β -il acetat (**212**), koji sa hidroksilamin-hidrohloridom daje oksim **213**. Oksimino derivat **213** eliminacijom C_{20} i C_{21} grupa daje dehidroepiandrosteron-acetat (DAA, **128**), a daljim oksiminovanjem nastaje 17-oksmino derivat **214**. Derivat **214** sa tionil-hloridom daje 3 β -acetoksi-D-homo laktam **215**, a hidrolizom daje 3 β -hidroksi-D-homo laktam **216** (*shema 2.47.*).¹⁸¹

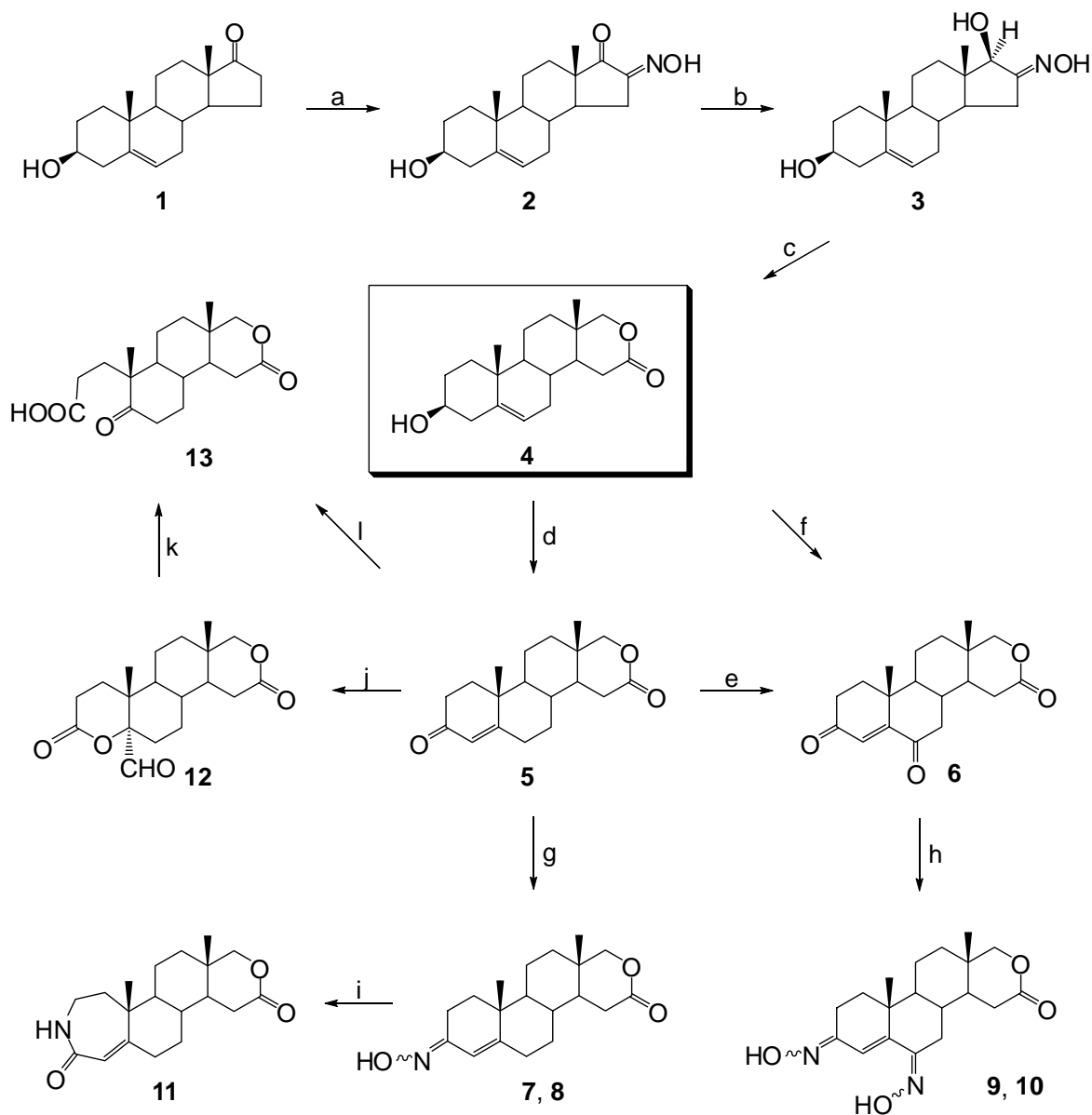
3. NAŠI RADOVI

Kao što je u *Opštem delu* ovog rada opisano, steroidna jedinjenja androstanske serije, zbog svoje biološke aktivnosti su od posebnog interesa u naučnim istraživanjima, s' obzirom da se neki od njih primenjuju i kao lekovi za lečenje raznih androgen-zavisnih bolesti. Stoga je jedan od zadataka ove doktorske disertacije bio sinteza novih derivata androst-5-ena sa D-laktonskom funkcijom ili D-seko derivata, sa modifikacijama u A- i/ili B-prstenovima. Pošto se laktonska funkcija pokazala kao strukturna karakteristika koja doprinosi biološkoj aktivnosti steroida, kao što je opisano u *Opštem delu* ovog rada, istraživanja su usmerena ka sintezi jedinjenja koja pored laktonske funkcije u D-prstenu, sadrže i A-homo laktonski, kao i A-homo laktamski sistem. D-homo laktonski derivati sintetizovani su sa različitim supstituentima u A- ili B-prstenu, pa je tako uvedena 2-hidroksimetilenska funkcija, 3-keto i/ili 6-keto, 3-acetoksi, 3-oksmino, 3,6-dioksmino i/ili 4,5-epoksi funkcija, a sve u cilju da se novosintetizovanim derivatima ispita biološka aktivnost, odnosno antiproliferativna aktivnost na odabrane humane ćelijske linije kancera, kao i prema zdravoj ćelijskoj liniji.

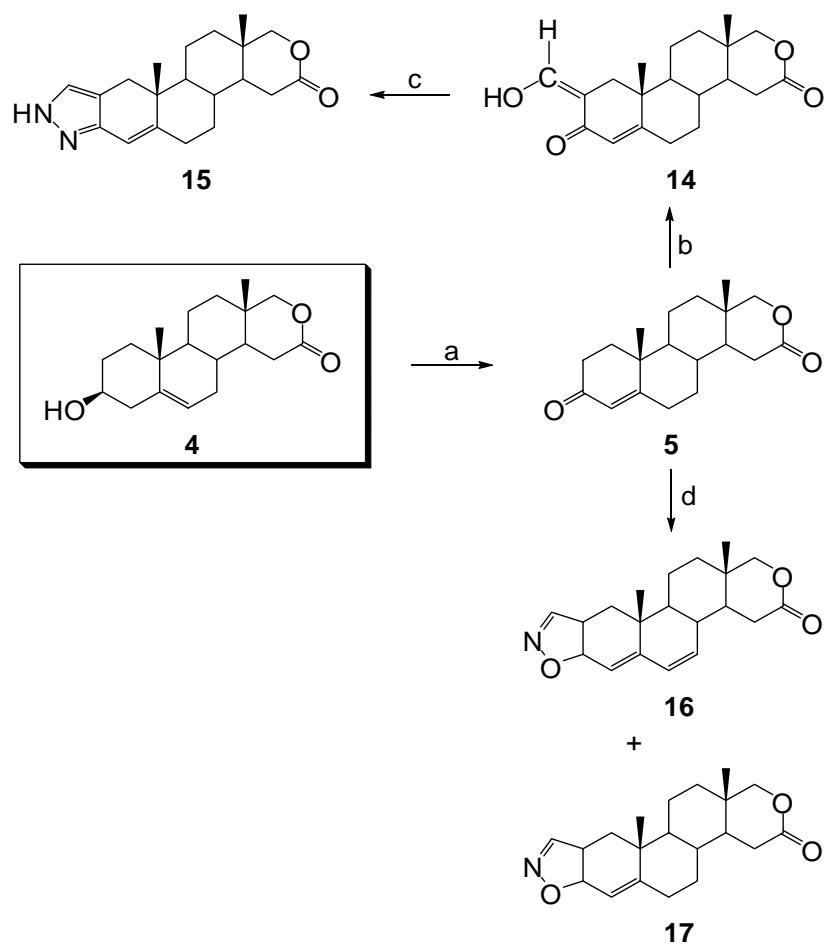
Steroidna jedinjenja koja u svom molekulu poseduju heteroatome, kao što su na primer azot ili kiseonik, su se pokazala kao dobri lekovi u tretmanu različitih bolesti, uključujući kardiovaskularne, autoimune bolesti, osteoartritis, kancer mozga, dojke ili prostate. Stoga su u ovom radu sintetizovana jedinjenja sa heterocikličnim sistemima kondenzovanim sa A- ili A,B-prstenovima steroidnog jezgra.

Dalja istraživanja u ovom radu odnosila su se na sintezu novih D-seko androstanskih derivata, čija je antiproliferativna aktivnost takođe ispitana.

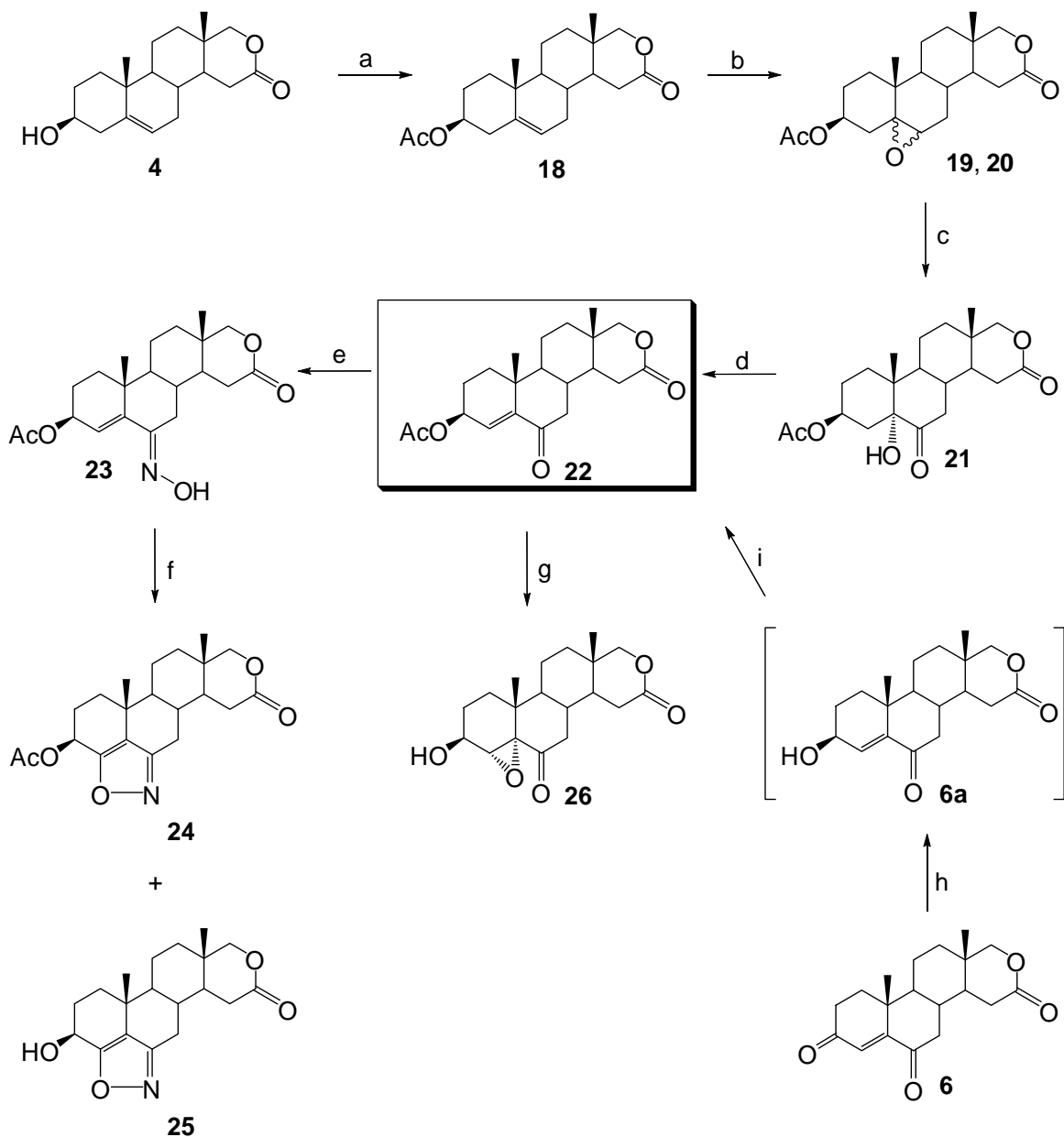
Polazno jedinjenje u svim sintezama je dehidroepiandrosteron (DA). Pregled svih sintetizovanih jedinjenja je dat na *shemama* 3.1. - 3.5.



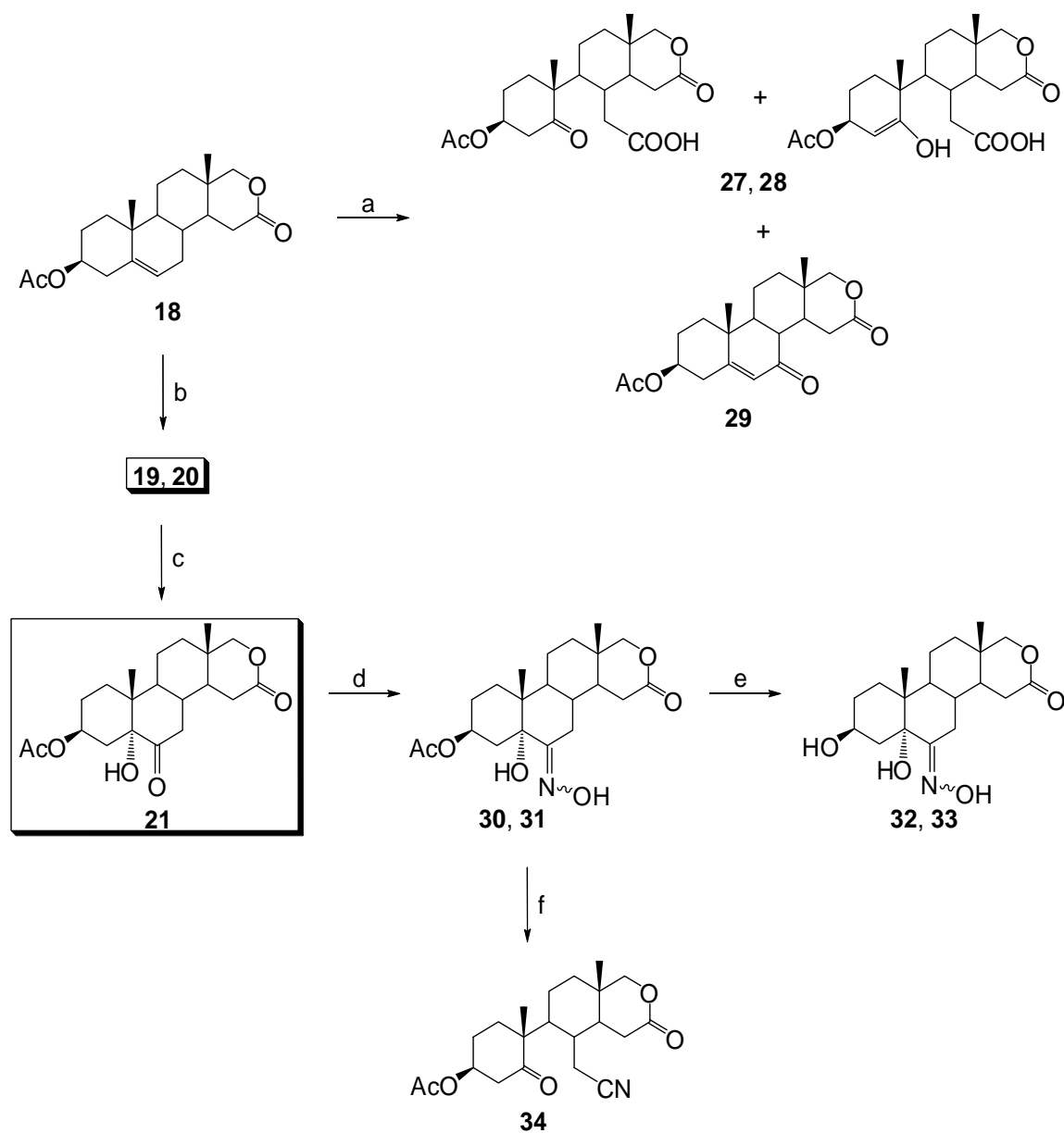
Shema 3.1. a. *i*-Amil-nitrit, *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 24 h, zatim HCl (1:1); b. NaBH₄, C₂H₅OH, s.t., 1.5 h; c. HOCH₂CH₂OH, KOH, refluks, 3 h, zatim HCl (1:1); d. cikloheksanon, Al-(*i*-PrO)₃, toluen, kodestilacija, 75 min., zatim HCl (1:1) ili cikloheksanon, Al-(*t*-BuO)₃, refluks, 12 h, zatim HCl (1:1); e. *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 104 h, zatim HCl (1:1); f. Jones-ov¹⁹⁸ reagens, 0 °C, 2.5 h; g. NH₂OH·HCl, CH₃COONa, C₂H₅OH, 70 °C, 1 h ili NH₂OH·HCl, NaOH, C₂H₅OH /H₂O (1:1), refluks, 30 min → s.t., 24 h; h. NH₂OH·HCl, CH₃COONa, C₂H₅OH, 60 °C, 1.5 h; i. SOCl₂, dioksan, s.t., 1 h; j. *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C → 10 °C, 72 h; k. s.t., 90 dana; l. *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C → 10 °C, 118 h



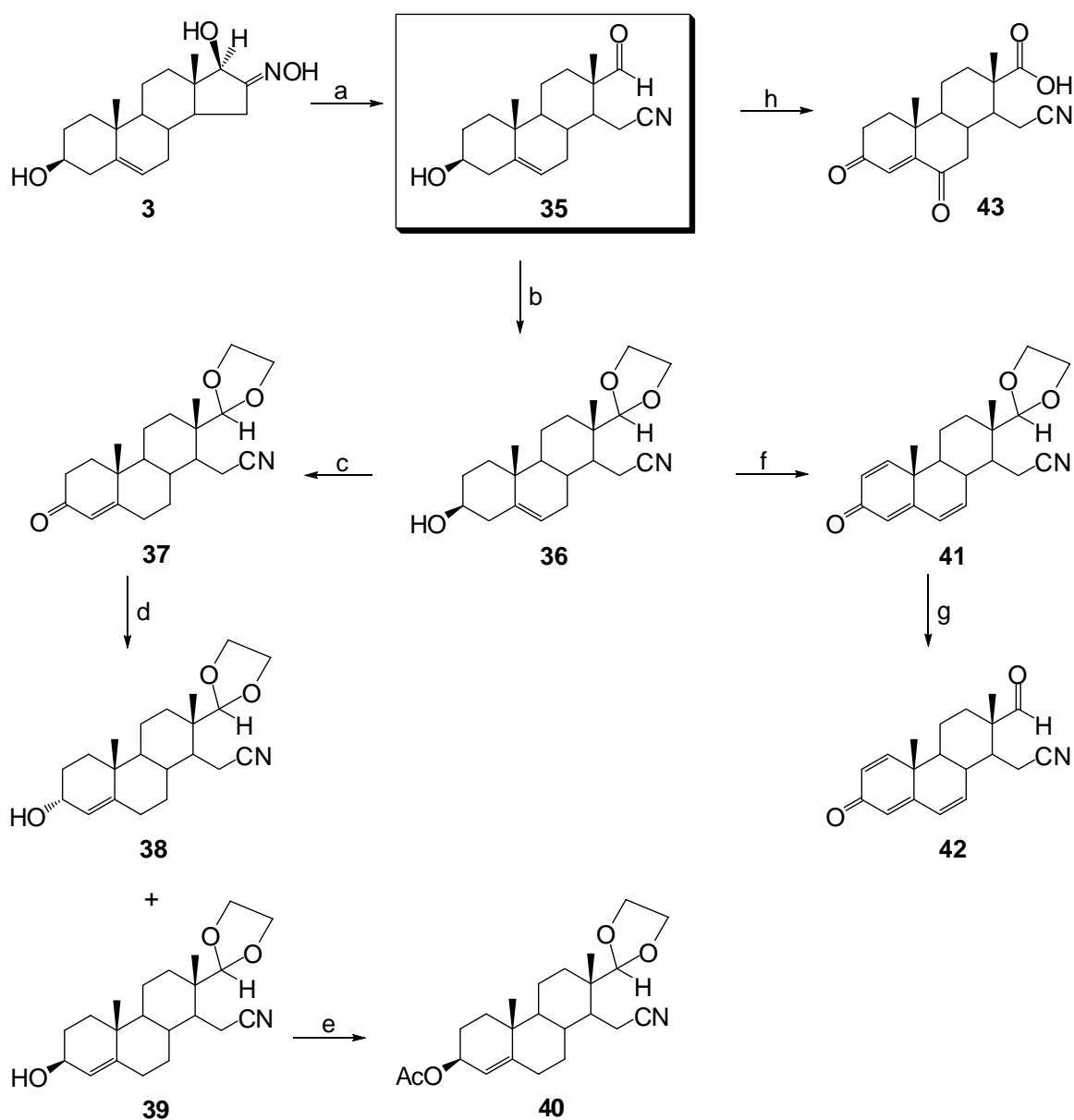
Shema 3.2. a. cikloheksanon, Al-(*i*-PrO)₃, toluen, kodelilacija, 75 min., zatim HCl (1:1) ili cikloheksanon, Al-(*t*-BuO)₃, refluks, 12 h, zatim HCl (1:1); b. HCOOC₂H₅, NaH, aps. benzen, argon, s.t., 2.5 h, zatim HCl (1:1); c. NH₂NH₂·H₂O, C₂H₅OH, 80 °C, 4 h, zatim HCl (1:1); d. HCONH₂, HClO₄, 130 °C, 8.5 h



Shema 3.3. a. Ac_2O , aps. piridin, s.t., 24 h, zatim HCl (1:1); b. *m*-CPBA, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , 0°C , 1 h; c. CrO_3 , aceton/voda (10:1), 0°C , 30 min \rightarrow s.t., 40 min; d. SOCl_2 , aps. piridin, 0°C , 2 h, zatim HCl (1:1); e. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, s.t., 24 h; f. I_2 , KI, NaHCO_3 , THF/ H_2O (4:1), refluks, 5.5 h, zatim HCl (1:1); g. H_2O_2 , NaOH, CH_3OH , 0°C , 3 h, zatim HCl (1:1); h. $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaBH_4 , CH_3OH , s.t., 1 h; i. Ac_2O , aps. piridin, s.t., 24 h, zatim HCl (1:1)



Shema 3.4. a. CrO_3 , CH_3COOH , $60\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h; b. *m*-CPBA, NaHCO_3 , CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; c. CrO_3 , aceton/voda (10:1), $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min \rightarrow s.t., 40 min; d. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; e. BTEAC, NaOH , hloroform, etil-acetat, refluks, 1 h, zatim HCl (1:1); f. Ac_2O , aps. piridin, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, zatim na $0\text{ }^\circ\text{C}$ HCl (1:1)

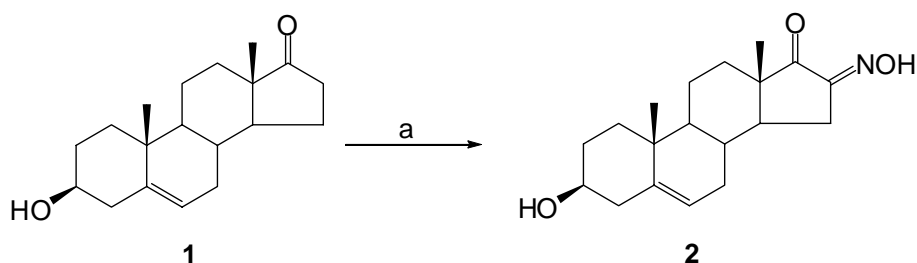


Shema 3.5. a. TsCl, aps. piridin, s.t., 45 min., zatim HCl (1:1); b. HOCH₂CH₂OH, *p*-TsOH, 37-40 °C, 40 min.; c. cikloheksanon, Al(*i*-PrO)₃, refluks, 8.5 h; d. NaBH₄, C₂H₅OH, s.t., 2 h; e. Ac₂O, aps. piridin, s.t., 19 h; f. DDQ, dioksan, refluks, 28 h; g. HCOOH, s.t., 1.5 h; h. Jones-ov reagens, 0 °C, 2.5 h

3.1. Sinteza derivata androst-5-ena

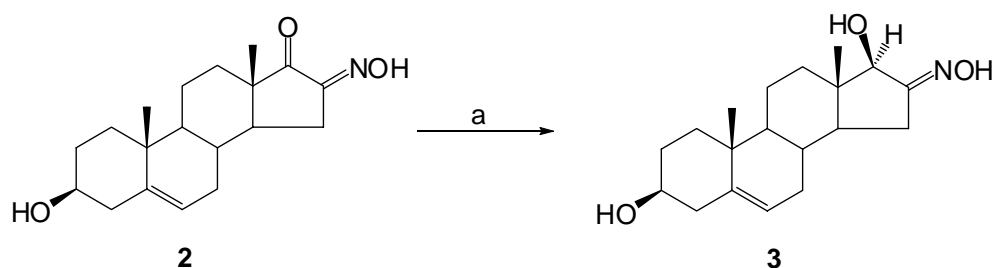
3.1.1. Sinteza D-homo laktonskih derivata 2-6

Polazno jedinjenje u sintezi novih androstanskih derivata, kako je već pomenuto je dehidroepiandrosteron (**1**), koji je preveden u 3 β -hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (**2**), poznatom reakcijom oksiminovanja sa *i*-amilnitritom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida u *terc*-butanolu (*shema* 3.6.), pri čemu je dobijeno jedinjenje **2** u prinosu od 84.8%.¹⁹⁹



Shema 3.6. a. *i*-AmONO, *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 24 h, zatim HCl (1:1)

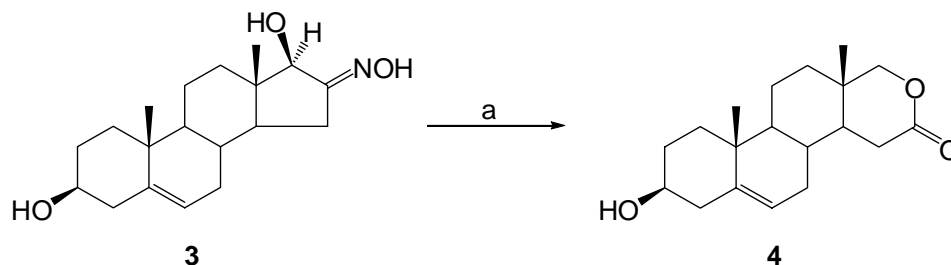
Jedinjenje **2** je redukovano natrijum-borhidridom, u etanolu na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa, pri čemu je dobijen 16-hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**3**) u prinosu od 97.9%.¹⁹⁹



Shema 3.7. a. NaBH₄, C₂H₅OH, s.t., 1.5 h

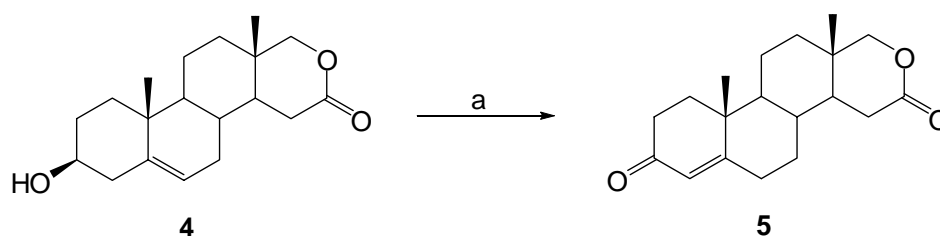
U narednoj fazi je jedinjenje **3** zagrevano u etilenglikolu sa kalijum-hidroksidom na tački ključanja u toku 3 časa, a zatim je reakciona smeša zakišeljena

hlorovodoničnom kiselinom (1:1, pH 1-2), pri čemu je dobijen 3 β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**)¹² u prinosu od 73.9% (*shema 3.8*).



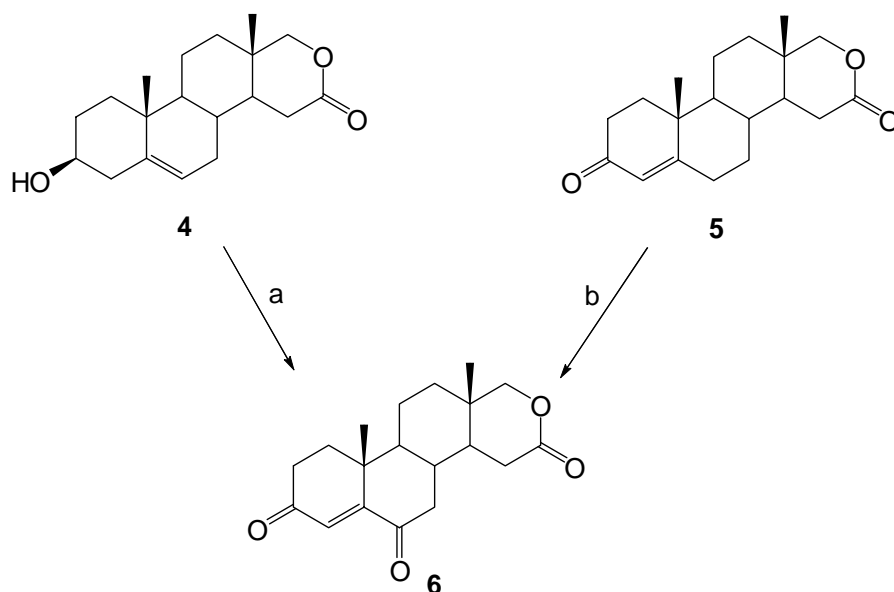
Shema 3.8. a. HOCH₂CH₂OH, KOH, refluks, 3 h, zatim HCl (1:1)

Oppenauer-ovom oksidacijom cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*izo*-propoksida u toluenu, uz koodestilaciju u toku 75 minuta, zatim zakišeljavanjem hlorovodoničnom kiselinom (1:1, pH 1-2), dobijen je 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) u prinosu od 51.4%. Takođe, *Oppenauer*-ovom oksidacijom cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*terc*-butoksida uz refluks u toku 12 časova dobijeno je jedinjenje **5** u prinosu od 50.7% (*shema 3.9*).¹²



Shema 3.9. a. cikloheksanon, Al(*i*-PrO)₃, toluen, koodestilacija, 75 min, zatim HCl (1:1) ili cikloheksanon, Al(*t*-BuO)₃, refluks, 12 h, zatim HCl (1:1)

Sinteza novog 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-triona (**6**) je izvedena na dva načina. Prvi postupak je obuhvatao oksidaciju jedinjenja **4** *Jones*-ovim reagensom, pri čemu je jedinjenje **6** dobijeno u prinosu od 30.0%, dok se drugi postupak sastojao u reakciji jedinjenja **5** sa kalijum-*terc*-butoksidom, pri čemu je jedinjenje **6** dobijeno u prinosu od 13.8%, (*shema 3.10*). Može se zaključiti da je prvi postupak pogodniji, ne samo zbog prinosa dobijenog jedinjenja **6**, već i u skraćanju sintetskog puta.²⁰⁰



Shema 3.10. a. Jones-ov reagens, 0 °C, 2.5 h; b. *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 104 h, zatim HCl (1:1);

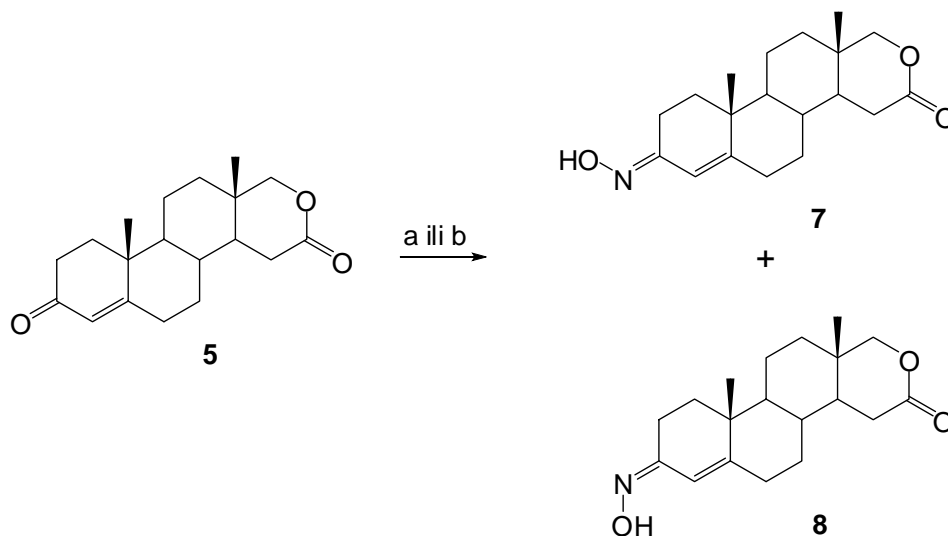
U IR spektru jedinjenja **6**, uočavaju se dve intenzivne trake na 1731 cm^{-1} i 1683 cm^{-1} koje odgovaraju vibraciji C=O funkcija na C-3, C-6 i C-16 atomima. U ^1H NMR spektru uočava se singlet na 6.21 ppm, koji odgovara H-4 atomu i izostanak signala na 3.64 ppm i 5.35 ppm za H-3 i H-6 atome, obzirom da su uvedene keto funkcije na C-3 i C-6 atomima, što je potvrđeno i ^{13}C NMR spektrom, signalima na 200.23 ppm i 198.87 ppm za C₆=O i C₃=O atome.

3.1.2. Sinteza novih oksimino androstanskih derivata 7-10

Kao što je navedeno u *Opštem delu* ovog rada, steroidni oksimino derivati pokazuju različitu biološku aktivnost, a isto tako su i pogodni prekursori za dalje transformacije steroidnog jezgra.¹⁶⁹⁻¹⁷⁶ Stoga su u ovom poglavlju opisane sinteze 3-oksimino i 3,6-dioksimino derivata androst-4-ena.

Najpre je oksimino funkcija uvedena u položaj C-3 u jedinjenju **5**. Reakcija je izvedena sa hidrosilamin-hidrohloridom uz natrijum-acetat na 70 °C^{201} u toku 1 časa, pri čemu je dobijena smeša (3*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**7**)

i (3*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**8**) u odnosu 2.3 : 1. Kada je oksiminovanje izvedeno u prisustvu jakih alkalija modifikacijom postupka opisanog u literaturi,²⁰² uz refluks u toku 30 minuta, a zatim na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, dobijena je smeša (3*E*)- i (3*Z*)-izomera u odnosu 4.3 : 1 (*shema 3.11.*).

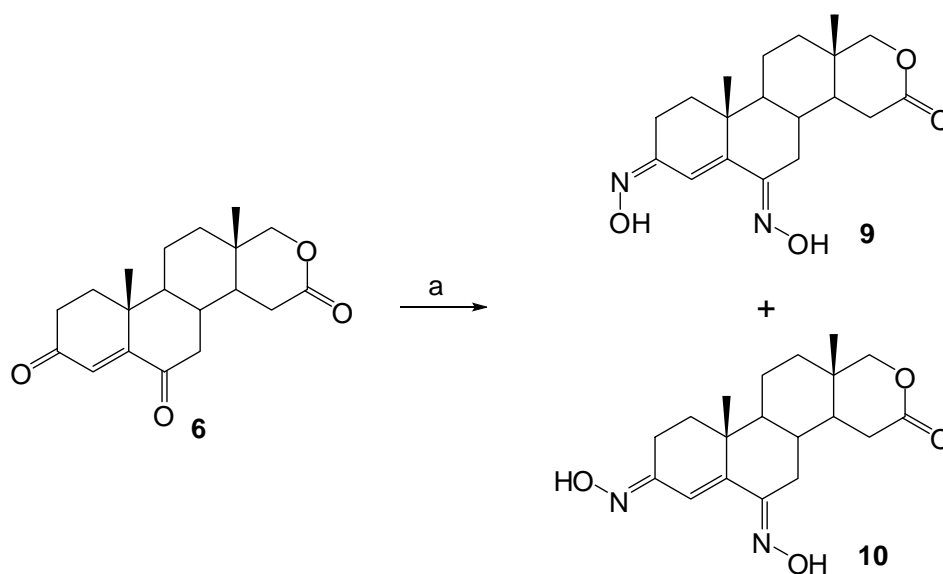


Shema 3.11. a. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; b. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, NaOH , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), refluks, 30 min \rightarrow s.t., 24 h

IR spektri polaznog jedinjenja **5** i oksimino derivata **7** i **8** se razlikuju u oblasti "finger-printa" ("otisak prsta") od $1400\text{-}650\text{ cm}^{-1}$, gde se uočavaju trake srednjeg intenziteta za deformacione i valencione vibracije $=\text{N-O}$ iz $=\text{N-OH}$ grupe, dok se valencione vibracije za OH iz $=\text{N-OH}$ funkcije nalaze na 3285 cm^{-1} . Takođe se uočava intenzivna traka na 1724 cm^{-1} , koja odgovara C=O i C=N vibracijama. ^1H i ^{13}C NMR spektri ukazuju da je dobijena smeša izomera **7** i **8**. Tako se u ^1H NMR spektru (snimljenom u CDCl_3), uočava široki signal za protone iz dve $\text{C}_3=\text{NOH}$ funkcije za (*E*)- i (*Z*)-izomere u oblasti od 9.20-9.38 ppm (koji se gubi nakon dodatka D_2O), a takođe i singleti na 5.80 ppm i 6.50 ppm za H-4 atome (3*E*)- i (3*Z*)-izomera **7** i **8**. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **7** i **8** je snimljen i u DMSO-d_6 , pri čemu su registrovani signali na 10.25 ppm ((*Z*)-izomer) i na 10.52 ppm ((*E*)-izomer) za protone iz dve oksimino funkcije, kao i singleti za H-4 atome na 5.71 ppm ((*E*)-izomer) i 6.32 ppm ((*Z*)-izomer). U ^{13}C NMR spektru (u CDCl_3) se uočava gubitak signala na 199.02 ppm, koji je

karakterističan za $C_3=O$ grupu (kod polaznog jedinjenja **5**), a registrovani su signali na 156.36 ppm i 157.84 ppm za $C_3=NOH$ atome iz (3*E*)- i (3*Z*)-izomera.

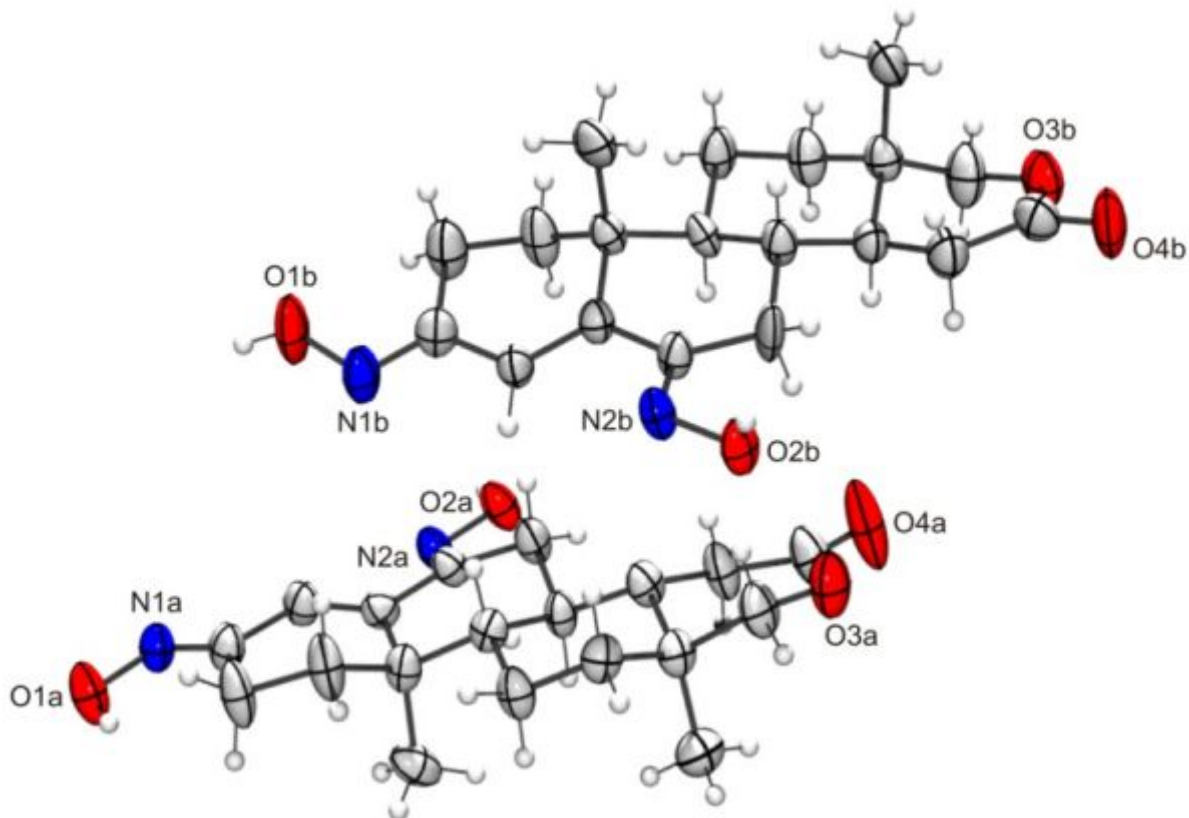
U ovom radu su sintetizovani i 3,6-dioksimino derivati **9** i **10** iz jedinjenja **6**. Reakcija je izvedena sa hidrosilamin-hidrohloridom u etanolu, u prisustvu natrijum-acetata na 60 °C, u toku 1.5 časa. Dobijena je stereoizomerna smeša, iz koje je izolovan (3*E*,6*E*)-dioksimino derivat **10** (*shema* 3.12.).



Shema 3.12. a. $NH_2OH \cdot HCl$, CH_3COONa , C_2H_5OH , 60 °C, 1.5 h

Poređenjem IR spektra jedinjenja **10**, sa IR spektrom polaznog 3,6-diketo derivata **6**, uočavaju se karakteristične razlike u oblasti $1400-650\text{ cm}^{-1}$ ("finger print"). Zatim, široka traka za valencione vibracije OH grupe iz $=N-OH$ funkcije je registrovana na 3315 cm^{-1} , kao i oštra traka na 1704 cm^{-1} , koja odgovara $C_{16}=O$ iz laktonske funkcije. U 1H NMR spektru jedinjenja **10**, koji je snimljen u $Py-d_5$, uočavaju se singleti na 13.27 ppm za H atom iz $C_6=NOH$ i na 13.37 ppm za H atom iz $C_3=NOH$ funkcije ((3*E*,6*E*)-dioksimino derivata), koji se gube nakon dodatka D_2O , što je dokaz prisustva H-atoma iz dve oksimino funkcije. Signal na 7.15 ppm potiče od H-4 atoma. U ^{13}C NMR spektru registrovani su signali za $C_3=NOH$ na 156.52 ppm i za $C_6=NOH$ na 156.96 ppm.

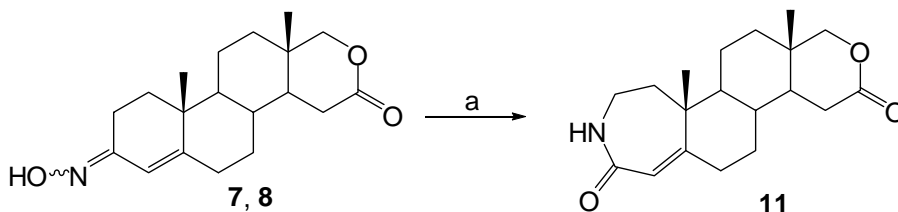
Stereohemija izolovanog izomera **10** je potvrđena i rentgeno-strukturnom analizom (*slika 3.1.*), iz koje se može videti da se u kristalu nalaze dva molekula jedinjenja **10**.



Slika 3.1. Stereohemija molekularne strukture jedinjenja **10**

3.1.3. Sinteza 2a-aza-A-homo androstanskog derivata **11**

Obzirom da je poznato da heteroatom (N, O ili S) u steroidnom jezgru, kao na primer kod aza-steroida, značajno utiče na biološku aktivnost,²⁰³⁻²⁰⁵ jedan od ciljeva ovog rada je sinteza D-homo laktonskih derivata sa azotovim atomom u A-prstenu prema poznatoj reakciji *Beckmann*-ovog premeštanja. Smeša oksimino derivati **7** i **8** je sa tionil-hloridom u dioksanu na sobnoj temperaturi u toku 1 časa prevedena u 2a-aza-17-oksa-A,D-dihomoandrost-4-en-3,16-dion (**11**) (prinos 44.6%, *shema 3.13.*).

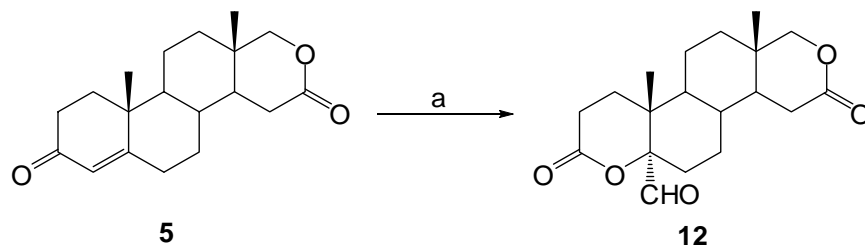


Shema 3.13. a. SOCl_2 , dioksan, s.t., 1 h

Potvrda strukture u ^1H NMR spektru (u CDCl_3) novosintetizovanog derivata **11** je široki signal na 6.73 ppm, koji je izmenljiv u D_2O , za H-atom iz NH grupe amidne funkcije, dok signal na 5.75 ppm, odgovara H-4 atomu. U ^{13}C NMR spektru je registrovan signal na 169.88 ppm, koji odgovara $\text{C}_3=\text{O}$ atomu amidne funkcije, kao i signal na 119.40 ppm za C-4 atom. Takođe, u IR spektru je registrovana intenzivna traka na 1729 cm^{-1} , koja potiče od $\text{C}_{16}=\text{O}$ iz laktanske funkcije, kao i trake na 1656 cm^{-1} i 1610 cm^{-1} , koje potiču od $\text{C}_3=\text{O}$, tj. $\text{C}_4=\text{C}_5$ vibracija u jedinjenju **11**.

3.1.4. Sinteza 4-oksa-androstanskog derivata **12**

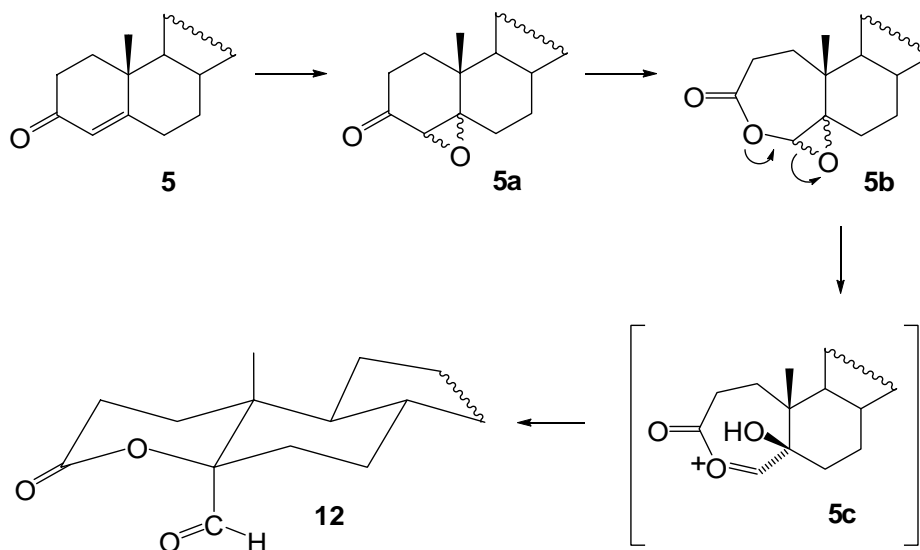
Baeyer-Villiger-ovom oksidacijom 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (**5**) *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom (*m*-CPBA) na temperaturi od 0° do 10° C u toku 72 časa, dobijen je 3,16-diokso-4,17-dioksa-D-homoandrost-5 α -karbaldehid (**12**) (shema 3.14.).



Shema 3.14. a. *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{ C} \rightarrow 10^\circ\text{ C}$, 72 h

Pri sličnim reakcionim uslovima iz testosteron-acetata dobijen je 4-oksa-3-keto-5 α -karbaldehidni derivat.²⁰⁶⁻²⁰⁹ Pretpostavljeni mehanizam²¹⁰ formiranja A-laktanskog prstena prikazan je na shemi 3.15. Naime, oksidacijom jedinjenja **5** *meta*-

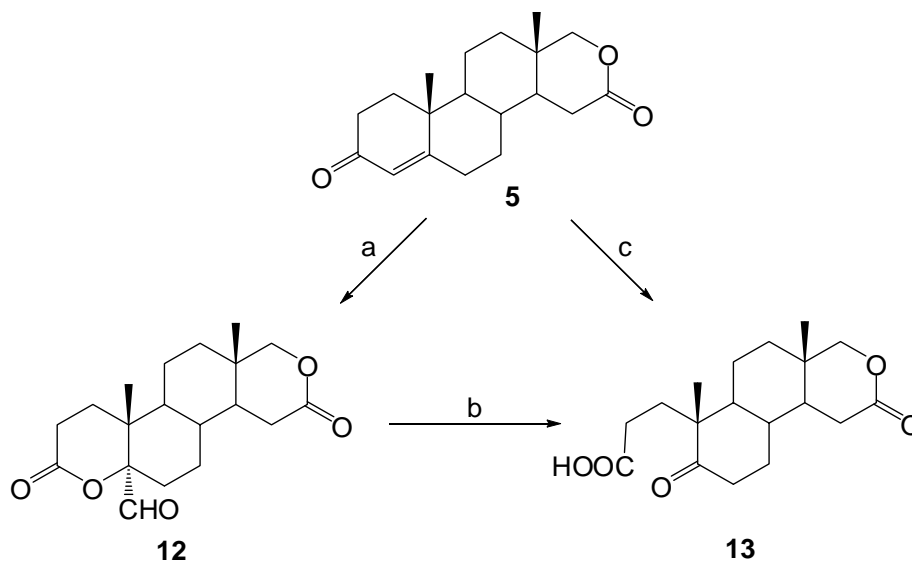
hlorperbenzoevom kiselinom najpre nastaje epoksi derivat **5a**, koji daljom oksidacijom daje A-homo epoksilakton **5b**. Otvaranjem oksiranskog prstena gradi se oksonijum katjon **5c**, koji se izomerizuje u 5 α -karbaldehidni derivat **12**.



Shema 3.15. Pretpostavljeni mehanizam dobijanja 4-oksa androstanskog derivata **12**

U IR spektru jedinjenja **12**, uočava se intenzivna traka, na 1731 cm^{-1} , koja odgovara vibracijama C=O grupe iz dve laktonske funkcije (A- i D-prstenovi) i aldehidnoj funkciji. Ukoliko se uporede ^1H NMR spektri jedinjenja **12** i polaznog jedinjenja **5** uočava se gubitak signala za H-4 na 5.76 ppm (jedinjenje **12**) i pojava novog signala na 9.94 ppm, koji odgovara H-atomu iz uvedene aldehidne funkcije, što odgovara 5 α -izomeru. U ^{13}C NMR spektru je registrovan signal na 178.71 ppm koji odgovara C₃=O atomu kod jedinjenja **12** (signal polaznog jedinjenja **5** za C₃=O je na 199.02 ppm), a signal na 199.93 ppm odgovara C-atomu iz aldehidne funkcije. Hemijska pomeranja su asignirana poređenjem sa objavljenim vrednostima za jedinjenja vrlo bliske strukture, koja poseduju A-prsten kao jedinjenje **12** i aldehidnu funkciju u 5 α -položaju.²⁰⁷⁻²⁰⁹

Stabilnost izolovanog jedinjenja **12** je ispitana u dužem vremenskom intervalu, što je potvrđeno nakon snimanja ^1H i ^{13}C NMR spektara. Naime, spontanom otvaranjem A-prstena u jedinjenju **12**, nastala je 17-oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina (**13**) (shema 3.16.).



Shema 3.16. a. *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C → 10 °C, 72 h; b. s.t., 90 dana;
c. *m*-CPBA, CH₂Cl₂, 0 °C → 10 °C, 118 h

Takođe, kada je *Baeyer-Villiger*-ova oksidacija 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (**5**) *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom (*m*-CPBA) na temperaturi od 0° do 10° C trajala 118 sati, tada je isključivo izolovana A-seko karboksilna kiselina (**13**) (*shema 3.16*).

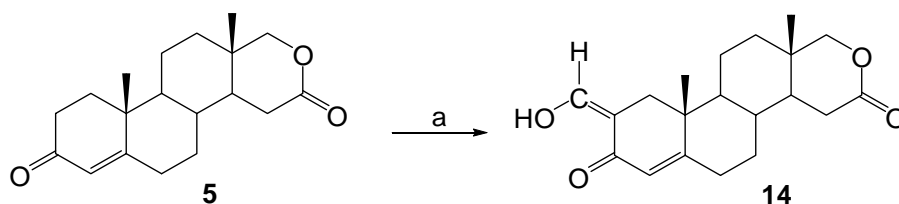
Dokaz strukture jedinjenja **13** je ¹³C NMR spektar, kod kojeg se uočava gubitak signala na 199.93 ppm, koji je odgovarao C-atomu iz aldehidne funkcije u jedinjenju **12**, a registrovan je nov signal za C-atom iz karboksilne funkcije u jedinjenju **13** na 178.84 ppm. U ¹H NMR spektru se uočava gubitak signala na 9.94 ppm, koji je odgovarao H-atomu iz aldehidne funkcije. U IR spektru je prisustvo karboksilne funkcionalne grupe u jedinjenju **13** potvrđeno karakterističnim trakama na 3500-3100 cm⁻¹.

3.1.5. Sinteza (2Z)-hidroksimetilenskog derivata 14

U *Opštem delu* ovog rada opisan je *oksimetolon*, koji u steroidnom jezgru poseduje 2-hidroksimetilensku funkciju, a koristi se kao lek u terapiji aplastične i hipoplastične anemije i mijelofibroze. Slično A-prstenu *oksimetolona*, ideja je da se u D-homo laktonski androstanski derivat **5** uvede 2-hidroksimetilenska funkcija i ispita

antiproliferativna aktivnost. Takođe, pomenuti derivat je poslužio i kao prekursor u sintezi kondenzovanog pirazolskog derivata androst-4-ena.

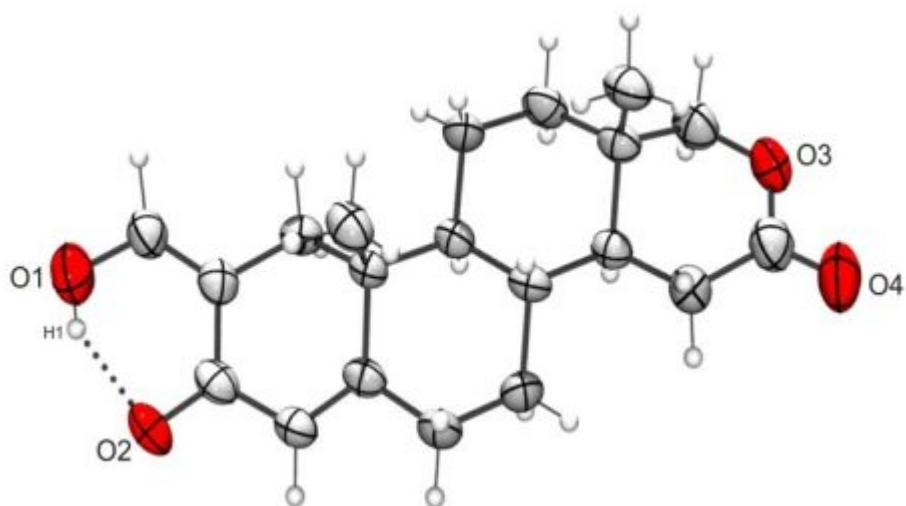
Tako je jedinjenje **5** sa etil-formijatom i natrijum-hidridom u apsolutnom benzenu,²¹¹ na sobnoj temperaturi u toku 2.5 časa stereoselektivno dalo (2Z)-hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**14**) u prinosu od 22.4% (*shema 3.17.*). Hidroksimetilenska funkcija u položaju 2 je orijentisana tako da se formira *intramolekulska* vodonična veza sa C₃=O funkcijom, što je nepobitno dokazano rentgeno-strukturnom analizom (*slika 3.2.*).



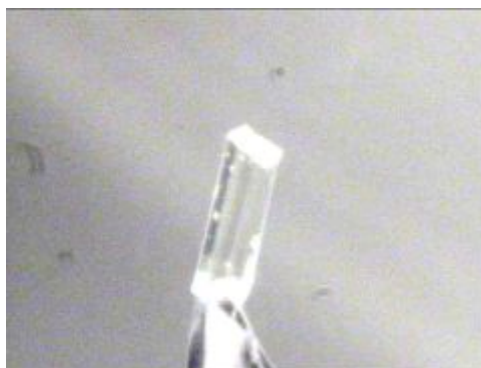
Shema 3.17. a. HCOOC₂H₅, NaH, aps. benzen, argon, s.t., 2.5 h, zatim HCl (1:1)

Spektroskopski podaci potvrđuju strukturu jedinjenja **14**. U IR spektru prisustvo OH funkcije dokazuje traka na 3400 cm⁻¹, a trake na 1732 cm⁻¹, 1641 cm⁻¹ i 1570 cm⁻¹ odgovaraju vibracijama C₃=O, C₁₆=O, C₄=C₅ i C₂=CH(OH) grupa. Singlet na 7.39 ppm u ¹H NMR spektru jedinjenja **14** odgovara protonu (=C-H) iz hidroksimetilenske funkcije, a široki signal na 13.72 ppm odgovara protonu iz OH grupe hidroksimetilenske funkcije, koji je izmenljiv u D₂O. Takođe, u ¹³C NMR spektru jedinjenja **14**, registrovan je signal na 165.55 ppm za ugljenik iz hidroksimetilenske funkcije, kao i signal na 106.02 ppm koji odgovara C-2 atomu.

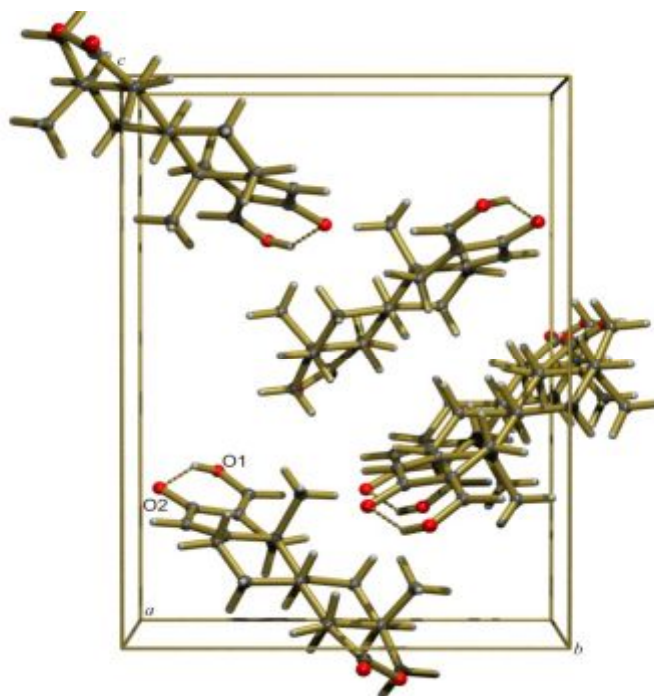
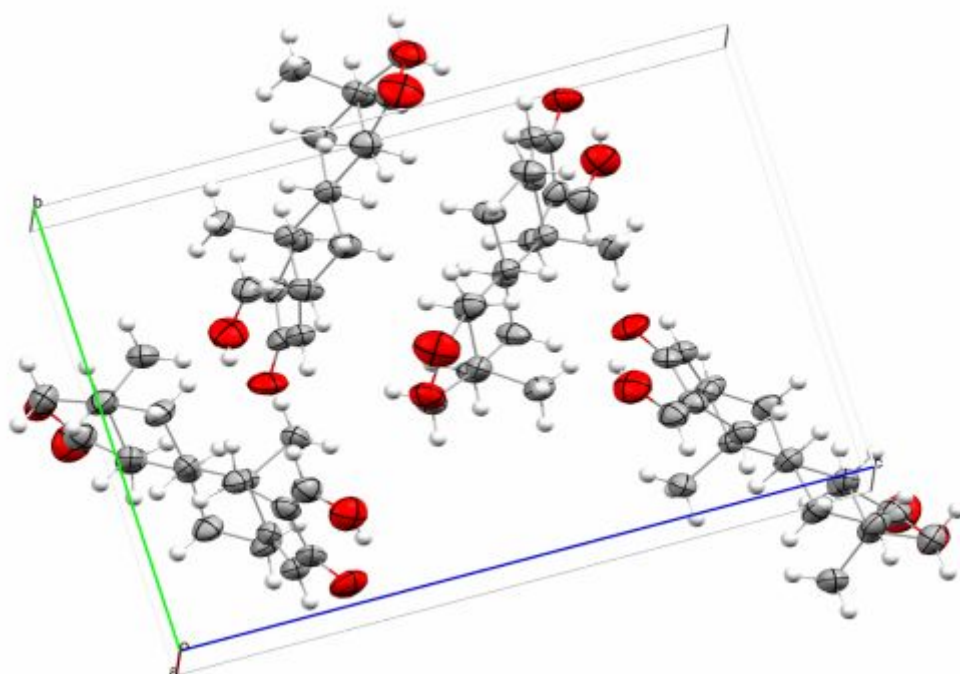
Na *slici 3.2.* je prikazana stereohemija jedinjenja **14**, a može se uočiti i formiranje *intramolekulske* vodonične veze, dok je na *slici 3.3.* prikazan snimljeni kristal pomoću X-zraka. Na *slici 3.4.* je prikazano 'pakovanje' molekula jedinjenja **14** u kristalu.



Slika 3.2. Formiranje *intramolekulske* vodonične veze u jedinjenju **14**



Slika 3.3. Prikaz uveličanog kristala jedinjenja **14**



Slika 3.4. Prikaz 'pakovanja' molekula jedinjenja **14** u kristalu

U *tabeli 3.1* je prikazana dužina formirane *intramolekulske* vodonične veze.

Tabela 3.1. Intramolekulska O–H...O vodonična veza (Å, °) u jedinjenju **14**

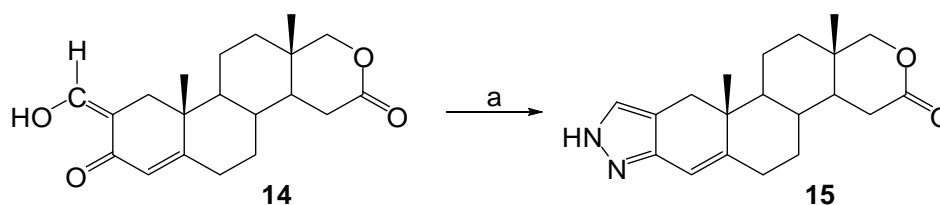
D–H...A	D–H	H...A	D...A	D–H...A
O1 --H1.....O2	0.82	1.85	2.545(4)	142

Kao što se može videti, konformacija ispitivanog molekula je dodatno stabilizovana postojanjem ove veze, a njeni parametri su dati u *tabeli 3.1*.

3.1.6. Sinteza A-kondenzovanih heterocikličnih androstanskih derivata 15-17

Sinteza heterocikličnih steroidnih jedinjenja je važna zbog njihove biološke aktivnosti, kao što je antibakterijska,²¹² antiaritmijska,²¹³ antitumorna⁷³ ili anti-HIV-aktivnost.²¹⁴ Kondenzovanje pirazolskog ili izoksazolskog prstena sa steroidnim jezgrom uslovljava promenu u biološkoj aktivnosti matičnog steroidnog molekula.²¹⁵ Stoga je jedan od ciljeva u ovom delu rada sinteza novih D-homo laktonskih derivata sa heterocikličnim sistemom kondenzovanim sa A-prstenom steroidnog jezgra.

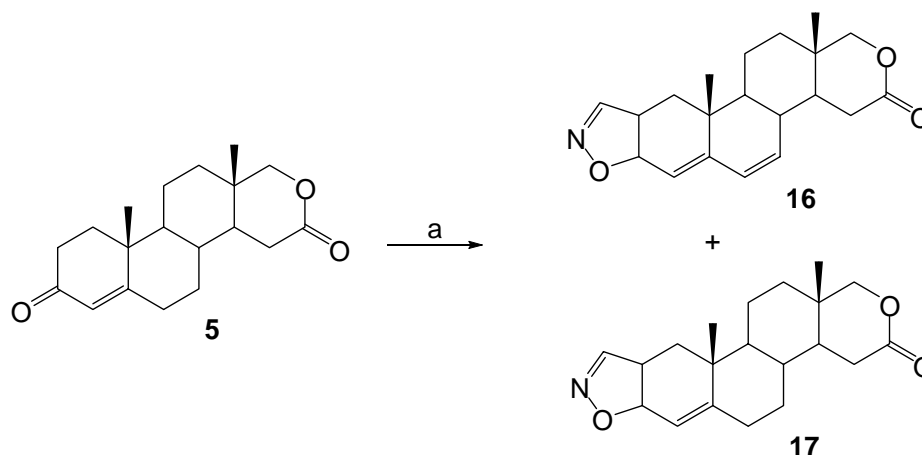
Kao što je već prethodno pomenuto (2Z)-hidroksimetilenski derivat **14** je prekursor u sintezi 17-oksa-pirazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-ona (**15**). Reakcija je izvedena sa hidrazin-hidratom u etanolu na temperaturi od 80 °C u toku 4 časa (prinos 21.4%, *shema 3.18*).



Shema 3.18. a. $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 80 °C, 4 h, zatim HCl (1:1)

Spektroskopski podaci potvrđuju strukturu jedinjenja **15**. Tako, u IR spektru intenzivna traka na 3136 cm^{-1} odgovara NH valencionim vibracijama pirazolskog prstena, dok trake srednjeg intenziteta od $1500\text{-}1403\text{ cm}^{-1}$ potiču od C=N vibracija. Na 1728 cm^{-1} se nalazi intenzivna traka, koja potiče od vibracija C₁₆=O grupe laktonske funkcije. Poređenjem ¹H NMR spektara (snimljenih u CDCl₃) nosintetizovanog jedinjenja **15** i polaznog jedinjenja **14** uočava se gubitak signala za H-atome (=CH(OH) i =CH(OH)) iz (2Z)-hidroksimetilenske funkcije (7.39 ppm i 13.72 ppm), zbog uvedenog pirazolskog prstena, a registruju se dva signala i to: široki signal na 7.10 ppm, koji odgovara protonu iz NH funkcije i singlet na 7.30 ppm, koji odgovara protonu =CH iz pirazolskog prstena, dok singlet na 6.23 ppm odgovara H-4 atomu. U ¹H NMR spektru (u DMSO-d₆), registrovani su signali na 13.09 ppm za NH, na 7.23 ppm signal za =CH iz pirazolskog prstena i na 6.10 ppm za H-4 atom. U ¹³C NMR spektru (u CDCl₃) se uočava pomeranje signala C-3 atoma sa 188.68 ppm (jedinjenje **14**) na 147.70 ppm (jedinjenje **15**). Takođe, signal na 132.28 ppm odgovara ugljeniku =CH iz pirazolskog prstena, a signal na 112.66 ppm odgovara C-4 atomu.

U *Opštem delu* ovog rada je opisan *danazol*, kod kojeg je A-prsten kondenzovan sa izoksazolinskim prstenom i on je androgeno-anabolički steroid, sa slabom androgenom aktivnošću, a kao što je već navedeno, primenjuje se za lečenje endometrioze.⁸⁹ Radi ispitivanja uticaja na biološku aktivnost, u daljem radu je A-prsten 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (**5**) kondenzovan sa izoksazolinskim prstenom. Reakcija je izvedena sa formamidom u prisustvu perhlorne kiseline u toku 8.5 časova na 130 °C. Dobijena je smeša dva izoksazolinska derivata: izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrosta-4,6-dien-16-on (**16**) u prinosu od 7.8% i izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**17**) u prinosu od 12.2% (*shema 3.19*). Strukture jedinjenja **16** i **17** su potvrđene spektroskopskim podacima.



Shema 3.19. a. HCONH_2 , HClO_4 , $130\text{ }^\circ\text{C}$, 8.5 h

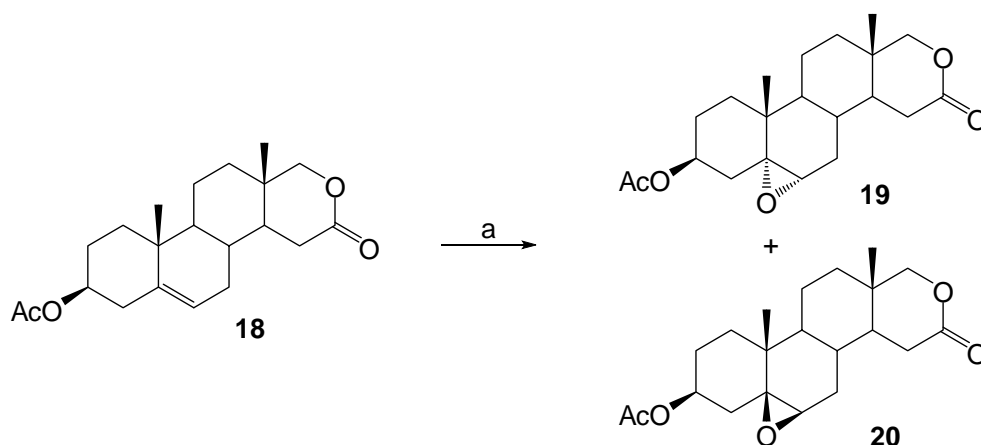
U IR spektru jedinjenja **16** registrovane su trake za C=N vibracije na 1665 cm^{-1} , 1525 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , kao i na 1728 cm^{-1} za $\text{C}_{16}=\text{O}$ funkciju D-homo laktonskog sistema. U ^1H NMR spektru uočava se široki signal na 3.13 ppm za H-3 atom, kao i dva dubleta na 4.52 ppm i 5.90 ppm za H-7 i H-6 atome zbog dvostruke $\text{C}_6=\text{C}_7$ veze. Ukoliko se uporede ^1H NMR spektri polaznog jedinjenja **5** i jedinjenja **16** uočava se pomeranje signala za H-4 atom sa 5.76 ppm na 5.18 ppm. Singlet na 8.18 ppm odgovara protonu =CH iz izoksazolinskog prstena. U ^{13}C NMR spektru uočavaju se novi signali na 120.69 ppm i 147.46 ppm za C-6 i C-7 atome, kao i signal na 163.96 ppm, koji odgovara ugljeniku =CH iz izoksazolinskog prstena. Takođe se uočava i pomeranje signala sa 199.02 ppm, koji je odgovarao $\text{C}_3=\text{O}$ atomu u jedinjenju **5** na 53.18 ppm za C-3 atom jedinjenja **16**.

