



Univerzitet u Novom Sadu
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu
životne sredine



Aleksandar Oklješa

**SINTEZA I BIOLOŠKA AKTIVNOST NOVIH
STEROIDNIH HETEROCIKLIČNIH JEDINJENJA**

Doktorska disertacija

Novi Sad, 2015.

PREDGOVOR

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

Najveću zahvalnost dugujem svojoj mentorki, **dr Katarini Penov Gaši**, koja mi je nesebično i strpljivo prenosila svoje znanje, iskustvo i mudrost, i čija je pomoć i podrška bila bezrezervna. Zahvaljujem se na dragocenim savetima, posvećenom vremenu i razumevanju tokom izrade doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem **dr Janošu Čanadiju**, redovnom profesoru PMF-a u Novom Sadu, na korisnim savetima tokom izrade doktorske disertacije i na snimanju NMR spektara. Takođe veliku zahvalnost dugujem **dr Mariji Sakač**, redovnom profesoru PMF-a u Novom Sadu, i **dr Evgeniji Đurendić**, redovnom profesoru PMF-a u Novom Sadu, na korisnim savetima i pomoći tokom izrade disertacije. Zahvaljujem se **dr Sonji Đilas**, redovnom profesoru Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, na interesovanju koje je pokazala za ovaj rad.

Zahvaljujem se **MSc Dušanu Škoriću**, istraživač saradnik, na nesebičnoj pomoći oko obuke snimanja NMR spektara, snimanja istih i na sjajnom druženju. Zahvaljujem se **dr Kseniji Pavlović**, asistentu PMF-a u Novom Sadu, na pomoći prilikom izvođenja reakcija u mikrotalasnom reaktoru i na lepom druženju. Zahvaljujem se **dr Branislavu Joviću**, docentu PMF-a u Novom Sadu, i **MSc Branku Kordiću**, istraživač-saradnik, na snimanju IR spektara.

Veliku zahvalnost dugujem **dr Gordani Bogdanović**, **dr Vesni Kojić**, specijalistima medicinske genetik **Dimitru Jakimovu** i **Lidiji Aleksić** sa Instituta za onkologiju, Sremska Kamenica, na određivanju biološke aktivnosti sintetizovanih jedinjenja, kao i **dr Oliveri Klisurić**, vanrednom profesoru PMF-a u Novom Sadu, na rezultatima rentgeno-strukturne analize.

Zahvaljujem se **dr Suzani Jovanović-Šanti**, docentu PMF-a u Novom Sadu, na pomoći oko tumačenja rezultata bioloških testova i na korisnim savetima u toku izrade teze.

Posebnu zahvalnost za nesebičnu pomoć, savete, podršku, dobronamernu kritiku i sjajno druženje od prvog dana mog boravka u laboratoriji dugujem **dr Andrei Nikolić**, docentu PMF-u Novom Sadu. Takođe veliku zahvalnost za pomoć, podršku i druženje dugujem **Nemanji Nikoliću**, laborantu PMF-a.

*Zahvalnost za pomoć i podršku u izradi doktorske disertacije dugujem dragim kolegama: **dr Jovani Ajduković, dr Marini Savić, Srđanu Bjedovu, MSc Ivani Kuzminac, Otu Arčonu, Ester Foro, MSc Jeleni Marković, Silviji Kantardžić, dr Bojani Vasiljević i dr Ljubici Grbović**, koji su mi pomogli u rešavanju različitih laboratorijskih problema.*

*Posebno bih se zahvalio **Jasmini Šušnjar** za nesebičnu pomoć, безусловnu podršku, razumevanje i prelepom druženju.*

*Nemerljivu zahvalnost što su pozitivno uticali na moj životni put, na pruženoj ljubavi, безусловnoj podršci, podsticaju i na veri u uspeh dugujem mojim **roditeljima, baki** i bratu **Vladimiru** koji je najzaslužniji što sam još kao dete zavoleo prirodne nauke. Takođe želim da se zahvalim bratovoj supruzi **Nađi** i njihovoj deci na ljubavi i druženju.*

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Opšti deo	3
2.1. Sinteza i cikloadicione reakcije azida	3
2.2. Sinteza i reakcije nitrona	22
2.3. Sinteza i cikloadicione reakcije nitril-oksida	41
2.4. Biološka aktivnost odabranih heterocikličnih jedinjenja	49
3. Rezultati i diskusija	55
3.1. Sinteza androstanskih i estranskih D-homo tetrazola 1,3-dipolarnom cikloadicijom <i>in situ</i> generisanih 17-azido-16-nitrila	55
3.1.1. Sinteza androstanskih D-homo tetrazola	55
3.1.2. Sinteza estranskih D-homo tetrazola	66
3.2. Sinteza D-seko i D-homo steroidnih heterocikličnih jedinjenja androstanske i estranske serije	76
3.2.1. Sinteza D-seko androstanskog izoksazola 1,3-dipolarnom cikloadicijom <i>in situ</i> generisanog nitriloksida i alkina	76
3.2.2. Sinteza 17-aza-D-homo androstanskih i estranskih heterocikličnih derivata	79
3.2.3. Sinteza D-seko androstanskih i estranskih izoksazolina 1,3-dipolarnom cikloadicijom nitrona i alkina	83
3.3. Ispitivanje biološke aktivnosti sintetizovanih jedinjenja	90
3.3.1. <i>In vitro</i> antitumorski potencijal sintetizovanih steroidnih D-homo tetrazola	90
3.3.2. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti D-seko jedinjenja	92
3.3.3. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja	94
3.3.4. Ispitivanje sposobnosti steroidnih D-homo tetrazola i D-seko jedinjenja da indukuju apoptozu i menjaju ćelijski ciklus tumorskih ćelija	98

4. Eksperimentalni deo	101
4.1. 3 β -Hidroksiandrost-5-en-16,17-dion-16-oksim (2)	101
4.2. 3 β ,17 β -Dihidroksiandrost-5-en-16-on-oksim (3)	102
4.3. 3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (4)	102
4.4. 3 β -Acetoksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (5)	102
4.5. 3 β -Acetoksi-17-hidroksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (6)	103
4.6. 3 β -Acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (7)	103
4.7. 3 β -Acetoksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (8)	104
4.8. 3 β -Hidroksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (9)	105
4.9. 3 β ,17 β -Dihidroksi-17 α -metil-androst-5-en-16-on-oksim (10)	105
4.10. 3 β -Acetoksi-17-okso-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (11)	106
4.11. (17 <i>S</i>)-3 β -Acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (12) i (17 <i>R</i>)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (13)	106
4.12. (17 <i>S</i>)-3 β -Acetoksi-17-meziloksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (14) i (17 <i>R</i>)-3 β -acetoksi-17-meziloksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (15)	107
4.13. 3 β -Acetoksi-17 α -metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (16)	108
4.14. 3 β -Hidroksi-17 α -metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (18)	109
4.15. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-17-on (20)	110
4.16. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksim (21)	110
4.17. 3-Benziloksi-17 β -hidroksiestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (22)	111
4.18. 3-Benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (23)	111
4.19. 3-Benziloksi-17-hidroksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (24)	112
4.20. 3-Benziloksi-17-metansulfoniloksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (25)	112
4.21. 3-Benziloksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazol (26)	113
4.22. 3-Hidroksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazol (27)	114
4.23. 3-Benziloksi-17 β -hidroksi-17 α -metilestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (28)	114
4.24. 3-Benziloksi-17-okso-17-metil-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (29)	115

4.25.	3-Benziloksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (30)	115
4.26.	3-Benziloksi-17-metil-17-metansulfoniloksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (31)	116
4.27.	3-Benziloksi-17-metilen-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (32)	117
4.28.	3-Benziloksi-17a β -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (33)	117
4.29.	3-Hidroksi-17a β -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (34)	119
4.30.	3 β -Hidroksi-17-hidroksiimino-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (35)	119
4.31.	3 β -Hidroksi-13-(5'-fenil-izoksazol-3'-il)-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (37)	120
4.32.	3 β -Hidroksi-17a-hidroksiimino-16-okso-17-aza-D-homo-androst-5-en (38) i 3 β -Hidroksi-16,17a-bis(hidroksiimino)-17-aza-D-homo-androst-5-en (39)	121
4.33.	3-Benziloksi-17-hidroksiimino-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (40)	122
4.34.	3-Benziloksi-17a-hidroksiimino-16-okso-17-aza-D-homo-estra-1,3,5(10)-trien (41) i 3-Benziloksi-16,17a-bis(hidroksiimino)-17-aza-D-homo-estra-1,3,5(10)-trien (42)	123
4.35.	<i>N</i> -Metil nitron 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitrila (43)	124
4.36.	3 β -Hidroksi-13-[2'-metil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitrili (44 i 45)	124
4.37.	<i>N</i> -Benzil nitron 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitrila (46)	125
4.38.	3 β -Hidroksi-13-[2'-benzil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitrili (47 i 48)	126
4.39.	<i>N</i> -Metil nitron 3-Benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrila (49)	127
4.40.	3-(Benziloksi)-13-[2'-metil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (50)	128
4.41.	<i>N</i> -Benzil nitron 3-Benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrila (51)	129
4.42.	3-(Benziloksi)-13-[2'-benzil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrili (52 i 53)	130

5. Zaključak	131
6. Skraćenice	136
7. Literatura	138
8. Prilog	144
9. Biografija	197

1. UVOD

Steroidna jedinjenja neprekidno privlače pažnju mnogih naučnih timova širom sveta s obzirom na njihov biološki, sintetski i klinički značaj. Steroidi regulišu različite biološke procese i zato su pogodni molekuli za dobijanje lekova koji se koriste u tretmanu mnogih bolesti, kao što su kardiovaskularne bolesti, autoimune bolesti, tumori mozga, karcinomi dojke i prostate, osteoartritis itd. Većina steroidnih lekova su semi-sintetska jedinjenja sintetizovana pripajanjem posebne strukturne jedinice krutom tetracikličnom steroidnom jezgru. Poslednjih godina je posvećena pažnja sintezi steroidnih heterocikličnih jedinjenja koja predstavljaju potencijalne antikancerogene agense, a pokazuju i druge važne farmakološke osobine. Najčešće korišćena strategija za sintezu, kako nesteroidnih, tako i steroidnih heterocikličnih jedinjenja su 1,3-dipolarne cikloadicione reakcije koje uključuju nitrone, nitril-oksidge ili azide kao dipole, a alkene i alkine kao dipolarofile.

S druge strane, poslednjih godina se sve više pristupa sintezi novih lekova sa stanovišta klik hemije (click chemistry). „Click hemija“ je hemijska filozofija koju su uveli Sharpless i saradnici 2001. godine. Ona je modularan pristup koji koristi samo najpraktičnije i najpouzdanije hemijske transformacije da bi se ubrzala sinteza jedinjenja - potencijalnih lekova i da bi se dobili novi strukturni elementi kao nosioci biološke aktivnosti - farmakofore. Ovaj pristup opisuje hemijske reakcije koje daju nova jedinjenja brzo i efikasno spajanjem manjih molekula, na isti način kao što se dešava u prirodi kada se male modularne jedinice povezuju zajedno da bi dale veće i složenije. Imitiranje prirode „click“ hemijom (sa ili bez katalizatora) u organskoj sintezi lekova dovelo je do otkrića velikog broja novih molekulskih struktura.

Jedan tip „click“ reakcija koji je uticao na otkrivanje novih lekova su 1,3-dipolarne cikloadicije. Dobijanje tetrazola 1,3-dipolarnom cikloadicijom između azida i nitrila se smatra jednim od idealnih primera „click“ hemijske reakcije, pored dobijanja triazola cikloadicijom azida i alkina. Tetrazoli mogu da se sintetišu intermolekulskom ili intramolekulskom 1,3-dipolarnom cikloadicijom. Formiranje tetrazola adicijom azida na nitrile može da bude katalizovano metalnim solima, ali su poznate „click“ reakcije koje protiču i bez katalizatora. Dipolarnom 1,3-cikloadicijom između nitril-oksidge i alkina dobijaju se izoksazoli, a nitroni i alkini daju odgovarajuće izoksazoline.

Poznat je relativno mali broj primera primene „click“ hemije u sintezi steroidnih jedinjenja. „Click“ hemija se uglavnom koristi za izgradnju heterocikličnih prstenova koji se nalaze u steroidnom bočnom nizu. Međutim, poznat je mali broj primera „click“ sinteze kondenzovanih heterocikličnih steroidnih jedinjenja.

Imajući u vidu gore navedene činjenice, cilj ove doktorske disertacije je ispitivanje 1,3-dipolarnih cikloadicionih reakcija kod steroidnih D-seko-azido-nitrila, steroidnih D-seko nitrona i D-seko-nitril-oksidge u cilju sinteze novih steroidnih heterocikličnih jedinjenja sa potencijalnom biološkom aktivnošću. S obzirom da je nitrilna grupa veoma interesantan

dipolarofil, iako je slabije korišćena u oblasti steroidne hemije, jedan od ciljeva disertacije je ispitivanje reaktivnosti nitrilne funkcije u steroidnom jezgru. Ispitivanje biološke aktivnosti dobijenih jedinjenja, i to ispitivanje njihove antiproliferativne aktivnosti prema izvesnom broju ćelijskih linija humanih tumora, predstavlja poseban predmet istraživanja ove doktorske disertacije.

S obzirom na postavljene ciljeve istraživanja, u *Opštem delu* ovog rada dat je detaljan pregled literature u kojoj su opisane metode dobijanja steroidnih i nesteroidnih azida, nitrona i nitril-oksida, kao i njihove 1,3-dipolarne cikloadicije u odgovarajuća heterociklična jedinjenja. Opisana je i biološka aktivnost odabranih heterocikličnih jedinjenja.

U okviru *Rezultata i diskusije* opisane su sinteze novih steroidnih pentacikličnih D-homo tetrazola, D-seko-izoksazolina i D-seko-izoksazola primenom 1,3-dipolarne cikloadicije odgovarajućih steroidnih D-seko azida, nitrona i nitril-oksida. Sintetisani su i novi D-homo-D-aza steroidi. Heterociklični prstenovi u novosintetizovanim heterocikličnim steroidima androstanske i estranske serije se nalaze u sklopu bočnog niza steroida, ili su kondenzovani sa D-prstenom osnovnog steroidnog jezgra. Koncepti „click” hemije i domino reakcija su uklopljeni u sintezu novih heterocikličnih steroida. Posebno je ispitana reaktivnost nitrilne funkcije u steroidnom jezgru kao dipolarofila kod 16,17-seko-16-nitrila androstanske i estranske serije, u prisustvu bakar(I) katalizatora. Detaljno su diskutovani spektroskopski podaci na osnovu kojih su utvrđene strukture novosintetizovanih jedinjenja. Strukture pojedinih jedinjenja su dokazane i na osnovu rentgeno-strukturne analize. Takođe su prikazani i diskutovani rezultati antiproliferativne aktivnosti odabranih jedinjenja prema nekoliko malignih ćelijskih linija. Izvedena je korelacija antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih steroidnih tetrazola i D-seko jedinjenja, kako bi se ispitaio uticaj pojedinih funkcionalnih grupa na antitumorsku aktivnost. Ispitana je sposobnost steroidnih D-homo tetrazola i D-seko jedinjenja da indukuju apoptozu i menjaju ćelijski ciklus tumorskih ćelija.

U *Eksperimentalnom delu* rada su opisani postupci dobijanja polaznih i novosintetizovanih jedinjenja, a njihove strukture su utvrđene na osnovu spektroskopskih podataka. Pojedine strukture su dokazane i rentgenskom strukturnom analizom.

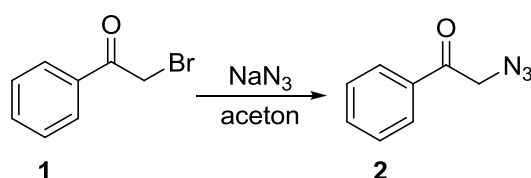
U *Zaključku* su sažeto opisani rezultati rada.

U *Prilogu* su date slike spektara novosintetizovanih jedinjenja.

2. OPŠTI DEO

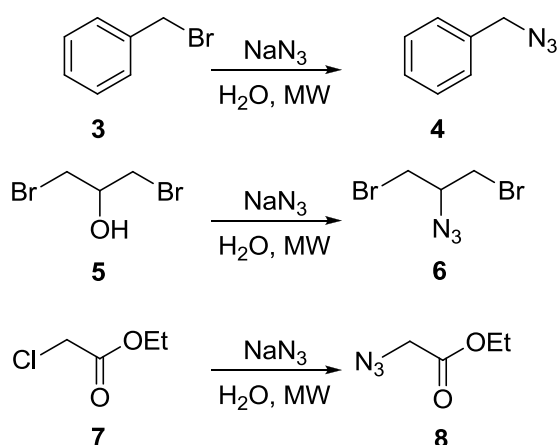
2.1. Sinteza i cikloadicione reakcije azida

Organski azidi pripadaju grupi jedinjenja koja privlače pažnju mnogih naučnika prevashodno zbog mogućnosti da kao prekursori učestvuju u sintezi različitih jedinjenja.¹⁻⁷ Poznate su mnoge metode dobijanja organskih azida^{1,8,9} a najčešći postupak je nukleofilna supstitucija halogena natrijum-azidom.¹⁰⁻¹⁸ Primer reakcije α -bromo ketona **1** i natrijum-azida na sobnoj temperaturi je prikazan u *Shemi 2.1.1*.¹⁴



Shema 2.1.1.

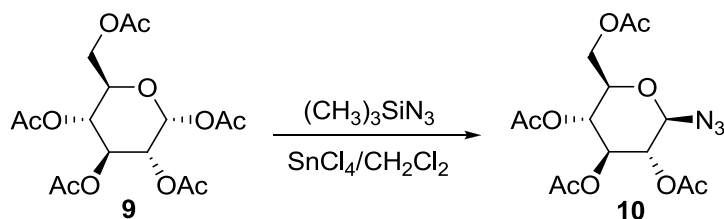
Ju i saradnici¹⁹ su dobili azide iz halogenida i natrijum-azida u vodi mikrotalasnim zagrevanjem na 120 °C. Na ovaj način izbegnuta je upotreba toksičnih rastvarača, katalizatora za fazni prenos, i postignuto je kratko reakciono vreme kao i reaktivnost prema specifičnim funkcionalnim grupama. Tako npr. benzil-bromid **3** u reakciji sa natrijum-azidom u vodi (mikrotalasnim ozračivanjem) daje benzil-azid **4**, dok 1,3-dibrom-propan-2-ol (pri istim reakcionim uslovima) daje 1,3-dibrom-2-azid-propan (*Shema 2.1.2*).¹⁹



Shema 2.1.2.

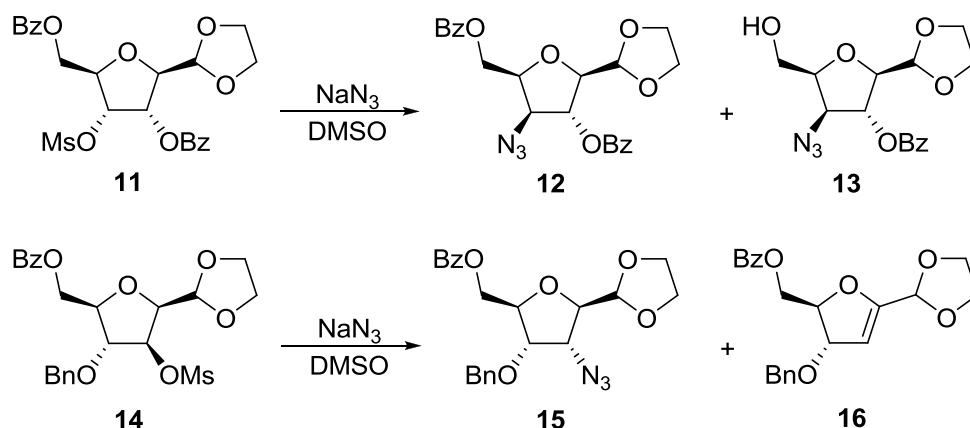
Azidi se takođe dobijaju iz odgovarajućih estara reakcijom supstitucije pogodnim reagensom, kao npr. trimetilsilil azidom koji reaguje sa 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- α -D-

glukopiranozom (**9**) na sobnoj temperaturi, pri čemu se dobija isključivo azidni derivat **10** (β anomer) što je ujedno i primer stereoselektivne reakcije (*Shema 2.1.3*).²⁰



Shema 2.1.3.

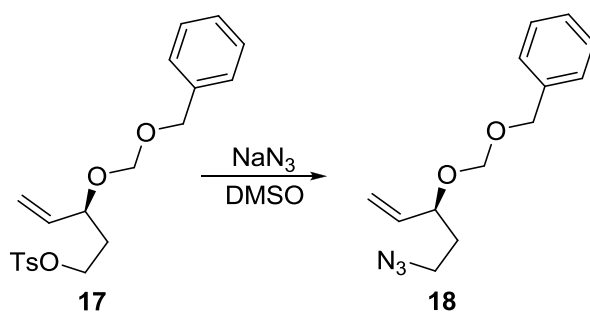
Meziloksi derivat (sa 3α -meziloski grupom) **11** reaguje sa natrijum-azidom u dimetil-sulfoksidu na $120\text{ }^\circ\text{C}$, pri čemu je 3β -azido derivat **12** glavni proizvod i dobija se u značajno većem prinosu u odnosu na 3β -azido derivat **13** (*Shema 2.1.4*). Pri istim reakcionim uslovima može se dobiti 2α -azido derivat **15** polazeći od 2β -meziloksi derivata **14**, a kao sporedni proizvod dobija se eliminacioni proizvod **16**.²¹



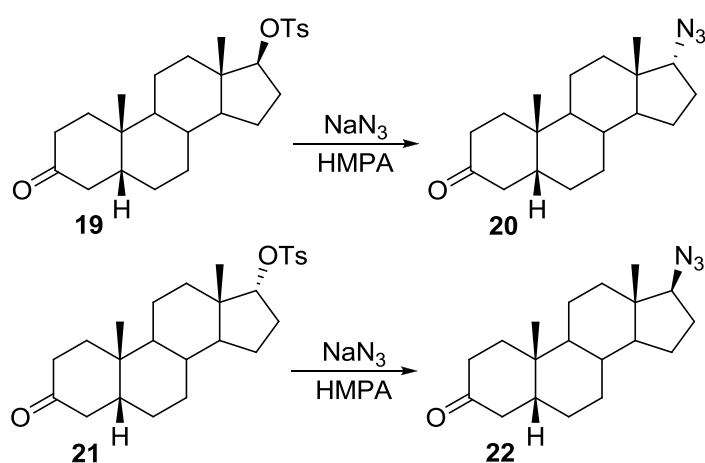
Shema 2.1.4.

U literaturi²² je poznato da se za sintezu organskih azida mogu koristiti i estri *p*-toluensulfonske kiseline kao na primeru tozilata **17** koji reaguje sa natrijum-azidom u dimetil-sulfoksidu na sobnoj temperaturi dajući azidni derivat **18** (*Shema 2.1.5*).

Vidrna i saradnici²³ su dobili steroidne 17α - i 17β - azido derivate **20** i **22** iz odgovarajućih 17β - i 17α - tozilata **19** i **21** sa natrijum-azidom u heksametilfosforamidu na temperaturi od $90\text{ }^\circ\text{C}$ (*Shema 2.1.6*), pri čemu se 17α -azido derivat **20** dobija u znatno većem prinosu od 17β - izomera **22**. Manji prinos jedinjenja **22** je posledica veće sklonosti prema reakciji eliminacije toziloksi grupe kod jedinjenja **21** u odnosu na jedinjenje **19**.²³

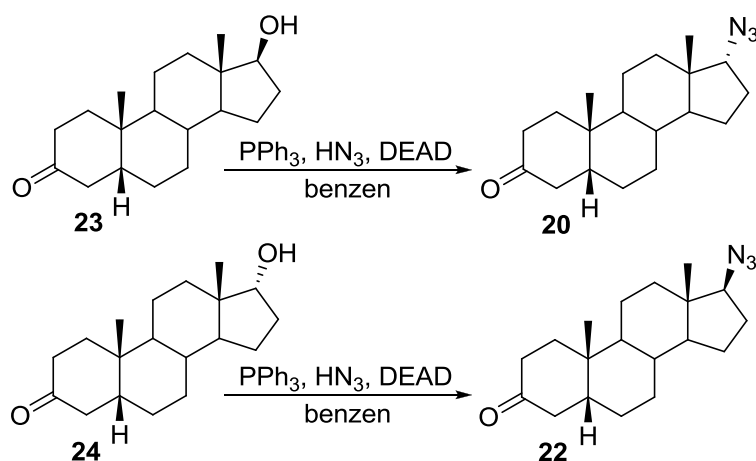


Shema 2.1.5.



Shema 2.1.6.

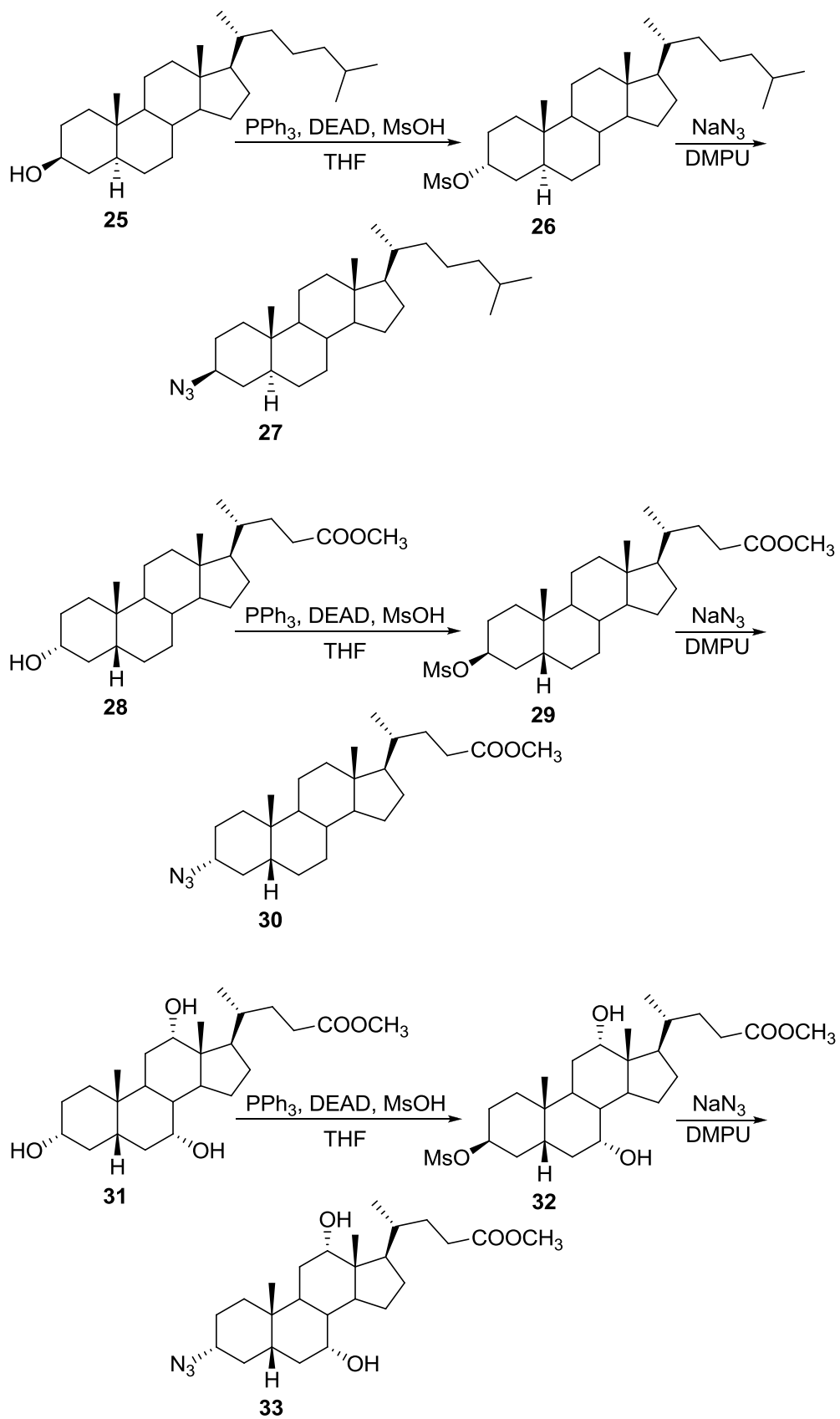
Navedeni azidi **20** i **22** se mogu dobiti i *Mitsunobu*-ovom reakcijom iz β -hidroksi derivata **23** i α -hidroksi derivata **24** (Shema 2.1.7). Kao reagensi za ovu reakciju koriste se azidna kiselina (koja je dobijena *in situ*), trifenilfosfin i dietil-azodikarboksilat. Reakcija se odvija na 70 °C i prinosi oba azida su neznatno niži u odnosu na reakcije između tozilata i natrijum-azida (Shema 2.1.6). Prednost ovog postupka je dobijanje azida u jednoj fazi polazeći od hidroksi derivata kao i znatno kraće reakciono vreme.²³



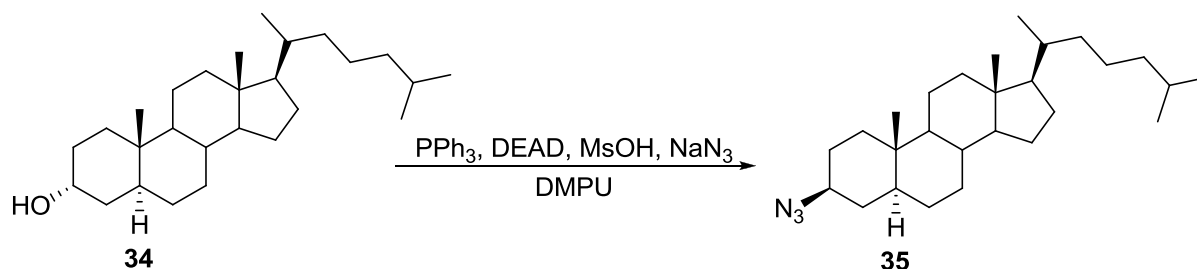
Shema 2.1.7.

Davis i saradnici²⁴ su dobili na relativno jednostavan način u dva koraka steroidne azide sa nepromenjenom konfiguracijom na C-3 atomu u odnosu na polazno steroidno jedinjenje sa hidroksilnom funkcijom (Shema 2.1.8). Prvi korak uključuje *Mitsunobu*-ovu reakciju ekvatorijalnih hidroksilnih grupa jedinjenja **25**, **28** i **31** sa trifenilfosfinom, dietilazodikarboksilatom i metansulfonskom kiselinom u THF na 40 °C. U sledećem koraku nastali aksijalni meziloksi derivati **26**, **29** i **32** podležu reakciji sa natrijum-azidom na temperaturi od 40 °C pri čemu nastaju odgovarajući ekvatorijalni azidi **27**, **30** i **33** (Shema 2.1.8). Na primeru metil holata (**31**) ova reakcija ispoljava regioselektivnost tako da aksijalne hidroksilne grupe ne stupaju u reakciju (Shema 2.1.8).

Slično tome, 3 α -holestanol (**34**) ne reaguje sa metansulfonskom kiselinom pri istim reakcionim uslovima. Međutim, ako se nakon uparavanja reakcione smeše u kojoj se nalazi 3 α -holestanol, doda natrijum-azid i 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinon kao proizvod reakcije nastaje 3 β -azid **35** (Shema 2.1.9). Na ovakav način nije moguće dobiti azide ako se kao kisela komponenta reakcije koristi *p*-toluensulfonska kiselina.²⁴

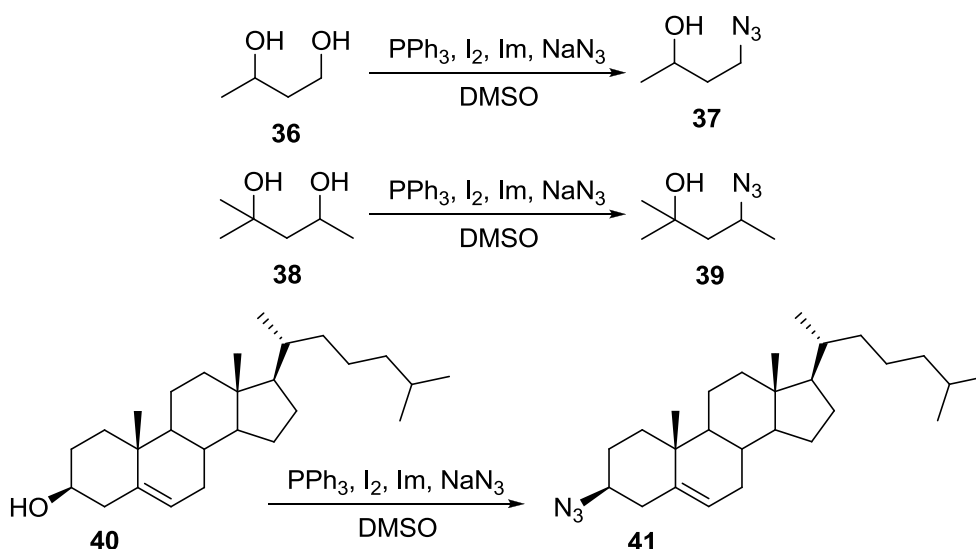


Shema 2.1.8.



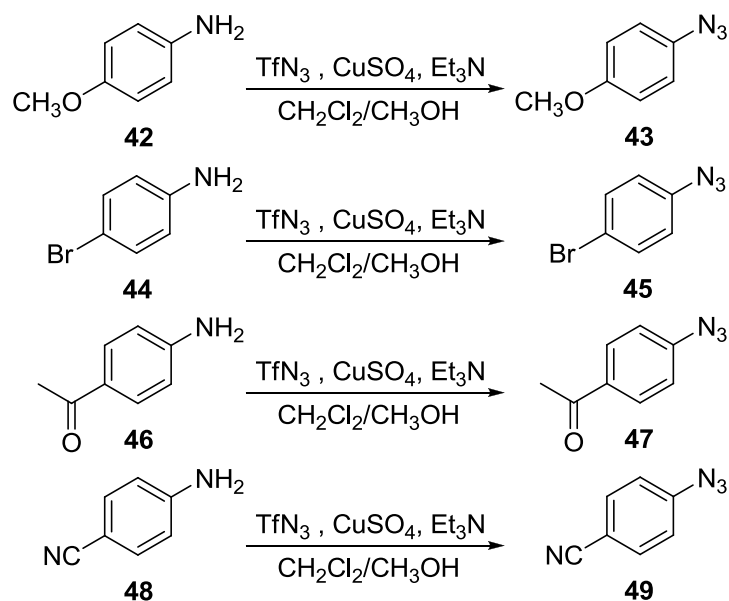
Shema 2.1.9.

Azidna jedinjenja je moguće dobiti i iz alkohola **36** i **38** upotrebom trifenilfosfina, elementarnog joda, imidazola i natrijum-azida u dimetil-sulfoksidu na sobnoj temperaturi. Prednost ove reakcije je u izuzetnoj regioselektivnosti u korist manje supstituisane alkoholne funkcije 1,3-butan-diola (**36**) i 2-metil-2,4-pentandiola (**38**), visok prinos i kratko reakciono vreme. Holesterol (**40**), za razliku od pomenutih alkohola **36** i **38**, reaguje na 45 °C (Shema 2.1.10).²⁵

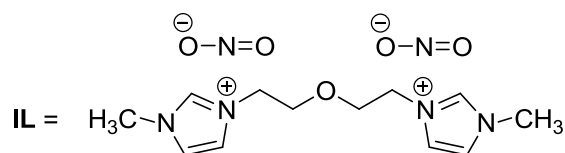
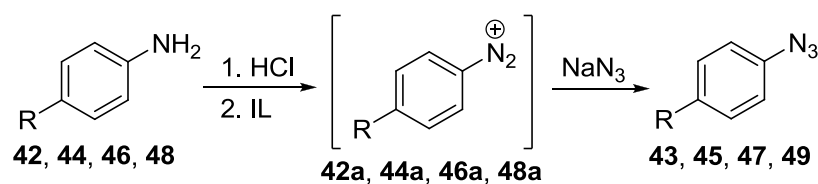


Shema 2.1.10.

Aril azidi se mogu dobiti iz aril amina **42** i **44** pri blagim reakcionim uslovima, uz upotrebu sledećih reagenasa: trifilil-azid, bakar(II)-sulfat i trietilamin (Shema 2.1.11). Reakcija se odvija na sobnoj temperaturi, u kraćem vremenskom periodu i dobijaju se azidi **43** i **45** u visokom prinosu. Anilini **46** i **48** koji u položaju 4 imaju jake elektron-privlačne grupe daju azide **47** i **49** u veoma malom prinosu a reakciona vremena su značajno duža.²⁶ Upotrebom 1-metil-3-(2-[2-(1-metil-1H-imidazol-3-ium-3-il)etiloksi]etil)-1H-imidazol-3-ium dinitrita (ionic liquid), kao izvora nitrozonijum jona, aromatični amini **42**, **44**, **46** i **48** grade diazonijumove soli **42a**, **44a**, **46a** i **48a** koje dalje reaguju sa natrijum-azidom dajući željene azido proizvode **43**, **45**, **47** i **49** (Shema 2.1.12). Prednost ove metode je kratko reakciono vreme, sobna temperatura, visoki prinosi i upotreba netoksičnih rastvarača.²⁷

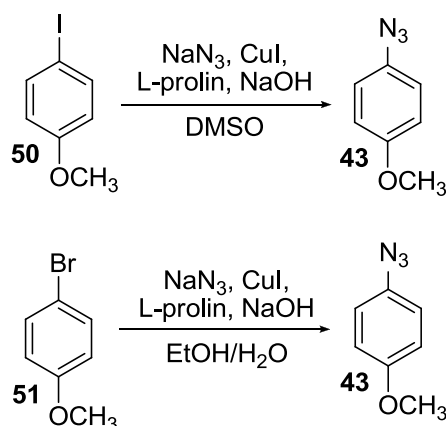


Shema 2.1.11.



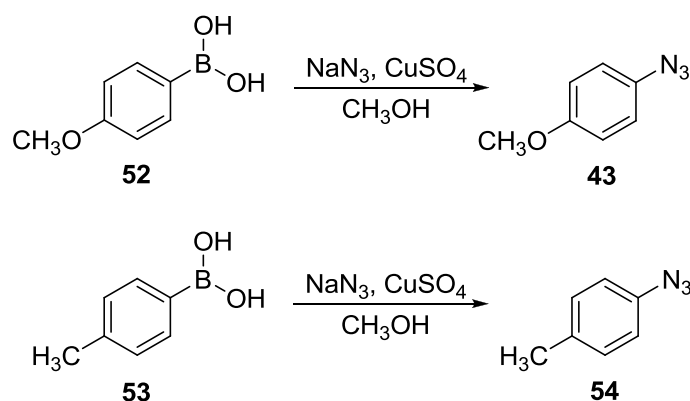
Shema 2.1.12.

Aril jodid **51** takođe može da posluži kao prekursor u sintezi aril azida **43**. Kao katalizator koristi se bakar(I)-jodid, a natrijumova so L-prolina ima ulogu promotera. Ako se kao promoter koristi L-prolin prinos je niži ali i dalje je značajno veći nego u njegovom odsustvu. Ovom reakcijom ostvaruje se visok prinos aril azida **43** pri relativno niskoj temperaturi (60 °C). U slučaju da se kao polazna jedinjenja koriste aril bromidi (kao npr. aril bromid **51**), azidi (kao npr. **43**) se dobijaju u tragovima čak i pri višim temperaturama. Poboljšanje prinosa moguće je ostvariti upotrebom smeše rastvarača etanol/voda u odnosu 7/3, pri temperaturi od 95 °C (Shema 2.1.13).²⁸



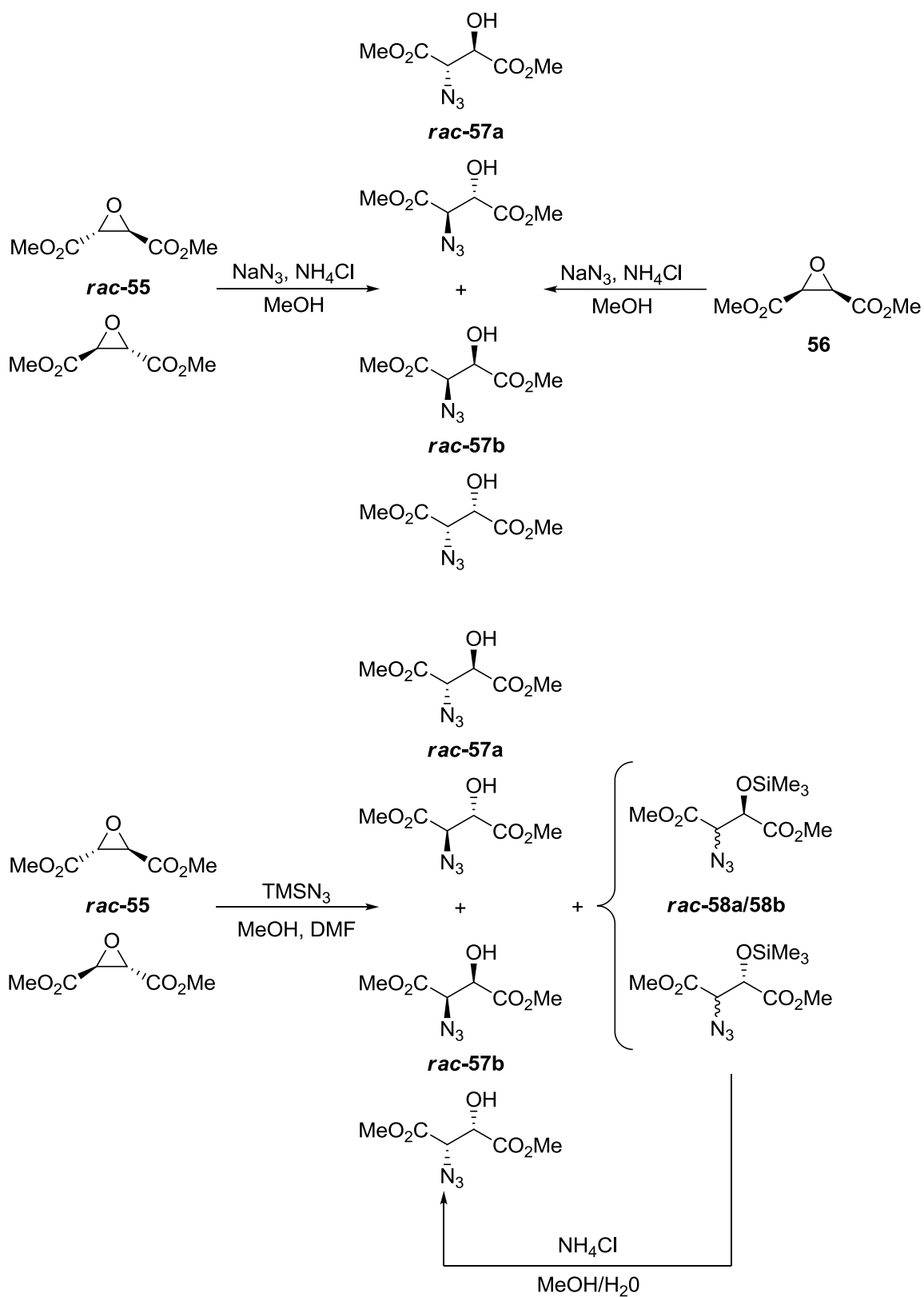
Shema 2.1.13.

Nasuprot pomenutim reakcijama natrijum-azida sa aril halogenidima koje zahtevaju inertnu atmosferu to nije slučaj kod derivata borne kiseline **52** i **53** koji daju azido derivate **43** i **54**. Reakcije se odvijaju na sobnoj temperaturi, u aerobnim uslovima, i na reakcije ne utiče vlaga u rastvaračima (Shema 2.1.14).²⁹



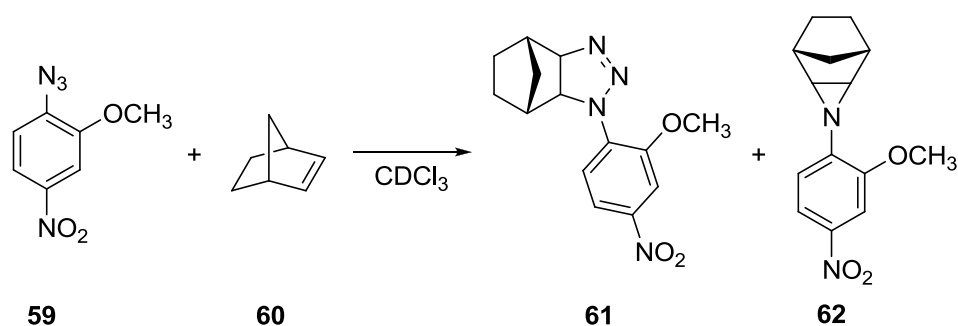
Shema 2.1.14.

Jedan od primera sinteze azidnih derivata uključuje polazna jedinjenja sa epoksi funkcijom. Otvaranjem epoksidnog prstena upotrebom azidnog anjona dobija se α -azidoalkohol.³⁰⁻³⁴ Tokom pomenutih sinteza α -azidoalkohola moguća je epimerizacije kao rezultat izmene azidnog jona.³⁴ Racemske smeše *rac*-**57a** i *rac*-**57b** (molski odnos 1:1) dobijaju se u reakciji racemata *rac*-**55** sa natrijum-azidom u prisustvu amonijum-hlorida na sobnoj temperaturi. Uočeno je i da epoksid **56** daje iste proizvode u istom odnosu kao i *rac*-**55**, a jedina razlika je ta što se reakcija odvija na 65 °C. Pomenuta epimerizacija može se skoro u potpunosti suzbiti upotrebom trimetilsilil-azida umesto natrijum-azida, pri čemu se ne menja molski odnos nastalih diastereoizomera *rac*-**57a** i *rac*-**57b** (molski odnos 92:8) na 60 °C (Shema 2.1.15). Ovom reakcijom takođe nastaju i odgovarajući silil etri (*rac*-**58a/58b**) koji mogu da se podvrgnu hidrolizi uz prisustvo amonijum-hlorida, i na taj način mogu da daju željene *rac*-**57a** i *rac*-**57b**.³⁴



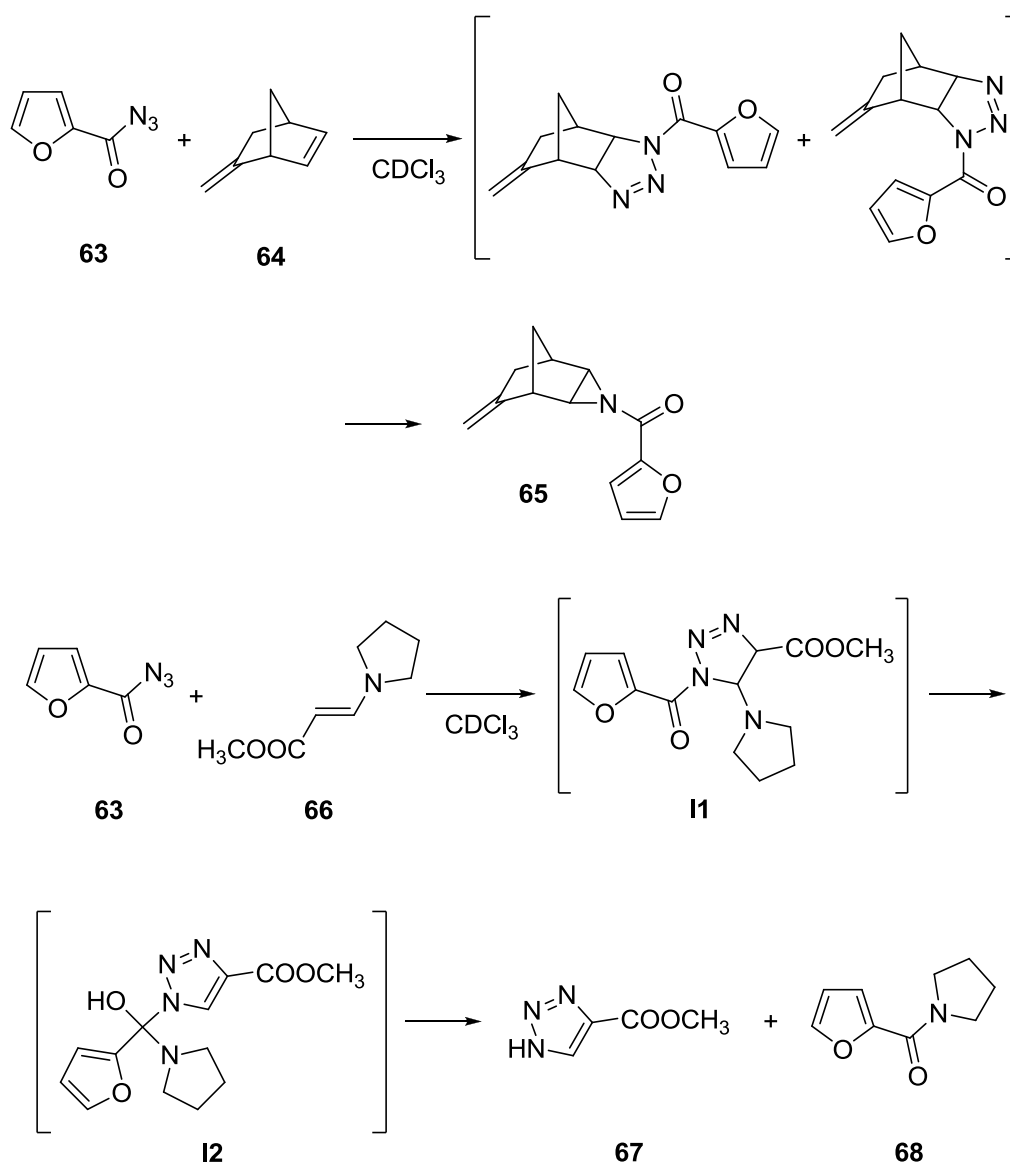
Shema 2.1.15.

Organski azidi, kao što je ranije navedeno, mogu poslužiti kao prekursori u sintezi različitih jedinjenja. U reakcijama 1,3-dipolarne cikloadicije organoazidi imaju ulogu dipola. U zavisnosti od vrste dipolarofila, mogući su različiti reakcioni proizvodi.^{1,9} Sa alkenima grade Δ^2 -1,2,3-triazoline, sa alkinima triazole a sa nitrilima tetrazole. U reakciji sa alkenima, prvo nastaju Δ^2 -1,2,3-triazolini koji u zavisnosti od temperature ili svetlosti mogu dalje da se transformišu.³⁵⁻⁴⁰ Fotolizom Δ^2 -1,2,3-triazolina nastaju aziridini uz izdvajanje molekulskog azota.³⁵⁻³⁸ Ako Δ^2 -1,2,3-triazolin sadrži dobroodlazeću grupu vezanu za prsten dolazi do eliminacije i građenja 1H-triazola.³⁸⁻⁴⁰ Azid **59** reaguje sa norbornenom (**60**) na 40 °C i kao glavni proizvod dobija se odgovarajući Δ^2 -1,2,3-triazolin (**61**) a kao sporedni proizvod nastaje aziridin derivat **62** (Shema 2.1.16).³⁵



Shema 2.1.16.

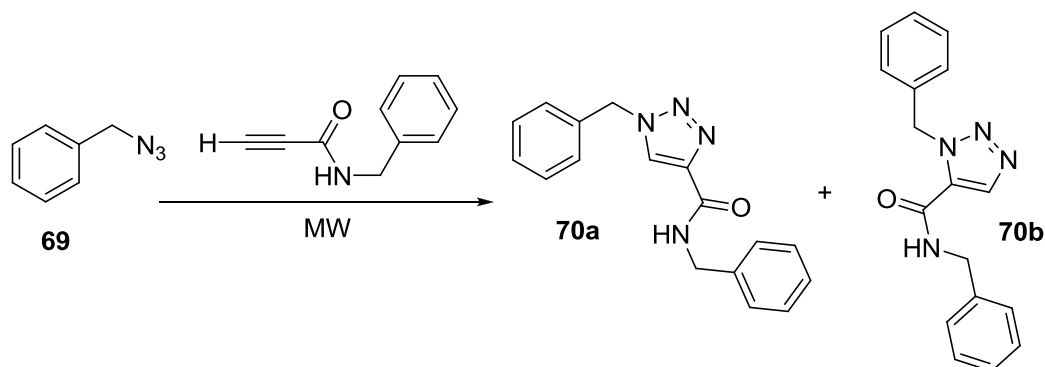
Reakcijom azida **63** i derivata norbornena **64** na 25 °C, dobija se isključivo aziridin derivat **65**. U reakciji azida **63** sa metil-3-pirolidinoakrilatom (**66**) na 25 °C daje derivat triazola **67** i jedinjenje **68** preko intermedijernih derivata triazolina **I1** i triazola **I2**. (Shema 2.1.17).³⁸



Shema 2.1.17.

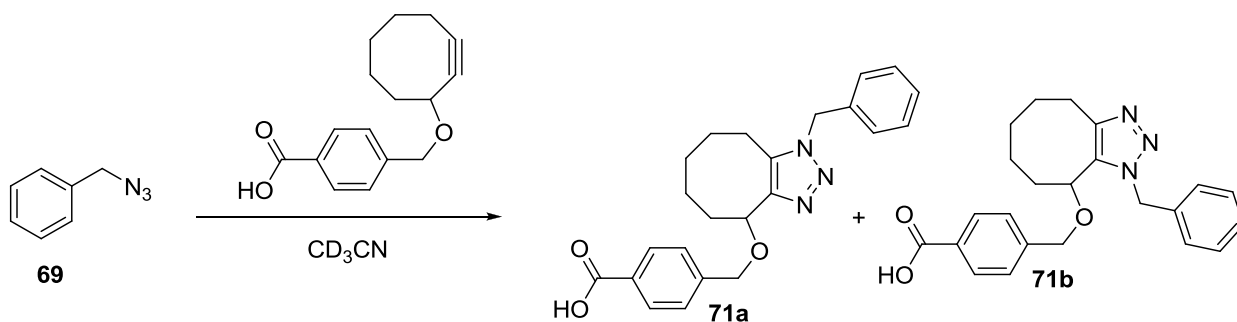
Mnogi alkinii nisu dovoljno reaktivni da bi reagovali sa organskim azidima na sobnoj temperaturi.⁴¹⁻⁴⁴ Za razliku od njih „napregnuti“ i „elektron-aktivirani“ alkinii reaguju na sobnoj temperaturi sa organskim azidima.^{45,46}

Mikrotalasnim ozračivanjem smeše benzil-azida (69) i *N*-benzil-2-propinamida u toku 30 minuta na 55 °C nastaju dva regioizomera 70a i 70b u odnosu 3:1 (Shema 2.1.18). Za razliku od mikrotalasnog ozračivanja, prilikom konvencionalnog zagrevanja ne dolazi do reakcije na navedenoj temperaturi. Povišenjem reakcione temperature na 110 °C i drastičnim produženjem reakcionog vremena na 12 sati, formirali su se derivati triazola 70a i 70b.⁴³



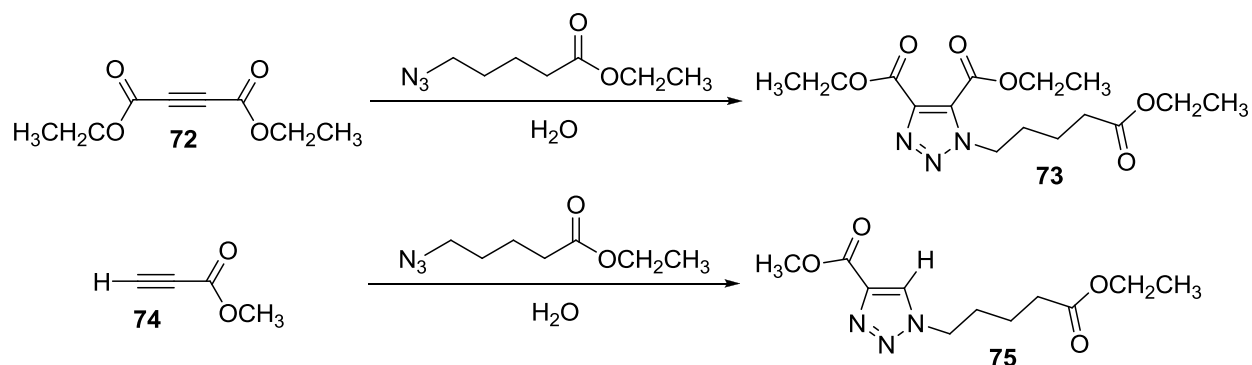
Shema 2.1.18.

Kao što je pomenuto ranije, „napregnuti“ alkin reaguje sa benzil-azidom (**69**) na sobnoj temperaturi, a kao proizvod nastaju dva regioizomera u približno jednakom prinosu (Shema 2.1.19).⁴⁵



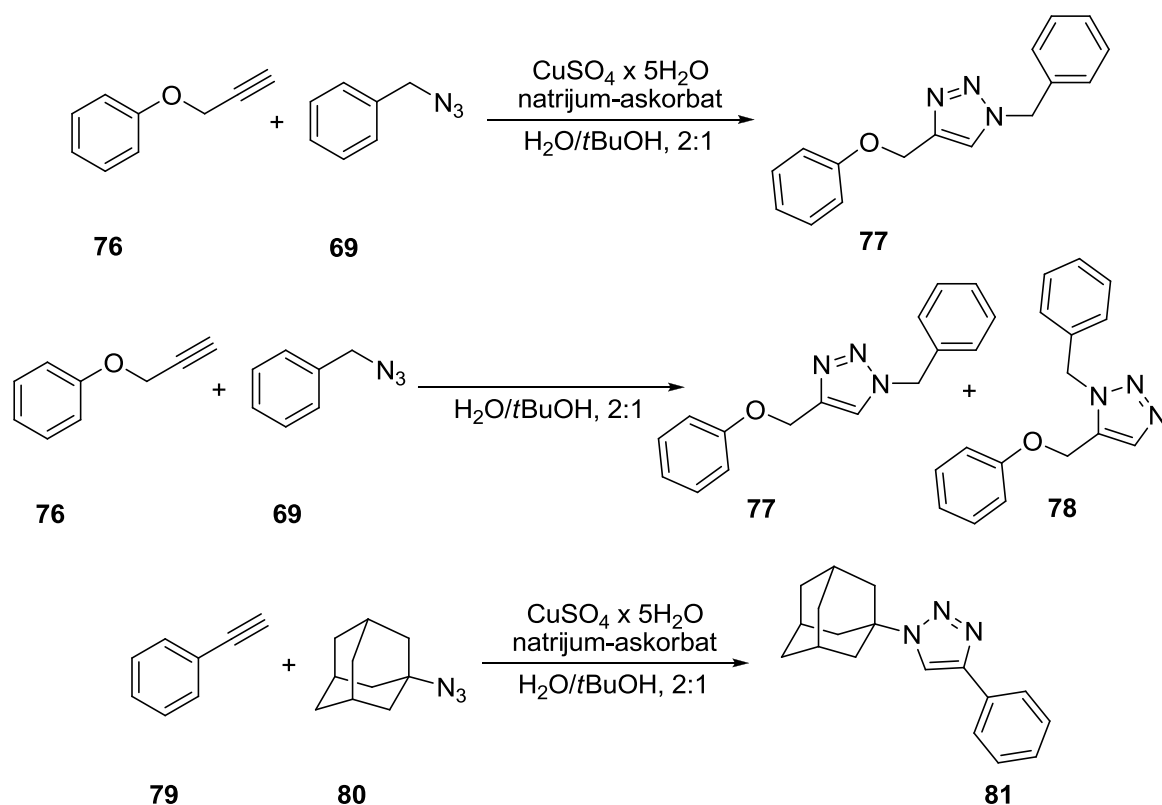
Shema 2.1.19.

Dietil-acetilendikarboksilat (**72**) i metil-acetilenkarboksilat (**74**), sadrže elektron-privlačne grupe koje im omogućavaju da stupe u reakcije cikloadicije na sobnoj temperaturi. Vredno je pomenuti da se reakcije mogu odigrati u vodi i da se na taj način dobijaju proizvodi u visokim prinosima (Shema 2.1.20).⁴⁶



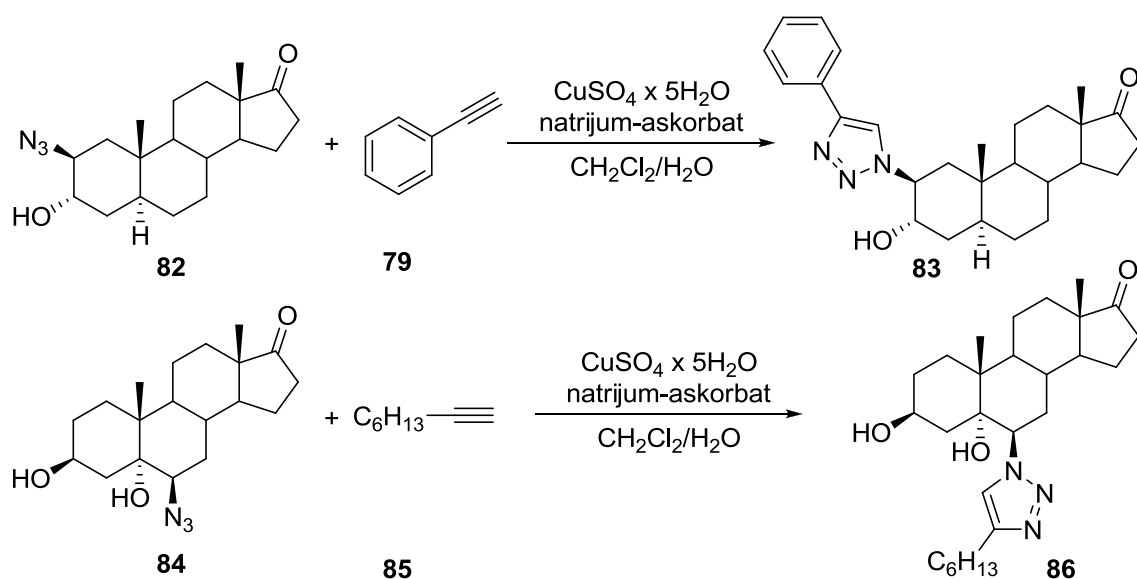
Shema 2.1.20.

Različiti pokušaji da se kontroliše regioselektivnost azid-alkin cikloadicije i izbegne dobijanje smeše 1,4- i 1,5-disupstituisanih triazola prošli su bez mnogo uspeha sve do Sharpless-ovog otkrića Cu(I)-katalizovane reakcije koja isključivo dovodi do dobijanja 1,4-disupstituisanih 1,2,3-triazola.⁴⁷ 1,3-Dipolarne cikloadicije terminalnih alkina (dipolarofil) i azida (dipol) potpomognute solima bakra(I) spadaju u reakcije „click“ hemije.⁴⁷⁻⁵² Dodatkom soli bakra(I), reakcija između terminalnih alkina i azida odigrava se na sobnoj⁴⁷⁻⁵¹ ili blago povišenoj⁵² temperaturi. Ovo je moguće zahvaljujući „aktivaciji“ trostruke veze pomoću bakra(I) koji gradi acetalid. Najbolji rezultati se postižu korišćenjem *in situ* dobijenog bakra(I) i ujedno to je najjednostavniji način.⁴⁷ U tu svrhu se u reakcionu smešu dodaje bakar(II)-sulfat pentahidrat i natrijum-askorbat. U reakciji između benzil-azida (**69**) i fenil-propargil etra (**76**) u prisustvu bakra(II)-sulfata i natrijum-askorbata na sobnoj temperaturi dobija se regioselektivno 1,4-disupstituisani triazol **77** u visokom prinosu (Shema 2.1.21). Reakciono vreme je kraće u odnosu na reakciju bez bakra(I). Za razliku od ove reakcije, bez dodatka bakra(I), dobija se smeša 1,4- i 1,5-disupstituisanih triazola (**77** i **78**) (1,6:1 u korist 1,4 izomera).



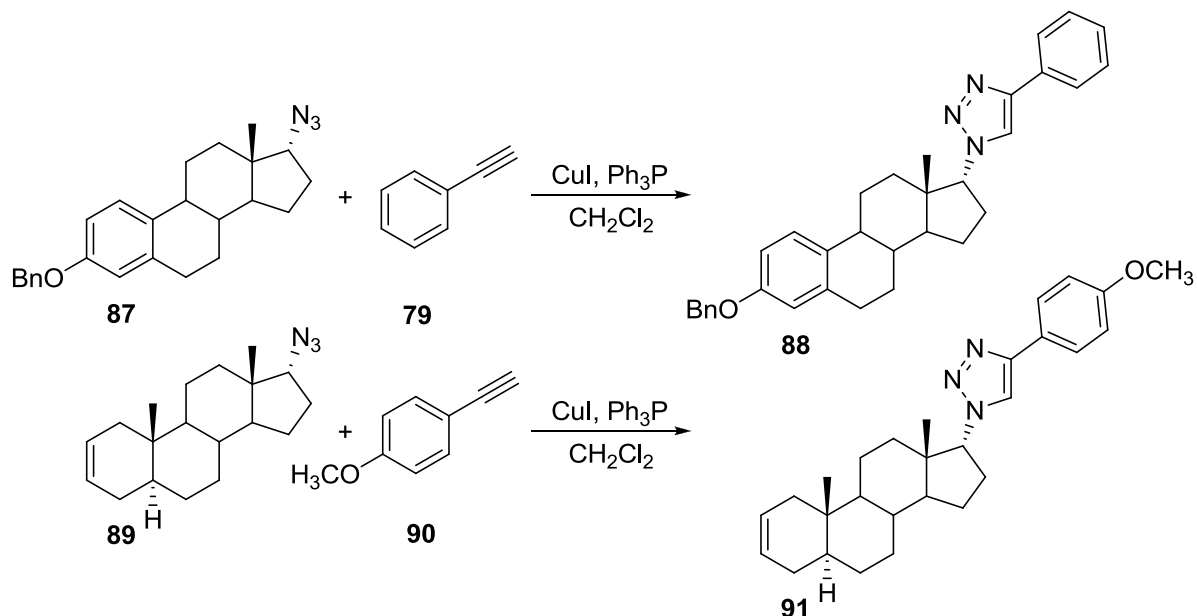
Shema 2.1.21.

Metodom klik hemije moguće je dobiti steroidne derivate triazola.⁴⁸⁻⁵² U većini slučajeva reakcija se odvija na sobnoj⁴⁸⁻⁵¹ a u pojedinim slučajevima pri blago povišenoj temperaturi⁵² tj. na 40 °C. Steroidni azid **82** reaguje sa terminalnim alkinom **79** u prisustvu bakra(I) na sobnoj temperaturi dajući triazol **83**. Pri istim reakcionim uslovima steroidni azid **84** reaguje sa terminalnim alkinom **85** dajući triazol **86** (Shema 2.1.22).⁴⁸



Shema 2.1.22.

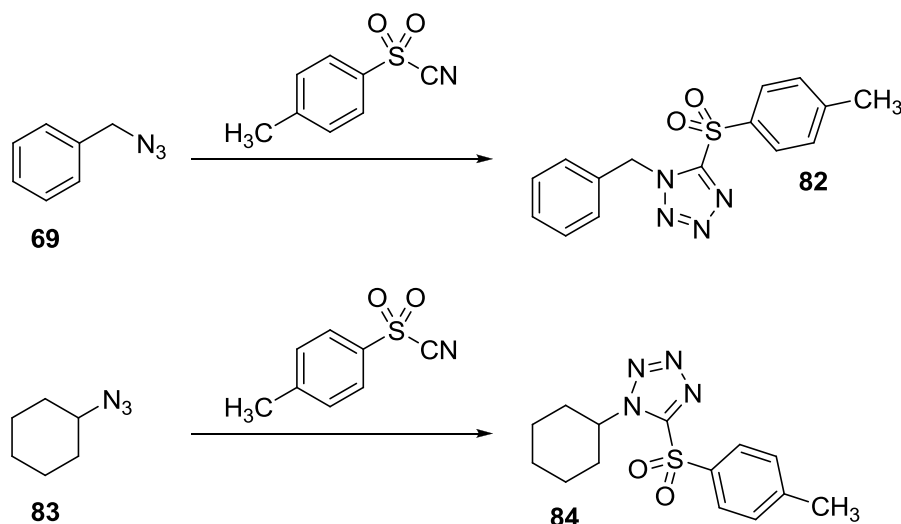
Metodu regioselektivne Cu(I)-katalizovane 1,3-dipolarne cikloadicije steroidnih 17-azida sa različitim terminalnim alkinima, pri čemu nastaju 1,4-disupstituisani triazolil derivati razvili su Wölfling i saradnici.⁵² Na primer, 17 α -azidi **87** i **89** reaguju sa terminalnim alkinima **79** i **90** u prisustvu bakar(I)-jodida i trifenilfosfina na 40 °C dajući odgovarajuće triazole **88** i **91** (Shema 2.1.23).⁵²



Shema 2.1.23.

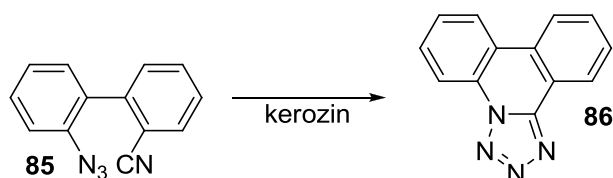
Tetrazoli **82** i **84** se mogu sintetisati direktno [3+2] cikloadicijom između organoazida i nitrila. Na taj način se dobijaju isključivo 1,5-disupstituisani proizvodi.⁵³ S obzirom da nitrilna grupa nije dovoljno dobar dipolarofil, reakcija se odvija u slučaju nitrila sa elektron-privlačnim grupama^{54,55} ili u intramolekulskim cikloadicijama.⁵⁶⁻⁵⁸

Toluensulfonil-cijanid jedan je od predstavnika nitrila koji sadrži elektron-privlačnu grupu i kao takav reaguje sa manje sterno zaštićenim organoazidima **69** i **83** (Shema 2.1.24). Reakcija se odvija na 80 °C bez rastvarača, obrada reakcione smeše je veoma jednostavna, bez hromatografskog prečišćavanja, a prinosi su visoki. Ovo je jedan od primera „click“ hemije u sintezi tetrazola.⁵⁴



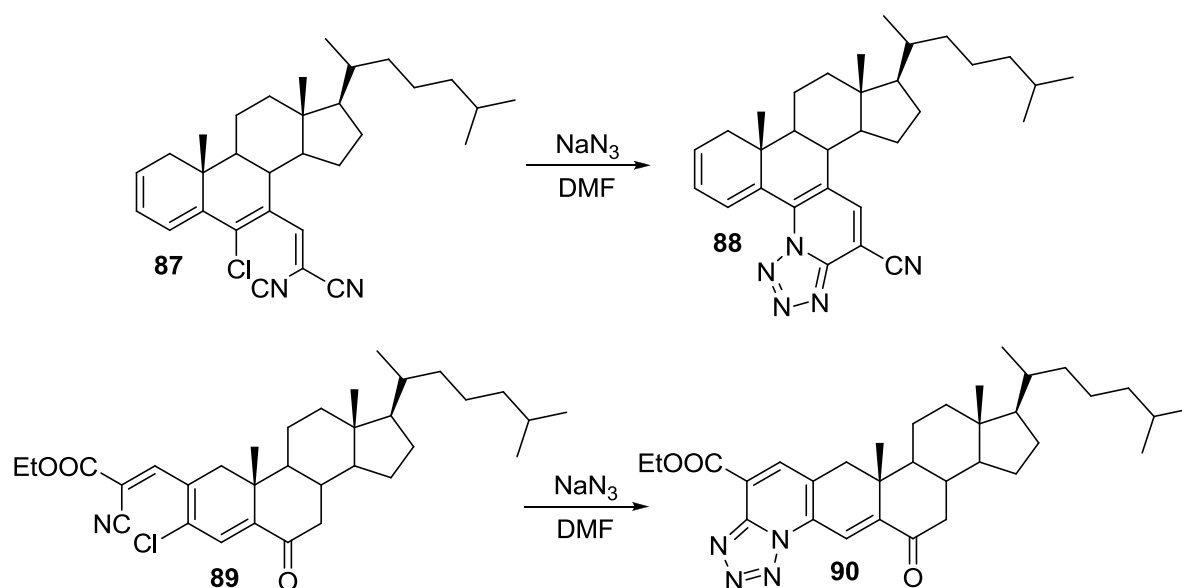
Shema 2.1.24.

Iz 2-azido-2'-cijano-bifenila (**85**) zagrevanjem na 180 °C u kerozinu, nastaje policiklični tetrazol **86** (Shema 2.1.25).⁵⁶



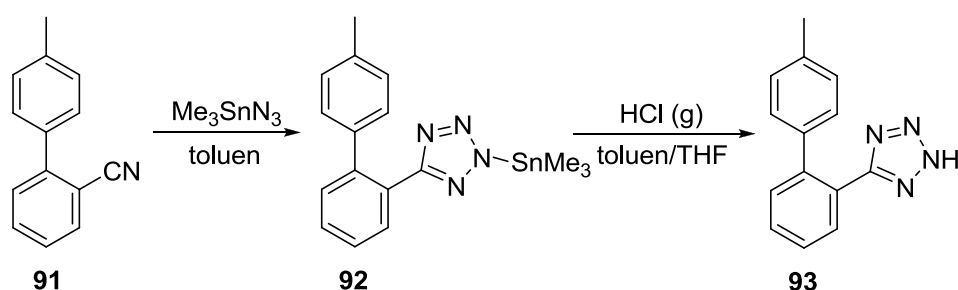
Shema 2.1.25.

Temperatura neophodna za građenje tetrazola je znatno niža ako se odvija intramolekulska cikloadicija nitrila „aktiviranih“ elektron-privlačnim grupama. Gogoi i saradnici⁵⁹ su sintetisali steroidne A/B/C anularne tetrazolo[1,5-a]piridinske derivate intramolekulskom 1,3-dipolarnom cikloadicijom azida sa nitrilima u aprotičnom rastvaraču. Tako, steroidni hlora derivati, **87** i **89**, sa pogodno orijentisanim nitrilnim grupama reaguju sa natrijum-azidom u *N,N*-dimetil-formamidu na 50-60 °C dajući odgovarajuće tetrazole **88** i **90** (Shema 2.1.26).⁵⁹



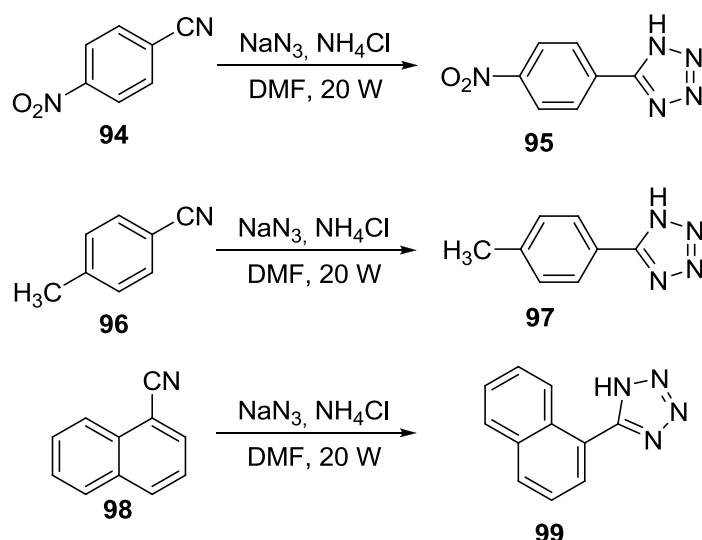
Shema 2.1.26.

Ako neorganski azid stupa u reakciju cikloadicije nastaju 1H-tetrazoli.^{60,61} Reakcija se može ubrzati mikrotalasnim ozračivanjem⁶², ili dodatkom soli cinka⁶³. U reakciji između nitrila **91** i trimetilkalaj-azida u toluenu na 110 °C, nastaje trimetilkalaj-tetrazol **92**. Uvođenjem gasovitog hlorovodonika u rastvor tetrazola **92** dobija se 1H-tetrazol **93** (Shema 2.1.27).⁶¹



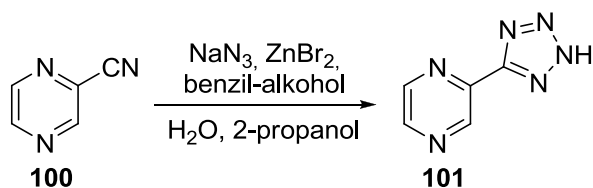
Shema 2.1.27.

Kao što je već rečeno, mikrotalasnim ozračivanjem se ubrzava reakcija dobijanja 1H-tetrazola. Snagom od 20 W reakcije su završene za manje od pola sata za razliku od konvencionalnog zagrevanja kod kojih reakcije traju satima ili danima. Tako su u Shemi 2.1.28. prikazani primeri sinteze tetrazolskih derivata **95**, **97** i **99** iz polaznih aromatičnih cijano derivata **94**, **96** i **98**.⁶²



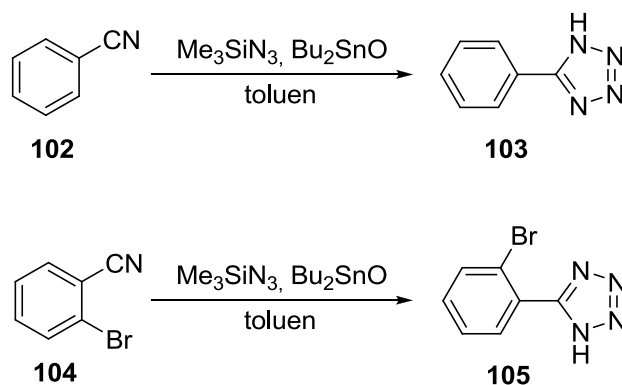
Shema 2.1.28.

Sharpless i saradnici⁶³ su utvrdili da cink(II)-bromid, pored toga što ubrzava reakciju azid-nitril cikloadicije, snižava temperaturu koja je neophodna da bi došlo do reakcije. Vodeni rastvor natrijum-azida i cink(II)-bromida, kojem je dodat cijanopirazin, 2-propanol i benzil-alkohol, se izvodi na 23 °C (Shema 2.1.29). Bez dodatka soli cinka, reakcija se izvodi na 80 °C.⁶³

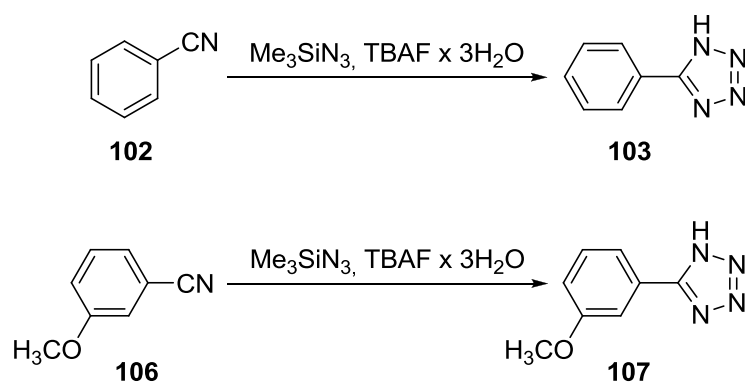


Shema 2.1.29.

