



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



**Mr Jovana J. Ajduković**

**SINTEZA I BIOLOŠKA AKTIVNOST 17-  
SUPSTITUISANIH ANDROSTANSKIH DERIVATA**

**-Doktorska disertacija-**

**Novi Sad, 2013.**

Ova doktorska disertacija je urađena na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, pod mentorstvom **dr Evgenije Đurendić**, redovnog profesora PMF-a u Novom Sadu, koja je predložila temu i rukovođila radom. Rad je urađen u okviru istraživanja na projektu „Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekularskih agregata“ (br. projekta 172021), finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Najiskrenije se zahvaljujem mojoj dragoj mentorici **dr Evgeniji Đurendić**, red. prof. PMF-a u Novom Sadu, na nesebičnoj i svesrdnoj pomoći i podršci tokom izrade i pisanja ovog rada, ličnom interesovanju, razumevanju i strpljenju, dragocenim savetima, a pre svega što je svojim duhom i vedrinom učinila da svaki dan proveden u radu bude ispunjen osmehom i zadovoljstvom.

Veliku zahvalnost dugujem i **dr Katarini Penov Gaši** i **dr Mariji Sakač**, redovnim profesorima PMF-a u Novom Sadu, na velikoj pomoći i podršci koju su mi pružile tokom izrade i pisanja teze, kao i na izuzetnom zalaganju i razumevanju tokom više godina naše saradnje.

Zahvaljujem se **dr János Csanádi**-ju, red. prof. PMF-a u Novom Sadu, na podršci i savetima tokom izrade i pisanja teze, snimanju i pomoći u tumačenju NMR spektara. Takođe se zahvaljujem i **dr Sonji Đilas**, red. prof. Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, na interesovanju koje je pokazala za ovaj rad.

Iskreno se zahvaljujem **dr Branislavu Joviću**, docentu PMF-a u Novom Sadu, na snimanju IR spektara, kao i **dr Oliveri Klisurić**, docentu PMF-a u Novom Sadu, na rezultatima rentgeno-strukturne analize.

Takođe se zahvaljujem i **dr Gordani Bogdanović**, **dr Vesni Kojić** i **Dimitru Jakimovu** sa Instituta za onkologiju u Sremskoj Kamenici, na ispitivanju biološke aktivnosti sintetizovanih jedinjenja.

Zahvalnost dugujem i kolegama sa Hemijskog fakulteta u Beogradu, na pomoći i korisnim savetima.

Posebnu zahvalnost na velikoj pomoći i prijateljstvu dugujem i **dr Marini Savić**, **mr Andrei Nikolić** i **mr Kseniji Pavlović**, kao i svima koji su mi svojim savetima i podrškom olakšali izradu ove disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem svom suprugu **Nikši** i sinu **Filipu**, koji su mi najveća podrška i oslonac, za ljubav, strpljenje i snagu koju mi pružaju. Posebno želim da se zahvalim svojim roditeljima, **Veri** i **Jovanu**, kao i sestri **Duški**, koji su mi tokom svih godina školovanja pružali ogromnu ljubav, podršku i razumevanje.

**Mr Jovana J. Ajduković**

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD.....   | 1  |
| 2. OPŠTI DEO.....  | 5  |
| 2.1. Steroidna jedinjenja kao antikancerogeni agensi .....   | 5  |
| 2.1.1. Karcinom dojke.....   | 8  |
| 2.1.1.1. Uloga androgena u razvoju i rastu karcinoma dojke.....  | 10 |
| 2.1.1.2. Terapija u lečenju karcinoma dojke.....   | 11 |
| 2.1.1.3. Hormonska (endokrina) terapija.....   | 11 |
| 2.1.2. Terapijski agensi u lečenju kancera prostate.....   | 16 |
| 2.1.2.1. Inhibitori 5 $\alpha$ -reduktaze.....   | 19 |
| 2.1.2.2. Inhibitori 17 $\alpha$ -hidroksilaze/17,20-lijaze P450 <sub>17<math>\alpha</math></sub> (CYP17) ..... | 21 |
| 2.1.2.3. Primenjivani antiandrogeni u lečenju kancera prostate.....  | 24 |
| 2.2. Prisustvo heterocikličnog sistema u strukturi steroidnog jezgra .....                                     | 29 |
| 2.2.1. Biološki aktivna steroidna jedinjenja sa N-heterocikličnim sistemom u D<br>prstenu.....                 | 30 |
| 2.2.2. Steroidna jedinjenja sa kondenzovanim N-heterocikličnim sistemom u A<br>prstenu.....                    | 41 |
| 2.3. Odabrane reakcije oksidacije A i B prstena steroidnog jezgra.....   | 47 |
| 2.3.1. Oksidacije <i>Jones</i> -ovim reagensom.....  | 49 |
| 2.3.2. Oksidacije steroidnog jezgra sa selen(IV)-oksidom.....  | 53 |
| 2.4. Odabrani primeri redukcija karbonilne funkcionalne grupe u steroidnom jezgru.....                         | 58 |
| 2.5. <i>Wharton</i> -ova reakcija.....   | 64 |
| 2.6. <i>Eschenmoser</i> -ova fragmentacija steroidnog jezgra.....  | 67 |
| 3. REZULTATI I DISKUSIJA.....  | 71 |
| 3.1. Sinteza 17-supstituisanih derivata androst-5-ena.....   | 79 |
| 3.1.1. Sinteza polaznih 17 $\alpha$ -pikolil i 17( <i>E</i> )-pikoliniliden derivata <b>2-6</b> .....          | 79 |
| 3.1.2. Sinteza novih 17 $\alpha$ -pikolil derivata <b>7-14</b> sa transformacijama u A prstenu.....            | 82 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.1.3. Sinteza novih 17 $\alpha$ -pikolil derivata <b>15-20</b> i <b>23</b> sa transformacijama u A i B prstenu.....  | 85  |
| 3.1.4. Hemijske transformacije 4,5-epoksi 17 $\alpha$ -pikolil androstanskog derivata.....  | 89  |
| 3.1.5. Oksimino funkcija u strukturi 17 $\alpha$ -pikolil androstanskog derivata.....   | 93  |
| 3.1.6. Sinteza 17( <i>E</i> )-pikoliniliden androstanskih derivata <b>38-45</b> sa transformacijama u A prstenu.....  | 101 |
| 3.1.7. Sinteza 17( <i>E</i> )-pikoliniliden androstanskih derivata <b>46-54</b> sa modifikovanim A i B prstenom.....  | 105 |
| 3.1.8. Sinteza 17-pikolil i 17-pikoliniliden androstanskih derivata sa kondenzovanim piridinskim prstenom ( <b>55</b> i <b>56</b> ).....  | 110 |
| 3.2. Ispitivanje uticaja novosintetizovanih jedinjenja na proliferaciju tumorskih ćelija.....   | 114 |
| 3.2.1. Korelacija antiproliferativne aktivnosti i strukture odabranih sintetizovanih jedinjenja.....  | 122 |
| 4. EKSPERIMENTALNI DEO.....   | 127 |
| 4.1. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol ( <b>2</b> ).....  | 128 |
| 4.2. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>3</b> ).....  | 129 |
| 4.3. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat ( <b>4</b> ).....   | 130 |
| 4.4. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol ( <b>5</b> ).....  | 131 |
| 4.5. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on ( <b>6</b> ).....   | 132 |
| 4.6. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il <i>p</i> -toluensulfonat ( <b>7</b> ).....  | 133 |
| 4.7. 17 $\alpha$ -Pikolil-androsta-3,5-dien-17 $\beta$ -ol ( <b>8</b> ).....  | 134 |
| 4.8. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol ( <b>9</b> ).....  | 135 |
| 4.9. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat ( <b>10</b> ).....   | 136 |
| 4.10. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-hidrazon ( <b>11</b> ).....  | 137 |
| 4.11. 17 $\alpha$ -Pikolil-5 $\alpha$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ol ( <b>13</b> ) i 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\beta$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ol ( <b>14</b> ).....                             | 138 |
| 4.12. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol ( <b>15</b> ) i 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol ( <b>16</b> )..... | 139 |
| 4.13. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat ( <b>17</b> ).....  | 140 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.14. 4 $\beta$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat ( <b>18</b> ).....  | 141 |
| 4.15. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion ( <b>19</b> ).....   | 142 |
| 4.16. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion ( <b>19</b> ) i<br>4,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androsta-4,6-dien-3-on ( <b>20</b> ).....   | 143 |
| 4.17. 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on ( <b>21</b> ) i<br>4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on ( <b>22</b> ).....  | 144 |
| 4.18. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol ( <b>24</b> ).....   | 145 |
| 4.19. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on ( <b>25</b> ).....   | 146 |
| 4.20. 17 $\beta$ -Hidroksi-4-metoksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>26</b> ).....   | 147 |
| 4.21. 2 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>27</b> ) i<br>2 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>28</b> ).....   | 148 |
| 4.22. 17 $\beta$ -Hidroksi-2( <i>E</i> )-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-izoksazolo[3',4',5':4,5,6]-androst-<br>5-en-3-on ( <b>29</b> ) i 17 $\beta$ -hidroksi-2( <i>Z</i> ),4( $\zeta$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-<br>5-en-3-on ( <b>30</b> )..... | 149 |
| 4.23. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-2,4-seko-3-norandrost-5-en-2,4-dinitril ( <b>31</b> ).....   | 151 |
| 4.24. 3( <i>E</i> )-Hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol ( <b>32</b> ) i<br>3( <i>Z</i> )-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol ( <b>33</b> ).....  | 152 |
| 4.25. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on ( <b>34</b> ) i<br>17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-on ( <b>35</b> ).....   | 153 |
| 4.26. 17 $\beta$ -Hidroksi-2( <i>Z</i> )-hidroksimetilen-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>36</b> ).....   | 154 |
| 4.27. 17 $\beta$ -Hidroksi-2( <i>Z</i> )-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on ( <b>37</b> ).....  | 155 |
| 4.28. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il <i>p</i> -toluensulfonat ( <b>38</b> ).....  | 156 |
| 4.29. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androsta-3,5-dien ( <b>39</b> ).....  | 157 |
| 4.30. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol ( <b>40</b> ).....   | 158 |
| 4.31. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat ( <b>41</b> ).....  | 158 |
| 4.32. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3-hidrazon ( <b>42</b> ).....  | 159 |
| 4.33. <i>Wolff-Kishner</i> -ova redukcija 17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androst-4-en-3-ona ( <b>6</b> ).....  | 160 |
| 4.34. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-en ( <b>44</b> ) i<br>17( <i>E</i> )-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-en ( <b>45</b> ).....   | 161 |
| 4.35. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion ( <b>46</b> ).....  | 162 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.36. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion ( <b>46</b> ) i<br>4-hidroksi-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on ( <b>47</b> ).....                                   | 163 |
| 4.37. 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androstan-3-on ( <b>48</b> ) i<br>4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androstan-3-on ( <b>49</b> )..... | 164 |
| 4.38. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-androst-3-en-5 $\zeta$ -ol ( <b>50</b> ).....  | 165 |
| 4.39. 3( <i>E</i> )-Hidroksimino-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androst-4-en ( <b>52</b> ) i<br>3( <i>Z</i> )-hidroksimino-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androst-4-en ( <b>53</b> ).....           | 166 |
| 4.40. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on ( <b>34</b> ).....  | 167 |
| 4.41. 2( <i>Z</i> )-Hidroksimetilen-17( <i>E</i> )-pikoliniliden-androst-4-en-3-on ( <b>54</b> ).....   | 168 |
| 4.42. 17 $\alpha$ -Pikolil-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en-17 $\beta$ -ol ( <b>55</b> ).....   | 169 |
| 4.43. 17( <i>E</i> )-Pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en ( <b>56</b> ).....  | 170 |
| 5. ZAKLJUČAK.....   | 171 |
| 6. LITERATURA.....  | 179 |
| 7. PRILOG.....  | 191 |
| 7.1. IR, <sup>1</sup> H i <sup>13</sup> C NMR spektri.....  | 191 |
| 7.2. Intra- i intermolekulske vodonične veze kod jedinjenja <b>25</b> , <b>36</b> i <b>55</b> .....   | 273 |
| 8. BIOGRAFIJA.....  | 275 |

## 1. UVOD

Androgena jedinjenja se primenjuju u medicini kao anabolici, antiinflamatorni i antimikrobni agensi, a naročito u tretmanu brojnih hormon zavisnih oboljenja<sup>1,2</sup>, kao što su karcinom dojke, prostate, ovarijuma, karcinom cerviksa, zatim hirsutizam i benigna hiperplazija prostate.

Kancer prostate je danas jedan od najčešćih uzroka smrti kod muškaraca u Evropi i SAD-u. Do skoro, primarni način lečenja je bila hirurška intervencija, međutim, obzirom da ova intervencija ne obuhvata adrenalna i druga tkiva u kojima se produkuju androgeni, sve više se primenjuje hormonalna terapija. S druge strane, jedno od najrasprostranjenijih malignih oboljenja kod žena je karcinom dojke. Smatra se da je oko 30-50% kancera dojke estrogen-zavisno.

Sinteza androgena i estrogena, pre svega testosterona, dihidrotestosterona, androstendiona, estradiola i dr. iz holesterola, odvija se preko ključnih enzima steroidogeneze. Stoga se prekomerna biosinteza androgena, odnosno estrogena može sprečiti inhibicijom pojedinih enzima steroidogeneze ( $5\alpha$ -reduktaze,  $17\alpha$ -hidroksilaza/ $17,20$ -lijaze i aromataze), što predstavlja efektivnu terapiju u lečenju raznih hormon zavisnih oboljenja, kao što su kancer prostate, dojke, ovarijuma i dr. Terapeutici prve (testololakton, aminoglutetimid) i druge (formestan, fadrozol) generacije, koji se koriste u lečenju kancera dojke, su se pokazali kao manje selektivni i aktivni u poređenju sa novijim lekovima treće generacije (eksemestan, anastrozol i letrozol). Iz tog razloga su sva novija istraživanja usmerena prema iznalaženju novih potentnijih i selektivnijih terapeutika.

Utvrđeno je da se uvođenjem heteroatoma u steroidno jezgro poboljšava njihova biološka aktivnost i da dolazi do pojave novih bioloških i farmakoloških svojstava. U literaturi su opisana mnoga steroidna jedinjenja koja u svojoj strukturi poseduju heterociklični prsten sa azotovim atomom, kao što su prostanozol, stanozolol, danazol, furazabol, finasterid, a koja su našla primenu u lečenju brojnih hormon zavisnih bolesti. Osim antitumorske, ovakva jedinjenja su

pokazala i antimikrobnu, antiviralnu i antifungalnu aktivnost kao što su solakongestidin, solafloridin, verazin, plakinamin B.

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je sinteza novih 17-pikolil i 17-pikoliniliden androstanskih derivata, sa modifikacijama u A- i/ili B-prstenovima, kao i ispitivanje njihove antiproliferativne aktivnosti *in vitro*. U okviru naših ranijih istraživanja je sintetisan veći broj androstanskih derivata, od kojih su neki ispoljili dobru inhibitornu aktivnost prema pojedinim enzimima uključenim u steroidogenezu, a isto tako su se pojedini pokazali kao jaki citotoksični agensi. Stoga se očekuje da i jedinjenja sintetizovana u okviru ovog rada pokažu značajnu citotoksičnost prema određenim malignim ćelijskim linijama, posebno prema ćelijskim linijama karcinoma dojke i prostate, a da budu netoksični prema zdravim ćelijama.

Predviđena istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji su veoma aktuelna, obzirom da je danas predmet rada mnogih naučnih timova širom sveta upravo sinteza androgenih hormona, rasvetljavanje njihove strukture, a posebno njihova primena u terapijske svrhe. Saznanja o mogućnosti primene antagonista androgena, tj. antiandrogena, u lečenju mnogih androgen zavisnih bolesti i hormon zavisnih tumora (kancer prostate, kancer dojke i ovarijuma, benigna hiperplazija prostate, hirsutizam i dr.), intenzivirala su istraživanja u oblasti sinteze i primene ovih jedinjenja u terapeutske svrhe.

Obzirom na postavljene ciljeve istraživanja, u *Opštem delu* ovog rada dat je detaljan pregled literature u kojoj su opisana steroidna i nesteroidna jedinjenja kao antitumorski agensi, a takođe je ukazano i na značaj heteroatoma u strukturi steroidnog jezgra, za koji je utvrđeno da utiče na poboljšanje biološke aktivnosti jedinjenja. Takođe su detaljno opisane sinteze steroidnih derivata sa heterocikličnim prstenom, zatim pregled različitih hemijskih transformacija kod steroidnih derivata, pre svega oksidacije, redukcije i fragmentacije, čime se dobijaju potencijalno biološki aktivna jedinjenja.

U okviru *Rezultata i diskusije* su opisane sinteze kako polaznih, tako i novih 17-supstituvisanih androstanskih derivata, a takođe su detaljno diskutovani spektroskopski podaci na osnovu kojih su utvrđene strukture novosintetizovanih jedinjenja (pojedina jedinjenja su dokazana i na osnovu rentgeno-strukturne analize). Takođe su prikazani i diskutovani rezultati antiproliferativne aktivnosti odabranih jedinjenja prema nekoliko malignih ćelijskih linija: adenokarcinom dojke ER+ (MCF-7), adenokarcinom dojke ER- (MDA-MB-231), kancer prostate AR- (PC3), karcinom cerviksa (HeLa), karcinom debelog creva (HT-29) i



adenokarcinom pluća (A549), i prema jednoj liniji zdravih humanih ćelija (fetalni fibroblasti pluća (MRC-5)). Na kraju je izvršena korelacija antiproliferativne aktivnosti i strukture odabranih sintetizovanih jedinjenja, kako bi se ispitaio uticaj pojedinih funkcionalnih grupa kod 17 $\alpha$ -pikolil i 17-pikoliniliden androstanskih derivata na antitumorsku aktivnost.

U *Eksperimentalnom delu* rada su opisani postupci dobijanja polaznih i novosintetizovanih jedinjenja, a njihove strukture su utvrđene na osnovu spektroskopskih podataka (IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR i HRMS-TOF spektri).

U *Zaključku* su sažeto opisani rezultati rada.

Slike IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektara novosintetizovanih jedinjenja su date u *Prilogu*.

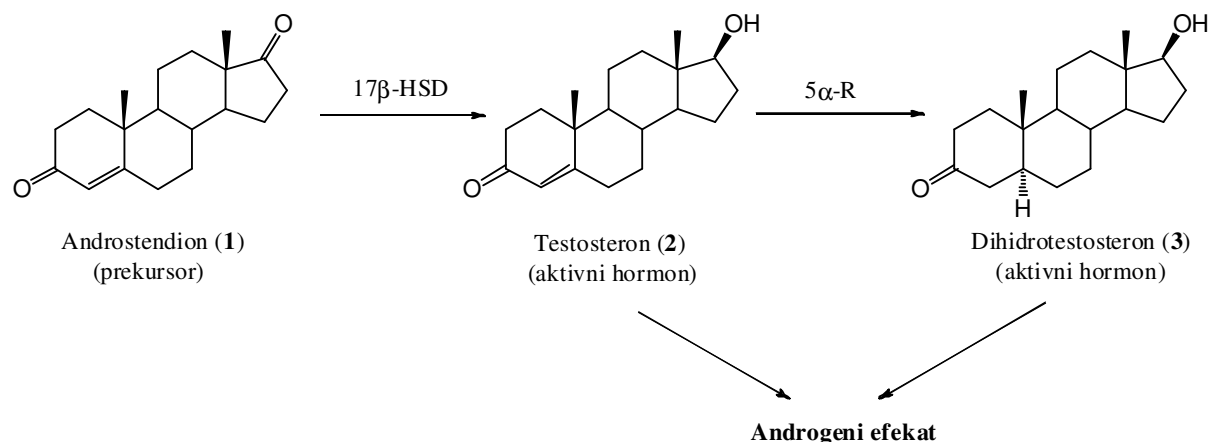


## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. Steroidna jedinjenja kao antikancerogeni agensi

Steroidna jedinjenja ispoljavaju raznovrsnu biološku aktivnost preko različitih funkcionalnih grupa smeštenih oko njihovog krutog tetracikličnog jezgra. Imaju sposobnost regulacije niza bioloških procesa, pa samim tim predstavljaju i potencijalne lekove u terapiji mnogih bolesti kao što su kancer dojke<sup>1</sup>, kancer prostate<sup>2</sup>, leukemija<sup>3,4</sup>, autoimune bolesti<sup>5</sup>, osteoporoz<sup>6</sup> i druge. Mnogi terapeutici bazirani na steroidnim jedinjenjima predstavljaju semi-sintetske proizvode ili analoge, koji su dobijeni uvođenjem odgovarajućih funkcionalnih grupa u strukturu steroidnog jezgra.

Androgeni hormoni, testosteron (**2**, T) i dihidrotestosteron (**3**, DHT) imaju važnu ulogu u razvoju androgen-senzitivnih organa<sup>7-9</sup>, ali isto tako i u razvoju bolesti poput kancera prostate, benigne hiperplazije prostate, akni, hirsutizma i ćelavosti<sup>10</sup>. Kod muškaraca, najvažniji cirkulišući androgen je testosteron, dok je dihidrotestosteron glavni intracelularni androgen u prostati<sup>11,12</sup>. Testosteron se sintetiše u intersticijalnim (*Leydig*-ovim) ćelijama testisa iz androstendiona (**1**), katalitičkom aktivnošću enzima 17 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaze (17 $\beta$ -HSD), dok se konverzija testosterona u dihidrotestosteron odvija dejstvom 5 $\alpha$ -reduktaze (5 $\alpha$ -R)<sup>13</sup> (*shema 2.1.*).

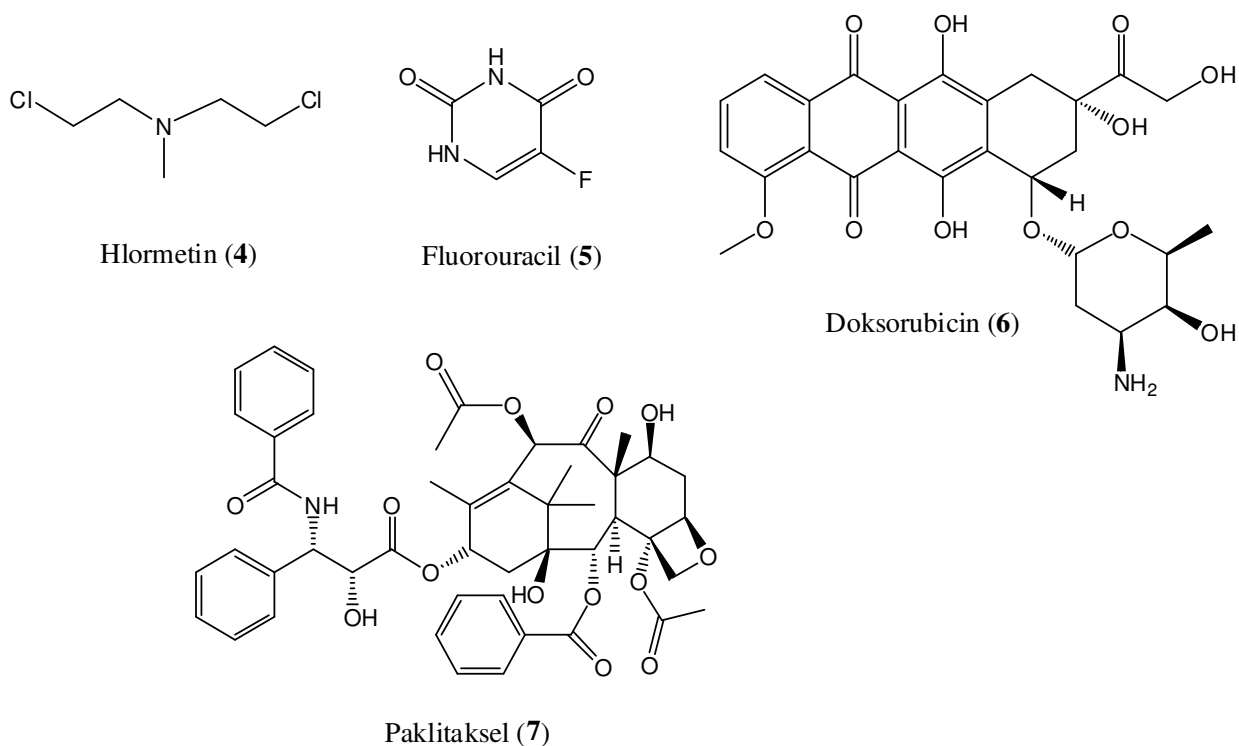


**Shema 2.1.** Biosinteza testosterona (2) i dihidrotestosterona (3)

Androgeni hormoni ispoljavaju svoju aktivnost vezivanjem za androgene receptore (AR)<sup>14</sup>. Funkcija AR je da regulišu vezivanje androgena, što dovodi do sekvencijalne promene konformacije receptora, usled čega se javljaju receptor-protein i receptor-DNK interakcije. AR vezuju i čitav niz sintetskih molekula koji ispoljavaju drugačiji afinitet u odnosu na prirodne androgene. Ovi AR ligandi se mogu klasifikovati kao steroidni ili nesteroidni, u zavisnosti od njihove strukture, i za njih se može reći da imaju **antiandrogenu aktivnost**. Oni umanjuju ili u potpunosti blokiraju biološku aktivnost androgena, pa se stoga mogu koristiti u lečenju pomenutih hormon zavisnih oboljenja.

Mnogi sintetski steroidi su dobijeni modifikacijom strukture testosterona koja se vrši u cilju smanjenja androgenog efekta<sup>15</sup>. Esterifikacijom 17β-hidroksilne grupe se pojačava aktivnost steroida i produžava njihovo dejstvo, obzirom da se povećava lipofilnost molekula, pa samim tim i sposobnost zadržavanja u masnom tkivu.

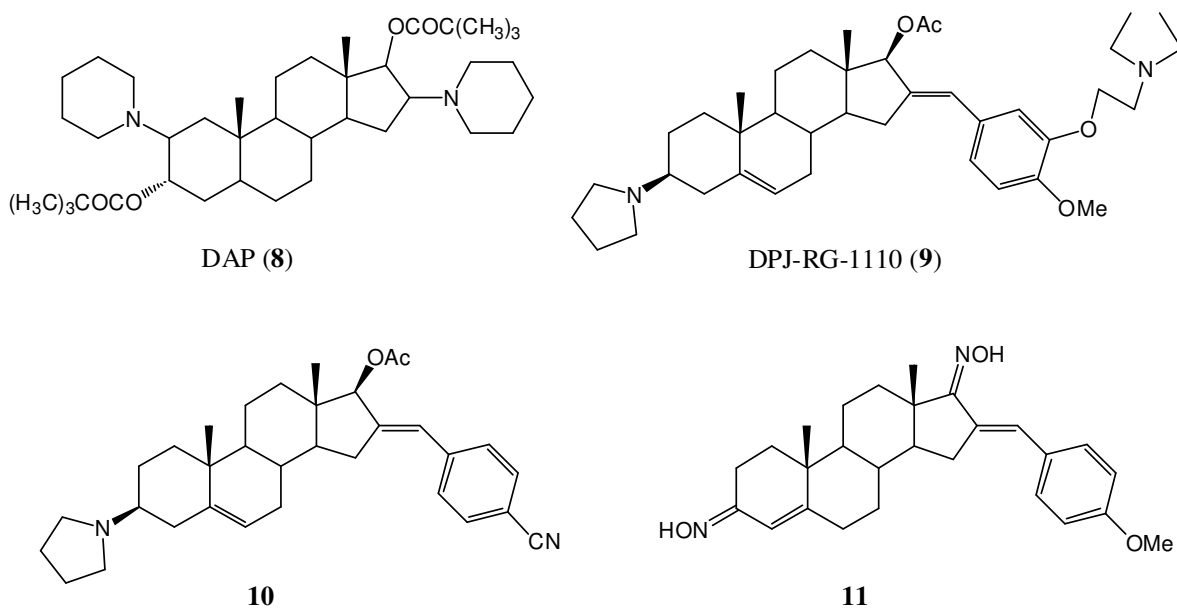
Kancer je trenutno, prema Svetskoj Zdravstvenoj Organizaciji (SZO) drugi glavni uzrok smrti, kako u razvijenim, tako i u zemljama u razvoju. Među najčešće dostupnim lekovima u terapiji kancera su bioalkilujućii agensi kao što je *hlormetin* (4, trgovački naziv-*Mustargen*)<sup>16,17</sup>, antimetabolički agensi kakav je *fluorouracil* (5, *Adrucil*)<sup>18,19</sup>, zatim antitumorski antibiotik *doksorubicin* (6, *Adriamycin*)<sup>20</sup>, kao i jedinjenja izolovana iz biljaka i njihovi derivati, npr. *paklitaksel* (7, *Taxol*)<sup>21</sup> (slika 2.1.).



Slika 2.1. Antikancerogeni lekovi

Doza antikancerogenog leka koja je potrebna da uništi tumorske ćelije je najčešće toksična i za zdravo tkivo, tako da dovodi do brojnih sporednih neželjenih efekata, što opet ograničava efikasnost terapije. Dugoročna efikasnost leka je često ograničena pojavom kumulativne kardiotoksičnosti kao i sticanjem rezistencije na lekove<sup>22-24</sup>. Stoga je neophodno razviti nove terapijske agense u tretmanu karcinoma koji bi bili mnogo aktivniji, i uz manje sporednih efekata.

Poznato je da pojedini tercijerni amino steroidi (**8**, DAP, *slika 2.2.*)<sup>25</sup> pokazuju značajnu antitumorsku aktivnost prema transplantabilnim tumorima kod tri vrste životinja: miševa, hrčaka i pacova. U pokušaju da se iznađu novi analozi ovog tipa steroidnih molekula koji ispoljavaju mnogo veću aktivnost, a ujedno se dobijaju jednostavnijom hemijskom sintezom, pojavili su se novi 16E-ariliden androstanski derivati kao potencijalni antitumorski agensi, kao što su jedinjenja **9** (DPJ-RG-1110)<sup>26,27</sup>, **10**<sup>28</sup> i **11**<sup>29</sup> (*slika 2.2.*).



Slika 2.2.

Ove studije ukazuju da uvođenje heterocikličnog prstena u strukturu steroida ima značajan uticaj na aktivnost jedinjenja, tako da ovaj tip 16E-ariliden androstanskih amino derivata predstavljaju novu klasu potencijalnih antikancer agenasa<sup>30</sup>.

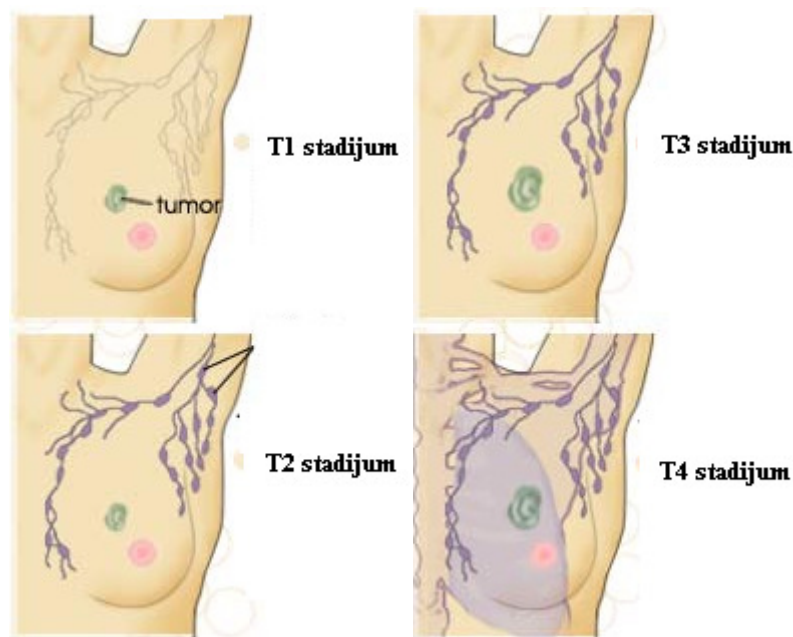
### 2.1.1. Karcinom dojke

Karcinom dojke je najčešći tip maligne bolesti kod žena, dok je kod muškaraca veoma redak<sup>31</sup>. U Srbiji se godišnje otkrije oko 3500 slučajeva pacijentkinja obolelih od karcinoma dojke. Iako ovo oboljenje još uvek ima veliku stopu smrtnosti, poslednjih godina se broj izlečenih pacijenata povećava. To je rezultat napretka u lečenju, a naročito povećanog broja preventivnih pregleda, što doprinosi ranom otkrivanju karcinoma i time povećanoj mogućnosti izlečenja<sup>32</sup>. Faktori rizika su dobro poznati: godine starosti, porodična istorija karcinoma dojke, prvi porođaj posle tridesete godine života, kasna menopauza i gojaznost<sup>33</sup>.

Rak dojke nastaje od tkiva dojke, najčešće od tkiva unutrašnjosti mlečnih kanala ili lobulusa<sup>34</sup>. Maligni tumori dojke mogu se podeliti u dve grupe. Prvu (veću) grupu čine tumori žlezdanog porekla, koji se nazivaju karcinomima i predstavljaju najčešća maligna obolenja kod

žena. Drugu (manju) grupu čine sarkomi - tumori vezivnog tkiva. Prvi simptomi bolesti su: čvorić ili zadebljanje u dojci, uvlačenje ili mreškanje kože, jednostrano uvlačenje bradavice koje ranije nije postojalo, spontana sekrecija iz bradavice (ponekad sa sukrvicom) i promena veličine ili oblika dojke (novonastala asimetrija)<sup>35</sup>.

Postoje četiri stadijuma bolesti. Prvi stadijum (T1) podrazumeva tumor u dojci najvećeg prečnika 2 cm, bez zahvaćenosti limfnih čvorova istostrane jame pazuha. Drugi (T2) podrazumeva tumor u dojci do 5 cm u najvećem prečniku sa palpabilnim pokretnim limfnim čvorovima u istostranoj aksili. Treći stadijum (T3) podrazumeva tumor bilo koje veličine s fiksiranim limfnim čvorovima u aksili ili tumor bilo koje veličine koji zahvata zid grudnog koša i/ili kožu dojke. Četvrti i poslednji stadijum (T4) podrazumeva pojavu udaljenih metastaza, bez obzira na veličinu tumora ili žlezda<sup>33</sup> (slika 2.3.).



**Slika 2.3.** Stadijumi kancera dojke (T1-T4)<sup>36</sup>

U muškoj dojci se, za razliku od ženske, retko javljaju patološke promene. To su najčešće ginekomastija i karcinom. Ginekomastija je jednostrano ili obostrano povećanje dojke nastalo usled relativnog ili apsolutnog povećanja količine estrogena. Iako je karcinom muške dojke izuzetno redak, metastaze se veoma brzo razvijaju i na okolne limfne žlezde.

### 2.1.1.1. Uloga androgena u razvoju i rastu karcinoma dojke

Kancer dojke je danas najčešći uzrok smrti među ženama širom sveta, a naročito kod mladih žena u zemljama u razvoju. Dobro je poznato da su tumori dojke hormon-zavisni i da predstavljaju važan eksperimentalni model za ispitivanje terapija zasnovanih na hormonima<sup>37</sup>.

Polni hormoni imaju važnu ulogu u razvoju i progresiji karcinoma dojke, mada ona još uvek nije u potpunosti razjašnjena<sup>38</sup>. Razumevanje uloge androgena u karcinogenezi dojke je veoma značajna jer mnoge žene koriste testosteron u svojoj terapiji, kako bi olakšale simptome menopauze, a naročito žene koje su usled hirurške intervencije rano ušle u menopauzu.

Prema kliničkim ispitivanjima, mnoge žene, pre i posle menopauze, mogu da razviju simptome nedostatka androgena<sup>39-41</sup>, uključujući neobjašnjivu gojaznost, loše raspoloženje ili smanjeni libido. Iz tog razloga se androgeni često prepisuju kao terapija<sup>40</sup>. Iako je dokazano da terapija zamene hormona poboljšava ove simptome, zajedno sa pozitivnim efektom na gustinu kostiju, postoji povećani rizik od pojave kancera dojke<sup>38</sup>.

Postoje različita mišljenja o uticaju androgena na ćelije kancera dojke. S' jedne strane, smatra se da androgeni stimulišu rast kancera dojke, obzirom da služe kao prekursori u biosintezi estrogena, čime se povećava nivo estrogena u organizmu. S' druge strane, postoji čitav niz istraživanja kojima je utvrđeno da nizak nivo adrenalnih androgena dovodi do pojave kancera, dok viši nivo sprečava razvoj karcinoma<sup>42</sup>.

Za adrenalne androgene je definisano da imaju dva primarna uticaja na tumorske ćelije dojke: (1) U odsustvu estrogena, oni stimulišu rast karcinoma dojke vezivanjem za estrogene receptore (ER), što može biti sprečeno tretmanom sa antiestrogenima. (2) U prisustvu estrogena, oni se ponašaju kao antiestrogeni i tako inhibiraju estrogen-stimulisani rast tumorskih ćelija. To se vrši preko AR i može se sprečiti upotrebom antiandrogena<sup>42</sup>.

Na osnovu ove hipoteze, moglo bi se zaključiti da kod žena u postmenopauzi, kod kojih je nivo cirkulišućeg estrogena nizak, androgeni mogu delovati stimulatивно na rast ćelija kancera direktnim vezivanjem za ER, dok kod žena u premenopauzi kod kojih je nivo estrogena relativno visok, androgeni imaju pretežno antiestrogeni efekat, tako da potiskuju estrogen-stimulisani rast kancerogenih ćelija.



### 2.1.1.2. Terapija u lečenju karcinoma dojke

Terapija u lečenju karcinoma dojke se može podeliti na *lokalnu* i *sistemsku*.

*Lokalnom* terapijom se uklanja ili uništava tumor u dojci, i podrazumeva hiruršku intervenciju (poštedni hirurški zahvati, mastektomija-radikalne operacije) i radioterapiju. U slučaju da se kancer dojke proširi i na ostale delove tela, lokalna terapija se može primeniti samo za kontrolu bolesti u predelu dojki<sup>43</sup>.

*Sistemska* terapija obuhvata hormonsku (edokrinu) terapiju, imunoterapiju i hemioterapiju. Sa ovim terapijama se može započeti pre ili posle hirurške intervencije, jer one deluju kroz krvotok i tako uništavaju ili održavaju kancer pod kontrolom<sup>43</sup>. Najbolje rezultate daje kombinovano lečenje, shodno terapijskim protokolima. Sam izbor modaliteta lečenja zavisi od stadijuma bolesti i opšteg stanja bolesnice<sup>35</sup>.

### 2.1.1.3. Hormonska (endokrina) terapija

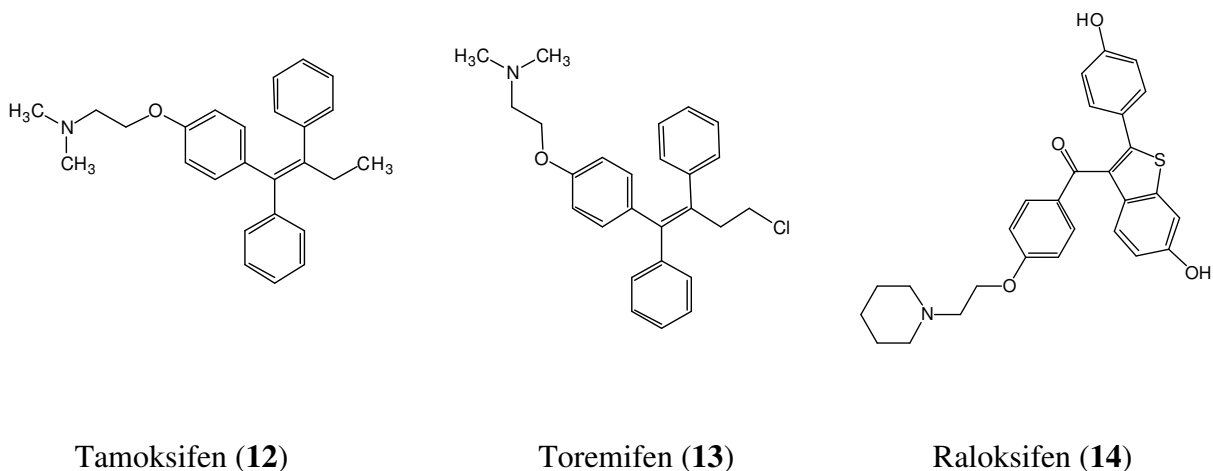
Estrogen je glavni promotor rasta ćelija kancera dojke. U većini slučajeva, ćelije kancera poseduju receptore koji omogućavaju vezivanje slobodnog estrogena, čime se pospešuje rast tumora. Tumori koji poseduju ovaj receptor su estrogen receptor (ER)-pozitivni i/ili progesteron receptor (PR)-pozitivni<sup>44</sup>, i za takve tumorske ćelije anti-hormonska terapija može biti dosta korisna. Međutim, ukoliko je tumor ER- i PR-negativan, onda je mala verovatnoća da će anti-hormonska lekovi biti od koristi. Često se anti-hormonska i hemioterapija kombinuju, u zavisnosti od stadijuma kancera, međutim kada kancer jednom postane hormon-rezistentan hemioterapija postaje jedina alternativa.

- *Selektivni ER modulatori (SERM)*-blokiraju vezivanje estrogena za receptore:

**Tamoksifen (12, Nolvadex, slika 2.4.)** je jedan od najranije primenjivanih nesteroidnih SERM-a. On inhibira rast tumora dojke delujući kao kompetitivni ER antagonist<sup>45</sup>, mada takođe delimično deluje i kao estrogen agonist. Tamoksifen se obično uzima oralno u toku pet godina, nakon čega ima veoma malo dodatne koristi. Tamoksifen predstavlja korisnu terapiju kod pacijenata sa metastazom i primarni je agens kod ranog ER+ i/ili PR+ kancera dojke.

**Toremifen (13, Fareston, slika 2.4.)**-antiestrogen sličan tamoksifenu, može biti opcija kod žena u postmenopauzi sa uznapredovalim karcinomom dojke.

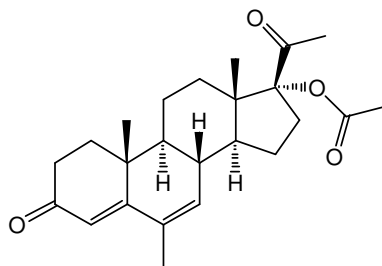
**Raloksifen (14, Evista, slika 2.4.)** je agens koji se zbog antiestrogenog dejstva prema kanceru dojke primenjuje u lečenju ove bolesti, ali se isto tako zbog svog estrogenog dejstva na kosti koristi i u prevenciji osteoporoze kod žena u postmenopauzi;<sup>46</sup>.



**Slika 2.4.** Strukture najznačajnijih SERM-a

#### - Progestini

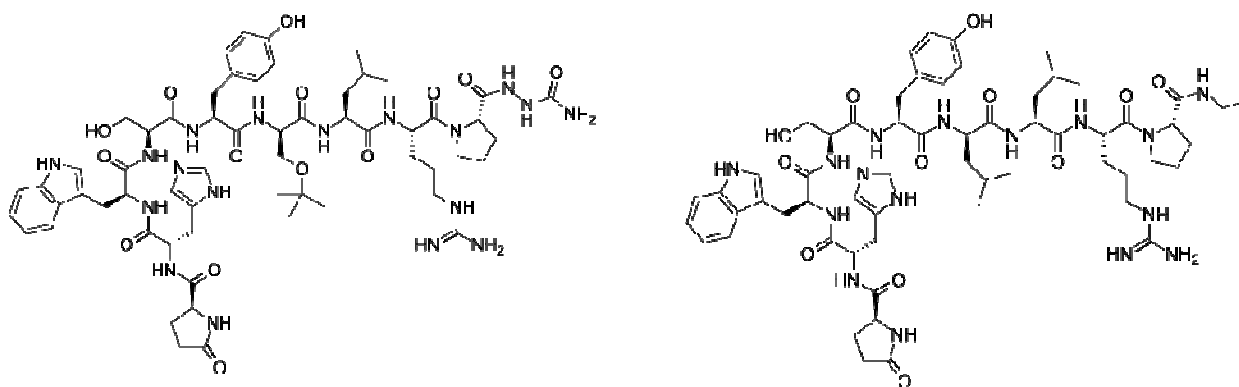
PR-pozitivni uznapredovali tumor dojke može biti uspešno tretiran sintetskim progesteronskim agensima kakav je **megestrol acetat (15, Megace, slika 2.5.)**. Dokazano je da megestrol acetat umanjuje učestalost valunga kod pacijentkinja sa kancerom dojke u postmenopauzi<sup>47</sup>. Progestini se uglavnom koriste kao druga ili treća terapijska linija, posle inhibitora aromataze i/ili antiestrogena.



**Slika 2.5.** Megestrol acetat (15)

## - Luteinizirajući hormon oslobađajući hormon agonisti (LHRH)

LHRH analozi kao što su **goserelin (16, Zoladex)** i **leuprolein (17, Lupron)** (slika 2.6.), pripadaju grupi lekova koji potiskuju produkciju estrogena u ovarijumima, sve do nivoa produkcije u postmenopauzi. U suštini, na taj način dovode do potencijalne povratne medicinske ablacije (amputacije) ovarijuma. Najefikasniji su kod ER-pozitivnog, rano dijagnostifikovanog karcinoma kod žena u premenopauzi<sup>48</sup>.



Goserelin (16)

Leuprolein (17)

Slika 2.6. LHRH agonisti

## - Inhibitori aromataze (IA)

Kod žena u postmenopauzi estrogeni se više ne proizvode u ovarijumima, ali se androgeni (androstendion i testosteron), uglavnom iz adrenalnih žlezda, transformišu u estrogene (estron i estradiol) u perifernim tkivima, dejstvom enzima aromataze<sup>49</sup>. Inhibitori aromataze (IA) su klasa jedinjenja koji deluju sistemski tako što inhibiraju biosintezu estrogena u tkivima. Iz tog razloga oni nisu od značaja kod pacijentkinja u premenopauzi, kod kojih se primarna biosinteza estrogena odvija u ovarijumima<sup>50</sup>. Razlikuju se dva tipa IA, *reverzibilni* i *ireverzibilni* i oba tipa kompetuju sa normalnim supstratima u vezivanju za enzim. Prema strukturi IA se mogu podeliti na *steroidne* i *nesteroidne*. Nekompetitivni inhibitori, kakvi su steroidni, se ireverzibilno vežu za enzim, i time ga ostavljaju trajno inaktiviranim<sup>51</sup>. IA su klasifikovani u prvu, drugu i treću generaciju (tabela 2.1).

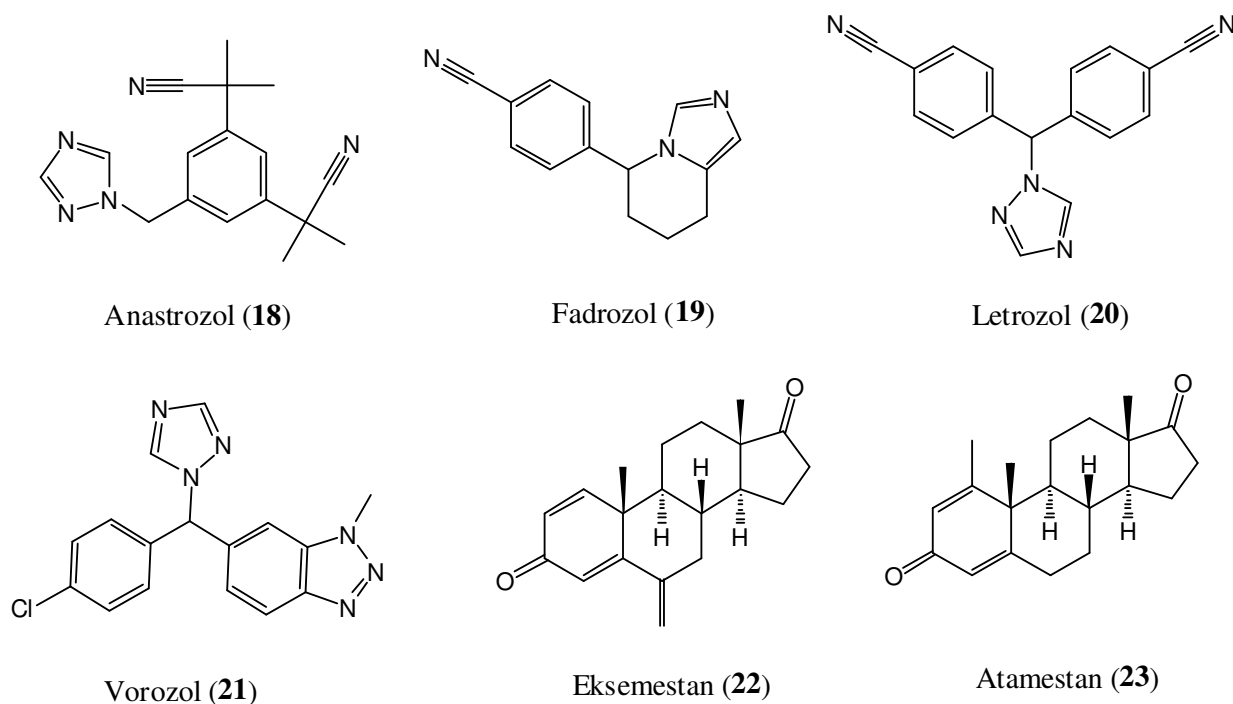
**Tabela 2.1.** Klasifikacija inhibitora aromataze.

| Opšti naziv     | Trgovački naziv | Generacija         |
|-----------------|-----------------|--------------------|
| Aminoglutetimid |                 | Prva, nesteroidni  |
| Formestan       | Lentaron        | Druga, steroidni   |
| Eksemestan      | Aromasin        | Treća, steroidni   |
| Atamestan       |                 | Treća, steroidni   |
| Anastrozol      | Armindex        | Treća, nesteroidni |
| Fadrozol        | CGS16949A       | Treća, nesteroidni |
| Letrozol        | Femara          | Treća, nesteroidni |
| Vorozol         |                 | Treća, nesteroidni |

Aminoglutetimid je bio prvi IA i mada je bio efikasan pacijenti su ga slabo tolerisali (pospanost, groznica, inhibicija sinteze kortizola). Kasnije je zamenjen 4-hidroksi androstendionom (formestan), koji je bio mnogo bolje tolerisan. Treća generacija IA (*slika 2.7.*) se može podeliti u dva tipa:

- nesteroidni, reverzibilni triazolski derivati (anastrozol **(18)**, fadrozol **(19)**, letrozol **(20)** i vorozol **(21)**)
- steroidni, ireverzibilni inhibitori (eksemestan **(22)** i atamestan **(23)**)

Trenutno najčešće primenjivani IA su eksemestan, anastrozol i letrozol.



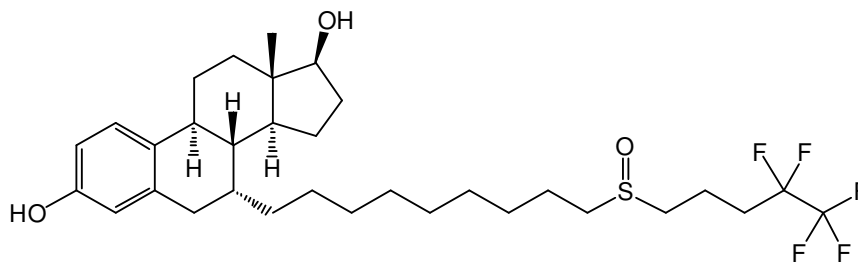
**Slika 2.7.** Treća generacija inhibitora aromataze

Neželjeni sporedni efekti koji se mogu javiti tokom terapije inhibitorima aromataze su valunzi, znojenje, vrtoglavica, povraćanje, dijareja.

Inhibitori aromataze se danas intenzivno koriste u terapiji rano dijagnostifikovanog karcinoma dojke, što može imati uticaj i na njihovu primenu kod bolesti u metastazi<sup>52</sup>.

#### - Estrogen receptor antagonisti

Kako bi se upotpunio širok spektar već ranije prikazanih agenasa koji se primenjuju u hormonalnoj terapiji kancera dojke, važno je pomenuti i selektivni estrogen-receptor antagonist **fulvestrant (24, Faslodex, slika 2.8.)**<sup>53</sup>.



**Slika 2.8.** Fulvestrant (24)

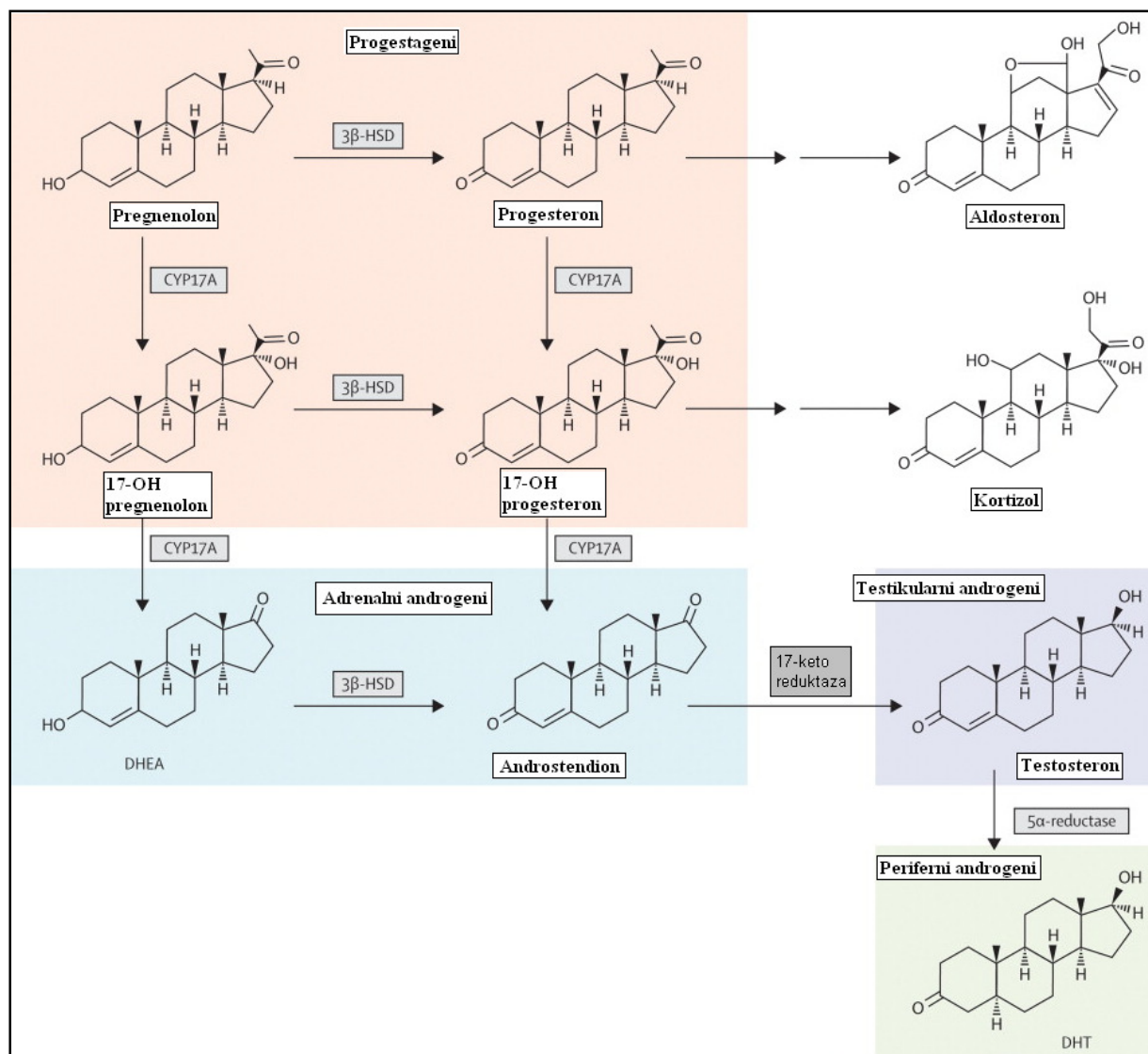
Fulvestrant ima strukturu sličnu estradiolu tako da kompetitivno inhibira vezivanje estradiola za estrogene receptore. Fulvestrant za razliku od tamoksifena ne pokazuje agonistički efekat, a afinitet vezivanja za ER mu je mnogo jači u odnosu na tamoksifen<sup>43</sup>.

### 2.1.2. Terapijski agensi u lečenju kancera prostate

Karcinom prostate je najrasprostranjenije maligno oboljenje i drugi vodeći uzrok smrti kod muškaraca u Evropi i SAD-u<sup>54</sup>. Simptomi bolesti javljaju se kasno, znatno kasnije nego simptomi benignog povećanja prostate. Najčešći simptomi su učestalo, otežano i isprekidano mokrenje, krv u mokraći i semennoj tečnosti, bol i pečenje pri mokrenju, problemi sa reproduktivnim organima, česta bol i ukočenost donjeg dela leđa, a u kasnijoj fazi bolesti mršavljenje, gubitak apetita i slabost. Tumor prostate formira se u žlezdanom tkivu prostate, sporo raste, pa je gotovo 90% svih kancera prostate klinički teško uočljivo. Terapija kancera prostate može biti hirurška, radioterapija, terapija zračenjem ili hormonalna terapija, a ponekad i kombinacija antiandrogena i citostatika<sup>55</sup>. Uprkos napretku u skriningu i intenzivnim terapijama, uznapredovali stadijum kancera prostate ostaje neizlečiv.

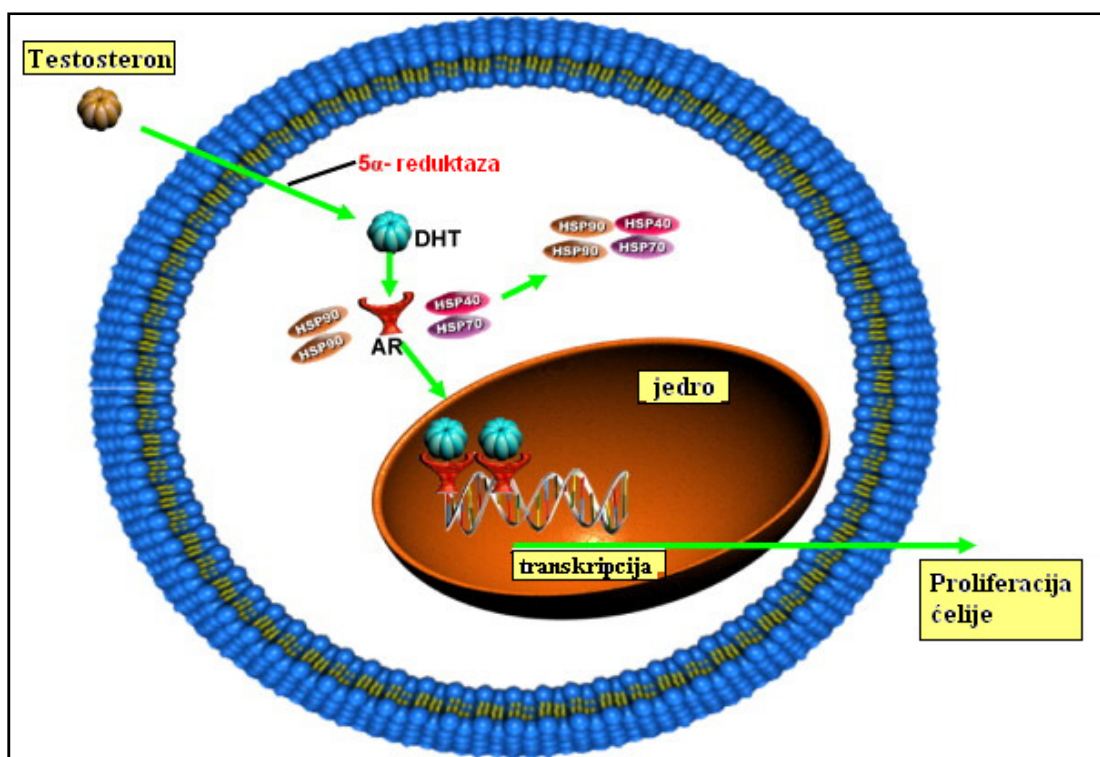
Androgeni su odgovorni za normalan razvoj i funkcionisanje prostate, ali isto tako imaju i ključnu ulogu u razvoju, rastu i napredovanju kancera prostate<sup>56</sup>. *Huggins* i *Hodges*<sup>57</sup> su 1967. godine primili Nobel-ovu nagradu za otkriće iz 1941. g., da se hirurškom ili medicinskom kastracijom može ograničiti napredak karcinoma prostate u metastazi, i samim tim poboljšati simptomi urinarnog trakta kao i kvalitet života uopšte. Do skoro, primarni način lečenja je bila hirurška intervencija kao i terapija luteinizirajućim hormonom, međutim, ove metode lečenja ne obuhvataju adrenalna i druga tkiva u kojima se proizvode androgeni. Stoga se prekomerna

biosinteza androgena može sprečiti inhibicijom enzima koji učestvuju u steroidogenezi androgena. Na slici 2.9. je prikazan biosintetski put androgenih hormona<sup>58</sup>.



Slika 2.9. Biosintetski put androgenih hormona

Hormonalnom terapijom sprečava se dalji rast i razmnožavanje malignih ćelija u prostati, uticanjem na sintezu testosterona. Testosteron se delovanjem  $5\alpha$ -reduktaze pretvara u aktivniji oblik, dihidrotestosteron (DHT), koji može pokrenuti ili podržavati stvaranje zloćudnih ćelija u prostati. Blokada stvaranja ovog stimulirajućeg hormona može se postići hormonalnim lekovima (antiandrogenim supstancama) ili operativnim odstranjivanjem testisa u kojima se testosteron stvara. Hormonalna terapija se ne primenjuje dugo, jer se u većini slučajeva stvara rezistencija na delovanje leka, pa se nakon nekoliko godina mogu javiti recidivi - ponovljeni karcinom prostate, bez obzira na nivo testosterona. Stoga se ovaj oblik hormonalne terapije obično kombinuje sa drugim metodama lečenja<sup>55</sup>. Mehanizam delovanja androgena (DHT) na ćelijskom nivou je prikazan na slici 2.10.<sup>59</sup>.



*Slika 2.10.* Mehanizam delovanja androgena

Testosteron prolazi u ćeliju gde se dejstvom enzima  $5\alpha$ -reduktaze transformiše u DHT, koji se zatim vezuje za androgeni receptor (AR). Tom prilikom dolazi do konformacionih promena u oblasti vezivanja liganda, što prouzrokuje toplotnu šok disocijaciju proteina od AR. Transformisani AR podleže dimerizaciji, fosforilovanju i translokaciji do jedra, gde se vezuje za



androgen-odgovorni element u DNK, i time aktivira transkripciju AR ciljanih gena, što u krajnjoj liniji vodi do ćelijske proliferacije.

Kao dobri terapeutici u lečenju karcinoma prostate pokazali su se derivati androgena koji sadrže atome sumpora, kiseonika i azota u svojoj strukturi<sup>54</sup>. Oni ispoljavaju svoje delovanje inhibirajući enzime steroidogeneze  $5\alpha$ -reduktazu ili  $17\alpha$ -hidroksilazu/ $17,20$ -lijazu.

### 2.1.2.1. Inhibitori $5\alpha$ -reduktaze

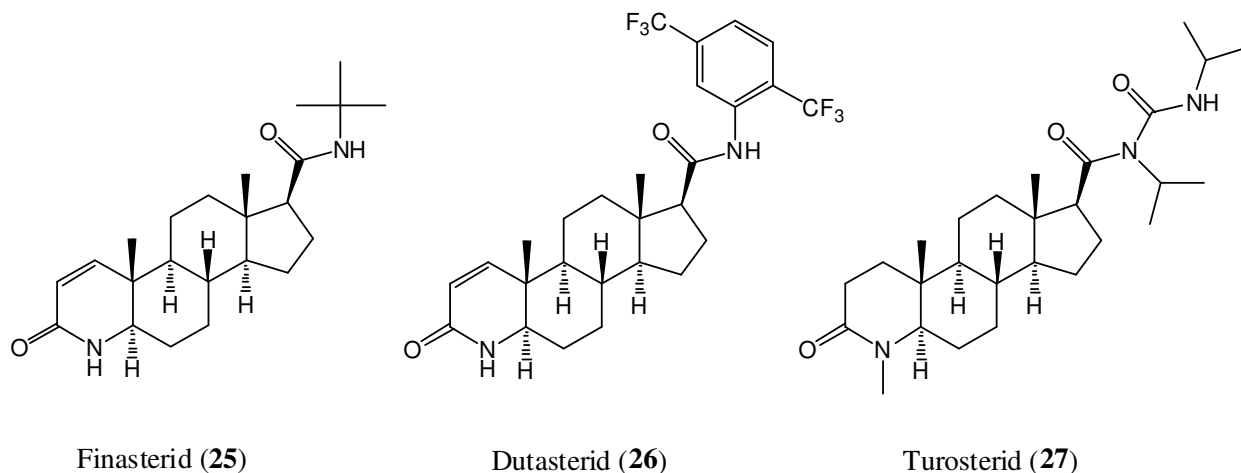
$5\alpha$ -Reduktaza ( $5\alpha$ -R, 3-okso- $5\alpha$ -steroid dehidrogenaza) je jedan od enzima uključenih u metabolizam steroida. Učestvuje u tri metabolička puta: biosintezi žučnih kiselina, androgena i estrogena<sup>60</sup>.  $5\alpha$ -Reduktaza katalizuje zasićivanje dvostruke veze u položaju  $\Delta^4$  testosterona, pri čemu dolazi do formiranja dihidrotestosterona (*shema 2.1.*).

Kod muške populacije kod koje je aktivnost ovog enzima manja, manji je i rizik od nastajanja tumora prostate<sup>61</sup>. Inhibiranjem ovog enzima smanjuje se koncentracija dihidrotestosterona, a povećava koncentracija testosterona, pa time možda i nivo estradiola. Zbog toga se inhibitori ovog enzima koriste kao lekovi za lečenje benigne hiperplazije prostate, tumora prostate, kao i nekih drugih androgen-zavisnih bolesti i poremećaja (npr. ćelavosti)<sup>60</sup>.

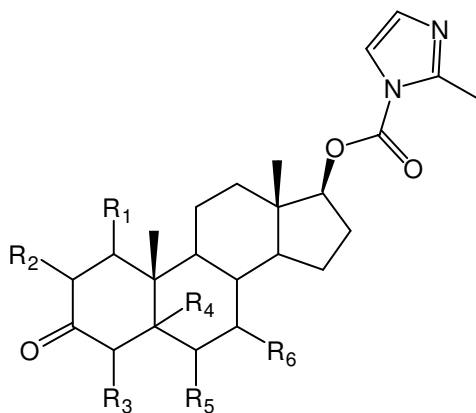
**Finasterid (25, Proscar, slika 2.11.)** je sintetički antiandrogen koji konkurentno inhibira  $5\alpha$ -reduktazu. Naime, on je aza-analog testosterona, koji ima afinitet vezivanja za  $5\alpha$ -reduktazu. Za razliku od testosterona, finasterid se dalje ne prevodi u dihidrotestosteron. Na taj način se smanjuje zapremina prostate, poboljšavaju se simptomi benigne hiperplazije prostate i smanjuje se rizik od kancera prostate<sup>62</sup>.

Još jedan inhibitor ovog enzima je **Dutasterid (26, slika 2.11.)**. Dutasterid se koristi za lečenje benigne hiperplazije i za smanjenje rizika od tumora prostate<sup>63</sup>.

**Turosterid (27, slika 2.11.)** je selektivni inhibitor  $5\alpha$ -reduktaze, koji je proučavan kao mogući lek za lečenje benigne hiperplazije prostate, ali nikada nije dospao na tržište<sup>64</sup>.

Slika 2.11. Steroidni inhibitori 5 $\alpha$ -reduktaze

Steroidni molekuli koji u položaju C-17 imaju karbamatnu funkciju (slika 2.12.) inhibiraju 5 $\alpha$ -reduktazu u ćelijama karcinoma prostate, te na taj način inhibiraju proliferaciju ovih ćelija<sup>65</sup>. Osim toga, pojedini C-17 steroidni karbamati mogu da inhibiraju i CYP17 enzim<sup>66</sup>, dok neki ispoljavaju antiproliferativni efekat prema ćelijama kancera prostate<sup>67</sup>.



R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = H; R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = dvostruka veza (28)

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> = dvostruka veza (29)

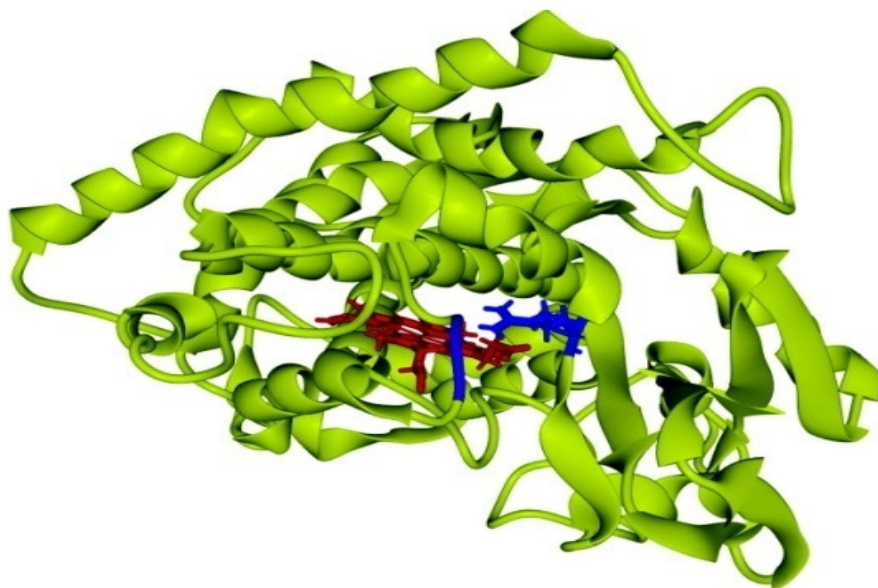
R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> = dvostruka veza (30)

R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = H (31)

Slika 2.12. C-17 steroidni karbamati

### 2.1.2.2. Inhibitori 17 $\alpha$ -hidroksilaze/17,20-lijaze P450<sub>17 $\alpha$</sub> (CYP17)

Inhibitori enzima lijaze P450<sub>17 $\alpha$</sub>  (CYP17) predstavljaju novu klasu lekova, koji su se pokazali kao veoma dobri antitumorski agensi u tretmanu tumora prostate<sup>68</sup>. Multifunkcionalna 17 $\alpha$ -hidroksilaza/17,20-lijaza je citohrom P450 enzim smešten u endoplazmatičnom retikulumu nadbubrežnih žlezda, testisa, placenti i ovarijumima, i nalazi se na raskršću sinteze polnih hormona i glukokortikoida<sup>69</sup>. Ovaj enzim katalizuje reakcije oksidacije, ali takođe poseduje i lijaznu aktivnost koja se ogleda u raskidanju C-17/C-20 veze. Na slici 2.13. prikazan je kompjuterski model ljudskog enzima CYP17<sup>70</sup>.



**Slika 2.13.** Kompjuterski model ljudskog enzima CYP17

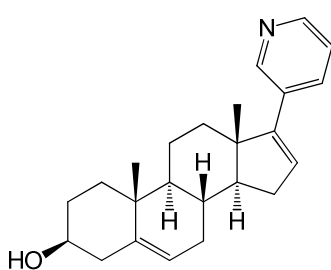
Kako 3D kristalna struktura enzima još uvek nije razjašnjena, dizajn inhibitora je zasnovan na informacijama prikupljenim primenom različitih metoda kao što su 'docking' i tehnike molekulskog modelovanja. Generelno, CYP17 inhibitori se prema strukturi mogu podeliti na steroidne i nesteroidne.

Steroidni inhibitori su po strukturi slični prirodnim supstratima enzima, pregnenolonu i progesteronu, i najčešće imaju modifikovani D-prsten u položaju C-17. Oni se dalje mogu podeliti na: tip I kompetitivne inhibitore, tip II kompetitivne inhibitore, inhibitore zasnovane na

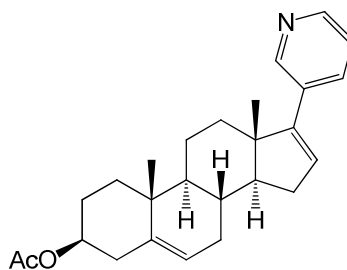
mehanizmu, i afinitet-obeležavajuće agense<sup>59</sup>. Najčešće proučavani su tip II kompetitivni inhibitori koji u svojoj strukturi sadrže azot kao heteroatom.

Veliki broj inhibitora enzima CYP17 su razvijeni kao potencijalni lekovi u terapiji kancera prostate<sup>71-74</sup>.

Na osnovu brojnih prekliničkih studija, jedan od danas najpotentnijih, visokoselektivnih, ireverzibilnih inhibitora enzima lijaze je steroidni citostatik **abirateron (32, slika 2.14.)**. Koncentracija abiraterona neophodna za smanjenje aktivnosti CYP17 za 50% je oko 10 puta manja u odnosu na ketokonazol, poznati agens u lečenju tumora prostate. Takođe, abirateron smanjuje nivo testosterona ispod granica detekcije, i kao što je i za očekivati, umanjuje nivo estradiola, dehidroepiandrosterona i androstendiona<sup>59</sup>. Obzirom na slabu biodostupnost samog abiraterona, sintetisan je prolek **abirateron-acetat (33, Zytiga, slika 2.14.)**, koji se veoma brzo deacetiluje *in vivo* do aktivnog metabolita. Abirateron-acetat je 2011. godine odobren da se koristi u lečenju pacijenata sa metastazom kancera prostate.



Abirateron (32)



Abirateron-acetat (33, Zytiga)

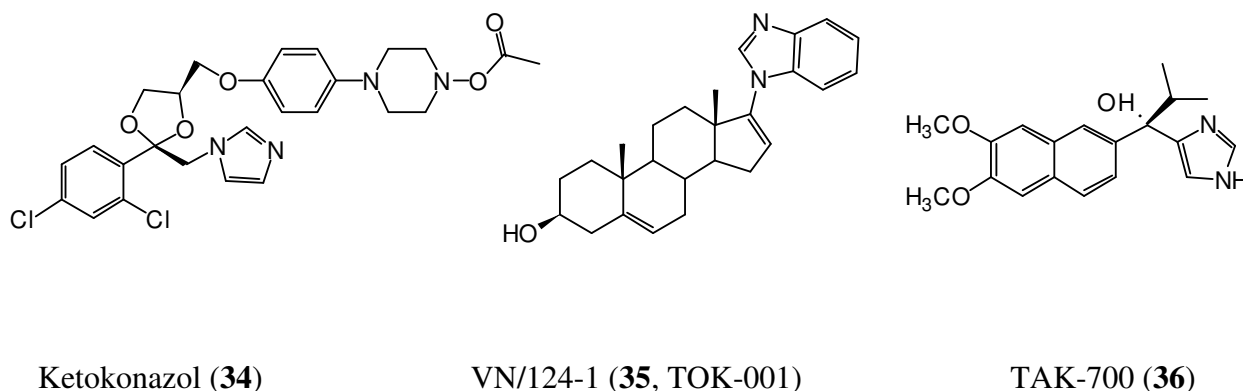
**Slika 2.14.**

Antifungalni agens **ketokonazol (34)**, nespecifični citohrom P450 inhibitor, se koristi u lečenju kancera prostate, mada je pokazao skromnu efikasnost obzirom da su pacijenti postali rezistentni na terapiju<sup>75,76</sup>. Ketokonazol se obično koristi u visokim dozama usled čega se javljaju i izvesni sporedni efekti: hepatotoksičnost, gastrointestinalna toksičnost i adrenalna insuficijencija. I pored ovih ograničenja ketokonazol ostaje širom primenjivan kao sekundarna hormonalna terapija kancera prostate<sup>59</sup>.

VN/124-1 (**35**, TOK-001, *Galeteron*) je racionalno dizajniran kao inhibitor biosinteze androgena preko inhibicije enzima CYP17. On pripada seriji novih  $\Delta^{16}$ -17-azolil steroida kod kojeg je, za razliku od poznatih 17-heteroaril steroida, azolska funkcija vezana za C-17 položaj steroida preko azotovog atoma<sup>59</sup>. Trenutno je u fazi kliničkih ispitivanja.

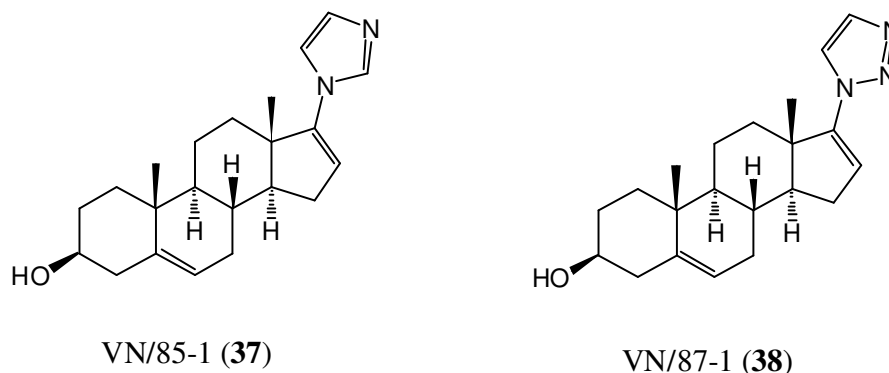
TAK-700 (**36**) je nesteroidni imidazolski CYP17 inhibitor, koji je trenutno u fazi kliničkih ispitivanja kod pacijenata sa kancerom prostate. Utvrđeno je da je ovaj agens čak 260 puta selektivniji prema CYP17 u odnosu na 11 $\beta$ -hidroksilazu<sup>77-79</sup>.

Strukture CYP17 inhibitora ketokonazola (**34**), VN/124-1 (**35**, TOK-001) i TAK-700 (**36**), prikazane su na slici 2.15.<sup>59</sup>



**Slika 2.15.** Strukture CYP17 inhibitora u kliničkoj primeni i kliničkim ispitivanjima

Azolil steroidni derivati **VN/85-1 (37)** i **VN/87-1 (38)** su takođe razvijeni kao inhibitori enzima P450c17 u cilju lečenja karcinoma prostate, međutim još uvek nisu našli kliničku primenu (*slika 2.16.*)<sup>80,81</sup>.



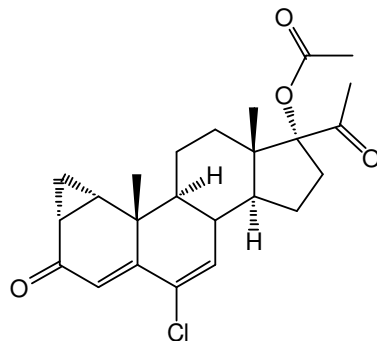
Slika 2.16.

### 2.1.2.3. Primenjivani antiandrogeni u lečenju kancera prostate

Antiandrogeni su, kao što je već ranije pomenuto, kompetitivni inhibitori koji sprečavaju prirodne ligande da se vežu za androgene receptore. Značajan aspekt trenutnog istraživanja primene hormonske terapije uključuje optimalnu upotrebu antiandrogena u lečenju kancera prostate<sup>82</sup>. Prema strukturi i mehanizmu antiandrogeni se mogu podeliti na *steroidne* i *nesteroidne*. Steroidni agensi imaju parcijalnu agonističku aktivnost na androgenim receptorima, dok su nesteroidni čisti antiandrogeni.

Najpoznatiji *steroidni* antiandrogeni su svakako **ciproteron acetat (39, Androcur, slika 2.17.)** i **megestrol acetat (15, Megace, slika 2.5.)**. Steroidni antiandrogeni su slabi delimični agonisti i kompetitivni inhibitori AR u ciljnim organima.

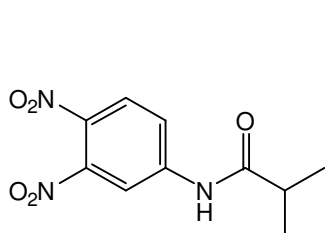
**Ciproteron acetat** je sintetski C-21 17-hidroksiprogesteron koji se osim u terapiji kancera prostate koristi i u lečenju benigne hiperplazije prostate (BHP), hiperseksualnosti, akni i hirsutizma. Takođe ulazi u sastav nekih kombinovanih oralnih kontraceptivnih tableta. Sporedni efekti primene ciproteron acetata obuhvataju značajno smanjeni libido, ginekomastiju, valunge, zadržavanje fluida i tromboemboliju<sup>82</sup>.



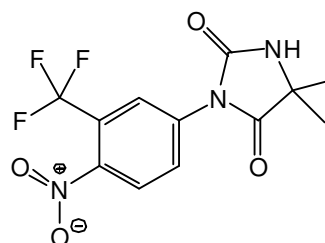
**Slika 2.17.** Ciproteron acetat (**39**)

**Megestrol acetat** je takođe sintetski progestin koji ispoljava i izvesnu aktivnost prema glukokortikoidnim i mineralikortikoidnim receptorima. Osim kancera prostate koristi se i u lečenju karcinoma dojke. U poređenju sa ostalim antiandrogenima, megestrol acetat je prilično inferioran i njegova primena je ograničena uglavnom na drugu terapijsku liniju<sup>82</sup>.

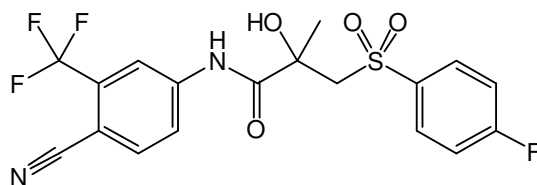
Što se tiče *nesteroidnih* antiandrogena u terapiji kancera prostate, najčešće su u upotrebi **flutamid (40, Eulexin)**, **nilutamid (41, Nilandron)** i **bikalutamid (42, Casodex)** (slika 2.18.). Oni su kompetitivni inhibitori bez klinički značajne agonističke aktivnosti na AR *in vivo*.



Flutamid (**40**)



Nilutamid (**41**)



Bikalutamid (**42**)

**Slika 2.18.** Nesteroidni antiandrogeni

**Flutamid** je bio prvi AR blokator koji je dostigao široku primenu. U organizmu se prevodi u hidroksi-flutamid, biološki aktivni oblik leka. *In vitro* studije su pokazale da flutamid slabo aktivira AR. Kod 10-20% pacijenata se kao sporedni efekat javlja dijareja, dok se kod svega 0.2% pacijenata razvija kliničko oboljenje jetre<sup>82</sup>.

**Nilutamid** je drugi antiandrogen koji je dobio kliničku upotrebu, i on se veoma aktivno metabolizuje u jetri. Njegovo poluvreme eliminacije iz organizma je 38-40 časova, što dozvoljava jednu dnevnu dozu leka. Nilutamid može izazvati nekoliko neželjenih sporednih efekata koji nisu zapaženi kod ostalih nesteroidnih antiandrogena. Spora adaptacija na mrak, nakon izlaganja jakom svetlu primećena je kod 5-50% tretiranih pacijenata, idiopatski alergijski pneumonitis kod 1-2% i sindrom netolerancije na alkohol kod 5-19% pacijenata, koji se karakteriše znojenjem i osipom<sup>82</sup>.

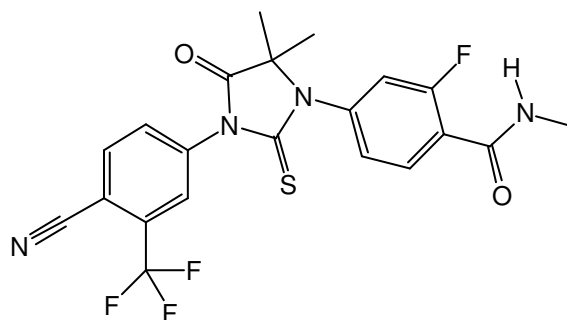
**Bikalutamid** je čisti antagonist AR, dok delimična agonistička aktivnost nije zapažena u *in vitro* studijama. On je najobimnije proučavani nesteroidni antiandrogen<sup>83</sup>. Terapija bikalutamidom može da rezultuje smanjenjem masnih naslaga i povećanjem gustine kostiju, što je utvrđeno kako u kliničkim istraživanjima, tako i u ispitivanjima na životinjama. Međutim, ginekomastija i bol u dojkama su česti sporedni efekti u terapiji sa bikalutamidom, i javljaju se kod 70-80% pacijenata. Ovi neželjeni efekti delimično mogu biti ublaženi lokalnom radioterapijom ili tretmanom sa tamoksifenom<sup>84</sup>.

Usled nedostatka trenutno dostupnih antiandrogena, istraživanja su usmerena ka razvoju novih i efikasnijih agenasa<sup>58</sup>. Povećani androgen-receptor nivoi su određeni kao molekularni uzrok rezistencije na lekove, a trenutno dostupni antiandrogeni pokazuju androgen-receptor agonističku aktivnost. Ovo ukazuje da bi treća generacija antiandrogena mogla biti okarakterisana manjkom AR agonističkog efekta.



Obimna SAR (Structure Activity Relationship) istraživanja, praćena optimizacijom farmakokinetičkih uslova, dovela su do izdvajanja jednog agensa za dalja preklinička i klinička ispitivanja. Radi se o diariltiohidantoinском antiandrogenу **enzalutamidu** (**43**, *slika 2.19.*), ranije poznatom kao **MDV3100**. Enzalutamid je eksperimentalni AR antagonist, koji se vezuje za AR osam puta jače u odnosu na bikalutamid.

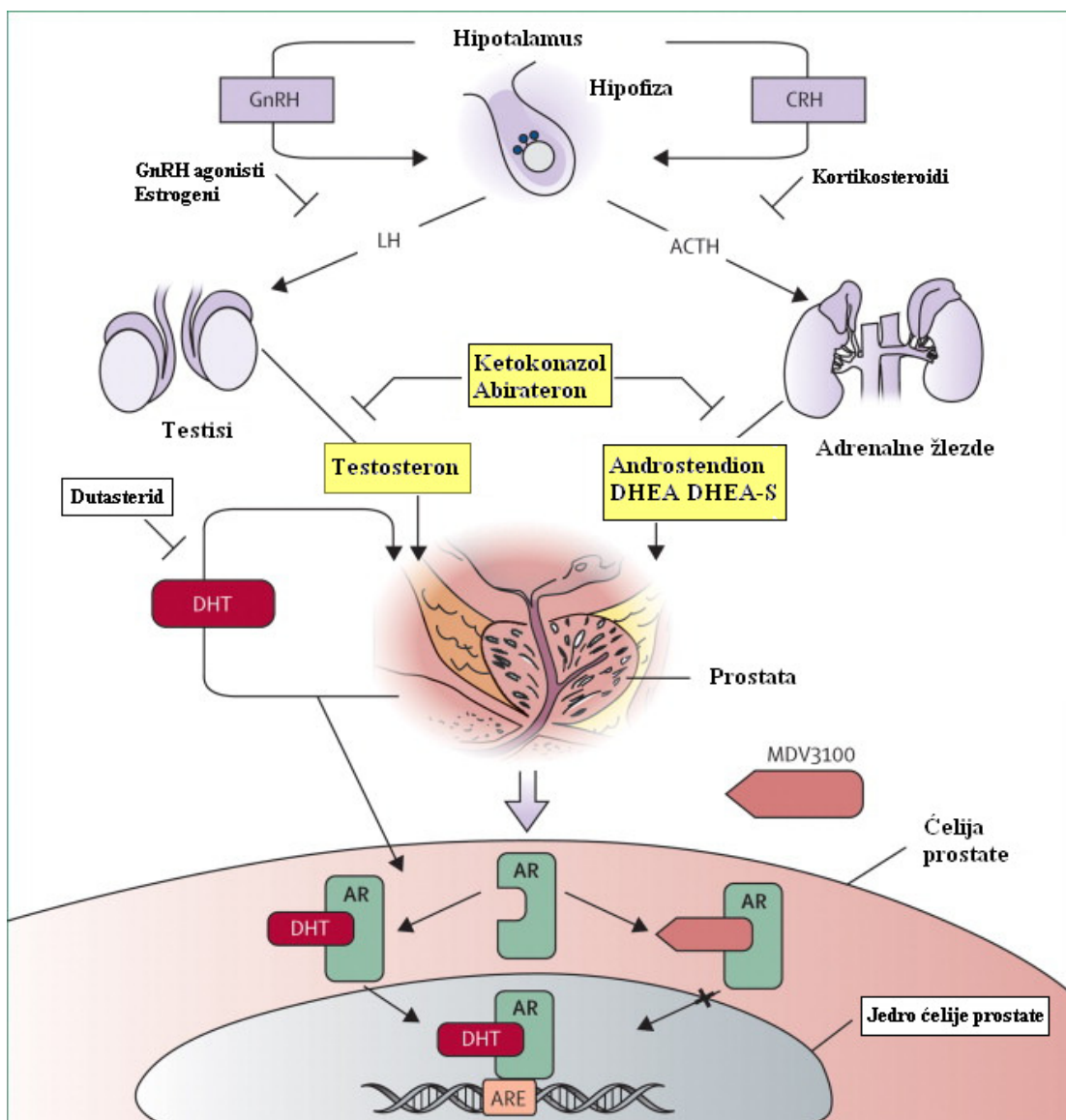
Brojni podaci ukazuju da bi ovaj agens mogao biti pravi AR antagonist, bez delimične agonističke aktivnosti<sup>58</sup>.



**Slika 2.19.** Enzalutamid (**43**)

Mada enzalutamid predstavlja vrlo obećavajuću terapiju u lečenju kancera prostate, nisu svi pacijenti reagovali na terapiju a rezistencija se razvila u mnogim slučajevima.

Na *slici 2.20.* je prikazano delovanje najvažnijih pomenutih agenasa u terapiji karcinoma prostate, na androgen-signalizirajuću osu<sup>58</sup>.



**Slika 2.20.** Androgen-signalizirajuća osa i njeni inhibitori (DHEA=dehidroepiandrosteron; DHEA-S=dehidroepiandrosteron sulfat; DHT=dihydrotestosteron; AR=androgen receptor; ARE=androgen-reaktivni element)

Sinteza androgena u testisima je regulisana gonadotropin oslobađajući hormon-luteinizirajući hormon (GnRH-LH) osom, dok je adrenalna sinteza androgena regulisana kortikotropin oslobađajući hormon (CRH)-adrenokortikotropni hormon (AHT) osom. Enzalutamid (MDV3100) kompetitivno inhibira vezivanje androgena za AR.

## 2.2. Prisustvo heterocikličnog sistema u strukturi steroidnog jezgra

Dobro je poznato da steroidna jedinjenja imaju veoma značajnu biološku ulogu. Oni predstavljaju konstituente biomembrana, hormone, ispoljavaju zaštitnu funkciju, stimulišu rast biljaka, i drugo. Mnogi predstavnici ove grupe su u širokoj upotrebi u medicini kao anabolici, antiinflamatorni, antimikrobni, antitumorski i kontraceptivni agensi<sup>85</sup>. Steroidi izolovani iz mnogih morskih organizama ispoljavaju raznovrsnu biološku aktivnost. Pojedini su izuzetno toksični prema tumorskim ćelijama, a pokazuju i antimikrobnu kao i druge aktivnosti. Stoga nije iznenađujuće što ovi steroidi pobuđuju veliki interes ne samo hemičara, nego i farmakologa. Medicinska hemija steroida pokriva široku i interesantnu seriju struktura i bioloških aktivnosti<sup>86-88</sup>.

Heterociklični prsten predstavlja molekularni okvir koji služi kao platforma za razvoj farmaceutskih agenasa za različite primene. Antitumorska aktivnost mnogih jedinjenja koja sadrže heterociklični prsten je istražena<sup>89,90</sup>. Za mnoge od njih je utvrđeno da ispoljavaju antikancer<sup>91-93</sup> i antimikrobnu aktivnost<sup>94-96</sup>, dok se u novijim istraživanjima pominje čak i njihovo delovanje na Parkinson-ovu bolest<sup>97</sup>. Heterociklični analozi steroida, naročito aza-, oksa- i tia-derivati su veoma interesantni za SAR istraživanja<sup>98</sup>.

Uvođenje heterocikličnog prstena u steroidno jezgro često dovodi do promene njihove fiziološke aktivnosti i do pojave novih, interesantnih farmakoloških i bioloških svojstava, pre svega antiinflamatorne, antineoplastične i antiandrogene aktivnosti<sup>85</sup>. Steroidni heterociklični antikancer agensi teže da postignu kako hormonski, tako i citotoksični efekat na ćelije kancera. Mnogi sintetski steroidni derivati stupaju u interakciju sa steroidnim receptorima, zbog strukturne sličnosti sa prirodnim supstratima<sup>37</sup>.

Kod steroidnih molekula kod kojih je u A ili D prsten uveden heterociklični sistem (sa N i/ili O kao heteroatomom) došlo je do značajnog poboljšanja njihove biološke aktivnosti. Iz tog razloga, različiti heterociklični sistemi su uvedeni u strukturu steroidnog jezgra kao što su pirazolski, pirazolinski, piridinski, pirimidinski, izoksazolski, izoksazolinski, imidazolski prsten, i mnogi drugi<sup>99</sup>.

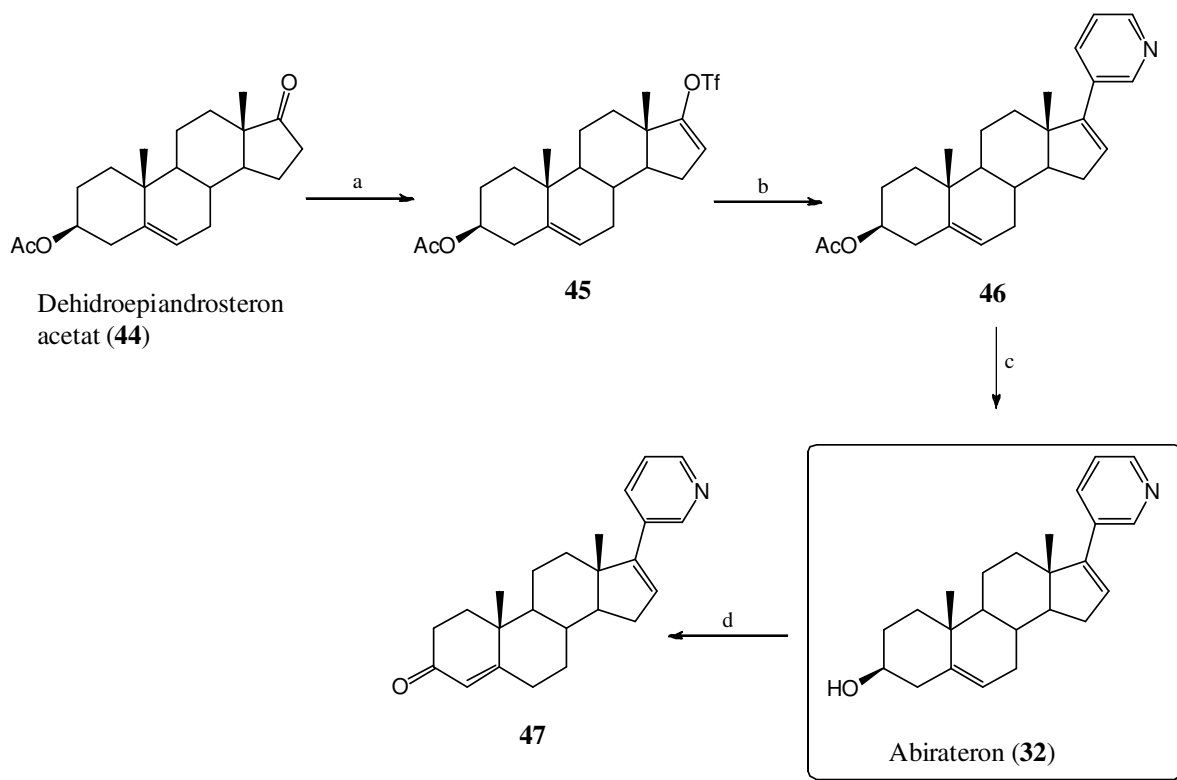
U brojnoj literaturi su opisana mnoga steroidna jedinjenja koja u svojoj strukturi poseduju heterociklični prsten sa azotovim atomom, kao što su abirateron, prostanazol, stanozolol, danazol, furazabol, finasterid itd., koja su našla primenu u lečenju brojnih hormon zavisnih bolesti. Osim antitumorske, ovakva jedinjenja su pokazala i antimikrobnu, antiviralnu i antifungalnu aktivnost (npr. solakongestidin, solafloridin, verazin, plakinamin B).

U ovom radu će biti prikazane sinteze samo pojedinih primera, od velikog broja, biološki aktivnih steroidnih jedinjenja sa azotovim heterociklom.

### **2.2.1. Biološki aktivna steroidna jedinjenja sa N-heterocikličnim sistemom u D prstenu**

Položaj heterocikličnog prstena u steroidnom skeletu je veoma značajan za određenu biološku aktivnost, a utvrđeno je da jedinjenja sa heterociklom u položaju C-17 imaju najbolji afinitet prema enzimu C<sub>17(20)</sub> lijazi<sup>100</sup>. Mnoga steroidna jedinjenja sa različitim heteroaromatičnim sistemima na steranskom skeletu su ispitana, od kojih su abirateron (**32**, *slika 2.14.*) i njegov  $\Delta^4$ -3-keto analog **47** ispoljili značajnu inhibiciju ovog enzima, što je već ranije opisano.

Abirateron (**32**), 17-(3-piridil)androsta-5,16-dien-3 $\beta$ -ol, je sintetisan na Institutu za istraživanje kancera u Velikoj Britaniji, od strane Potter-a i saradnika<sup>101,102</sup> (*shema 2.2.*).



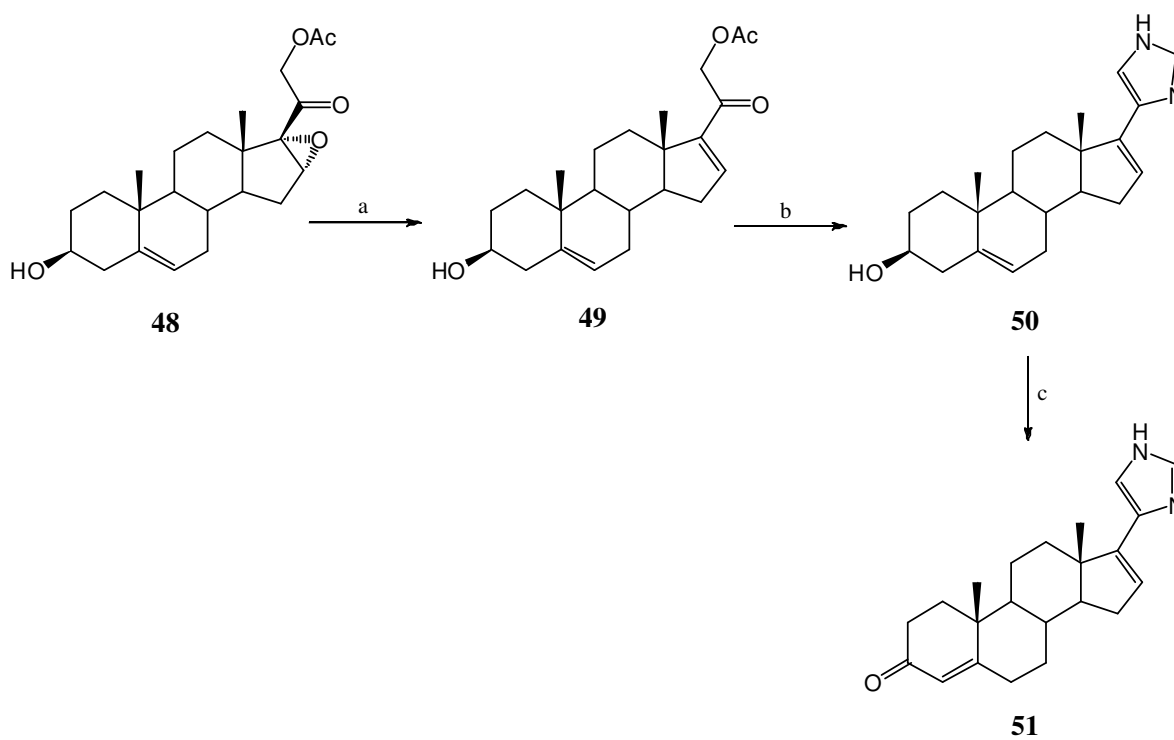
**Shema 2.2.** a)  $\text{Tf}_2\text{O}$ , 2,6-di-*t*-butil-4-metilpiridin; b) 3-PyBEt<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, THF, H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; c) NaOH, H<sub>2</sub>O, MeOH; d) cikloheksanon, Al(*i*-PrO)<sub>3</sub>.

Dehidroepiandrosteron 3-acetat (DAA, **44**) je preveden u 17-enol triflat **45** bazno katalizovanom reakcijom sa triflat-anhidridom, u prisustvu baze 2,6-di-*t*-butil-4-metilpiridina. Željena 3-piridil grupa je zatim uvedena u položaj C-17 u reakciji sa dietil(3-piridil)boranom u tetrahidrofuranu (THF), uz bis(trifenilfosfin)paladijum(II)-hlorid kao katalizator, u vodenom rastvoru Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kao nukleofilnom aktivatoru. Ova reakcija je veoma efikasna, bez potencijalnih sporednih reakcija hidrolize triflata, pri čemu je dobijen acetat **46**, u prinosu od 84%. Acetil grupa, koja je stabilna u slabo baznim uslovima reakcije kuplovanja, je lako uklonjena vodenim rastvorom NaOH u metanolu, pri čemu je dobijen željeni 3-piridil derivat **32**. Jedinjenje **47** sa 4-en-3-on sistemom je dobijeno *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **32**, sa cikloheksanomom i aluminium-*i*-propoksidom.

Smatra se da je tako visoka efikasnost abiraterona povezana sa prisustvom heterocikličnog sistema u D prstenu, pri čemu se slobodan elektronski par na azotovom atomu

koordiniše sa atomom gvožđa iz hem-a, u aktivnom centru enzima. Takođe, 16,17-dvostruka veza je neophodna za ireverzibilno vezivanje molekula za CYP17 enzim<sup>103</sup>.

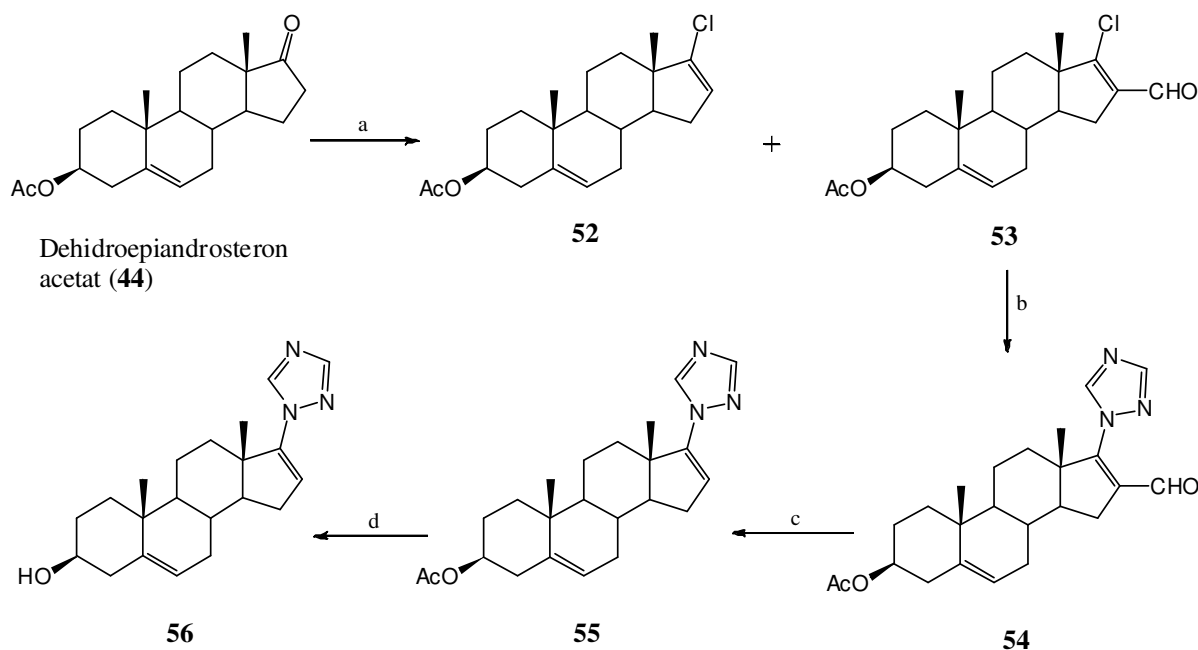
Brodie i saradnici<sup>104-106</sup> su opisali mnoge inhibitore P450<sub>17 $\alpha$</sub>  enzima, među kojima su se 17-imidazolil, pirazolil, izoksazolil, oksazolil i tiazolil androstanski derivati pokazali kao veoma potentni. Na *shemi* 2.3. je prikazana sinteza imidazolil derivata **50** i **51**<sup>104</sup> koji su ispoljili snažan inhibitorski efekat.



**Shema 2.3.** a) CrCl<sub>2</sub>, AcOH; b) HCHO, NH<sub>4</sub>OH, Cu(OAc)<sub>2</sub>, EtOH; c) cikloheksanon, Al(*i*-PrO)<sub>3</sub>, toluen.

Tretiranjem 16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -epoksi-21-acetoksipregnenolona (**48**) sa CrCl<sub>2</sub> u sirćetnoj kiselini dobijen je 16-en derivat **49**, koji je zatim kondenzovan sa formaldehidom i amonijum-hidroksidom, pri čemu je formiran 16-en-17-(4'-imidazolil) derivat **50**. Dalje, *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenje **50** je prevedeno u 4-en-3-on imidazolil derivat **51**.

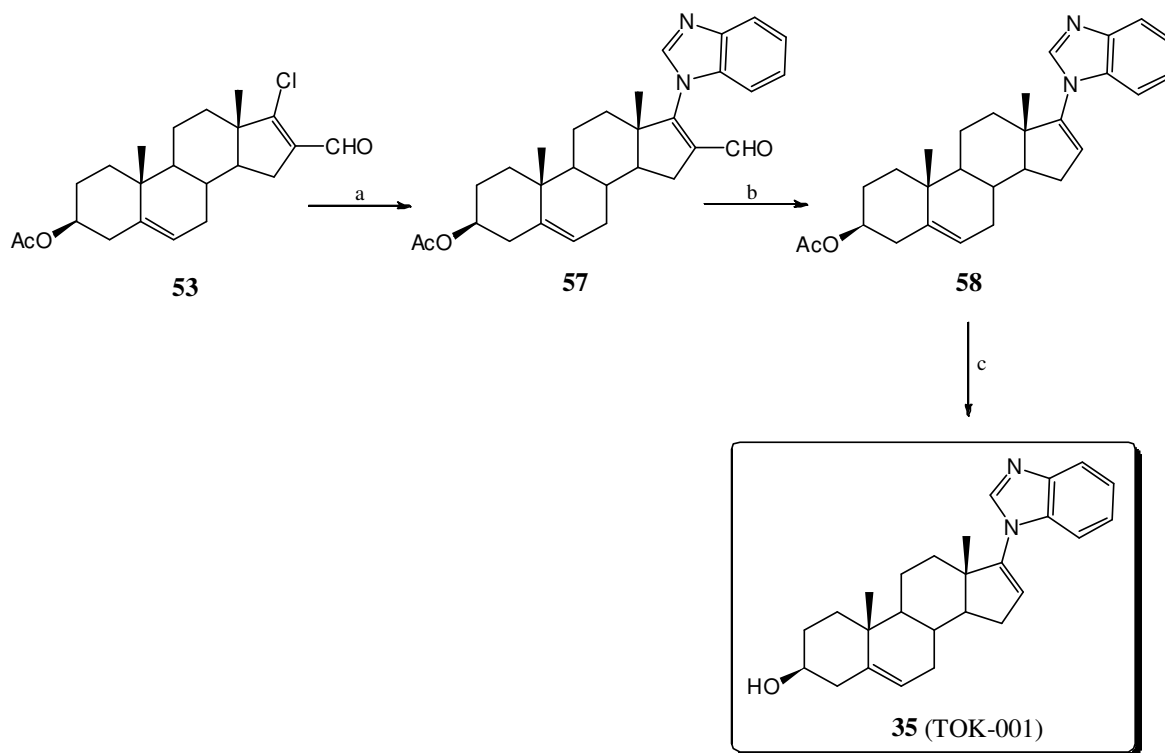
Zapaženu aktivnost prema enzimu lijazi je ispoljio i  $\Delta^{16}$ -17-azolil steroidni derivat **56**, koji je dobijen u veoma dobrom prinosu<sup>105</sup> (*shema* 2.4.).



**Shema 2.4.** a)  $\text{POCl}_3$ -DMF,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{N}_2$ , refluks; b) 1*H*-1,2,4-natrijum triazolat, DMF,  $\text{N}_2$ , 80 °C; c)  $(\text{PPh}_3)_2\text{RhCOCl}$ - $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{PPh}_2$ , ksilen,  $\text{N}_2$ , refluks; d) 10% KOH u MeOH,  $\text{N}_2$ , s.t.

Jedinjenje **53** je dobijeno *Vilsmeier-Haack*-ovom reakcijom DAA sa fosfor-oksihloridom i dimetil-formamidom, pri čemu je kao sporedni proizvod dobijen i 16-deformilovani derivat **52**. Tretiranjem jedinjenja **53** sa natrijum-triazolatom u dimetil-formamidu na 80 °C dobijen je intermedijerni 17-triazolski derivat **54**, koji je u narednim fazama podvrgnut reakcijama dekarbonilacije u položaju 16, i hidrolize estarske funkcije u položaju 3. Kao finalni proizvod dobijen je željeni 17-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il) androstanski derivat **56**, u prinosu od čak 90%.

Kao vrhunac obimnog istraživanja na polju potencijalnih inhibitora CYP17 enzima, *Brodie* i saradnici<sup>107</sup> su 2005. godine sintetisali i ispitali antikancer aktivnost novog benzimidazolskog derivata **35** (TOK-001, *slika 2.15.*), koji je danas, pored abiraterona, među najaktivnijim inhibitorima ovog enzima, a samim tim veoma dobar kandidat kao lek u terapiji kancera prostate. Sinteza jedinjenja **35** je prikazana na *shemi 2.5*.

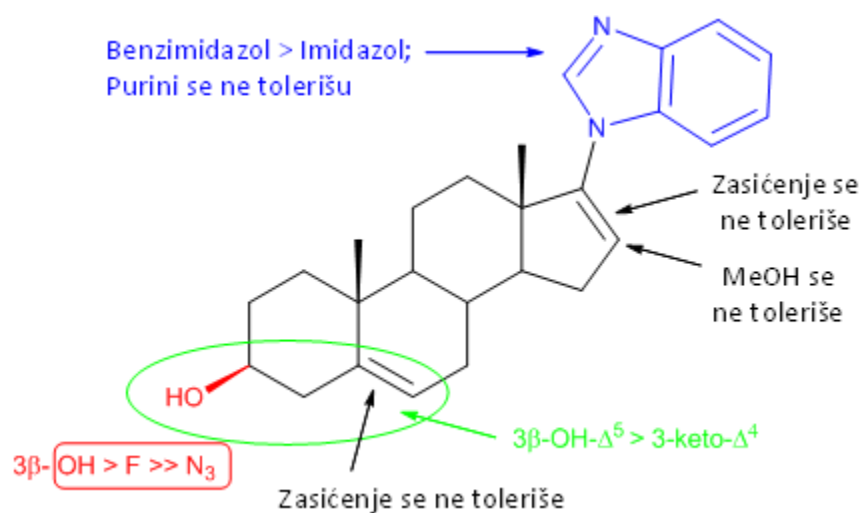


**Shema 2.5.** a) benzimidazol,  $K_2CO_3$ , DMF, Ar, 80 °C; b) 10% Pd na aktivnom uglju, PhCN, refluks; c) 10% KOH u MeOH, Ar, s.t.

Tretiranjem jedinjenja **53** sa benzimidazolom u prisustvu  $K_2CO_3$  u dimetil-formamidu, na 80 °C dobijen je intermedijerni 17-1*H*-benzimidazolski derivat **57**, u skoro kvantitativnom prinosu. Jedinjenje **57** je lako deformilovano sa 10%-nim Pd na aktivnom uglju do jedinjenja **58**, koje je u narednoj fazi podvrgnuto hidrolizi acetoksi funkcije, pri čemu je dobijen 3β-hidroksi 17-benzimidazol **35**.

Na osnovu nekih ranijih istraživanja, izvedena je preliminarna *in vitro* SAR studija CYP17 inhibitora/AR antagonista, kao androgen receptor ablativnih agenasa, što je prikazano na slici 2.21.<sup>108</sup>.