U IR spektru jedinjenja **17** registrovane su trake za C=N vibracije na 1667 cm^{-1} , 1530 cm^{-1} i 1450 cm^{-1} , kao i traka na 1731 cm^{-1} za $\text{C}_{16}=\text{O}$ funkciju D-homo laktonskog sistema. U ^1H NMR spektru se javlja široki singlet na 3.45 ppm za H-3 atom, kao i pomeranje signala za H-4 atom sa 5.76 ppm na 6.04 ppm, ukoliko se uporede jedinjenja **5** i **17**. Singlet na 8.15 ppm odgovara protonu =CH iz izoksazolinskog prstena. U ^{13}C NMR spektru se uočava pomeranje signala za C-3 atom ka nižim vrednostima (sa 199.02 ppm na 52.46 ppm), kao i nov signal na 125.87 ppm, koji odgovara ugljeniku =CH iz izoksazolinskog prstena.

3.1.7. Sinteza A,B-kondenzovanih heterocikličnih androstanskih derivata 24 i 25

Sinteza izoksazola kondenzovanih sa A,B-prstenom D-homo laktonskih derivata **24** i **25** je višefazna, a prekursor je 3 β -acetoksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**18**), čija je struktura potvrđena na osnovu spektroskopskih podataka, koji daju dobru saglasnost sa literaturnim podacima^{216,217}(*shema 3.3.*).

U daljoj fazi rada izvršena je epoksidacija jedinjenja **18** *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom (*m*-CPBA), pri čemu je dobijena smeša 5 α ,6 α - i 5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**19** i **20**), iz koje je izolovano jedinjenje **19** u prinosu od 39.0% (*shema 3.20.*).

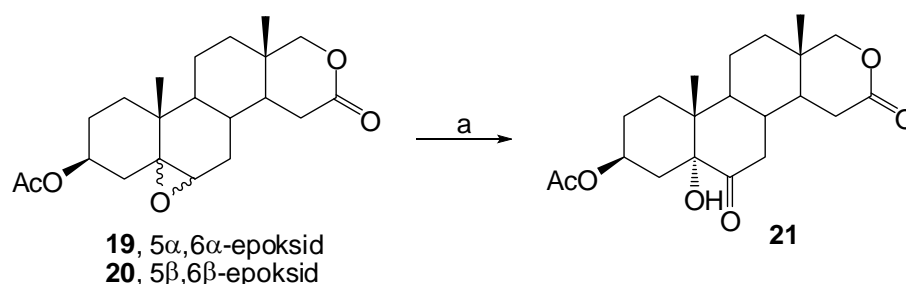


Shema 3.20. a. *m*-CPBA, NaHCO₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h

Spektroskopski podaci ukazuju da je dobijena smeša jedinjenja **19** i **20**, jer se u ¹H NMR spektru uočavaju signali na 2.94 ppm i 3.14 ppm. Signal na 2.94 ppm odgovara H6- β atomu i potiče iz 5 α ,6 α -epoksida **19**, a signal na 3.14 ppm za H6- α atom potiče iz 5 β ,6 β -epoksida **20**. Formirani 5 α ,6 α - i 5 β ,6 β -epoksidi **19** i **20** su u odnosu 2.7 : 1. Takođe se uočavaju dva multiplleta na 4.92 ppm i 5.09 ppm, koji odgovaraju H-3 atomima epoksida **19** i **20**. Frakcionom kristalizacijom iz sistema etil-acetat/heksan dobijen je čist 5 α ,6 α -epoksi derivat **19**. U ¹H NMR spektru prisutan je dublet na 2.94 ppm za H6- β atom 5 α ,6 α -epoksi derivata. Signali na

64.83 ppm i 58.31 ppm u ^{13}C NMR spektru potvrđuju C-6 i C-5 atome u 5 α ,6 α -epoksi derivatu **19**.

U sledećoj fazi otvaranjem oksiranskog prstena smeše jedinjenja **19** i **20**, hrom(VI)-oksidom²¹⁸ na 0 °C u toku 30 minuta i zatim na sobnoj temperaturi u toku 40 minuta, dobijen je 5 α -hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion-3 β -il acetat (**21**), u prinosu od 65.6% (*shema 3.21*).

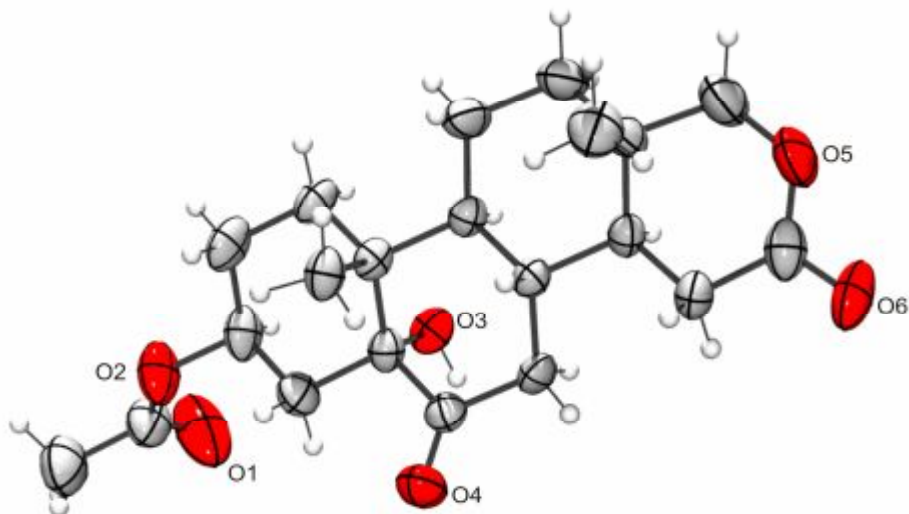


Shema 3.21. a. CrO_3 , aceton/voda (10:1), 0 °C, 30 min \rightarrow s.t., 40 min

IR, ^1H NMR i ^{13}C NMR spektri ukazuju da su se u molekulu **21** formirale 5 α -OH i $\text{C}_6=\text{O}$ funkcije, dok rentgeno-struktorna analiza definitivno potvrđuje strukturu (*slika 3.5*).

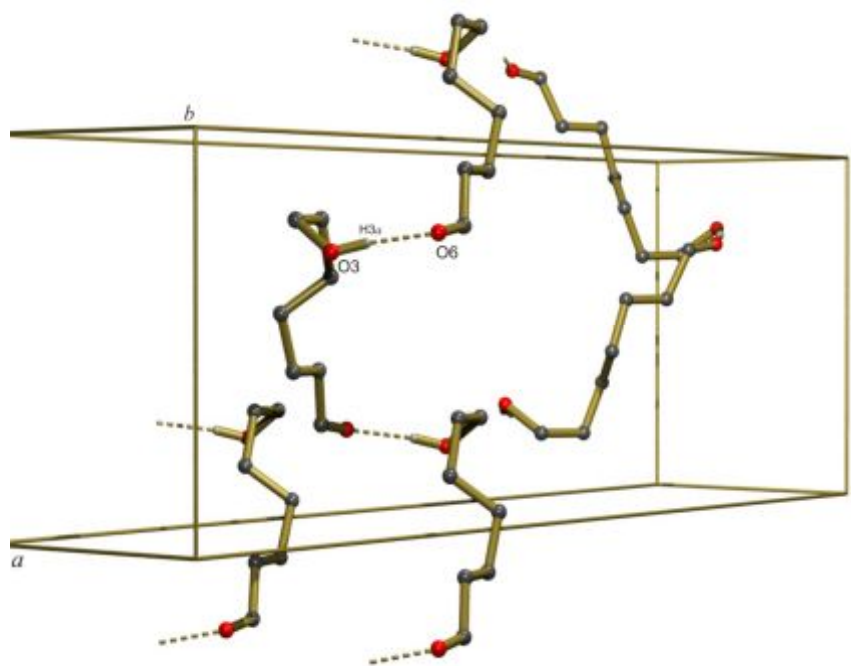
U IR spektru jedinjenja **21**, traka na 3431 cm^{-1} odgovara valencionim vibracijama OH grupe, a na 1716 cm^{-1} se nalazi intenzivna traka koja odgovara valencionim vibracijama $\text{C}_6=\text{O}$, $\text{C}_{16}=\text{O}$ i $\text{C}=\text{O}$ iz acetatne funkcije. U ^1H NMR spektru pojava signala na 2.80 ppm ukazuje na H atom iz 5 α -OH funkcije, koji je izmenljiv u D_2O . Zbog prisustva $\text{C}_6=\text{O}$ funkcije pojava dubleta na 2.60 ppm odgovara H-7 atomu. Uočava se i izostanak signala za H-6 atom usled otvaranja epoksidne funkcije. U ^{13}C NMR spektru signal na 211.02 ppm odgovara C-atomu iz $\text{C}_6=\text{O}$ funkcije, a signal na 79.63 ppm odgovara C-5 atomu.

Kako je već pomenuto, rentgeno-struktorna analiza je nepobitno dokazala strukturu jedinjenja **21** (*slika 3.5*).



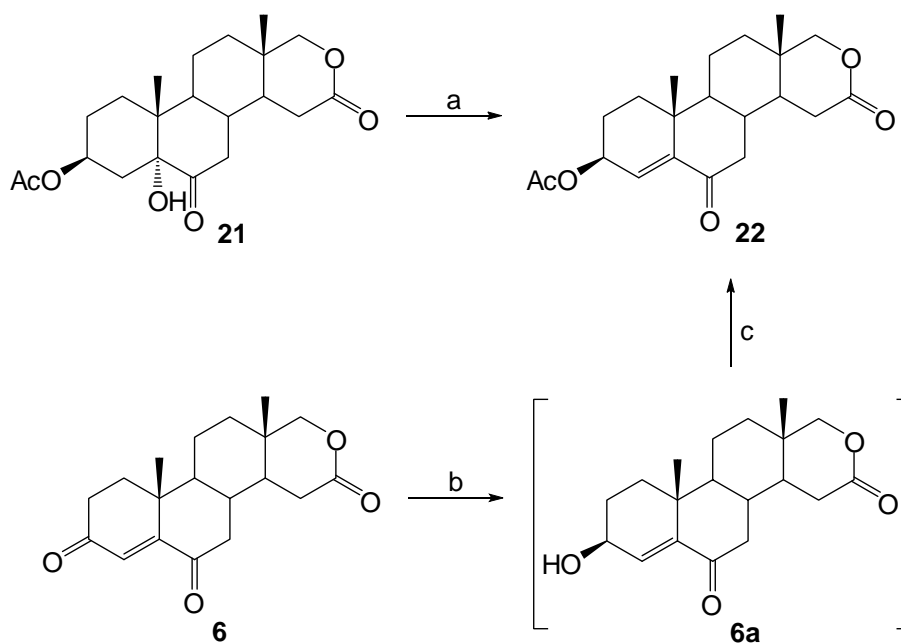
Slika 3.5. Stereohemija molekularne strukture jedinjenja **21**

Na slici 3.6. je prikazano 'pakovanje' molekula jedinjenja **21** u kristalu, a takođe se može uočiti da jedinjenje **21** u kristalnoj ćeliji gradi *intemolekulske* vodonične veze.



Slika 3.6. Prikaz 'pakovanja' molekula jedinjenja **21** u kristalu

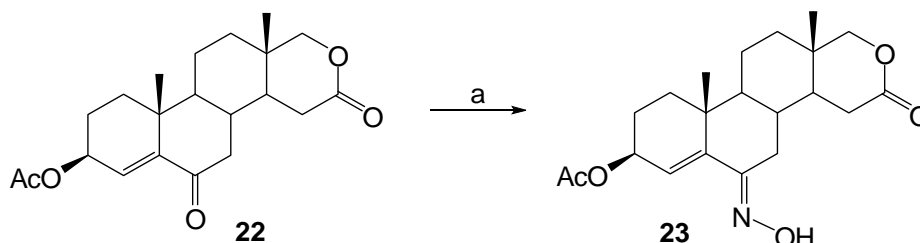
U nastavku ovog dela rada, izvršena je dehidratacija jedinjenja **21**, tionil-hloridom u apsolutnom piridinu (na 0° C, u toku 2 časa), pri čemu je dobijen 17-oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3β-il acetat (**22**), u prinosu od 37.7% (*shema* 3.22.). Jedinjenje **22** je sintetizovano i alternativnim putem, i to acetilovanjem intermedijernog 3β-hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-diona (**6a**), koji je dobijen regioselektivnom redukcijom 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-triona (**6**) natrijum-borhidridom uz prisustvo kobalt-hlorid heksahidrata u metanolu na sobnoj temperturi u toku 1 časa (*shema* 3.22.).



Shema 3.22. a. SOCl₂, aps. piridin, 0 °C, 2 h, zatim HCl (1:1); b. CoCl₂·6H₂O, NaBH₄, CH₃OH, s.t., 1h; c. Ac₂O, aps. piridin, s.t., 24 h, zatim HCl (1:1)

Struktura jedinjenja **22** je potvrđena spektroskopskim podacima. IR spektar ukazuje na izostanak OH funkcije i pojavu intenzivnih traka na 1734 cm⁻¹ i 1691 cm⁻¹ koje odgovaraju C=O vibracijama iz acetatne, laktonske i C₆=O funkcije. Na 1637 cm⁻¹ je registrovana traka koja odgovara vibraciji C₄=C₅ dvostruke veze. U ¹H NMR spektru signal na 6.14 ppm, odgovara H-4 atomu, dok je u ¹³C NMR spektru registrovan signal na 200.24 ppm za C₆=O funkciju, kao i signali na 129.83 ppm i 146.57 ppm, koji odgovaraju C-4 i C-5 atomima.

Dalja faza rada obuhvatala je oksiminovanje $C_6=O$ funkcije jedinjenja **22** ($NH_2OH \cdot HCl$, CH_3COONa , sobna temperatura u toku 24 časa), pri čemu se dobija (6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**23**) u prinosu od 43.2% (shema 3.23.).

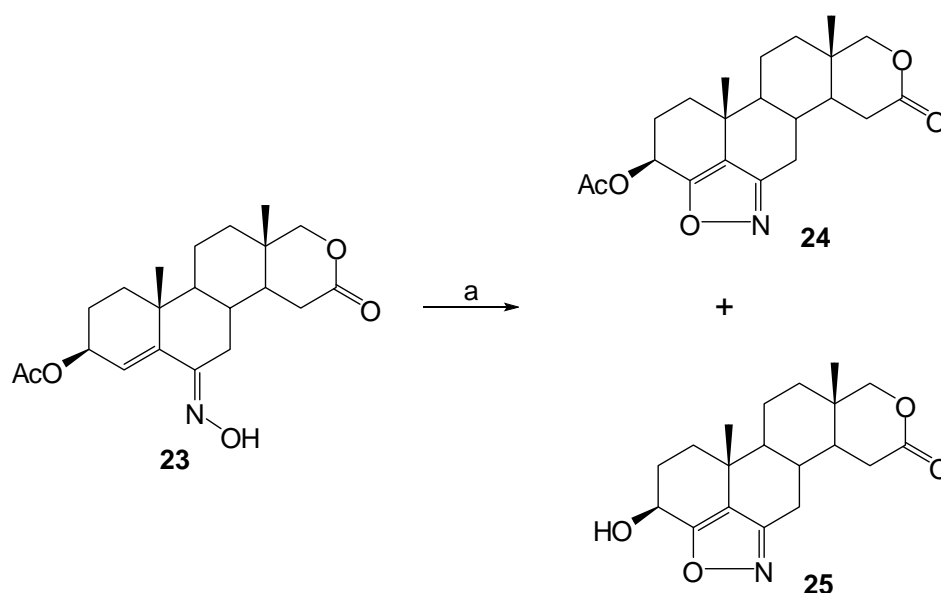


Shema 3.23. a. $NH_2OH \cdot HCl$, CH_3COONa , C_2H_5OH , s.t., 24 h

U IR spektru jedinjenja **23** na 3355 cm^{-1} se uočava široka traka, koja odgovara OH grupi iz $=N-OH$ funkcije, a u 1H NMR spektru ($CDCl_3$) je registrovano pomeranje signala za H-4 atom na 5.76 ppm (kod jedinjenja **22** je na 6.14 ppm). Kada je 1H NMR spektar snimljen u $DMSO-d_6$ signal za proton iz $=N-OH$ funkcije registrovan je na 10.83 ppm, a za H-4 atom na 5.53 ppm. Poređenjem ^{13}C NMR spektara polaznog jedinjenja **22** sa jedinjenjem **23** uočava se pomeranje signala za C-6 atom (sa 200.24 ppm za $C_6=O$ na 156.67 ppm za $C_6=NOH$). Stereohemija na $C=N$ dvostrukoj vezi jedinjenja **23** je pretpostavljena na osnovu položaja signala za H-7 atom. Naime, u 1H NMR spektru jedinjenja **23** se uočava dublet dubleta na 3.44 ppm, koji odgovara H-7 atomu. Ukoliko se ovaj signal uporedi sa signalom za H-7 atom polaznog jedinjenja **22** (2.68 ppm), može se doći do zaključka da zbog (6*E*)-orijentacije oksimino funkcije, tj. blizine OH grupe signal za H-7 atom jedinjenja **23** ima znatno veće hemijsko pomeranje. To je u saglasnosti sa literaturnim podacima za 1H i ^{13}C NMR spektre jedinjenja bliske strukture (A i B prsten isti).^{201,219,220}

Sintetizovani (6*E*)-oksimino derivat **23** je poslužio u sintezi novih izoksazola kondenzovanih sa A,B-prstenom steroidnog jezgra. Reakcija je izvedena sa jodom i kalijum-jodidom, u prisustvu natrijum-hidrogenkarbonatom u smeši THF/ H_2O (4:1) uz refluks u toku 5.5 časova, pri čemu su dobijeni izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**24**), prinos 27.9% i 3 β -hidroksi-

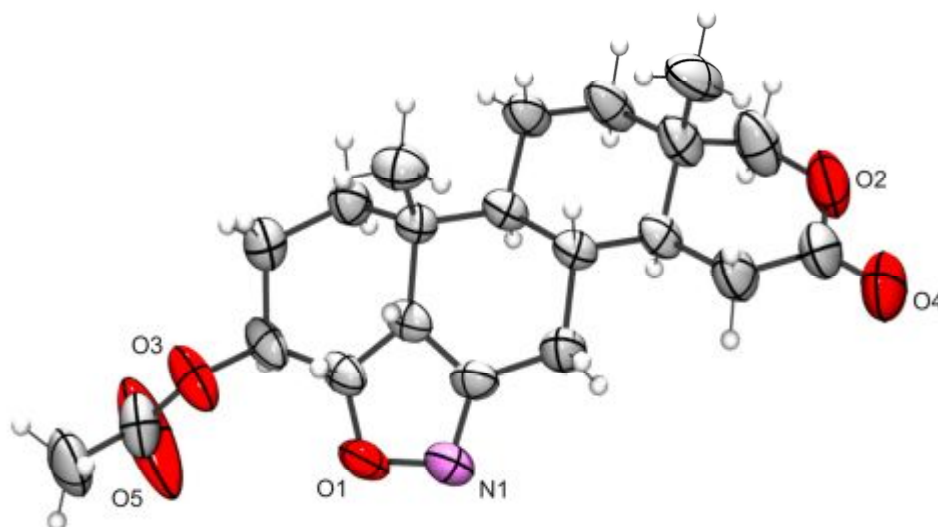
izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**25**), prinos 6.2% (*shema* 3.24.).



Shema 3.24. a. I₂, KI, NaHCO₃, THF/H₂O (4:1), refluks, 5.5 h, zatim HCl (1:1)

U IR spektru jedinjenja **24** uočavaju se karakteristične trake na 1475 cm⁻¹ i 1427 cm⁻¹, koje odgovaraju C=N vibracijama kao i intenzivne trake na 1235 cm⁻¹, 1051 cm⁻¹ i 1030 cm⁻¹ koje odgovaraju C-O-C i C-O-N deformacionim vibracijama. U ¹H NMR spektru izostaje signal za H-4 atom, zbog formiranog izoksazolskog prstena. U ¹³C NMR spektru signal za C-4 atom je na 161.42 ppm (kod jedinjenja **23** je na 123.94 ppm), signal za C-5 atom je na 125.12 ppm (kod jedinjenja **23** je na 142.66 ppm), dok je signal za C-6 atom na 157.87 ppm (kod jedinjenja **23** je na 156.67 ppm).

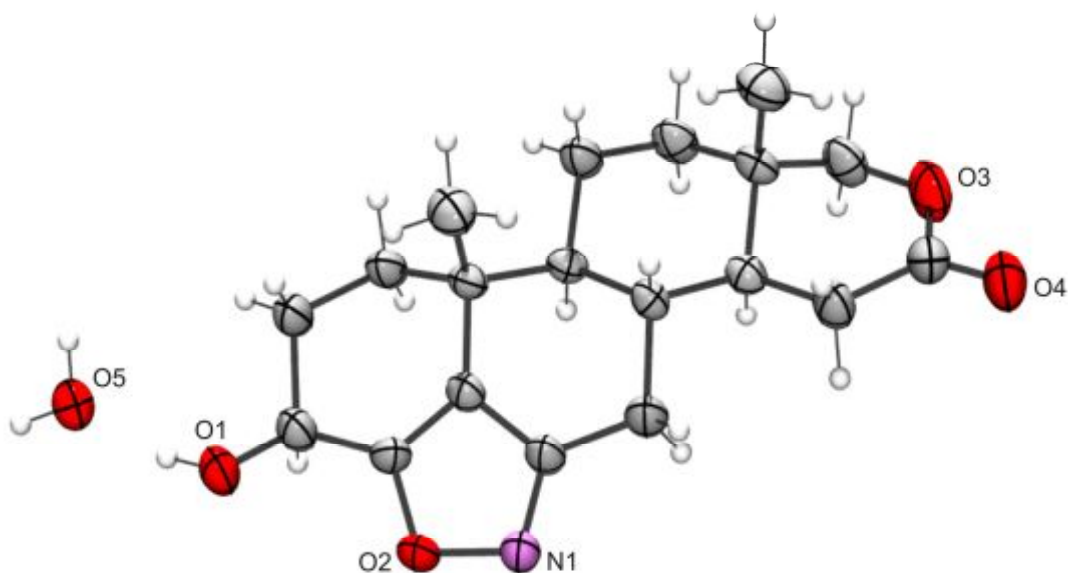
Nepobitan dokaz strukture jedinjenja **24** pored spektroskopskih podataka je i rentgeno-strukturalna analiza (*slika* 3.7.).



Slika 3.7. Stereohemija molekularne strukture jedinjenja **24**

Spektroskopski podaci za jedinjenje **25**, a posebno rentgeno-strukturna analiza (slika 3.8.), ukazuju da jedinjenje **25** ima sličnu strukturu kao jedinjenje **24**, a razlika je u tome što umesto C₃-OAc ima C₃-OH grupu. Stoga se u IR spektru i registruje široka traka na 3409 cm⁻¹ koja je karakteristična za valencione vibracije OH grupe. ¹H i ¹³C NMR spektri (snimljeni u Py-d₅) ukazuju da je registrovan signal na 8.52 ppm za proton iz OH funkcije, dok se signal u obliku multiplleta za H-3 atom nalazi na 5.10 ppm. U ¹³C NMR spektru registrovani su sledeći signali: za C-4 na 168.82 ppm, za C-5 na 131.68 ppm i za C-6 na 160.35 ppm.

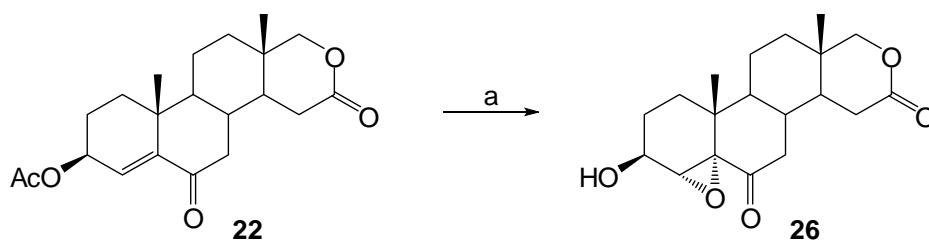
Na osnovu rentgeno-strukturne analize (slika 3.8.) utvrđeno je da jedinjenje **25** gradi *intemolekulsku* vodoničnu vezu između C₃-OH grupe i molekula vode.



Slika 3.8. Stereohemija molekularne strukture jedinjenja **25**

3.1.8. Sinteza epoksi derivata **26** iz jedinjenja **22**

Obzirom da su epoksi derivati androstana biološki aktivna jedinjenja, a takođe služe kao prekursori u sintezi potencijalnih inhibitora aromataze,^{128,221} dvostruka C₄=C₅ veza u jedinjenju **22** je podvrgnuta reakciji epoksidacije. Reakcija je izvedena vodonik-peroksidom u metanolu u baznoj sredini na 0 °C u toku 3 časa. Na osnovu ¹H i ¹³C NMR spektara je utvrđeno da je dobijen 4α,5α-epoksi-3β-hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion (**26**) (*shema 3.25*).

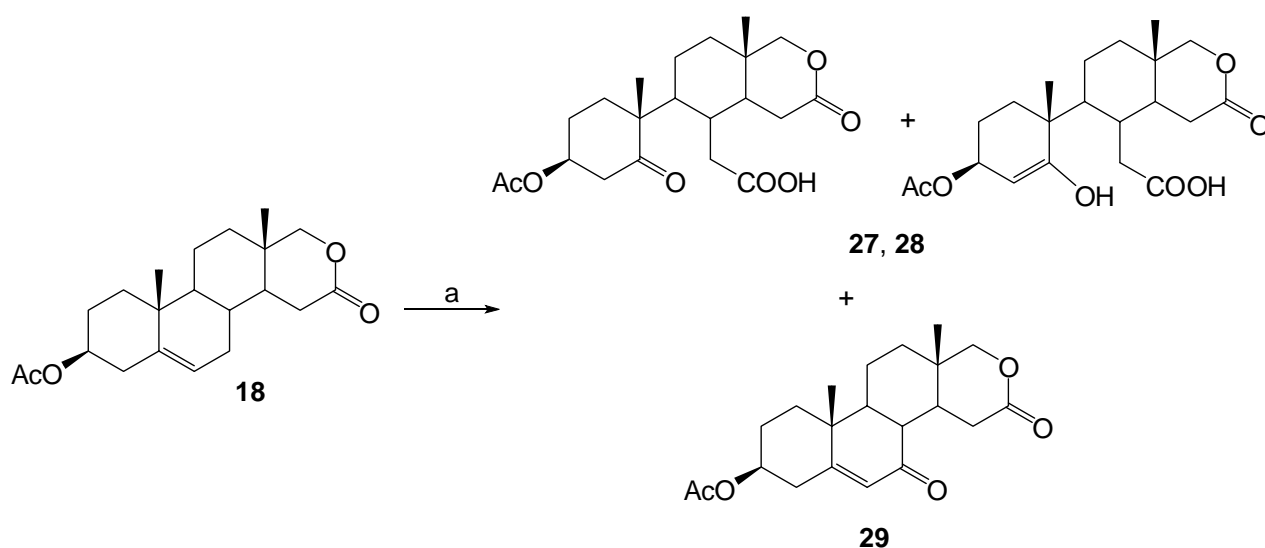


Shema 3.25. a. H₂O₂, NaOH, CH₃OH, 0 °C, 3 h, zatim HCl (1:1)

Prema spektroskopskim podacima, uočen je izostanak 3β -acetatne funkcije. Takođe, u ^1H NMR spektru izostaju signali na 2.07 ppm (za protone iz CH_3 grupe acetatne funkcije jedinjenja **22**) i u ^{13}C NMR spektru na 170.63 ppm (za $\text{C}=\text{O}$ acetatne funkcije jedinjenja **22**). U ^1H NMR spektru signal za H-4 atom (3.32 ppm) ima znatno manje hemijsko pomeranje u odnosu na isti signal kod polaznog jedinjenja **22** (6.14 ppm) zbog uvedene $4\alpha,5\alpha$ -epoksi funkcije. Prisustvo 3β -OH grupe je evidentno i pojavom široke trake na 3446 cm^{-1} u IR spektru, koja odgovara OH valencionim vibracijama u jedinjenju **26**.

3.1.9. Sinteza B-seko-D-homo laktonskih derivata **27**, **28** i **34**

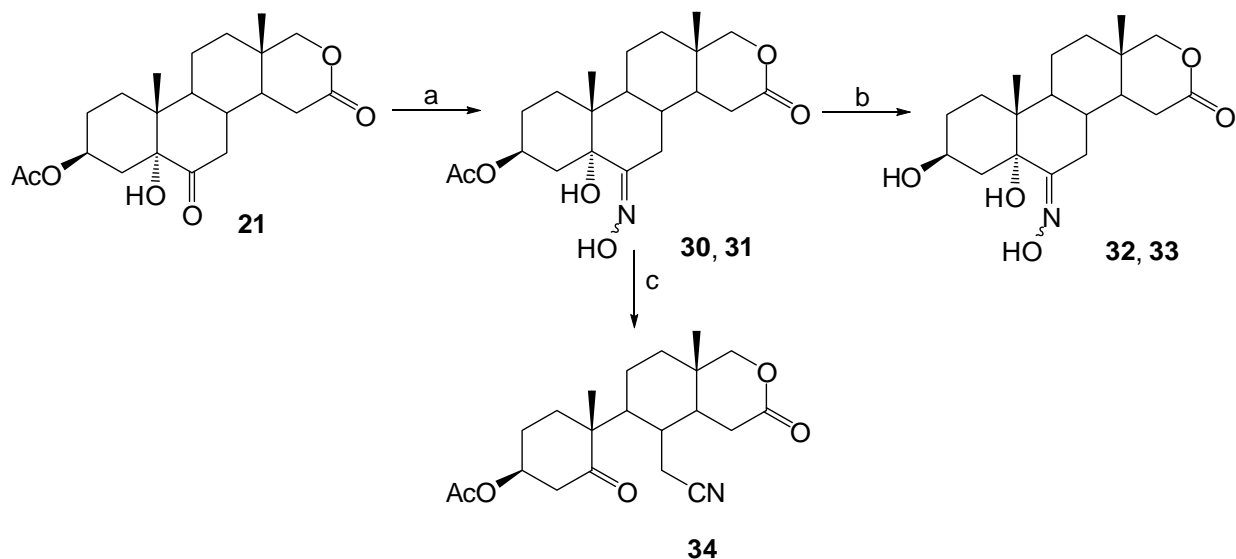
U literaturi²²²⁻²²⁴ su opisana B-seko steroidna jedinjenja, kao potencijalno biološki aktivna jedinjenja i potencijalni lekovi, pa je stoga u ovom radu bio cilj i da se sintetizuju B-seko-D-homo laktonski derivati. Tako, oksidacijom D-homo laktonskog derivata **18** hrom(VI)-oksidom²²⁵ iz veoma kompleksne smeše izolovana je takođe smeša 5,6-seko-6-karboksilnih kiselina (**27** i **28**), u minornom prinosu od 6.5%, kao i 17-oksa-D-homoandrost-6-en-7,16-dion- 3β -il acetat (**29**) u prinosu od 12.9% (*shema* 3.26.). Struktura jedinjenja **29** je potvrđena upoređivanjem spektroskopskih podataka sa odgovarajućim literaturnim podacima,²¹⁷ pri čemu je dobijena dobra saglasnost.



Shema 3.26. a. CrO_3 , CH_3COOH , $60\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h

Spektroskopski podaci su ukazali da je dobijena smeša jedinjenja **27** i **28**. Tako, u ^1H NMR spektru (snimljenom Py-d_5) u su prisutna dva vrlo bliska singleta na 8.538 i 8.541 ppm, što ukazuje na 2H iz karboksilnih grupa. U IR spektru prisutna je široka traka na 3500-3100 cm^{-1} . U ^{13}C NMR spektru prisutna su dva signala na 176.81 ppm i 176.36 ppm, koja potiču od C=O iz COOH funkcija, a na 171.63 ppm i 171.50 ppm su signali za C=O iz dve acetatne funkcije. Signal na 217.27 ppm odgovara $\text{C}_5=\text{O}$ grupi.

Novosintetizovani B-seko-cijano derivat **34** je dobijen *Beckmann*-ovom fragmentacijom sa anhidridom sirćetne kiseline u apsolutnom piridinu na 70 °C u toku 2 časa iz smeše jedinjenja 5 α -hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**30**) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**31**), koja je dobijena iz jedinjenja **21** poznatom reakcijom oksiminovanja (*shema* 3.27.). Kada je na smešu jedinjenja **30** i **31** primenjen benziltriethylamonijum-hlorid (BTEAC),²²⁶ u 40%-tnom rastvoru natrijum-hidroksida uz refluks u toku 1 časa, isključivo je dobijena smeša 3 β ,5 α -dihidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-ona (**32**) i 3 β ,5 α -dihidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-ona (**33**). Pri ovim uslovima se očekivalo dobijanje B-seko laktorskog derivata, međutim došlo je samo do hidrolize acetatne funkcije u položaju C-3 i nastanka jedinjenja **32** i **33** sa 3 β -hidroksi funkcijom (*shema* 3.27.). Spektroskopski podaci za jedinjenja **30-33** su prikazani u *Eksperimentalnom delu* ovog rada.



Shema 3.27. a. $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h; b. BTEAC, NaOH, hloroform, etil-acetat, refluks, 1 h, zatim HCl (1:1); c. Ac_2O , piridin, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 2h, zatim na $0\text{ }^\circ\text{C}$ HCl (1:1)

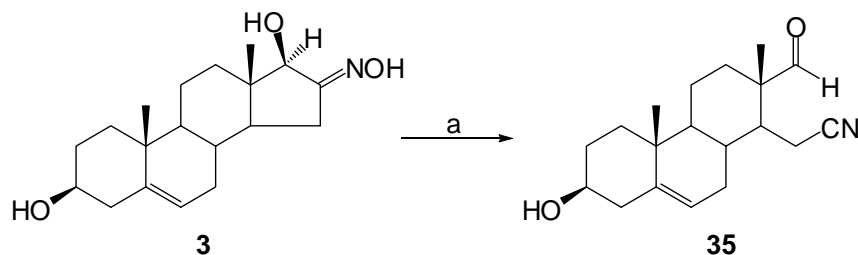
Struktura 3 β -acetoksi-17-oksa-5,16-dioksa-5,6-seko-D-homoandrostana-6-nitrila (**34**) je potvrđena na osnovu spektroskopskih podataka. Tako, u IR spektru traka na 2245 cm^{-1} ukazuje na prisustvo nitrilne funkcije, a na 1732 cm^{-1} uočava se intenzivna traka za $\text{C}_5=\text{O}$, kao i za $\text{C}=\text{O}$ iz grupu acetatne i laktonske funkcije. U ^1H NMR spektru registrovana je grupa signala u oblasti od 2.57-2.66 ppm za tri H-atoma: H-4a, H-7a i H-15a atome. Dokaz za uvedenu nitrilnu funkciju u ^{13}C NMR spektru je signal na 117.26 ppm, a signal na 215.66 ppm odgovara $\text{C}_5=\text{O}$ funkciji.

3.1.10. Sintaza D-seko derivata 35-43

Kao što je opisano u *Opštem delu* ovog rada mnogi D-seko steroidni derivati poseduju biološku aktivnost^{157,158} i iz tog razloga je jedan od ciljeva ovog doktorskog rada i sinteza novih D-seko androstanskih derivata **38-43**, sa modifikovanim A i/ili B-prstenom.

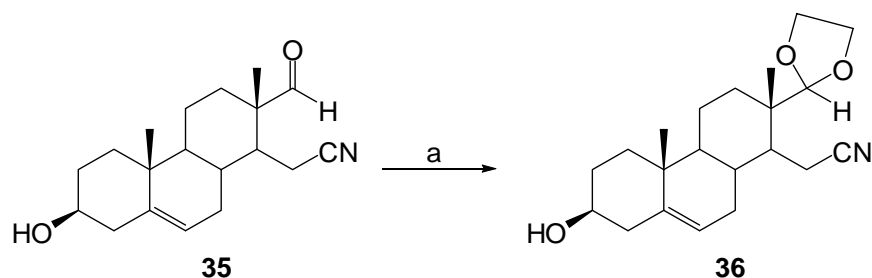
U ovim sintezama 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**35**)¹⁰ predstavlja polazno jedinjenje, a dobijen je iz jedinjenja **3**, u reakciji sa *p*-toluensulfonil-hloridom (TsCl), u apsolutnom piridinu na sobnoj temperaturi u toku 45 minuta (*shema*

3.28.). Struktura jedinjenja **35** je potvrđena na osnovu spektroskopskih podataka i slaže se sa literaturnim podacima.¹⁰



Shema 3.28. a. TsCl, aps. piridin, s.t., 45 min, zatim HCl (1:1)

U daljoj fazi rada izvršena je zaštita aldehidne funkcionalne grupe etilenglikolom uz katalitičke količine *p*-toluensulfonske kiseline (TsOH) na 37-40°C u toku 40 minuta, pri čemu je dobijen 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3β-hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (**36**) u prinosu od 75.0% (shema 3.29).²²⁷

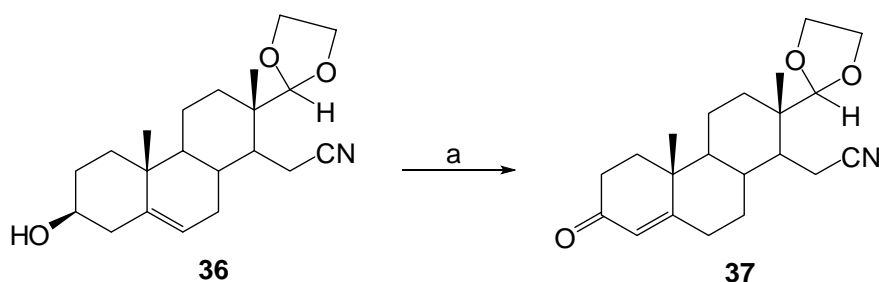


Shema 3.29. a. HOCH₂CH₂OH, TsOH, 37-40 °C, 40 min

U IR spektru jedinjenja **36** se uočava gubitak trake na 1719 cm⁻¹, koja je odgovarala C=O funkciji (jedinjenje **35**), kao i traka na 2851 cm⁻¹, koja je odgovarala CH valencionoj vibraciji iz CHO funkcije. Prisutna traka na 2242 cm⁻¹ odgovara C≡N vibraciji, što znači da je nitrilna funkcija očuvana. Prisustvo acetalne zaštite je potvrđeno ¹H NMR spektrom gde se uočava pojava multiplleta na 3.90 ppm, koji odgovara protonima iz dve metilenske funkcije acetalne zaštite OCH₂CH₂O. Na 3.53 ppm nalazi se multiplet, koji odgovara H-3 atomu. Takođe se uočava pomeranje signala, koji je odgovarao protonu iz C-17 aldehidne funkcije (jedinjenje **35**), sa 9.37 ppm na 4.51 ppm zbog uvedene etilenglikolne zaštite u jedinjenju **36**. U ¹³C NMR spektru registrovani su novi signali na 65.31 i 64.52 ppm, koji odgovaraju ugljenikovim atomima iz etilenglikolne

zaštite (OCH₂CH₂O), dok signal za C-17 atom jedinjenja **36** ima manje hemijsko pomeranje (110.09 ppm) nego polazno jedinjenje **35** (205.03 ppm).

U daljoj fazi ovog rada, *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenje **36** je sa cikloheksanonom i aluminijum-*izo*-propoksidom u toku 8.5 časova zagrevanja uz refluks prevedeno u 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**37**), prinos 46.5% (*shema 3.30*).²²⁷

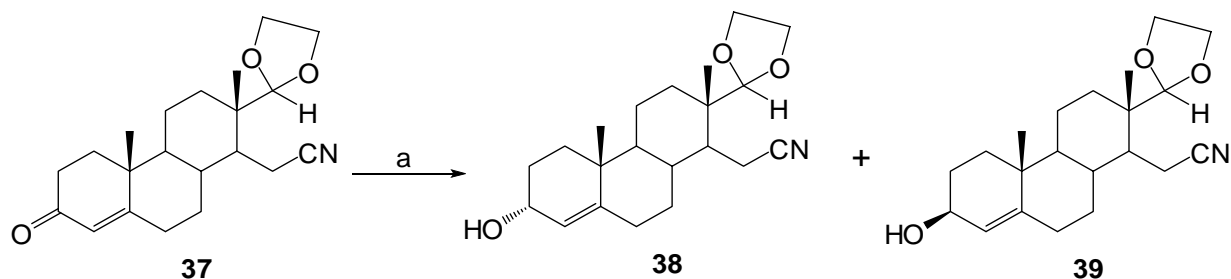


Shema 3.30. a. cikloheksanon, Al(*i*-PrO)₃, refluks, 8.5 h

U IR spektru prisustvo intenzivne trake na 1670 cm⁻¹ odgovara vibraciji C₃=O funkcije, dok prisustvo trake na 1616 cm⁻¹ odgovara vibraciji C₄=C₅ u A prstenu. Traka na 2242 cm⁻¹ odgovara C≡N vibraciji, kao i kod jedinjenja **36**, što znači da je u toku *Oppenauer*-ove oksidacije i obrade smeše, nitrilna grupa sačuvana.

Kada se uporedi ¹H NMR spektar jedinjenja **36** sa ¹H NMR spektrom jedinjenja **37** uočava se pojava signala na 5.76 ppm za H-4 atom i gubitak signala za H-3 atom (koji je kod jedinjenja **36** na 3.53 ppm). Signal na 199.24 ppm u ¹³C NMR spektru odgovara C₃=O funkciji, a takođe su registrovani signali za C-4 atom na 123.78 ppm i za C-5 atom na 169.83 ppm.

Dalja etapa ovog rada predstavlja redukciju C₃=O grupe u jedinjenju **37** natrijum-borhidridom u etanolu, na sobnoj temperaturi u toku 2 časa (*shema 3.31*). Dobijeni su 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**38**), prinos 29.8% i 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**39**), prinos 50.4%.²⁰⁰

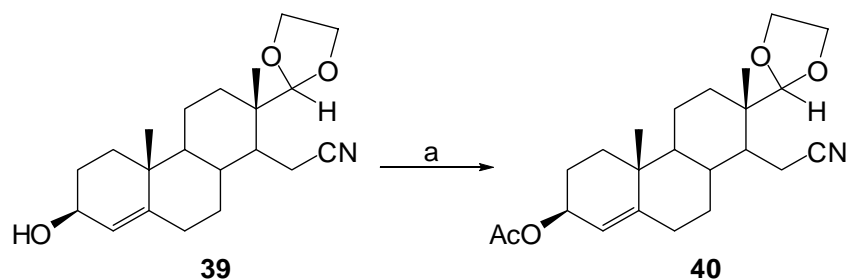


Shema 3.31. a. NaBH_4 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, s.t., 2 h

U IR spektru jedinjenja **38**, kada se uporedi sa spektrom jedinjenja **37**, uočava se pojava trake na 3383 cm^{-1} , koja ukazuje na prisustvo hidroksilne grupe, kao i izostanak intenzivne trake na 1670 cm^{-1} od $\text{C}_3=\text{O}$ grupe (koja je registrovana u jedinjenju **37**). U ^1H NMR spektru javlja se signal za H-3 atom na 3.83 ppm, a takođe se uočava i pomeranje signala za H-4 atom (5.76 ppm kod jedinjenja **37** \rightarrow 5.02 ppm kod jedinjenja **38**), dok se u ^{13}C NMR uočava da signal za C-3 atom jedinjenja **38** ima manje hemijsko pomeranje (71.60 ppm) nego polazno jedinjenje **37** (199.24 ppm).

Kod β -izomera (jedinjenje **39**) u IR spektru je registrovana traka na 3425 cm^{-1} , koja ukazuje na prisustvo OH grupe. Signal za H-3 atom u ^1H NMR spektru se javlja na 4.15 ppm , a signal za H-4 atom je na 5.31 ppm (kod jedinjenja **37** je na 5.76 ppm). Signal za C-3 atom u ^{13}C NMR spektru registrovan je na 67.81 ppm .

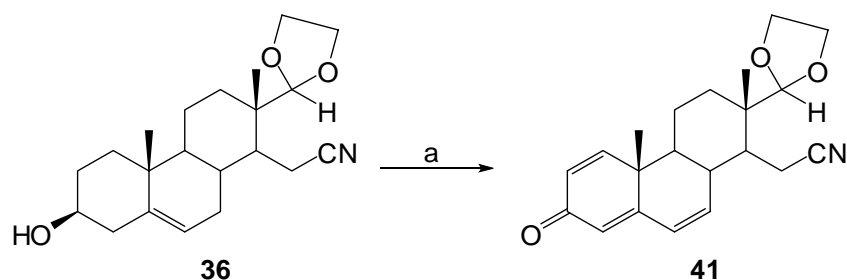
Dalje je β -izomer (jedinjenje **39**) podvrgnut acetilovanju hidroksilne grupe anhidridom sirćetne kiseline u apsolutnom piridinu, u toku 19 časova na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijen 3β -acetoksi-13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**40**) u prinosu od 85.1% (shema 3.32.).²⁰⁰



Shema 3.32. a. Ac_2O , aps. piridin, s.t., 19 h

IR i ^1H NMR spektri ukazuju da u jedinjenju **40** nema hidroksilne grupe, dok prisustvo signala u ^{13}C NMR spektru na 171.00 ppm (C=O iz acetatne funkcije) i 21.42 ppm (CH_3 iz acetatne funkcije), kao i karakteristična traka na 1731 cm^{-1} u IR spektru, dokazuju da jedinjenje **40** sadrži acetatnu funkciju.

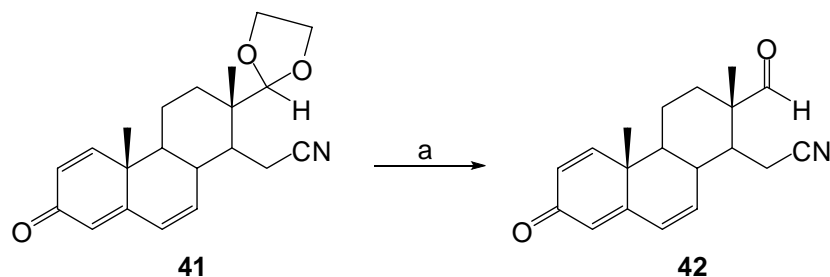
Dalji cilj ovog rada je bio da se u jedinjenje **36** uvedu dvostruke veze između C_1 - C_2 i C_6 - C_7 atoma. Stoga je izvedena reakcija sa 2,3-dihloro-5,6-dicijano-benzohinonom (DDQ) u dioksanu, uz refluks u toku 28 časova. Dobijen je 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (**41**) u prinosu od 41.9% (*shema 3.33.*)²⁰⁰



Shema 3.33. a. DDQ, dioksan, refluks, 28 h

U IR spektru novosintetizovanog jedinjenja **41** evidentno je prisustvo traka na 1731 cm^{-1} , 1655 cm^{-1} , 1605 cm^{-1} i 1585 cm^{-1} , koje odgovaraju C=O i C=C vibracijama u A- i B-prstenovima, dok se u ^1H NMR spektru uočava dublet na 7.08 ppm, koji odgovara H-1 atomu, dvostruki dublet na 6.39 ppm koji odgovara H-6 atomu, singlet na 6.06 ppm koji odgovara H-4 atomu i dvostruki dublet na 6.19 ppm, koji odgovara H-7 atomu. Karakteristični signali u ^{13}C NMR-spektru za ugljenikove atome se nalaze na sledećim vrednostima: 152.16 ppm za C-1, 128.43 ppm za C-2, 124.14 ppm za C-4, 160.94 ppm za C-5, 129.20 ppm za C-6 i 134.32 ppm za C-7.

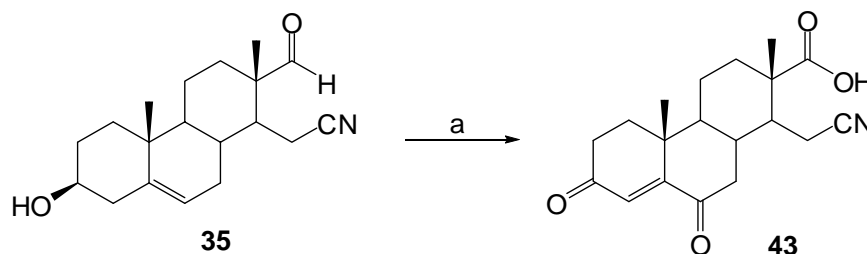
U narednoj fazi izvršeno je uklanjanje etilenglikolne zaštite u jedinjenju **41**, tako što je reakcija izvedena sa mravljom kiselinom na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa. Dobijen je 3,17-diokso-16,17-sekoandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (**42**) u prinosu od 81.4% (*shema 3.34.*)²⁰⁰



Shema 3.34. a. HCOOH, s.t., 1.5 h

Potvrda prisustva aldehidne funkcionalne grupe u jedinjenju **42** je registrovan signal za H-17 atom na 9.37 ppm (kod jedinjenja **41** je na 4.51 ppm), kao i gubitak signala u ^1H NMR spektru u oblasti od 3.90 ppm, koji su odgovarali protonima iz acetalne zaštite $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ (kod jedinjenja **41**). Takođe, u ^{13}C NMR spektru signal za C-17 atom aldehidne funkcije je registrovan na 203.69 ppm.

Poslednja transformacija D-seko derivata **35** u ovom radu je reakcija sa Jones-ovim reagensom na $0\text{ }^\circ\text{C}$ u toku 2.5 časa, pri čemu je dobijena 15-cijano-16,17-seko-17-norandrost-4-en-3,6-dion-13-karboksilna kiselina (**43**), prinos 37.6% (shema 3.35).²⁰⁰



Shema 3.35. a. Jones-ov reagens, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2.5 h

Prisustvo karboksilne funkcionalne grupe u jedinjenju **43** je potvrđeno karakterističnim trakama na $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ (odgovara valencionoj vibraciji OH grupe) i na 1693 cm^{-1} (odgovara vibraciji $\text{C}=\text{O}$ iz COOH , $\text{C}_3=\text{O}$ i $\text{C}_6=\text{O}$ grupa). Isto tako, u ^1H NMR spektru jedinjenja **43** uočava se signal na 6.27 ppm, koji odgovara H-4 atomu, kao i gubitak signala na 5.35 ppm, koji je odgovarao H-6 protonu s obzirom da je uveden 3,6-diketo-4-enski sistem, dok u ^{13}C NMR spektru pojava karakterističnih signala na

199.60 ppm i 199.11 ppm odgovara $C_6=O$ i $C_3=O$ atomima, a na 181.65 ppm je registrovan signal za $C=O$ iz COOH funkcije.

3.2. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti sintetizovanih jedinjenja

Da bi se neki biološki aktivni molekul mogao primeniti kao antitumorni agens, treba da pokazuje zapaženu antiproliferativnu aktivnost (inhibiciju proliferacije tumorskih ćelija) prema neoplastičnim ćelijama, pri što nižim koncentracijama. Antiproliferativna aktivnost kvantitativno se izražava kao IC_{50} vrednost, odnosno kao koncentracija ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50%, u odnosu na netretiranu kontrolu. Prema opšteprihvaćenim kriterijumima, ukoliko je IC_{50} vrednost niža od 10 μM , jedinjenje pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost, zatim, zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost ukoliko je njegova IC_{50} vrednost u intervalu 10-20 μM , a ako je IC_{50} u intervalu 20-100 μM pokazuje umerenu antiproliferativnu aktivnost. Jedinjenja čija IC_{50} vrednost prelazi 100 μM smatraju se netoksičnim.

U ovom radu je vršeno ispitivanje antiproliferativne aktivnosti D-homo laktonskih derivata **4-6**, **10**, **11**, **14**, **18**, **19** i **21-26**, kao i D-seko derivata androstana **36**, **37**, **39-42** na rast sledećih humanih malignih ćelija:

- adenokarcinom dojke, estrogen-receptor pozitivan ER+ (MCF-7)
- adenokarcinom dojke, estrogen-receptor negativan ER- (MDA-MB-231)
- kancer prostate, androgen-receptor negativan AR- (PC3)
- kancer cerviksa (HeLa)
- kancer debelog creva (HT-29)
- hronična mijeloidna leukemija (K562).

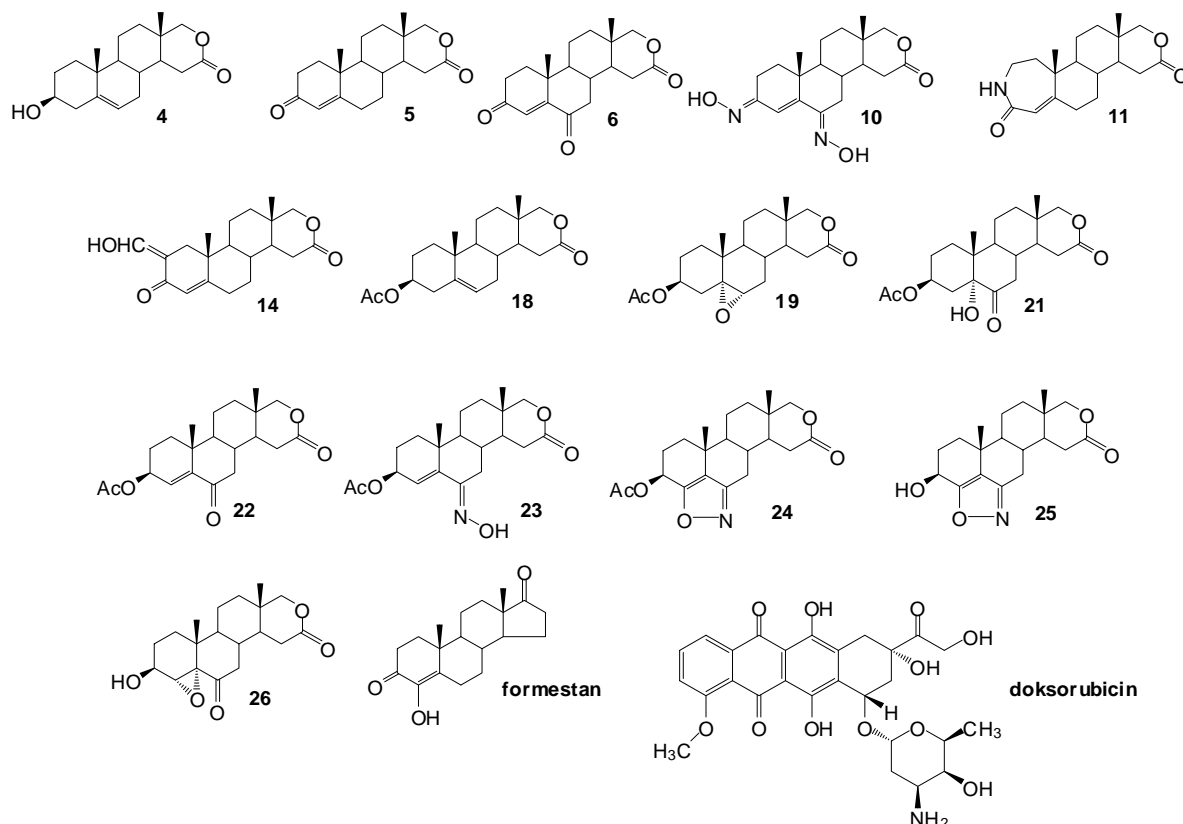
Pored toga, ispitana je antiproliferativna aktivnost i prema jednoj zdravoj humanoj ćelijskoj liniji – fetalni fibroblasti pluća (MRC-5).

Antiproliferativna aktivnost je određena *in vitro* nakon 48-časovnog tretiranja ćelija, kolorimetrijskim MTT testom.²²⁸ Princip metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromid, MTT) u plavo

obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat dehidrogenaze. Količina nagrađenog formazana direktno je proporcionalna broju živih (vijabilnih) ćelija, a apsorbancija je određena na mikročitaču, na dve talasne dužine: test na talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj talasnoj dužini od 690 nm. Eksperimenti su izvedeni tako što su kulture ćelija izlagane dejstvu rastućih koncentracija (0.01, 0.1, 1, 10, 100 μ M) ispitivanih jedinjenja u toku 48 h. Koncentracija pri kojoj se postiže 50% inhibicije rasta (IC_{50}) određena je "Median effect" analizom, primenom *CalcuSyn* programa. U *tabelama* 3.2 i 3.3. su predstavljeni rezultati ispitivanja antiproliferativne aktivnosti odabranih androstanskih derivata, dok su njihove strukture predstavljene na *slikama* 3.9. i 3.10. Formestan i doksorubicin (komercijalni antitumorski agens) su korišćeni kao referentne supstance.

Tabela 3.2. Antiproliferativna aktivnost laktonskih derivata (4-6, 10, 11, 14, 18, 19, 21-26), formestana i doksorubicina na odabrane ćelijske linije izražena kao vrednost IC₅₀

jedinjenje	IC ₅₀ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	HT-29	K562	MRC-5
4	> 100	20.20	89.00	-	-	-	> 100
5	> 100	9.30	> 100	-	-	-	> 100
6	> 100	> 100	13.00	-	-	-	> 100
10	>100	>100	27.94	13.86	>100	>100	>100
11	>100	16.61	2.18	>100	>100	97.20	>100
14	>100	26.44	>100	>100	>100	>100	>100
18	>100	23.54	78.31	>100	61.16	>100	>100
19	98.58	12.98	2.64	>100	>100	>100	>100
21	>100	15.67	66.87	>100	>100	>100	>100
22	>100	35.47	45.21	97.34	>100	>100	>100
23	81.32	11.88	36.65	35.97	3.97	>100	>100
24	>100	49.76	25.56	>100	>100	>100	>100
25	>100	11.24	>100	>100	>100	>100	>100
26	79.59	>100	>100	4.97	>100	>100	>100
formestan	>100	55.5	48.36	5.55	>100	>100	>100
doksorubicin	0.75	0.12	95.61	1.17	0.32	0.36	0.12



Slika 3.9. Strukture ispitivanih laktonskih derivata, formestana i doksorubicina

Dobijeni rezultati ispitivanja antiproliferativne aktivnosti laktonskih derivata pokazuju da prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) umerenu antiproliferativnu aktivnost pokazalo je samo jedinjenje **19**, koje poseduje 5 α ,6 α -epoksidni prsten i 3 β -OAc funkciju (IC₅₀ 98.58 μ M), jedinjenje **23**, koje ima (6E)-oksimino i 3 β -OAc funkciju, kao i C₄=C₅ dvostruku vezu (IC₅₀ 81.32 μ M) i jedinjenje **26**, koje poseduje 3 β -OH i C₆=O funkcije, kao i 4 α ,5 α -epoksidni prsten (IC₅₀ 79.59 μ M).

Prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) jaku antiproliferativnu aktivnost pokazuje jedinjenje **5**, sa 4-en-3-keto funkcionalnom grupom (IC₅₀ 9.30 μ M), dok jedinjenje **11**, sa A-laktamskim prstenom i 4-en sistemom (IC₅₀ 16.61 μ M), jedinjenje **19**, koje poseduje 5 α ,6 α -epoksidni prsten i 3 β -OAc funkciju (IC₅₀ 12.98 μ M), jedinjenje **21**, sa 3 β -OAc, 5 α -OH i C₆=O funkcijama (IC₅₀ 15.67 μ M), jedinjenje **23**, koje ima (6E)-oksimino i 3 β -OAc funkciju, kao i 4-en sistem (IC₅₀ 11.88 μ M) i jedinjenje **25**, sa A- i B-kondenzovanim izoksazolinskim prstenom, kao i 3 β -OH funkcijom (IC₅₀

11.24 μM), pokazuju zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost. Umerenu antiproliferativnu aktivnost pokazuje jedinjenje **4**, koje ima $3\beta\text{-OH}$ funkciju i $\text{C}_5=\text{C}_6$ dvostruku vezu (IC_{50} 20.20 μM), jedinjenje **14**, sa (2*Z*)-hidroksimetilenskom i 4-en-3-keto funkcijom (IC_{50} 26.44 μM), jedinjenje **18**, koje poseduje $\text{C}_5=\text{C}_6$ dvostruku vezu i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju (IC_{50} 23.54 μM), jedinjenje **22**, sa $3\beta\text{-OAc}$ i 4-en-6-on funkcijama (IC_{50} 35.47 μM) i jedinjenje **24**, koje poseduje A,B-kondenzovani izoksazolski prsten i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju (IC_{50} 49.76 μM).

Prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) jaku antiproliferativnu aktivnost pokazuje jedinjenje **11**, koje poseduje A-laktamski prsten i $\text{C}_4=\text{C}_5$ dvostruku vezu (IC_{50} 2.18 μM) i jedinjenje **19**, koje poseduje $5\alpha,6\alpha$ -epoksidni prsten i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju (IC_{50} 2.64 μM), dok jedinjenje **6**, sa 4-en-3,6-diketo sistemom pokazuje zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 13.00 μM). Umerenu antiproliferativnu aktivnost pokazuje jedinjenje **4**, koje ima $3\beta\text{-OH}$ funkciju i $\text{C}_5=\text{C}_6$ dvostruku vezu (IC_{50} 89.00 μM), jedinjenje **10**, sa 4-en i (3*E*,6*E*)-dioksimino funkcijama (IC_{50} 27.94 μM), jedinjenje **18**, koje poseduje $\text{C}_5=\text{C}_6$ dvostruku vezu i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju (IC_{50} 78.31 μM), jedinjenje **21**, sa $3\beta\text{-OAc}$, $5\alpha\text{-OH}$ i $\text{C}_6=\text{O}$ funkcijama (IC_{50} 66.87 μM), jedinjenje **22**, sa $3\beta\text{-OAc}$ i 4-en-6-on funkcijama (IC_{50} 45.21 μM), jedinjenje **23**, koje ima (6*E*)-oksimino i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju, kao i $\text{C}_4=\text{C}_5$ dvostruku vezu (IC_{50} 36.65 μM) i jedinjenje **24**, koje poseduje A,B-kondenzovani izoksazolski prsten i $3\beta\text{-OAc}$ funkciju (IC_{50} 25.56 μM).

Prema ćelijama humanog kancera cerviksa (HeLa) jaku antiproliferativnu aktivnost pokazuje samo jedinjenje **26**, koje poseduje $3\beta\text{-OH}$ i $\text{C}_6=\text{O}$ funkcije, kao i $4\alpha,5\alpha$ -epoksidni prsten (IC_{50} 4.97 μM), dok jedinjenje **10**, sa 4-en i (3*E*,6*E*)-dioksimino funkcijama, pokazuje zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 13.86 μM). Umerenu antiproliferativnu aktivnost pokazuju jedinjenja **22** (IC_{50} 97.34 μM) i **23** (IC_{50} 35.97 μM), kod kojih je razlika samo na C-6 atomu, gde jedinjenje **22** poseduje $\text{C}_6=\text{O}$, funkciju, dok jedinjenje **23** poseduje $\text{C}_6=\text{NOH}$.

Dobijeni rezultati pokazuju da su antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama kancera debelog creva (HT-29) pokazala samo dva jedinjenja, i to jedinjenje **23** jaku antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 3.97 μM), dok jedinjenje **18** (koje poseduje $\text{C}_5=\text{C}_6$ dvostruku vezu i 3-OAc funkciju), pokazuje umerenu antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 61.16 μM).

Prema ćelijama hronične mijeloidne leukemije (K562) samo jedinjenje **11** je pokazalo umerenu antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 97.20 μ M). Ovaj D-homo laktonski derivat poseduje A-laktamski prsten u steroidnom jezgru i $C_4=C_5$ dvostruku vezu.

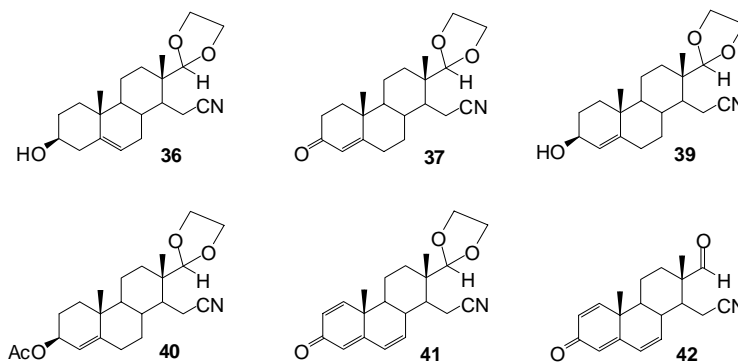
Formestan, koji se koristi u terapiji hormon-zavisnih bolesti, praktično nije uticao na rast MCF-7 i HT-29 tumorskih ćelija (*tabela 3.2.*), kao ni zdravih ćelija (MRC-5). Jaku antiproliferativnu aktivnost formestan je ispoljio prema HeLa ćelijama (IC_{50} 5.55 μ M), a prema MDA-MB-231 i PC3 ćelijama umerenu antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 55.50 μ M, odnosno 48.36 μ M).

Sa druge strane doksorubicin je ispoljio jaku antiproliferativnu aktivnost prema MCF-7 ćelijskoj liniji (IC_{50} 0.75 μ M), kao i prema MDA-MB-231 ćelijskoj liniji (IC_{50} 0.12 μ M). Isto tako, prema HeLa i HT-29 ćelijskoim linijama doksorubicin je pokazao jaku citotoksičnost (IC_{50} 1.17 μ M, odnosno IC_{50} 0.32 μ M).

Važno je napomenuti da za razliku od nosintetizovanih D-homo laktonskih derivata u ovom radu, koja nisu citotoksična, doksorubicin pokazuje jaku citotoksičnost prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća MRC-5 (IC_{50} 0.12 μ M).

Tabela 3.3. Antiproliferativna aktivnost D-seko derivata (**36**, **37**, **39-42**) na odabrane ćelijske linije, izražena kao vrednost IC_{50}

jedinjenje	IC_{50} (μ M)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
36	> 100	56.00	6.30	> 100
37	39.30	> 100	2.20	> 100
39	> 100	> 100	> 100	>100
40	> 100	10.00	65.00	>100
41	> 100	> 100	> 100	>100
42	> 100	> 100	> 100	>100



Slika 3.10. Strukture ispitivanih D-seko derivata

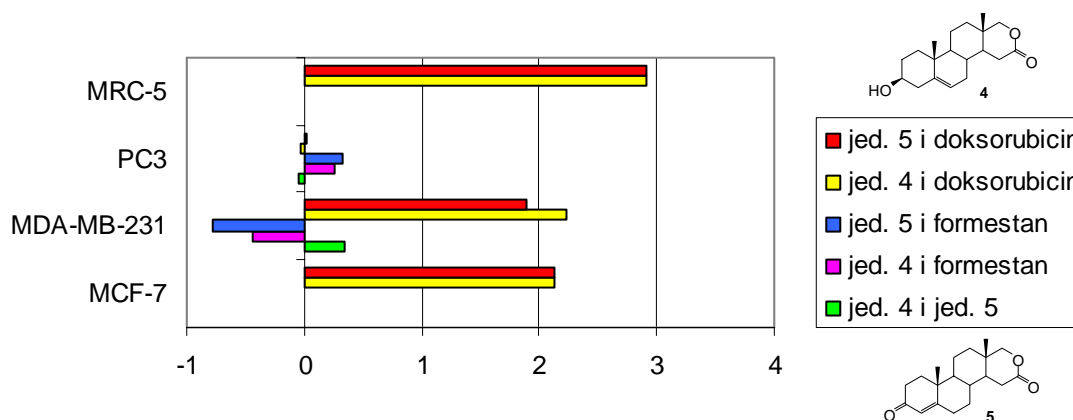
Dobijeni rezultati ispitivanja antiproliferativne aktivnosti pokazuju da D-seko derivati androstana **36** (IC_{50} 6.30 μ M) i **37** (IC_{50} 2.20 μ M) pokazuju jaku antiproliferativnu aktivnost prema PC3 ćelijama kancera prostate, pri čemu prisustvo 4-en-3-on sistema (jedinjenje **37**) utiče na povećanje antiproliferativne aktivnosti. Međutim, jedinjenje **39**, slične strukture, ali sa 3 β -OH gupom, ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost prema PC3 ćelijama, kao ni prema MCF-7, MDA-MB-231 ćelijama. Acetatna funkcija u položaju C-3 kod jedinjenja **40**, dovodi do pojave jake antiproliferativne aktivnosti prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231, IC_{50} 10.00 μ M), dok umerenu antiproliferativnu aktivnost (IC_{50} 65.00 μ M) pokazuje prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3). Jedinjenja **41** i **42** nisu aktivna prema ispitivanim ćelijskim linijama.

Svi ispitivani D-seko androstanski derivati nisu toksični prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća MRC-5.

3.3. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja

Naredna etapa naših istraživanja se odnosila na uspostavljanje korelacionih odnosa (SAR, engl. structure-activity relationship) između strukture i antiproliferativne aktivnosti kod D-homo i D-seko androstanskih derivata, kao i poređenje sa kontrolnim jedinjenjima (formestan i doksorubicin).

Antiproliferativna aktivnost je kvantitativno izražena kao $\Delta \log IC_{50}$ i predstavlja razliku dekadnih logaritama od IC_{50} vrednosti novosintetizovanog jedinjenja i kontrolnog jedinjenja [$\log (IC_{50})_{\text{jedinjenja}} - \log (IC_{50})_{\text{formestana ili doksorubicina}}$] (slike 3.11.-3.21.). U Prilogu su prikazane i odgovarajuće tabele. Negativna vrednost $\Delta \log (IC_{50})$ pokazuje da jedinjenje ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od kontrolnog, dok pozitivne vrednosti odgovaraju većoj aktivnosti kontrolnog u odnosu na novosintetizovano jedinjenje.