Pored natrijum-azida i trimetilsilil-azid u reakciji sa organonitrilima gradi 1H-tetrazole **103**⁶⁴, **105**^{64,65} i **107**⁶⁵. U prisustvu dibutilkalaj-oksida reakcija cikloadicije se odvija na 93 °C (Shema 2.1.30).⁶⁴ Kada je prisutan tetrabutilamonijum-fluorid umesto dibutilkalaj-oksida, u odsustvu rastvarača, reakcija se odvija na 85 °C (Shema 2.1.31).⁶⁵



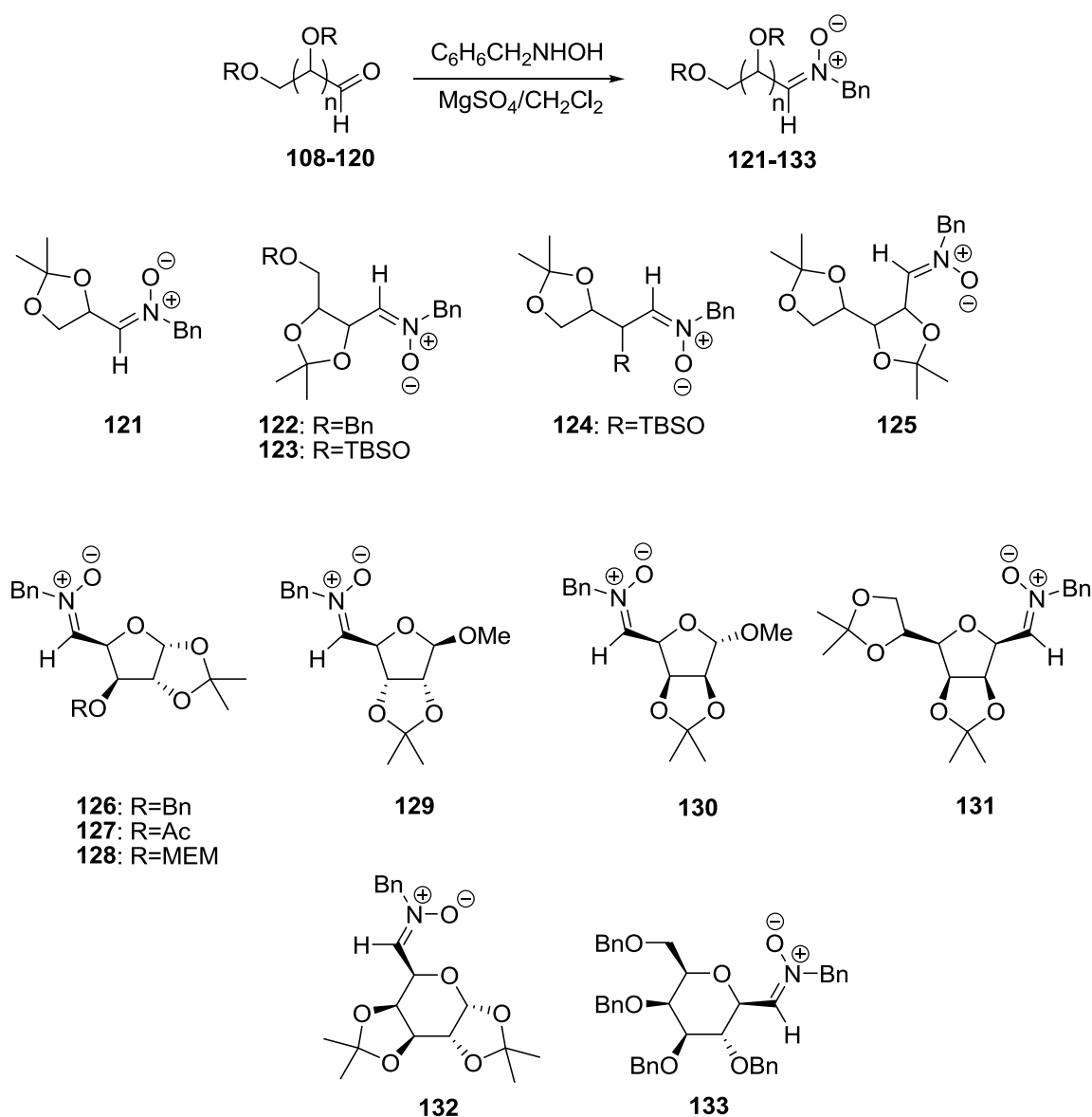
Shema 2.1.30.



Shema 2.1.31.

2.2. Sinteza i reakcije nitrona

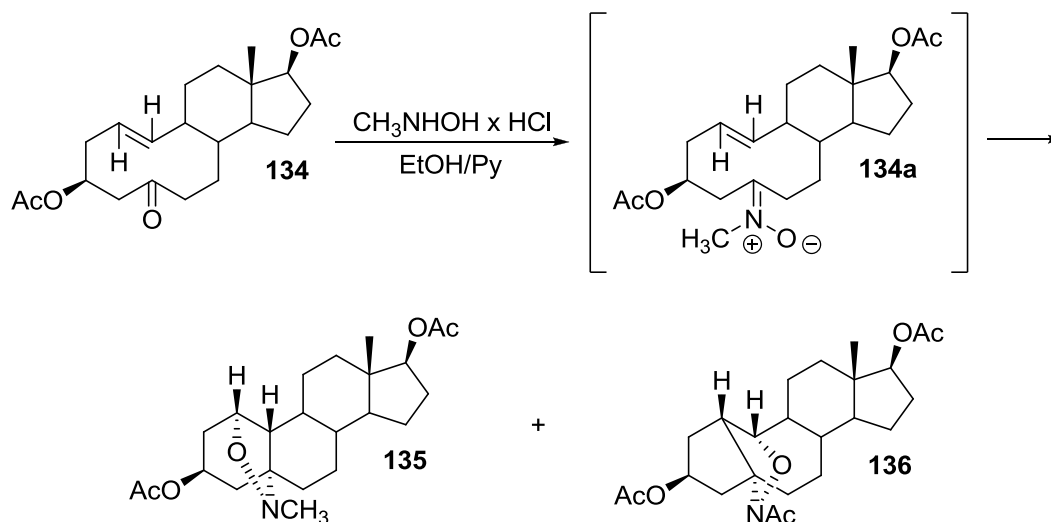
Najpogodniji metod za sintezu nitrona je reakcija aldehida sa N-monosupstutuisanim hidroksilaminima (*Shema 2.2.1*).⁶⁶ Nitroni se mogu dobiti istom reakcijom polazeći iz ketona. Nitroni često nastaju *in situ* kao intermedijerna jedinjenja koja podležu reakcijama, najčešće intra- ili inter-molekulskim 1,3-dipolarnim cikloadicijama. Na *Shemi 2.2.1*. prikazana je serija jedinjenja **121-133** koja predstavljaju derivate nitrona koji su dobijeni iz polaznih aldehida.



Shema 2.2.1.

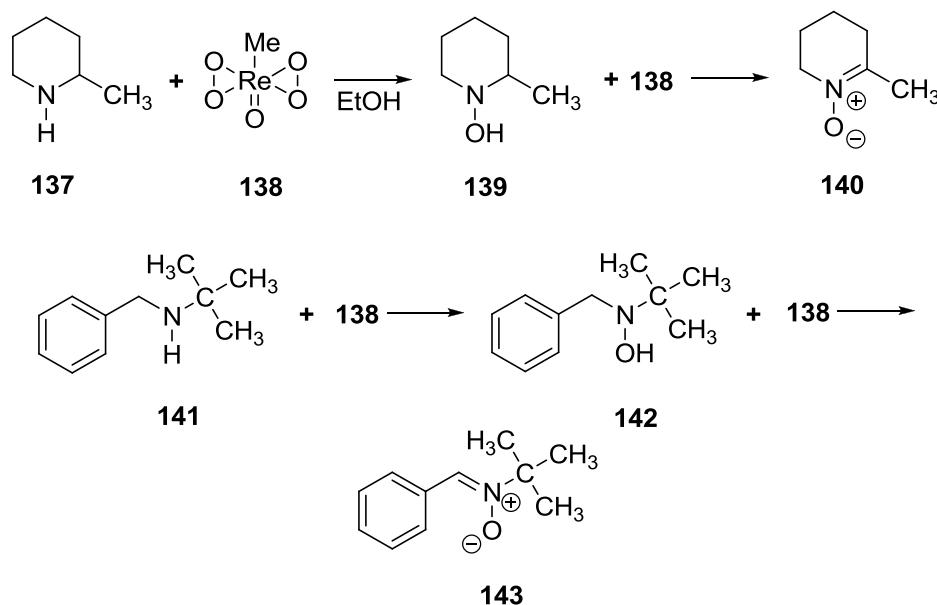
Mihailović i saradnici⁶⁷ su dobili izoksazolidin **135** u dobrom prinosu iz 5,10-seko steroida **134** i *N*-metilhidroksilamina uz refluks smeše etanol/piridin (1:1), kao rezultat

transanularne 1,3-dipolarne adicije intermedijerno nastalog nitrona **134a** na trans-dvostruku vezu u ciklodecenskom delu prstena seko-steroidnog sistema (*Shema 2.2.2*). Pored jedinjenja **135**, dobijeno je i jedinjenje **136**.⁶⁷

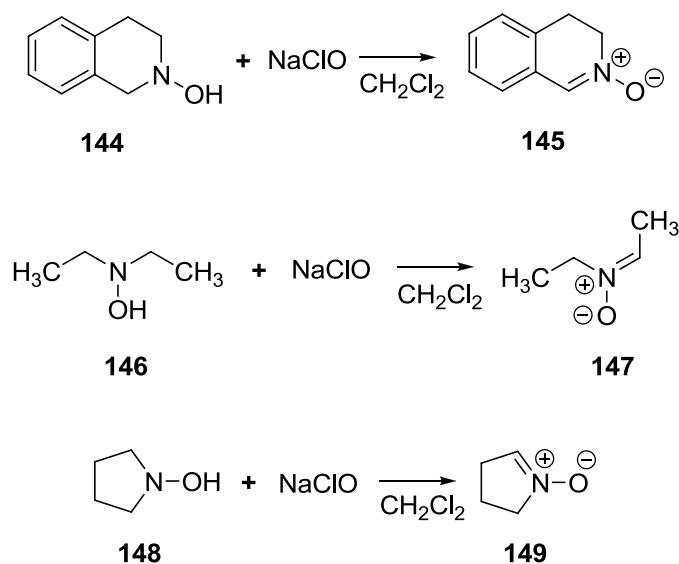


Shema 2.2.2.

Ponekad nije moguće dobiti nekonjugovane ciklične nitrone i keto nitrone koji poseduju voluminozne alkil grupe reakcijom karbonilnih jedinjenja sa *N*-monosupstituisanim hidroksilaminima. Ovaj problem se može rešiti oksidacijom sekundarnih amina sa metiltrioksorenijum/vodonik peroksid sistemom na sobnoj temperaturi⁶⁸ (*Shema 2.2.3.*) i *N,N*-disupstituisanih hidroksilamina sa natrijum-hipohloritom prvobitno na $0\text{ }^\circ\text{C}$ a zatim na sobnoj temperaturi⁶⁹ (*Shema 2.2.4*).

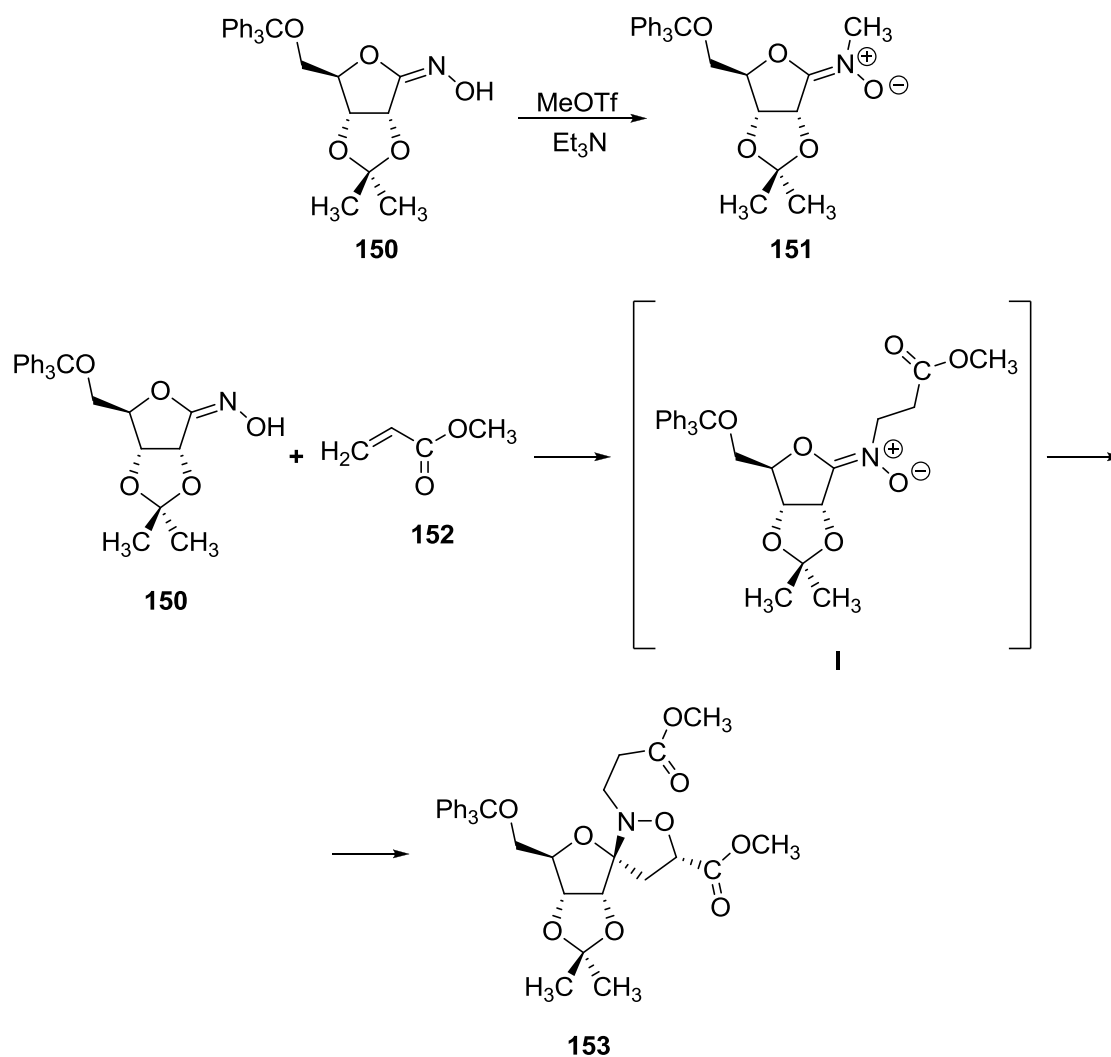


Shema 2.2.3.



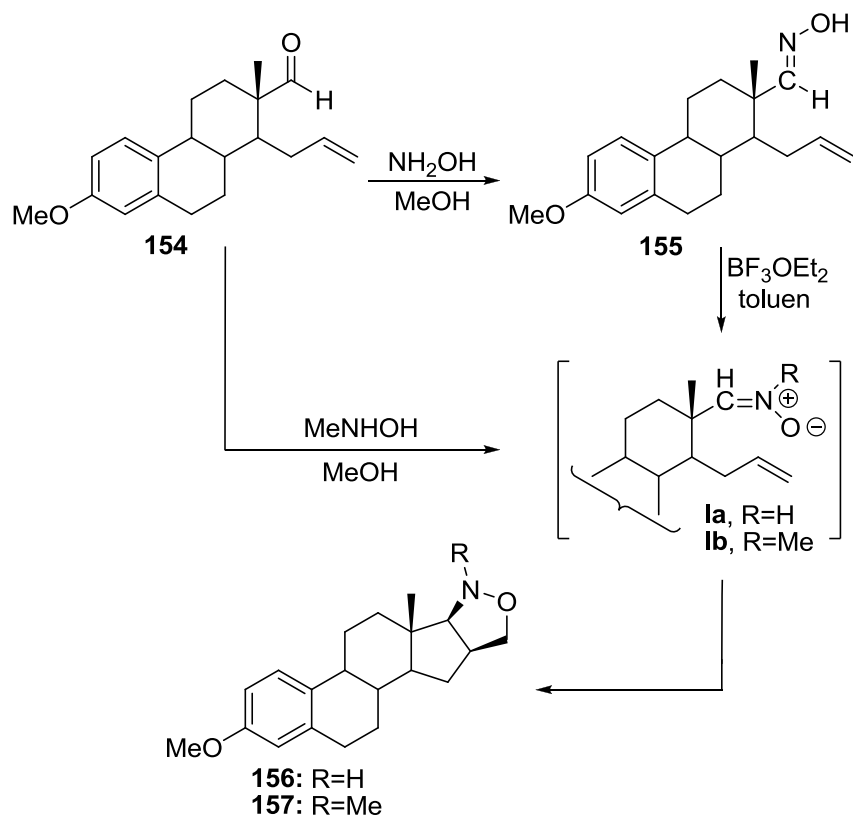
Shema 2.2.4.

Jedan od načina za dobijanje nitrona je i alkilovanje oksima (Shema 2.2.5).⁷⁰ *N*-metil nitron **151** je dobijen iz oksima **150** i metil-trifluorometansulfonata (MeOTf) u trietilaminu. Oksim **150** sa metil akrilatom (**152**) daje intermedijerni *N*-supstituisani nitron **I** koji dalje podleže cikloadiciji metil akrilata dajući spiro heterociklično jedinjenje **153** sa izoksazolidinskim prstenom.



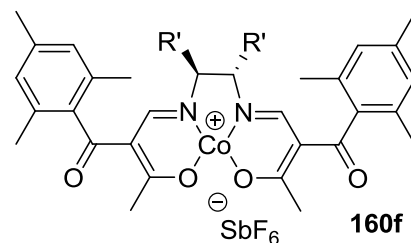
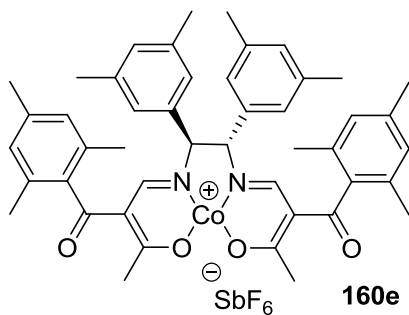
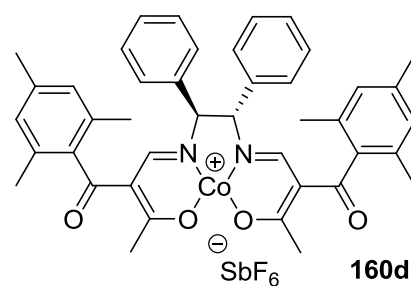
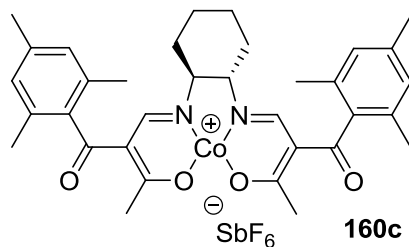
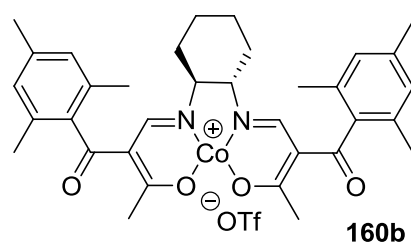
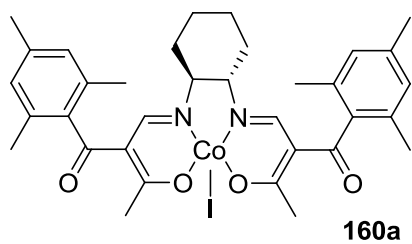
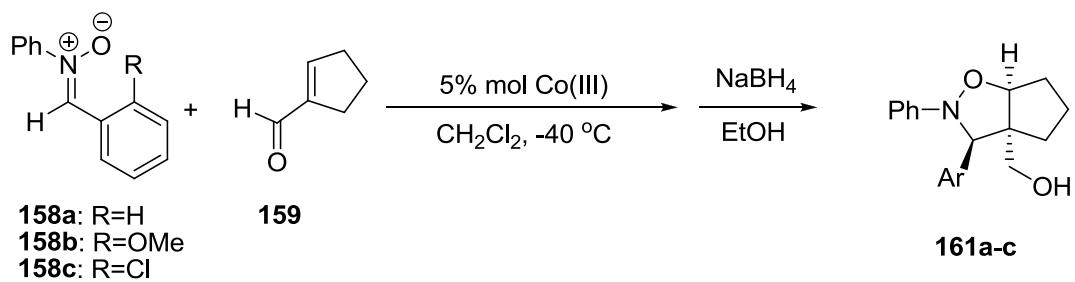
Shema 2.2.5.

Nitroni i mogu da reaguju sa alkenima u 1,3-dipolarnoj cikloadiciji i pri tome se dobijaju izoksazolidini.^{67,71} Izoksazolidini se takođe mogu dobiti reakcijom oksima sa alkenima, pri čemu prvo dolazi do tautomerizacije datog oksima u nitron, koji zatim reaguje sa alkenom. Kao katalizator za tautomerizaciju oksima može da posluži bortrifluorid dietileterat. Aldoksim **155**, koji se dobija u reakciji odgovarajućeg aldehida i hidrosilamina na 65 °C, reaguje sa dvostrukom vezom na 111 °C (Shema 2.2.6).⁷¹



Shema 2.2.6.

Enantioselektivna 1,3-dipolarna cikloadicija predstavlja jednu od najpouzdanijih strategija za izgradnju tri susedna asimetrična centra kod izoksazolidinskih derivata. Tako na primer, primenom različitih β -ketoiminato katjonskih kobalt(III) kompleksa **160a-160f** (Shema 2.2.7.) kao katalizatora može se postići visoka enantioselektivnost. U reakciji nitrona **158c** sa α,β -nezasićenim aldehidom **159** u prisustvu katalizatora **160e** postignuta je odlična endo selektivnost i dobijen je odgovarajući izoksazolidin **161c** u visokom prinosu (Shema 2.2.7 i Tabela 2.2.1). Katalizator **160e**, takođe se odlično pokazao u reakcijama sa derivatima *o*-halogen supstituisanih benzilidenfenilamin *N*-oksida (Shema 2.2.8; Tabela 2.2.2).⁷²



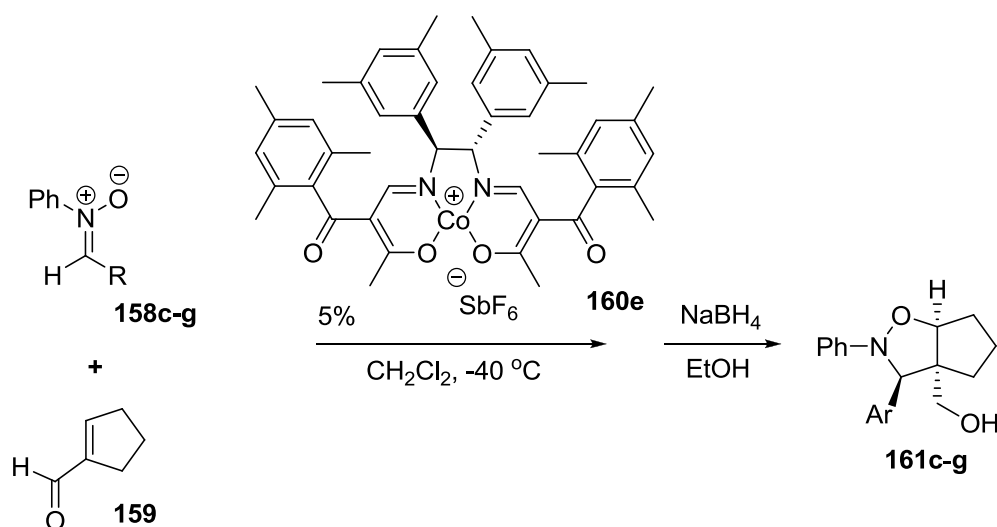
R' = 2,4,6-trimetilfenil

Shema 2.2.7.

Tabela 2.2.1. Uticaj katalizatora na reakciju između nitrona i alkena

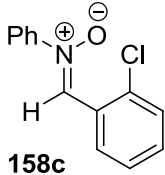
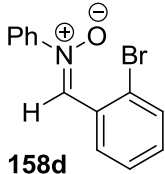
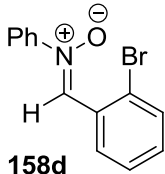
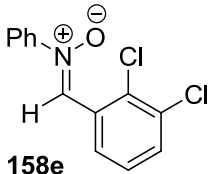
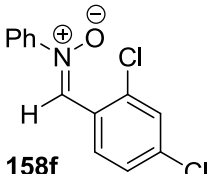
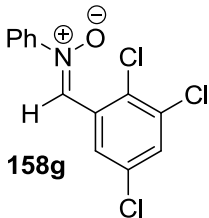
redni broj	nitron	katalizator	reakciono vreme/h	prinos/%	endo/exo	ee (endo)/%
1	158a	160a	97	59	>99/1	-46
2	158a	160b	53	63	>99/1	-47
3	158a	160c	51	81*	99/1	-51
4	158a	160c	48	89	>99/1	-51
5	158a	160d	65	87	>99/1	-8
6	158a	160e	41	68	>99/1	7
7	158a	160f	55	86	>99/1	37
8	158b	160c	179	21	99/1	16
9	158c	160c	73	84	>99/1	65
10	158c	160d	96	89	99/1	78
11	158c	160e	96	96	99/1	80
12	158c	160f	48	98	99/1	67

* Izoksazolidin je izolovan bez tretmana sa NaBH₄.



Shema 2.2.8.

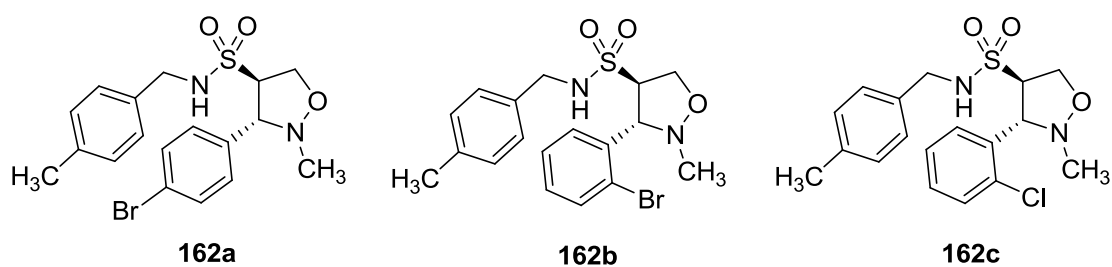
Tabela 2.2.2. Uticaj enantioselektivnog katalizatora na reakciju između nitrona i alkena

redni broj	nitron	reakciono vreme/h	prinos/%	endo/exo	ee (endo)/%
1	 158c	96	96	99/1	80
2	 158d	96	85	99/1	85
3*	 158d	96	18	>99/1	91
4	 158e	60	kvantitat.	>99/1	87
5	 158f	96	kvantitat.	>99/1	83
6	 158g	83	93	>99/1	85(100)**

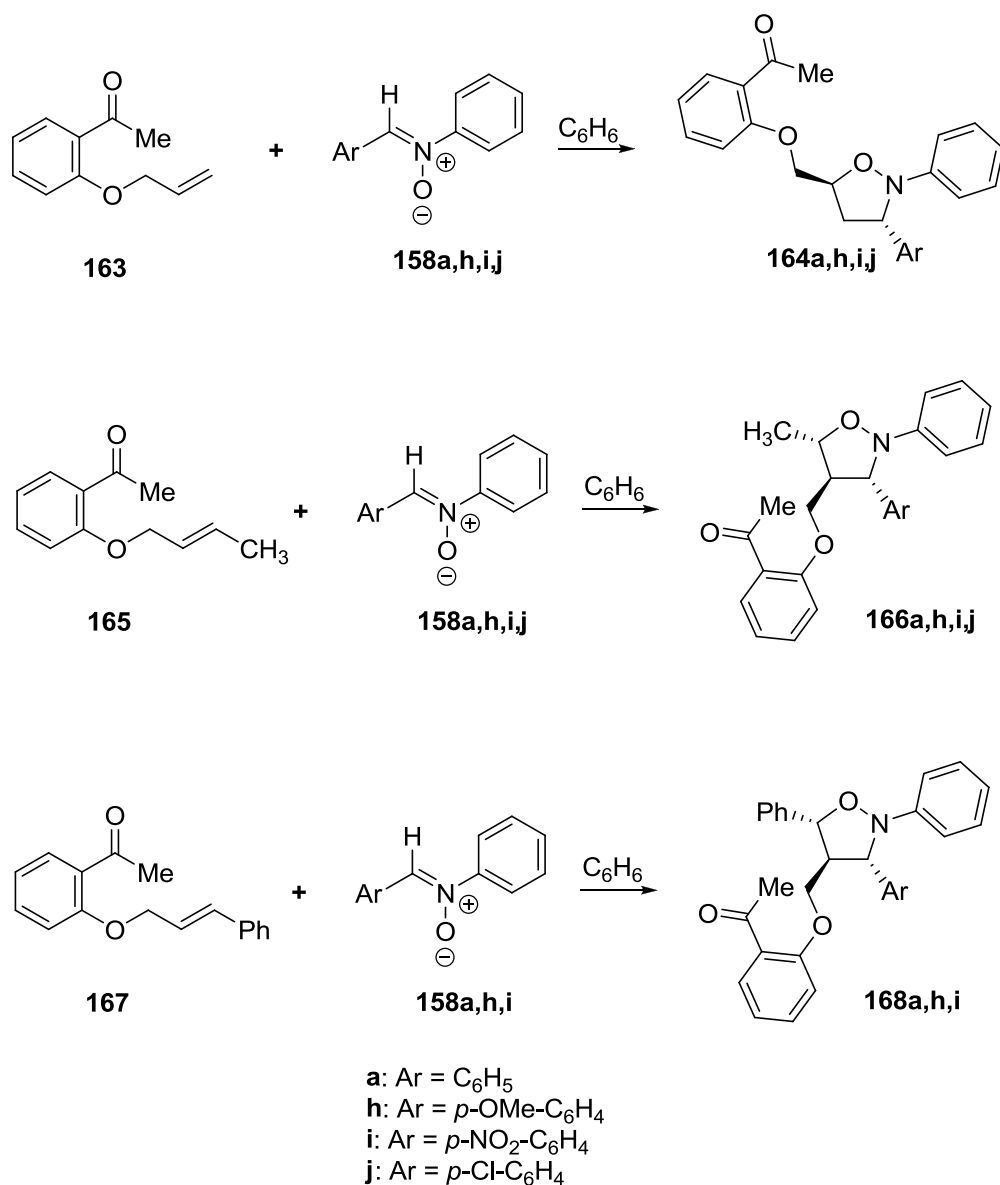
* Reakciona temperatura -78°C.

** Nakon rekristalizacije iz etanola.

Izoksazolidini privlače sve više pažnju zbog svoje biološke aktivnosti. Izoksazolidini sa *Sheme 2.2.9.* inhibiraju HIV-1 infekciju kod humanih CD4+ limfocitnih T ćelija, a da pri tome nisu pokazali toksičnost.⁷³ Određeni izoksazolidini sa *Sheme 2.2.10.* poseduju citotoksičnu aktivnost koja je slična citotoksičnoj aktivnosti poznatih lekova prema određenim ćelijama kancera. Reakcija između nitrona **158a,h,i,j** sa jedinjenjima **163** i **165**, tj. nitrona **158a,h,i**, sa jedinjenjem **167** odvija se u benzenu uz refluks.⁷⁴

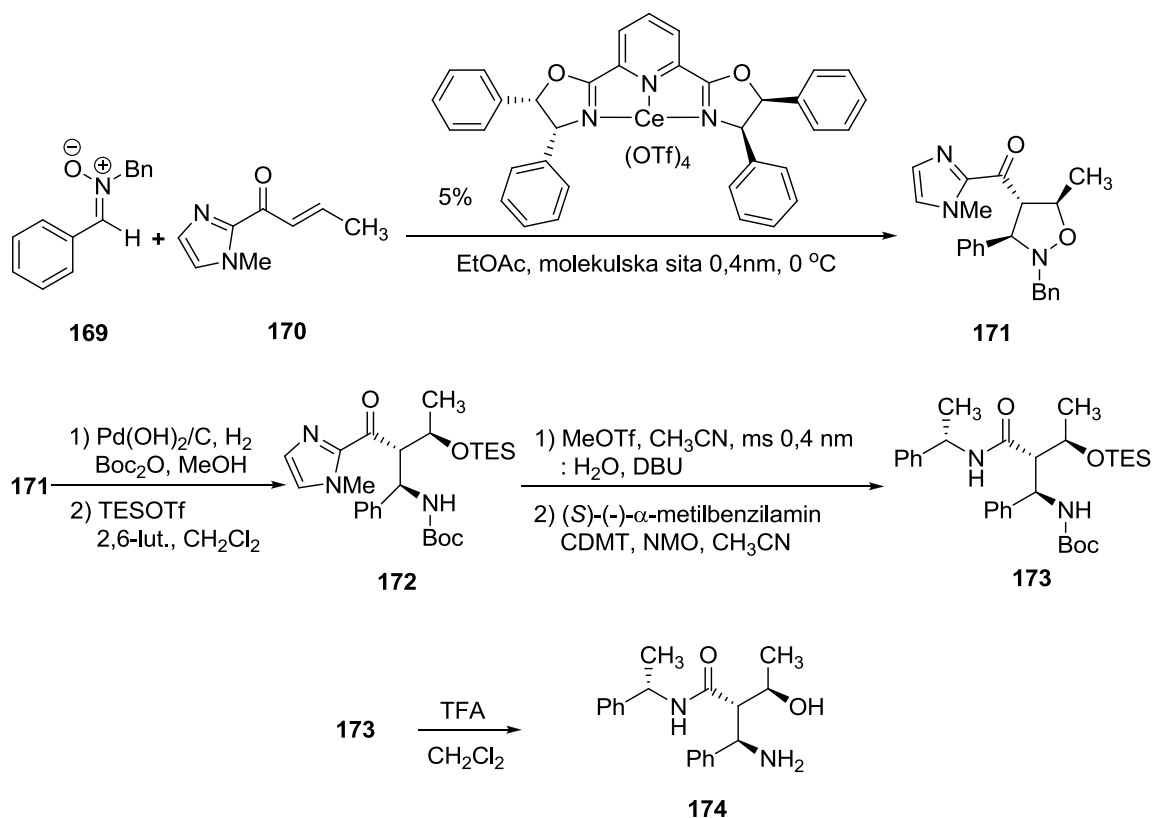


Shema 2.2.9.

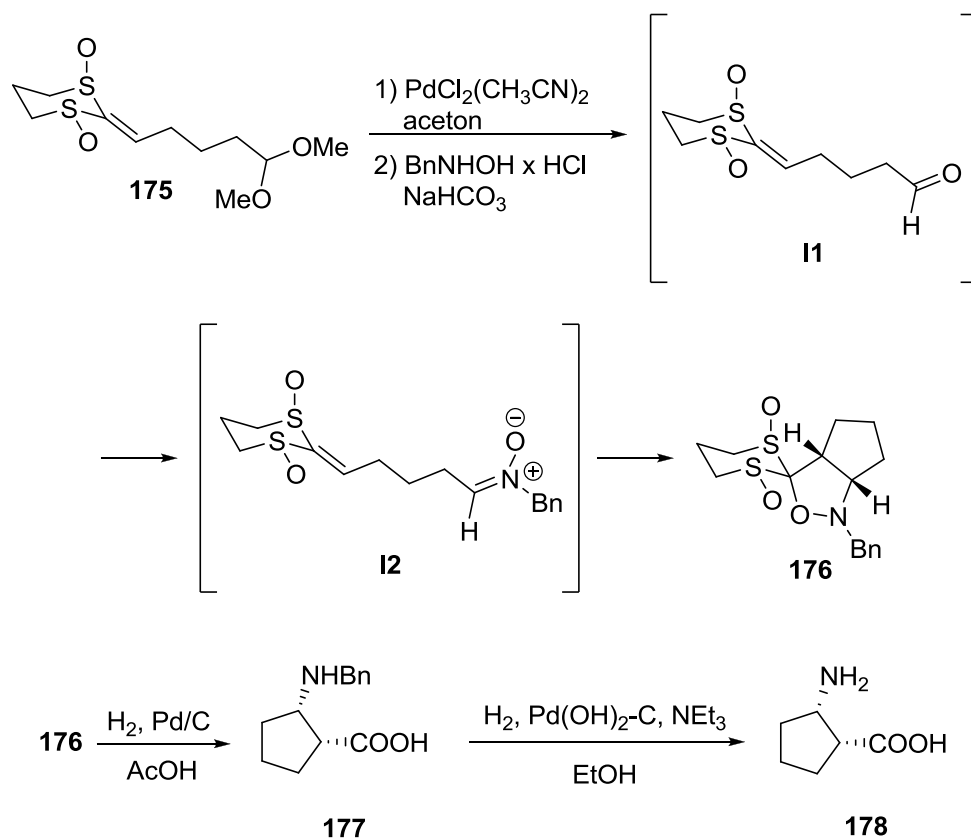


Shema 2.2.10.

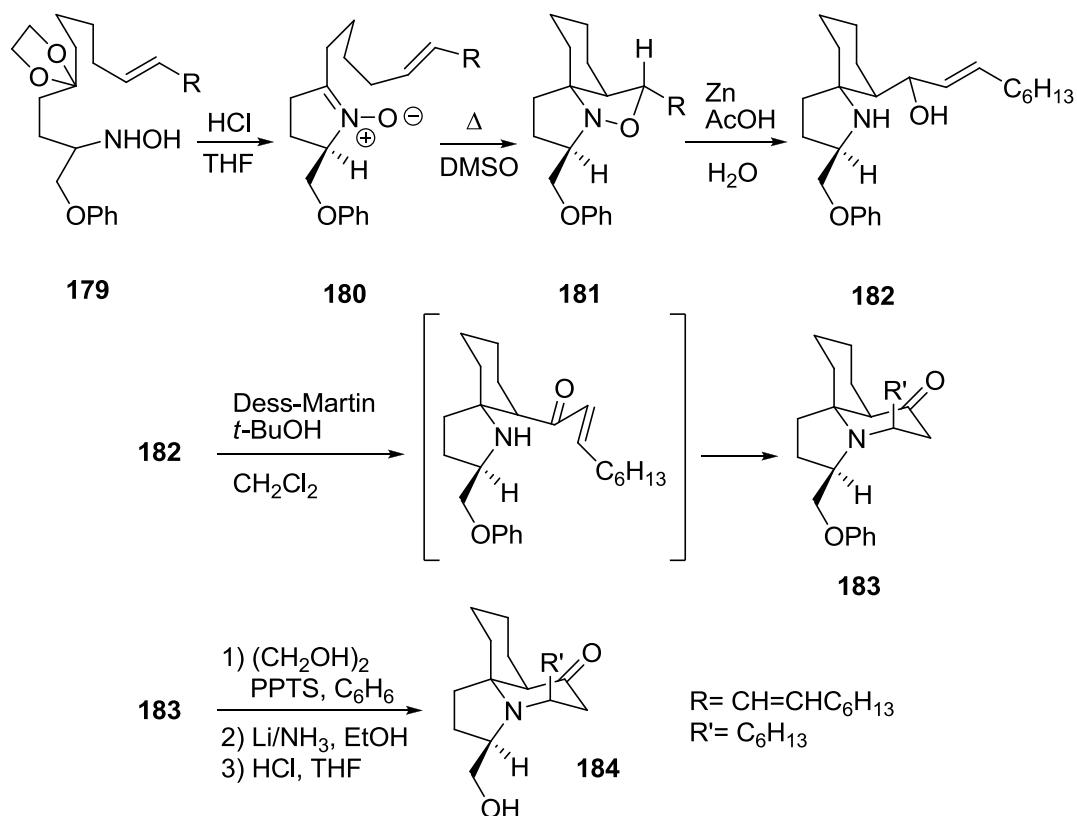
Izoksazolidini, naročito oni koji su dobijeni iz nitrona i alkena, su interesantni kao intermedijeri u sintezi β -amino alkohola⁷⁵ (Shema 2.2.11.), β -amino kiselina⁷⁶ (Shema 2.2.12.) i alkaloida⁷⁷ (Shema 2.2.13.) uz retenciju konfiguracije na hiralnim centrima. Reakcija između nitrona **169** i alkena **170** uz upotrebu Ce(IV) katalizatora odvija se na 0 °C (Shema 2.2.11).⁷⁵ Nitron **12** reaguje na sobnoj temperaturi i kao proizvod dobija se izoksazolidin **176** (Shema 2.2.12)⁷⁶, dok *N*-benzil nitron **180** podleže intramolekulskoj cikloadiciji na temperaturi od 195 °C (Shema 2.2.13).⁷⁷



Shema 2.2.11.

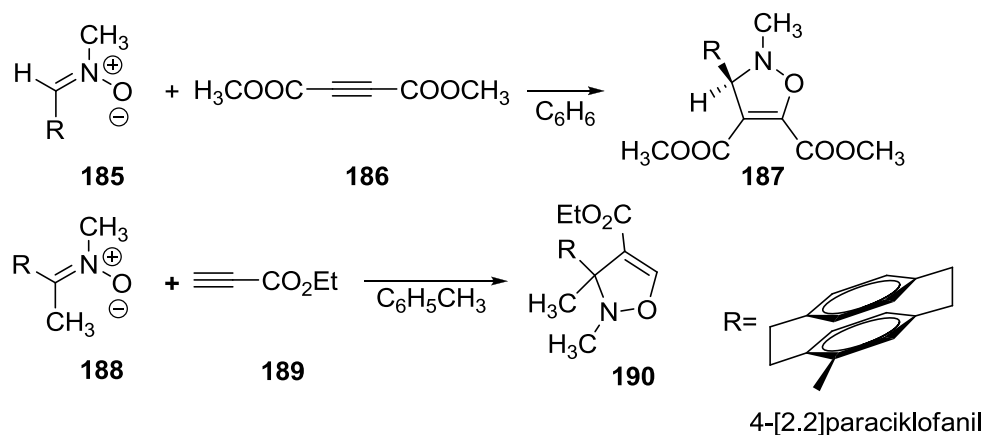


Shema 2.2.12.



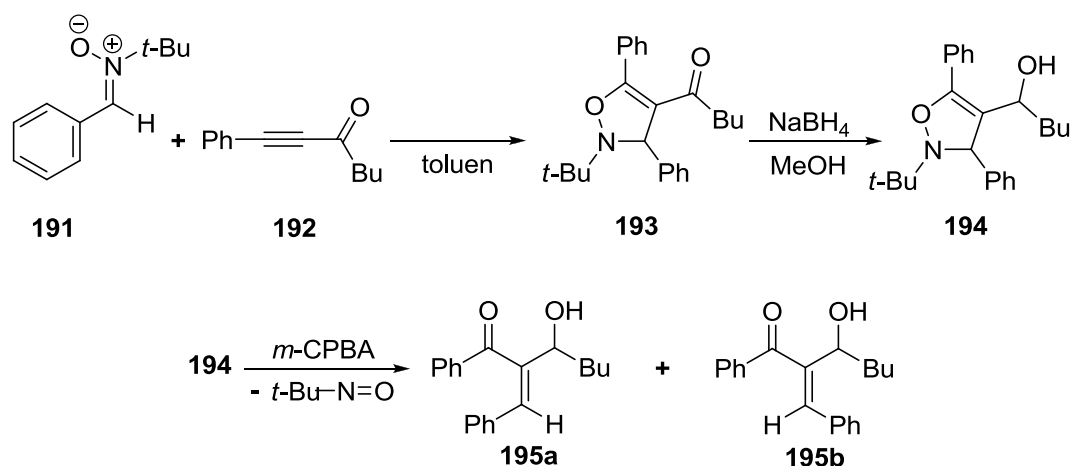
Shema 2.2.13.

Nitroni i mogu da stupe u reakciju sa alkinima i pri tome nastaju izoksazoloni (2,3-dihidroizoksazoloni) (Shema 2.2.14).^{78,79} α -(4-[2.2]Paraciklofanil)-*N*-metil nitron (**185**) reaguje sa dimetil-acetilendikarboksilatom (**186**) u ključalom benzenu i pri tome se dobija jedinjenje **187**.⁷⁸ (*E*)-*N*, α -Dimetil- α -(4-[2.2]paraciklofanil)nitron (**188**) podleže cikloadiciji sa etil-propiolatom (**189**) u ključalom toluenu a kao proizvod nastaje derivat izoksazolina **190**.⁷⁹



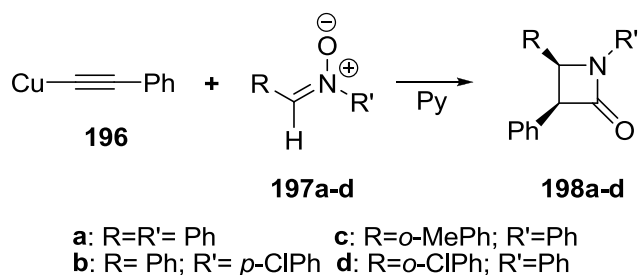
Shema 2.2.14.

Reakcijom nitrona **191** i alkina **192** na 65 °C dobija se izoksazolinski derivat **193** koji je podleže redukciji natrijum-borhidridom dajući jedinjenje **194**. Oksidacijom izoksazolina **194** *meta*-hloroperoksibenzoevom kiselinom dobijaju se α,β -nezasićeni ketoni **195a** i **195b** uz izdvajanje nitrozo jedinjenja (Shema 2.2.15).⁸⁰

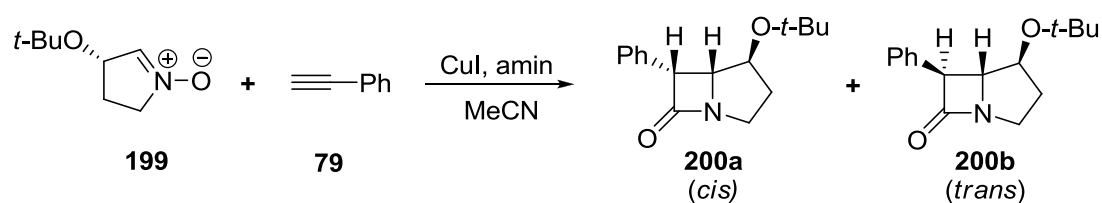


Shema 2.2.15.

Kinugasa⁸¹ je utvrdio da u reakciji koja se odvija na sobnoj temperaturi između nitrona **197a-d** i bakar(I) fenilacetilida nastaju *cis*-β-laktami **198a-d** (Shema 2.2.16). Dodatkom različitih amina u Kinugasa-i reakciji može se postići različita diastereoselektivnost (Shema 2.2.17 i Tabela 2.2.3).⁸²



Shema 2.2.16.



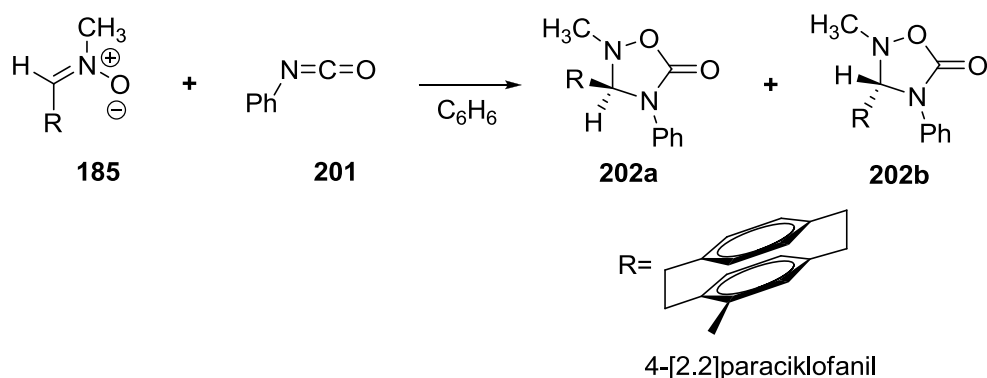
Shema 2.2.17.

Tabela 2.2.3. Uticaj amina na prinos i diastereoselektivnost *Kinugasa*-i reakcije

redni broj	amin	reakciono vreme/h	prinos/%	<i>cis/trans</i>
1	Et ₃ N	20	56	85/15
2	Et ₃ N	48	58	52/48
3	<i>i</i> -Pr ₂ NEt	20	38	98/2
4	(<i>c</i> -C ₆ H ₁₁) ₂ NMe	21	50	95/5
5	piridin	22	10	54/46
6	TMEDA	20	26	55/45
7	Et ₃ N*	24	80	74/26
8	Et ₃ N*	48	70	60/40
9	NH ₂ NH ₂ xH ₂ O	21	58	70/30

*Dodatak 20 mol % NH₂NH₂xH₂O.

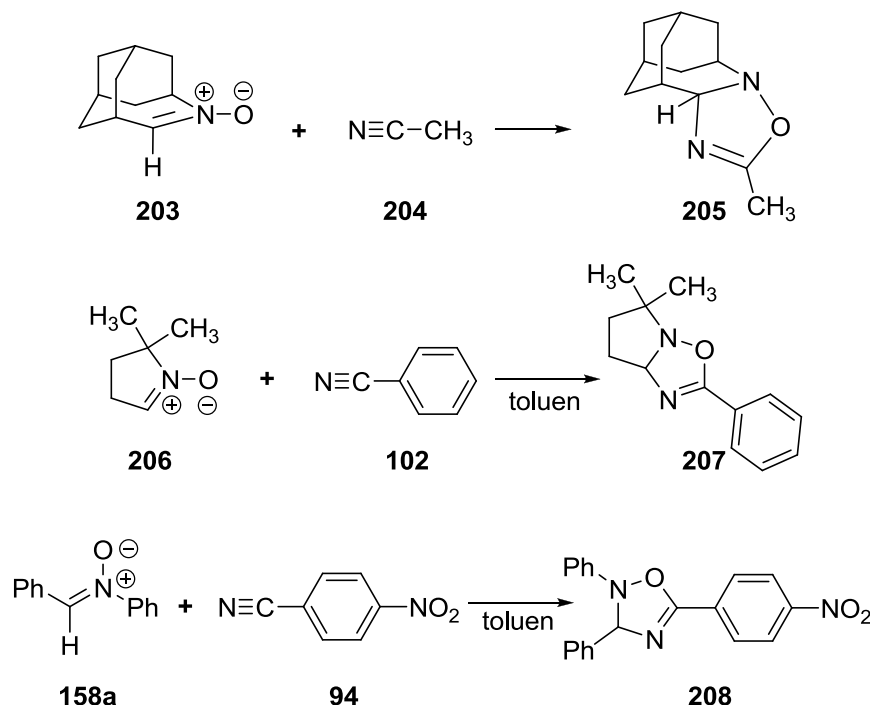
Reakcijom nitrona **185** i fenil-izocijanata (**201**) na temperaturi ključanja benzena nastaju u istom molском odnosu dva diastereoizomerna oksadiazolona **202a** i **202b** (*Shema 2.2.18*). Nastanak ovih proizvoda objašnjava se izomerizacijom nitrona koja se dešava tokom reakcije.⁷⁸



Shema 2.2.18.

Za razliku od dvostruke veze kod alkena, nitrilna grupa je slabo reaktivna u cikloadicionim reakcijama. Zbog ove činjenice, mali broj nitrona stupa u reakcije sa nitrilnom grupom.⁸³ Visoko reaktivni nitroni reaguju sa nitrilnom grupom i pri tome se dobijaju 2,3-

dihidro-1,2,4-oksadiazoli. I pored visoke reaktivnosti cikličnog nitrona **203**, reakcija sa acetonitrilom (**204**) se odvija na 150 °C, a reakciono vreme iznosi 15 dana. U slučajevima kada je nitrilna grupa vezana za aromatični prsten (**94** i **102**) reakcija se odvija na nižoj temperaturi (120 °C) a reakciono vreme iznosi 12 sati (*Shema 2.2.19*).⁸⁴

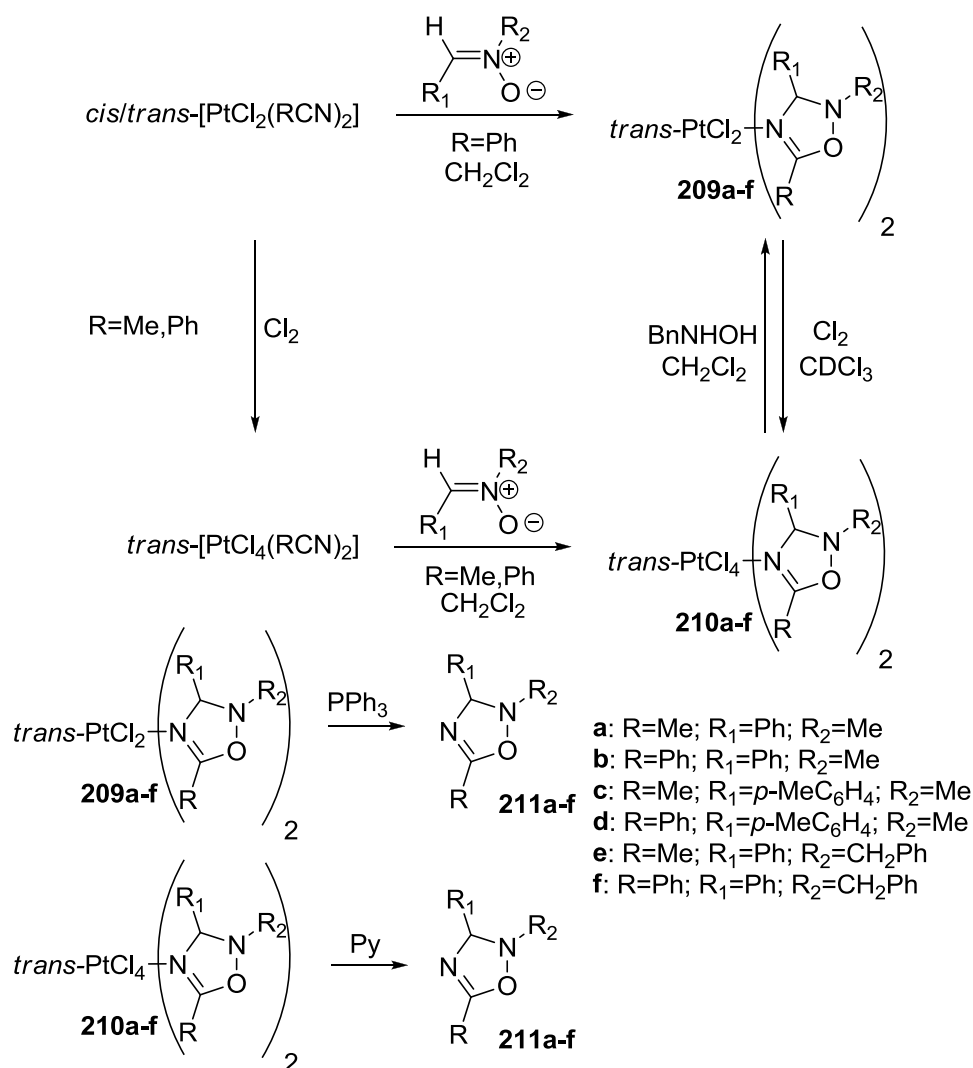


Shema 2.2.19.

Reaktivnost nitrilne grupe zavisi od supstituenata za koje je vezana. Elektron-akceptorske grupe aktiviraju nitrilnu grupu. Kod nitrila sa opštom formulom RCN , reaktivnost opada sledećim nizom kod kojih je R: $\text{CCl}_3 > \text{CO}_2\text{Et} > \text{NMe}_2 > \text{Ph}$.⁸⁵

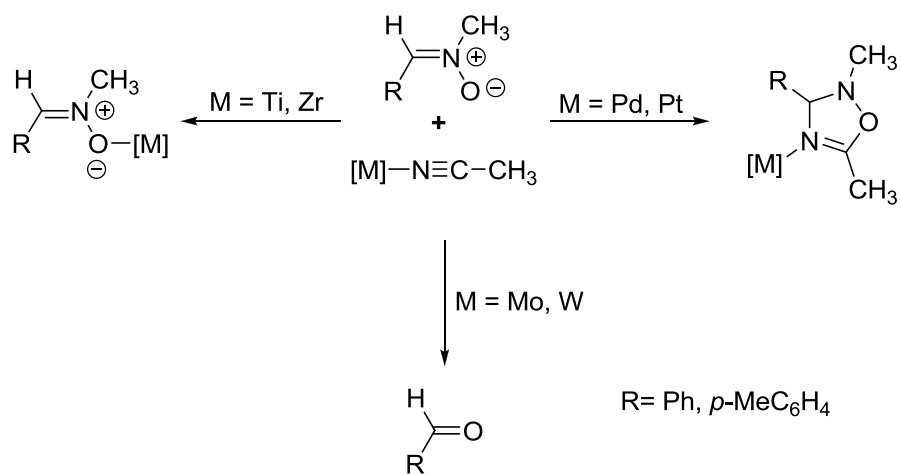
Nitroni mogu da se adiraju na nitrile i pri blagim reakcionim uslovima tako što se nitrilna grupa aktivira pomoću određenih soli platine ili paladijuma. Ovaj tip reakcije je poznat kao metal-potpomognuta 1,3-dipolarna cikloadicija. Na reaktivnost datog sistema utiče oksidaciono stanje, priroda metalnog centra, ligandno okruženje u nitrilnom kompleksu, priroda nitrila, nitrona i upotreba dodatnih metoda aktivacije.⁸³

Oksidaciono stanje metalnog centra značajno utiče na aktivaciju koordinisanog nitrila. Nitrilni kompleksi Pt(IV) znatno brže reaguju sa nitronima u odnosu na Pt(II) komplekse, a reakcije cikloadicije se odvijaju na sobnoj temperaturi osim u slučaju $[\text{PtCl}_2(\text{MeCN})_2]$ kompleksa gde nema reakcije. Razlog izostanka pomenute reakcije je ligand acetonitril, zbog uticaja metil grupe kao elektron-donora, čime se smanjuje reaktivnost nitrilne grupe. Za razliku od navedenog Pt(II) kompleksa, $[\text{PtCl}_4(\text{MeCN})_2]$ reaguje sa nitronima. Oslobođanje Δ^4 -1,2,4-oksadiazolina iz kompleksa uz pomoć piridina ili 2,2'-bipiridina odvija se lako kada se radi o kompleksu Pt(IV) **210a-f**, dok kod Pt(II) kompleksa **209a-f** to nije moguće. Zamena liganda kod Pt(II) kompleksa **209a-f** je moguće sa PPh_3 ili 1,2-Bis(difenilfosfino)etanom, a izmena se odvija znatno sporije uz veliki višak liganda i zagrevanje (*Shema 2.2.20*).⁸⁶

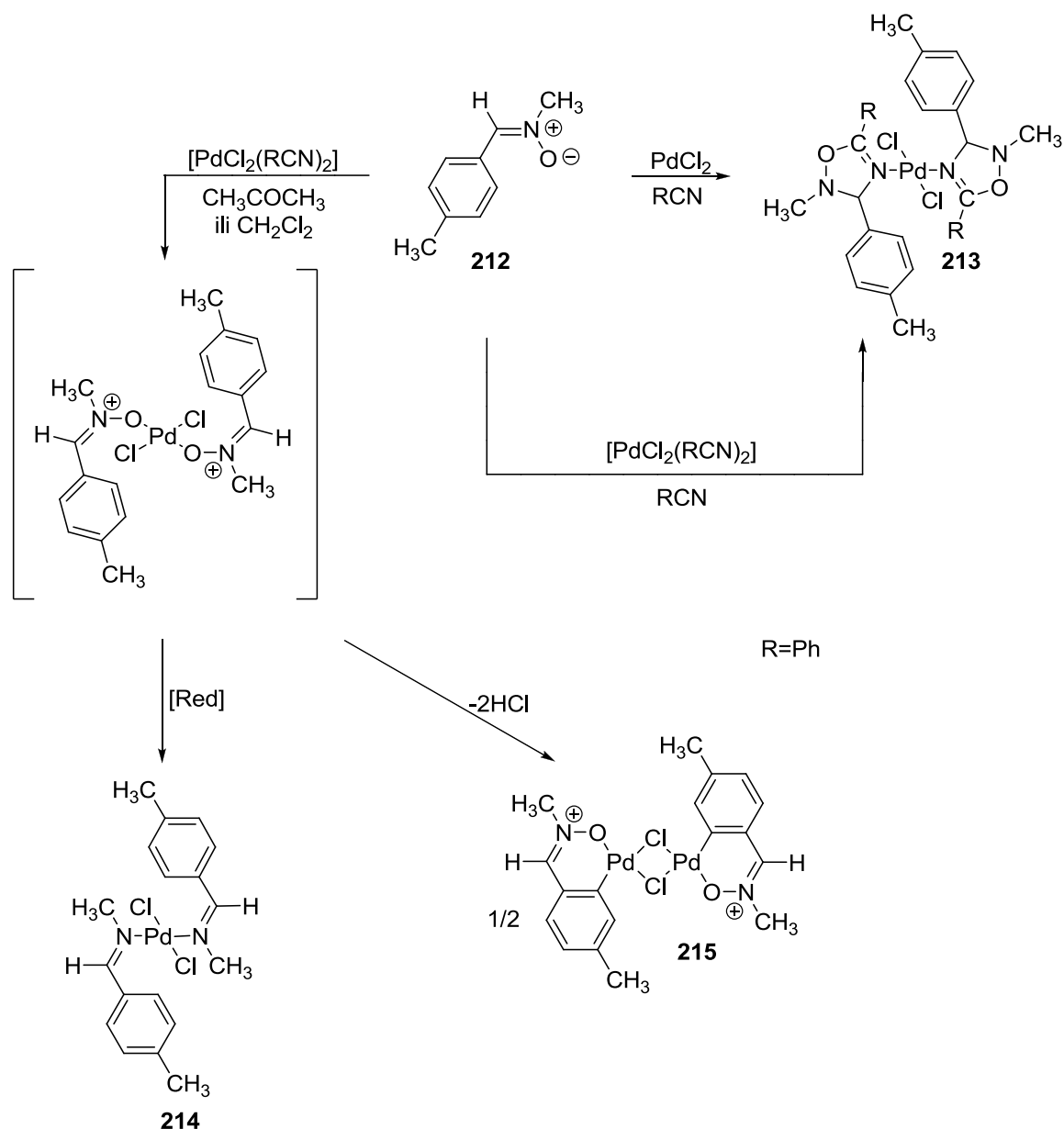


Shema 2.2.20.

Priroda metalnog centra je jedan od ključnih faktora koji određuju mogućnost metal-potpomognute cikloadicije.^{87,88} Istraživanja su pokazala da je cikloadicija jedino moguća ako se koriste platina(II i IV)^{86,87} i paladijum(II)^{87,88} nitrilni kompleksi (Shema 2.2.21). U slučaju nitrilnih kompleksa titana i cirkonijuma dolazi do izmene liganada tj. nastanka kompleksa nitrona i titana odnosno cirkonijuma. U reakcijama nitrona sa kompleksima molibdena, odnosno volframa, dolazi do hidrolize nitrona.⁸⁸ Platina(IV) kompleksi, reaguju sa nitronima gradeći 2,3-dihidro-1,2,4-oksadiazole u različitim rastvaračima kao što su dihlormetan i hloroform.⁸⁹ Suprotno kompleksima platine, kompleksi paladijuma daju željeni proizvod samo ako se kao rastvarač koristi odgovarajući nitril. Reakcija između nitrona **212** i benzonitrila odvija se na 45 °C. Reakcijom nitrona i paladijum(II) kompleksa u rastvaračima kao što su aceton ili dihlormetan ne dobija se niti slobodan niti koordinisan Δ^4 -1,2,4-oksadiazolin. Kao proizvodi su dobijeni kompleksi paladijuma sa nitronom tj. proizvodi dalje transformacije koordinisanog nitrona (Shema 2.2.22). Ova činjenica se može objasniti teorijom tvrdih i mekih kiselina i baza. Kod paladijuma koji je u odnosu na platinu tvrđa kiselina, dolazi do zamene „meke“ baze RCN sa „tvrdom“ u odsustvu viška nitrila.⁹⁰

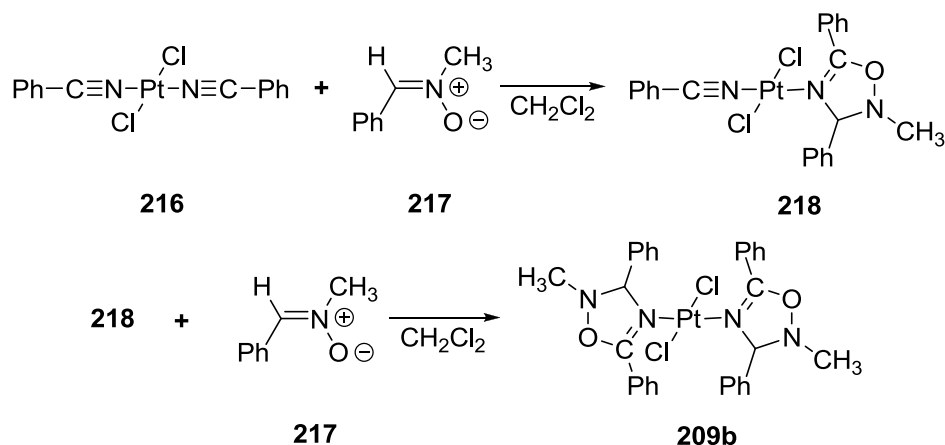


Shema 2.2.21.

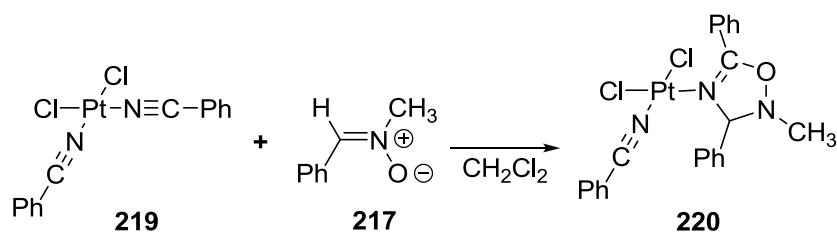


Shema 2.2.22.

Ligandno okruženje može da utiče na cikloadiciju nitrona na koordinisanu nitrilnu funkciju. Kompleks **216** (Shema 2.2.23.) u prvoj fazi reaguje sa nitronom **217** i pri tome nastaje koordinisani 2,3-dihidro-1,2,4-oksadiazol (**218**). U sledećem koraku nitron **217** reaguje sa kompleksom **218**. Nitrilna grupa u kompleksu **216** je reaktivnija i samim tim reakcija se brže odvija u odnosu na reakciju nitrilne grupe u kompleksu **218**. To se objašnjava time što je koordinisani 2,3-dihidro-1,2,4-oksadiazol bolji σ donor u odnosu na nitril i kao rezultat toga dolazi do smanjenja elektron-akceptorske moći metalnog centra. Usled sternih smetnji, *cis* kompleks reaguje samo sa jednim nitronom (Shema 2.2.24). Obe reakcije se odigravaju na sobnoj temperaturi.⁹¹



Shema 2.2.23.



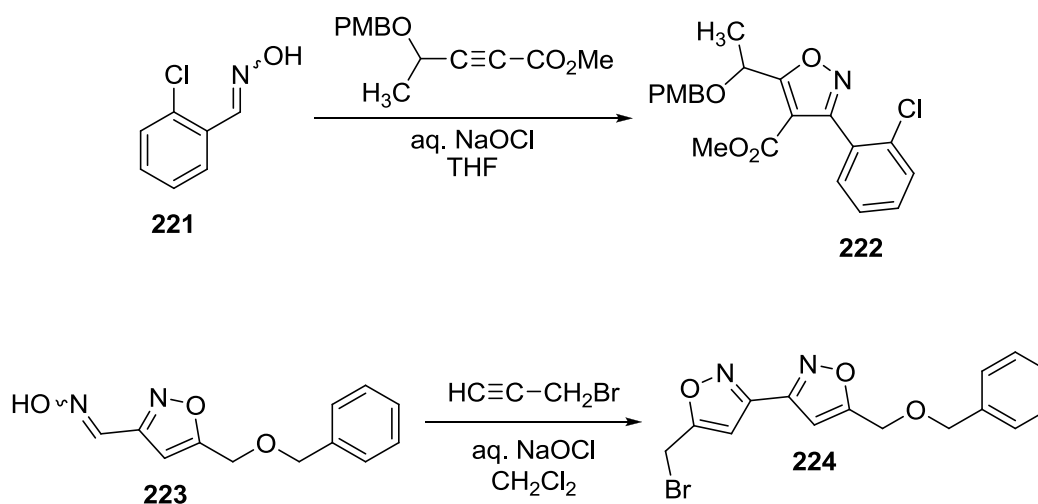
Shema 2.2.24.

Uticaj prirode nitrona na metal-potpomognutu cikloadiciju je sličan kao kod reakcije sa slobodnim nitrilima. Reaktivnost nitrona raste od acikličnih do cikličnih. Ciklični nitron **206** reaguje sa $[\text{PtCl}_2(\text{EtCN})_2]$, dok aciklični nitron ArC(H)=N(O)CH_3 ne reaguje. Ovo se može objasniti prisustvom elektron-donorskog supstituenta na ugljenikovom atomu C=N(O) grupe kod cikličnog nitrona, a i činjenicom što se ciklični dipol nalazi isključivo u reaktivnijoj *E* konfiguraciji.^{86,92}

Mikrotalasno ozračivanje se može smatrati dodatnom metodom aktivacije cikloadicije. Na primer, reakcija između $[\text{PtCl}_2(\text{EtCN})_2]$ ili $[\text{Ph}_3\text{PCH}_2\text{Ph}][\text{PtCl}_3(\text{EtCN})]$ sa cikličnim nitronom **206** na sobnoj temperaturi traje jedan do dva dana. U slučaju kada se koristi mikrotalasno ozračivanje, reakcija traje 30 minuta pri temperaturi 30°C , a na temperaturi od 50°C za 15 minuta.⁹²

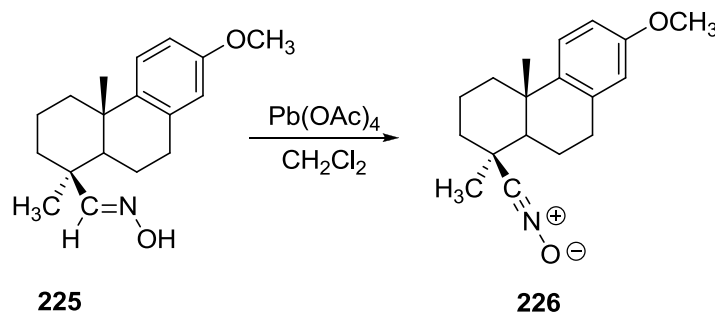
2.3. Sinteza i cikloadicione reakcije nitril-oksida

Nitril-oksidi mogu da reaguju sa alkenima, alkinima, nitrilima i pri tome nastaju odgovarajući izoksazolini, izoksazoli ili 1,2,4-oksadiazoli.⁹³ Nitril-oksidi se mogu sintetisati na različite načine, ali najčešće se ne izoluju već se podvrgavaju daljim reakcijama. Jedan od najzastupljenijih pravaca u njihovoj sintezi uključuje aldehide kao polazna jedinjenja koja se dalje transformišu u aldoksime. Upotrebom različitih reagenasa, aldoksimi se prevode u nitril-oksidi. Među prvim upotrebljenim reagensima u te svrhe bio je natrijum-hipohlorit.⁹⁴ Vodeni rastvor ovog reagensa dovodi do delimične hidrolize oksima dajući polazni aldehyd.⁹⁵ Na početku reakcije, reagensi se postepeno dodaju na 0 °C, a zatim se reakcija odvija na sobnoj temperaturi (*Shema 2.3.1*).^{96,97}



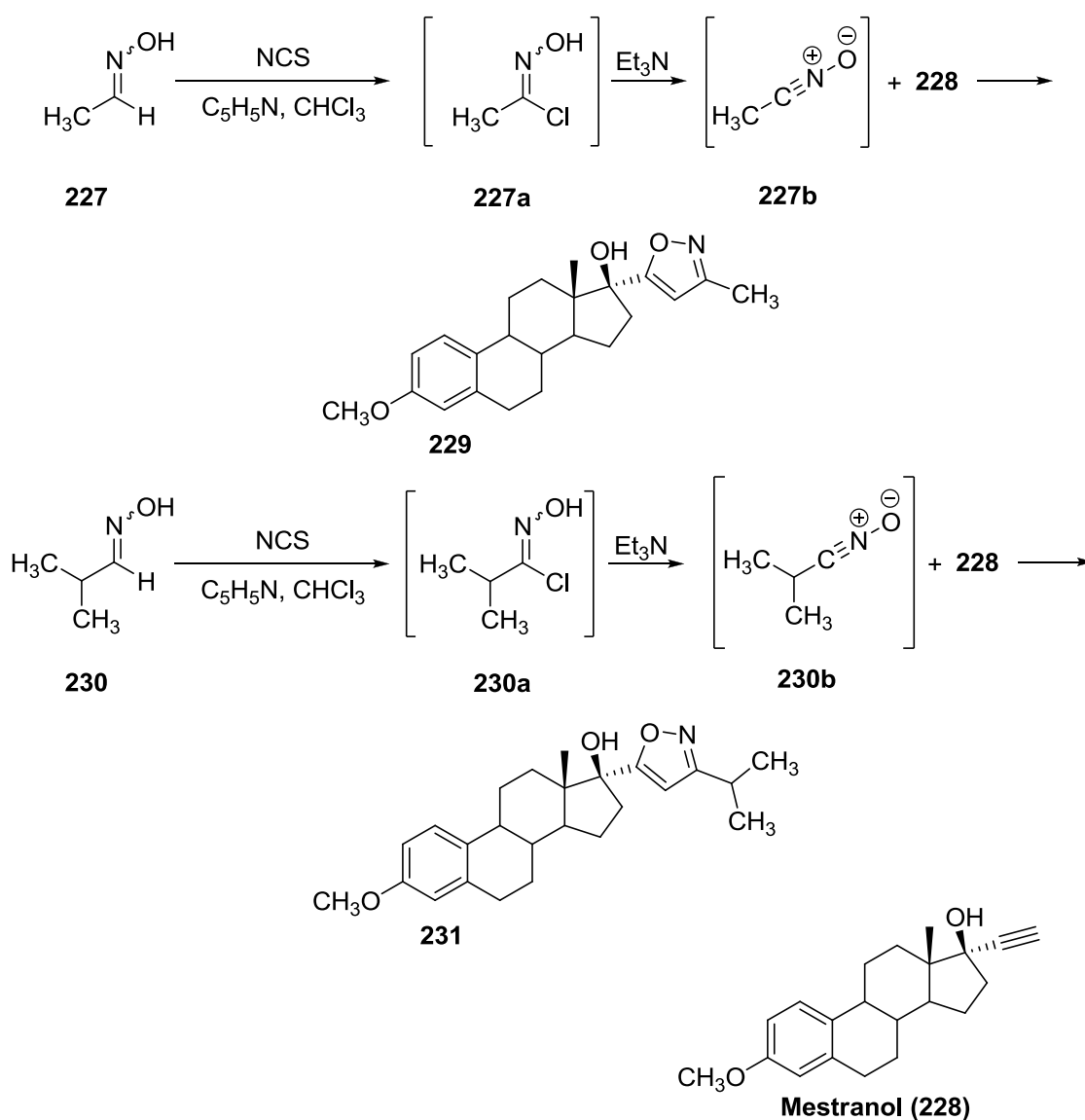
Shema 2.3.1.

Oksidacijom *sin*-aldoksima **225** olovom(IV)-acetatom na sobnoj temperaturi, nastaje nitril-oxid **226** u visokom prinosu i dati proizvod je stabilan, tj. ne podleže dimerizaciji. Sterni efekat je glavni razlog njegove stabilnosti (*Shema 2.3.2*).⁹⁸



Shema 2.3.2.

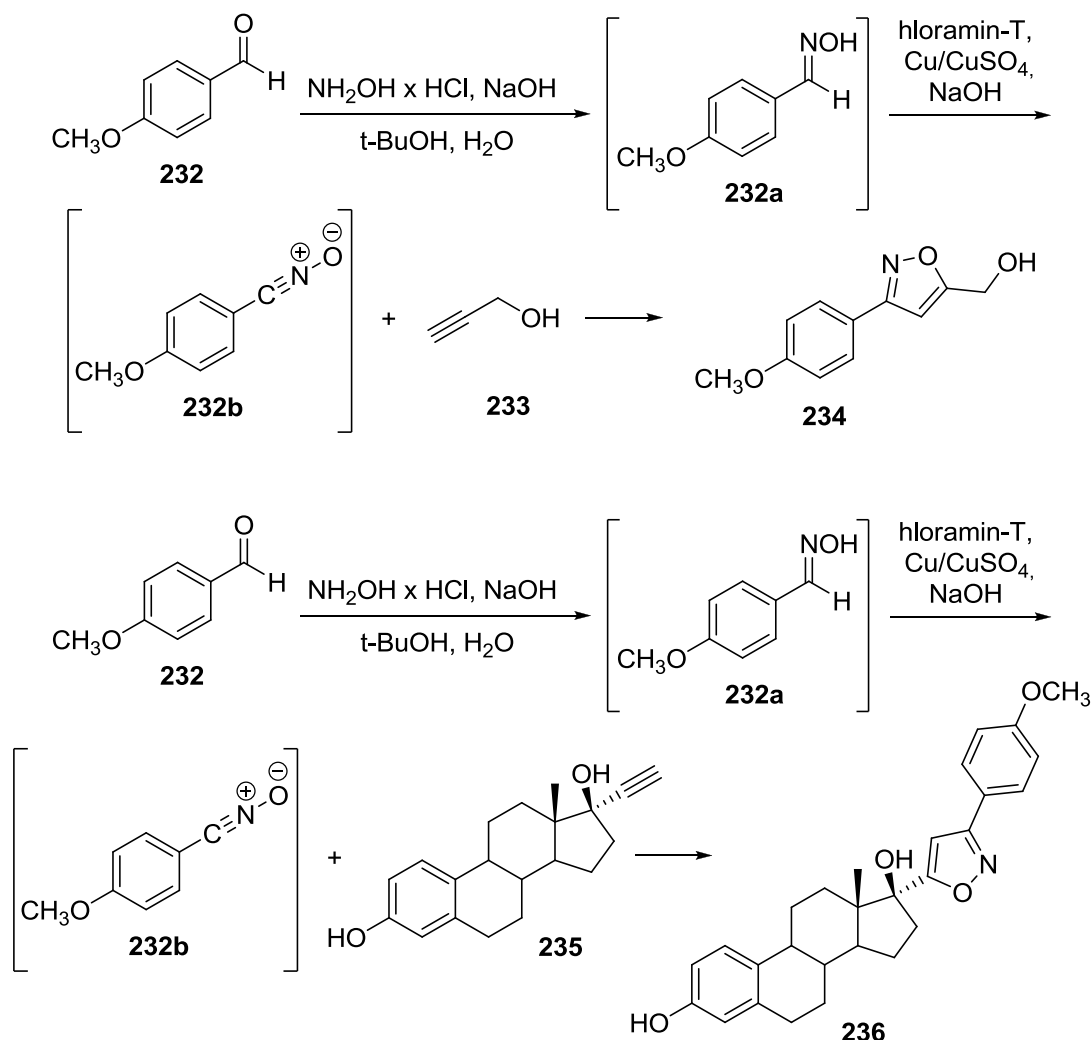
Poslednjih godina, navedene metode se ređe koriste. Tako na primer, umesto natrijum-hipohlorita za dobijanje hidrosimoil-hlorida koji je prekursor u sintezi nitril-oksida, koriste se *N*-hlorosukcinimid ili hloramin-T.⁹⁹⁻¹⁰² Acetaldotsim **227**, odnosno izobutiraldotsim **230** reaguje sa *N*-hlorosukcinimidom na sobnoj temperaturi gradeći odgovarajući hidrosimoil hlorid **227a** odnosno **230a**, koji se po dodatku trietilamina transformišu u acetonsitril-oksidi **227b** tj. izobutironsitril-oksidi **230b**. Novonastali nitril-oksidi **227b** odnosno **230b** reaguje sa mestranolom (**228**), koji je dodat sa gore navedenim trietilaminom, dajući odgovarajući 17 α -izoksazolil derivat **229**, tj. **231** (Shema 2.3.3).⁹⁹



Shema 2.3.3.

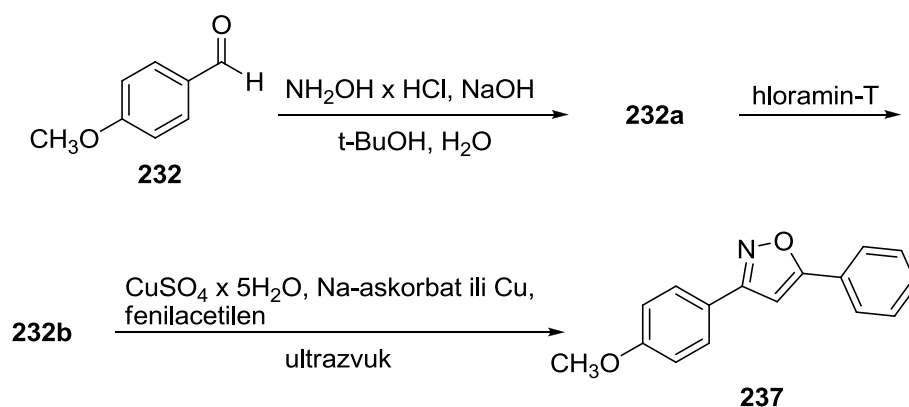
Hansen i saradnici¹⁰¹ su sintetisali seriju 3,5-disupstituisanih izoksazola u dobrom prinosu u „one-pot“ regioselektivnoj bakar(I) katalizovanoj cikloadiciji *in situ* generisanih nitril-oksida i terminalnih alkina. U smeši terc-butanola i vode (1:1) 4-metoksibenzaldehid (**232**) reaguje sa hidrosilaminom na sobnoj temperaturi i nakon završetka reakcije dodaje se

hloramin-T (*N*-hlor-4-metilbenzensulfonamid), elementarni bakar, bakar(II)-sulfat, terminalni alkin **233** tj. **235** i natrijum-hidroksid, a kao konačni proizvod dobija se 3,5-disupstutuisani izoksazol **234** odnosno **236** (Shema 2.3.4).¹⁰¹ Građenje bakar(I)-acetilida omogućava regioselektivnost reakcije.