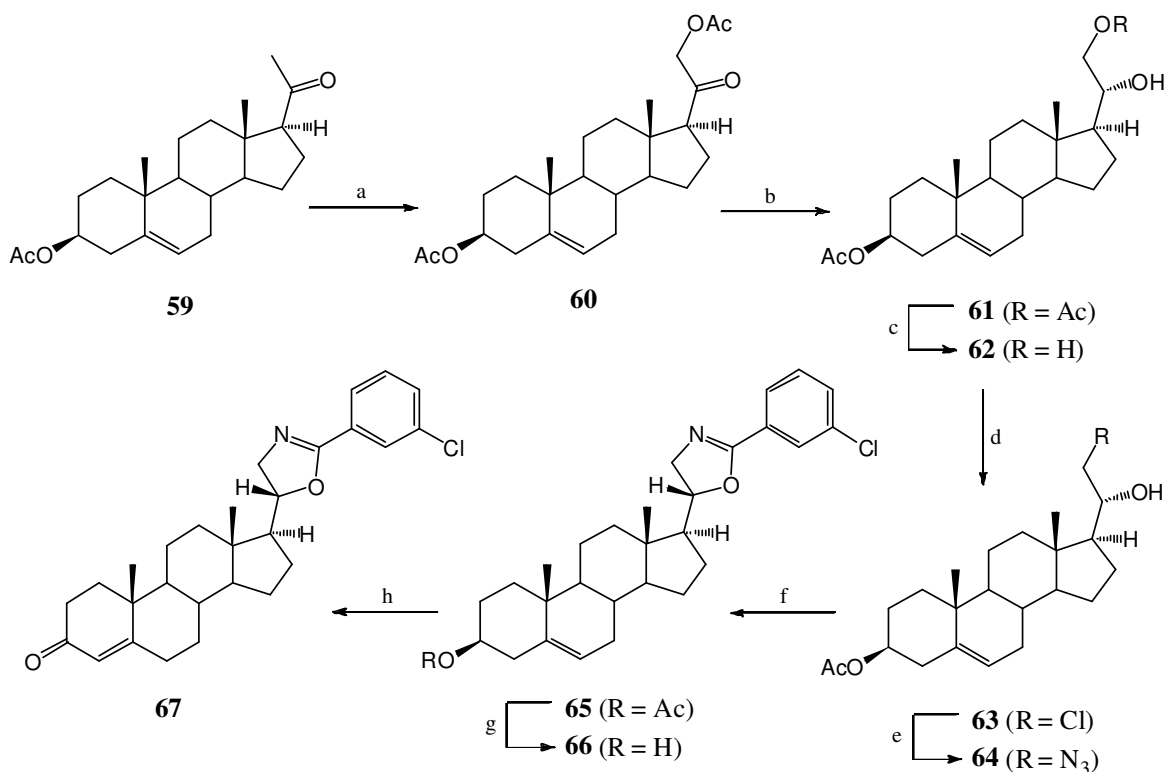




**Slika 2.21.** *In vitro* SAR studija CYP17 inhibitora/AR antagonista

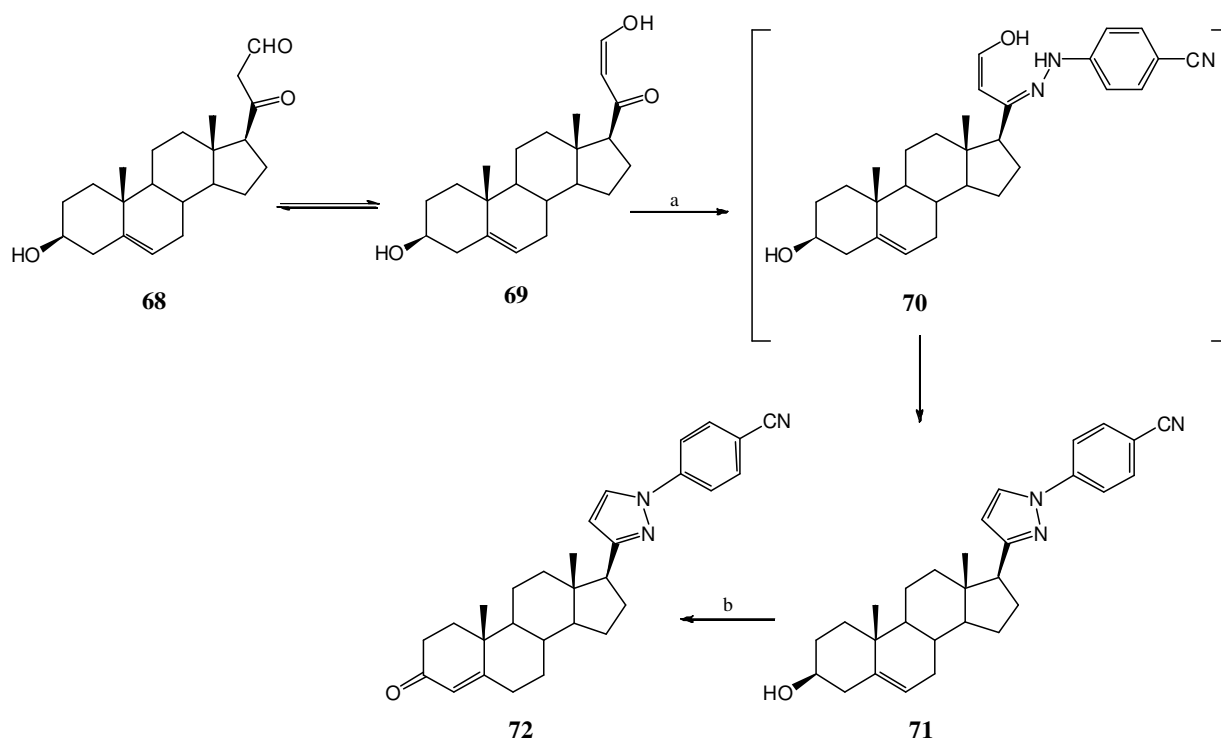
Modifikacije u A- ili B-prstenu rezultuju značajnim smanjenjem u AR regulatornoj aktivnosti, što ukazuje da je 3β-OH-Δ<sup>5</sup> struktura veoma značajna za aktivnost jedinjenja. Takođe je utvrđeno da zasićenje Δ<sup>5</sup> i/ili Δ<sup>16</sup> dvostruke veze umanjuje inhibičnu aktivnost.

Sintezom novih androstanskih derivata sa heterocikličnim sistemom u D-prstenu su se bavili i *Wölfling* i saradnici<sup>109,110</sup>, pri čemu su pojedini derivati pokazali umerenu aktivnost prema enzimu C<sub>17,20</sub>-lijazi. Na *shemama* 2.6. i 2.7. su prikazane sinteze odabranih oksazolinskih (**67**) i fenilpirazolil (**72**) steroidnih derivata.



**Shema 2.6.** a)  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , MeOH; b)  $\text{KBH}_4$ , MeOH, s.t.; c)  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , Mw; d)  $\text{P}(\text{Ph})_3$ ,  $\text{CCl}_4$ , refluks; e)  $\text{NaN}_3$ , DMF, 80 °C; f) 3-hlorbenzaldehyd,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , s.t.; g)  $\text{NaOCH}_3$ , MeOH, s.t.; h) cikloheksanon,  $\text{Al}(\text{i-PrO})_3$ , toluen, refluks.

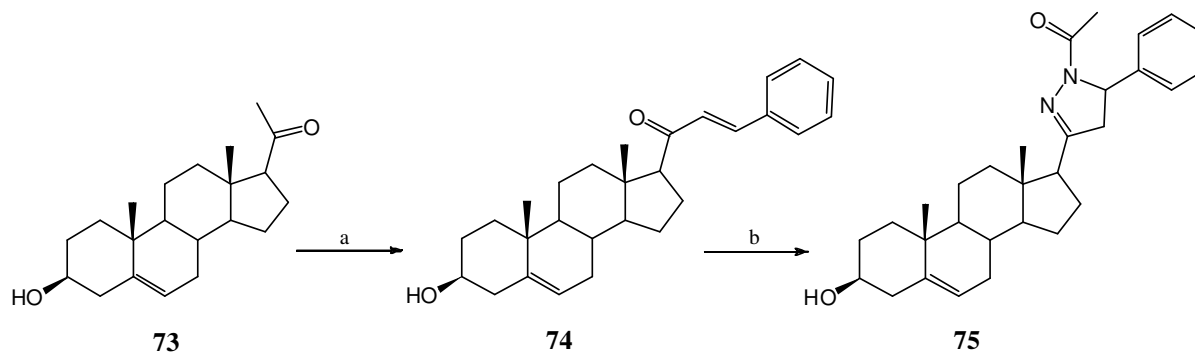
3β-Acetoksipregn-5-en-20-on (**59**) je oksidovan pomoću  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ , u prisustvu  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  dajući jedinjenje **60**, koje je zatim redukovano i selektivno deacetilovano do jedinjenja **62**. U narednoj fazi je izvršeno hlorovanje pri čemu je dobijen intermedijer **63**, koji je zatim nukleofilnom supstitucijom sa  $\text{NaN}_3$  u dimetilformamidu preveden u derivat **64**. Reakcijom α,β-azidoalkohola **64** sa 3-hlorbenzaldehydom, uz  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  kao *Lewis*-ovim katalizatorom, formira se odgovarajući steroidni oksazolin **65**, koji dalje *Zemplén*-ovim deacetilovanjem (u prisustvu natrijum-metoksida) daje derivat **66**. Konačno, *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **66** dobija se željeni Δ<sup>4</sup>-3-keto oksazolin **67**.



**Shema 2.7.** a) 4-cijano-fenilhidrazin, AcOH, AcOK, s.t.; b) cikloheksanon, Al(*i*-PrO)<sub>3</sub>, toluen, refluks.

U sirćetnoj kiselini, jedinjenja **68** i **69** se nalaze u dinamičkoj ravnoteži. U reakciji 4-cijano-fenilhidrazina sa C-20 keto grupom jedinjenja **69** je najpre formiran intermedijerni fenilhidrazon **70**, iz kojeg je zatim zatvaranjem 3-pirazolil prstena dobijeno jedinjenje **71**. Finalni proizvod **72**, koji je u *in vitro* testovima pokazao umereni inhibitorni efekat prema enzimu lijazi, je dobijen *Oppenauer*-ovom oksidacijom.

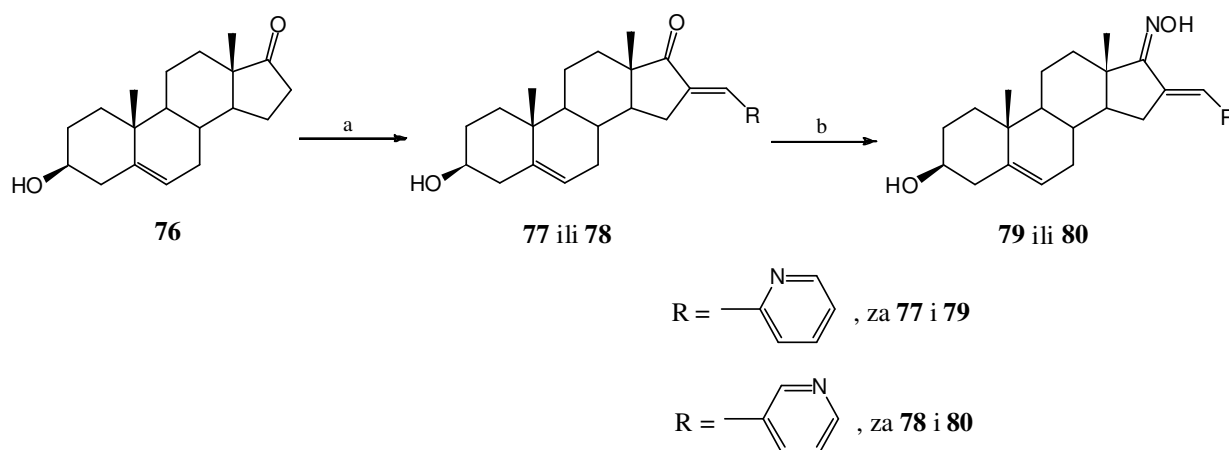
Seriya novih D-supstituisanih steroidnih pirazolinskih derivata je sintetisana od strane *Banday*-a i saradnika<sup>99</sup>, i ispitana je njihova citotoksičnost prema nekoliko humanih tumorskih ćelijskih linija. Nekoliko novosintetizovanih derivata je ispoljilo izrazit citotoksični efekat prema odabranim ćelijskim linijama, a na *shemi* 2.8. je prikazana sinteza jedinjenja **75**, koje je bilo najaktivnije prema ćelijama karcinoma dojke (MCF-7).



**Shema 2.8.** a) benzaldehid, KOH, EtOH; b)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , AcOH, refluks.

Pregnenolon (**73**) je kondenzovan sa benzaldehidom u baznoj sredini, pri čemu je preveden u odgovarajući benziliden derivat **74**, koji je dalje u reakciji sa hidrazin-hidratom transformisan do željenog pirazolinskog derivata **75**.

Kao potencijalni citotoksični agensi prema MCF-7 ćelijama tumora dojke, sintetisani su 16-piridilmetilen-17-oksmino androstanski derivati **79** i **80** (shema 2.9.)<sup>111</sup>.

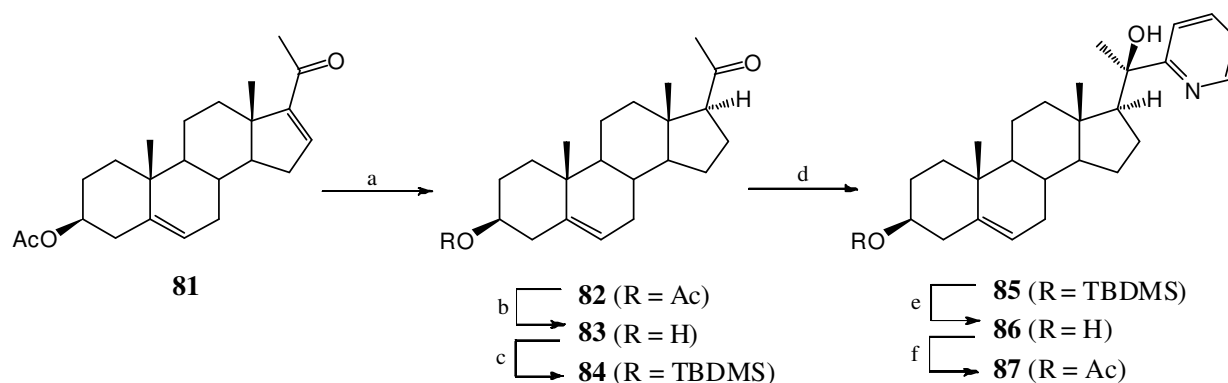


**Shema 2.9.** a) piridin-2-karbaldehid ili piridin-3-karbaldehid, NaOH, s.t.; b)  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ,  $\text{AcONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , refluks.

Piridin-2-karbaldehid ili piridin-3-karbaldehid je kondenzovan sa dehidroepiandrosteron-om **76** (DHA) u baznoj sredini, pri čemu su dobijena jedinjenja **77** ili **78**, koja su zatim oksiminovana

pomoću hidroksilamin hidrohlorida do odgovarajućih 16-(2'-piridilmetilen)-17-oksimo i 16-(3'-piridilmetilen)-17-oksimo derivata **79** i **80**.

Pored antikancer aktivnosti, steroidni derivati sa heterocikličnim prstenom su ispoljili različitu biološku aktivnost, kao što je na primer antimikrobna. Potraga za novim antimikrobnim agensima je danas veoma aktuelna i u porastu, i mnoga jedinjenja su sintetisana sa tim ciljem. Iz tog razloga, *Shingate* i saradnici<sup>85</sup> su sintetisali steroidne C-20 tercijerne alkohole sa piridinskim prstenom i isptali njihovu antimikrobnu aktivnost (*shema 2.10.*).



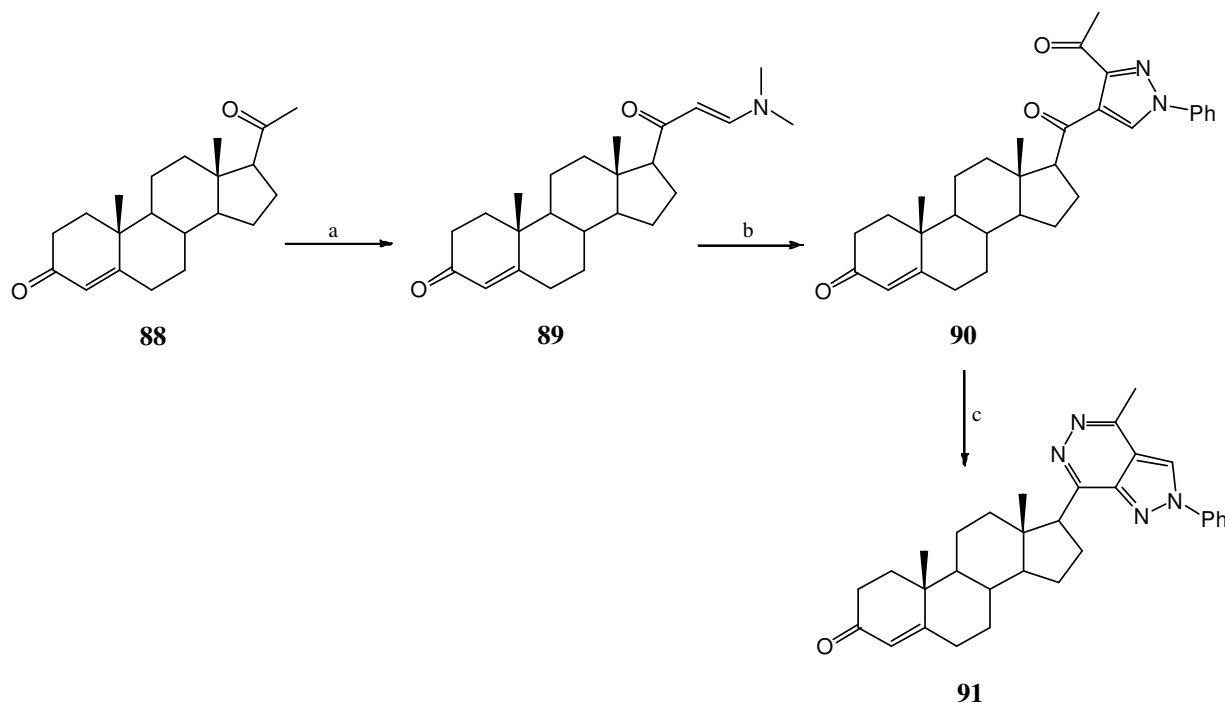
**Shema 2.10.** a) 10% Pd/C, H<sub>2</sub>, EtOAc, 30 °C, 12 h; b) KOH, MeOH, H<sub>2</sub>O, 30 °C, 2 h; c) TBDMSCl, imidazol, DMF, 30 °C, 10 h; d) 2-piridil magnezijum bromid, THF, s.t., 2 h; e) *n*-Bu<sub>4</sub>NF, THF, 30 °C, 18 h; f) Ac<sub>2</sub>O, piridin, DMAP, s.t., 2 h.

16-Dehidropregnenolon acetat (**81**) je katalitičkom hidrogenizacijom sa 10%-nim paladijumom na aktivnom uglju, praćenom hidrolizom 3-acetoksi funkcije jedinjenja **82** sa KOH u vodenom metanolu, preveden u jedinjenje **83**. Zaštitom 3β-hidroksilne grupe jedinjenja **83** sa *t*-butildimetilsilil hloridom (TBDMSCl) u prisustvu imidazola u DMF-u, dobijeno je jedinjenje **84**, u prinosu od 87%. Nakon toga je na C-20 karbonilnu grupu izvršena adicija *Grignard*-evog reagensa, 2-piridil magnezijum bromida (pripremljenog *in situ*), pri čemu je dobijen 20-(piridin-2-il) C(20*R*) tercijerni alkohol **85**. Deprotekcijom TBDMS grupe jedinjenja **85** pomoću *n*-Bu<sub>4</sub>NF u THF-u, praćenom selektivnim acetilovanjem 3β-hidroksi funkcije jedinjenja **86**, sintetizovano je krajnje jedinjenje **87**.

Na osnovu urađenih *in vitro* testova na antimikrobnu aktivnost, jedinjenje **85** je pokazalo značajnu antifungalnu aktivnost prema humanom patogenu *C. albicans*, a jedinjenja **85-87** su

pokazala umerenu antifungalnu aktivnost prema *Y. lipolytica*, dok su umerenu antibakterijsku aktivnost prema *E. coli* ispoljila jedinjenja **85** i **86**.

Zapaženu antimikrobnu aktivnost su ispoljili i steroidni derivati sa pirazolskim i piridazinskim prstenom<sup>112</sup> (jedinjenja **90** i **91**, shema 2.11.).



**Shema 2.11.** a)  $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}(\text{OCH}_3)_2$ , refluks, 20 h; b)  $\text{CH}_3\text{COC}(\text{Cl}):\text{NNHPh}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , refluks, 2 h; c)  $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ , aps. EtOH, refluks, 4 h.

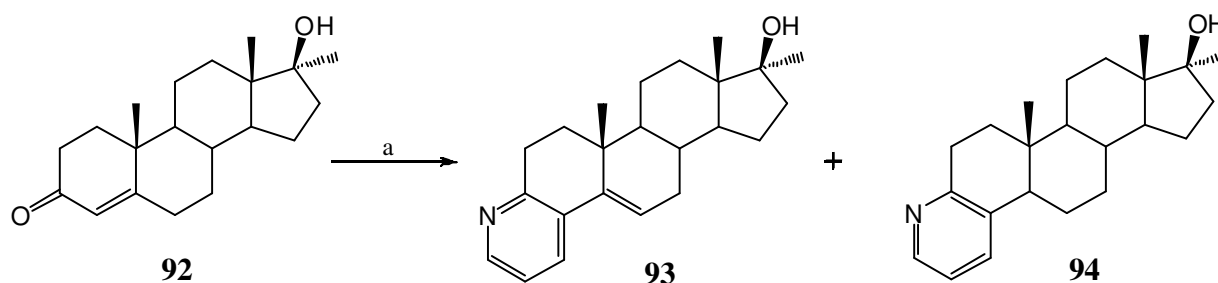
U reakciji progesterona (**88**) sa dimetilformamid-dimetilacetalom dobijeno je jedinjenje **89**, koje je zatim reagovalo sa *C*-metilkarbonil-*N*-fenilhidrazonil-hloridom u prisustvu trietilamina, pri čemu je formiran pirazolski derivat **90**. U narednoj fazi, ovo jedinjenje je lako prevedeno u pirazolo[3,4-*d*]-piridazin **91**, u reakciji sa hidrazin-hidratom.

Oba jedinjenja su testirana *in vitro* pri čemu su pokazala zadovoljavajuću aktivnost prema određenim gram-pozitivnim i gram-negativnim bakterijama.

## 2.2.2. Steroidna jedinjenja sa kondenzovanim N-heterocikličnim sistemom u A prstenu

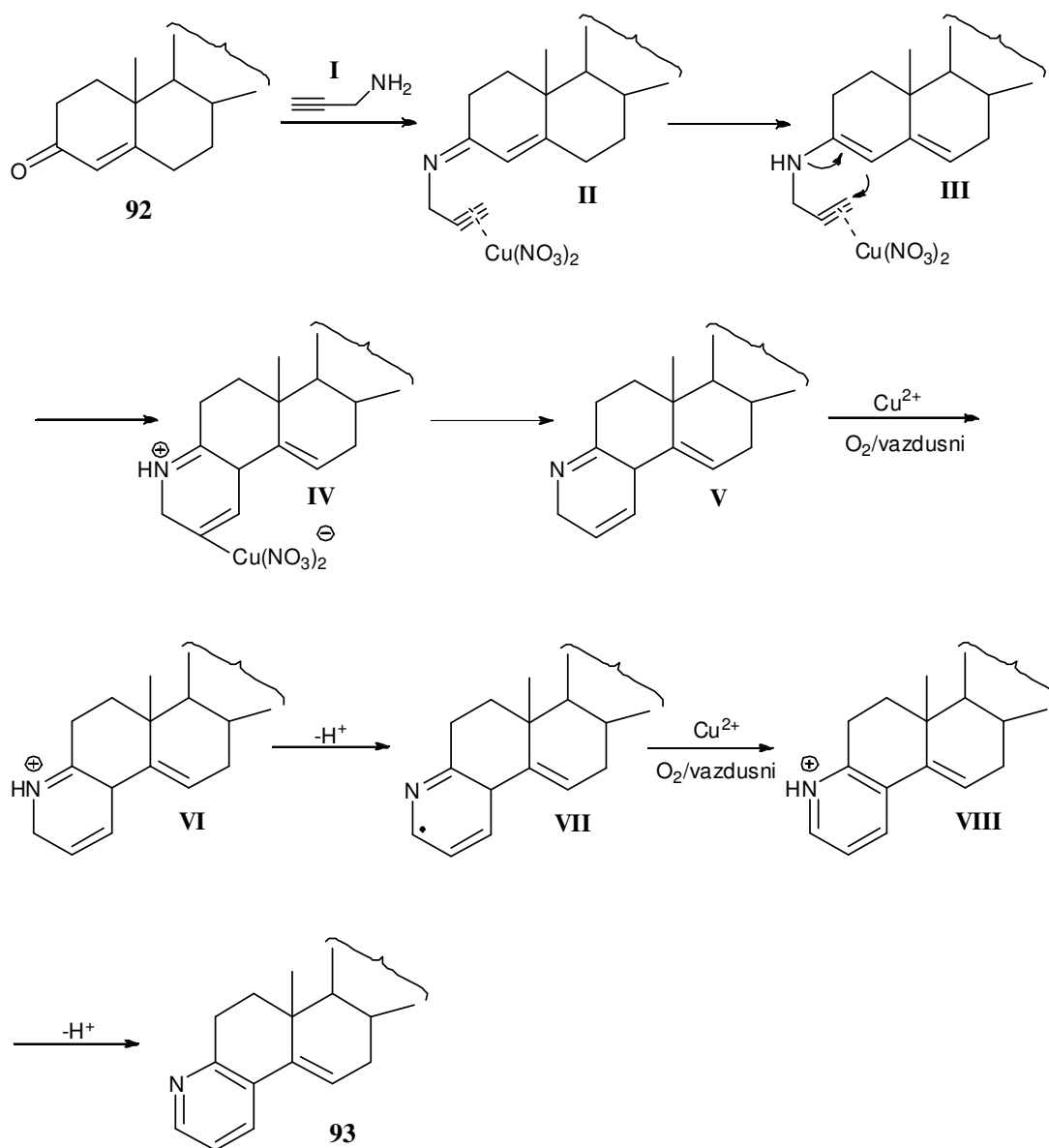
Steroidna jedinjenja sa heterociklom kondenzovanim za A-prsten steroidnog jezgra su, zbog svoje biološke aktivnosti, od velikog farmakološkog značaja. U literaturi su poznati brojni primeri sinteze steroida sa pirazolskim, piridinskim i pirimidinskim prstenom kondenzovanim u 2,3-položaju steroidnog sistema<sup>113-118</sup>. Za mnoge od ovih steroidnih heterocikla je utvrđeno da poseduju značajnu biološku aktivnost, kao što je antimikrobna, antiestrogena, antiinflamatorna, anabolička i kardiovaskularna aktivnost<sup>119-123</sup>.

Među ovim heterosteroidima, posebnu pažnju je privukla sinteza A-kondenzovanih steroidnih piridina<sup>124-126</sup>, obzirom na široko rasprostranjenu pojavu biološki aktivnih piridina u prirodnim proizvodima i farmaceuticima<sup>127</sup>. Na *shemi 2.12.* je prikazana sinteza [3,4-*b*]piridin androstanskih derivata **93** i **94**<sup>124</sup>.



**Shema 2.12.** a) propargilamin,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , EtOH, refluks, 12 h.

U ovoj jednostavnoj reakciji, 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -metil-androst-4-en-3-on (**92**) reaguje sa propargilaminom, u prisustvu bakar(II)-nitrata kao katalizatora, pri čemu su dobijena jedinjenja **93** (47%) i **94** (6%), koje je bilo veoma teško izolovati. Predloženi mehanizam formiranja piridinskog derivata je prikazan na *slici 2.22.*



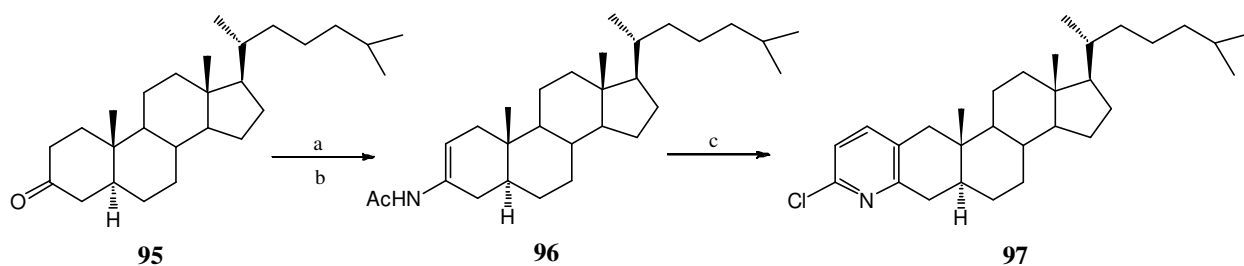
**Slika 2.22.** Predloženi mehanizam formiranja piridinskog derivata

Jedinjenje **92** podleže reakciji kondenzacije sa propargilaminom (**I**) u prisustvu soli bakra (**II**) kao katalizatora, pri čemu se formira imino intermedijer **II**. Imin-enamin izomerizacija daje proizvod **III**, a zatim regioselektivnim 6-endo-dig intramolekulskim nukleofilnim napadom C-atoma enamino funkcije, na aktiviranu C-C trostruku vezu nastaje organometalni intermedijer **IV**. Protonolizom  $C_{sp^2}$ -C veze formira se dihidropiridin **V**, i najverovatnije je njegova oksidacija



inicirana transferom jednog elektrona na  $\text{Cu}^{2+}$  jon, uz nastajanje  $\text{Cu}^+$  jona i radikal-katjona koji gubitkom protona daje radikal **VI**. U prisustvu vazduha,  $\text{Cu}^+$  se ponovo oksiduje do  $\text{Cu}^{2+}$  jona koji sada dalje oksiduje radikal **VI** do protonovanog piridina **VII**, a koji konačnim gubitkom protona prelazi u piridinski derivat **93**.

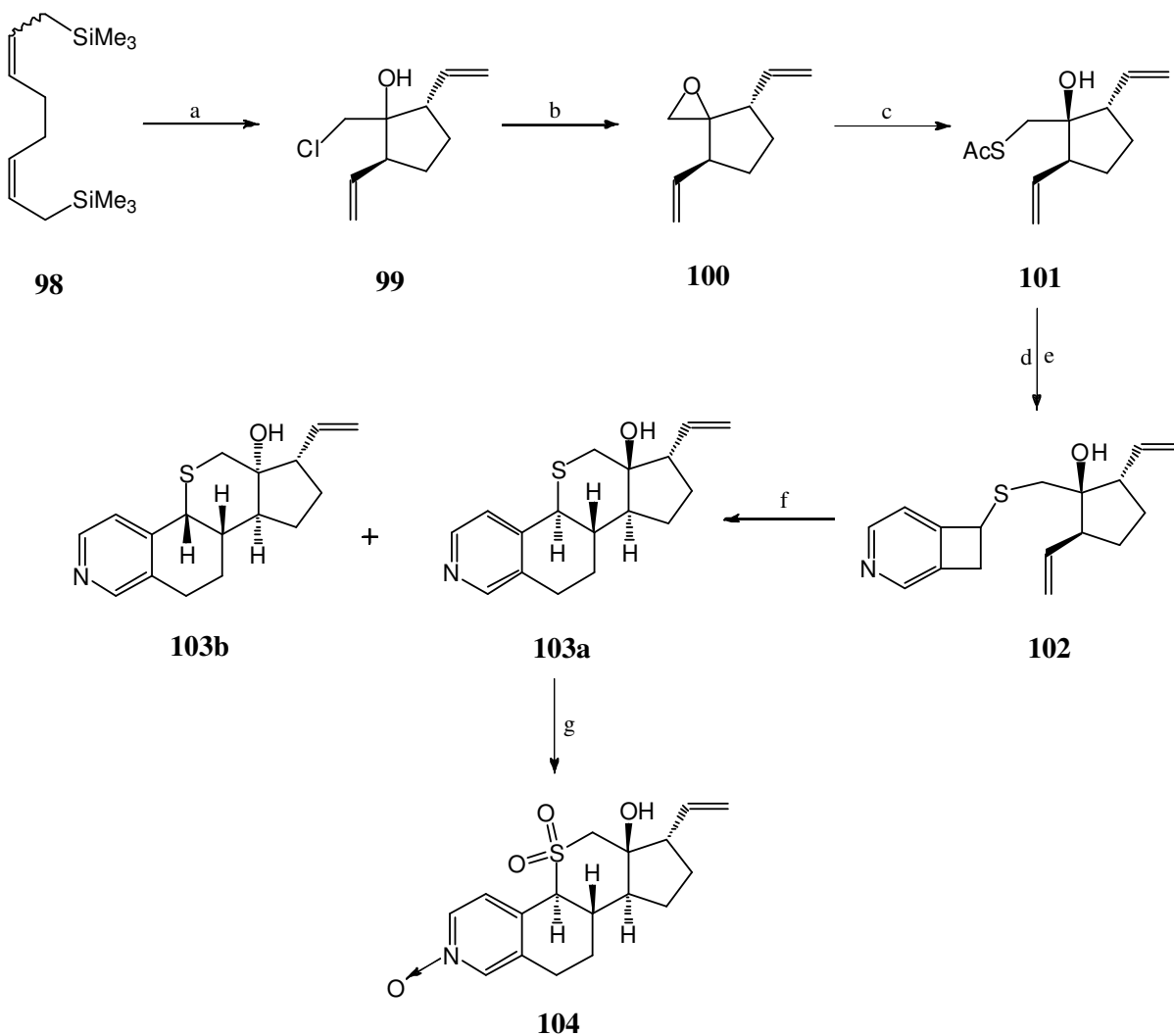
Pogodnu strategiju za dobijanje A-kondenzovanih steroidnih piridina, *Vilsmeier*-ovom reakcijom enamida u visokom prinosu, prikazali su *Barthakur* i saradnici<sup>125</sup> (*shema 2.13.*).



**Shema 2.13.** a)  $\text{NH}_2\text{OH}$ ,  $\text{HCl}$ ; b)  $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ; c)  $\text{DMF-POCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_3$ .

5 $\alpha$ -Holestan-3-on (**95**) je preveden u odgovarajući 3-oksim pomoću hidroksilamin-hidrohlorida, koji je tretiran acetanhidridom u piridinu, a zatim podvrgnut reakciji premeštanja na neutralnom  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , pri čemu je dobijen N-acetil-5 $\alpha$ -holest-2-en-3-amin (**96**). Dalje, reakcijom jedinjenja **96** sa sveže destilovanim fosforoksihloridom i dimetil-formamidom sintetizovan je željeni proizvod, 6'-hloro-5 $\alpha$ -holest[3,2-*b*]piridin (**97**), u prinosu od čak 92%.

Veoma interesantnu sintezu 3-aza steroida su 2005. godine objavili *Oumzil* i saradnici<sup>126</sup>. Oni su izvršili prvu totalnu sintezu steroida sa piridinskim sistemom u A-prstenu steroidnog skeleta, zasnovanu na intramolekularnoj *Diels-Alderovoj* cikloadiciji (*shema 2.14.*).

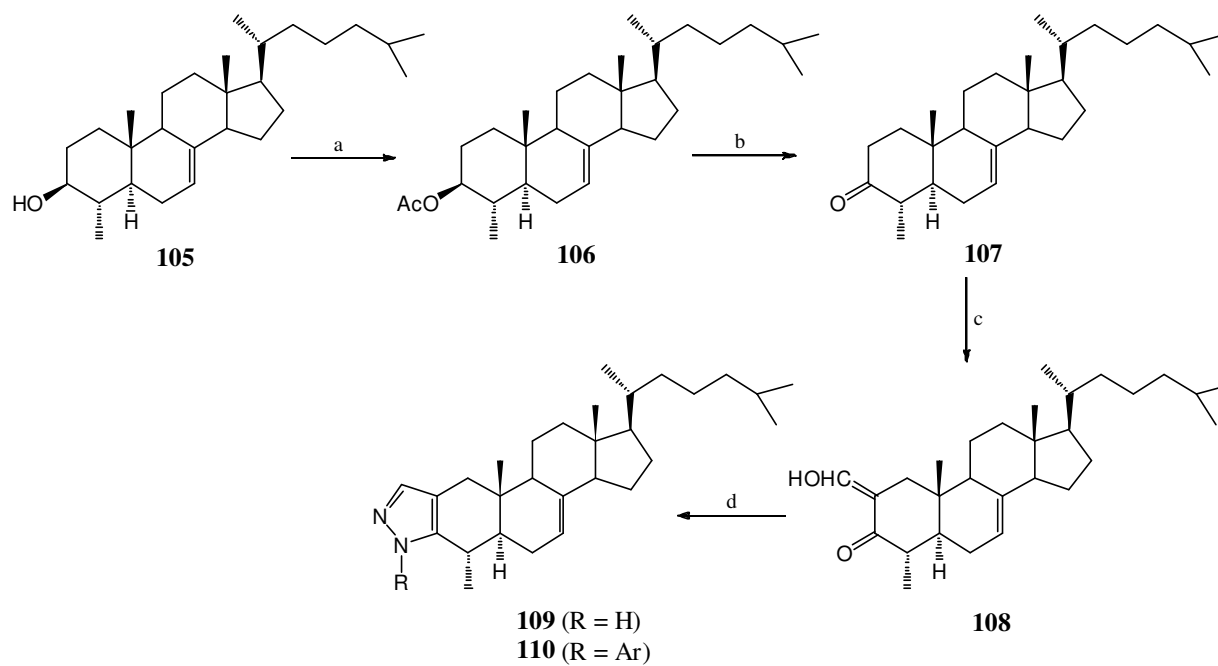


**Shema 2.14.** a) dihlor-acetanhidrid,  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{MeNO}_2$ ; b) *t*-BuOK, EtOH; c)  $\text{CH}_3\text{COSK}$ ,  $\text{CH}_3\text{COSH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; d) pirolidin,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; e) 3-aza-7-jodo-biciklo[4.2.0]okta-1,3,5-trien,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; f) *o*-ksilen,  $\Delta$ ; g) *m*-CPBA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Kondenzacijom 1,8-bis(trimetilsilil)-2,6-oktadien-a (**98**, BISTRO) sa dihlor-acetanhidridom formirano je jedinjenje **99**, koje tretiranjem sa *t*-BuOK u etanolu daje epoksid **100** u dobrom prinosu. U reakciji ovog epoksida sa kalijum-tioacetatom dobijeno je jedinjenje **101** koje je dalje transformisano u odgovarajući tiol, u prisustvu pirolidina u acetonitrilu. Ovako dobijeni tiol je zatim alkilovan *in situ* pomoću 3-aza-7-jodo-biciklo[4.2.0]okta-1,3,5-trien-a, pri čemu je formiran sulfid **102**. Njegovom daljom termolizom dobijena je smeša tia-steroida **103a** i **103b**, u

molskom odnosu 5:1. Oksidacijom dominantnijeg proizvoda **103a** pomoću *m*-hlorperbenzoeve kiseline (*m*-CPBA), dobijen je odgovarajući N-oksid sulfon **104** u dobrom prinosu.

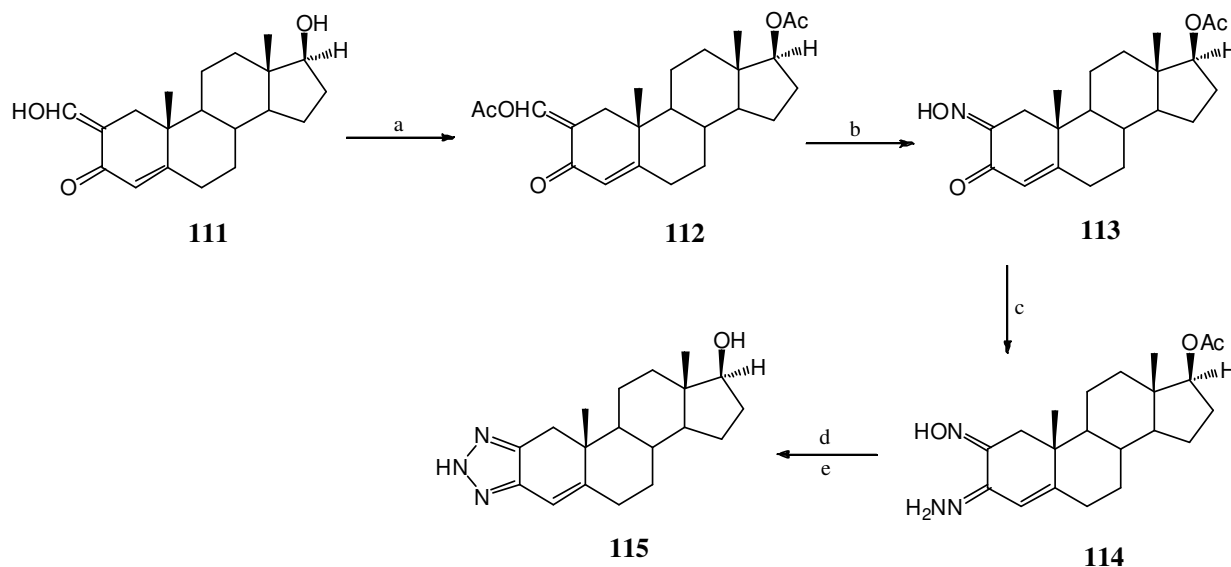
U cilju sinteze novih potencijalnih antitumorskih agenasa, *He* i saradnici<sup>128</sup> su izvršili sintezu novih A-kondenzovanih pirazolskih derivata **109** i **110**, strukturnom transformacijom holest-4 $\alpha$ -metil-7-en-3 $\beta$ -ola (**105**, *Lopenol*), koji je veoma važan prirodni proizvod, mada njegova farmakološka aktivnost još uvek nije u potpunosti istražena (*shema 2.15*).



**Shema 2.15.** a)  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ ; b)  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , aceton; c)  $\text{HCOOEt}$ ,  $\text{NaOCH}_3$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ; d)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  ili  $\text{NH}_2\text{NHAr}$ ,  $\text{EtOH}$ .

Acetilovanjem jedinjenja **105**, a zatim oksidacijom pomoću hrom-trioksida u kiseljoj sredini, dobijen je 3-keto derivat **107**, koji je u narednoj fazi *Claisen*-ovom kondenzacijom na C-2 atomu sa etil-formijatom, u prisustvu natrijum-metoksida, preveden u 2-hidroksimetilenski derivat **108**. Nakon toga je jedinjenje **108** kondenzovano sa hidrazinom, odnosno fenilhidrazinom, pri čemu su dobijeni odgovarajući pirazolski derivati **109**, odnosno **110**.

Ohta i saradnici<sup>129</sup> su još 1968. godine objavili sintezu triazola, kondenzovanog sa A-prstenom steroidnog sistema, polazeći iz odgovarajućeg 2-hidroksimetilenskog derivata (*shema 2.16.*).



**Shema 2.16.** a)  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ ; b)  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{AcOH}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ; c)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MeOH}$ ; d)  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{Py}$ ,  $\text{CHCl}_3$ ; e)  $\text{NaOH}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ .

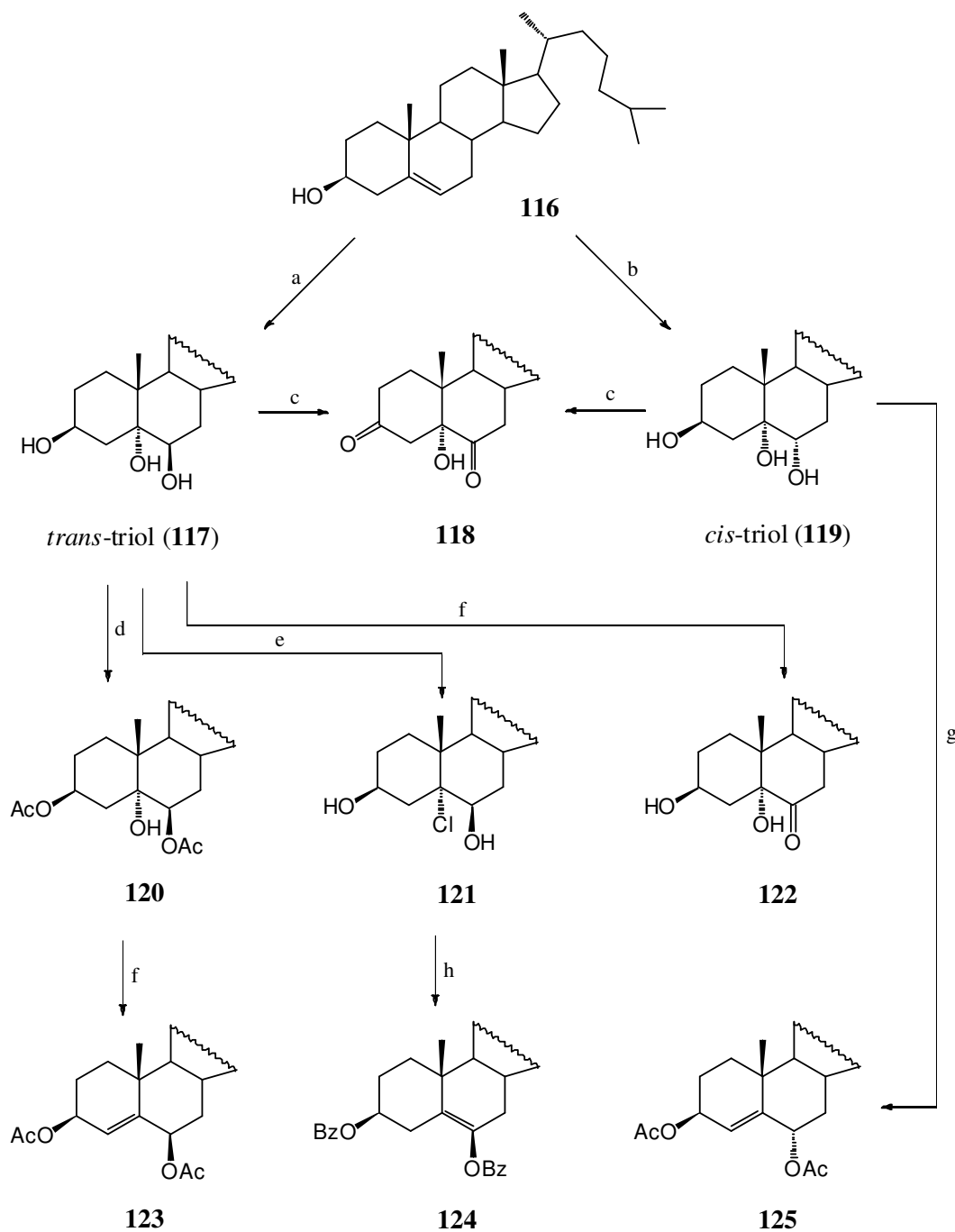
U prvoj fazi sinteze triazola **115**, 2-hidroksimetilen-3-keto derivat **111** je preveden u diacetat **112**, a zatim pomoću natrijum-nitrita u sirćetnoj kiselini u jedinjenje **113**, sa 2-hidroksimino funkcijom. Oksim **113** je dalje transformisan do 3-hidrazona **114** koji je dehidratisan pomoću fosfor-pentahlorida, i nakon hidrolize acetoksi funkcije dobijen je  $17\beta$ -hidroksiandrost-4-en[2,3-*d*]triazol (**115**).

### 2.3. Odabrane reakcije oksidacije A i B prstena steroidnog jezgra

Najčešće proučavane reakcije oksidacije u steroidnoj hemiji<sup>130</sup> su vršene na jezgru holesterola, obzirom na prisustvo C-3 hidroksilne i  $\Delta^5$  dvostuke veze, kao i relativno nereaktivnog C<sub>17</sub>-ugljovodoničnog niza. Reakcije oksidacije omogućavaju transformaciju na A i B prstenu, pri čemu lanac na C<sub>17</sub> atomu ostaje nepromenjen.

Još 1907. godine *Windaus*<sup>131</sup> je vršio oksidaciju holesterola (**116**) 4%-tnim alkalnim rastvorom KMnO<sub>4</sub> (*shema 2.17.*). Reakcija je izvedena na sobnoj temperaturu u toku dva dana, a dobijeni proizvod je okarakterisan kao holestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -triol (**119**, prinos 4-5%). Kada je kasnije, 1939. godine, izvršena oksidacija holesterola sa osmijum-tetroksidom u etru<sup>132</sup>, prinos je iznosio 60%.

*Pickard* i *Yates*<sup>133</sup> su dobili epimerni *trans*-triol (**117**) zagrevanjem holesteril-acetata sa sirćetnom kiselinom i vodonik-peroksidom, a zatim hidrolizom proizvoda. Jedinjenje **117** je dalje oksidovano do 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi-6-keto derivata **122**, a takođe je poslužilo i u daljoj sintezi jedinjenja **120**, **121**, **123** i **124** (*shema 2.17.*).



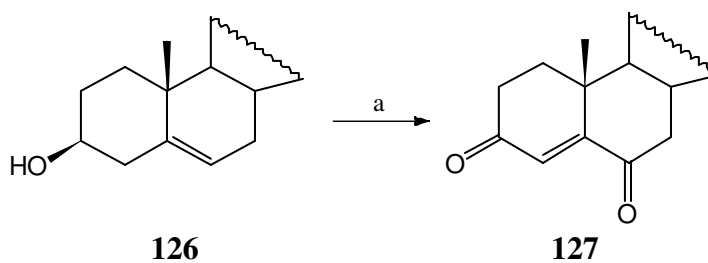
**Shema 2.17.** Oksidacija holesterola: a)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , AcOH; b)  $\text{KMnO}_4$  ili  $\text{OsO}_4$ ; c)  $\text{CrO}_3$ , aceton,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ ; d)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $115\text{ }^\circ\text{C}$ ; e)  $\text{HCl}$ , MeOH; f) NBS; g)  $\text{SOCl}_2$ , Py; h)  $\text{BzCl}$ ,  $210\text{ }^\circ\text{C}$ .

Oksidacijom izomernih triola **117** i **119** pomoću hrom(VI)-oksida u acetonu dobijen je 3,6-dion **118**.

### 2.3.1. Oksidacije *Jones*-ovim reagensom

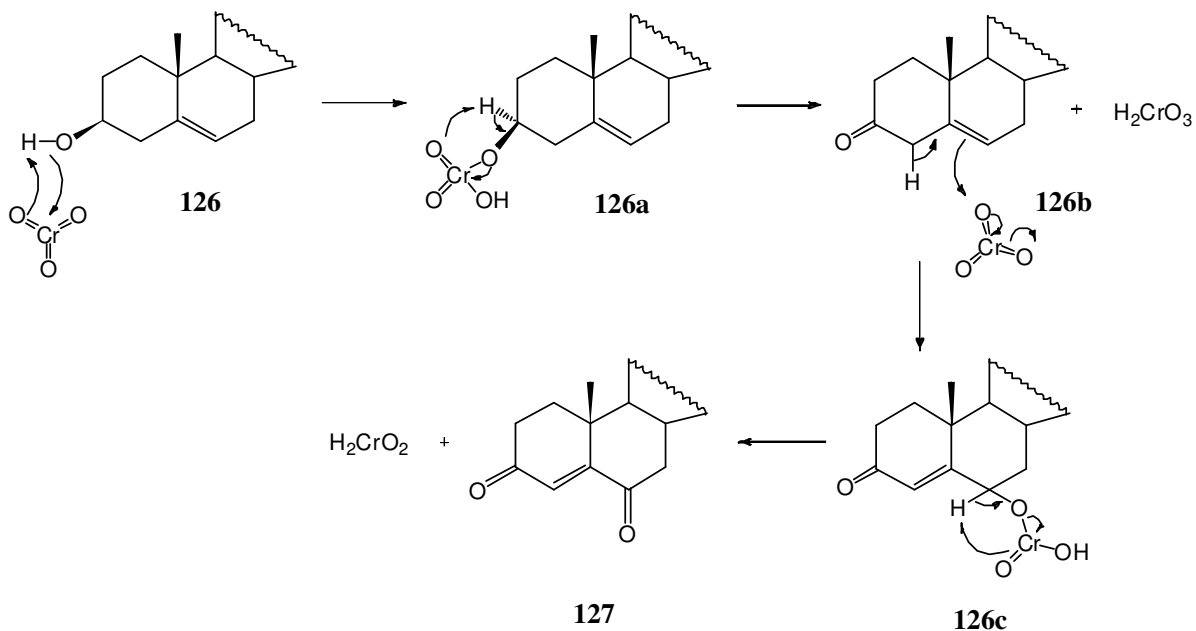
Steroidna jedinjenja sa  $\Delta^4$ -3,6-dionskom strukturom su prirodna jedinjenja i veoma važni intermedijeri u daljim transformacijama steroidnog nukleusa. Kao polazno jedinjenje u sintezi ovih derivata se koriste, komercijalno lako dostupni  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -alkoholi ili njihovi acetati, bez obzira da li se primenjuju ‘*multi step*’ ili efikasnije i jednostavnije ‘*one-pot*’ sinteze<sup>134</sup>. Reagensi i hemijske metode koje se primenjuju mogu biti različite, međutim najčešće su prinosi proizvoda dosta mali.

*Hunter* i *Priest*<sup>134</sup> su izvršili jednostavnu ‘*one-pot*’ sintezu nekoliko steroidnih  $\Delta^4$ -3,6-diona, koja je zasnovana na klasičnoj *Jones*-ovoj oksidaciji<sup>135</sup>, ali se odvija pod blažim oksidacionim uslovima, koji se sastoje u dodavanju stehiometrijske količine rastvora  $\text{CrO}_3$  u razblaženoj  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (*Jones*-ov reagens), u hladan acetonski rastvor alkohola (*shema 2.18.*). Na taj način se može izvršiti selektivna oksidacija hidroksilne grupe kod nezasićenih alkohola, bez značajnijih sporednih reakcija.



**Shema 2.18.** a)  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , aceton, 0 °C, 1-2 h.

Na shemi 2.19. dat je mogući mehanizam transformacije steroidnih 5-en-3 $\beta$ -ola u 4-en-3,6-dione pomoću hrom(VI)-oksida<sup>136</sup>.

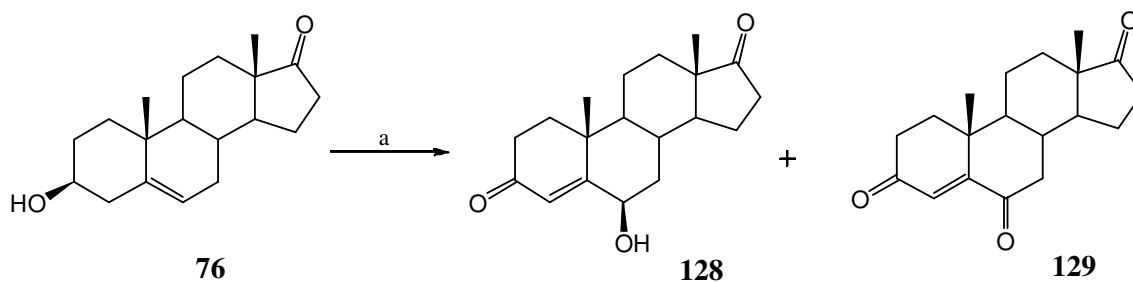


**Shema 2.19.** Mehanizam oksidacije *Jones*-ovim reagensom

Pretpostavlja se da u prvoj fazi dolazi do oksidacije C-3 hidroksilne grupe, pri čemu nastaje 5-en-3-keto intermedijer **126b**, a zatim se u prisustvu još jednog mola reagensa oksiduje i C-6 ugljenikov atom, uz formiranje 4-en-3,6-diona **127**.

Šolaja i saradnici<sup>137</sup> su ispitivali oksidaciju serije steroidnih 5-en-3 $\beta$ -ola, pri čemu su, između ostalog, izvršili oksidaciju dehidroepiandrosterona (**76**) pomoću *Jones*-ovog reagensa u dietil-etru (shema 2.20.).

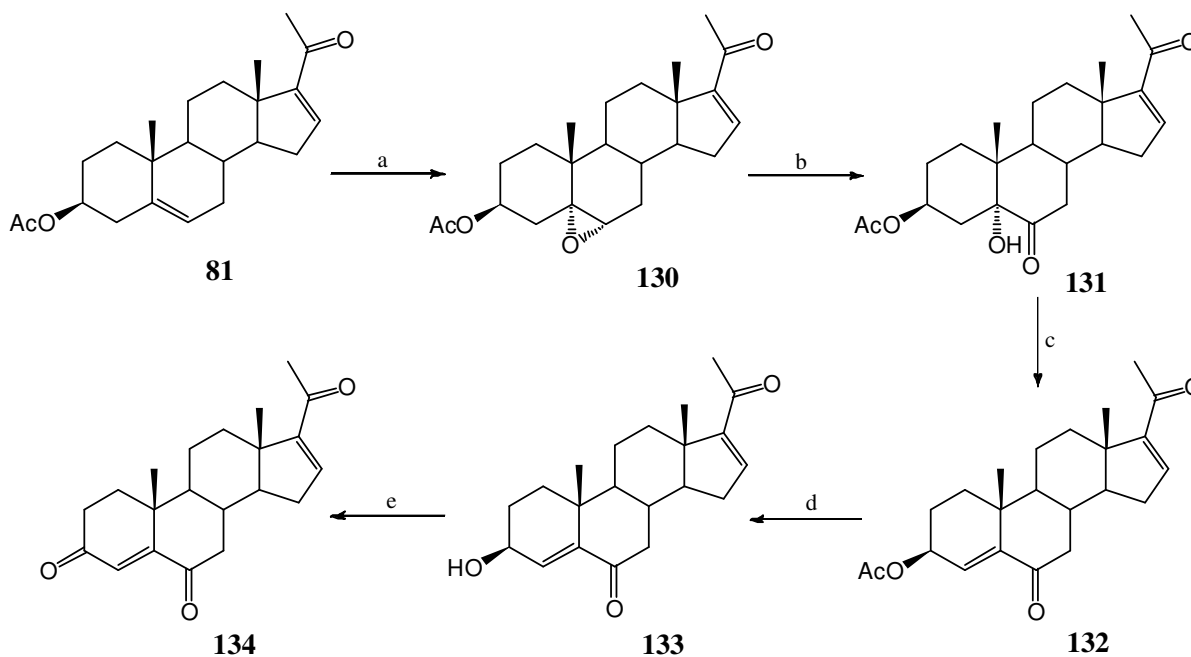




**Shema 2.20.** a) Jones-ov reagens, Et<sub>2</sub>O, refluks.

U reakciji je pored očekivanog 4-en-3,6,17-triona (**129**, 24%) dobijen i 6β-hidroksi 4-en-3,17-dion (**128**) u prinosu od svega 8%.

Steroidna jedinjenja sa  $\Delta^4$ -3,6-dionskim sistemom su se pokazala kao važna biološki aktivna jedinjenja. Tako je jedinjenje **134** (shema 2.21.), koje je sintetisano iz 16-dehidropregnenolon acetata (**81**), ispoljilo veoma snažnu inhibitornu aktivnost prema enzimu 5 $\alpha$ -reduktazi, na osnovu izvršenih *in vitro* i *in vivo* eksperimenata<sup>138</sup>.

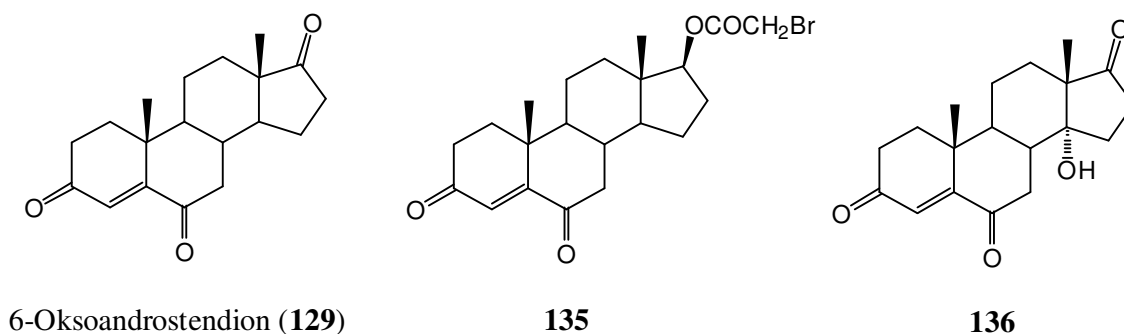


**Shema 2.21.** a) *m*-CPBA, CHCl<sub>3</sub>, s.t., 30 min.; b) CrO<sub>3</sub>, aceton, 0 °C, 1 h; c) SOCl<sub>2</sub>, Py, s.t., 45 min.; d) NaOH, MeOH, s.t., 30 min.; e) CrO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O-aceton, 0 °C, 1 h.

U prvoj fazi reakcije izvršena je epoksidacija  $\Delta^5$  dvostruke veze sa *m*-CPBA, a zatim oksidacija pomoću hrom(VI)-oksida, pri čemu je dobijeno jedinjenje **131**. Eliminacijom  $5\alpha$ -hidroksilne grupe, a zatim hidrolizom  $3\beta$ OAc funkcije dobijen je  $3\beta$ -hidroksi 4-en-6-keto derivat **133**, koji je u narednoj fazi oksidovan modifikovanom *Jones*-ovom reakcijom u 4-en-3,6-dion **134**.

Jedinjenja **130**, **132** i **134** su se, na osnovu urađenih bioloških testova, pokazala kao mnogo bolji inhibitori  $5\alpha$ -reduktaze, nego poznati agens u lečenju kancera prostate finasterid (**25**, slika 2.11.).

Za steroidna jedinjenja sa 4-en-3,6-dionskim sistemom je potvrđeno da su se pokazali i kao dobri inhibitori enzima aromataze<sup>139-143</sup>. Na slici 2.23. su prikazana jedinjenja koja su ispoljila snažnu inhibitornu aktivnost prema enzimu aromatazi.

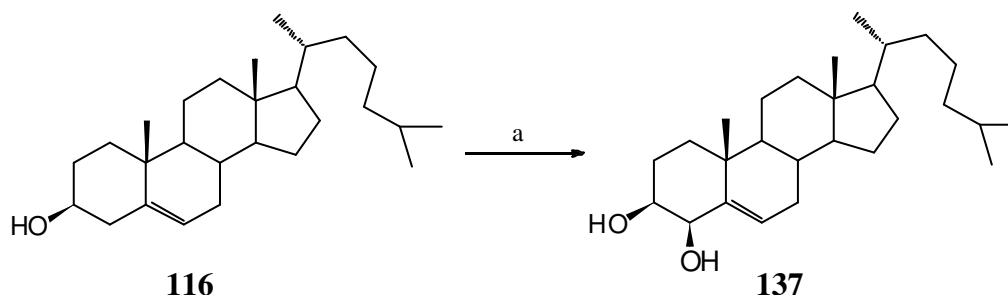


**Slika 2.23.** Inhibitori enzima aromataze

6-Oksoandrostendion (**129**) je u kliničkoj upotrebi u tretmanu estrogen-zavisnog karcinoma dojke, i jedan je od najranije otkrivenih ireverzibilnih inhibitora aromataze<sup>140</sup>.  $17\beta$ -Bromacetoksi-androst-4-en-3,6 dion (**135**)<sup>142</sup> i  $14\alpha$ -hidroksiandrost-4-en-3,6,17-trion (**136**)<sup>143</sup> su se pokazali kao veoma potentni inhibitori aromataze *in vitro*.

### 2.3.2. Oksidacije steroidnog jezgra sa selen(IV)-oksidom

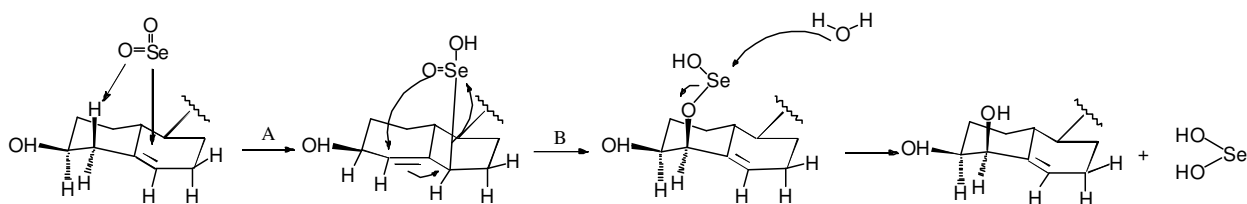
Rosenheim i Starling<sup>144</sup> su izučavali oksidaciju holesterola sa selen-dioksidom i okarakterisali proizvod kao  $\Delta^5$ -holestan-3 $\beta$ ,4 $\beta$ -diol (**137**, prinos 38%) (shema 2.22.).



Shema 2.22. a)  $\text{SeO}_2$ .

Oksidacija olefina u alilnom položaju sa selen(IV)-oksidom se razlikuje od alilne oksidacije sa olovo-tetraacetatom i živa(II)-acetatom u tome što dolazi do zadržavanja dvostruke veze u originalnom položaju<sup>145</sup>.

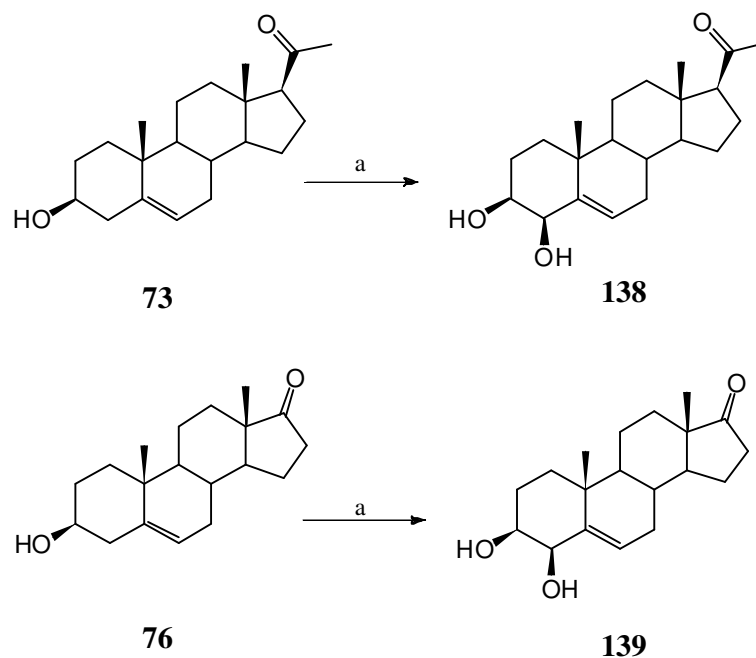
Mehanizam uvođenja hidroksilne grupe u alilni položaj prikazan je na shemi 2.23.<sup>146</sup>.



Shema 2.23. Mehanizam alilne oksidacije pomoću selen-dioksida

Mehanizam 4-hidroksilacije steroidnih 5-en-3-ola pomoću selen-dioksida se može objasniti time što u prvom koraku (A) dolazi do transfera alilnog protona na selen-dioksid, a u drugom koraku (B) do [2,3]-sigmatropnog premeštanja. Ovaj mehanizam oksidacije sa selen-dioksidom u alilnom položaju predložili su Scharless i saradnici<sup>147,148</sup>.

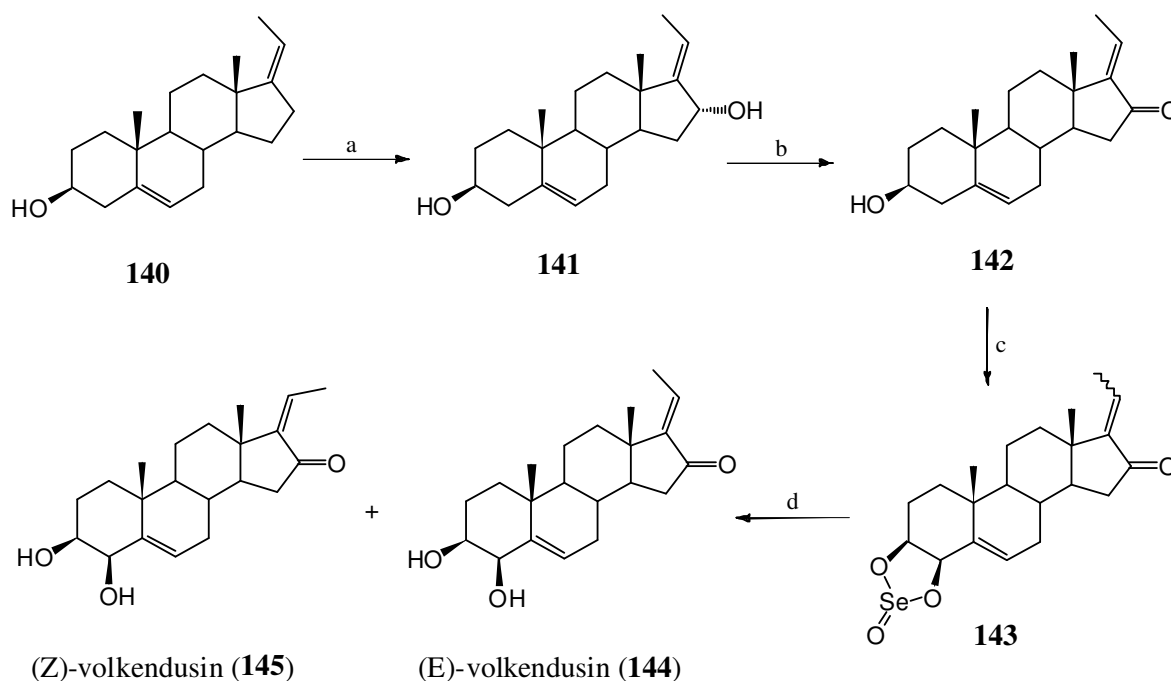
Ma i Choi<sup>146</sup> su opisali selektivne alilne oksidacije steroidnih 5-en-3 $\beta$ -ola pregnenolona (**73**) i dehidroepiandrosterona (**76**) pomoću selen-dioksida, pri čemu su postigli stereoselektivnu oksidaciju dobijajući isključivo 4 $\beta$ -hidroksilovane derivate **138**, odnosno **139**, u prinosima od 61%, odnosno 59% (shema 2.24.).



**Shema 2.24.** a) SeO<sub>2</sub>, dioksan, 80 °C, 18 h.

McLaughlin i saradnici<sup>149</sup> su 1998. godine izolovali (E) i (Z)-volkendusina (**144** i **145**, shema 2.25.), iz kore korena drveta *Melia valensii* Gurke, sakupljene u Keniji. (E)-Volkendusin (**144**) je pokazao značajnu aktivnost u “brine shrimp” testu, pri testu larve žute groznice kao i prema šest humanih tumorskih ćelijskih linija, dok je (Z)-volkendusin ispoljio slabiju aktivnost.

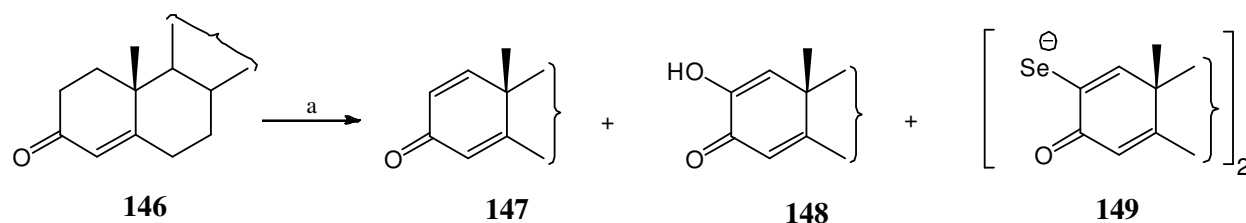
Snider i Shi<sup>150</sup> su godinu dana kasnije izvršili sintetizu (E) i (Z)-volkendusina (**144** i **145**), u prinosima od 22%, odnosno 7%, polazeći od (17Z)-pregnan-5,17(20)-dien-3 $\beta$ -ola (**140**), u nekoliko sintetskih faza (shema 2.25).



**Shema 2.25.** a)  $\text{SeO}_2$ , *t*-BuOOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b)  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; c)  $\text{SeO}_2$ , dioksan, 55 °C; d)  $\text{NaHCO}_3$ .

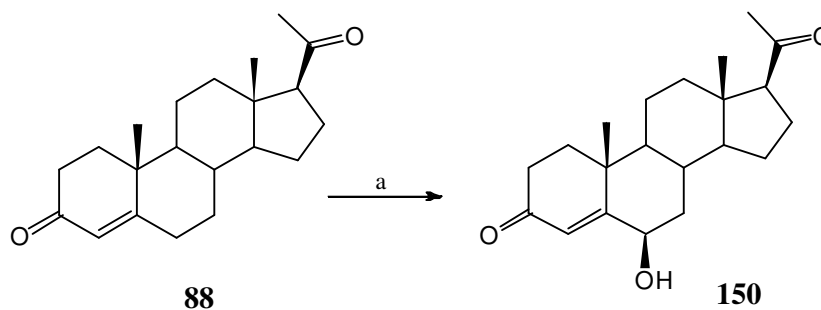
Alilnom oksidacijom u D prstenu jedinjenja **140** sa selen-dioksidom u prisustvu *tert*-butilhidroperoksida dobijen je diol **141**, koji je zatim bez prethodnog prečišćavanja oksidovan sa  $\text{MnO}_2$  do 16-keto derivata **142**. U narednoj fazi, jedinjenje **142** je oksidovano sa dva mola selen-dioksida u dioksanu, pri čemu je dobijena smeša (E)- i (Z)-volkendusina **144** i **145**, u molskom odnosu 3:1.

Još jedna korisna primena ove reakcije je za konverziju  $\Delta^4$ -3-ketona (**146**) u  $\Delta^{1,4}$ -dienone (**147**) (shema 2.26.). Reakcija je veoma osetljiva, međutim prinos od 50-60 % se pripisuje dehidrogenaciji koja se izvodi u *t*-butanolu koji sadrži i sirćetnu kiselinu<sup>151,152</sup>. Dienoni tipa (**147**), koji su stabilni pri daljoj oksidaciji, se takođe mogu dobiti i iz zasićenih 3-ketona.



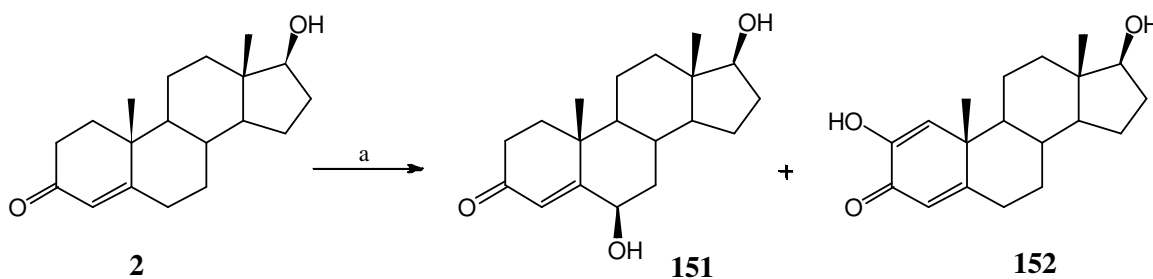
*Shema 2.26.* a) SeO<sub>2</sub>.

Reakcija progesterona (**88**) sa selen-dioksidom dokazuje da je moguće selektivno uvođenje hidroksilne grupe u položaj 6 steroidnog skeleta, pri čemu se kao glavni proizvod dobija 6β-hidroksi progesteron (**150**) (*shema 2.27.*)<sup>153</sup>.



*Shema 2.27.* a) SeO<sub>2</sub>, dioksan.

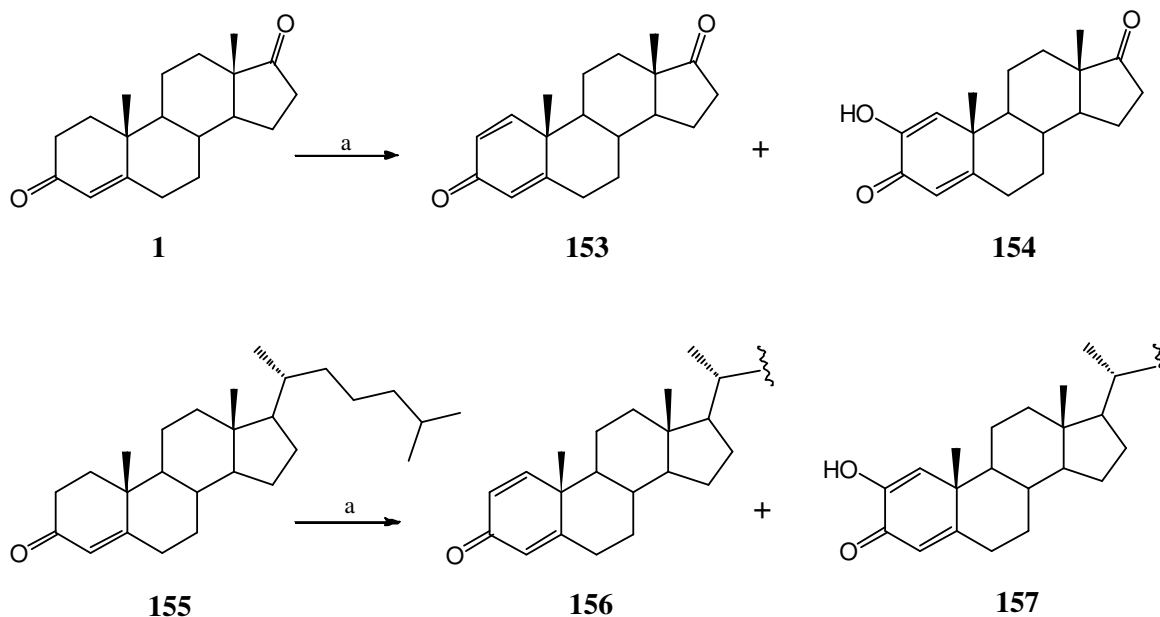
Oksidacija testosterona (**2**) sa selen-dioksidom daje dva proizvoda u odnosu 2:1 (*shema 2.28.*). Glavni proizvod je 6-hidroksitestosteron (**151**), dok je drugo izolovano jedinjenje 2,17β-dihidroksi-1,4-androstadien-3-on (**152**)<sup>153</sup>.



*Shema 2.28.* a) SeO<sub>2</sub>, dioksan.

Ovi rezultati su pokazali da oksidacija sa selen-dioksidom omogućava selektivnu hidroksilaciju u položaju 6 pojedinih 4-en-3-on steroida<sup>153</sup>.

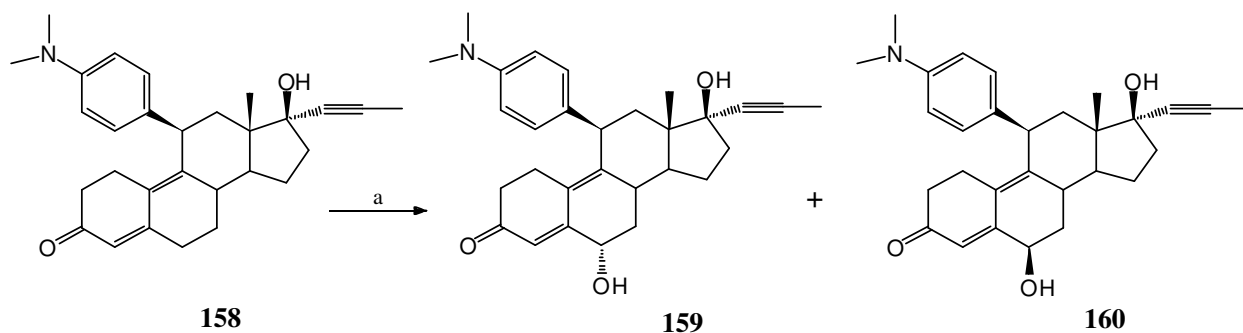
Slično prethodnim autorima, *Ma* i *Choi*<sup>146</sup> su izvršili dehidrogenacije različitih steroidnih 4-en-3-ona sa selen-dioksidom, pri čemu su kao glavne proizvode dobijali odgovarajuće 1,4-dien-3-on (**153** i **156**) i 1,4-dien-3-on-2-ol derivate (**154** i **157**, shema 2.29.).



**Shema 2.29.** a) SeO<sub>2</sub>, dioksan, 80 °C, 18 h.

11β-(4-Dimetilamino-fenil)-17β-hidroksil-17α-(1-propinil)-estra-4,9-dien-3-on (**158**, *Mifepriston*, shema 2.30.) je poznati progesteron receptor antagonist, koji takođe ispoljava i antiglukokortikoidnu aktivnost. Ovaj agens je sa uspehom primenjivan u kontroli plodnosti kod ljudi, obzirom da se koristio za prekid rane trudnoće. Pored toga, mifepriston je pokazao inhibitornu aktivnost u hormon-zavisnom karcinomu dojke, tako da je našao primenu i u tretmanu progesteron-zavisnih tumora<sup>154</sup>.

U cilju sinteze novih antiprogestinskih derivata, *Strommer* i saradnici<sup>154</sup> su oksidovali mifepriston (**158**) selen-dioksidom, kako bi selektivno uveli hidroksilnu grupu u položaj 6 steroidnog skeleta (shema 2.30.).



*Shema 2.30.* a) SeO<sub>2</sub>, dioksan, Ar, 80 °C, 20 h.

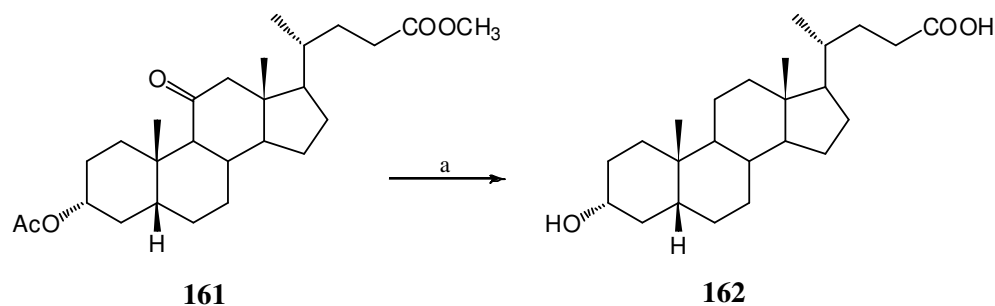
Jedinjenje **158** je oksidovano u dioksanu selen-dioksidom, pri čemu je dobijena smeša dva diastereoizomera, 6 $\alpha$ - i 6 $\beta$ -hidroksimifepristona **159** i **160**, u molaskom odnosu 1:9. Oba derivata su testirana kao potencijalni antiprogestinski agensi prema T47-D ćelijama karcinoma dojke, i mada su ispoljili nešto slabiju aktivnost u odnosu na mifepriston, oni predstavljaju važne biološki aktivne intermedijere u sintezi novih 11-supstituisanih steroida.

## 2.4. Odabrani primeri redukcija karbonilne funkcionalne grupe u steroidnom jezgru

Za redukciju karbonilne funkcionalne grupe kod steroidnih jedinjenja se najčešće koriste *Wolff-Kishner*-ova reakcija, *Clemmensen*-ova reakcija i redukcija pomoću metalnih hidrida.

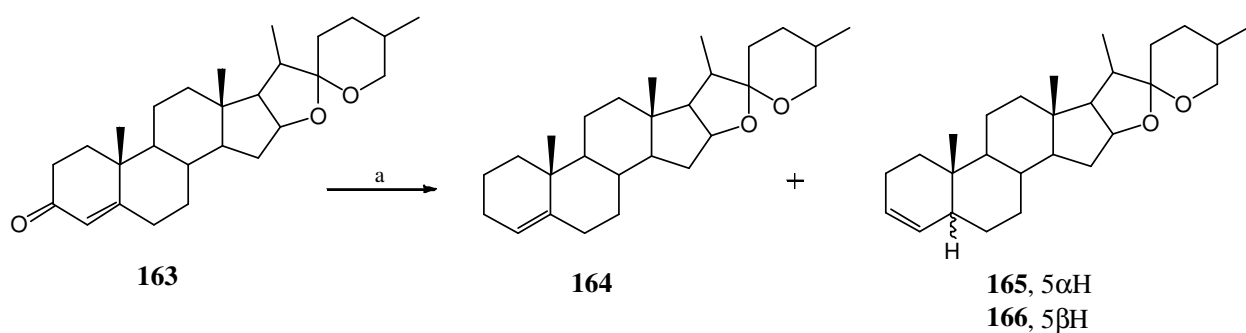
*Wolff-Kishner*-ovom redukcijom se karbonilna funkcionalna grupa, u reakciji sa hidrazinom, prevodi u odgovarajući hidrazon, a zatim se u baznoj sredini formira metilenska funkcija. Za *Wolff-Kishner*-ovu redukciju steroidnih ketona, jedan od prvih primera je bila redukcija 11-ketoholanata **161** do litoholne kiseline **162**, u prisustvu anhidrovanog hidrazina i natrijum metoksida kao jake baze, koju su 1951. godine objavili *Moffett* i *Hunter* (*shema 2.31.*)<sup>155</sup>.





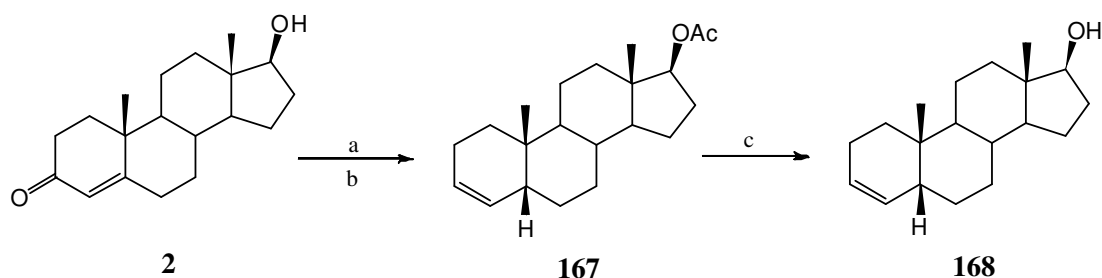
**Shema 2.31.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{MeONa}$ , 200 °C, 16 h.

Djerassi i Fishman<sup>156</sup> su Wolff-Kishner-ovom redukcijom  $\Delta^4$ -22a-spirosten-3-ona (**163**) dobili tri izomerna olefina,  $\Delta^4$ -22a-spirosten (**164**) i dva proizvoda kod kojih je došlo do premeštanja dvostruke veze u  $\Delta^3$  položaj,  $\Delta^3$ -22a,5 $\alpha$ -spirosten (**165**) i  $\Delta^3$ -22a,5 $\beta$ -spirosten (**166**) (shema 2.32.).



**Shema 2.32.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{EtONa}$ , 200 °C, 16 h.

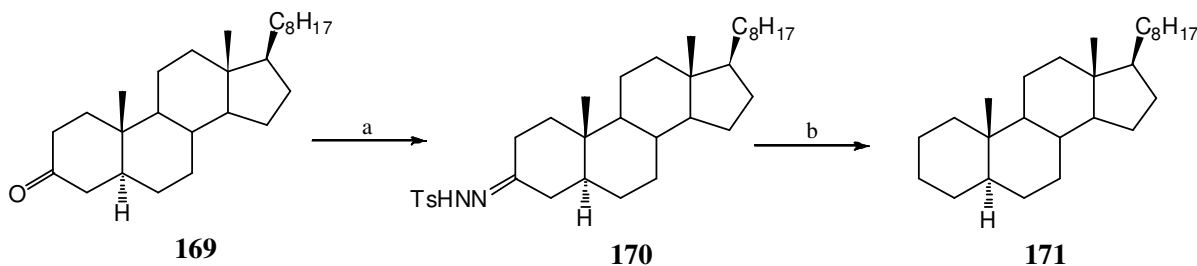
Wolff-Kishner-ovom redukcijom testosterona (**2**) dobijena je kompleksna smeša proizvoda koja se nije mogla razdvojiti hromatografski, tako da je izvršeno acetilovanje ove smeše, a zatim razdvajanje na koloni aluminijum-oksida, pri čemu je dobijen 5 $\beta$ -androst-3-en 17 $\beta$ -acetat **167** (shema 2.33.)<sup>157</sup>. Blagom baznom hidrolizom ovog acetata dobijen je odgovarajući 17 $\beta$ -alkohol **168**.



**Shema 2.33.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ,  $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ ,  $(\text{CH}_2\text{ONa})_2$ ; b)  $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ ; c)  $\text{KOH}$ ,  $\text{MeOH}$ .

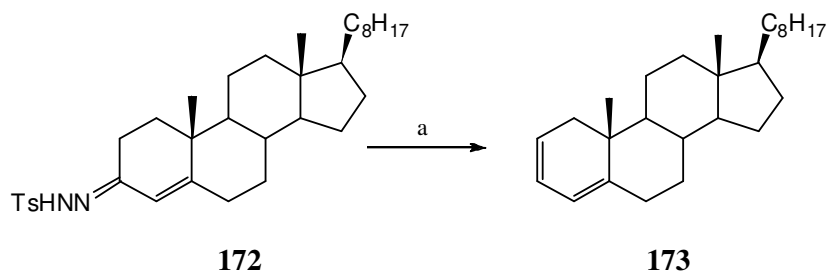
Pošto se *Wolff-Kishner*-ova redukcija ne može primeniti na jedinjenja koja pod baznim uslovima podležu i drugim reakcijama, na ovakvim sistemima se vrši modifikovan postupak redukcije. Redukcija se zasniva na tome da se aldehidi i ketoni prevedu u odgovarajuće arilsulfonske-hidrazonske derivate, a zatim redukuju metalnim hidridima do metilenskih derivata, pri blagim uslovima<sup>158</sup>.

Za redukciju tozilhidrazona može se upotrebiti i litijum-aluminijum-hidrid, međutim korišćenjem ovog reagensa često dolazi do nastajanja sporednih proizvoda. Kao pogodnija metoda se pokazala redukcija steroidnog tozilhidrazona **170** natrijum-bor-hidridom, pri čemu je dobijen redukovani proizvod **171**, a obzirom da je ovaj reagens i selektivniji, prinosi proizvoda su dosta visoki, oko 70-80% (*shema 2.34.*)<sup>159</sup>.



**Shema 2.34.** a)  $\text{TsNHNH}_2$ ,  $\text{MeOH}$ , refluks; b)  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{MeOH}$ , refluks.

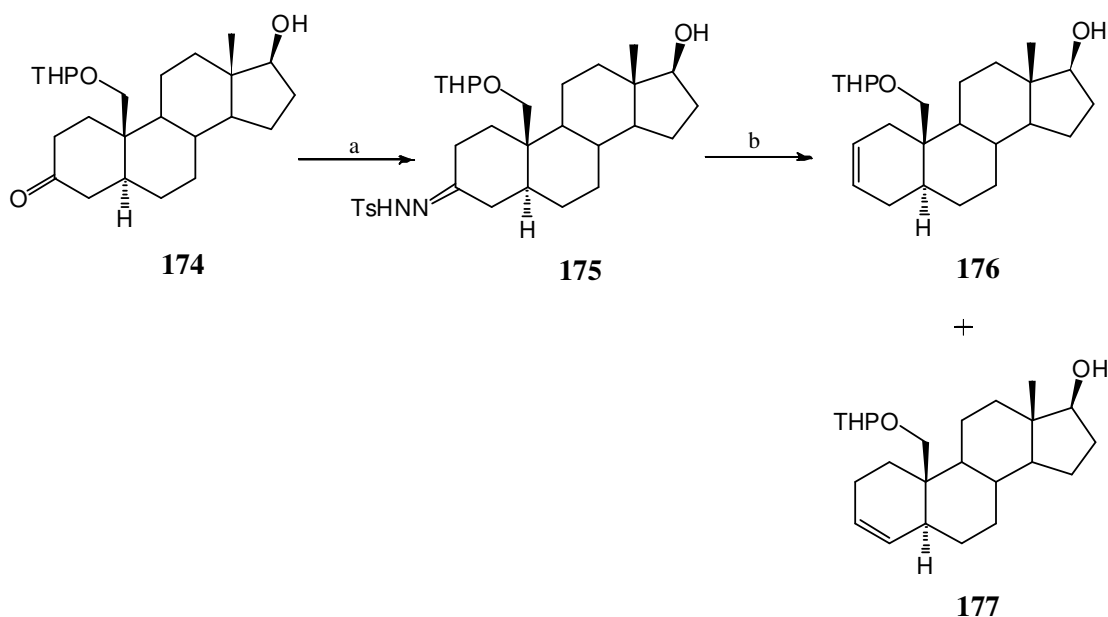
Redukcijom tozilhidrazona  $\alpha,\beta$ -nezasićenih ketona pomoću alkil-litijumovih reagenasa, dobijaju se konjugovani dieni u veoma dobrom prinosu<sup>160</sup>. Tako redukcijom  $\alpha,\beta$ -nezasićenog steroidnog tozilhidrazona **172** metil-litijumom, dobijen je dien **173**, kod kog nije došlo do premeštanja dvostruke veze u A-prstenu (*shema 2.35.*).



*Shema 2.35.* a) MeLi, Et<sub>2</sub>O.

Takođe je utvrđeno da je metil-litijum mnogo efikasniji u odnosu na butil-litijum, u reakcijama sinteze konjugovanih diena.

Još jedan primer reakcije u kojoj se aldehidi ili ketoni prevode u odgovarajuće olefine preko hidrazona kao intermedijera, u prisustvu dva ekvivalenta jake baze, je *Shapiro*-ova reakcija<sup>161</sup>, ili reakcija dekompozicije tozilhidrazona. Autori *Oh* i *Robinson*<sup>162</sup> su u cilju proučavanja mehanizma katalitičkog delovanja, i modela aktivnog centra humane placentalne aromataze, sintetizovali seriju steroidnih olefina. Na *shemi 2.36.* je prikazana sinteza izomernih  $\Delta^2$  i  $\Delta^3$  olefina **176** i **177**.

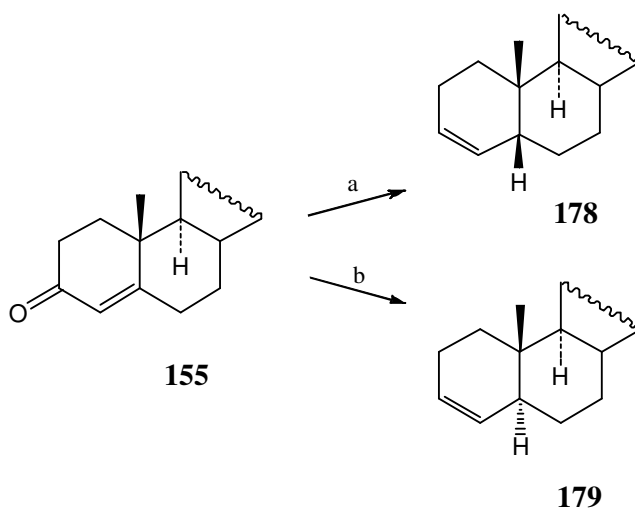


**Shema 2.36.** a)  $\text{TsNHNH}_2$ ,  $\text{H}^+$ , THF-MeOH, 0 °C; b) BuLi, TMEDA, THF, 0 °C.

Smeša regioizomernih olefina **176** i **177** je veoma efikasno dobijena primenom *Shapiro*-ove reakcije, pri čemu je keton **174** transformisan do tozilhidrazona **175**, koji je zatim podvrgnut reakciji dekompozicije. U prisustvu viška butil-litijuma u *N,N,N',N'*-tetrametiletan-1,2-diamin (TMEDA)-THF-u, na 0 °C u toku 3 časa, dobijeni su izomeri **176** i **177** u molaskom odnosu 1.3:1.

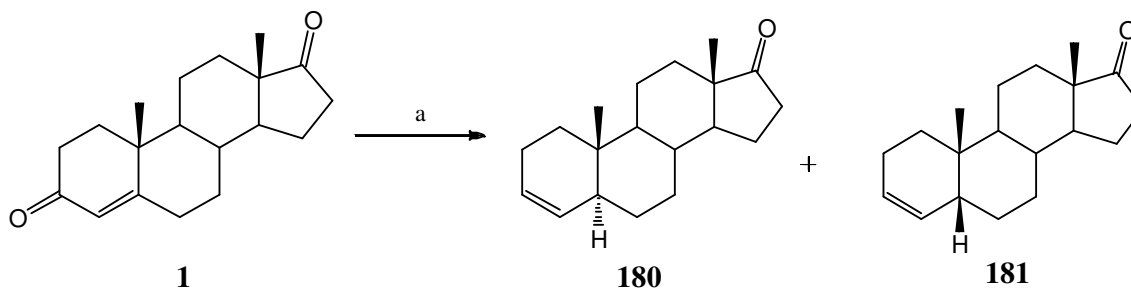
*Clemmensen*-ova<sup>163</sup> redukcija je komplementarna *Wolff-Kishner*-ovoj redukciji, sa tom razlikom što se *Clemmensen*-ova reakcija izvodi u jako kiseljoj sredini u prisustvu cinka. Prema mehanizmu, brzinu ove reakcije određuje adicija cinka na karbonilnu grupu, a zatim preko niza intermedijera nastaje redukovani proizvod. Ključni nedostatak *Clemmensen*-ove redukcije je taj što se redukcija izvodi u veoma kiseljoj sredini, tako da postoji mogućnost odigravanja nepoželjnih sporednih reakcija.

Za holest-4-en-3-on (**155**) je nađeno da podleže *Clemmensen*-ovoj redukciji dajući 5 $\beta$ -holest-3-en (**178**), dok  $\alpha$  izomer nije izolovan (*shema 2.37.*). Prilikom redukcije holest-4-en-3-ona sa velikim viškom cinka u prahu u sirćetnoj kiselini na sobnoj temperaturi, nastaje 5 $\alpha$ -holest-3-en (**179**)<sup>158</sup>.



**Shema 2.37.** a) Zn/HCl; b) Zn/AcOH.

*Cepa* i saradnici<sup>164</sup> su sintetizovali nova jedinjenja **180** i **181** kao potencijalne inhibitore enzima aromataze (shema 2.38.).



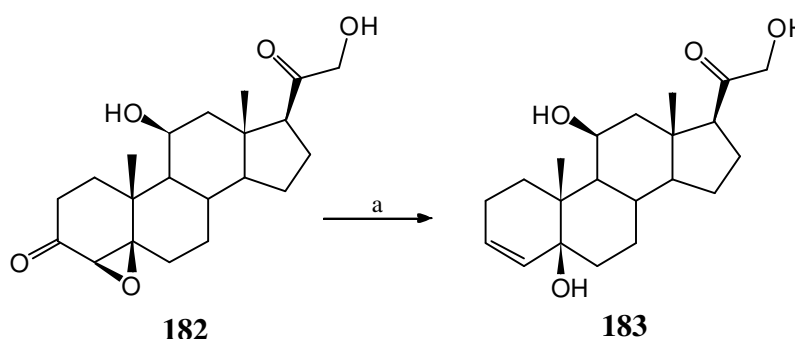
**Shema 2.38.** a) AcOH, Zn u prahu, 118 °C, 15 min.

U ovoj sintezi, androstendion (**1**) je redukovano sa cinkom u sirćetnoj kiselini na 118 °C u toku 15 minuta, pri čemu je nastala smeša epimera 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ -androst-3-en-17-ona (jedinjenja **180** i **181**). Jedinjenje **180** se pokazalo kao dobar inhibitor enzima aromataze (procenat inhibicije 95.9%).

## 2.5. Wharton-ova reakcija

Wharton-ova reakcija<sup>165-168</sup> (ili Wharton-ova transpozicija, Wharton-ovo premeštanje i Wharton-ova redukcija) je transformacija  $\alpha,\beta$ -epoksi ketona, pomoću hidrazina, do alilnih alkohola.

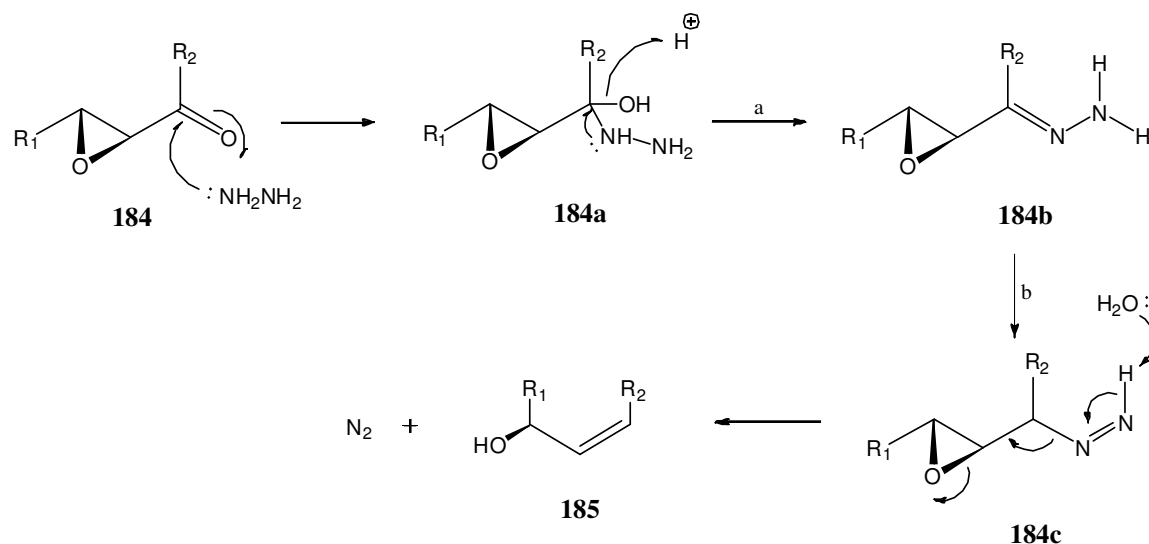
Wharton i Bohlen<sup>169</sup> su 1961. godine izvršili transformaciju 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi koprostanona (**182**) u alilni alkohol **183**, tako što je jedinjenje **182** tretirano sa hidrazin-hidratom (2-3 mola) i sirćetnom kiselinom (0.2 mola) u etanolu (*shema 2.39.*).



*Shema 2.39.* a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ , AcOH, EtOH, refluks, 15 min.

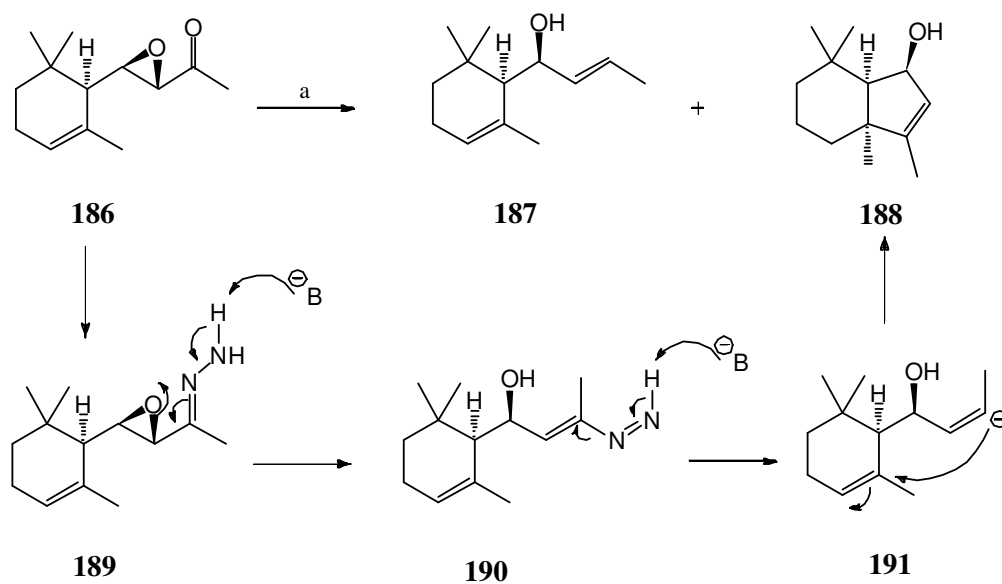
Iste godine Wharton<sup>170</sup> je objavio rad pod naslovom „*Stereospecifična sinteza 6-metil-trans-5-ciklodecenona*“, opisujući korisnost gore pomenute reakcije.

Mehanizam Wharton-ove reakcije je analogan mehanizmu Wolff-Kishner-ove redukcije. Adicijom hidrazina na  $\alpha,\beta$ -epoksi keton **184** nastaje hidroksil-hidrazin **184a** koji dehidratacijom daje intermedijerni hidrazon **184b** (*shema 2.40.*). Tautomerizacijom hidrazona **184b** nastaje diazen **184c**, zajednički intermedijer u Wharton-ovoj i Wolff-Kishner-ovoj redukciji. Za razliku od Wolff-Kishner-ove redukcije, diazen **184c** otvara susedni epoksid, što je praćeno oslobađanjem azota i nastajanjem alilnog alkohola **185**. Razlaganje hidrazona se ubrzava dodatkom baze (npr. NaOH ili  $\text{Et}_3\text{N}$ ). Shodno ovom mehanizmu, alilni alkohol **185** zadržava konfiguraciju  $\alpha,\beta$ -epoksi ketona **184**, što je potvrđeno mnogobrojnim eksperimentalnim podacima.



**Shema 2.40.** a)  $\text{-H}_2\text{O}$ ; b) tautomerizacija.

Ohloff i Uhde<sup>171</sup> su 1970. godine zapazili odstupanje od „normalnog“ toka Wharton-ove reakcije. Kada se olefinski epoksiketon **186** tretira hidrazin-hidratom, ne dobija se samo očekivani alilni alkohol **187**, već se takođe izoluje i biciklični proizvod **188**. Autori pretpostavljaju da oba produkta nastaju preko zajedničkog intermedijera, vinil anjona **191** (shema 2.41.).

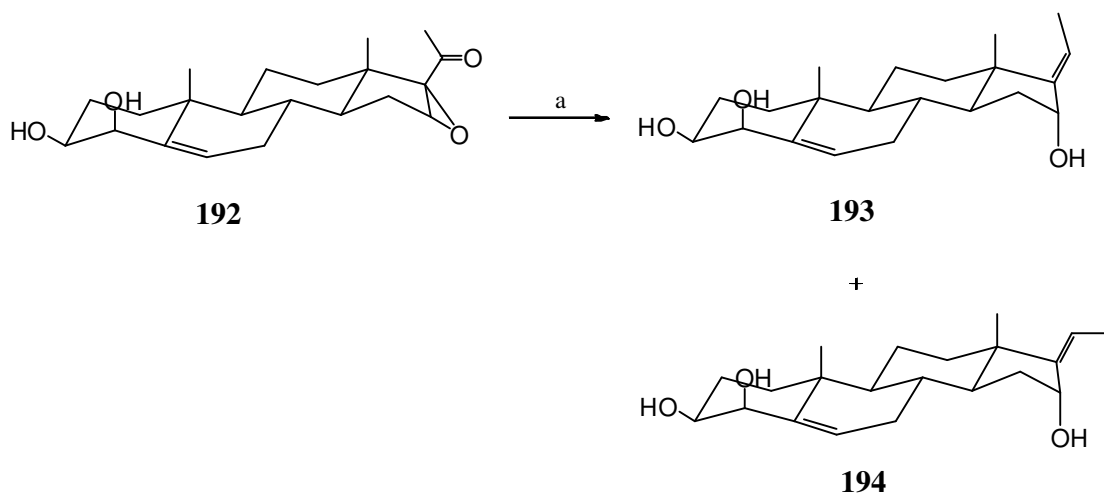


**Shema 2.41.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , ROH, 0 °C.

Međutim, *Stork* i *Williard*<sup>172</sup> su dalje proučavali ovu reakciju, i nisu prihvatili teoriju o vinilnom karbanjonu **191** kao intermedijeru, jer takav anjon ne bi mogao da se održi u medijumu kao što je metanol, te nije za očekivati da reaguje sa neaktivnim tri-supstituisanim olefinom.

*Dupuy* i *Luche*<sup>166</sup> su 1989. godine poboljšali *Wharton*-ovu reakciju. Oni su otkrili da se tretiranjem jedinjenja **186** hidrazin-hidratom (2 mola) i sirćetnom kiselinom (0.1 mol) u dihlormetanu, dobija odgovarajući epoksihidrazon **189** u približno kvantitativnom prinosu. Pored toga, otkrili su i da se tretiranjem čistim hidrazinom dobijaju bolji prinosi nego tretiranjem hidrazin-hidratom.

*Di Filippo* i saradnici<sup>173</sup> su proučavajući novi sintetski put za dobijanje poznatih citotoksičnih steroidnih agenasa (*E*- i *Z*-volkendusina (**144** i **145**, shema 2.25.)<sup>149</sup>, transformisali keto epoksid **192**, *Wharton*-ovom reakcijom pri baznim reakcionim uslovima, u smešu izomernih alilnih alkohola **193** i **194**, u prinosu od 64% (molski odnos 91:9), koji se nisu mogli razdvojiti (shema 2.42.).



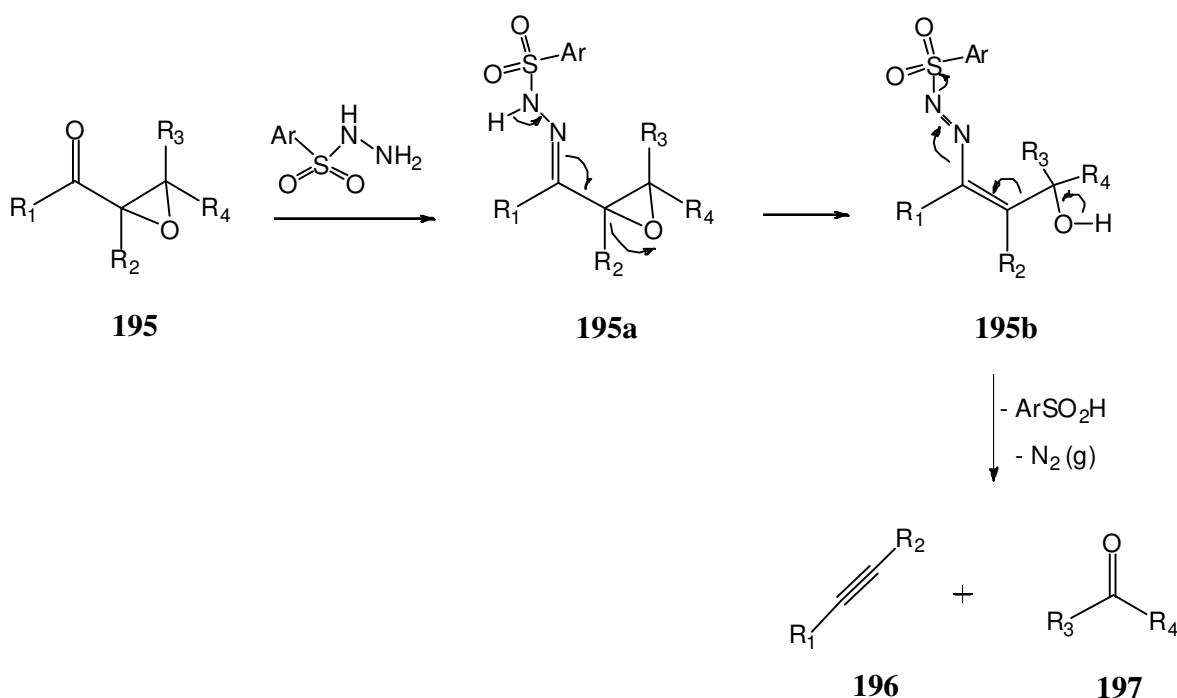
**Shema 2.42.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ , KOH, refluks.



## 2.6. Eschenmoser-ova fragmentacija steroidnog jezgra

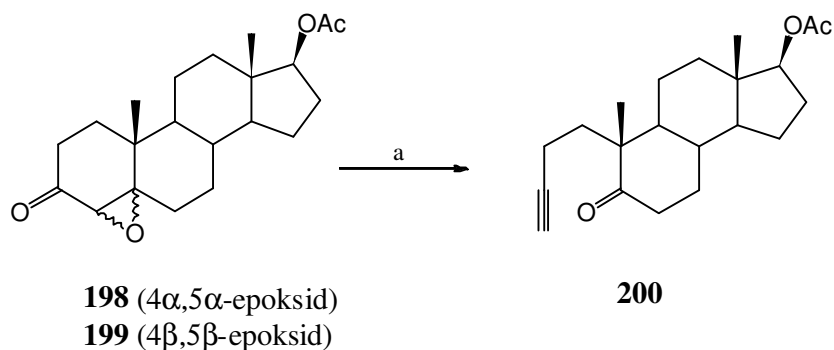
Eschenmoser-ova fragmentacija<sup>174-176</sup> je objavljena 1967. godine, a predstavlja reakciju  $\alpha,\beta$ -epoksi ketona sa aril-sulfonilhidrazinom, pri čemu nastaju alkin i karbonilno jedinjenje. Iste godine, Tanabe i saradnici<sup>177</sup> su objavili rezultate podudarne sa Eschenmoser-ovim, tako da se ova reakcija u literaturi najčešće nalazi pod imenom Eschenmoser-Tanabe-ova fragmentacija.

Prema mehanizmu, ova reakcija može da se podvede pod fragmentaciju Grob-ovog tipa. Reakcija počinje kondenzacijom  $\alpha,\beta$ -epoksi ketona **195** sa aril-sulfonilhidrazinom, pri čemu se formira intermedijerni hidrazon **195a** (shema 2.43.)<sup>178</sup>. Ovaj hidrazon može biti dalje ili protonovan na epoksidnom kiseoniku, ili deprotonovan na sulfonamidnom azotu, u zavisnosti od toga da li se za iniciranje fragmentacije koristi kiseli ili bazni katalizator. Najčešće se reakcija izvodi tretiranjem sa sirćetnom kiselinom u metilen-hloridu, pri čemu se vrši transfer protona i formiranje intermedijera **195b**, koji se zatim brzo fragmentiše do alkina **196** i odgovarajućeg karbonilnog jedinjenja **197**.



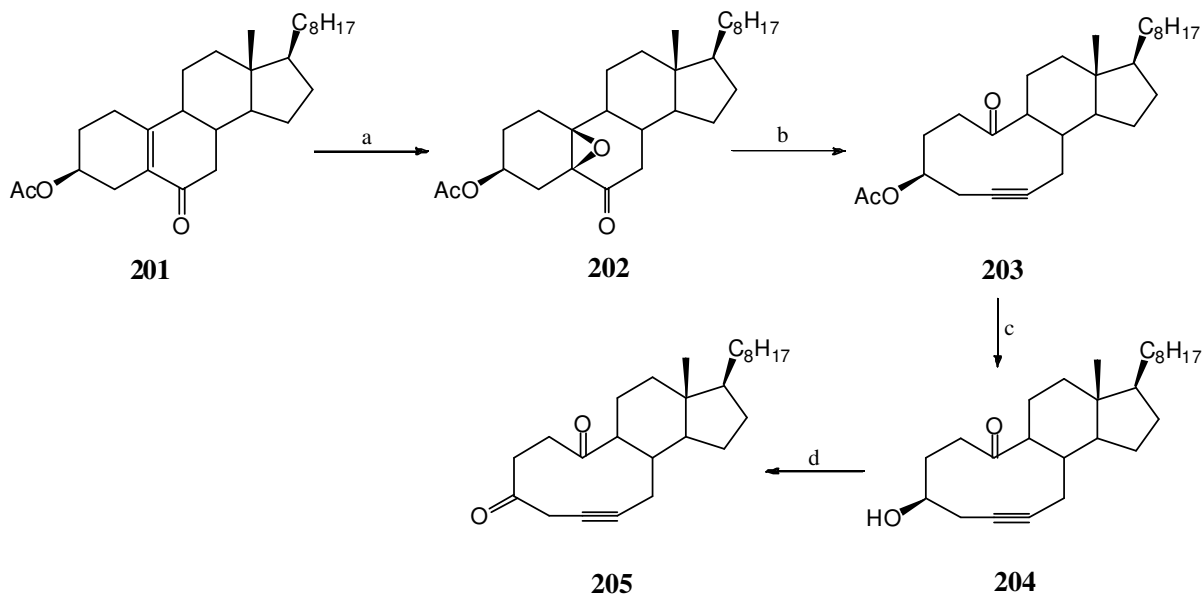
Shema 2.43. Mehanizam Eschenmoser-ove fragmentacije

Primena *Eschenmoser*-ove reakcije za fragmentaciju steroidnih  $\alpha,\beta$ -epoksi ketona predstavlja veoma pogodnu metodu za degradaciju A prstena kod steroida. Tako u reakciji smeše  $4\alpha,5\alpha$ - i  $4\beta,5\beta$ -epoksiandrostan-3-ona (**198** i **199**) sa *p*-tozilhidrazinom u prisustvu sirćetne kiseline, dobijen je 4,5-seko-derivat **200** (*shema 2.44.*)<sup>179</sup>.