Slika 3.11. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **4** i **5**, formestana i doksorubicina

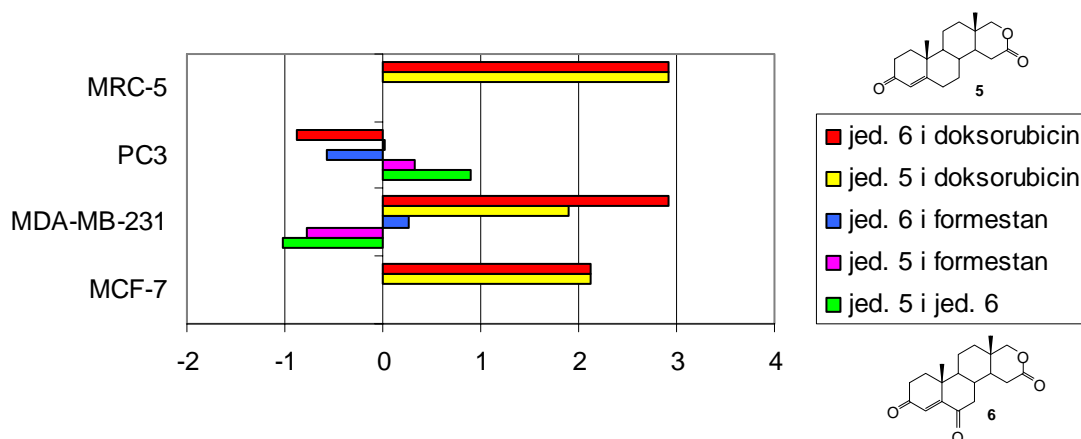
Kao što se može videti na slici 3.11. i u tabeli 8.1. (Prilog), D-homo laktonski derivati **4** i **5** pokazuju različit uticaj na ispitivane ćelije kancera, u zavisnosti od karakteristika samih ćelija, kao i od strukturnih razlika između jedinjenja **4** i **5**. Tako, jedinjenje **5**, koje ima 4-en-3-on sistem, je efikasnije u smanjivanju proliferacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), dok je jedinjenje **4** sa 5-en-3 β -ol sistemom, efikasnije prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Sa druge strane, doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost od jedinjenja **5** na sve ispitivane tumorske ćelijske linije, dok jedinjenje **4** pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost na ćelije kancera prostate AR- (PC3) od doksorubicina. Važno je reći da doksorubicin pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5), dok jedinjenja **4** i **5** na rast ovih ćelija nisu uticala.

Ukoliko se uporedi antiproliferativna aktivnost jedinjenja **4** i **5** sa formestanom, sa slike 3.11. se može zaključiti da oba jedinjenja pokazuju znatno veću antiproliferativnu

aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), dok je formestan aktivniji prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Naredna korelacija je ispitana na jedinjenjima **5** i **6**. Jedinjenje **6** u svojoj strukturi pored 4-en-3-on sistema (kao jedinjenje **5**), poseduje i C₆=O funkciju. Rezultati su prikazani na slici 3.12. i u tabeli 8.2. (Prilog).



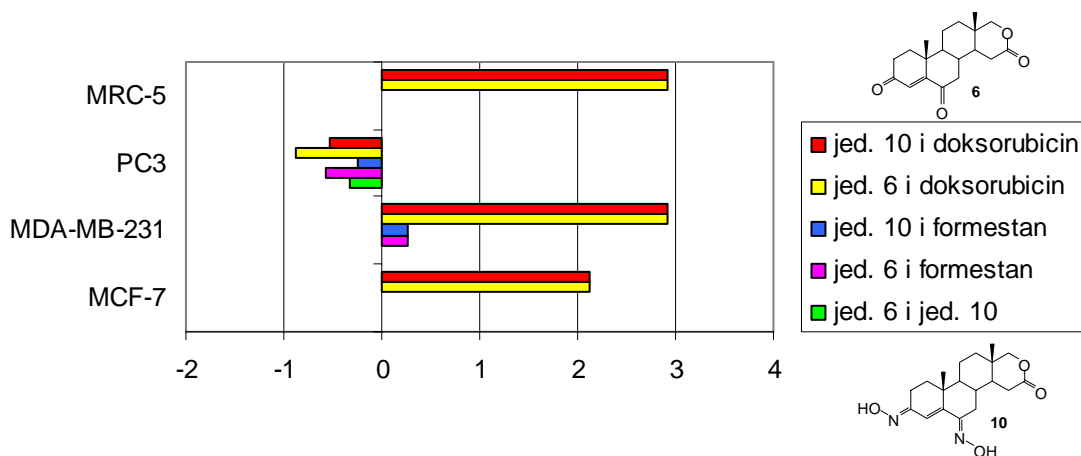
Slika 3.12. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **5** i **6**, formestana i doksorubicina

Sa slike 3.12. se može uočiti da jedinjenje **5** pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB231), dok je prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) jedinjenje **6** toksičnije.

Sa slike 3.12. se takođe može zaključiti da doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost od jedinjenja **5** i **6** prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ER- (MDA-MB231). Doksorubicin je takođe aktivniji od jedinjenja **5** prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), dok je jedinjenje **6** izrazito aktivnije, u poređenju sa doksorubicinom. I u ovom slučaju je važno istaći da doksorubicin pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5), u odnosu na jedinjenja **5** i **6**, koja nisu citotoksična.

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **5** i **6** sa formestanom, dolazi se do zaključka, da je jedinjenje **5** znatno aktivnije od formestana prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB231), dok je jedinjenje **6** aktivnije prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Naredna etapa ovog rada se odnosila na ispitivanja jedinjenja **6** i **10**. Naime, osnovne strukturne razlike su dve hidrosimino funkcije u položajima C-3 i C-6 kod jedinjenja **10**, u odnosu na jedinjenje **6**, koje poseduje 4-en-3,6-diketo sistem. Rezultati su prikazani na *slici 3.13.* i u *tabeli 8.3.* (*Prilog*).



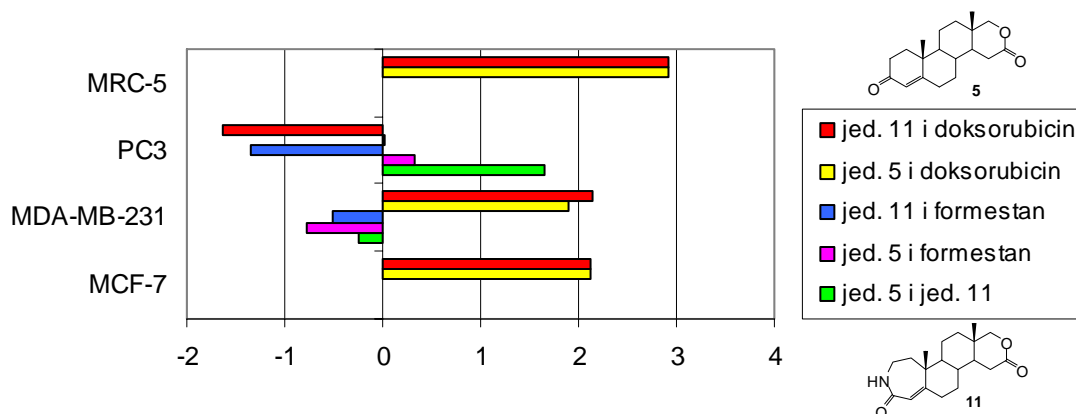
Slika 3.13. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **6** i **10**, formestana i doxorubicina

Sa *slike 3.13.* se može zaključiti da jedinjenja **6** i **10** pokazuju antiproliferativnu aktivnost samo prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), i to jedinjenje **6** jaču od jedinjenja **10**.

Takođe se može zaključiti da doxorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ER- (MDA-MB-231) od jedinjenja **6** i **10**. Doxorubicin pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5), u odnosu na jedinjenja **6** i **10**, koja nisu citotoksična.

Sa druge strane formestane pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) u odnosu na oba jedinjenja, dok su prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) oba jedinjenja (**6** i **10**) toksičnija i u odnosu na formestane i u odnosu na doxorubicin.

Dalja ispitivanja su se odnosila na jedinjenja **5** i **11**. Strukturna razlika kod jedinjenja **11** (u odnosu na jedinjenje **5**) je sedmočlani A-prsten sa azotovim atomom u položaju 2a. Rezultati su prikazani na *slici 3.14.* i u *tabeli 8.4.* (*Prilog*).



Slika 3.14. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **5** i **11**, formestana i doksorubicina

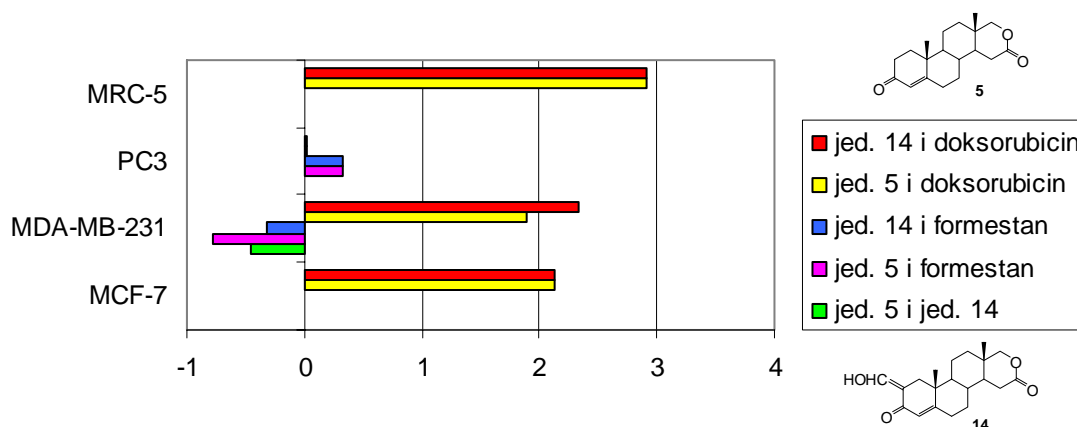
Sa slike 3.14. se može zaključiti da jedinjenja **5** i **11** ne pokazuju antiproliferativnu aktivnost prema prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7).

Prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) oba jedinjenja pokazuju citotoksičnost, i to jedinjenje **5** veću od jedinjenja **11**. Takođe, oba jedinjenja su aktivnija u poređenju sa formestanom, ali ne i sa doksorubicinom, koji pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema ovim ćelijama.

Sa slike 3.14. se takođe može zaključiti da prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) jedinjenje **11** pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost u poređenju sa polaznim jedinjenjem **5**, kao i sa formestanom i doksorubicinom.

Kao što je već rečeno, doksorubicin pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5), u odnosu na jedinjenja **5** i **11**, koja nisu citotoksična.

Dalja ispitivanja su se odnosila na jedinjenja **5** i **14**. Strukturna razlika kod jedinjenja **14** (u odnosu na jedinjenje **5**) je (2Z)-hidroksimetilenska funkcija. Rezultati su prikazani na slici 3.15. i u tabeli 8.5. (Prilog).

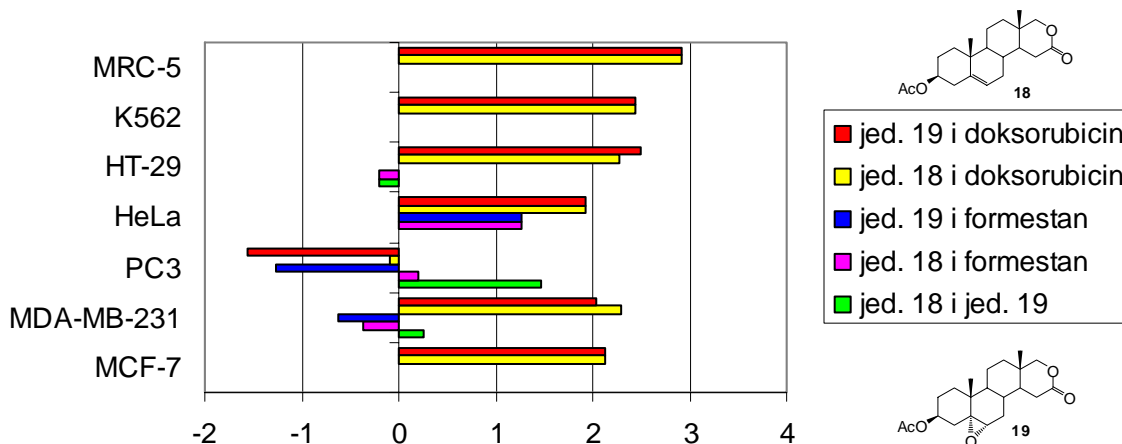


Slika 3.15. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **5** i **14**, formestana i doksorubicina

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **5** i **14**, sa *slike 3.15.* se može zaključiti da ova jedinjenja pokazuju aktivnost samo prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231). Tako, jedinjenje **5** pokazuje jaču aktivnost od jedinjenja **14**, dok je doksorubicin aktivniji od ovih jedinjenja prema svim ispitivanim ćelijskim linijama kancera.

Sa *slike 3.15.* se može videti da formestan pokazuje veću aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB231), dok su jedinejnja **5** i **14** značajno aktivnija od formestana prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Strukturne slične karakteristike jedinjenja **18** i **19**, pored D-homo laktonskog sistema su i 3β -OAc funkcija, a razlika je u tome što jedinjenje **18** poseduje $C_5=C_6$ dvostruku vezu, dok jedinjenje **19** poseduje $5\alpha,6\alpha$ -epoksidnu funkciju. Rezultati su prikazani na *slici 3.16.* i u *tabeli 8.6.* (*Prilog*).



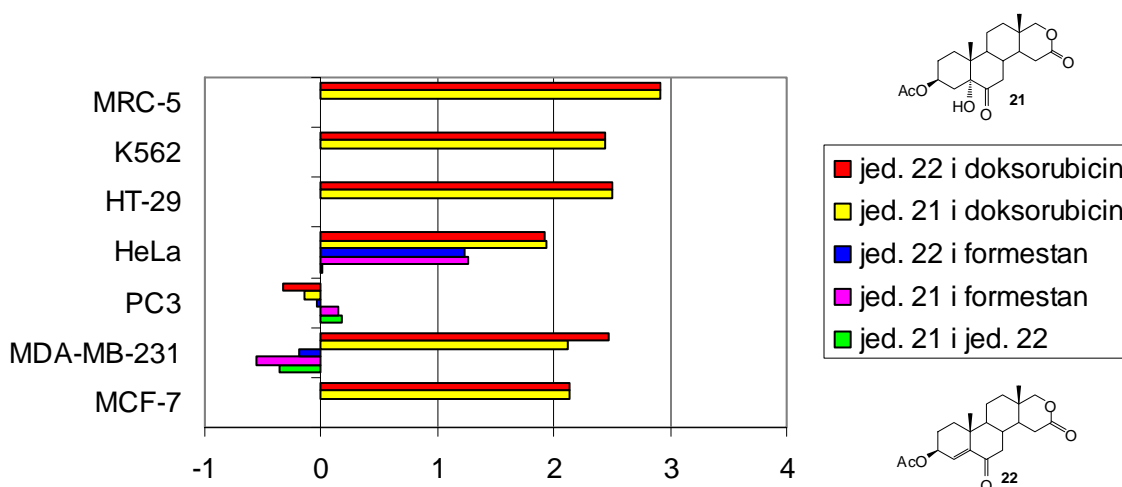
Slika 3.16. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **18** i **19**, formestana i doksorubicina

Sa *slike 3.16.* se može uočiti da je jedinjenje **19** efikasnije u smanjivanju rasta populacija ćelija kancera prostate AR- (PC3) i ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), dok je jedinjenje **18** ispoljilo bolji efekat na ćelije kancera debelog creva (HT-29).

Takođe, jedinjenje **18** (*slika 3.16.*) pokazuje nešto jaču inhibiciju rasta populacija ćelija kancera debelog creva (HT-29) i ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) u odnosu na formestan. Jedinjenje **19** takođe pokazuje jaču inhibiciju rasta populacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) i ćelija kancera prostate AR- (PC3), u odnosu na formestan.

Sa druge strane, doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost od jedinjenja **18** i **19** na sve ispitivane ćelijske linije, sem na ćelije kancera prostate AR- (PC3). Najveća razlika u aktivnosti doksorubicina i jedinjenja **18** i **19** uočena je prema zdravim ćelijama (MRC-5), na koju je doksorubicin pokazao jaku citotoksičnost, dok novოსintetizovana jedinjenja **18** i **19** na rast ovih ćelija nisu uticala.

Kada se vrši poređenje struktura jedinjenja **21**, koje poseduje 3β -OAc, 5α -OH i $C_6=O$ funkcije i jedinjenja **22**, koje sadrži 3β -OAc i $C_6=O$ funkcije, kao i $C_4=C_5$ dvostruku vezu, sa *slike 3.17.* i iz *tabele 8.7.* (*Prilog*) se može zaključiti sledeće:



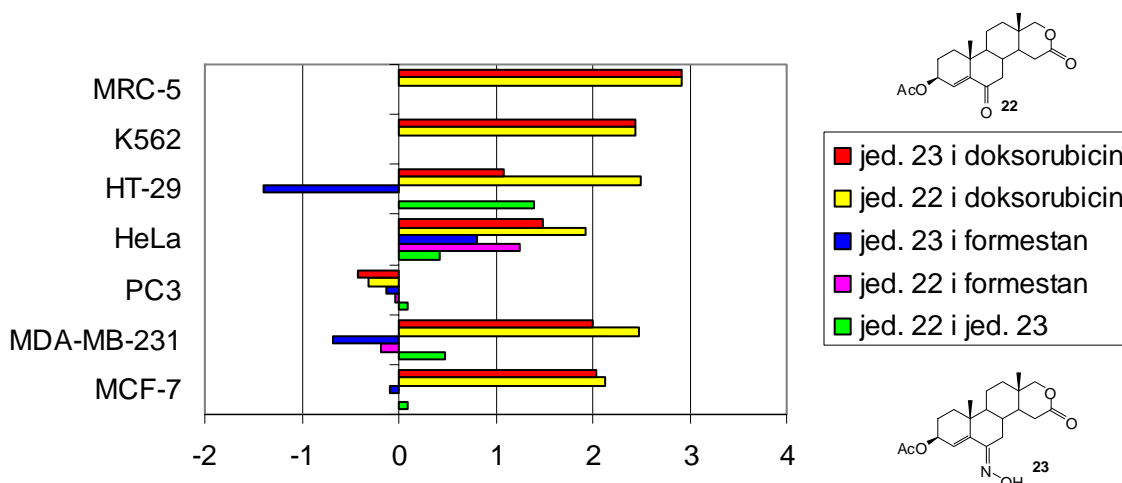
Slika 3.17. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **21** i **22**, formestana i doksorubicina

Jedinjenje **21** je efikasnije u smanjivanju rasta populacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) od jedinjenja **22**, dok je jedinjenje **22** efikasnije u smanjivanju rasta populacije ćelija kancera prostate AR- (PC3).

Jedinjenje **21** pokazuje jaču inhibiciju rasta populacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) u odnosu na formestan, a manje je efikasno od formestana u smanjanju rasta ćelija kancera prostate AR- (PC3). U odnosu na formestan, jedinjenje **22** pokazuje jaču inhibiciju rasta ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), dok je formestan ispoljio mnogo jači uticaj na smanjenje rasta ćelija kancera cerviksa (HeLa) u odnosu na oba jedinjenja (**21** i **22**).

Sa druge strane, doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost od jedinjenja **21** i **22** na sve ispitivane ćelijske linije, sem na ćelije kancera prostate AR- (PC3). Najveća razlika u aktivnosti doksorubicina i jedinjenja **21** i **22** uočena je, kao i u prethodnim slučajevima, prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5), prema kojoj je doksorubicin pokazao jaku citotoksičnost, dok nosintetizovana jedinjenja **21** i **22** nisu citotoksična.

Ukoliko se $C_6=O$ funkcija kod jedinjenja **22** zameni (6E)-hidroksimino funkcijom, dobija se jedinjenje **23**, a rezultati ispitivanja su prikazani na *slici* 3.18. i u *tabeli* 8.8. (*Prilog*).



Slika 3.18. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **22** i **23**, formestana i doxorubicina

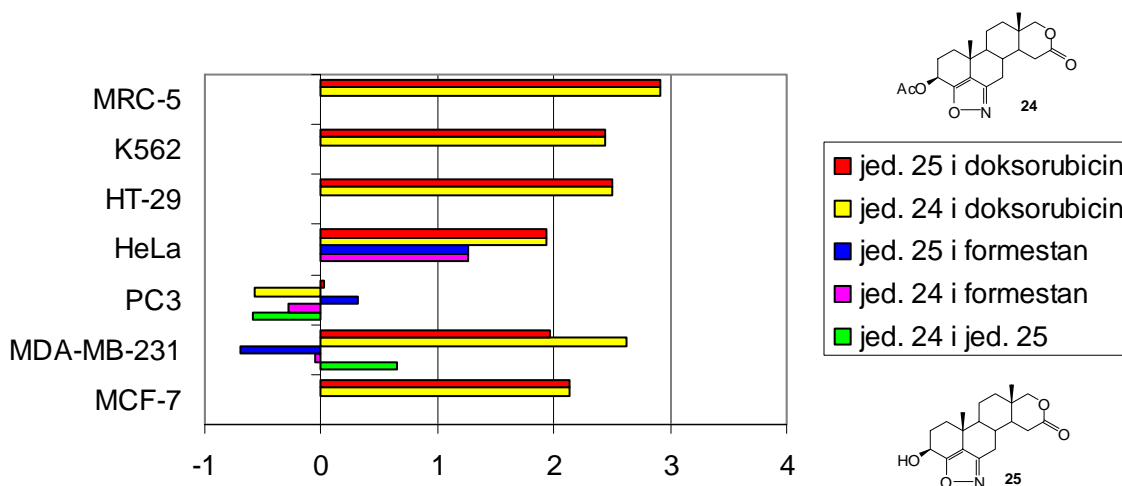
Kao što se sa *slike 3.18.* može videti, jedinjenje **23** je mnogo efikasnije u smanjivanju rasta populacije ćelija kancera debelog creva (HT-29) u odnosu na jedinjenje **22**. Razlika u aktivnosti ova dva jedinjenja je manje izražena i prema ćelijama kancera cerviksa (HeLa) i adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), a najmanje prilikom tretiranja ćelija adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ćelija kancera prostate AR- (PC3), a jedinjenje **23** je i prema ovim ćelijama kancera (HeLa, MCF-7, MDA-MB-231, PC3) ispoljilo jaču citotoksičnost.

Sa *slike 3.18.* se takođe može videti da jedinjenje **22** pokazuje jaču inhibiciju rasta populacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) u odnosu na formestan. Jedinjenje **23**, pokazuje mnogo jači efekat na rast populacije ćelija kancera debelog creva (HT-29) u odnosu na formestan. Manja razlika u efikasnosti smanjivanja populacije ćelija tretmanom jedinjenjem **23** u odnosu na formestan može se uočiti u slučaju ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) i ćelija kancera prostate AR- (PC3). Formestan je ispoljio mnogo jači uticaj na smanjenje rasta ćelija kancera cerviksa (HeLa) u odnosu na jedinjenje **23**.

Sa druge strane, doxorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost u odnosu na jedinjenja **22** i **23** na sve ispitivane ćelijske linije, sem na ćelije kancera prostate AR- (PC3). Najveća razlika u aktivnosti doxorubicina i jedinjenja **22** i **23** uočena je prema zdravim ćelijama (MRC-5), na koju je doxorubicin pokazao izuzetno

jaku citotoksičnost, dok novosintetizovana jedinjenja **22** i **23** na rast ovih ćelija nisu uticala.

Novosintetizovani derivati sa kondenzovanim izoksazolom sa A- i B-prstenovima, se razlikuju samo u C-3 supstituentu. Naime, jedinjenje **24** poseduje 3 β -OAc, dok jedinjenje **25** poseduje 3 β -OH funkciju. Rezultati korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti su prikazani na *slici 3.19.* i u *tabeli 8.9. (Prilog).*



Slika 3.19. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **24** i **25**, formestana i doksorubicina

Kao što se sa *slike 3.19.* može videti, 3 β -OAc izoksazolski derivat **24** i 3 β -OH izoksazolski derivat **25** pokazuju različit uticaj na neoplastične ćelije.

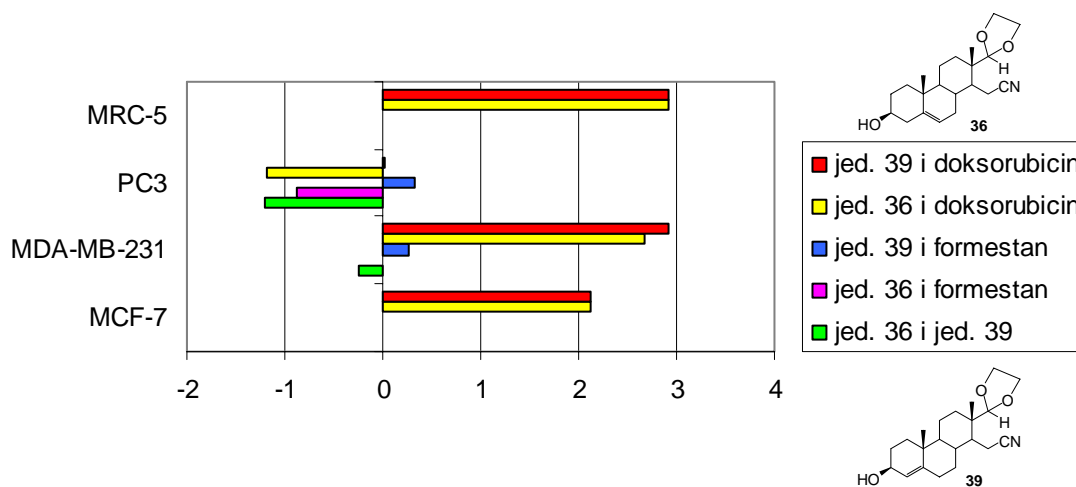
Razlika u aktivnosti ova dva jedinjenja se uočava prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), pri čemu je jedinjenje **24** pokazalo znatno veću aktivnost od jedinjenja **25**, dok je prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) jedinjenje **25** toksičnije.

Sa *slike 3.19.* se može videti da su jedinjenja **24** i **25** pokazala jaču inhibiciju rasta populacije ćelija adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) u odnosu na formestan, a takođe i jedinjenje **24** prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Sa druge strane, doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost u odnosu na jedinjenja **24** na sve ispitivane tumorske ćelijske linije, sem na ćelije kancera prostate AR- (PC3), dok je u odnosu na jedinjenje **25** doksorubicin toksičniji prema svim ispitivanim tumorskim ćelijskim linijama. Najveća razlika u aktivnosti

doksorubicina i jedinjenja **24** i **25** uočena je, takođe kod zdrave ćelijske linije (MRC-5), na koju je doksorubicin pokazao jaku antiproliferativnu aktivnost, dok novosintetizovana jedinjenja **24** i **25** na rast ovih ćelija nisu uticala.

Kao što je ranije pomenuto, korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti (SAR) je ispitana i kod androstanskih derivata D-seko serije. Pri tome je izvršeno poređenje između jedinjenja **36** i **39**, kod kojih je jedina strukturna razlika u položaju dvostruke veze C₅=C₆ (kod jedinjenja **36**) i C₄=C₅ (kod jedinjenja **39**). Rezultati su prikazani na slici 3.20. i u tabeli 8.10. (Prilog).



Slika 3.20. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitanih jedinjenja **36** i **39**, formestana i doksorubicina

Sa slike 3.20. se može zaključiti da jedinjenja **36** i **39** pokazuju različitu antiproliferativnu aktivnost prema odabranim ćelijama.

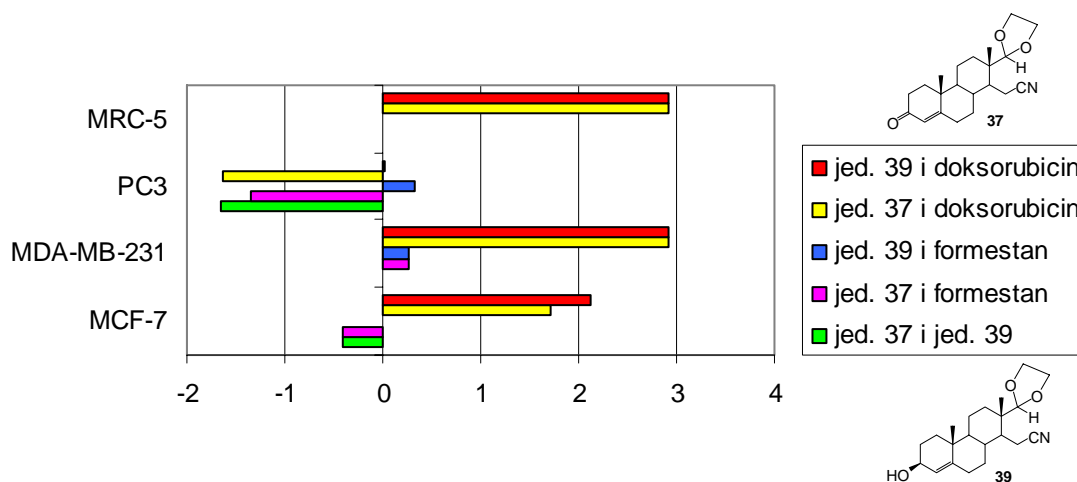
Jedinjenje **36** pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), u odnosu na jedinjenje **39**, kao i u odnosu na formestan i doksorubicin, a takođe jaču citotoksičnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), u odnosu na jedinjenje **39**, koja je slična aktivnosti formestana.

Formestan je aktivniji od jedinjenja **39** na ćelije adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) i ćelije kancera prostate AR- (PC3).

Sa druge strane, doksorubicin je znatno aktivniji prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ER- (MDA-MB-231) u poređenju sa oba jedinjenja (**36** i **39**), kao i prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), ako se uporedi sa jedinjenjem **39**. Takođe,

slično ranije opisanom, doksorubicin pokazuje jaku antiproliferativnu aktivnost prema zdravim ćelijama fibroblasta pluća (MRC-5), dok jedinjenja **36** i **39** nemaju nikakvog uticaja na njihov rast.

Kako je već prethodno opisano, jedinjenje **39** poseduje 3β -OH funkciju i $C_4=C_5$ dvostruku vezu, pa je stoga njegova struktura upoređena sa strukturom jedinjenja **37**, koje takođe ima $C_4=C_5$ dvostruku vezu, ali $C_3=O$ funkciju. Rezultati su prikazani na slici 3.21. i u tabeli 8.11. (Prilog).



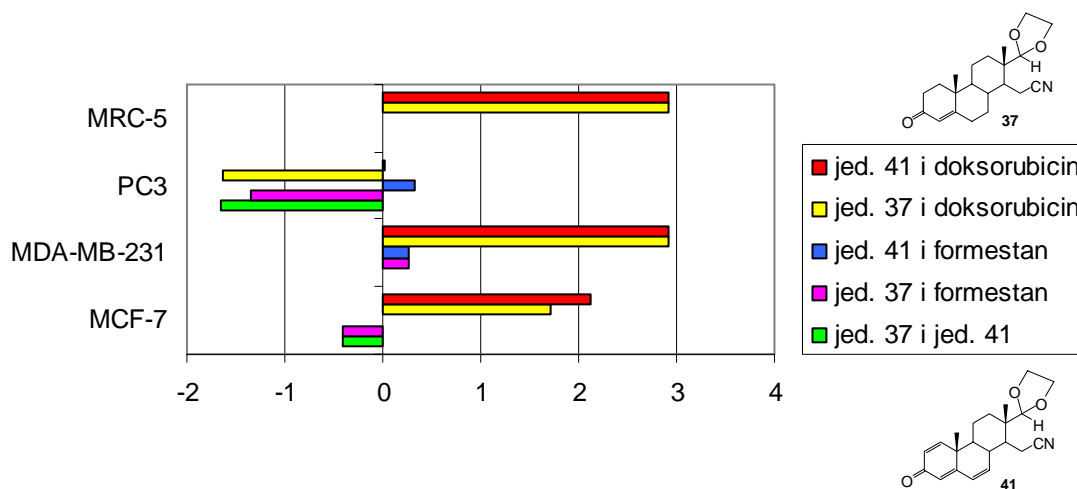
Slika 3.21. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **37** i **39**, formestana i doksorubicina

Sa slike 3.21. se može zaključiti da strukturalna razlika između jedinjenja **37** i **39** ($C_3=O$ i C_3-OH), dovodi do toga da jedinjenje **39** ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost prema odabranim ćelijama kancera, dok je jedinjenje **37** citotoksično prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Ukoliko se uporedi antiproliferativna aktivnost jedinjenja **37** i formestana, dolazi se do zaključka da je formestan aktivniji samo prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231).

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti doksorubicina i jedinjenja **37** može se zaključiti da je jedinjenje **37** aktivnije prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), kako je već pomenuto, dok doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama MCF-7 i MDA-MB-231, kao i prema zdravim ćelijama fibroblasta pluća (MRC-5).

Dalja ispitivanja se odnose na ispitivanje korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **41**, koje poseduje $C_1=C_2$ i $C_6=C_7$ dvostruke veze, pored $C_4=C_5$ dvostruke veze i $C_3=O$ funkcije, koju poseduje i slično jedinjenje **37**. Rezultati su prikazani na slici 3.22. i u tabeli 8.12. (Prilog).



Slika 3.22. Korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja **37** i **41**, formestana i doksorubicina

Sa slike 3.22. se može zaključiti da strukturna razlika između jedinjenja **37** i **41**, dovodi do toga da jedinjenje **41** ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost prema odabranim ćelijskim linijama kancera, dok jedinjenje **37** pokazuje znatnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) i ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

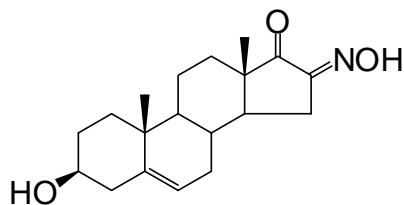
Ukoliko se uporedi antiproliferativna aktivnost jedinjenja **41** i formestana, dolazi se do zaključka da je formestan aktivniji prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) i ćelijama kancera prostate AR- (PC3).

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti doksorubicina i jedinjenja **41** može se zaključiti doksorubicin pokazuje jaču antiproliferativnu aktivnost prema svim ispitivanim ćelijama.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

IR spektri su snimljeni na *NEXUS 670 SP-IR* spektrofotometru, a očitane vrednosti su izražene u cm^{-1} . Svi ^1H i ^{13}C NMR spektri su snimljeni na aparatu *Bruker AC 250 E*, uz upotrebu standardnog *Bruker*-ovog softvera, a uz tetrametilsilan (TMS, δ 0.00), kao interni standard na frekvenciji od 250 MHz za ^1H NMR spektre, odnosno na 62.9 MHz za ^{13}C NMR spektre, kod kojih se centralna linija ugljenika iz hloroforma-*d* nalazi na 77 ppm. Vrednosti hemijskih pomeranja (δ -skala) su izražene u ppm vrednostima, a oznake s, bs, d, dd, t, q i m označavaju singlet, široki singlet, dublet, dublet dubleta, triplet, kvartet i multiplet. Maseni spektri su snimljeni na gasno-masenom spektrometru *Agilent Technologies (Gas Chromatograph 6890N GC, Mass Selective detector 5973 MSD, Autosampler 7683)*. U M-spektru prvi broj označava m/z vrednost, a broj u zagradi odgovara obilnosti datog fragmenta u procentima. Elementarna mikroanaliza je urađena na Hemijskom fakultetu u Beogradu. Rentgeno-strukturalna analiza je urađena na *Bruker PLATFORM* trokružnom goniometru, opremljenim sa *SMART 1K CCD* detektorom, koji je podešen na razdaljinu kristala od 5.4 cm. Tačke topljenja su određene na aparatu *Büchi SMP 20* i nisu korigovane. Za hromatografiju je korišćen silika-gel *Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm, Merck)*. Ekstrakti su sušeni anhidrovanim natrijum-sulfatom (Na_2SO_4), a rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču (*Büchi*).

4.1. 3 β -Hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (2)¹⁹⁹



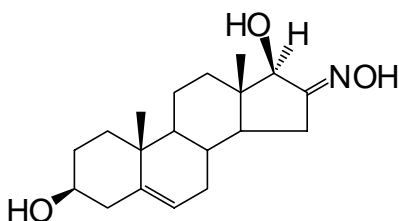
U ohlađeni rastvor kalijum-*tert*-butoksida u *tert*-butanolu (180 ml, 0.26 M) se uz mešanje doda dehidroepiandrosteron (1) (6.0 g, 20.80 mmol) i *i*-amilnitrit (6.5 ml). Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 24 časa. Po završetku reakcije, reakciona smeša se izlije u vodu (600 ml) i podesi na pH 6 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), pri čemu se izdvaja sirovi proizvod u vidu belog taloga, koji se ispere vodom. Prekristalizacijom iz metanola dobija se čisto jedinjenje **2** u prinosu od 84.8% (5.60 g, t.t. 223 °C, lit.¹⁹⁹ t.t. 223 °C).

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3392, 2936, 2896, 1732, 1635, 1458, 1377, 1047, 1003, 946.

¹H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 0.99 (s, 3H, H-18); 1.06 (s, 3H, H-19); 3.5 (m, 1H, H-3); 5.39 (d, 1H, $J=5.2$ Hz, H-6).

¹³C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.90 (C-18); 19.42 (C-19); 20.18; 25.58; 30.68; 31.01; 31.17; 31.44; 36.67; 37.03; 42.07; 46.74; 48.63; 50.04; 71.55 (C-3); 120.61 (C-6); 141.07 (C-5); 156.56 (C₁₆=NOH); 205.18 (C₁₇=O).

4.2. 16-Hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (3)¹⁹⁹



3 β -Hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (**2**) (1.920 g, 6.06 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (109 ml) i doda natrijum-borhidrid (0.462 g, 12.10 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (100 ml), pri čemu se izdvoji sirov proizvod (2.0 g) jedinjenja **3**, koji se bez prethodnog prečišćavanja može koristiti u daljim fazama sinteze. Čisto jedinjenje **3** se dobija prekristalizacijom iz apsolutnog metanola u prinosu od 97.9% (1.89 g, t.t. 255 °C, lit.¹⁹⁹ t.t. 255-257 °C).

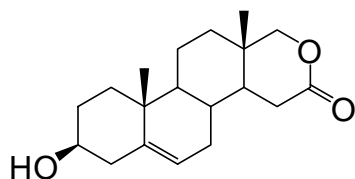
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3395, 2934, 2891, 2853, 1636, 1437, 1381, 1081, 1052, 979, 950.

¹H NMR (DMSO-d₆, δ, ppm): 0.62 (s, 3H, H-18); 0.96 (s, 3H, H-19); 3.26 (m, 1H, H-3); 3.85 (d, 1H, J=5.8 Hz, H-17); 4.63 (d, 1H, J=5.0 Hz, 3β-OH); 4.94 (d, 1H, J=5.8 Hz, 17β-OH); 5.28 (d, 1H, J=5.0 Hz, H-6); 10.39 (s, 1H, =NOH).

¹³C NMR (DMSO-d₆, δ, ppm): 11.38 (C-18); 19.20 (C-19); 70.02 (C-3); 80.62 (C-17); 120.22 (C-6); 141.38 (C-5); 162.34 (C₁₆=NOH).

MS (m/z, %): 319 (19, M⁺); 301 (38); 286 (34); 283 (28); 272 (52); 268 (43); 231 (33); 105 (100).

4.3. 3β-Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (4)¹²



16-Hidroksimino-androst-5-en-3β,17β-diol (**3**) (0.249 g, 0.78 mmol) se rastvori u etilenglikolu (8 ml) i dodaje se kalijumhidroksid (1.675 g, 29.85 mmol). Reakciona smeša se meša na tački ključanja tokom 3 časa. Po završetku reakcije,

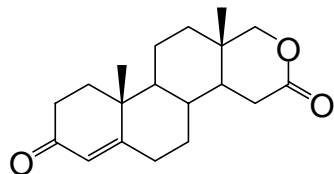
smeša se izlije u vodu (50 ml), podese na pH 1, hlorovodoničnom kiselinom (1:1) i ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, sušilo odstrani i rastvarač upari. Dobija se žuto ulje, koje se prečisti hromatografijom na koloni silikagela (10 g, toluen/etil-acetat, 9:1), pri čemu se izdvaja čisto jedinjenje **4** (0.178 g, 73.9%), t.t. 207 °C (lit.¹² t.t. 207 °C) nakon prekrizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan.

IR (KBr, ν_{max}, cm⁻¹): 3481, 3348, 2962, 2933, 2887, 1714, 1471, 1263, 1207, 1038, 812.

¹H NMR (CDCl₃, δ, ppm): 1.02 (s, 3H, H-18); 1.03 (s, 3H, H-19); 2.72 (dd, 1H, J₁=5.6 Hz, J₂=18.6 Hz, H-15a); 3.54 (m, 1H, H-3); 3.89 (d, 1H, J=10.7 Hz, H-17a); 3.99 (d, 1H, J=10.8 Hz, H-17b); 5.35 (d, 1H, J=5.0 Hz, H-6).

¹³C NMR (CDCl₃, δ, ppm): 14.88 (C-18); 19.33 (C-19); 25.09; 29.08; 30.35; 31.41; 31.84; 32.44; 34.16; 34.88; 36.56; 36.83; 41.97; 44.97; 48.92; 81.11 (C-17); 120.49 (C-6); 140.61 (C-5); 170.80 (C₁₆=O).

4.4. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (5)¹²



Metoda A

3 β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**) (1.050 g, 3.45 mmol) se rastvori u smeši cikloheksanona (28 ml) i toluena (293 ml). Na balon za destilaciju (u kojem je rastvoren uzorak), se postavi levak za dokapavanje sa aluminijum-izopropoksidom (1.110 g, 5.40 mmol), u apsolutnom toluenu (41 ml) i vrši se destilacija, a dokapavanje rastvora aluminijum-izopropoksida u apsolutnom toluenu se vrši u toku 20 minuta, istom brzinom kao što kaplje destilat. Reakcija se prekida nakon 75 minuta, od početka dokapavanja. Nakon hlađenja, reakcionoj smeši se podesi pH na 1-2 hlorovodoničnom kiselinom (1:1) i zatim vrši destilacija vodenom parom. Nakon toga, reakciona smeša se ekstrahuje metilen-hloridom (5 \times 30 ml), ekstrakti se spoje, osuše, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Sirov proizvod (0.930 g) se prekrstališe iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, pri čemu se dobija čisto jedinjenje 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) (0.560 g, 51.4%, t.t. 189 °C, lit.¹⁹² t.t. 189 °C).

Metoda B

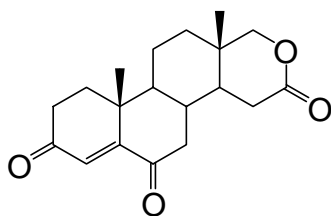
3 β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**) (0.173 g, 0.57 mmol) se rastvori u cikloheksanonu (3 ml) i doda aluminijum-*t*-butoksid (0.245 g, 0.99 mmol). Reakciona smeša se zagreva na tački ključanja uz intenzivno mešanje u toku 12 časova. Nakon toga, reakcionoj smeši se podesi pH 1-2, hlorovodoničnom kiselinom (1:1), a višak cikloheksanona se ukloni destilacijom sa vodenom parom. Nakon toga, vrši se ekstrakcija metilen-hloridom (5 \times 5 ml), organski ekstrakti se spoje, osuše, zatim odstrani sušilo, a rastvarač ukloni uparavanjem. Dobija se svetlo žuto ulje, koje se prečisti flash hromatografijom na koloni silika-gela (toluen/etil-acetat, 9:1), pri čemu se nakon prekrstalizacije iz rastvarača aceton/heksan dobija čisto jedinjenje **5** (0.0876 g, 50.7%, t.t. 189 °C, lit.¹² t.t. 189 °C).

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2941, 2857, 1731, 1670, 1617, 1449, 1381, 1272, 1242, 1039, 875.

¹H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.05 (s, 3H, H-18); 1.20 (s, 3H, H-19); 2.79 (dd, 1H, $J_1=5.6$ Hz, $J_2=18.6$ Hz, H-15a); 3.89 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.99 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 5.76 (d, $J=1.5$ Hz, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.97 (C-18); 17.47 (C-19); 19.34; 29.96; 31.82; 32.20; 32.27; 33.82; 34.26; 35.45; 36.22; 38.53; 44.10; 52.63; 80.84 (C-17); 124.13 (C-4); 169.38 (C-5); 170.32 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 199.02 ($\text{C}_3=\text{O}$).

4.5. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-trion (6)²⁰⁰



Metoda A

3β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**) (0.418 g, 1.38 mmol) se rastvori u acetonu (48 ml) i smeša ohladi na 0 °C. U ohlađeni rastvor se uz mešenje polako dokapava prethodno pripremljen *Jones-ov* reagens,* pri čemu se temperatura reakcione smeše održava na 0 °C. *Jones-ov* reagens se dokapava (2.5–3 ml) do nastanka postojanog narandžastog obojenja reakcione smeše. Nakon 2.5 časa reakcija se prekida dodatkom metanola (25 ml), pri čemu se neizreagovani hrom(VI)-oksid prevodi u hrom(III)-oksid. Reakciona smeša se upari na polovinu zapremine, zatim izlije u vodu (20 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 10 ml). Organski slojevi se spoje, osuše, sušilo odstrani i rastvarač upari. Dobija se sirovi proizvod u vidu tamnog viskoznog ulja. Sirovi proizvod se prečisti na koloni silika-gela (3 g, toluen/etil-acetat; 5:1), pri čemu se dobija čist 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-trion (**6**) (0.133 g, 30.0%, t.t. 229 °C nakon prekrizalizacije iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan).

Metoda B

17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16,-dion (**5**) (0.102 g, 0.34 mmol) se rastvori u *tert*-butanolu (4 ml) uz blago zagrevanje i mešanje, a zatim ohladi do sobne temperature i doda ohlađen rastvor kalijum-*tert*-butoksida u *tert*-butanolu (3 ml, 0.004 M). Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 104 časa. Nakon isteka reakcionog vremena u reakcionu smešu se doda hlorovodonična kiselina (5 ml, 1:1, do pH 1-2), meša na sobnoj temperaturi u toku 1 časa, vrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 10 ml), a zatim i etil-acetatom (1 x 10 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, zatim odstrani sušilo i rastvarač upari.

**Jones-ov* reagens se priprema tako što se hrom(VI)-oksid (3.430 g, 34.30 mmol) rastvori u vodi (12 ml), a zatim se u dobijeni rastvor dokapava koncentrovana sumporna kiselina (3 ml) uz hlađenje i intenzivno mešanje.

Sirova smeša (0.127 g) se prečisti na koloni silika-gela (10 g, heksan/etil-acetat, 3:1, 1:1) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **6** (0.0148 g, 13.8%, t.t. 229 °C nakon prekrystalizacije iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan).

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2949, 1731, 1683, 1462, 1382, 1245, 1220, 1036.

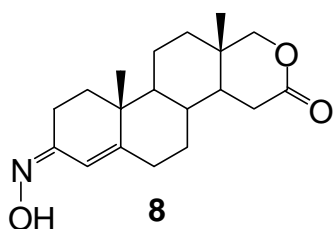
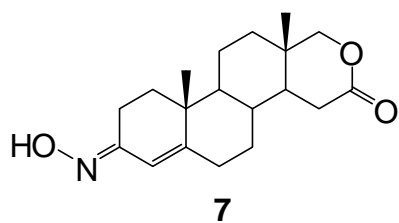
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.06 (s, 3H, H-18); 1.17 (s, 3H, H-19); 2.51 (m, 2H, H-7); 2.73 (m, 2H, H-15a, H-15b); 3.93 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17a); 4.02 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 6.21 (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.85 (C-18); 17.47 (C-19); 19.03; 31.35; 32.21; 33.77; 34.41; 35.05; 39.25; 44.38; 44.78; 49.41; 53.90; 80.39 (C-17); 125.97 (C-4); 159.11 (C-5); 169.47 (C₁₆=O); 198.87 (C₃=O); 200.23 (C₆=O).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 317.17474, nađeno 317.17370.

Elementarna mikroanaliza (%): računato za $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_4 \times 1.5 \text{H}_2\text{O}$: C, 66.45; H, 7.92; nađeno: C, 66.86; H, 7.71.

4.6. (3E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (7) i (3Z)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (8)



Metoda A

17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) (0.395 g, 1.31 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (65 ml), zagreje na 70 °C, zatim doda natrijum-acetat (0.138 g, 1.68 mmol) i hidroksilamin-hidrohlorid (0.150 g, 2.16 mmol) i intenzivno meša u toku 1 časa. Nakon toga, reakciona smeša se upari i doda voda (10 ml), pri čemu se izdvaja sirov proizvod u obliku belog taloga (0.215 g). Talog se procedi, a matični lug se ekstrahuje metilenhloridom (4 x 10 ml), ekstrakti spoje, osuše, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Dobija se sirovi proizvod (0.132 g), koji se pripoji talogu (ukupno 0.347 g) i prekrystalize iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan, pri čemu se dobija smeša jedinjenja **7** i **8** (0.310 g, 74.8%, t.t. 205-207 °C).

Odnos (3E) : (3Z) = 2.3 : 1.

Metoda B

U rastvor hidrosilamin-hidrohlorida (0.267 g, 3.85 mmol) i natrijum-hidroksida (0.034 g, 0.85 mmol) u smeši etanol/voda (1:1, 1 ml) se dodaje jedinjenje **5** (0.105 g, 0.35 mmol). Reakciona smeša se zagreva na tački ključanja, uz intenzivno mešanje, u toku 30 minuta i ostavi 24 časa na sobnoj temperaturi. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se dodaje voda (10 ml) i zatim se vrši ekstrakcija etil-acetatom (5 x 5 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, sušilo se ukloni, a rastvarač upari, pri čemu se dobija uljasta smeša sirovog proizvoda (0.093 g). Nakon hromatografije na koloni silika-gela (1 g, heksan/etil-acetat, 3:1, 1:1), dobija se smeša (3*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**7**) i (3*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**8**) (0.0503 g, 45.5%, t.t. 205-207 °C).

Odnos (3*E*) : (3*Z*) = 4.3 : 1.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **7** i **8**:

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3285, 3017, 2941, 2856, 1724, 1635, 1474, 1435, 1404, 1381, 1354, 1290, 1219, 1164, 1138, 1094, 1065, 1017, 975, 916, 875, 755.

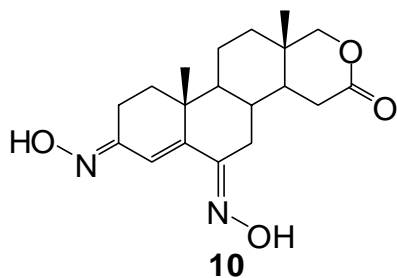
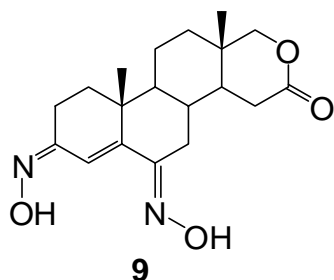
¹H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.02 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.74 (dd, 1H, $J_1=5.7$ Hz, $J_2=16.5$ Hz, H-15a); 3.02 (m, 1H, H-2); 3.87 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.96 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 5.80 (s, 1H, H-4 od ((3*E*)-oksimina); 6.50 (s, 1H, H-4 od (3*Z*)-oksimina); 9.20-9.38 (bs, 1H, =NOH).

¹H NMR (DMSO-d_6 , δ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 0.99 (s, 3H, H-19); 5.71 (s, 1H, H-4 od (3*E*)-oksimina); 6.32 (s, 1H, H-4 od (3*Z*)-oksimina); 10.25 (s, 1H, =NOH od (3*Z*)-oksimina); 10.52 (s, 1H, =NOH od (3*E*)-oksimina).

¹³C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.89 (C-18); 17.78 i 18.05 (2C-19); 18.59; 19.39; 19.58; 21.39; 24.42; 28.70 (C-2); 29.60; 30.01; 30.36; 31.80; 32.11; 32.34 (C-1); 35.84; 36.22; 36.31; 37.83; 38.76; 44.00; 52.43 i 52.67 (2C-9); 80.89 (C-17); 110.75 i 117.57 (2C-4); 153.30 i 153.82 (2C-5); 156.36 i 157.84 (2C₃=NOH); 170.67 i 170.76 (2C₁₆=O, za (3*Z*)- i (3*E*)- izomer).

¹³C NMR (DMSO-d_6 , δ , ppm): 14.57 (C-18); 17.69 i 17.97 (2C-19); 18.52; 19.41; 29.93; 31.61; 31.42; 31.78; 33.49; 34.15; 35.53; 35.64; 37.54; 43.03; 52.17; 52.43; 80.05 (C-17); 110.76 i 117.91 (2C-4); 152.24 (C-5); 154.22 i 156.09 (2C₃=NOH); 170.31 (C₁₆=O).

4.7. (3Z,6E)-Dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (9) i (3E,6E)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (10)



17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16,-trion (**6**) (0.232 g, 0.74 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (37 ml) i zagreje do 60 °C, zatim doda hidrosilamin-hidroklorid (0.155 g, 2.23 mmol) i natrijum-acetat (0.120 g, 1.47 mmol), pri čemu se reakciona smeša intenzivno meša u toku 1.5 časa. Nakon isteka reakcionog vremena etanol se upari, zatim doda voda (30 ml) i ekstrahuje metilen-hloridom (4 × 20 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, sušilo odstrani, a rastvarač upari, pri čemu se dobija smeša (3Z,6E)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**9**) i (3E,6E)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (**10**) u obliku ulja (0.235 g). Prekristalizacijom iz sistema rastvarača metanol/heksan se dobija čisto jedinjenje **10** (0.043 g, 16.9%, t.t. 260-262 °C).

Spektroskopski podaci za jedinjenje **10**:

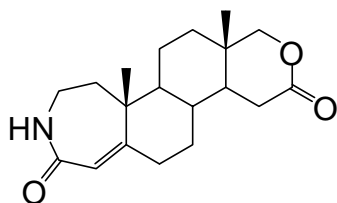
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3315, 2944, 2856, 1704, 1475, 1433, 1382, 1303, 1253, 1061, 1035, 963, 845, 753.

$^1\text{H NMR}$ (Py- d_5 , δ , ppm): 0.86 (s, 3H, H-18); 0.94 (s, 3H, H-19); 2.95 (dd, 1H, $J_1=4.95$ Hz, $J_2=13.36$ Hz, H-15a); 3.46 (dd, 1H, $J_1=3.2$ Hz, $J_2=18.3$ Hz, H-2); 3.54 (d, 1H, $J=18.5$ Hz, H-7); 3.82 (m, 2H, H-17); 7.15 (s, 1H, H-4); 13.27 (s, 1H, $\text{C}_6=\text{NOH}$); 13.37 (s, 1H, $\text{C}_3=\text{NOH}$).

$^{13}\text{C NMR}$ (Py- d_5 , δ , ppm): 16.52 (C-18); 19.67 (C-19); 21.15 (C-11); 21.61; 29.91; 33.91 (C-1); 34.14; 35.32; 35.62; 35.77; 40.14 (C-7); 46.68; 51.88; 82.50 (C-17); 122.22 (C-4); 147.36 (C-5); 156.52 ($\text{C}_3=\text{NOH}$); 156.96 ($\text{C}_6=\text{NOH}$); 171.93 ($\text{C}_{16}=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 347.19653, nađeno 347.19757.

4.8. 2a-Aza-17-oksa-A,D-dihomoandrost-4-en-3,16-dion (11)



Smeša (3*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (7) i (3*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-ona (8) (0.549 g, 1.73 mmol) se uz mešanje rastvori u dioksanu (33 ml), nakon čega se dodaje tionil-hlorid (0.3 ml)

Reakciona smeša se intenzivno meša u toku 1 časa na sobnoj temperaturi. Nakon isteka reakcionog vremena reakcija se prekida dodatkom vode (20 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (4 × 20 ml). Ekstrakti se spoje, isperu 5%-nim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata (5 ml), osuše, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Dobija se sirovi proizvod (0.537 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (17 g, heksan/acetone, 1:4). Nakon prekrizalizacije iz sistema rastvarača acetone/heksan dobija se čisto jedinjenje 11 u prinosu od 44.6% (0.245 g, t.t. 259-260 °C).

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3262, 3188, 2942, 2855, 1729, 1656, 1610, 1478, 1241, 1040, 752.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.03 (s, 3H, H-18); 1.15 (s, 3H, H-19); 2.73 (dd, 1H, $J_1=5.3$ Hz, $J_2=18.4$ Hz, H-15a); 3.21 (m, 1H, H-2); 3.88 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.97 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 5.75 (s, 1H, H-4); 6.73 (bs, 1H, NH).

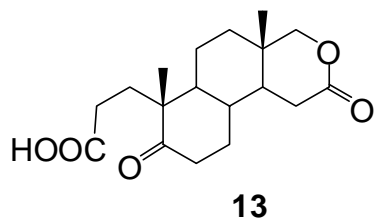
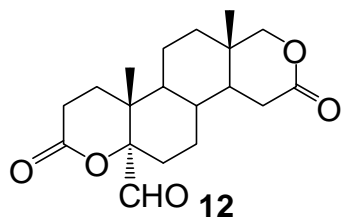
$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6 , δ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 1.06 (s, 3H, H-19); 5.50 (s, 1H, H-4); 7.74 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 15.06 (C-18); 20.09; 21.32 (C-19); 31.64; 31.81; 32.24; 34.39; 35.73; 36.14; 36.55; 41.74; 44.13; 44.27; 52.16; 80.82 (C-17); 119.40 (C-4); 159.28 (C-5), 169.88 (C₃=O); 170.34 (C₁₆=O).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO-d_6 , δ , ppm): 14.65 (C-18); 19.70; 21.08 (C-19); 31.59; 31.82; 33.55; 35.24; 35.50; 41.69; 42.98; 43.88; 51.77; 80.04 (C-17); 119.51 (C-4), 158.81 (C-5); 168.26 (C₃=O); 170.26 (C₁₆=O).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 318.20637, nađeno 318.20622.

4.9. 3,16-Diokso-4,17-dioksa-D-homoandrostan-5 α -karbaldehid (**12**) i 17-oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina (**13**)



17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) (0.266 g, 0.88 mmol) se rastvori u metilen-hloridu (26 ml) na 0 °C i doda se *m*-CPBA (0.947 g, 5.50 mmol). Reakciona smeša se intenzivno meša na 0 °C u toku 3 časa, a zatim ostavi na temperaturi od 10 °C u toku narednih 20 časova. Nakon toga se reakciona smeša ohladi na 0 °C, doda nova količina *m*-CPBA (0.312. 1.81 mmol g) i metilen-hlorid (9 ml) i intenzivno meša 3 časa, a zatim ostavi na 10 °C u toku 46 časova. Ukupno reakciono vreme iznosi 72 časa. Nakon toga se u

reakcionu smešu doda metilen-hlorid (40 ml), zatim se odvoji od vode, ispira 10%-nim rastvorom natrijum-tiosulfata (20 ml), 5%-nim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata (20 ml) i na kraju razblaženim rastvorom natrijum-hlorida (20 ml). Ekstrakt se zatim suši, odstrani sušilo i rastvarač upari. Dobija se sirovi reakcioni proizvod (0.687 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (21 g, heksan/etil-acetat, 1:3), pri čemu se dobija čisto jedinjenja **12** u obliku ulja (0.078 g, 26.6%).

Stajanjem uzorka jedinjenja **12** na sobnoj temperaturi u toku 3 meseca, došlo je do spontanog otvaranja A-prstena, pri čemu je dobijena 17-oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina (**13**).

17-Oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina (**13**) nastaje i u sledećem sintetskom postupku: 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) (0.3 g, 0.99 mmol) se rastvori u metilen-hloridu (30 ml) na 0 °C i doda se *m*-CPBA (1.064 g, 6.15 mmol). Reakciona smeša se intenzivno meša na 0 °C u toku 3 časa, a zatim ostavi na temperaturi od 10 °C u toku narednih 115 časova. Nakon toga se u reakcionu smešu doda metilen-hlorid (40 ml), zatim se odvoji od vode, ispira 10%-nim rastvorom natrijum-tiosulfata (20 ml), 5%-nim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata (20 ml) i na kraju razblaženim rastvorom natrijum-hlorida (20 ml). Ekstrakt se zatim suši,

odstrani sušilo i rastvarač upari. Dobija se sirovi reakcioni proizvod (0.4025 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (15 g, heksan/etil-acetat, 1:4), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **13** u obliku ulja (0.171 g, 53.6%).

Spektroskopski podaci za jedinjenje **12**:

IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 2944, 1731, 1466, 1404, 1382, 1241, 1190, 1108, 1079, 1040.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.12 (s, 3H, H-18); 1.20 (s, 3H, H-19); 2.61 (m, 1H, H-2a); 2.73 (m, 1H, H-2b); 2.75 (m, 2H, H-15); 3.90 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 4.00 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 9.94 (s, 1H iz CHO).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.67 (C-18); 14.95; 15.04; 19.62 (C-19); 19.71; 23.70; 26.73; 27.01; 32.23; 32.37; 35.41; 38.81; 43.92; 46.89; 50.14; 80.69 (C-5); 80.70 (C-17); 170.32 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 178.71 ($\text{C}_3=\text{O}$); 199.93 (C=O, CHO).

Spektroskopski podaci za jedinjenje **13**:

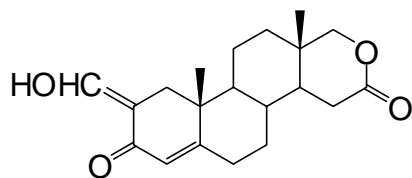
IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 3500, 2944, 1731, 1454, 1407, 1383, 1243, 1196, 1117, 1040.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.08 (s, 3H, H-18); 1.15 (s, 3H, H-19); 2.56 (m, 1H, H-2a); 2.75 (m, 1H, H-2b); 2.81 (m, 2H, H-15); 3.92 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 4.02 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.99 (C-18); 20.27 (C-19); 19.71; 28.79; 29.27; 32.26; 34.03; 37.32; 43.99; 47.00; 50.22; 80.71 (C-17); 170.24 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 178.84 (COOH); 213.55 ($\text{C}_5=\text{O}$).

MS (m/z , %): 335 (7); 323 (100, M^++1); 305 (85).

4.10. (2Z)-Hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (14)



17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**5**) (0.761 g, 2.52 mmol) se rastvori u apsolutnom benzenu (5 ml), doda etil-formijat (1.3 ml, 1.20 g, 16.20 mmol) i natrijum-hidrid (0.50 g, 21.00 mmol). Reakciona smeša se

zagreva na sobnoj temperaturi uz intenzivno mešanje u atmosferi argona u toku 2.5 časa. Po završetku reakcije, u reakcionu smešu se doda vodeni rastvor natrijum-dihidrogenfosfata do pH 7, da se razori višak natrijum-hidrida, a zatim se pH 1 podesi

hlorovodoničnom kiselinom (1:1). Nakon toga se vrši ekstrakcija metilen-hloridom (5 x 10 ml), ekstrakti se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastavrač upari. Dobija se svetložuto ulje (0.958 g), koje se homogenizuje sa silika-gelom (1 g) i prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (14 g, heksan/etil-acetat, 2:1, 1:1). Nakon prekrystalizacije iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan dobija se čisto jedinjenje **14** (0.186 g, 22.4%) u obliku žutih kristala, t.t. 226-227 °C.

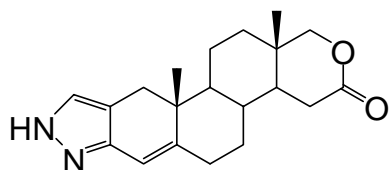
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3400, 3058, 2941, 2857, 1732, 1641, 1570, 1443, 1417, 1381, 1241, 1189, 1040, 1014, 923, 735.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.03 (2s, 6H, H-18, H-19); 2.72 (dd, 1H, $J_1=5.7$ Hz, $J_2=18.4$ Hz, H-15a); 3.88 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.97 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 5.79 (d, 1H, $J=1.5$ Hz, H-4); 7.39 (s, 1H, =CH); 13.72 (bs, 1H, =CH(OH)).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.84 (C-18); 18.07 (C-19); 19.65; 29.25; 31.75; 31.81; 32.11; 34.13; 36.22; 37.14; 39.77; 43.89; 51.88; 80.74 (C-17); 106.02 (C-2); 123.07 (C-4); 165.55 (=CHOH); 168.27 (C-5); 170.40 (C₁₆=O); 188.68 (C₃=O).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 331.19039, nađeno 331.19055.

4.11. 17-oksa-pirazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-on (15)



(2Z)-Hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (**14**) (0.119 g, 0.36 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (5.5 ml) i doda hidrazin-hidrat (0.05 ml), a zatim reakciona smeša zagreva na 80 °C uz intenzivno mešanje

u toku 4 časa. Nakon isteka reakcionog vremena reakcionoj smeši se podesi pH 5 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), doda voda (20 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 10 ml), a zatim etil-acetatom (1 x 10 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastavrač upari. Dobija se sirov proizvod (0.096 g), koji se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (2 g, heksan/etil-acetat, 1:2), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **15** (0.025 g, 21.4%) u obliku belih kristala, t.t. 274-275 °C nakon prekrystalizacije iz sistema etil-acetat/heksan.

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3163, 2927, 2853, 1728, 1474, 1403, 1238, 1194, 1048, 965, 755.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 0.75 (1s, 3H, H-18); 1.02 (1s, 3H, H-19); 2.77 (dd, 1H, $J_1=6.0$ Hz, $J_2=18.7$ Hz, H-15a); 3.90 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.99 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 6.23 (s, 1H, H-4); 7.10 (bs, 1H, NH); 7.30 (s, 1H, =CH(NH)).

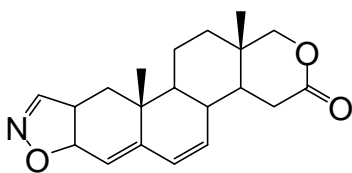
$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6 , δ , ppm): 0.65 (1s, 3H, H-18); 0.90 (1s, 3H, H-19); 6.10 (s, 1H, H-4); 7.23 (s, 1H, =CH(NH)); 13.09 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 11.43 (C-18); 14.95 (C-19); 19.34; 26.29; 29.70; 31.89; 32.19; 34.43; 36.27; 36.54; 41.84; 44.38; 52.60; 81.10 (C-17); 112.66 (C-4); 114.28 (C-2); 132.28 (=CH(NH)); 142.19 (C-5); 147.70 (C-3); 170.97 ($\text{C}_{16}=\text{O}$).

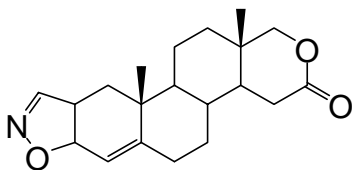
$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO-d_6 , δ , ppm): 11.38 (C-18); 14.55 (C-19); 19.04; 28.60; 29.30; 31.64; 31.78; 33.60; 34.32; 35.62; 36.18; 40.17; 40.51; 43.34; 52.06; 80.15 (C-17); 113.15 (C-4); 137.00 (=CH(NH)); 155.00 (C-3); 170.38 ($\text{C}_{16}=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 327.20670, nađeno 327.20639.

4.12. Izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrosta-4,6-dien-16-on (16) i izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (17)



16



17

Smeša 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (5) (0.414 g, 1.37 mmol), formamida (2.5 ml) i perhlorne kiseline (1 ml) se zagreva na 130 °C uz intenzivno mešanje u toku 8.5 časova. Nakon isteka reakcionog vremena u reakcionu smešu se doda 25%-ni amonijum-hidroksid (10 ml) i vrši destilacija vodenom parom. Nakon toga se reakciona smeša ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastavrač upari. Dobija se sirov proizvod (0.357 g), koji se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (11 g, heksan/etil-acetat, 1:3, 1:5), pri čemu se dobijaju čista jedinjenja **16** (0.035 g, 7.8%, t.t. 97-98 °C) i **17** (0.055 g, 12.2%, t.t. 94-95 °C) u obliku žutih kristala nakon prekrizalzacije iz sistema etil-acetat/heksan.

Spektroskopski podaci za jedinjenje **16**:

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3303, 2937, 2854, 1728, 1665, 1525, 1450, 1382, 1241, 1040, 753.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.02 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.73 (dd, 1H, $J_1=5.6$ Hz, $J_2=18.8$ Hz, H-15a); 3.13 (bs, 1H, H-3); 3.88 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.97 (d, 1H, $J=10.7$ Hz, H-17b); 4.52 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, H-7); 5.18 (s, 1H, H-4); 5.90 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, H-6); 8.18 (s, 1H, N=CH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.98 (C-18); 19.12 (C-19); 19.33; 26.34; 34.30; 30.88; 35.65; 37.25; 38.97 (C-2); 44.14; 45.68; 49.64; 53.18 (C-3); 81.01 (C-17); 120.49 (C-4); 120.69 (C-6); 147.46 (C-7); 161.03 (C-5); 163.96 (N=CH); 170.83 (C₁₆=O).

Spektroskopski podaci za jedinjenje **17**:

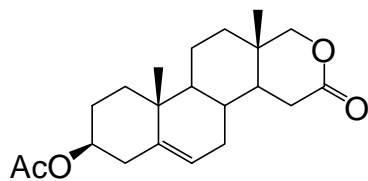
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3300, 2935, 2862, 1731, 1667, 1530, 1450, 1382, 1241, 1042, 754.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 0.95 (s, 3H, C-18); 0.99 (s, 3H, C-19); 2.05 (m, 1H, H-15a); 2.72 (dd, 1H, $J_1=5.5$ Hz, $J_2=13.2$ Hz; H-15b); 3.45 (bs, 1H, H-3); 3.88 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, 17a); 3.97 (d, 1H, $J=10.7$ Hz, H-17b); 6.04 (s, 1H, H-4); 8.15 (s, 1H, N=CH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.84 (C-18); 17.38; 19.21 (C-19); 29.81; 31.69; 32.06; 33.70; 34.09; 35.30; 36.04; 38.41 (C-2); 43.90; 44.68; 49.31; 52.46 (C-3); 80.72 (C-17); 123.94 (C-4); 125.87 (N=CH); 169.47 (C-5); 170.31 (C₁₆=O).

4.13. 17-Oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetat

(**18**)^{216,217}



3 β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**) (0.705 g, 2.32 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (15 ml), a zatim se uz intenzivno mešanje doda anhidrid sirćetne kiseline (7.5 ml). Reakciona smeša se intenzivno meša u toku 1 časa, a zatim ostavi na sobnoj temperaturi naredna 23 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (150 ml) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 2, pri čemu se dobija sirovi proizvod u obliku kristala. Prekristalizacijom iz sistema rastvarača metanol/voda dobija se čisto jedinjenje **18** u prinosu od 79.8% (0.640 g, t.t. 176-177 °C, lit.²¹⁶ t.t. 176-177 °C).

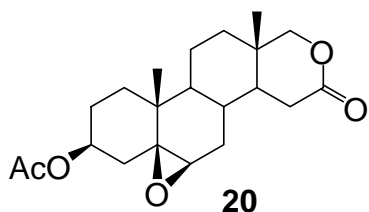
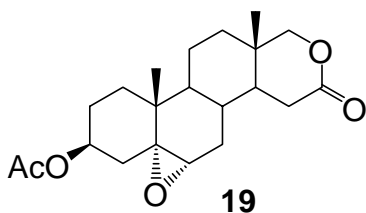
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2942, 2852, 1740, 1438, 1379, 1251, 1197, 1033.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.03 (2s, 6H, H-18, H-19); 2.05 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.72 (dd, 1H, $J_1=5.5$ Hz, $J_2=18.5$ Hz, H-15a); 3.90 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.98 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 4.61 (m, 1H, H-3); 5.38 (d, 1H, $J=5.4$ Hz, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.90 (C-18); 19.27 (C-19); 21.40 (CH_3 iz OAc); 27.62; 30.39; 31.40; 31.88; 32.16; 32.49; 34.17; 36.64; 36.70; 37.88; 44.99 (CH); 48.90; 73.60 (C-3); 81.12 (C-17); 121.44 (C-6); 139.64 (C-5); 170.51 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 170.71 (C=O iz OAc).

