



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



**Ivana Kuzminac**

**Sinteza i antitumorski potencijal  
C19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona**

**-doktorska disertacija-**

**Novi Sad, 2018**



# **PREDGOVOR**

*Ova doktorska disertacija je urađena na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, pod mentorstvom dr Marije Sakač, red. prof. 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.*

*Mentorki, dr Mariji Sakač neizmerno hvala na strpljenju, podršci, razumevanju i vedrini kojom zrači svaki put kada uđe u laboratoriju, čime mi je značajno olakšala i ulepšala put ka završetku ovog rada. Hvala joj na nesebično podeljenom znanju i savetima kojima me uči ne samo hemiji nego i životu.*

*Zahvaljujem se dr Mirjani Popsavin, red. prof. PMF-a u Novom Sadu, na interesovanju koje je pokazala za ovu tezu, kao i na pruženoj pomoći i korisnim savetima tokom njene izrade i pisanja.*

*Veliko hvala doc. dr Edwardu Petri na interesovanju i vremenu koje je posvetio ovoj disertaciji, pruženom znanju i rezultatima biološke aktivnosti do kojih je došao zajedno sa svojim timom.*

*Veliku zahvalnost dugujem doc. dr Andrei Nikolić, koja je od osnovnih studija pa do kraja izrade ove teze delila samnom svoje iskustvo i znanje kako u eksperimentalnom, tako i u nastavnom radu. Neizmerno joj hvala što je ovu tezu pažljivo pogledala i svojim sugestijama doprinela njenom kvalitetu.*

*Naučnom saradniku dr Dimitru Jakimovu sa Instituta za onkologiju Vojvodine, se zahvaljujem na ukazanom interesovanju za ovaj rad i prijatnoj saradnji. Zajedno sa spec. toks. hem. dr Vesnom Kojić, su uradili testove antiproliferativne aktivnosti na čemu im se srdačno zahvaljujem.*

*Doc. dr Anđelki Ćelić i MSc Sofiji Bekić sa Departmana za biologiju i ekologiju se zahvaljujem na brzo i efikasno urađenim testovima vezivanja za steroidne receptore i nesebično podeljenim rezultatima istih. Koleginicama sa Katedre za molekularnu biologiju i biohemiju, Departmana za biologiju i ekologiju, MSc Jovani Plavši i MSc Maji Marinović hvala na urađenim testovima inhibicije enzima steroidogeneze.*

*Veliko hvala red. prof. dr Oliveri Klisurić, na urađenoj rendgeno-strukturnoj analizi, kao i vanr. prof. dr Suzani Jovanović-Šanti na interesovanju koje je pokazala za ovu tezu.*

*Dragoj doc. dr Kseniji Pavlović od srca hvala na pruženim savetima, znanju i pomoći pri izvođenju mikrotalsnih sinteza i divnom druženju. Veliko hvala i MSc Dušanu Škoriću na*

*nesebično podeljenom znanju, snimanju i pomoći u tumačenju NMR spektara. Zahvaljujem se kolegi iz laboratorije, **doc. dr Srđanu Bjedovu** na pomoći u eksperimentalnom radu i proširenju mojih muzičkih vidika. Posebnu zahvalnost dugujem ostalim članovima Katedre za organsku hemiju: **red. prof. dr Janošu Čanadiju**, **vanr. prof. dr Ljubici Grbović**, **doc. dr Marini Savić**, **doc. dr Jovani Ajduković**, **doc. dr Aleksandru Oklješi**, **naučnom saradniku dr Bojani Vasiljević**, **MSc Jeleni Marković**, **MSc Vidaku Raičeviću**, **MSc Nemanji Cvjetanu**, **Silvii Kantardžić**, **Otu Arčonu**, **MSc Nemanji Nikoliću**, **MSc Ester Foro**, kao i **profesoricama dr Katarini Penov-Gaši** i **dr Evgeniji Đurendić**.*

*Veliko hvala mojoj porodici i drugaricama na podršci, strpljenju i razumevanju koje su mi pružili tokom izrade ove disertacije. Među njima, najveću zahvalnost dugujem mojoj **mami Jasni**, bez čije bezrezervne podrške, podsticaja, motivacionih, savetodavnih, kritičkih i utešnih reči, ali i najvažnije bezgranične ljubavi moje školovanje ne bi imalo dosadašnji tok.*