**Shema 2.44.** a) TsNHNH<sub>2</sub>, AcOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, s.t.

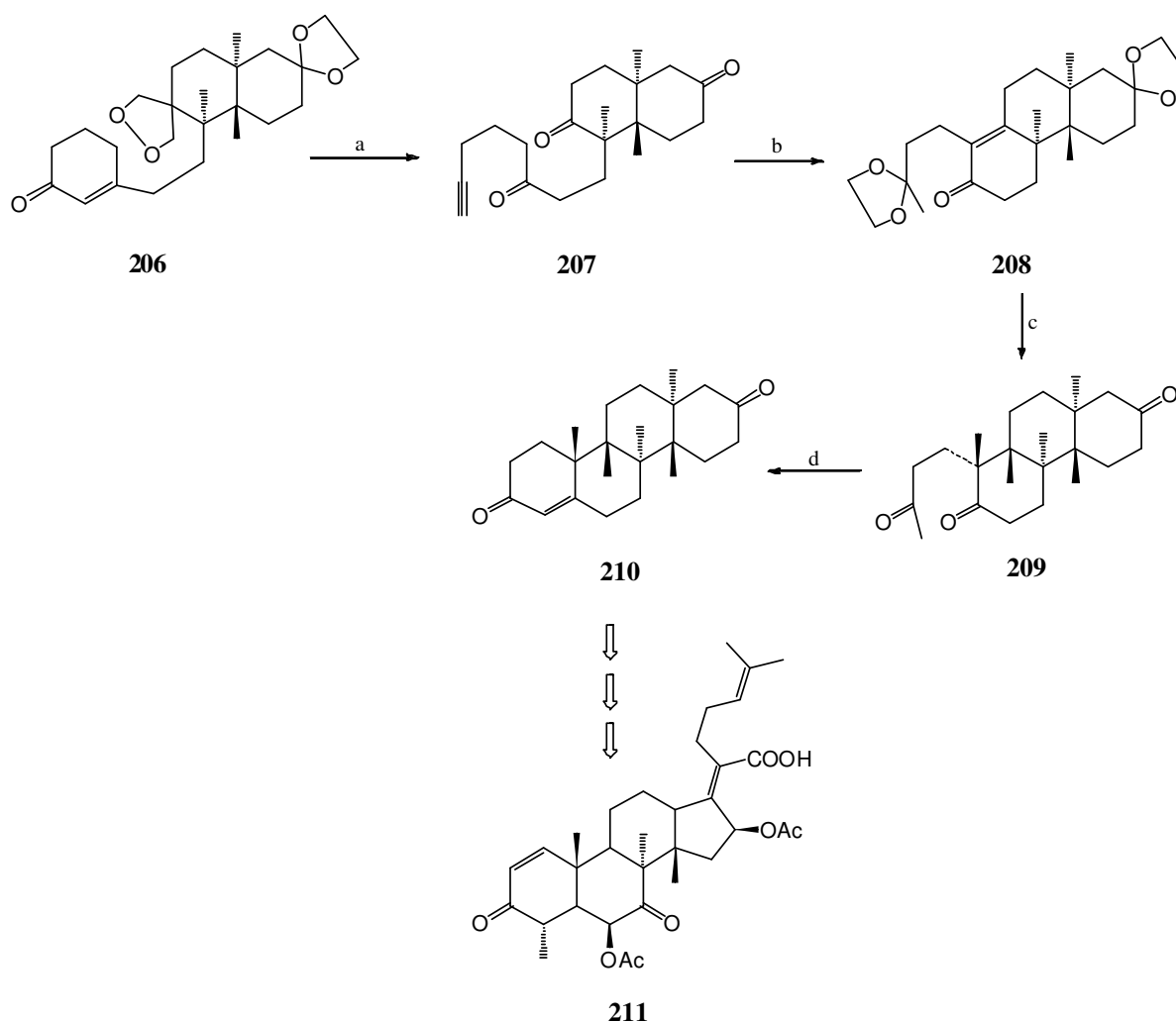
Veoma interesantan primer upotrebe *Eschenmoser*-ove reakcije je i sinteza  $\beta,\gamma$ -acetilenskog 5,10-seko-3-keto steroida **205** (*shema 2.45.*)<sup>180</sup>.



**Shema 2.45.** a) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOH, MeOH-CHCl<sub>3</sub>, s.t., 5 h; b) TsNHNH<sub>2</sub>, AcOH, CHCl<sub>3</sub>, s.t., 5 h; c) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, refluks, 2 h; d) *Jones*-ov reagens, acetone, s.t., 10 min.

Ključna faza sinteze je upravo *Eschenmoser-Tanabe*-ova fragmentacija 5 $\beta$ ,10 $\beta$ -epoksi-6-ketona **202**, dobijenog epoksidacijom  $\Delta^{5(10)}$ -6-keto intermedijera **201**, pri čemu je dobijen 5,10-seko steroid **203**, koji je u narednoj fazi reakcije podvrgnut baznoj hidrolizi 3 $\beta$ -acetoksi funkcije do 3 $\beta$ -hidroksilne grupe (jedinjenje **204**). Finalna etapa obuhvata oksidaciju 3 $\beta$ -OH funkcije *Jones*-ovim reagensom, uz formiranje željenog 5-acetilen 3,10-diona **205**.

Sa ciljem sinteze steroidnih antibiotika, *Ireland* i saradnici<sup>181</sup> su polazeći od nesteroidnog jedinjenja sintetisali tetraciklični derivat **210**, koji predstavlja intermedijer u sintezi antibiotika - *helvoinske kiseline* (**211**, shema 2.46.).



**Shema 2.46.** a)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , NaOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C;  $\text{R}_2\text{NNH}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\Delta$ ;  $\text{H}_3\text{O}^+$ ; b) KOH,  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH;  $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6$ , *p*-TsOH; 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , MeOH;  $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6$ , *p*-TsOH; c) Li,  $\text{NH}_3$ , THF,  $\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CH}_3\text{I}$ ;  $\text{H}_3\text{O}^+$ ; d) KOH,  $\text{H}_2\text{O}$ -MeOH.

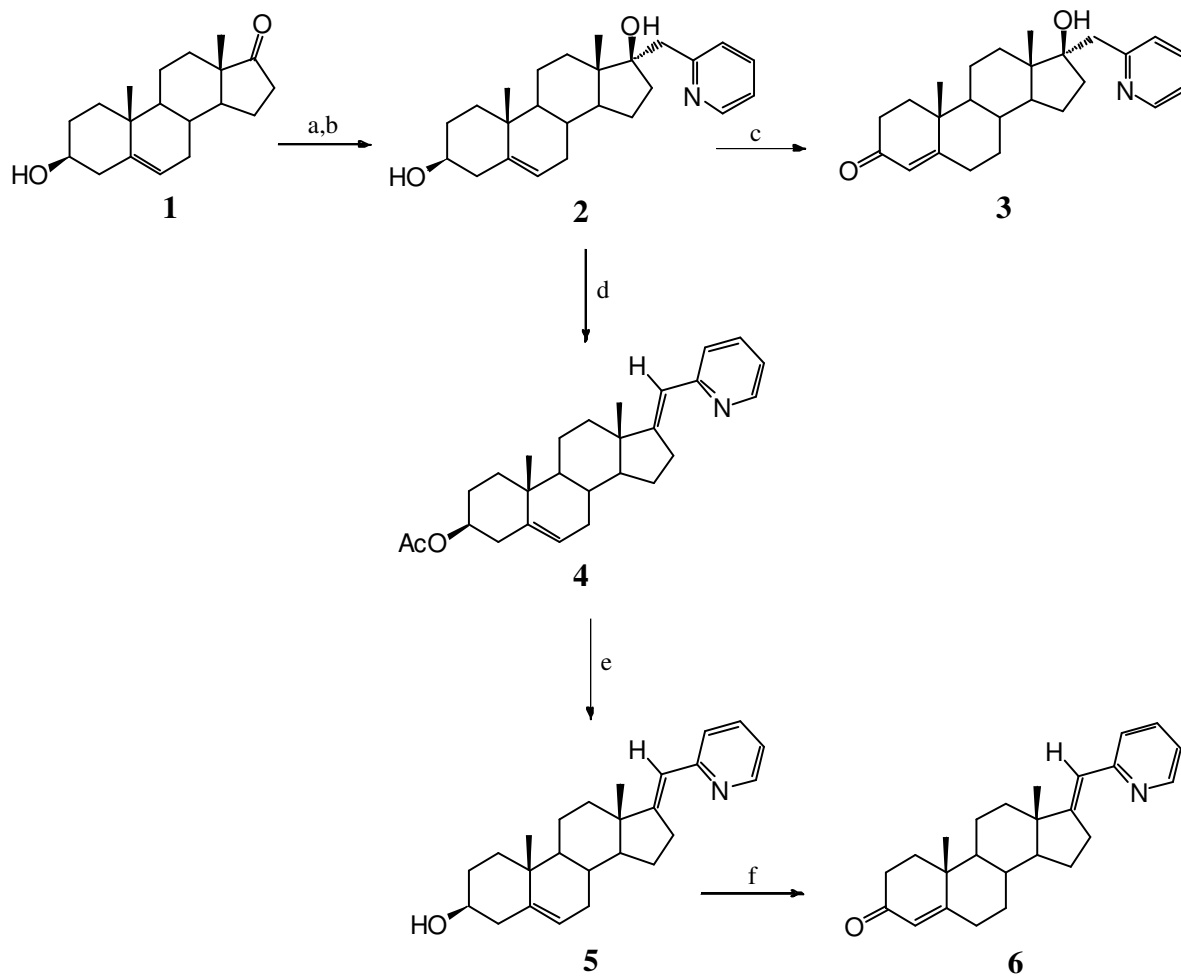
U ovoj složenoj višefaznoj sintezi, prvi korak je *Eschenmoser*-ova fragmentacija epoksi derivata enona **206** pomoću aminodifenilaziridina, pri čemu je nastao acetilenski intermedijer **207**. Nakon aldolne kondenzacije, kojom je zatvoren B prsten, hidrolize terminalne acetilenske funkcije i selektivne zaštite dve keto grupe, dobijen je  $\alpha,\beta$ -nezasićeni keto derivat **208**. Dalja modifikacija obuhvata reduktivno metilovanje i aldolnu kondenzaciju, čime je zatvoren A prsten, uz formiranje tetracikličnog intermedijera **210**.

### **3. REZULTATI I DISKUSIJA**

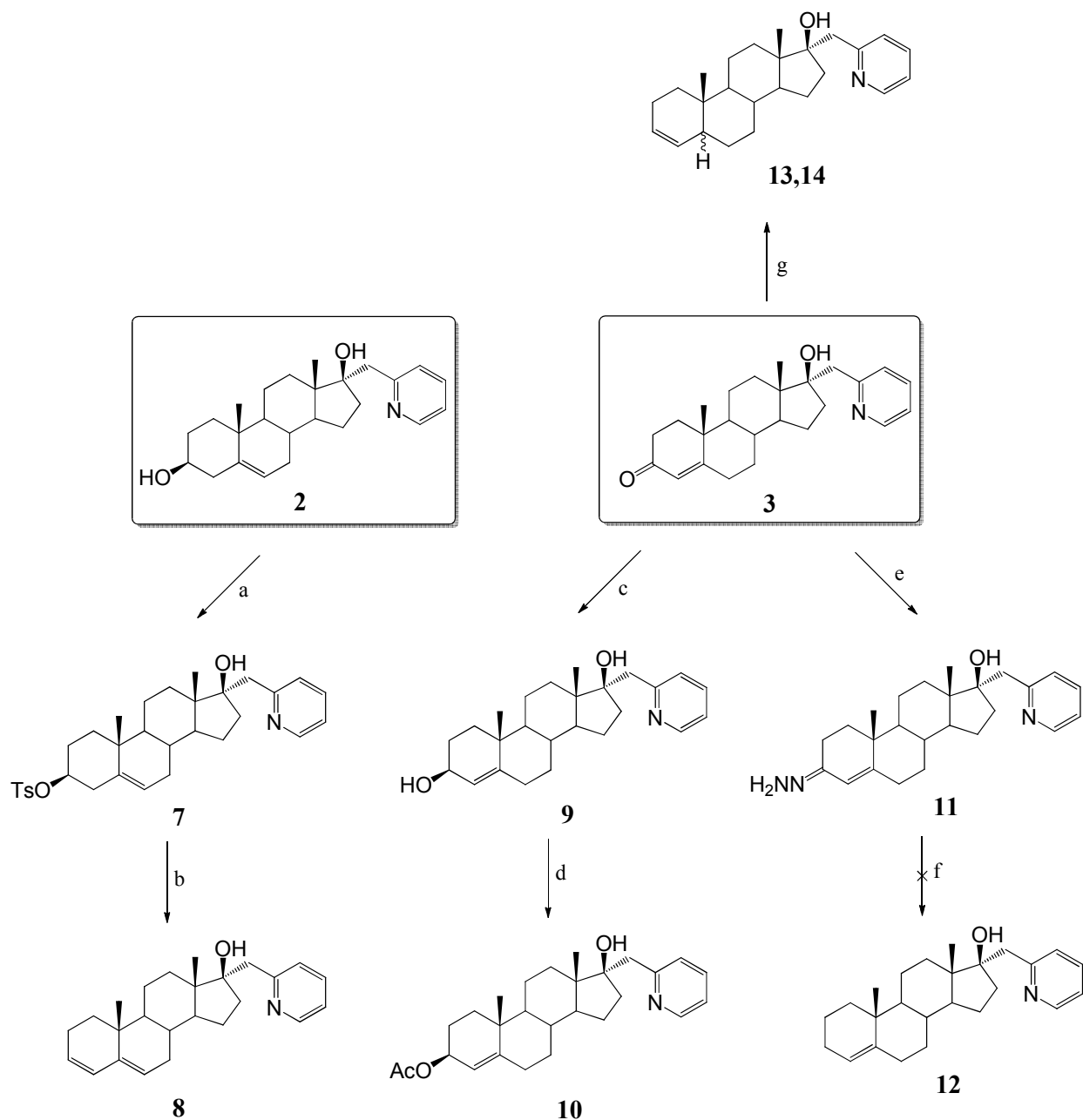
Kao što je već izloženo u *Opštem delu* ovog rada, androstanski derivati se primenjuju u medicini kao anabolici, antiinflamatorni i antimikrobni agensi, zatim u terapiji osteoporoze, autoimunih bolesti, a naročito u tretmanu brojnih hormon zavisnih oboljenja, kao što su karcinom dojke, prostate, ovarijuma, karcinom cerviksa, zatim hirsutizam i benigna hiperplazija prostate. Utvrđeno je da se uvođenjem heteroatoma u steroidno jezgro poboljšava biološka aktivnost jedinjenja i da dolazi do pojave novih bioloških i farmakoloških svojstava. Heterociklični sistem sa azotovim atomom se pokazao kao strukturna karakteristika koja utiče na poboljšanje biološke aktivnosti steroida, pa su stoga istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bila usmerena ka sintezi novih androstanskih derivata koji sadrže 17-pikolil ili 17-pikolinilidenski supstituent. Planirano je da se izvrše transformacije u A i B prstenu steroidnog jezgra, pri čemu su sintetisana jedinjenja koja pored heterocikličnog sistema sadrže i 3-keto i 6-keto funkciju, 3-acetoksi, 3-, 4- ili 5-hidroksi grupu, 2-hidroksimetilensku, 2- ili 3-hidroksimino, 2,4-dihidroksimino funkcije, zatim A-seko sistem, A-homo laktamsku funkciju, A-kondenzovani piridinski prsten kao i 3-en, 3,5-dien i 4,6-diensku funkciju.

Cilj istraživanja je pre svega sinteza novih potencijalnih selektivnih antitumorskih agenasa, i ispitivanje njihove antiproliferativne aktivnosti *in vitro*, odnosno da se novosintetizovana jedinjenja ispituju prema odabranim humanim ćelijskim linijama kancera, kao i prema zdravoj ćelijskoj liniji.

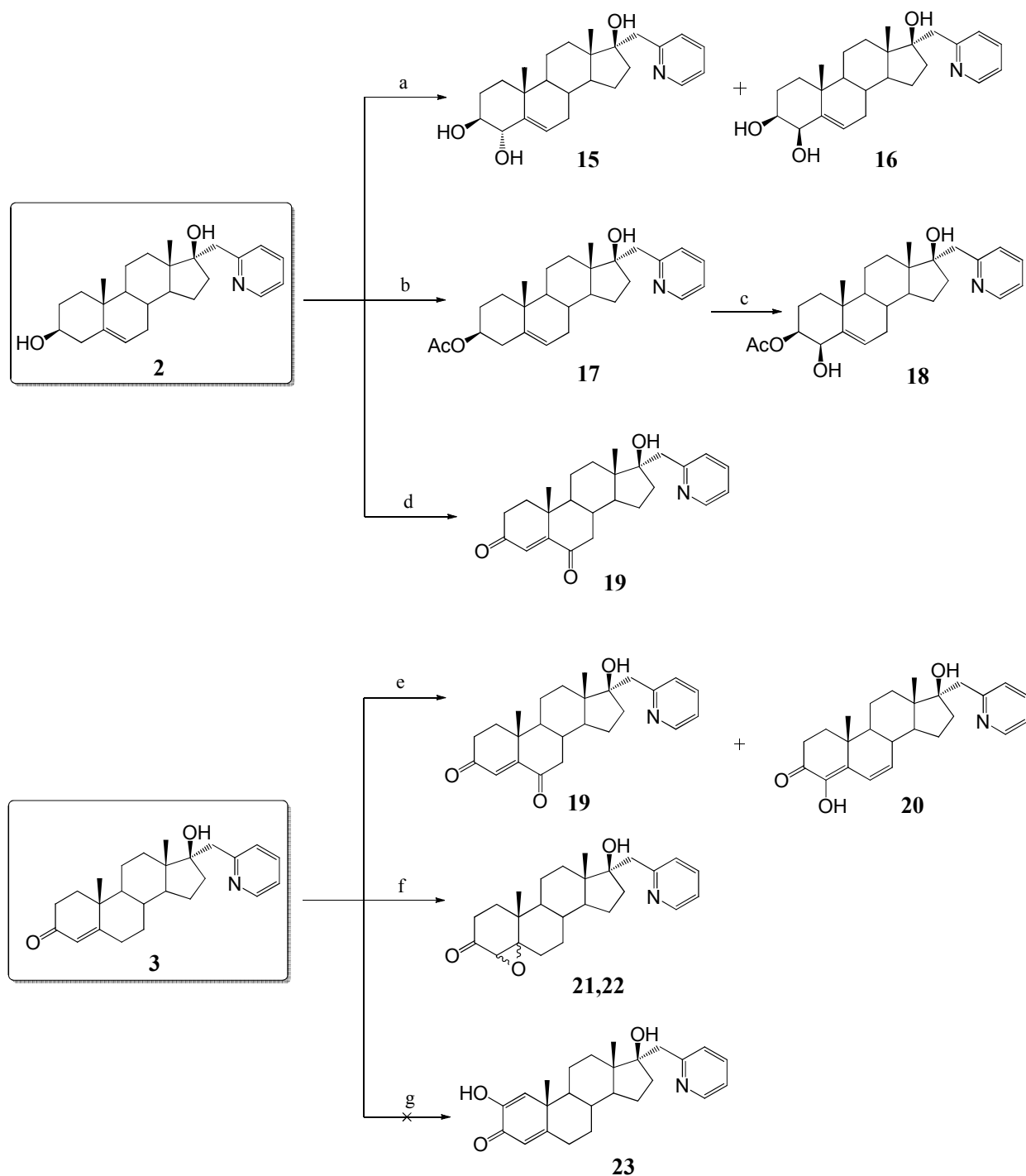
U prvoj fazi je izvršena sinteza polaznih 17-pikolil i 17-pikoliniliden androstanskih derivata. Kao polazno jedinjenje u ovim sintezama upotrebljen je dehidroepiandrosteron (**1**, DA), a na *shemama 3.1.-3.8.* je dat pregled svih sintetizovanih jedinjenja.



**Shema 3.1.** a)  $\alpha$ -PyCH<sub>2</sub>Li, THF, s.t., 6 h; b) H<sub>2</sub>O; c) cikloheksanon, Al(*t*-BuO)<sub>3</sub>, refluks, 3 h ili cikloheksanon, Al(*t*-BuO)<sub>3</sub>, toluen, kodelilacija, 4 h; d) Ac<sub>2</sub>O, refluks, 6 h; e) KOH, MeOH, refluks, 1 h; f) cikloheksanon, Al(*i*-PrO)<sub>3</sub>, refluks, 4 h ili cikloheksanon, Al(*t*-BuO)<sub>3</sub>, toluen, kodelilacija, 2 h.

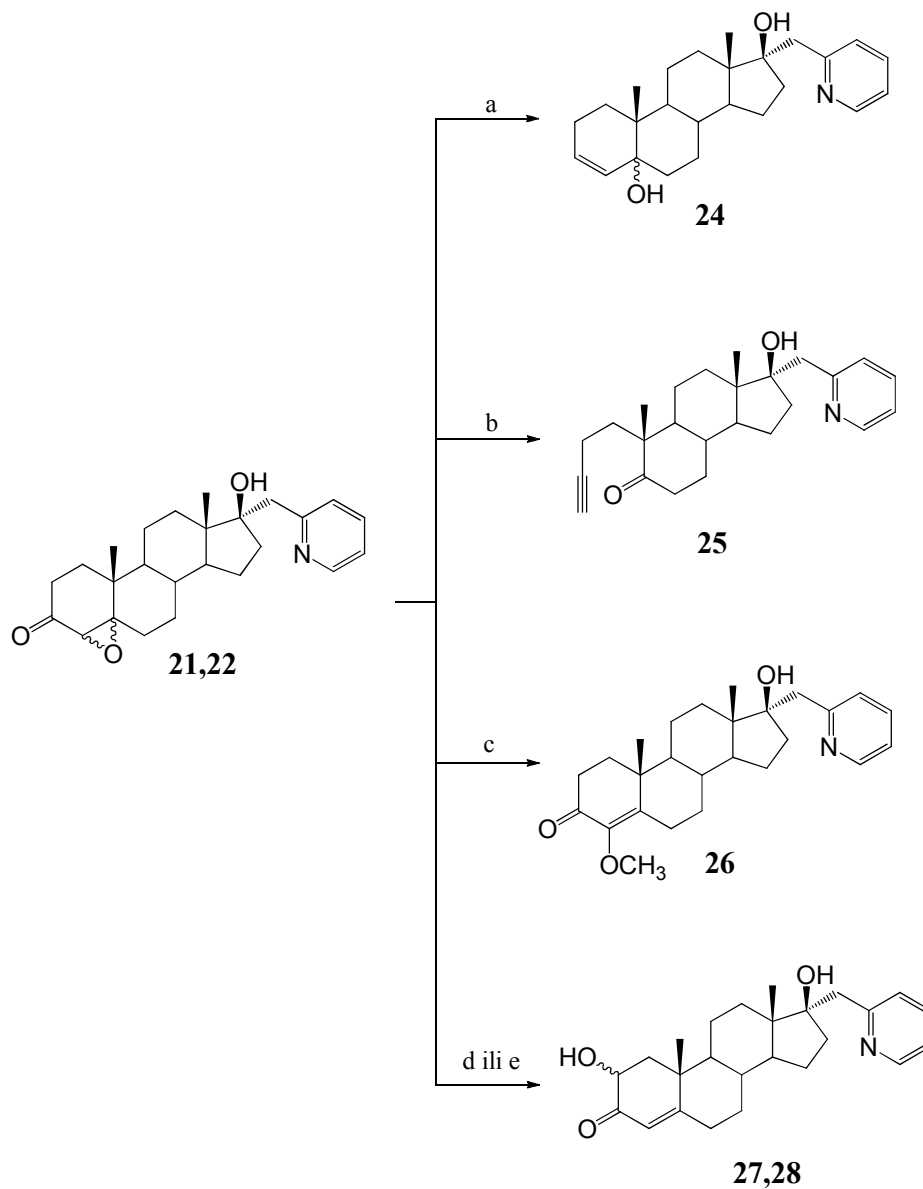


**Shema 3.2.** a) *p*-TsCl, aps. Py, s.t., 45 h; b) bis(2-aminoetil)amin, refluks, 1 h; c) NaBH<sub>4</sub>, aps. EtOH, s.t., 2.5 h; d) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, s.t., 24 h; e) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, MW, 195 °C (170 W), 4 min.; f) (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, KOH, MW, 195 °C (170 W), 10 min.; g) Zn u prahu, AcOH, refluks, 2 h.

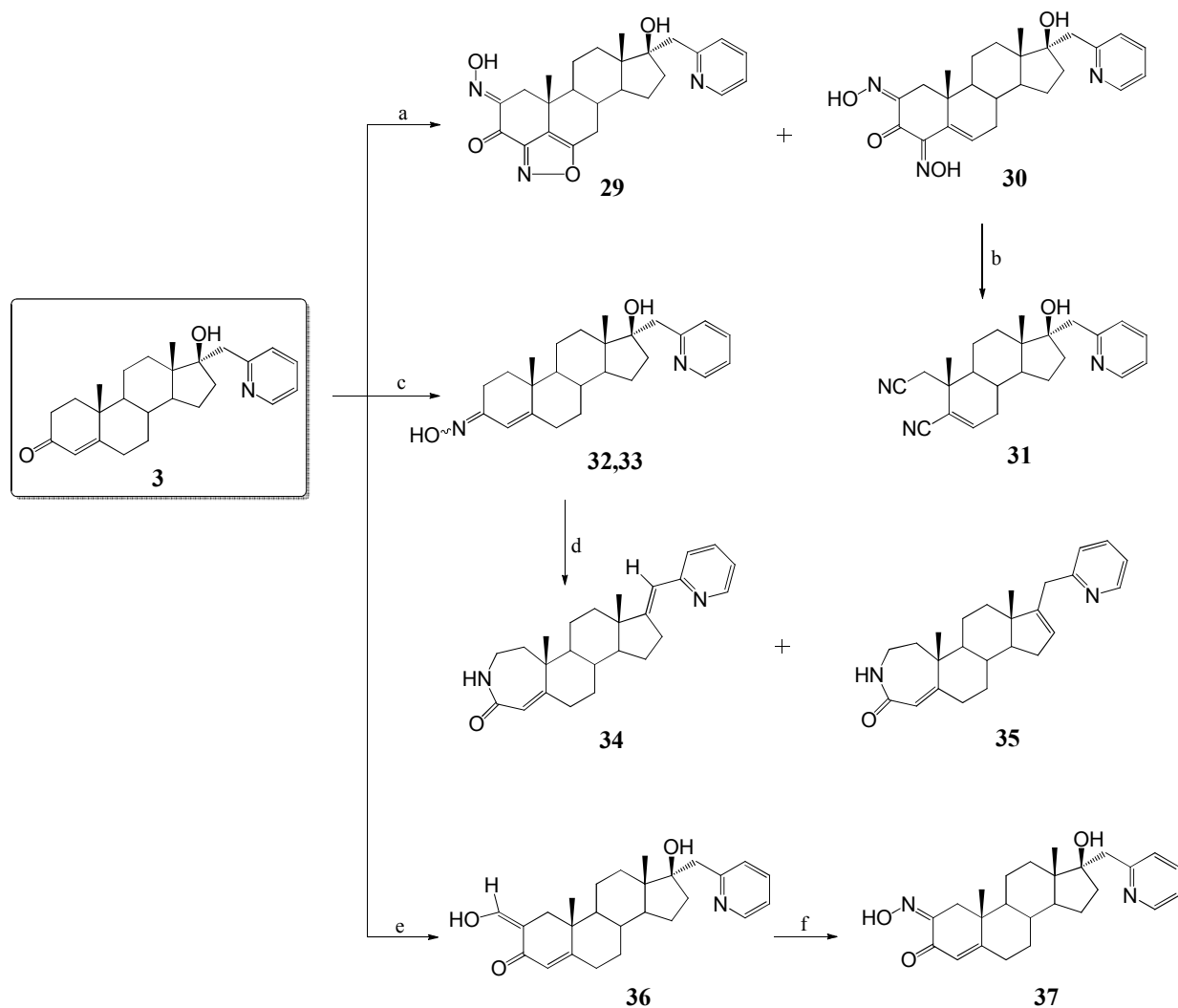


**Shema 3.3.** a)  $\text{SeO}_2$ , dioksan, refluks, 25 h; b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , aps. Py, s.t., 3 h; c)  $\text{SeO}_2$ , dioksan, refluks, 20 h; d) Jones-ov reagens, 0 °C, 1.5 h; e) 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, 45 °C, 3 h; f) 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 4M NaOH, MeOH, 0 °C, 1 h → 10 °C, 24 h; g)  $\text{SeO}_2$ , dioksan, refluks, 3 h.

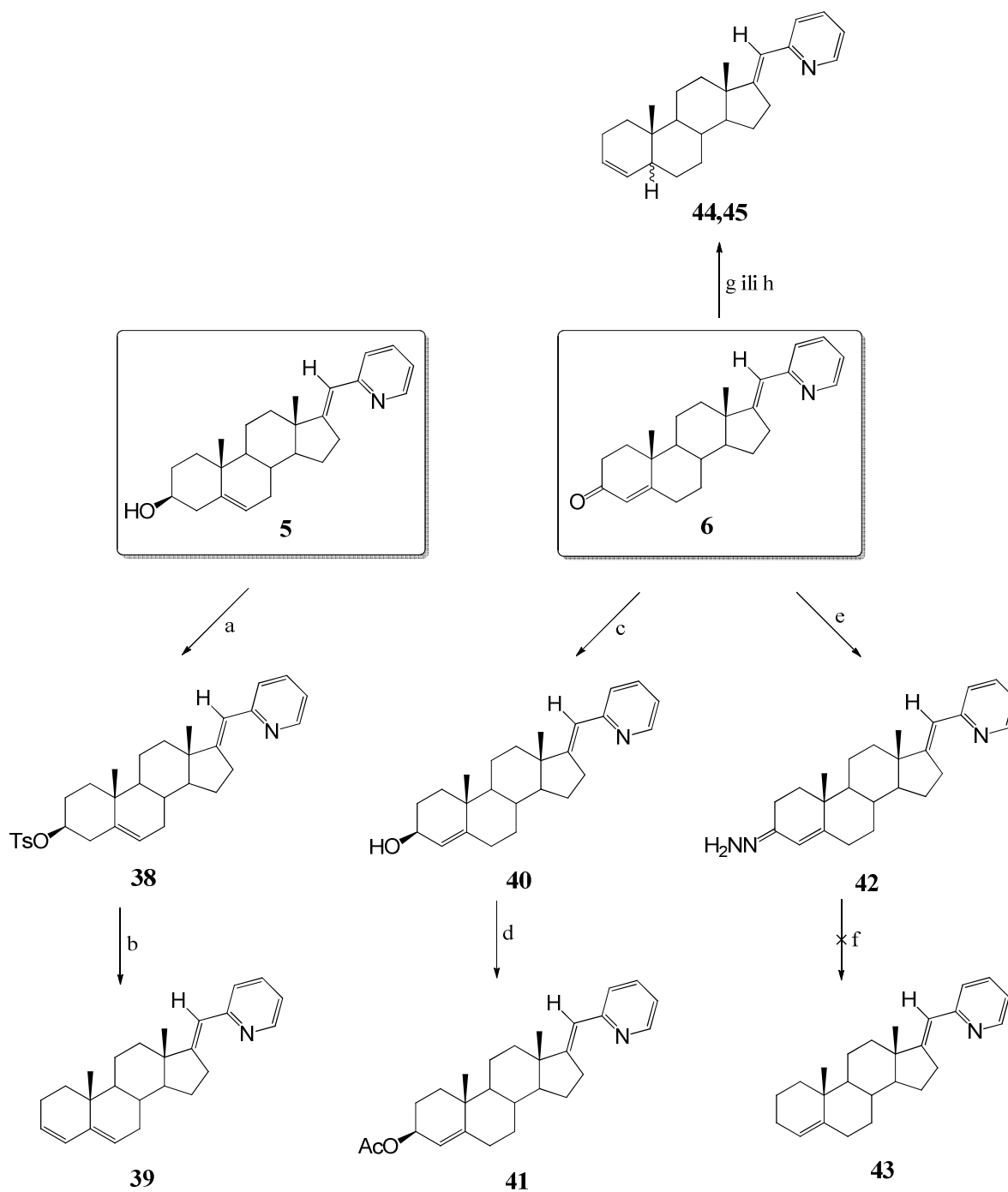




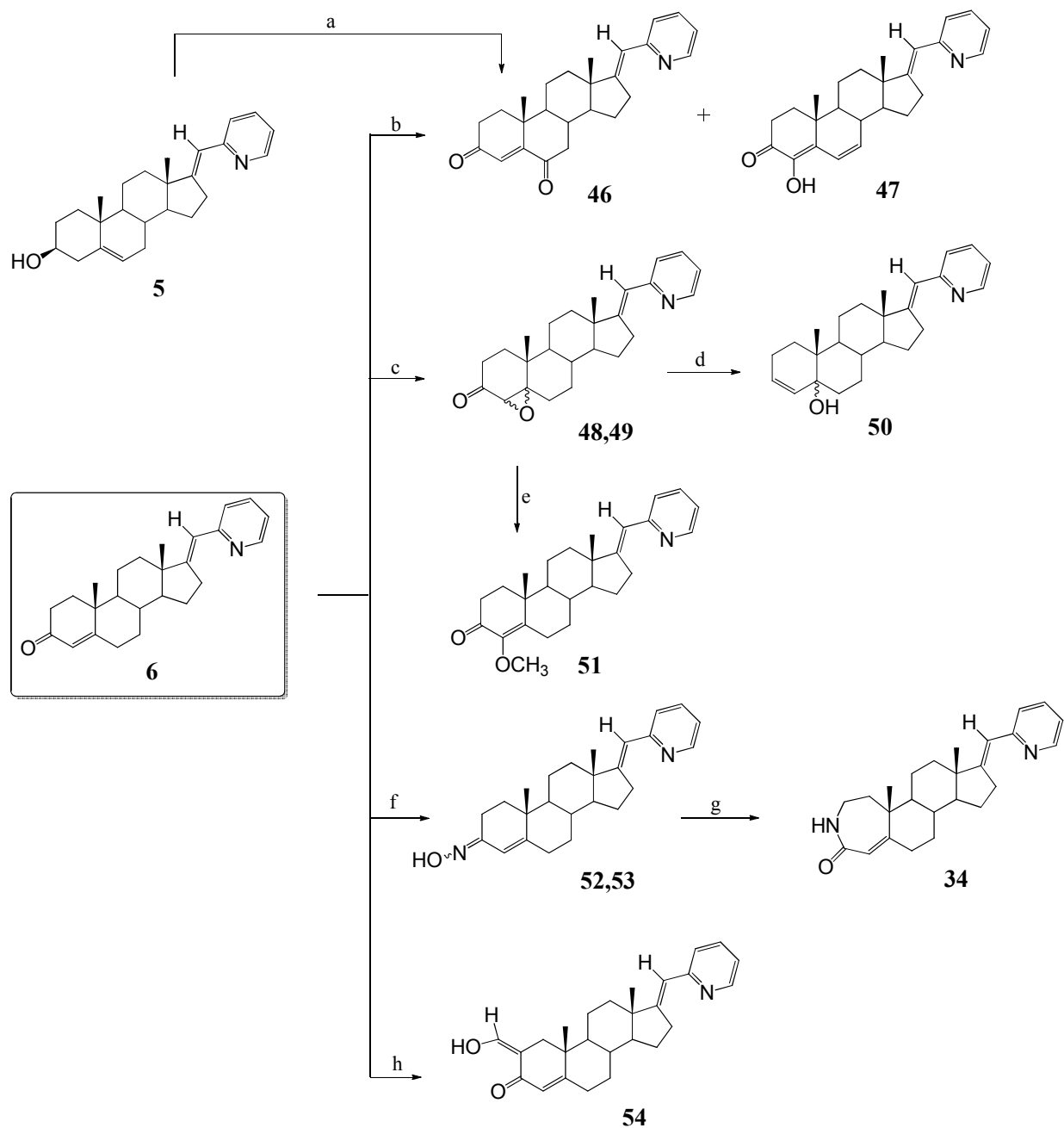
**Shema 3.4.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 120 °C, 30 min.; b)  $\text{TsNHNH}_2$ , 50% EtOH, s.t., 1 h  $\rightarrow$  55 °C, 1 h; c) 4M NaOH, MeOH, refluks, 3.5 h; d)  $\text{HCOOH}$ , refluks, 50 min.; e) 2%  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$ , s.t., 3 h.



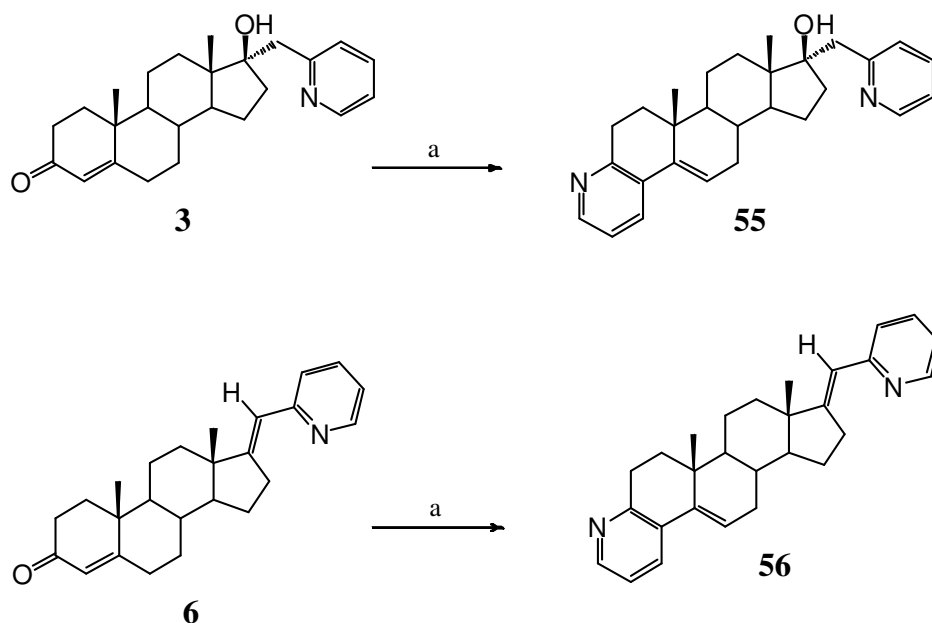
**Shema 3.5.** a) *i*-AmONO, 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 24 h; b) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, s.t., 1.5 h; c) NH<sub>2</sub>OH·HCl, AcONa, 95% EtOH, reflux, 1.5 h; d) SOCl<sub>2</sub>, dioksan, s.t., 1 h; e) HCOOEt, NaH, aps. benzen, Ar, s.t., 2 h; f) 7M NaNO<sub>2</sub>, 95% EtOH, 35% HCl, 0 °C, 45 min.



**Shema 3.6.** a) *p*-TsCl, aps. Py, s.t., 19 h; b) bis(2-aminoetil)amin, refluks, 1 h; c) NaBH<sub>4</sub>, aps. EtOH, s.t., 2 h; d) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, s.t., 24 h; e) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, MW, 195 °C (170 W), 2 min.; f) (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, KOH, MW, 195 °C (170 W), 40 min.; g) Zn u prahu, AcOH, refluks, 2 h; h) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, KOH, MW, 195 °C (170 W), 40 min.



**Shema 3.7.** a) Jones-ov reagens, 0 °C, 1.5 h; b) 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 45 h; c) 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4M NaOH, MeOH, 0 °C, 1 h → 10 °C, 24 h; d) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 120 °C, 30 min.; e) 4M NaOH, MeOH, refluks, 3 h; f) NH<sub>2</sub>OH·HCl, AcONa, 95% EtOH, refluks, 1.5 h; g) SOCl<sub>2</sub>, dioksan, s.t., 2 h; h) HCOOEt, NaH, aps. benzen, Ar, s.t., 2.5 h.



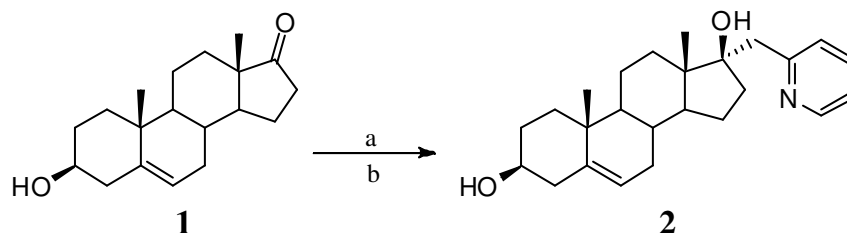
*Shema 3.8.* a) propargilamin,  $\text{Cu}(\text{NO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , aps. EtOH, Ar, refluks, 16 h.

### 3.1. Sinteza 17-supstuisanih derivata androst-5-ena

Osnovni cilj pripreme etape istraživanja odnosi se na dobijanje pogodno funkcionalizovanih derivata androst-5-ena koji predstavljaju sintetičke prekursore za dobijanje novih potencijalno biološki aktivnih jedinjenja.

#### 3.1.1. Sinteza polaznih 17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden derivata 2-6

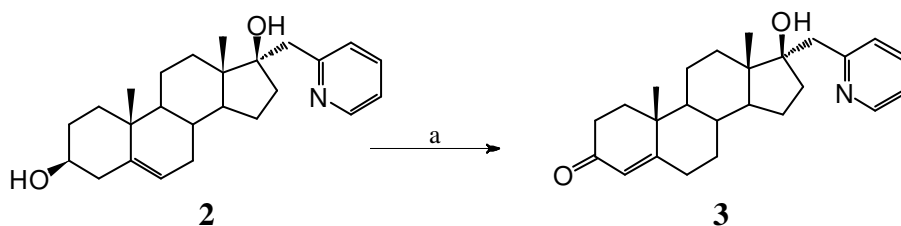
Sinteza ključnog jedinjenja 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diola (**2**)<sup>182,183</sup> izvršena je stereoselektivnom adicijom  $\alpha$ -pikolil-litijuma na 17-keto grupu dehidroepiandrosterona (**1**, DA) (*shema 3.9.*).



**Shema 3.9.** a)  $\alpha$ -PyCH<sub>2</sub>Li, THF, s.t., 6 h; b) H<sub>2</sub>O.

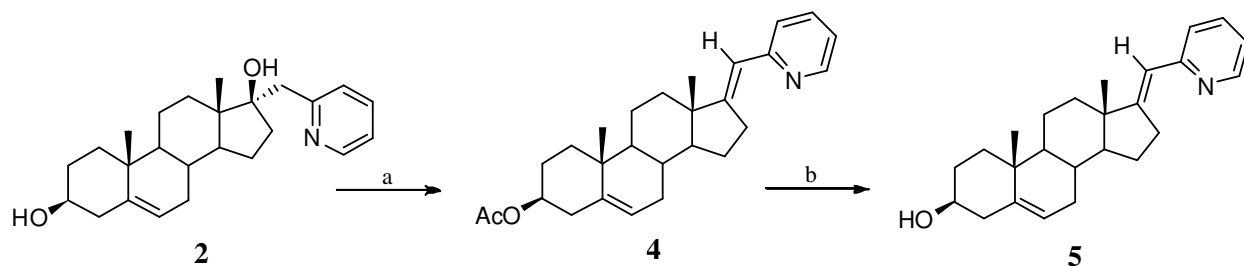
Kako je angularna C<sub>18</sub>-metil grupa  $\beta$ -orijentisana, a C-17 ugljenikov atom se nalazi u neposrednoj blizini ove grupe,  $\alpha$ -pikolil-litijum se, kao nukleofil, adira sa sterno manje zaštićene  $\alpha$ -strane. Podesan preparativni postupak za dobijanje  $\alpha$ -pikolil-litijuma poznat je u literaturi<sup>184</sup>.

*Oppenauer*-ovom oksidacijom 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diola (**2**) sa cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*tert*-butoksida, uz refluks u toku 3 časa, dobijen je 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**)<sup>185</sup>, u prinosu od 40%. Takođe, *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **2** sa cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*izo*-propoksida u toluenu, uz koodestilaciju u toku 4 časa, dobijeno je jedinjenje **3** u prinosu od 60% (*shema 3.10.*).



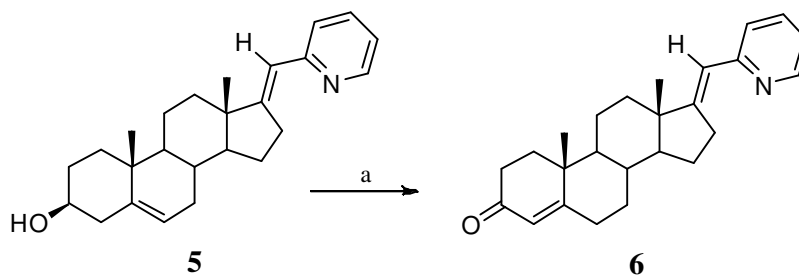
**Shema 3.10.** a) cikloheksanon, Al(*t*-BuO)<sub>3</sub>, refluks, 3 h ili cikloheksanon, Al(*i*-PrO)<sub>3</sub>, toluen, koodestilacija, 4 h.

U narednoj fazi, jedinjenje **2** je u reakciji sa acet-anhidridom, uz refluks u toku 6 časova, prevedeno u 17(*E*)-pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (**4**)<sup>182,183</sup>. Zatim je izvršena hidroliza 3 $\beta$ -acetoksi funkcije u jedinjenju **4**, sa KOH u apsolutnom metanolu uz refluks u toku 1 časa, pri čemu je dobijen 17(*E*)-pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol (**5**, *shema 3.11.*)<sup>185</sup>.



**Shema 3.11.** a)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , refluks, 6 h; b)  $\text{KOH}$ , aps.  $\text{MeOH}$ , refluks, 1 h.

Nakon toga, jedinjenje **5** je *Oppenauer*-ovom oksidacijom sa cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*izo*-propoksida, uz refluks u toku 4 časa, dalo 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**)<sup>185</sup>, u prinosu od 89%. Kada je *Oppenauer*-ova oksidacija jedinjenja **5** izvedena sa cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*izo*-propoksida u toluenu, uz kodestilaciju u toku 2 časa, dobijeno je jedinjenje **6** u prinosu od 77% (*shema 3.12.*).



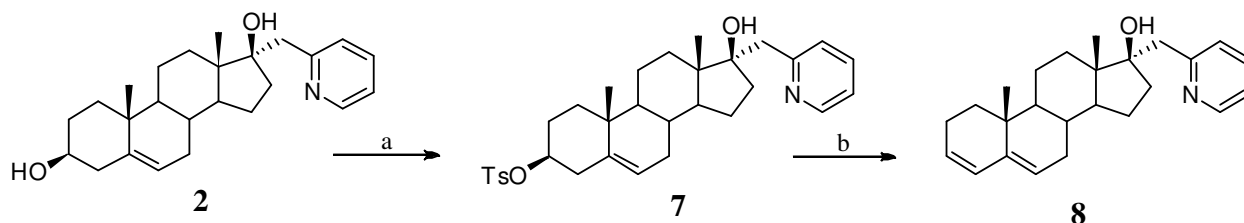
**Shema 3.12.** a) cikloheksanon,  $\text{Al}(i\text{-PrO})_3$ , refluks, 4 h ili cikloheksanon,  $\text{Al}(t\text{-BuO})_3$ , toluen, kodestilacija, 2 h.

Strukture jedinjenja **2-6** su utvrđene na osnovu spektroskopskih podataka i slažu se sa literaturnim vrednostima<sup>182,183,185</sup>.

Jedinjenja **2**, **3**, **5** i **6** su poslužila kao ključni prekursori u sintezama novih 17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata, pri čemu su pre svega vršene hemijske transformacije u A-, B- i D-prstenu steroidnog jezgra.

### 3.1.2. Sinteza novih 17 $\alpha$ -pikolil derivata 7-14 sa transformacijama u A prstenu

U cilju ispitivanja uticaja 3,5-dienskog sistema kod 17 $\alpha$ -pikolilskog derivata, na citotoksičnost prema nekoliko tumorskih ćelijskih linija, izvršena je sinteza 17 $\alpha$ -pikolil-androsta-3,5-dien-17 $\beta$ -ola (**8**)<sup>186</sup>. U tu svrhu, u jedinjenju **2** je C-3 hidroksilna grupa najpre tozilovana, pri čemu je dobijen 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (**7**). Obzirom da je tozil grupa dobro odlazeća grupa, njenom eliminacijom u baznim uslovima, npr. sa *N*-metilpirolidonom<sup>187</sup>, se uspostavlja dvostruka veza. U ovom radu je upotrebljen bis(2-aminoetil)amin, uz refluks u toku 1 časa, koji prema našim saznanjima nije do sada opisan u literaturi. Dobijeno je jedinjenje **8** sa 3,5-dienskim sistemom u prinosu od 15% (*shema 3.13.*).



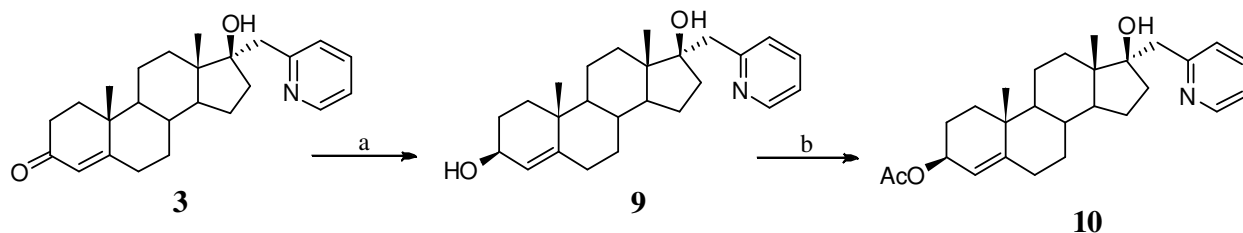
**Shema 3.13.** a) *p*-TsCl, aps. Py, s.t., 45 h; b) bis(2-aminoetil)amin, refluks, 1 h.

Prisustvo tozil grupe u strukturi jedinjenja **7** je dokazano na osnovu snimljenih <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektara, pri čemu se u <sup>1</sup>H NMR spektru mogu uočiti dva signala na 7.34 i 7.80 ppm, koji potiču od aromatičnih protona iz OTs grupe. Signali za protone iz piridinskog jezgra se javljaju u oblasti od 7.00 - 8.60 ppm. Takođe se u <sup>13</sup>C NMR spektru javljaju novi signali, u odnosu na polazno jedinjenje **2**, na 127.57, 129.72, 134.71 i 144.38 ppm, koji odgovaraju C-atomima iz OTs funkcije.

Uvođenje dvostruke veze u položaj  $\Delta^3$  kod jedinjenja **8** je potvrđeno na osnovu novih signala u <sup>1</sup>H NMR spektru, na 5.41 i 5.94 ppm, koji odgovaraju H-3 i H-4 atomima dvostruke veze, dok je signal za H-6 atom pomeren ka nižim vrednostima magnetnog polja u odnosu na polazno jedinjenje (5.63 ppm, kod jedinjenja **2** na 5.36 ppm). U <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **8** registrovani su novi signali koji potiču od C-3 i C-4 atoma, na 128.90 i 125.14 ppm.



U narednoj fazi sinteze je izvršena redukcija 3-keto grupe jedinjenja **3** natrijum-borhidridom u etanolu, na sobnoj temperaturi u toku 2.5 časa, pri čemu je dobijen 17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**9**), u prinosu od 94%, a zatim je, u cilju ispitivanja uticaja strukture jedinjenja na biološku aktivnost, izvršeno acetilovanje 3 $\beta$ -hidroksilne funkcije jedinjenja **9**, acetanhidridom u piridinu, na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, pri čemu je dobijen 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat (**10**, *shema 3.14.*)<sup>186</sup>, u prinosu od 56%.



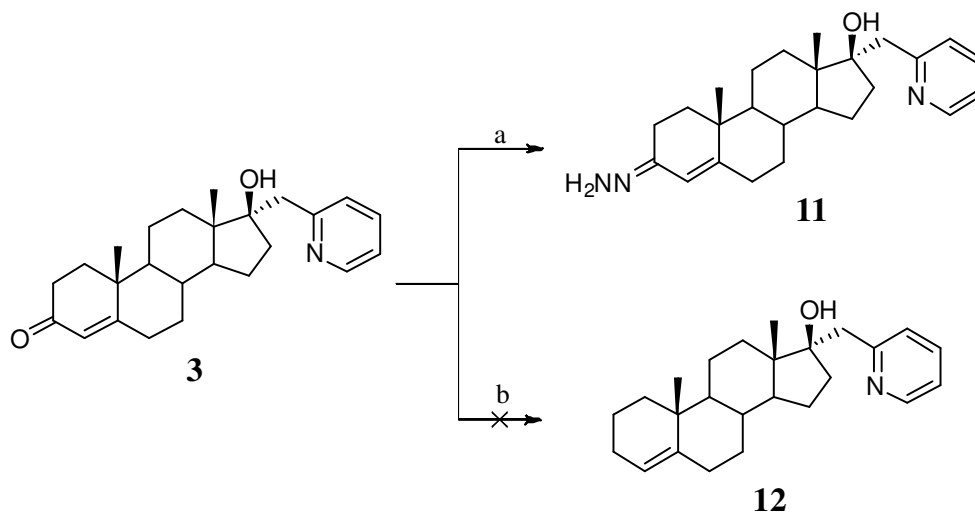
**Shema 3.14.** a) NaBH<sub>4</sub>, aps. EtOH, s.t., 2.5 h; b) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, s.t., 24 h.

Izostanak karakteristične trake na 1673 cm<sup>-1</sup> u IR spektru jedinjenja **9**, a koja odgovara valencionim vibracijama karbonilne grupe u jedinjenju **3**, ukazuje da je došlo do redukcije 3-keto grupe. Uvođenje 3 $\beta$ -hidroksilne funkcije je potvrđeno karakterističnom širokom trakom u IR spektru na 3417 cm<sup>-1</sup>, a na osnovu <sup>1</sup>H NMR spektra je potvrđeno prisustvo H-3 atoma, tako što je registrovan multiplet na 4.15 ppm, dok je signal za H-4 atom pomeren na 5.30 ppm, u odnosu na polazno jedinjenje **3** (5.74 ppm). U <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **9** je signal za C-3 atom pomeren ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja (67.93 ppm), u odnosu na polazno jedinjenje **3** (199.71 ppm), usled redukcije keto funkcije.

Prisustvo OAc grupe u položaju 3 kod jedinjenja **10** je dokazano na osnovu pojave intenzivne trake na 1730 cm<sup>-1</sup> u IR spektru, koja odgovara valencionim vibracijama karbonilne grupe iz estarske funkcije. Takođe je u <sup>1</sup>H NMR spektru jedinjenja **10** uočen singlet na 2.06 ppm koji potiče od metil grupe iz OAc, dok su u <sup>13</sup>C NMR spektru registrovana dva nova signala na 21.46 i 171.04 ppm, koji odgovaraju primarnom, odnosno kvaternernom C-atomu iz estarske funkcije.

Poznato je da je upotreba mikrotalasa u sintezi efikasna, sigurna i za okolinu bezbedna metoda, kojom se skraćuje reakciono vreme, povećavaju prinosi i olakšava tehnika rada<sup>188</sup>. Transformacija A prstena kod 17 $\alpha$ -pikolil derivata izvršena je *Wolff-Kishner*-ovom redukcijom 4-en-3-on sistema u jedinjenju **3**, uz mikrotalasnno ozračivanje<sup>189</sup> umesto konvencionalnim zagrevanjem. Naime, jedinjenje **3** je u prisustvu 98%-nog hidrazin-hidrata u etilen-glikolu, mikrotalasnno ozračivanjem (195 °C, 170 W) u toku 3 minuta, transformisano prvo do intermedijernog 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-hidrazona (**11**), koji je zatim u prisustvu jake baze kalijum-hidroksida izlagan dejstvu mikrotalasa (195 °C, 170 W) u toku 10 minuta, pri čemu je dobijena kompleksna smeša proizvoda iz koje se nije mogao izolovati željeni proizvod **12** (*shema 3.15.*).

Reakcija jedinjenja **3** je ponovljena sa hidrazin-hidratom u etilen-glikolu, mikrotalasnno ozračivanjem (195 °C, 170 W) u toku 4 minuta, pri čemu je izolovan hidrazonski derivat **11**, u prinosu od 100%, i okarakterisan (*shema 3.15.*).

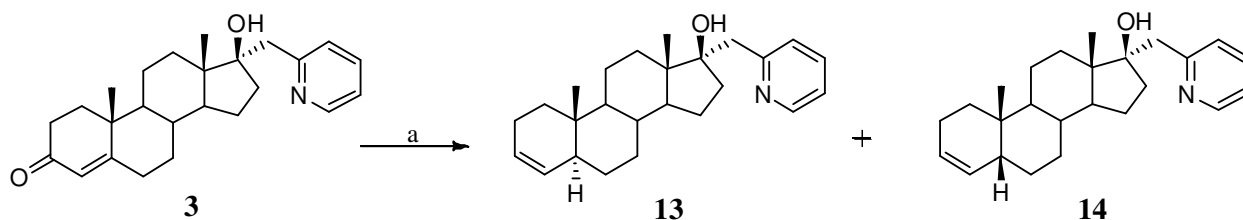


**Shema 3.15.** a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ , MW, 195 °C (170 W), 4 min.; b)  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ , KOH, MW, 195 °C (170 W), 10 min.

U IR spektru jedinjenja **11** se uočava traka na 1671  $\text{cm}^{-1}$  koja odgovara valencionim vibracijama C=N veze, kao i široka traka na 3334  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od vibracija N-H i O-H veza. Široki signal na 6.67 ppm, registrovan u  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **11**, ukazuje na dva H-atoma iz hidrazonske ( $=\text{NNH}_2$ ) funkcije. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se može primetiti da je došlo do

pomeranja signala za C<sub>3</sub>-atom sa 199.71 ppm (kod polaznog jedinjenja **3**), na 158.31 ppm (kod hidrazona **11**).

Redukcijom C-3 karbonilne funkcije u jedinjenju **3** cinkom u glacijalnoj sirćetnoj kiselini, uz refluks u toku 2 časa, dobijena je smeša 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\alpha$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ola (**13**) i 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\beta$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ola (**14**), koji se nisu mogli razdvojiti hromatografijom na koloni (*shema 3.16.*).

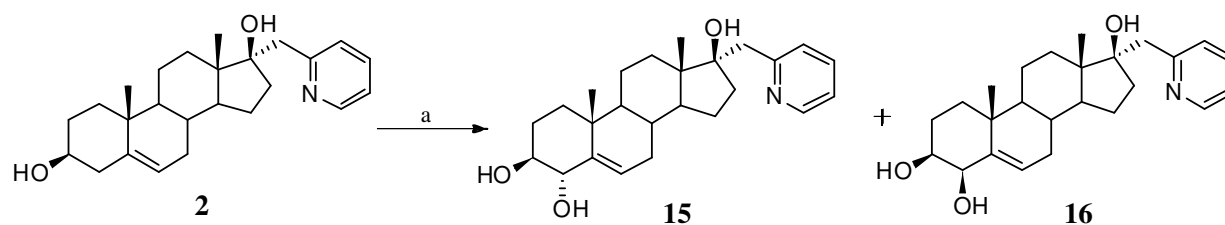


*Shema 3.16.* a) Zn u prahu, AcOH, refluks, 2 h.

U <sup>1</sup>H NMR spektru smeše jedinjenja **13** i **14** javljaju se dva multipleta na 5.29 i 5.35 ppm, koji odgovaraju H-3 atomima iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera. Dublet dubleti na 5.53 i 5.68 ppm potiču od dva H-4 atoma iz 5 $\alpha$ , odnosno 5 $\beta$  izomera, dok su u <sup>13</sup>C NMR spektru registrovani signali za dva C-5 atoma na 43.50 i 46.05 ppm, iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera.

### 3.1.3. Sintaza novih 17 $\alpha$ -pikolil derivata **15-20** i **23** sa transformacijama u A i B prstenu

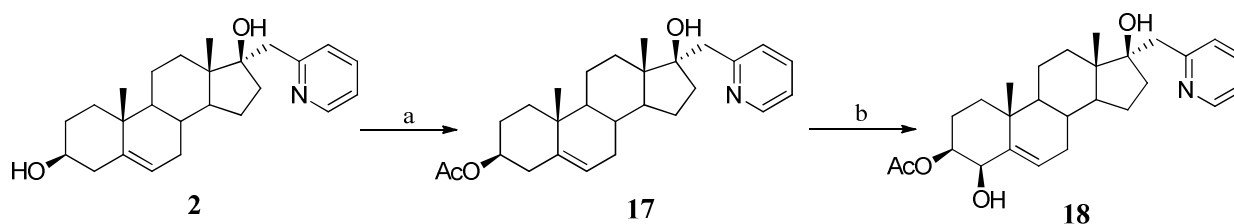
Dalja istraživanja obuhvatala su reakcije hidroksilacije i oksidacije u A i/ili B prstenu kod 17 $\alpha$ -pikolil serije jedinjenja. Kada je jedinjenje **2** podvrgnuto oksidaciji sa selen-dioksidom<sup>146</sup> u dioksanu, uz refluks u toku 25 časova, dobijena je smeša 4 $\alpha$ - i 4 $\beta$ - hidroksi derivata **15** i **16**, koji su razdvojeni hromatografijom na koloni i dobijeni u prinosu od 22%, odnosno 28% (*shema 3.17.*)<sup>186</sup>.



*Shema 3.17.* a) SeO<sub>2</sub>, dioksan, refluks, 25 h.

Struktura 17α-pikolil-androst-5-en-3β,4α,17β-triola (**15**) je potvrđena na osnovu pojave novog tripleta u <sup>1</sup>H NMR spektru (u odnosu na polazno jedinjenje **2**) na 3.89 ppm koji odgovara H-4β atomu. U <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **15** je uočen signal na 65.06 ppm za C-4 atom, na kome se nalazi hidroksilna grupa α orijentacije. U slučaju 4β-hidroksi izomera **16**, u <sup>1</sup>H NMR spektru se javlja novi dublet na 4.16 ppm koji potiče od H-4α atoma, dok je u <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **16** registrovan signal na 77.24 ppm, za C-4 ugljenikov atom. Orijehtacija ovih hidroksilnih grupa je potvrđena na osnovu NOE eksperimenta. Tako je β-konfiguracija 4-hidroksilne grupe kod jedinjenja **16** potvrđena selektivnim ozračivanjem H-4 protona (4.16 ppm) koji pokazuje NOE efekat prema H-3α (3.57 ppm) i H-6 (5.71 ppm) protonima u <sup>1</sup>H NMR NOE spektru. Kod jedinjenja **15** selektivno ozračivanje H-4 protona ne dovodi do povećanja signala za H-3, tako da se može zaključiti da je OH grupa na C-4 atomu α-orjentisana.

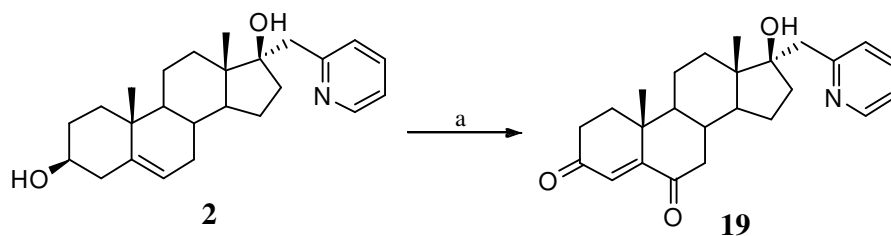
U daljem radu, u jedinjenju **2** je zatim izvršeno acetilovanje 3β-hidroksilne funkcije, acetanhidridom u piridinu na sobnoj temperaturi u toku 3 časa, sa ciljem da se u novodobijeno jedinjenje **17** uvede hidroksilna grupa u položaj C-4, slično jedinjenjima **15** i **16**. Stoga je 3β-acetoksi derivat **17** podvrgnut reakciji sa selen-dioksidom u dioksanu, uz refluks u toku 20 časova, pri čemu je dobijen 4β,17β-dihidroksi-17α-pikolil-androst-5-en-3β-il acetat (**18**) (*shema 3.18.*).



**Shema 3.18.** a)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , aps. Py, s.t., 3 h; b)  $\text{SeO}_2$ , dioksan, refluks, 20 h.

Acetoksi grupa na C-3 atomu kod jedinjenja **17** je potvrđena pojavom singleta u  $^1\text{H}$  NMR spektru na 2.04 ppm, koji potiče od tri protona iz  $\text{CH}_3$  grupe estarske funkcije. Takođe se u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru javljaju dva nova signala na 21.41 i 170.55 ppm, za C-atome iz metil i karbonilne grupe OAc funkcije. Struktura jedinjenja **18** je potvrđena na osnovu IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektara, kao i na osnovu dvodimenzionih COSY, HETCOR i NOESY spektara, pri čemu je u  $^1\text{H}$  NMR spektru registrovan nov signal na 5.38 ppm koji potiče od H-4 $\alpha$  atoma, dok je u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru registrovan signal na 79.20 ppm, za C-4 ugljenikov atom na kome se nalazi hidroksilna grupa.  $\beta$ -Konfiguracija 4-OH grupe kod jedinjenja **18** je potvrđena NOE eksperimentom, pri čemu se u  $^1\text{H}$  NMR NOESY spektru može uočiti da je H-4 atom na 5.38 ppm u korelaciji sa H-3 atomom na 3.62 ppm i olefinskim H-6 atomom na 5.83 ppm.

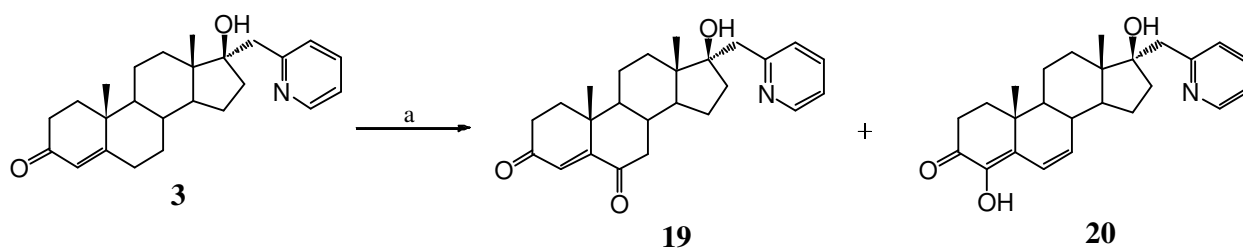
U narednoj fazi sinteze izvršena je transformacija u A i B prstenu 17-pikolil derivata u cilju dobijanja jedinjenja sa  $\Delta^4$ -3,6-dionskim sistemom, obzirom da je u literaturi poznato da su se steroidna jedinjenja sa takvom strukturom pokazala kao biološki aktivna jedinjenja. Tako je 6-oksoandrostendion jedan od najranije otkrivenih ireverzibilnih inhibitora enzima aromataze<sup>140</sup> i u kliničkoj je upotrebi u tretmanu estrogen-zavisnog karcinoma dojke. Upravo zbog toga, sintetisan je nov 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**)<sup>186</sup> da bi mu se ispitala biološka aktivnost. Reakcija je izvedena primenom Jones-ovog reagensa na jedinjenje **2**, na 0 °C u toku 1.5 časa, pri čemu je jedinjenje **19** dobijeno u prinosu od 12% (shema 3.19.).



**Shema 3.19.** a) Jones-ov reagens, 0 °C, 1.5 h.

Pošto jedinjenje **19** poseduje dve karbonilne grupe, u IR spektru su registrovane dve intenzivne trake na 1726 i 1693  $\text{cm}^{-1}$ , a u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru su registrovani signali na 199.46 i 201.95 ppm koji odgovaraju C-3 i C-6 atomima. Signali na 125.51 i 160.82 ppm odgovaraju vinilnim C-4 i C-5 atomima. U  $^1\text{H}$  NMR spektru signal na 6.19 ppm odgovara H-4 protonu, dok izostaju signali za H-3 i H-6 protone na 3.53 i 5.36 ppm, koji su prisutni kod polaznog jedinjenja **2**.

U daljem radu, kada je jedinjenje **3** reagovalo sa kalijum-*terc*-butoksidom<sup>190</sup> u *terc*-butanolu, na 45 °C u toku 3 časa, utvrđeno je na osnovu spektroskopskih podataka, da je dobijeno jedinjenje **19** u prinosu od 13%, kao i jedinjenje **20** u prinosu od 25%, koje u svojoj strukturi sadrži konjugovani AB sistem, C<sub>4</sub>-OH i C<sub>3</sub>=O funkcionalne grupe (*shema 3.20.*)<sup>186</sup>.

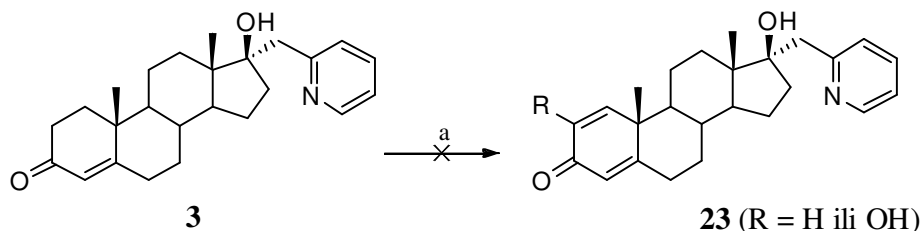


**Shema 3.20.** a) 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, 45 °C, 3 h.

Prisustvo OH grupa u IR spektru jedinjenja **20** je potvrđeno širokom trakom na 3423  $\text{cm}^{-1}$ . Analizom  $^1\text{H}$  NMR spektra uočavaju se dva dublet dubleta na 6.06 i 6.65 ppm koji odgovaraju vinilnim H-7 i H-6 protonima, kao što je i očekivano, dok su u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru registrovani

karakteristični signali koji odgovaraju ugljenikovim atomima dvostruke veze i to na 124.71 (C-6), 134.70 (C-5), 137.10 (C-7) i 140.21 (C-4) ppm.

Kao što je već ranije pomenuto, sa ciljem da se uvede prošireni konjugovani sistem u A prsten<sup>146</sup>, jedinjenje **3** je podvrgnuto reakciji sa selen-dioksidom u dioksanu, uz refluks u toku 3 časa (*shema 3.21.*), slično kao i prilikom transformacije 17 $\alpha$ -pikolil derivata **2**. Međutim, umesto očekivanog jedinjenja **23** sa 1,4-dien-3-on sistemom, dobijena je kompleksna smeša proizvoda iz koje se ono nije moglo izolovati.

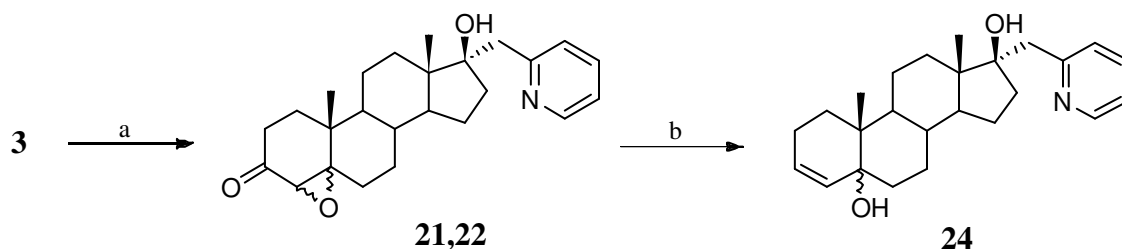


*Shema 3.21.* a) SeO<sub>2</sub>, dioksan, refluks, 3 h.

### 3.1.4. Hemijske transformacije 4,5-epoksi 17 $\alpha$ -pikolil androstanskog derivata

U cilju dalje funkcionalizacije 17 $\alpha$ -pikolil derivata, kako bi se dobili novi potencijalni antitumorski agensi, jedinjenje **3** je reagovalo sa 30%-nim H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u 4 M NaOH, na 0 °C u toku 1 časa, a zatim na 10 °C još 24 časa, pri čemu je dobijena smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona **21** i **22**<sup>191,192</sup>.

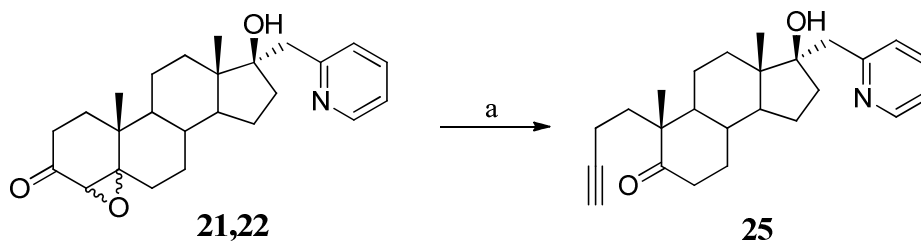
Primenom *Wharton*-ove reakcije<sup>169</sup>, smeša jedinjenja **21** i **22** je zagrevana sa 98%-nim hidrazin-hidratom na 120 °C u toku 30 minuta, pri čemu je dobijen 17 $\alpha$ -pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol (**24**) u prinosu od 30% (*shema 3.22.*).



**Shema 3.22.** a) 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4M NaOH, MeOH, 0 °C, 1 h → 10 °C, 24 h; b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 120 °C, 30 min.

Struktura jedinjenja **24** je utvrđena na osnovu spektroskopskih podataka. Tako se u IR spektru uočava široka traka na 3384 cm<sup>-1</sup> koja ukazuje na prisustvo hidroksilnih funkcija, jer novosintetizovano jedinjenje **24** pored postojeće 17β-OH sadrži i 5-OH grupu. U <sup>1</sup>H NMR spektru (CDCl<sub>3</sub>) signali u obliku dubleta na 5.54 ppm, odnosno multiplleta na 5.84 ppm, odgovaraju protonima H-4, odnosno H-3. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja **24** je snimljen i u acetonu-d<sub>6</sub> (obzirom da se u CDCl<sub>3</sub> nije uočio signal za proton iz 5-OH grupe), pri čemu je registrovan signal na 5.61 ppm koji potiče od 5-OH protona. Odsustvo signala na 207.12 ppm (koji odgovara C-3 atomu smeše jedinjenja **21** i **22**) u <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **24** ukazuje da je došlo do gubitka C-3 karbonilne funkcije, a uočavaju se signali na 130.84 i 133.60 ppm koji potiču od C<sub>3</sub> i C<sub>4</sub> atoma. Signal za kvaternerni C-5 atom je registrovan na 71.93 ppm, a kod jedinjenja **21** i **22** se nalazi na 70.52 ppm.

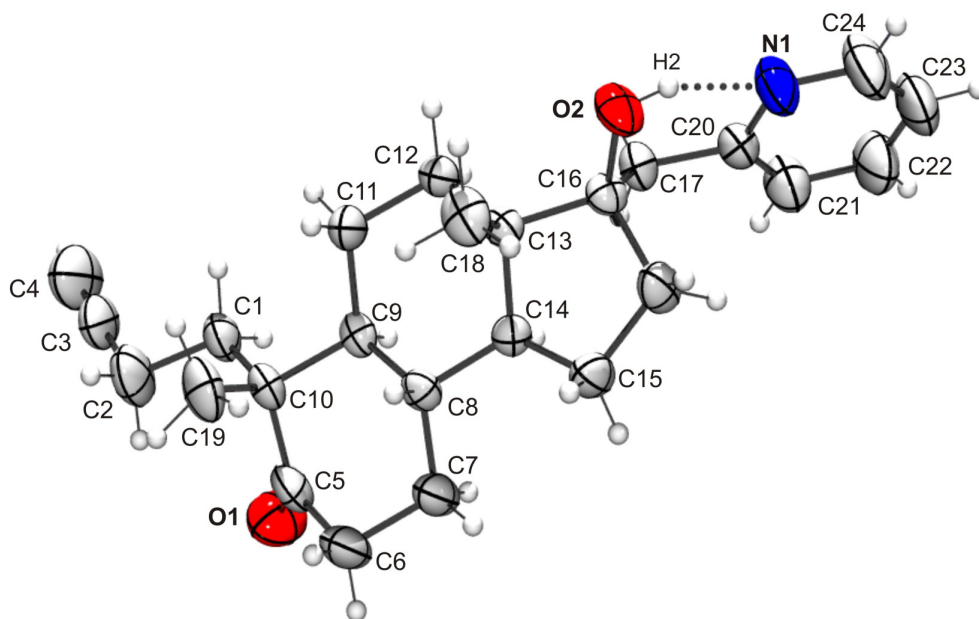
U daljoj fazi istraživanja, primenjena je *Eschenmoser*-ova reakcija<sup>174-176</sup> na smešu 4α,5α- i 4β,5β-epoksida **21** i **22**, sa *p*-toluensulfonil-hidrazinom, najpre 1 čas na sobnoj temperaturi, a zatim još 1 čas na 55 °C, pri čemu je dobijen 17β-hidroksi-17α-pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on (**25**), u prinosu od 56% (*shema 3.23.*).



**Shema 3.23.** a) TsNHNH<sub>2</sub>, 50% EtOH, s.t., 1 h → 55 °C, 1 h.

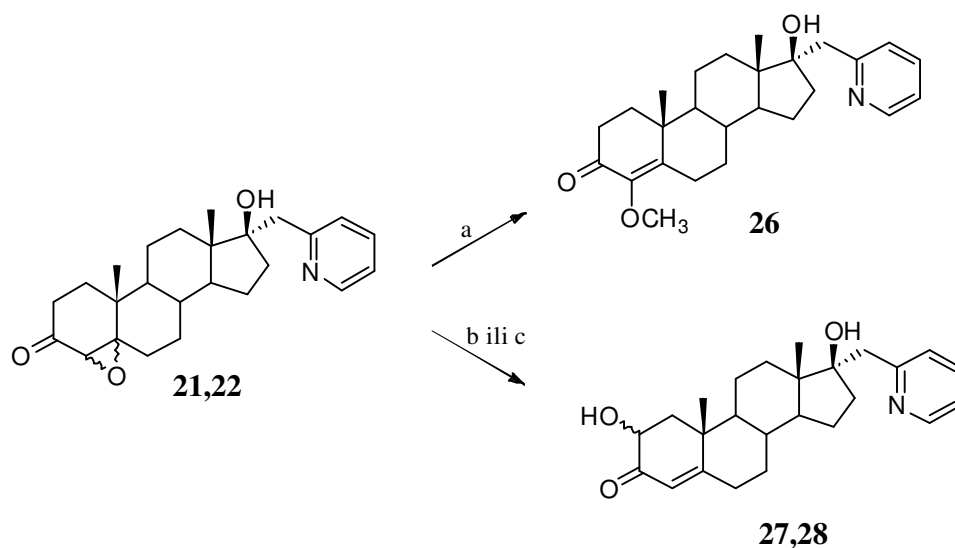


Na osnovu spektroskopskih podataka, kao i rentgeno-strukturne analize, potvrđena je struktura jedinjenja **25**. U IR spektru su registrovane karakteristične trake na 2116 i 1700  $\text{cm}^{-1}$  koje potiču od vibracija acetilenske i karbonilne funkcije. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se mogu uočiti dva nova signala u poređenju sa spektrom polaznih jedinjenja, na 68.07 i 83.16 ppm koji se mogu pripisati atomima C-3 i C-4 iz novoformirane acetilenske funkcije, dok se na 214.46 ppm javlja signal za karbonilni C-5 atom. Struktura novog A-seko 17-pikolil derivata **25** je nepobitno dokazana na osnovu rentgeno-strukturne analize, pri čemu se uočava orijentacija acetilenske funkcije, kao i formiranje intramolekulske vodonične veze (*slika 3.1.*), čija je dužina prikazana u *tabeli 7.1. (Prilog).*



*Slika 3.1.* Prikaz molekularne strukture jedinjenja **25**

Takođe je u daljem radu ispitivana reaktivnost  $4\alpha,5\alpha$ - i  $4\beta,5\beta$ -epoksida **21** i **22** u baznoj i kiseljoj sredini. Reakcija u baznoj sredini je izvedena u metanolu u prisustvu 4 M NaOH, uz refluks u toku 3.5 časa, pri čemu je dobijen  $17\beta$ -hidroksi-4-metoksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**26**, *shema 3.24.*)<sup>186</sup> u prinosu od svega 4%. S druge strane, kada je smeša epoksida **21** i **22** tretirana mravljom kiselinom, ili 2%-nom  $\text{H}_2\text{SO}_4$  u glacijalnoj sirćetnoj kiselini, dobijena je smeša  $2\alpha,17\beta$ -dihidroksi- i  $2\beta,17\beta$ -dihidroksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-ona (**27** i **28**, *shema 3.24.*)<sup>192</sup>, koji se nisu mogli hromatografski razdvojiti.



**Shema 3.24.** a) 4M NaOH, MeOH, refluks, 3.5 h; b) HCOOH, refluks, 50 min.; c) 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/AcOH, s.t., 3 h.

Dokaz da je otvaranjem 4,5-epoksi funkcije u baznoj sredini uvedena metoksi funkcija u položaj 4 androstanskog derivata **26** dobijen je na osnovu spektroskopskih podataka. Tako se u IR spektru jedinjenja **26** javljaju trake na 1214 i 1260 cm<sup>-1</sup> koje odgovaraju C–O–C vibracijama, dok je u <sup>1</sup>H NMR spektru registrovan očekivani singlet na 3.60 ppm za protone iz 4-metoksi funkcije, a istovremeno izostaje signal za H-4 proton iz polazne smeše α- i β- epoksida (oko 3.00 ppm). Kao što je i očekivano, u <sup>13</sup>C NMR spektru se javlja nov signal (u odnosu na polazno jedinjenje) za C-atom iz 4-metoksi funkcije na 60.23 ppm, dok su signali za C-4 i C-5 atome pomereni ka nižim vrednostima magnetnog polja u odnosu na polazno jedinjenje (147.23 i 146.21 ppm; kod jedinjenja **21** i **22** na 62.78 i 70.52 ppm).

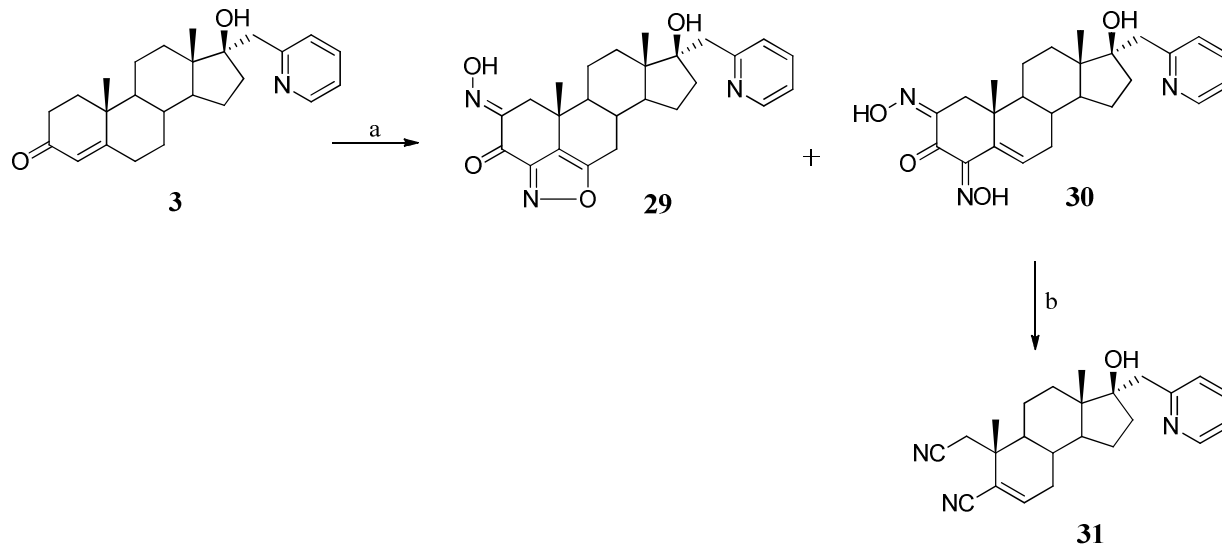
### 3.1.5. Oksimino funkcija u strukturi 17 $\alpha$ -pikolil androstanskog derivata

Prirodni proizvodi izolovani iz morskih organizama su postali veoma značajan izvor biološki aktivnih jedinjenja. Naročito su brojni sistemi koji se u velikim količinama mogu izolovati iz morskih sunđer<sup>193</sup>, pri čemu su 'morski' steroidi sa hidroksimino funkcijom ispoljili citotoksičnost prema različitim ćelijskim linijama kao što su murin leukemija, adenokarcinom pluća i karcinom debelog creva<sup>194</sup>, dok su neki pokazali aktivnost i protiv virusa hepatitisa *in vitro*<sup>195</sup>. S druge strane, mnogi sintetizovani steroidni oksimi su ispitani kao potencijalni inhibitori ljudskog enzima aromataze i pokazali visok afinitet, delujući kao kompetitivni inhibitori ovog enzima<sup>196</sup>.

U ovom radu je izvršena sinteza nekoliko oksimino derivata u 17 $\alpha$ -pikolilskoj seriji sa ciljem da se ispita njihova citotoksična aktivnost prema različitim tumorskim ćelijama, dok su neki poslužili kao prekursori u sintezi novih, potencijalno biološki aktivnijih jedinjenja, sa azotom kao heteroatomom.

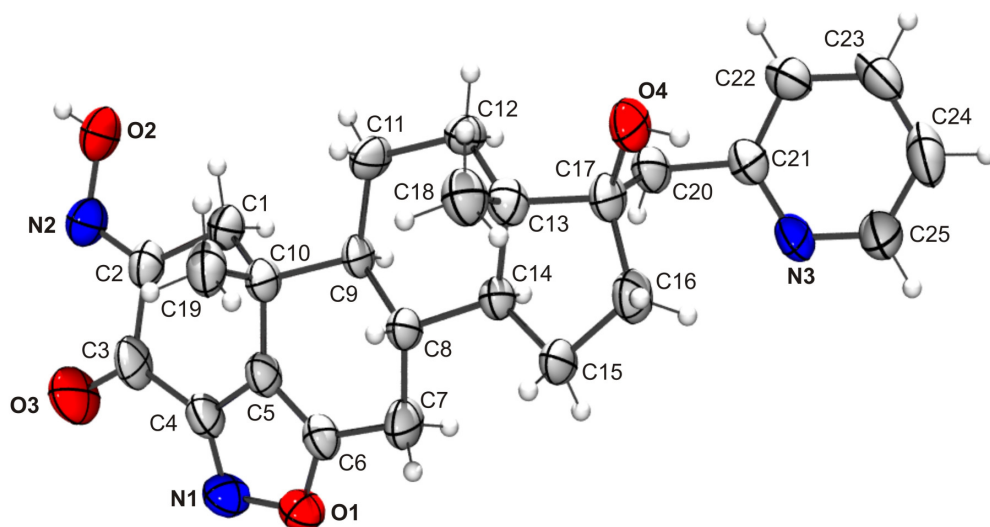
Jedan od ciljeva rada je bio da se u C-2 položaj 17 $\alpha$ -pikolil derivata **3** uvede oksimino funkcija. Stoga je u prvoj fazi ovog dela rada je izvršeno oksiminovanje jedinjenja **3** sa *i*-amilnitritom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida, na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, pri čemu su, nakon hromatografskog razdvajanja dobijeni novi oksimino derivati: neočekivani 17 $\beta$ -hidroksi-2(*E*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-izoksazolo[3',4',5':4,5,6]-androst-5-en-3-on (**29**) kao i 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*),4( $\zeta$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3-on (**30**), u prinosu od 10%, odnosno 28% (*shema* 3.25.). Pri sličnim reakcionim uslovima, *Ohta* i saradnici<sup>197</sup> su iz testosterona dobili samo odgovarajući 2,4-dihidroksimino derivat.

U narednoj fazi je primenjena *Beckmann*-ova fragmentacija na jedinjenje **30**. Reakcija je izvedena dejstvom acet-anhidrida u piridinu, na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa, pri čemu je dobijen 2,3-seko-A-norandrost-5-en-2,4-dinitrilni derivat **31**, u prinosu od 46% (*shema* 3.25.).

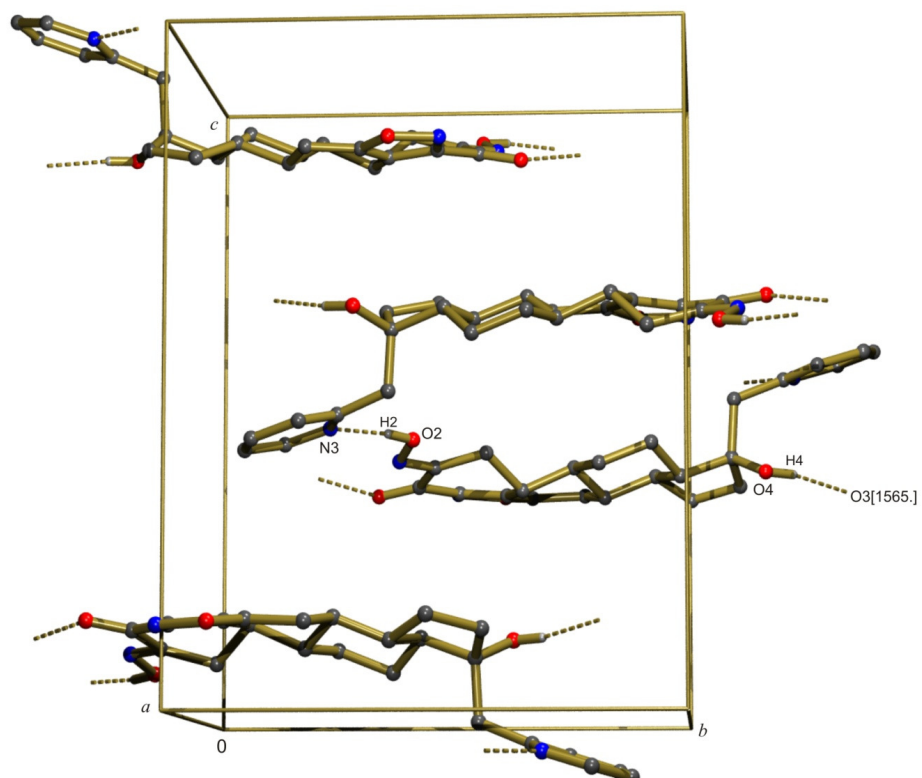


**Shema 3.25.** a) *i*-AmONO, 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 24 h; b) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, s.t., 1.5 h.

Struktura novosintetizovanog izoksazolskog derivata **29** je nepobitno dokazana na osnovu rentgeno-strukturne analize (*slika 3.2.*), pri čemu se uočava (*E*) orijentacija oksimino funkcije, kao i formirani izoksazolski prsten. Na *slici 3.3.* je prikazano pakovanje molekula u kristalu za jedinjenje **29**, sa prikazom intermolekularnih vodoničnih veza. U IR spektru su registrovane očekivane karakteristične trake na 1552, 1570 i 1598 cm<sup>-1</sup> koje potiču od vibracija C=C, C=N, C=C–O i N=C–O grupa iz oksimino, izoksazolske i piridinske funkcije, koje su prisutne u strukturi jedinjenja **29**, dok C<sub>3</sub> keto grupa daje intenzivnu traku na 1713 cm<sup>-1</sup>. Singlet koji se uočava na 13.02 ppm u <sup>1</sup>H NMR spektru odgovara protonu iz hidrosimino funkcije, i izmenljiv je u prisustvu D<sub>2</sub>O. U <sup>13</sup>C NMR spektru registrovani su novi signali u poređenju sa polaznim jedinjenjem, i to na 169.38 ppm za C-2 atom za koji je vezana oksimino funkcija, zatim na 153.51, 125.14 i 176.79 ppm za C-4, C-5 i C-6 atome iz novoformirane izoksazolske funkcije kao i na 196.71 ppm za C-3 atom.



Slika 3.2. Prikaz molekularne strukture jedinjenja **29**



Slika 3.3. Prikaz pakovanja molekula u kristalu za jedinjenje **29** sa prikazom intermolekularnih vodoničnih veza. Neki atomi nisu prikazani zbog jasnoće slike.

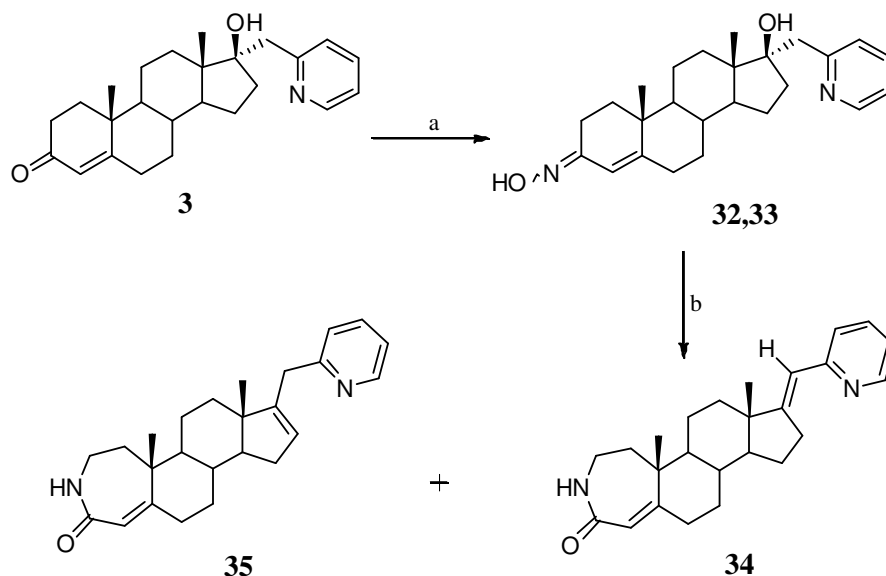
Kod jedinjenja **30** su u  $^1\text{H}$  NMR spektru registrovana dva singleta na 11.85 i 12.69 ppm, za protone iz dve =NOH funkcije, a koji su izmenljivi u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ . Obzirom da se signal za vodonikov atom iz  $\text{C}_2=\text{NOH}$  funkcije javlja pri nižim vrednostima magnetnog polja (12.69 ppm), može se zaključiti da je formirana intramolekulska vodonična veza između OH grupe oksima i 3-keto funkcije, što ukazuje na 2(Z)-konfiguraciju hidroksimino funkcije. Signal koji se javlja na 7.15 ppm odgovara vinilnom protonu H-6. Signali za odgovarajuće  $\text{C}_2$  i  $\text{C}_4$  atome, u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru su registrovani na 152.20 ppm, odnosno 169.34 ppm, a signali za C-atome iz  $\Delta^5$  veze se javljaju na 132.60 i 134.35 ppm, dok je signal za C-3 atom registrovan na 181.37 ppm.

Kao što je već pomenuto, *Beckmann*-ovom fragmentacijom dioksima **30** dobijen je A-seko 2,4-dinitrilni derivat **31**, a dve  $\text{C}\equiv\text{N}$  grupe su uočene pojavom dve karakteristične trake u IR spektru na 2216 i 2245  $\text{cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **31** se uočavaju dva nova signala u obliku dubleta na 2.63 i 2.77 ppm koji potiču od diastereotopnih H-1 protona, dok je na 6.79 ppm registrovan signal za H-6 atom. Očekivani signali za  $\text{C}_2$  i  $\text{C}_4$  atome iz dve nitrilne funkcije su registrovani na 119.56 i 117.20 ppm u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru, dok su ugljenikovi atomi iz  $\text{C}_5=\text{C}_6$  veze registrovani na 116.68, odnosno 145.96 ppm.

Zamena jednog ili više atoma ugljenika u steroidnom molekulu heteroatomom, često utiče na povećanje biološke aktivnosti jedinjenja. Aza-steroidi su naročito pokazali raznovrsnu biološku aktivnost. Snažan inhibitorski efekat prema humanoj  $5\alpha$ -reduktazi su ispoljili 4-aza-laktami, što ih čini potencijalnim lekovima u terapiji benigne hiperplazije prostate, akni ili npr. alopecije<sup>198</sup>. Pored toga, pojedini aza-homosteroidi su pokazali snažnu antitumorsku aktivnost prema nekoliko tipova leukemije<sup>199</sup>.

U cilju ispitivanja biološke aktivnosti, sintetisani su izomerni 3(E)- i 3(Z)-17 $\alpha$ -pikolil oksimi **32** i **33**, koji su zatim *Beckmann*-ovim premeštanjem transformisani u odgovarajuće 3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on derivate **34** i **35**. Naime, oksiminovanjem jedinjenja **3** hidrosilamin-hidrohloridom u prisustvu natrijum-acetata, uz refluks u toku 1.5 časa, dobijena je smeša stereoizomernih oksima, 3(E)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (**32**) i 3(Z)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (**33**) (*shema 3.26.*), u molskom odnosu 2.8:1 = **32:33**. U narednoj fazi sinteze je izvršeno *Beckmann*-ovo premeštanje smeše dobijenih 3(E)- i 3(Z)-17 $\alpha$ -pikolil oksima **32** i **33** tionil-hloridom u dioksanu, na sobnoj temperaturi u toku 1 časa, pri čemu su dobijena dva proizvoda sa enamidnom laktamskom funkcijom. Međutim, pored

Beckmann-ovog premeštanja A-prstena, u prisustvu tionil-hlorida je došlo i do eliminacije tercijerne 17 $\beta$ -hidroksilne grupe i građenja  $\Delta^{17(20)}$ , odnosno  $\Delta^{16}$  dvostruke veze, pri čemu je dobijena smeša 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-ona (**34**) i 17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-ona (**35**) (shema 3.26.).



**Shema 3.26.** a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{AcONa}$ , 95%  $\text{EtOH}$ , refluks, 1.5 h; b)  $\text{SOCl}_2$ , dioksan, s.t., 1 h.

Na osnovu spektroskopskih podataka je potvrđeno da je dobijena smeša 3-hidroksimino derivata **32** i **33**. U IR spektru smeše jedinjenja **32** i **33** registrovane su trake na 1638, 1599 i 1570  $\text{cm}^{-1}$ , koje potiču od vibracija C=C i C=N veza u molekulu. Takođe se javlja široka intenzivna traka na 3410  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od O-H vibracija iz oksimino i 17 $\beta$ -OH funkcija. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se uočavaju signali na 5.70 i 6.33 ppm koji potiču od dva H-4 protona iz *E*, odnosno *Z*-hidroksimino derivata. Takođe se javljaju dva nova signala (u odnosu na polazno jedinjenje **3**) na 10.23 i 10.48 ppm koji potiču od protona iz *Z*-, odnosno *E*-oksimino grupe, koji su izmenljivi u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ . U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru smeše jedinjenja **32** i **33** signal na 199.71 ppm, koji je odgovarao karbonilnom C-3 atomu kod polaznog jedinjenja **3**, pomeren je na 151.02 ppm u slučaju *Z* izomera, odnosno na 152.72 ppm u slučaju *E* izomera. Dva signala za C-4 atome iz *E*-, odnosno *Z*-oksimino derivata, se nalaze na 117.86 i 110.69 ppm.

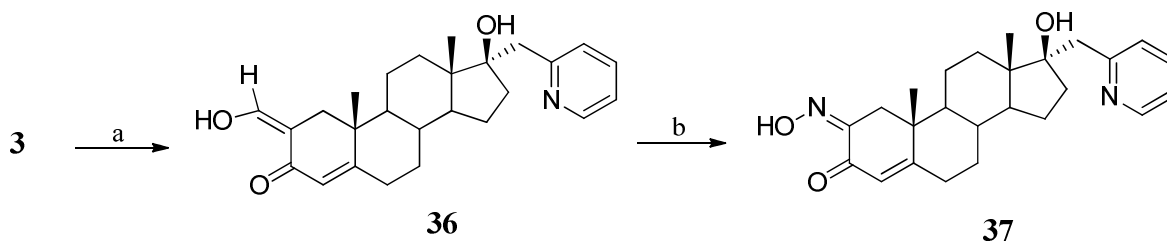
Konfiguracija 3-hidroksimino funkcije kod jedinjenja **32** je *E*, a kod jedinjenja **33** je *Z*, a pretpostavljena je na osnovu poređenja sa rezultatima za jedinjenja koja su opisana u literaturi, a imaju sličan A-prsten<sup>200</sup>. Tako, kako je već navedeno, proton iz oksimino funkcije kod *E*-izomera je u <sup>1</sup>H NMR spektru registrovan na 10.48 ppm, dok je kod *Z*-izomera na 10.23 ppm, što se može objasniti smanjenom elektronskom gustinom, pa je stoga izražen "deshilding" efekat (deekraniran proton). U slučaju H-4 atoma, kod *E*-izomera se signal u <sup>1</sup>H NMR spektru javlja pri višim vrednostima magnetnog polja na 5.70 ppm, dok je kod *Z*-izomera na 6.33 ppm, pošto je elektronska gustina povećana oko H-4 atoma.

Na osnovu spektroskopskih podataka je utvrđeno da su jedinjenja **34** i **35** dobijena u smeši. Tako se u <sup>1</sup>H NMR spektru javlja signal na 6.19 ppm koji potiče od vinilnog H-20 protona iz jedinjenja **34**, dok su na 3.48 i 5.12 ppm registrovani signali koji odgovaraju H-20 protonima metilenske grupe, odnosno vinilnom H-16 protonu iz jedinjenja **35**. Signali za H-4 i amidni NH proton, koji su zajednički za oba jedinjenja, javljaju se u obliku singleta na 5.73 i 6.92 ppm. U <sup>13</sup>C NMR spektru se takođe javljaju signali koji su karakteristični za smešu jedinjenja **34** i **35** i to na: 42.04 (C-20 iz jedinjenja **35**), 118.06 ppm (C-20 iz jedinjenja **34**), 118.90 (C-4), 124.76 (C-16 iz jedinjenja **35**), 138.87 (C-17 jedinjenja **35**), 157.41 (C-17 iz jedinjenja **34**), 160.79 (C-5 iz jedinjenja **34**), 161.00 (C-5 iz jedinjenja **35**) i 170.22 (C-3).

Obzirom na značaj oksimino funkcije u strukturi steroida, a kako je već ranije pomenuto, cilj je bio da se u položaj C-2 kod jedinjenja **3** i uvede. Stoga se pristupilo alternativnom postupku sinteze, iz 2-hidroksimetilenskog derivata **36**, koji ima sličan A prsten sa oksimetolonom. Oksimetolon je aktivni 17 $\alpha$ -alkilovani anabolički androgeni steroid koji se danas koristi kao lek u terapiji osteoporoze, kao i u tretmanu anemije prouzrokovane smanjenom produkcijom eritrocita, mielofibroze, zatim kod stečene ili urođene aplastične anemije. Zbog anaboličkih osobina oksimetolona, u novijim istraživanjima se sve više ispituje delovanje oksimetolona na različita klinička stanja, uključujući HIV, deficit antihrombina III, poremećaj rasta kod dece kao i oštećenje miokarda kod bolesti srca<sup>201</sup>.

Sa ciljem da se u strukturu 17 $\alpha$ -pikolilskog derivata uvede 2-hidroksimetilenska funkcija, jedinjenje **3** je u reakciji sa etil-formijatom<sup>119</sup> uz natrijum-hidrid u inertnoj atmosferi, transformisano u 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*)-hidroksimetilen-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**36**) u prinosu od 38% (*shema* 3.27.).

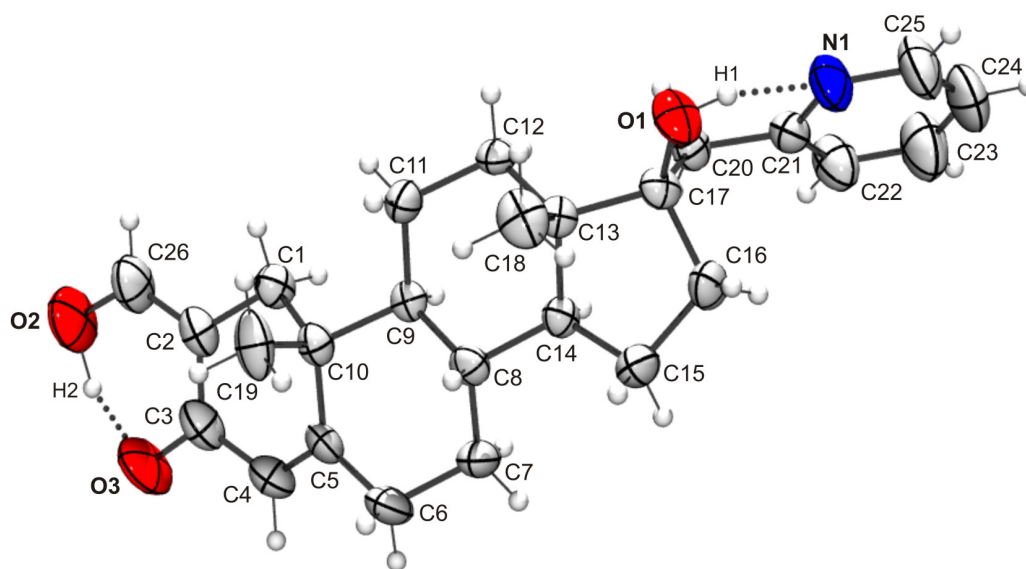




**Shema 3.27.** a) HCOOEt, NaH, aps. benzen, Ar, s.t., 2 h; b) 7M NaNO<sub>2</sub>, 95% EtOH, 35% HCl, 0 °C, 45 min.

U narednoj fazi, jedinjenje **36** je reagovalo sa natrijum-nitritom u kiseljoj sredini, na 0 °C u toku 45 minuta, pri čemu je dobijen željeni 17β-hidroksi-2(Z)-hidroksimino-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**37**), u prinosu od 93% (*shema 3.27.*).

Strukture novosintetizovanih jedinjenja **36** i **37** su potvrđene na osnovu spektroskopskih podataka, a jedinjenja **36** i rentgeno-strukturnom analizom (*slika 3.4.*), pri čemu je utvrđeno prisustvo dve intramolekulske vodonične veze, čije su dužine prikazane u *tabeli 7.1. (Prilog)*. Uvođenje 2-hidroksimetilenske funkcije je potvrđeno na osnovu <sup>1</sup>H NMR spektra, pojavom novog signala (u odnosu na polazno jedinjenje **3**), u intervalu od 7.24-7.37 ppm koji odgovara vinilnom protonu iz hidroksimetilenske funkcije, i na 13.76 ppm, u obliku širokog singleta, koji potiče od protona iz OH grupe novoformirane hidroksimetilenske funkcije, a koji je izmenljiv u D<sub>2</sub>O. Signal za tercijerni ugljenikov atom iz =CHOH funkcije je registrovan u <sup>13</sup>C NMR spektru na 165.11 ppm, dok je na 189.17 ppm registrovan signal za C<sub>3</sub> atom iz karbonilne funkcije (kod jedinjenja **3** na 199.71 ppm). Takođe, u <sup>13</sup>C NMR spektru jedinjenja **36** (u poređenju sa polaznim jedinjenjem **3**), javlja se nov signal na 106.48 ppm koji odgovara kvaternernom C-2 atomu. U IR spektru se javljaju trake na 1569 i 1597 cm<sup>-1</sup> koje potiču od vibracija C=C veza u molekulu, kao i intenzivna traka na 1642 cm<sup>-1</sup> od vibracija karbonilne grupe, dok široka traka prisutna na 3312 cm<sup>-1</sup> odgovara O–H vibracijama dveju hidroksilnih grupa.



**Slika 3.4.** Prikaz molekularne strukture jedinjenja **36**

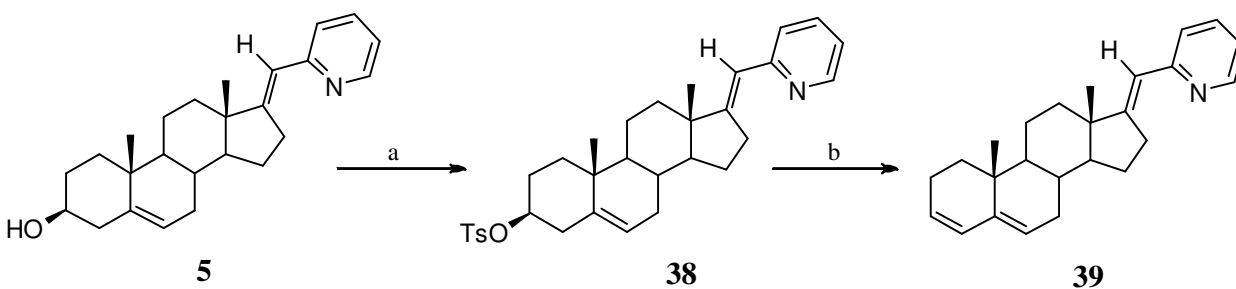
Kao što je već pomenuto, jedinjenje **37** sadrži pored  $C_3=O$  i 2(*Z*)-hidroksimino funkciju, pa su u IR spektru registrovane intenzivne trake na  $1675$  i  $1605\text{ cm}^{-1}$  koje odgovaraju vibracijama karbonilne funkcije kao i  $C=N$  i  $C=C$  veza, dok široka intenzivna traka na  $3416\text{ cm}^{-1}$  potiče od vibracija OH grupa. Prisustvo H-atoma iz hidroksimino funkcije je dokazano pojavom signala u obliku singleta u  $^1\text{H}$  NMR spektru na  $12.20\text{ ppm}$ , a koji je izmenljiv u  $\text{D}_2\text{O}$ . (*Z*)-konfiguracija oksimino funkcije je određena na osnovu pomeranja signala (za proton iz hidroksimino funkcije) ka nižem polju, što ukazuje na formiranje intramolekulske vodonične veze sa susednom 3-keto grupom. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru je signal za C-2 atom pomen na  $151.38\text{ ppm}$  u odnosu na polazno jedinjenje **36** (kod kojeg je na  $106.48\text{ ppm}$ ), zbog uvođenja hidroksimino funkcije.

### 3.1.6. Sinteza 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata 38-45 sa transformacijama u A prstenu

Biološka aktivnost nekog jedinjenja može biti umanjena, ili poboljšana, ukoliko se izvrši samo jedna transformacija u strukturi tog jedinjenja. U literaturi<sup>185,186,191,202</sup> su poznati brojni primeri steroidnih jedinjenja kod kojih je izvršena samo jedna promena u strukturi (oksidacija ili redukcija neke grupe, supstitucija jedne grupe drugom, eliminacija, dehidratacija), i ta je promena značajno uticala na njegovu biološku aktivnost. Stoga su u ovom radu i sintetizovana jedinjenja koja imaju različite supstituente na C-17 atomu, a sličnost u A i/ili B prstenu.

Najpre je izvršena sinteza serije jedinjenja sa modifikacijama u A prstenu kod kojih je 17 $\alpha$ -pikolil-17 $\beta$ -ol sistem transformisan u 17(*E*)-pikolinilidenski sistem, kako bi se uporedila biološka aktivnost kod obe serije jedinjenja i utvrdio uticaj supstituenta u položaju C-17.

Kako bi se uveo 3,5-dienski sistem kod 17(*E*)-pikolinilidenskog derivata, slično prethodno opisanom kod 17 $\alpha$ -pikolil derivata, jedinjenje **5** je najpre tozilovanjem C-3 hidroksilne grupe, na sobnoj temperaturi u toku 19 časova, prevedeno u 3 $\beta$ -tozil derivat **38**, koji je zatim primenom baznog nukleofilnog reagensa bis(2-aminoetil)amina, uz reflux u toku 1 časa, podvrgnut eliminaciji tozil grupe, pri čemu je dobijen 17(*E*)-pikoliniliden-androsta-3,5-dien (**39**) u prinosu od svega 7% (*shema 3.28.*)<sup>186</sup>.



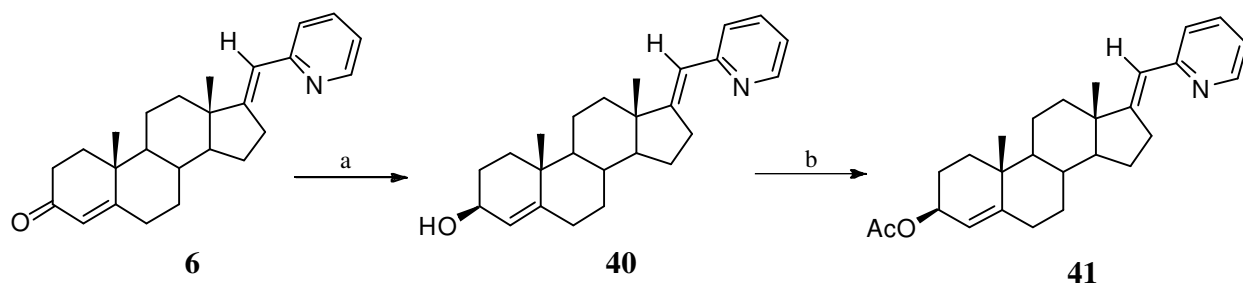
**Shema 3.28.** a) *p*-TsCl, aps. Py, s.t., 19 h; b) bis(2-aminoetil)amin, reflux, 1 h.

Struktura jedinjenja **38** je dokazana na osnovu spektroskopskih podataka, pri čemu su u IR spektru prisutne trake na 1562, 1586 i 1653 cm<sup>-1</sup> koje odgovaraju valencionim C=C i C=N

vibracijama, dok se u  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **38** mogu uočiti dva dubleta na 7.33 i 7.79 ppm, koji potiču od četiri protona iz OTs grupe. Kod jedinjenja sa pikolinilidenskim sistemom u D prstenu se signali za protona iz piridinskog jezgra javljaju u oblasti od 7.00 - 8.60 ppm, dok se na oko 6.25 ppm javlja nov signal za vinilni H-20 proton. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se javljaju novi signali (u poređenju sa polaznim jedinjenjem **5**), na 127.57, 129.70, 134.53 i 144.38 ppm, koji odgovaraju C-atomima iz OTs funkcije.

Eliminacija OTs funkcije i uvođenje dvostruke veze u  $\Delta^3$  položaj kod jedinjenja **39** je potvrđeno na osnovu pojave novih signala u  $^1\text{H}$  NMR spektru, na 5.42 i 5.95 ppm, koji odgovaraju H-3 i H-4 atomima dvostruke veze, dok je signal za H-6 atom pomeren na 5.61 ppm (kod jedinjenja **5** na 5.38 ppm). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru registrovani su novi signali koji potiču od C-3 i C-4 atoma, na 128.89 i 125.16 ppm.

U daljem radu je 3-keto grupa kod jedinjenja **6** redukovana natrijum-borhidridom u etanolu, na sobnoj temperaturi u toku 2 časa, pri čemu je dobijen 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol (**40**) u prinosu od 97%, a koji je zatim, u cilju ispitivanja uticaja strukture jedinjenja na biološku aktivnost, acetilovan acet-anhidridom u piridinu, na sobnoj temperaturi u toku 2 časa, pri čemu je dobijen 3 $\beta$ -acetoksi derivat **41**, u prinosu od 46% (*shema 3.29.*)<sup>202</sup>.



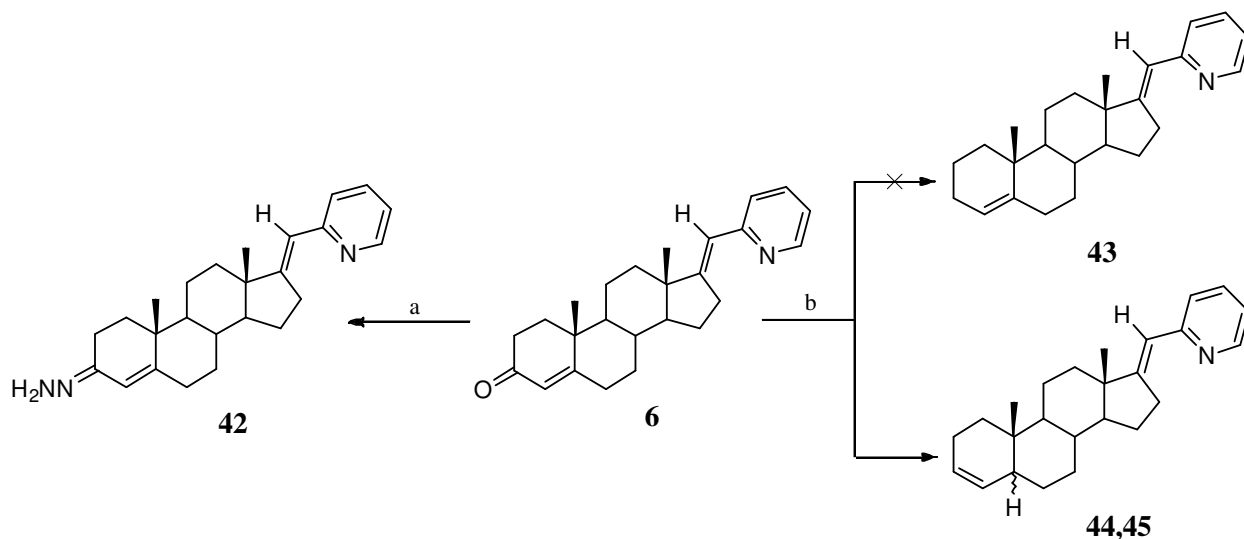
**Shema 3.29.** a)  $\text{NaBH}_4$ , aps. EtOH, s.t., 2 h; b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , aps. Py, s.t., 24 h.