MS (m/z , %): 286 (100, $\text{M}^+ - \text{HOAc}$); 271 (14); 227 (9); 179 (9); 145 (8); 121 (16); 105 (19); 79 (11); 55 (7).

4.14. **5 α ,6 α -Epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (19) i 5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (20)**



U rastvor 17-oksa-D-homoandrostan-5-en-16-on-3 β -il acetata (**18**) (2.585 g, 7.47 mmol) u metilen-hloridu (124 ml) dodaje se *m*-CPBA (3.149 g, 18.31 mmol) i zasićen rastvor natrijum-hidrogenkarbonata do pH 8. Reakciona smeša se meša, bez prisustva svetlosti na 0 °C u toku 1 časa. Po isteku reakcionog vremena reakciona smeša se izlije u vodu (50 ml). Organski i vodeni slojevi se odvoje, zatim se vodeni sloj ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 30 ml). Ekstrakti se spoje sa odvojenim organskim slojem, isperu 10%-nim rastvorom natrijum-tiosulfata (60 ml), nakon toga 5%-nim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata (60 ml) i na kraju vodom (60 ml). Nakon sušenja, odstranjivanja sušila i uparavanja rastvarača, dobija se sirova smeša jedinjenja **19** i **20** (1.760 g). Smeša se razdvoji hromatografijom na koloni silika-gela (30 g, toluen/etil-acetat, 8:1 i 3:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **19** u prinosu od 39.0% (1.055 g), u obliku belih kristala (t.t. 178-180 °C nakon prekrizacije iz sistema etil-acetat/heksan).

Spektroskopski podaci ukazuju da je dobijena smeša jedinjenja **19** i **20**, pa su stoga prikazani samo pojedini signali u IR i ^1H NMR spektrima:

IR (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2945, 1735, 1372, 1244, 1034, 755.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 0.95 i 0.97 (2s, 6H, 2H-18); 1.03 i 1.07 (2s, 6H, 2H-19); 1.99 i 2.02 (2s, 6H, 2CH₃ iz 2OAc); 2.68 (m, 2H, H-15); 2.94 (d, 1H, $J=4.2$ Hz, H6- β); 3.14 (d, 1H, $J=4.2$ Hz, H6- α); 3.89 (m, 2H, H-17); 4.92 i 5.09 (m, 2H, 2H-3).

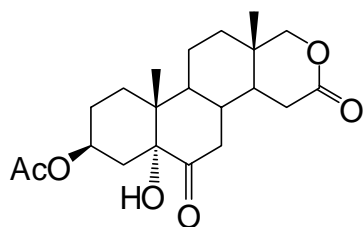
Spektroskopski podaci za jedinjenje **19**:

IR (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2947, 1732, 1378, 1244, 1193, 1037, 754.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 0.96 (s, 3H, H-18); 1.09 (s, 3H, H-19); 2.03 (CH₃ iz OAc); 2.69 (dd, 1H, $J_1=18.5$ Hz, $J_2=5.5$ Hz, H-15a); 2.94 (d, 1H, $J=4.3$ Hz, H6- β); 3.89 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17a); 3.95 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 4.95 (m, 1H, H-3).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.90 (C-18); 15.72 (C-19); 18.79; 21.28 (CH₃ iz OAc); 27.03; 27.47; 30.50; 31.66; 31.81; 32.17; 33.87; 35.07; 35.81; 41.54; 45.26; 58.31 (C-5); 64.83 (C-6); 70.99 (C-3); 80.90 (C-17); 170.19 (C₁₆=O); 170.41 (C=O iz OAc).

4.15. 5 α -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion-3 β -il acetat (**21**)



Smeša 5 α ,6 α -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**19**) i 5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**20**) (0.203 g, 0.56 mmol) se rastvori u acetonu (10 ml) i doda rastvor hrom(VI)-oksid (0.40 g, 4.00 mmol) u vodi (1.5 ml) uz intenzivno mešanje, pri čemu se reakciona

smeša hladi na 0 °C u toku 30 minuta, a zatim ostavi na sobnoj temperaturi narednih 40 minuta. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (30 ml) i ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 30 ml). Nakon sušenja, odstrane se sušilo i rastvarač, pri čemu se dobija sirovi proizvod (0.192 g), koji se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (6 g, toluen/etil-acetat, 7:1, 5:1, 4:1). Prekristalizacijom iz sistema etil-acetat/toluen dobija se čisto jedinjenje **21** (0.139 g, 65.6%, t.t.>300 °C).

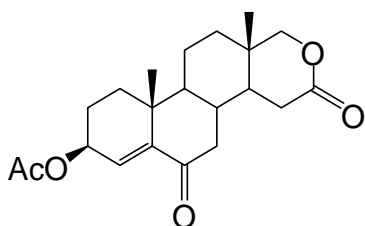
IR (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 3431, 2944, 1716, 1381, 1243, 1031, 754.

¹H NMR (CDCl₃, δ, ppm): 0.82 (s, 3H, H-18); 1.01 (s, 3H, H-19); 2.03 (s, 3H, CH₃ iz OAc); 2.60 (d, 1H, J=5.8 Hz, H-7); 2.69 (dd, 1H, J₁=5.6 Hz, J₂=18.5 Hz, H-15a); 2.80 (bs, 1H, 5α-OH); 3.92 (d, 1H, J=10.8 Hz, H-17a); 4.00 (d, 1H, J=10.9 Hz, H-17b); 5.03 (m, 1H, H-3).

¹³C NMR (CDCl₃, δ, ppm): 15.04 (C-18); 19.67 (C-19); 21.33 (CH₃ iz OAc); 26.11; 29.25; 29.64; 31.42; 32.10; 32.71; 34.21; 37.56; 39.51; 42.08; 43.11; 44.43; 70.50 (C-3); 79.63 (C-5); 80.83 (C-17); 170.28 (C₁₆=O); 171.17 (C=O iz OAc); 211.02 (C₆=O).

HRMS TOF (m/z) za C₂₁H₃₀O₆: [M+H]⁺ računato 379.21152, nađeno 379.21164.

4.16. 17-Oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3β-il acetat (22)



U apsolutnom piridinu (7.0 ml) se rastvori 5α-hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-6,16-dion-3β-il acetat (**21**) (0.173 g, 0.47 mmol) na 0 °C i doda prethodno ohlađen tionil-hlorid (0.3 ml). Reakciona smeša se intenzivno meša na 0 °C u toku 2 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml), doda hlorovodonična kiselina (1:1) do pH 1, a zatim ekstrahuje metilen-hloridom (4 x 10 ml). Ekstrakt se suši, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Dobija se sirovi reakcioni proizvod (0.086 g), koji se prečisti na koloni silika gela (1 g, heksan/etil-acetat 1:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **22** u prinosu 37.7%, (0.062 g, t.t. 168-170 °C nakon prekrystalizacije iz sistema etil-acetat/heksan).

Alternativni postupak sinteze jedinjenja 22

17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-trion (**6**) (0.071 g, 0.22 mmol) se rastvori u metanolu (15 ml), dodaje se kobalt-hlorid heksahidrat (0.055 g, 2.7 mmol) i natrijum-borhidrid (0.027 g, 7.1 mmol) u toku 10 minuta. Reakciona smeša se intenzivno meša na sobnoj temperaturi u toku 50 minuta. Nakon toga, metanol se upari, doda voda (80 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (4 x 10 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, nakon čega se sušilo odstrani, a rastvarač upari. Dobija se 3β-hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion **6a** (0.07 g).

Bez prethodnog prečišćavanja sirov intermedijer **6a** (0.07 g) se acetiluje (apsolutni piridin, 1.5 ml i anhidrid sirćetne kiseline, 1 ml). Reakciona smeša se uz

intenzivno mešanje ostavi na sobnoj temperaturi u toku 24 časa. Nakon završene reakcije, reakciona smeša se zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) na pH 1, pri čemu se stvara beo talog, a prekristalizacijom iz sistema metilen-hlorid/heksan se dobija čisto jedinjenje **22** (0.017 g, 21.3%, t.t. 168-170 °C).

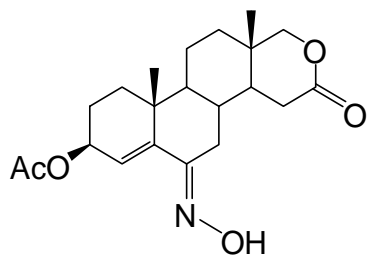
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2947, 1734, 1691, 1637, 1406, 1237, 1194, 1164, 1095, 1061.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.03 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.07 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.61 (2dd, 2H, $J_1=3.9$ Hz, $J_2=14.0$ Hz, 2H-15); 2.68 (d, 1H, $J=12.6$ Hz, H-7); 3.92 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 4.01 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 5.34 (m, 1H, H-3); 6.14 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.95 (C-18); 18.96 (C-19); 19.53; 21.11 (CH_3 iz OAc); 24.00; 31.41; 32.29; 33.86; 34.05; 34.52; 37.90; 44.00; 44.90; 49.74; 68.97 (C-3); 80.59 (C-17); 129.83 (C-4); 146.57 (C-5); 169.74 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 170.63 ($\text{C}=\text{O}$ iz OAc); 200.24 ($\text{C}_6=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 361.20095, nađeno 361.20081.

4.17. (6E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**23**)



U 95%-nom etanolu (48 ml) se rastvori 17-oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3 β -il acetat (**22**) (0.746 g, 2.07 mmol), doda hidrosilamin-hidrochlorid (1.100 g, 15.3 mmol) rastvoren u 95%-nom etanolu (13 ml) i natrijum-acetat (0.464 g, 5.66 mmol) rastvoren u 95%-nom etanolu (21 ml).

Reakciona smeša se meša intenzivno 1 čas, a potom ostavi na sobnoj temperaturi u toku 23 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se upari, a zatim doda voda (100 ml), pri čemu se taloži sirov proizvod (0.456 g). Matični lug se ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 10 ml), ekstrakt osuši, a nakon odstranjivanja sušila i rastvarača dobija se još sirovog proizvoda (0.379 g). Ekstrakt i talog se spoje (0.835 g) i prečiste na koloni silika-gela (10 g, heksan/etil-acetat, 1:3), pri čemu se dobija čisto

jedinjenje **23** u obliku belih kristala, u prinosu od 43.2 % (0.336 g), t.t. 179-181 °C nakon prekrizalizacije iz smeše rastvarača etil-acetat/heksan.

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3355, 2945, 1732, 1406, 1380, 1241, 1195, 1020, 754.

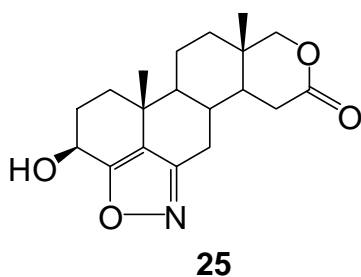
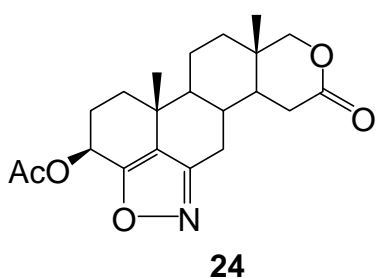
^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.02 (s, 3H, H-18); 1.04 (s, 3H, H-19); 2.07 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.83 (dd, 1H, $J_1=5.4$ Hz, $J_2=18.6$ Hz, H-15); 3.44 (dd, 1H, $J_1=3.2$ Hz, $J_2=14.5$ Hz, H-7); 3.91 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17a); 3.99 (d, 1H, $J=10.8$ Hz, H-17b); 5.30 (m, 1H, H-3); 5.76 (s, 1H, H-4).

^1H NMR (DMSO-d_6 , δ , ppm): 0.89 (s, 3H, H-18); 0.90 (s, 3H, H-19); 2.01 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 5.53 (s, 1H, H-4); 10.83 (s, 1H, =NOH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 15.00 (C-18); 18.61 (C-19); 19.09; 21.26 (CH_3 iz OAc); 21.45; 25.24; 27.62; 31.67; 32.38; 34.02; 34.21; 37.73; 44.88; 51.15; 69.34; 80.75 (C-17); 123.94 (C-4); 142.66 (C-5); 156.67 ($\text{C}_6=\text{NOH}$); 170.10 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 170.88 (C=O iz OAc).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 376.21185, nađeno 376.21186.

4.18. Izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on 3 β -il acetat (**24**) i 3 β -hidroksi-izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**25**)



(6E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**23**) (0.238 g, 0.63 mmol) se rastvori u tetrahidrofuranu (11 ml), doda voda (3 ml) i sledeći reagensi: jod (0.165 g, 0.65 mmol), kalijum-jodid (0.280 g, 1.6 mmol), natrijum-hidrogenkarbonat (0.20 g, 2.3 mmol). Reakciona smeša se meša i zagreva uz refluks u toku 5.5 časova. Nakon isteka reakcionog vremena, izlije se u vodu (20 ml) i doda hlorovodonična kiselina (1:1) do pH 1. Rastvor se ekstrahuje metilen-hloridom (4 x 10 ml), ekstrakti spoje i operu 5%-nim rastvorom natrijum-tiosulfata, osuše, sušilo odstrani i rastvarač upari. Dobija

se sirovi proizvod (0.178 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (5 g, heksan/etil-acetat, 1:1 i 1:2), pri čemu se dobija jedinjenje **24** (0.066 g, 27.9%, t.t. 225-227 °C) i jedinjenje **25** u prinosu od 6.2% (0.013 g, t.t. 150-152 °C) u obliku belih kristala nakon prekrizalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan.

Spektroskopski podaci za jedinjenje **24**:

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3058, 2943, 1736, 1475, 1427, 1405, 1380, 1355, 1235, 1195, 1107, 1051, 1030, 735.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.08 (s, 3H, H-18); 1.22 (s, 3H, H-19); 2.14 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.82 (dd, 1H, $J_1=5.8$ Hz, $J_2=18.5$ Hz, H-15a); 3.03 (dd, 1H, $J_1=7.1$ Hz, $J_2=17.8$ Hz, H-7); 3.92 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17a); 4.01 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 5.86 (t, 1H, $J=8.7$ Hz, H-3).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.97 (C-18); 19.04; 19.93 (C-19); 20.96 (CH_3 iz OAc); 24.77; 26.52; 31.84; 32.61; 32.65; 32.93; 33.61; 36.48; 45.46; 48.29; 65.09 (C-3); 80.52 (C-17); 125.12 (C-5); 157.87 (C-6); 161.42 (C-4); 169.83 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 170.39 (C=O iz OAc).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_5$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 374.19620, nađeno 374.19580.

Spektroskopski podaci za jedinjenje **25**:

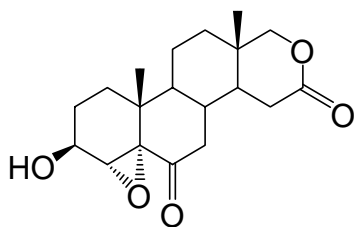
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3409, 2939, 1727, 1405, 1381, 1339, 1233, 1195, 1051, 1028.

^1H NMR (Py-d_5 , δ , ppm): 0.89 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.89 (dd, 1H, $J_1=5.9$ Hz, $J_2=18.5$ Hz, H-15a); 3.00 (dd, 1H, $J_1=7.2$ Hz, $J_2=17.7$ Hz, H-7); 3.86 (d, 1H, $J=5.5$ Hz, H-17a); 3.90 (d, 1H, $J=10.7$ Hz, H-17b); 5.10 (m, 1H, H-3); 8.52 (s, 1H, OH).

^{13}C NMR (Py-d_5 , δ , ppm): 16.54 (C-18); 21.94 (C-19); 26.84; 32.63; 32.95; 34.05; 34.57; 34.75; 35.49; 38.63; 47.25; 50.02; 50.33; 65.67 (C-3); 82.37 (C-17); 131.68 (C-5); 160.35 (C-6); 168.82 (C-4); 171.85 ($\text{C}_{16}=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 332.18563, nađeno 332.18589.

4.19. $4\alpha,5\alpha$ -Epoksi- 3β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion (**26**)



17-Oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion- 3β -il acetat (**22**) (0.349 g, 0.96 mmol) se rastvori u metanolu (11.5 ml) i doda rastvor natrijum-hidroksida (3 ml, 4 M) i 30%-ni vodonik-

peroksid (4.5 ml). Reakciona smeša se meša u toku 3 časa na 0 °C, nakon toga se doda hlorovodonična kiselina (1:1) do pH 1 i dalje se meša još 1 čas na 0 °C, nakon čega se ekstrahuje metilen-hloridom (4 x 10 ml). Ekstrakt se suši, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Dobija se sirovi proizvod u obliku belog ulja (0.278 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (6 g, heksan/etil-acetat, 6:1 i 1:5), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **26** u prinosu od 38.0% (0.123 g, t.t. 253-255 °C nakon prekriztalizacije iz sistema heksan/etil-acetat).

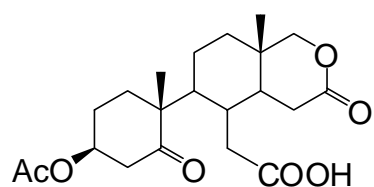
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3446, 2948, 1723, 1456, 1406, 1383, 1268, 1245, 1196, 1061, 1036, 926.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.04 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.65 (dd, 1H, $J_1=5.4$ Hz, $J_2=9.7$ Hz, H-15a); 2.70 (d, 1H, $J=3.8$ Hz, H-7); 3.31 (d, 1H, $J=3.0$ Hz, H-4); 3.92 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17a); 4.02 (d, 1H, $J=11.0$ Hz, H-17b); 4.07 (s, 1H, H-3).

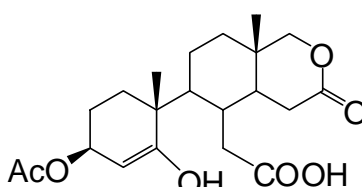
^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 14.86 (C-18), 18.15 (C-19); 19.64; 25.51; 29.28; 31.48; 32.32; 33.94; 35.12; 37.68; 44.32; 44.78; 47.10; 62.87 (C-4); 64.65 (C-3); 69.17 (C-5); 80.50 (C-17); 169.56 ($\text{C}_{16}=\text{O}$); 203.83 ($\text{C}_6=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z , %) za $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_5$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 335.18530, nađeno 335.18451.

4.20. Proizvodi oksidacije 17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetata (**18**) sa hrom(VI)-oksidom

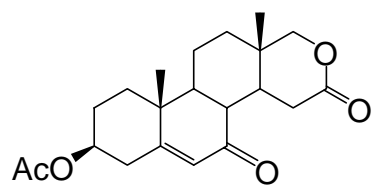


+



17-Oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetat (**18**) (0.566 g, 1.63 mmol) se rastvori u 50%-noj sirćetnoj

27, 28



29

kiselini (6.5 ml) i doda rastvor hrom(VI)-oksida u sirćetnoj kiselini (7.8 ml).^{*} Reakciona smeša se zagreva na 60 °C uz intenzivno mešanje u toku 3 časa. Po isteku reakcionog vremena, doda se metanol (4 ml), da izreaguje višak hrom(VI)-oksida, a rastvarač se zatim upari.

^{*}Rastvor hrom(VI)-oksida se priprema tako što se hrom(VI)-oksid (2.0 g, 20 mmol) rastvori u 10 ml 50%-ne sirćetne kiseline, uz hlađenje i intenzivno mešanje.

Nakon toga se u reakcionu smešu doda voda (10 ml) i vrši ekstrakcija etil-acetatom (5 x 5 ml). Ekstrakt se suši, zatim se sušilo ukloni, a rastvarač upari, pri čemu se dobija sirovi reakcioni proizvod (0.158 g), koji se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (6 g, heksan/etil-acetat, 1:1, 1:2). Dobija se smeša jedinjenja **27** i **28** (0.043 g, 6.5%) u obliku ulja i jedinjenje **29** u obliku belih kristala (0.076 g, 12.9%, t.t. 213-214 °C, lit.²¹⁷ t.t. 213-214 °C).

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **27** i **28**:

IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 3500, 2966, 1732, 1406, 1382, 1245, 1137, 925, 755.

¹H NMR (Py-d₅, δ , ppm): 0.90 i 0.92 (2s, 6H, 2H-18); 1.15 i 1.20 (2s, 6H, 2H-19); 1.92 i 1.99 (2s, 6H, 2CH₃ iz 2OAc); 8.538 i 8.541 (2C=O iz 2COOH).

¹³C NMR (Py-d₅, δ , ppm): 15.90 (C-18); 19.41 i 19.97 (2C-19); 22.47; 23.00; 24.53; 24.81; 26.76; 33.48; 34.06; 34.10; 35.11; 35.65; 35.71; 36.29; 36.55; 37.39; 38.21; 42.13; 43.07; 43.54; 44.43; 45.21; 49.69; 54.28; 75.73 (C-3); 82.07 (C-17); 130.42; 148.33; 171.50 i 171.63 (2C=O iz 2OAc); 171.76 (C₁₆=O); 176.36 i 176.81 (2C=O iz 2COOH); 217.27 (C₅=O).

MS (m/z, %): 393 (3, M⁺-1); 357 (15); 335 (100); 317 (68).

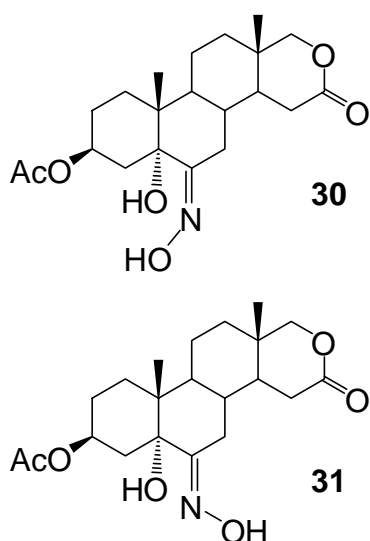
Spektroskopski podaci za jedinjenje **29**.²¹⁵

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 2950, 1732, 1672, 1467, 1380, 1243, 1183, 1039, 754.

¹H NMR (CDCl₃, δ , ppm): 1.03 (s, 3H, H-18); 1.27 (s, 3H, H-19); 2.07 (s, 3H, CH₃ iz OAc); 3.75 (dd, 1H, J₁=5.6 Hz, J₂=18.9 Hz, H-15a); 3.97 (s, 2H, 2H-17); 4.72 (m, 1H, H-3); 5.75 (d, 1H, J=1.4 Hz, H-6).

¹³C NMR (CDCl₃, δ , ppm): 15.15 (C-18); 16.96 (C-19); 19.04; 21.20; 25.17; 27.14; 31.86; 33.19; 33.86; 35.76; 37.76; 44.91; 48.77; 71.96 (C-3); 80.13 (C-17); 117.64; 120.66 (C-6); 163.87 (C-3); 170.49 (C₁₆=O); 187.70 (C=O iz OAc); 199.94 (C₇=O).

4.21. 5 α -Hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (30) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (31)



5 α -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion-3 β -il acetat (**21**) (1.189 g, 3.15 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (140 ml), doda hidrosilamin-hidrohlorid (1.750 g, 25.36 mmol) i natrijum-acetat (0.740 g, 9.02 mmol). Reakciona smeša se intezivno meša na 60 °C u toku 1 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, etanol se upari, zatim se doda voda (50 ml), pri čemu se nastali talog (0.019 g) odvoji. Rastvor se ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 20 ml), ekstrakt se suši, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Dobija se sirovi reakcioni proizvod (1.100 g), koji se pripoji talogu, tako da je

ukupan prinos sirovog proizvoda 1.119 g. Sirovi proizvod se prečisti na koloni silika-gela (11 g, heksan/etil-acetat, 1:1 i 1:4), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **30** i **31** (0.312 g, 25.2 %, t.t. 284-286 °C nakon prekrystalizacije iz sistema heksan/etil-acetat) u obliku belog taloga.

Odnos (6*E*) : (6*Z*) = 1.47 : 1

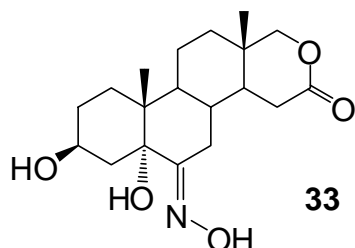
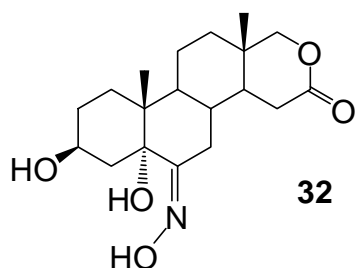
Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **30** i **31**:

IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3435, 3017, 2945, 1716, 1574, 1474, 1405, 1381, 1367, 1244, 1196, 1163, 1031, 755.

^1H NMR (Py- d_5 , δ , ppm): 0.81 i 0.86 (2s, 6H, 2H-18); 0.84 i 0.93 (2s, 6H, 2H-19); 1.95 i 2.00 (2s, 6H, 2CH₃ iz 2OAc); 3.86 (m, 2H, 2H-17); 5.62 i 5.79 (2m, 2H, 2H-3); 7.77 (s, 1H, 5 α -OH); 12.66 (s, 1H, =NOH).

^{13}C NMR (Py- d_5 , δ , ppm): 15.28 (2C-18); 16.41 (2C-19); 21.57; 22.74 (CH₃ iz OAc); 22.79 (CH₃ iz OAc); 24.89; 28.40; 31.36; 33.33; 34.30; 35.82; 37.10; 39.26; 41.47; 42.83; 43.90; 45.04; 72.70 i 73.25 (2C-3); 77.55 i 81.01 (2C-5); 82.26 i 82.41 (2C-17); 161.44 (C₆=NOH); 171.44 (C₁₆=O); 171.66 i 171.87 (2C=O iz 2OAc).

4.22. 3 β ,5 α -Dihidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on (32) i 3 β ,5 α -Dihidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17oksa-D-homoandrostan-16-on (33)



Smeša 5 α -hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**30**) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**31**) (0.190 g, 0.48 mmol) se rastvori u smeši hloroform/etil-acetat (1:1, 4 ml), doda rastvor natrijum-hidroksida (0.5 ml, 4 M) i benzil-trietilamonijum-hlorid (0.005 g, 0.022 mmol). Reakciona smeša se intezivno meša na tački ključanja u toku 1 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, reakcionoj smeši se podesi pH 1 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), zatim doda voda (5 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (4 x 5 ml).

Ekstrakt se suši, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Dobija se sirovi reakcioni proizvod (0.180 g), koji se prečisti na koloni silika-gela (5 g, heksan/etil-acetat, 1:1 i 1:3), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **32** i **33** (0.043 g, 25.3%, t.t. 241-243 °C).

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **32** i **33**:

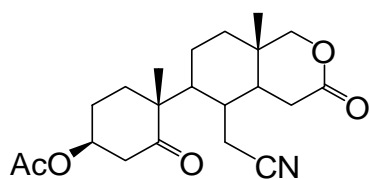
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3365, 2943, 1713, 1556, 1473, 1406, 1382, 1319, 1249, 1196, 1161, 1030, 978, 755.

$^1\text{H NMR}$ (Py- d_5 , δ , ppm): 0.83 i 0.87 (2s, 6H, 2H-18); 0.85 i 0.89 (2s, 6H, 2H-19); 3.83 (d, 1H, $J=10.0$ Hz, H-17a); 3.85 (d, 1H, $J=10.0$ Hz, H-17b,); 4.65 i 4.70 (2m, 2H, 2H-3); 6.67 i 7.36 (2bs, 2H, 3 β OH, 2x5 α -OH); 12.60 (s, 1H, =NOH).

U $^1\text{H NMR}$ spektru sa deutero vodom gube se signali na 6.67 ppm, 7.36 ppm i 12.60 ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (Py- d_5 , δ , ppm): 15.52 (C-18); 16.36 (C-19); 21.68; 31.88; 33.10; 33.37; 33.65; 34.32; 35.92; 37.18; 38.97; 39.28; 41.58; 42.94; 43.96; 45.20; 45.70; 46.08; 68.13; 66.48 (C-3); 77.89 (C-17); 81.34; 82.32; 82.46; 162.10 (C₆=NOH); 171.55 (C₁₆=O).

4.23. 3 β -acetoksi-17-oksa-5,16-diokso-5,6-seko-D-homoandrostan-6-nitril (**34**)



U smešu 5 α -hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**30**) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**31**) (0.17 g, 0.43 mmol) se doda apsolutni piridin (4 ml) i anhidrid sirćetne kiseline (2 ml). Reakciona smeša se intenzivno meša na 70 °C u toku 2 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se ohladi, izlije u hladnu vodu (15 ml) i podesi pH na 1-2 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), zatim ekstrahuje metilen-hloridom (5 \times 5 ml), a ekstrakt osuši. Nakon odstranjivanja sušila i rastvarača sirovi reakcioni proizvod (0.160 g) se prečisti na koloni silika-gela (5 g, heksan/etil-acetat, 1:1, 1:3), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **34** u obliku ulja (0.045 g, 27.8 %).

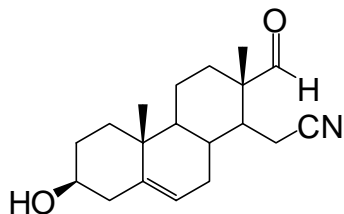
IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 2947, 2245, 1732, 1638, 1474, 1441, 1406, 1367, 1243, 1197, 1031, 755.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 1.02 (s, 1H, H-18); 1.03 (s, 1H, H-19); 2.04 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.66 (m, 3H, H-4, H-7, H-15a); 3.37 (dd, 1H, $J_1=4.4$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, H-15a); 3.95 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17a); 4.03 (d, 1H, $J=10.9$ Hz, H-17b); 5.43 (bs, 1H, H-3).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 14.84 (C-18); 16.92 (C-19); 17.41; 20.53; 20.72; 21.18; 24.98; 31.59; 32.33; 33.88; 36.67; 40.81; 41.51; 43.52; 52.10; 72.92 (C-3); 80.17 (C-17); 117.26 (C \equiv N); 168.96 (C $_{16}=\text{O}$); 170.05 (C=O iz -OAc); 215.66 (C $_5=\text{O}$).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ računato 398.19379, nađeno 398.19353.

4.24. 3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**35**)¹⁰



16-Hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**3**) (4.7 g, 14.73 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (66 ml), zatim se dokapava rastvor *p*-toluensulfonil-hlorida (8.70 g, 45.78

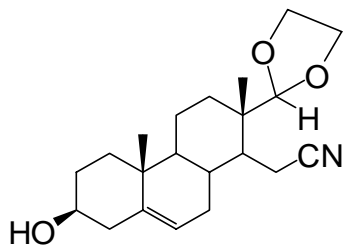
mmol) u apsolutnom piridinu (50 ml), uz neprestano mešanje reakcione smeše. Reakciona smeša se ostavi u toku 45 minuta na sobnoj temperaturi i nakon toga u reakcionu smešu se doda kristalić leda, da se reakcija prekine, a zatim izlije u hladnu vodu (400 ml). Hlorovodoničnom kiselinom (1:1) se podesi na pH 1, pri čemu kristališe jedinjenje **35** (1.640 g, 37.0%). Talog se procedi a matični lug ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 40 ml), ekstrakt suši, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Ekstrakt i talog se spoje (2.410 g) i prekrystališu iz apsolutnog etanola, pri čemu se dobija čisto jedinjenje **35** (3.40 g, 76.6%, t.t. 129-131 °C, lit.¹⁰ t.t. 130-131 °C).

IR (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 3381, 2928, 2851, 2242, 1719, 1636, 1536, 1467, 1381, 1057, 947

¹H NMR (CDCl₃, δ , ppm): 1.02 (s, 3H, H-19); 1.20 (s, 3H, H-18); 3.53 (m, 1H, 3-H); 5.35 (d, 1H, J=5.0 Hz, H-6); 9.37 (s, 1H, CHO, H-17).

¹³C NMR (CDCl₃, δ , ppm): 13.15 (C-18); 17.43; 18.71; 19.13 (C-19); 31.15; 31.29; 31.55; 32.66; 36.54; 36.75; 40.99; 41.67; 48.60; 49.68; 71.20 (C-3); 118.53 (C≡N); 119.97 (C-6); 140.35 (C-5); 205.03 (C=O, CHO).

4.25. 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (**36**)²²⁷



Rastvoru 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitrila (**35**) (0.500 g, 1.66 mmol) u etilenglikolu (12 ml) se doda *p*-toluensulfonska kiselina (0.030 g, 0.17 mmol). Reakciona smeša se meša na 37-40 °C u toku 40 minuta, a zatim se izlije u vodu (50 ml) i podesi na pH 8 zasićenim

rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata. Izdvojeni talog se procedi, osuši, a nakon prekrystalizacije iz smeše rastvarača metilen-hlorid/heksan, dobija se čisto jedinjenje **36** (0.430 g, 75.0%, t.t. 151 °C).

IR (KBr, ν_{\max} , cm⁻¹): 3439, 2968, 2940, 2895, 2242, 1634, 1469, 1224, 1103, 1067, 1029.

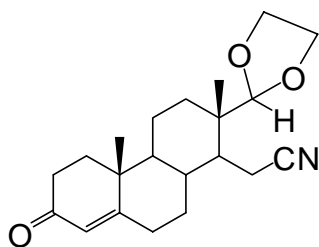
¹H NMR (CDCl₃, δ , ppm): 1.02 (s, 3H, H-19); 1.04 (s, 3H, H-18); 2.68 (m, 2H, 2H-15); 3.53 (m, 1H, H-3); 3.90 (m, 4H, O(CH₂)₂O); 4.51 (s, 1H, H-17); 5.36 (d, 1H, J=5.2 Hz, H-6).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.84 (C-18); 16.31; 19.22 (C-19); 19.55; 31.46; 31.78; 32.68; 33.42; 36.73; 36.90; 40.19; 41.90; 43.51; 49.09; 65.31 i 64.52 ($\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 71.56 (C-3); 110.09 (C-17); 120.06 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 120.53 (C-6); 140.42 (C-5).

MS (m/z, %): 345 (2, M^+); 91 (4); 73 (100).

Elementarna analiza (%): računato za $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_3 \times 0.25 \text{H}_2\text{O}$: C, 72.07; H, 8.93; N, 4.00; nađeno: C, 72.24; H, 9.19; N, 3.81.

4.26. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (37)²²⁷



Jedinjenje **36** (3β -hidroksi-13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril) (0.130 g, 0.38 mmol) se rastvori u cikloheksanonu (2.5 ml) i doda aluminijum-izopropoksid (0.120 g, 0.59 mmol). Reakciona smeša se zagreva na tački ključanja uz intenzivno mešanje u toku 8.5 časova. Po završetku

reakcije, višak cikloheksanona se ukloni destilacijom sa vodenom parom. Nakon toga, se vrši ekstrakcija metilen-hloridom (4 x 10 ml), zatim se organski ekstrakti spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastvarač ukloni uparavanjem. Sirovi proizvod u obliku svetložutog ulja se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (5 g, toluen/etil-acetat, 4:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **37** u obliku belih kristala (0.060 g, 46.5%, t.t. 142-144 °C nakon prekrizalizacije iz smeše rastvarača metilen-hlorid/heksan).

IR (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2945, 2855, 2242, 1670, 1616, 1468, 1273, 1231, 1189, 1130, 1093, 1072, 1032.

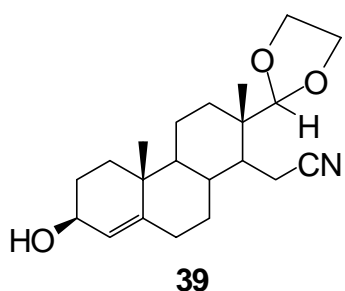
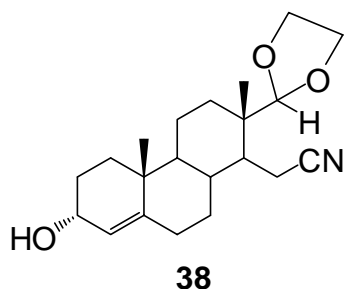
^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.04 (s, 3H, H-19); 1.20 (s, 3H, H-18); 2.74 (m, 2H, 2H-15); 3.90 (m, 4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 4.51 (s, 1H, H-17); 5.76 (s, 1H, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.88 (C-18); 16.27; 17.54 (C-19); 19.70; 31.22; 32.46; 33.64; 33.82; 35.48; 36.21; 38.59; 40.14; 42.41; 52.66; 65.31 i 64.53 ($\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 109.82 (C-17); 119.82 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 123.78 (C-4); 169.83 (C-5); 199.24 ($\text{C}_3=\text{O}$).

MS (m/z, %): 343 (2, M^+); 303 (11); 73 (100).

Elementarna analiza (%): računato za $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_3 \times 0.5 \text{H}_2\text{O}$: C, 71.56; H, 8.29; N, 3.97; nađeno: C, 71.12; H, 8.51; N, 3.96.

4.27. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (38) i 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (39)²⁰⁰



13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**37**) (0.130 g, 0.38 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (10 ml) i doda natrijum-borhidrid (0.107 g, 2.83 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 časa. Po isteku reakcionog vremena reakciona smeša se upari na polovinu zapremine i izlije u vodu (10 ml). Vrš se ekstrakcija metilen-hloridom (4 x 15 ml), ekstrakti se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Sirov proizvod u vidu viskoznog žutog ulja (0.133 g) se zatim prečisti na koloni silika-gela (3 g, toluen/etil-acetat, 8:1, 1:1), pri čemu se dobija 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**38**) u vidu svetložutog ulja

(0.039 g, 29.8%) i 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**39**) u vidu belih kristala (0.066 g, 50.4%, t.t. 119 °C nakon prekristalizacije iz sistema toluen/etil-acetat).

Spektroskopski podaci za jedinjenje **38**:

IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 3383, 2926, 2856, 2242, 1450, 1379, 1288, 1098, 1043, 987.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 0.93 (s, 3H, H-18); 1.01 (s, 3H, H-19); 2.68 (m, 2H, 2H-15); 3.83 (m, 1H, H-3); 3.93 (m, 4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 4.50 (s, 1H, H-17); 5.02 (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 13.85 (C-18); 16.29; 18.26 (C-19); 19.54; 31.96; 33.88; 34.04; 34.87; 39.56; 36.43; 36.51; 40.36; 42.71; 52.94; 64.53 i 65.28 ($\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 71.60 (C-3); 110.09 (C-17); 120.90 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 124.00 (C-4); 149.00 (C-5).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato. 346.23767, nađeno 346.23539.

Spektroskopski podaci za jedinjenje **39**:

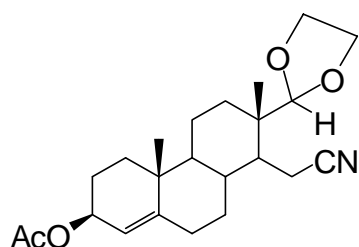
IR (KBr, ν_{\max} , cm^{-1}): 3425, 2939, 2242, 1443, 1380, 1215, 1098, 1076, 1001.

^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.03 (s, 3H, H-18); 1.06 (s, 3H, H-19); 2.68 (m, 2H, 2H-15); 3.88 (m, 4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 4.15 (m, 1H, H-3); 4.49 (s, 1H, H-17); 5.31 (d, 1H, $J=1.2$ Hz, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.88 (C-18); 16.32; 19.03 (C-19); 19.65; 29.40; 31.77; 32.33; 33.82; 35.14; 36.62; 37.37; 40.22; 42.77; 53.27; 64.51 i 65.29 ($\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 67.81 (C-3); 110.04 (C-17); 120.18 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 123.61 (C-4); 146.34 (C-5).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato 346.23767, nađeno 346.23577.

4.28. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril-3 β -il acetat (**40**)²⁰⁰



Jedinjenje **39** (3 β -hidroksi-13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril) (0.066 g, 0.19 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (4 ml) i doda anhidrid sirćetne kiseline (4 ml). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi tokom 19 časova. Po isteku reakcionog

vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml) i vrši ekstrakcija etil-acetatom (5 \times 5 ml). Organski slojevi se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Dobija se sirov proizvod u vidu svetlo-žutog ulja (0.076 g). Čist 13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril-3 β -il acetat (**40**) se dobija prekrizacijom iz heksana u vidu belih kristala (0.063 g, 85.1%, t.t. 100-102 $^\circ\text{C}$).

IR (KBr, ν_{max} , cm^{-1}): 2938, 2854, 2241, 1731, 1452, 1367, 1245, 1139, 1101, 1028, 756.

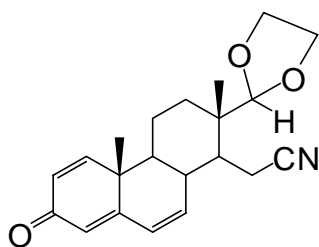
^1H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.04 (s, 3H, H-18); 1.08 (s, 3H, H-19); 2.05 (s, 3H, CH_3 iz OAc); 2.70 (m, 2H, 2H-15); 3.93 (m, 4H, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 4.51 (s, 1H, H-17); 5.20 (m, 1H, H-3); 5.26 (s, 1H, H-4).

^{13}C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.89 (C-18); 16.30; 18.93 (C-19); 19.60; 21.42 (CH_3 iz OAc); 29.68; 31.80; 32.16; 33.75; 34.74; 36.45; 37.37; 40.22; 42.63; 53.04; 64.51 i 65.29 ($\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 70.66 (C-3); 110.00 (C-17); 119.27 (C-4); 120.09 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 148.22 (C-5); 171.00 (C=O iz OAc).

HRMS TOF (m/z) za $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_4$: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ izračunato. 410.23018, nađeno 410.22848.

Elementarna mikroanaliza (%): računato za $C_{23}H_{33}NO_4 \times 0.5 H_2O$: C, 69.67; H, 8.64; N, 3.53; nađeno: C, 69.24; H, 8.80; N, 3.42.

4.29. 13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (**41**)²⁰⁰



3 β -Hidroksi-13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (**36**) (0.170 g, 0.49 mmol) se rastvori u dioksanu (7 ml), doda 2,3-dihloro-5,6-dicijano-benzohinon (DDQ, 0.370 g, 1.63 mmol), a zatim se vrši refluks u toku 2 časa, nakon čega se u reakcionu smešu doda još 2,3-dihloro-5,6-dicijano-benzohinona (0.120 g, 0.53 mmol) i dioksana (2 ml). Nakon ukupno 28 časova refluksa reakcija se prekida. Reakciona smeša se izlije u zasićen rastvor natrijum-karbonata (10 ml, pH 10) i izvrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 15 ml). Organski slojevi se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Sirovi proizvod (0.15 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika-gela (5 g, heksan/etil-acetat, 1:6), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **41** u prinosu od 41.9% (0.070 g), t.t. 135-137 °C nakon prekrizalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan.

IR (KBr, ν_{max}, cm^{-1}): 2977, 2938, 2874, 2242, 1731, 1655, 1605, 1585, 1456, 1291, 1267, 1109, 1095, 956, 893,

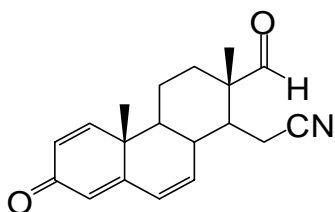
¹H NMR (CDCl₃, δ , ppm): 1.12 (s, 3H, H-19); 1.20 (s, 3H, H-18); 1.62 (m, 1H, H-9); 1.87 (m, 1H, H-14); 2.69 (t, J=10.3 Hz, H-8); 2.91 (m, 2H, 2H-15); 3.90 (m, 4H, OCH₂CH₂O); 4.51 (s, 1H, H-17); 6.06 (s, 1H, H-4); 6.19 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=10.1 Hz, H-7); 6.28 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=10.1 Hz, H-2); 6.39 (dd, J₁=2.8 Hz, J₂=10.1 Hz, H-6); 7.08 (d, J=10.1 Hz, H-1).

¹³C NMR (CDCl₃, δ , ppm): 13.77 (C-19); 16.25; 20.51 (C-18); 20.54; 33.73; 36.84; 38.56; 40.38; 40.95; 46.87; 64.51 i 65.26 (-OCH₂CH₂O-); 109.60 (C-17); 119.61 (C \equiv N); 124.14 (C-4); 128.43 (C-2); 129.20 (C-6); 134.32 (C-7); 152.16 (C-1); 160.94 (C-5); 186.08 (C₃=O).

HRMS (TOF) (m/z) za C₂₁H₂₅NO₃: [M+H]⁺ izračunato 340.19072, nađeno 340.19041.

4.30. 3,17-Diokso-16,17-sekoandrosta-1,4,6-trien-16-nitril

(42)²⁰⁰



13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (**41**) (0.080 g, 0.24 mmol) se rastvori u mravljoj kiselini (1 ml) i reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa. Nakon isteka reakcionog vremena reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml) i podesi

5%-nim rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata na pH 7, a zatim vrši ekstrakcija metilenhloridom (3 × 5 ml). Ekstrakti se spoje, osuše, odstrani sušilo, a rastvarač upari. Sirovi proizvod u vidu žutog ulja (0.079 g) se prečisti na koloni silika-gela (3 g, toluen/etilacetat 5:1), pri čemu se dobija se čisto jedinjenje **42** (0.057 g, 81.4%) u vidu svetlo-žutog ulja.

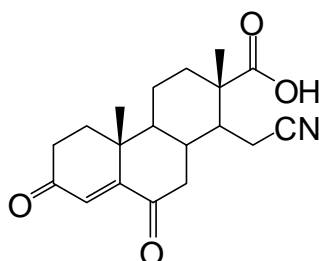
IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 2932, 2856, 2244, 1722, 1654, 1604, 1460, 1405, 1380, 1291, 1017, 893.

¹H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.24 i 1.33 (2s, 6H, H-18, H-19); 1.71 (m, 1H, H-9); 2.38 (dd, 1H, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, H-15a); 2.55 (m, 1H, H-8); 2.67 (dd, 1H, $J_1=5.9$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, H-15b); 6.10 (s, 1H, H-4); 6.16 (dd, 1H, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=10.1$ Hz, H-7); 6.31 (dd, 1H, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, H-2); 6.43 (dd, 1H, $J_1=2.9$ Hz, $J_2=10.1$ Hz, H-6); 7.07 (d, 1H, $J=10.2$ Hz, H-1); 9.37 (s, 1H iz CHO, H-17).

¹³C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 13.51 (C-18); 17.45; 19.95; 20.59 (C-19); 32.75; 37.57; 38.22; 40.76; 46.62; 49.88; 118.12 (C≡N); 124.65 (C-4); 128.74 (C-2); 129.64 (C-6); 132.99 (C-7); 151.50 (C-1); 160.14 (C-5); 185.86 (C₃=O); 203.69 (C₁₇=O).

MS (m/z, %): 295 (21, M⁺); 211 (58); 171 (79); 128 (100); 115 (72).

4.31. 15-Cijano-16,17-seko-17-norandrost-4-en-3,6-dion-13-karboksilna kiselina (43)²⁰⁰



3β-Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (35)

(0.437g, 1.45 mmol) se rastvori u acetonu (50 ml) i smeša ohladi na 0 °C. U ohlađeni rastvor se uz mešanje polako dokapava prethodno pripremljen *Jones-ov reagens** (3 ml), pri čemu se temperatura reakcione smeše održava na 0 °C.

Jones-ov reagens se dokapava do nastanka narandžastog obojenja reakcione smeše. Nakon 2.5 časa reakcija se prekida dodatkom metanola (33 ml), pri čemu se neizreagovani hrom(VI)-oksid taloži u vidu zelenog hrom(III)-oksida. Reakciona smeša se upari na polovinu zapremine, zatim izlije u vodu (25 ml) i vrši ekstrakcija metilenhloridom (4 x 20 ml). Organski slojevi se spoje, osuše, sušilo odstrani i rastvarač upari. Dobija se proizvod u vidu viskoznog ulja (0.800 g). Sirovi proizvod se prečisti na koloni silika-gela (3 g, toluen/etil-acetat 5:1), nakon čega se dobija 15-cijano-16,17-seko-17-norandrost-4-en-3,6-dion-13-karboksilna kiselina (43) u vidu žutog ulja (0.180 g, 37.6%).

IR (film, ν_{\max} , cm^{-1}): 3500, 2952, 2246, 1693, 1468, 1388, 1222, 1117, 1088, 1040.

¹H NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 1.20 (s, 3H, H-19); 1.33 (s, 3H, H-18); 2.97 (dd, 1H, $J_1=2.1$ Hz, $J_2=10.1$ Hz, H-15a); 6.27 (s, 1H, H-4).

¹³C NMR (CDCl_3 , δ , ppm): 15.10 (C-18); 17.43 (C-19); 18.12; 29.22; 33.70; 33.77; 35.04; 36.31; 39.04; 43.13; 44.99; 46.53; 48.96; 117.92 (C≡N); 126.16 (C-4); 158.55 (C-5); 181.65 (C=O iz COOH); 199.11 (C₃=O); 199.60 (C₆=O).

MS (m/z, %): 330 (8, M⁺+1); 253 (78); 213 (32); 129 (100).

**Jones-ov reagens* se priprema tako što se hrom(VI)-oksid (3.430 g, 34.30 mmol) rastvori u vodi (12 ml), a zatim se u dobijeni rastvor dokapava koncentrovana sumporna kiselina (3 ml) uz hlađenje i intenzivno mešanje.

5. ZAKLJUČAK

U ovom doktorskom radu su sintetizovani novi D-homo i D-seko androstanski derivati, sa modifikovanim A i/ili B prstenovima i ispitana je njihova biološka aktivnost. Kao polazno jedinjenje u ovim sintezama je poslužio dehidroepiandrosteron (**1**).

Dehidroepiandrosteron (**1**) je podvrgnut reakciji oksiminovanja u položaju C-16 sa *i*-amil-nitritom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida u *terc*-butanolu, pri čemu je dobijen 3 β -hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (**2**), koji je redukovano natrijum-borhidridom i dobijen je 16-hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diol (**3**). U cilju dobijanja jedinjenja **4** sa D-homo laktonskom funkcijom, jedinjenje **3** je reagovalo sa kalijum-hidroksidom u etilenglikolu, uz refluks u toku 3 časa, a zatim na pH 1-2 nastaje 3 β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (**4**). Jedinjenje **4** je poslužilo kao polazno jedinjenje u sintezi novih D-homo derivata.

U cilju uvođenja 4-en-3-onskog sistema u jedinjenje **4** i dobijanja 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-diona (**5**), izvršena je *Oppenauer*-ova oksidacija cikloheksanonom i aluminijum-*izo*-propoksidom u toluenu uz koodestilaciju (i zatim na pH 1-2).

Sledeća faza rada obuhvatala je sintezu 17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-triona (**6**), koji je dobijen oksidacijom jedinjenja **4** *Jones*-ovim reagensom. Kod jedinjenja **6**, oksimino funkcije su uvedene u položaje C-3 i C-6, pri čemu su dobijeni (3*Z*,6*E*)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**9**) i (3*E*,6*E*)-dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**10**). Struktura jedinjenja **10** je nepobitno dokazana i rentgeno-strukturnom analizom.

Dva nova izomerna 3-oksimino derivata (3*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**7**) i (3*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**8**) su dobijena u reakciji jedinjenja **5** sa hidroksilamin-hidrohloridom i natrijum-acetatom na 70 °C u toku 1 časa. Smeša (3*E*)- i (3*Z*)-oksimino derivata **7** i **8** je poslužila za sintezu

2a-aza-17-oksa-A,D-dihomoandrost-4-en-3,16-diona (11), Beckmann-ovom fragmentacijom (u reakciji sa tionil-hloridom u dioksanu).

U daljem radu u cilju modifikacije A-prstena D-homo laktonskih derivata primenjena je *Baeyer-Villiger*-ova oksidacija jedinjenja 5, *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom na 0-10 °C u toku 72 časa, kada je neočekivano dobijen 3,16-diokso-4,17-dioksa-D-homoandrost-5 α -karbaldehid (12), tj. derivat, koji sadrži A- i D-homo dilaktonski sistem. Na osnovu spektroskopskih podataka je utvrđeno da se derivat 12 u toku dužeg vremenskog intervala (90 dana) na sobnoj temperaturi transformiše u derivat 13, koji u svojoj strukturi ima A-seko-keto karboksilnu kiselinu. Jedinjenje 13 (17-oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina) je sintetizovano i *Baeyer-Villiger*-ovom oksidacijom jedinjenja 5 *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom na 0-10 °C u toku 118 časova.

Jedinjenje 5 je dalje transformisano u reakciji sa etil-formijatom i natrijum-hidridom u (2Z)-hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (14), koji je prekursor u sintezi derivata 15-17, koji sadrže heterociklični sistem kondenzovan sa A-prstenom. Struktura jedinjenja 14 je nepobitno dokazana i rentgeno-strukturnom analizom. Jedinjenje 14 je modifikovano na dva načina, i to u reakciji sa hidrazin-hidratom, pri čemu je dobijen 17-oksa-pirazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-on (15) i u reakciji sa formamidom i perhlornom kiselinom, pri čemu su dobijeni izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4,6-dien-16-on (16) i izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (17).

Pored pomenutih, sintetizovani su i novi D-homo laktonski derivati 24 i 25 sa kondenzovanim heterocikličnim sistemom sa A,B-prstenovima. Polazno jedinjenje u sintezi je 3 β -acetoksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (18), koji je dobijen acetilovanjem jedinjenja 4. Epoksidacijom jedinjenja 18 *meta*-hlorperbenzoevom kiselinom dobijena je smeša 5 α ,6 α - i 5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrost-16-on-3 β -il acetata (19 i 20), iz koje je izolovano jedinjenje 19. Otvaranjem oksiranskog prstena derivata 19 i 20, hrom(VI)-oksidom, dobijen je 5 α -hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-6,16-dion-3 β -il acetat (21). Struktura jedinjenja 21 je nepobitno dokazana i rentgeno-strukturnom analizom. Jedinjenje 21 dehidratacijom sa tionil-hloridom u apsolutnom piridinu daje 17-oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3 β -il acetat (22).

Oksiminovanjem jedinjenja **22** hidrosilamin-hidrohloridom uz natrijum-acetat dobijen je (6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**23**). Poslednja faza sinteze dva izoksazolska derivata **24** i **25** je reakcija jedinjenja **23** sa jodom i kalijum-jodidom, pri čemu su dobijeni izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat (**24**) i 3 β -hidroksi-izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (**25**), čije strukture su nepobitno potvrđene i rentgeno-strukturnom analizom.

U ovom radu je sintetizovan i nov D-homo laktonski derivat 4 α ,5 α -epoksi-3 β -hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion (**26**), kao potencijalno biološki aktivno jedinjenje, epoksidacijom jedinjenja **22** vodonik-peroksidom u metanolu u baznoj sredini.

U cilju dobijanja novih B-seko D-homo laktonskih androstanskih derivata, uspešno je izvedena sinteza 3 β -acetoksi-17-oksa-5,16-diokso-5,6-seko-D-homoandrostan-6-nitrila (**34**) iz smeše 5 α -hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**30**) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetata (**31**), *Beckmann*-ovom fragmentacijom sa anhidridom sirćetne kiseline u apsolutnom piridinu, koji su prethodno dobijeni oksiminovanjem jedinjenja **21**.

Cilj ove doktorske disertacije je bio i sinteza novih D-seko androstanskih derivata, pri čemu je ključno jedinjenje 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-seko-17-androst-5-en-16-nitril (**35**) dobijen iz 16-hidroksimino-androst-5-en-3 β ,17 β -diola (**3**) sa *p*-toluensulfonil-hloridom u apsolutnom piridinu. Nakon zaštite aldehidne funkcionalne grupe nastaje 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (**36**), koji *Oppenauer*-ovom oksidacijom daje 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**37**), koji je zatim redukovan natrijum-borhidridom, pri čemu su dobijeni 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**38**) i 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**39**), a acetilovanjem jedinjenja **39** je dobijen 3 β -acetoksi-13-(1,3-dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (**40**). Radi uvođenja dvostruke veze u A- i B-prsten steroidnog jezgra, jedinjenje **36** je reagovalo sa 2,3-dihloro-5,6-dicijano-benzohinonom (DDQ) u dioksanu, pri čemu je dobijen 13-(1,3-dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (**41**).

Uklanjanjem etilenglikolne zaštite iz jedinjenja **41** sa mravljom kiselinom dobijen je 3,17-diokso-16,17-sekoandrost-1,4,6-trien-16-nitril (**42**). U sledećoj fazi, kada je jedinjenje **35** reagovalo sa Jones-ovim reagensom, dobijena je 15-cijano-16,17-seko-17-norandrost-4-en-3,6-dion-13-karboksilna kiselina (**43**).

U drugom delu rada je vršeno ispitivanje uticaja polaznih i novosintetizovanih D-homo laktonskih androstanskih derivata **4-6, 10, 11, 14, 18, 19, 21-26** i D-seko androstanskih derivata **36, 37, 39-42** na proliferaciju ćelija humanog adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7), humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), kancera prostate AR- (PC3), kancera cerviksa (HeLa), kancera debelog creva (HT-29), hronične mijeloidne leukemije (K562), kao i na proliferaciju zdravih ćelija fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5).

U D-homo laktonskoj seriji je izvršeno poređenje antiproliferativne aktivnosti polaznog jedinjenja **4** sa novosintetizovanim jedinjenjima. Može se zaključiti da na povećanje antiproliferativne aktivnosti povoljno utiče 4-en-3-onski sistem, 6-keto funkcija, 3,6-dioksimino sistem, A-laktamski sistem, 5 α ,6 α -epoksidna funkcija, 5 α -hidroksi-6-keto sistem, kao i izoksazolnski prsten, koji je kondenzovan sa A- i B-prstenom steroidnog jezgra.

Veći uticaj na proliferaciju ćelija humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231) od polaznog jedinjenja **4** (IC₅₀ 20.20 μ M) je pokazalo jedinjenje **5** (IC₅₀ 9.30 μ M), jedinjenje **11** (IC₅₀ 16.61 μ M), jedinjenje **19** (IC₅₀ 12.98 μ M), jedinjenje **21** (IC₅₀ 15.67 μ M), jedinjenje **23** (IC₅₀ 11.88 μ M), kao i jedinjenje **25** (IC₅₀ 11.24 μ M). Takođe, treba naglasiti da su jedinjenja **4, 5, 11, 14, 18, 19, 21-25** pokazala veću antiproliferativnu aktivnost u poređenju sa formestanom.

Poređenjem dobijenih rezultata ispitivanja antiproliferativne aktivnosti novosintetizovanih jedinjenja prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3), sa polaznim jedinjenjem **4** (IC₅₀ 89.00 μ M), dolazi se do zaključka da jedinjenja **6, 10, 11, 18, 19, 21, 22, 23, 24** pokazuju veću citotoksičnost. Jaku antiproliferativnu aktivnost prema ovoj ćelijskoj liniji su pokazala jedinjenja **11** (IC₅₀ 2.18 μ M) i **19** (IC₅₀ 2.64 μ M). Takođe se može zaključiti da su jedinjenja **6, 10, 11, 19, 22-24** pokazala veću citotoksičnost u poređenju sa formestanom, dok su jedinjenja **4, 6, 10, 11, 18, 19, 21-24** pokazala veću citotoksičnost u poređenju sa doksorubicinom.

Iz dobijenih rezultata se može videti da antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama kancera cerviksa (HeLa), pokazuju samo jedinjenja **10**, **23** i **26**. Jaku citotoksičnost, koja je veća u poređenju sa formestanom (komercijalni antikancer agens; IC_{50} 5.55 μ M), je pokazalo jedinjenje **26** (IC_{50} 4.97 μ M). Nešto manju citotoksičnost pokazuje jedinjenje **10** (IC_{50} 13.86 μ M), kao i jedinjenje **23** (IC_{50} 35.97 μ M).

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti novosintetizovanih jedinjenja sa formestanom (IC_{50} >100 μ M) i doksorubicinom (komercijalni antikancer agens; IC_{50} 0.32 μ M), prema ćelijama kancera debelog creva (HT-29), može se zaključiti da jedinjenje **23** pokazuje jaku citotoksičnost (IC_{50} 3.97 μ M), dok jedinjenje **18** pokazuje umerenu citotoksičnost (IC_{50} 61.16 μ M).

Ukoliko se uporede rezultati dobijeni u D-seko seriji, sa antiproliferativnom aktivnošću formestana (IC_{50} >100 μ M) i doksorubicina (IC_{50} 0.75 μ M), prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7), dolazi se do zaključka da umerenu citotoksičnost pokazuje samo jedinjenje **37** (IC_{50} 39.30 μ M).

Prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), jaku citotoksičnost pokazuje jedinjenje **40** (IC_{50} 10.00 μ M), koja je znatno veća od citotoksičnosti formestana (IC_{50} 55.50 μ M), dok umerenu citotoksičnost (IC_{50} 56.00 μ M) pokazuje samo jedinjenje **36**. Citotoksičnost ovog jedinjenja je vrlo bliska citotoksičnosti formestana (IC_{50} 55.5 μ M).

Prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) jaku citotoksičnost pokazuju jedinjenja **36** (IC_{50} 6.30 μ M) i **37** (IC_{50} 2.20 μ M), koja je znatno veća od citotoksičnosti formestana (IC_{50} 48.36 μ M) i doksorubicina (IC_{50} 95.61 μ M), dok jedinjenje **40** pokazuje umerenu citotoksičnost (IC_{50} 65.00 μ M).

Konačno, važno je istaći da su svi sintetizovani derivati potpuno neaktivni prema zdravim ćelijama fibroblasta pluća MRC-5, što ukazuje da su oni selektivni antitumorski agensi, što može biti od presudnog značaja za njihovu praktičnu primenu.

Na osnovu izloženog, može se zaključiti da novosintetizovana jedinjenja imaju potencijal za primenu u medicini i farmakologiji. Neosporna je njihova citotoksičnost prema nekim ćelijskim linijama tumora, kao i činjenica da su potpuno neaktivna prema zdravim ćelijama fibroblasta pluća, što predstavlja vrlo poželjne osobine, koje se traže od budućih, potencijalnih lekova za tretman malignih bolesti.

6. SUMMARY

In this doctoral thesis new D-homo and D-seco derivatives with a modified A and/or B rings were synthesized and tested for their biological activity. Dehydroepiandrosterone was used (**1**) as a starting compound in these syntheses.

Oximino function was introduced in dehydroepiandrosterone (**1**) in position C-16 with *i*-amyl nitrite in the presence of potassium-*t*-butoxide in *t*-butanol, when 3 β -hydroxy-16-hydroximino-androst-5-en-17-one (**2**) was obtained. Compound **2** was reduced with sodium-borohydride and 16-hydroximino-androst-5-ene-3 β ,17 β -diol (**3**) was obtained. In order to obtain compound **4** with D-homo lactone function, compound **3** was heated in ethyleneglycol with potassium-hydroxide for 3 h, whereby after acid treatment of the reaction mixture resulting 3 β -hydroxy-17-oxa-D-homoandrost-5-en-16-one (**4**) was obtained. Compound **4** was used as a starting compound in synthesis of new D-homo derivatives.

In order to introduce 4-en-3-one system in compound **4**, *Oppenauer* oxidation was performed with cyclohexanone and the aluminum-*i*-propoxide in toluene with codestillation, whereby after acidification 17-oxa-D-homoandrost-4-ene-3,16-dione (**5**) was obtained.

The next phase of work included the synthesis of 17-oxa-D-homoandrost-4-ene-3,6,16-trione (**6**), which was obtained by oxidation of compound **4** with *Jones* reagent. Further, oximino functions were introduced in positions C-3 and C-6 in compound **6**, and (3*Z*, 6*E*)-dihydroximino-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one (**9**) and (3*E*, 6*E*)-dihydroximino-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one (**10**) were obtained. The stereochemistry was confirmed by x-ray diffraction analysis of the crystalline compound **10**.

Two new isomeric 3-oximino derivatives (3*E*)-hydroximino-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one (**7**) and (3*Z*)-hydroximino-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-

one (**8**) were obtained in the reaction of compound **5** with hydroxylamine-hydrochloride and sodium-acetate at 70 °C for 1 h.

A mixture of (3*E*)- and (3*Z*)-oximino derivatives **7** and **8** was used for synthesis of 2a-aza-17-oxa-A,D-dihomoandrost-4-ene-3,16-dione (**11**), by *Beckmann* fragmentation (in the reaction with thionyl-chloride in dioxane).

In further work in order to modify A-ring of D-homo lactone derivatives *Baeyer-Villiger*-oxidation of compound **5** was applied with *meta*-chloroperbenzoic acid at 0-10 °C during 72 h and unexpectedly 3,16-dioxo-4,17-dioxa-D-homoandrostane-5 α -carbaldehyde (**12**) was obtained – a derivative containing the A- and D-homo dilactone system. On the basis of spectroscopic data, it was found that derivative **12** was transformed into derivative **13** which contains A-seco-keto carboxylic acid, during the long interval (90 days) at room temperature. Compound **13** (17-oxa-D-homo-3,5-seco-4-norandrostan-5-one-3-carboxylic acid) was also synthesized by *Baeyer-Villiger*-oxidation of the compound **5** with *meta*-chloroperbenzoic acid at 0-10 °C during 118 hours.

Also, compound **5** in the reaction with ethyl formate and sodium hydride in absolute benzene gave (2*Z*)-hydroxymethylene-17-oxa-D-homoandrost-4-ene-3,16-dione (**14**), which is a precursor in the synthesis of derivatives **15-17**, containing condensed heterocyclic system with the A-ring. The stereochemistry was confirmed by x-ray diffraction analysis of the crystalline compound **14**. Compound **14** was modified in two different ways, in the reaction with hydrazine-hydrate in ethanol formed 17-oxa-pyrazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-one (**15**), while the reaction with formamide in the presence of perchloric acid, afforded isoxazolino[4',5':2,3]-17-oxa-D-homoandrosta-4,6-dien-16-one (**16**) and isoxazolino[4',5':2,3]-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one (**17**).

Besides these, the new D-homo lactone derivatives **24** and **25** with condensed heterocyclic system in the A- and B-rings were synthesized. Starting compound for the synthesis was 3 β -acetoxy-17-oxa-D-homoandrost-5-en-16-one (**18**), which was obtained by acetylating compound **4**. Epoxidation of compound **18** with *meta*-chloroperbenzoic acid, produced a mixture of 5 α ,6 α - i 5 β ,6 β -epoxy-17-oxa-D-homoandrostan-16-one-3 β -yl acetate (**19** and **20**), from which compound **19** was isolated. Reaction of the intermediate epoxide mixture **19** and **20** with chromium-

trioxide, afforded 5 α -hydroxy-17-oxa-D-homoandrostane-6,16-dione-3 β -yl acetate (**21**). The stereochemistry was confirmed by x-ray diffraction analysis of the crystalline compound **21**.

In further work dehydration of compound **21** was performed with thionyl-chloride in absolute pyridine and 17-oxa-D-homoandrost-4-ene-6,16-dione-3 β -yl acetate (**22**) was obtained. Oximation of compound **22** with hydroxylamine-hydrochloride in the presence of sodium-acetate yielded (6*E*)-hydroximino-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one-3 β -yl acetate (**23**). The final stage of synthesis of two isoxazole derivatives **24** and **25** was the reaction of compound **23** with iodine and potassium-iodide, when isoxazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one-3 β -yl acetate (**24**) and 3 β -hydroxy-isoxazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oxa-D-homoandrost-4-en-16-one (**25**) were obtained. The stereochemistry was confirmed by x-ray diffraction analysis of the crystalline compound **24** and **25**.

In this paper a new D-homo lactone derivative 4 α ,5 α -epoxy-3 β -hydroxy-17-oxa-D-homoandrostane-6,16-dione (**26**), as potentially biologically active compound was synthesized by epoxidation of compound **22** with hydrogen-peroxide in alkaline methanol.

In order to obtain a new B-seco-D-homo lactone androstane derivatives, the successful synthesis of 3 β -acetoxy-17-oxa-5,16-dioxo-5,6-seco-D-homoandrostane-6-nitrile (**34**) from 5 α -hydroxy-(6*E*)-hydroximino-17-oxa-D-homoandrost-16-one-3 β -yl acetate (**30**) and 5 α -hydroxy-(6*Z*)-hydroximino-17-oxa-D-homoandrost-16-one-3 β -yl acetate (**31**) was carried out, by *Beckmann*-fragmentation with acetic anhydride in absolute pyridine, previously obtained by the oximation of compound **21**.

The goal of this dissertation was also the synthesis of new D-seco androstane derivatives, from the key compound 3 β -hydroxy-17-oxo-16,17-seco-17-androst-5-ene-16-nitrile (**35**) obtained from 16-hydroximino-androst-5-ene-3 β ,17 β -diol (**3**). After protection of aldehyde functional group 13-(1,3-dioxolan-2-yl)-3 β -hydroxy-16,17-seco-17-norandrost-5-ene-16-nitrile (**36**) was obtained, which by *Oppenauer* oxidation gave the 13-(1,3-dioxolan-2-yl)-3-oxo-16,17-seco-17-norandrost-4-ene-16-nitrile (**37**), which was then reduced by sodium borohydride, when 13-(1,3-dioxolan-2-yl)-3 α -hydroxy-16,17-seco-17-norandrost-4-ene-16-nitrile (**38**) and 13-(1,3-dioxolan-2-yl)-3 β -hydroxy-16,17-seco-17-norandrost-4-ene-16-nitrile (**39**) were obtained. By acetylating of

compound **39**, 3 β -acetoxy-13-(1,3-dioxolan-2-yl)-16,17-seco-17-norandrost-4-ene-16-nitrile (**40**) was obtained. For introduction the double bond in the A- and B-ring of steroid nucleus, compound **36** reacted with 2,3-dichloro-5,6-dicyano-benzoquinone (DDQ) in dioxane, when the 13-(1,3-dioxolan-2-yl)-3-oxo-16,17-seco-17-norandrosta-1,4,6-triene-16-nitrile (**41**) was obtained. By removing ethyleneglycol protection with formic acid, 3,17-dioxo-16,17-seco-androsta-1,4,6-triene-16-nitrile (**42**) was obtained. In the next phase, when the compound **35** reacted with Jones reagent, 15-cyano-16,17-seco-17-norandrost-4-ene-3,6-dione-13-carboxylic acid (**43**) was prepared.

In this doctoral thesis the new D-homo lactonic androstane derivatives **4-6**, **10**, **11**, **14**, **18**, **19**, **21-26** and the new D-seco androstane derivatives **36**, **37**, **39-42** were evaluated for their antiproliferative activity against several human cell lines: human breast adenocarcinoma ER+ (MCF-7), human breast adenocarcinoma ER- (MDA-MB-231), prostate cancer AR- (PC3), human cervix carcinoma (HeLa), colon cancer (HT-29) and chronic myeloid leukemia (K562), as well as one human non-tumor cell line, healthy cells of fetal lung fibroblasts (MRC-5).

In the D-homo lactone series the comparison of antiproliferative activity of the initial compound **4** with newly synthesized compounds was executed. It can be concluded that the increased antiproliferative activity favorably affects 4-en-3-one system, 6-keto function, 3,6-dioximino system, A-lactam system, 5 α ,6 α -epoxy function, 5 α -hydroxy-6-keto system, as well as A,B-isoxazole ring.