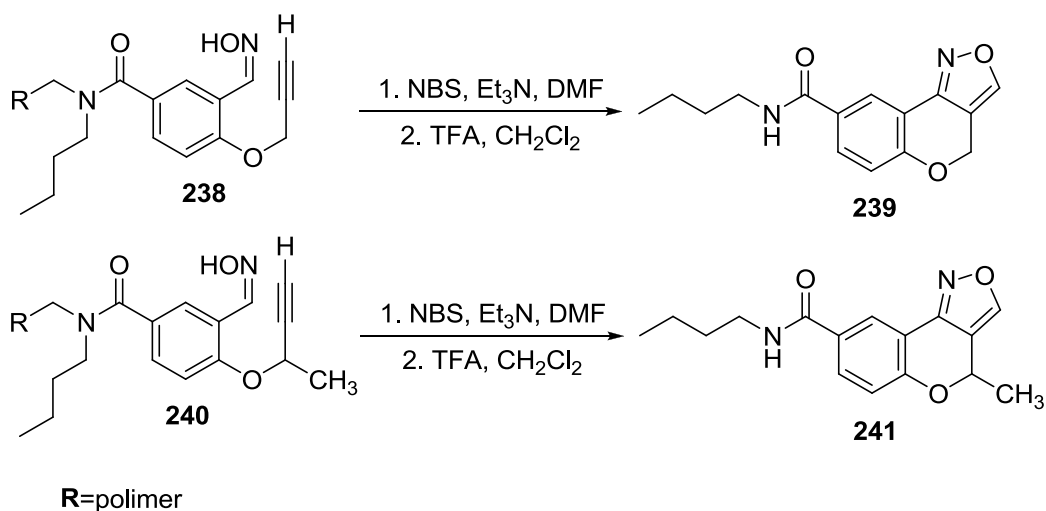
Shema 2.3.4.

Ponekad se reakcija može ubrzati upotrebom ultrazvučnog kupatila. Tako su Koufaki i saradnici¹⁰³ razvili pogodnu metodu za brzu „one pot“ sintezu 3,5-disupstutuisanih izoksazola ultrazvučnim ozračivanjem smeše *in situ* generisanih nitril-oksida (polazeći od odgovarajućeg aldehida) i alkina. Građenje nitril-oksida **232b** se odvija na sobnoj temperaturi, a nakon toga se doda bakar(II)-sulfat, natrijum-askorbat (ili elementarni bakar) i fenilacetilen, a zatim zagreva u ultrazvučnom kupatilu na 60 °C (Shema 2.3.5). Reakciono vreme je 30 minuta umesto 24 sata koliko je bez upotrebe ultrazvučnog kupatila.¹⁰³



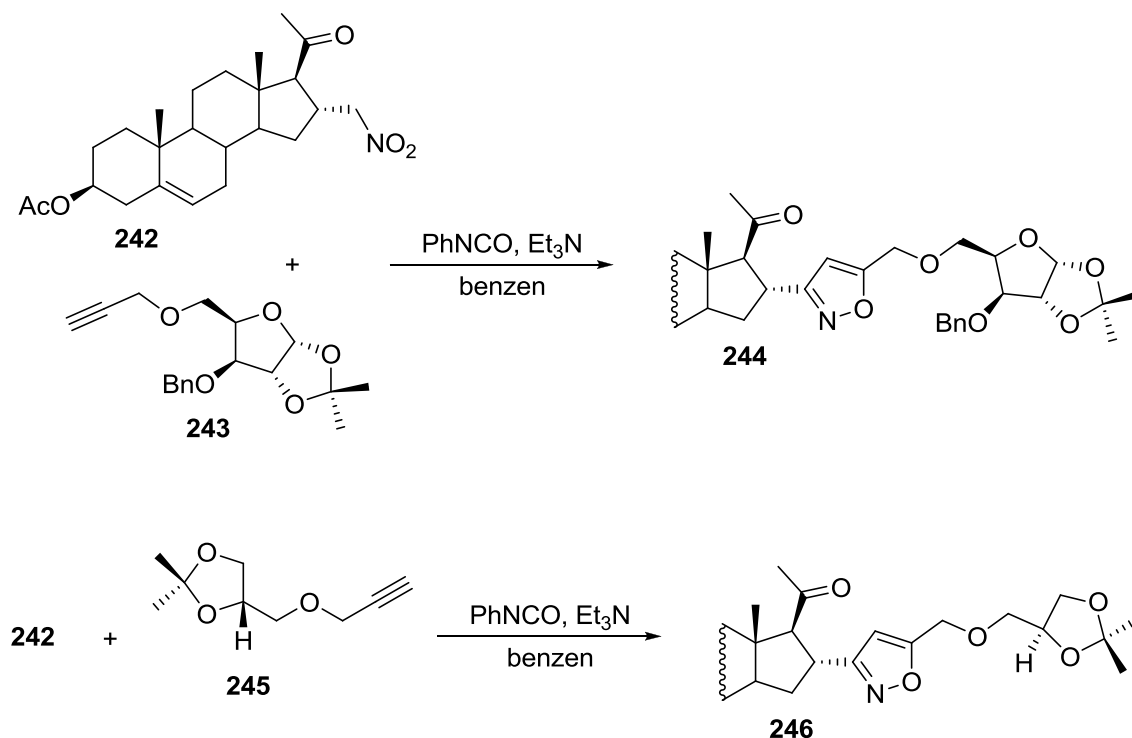
Shema 2.3.5

Chao i saradnici⁹⁵ su objavili novu metodu dobijanja izoksazola na čvrstoj fazi (polimerna podloga). Umesto *N*-hlorosukcinimida, u sintezi nitril-oksida koristi se *N*-bromosukcinimid.^{95,104} Kao primer ove reakcije mogu da posluže aldoksimi **238** i **240** koji u *N,N*-dimetilformamidu reaguju na sobnoj temperaturi sa *N*-bromosukcinimidom u prisustvu trietilamina gradeći izoksazole **239** i **241**. Proizvodi reakcije se „odvajaju“ od polimera dodatkom trifluorsirćetne kiseline (Shema 2.3.6).⁹⁵



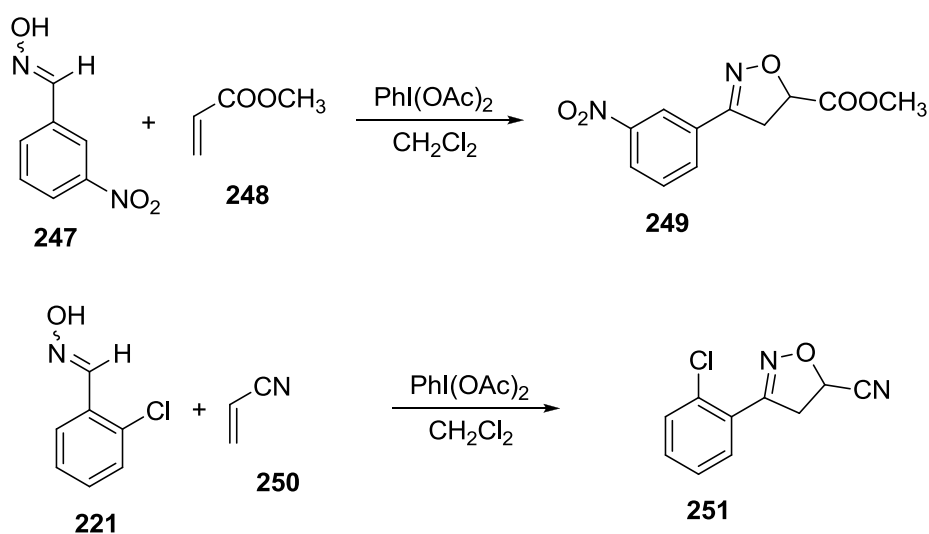
Shema 2.3.6.

Drugi pravac u sintezi nitril-oksida uključuje nitro jedinjenja, a kao reagensi se koriste fenil-izocijanat i trietilamin.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Naime, Wankhede i saradnici¹⁰⁷ su sintetisali steroidne izoksazole 1,3-dipolarnom cikloadicijom *in situ* generisanog steroidnog nitril-oksida sa odgovarajućim propargil etrom. Nitro derivat **242** reaguje na sobnoj temperaturi sa fenil-izocijanatom u prisustvu katalitičke količine trietilamina, a zatim novonastali nitril-oxid dalje stupa u reakciju cikloadicije sa alkinom **243** i **245** dajući izoksazole **244** i **246** (Shema 2.3.7).¹⁰⁷



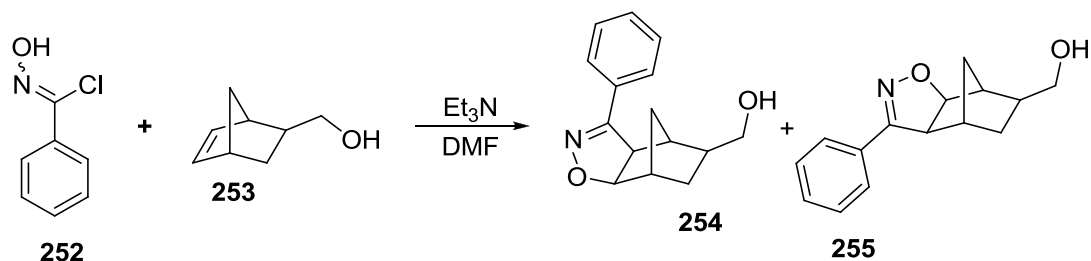
Shema 2.3.7.

Upotrebom diacetoksidobenzena, kao oksidacionog reagensa, aldoksimi se prevode u nitril-oksidi.^{108,109} U slučajevima kada se kao dipolarofil koriste alkeni koji su „aktivirani“ elektron-privlačnim grupama, dobijaju se izoksazolini u visokim¹⁰⁸, odnosno umerenim¹¹⁰ prinosima. Reakcije se odvijaju u temperaturnom intervalu od 0 do 20 °C (Shema 2.3.8).¹⁰⁸ Pored kratkog reakcionog vremena, ovu metodu karakteriše i nizak stepen konverzije oksima u polazni aldehyd.¹⁰⁸



Shema 2.3.8.

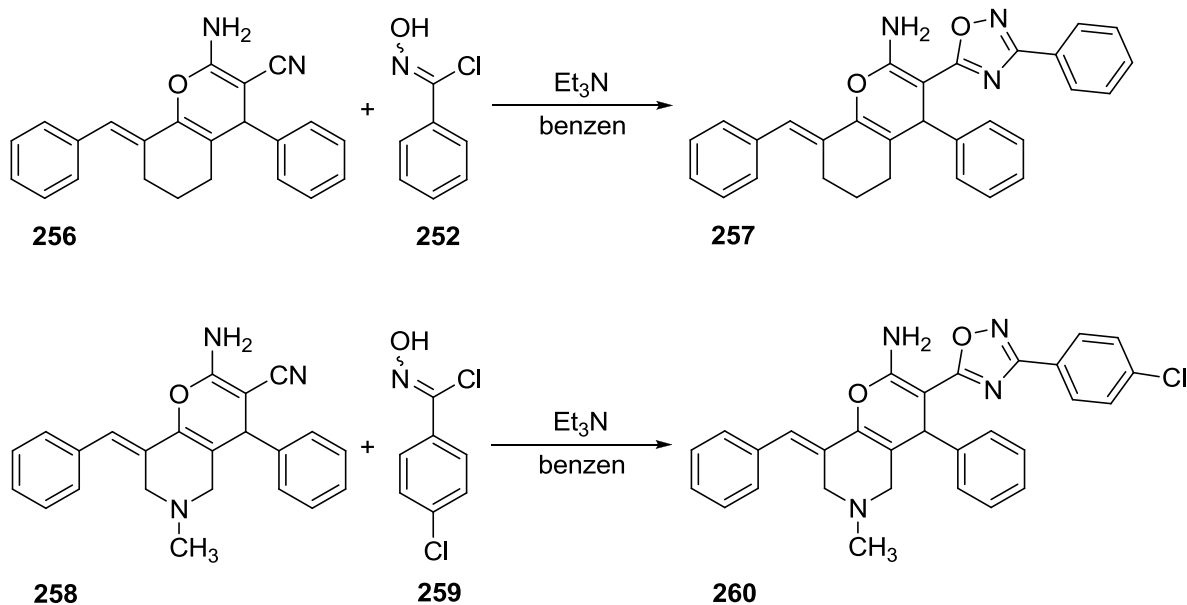
Na sobnoj temperaturi, takođe reaguju „napregnuti” alkeni. Veoma važno je napomenuti da reakcija traje 1 minut i tom prilikom dobija se smeša *exo*-1,4 i *exo*-1,5 izoksazolina u visokom prinosu (Shema 2.3.9). Ova reakcija je ujedno i primer „click” hemije nitril-oksida.¹¹¹



Shema 2.3.9.

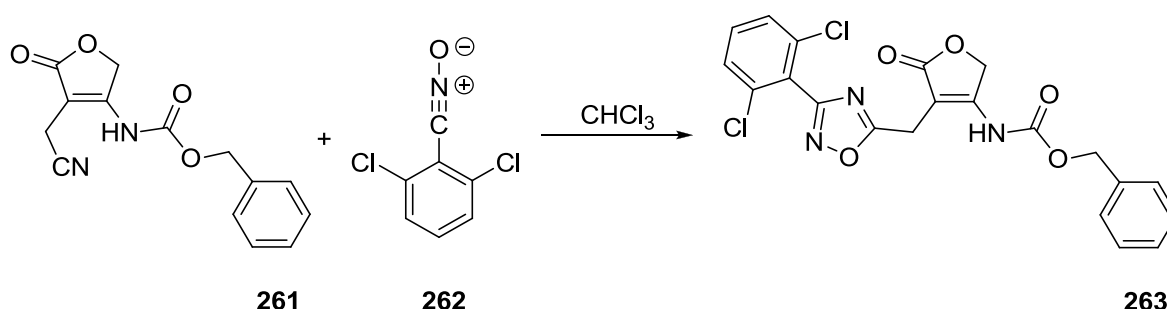
Jedna od metoda sinteze 1,2,4-oksadiazola uključuje 1,3-dipolarnu cikloadiciju između nitril-oksida i nitrila. Ako se reakcija odvija između „neaktiviranih“ nitrila, neophodna je visoka temperatura što dovodi do smanjena prinosa usled povećanja stepena dimerizacije.^{112,113} „Neaktivirani“ nitrili ne reaguju sa nitril-oxidima na nižim temperaturama jer je trostruka veza između ugljenika i azota „loš“ dipolarofil. Nitrilna grupa može se „aktivirati“ uvođenjem „jake“ elektron-privlačne grupe vezane za nitrilni ugljenik.¹¹⁴ Drugi način „aktivacije“ nitrila uključuje kompleksiranje nitrila preko atoma azota.^{115,116}

„Neaktivirani“ nitrili **256** i **258** reaguju sa nitril-oxidima generisanim „in situ“ iz *N*-hidroksiarilkarboksimidoid hlorida **252** i **259** u prisustvu trietilamina u benzenu, na tački ključanja reakcione smeše. Treba napomenuti da nitril-oksidi ne reaguju sa egzocikličnim alkenima ni u slučajevima kada su nitril-oksidi u višku i vreme zagrevanja produženo (Shema 2.3.10).¹¹²



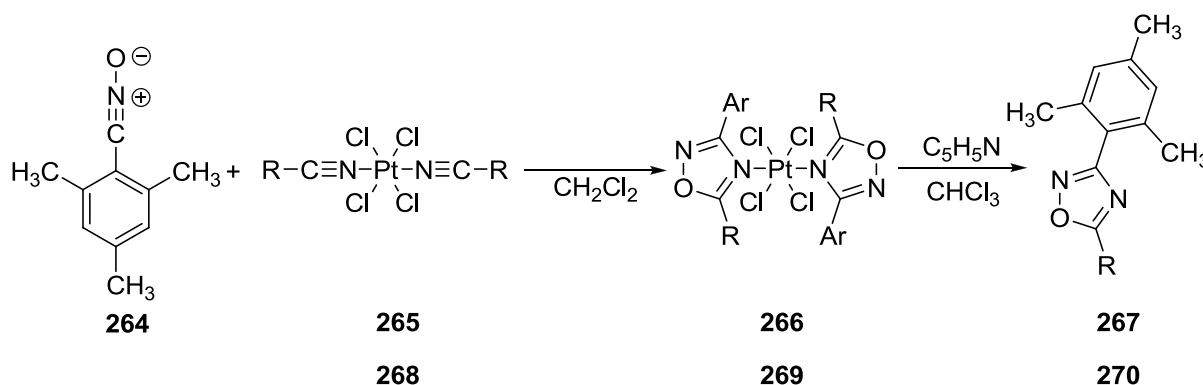
Shema 2.3.10.

„Aktivirani“ nitril **261** reaguje sa 2,6-dihlorobenzonitril-oksikom (**262**) na temperaturi ključanja reakcione smeše. 1,2,4-Oksadiazol **263** dobija se u malom prinosu (Shema 2.3.11).¹¹⁴



Shema 2.3.11.

Nitrili se mogu aktivirati upotrebom soli Pt(IV) i tom prilikom gradi se kompleks $[\text{PtCl}_4(\text{RCN})_2]$. Ovako „aktivirani“ nitrili **265** i **268** reaguju sa 2,4,6-trimetilbenzonitril-oksikom (**264**) na sobnoj temperaturi i na taj način sprečava se dimerizacija nitril-oksida. Dodatkom piridina i zagrevanjem reakcione smeše na temperaturi od $40\text{ }^\circ\text{C}$, iz kompleksa se „oslobađaju“ 1,2,4-oksadiazoli **267** i **270** (Shema 2.3.12).¹¹⁵



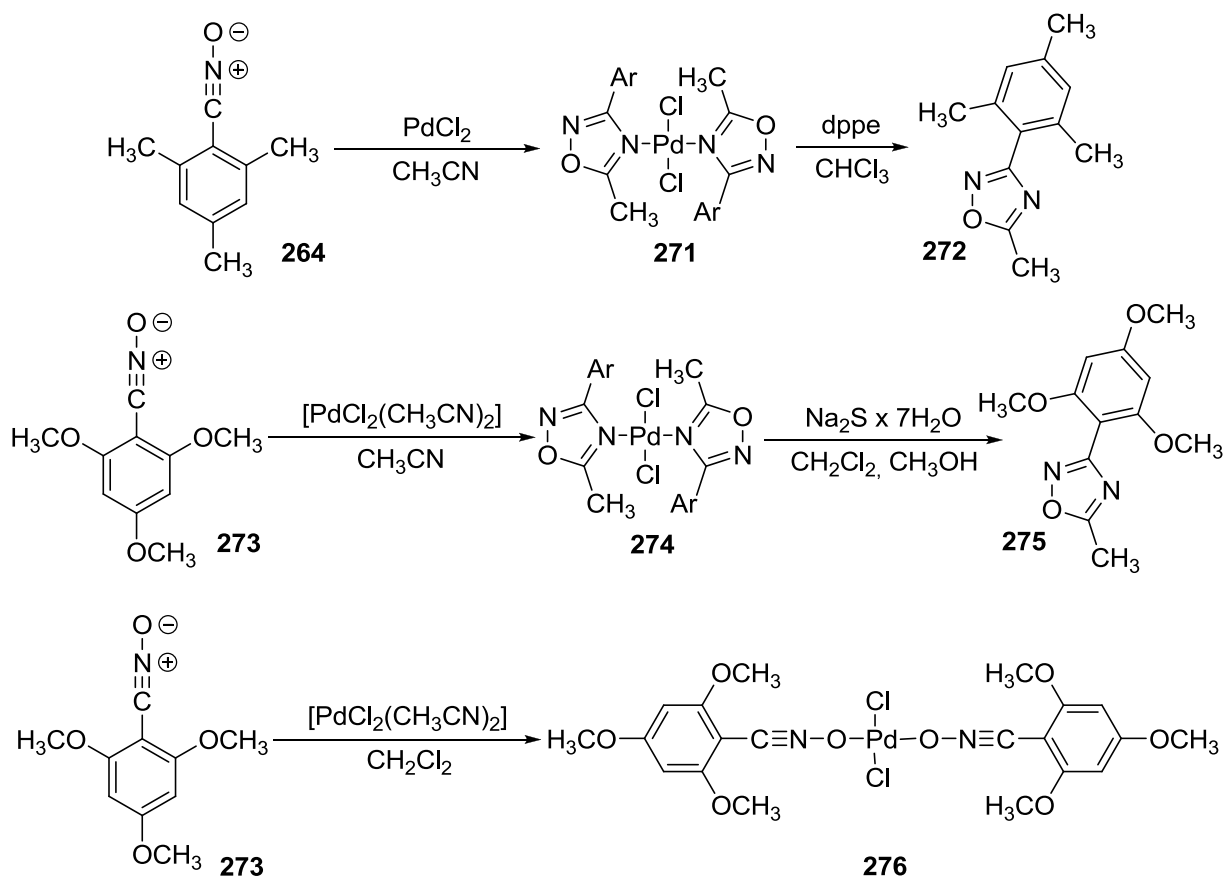
265, 266, 267; R= Et

268, 269, 270; R= Bn

Shema 2.3.12.

Pored soli platine(IV), „aktivacija“ je moguća i pomoću paladijum(II)-hlorida. Građenje 1,2,4-oksadiazola može da se ostvari na dva načina. Jedan uključuje upotrebu već nagrađenog $[\text{PdCl}_2(\text{RCN})_2]$ kompleksa koji je suspendovan u odgovarajućem nitrilu i koji reaguje sa nitril-oksikom. Drugi metod uključuje *in situ* građenje kompleksa koji dalje reaguje bez prethodnog izolovanja. Kod obe metode reakcije se odvijaju na $40\text{ }^\circ\text{C}$ i prinosi su skoro identični. „Oslobađanje“ oksadiazola iz Pd(II)-kompleksa **271** i **274** je moguće izvršiti korišćenjem 1,2-bis(difenilfosfanil)etana ili natrijum-sulfid heptahidrata. Paladijum(II) kompleksi se zagrevaju u hloroformu na $40\text{ }^\circ\text{C}$ zajedno sa **dppe** ili se u dihlormetanski rastvor

kompleksa dokapava metanolni rastvor natrijum-sulfida heptahidrata koji odmah reaguje i gradi paladijum(II)-sulfid. Takođe treba napomenuti, da u slučaju $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ i nitril-oksida u dihlormetanu ne dolazi do cikloadicije već do građenja nitril-oxid paladijum(II) kompleksa **276** (Shema 2.3.13).¹¹⁶

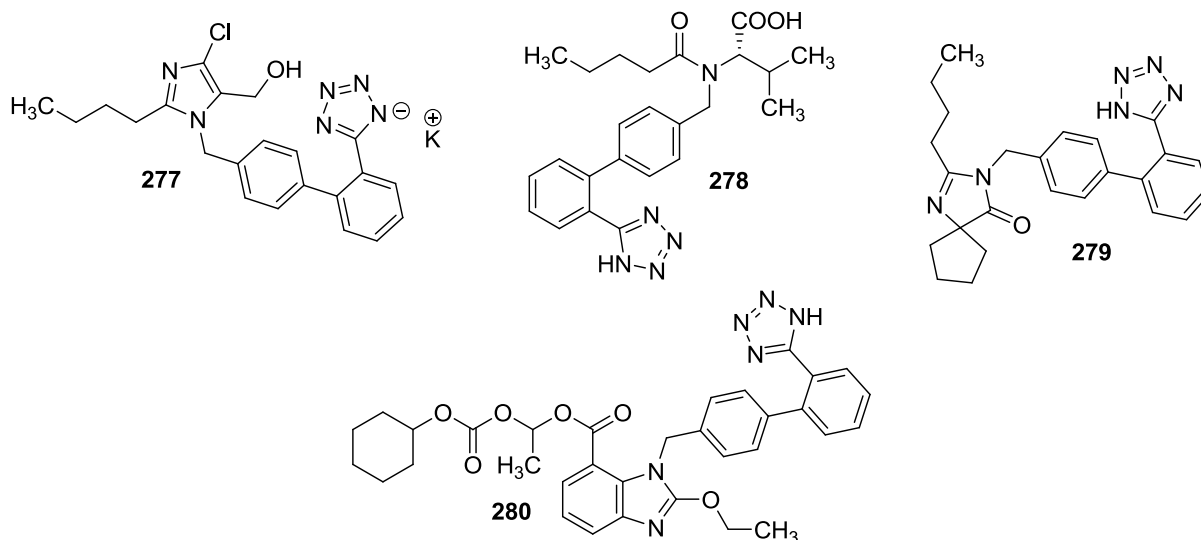


Shema 2.3.13.

2.4. Biološka aktivnost odabranih heterocikličnih jedinjenja

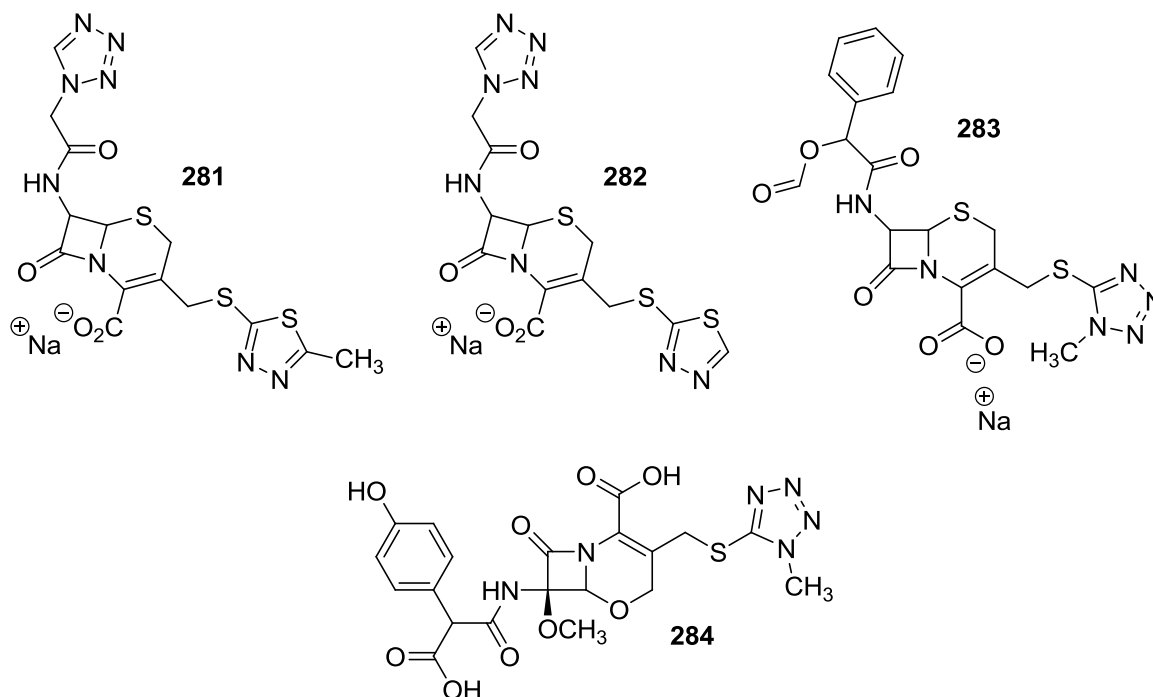
Mnogi tetrazoli poseduju različite antimikrobne, antiviralne, antialergijske, citotoksične i ostale biološke osobine. Uvođenjem tetrazolskog prstena u molekul organskog supstrata, veoma često ne samo što povećava efikasnost već i produžuje delovanje leka. Kao po pravilu, to nije praćeno povećanjem akutne toksičnosti.¹¹⁷ Mnogi NH-nesupstituisani tetrazoli i odgovarajuće karboksilne kiseline, uključujući prirodne amino kiseline, imaju slične *pKa*. Elektron-privlačni efekti kod NH-nesupstituisanih tetrazol-5-il supstituenata i karboksilnih grupa na organskim supstratima takođe su slični. Veoma važno je naglasiti da tetrazoli kao slabe baze¹¹⁸ pokazuju visok afinitet ka građenju vodonične veze slično kao purinske i pirimidinske baze.¹¹⁹ „Piridinski” azot može da gradi vodoničnu vezu sa vodonikovim atomima funkcionalnih grupa koje okružuju molekul, uključujući i vodonikove atome aktivnog centra enzima. Vodonikov atom na „pirollovom” azotu kod NH-nesupstituisanih tetrazola takođe može da učestvuje u građenju intermolekulske vodonične veze sa elektronegativnim atomskim centrom iz molekula u okruženju. Tetrazolski anjon, koji ima planarnu strukturu i visoku aromatičnost, može da ostvari jon-jon ili jon-dipol interakcije sa elektron-deficitarnim centrima susednih molekula. Tetrazolski prstenovi, NH-nesupstituisani i 1,5-disupstituisani, predstavljaju stabilne metaboličke strukturne analoge karboksilne¹²⁰ odnosno *cis*-amidne grupe.¹²¹⁻¹²³ Zamenom amidne grupe u peptidnoj sekvenci sa tetrazolskim prstenom, profil biološke aktivnosti obično ostane nepromenjen, ali dolazi do povećanja metaboličke stabilnosti modifikovanog supstrata.

Poznati su lekovi za regulaciju krvnog pritiska čija aktivna komponenta sadrži tetrazolski prsten u svojoj strukturi. Renin-angiotensin sistem (RAS) igra ključnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska i homeostaze. Angiotensin II (AII) je oktapeptid, koji se formira iz angiotensina I u angiotensin-konvertujućem enzimu (ACE), i on je snažan vazokonstriktor. Jedan od pristupa kontrole RAS se bazira na inhibiciji aktivnosti AII, na taj način što se blokira aktivni centar za koji se on vezuje. Losartan (**277**) je prvi dizajnirani predstavnik nepeptidnog AII antagonista. Pored njega, Valsartan (**278**), Irbesartan (**279**) i Kandesartan (**280**) sadrže (1*H*-tetrazol-5-il)bifenil kao zajednički strukturni fragment (*Slika 2.4.1*).^{124,125}



Slika 2.4.1

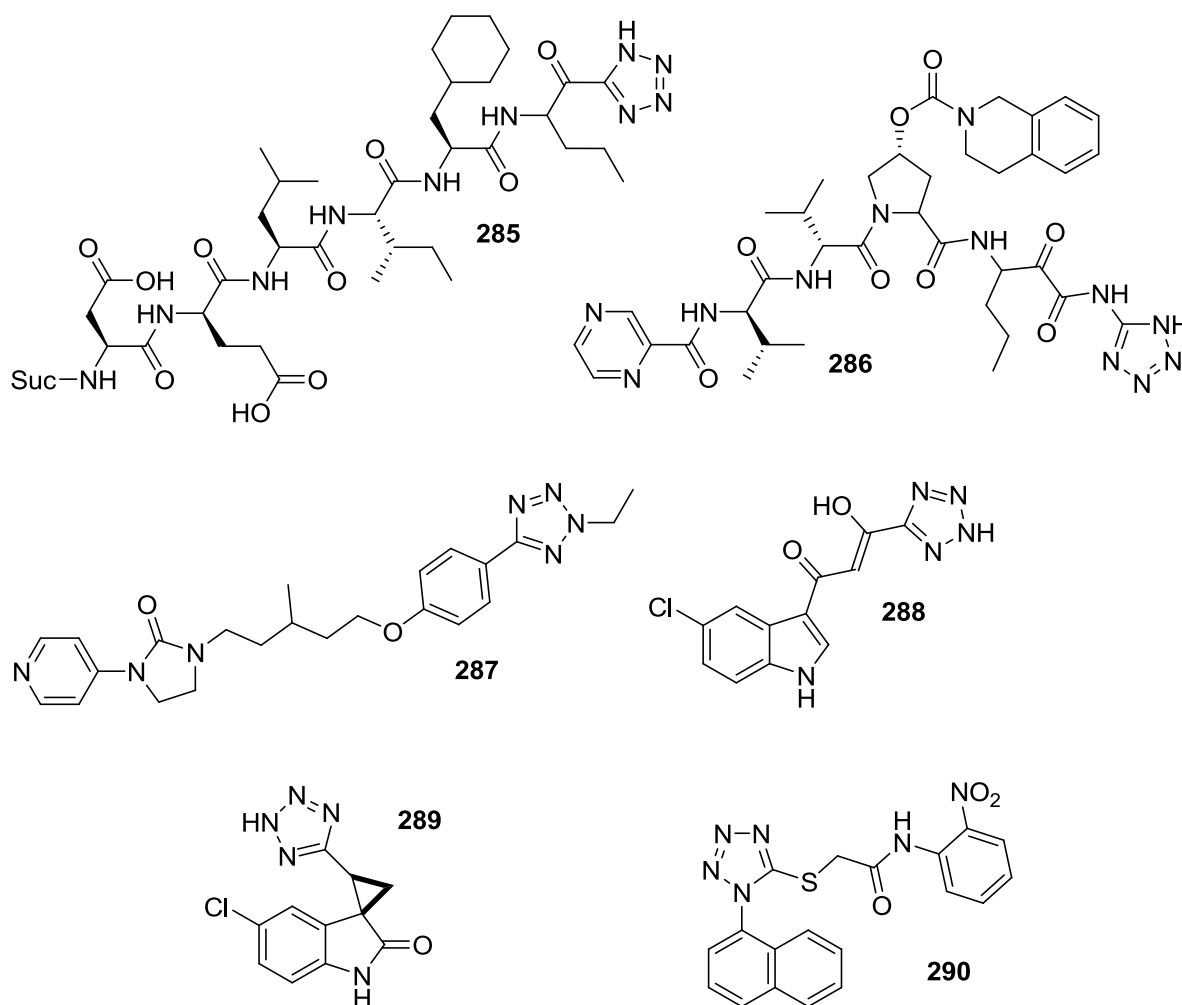
Kefzol (**281**) i njegov analog Ceftezol (**282**) pripadaju prvoj generaciji cefalosporin antibiotika i oni pokazuju širok spektar delovanja. I ako više nisu toliko zastupljeni na farmaceutskom tržištu još uvek se koriste u veterini. Cefamandol (**283**) sadrži 1-metiltetrazol-5-il podstrukturu i pripada drugoj generaciji cefalosporin antibiotika. Letamoksef (**284**) je predstavnik treće generacije cefalosporin antibiotika (Slika 2.4.2).¹¹⁷



Slika 2.4.2.

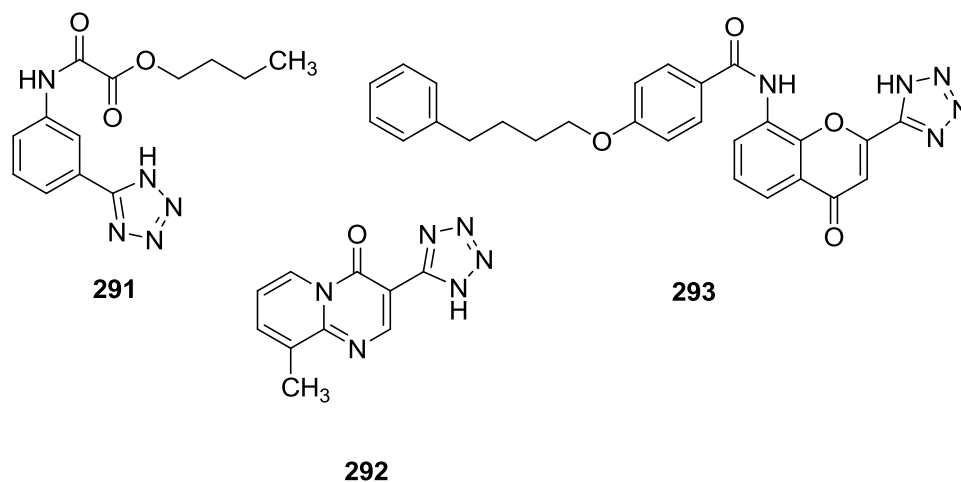
Od 2000-te godine učestala su istraživanja koja obuhvataju dizajniranje novih antiviralnih lekova na bazi tetrazola. Inhibitori hepatitis C proteaze koji su aktivni na sojeve

NS3 (**285**)^{126,127} i NS3/4A (**286**)¹²⁸ su ispitivani u prethodnom periodu. Tetrazolski derivat **287** efektivno suzbija vitalne funkcije enterovirusa EV71.¹²⁹ Među novim anti-AIDS lekovima, vredan pomena je HIV intergaza inhibitor druge generacije 1-(5-hloroindol-3-il)-3-hidroksi-3-(2*H*-tetrazol-5-il)propenon (5-CIT-EP) (**288**), čija se ispitivanja intenzivno vrše.¹³⁰⁻¹³⁴ Inhibitori (ne-nukleozidni) **289**¹³⁵ i **290**¹³⁶ HIV reversne transkriptaze sadrže tetrazolil grupu (Slika 2.4.3).



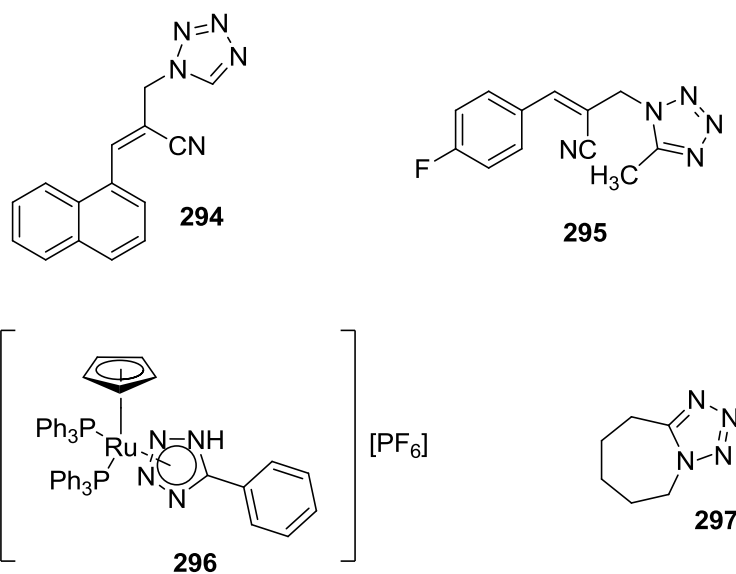
Slika 2.4.3.

Tazanoplast (**291**) se koristi u tretmanima akutnih disajnih problema još od početka osamdesetih. Pemiroplast (**292**) i Pranlukast (**293**) su antihistaminici ali novije generacije i vezuju se kako za H1 tako i za H2 receptore mastocita (Slika 2.4.4).¹¹⁷



Slika 2.4.4.

Tetrazoli **294** i **295** pokazuju citostatičku aktivnost u *in vitro* testovima prema hepatocelularnom karcinomu (Hep G2), plućnom adenokarcinomu (A549) i karcinomu prostate (DU 145).¹³⁷ Kod kompleksa **296**, rutenijum(II) i tetrazola, određene su niže vrednosti IC_{50} za jednu ćelijsku liniju leukemije u poređenju sa cisplatinom (Slika 2.4.5).¹³⁸

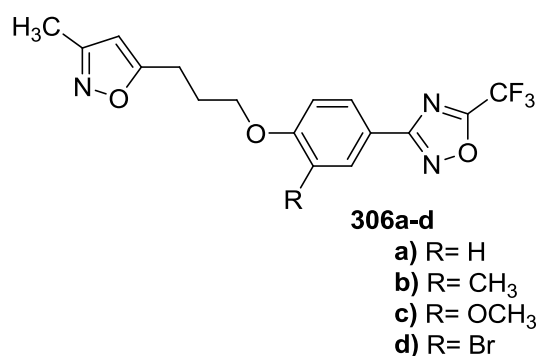
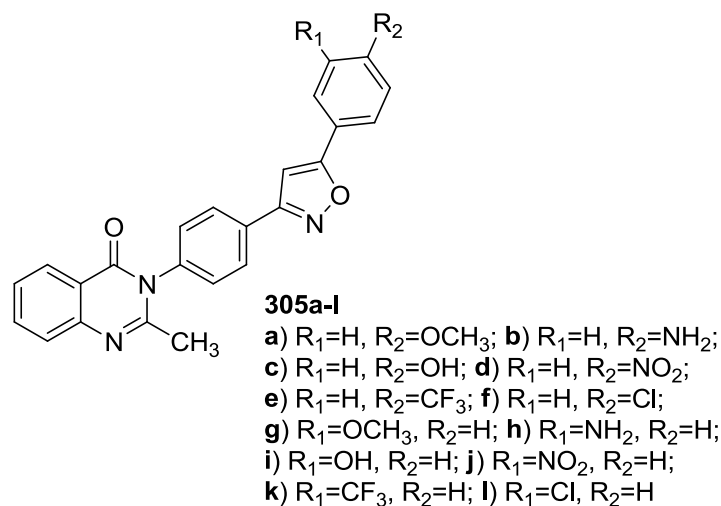


Slika 2.4.5.

Korazolom (**297**) se već dugo koristi kao antiepileptik i kao stimulant centralnog nervnog sistema. On stimuliše rad respiratornog i vazodilatatornog centra u mozgu.¹¹⁷

Izoksazoli poseduju širok spektar biološke aktivnosti. Jedinjenja **298** i **299** ispoljavaju jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskoj liniji humane leukemije HL60.¹³⁹ Derivati **300-304** koji sadrže izoksazolski prsten poseduju značajnu antitumorsku aktivnost prema sledećim ćelijskim linijama: A549 (kancer pluća), HOP62 (kancer pluća), Zr-75-1

U većini slučajeva kod derivata **305a-l**, bolje analgetičke i anti-inflamatorne osobine pokazala su jedinjenja koja imaju supstituente u para položaju u odnosu na meta derivate. Bolju antimikrobnu aktivnost pokazali su derivati sa elektron-privačnim grupama (Slika 2.4.7).¹⁴¹



Slika 2.4.7.

Jedinjenja **306a-d** poseduju antiviralna svojstva prema koksaki virusu B. Derivat **306a** pokazuje snažnije antiviralno dejstvo u odnosu na Pleconaril (antivirusni lek) za koksaki virus B serotip 1 (Slika 2.4.7).¹⁴²

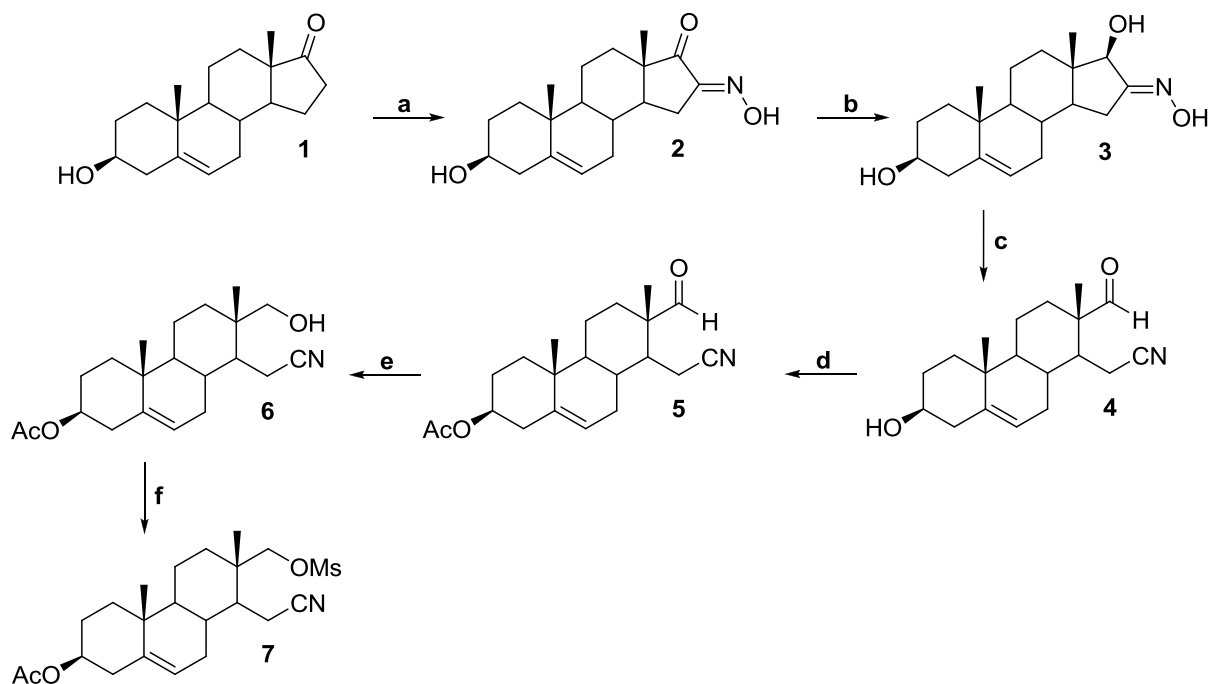
3. REZULTATI I DISKUSIJA

Kao što je u uvodnom delu rada navedeno, steroidna heterociklična jedinjenja predstavljaju potencijalne antikancerogene agense. Stoga su u ovom delu disertacije opisane sinteze novih steroidnih D-homo tetrazola, D-seko-izoksazolina i D-seko-izoksazola primenom 1,3-dipolarne cikloadicije odgovarajućih steroidnih D-seko azida, nitrona i nitril-oksida. U ovom delu rada opisane su i sinteze novih 17aza-D-homo steroida. Heterociklični prstenovi u novosintetizovanim heterocikličnim steroidima androstanske i estranske serije se nalaze u sklopu bočnog niza steroida, ili su kondenzovani sa D-prstenom osnovnog steroidnog jezgra. Koncepti „click“ hemije i domino reakcija su uklopljeni u sintezu novih heterocikličnih steroida. Antiproliferativna aktivnosti odabranih novosintetisanih heterocikličnih steroida ispitana je prema izvesnom broju ćelijskih linija humanih tumora.

3.1. Sinteza androstanskih i estranskih D-homo tetrazola 1,3-dipolarnom cikloadicijom *in situ* generisanih 17-azido-16-nitrila

3.1.1. Sinteza androstanskih D-homo tetrazola

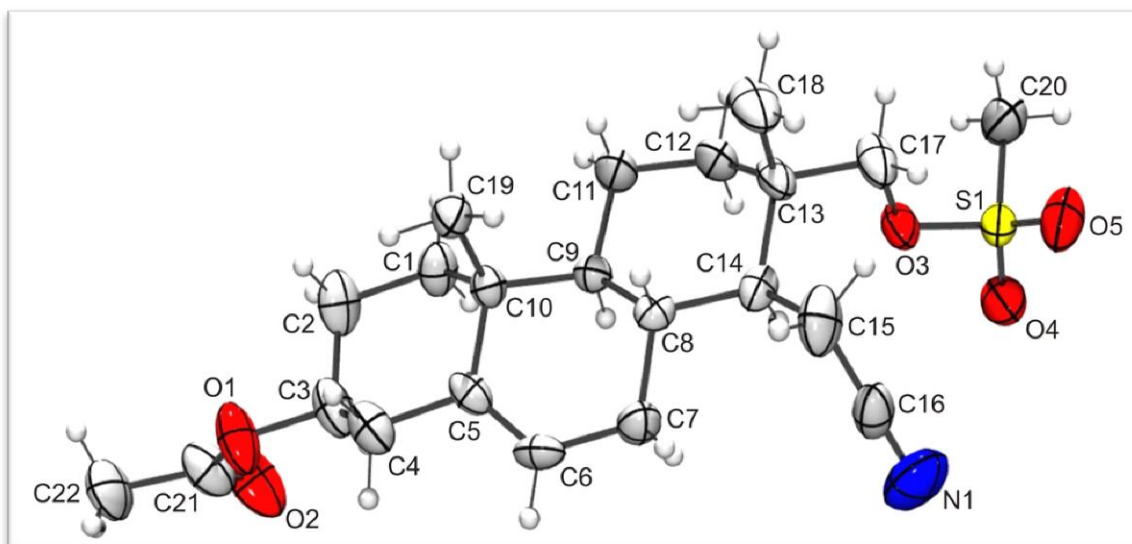
Kao prekursori u planiranoj sintezi androstanskih D-homo tetrazola upotrebljeni su 3 β -acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**7**)¹⁴³ (Shema 3.1.) odnosno (17*S*)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**12**)¹⁴⁴ i (17*R*)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**13**) (Shema 3.4). Ova jedinjenja su sintetisana u višefaznim sintezama polazeći od dehidroepiandrosterona (**1**).



Shema 3.1. Reakcioni uslovi: a) *n*-AmONO, *t*-BuOK, *t*-BuOH, st, 20 h; b) NaBH₄, EtOH, st, 10 min; c) *p*-TsCl, Py, st, 18 min; d) Ac₂O, Py, st, 20 h; e) NaBH₄, EtOH, st, 10 min; f) MsCl, Py, 4 °C, 22 h.

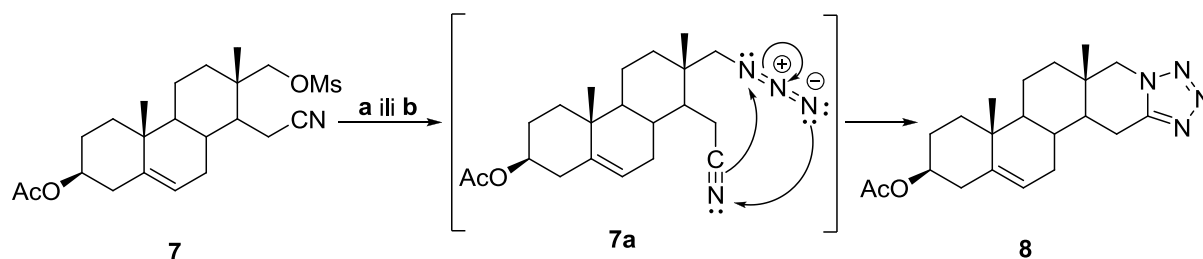
U prvoj fazi sinteze jedinjenje 1 podvrgnuto je poznatoj reakciji oksiminovanja *n*-amilnitritom u prisustvu viška kalijum-*terc*-butoksida u *terc*-butil alkoholu, na sobnoj temperaturi, u toku 20 sati, pri čemu je dobijen 3β-hidroksiandrost-5-en-16,17-dion-16-oksimin 2 (92 %).¹⁴⁵ U sledećem koraku izvršena je redukcija 17-keto grupe u jedinjenju 2 natrijum-borhidridom u etanolu, na sobnoj temperaturi u toku 10 minuta, i tom prilikom dobijen je isključivo 17β-hidroksi derivat 3 u prinosu od 99 %.¹⁴⁵ U narednoj fazi 17β-hidroksi-16-hidroksiimino derivat 3 podvrgnut je *Beckmann*-ovoj fragmentaciji sa *p*-toluensulfonil-hloridom u apsolutnom piridinu na sobnoj temperaturi u toku 18 minuta. Seko-cijano-aldehyd 4 je dobijen u prinosu od 66 %.¹⁴⁶ Acetilovanjem 3β-hidroksi grupe, 17-okso derivata 4, anhidridom sirćetne kiseline u apsolutnom piridinu u toku 20 sati na sobnoj temperaturi dobijeno je jedinjenje 5 u prinosu od 95 %.¹⁴⁷ U narednoj fazi je aldehydna grupa derivata 5 redukovana natrijum-borhidridom u etanolu na sobnoj temperaturi. Reakcija je bila završena nakon 10 minuta a kao proizvod je dobijen 3β-acetoksi-17-hidroksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (6) u prinosu od 95 %.¹⁴⁷ U narednom koraku je izvršeno mezilovanje 17-hidroksi grupe metansulfonil-hloridom u apsolutnom piridinu na 4 °C u toku 22 sata, a kao proizvod je dobijen mezilat 7 (Slika 3.1.) u prinosu od 86 %.¹⁴³ Na taj način „loša odlazeća“ hidroksilna grupa je prevedena u „dobro odlazeću“ meziloksi grupu.

Struktura jedinjenja 7¹⁴³ je potvrđena pored relevantnih spektroskopskih podataka, koji se slažu sa literaturom¹⁴³ i rentgeno-strukturnom analizom (Slika 3.1).



Slika 3.1. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja 7

Kao što je ranije navedeno 3 β -acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**7**) je poslužio kao jedan od prekursora za sintezu D-homo tetrazola (*Shema 3.2*). Željeni 3 β -acetoksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazola (**8**) je sintetisan, u prinosu od 81 %, u reakciji između mezilata **7** i natrijum-azida u heksametilfosforamidu prilikom konvencionalnog načina zagrevanja na 140-150 °C u toku 3 sata. U cilju skraćivanja reakcionog vremena ispitan je uticaj mikrotalasnog ozračivanja pomenute reakcione smeše. Zagrevanjem smeše jedinjenja **7** i natrijum-azida u HMPA pomoću mikrotalasa na 135 °C, u toku jednog sata dobijen je tetrazol **8** u prinosu od 93 %. Stoga se može zaključiti da je mikrotalasno ozračivanje reakcione smeše ubrzalo reakciju tri puta i povećalo prinos tetrazola **8** za 12 %.



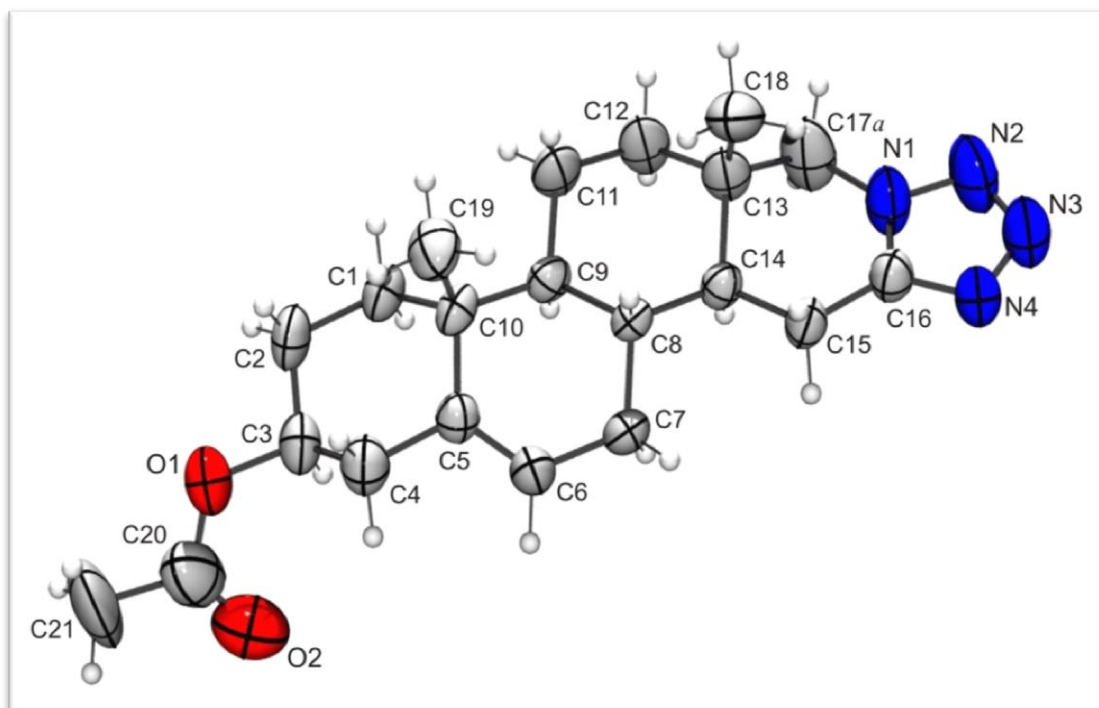
Shema 3.2. Reakcioni uslovi: **a**) NaN₃, HMPA, 140-150 °C, 3 h; **b**) NaN₃, HMPA, MW 135 °C, 1 h.

Prikazani tip sinteze D-homo tetrazola **8** iz mezilata **7** je primer domino reakcije tj. dvofazne sinteze u jednoj „one-pot“ sekvenciji. Naime, u prvoj fazi procesa dolazi do nukleofilne supstitucije meziloksi grupe sa azidnim anjonom, dok u drugoj fazi, azidna grupa *in situ* generisanog 16,17-seko-17-azido-16-nitrila **7a** podleže intramolekulskoj 1,3-dipolarnoj cikloadiciji sa nitrilnom grupom i kao finalni proizvod dobija se tetrazol **8**. S druge strane, ciklizacija D-seko-azido-nitrila **7a** u tetrazol **8** predstavlja novi primer intramolekulske azid-

nitril *in situ* „click“ reakcije bez katalizatora. Pored toga treba pomenuti da je sirov proizvod **8** prečišćen rekristalizacijom iz smeše benzen/n-heksan, umesto hromatografskog prečišćavanja. Na ovaj način je ispunjen još jedan od uslova (pored visokog prinosa) da se ova reakcija uvrsti u reakcije „click“ hemije.

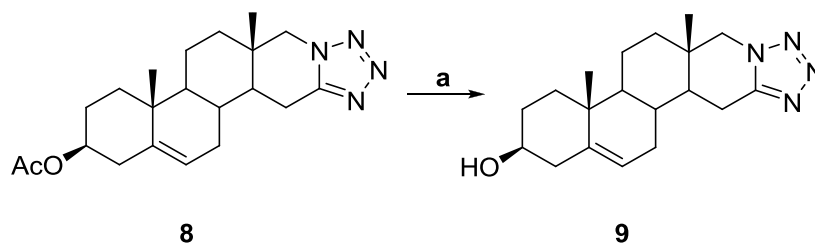
U ^1H NMR spektru sintetisanog tetrazola **8** uočava se promenjen položaj signala koji potiče od Ha-15 vodonikovog atoma u odnosu na njegov položaj kod polaznog jedinjenja [\rightarrow 3,35 ppm kod tetrazola]. Takođe, došlo je do promene položaja signala koji potiče od vodonikovih atoma Ha-17 [3,85 ppm kod jedinjenja **7** \rightarrow 3,80 ppm kod jedinjenja **8**] i Hb-17 [4,14 ppm kod jedinjenja **7** \rightarrow 4,27 ppm kod jedinjenja **8**]. Osim ovih promena, važno je napomenuti izostanak singleta na 3,06 ppm koji potiče od vodonikovih atoma iz metansulfoniloksi grupe. U ^{13}C NMR spektru mogu da se uoče značajne promene u hemijskom pomeranju signala C-17a kod jedinjenja **8** u odnosu na C-17 kod jedinjenja **7** [75,75 ppm kod mezilata \rightarrow 58,08 ppm kod tetrazola] i najznačajnija promena potiče od C-16 ugljenikovog atoma koji gradi tetrazolski prsten u jedinjenju **8**, u odnosu na nitrilni ugljenikov atom C-16 kod mezilata **7** [118,81 ppm kod mezilata \rightarrow 151,64 ppm kod tetrazola]. Na infracrvenom spektru 3β -acetoksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazola (**8**) primetan je izostanak trake na 2243 cm^{-1} koja potiče od nitrilne grupe kod 3β -acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**7**), što potvrđuje da je došlo do reakcije u kojoj je učestvovala spomenuta grupa. Masenim spektrom visoke rezolucije je potvrđena struktura tetrazola **8** čija relativna molekulska masa (M_r) iznosi 370,23688. U njemu se javlja pik čiji odnos mase i šarža iznosi 371,24438 a potiče od $[\text{M}+\text{H}]^+$ jona.

Struktura tetrazola **8** je takođe potvrđena i na osnovu rentgenske strukturne analize (Slika 3.2).



Slika 3.2. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja **8**

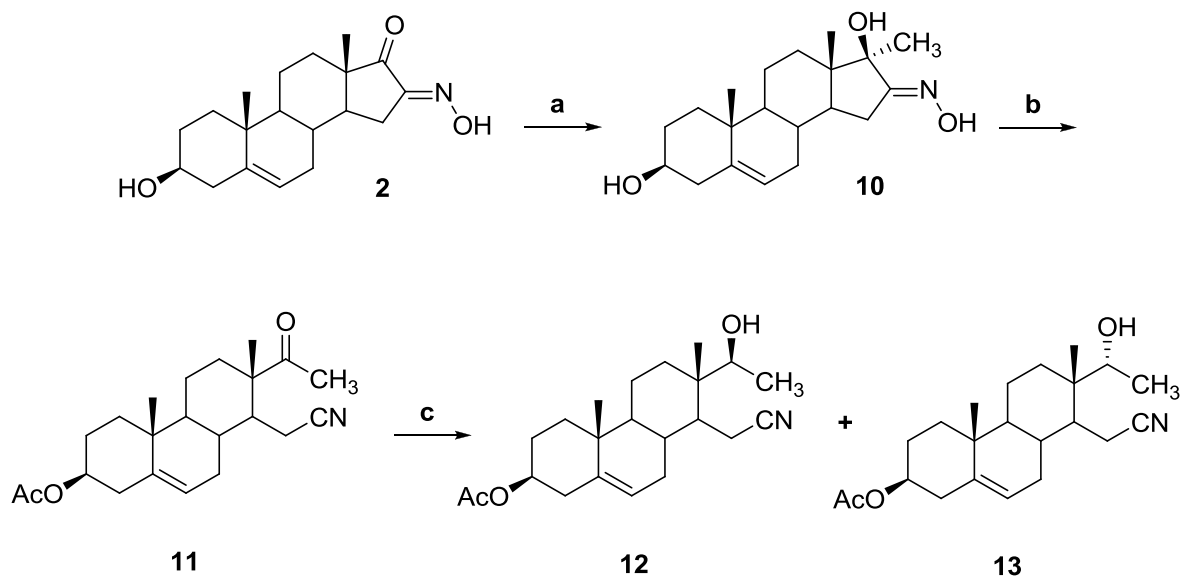
U narednom koraku (*Shema 3.3.*) izvršeno je uklanjanje zaštitne funkcije u položaju C-3 natrijum-etoksidom u etanolu, na sobnoj temperaturi u toku dva sata. 3 β -Hidroksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazola (**9**) je dobijen u prinosu od 79 % (*Shema 3.3.*).



Shema 3.3. Reakcioni uslovi: **a)** EtONa, EtOH, st, 2 h.

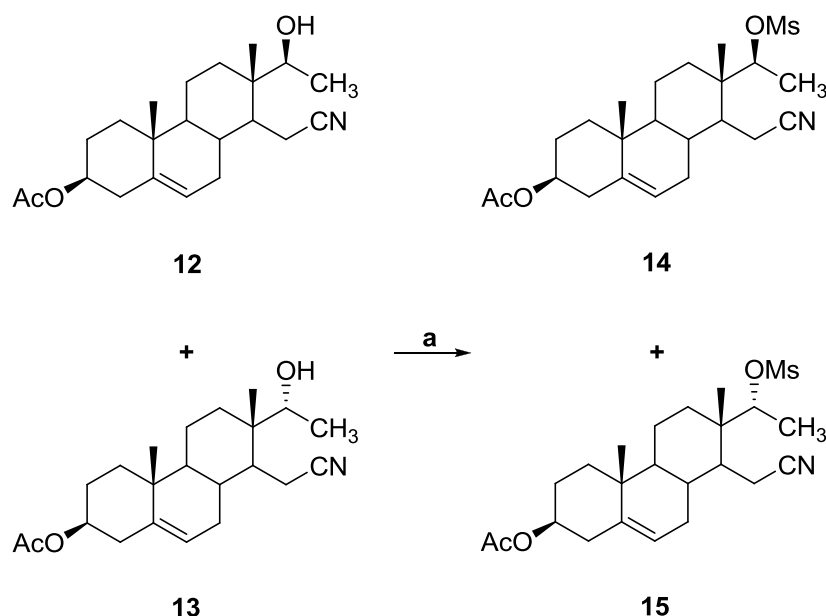
U ^1H NMR spektru novosintetisanog tetrazola **9** uočava se izostanak singleta na 2,05 ppm koji se javlja kod acetilovanog derivata **8** a potiče od vodonikovih atoma acetoksi grupe u položaju C-3. Multiplet koji potiče od vodonikovog atoma H-3 je pomeren ka višem magnetnom polju u odnosu na njegov položaj kod acetilovanog derivata **8** [4,62 ppm kod jedinjenja **8** \rightarrow 3,25 ppm kod jedinjenja **9**]. Pored navedenog, uočljive su manje promene u hemijskim pomeranjima kod sledećih signala: singleta koji potiče od H-19 [1,06 ppm kod jedinjenja **8** \rightarrow 0,77 ppm kod jedinjenja **9**] i dubleta koji potiče od H-6 vodonikovog atoma [5,42 ppm kod tetrazola **8** \rightarrow 5,29 ppm kod tetrazola **9**]. U ^{13}C NMR spektru 3 β -hidroksi tetrazola **9** uočljiv je izostanak signala na 170,52 ppm koji potiče od karboksilatnog ugljenikovog atoma prekursora **8**. Signal ugljenikovog atoma C-3 se pomerio ka višem magnetnom polju [73,49 ppm kod jedinjenja **8** \rightarrow 70,05 ppm kod jedinjenja **9**]. U infracrvenom spektru tetrazola **9** vidljiv je izostanak trake na 1729 cm^{-1} koja odgovara acetoksi grupi 3 β -acetoksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazola (**8**). U masenom spektru visoke rezolucije javlja se pik na 329,23334 masenih jedinica a potiče od $[\text{M}+\text{H}]^+$ jona što potvrđuje strukturu jedinjenja **9** čija je relativna molekulska masa 328,22631.

Sinteza androstanskih D-homo-(17 $\alpha\beta$)-metil tetrazola **16** i **18** koja počinje stereospecifičnom adicijom metilmagnezijum-jodida na 17-keto grupu 3 β -hidroksiandrost-5-en-16,17-dion-16-oksima (**2**) u smeši apsolutnog dietil-etra i tetrahydrofurana, pri čemu nastaje 3 β ,17 β -dihidroksi-17 α -metil-androst-5-en-16-on-oksima (**10**) u prinosu od 69 % (*Shema 3.4*). Reakcija se odvija na -10 $^{\circ}\text{C}$ u toku dva sata.¹⁴⁴ U sledećem koraku je jedinjenje **10** podvrgnuto *Beckmann*-ovoj fragmentaciji acetanhidridom u apsolutnom piridinu na 90-100 $^{\circ}\text{C}$ u toku dva sata. Dobijen je 3 β -acetoksi-17-metil-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**11**) u prinosu od 89 %.¹⁴⁴ Može se uočiti da je prered fragmentacije izvršeno i acetilovanje hidrosilne grupe u položaju C-3. Sledeća faza sinteze uključuje redukciju 17-keto grupe D-seko nitrila **11** natrijum-borhidridom u smeši apsolutnog etanola i metilen-hlorida na sobnoj temperaturi u toku jednog sata, pri čemu nastaje smeša epimernih jedinjenja **12** i **13** sa C-17 hidroksilnim grupama u prinosu od 89%, a koja nisu mogla biti razdvojena na koloni silikagela.¹⁴⁴



Shema 3.4. Reakcioni uslovi: **a)** CH_3MgI , Et_2O , THF, $-10\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; **b)** Ac_2O , Py, $90\text{-}100\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; **c)** NaBH_4 , EtOH, CH_2Cl_2 , st, 1 h.

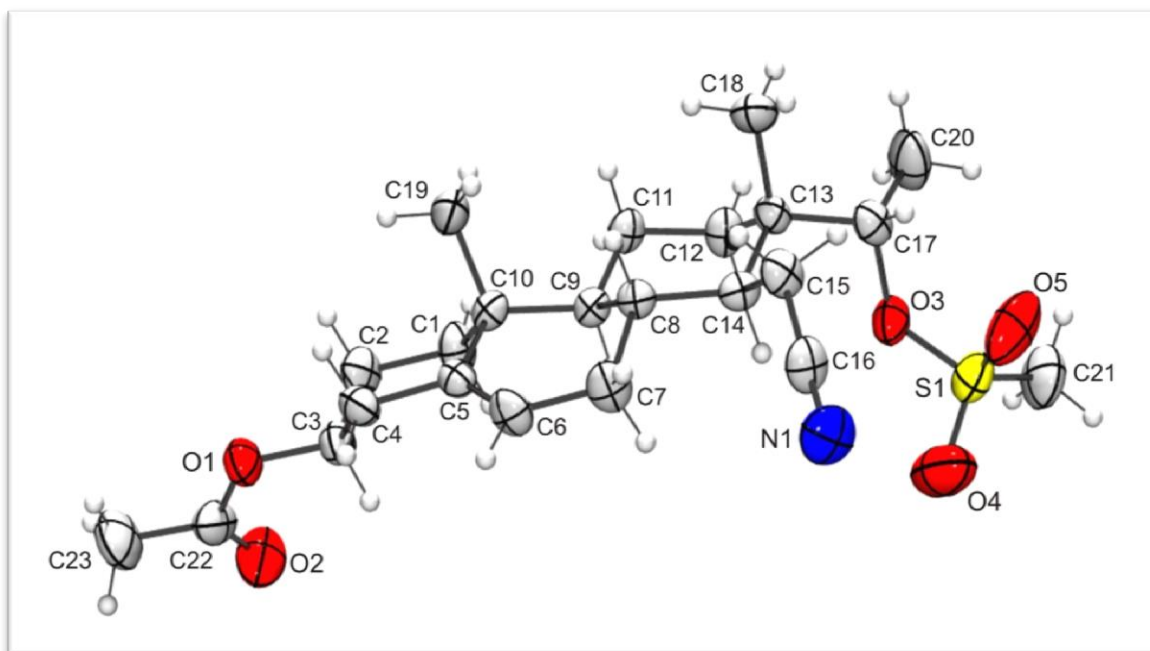
U daljoj fazi rada, smeša jedinjenja **12** i **13** je podvrgnuta reakciji sa mezil-hloridom u apsolutnom piridinu u toku 90 minuta na $4\text{ }^\circ\text{C}$, pri čemu je dobijena smeša dva D-seko mezilata **14** i **15** koja je uspešno hromatografski razdvojena na koloni silika-gela. Prinosi jedinjenja **14** i **15** iznose 78 % i 9 % , respektivno (*Shema 3.5*). Ovim rezultatom može da se objasni stereohemijski tok redukcije jedinjenja **11** sa natrijum-borhidridom. Naime, tokom redukcije 17-keto grupe D-seko derivata **11** hidridni anjon natrijum-borhidrida, vrši nukleofilni napad i sa α i sa β strane, pri čemu nastaju dva epimerna alkohola (17*S*)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**12**) i (17*R*)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**13**). Zbog sternih smetnji C-18 angularne metil grupe kod prilaza sa β strane favorizovan je prilaz hidridnog anjona sa α strane, pri čemu nastaje (17*S*)-hidroksi derivat **12**. Smeša jedinjenja **12** i **13** ne može da se hromatografski razdvoji na koloni silikagela, ali se iz nje može izdvojiti kristalizacijom (heksan/aceton, 3:1) glavni proizvod **12** koji ima (17*S*)-konfiguraciju.¹⁴⁴



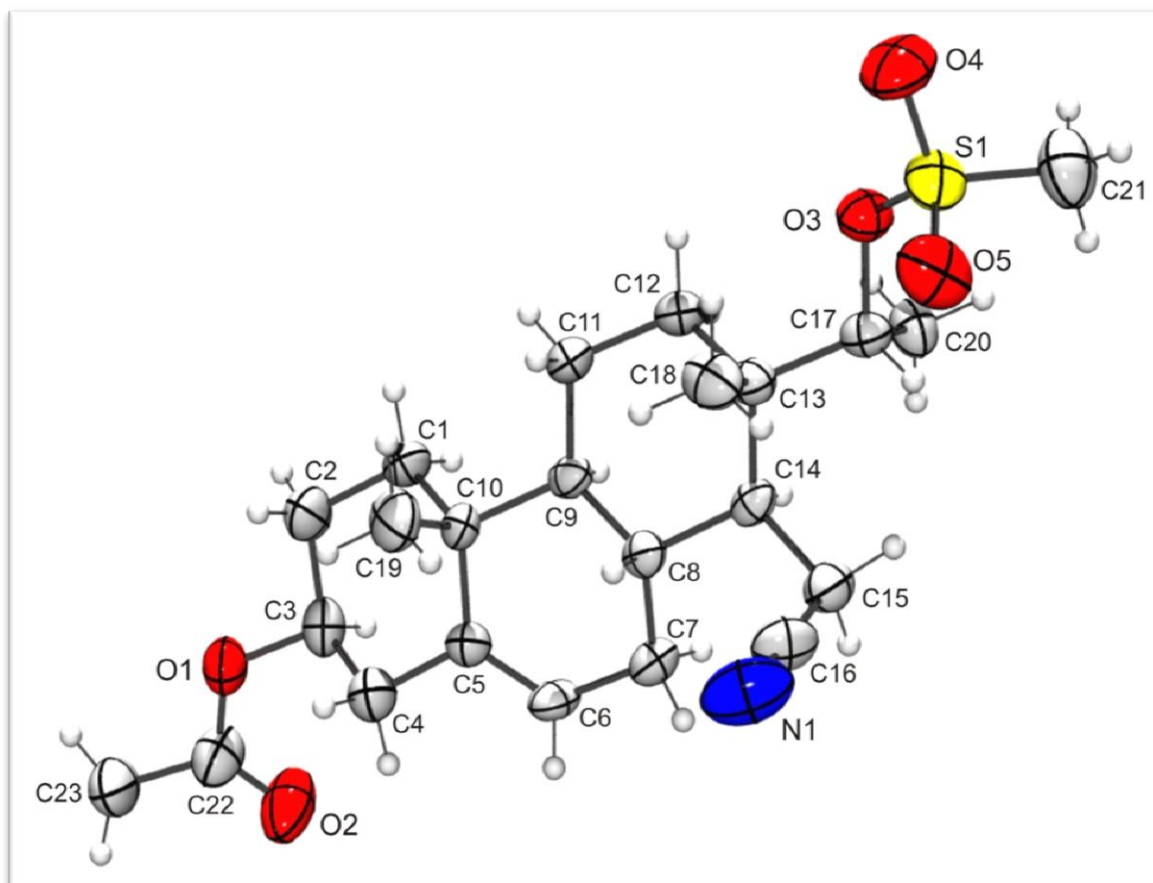
Shema 3.5. Reakcioni uslovi: a) MsCl, Py, 4 °C, 1,5 h.

U ^1H NMR spektrima jedinjenja **14** i **15** uočljiva je pojava novih signala u odnosu na ^1H NMR spektar 17-hidroksi derivata **12** i **13**. Novi signali potiču od vodonikovih atoma metansulfoniloksi grupe mezilata **14** i **15** i njio položaj je na 3,05 ppm. Kvartet koji odgovara H-17 vodonikovom atomu 17-hidroksi derivata **12** i **13** pomerio se ka većem hemijskom pomeranju [3,75 ppm kod epimera **12** i **13** → 4,78 ppm kod epimera **14** i 4,80 ppm kod epimera **15**]. Pored ovih promena vidljive su i promene položaja dubleta koji potiču od H-20 vodonikovih atoma [1,20 ppm kod epimera **12** i **13** → 1,41 ppm kod epimera **14** i **15**]. Signali C-17 ugljenikovog atoma epimera **14** i **15** promenili su svoje položaje u odnosu na položaje kod jedinjenja **12** i **13** [72,4 ppm kod jedinjenja **12** i **13** → 82,83 ppm kod jedinjenja **14** i 85,43 ppm kod jedinjenja **15**]. U infracrvenom spektru mezilata **14** i **15** izostala je traka na 3520 cm^{-1} koja se javlja u spektru 17-hidroksi derivata (**12** i **13**) a potiče od hidroksilne grupe u položaju C-17 što potvrđuje da je data grupa učestvovala u hemijskoj reakciji. Maseni spektri visoke rezolucije su potvrdili strukture datih mezilata. Pik se javlja na 455,25771 masenih jedinica za epimer **14** i 455,25753 za epimer **15**. Pikovi odgovaraju $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ jonu dobijenom od molekula čija relativna molekulska masa iznosi 437,22359.

Rentgenskom strukturnom analizom utvrđena je (17*S*)-apsolutna konfiguracija mezilata **14** (Slika 3.3.) i (17*R*)-apsolutna konfiguracija njegovog epimera **15** (Slika 3.4).



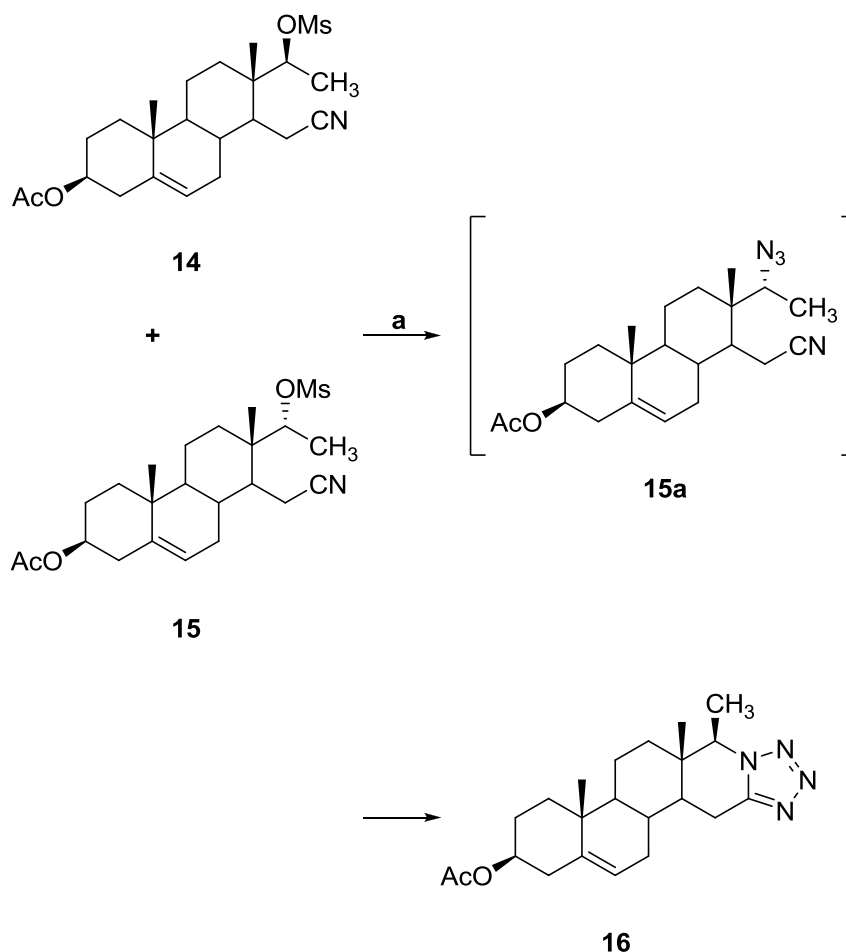
Slika 3.3. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja 14



Slika 3.4. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja 15

Nakon ovog saznanja pristupljeno je NMR analizi uzorka smeše jedinjenja **12** i **13** dobijen nakon hromatografskog prečišćavanja bez rekristalizacije. NMR analizom nije se moglo dokazati prisustvo manje zastupljenog diastereoizomera **13** u uzorku. Ovo se može objasniti veoma malim razlikama u hemijskom pomeranju između signala dva epimera i velikom razlikom u njihovom molskom odnosu koja ima za rezultat izostanak duplih signala prilikom snimanja smeše NMR spektroskopijom.

Obzirom da su u jedinjenjima **14** i **15** prisutne meziloksi grupe, pogodne su reakcije supstitucije kao npr. sa azidnim anjonom ili reakcije eliminacije istih. U cilju favorizovanja nastanka (17a*R*)-3β-acetoksi-17a-metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-*e*] tetrazola (**16**), pre dodatka natrijum-azida rastvoru mezilata u heksametilfosforamidu dodat je bakar(I)-hlorid na sobnoj temperaturi, zatim natrijum-azid i reakciona smeša je zagrevana 3 sata na temperaturi 140-150 °C. Čist proizvod **16** je izolovan u prinosu od 54 % dok eliminacioni proizvod nije dobijen (*Shema 3.6*). Dobijanje tetrazola **16** pri navedenim reakcionim uslovima predstavlja novi primer „click” sinteze tetrazola u prisustvu bakar(I)-hlorida.



Shema 3.6. Reakcioni uslovi: a) NaN₃, CuCl, HMPA, 140-150 °C, 3 h.