*Ivana Kuzminac*

# SADRŽAJ

<b>1. Uvod</b>	1
<b>2. Opšti deo</b>	3
2.1. Kancer dojke	3
2.1.1. Faktori rizika kod kancera dojke	4
2.1.2. Simptomi i dijagnostičke metode kancera dojke	5
2.1.3. Terapija kancera dojke	6
2.1.3.1. Citohrom P450 aromataza	10
2.1.3.2. Inhibitori citohrom P450 aromataze	13
2.1.3.3. Aldo-keto reduktaze i njihova medicinska primena	14
2.2. C19-derivatizovani steroidi	17
2.2.1. Prirodni C19-derivatizovani steroidi	17
2.2.1.1. Steroidi izolovani iz mekih korala	17
2.2.1.2. Steroidi izolovani iz biljaka	18
2.2.2. Odabrane parcijalne sinteze C19-derivatizovanih steroida	20
2.2.2.1. Otvaranje 5,10-epoksida	20
2.2.2.2. Sinteze C19-derivatizovanih steroida sigmatropnim [3,3]- ili [2,3]-premeštanjem	21
2.2.2.3. Sinteze C19-derivatizovanih steroida polazeći od 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi derivata	23
2.2.2.3.1. Sinteze 19-derivatizovanih steroida preko nitrita	23
2.2.2.3.2. Sinteze 19-derivatizovanih steroida preko 6,19-epoksida	24
2.2.3. Hemijske transformacije 19-hidroksilnih steroida u cilju dobijanja drugih C19 steroidnih derivata	30
2.2.4. Hemijske transformacije C19-derivatizovanih androstana u cilju dobijanja estranskih derivata	37
2.2.5. Biološka aktivnost sintetisanih C19-derivatizovanih steroida	40

<b>3. Rezultati i diskusija</b>	43
3.1. Sinteza	47
3.1.1. Sinteza polaznog steroidnog D-homo laktona	47
3.1.2. Sinteza 5,6-disupstutuisanih steroidnih D-homo laktona	49
3.1.2.1. Sinteza 5,6-halohidrina	49
3.1.2.2. Sinteza 5,6-disupstutuisanih kiseoničnih derivata	61
3.1.3. Sinteza 6,19-epoksi steroidnih D-homo laktona	67
3.1.4. Sinteza 19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona	73
3.2. Antitumorski potencijal sintetisanih jedinjenja	87
3.2.1. Bioraspoloživost sintetisanih jedinjenja	87
3.2.2. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti sintetisanih jedinjenja	93
3.2.3. Korelacija između antiproliferativne aktivnosti i strukture sintetizovanih jedinjenja	101
3.2.4. Virtuelni skrining odabranih novosintetisanih steroidnih derivata	110
3.2.5. Ispitivanje vezivanja sintetisanih jedinjenja za steroidne receptore	117
3.2.6. Ispitivanje inhibitorne aktivnosti odabranih novosintetisanih jedinjenja na odabrani enzim steroidogeneze	124
<b>4. Eksperimentalni deo</b>	127
4.1. $3\beta$ -Hidroksiandro-5-en-16,17-dion-16 <i>E</i> -oksim ( <b>2</b> )	128
4.2. 16 <i>E</i> -Hidroksiiminoandro-5-en- $3\beta$ ,17 $\beta$ -diol ( <b>3</b> )	128
4.3. $3\beta$ -Hidroksi-17-oksa-17a-homoandro-5-en-16-on ( <b>4</b> )	129
4.4. $3\beta$ -Acetoksi-17-oksa-17a-homoandro-5-en-16-on ( <b>5</b> )	129
4.5. $3\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on ( <b>6</b> )	130
4.6. 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Dibrom- $3\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on ( <b>11</b> )	133
4.7. $3\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -hlor-6 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on ( <b>12</b> )	134
4.8. $3\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on ( <b>15</b> )	136
4.9. $3\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -fluor-6 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on ( <b>16</b> )	136

4.10.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-6,16-dion (17)	137
4.11.	3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -Dihidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-6,16-dion (18)	138
4.12.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (19)	139
4.13.	3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Trihidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (20)	140
4.14.	5 $\alpha$ -Hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-3,6,16-trion (23)	143
4.15.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -fluor-6 $\beta$ ,19-epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (24)	144
4.16.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -hlor-6 $\beta$ ,19-epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (25)	145
4.17.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (26)	146
4.18.	3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksi-16,17-sekoandrostan-16,17-dionska kiselina (29)	147
4.19.	5 $\alpha$ -Brom-6 $\beta$ ,19-epoksi-3 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (30)	148
4.20.	5 $\alpha$ -Brom-6 $\beta$ ,19-epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-3,16-dion (31)	150
4.21.	6 $\beta$ ,19-Epoksi-17-oksa-17a-homoandrost-4-en-3,16-dion (32)	150
4.22.	3 $\beta$ -Acetoksi-19-hidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (33)	151
4.23.	19-Hidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-4-en-3,16-dion (34) i 19-acetoksi-17-oksa-17a-homoandrost-4-en-3,16-dion (35)	153
4.24.	3 $\beta$ -Acetoksi-19-hlor-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (36) i 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\beta$ ,19-ciklo-17-oksa-17a-homoandrost-6-en-16-on (37)	154
4.25.	3 $\beta$ -Acetoksi-19-(p-toluensulfoniloksi)-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (38)	156
4.26.	3 $\beta$ -Acetoksi-19-jod-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (39)	157
4.27.	3 $\beta$ -Acetoksi-6 $\beta$ -(p-toluensulfoniloksi)metil-19-nor-17-oksa-17a-homoandrost-5(10)-en-16-on (41)	158
4.28.	3 $\beta$ ,19-Dihidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (42)	159
4.29.	3 $\beta$ -Hidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on-19-onska kiselina 3,19-lakton (43)	160
4.30.	3 $\beta$ -Acetoksi-17-oksa-16,19-diokso-17a-homoandrost-5-en (44)	161
4.31.	3 $\beta$ -Acetoksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on-19-onska kiselina (45)	162
4.32.	3 $\beta$ -Acetoksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on-19-amid (46)	163