Greater effect on proliferation of human breast adenocarcinoma ER- (MDA-MB-231) cells from the initial compound **4** (IC₅₀ 20.20 μ M), showed compound **5** (IC₅₀ 9.30 μ M), compound **11** (IC₅₀ 16.61 μ M), compound **19** (IC₅₀ 12.98 μ M), compound **21** (IC₅₀ 15.67 μ M), compound **23** (IC₅₀ 11.88 μ M) and compound **25** (IC₅₀ 11.24 μ M). It should also be noted that compounds **4**, **5**, **11**, **14**, **18**, **19**, **21-25** showed greater antiproliferative activity compared with formestane.

Comparing the results of antiproliferative activity of newly synthesized compounds with compound **4** (IC₅₀ 89.00 μ M), against prostate cancer AR- (PC3) cells, it can be concluded that the compounds **6**, **10**, **11**, **18**, **19**, **21-24** showed higher cytotoxicity. Strong antiproliferative activity against this cell lines showed compound **11** (IC₅₀ 2.18 μ M) and compound **19** (IC₅₀ 2.64 μ M). It can be concluded that the compounds **6**, **10**, **11**, **19**, **22-24** showed higher cytotoxicity compared with formestane,

while compounds **4**, **6**, **10**, **11**, **18**, **19**, **21-24** showed greater cytotoxicity compared to doxorubicin.

From the obtained results it can be seen that antiproliferative activity against cervical cancer cells (HeLa), showed only compounds **10**, **23** and **26**. Strong cytotoxicity showed compound **26**. The cytotoxicity of this compound is higher compared to formestane (commercial anticancer agent; IC_{50} 5.55 μ M). Compound **10** (IC_{50} 13.86 μ M) and compound **23** (IC_{50} 35.97 μ M) showed a lower cytotoxicity.

In comparison of antiproliferative activity of newly synthesized compounds with formestane (IC_{50} > 100 μ M) and doxorubicin (commercial anticancer agent; IC_{50} 0.32 μ M), against the colon cancer cells (HT-29), it can be seen that compound **23** showed a strong cytotoxicity (IC_{50} 3.97 μ M), while compound **18**, showed moderate cytotoxicity (IC_{50} 61.16 μ M).

If we compare the results obtained in the D-seco series with the antiproliferative activity of formestane (IC_{50} > 100 μ M) and doxorubicin (IC_{50} 0.75 μ M), against the cells of human breast adenocarcinoma ER+ (MCF-7), it can be concluded that moderate cytotoxicity was showed only by compound **37** (IC_{50} 39.30 μ M).

Against human breast adenocarcinoma ER- cell lines (MDA-MB-231), strong cytotoxicity was showed by compound **40** (IC_{50} 10.00 μ M) which was higher than cytotoxicity of formestane (IC_{50} 55.50 μ M). Moderate cytotoxicity was (IC_{50} 56.00 μ M) shown only by compound **36**. The cytotoxicity of this compound is very close to cytotoxicity of formestane (IC_{50} 55.5 μ M).

Against prostate cancer cell line (PC3) strong cytotoxicity was showed by compounds **36** (IC_{50} 6.30 μ M) and **37** (IC_{50} 2.20 μ M), which was higher than cytotoxicity of formestane (IC_{50} 48.36 μ M) and doxorubicin (IC_{50} 95.61 μ M), while compound **40** showed moderate cytotoxicity (IC_{50} 65.00 μ M).

Finally, it is important that all the synthesized derivatives are inactive against healthy lung fibroblast cells MRC-5, which indicates that they are selective anticancer agents, which can be crucial for practical applications.

Based on the above, it can be concluded that the newly synthesized compounds have potential for application in biomedicine and pharmacology. Undeniable is their cytotoxicity against some tumor cell lines, and the fact that they are completely inactive

against healthy lung fibroblast cells, which is a very desirable property, which is required from new, potential drugs in the treatment of malignant diseases.

7. LITERATURA

1. V. Diklić, M. Kosanović, J. Nikoliš, S. Dukić, *Biologija sa humanom genetikom*, Institut za biologiju i humanu genetiku, Beograd, 1997.
2. R. J. King, W. I. P. Mainwaring, *Steroid – Cell Interactions*, Butterworths, London, 1974.
3. V. L. Duax, D. A. Norton, *Atlas of Steroid Structure*, Plenum Press, New York, 1975.
4. B. W. O'Malley, *Hormones and signaling*, San Diego: Academic Press, 1998; M. G. Parker, *Steroid hormone action*, Oxford: IRL Press, 1993.
5. M. Barone, S. Tanzi, K. Lofano, M. P. Scavo, R. Guido, L. Demarinis, M. B. Principi, A. Bucci, A. Di Leo, *Genes Nutr.* **3**, 7 (2008).
6. C. Avendano, J. C. Menendez, *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevier, 2008.
7. D. Ondré, J. Wölfling, I. Tóth, M. Szécsi, J. Julesz, G. Schneider, *Steroids* **74**, 1025 (2009).
8. A. H. Banday, B. P. Mir, I. H. Lone, K. A. Suri, H. M. Sampath Kumar, *Steroids* **75**, 805 (2010).
9. S. Liao, S. Fang, *Vitam. Horm.* **27**, 17 (1969).
10. D. Miljković, J. Petrović, M. Stajić, M. Miljković, *J. Org. Chem.* **38**, 3585 (1973).
11. K. Penov-Gaši, D. Miljković, Lj. Medić-Mijačević, E. Đurendić, J. Petrović, V. Pejanović, S. Stanković, D. Lazar, *Tetrahedron Lett.* **39**, 9759 (1998).
12. K. Penov-Gaši, S. Cvjetičanin, S. Stojanović, K. Kuhajda, Lj. Stupavský, J. Čanadi, D. Molnár-Gábor, Lj. -Mijačević, M. Sakač, *Acta Period. Technol.* **31 (B)**, 675 (2000).
13. K. M. Penov Gaši, S. M. Stanković, J. J. Csanádi, E. A. Đurendić, M. N. Sakač, Lj. Medić-Mijačević, O. A. Arcson, S. Z. Stojanović, S. Andrić, D. Molnár-Gábor, R. Kovačević, *Steroids* **66 (8)**, 645 (2001).

14. E. A. Djurendić, M. N. Sakač, M. P. Zaviš, A. R. Gaković, J. J. Čanadi, S. A. Andrić, O. R. Klisurić, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Steroids*, **73**, 681 (2008).
15. K. Penov-Gaši, E. Đurendić, Lj. Medić-Mijačević, *Hemija androgena, antiandrogena i njihova primena u biomedicini*, Monografija, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2001.
16. D. Zdravković, A. Aleksić, Ž. Aleksić, V. Mitov, M. Jović, *Timočki Med. Glasnik*, **32**, 176 (2007).
17. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
18. F. G. Rommerts, *Testosterone: an overview of biosynthesis, transport, metabolism and action*; u *Testosterone: action, deficiency, substitution* (eds. E. Nieschlag, H. M. Behre), Springer-Verlag, New York, 1990.
19. K. M. Sam, S. Auger, V. Luu The, D. Poirier, *J. Med. Chem.* **38**, 4518 (1995).
20. H. Inano, B. Tamaoki, *Steroids* **48**, 3 (1986).
21. D. E. Pittaway, R. N. Andersen, S. A. Coleman Jr., J. R. Givens, W. L. Wiser, *J. Clin. Endocr. Metab.* **56**, 715 (1983).
22. V. Luu-The, C. Labrie, H. F. Zhao, J. Couet, Y. Lachance, J. Simard, G. Leblanc, J. Cote, D. Berube, R. Gagne, F. Labrie, *Mol. Endocrinol.* **3**, 1301 (1989).
23. C. Martel, E. Rheaume, M. Takahashi, C. Trudel, J. Couet, V. Luu-The, J. Simard, F. Labrie, *J. Steroid Biochem.* **41**, 597 (1992).
24. G. Bleau, K. D. Roberts, A. Chapdelaine, *J. Clin. Endocr. Metab.* **39**, 236 (1974).
25. L. Tseng, A. Stolee, E. Gulpide, *Endocrinology* **90**, 390 (1972).
26. H. Breuer, R. Knuppen, M. Haupt, *Nature* **212**, 76 (1966).
27. L. Milewich, T. S. Hendricks, L. H. Romero, *J. Steroid. Biochem.* **17**, 669 (1982).
28. G. D. Weinstein, P. Frost, S. L. Hsia, *J. Invest. Dermatol.* **51**, 4 (1968).
29. G. M. Jacobson, R. B. Hochberg, *J. Biol. Chem.* **243**, 2985 (1968).
30. R. Poulin, D. Poirier, Y. Merand, C. Theriault, A. Belanger, F. Labrie, *J. Biol. Chem.* **264**, 9335 (1989).
31. C. Theriault, F. Labrie, *J. Steroid Biochem.* **38**, 155 (1991).
32. D. Lacoste, A. Belanger, F. Labrie, *Ann. NY Acad. Sci.* **595**, 389 (1990).
33. F. Labrie, *Mol. Cell. Endocrinol.* **78**, C113 (1991).

34. J. P. Raynaud, M. M. Bouton, M. Moguilewsky, T. Ojasoo, D. Philibert, G. Beck, F. Labrie, J. P. Mornon, *J. Steroid Biochem.* **12**, 143 (1980).
35. D. S. Colvard, E. M. Wilson, *Endocrinology* **121**, 931 (1987).
36. P. B. Grino, J. E. Griffin, J. D. Wilson, *Endocrinology* **120**, 1914 (1987).
37. H. Klocker, Z. Culig, I. E. Eder, C. Nessler-Menardi, A. Hobisch, T. Putz, T. Bartsch, I. H. Peterzie, A. C. B. Cato, *Eur. Urol.* **35**, 413 (1999).
38. F. Schaufele, X. Carbonell, M. Guerbardot, S. Borngraeber, M. S. Chapman, A. A. Ma, J. N. Miner, M. I. Diamond, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 9802 (2005).
39. O. A. Janne, J. J. Palvimo, P. Kallio, M. Mehto, *Ann. Med.* **25**, 83 (1993).
40. X. Hu, M. A. Lazar, *Trends. Endocrin. Met.* **11**, 6 (2000).
41. <http://www.sinauer.com/levay3e/webtopic0501.html>
42. J. Kirchhoff, M. Soffie, G. G. Rousseau, *J. Steroid Biochem.* **10**, 487 (1979).
43. W. L. Duax, J. F. Griffin, *The structure and receptor binding of steroid hormones; u Advance in Drug Research* (ed. B. Testa), 1989, p. 115.
44. W. L. Duax, D. Ghosh, V. Pletnev, J. F. Griffin, *Pure Appl. Chem.* **68**, 1297 (1996).
45. J. S. Sack, K. F. Kish, Ch. Wang, R. M. Attar, S. E. Kiefer, Y An, G. Y. Wu, J. E. Scheffler, M. E. Salvati, Jr. S. R. Krystek, R. Weinmann, H. M. Einspahr, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 4904 (2001).
46. A. E. Wakeling, *Cancer Surveys* **14**, 71 (1992).
47. W. L. Duax, J. F. Griffin, C. M. Weeks, Z. Wawrzak, *J. Steroid Biochem.* **31**, 481 (1988).
48. M. Moguilewsky, M. M. Bouton, *J. Steroid Biochem.* **31**, 699 (1988).
49. <http://en.wikipedia.org/wiki/Gonadotropin-releasinghormone>
50. O. Klisurić, *Vodonične veze, struktura i biofizički aspekti mehanizma aktivnosti steroidnih hormona-androgena i antiandrogena*, Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2007.
51. J. B. Aragon-Ching, K. M. Williams, J. L. Gulley, *Front. Biosci-Landmrk* **12**, 4957 (2007).
52. S. E. Lukas, *Trends Pharmacol. Sci.* **14**, 61 (1993).
53. M. J. Feinberg, A. R. Lumia, M. Y. Ginnis, *Physiol. and Behavior* **62**, 23 (1997).
54. A. J. Giannini, N. Miller, D. K. Kocjan, *Clin. Pediatr.* **30**, 538 (1991).

55. J. D. Wilson, *Endocr. Rev.* **9**, 181 (1988).
56. J. C. Cohen, W. M. Faber, A. J. S. Benade, T. D. Noakes, *Physician Sportsmed* **14**, 131 (1986); E. F. Mammen, *Gynecol. Endocrinol.* **7**, 79 (1993).
57. (a) C. E. Yesalis, *Anabolic Steroid in Sport and Exercise*, Human Kinetics Publishers, Champaign, IL, 151 (1993); (b) R. A. McNutt, G. S. Ferenchick, P. C. Kirlin, N. J. Hamlin, *Am. J. Cardiol.* **62**, 164 (1988); (c) U. H. Winkler, *Maturitas* **24**, 147 (1996).
58. N.A. Wade, *Science* **176**, 1399 (1972).
59. F.T. Delbeke, *Biol. Sport* **17**, 81 (2000).
60. A.T. Kicman, D.B. Gower, *Ann. Clin. Biochem.* **40**, 321 (2003).
61. Anabolic Steroid Control Act P.L.N. 1990, XIX:104 Stat 4851, amended in 2004 as Anabolic Steroid Control Act of 2004. Section 102 of the Controlled Substances Act (21 U.S.C. 802).
62. P. Van Eenoo, F. T. Delbeke, *J. Steroid. Biochem.* **101**, 161 (2006).
63. World Anti-Doping Agency (WADA). Prohibited list of substances 2006.
64. K. J. Brower, F. C. Blow, J. P. Young, E. M. Hill, *British Journal of Addiction* **86**, 759 (1991).
65. F. A. Beach, A. Holz-Tucker, *J. Comp. Physiol. Psychol.* **42**, 433 (1949).
66. A. S. Clark, E. V. Harrold, A. S. Fast, *Hormones and Behavior* **31**, 35 (1997).
67. H. G. Pope Jr., D. L. Katz, *Am. J. Psychiat.* **145**, 487 (1988).
68. K. David, E. Dingemanse, J. Freud, E. Laqueur, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **233**, 281 (1935).
69. N. T. Shahidi, *Am. J. Med. Chem.* **62**, 546 (1977).
70. W. Schänzer, *Clin. Chem.* **42**, 1001 (1996).
71. J. D. Wilson, *Androgens*; u: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* (eds. J. G. Hardman, L. E. Limbird), 9th ed. McGraw-Hill, New York, 1996, p. 1441.
72. E. J. Corey, B. M. Stoltz, *Tetrahedron Lett.* **40**, 2061 (1999).
73. A. H. Banday, S. Singh, M. S. Alam, D. M. Reddy, B. D. Gupta, H. M. Sampath Kumar, *Steroids* **73**, 370 (2008).
74. F. Manna, F. Chimenti, A. Bolasco, M. L. Cenicola, M. d'-Amico, C. Parillo, F. Rossi, E. Marmo, *Eur. J. Med. Chem.* **27**, 633 (1992).

75. S. M. Jain, S. Devi, S. Bani, S. Singh, G. B. Singh, *Indian J. Chem. B* **27B**, 1019 (1988).
76. A. Kumar, K. K. Saxena, S. Lata, R. S. Saxena, V. K. Srivastava, *Indian Drugs* **28**, 111 (1990).
77. R. H. Udupi, S. N. Rao, A. R. Bhat, *Indian J. Heterocy. Ch.* **7**, 217 (1998).
78. S. Paul, R. Gupta, *Indian J. Chem B.* **37B**, 1279 (1998).
79. B. Camerino, R. Sciaky, *Pharmacol. Therapeut. B* **1**, 233 (1975).
80. W. Schänzer, G. Opfermann, M. Donike, *J. Steroid. Biochem.* **36**, 153 (1990).
81. R. O. Clinton, A. J. Manson, F. W. Stonner, H. C. Neumann, R. G. Christiansen, R. L. Clarke, J. H. Ackerman, D. F. Page, J. W. Dean, W. B. Dickinson, C. Carabateas, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 1478 (1961).
82. R. O. Clinton, R. L. Clarke, F. W. Stonner, A. J. Manson, K. F. Jennings, D. K. Phillips, *J. Org. Chem.* **27**, 2800 (1962).
83. A. M. Pavlatos, O. Fultz, M. J. Monberg, A. Vootkur, *Clin. Ther.* **23**, 789 (2001).
84. H. J. Ringold, E. Batres, O. Halpern, E. Necochea, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 427 (1959).
85. R. I. Dorfman, F. A. Kincl, *Endocrinology* **72**, 259 (1963).
86. Ch. Camoutsis, S. Nikolaropoulos, *J. Heterocyclic. Chem* **35**, 731 (1998).
87. A. J. Manson, F. W. Stonner, H. C. Neumann, R. G. Christiansen R. L. Clarke, J. H. Ackerman, D. F. Page, J. W. Dean, D. K. Philips, G. O. Potts, A. Arnold, A. L. Beyler, R. O. Clinton, *J. Med. Chem.* **6**, 1 (1963).
88. R. McCague, *Inhibitors of steroid hormone biosynthesis and action; u: The Chemistry of Antitumor Agents* (ed. D. E. V. Wilman), Blackie and Son Limited, Glasgow, London, 1990, p. 239.
89. R. L. Barbieri, K. J. Ryan, *Am. J. Obstet. Gynecol.* **141**, 453 (1981).
90. H. D. Lennon, F. J. Saunders, *Steroids* **4**, 689 (1964).
91. R. Pappo, C. J. Jung, *Tetrahedron Lett.* **9**, 365 (1962).
92. G. Zanati, M. E. Wolff, *J. Med. Chem.* **14**, 958 (1971).
93. A. A. Frimer, J. Hameiri-Buch, S. Ripshtos, P. Gilinsky-Sharon, *Tetrahedron* **42** (20), 5693 (1986).
94. H. Suginome, S. Yamada, *J. Org. Chem.* **50** (14), 2489 (1985).
95. H. Suginome, S. Yamada, *J. Org. Chem.* **49** (20), 3753 (1984).

96. G. Zanati, G. Gaare, M. E. Wolff, *J. Med. Chem.* **17**, 561 (1974).
97. R. Pappo, R. J. Chorvat, *Tetrahedron Lett.* **13**, 3237 (1972).
98. A. J. Robinson, I. DeLucca, S. Drummond, G. A. Boswell, *Tetrahedron Lett.* **44**, 4801 (2003).
99. R. W. Guthrie, A. Boris, J. G. Mullin, F. A. Mennona, R. W. Kierstead, *J. Med. Chem.* **16**, 257 (1973).
100. C. R. Engel, D. Mukherjee, M. N. Roy Chowdhury, G. Ramani, V. S. Salvi, *J. Steroid. Biochem.* **6**, 585 (1975).
101. M. E. Wolff, G. Zanati, *J. Med. Chem.* **14**, 961 (1971).
102. V. A. Rogozkin, *Metabolism of anabolic androgenic steroids* CRS Press, Boca Raton, Boston, 1991, p. 143.
103. A. Boris, R. H. Stevenson, T. A. Trmal, *J. Steroid. Biochem.* **1**, 349 (1970).
104. A. Boris, R. H. Stevenson, T. Trmal, *Steroids* **15**, 61 (1970).
105. A. G. Fragkaki, Y. S. Angelis, M. Koupparis, A. Tsantili-Kakoulidou, G. Kokotos, C. Georgakopoulos, *Steroids* **74**, 172 (2009).
106. S. Liao, T. Liang, S. Fang, E. Castaneda, T. C. Shao, *J. Biol. Chem.* **248**, 6154 (1973).
107. K. M. B. Chan, S. Smythe, S. Liao, *J. Steroid. Biochem.* **11**, 1193 (1979).
108. E. W. Bergink, P. L. S. Janssen, E. W. Turpijn, J. Van Der Vies, *J. Steroid. Biochem.* **22**, 831 (1985).
109. D. Goudreault, R. Massé, *J. Steroid. Biochem.* **38**, 639 (1991).
110. W. Schänzer, G. Opfermann, M. Donike, *Steroids* **57**, 537 (1992).
111. J. D. Wilson, J. E. Griffin, *Metabolism* **29**, 1278 (1980).
112. F. C. W. Wu, *Baillière's Clin. Endocr. Metab.* **6**, 373 (1992).
113. F. B. Colton, L. N. Nysted, B. Riegel, A. L. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 1123 (1957).
114. G. A. Boswell, Jr. u: *Organic reactions in steroid chemistry* (eds. J. Fried, J. A. Edwards), Van Nostrand Reinhold Company, 1972, p. 345.
115. M. W. Goldberg, H. Kirchensteiner, *Helv. Chim. Acta* **26**, 288 (1943).
116. (a) M. Tiffeneau, P. Weill, B. Tchoubar, *Compt. Rend.* **205**, 54 (1937); (b) B. Tchoubar, *ibid.* **212**, 195 (1941); (c) B. Tchoubar, *Bull. Soc. Chim. France*, 160 (1949).

117. W. S. Johnson, M. Neeman, S. P. Birkeland, *Tetrahedron Lett.* **1**, 1 (1960).
118. W. S. Johnson, M. Neeman, S. P. Birkeland, N. A. Fedoruk, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 989 (1962).
119. N. W. Atwater, *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 2847 (1960).
120. F. Sondheimer, Y. Mazur, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 2906 (1957).
121. R. B. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 579 (1950).
122. K. Penov Gaši, S. Stojanović, M. Sakač, M. Popsavin, S. Jovanović Šanta, S. Stanković, O. Klisurić, N. Andrić, R. Kovačević, *Steroids* **70**, 47 (2005).
123. (a) G. Leclercq, *Antitumor Steroids*, ed. R. T. Blickenstaff, Academic Press, New York, 1992, p. 81; I. Barta, K. Albrecht, G. Ambrus, E. Csanyi, J. Gyimesi, E. Kiraly, Hung. Teljes **14**, 361/1977 (*Chem. Abstr.* **89**, 24624 (1978)); (b) P. F. Sherwin, P. C. McMullan, D. F. Covey, *J. Med. Chem.* **32**, 651 (1989); (c) L. H. Knox, R. Villotti, F. A. Kincl, H. J. Ringold, *J. Org. Chem.* **26**, 501 (1961).
124. A. Segaloff, J. B. Weeth, K. K. Meyer, E. L. Rongone, M. E. G. Cunningham, *Cancer* **15**, 633 (1962).
125. P. K. Siiteri, E. A. Thompson, *J. Steroid Biochem.* **6**, 317 (1975).
126. (a) K. Hoffken, W. Jonat, K. Possinger, M. Kolbel, T. Kunz, H. Wagner, R. Becher, R. Callies, P. Friedrich, W. Willmanns, *J. Clin. Oncol.* **8**, 875 (1990); (b) T. Pickles, L. Perry, V. Murray, P. Plowman, *Brit. J. Cancer* **62**, 309 (1990).
127. A. M. Brodie, *J. Steroid Biochem.* **49**, 281 (1994).
128. (a) X. P. Liu, D. M. Lambert, Y. J. Abul-Hajj, *J. Med. Chem.* **38**, 4135 (1995); (b) M. B. Martin, A. F. Mateos, R. R. Gonzalez, *J. Chem. Soc., Perk. T. 1*, 569 (1995); (c) M. Numazawa, M. Tachibana, *J. Chem. Soc., Perk. T. 1*, 2975 (1993).
129. R. B. Woodward, F. Sondheimer, D. Taub, K. Heusler, W. M. McLamore, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 4223 (1952).
130. S. Mori, F. Mukawa, *B. Chem. Soc. Jpn.* **27**, 479 (1954).
131. M. W. Goldberg, R. Monnier, *Helv. Chim. Acta* **23**, 376, 840 (1940).
132. E. J. Tavares da Silva, M. L. Sá e Melo, A. S. Campos Neves, J. A. Paixão, L. C. R. Andrade, M. M. Almeida, M. M. R. Costa, *J. Chem. Soc., Perk. T. 1*, 3487 (1997).
133. S. M. Roberts, P. W. H. Wan, *J. Mol. Catal. B-Enzym* **4**, 111 (1998).

134. A. Swizdor, T. Kolek, A. Panek, A. Bialonska, *BBA-Mol. Cell. Biol. L.* **1811**, 253 (2011).
135. R. L. Prairie, P. Talalay, *Biochemistry-US* **2**, 203, (1963).
136. M. A. Rahim, C. J. Sih, *J. Biol. Chem.* **241**, 3615 (1966).
137. T. Kolek, A. Szpineter, A. Świzdor, *Steroids* **74**, 859 (2009).
138. H. Chen, X. Wang, Z. Yang, Y. Li, *Steroids* **69**, 647 (2004).
139. Amanda F. Reid, John P. Coghlan, Campbell D. Spence, Judith A. Whitworth, Bruce A. Scoggins, *J. Steroid. Biochem.* **33**, 1213 (1989).
140. G. Grassy, P. Trape, J. Bompard, B. Calas, G. Auzou, *J. Mol. Graph.* **13**, 356 (1995).
141. A. Windaus, *Ber.* **39**, 2249 (1906).
142. O. Diels, E. Abderhalden, *Ber.* **36**, 3177, (1903).
143. L. F. Fieser, M. Fieser, *Steroids*, Reinhold Publishing Corporation, A Subsidiary of Chapman-Reinhold, Inc., New York, Amsterdam, London, 1967, p. 207.
144. H. Wieland, A. Kulenkampff, *Z. Physiol. Chem.* **108**, 295 (1920).
145. C. W. Shoppee, J. C. P. Sly, *J. Chem. Soc.* 345 (1959).
146. A. Windaus, E. Rahlen, *Z. Physiol. Chem.* **101**, 223 (1918).
147. F. L. Weisenborn, H. E. Applegate, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 1960 (1959).
148. F. L. Weisenborn, U. S. Patent 3, 210, 406 (1965); *C. A.* **63**, 18219 (1965).
149. F. L. Weisenborn, British Patent 921, 156 (1963); *C. A.* **61**, 4453 (1964).
150. F. Sôrm, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **12**, 437 (1947).
151. J. W. Cornforth, G. D. Hunter, G. Popjak, *Biochem. J.* **54**, 590 (1953).
152. K. Tanabe, Y. Morisawa, *Chem. Pharm. Bull.* **11**, 536 (1963).
153. L. Knof, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **657**, 171 (1962).
154. C. W. Shoppee, S. K. Roy, *J. Chem. Soc.*, 3774 (1963).
155. M. S. Ahmad, N. K. Pillai, Z. H. Chaudhry, *Aust. J. Chem.* **27**, 1537 (1974).
156. J. R. Hanson, E. Premuzic, *Tetrahedron Lett.*, 5441 (1966).
157. J. S. Baran, *Med. Chem.* **10**, 1039 (1967).
158. J. Petrović, V. Pejanović, D. Miljković, J. Hranisavljević, *Steroids* **55**, 276 (1990).

159. K. M. Penov Gaši, D. A. Miljković, Lj. D. Medić Mijačević, E. A. Djurendić, S. Z. Stojanović, M. N. Sakač, M. Dj. Djurendić, S. M. Stanković, D. Lazar, S. Andrić, R. Kovačević, *Steroids* **68**, 667 (2003).
160. K. Penov-Gaši, S. Stojanović, M. Sakač, E. Đurendić, S. Jovanović-Šanta, S. Stanković, S. Andrić, M. Popsavin, *J. Serb. Chem. Soc.* **68**, 707 (2003).
161. S. Jovanović-Šanta, J. Petrović, S. Andrić, R. Kovačević, E. Đurendić, M. Sakač, D. Lazar, S. Stanković, *Bioorg. Chem.* **31**, 475 (2003).
162. S. Jovanović-Šanta, E. Djurendić, D. Lazar, S. Stanković, *J. Serb. Chem. Soc.* **70**, 569 (2005).
163. A. Werner, A. Piguet, *Chemische Berichte* **37**, 4295 (1904); A. Werner, T. Detscheff, *Chemische Berichte* **38**, 69 (1905).
164. (a) L. G. Donaruma, W. Z. Heldt, *Org. React.* **11**, 1 (1960); (b) P. A. S. Smith u *Molecular Rearrangements*, Part I (ed. P. de Mayo), Interscience, New York, 1963, p. 483; (c) R. T. Conley, S. Ghosh u *Mechanisms of Molecular Migrations* (ed. B. S. Thyagarajan), Wiley-Interscience, New York, 1971, p. 197.
165. A. H. Blatt, *Chem. Rev.* **12**, 215 (1933); A. H. Blatt, R. P. Barnes, *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 1148 (1934).
166. Lj. Medić-Mijačević, *Sinteza i osobine 16,17-disupstitujsanih steroidnih derivata*, Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1992.
167. S. Stojanović, *Sinteza i biološka aktivnost D-seko i D-homo derivata 5-androstena*, Magistarski rad, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1999.
168. S. Stojanović, D. Molnar Gabor, Lj. Medić-Mijačević, M. Sakač, K. Penov-Gaši, *J. Serb. Chem. Soc.* **66**, 23 (2001).
169. K. P. C. Volhardt, N.E. Schore, *Organska hemija*, IV izdanje, Data Status, Nauka, Beograd, 2004.
170. F.H. Stodola, E.C. Kendall, B. F. Mckenzie, *J. Org. Chem.* **6**, 841 (1941).
171. A. Hassner, I.H. Pomerantz, *J. Org.Chem.* **27**, 1760, (1962).
172. I. T. Harrison, S. Harrison, *Compendium of organic synthetic methods*, Wiley Interscience, John Wiley and Sons, Inc. New York, 1971, p. 430.
173. M. M. Coombs, C. W. Vose, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 602 (1974).

174. H. Suginome, T. Uchida, *B. Chem. Soc. Jpn.* **47**, 687 (1974).
175. C. W. Shoppee, G. Krüger, R. N. Mirrington, *J. Chem. Soc.*, 1050, (1962).
176. J. Poza, M. Rega, V. Paz, B. Alonso, J. Rodriguez, N. Salvador, A. Fernandez, C. Jimenez, *Bioorgan. Med. Chem.* **15**, 4722 (2007).
177. J. Cui, L. Huang, L. Fan, A. Zhou, *Steroids* **73**, 252 (2008).
178. J. W. Morzycki, I. Wawer, A. Gryszkiewitz, J. Maj, L. Siergiejczyk, A. Zaworska, *Steroids* **67**, 621 (2002).
179. G. H. Rasmusson, G. F. Reynolds, N. G. Steinberg, E. Walton, G. F. Patel, T. Liang, M. A. Cascieri, A. H. Cheung, J. R. Brooks, Ch. Berman, *J. Med. Chem.* **29**, 2298 (1986).
180. S. Aggarwal, S. Thareja, A. Verma, T. R. Bhardwaj, M. Kumar, *Steroids* **75**, 109 (2010).
181. N. Dhingra, T. R. Bhardwaj, N. Mehta, T. Mukhopadhyay, A. Kumar, M. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 2229 (2010).
182. E. G. Occhiato, A. Guarna, G. Danza, M. Serio, *J. Steroid Biochem.* **88**, 1 (2004).
183. X. Li, C. Chen, S. M. Singh, F. Labrie, *J. Med. Chem.* **60**, 430 (1995).
184. B. Kenny, S. Ballard, J. Blagg, D. Fox, *J. Med. Chem.* **40**, 1293 (1997).
185. J. Burbiel, F. Bracher, *Steroids* **68**, 587 (2003).
186. F. Alonso, S. L. Acebedo, A. C. Bruttomesso, J. A. Ramirez, *Steroids* **73**, 1270 (2008).
187. H. Weisser, S. Tunn, M. Debus, M. Krieg, *Steroids* **59**, 616 (1994).
188. J. R. Brooks, C. Berman, L. R. Primka, G. F. Reynolds, G. H. Rasmusson, *Steroids* **47**, 1 (1986).
189. E. Bratoeff, E. Ramirez, E. Murillo, G. Flores, M. Cabeza, *Curr. Med. Chem.* **6**, 1107 (1999).
190. X. J. Li, L. G. Chen, F. Fang, X. J. Wang, *Chin. J. Pharm.* **32**, 245 (2001).
191. G. H. Rasmusson, G. F. Reynolds, T. Utne, R. B. Jobson, R. L. Primka, Ch. Berman, J. R. Brooks, *J. Med. Chem.* **27**, 1690 (1984).
192. J. H. Zheng, F. Xu, Q. J. Liao, *Chin. J. Pharm.* **34**, 105 (2003).
193. J. H. Zheng, F. Xu, Q. J. Liao, *Chin. J. Med. Chem.* **6**, 203 (1996).
194. Z. Jiang, J. Ye, L. Jiang, Y. Zhao, *Steroids* **70**, 690 (2005).

195. J. J. Ritter, P. P. Minieri, *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 4045 (1948).
196. H. Plaut, J. J. Ritter, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 4076 (1951).
197. T. H. Tarter, E. D. Vaughan, *Curr. Pharm. Design* **12**, 775 (2006).
198. A. Ch. Hunter, S. Priest, *Steroids* **71**, 30 (2006).
199. D. A. Miljković, K. M. Gaši, *Bull. Soc. Chim.* **46**, 263 (1981).
200. E. A. Đurendić, M. P. Zaviš, M. N. Sakač, J. J. Čanadi, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Steroids* **74**, 983 (2009).
201. J. Cui, L. Fan, L. Huang, H. Liu, A. Zhou, *Steroids* **74**, 62 (2009).
202. A. L. Norman, K. A. Shurrush, A. T. Calleroz, M. D. Mosher, *Tetrahedron Lett.* **48**, 6849 (2007).
203. M. El-Far, G. A. Elmegeed, E. F. Eskander, H. M. Rady, M. A. Tantawy, *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 3936 (2009).
204. N. M. Krstić, M. S. Bjelaković, Ž. Žižak, M. D. Pavlović, Z. D. Juranić, V. D. Pavlović, *Steroids* **72**, 406 (2007).
205. Y. Huang, J. Cui, S. Chen, Ch. Gan, A. Zhou, *Steroids* **76**, 1346 (2011).
206. M. L. Di Gioia, A. Leggio, A. Le Pera, F. Perri, A. F. Pitrelli, A. Liguor, *Steroids* **71**, 116 (2006).
207. M. Gorodetsky, N. Danieli, Y. Mazur, *J. Org. Chem.* **32**, 760 (1967).
208. A. DeBoer, R. E. Ellwanger, *J. Org. Chem.* **39**, 77 (1974).
209. L. A. Paquette, Ch. M. G. Philippo, N. Huu Vo, *Can. J. Chem.* **70**, 1356 (1992).
210. S. Hrycko, P. Morand, F. L. Lee, E. J. Gabe, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, 1311 (1989).
211. R. Hirschmann, P. Buchschacher, N. G. Steinberg, J. H. Fried, R. Ellis, G. J. Kent, M. Tishler, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1520 (1964).
212. (a) A. Shahadat, R. C. Boruah, *Indian J. Chem.* **37B**, 838 (1998); (b) C. Lemini, E. Cruz-Ramos, R. A. Toscano, R. Cruz-Almanza, *Steroids* **63**, (1998).
213. R. Krieg, R. Wyrwa, U. Möllmann, H. Görls, B. Schönecker, *Steroids* **63**, 531 (1998).
214. (a) K. Liu, H. Lu, L. Hou, Z. Qi, C. Teixeira, F. Barbault, B. Fan, S. Liu, S. Jiang, L. Xie, *J. Med. Chem.* **51**, 7843 (2008); (b) A. E. Lemus, R. Jaimez, C. Lemini, M. Menjivar, G. Silva, C. Rubio-Poo, F. Valenzuela, F. Larrea, *Steroids* **63**, 433 (1998).

215. R. P. Litvinovskaya, S. V. Drach, V. A. Khripach, *Mendeleev Commun.* **5**, 215 (1995).
216. C. Von Seemann, G. A. Grant, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4073 (1950).
217. I. L. Reich, H. Lardy, Y. Wei, P. Marwah, N. Kneer, D. R. Powell, H. J. Reich, *Steroids* **63**, 542 (1998).
218. N. Deive, J. Rodriguez, C. Jimenez, *J. Med. Chem.* **44**, 2612 (2001).
219. J. Cui, L. Fan, Y. Huang, Y. Xin, A. Zhou, *Steroids* **74**, 989 (2009).
220. H. L. Holland, S. Kumaresan, L. Tan, V. C. O. Njar, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 585 (1992).
221. M. Cepa, G. Correia-da-Silva, E. J. T. Da Silva, F. M. F. Roleira, M. Borges, N. A. Teixeira, *BMC Cell Biology* **9**, 41 (2008).
222. H. Lettre, D. Hotz, *Ann.* **3**, 620 (1959).
223. H. Lettre, A. Jahn., *Ann.* **43**, 608 (1957).
224. L. Knof, *Ann.* **3**, 641 (1901).
225. A. Kasal, *Tetrahedron* **56**, 3559 (2000).
226. J. N. Shah, Y. P. Mehta, G. M. Shah, *J. Org. Chem.* **43**, 2078 (1978).
227. E. A. Đurendić, N. P. Zaviš, M. N. Sakač, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Coll. Czech. Chem. Comm.* **73** (3), 627 (2008).
228. D. A. Scudiero, R. H. Shoemaker, K. D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T. H. Nofziger, M. J. Currens, D. Seniff, M. R. Boyd, *Cancer. Res.* **48**, 4827 (1988).

8. PRILOG

8.1. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja - tabele

Tabela 8.1. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **4** i **5**, formestana i doksorubicina na odabrane ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
4 i 5	0.00	0.34	-0.05	0.00
4 i formestan	0.00	-0.44	0.26	0.00
5 i formestan	0.00	-0.78	0.32	0.00
4 i doksorubicin	2.13	2.23	-0.03	2.92
5 i doksorubicin	2.13	1.89	0.02	2.92

Tabela 8.2. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **5** i **6**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
5 i 6	0.00	-1.03	0.89	0.00
5 i formestan	0.00	-0.78	0.32	0.00
6 i formestan	0.00	0.26	-0.57	0.00
5 i doksorubicin	2.13	1.89	0.02	2.92
6 i doksorubicin	2.13	2.92	-0.87	2.92

Tabela 8.3. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **6** i **10**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
6 i 10	0.00	0.00	-0.33	0.00
6 i formestan	0.00	0.26	-0.57	0.00
10 i formestan	0.00	0.26	-0.24	0.00
6 i doksorubicin	2.13	2.92	-0.87	2.92
10 i doksorubicin	2.13	2.92	-0.53	2.92

Tabela 8.4. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **5** i **11**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
4 i 5	0.00	-0.25	1.66	0.00
4 i formestan	0.00	-0.78	0.32	0.00
5 i formestan	0.00	-0.52	-1.35	0.00
4 i doksorubicin	2.13	1.89	0.02	2.92
5 i doksorubicin	2.13	2.14	-1.64	2.92

Tabela 8.5. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **5** i **14**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
5 i 14	0.00	-0.45	0.00	0.00
5 i formestan	0.00	-0.78	0.32	0.00
14 i formestan	0.00	-0.32	0.32	0.00
5 i doksorubicin	2.13	1.89	0.02	2.92
14 i doksorubicin	2.13	2.34	0.02	2.92

Tabela 8.6. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **18** i **19**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	HT-29	K562	MRC-5
18 i 19	0.006	0.26	1.47	0.00	-0.21	0.00	0.00
18 i formestan	0.00	-0.37	0.21	1.26	-0.21	0.00	0.00
19 i formestan	-0.006	-0.63	-1.26	1.26	0.00	0.00	0.00
18 i doksorubicin	2.13	2.29	-0.09	1.93	2.28	2.44	2.92
19 i doksorubicin	2.12	2.03	-1.56	1.93	2.50	2.44	2.92

Tabela 8.7. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **21** i **22**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	ΔIC_{50} (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	HT-29	K562	MRC-5
21 i 22	0.00	-0.36	0.17	0.01	0.00	0.00	0.00
21 i formestan	0.00	-0.55	0.14	1.26	0.00	0.00	0.00
22 i formestan	0.00	-0.19	-0.03	1.24	0.00	0.00	0.00
21 i doksorubicin	2.13	2.12	-0.15	1.93	2.50	2.44	2.92
22 i doksorubicin	2.13	2.47	-0.32	1.92	2.50	2.44	2.92

Tabela 8.8. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **22** i **23**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	HT-29	K562	MRC-5
22 i 23	0.09	0.47	0.09	0.43	1.40	0.00	0.00
22 i formestan	0.00	-0.19	-0.03	1.24	0.00	0.00	0.00
23 i formestan	-0.09	-0.67	-0.12	0.81	-1.40	0.00	0.00
22 i doksorubicin	2.13	2.47	-0.32	1.92	2.50	2.44	2.92
23 i doksorubicin	2.04	2.00	-0.42	1.49	1.09	2.44	2.92

Tabela 8.9. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **24** i **25**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	HT-29	K562	MRC-5
24 i 25	0.00	0.65	-0.59	0.00	0.00	0.00	0.00
24 i formestan	0.00	-0.05	-0.28	1.26	0.00	0.00	0.00
25 i formestan	0.00	-0.70	0.32	1.26	0.00	0.00	0.00
24 i doksorubicin	2.13	2.62	-0.57	1.93	2.50	2.44	2.92
25 i doksorubicin	2.13	1.97	0.02	1.93	2.50	2.44	2.92

Tabela 8.10. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **36** i **39**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
36 i 39	0.00	-0.25	-1.20	0.00
36 i formestan	0.00	0.004	-0.88	0.00
39 i formestan	0.00	0.26	0.32	0.00
36 i doksorubicin	2.13	2.67	-1.18	2.92
39 i doksorubicin	2.13	2.92	0.02	2.92

Tabela 8.11. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **37** i **39**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

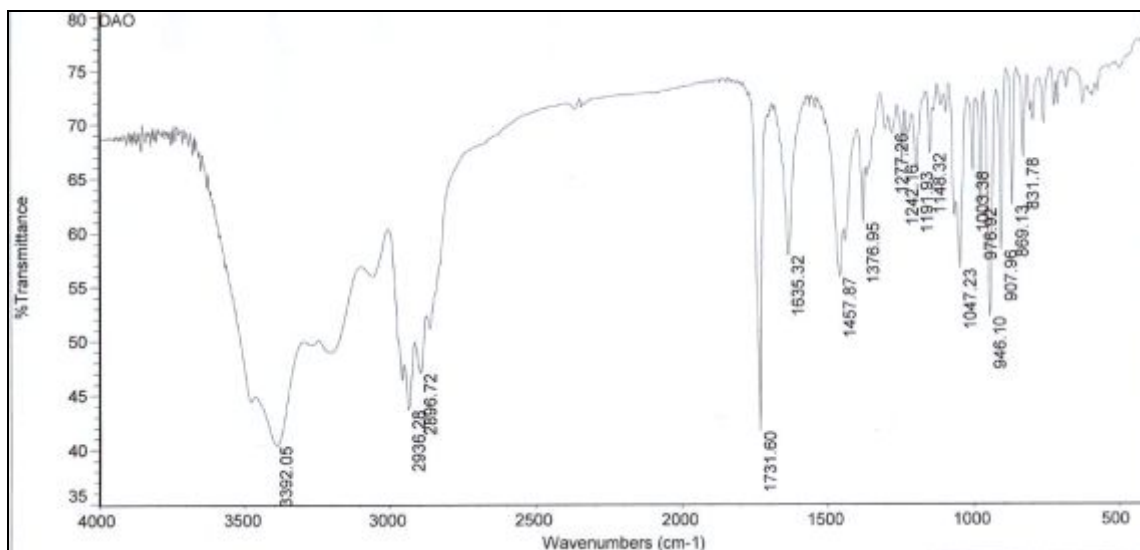
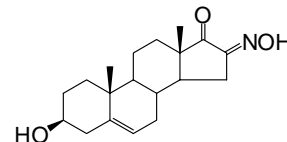
	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
37 i 39	-0.41	0.00	-1.66	0.00
37 i formestan	-0.41	0.26	-1.34	0.00
39 i formestan	0.00	0.26	0.32	0.00
37 i doksorubicin	1.72	2.92	-1.64	2.92
39 i doksorubicin	2.13	2.92	0.02	2.92

Tabela 8.12. Antiproliferativna aktivnost jedinjenja **37** i **41**, formestana i doksorubicina na ćelijske linije, izražena kao vrednost $\Delta \log IC_{50}$

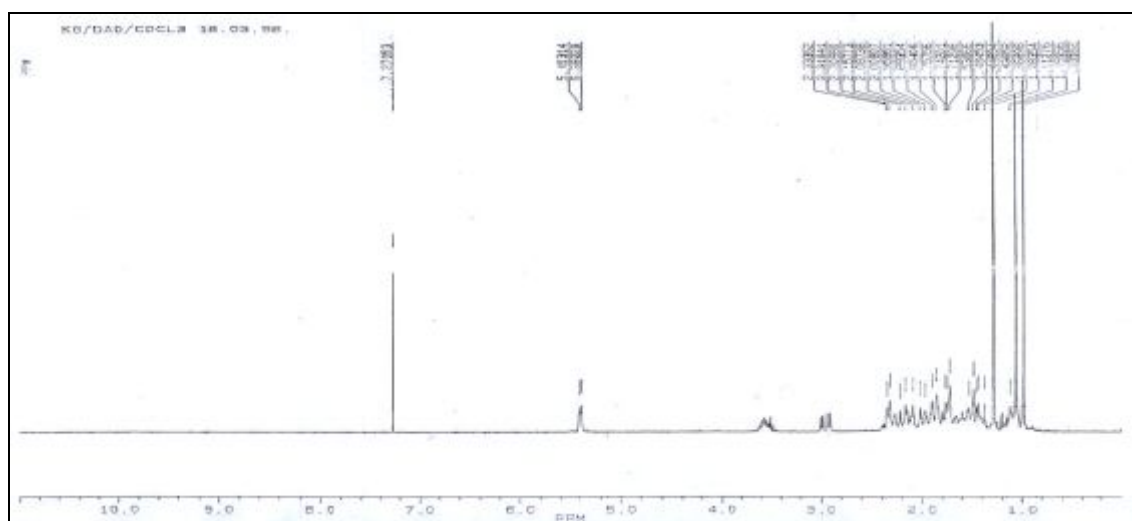
	$\Delta \log IC_{50}$ (μM)			
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	MRC-5
37 i 41	-0.41	0.00	-1.66	0.00
37 i formestan	-0.41	0.26	-1.34	0.00
41 i formestan	0.00	0.26	0.32	0.00
37 i doksorubicin	1.72	2.92	-1.64	2.92
41 i doksorubicin	2.13	2.92	0.02	2.92

8.2. IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR i M spektri

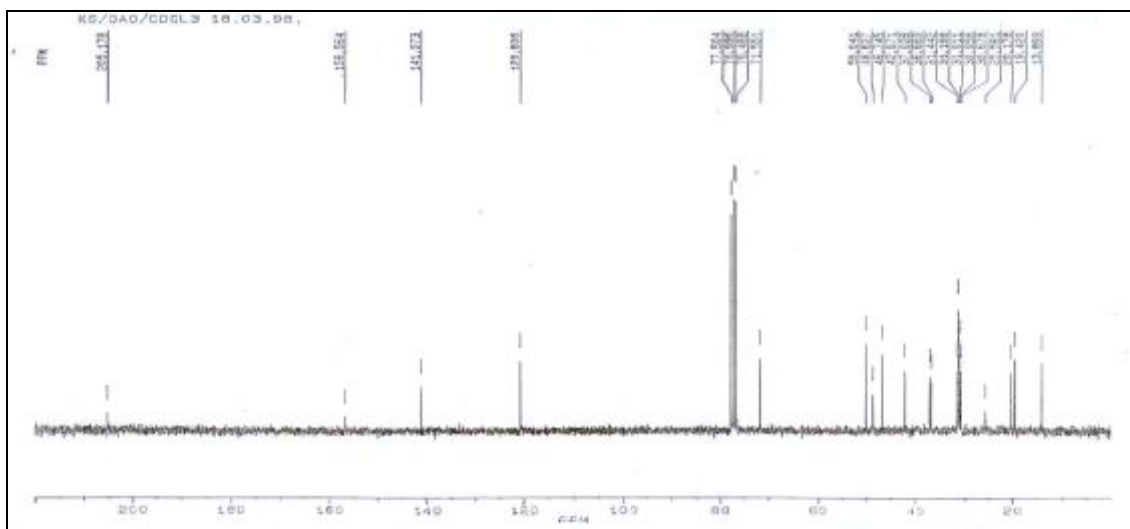
3 β -Hidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en-17-on (2)¹⁹⁹



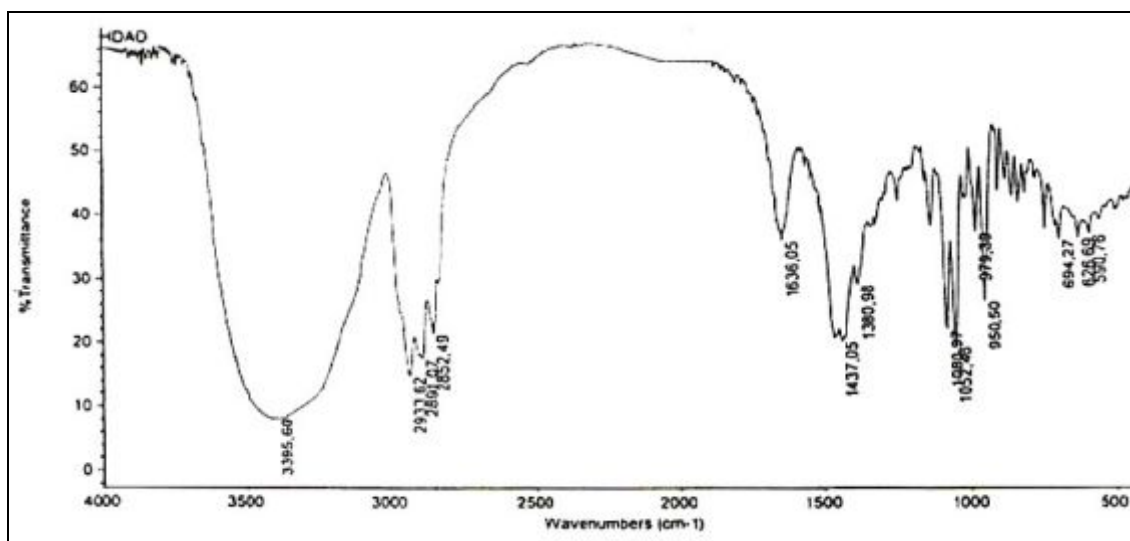
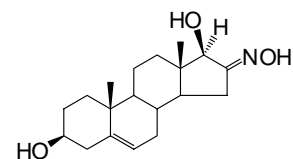
Prilog 8.1. IR spektar jedinjenja 2



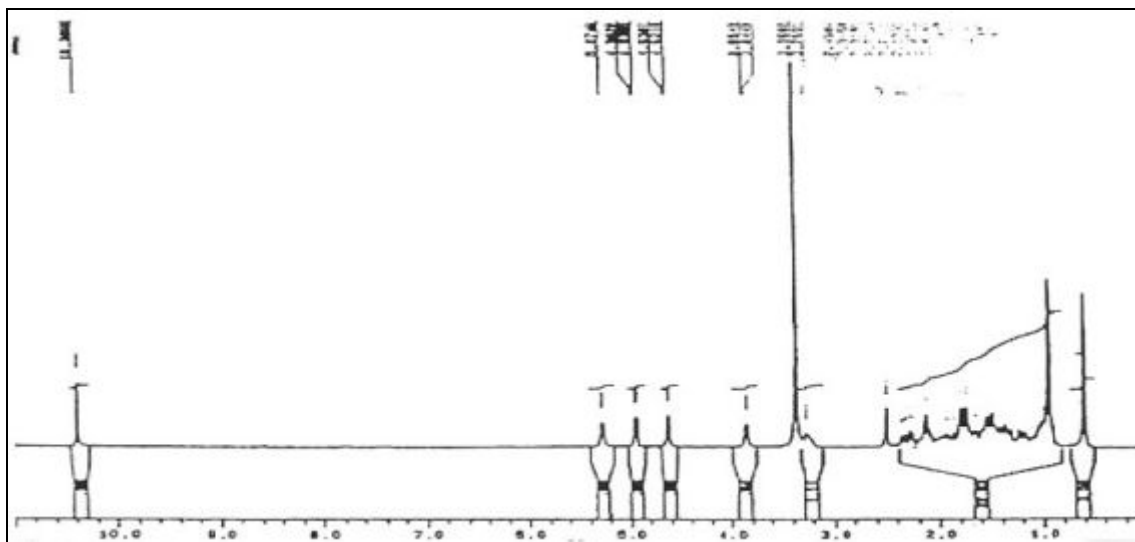
Prilog 8.2. ^1H NMR spektar jedinjenja 2

Prilog 8.3. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 2

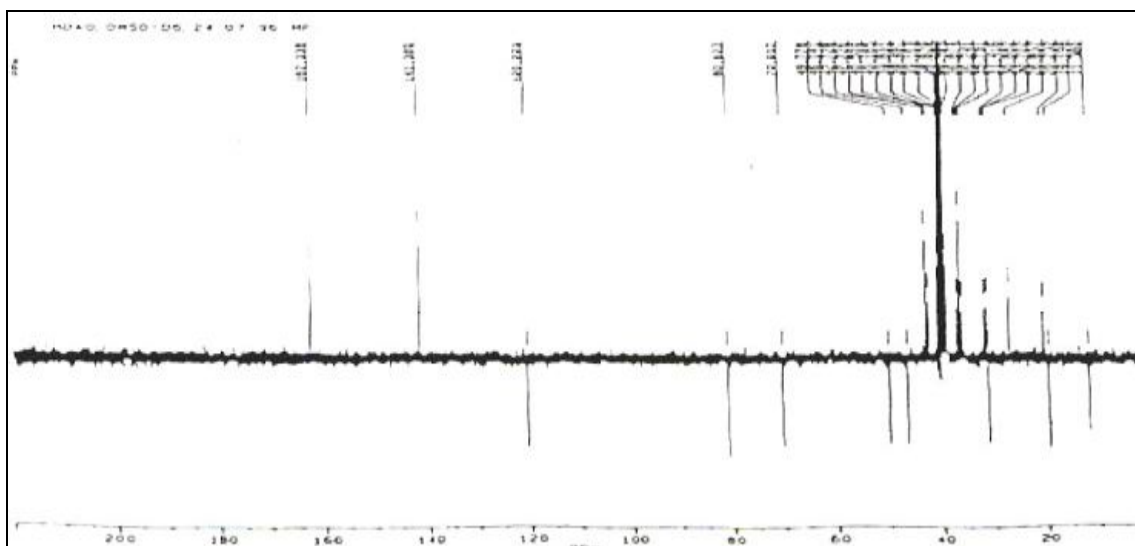
$3\beta,17\beta$ -Dihidroksi-16-hidroksimino-androst-5-en (3)¹⁹⁹



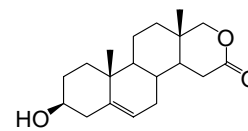
Prilog 8.4. IR spektar jedinjenja 3



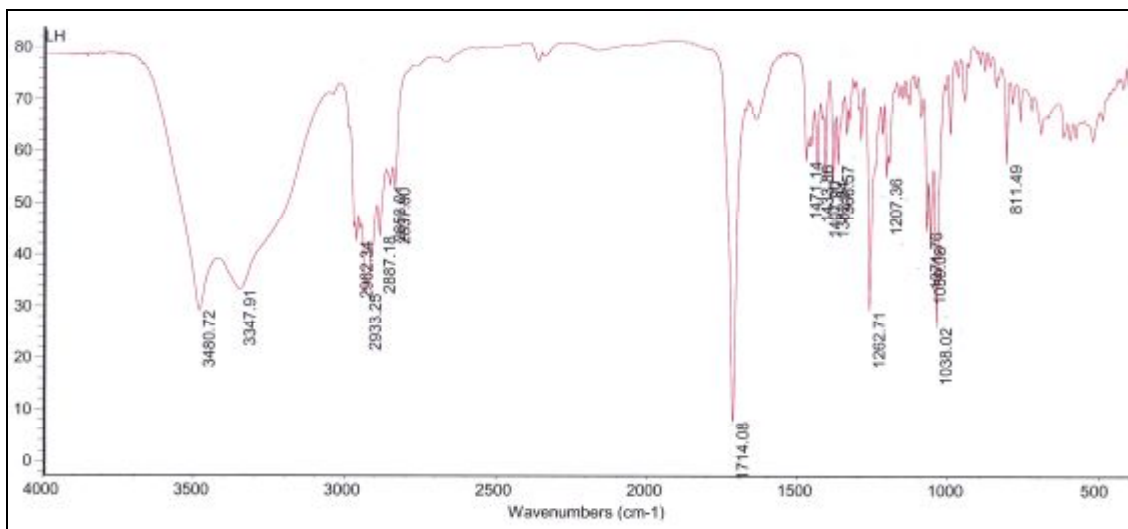
Prilog 8.5. ^1H NMR spektar jedinjenja 3



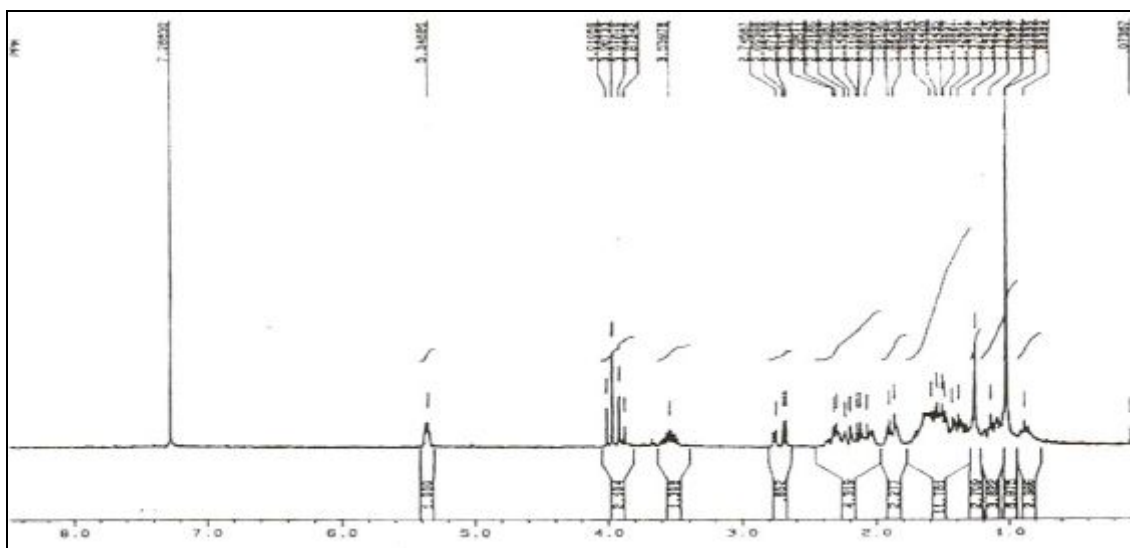
Prilog 8.6. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 3

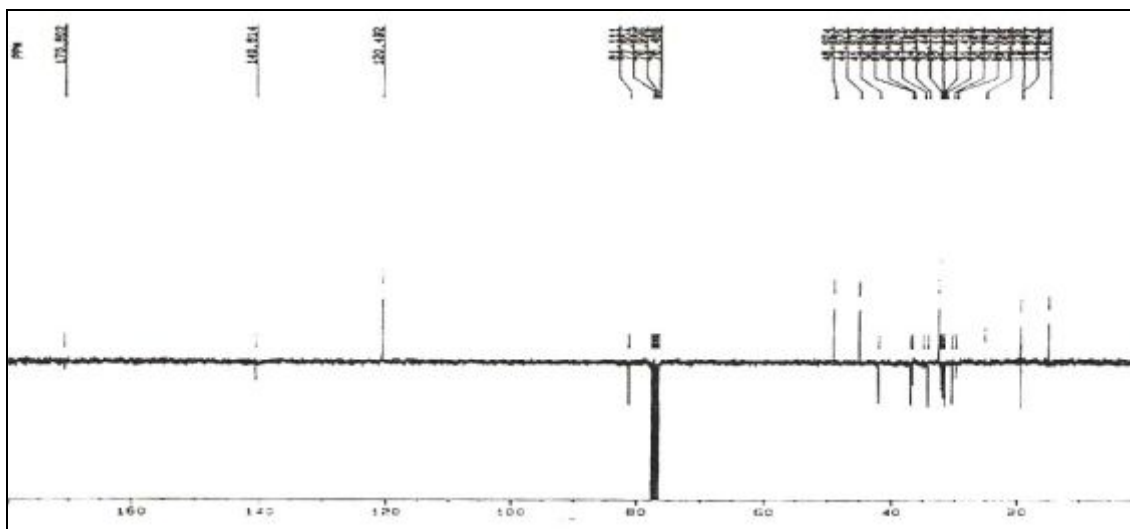
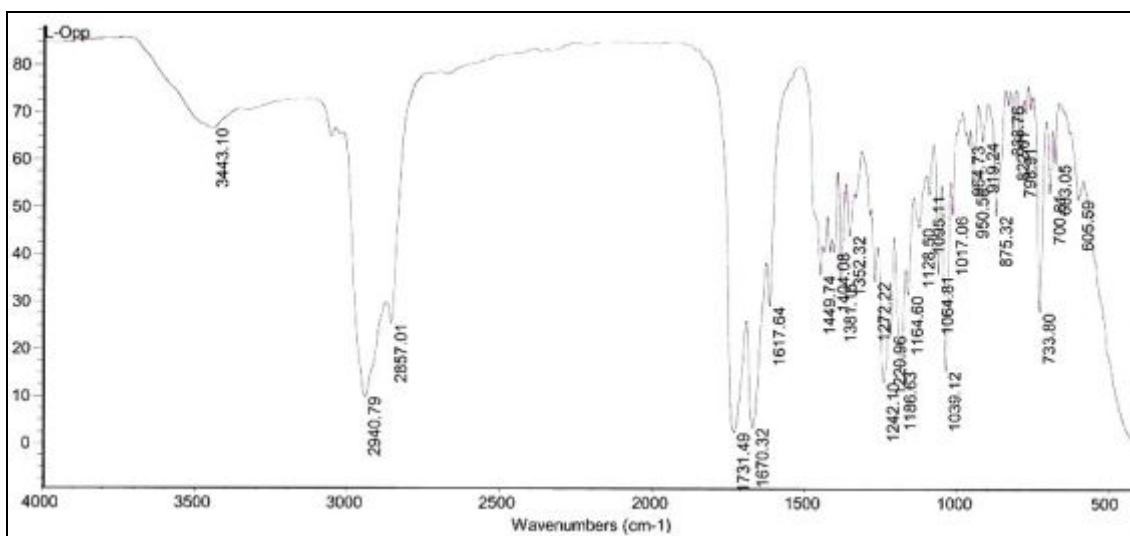
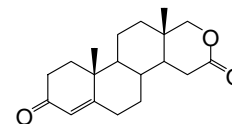
3 β -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrost-5-en-16-on (4)¹²

4

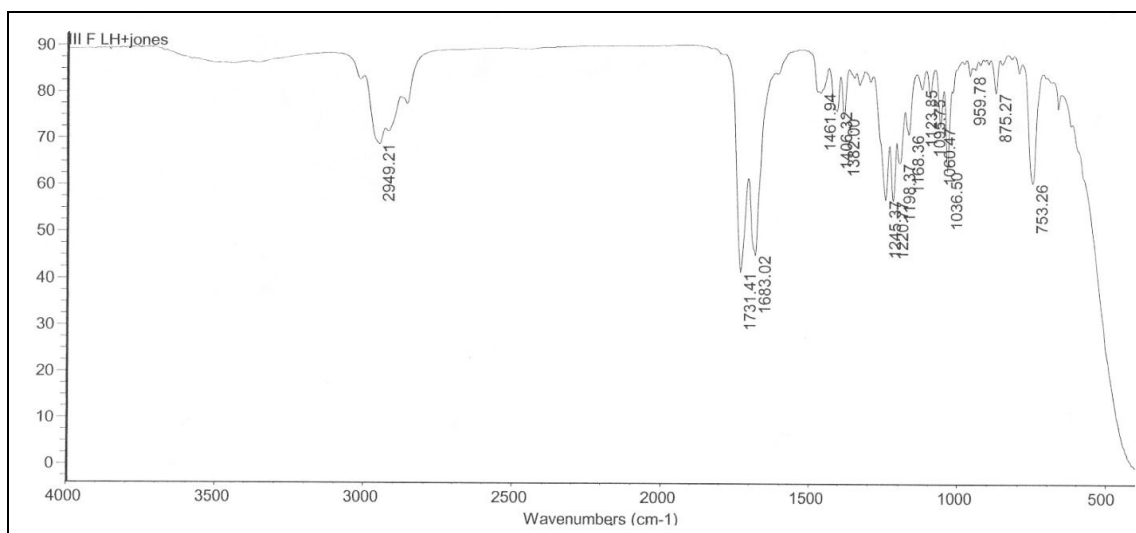
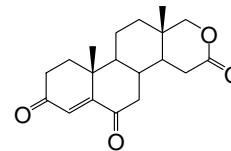


Prilog 8.7. IR spektar jedinjenja 4

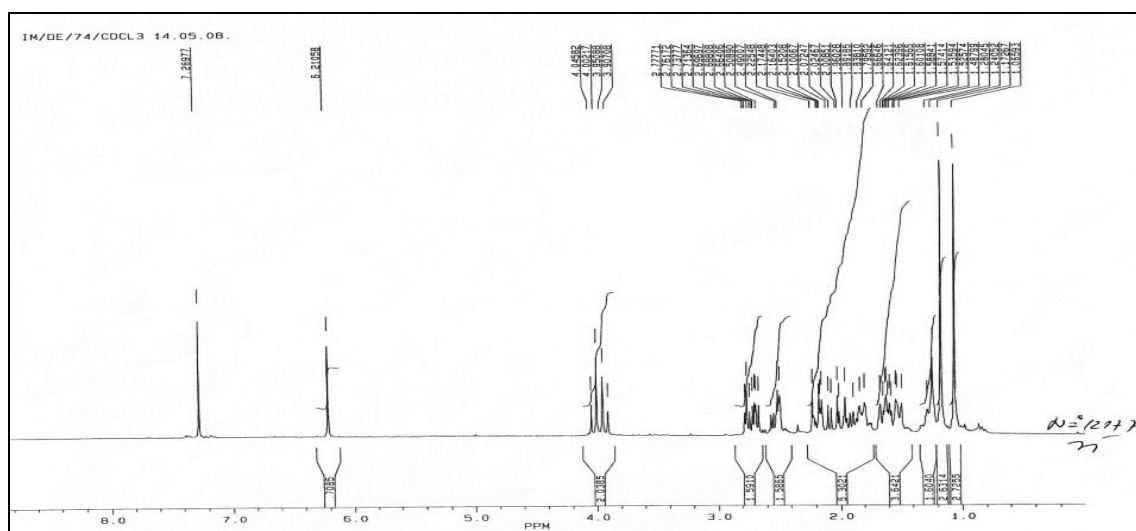
Prilog 8.8. ¹H NMR spektar jedinjenja 4

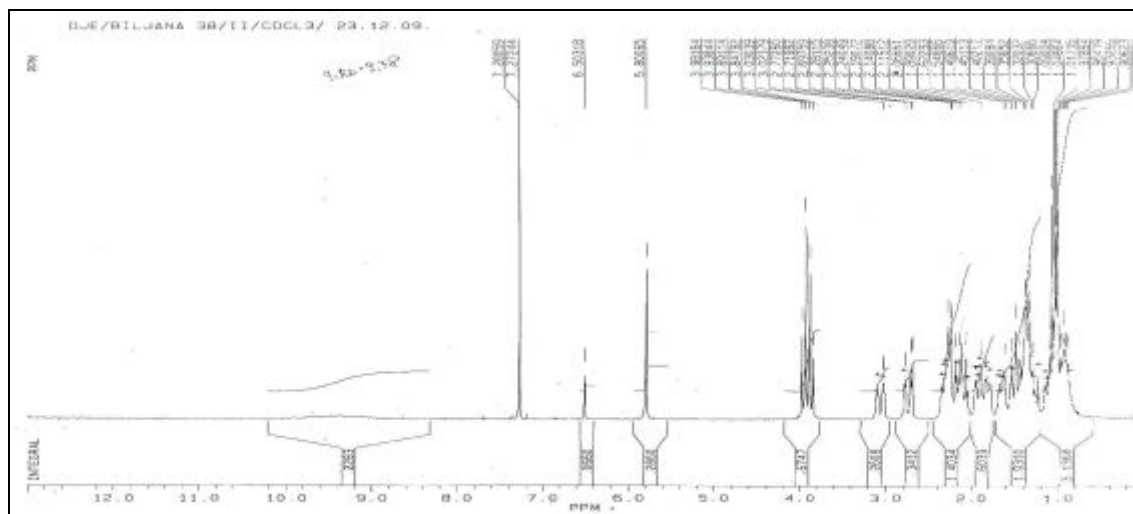
Prilog 8.9. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 417-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (5)¹²

Prilog 8.10. IR spektar jedinjenja 5

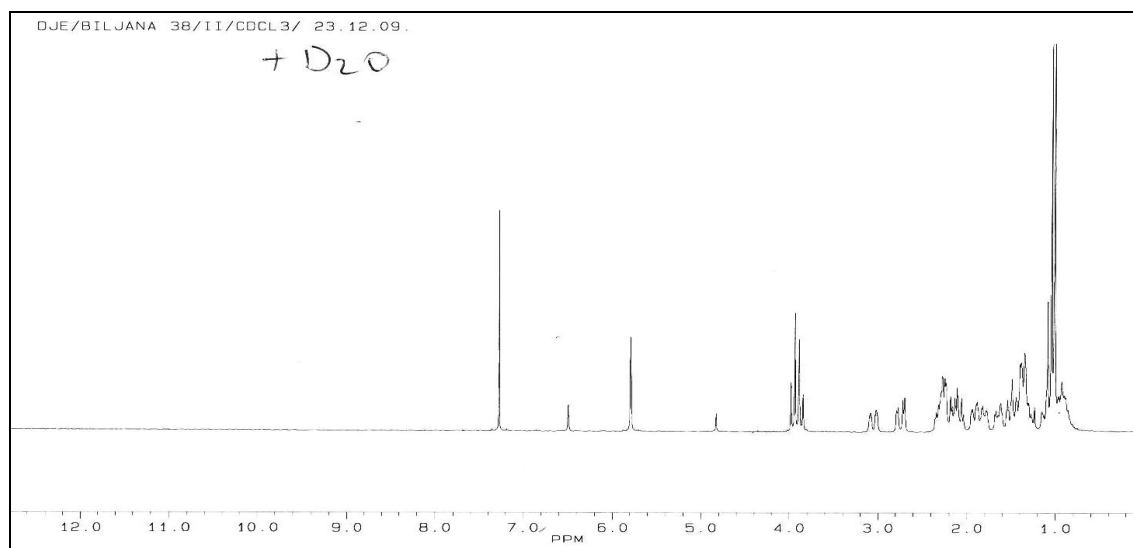
17-Oksa-D-homoandrost-4-en-3,6,16-trion (6)²⁰⁰