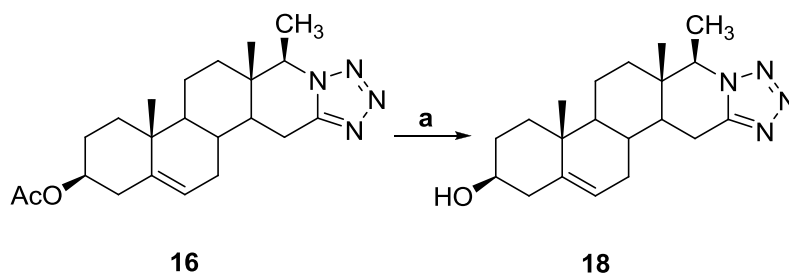
S druge strane, kada smeša jedinjenja **14** i **15** reaguje sa natrijum-azidom u dimetilsulfoksidu kao rastvaraču na 140-150 °C ali bez prisustva bakar(I)-hlorida dobija se

U kod tetrazola **16**. U ^{13}C NMR spektru tetrazola **16** došlo je do pomeranja signala C-17a ugljenikovog atoma ka višem magnetnom polju [82,83 ppm kod jedinjenja **14** i 85,43 ppm kod jedinjenja **15** \rightarrow 63,7 ppm kod jedinjenja **16**] i C-16 ugljenikovog atoma ka nižem magnetnom polju [119,04 ppm kod jedinjenja **14** i 118,68 kod jedinjenja **15** \rightarrow 151,2 ppm kod jedinjenja **16**]. U infracrvenom spektru tetrazola **16** izostala je traka 2243 cm^{-1} koja odgovara nitrilnoj grupi. Maseni spektar visoke rezolucije je potvrdio stukturu sintetisanog tetrazola **16**. Pik koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu čiji odnos mase i šarže iznosi 385,25933, potiče od tetrazola čija relativna molekulska masa iznosi 384,25253.

^1H -NOE NMR eksperimentom je određena orijentacija 17a-metil grupe. Prvo je ozračena spomenuta grupa i tom prilikom došlo je do pojačanja signala vodonikovih atoma angularne metil grupe C-18. Zatim, ozračivanjem vodonikovih atoma angularne metil grupe C-18 dovelo je do pojačanja samo signala u obliku dubleta koji odgovara vodonikovim atomima C-17a metil grupe. Na osnovu navedenog, može se izvesti zaključak da 17a-metil grupa ima β orijentaciju, tj. tetrazol **16** ima (17aR)-konfiguraciju.

NMR analizom utvrđena (17aR)-konfiguracija tetrazola **16** ukazuje na 17R-konfiguraciju intermedijernog azida **15a**. S obzirom da u reakciji između smeše mezilata **14** i **15** i natrijum-azida nastaje samo jedan stereoizomer tetrazola **16**, (17aR) kao krajnji proizvod, može se zaključiti da intermedijerno nastaje samo jedan stereoizomer azido-nitrila **15a** (17R) u $\text{S}_{\text{N}}1$ reakciji mezilata **14** i **15** sa azidnim anjonom kao nukleofilom.

U sledećoj fazi rada jedinjenje **16** je podvrgnuto reakciji sa natrijum-etoksidom u etanolu u toku jednog sata na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijeno jedinjenje **18** u prinosu od 86 % (Shema 3.8).



Shema 3.8. Reakcioni uslovi: a) EtONa, EtOH, st, 1h.

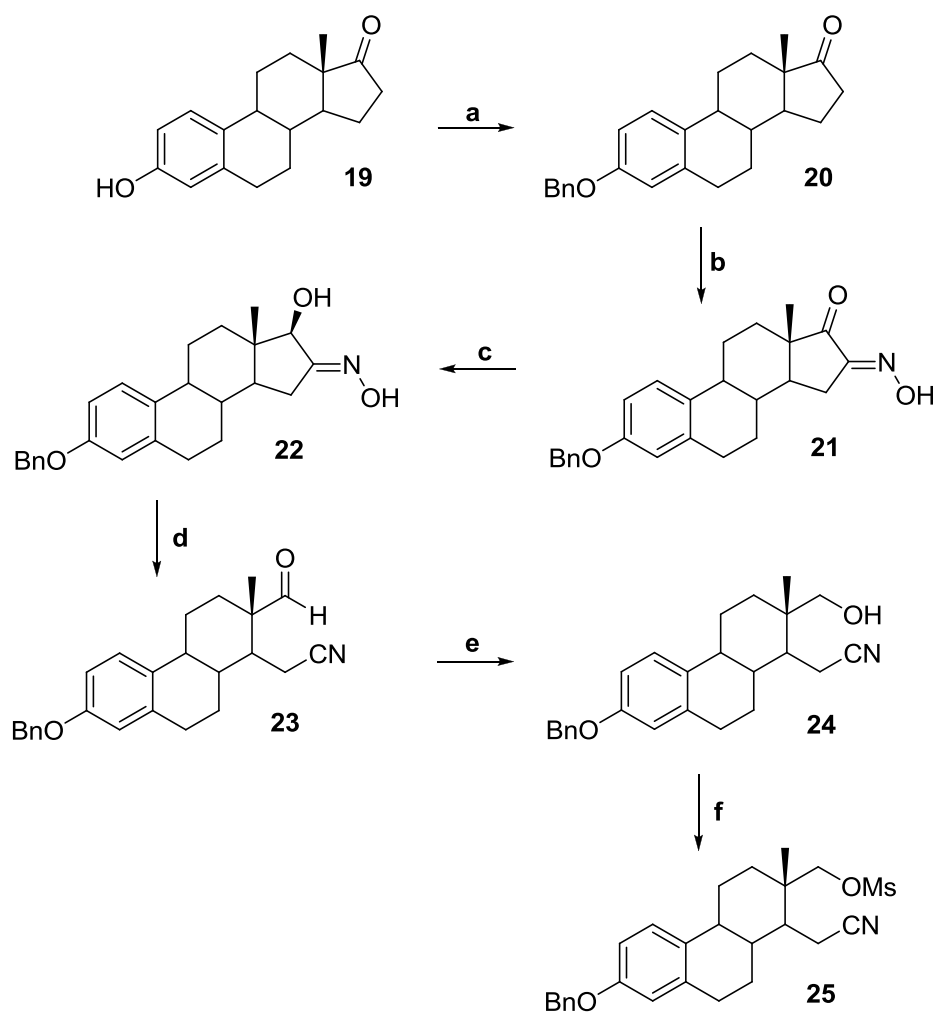
Struktura 3 β -hidroksi-17a β -metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (**18**) je potvrđena spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru tetrazola **18** došlo je do promene položaja multiplleta koji potiče od H-3 vodonikovog atoma u odnosu na njegov položaj u spektru jedinjenja **16** [4,61 ppm kod jedinjenja **16** \rightarrow 3,55 ppm kod jedinjenja **18**]. U ^{13}C NMR spektru tetrazola **18** izostao je signal sp^2 hibridizovanog ugljenikovog atoma acetatne zaštite koji se javlja kod jedinjenja **16** na 170,43 ppm. U infracrvenom spektru 3 β -hidroksi derivata **18** javlja se traka na 2943 cm^{-1} koja odgovara hidroksilnoj grupi a dok je izostala traka na 1730 cm^{-1} koja se javlja kod 3 β -acetoksi derivata **16**. Masena spektroskopija visoke

rezolucije, takođe je potvrdila strukturu tetrazola **18**. Pik koji se javlja na 343,24910 masenih jedinica, odgovara $[M+H]^+$ jonu koji je nastao od tetrazola **18** čija relativna molekulska masa iznosi 342,24196.

3.1.2. Sinteza estranskih D-homo tetrazola

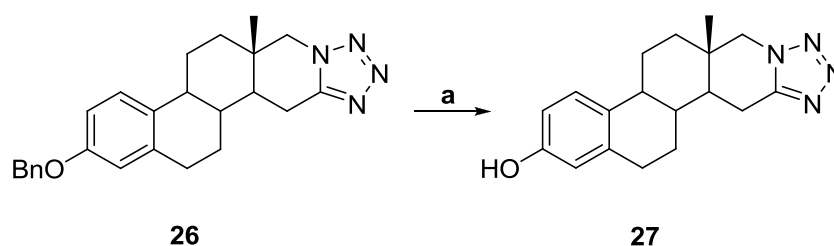
Pored androstanskih D-homo-D-kondezovanih tetrazola, sintetizovani su odgovarajući tetrazoli u estranskoj seriji. Polazeći od estrona (**19**) u višefaznoj sintezi su dobijeni D-seko-cijano-mezilat **25**¹⁴⁸ i D-seko-cijano-alkohol **30**¹⁴⁹ (*Shema 3.9.*) koji su poslužili kao polazna jedinjenja za sintezu estranskih D-homo-D-kondezovanih tetrazola.

U prvom koraku, u cilju zaštite fenolne grupe estrona (**19**), izvršena je reakcija nukleofilne supstitucije benzil-hlorida i hidroksilne grupe estrona (**19**) u prisustvu kalijum-karbonata u smeši aceton/metanol na tački ključanja smeše u trajanju od 8 sati i dobijen je 3-benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-17-on (**20**; 92 %).¹⁵⁰ U sledećoj fazi benzil-etar estrona **20** je podvrgnut reakciji oksiminovanja *i*-amilnitritom u prisustvu viška kalijum-*terc*-butoksida u *terc*-butil-alkoholu, na sobnoj temperaturi, u toku 19 sati. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksime (**21**) je dobijen u prinosu od 93 %.¹⁵⁰ U narednom koraku 17-keto grupa u jedinjenju **21** je redukovana natrijum-borhidridom u prisustvu kalijum-hidroksida u smeši metanol/metilen-hlorid na sobnoj temperaturi u toku 30 minuta do 17 β -hidroksilne grupe. Prinos dobijenog jedinjenja **22** je iznosio 93 %.¹⁵¹ Zatim je jedinjenje **22** podvrgnuto *Beckmann*-ovoj fragmentaciji sa *p*-toluensulfonil-hloridom u apsolutnom piridinu na sobnoj temperaturi u toku tri sata.¹⁵¹ Seko-cijano-aldehid **23** koji je dobijen u prinosu od 43 % se u narednoj fazi podvrgava redukciji natrijum-borhidridom u etanolu na sobnoj temperaturi u trajanju od 30 minuta, pri čemu se dobija D-seko cijano-alkohol **24** u prinosu od 99 %.¹⁵¹ U daljoj fazi rada jedinjenje **24** u reakciji sa metansulfonil-hloridom u apsolutnom piridinu na sobnoj temperaturi u toku 20 sati dalo je mezilat **25** u prinosu od 72 %. Prinos mezilata **25** je uvećan u odnosu na poznati postupak¹⁴⁸ gde je prinos iznosio 48 %.



Shema 3.9. Reakcioni uslovi: a) BnCl, K₂CO₃, aceton, MeOH, refluks, 8 h; b) *i*-AmONO, *t*-BuOK, *t*-BuOH, st, 19 h; c) NaBH₄, KOH, MeOH, CH₂Cl₂, st, 30 min; d) TsCl, Py, st, 3h; e) NaBH₄, EtOH, st, 30 min; f) MsCl, Py, st, 20 h.

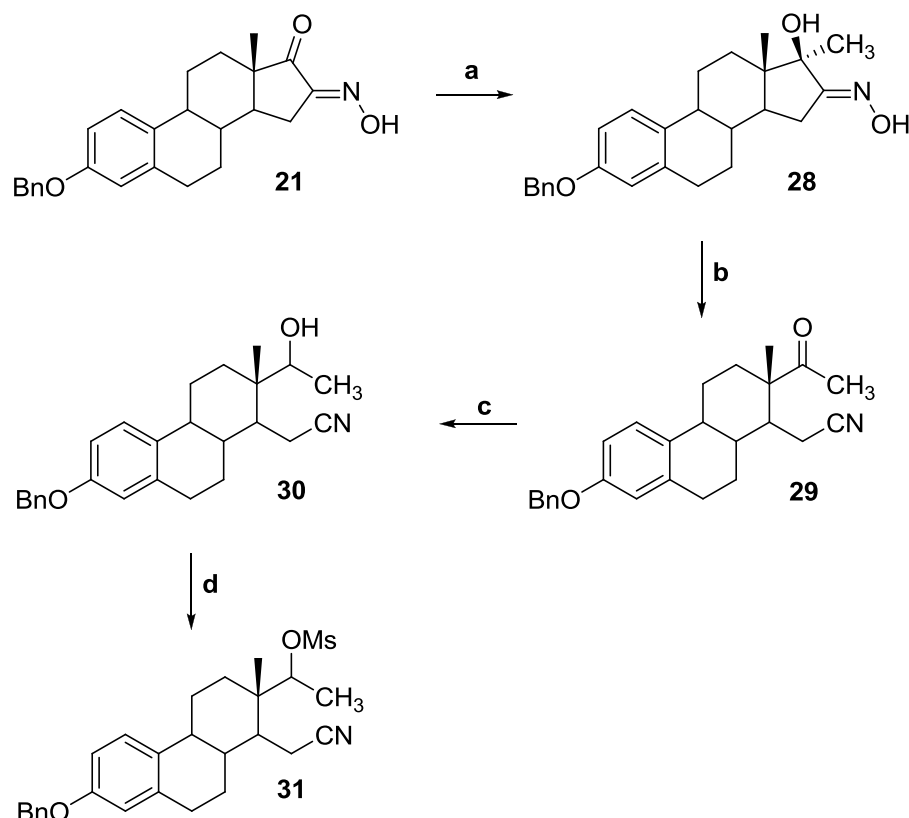
Dobijeni meziloksi derivat **25** je poslužio kao direktan prekursor za sintezu 3-benziloksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-*e*] tetrazola (**26**; 82 %) u reakciji sa natrijum-azidom u HMPA na 140-150 °C u toku tri sata. Dipolarna cikloadicija intermedijernog steroidnog D-seko-17-azido-16-nitrila **25a** predstavlja novi primer intramolekulske azid-nitril „click“ reakcije bez katalizatora za sintezu kondenzovanog steroidnog tetrazolskog sistema prstenova. Navedena reakcija je pored opisanog konvencionalnog načina zagrevanja izvedena i mikrotalasnim ozračivanjem na 135 °C u toku jednog sata (prinos jedinjenja **26** je iznosio 84 %). Može se zaključiti da se mikrotalasnim ozračivanjem skraćuje vreme trajanja reakcije, a prinos jedinjenja **26** je neznatno povećan (*Shema 3.10*).



Shema 3.11. Reakcioni uslovi: a) H₂, 10 % Pd/C, CH₂Cl₂, MeOH st, 24 h.

U ¹H NMR spektru nosintetisanog tetrazola **27** može se uočiti pojava novog signala na 8,92 ppm koji potiče od vodonikovog atoma fenolne grupe u položaju C-3. Izostanak singleta na 5,05 ppm i grupe signala na 7,27-7,45 ppm u ¹H NMR spektru jedinjenja **27** potvrđuju da je došlo do reakcije hidrogenolize. U ¹³C NMR spektru 3-hidroksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazola (**27**) primetan je izostanak signala na 69,90 ppm koji se javlja kod derivata **26** a potiče od metilenskog ugljenikovog atoma benzilne zaštite. Takođe, uočljiv je izostanak signala aromatičnih ugljenikovih atoma fenilne grupe. Široka traka na 3289 cm⁻¹ u infracrvenom spektru jedinjenja **27** potvrđuje prisustvo hidroksilne grupe u molekulu. Struktura tetrazol **27**, čija relativna molekulaska masa iznosi 310,17936, potvrđena je masenom spektroskopijom visoke rezolucije. Na spektru se javlja pik na 311,18606 masenih jedinica koji odgovara [M+H]⁺ jonu.

Sinteza estranskih D-homo tetrazola sa (17αβ)-metil grupom počinje slično kao kod androstanske serije, sa adicijom metilmagnezijum-jodida na 17-keto grupu 3-benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksima (**21**) u smeši apsolutnog dietil-etra i tetrahydrofurana na sobnoj temperaturi u toku dva sata. 3-Benziloksi-17β-hidroksi-17α-metilestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (**28**) je dobijen u umerenom prinosu od 70 %.¹⁴⁹ U sledećem koraku je jedinjenje **28** podvrgnuto Beckmann-ovoj fragmentaciji sa acetanhidridom u apsolutnom piridinu na temperaturi od 100 °C u toku dva sata i tom prilikom je dobijen seko-cijano-ke-ton **29** u prinosu od 81 %.¹⁴⁹ Naredna faza uključuje redukciju 17-keto grupe derivata **29**. Ova redukcija je izvršena sa natrijum-borhidridom u metanolu na temperaturi ključanja u toku 90 minuta. Prinos dobijenog proizvoda **30** je 64 %.¹⁴⁹ Prevođenje loše odlazeće grupe (17-hidroksi) u dobro odlazeću grupu (17-metansulfoniloksi) izvršeno je sa metansulfonilhloridom u apsolutnom piridinu na temperaturi od 4 °C u toku 20 sati. Struktura mezilata **31**, koji je dobijen u prinosu od 55 %, utvrđena je spektroskopskim metodama. Konfiguracija na ugljeniku C-17 nije određena (Shema 3.12).

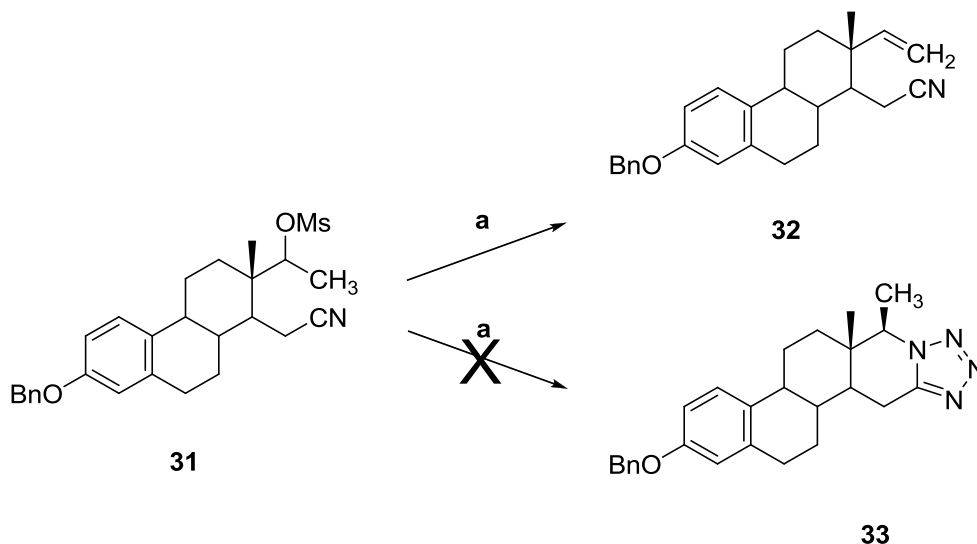


Shema 3.12. Reakcioni uslovi: a) CH_3MgI , Et_2O , THF, st, 2 h; b) Ac_2O , Py, $100\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; c) NaBH_4 , MeOH, refluks, 1,5 h; d) MsCl , Py, $4\text{ }^\circ\text{C}$, 20 h.

U ^1H NMR spektru novosintetisanog mezilata **31** uočava se pojava singleta na 3,08 ppm koji potiče od vodonikovih atoma metansulfoniloksi grupe u položaju C-17. Signal u obliku kvarteta koji potiče od H-17 vodonikovog atoma se pomerio ka nižem magnetnom polju u odnosu na njegov položaj kod 17-hidroksi derivata **30** [3,80 ppm kod jedinjenja **30** → 4,83 ppm kod jedinjenja **31**]. Dublet koji potiče od vodonikovih atoma metil grupe u položaju C-17 se pomerio sa 1,26 ppm kod jedinjenja **30** na 1,47 ppm kod mezilata **31**. Signal u ^{13}C NMR spektru 3-benziloksi-17-metil-17-metansulfoniloksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrila **31** koji potiče od C-17 ugljenikovog atoma pomerio se ka nižem magnetnom polju u odnosu na položaj signala kod jedinjenja **30** [72,41 ppm kod jedinjenja **30** → 82,94 ppm kod jedinjenja **31**]. Pored navedenih spektroskopskih metoda struktura mezilata **31** je potvrđena masenom spektroskopijom visoke rezolucije. Pik koji odgovara $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ jonu nalazi se na 485,24641 masenih jedinica. Navedeni jon nastao je jonizacijom mezilata čija relativna molekulska masa iznosi 467,21303.

U cilju dobijanja tetrazola **33** upotrebljen je mezilat **31** rastvoren u dimetilsulfoksidu koji je zagrevan sa natrijum-azidom na $150\text{ }^\circ\text{C}$. Međutim, pri ovim reakcionim uslovima (Shema 3.13.) nije dobijen željeni tetrazol **33** već je dobijen eliminacioni proizvod, D-sekocijano-alken **32** u prinosu od 23 %. Variranjem temperature reakcije mezilata **31** sa natrijum-azidom u cilju pronalaska optimalnih reakcionih uslova za dobijanje željenog tetrazola **33** dovela je do zanimljivih saznanja. Naime, izvođenjem reakcije na sledećim temperaturama nije došlo do nastanka tetrazola **33**: $50\text{ }^\circ\text{C}$, $70\text{ }^\circ\text{C}$, $80\text{ }^\circ\text{C}$, $90\text{ }^\circ\text{C}$, $95\text{ }^\circ\text{C}$.

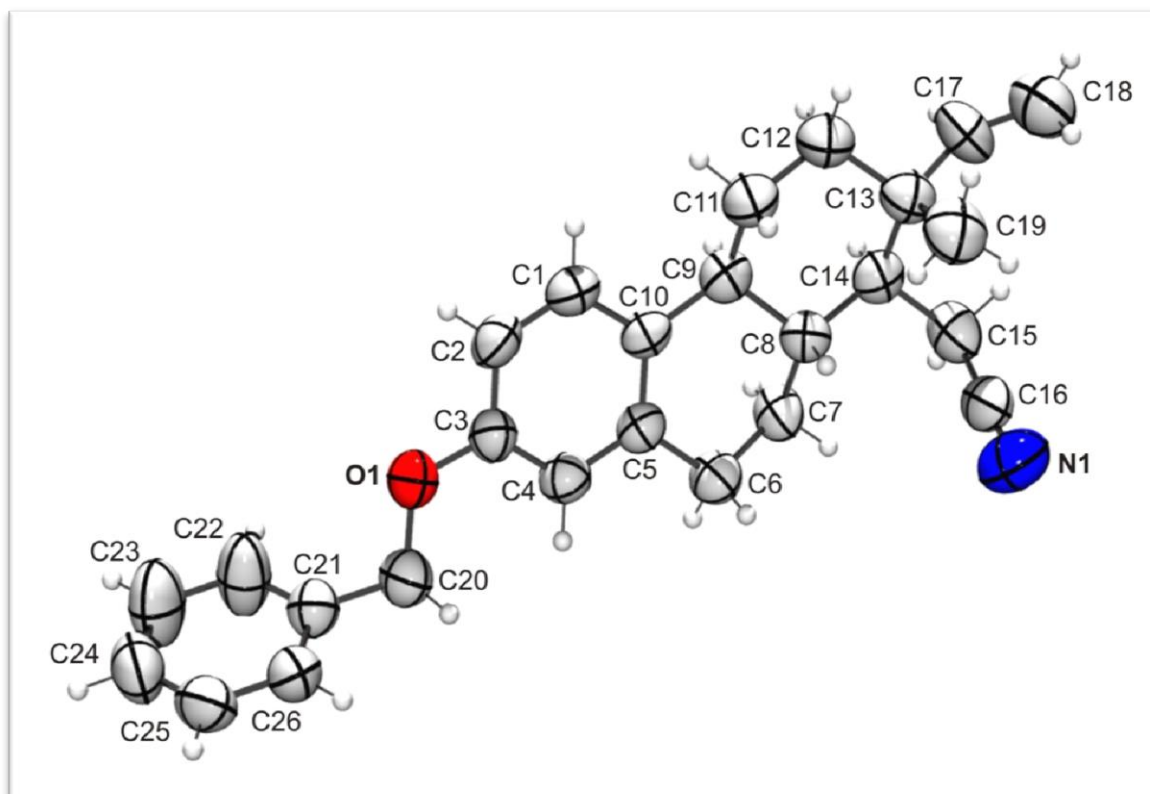
Reakcije su praćene tankoslojnom hromatografijom bez izolovanja proizvoda i tom prilikom je nastajao isključivo olefin **32**. Važno je spomenuti da je kao rastvarač korišćen dimetilsulfoksid ili heksametilfosforamid.



Shema 3.13. Reakcioni uslovi: a) NaN_3 , DMSO, 150 °C, 3h.

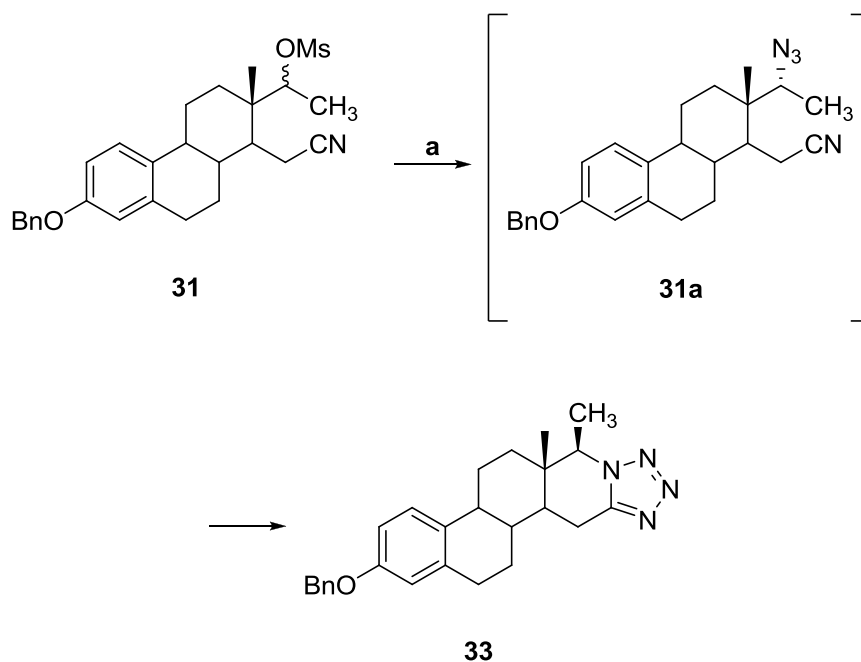
Struktura dobijenog olefina **32** potvrđena je na osnovu ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR spektroskopijom, rentgeno-strukturnom analizom (Slika 3.4.) i masenom spektrometrijom visoke rezolucije. U ^1H NMR spektru jedinjenja **32**, može se uočiti izostanak singleta na 3,08 ppm i dubleta na 1,47 ppm, koji se javljaju u ^1H NMR spektru mezilata **31** a potiču od vodonikovih atoma metil grupe vezane za atom sumpora odnosno metil grupe vezane za C-17 ugljenikov atom. Pored ovih signala, izostao je i kvartet na 4,83 ppm koji odgovara H-17 vodonikovom atomu mezilata **32**. Pored ovih promena, uočljiva je i pojava sledećih dublet dubleta: na 5,12 ppm (H_a -19), na 5,15 ppm (H_b -19) i na 5,70 ppm (H-17). Navedeni signali u obliku dublet dubleta odgovaraju vodonikovim atomima koji su vezani za olefinske ugljenikove atome. Signal na 119,93 ppm u ^{13}C NMR spektru odgovara C-16 ugljenikovom atomu nitrilne grupe i time je potvrđeno da spomenuta grupa nije stupila u hemijsku reakciju. Signal na 113,34 ppm koji odgovara metilenskom ugljenikovom atomu i signal na 148,35 ppm koji potiče od C-17 ugljenikovog atoma potvrđuju da je mezilat **31** podlegao reakciji eliminacije. U infracrvenom spektru traka koja se javlja na 2242 cm^{-1} odgovara nitrilnoj grupi. Relativna molekulska masa eliminacionog proizvoda **32** iznosi 371,2249. U masenom spektru visoke rezolucije javlja se pik na 389,25778 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ jonu.

Na Slici 3.5. prikazani su rezultati rentgeno-strukturne analize za jedinjenje **32** koji potvrđuju strukturu.



Slika 3.5. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja **32**

S obzirom da je reakcija jedinjenja **31** sa natrijum-azidom zagrevanjem u DMSO bez katalizatora dala isključivo eliminacioni proizvod **32**, ispitana je mogućnost korišćenja Cu(I) kao katalizatora za intramolekulsko dobijanje tetrazolskog prstena iz *in situ* generisanog azidonitrila **31a**. Zaista, kada se mezilat **31** zagreva sa natrijum-azidom u HMPA na 140-145⁰C u prisustvu bakar(I)-hlorida u toku 3 sata (*Shema 3.14.*), dobijen je tetrazol (**33**; 59 %) bez nastanka eliminacionog proizvoda **32**, što predstavlja novi primer „click” sinteze steroidnih tetrazola u prisustvu bakar(I)-hlorida.

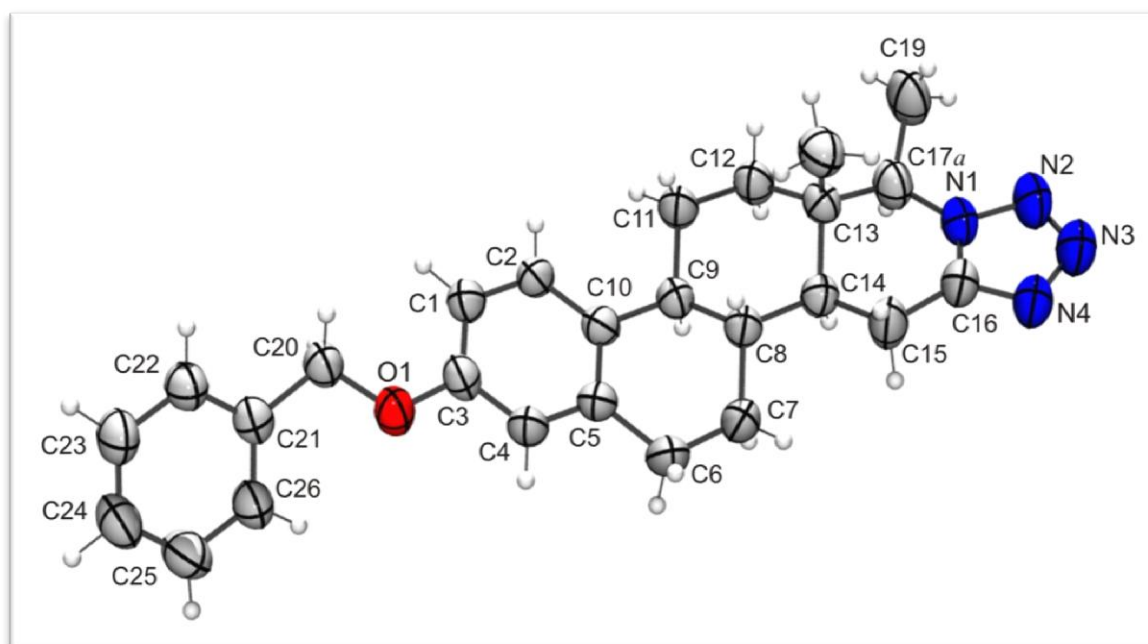


Shema 3.14. Reakcioni uslovi: a) NaN_3 , CuCl , HMPA, 140-145 °C, 3 h.

Struktura tetrazola **33** je potvrđena spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru jedinjenja **33** može se uočiti izostanak singleta na 3,08 ppm koji se javlja u ^1H NMR spektru mezilata **31**, a potiče od vodonikovih atoma meziloksi grupe u C-17 položaju. Dublet koji potiče od vodonikovih atoma metil grupe koja se nalazi na položaju C-17a se pomerio ka višem hemijskom pomeranju [1,47 ppm kod jedinjenja **31** \rightarrow 1,73 ppm kod jedinjenja **33**] u odnosu na njegov položaj kod mezilata **31**. Signal u obliku dublet dubleta koji odgovara jednom vodonikovom atomu u položaju C-15 pomerio se na 3,48 ppm kod tetrazola **33**. Kvartet koji odgovara H-17a vodonikovom atomu pomerio se ka višem magnetnom polju [4,83 ppm kod jedinjenja **31** \rightarrow 4,04 ppm kod jedinjenja **33**] u odnosu na njegov položaj kod mezilata **31**. Signal C-17a ugljenikovog atoma u ^{13}C NMR spektru jedinjenja **33** se pomerio ka višem magnetnom polju u odnosu na njegov položaj kod jedinjenja **31** [82,94 ppm kod jedinjenja **31** \rightarrow 63,94 ppm kod jedinjenja **33**]. Signal C-16 ugljenikovog atoma promenio je svoj položaj [119,21 ppm kod jedinjenja **31** \rightarrow 151,30 ppm kod jedinjenja **33**] ka nižem magnetnom polju kod tetrazola **33** u odnosu na mezilata **31**. U IR spektru tetrazola **33** izostala je traka na 2242 cm^{-1} koja odgovara nitrilnoj grupi i time je potvrđeno da je spomenuta grupa učestvovala u hemijskoj reakciji. U masenom spektru visoke rezolucije javlja se pik na 415,24895 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu. Navedeni jon nastao je od tetrazola **33** čija relativna molekulska masa iznosi 414,24196.

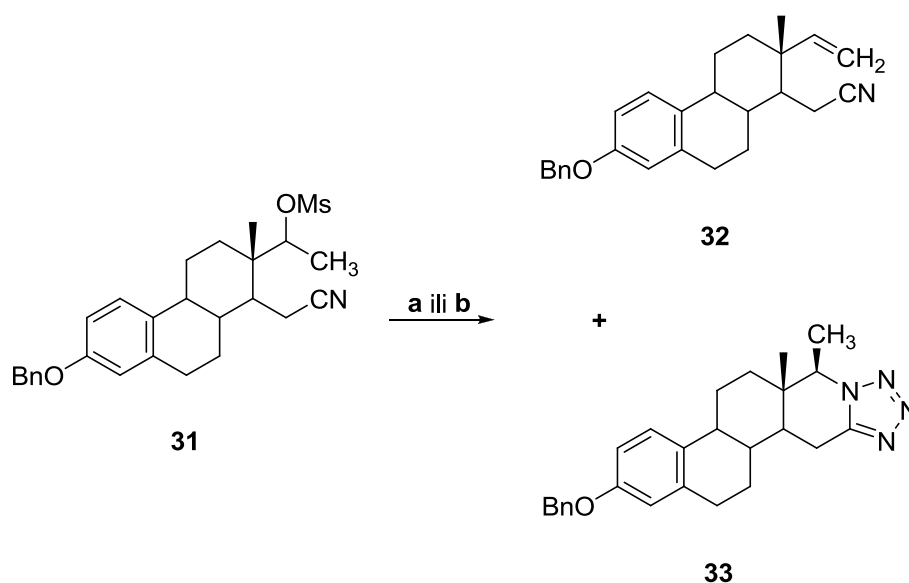
^1H -NOE NMR eksperimentom je određena orijentacija 17a-metil grupe. Prvo je ozračena spomenuta grupa i tom prilikom došlo je do pojačanja signala vodonikovih atoma angularne metil grupe C-18. Zatim, ozračivanjem vodonikovih atoma angularne metil grupe C-18 dovelo je do pojačanja samo signala u obliku dubleta a koji odgovara vodonikovim atomima C-17a metil grupe. Na osnovu navedenog, može se izvesti zaključak da 17a-metil grupa ima β orijentaciju, tj. (17a*R*)-konfiguraciju.

Struktura i stereochemija tetrazola **33** dokazana je i rentgeno-strukturnom analizom (Slika 3.6), pri čemu se uočava 17a*R*-konfiguracija.



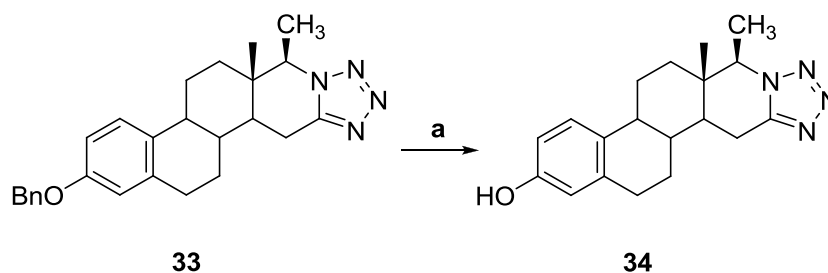
Slika 3.6. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja **33**

Pored konvencionalnog načina zagrevanja, korišćeno je i mikrotalasno ozračivanje reakcione smeše ali bez upotrebe bakra(I)-hlorida. Činjenica da u reakciji između androstanskih mezilata **14** i **15** sa natrijum-azidom u prisustvu bakra(I)-hlorida prilikom mikrotalasnog ozračivanja nisu dobijeni tetrazol **16** i eliminacioni proizvod **17** je uticala na izbor da se u slučaju odgovarajućeg estranskog derivata reakciona smeša zagreva u odsustvu bakra(I)-hlorida. Tako je rastvor mezilata **31** i natrijum-azida u HMPA ozračivan 30 minuta na 130 °C i 40 minuta na 135 °C (Shema 3.15). Tom prilikom dobijen je tetrazol **33** (30 %) i olefin **32** (43 %). Uzimajući u obzir da je tetrazol **33** dobijen mikrotalasnim zagrevanjem u intervalu 130-135 °C, ponovljena je sinteza datog heterocikla **33** konvencionalnim zagrevanjem, ali bez bakra(I)-hlorida i na nižoj temperaturi nego u slučaju reakcionih uslova datih u Shemi 3.12. Naime, mezilat **31** i natrijum-azid su zagrevani u HMPA u intervalu od 127-145 °C u toku tri sata (Shema 3.15). Tetrazol **33** je dobijen u prinosu od 49 %, a olefin **32** u prinosu od 18 %. Mikrotalasno ozračivanje skraćuje vreme reakcije, ali i smanjuje prinos tetrazola **33**. Prvobitno mišljenje je bilo da bakar(I)-hlorid pospešuje nastanak tetrazola tj. da je tetrazol jedini proizvod. Saznanje da u slučaju mikrotalasnog ozračivanja reakcione smeše koja se sastoji od mezilata **14** i **15**, natrijum-azida, bakra(I)-hlorida u rastvoru HMPA nastaje smeša iz koje nisu izolovani očekivani proizvodi i da konvencionalnim zagrevanjem reakcione smeše u kojoj se nalazi bakar(I)-hlorid nije izolovan eliminacioni proizvod a da prinos tetrazola nije značajno povećan, pretpostavlja se da je deo steroida reagovao sa bakrom(I) i nagradio kompleks.



Shema 3.15. Reakcioni uslovi: a) NaN_3 , HMPA, MW 130 °C, 30 min; MW 135 °C, 40 min; b) NaN_3 , HMPA, 127-145 °C, 3h.

U narednoj fazi izvršeno je uklanjanje benzilne zaštite tetrazola **33** u položaju C-3 (*Shema 3.16*). Rastvor tetrazola **33** u smeši metilen-hlorida i metanola je mešan 19 sati na sobnoj temperaturi u atmosferi vodonika u prisustvu 10 % Pd/C. 3-Hidroksi-17a β -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (**34**) je dobijen u prinosu od 78 %.



Shema 3.16. Reakcioni uslovi: a) H_2 , 10 % Pd/C, CH_2Cl_2 , MeOH st, 19 h.

Struktura 3-hidroksi derivata **34** je dokazana spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru javlja se signal na 8,87 ppm koji odgovara vodonikovom atomu fenolne grupe u položaju C-3. U spektru tetrazola **34** izostali su singlet na 5,05 ppm (integral odgovara 2H) i preklapajući multipleti na 7,27-7,45 ppm (integral odgovara 5H) koji se javljaju u spektru tetrazola **33** a potiču od benzilne zaštite u položaju C-3. U ^{13}C NMR spektru 3-hidroksi derivata **34** izostao je signal na 69,94 ppm koji potiče od metilenskog ugljenikovog atoma benzilne grupe. Pored njega izostali su signali aromatičnih ugljenikovih atoma iste grupe. Široka traka na 3414 cm^{-1} u IR spektru jedinjenja **34** potiče od vibracija fenolne OH grupe. Struktura 3-hidroksi-17a β -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazola (**34**) čija

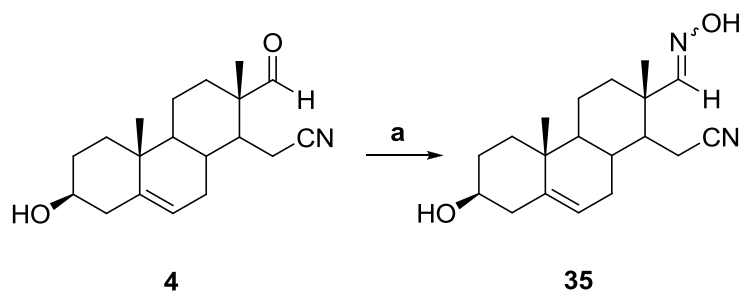
relativna molekulska masa iznosi 324,19501 je potvrđena masenom spektroskopijom visoke rezolucije. Pik koji se javlja na 325,20212 masenih jedinica odgovara $[M+H]^+$ jonu.

3.2. Sinteza D-seko i D-homo steroidnih heterocikličnih jedinjenja androstanske i estranske serije

Polazeći od D-seko-cijano-aldehida **4** i **23** sintetisani su odgovarajući oksimi, nitroni i nitril-oksidi koji su poslužili kao prekursori u sintezi D-seko i D-homo heterocikličnih steroidnih derivata. Kao što se sinteza D-kondezovanih tetrazola sastojala od dva pravca, tako su i navedena heterociklična jedinjenja sintetisana u androstanskoj i estranskoj seriji. Izuzetak je D-seko derivat koji ima izoksazolski prsten kao bočnu grupu, a koji je sintetisan samo u androstanskoj seriji. D-Sekocijano-aldehid **4** je poslužio kao polazno jedinjenje za sintezu heterocikličnih derivata androstanske serije, a D-sekocijano-aldehid **23** je bio polazno jedinjenje za sintezu heterocikličnih jedinjenja estranske serije.

3.2.1. Sinteza D-seko androstanskog izoksazola 1,3-dipolarnom cikloadicijom *in situ* generisanog nitriloksida i alkina

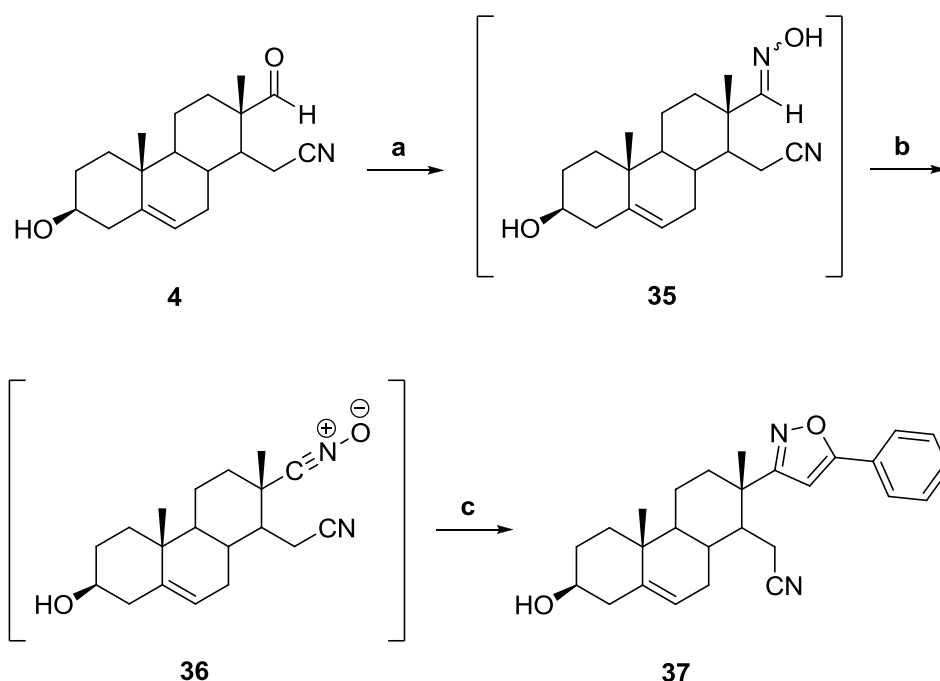
U reakciji aldehida **4** i hidrosilamin-hidrohlorida u prisustvu natrijum-bikarbonata u metanolu na sobnoj temperaturi u toku jednog sata (*Shema 3.17.*), dobijen je D-sekocijano-oksimum **35** (32 %), koji je korišćen u daljim sintezama bez prethodnog izolovanja.



Shema 3.17. Reakcioni uslovi: a) $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$, NaHCO_3 , MeOH , st, 1 h.

Struktura oksima **35** potvrđena je spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru jedinjenja **35** došlo je do promene položaja signala koji potiče od vodonikovog atoma H-17 [9,37 ppm kod jedinjenja **4** \rightarrow 7,19 ppm kod jedinjenja **35**]. U navedenom spektru pojavio se novi signal na 8,14 ppm koji odgovara vodonikovom atomu oksimino grupe. Signal ugljenikovog atoma C-17 kod derivata **35** pomerio se ka višem magnetnom polju [205,03 ppm kod jedinjenja **4** \rightarrow 158,49 ppm kod jedinjenja **35**] u odnosu na njegov položaj kod D-seko derivata **4**. Masenom spektroskopijom visoke rezolucije potvrđena je struktura 17-oksimino derivata **35** čija relativna molekulaska masa iznosi 316,21508. U masenom spektru se javlja pik na 317,22118 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu.

Polazeći od aldehida **4** preko intermedijernog oksima **35**, sintetisan je 3,5-disupstituisani izoksazol **37** u *one-pot* regioselektivnoj bakar(I) katalizovanoj 1,3-dipolarnoj cikloadiciji *in situ* generisanog nitril-oksida **36** i fenilacetilena kao terminalnog alkina (Shema 3.18). U prvoj fazi sinteze aldehyd **4** reaguje sa hidroksilaminom koji je dobijen iz hidrohlorida dejstvom natrijum-hidrogenkarbonata na sobnoj temperaturi u metanolu tokom jednog sata. Tankoslojnom hromatografijom je praćen tok reakcije i nakon što je sav aldehyd **4** izreagovao, dodat je hloramin-T trihidrat i reakciona smeša je mešana pet minuta na sobnoj temperaturi. *In situ* nagrađeni nitril-oksid **36** je zatim reagovao sa naknadno dodatim fenilacetilenom (dipolarofil) i bakrom(I) koji je dobijen *in situ* iz takođe naknadno dodatih bakar(II)-sulfata pentahidrata i natrijum-askorbata u toku 24 sata na sobnoj temperaturi. Iz složene reakcione smeše izolovan je izoksazol **37** u prinosu od 10 %.



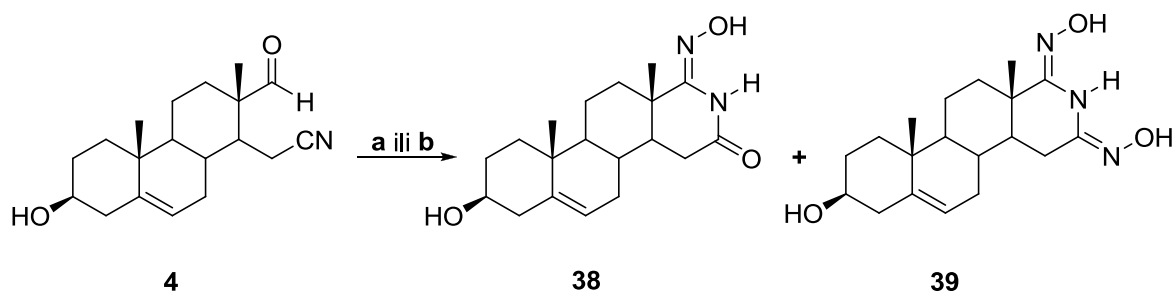
Shema 3.18. Reakcioni uslovi: a) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, NaHCO_3 , MeOH , st, 1 h; b) $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NCINa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, st, 5 min; c) fenilacetilen, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na-askorbat , st, 24 h.

Nizak prinos željenog izoksazola može da se objasni velikom reaktivnošću hloramin-T trihidrata.¹⁵² Pored navedenog razloga, moguć je i negativan uticaj hidrolize samog oksima. U literaturi je opisan mali broj sinteza steroidnih nitril-oksida. Koliko je poznato steroidni nitril-oksidi su isključivo sintetisani iz odgovarajućih nitro derivata upotrebom fenilizocijanata u prisustvu katalitičkih količina trietilamina.¹⁰⁷ Na taj način se izbegava upotreba reagenasa koji pored toga što reaguju sa aldoksimom reaguje i sa drugim funkcionalnim grupama.

Struktura izoksazola **37** je potvrđena ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC NMR i HMBC NMR spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektru javlja se dublet na 4,66 ppm koji potiče od vodonikovog atoma hidroksilne grupe u položaju C-3 i dublet na 5,34 ppm koji potiče od H-6 vodonikovog atoma. Singlet na 7,15 ppm potiče od vodonikovog atoma koji je vezan za C-4' ugljenik u heterocikličnom prstenu. Grupa preklapajućih multiplleta koji se nalaze na 7,46-7,57 ppm potiče od H-3'', H-4'' i H-5'' vodonikovih atoma. Dublet dubleta na 7,83 ppm potiče od H-2'' i H-6'' vodonikovih atoma. U ^{13}C NMR spektru prisutni su signali C-3 (69,97 ppm), C-5 (140,99 ppm), C-6 (119,67 ppm) i C-16 (119,88 ppm) ugljenikovih atoma. Ovim je potvrđeno da je se u položaju C-3 i dalje nalazi hidroksilna grupa, da je dvostruka veza $\Delta^{5,6}$ i dalje prisutna i da nitrilna funkcija nije reagovala. U ^{13}C NMR spektru uočavaju se signali za ugljenikove atome izoksazolskog prstena: C-4' (98,72 ppm), C-5' (168,98 ppm) i C-3' (171,74 ppm). Pojava ovih signala koji odgovaraju ugljenikovim atomima izoksazolskog prstena, kao i signala koji odgovaraju fenil grupi od 125,48-130,33 ppm predstavlja potvrdu da je došlo do željene reakcije. Masenom spektroskopijom visoke rezolucije potvrđena je struktura izoksazola **37** čija relativna molekulska masa iznosi 416,24638. U masenom spektru se javlja pik na 439,23525 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{Na}]^+$ jonu.

3.2.2. Sinteza 17-aza-D-homo androstanskih i estranskih heterocikličnih derivata

D-Sekocijano-aldehid **4** je u reakciji sa hidroksilaminom, uz refluks, preveden u 17-aza-D-homo derivate **38** i **39** primenom „postupka a“ i „postupka b“ (Shema 3.19). U „postupku a“ kao rastvarač je korišćen metanol, pri čemu su dobijeni 17-aza-16-okso-17a-oksimino derivat **38** (9%) i 17-aza-16,17a-dioksimino derivat **39** (13%). U „postupku b“ je korišćena voda kao rastvarač, ali prinosi jedinjenja **38** (11 %) i jedinjenja **39** (9%) se ne razlikuje značajno u odnosu na prethodni postupak. Važno je napomenuti da je u literaturi opisana sinteza nesteroidnih heterocikličnih derivata koji imaju ovaj strukturni elemenat kao što je D-homo prsten kod jedinjenja **38** i **39**, sa tom razlikom što su oni dobijeni iz dinitrila.¹⁵³ Koliko je poznato ovo je prvi primer sinteze ovog tipa jedinjenja iz cijano-aldehida, ne samo u hemiji steroida. „Postupak b“ u kojem je korišćena voda kao rastvarač predstavlja primer ekološki prihvatljive reakcije.



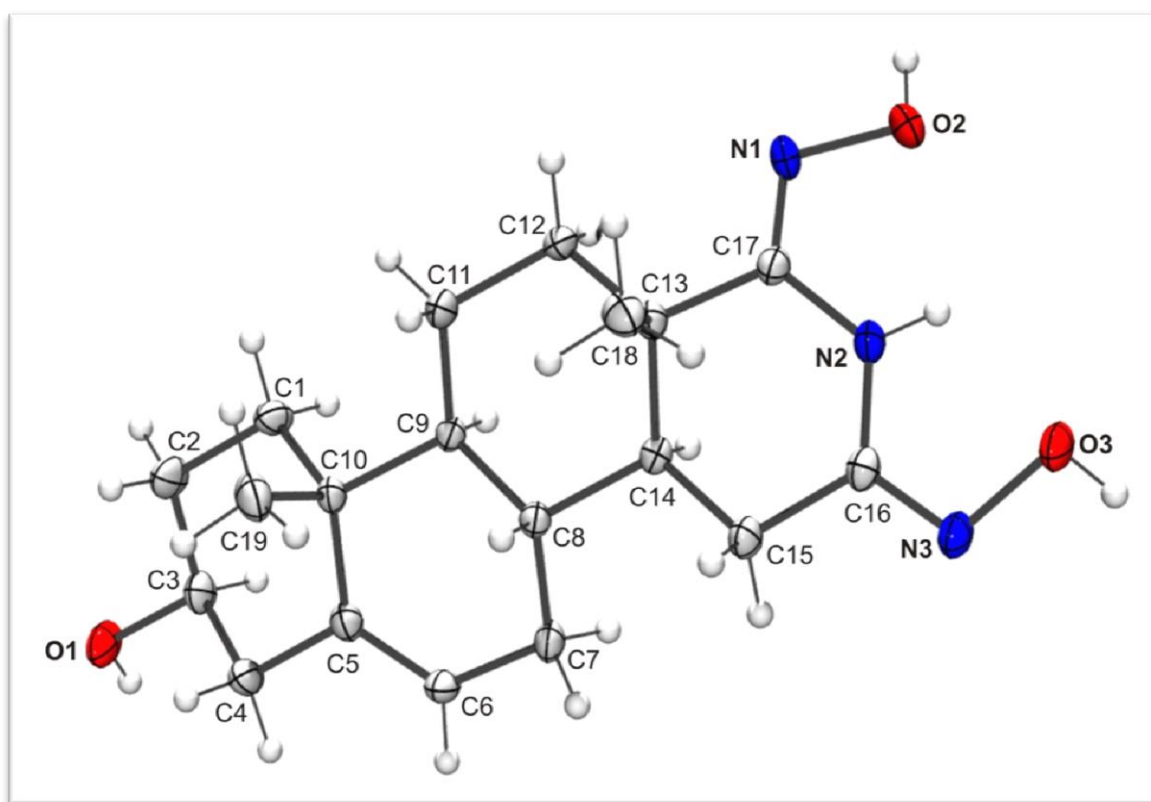
Shema 3.19. Reakcioni uslovi: a) $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$, NaHCO_3 , MeOH, refluks, 10 h; b) $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$, NaHCO_3 , H_2O , refluks, 11 h 30 min.

Struktura jedinjenja **38** je potvrđena NMR spektroskopijom i masenom spektroskopijom visoke rezolucije. Odsustvo singleta na 9,37 ppm u ^1H NMR spektru jedinjenja **38** a koji se javlja kod aldehida **4** potvrđuje da je aldehidna grupa stupila u reakciju. Singlet na 8,95 ppm odgovara vodonikovom atomu na azotu, a singlet na 10,32 ppm odgovara vodonikovom atomu oksimino grupe u položaju C-17a. U ^{13}C NMR spektru se javlja signal na 152,40 ppm koji odgovara C-17a ugljenikovom atomu koji gradi ketoksim. Signal koji odgovara ugljenikovom atomu C-16 koji se javlja kod aldehida **4** pomerio se ka nižem magnetnom polju [118,53 ppm kod jedinjenja **4** \rightarrow 169,30 ppm kod jedinjenja **38**] i na osnovu čega se može zaključiti da je nitrilna grupa učestvovala u hemijskoj reakciji. Pomoću HMBC NMR eksperimenta utvrđeno je da se u položaju C-16 nalazi okso grupa a u položaju C-17a nalazi oksimino grupa. U masenom spektru visoke rezolucije jedinjenja **38** ($M_r=332,20999$) javlja se pik na 333,21683 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu.

Struktura drugog proizvoda ove reakcije, jedinjenje **39**, je dokazana pored NMR spektroskopije, masene spektroskopije visoke razolucije i rendgeno-strukturnom analizom

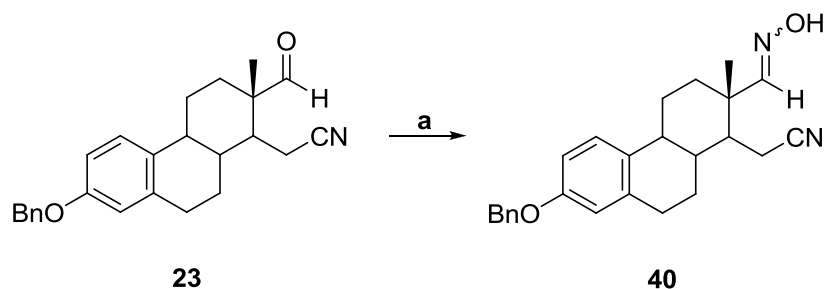
(Slika 3.7). U ^1H NMR spektru jedinjenja **39** javlja se singlet na 8,29 ppm koji odgovara vodonikovom atomu na azotu. Singleti na 9,89 i 10,06 ppm odgovaraju vodonikovim atomima oksimino grupa u položaju C-16 i C-17a. Pored novih signala važno je spomenuti izostanak singleta na 9,37 ppm koji odgovara H-17 vodonikovom atomu u jedinjenju **4**. U ^{13}C NMR spektru jedinjenja **39** signali na 144,16 i 151,84 ppm odgovaraju ugljenikovim atomima oksimino grupa. U masenom spektru visoke rezolucije jedinjenja **39** čija relativna molekulska masa iznosi 347,22089 javlja se pik na 348,22763 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu.

Struktura D-homo-17-aza-16,17a-bis(hidroksiimino) derivata **39** dokazana je i rentgeno-strukturnom analizom (Slika 3.7).



Slika 3.7. ORTEP prikaz molekulske strukture jedinjenja **39**

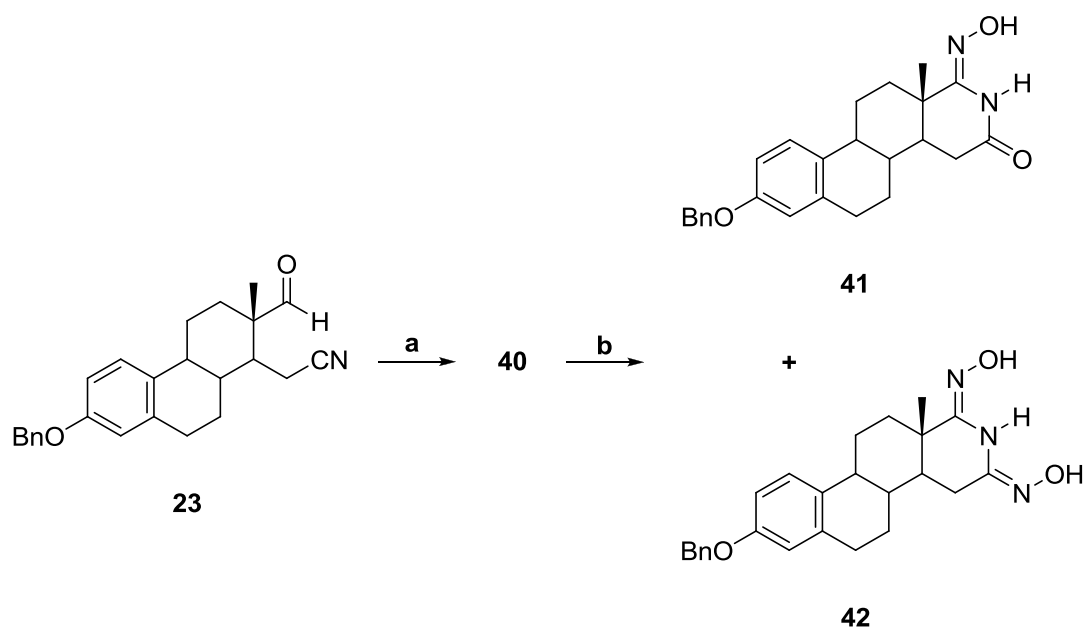
Pored prethodno opisanih hemijskih transformacija D-sekocijano-aldehida **4**, u ovom radu ispitane su i slične hemijske reakcije u kojima je učestvovala aldehidna grupa estranskog derivata **23**. Tako je sintetisan i okarakterisan oksimino derivat **40**. U reakciji aldehida **23** sa hidroksilamin-hidrohloridom i natrijum-hidrogenkarbonatom u smeši metanol-hloroform na sobnoj temperaturi nakon jednog sata dobijen je željeni oksim **40** u prinosu od 31 % (Shema 3.20).



Shema 3.20. Reakcioni uslovi: a) $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$, NaHCO_3 , MeOH, CHCl_3 , st, 1 h.

Struktura oksima **40** je potvrđena spektroskopskim podacima. U ^1H NMR spektru uočava se pojava signala na 10,70 ppm, koji odgovara vodonikovom atomu oksimino grupe. Vodonikov atom H-17 pomerio se ka višem magnetnom polju [9,40 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow 7,22 ppm kod jedinjenja **40**] u odnosu na polazni aldehyd (**23**). Signal ugljenikovog atoma C-17 pomerio se ka manjim vrednostima hemijskog pomeranja [204,76 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow 156,95 ppm kod jedinjenja **40**]. U masenom spektru visoke rezolucije javlja se pik na 389,22228 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu. Navedeni spektar potvrđuje strukturu jedinjenja **40** čija je relativna molekulska masa 388,21508.

D-sekocijano-aldehyd **23** i hidroksilamin u smeši metanol-toluen (2:1) u atmosferi argona na sobnoj temperaturi u toku jednog sata daju odgovarajući oksim **40**. Nakon što je tankoslojnom hromatografijom utvrđeno da je sav aldehyd **23** izreagovao, reakciona smeša je zagrevana 12 sati na temperaturi ključanja te smeše (Shema 3.21). Iz reakcione smeše su izolovani D-homo derivati **41** (14 %) i **42** (13 %). Na ovaj način je potvrđeno da u reakciji 17-okso-16,17-seko-16-nitril derivata i hidroksilamina na temperaturi većoj od 64 °C nastaju 17-aza-D-homo derivati i da ranije naveden primer u androstanskoj seriji nije predstavljao izuzetak već pravilo.



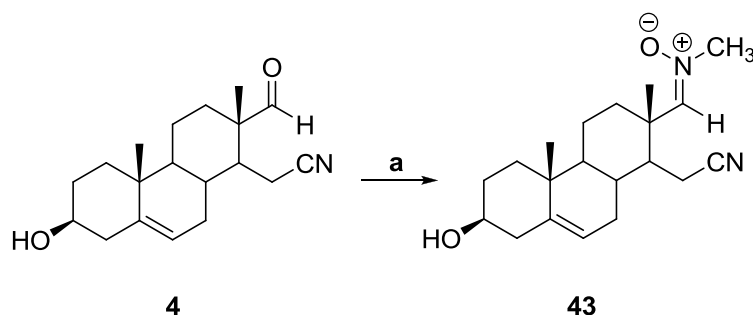
Shema 3.21. Reakcioni uslovi: a) NH_2OH , MeOH, toluen, atmosfera Ar, st, 1 h; b) refluks, 12 h.

Strukture jedinjenja **41** i **42** su potvrđene spektroskopskim metodama. U ^1H NMR spektrima derivata **41** i **42** primetan je izostanak singleta na 9,40 ppm koji se javlja kod aldehida **23** a potiče od H-17 atoma. Singlet na 9,03 ppm kod 16-okso derivata **41** odgovara vodonikovom atomu koji se nalazi na azotu. Singlet na 10,37 ppm u ^1H NMR spektru jedinjenja **41** odgovara vodonikovom atomu oksimino grupe. U ^{13}C NMR spektru 16-okso derivata **41**, signal ugljenikovog atoma C-17a pomeren je ka višem magnetnom polju [204,76 ppm kod jedinjenja **23** → 156,31 ppm kod jedinjenja **41**] u odnosu na njegov položaj kod jedinjenja **23**. Signal ugljenikovog atoma C-16 nalazi se na nižem magnetnom polju [118,63 ppm kod jedinjenja **23** → 168,90 ppm kod jedinjenja **41**] u poređenju sa njegovim položajem kod 17-okso-16-nitril derivata **23**. Singleti u ^1H NMR spektru dioksima **42**, koji se javljaju na 9,90 ppm i 10,08 ppm odgovaraju vodonikovim atomima oksimino grupa. Singlet na 8,33 ppm potiče od vodonikovog atoma na azotu. U ^{13}C NMR spektru dioksima **42** javljaju se signali na 144,03 ppm i 156,22 ppm koji odgovaraju ugljenikovim atomima oksimino grupa u položajevima C-16 i C-17a. Masena spektroskopija visoke rezolucije potvrdila je strukturu jedinjenja **41** ($M_r=404,20999$). U spektru se javlja pik na 443,17273 koji potiče od $[\text{M}+\text{K}]^+$ jona. Masena spektroskopija visoke rezolucije potvrdila je strukturu dioksima **42** ($M_r=419,22089$). U spektru se javlja pik na 420,22768 koji potiče od $[\text{M}+\text{H}]^+$ jona.

3.2.3. Sinteza D-seko androstanskih i estranskih izoksazolina 1,3-dipolarnom cikloadicijom nitrona i alkina

Kao što je u Opštem delu rada napisano, nitroni mogu da stupe u reakciju 1,3-dipolarne cikloadicije sa alkinima i pri tome nastaju 4-izoksazolini (2,3-dihidroizoksazoli).^{26,27} U ovom delu rada su sintetizovani nitroni **43**, **46**, **49** i **51** i ispitana je reakcija 1,3-dipolarne cikloadicije ovih dipola sa dimetil-acetilendikarboksilatim kao dipolarofilom.

N-Metil nitron **43** je dobijen u reakciji aldehida **4** sa *N*-metil-hidroksilaminom, koji je dobijen iz odgovarajućeg hidrohlorida dodatkom ekvimolarne količine natrijum-acetata, u metanolu na sobnoj temperaturi u toku jednog sata (Shema 3.22). Prinos ove reakcije iznosi 72 %.

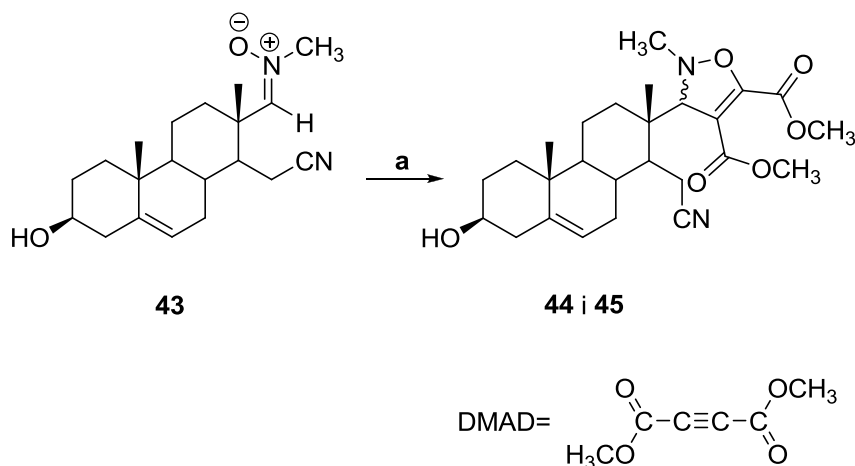


Shema 3.22. Reakcioni uslovi: a) CH₃NHOH x HCl, AcONa, MeOH, st, 1 h.

U ¹H NMR spektru jedinjenja **43** došlo je do promene položaja signala vodonikovog atoma H-17 [9,37 ppm kod jedinjenja **4** → 6,69 ppm kod jedinjenja **43**]. Singlet na 3,53 ppm potiče od vodonikovih atoma metil grupe koja je vezana za azot. U ¹³C NMR spektru istog jedinjenja pojavio se novi signal (53,90 ppm) u odnosu na polazni aldehyd **4** i on potiče od metil grupe na azotu. Signal ugljenikovog atoma C-17 pomerio se ka višem magnetnom polju [205,03 ppm kod jedinjenja **4** → 143,62 ppm kod jedinjenja **43**] u odnosu na njegov položaj kod aldehyda **4**. U infracrvenom spektru jedinjenja **43** izostala je traka na 1722 cm⁻¹ koja odgovara aldehydnoj grupi i koja se javlja kod D-sekocijano derivata **4**. Ove promene u navedenim spektrima potvrđuju da je aldehydna grupa reagovala sa *N*-metilhidroksilaminom i da je kao proizvod te reakcije dobijen *N*-metil nitron **43**. Masena spektroskopija visoke rezolucije dodatno je potvrdila strukturu proizvoda **43** čija relativna molekulska masa iznosi 330,23073. U spektru se javlja pik na 331,23703 masenih jedinica koji odgovara [M+H]⁺ jonu.

¹H-NOE NMR eksperimentom dokazana je *Z* konfiguracija na dvostukoj vezi između ugljenika C-17 i azota. Prvo je ozračena metil grupa na azotu i usled prostorne bliskosti došlo je do pojačanja signala vodonikovog atoma H-17. Zatim je ozračen vodonikov atom H-17 i tom prilikom pojačao se signal metil grupe na azotu.

U reakciji nitrona **43** sa dimetil-acetilendikarboksilatom u smeši rastvarača metilenhlorid/metanol, na sobnoj temperaturi, u trajanju od 24 sata, dobijena su dva diastereoizomerna *D-seko*-4-izoksazolina **44** i **45** koja nisu mogla da budu razdvojena na koloni silika-gela (*Shema.3.23*).

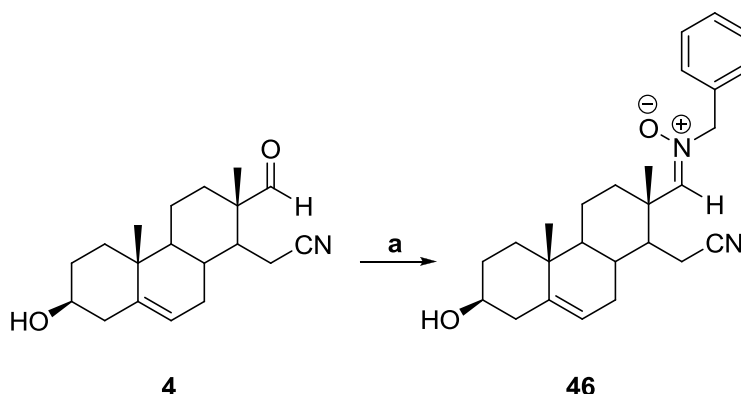


Shema 3.23. Reakcioni uslovi: a) DMAD, CH₂Cl₂, MeOH, atmosfera Ar, st, 24 h.

Na izbor dipolarofila je uticalo više faktora. Jedan od faktora je dobijanje što manjeg broja regioizomera upotrebom simetričnog dipolarofila. Drugi faktor je bio prisustvo funkcionalnih grupa u dipolarofilu koje smanjuju elektronsku gustinu na reakcionom centru dipolarofila. Smanjenje elektronske gustine dovodi do smanjenja energije aktivacije, odnosno sniženja temperature na kojoj će se odvijati cikloadicija što je veoma bitno jer se nitroni na povišenim temperaturama i u prisustvu vlage brže razlažu do odgovarajućih karbonilnih jedinjenja. Nitron **43** u reakciji sa DMAD u metanolu, u toku 24 sata na sobnoj temperaturi daje smešu izoksazolina **44** i **45** (45%) čija se konfiguracija razlikuje na C-17 ugljenikovom atomu. Nastanak smeše epimera je rezultat različitog prilaza dipolarofila. Diastereoizomerni izoksazolini **44** i **45** nisu mogli da se razdvoje hromatografijom na koloni koja se sastojala od silika-gela kao stacionarne faze.

Struktura smeše izoksazolina **44** i **45** potvrđena je ¹H, ¹³C NMR, i 2D NMR (HMBC) spektroskopijom. U ¹H NMR spektru javlja se grupa signala na 3,76-4,02 ppm koja odgovara metil grupama metil-karboksilata i vodonikovim atomima iz heterocikličnog prstena izoksazolina **44** i **45**. Pored ovih signala, javljaju se singleti koji potiču od vodonikovih atoma metil grupa koji se nalaze na atomima azota [3,53 ppm kod jedinjenja **43** → 2,82 ppm i 2,83 ppm kod jedinjenja **44** i **45**]. U ¹³C NMR uočava se pojava četiri signala (52,19; 52,28; 53,10 i 53,22 ppm) koja odgovaraju metil grupama estara. Pored ovih signala prisutni su signali za C-atome iz C=O grupa estarskih funkcija na 159,17 ppm, 159,56 ppm, 163,91 i 164,16 ppm. Signal ugljenikovog atom C-17 u nitronu **43** se nalazi na 143,62 ppm a dok se u izoksazolinima **44** i **45** signal C-3' atoma nalazi na 78,45 ppm i 79,76 ppm. U spektru se javljaju po dva signala za C-5 (140,39 ppm i 140,44 ppm), C-6 (120,31 ppm i 120,39 ppm) i C-16 (119,49 ppm i 119,58 ppm) ugljenikove atome. Signali na 105,01 ppm i 107,05 ppm potiču od C-4' ugljenikovih atoma, a signali na 150,10 ppm i 152,83 ppm potiču od C-5' ugljenikovih atoma, što predstavlja još jednu potvrdu da je dobijena smeša dva epimera.

N-Benzil nitron **46** je sintetisan u prinosu od 75 % u reakciji D-sekocijano-aldehida **4** sa *N*-benzilhidroksilaminom-hidrohloridom i natrijum-acetatom u metanolu na sobnoj temperaturi u toku jednog sata (*Shema 3.24*).

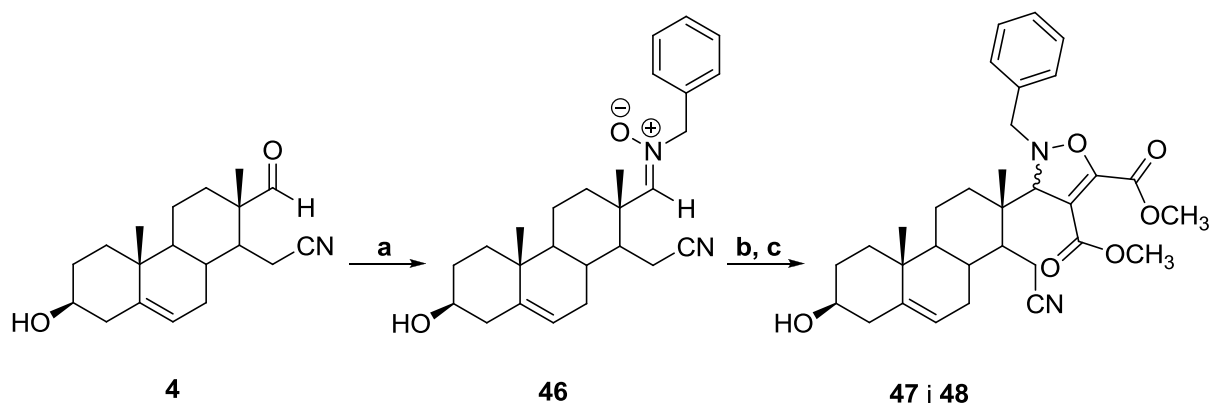


Shema 3.24. Reakcioni uslovi: a) BnNHOH x HCl, AcONa, MeOH, st, 1 h.

Struktura nitrona **46** je potvrđena NMR, infracrvenom i masenom spektroskopijom visoke rezolucije. U ^1H NMR spektru uočava se pojava singleta na 4,84 i 7,40 ppm koji odgovaraju vodonikovim atomima metilenske grupe na azotu odnosno vodonikovim atomima fenil grupe. Signal vodonikovog atoma H-17 zauzima novi položaj [9,37 ppm kod jedinjenja **4** \rightarrow 6,49 ppm kod jedinjenja **46**] u odnosu na polazni aldehyd **4**. U ^{13}C NMR spektru pojavio se signal na 71,15 ppm koji odgovara metilenskom ugljeniku koji je vezan za azot. Pored ovog signala, pojavio se signal na 128,96 ppm koji odgovara CH ugljenikovim atomima fenil grupe i signal na 132,99 ppm koji potiče C-1' ugljenikovog atoma. Signal ugljenikovog atoma C-17 ima manje hemijsko pomeranje u poređenju sa jedinjenjem **4** [205,03 ppm kod jedinjenja **4** \rightarrow 143,84 ppm kod jedinjenja **46**]. U infracrvenom spektru jedinjenja **46** izostala je traka na 1722 cm^{-1} koja odgovara aldehydnoj grupi i koja se javlja kod D-sekocijano derivata **4**. Maseni spektar visoke rezolucije potvrdio je strukturu proizvoda ($M_r = 406,26203$). U datom spektru javlja se pik $[\text{M}+\text{H}]^+$ jona čiji odnos mase i šarže iznosi 407,26838.

^1H -NOE NMR eksperimentom dokazana je *Z* konfiguracija na dvostukoj vezi između ugljenika C-17 i azota. Ozračeni su vodonikovi atomi metilenske grupe na azotu i kao posledica prostorne bliskosti došlo je do pojačanja signala vodonikovog atoma H-17.

Sirovi *N*-benzil nitron **46** (*Shema 3.25.*) koji je dobijen iz aldehyda **4** dejstvom *N*-benzilhidroksilamina-hidrohlorida i natrijum-acetata u metanolu na sobnoj temperaturi nakon jednog sata, korišćen je u reakciji sa DMAD. Reakcija se odvijala na sobnoj temperaturi. Nakon 12 sati dodata je nova količina *N*-benzilhidroksilamin-hidrohlorida, natrijum-acetata i DMAD zato što je nitron **46** delimično hidrolizovao do polaznog aldehyda **4**. Ukupno vreme reakcije je iznosilo 24 sata. Bitno je naglasiti da *N*-benzil izoksazoloni **47** i **48** kao i aldehyd **4** imaju veoma slične R_f vrednosti prilikom tankoslojne hromatografije. Ta osobina ima za posledicu veoma komplikovanu proceduru razdvajanja ova dva epimera čiji su prinosi veoma niske **47** (6 %) i **48** (10 %).

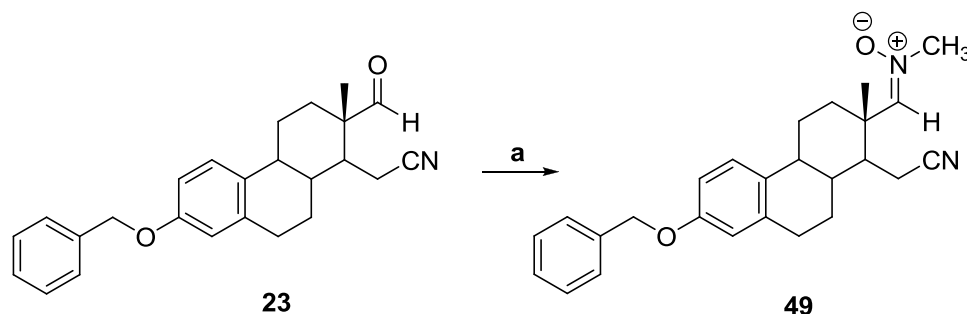


Shema 3.25. Reakcioni uslovi: a) BnNHOH x HCl, AcONa, MeOH, st, 1 h; b) DMAD, MeOH, st, 12 h; c) BnNHOH x HCl, AcONa, DMAD, MeOH, st, 12 h.

Struktura izoksazolina **47** je potvrđen ^1H NMR, ^{13}C NMR i masenom spektroskopijom visoke rezolucije, a izoksazolin **48** je potvrđen ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom, a pri tome nisu utvrđene konfiguracije na C-17 atomu. U ^1H NMR spektrima izoksazolina **47** i **48** javljaju se novi signali u odnosu na spektar nitrona **46**. Singleti na 3,80 ppm i 3,91 ppm kod jedinjenja **47**, odnosno singleti na 3,77 ppm i 3,89 ppm kod jedinjenja **48** potiču od vodonikovih atoma metil karboksilata. Dublet na 4,35 ppm kod jedinjenja **47** odnosno na 4,25 ppm kod jedinjenja **48** odgovaraju jednom od diastereotopnih vodonikovih atoma metilenske grupe vezane za azot. Singlet na 7,39 ppm kod jedinjenja **47** i singlet na 7,38 ppm kod jedinjenja **48** odgovaraju vodonikovim atomima fenil grupe. Singlet na 4,11 ppm kod izoksazolina **47** i singlet na 4,18 ppm kod izoksazolina **48** odgovaraju vodonikovim atomima koji se nalaze na položaju C-3' (signal za H-atom na C-17 je na 6,49 ppm). U ^{13}C NMR spektrima javljaju se signali na 52,22 ppm i 53,15 ppm kod izoksazolina **47** odnosno na 52,29 ppm i 53,21 ppm kod izoksazolina **48**, a oni potiču od ugljenikovog atoma metil grupe metil karboksilata. Na 159,20 ppm i 163,79 ppm kod epimera **47** odnosno na 159,51 ppm i 163,79 ppm kod epimera **48** javljaju se signali za C-atome estarskih karbonilnih grupa. Signali metilenskih ugljenikovih atoma vezanih za azot kod izoksazolina **47** i **48** zauzimaju nove položaje [71,15 ppm kod jedinjenja **46** → 62,88 ppm kod jedinjenja **47**; → 64,26 ppm kod jedinjenja **48**] u odnosu na *N*-benzil nitron **46**. Uočava se i promena položaja signala C-3' atoma [143,84 ppm za C-17 u jedinjenju **46** → 73,98 ppm kod jedinjenja **47**; → 76,20 ppm kod jedinjenja **48**]. Signali na 107,16 ppm kod jedinjenja **47**, odnosno na 105,26 ppm kod jedinjenja **48** potiču od ugljenikovih atoma C-4'. Signal na 150,90 ppm kod jedinjenja **47** potiče od C-5' ugljenikovog atoma, odnosno na 153,65 ppm kod jedinjenja **48**. Kao što je ranije navedeno izoksazolin (**47**; Mr=548,28864), kao jedan od proizvoda dipolarne cikloadicije, potvrđen je masenom spektroskopijom visoke rezolucije. Na spektru se javlja pik na 566,32116 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ jonu.