Izostanak karakteristične trake na  $1673\text{ cm}^{-1}$  u IR spektru kod jedinjenja **40**, koja je odgovarala valencionim vibracijama karbonilne grupe (kod polaznog jedinjenja **6**), ukazuje na uspešnu redukciju iste, kao i pojava široke trake na  $3422\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru je registrovan multiplet na 4.17 ppm koji odgovara atomu H-3, dok je signal za H-4 atom pomeren na 5.29 ppm (kod polaznog jedinjenja **6** na 5.74 ppm). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru je registrovan signal za C-3 atom

na 67.81 ppm, koji je pomeren ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja, u odnosu na polazno jedinjenje **6** (199.43 ppm), usled redukcije keto funkcije.

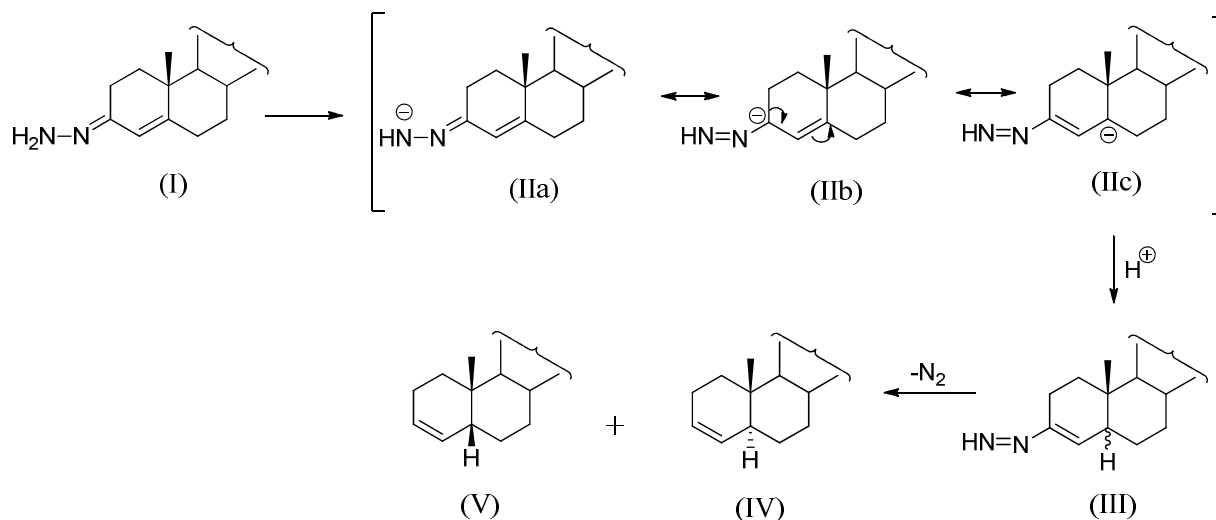
Acetilovanjem C<sub>3</sub>-hidroksilne grupe kod jedinjenja **40** je dobijeno jedinjenje **41**, kod kojeg je u IR spektru registrovana intenzivna traka na 1731 cm<sup>-1</sup>, koja odgovara valencionim vibracijama karbonilne grupe iz estarske funkcije, dok je u <sup>1</sup>H NMR spektru uočen nov signal na 2.06 ppm koji potiče od tri protona iz OAc grupe. U <sup>13</sup>C NMR spektru su registrovana dva nova signala, u poređenju sa spektrom jedinjenja **40**, na 21.45 i 170.99 ppm, koji odgovaraju ugljenikovim atomima CH<sub>3</sub> i C=O grupe estarske funkcije.

Slično kao što je već opisano kod 17 $\alpha$ -pikolil derivata, *Wolff-Kishner*-ova redukcija uz mikrotalasno ozračivanje na 195 °C (170 W) je primenjena i na jedinjenje **6**, pri čemu je, u prisustvu hidrazin-hidrata u etilen-glikolu i jake baze kalijum-hidroksida, umesto očekivanog 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-ena (**43**), preko intermedijernog hidrazona **42**, dobijena smeša 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-ena (**44**) i 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-ena (**45**) (*shema 3.30.*), u prinosu od 75%. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-hidrazon (**42**) je posebno sintetizovan u reakciji sa hidrazin-hidratom u etilen-glikolu, pod dejstvom mikrotalasa na 195 °C (170 W) u toku 2 minuta, i izolovan je u prinosu od 35%.



**Shema 3.30.** a) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, MW, 195 °C (170 W), 2 min.; b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, KOH, MW, 195 °C (170 W), 40 min.

U zavisnosti od reakcionih uslova, kao i od strukturnih karakteristika samog jedinjenja, steroidni  $\Delta^4$ -3-hidrazoni (I) mogu podleći migraciji dvostruke veze, pri čemu se dobija smeša  $\Delta^3$ -5 $\alpha$ - (IV) i  $\Delta^3$ -5 $\beta$ -olefina (V)<sup>158</sup>. Predloženi mehanizam ove reakcije je prikazan na *shemi 3.31*.

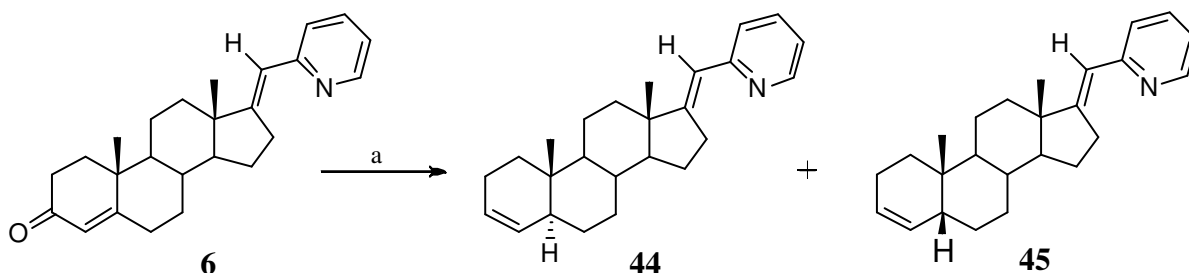


**Shema 3.31.** Predloženi mehanizam dobijanja smeše  $\Delta^3$ -5-olefina.

Karakteristična traka na  $1653\text{ cm}^{-1}$  koja se uočava u IR spektru jedinjenja **42** odgovara valencionim vibracijama C=N veze, kao i proširena traka na  $2940\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od N-H vibracija. Signal na  $6.45\text{ ppm}$ , registrovan u  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **42**, ukazuje na dva protona iz hidrazonske funkcije. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru je registrovan signal za C-3 atom na  $158.73\text{ ppm}$ , koji je pomeren ka nižim ppm vrednostima u odnosu na polazno jedinjenje **6** ( $199.43\text{ ppm}$  za karbonilni C<sub>3</sub>-atom kod jedinjenja **6**).

U  $^1\text{H}$  NMR spektru smeše jedinjenja **44** i **45** izostaje signal na  $6.45\text{ ppm}$  koji je odgovarao protonima iz =NNH<sub>2</sub> funkcije kod jedinjenja **42**, a uočava se signal na  $5.31\text{ ppm}$  koji potiče od dva H-3 protona iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera, kao i dva signala u obliku dublet dubleta, na  $5.56$  i  $5.66\text{ ppm}$ , koji odgovaraju H-4 atomima iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se javljaju signali na  $125.48$ ,  $127.10$ ,  $131.25$  i  $132.13\text{ ppm}$  koji odgovaraju vinilnim C-3 i C-4 atomima iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera, dok izostaje signal na  $158.73\text{ ppm}$  (od C-3 atoma iz jedinjenja **42**).

Takođe je *Clemmensen*-ovom redukcijom jedinjenja **6**, spraćenim cinkom u glacijalnoj sirćetnoj kiselini, uz refluks u toku 2 časa, dobijena smeša 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-en (**44**) i 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-en (**45**) u prinosu od 47% (*shema* 3.32.).



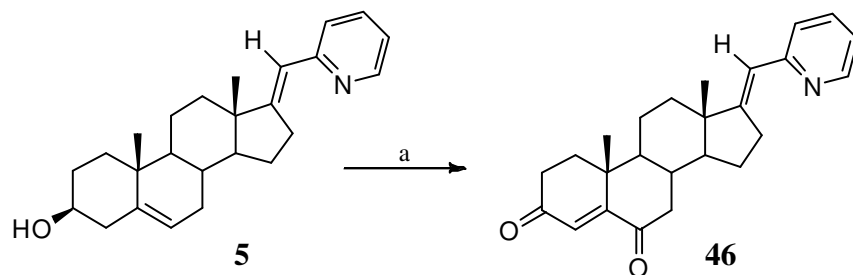
*Shema* 3.32. a) Zn u prahu, AcOH, refluks, 2 h.

Redukcija C<sub>3</sub> karbonilne grupe je potvrđena na osnovu izostanka intenzivne trake na 1673 cm<sup>-1</sup> u IR spektru smeše jedinjenja **44** i **45**, koja je odgovarala valencionim vibracijama keto grupe kod jedinjenja **6**. U <sup>1</sup>H NMR spektru je uočen signal u obliku multipleta na 5.31 ppm koji potiče od dva H-3 protona iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera, kao i dva dublet dubleta na 5.56 i 5.65 ppm, koji odgovaraju H-4 atomima iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera. Signali koji su registrovani u <sup>13</sup>C NMR spektru na 125.48, 127.10, 131.29 i 132.16 ppm odgovaraju C-3, odnosno C-4 atomima iz 5 $\alpha$ - i 5 $\beta$ - izomera, dok istovremeno izostaje signal na 199.43 ppm koji je odgovarao karbonilnom C-3 atomu iz polaznog jedinjenja **6**.

### 3.1.7. Sinteza 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata 46-54 sa modifikovanim A i B prstenom

Kako bi se ispitaio uticaj različitog supstituenta u položaju C-17 na biološku aktivnost, izvršena je sinteza jedinjenja sa 17(*E*)-pikolinilidenskom funkcijom i modifikacijama u A i B prstenu, kao kod jedinjenja **19**, **20**, **24**, **32**, **33** i **36** koja sadrže 17 $\alpha$ -pikolil funkciju.

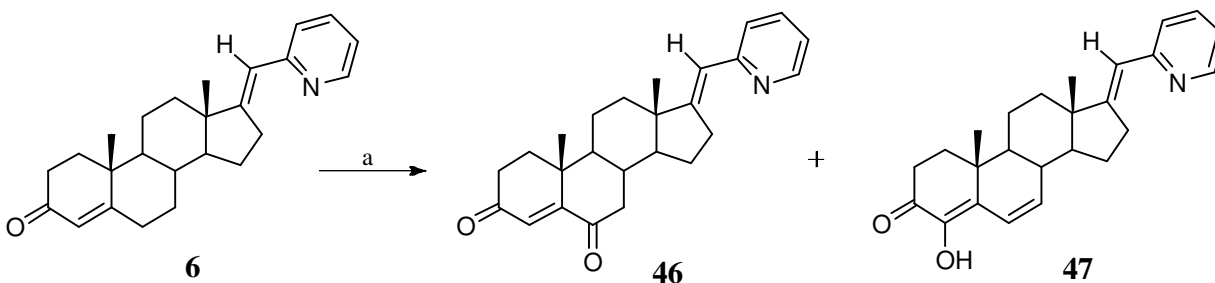
Oksidacijom jedinjenja **5** *Jones*-ovim reagensom, na 0 °C u toku 1.5 časa, dobijen je novi 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (**46**, *shema* 3.33.)<sup>202</sup> u prinosu od 26%.



**Shema 3.33.** a) Jones-ov reagens, 0 °C, 1.5 h.

Struktura jedinjenja **46** je potvrđena na osnovu spektroskopskih podataka, pri čemu je u  $^1\text{H}$  NMR spektru registrovan nov signal za H-4 proton na 6.26 ppm, dok izostaju signali za H-3 i H-6 protone na 3.55 i 5.38 ppm, u poređenju sa spektrom polaznog jedinjenja **5**. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru su registrovani signali na 199.39 i 201.94 ppm koji odgovaraju karbonilnim C-3 i C-6 atomima, dok signali na 125.67 i 160.69 ppm odgovaraju vinilnim C-4 i C-5 atomima.

Reakcijom jedinjenja **6** sa kalijum-*terc*-butoksidom<sup>190</sup> u *terc*-butanolu, na sobnoj temperaturi u toku 45 časova, dobijeno je alternativnim putem jedinjenje **46**, čiji se spektroskopski podaci slažu sa prethodno opisanim, u prinosu od 19%, kao i 4-hidroksi-17(*E*)-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on (**47**) u prinosu od 22% (*shema 3.34*).<sup>202</sup>



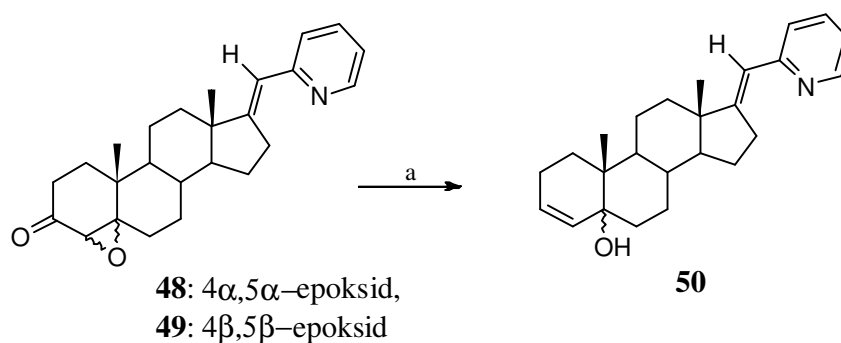
**Shema 3.34.** a) 1M *t*-BuOK, *t*-BuOH, s.t., 45 h.

U IR spektru jedinjenja **47** se opaža široka traka na  $3033\text{ cm}^{-1}$  koja ukazuje na vibracije OH grupe, dok trake na  $1566$ ,  $1589$ ,  $1610$  i  $1656\text{ cm}^{-1}$  potiču od vibracija C=C i C=O veza. Analizom  $^1\text{H}$  NMR spektra jedinjenja **47** uočavaju se dva dublet dubleta na 6.13 i 6.68 ppm koji



odgovaraju protonima dvostruke veze (H-7 i H-6), dok su u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru asignirana četiri vinilna ugljenikova atoma na: 121.47 (C-6), 134.48 (C-5), 137.47 (C-7) i 140.21 (C-4) ppm, kao i signal za karbonilni C-3 atom na 193.65 ppm.

*Wharton*-ova reakcija<sup>169</sup> je takođe primenjena (kao kod 17-pikolil serije) na smešu 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi derivata **48** i **49**<sup>191,192</sup>, sa hidrazin-hidratom na 120 °C u toku 30 minuta, pri čemu je dobijen 17(*E*)-pikoliniliden-androst-3-en-5 $\xi$ -ol (**50**, *shema* 3.35.), u prinosu od 53%. Cilj ove modifikacije je bio ispitivanje uticaja 17-supstituenta obe androstanske serije na biološku aktivnost.

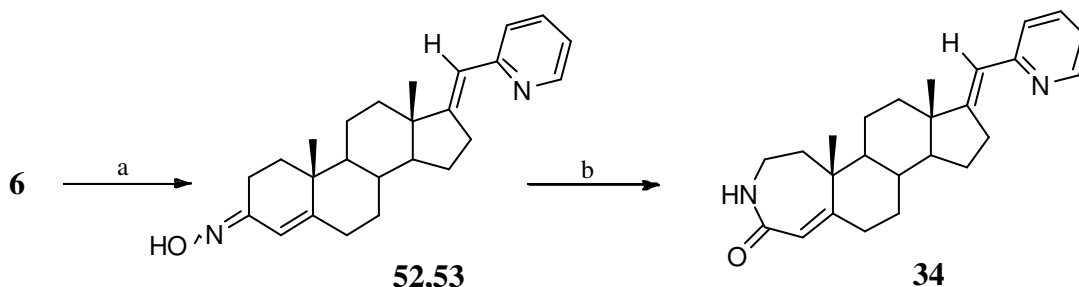


*Shema 3.35.* a)  $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ , 120 °C, 30 min.

U strukturi jedinjenja **50** je prisustvo 5-OH funkcije potvrđeno širokom trakom na 3412  $\text{cm}^{-1}$  u IR spektru, dok su u  $^1\text{H}$  NMR spektru registrovani signali na 5.51 ppm, odnosno 5.81 ppm, koji potiču od protona dvostruke veze (H-4 i H-3). Na 5.30 ppm je registrovan signal za proton iz 5-OH grupe. Signal za C-3 atom je sa 206.75 ppm, kod jedinjenja **49** i **49**, u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **50**, pomeren na 130.83 ppm, signal za C<sub>4</sub> atom je registrovan na 133.43 ppm, a za kvaternerni C-5 atom na 71.87 ppm.

U narednoj fazi su, u cilju dalje transformacije i ispitivanja biološke aktivnosti, sintetizovani izomerni 3(*E*)- i 3(*Z*)-hidroksimino 17(*E*)-pikolinilidenski derivati **52** i **53**, koji su zatim *Beckmann*-ovim premeštanjem transformisani u 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**), koji je takođe dobijen i *Beckmann*-ovim premeštanjem smeše 3(*E*)- i 3(*Z*)-17 $\alpha$ -pikolil oksima **32** i **33**. Naime, oksiminovanjem jedinjenja **6** hidrosilamin-hidrohloridom, uz reflux u toku 1.5 časa, dobijena je smeša stereoisomernih oksima, 3(*E*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en (**52**) i 3(*Z*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-

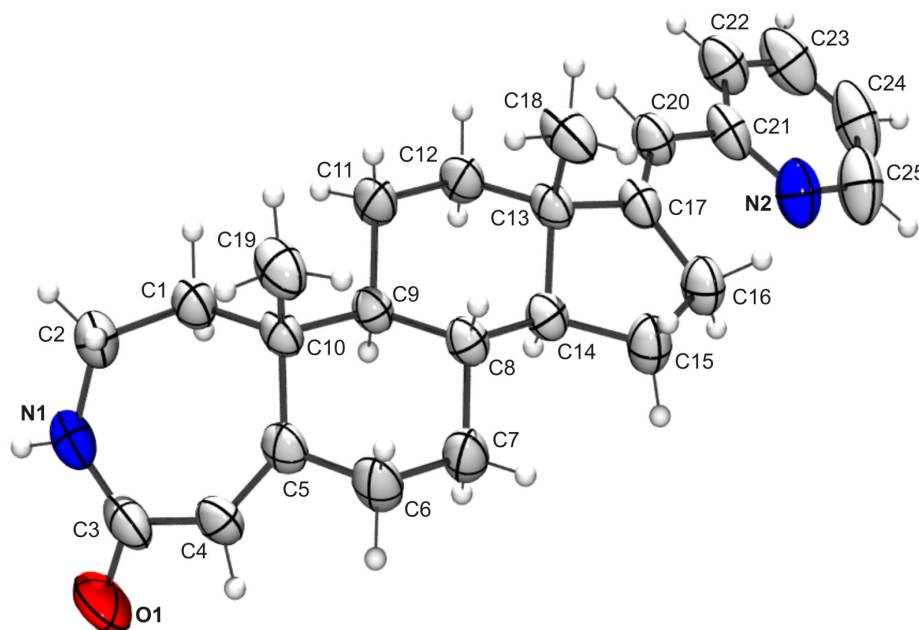
androst-4-en (**53**) (*shema 3.36.*, u molском odnosu 2.6:1 = **52:53**), koji su zatim *Beckmann*-ovim premeštanjem u prisustvu tionil-hlorida u dioksanu, na sobnoj temperaturi u toku 2 časa prevedeni u jedinjenje **34** (*shema 3.36.*), koje je dobijeno u prinosu od 32%.



**Shema 3.36.** a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{AcONa}$ , 95% EtOH, refluks, 1.5 h; b)  $\text{SOCl}_2$ , dioksan, s.t., 2 h.

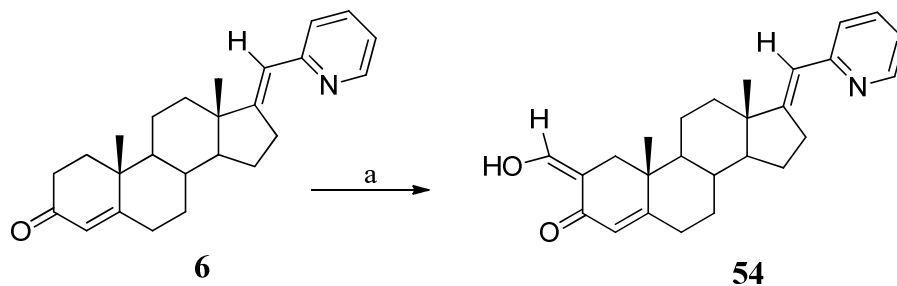
U IR spektru smeše jedinjenja **52** i **53** registrovane su trake na 1652, 1590 i 1566  $\text{cm}^{-1}$ , koje potiču od vibracija C=C i C=N veza u molekulu, kao i široka traka na 3177  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od O-H vibracija iz oksimino funkcije. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se uočavaju signali na 5.70 i 6.33 ppm koji potiču od dva H-4 protona iz *E*, odnosno *Z*-hidroksimino derivata. Takođe se javljaju dva nova signala (u odnosu na polazno jedinjenje **6**) na 10.24 i 10.49 ppm koji potiču od protona iz *Z*-, odnosno *E*-oksimino grupe, koji su izmenljivi u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ . U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru smeše jedinjenja **52** i **53** signal na 199.43 ppm, koji je odgovarao karbonilnom C-3 atomu kod polaznog jedinjenja **3**, pomeren je na 151.08 ppm u slučaju *Z* izomera, odnosno na 152.59 ppm u slučaju *E* izomera. Dva signala za C-4 atome iz *E*-, odnosno *Z*-oksimino derivata, se nalaze na 117.98 i 110.83 ppm.

Struktura jedinjenja **34** je potvrđena na osnovu IR,  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektara, pri čemu su u  $^1\text{H}$  NMR spektru registrovani signali na 5.74 i 6.67 ppm, koji odgovaraju protonima H-4 i NH iz novoformirane laktamske funkcije enamidnog tipa. Analizom  $^{13}\text{C}$  NMR spektra jedinjenja **34** uočeni su signali koji potiču od C-2, C-4 i C-3 atoma iz laktamske funkcije, na 42.03, 118.97 i 170.12 ppm. Struktura jedinjenja **34** je potvrđena i na osnovu rentgeno-strukturne analize (*slika 3.5.*).



**Slika 3.5.** Prikaz molekularne strukture jedinjenja **34**

Kako bi se uvela 2-hidroksimetilenska funkcija i u strukturu 17-pikolinilidenskog derivata, jedinjenje **6** je reagovalo sa etil-formijatom<sup>119</sup> i natrijum-hidridom u atmosferi argona, na sobnoj temperaturi u toku 2.5 časa, pri čemu je dobijen 2(*Z*)-hidroksimetilen-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**54**) u prinosu od 36% (*shema 3.37.*), analogno kao kod 17 $\alpha$ -pikolilskog derivata **36**, a isto tako, pretpostavlja se da se gradi i intramolekulska vodonična veza.



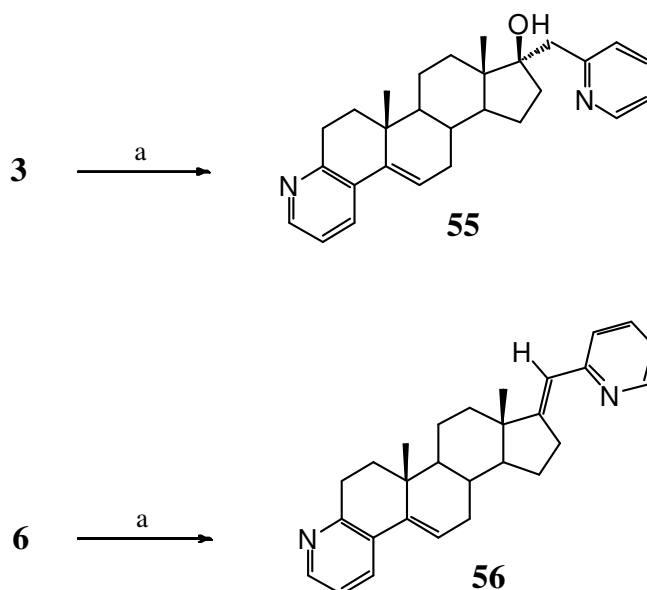
**Shema 3.37.** a) HCOOEt, NaH, aps. benzen, Ar, s.t., 2.5 h.

U IR spektru jedinjenja **54** se javlja široka traka na  $3423\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od vibracija OH grupe, kao i trake na  $1566$ ,  $1585$  i  $1643\text{ cm}^{-1}$  koje su karakteristične za vibracije C=C veza i karbonilne grupe u molekulu. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se javljaju dva nova signala (u poređenju sa spektrom polaznog jedinjenja **6**) na  $6.26$  i  $13.74\text{ ppm}$ , koji odgovaraju vinilnom protonu i protonu iz OH grupe (koji je izmenljiv u  $\text{D}_2\text{O}$ ), novoformirane hidroksimetilenske funkcije. Vinilni ugljenikov atom (iz =CHOH funkcije) je registrovan na  $165.29\text{ ppm}$  u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru, dok se na  $189.01\text{ ppm}$  javlja signal za  $\text{C}_3$  atom iz karbonilne funkcije (kod jedinjenja **6** je na  $199.43\text{ ppm}$ ). Takođe se, u poređenju sa polaznim jedinjenjem **6**, javlja i nov signal na  $106.42\text{ ppm}$  koji odgovara kvaternom C-2 atomu.

### 3.1.8. Sinteza 17-pikolil i 17-pikoliniliden androstanskih derivata sa kondenzovanim piridinskim prstenom (**55** i **56**)

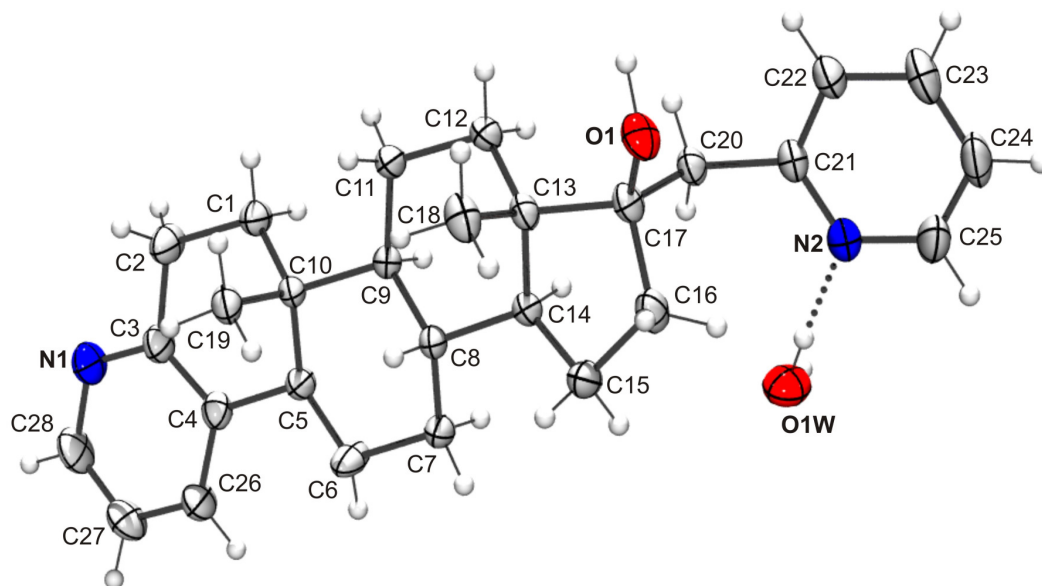
Za steroidna jedinjenja kod kojih je A-prsten kondenzovan sa heterocikličnim prstenom je utvrđeno da su od velikog farmakološkog značaja, i da poseduju raznovrsnu biološku aktivnost, kao što je antimikrobna, antiestrogena, antiinflamatorna, anabolička i kardiovaskularna aktivnost<sup>119-123</sup>. Takođe je poznato da derivati koji u svojoj strukturi sadrže piridinski prsten ispoljavaju antituberkuloznu<sup>203</sup>, antiulcernu<sup>204</sup>, antimikrobnu<sup>205-208</sup>, antineoplastičnu<sup>209</sup>, antitumorsku<sup>210-214</sup>, antiviralnu<sup>215</sup> i kardiotoničnu<sup>216</sup> aktivnost. Među heterosteroidima, sinteza jedinjenja kod kojih je piridin kondenzovan sa A prstenom steroida privlači sve veće interesovanje<sup>124</sup>, obzirom na rasprostranjenu pojavu i biološku aktivnost piridina u prirodnim proizvodima i farmaceuticima<sup>127</sup>.

Sa ciljem da se izvrši sinteza novih  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden androstanskih derivata kod kojih je A-prsten kondenzovan sa piridinom, kako bi se ispitala njihova biološka aktivnost, jedinjenje **3**, odnosno jedinjenje **6**, je reagovalo sa propargilaminom u prisustvu bakar(II)-nitrata<sup>124</sup> u atmosferi argona, uz refluks u toku 16 časova (za oba jedinjenja). U reakciji je dobijen očekivani  $17\alpha$ -pikolil-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en-17 $\beta$ -ol (**55**) u prinosu od 63%, odnosno  $17(E)$ -pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en (**56**), u prinosu od 50% (shema 3.38.).



**Shema 3.38.** a) propargilamin,  $\text{Cu}(\text{NO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , aps. EtOH, Ar, refluks, 16 h.

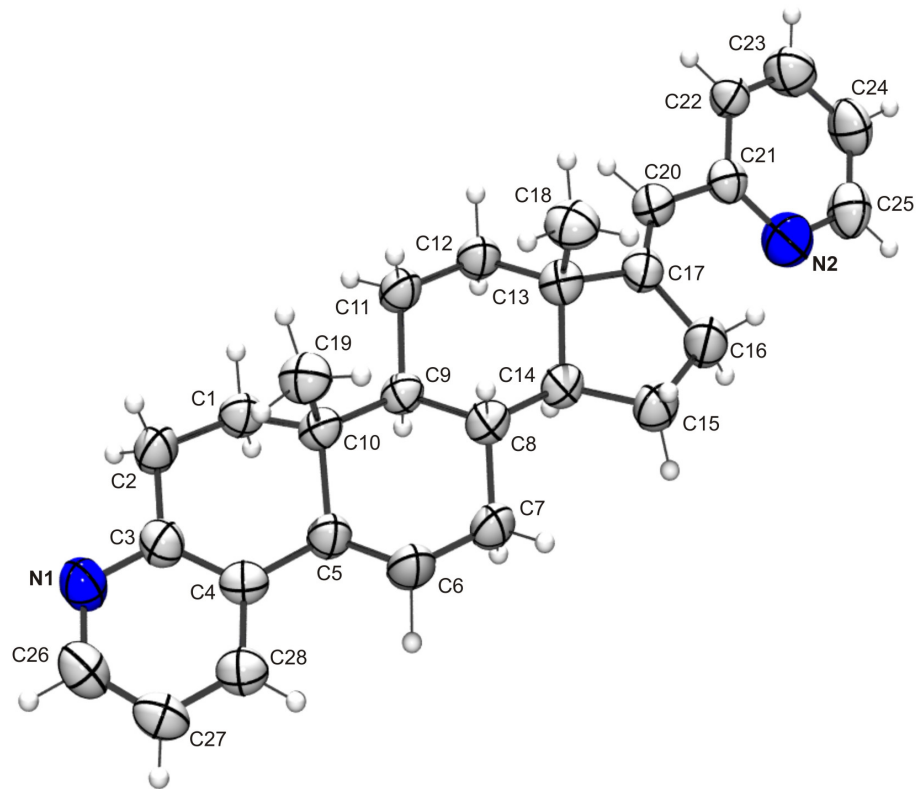
Formiranje piridinskog sistema kondenzovanog sa A prstenom kod jedinjenja **55**, odnosno **56**, je potvrđeno na osnovu spektroskopskih podataka. Tako se u  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **55** može uočiti multiplet na 2.98 ppm, koji odgovara H-2 protonima metilenske grupe koji se nalaze u susedstvu piridinskog prstena, kao i triplet koji potiče od vinilnog H-6 protona na 6.15 ppm. Signali karakteristični za sedam aromatičnih protona iz dva piridinska prstena se javljaju u oblasti 7.03-8.46 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se uočava značajna promena u poređenju sa spektrom polaznog jedinjenja **3**. Naime, kod jedinjenja **55** se signali za C-3 i C-4 atome javljaju na 160.84 i 154.80 ppm, dok se kod jedinjenja **3** signali za karbonilni C-3 i vinilni C-4 atomi nalaze na 199.71 i 123.81 ppm. Ugljenikovi atomi C-4", C-5" i C-6" iz kondenzovanog piridinskog prstena, kod jedinjenja **55**, su registrovani na 132.88, 121.30 i 147.99 ppm. Struktura jedinjenja **55** je nepobitno dokazana i na osnovu rentgeno-strukturne analize (*slika 3.6.*), pri čemu se može uočiti formiranje jedne intermolekulske vodonične veze, između N2 atoma iz piridinskog prstena i molekula vode, čija je dužina prikazana u *tabeli 7.1. (Prilog).*



**Slika 3.6.** Prikaz molekularne strukture jedinjenja **55**

Asignacijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektara jedinjenja **56** su registrovani slični signali kao i u NMR spektrima jedinjenja **55**, koji su posledica stvaranja kondenzovanog piridinskog prstena. Pored signala za H-2 i H-6 protone, koji se u  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **56** nalaze na 3.00 i 6.17 ppm, javlja se i signal na 6.25 ppm koji je karakterističan za H-20 proton iz 17(*E*)-pikolinilidenske funkcije. U intervalu od 7.01-8.57 ppm su registrovani signali za protone iz dva piridinska jezgra. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **56** se na 160.43 i 139.69 ppm javljaju signali za kvaternerne C-3 i C-4 atome (na 199.43 i 123.85 ppm su kod polaznog jedinjenja **6**), dok su na 120.85, 132.92 i 149.16 ppm prisutni signali za C-5'', C-4'' i C-6'' atome iz kondenzovanog piridinskog prstena. Signali koji odgovaraju C-5 i C-6 atomima dvostruke veze su registrovani na 134.44, odnosno 122.79 ppm.

Struktura jedinjenja **56** je takođe potvrđena i na osnovu rentgeno-strukturne analize (slika 3.7.).



*Slika 3.7.* Prikaz molekularne strukture jedinjenja **56**

### 3.2. Ispitivanje uticaja novosintetizovanih jedinjenja na proliferaciju tumorskih ćelija

Kreiranje i sintetisanje novih, efikasnijih antitumorskih agenasa, kao i ispitivanje njihovog uticaja najpre na model-sisteme, a kasnije i na pacijente, su neki od ciljeva naučnika širom sveta. Efikasni antitumorski terapeutici su oni molekuli koji u niskim koncentracijama izazivaju visok stepen inhibicije rasta neoplastičnih ćelija. Efikasnost nekog citotoksičnog ili citostatičnog agensa može se izraziti procentom smanjivanja broja ćelija prilikom tretiranja određenom koncentracijom datog jedinjenja, a u odnosu na kontrolne uzorke, ili pak  $IC_{50}$  vrednošću, koja predstavlja koncentraciju ispitivane supstance pri kojoj se broj tretiranih ćelija smanjuje za 50%, u odnosu na netretirane. Prema opšte prihvaćenim kriterijumima, ispitivano jedinjenje pokazuje izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost ukoliko je  $IC_{50}$  vrednost niža od 10  $\mu M$ , a zadovoljavajuću ako je  $IC_{50}$  vrednost u intervalu od 10-20  $\mu M$ . Ukoliko se  $IC_{50}$  vrednost kreće u intervalu od 20-100  $\mu M$ , supstanca pokazuje umerenu ili slabu citotoksičnost, dok se jedinjenja čija vrednost  $IC_{50}$  prelazi 100  $\mu M$  smatraju netoksičnim.

U ovom radu ispitivan je uticaj novosintetizovanih jedinjenja na proliferaciju šest humanih tumorskih ćelijskih linija:

- adenokarcinom dojke, estrogen-receptor pozitivan ER+ (MCF-7),
- adenokarcinom dojke, estrogen-receptor negativan ER- (MDA-MB-231),
- kancer prostate, androgen-receptor negativan AR- (PC3),
- karcinom cerviksa (HeLa),
- karcinom debelog creva (HT-29) i
- adenokarcinom pluća (A549),

dok je jedna linija zdravih humanih ćelija poslužila kao kontrola—fetalni fibroblasti pluća (MRC-5).

Efekat delovanja ispitivanih jedinjenja praćen je MTT testom<sup>217</sup>, kolorimetrijskom metodom za određivanje broja živih ćelija u testovima proliferacije i osetljivosti na različite supstance. Princip metode se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-



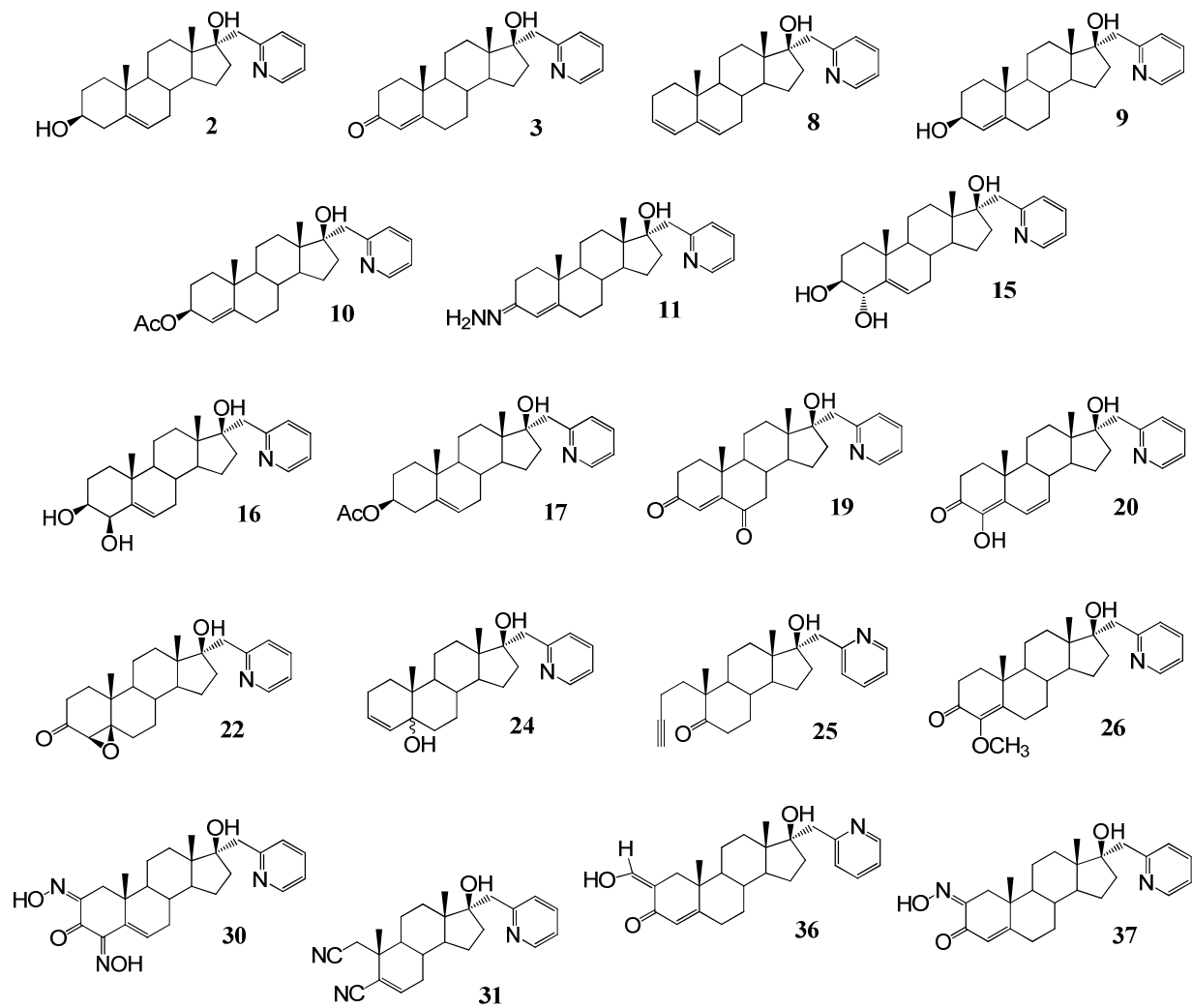
2,5-difeniltetrazolijum bromid, (MTT)] u plavo obojeni proizvod (formazan), u prisustvu mitohondrijalnog enzima sukcinat dehidrogenaze. Količina nagrađenog formazana direktno je proporcionalna broju vijabilnih ćelija, a apsorbanca se određuje spektrofotometrijski, na dve talasne dužine: test-talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj talasnoj dužini od 690 nm. Ćelije su izložene delovanju ispitivanih supstanci tokom 48 h u koncentracijama od 0.01 do 100  $\mu$ M. Kao referentna jedinjenja korišćeni su formestan (inhibitor aromataze, koji se koristi u terapiji estrogen-zavisnih bolesti) i doksorubicin (hemoterapeutik, koji se koristi za lečenje kancera).

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni pomoću programa *Excel*. Srednja vrednost, standardna devijacija i koeficijent varijacije izračunati su za kvadriplikate uzoraka u svakom eksperimentu. Svaki eksperiment je urađen po dva puta. Smanjenje rasta ćelijske populacije pod uticajem ispitivanih jedinjenja izraženo je kao procenat citotoksičnosti. Koncentracija pri kojoj se postiže 50% inhibicije rasta, odnosno citotoksičnosti ( $IC_{50}$ ), određena je “Median effect” analizom pomoću programa *CalcuSyn*.

Rezultati *in vitro* ispitivanja antiproliferativne aktivnosti odabranih  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden androstanskih derivata prikazani su u *tabelama 3.1.* i *3.2.*

**Tabela 3.1.** Antiproliferativna aktivnost 17 $\alpha$ -pikolil derivata **2, 3, 8-11, 15-17, 19, 20, 22, 24-26, 30, 31, 36, 37**, formestana i doksorubicina prema odabranim ćelijskim linijama izražena kao IC<sub>50</sub> vrednost.

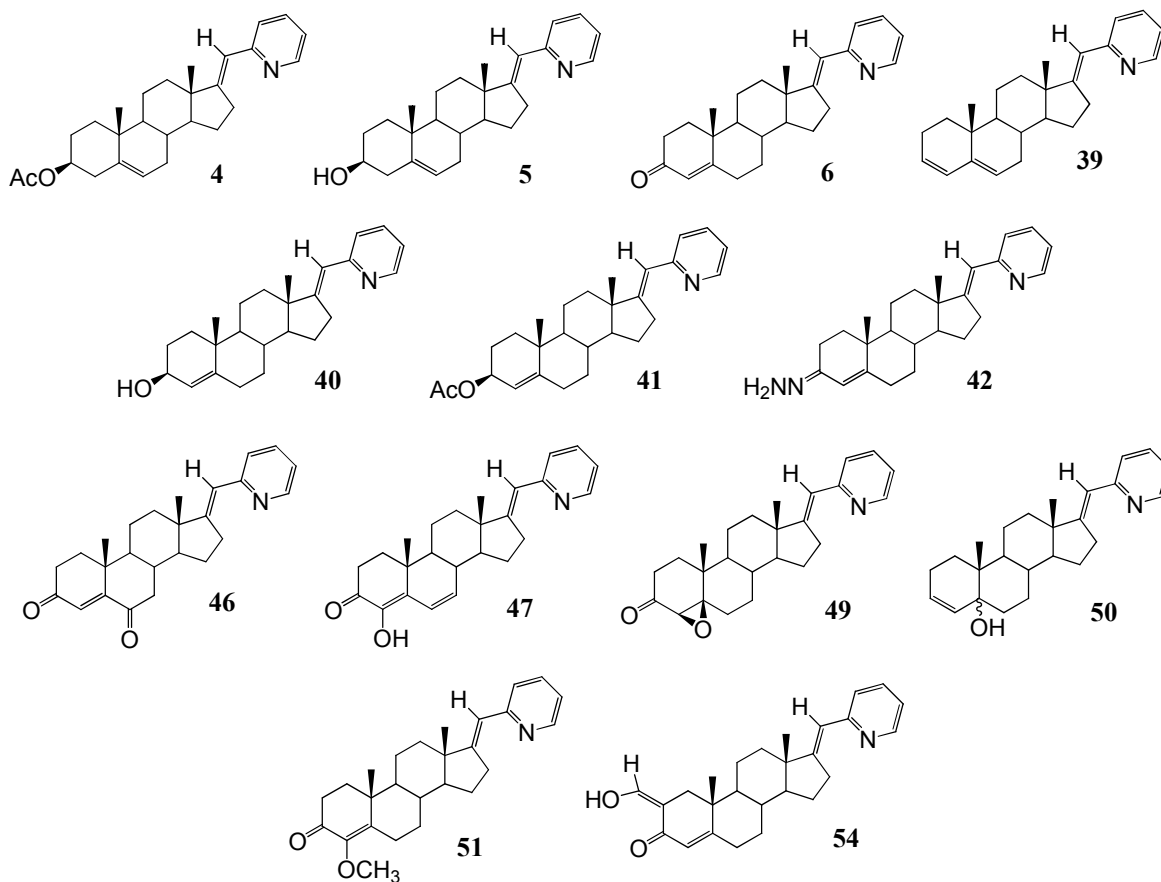
| Jedinjenje               | IC <sub>50</sub> (μM) |             |            |             |             |             |       |
|--------------------------|-----------------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------|
|                          | MCF-7                 | MDA-MB-231  | PC3        | HeLa        | HT-29       | A549        | MRC-5 |
| <b>2</b> <sup>192</sup>  | >100                  | 96.1        | <b>6.3</b> | 75.2        | >100        | 48.2        | >100  |
| <b>3</b> <sup>192</sup>  | >100                  | >100        | >100       | 57.8        | 57.5        | >100        | >100  |
| <b>8</b>                 | <b>17.4</b>           | <b>2.3</b>  | 24.7       | 27.5        | <b>11.7</b> | -           | >100  |
| <b>9</b>                 | >100                  | <b>3.8</b>  | 22.3       | 26.9        | >100        | -           | >100  |
| <b>10</b>                | >100                  | <b>10.2</b> | 31.3       | >100        | <b>10.6</b> | -           | >100  |
| <b>11</b>                | <b>6.3</b>            | 32.5        | >100       | >100        | >100        | -           | >100  |
| <b>15</b>                | >100                  | <b>5.6</b>  | 21.3       | 21.3        | <b>2.6</b>  | -           | >100  |
| <b>16</b>                | >100                  | <b>9.0</b>  | 52.1       | 26.6        | <b>8.0</b>  | -           | >100  |
| <b>17</b>                | >100                  | >100        | >100       | >100        | >100        | <b>17.3</b> | >100  |
| <b>19</b>                | >100                  | >100        | <b>4.3</b> | >100        | >100        | -           | >100  |
| <b>20</b>                | <b>3.6</b>            | <b>1.2</b>  | 25.6       | 36.6        | >100        | -           | >100  |
| <b>22</b> <sup>192</sup> | >100                  | <b>10.4</b> | 65.5       | -           | -           | -           | >100  |
| <b>24</b>                | >100                  | >100        | >100       | >100        | >100        | 42.6        | >100  |
| <b>25</b>                | >100                  | >100        | >100       | >100        | <b>6.5</b>  | 27.9        | >100  |
| <b>26</b>                | >100                  | 42.6        | 54.8       | <b>19.1</b> | >100        | -           | >100  |
| <b>30</b>                | 20.8                  | >100        | <b>8.7</b> | 81.8        | <b>10.3</b> | 56.0        | >100  |
| <b>31</b>                | <b>7.9</b>            | <b>18.2</b> | 31.5       | >100        | >100        | 71.8        | >100  |
| <b>36</b>                | >100                  | >100        | >100       | >100        | >100        | >100        | >100  |
| <b>37</b>                | >100                  | >100        | >100       | >100        | >100        | >100        | >100  |
| <b>formestan</b>         | >100                  | 55.5        | 48.4       | 5.6         | >100        | -           | >100  |
| <b>doksorubicin</b>      | 0.75                  | 0.12        | 95.6       | 1.17        | 0.32        | -           | 0.12  |



Slika 3.8. Strukture ispitivanih 17 $\alpha$ -pikolil derivata

**Tabela 3.2.** Antiproliferativna aktivnost 17(*E*)-pikoliniliden derivata **4-6**, **39-42**, **46**, **47**, **49-51**, **54**, formestana i doksorubicina prema odabranim ćelijskim linijama izražena kao IC<sub>50</sub> vrednost.

| Jedinjenje               | IC <sub>50</sub> (μM) |            |      |      |       |      |       |
|--------------------------|-----------------------|------------|------|------|-------|------|-------|
|                          | MCF-7                 | MDA-MB-231 | PC3  | HeLa | HT-29 | A549 | MRC-5 |
| <b>4</b> <sup>192</sup>  | >100                  | >100       | >100 | >100 | >100  | >100 | >100  |
| <b>5</b> <sup>192</sup>  | >100                  | >100       | >100 | >100 | >100  | >100 | >100  |
| <b>6</b> <sup>192</sup>  | >100                  | >100       | 12.9 | >100 | >100  | >100 | >100  |
| <b>39</b>                | 55.8                  | 4.6        | 19.9 | 23.3 | 1.8   | -    | >100  |
| <b>40</b>                | >100                  | >100       | 10.1 | -    | -     | -    | >100  |
| <b>41</b>                | 37.5                  | 39.3       | 66.2 | -    | -     | -    | >100  |
| <b>42</b>                | 13.6                  | 17.1       | 5.9  | >100 | 51.7  | -    | >100  |
| <b>46</b>                | >100                  | 20.2       | 88.9 | -    | -     | -    | >100  |
| <b>47</b>                | >100                  | 9.3        | >100 | -    | -     | -    | >100  |
| <b>49</b> <sup>192</sup> | 50.7                  | 88.3       | 14.3 | -    | -     | -    | >100  |
| <b>50</b>                | >100                  | >100       | >100 | 49.4 | 57.2  | 64.1 | >100  |
| <b>51</b> <sup>192</sup> | >100                  | 4.1        | 34.1 | 15.3 | 56.0  | -    | >100  |
| <b>54</b>                | >100                  | >100       | >100 | >100 | >100  | >100 | >100  |
| <b>formestan</b>         | >100                  | 55.5       | 48.4 | 5.6  | >100  | -    | >100  |
| <b>doksorubicin</b>      | 0.75                  | 0.12       | 95.6 | 1.17 | 0.32  | -    | 0.12  |



**Slika 3.9.** Strukture ispitivanih 17(*E*)-pikolinilidenskih derivata

Na osnovu rezultata antiproliferativne aktivnosti u obe serije (17-pikolil i 17-pikoliniliden) derivata prikazanih u *tabelama 3.1.* i *3.2.*, može se zaključiti da izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama humanog adenokarcinoma dojke ER+ (MCF-7) ispoljavaju derivati sa 17 $\alpha$ -pikolil grupom i to jedinjenje **20** (IC<sub>50</sub> 3.6  $\mu$ M), sa 4-hidroksi- $\Delta^{4,6}$ -3-on sistemom, kao i jedinjenja **11** (IC<sub>50</sub> 6.3  $\mu$ M) i **31** (IC<sub>50</sub> 7.9  $\mu$ M), sa 4-en-3-hidrazonskom funkcijom, odnosno 2,3-seko-5-en-2,4-dinitrilnim sistemom. Zadovoljavajuću citotoksičnost su pokazala jedinjenja **8** (IC<sub>50</sub> 17.4  $\mu$ M), sa 17 $\alpha$ -pikolil-3,5-dienskim sistemom i jedinjenje **30** (IC<sub>50</sub> 20.8  $\mu$ M) sa 2,4-dihidroksimino-3-on funkcijom. U seriji sintetizovanih 17(*E*)-pikolinilidenskih derivata (*tabela 3.2.*), jedinjenje **42** koje (slično kao jedinjenje **11**) poseduje 4-en-3-hidrazonsku funkciju pokazuje zadovoljavajuću citotoksičnost (IC<sub>50</sub> 13.6  $\mu$ M).

Prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), jaku antiproliferativnu aktivnost su pokazala jedinjenja **8**, **9**, **15**, **16** i **20** sa  $17\alpha$ -pikolil funkcijom, kao i jedinjenja **39**, **47** i **51** sa 17-pikolinilidenskom funkcijom. Naime, jedinjenje **20** (sa 17-pikolil i 4-hidroksi- $\Delta^{4,6}$ -3-on sistemom) se pokazalo kao najaktivnije prema MDA-MB-231 ćelijama ( $IC_{50}$  1.2  $\mu$ M), čak 46 puta aktivnije u odnosu na formestan ( $IC_{50}$  55.5  $\mu$ M), odnosno skoro 8 puta aktivnije u poređenju sa jedinjenjem **47** sa 17-pikoliniliden funkcijom ( $IC_{50}$  9.3  $\mu$ M). Izrazito jaku citotoksičnost su pokazala i jedinjenja sa istim AB konjugovanim sistemom, i to jedinjenje **8** sa  $17\alpha$ -pikolil grupom ( $IC_{50}$  2.3  $\mu$ M) i jedinjenje **39** sa 17(*E*)-pikoliniliden funkcijom ( $IC_{50}$  4.6  $\mu$ M), a koja su ispoljila 24, odnosno 12 puta veću aktivnost od formestana. Jedinjenje **9** sa  $17\alpha$ -pikolil- $3\beta$ -hidroksi-4-en funkcijom je takođe pokazalo jaku antiproliferativnu aktivnost ( $IC_{50}$  3.8  $\mu$ M), čak 14 puta jaču od formestana. Međutim, acetilovanjem  $3\beta$ -hidroksi funkcije aktivnost prema MDA-MB-231 ćelijama se umanjuje 2.7 puta (**10**,  $IC_{50}$  10.2  $\mu$ M). Jedinjenja **15** i **16**, koja u svojoj strukturi sadrže  $3\beta,4$ -dihidroksi-5-en sistem, a razlikuju se samo po konfiguraciji na C-4 atomu, su takođe ispoljila znatno jaču citotoksičnu aktivnost ( $IC_{50}$  5.6 i 9.0  $\mu$ M) u odnosu na formestan. Jedinjenje **51** sa 17(*E*)-pikoliniliden-4-metoksi-4-en-3-on sistemom je pokazalo čak 10 puta veću aktivnost ( $IC_{50}$  4.1  $\mu$ M) u odnosu na  $17\alpha$ -pikolil analog **26** ( $IC_{50}$  42.6  $\mu$ M). Prema istoj ćelijskoj liniji, zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost je pokazalo jedinjenje **22** ( $IC_{50}$  10.4  $\mu$ M) sa  $17\alpha$ -pikolil- $4\beta,5\beta$ -epoksi-3-on sistemom i jedinjenje **31** ( $IC_{50}$  18.2  $\mu$ M) sa 2,3-seko-5-en-2,4-dinitrilnim sistemom, kao i jedinjenja **42** i **46**, koja osim 17-pikoliniliden grupe sadrže i 4-en-3-hidrazonsku, odnosno 4-en-3,6-dionsku funkciju ( $IC_{50}$  17.1 i 20.2  $\mu$ M).

Rezultati *in vitro* ispitivanja antiproliferativne aktivnosti prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) su pokazali da izrazito jaku aktivnost pokazuju jedinjenje **19** ( $IC_{50}$  4.3  $\mu$ M) sa  $17\alpha$ -pikolil-4-en-3,6-dionskom funkcijom, čak 20 puta jaču u odnosu na C-17 analog **46** ( $IC_{50}$  88.9  $\mu$ M), zatim jedinjenje **42** ( $IC_{50}$  5.9  $\mu$ M) sa 17-pikoliniliden-4-en-3-hidrazonskom funkcijom, jedinjenje **2** ( $IC_{50}$  6.3  $\mu$ M) sa  $17\alpha$ -pikolil- $3\beta$ -hidroksi-5-en funkcijom, kao i jedinjenje **30** ( $IC_{50}$  8.7  $\mu$ M) koje poseduje  $17\alpha$ -pikolil-2,4-dihidroksimino-3-on sistem. Zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost su pokazala jedinjenja **6**, **39**, **40** i **49** (sa 17(*E*)-pikolinilidenskom funkcijom), pri čemu je jedinjenje **40** ( $IC_{50}$  10.1  $\mu$ M), sa  $3\beta$ -hidroksi funkcijom, pokazalo nešto veću aktivnost u poređenju sa svojim prekursorom **6** ( $IC_{50}$  12.9  $\mu$ M), sa 3-keto grupom, dok je jedinjenje **49**, sa  $4\beta,5\beta$ -epoksi-3-on funkcijama pokazalo nešto slabiju aktivnost ( $IC_{50}$  14.3  $\mu$ M) u odnosu na jedinjenje **6**. Zadovoljavajuću citotoksičnost je pokazalo i jedinjenje **39** ( $IC_{50}$  19.9

$\mu\text{M}$ ), a umerenu jedinjenje **8** ( $\text{IC}_{50}$  24.7  $\mu\text{M}$ ), oba sa 3,5-dienskim sistemom. U seriji sa  $17\alpha$ -pikolil supstituentom, jedinjenja **9** ( $\text{IC}_{50}$  22.3  $\mu\text{M}$ ), **15** ( $\text{IC}_{50}$  21.3  $\mu\text{M}$ ) i **20** ( $\text{IC}_{50}$  25.6  $\mu\text{M}$ ) su ispoljila takođe umerenu citotoksičnost.

Prema ćelijama humanog karcinoma cerviksa (HeLa), za obe serije androstanskih derivata, zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost su pokazala samo jedinjenja **26** ( $\text{IC}_{50}$  19.1  $\mu\text{M}$ ) i **51** ( $\text{IC}_{50}$  15.3  $\mu\text{M}$ ), oba sa 4-metoksi-4-en-3-on sistemom. Umerenu citotoksičnost su ispoljila jedinjenja **8** ( $\text{IC}_{50}$  27.5  $\mu\text{M}$ ) i **39** ( $\text{IC}_{50}$  23.3  $\mu\text{M}$ ) sa 3,5-dienskim sistemom, kao i jedinjenja **9** ( $\text{IC}_{50}$  26.9  $\mu\text{M}$ ), **15** ( $\text{IC}_{50}$  21.3  $\mu\text{M}$ ) i **16** ( $\text{IC}_{50}$  26.6  $\mu\text{M}$ ).

Sagledavajući rezultate citotoksičnosti u obe serije jedinjenja, izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma debelog creva (HT-29) su pokazala jedinjenja **39** ( $\text{IC}_{50}$  1.8  $\mu\text{M}$ ), **15** ( $\text{IC}_{50}$  2.6  $\mu\text{M}$ ), **16** ( $\text{IC}_{50}$  8.0  $\mu\text{M}$ ), i **25** ( $\text{IC}_{50}$  6.5  $\mu\text{M}$ ). Zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost su pokazala jedinjenja **30** ( $\text{IC}_{50}$  10.3  $\mu\text{M}$ ), **10** ( $\text{IC}_{50}$  10.6  $\mu\text{M}$ ), i **8** ( $\text{IC}_{50}$  11.7  $\mu\text{M}$ ).

Prema ćelijama adenokarcinoma pluća (A549), jedinjenje **17** je pokazalo zadovoljavajuću ( $\text{IC}_{50}$  17.3  $\mu\text{M}$ ), a jedinjenje **25** umerenu ( $\text{IC}_{50}$  27.9  $\mu\text{M}$ ) antiproliferativnu aktivnost.

Kako je već ranije navedeno, u *tabelama 3.1. i 3.2.* su prikazani rezultati citotoksičnosti formestana, poznatog steroidnog inhibitora aromataze, koji se koristi u terapiji estrogen-receptor pozitivnog kancera dojke, kao i doksorubicina, hemoterapeutika u lečenju karcinoma. Naime, formestan se pokazao kao potpuno netoksičan prema MCF-7, HT-29 i MRC-5 ćelijama, prema MDA-MB-231 i PC3 ćelijama je pokazao slabu antiproliferativnu aktivnost ( $\text{IC}_{50}$  55.5  $\mu\text{M}$ , odnosno  $\text{IC}_{50}$  48.4  $\mu\text{M}$ ), dok je prema ćelijama karcinoma cerviksa (HeLa) ispoljio jaku citotoksičnost ( $\text{IC}_{50}$  5.6  $\mu\text{M}$ ).

S druge strane, doksorubicin je pokazao izrazito jaku citotoksičnost prema zdravim MRC-5 ćelijama, MDA-MB-231, HT-29, MCF-7 i HeLa ćelijama, dok prema PC3 ćelijama nije toksičan.

Značajno je istaći da nijedan od novosintetizovanih  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden androstanskih derivata nije uticao na rast zdravih ćelija fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5), dok doksorubicin pokazuje izrazito jak citotoksični efekat prema ovim ćelijama,  $\text{IC}_{50}$  je čak 0.32  $\mu\text{M}$ .

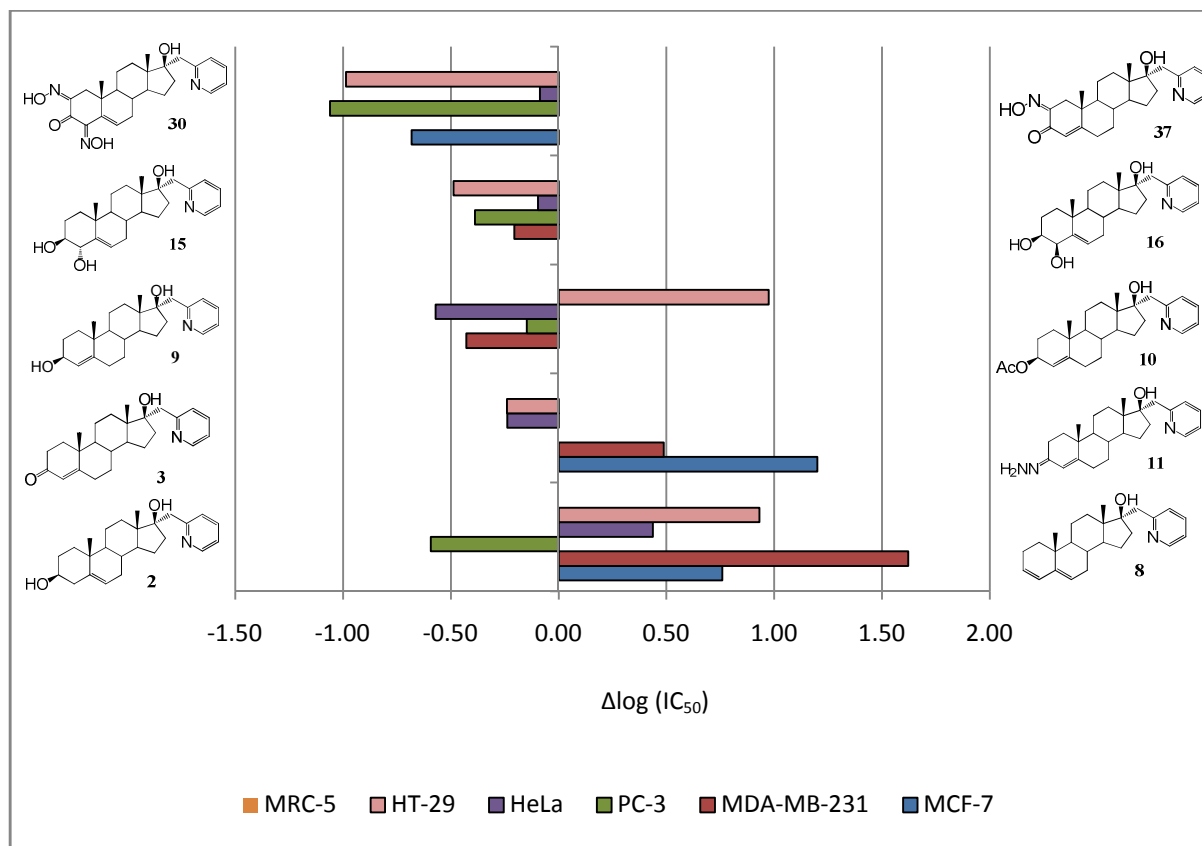
### 3.2.1. Korelacija antiproliferativne aktivnosti i strukture odabranih sintetizovanih jedinjenja

Kako bi se ispitao uticaj pojedinih funkcionalnih grupa kod novosintetisanih 17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata na antitumorsku aktivnost, izvršena je analiza dobijenih vrednosti citotoksičnosti, za svaku od tretiranih ćelijskih linija. Ovakva analiza može dovesti do uspostavljanja korelacionih odnosa (SAR, engl. structure-activity relationship) između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja.

Antiproliferativna aktivnost je kod ove analize kvantitativno izražena kao razlika dekadnih logaritama IC<sub>50</sub> vrednosti pojedinih parova supstanca-ćelijska linija, a predstavlja razliku dekadnih logaritama IC<sub>50</sub> vrednosti analoga čije se strukture koreliraju [ $\Delta \log (\text{IC}_{50}) = \log (\text{IC}_{50})_{\text{I}} - \log (\text{IC}_{50})_{\text{II}}$ ]. Negativna vrednost  $\Delta \log (\text{IC}_{50})$  pokazuje da analog **I** ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od analoga **II**, dok pozitivne vrednosti odgovaraju većoj aktivnosti analoga **II** u odnosu na analog **I**, za datu ćelijsku liniju.

Kao što se može videti na *slici 3.10.*, u 17-pikolil seriji, jedinjenje **2** sa 3 $\beta$ -hidroksi funkcijom i C<sub>5</sub>=C<sub>6</sub> vezom je pokazalo zapaženu antiproliferativnu aktivnost samo prema ćelijama karcinoma prostate (PC3), dok eliminacijom 3 $\beta$ -hidroksi funkcije i uvođenjem proširenog konjugovanog sistema u AB prsten (jedinjenje **8**), dolazi do značajnog smanjenja proliferacije gotovo kod svih ispitivanih tumorskih ćelija, pre svega ćelija adenokarcinoma dojke MDA-MB-231. Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **3** sa 3-keto-4-en sistemom, i jedinjenja **11** sa 3-hidrazonskom funkcijom i C<sub>4</sub>=C<sub>5</sub> vezom, može se zaključiti da se znatno povećava aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke MCF-7, a u manjoj meri prema MDA-MB-231 ćelijama (*slika 3.10.*).

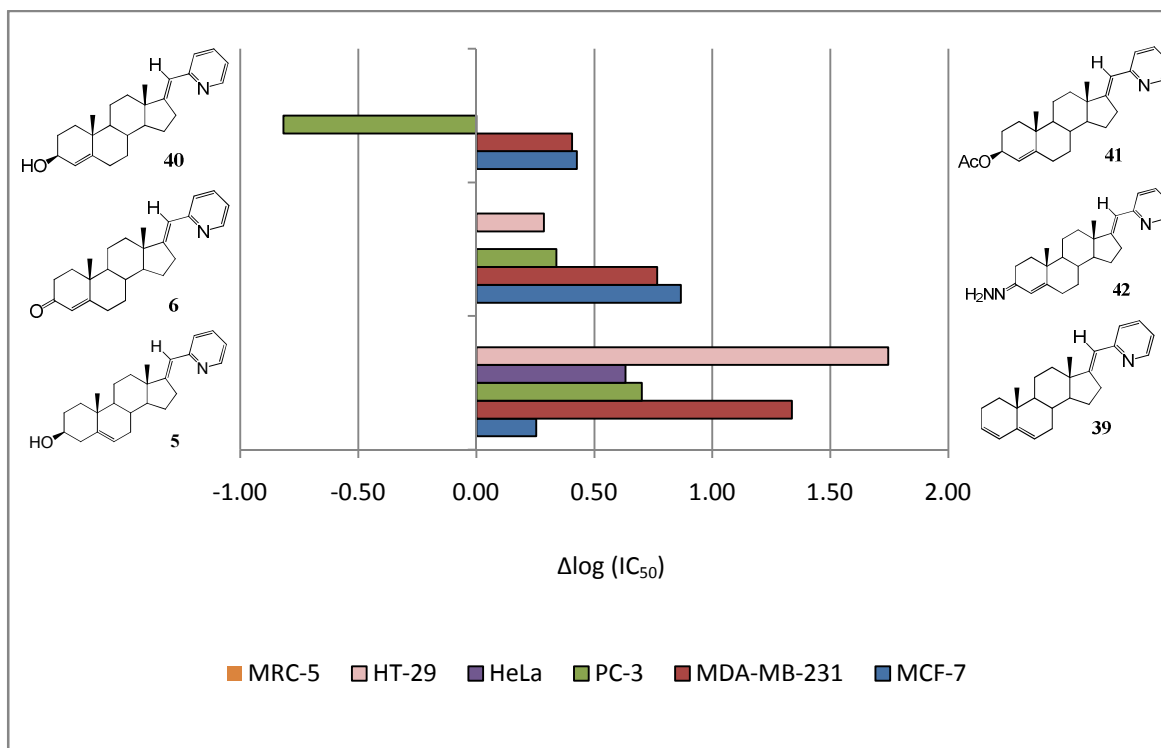




**Slika 3.10.** Korelacija između strukture odabranih  $17\alpha$ -pikolil derivata i njihove antiproliferativne aktivnosti

Takođe se zapaža da jedinjenje **10** sa  $3\beta$ -acetoksi funkcijom u velikoj meri smanjuje proliferaciju ćelija karcinoma debelog creva (HT-29), u odnosu na jedinjenje **9** sa  $3\beta$ -hidroksi funkcijom, dok je jedinjenje **9** aktivnije prema ostalim ćelijskim linijama. U slučaju izomernih jedinjenja **15** i **16** (slika 3.10.), vidi se da je izomer **15**, sa  $4\alpha$ -OH funkcijom, aktivniji od izomera **16**, sa  $4\beta$ -OH funkcijom, prema svim ispitivanim malignim ćelijama, osim prema MCF-7 ćelijama. Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **30** sa 2,4-dihidroksimino-5-en-3-on sistemom, i jedinjenja **37** sa 2-hidroksimino-4-en-3-on sistemom, može se zaključiti da je hidroksimino grupa u položaju C-4 (kod analoga **30**) doprinela povećanju citotoksičnosti prema PC3, HT-29 i MCF-7 ćelijama, dok je analog **37** bio potpuno netoksičan.

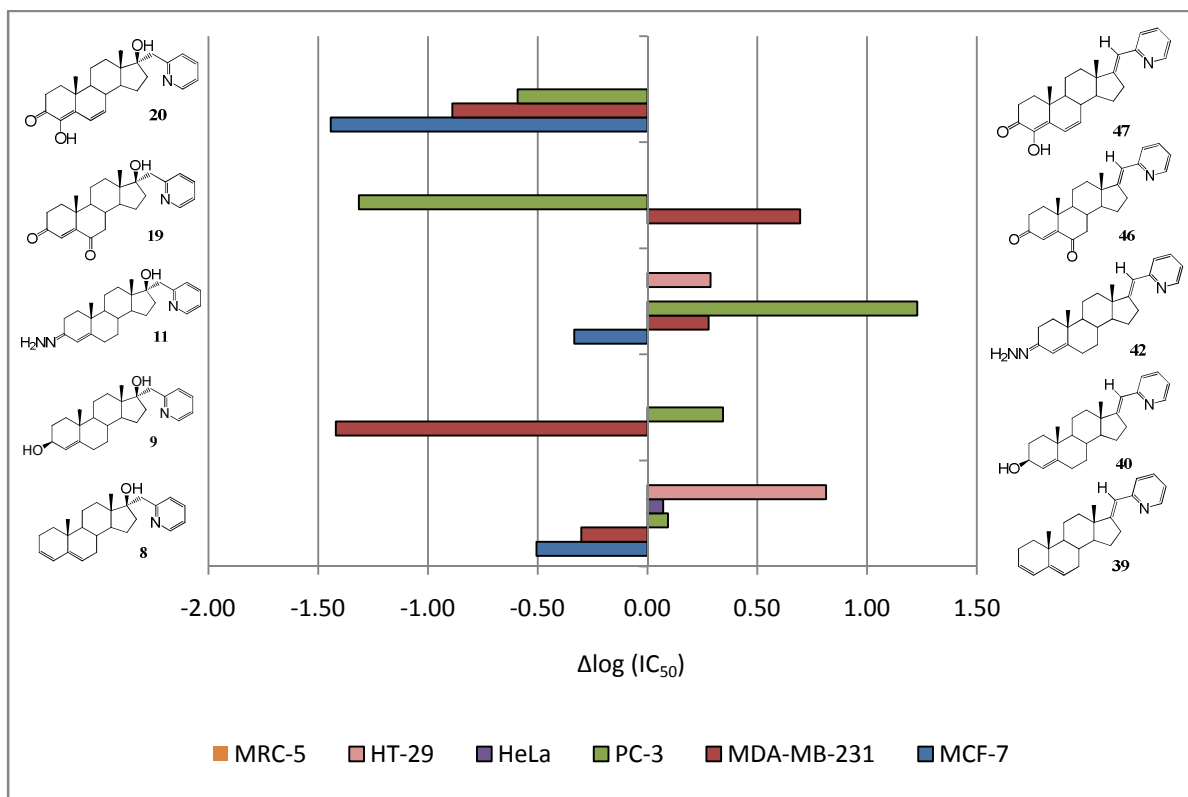
Kod 17(*E*)-pikolinilidenskih derivata (*slika 3.11.*) je zapaženo da se slično kao i kod 17 $\alpha$ -pikolil serije, uvođenjem proširene konjugacije u AB prsten (jedinjenje **39**), u velikoj meri poboljšava antiproliferativna aktivnost prema svim ispitivanim ćelijama, u odnosu na jedinjenje **5** koje ne pokazuje aktivnost.



**Slika 3.11.** Korelacija između strukture odabranih 17(*E*)-pikolinilidenskih derivata i njihove antiproliferativne aktivnosti

Jedinjenje **6** sa 3-keto funkcijom i C<sub>4</sub>=C<sub>5</sub> vezom je samo prema PC3 ćelijama ispoljilo zadovoljavajuću efikasnost, međutim kod jedinjenja **42** sa 3-hidrazonskom funkcijom i C<sub>4</sub>=C<sub>5</sub> vezom, značajno je poboljšana citotoksičnost prema MCF-7, MDA-MB-231 i PC3 ćelijama, u odnosu na jedinjenje **6**. Poređenjem aktivnosti jedinjenja **40** sa 3 $\beta$ -OH, i **41** sa 3 $\beta$ -OAc funkcijom, može se zaključiti da jedinjenje **41** ispoljava inhibiciju rasta MCF-7 i MDA-MB-231 ćelija, a jedinjenje **40** inhibiciju rasta PC3 ćelija (*slika 3.11.*).

Da bi se ispitao uticaj  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden supstituenta na inhibiciju rasta neoplastičnih ćelija, izvršena je SAR analiza odabranih parova jedinjenja sa istim funkcionalnim grupama u A i B prstenu (slika 3.12.).



**Slika 3.12.** Korelacija između strukture odabranih derivata  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden serije i njihove antiproliferativne aktivnosti

Tako, poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **8** i **39** sa 3,5-dienskim sistemom, može se zapaziti da je  $17\alpha$ -pikolil derivat **8** aktivniji prema MCF-7 i MDA-MB-231 ćelijama, dok je  $17(E)$ -pikoliniliden derivat **39** znatno aktivniji prema HT-29 ćelijskoj liniji. Kod jedinjenja **9**, sa  $17\alpha$ -pikolil-3 $\beta$ -hidroksi funkcijama i  $C_4=C_5$  vezom, se ispoljila veća aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke MDA-MB-231, u poređenju sa  $17(E)$ -pikoliniliden analogom **40**, koji je ispoljio veću aktivnost prema PC3 ćelijama. Kod analognih derivata sa 3-hidrazonskom funkcijom i  $C_4=C_5$  vezom, jedinjenje **42** (sa 17-pikolinilidenskom funkcijom) ispoljava mnogo jači efekat na rast ćelija karcinoma prostate (PC3) u odnosu na  $17\alpha$ -pikolil derivat **11**, dok se

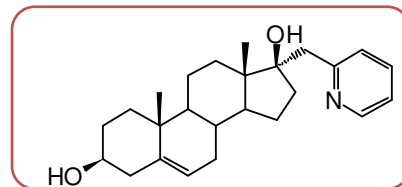
manja razlika u efikasnosti jedinjenja **42** može uočiti u slučaju proliferacije HT-29 i MDA-MB-231 ćelija. Kada se uporedi citotoksičnost jedinjenja **19** i **46** (*slika 3.12.*), sa 3,6-diketo-4-en sistemom, derivat **19** (sa 17 $\alpha$ -pikolil funkcijom) mnogo efikasnije inhibira rast PC3 tumorskih ćelija u poređenju sa analogom **46** (sa 17(*E*)-pikolinilidenskom grupom), dok je jedinjenje **46** toksičnije od jedinjenja **19** prema ćelijama adenokarcinoma dojke MDA-MB-231. Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **20** i **47** (*slika 3.12.*), sa 4-hidroksi-4,6-dien-3-onskim sistemima, može se uočiti da 17 $\alpha$ -pikolil izomer **20** efikasnije inhibira proliferaciju ćelija adenokarcinoma dojke MCF-7 i MDA-MB-231, i u nešto manjoj meri proliferaciju ćelija karcinoma prostate (PC3), u poređenje sa 17-pikolinilidenskim analogom **47**.

Posebno treba naglasiti da su ispitivana jedinjenja potpuno netoksična prema zdravim MRC-5 ćelijama, a pojedina jedinjenja efikasno inhibiraju rast većine ispitivanih malignih ćelija, tako da bi se moglo očekivati da posluže kao osnov za razvoj novih, efikasnijih i selektivnijih antitumorskih agenasa.

## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

IR-spektri su snimljeni na NEXUS 670 SP-IR spektrofotometru, a očitane vrednosti su izražene u  $\text{cm}^{-1}$ . UV spektri (talasne dužine u nm) su snimljeni na CECIL CE 2021 spektrofotometru na sobnoj temperaturi. Svi  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektri su snimljeni na aparatu Bruker AC 250E uz tetrametilsilan (TMS) kao interni standard, na frekvenciji od 250 MHz za  $^1\text{H}$  NMR spektre, odnosno na 62.9 MHz za  $^{13}\text{C}$  NMR spektre, dok su spektri za jedinjenje **18** snimljeni na aparatu Bruker Avance III 500 (na frekvenciji od 500 MHz, odnosno 125 MHz). Vrednosti hemijskih pomeranja ( $\delta$ -skala) su izražene u ppm vrednostima, a oznake s, bs, d, dd, td, t, i m označavaju singlet, široki singlet (*broad*=eng. širok), dublet, dublet dubleta, triplet dubleta, triplet i multiplet. Maseni spektri visoke rezolucije (TOF) su snimljeni na 6210 Time-of-Flight LC/MS Agilent Technologies (ESI+) instrument, dok su obični maseni spektri snimljeni na gasno-masenom spektrometru Agilent Technologies (Gas Chromatograph 6890N GC, Mass Selective detector 5973 MSD, Autosampler 7683). U masenom spektru prvi broj označava m/e vrednosti, a broj u zagradi odgovara obilnosti datog fragmenta u procentima. Elementarna mikroanaliza je urađena na Hemijskom fakultetu u Beogradu. Rentgeno-strukturna analiza novih jedinjenja je urađena na Oxford Diffraction difraktometru Gemini Excalibur, opremljenim sa četvoroosnim kapa-geometrijskim goniometrom i CCD kamerom nove generacije Sapphire CCD. Tačke topljenja su određene na aparatu Electrothermal 9100 i nisu korigovane. Za hromatografiju je korišćen silika gel 60 (0.063 – 0.2 mm; Merck). Ekstrakti su sušeni anhidrovanim natrijum-sulfatom, a rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču (Büchi).

#### 4.1. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**2**)



Suvi etar (25 ml) sipa se u trogri balon i doda prethodno isečen u sitne komade metalni litijum (0.50 g, 72 mmol). Aparatura se nalazi u atmosferi azota ili argona. Uz snažno mešanje doda se naglo 1/3 zapremine suvog brombenzena (iz levka za dokapavanje; 3.6 ml, 34.4 mmol), da započne reakcija, pri čemu se primećuje rastvaranje litijuma koje je praćeno spontanim zagrevanjem sadržaja balona. Zatim se dalje nastavi polako dokapavanje brombenzena, pri čemu se vodi računa da se sadržaj ne ohladi. Ukoliko je potrebno vrši se zagrevanje (da sav litijum izreaguje) toplim vodenim kupatilom. Vreme reakcije iznosi oko 2 časa. Nakon toga se sadržaj balona ohladi do sobne temperature, a zatim se u tako dobijenu smeđe obojenu suspenziju fenil-litijuma polako dokapava (uz mešanje) suvi  $\alpha$ -pikolin (3.5 ml, 36.5 mmol) (u atmosferi azota), pri čemu nastaje tamno crveni rastvor  $\alpha$ -pikolil-litijuma. Reakcija traje oko 2 časa. Nakon toga dokapava se rastvor dehidroepiandrosterona (**1**, DA, 1.00 g, 3.47 mmol) u suvom tetrahidrofuranu (15 ml) u toku 1 časa, pri čemu je reakciona smeša tamno smeđe-crveno obojena. Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, a zatim pažljivo izlije u vodu (0.5 l). Izdvaja se žuto ulje (na dnu čaše) koje zatim kristališe (u toku 7 dana). Kristali se odvoje ceđenjem, isperu vodom i etil-acetatom (~ 2 ml) i suše na sobnoj temperaturi. Dobija se 1.73 g sirovog proizvoda. Rekristalizacijom iz 95%-nog etanola dobija se 86% (1.14 g) čistog jedinjenja **2**, t.t. 176-178 °C (lit.<sup>182,183</sup> t.t. 176-178 °C).

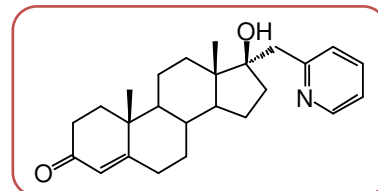
**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3318, 2930, 2867, 1661, 1598, 1568, 1477, 1435, 1377, 1102, 1061, 1033, 1004, 753.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.96 (s, 3H, H-18); 1.04 (s, 3H, H-19); 2.80 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.09 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-Py}$ ); 3.53 (m, 1H, H-3); 5.36 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, H-6); 7.16; 7.64 i 8.46 (m, 4H, Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.11 (C-18); 19.40 (C-19); 20.79; 23.97; 31.67; 31.85; 32.19; 32.75; 35.96; 36.64; 37.37; 42.29; 43.11; 46.37; 50.28; 51.14; 71.77 (C-3); 83.53 (C-17); 121.39

(C-6 i C-5', Py); 124.86 (C-3', Py); 136.91 (C-4', Py); 140.92 (C-5); 147.80 (C-6', Py); 160.74 (C-2', Py).

## 4.2. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (3)



a) Smeša 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diola (**2**, 0.30 g, 0.79 mmol), aluminijum-*terc*-butoksida (0.32 g, 0.13 mmol) i cikloheksanona (10 ml, 96.6 mmol) se meša uz refluks u trajanju od 3 časa. Nakon toga, cikloheksanon se ukloni destilacijom sa vodenom parom, ostatak ekstrahuje etil-acetatom (5 x 30 ml) a ekstrakt osuši. Uklanjanjem sušila i rastvarača dobija se sirov prizvod (0.86 g), koji se zatim prečisti na koloni silika gela (30 g). Eluiranjem smešom rastvarača toluen/etil-acetat 7:2, dobija se čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.118 g, 40%), t.t. 184-185 °C, nakon rekristalizacije iz etil-acetata.

b) *Sinteza 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-ona (3) uz koodestilaciju sa apsolutnim toluenom.*

Smeša 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diola (**2**, 1.01 g, 2.64 mmol), toluena (300 ml) i cikloheksanona (21 ml) se zagreva do tačke ključanja, nakon čega se u reakcionu smešu dodaje suspenzija aluminijum-*izo*-propoksida (0.81 g, 3.96 mmol) i toluena (30 ml) i nastavlja sa zagrevanjem reakcione smeše, pri čemu se vrši koodestilacija cikloheksanola sa toluenom, u toku 4 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, neizreagovan cikloheksanon se iz reakcione smeše uklanja destilacijom sa vodenom parom. Proizvod reakcije se ekstrahuje metilen-hloridom (6 x 50 ml) i suši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod (1.80 g) u obliku svetložutog ulja, koji se zatim prečisti na koloni silika gela (20 g, petrol-etar/etil-acetat 1:1), pri čemu se dobija čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.598 g, 60%), t.t. 184-185 °C, nakon rekristalizacije iz etil-acetata.

**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3423, 2943; 1673, 1616, 1596, 1569, 1473; 1439; 1052, 1024, 765, 513.

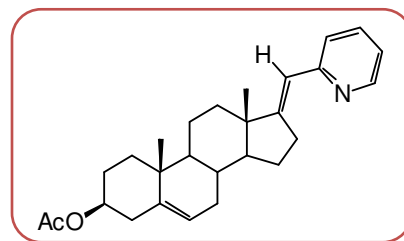
**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 1.00 (s, 3H, H-18); 1.21 (s, 3H, H-19); 2.79 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.06 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.74 (s, 1H, H-4); 7.15 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H-3',

Py); 7.17 (m, 1H, H-5', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{4'3'} = J_{4'5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4'6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.47 (m, 1H, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.17 (C-18); 17.42 (C-19); 20.74; 23.85; 31.87; 32.07; 32.91; 34.01; 35.77; 35.95; 36.35; 43.07; 38.72; 46.36; 50.13; 53.93; 83.30 (C-17); 121.43 (C-5', Py); 123.81 (C-4); 124.74 (C-3', Py); 136.86 (C-4', Py); 148.02 (C-6', Py); 160.65 (C-2', Py); 171.51 (C-5); 199.71 (C-3).

**Elementarna mikroanaliza (%)**: računato za C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>2</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O: C, 77.32; H, 8.76; N, 3.61; nađeno: C, 77.62; H, 8.50; N, 3.49.

### 4.3. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (4)



17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**2**, 1.0 g, 2.40 mmola) se zagreva u anhidridu sirćetne kiseline (25 ml) na temperaturi ključanja, u toku 6 časova. Zatim se reakciona smeša ostavi na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, pri čemu kristališe 17-pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (**4**), u prinosu od 74% (0.82 g), t.t. 196-198 °C. Matični lug se razblaži vodom (150 ml), pri čemu kristališe još jedinjenja **4** (0.147 g, t.t. 196-198 °C, lit.<sup>182,183</sup> t.t. 196-198 °C), tako da ukupan prinos iznosi 91%.

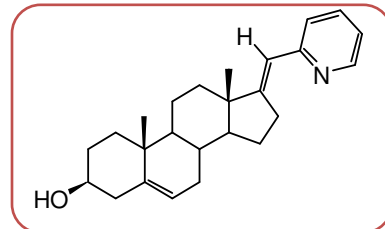
**IR** (KBr,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 2973, 2943, 2856, 1732, 1654, 1585, 1564, 1541, 1463, 1372, 1246, 1198, 1034, 776, 742.

$^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 1.07 (s, 3H, H-19); 2.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz OAc grupe); 4.62 (m, 1H, H-3); 5.40 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz, H-6); 6.25 (t, 1H,  $J = 2.3$  Hz, H-20); 7.02-8.58 (m, 4H, Py).

$^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 18.64 (C-18); 19.35 (C-19); 21.07; 21.41; 25.05; 27.76; 29.89; 31.70; 31.75; 35.76; 36.74; 37.00; 38.11; 45.77; 50.33; 53.91; 73.87 (C-3); 117.90 (C-20); 120.20 (C-5', Py); 122.36 (C-3', Py); 122.81 (C-6); 135.95 (C-4', Py); 139.81 (C-5); 148.97 (C-6', Py); 157.51 (C-17); 160.59 (C-2', Py); 170.49 (C=O iz OAc grupe).



#### 4.4. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol (5)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (**4**, 3.00 g, 7.45 mmol) se zagreva sa kalijum-hidroksidom (1.76 g, 31 mmol), u metanolu (160 ml) na tački ključanja u toku 1 časa. Nakon hlađenja, reakciona smeša se izlije u vodu (200 ml), pri čemu se izdvaja sirov proizvod koji rekristalizacijom iz metanola daje čisto jedinjenje **5** (2.72 g, 100%, t.t. 175 °C).

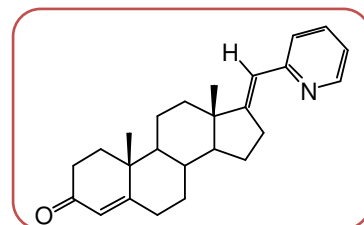
**IR** (KBr, v,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3423, 2963, 2933, 2850, 1653, 1586, 1560, 1469, 1434, 1372, 1058, 1034, 776.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 1.06 (s, 3H, H-19); 2.73 (m, 1H,  $J_{gem} = 17.2\text{Hz}$ ,  $J_{16a,20} = 2.4\text{ Hz}$ ,  $J_{16a,15} = 9.5\text{ Hz}$ , H-16a); 2.90 (m, 1H,  $J_{16b,20} = 2.4\text{ Hz}$ ,  $J_{16b,15} = 9.5\text{ Hz}$ , H-16b); 3.55 (m, 1H, H-3); 5.38 (d, 1H,  $J_{6,7} = 5.1\text{ Hz}$ , H-6); 6.24 (t, 1H,  $J = 2.4\text{ Hz}$ , H-20); 7.04 (m, 1H, H-5', Py); 7.27 (m, 1H, H-3', Py); 7.62 (td, 1H,  $J_{4',6'} = 1.8\text{ Hz}$ ,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8\text{ Hz}$ , H-4', Py); 8.57 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7\text{ Hz}$ , H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.63 (C-18); 19.45 (C-19); 21.45; 25.05; 29.83; 31.64; 31.72; 31.76; 35.80; 36.64 (C-10); 37.27; 42.27; 45.74 (C-13); 50.43 (C-14); 53.98 (C-9); 71.68 (C-3); 118.04 (C-20); 120.19 (C-5', Py); 121.42 (C-6); 122.77 (C-3', Py); 135.81 (C-4', Py); 140.91 (C-5); 149.15 (C-6', Py); 157.61 (C-17); 160.37 (C-2', Py).

**Elementarna mikroanaliza (%)**: računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}$ : C, 82.60; H, 9.15; N, 3.85; nađeno: C, 82.70; H, 9.12; N, 3.90.

#### 4.5. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (6)



a) Smeša 17(*E*)-pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ola (**5**, 0.510 g, 1.40 mmol), cikloheksanona (10 ml) i aluminijum-*izo*-propoksida (0.440 g, 2.15 mmol) se zagreva na tački ključanja i intenzivno meša u toku 4 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, cikloheksanon se iz reakcione smeše uklanja destilacijom sa vodenom parom. Reakcioni proizvod se ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 50 ml) i suši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod (0.670 g) u obliku svetložutog ulja. Rekrystalizacijom iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, dobija se čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.450 g, 89%), t.t. 166-167 °C, u obliku belih kristala.

b) *Sinteza 17(E)-pikoliniliden-androst-4-en-3-ona (6) uz koodestilaciju sa apsolutnim toluenom.* Smeša 17(*E*)-pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ola (**5**, 1.00 g, 2.98 mmol), toluena (300 ml) i cikloheksanona (20 ml) se zagreva, u balonu za destilaciju, do tačke ključanja, nakon čega se u reakcionu smešu dodaje suspenzija aluminijum-*izo*-propoksida (0.86 g, 4.20 mmol) i toluena (50 ml) i nastavlja sa zagrevanjem reakcione smeše, pri čemu se vrši koodestilacija cikloheksanola sa toluenom, u toku 2 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, neizreagovan cikloheksanon se iz reakcione smeše uklanja destilacijom sa vodenom parom. Proizvod reakcije se ekstrahuje metilen-hloridom (6 x 50 ml) i suši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod (1.50 g) u obliku svetložutog ulja, koji se zatim prečisti na koloni silika gela (20 g, heksan/etil-acetat 4:1), pri čemu se dobija čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.760 g, 77%), t.t. 166-167 °C.

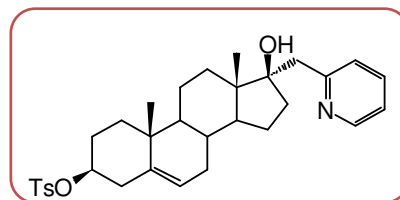
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 2941, 1673, 1613, 1581, 1560, 1466, 1429, 1375, 864, 781.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.94 (s, 3H, H-18); 1.24 (s, 3H, H-19); 2.77-2.85 (m, 2H, H-16a i H-16b); 5.74 (s, 1H, H-4); 6.23 (s, 1H, H-20); 7.04 (m, 1H, H-5', Py), 7.26 (m, 1H, H-3', Py), 7.61 (td, 1H,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz, H-4', Py), 8.56 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 17.34 (C-18); 18.73 (C-19); 21.01; 24.85; 29.70; 31.77; 32.77; 33.90; 35.38; 35.58; 35.64; 38.62; 45.65; 53.02; 53.95; 118.07 (C-20); 120.23 (C-5', Py); 122.75 (C-3', Py); 123.85 (C-4); 135.81 (C-4', Py); 149.08 (C-6', Py); 157.36 (C-17); 159.68 (C-2', Py); 171.09 (C-5); 199.43 (C-3).

**Elementarna mikroanaliza (%)**: računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ : C, 81.08; H, 8.65; nađeno: C, 81.64; H, 8.63.

#### 4.6. $17\beta$ -Hidroksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-5-en- $3\beta$ -il *p*-toluensulfonat (7)



$17\alpha$ -Pikolil-androst-5-en- $3\beta$ , $17\beta$ -diol (**2**, 0.506 g, 1.33 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (8 ml) na  $0^\circ\text{C}$ , a zatim se u kapima doda *p*-toluensulfonilhlorid (1.028 g, 5.24 mmol) prethodno rastvoren u apsolutnom piridinu (4.5 ml). Reakciona smeša se meša u toku 45 časova na sobnoj temperaturi. Nakon isteka reakcionog vremena, reakcija se prekida ubacivanjem komadića leda, a zatim se reakciona smeša izlije u hladnu vodu (40 ml), pri čemu se izdvaja sirov proizvod (beli talog) koji se odvoji i suši na vazduhu. Sirov proizvod (0.550 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (30 g, toluen/etil-acetat 20:1 i 15:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **7** u obliku belih kristala (0.140 g, 20%), t.t.  $163$ - $165^\circ\text{C}$ , nakon rekristalizacije iz sistema metilenhlorid/heksan.

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3323, 2951, 2870, 1597, 1569, 1473, 1438, 1361, 1188, 1175, 1098, 938, 866, 755, 667.

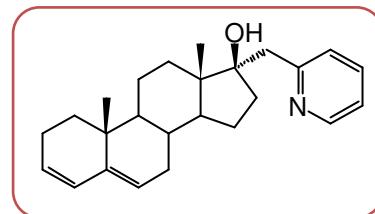
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.94 (s, 3H, H-18); 1.00 (s, 3H, H-19); 2.45 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  iz OTs grupe); 2.79 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.06 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 4.36 (m, 1H, H-3); 5.32 (d, 1H,  $J = 4.9$  Hz, H-6); 7.16 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.34 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H iz OTs grupe); 7.63 (td, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.7$  Hz, H-4', Py); 7.80 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H iz OTs grupe); 8.46 (d, 1H,  $J_{5',6'} = 5.6$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.05 (C-18); 19.13 (C-19); 20.67; 21.62 ( $\text{CH}_3$  iz OTs grupe); 23.93; 28.59; 31.75; 32.05; 32.55; 35.94; 36.45; 36.93; 38.84; 43.11; 46.26; 49.99; 50.94; 82.27 (C-3);

83.42 (C-17); 121.34 (C-5', Py); 123.23 (C-6); 124.73 (C-3', Py); 127.57 (C-2' i C-6', OTs); 129.72 (C-3' i C-5', OTs); 134.71 (C-4', OTs); 136.76 (C-4', Py); 138.95 (C-5); 144.38 (C-1', OTs); 147.95 (C-6', Py); 160.72 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>32</sub>H<sub>42</sub>NSO<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 536.28291; nađeno 536.28358.

#### 4.7. 17 $\alpha$ -Pikolil-androsta-3,5-dien-17 $\beta$ -ol (8)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (**7**, 0.079 g, 0.149 mmol) se rastvori u bis(2-aminoetil)aminu (4.5 ml), i vrši zagrevanje uz refluks u toku 1 časa. Reakciona smeša se zatim ohladi do sobne temperature, izlije u vodu (15 ml), a zatim ekstrahuje metilenhloridom (5 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, a zatim se sušilo i rastvarač uklone. Sirov proizvod (0.096 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (1 g, toluen/etil-acetat 30:1), pri čemu se dobija čist 17 $\alpha$ -pikolil-androsta-3,5-dien-17 $\beta$ -ol (**8**, 0.008 g, 15%), u obliku bezbojnog ulja.

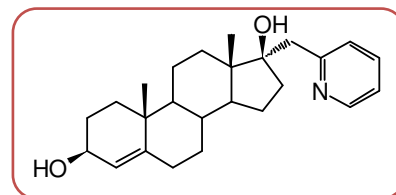
**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3328, 3017, 2926, 2855, 1652, 1596, 1570, 1438, 1377, 1024, 846, 753.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.99 (s, 3H, H-18); 1.26 (s, 3H, H-19); 2.82 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.09 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.41 (m, 1H, H-3); 5.63 (m, 1H, H-6); 5.94 (d, 1H,  $J = 9.9$  Hz, H-4); 7.16 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{4',5'} = J_{4',3'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.47 (m, 1H, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.21 (C-18); 18.77 (C-19); 20.66; 23.03; 23.89; 29.68; 31.68; 32.20; 32.56; 33.83; 36.04; 43.22; 46.46; 48.53; 51.33; 83.48 (C-17); 121.31 (C-5', Py); 122.80 (C-6); 124.74 (C-3', Py); 125.14 (C-4); 128.90 (C-3); 136.72 (C-4', Py); 141.56 (C-5); 147.99 (C-6', Py); 160.88 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>NO [M+H]<sup>+</sup> 364.26349; nađeno 364.26255.

#### 4.8. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (9)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.203 g, 0.535 mmol) se rastvori u apsolutnom etanolu (15 ml) i u rastvor se doda natrijum-borhidrid (0.142 g, 3.74 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 2.5 časa. Nakon isteka reakcionog vremena smeša se izlije u vodu (20 ml), pri čemu se izdvaja beli talog. Sirov proizvod se procedi i rekristališe iz sistema metilen-hlorid/metanol, pri čemu se dobija čist 17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**9**, 0.191 g, 94%), t.t. 96-98 °C, u obliku belih kristala.

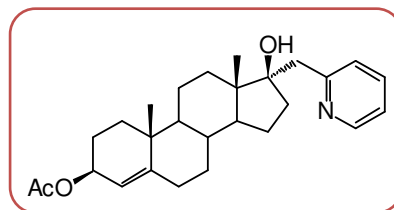
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3417, 2934, 2853, 1634, 1597, 1570, 1440, 1380, 1327, 1230, 1193, 1101, 1056, 1031, 860, 760, 657, 588.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.97 (s, 3H, H-18); 1.08 (s, 3H, H-19); 2.78 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.07 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 4.15 (m, 1H, H-3); 5.30 (d, 1H,  $J = 1.0$  Hz, H-4); 7.17 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.64 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.4$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.16 (C-18); 18.92 (C-19); 20.68 (C-11); 23.84; 29.50 (C-2); 32.14 (C-7); 32.17; 32.92 (C-1); 35.43; 35.88; 36.65 (C-8); 37.42 (C-10); 43.11 (C-20); 46.28 (C-13); 50.37 (C-14); 54.60 (C-9); 67.93 (C-3); 83.41 (C-17); 121.32 (C-5', Py); 123.41 (C-4); 124.71 (C-3', Py); 136.74 (C-4', Py); 147.90 (C-5); 147.96 (C-6', Py); 160.77 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 382.27406; nađeno 382.27769.

#### 4.9. 17β-Hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3β-il acetat (10)



U rastvor 17α-pikolil-androst-4-en-3β,17β-diola (**9**, 0.049 g, 0.130 mmol) u apsolutnom piridinu (1.5 ml) se doda acet-anhidrid (1.5 ml) i reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 24 časa. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (10 ml), pri čemu se izdvaja talog koji se odvoji i zatim rekristališe iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan. Dobija se čist 17β-hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3β-il acetat (**10**, 0.031 g, 56%), t.t. 179-181 °C, u obliku belih kristala.

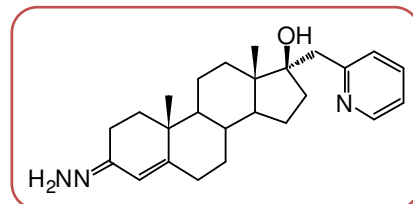
**IR** (KBr, v,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3437, 2942, 2852, 1730, 1598, 1570, 1441, 1371, 1240, 1097, 1023, 970, 927, 901, 760, 675, 612.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.97 (s, 3H, H-18); 1.09 (s, 3H, H-19); 2.06 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  iz OAc); 2.78 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.05 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 5.20 (m, 1H, H-3); 5.24 (s, 1H, H-4); 6.65 (bs, 1H, 17β-OH); 7.15 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.6$  Hz, H-4', Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 5.2$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.15 (C-18); 18.84 (C-19); 20.65; 21.46 ( $\text{CH}_3$  iz OAc); 23.86; 25.08; 32.18; 32.77; 35.04; 35.94; 36.62; 37.42; 43.13; 46.43; 50.32; 54.38; 70.88 (C-3); 83.37 (C-17); 119.04 (C-4); 121.32 (C-5', Py); 124.73 (C-3', Py); 136.75 (C-4', Py); 147.98 (C-5); 149.48 (C-6', Py); 160.82 (C-2', Py); 171.04 (C=O iz OAc).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{NO}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  424.28462; nađeno 424.28428.

#### 4.10. 17β-Hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-hidrazon (**11**)



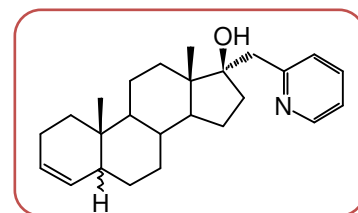
17β-Hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.105 g, 0.278 mmol) se zagreva u prisustvu 98%-nog hidrazin-hidrata (0.05 ml, 1.03 mmol) i etilen-glikola (1.40 ml, uz katalitičku količinu anhidrovanog Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10<sup>-3</sup> mmol)) u mikrotalasnoj pećnici, na 195 °C (170 W) u toku 4 minuta. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (30 ml), ekstrahuje etil-acetatom (5 x 10 ml), i ekstrakt se osuši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod (0.312 g) koji se prečisti na koloni silika gela (6 g, heksan/etil-acetat 1:2) pri čemu se dobija 17β-hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-hidrazon (**11**, 0.109 g, 100%), t.t. > 260 °C, nakon rekristalizacije iz sistema metilen-hlorid/heksan, u obliku žutih kristala.

**IR** (KBr, ν, cm<sup>-1</sup>): 3334, 2938, 2856, 1671, 1629, 1596, 1473, 1437, 1378, 1330, 1240, 1125, 1023, 873, 755.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 1.00 (s, 3H, H-18); 1.11 (s, 3H, H-19); 2.79 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.7 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.06 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.7 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.98 (s, 1H, H-4); 6.67 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>); 7.16 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 1H, *J*<sub>4',3'</sub> = *J*<sub>4',5'</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>4',6'</sub> = 1.3 Hz, H-4', Py); 8.46 (m, 1H, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 14.14 (C-18); 17.74 (C-19); 21.03; 21.92; 23.89; 32.19; 32.68; 35.46; 35.96; 36.50; 38.30; 39.03; 43.13; 46.38; 50.31; 53.98; 83.37 (C-17); 113.81 (C-4); 121.34 (C-5', Py); 124.73 (C-3', Py); 136.76 (C-4', Py); 147.99 (C-6', Py); 158.31 (C-3); 160.79 (C-2', Py); 161.40 (C-5).

#### 4.11. 17 $\alpha$ -Pikolil-5 $\alpha$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ol (**13**) i 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\beta$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ol (**14**)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.223 g, 0.617 mmol) se rastvori u ključaloj glacijalnoj sirćetnoj kiselini (12 ml), i u rastvor se dodaje cink u prahu (1.257 g, 18.5 mmol). Reakciona smeša se zagreva na temperaturi ključanja naredna 2 časa. Nakon hlađenja, reakciona smeša se profiltrira (da se ukloni višak cinka i cink-acetat), u matični lug se dodaje voda (30 ml) i zasićeni NaHCO<sub>3</sub> do pH 6-7, a zatim se vrši ekstrakcija metilen-hloridom (5 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, sušilo i rastvarač uklone, a sirov proizvod se zatim prečisti hromatografijom na koloni silika gela. Nakon prečišćavanja (15 g silika gela, toluen), dobija se smeša jedinjenja **13** i **14** (0.098 g, 45%), u obliku bezbojnog ulja.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **13** i **14**:

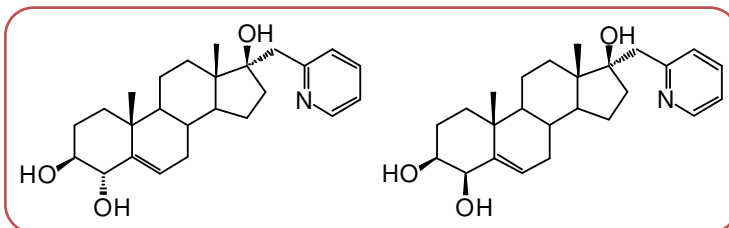
**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3385, 3053, 2920, 2856, 1596, 1569, 1473, 1439, 1380, 1051, 1027, 752.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.95 (2s, 6H, H-18); 0.98 (2s, 6H, H-19); 2.80 (d, 2H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py iz 5 $\alpha$  i 5 $\beta$ ); 3.05 (d, 2H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py iz 5 $\alpha$  i 5 $\beta$ ); 5.29 (m, 1H, H-3 iz 5 $\alpha$ ); 5.35 (m, 1H, H-3 iz 5 $\beta$ ); 5.53 (dd, 1H,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz, H-4 iz 5 $\alpha$ ); 5.68 (dd, 1H,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz,  $J_{3,4} = 2.6$  Hz, H-4 iz 5 $\beta$ ); 7.15 (m, 4H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 2H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.46 (m, 2H, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.15 (C-18); 20.73; 21.13; 22.39; 22.97 (C-19); 23.51; 23.98; 27.61; 31.94; 32.52; 33.68; 34.06; 36.36; 41.16; 43.12; 43.53 (C-5 $\beta$ ); 46.05 (C-5 $\alpha$ ); 46.60; 50.41; 53.58; 83.52 (C-17); 121.28 (C-5', Py); 124.74 (C-3', Py); 125.50 (C-3 iz 5 $\alpha$ ); 127.11 (C-3 iz 5 $\beta$ ); 131.34 (C-4 iz 5 $\alpha$ ); 132.43 (C-4 iz 5 $\beta$ ); 136.72 (C-4', Py); 148.00 (C-6', Py); 160.97 (C-2', Py).



#### 4.12. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol (15) i 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol (16)



17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**2**, 0.200 g, 0.520 mmol) se rastvori u dioksanu (4 ml) i u rastvor se doda selen-dioksid (0.089 g, 0.810 mmol). Reakciona smeša se meša uz refluks u toku 25 časova, zatim procedi, a talog se ispere metilen-hloridom (10 ml) i etil-acetatom (10 ml). U matični lug se doda voda (10 ml) i zatim ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml). Ekstrakti se spoje i nakon sušenja i uklanjanja sušila i rastvarača, sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni (10 g silika gela, heksan/etil-acetat 2:1 i 1:2), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **15** (0.045 g, 22%) i čisto jedinjenje **16** (0.058 g, 28%), oba u obliku bezbojnog ulja.

##### Jedinjenje 15:

**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3353, 2926, 2854, 1724, 1665, 1596, 1570, 1438, 1377, 1260, 1216, 1053, 1030, 955, 757.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.98 (s, 3H, H-18); 1.04 (s, 3H, H-19); 2.88 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.10 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.60 (m, 1H, H-3); 3.89 (t, 1H,  $J = 3.8$  Hz, H-4); 5.64 (d, 1H,  $J = 4.2$  Hz, H-6); 7.18 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.46 (d, 1H,  $J_{5',6'} = 4.1$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 13.90 (C-18); 18.27 (C-19); 20.47; 21.47; 23.99; 29.69; 31.38; 31.78; 36.07; 37.09; 38.45; 42.00; 42.47; 43.01; 46.09; 65.06 (C-4); 71.35 (C-3); 83.52 (C-17); 121.35 (C-5', Py); 123.81 (C-3', Py); 124.86 (C-6); 136.79 (C-4', Py); 146.44 (C-5); 147.90 (C-6', Py); 160.83 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 398.26897; nađeno 398.26828.

##### Jedinjenje 16:

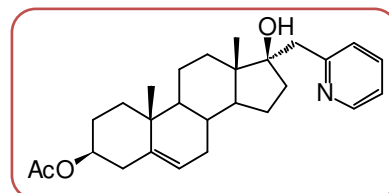
**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3362, 2926, 2855, 1661, 1597, 1570, 1438, 1379, 1250, 1052, 1027, 967, 757, 666.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.98 (s, 3H, H-18); 1.22 (s, 3H, H-19); 2.80 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.08 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.57 (m, 1H, H-3); 4.16 (d, 1H,  $J = 3.2$  Hz, H-4); 5.71 (t, 1H,  $J = 3.0$  Hz, H-6); 7.16 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.64 (td, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.46 (m, 1H, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.11 (C-18); 20.27; 21.05 (C-19); 23.96; 25.41; 29.69; 32.13; 32.64; 36.13; 37.01; 38.14; 43.19; 46.34; 50.33; 51.31; 72.48 (C-3); 77.24 (C-4); 83.48 (C-17); 121.35 (C-5', Py); 124.74 (C-3', Py); 128.46 (C-6); 136.75 (C-4', Py); 142.94 (C-5); 148.01 (C-6', Py); 160.80 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{NO}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  398.26897; nađeno 398.26769.

### 4.13. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (17)



17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (**2**, 0.301 g, 0.787 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (9 ml), i u rastvor se u kapima doda anhidrid sirćetne kiseline (9 ml). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 časa a zatim izlije u hladnu vodu (50 ml), pri čemu se izdvaja beli talog koji se odvoji i osuši na vazduhu. Nakon rekristalizacije iz 95%-nog etanola, dobija se čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (**17**, 0.270 g, 78%), t.t. 195-197 °C, u obliku belih kristala.

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3302, 2943, 2904, 2867, 2827, 1728, 1598, 1569, 1438, 1373, 1249, 1136, 1071, 1036, 757, 667.

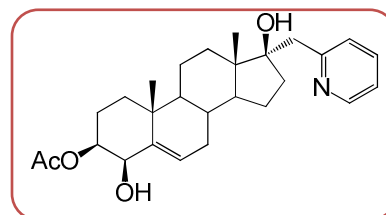
**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.97 (s, 3H, H-18); 1.05 (s, 3H, H-19); 2.04 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  iz OAc grupe); 2.84 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.18 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 4.61 (m, 1H, H-3); 5.39 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz, H-6); 7.26 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.72 (t, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz, H-4', Py); 8.48 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.14 (C-18); 19.30 (C-19); 20.72; 21.41 ( $\text{CH}_3$  iz OAc grupe); 23.93; 27.74; 31.80; 32.10; 32.70; 35.68; 37.70; 37.06; 38.09; 42.71; 46.46; 50.14; 51.09; 73.89

(C-3); 83.47 (C-17); 121.62 (C-6); 122.31 (C-5', Py); 125.29 (C-3', Py); 137.63 (C-4', Py); 139.79 (C-5); 147.00 (C-6', Py); 160.28 (C-2', Py); 170.55 (C=O iz OAc grupe).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 424.28462; nađeno 424.28399.

#### 4.14. 4β,17β-Dihidroksi-17α-pikolil-androst-5-en-3β-il acetat (18)



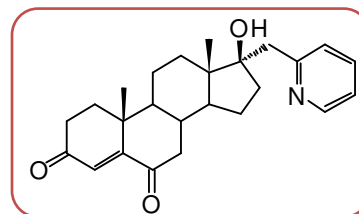
17β-Hidroksi-17α-pikolil-androst-5-en-3β-il acetat (**17**, 0.156 g, 0.354 mmol) se rastvori u dioksanu (8 ml) na sobnoj temperaturi, a zatim doda selen-dioksid (0.130 g, 1.172 mmol) i voda (0.05 ml). Reakciona smeša se meša uz refluks u toku 20 časova, a zatim se talog koji sadrži neizreagovali selen-dioksid odvoji i ispere metilen-hloridom (2 x 5 ml) i etil-acetatom (2 x 5 ml). Matični lug i organski slojevi se spoje, i nakon sušenja i uklanjanja rastvarača, sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni (1 g silika gela, petrol-etar/acetone 2:1), pri čemu se dobija 4β,17β-dihidroksi-17α-pikolil-androst-5-en-3β-il acetat (**18**, 0.013 g, 8%) u obliku ulja.

**IR** (film, ν, cm<sup>-1</sup>): 3369, 2927, 1732, 1597, 1439, 1374, 1245, 1070, 1020, 976, 757.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0.95 (s, 3H, H-18); 1.12 (s, 3H, H-19); 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz OAc grupe); 2.79 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.5 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.08 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.5 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.62 (m, 1H, H-3); 5.38 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.0 Hz, H-4); 5.83 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 5.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.5 Hz, H-6); 7.17 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.64 (m, 1H, H-4', Py); 8.45 (dd, 1H, *J*<sub>1</sub> = 5.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.5 Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 14.10 (C-18); 20.30 (C-19); 20.40; 21.60 (CH<sub>3</sub> iz OAc grupe); 23.90; 25.80; 29.70; 32.00; 32.10; 32.50; 36.10; 36.90; 43.00 (C-20); 46.30; 50.30 (C-14); 51.20 (C-9); 71.80 (C-3); 79.20 (C-4); 83.40 (C-17); 121.50 (C-5', Py); 124.90 (C-3', Py); 131.30 (C-6); 136.90 (C-4', Py); 138.90 (C-5); 148.10 (C-6', Py); 160.80 (C-2', Py); 171.20 (C=O iz OAc grupe).

#### 4.15. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**)



U rastvor 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diola (**2**, 0.352 g, 0.923 mmol) u acetonu (35 ml), na 0 °C, u kapima se doda *Jones*-ov reagens (2 ml, ~ 1 kap/10 s) uz intenzivno mešanje i reakciona smeša se meša 1.5 čas, a zatim se doda metanol (15 ml, da se uništi višak reagensa). Rastvarač se ukloni uparavanjem, zatim se doda voda (20 ml) i zasićen rastvor NaHCO<sub>3</sub> (do pH 8), a sirov proizvod se ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml). Nakon prečišćavanja hromatografijom na koloni (15 g silika gela, toluen/etil-acetat 7:1), dobija se čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**, 0.044 g, 12%), t.t. 243-245 °C, nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, u obliku belih kristala.