Prilog 8.13. IR spektar jedinjenja 6

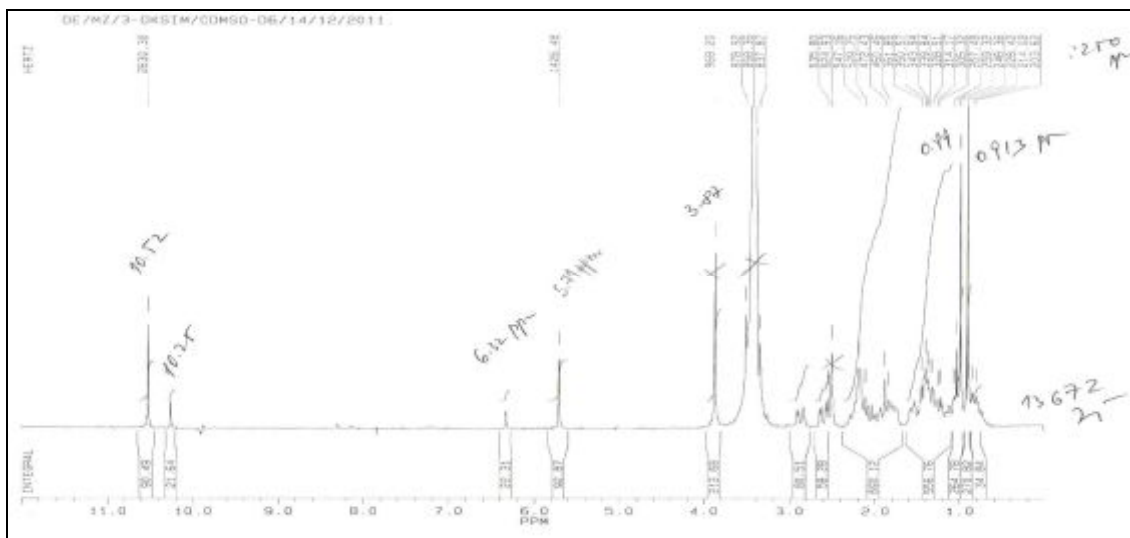
Prilog 8.14. ¹H NMR spektar jedinjenja 6



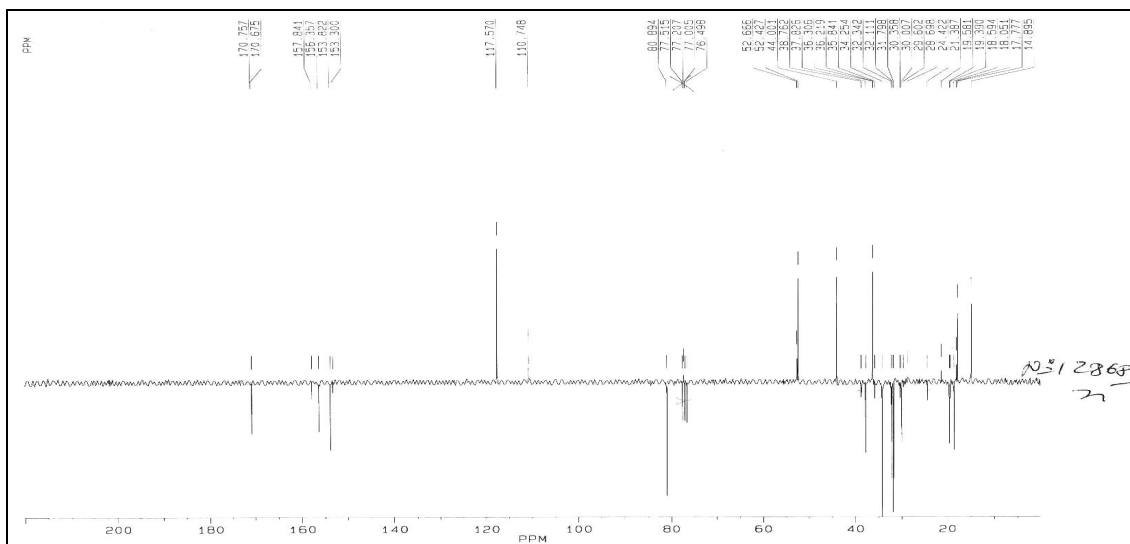
Prilog 8.17. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **7** i **8** (snimljen u CDCl_3)



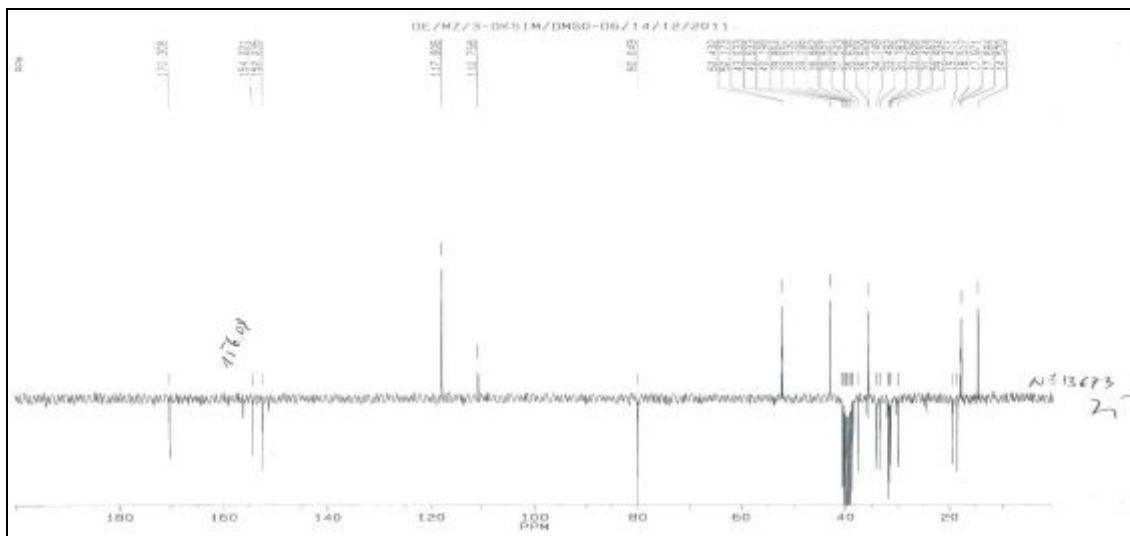
Prilog 8.18. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **7** i **8** (snimljen u D_2O)



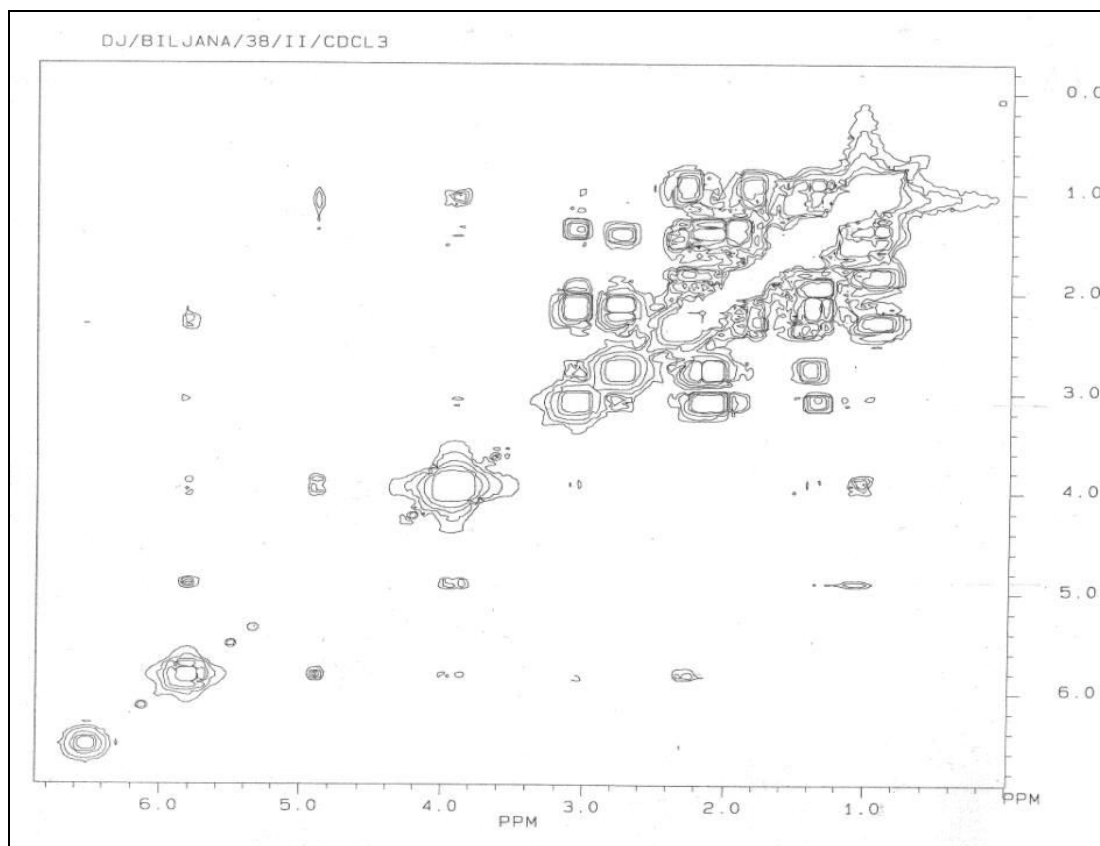
Prilog 8.19. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja 7 i 8 (snimljen u DMSO-d_6)



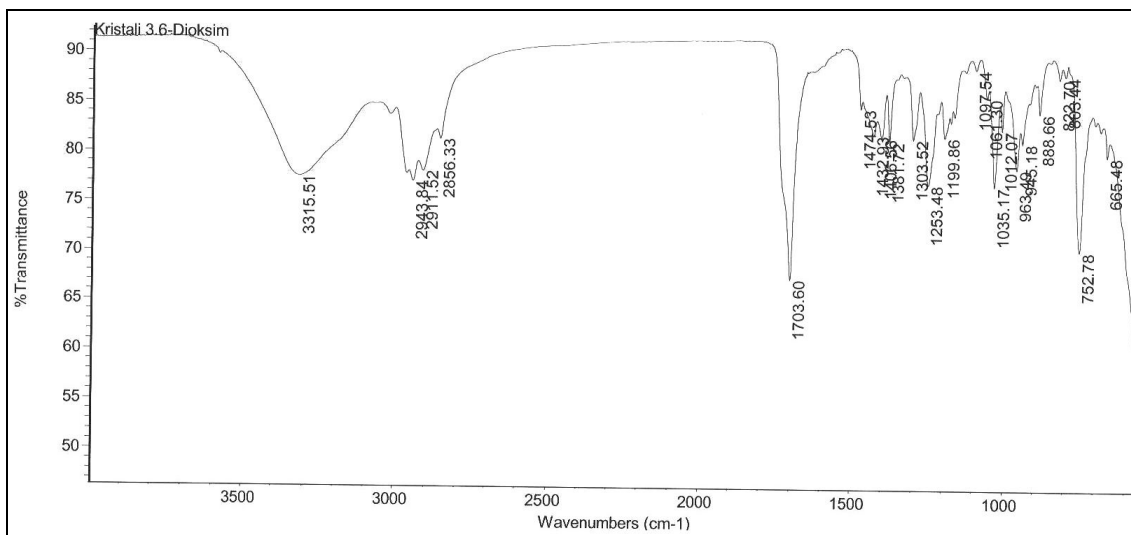
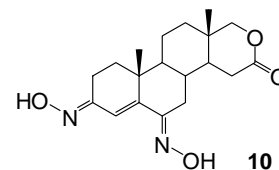
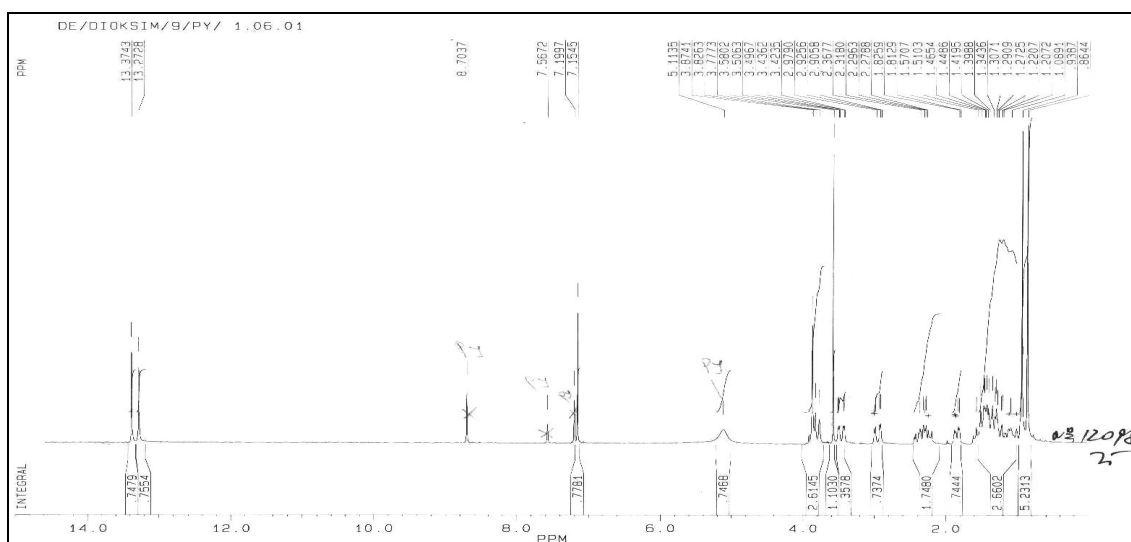
Prilog 8.20. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja 7 i 8 (snimljen u CDCl_3)

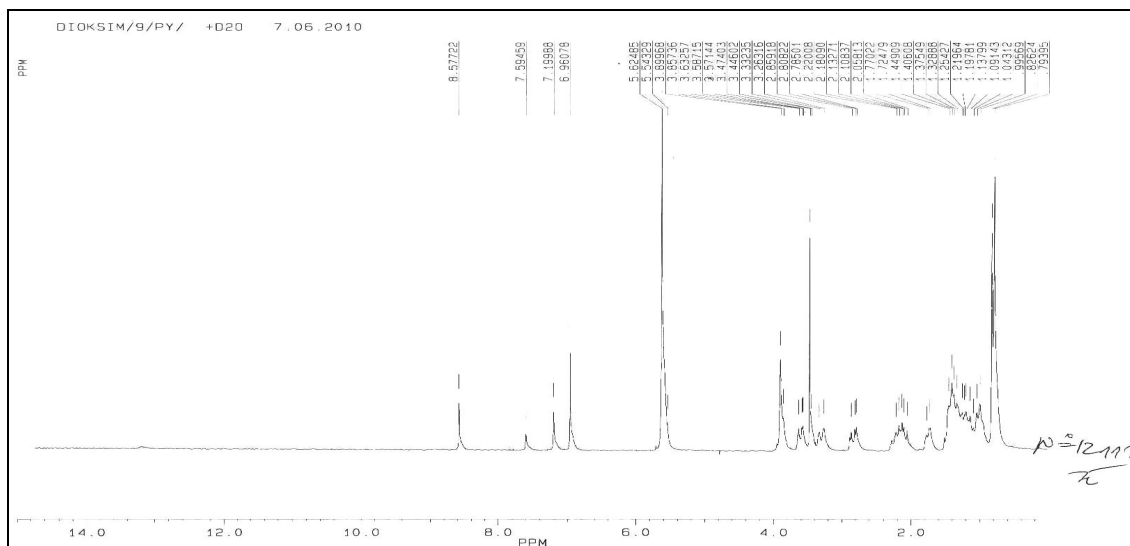


Prilog 8.21. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja **7** i **8** (snimljen u DMSO- d_6)

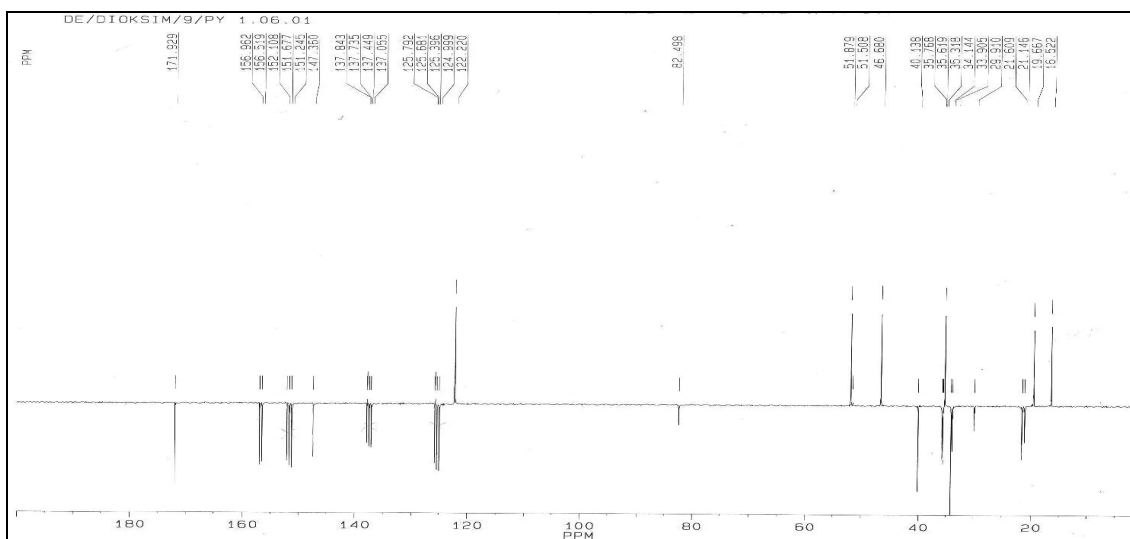


Prilog 8.22. Korelacioni dijagram za smešu jedinjenja **7** i **8**

(3E,6E)-Dihidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (10)Prilog 8.23. IR spektar jedinjenja **10**Prilog 8.24. ¹H NMR spektar jedinjenja **10** (snimljen u Py-d₅)

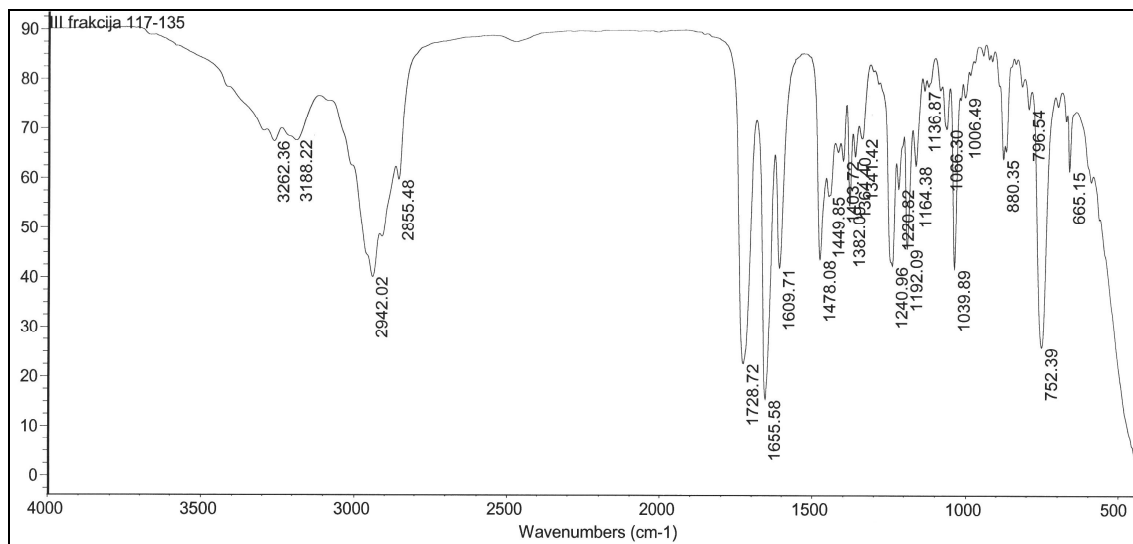
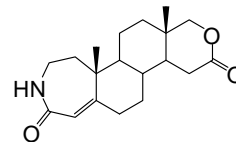


Prilog 8.25. ^1H NMR spektar jedinjenja **10** (snimljen u D_2O)

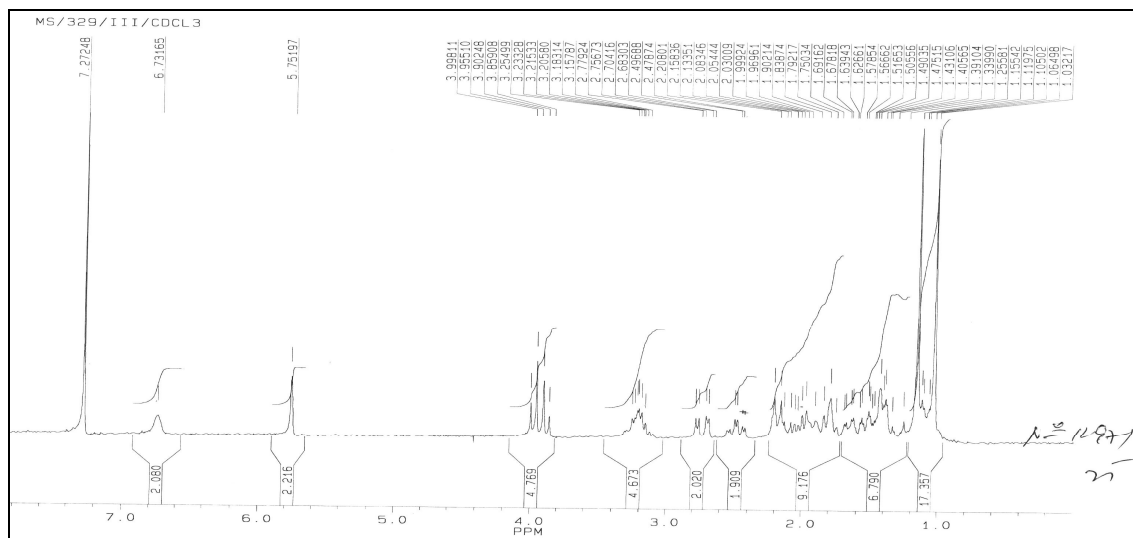


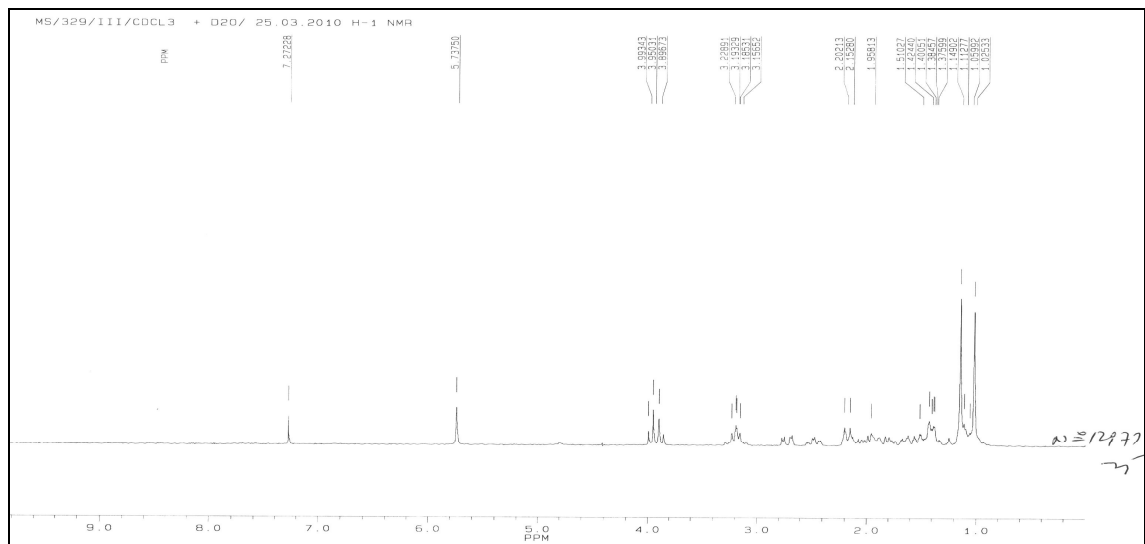
Prilog 8.26. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **10** (snimljen u Py-d_5)

2a-Aza-17-oksa-A,D-dihomoandrost-4-en-3,16-dion (11)

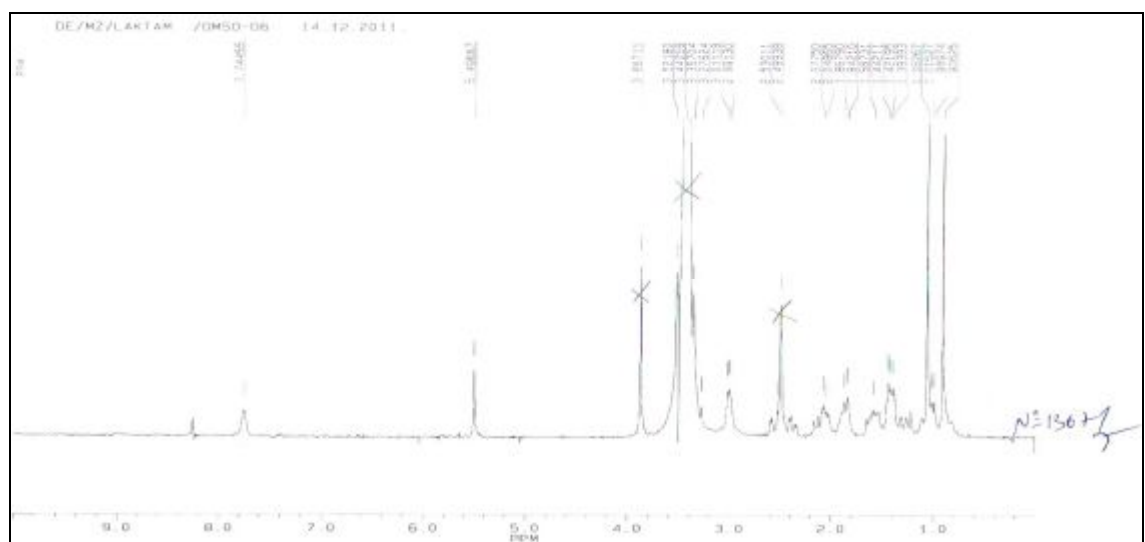


Prilog 8.27. IR spektar jedinjenja 11

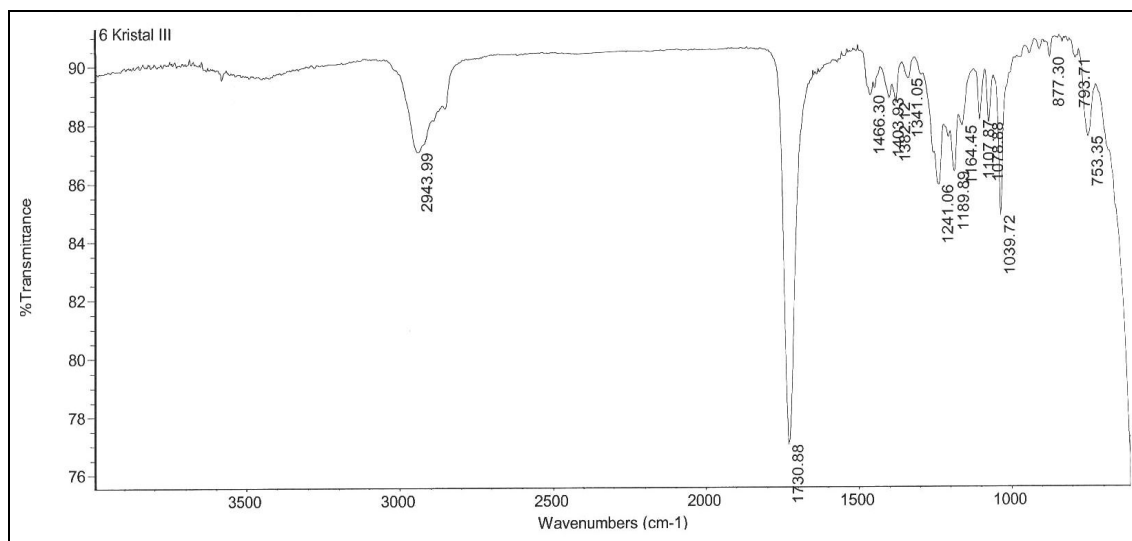
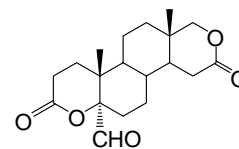
Prilog 8.28. ¹H NMR spektar jedinjenja 11 (snimljen u CDCl₃)



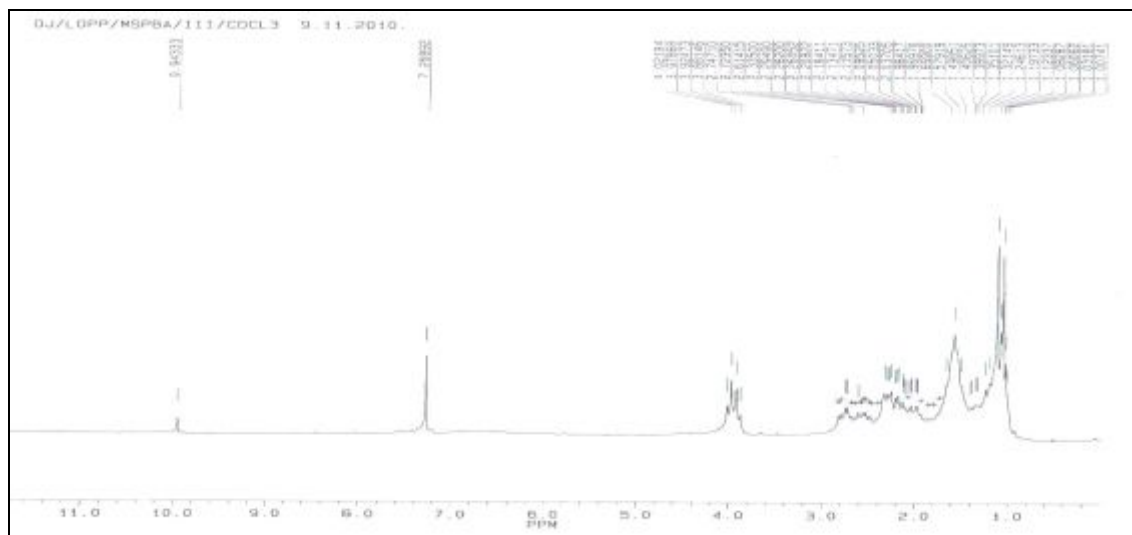
Prilog 8.29. ¹H NMR spektar jedinjenja 11 (snimljen u D₂O)



Prilog 8.30. ¹H NMR spektar jedinjenja 11 (snimljen u DMSO-d₆)

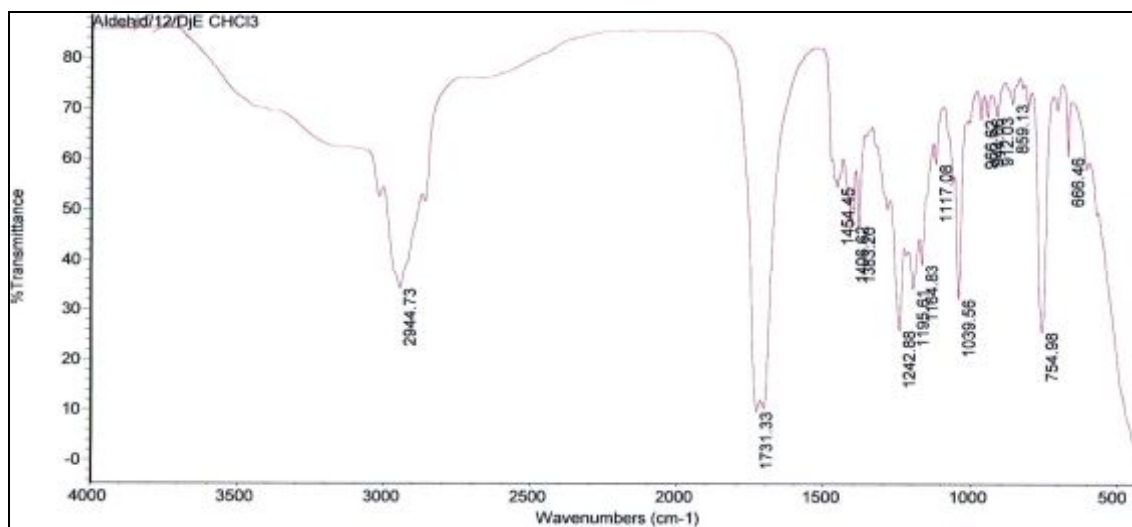
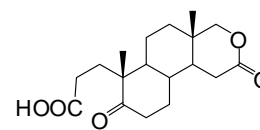
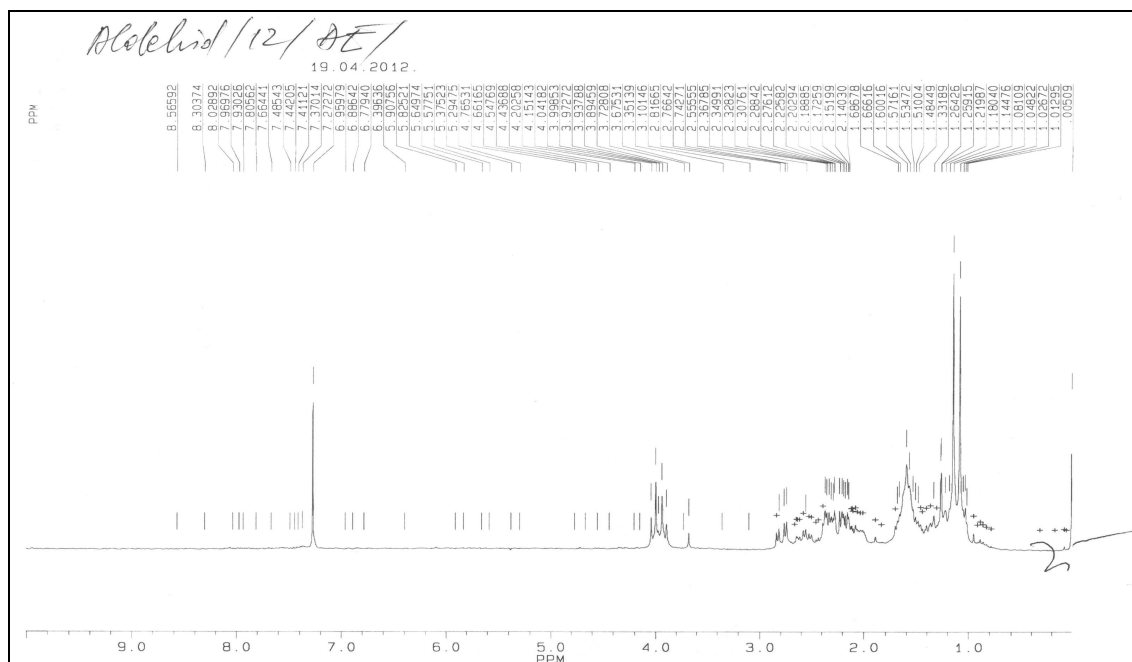
3,16-Diokso-4,17-dioksa-D-homoandrostan-5 α -karbaldehid (12)

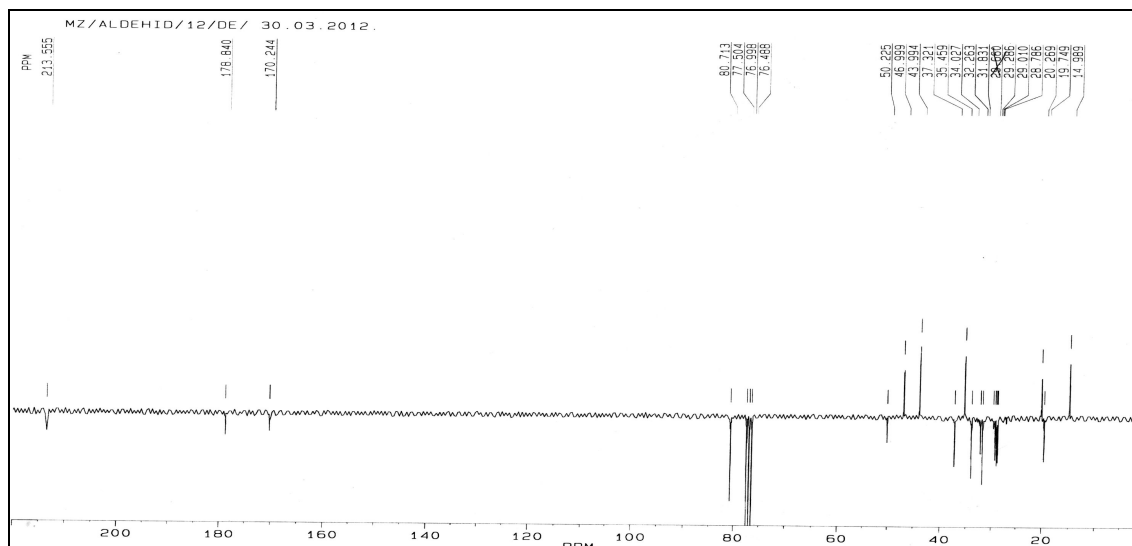
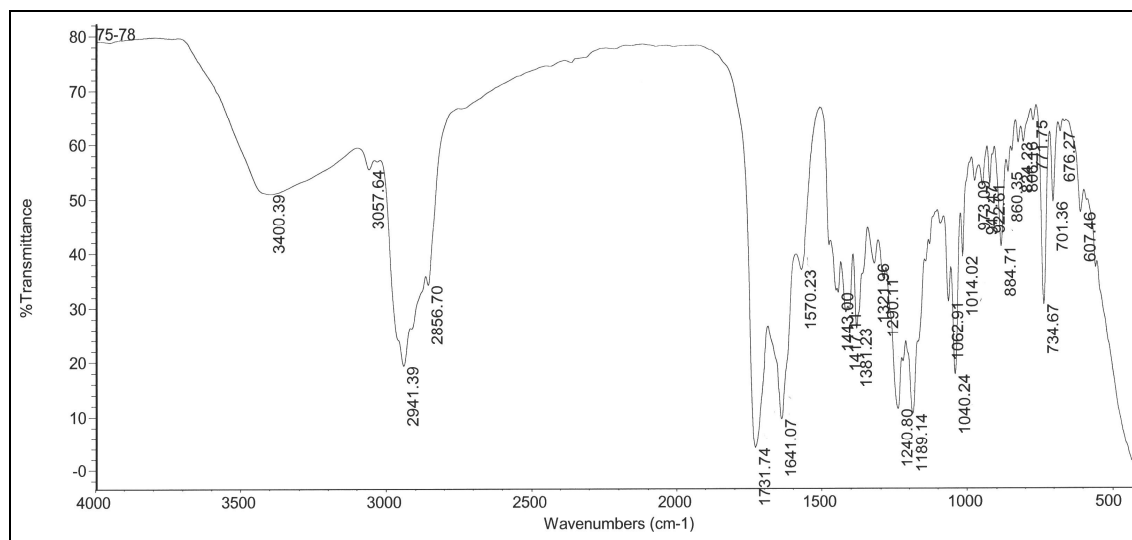
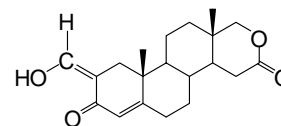
Prilog 8.33. IR spektar jedinjenja 12

Prilog 8.34. ^1H NMR spektar jedinjenja 12

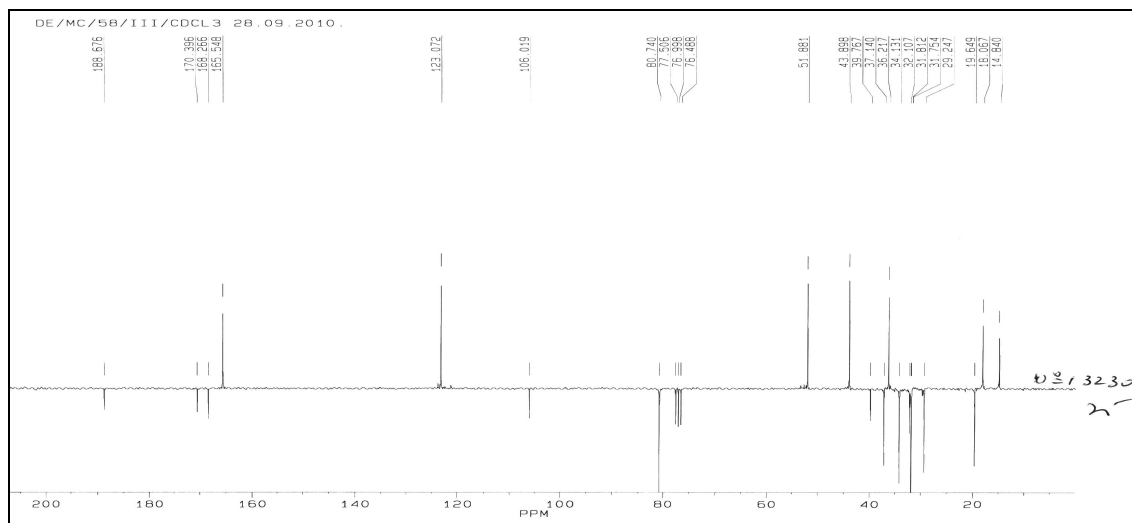
17-Oksa-D-homo-3,5-seko-4-norandrostan-5-on-3-karboksilna kiselina

(13)

Prilog 8.37. ^1H NMR spektar jedinjenja 13Prilog 8.38. ^1H NMR spektar jedinjenja 13

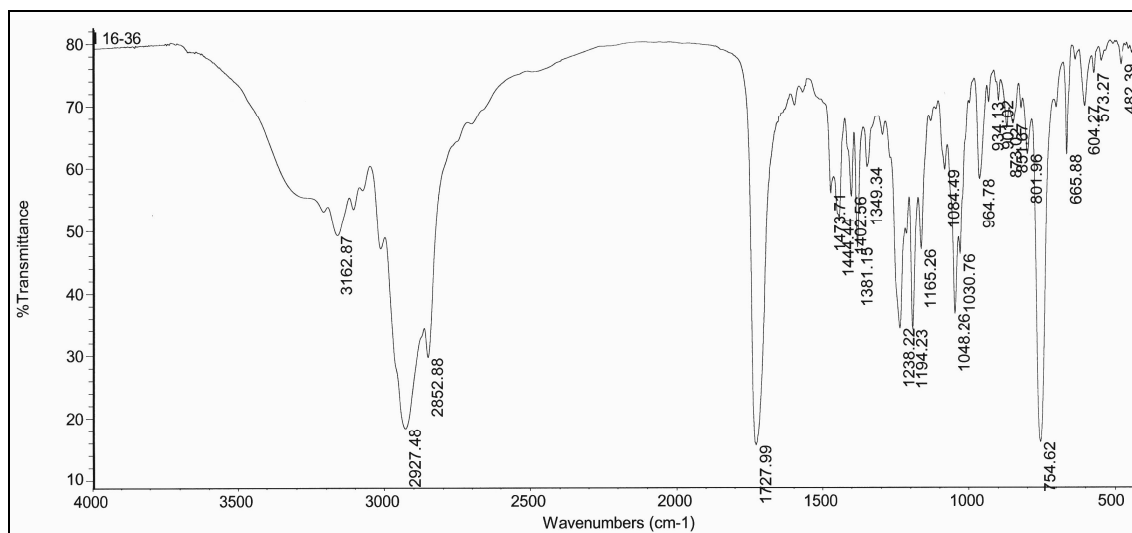
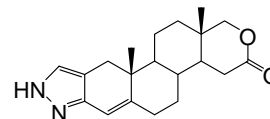
Prilog 8.39. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 13**(2Z)-Hidroksimetilen-17-oksa-D-homoandrost-4-en-3,16-dion (14)**

Prilog 8.40. IR spektar jedinjenja 14

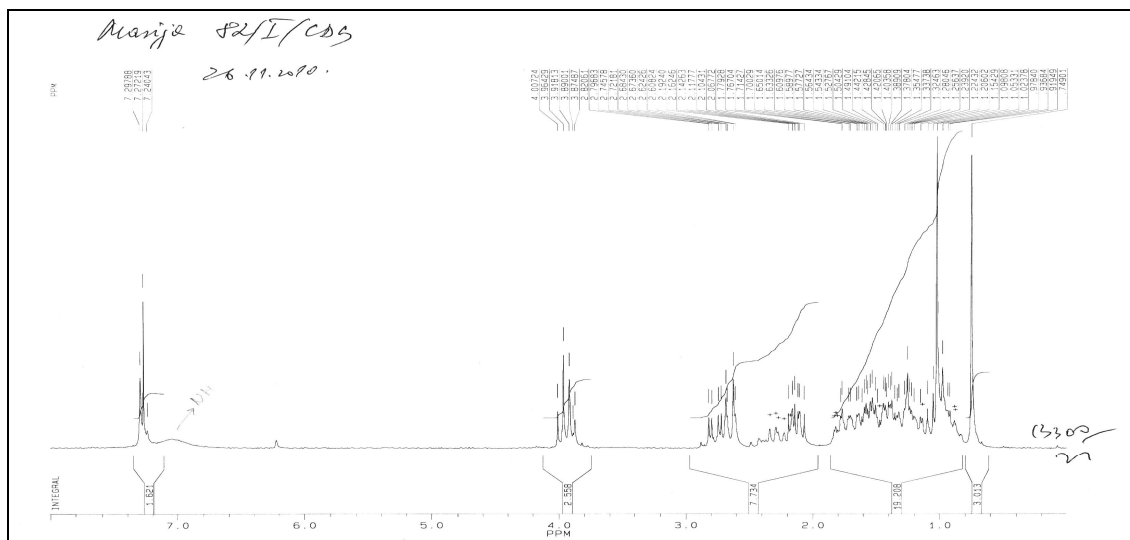


Prilog 8.43. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 14 (snimljen u CDCl_3)

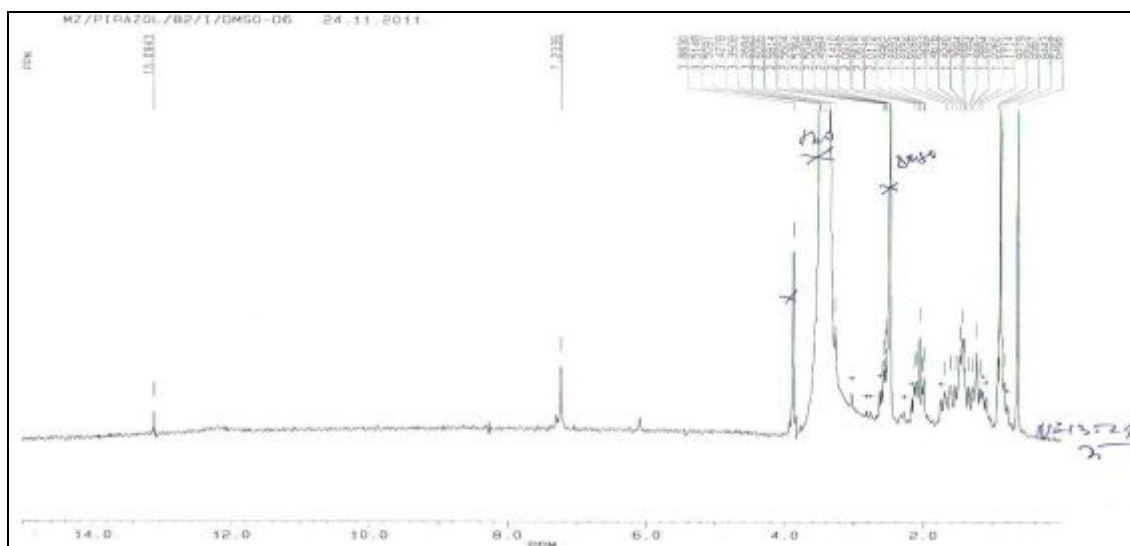
17-oksa-pirazolo[4',3':2,3]-D-homoandrost-4-en-16-on (15)



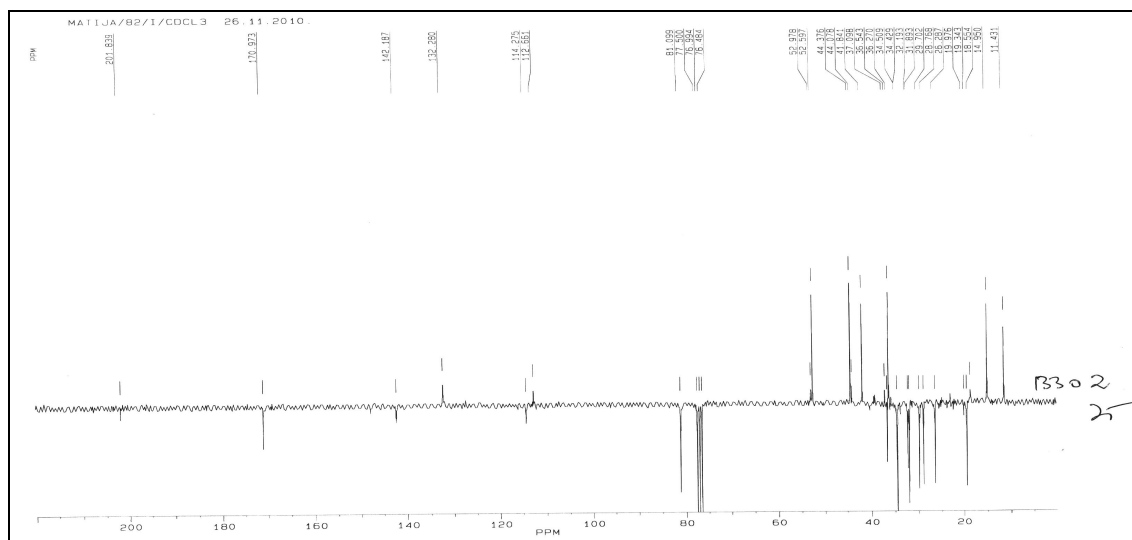
Prilog 8.44. IR spektar jedinjenja 15



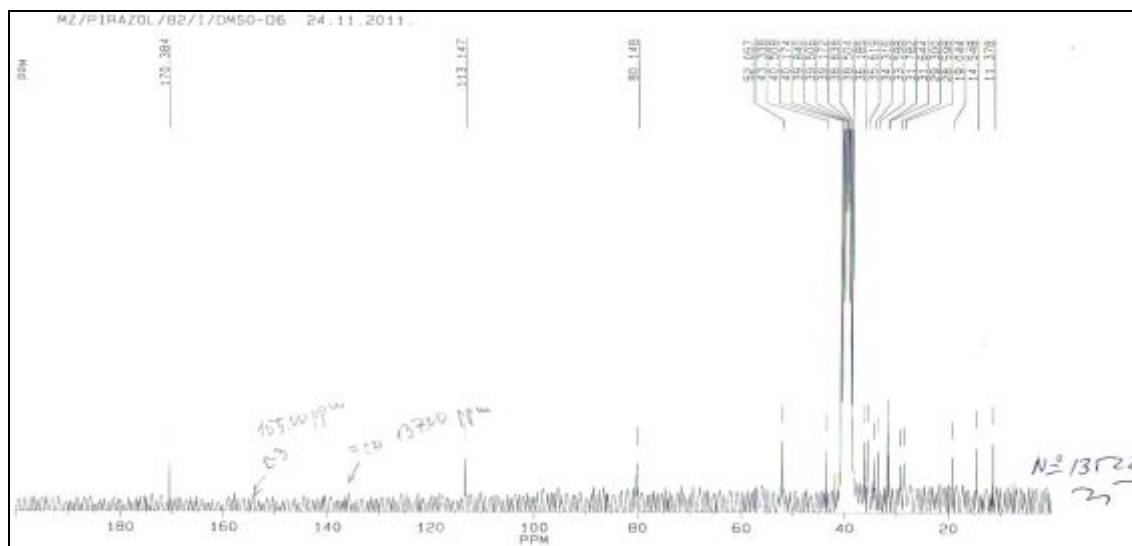
Prilog 8.45. ^1H NMR spektar jedinjenja **15** (snimljen u CDCl_3)



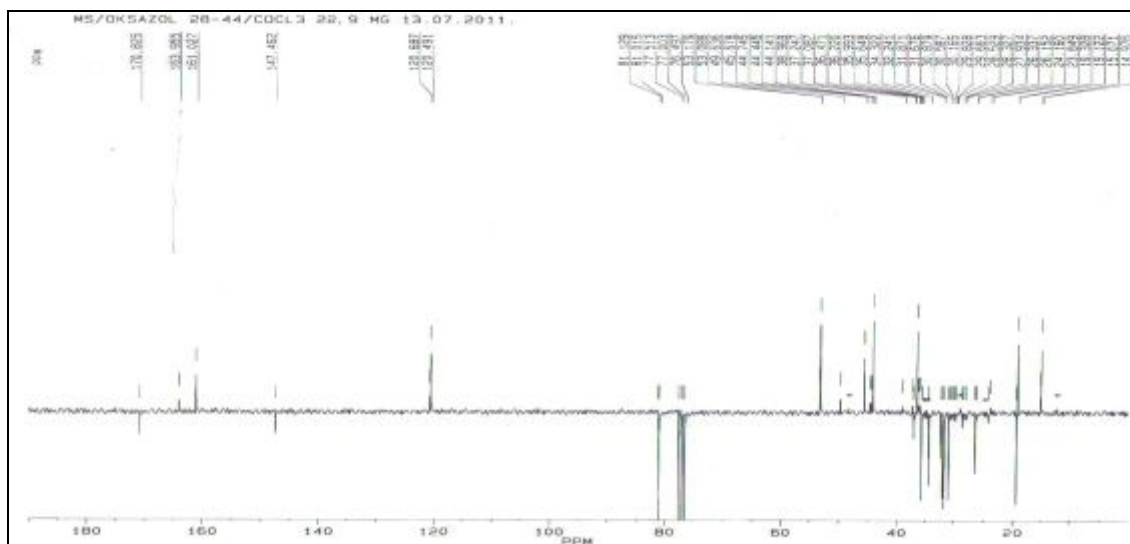
Prilog 8.46. ^1H NMR spektar jedinjenja **15** (snimljen u DMSO-d_6)



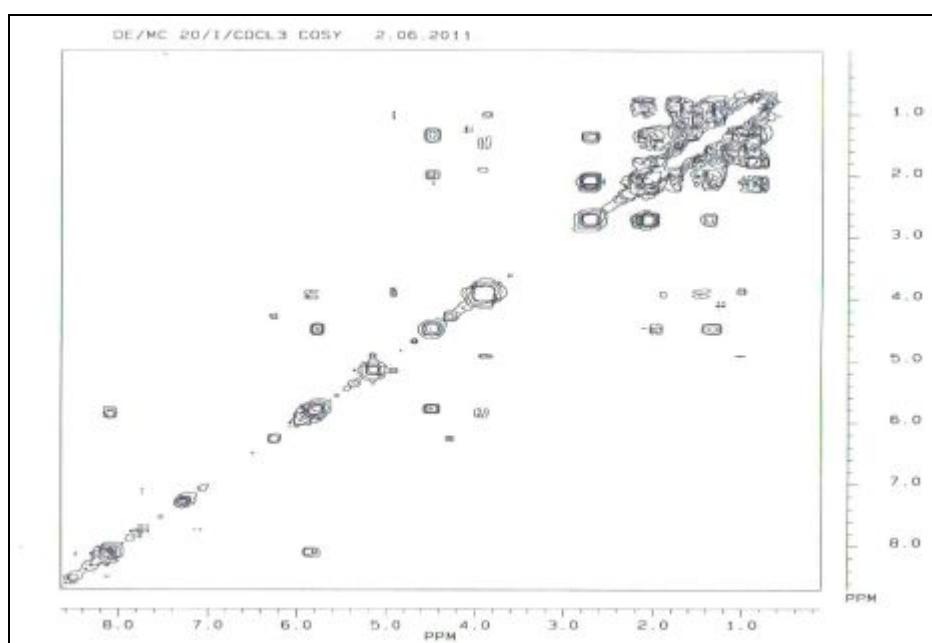
Prilog 8.47. ¹³C NMR spektar jedinjenja 15 (snimljen u CDCl₃)



Prilog 8.48. ¹³C NMR spektar jedinjenja 15 (snimljen u DMSO-d₆)

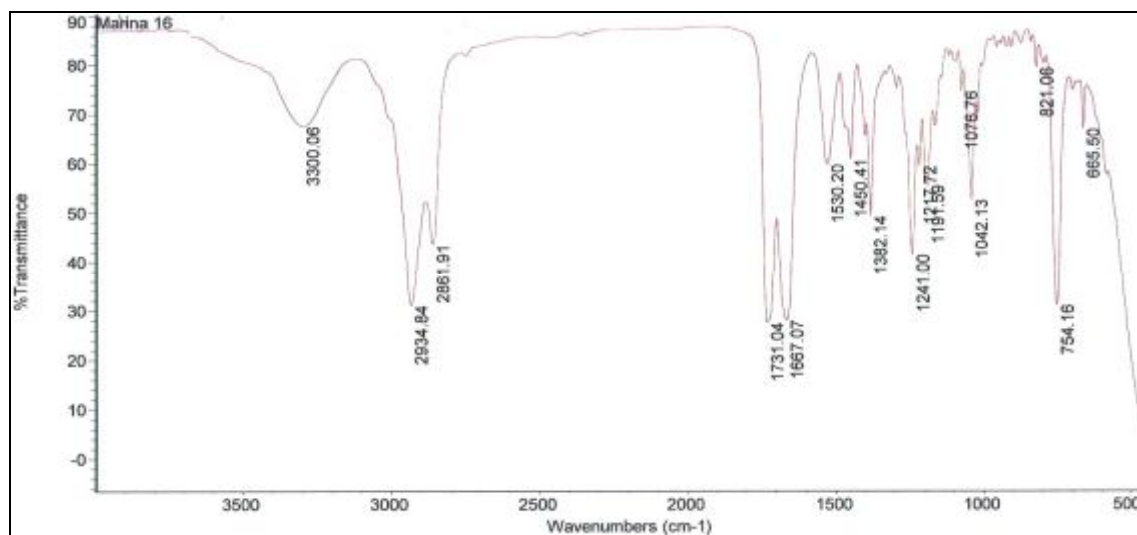
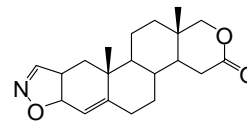


Prilog 8.51. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 16

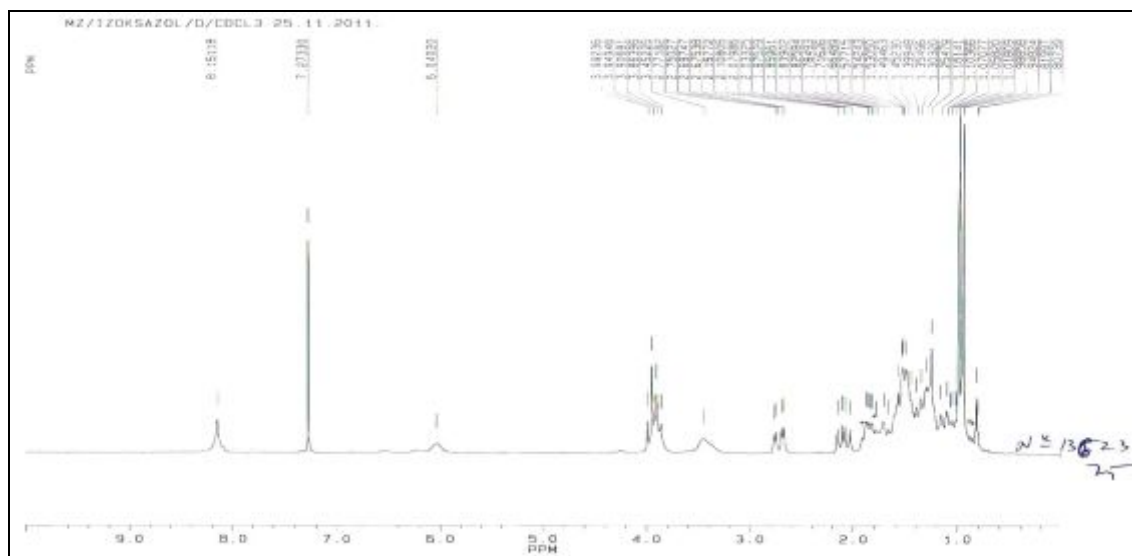


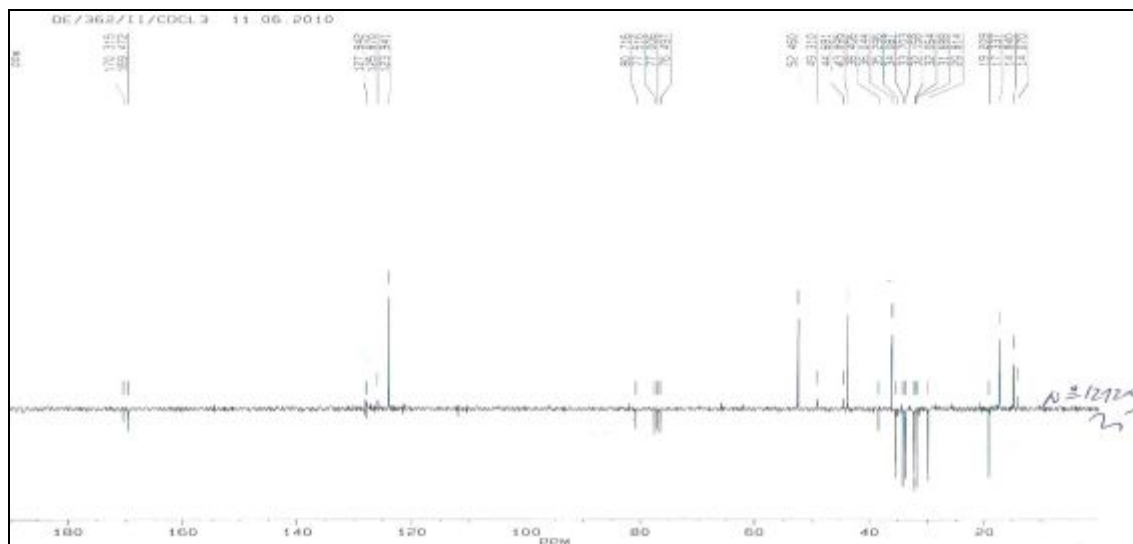
Prilog 8.52. Cosy spektar jedinjenja 16

Izoksazolino[4',5':2,3]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on (17)

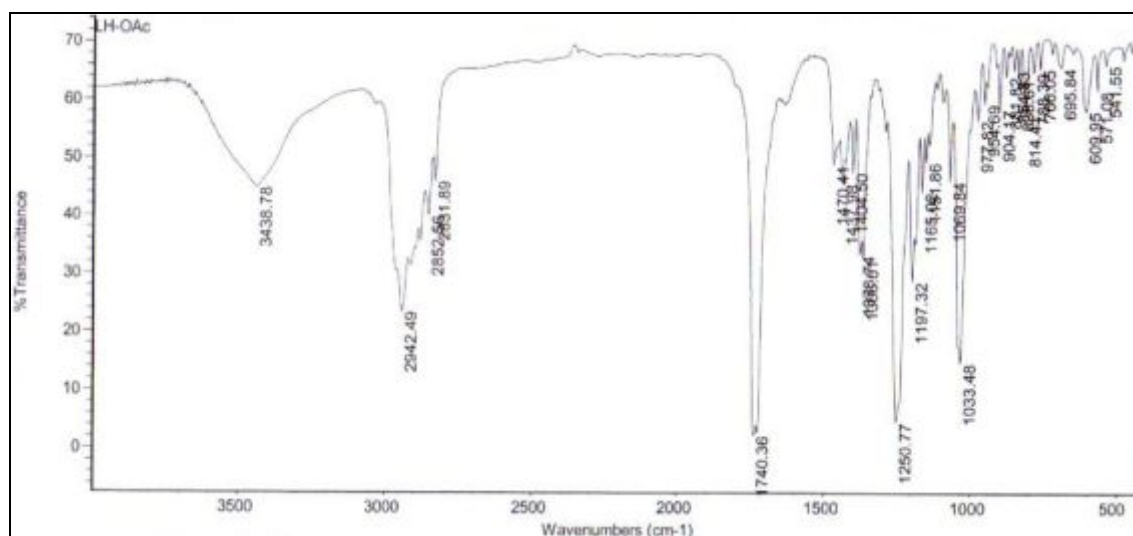
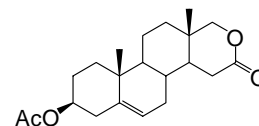


Prilog 8.53. IR spektar jedinjenja 17

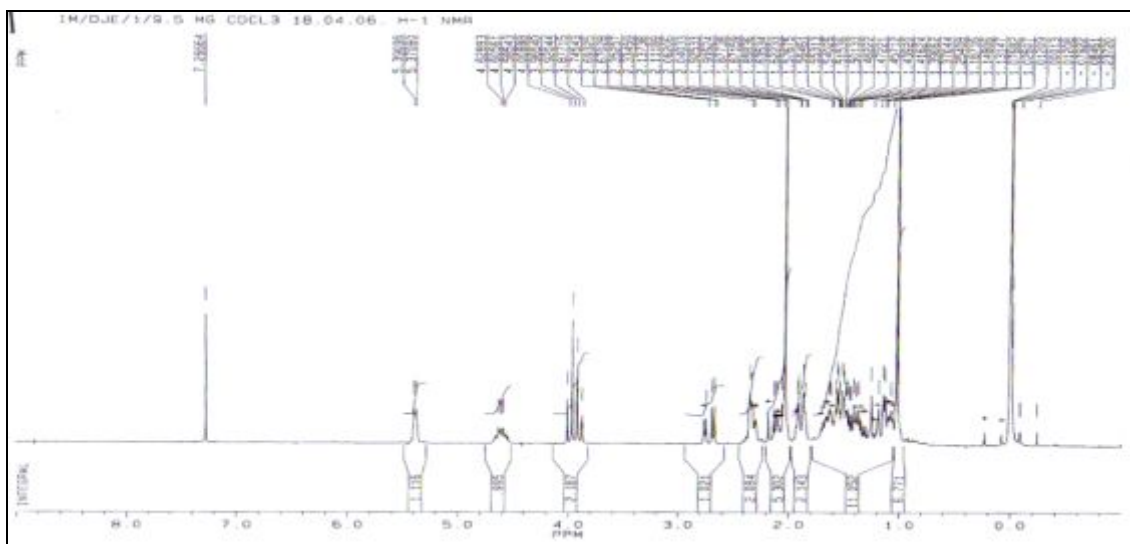
Prilog 8.54. ¹H NMR spektar jedinjenja 17

Prilog 8.55. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 17

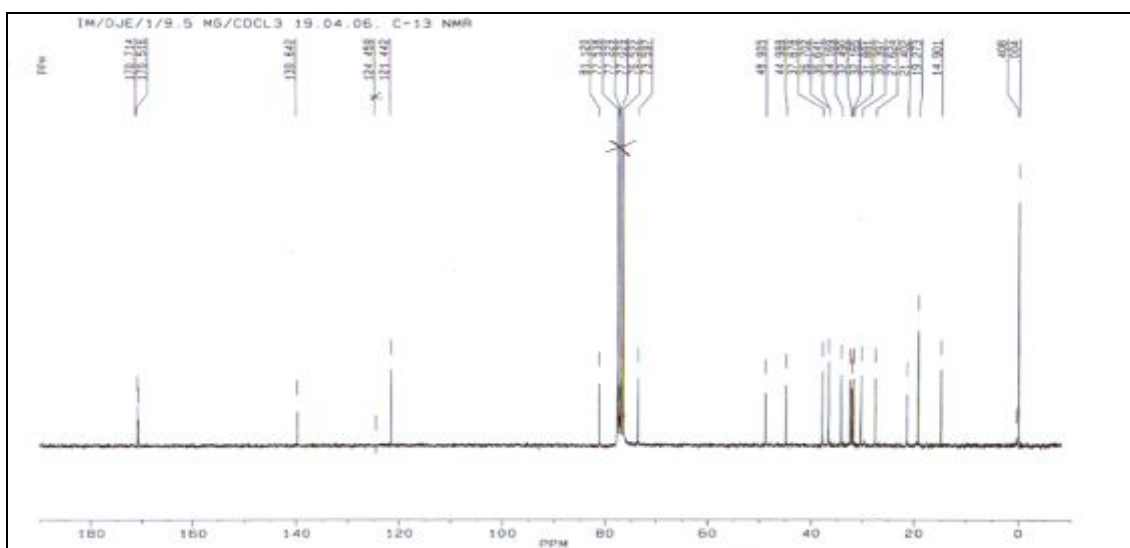
17-Oksa-D-homoandrost-5-en-16-on-3 β -il acetat (18)^{216,217}



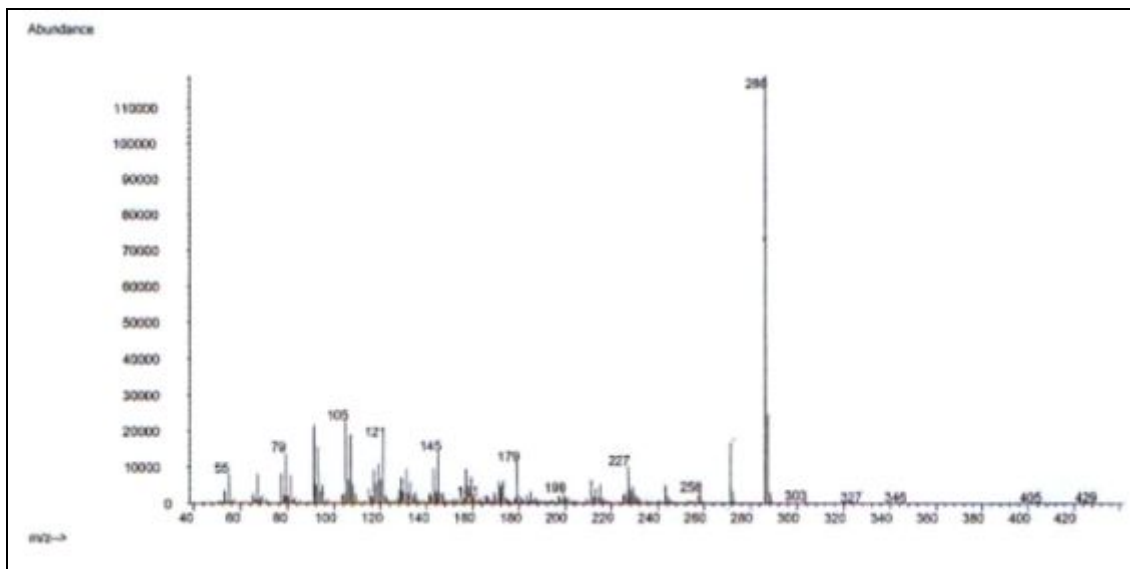
Prilog 8.56. IR spektar jedinjenja 18



Prilog 8.57. ^1H NMR spektar jedinjenja **18**

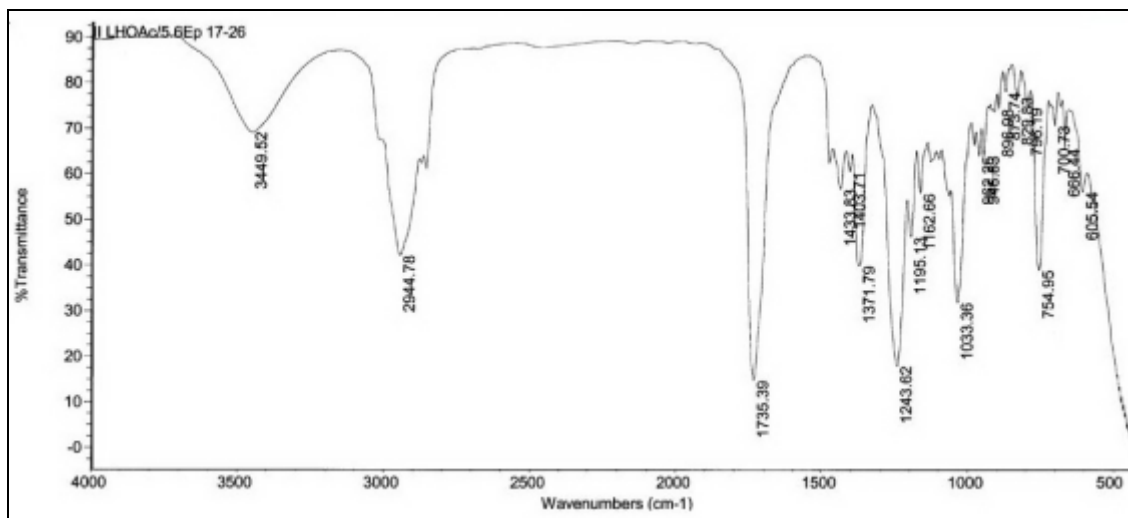
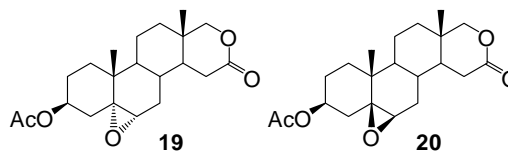