U estranskoj seriji aldehyd **23** je poslužio kao polazno jedinjenje u sintezi D-seko estranskih izoksazolina. Jedan od prekursora bio je *N*-metil nitron **49**, koji je dobijen u reakciji između aldehyda **23**, *N*-metilhidroksilamin-hidrohlorida i natrijum-acetata u smeši

metanol-hloroform na sobnoj temperaturi u toku tri sata (Shema 3.26). Prinos ove reakcije je iznosio 59 %.

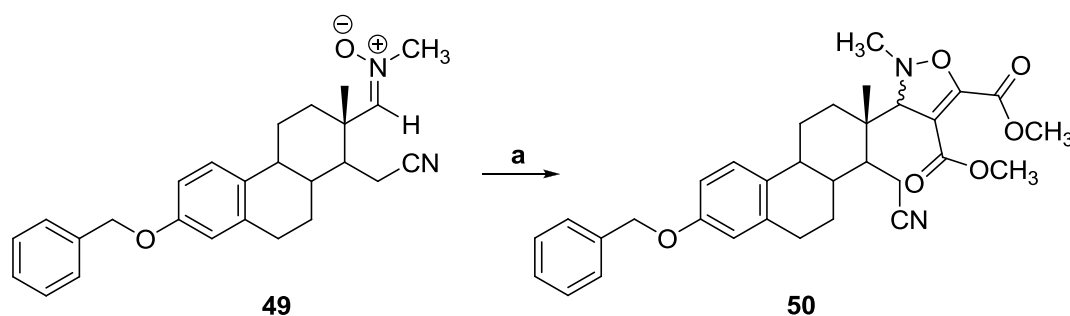


Shema 3.26. Reakcioni uslovi: a) $\text{CH}_3\text{NHOH} \times \text{HCl}$, AcONa, MeOH, CHCl_3 , st, 3 h.

Struktura nitrona **49** dokazana je ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR i masenom spektroskopijom visoke rezolucije. U ^1H NMR spektru uočava se novi signal na 3,56 ppm koji potiče od vodonikovih atoma metil grupe na azotu. Singlet koji odgovara H-17 vodonikovom atomu nitrona **49** pomerio se ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja [9,40 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow u području 6,72-6,77 ppm kod jedinjenja **49**] u odnosu na njegov položaj u spektru alhida **23**. Signal ugljenikovog atoma C-17 ima novi položaj [204,76 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow 143,63 ppm kod jedinjenja **49**] u poređenju sa polaznim alhidom **23**. U infracrvenom spektru *N*-metil nitrona **49** izostala je traka na 1725 cm^{-1} koja odgovara alhidnoj grupi jedinjenja **23**. Pik na 403,23800 masenih jedinica u masenom spektru visoke rezolucije odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu. Na ovaj način potvrđena je struktura *D*-seko nitrona **49** čija relativna molekulska masa iznosi 402,23073.

^1H -NOE NMR eksperimentom dokazana je *Z* konfiguracija na dvostukoj vezi između ugljenika C-17 i azota. Vodonikovi atomi metil grupe na azotu su ozračeni i usled prostorne bliskosti došlo je do pojačanja signala vodonikovog atoma H-17.

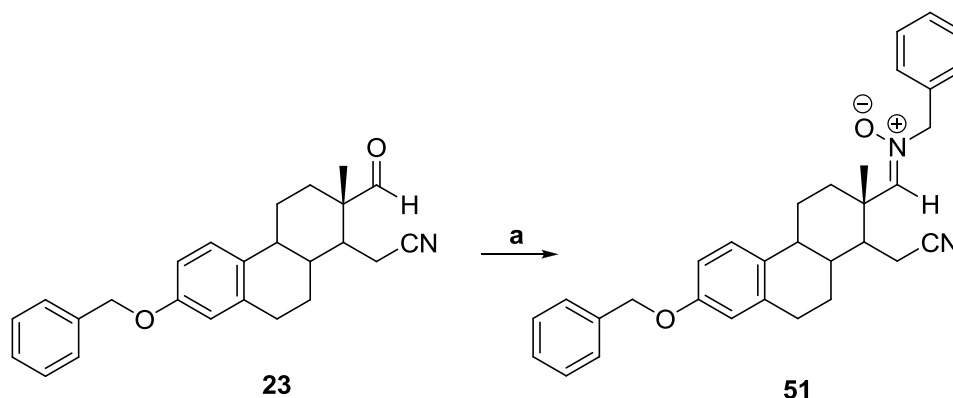
U narednoj fazi *N*-metil nitron **49** je podvrgnut reakciji cikloadicije sa DMAD u smeši hloroform-metanol na sobnoj temperaturi u toku 24 časa (Shema 3.27). *N*-Metil izoksazolin **50** je izolovan u skromnom prinosu od 4 %.



Shema 3.27. Reakcioni uslovi: a) DMAD, CHCl_3 , MeOH, st, 24 h.

Struktura izoksazolina **50** je potvrđena ^1H NMR i ^{13}C NMR spektroskopijom. Na 3,79 ppm i 3,92 ppm u ^1H NMR spektru javljaju se singleti vodonikovih atoma metil-karboksilata. Singlet koji potiče od metil grupe vezane za azot, pomerio se ka višem magnetnom polju [3,56 ppm kod jedinjenja **49** \rightarrow 2,85 ppm kod jedinjenja **50**] u odnosu na položaj kod nitrona **49**. Na 3,95 ppm nalazi se singlet koji potiče od H-3' atoma i znatno je pomeren ka višem magnetnom polju u odnosu na signal za ekvivalentni H-17 atom u nitronu **49** (u području 6,72-6,77 ppm). Konfiguracija na C-17 atomu nije određena. U ^{13}C NMR spektru javljaju se signali na 52,37 ppm i 53,24 ppm koji potiču od ugljenikovih atoma metil grupa estarske funkcije. Na 159,53 ppm i 164,12 ppm javljaju se signali estarskih C=O ugljenikovih atoma. Signal na 105,21 ppm potiče od C-4', a signal na 152,86 ppm potiče od C-5' ugljenikovog atoma. Signal koji odgovara metil grupi na azotu, ima manje hemijsko pomeranje [53,94 ppm kod jedinjenja **49** \rightarrow 48,17 ppm kod jedinjenja **50**] u odnosu na njegov položaj kod *N*-metil nitrona **50**. Signal ugljenikovog atoma C-3' javlja se na 79,97 ppm, a kod *D*-seko nitrona **49** signal za C-17 (koji je ekvivalentan C-3') javlja se na 143,63 ppm.

U daljoj fazi rada, *N*-benzil nitron **51** je sintetisan iz *D*-sekocijano-aldehida **23** u reakciji sa *N*-benzilhidroksilaminom-hidrochloridom i natrijum-acetatom u smeši metanol-hloroform na sobnoj temperaturi u toku tri sata u prinosu od 80 % (*Shema 3.28*).

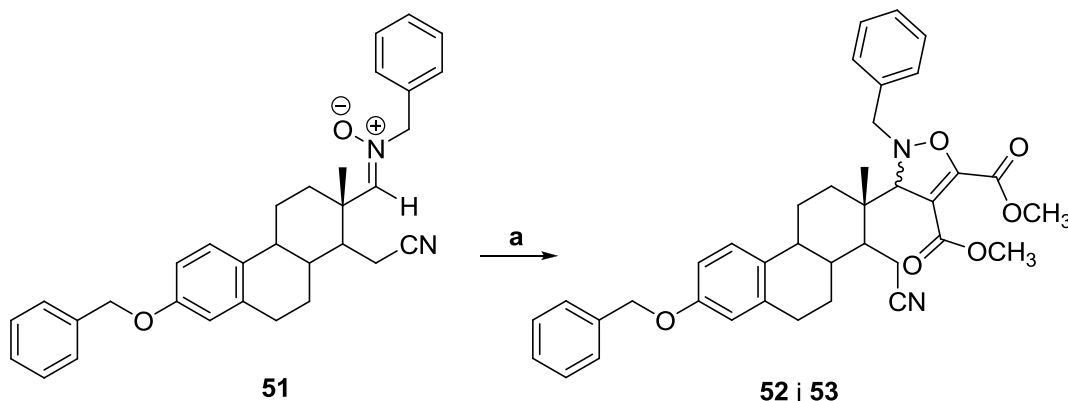


Shema 3.28. Reakcioni uslovi: BnNHOH x HCl, AcONa, MeOH, CHCl₃, st, 3 h.

Struktura jedinjenja **51** je potvrđena spektroskopskim podacima. U ^1H NMR spektru uočava se pojava singleta na 4,86 ppm koji potiče od vodonikovih atoma metilenske grupe na azotu. Singlet koji se javlja na 7,41 ppm i okružen je multipletima odgovara aromatičnim vodonikovim atomima benzilne grupe na azotu. Signal vodonikovog atoma H-17 zauzima novi položaj [9,40 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow 6,55 ppm kod jedinjenja **51**]. U ^{13}C NMR spektru javlja se signal na 71,25 ppm koji odgovara metilenskom ugljeniku koji je vezan za azot. Signal ugljenikovog atom C-17 nalazi se na višem magnetnom polju [204,76 ppm kod jedinjenja **23** \rightarrow 143,46 ppm kod jedinjenja **51**] u odnosu na signal istog atoma kod aldehida **23**. Masenom spektroskopijom visoke rezolucije takođe je potvrđena struktura jedinjenja **51** ($M_r=478,26203$). Na spektru se uočava pik na 479,26898 masenih jedinica koji odgovara $[\text{M}+\text{H}]^+$ jonu.

Konfiguracija na dvostrukoj vezi između ugljenika C-17 i azota u jedinjenju **51** nije određena spektroskopski. Međutim, na osnovu konfiguracija kod prethodno navedenih nitrona može se pretpostaviti da je u pitanju Z- konfiguracija.

Sintetisani nitron **51** u reakciji sa DMAD u metilen-hloridu na sobnoj temperaturi nakon 72 sata dao je smešu N-benzil izoksazolina **52** i **53** u ukupnom prinosu od 43 % (*Shema 3.29*).



Shema 3.29. Reakcioni uslovi: a) DMAD, CH₂Cl₂, st, 72 h.

Strukture izoksazolins **52** i **53** su potvrđene ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom. U ¹H NMR spektru javlja se grupa signala u području 3,78-4,31 ppm koja potiče od vodonikovih atoma četiri metil grupe metil-karboksilata, dve metilenske grupe vezane za azot i dva vodonikova atoma H-17 [4,86 ppm N-CH₂-Ph kod jedinjenja **51**; 6,55 ppm H-17 kod jedinjenja **51**]. U ¹³C NMR spektru javljaju se signali na 52,21; 52,36; 53,12 i 53,22 ppm metil grupa estarskih funkcija. Pored ovih signala prisutni su signali karboksilatnih ugljenikovih atoma i to na 159,17 ppm, 159,51 ppm, 163,79 i 163,96 ppm. Signali na 150,95 ppm i 153,74 ppm potiču od C-5' atoma jedinjenja **52** i **53**. Signali na 105,42 ppm i 107,28 ppm potiču od C-4' atoma izoksazolins **52** i **53**. Signali metilenskih grupa koje su vezane za azot javljaju se na 63,05 ppm i 64,26 ppm kod smeše izoksazolins (**52** i **53**) za razliku od N-benzil nitrona **51** kod kojeg se javlja na 71,25 ppm. Signali ugljenikovih atoma C-3' imaju manje hemijsko pomeranje [143,46 ppm kod jedinjenja **51** → 74,27 ppm i 76,30 ppm kod smeše jedinjenja **52** i **53**] kod smeše jedinjenja **52** i **53** u odnosu na polazni nitron **51**.

3.3. Ispitivanje biološke aktivnosti sintetizovanih jedinjenja

3.3.1. *In vitro* antitumorski potencijal sintetizovanih steroidnih D-homo tetrazola

U cilju ispitivanja biološke aktivnosti pentacikličnih D-homo steroidnih tetrazola **8**, **9**, **16**, **18**, **26**, **27**, **33** i **34** testirana je njihova *in vitro* antiproliferativna aktivnost na šest ćelijskih linija humanih tumora: estrogen receptor pozitivni (ER+) adenokarcinom dojke (MCF-7); estrogen receptor negativni (ER-) adenokarcinom dojke (MDA-MB-231); kancer prostate (AR-) (PC3); karcinom cerviksa (HeLa); mijeloidna leukemija (K562); adenokarcinom kolona (HT-29), kao i na zdravim fetalnim fibroblastima pluća (MRC-5) ćelije (Tabela 3.1.). *In vitro* citotoksičnost sintetizovanih jedinjenja, određena je kolorimetrijskim MTT testom.¹⁵⁴ Doksorubicin, (Dox, adriamicin) je poslužio kao referentno jedinjenje.

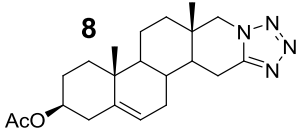
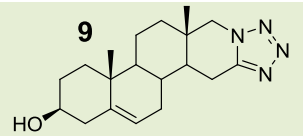
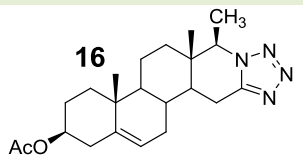
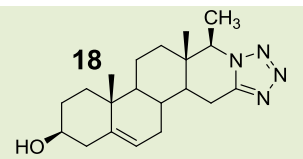
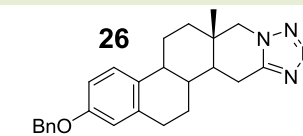
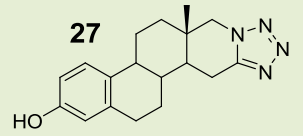
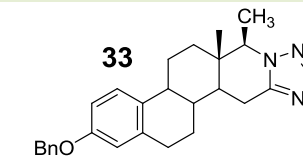
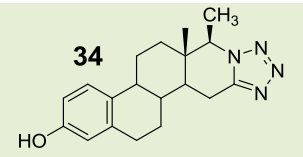
Kao što se iz navedenih rezultata može videti, jedinjenja **18**, **26** i **33** su ispoljila jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7). Jedinjenje **33** takođe inhibira rast ćelija adenokarcinoma kolona (HT-29), dok jedinjenje **16** pokazuje značajan antiproliferativni efekat na ćelije kancera prostate (PC3) koji je 6 puta veći od antiproliferativnog efekta doksorubicina. Jedinjenje **16** pokazuje i značajanu antiproliferativnu aktivnost i prema ćelijama mijeloidne leukemije (K562).

Mada doksorubicin pokazuje signifikantno veću aktivnost prema svim ispitivanim tumorskim ćelijama, on je veoma toksičan prema zdravim MRC-5 ćelijama, što je povezano sa nekoliko neželjenih sporednih efekata u hemoterapiji doksorubicinom, uključujući kardiotoksičnost i nefrotoksičnost.

Suprotno, doksorubicinu jedinjenja **18**, **26** i **33** pokazuju jaku ali selektivnu antiproliferativnu aktivnost prema MCF-7 ćelijama. Selektivni inhibitori ER+ ćelija karcinoma dojke mogli bi da imaju smanjene neželjene sporedne efekte kod pacijenata sa ovim tipom karcinoma dojke. U stvari, jedinjenje **26** je citotoksično jedino prema ER+ adenokarcinomu dojke, pokazujući visoku selektivnost, dok jedinjenje **33** inhibira rast i HT-29 ćelija.

U skladu sa opisanom selektivnošću, može se uočiti veća antiproliferativna aktivnost za 6 od 8 ispitivanih jedinjenja na estrogen-zavisne (ER+) MCF-7 ćelije karcinoma dojke nego na estrogen-nezavisne (ER-) ćelije karcinoma dojke (MDA-MB-231) (Tabela 3.1.) što sugeriše pretpostavku da njihovo delovanje uključuje estrogene receptore. Ovo je posebno izraženo kod estranskih tetrazola **26** i **33** sa C-3 benziloksi grupom¹⁵⁵ kao i kod androstanskog tetrazola **18** sa hidroksilnom grupom u položaju C-3. Prema tome, selektivni antiproliferativni efekat primećen kod ispitivanih steroidnih tetrazola prema ER+ MCF-7 ćelijama može da bude posledica vezivanja ovih jedinjenja za ER α receptor.

Tabela 3.1. Antiproliferativna aktivnost novosintetisanih steroidnih tetrazola i doksorubicina prema odabranim ćelijskim linijama izražena kao IC₅₀ vrednost nakon 48 sati

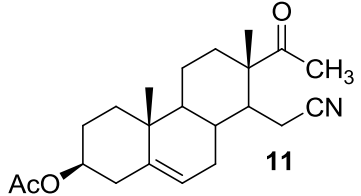
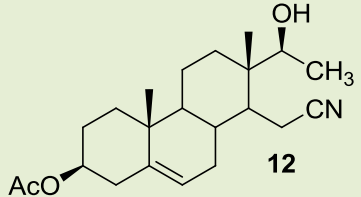
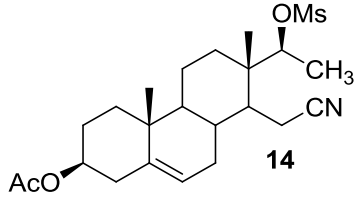
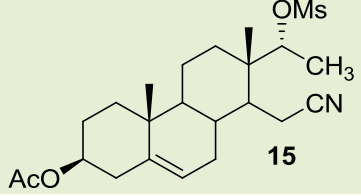
Jedinjenje	IC ₅₀ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	K562	HT-29	MRC-5
8 	56,23	>100	78,96	>100	45,22	>100	>100
9 	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
16 	25,45	89,56	15,32	>100	11,09	>100	>100
18 	2,62	95,49	>100	76,47	>100	>100	>100
26 	12,63	>100	65,45	>100	>100	>100	>100
27 	46,54	>100	>100	>100	>100	>100	>100
33 	4,58	>100	>100	>100	>100	18,02	>100
34 	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Doksorubicin	0,75	0,12	95,61	1,17	0,36	0,32	0,12

Na osnovu rezultata preliminarnih testova za ispitivanje antiproliferativne aktivnosti D-homo-kondenzovani steroidni tetrazoli **18**, **26** i **33** mogli bi da budu polazne supstance za sintezu potencijalnih antiestrogenih jedinjenja. Ipak, neophodna su dalja ispitivanja.

3.3.2. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti D-seko jedinjenja

U ovom delu rada testirana je *in vitro* antiproliferativna aktivnost D-seko jedinjenja **11**, **12**, **14**, i **15** na šest ćelijskih linija humanih tumora: estrogen receptor pozitivni (ER+) adenokarcinom dojke (MCF-7); estrogen receptor negativni (ER-) adenokarcinom dojke (MDA-MB-231); kancer prostate (AR-) (PC3); karcinom cerviksa (HeLa); mijeloidna leukemija (K562); adenokarcinom kolona (HT-29), kao i na zdravim fetalnim fibroblastima pluća (MRC-5) ćelije (Tabela 3.2.). *In vitro* citotoksičnost sintetizovanih jedinjenja, određena je kolorimetrijskim MTT testom.¹⁵⁴ Doksorubicin, (Dox, adriamicin) je poslužio kao referentno jedinjenje.

Tabela 3.2. Antiproliferativna aktivnost D-seko jedinjenja i doksorubicina prema odabranim ćelijskim linijama izražena kao IC₅₀ vrednost nakon 72 sata

Jedinjenje	IC ₅₀ (µM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	HeLa	K562	HT-29	MRC-5
 11	>100	>100	>100	44,68	>100	>100	>100
 12	>100	14,23	>100	50,99	99,78	>100	>100
 14	>100	6,58	5,97	17,51	>100	21,10	>100
 15	62,53	8,93	12,23	14,82	86,32	38,27	>100
Doksorubicin	0,75	0,12	95,61	1,17	0,36	0,32	0,12

D-seko keton **11** jedino pokazuje slabu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma cerviksa (HeLa). Međutim, njegov C-17 hidroksi derivat **12** pokazuje zadovoljavajuću antiproliferativnu aktivnost prema MDA-MB-231 ćelijama karcinoma dojke.

Uvođenje C-17 meziloksi funkcije značajno povećava antiproliferativnu aktivnost oba epimera **14** i **15** prema većini ispitivanih tumorskih ćelija, u poređenju sa prekursorima **11** i **12**. Naime, meziloksi derivati **14** i **15** pokazuju najsnažniju antiproliferativnu aktivnost prema MDA-MB-231 ćelijama karcinoma dojke. Jedinjenja **14** i **15** pokazuju 16- i 8-puta (respektivno) veću antiproliferativnu aktivnost prema PC-3 ćelijama nego doksorubicin, a takođe zadovoljavajuće inhibiraju rast tumorskih ćelija HeLa i HT-29.

(17*R*)-Stereoizomer **15** je malo slabije potentan antiproliferativni agens prema istim ispitivanim tumorskim ćelijama nego njegov (17*S*)-stereoizomer **14**.

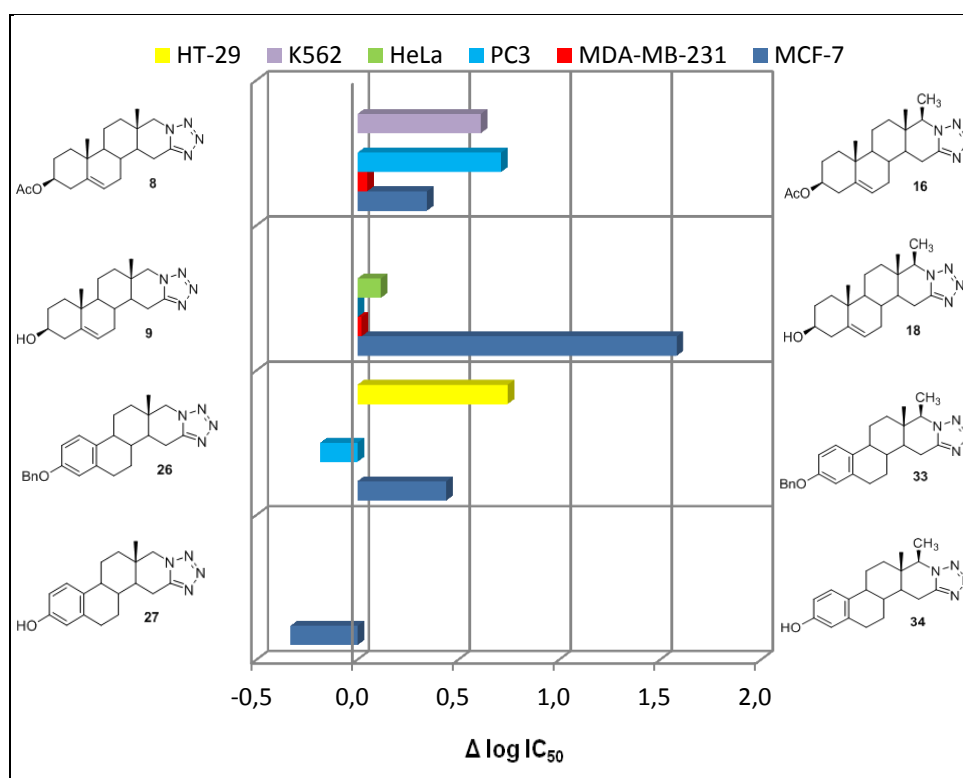
Suprotno doksorubicinu, ispitivana D-seko jedinjenja ne pokazuju citoksičnost prema zdravim MRC-5 ćelijama.

3.3.3. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja

Kako bi se ispitao uticaj pojedinih funkcionalnih grupa u molekulima novosintetizovanih jedinjenja na antitumorsku aktivnost, poređena je antiproliferativna aktivnost strukturno sličnih derivata. Ovom analizom uspostavljeni su korelacioni odnosi (SAR, eng. structure-activity relationship) između strukture i antiproliferativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja.

Antiproliferativna aktivnost je kvantitativno izražena kao razlika dekadnih logaritama IC_{50} vrednosti pojedinih parova jedinjenja prema određenoj ćelijskoj liniji. Negativna vrednost ove razlike pokazuje da analog I ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od analoga II, dok pozitivna vrednost odgovara većoj aktivnosti analoga II u odnosu na analog I prema toj ćelijskoj liniji.

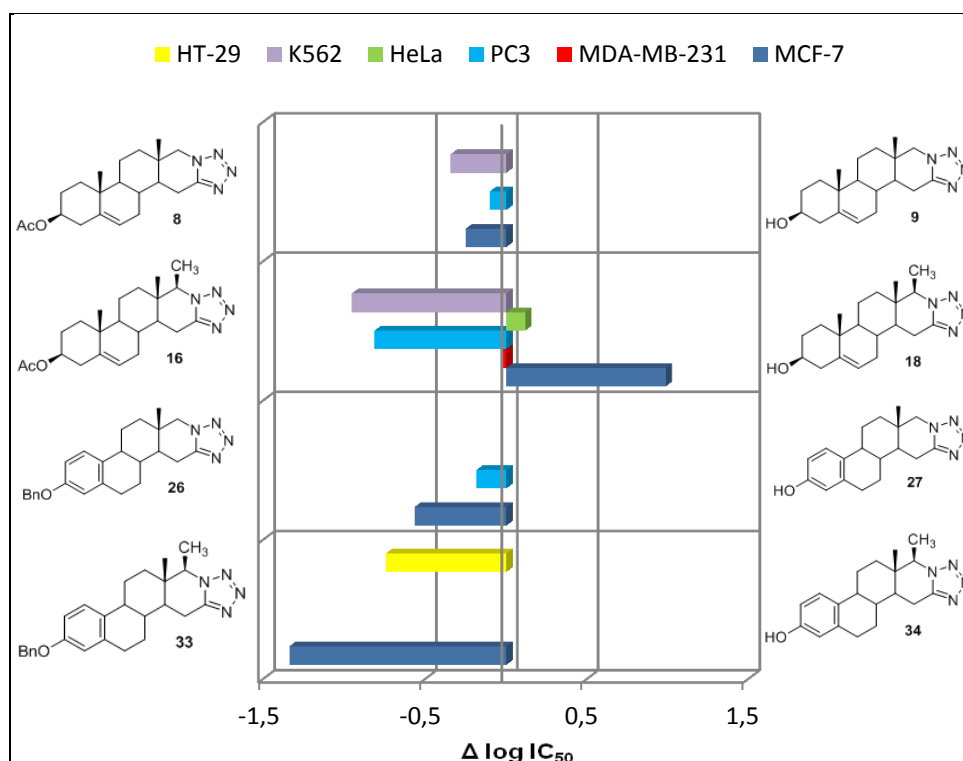
U cilju ispitivanja uticaja prisustva metil grupe u položaju C-17a D-homo tetrazola na antiproliferativnu aktivnost jedinjenja, upoređeni su citotoksični efekti parova jedinjenja, derivata bez i sa metil grupom u položaju C-17a. Upoređen je efekat jedinjenja **8**, **9**, **26** i **27** sa efektom jedinjenja **16**, **18**, **33** i **34**, respektivno (*Slika 3.8.*).



Slika 3.8. Uticaj prisustva C-17a metil grupe u D-homo tetrazolima na antiproliferativnu aktivnost

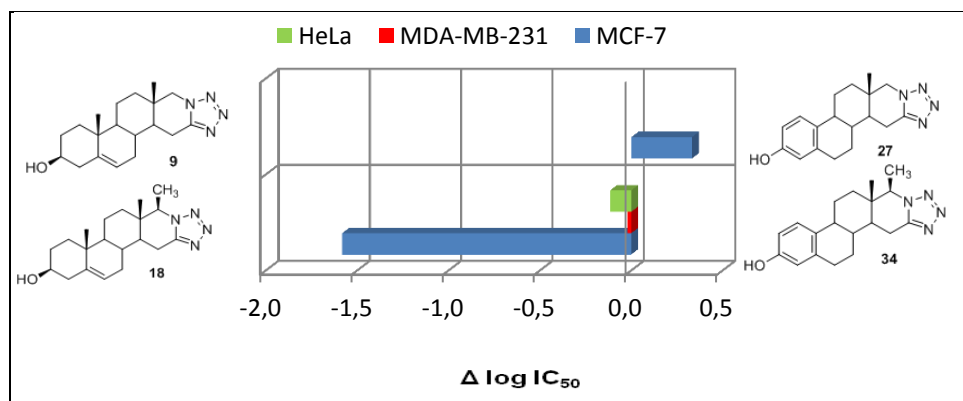
Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je prisustvo C-17a metil grupe u molekulima androstanskih derivata povezano sa većom antiproliferativnom aktivnošću prema većini tretiranih ćelijskih linija. Prisustvo metil grupe u položaju C-17a estranskog tetrazola **33** povećava njegovu aktivnost prema MCF-7 i HT-29 ćelijskim linijama, dok prisustvo ove funkcionalne grupe u tetrazolu **34** dovodi do smanjenja citotoksičnosti prema tumorskoj ćelijskoj liniji MCF-7.

Na Slici 3.9. su upoređene antiproliferativne aktivnosti odgovarajućih D-homo tetrazola sa zaštićenom (jedinjenja **8**, **16**, **26** i **33**), odnosno slobodnom hidroksilnom grupom u položaju C-3 (jedinjenja **9**, **18**, **27** i **34**). Prisustvo acetoksi grupe u položaju C-3 u androstanskim D-homo tetrazolima **8** i **16** povećava antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskim linijama K-562 i PC3, kao i prema MDA-MB-231 ćelijskoj liniji kod jedinjenje **16**. Prisustvo acetatne zaštite u jedinjenju **8** povećava donekle i antiproliferativnu aktivnosti prema ćelijskoj liniji MCF-7, dok u jedinjenju **16** dovodi do smanjenja ove aktivnosti. Benziloksi funkcija u položaju C-3 estranskih jedinjenja povezana je sa povećanjem aktivnosti prema ćelijskoj liniji MCF-7, kao i prema HT-29 u slučaju jedinjenja **33**, odnosno PC3 ćelijskoj liniji kod jedinjenja **26**.



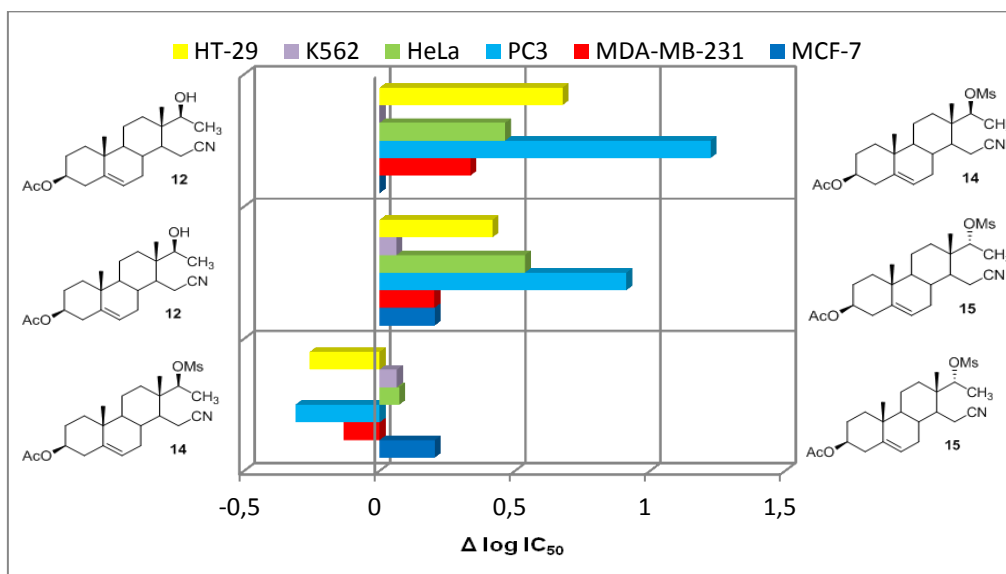
Slika 3.9. Uticaj prirode supstituenta u položaju C-3 kod D-homo tetrazola na antiproliferativnu aktivnost

U cilju ispitivanja uticaja strukture A i B prstenova na antiproliferativnu aktivnost upoređena je citotoksičnost androstanskih tetrazola **9** i **18** sa citotoksičnošću njihovih estranskih analoga **27** i **34** (Slika 3.10.). Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je prisustvo aromatičnog prstena u strukturi jedinjenja **27** povezano sa većom antiproliferativnom aktivnošću u slučaju MCF-7 tumorskih ćelija, ako se poredi aktivnost 17a-nesupstituisanih D-homo tetrazolskih derivata. U slučaju 17a-metil supstituisanih derivata androstanski tetrazol **18** je značajno potentniji prema MCF-7 ćelijama i donekle prema HeLa ćelijama u odnosu na estranski tetrazol **34**.



Slika 3.10. Uticaj strukture A i B prstenova D-homo tetrazola na antiproliferativnu aktivnost

Radi ispitivanja uticaja strukture supstituenta u položaju C-17 i konfiguracije ovog stereocentra na antiproliferativnu aktivnost D-seko jedinjenja, međusobno je upoređena citotoksična aktivnost 17-hidroksi derivata **12** i C-17 meziloksi derivata: (17*S*)-epimera **14** i (17*R*)-epimera **15**. Takođe je upoređena antiproliferativna aktivnost (17*S*)- i (17*R*)-meziloksi derivata **14** i **15** (Slika 3.11.).



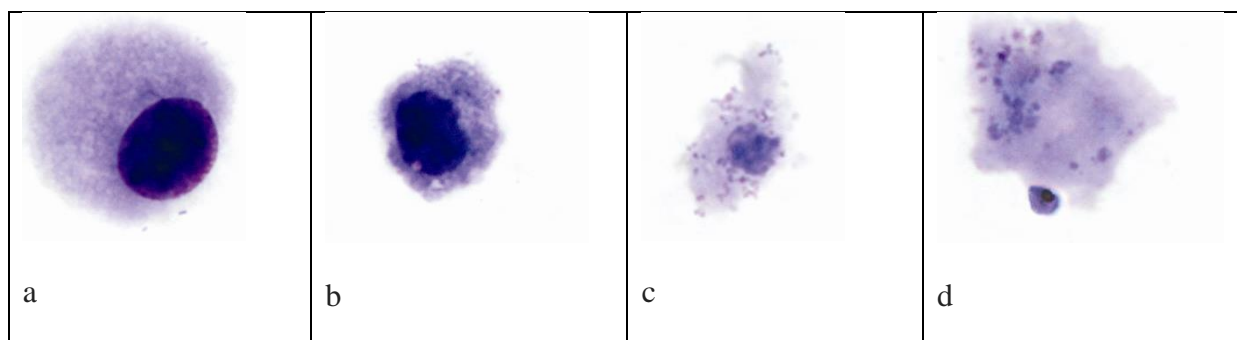
Slika 3.11. Uticaj prirode C-17 supstituenta u D-seko jedinjenjima na antiproliferativnu aktivnost

Poređenjem citotoksičnosti seko-cijano-alkohola **12** sa citotoksičnošću meziloksi derivata **14** i **15**, može se zaključiti da prisustvo meziloksi funkcije u položaju C-17, bez obzira na konfiguraciju, povećava antiproliferativnu aktivnost prema svim ispitivanim tumorskim ćelijskim linijama. (17*S*)-Meziloksi derivat **14** je potentniji prema HT-29, PC3 i MDA-MB-231 ćelijskim linijama, dok njegov (17*R*)-epimer **15** pokazuje veću aktivnost prema MCF7, K562 i HeLa ćelijskim linijama.

3.3.4. Ispitivanje sposobnosti steroidnih D-homo tetrazola i D-seko jedinjenja da indukuju apoptozu i menjaju ćelijski ciklus tumorskih ćelija

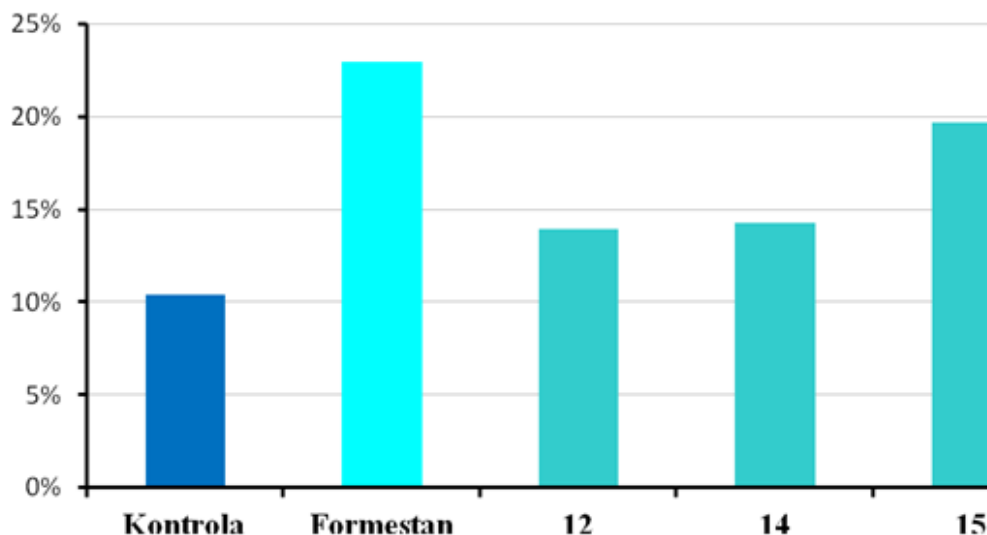
U cilju utvrđivanja mehanizma po kojem novosintetizovana jedinjenja smanjuju proliferaciju tumorskih ćelija ispitane su morfološke promene usled apoptoze ćelija nakon 48h tretiranja i analizirana raspodela ćelija po fazama ćelijskog ciklusa najsenzitivnije ćelijske linije.

Da bi se ispitalo da li novosintetizovani seko-steroidi i tetrazoli indukuju apoptozu tumorskih ćelija, pod svetlosnim mikroskopom su identifikovane i brojane ćelije apoptotski izmenjene morfologije. Kao referentno jedinjenje korišćen je formestan. Tretirane i netretirane ćelije bojene su *Giemsa* bojom. Većina kontrolnih ćelija je izgledala normalno, sa okruglim i homogenim jezgrom. Detektovano je nekoliko morfoloških promena, indikatora apoptoze: bubrenje plazma membrane, smanjenje ćelije, kondenzovanje hromatina, degradacija nukleusa i formiranje apoptotskih tela (*Slika 3.12*). Nakon tretiranja ispitivanim jedinjenjima, promene veličine ćelije, oblika i strukture detektovane su u nešto većem broju.



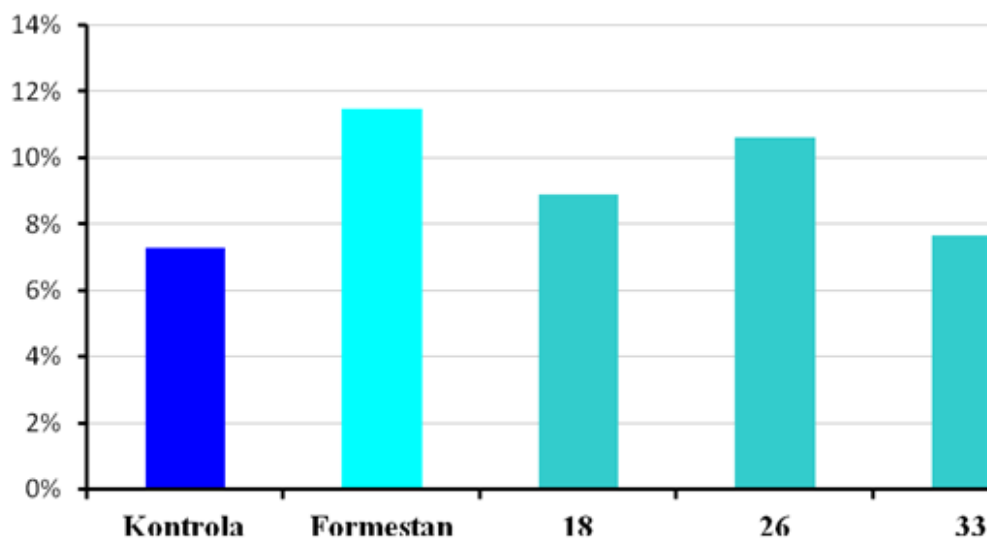
Slika 3.12. Čelije u različitim stadijumima apoptoze u tretiranim kulturama; Većina ćelija je imala normalnu morfologiju (a). Vidljiva je kondenzacija jezdra i vakuolizovana citoplazma (b), degradacija jezdra i citoplazme (c), a prisutna su i apoptotska tela (d)

Ispitivani seko-steroidi **12**, **14** i **15** indukovali su apoptozu ćelija estrogen receptor negativnog kancera dojke (MDA-MB-231 ćelijska linija) nakon 48-časovnog tretmana, pri čemu je (17R) androstanski mezilat **15** bio najefektivniji, mada manje od formestana (*Dijagram 3.1*).¹⁵⁶



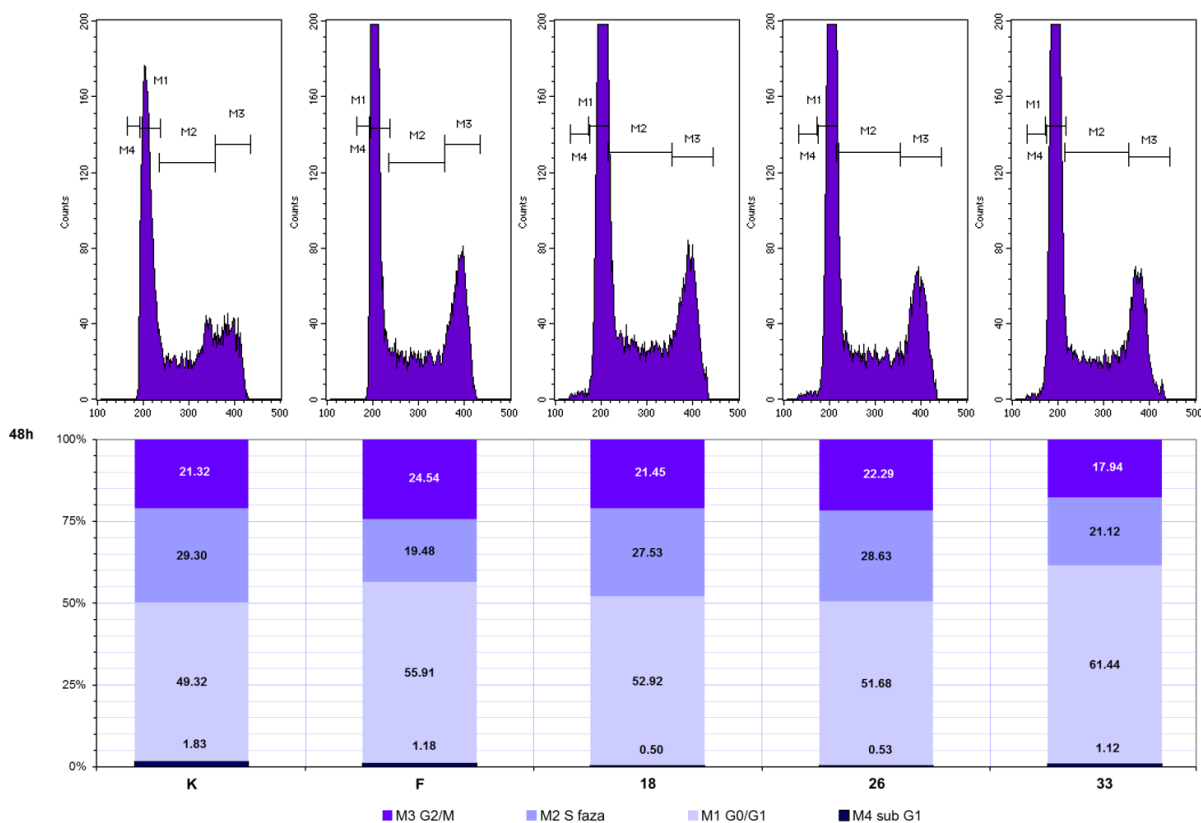
Dijagram 3.1. Procenat apoptotičnih ćelija ustanovljen posmatranjem morfologije MDA-MB-231 ćelija tretiranih tokom 48 sati ekvitoksičnim dozama seko-steroidnih derivata **12**, **14** i **15** i formestana.

S druge strane, tetrazolski derivati **18**, **26** i **33** su indukovali apoptozu ćelija estrogen receptor pozitivnog kancera dojke (MCF-7 ćelijska linija). Estranski tetrazol sa C-3 benziletarskom funkcijom **26** izazvao najveći efekat, sličan formestanu (*Dijagram 3.2*).



Dijagram 3.2. Procenat apoptotičnih ćelija ustanovljen posmatranjem morfologije MCF-7 ćelija tretiranih tokom 48 sati ekvitoksičnim dozama tetrazolskih derivata **18**, **26** i **33** i formestana

Ispitivanje raspodele MCF-7 ćelija po fazama ćelijskog ciklusa nakon 48-časovnog tretmana tetrazolskim derivatima pokazalo je da sva tri ispitivana jedinjenja povećavaju broj ćelija u G1/M1 fazi mirovanja, dok se broj ćelija u sintetskoj (S) i G2/M fazi donekle smanjuju. Estranski derivat **26** je pokazao najveći efekat, sličan formestanu, a trend u efektu je sličan i u uzorcima sa jedinjenjima **18** i **33**. Broj ćelija u populaciji apoptotičnih ćelija (subG1) nije se značajno menjao (*Slika 3.13*).



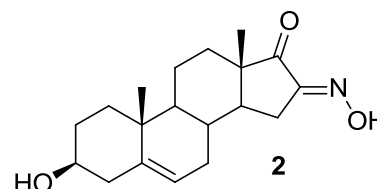
Slika 3.13. Efekti ispitivanih tetrazolskih derivata na ćelijski ciklus MCF-7 ćelija; netretiranih (kontrolnih) ćelija i ćelije tretiranih formestanom i jedinjenjima **18**, **26** i **33**. Oznake M1, M2, M3 i M4 na histogramima odgovaraju G₀/G₁, S, G₂/M i subG₁ fazama ćelijskog ciklusa

Seko-steroidni derivati nisu značajnije menjali raspodelu MDA-MB-231 ćelija po fazama ćelijskog ciklusa.

4. EKSPERIMENTALNI DEO

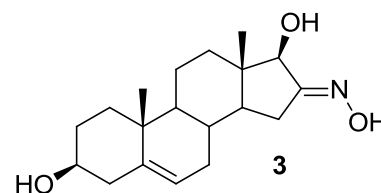
Opšte metode — IR Spektri su snimljeni na FT spektrofotometru Nexus 670 (ThermoNicolet, detektor DTGS) i PerkinElmer Spectrum Two, a položaj traka je dat u cm^{-1} . NMR spektri su snimljeni na instrumentu Bruker AC 250 E, Bruker Avance DRX 500 i Bruker Avance III (400 MHz) sa CryoProbe Prodigy mernom glavom a hemijska pomeranja (δ -skala) su izražena u *ppm* vrednostima u odnosu na tetrametilsilan kao interni standard. Protonski NMR spektri su asignirani 2D COSY tehnikom ili 2D HSQC tehnikom. ^{13}C NMR Spektri su asignirani pomoću 2D HSQC i HMBC spektara. Maseni spektri visoke rezolucije (TOF) su snimljeni na aparatu 6210 Time-of-Flight LC/MS Agilent Technologies (ESI⁺). Tačke topljenja su određene na aparatu Büchi 510 i nisu korigovane. Tok reakcija je praćen tankoslojnom hromatografijom na aluminijumskim folijama Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Hromatogrami su izazivani sa 50%-nom H₂SO₄ uz naknadno zagrevanje na 120 °C. Fleš hromatografija je uradjena na kolonama Kieselgel 60 (0,040–0,063; E. Merck) ili na kolonama baznog aluminijum-oksida (Brockmann I). Gravitaciona hromatografija je urađena na koloni Kieselgel 60 (0,063–0,200; E. Merck). Ekstrakti su sušeni sa anhidrovanim Na₂SO₄. Organski rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču pri temperaturama vodenog kupatila do 40 °C.

4.1. 3 β -Hidroksiandrosteron-5-en-16,17-dion-16-oxim (2)



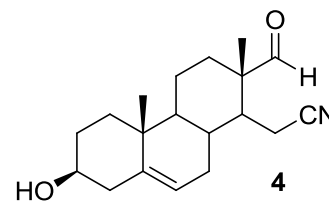
U rastvor kalijum-*t*-butoksida u *t*-butil-alkoholu (0,4 M; 300 mL) se uz mešanje doda dehidroepiandrosteron (**1**; 10,00 g; 34,67 mmol) i *n*-amil-nitrit (14 mL). Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 20 sati. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu, a zatim ekstrahuje etrom (3 x 50 mL) u cilju uklanjanja nečistoća. Vodeni sloj se nakon ekstrakcije zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1 i dobijeni talog procedi. Sirovi proizvod **2** (10,10 g; 92 %), koji se dobija u obliku belog praha, se prekrystalise iz metanola (t.t. 223 °C¹⁴⁵, t.t. 223 °C).

4.2. 3 β ,17 β -Dihidroksiandro-5-en-16-on-oksim (3)



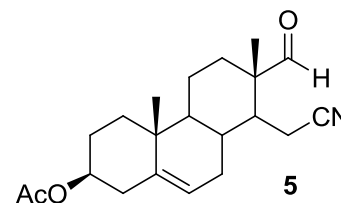
Suspenziji jedinjenja **2** (2,40 g; 7,56 mmol) u etanolu (95 %, 40 mL) se doda natrijum-borhidrid (0,81 g; 21,41 mmol) i reakciona smeša meša na sobnoj temperaturi, u toku 10 minuta. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (50 mL) i zakiseli do pH 1 sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1), pri čemu se izdvaja beo talog. Talog se procedi, ispere vodom i osuši. Sirovo jedinjenje **3** (2,4 g; 99 %) se prekrystalise iz metanola (t.t. 255 °C¹⁴⁵, t.t. 255 °C).

4.3. 3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandro-5-en-16-nitril (4)



Jedinjenje **3** (5,43 g; 17,01 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (78 mL), a zatim doda *p*-toluensulfonil-hlorid (9,66 g; 50,67 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 18 minuta, nakon čega se izlije u smešu leda i vode (750 mL), a zatim zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1. Dobijen beo talog se procedi i osuši (4,78 g), a matični lug se ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 50 mL), organski ekstrakt se osuši i upari (0,4765 g). Sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petroletar/etil-acetat, 1:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **4** (3,37 g; 66 %, t.t. 129-130 °C, nakon prekrystalizacije iz etanola¹⁴⁶, t.t. 130-131 °C).

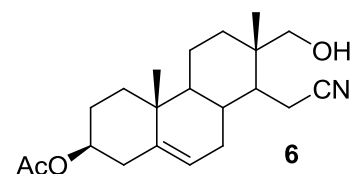
4.4. 3 β -Acetoksi-17-okso-16,17-sekoandro-5-en-16-nitril (5)



Jedinjenje **4** (4,98 g; 16,52 mmola) se rastvori u apsolutnom piridinu (50 mL), a zatim se doda acetanhidrid (100 mL). Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku

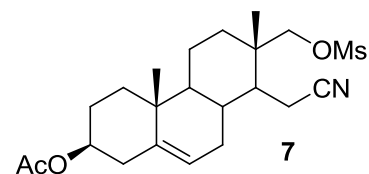
20 sati, a zatim izlije u smešu leda i vode (400 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1. Beo talog se procedi i osuši, pri čemu se dobija jedinjenje **5** (5,40 g; 95 %, t.t. 130-131 °C, nakon prekrystalizacije iz metanola¹⁴⁷, t.t. 131 °C).

4.5. 3 β -Acetoksi-17-hidroksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**6**)



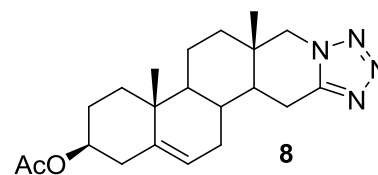
Jedinjenje **5** (3,00 g; 8,73 mmol) se rastvori u etanolu (96 %; 190 mL), a zatim se doda natrijum-borhidrid (0,66 g; 17,45 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 10 minuta. Nakon isteka reakcionog vremena, sadržaj balona se izlije u vodu (500 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1. Sirov proizvod **6** (2,86 g; 95 %) se dobija u obliku belog taloga koji se prekrystalise iz dietiletra (t.t. 162-164 °C¹⁴⁷, t.t. 164 °C).

4.6. 3 β -Acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**7**)



Rastvor jedinjenja **6** (0,50 g; 1,45 mmol) u apsolutnom piridinu (16 mL) se ohladi na 0°C, a zatim doda metansulfonil-hlorid (0,9 mL; 1,32 g; 11,52 mmol). Reakciona smeša se ostavi na 4°C u toku 22 sata, a zatim izlije u 100 ml leda. Nakon zakišeljavanja reakcione smeše do pH 1 hlorovodoničnom kiselinom (1:1) izdvaja se beo talog koji se nakon ceđenja i sušenja prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (toluen/etil-acetat, 3:1). Čisto jedinjenje **7** se dobija u prinosu od 0,53 g (86 %, t.t. 178-179 °C nakon prekrystalizacije iz smeše n-heksan/acetona¹⁴³, t.t. 178-179 °C).

4.7. 3 β -Acetoksi-D-homoandrost-5-eno[16,17-e]tetrazol (8)



Postupak a: konvencionalni način zagrevanja

Jedinjenje **7** (0,1050 g; 0,25 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (1 mL), a zatim se doda natrijum-azid (0,1290 g; 1,98 mmol). Reakciona smeša se zagreva 3 sata u temperaturnom intervalu od 140-150°C i izlije u vodeni rastvor litijum-hlorida (1g; 20 mL). Vodeni sloj se ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 8 mL) i ekstrakt se osuši. Nakon uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod **8** (0,1030 g) koji se prečisti rekristalizacijom iz smeše benzen/n-heksan, i pri tome se dobijaju bezbojni kristali **8** (0,0746 g; 81 %; t.t. 218-220 °C).

Postupak b: mikrotalasno ozračivanje

Jedinjenje **7** (0,0604g; 0,14 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (2,3 mL), a zatim se doda natrijum-azid (0,0748 g; 1,15 mmol). Reakciona smeša se zagreva pomoću mikrotalasa 1 sat na 135 °C, zatim se izlije u vodu (90 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (7 x 15 mL). Nakon sušenja ekstrakta, uklanjanja sušila i rastvarača dobija se sirov proizvod **8** (0,0610 g) koji se prečisti fleš hromatografijom na baznom aluminijum-oksidu (n-heksan/etil-acetat, 10:7). Dobija se čist proizvod **8** (0,0492 g; 93 %) u obliku belog praha, t.t. 218-220 °C.

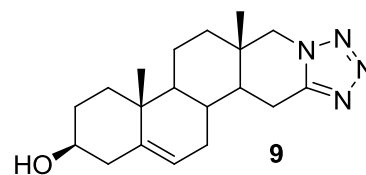
IR spektar (KBr, cm⁻¹): 2945, 2853, 2097, 1729, 1672, 1247, 1035, 754.

¹H NMR spektar (CDCl₃, ppm): 0,92 (s, 3H, H-18); 1,06 (s, 3H, H-19); 2,05 (s, 3H, CH₃COO); 3,35 (dd, 1H, ²J=17,4 Hz, J=4,2 Hz, Ha-15); 3,80 (d, 1H, ²J = 12,8 Hz, Ha-17a); 4,27 (d, 1H, ²J = 12,8 Hz, Hb-17a); 4,62 (m, 1H, H-3); 5,42 (d, 1H, J = 4,5 Hz, H-6).

¹³C NMR spektar (CDCl₃, ppm): 16,05 i 19,25 (C-18 i C-19); 19,57; 21,40; 22,24; 27,56; 31,02; 32,96; 34,11; 36,64; 36,73; 36,83; 37,78; 45,29; 49,03; 58,08 (C-17a); 73,49 (C-3); 121,25 (C-6); 139,56 (C-5); 151,64 (C-16); 170,52 (CH₃COO).

ESI TOF MS [M+H]⁺ izračunato: 371,24415; nađeno: 371,24438.

4.8. 3 β -Hidroksi-D-homoandrost-5-eno[16,17-e]tetrazol (9)



U rastvor natrijum-etoksida u etanolu (2,5 M, 4 mL) se uz mešanje doda jedinjenje **8** (0,0643 g; 0,17 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 sata. Nakon isteka reakcionog vremena, sadržaj balona se izlije u vodu (15 mL), ekstrahuje metilen-hloridom (4 x 5 mL), ekstrakt se osuši, sušilo ukloni i rastvarač ispari. Sirovi proizvod **9** (0,0511 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/acetone, 2:1) i pri tome se dobijaju bezbojni kristali **9** (0,0451 g, 79 %, t.t. 285-287 °C).

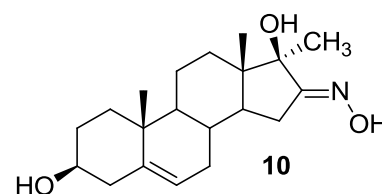
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3392, 2934, 2851, 1671, 1649, 1537, 751.

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 0,77 (s, 3H, H-19); 0,94 (s, 3H, H-18); 3,20-3,25 (grupa signala, 2H, H-3 i Ha-15); 3,87 (d, 1H, $^2J = 12,7$ Hz, Ha-17a); 4,26 (d, 1H, $^2J = 12,7$ Hz, Hb-17a); 4,71 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz, OH); 5,29 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz, H-6).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 15,50 i 19,15 (C-18 i C-19); 19,33; 21,50; 30,46; 31,38; 32,28; 33,62; 35,75; 36,33; 36,71; 42,01; 44,00; 48,81; 57,07 (C-17a); 70,05 (C-3); 120,03 (C-6); 140,96 (C-5); 151,96 (C-16).

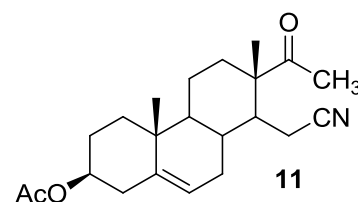
ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 329,23359; nađeno: 329,23334.

4.9. 3 β ,17 β -Dihidroksi-17 α -metil-androst-5-en-16-on-oksim (10)



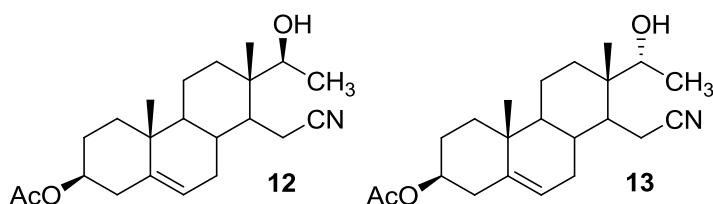
Magnezijum (4,87 g; 0,20 mmol) se suspenduje u apsolutnom dietil-etru (65 mL) u atmosferi azota i doda se metil-jodid (28,1 mL; 64,07 g; 0,45 mol). Nakon formiranja metil-magnezijum-jodida, suspenzija se ohladi na -10°C i doda se jedinjenje **2** (1,00 g; 3,15 mmol) u apsolutnom tetrahydrofuranu (40 mL). Reakciona smeša se meša na -10°C dva sata, zatim izlije u vodu (300 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (6 M) do pH 3. Organski sloj se odvoji i suši anhidrovanim natrijum-sulfatom. Sušilo i rastvarač se uklone a sirovi proizvod **10** (0,90 g) se prekrstališe iz metanola (0,83 g; 69 %, t.t. 234-245 °C¹⁴⁴, t.t. 234-245 °C).

4.10. 3 β -Acetoksi-17-okso-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**11**)



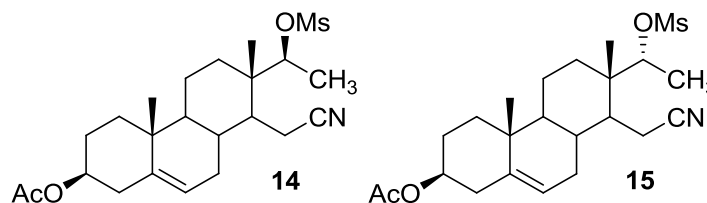
3 β ,17 β -Dihidroksi-17 α -metil-16-oksimino-5-androsten (**10**; 1,00 g, 3,00 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (26,6 mL) a zatim se doda acetanhidrid (13,3 mL). Reakciona smeša se zagreva i meša na temperaturi 90-100 °C u toku 2 sata. Sadržaj balona se izlije u ledenu vodu. Sirovi proizvod **11** (0,88 g) se rekristališe iz smeše n-heksan/aceton (5:2) i nakon toga dobija se čist proizvod **11** (0,79 g; 89 %; t.t. 142-143 °C¹⁴⁴, t.t. 142-143 °C).

4.11. (17*S*)-3 β -Acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**12**) i (17*R*)-3 β -acetoksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**13**)



U rastvor jedinjenja **11** (0,6235 g; 1,74 mmol) u apsolutnom etanolu (18 mL) i metilen-hloridu (7 mL) se doda natrijum-borhidrid (0,2346 g; 6,20 mmol) i reakciona smeša se meša 1 sat na sobnoj temperaturi. Sadržaj balona se izlije u vodu (90 mL), zakiseli sa sirćetnom kiselinom do pH 5 i ekstrahuje sa metilen-hloridom (3 x 50 mL). Ekstrakt se osuši anhidrovanim natrijum-sulfatom, a zatim sušilo i rastvarač uklone. Dobijena sirova smeša proizvoda **12**¹⁴⁴ i **13** (0,6532 g) se prečisti fleš hromatografijom (petrol-etar/etil-acetat, 2:1) i nakon toga se dobija čista smeša jedinjenja **12**¹⁴⁴ i **13** (0,5605 g; 89 %) u obliku belih kristala koji se nisu mogli razdvojiti hromatografski, kao ni kristalizacijom.

4.12. (17*S*)-3β-Acetoksi-17-meziloksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**14**) i (17*R*)-3β-acetoksi-17-meziloksi-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**15**)



Smeša jedinjenja **12** i **13** (0,5167 g; 1,44 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (7,5 mL) na 0 °C, doda se mezil-hlorid (1,00 mL; 1,48 g; 12,92 mmol) i reakciona smeša se ostavi 1,5 sat na 4 °C. Reakciona smeša se izlije u hladnu vodu (125 mL), zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 3 i beo talog se odvoji i osuši. Sirova smeša proizvoda **14** i **15** (0,6366 g) se prečisti i razdvoji fleš hromatografijom (petrol-etar/etil-acetat, 6:2 → 4:2 → 3:2). Dobijaju se čisti proizvodi **14** (0,4938 g; 78 %; t.t.158-160 °C; nakon prekrizalizacije iz smeše n-heksan/etil-acetat) i **15** (0,0579 g; 9 %; t.t. 160-161 °C; nakon prekrizalizacije iz smeše n-heksan/etil-acetat) u obliku bezbojnih kristala.

Jedinjenje **14**:

IR spektar (KBr, cm⁻¹): 3019, 2943, 2243, 1728, 1247, 1173, 896, 755.

¹H NMR spektar (CDCl₃, ppm): 1,04 (s, 3H, H-18); 1,05 (s, 3H, H-19); 1,41 (d, 3H, *J*=6,4 Hz, H-20); 2,04 (s, 3H, Ac); 3,05 (s, 3H, Ms); 4,61 (m, 1H, H-3); 4,78 (q, 1H, *J*=6,4 Hz, H-17); 5,39 (d, 1H, *J*=4,5 Hz, H-6).

¹³C NMR spektar (CDCl₃, ppm): 15,07; 15,39 (C-18); 17,18; 19,11; 19,76; 21,39 (Ac); 27,54; 31,00; 31,91; 36,57; 36,76; 37,65; 39,19; 40,53; 42,09; 48,61; 73,56 (C-3); 82,83 (C-17); 119,04 (C-16); 121,30 (C-6); 139,26 (C-5); 170,53 (Ac).

ESI TOF MS [M+NH₄]⁺ izračunato: 455,25742; nađeno: 455,25771.

Jedinjenje **15**:

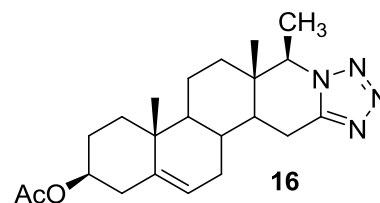
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 2941, 2243, 1727, 1241, 1172, 901, 800.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,04 (s, 3H, H-19); 1,14 (s, 3H, H-18); 1,41 (d, 3H, $J=6,5$ Hz, H-20); 2,05 (s, 3H, Ac); 3,05 (s, 3H, Ms); 4,60 (m, 1H, H-3); 4,80 (q, 1H, $J=6,5$ Hz, H-17); 5,38 (d, 1H, $J=4,5$ Hz, H-6).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 15,38 (C-19); 15,52 (CH_2); 17,47 (C-18); 19,09 (C-20); 19,27 (CH_2); 21,36 (CH_3 , Ac); 27,51 (CH_2); 30,39 (CH_2); 31,82 (CH_2); 32,93 (CH); 36,57 (CH_2); 36,84 (q); 37,65 (CH_2); 39,02 (CH_3 , Ms); 40,52 (q); 44,23 (CH); 48,93 (CH); 73,50 (C-3); 85,43 (C-17); 118,68 (C-16); 120,99 (C-6); 139,55 (C-5); 170,50 (Ac).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ izračunato: 455,25742; nađeno: 455,25753.

4.13. 3β -Acetoksi- $17\alpha\beta$ -metil-D-homo-androst-5-eno [**16,17-e**] tetrazol (**16**)



Postupak a: konvencionalni način zagrevanja sa bakar(I)-hloridom

Smeša jedinjenja **14** i **15** (0,1139 g; 0,26 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (1 mL), a zatim se doda bakar(I)-hlorid (0,0520 g; 0,52 mmol) i meša 15 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga se doda natrijum-azid (0,1294 g; 1,99 mmol) i zagreva 3 sata u temperaturnom intervalu 140-150°C. Po isteku reakcionog vremena reakciona smeša se izlije u benzen (5 mL) i propusti kroz sloj baznog aluminijum-oksida (h=25 mm, Ø=10 mm, benzen/etil-acetat, 8:1) i rastvarač ukloni. Sirovi proizvod **16** (0,0921 g) se ponovo propusti kroz sloj baznog aluminijum-oksida (h=25 mm, Ø=10 mm, benzen/etil-acetat, 8:1). Dobija se čist proizvod **16** (0,0522 g; 54 %; t.t. 163 °C nakon prekrizalizacije iz n-heksan/acetona, 4:1) u obliku belog praha.

IR spektar (KBr, cm^{-1}): 2943, 1730, 1247, 1030, 753.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,78 (s, 3H, H-18); 1,05 (s, 3H, H-19); 1,69 (d, 3H, $J=6,7$ Hz, H-20); 2,05 (s, 3H, CH_3COO); 3,30 (dd, 1H, $J_1=5,0$ Hz, $J_2=17,7$ Hz, Ha-15); 3,96 (q, 1H, $J=6,7$ Hz, H-17a); 4,61 (m, 1H, H-3); 5,44 (d, 1H, $J=5,0$ Hz, H-6).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 11,53; 12,35; 19,12 (C-19); 19,73; 21,31; 22,08; 27,48; 31,03; 32,87; 35,51; 36,54; 36,59; 36,85; 37,68; 46,08; 48,73; 63,70 (C-17a); 73,44 (C-3); 121,26 (C-6); 139,43 (C-5); 151,21 (C-16); 170,43 (CH_3COO).

ESI TOF MS $[M+H]^+$ izračunato: 385,25980; nađeno: 385,25933.

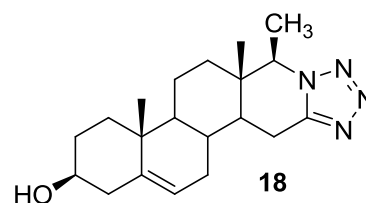
Postupak b: konvencionalni način zagrevanja bez bakra(I)-hlorida

Smeša jedinjenja **14** i **15** (0,4300 g; 0,98 mmol) se rastvori u dimetilsulfoksidu (36 mL), a zatim se doda natrijum-azid (0,5040 g; 7,75 mmol) i zagreva 3 sata u temperaturnom intervalu od 140-150°C. Po isteku reakcionog vremena reakciona smeša se izlije u vodu (200 mL). Izdvojeni talog se odvoji ceđenjem i osuši. Smeša proizvoda **16** i **17**¹⁴⁷ (0,2135g) se prečisti stubnom hromatografijom (42g bazni aluminijum-oksidi; petrol-etar/acetona, 12:1) i pri tome se dobijaju čista jedinjenja **16** (0,0938g; 25%; t.t. 163 °C) i **17** (0,0504g; 15%¹⁴⁷, t.t. 129 °C) u obliku bezbojnih kristala.

Postupak c: mikrotalasno ozračivanje

Smeša jedinjenja **14** i **15** (0,0311 g; 0,07 mmol) se rastvori u smeši heksametilfosforamida (1,3 mL) i benzena (1 mL) a zatim se doda natrijum-azid (0,0087 g; 0,13 mmol). Reakciona smeša se zagreva mikrotalasnim ozračivanjem u zatvorenom sudu na 100 °C u toku 30 minuta. Sadržaj suda se izlije u razblaženi rastvor natrijum-hlorida (75 mL), zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 6 i ekstrahuje benzenom (6 x 15 mL). Ekstrakt se osuši anhidrovanim natrijum-sulfatom, a zatim se sušilo i rastvarač uklone. Sirovi proizvodi (0,0276 g) se odvoje i prečiste fleš hromatografijom na baznom aluminijum-oksidu (benzen/etil-acetat, 4:1). Dobijaju se čisti tetrazol **16** (0,0110 g; 40 %, t.t. 163 °C) i alken **17** (0,0132 g; 54 %, t.t. 129 °C).

4.14. 3 β -Hidroksi-17 α β -metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (18)



U rastvor natrijum-etoksida u etanolu (1,4 M; 4 mL) se doda jedinjenje **16** (0,0153 g; 0,04 mmol) i sadržaj balona se meša jedan sat na sobnoj temperaturi. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (6 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (4x5 mL). Ekstrakt se osuši, upari i sirov proizvod **18** (0,0163 g) se prečisti fleš hromatografijom (petrol-etar/acetona, 5:2). Nakon rekristalizacije iz smeše n-heksan/acetona dobija se proizvod **18** u obliku belog praha (0,0117 g; 86%; t.t. 250-252 °C).

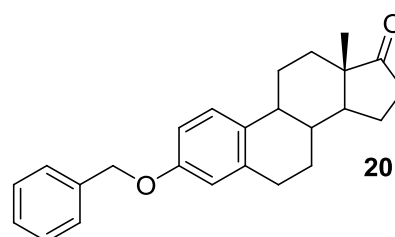
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3379, 2931, 2880, 1464, 1428, 1073, 733.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,78 (s, 3H, H-18); 1,03 (s, 3H, H-19); 1,68 (d, 3H, $J=6,6$ Hz, H-20); 3,42 (dd, 1H, $J_1=4,9$ Hz, $J_2=17,5$ Hz, Ha-15); 3,55 (m, 1H, H-3); 3,95 (q, 1H, $J=6,6$ Hz, H-17a); 5,39 (d, 1H, $J=3,0$ Hz, H-6).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 11,60; 12,41; 19,26; 19,84; 22,14; 29,66; 31,10; 31,37; 32,96; 35,64; 36,56; 36,85; 36,89; 41,87; 46,23; 48,90; 63,79 (C-17a); 71,42 (C-3); 120,37 (H-6); 140,55 (H-5); 151,28 (C-16).

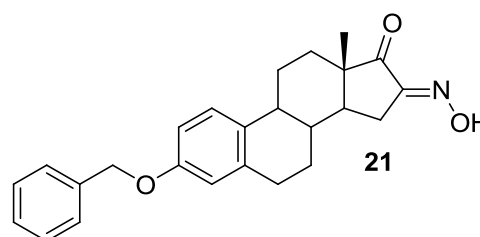
ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 343,24924; nađeno: 343,24910.

4.15. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-17-on (20)



Jedinjenje **19** (5 g; 18,49 mmol) se rastvori u smeši aceton /metanol (1:1; 250 mL), a zatim doda kalijum-karbonat (5 g; 36,18 mmol) i benzil-hlorid (38,6 mL; 0,33 mmol). Smeša se zagreva uz refluks u toku 8 sati, nakon čega se ohladi i procedi radi uklanjanja kalijum-karbonata. Filtrat se upari, a višak benzil-hlorida ukloni destilacijom sa vodenom parom. Ostatak nakon destilacije se procedi, pri čemu se dobija jedinjenje **20** u obliku belog praha (6,12 g; 92%, t.t. 133-135°C nakon prekrizalizacije iz metanola¹⁵⁰, t.t. 135-136°C).

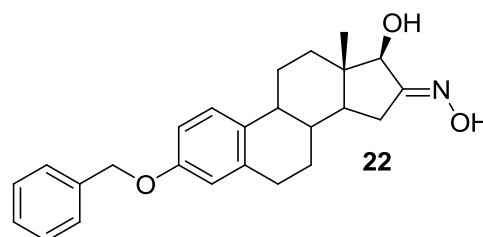
4.16. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksim (21)



Metalni kalijum (2,20 g; 56,40 mmol) se rastvori u *t*-butil-alkoholu (92 mL) u anhidrovanim uslovima. Dobijenom rastvoru kalijum *t*-butoksida u *t*-butil-alkoholu se doda benziletar estrona **20** (2,20 g; 6,10 mmol) i nakon 15 minuta mešanja na sobnoj temperaturi, doda se *i*-amil-nitrit (10,3 mL; 75,8 mmol). Reakciona smeša se meša u toku jednog sata, a zatim ostavi 18 sati na sobnoj temperaturi. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu i neutrališe hlorovodoničnom kiselinom (1:4). Dobijeni talog se procedi i osuši,

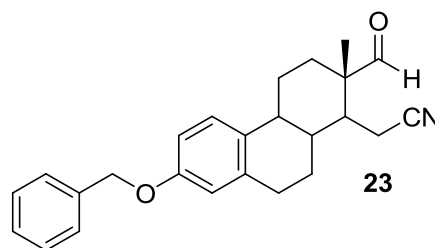
pri čemu se dobija jedinjenje **21** (2,21 g; 93%, t.t. 194-196°C nakon prekrizacije iz metanola¹⁵⁰, t.t. 193,5-195,5°C) u obliku belog praha.

4.17. 3-Benziloksi-17 β -hidroksiestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (22)



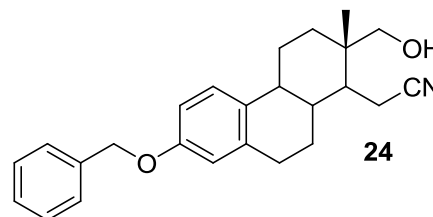
Oksimino-keton **21** (7,32 g; 18,77 mmol) rastvori se uz zagrevanje u smeši metanola (150 mL) i metilen-hlorida (60 mL), uz dodatak 1%-nog vodenog rastvora kalijum-hidroksida (220 mL). Ohlađenom rastvoru se doda natrijum-borhidrid (1,42 g; 37,56 mmol) u porcijama, uz mešanje. Nakon mešanja reakcione smeše na sobnoj temperaturi u toku 30 minuta, doda se glacijalna sirćetna kiselina do pH 5. Organski sloj se odvoji i upari, a zaostalo ulje tretira acetonom, pri čemu proizvod očvrzne. Izdvojeni kristali se isperu vodom do pH 7 i osuše, pri čemu se dobija jedinjenje **22** (6,4 g; 93%, t.t. 193-194°C nakon prekrizacije iz metanola¹⁵¹ t.t. 195-196°C) u obliku belih kristala.

4.18. 3-Benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (23)



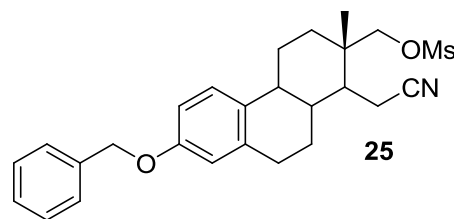
Jedinjenje **22** (4,78 g; 12,2 mmol) i *p*-toluensulfonil-hlorid (7,31 g; 47,16 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (30 mL). Reakciona smeša se meša 3 sata na sobnoj temperaturi, a zatim se izlije u smešu leda i vode (400 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 3. Izdvojeni talog se procedi, ispere vodom do pH 7 i osuši. Hromatografskim prečišćavanjem na koloni silika-gela (400 g; toluen/etil-acetat, 19:1) dobija se čisto jedinjenje **23** (1,94 g; 43%, t.t. 137°C nakon prekrizacije iz metanola¹⁵¹, t.t. 137-138°C).

4.19. 3-Benziloksi-17-hidroksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (24)



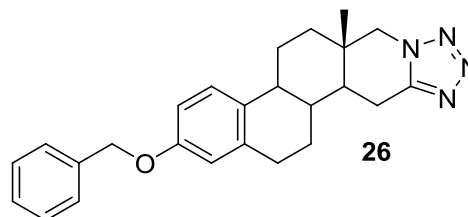
Jedinjenje **23** (1,54 g; 4,13 mmol) se rastvori u etanolu (95%; 20 mL), a zatim se doda natrijum-borhidrid (0,40 g; 1,06 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi, u toku 30 minuta. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (50 mL) i zakiseli do pH 1 sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1), pri čemu se izdvaja jedinjenje **24** u obliku belog taloga (1,53 g; 99 %, t.t. 134-136¹⁵¹ t.t. 135-136°C).

4.20. 3-Benziloksi-17-metansulfoniloksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (25)



Rastvor jedinjenja **24** (0,3332 g; 0,89 mmol) u apsolutnom piridinu (5 mL) se ohladi na 0°C, doda metansulfonil-hlorid (1 mL; 1,48 g; 12,92 mmol) i reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 20 sati. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u ledenu vodu (170 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 5. Dobijeni talog se procedi, a matični lug ekstrahuje metilen-hloridom (3x25 mL). Ekstrakt se osuši, sušilo ukloni, rastvarač upari i pripoji talogu. Sirovi proizvod **25** (0,4747 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/acetone, 8:2 → 7:2 → 6:2), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **25** u obliku ulja (0,2887 g; 72 %¹⁴⁸).

4.21. 3-Benziloksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazol (26)



Postupak a: konvencionalni način zagrevanja

Jedinjenje **25** (0,1074 g; 0,24 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (1 mL), a zatim se doda natrijum-azid (0,1228 g; 1,89 mmol) i reakciona smeša zagreva 3 sata u temperaturskom intervalu od 140-150 °C. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodeni rastvora litijum-hlorida (1 g; 10 mL). Vodeni sloj se ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 8 mL). Ekstrakt se osuši, sušilo ukloni i rastvarač upari pri čemu se dobija sirov proizvod **26** (0,0997 g). Digerovanjem metanolom dobija se 0,0776 g (82 %) čisto jedinjenje **26**, t.t. 218 °C u obliku belog praha.

Postupak b: mikrotalasno ozračivanje

Jedinjenje **25** (0,0508 g; 0,11 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (2,3 mL), a zatim se doda natrijum-azid (0,0567 g; 0,87 mmol). Reakciona smeša se zagreva jedan sat na 135 °C, a zatim se izlije u vodeni rastvor natrijum-hlorida (90 mL), zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 4 i ekstrahuje sa benzenom (7 x 15 mL). Ekstrakt se osuši, sušilo ukloni, rastvarač upari i sirov proizvod **26** (0,0653 g) se prečisti fleš hromatografijom na aluminijum-oksidu (n-heksan/acetone, 3:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **26** u obliku belog praha (0,0377 g; 84 %; t.t. 218 °C).