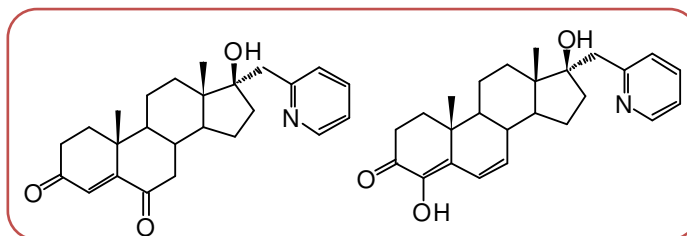
**IR** (KBr,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3299, 3063, 2923, 2857, 1726, 1693, 1596, 1569, 1440, 1378, 1264, 1119, 1055, 1022, 867, 763.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 1.01 (s, 3H, H-18); 1.20 (s, 3H, H-19); 2.80 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.09 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 6.19 (s, 1H, H-4); 7.18 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.65 (td, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.7$  Hz, H-4', Py); 8.47 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.4$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.08 (C-18); 17.50 (C-19); 18.72; 20.56; 23.58; 31.64; 33.95; 34.84; 35.55; 35.73; 39.75; 42.94; 46.55; 50.94; 50.99; 83.06 (C-17); 121.53 (C-5', Py); 124.68 (C-3', Py); 125.51 (C-4); 136.93 (C-4', Py); 148.02 (C-6', Py); 160.27 (C-2', Py); 160.82 (C-5); 199.46 (C-3); 201.95 (C-6).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 394.23767; nađeno 394.23582.

#### 4.16. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**) i 4,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androsta-4,6-dien-3-on (**20**)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.202 g, 0.540 mmol) se rastvori u *tert*-butanolu (6 ml), a zatim se na sobnoj temperaturi, u kapima, doda kalijum-*tert*-butoksid (2.5 ml, 1 M). Reakciona smeša se meša na 45 °C u toku 3 časa (zaštićena od svetla). Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml) i ekstrahuje etil-acetatom (5 × 10 ml), a zatim metilen-hloridom (5 × 10 ml). Ekstrakti se spoje i osuše, a nakon uklanjanja sušila i rastvarača sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (20 g, toluen/etil-acetat 8:1 i 5:1). Dobija se čist 4,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androsta-4,6-dien-3-on (**20**, 0.052 g, 25%), t.t. 147-149 °C, nakon rekristalizacije iz metanola, kao i čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**, 0.028 g, 13%), t.t. 243-245 °C, nakon rekristalizacije iz metanola, u obliku belih kristala.

##### Jedinjenje 20:

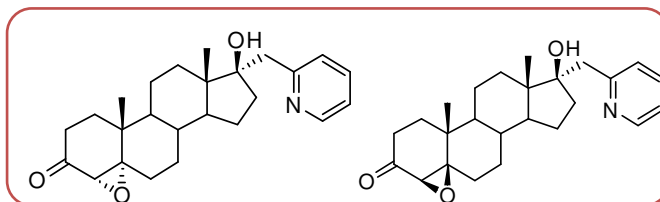
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3423, 3054, 2941, 2872, 1655, 1616, 1597, 1570, 1380, 1265, 1017, 894, 737.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 1.04 (s, 3H, H-18); 1.12 (s, 3H, H-19); 2.80 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.10 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 6.06 (dd, 1H,  $J_{6,7} = 9.8$  Hz,  $J_{7,8} = 2.0$  Hz, H-7); 6.65 (dd, 1H,  $J_{6,7} = 9.8$  Hz,  $J_{6,8} = 2.8$  Hz, H-6); 7.18 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.66 (td, 1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 7.6$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.47 (d, 1H,  $J_{5',6'} = 4.0$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.08 (C-18); 16.44 (C-19); 20.27; 23.43; 29.70; 31.93; 33.29; 35.75; 36.48; 37.93; 42.98; 46.87; 48.04; 51.44; 83.17 (C-17); 121.55 (C-5', Py); 123.94 (C-3', Py); 124.71 (C-6); 134.70 (C-5); 136.76 (C-4', Py); 137.10 (C-7); 140.21 (C-4); 147.83 (C-6', Py); 160.39 (C-2', Py); 193.77 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 394.23767; nađeno 394.24972.

#### 4.17. 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on (21) i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on (22)



Rastvor 30%-nog vodonik-peroksida (0.75 ml, 6.63 mmol) u 4 M NaOH (0.45 ml) se dodaje u rastvor jedinjenja **3** (0.190 g, 0.501 mmol) u metanolu (6 ml) i reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 1 časa, a zatim ostavi na 10 °C još 24 časa, zaštićeno od svetla. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u vodu (30 ml), ekstrahuje etil-acetatom (5 x 20 ml), osuši, a zatim se sušilo i rastvarač uklone. Dobija se sirov proizvod (0.141 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (20 g, benzen/etil-acetat 9:1), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **21** i **22** (0.090 g, 45%, odnos epoksida **21:22** = 1:3.8) u obliku bezbojnog ulja.

Rekristalizacijom iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, dobija se čisto jedinjenje **22** (0.070 g, 35%), t.t. 135-137 °C, u obliku belih kristala.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **21** i **22**:

**IR** (film,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3520, 2943, 2853, 1716, 1636, 1597, 1569, 1440, 1382, 1248, 1192, 1099, 1052, 1027, 768.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.97 (s, 3H, H-18); 1.18 (s, 3H, H-19); 2.79 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 2.99 (s, 1H, H-4 $\alpha$ ); 3.03 (s, 1H, H-4 $\beta$ ); 3.06 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 7.17-8.46 (m, 4H, Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.16 (C-18); 18.96 (C-19); 21.29; 23.84; 26.17; 29.84; 30.24; 31.95; 32.57; 35.79; 35.95; 37.35; 43.10; 46.64; 46.74; 50.19; 62.78 (C-4); 70.52 (C-5); 83.23 (C-17); 121.40 (C-5', Py); 124.72 (C-3', Py); 136.86 (C-4', Py); 148.00 (C-6', Py); 160.66 (C-2', Py); 207.12 (C-3).

**Čisto jedinjenje 22:**

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3522, 3378, 2942, 1717, 1597, 1570, 1473, 1441, 1258, 1190, 1026, 769.

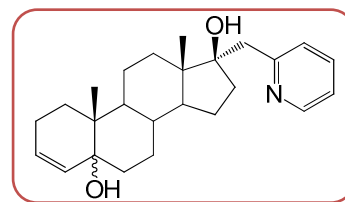
**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.97 (s, 3H, H-18); 1.18 (s, 3H, H-19); 2.79 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.00 (s, 1H, H-4 $\alpha$ ); 3.06 (d, 1H,  $J_{\text{gem}} = 14.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 7.16 (m, 2H, H-3' i H-5', Py);

7.64 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 6.5$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.9$  Hz, H-4', Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{5',6'} = 6.5$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.16 (C-18); 18.96 (C-19); 21.25; 23.84; 26.06; 29.78; 30.20; 31.89; 32.54; 35.73; 35.89; 37.31; 43.02; 46.58; 46.64; 50.11; 62.73 (C-4); 70.52 (C-5); 83.23 (C-17); 121.41 (C-5', Py); 124.72 (C-3', Py); 136.88 (C-4', Py); 147.96 (C-6', Py); 160.59 (C-2', Py); 207.22 (C-3).

**Elementarna mikroanaliza (%)**: računato za C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O: C, 72.61; H, 8.53; N, 3.38; nađeno: C, 72.87; H, 8.62; N, 3.33.

#### 4.18. 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol (**24**)



Smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoksi i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona (**21** i **22**, 0.106 g, 0.294 mmol) se rastvori u 98%-nom hidrazin-hidratu (0.15 ml, 3.03 mmol) i reakciona smeša se zagreva na 120 °C u toku 30 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se rastvori u metilen-hloridu (10 ml), doda se voda (50 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, sušilo i rastvarač se uklone, a sirov proizvod (0.089 g) prečisti na koloni silika gela (1 g, petrol-etar/etil-acetat 5:1), pri čemu se dobija 17 $\alpha$ -pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol (**24**, 0.031 g, 30%), u obliku bezbojnog ulja.

**IR** (film,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3384, 2934, 2869, 1597, 1570, 1474, 1439, 1379, 1252, 1118, 1066, 1010, 980, 755.

$^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.95 (s, 3H, H-18); 1.00 (s, 3H, H-19); 1.95 (m, 2H, H-2); 2.83 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.17 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.54 (d, 1H,  $J_{3,4} = 9.9$  Hz, H-4); 5.84 (m, 1H, H-3); 7.23 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.73 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz, H-4', Py); 8.48 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 5.7$  Hz, H-6', Py).

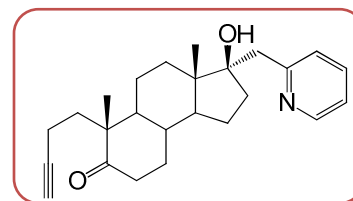
$^1\text{H}$  NMR (acetone-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.89 (s, 3H, H-18); 0.98 (s, 3H, H-19); 5.45 (dt, 1H,  $J_1 = 9.8$  Hz,  $J_2 = 2.0$  Hz, H-4); 5.61 (s, 1H, 5-OH); 5.73 (m, 1H, H-3); 7.24 (t, 1H,  $J = 5.1$  Hz, H-5', Py); 7.37

(d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H-3', Py); 7.73 (td, 1H,  $J_1 = 7.7$  Hz,  $J_2 = 3.7$  Hz, H-4', Py); 8.48 (d, 1H,  $J = 4.7$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.18 (C-18); 16.49 (C-19); 22.29; 22.39; 23.83; 27.82; 28.78; 32.20; 35.08; 35.41; 35.67; 39.15; 42.55; 43.53; 46.66; 50.55; 71.93 (C-5); 83.37 (C-17); 121.68 (C-5', Py); 125.36 (C-3', Py); 130.84 (C-3); 133.60 (C-4); 137.77 (C-4', Py); 146.86 (C-6', Py); 160.16 (C-2', Py).

HRMS TOF (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  382.27406; nađeno 382.27241.

#### 4.19. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on (25)



Smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoksi i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona (**21** i **22**, 0.059 g, 0.149 mmol) se rastvori u 50%-nom etanolu (2 ml) i doda *p*-toluensulfonil-hidrazin (0.028 g, 0.148 mmol). Reakciona smeša se meša najpre 1 čas na sobnoj temperaturi, a zatim još 1 čas na 55 °C, nakon čega se izlije u vodu (10 ml) i ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 10 ml). Nakon sušenja ekstrakta i uklanjanja sušila i rastvarača, dobija se sirov proizvod (0.067 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (1 g, petrol-etar/etil-acetat 4:1). Nakon rekristalizacije iz sistema metilen-hlorid/heksan dobija se čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on (**25**, 0.032 g, 56%), t.t. 141-142 °C, u obliku belih kristala.

IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3307, 2941, 2116, 1700, 1637, 1597, 1439, 1379, 1323, 1217, 1165, 1123, 1033, 1010, 957, 815, 756.

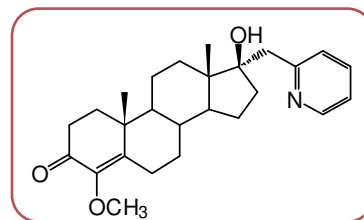
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 1.01 (s, 3H, H-18); 1.12 (s, 3H, H-19); 2.84 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.20 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 7.26 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.76 (m, 1H, H-4', Py); 8.49 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 13.74; 14.27 (C-18); 20.61 (C-19); 21.24; 23.80; 30.87; 31.69; 33.57; 35.44; 35.61; 38.04; 42.43; 46.70; 47.42; 50.18; 50.80; 68.07 (C-3); 83.16 (C-4); 84.99 (C-17); 121.86 (C-5', Py); 125.43 (C-3', Py); 138.08 (C-4', Py); 146.65 (C-6', Py); 159.76 (C-2', Py); 214.46 (C-5).

HRMS TOF (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  380.25841; nađeno 380.25687.



## 4.20. 17β-Hidroksi-4-metoksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (26)



U rastvor smeše jedinjenja **21** i **22** (0.175 g, 0.440 mmol) u metanolu (22 ml), doda se 4 M NaOH (2 ml) i reakciona smeša se zagreva uz refluks u toku 3.5 časa. Nakon hlađenja se reakciona smeša ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml), rastvarač osuši i ukloni, a sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni (5 g silika gela, heksan/etil-acetat 3:1). Dobija se čist 17β-hidroksi-4-metoksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**26**, 0.007 g, 4%), u obliku bezbojnjog ulja.

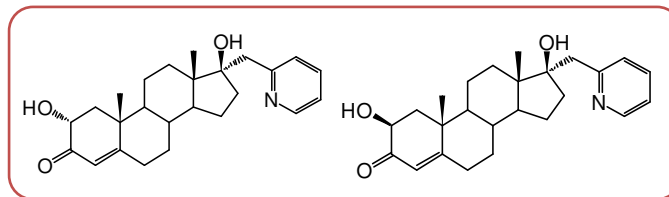
**IR** (film,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3391, 2929, 1681, 1597, 1570, 1439, 1379, 1317, 1260, 1214, 1086, 1022, 927, 891, 756, 666.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 1.00 (s, 3H, H-18); 1.22 (s, 3H, H-19); 2.80 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.07 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.60 (s, 3H, iz 4-OCH<sub>3</sub>); 4.72 (bs, 1H, 17β-OH); 7.18 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.6$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.7$  Hz, H-4', Py); 8.46 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 5.1$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.15 (C-18); 17.50 (C-19); 20.69; 23.41; 23.79; 29.66; 31.90; 34.25; 34.84; 35.91 (C-10); 36.01; 38.78; 43.02; 44.23 (C-13); 50.20 (C-14); 54.33 (C-9); 60.23 (O-CH<sub>3</sub>); 83.34 (C-17); 121.43 (C-5', Py); 124.75 (C-3', Py); 136.88 (C-4', Py); 146.21 (C-5); 147.23 (C-4); 147.91 (C-6', Py); 160.57 (C-2', Py); 191.39 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{NO}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  410.26897; nađeno 410.26718.

## 4.21. 2 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (27) i 2 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (28)



a) Smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoksi i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona (**21** i **22**, 0.131 g, 0.332 mmol) se rastvori u mravljoj kiselini (2 ml) i reakciona smeša zagreva na tački ključanja u toku 50 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (20 ml, zagrejanu do 50 °C) i ostavi na sobnoj temperaturi 24 časa. U reakcionu smešu se zatim doda čvrst NaOH (1.80 g) do pH 8, pri čemu se izdvaja beli talog, koji se odvoji ceđenjem (0.104 g), a matični lug se ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 10 ml). Ekstrakti se spoje i osuše, i nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se još 0.011 g sirovog proizvoda u obliku smeđeg ulja. Talog i ulje se spoje i prečiste na koloni silika gela (15 g, toluen/etil-acetat 3:1, toluen/etil-acetat 1:1), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **27** i **28** (0.036 g, 27%) u obliku žutog ulja.

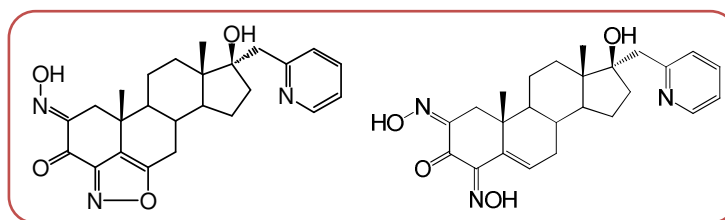
b) Smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoksi i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona (**21** i **22**, 0.066 g, 0.166 mmol) se rastvori u 2%-tnom rastvoru H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (0.4 g/4 ml) i meša na sobnoj temperaturi u toku 3 časa. Po završetku reakcije, reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (50 ml) i uz mešanje se doda čvrst NaOH (1.1 g) do pH 5. Reakciona smeša se ostavi na 10 °C u toku 20 časova i nakon toga ekstrahuje etil-acetatom (5 x 10 ml). Organski ekstrakti se spoje i osuše, a rastvarač upari, pri čemu se dobija sirov proizvod (0.123 g) u obliku smeđeg ulja. Prečišćavanjem hromatografijom na koloni silika gela (10 g, toluen/etil-acetat 5:1, toluen/etil-acetat 3:1, toluen/etil-acetat 1:1) dobija se smeša 2 $\alpha$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-ona (**27**) i 2 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-ona (**28**) (0.016 g, 25%). Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **27** i **28**:

**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3362, 2927, 2856, 1725, 1679, 1597, 1569, 1439, 1378, 1228, 1119, 1085, 887, 757.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.99 (s, 3H, H-18); 1.25 (s, 3H, H-19); 2.83 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.06 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 4.24 (m, 2H, H-2 $\alpha$  i H-2 $\beta$ ); 5.80 (s, 1H, H-4); 7.17 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.65 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 4.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.9$  Hz, H-4', Py); 8.46 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 3.1$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 14.25 (C-18); 18.05 (C-19); 20.49; 23.74; 29.68; 31.80; 31.95; 32.78; 34.70; 35.82; 35.91; 38.69; 40.65; 43.03; 43.93; 46.37; 50.23; 54.50; 69.52 (C-2); 83.26 (C-17); 120.15 (C-5', Py); 121.46 (C-4); 124.75 (C-3', Py); 136.91 (C-4', Py); 147.90 (C-6', Py); 160.50 (C-2', Py); 173.23 (C-5); 199.77 (C-3).

#### 4.22. 17 $\beta$ -Hidroksi-2(*E*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-izoksazolo[3',4',5':4,5,6]-androst-5-en-3-on (29) i 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*),4( $\zeta$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3-on (30)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.194 g, 0.512 mmol) se rastvori u neposredno pripremljenom 1M rastvoru kalijum-*terc*-butoksida u *terc*-butanolu (5 ml) na sobnoj temperaturi, a zatim se u kapima doda *i*-amil-nitrit (0.35 ml, 3.26 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 24 časa, nakon čega se izlije u vodu (10 ml) i ispere dietil-etrom (2 x 5 ml) da se odstrane nečistoće. Nakon toga se smeša zakiseli sa HCl (1:4, 1 ml) do pH 6, pri čemu se izdvaja sirov proizvod u obliku sitnog žutog taloga, koji se odvoji i osuši na vazduhu. Sirov proizvod (0.112 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (1 g, heksan/etil-acetat 1:1, zatim hloroform-matanol 1:1), pri čemu se dobija čist 17 $\beta$ -hidroksi-2(*E*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil- izoksazolo[3',4',5':4,5,6]-androst-5-en-3-on (**29**, 0.022g, 10%), t.t. 187-188 °C, nakon kristalizacije iz DMSO u obliku bezbojnih kristala, kao i 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*),4( $\zeta$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3-on (**30**, 0.063 g, 28%), t.t. 184-186 °C, u obliku praškastog žutog taloga.

**Jedinjenje 29:**

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3243, 2957, 2871, 1713, 1598, 1570, 1552, 1455, 1386, 1295, 1216, 1049, 1023, 953, 923, 845, 755, 667.

**$^1\text{H}$  NMR** (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 0.88 (s, 3H, H-18); 1.08 (s, 3H, H-19); 2.82 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{Py}$  i H-7); 5.35 (bs, 1H,  $17\beta\text{-OH}$ ); 7.24 (m, 1H, H-3', Py); 7.38 (m, 1H, H-5', Py); 7.70 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.6$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.47 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.0$  Hz, H-6', Py); 13.02 (s, 1H,  $=\text{NOH}$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 14.40 (C-18); 20.56; 22.49 (C-19); 23.56; 27.41; 30.63; 32.13 (C-10); 33.18; 34.35; 36.46; 43.44 (C-20); 46.58 (C-13); 47.64 (C-9); 49.73 (C-14); 82.56 (C-17); 121.41 (C-5', Py); 125.14 (C-5); 125.52 (C-3', Py); 136.35 (C-4', Py); 148.01 (C-6', Py); 153.51 (C-4); 160.17 (C-2', Py); 169.38 (C-2); 176.79 (C-6); 196.71 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  436.22308; nađeno 436.22110.

**Jedinjenje 30:**

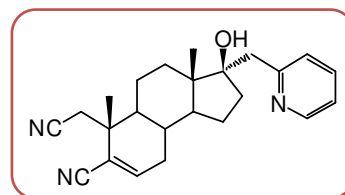
**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3411, 2956, 2870, 1702, 1598, 1570, 1439, 1386, 1289, 1231, 1120, 1017, 976, 888, 756.

**$^1\text{H}$  NMR** (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 0.85 (s, 3H, H-18); 0.92 (s, 3H, H-19); 2.85 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{Py}$  i H-7); 5.33 (bs, 1H,  $17\beta\text{-OH}$ ); 7.15 (m, 1H, H-6); 7.23 (m, 1H, H-3', Py); 7.40 (m, 1H, H-5', Py); 7.71 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.5$  Hz, H-4', Py); 8.46 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.2$  Hz, H-6', Py); 11.85 (bs, 1H,  $\text{C}_4=\text{NOH}$ ); 12.69 (bs, 1H,  $\text{C}_2=\text{NOH}$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 14.41 (C-18); 20.82; 22.08 (C-19); 23.47; 31.11; 31.55; 31.69 (C-10); 33.53; 35.21; 35.75; 43.41 (C-20); 46.05 (C-13); 48.07 (C-9); 49.81 (C-14); 82.54 (C-17); 121.37 (C-5', Py); 125.52 (C-3', Py); 132.60 (C-5); 134.35 (C-6); 136.33 (C-4', Py); 147.98 (C-6', Py); 152.20 ( $\text{C}_4=\text{NOH}$ ); 160.28 (C-2', Py); 169.34 ( $\text{C}_2=\text{NOH}$ ); 181.37 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  438.23873; nađeno 438.23715.

### 4.23. 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-2,4-seko-3-norandrost-5-en-2,4-dinitril (31)



2,4-Dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-17 $\beta$ -ol (**30**, 0.120 g, 0.275 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (1.2 ml), a zatim se u kapima doda anhidrid sirćetne kiseline (0.25 ml). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1.5 časa, nakon čega se izlije u vodu (20 ml), pri čemu se izdvaja žuti talog, koji se odvoji i osuši na vazduhu, a matični lug se ekstrahuje etil-acetatom (3 x 15 ml). Nakon sušenja ekstrakta i uklanjanja sušila i rastvarača, dobijeni sirov proizvod se spoji sa prethodno odvojenim talogom (0.077 g) i prečisti hromatografijom na koloni (1 g silika gela, petrol-etar/etil-acetat 3:1). Dobija se čist 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-2,3-seko-A-norandrost-5-en-2,4-dinitril (**31**, 0.048 g, 46%), t.t. 166-168 °C, nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, u obliku bezbojnih tankih kristala.

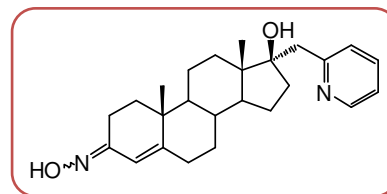
**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3313, 2958, 2870, 2245, 2216, 1728, 1638, 1596, 1570, 1439, 1389, 1253, 1023, 907, 756.

**$^1\text{H NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.98 (s, 3H, H-18); 1.20 (s, 3H, H-19); 2.31 (m, 2H, H-7); 2.63 (d, 1H,  $J_{gem} = 17.2$  Hz, H-1a); 2.77 (d, 1H,  $J_{gem} = 17.2$  Hz, H-1b); 2.88 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 3.33 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 6.79 (m, 1H, H-6); 7.34 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.84 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.3$  Hz, H-4', Py); 8.51 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.6$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C NMR}$**  ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\delta$ , ppm): 14.18 (C-18); 21.23 (C-19); 21.91; 23.70; 27.40; 31.58; 31.62; 32.16 (C-10); 35.31; 39.41; 42.00 (C-20); 43.66; 46.60; 50.35; 83.11 (C-17); 116.68 (C-5); 117.20 (C-4); 119.56 (C-2); 122.21 (C-5', Py); 125.93 (C-3', Py); 138.89 (C-4', Py); 145.96 (C-6); 146.58 (C-6', Py); 159.11 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$  376.23834; nađeno 376.23772.

#### 4.24. 3(*E*)-Hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (**32**) i 3(*Z*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (**33**)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.190 g, 0.501 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (30 ml), a zatim se doda natrijum-acetat (0.207 g, 2.53 mmol) i hidroksilamin-hidrohlorid (0.195 g, 2.80 mmol). Reakciona smeša se meša uz refluks u toku 1.5 časa, a zatim se izlije u vodu (30 ml) i doda 5%-tni NaHCO<sub>3</sub> do pH 8. Izdvaja se beli talog koji se odvoji, osuši na vazduhu i rekristališe iz metanola. Dobija se smeša izomernih *E* i *Z* oksima **32** i **33** (0.186 g, 94%, odnos jedinjenja **32**:**33** = 2.8:1), koji se ne mogu razdvojiti hromatografski.

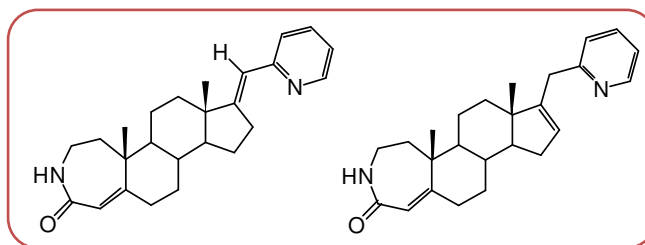
Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **32** i **33**.

**IR** (KBr,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3410, 2932, 2856, 2363, 1638, 1599, 1570, 1438, 1382, 1307, 1198, 1052, 968, 862, 759, 630.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.85 (s, 3H, H-18); 1.02 i 1.05 (2s, 6H, H-19 iz *E*- i *Z*-oksima); 2.84 (m, 1H, CH<sub>2</sub>Py); 3.45 (m, 1H, CH<sub>2</sub>Py); 5.29 (s, 1H, 17 $\beta$ -OH); 5.70 (s, 1H, H-4 iz *E*-oksima); 6.33 (s, 1H, H-4 iz *Z*-oksima); 7.23 (m, 1H, H-3', Py); 7.37 (m, 1H, H-5', Py); 7.69 (t, 1H,  $J_{4',5'} = J_{4',3'} = 7.6$  Hz, H-4', Py); 8.45 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.1$  Hz, H-6', Py); 10.23 (s, 1H, =NOH iz *Z*-oksima); 10.48 (s, 1H, =NOH iz *E*-oksima).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 14.36 (C-18); 17.53 (C-19); 18.52; 20.73; 23.49; 31.26; 31.75; 33.54; 34.43; 36.15; 37.51; 43.35 (C-10); 46.14 (C-13); 49.36 (C-9); 53.28 (C-14); 56.03; 82.50 (C-17); 110.69 (C-4 iz *Z*-oksima); 117.86 (C-4 iz *E*-oksima); 120.38 (C-5', Py iz *Z*-oksima); 121.32 (C-5', Py iz *E*-oksima); 125.43 (C-3', Py); 136.30 (C-4', Py); 147.93 (C-6', Py); 151.02 (C-3 iz *Z*-oksima); 152.72 (C-3 iz *E*-oksima); 154.17 (C-5 iz *E*-oksima); 156.55 (C-5 iz *Z*-oksima); 160.32 (C-2', Py).

#### 4.25. 17(*E*)-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**) i 17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-on (**35**)



Smeša 3(*E*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ola (**32**) i 3(*Z*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ola (**33**) (0.195 g, 0.49 mmol) se rastvori u dioksanu (10 ml) i u rastvor se doda tionil-hlorid (1.0 ml, 13.8 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1 časa, nakon čega se izlije u vodu (30 ml) i doda zasićen rastvor NaHCO<sub>3</sub> do pH 8, pri čemu se izdvaja talog koji se odvoji i osuši na vazduhu, a matični lug ekstrahuje metilen-hloridom (2 x 10 ml). Nakon sušenja ekstrakta i uklanjanja sušila i rastvarača, dobijeni sirov proizvod se spoji sa prethodno odvojenim talogom (0.215 g) i prečisti hromatografijom na koloni (1 g silika gela, hloroform/acetone 4:1). Dobija se smeša 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-ona (**34**) i 17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-ona (**35**) (0.068 g) u obliku igličastih kristala, koji se nisu mogli razdvojiti hromatografski, kao ni kristalizacijom.

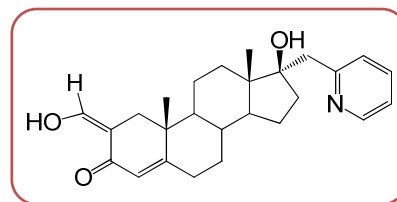
Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **34** i **35**:

**IR** (KBr,  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3266, 2935, 1732, 1655, 1608, 1473, 1375, 1259, 1149, 880, 751.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.80 (s, 3H, H-18); 0.90 (s, 3H, H-19); 3.19 (m, 2H, H-2); 3.48 (m, 2H, H-20 iz jedinjenja **35**); 5.12 (m, 1H, H-16 iz jedinjenja **35**); 5.73 (s, 2H, H-4 iz jedinjenja **34** i **35**); 6.19 (s, 1H, H-20 iz jedinjenja **34**); 6.92 (bs, 2H, N-H iz jedinjenja **34** i **35**); 7.00-8.55 (8H, Py iz jedinjenja **34** i **35**).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 15.73 (C-18); 18.82 (C-19); 21.17; 21.30; 21.82; 24.86; 29.75; 31.04; 33.50; 34.15; 34.36; 36.31; 36.57; 36.74; 37.03; 41.84 (C-2); 42.04 (C-20 iz jedinjenja **35**); 44.28; 44.50; 44.57; 45.78; 50.10; 53.04; 53.60; 56.30; 118.06 (C-20 iz jedinjenja **34**); 118.90 (C-4); 120.21 (C-5', Py); 122.72 (C-3', Py); 124.76 (C-16 iz jedinjenja **35**); 136.08 (C-4', Py); 138.87 (C-17 jedinjenja **35**); 149.11 (C-6', Py); 153.32 (C-2', Py iz jedinjenja **35**); 157.41 (C-17 iz jedinjenja **34**); 159.73 (C-2', Py iz jedinjenja **34**); 160.79 (C-5 iz jedinjenja **34**); 161.00 (C-5 iz jedinjenja **35**); 170.22 (C-3).

## 4.26. 17β-Hidroksi-2(Z)-hidroksimetilen-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (36)



17β-Hidroksi-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.670 g, 1.76 mmol) se rastvori u apsolutnom benzenu (6.5 ml), a zatim se doda etil-formijat (1 ml) i natrijum-hidrid (0.450 g, 18.75 mmol). Reakciona smeša se meša u toku 2 časa na sobnoj temperaturi u atmosferi argona. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se doda metilen-hlorid (20 ml) a organski sloj se ispere najpre zasićenim rastvorom NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2 × 25 ml), zatim zasićenim rastvorom NaHCO<sub>3</sub> (2 × 20 ml) i na kraju vodom. Nakon sušenja i uklanjanja rastvarača dobija se sirov proizvod (0.810 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (10 g, petrol-etar/etil-acetat 4:1). Nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan dobija se čist 17β-hidroksi-2(Z)-hidroksimetilen-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**36**, 0.271 g, 38%), t.t. 184-186 °C, u obliku žutih igličastih kristala.

**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3312, 2939, 1642, 1597, 1569, 1474, 1440, 1373, 1325, 1236, 1186, 1152, 1064, 1026, 885, 755.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0.99 (s, 3H, H-18); 1.07 (s, 3H, H-19); 2.84 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.3 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.21 (d, 1H, *J*<sub>gem</sub> = 14.3 Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.79 (s, 1H, H-4); 7.24-7.37 (m, 3H, =CH(OH), H-3' i H-5', Py); 7.75 (t, 1H, *J*<sub>4',5'</sub> = *J*<sub>4',3'</sub> = 7.6 Hz, H-4', Py); 8.49 (d, 1H, *J*<sub>6',5'</sub> = 4.4 Hz, H-6', Py); 13.76 (bs, 1H, =CH(OH)).

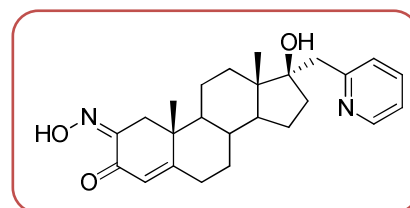
**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 14.17 (C-18); 18.07 (C-19); 21.08; 23.81; 29.66; 31.23; 31.99; 35.44; 36.50; 37.56; 39.97; 42.43 (C-10); 46.54 (C-13); 50.18 (C-9); 53.19 (C-14); 83.26 (C-17); 106.48 (C-2); 121.82 (C-5', Py); 122.93 (C-3', Py); 125.43 (C-4); 137.99 (C-4', Py); 146.69 (C-6', Py); 159.85 (C-2', Py); 165.11 (=CH(OH)); 170.18 (C-5); 189.17 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 408.25332; nađeno 408.25283.



## 4.27. 17β-Hidroksi-2(Z)-hidroksimino-17α-pikolil-androst-4-en-3-on

(37)



U 95%-tni etanol (2 ml) se doda 17β-hidroksi-2(Z)-hidroksimetilen-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**36**, 0.097 g, 0.238 mmol) i vodeni 7 M rastvor NaNO<sub>2</sub> (0.2 ml). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi 10 minuta, a zatim se ohladi do 0 °C, nakon čega se doda u kapima 35%-tna HCl (0.15 ml). Nakon 45 minuta mešanja na 0 °C, reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml), i zatim doda 5%-tni NaHCO<sub>3</sub> do pH 8, pri čemu se izdvaja beli talog koji se odvoji i osuši na vazduhu. Nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, dobija se čist 17β-hidroksi-2(Z)-hidroksimino-17α-pikolil-androst-4-en-3-on (**37**, 0.090g, 93%), t.t. 224-226 °C, u obliku belih kristala.

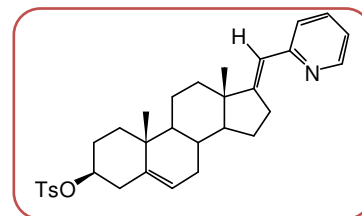
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3416, 2936, 1675, 1605, 1438, 1381, 1300, 1236, 1058, 1027, 986, 890, 761, 616.

**<sup>1</sup>H NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 0.68 (s, 3H, H-18); 1.08 (s, 3H, H-19); 2.83 (d, 1H,  $J_{gem} = 15.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 3.49 (d, 1H,  $J_{gem} = 15.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 5.29 (bs, 1H, 17β-OH); 5.89 (s, 1H, H-4); 7.23 (m, 1H, H-3', Py); 7.38 (m, 1H, H-5', Py); 7.70 (t, 1H,  $J_{4',5'} = J_{4',3'} = 7.6$  Hz, H-4', Py); 8.46 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.1$  Hz, H-6', Py); 12.20 (s, 1H, =NOH).

**<sup>13</sup>C NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 14.34 (C-18); 20.48 (C-19); 20.65; 23.42; 31.08; 31.21; 31.90; 33.43; 35.78; 36.09; 38.50; 43.37 (C-10); 46.16 (C-13); 49.23 (C-9); 52.21 (C-14); 82.43 (C-17); 121.34 (C-5', Py); 124.76 (C-3', Py); 125.47 (C-4); 136.31 (C-4', Py); 147.97 (C-6', Py); 151.38 (C-2); 160.24 (C-2', Py); 172.61 (C-5); 183.24 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 409.24857; nađeno 409.24684.

#### 4.28. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (**38**)

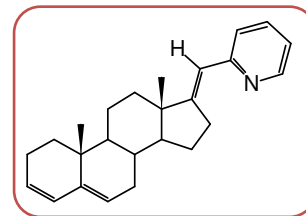


17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol (**5**, 0.200 g, 0.550 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (4 ml) na 0 °C i zatim se u kapima doda *p*-toluensulfonilhlorid (0.511 g, 2.69 mmol), prethodno rastvoren u apsolutnom piridinu (2.5 ml). Reakciona smeša se meša u toku 19 časova na sobnoj temperaturi, nakon čega se reakcija prekida ubacivanjem komadića leda. Reakciona smeša se zatim izlije u hladnu vodu (20 ml) i ekstrahuje metilen-hloridom (8 x 10 ml). Nakon sušenja ekstrakta i uklanjanja sušila i rastvarača, sirov proizvod se rekristališe iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan, pri čemu se dobija čisto jedinjenje **38** (0.145 g, 51%), t.t. 176-178 °C, u obliku belih kristala.

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2945, 1653, 1586, 1562, 1467, 1432, 1362, 1175, 1098, 938, 865, 753, 666.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.88 (s, 3H, H-18); 1.01 (s, 3H, H-19); 2.44 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  iz OTs grupe); 4.32 (m, 1H, H-3); 5.32 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz, H-6); 6.26 (s, 1H, H-20); 7.07 (m, 2H, H-3' i H-5', Py); 7.33 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H iz OTs grupe); 7.65 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 9.2$  Hz, H-4', Py); 7.79 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H iz OTs grupe); 8.58 (m, 1H, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.50 (C-18); 19.14 (C-19); 20.94; 21.58 ( $\text{CH}_3$ , OTs); 24.94; 28.51; 29.81; 31.48; 31.61; 35.54; 36.40; 36.81 (C-10); 38.81; 45.79 (C-13); 50.09; 53.74 (C-9); 82.17 (C-3); 117.33 (C-20); 120.39 (C-5', Py); 123.16 (C-6); 126.01 (C-3', Py); 127.57 (C-2' i C-6', OTs); 129.70 (C-3' i C-5', OTs); 134.53 (C-4', OTs); 136.55 (C-4', Py); 138.93 (C-5); 144.38 (C-1', OTs); 148.39 (C-6', Py); 156.93 (C-17); 161.24 (C-2', Py).

4.29. 17(*E*)-Pikoliniliden-androsta-3,5-dien (**39**)

17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (**38**, 0.379 g, 0.733 mmol) se rastvori u bis(2-aminoetil)aminu (20 ml) i vrši zagrevanje uz refluks u toku 1 časa. Reakciona smeša se zatim ohladi do sobne temperature, izlije u vodu (15 ml), a zatim ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, odvoji sušilo, a rastvarač ukloni na rotavaporu. Dobija se sirov proizvod (0.449 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (6 g, toluen/etil-acetat 30:1), pri čemu se dobija čist 17(*E*)-pikoliniliden-androsta-3,5-dien (**39**, 0.018 g, 7%), u obliku bezbojnog ulja.

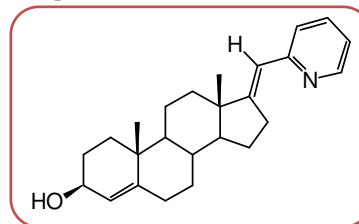
**IR** (film, v, cm<sup>-1</sup>): 3016, 2963, 2851, 1652, 1586, 1560, 1470, 1428, 1372, 1149, 1038, 857, 756, 617.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.94 (s, 3H, H-18); 1.01 (s, 3H, H-19); 5.42 (m, 1H, H-3); 5.61 (m, 1H, H-6); 5.95 (d, 1H,  $J_{4,3} = 9.7$  Hz, H-4); 6.25 (t, 1H,  $J = 2.4$  Hz, H-20); 7.03 (m, 1H, H-5', Py); 7.29 (m, 1H, H-3', Py); 7.61 (td, 1H,  $J_{4',5'} = J_{4',3'} = 7.8$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.57 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.8$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 18.79 (C-18); 18.83 (C-19); 21.01; 23.03; 24.98; 29.87; 31.62; 31.66; 33.77; 35.32; 35.82; 45.90; 48.67; 54.17; 118.02 (C-20); 120.17 (C-5', Py); 122.77 (C-3', Py); 124.72 (C-6); 125.16 (C-4); 128.89 (C-3); 135.80 (C-4', Py); 141.57 (C-5); 149.16 (C-6', Py); 157.65 (C-17); 160.44 (C-2', Py).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N [M+H]<sup>+</sup> 346.25293; nađeno 346.25184.

### 4.30. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol (**40**)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.051 g, 0.140 mmol) se rastvori u apsolutnom etanolu (3 ml) na sobnoj temperaturi, doda se natrijum-borhidrid (0.040 g, 1.0 mmol) i reakciona smeša se meša u toku 2 časa. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u vodu (20 ml), pri čemu se izdvaja sirov proizvod koji se odvoji i rekristališe iz sistema rastvarača metilen-hlorid/metanol. Dobija se čisto jedinjenje **40** (0.050 g, 97%), t.t. 147-149 °C, u obliku belih kristala.

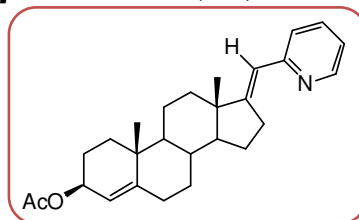
**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3422, 2934, 2851, 1653, 1588, 1562, 1468, 1433, 1374, 1155, 1110, 1034, 998, 864, 776, 744.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 1.09 (s, 3H, H-19); 2.76 (m, 2H, H-16); 4.17 (m, 1H, H-3); 5.29 (s, 1H, H-4); 6.21 (s, 1H, H-20); 7.02 (m, 1H, H-5', Py); 7.27 (m, 1H, H-3', Py); 7.60 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.7$  Hz, H-4', Py); 8.55 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.1$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.77 (C-18); 18.90 (C-19); 21.03; 24.91; 29.44; 29.72; 32.10; 32.91; 35.42; 35.75; 35.80; 37.42 (C-10); 45.82 (C-13); 53.30 (C-9); 54.69 (C-14); 67.81 (C-3); 117.93 (C-20); 120.18 (C-5', Py); 122.73 (C-4); 123.64 (C-3', Py); 135.81 (C-4', Py); 147.23 (C-5); 149.09 (C-6', Py); 157.53 (C-17); 160.33 (C-2', Py).

**HRMS TOF** ( $m/z$ ): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NO}$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$  364.26349; nađeno 364.26260.

### 4.31. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat (**41**)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol (**40**, 0.030 g, 0.081 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (1 ml), doda acetanhidrid (1 ml) i reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 24 časa. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (20 ml), pri čemu se izdvaja talog

koji se odvoji i rekristališe iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan. Dobija se čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat (**41**, 0.014 g, 46%), t.t. 126-128 °C, u obliku belih kristala.

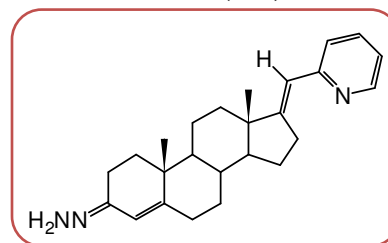
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 2939, 2851, 1731, 1655, 1584, 1471, 1428, 1371, 1242, 1149, 1025, 861, 776, 740.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.91 (s, 3H, H-18); 1.11 (s, 3H, H-19); 2.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz OAc grupe); 2.77 (m, 2H, H-16); 5.24 (m, 2H, H-3 i H-4); 6.22 (s, 1H, H-20); 7.04 (m, 1H, H-5', Py); 7.28 (m, 1H, H-3', Py); 7.61 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.7$  Hz, H-4', Py); 8.56 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.1$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 18.79 (C-18); 18.82 (C-19); 21.00; 21.45 (CH<sub>3</sub> iz OAc); 24.93; 25.07; 29.76; 32.15; 32.76; 34.99; 35.72; 35.76; 37.42 (C-10); 45.84 (C-13); 53.25 (C-9); 54.44 (C-14); 70.86 (C-3); 117.91 (C-20); 119.20 (C-4); 120.21 (C-5', Py); 122.75 (C-3', Py); 135.87 (C-4', Py); 149.05 (C-6', Py); 149.28 (C-5); 157.50 (C-17); 160.34 (C-2', Py); 170.99 (C=O iz OAc).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 406.27406; nađeno 406.27288.

### 4.32. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-hidrazon (**42**)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.153 g, 0.423 mmol) se zagreva u prisustvu 98%-nog hidrazin-hidrata (0.08 ml, 1.65 mmol) i etilen-glikola (2.1 ml, uz katalitičku količinu anh. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10<sup>-3</sup> mmol)) u mikrotalasnoj pećnici, na 195 °C (170 W) u toku 2 minuta. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (30 ml) i ekstrahuje etil-acetatom (5 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, sušilo odstrani, a rastvarač upari. Sirov proizvod (0.247 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (10 g, heksan/etil-acetat 2:1 i 1:1), pri čemu se dobija 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-hidrazon (**42**, 0.055 g, 35%), t.t. 257-259 °C, u vidu žutih kristala, nakon rekristalizacije iz sistema metilen-hlorid/heksan.

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2940, 2852, 1653, 1625, 1585, 1560, 1470, 1428, 1373, 1259, 1237, 1215, 1150, 1103, 885, 754.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.93 (2s, 6H, H-18 i H-19); 5.99 (s, 1H, H-4); 6.22 (s, 1H, H-20); 6.45 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 7.04 (m, 1H, H-5', Py); 7.28 (m, 1H, H-3', Py); 7.61 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.56 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.8$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 17.93 (C-18); 18.79 (C-19); 21.36; 21.89; 24.95; 27.96; 29.78; 32.27; 35.40; 35.56; 38.27; 38.99; 45.76; 53.25; 54.01; 113.93 (C-4); 118.01 (C-20); 120.17 (C-5', Py); 122.76 (C-3', Py); 135.77 (C-4', Py); 149.14 (C-6', Py); 157.55 (C-17); 158.73 (C-3); 160.16 (C-2', Py); 161.57 (C-5).

### 4.33. Wolff-Kishner-ova redukcija 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-ona (6)

17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.204 g, 0.565 mmol) se zagreva u prisustvu 98%-nog hidrazin-hidrata (0.11 ml, 2.27 mmol) i etilen-glikola (2.80 ml, uz katalitičku količinu anhid.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ( $10^{-3}$  mmol)) u mikrotalasnoj pećnici, na 195 °C (170 W) u toku 2 minuta. Nakon toga, u reakcionu smešu se doda isitnjen KOH (0.48 g, 8.57 mmol) i vrši zagrevanje u mikrotalasnoj pećnici, na 195 °C (170 W) u toku 40 minuta. Zatim se reakciona smeša izlije u hladnu vodu (40 ml) i ekstrahuje etil-acetatom (5 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, sušilo odstrani a rastvarač upari. Sirov proizvod (0.371 g) se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (8 g, heksan/etil-acetat 5:1), pri čemu se dobija smeša 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-ena (**44**) i 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-ena (**45**) (0.147 g, 75%) u obliku ulja.

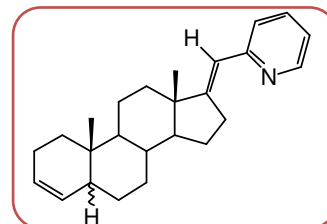
Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **44** i **45**:

**IR** (film,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2935, 2852, 1673, 1585, 1565, 1469, 1434, 1374, 1233, 1149, 1094, 1052, 992, 865, 754.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.89 (s, 3H, H-18); 0.99 (s, 3H, H-19); 5.31 (m, 2H, H-3 iz 5 $\alpha$  i 5 $\beta$  izomera); 5.56 (dd, 1H,  $J_1 = 9.8$  Hz,  $J_2 = 3.3$  Hz, H-4 iz 5 $\alpha$  izomera); 5.66 (dd, 1H,  $J_1 = 9.9$  Hz,  $J_2 = 3.3$  Hz, H-4 iz 5 $\beta$  izomera); 6.25 (d, 1H,  $J = 1.8$  Hz, H-20); 7.06 (m, 1H, H-5', Py); 7.30 (m, 1H, H-3', Py); 7.63 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.7$  Hz, H-4', Py); 8.56 (d, 1H,  $J_{5',6'} = 4.5$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.79 (C-18); 21.05; 21.48; 22.36; 22.92 (C-19); 23.46; 24.90; 27.42; 29.89; 31.95; 34.04; 35.44; 35.91; 43.49; 46.16; 53.42; 117.28 (C-20 iz  $5\alpha$  izomera); 117.41 (C-20 iz  $5\beta$  izomera); 120.18 (C-5', Py); 122.81 (C-3', Py); 125.48 (C-3 iz  $5\alpha$  izomera); 127.10 (C-3 iz  $5\beta$  izomera); 131.25 (C-4 iz  $5\alpha$  izomera); 132.13 (C-4 iz  $5\beta$  izomera); 136.23 (C-4', Py); 148.59 (C-6', Py); 157.32 (C-17); 161.67 (C-2', Py).

#### 4.34. 17(*E*)-Pikoliniliden- $5\alpha$ -androst-3-en (44) i 17(*E*)-pikoliniliden- $5\beta$ -androst-3-en (45)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.208 g, 0.575 mmol) se rastvori u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (12 ml), doda cink u prahu (0.966 g, 14.7 mmol) i reakciona smeša zagreva na temperaturi ključanja u toku 2 časa. Nakon hlađenja, reakciona smeša se profiltrira (da se ukloni višak cinka i cink-acetat), a u matični lug se doda voda (30 ml) i zasićeni  $\text{NaHCO}_3$  do pH 6-7 i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (5 x 10 ml). Nakon sušenja ekstrakta, uklanjanja sušila i rastvarača, sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni (15 g silika gela, toluen/etil-acetat 12:1), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **44** i **45** (0.094 g, 47%, odnos jedinjenja **44:45** = 1:4.3), u obliku bezbojnog ulja.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **44** i **45**:

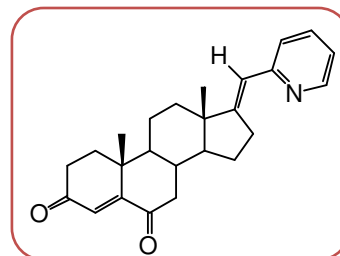
**IR** (film,  $\text{v}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2930, 2851, 1653, 1585, 1559, 1471, 1451, 1428, 1373, 1264, 1148, 886, 857, 773.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.88 i 0.89 (2s, 6H, H-18 iz  $5\alpha$  i  $5\beta$  izomera); 0.99 i 1.00 (2s, 6H, H-19 iz  $5\alpha$  i  $5\beta$ ); 2.73 (m, 4H, H-16a i H-16b iz  $5\alpha$  i  $5\beta$  izomera); 5.31 (m, 2H, H-3 iz  $5\alpha$  i  $5\beta$  izomera); 5.56 (dd, 1H,  $J_1 = 9.7$  Hz,  $J_2 = 3.1$  Hz, H-4 iz  $5\alpha$  izomera); 5.65 (dd, 1H,  $J_1 = 9.7$  Hz,  $J_2 = 3.0$  Hz, H-4 iz  $5\beta$  izomera); 6.21 (s, 1H, H-20); 7.01 (m, 1H, H-5', Py); 7.26 (d, 1H,  $J_{3',4'} = 7.8$  Hz, H-3', Py); 7.58 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz, H-4', Py); 8.55 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.85 (C-18); 21.08; 21.51; 22.38; 22.95 (C-19); 23.49; 25.03; 27.45; 29.87; 31.98; 33.67; 34.06; 35.82; 36.22; 37.83; 41.21; 43.51 (C-5 $\beta$ ); 45.91; 46.05 (C-5 $\alpha$ );

53.67; 54.70; 117.79 (C-20 iz 5 $\alpha$  izomera); 117.87 (C-20 iz 5 $\beta$  izomera); 120.07 (C-5', Py); 122.68 (C-3', Py); 125.48 (C-3 iz 5 $\alpha$  izomera); 127.10 (C-3 iz 5 $\beta$  izomera); 131.29 (C-4 iz 5 $\alpha$  izomera); 132.16 (C-4 iz 5 $\beta$  izomera); 135.76 (C-4', Py); 149.13 (C-6', Py); 157.71 (C-17); 160.87 (C-2', Py).

#### 4.35. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (46)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol (**5**, 0.301 g; 0.830 mmol) se rastvori u acetonu (35 ml) na 0 °C, doda u kapima *Jones*-ov reagens<sup>135</sup> (2 ml, ~1 kap/10 s) i reakciona smeša meša u toku 1.5 časa. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se doda metanol (15 ml) (da se uništi višak reagensa), a zatim se rastvarač upari, doda se voda (20 ml) i zasićen rastvor NaHCO<sub>3</sub> (do pH 8) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (5 x 10 ml). Nakon sušenja ekstrakta, uklanjanja sušila i rastvarača, dobija se sirov proizvod koji se prečisti hromatografijom na koloni (15 g silika gela, toluen/etil-acetat 7:1). Dobija se čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (**46**, 0.080 g, 26%), t.t. 231-233 °C, nakon rekristalizacije iz sistema metilen-hlorid/metanol, u obliku belih kristala.

**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 2946, 1686, 1584, 1564, 1469, 1428, 1259, 1220, 1095, 874, 777, 735.

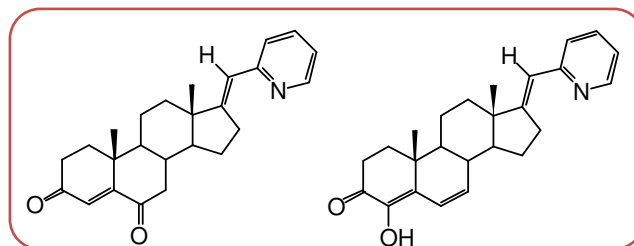
**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.96 (s, 3H, H-18); 1.22 (s, 3H, H-19); 2.76-2.93 (m, 2H, H-16); 6.21 (s, 1H, H-20); 6.26 (s, 1H, H-4); 7.07 (m, 1H, H-5', Py); 7.29 (m, 1H, H-3', Py); 7.63 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.58 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.2$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 17.58 (C-18); 18.71 (C-19); 20.92; 24.74; 29.59; 33.95; 34.02; 35.22; 35.52; 39.79; 45.77; 46.56; 51.14; 53.78; 118.58 (C-20); 120.48 (C-5', Py); 122.88 (C-3', Py); 125.67 (C-4); 135.94 (C-4', Py); 149.23 (C-6', Py); 157.17 (C-17); 158.59 (C-2', Py); 160.69 (C-5); 199.39 (C-3); 201.94 (C-6).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 376.22711; nađeno 376.22523.



### 4.36. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (**46**) i 4-hidroksi-17(*E*)-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on (**47**)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.200 g, 0.550 mmol) se rastvori u *tert*-butanolu (6 ml), a zatim se u kapima doda neposredno pripremljen 1M rastvor kalijum *tert*-butoksida (5 ml, 3.83 mmol) u *tert*-butanolu. Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi 45 časova (zaštićena od svetla). Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (10 ml) i ekstrahuje etil-acetatom (5 × 10 ml), a zatim metilen-hloridom (5 × 10 ml). Ekstrakti se spoje i osuše, i nakon uklanjanja sušila i rastvarača, sirov proizvod se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (15 g, heksan/etil-acetat 5:1 i 2:1). Dobija se čist 4-hidroksi-17(*E*)-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on (**47**, 0.044 g, 22%), t.t. 182-184 °C, nakon rekristalizacije iz metanola, kao i čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (**46**, 0.038 g, 19%), t.t. 231-233 °C, nakon rekristalizacije iz metanola, u obliku belih kristala.

#### Jedinjenje 47:

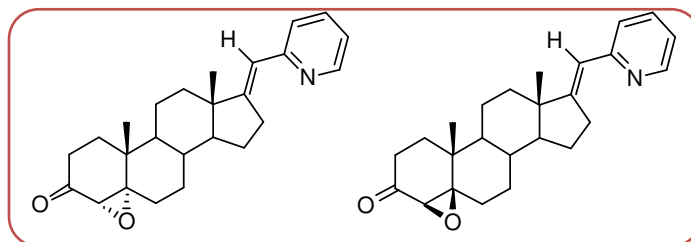
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3033, 2943, 1656, 1610, 1589, 1566, 1467, 1369, 1219, 1174, 1095, 870, 773, 740.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0.99 (s, 3H, H-18); 1.15 (s, 3H, H-19); 2.79-2.98 (m, 2H, H-16); 6.13 (dd, 1H, *J*<sub>6,7</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>6,8</sub> = 1.9 Hz, H-7); 6.24 (s, 1H, H-20); 6.68 (dd, 1H, *J*<sub>7,6</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>7,8</sub> = 2.7 Hz, H-6); 7.05 (m, 1H, H-5', Py); 7.29 (m, 1H, H-3', Py); 7.62 (td, 1H, *J*<sub>4',3'</sub> = *J*<sub>4',5'</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>4',6'</sub> = 1.8 Hz, H-4', Py); 8.58 (d, 1H, *J*<sub>6',5'</sub> = 3.9 Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 16.44 (C-18); 18.75 (C-19); 20.57; 24.51; 29.73; 31.87; 33.18; 33.73; 35.62; 37.12; 46.59; 51.01; 51.36; 118.14 (C-20); 120.34 (C-5', Py); 121.47 (C-6); 122.84 (C-3', Py); 134.48 (C-5); 135.87 (C-4', Py); 137.47 (C-7); 140.21 (C-4); 149.18 (C-6', Py); 157.34 (C-17); 159.22 (C-2', Py); 193.65 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 376.22711; nađeno 376.22619.

### 4.37. 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17(*E*)-pikoliniliden-androstan-3-on (48) i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17(*E*)-pikoliniliden-androstan-3-on (49)



Rastvor 30%-nog vodonik-peroksida (2.5 ml, 22.1 mmol) u 4 M NaOH (1.5 ml) se dodaje u rastvor 17(*E*)-pikoliniliden-androstan-4-en-3-ona (**6**, 0.588 g, 1.63 mmol) u metanolu (18.5 ml) i reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 1 časa, a zatim na 10 °C još 24 časa, zaštićena od svetla. Nakon toga, reakciona smeša se izlije u vodu (60 ml), pri čemu se izdvaja sirov proizvod u obliku belog taloga koji se odvoji. Matični lug se ekstrahuje etil-acetatom (6 x 50 ml) i ekstrakt osuši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača, sirov proizvod se spoji sa prethodno izdvojenim talogom i prečisti hromatografijom na koloni silika gela (20 g, benzen/etil-acetat 9:1), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **48** i **49** (0.218 g, 36%, odnos epoksida **48:49** = 1:10.9). Rekristalizacijom smeše epoksida **48** i **49** iz sistema rastvarača metilen-hlorid/heksan dobija se čisto jedinjenje **49** (0.120 g, 55%), t.t. 179-181 °C, u obliku belih kristala.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **48** i **49**:

**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 2935, 2852, 1712, 1654, 1586, 1561, 1469, 1450, 1428, 1375, 1117.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0.94 (s, 3H, H-18); 1.19 (s, 3H, H-19); 2.73 (m, 1H, H-16a); 2.87 (m, 1H, H-16b); 2.99 (s, 1H, H-4 $\alpha$ ); 3.04 (s, 1H, H-4 $\beta$ ); 6.22 (s, 1H, H-20); 7.04 (dd, 1H,  $J_{5',6'} = 4.8$  Hz,  $J_{4',5'} = 7.6$  Hz, H-5', Py); 7.27 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz, H-3', Py); 7.61 (td, 1H,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.56 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 5.0$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 18.86 (C-18); 18.97 (C-19); 21.58; 24.94; 26.15; 29.67; 29.79; 30.21; 32.53; 34.93; 35.44; 37.29; 45.93; 46.74; 53.05; 62.64 (C-4); 70.16 (C-5); 118.10 (C-20); 120.32 (C-5', Py); 122.80 (C-3', Py); 135.93 (C-4', Py); 149.05 (C-6', Py); 157.32 (C-17); 159.59 (C-2', Py); 206.64 (C-3).

**Čisto jedinjenje 49:**

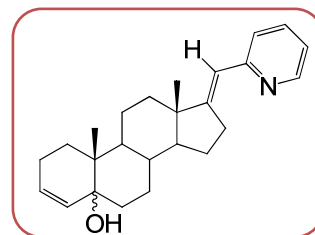
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3070, 2967, 1700, 1651, 1584, 1558, 1468, 1428, 1258, 1101, 860, 781.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.92 (s, 3H, H-18); 1.20 (s, 3H, H-19); 3.00 (s, 1H, H-4 $\alpha$ ); 6.22 (t, 1H,  $J_{20,16a} = J_{20,16b} = 2.4$  Hz, H-20); 7.04 (dd, 1H,  $J_{5',6'} = 4.8$  Hz,  $J_{4',5'} = 7.6$  Hz, H-5', Py); 7.26 (dd, 1H,  $J_{3',4'} = 9.2$  Hz, H-3', Py); 7.61 (td, 1H,  $J_{4',6'} = 1.8$  Hz, H-4', Py); 8.57 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.8$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.87 (C-18); 18.99 (C-19); 21.57; 24.95; 26.08; 29.67; 29.76; 30.22; 32.53; 34.89; 35.42; 37.28; 45.93; 46.68; 53.02; 62.63 (C-4); 70.19 (C-5); 118.19 (C-20); 120.29 (C-5', Py); 122.80 (C-3', Py); 135.86 (C-4', Py); 149.17 (C-6', Py); 157.38 (C-17); 159.52 (C-2', Py); 206.75 (C-3).

**Elementarna mikroanaliza (%)**: računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}_2 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ : C, 77.68; H, 8.34; N, 3.62; nađeno: C, 77.20; H, 8.54; N, 3.45.

#### 4.38. 17(*E*)-Pikoliniliden-androst-3-en-5 $\xi$ -ol (50)



Smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -epoksi i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17(*E*)-pikoliniliden-androstan-3-ona (**48** i **48**, 0.103 g, 0.272 mmol) se rastvori u 98%-nom hidrazin-hidratu (0.20 ml, 4.12 mmol) i reakciona smeša se zagreva na 120 °C u toku 30 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se rastvori u metilen-hloridu (10 ml), doda voda (50 ml) i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (3 x 10 ml). Ekstrakt se osuši, sušilo i rastvarač se uklone, a sirov proizvod (0.082 g) prečisti na koloni silika gela (1 g, petrol-etar/etil-acetat 6:1), pri čemu se dobija čist 17(*E*)-pikoliniliden-androst-3-en-5 $\xi$ -ol (**50**, 0.053 g, 53%), u obliku bezbojnog ulja.

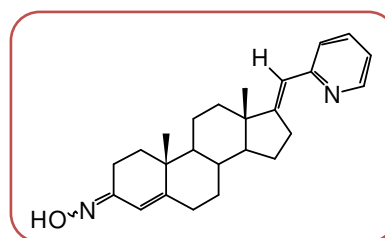
**IR** (film,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3412, 2933, 1653, 1587, 1566, 1468, 1435, 1374, 1010, 913, 755, 665.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.88 (s, 3H, H-18); 1.01 (s, 3H, H-19); 2.65-2.88 (m, 2H, H-16a i H-16b); 5.30 (s, 1H, 5-OH); 5.51 (d, 1H,  $J_{3,4} = 9.9$  Hz, H-4); 5.81 (m, 1H, H-3); 6.30 (s, 1H, H-20); 7.09 (m, 1H, H-5', Py); 7.33 (d, 1H,  $J_{3',4'} = 7.8$  Hz, H-3', Py); 7.67 (td, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz,  $J_{4',6'} = 1.5$  Hz, H-4', Py); 8.55 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.3$  Hz, H-6', Py).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 16.41 (C-18); 18.70 (C-19); 22.35; 22.58; 24.90; 27.77; 28.75; 29.89; 34.68; 34.97; 35.49; 39.12; 43.60; 46.12; 53.37; 71.87 (C-5); 116.97 (C-20); 120.35 (C-5', Py); 122.88 (C-3', Py); 130.83 (C-3); 133.43 (C-4); 136.75 (C-4', Py); 148.01 (C-6', Py); 156.84 (C-17); 161.92 (C-2', Py).

HRMS TOF (m/z): računato za  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  364.26349; nađeno 364.26402.

### 4.39. 3(*E*)-Hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en (52) i 3(*Z*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en (53)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.262 g, 0.719 mmol) se rastvori u 95%-nom etanolu (30 ml), a zatim se doda natrijum-acetat (0.224 g, 2.73 mmol) i hidroksilamin-hidrohlorid (0.229 g, 3.33 mmol). Reakciona smeša se meša uz refluks u toku 1.5 časa, a zatim se izlije u vodu (30 ml) i doda 5%-tni  $\text{NaHCO}_3$  do pH 8. Izdvaja se beli talog koji se odvoji, osuši na vazduhu i rekristališe iz metanola. Dobija se smeša izomernih *E* i *Z* oksima **52** i **53** (0.245 g, 90%, odnos jedinjenja **52:53** = 2.6:1), koji se ne mogu razdvojiti hromatografski.

Spektroskopski podaci za smešu jedinjenja **52** i **53**:

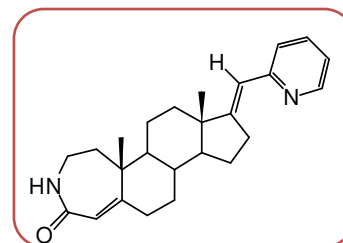
IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3177, 2938, 2853, 1652, 1590, 1566, 1469, 1435, 1373, 1215, 1153, 1106, 970, 873, 753, 666.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 0.85 (s, 3H, H-18); 1.03 (s, 3H, H-19); 5.70 (s, 1H, H-4 iz *E*-oksimi); 6.12 (s, 1H, H-20); 6.33 (s, 1H, H-4 iz *Z*-oksimi); 7.09 (t, 1H,  $J_{4',5'} = J_{5',6'} = 4.9$  Hz, H-5', Py); 7.28 (d, 1H,  $J_{3',4'} = 7.8$  Hz, H-3', Py); 7.68 (t, 1H,  $J_{4',3'} = J_{4',5'} = 7.8$  Hz, H-4', Py); 8.49 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.4$  Hz, H-6', Py); 10.24 (s, 1H, =NOH iz *Z*-oksimi); 10.49 (s, 1H, =NOH iz *E*-oksimi).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 17.56 (C-18); 18.55; 18.72 (C-19); 21.06; 24.56; 29.90; 31.72; 32.22; 34.43; 35.13; 35.48; 37.56; 40.16 (C-10); 45.34 (C-13); 52.94 (C-9); 53.54 (C-14); 53.82; 110.83 (C-4 iz *Z*-oksimi); 117.24 (C-20); 117.98 (C-4 iz *E*-oksimi); 120.43 (C-5', Py iz *Z*-oksimi); 123.03 (C-3', Py); 136.18 (C-4', Py); 149.00 (C-6', Py); 151.08 (C-3 iz *Z*-oksimi);

152.59 (C-3 iz *E*-oksima); 154.22 (C-5 iz *E*-oksima); 156.42 (C-5 iz *Z*-oksima); 156.94 (C-17); 159.91 (C-2', Py).

#### 4.40. 17(*E*)-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**)



Smeša 3(*E*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-ena (**52**) i 3(*Z*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-ena (**53**) (0.153g, 0.41 mmol) se rastvori u dioksanu (8 ml) i u rastvor se doda tionil-hlorid (0.83 ml, 11.4 mmola). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 časa, nakon čega se izlije u vodu (30 ml), doda zasićeni rastvor NaHCO<sub>3</sub> do pH=8 i vrši ekstrakcija metilen-hloridom (4 x 20 ml). Ekstrakt se osuši i nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod (0.194 g), koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (1 g, hloroform/acetone 3:1). Nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača hloroform/heksan dobija se čist 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**, 0.048 g, 32%), t.t. 297-299 °C, u obliku svetlo žutih kristala.

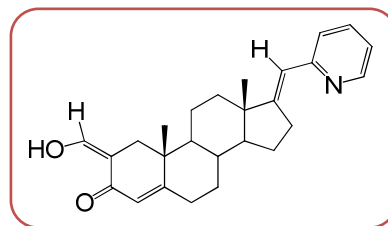
**IR** (KBr, ν, cm<sup>-1</sup>): 3271, 2924, 2853, 1658, 1637, 1600, 1468, 1376, 1341, 1149, 864, 747.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 0.92 (s, 3H, H-18); 1.18 (s, 3H, H-19); 3.18 (m, 2H, H-2); 5.74 (s, 1H, H-4); 6.19 (s, 1H, H-20); 6.67 (bs, 1H, N-H); 7.03 (m, 1H, H-5', Py); 7.27 (m, 1H, H-3', Py); 7.58 (td, 1H, J<sub>4',3'</sub> = J<sub>4',5'</sub> = 7.6 Hz, J<sub>4',6'</sub> = 1.9 Hz, H-4', Py); 8.55 (d, 1H, J = 4.6 Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 18.84 (C-18); 21.31 (C-19); 21.84; 24.88; 29.77; 33.51; 35.39; 35.75; 36.31; 36.66; 42.03 (C-2); 44.52; 45.79; 53.05; 53.50; 118.11 (C-20); 118.97 (C-4); 120.22 (C-5', Py); 122.73 (C-3', Py); 135.78 (C-4', Py); 149.14 (C-6', Py); 157.44 (C-17); 159.71 (C-2', Py); 160.78 (C-5); 170.12 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 377.25874; nađeno 377.25835.

#### 4.41. 2(Z)-Hidroksimetilen-17(E)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (54)



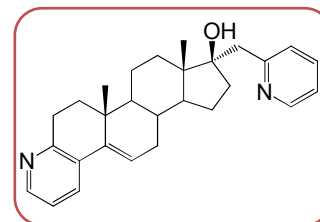
17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.248 g, 0.690 mmol) se rastvori u apsolutnom benzenu (2 ml), a zatim se doda etil-formijat (0.36 ml) i natrijum-hidrid (0.142 g, 5.90 mmol). Reakciona smeša se meša u toku 2.5 časa na sobnoj temperaturi, u atmosferi argona. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se doda apsolutni benzen (20 ml) i organski sloj se ispere najpre zasićenim rastvorom  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $2 \times 10$  ml), zatim zasićenim rastvorom  $\text{NaHCO}_3$  ( $2 \times 10$  ml) i na kraju vodom. Organski sloj se osuši, sušilo i rastvarač se uklone, a sirov proizvod (0.293 g) se prečisti na koloni silika gela (10 g, petrol-etar/etil-acetat 4:1). Dobija se čist 2(Z)-hidroksimetilen-17(E)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**54**, 0.096 g, 36%), u obliku žutog ulja.

**IR** (film,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3423, 2940, 2883, 2853, 1643, 1585, 1566, 1470, 1428, 1372, 1235, 1201, 1151, 885, 754.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.94 (s, 3H, H-18); 1.07 (s, 3H, H-19); 5.79 (s, 1H, H-4); 6.26 (m, 1H,  $=\text{CH}(\text{OH})$ ); 6.31 (s, 1H, H-20); 7.09 (m, 1H, H-5', Py); 7.35 (m, 1H, H-3', Py); 7.66 (m, 1H, H-4', Py); 8.56 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.7$  Hz, H-6', Py); 13.74 (bs, 1H,  $=\text{CH}(\text{OH})$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 18.03 (C-18); 18.65 (C-19); 21.40; 24.92; 29.79; 31.18; 32.37; 35.51; 35.58; 37.53; 39.94 (C-10); 45.87; 53.01 (C-9); 53.31 (C-14); 106.42 (C-2); 117.32 (C-20); 120.46 (C-5', Py); 122.96 (C-4 i C-3', Py); 136.63 (C-4', Py); 148.18 (C-6', Py); 156.77 (C-17); 160.93 (C-2', Py); 165.29 ( $=\text{CH}(\text{OH})$ ); 169.83 (C-5); 189.01 (C-3).

#### 4.42. 17 $\alpha$ -Pikolil-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en-17 $\beta$ -ol (**55**)



17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**, 0.205 g, 0.54 mmol) se rastvori u apsolutnom etanolu (4.5 ml), a zatim se doda propargil-amin (0.15 ml, 2.34 mmol) i Cu(NO)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (0.0219 g, 0.092 mmol). Reakciona smeša se meša uz refluks u toku 16 časova u atmosferi argona. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se ceđenjem odvoji od katalizatora a filtrat se upari, pri čemu dobija se sirov proizvod (0.371 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (5 g, heksan/etil-acetat 1:1). Nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan dobija se čist 17 $\alpha$ -pikolil-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en-17 $\beta$ -ol (**55**, 0.142 g, 63%), t.t. 140-141 °C, u obliku belih igličastih kristala.

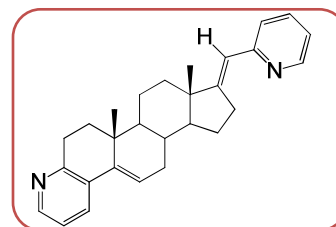
**IR** (KBr, v, cm<sup>-1</sup>): 3330, 2927, 2857, 1644, 1597, 1570, 1473, 1439, 1423, 1385, 1250, 1216, 1025, 755.

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 0.72 (s, 3H, H-18); 0.98 (s, 3H, H-19); 2.83 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 2.98 (m, 2H, H-2); 3.09 (d, 1H,  $J_{gem} = 14.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Py); 6.15 (t, 1H,  $J_{6,7} = 2.4$  Hz, H-6); 6.62 (bs, 1H, 17 $\beta$ -OH); 7.03-7.18 (m, 3H, H-3', H-5' i H-5''); 7.50-7.79 (m, 2H, H-4' i H-4''); 8.36 (m, 1H, H-6''); 8.46 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.8$  Hz, H-6', Py).

**<sup>13</sup>C NMR** (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ , ppm): 12.24 (C-18); 14.28 (C-19); 21.05; 23.78; 29.38; 31.42; 32.21; 34.68; 35.65; 36.09; 43.21; 46.58; 46.76; 50.62; 53.54; 83.43 (C-17); 120.82 (C-5', Py); 121.30 (C-5'', Py); 121.90 (C-3', Py); 124.70 (C-6); 132.88 (C-4'', Py); 136.71 (C-4', Py); 139.67 (C-5); 146.28 (C-6', Py); 147.99 (C-6'', Py); 154.80 (C-4); 156.75 (C-2', Py); 160.84 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O [M+H]<sup>+</sup> 415.27439; nađeno 415.27316.

#### 4.43. 17(*E*)-Pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en (56)



17(*E*)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**, 0.201 g, 0.56 mmol) se rastvori u apsolutnom etanolu (3.5 ml), a zatim se doda propargil-amin (0.15 ml, 2.34 mmol) i  $\text{Cu}(\text{NO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (0.0205 g, 0.085 mmol). Reakciona smeša se meša uz reflux u toku 16 časova u atmosferi argona. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se ceđenjem odvoji od katalizatora a filtrat se upari, pri čemu dobija se sirov proizvod (0.387 g) koji se prečisti hromatografijom na koloni silika gela (5 g, heksan/etil-acetat 4:1). Nakon rekristalizacije iz sistema rastvarača etil-acetat/heksan dobija se čist 17(*E*)-pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en (**56**, 0.111 g, 50%), t.t. 169-170 °C, u obliku belih kristala.

**IR** (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2934, 1652, 1584, 1471, 1439, 1427, 1372, 1215, 1149, 754.

**$^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 0.74 (s, 3H, H-18); 0.92 (s, 3H, H-19); 3.00 (m, 2H, H-2); 6.17 (m, 1H, H-6); 6.25 (m, 1H, H-20); 7.01-7.09 (m, 2H, H-5' i H-5'', Py); 7.30 (m, 1H, H-4', Py); 7.51-7.80 (m, 2H, H-3' i H-4'', Py); 8.37 (m, 1H, H-6'', Py); 8.57 (d, 1H,  $J_{6',5'} = 4.2$  Hz, H-6', Py).

**$^{13}\text{C}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , ppm): 12.27 (C-18); 18.96 (C-19); 21.42; 23.78; 25.04; 29.38; 29.89; 31.46; 34.62; 34.80; 36.00; 45.96; 46.66; 53.57; 117.89 (C-20); 120.15 (C-5', Py); 120.85 (C-5'', Py); 121.00 (C-3', Py); 122.79 (C-6); 132.92 (C-4'', Py); 134.44 (C-5); 135.79 (C-4', Py); 139.69 (C-4); 146.32 (C-6', Py); 149.16 (C-6'', Py); 156.77 (C-17); 157.65 (C-2', Py); 160.43 (C-3).

**HRMS TOF** (m/z): računato za  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  397.26383; nađeno 397.26258.



## 5. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji su prikazane i opisane sinteze novih 17-pikolil i 17-pikolinilidenskih derivata androstana, kao potencijalno biološki aktivnih jedinjenja. Takođe je ispitana i antiproliferativna aktivnost novosintetizovanih jedinjenja, kao antitumornih agenasa, prema šest humanih tumorskih ćelijskih linija, i jednoj zdravoj ćelijskoj liniji.

Kao polazno jedinjenje u ovim sintezama je odabran dehidroepiandrosteron (DA, **1**), koji je u prvoj fazi podvrgnut adiciji  $\alpha$ -pikolil-litijuma, pri čemu je dobijen  $3\beta,17\beta$ -dihidroksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-5-en (**2**) u prinosu od 87%. Nakon toga, *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **2** cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*tert*-butoksida, dobijen je  $17\beta$ -hidroksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**3**). U narednoj fazi, jedinjenje **2** je podvrgnuto reakciji dehidratacije anhidridom sirćetne kiseline, pri čemu je dobijen  $3\beta$ -acetoksi- $17$ -pikoliniliden-androst-5-en (**4**), koji je zatim hidrolizom u baznoj sredini preveden u  $3\beta$ -hidroksi- $17$ -pikoliniliden-androst-5-en (**5**). U cilju uvođenja 4-en-3-onskog sistema izvedena je *Oppenauer*-ova oksidacija jedinjenja **5**, sa cikloheksanonom u prisustvu aluminijum-*izo*-propoksida, pri čemu je dobijen  $17(E)$ -pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**6**) u prinosu od 89%.

U prvom delu ovog rada izvršene su transformacije u A i B prstenu  $17\alpha$ -pikolil androstanskih derivata. U cilju ispitivanja uticaja 3,5-dienskog sistema na biološku aktivnost, C-3 hidroksilna grupa u jedinjenju **2** je najpre tozilovana, pri čemu je dobijen  $17\beta$ -hidroksi- $17\alpha$ -pikolil-androst-5-en- $3\beta$ -il *p*-toluensulfonat (**7**). Eliminacijom tozil grupe bis(2-aminoetil)aminom dobijen je  $17\alpha$ -pikolil-androsta-3,5-dien- $17\beta$ -ol (**8**).

U narednoj fazi sinteze je izvršena redukcija 3-keto grupe u jedinjenju **3** natrijum-borhidridom, pri čemu je dobijen  $17\alpha$ -pikolil-androst-4-en- $3\beta,17\beta$ -diol (**9**), a zatim je izvršeno acetilovanje  $3\beta$ -hidroksilne funkcije acet-anhidridom u piridinu, pri čemu je dobijen  $3\beta$ -acetoksi derivat **10**. Jedinjenje **3** je zatim podvrgnuto *Wolff-Kishner*-ovoj redukciji uz mikrotalasno

ozračivanje, pri čemu je najpre sintetizovan 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-hidrazon (**11**) (195 °C, 170 W, 4 min.), koji je zatim u prisustvu kalijum-hidroksida izlagan dejstvu mikrotalasa (195 °C, 170 W, 10 min.). Međutim, dobijena je kompleksna smeša proizvoda iz koje se nije mogao izolovati očekivani 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en (**12**). Kada je izvršena *Clemmensen*-ova redukcija C-3 keto funkcije u jedinjenju **3**, dobijena je smeša 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\alpha$ - i 17 $\alpha$ -pikolil-5 $\beta$ -androst-3-en-17 $\beta$ -ola (**13** i **14**).

Dalja istraživanja obuhvatala su reakcije hidroksilacije i oksidacije u A i/ili B prstenu kod 17 $\alpha$ -pikolil androstanske serije jedinjenja. Tako je jedinjenje **2** podvrgnuto oksidaciji selen-dioksidom u dioksanu uz refluks u toku 25 časova pri čemu su dobijeni izomerni 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol (**15**) i 17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol (**16**), u prinosu od 22%, odnosno 28%. Reakcija sa selen-dioksidom u dioksanu (uz refluks u toku 20 časova) je primenjena i na 3 $\beta$ -acetoksi derivat **17**, pri čemu je dobijen 4 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (**18**). Međutim, kada je jedinjenje **3** podvrgnuto reakciji sa selen-dioksidom u dioksanu, dobijena je kompleksna smeša proizvoda iz koje nije izolovano jedinjenje **23**.

S' druge strane, oksidacijom jedinjenja **2** *Jones*-ovim reagensom dobijen je 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (**19**, 12%), koji je takođe dobijen (13%) kada je jedinjenje **3** reagovalo sa kalijum-*terc*-butoksidom u *terc*-butanolu. U ovoj reakciji je izolovan i 4,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4,6-dien-3-on (**20**), u prinosu od 25%.

U cilju dalje transformacije 17 $\alpha$ -pikolil androstanskih derivata, jedinjenje **3** je epoksidovano (vodonik peroksidom u baznoj sredini), pri čemu je dobijena smeša 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-ona (**21** i **22**), koji su zatim podvrgnuti *Wharton*-ovoj reakciji, pri čemu je dobijen 17 $\alpha$ -pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol (**24**, prinos 30%), dok je primenom *Eschenmoser*-ove reakcije dobijen 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on (**25**) u prinosu od 56%, čija je struktura nepobitno dokazana i na osnovu rentgeno-strukturne analize. Pored toga, smeša jedinjenja **21** i **22** je reagovala sa metanolom u baznoj sredini, pri čemu je dobijen 17 $\beta$ -hidroksi-4-metoksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**26**).

Jedan od zadataka ovog rada je bio i da se uvede oksimino funkcija u polazno jedinjenje **3**, a sve u cilju ispitivanja antiproliferativne aktivnosti prema odabranim ćelijskim linijama kancera. Stoga je jedinjenje **3** reagovalo sa *i*-amil-nitritom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida, pri

čemu su neočekivano dobijeni novi oksimino derivati, 17 $\beta$ -hidroksi-2(*E*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-izoksazolo[3',4',5':4,5,6]-androst-5-en-3-on (**29**) i 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*),4( $\zeta$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3-on (**30**), u prinosu od 10%, odnosno 28%. Struktura izoksazolskog derivata **29** je nepobitno dokazana i na osnovu rentgeno-strukturne analize. Jedinjenje **30** je zatim *Beckmann*-ovom fragmentacijom (acet-anhidrid u piridinu) dalo 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-2,3-seko-A-norandrost-5-en-2,4-dinitril (**31**), u prinosu od 46%.

Međutim, sinteza derivata **37** sa 2-hidroksimino funkcijom je izvedena posredno iz jedinjenja **3**, preko jedinjenja **36**. Naime, najpre je jedinjenje **3** reagovalo sa etil-formijatom i natrijum-hidridom, tako da je dobijen 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*)-hidroksimetilen-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**36**, prinos 38%), čija je struktura potvrđena i rentgeno-strukturnom analizom. U narednoj fazi sinteze jedinjenje **36** je reagovalo sa natrijum-nitritom u kiselj sredini, na 0 °C u toku 45 minuta, pri čemu je dobijen očekivani 17 $\beta$ -hidroksi-2(*Z*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (**37**) u prinosu od 93%.

S' druge strane, oksiminovanjem jedinjenja **3** hidroksilamin-hidrohloridom u prisustvu natrijum-acetata, dobijena je smeša stereoisomernih 3(*E*)-hidroksimino i 3(*Z*)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ola (**32** i **33**) u molskom odnosu 2.8:1 = **32:33**, koja je zatim podvrgnuta reakciji *Beckmann*-ovog premeštanja sa tionil-hloridom u dioksanu (na sobnoj temperaturi u toku 1 časa), pri čemu su neočekivano dobijeni u smeši 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**) i 17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-on (**35**). Posebno treba napomenuti da je jedinjenje **34** takođe dobijeno *Beckmann*-ovim premeštanjem 3-hidroksimino 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata **52** i **53**.

Naredna faza istraživanja je obuhvatala hemijske transformacije 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata, sa ciljem da se uporedi biološka aktivnost sa 17 $\alpha$ -pikolil androstanskim derivatima. Stoga je jedinjenje **5** najpre prevedeno u 3 $\beta$ -tozil derivat **38**, a zatim eliminacijom tozil grupe bis(2-aminoetil)aminom, dobijen je 17(*E*)-pikoliniliden-androsta-3,5-dien (**39**) u prinosu od svega 7%.

Redukcijom jedinjenja **6** (dobijenog *Oppenauer*-ovom oksidacijom jedinjenja **5**) natrijum-borhidridom u etanolu, dobijen je 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol (**40**, 97%), kao i njegov 3 $\beta$ -acetoksi derivat **41** (prinos 46%). S' druge strane, *Wolff-Kishner*-ovom redukcijom jedinjenja **6** uz mikrotalasno ozračivanje (195 °C, 170 W, 40 min.), umesto

očekivanog 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-ena (**43**), preko intermedijernog hidrazona **42**, dobijena je smeša 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-ena (**44**) i 17(*E*)-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-ena (**45**), slično kao kada je izvedena i *Clemmensen*-ova redukcija jedinjenja **6**.

U narednoj fazi rada je oksidacijom jedinjenja **5** *Jones*-ovim reagensom (na 0 °C u toku 1.5 časa), dobijen novi 17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (**46**, prinos 26%), a koji je takođe sintetisan i alternativnim putem, u reakciji jedinjenja **6** sa kalijum-*terc*-butoksidom u *terc*-butanolu (na sobnoj temperaturi u toku 45 časova), u prinosu od 19%. Pored jedinjenja **46** dobijen je i 4-hidroksi-17(*E*)-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on (**47**) u prinosu od 22%.

Primenom *Wharton*-ove reakcije na 17(*E*)-pikoliniliden-4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - i 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi derivate **48** i **49** (dobijenih epoksidovanjem jedinjenja **6** sa vodonik peroksidom u baznoj sredini), dobijen je 17(*E*)-pikoliniliden-androst-3-en-5 $\xi$ -ol (**50**) u prinosu od 53%, dok su oksiminovanjem jedinjenja **6** dobijeni stereoizomerni 3(*E*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en (**52**) i 3(*Z*)-hidroksimino-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en (**53**), u molskom odnosu 2.6:1 = **52:53**. Kada je primenjeno *Beckmann*-ovo premeštanje (sa tionil-hloridom u dioksanu) na smešu oksima, izolovan je isključivo 17(*E*)-pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (**34**, 32%), čija je struktura potvrđena i na osnovu rentgeno-strukturne analize.

U reakciji jedinjenja **6** sa etil-formijatom i natrijum-hidridom dobijen je 2(*Z*)-hidroksimetilen-17(*E*)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (**54**) u prinosu od 36%.

U finalnim fazama rada, kod 17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata, su sintetizovana nova jedinjenja kod kojih je piridinsko jezgro kondenzovano sa A-prstenom. Tako su jedinjenja **3**, odnosno **6**, reagovala sa propargilaminom u prisustvu bakar(II)-nitrata, pri čemu su dobijeni novi 17 $\alpha$ -pikolil-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en-17 $\beta$ -ol (**55**, 63%), odnosno 17(*E*)-pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en (**56**, 50%), a čije su strukture nepobitno dokazane i na osnovu rentgeno-strukturne analize.

Imajući u vidu postavljene ciljeve ove doktorske disertacije, istraživanja su obuhvatila i ispitivanje antiproliferativne aktivnosti novosintetisanih jedinjenja obe serije (17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden) androstanskih derivata, prema nekoliko malignih ćelijskih linija: adenokarcinom dojke ER+ (MCF-7), adenokarcinom dojke ER- (MDA-MB-231), kancer prostate AR- (PC3), karcinom cerviksa (HeLa), karcinom debelog creva (HT-29) i

adenokarcinom pluća (A549), kao i prema zdravoj ćelijskoj liniji fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5).

Na osnovu rezultata antiproliferativne aktivnosti u obe serije derivata, može se zaključiti da izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama humanog adenokarcinom dojke ER+ (MCF-7) ispoljavaju jedinjenja **20** (IC<sub>50</sub> 3.6 μM), **11** (IC<sub>50</sub> 6.3 μM) i **31** (IC<sub>50</sub> 7.9 μM), dok su zadovoljavajuću pokazala jedinjenja **42** (IC<sub>50</sub> 13.6 μM), **8** (IC<sub>50</sub> 17.4 μM) i jedinjenje **30** (IC<sub>50</sub> 20.8 μM).

Prema ćelijama adenokarcinoma dojke ER- (MDA-MB-231), jaku antiproliferativnu aktivnost su pokazala jedinjenja **8** (IC<sub>50</sub> 2.3 μM), **9** (IC<sub>50</sub> 3.8 μM), **15** (IC<sub>50</sub> 5.6 μM), **16** (IC<sub>50</sub> 9.0 μM) i **20** (IC<sub>50</sub> 1.2 μM) sa 17α-pikolil funkcijom, kao i jedinjenja **39** (IC<sub>50</sub> 4.6 μM), **47** (IC<sub>50</sub> 9.3 μM) i **51** (IC<sub>50</sub> 4.1 μM) sa 17-pikolinilidenskom funkcijom. Posebno treba istaći da su ova jedinjenja ispoljila višestruko jaču aktivnost prema MDA-MB-231 ćelijama u odnosu na poznati lek formestan (IC<sub>50</sub> 55.5 μM).

Rezultati antiproliferativne aktivnosti prema ćelijama kancera prostate AR- (PC3) su pokazali da izrazito jaku aktivnost pokazuju jedinjenja **19** (IC<sub>50</sub> 4.3 μM), **42** (IC<sub>50</sub> 5.9 μM), **2** (IC<sub>50</sub> 6.3 μM) i **30** (IC<sub>50</sub> 8.7 μM). Zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost su pokazala jedinjenja **40** (IC<sub>50</sub> 10.1 μM), **6** (IC<sub>50</sub> 12.9 μM), **49** (IC<sub>50</sub> 14.3 μM) i **39** (IC<sub>50</sub> 19.9 μM).

Prema ćelijama humanog karcinoma cerviksa (HeLa), za obe serije androstanskih derivata, zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost su pokazala samo jedinjenja **26** (IC<sub>50</sub> 19.1 μM) i **51** (IC<sub>50</sub> 15.3 μM), a umerenu jedinjenja **8** (IC<sub>50</sub> 27.5 μM), **39** (IC<sub>50</sub> 23.3 μM), **9** (IC<sub>50</sub> 26.9 μM), **15** (IC<sub>50</sub> 21.3 μM) i **16** (IC<sub>50</sub> 26.6 μM).

Izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma debelog creva (HT-29) su pokazala jedinjenja **39** (IC<sub>50</sub> 1.8 μM), **15** (IC<sub>50</sub> 2.6 μM), **16** (IC<sub>50</sub> 8.0 μM) i **25** (IC<sub>50</sub> 6.5 μM), dok su zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost pokazala jedinjenja **30** (IC<sub>50</sub> 10.3 μM), **10** (IC<sub>50</sub> 10.6 μM) i **8** (IC<sub>50</sub> 11.7 μM).

Prema ćelijama adenokarcinoma pluća (A549), jedinjenje **17** je pokazalo zadovoljavajuću (IC<sub>50</sub> 17.3 μM), a jedinjenje **25** umerenu (IC<sub>50</sub> 27.9 μM) antiproliferativnu aktivnost.

Važno je naglasiti da nijedan od novosintetizovanih 17α-pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata nije uticao na rast zdravih ćelija fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5), dok je doksorubicin, hemoterapeutik u lečenju karcinoma, pokazivao izrazito jaku antiproliferativnu aktivnost prema ovim ćelijama (IC<sub>50</sub> je čak 0.32 μM).

Sa ciljem da se ispita uticaj pojedinih funkcionalnih grupa kod novosintetizovanih  $17\alpha$ -pikolil i  $17(E)$ -pikoliniliden androstanskih derivata na antitumorsku aktivnost, izvršena je SAR analiza za svaku od tretiranih ćelijskih linija.

Tako se poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja u  $17\alpha$ -pikolil seriji može zaključiti da je jedinjenje **2** (sa  $3\beta$ -hidroksi funkcijom i  $C_5=C_6$  vezom) pokazalo jaču antiproliferativnu aktivnost od jedinjenja **8** (sa proširenim konjugovanim sistemom u AB prstenu), samo prema ćelijama karcinoma prostate (PC3). Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja sa 4-en sistemima, 3-keto funkcijom (jedinjenje **3**) i 3-hidrazonskom funkcijom (jedinjenje **11**), može se zaključiti da se znatno povećava aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke MCF-7, a u manjoj meri prema MDA-MB-231 ćelijama. Takođe se zapaža da jedinjenje **10** sa  $3\beta$ -acetoksi funkcijom i 4-en sistemom smanjuje proliferaciju ćelija karcinoma debelog creva (HT-29) u odnosu na jedinjenje **9** (sa  $3\beta$ -hidroksi funkcijom). Kod jedinjenja **15** (sa  $4\alpha$ -OH funkcijom) i **16** (sa  $4\beta$ -OH funkcijom), izomer **15** je aktivniji prema svim ispitivanim ćelijama kancera, osim prema MCF-7 ćelijama.

Kod  $17(E)$ -pikoliniliden androstanskih derivata, proširena konjugacija u AB prstenu (jedinjenje **39**) uslovljava jaku antiproliferativnu aktivnost prema ispitivanim ćelijama, u odnosu na jedinjenje **5**, koje ne pokazuje aktivnost. Jedinjenje **6** (sa 4-en-3-on sistemom) je ispoljilo zadovoljavajuću aktivnost samo prema PC3 ćelijama, a jedinjenje **42** (sa 3-hidrazonskom funkcijom) prema MCF-7, MDA-MB-231 i PC3 ćelijama. Može se zaključiti da je jedinjenje **41** (sa  $3\beta$ -OAc funkcijom) ispoljilo inhibiciju rasta MCF-7 i MDA-MB-231 ćelija, a jedinjenje **40** (sa  $3\beta$ -OH funkcijom) samo inhibiciju rasta PC3 ćelija.

Poređenjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja sa 3,5-dienskim sistemom **8** i **39**, zapaža se da je  $17\alpha$ -pikolil derivat **8** aktivniji prema MCF-7 i MDA-MB-231 ćelijama, dok je  $17(E)$ -pikoliniliden derivat **39** aktivniji prema HT-29 ćelijskoj liniji. Slično tome, kod jedinjenja sa 4,6-dienskim sistemom i 4-hidroksi-3-on funkcijama **20** i **47** se može uočiti da  $17\alpha$ -pikolil derivat **20** ispoljava jaču antiproliferativnu aktivnost prema svim ispitivanim tumorskim ćelijama u poređenju sa  $17$ -pikolinilidenskim derivatom **47**. Kod analognih derivata sa 3-hidrazonskom funkcijom, jedinjenje **42** (sa  $17$ -pikolinilidenskom funkcijom) ispoljava mnogo jači efekat na rast ćelija karcinoma prostate (PC3) u odnosu na  $17\alpha$ -pikolil derivat **11**. Kod jedinjenja sa 3,6-diketo-4-en sistemom, derivat **19** (sa  $17\alpha$ -pikolil funkcijom) jače inhibira rast PC3 tumorskih ćelija u poređenju sa derivatom **46** (sa  $17(E)$ -pikolinilidenskom funkcijom).

Na osnovu izloženih rezultata, može se zaključiti da su novosintetizovana androstanska jedinjenja u obe serije pokazala jaku ili zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost prema ispitivanim ćelijskim linijama kancera. Tako su se derivati sa  $17\alpha$ -pikolil grupom pokazali kao bolji citotoksični agensi prema MDA-MB-231 ćelijama, a derivati sa  $17(E)$ -pikolinilidenskom funkcijom prema PC3 ćelijama. Posebno treba istaći da su novosintetizovana androstanska jedinjenja neaktivna prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća MRC-5. Iz tih razloga, ova jedinjenja bi imala veliki značaj u biomedicini i farmakologiji kao potencijalni lekovi, koji bi se primenjivali u lečenju hormon zavisnih oboljenja.





## 6. LITERATURA

1. V. Kaklamani, R. M. O'Regan, *Oncology* **17** (2003), 335.
2. H. J. Mitchell, W. P. Dankulich, G. D. Hartman, T. Prueksaritanont, A. Schmidt, R. L. Vogel, C. Bai, S. McElwee-Witmer, H. Z. Zhang, F. Chen, C. T. Leu, D. B. Kimmel, W. J. Ray, P. Nantermet, M. A. Gentile, M. E. Duggan, R. S. Meissner, *J. Med. Chem.* **52** (2009), 4578.
3. Q. He, D. Jiang, *Leukemia Res.* **23** (1999), 369.
4. J. Roy, P. DeRoy, D. Poirier, *J. Combin. Chem.* **9** (2007), 347.
5. K. A. Latham, A. Zamora, H. Drought, S. Subramanian, A. Matejuk, H. Offner, E. F. Rosloniec, *J. Immunol.* **171** (2003), 5820.
6. D. Hosking, C. E. Chilvers, C. Christiansen, P. Ravn, R. Wasnich, P. Ross, M. McClung, A. Balske, D. Thompson, M. Daley, A. J. Yates, *N. Engl. J. Med.* **338** (1998), 485.
7. S. G. Haider, *Int Rev Cytol* **233** (2004), 181.
8. J. P. Gaddipati, D. G. McLeod, H. B. Heidenberg, I. A. Sesterhenn, M. J. Finger, J. W. Moul, S. Srivastava, *Cancer Res.* **54** (1994), 2861.
9. B. B. Yeap, R. G. Krueger, P. J. Leedman, *Endocrinology* **140** (1999), 3282.
10. A. van Bokhoven, M. Varella-Garcia, C. Korch, W. U. Johannes, E. E. Smith, H. L. Miller, S. K. Nordeen, G. J. Miller, M. S. Lucia, *Prostate* **57** (2003), 205.
11. M. J. McPhaul, M. Young, *J. Am. Acad. Dermatol.* **45** (2001), S87.
12. E. H. Nunlist, I. Dozmorov, Y. Tang, R. Cowan, M. Centola, H. K. Lin, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **91** (2004), 157.
13. I. Dufort, P. Rheault, X. F. Huang, P. Soucy, V. Luu-The, *Endocrinology* **140** (1999), 568.
14. W. Gao, C. E. Bohl, J. T. Dalton, *Chem. Rev.* **105** (2005), 3352.
15. A. G. Fragkaki, Y. S. Angelis, M. Koupparis, A. Tsantili-Kakoulidou, G. Kokotos, C. Georgakopoulos, *Steroids* **74** (2009), 172.

16. J. L. Everett, J. J. Roberts, W. C. J. Ross, *J. Chem. Soc.* (1953), 2386.
17. L. A. Shervington, N. Smith, E. Norman, T. Ward, R. Phillips, A. Shervington, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009), 2944.
18. A. McLean, D. Newell, G. Baker, T. Connors, *Biochem. Pharmacol.* **29** (1980), 2039.
19. K. Loven, L. Stein, K. Furst, S. Levy, *Clin. Ther.* **24** (2002), 990.
20. A. Skladanowski, J. Konopa, *Biochem. Pharmacol.* **46** (1993), 375.
21. M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **93** (1971), 2325.
22. A. Chugun, K. Temma, T. Oyamada, N. Suzuki, Y. Kamiya, Y. Hara, T. Sasaki, H. Kondo, T. Akeru, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **78** (2000), 329.
23. T. Ohga, T. Uchiumi, Y. Makino, K. Koike, M. Wada, M. Kuwano, K. Kohno, *J. Biol. Chem.* **273** (1998), 5997.
24. Y. Wang, M. Tamara, *Biochem. Pharmacol.* **68** (2004), 2031.
25. D. S. Savage, *Cancer Lett.* **2** (1977), 267.
26. R. Chattopadhyaya, D. P. Jindal, M. Minu, R. Gupta, *Arzneimittel Forschung* **54** (2004), 551.
27. R. Bansal, S. Guleria, *Steroids* **73** (2008), 1391.
28. S. Dubey, P. Piplani, D. P. Jindal, *Chem. Biodiver.* **1** (2004), 1529.
29. S. Dubey, P. Kaur, D. P. Jindal, Y. D. Satyanarayan, P. Piplani, *Med. Chem.* **4** (2008), 229.
30. H. Guo, H. Wu, J. Yang, Y. Xiao, H. J. Altenbach, G. Qiu, H. Hu, Z. Wu, X. He, D. Zhou, X. Hu, *Steroids* **76** (2011), 709.
31. <http://www.google.com/search?q=TERAPIJA+RAKA+DOJKE+Nenad+Ugre%C5%A1i%C4%87&ie=utf-8&oe=utf-8&aq=t&rls=org.mozilla:en-GB:official&client=firefox-a>, 2011.
32. T. A. Buchholz, *N. Engl. J. Med.* **360** (2009), 63.
33. J. Mladenović, N. Borojrić, J. Šašić, *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo* **130** (2002), 345.
34. [http://en.wikipedia.org/wiki/Breast\\_cancer](http://en.wikipedia.org/wiki/Breast_cancer), 2011.
35. <http://www.ncrc.ac.rs/strane/karcinomdojke.htm>, 2011.
36. <http://www.tree.com/health/breast-cancer-stages.aspx>

37. G. A. Elmegeed, W. K. B. Khalil, R. M. Mohareb, H. H. Ahmed, M. M. Abd-Elhalim, G. H. Elsayed, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011), 6860.
38. J. Kotsopoulos, S. A. Narod, *Steroids* **77** (2012), 1.
39. S. R. Davis, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **69** (1999), 177.
40. S. R. Davis, *Med. J. Aust.* **170** (1999), 545.
41. B. Zumoff, G. W. Strain, L. K. Miller, W. Rosner, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **80** (1995), 1429.
42. D. J. Liao, R. B. Dickson, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **80** (2002), 175.
43. H. Kaur, S. Saini, S. Peer, J. Singh, *Sys. Rev. Pharm.* **1** (2010), 40.
44. Y. D. James, N. E. Davidson, *N. Engl. J. Med.* **354** (2006), 270.
45. B. Fisher, J. P. Constantino, D. L. Wickerham, R. S. Cecchini, W. M. Cronin, A. Robidoux, *J. Natl. Cancer Inst.* **97** (2005), 1652.
46. E. Barrett-Connor, L. Mosca, P. Collins, M. J. Geiger, D. Grady, M. Kornitzer, *N. Engl. J. Med.* **355** (2006), 125.
47. A. N. Wymenga, D. T. Sleijfer, *Acta Oncol.* **4** (2002), 269.
48. G. von Minckwitz, E. Graf, M. Geberth, W. Eiermann, W. Jonat, B. Conrad, K. Brunnert, B. Gerber, S. Vescia, J. Wollertj, M. Kaufmann, *Eur. J. Cancer* **42** (2006), 1780.
49. W. R. Miller, *Endocr. Relat. Cancer* **3** (1996), 65.
50. H. S. Rugo, *Ann. Oncol.* **19** (2008), 16.
51. N. K. Ibrahim, A. U. Buzdar, *Am. J. Clin. Oncol.* **18** (1995), 407.
52. L. Gibson, D. Lawrence, C. Dawson, J. Bliss, *Cochrane Database of Systematic Reviews* **4** (2009), 1. Art. No.: CD003370.
53. W. J. Gradishar, *Clin. Breast Cancer* **6** (2005), S23.
54. S. A. Bahashwan, M. A. Al-Omar, E. Ezzeldin, M. M. Abdalla, A. A. Fayed, A. Amr, *Chem. Pharm. Bull.* **59** (2011), 1363.
55. [http://ultrazvuk-tarle.hr/dijagnostika/zagreb/karcinom\\_rak\\_prostate/](http://ultrazvuk-tarle.hr/dijagnostika/zagreb/karcinom_rak_prostate/), 2011.
56. J. D. McConnell, *Urol. Clin. North Am.* **18** (1991), 1.
57. C. Huggins, C. V. Hodges, *Cancer Res.* **1** (1941), 293.
58. Y. Chen, N. J. Clegg, H. I. Scher, *Lancet Oncol.* **10** (2009), 981.
59. T. S. Vasaitis, R. D. Bruno, V. C.O. Njar, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **125** (2011), 23.
60. [http://en.wikipedia.org/wiki/5-alpha\\_reductase](http://en.wikipedia.org/wiki/5-alpha_reductase), 2011.

61. T. Zaccheo, D. Giudici, E. Di Salle, *The prostate* **35** (1998), 237.
62. <http://en.wikipedia.org/wiki/Finasteride>, 2011.
63. <http://en.wikipedia.org/wiki/Dutasteride>, 2011.
64. <http://en.wikipedia.org/wiki/Turosteride>, 2011.
65. M. A. Moreira, T. S. Vasaitis, Z. Guo, V. C. O. Njar, A. R. Salvador, *Steroids* **73** (2008), 1217.
66. G. E. Arth, A. A. Patchett, T. Jefopoulos, R. L. Bugianesi, L. H. Peterson, E. A. Ham, F. A. Kuehl Jr., N. G. Brink, *J. Med. Chem.* **14** (1971), 675.
67. C. Bubert, M. P. Leese, M. F. Mahon, E. Ferrandis, S. Regis-Lydi, P. G. Kasprzyk, S. P. Newman, Y. T. Ho, A. Purohit, M. J. Reed, B. V. L. Potter, *J. Med. Chem.* **50** (2007), 4431.
68. R. D. Bruno, T. D. Gover, A. M. Burger, A. M. Brodie, C. O. Njar, *Mol. Cancer Ther.* **7** (2008), 2828.
69. J. Picado-Leonard, W. L. Miller, *Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17alpha-hydroxylase/17,20 lyase): similarity with the gene for P450c21*, *DNA* (Mary Ann Liebert, Inc.) **6** (1987), 439–448.
70. A. M. Brooke, N. F. Taylor, J. H. Shepherd, M. E. Gore, T. Ahmad, L. Lin, G. Rumsby, M. Papari-Zareei, R. J. Auchus, J. C. Achermann, J. P. Monson, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91** (2006), 2428.
71. V. C. Njar, A. M. Brodie, *Curr. Pharm. Des.* **5** (1999), 163.
72. R. W. Hartmann, P. B. Ehmer, S. Haidar, M. Hector, J. Jose, C. D. Klein, S. B. Seidel, T. F. Sergejew, B. G. Wachall, G. A. Wachter, Y. Zhuang, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **335** (2002), 119.
73. V. M. Moreira, J. A. Salvador, T. S. Vasaitis, V. C. Njar, *Curr. Med. Chem.* **15** (2008), 868.
74. C. P. Owen, *Anticancer Agents Med. Chem.* **9** (2009), 613.
75. E. J. Small, A. D. Baron, L. Fippin, D. Apodaca, *J. Urol.* **157** (1997), 1204.
76. J. Trachtenberg, N. Halpern, A. Pont, *J. Urol.* **130** (1983), 152.
77. Safety Study of TAK-700 in Subjects With Prostate Cancer. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00569153> (accessed 07.15.10).

78. Safety and Efficacy Study of TAK-700 in Patients With Nonmetastatic Castration-resistant Prostate Cancer and a Rising Prostate-specific Antigen. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01046916> (accessed 15.07.10).
79. Study of TAK-700 in Combination With Docetaxel and Prednisone in Men With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01084655> (accessed 09.02.10).
80. <http://www.nursa.org/moleculc.cfm?molType=ligand&molId=899>, 2012.
81. <http://www.nursa.org/moleculc.cfm?molType=ligand&molId=913>, 2012.
82. P. Reid, P. Kantoff, W. Oh, *Invest. New Drugs*. **17** (1999), 271.
83. J. Anderson, *BJU Int.* **91** (2003), 455.
84. M. P. Wirth, O. W. Hakenberg, M. Froehner, *Eur. Urol.* **51** (2007), 306.
85. B. B. Shingate, B. G. Hazra, D. B. Salunke, V. S. Pore, F. Shirazi, M. V. Deshpande, *Eur. J. Med. Chem.* **46** (2011), 3681.
86. F. J. Zeelen, *Medicinal Chemistry of Steroids*. Elsevier Science B. V, New York, 1990.
87. F. J. Zeelen, u: B. Testa, U. A. Meyer (Eds.), *Advances in Drug Research*, vol. 25, Academic Press, London, 1994, pp. 87-102.
88. B. P. Morgan, M. S. Moynihan, u: J. I. Kroschwitz, M. Howe-Grant (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 22, John Wiley & Sons, New York, 1997, pp. 851-921.
89. M. N. Preobrazhenskaya, *Chem. Heterocycl. Compd.* **21** (1985), 13.
90. M. Kidwai, R. Venkataramanan, R. Mohan, P. Sapra, *Curr. Med. Chem.* **9** (2002), 1209.
91. A. E. Amr, M. H. Abou-Ghalia, *Amino Acids* **26** (2004), 283.
92. M. F. Braña, J. M. Castellano, M. Morán, M. J. Pérez de Vega, X. D. Qian, C. A. Romerdahl, G. Keilhauer, *Eur. J. Med. Chem.* **30** (1995), 235.
93. A. G. Hammam, M. A. Sharaf, N. A. Abdel-Hafez, *Indian J. Chem.* **40B** (2001), 213.
94. A. E. Amr, A. M. Mohamed, A. A. Ibrahim, *Z. Naturforsch* **58b** (2003), 861.
95. A. E. Amr, O. I. Abdel-Salam, A. Attia, I. Stibor, *Collect. Czech Commun.* **64** (1999), 288.
96. A. Attia, O. I. Abdel-Salam, A. E. Amr, I. Stibor, M. Budesinsky, *Egypt J. Chem.* **43** (2000), 187.

- 
97. A. E. Amr, M. I. Hegab, A. A. Ibrahim, M. M. Abdalah, *Monatsch Chem.* **134** (2003), 1395.
  98. S. V. Drach, R. P. Litvinovskaya, V. A. Khripach, *Chem. Nat. Comp.* **36** (2000), 233.
  99. A. H. Banday, B. P. Mir, I. H. Lone, K. A. Suri, H. M. S. Kumar, *Steroids* **75** (2010), 805.
  100. J. P. Burkhart, C. A. Gates, M. E. Laughlin, R. J. Resvick, N. P. Peet, *Bioorg. Med. Chem.* **4** (1996), 1411.
  101. S. E. Barrie, G. A. Potter, P. M. Goddard, B. P. Haynes, M. Dowsett, M. Jarman, *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **50** (1994), 267.
  102. G. A. Potter, S. E. Barrie, M. Jarman, M. G. Rowlands, *J. Med. Chem.* **38** (1995), 2464.
  103. M. Jarman, S. E. Barrie, J. M. Llera, *J. Med. Chem.* **41** (1998), 5375.
  104. Y. Z. Ling, J. S. Li, Y. Liu, K. Kato, G. T. Klus, A. M. H. Brodie, *J. Med. Chem.* **40** (1997), 3297.
  105. V. C. O. Njar, K. Kato, I. P. Nnane, D. M. Grigoryev, B. J. Long, A. M. H. Brodie, *J. Med. Chem.* **41** (1998), 902.
  106. N. Zhu, Y. Ling, X. Lei, V. Handratta, A. M. H. Brodie, *Steroids* **68** (2003), 603.
  107. V. D. Handratta, T. S. Vasaitis, V. C. O. Njar, L. K. Gediya, R. Kataria, P. Chopra, D. Newman, Jr., R. Farquhar, Z. Guo, Y. Qiu, A. M. H. Brodie, *J. Med. Chem.* **48** (2005), 2972.
  108. R. D. Bruno, T. S. Vasaitis, L. K. Gediya, P. Purushottamachar, A. M. Godbole, Z. Ates-Alagoz, A. M.H. Brodie, V. C.O. Njar, *Steroids* **76** (2011), 1268.
  109. D. Ondré, J. Wölfling, I. Tóth, M. Szécsi, J. Julesz, G. Schneider, *Steroids* **74** (2009), 1025.
  110. Z. Iványi, J. Wölfling, T. Görbe, M. Szécsi, T. Wittmann, G. Schneider, *Steroids* **75** (2010), 450.
  111. S. Dubey, D. P. Jindal, P. Piplani, *Ind. J. Chem.* **44B** (2005), 2126.
  112. A. O. Abdelhamid, M. M. Abdelhalim, G. A. Elmegeed, *J. Heterocyclic Chem.* **44** (2007), 7.
  113. R. O. Clinton, A. J. Manson, F. W. Stonner, A. L. Beyler, G. O. Potts, A. Arnold, *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959), 1513.
  114. T. C. Miller, *J. Heterocyclic Chem.* **3** (1966), 338.

- 
115. 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** (1961), 1478.
116. J. H. Ackerman, G. O. Potts, A. L. Beyler, R. O. Clinton, *J. Med. Chem.* **7** (1964), 238.
117. B. Green, K. Sheu, *Steroids* **59** (1994), 479.
118. W. S. Laitonjam, T. S. Rajkumar, B. S. Chingakham, *Steroids* **67** (2002), 203.
119. R. Hirschmann, P. Buchschacher, N. G. Steinberg, J. H. Fried, R. Ellis, G. J. Kent, M. Tishler, *J. Am. Chem. Soc.* **86** (1964), 1520.
120. R. Gupta, D. Pathak, D. P. Jindal, *Eur. J. Med. Chem.* **31** (1996), 241.
121. 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. Phillips, G. O. Potts, A. Arnold, A. L. Beyler, R. O. Clinton, *J. Med. Chem.* **6** (1963), 1.
122. S. Wang, F. Xie, K. Song, *Chem. Abstr.* **119** (1993), 203669y.
123. R. Hirschmann, N. G. Steinberg, P. Buchschacher, G. H. Fried, G. J. Kent, M. Tishler, S. L. Steelman, *J. Am. Chem. Soc.* **85** (1963), 120.
124. J. Yan, J. Li, G. Rao, *Steroids* **72** (2007), 736.
125. M. G. Barthakur, M. Borthakur, R. C. Boruah, *Steroids* **73** (2008), 1137.
126. K. Oumzil, M. Ibrahim-Ouali, M. Santelli, *Tetrahedron. Lett.* **46** (2005), 5799.
127. D. L. Boger, S. Nakahara, *J. Org. Chem.* **56** (1991), 880.
128. L. He, Y. Liu, J. Shi, Q. Pei, *Steroids* **71** (2006), 476.
129. G. Ohta, K. Koshi, K. Obata, *Chem. Pharm. Bull.* **16** (1968), 1487.
130. L. F. Fieser and M. Fieser, *Steroids* (Second printing), Reinhold co. Publishing, London 1967, str. 189-192 .
131. A. Windaus, *Berichte* **40** (1907), 257.
132. M. I. Ushakov, A. I. Lyntenberg, *Russ. J. Gen. Chem.* **9** (1939), 69.
133. R. H. Pickard, J. Yates, *J. Chem. Soc., Trans.* **93** (1908), 1928.
134. A. C. Hunter, S. M. Priest, *Steroids* **71** (2006), 30.
135. K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc.* (1946), 39.
136. S. H. Li, T. S. Li, *Steroids* **63** (1998), 76.
137. B. A. Šolaja, D. R. Milić, Lj. I. Došen-Mićović, *Steroids* **59** (1994), 330.

138. V. Pérez-Ornelas, M. Cabeza, E. Bratoeff, I. Heuze, M. Sánchez, E. Ramírez, E. Naranjo-Rodríguez, *Steroids* **70** (2005), 217.
139. M. Numazawa, M. Tachibana, *Steroids* **59** (1994), 579.
140. M. Nagaoka, M. Numazawa, *Chem. Pharm. Bull.* **52** (2004), 983.
141. M. Numazawa, M. Tsuji, A. Mutsumi, *J. Steroid Biochem.* **28** (1987), 337.
142. M. Numazawa, M. Tsuji, Y. Osawa, *Steroids* **48** (1986), 347.
143. M. Yoshihama, K. Tamura, M. Nakakoshi, J. Nakamura, N. Fujise, G. Kawanishi, *Chem. Pharm. Bull.* **38** (1990), 2834.
144. O. Rosenheim, W. W. Starling, *J. Chem. Soc.* (1937), 377.
145. N. Rabjohn, *Org. Reactions* **5** (1959), 331.
146. E. Ma, T. Choi, *Bull. Korean Chem. Soc.* **30** (2009), 245.
147. D. Arigoni, A. Vasella, K. B. Sharpless, H. P. Jansen, *J. Am. Chem. Soc.* **95** (1973), 7917.
148. K. B. Sharpless, R. F. Lauer, *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972), 7154.
149. L. L. Rogers, L. Zeng, J. L. McLaughlin, *J. Org. Chem.* **63** (1998), 3781.
150. B. B. Snider, B. Shi, *Tetrahedron* **55** (1999), 14823.
151. Ch. Meystre, H. Frey, W. Voser, A. Wettstein, *Helv. Chim. Acta* **39** (1956), 734.
152. S. A. Szpilfogel, T. A. P. Posthumus, M. S. De Winter, D. A. Van Dorp, *Rec. Trav.* **75** (1956), 475.
153. R. Strommer, C. Hödl, W. Strauss, R. Sailer, E. Haslinger, H. W. Schramm, C. Seger, *Monatsh Chem.* **135** (2004), 1137.
154. R. Strommer, W. Strauss, H. Emmert, R. Sailer, R. Steiner, E. Reisinger, E. Haslinger, H. W. Schramm, *Monatsh Chem.* **132** (2001), 387.
155. R. B. Moffett, J. H. Hunter, *J. Am. Chem. Soc.* **73** (1951), 1973.
156. C. Djerassi, J. Fishman, *J. Am. Chem. Soc.* **77** (1955), 4291.
157. A. Bowers, A. D. Cross, J. A. Edwards, H. Carpio, M. C. Calzada, E. Denot, *J. Med. Chem.* **6** (1963), 156.
158. D. N. Kirk, M. P. Hartshorn, *Steroid reaction mechanisms*, Elsevier Publishing Co. LTD., Amsterdam, 1968.
159. L. Caglioti, P. Grasselli, *Chem. Ind. London* (1964), 153.
160. W. G. Dauben, M. E. Lorber, N. D. Vietmeyer, R. H. Shapiro, J. H. Duncan, K. Tomer, *J. Am. Chem. Soc.* **90** (1968), 4762.