Prilog 8.58. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **18**

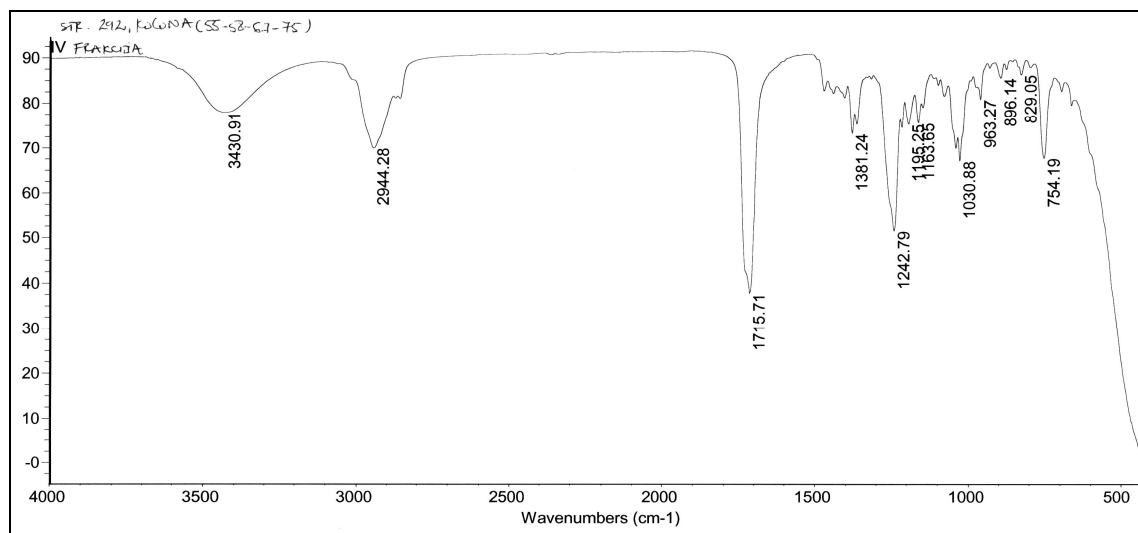
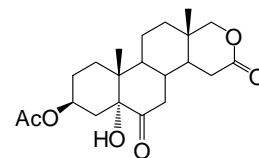


Prilog 8.59. Maseni spektar jedinjenja 18

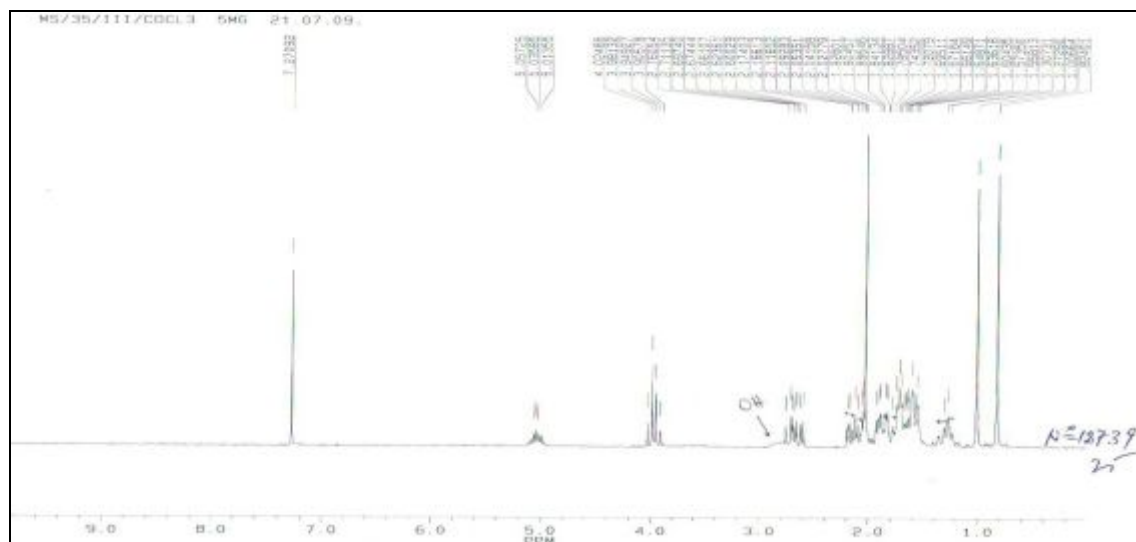
**5 α ,6 α -Epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (19) i
5 β ,6 β -epoksi-17-oksa-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (20)**

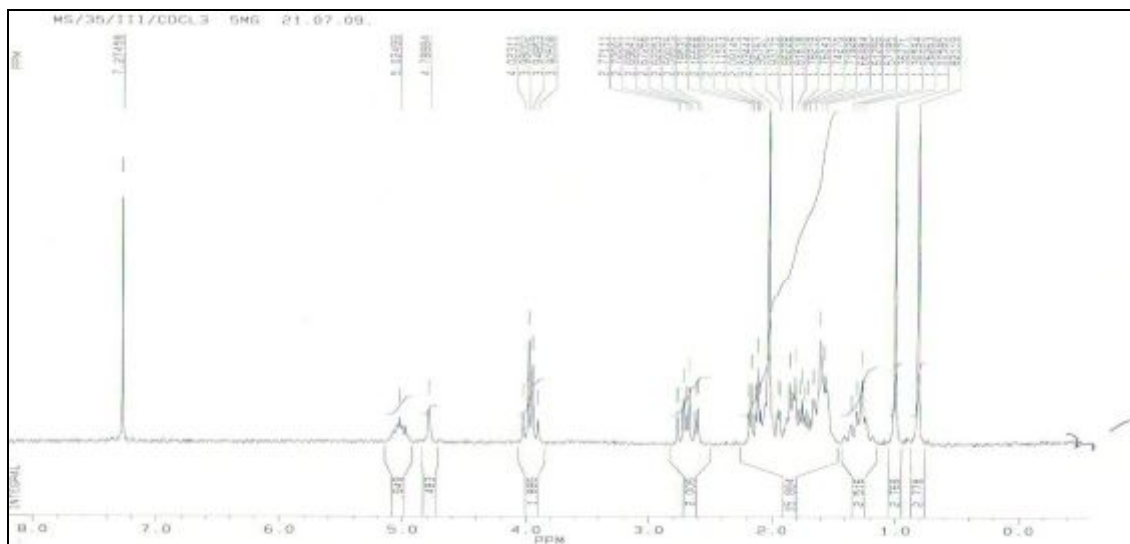


Prilog 8.60. IR spektar smeše jedinjenja 19 i 20

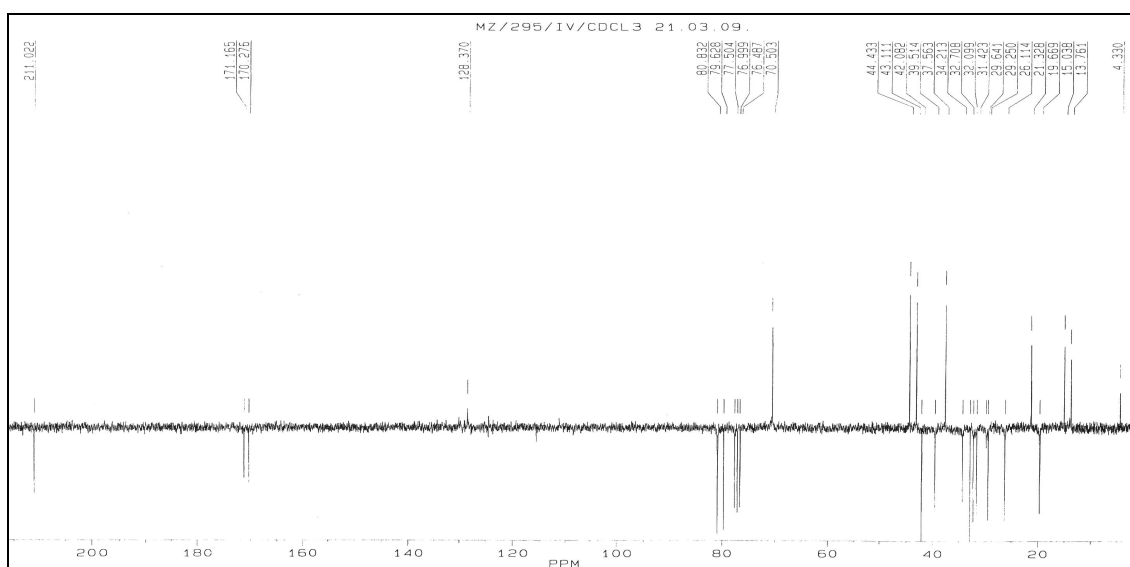
5 α -Hidroksi-17-oksa-D-homoandrostan-6,16-dion-3 β -il acetat (21)

Prilog 8.65. IR spektar jedinjenja 21

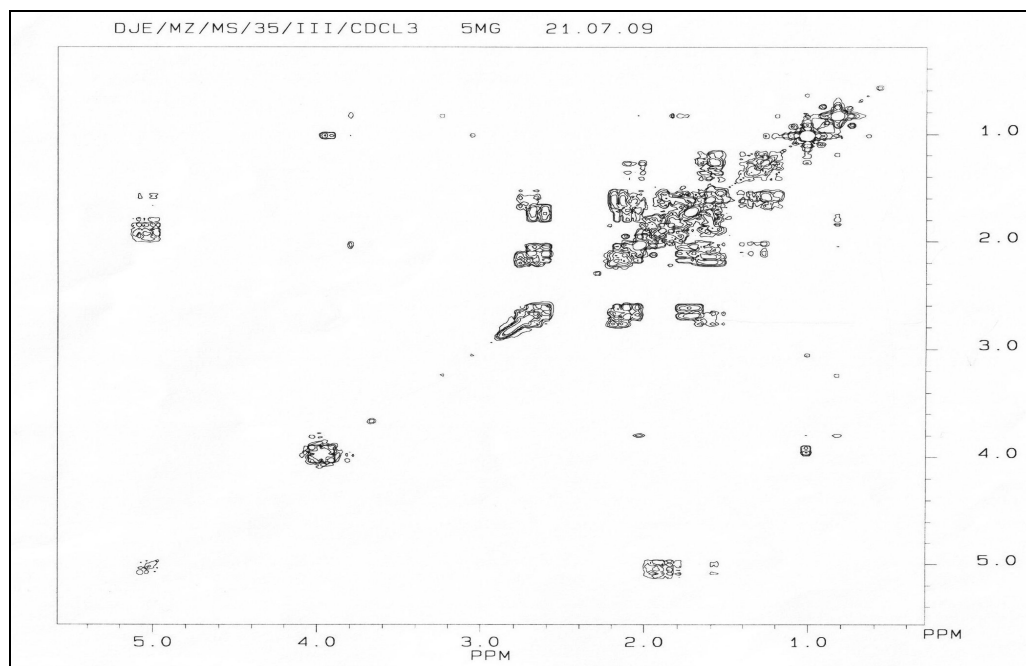
Prilog 8.66. ¹H NMR spektar jedinjenja 21 (snimljen u CDCl₃)



Prilog 8.67. ^1H NMR spektar jedinjenja **21** (snimljen u D_2O)

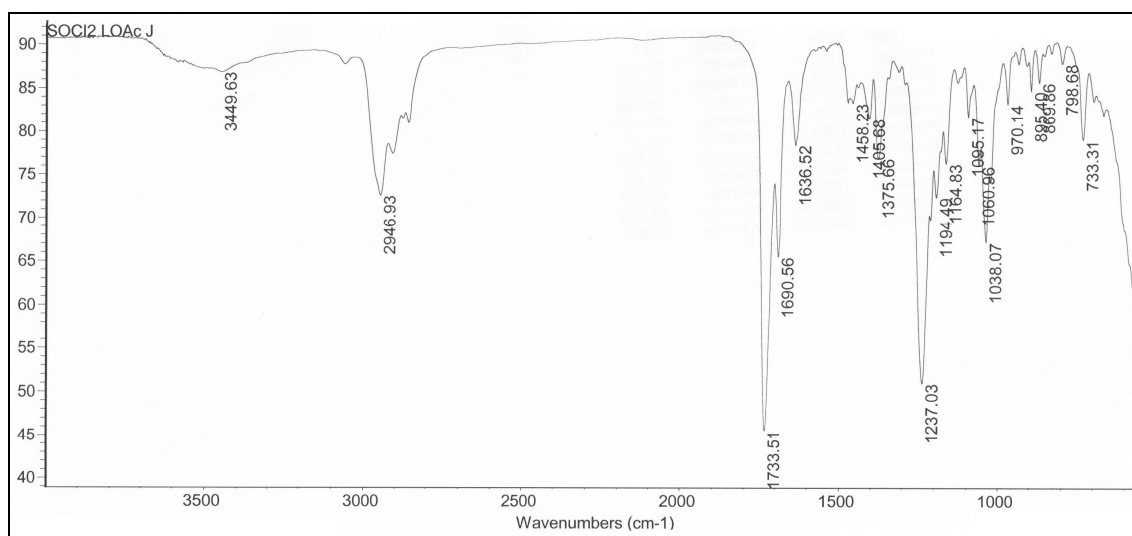
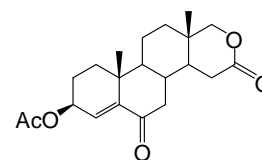


Prilog 8.68. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **21**

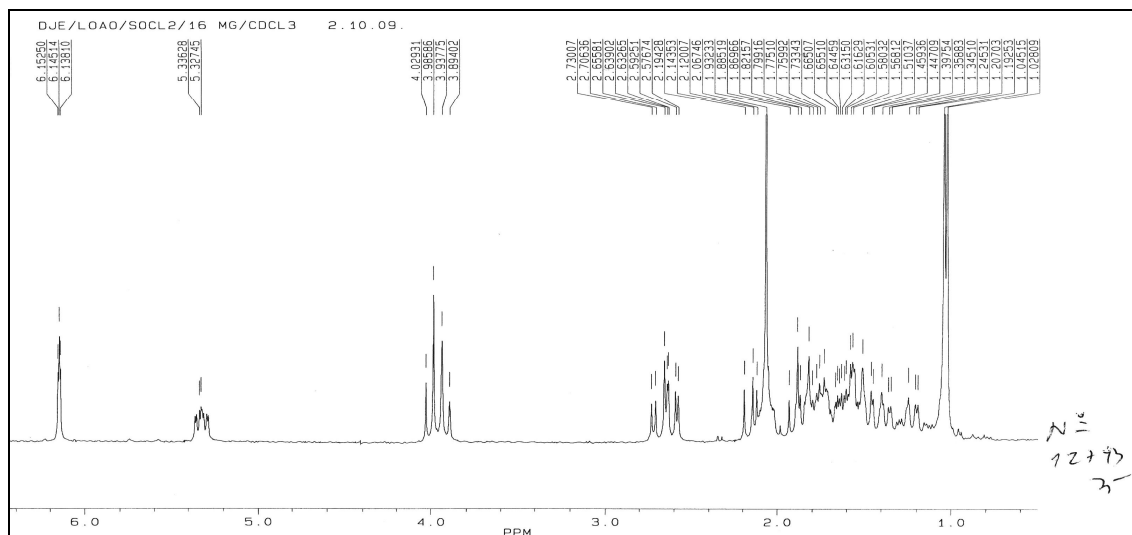
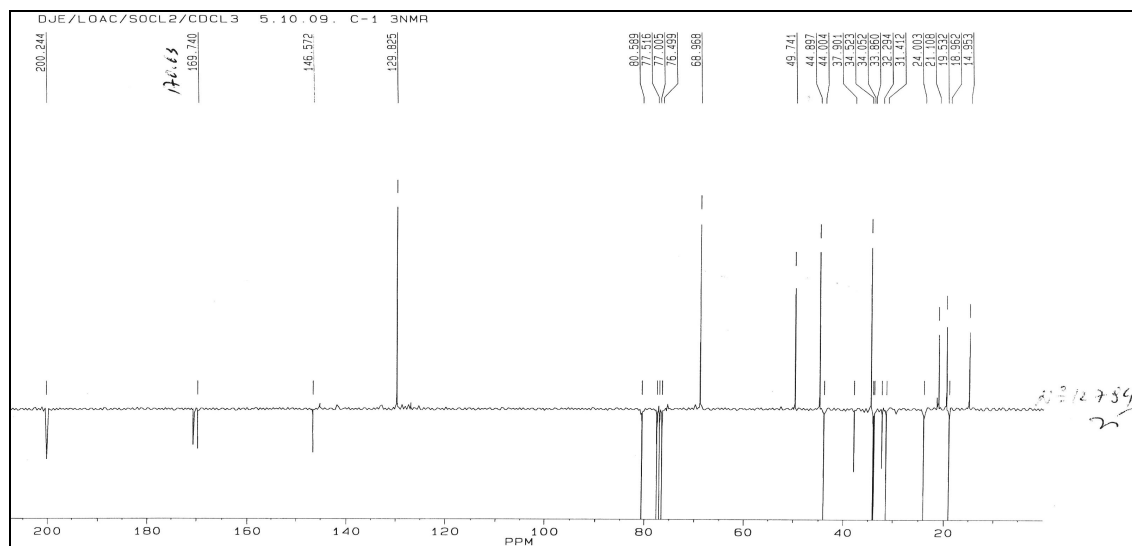


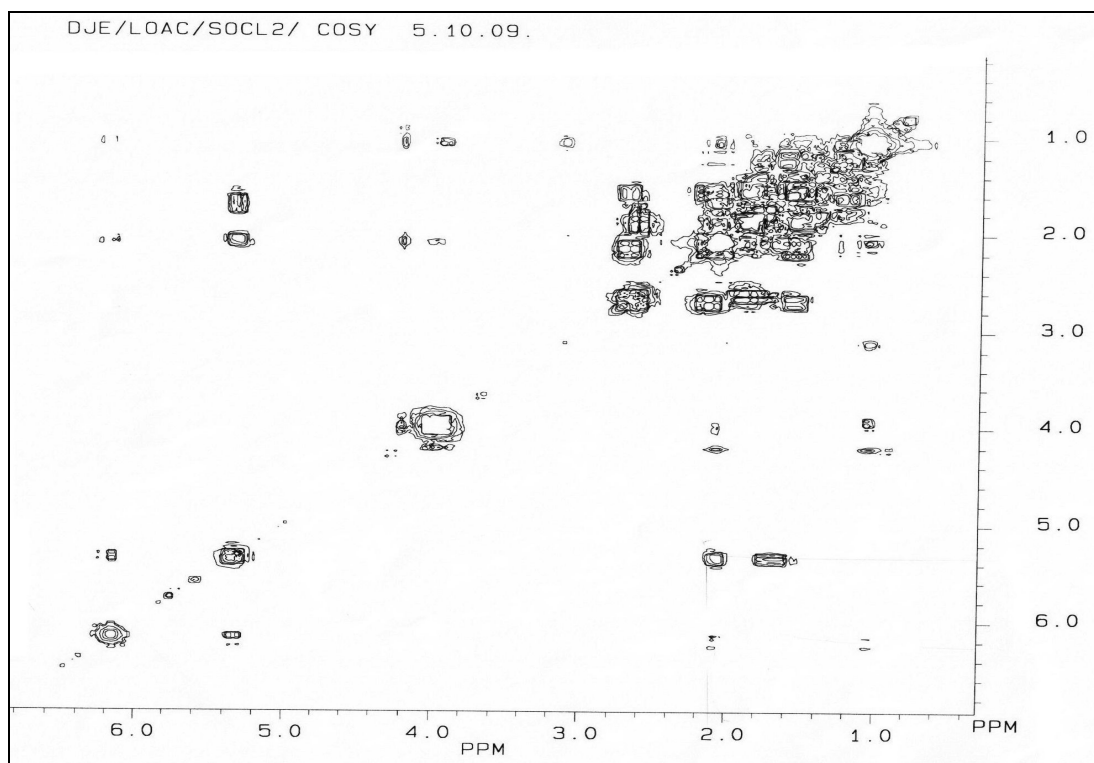
Prilog 8.69. Korelacioni spektar jedinjenja 21

17-Oksa-D-homoandrost-4-en-6,16-dion-3 β -il acetat (22)

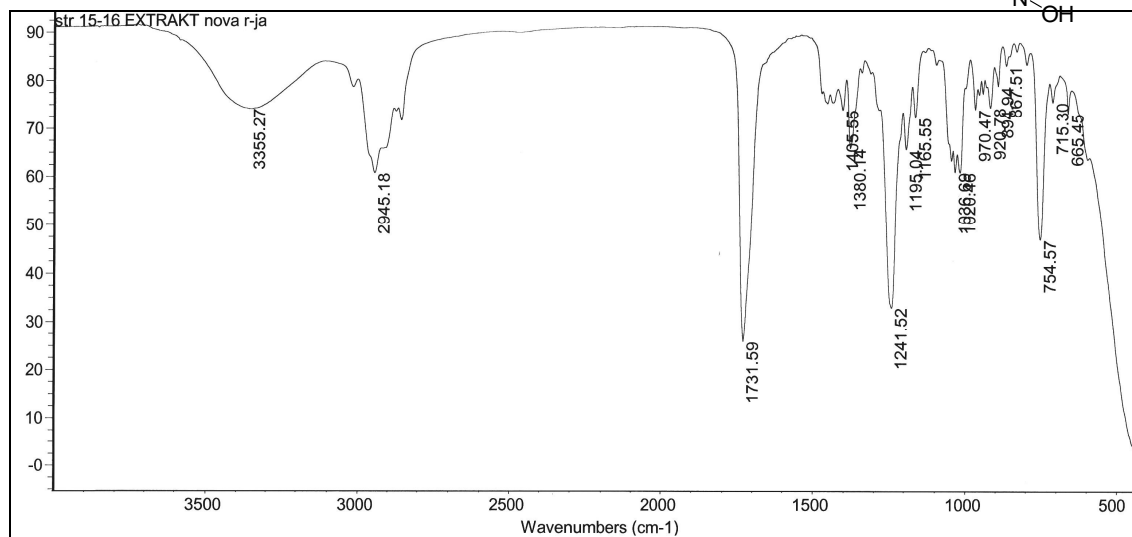
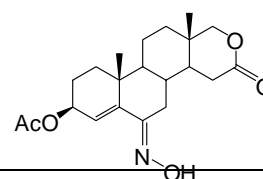


Prilog 8.70. IR spektar jedinjenja 22

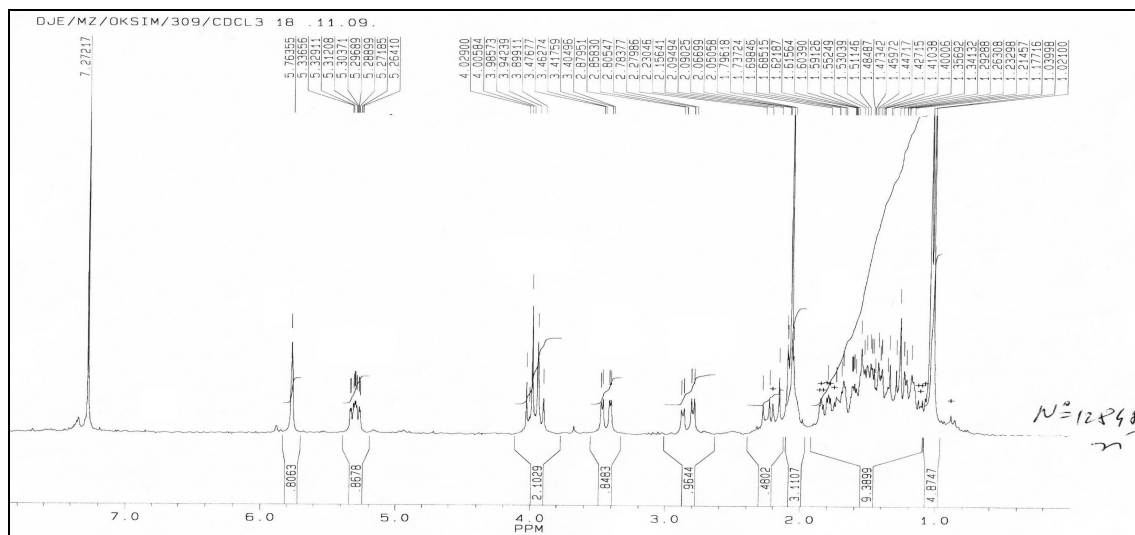
Prilog 8.71. ^1H NMR spektar jedinjenja 22Prilog 8.72. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 22 (snimljen u CDCl_3)



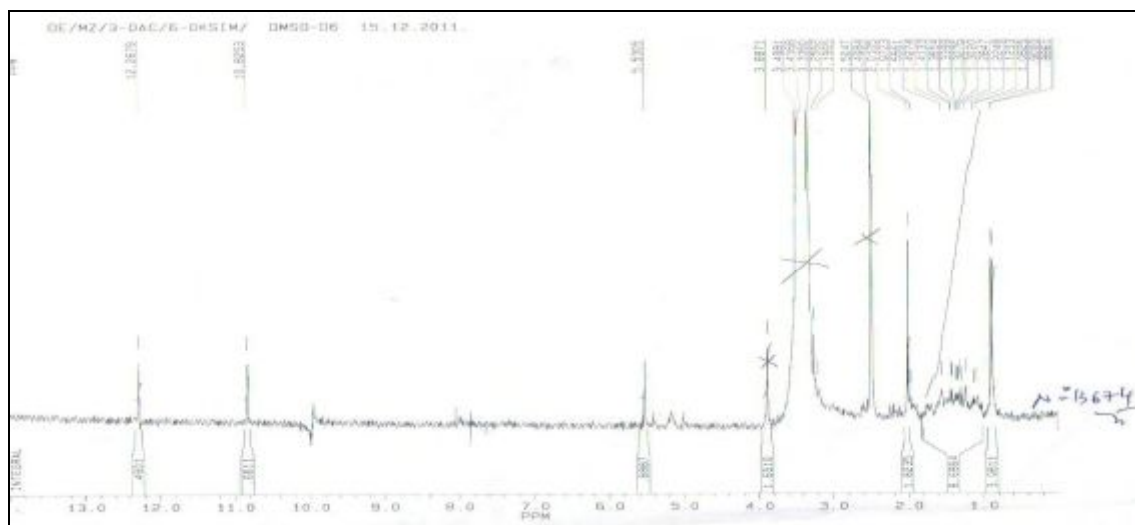
Prilog 8.73. Korelacioni spektar jedinjenja 22

(6E)-Hidroksimino-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on-3 β -il acetat**(23)**

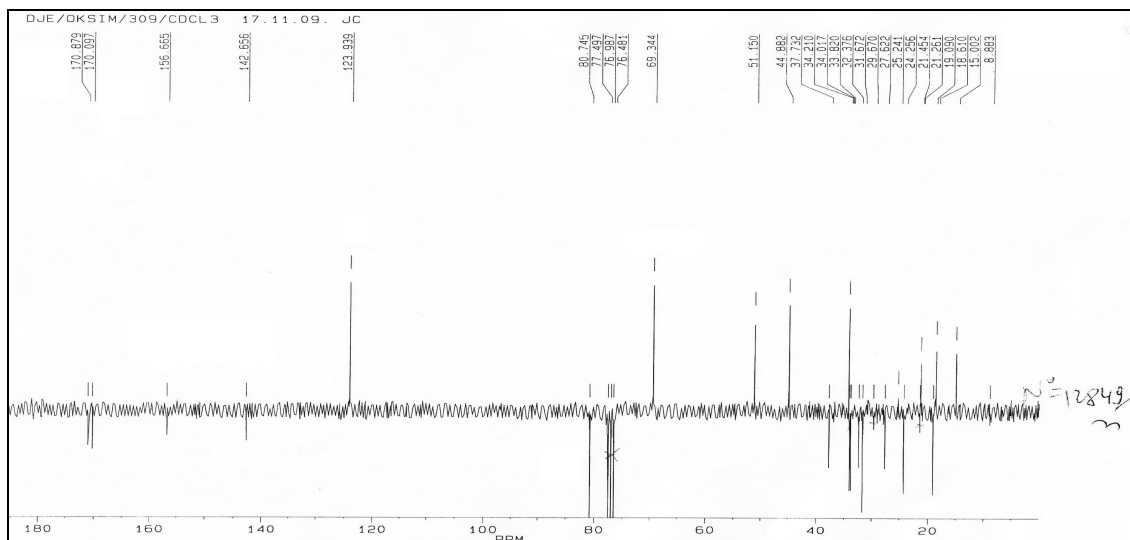
Prilog 8.74. IR spektar jedinjenja 23



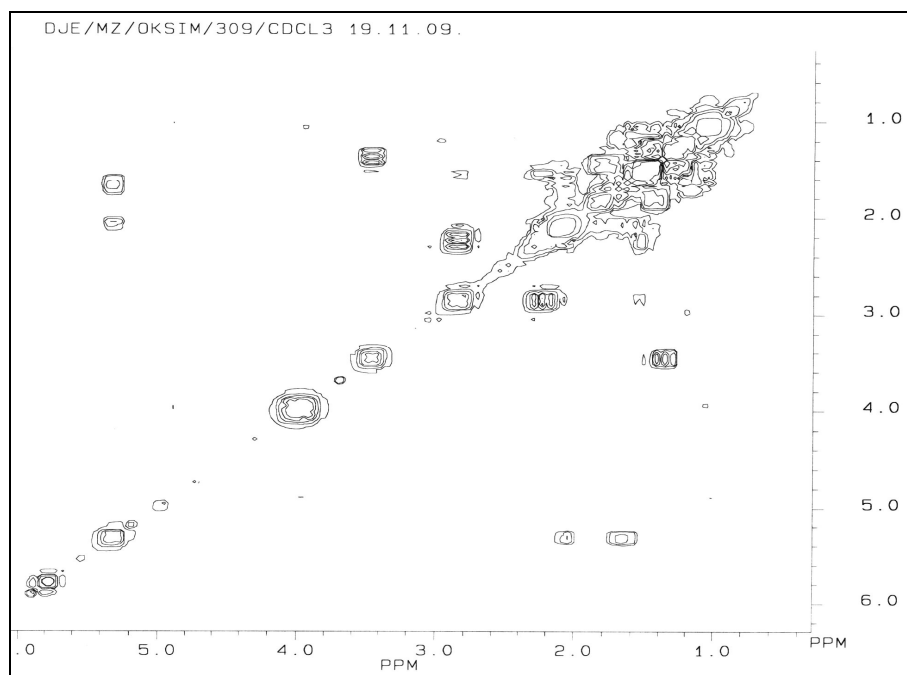
Prilog 8.75. ^1H NMR spektar jedinjenja **23** (snimljen u CDCl_3)



Prilog 8.76. ^1H NMR spektar jedinjenja **23** (snimljen u DMSO-d_6)

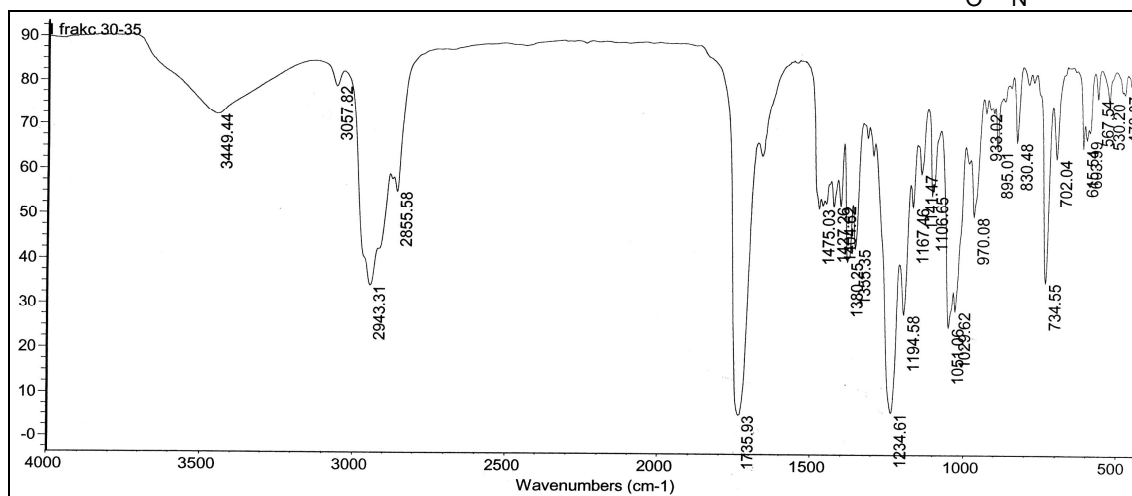
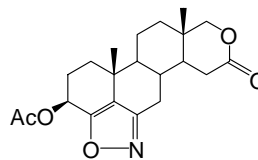


Prilog 8.77. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **23** (snimljen u CDCl_3)

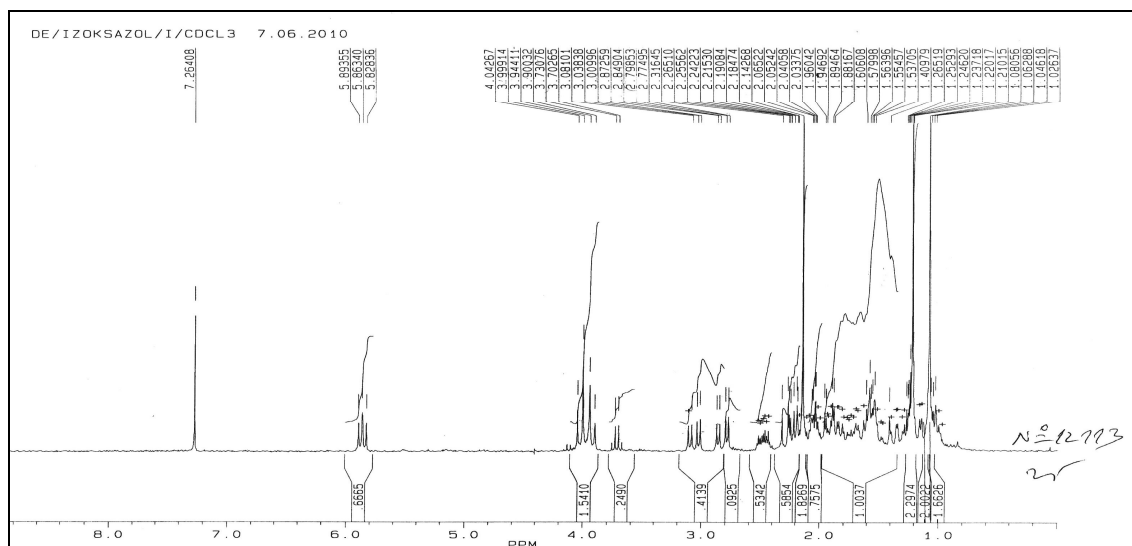


Prilog 8.78. Korelacioni spektar jedinjenja **23**

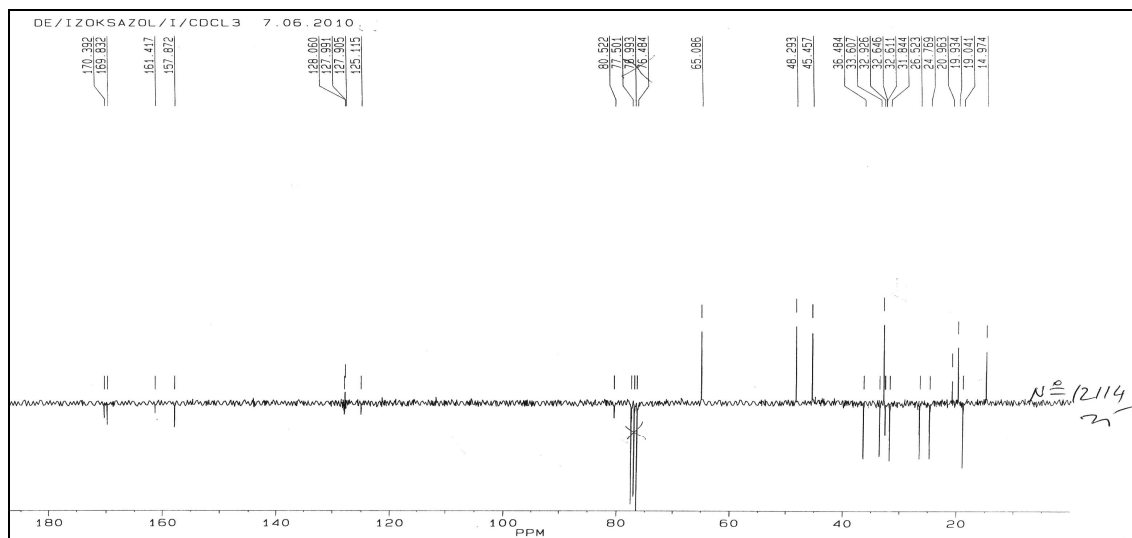
Izoksazolo[5',4',3':4,5,6]-17-oksa-D-homoandrost-4-en-16-on 3 β -il
acetat (24)



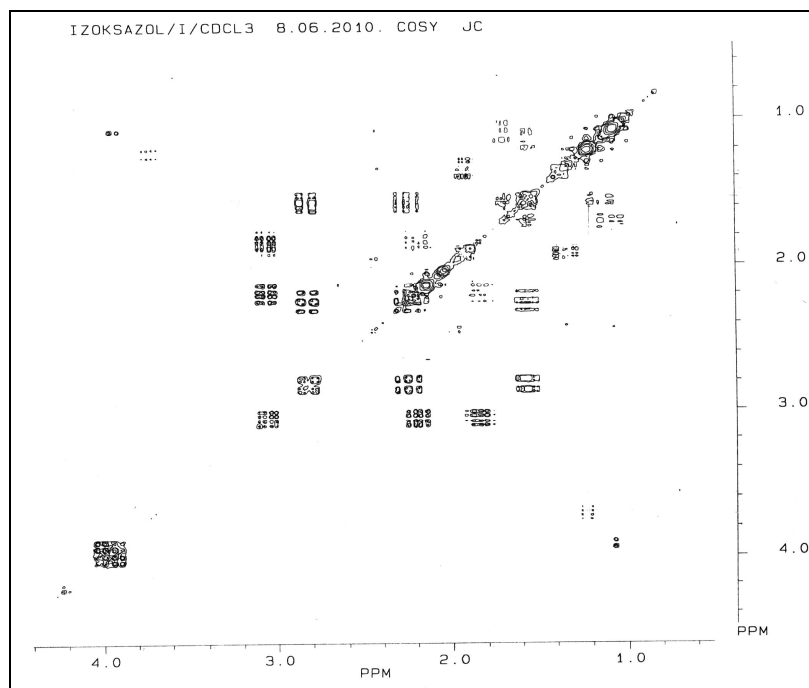
Prilog 8.79. IR spektar jedinjenja 24



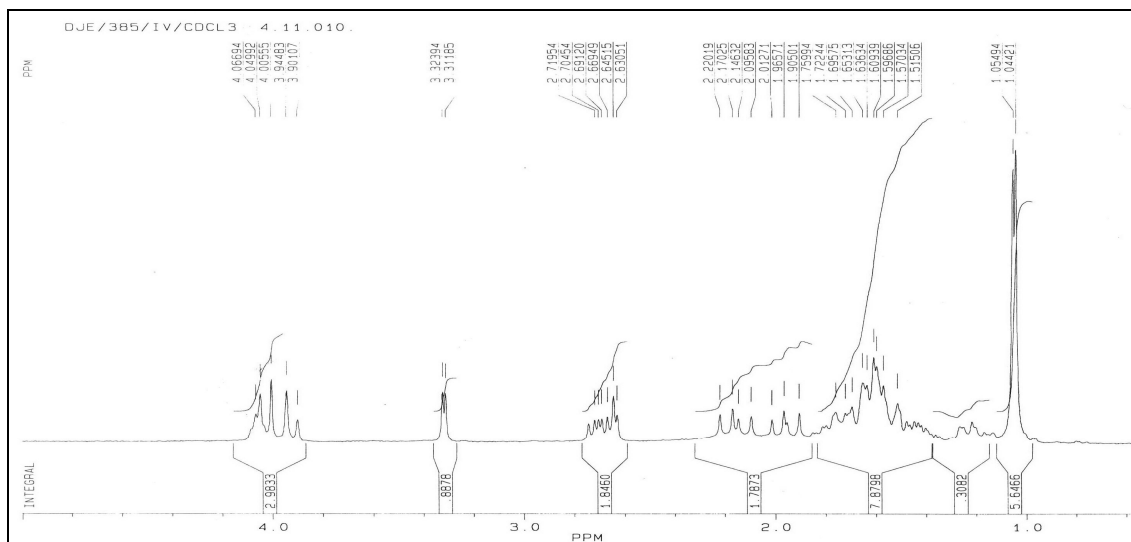
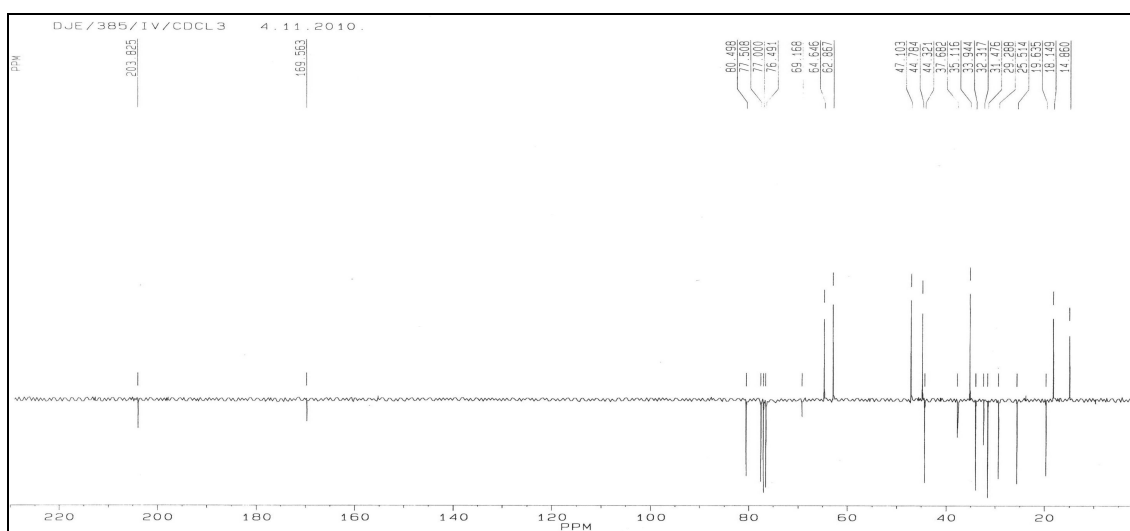
Prilog 8.80. ¹H NMR spektar jedinjenja 24



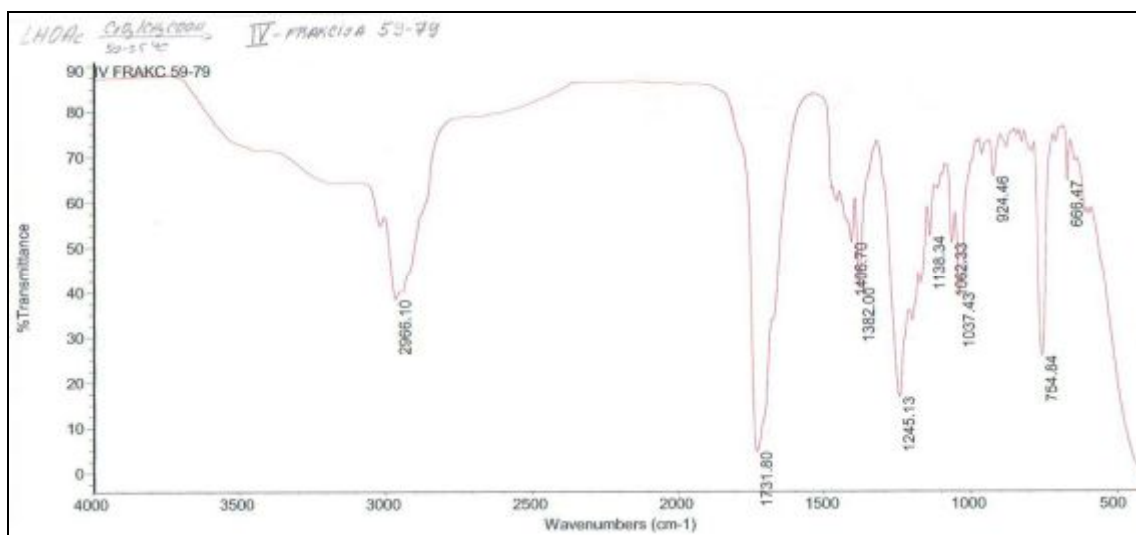
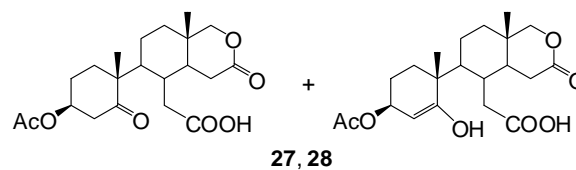
Prilog 8.81. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 24



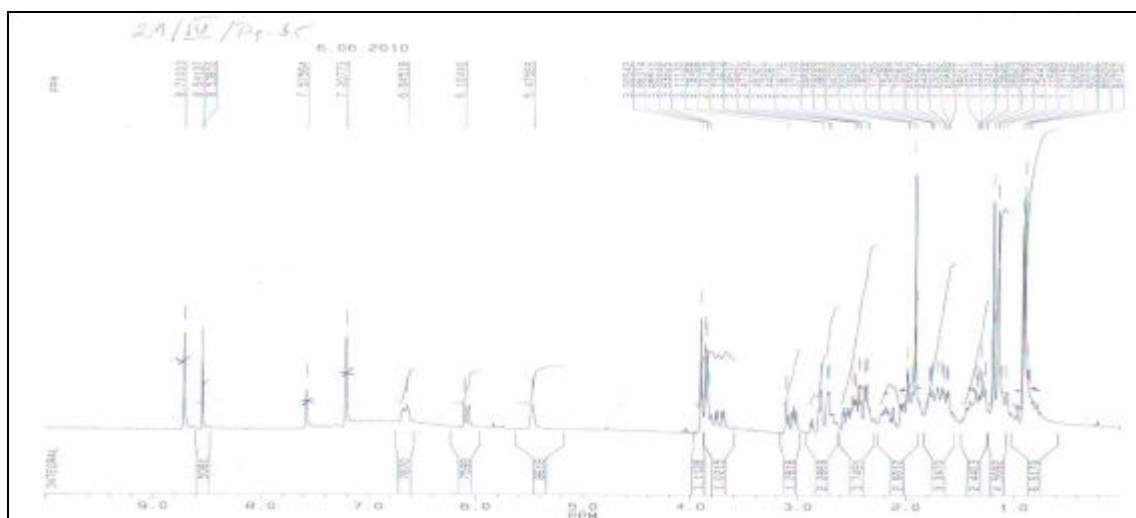
Prilog 8.82. Korelacioni spektar jedinjenja 24

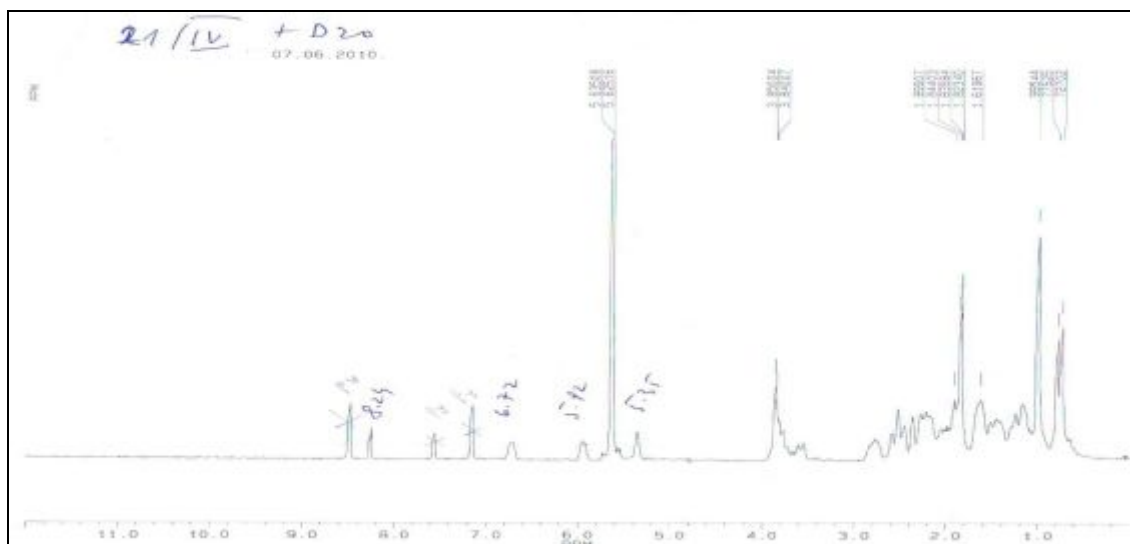
Prilog 8.87. ^1H NMR spektar jedinjenja 26Prilog 8.88. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 26

17-Oksa-5,6-seko-6-karboksilne kiseline 27 i 28

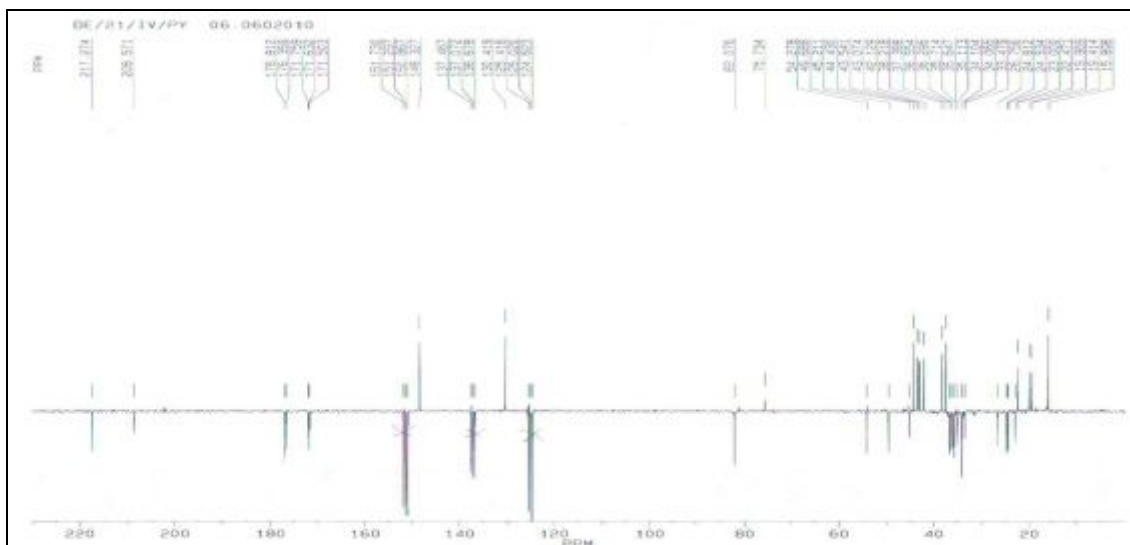


Prilog 8.89. IR spektar smeše jedinjenja 27 i 28

Prilog 8.90. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja 27 i 28 (snimljen u Py-d_5)

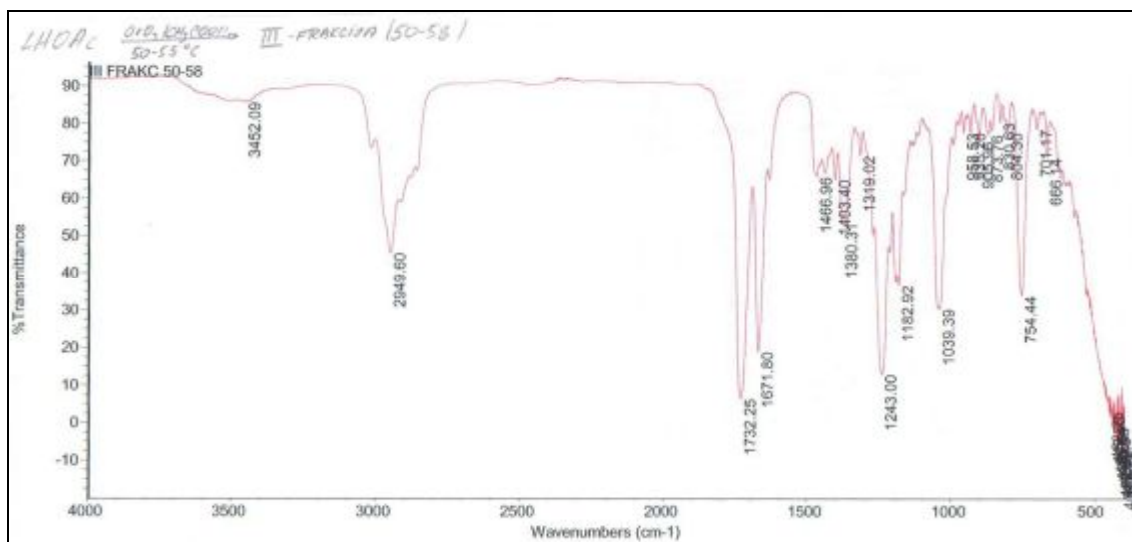
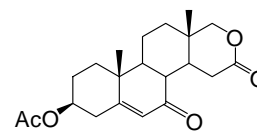


Prilog 8.91. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **27** i **28** (snimljen u D_2O)

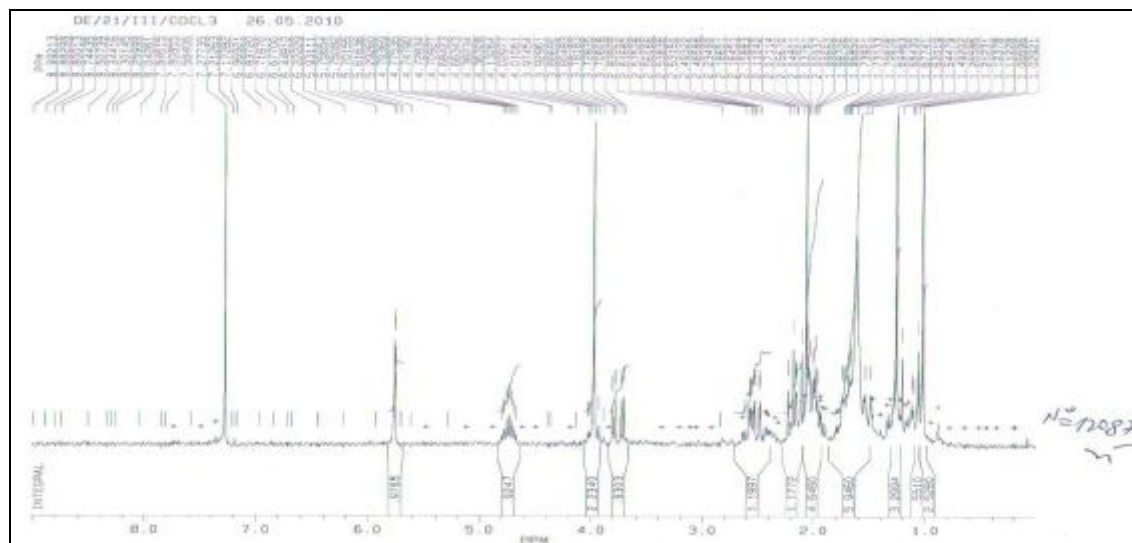


Prilog 8.92. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja **27** i **28** (snimljen u Py-d_5)

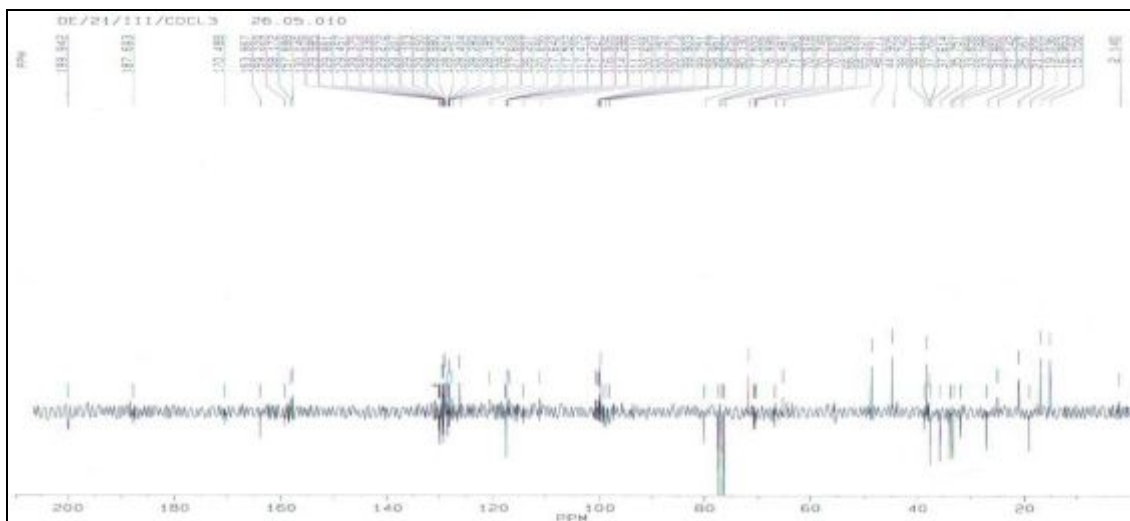
17-Oksa-D-homoandrost-6-en-7,16-dion-3 β -il acetat (29)²¹⁷



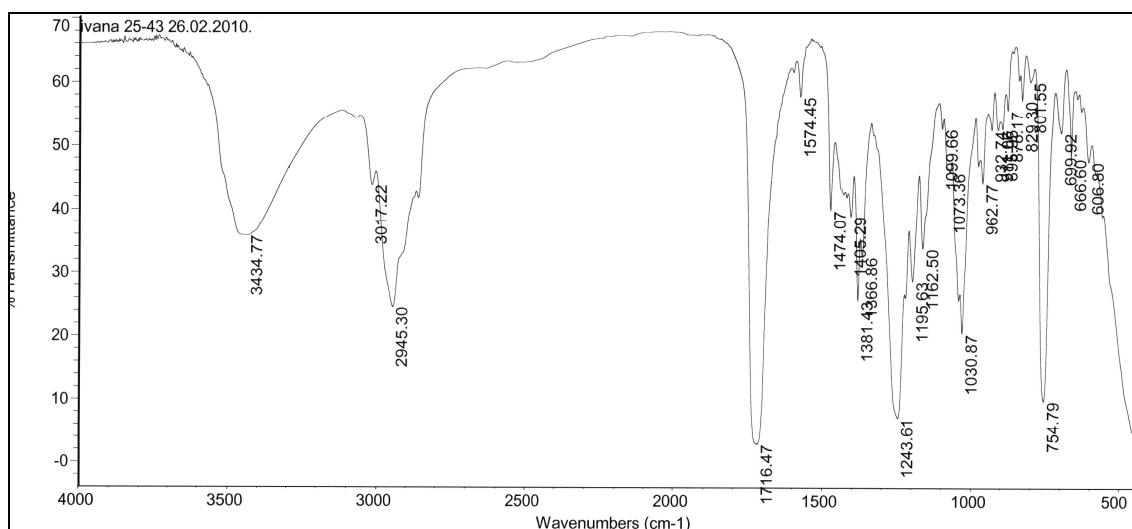
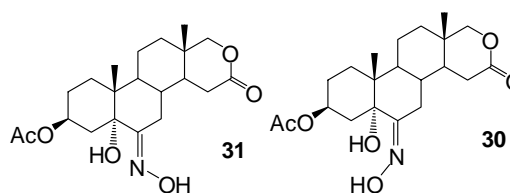
Prilog 8.93. IR spektar jedinjenja 29

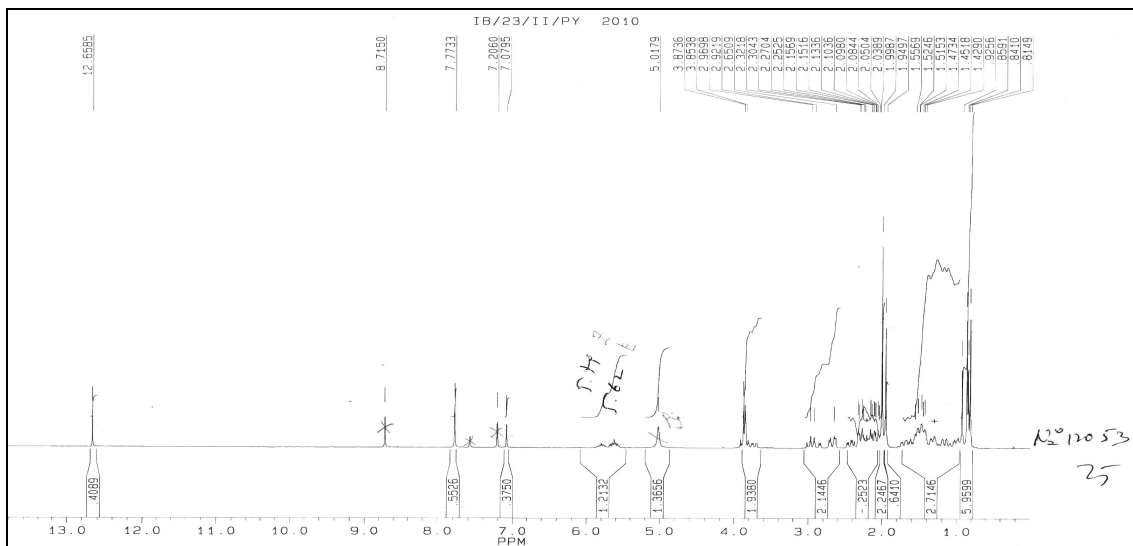
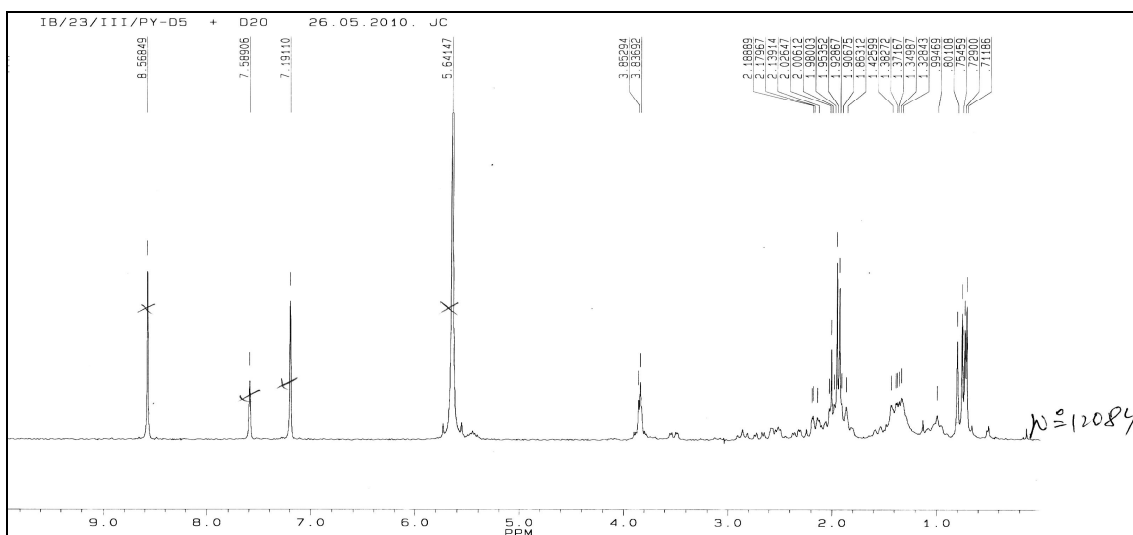


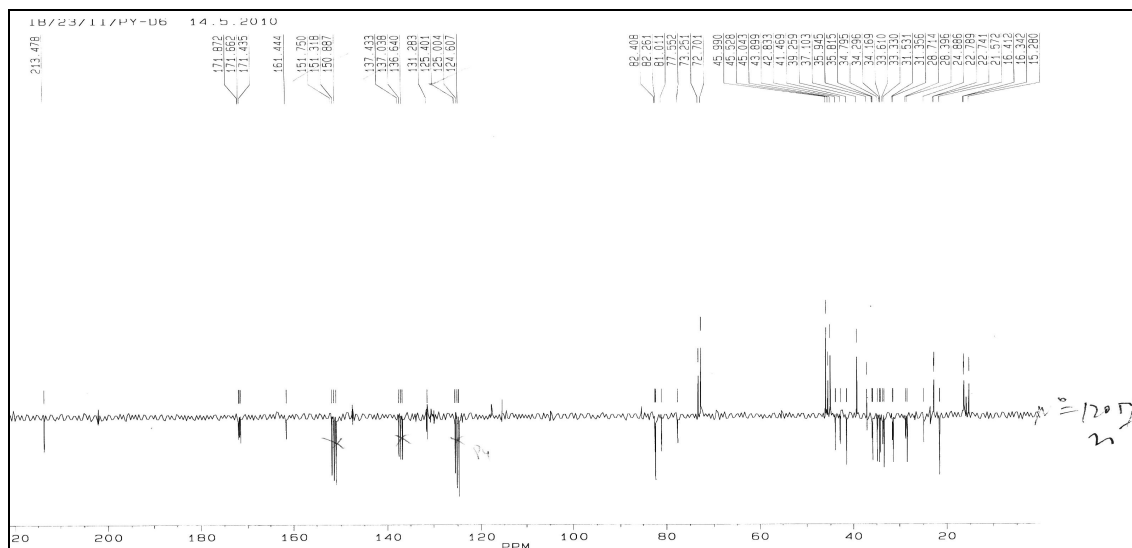
Prilog 8.94. ¹H NMR spektar jedinjenja 29

Prilog 8.95. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **29**

5 α -Hidroksi-(6*E*)-hidroksimino-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (30) i 5 α -hidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-D-homoandrostan-16-on-3 β -il acetat (31)

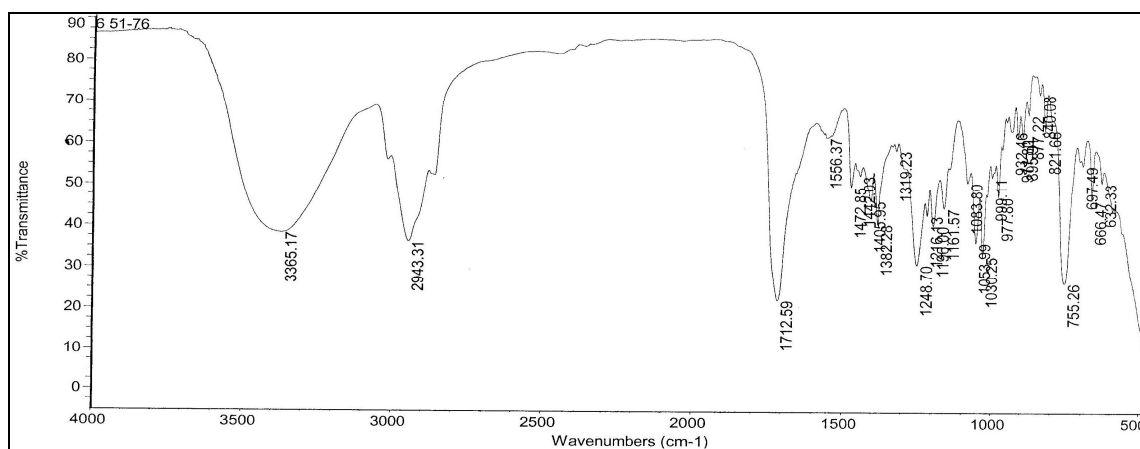
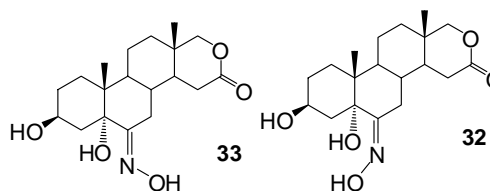
Prilog 8.96. IR spektar smeše jedinjenja **30** i **31**

Prilog 8.97. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **30** i **31** (snimljen u Py-d_5)Prilog 8.98. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **30** i **31** (snimljen u D_2O)

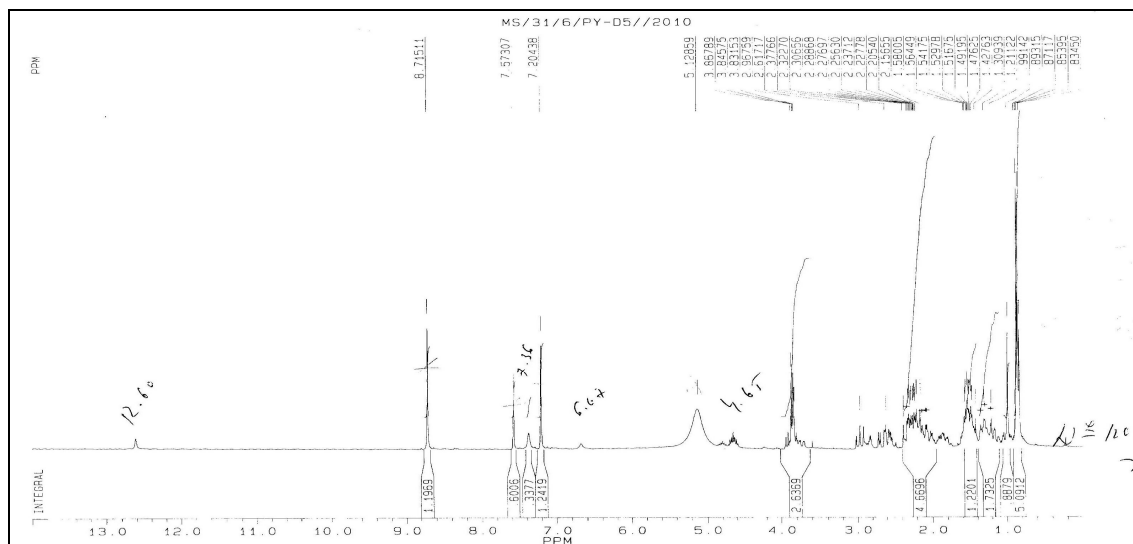


Prilog 8.99. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja **30** i **31** (snimljen u Py-d_5)