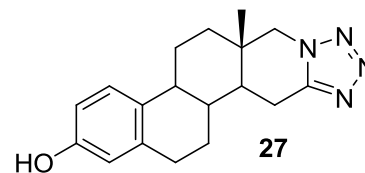
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 2926, 2862, 1731, 1499, 1252, 752.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,93 (s, 3H, H-18); 2,55 (dd, 1H, $J_1 = 5,3$ Hz, $J_2 = 17,4$ Hz, H-15a); 3,48 (dd, 1H, $J_2 = 5,3$ Hz, $J_1 = 17,6$ Hz, H-15b); 3,87 (d, 1H, $J = 12,9$ Hz, Ha-17a); 4,33 (d, 1H, $J = 12,9$ Hz, Hb-17a); 5,05 (s, 2H, CH_2Ph); 6,76 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-4); 6,82 (dd, 1H, $J_1 = 1,7$ Hz, $J_2 = 8,7$ Hz, H-2); 7,23 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-1); 7,27-7,45 (preklapajući multiplieti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 16,18 (C-18); 21,99, 25,44, 25,98, 29,67, 34,44, 37,14, 39,92, 42,82, 43,50, 58,18 (C-17a); 69,90 (CH_2Ph); 112,70 (Ar); 114,53 (Ar); 126,30 (Ar); 127,37 (Ar); 127,87 (Ar); 128,51 (Ar); 131,38 (Ar); 137,06 (Ar); 137,35 (Ar); 151,65 (C-16); 156,99 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 401,23359; nađeno: 401,23348.

4.22. 3-Hidroksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazol (27)



Jedinjenje **26** (0,0432 g; 0,11 mmol) se rastvori u smeši metilen-hlorida (1,5 mL) i metanola (0,5 mL). Rastvoru se doda 10%-ni Pd/C (0,0463 g) i suspenzija se meša u atmosferi vodonika, na sobnoj temperaturi u toku 24 časa. Reakciona smeša se zatim procedi i ispere Pd/C smešom metilen-hlorid/metanol (1:1). Rastvor tetrazola **27** se upari, a sirov proizvod **27** (0,0350 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (metilen-hlorid/acetone, 6:1 → 3:1) i dobija se 0,0264 g (79 %) čisto jedinjenje **27**, t.t. 340-341°C u obliku belog praha.

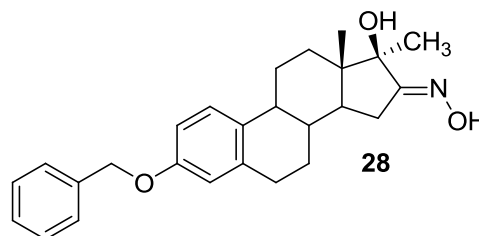
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3289, 2922, 2859, 1500, 1249, 791.

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 0,56 (s, 3H, H-18); 3,73 (d, 1H, $J=12,7$ Hz, Ha-17a); 4,09 (d, 1H, $J=12,7$ Hz, Hb-17a); 6,24 (s, 1H, H-4); 6,30 (d, 1H, $J=8,3$ Hz, H-2); 6,87 (d, 1H, $J=8,3$ Hz, H-1); 8,92 (s, 1H, OH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 15,68 (C-18); 21,34; 25,37; 25,70; 29,35; 34,06; 36,12; 38,50; 38,84; 39,17; 39,51; 40,18; 40,51; 42,36; 42,44; 57,30 (C-17a); 113,06 (CH, Ar); 114,84 (CH, Ar); 126,36 (CH, Ar); 129,93 (C, Ar); 137,19 (C, Ar); 152,08 (C-16); 155,18 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 311,18664; nađeno: 311,18606

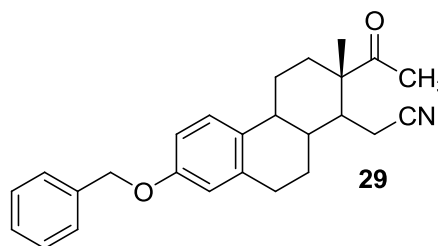
4.23. 3-Benziloksi-17 β -hidroksi-17 α -metilestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksimum (28)



U suspenziju metil-magnezijum-jodida u etru, koja je pripremljena iz metil-jodida (4,8 mL; 77 mmola) i opiljaka magnezijuma (1,25 g; 51,3 mmol) u apsolutnom dietil-etru (80 mL), dokapava se, na sobnoj temperaturi, u toku 1,5 sata, rastvor jedinjenja **21** (2,00 g; 5,13 mmol) u apsolutnom tetrahidrofuranu (80 mL). Reakciona smeša se intenzivno meša još dva sata na sobnoj temperaturi, a potom se izlije u vodu (500 mL) i ostavi da organski rastvarač

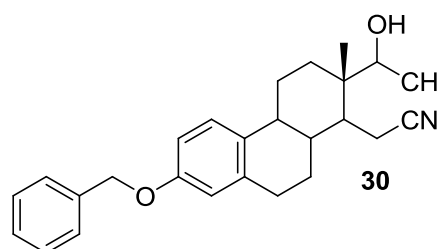
otpari (2 - 3 dana). Na površini vode se stvara čvrst proizvod, koji se odvoji i ispere sa malo etil-acetata. Nakon sušenja, sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (benzen/etil-acetat, 1:1), pri čemu se dobija čist proizvod **28** (1,45 g; 70 %, t.t. 179 - 180 °C¹⁴⁹ nakon prekrystalizacije iz metanola).

4.24. 3-Benziloksi-17-okso-17-metil-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (**29**)



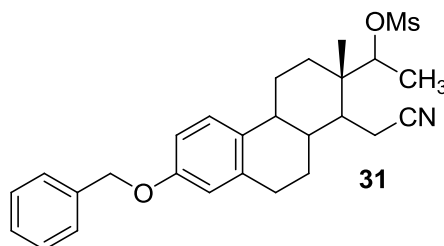
Rastvor jedinjenja **28** (0,98 g; 2,42 mmol) u anhidridu sirćetne kiseline (12 mL; 0,13 mol) i apsolutnom piridinu (24 mL) se meša na 100 °C, u toku 2 sata. Reakciona smeša se zatim izlije u vodu (100 mL) i rastvorom 6M HCl podesi pH na 1. Nagrađeni talog se odvoji i ispere vodom. Nakon sušenja dobija se 0,83 g (88 %) sirovog proizvoda **29**. Prekrystalizacijom iz metanola dobija se 0,76 g (81%) čistog jedinjenja **29** u obliku belih igličastih kristala, (t.t. 128-129 °C¹⁴⁹).

4.25. 3-Benziloksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (**30**)



U rastvor jedinjenja **29** (0,22 g; 0,57 mmol) u metanolu (12 mL) dodaje se u porcijama, na sobnoj temperaturi, natrijum-borhidrid (0,25 g; 6,61 mmol). Reakciona smeša se meša na temperaturi ključanja, u toku 1,5 sata, a nakon toga se izlije u vodu (50 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 20 mL). Spojeni ekstrakti se isperu vodom, osuše i rastvarač upari. Zaostala sirova smeša proizvoda se razdvoji fleš hromatografijom na koloni silika-gela (benzen/etil-acetat, 6:1). Dobija se 0,141 g (64%) jedinjenje **30** (t.t. 113 - 114 °C¹⁴⁹).

4.26. 3-Benziloksi-17-metil-17-metansulfoniloksi-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (31)



Jedinjenje **30** (0,6832 g; 1,75 mmol) se rastvori u apsolutnom piridinu (9 mL) uz mešanje na 0 °C, i zatim doda mezil-hlorid (1,2 mL; 15,50 mmol). Reakciona smeša se ostavi na 4 °C u toku 20 sati. Nakon toga se reakciona smeša izlije u led/vodu (200 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom do pH ~ 1. Izdvaja se svetlo žuti talog koji se odvoji, ispere vodom i osuši. Filtrat se ekstrahuje sa metilen-hloridom (4 x 40 mL), osuši, sušilo ukloni, rastvarač upari, a suvi ostatak pripoji talogu. Sirovi reakcioni proizvod (0,7426 g) se prečisti na koloni silikagela (80 g; toluen/etil-acetat, 25:1). Dobija se 0,4524 g (55 %) jedinjenja **31** u obliku bezbojnog ulja.

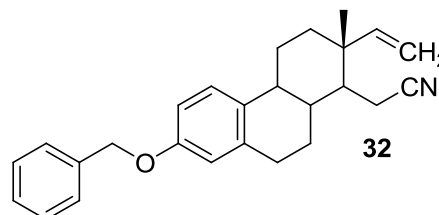
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3029, 2937, 2867, 2242, 1501, 1354, 1330, 1175, 905, 755.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,05 (s, 3H, H-18); 1,47 (d, 3H, $J=6,4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-C17}$); 3,08 (s, 3H, CH_3SO_3^-); 4,83 (q, 1H, $J=6,4$ Hz, H-17); 5,05 (s, 2H, CH_2Ph); 6,75 (d, 1H, $J=2,6$ Hz, H-4); 6,82 (dd, 1H, $J_1=2,6$ Hz, $J_2=8,6$ Hz, H-2); 7,21 (d, 1H, $J=8,6$ Hz, H-1); 7,27-7,47 (preklapajući multiplieti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 15,35; 15,53; 17,00; 25,78; 27,09; 29,92; 31,50; 39,18; 39,44; 40,56; 40,90; 42,45; 69,91 (CH_2Ph); 82,94 (C-17); 112,71 (Ar CH); 114,37 (Ar CH); 119,21 (CN); 126,34 (Ar, CH); 127,40 (Ar, CH); 127,84 (Ar, CH); 128,51 (Ar, CH); 131,59 (Ar, C); 137,14 (Ar, C); 137,53 (Ar, C); 156,95 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ izračunato: 485,24685; nađeno: 485,24641

4.27. 3-Benziloksi-17-metilen-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (**32**)



Jedinjenje **31** (0,3831 g; 0,82 mmol) se rastvori u dimetilsulfoksidu (33 mL), doda natrijum-azid (0,4363 g; 6,71 mmol) i reakciona smeša zagreva 3 sata na 150 °C. Nakon isteka reakcionog vremena reakciona smeša se izlije u vodu (500 mL) i talog profiltrira. Sirovi proizvod se prečisti hromatografijom na koloni aluminijum-oksidu (toluen/etil-acetat, 80:1), pri čemu se dobija jedinjenje **32** (0,0698 g; 23 %; t.t. 105 °C) u obliku bezbojnih kristala.

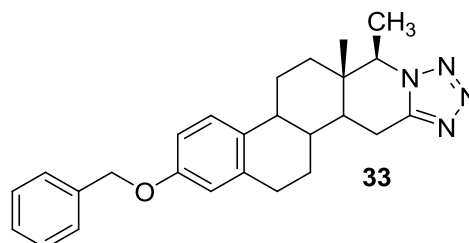
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3032, 2925, 2242, 2100, 1500, 1236, 1026.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,08 (s, 3H, H-18); 5,06 (s, 2H, CH_2Ph); 5,12 (dd, 1H, $J_{\text{gem}}=0,7$ Hz, $J_{\text{trans}}=17,2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$, H_a -19); 5,15 (dd, 1H, $^2J=0,7$ Hz, $J_{\text{cis}}=10,7$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$, H_b -19); 5,70 (dd, 1H, $J_{\text{cis}}=10,7$ Hz, $J_{\text{trans}}=17,2$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$, H-17); 6,76 (d, 1H, $J=2,6$ Hz, H-4); 6,82 (dd, 1H, $J_{2,4}=2,6$ Hz, $J_{1,2}=8,6$ Hz, H-2); 7,23 (d, 1H, $J_{1,2}=8,6$ Hz, H-1); 7,27-7,47 (preklapajući multipleti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 15,61 (C-18); 16,80, 26,18, 27,27, 29,89, 39,45, 39,57, 41,09, 43,00 i 45,70, 69,90 (CH_2Ph); 112,64 (Ar, CH); 113,34 ($\text{CH}=\text{CH}_2$, C-19); 114,42 (Ar, CH); 119,93 (CN); 126,38 (Ar, CH); 127,40 (Ar, CH); 127,83 (Ar, CH); 128,51 (Ar, CH); 131,86 (Ar, C); 137,16 (Ar, C); 137,46 (Ar, C); 148,35 ($\text{CH}=\text{CH}_2$, C-17); 156,88 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ izračunato: 389,25874; nađeno: 389,25778.

4.28. 3-Benziloksi-17 α -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (**33**)



Postupak a: konvencionalni način zagrevanja sa bakar(I)-hloridom

Jedinjenje **31** (0,0990 g; 0,21 mmol) se rastvori u heksametilfosforamidu (1 mL), zatim doda bakar(I)-hlorid (0,0475 g; 0,47 mmol) i meša 15 minuta na sobnoj temperaturi.

Nakon toga se doda natrijum-azid (0,1115 g; 1,7 mmol) i zagreva 3 sata u temperaturnom intervalu 140-145 °C. Reakciona smeša se izlije u 15 mL HCl (1:1) i ekstrahuje benzenom (6 x 5 mL). Ekstrakt se osuši, sušilo i rastvarač uklone i sirov proizvod **33** (0,0834 g) se prečisti fleš hromatografijom (aluminijum-oksidi, petrol-etar/etil-acetat, 3:2) i pri tome se dobijaju bezbojni kristali **33** (0,0515 g; 59 %; t.t. 225-228 °C).

Postupak b: konvencionalni način zagrevanja bez bakra(I)-hlorida

Jedinjenje **31** (0,0309 g; 0,07 mmol) se rastvori u heksametilfosforamid (1,5 mL), doda natrijum-azid (0,0088 g; 0,014 mmol), meša 30 minuta na sobnoj temperaturi. Reakcioni sud se uroni u već zagrejano uljano kupatilo (127-145 °C) i zagreva tri sata. Reakciona smeša se izlije u vodeni rastvor NaCl (50 mL), zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 2 i ekstrahuje benzenom (4 x 20 mL). Ekstrakt se osuši, sušilo i rastvarač se uklone. Dobijena smeša proizvoda (0,0267 g) se prečisti fleš hromatografijom (aluminijum-oksidi, benzen/etil-acetat, 7:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **33** (0,0135; 49 %, t.t. 225-228 °C) i delimično prečišćen proizvod **32** (0,0083 g). Proizvod **32** se prečisti fleš hromatografijom (silika-gel; n-heksan/acetan, 10:1). Dobija se čisto jedinjenje **32** (0,0044 g; 18%, t.t. 105 °C) u obliku bezbojnih kristala.

Postupak c: mikrotalasno ozračivanje

Jedinjenje **31** (0,0844 g; 0,18 mmol) se rastvori u heksametilfosforamid (2,3 mL) i doda natrijum-azid (0,0244 g; 0,37 mmol). Reakciona smeša se zagreva mikrotalasnim ozračivanjem 30 minuta na 130 °C i 40 minuta na 135 °C. Sadržaj suda se izlije u vodeni rastvor natrijum-hlorida (90 mL), zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 5 i ekstrahuje benzenom (7 x 15 mL). Organske faze se odvoje, suše i upare pri čemu se dobija smeša proizvoda (0,0668 g), koja se prečisti fleš hromatografijom (aluminijum-oksidi, benzen/etil-acetat, 7:1). Dobija se jedinjenje **33** u obliku bezbojnih kristala (0,0224 g; 30 %, t.t. 225-228 °C). Dodatnim prečišćavanjem jedinjenja **32** fleš hromatografijom (silika-gel, n-heksan/acetan, 9:1), dobija se čisto jedinjenje **32** u obliku bezbojnih kristala (0,0287 g; 43 %, t.t. 105 °C).

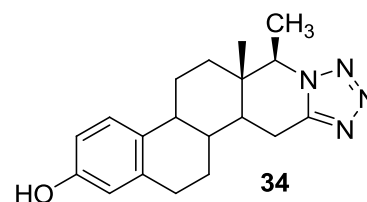
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 2925, 2860, 1733, 1499, 1250, 751.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,80 (s, 3H, H-18); 1,73 (d, 3H, $J=6,7$ Hz, H-19); 3,48 (dd, 1H, $J_1=5,2$ Hz, $J_2=17,6$ Hz, H_a -15); 4,04 (q, 1H, $J=6,7$ Hz, H-17a), 5,05 (s, 2H, CH_2Ph); 6,76 (d, 1H, $J=2,4$ Hz, H-4); 6,82 (dd, 1H, $J_{2,4}=2,4$ Hz, $J_{1,2}=8,5$ Hz, H-2); 7,23 (d, 1H, $J_{1,2}=8,5$ Hz, H-1); 7,27-7,45 (preklapajući multiplieti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 11,54 (C-18); 12,50 (C-19); 21,97, 25,69, 26,06, 29,74, 36,11, 37,31, 39,97, 42,61, 44,51, 63,94 (C-17a); 69,94 (CH_2Ph); 112,73 (Ar, CH); 114,54 (Ar, CH); 126,29 (Ar, CH); 127,40 (Ar, CH); 127,89 (Ar, CH); 128,54 (Ar, CH); 131,47 (Ar, C); 137,10 (Ar, C); 137,42 (Ar, C); 151,30 (C-16); 157,03 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 415,24924; nađeno: 415,24895.

4.29. 3-Hidroksi-17 α -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (34)



Jedinjenje **33** (0,0848 g; 0,20 mmol) se rastvori u smeši metilen-hlorida (3 mL) i metanola (1 mL). Rastvoru se doda 10%-ni Pd/C (0,0865 g) i suspenzija se meša u atmosferi vodonika, na sobnoj temperaturi u toku 19 časova. Reakciona smeša se zatim profiltrira a Pd/C se ispere smešom metilen-hlorid/metanol (1:1). Rastvor sirovog proizvoda **34** se upari (0,0718 g) i prečisti fleš hromatografijom na koloni silika-gela (metilen-hlorid/acetone, 10:1) i dobija se 0,0520 g (78 %) čistog jedinjenja **34** (t.t. 350 °C) u obliku belog praha.

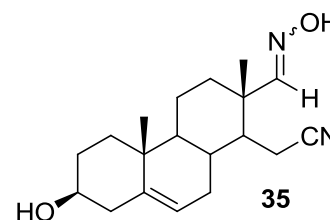
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3414, 3005, 2918, 2154, 1659, 1438, 1408, 1024, 954.

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 0,42 (s, 3H, H-18); 1,33 (d, 3H, $J= 6,5$ Hz, H-19); 3,95 (q, 1H, $J= 6,7$ Hz, H-17a); 6,23 (s, 1H, H-4); 6,30 (d, 1H, $J= 8,3$ Hz, H-2); 6,86 (d, 1H, $J= 8,3$ Hz, H-1); 8,87 (s, 1H, OH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 11,14 (C-18); 12,28 (C-19); 21,23; 25,55; 25,69; 29,32; 35,15; 36,81; 38,50; 38,84; 39,17; 39,51; 39,84; 40,17; 40,51; 42,11; 43,18; 62,87 (C-17a); 113,00 (CH, Ar); 114,78 (CH, Ar); 126,27 (CH, Ar); 129,89 (C, Ar); 137,17 (C, Ar); 151,66 (C-16); 155,16 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 325,20229 nađeno: 325,20212.

4.30. 3 β -Hidroksi-17-hidroksiimino-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (35)



Jedinjenje **4** (0,0528 g; 0,17 mmol) se rastvori u metanolu (2 mL), doda hidroksilamin-hidrohlorid (0,0146 g; 0,21 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (0,0174 g; 0,21 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku jednog sata. Sadržaj balona se izlije u vodu (30 mL) i ekstrahuje sa hloroformom (5 x 10 mL). Osušeni ekstrakt se upari i

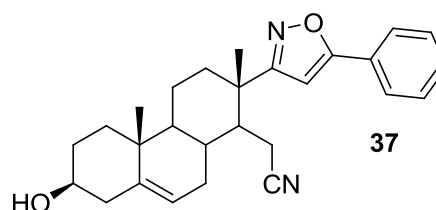
prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/acetona, 2:1). Dobija se 0,0175 g (32 %) čistog proizvoda **35** u obliku bezbojnog ulja.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,03 (s, 3H, H-19); 1,17 (s, 3H, H-18); 3,54 (m, 1H, H-3); 5,36 (d, 1H, $J= 4,8$ Hz, H-6); 7,19 (s, 1H, H-17); 8,14 (s, 1H, N=OH).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 15,60 (C-18); 17,18 (CH_2); 19,23 (C-19); 19,36 (CH_2); 31,27 (CH_2); 31,69 (CH_2); 32,04 (CH); 36,62 (C); 36,83 (CH_2); 37,33 (CH_2); 40,66 (C); 41,75 (CH_2); 44,89 (CH); 48,85 (CH); 71,46 (C-3); 119,21 (C-16); 120,26 (C-6); 140,36 (C-5); 158,49 (C-17).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 317,22235 nađeno: 317,22118.

4.31. 3β -Hidroksi-13-(5'-fenil-izoksazol-3'-il)-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitril (**37**)



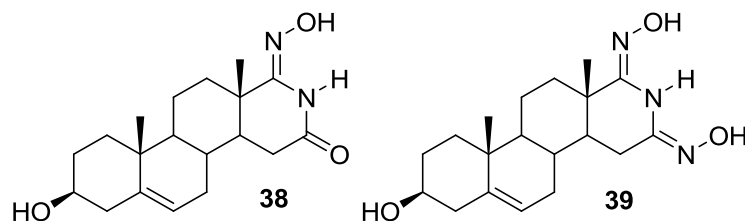
Jedinjenje **4** (0,0502 g; 0,17 mmol) se rastvori u metanolu (1 mL), doda hidroksilamin-hidrohlorid (0,0151 g; 0,22 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (0,0184 g; 0,22 mmol). Reakciona smeša se meša jedan sat na sobnoj temperaturi, a zatim se doda hloramin-T trihidrat (0,0605 g; 0,26 mmol) i nakon pet minuta dodaju se bakar(II)-sulfat pentahidrat (0,0202 g; 0,08 mmol), natrijum-askorbat (0,0824 g; 0,42 mmol) i rastvor fenilacetilena u metanolu (1,5 M, 0,2 mL). Nakon 24 sata, reakciona smeša se izlije u vodu (5 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 2 mL). Sirovi proizvod **37** (0,0909 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/etil-acetat, 2:1). Dobija se 0,0069 g čistog proizvoda **37** (10 %) u obliku bezbojnog ulja.

^1H NMR spektar ($\text{DMSO}-d_6$, ppm): 1,00 (s, 3H, H-19); 1,35 (s, 3H, H-18); 4,66 (d, 1H, $J= 4,5$ Hz, H-3); 5,34 (d, 1H, $J= 3,8$ Hz, H-6); 7,15 (s, 1H, H-C4'); 7,46-7,57 (grupa signala, 3H, H-3'', H-4'', H-5''); 7,83 (dd, 2H, $J_1= 8,0$ Hz, $J_2= 1,8$ Hz, H-2'' i H-6'').

^{13}C NMR spektar ($\text{DMSO}-d_6$, ppm): 16,25 (C-18); 16,80 (CH_2); 19,12 (C-19); 19,58 (CH_2); 31,17 (CH_2); 31,35 (CH_2); 31,99 (CH); 36,39 (C); 36,66 (CH_2); 38,92 (CH_2); 41,94 (CH_2); 45,36 (CH); 48,38 (CH); 69,97 (C-3); 98,72 (C-4'); 119,67 (C-6); 119,88 (C-16); 125,48 (CH); 127,09 (C); 129,27 (CH); 130,33 (CH); 140,99 (C-5); 168,98 (C-5''); 171,74 (C-3').

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{Na}]^+$ izračunato: 439,23560 nađeno: 439,23525.

4.32. 3 β -Hidroksi-17 α -hidroksiimino-16-okso-17-aza-D-homo-androst-5-en (38) i 3 β -Hidroksi-16,17 α -bis(hidroksiimino)-17-aza-D-homo-androst-5-en (39)



Postupak A

Jedinjenje **4** (0,0649 g; 0,21 mmol) se rastvori u metanolu (1,5 mL), doda hidrosilamin-hidrohlorid (0,0478 g; 0,69 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (0,0568 g; 0,68 mmol). Smeša se zagreva uz refluks u toku 10 sati. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se profiltrira od neorganskih soli. Reakciona smeša (0,1207 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/acetone, 2:1 \rightarrow 1:1) i dobijaju se čisti proizvodi **38** (0,0064 g, 9%, t.t. > 250 °C) u obliku belog praha i **39** (0,0094 g, 13 %, t.t. > 250 °C) u obliku bezbojnih kristala.

Postupak B

Jedinjenje **4** (0,0525 g; 0,17 mmol) se suspenduje u vodi (2 mL), doda hidrosilamin-hidrohlorid (0,0536 g; 0,77 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (0,0657 g; 0,78 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks 11 sati i 30 minuta i nakon toga profiltrira. Sirovi reakcioni proizvodi se prečiste fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/acetone, 4:2 \rightarrow 3:2 \rightarrow 1:1) i dobijaju se čisti proizvodi **38** (0,0064 g, 11 %, t.t. > 250 °C) u obliku belog praha i **39** (0,0055 g, 9 %, t.t. > 250 °C) u obliku bezbojnih kristala.

Jedinjenje **38**:

^1H NMR spektar (DMSO-D₆, ppm): 0,93 (s, 3H, H-19); 1,05 (s, 3H, H-18); 4,63 (s, 1H, OH); 5,27 (s, 1H, H-6); 8,95 (s, 1H, NH); 10,32 (s, 1H, NOH).

^{13}C NMR spektar (DMSO-D₆, ppm): 18,43 (C-18); 19,50 (C-19); 19,72; 30,53; 31,72; 31,75; 33,21; 33,71; 35,92; 36,59; 36,97; 42,39; 43,60; 48,69; 70,41 (C-3); 120,43 (C-6); 141,32 (C-5); 152,40 (C-17a); 169,30 (C-16).

ESI TOF MS [M+H]⁺ izračunato: 333,21727 nađeno: 333,21683

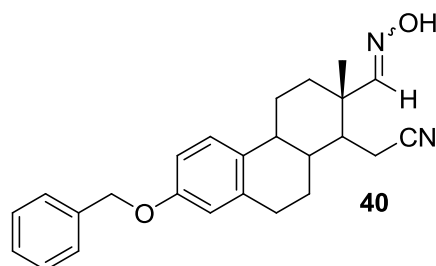
Jedinjenje **39**:

^1H NMR spektar (DMSO-D₆, ppm): 0,93 (s, 3H, H-19); 1,08 (s, 3H, H-18); 4,68 (d, 1H, $J=4,3$ Hz, OH); 5,28 (s, 1H, H-6); 8,29 (s, 1H, NH); 9,89 (s, 1H, NOH); 10,06 (s, 1H, NOH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 18,75 (CH_3); 19,07 (CH_3); 19,31 (CH_2); 24,92; 30,44; 31,19; 31,36; 33,42; 36,23; 36,55; 42,00; 43,75; 48,34; 70,00 (C-3); 120,06 (C-6); 140,92 (C-5); 144,16 (C=NOH); 151,84 (C=NOH).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 348,22817 nađeno: 348,22763

4.33. 3-Benziloksi-17-hidroksiimino-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (40)



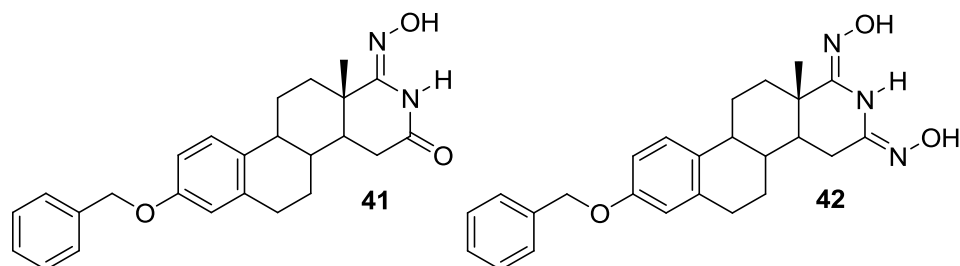
Jedinjenje **23** (0,0856 g; 0,23 mmol) se rastvori u smeši metanol/hloroform (3 mL; 1:1), doda hidrosilamin-hidrohlorid (0,0476 g; 0,68 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (0,0577 g; 0,69 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi tokom jednog sata, a zatim izlije u vodu (22 mL) i ekstrahuje hloroformom (4 x 5 mL). Osušeni ekstrakt se upari a sirovi proizvod prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/acetone, 3:1). Dobija se 0,0277 g (31 %) čistog proizvoda **40** u obliku bezbojnog ulja.

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 1,02 (s, 3H, H-18); 5,05 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,72 (d, 1H, $J= 2,5$ Hz, H-4); 6,76 (dd, 1H, $J_1= 2,5$ Hz, $J_2= 8,9$ Hz, H-2); 7,19 (d, 1H, $J= 8,9$ Hz, H-1); 7,22 (s, 1H, H-17) 7,31-7,44 (preklapajući multiplieti, 5H, Ph); 10,70 (s, 1H, NOH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 15,56 (C-18); 16,52; 25,30; 26,58; 29,46; 37,15; 42,03; 42,78; 69,06 (OCH_2Ph); 112,61; 114,31; 120,47 (C-16); 126,49; 127,58; 127,78; 128,48; 131,75; 137,24; 137,41; 156,36 (C-3); 156,95 (C-17).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 389,22235 nađeno: 389,22228.

4.34. 3-Benziloksi-17a-hidroksiimino-16-okso-17-aza-D-homo-estra-1,3,5(10)-trien (41) i 3-Benziloksi-16,17a-bis(hidroksiimino)-17-aza-D-homo-estra-1,3,5(10)-trien (42)



Jedinjenje **23** (0,0522 g; 0,14 mmol) se rastvori u toluenu (0,5 mL), doda prethodno pripremljeni rastvor hidroksilamina u metanolu (1 mL, 1 M) i meša se jedan sat na sobnoj temperaturi u atmosferi argona. Nakon toga reakciona smeša se zagreva na temperaturi ključanja u toku 12 sati. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se upari (0,0787 g) i prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/acetone; 5:1 → 4:1 → 3:1 → 2:1). Kao proizvod se dobija jedinjenje **41** (0,0080 g; 14 %) u obliku bezbojnog ulja i jedinjenje **42** (0,0078 %, 13 %) u obliku bezbojnog ulja.

Jedinjenje **41**:

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 1,08 (s, 3H, H-18); 5,03 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,71 (s, 1H, H-4); 6,74 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H-2); 7,18 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H-1); 7,30-7,42 (preklapajući multipleti, 5H, Ph); 9,03 (s, 1H, NH); 10,37 (s, 1H, NOH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 18,19 (C-18); 25,25; 25,31; 29,06; 29,32; 32,68; 33,75; 35,87; 41,63; 41,96; 69,08 (OCH_2Ph); 112,51; 114,36; 126,31; 127,59; 127,79; 128,49; 131,97; 137,44; 152,20 (C-3); 156,31 (C=NOH); 168,90 (C-16).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{K}]^+$ izračunato: 443,17315 nađeno: 443,17273.

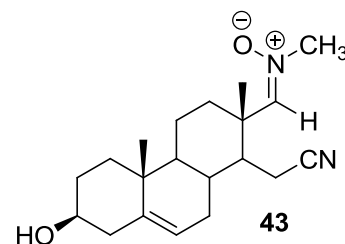
Jedinjenje **42**:

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 1,11 (s, 3H, H-18); 5,04 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,71 (s, 1H, H-4); 6,75 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-2); 7,19 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-1); 7,30-7,43 (preklapajući multipleti, 5H, Ph); 8,33 (s, 1H, NH); 9,90 (s, 1H, NOH); 10,08 (s, 1H, NOH).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 18,85 (C-18); 24,68; 25,21; 25,44; 29,31; 33,84; 36,53; 38,22; 41,97; 42,09; 68,98; 112,41; 114,25; 126,20; 127,51; 127,69; 128,39; 131,97; 137,33; 137,38; 144,03 (C=NOH); 151,98 (C-3); 156,22 (C=NOH).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 420,22817 nađeno: 420,22768.

4.35. *N*-Metil nitron 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitrila (43)



Jedinjenje **4** (0,2069 g; 0,69 mmol) se rastvori u metanolu (3 mL), doda *N*-metilhidroksilamin-hidrohlorid (0,1722 g; 2,06 mmol) i natrijum-acetat (0,1686 g; 2,06 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku jednog sata, zatim izlije u vodu (50 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (3x 15 mL). Osušeni ekstrakt se upari pri čemu se dobija sirovi proizvod (0,2443 g) koji se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (dietil-etar/acetone, 1:4). Dobija se 0,1636 g (72 %) čistog jedinjenja **43** u obliku bezbojnog ulja.

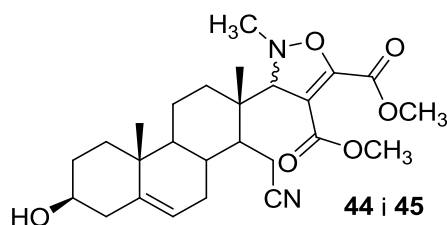
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3363, 2940, 2243, 1415, 1173, 1064.

^1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 0,92 (s, 3H, H-19); 1,14 (s, 3H, H-18); 3,27 (m, 1H, H-3); 3,53 (s, 3H, N- CH_3); 4,69 (d, 1H, $J= 4,4$ Hz, OH); 5,28 (d, 1H, $J= 3,9$ Hz, H-6); 6,69 (s, 1H, H-17).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 16,80 (C-18); 17,22; 18,88; 19,06 (C-19); 30,52; 31,18; 31,32; 31,43; 36,32; 36,62; 41,89; 48,28; 53,90 (N- CH_3); 69,96 (C-3); 119,70 (C-6); 120,27 (C-16); 140,95 (C-5); 143,62 (C-17).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 331,23800nađeno: 331,23703.

4.36. 3 β -Hidroksi-13-[2'-metil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitrili (44 i 45)



Jedinjenje **43** (0,1557 g; 0,47 mmol) se rastvori u smeši metilen-hlorid/metanol (3 mL; 2:1), doda dimetil-acetilen-dikarboksilat (0,58 mL; 4,72 mmol) i reakciona smeša meša 24 sata na sobnoj temperaturi u atmosferi argona. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se upari, a dimetil-acetilendikarboksilat se ukloni stubnom hromatografijom

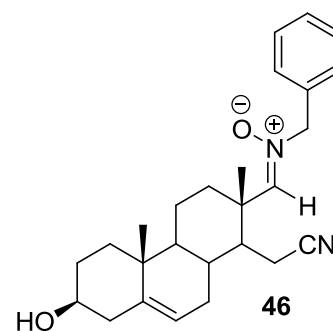
(n-heksan/aceton, 2:1; h=9,5 cm, silika-gel 0,040-0,063). Sirova smeša proizvoda (0,2074 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/aceton, 3:1), pri čemu se dobija smeša jedinjenja **44** i **45** u obliku bezbojnog ulja (0,0998 g; 45 %).

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

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,90; 0,99; 1,01 i 1,08 (4s, 12H, H-18, H-19, H-18 i H-19); 2,82 i 2,83 (2s, 6H, N-CH₃ i N-CH₃); 3,53 (m, 2H, H-3 i H-3); 3,76-4,02 (grupa signala, 14H, 2COOCH₃, 2COOCH₃, H-3' i H-3'); 5,35 (preklapajući dubleti, 2H, H-6 i H-6).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 15,74; 16,31; 16,35 (CH₃); 16,59 (CH₃); 19,19 (CH₃); 19,59; 19,69; 30,99; 31,41; 31,97; 32,78; 33,52; 36,65; 36,78; 41,83; 42,52; 43,07; 43,89; 47,84; 48,18; 48,70; 48,77; 52,19 (COOCH₃); 52,28 (COOCH₃); 53,10 (COOCH₃); 53,22 (COOCH₃); 71,52 (C-3); 71,57 (C-3); 78,45 (C-3'); 79,76 (C-3'); 104,99 (C-4'); 107,01 (C-4'); 119,49 (C-16); 119,58 (C-16); 120,31 (C-6); 120,39 (C-6); 140,39 (C-5); 140,44 (C-5); 150,10 (C-5'); 152,80 (C-5'); 159,17 (COOCH₃); 159,56 (COOCH₃); 163,91 (COOCH₃); 164,16 (COOCH₃).

4.37. *N*-Benzil nitron 3 β -hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitrila (**46**)



Jedinjenje **4** (0,2007 g; 0,67 mmol) se rastvori u metanolu (3 mL), doda *N*-benzil-hidroksilamin-hidrohlorid (0,3193 g; 2,00 mmol) i natrijum-acetat (0,1634 g; 1,99 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku jednog sata, a zatim izlije u vodu (50 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (3 x 15 mL). Osušeni ekstrakt se upari (0,3992 g) i prečisti fleš hromatografijom (petrol-etar/aceton, 3:2). Dobija se 0,2026 g (75 %) čistog jedinjenja **46** u obliku bezbojnog ulja.

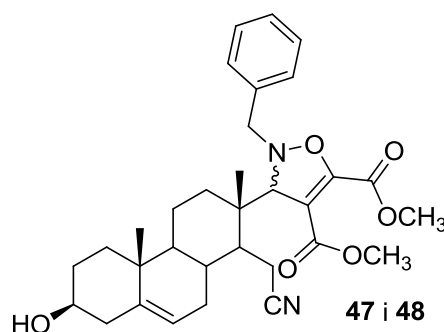
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3369, 2931, 2243, 1456, 1056, 753.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,98 (s, 3H, H-19); 1,24 (s, 3H, H-18); 3,50 (m, 1H, H-3); 4,84 (s, 2H, N-CH₂-Ph); 5,31 (d, 1H, $J=4,6$ Hz, H-6); 6,49 (s, 1H, H-17); 7,40 (s, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 17,80; 18,37 (C-18); 19,11 (C-19); 19,17; 30,69; 31,26; 31,57; 36,50; 36,77; 40,03; 40,78; 41,78; 48,27; 71,15 (N- CH_2 -Ph); 71,20 (C-3); 119,24 (C-16); 120,11 (C-6); 128,96 (CH,ar); 132,99 (C-1'); 140,41 (C-5); 143,84 (C-17).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 407,26930 nađeno: 407,26838.

4.38. 3β -Hidroksi-13-[2'-benzil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norandrost-5-en-16-nitrili (47 i 48)



Jedinjenje **4** (0,1955 g; 0,65 mmol) se rastvori u metanolu (6 mL), doda *N*-benzilhidroksilamin-hidrohlorid (0,3110 g; 1,95 mmol) i natrijum-acetat (0,1598 g; 1,95 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku jednog sata, a zatim izlije u vodu (50 mL) i ekstrahuje metilen-hloridom (5 x 25 mL). Osušeni ekstrakt se upari. Sirovi proizvod **46** (0,2445 g) se rastvori u metanolu (6 mL), doda dimetil-acetilendikarboksilat (0,46 mL; 3,74 mmol) i meša se na sobnoj temperaturi. Nakon 12 sati se doda *N*-benzilhidroksilamin-hidrohlorid (0,2164 g; 1,36 mmol), natrijum-acetat (0,1058 g; 1,29 mmol) i dimetil-acetilendikarboksilat (1,50 mL; 12,21 mmol) i meša se sledećih 12 sati na sobnoj temperaturi. Metanol se upari, a sirova reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/etil-acetat, 1:1) i preparativnom tankoslojnom hromatografijom (petrol-etar/etil-acetat, 3:1; metilen-hlorid/dietil-etar; 40:1; petrol-etar/acetone; 8:1). Dobijaju se čista jedinjenja **47** (0,0226g; 6 %) i **48** (0,0343 g; 10 %), oba u obliku blede žutog ulja.

Jedinjenje **47**:

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 0,81 (s, 3H, H-19); 0,97 (s, 3H, H-18); 3,50 (m, 1H, H-3); 3,80 (s, 3H, COOCH_3); 3,91 (s, 3H, COOCH_3); 4,11 (s, 1H, C3'-H); 4,35 (d, 1H, N- CH_2 H); 5,30 (d, 1H, H-6); 7,39 (s, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 13,52; 16,44 (C-18); 19,12 (C-19); 19,62; 29,67; 30,47; 31,42; 31,89; 31,99; 36,58; 36,76; 41,84; 41,95; 42,04; 52,22 (COOCH_3); 53,15 (COOCH_3); 62,88 (N- CH_2); 71,57 (C-3); 73,98 (C-3'); 107,16 (C-4'); 118,96 (C-16); 120,32 (C-6); 128,70; 128,94; 130,57; 133,90; 140,50 (C-5); 150,90 (C-5'); 159,20 (COOCH_3); 163,79 (COOCH_3).

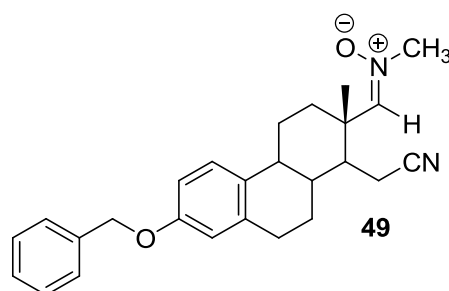
ESI TOF MS $[M+NH_4]^+$ izračunato: 566,32246 nađeno: 566,32116.

Jedinjenje **48**:

1H NMR spektar ($CDCl_3$, ppm): 0,90 (s, 3H, H-19); 0,99 (s, 3H, H-18); 3,50 (m, 1H, H-3); 3,77 (s, 3H, $COOCH_3$); 3,89 (s, 3H, $COOCH_3$); 4,18 (s, 1H, C3'-H); 4,25 (d, 1H, $J=12,7$ Hz, N- CH_a H); 5,32 (d, 1H, $J=2,7$ Hz, H-6); 7,38 (s, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar ($CDCl_3$, ppm): 16,35; 16,84 (C-18); 19,14 (C-19); 19,58; 30,81; 31,37; 31,97; 32,74; 36,61; 36,75; 41,79; 42,35; 43,54; 48,60; 52,29 ($COOCH_3$); 53,21 ($COOCH_3$); 64,26 (N- CH_2); 71,52 (C-3); 76,20 (C-3'); 105,26 (C-4'); 119,43 (C-16); 120,26 (C-6); 128,25; 128,52; 129,81; 134,42; 140,41 (C-5); 153,65 (C-5'); 159,51 ($COOCH_3$); 163,97 ($COOCH_3$).

4.39. *N*-Metil nitron 3-benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrila (**49**)



Jedinjenje **23** (0,1660g; 0,44 mmol) se rastvori u smeši metanol/hloroform (6 mL; 1:1), doda *N*-metil-hidroksilamin-hidrohlorid (0,1124 g; 1,35 mmol) i natrijum-acetat (0,1094 g; 1,33 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku tri sata, a zatim se izlije u vodu (45 mL) i ekstrahuje hloroformom (4 x 10 mL). Osušeni ekstrakt se upari, pri čemu se dobija sirovi proizvod **49** (0,2033 g) koji se prečisti fleš hromatografijom na koloni silika-gela (petrol-etar/acetone, 1:6). Dobija se 0,1055 g (59 %) čistog proizvoda **49** u obliku bezbojnog ulja.

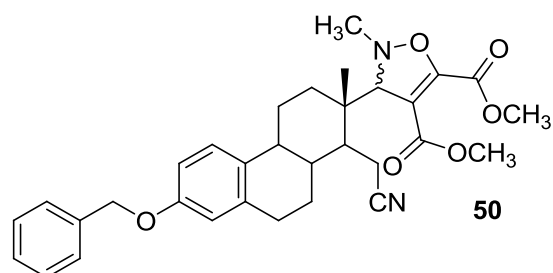
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 2942, 2919, 2862, 2241, 1611, 1501, 1253.

1H NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 1,13 (s, 3H, H-18); 3,56 (s, 3H, N- CH_3); 5,04 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,72-6,77 (grupa signala, 3H, H-2, H-4 i H-17); 7,19 (d, 1H, $J=8,5$ Hz, H-1); 7,33-7,43 (preklapajući multiplieti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (DMSO- D_6 , ppm): 16,89 (C-18); 17,30; 25,15; 26,46; 29,46; 30,88; 38,90; 39,42; 40,16; 41,97; 53,94 (N- CH_3); 69,04 (OCH_2Ph); 112,55; 114,27; 120,54 (C-16); 126,50; 127,56; 127,76; 128,46; 131,88; 137,26; 137,40; 143,63 (C-17); 156,31 (C-3).

ESI TOF MS $[M+H]^+$ izračunato: 403,23800 nađeno: 403,23800.

4.40. 3-Benziloksi-13-[2'-metil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (50)

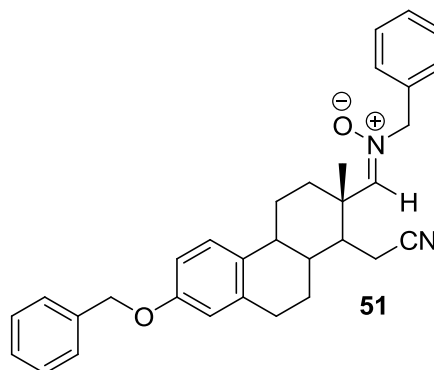


Jedinjenje **49** (0,1001 g; 0,25 mmol) se rastvori u smeši hloroform/metanol (1,5 mL; 2:1) i doda se dimetil-acetilen-dikarboksilat (0,60 mL; 4,88 mmol). Reakciona smeša se meša 24 sata na sobnoj temperaturi i nakon toga se ukloni rastvarač. Sirovi proizvod (0,2719 g) se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (n-heksan/aceton 5:1), pri čemu se dobija 0,0051 g (4 %) čistog jedinjenja **50** u obliku blede žutog ulja.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,08 (s, 3H, C-18); 2,85 (s, 3H, N- CH_3); 3,79 (s, 3H, COOCH_3); 3,92 (s, 3H, COOCH_3); 3,95 (s, 1H, C3'-H); 5,04 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,73 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-4); 6,81 (dd, 1H, $J_1 = 2,5$ Hz, $J_2 = 8,5$ Hz, H-2); 7,19 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-1); 7,32-7,45 (preklapajući multipleti, 5H, Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 16,19 (C-18); 16,56; 25,81; 27,05; 29,96; 31,71; 40,27; 42,34; 42,51; 42,83; 48,17 (N- CH_3); 52,37 (COOCH_3); 53,24 (COOCH_3); 69,97 (OCH_2Ph); 79,97 (C-3'); 105,21 (C-4'); 112,69; 114,39; 119,76 (C-16); 126,46; 127,44; 127,86; 128,54; 131,90; 137,24; 137,49; 152,86 (C-5'); 156,94 (C-3); 159,53 (COOCH_3); 164,12 (COOCH_3).

4.41. *N*-Benzil nitron 3-benziloksi-17-okso-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrila (51)



Jedinjenje **23** (0,1660 g; 0,44 mmol) se rastvori u smeši metanol-hloroform (6 mL; 1:1), doda *N*-benzilhidroksilamin-hidrohlorid (0,2158 g; 1,35 mmol) i natrijum-acetat (0,1188 g; 1,45 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku tri sata, a zatim izlije u vodu (45 mL) i ekstrahuje sa hloroformom (3 x 10 mL). Osušeni ekstrakt se upari, pri čemu se dobija sirovi proizvod (0,2619 g) koji se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/acetone, 3:1 → 2:1). Dobija se 0,1697 g (80 %) čistog proizvoda **51** u obliku bezbojnog ulja.

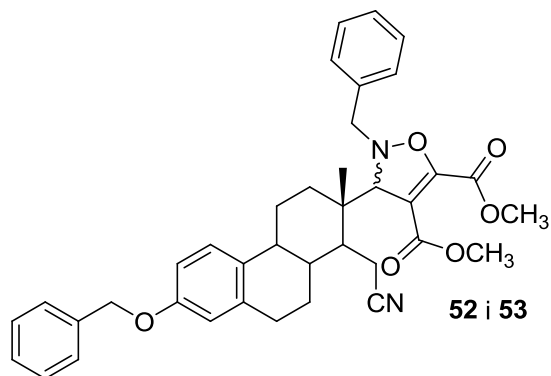
IR spektar (KBr, cm^{-1}): 3033, 2939, 2865, 2242, 1607, 1576, 1499, 1454, 1237.

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 1,25 (s, 3H, H-18); 4,86 (s, 2H, NCH_2Ph); 5,02 (s, 2H, OCH_2Ph); 6,55 (s, 1H, H-17); 6,71 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-4); 6,78 (dd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz, H-2); 7,17 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-1); 7,24-7,43 (grupa signala, 10H, $\text{OCH}_2\text{-Ph}$, $\text{NCH}_2\text{-Ph}$).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 17,97; 18,45 (C-18); 25,36; 26,63; 29,73; 31,17; 38,45; 38,83; 41,06; 42,00; 69,89 (OCH_2Ph); 71,25 (NCH_2Ph); 112,60; 114,38; 119,27 (C-16); 126,34; 127,37; 127,80; 128,48; 128,93; 128,96; 131,84; 133,13; 137,15; 137,44; 143,46 (C-17); 156,86 (C-3).

ESI TOF MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato: 479,26930 nađeno: 479,26898.

4.42. 3-Benziloksi-13-[2'-benzil-4'5'-bis(metoksikarbonil)-2'3'-dihidroizoksazol-3'-il]-16,17-seko-17-norestra-1,3,5(10)-trien-16-nitrili (52 i 53)



Jedinjenje **51** (0,3717 g, 0,78 mmol) se rastvori u metilen-hloridu (7 mL), doda dimetil-acetilendikarboksilat (0,50 mL; 4,07 mmol) i sadržaj balona se meša 72 sata na sobnoj temperaturi. Reakciona smeša se zatim izlije u vodu (50 mL), organski sloj se izdvoji a vodeni sloj se ekstrahuje metilen-hloridom (2 x 20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare, a ostatak se prečisti fleš hromatografijom na silika-gelu (petrol-etar/etil-acetat, 6:1). Dobija se smeša jedinjenja **52** i **53** u obliku svetlo žutog ulja (0,2098 g; 43 %).

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

^1H NMR spektar (CDCl_3 , ppm): 3,78-4,31 (grupa signala, 18H, 4 COOCH_3 , 2 $\text{N-CH}_2\text{Ph}$, 2 $\text{C}3'$ -H); 6,72-7,46 (preklapajući multiplieti, 16H, 2 H-4, 2 H-2, 2 H-1, 2 Ph).

^{13}C NMR spektar (CDCl_3 , ppm):13,92; 16,38 (C-18); 16,47 (C-18); 16,59; 25,42; 25,71; 26,82; 27,02; 27,14; 29,31; 29,65; 29,81; 29,90; 31,16; 31,43; 31,88; 39,33; 40,17; 40,38; 41,87; 42,34; 42,41; 42,59; 42,67; 52,21 (COOCH_3); 52,36(COOCH_3); 53,12(COOCH_3); 53,22(COOCH_3); 63,05 ($\text{N-CH}_2\text{Ph}$); 64,26 ($\text{N-CH}_2\text{Ph}$); 69,90 (OCH_2Ph); 74,27 (C-3'); 76,30 (C-3'); 105,42 (C-4'); 107,28 (C-4'); 112,57; 112,63; 112,75; 114,33; 114,40; 114,53; 118,99 (C-16); 119,60 (C-16); 126,32; 126,43; 127,38; 127,80; 128,26; 128,49; 128,55; 128,64; 128,90; 129,84; 130,53; 131,86; 132,01; 133,92; 134,40; 137,20; 137,43; 137,49; 150,95 (C-5'); 153,74 (C-5'); 156,87 (C-3); 157,03 (C-3); 159,17(COOCH_3); 159,51(COOCH_3); 163,79(COOCH_3); 163,96(COOCH_3).

5. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji su opisane sinteze novih androstanskih i estranskih heterocikličnih derivata kao i njihovih prekursora. Antiproliferativna aktivnost odabranih jedinjenja testirana je *in vitro* na ćelijama humanih tumora.

U prvom delu ove disertacije izvedena je „click“ sinteza androstanskih i estranskih D-homo kondenzovanih pentacikličnih tetrazola **8**, **16**, **26** i **33** intramolekulskom 1,3-dipolarnom cikloadicijom *in situ* generisanih 17-azido-16-nitrila, u prisustvu ili bez prisustva Cu(I)-hlorida. Transesterifikacijom ili hidrogenolizom pomenutih tetrazola dobijeni su odgovarajući tetrazoli **9**, **18**, **27**, **34** sa slobodnom hidroksilnom grupom u C-3.

Kao polazno jedinjenje za sintezu 3 β -hidroksi-D-homo-androst-5-eno[16,17-e] tetrazola (**9**) poslužio je mezilat **7** koji je dobijen u šest sintetskih faza polazeći od dehidroepiandrosterona (**1**). Transformacija dehidroepiandrosterona (**1**) započeta je reakcijom oksiminovanja sa *n*-amil-nitritom u baznoj sredini, pri čemu je dobijen 3 β -hidroksiandrost-5-en-16,17-dion 16-oksima (**2**) u prinosu od 92 %. Stereospecifičnom redukcijom jedinjenja **2** sa natrijum-borhidridom dobijen je isključivo 3 β ,17 β -dihidroksiandrost-5-en-16-on-oksima (**3**), u prinosu od 99 %. U narednom koraku izvršena je *Beckmann*-ova fragmentacija D-prstena pomoću *p*-toluensulfonil-hlorida. Prinos ove reakcije iznosi 66 %. 3 β -Hidroksi-17-okso-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**4**) podvrgnut je reakciji sa natrijum-borhidridom, pri čemu je dobijen 17-hidroksi derivat **5** u prinosu od 95 %. U narednom koraku je izvršeno mezilovanje 17-hidroksi grupe jedinjenja **5** sa metansulfonil-hloridom. 3 β -Acetoksi-17-meziloksi-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**7**) je dobijen u prinosu od 86 %. 3 β -Acetoksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (**8**) sintetisan je u domino reakciji, koja se sastoji od nukleofilne supstitucije između mezilata **7** i natrijum-azida i 1,3-dipolarne cikloadicije *in situ* generisanog D-seko-azido-nitrila **7a** pomoću dve metode zagrevanja. Konvencionalnim načinom zagrevanja prinos reakcije iznosio je 81 %, a mikrotalasnim ozračivanjem 93 %. Osim što je dobijen veći prinos kod mikrotalasnog ozračivanja, skraćeno je vreme reakcije sa tri sata na jedan sat. Dobijanje tetrazola **8** predstavlja novi primer intramolekulske „click“ reakcije bez katalizatora. Uklanjanje zaštite u položaju C-3 tetrazola **8** izvršena je sa natrijum-etoksidom i dobijen je 3 β -hidroksi-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (**9**) u prinosu od 79 %.

Sinteza androstanskih D-homo-(17 α R)-metil tetrazola **16** i **18** počinje stereospecifičnom adicijom metilmagnezijum-jodida na 17-keto grupu 3 β -hidroksiandrost-5-en-16,17-dion-16-oksima (**2**). 3 β ,17 β -Dihidroksi-17 α -metil-androst-5-en-16-on oksima (**10**) je dobijen u prinosu od 69 %. *Beckmann*-ovom fragmentacijom jedinjenja **10** pomoću acetanhidrida dobijen je 3 β -acetoksi-17-okso-17-metil-16,17-sekoandrost-5-en-16-nitril (**11**) u prinosu od 89 %. Redukcijom 17-keto derivata **11** pomoću natrijum-borhidrida dobija se smeša D-sekocijano alkohola **12** i **13** u ukupnom prinosu od 89 %. Smeša alkohola **12** i **13** podvrgnuta je reakciji mezilovanja sa metansulfonil-hloridom i tom prilikom su dobijeni mezilati **14** (78 %) i **15** (9 %) koji su uspešno razdvojeni fleš hromatografijom na silika-gelu.

Konvencionalnim zagrevanjem smeše mezilata **14** i **15** sa natrijum-azidom u HMPA u prisutstvu bakra(I)-hlorida dobijen je 3 β -acetoksi-(17 α R)-metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (**16**) u prinosu od 54 %. Dobijanje tetrazola **16** predstavlja novi primer „click“ sinteze tetrazola u prisustvu bakra(I)-hlorida. Konvencionalnim zagrevanjem smeše mezilata **14** i **15** sa natrijum-azidom u DMSO dobijeni su tetrazol **16** (25 %) i eliminacioni proizvod **17** (15 %). Mikrotalasnim ozračivanjem smeše mezilata **14** i **15** u HMPA dobijeni su tetrazol **16** (40 %) i olefin **17** (54 %). Reakciono vreme je smanjeno kod mikrotalasnog ozračivanja reakcione smeše sa tri sata na trideset minuta ali je i povećan prinos olefina **17** u odnosu na konvencionalni način zagrevanja u odsustvu bakra(I)-hlorida. Uklanjanje zaštite u položaju C-3 jedinjenja **16** izvršena je sa natrijum-etoksidom i tom prilikom je dobijen 3 β -hidroksi-17 α -metil-D-homo-androst-5-eno [16,17-e] tetrazol (**18**) u prinosu od 86 %.

Pored androstanskih D-homo-D-kondezovanih tetrazola, sintetizovani su odgovarajući tetrazoli u estranskoj seriji. Mezilat **25**, koji je dobijen u šest sintetskih faza polazeći od estrona (**19**), poslužio je kao polazno jedinjenje u sintezi tetrazola **27**. U prvoj fazi estron (**19**) je podvrgnut reakciji sa benzil-hloridom u baznoj sredini u cilju zaštite fenolne hidroksilne grupe u položaju C-3. Benzil-etar estrona **20** je dobijen u prinosu od 92 %. U narednom koraku izvršena je reakcija oksiminovanja *i*-amil-nitritom u položaju C-16. 3-Benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksim (**21**), koji je dobijen u prinosu od 93 %, podvrgnut je reakciji sa natrijum-borhidridom u baznoj sredini i tom prilikom je dobijen 3-benziloksi-17 β -hidroksiestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (**22**; 93 %). *Beckmann*-ovom fragmentacijom jedinjenja **22** sa *p*-toluensulfonil-hloridom dobijen je aldehid **23** (43 %). Redukcijom aldehida **23** pomoću natrijum-borhidrida dobijen je 17-hidroksi derivat **24** u prinosu od 99 %. U narednoj fazi izvršeno je mezilovanje 17-hidroksilne grupe jedinjenja **24** metansulfonil-hloridom i tom prilikom je dobijen mezilat **25** (72 %). Konvencionalnim zagrevanjem mezilata **25** sa natrijum-azidom dobijen je tetrazol **26** u intramolekulskoj „click“ reakciji bez katalizatora *in situ* generisnog azido-nitrila **25a**, u prinosu od 82 %, a mikrotalasnim ozračivanjem isti proizvod je dobijen u prinosu od 84 %. Reakciono vreme je kraće u slučaju mikrotalasnog ozračivanja i iznosi jedan sat, a kod konvencionalnog načina zagrevanja iznosi tri sata. Hidrogenolizom pomoću paladijuma na ugljeniku dobijen je 3-hidroksi-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno [16,17-e] tetrazol (**27**; 79 %).

Sinteze estranskih D-homo tetrazola sa 17 α -metil grupom počinju adicijom metilmagnezijum-jodida na 17-okso grupu 3-benziloksiestra-1,3,5(10)-trien-16,17-dion-16-oksim (**21**) i tom prilikom je dobijen 3-benziloksi-17 β -hidroksi-17 α -metilestra-1,3,5(10)-trien-16-on-oksim (**28**) u prinosu od 70 %. U narednoj fazi, *Beckmann*-ovom fragmentacijom sa acetanhidridom, je dobijen D-sekocijano-keton (**29**; 81 %). U sledećem koraku izvršena je redukcija 17-keto grupe jedinjenja **29** pomoću natrijum-borhidrida. Dobijeni 3-benziloksi-17-hidroksi-17-metil-16,17-sekoestra-1,3,5(10)-trien-16-nitril (**30**) je izolovan u prinosu od 64 %. Mezilovanjem 17-hidroksilne grupe jedinjenja **30** pomoću metansulfonil-hlorida dobijena je bolja odlazeća meziloksi-grupa. Mezilat **31**, koji je prethodno dobijen u prinosu od 55 %, je poslužio kao direktan prekursor za sintezu tetrazola **33**. Ispitani su različiti reakcioni uslovi u cilju dobijanja tetrazola **33** u što većom prinosu. Zagrevanjem mezilata **31** sa natrijum-azidom na 150 °C u DMSO je dobijen isključivo eliminacioni proizvod **32** u prinosu od 23 %.

Konvencionalnim zagrevanjem mezilata **31** sa natrijum-azidom u prisutstvu bakra(I)-hlorida u HMPA na 145 °C dobijen je isključivo tetrazol **33** u prinosu od 59 %. Konvencionalnim zagrevanjem mezilata **31** sa natrijum-azidom u HMPA na nižoj temperaturi dobijen je tetrazol **33** (49 %) i olefin **32** (18 %). Mikrotalasnim ozračivanjem mezilata **31** sa natrijum-azidom u HMPA na 130 °C u toku trideset minuta i na 135 °C u toku četrdeset minuta dobijeni su tetrazol **33** (30 %) i eliminacioni proizvod **32** (43 %). Osim što je mikrotalasnim ozračivanjem skraćeno reakciono vreme, smanjen je prinos željenog tetrazola **33**. Dobijanje tetrazola **33** predstavlja novi primer „click“ sinteze tetrazola sa, ili bez bakar(I)-hlorida. Hidrogenolizom pomoću paladijuma na ugljeniku dobijen je željeni 3-hidroksi-17 α -metil-D-homoestra-1,3,5(10)-trieno[16,17-e] tetrazol (**34**) u prinosu od 78 %.

U drugom delu ove doktorske disertacije ostvarena je sinteza novih steroidnih D-seko oksima, nitrona i nitril-oksida koji su poslužili kao prekursori u sintezi D-seko i D-homo heterocikličnih steroidnih derivata. Polazna jedinjenja u ovom delu doktorske disertacije bili su D-seko-cijano aldehidi androstanske i estranske serije, **4** i **23**, koji su dobijeni višefaznim hemijskim transformacijama dehidroepiandrosterona i estrona.

Polazeći od androstanskog aldehida **4** i hidroksilamina sintetisan je intermedijerni oksim **35**, koji je sa hloramin-T trihidratom *in situ* nagradio nitril-oksida **36**. Steroidni D-seko izoksazol **37** (10%) je nastao u "one pot" regioselektivnoj bakar(I) katalizovanoj 1,3-dipolarnoj cikloadicionoj reakciji androstanskog D-seko nitril-oksida **36** i fenilacetilena.

Aldehid **4** je poslužio kao polazno jedinjenje za sintezu 17-aza-D-homo derivata **38** i **39**. Navedena dva heterociklična jedinjenja dobijena su prilikom zagrevanja uz refluks aldehida **4** sa hidroksilaminom u metanolu odnosno u vodi. U slučaju kad je kao rastvarač korišćen metanol dobijen je derivat **38** u prinosu od 9 % a derivat **39** u prinosu od 13 %. U drugom slučaju, kada je korišćena voda umesto metanola, jedinjenje **38** je dobijeno u prinosu od 11 % a jedinjenje **39** u prinosu od 9 %. Poput aldehida **4**, tako je aldehid **23** poslužio kao polazno jedinjenje u sintezi oksima estranske serije **40**. Takođe iz aldehida **23** su dobijeni 17-aza-D-homo derivati **41** (14 %) i **42** (13 %) u reakciji sa hidroksilaminom prilikom zagrevanja reakcione smeše na tački ključanja.

Steroidni D-seko nitroni androstanske i estranske serije **43**, **46**, **49** i **51**, koji su dobijeni iz odgovarajućih aldehida **4** i **23**, poslužili su kao direktni prekursori za sintezu steroidnih D-seko izoksazolina **44**, **45**, **47**, **48**, **50**, **52** i **53**. *N*-Metil nitron **43** (72 %) je dobijen u reakciji aldehida **4** i *N*-metilhidroksilamina. U narednoj fazi nitron **43** je stupio u reakciju 1,3-dipolarne cikloadicije sa dimetil-acetilendikarboksilatim (DMAD). Dobijena je smeša izoksazolina **44** i **45** u ukupnom prinosu od 45 %. U reakciji između aldehida **4** i *N*-benzilhidroksilamina nastao je *N*-benzil nitron **46** u prinosu od 75 %. Iz nitrona **46** u reakciji sa DMAD su dobijeni izoksazolini **47** (6 %) i **48** (10 %). Estranski aldehid **23** je u reakciji sa *N*-metilhidroksilaminom dao nitron **49**, a prinos te reakcije je iznosio 59 %. U sledećem koraku *N*-metil nitron **49** je podvrgnut reakciji cikloadicije sa DMAD i tom prilikom je dobijen izoksazolin **50** u skromnom prinosu od 4 %. *N*-Benzil nitron **51** je sintetisan u prinosu od 80 % u reakciji između aldehida **23** i *N*-benzilhidroksilamina. U reakciji nitrona **51** sa DMAD dobijena je smeša izoksazolina **52** i **53** u ukupnom prinosu od 43 %.

U trećem delu rada je ispitana biološka aktivnost sintetizovanih jedinjenja. Naime, proučavan je uticaj odabranih jedinjenja na proliferaciju šest ćelijskih linija humanih tumora (MCF-7, MDA-MB-231, PC3, HeLa, K562 i HT-29), dok je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija (MRC-5).

Jedinjenja **18**, **26** i **33** su ispoljila jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama adenokarcinoma dojke (MCF-7). Jedinjenje **16** i **27** su pokazala umerenu aktivnost prema istoj ćelijskoj liniji, dok su jedinjenja **8** i **15** pokazale slabu antiproliferativnu aktivnost. Jedinjenja **12**, **14** i **15** su pokazala jaku antiproliferativnu aktivnost prema adenokarcinomu dojke (MDA-MB-231), dok su jedinjenja **16** i **18** pokazala slabu antiproliferativnu aktivnost. Prema ćelijskoj liniji karcinoma prostate PC3, jedinjenja **14**, **15** i **16** su pokazala jaku antiproliferativnu aktivnost, a jedinjenja **8** i **26** slabu antiproliferativnu aktivnost. Jedinjenja **14** i **15** pokazala su jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskoj liniji karcinoma grlića materice (HeLa). Jedinjenje **11** pokazalo je umerenu, a jedinjenja **12** i **18** slabu antiproliferativnu aktivnost prema prethodno pomenutoj ćelijskoj liniji. Prema ćelijskoj liniji hronične mijeloidne leukemije (K562) jedinjenje **16** je pokazalo jaku, jedinjenja **8** umerenu a jedinjenja **12** i **15** slabu antiproliferativnu aktivnost. Jedinjenje **33** je pokazalo jaku antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskoj liniji karcinoma debelog creva (HT-29), dok su jedinjenja **14** i **15** pokazala umerenu antiproliferativnu aktivnost prema istoj ćelijskoj liniji. Ispitivana jedinjenja ne pokazuju citoksičnost prema zdravim MRC-5 ćelijama.

Na osnovu SAR analize može se zaključiti da je prisustvo C-17a metil grupe u androstanskim tetrazolima povezano sa većom antiproliferativnom aktivnošću prema većini tretiranih ćelijskih linija. Prisustvo metil grupe u položaju C-17a estranskog tetrazola **33** povećava njegovu aktivnost prema MCF-7 i HT-29 ćelijskim linijama, dok prisustvo ove funkcionalne grupe u tetrazolu **34** dovodi do smanjenja citotoksičnosti prema tumorskoj ćelijskoj liniji MCF-7.

Prisustvo acetoksi grupe u položaju C-3 u androstanskim D-homo tetrazolima **8** i **16** povećava antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskim linijama K-562 i PC3, kao i prema MDA-MB-231 ćelijskoj liniji kod jedinjenje **16**. Prisustvo acetatne zaštite u jedinjenju **8** povećava donekle i antiproliferativnu aktivnost prema ćelijskoj liniji MCF-7, dok u jedinjenju **16** dovodi do smanjenja ove aktivnosti. Benziloksi funkcija u položaju C-3 estranskih jedinjenja povezana je sa povećanjem aktivnosti prema ćelijskoj liniji MCF-7, kao i prema HT-29 u slučaju jedinjenja **33**, odnosno PC3 ćelijskoj liniji kod jedinjenja **26**.

Prisustvo aromatičnog prstena u strukturi jedinjenja **27** povezano je sa većom antiproliferativnom aktivnošću u slučaju MCF-7 tumorskih ćelija, ako se poredi aktivnost 17a-nesupstituisanih D-homo tetrazolskih derivata. U slučaju 17a-metil supstituisanih derivata androstanski tetrazol **18** je značajno potentniji prema MCF-7 ćelijama i donekle prema HeLa ćelijama u odnosu na estranski tetrazol **34**.

Poređenjem citotoksičnosti seko-cijano-alkohola **12** sa citotoksičnošću meziloksi derivata **14** i **15**, može se zaključiti da prisustvo meziloksi funkcije u položaju C-17, bez obzira na konfiguraciju, povećava antiproliferativnu aktivnost prema svim ispitivanim tumorskim ćelijskim linijama. (17S)-Meziloksi derivat **14** je potentniji prema HT-29, PC3 i

MDA-MB-231 ćelijskim linijama, dok njegov (17*R*)-epimer **15** pokazuje veću aktivnost prema MCF7, K562 i HeLa ćelijskim linijama.

U cilju utvrđivanja mehanizma smanjenja proliferacije tumorskih ćelija ispitane su morfološke promene usled apoptoze ćelija i analizirana je raspodela ćelija po fazama ćelijskog ciklusa najsenzitivnije ćelijske linije, pri čemu su najbolje rezultate pokazali tetrazol **26** i meziloksi derivat **15**.

6. SKRAĆENICE

Skraćenica	Značenje
Ac	acetil
Am	amil
Bu	butil
Bn	benzil
Boc	<i>t</i> -butiloksikarbonil
Bz	benzoi
CDMT	2-hlor-4,6-dimetoksi-1,3,5-triazin
CPBA	hlorperoksibenzoeva kiselina
DBU	1,8-diazabicikloundec-7en
DEAD	dietil-azodikarboksilat
DMAD	dimetil-acetilendikarboksilat
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMPU	1,3-dimetil-3,4,5,6-tetrahidro-2(1H)-pirimidinon
DMSO	dimetilsulfoksid
dppe	1,2-bis(difenilfosfanil)etan
Et	etil
HMPA	heksametilfosforamid
IL	jonska tečnost
Im	imidazol
Me	metil
Ms	metansulfonil (mezil)

MW	mikrotalasno ozračivanje
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NCS	<i>N</i> -hlorsukcinimid
NMO	4-metilmorfolin <i>N</i> -oksid
Ph	fenil
PMBO	4-metoksibenzil etar
PPTS	piridinium <i>p</i> -toluensulfonat
Py	piridin
TBAF	tetrabutilamonijum-fluorid
TESOTf	trietilsilil-trifluormetansulfonat
Tf	trifluormetansulfonil
THF	tetrahidrofuran
TFA	trifluorsirćetna kiselina
TMEDA	tetrametiletildiamin
TMS	trimetilsilil
Ts	toluensulfonil (tozil)

7. LITERATURA

1. Scriven, E. F. V., Turnbull, K., *Chem. Rev.* **88** (1988) 297-368.
2. Brandi, A., Cicchi, S., Cordero, F.M., Goti, A., *Chem. Rev.* **103** (2003) 1213-1269.
3. Moses, J. E., Moorhouse, A. D., *Chem. Soc. Rev.* **36** (2007) 1249-1262.
4. Gil, M. V., Arévalo, M. J., López, Ó., *Synthesis* (2007) 1589-1620.
5. Roh, J., Vávrová, K., Hrabálek, A., *Eur. J. Org. Chem.* (2012) 6101-6118.
6. Shafran, E.A., Bakulev, V.A., Rozin, Yu.A., Shafran, Yu.M., *Chem. Heterocycl. Compd.* **44** (2008) 1040-1069.
7. Pineiro, M., Pinho E Melo, T.M.V.D., *Eur. J. Org. Chem.* (2009) 5287-5307.
8. Boyer, J.H., Canter, F.C., *Chem. Rev.* **54** (1954) 1-57.
9. Bräse, S., Gil, C., Knepper, K., Zimmermann, V., *Angew. Chem., Int. Ed.* **44** (2005) 5188-5240.
10. Pardin, C., Roy, I., Lubell, W.D., Keillor, J.W., *Chem. Biol. Drug Des.* **72** (2008) 189-196.
11. Jorapur, V.S., Khalil, Z.H., Duffley, R.P., Razdan, R.K., Martin, B.R., Harris, L.S., Dewey, W.L., *J. Med. Chem.* **28** (1985) 783-787.
12. Kumar, R., Maulik, P.R., Misra, A.K., *Glycoconjugate J.* **25** (2008) 595-602.
13. Ho, J.Z., Gibson, T.S., Semple, J.Edward, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12** (2002) 743-748.
14. Patonay, T., Juhasz-Toth, E., Bényei, A., *Eur. J. Org. Chem.* (2002) 285-295.
15. Esteves, A.P., Rodrigues, L.M., Silva, M.E., Gupta, S., Oliveira-Campos, A.M.F., Machalicky, O., Mendonca, A.J., *Tetrahedron* **61** (2005) 8625-8632.
16. Štimac, A., Kobe, J., *Carbohydr. Res.* **329** (2000) 317-324.
17. Halland, N., Braunton, A., Bachmann, S., Marigo, M., Jørgensen, K.A., *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 4790 – 4791.
18. Righi, G., D'Achille, C., Pescatore, G., Bonini, C., *Tetrahedron Lett.* **44** (2003) 6999-7002.
19. Ju, Y., Kumar, D., Varma, R.S., *J. Org. Chem.* **71** (2006) 6697-6700.
20. El Moncef, A., El Hadrami, E.M., Ben-Tama, A., de Arellano, C.R., Zaballos-Garcia, E., Stiriba, S.-E., *J. Mol. Struct.* **929** (2009) 6-9.
21. Popsavin, M., Torović, L., Spaić, S., Stankov, S., Kapor, A., Tomić, Z., Popsavin, V., *Tetrahedron* **58** (2002) 569-580.
22. Pearson, W.H., Bergmeier, S.C., Williams, J.P., *J. Org. Chem.* **57** (1992) 3977-3987.
23. Vidrna, L., Černý, I., Pouzar, V., Borovská, J., Vyklický, V., Vyklický Jr., L., Chodounská, H., *Steroids* **76** (2011) 1043-1050.
24. Davis, A.P., Dresen, S., Lawless, L.J., *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 4305-4308.
25. Rokhum, L., Bez, G., *J. Chem. Sci.* **124** (2012) 687-691.
26. Liu, Q., Tor, Y., *Org. Lett.* **5** (2003) 2571-2572.
27. Eshghi, H., Bakavoli, M., Ghasemzadeh, M., *Res. Chem. Intermed.* (2013)
28. Zhu, W., Ma, D., *Chem. Commun.* **10** (2004) 888-889.
29. Tao, C.-Z., Cui, X., Li, J., Liu, A.-X., Liu, L., Guo, Q.-X., *Tetrahedron Lett.* **48** (2007) 3525-3529.

30. Breuning, A., Vicik, R., Schirmeister, T., *Tetrahedron Asymmetry* **14** (2003) 3301-3312.
31. Robins, M.J., Hawrelak, S.D., Kanai, T., Siefert, J.-M., Mengel, R., *J. Org. Chem.* **44** (1979) 1317-1322.
32. Le Hetet, C., David, M., Carreaux, F., Carboni, B., Sauleau, A., *Tetrahedron Lett.* **38** (1997) 5153-5156.
33. Oh, H.S., Hahn, H.-G., Cheon, S.H., Ha, D.-C., *Tetrahedron Lett.* **41** (2000) 5069-5072.
34. Legters, J., Thijs, L., Zwanenburg, B., *Tetrahedron* **47** (1991) 5287-5294.
35. Avemaria, F., Zimmermann, V., Bräse, S., *Synlett* (2004) 1163-1166.
36. Dahl, R. S., Finney, N. S., *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 8356-8357.
37. Ducray, R., Ciufolini, M. A., *Angew. Chem., Int. Ed.* **41** (2002) 4688-4691.
38. Zanirato, P., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (2002) 1420-1425.
39. Peng, W., Zhu, S., *Tetrahedron* **59** (2003) 4395-4404.
40. Harju, K., Vahermo, M., Mutikainen, I., Yli-Kauhaluoma, J., *J. Comb. Chem.* **5** (2003) 826-833.
41. Gouault, N., Cupif, J.-F., Sauleau, A., David, M., *Tetrahedron Lett.* **41** (2000) 7293-7297.
42. Moore, M., Norris, P., *Tetrahedron Lett.* **39** (1998) 7027-7030.
43. Katritzky, A. R., Singh, S. K., *J. Org. Chem.* **67** (2002) 9077-9079.
44. Krasinski, A., Fokin, V. V., Sharpless, K. B., *Org. Lett.* **6** (2004) 1237-1240.
45. Agard, N. J., Prescher, J. A., Bertozzi, C. R., *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 15046-15047.
46. Li, Z., Seo, T. S., Ju, J., *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 3143-3146.
47. Rostovtsev, V. V., Green, L. G., Fokin, V. V., Sharpless, K. B., *Angew. Chem., Int. Ed.* **41** (2002) 2596-2599.
48. Fehér, K., Balogh, J., Csók, Z., Kégl, T., Kollár, L., Skoda-Földes, R., *Steroids* **77** (2012) 738-744.
49. Banday, A. H., Shameem, S. A., Gupta, B. D., Kumar, H. M. S., *Steroids* **75** (2010) 801-804.
50. Pérez-Labrada, K., Brouard, I., Morera, C., Estévez, F., Bermejo, J., Rivera, D. G., *Tetrahedron* **67** (2011) 7713-7727.
51. Kádár, Z., Kovács, D., Frank, E., Schneider, G., Huber, J., Zupkó, I., Bartók, T., Wölfling, J., *Molecules* **16** (2011) 4786-4806.
52. Frank, E., Molnár, J., Zupkó, I., Kádár, Z., Wölfling, J., *Steroids* **76** (2011) 1141-1148.
53. Carpenter, W. R., *J. Org. Chem.* **27** (1962) 2085 - 2088.
54. Demko, Z. P., Sharpless, K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 2110 - 2113.
55. Demko, Z. P., Sharpless, K. B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **41** (2002) 2113 - 2116.
56. Smith, P. A. S., Clegg, J. M., Hall, J. H., *J. Org. Chem.* **23** (1958) 524 - 529.
57. Fusco, R., Garanti, L., Zecchi, G., *J. Org. Chem.* **40** (1975) 1906 - 1909.
58. Garanti, L., Zecchi, G., *J. Org. Chem.* **45** (1980) 4767 - 4769.
59. Gogoi, J., Bezbaruah, P., Saikia, P., Goswami, J., Gogoi, P., Boruah, R. C., *Tetrahedron Lett.* **53** (2012) 1497-1500.
60. Mihina, J. S., Herbst, R. M., *J. Org. Chem.* **15** (1950) 1082-1092.
61. Duncia, J. V., Pierce, M. E., Santella III, J. B., *J. Org. Chem.* **56** (1991) 2395 - 2400.
62. Alterman, M., Hallberg, A., *J. Org. Chem.* **65** (2000) 7984-7989.
63. Himo, F., Demko, Z. P., Noodleman, L., Sharpless, K. B., *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 9983-9987.