- 
161. R. H. Shapiro, M. F. Lipton, K. J. Kolonko, R. L. Buswell, L. A. Capuano, *Tetrahedron Lett.* **16** (1975), 1811.
162. S. S. Oh, C. H. Robinson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (1994), 2237.
163. E. Clemmensen, (a) *Chemische Berichte* **46** (1913), 1837; (b) **47** (1914), 51; (c) **47** (1914), 681.
164. M. M. D. S. Cepa, E. J. Tavares da Silva, G. Correia-da-Silva, F. M. F. Roleira, N. A. A. Teixeira, *J. Med. Chem.* **48** (2005), 6379.
165. D. G. Morris, *Chem. Soc. Rev.* **11** (1982), 379.
166. C. Dupuy, J. L. Luche, *Tetrahedron* **45** (1989), 3437.
167. A. R. Chamberlin, D. Sall, *Comp. Org. Syn.* **8** (1991), 927.
168. J. J. Li, *Name Reactions, A Collection of Detailed Reaction Mechanisms*, Springer-Verlag, *Third Edition*, 2006, pp. 616-617.
169. P. S. Wharton, D. H. Bohlen, *J. Org. Chem.* **26** (1961), 3615.
170. P. S. Wharton, *J. Org. Chem.* **26** (1961), 4781.
171. G. Ohloff, G. Uhde, *Helv. Chem. Acta.* **53** (1970), 531.
172. G. Stork, P. G. Williard, *J. Am. Chem. Soc.* **99** (1977), 7067.
173. M. Di Filippo, F. Fezza, I. Izzo, F. De Riccardis, G. Sodano, *Eur. J. Org. Chem.* (2000), 3247.
174. A. Eschenmoser, D. Felix, G. Ohloff, *Helv. Chim. Acta* **50** (1967), 708.
175. J. Schreiber, D. Felix, A. Eschenmoser, M. Winter, F. Gautschi, K. H. Schulte-Elte, E. Sundt, G. Ohloff, J. Kalovoda, H. Kaufmann, P. Wieland, G. Anner, *Helv. Chim. Acta* **50** (1967), 2101.
176. D. Felix, J. Schreiber, G. Ohloff, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta.* **54** (1971), 2896.
177. M. Tanabe, D. F. Crowe, R. L. Dehn, *Tetrahedron Lett.* **8** (1967), 3943.
178. [http://en.wikipedia.org/wiki/Eschenmoser\\_fragmentation](http://en.wikipedia.org/wiki/Eschenmoser_fragmentation), 2012.
179. R. B. Boar, S. L. Jones, A. C. Patel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (1982), 513.
180. F. H. Batzold, C. H. Robinson, *J. Org. Chem.* **41** (1976), 313.
181. R. E. Ireland, P. Beslin, R. Giger, U. Hengartner, H. A. Kirst, H. Maag, *J. Org. Chem.* **42** (1977), 1267.
182. D. Miljković, K. Gaši, M. Kindjer, S. Stanković, B. Ribár, G. Argay, *Croat. Chem. Acta* **58** (1985), 721.

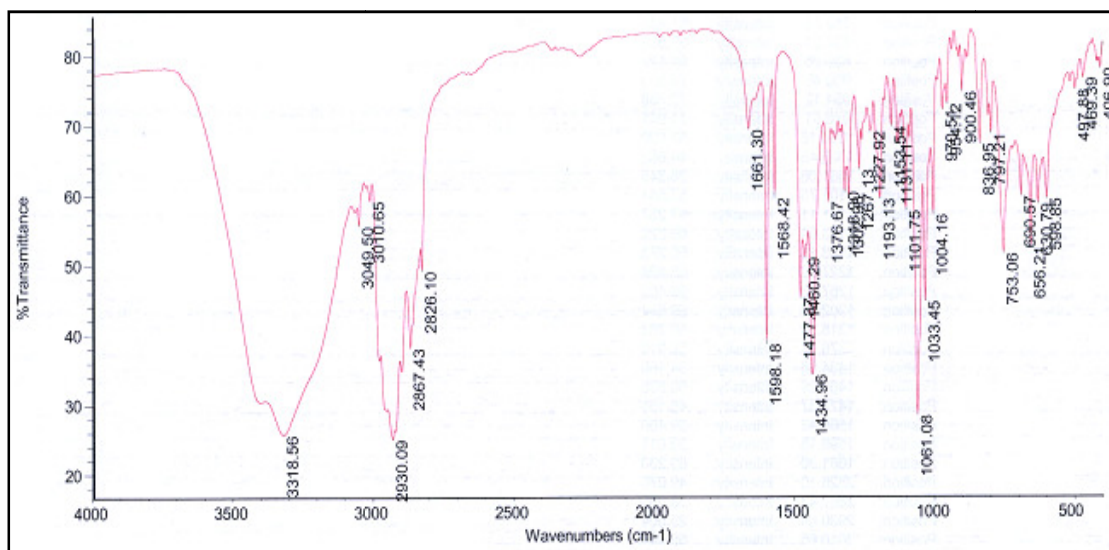
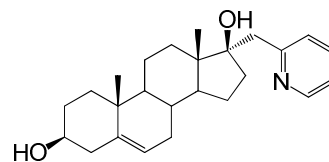
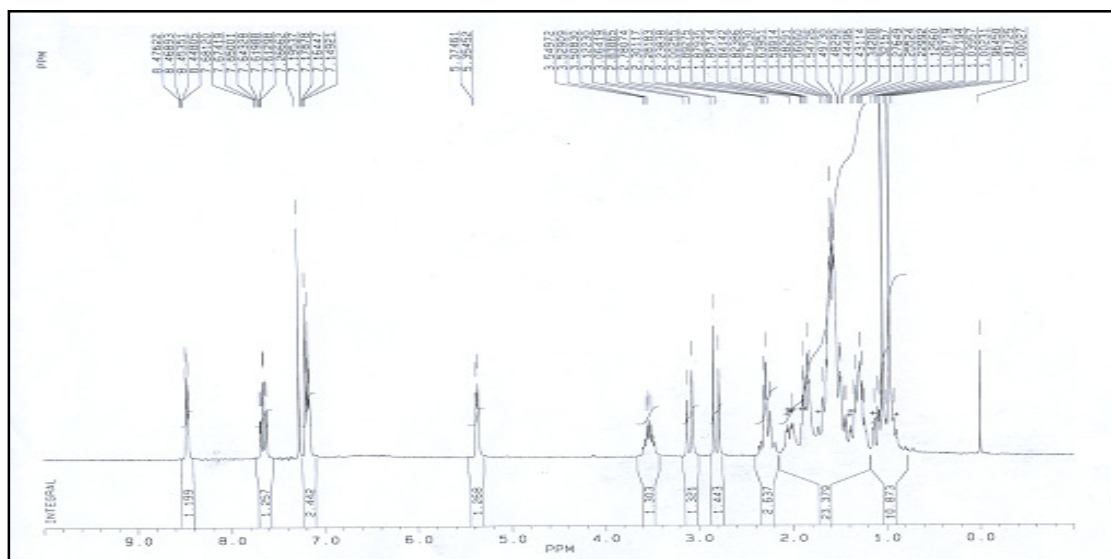
183. D. Miljković, K. Gaši, *Bull. Soc. Chim. Beograd* **47** (1982), 173.
184. R. B. Woodward, E. C. Kornfeld, *Organic Syntheses, Coll.* **3** (1955), 413.
185. K. M. Penov Gaši, M. Dj. Djurendić Brenesel, E. A. Djurendić, M. N. Sakač, J. J. Čanadi, J. J. Daljev, T. Armbruster, S. Andrić, D. M. Sladić, T. T. Božić, I. T. Novaković, Z. D. Juranić, *Steroids* **72** (2007), 31.
186. E. A. Djurendić, J. J. Ajduković, M. N. Sakač, J. J. Csanádi, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Eur. J. Med. Chem.* **54** (2012), 784.
187. M. Numazawa, A. Mutsumi, M. Tachibana, K. Hoshi, *J. Med. Chem.* **37** (1994), 2198.
188. A. Loupy, Ed., *Microwaves in Organic Synthesis*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2002.
189. S. Gadhwal, M. Baruah, J. S. Sandhu, *Synlett* **10** (1999), 1573.
190. D. A. Marsh, H. J. Brodie, W. Garrett, C. H. Tsai-Morris, A. M. H. Brodie, *J. Med. Chem.* **28** (1985), 788.
191. E. Djurendić, J. Daljev, M. Sakač, J. Čanadi, S. Jovanović Šanta, S. Andrić, O. Klisurić, V. Kojić, G. Bogdanović, M. Djurendić-Brenesel, S. Novaković, K. Penov Gaši, *Steroids* **73** (2008), 129.
192. J. Daljev, *Sinteza novih 17-pikolil i 17-pikoliniliden derivata 5-androstena i njihova biološka aktivnost*, Magistarski rad, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad (2008).
193. D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **17** (2000), 7.
194. J. Rodríguez, L. Nuñez, S. Peixinho, C. Jiménez, *Tetrahedron Lett.* **38** (1997), 1833.
195. D. J. Xiao, X. D. Peng, S. Z. Deng, *Chin. J. Org. Chem.* **25** (2005), 1606.
196. H. L. Holland, S. Kumaresan, L. Tan, V. C. O. Njar, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1992), 585.
197. G. Ohta, T. Takegoshi, K. Ueno, M. Shimizu, *Chem. Pharm. Bull.* **13** (1965), 1445.
198. B. W. Metcalf, M. A. Levy, D. A. Holt, *Trends Pharm. Sci.* **10** (1989), 491.
199. P. Catsoulacos, D. Politis, G. L. Wampler, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **10** (1983), 129.
200. J. Cui, L. Fan, Y. Huang, Y. Him, A. Zhou, *Steroids* **74** (2009), 989.
201. A. M. Pavlatos, O. Fultz, M. J. Monberg, A. Vootkur, *Clinical Therapeutics* **23** (2001), 789.

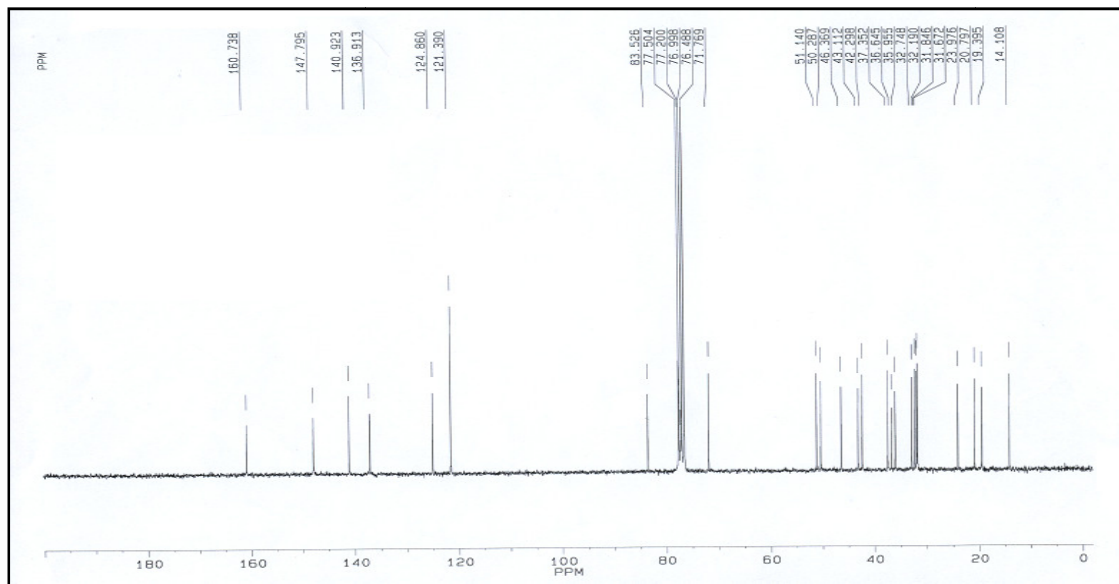
- 
202. E. A. Djurendić, J. J. Ajduković, M. N. Sakač, J. J. Čanadi, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Arkivoc* **xiii** (2009), 311.
203. G. H. Mikail, M. R. Arnold, G. F. Scott, *J. Med. Chem.* **44** (2001), 1560.
204. S. Y. Cho, S. K. Kang, S. S. Kim, H. G. Cheon, J. K. Choi, E. K. Yum, *Bull. Korean Chem. Soc.* **22** (2001), 1217.
205. W. J. Yeong, B. I. Weon, K. R. Jae, M. J. Shim, B. K. Won, C. C. Eung, *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004), 5909.
206. F. E. Goda, A. A. M. Abdel-Aziz, O. A. Attef, *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004), 1845.
207. M. Satoshi, H. Takayuki, K. Mitsuo, *J. Agric. Food Chem.* **45** (1997), 2345.
208. J. I. Sebat, A. J. Paszczynski, M. S. Cortese, R. I. Crawford, *Appl. Environ. Microbiol.* **67** (2001) 3924
209. L. Mao-Chin, L. Tai-Shun, C. G. Joseph, C. H. Ann, S. C. Alan, *J. Med. Chem.* **39** (1996), 2586.
210. A. Tiwari, W. R. Waud, R. F. Struck, *Bioorg. Med. Chem.* **10** (2002), 3593.
211. K. C. Nicolaou, R. Scarpelli, B. Bollbuck, B. Werschkun, M. Pereira, M. Wartmann, K. Altmann, D. Zaharevitz, R. Gussio, P. Giannakakou, *Chem. Biol.* **7** (2000), 593.
212. D. Kovala-Demertzi, A. Boccarelli, M. A. Demertzis, M. Coluccia, *Chemotherapy* **53** (2007), 148.
213. L. Mao-Chin, L. Tai-Shun, S. C. Alan, *J. Med. Chem.* **35** (1992), 3667.
214. W. Yuqiang, L. Mao-Chin, L. Tai-Shun, S. C. Alan, *J. Med. Chem.* **35** (1992), 3672.
215. M. Sylvie, R. Jean-Louis, G. Christophe, A. Hassan, S. Robert, A. Graciella, D. C. Erik, B. Jan, G. Alain, *Bioorg. Med. Chem.* **10** (2002), 941.
216. C. Altomare, S. Cellamare, L. Summo, P. Fossa, L. Mosti, A. Carotti, *Bioorg. Med. Chem.* **8** (2000), 909.
217. T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **65** (1983), 55.



## **7. PRILOG**

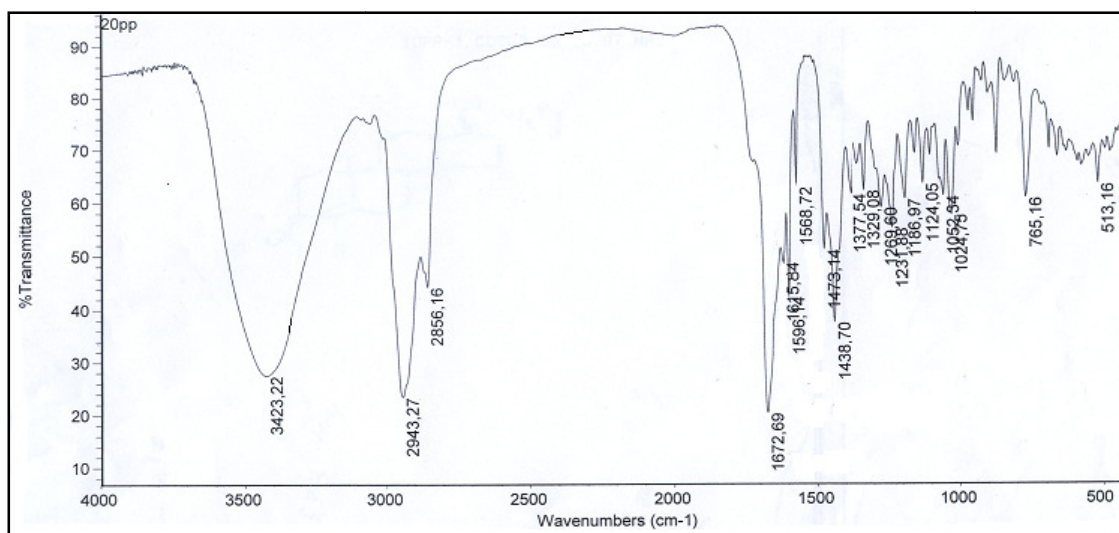
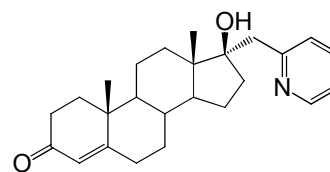
### **7.1. IR, $^1\text{H}$ i $^{13}\text{C}$ NMR spektri**

**17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (2)****Prilog 7.1.** IR spektar jedinjenja 2**Prilog 7.2.** <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 2

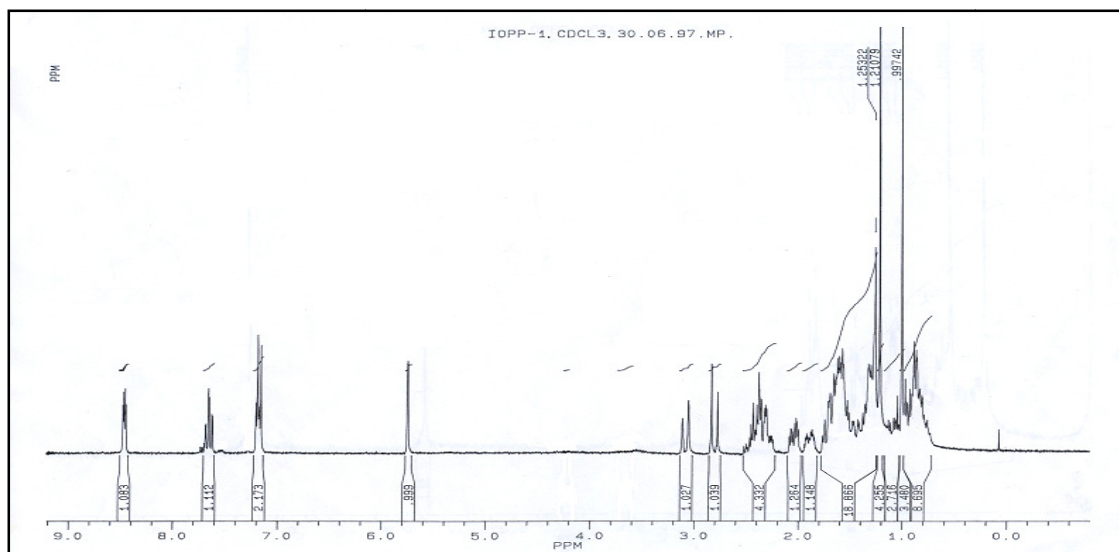


Prilog 7.3.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 2

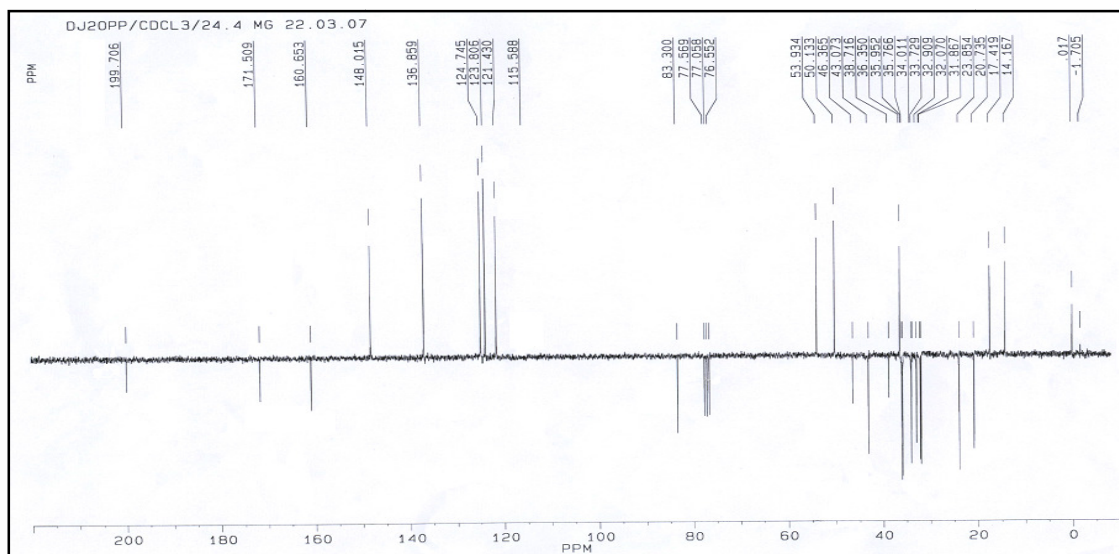
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (3)



Prilog 7.4. IR spektar jedinjenja 3

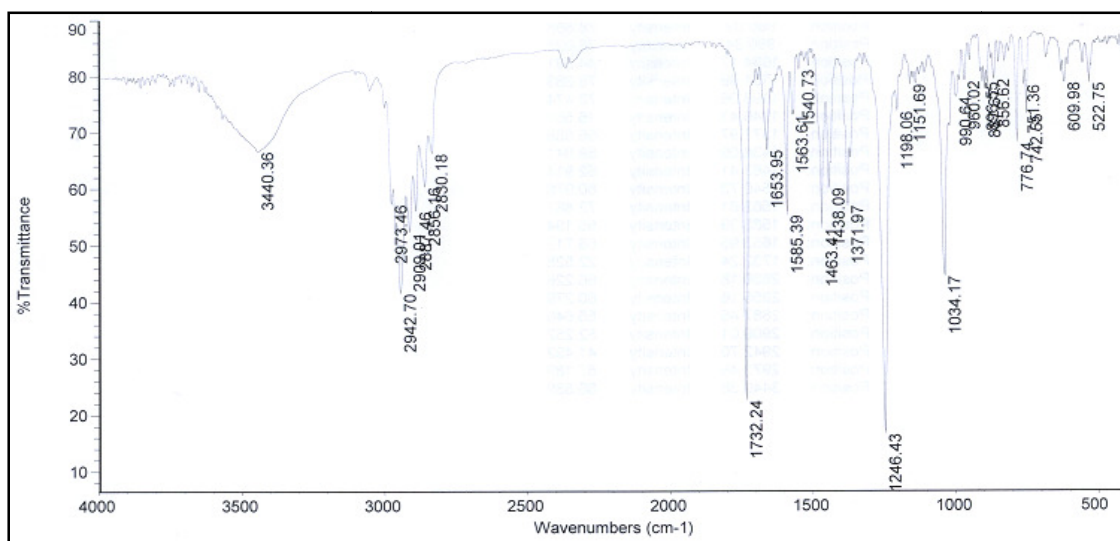
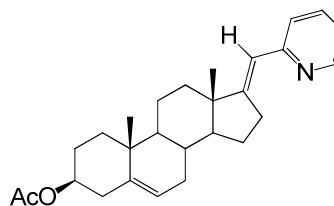
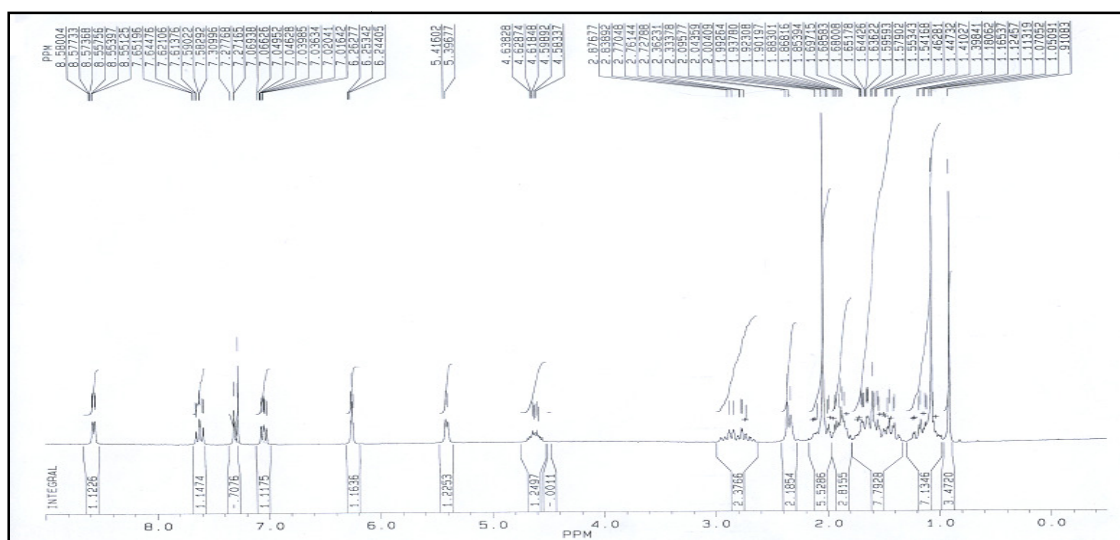


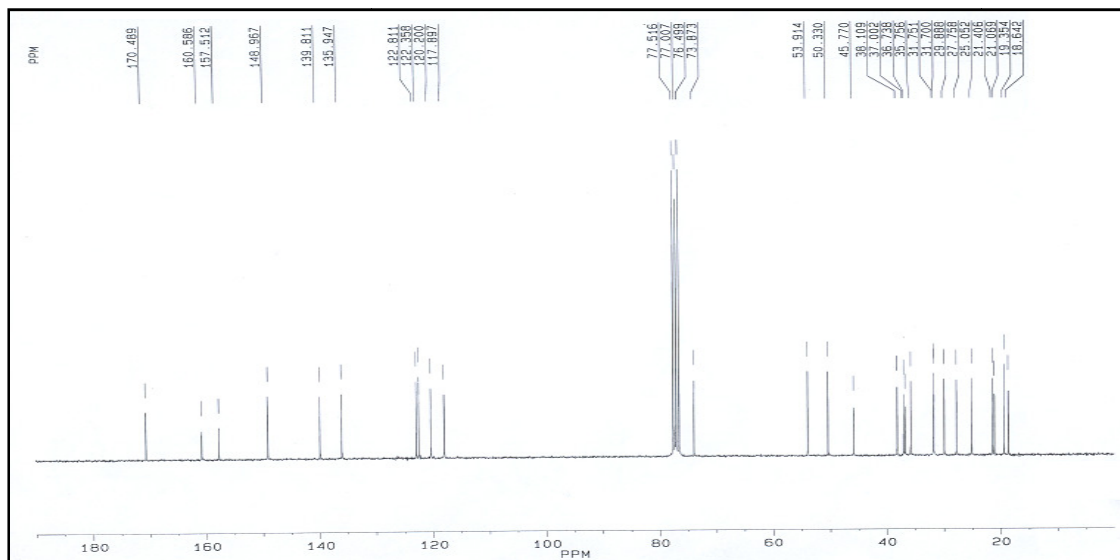
**Prilog 7.5.** <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 3



**Prilog 7.6.** <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 3

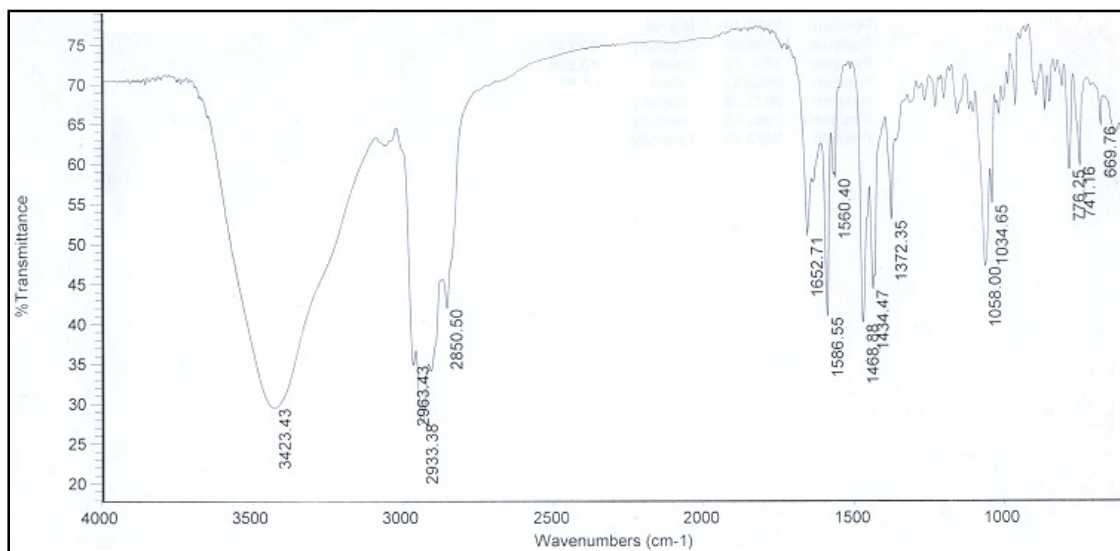
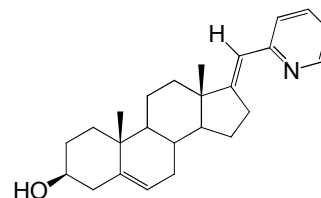


**17(E)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (4)**

**Prilog 7.7.** IR spektar jedinjenja 4

**Prilog 7.8.** <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 4

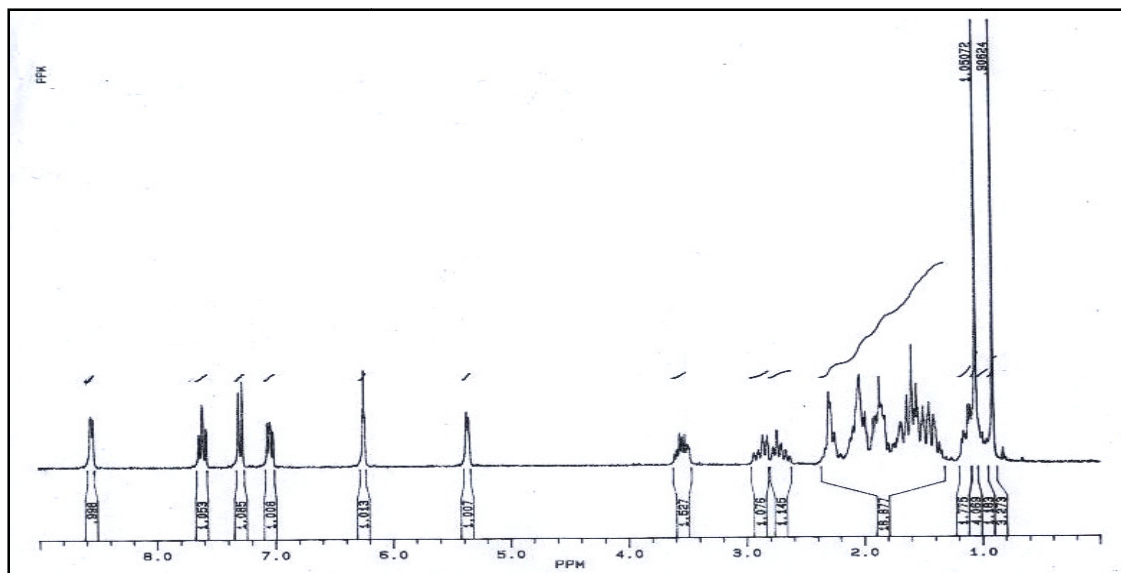


Prilog 7.9.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 4

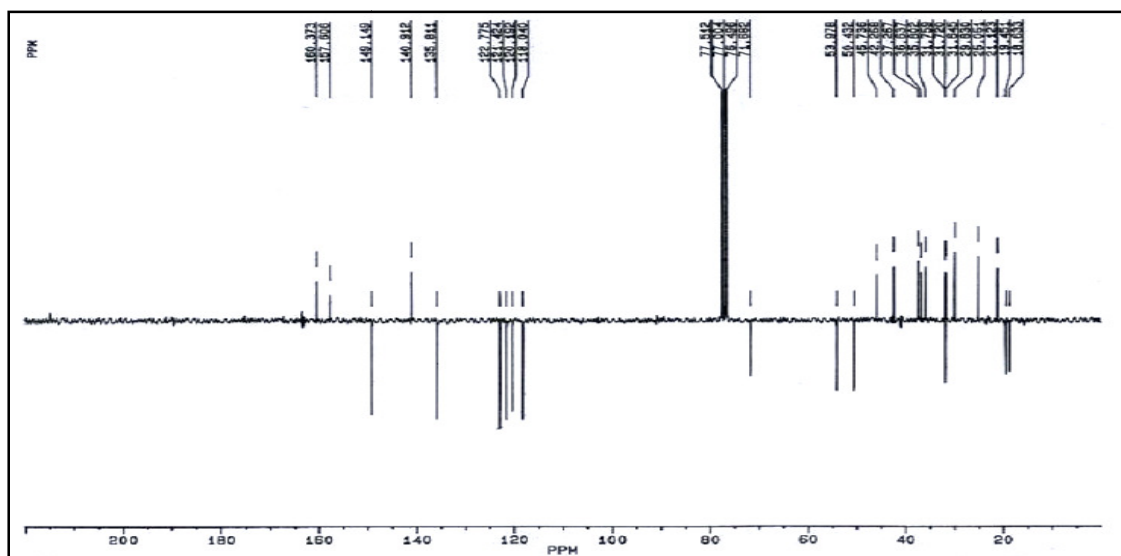
**17(E)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -ol (5)**



Prilog 7.10. IR spektar jedinjenja 5

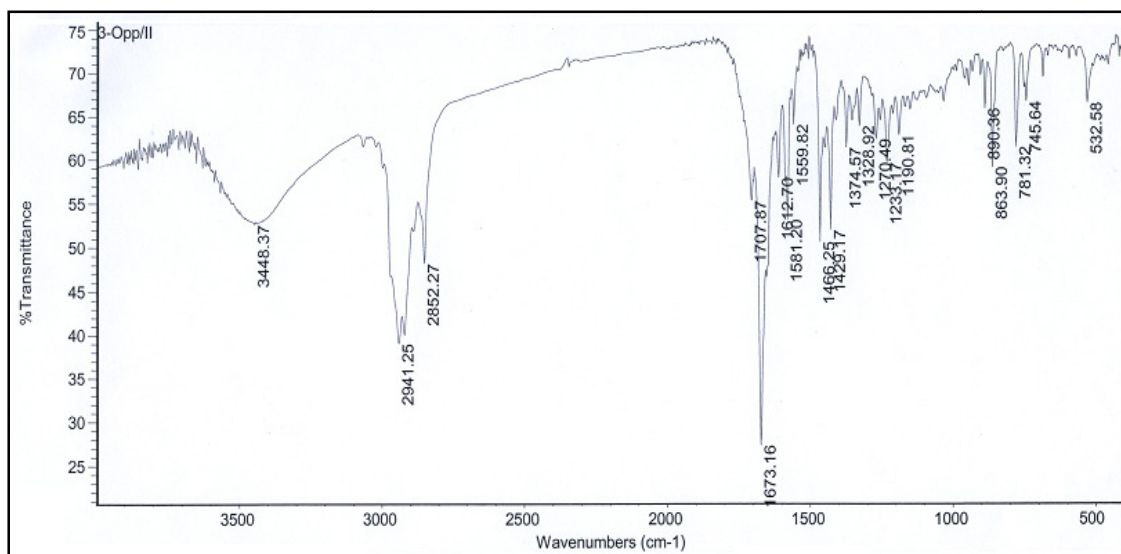
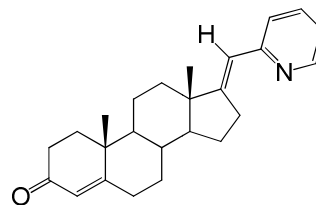


Prilog 7.11.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 5

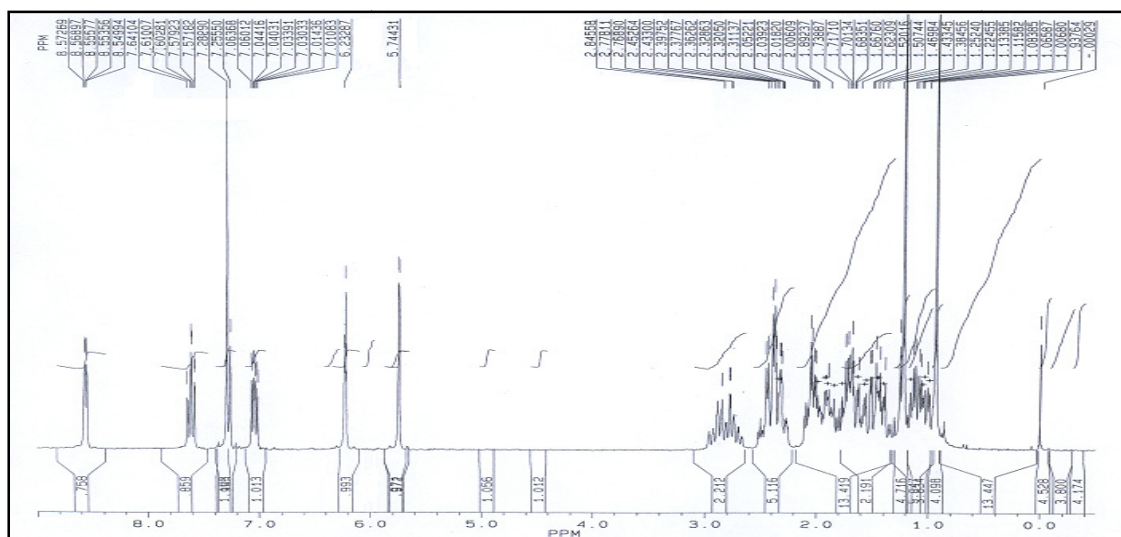


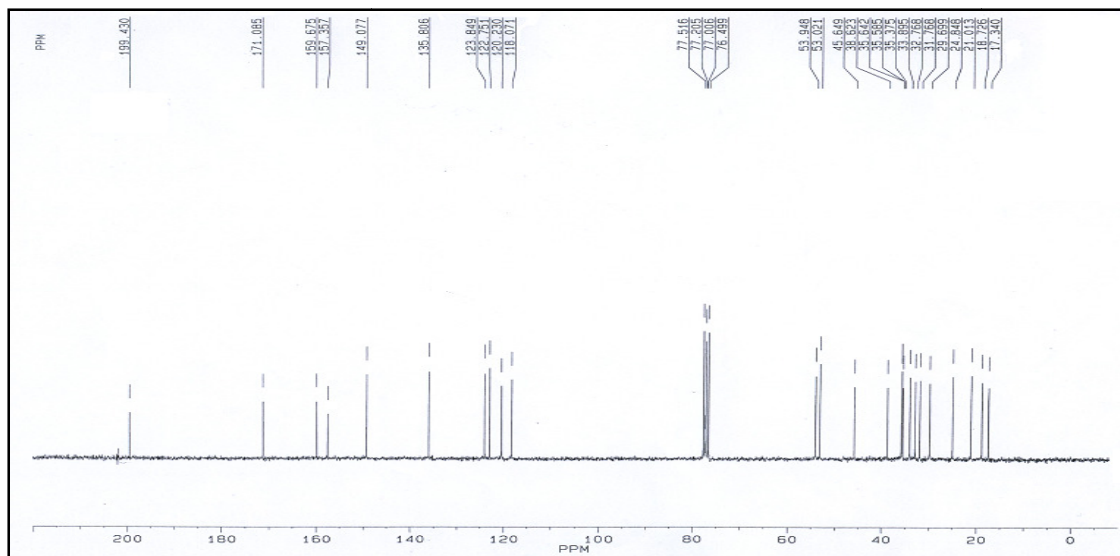
Prilog 7.12.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 5

## 17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-on (6)



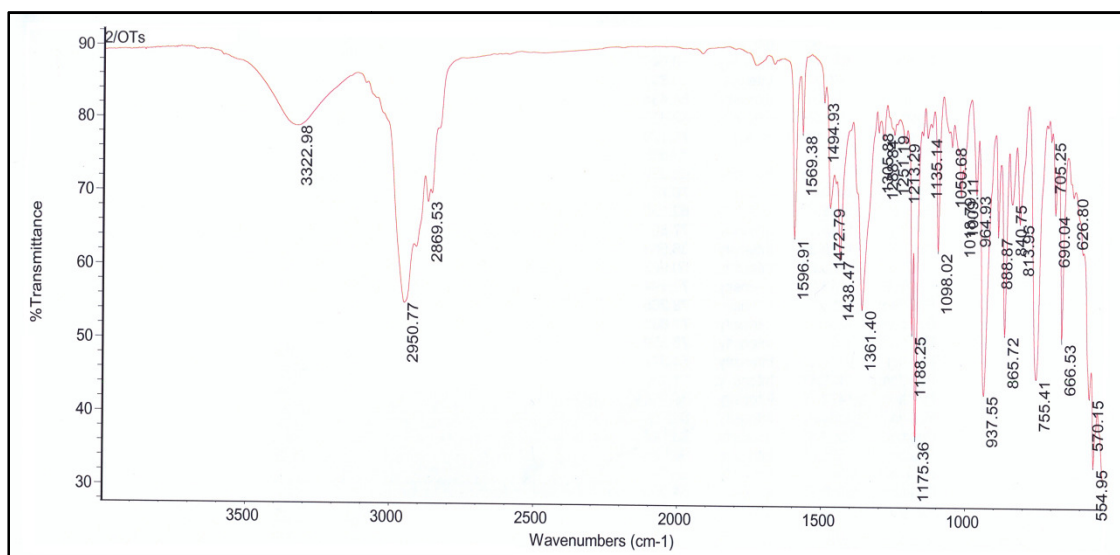
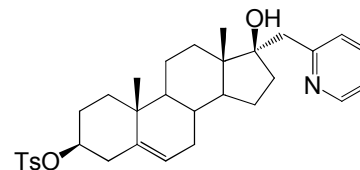
Prilog 7.13. IR spektar jedinjenja 6

Prilog 7.14. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 6

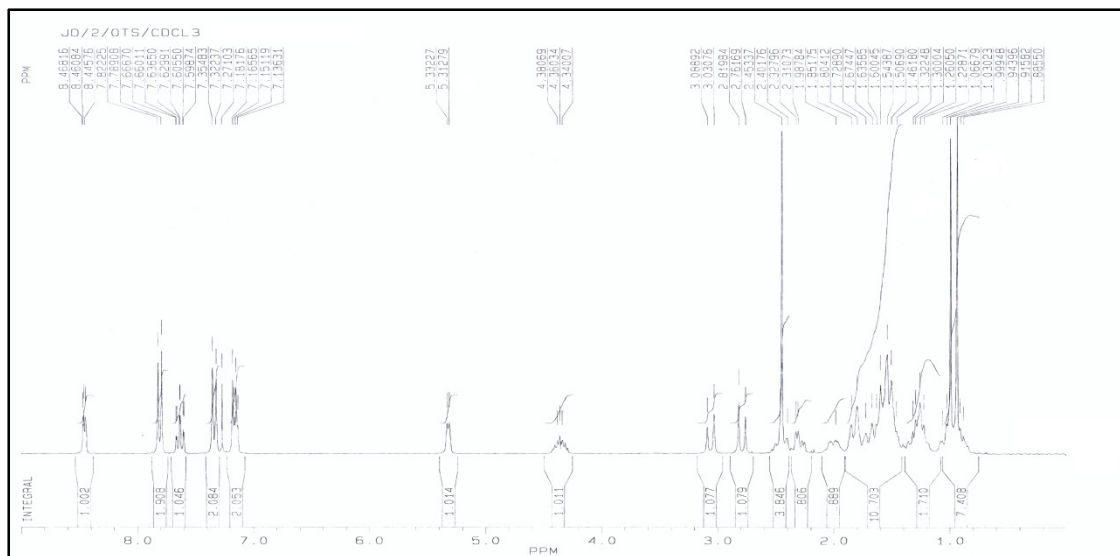


Prilog 7.15.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 6

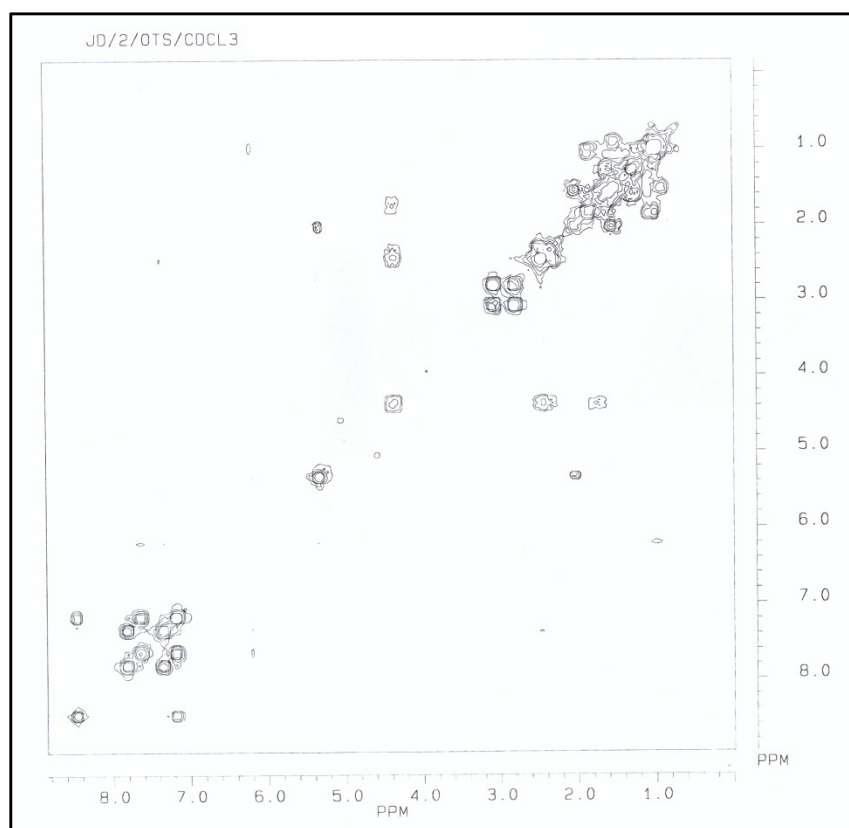
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (7)



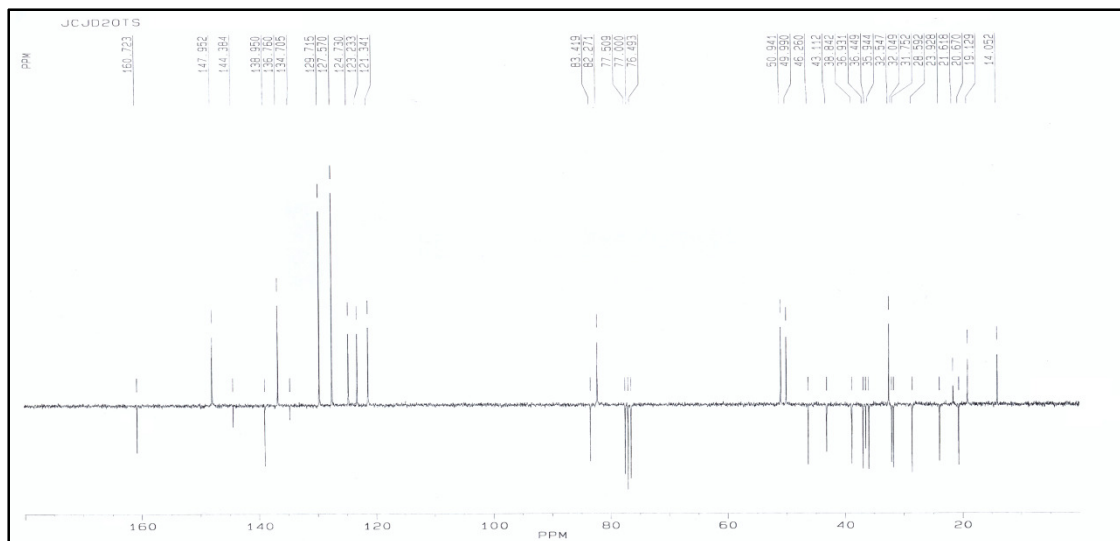
Prilog 7.16. IR spektar jedinjenja 7



Prilog 7.17.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 7

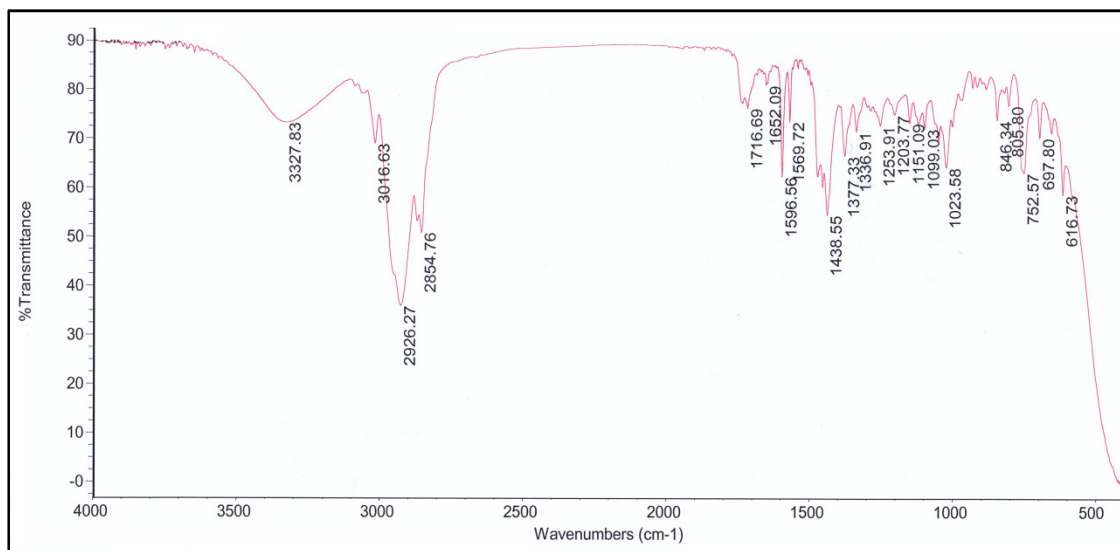
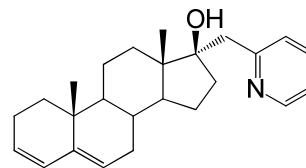


Prilog 7.18. COSY spektar jedinjenja 7

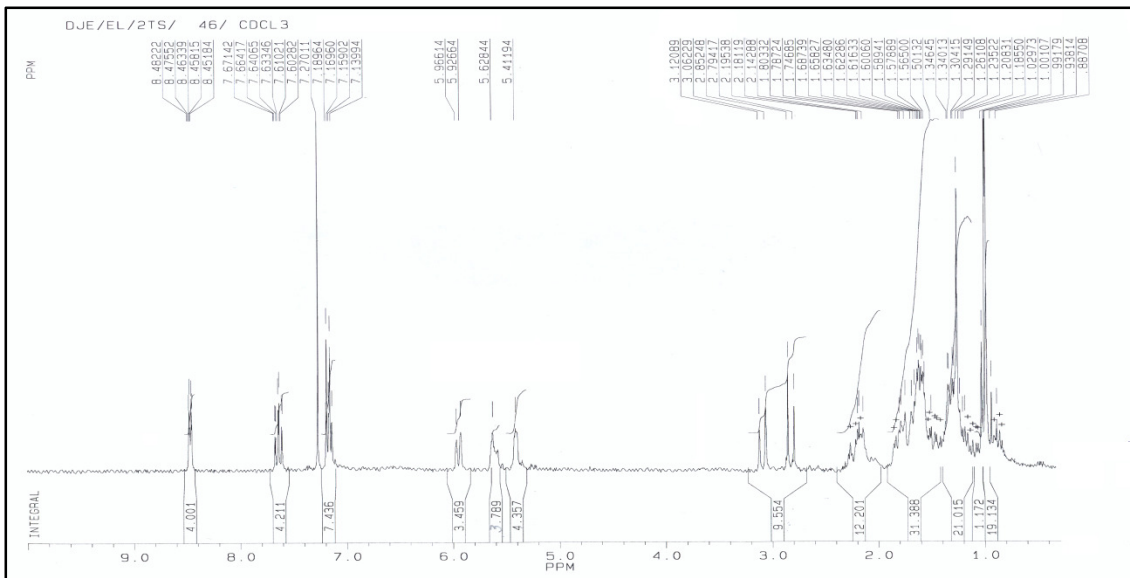


Prilog 7.19.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 7

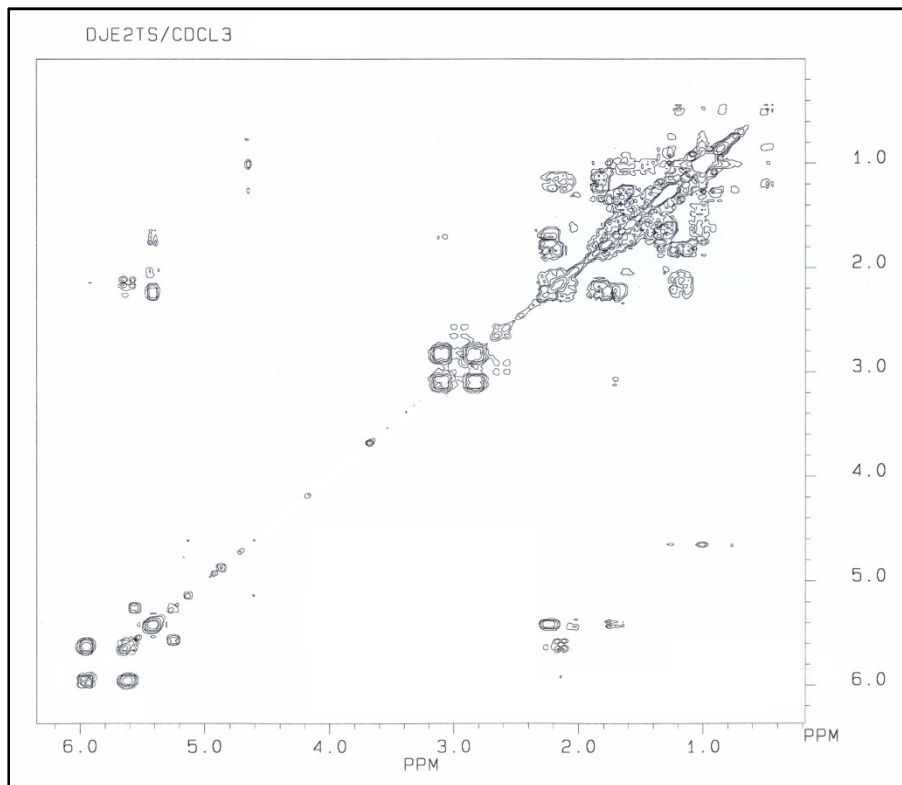
### 17 $\alpha$ -Pikolil-androsta-3,5-dien-17 $\beta$ -ol (8)



Prilog 7.20. IR spektar jedinjenja 8

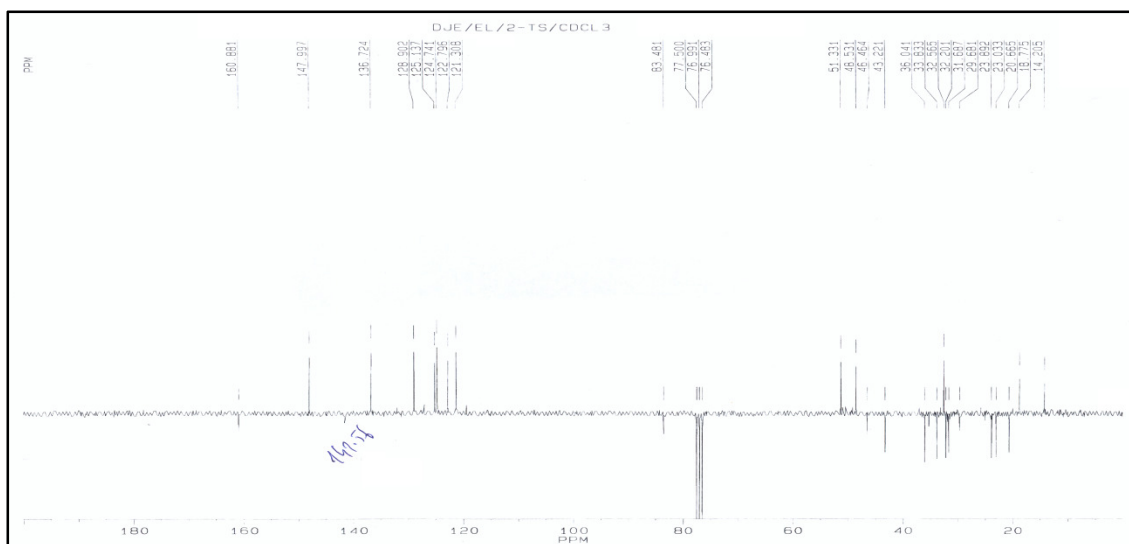


Prilog 7.21.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 8



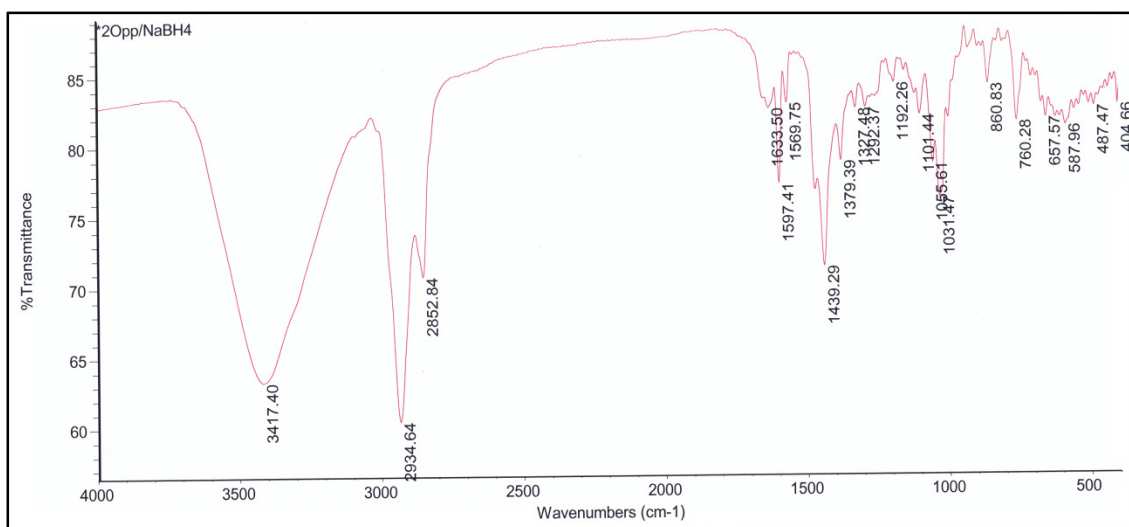
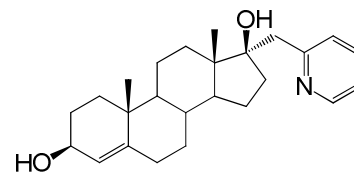
Prilog 7.22. COSY spektar jedinjenja 8



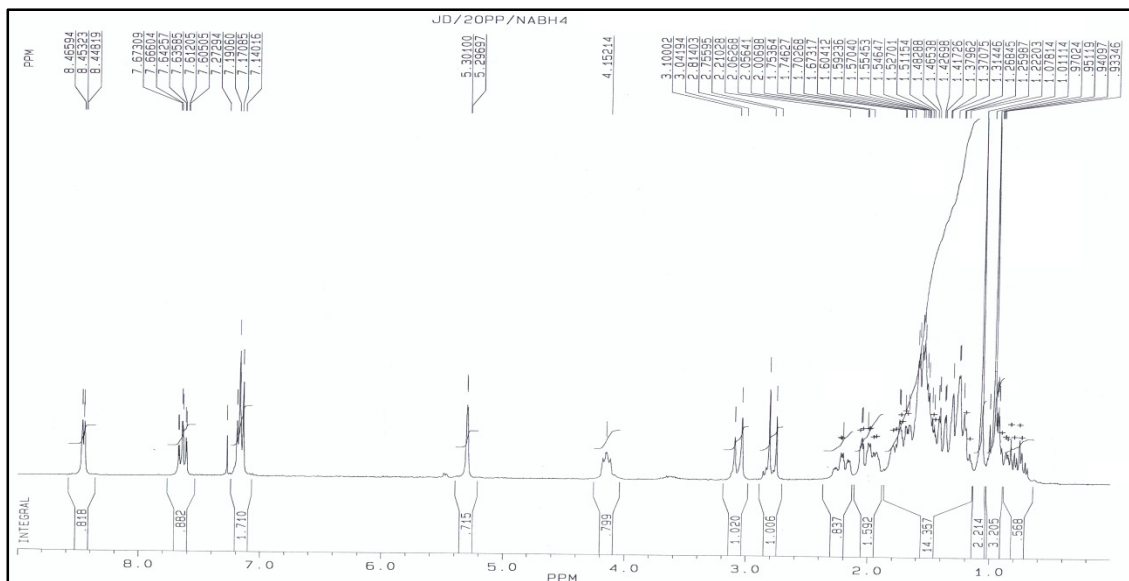
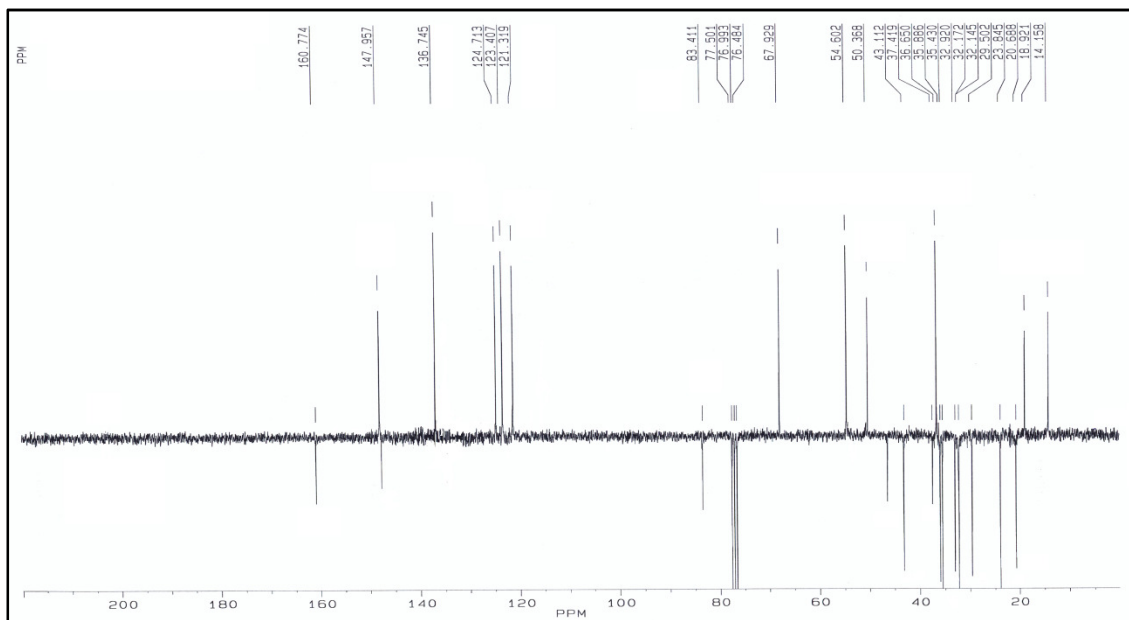


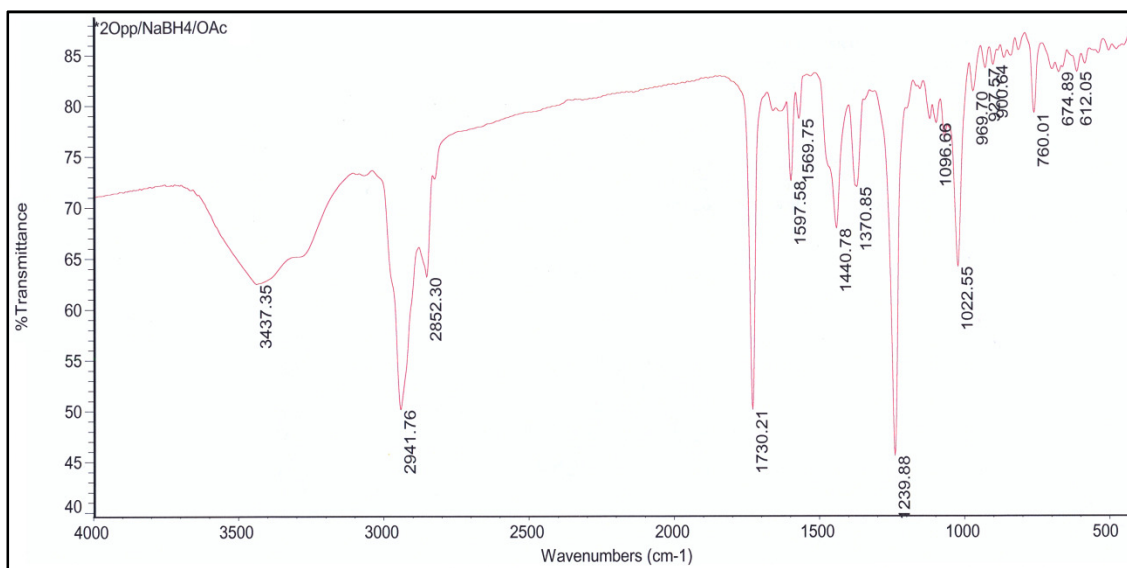
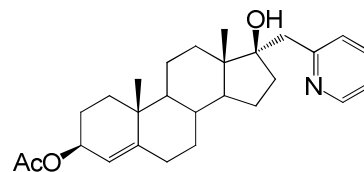
Prilog 7.23.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 8

### 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (9)

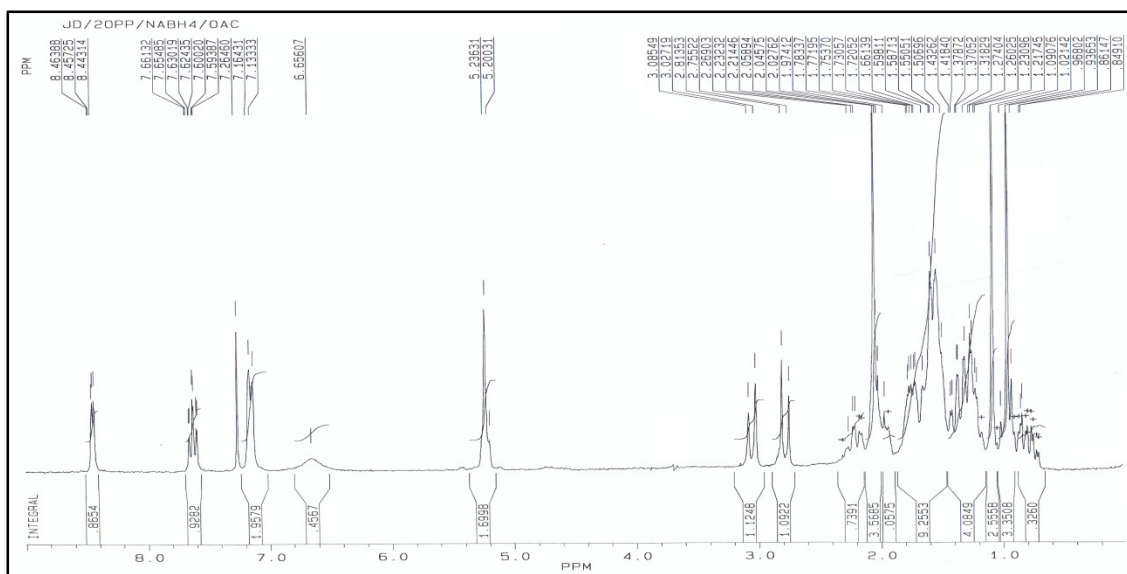


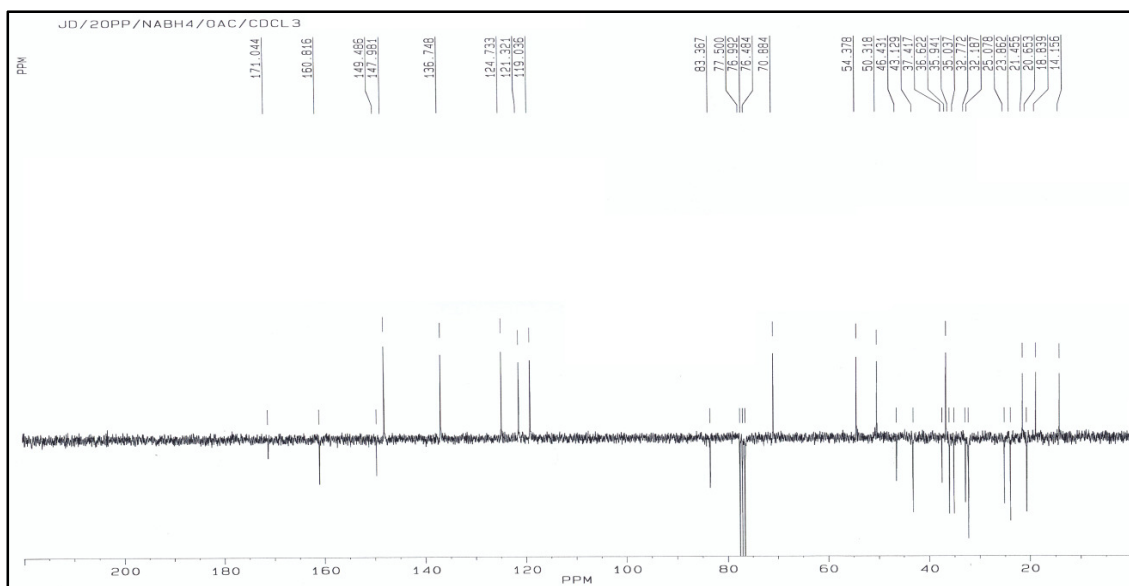
Prilog 7.24. IR spektar jedinjenja 9

Prilog 7.25.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 9Prilog 7.26.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 9

17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat (10)

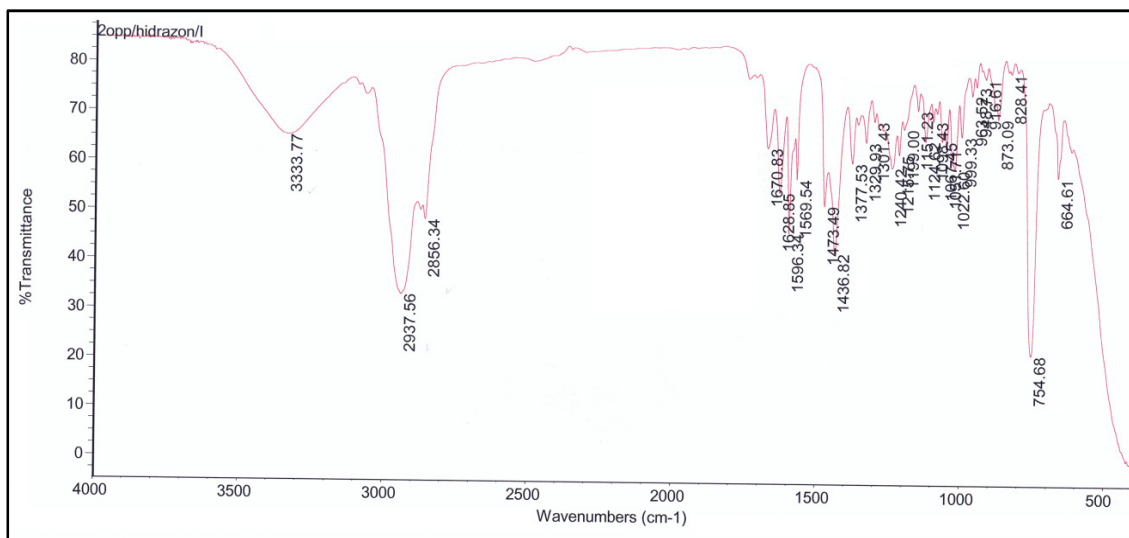
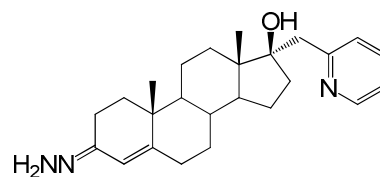
Prilog 7.27. IR spektar jedinjenja 10



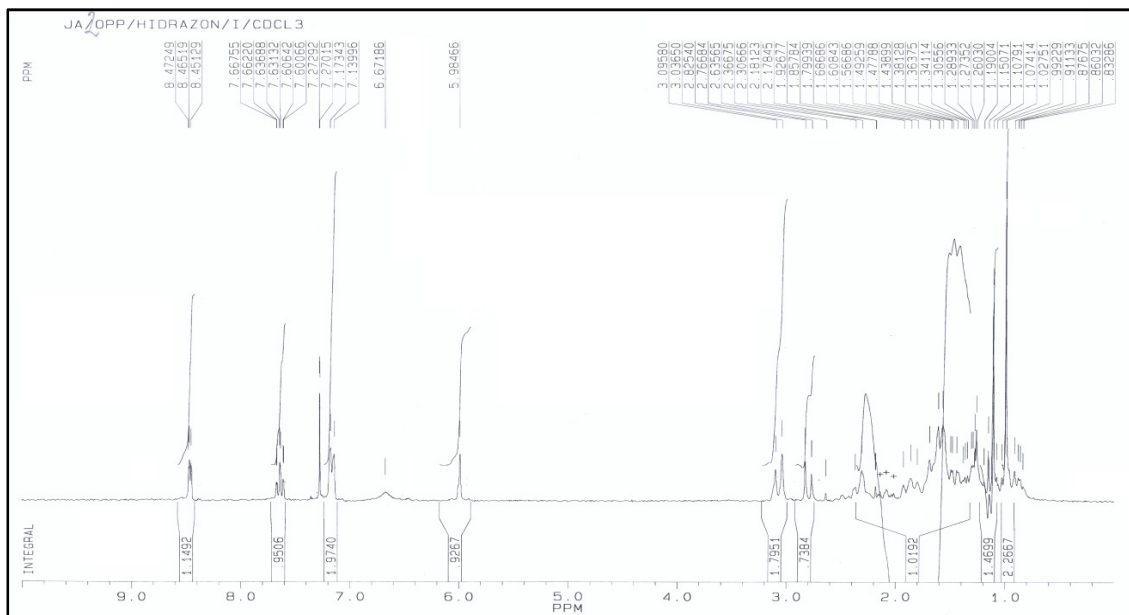
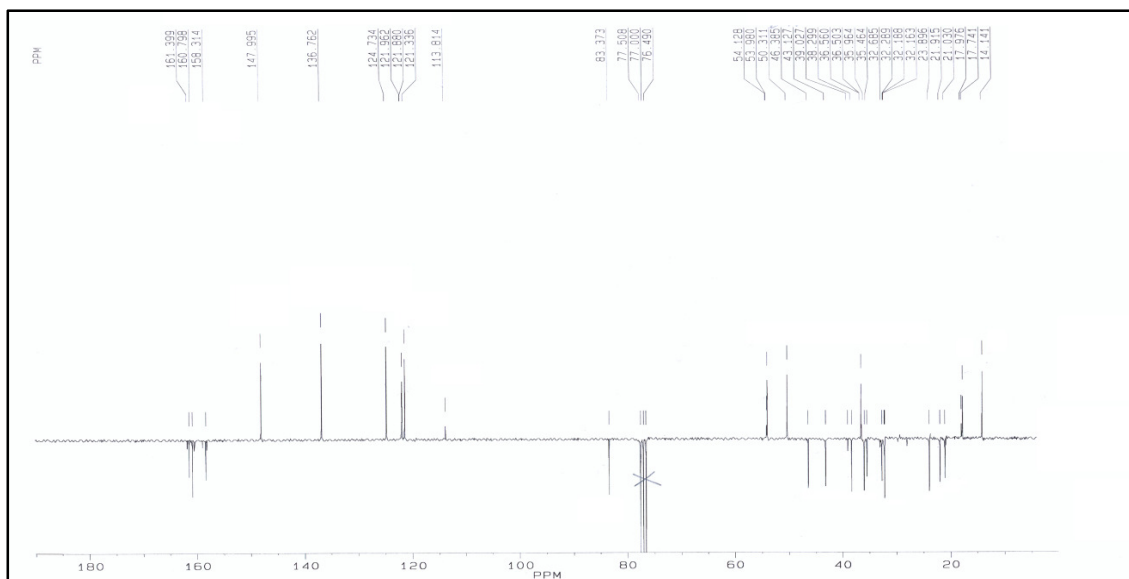


Prilog 7.29.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 10

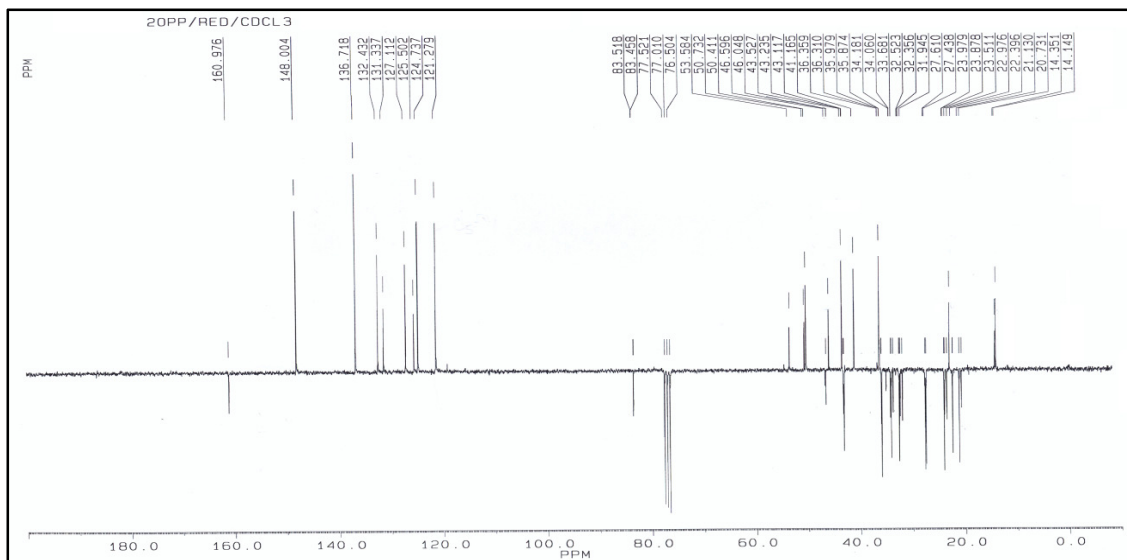
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-hidrazon (11)



Prilog 7.30. IR spektar jedinjenja 11

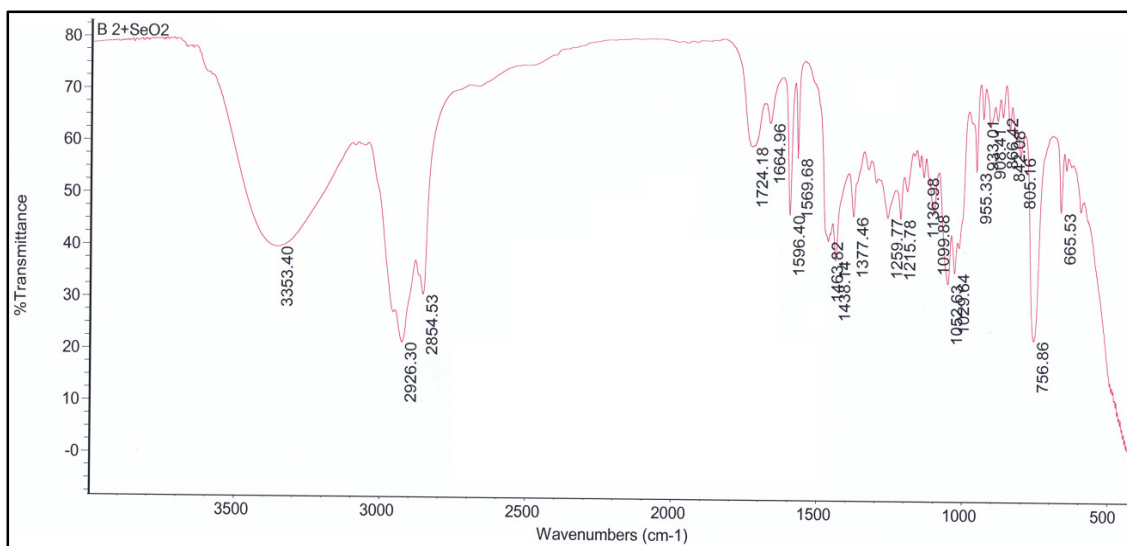
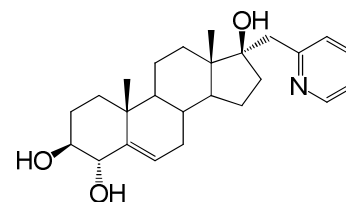
Prilog 7.31.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 11Prilog 7.32.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 11



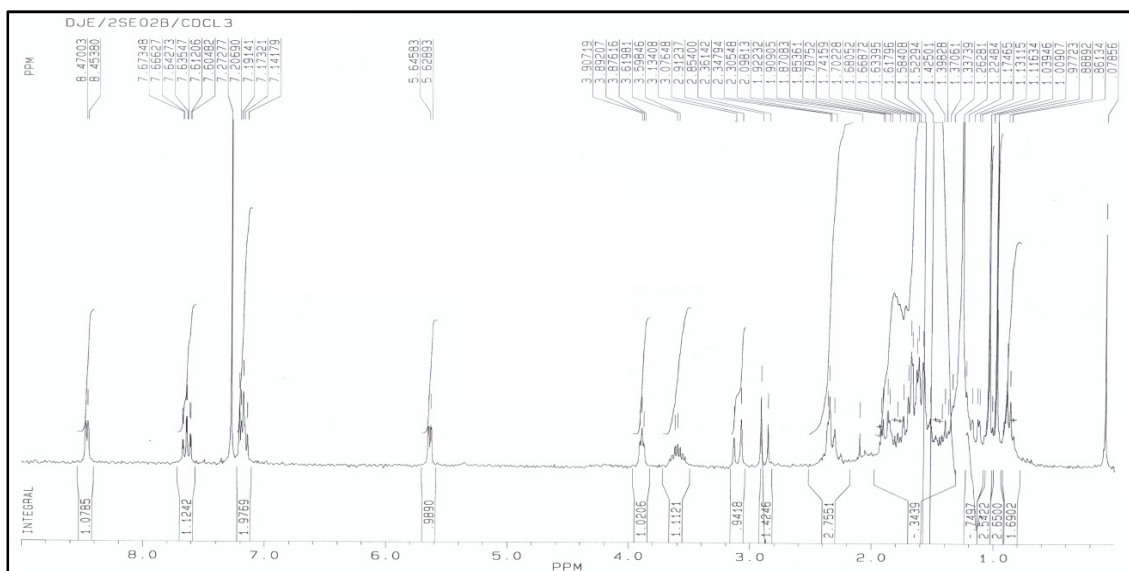


Prilog 7.35.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja **13** i **14**

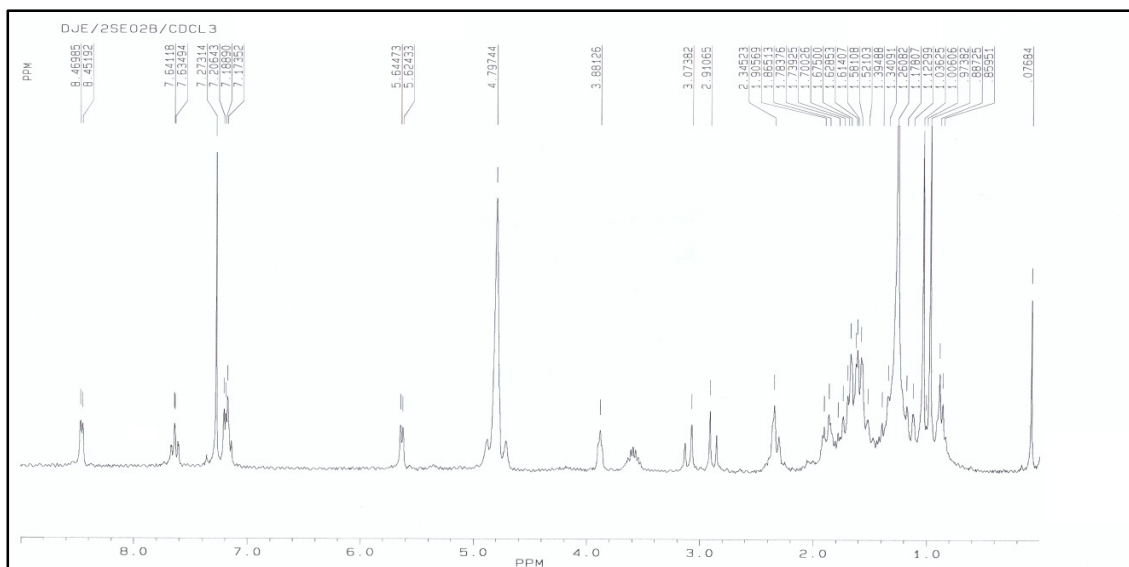
**17 $\alpha$ -Pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol (**15**)**



Prilog 7.36. IR spektar jedinjenja **15**

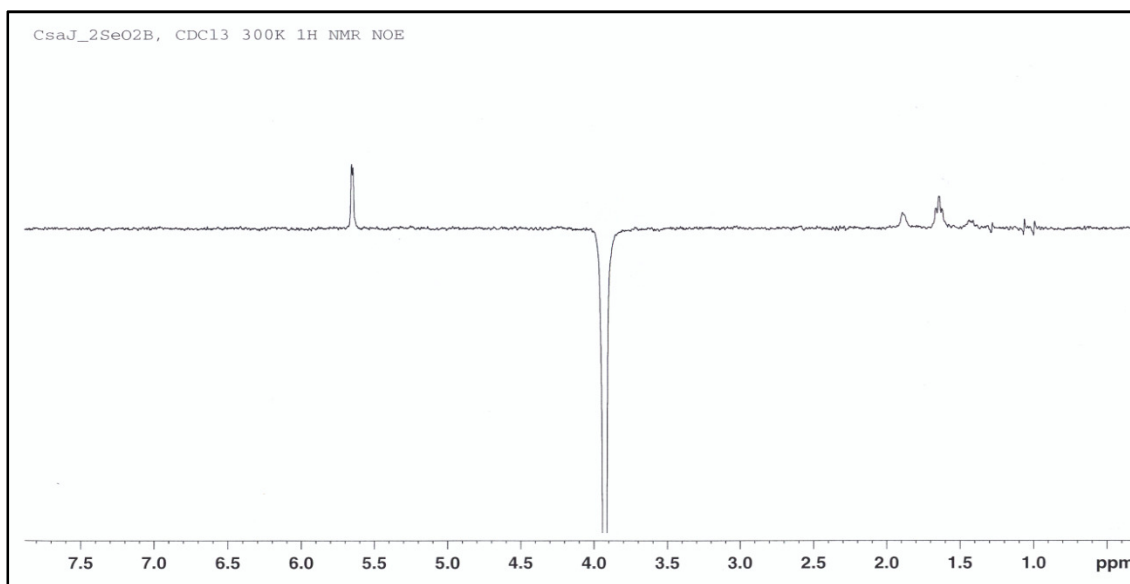


**Prilog 7.37.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **15**

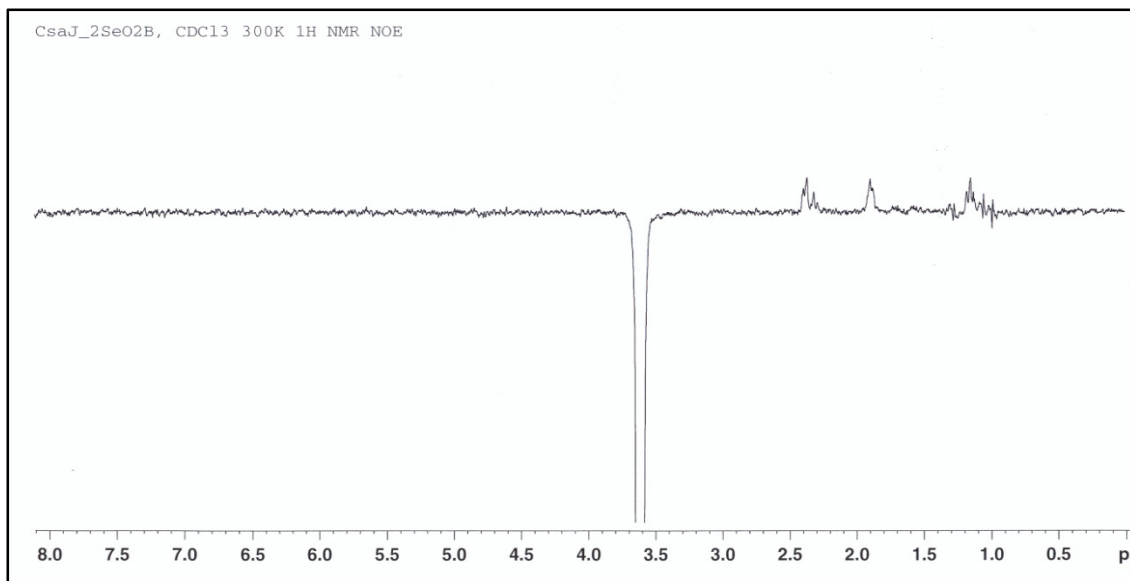


**Prilog 7.38.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **15** (snimljen u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ )

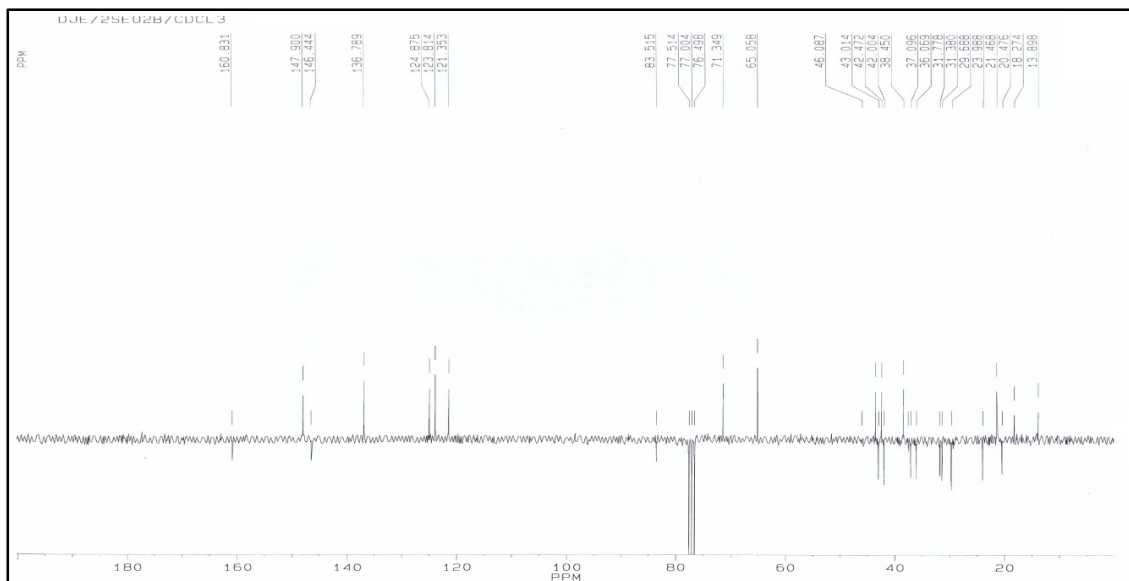




**Prilog 7.39.**  $^1\text{H}$  NMR NOE spektar jedinjenja **15**

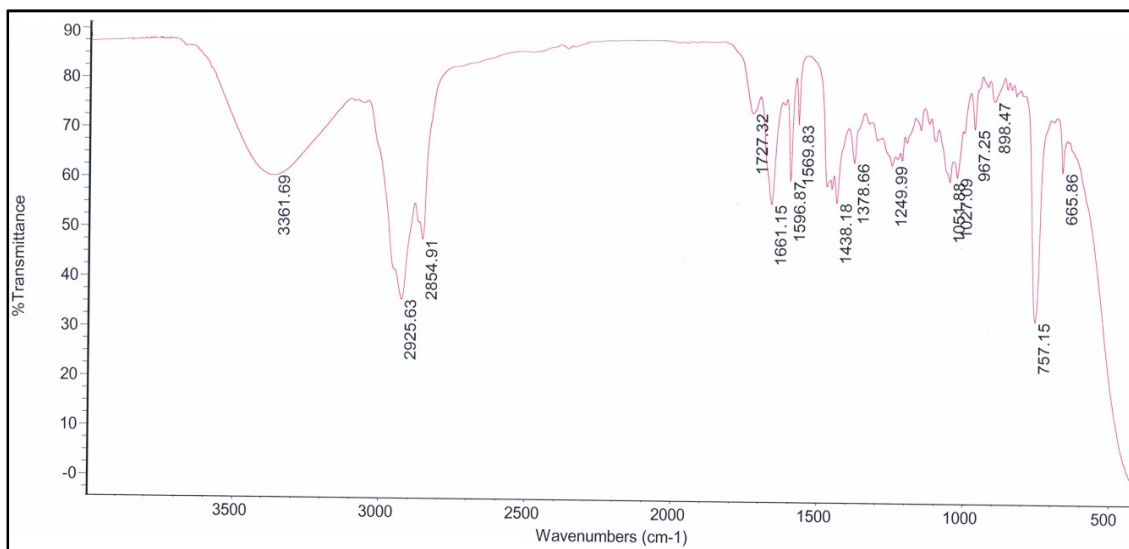
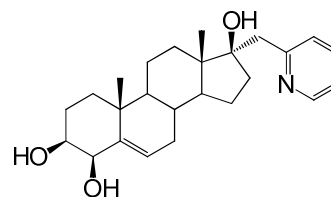


**Prilog 7.40.**  $^1\text{H}$  NMR NOE spektar jedinjenja **15**

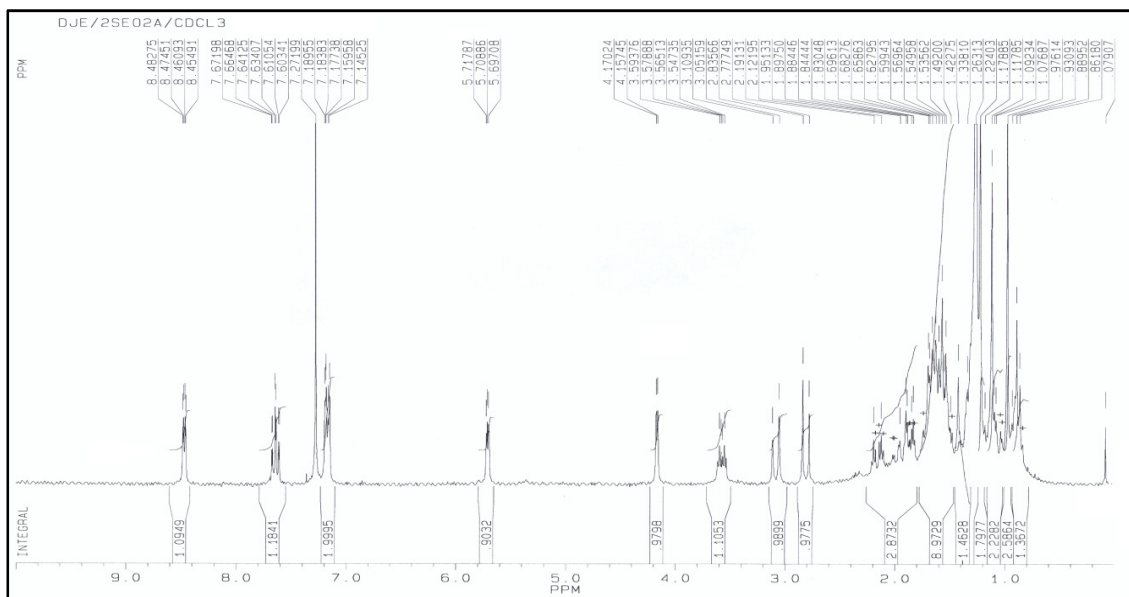


**Prilog 7.41.**  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja **15**

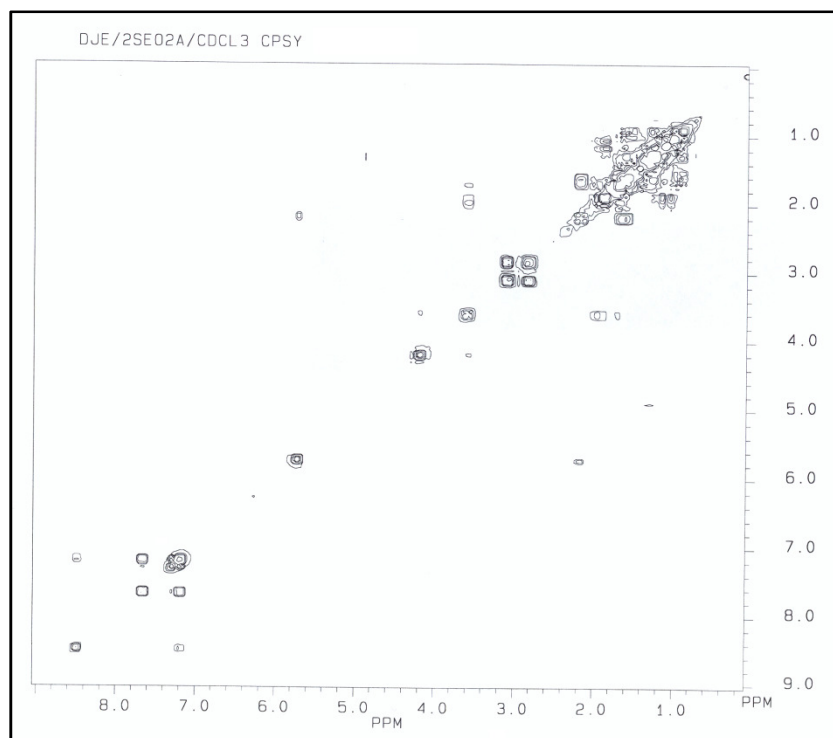
**17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ ,4 $\beta$ ,17 $\beta$ -triol (16)**



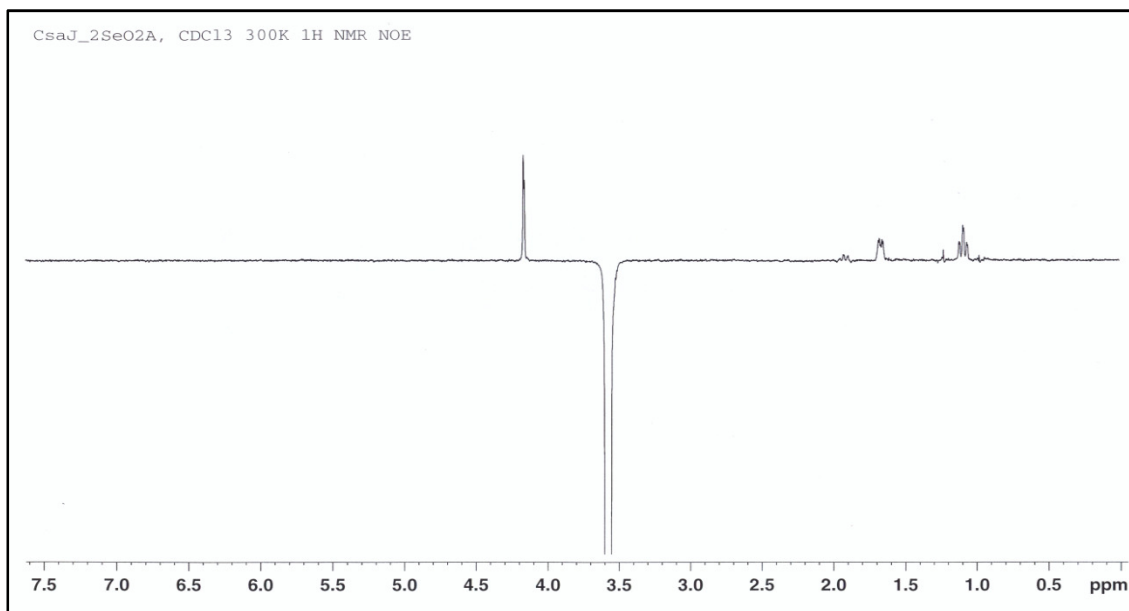
**Prilog 7.42.** IR spektar jedinjenja **16**



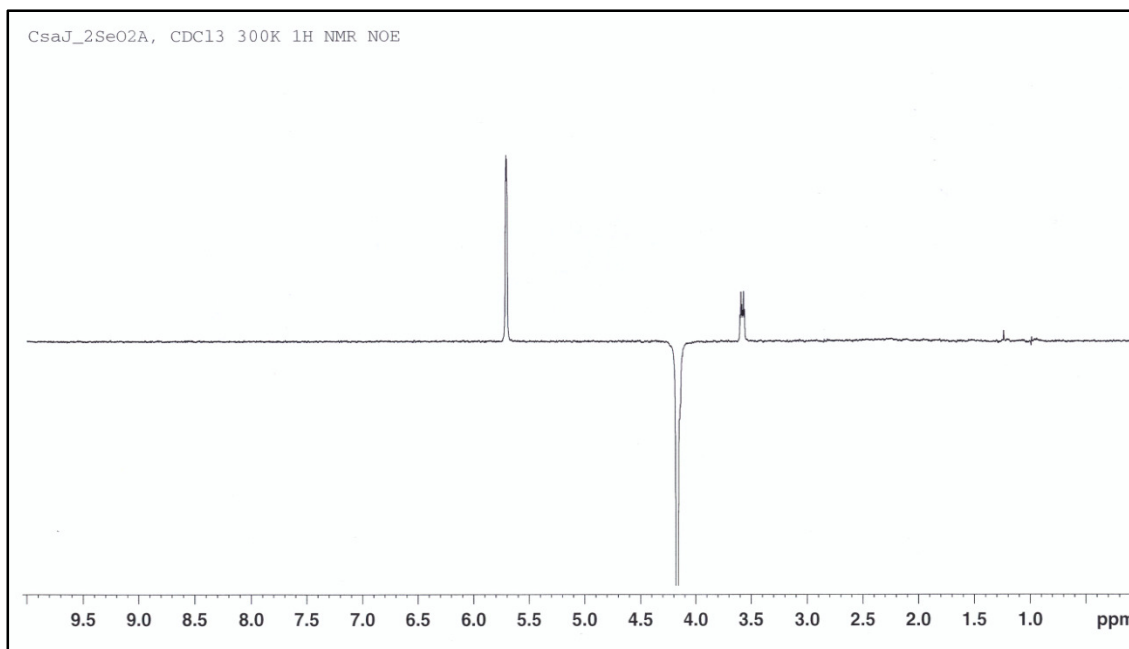
Prilog 7.43.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 16



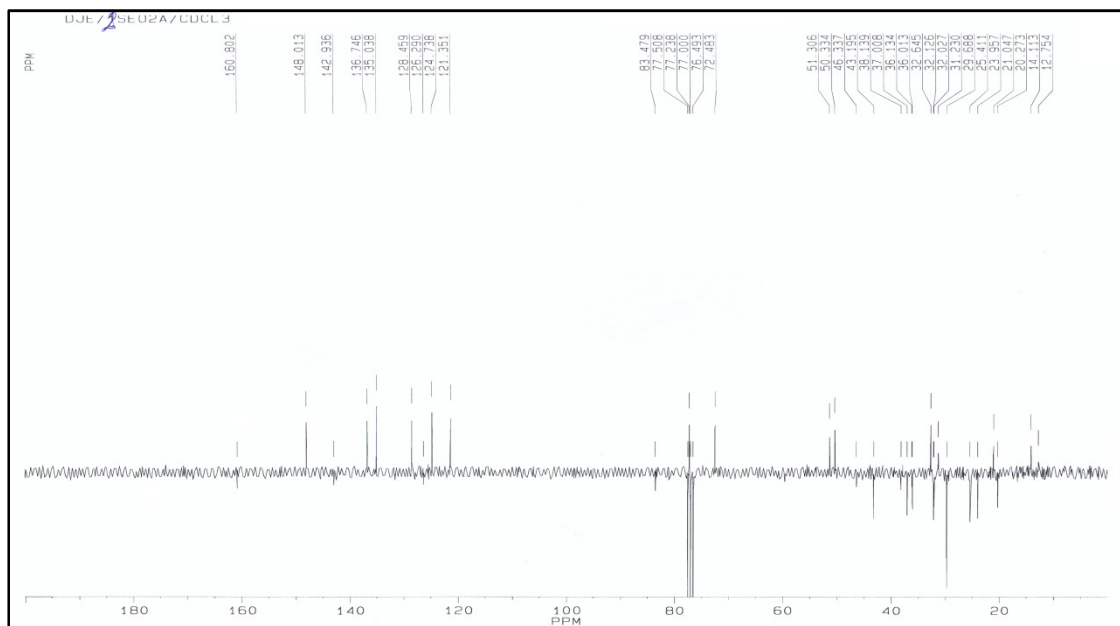
Prilog 7.44. COSY spektar jedinjenja 16



**Prilog 7.45.**  $^1\text{H}$  NMR NOE spektar jedinjenja **16**

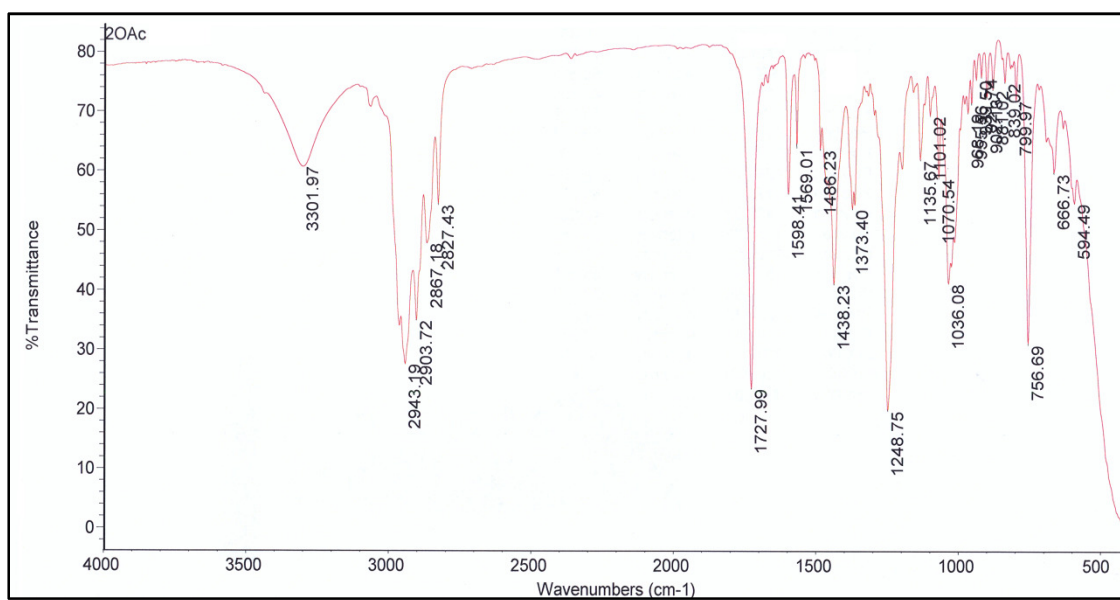
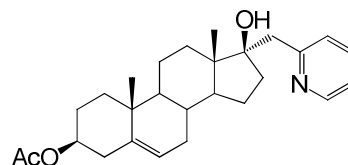


**Prilog 7.46.**  $^1\text{H}$  NMR NOE spektar jedinjenja **16**



Prilog 7.47.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 16

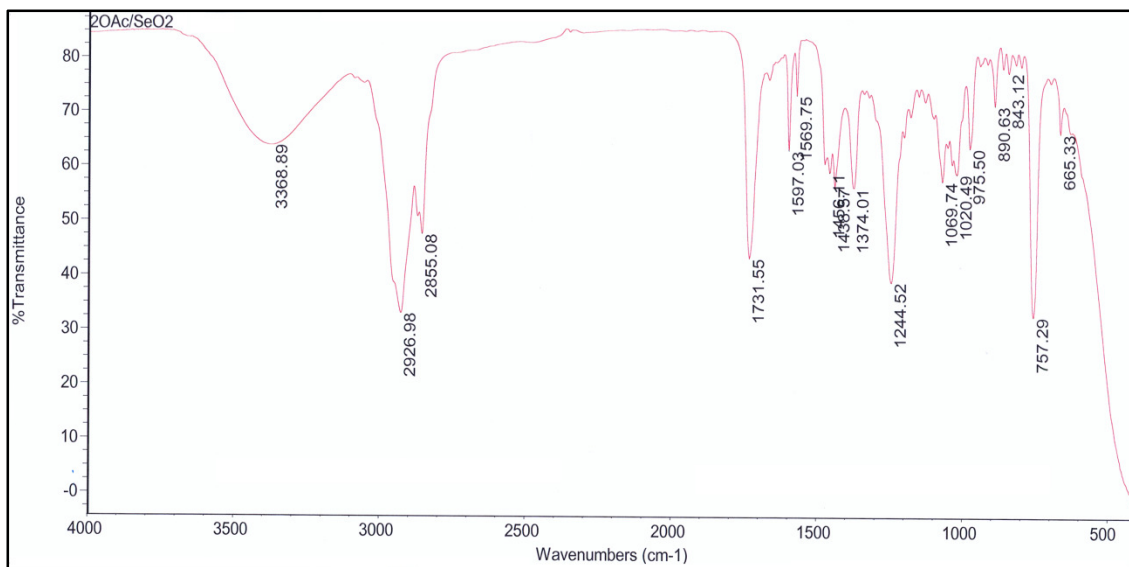
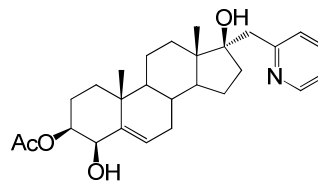
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (17)



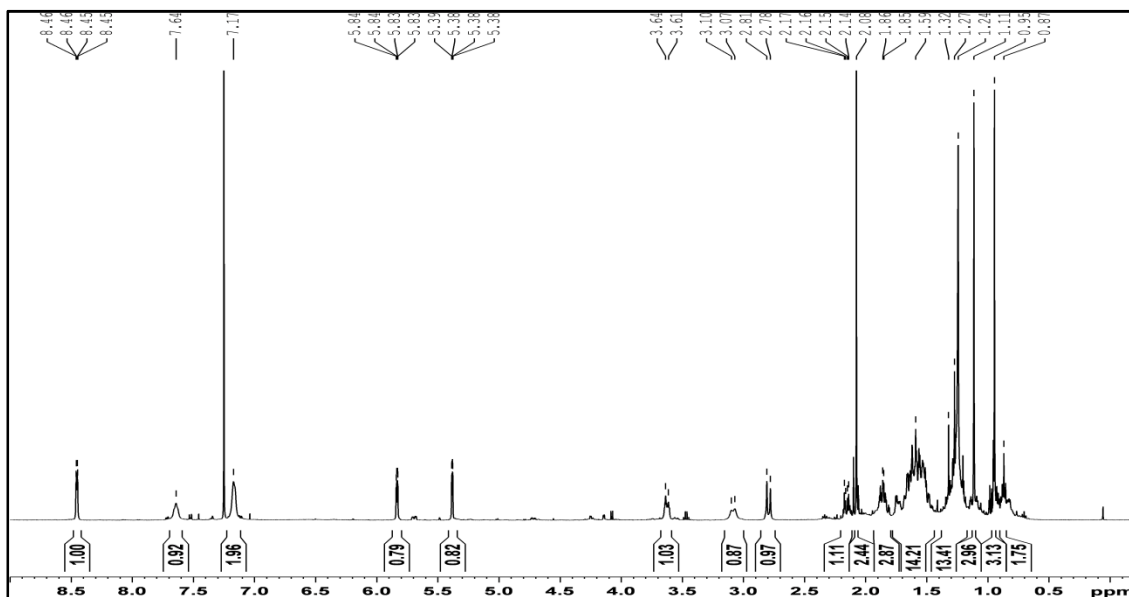
Prilog 7.48. IR spektar jedinjenja 17



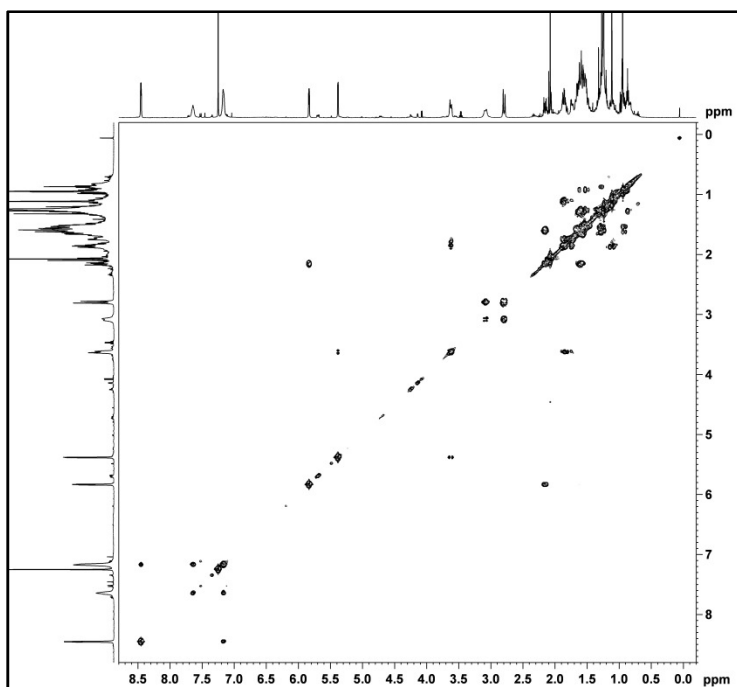
### 4 $\beta$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3 $\beta$ -il acetat (18)