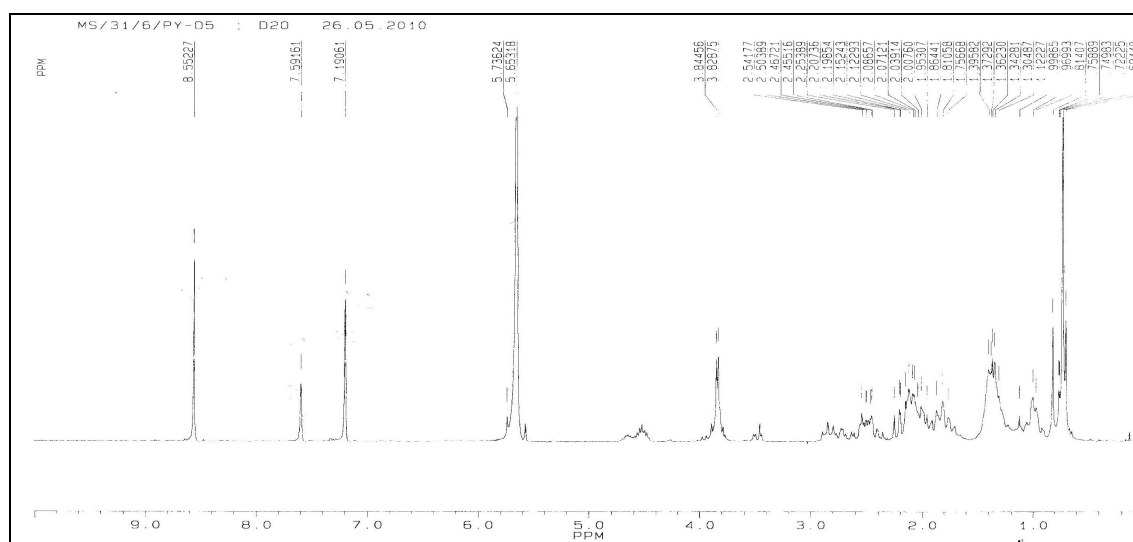
$3\beta,5\alpha$ -Dihidroksi-(6*E*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on (32) i $3\beta,5\alpha$ -Dihidroksi-(6*Z*)-hidroksimino-17-oksa-D-homoandrostan-16-on (33)



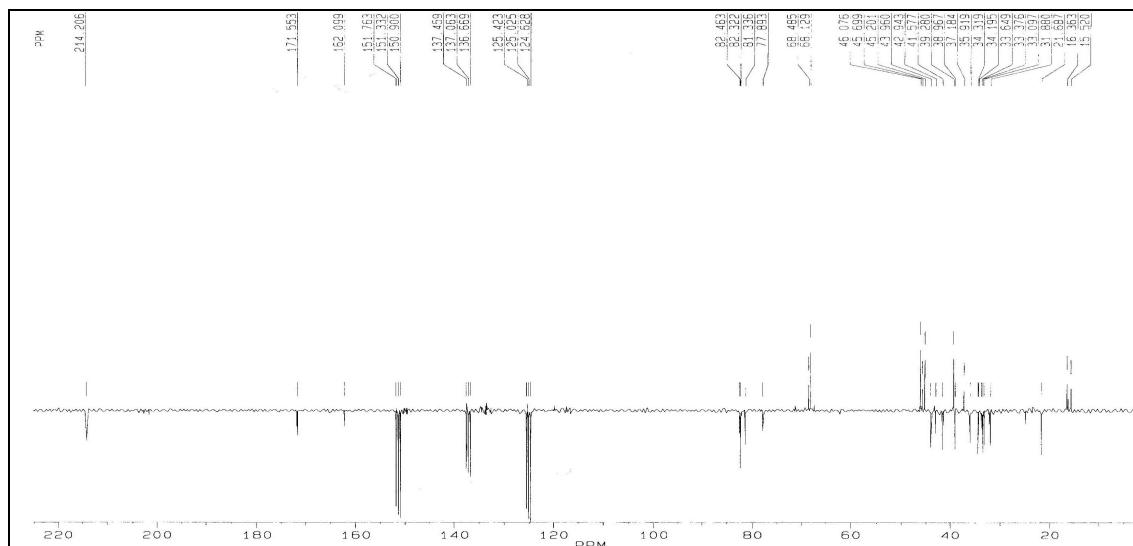
Prilog 8.100. IR spektar smeše jedinjenja **32** i **33**



Prilog 8.101. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **32** i **33** (snimljen u Py-d_5)

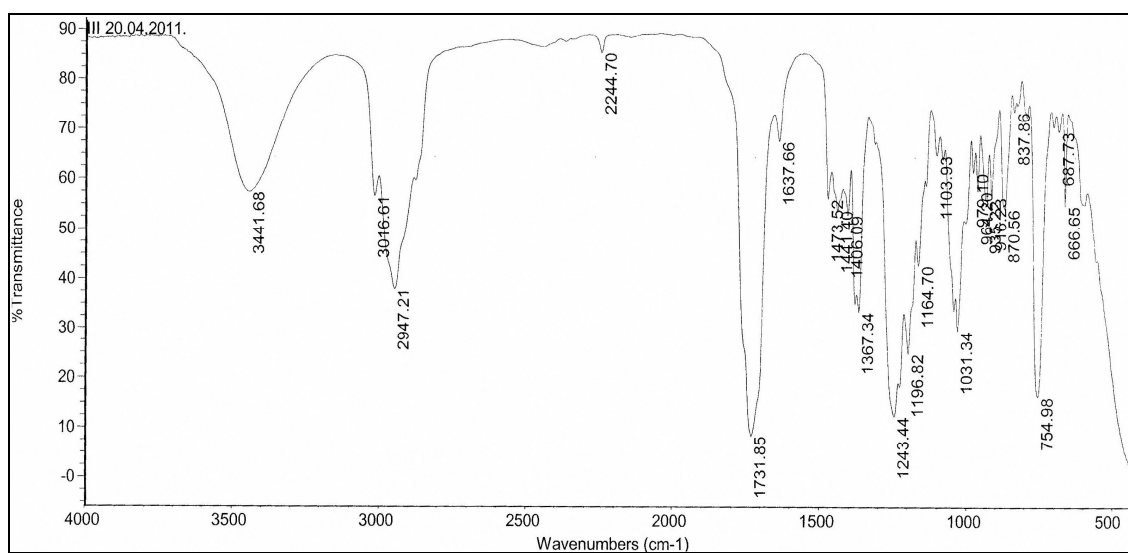
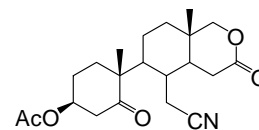


Prilog 8.102. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja **32** i **33** (snimljen u D_2O)

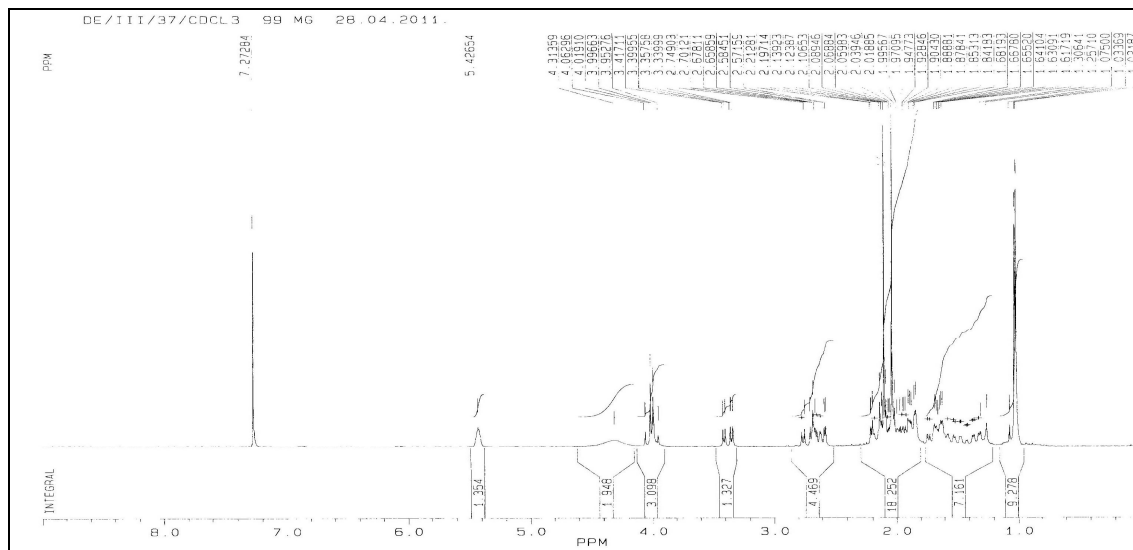


Prilog 8.103. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja **32** i **33** (snimljen u Py-d_5)

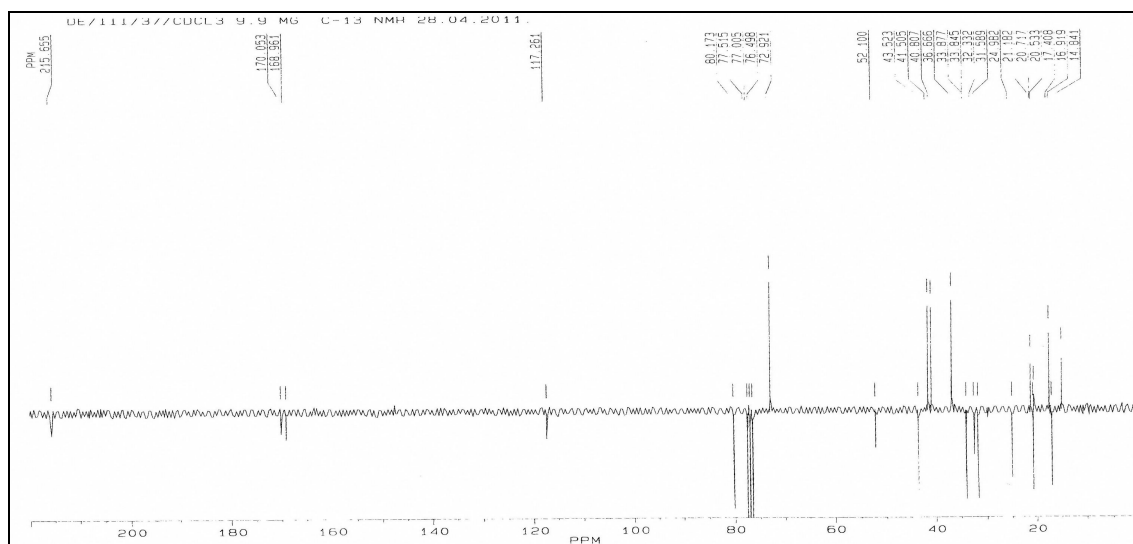
3 β -acetoksi-17-oksa-5,16-dioksa-5,6-seko-D-homoandrostan-6-nitril (34)



Prilog 8.104. IR spektar jedinjenja **34**

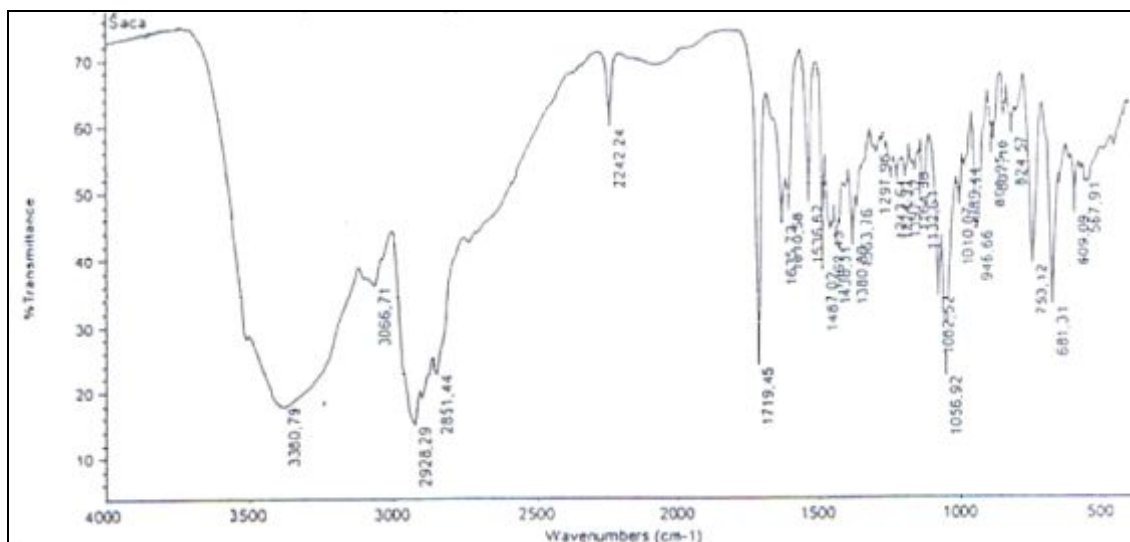
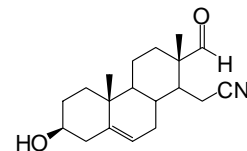


Prilog 8.105. ^1H NMR spektar jedinjenja 34

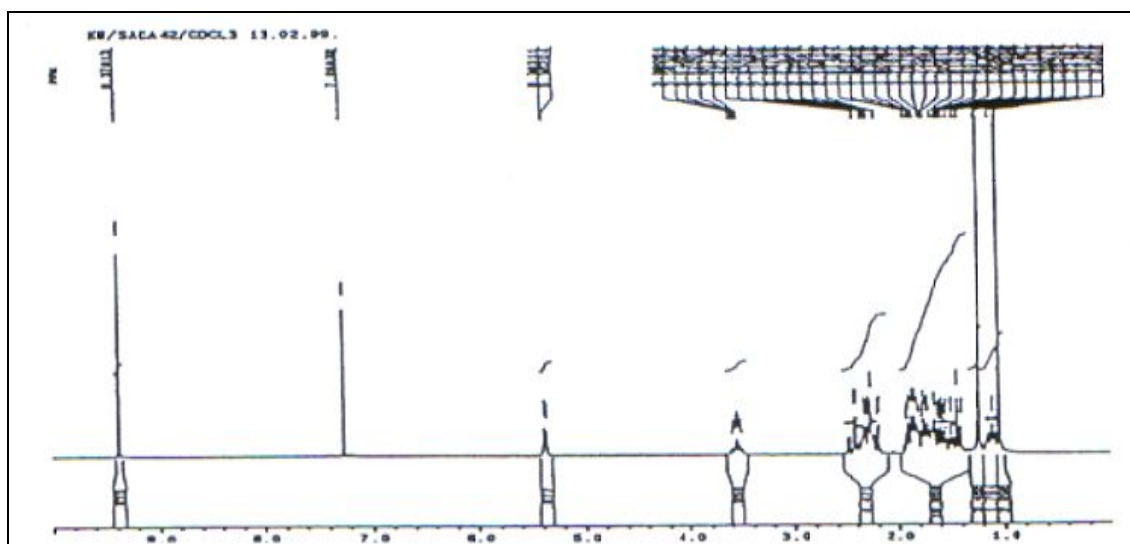


Prilog 8.106. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 34

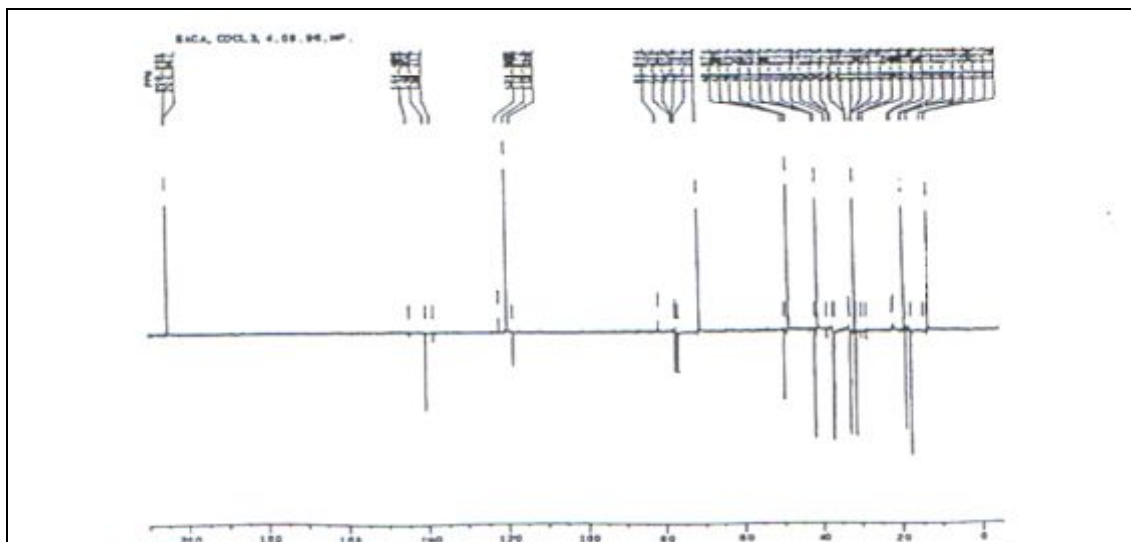
3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (35)¹⁰



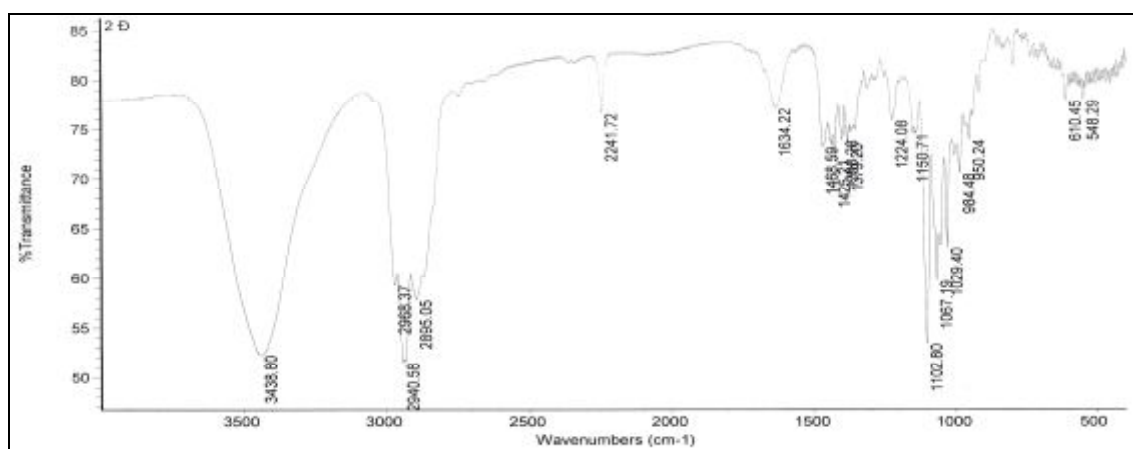
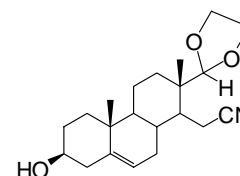
Prilog 8.107. IR spektar jedinjenja 35

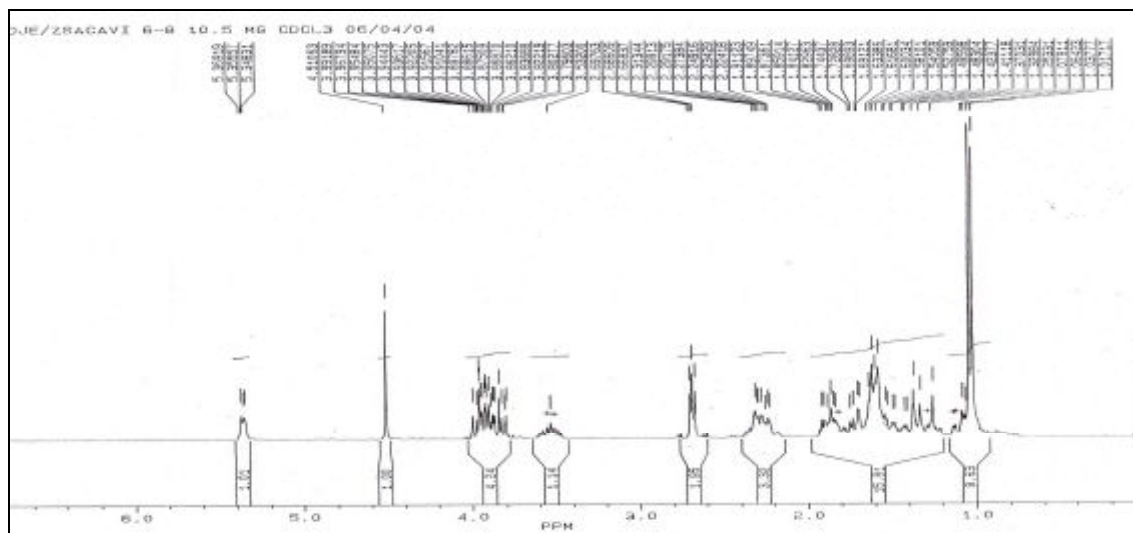
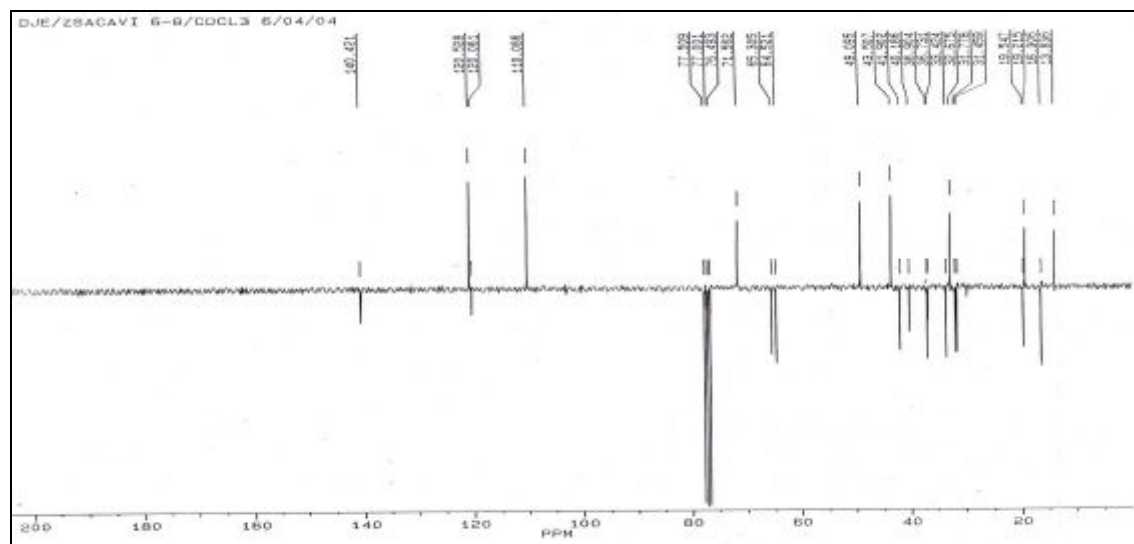


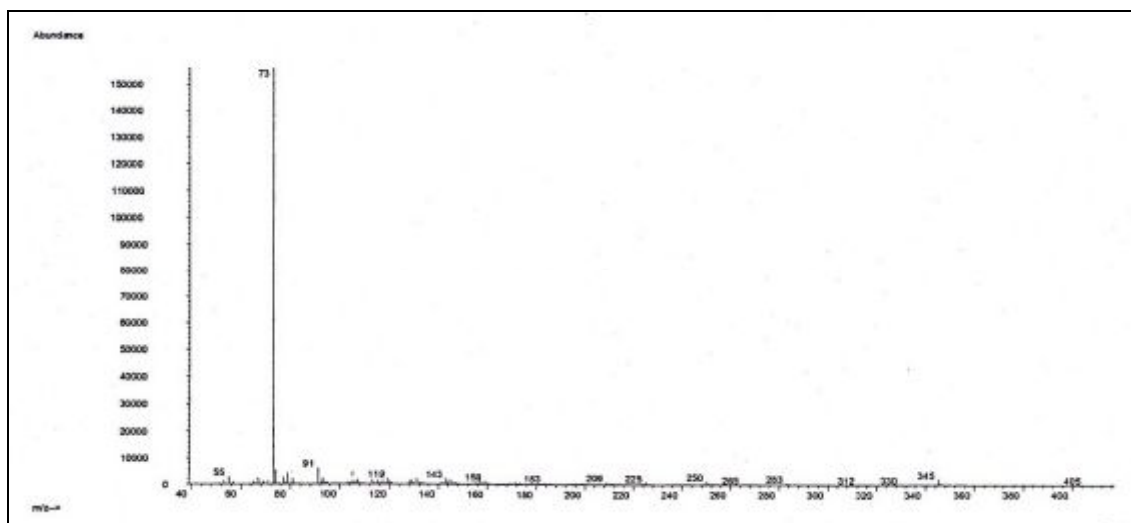
Prilog 8.108. ¹H NMR spektar jedinjenja 35

Prilog 8.109. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **35**

13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (36**)²²⁷**

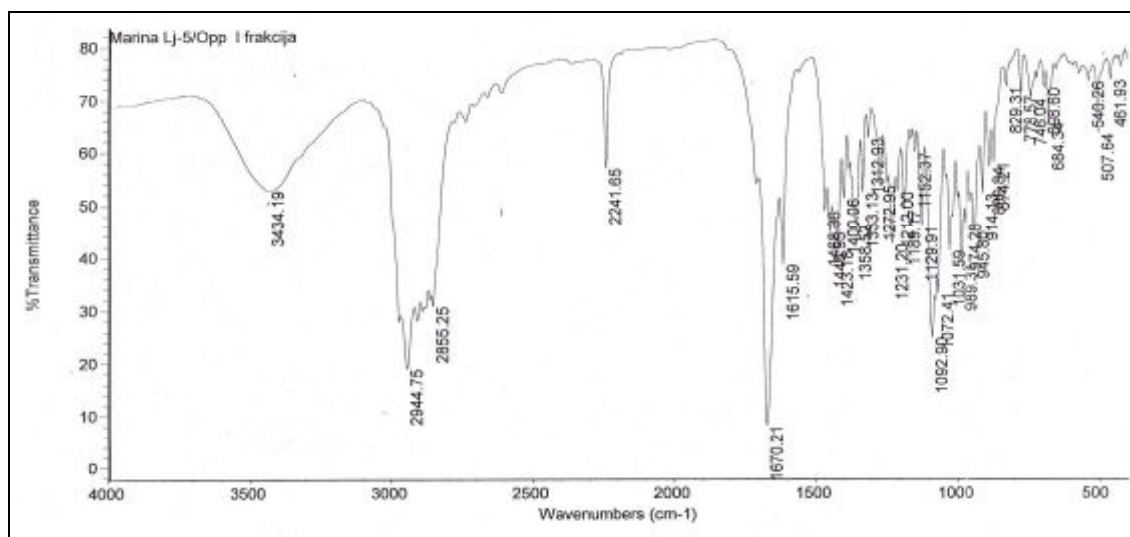
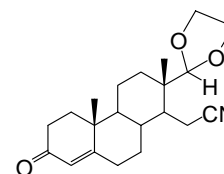
Prilog 8.110. IR spektar jedinjenja **36**

Prilog 8.111. ^1H NMR spektar jedinjenja 36Prilog 8.112. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 36

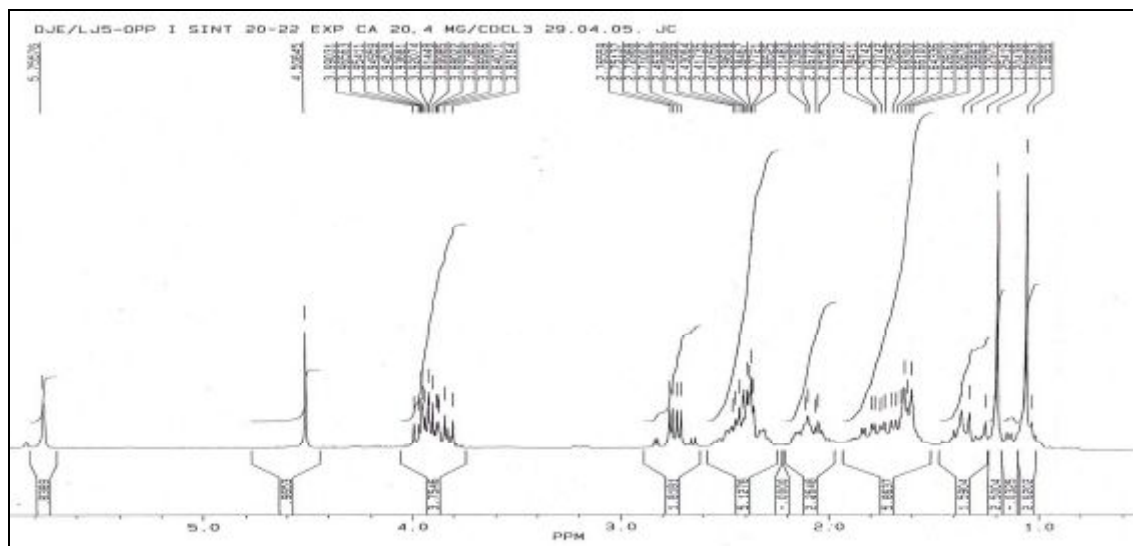


Prilog 8.113. Maseni spektar jedinjenja 36

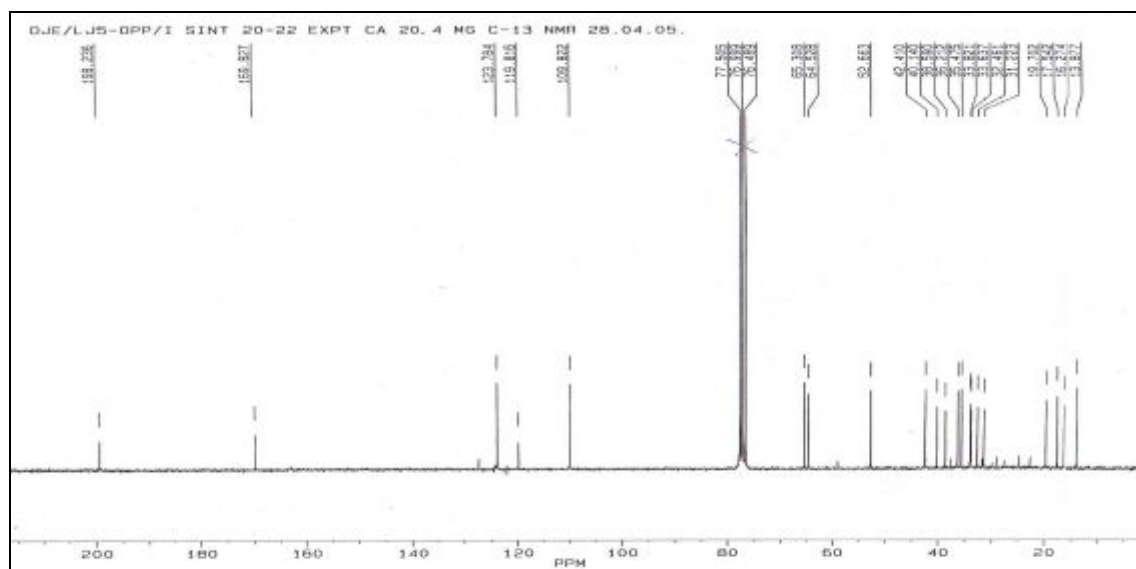
13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril
(37)²²⁷



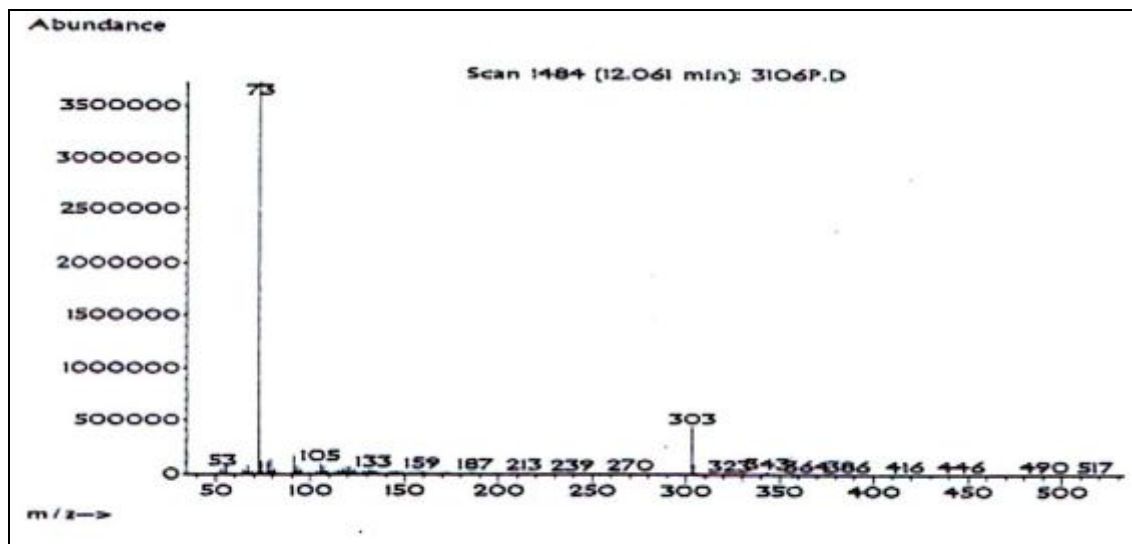
Prilog 8.114. IR spektar jedinjenja 37



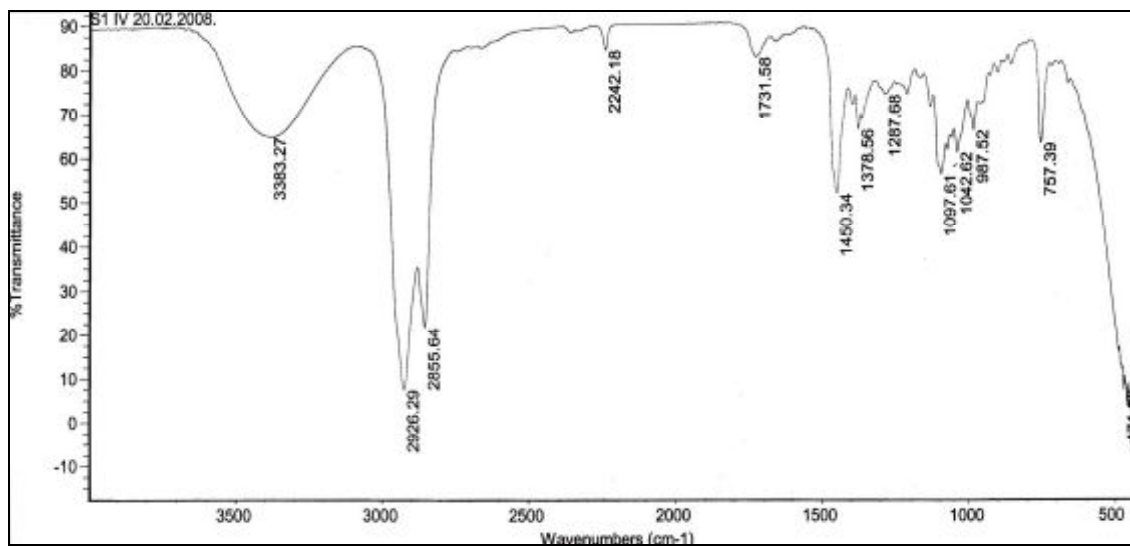
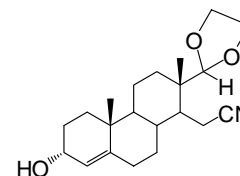
Prilog 8.115. ^1H NMR spektar jedinjenja 37

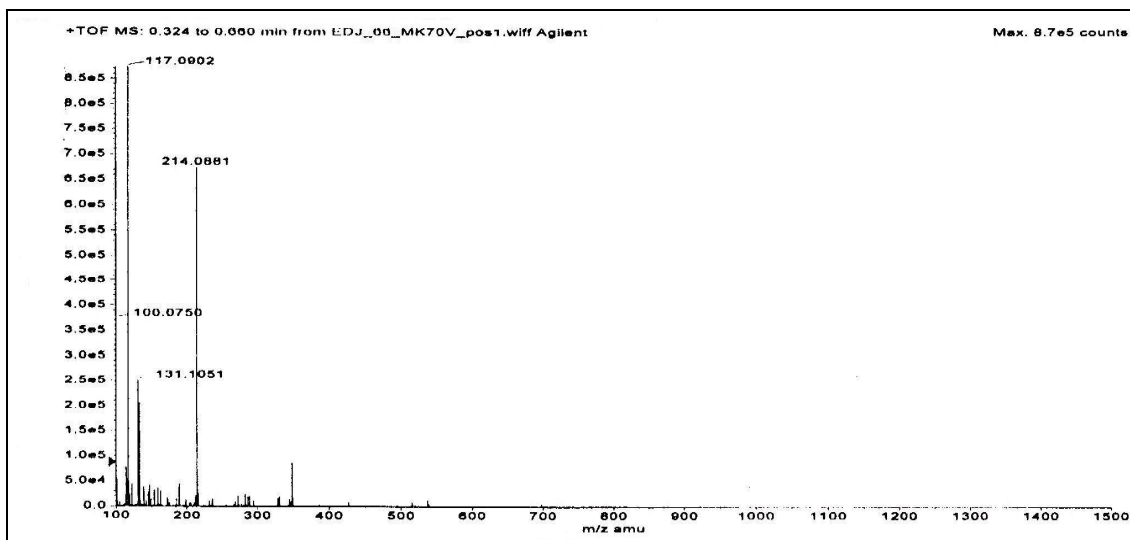


Prilog 8.116. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 37

Prilog 8.117. Maseni spektar jedinjenja **37**

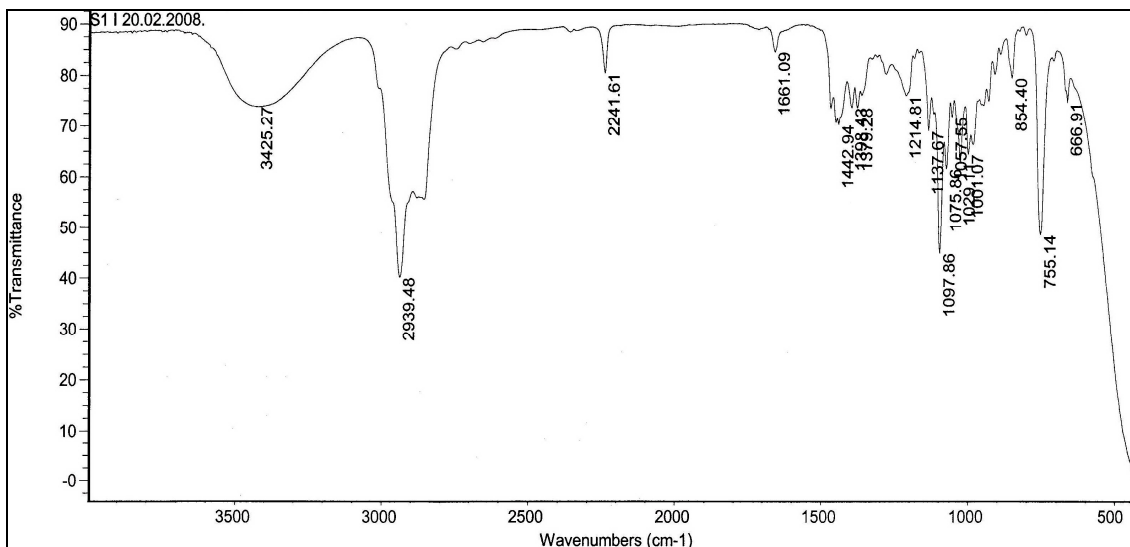
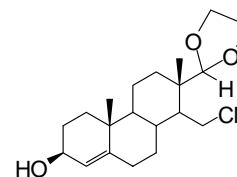
13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3 α -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (38**)²⁰⁰**

Prilog 8.118. IR spektar jedinjenja **38**

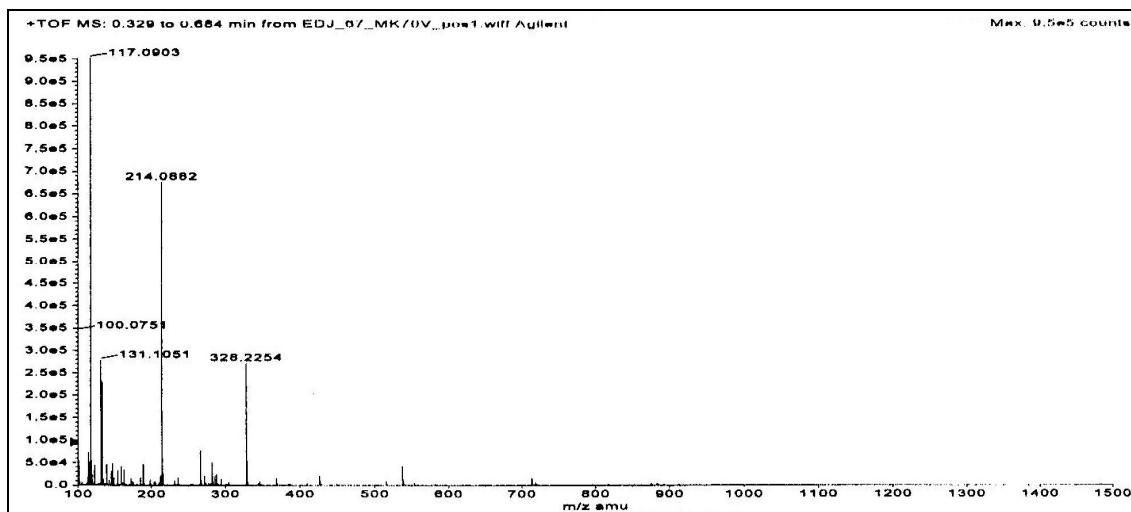


Prilog 8.121. Maseni spektar jedinjenja 38

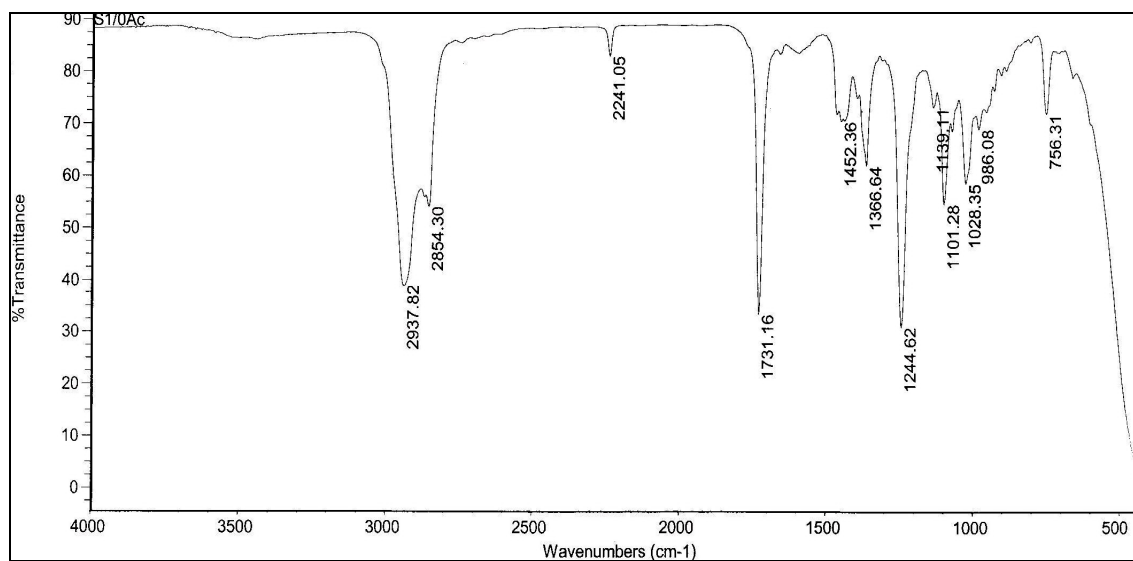
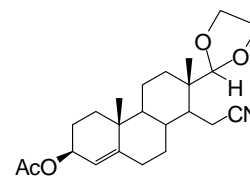
13-(1,3-dioksolan-2-il)-3 β -hidroksi-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril (39)²⁰⁰

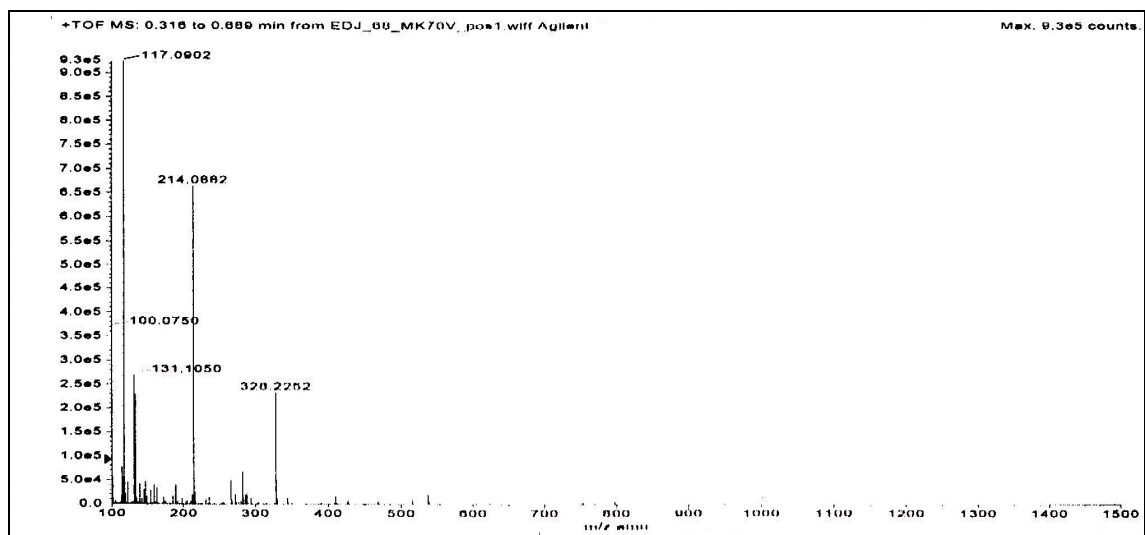


Prilog 8.122. IR spektar jedinjenja 39

Prilog 8.125. Maseni spektar jedinjenja **39**

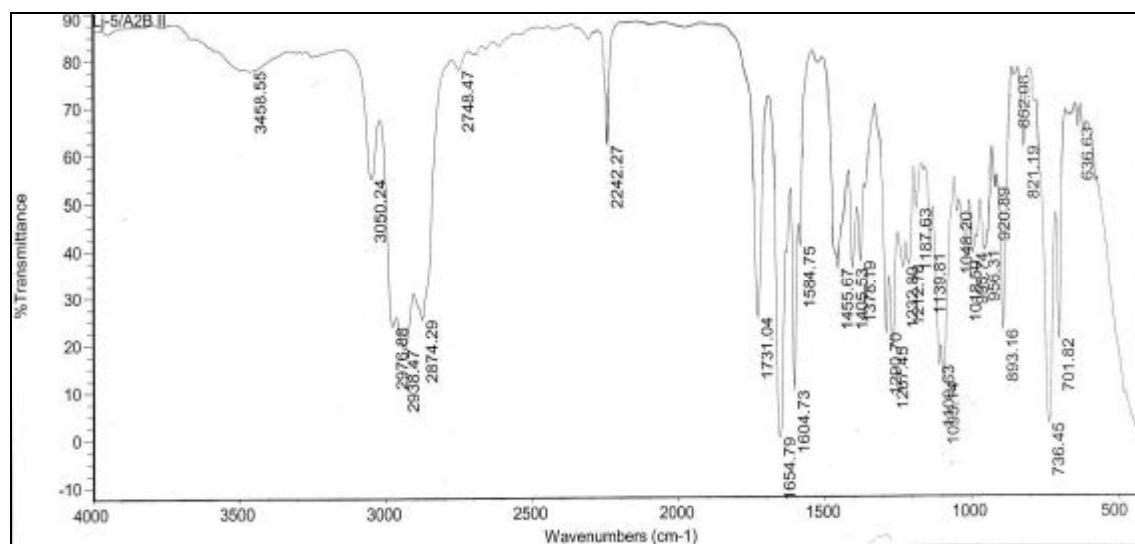
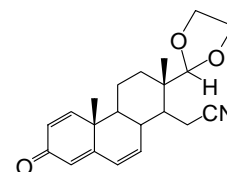
**13-(1,3-Dioksolan-2-il)-16,17-seko-17-norandrost-4-en-16-nitril-3 β -il
acetat (**40**)²⁰⁰**

Prilog 8.126. IR spektar jedinjenja **40**

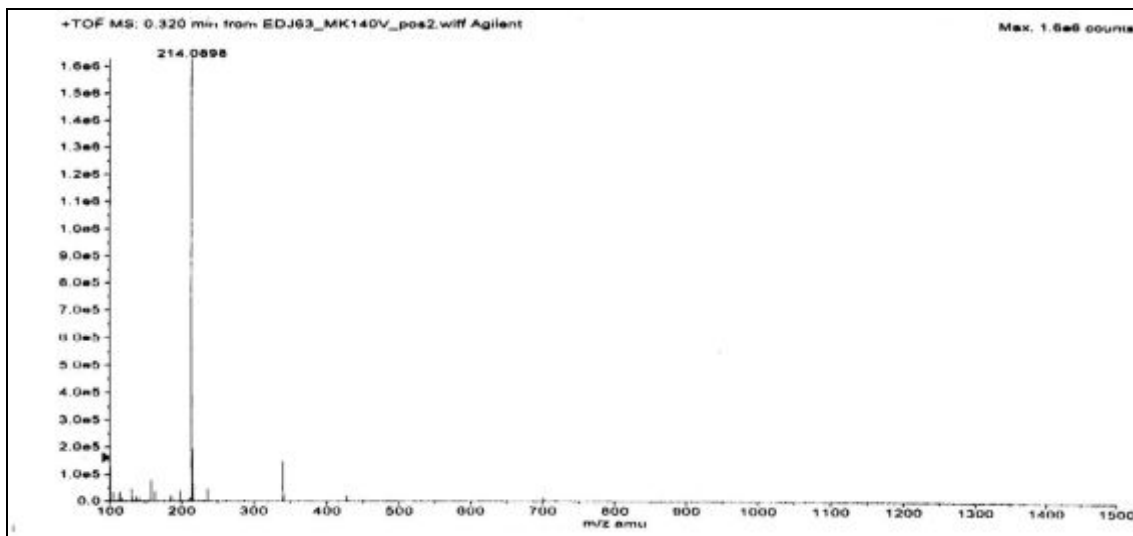


Prilog 8.129. Maseni spektar jedinjenja 40

13-(1,3-Dioksolan-2-il)-3-okso-16,17-seko-17-norandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (41)²⁰⁰

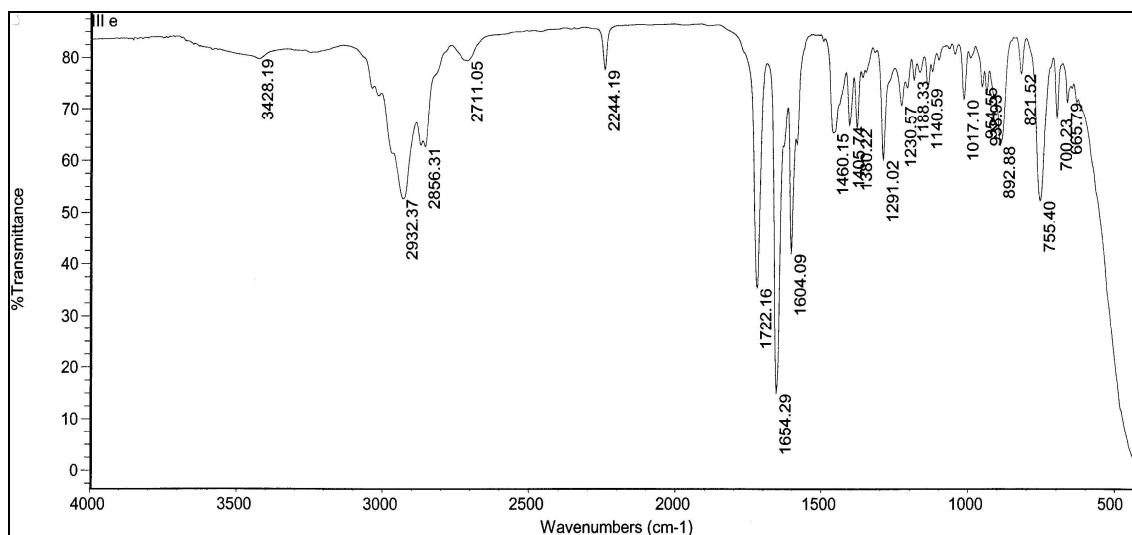
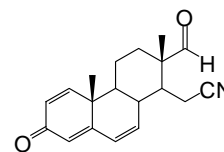


Prilog 8.130. IR spektar jedinjenja 41

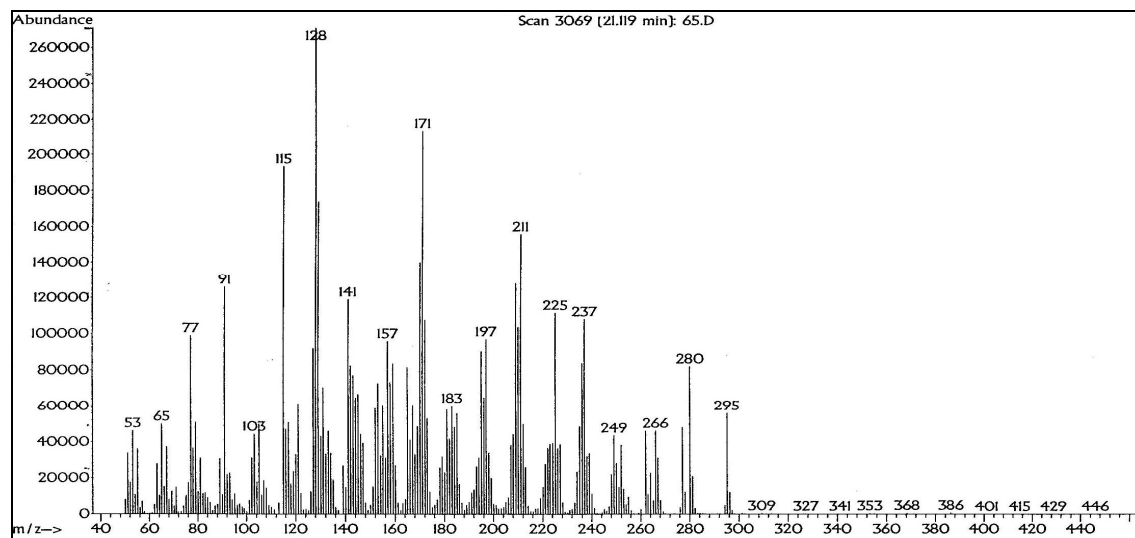


Prilog 8.133. Maseni spektar jedinjenja 41

3,17-Diokso-16,17-sekoandrosta-1,4,6-trien-16-nitril (42)²⁰⁰

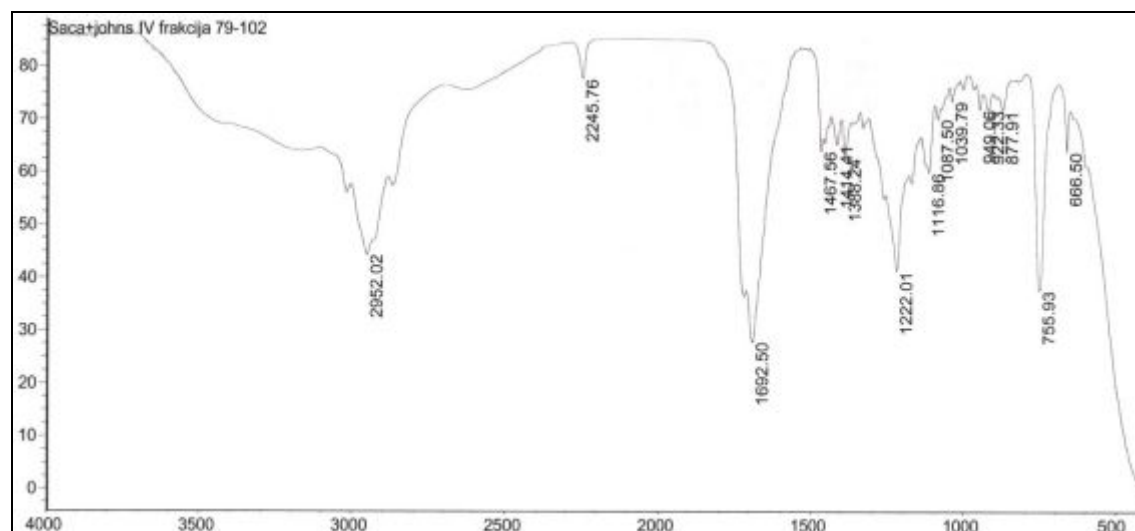
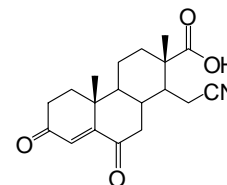


Prilog 8.134. IR spektar jedinjenja 42

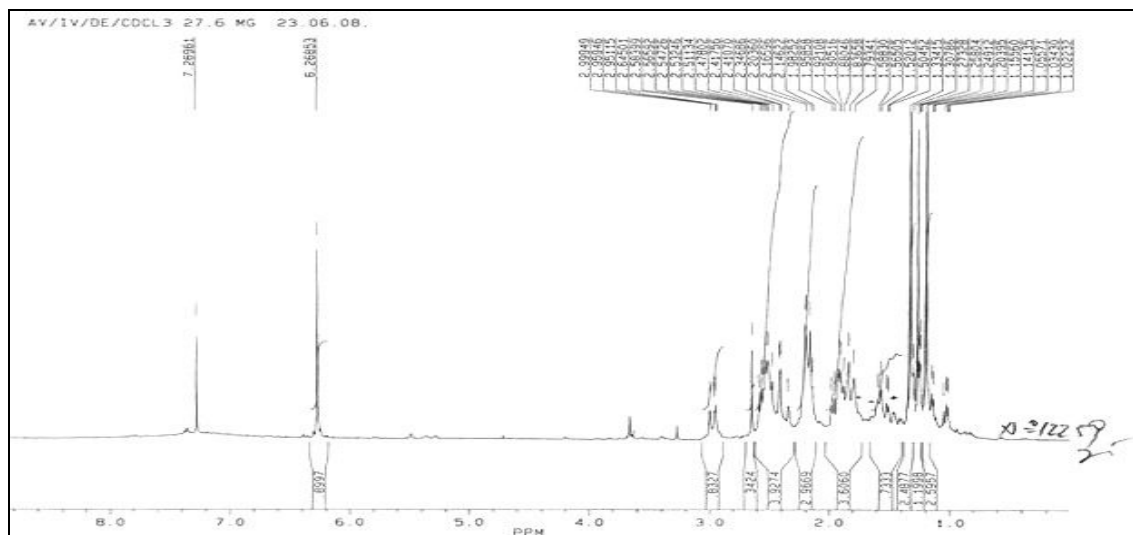


Prilog 8.137. Maseni spektar jedinjenja 42

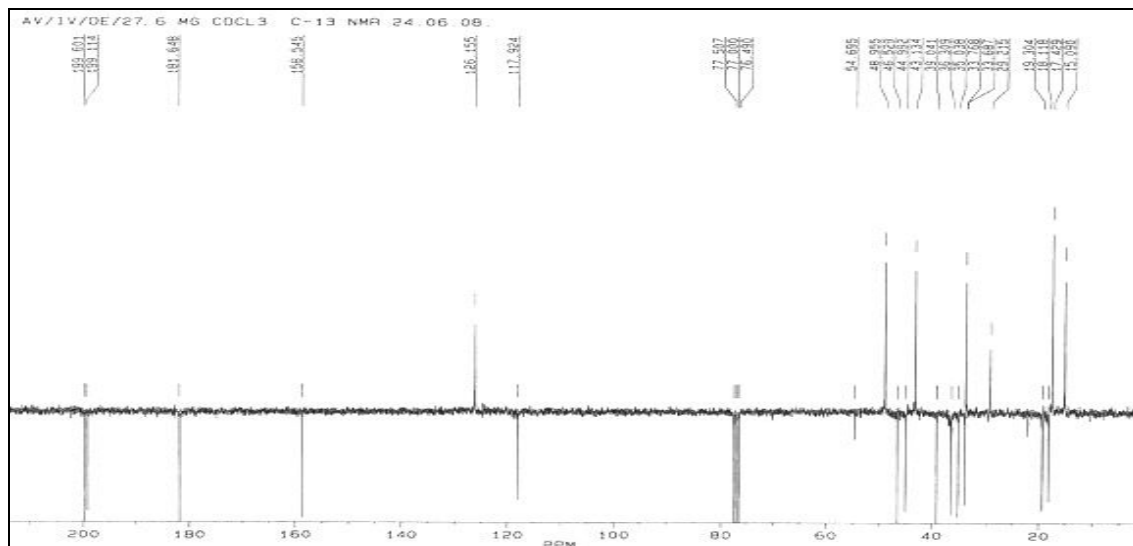
**15-Cijano-16,17-seko-17-norandrost-4-en-3,6-dion-13-karboksilna
kiselina (43)²⁰⁰**



Prilog 8.138. IR spektar jedinjenja 43



Prilog 8.139. ¹H NMR spektar jedinjenja 43



Prilog 8.140. ¹³C NMR spektar jedinjenja 43

8.3. Skraćenice

Ac	acetil grupa
ACTH	adrenokortikotropni hormon
AR	androgeni receptori
BSTFA	bis(trimetilsilil)-trifluoroacetamid
Bn	benzil grupa
bs	široki singlet
BTEAC	benziltriethylamonijum-hlorid
Bu	butil grupa
d	dublet
DCC	dicikloheksilkarbodiimid
dd	dublet dubleta
DDQ	2,3-dihloro-5,6-dicijano
DHEA	dehidroepiandrosteron
DHT	dihidrottestosteron
DIBAL	di/zobutilaluminijum-hidrid
DMSO	dimetilsulfoksid
Et	etil
Gn	gonadotropin
GnRH	gonadotropin-oslobađajući hormon
LHRH	luteinizirajući hormon – oslobađajući hormon
IC ₅₀	doza koja smanjuje „odgovor“ za 50% u odnosu na kontrolnu Vrednost
LDA	litijum-di/zopropilamid
m	multiplet
<i>m</i> -CPBA	meta-hlorperbenzoeva kiselina
Me	metil grupa
MMPP	heksahidrat magnezijumove soli peroksifalne kiseline
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolijum bromid
NADPH	redukovani nikotinadenindinukleotid-fosfat
Ph	fenil grupa

Pr	propil grupa
Py	piridin
q	kvartet
s	singlet
t	triplet
T	testosteron
TBDMS-Cl	<i>tert</i> -butildimetilsilil-hlorid
TFA	trifluorsirćetna kiselina
TFAA	anhidrid trifluorsirćetne kiseline
THF	tetrahidrofuran
THP	terahidropiranil grupa
TMS	tetrametilsilan
Ts	toluensulfonil (tozil) grup

9. BIOGRAFIJA



Marina P. Savić (rođena Zaviš) je rođena 16. novembra 1977. godine u Novom Sadu. Osnovnu školu „Ljudovit Štur“ u Kisaču je završila 1992. godine, a zatim je upisala gimnaziju „Jovan Jovanović Zmaj“ u Novom Sadu. Nakon toga, 1996. godine je na Univerzitetu u Novom Sadu, na Institutu za hemiju, Prirodno-matematičkog fakulteta upisala studije na smeru diplomirani hemičar. Diplomski rad pod nazivom „Teški metali u površinskim vodama lokaliteta Ratno ostrvo“ iz oblasti Zaštite

životne sredine odbranila je 2003. godine, nakon čega je 2004. godine na Departmanu za hemiju upisala magistarske studije, smer hemija, uža naučna oblast organska hemija, a magistarski rad pod nazivom „Sinteza i hemijske transformacije novih androstenskih derivata“ je odbranila 2008. godine.

U zvanje istraživač-pripravnik u naučnoj oblasti hemija, uža naučna oblast organska hemija, na Departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu imenovana je u junu 2005. godine, gde je do 2010. bila angažovana na projektu „Sinteza i fizičko-hemijska ispitivanja odabranih organskih jedinjenja od potencijalnog farmakološkog značaja“ (br. projekta 142052), koji je finansiralo Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

U zvanje istraživač-saradnik je imenovana 2009. godine na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Od 2011. godine je angažovana na projektu „Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekulskih agregata“ (br. projekta 172021), koji takođe finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije. Od 2012. godine je angažovana i na međunarodnom IPA projektu pod nazivom „Research Cooperation of the University of Szeged and the University of Novi Sad in Development of Anticancer Drug Compounds“. Takođe je angažovana na vežbama (kao asistent), na predmetima

Organska hemija I i II, Stereochemija, Organska strukturalna analiza, Preparativna organska hemija i Hemija steroida. Na Medicinskom fakultetu, odsek Farmacija, je bila angažovana na vežbama školske 2004./2005. godine na predmetu Organska hemija.

Od 2002. godine radi kao nastavnik hemije sa 60 % radnog vremena u osnovnoj školi „Ljudovit Štur“ u Kisaču.

Marina P. Savić se bavi naučnim radom na polju sinteze i fizičko-hemijskih ispitivanja androstanskih derivata kao potencijalno biološki aktivnih jedinjenja. Koautor je pet naučnih radova, koji su publikovani u časopisima *Steroids*, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, *Acta Periodica Technologica* i *Structural Chemistry* i dvadesetpet stranih i domaćih saopštenja.

U Novom Sadu,

30.10.2012.

Mr Marina P. Savić

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj

IBR

Tip dokumentacije:

Monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa:

Tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada:

Doktorska disertacija

VR

Autor:

Mr Marina P. Savić

AU

Mentor:

Dr Evgenija Đurendić

MN

red. prof. PMF-a u Novom Sadu

Naslov rada:

Sinteza i antiproliferativna aktivnost novih D-homo i

NR

D-seko derivata androstana

Jezik publikacije:

Srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda:

srpski / engleski

JI

Zemlja publikovanja:

Srbija

ZP

Uže geografsko područje:

Vojvodina

UGP

Godina:

2012.

GO

Izdavač:

Autorski reprint

IZ

Mesto i adresa:

Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju,
biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, trg
Dositeja Obradovića 3

MA

Fizički opis rada:

poglavlja 9; strana 254; lit. citata 228; tabela 16;
shema 82; slika 177 (od toga 140 slika spektara)

FO

Naučna oblast:

Hemija

NO

Naučna disciplina:

Organska hemija

ND

Ključne reči:

Sinteza, steroidi, derivati androstana,
antiproliferativna aktivnost

PO

Čuva se:

Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu

ČU

životne sredine, PMF, Novi Sad, Trg Dositeja
Obradovića 3.

Važna napomena:

Nema

VN

Izvod:

U prvom delu ove doktorske disertacije je izvršena sinteza novih derivata androstana sa D-laktonskom funkcijom ili D-seko derivata, sa modifikacijama u A- i/ili B-prstenovima. U drugom delu je ispitana antiproliferativna aktivnost odabranih novosintetizovanih jedinjenja prema humanim tumorskim ćelijskim linijama (MCF-7, MDA-MB-231, PC-3, HeLa, HT-29, K562) kao i prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5).

Datum prihvatanja teme od strane NN veća:

27.01.2011.

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

KO

Predsednik:

Dr Katarina Penov-Gaši, red. prof. PMF-a u Novom Sadu

Član:

Dr Evgenija Đurendić, red. prof. PMF-a u Novom Sadu, mentor

Član:

Dr Marija Sakač, red. prof. PMF-a u Novom Sadu

Član:

Dr János Csanádi, red. prof. PMF-a u Novom Sadu

Član:

Dr Sonja Đilas, red. prof. Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF SCIENCES
KEY WORDS DOCUMENTATION**

Accession number:
ANO
Identification number:
INO
Document type: Monograph type
DT
Type of record: Printed text
TR
Contents Code: Phd Dissertation
CC
Author: Marina P. Savić, msc.
AU
Mentor: Dr Evgenija Đurendić
MN Faculty of Sciences, Department of Chemistry,
Biochemistry and Environmental Protection, Novi Sad
Title: Synthesis and antiproliferative activity of new D-homo
XI and D-seco androstane derivatives
Language of text: Serbian (latina)
LT
Language of abstract: Serbian (latina) / English
LA
Country of publication: Serbia
CP
Locality of publication: Vojvodina
LP
Publication year: 2012.
PY
Publisher: Author reprint
PU
Publ. place: Faculty of Sciences, Department of Chemistry,
PP Biochemistry and Environmental Protection Novi Sad,
Trg Dositeja Obradovića 3
Physical description: chapters 9; pages 254; references 228; tables 16;
PD shemes 82; pictures 177 (of which 140 spectra)
Science field: Chemistry
SF
Scientific discipline: Organic chemistry
SD
Key words: Synthesis, steroids, androstane derivatives,
antiproliferative activity

Holding date: Faculty of Sciences, Department of Chemistry,
HD Biochemistry and Environmental Protection (Library),

Novi Sad

HD Note: No

Abstrakt: In first part of this work was achieved synthesis of
AB some new androstane derivatives with D-lactone
function and new D-seco derivatives with modification
in A and/or B rings. In the second part the
antiproliferative activity of selected newly synthesized
compounds by human carcinoma cell lines (MCF-7,
MDA-MB-231, PC-3, HeLa, HT-29, K562) and the
healthy cells of fetal lung fibroblasts (MRC-5) was
examined.

Accepted by the Scientific Board on: 27.01.2011.

Defended: DE

Thesis defend board:

President: Dr Katarina Penov-Gaši, full prof., Faculty of
Sciences, Novi Sad

Member: Dr Evgenija Đurendić, full prof., Faculty of Sciences,
Novi Sad, mentor

Member: Dr Marija Sakač, full prof., Faculty of Sciences, Novi
Sad

Member: Dr János Csanádi, full prof., Faculty of Sciences, Novi
Sad

Member: Dr Sonja Đilas, full prof., Faculty of Technology, Novi
Sad