64. Wittenberger, S. J., Donner, B. G., *J. Org. Chem.* **58** (1993) 4139-4141.
65. Amantini, D., Beleggia, R., Fringuelli, F., Pizzo, F., Vaccaro, L., *J. Org. Chem.* **69** (2004) 2896-2898.
66. Franco, S. Ph.D. Thesis. University of Zaragoza (Spain). 1994.
67. Mihailović, M.Lj., Rajković, M. M., Lorenc, Lj. B., Pavlović, V. D., Milovanović, A. Ž., Tinant, B., Declercq, J.-P., *Tetrahedron* **52** (1996) 11995-12008.
68. Murray, R. W., Iyanar, K., Chen, J., Wearing, J. T., *J. Org. Chem.* **61** (1996) 8099-8102.
69. Cicchi, S., Corsi, M., Goti, A., *J. Org. Chem.* **64** (1999) 7243-7245.
70. Yokoyama, M., Sujino, K., Irie, M., Yamazaki, N., Hiyama, T., Yamada, N., Togo, H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1991) 2801-2809.
71. Frank, E., Wölfling, J., Aukszi, B., König, V., Schneider, T.R., Schneider, G., *Tetrahedron* **58** (2002) 6843-6849.
72. Mita, T., Ohtsuki, N., Ikeno, T., Yamada, T., *Org. Lett.* **4** (2002) 2457-2460.
73. Loh, B., Vozzolo, L., Mok, B.J., Lee, C.C., Fitzmaurice, R.J., Caddick, S., Fassati, A., *Chem. Biol. Drug. Des.* **75** (2010) 461-474.
74. Singh, R., Bhella, S. S., Sexana, A. K., Shanmugavel, M., Faruk, A., Ishar, M. P. S., *Tetrahedron* **63** (2007) 2283-2291.
75. Evans, D. A., Song, H.-J., Fandrick, K. R., *Org. Lett.* **8** (2006) 3351-3354.
76. Aggarwal, V. K., Roseblade, S., Alexander, R., *Org. Biomol. Chem.* **1** (2003) 684-691.
77. Werner, K. M., De Los Santos, J. M., Weinreb, S. M., Shang, M., *J. Org. Chem.* **64** (1999) 4865-4873.
78. Aly, A. A., Hopf, H., Jones, P. G., Dix, I., *Tetrahedron* **62** (2006) 4498-4505.
79. Aly, A. A., Hopf, H., Ernst, L., Dix, I., Jones, P. G., *Eur. J. Org. Chem.* (2006) 3001-3006.
80. Canterbury, D. P., Herrick, I. R., Um, J., Houk, K. N., Frontier, A. J., *Tetrahedron* **65** (2009) 3165-3179.
81. Kinugasa, M., Hashimoto, S., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1972) 466-467.
82. Stecko, S., Mames, A., Furman, B., Chmielewski, M., *J. Org. Chem.* **73** (2008) 7402-7404.
83. Bokach, N.A., Kukushkin, V.Yu., *Russ.Chem.Bull.* **55** (2006) 1869-1882.
84. Yu, Y., Watanabe, N., Ohno, M., Eguchi, S., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1995) 1417-1421.
85. Hermkens, P. H. H., Maarseveen, J. H.v., Kruse, C. G., Scheeren, H. W., *Tetrahedron* **44** (1988) 6491-6504.
86. Wagner, G., Haukka, M., Fraústo da Silva, J. J. R., Pombeiro, A. J. L., Kukushkin, V.Yu., *Inorg. Chem.* **40** (2001) 264-271.
87. Desai, B., Danks, T. N., Wagner, G., *Dalton Trans.* (2003) 2544-2549.
88. Wagner, G., *Inorg. Chim. Acta* **357** (2004) 1320-1324.
89. Wagner, G., Pombeiro, A. J. L., Kukushkin, V.Yu., *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 3106-3111.
90. Bokach, N. A., Krokhin, A. A., Nazarov, A. A., Kukushkin, V.Yu., Haukka, M., Fraústo Da Silva, J. J. R., Pombeiro, A. J. L., *Eur. J. Inorg. Chem.* (2005) 3042-3048.
91. Desai, B., Danks, T. N., Wagner, G., *Dalton Trans.* (2004) 166-171.

92. Charmier, M. A. J., Kukushkin, V. Yu., Pombeiro, A. J. L., *Dalton Trans.* (2003) 2540-2543.
93. Fershtat, L. L., Ovchinnikov, I. V., Makhova, N. N., *Tetrahedron Lett.* **55** (2014) 2398-2400.
94. Huisgen, R., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2** (1963) 565-598.
95. Chao, E. Y., Minick, D. J., Sternbach, D. D., Shearer, B. G., Collins, J. L., *Org. Lett.* **4** (2002) 323-326.
96. Quan, C., Kurth, M., *J. Org. Chem.* **69** (2004) 1470-1474.
97. Sammelson, R. E., Miller, R. B., Kurth, M. J., *J. Org. Chem.* **65** (2000) 2225-2228.
98. Just, G., Dahl, K., *Tetrahedron* **24** (1968) 5251-5269.
99. Khripach, V. A., Zhabinskii, V. N., Tsavlovskii, D. N., Drachenova, O. A., Ivanova, G. V., Konstantinova, O. V., Zavadskaya, M. I., Lyakhov, A. S., Govorova, A. A., Groen, M. B., De Groot, A. *Steroids* **66** (2001) 569-579.
100. Han, X., Natale, N. R., *J. Heterocycl. Chem.* **38** (2001) 415-418.
101. Hansen, T. V., Wu, P., Fokin, V. V., *J. Org. Chem.* **70** (2005) 7761-7764.
102. Singh, I., Zarafshani, Z., Lutz, J.-F., Heaney, F., *Macromolecules* **42** (2009) 5411-5413.
103. Koufaki, M., Fotopoulou, T., Heropoulos, G. A., *Ultrason. Sonochem.* **21** (2014) 35-39.
104. Han, X., Twamley, B., Natale, N. R., *J. Heterocycl. Chem.* **40** (2003) 539-545.
105. Mukaiyama, T.; Hoshino, T., *J. Am. Chem. Soc.* **82** (1960) 5339-5342.
106. Kantorowski, E. J., Kurth, M. J., *J. Org. Chem.* **62** (1997) 6797-6803.
107. Wankhede, K. S., Vaidya, V. V., Suriyanarayanan, H., Salunkhe, M. M., Trivedi, G. K., *Tetrahedron Lett.* **49** (2008) 2069-2073.
108. Das, B., Holla, H., Mahender, G., Banerjee, J., Ravinder Reddy, M., *Tetrahedron Lett.* **45** (2004) 7347-7350.
109. Banerjee, R., Maiti, S., Dhara, D., *Green Chem.* **16** (2014) 1365-1373.
110. Romanski, J., Nowak, P., Chapuis, C., Jurczak, J., *Tetrahedron: Asymmetry* **22** (2011) 787-790.
111. Gutmiedl, K., Wirges, C. T., Ehmke, V., Carell, T., *Org. Lett.* **11** (2009) 2405-2408.
112. Ranjith Kumar, R., Perumal, S., Menéndez, J.C., Yogeewari, P., Sriram, D., *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 3444-3450.
113. Tóth, M., Kun, S., Bokor, E., Benlifa, M., Tallec, G., Vidal, S., Docsa, T., Gergely, P., Somsák, L., Praly, J.-P., *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 4773-4785.
114. Pirc, S., Bevk, D., Golic Grdadolnik, S., Svete, J., *Arkivoc* (2003) 37-48.
115. Bokach, N. A., Khripoun, A. V., Kukushkin, V. Yu., Haukka, M., Pombeiro, A. J. L., *Inorg. Chem.* **42** (2003) 896-903.
116. Bokach, N. A., Kukushkin, V. Yu., Haukka, M., Pombeiro, A. J. L., *Eur. J. Inorg. Chem.* (2005) 845-853.
117. Ostrovskii, V. A., Trifonov, R. E., Popova, E. A., *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **61** (2012) 768-780.
118. Trifonov, R. E., Ostrovskii, V. A., *Russ. J. Org. Chem. (Engl. Transl.)* **42** (2006) 1585-1605.
119. Trifonov, R. E., Trukhnitskaya, M. V., Tarkhanova, A. A., Vikhrova, I. A., Ostrovskii, V. A., *Russ. J. Org. Chem. (Engl. Transl.)* **42** (2006) 1059-1062.
120. Herr, R. J., *Bioorg. Med. Chem.* **10** (2002) 3379-3393.

121. Tong, Y., Olczak, J., Zabrocki, J., Gershengorn, M. C., Marshall, G. R., Moeller, K. D., *Tetrahedron* **56** (2000) 9791-9800.
122. Zabrocki, J., Dunbar Jr., J. B., Marshall, K. W., Toth, M. V., Marshall, G. R., *J. Org. Chem.* **57** (1992) 202-209.
123. Zabrocki, J., David Smith, G., Dunbar Jr., J. B., Iijima, H., Marshall, G. R., *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 5875-5880.
124. Le Bourdonnec, B., Meulon, E., Yous, S., Goossens, J.-F., Houssin, R., Hénichart, J.-P., *J. Med. Chem.* **43** (2000) 2685-2697.
125. Turgeon, J., *Can. J. Clin. Pharmacol.* **5** (1998) 14-22.
126. Johansson, A., Poliakov, A., Åkerblom, E., Wiklund, K., Lindeberg, G., Winiwarter, S., Danielson, U. H., Samuelsson, B., Hallberg, A., *Bioorg. Med. Chem.* **11** (2003) 2551-2568.
127. Poliakov, A., Johansson, A., Åkerblom, E., Oscarsson, K., Samuelsson, B., Hallberg, A., Danielson, U. H., *Biochim. Biophys. Acta* **1672** (2004) 51-59.
128. Perni, R. B., Pitlik, J., Britt, S. D., Court, J. J., Courtney, L. F., Deininger, D. D., Farmer, L. J., Gates, C. A., Harbeson, S. L., Levin, R. B., Lin, C., Lin, K., Moon, Y.-C., Luong, Y.-P., O'Malley, E. T., Rao, B. G., Thomson, J. A., Tung, R. D., Van Drie, J. H., Wei, Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14** (2004) 1441-1446.
129. Chang, C.-S., Lin, Y.-T., Shih, S.-R., Lee, C.-C., Lee, Y.-C., Tai, C.-L., Tseng, S.-N., Chern, J.-H., *J. Med. Chem.* **48** (2005) 3522-3535.
130. Sottriffer, C. A., Ni, H., McCammon, J. A., *J. Med. Chem.* **43** (2000) 4109-4117.
131. Ni, H., Sottriffer, C. A., McCammon, J. A., *J. Med. Chem.* **44** (2001) 3043-3047.
132. Schames, J. R., Henchman, R. H., Siegel, J. S., Sottriffer, C. A., Ni, H., McCammon, J. A., *J. Med. Chem.* **47** (2004) 1879-1881.
133. Huang, M., Richards, W. G., Grant, G. H., *J. Phys. Chem. A* **109** (2005) 5198-5202.
134. Dayam, R., Sanchez, T., Neamati, N., *J. Med. Chem.* **48** (2005) 8009-8015.
135. Jiang, T., Kuhen, K. L., Wolff, K., Yin, H., Bieza, K., Caldwell, J., Bursulaya, B., Tuntland, T., Zhang, K., Karanewsky, D., He, Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 2109-2112.
136. Muraglia, E., Kinzel, O. D., Laufer, R., Miller, M. D., Moyer, G., Munshi, V., Orvieto, F., Palumbi, M. C., Pescatore, G., Rowley, M., Williams, P. D., Summa, V., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 2748-2752.
137. Kumar, C. N. S. S. P., Parida, D. K., Santhoshi, A., Kota, A. K., Sridhar, B., Rao, V. J., *Med. Chem. Commun.* **2** (2011) 486-492.
138. Moreno, V., Lorenzo, J., Aviles, F. X., Garcia, M. H., Ribeiro, J. P., Morais, T. S., Florindo, P., Robalo, M. P., *Bioinorg. Chem. Appl.* **2010** (2010) 1-11.
139. Simoni, D., Grisolia, G., Giannini, G., Roberti, M., Rondanin, R., Piccagli, L., Baruchello, R., Rossi, M., Romagnoli, R., Invidiata, F. P., Grimaudo, S., Jung, M. K., Hamel, E., Gebbia, N., Crosta, L., Abbadessa, V., Di Cristina, A., Dusonchet, L., Meli, M., Tolomeo, M., *J. Med. Chem.* **48** (2005) 723-736.
140. Kamal, A., Surendranadha Reddy, J., Janaki Ramaiah, M., Dastagiri, D., Vijaya Bharathi, E., Ameruddin Azhar, M., Sultana, F., Pushpavalli, S. N. C. V. L., Pal-Bhadra, M., Juvekar, A., Sen, S., Zingde, S., *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 3924-3937.
141. Saravanan, G., Alagarsamy, V., Dineshkumar, P., *Arch. Pharmacol. Res.* (2013) 1-11.

142. Schmidtke, M., Wutzler, P., Zieger, R., Riabova, O. B., Makarov, V. A., *Antiviral Res.* **81** (2009) 56-63.
143. Gaković, A. R., Djurendić Brenesel, M. Dj., Djurendić, E. A., Penov Gaši, K. M., Sakač, M. N., *Hem. Ind.* **64** (2010) 81-84.
144. Penov Gaši, K. M., Stanković, S. M., Csanádi, J. J., Djurendić, E. A., Sakač, M. N., Medić Mijačević, L., Arcson, O. N., Stojanović, S. Z., Andrić, S., Molnar Gabor, D., Kovačević, R., *Steroids* **66** (2001) 645-653.
145. Miljković, D. A., Gaši, K. M., *Bull. Soc. Chim.* **46** (1981) 263-268.
146. Miljković, D., Petrović, J., Stajić, M., Miljković, M., *J. Org. Chem.* **38** (1973) 3585-3588.
147. Penov-Gaši, K., Stojanović, S., Sakač, M., Djurendić, E., Jovanović-Šanta, S., Stanković, S., Andrić, N., Popsavin, M., *J. Serb. Chem. Soc.* **68** (2003) 707-714.
148. Nikolić, A., Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu (Srbija) 2014.
149. Sakač, M. N., Miljković, D. A., Penov Gaši, K. M., Popsavin, M., Klisurić, O. R., Stanković, S. M., Andrić, S., Kovačević, R., *Collect. Czech. Chem. Commun.* **70** (2005) 63-71.
150. Litvan, F., Robinson, R., *J. Chem. Soc.* (1938) 1997-2001.
151. Jovanović-Šanta, S., Andrić, S., Kovacević, R., Pejanović, V., *Collect. Czech. Chem. Commun.* **70** (2000) 77-82.
152. Campbell, M. M., Johnson, G., *Chem. Rev.* **78** (1978) 65-79.
153. Barot, N. R., Elvidge, J. A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1972) 1009-1014.
154. Mosmann, T., *J. Immunol. Meth.* **65** (1983) 55-63.
155. Penov-Gaši, K. M., Oklješa, A. M., Petri, E. T., Čelić, A. S., Djurendić, E. A., Klisurić, O. R., Csanadi, J. J., Batta, G., Nikolić, A. R., Jakimov, D. S., Sakač, M. N., *MedChemComm* **4** (2013) 317-323.
156. Oklješa, A. M., Jovanović-Šanta, S. S., Klisurić, O. R., Sakač, M. N., Djurendić, E. A., Jakimov, D. S., Aleksić, L. D., Penov Gaši, K. M., *J. Braz. Chem. Soc.* **24** (2013) 1613-1622.

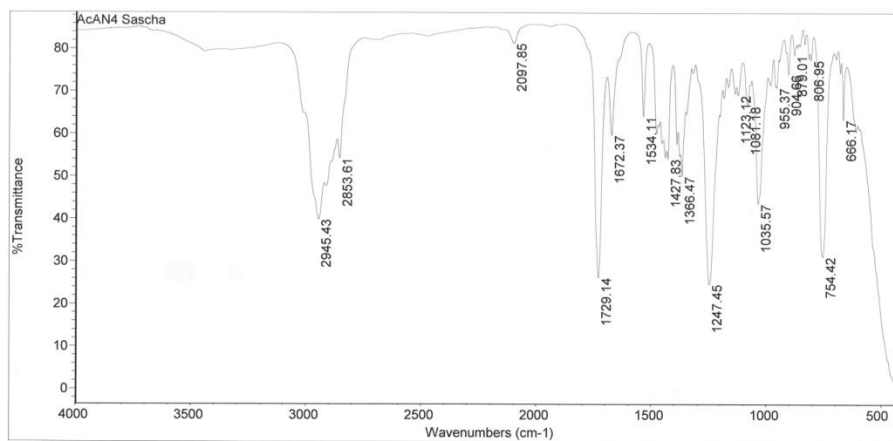
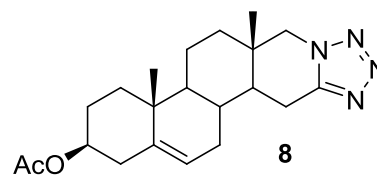
Aleksandar Oklješa

**Sinteza i biološka aktivnost novih steroidnih
heterocikličnih jedinjenja**

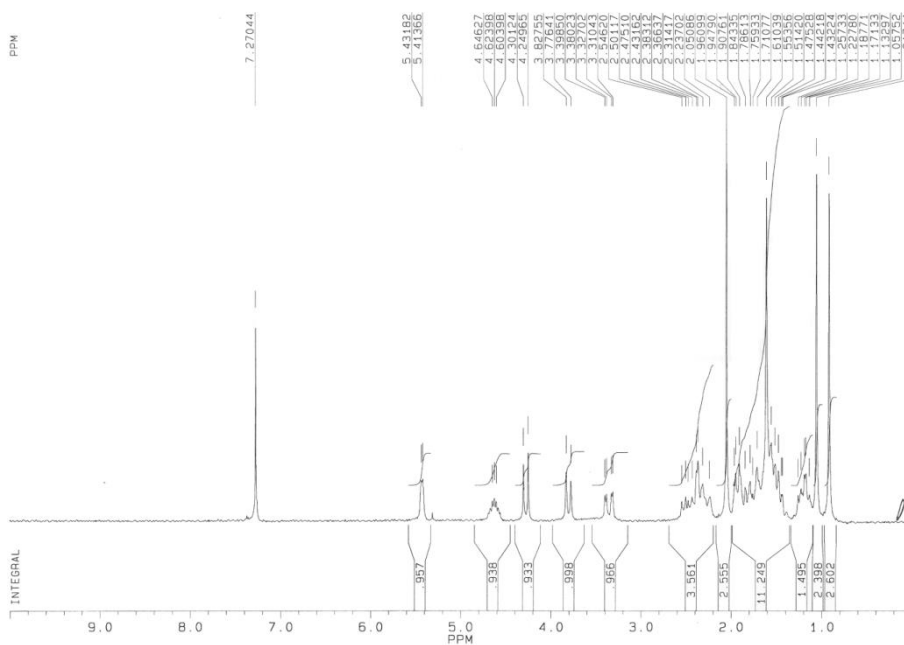
Doktorska disertacija

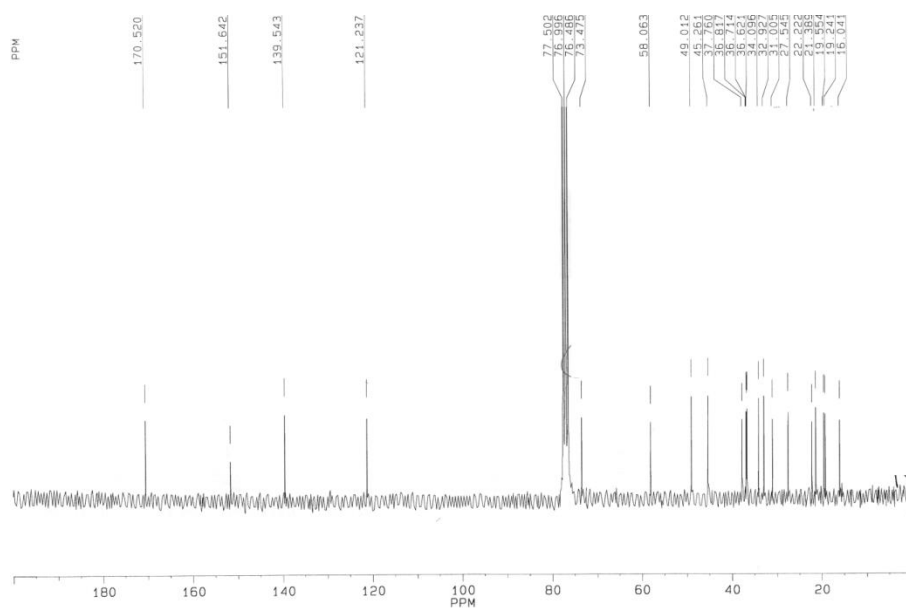
9. Prilog

(IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri novosintetizovanih jedinjenja)

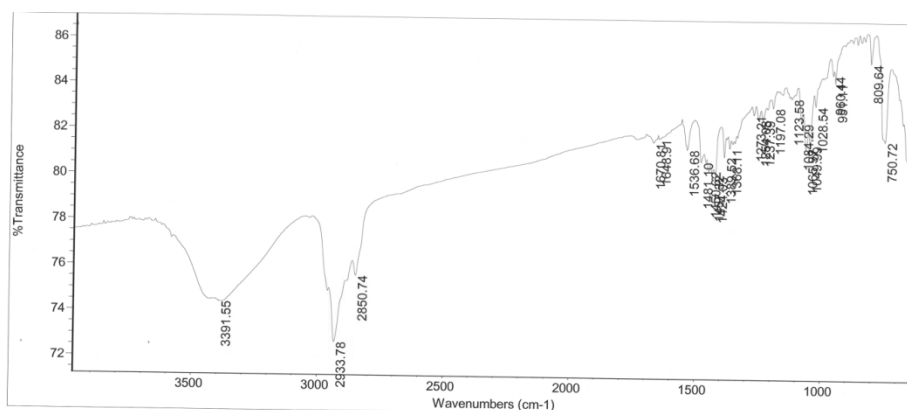
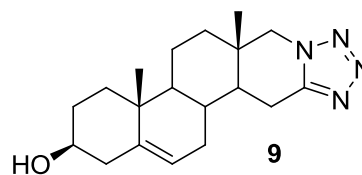
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 8

Slika 1. IR spektar jedinjenja 8

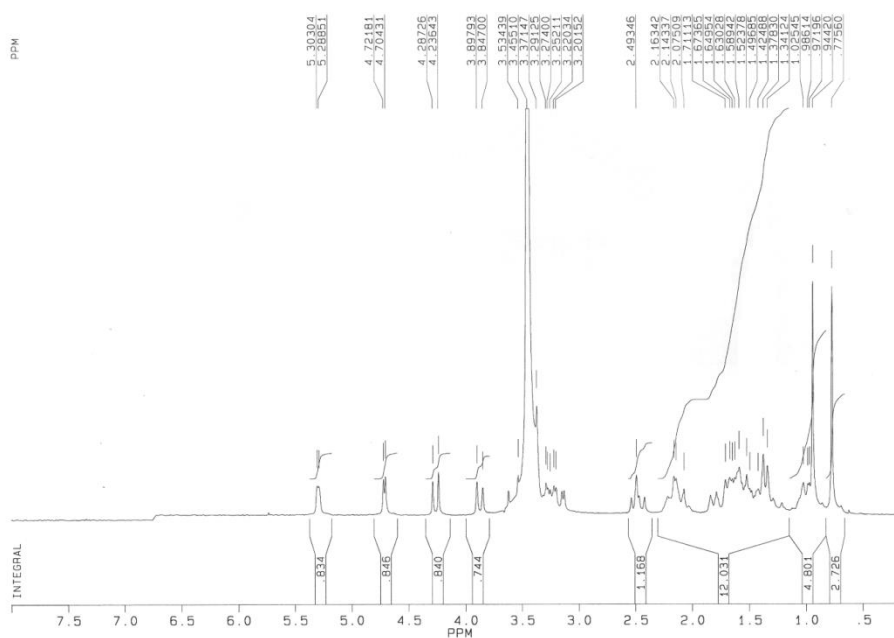
Slika 2. ^1H NMR spektar jedinjenja 8

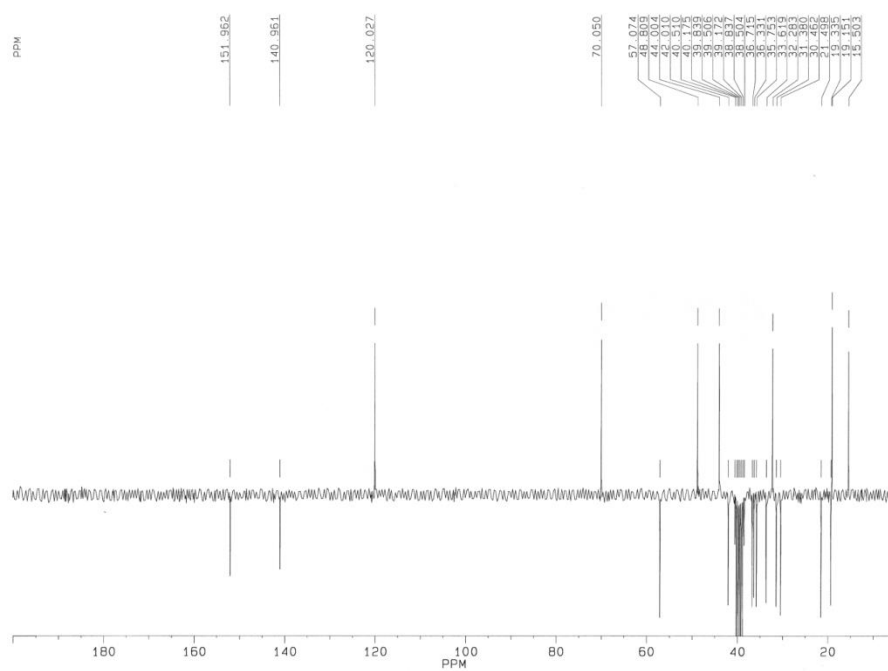


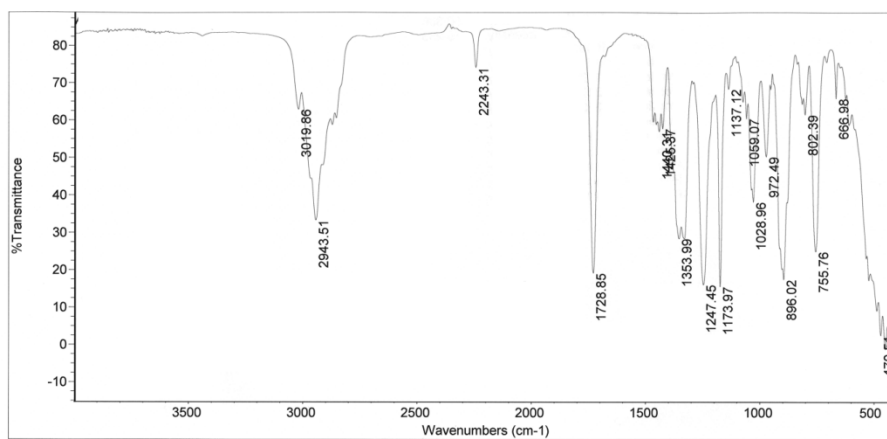
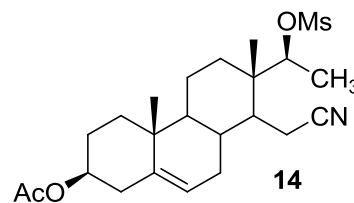
Slika 3. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 8

IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 9

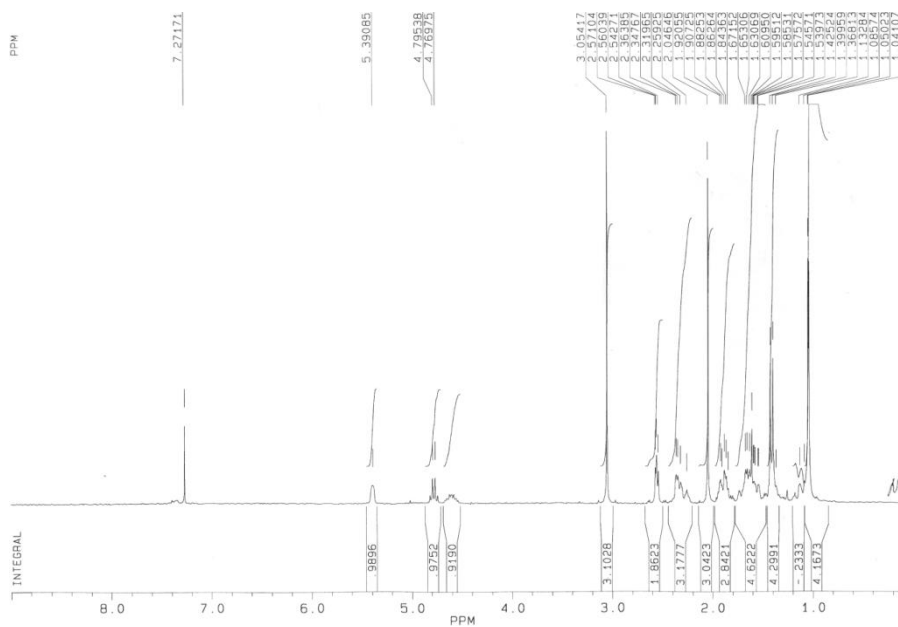
Slika 4. IR spektar jedinjenja 9

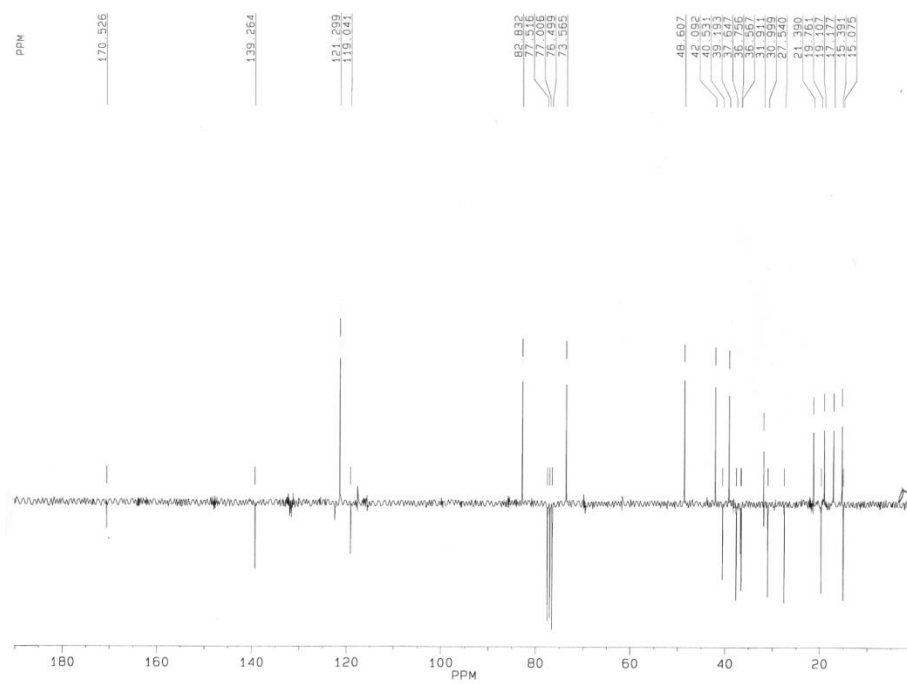
Slika 5. ^1H NMR spektar jedinjenja 9

Slika 6. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 9

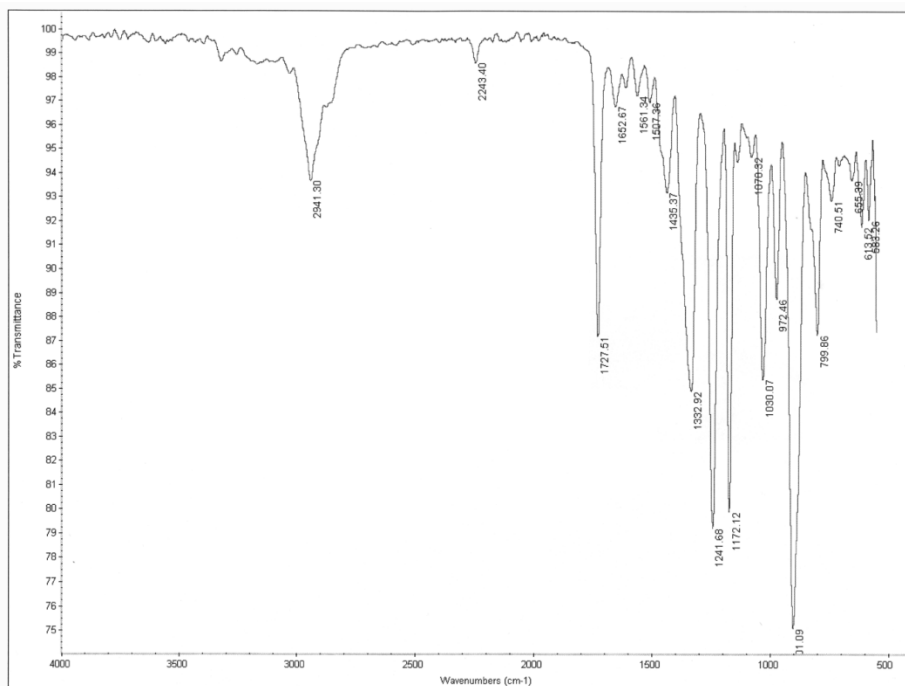
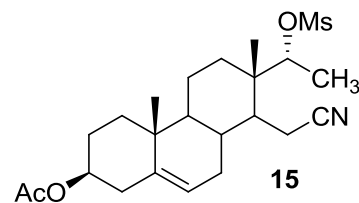
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 14

Slika 7. IR spektar jedinjenja 14

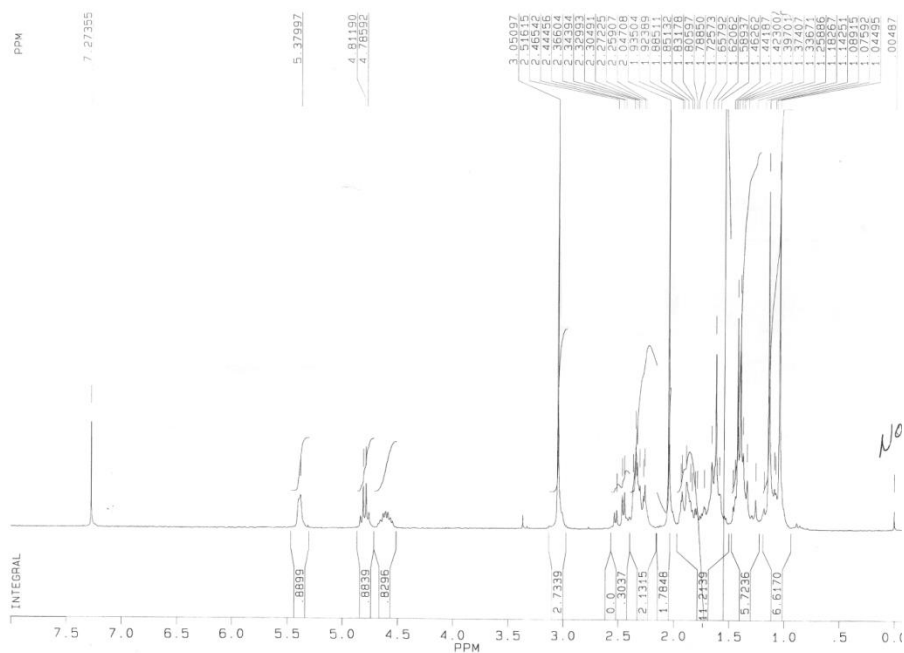
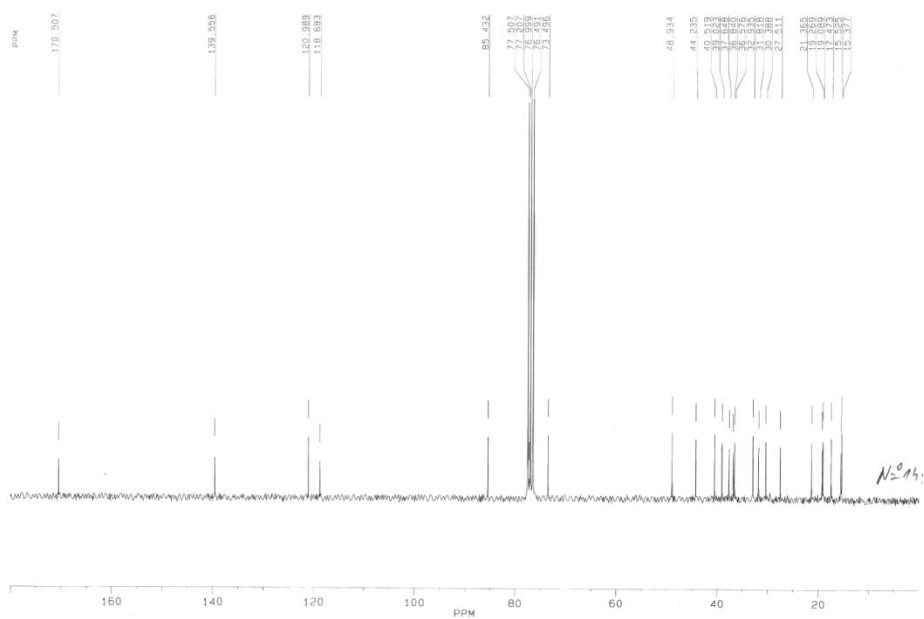
Slika 8. ^1H NMR spektar jedinjenja 14

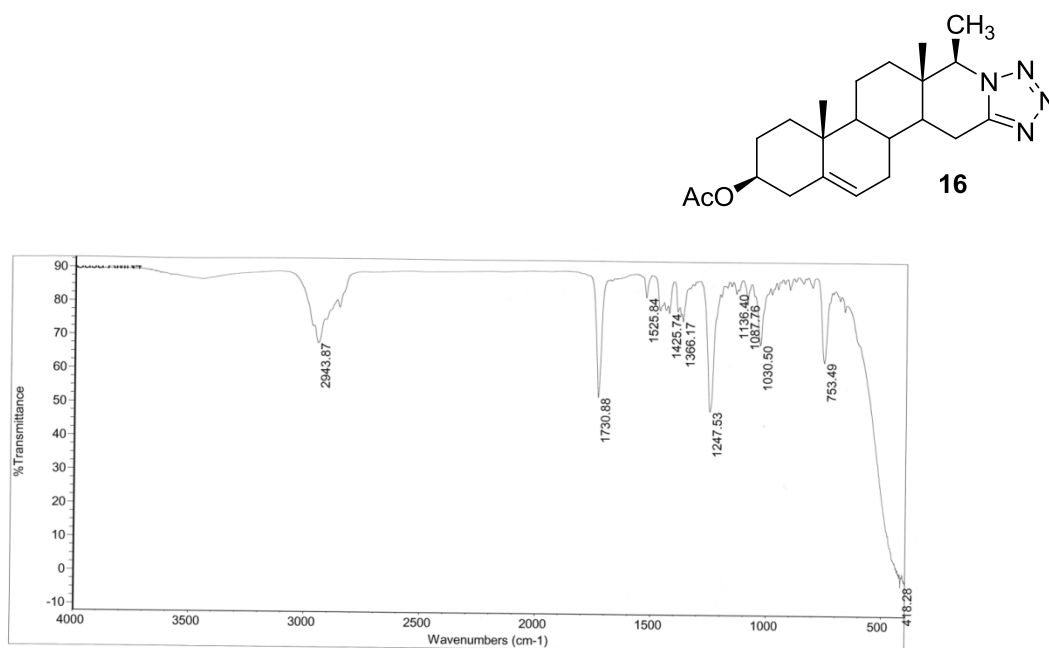


Slika 9. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **14**

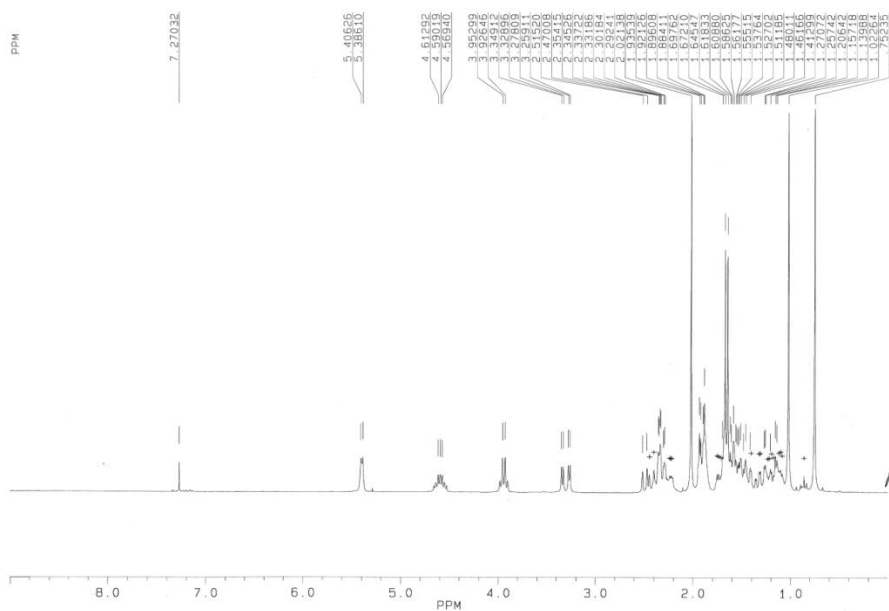
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 15

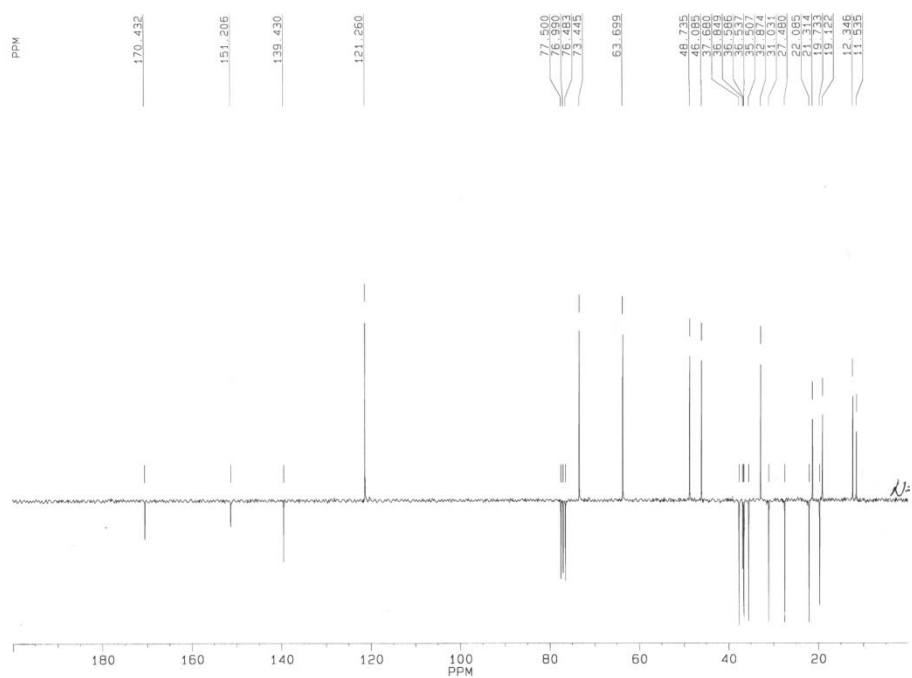
Slika 10. IR spektar jedinjenja 15

Slika 11. ^1H NMR spektar jedinjenja 15Slika 12. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 15

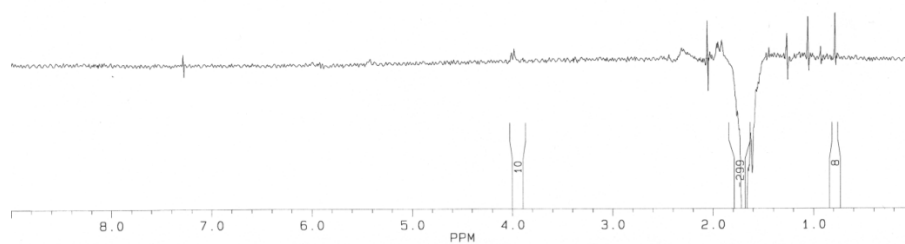
IR, ^1H , ^1H NOE i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 16

Slika 13. IR spektar jedinjenja 16

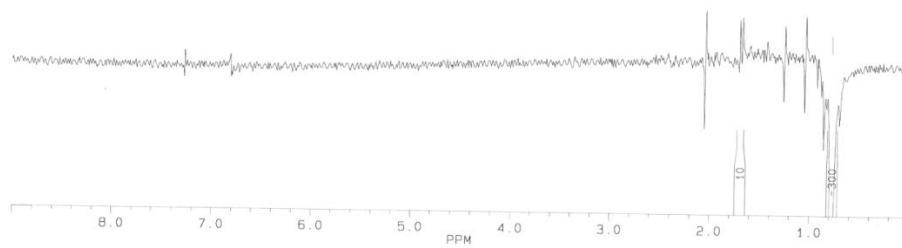
Slika 14. ^1H NMR spektar jedinjenja 16



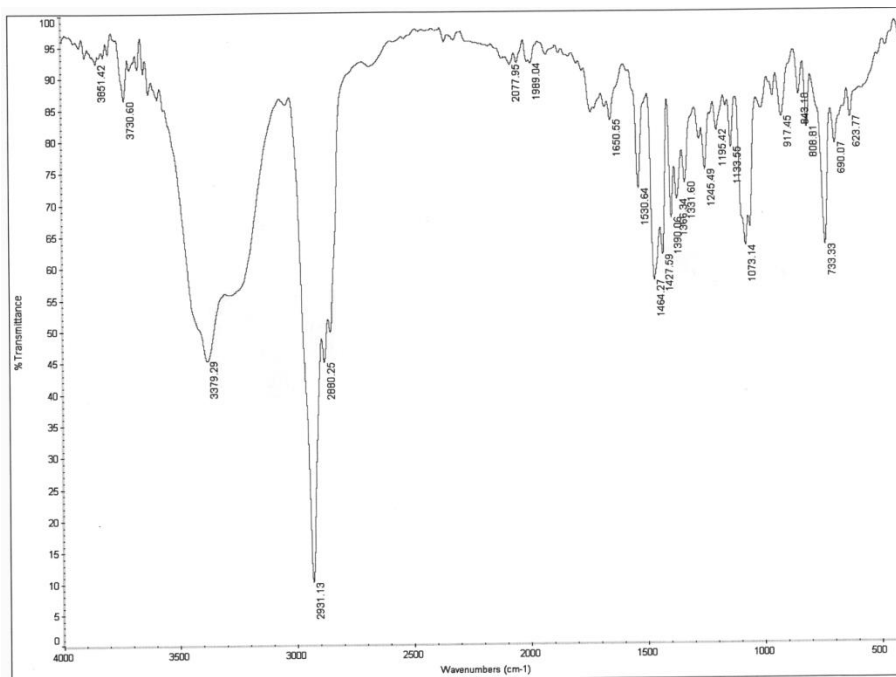
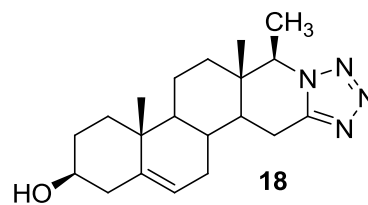
Slika 15. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 16



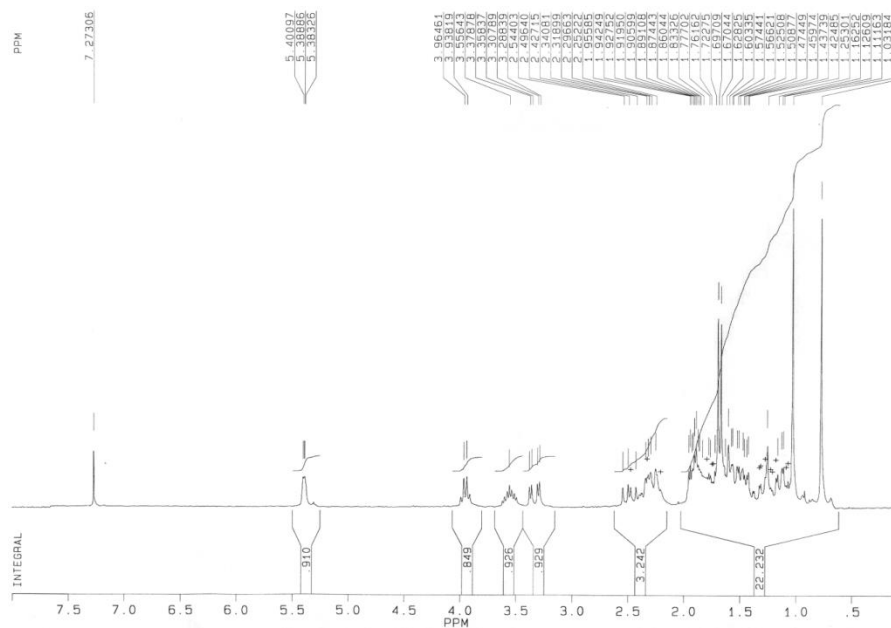
Slika 16. ^1H NMR spektar jedinjenja 16



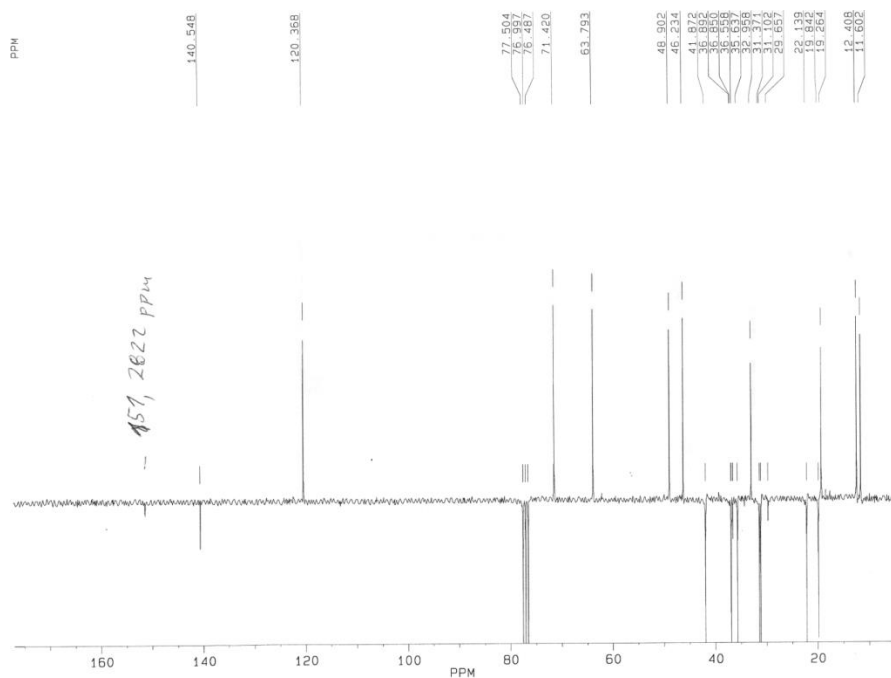
Slika 17. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja **16**

IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 18

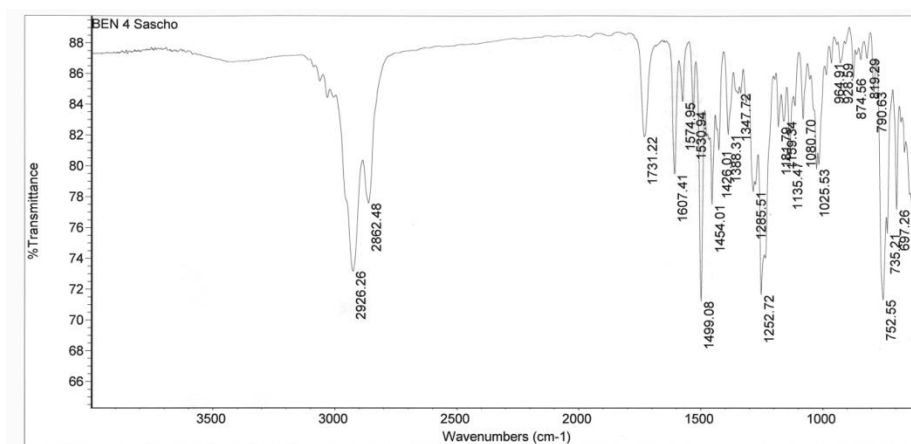
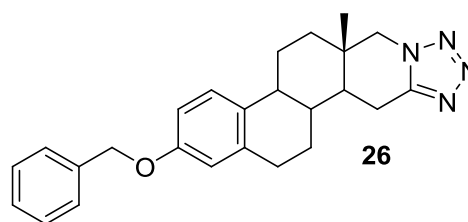
Slika 18. IR spektar jedinjenja 18



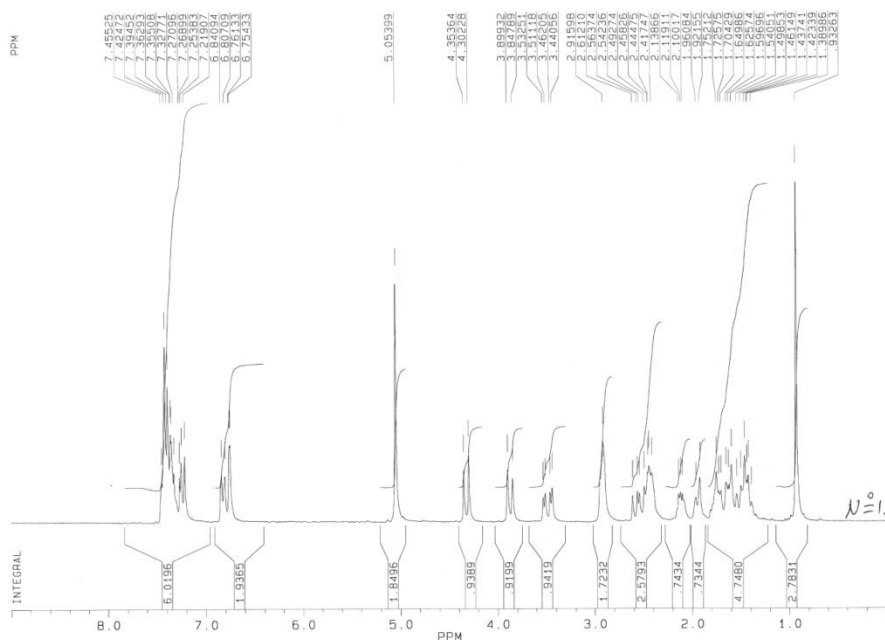
Slika 19. ^1H NMR spektar jedinjenja 18

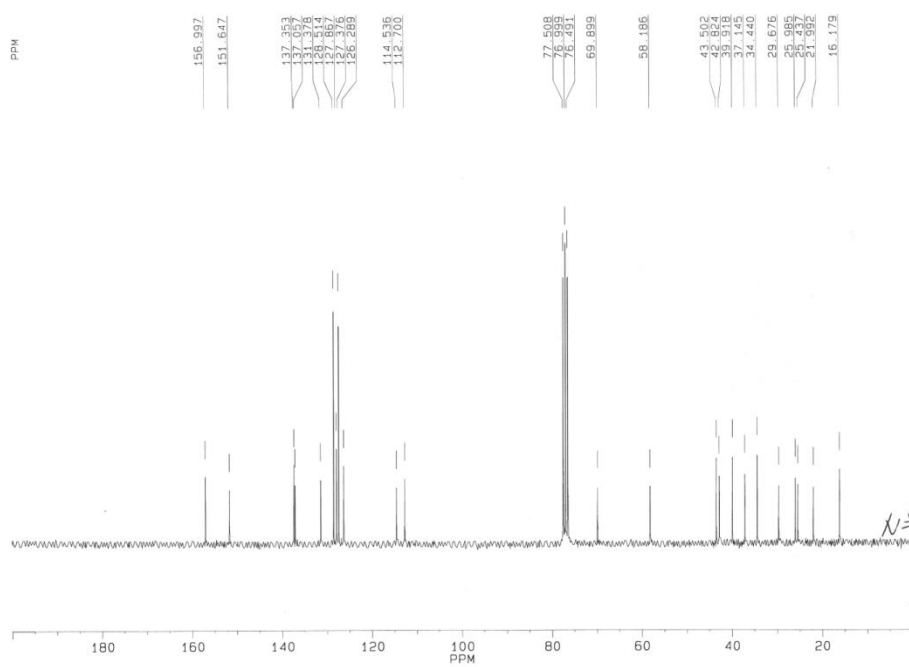


Slika 20. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 18

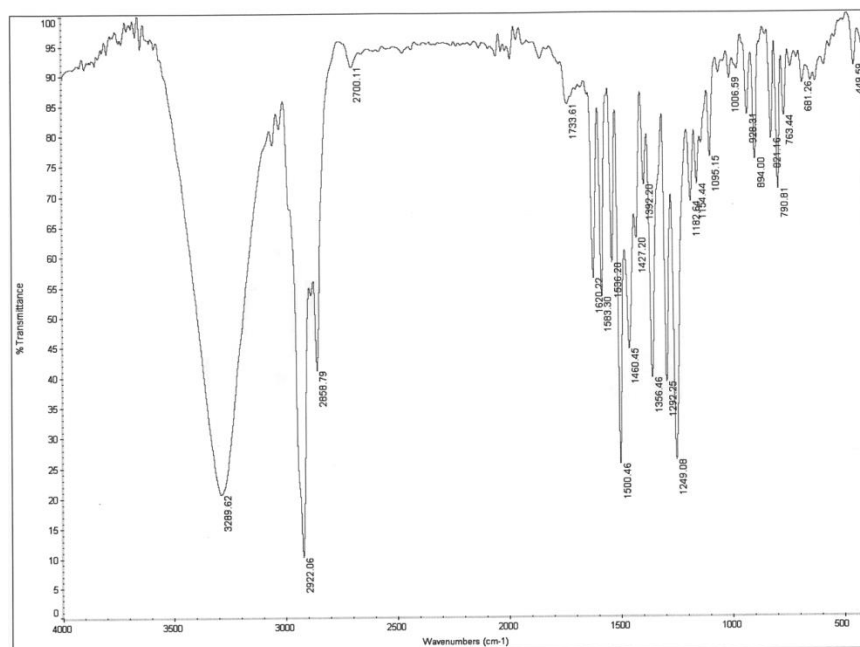
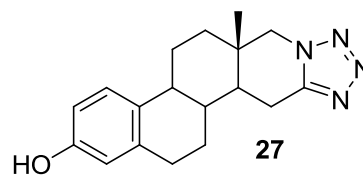
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 26

Slika 21. IR spektar jedinjenja 26

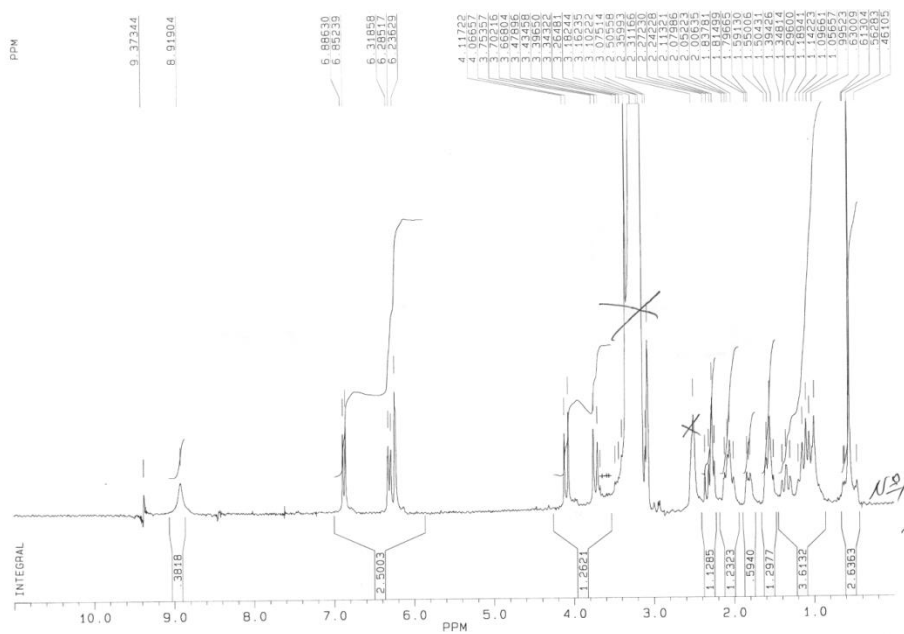
Slika 22. ^1H NMR spektar jedinjenja 26

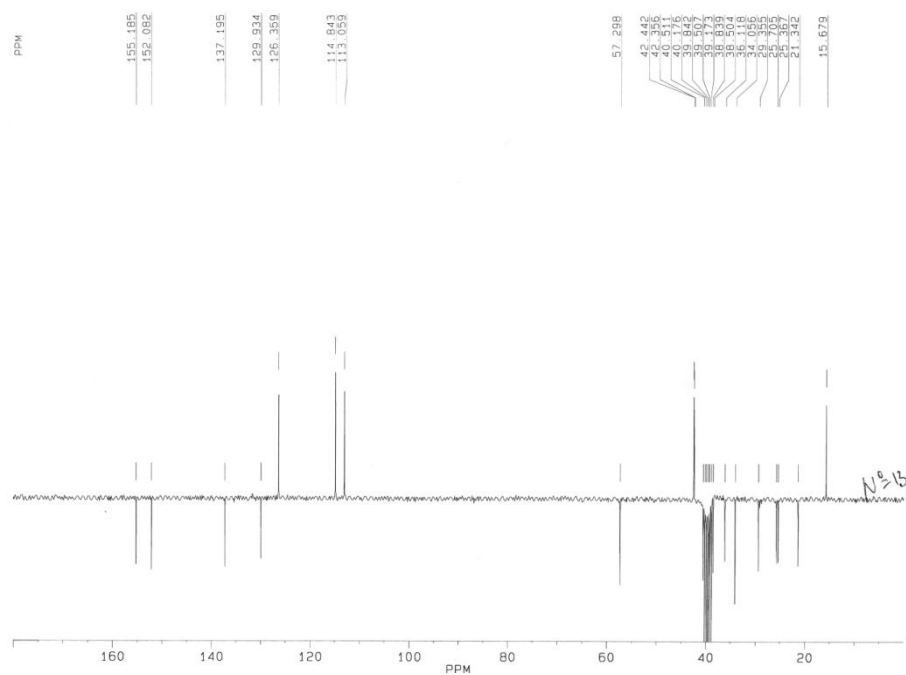


Slika 23. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 26

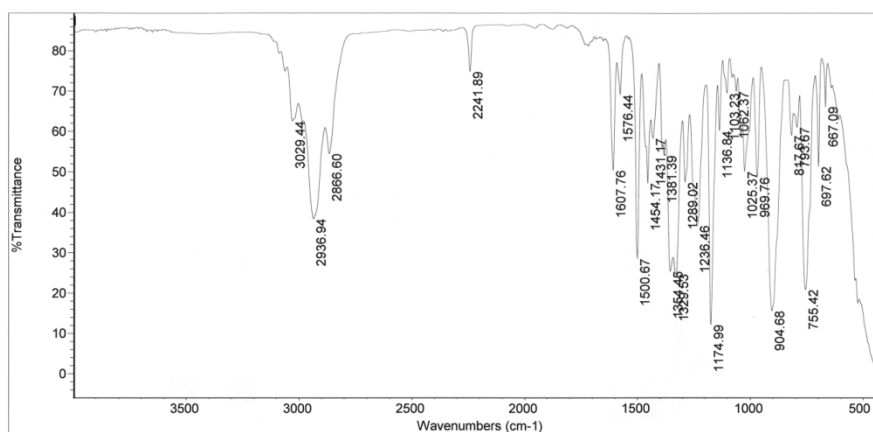
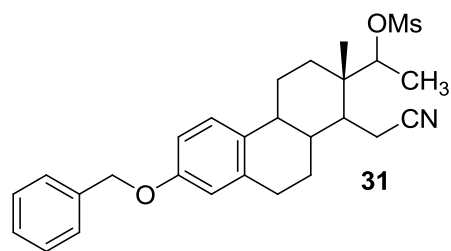
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 27

Slika 24. IR spektar jedinjenja 27

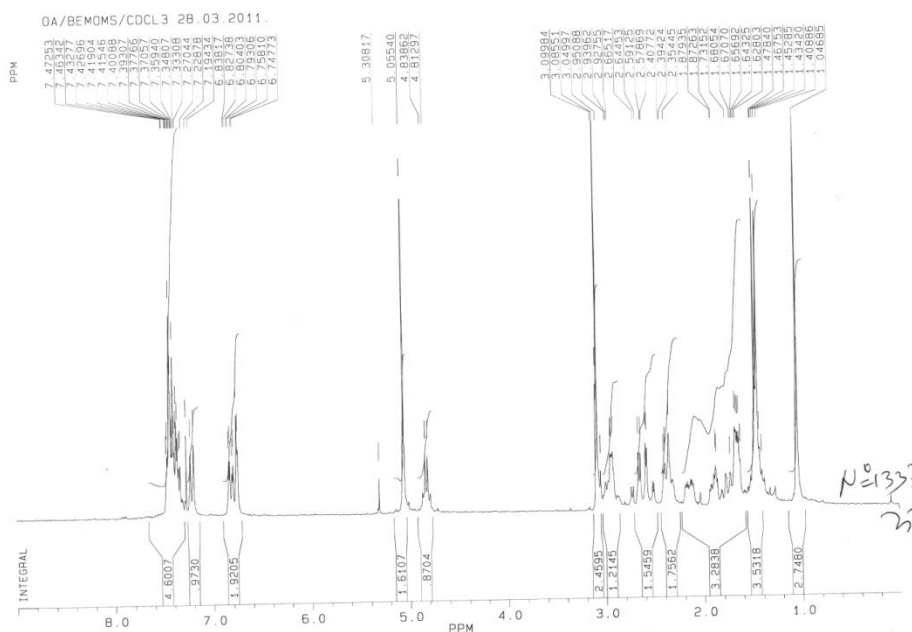
Slika 25. ^1H NMR spektar jedinjenja 27

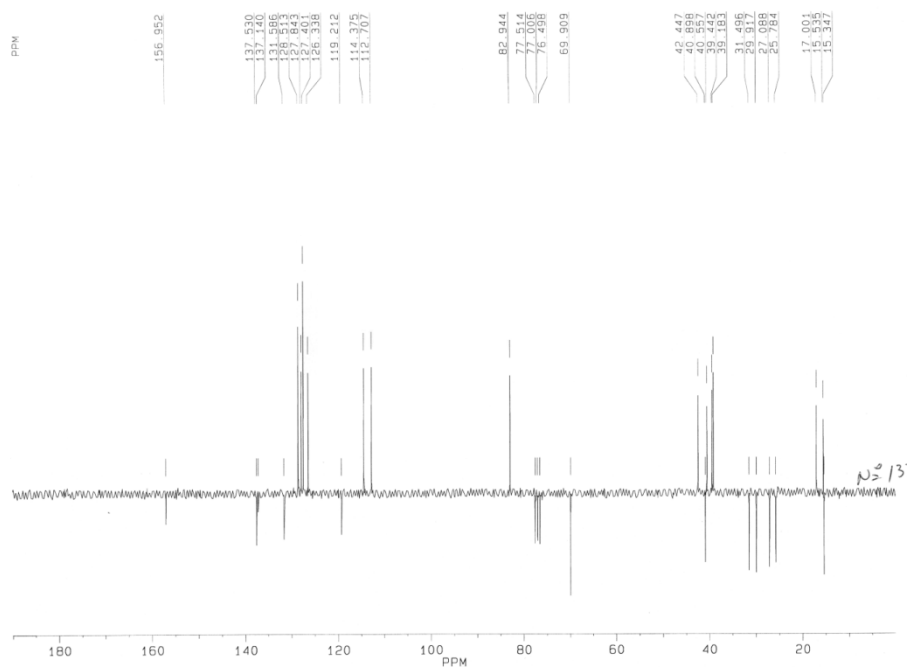


Slika 26. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **27**

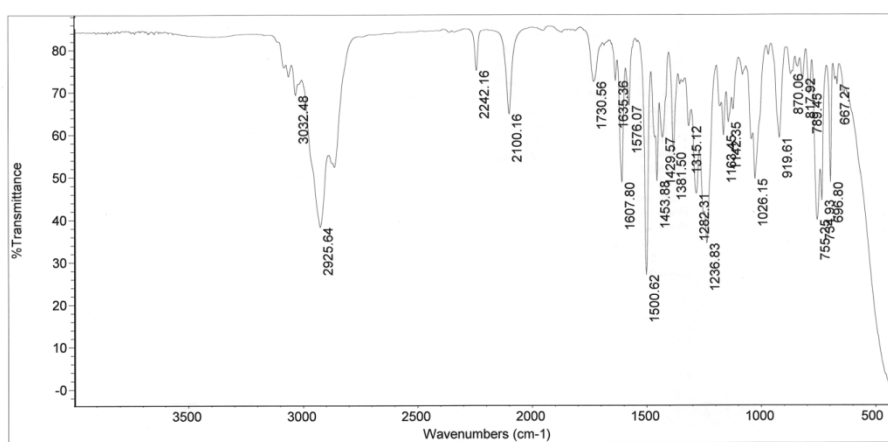
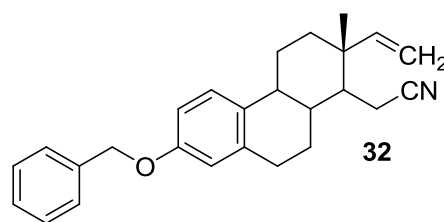
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 31

Slika 27. IR spektar jedinjenja 31

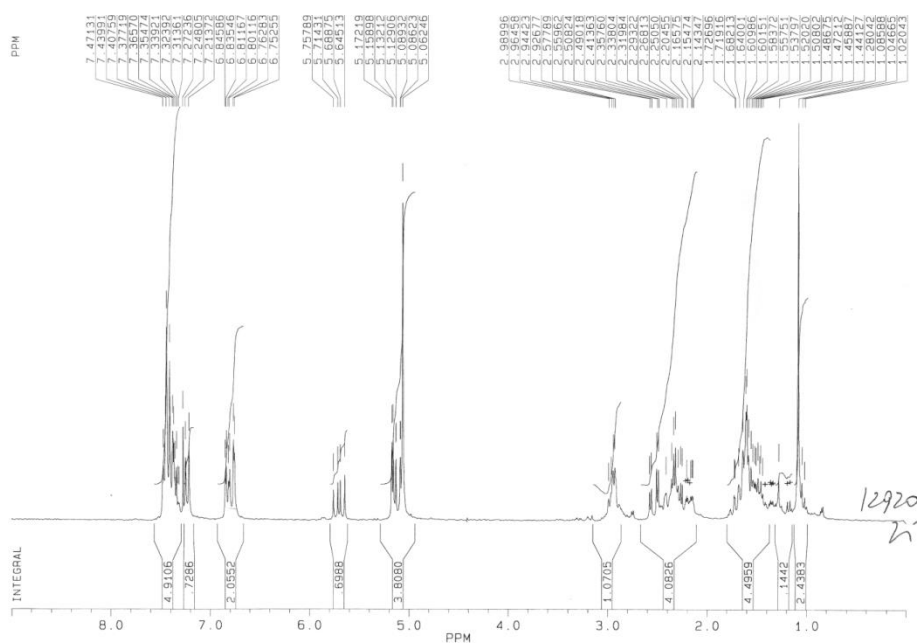
Slika 28. ^1H NMR spektar jedinjenja 31

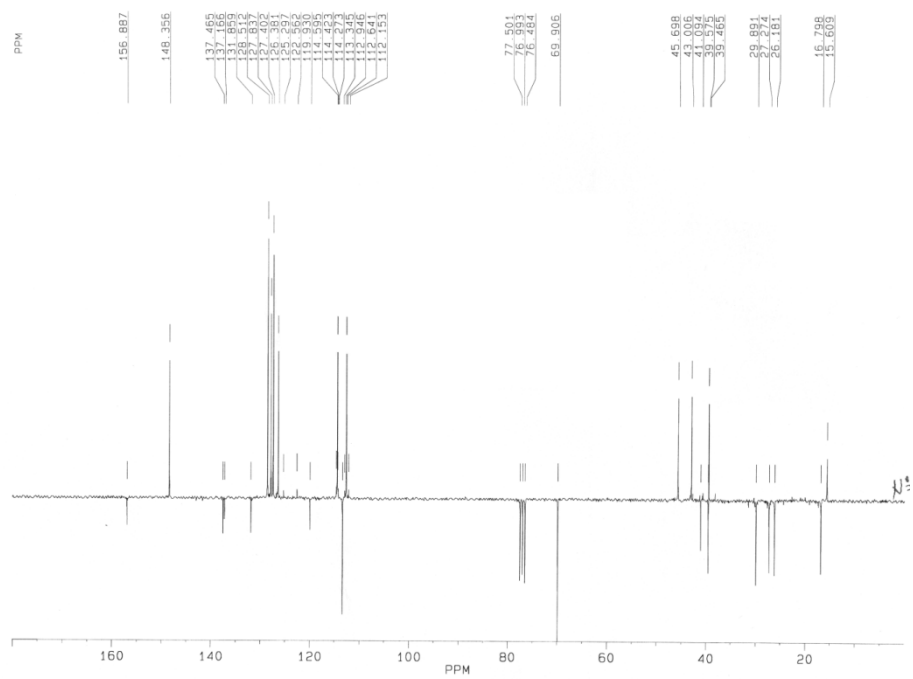


Slika 29. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **31**

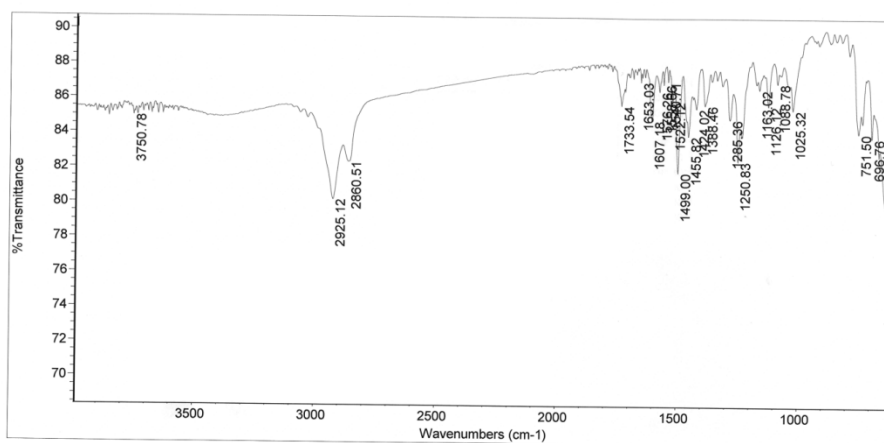
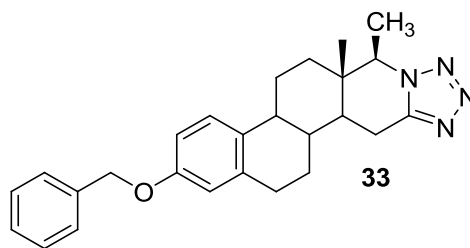
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 32

Slika 30. IR spektar jedinjenja 32

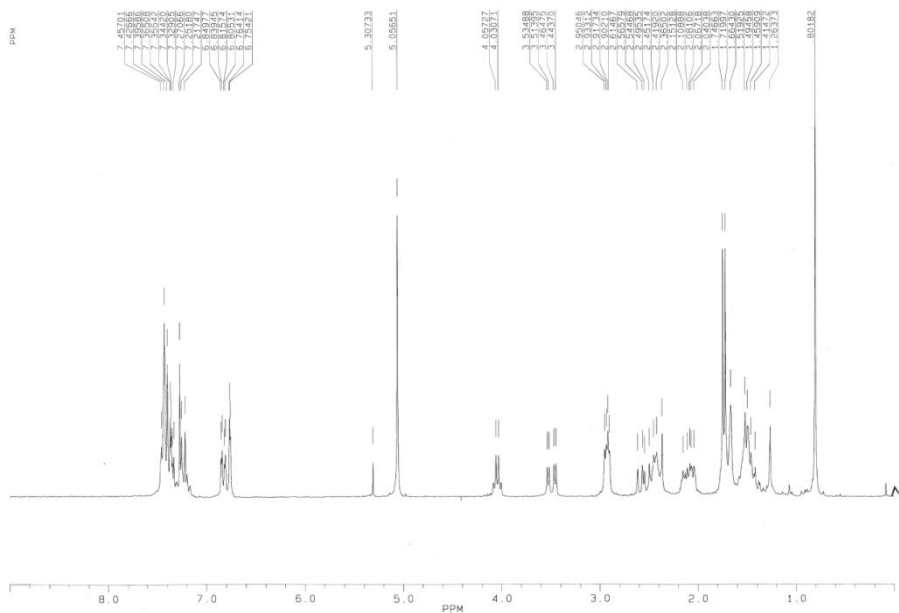
Slika 31. ^1H NMR spektar jedinjenja 32

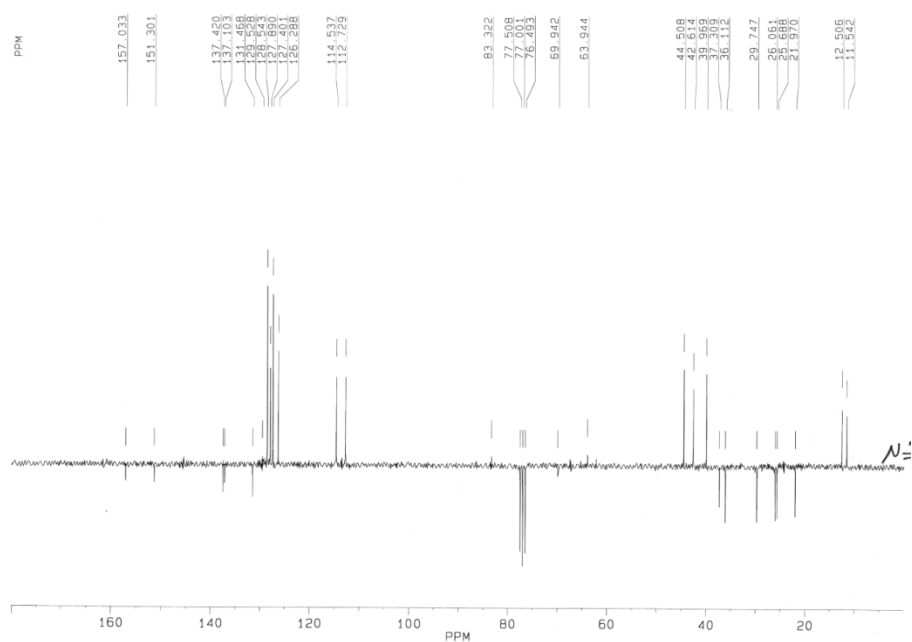


Slika 32. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 32

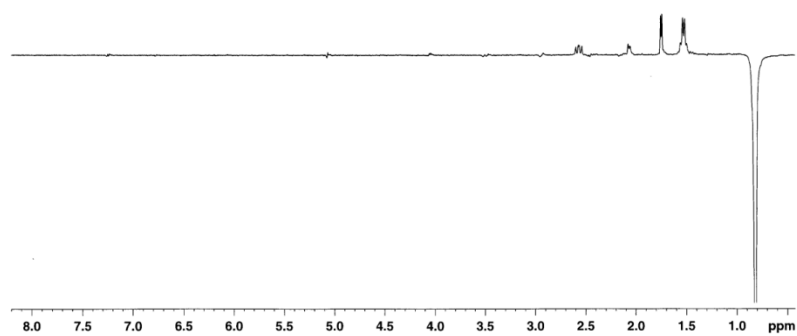
IR, ^1H , ^1H NOE i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 33

Slika 33. IR spektar jedinjenja 33

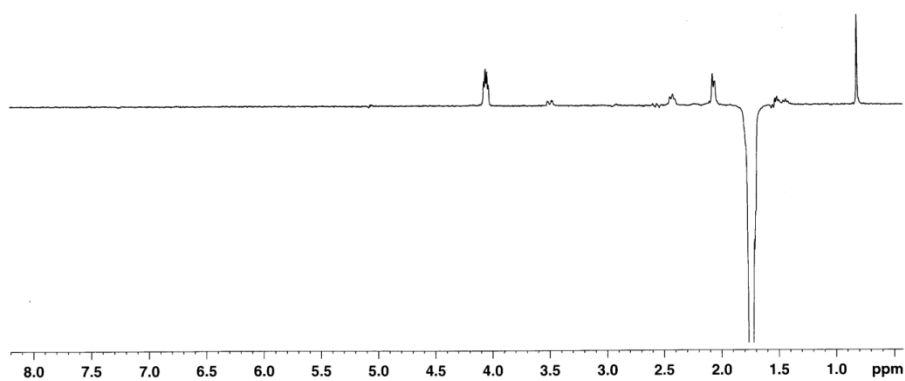
Slika 34. ^1H NMR spektar jedinjenja 33



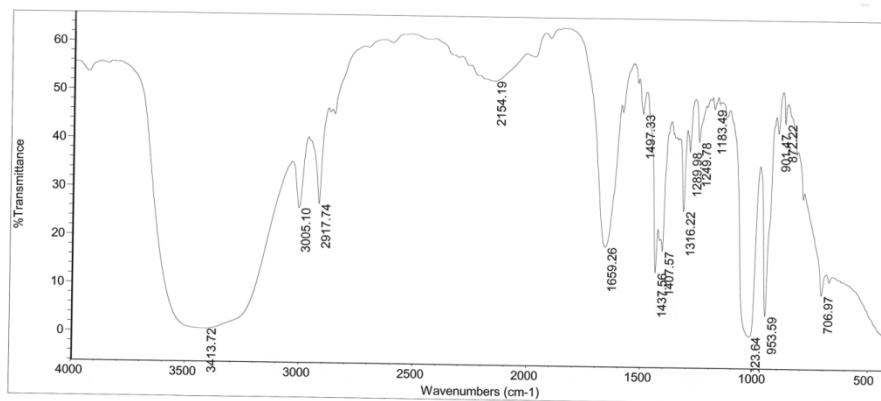
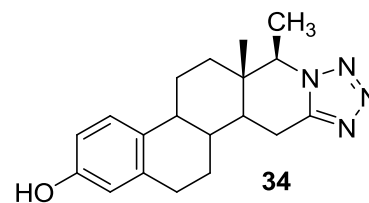
Slika 35. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 33