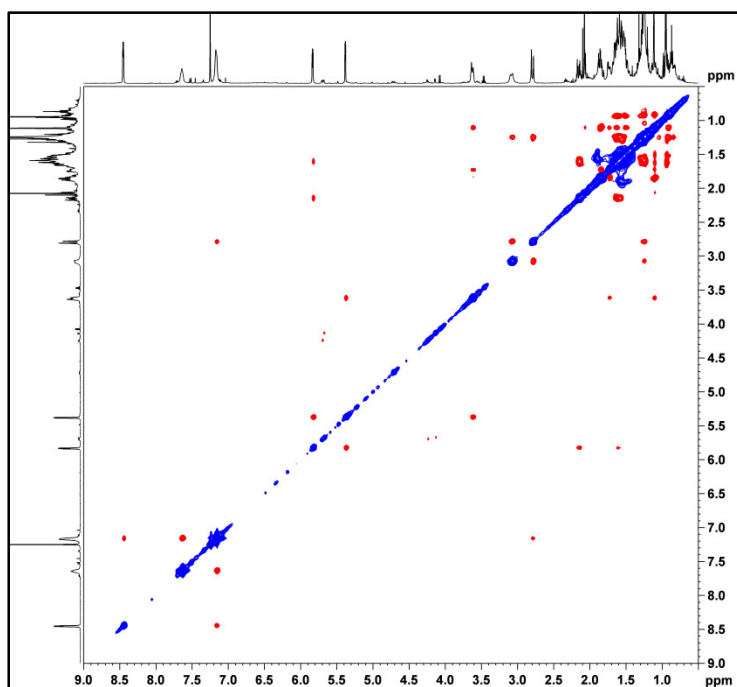
Prilog 7.51. IR spektar jedinjenja 18



Prilog 7.52. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 18

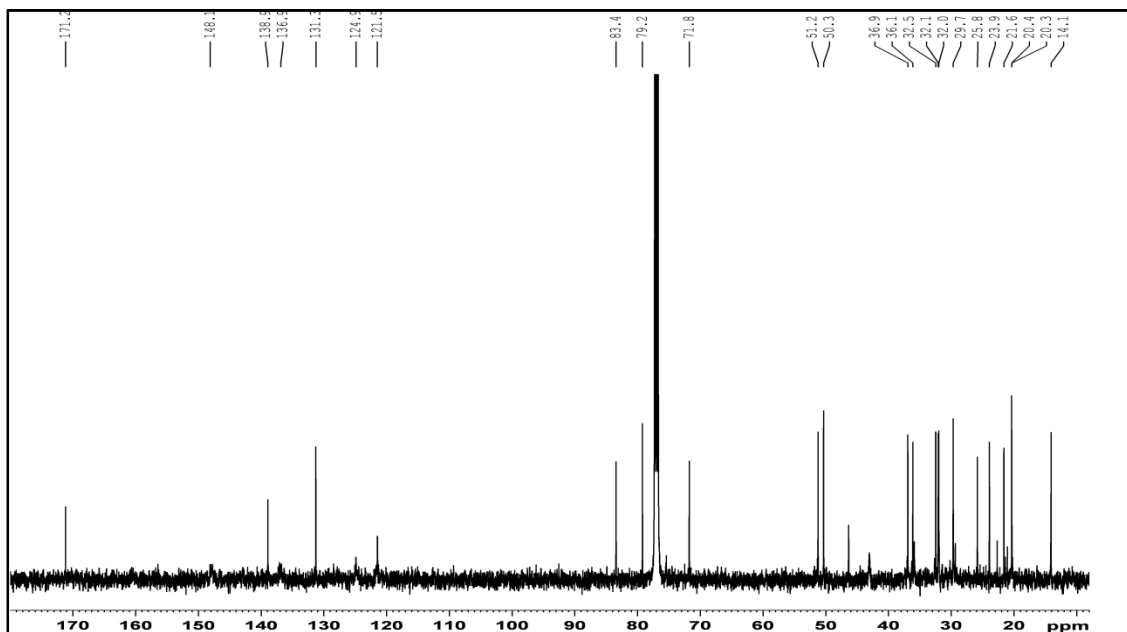


*Prilog 7.53.* COSY spektar jedinjenja **18**

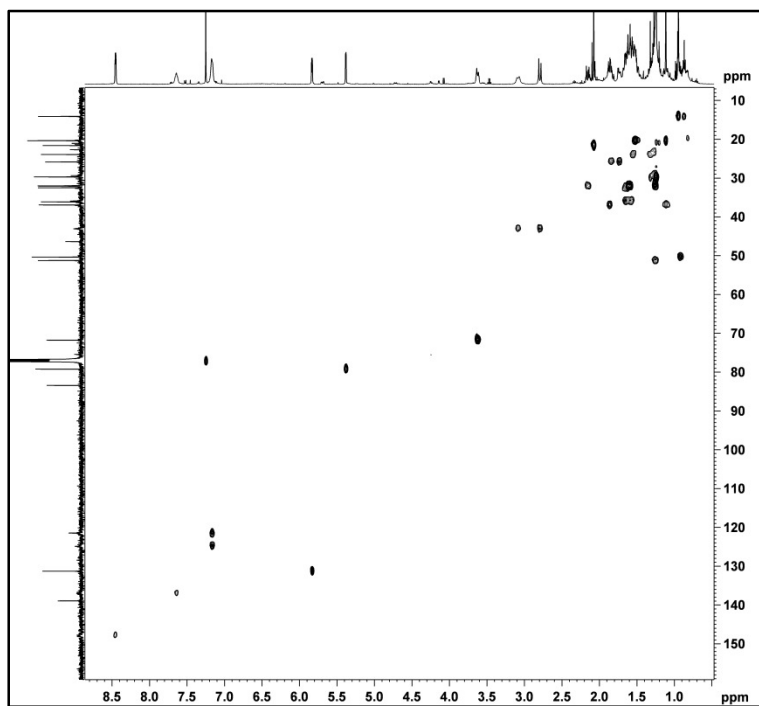


*Prilog 7.54.* NOESY spektar jedinjenja **18**



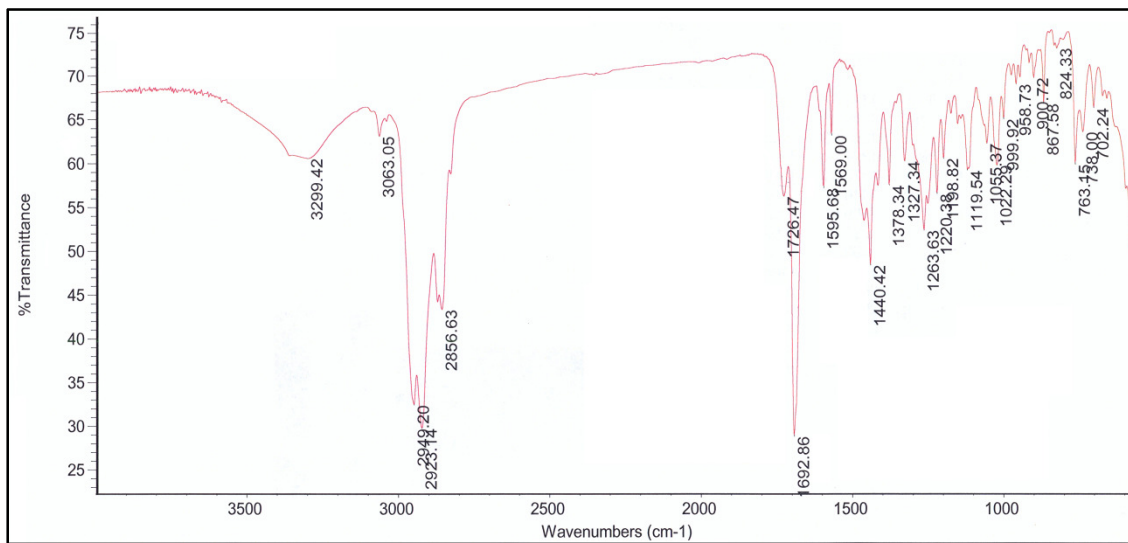
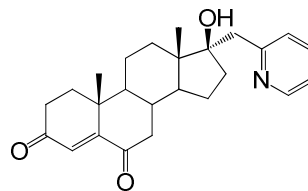


Prilog 7.55.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 18

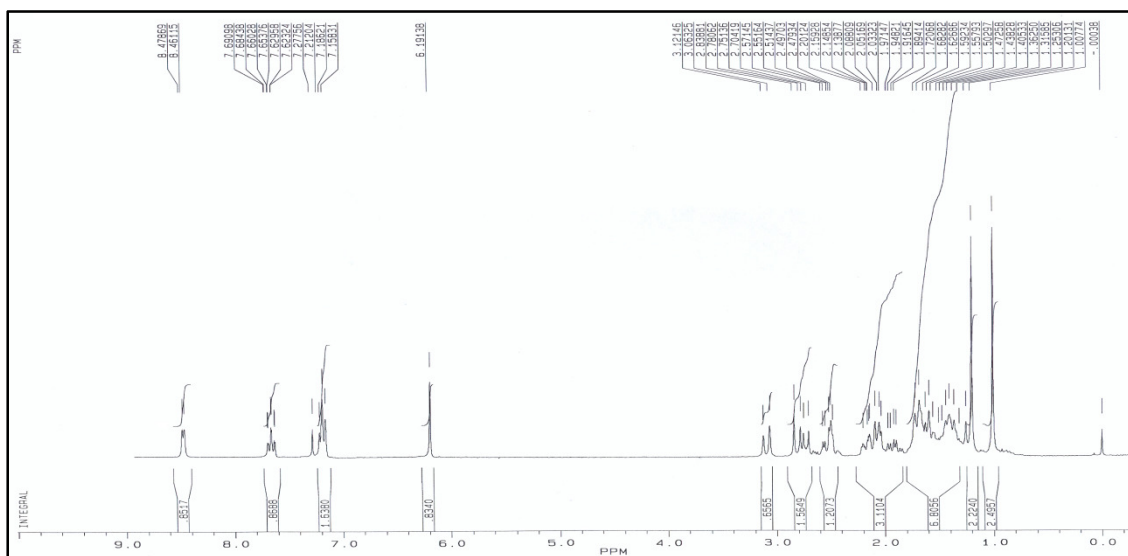


Prilog 7.56. HETCOR spektar jedinjenja 18

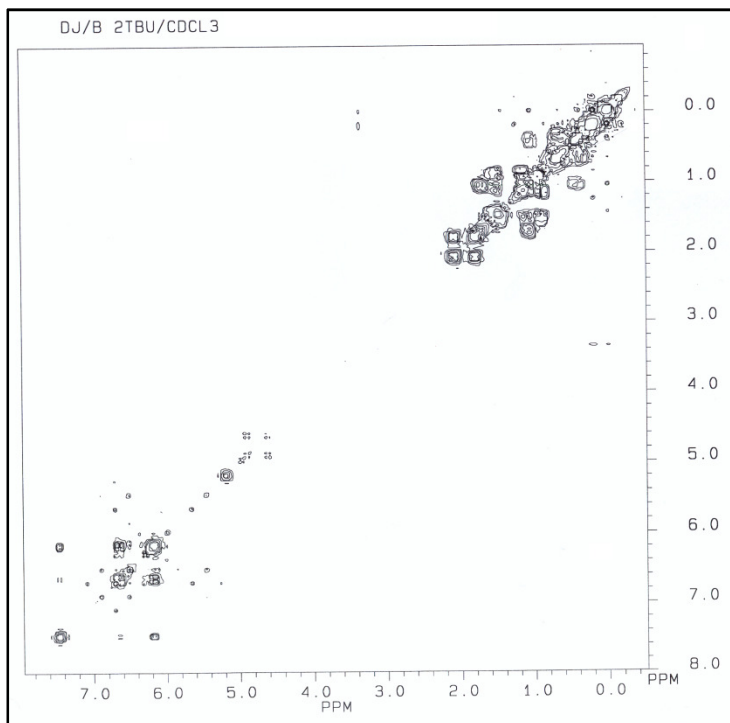
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3,6-dion (19)



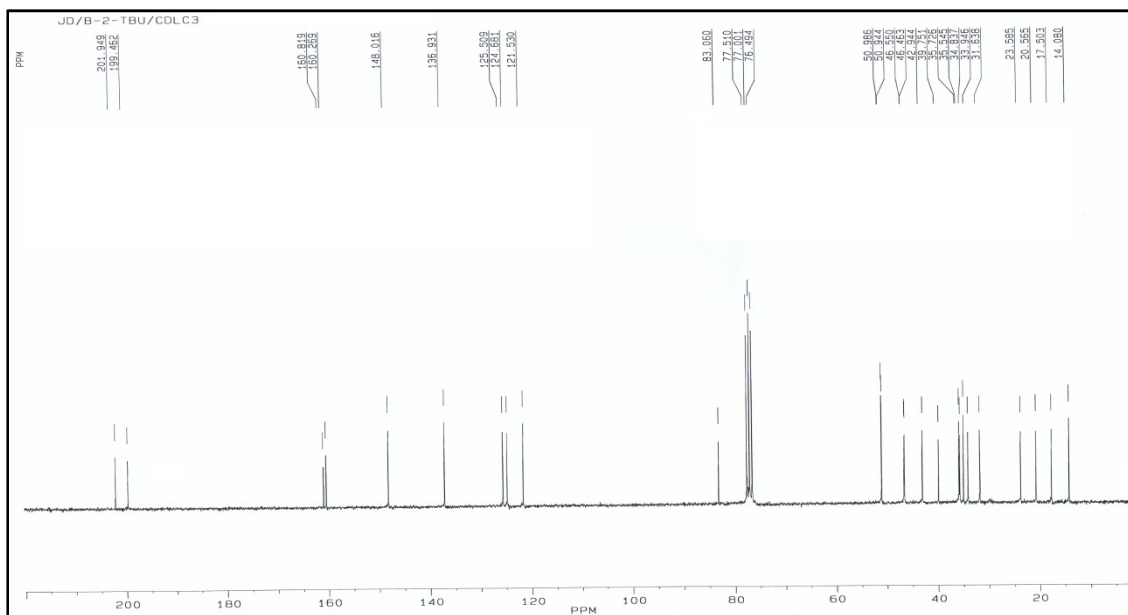
Prilog 7.57. IR spektar jedinjenja 19



Prilog 7.58. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 19

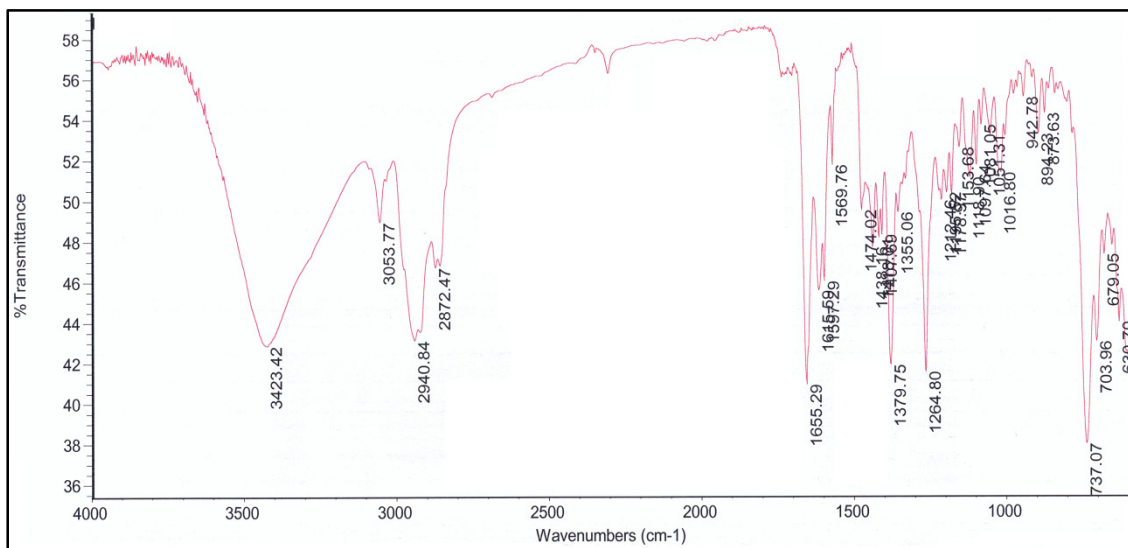
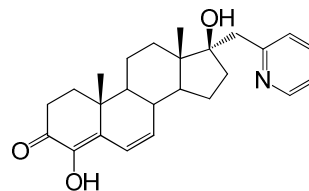


**Prilog 7.59.** COSY spektar jedinjenja 19

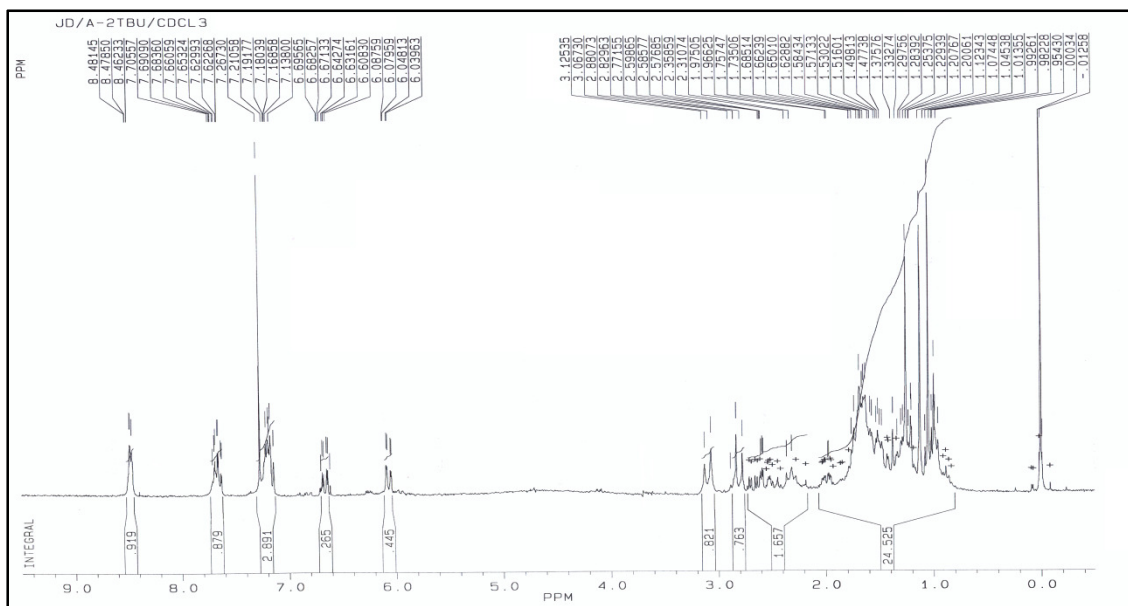


**Prilog 7.60.** <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 19

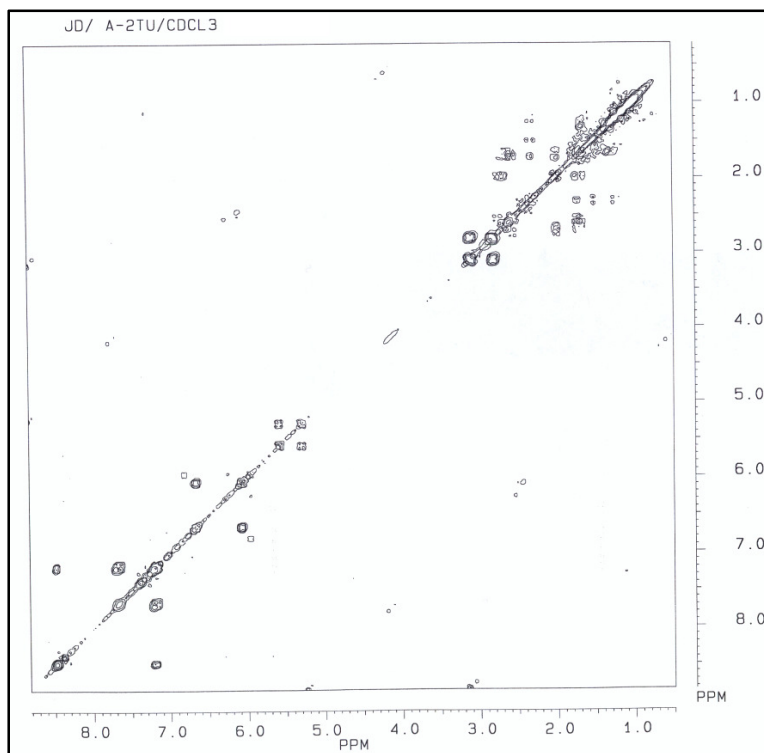
### 4,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androsta-4,6-dien-3-on (20)



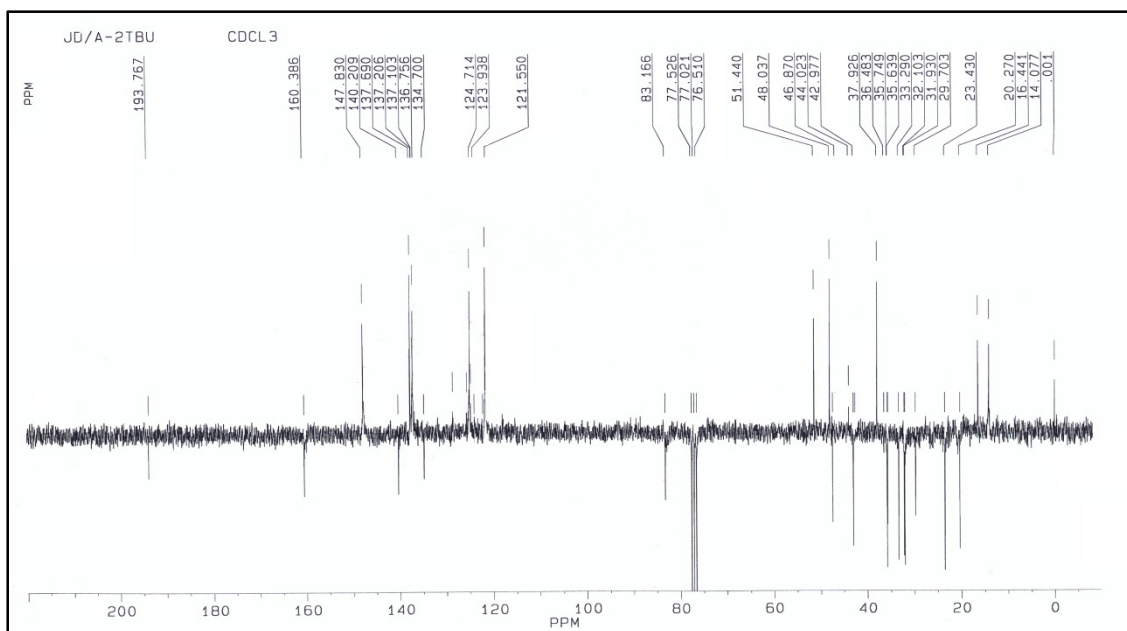
Prilog 7.61. IR spektar jedinjenja 20



Prilog 7.62. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 20

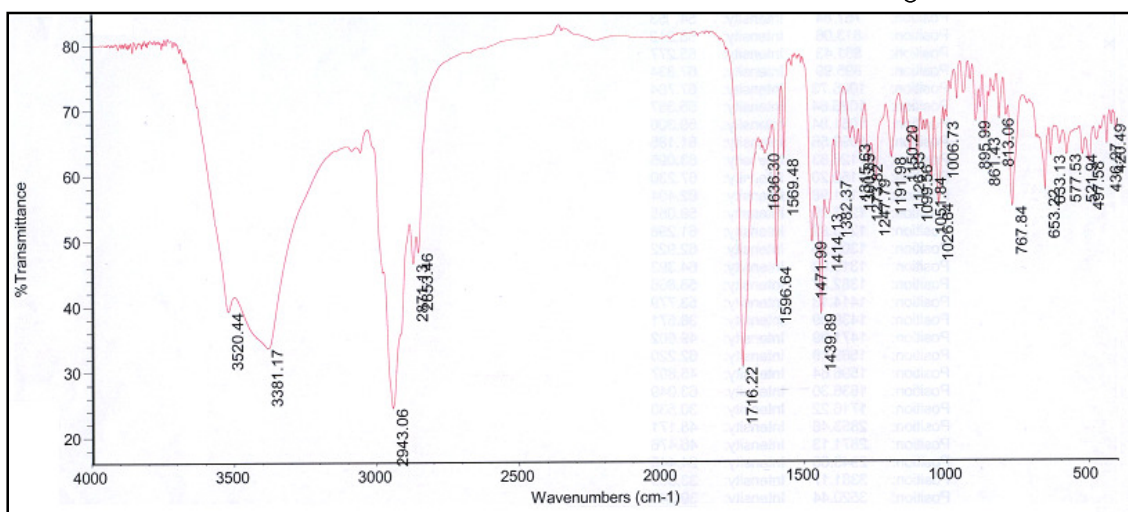
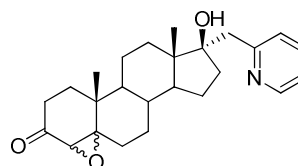


**Prilog 7.63.** COSY spektar jedinjenja **20**

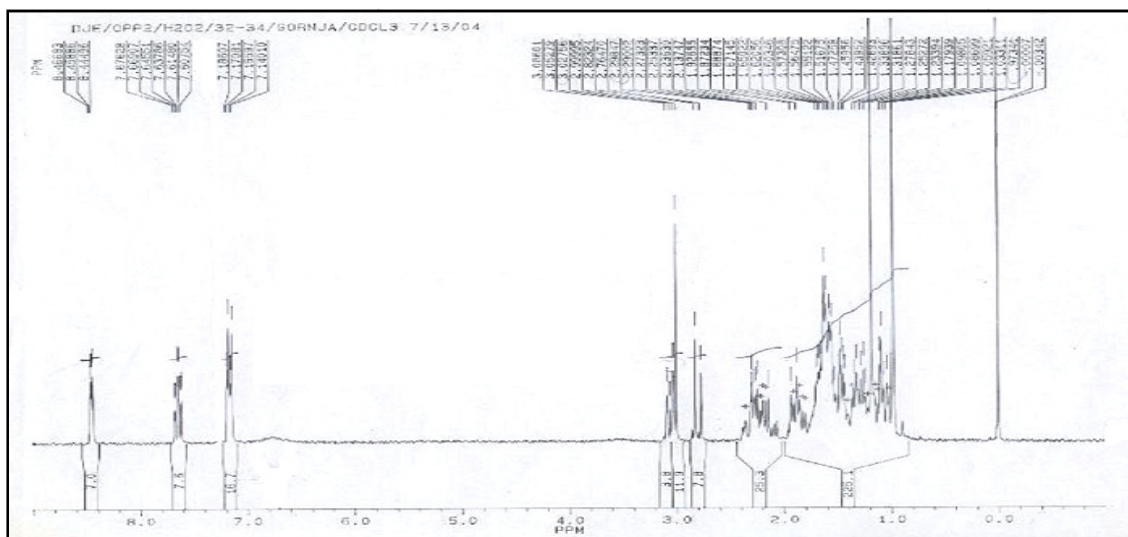


**Prilog 7.64.**  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja **20**

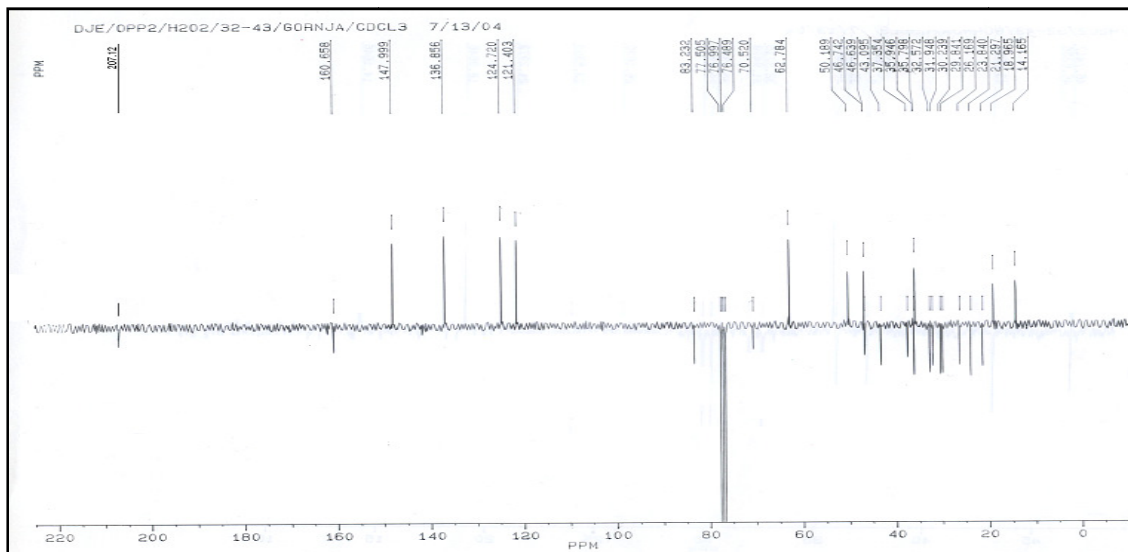
**4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on (21) i**  
**4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androstan-3-on (22)**



*Prilog 7.65.* IR spektar smeše jedinjenja **21** i **22**

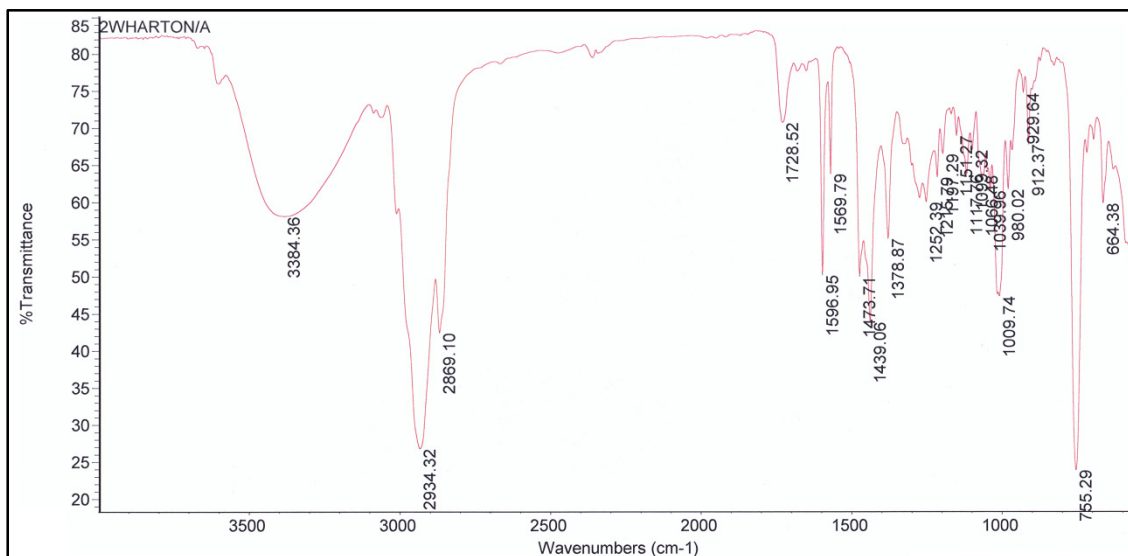
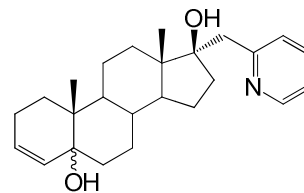


*Prilog 7.66.* <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **21** i **22**

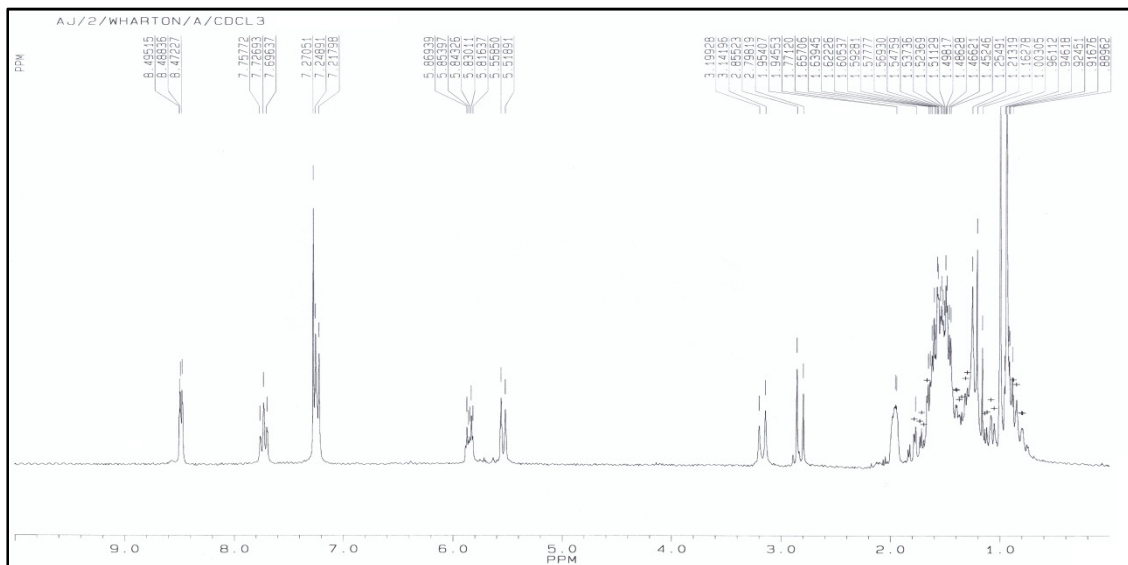


Prilog 7.67.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja 21 i 22

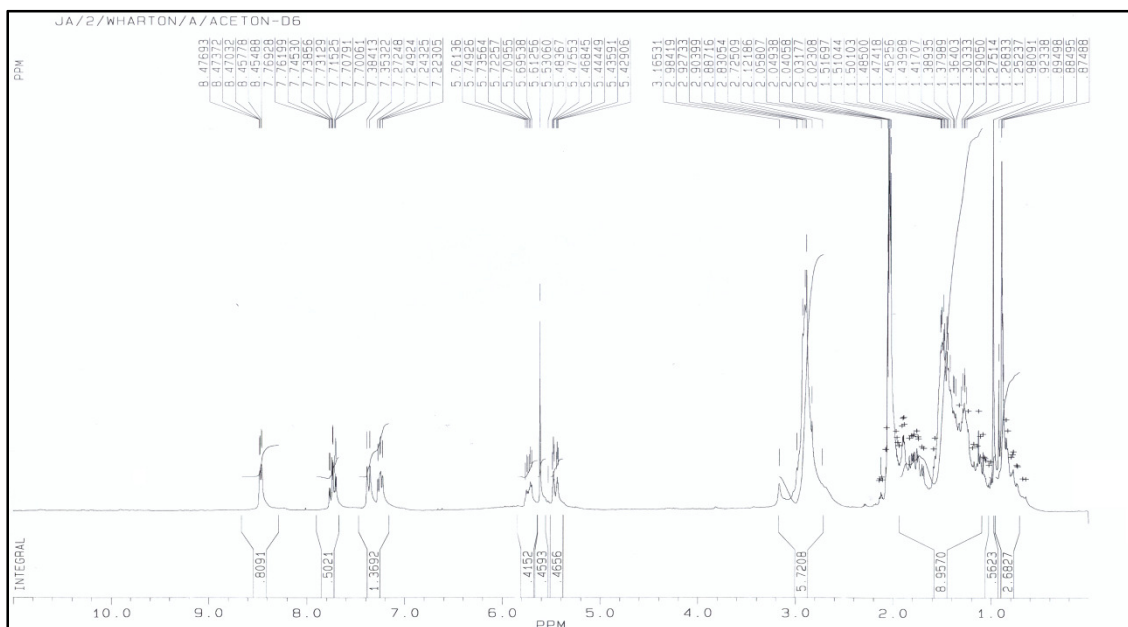
### 17 $\alpha$ -Pikolil-androst-3-en-5 $\xi$ ,17 $\beta$ -diol (24)



Prilog 7.68. IR spektar jedinjenja 24

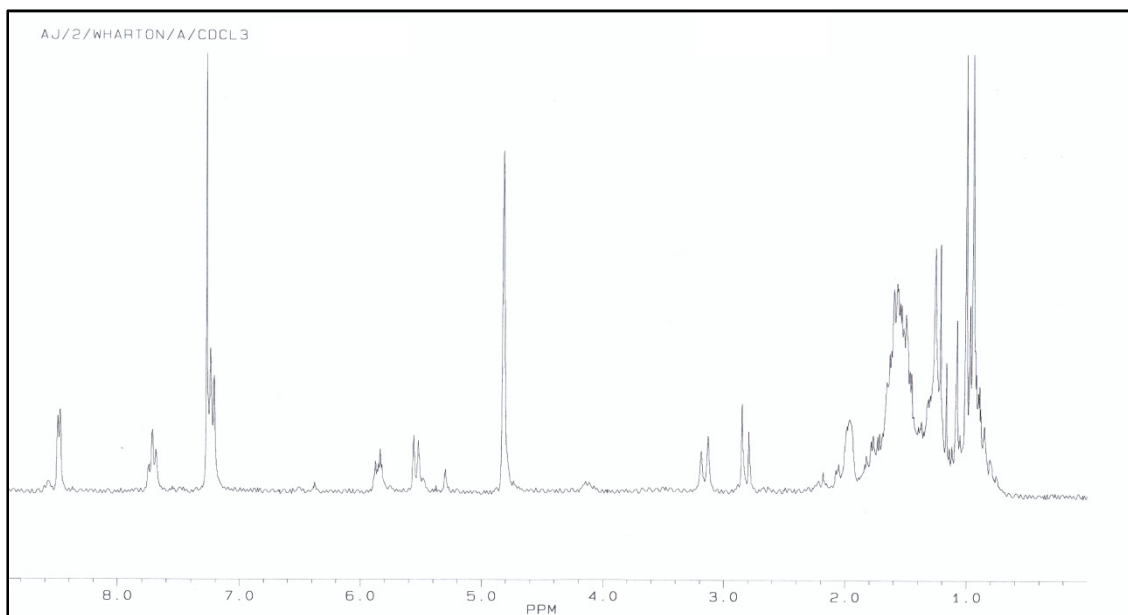


**Prilog 7.69.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **24** (snimljen u  $\text{CDCl}_3$ )

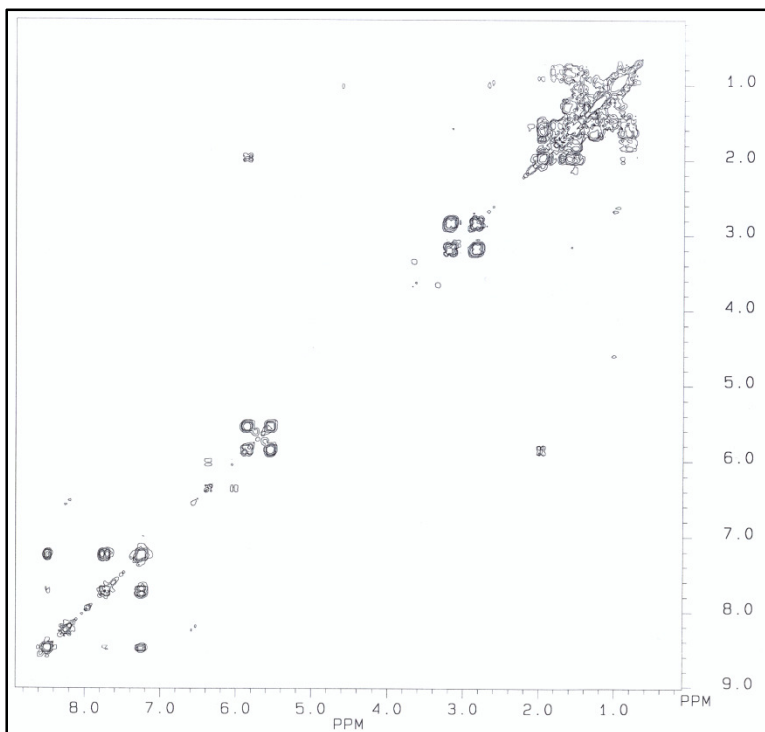


**Prilog 7.70.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **24** (snimljen u acetonu- $d_6$ )

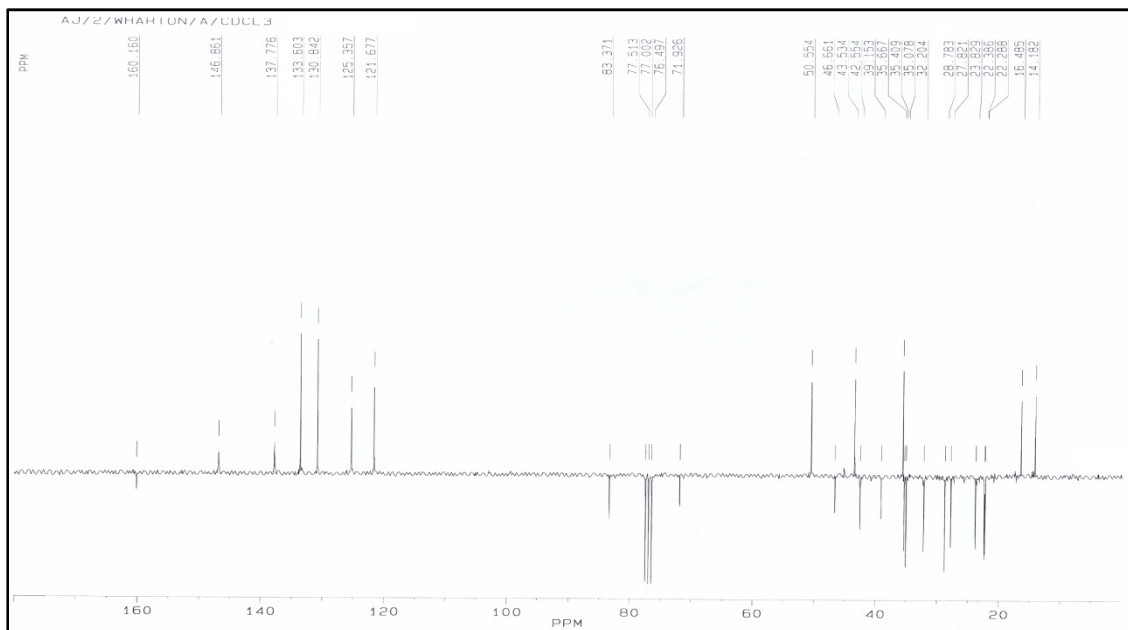




**Prilog 7.71.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **24** (snimljen u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ )

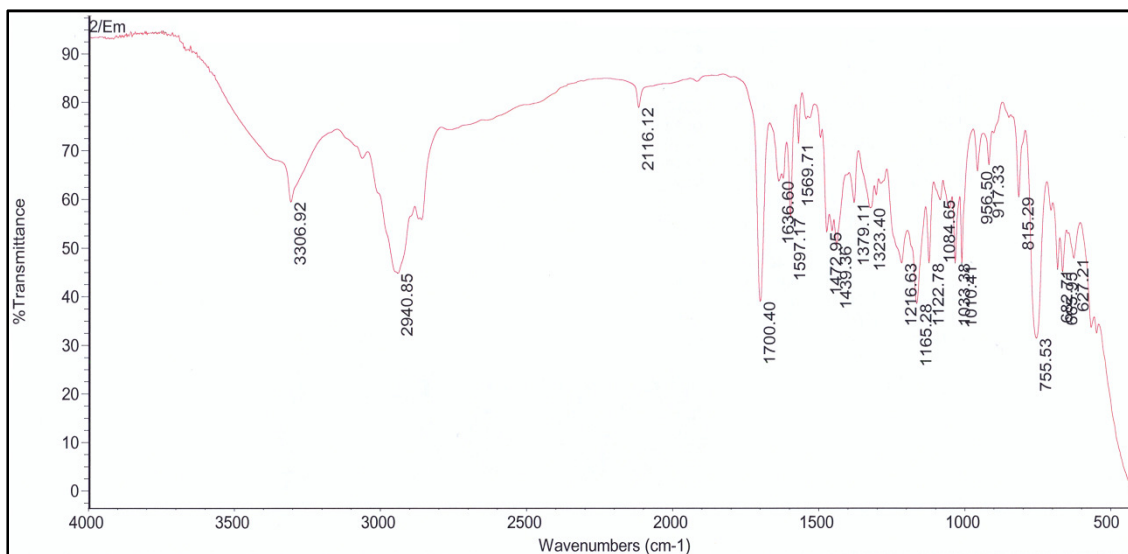
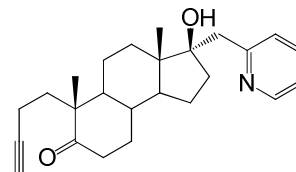


**Prilog 7.72.** COSY spektar jedinjenja **24**

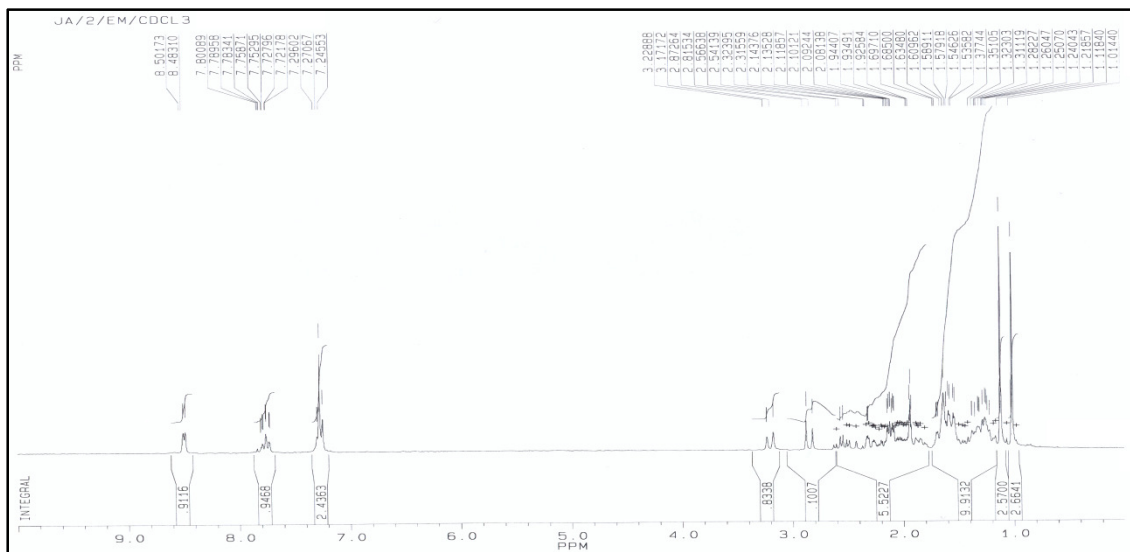


Prilog 7.73.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 24

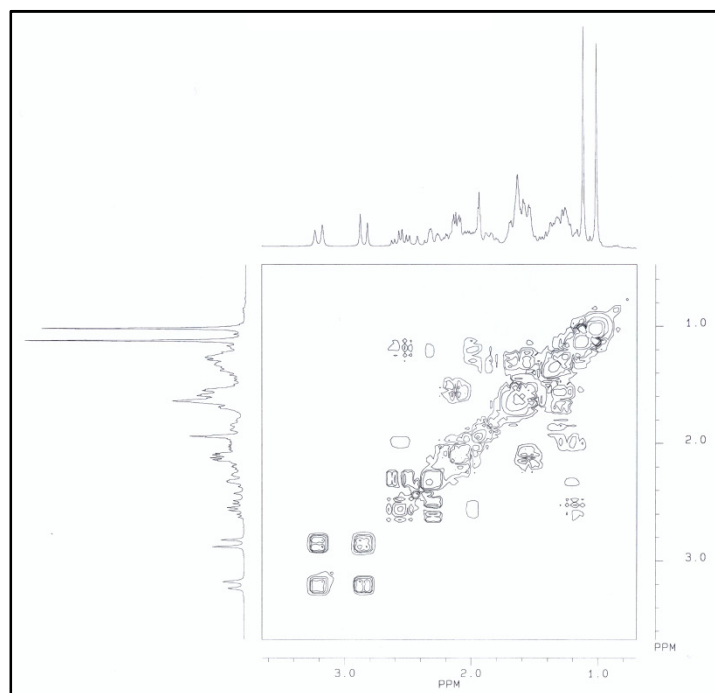
**17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-4,5-sekoandrost-3-in-5-on (25)**



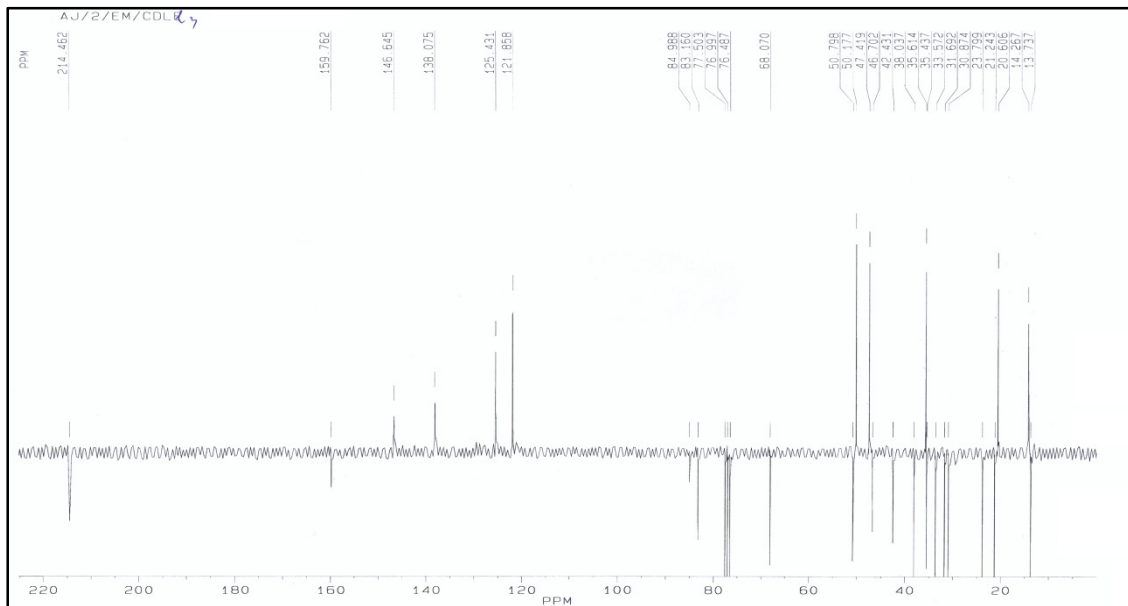
Prilog 7.74. IR spektar jedinjenja 25



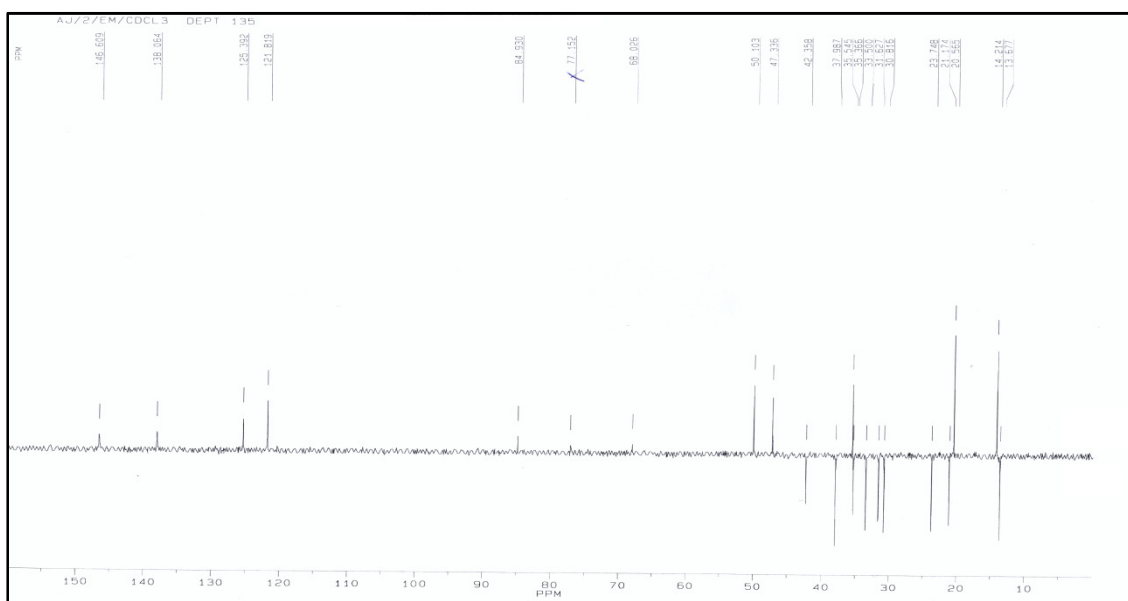
Prilog 7.75.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 25



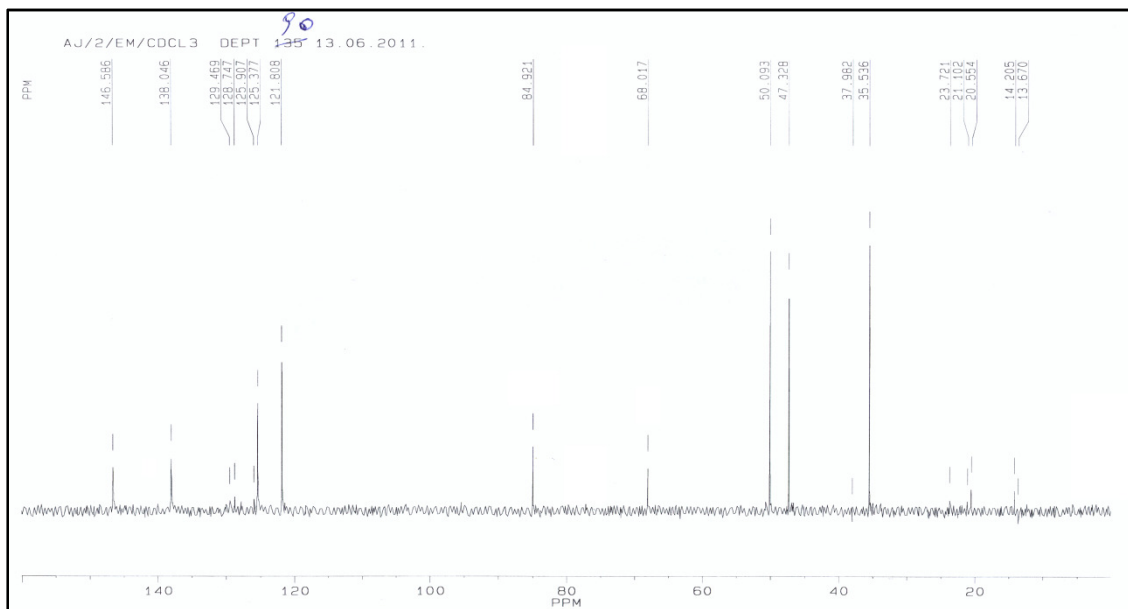
Prilog 7.76. COSY spektar jedinjenja 25



Prilog 7.77.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 25

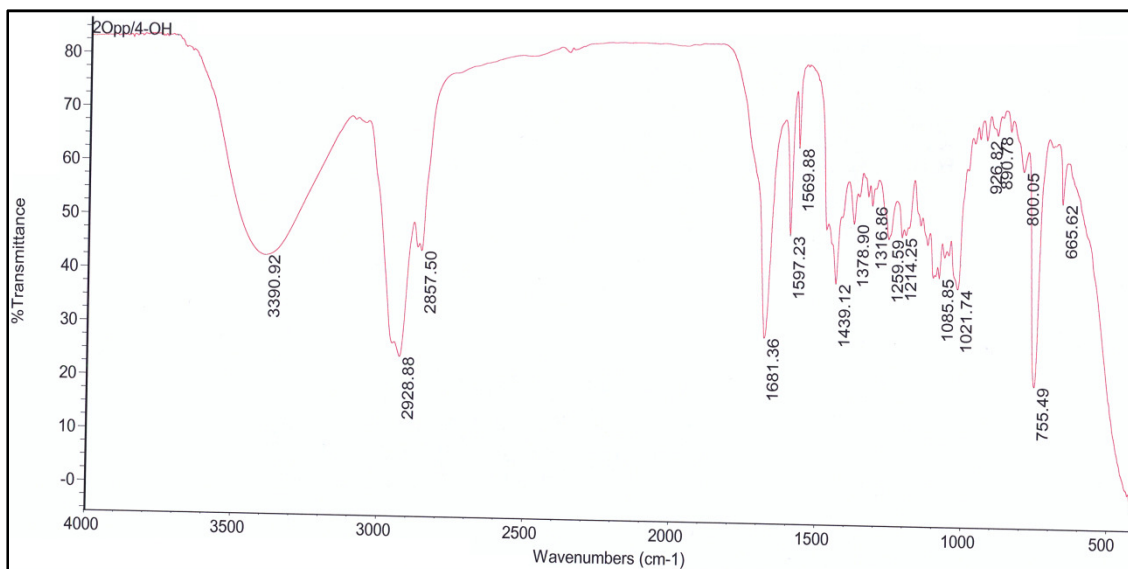
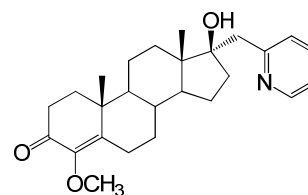


Prilog 7.78.  $^{13}\text{C}$  NMR DEPT 135 spektar jedinjenja 25

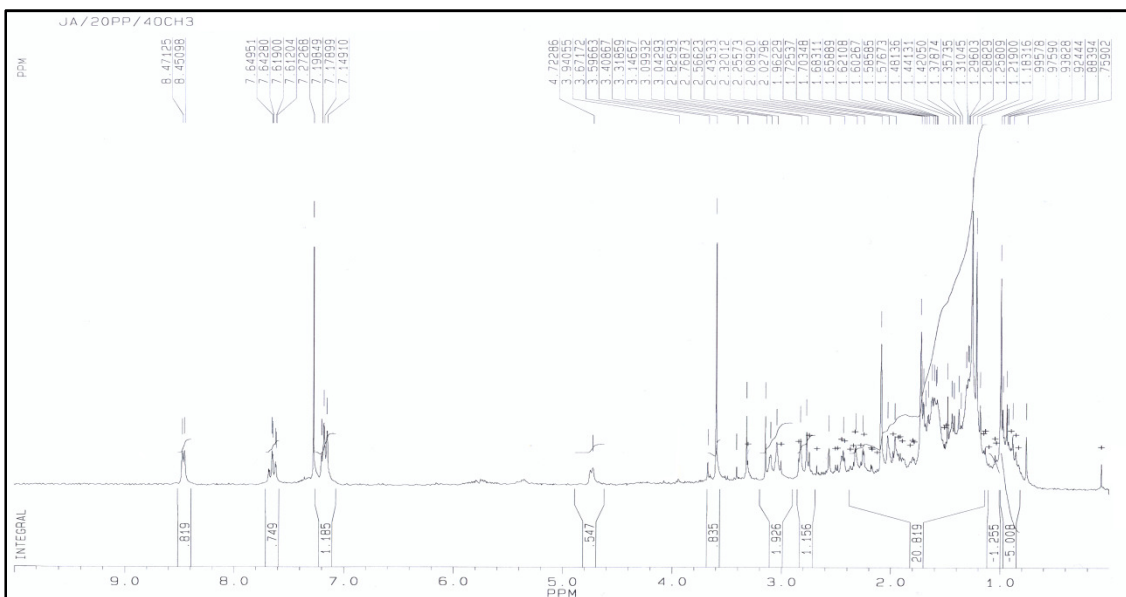


Prilog 7.79.  $^{13}\text{C}$  NMR DEPT 90 spektar jedinjenja 25

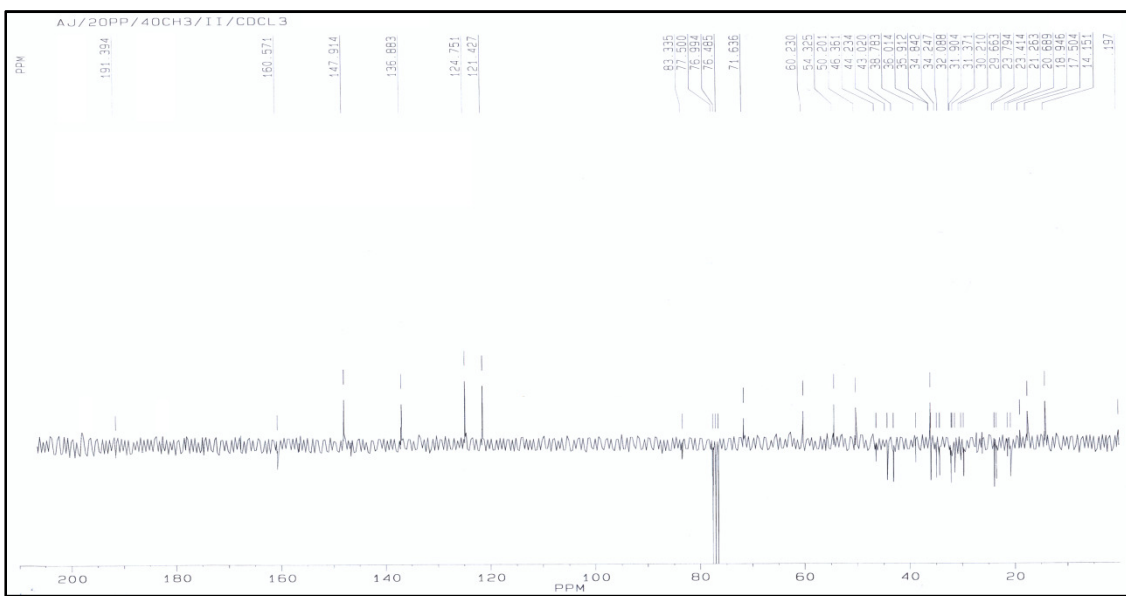
### 17 $\beta$ -Hidroksi-4-metoksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (26)



Prilog 7.80. IR spektar jedinjenja 26

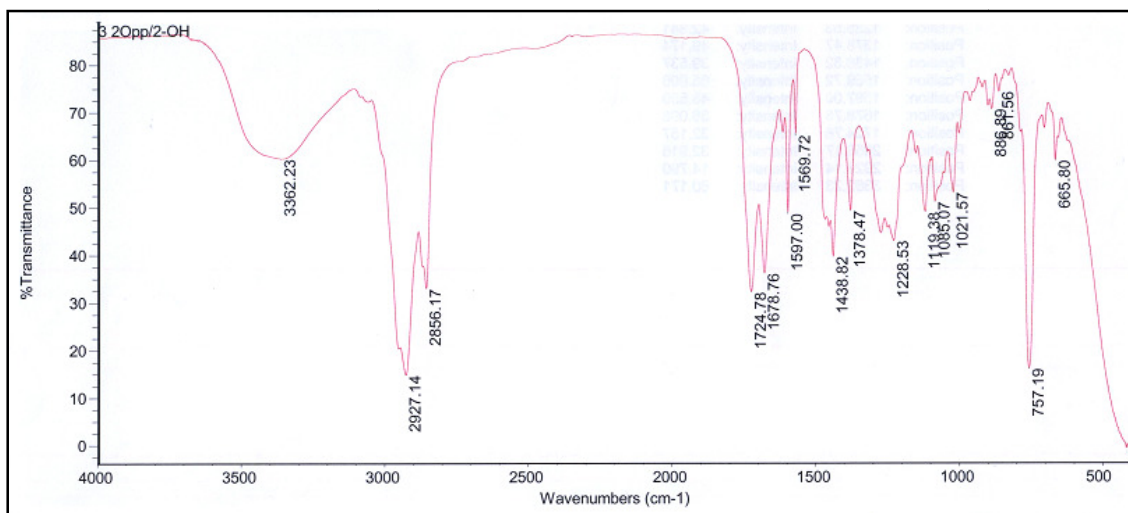
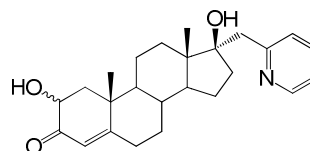


Prilog 7.81. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 26

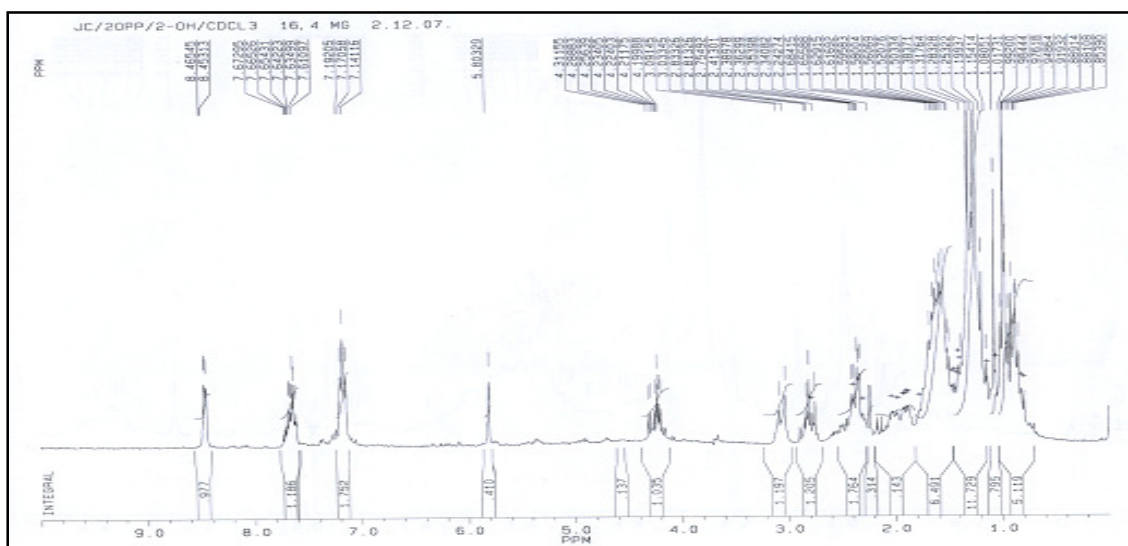


Prilog 7.82. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 26

**2 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (27) i**  
**2 $\beta$ ,17 $\beta$ -dihidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (28)**



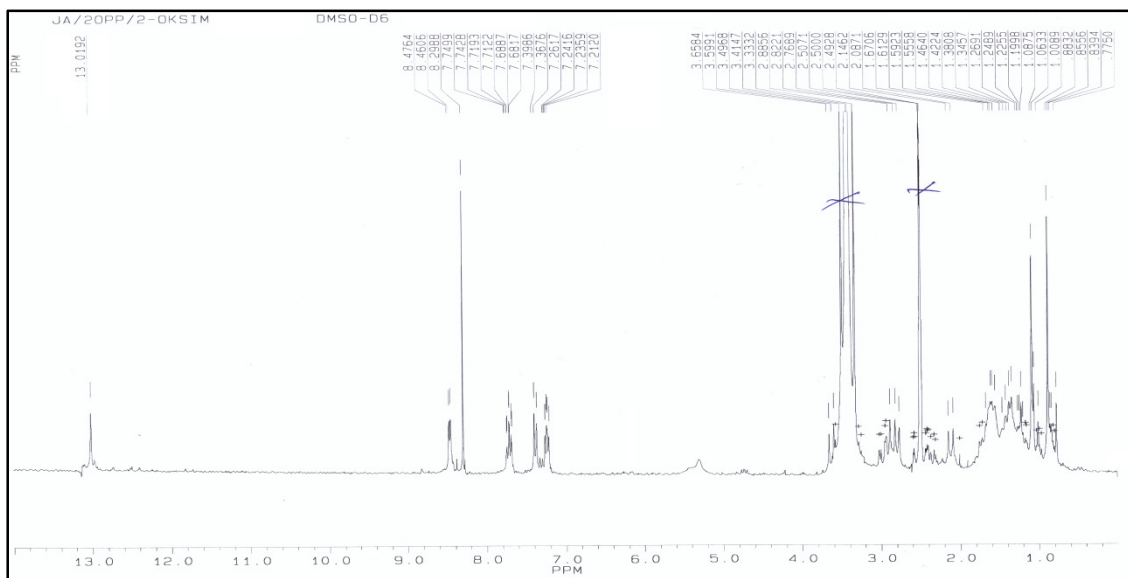
*Prilog 7.83.* IR spektar smeše jedinjenja **27** i **28**



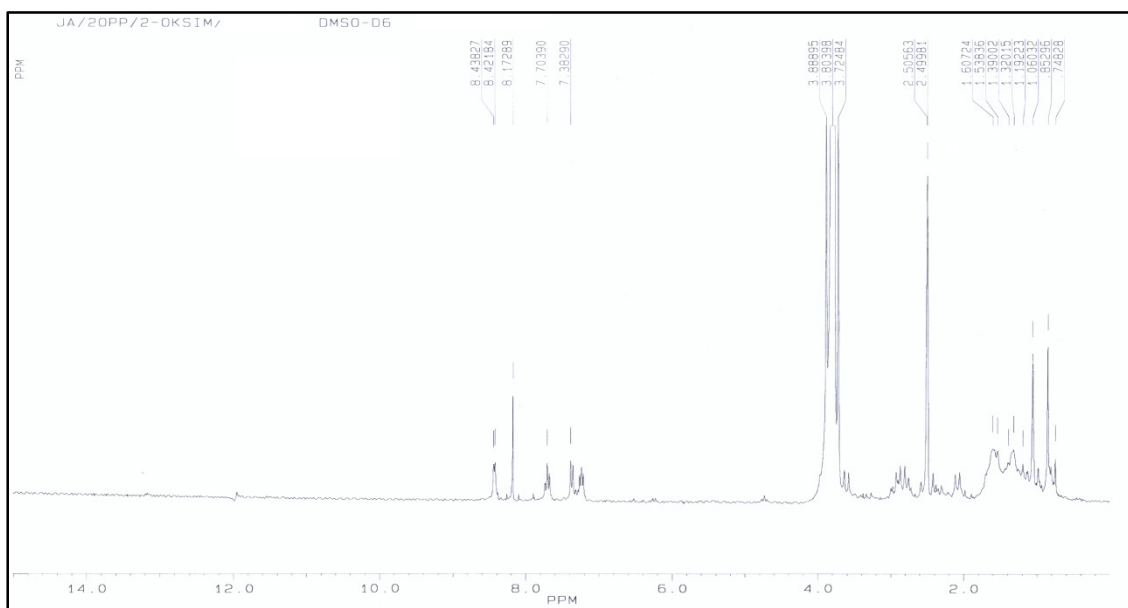
*Prilog 7.84.* <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **27** i **28**



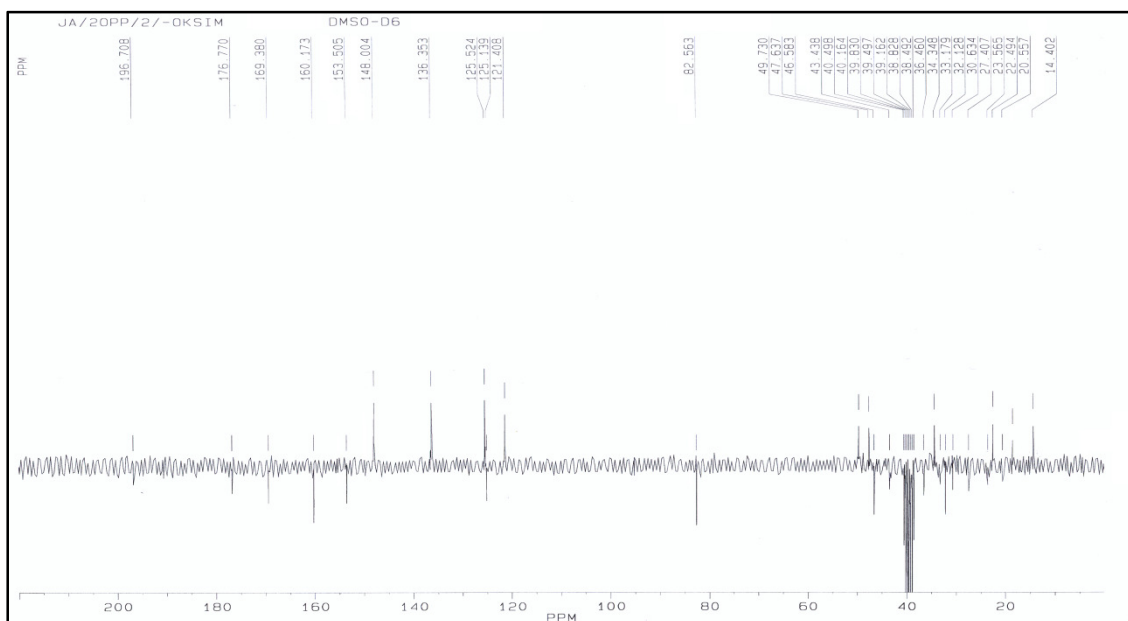




**Prilog 7.87.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **29**

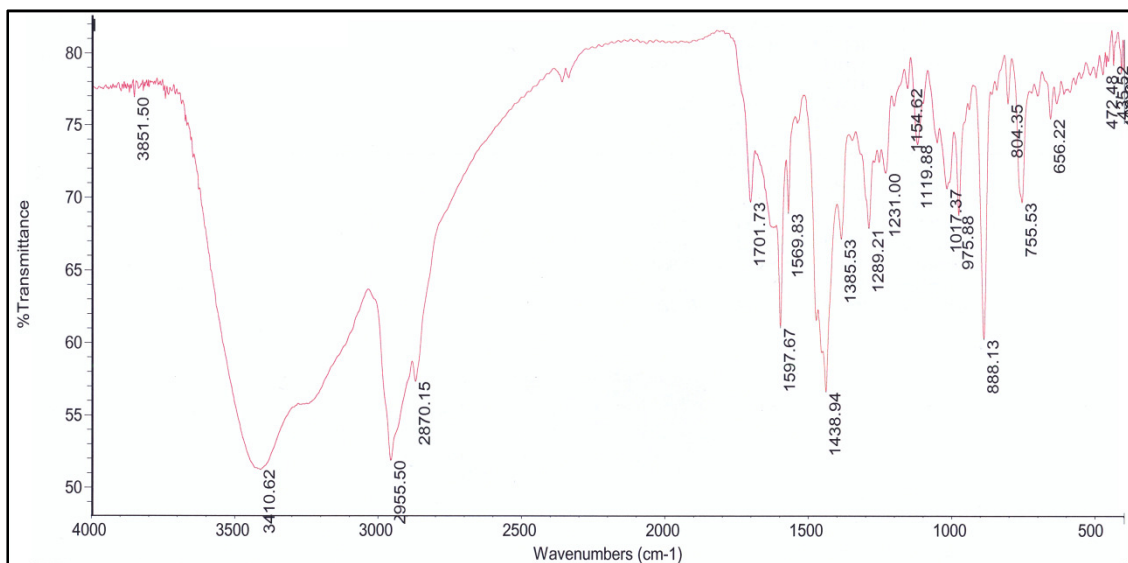
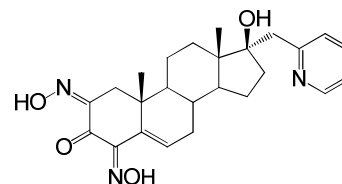


**Prilog 7.88.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **29** (snimljen u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ )

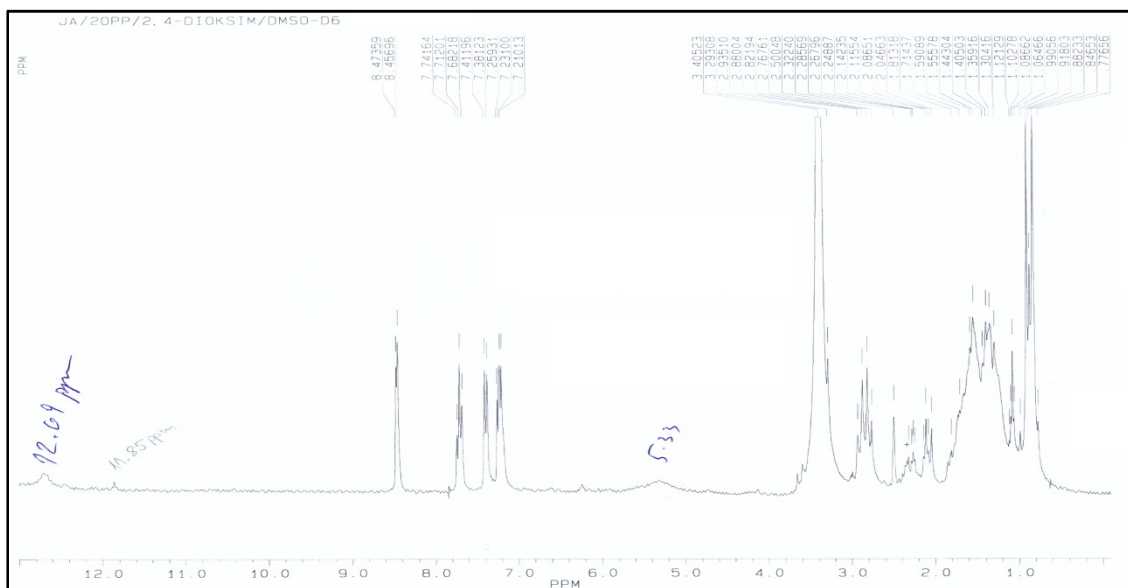


Prilog 7.89.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 29

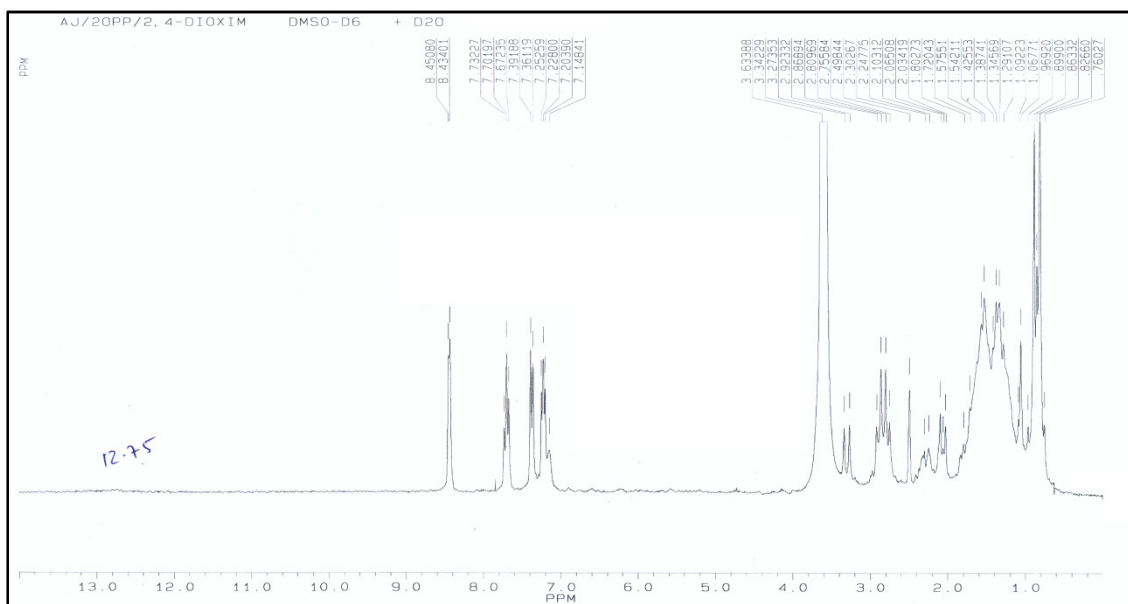
**17 $\beta$ -Hidroksi-2(Z),4( $\xi$ )-dihidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-5-en-3-on (30)**



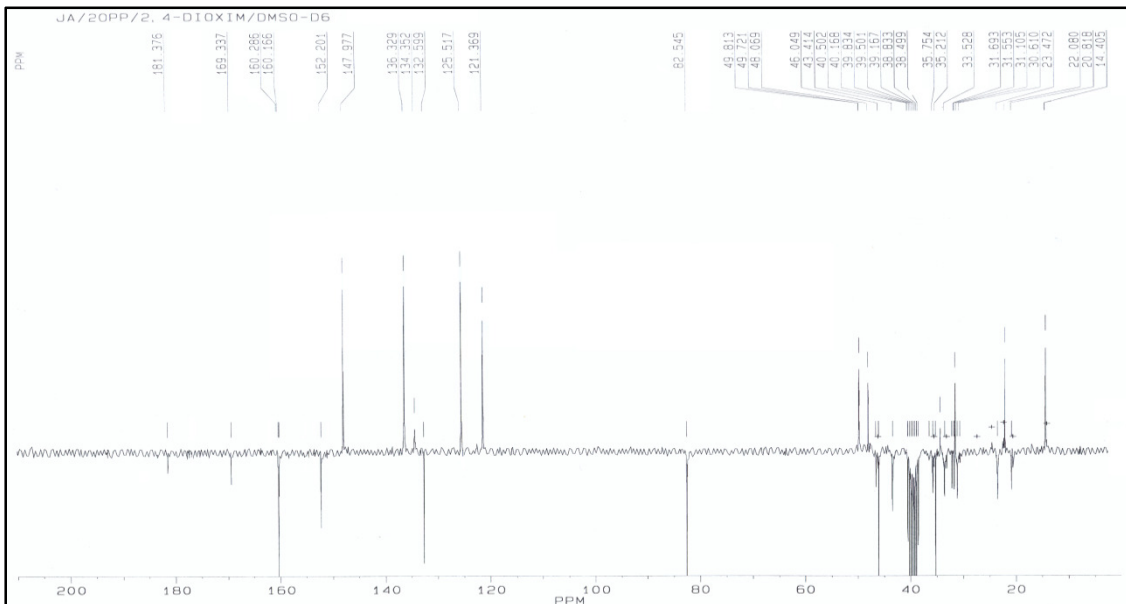
Prilog 7.90. IR spektar jedinjenja 30



Prilog 7.91.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 30

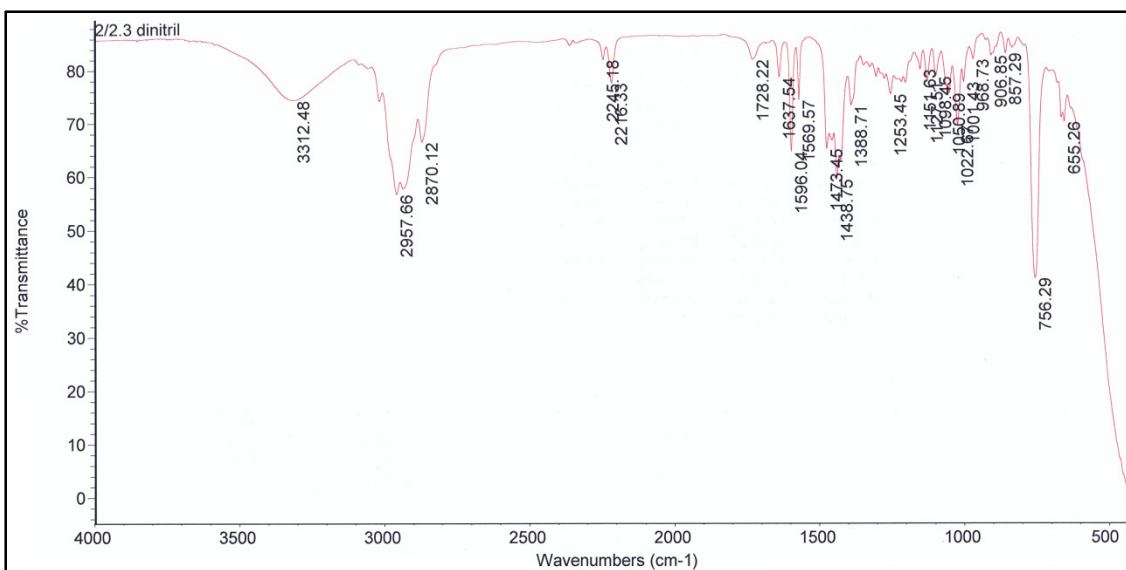
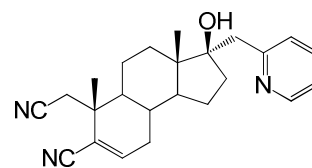


Prilog 7.92.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 30 (snimljen u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ )

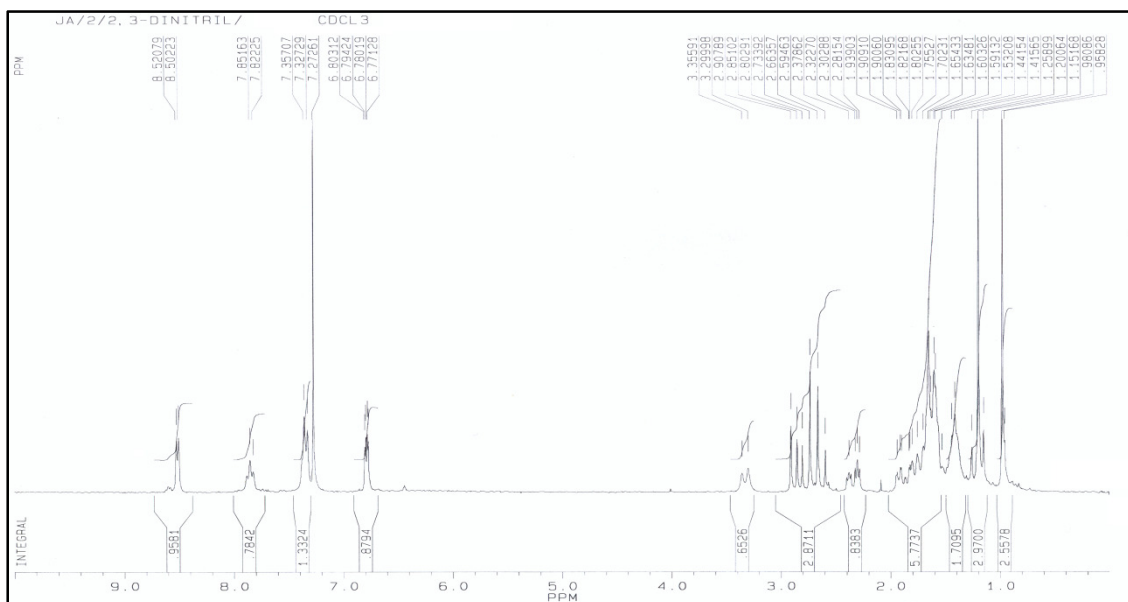


Prilog 7.93.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 30

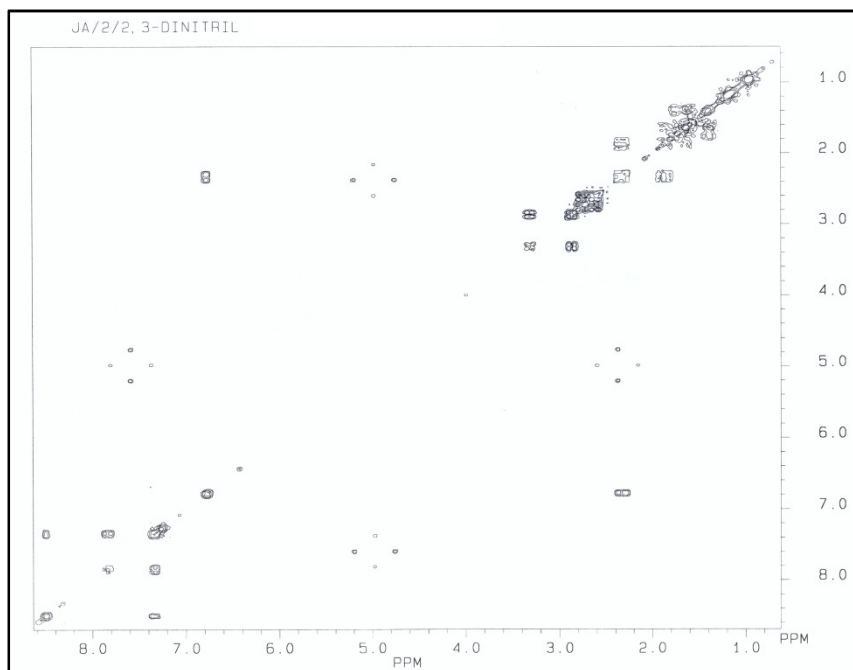
### 17 $\beta$ -Hidroksi-17 $\alpha$ -pikolil-2,4-seko-3-norandrost-5-en-2,4-dinitril (31)



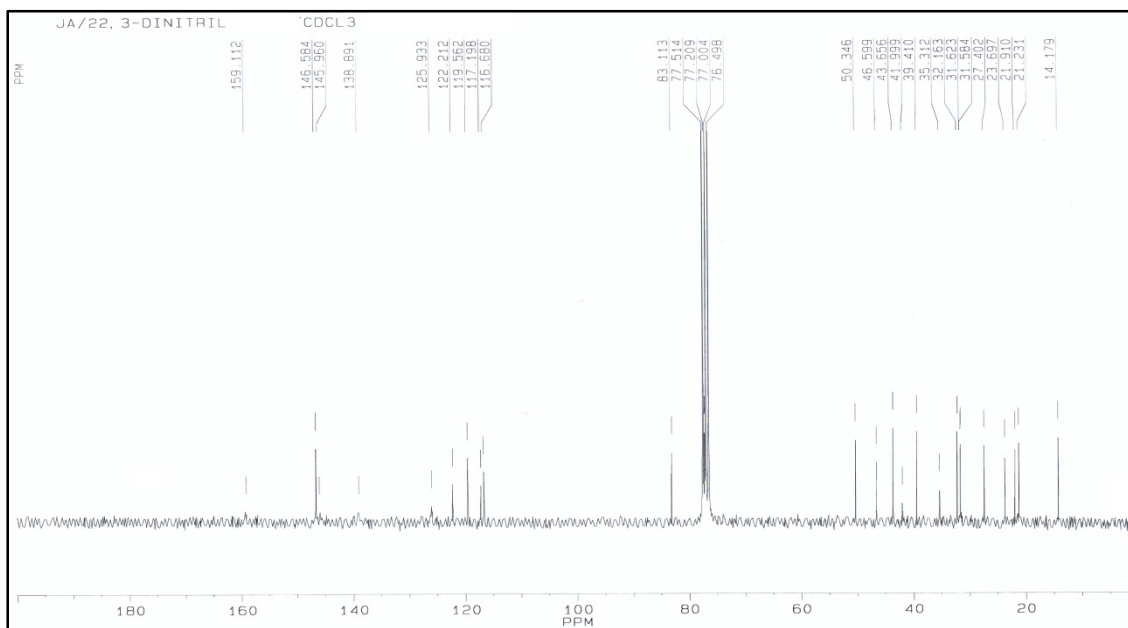
Prilog 7.94. IR spektar jedinjenja 31



**Prilog 7.95.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **31**

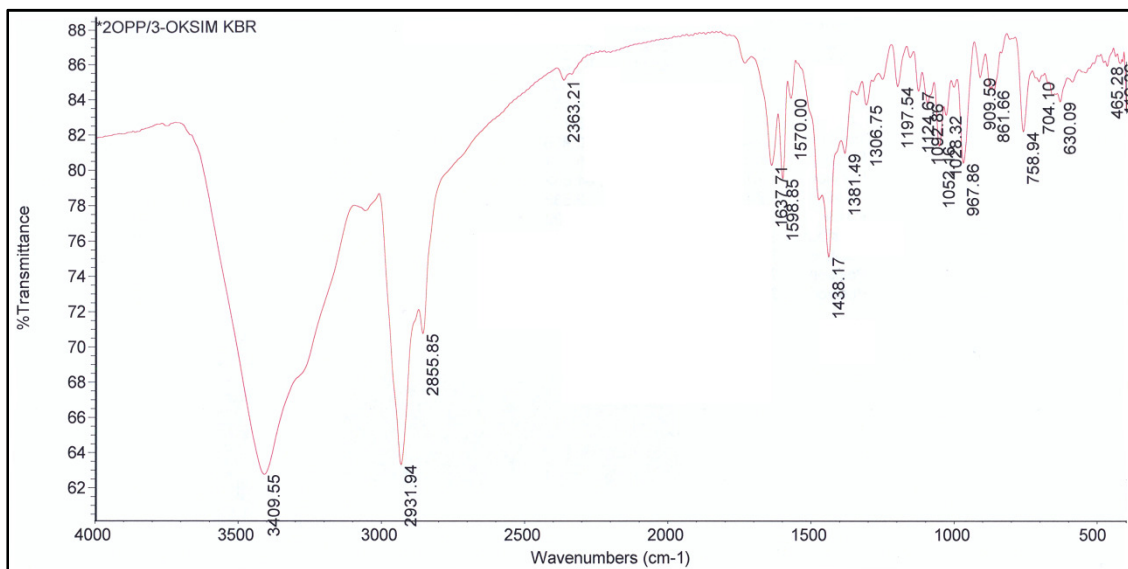
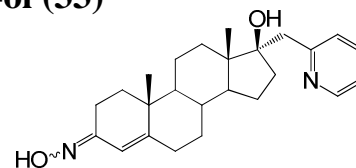


**Prilog 7.96.** COSY spektar jedinjenja **31**

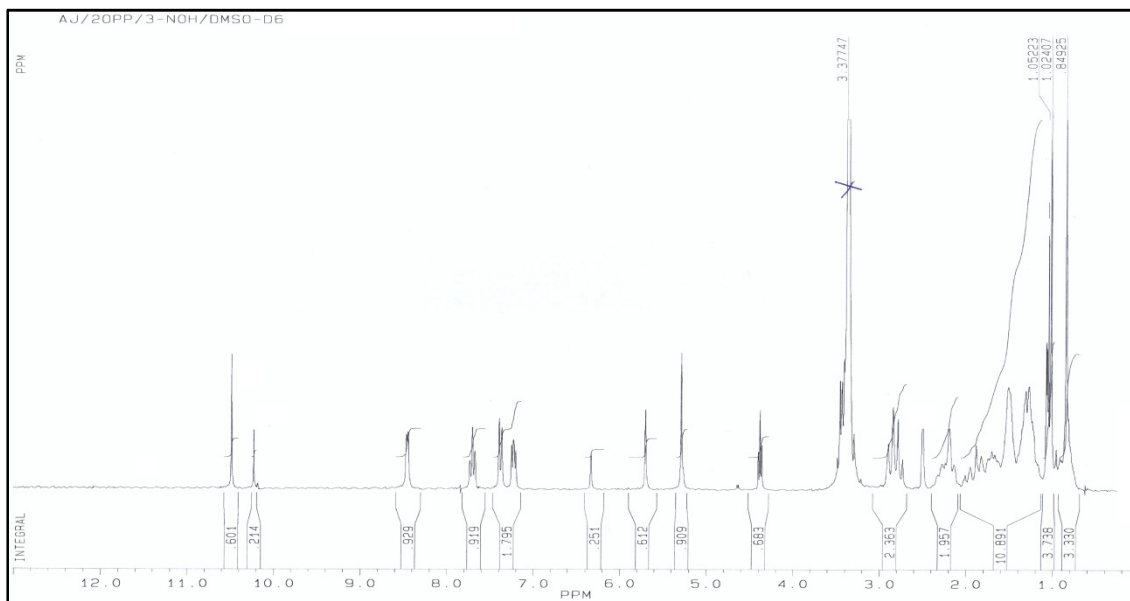


Prilog 7.97.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 31

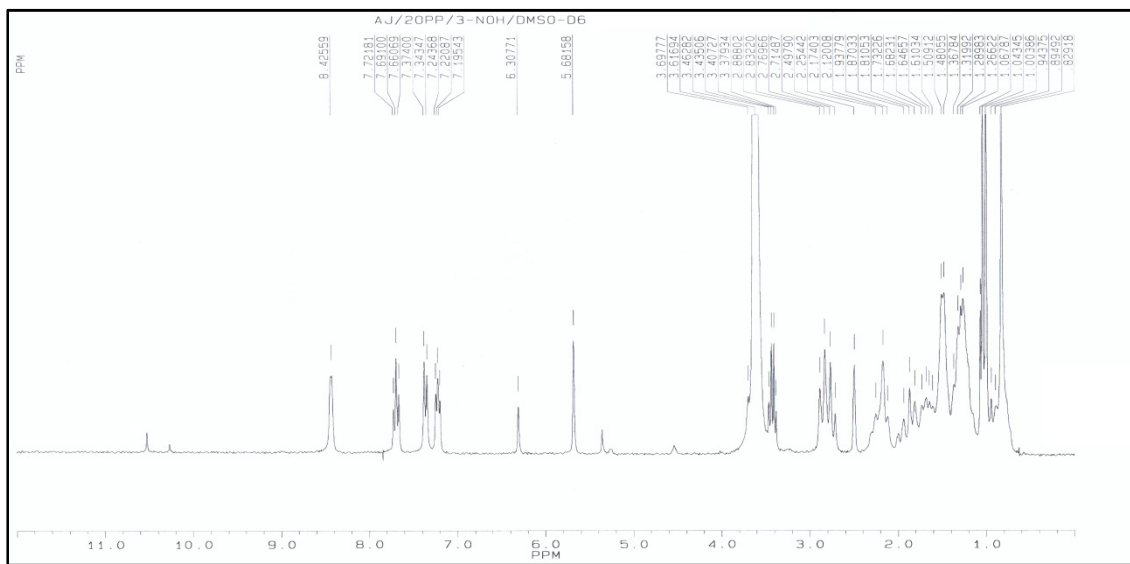
**3(E)-Hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (32) i 3(Z)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-17 $\beta$ -ol (33)**



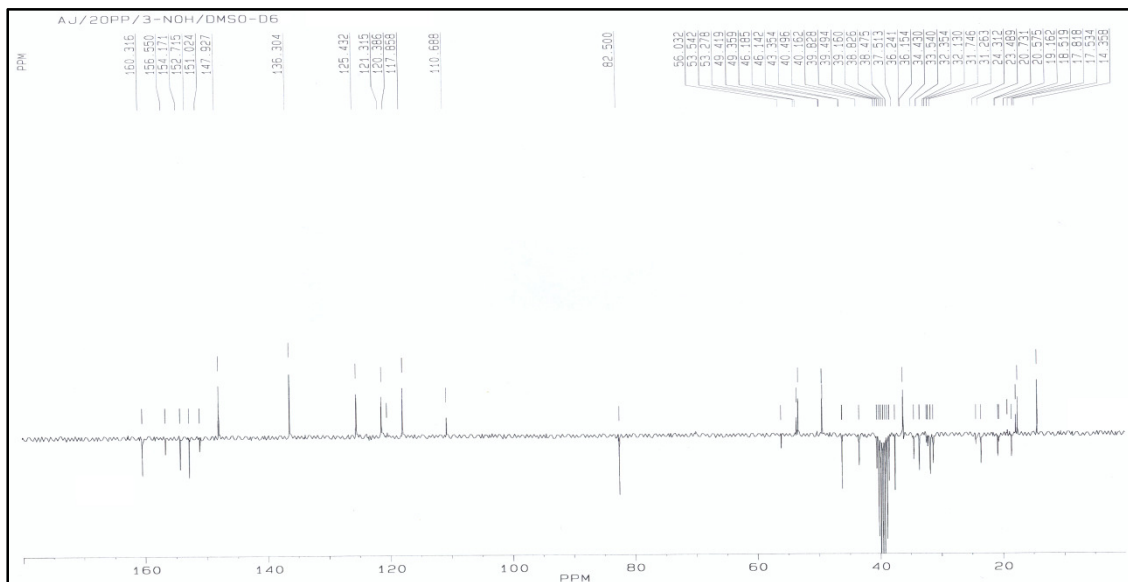
Prilog 7.98. IR spektar smeše jedinjenja 32 i 33



**Prilog 7.99.** <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **32** i **33**

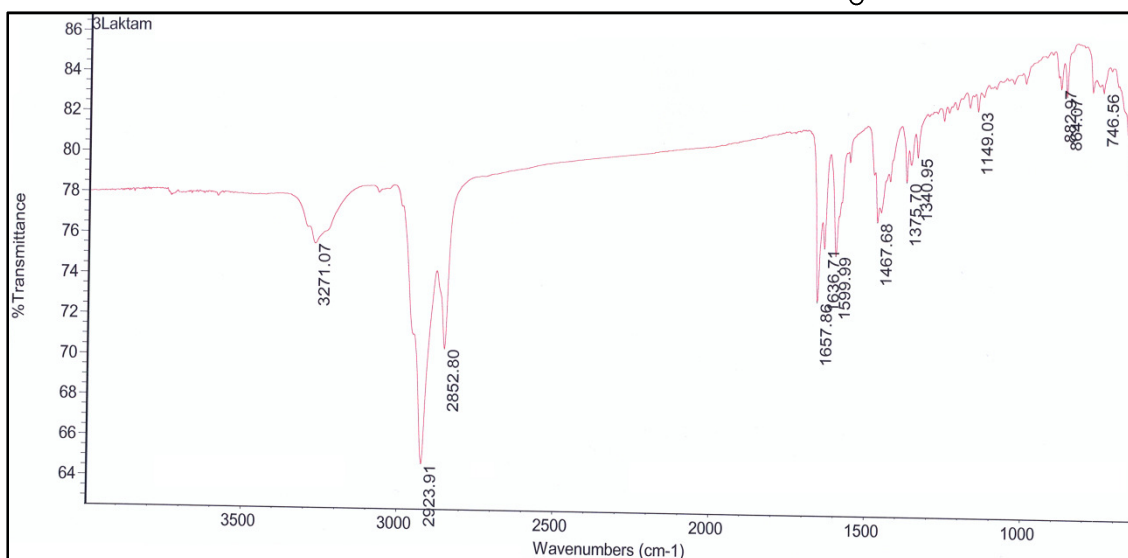
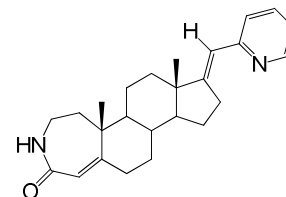


**Prilog 7.100.** <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **32** i **33** (snimljen u prisustvu D<sub>2</sub>O)



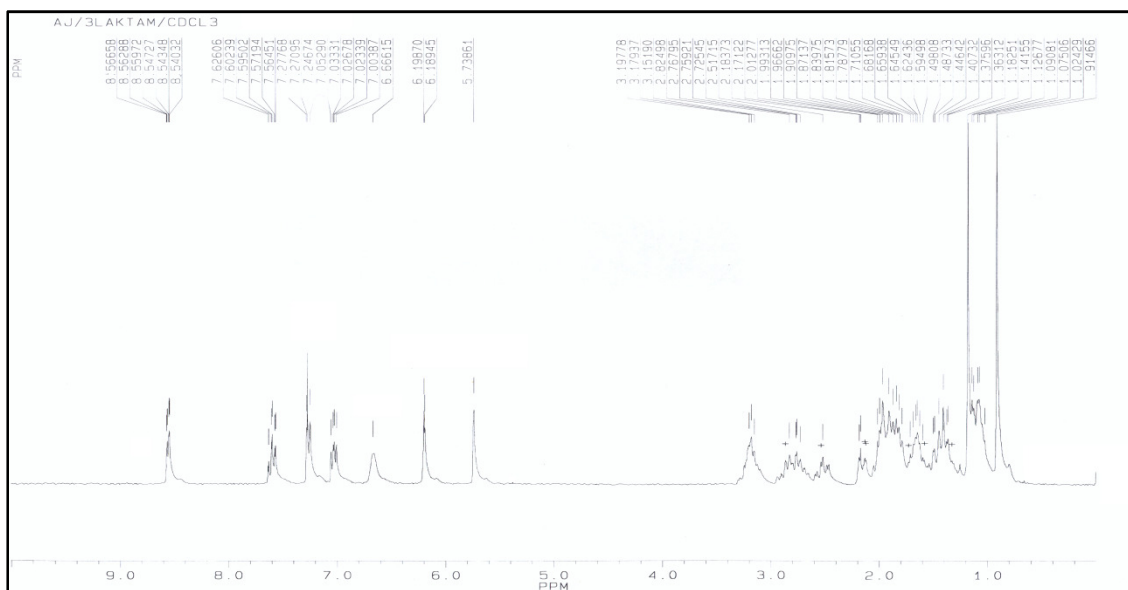
Prilog 7.101.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja 32 i 33

### 17(E)-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (34)

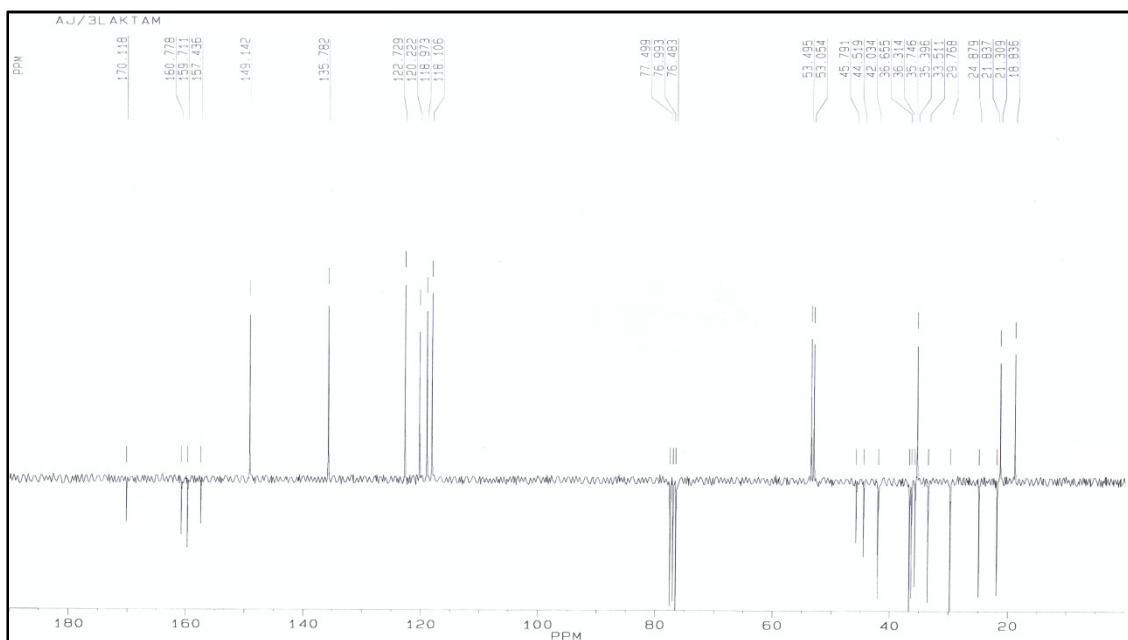


Prilog 7.102. IR spektar jedinjenja 34



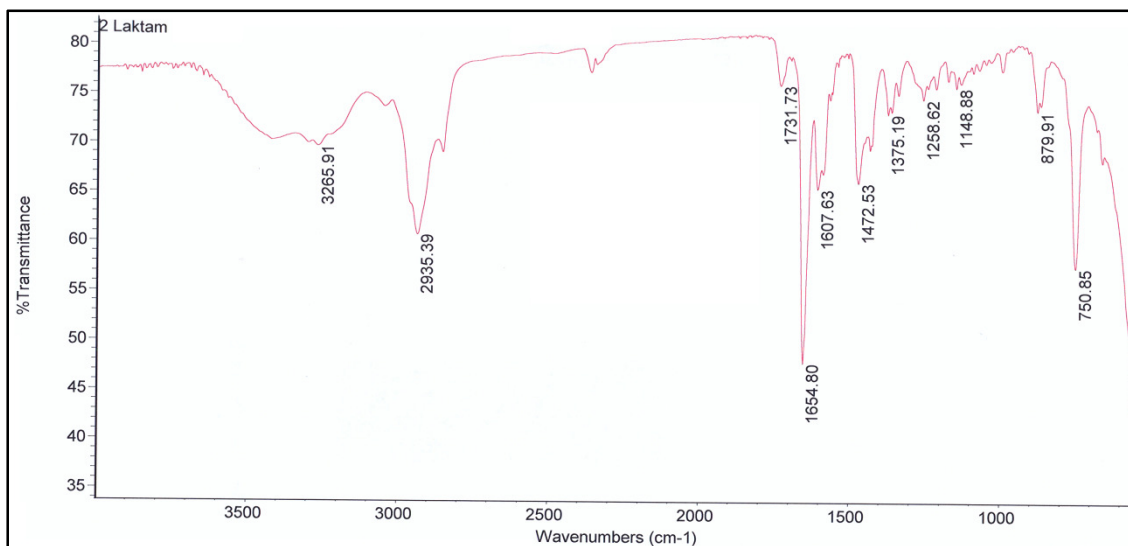
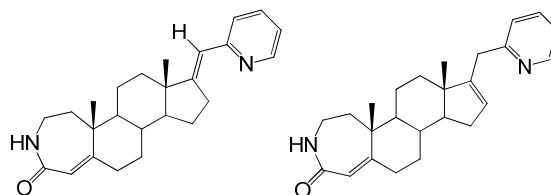


Prilog 7.103. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 34

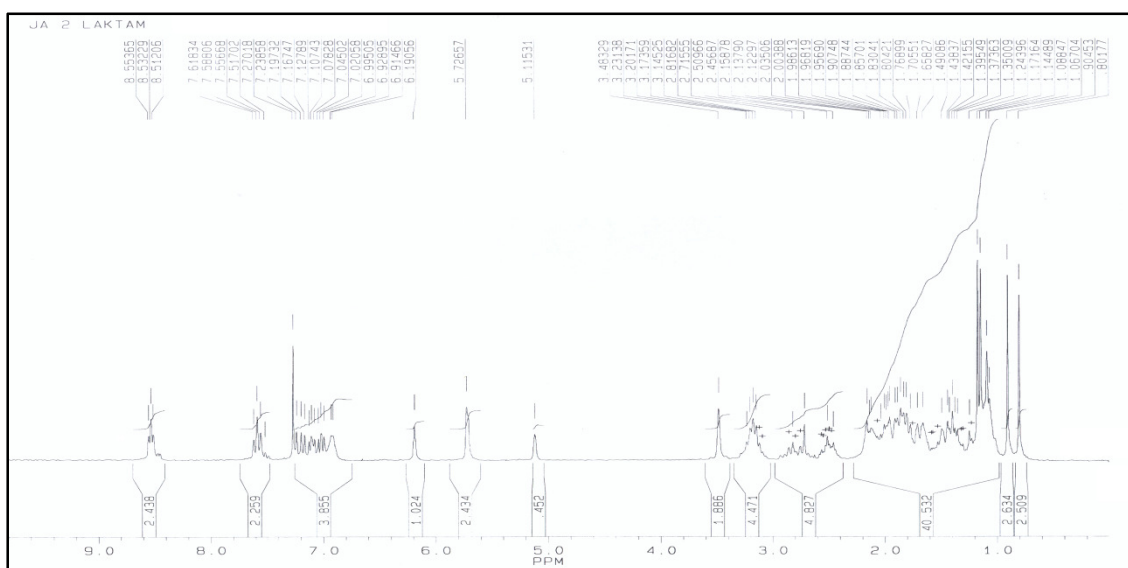


Prilog 7.104. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 34

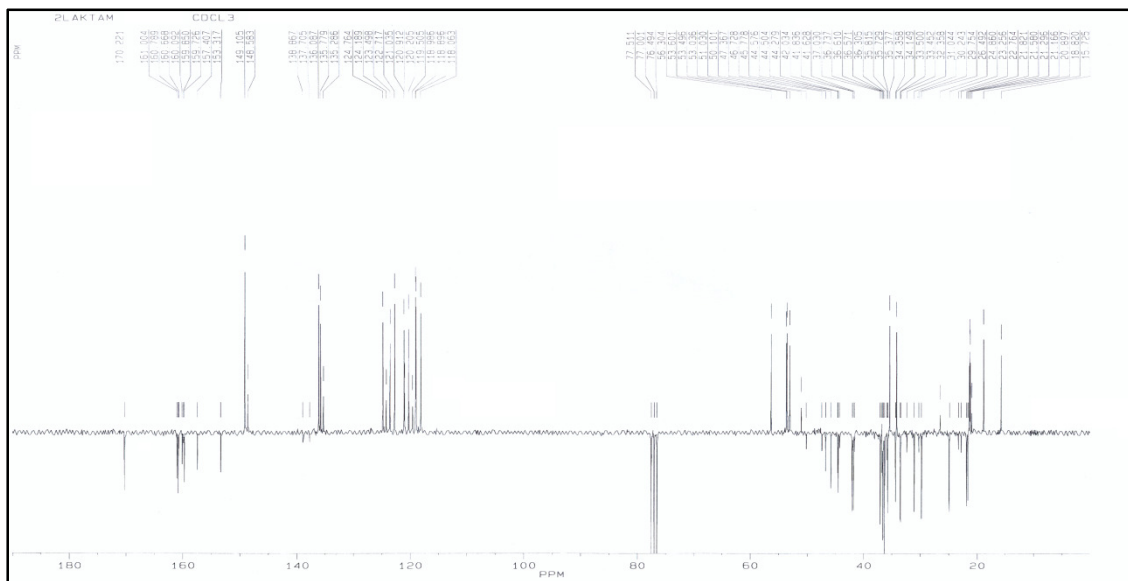
**17(E)-Pikoliniliden-3-aza-A-homoandrost-4a-en-4-on (34) i 17-pikolil-3-aza-A-homoandrost-4a,16-dien-4-on (35)**



**Prilog 7.105.** IR spektar smeše jedinjenja **34** i **35**

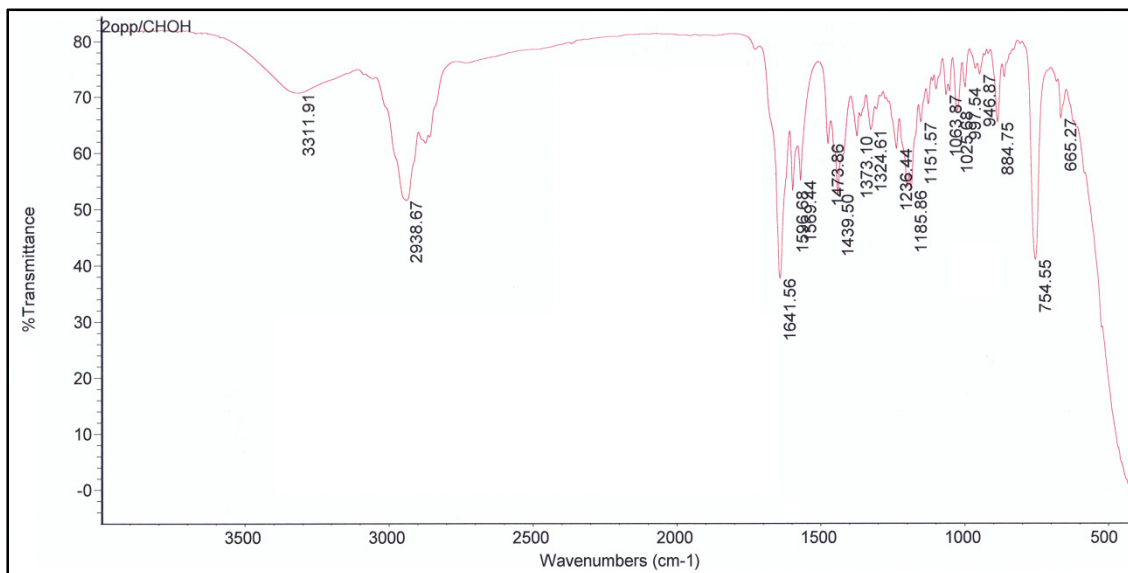
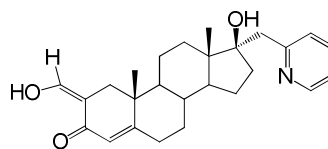


**Prilog 7.106.** <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **34** i **35**

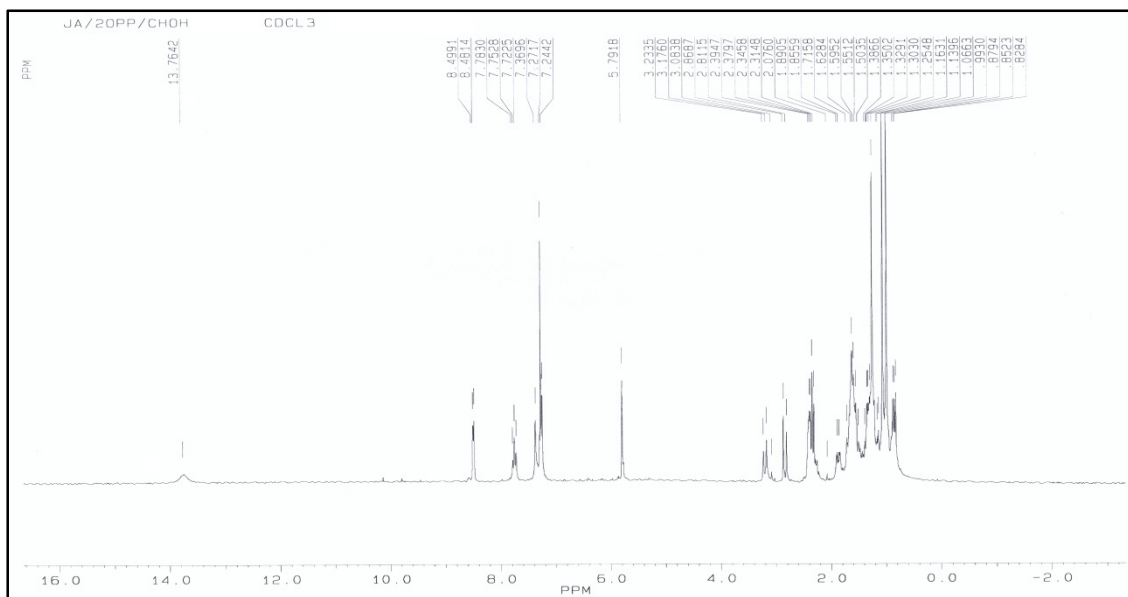


Prilog 7.107.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja 34 i 35

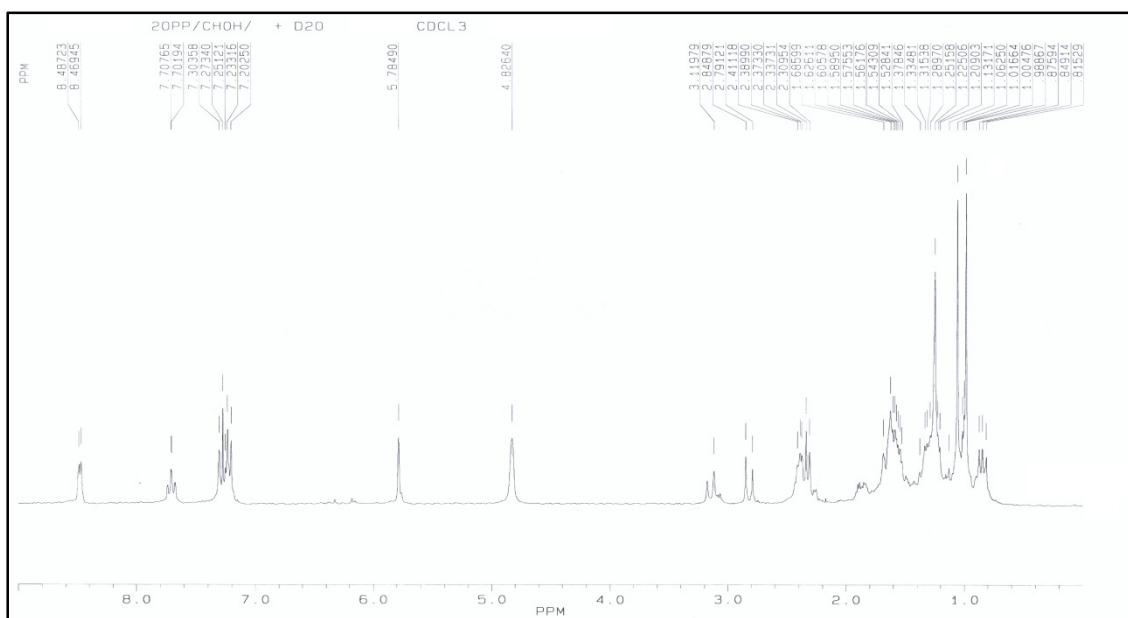
### 17 $\beta$ -Hidroksi-2(Z)-hidroksimetilen-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (36)

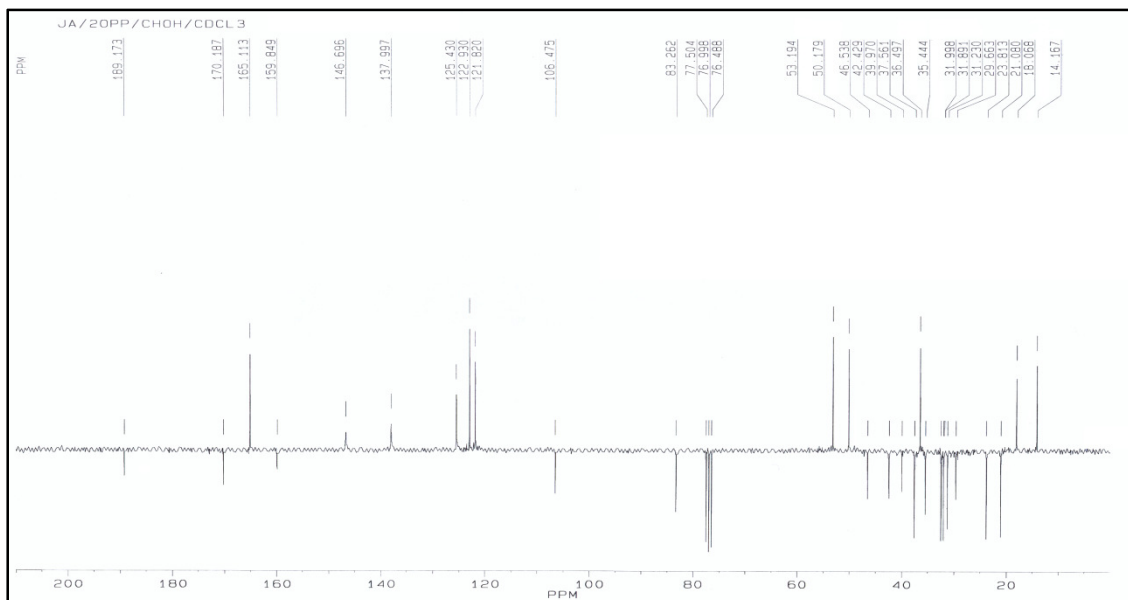


Prilog 7.108. IR spektar jedinjenja 36



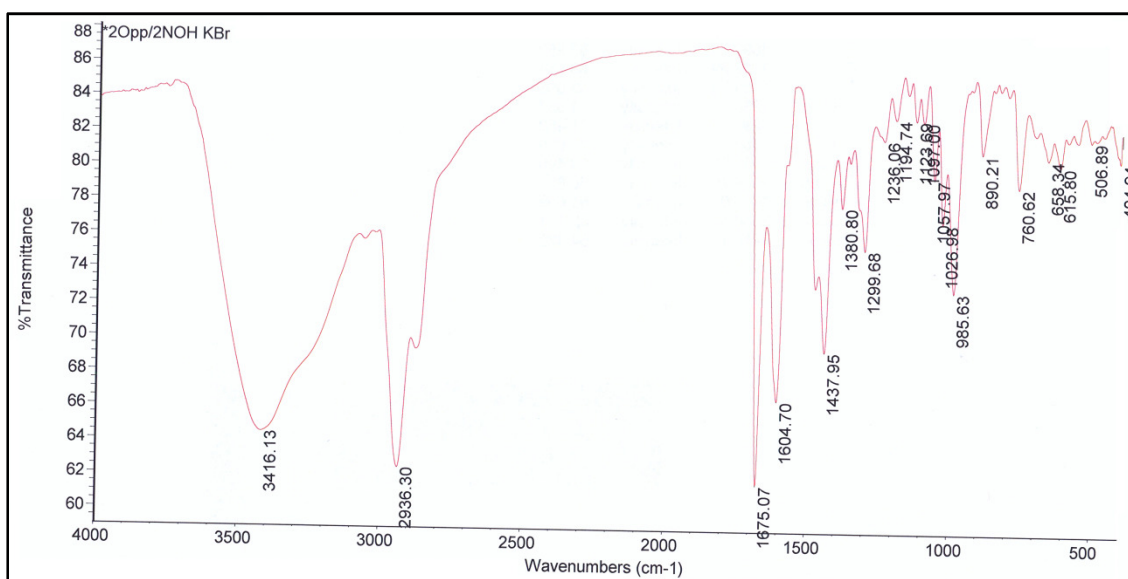
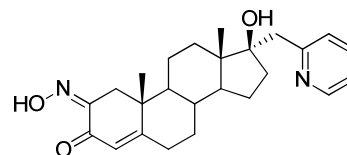
*Prilog 7.109.*  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **36**



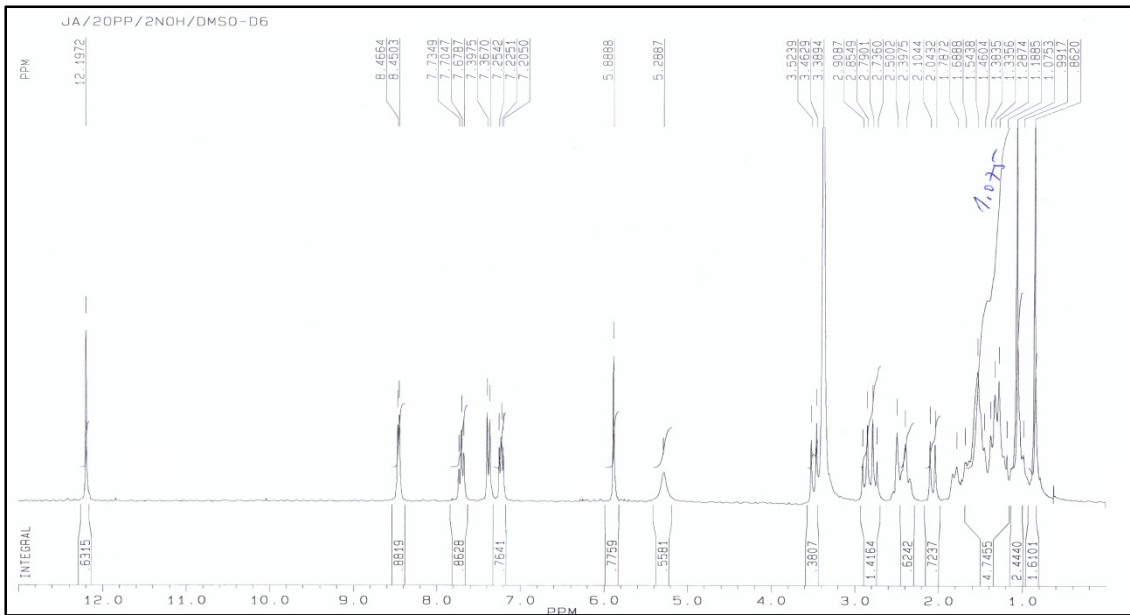
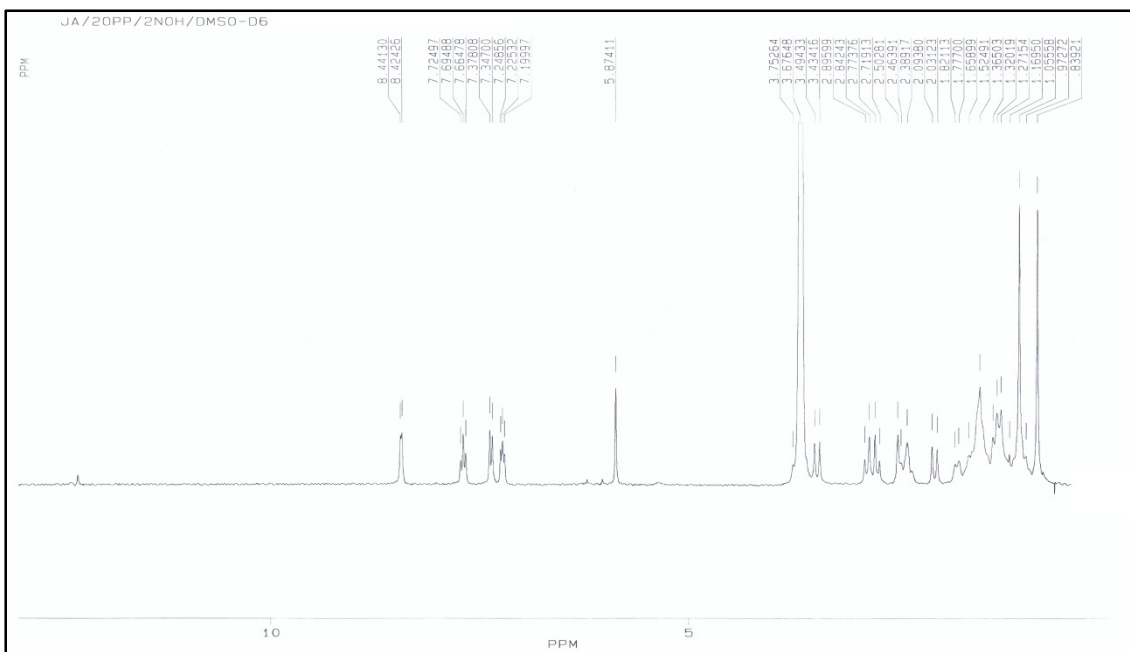


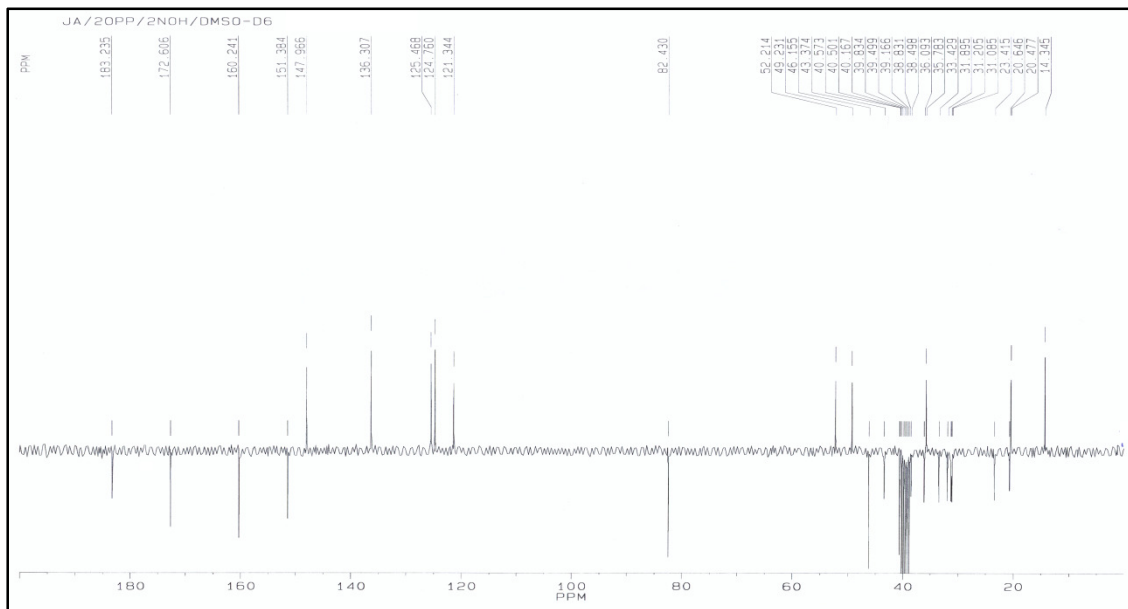
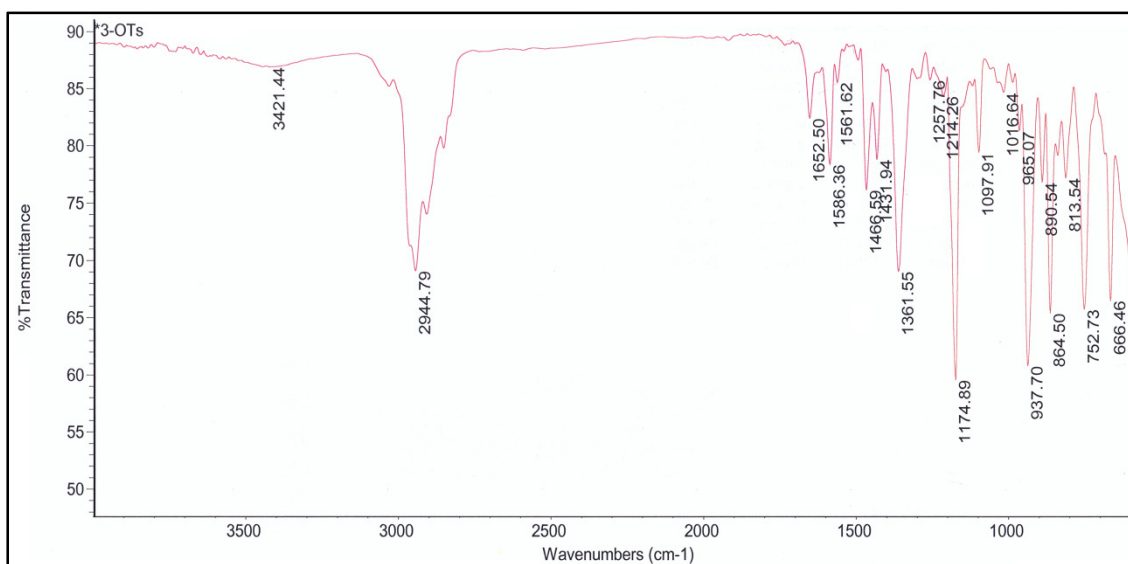
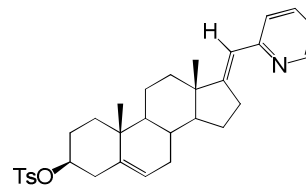
Prilog 7.111.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 36

### 17 $\beta$ -Hidroksi-2(Z)-hidroksimino-17 $\alpha$ -pikolil-androst-4-en-3-on (37)

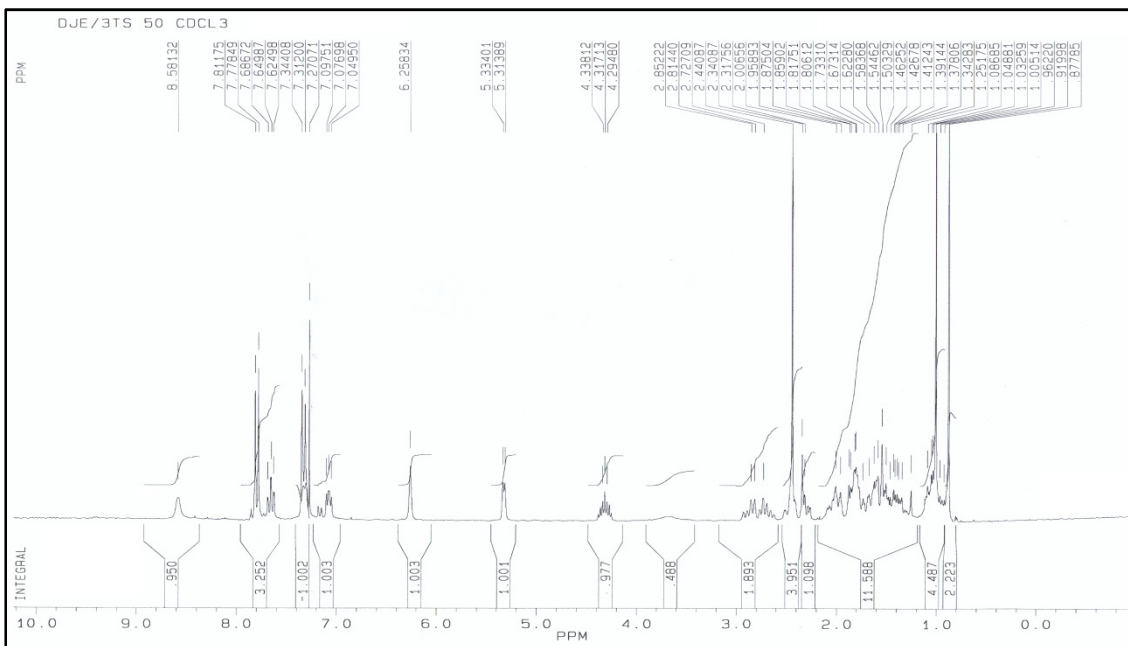


Prilog 7.112. IR spektar jedinjenja 37

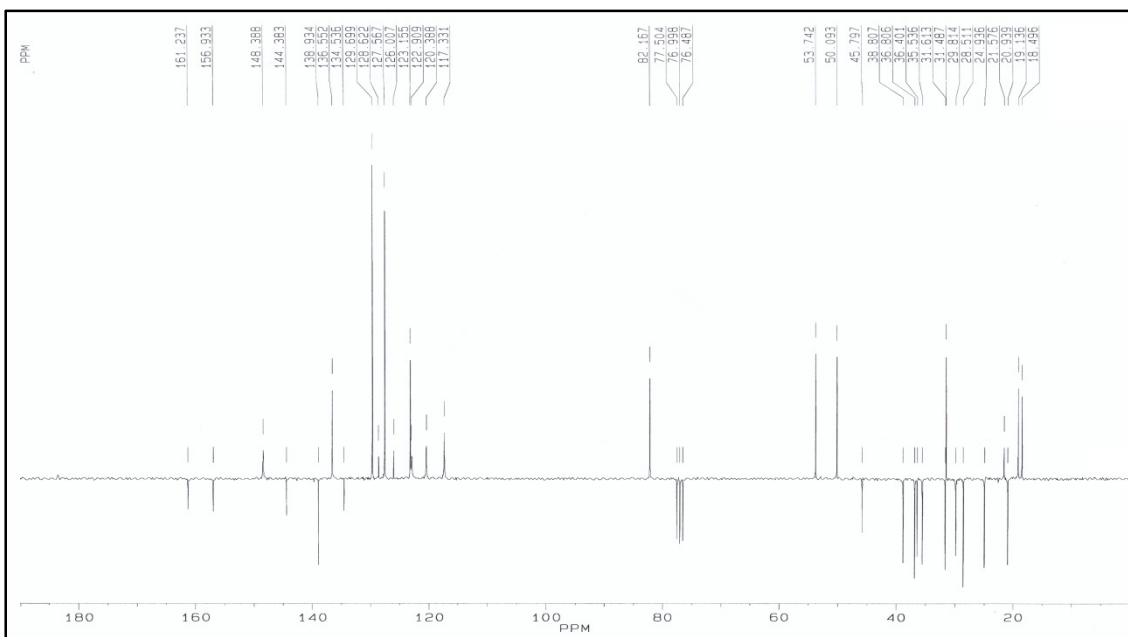
Prilog 7.113. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 37Prilog 7.114. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 37 (snimljen u prisustvu D<sub>2</sub>O)

Prilog 7.115.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 37**17(E)-Pikoliniliden-androst-5-en-3 $\beta$ -il *p*-toluensulfonat (38)**

Prilog 7.116. IR spektar jedinjenja 38

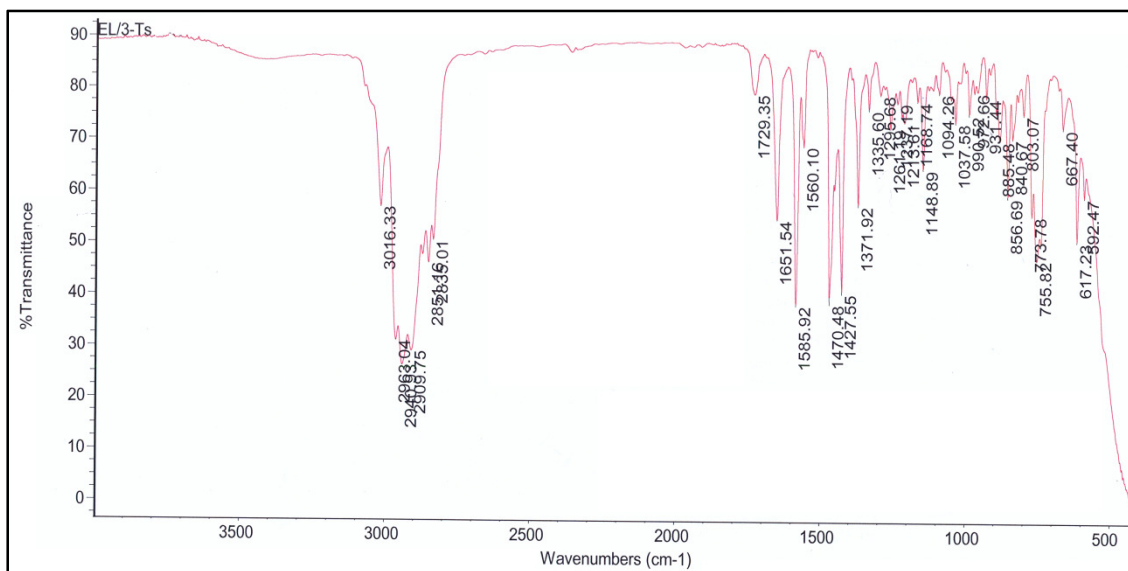
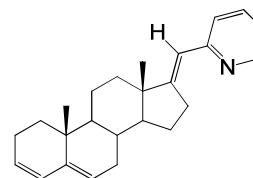
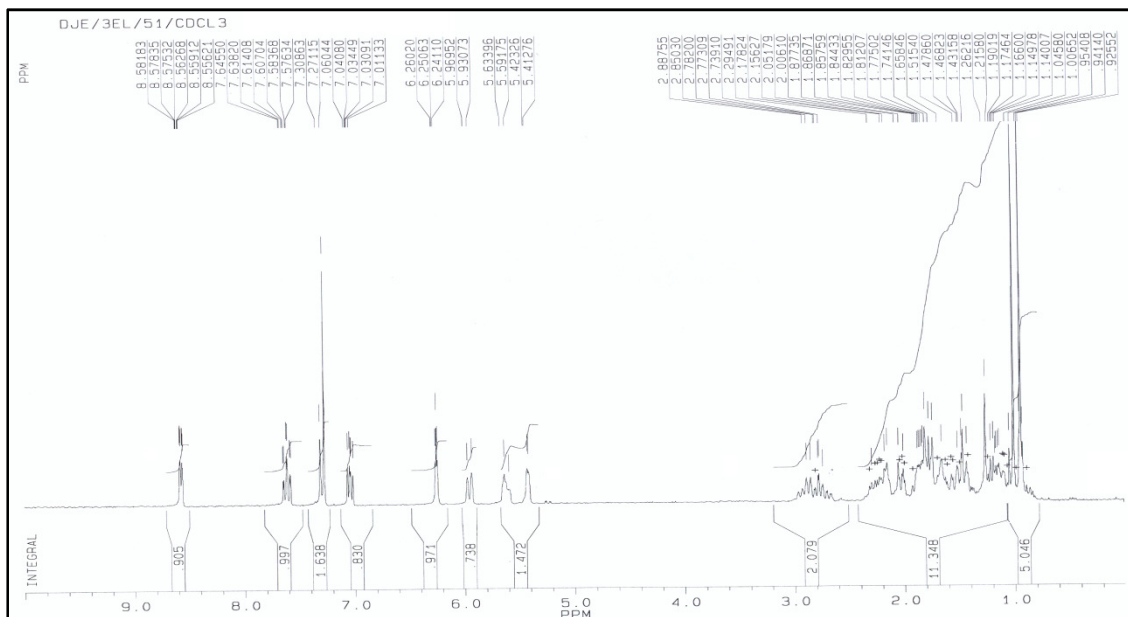


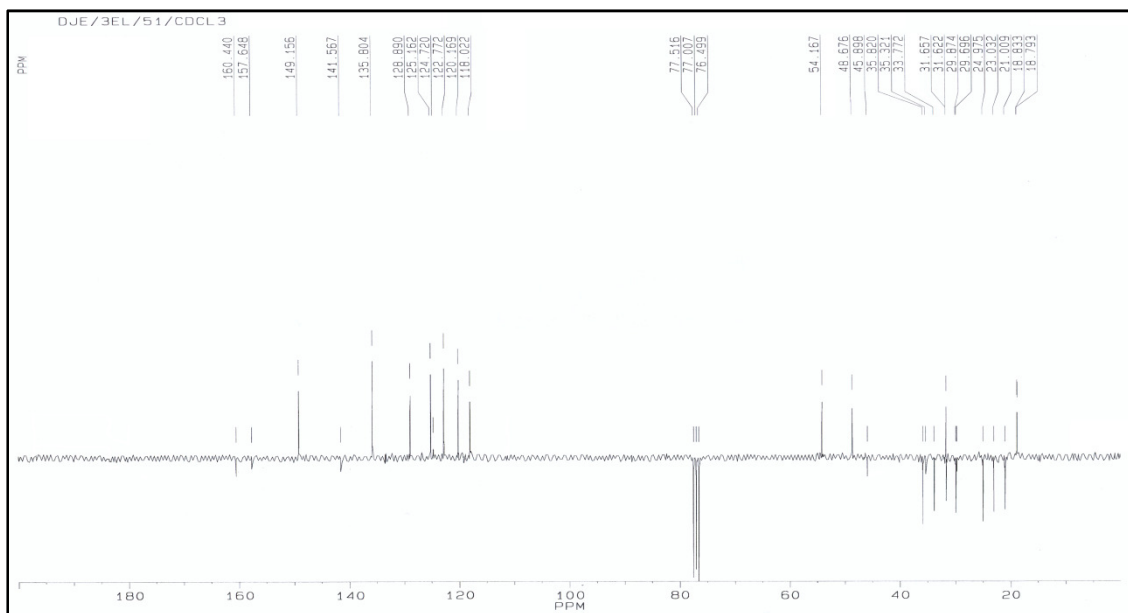
Prilog 7.117. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 38



Prilog 7.118. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 38

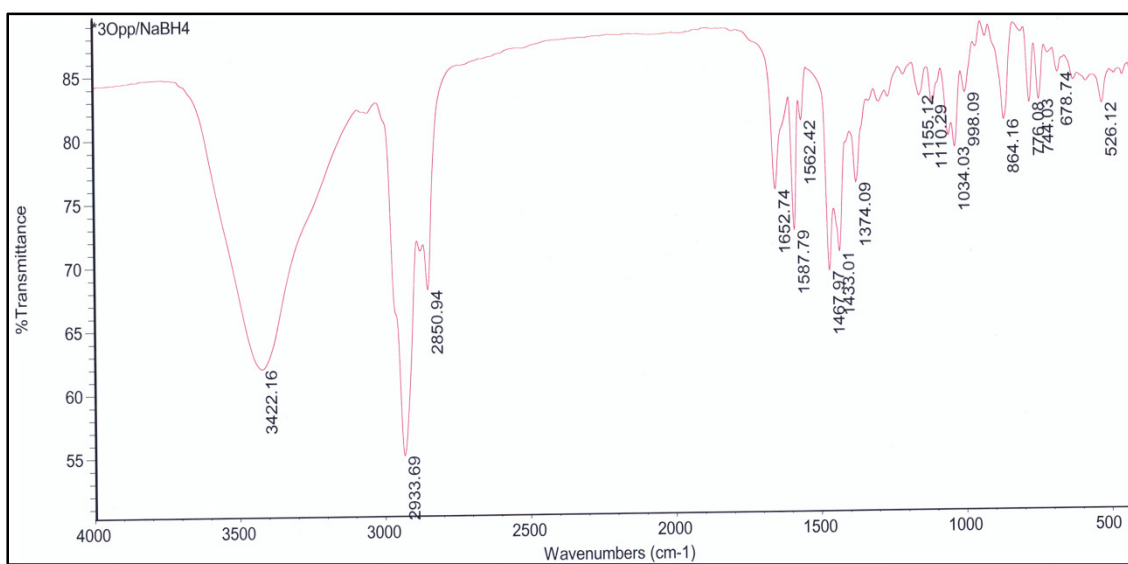
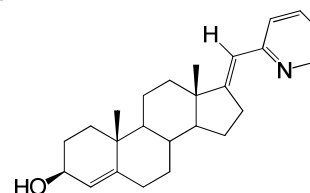


**17(E)-Pikoliniliden-androsta-3,5-dien (39)****Prilog 7.119.** IR spektar jedinjenja **39****Prilog 7.120.** <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja **39**

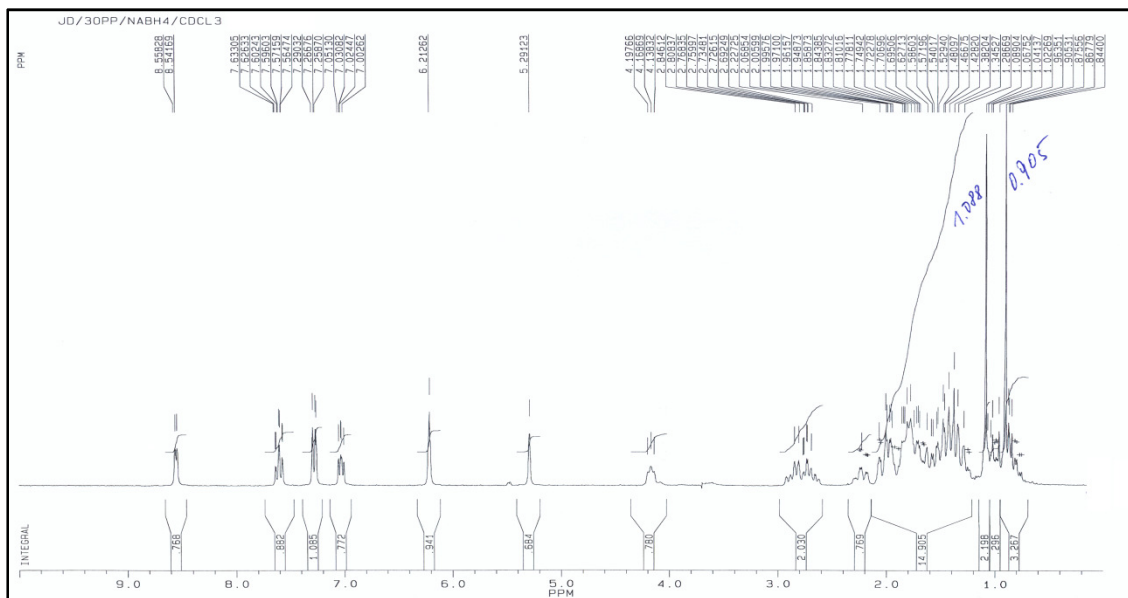
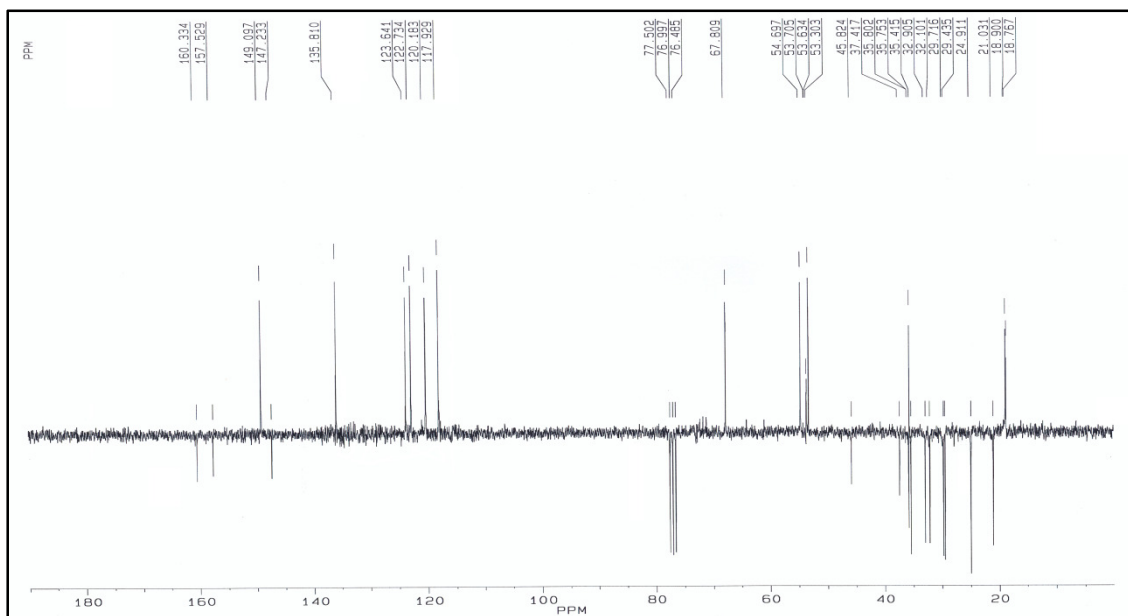


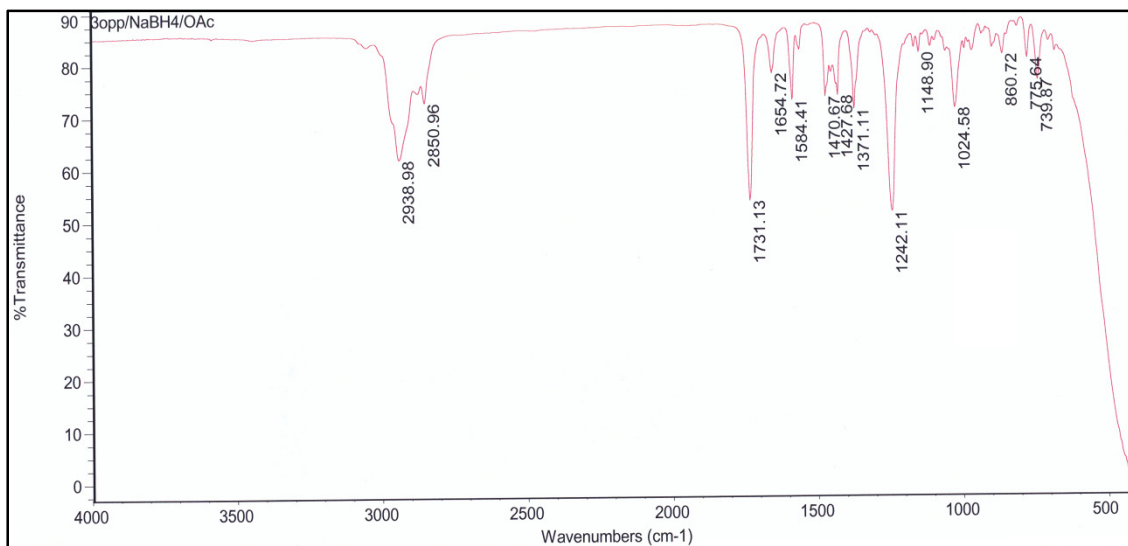
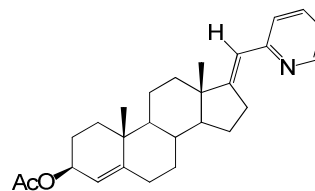
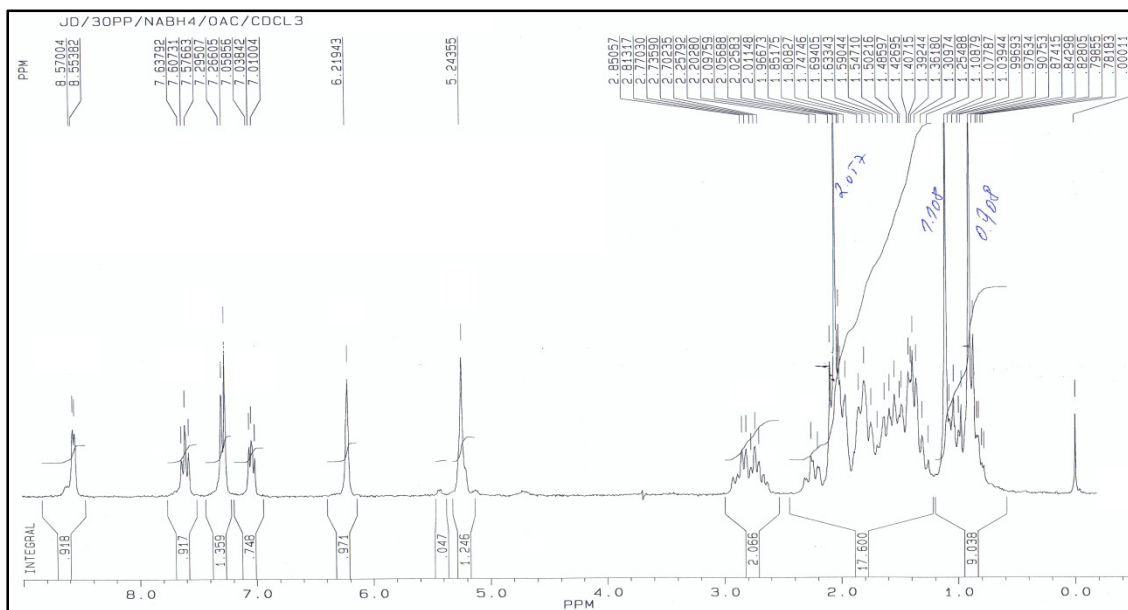
Prilog 7.121.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 39

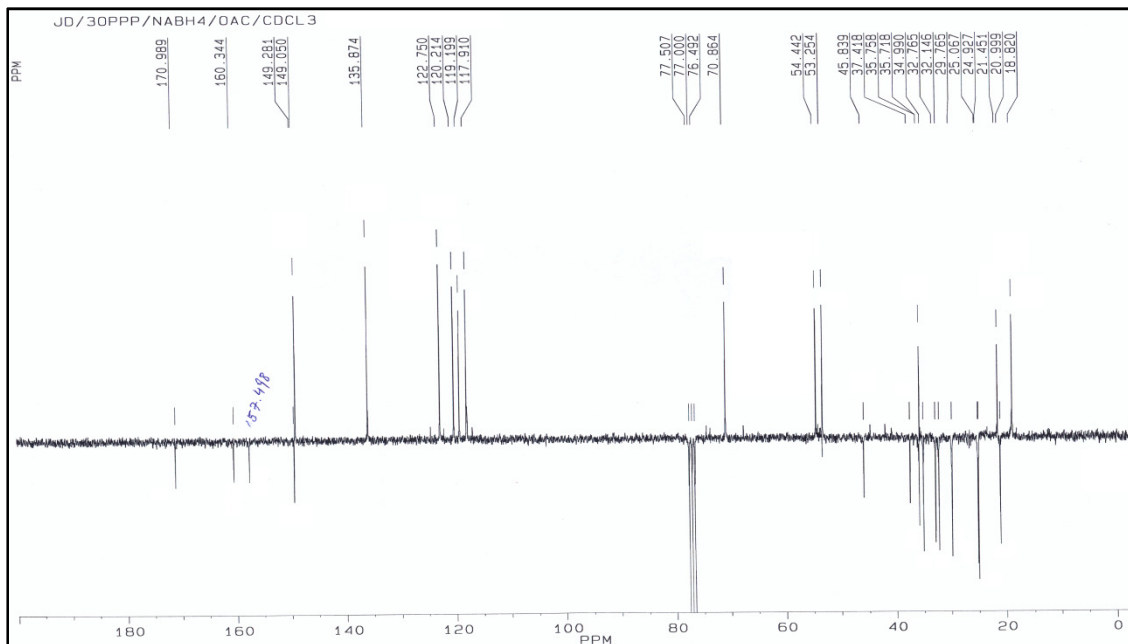
**17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -ol (40)**



Prilog 7.122. IR spektar jedinjenja 40

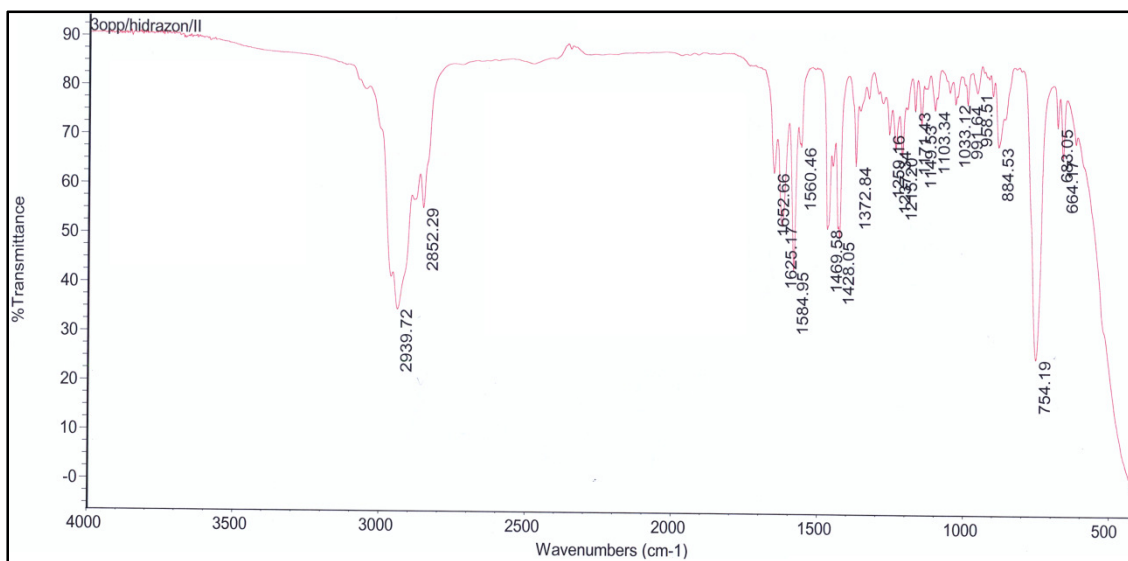
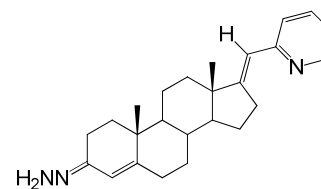
Prilog 7.123.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 40Prilog 7.124.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 40

**17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3 $\beta$ -il acetat (41)***Prilog 7.125.* IR spektar jedinjenja **41***Prilog 7.126.* <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja **41**

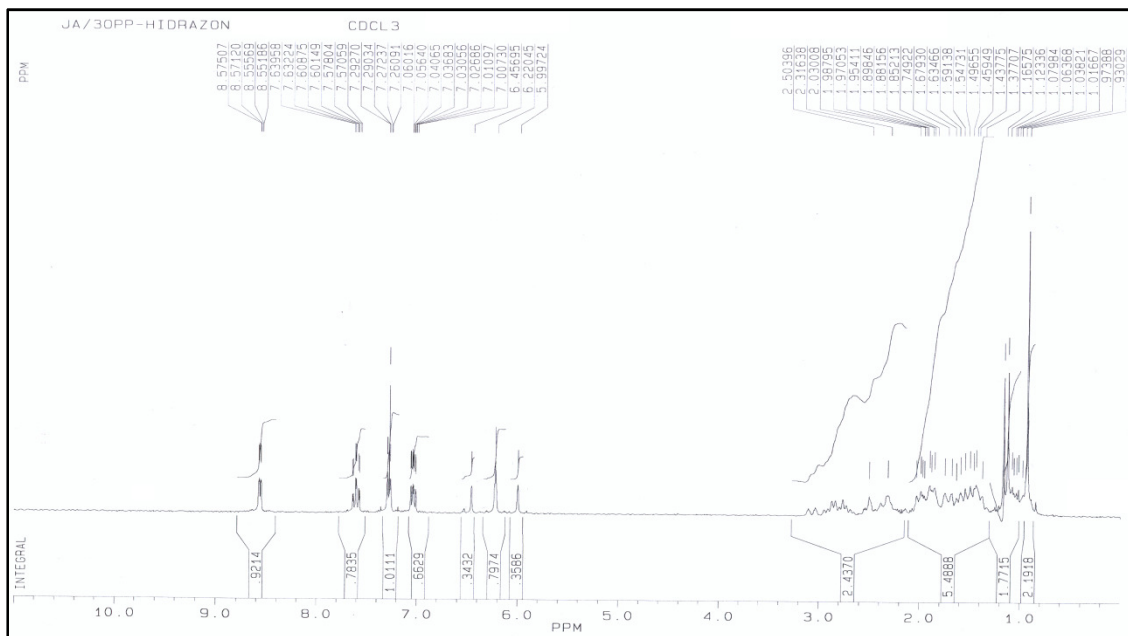


Prilog 7.127.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 41

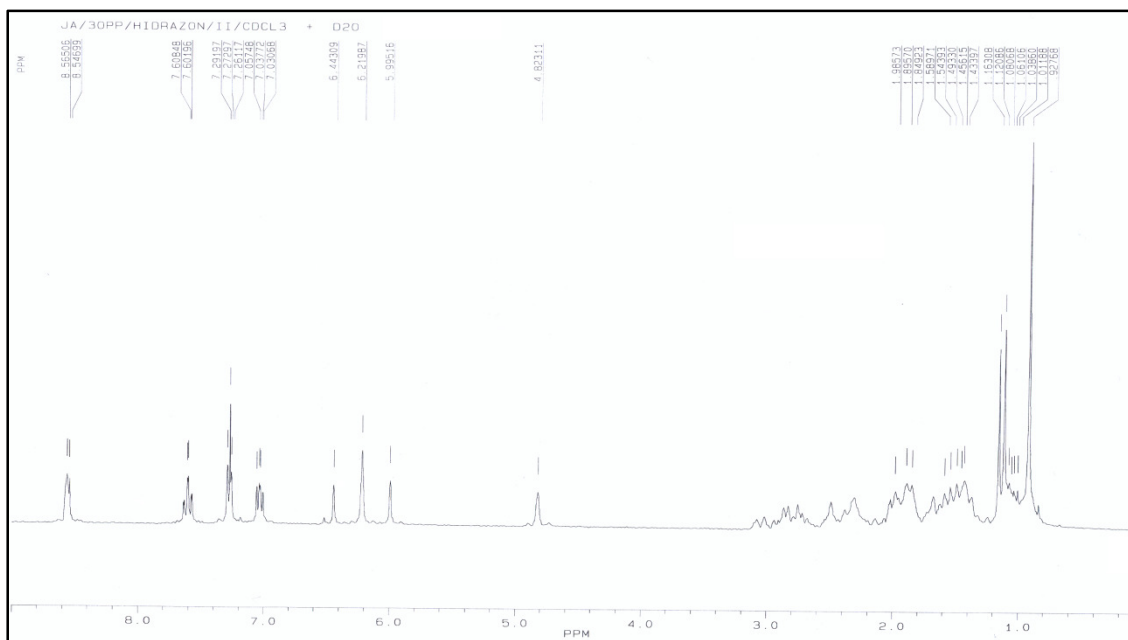
**17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3-hidrazon (42)**



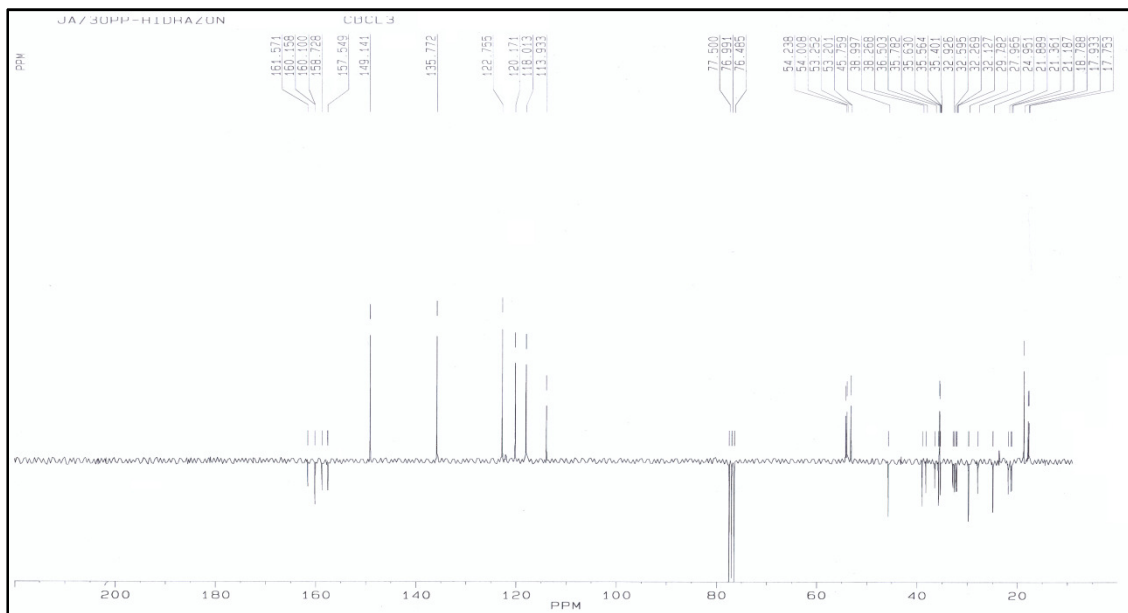
Prilog 7.128. IR spektar jedinjenja 42



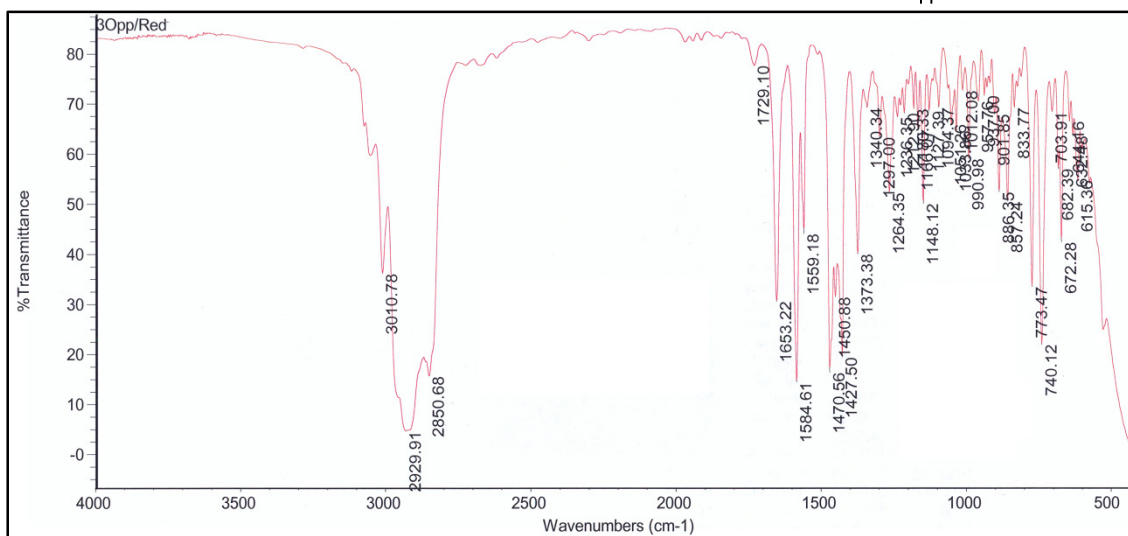
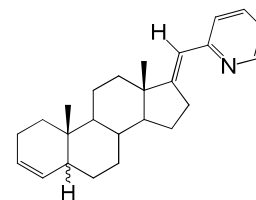
**Prilog 7.129.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **42**



**Prilog 7.130.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **42** (snimljen u prisustvu D<sub>2</sub>O)

Prilog 7.131.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 42

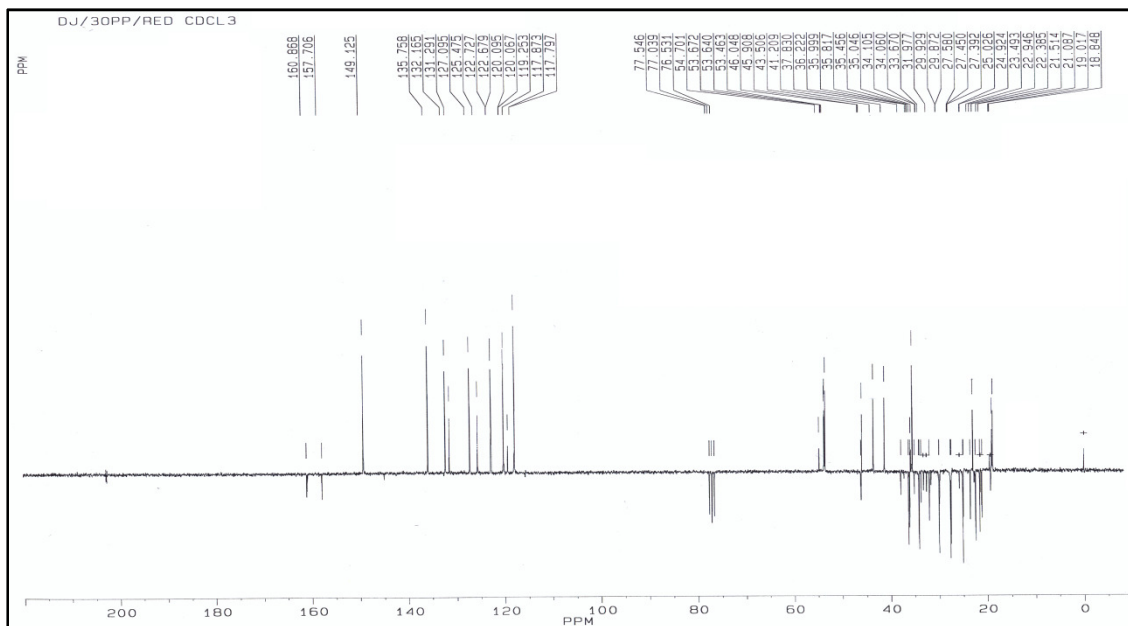
**17(E)-Pikoliniliden-5 $\alpha$ -androst-3-en (44) i 17(E)-pikoliniliden-5 $\beta$ -androst-3-en (45)**



Prilog 7.132. IR spektar smeše jedinjenja 44 i 45

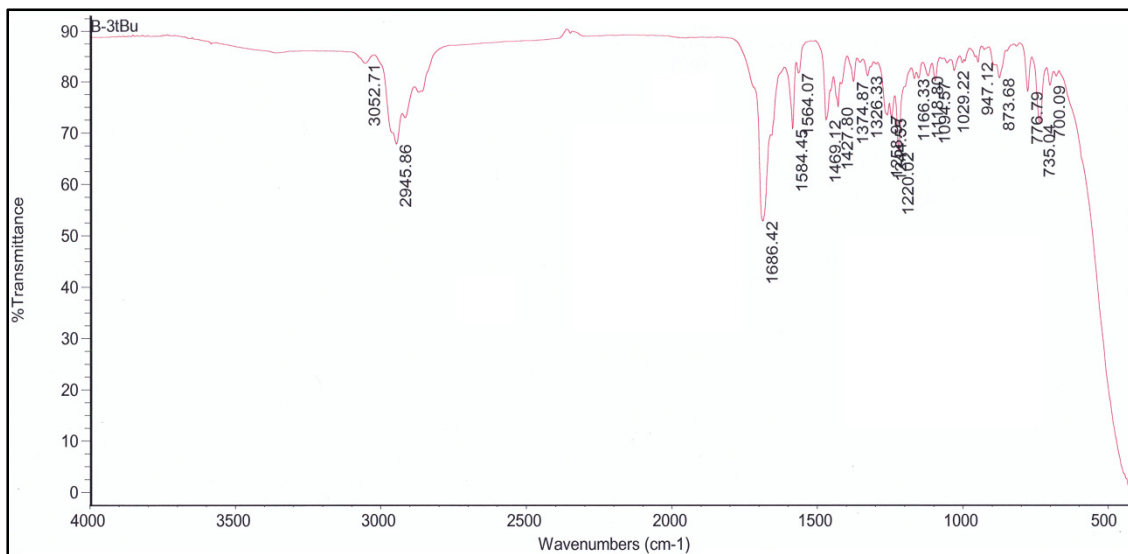
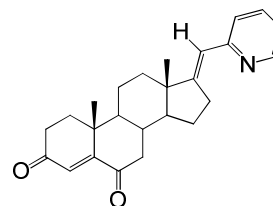




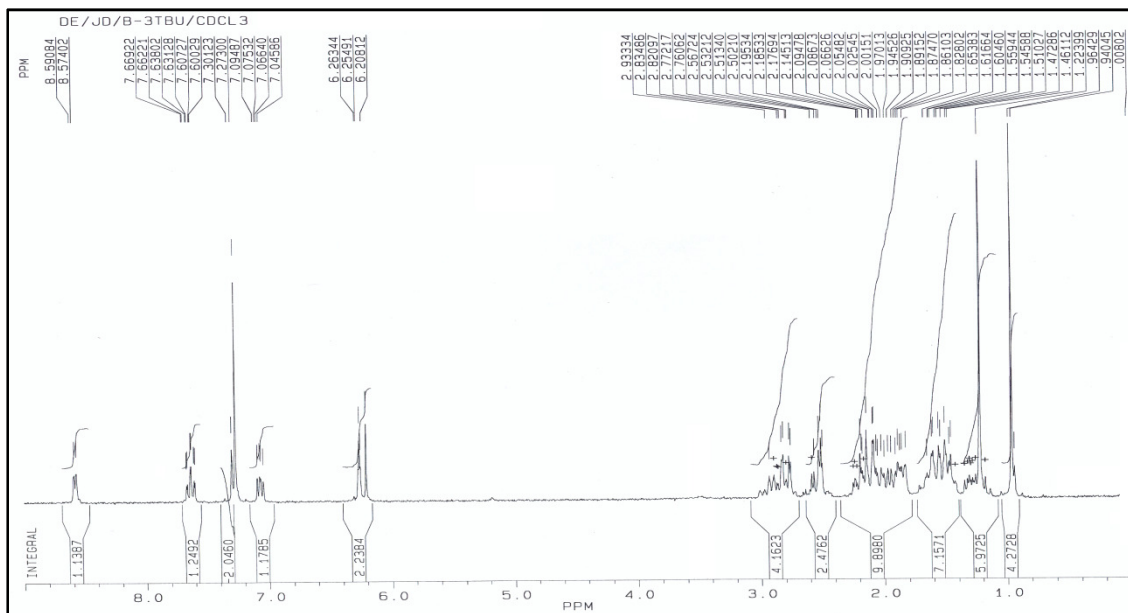
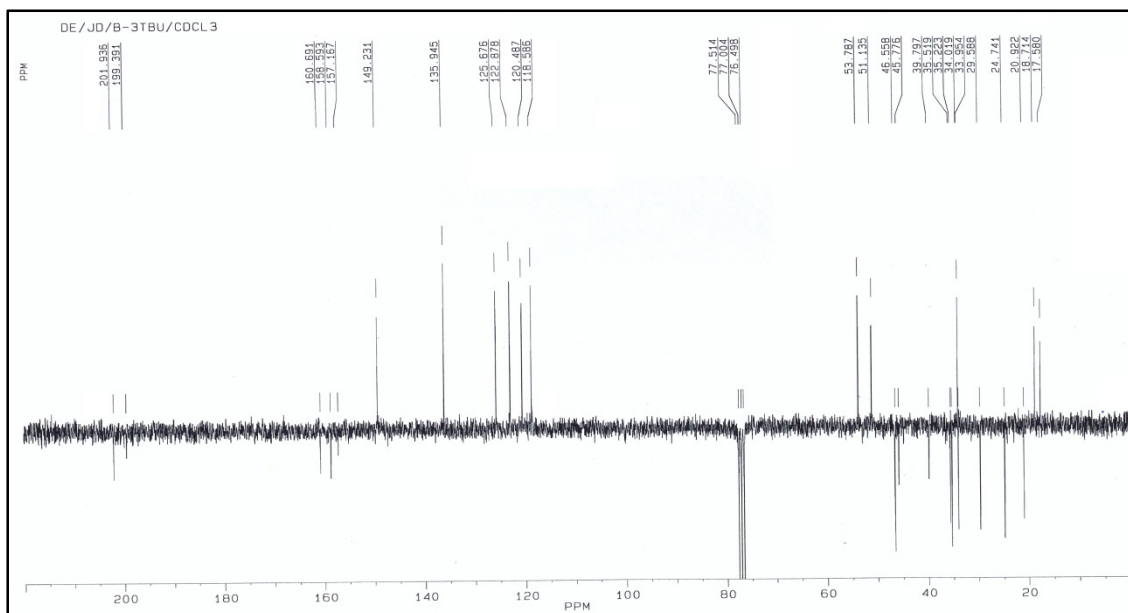


Prilog 7.135.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja **44** i **45**

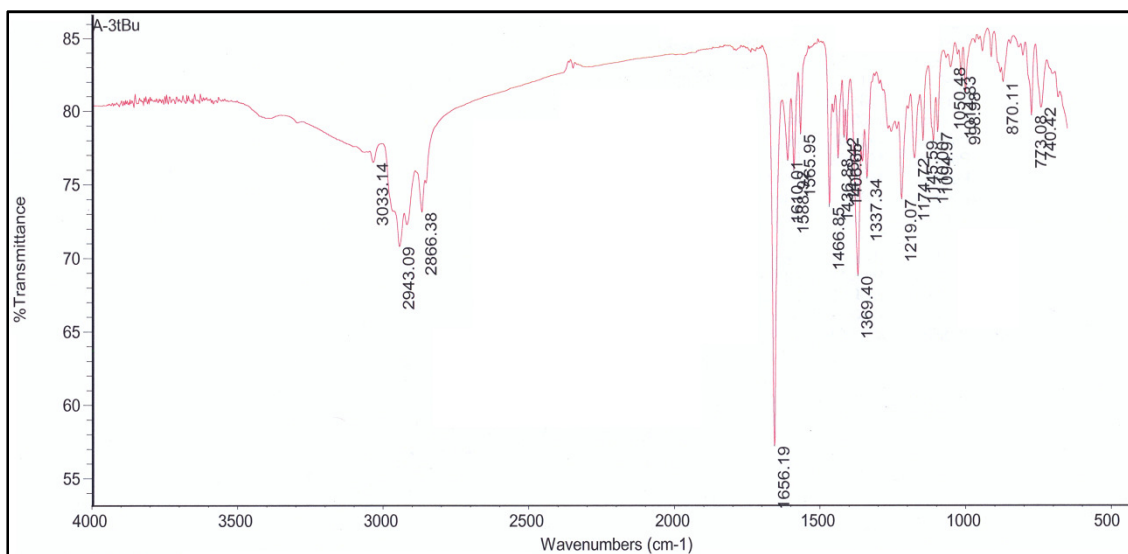
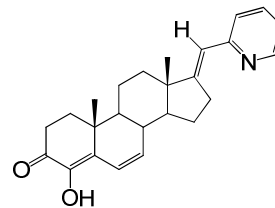
**17(E)-Pikoliniliden-androst-4-en-3,6-dion (46)**



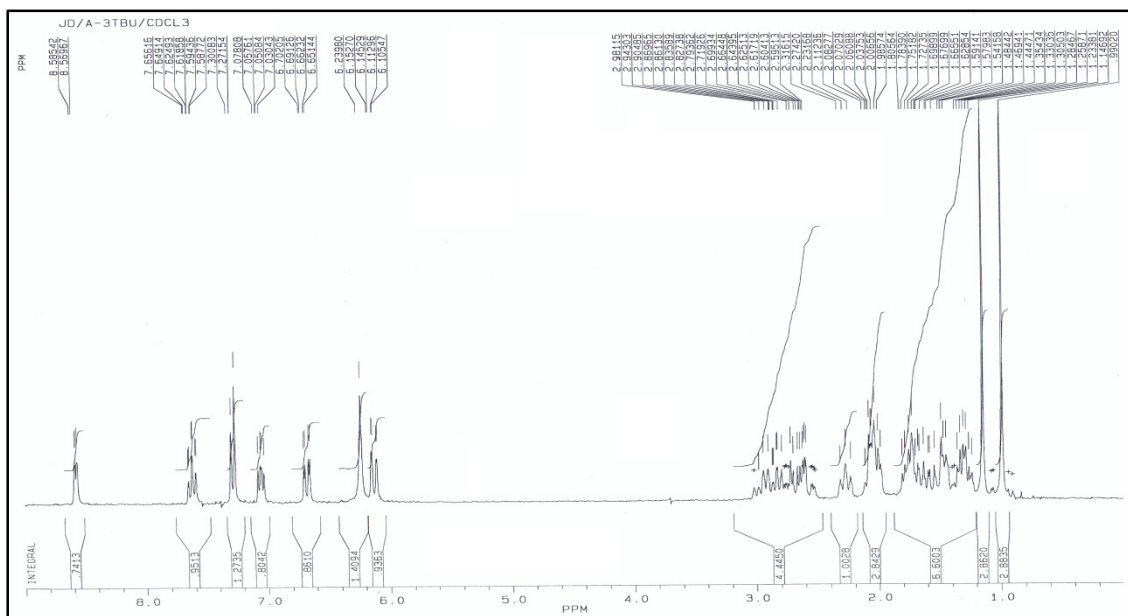
Prilog 7.136. IR spektar jedinjenja **46**

Prilog 7.137. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 46Prilog 7.138. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 46

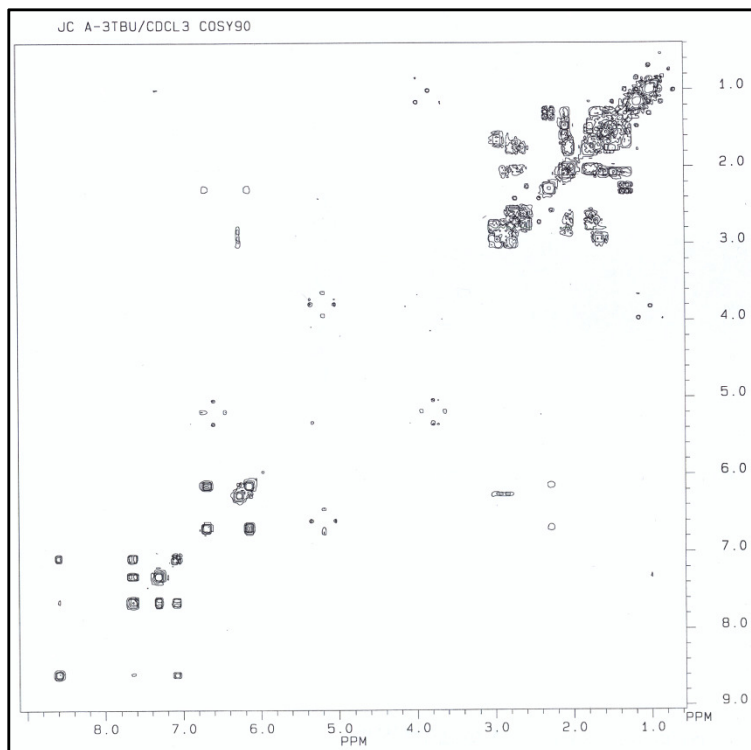
### 4-hidroksi-17(*E*)-pikoliniliden-androsta-4,6-dien-3-on (47)



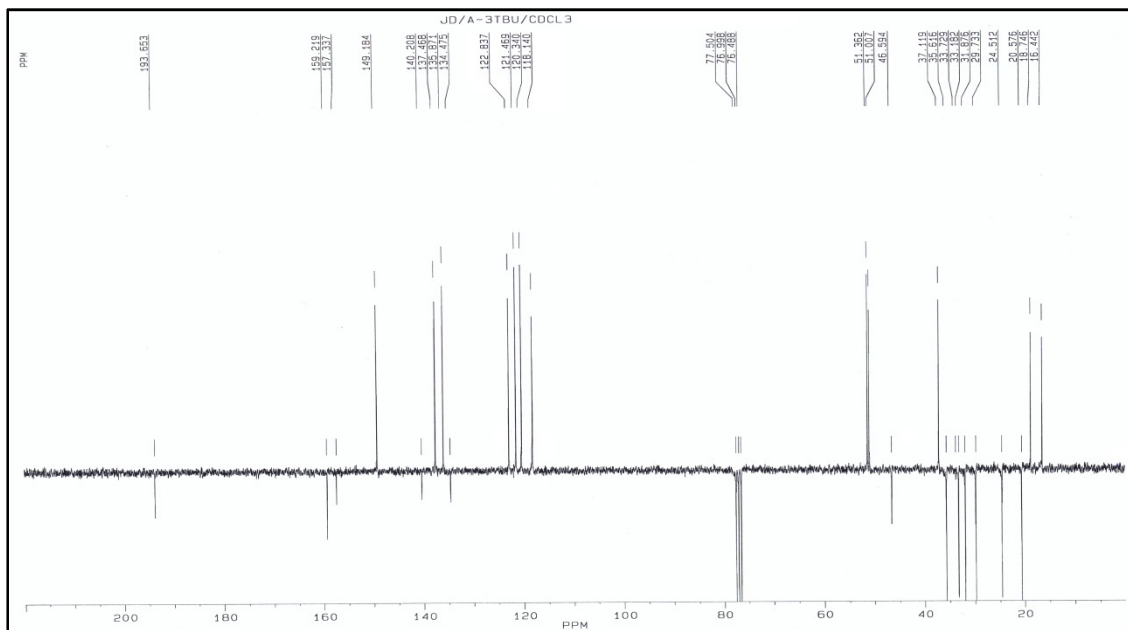
Prilog 7.139. IR spektar jedinjenja 47



Prilog 7.140. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 47

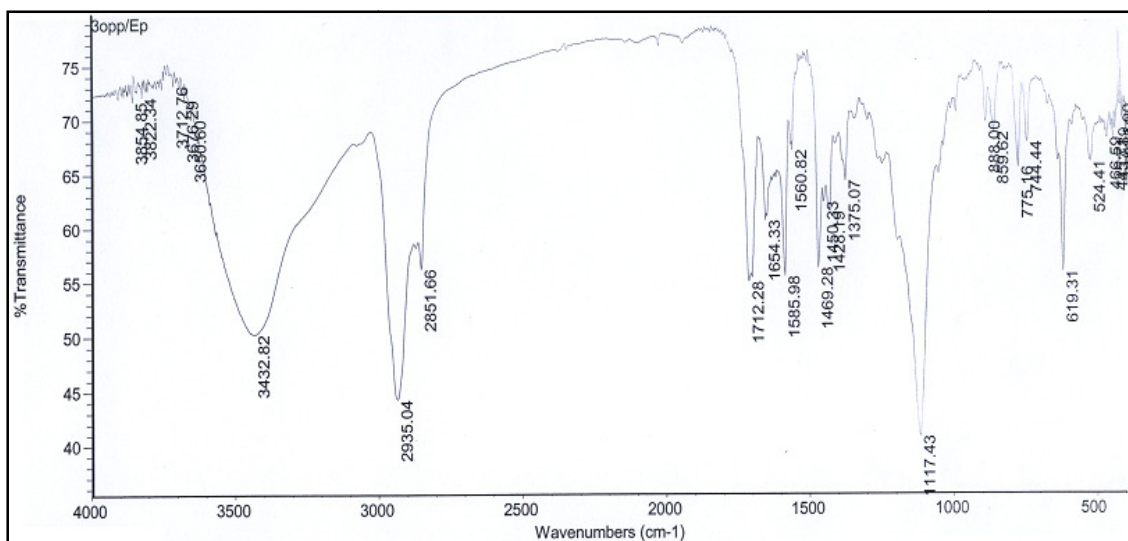
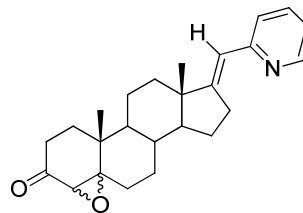


Prilog 7.141. COSY spektar jedinjenja 47

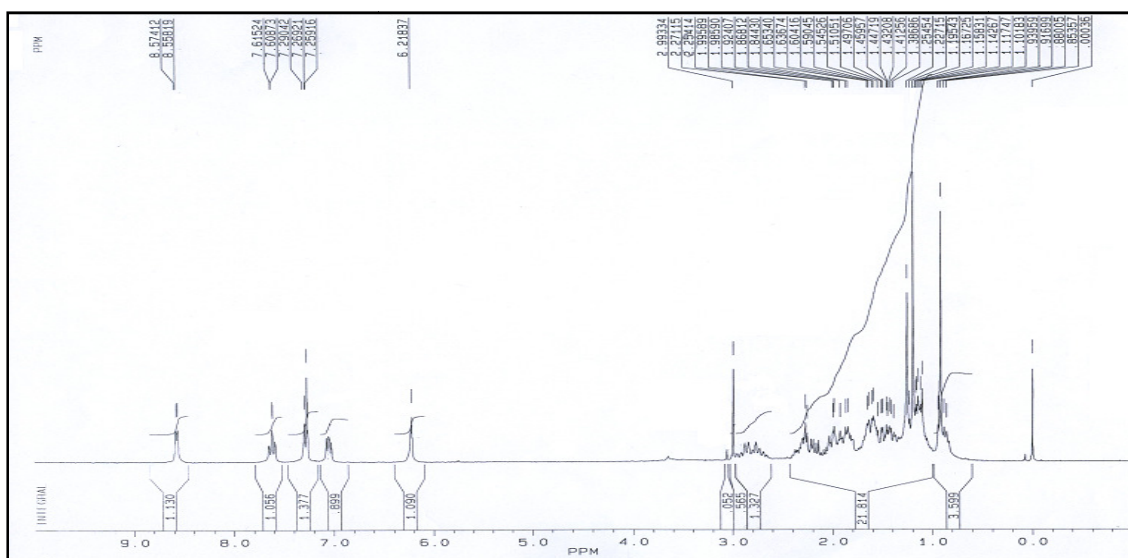


Prilog 7.142. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 47

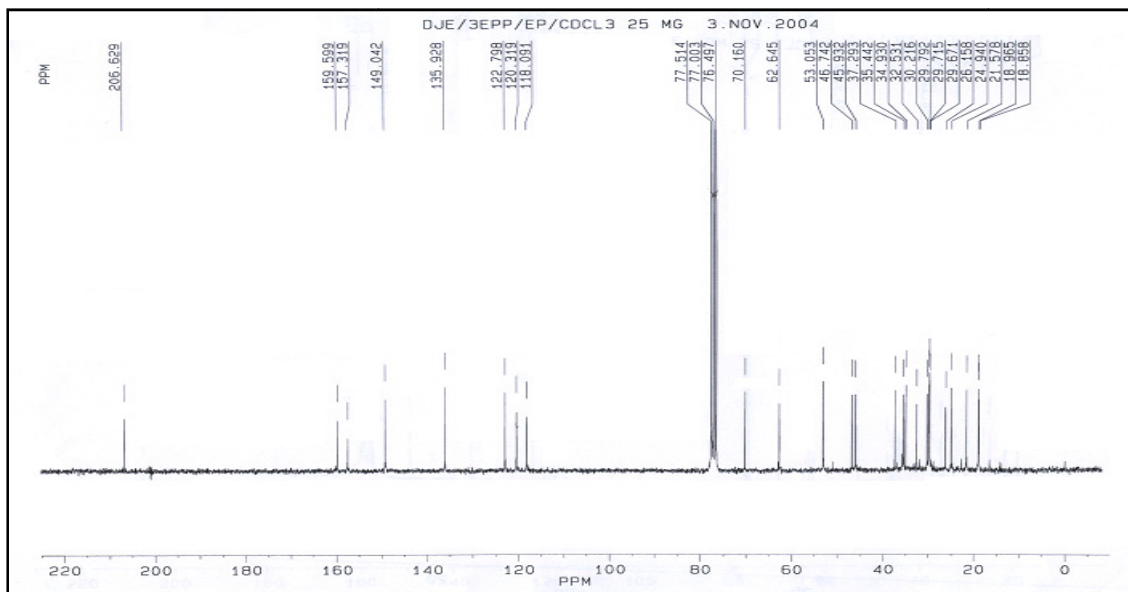
**4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -Epoksi-17(*E*)-pikoliniliden-androstan-3-on (48) i  
4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoksi-17(*E*)-pikoliniliden-androstan-3-on (49)**



**Prilog 7.143.** IR spektar smeše jedinjenja **48** i **49**

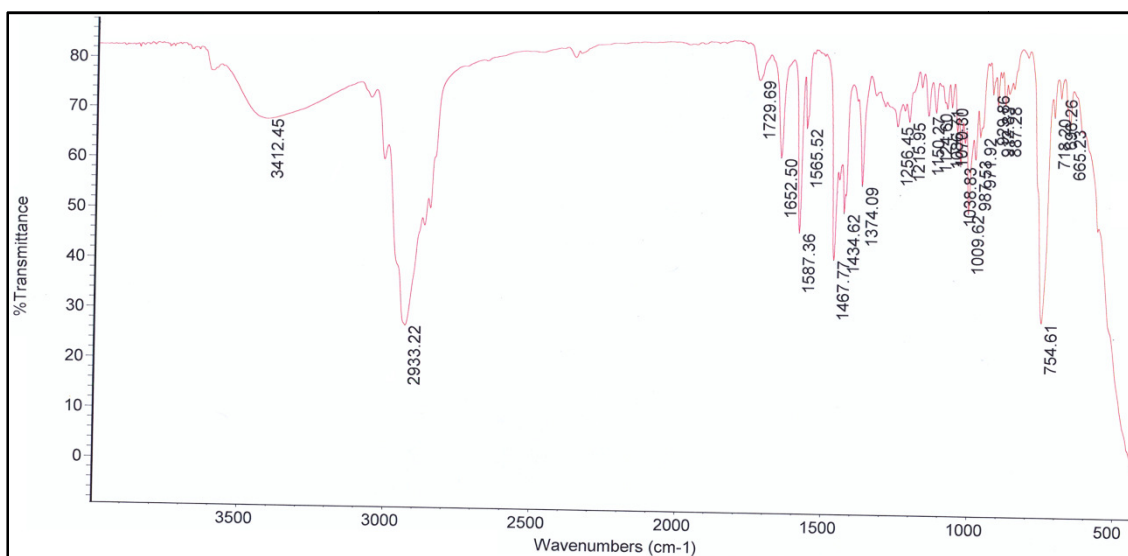
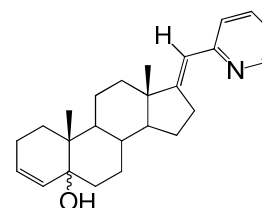


**Prilog 7.144.** <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja **48** i **49**

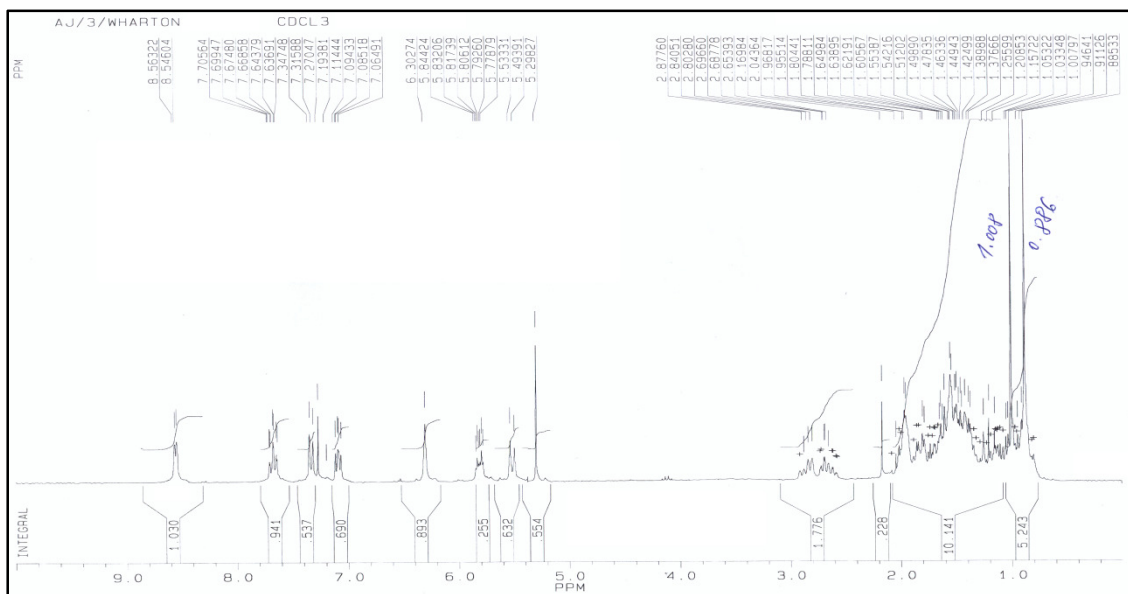
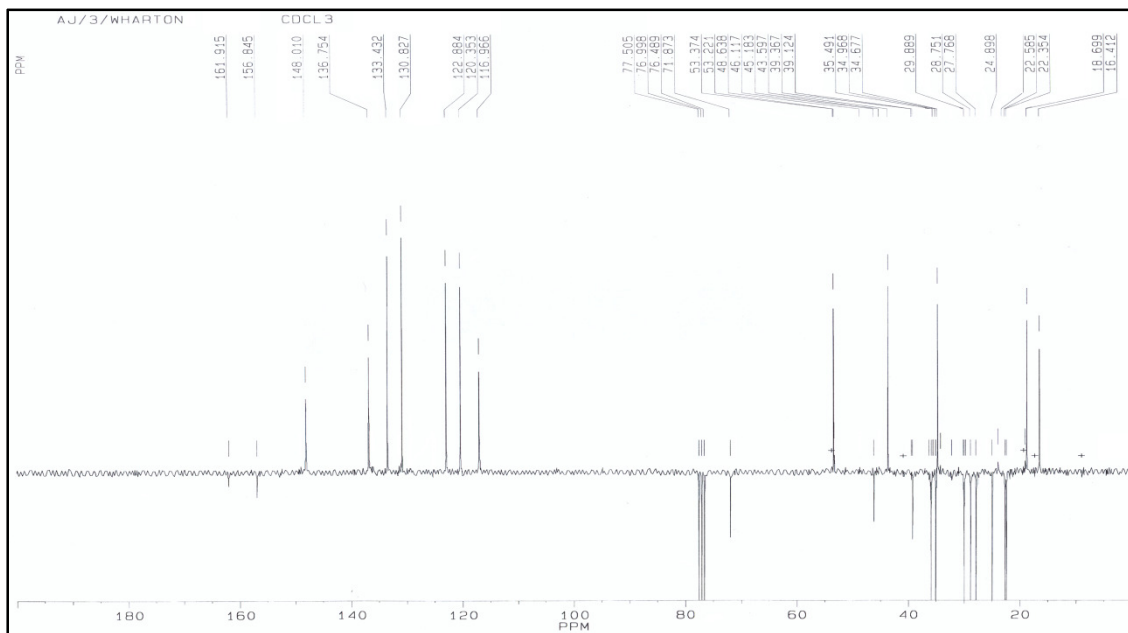


Prilog 7.145.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar smeše jedinjenja 48 i 49

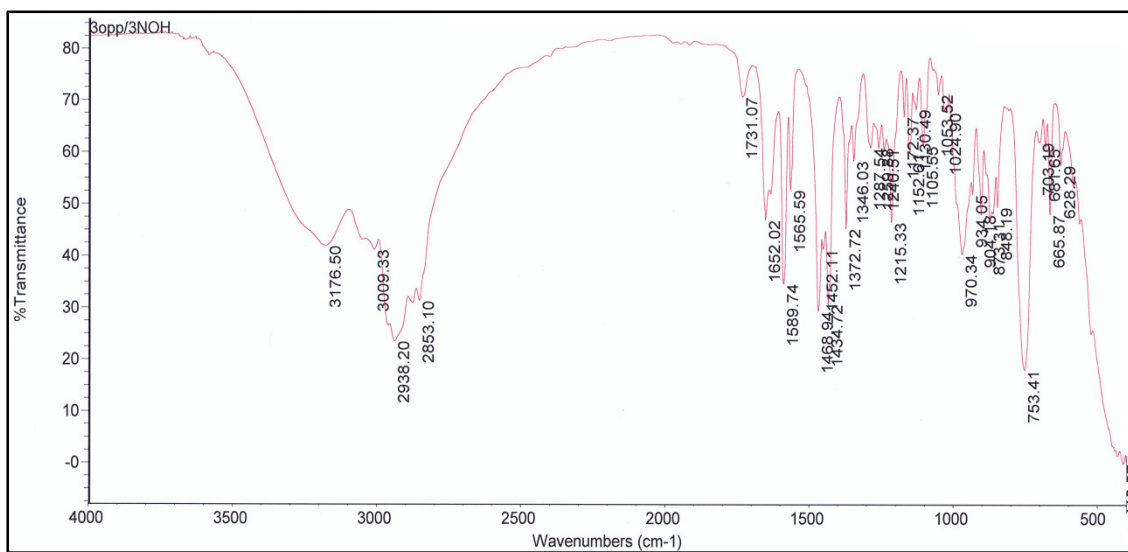
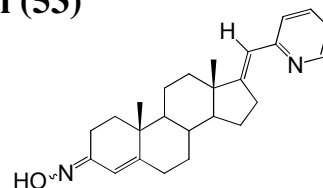
### 17(E)-Pikoliniliden-androst-3-en-5 $\alpha$ -ol (50)



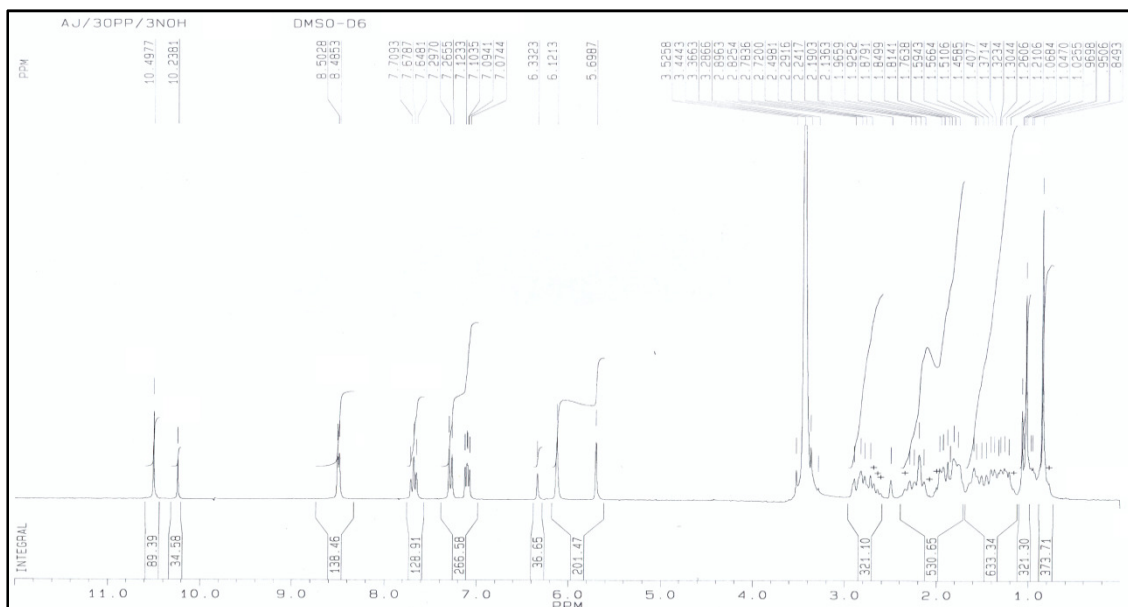
Prilog 7.146. IR spektar jedinjenja 50

Prilog 7.147. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 50Prilog 7.148. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 50

**3(E)-Hidroksimino-17(E)-pikoliniliden-androst-4-en (52) i 3(Z)-hidroksimino-17(E)-pikoliniliden-androst-4-en (53)**



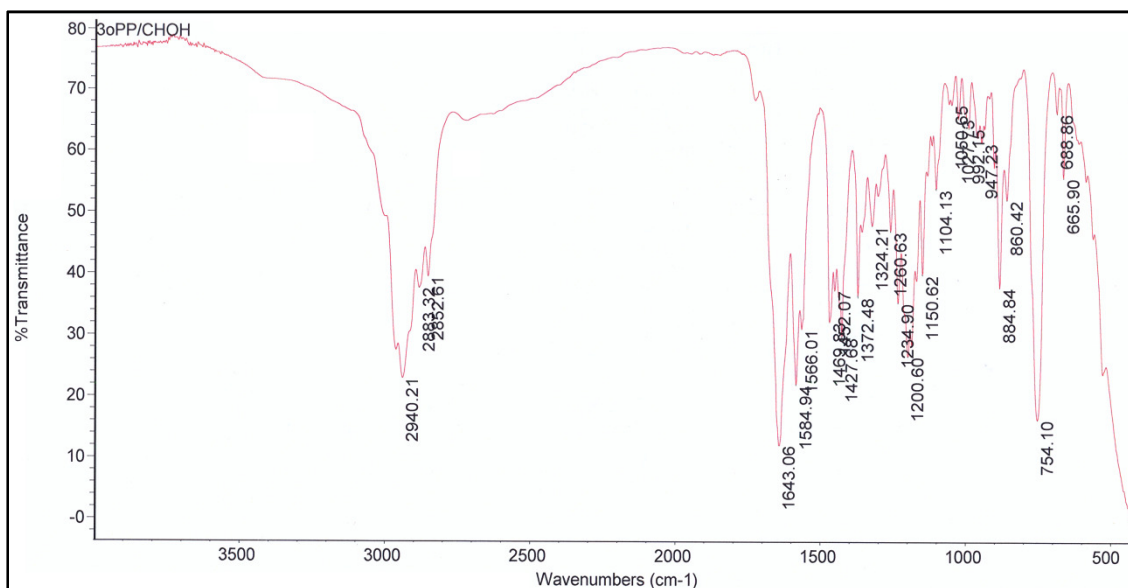
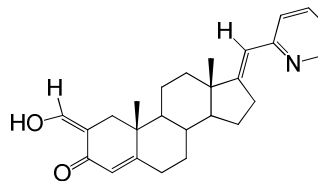
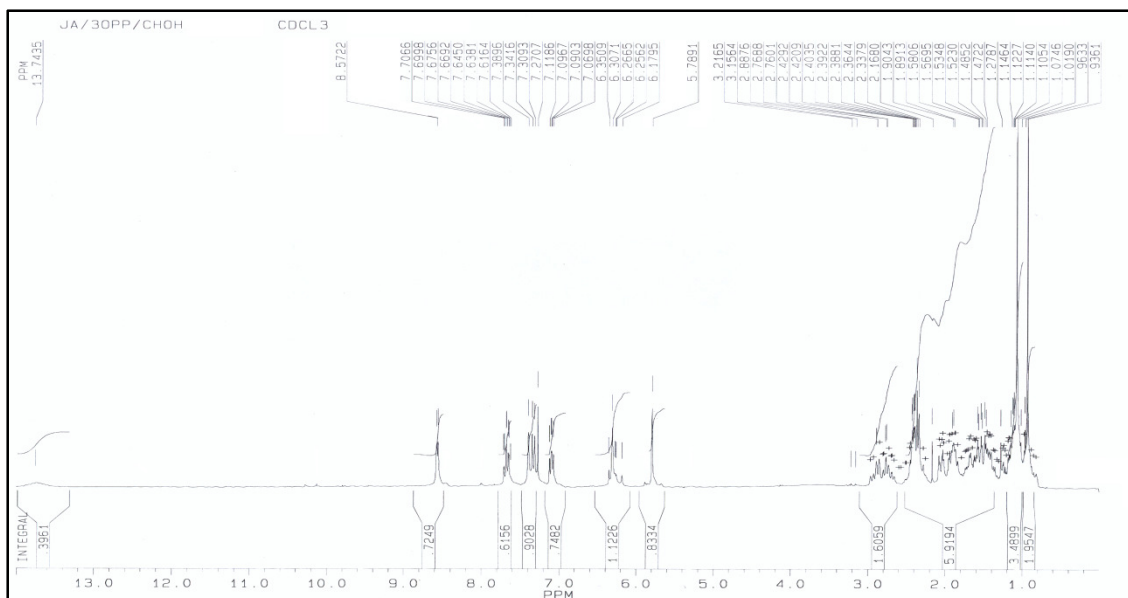
**Prilog 7.149.** IR spektar smeše jedinjenja 52 i 53

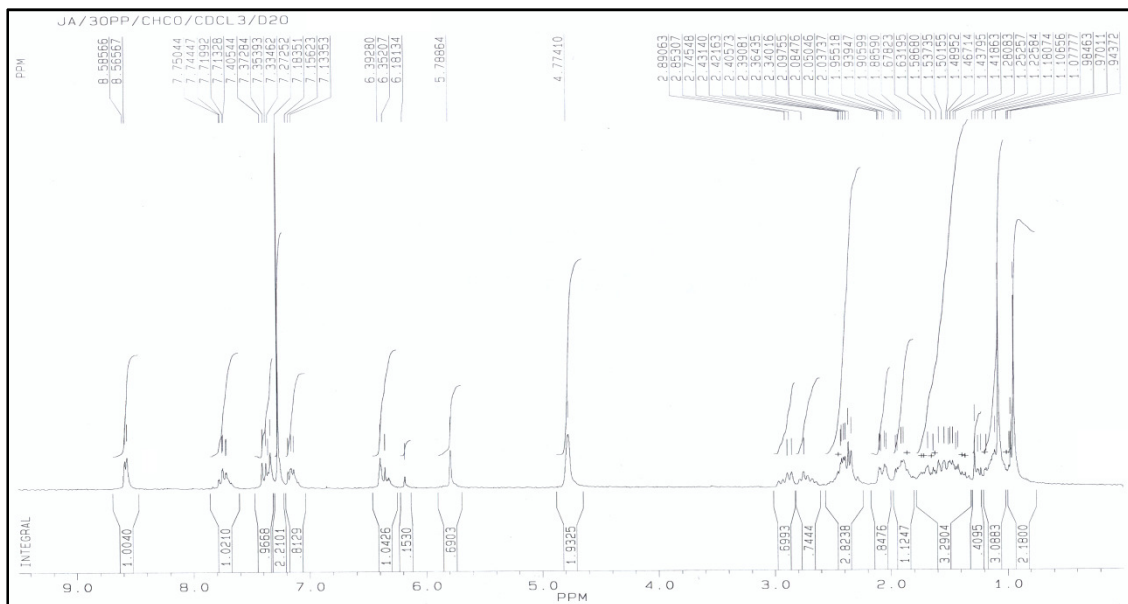


**Prilog 7.150.** <sup>1</sup>H NMR spektar smeše jedinjenja 52 i 53

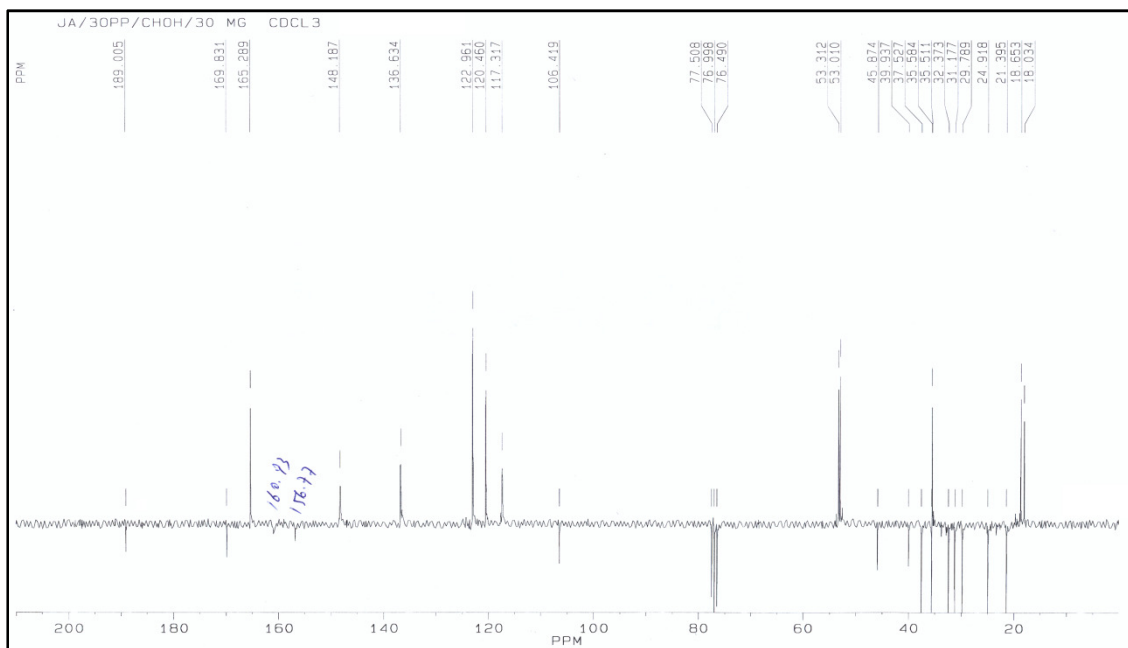




**2(Z)-Hidroksimetilen-17(E)-pikoliniliden-androst-4-en-3-on (54)****Prilog 7.153.** IR spekter jedinjenja **54****Prilog 7.154.** <sup>1</sup>H NMR spekter jedinjenja **54**

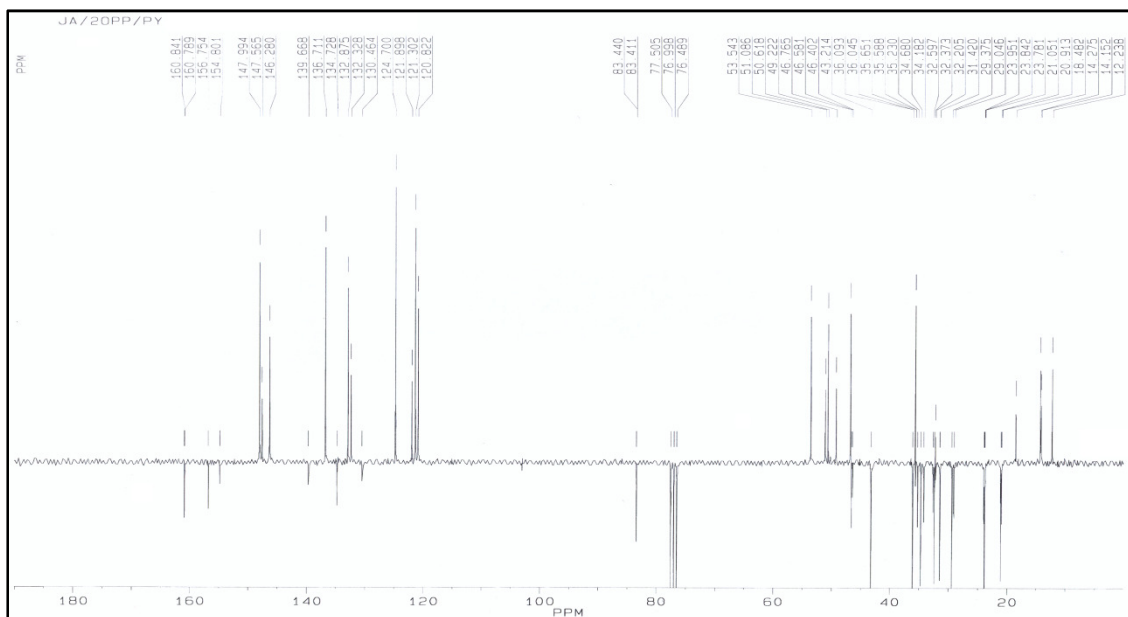


Prilog 7.155.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **54** (snimljen u prisustvu  $\text{D}_2\text{O}$ )

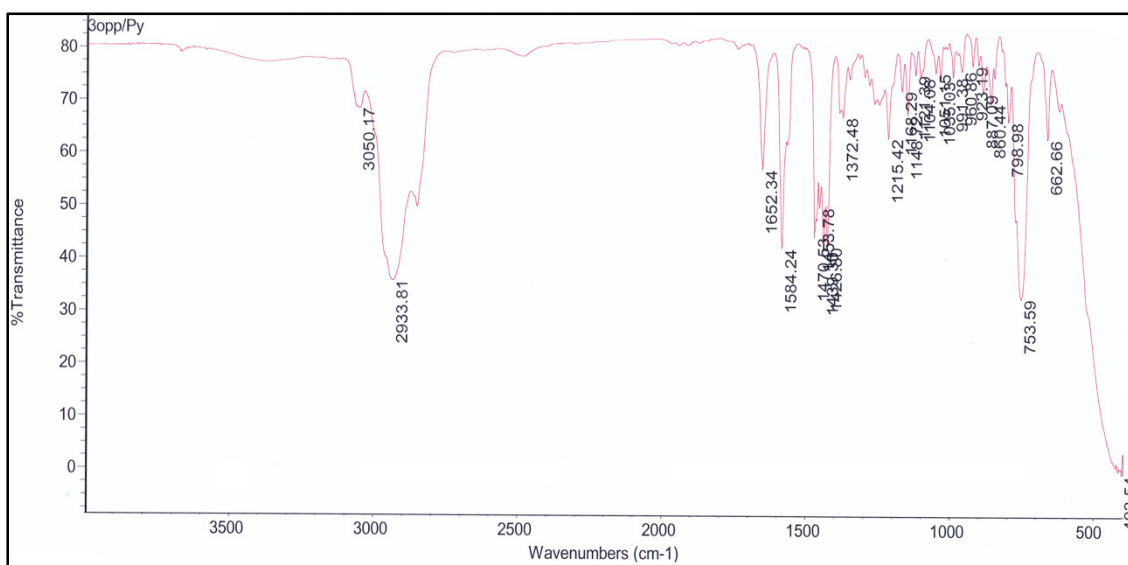
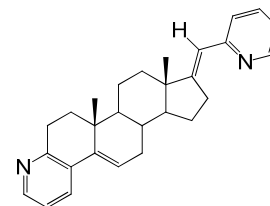


Prilog 7.156.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja **54**

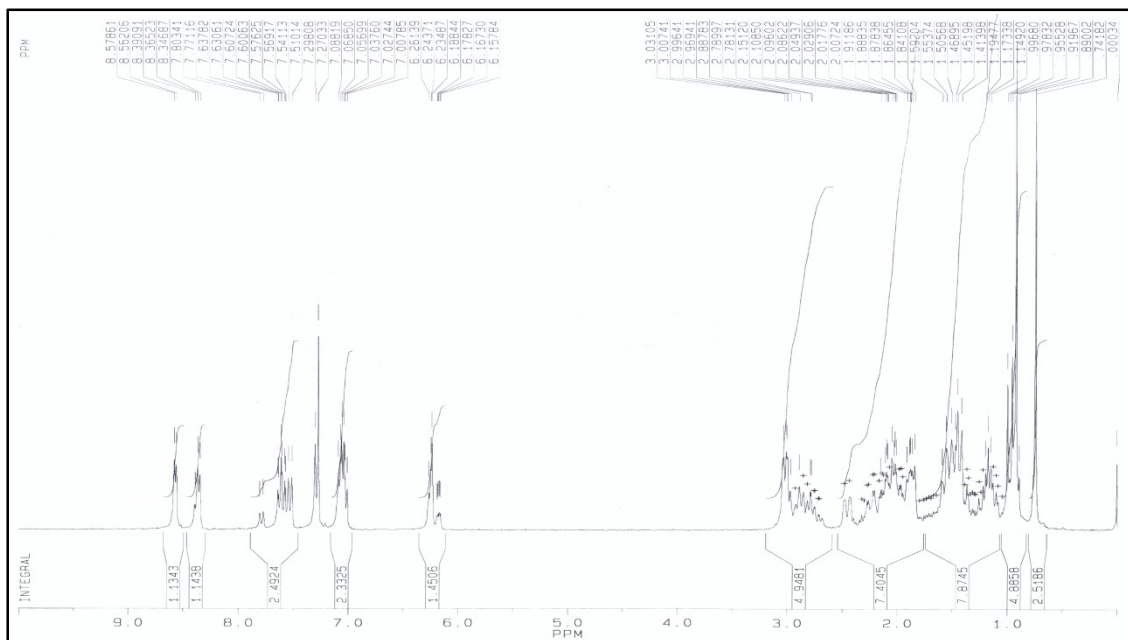


Prilog 7.159.  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 55

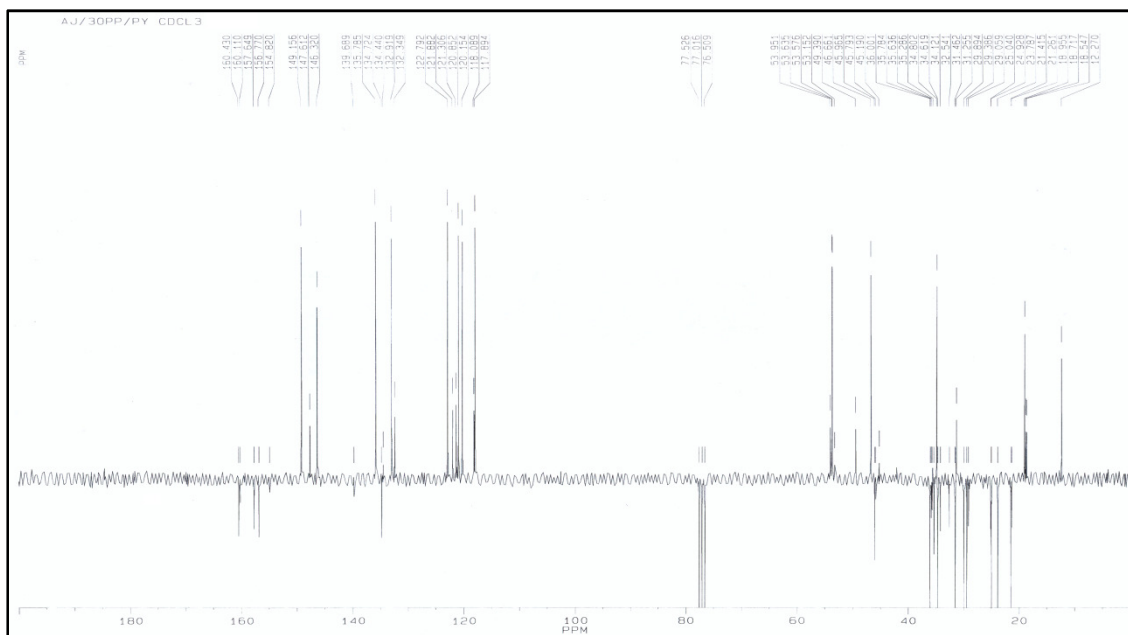
## 17(E)-Pikoliniliden-piridino[2',3':3,4]-androst-5-en (56)



Prilog 7.160. IR spektar jedinjenja 56



**Prilog 7.161.**  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja 56



**Prilog 7.162.**  $^{13}\text{C}$  NMR spektar jedinjenja 56

## 7.2. Intra- i intermolekulske vodonične veze kod jedinjenja 25, 36 i

## 55

**Tabela 7.1.** Dužine formiranih intra- i intermolekulskih vodoničnih veza kod jedinjenja 25, 36 i 55.

| <b>D–H...A</b>     | <b>D–H</b><br>(Å) | <b>H...A</b><br>(Å) | <b>D...A</b><br>(Å) | <b>D–H...A</b><br>(°) |
|--------------------|-------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| <b>25</b>          |                   |                     |                     |                       |
| O2 --H2...N1       | 0.80(3)           | 2.02(3)             | 2.746(4)            | 150(4)                |
| <b>36</b>          |                   |                     |                     |                       |
| O1 --H1.....N1     | 0.82(3)           | 2.01(4)             | 2.762(5)            | 151(4)                |
| O2 --H2.....O3     | 1.07(5)           | 1.49(5)             | 2.496(6)            | 155(5)                |
| <b>55</b>          |                   |                     |                     |                       |
| O1W --<br>H1W...N2 | 0.89(5)           | 1.91(5)             | 2.800(5)            | 176(5)                |





## 8. BIOGRAFIJA



Jovana J. Ajduković (rođ. Daljev) je rođena 26. juna 1979. godine u Novom Sadu. Osnovnu školu "Mihajlo Pupin" u Veterniku je završila 1994. godine, a Srednju hemijsko-tehnološku školu "Đorđe Zličić" u Novom Sadu 1998. godine. Iste godine je upisala studije na Departmanu za hemiju, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, koje je završila februara 2004. godine sa prosečnom ocenom 8.88. Magistarske studije je upisala 2004.

godine na Departmanu za hemiju PMF-a, smer hemija, uža naučna oblast organska hemija, a magistarski rad pod nazivom "Sinteza novih 17-pikolil i 17-pikoliniliden derivata 5-androstena i njihova biološka aktivnost" je odbranila 2008. godine.

U zvanje istraživača-pripravnika u naučnoj oblasti hemija izabrana je 2005. godine, a od februara 2006. godine je i zaposlena kao istraživač-pripravnik na PMF-u u Novom Sadu, na Departmanu za hemiju, gde je od 2006. do 2010. godine bila angažovana na naučno-istraživačkom projektu pod nazivom "Sinteza i fizičko-hemijska ispitivanja odabranih organskih jedinjenja od potencijalnog farmakološkog značaja" (projekat br. 142052), Ministarstva nauke Republike Srbije. U zvanje istraživača-saradnika je prvi put izabrana marta 2009. godine, a reizabrana januara 2012. godine. Od 2011. godine pa do danas je angažovana na naučno-istraživačkom projektu pod nazivom "Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekulskih agregata", (projekat br. 172021), Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Od novembra 2011. god., odnosno februara 2012. god. je angažovana kao istraživač na dva međunarodna projekta (IPA prekogranični program Srbija-Mađarska), u trajanju od dve godine.

Bavi se naučno-istraživačkim radom iz oblasti organske sinteze, tačnije transformacijama steroidnih jedinjenja, u cilju dobijanja potencijalno biološki aktivnih jedinjenja, kao mogućih citotoksičnih agenasa.

Osim u naučno-istraživačkom radu angažovana je u izvođenju studentskih vežbi na Katedri za Organsku hemiju na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu. Školske 2004/05 i 2005/06. godine je bila angažovana na vežbama na Medicinskom fakultetu u Novom Sadu, na Zavodu za farmaciju.

Do sada je učestvovala u izradi oko 30 diplomskih radova, dva master rada a takođe je učestvovala u predstavljanju studijskog programa Departmana za hemiju u srednjim školama širom Vojvodine. Koautor je jednog rada publikovanog u međunarodnom časopisu kategorije M21, četiri rada u međunarodnim časopisima kategorije M23, jednog rada publikovanog u časopisu nacionalnog značaja M52, osam naučnih saopštenja referisanih na međunarodnim naučnim skupovima, kao i dvanaest saopštenja na nacionalnim naučnim skupovima.

Član je Srpskog hemijskog društva.

U Novom Sadu,  
24.05.2013.

---

Mr Jovana J. Ajduković

**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 Jovana J. Ajduković

AU

Mentor:

Dr Evgenija Đurendić

MN

red. prof. PMF-a u Novom Sadu

Naslov rada:

Sinteza i biološka aktivnost 17-supstituisanih

NR

androstanskih derivata

Jezik publikacije:

Srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda:

srpski / engleski

JI

Zemlja publikovanja:

Srbija

ZP

Uže geografsko područje:

Vojvodina

UGP

Godina:

2013.

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 8; strana 276; lit. citata 217; tabela 4; shema 84;  
slika 196 (od toga 162 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  
životne sredine, PMF, Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića  
3.

ČU

Važna napomena:

Nema

VN

Izvod:

U prvom delu ove doktorske disertacije je izvršena sinteza novih 17 $\alpha$ -pikolil i 17(*E*)-pikoliniliden androstanskih derivata, sa modifikacijama u A- i/ili B-prstenovima. U drugom delu rada je ispitana antiproliferativna aktivnost odabranih novosintetizovanih jedinjenja prema humanim tumorskim ćelijskim linijama (MCF-7, MDA-MB-231, PC-3, HeLa, HT-29 i A549) kao i prema zdravim ćelijama fetalnih fibroblasta pluća (MRC-5).

Datum prihvatanja teme od strane NN veća:

08.03.2012.

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: Jovana J. Ajduković, msc.  
AU  
Mentor: Dr Evgenija Đurendić  
MN Faculty of Sciences, Department of Chemistry,  
Biochemistry and Environmental Protection, Novi Sad  
Title: Synthesis and biological activity of 17-substituted  
XI 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: 2013.  
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 8; pages 276; references 217; tables 4; shemes 84;  
PD pictures 196 (of which 162 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 the first part of this dissertation, the synthesis of new  
AB  $17\alpha$ -picolyl and  $17(E)$ -picolinylidene androstane derivatives with modifications in A and/or B rings, were presented. The second part of the work consisted on investigation of antiproliferative activity of selected newly synthesized compounds toward human carcinoma cell lines (MCF-7, MDA-MB-231, PC-3, HeLa, HT-29 and A549), as well as the healthy fetal lung fibroblasts (MRC-5).

Accepted by the Scientific Board on: 08.03.2012.

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