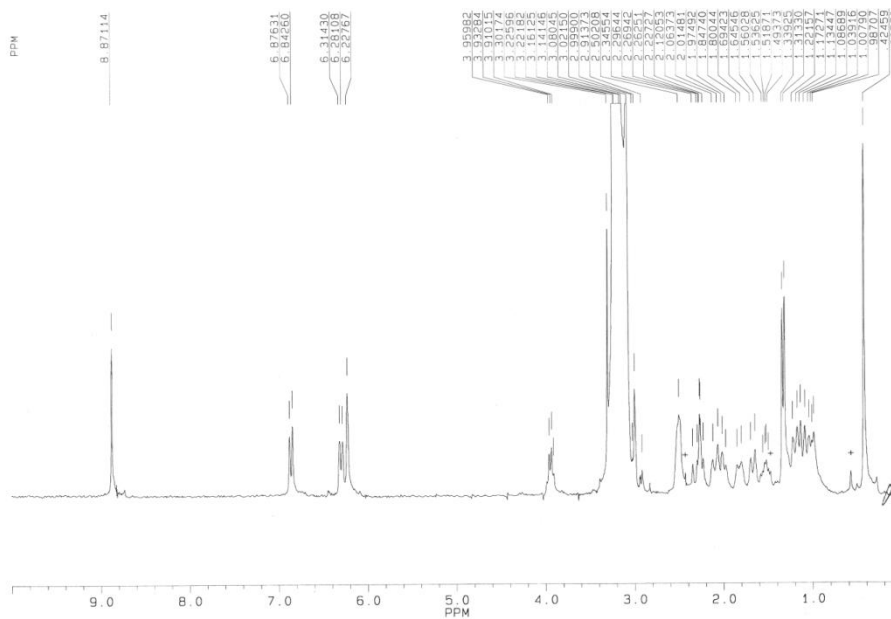
Slika 36. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja 33

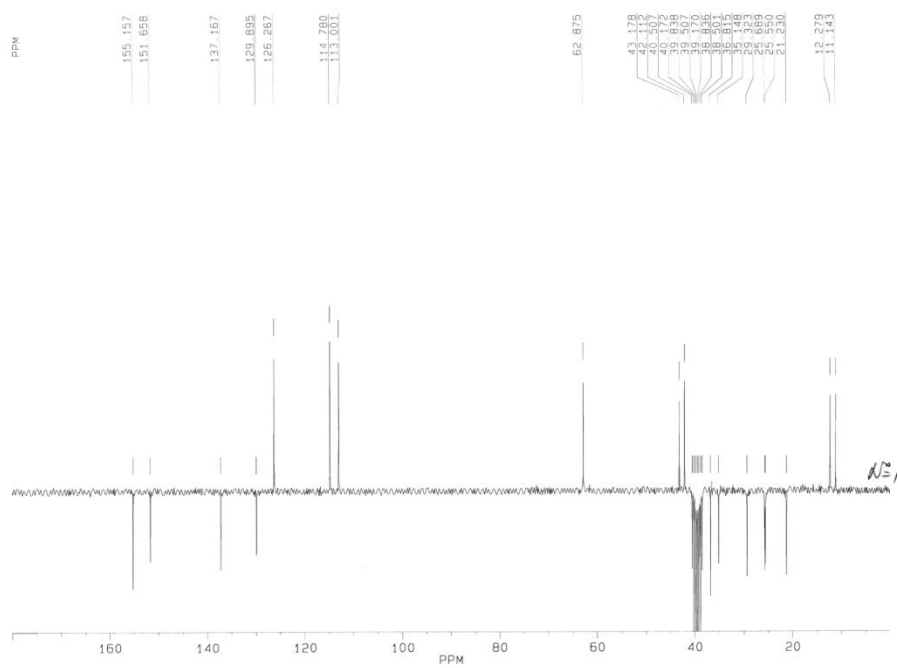


Slika 37. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja **33**

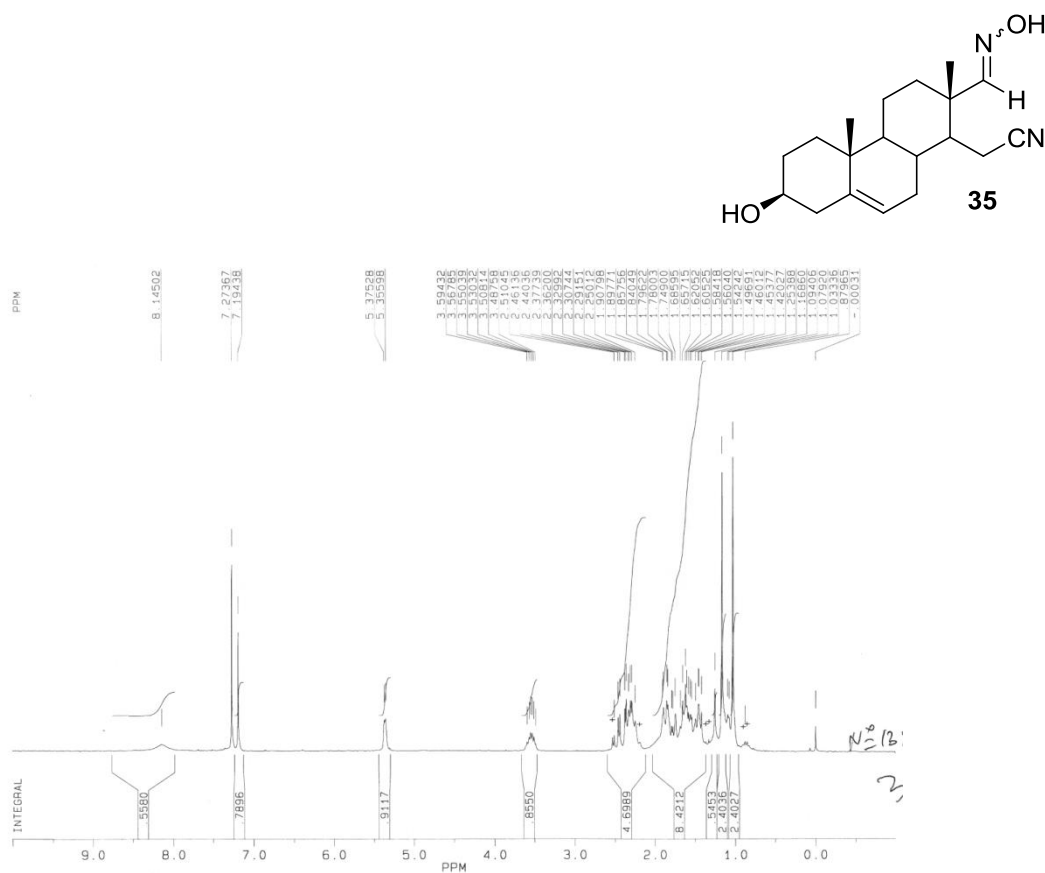
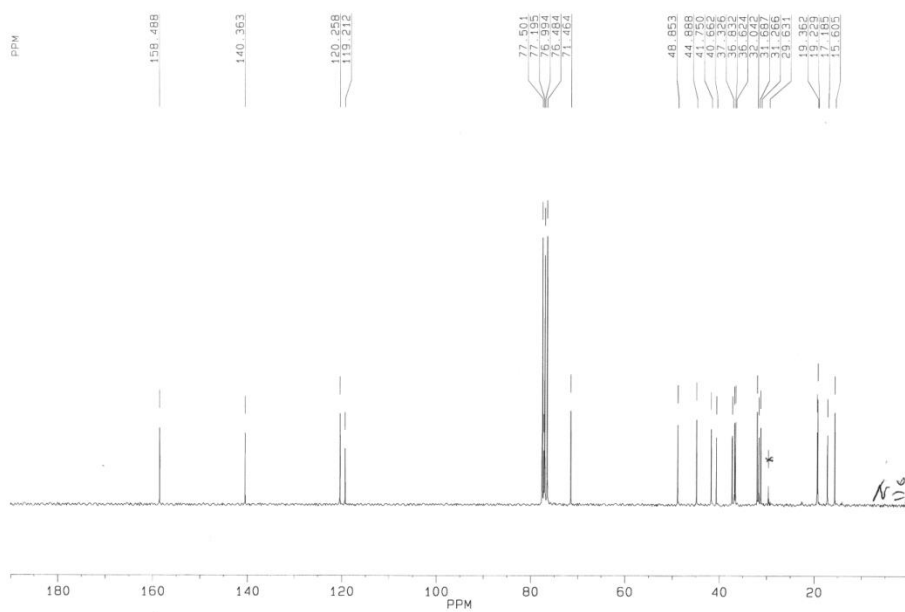
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 34

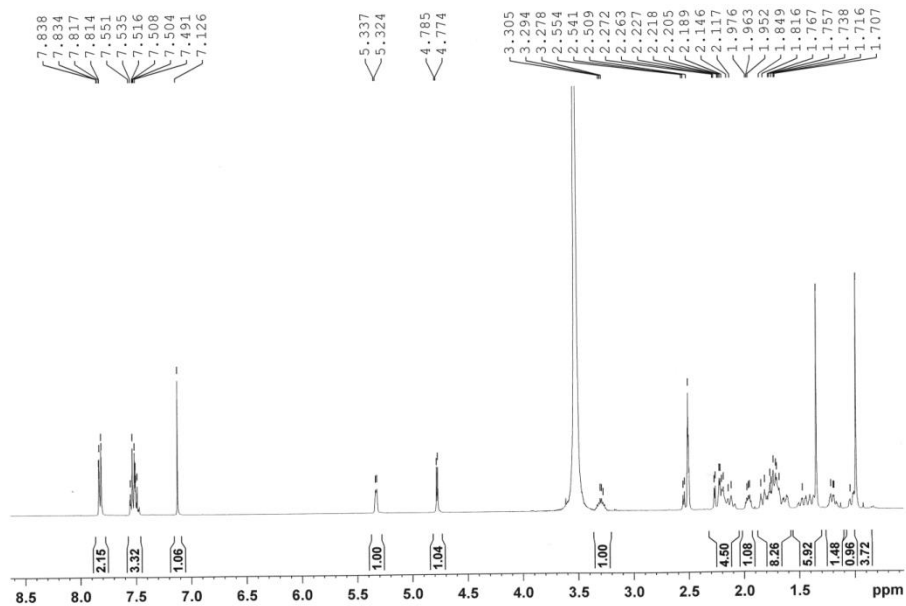
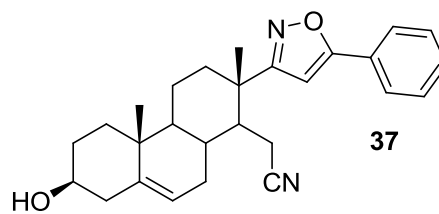
Slika 38. IR spektar jedinjenja 34

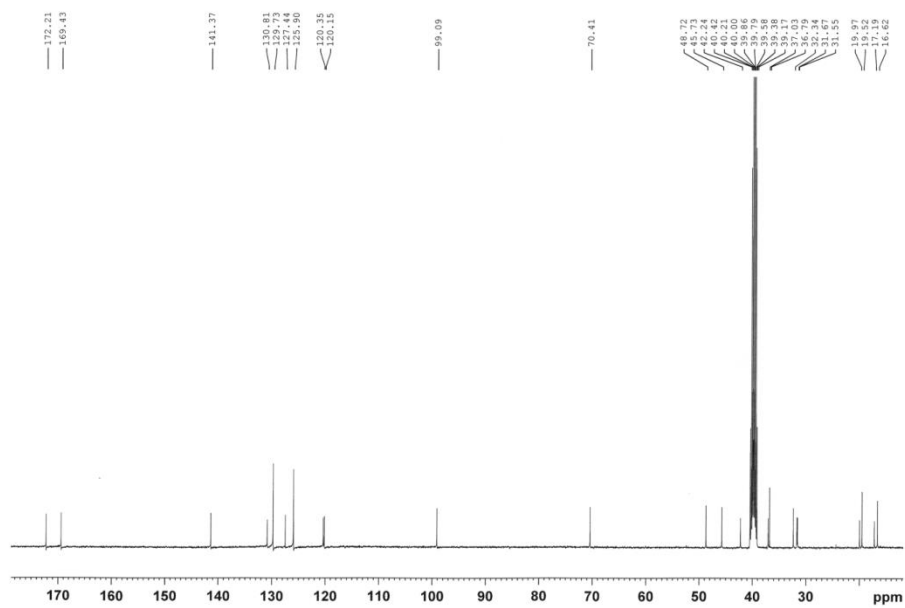
Slika 39. ^1H NMR spektar jedinjenja 34



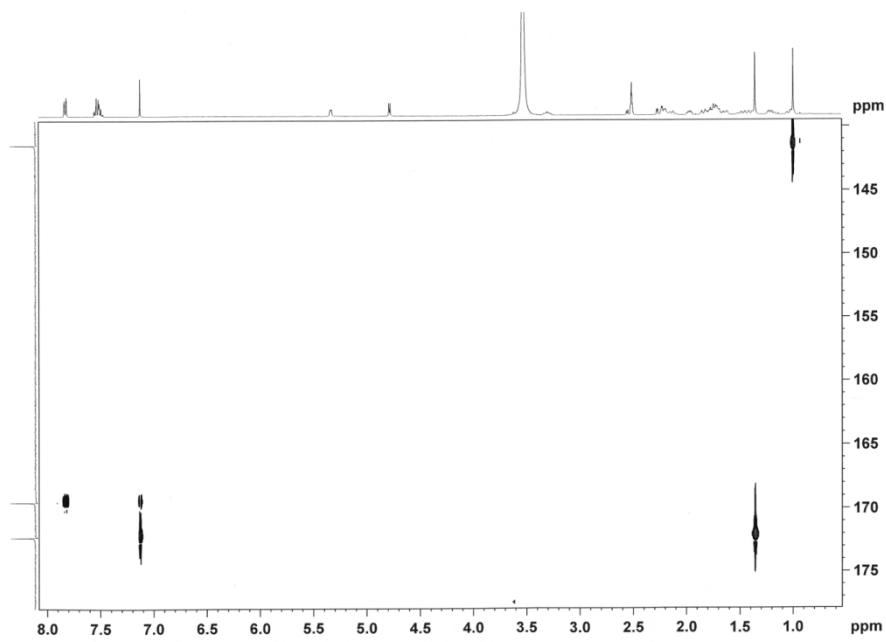
Slika 40. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 34

^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 35Slika 41. ^1H NMR spektar jedinjenja 35Slika 42. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 35

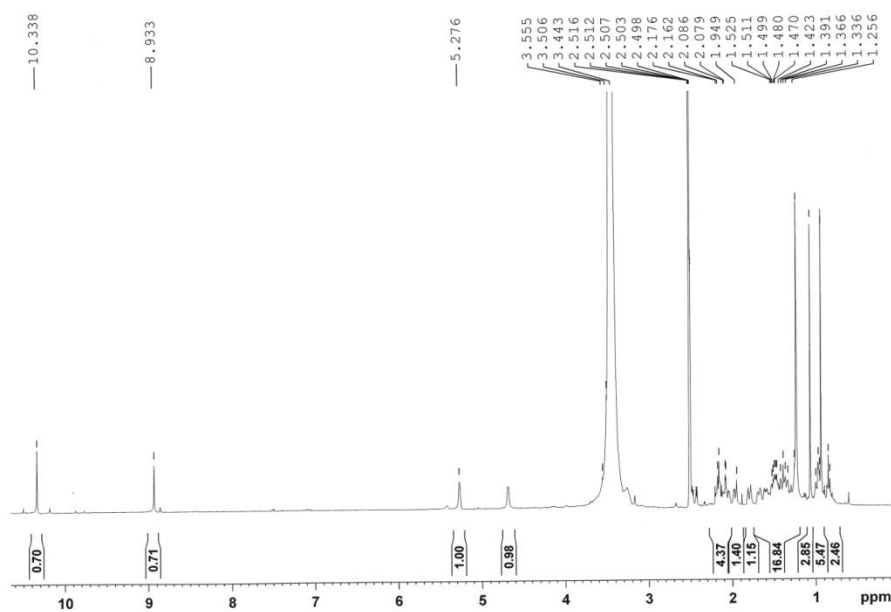
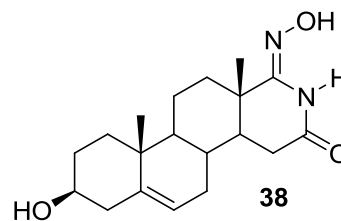
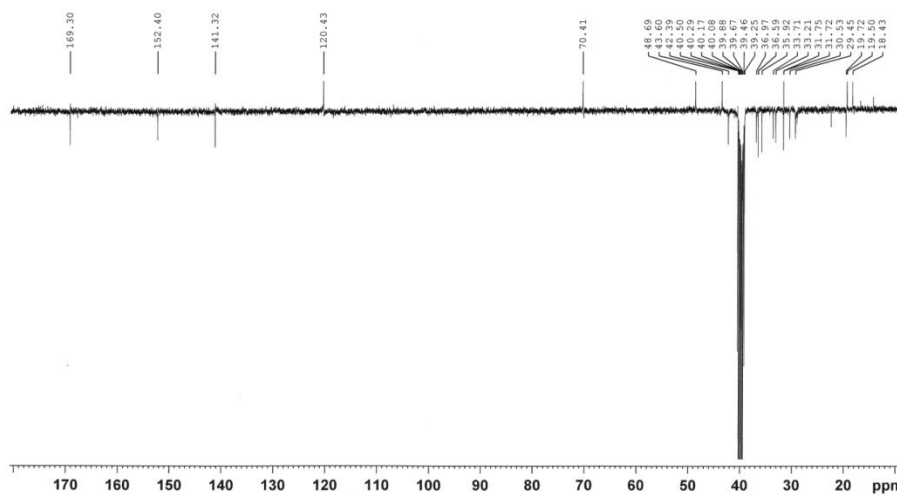
^1H , ^{13}C i 2D HMBC NMR spektri jedinjenja 37Slika 43. ^1H NMR spektar jedinjenja 37

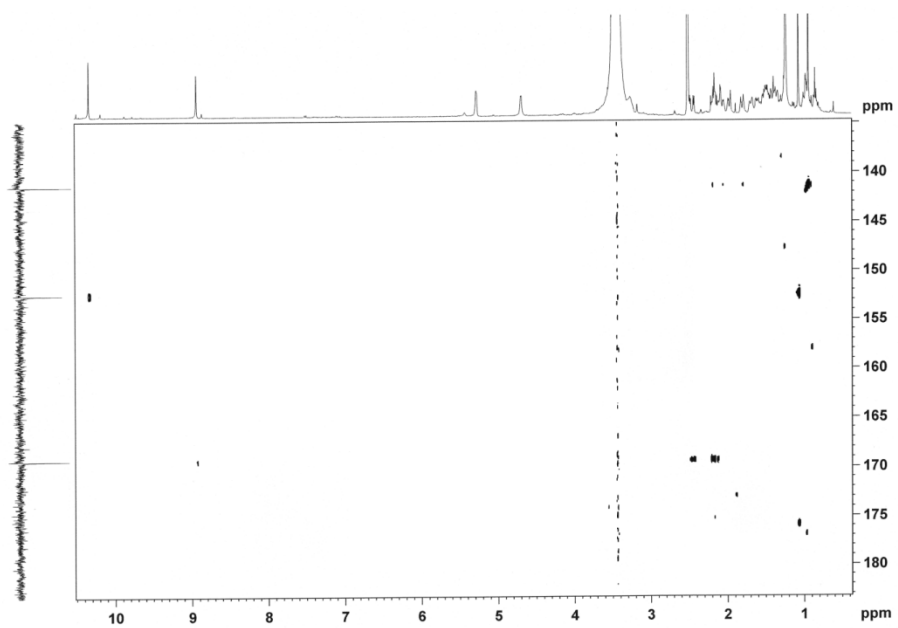


Slika 44. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 37

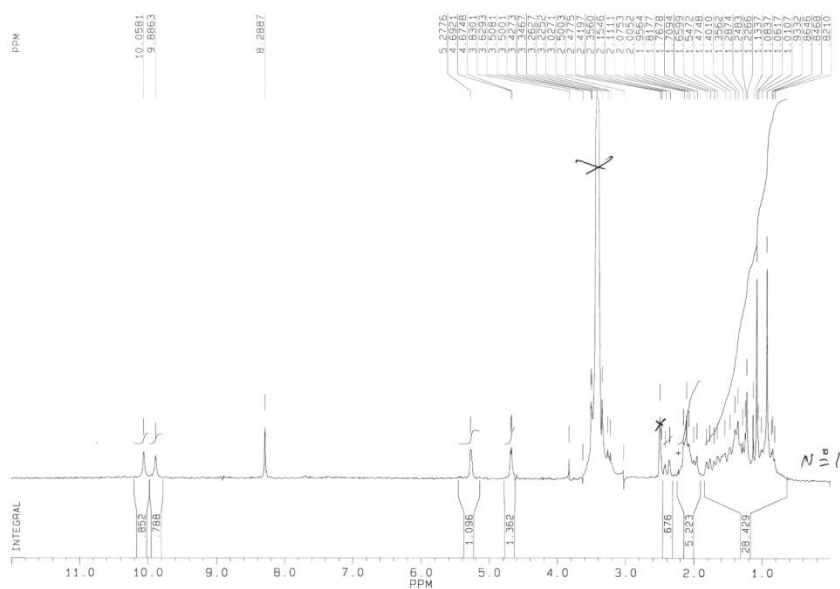
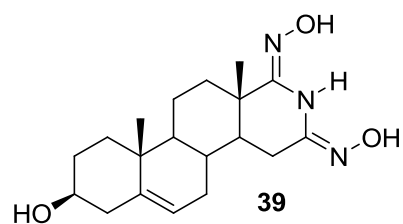
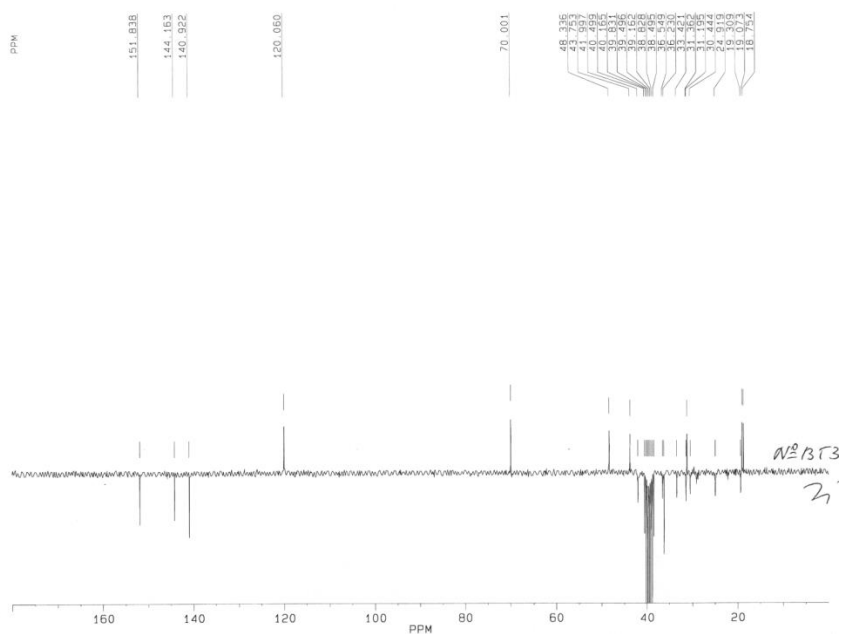


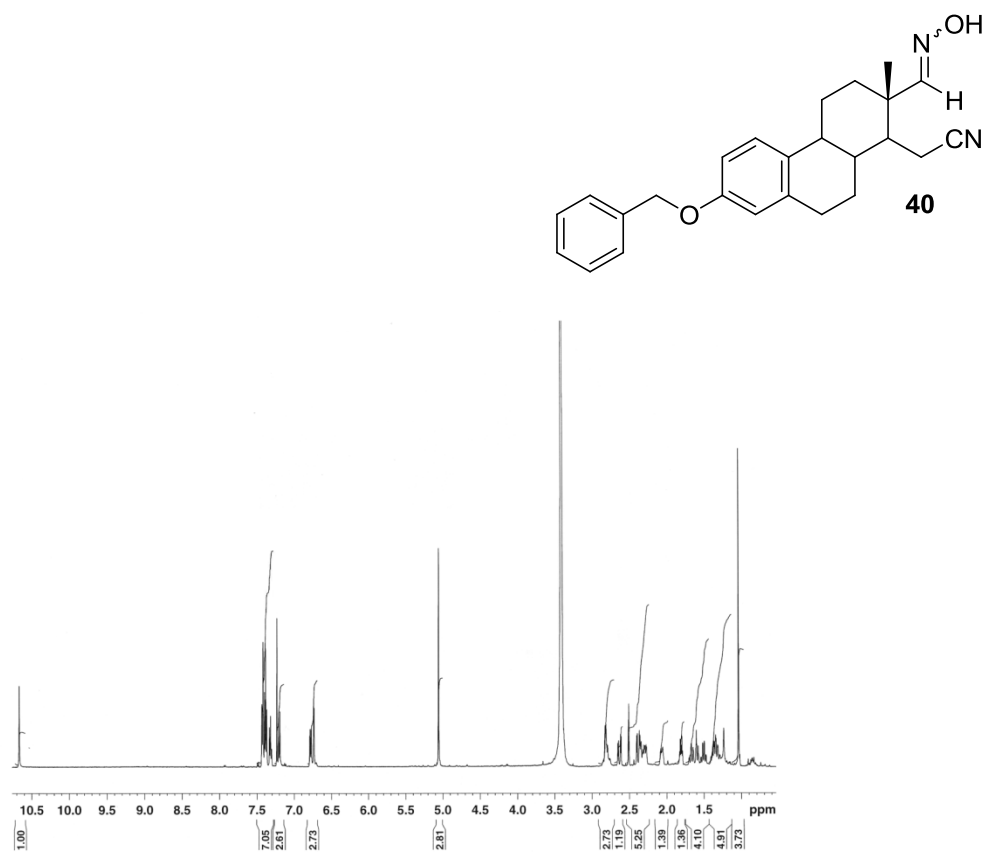
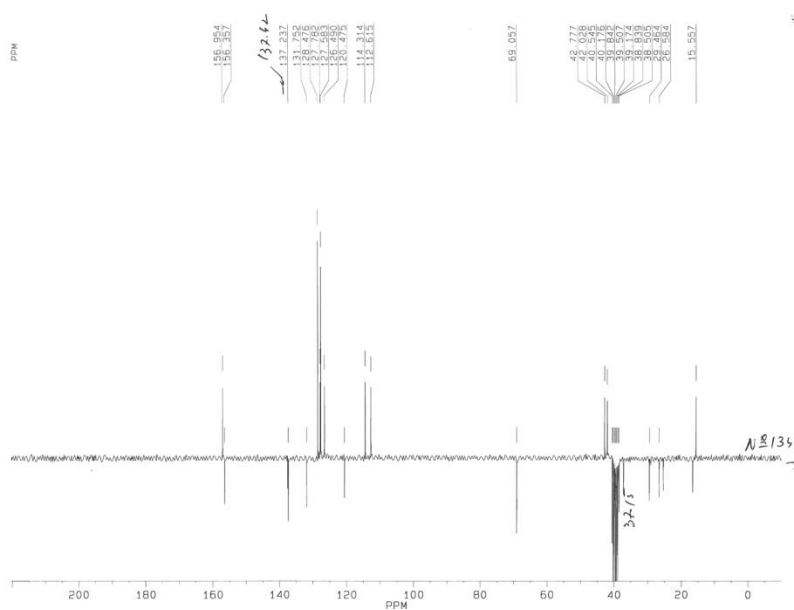
Slika 45. 2D HMBC NMR spektar jedinjenja 37

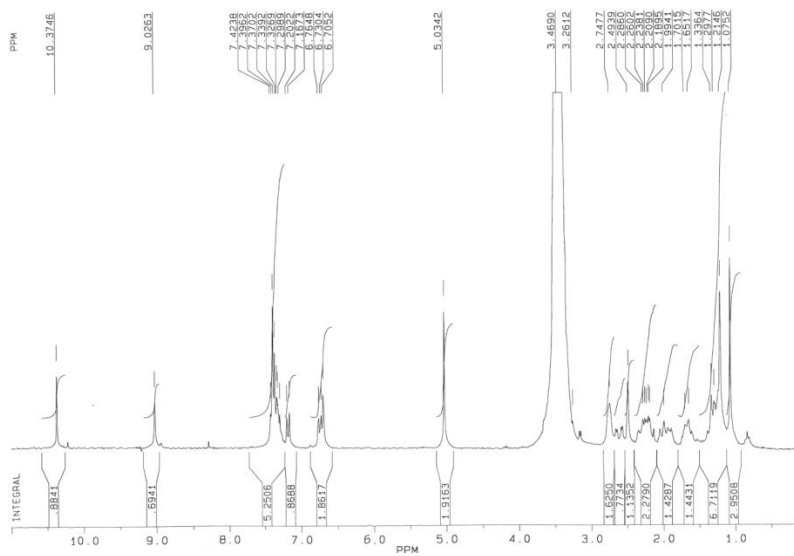
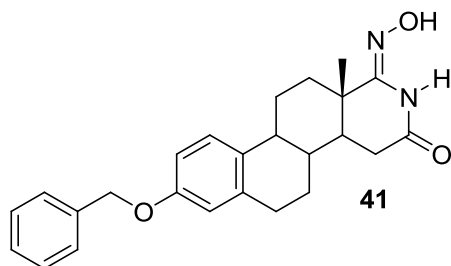
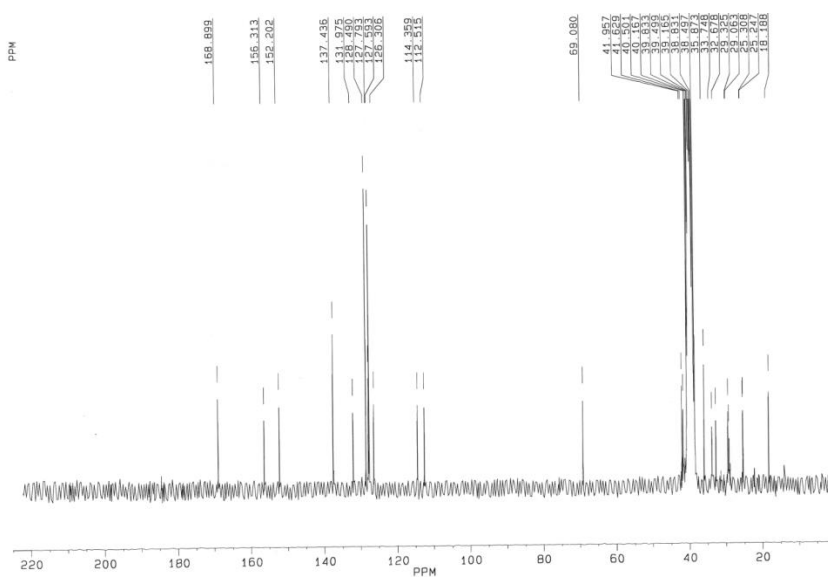
^1H , ^{13}C i 2D HMBC NMR spektri jedinjenja 38Slika 46. ^1H NMR spektar jedinjenja 38Slika 47. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 38

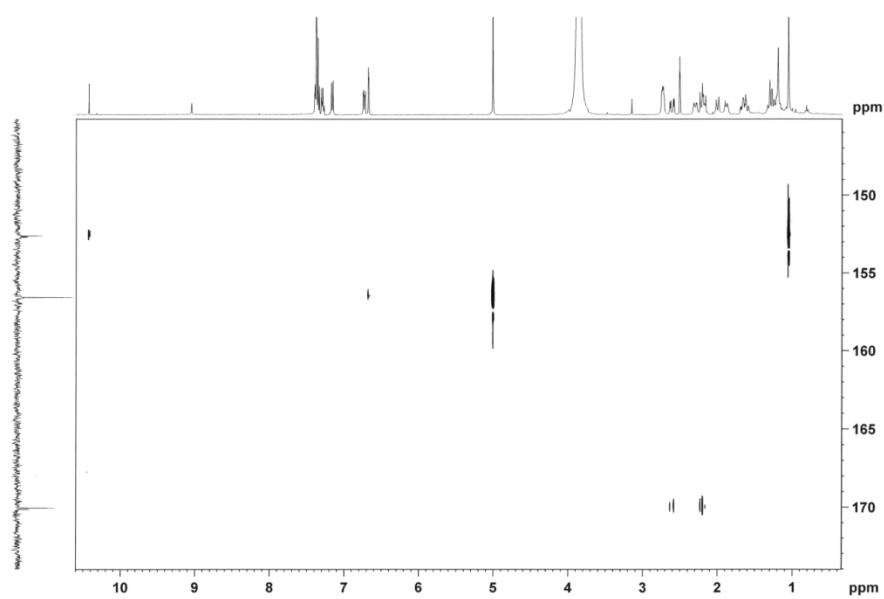


Slika 48. 2D HMBC NMR spektar jedinjenja **38**

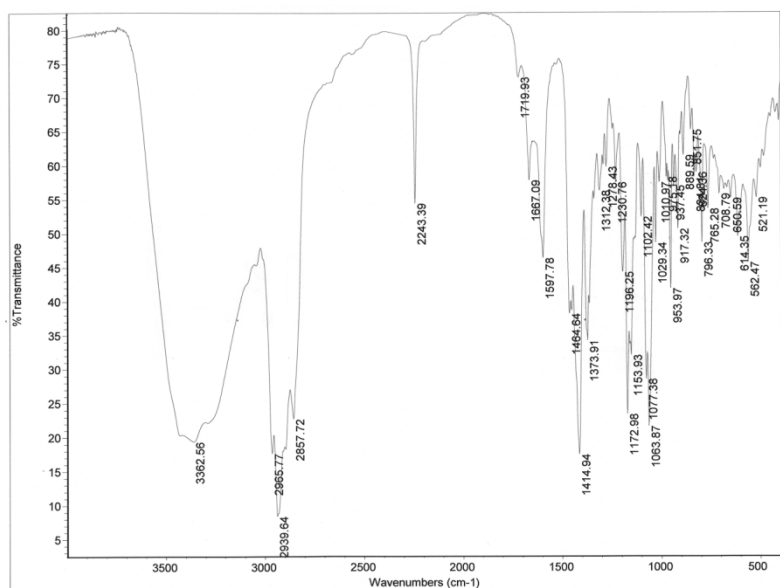
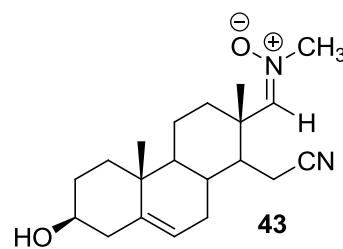
^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 39Slika 49. ^1H NMR spektar jedinjenja 39Slika 50. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 39

^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 40Slika 51. ^1H NMR spektar jedinjenja 40Slika 52. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 40

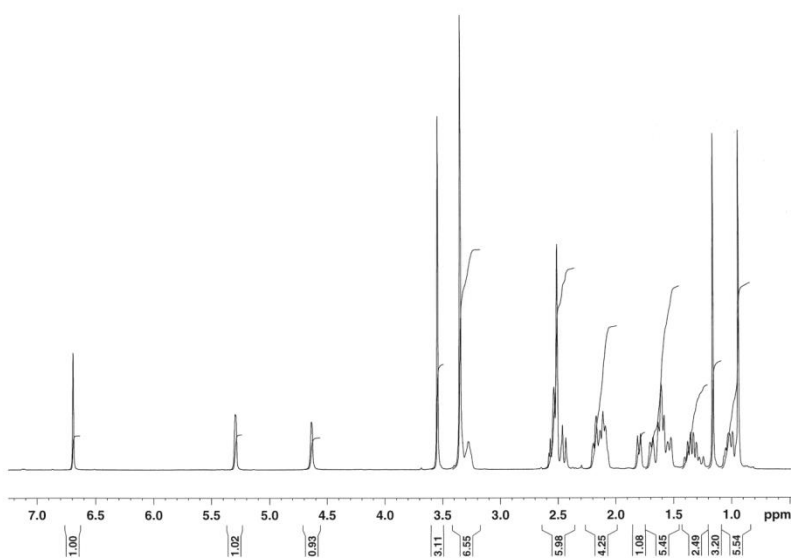
^1H , ^{13}C i 2D HMBC NMR spektri jedinjenja 41Slika 53. ^1H NMR spektar jedinjenja 41Slika 54. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 41

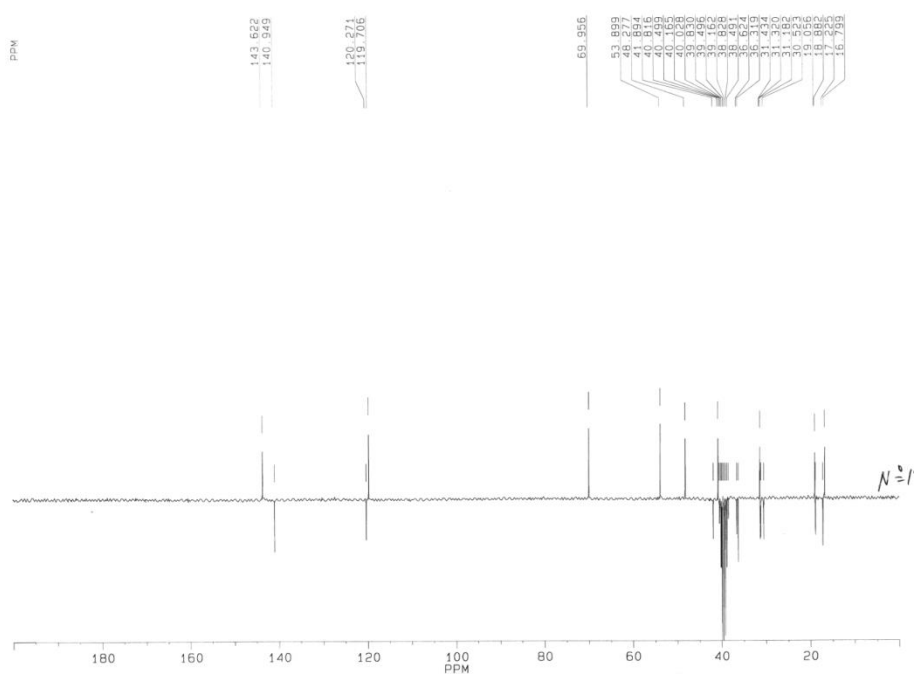


Slika 55. 2D HMBC NMR spektar jedinjenja **41**

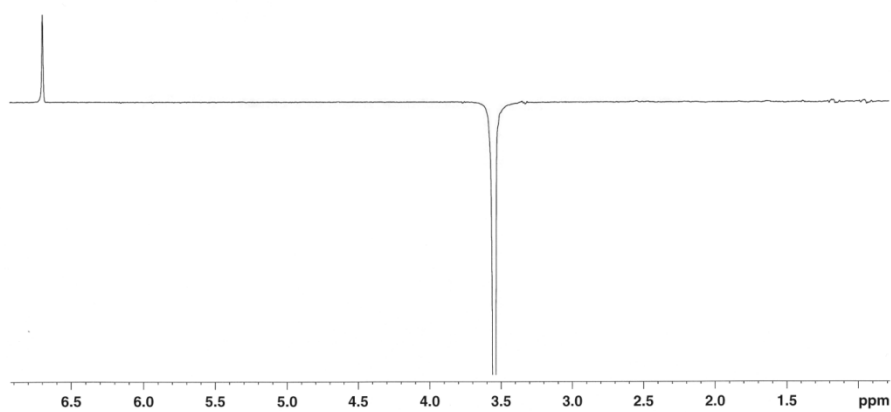
IR, ^1H , ^{13}C i ^1H NOE NMR spektri jedinjenja 43

Slika 58. IR spektar jedinjenja 43

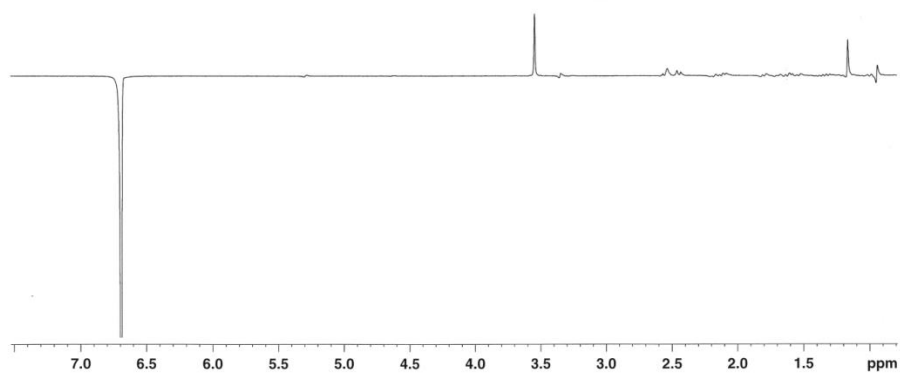
Slika 59. ^1H NMR spektar jedinjenja 43



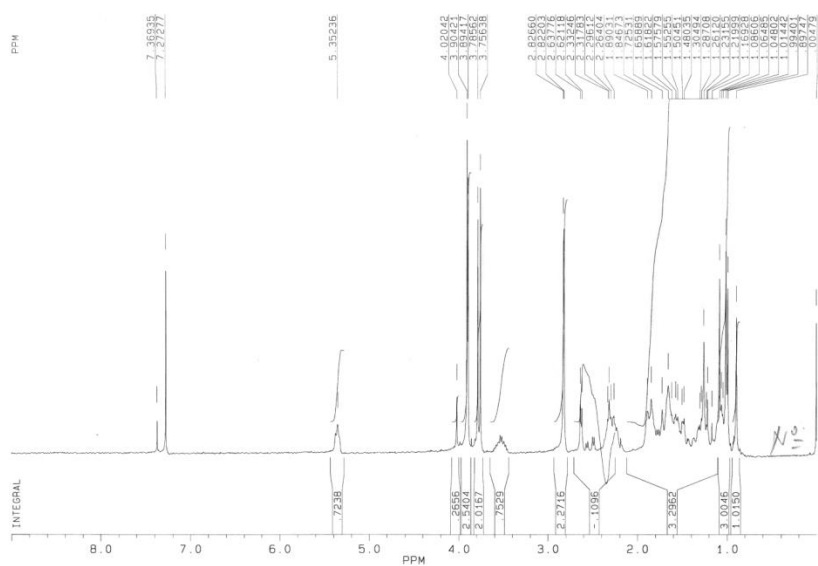
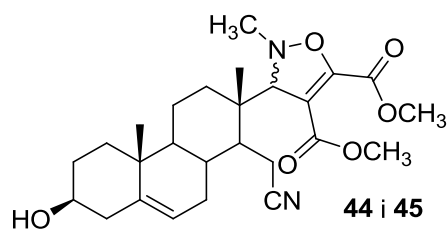
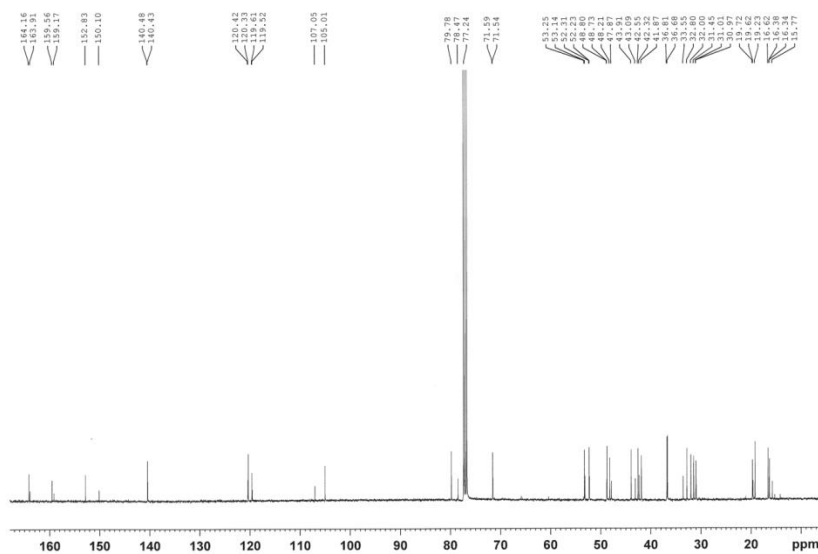
Slika 60. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 43

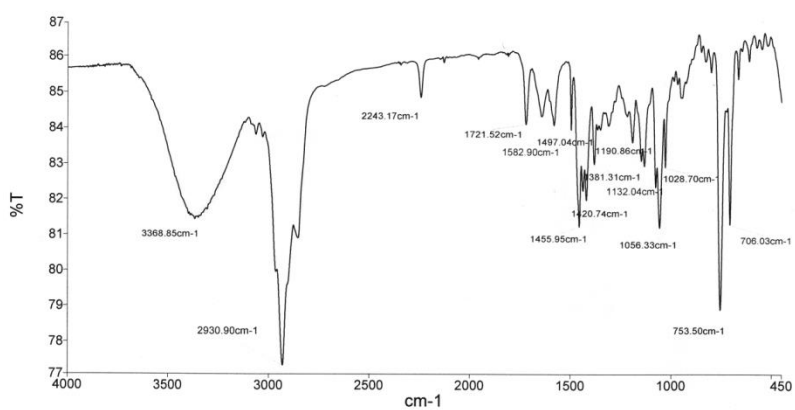
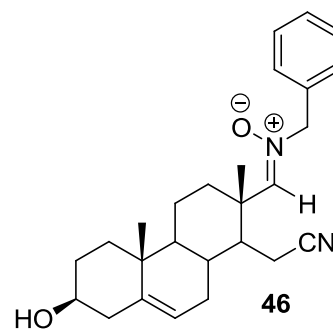


Slika 61. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja 43

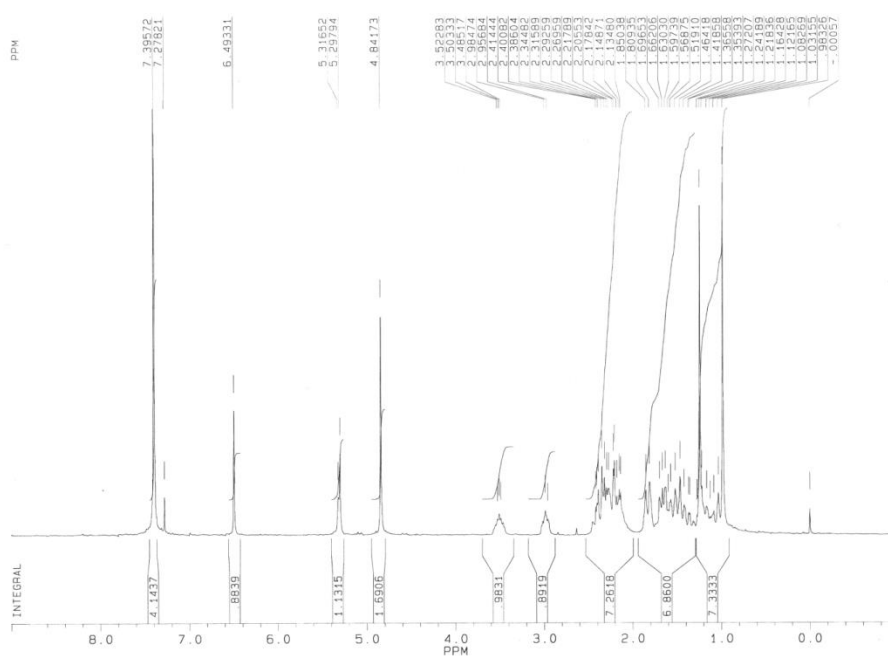


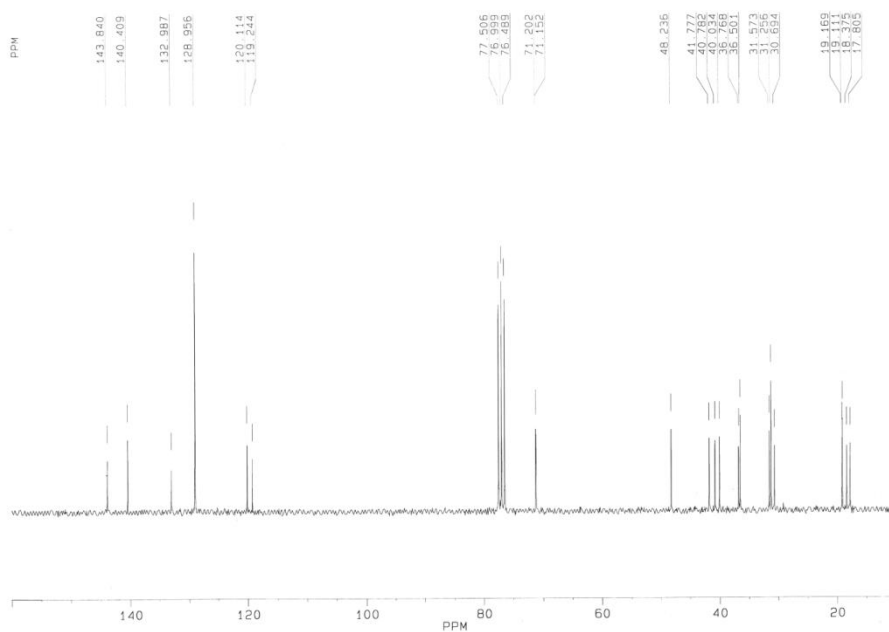
Slika 62. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja **43**

^1H i ^{13}C NMR spektri smeše jedinjenja 44 i 45Slika 63. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja 44 i 45Slika 64. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja 44 i 45

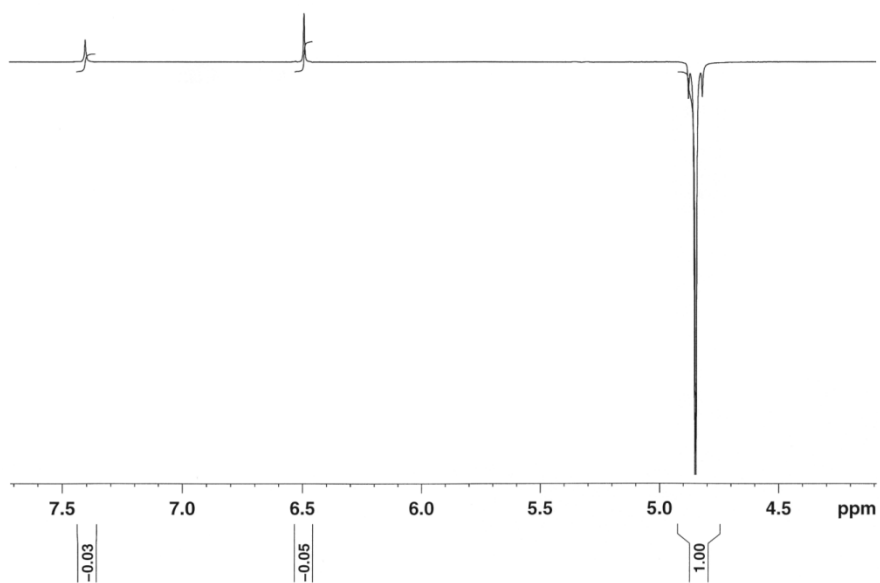
IR, ^1H , ^{13}C i ^1H NOE NMR spektri jedinjenja 46

Slika 65. IR spektar jedinjenja 46

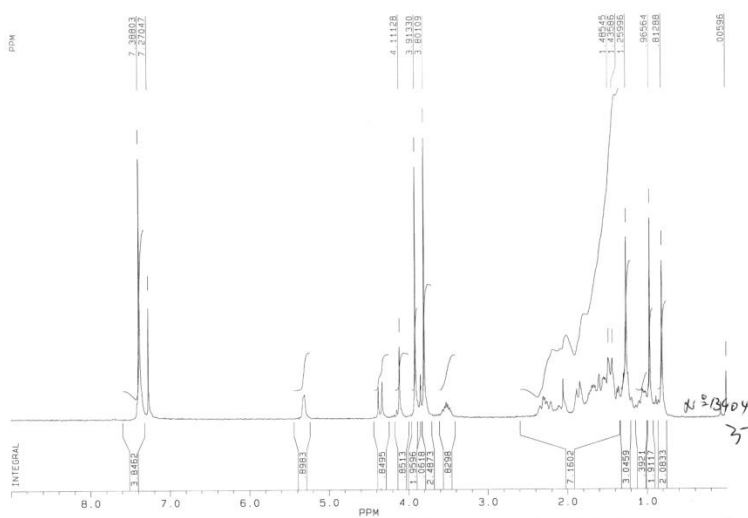
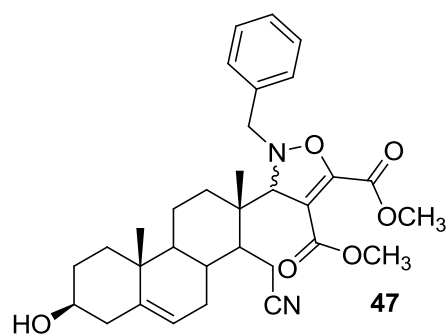
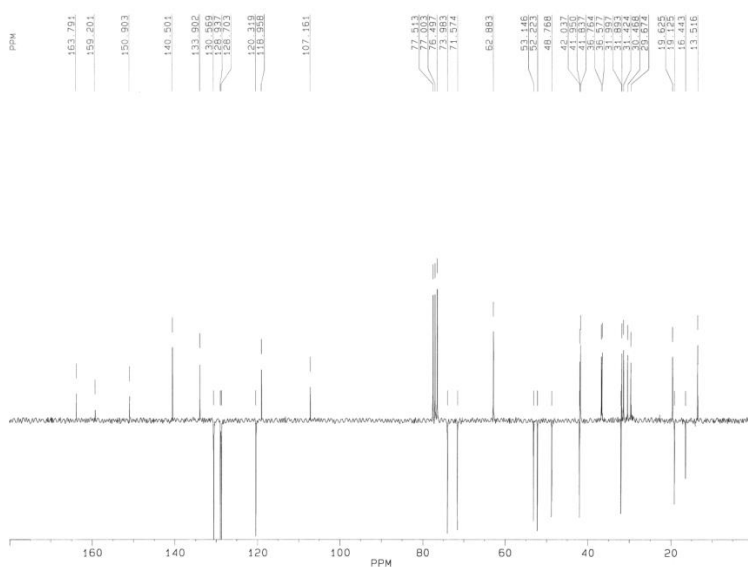
Slika 66. ^1H NMR spektar jedinjenja 46

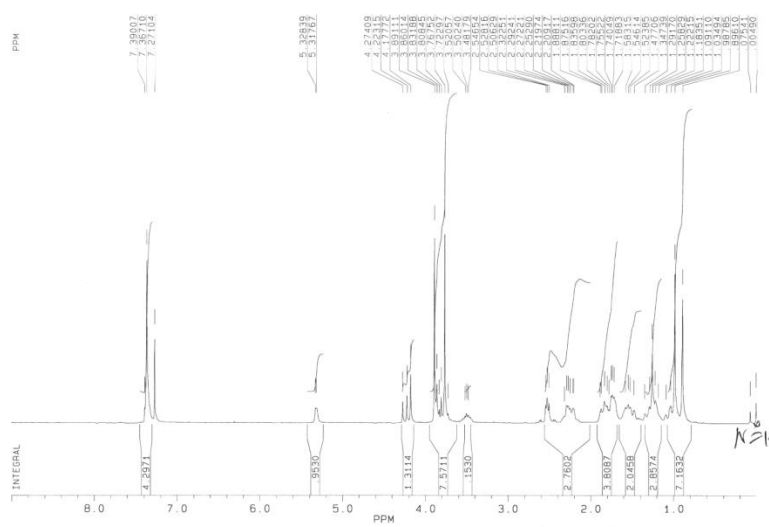
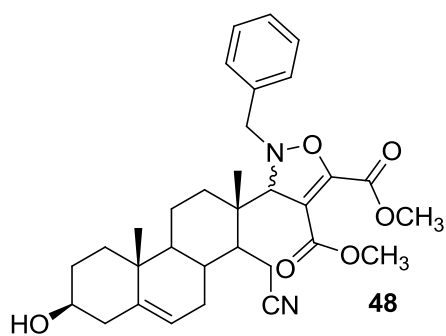
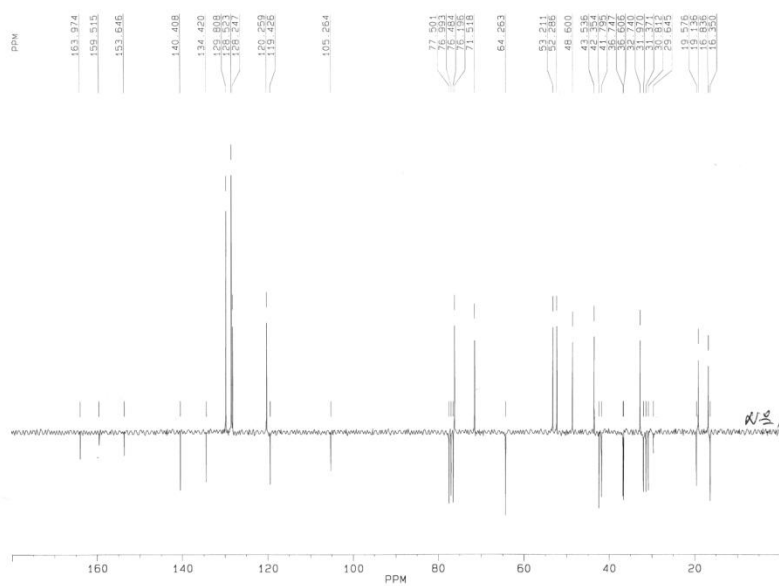


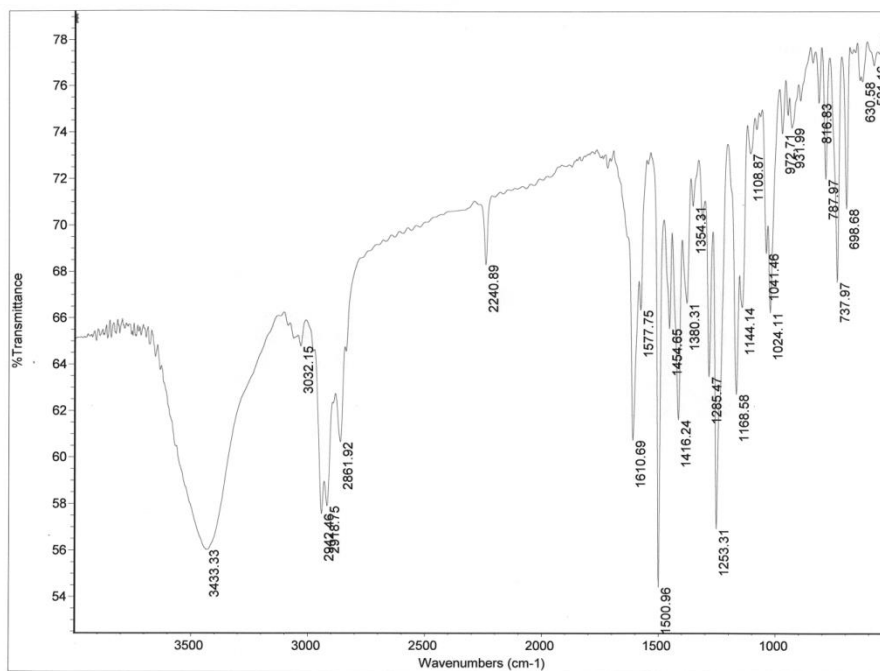
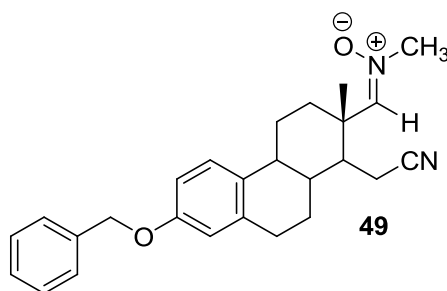
Slika 67. ¹³C NMR spektar jedinjenja 46



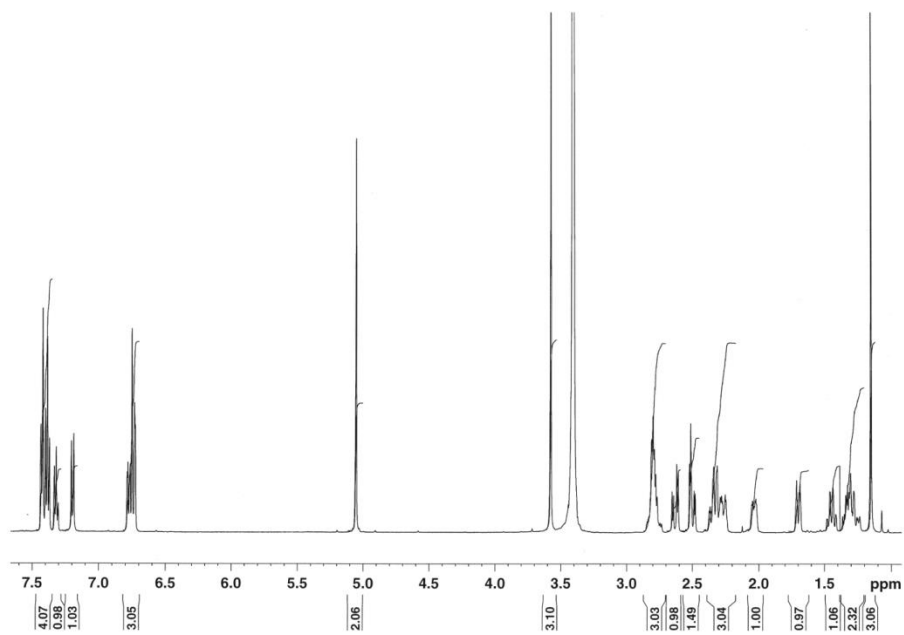
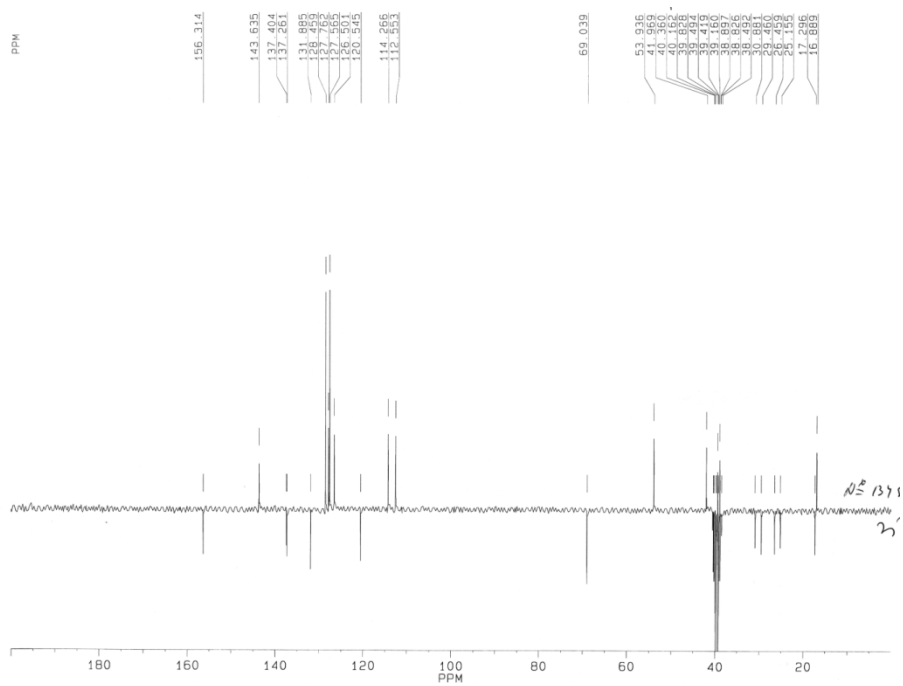
Slika 68. ¹H NOE NMR spektar jedinjenja 46

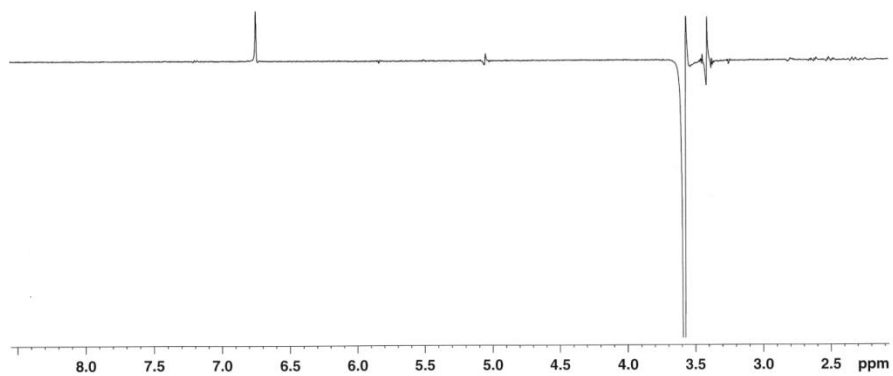
^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 47Slika 69. ^1H NMR spektar jedinjenja 47Slika 70. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 47

^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 48Slika 71. ^1H NMR spektar jedinjenja 48Slika 72. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 48

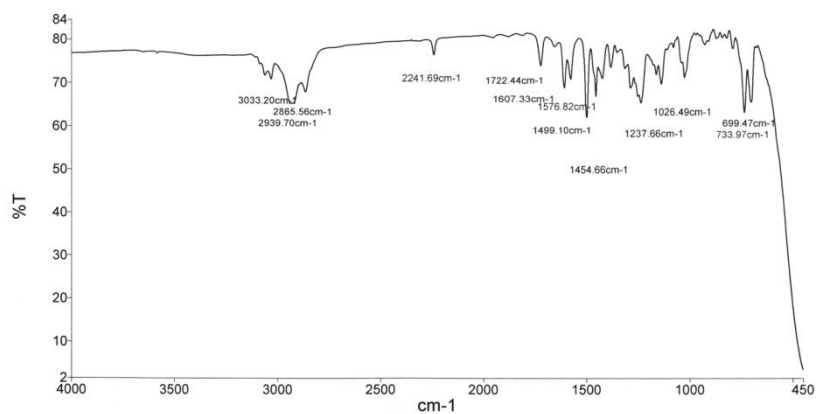
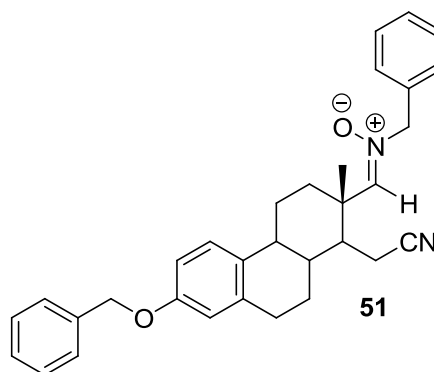
IR, ^1H , ^{13}C i ^1H NOE NMR spektri jedinjenja 49

Slika 73. IR spektar jedinjenja 49

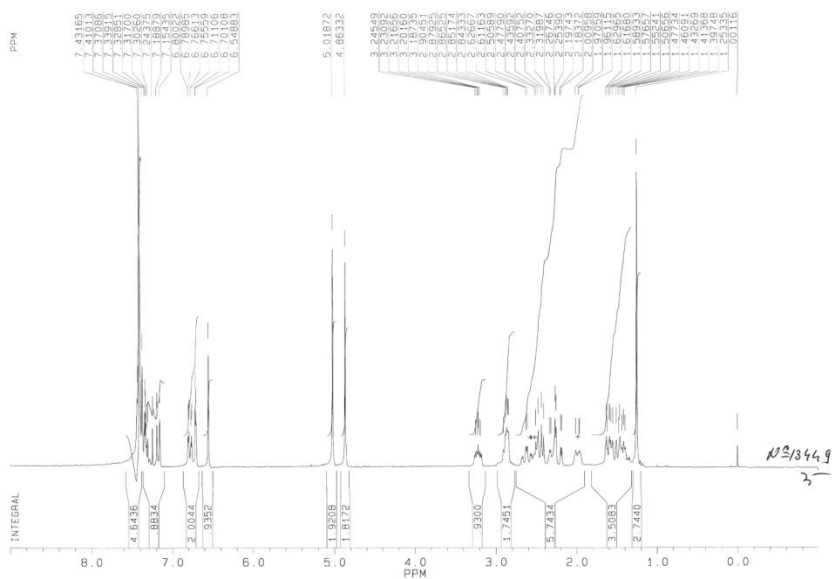
Slika 74. ^1H NMR spektar jedinjenja 49Slika 75. ^{13}C NMR spektar jedinjenja 49

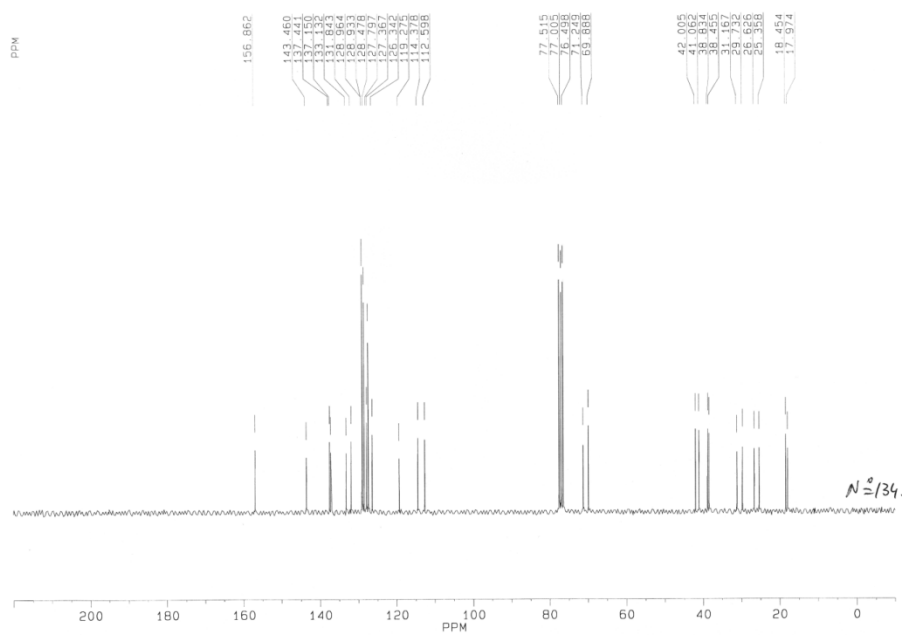


Slika 76. ^1H NOE NMR spektar jedinjenja **49**

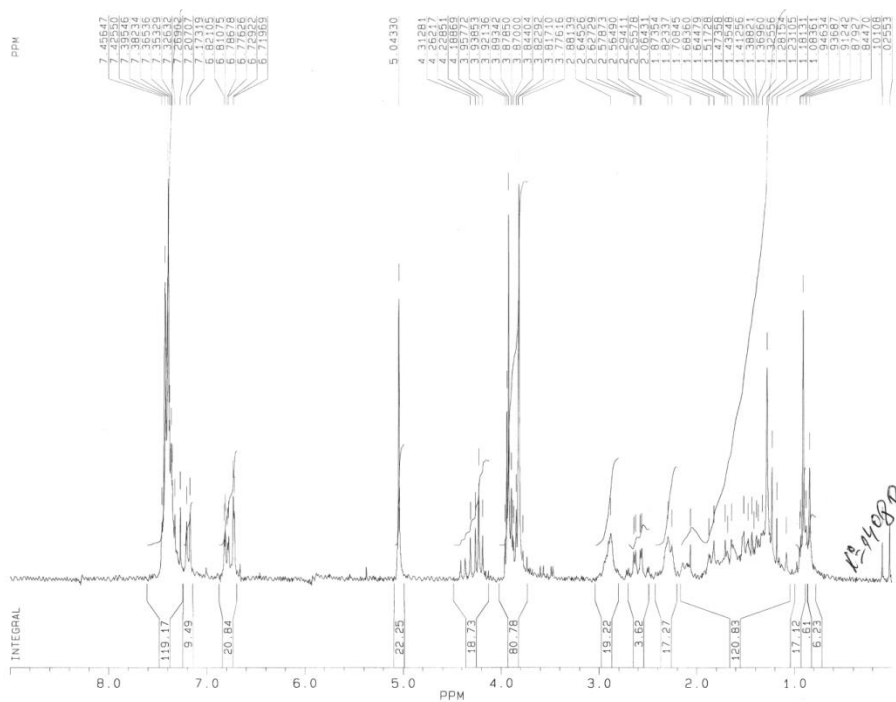
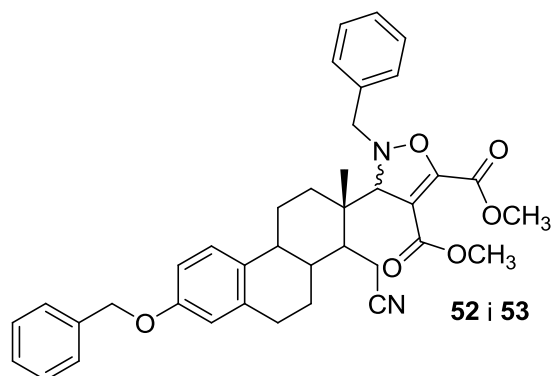
IR, ^1H i ^{13}C NMR spektri jedinjenja 51

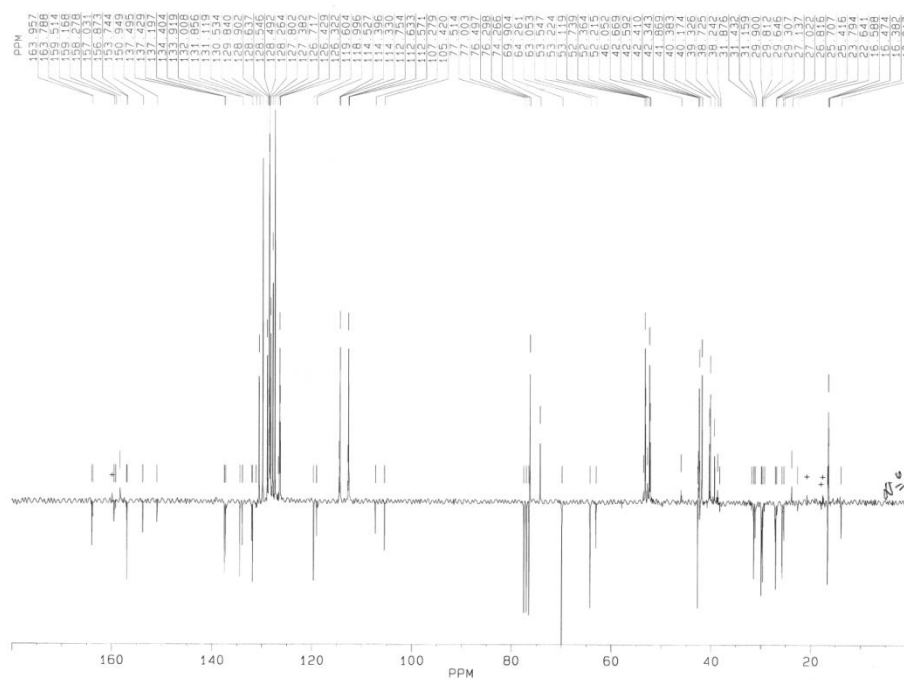
Slika 79. IR spektar jedinjenja 51

Slika 80. ^1H NMR spektar jedinjenja 51



Slika 81. ^{13}C NMR spektar jedinjenja **51**

^1H i ^{13}C NMR spektri smeše jedinjenja 52 i 53Slika 82. ^1H NMR spektar smeše jedinjenja 52 i 53



Slika 83. ^{13}C NMR spektar smeše jedinjenja **52** i **53**

9. BIOGRAFIJA



Aleksandar Oklješa, rođen je 22.12.1985. godine u Novom Sadu. Živi u Temerinu. Završio je Tehničku školu *Pavle Savić* u Novom Sadu 2004. kao đak generacije. Iste godine je upisao studije na Prirodno-matematičkom fakultetu na Departmanu za hemiju, obrazovni profil *diplomirani hemičar opšti smer*. Diplomirao je 30.09.2008. s opštim uspehom 9,83. U zvanje istraživača-pripravnika je izabran 15.12.2008. Od 03.01.2009. do 31.12.2010. bio je zaposlen na projektu *Sinteza i fizičko-hemijska ispitivanja odabranih organskih jedinjenja od potencijalnog farmakološkog značaja* (projekat br. 142052), koji je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. Od 03.01.2011. godine je zaposlen na projektu *Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekulskih agregata* (projekat br. 172021) koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. U zvanje istraživača-saradnika je izabran 17.05.2011. godine. Od februara 2012. do februara 2014. godine bio je angažovan na međunarodnom projektu pod nazivom *Naučna saradnja Univerziteta u Segedinu i Univerziteta u Novom Sadu u cilju razvoja potencijalnih terapeutika za lečenje kancera*. U zvanje asistenta izabran je 17.12.2013. godine.

Kao student doktorskih studija učestvovao je u izvođenju laboratorijske nastave na sledećim predmetima: Organska hemija, Organska hemija I, Organska hemija II, Organska hemija III, Organska hemija IV, NMR spektroskopija, Preparativna organska hemija, Nove metode i strategije u asimetričnoj sintezi. Do sada je učestvovao u izradi više diplomskih i master radova.

Autor i koautor je četiri rada u međunarodnim časopisima, jednog rada u časopisu međunarodnog značaja verifikovanog posebnom odlukom, pet saopštenja na skupovima međunarodnog i deset saopštenja na skupovima nacionalnog značaja.

Član je Srpskog hemijskog društva.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
 PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Aleksandar M. Oklješa
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje) MN	dr Katarina Penov-Gaši, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Sinteza i biološka aktivnost novih steroidnih heterocikličnih jedinjenja
Jezik publikacije: JP	srp.
Jezik izvoda: JI	Srpski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

Fizički opis rada: FO	Broj poglavlja: 9 (uključujući Prilog)/ Stranica: 197 (53 strana poglavlja Prilog)/ Slika: 103 (83 slika spektara u Prilogu)/ Dijagrama: 2/ Tabela: 5/ Sheme: 97/ Referenci: 156
Naučna oblast: NO	Hemija
Naučna disciplina: ND	Organska hemija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Sinteza, steroidi, androgeni, estrogeni, D-seko derivati, D-homo derivati, tetrazoli, oksimi, nitril-oksidi, izoksazol, nitroni, izoksazolini, citotoksičnost, 1,3-dipolarna cikloadicija, „click” hemija, mikrotalasna potpomognuta sinteza
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Trg D. Obradovića 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	-
Izvod: IZ	U ovoj doktorskoj disertaciji ispitane su 1,3-dipolarne cikloadicione reakcije steroidnih azido-nitrila, nitrona i nitril-oksida, pri čemu su sintetizovana različita heterociklična steroidna jedinjenja androstanske i estranske serije. Utvrđene su strukture novosintetizovanih jedinjenja. Ispitana je biološka aktivnost odabranih jedinjenja.
Datum prihvatanja teme od strane NN veća DP	15.12.2011.
Datum odbrane: DO	2015. god
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	dr Janoš Čanadi, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, predsednik dr Katarina Penov-Gaši, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, mentor, član dr Evgenija Đurendić, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, u penziji, član dr Marija Sakač, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, član dr Sonja Đilas, redovni profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, član

UNIVERSITY OF NOVI SAD FACULTY

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Aleksandar M. Oklješa
Mentor: MN	Professor Katarina Penov-Gaši, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad
Title: TI	Synthesis and biological activity of new steroidal heterocyclic compounds
Language of text: LT	Serbian (Latin)
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Trg Dositaja Obradovića 3

Physical description: PD	Chapters: 9 (including the chapter Appendix)/ Pages: 197 (53 pages in the chapter Appendix)/ Figures: 103 (83 figures of spectras in the chapter Appendix)/ Diagrams: 2/ Tables: 5/ Schemes: 97/ References: 156
Scientific field SF	Chemistry
Scientific discipline SD	Organic Chemistry
Subject, Key words SKW	Synthesis, steroids, androgen, estrogen, D-seco derivatives, D-homo derivatives, tetrazoles, oximes, nitrile oxide, isoxazole, nitrones, isoxazolines, cytotoxicity, 1,3-dipolar cycloaddition, “click”chemistry, microwave assisted synthesis
UC	
Holding data: HD	Library of the Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental protection, Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad
Note: N	-
Abstract: AB	In this PhD thesis 1,3-dipolar cycloadditions of steroidal azido-nitriles, nitrones and nitrile-oxide were examined. Various steroidal heterocyclic compounds in the androstane and estrane series were synthesised. The structural characterisation of newly synthesised compounds was done. Biological activity of selected compounds was examined.
Accepted on Scientific Board on: AS	15.12.2011.
Defended: DE	2015.
Thesis Defend Board: DB	Professor Janoš Čanadi, Phd, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, president Professor Kataina Penov Gaši, Phd, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, mentor, member Professor Evgenija Đurendić, Phd, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, retired, member Professor Marija Sakač, Phd, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, member Professor Sonja Đilas, Phd, Faculty of Technology, University of Novi Sad, member