4.33.	3 $\beta$ -Acetoksi-(19 <i>E</i> )-hidroksiimino-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (47)	164
4.34.	3 $\beta$ -Hidroksi-(19 <i>E</i> )-hidroksiimino-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (48)	165
4.35.	3 $\beta$ -Acetoksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on-19-nitril (49)	166
4.36.	3 $\beta$ -Hidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on-19-nitril (50)	167
4.37.	3 $\beta$ -Acetoksi-19-metiliden-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (51) i 3 $\beta$ -hidroksi-19-metiliden-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (52)	168
4.38.	3 $\beta$ -Hidroksi-17-oksa-16,19-diokso-17a-homoandrost-5-en (53)	169
4.39.	3 $\beta$ -Hidroksi-19-cijanometiliden-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (54)	170
<b>5.</b>	<b>Zaključak</b>	171
<b>6.</b>	<b>Summary</b>	177
<b>7.</b>	<b>Skraćenice</b>	183
<b>8.</b>	<b>Literatura</b>	185
<b>9.</b>	<b>Prilog</b>	199
<b>10.</b>	<b>Biografija</b>	277



# 1. UVOD

Kancer, zloćudni tumor ili rak je termin koji se koristi za označavanje grupe bolesti do kojih dolazi usled nekontrolisanog rasta, razmnožavanja i širenja grupe ćelija, što vodi daljem ugrožavanju susednih tkiva [1-4]. Osim na susedna tkiva, do širenja može doći i putem krvotoka ili limfnog sistema na ostale delove tela i ovaj proces se naziva metastaza, a uzročnik je smrti kod 90% slučajeva pacijenata obolelih od kancera. Kancer se javlja zahvaljujući tzv. procesu tumorogeneze ili karcinogeneze kao rezultat mutacija u genima odgovornim za regulaciju rasta ćelija. Uzročnici ovog procesa mogu biti nasledni ili eksterni. Među eksterne uzročnike spadaju: fizički (kao što su ultraljubičasto i jonizujuće zračenje), hemijski (npr. azbest, arsen, aflatoksin, sastojci duvanskog dima itd.) i biološki karcinogeni (infekcije različitim virusima, npr. hepatitis, bakterijama ili parazitima) [3-7]. Osim uzročnika, postoje i faktori rizika, tj. uticaji i ponašanja koji povećavaju verovatnoću pojave kancera i utiču na njegov razvoj. Veliki broj faktora rizika je isti za sve kancere. To su npr. pušenje, konzumacija alkohola, nezdrava ishrana, fizička neaktivnost. Međutim značajan broj faktora rizika se razlikuje u zavisnosti od vrste kancera [8].

Kanceri ne samo da se razlikuju prema poreklu i faktorima rizika, već i prema svojoj rasprostranjenosti i smrtnosti. Izuzetno je teško utvrditi tačnu učestalost i smrtnost od pojedinih kancera na svetskom nivou, pošto globalna baza podataka ne postoji. Međutim, procene Svetske zdravstvene organizacije (eng. World Health Organization, skr. WHO) kažu da je to drugi globalni najčešći uzročnik smrti i jedan od najčešćih uzročnika morbiditeta [5]. Godine 2015. je zabeleženo 8,8 miliona smrtnih slučajeva usled kancera, a procenjuje se da će u naredne dve decenije doći do povećanja tog broja za čak 70% [5, 9, 10]. Iako je edukacijom, merama prevencije i učestalijim i bržim skriningom u razvijenim zemljama smanjen broj incidencije i mortaliteta, nažalost isti se povećao u nerazvijenim i zemljama u razvoju. U Africi, Aziji, Centralnoj i Južnoj Americi se javlja 60% novih slučajeva i 70% smrtnih ishoda usled kancera u svetu [11]. Procenjuje se da će u budućnosti kancer biti dijagnostifikovan kod 39,6% muškaraca i žena u toku njihovog života. Kada je u pitanju raspodela prema polovima, kod žena se javlja veći broj ali kod muškaraca veća smrtnost. Kod muškaraca se najčešće javljaju kancer prostate, pluća i kolona, respektivno, dok su najčešći uzročnici smrti usled kancera kanceri pluća, prostate, kolona i jetre (ili pankreasa), takođe respektivno [12-14]. Kod žena na prvom mestu po incidenciji je kancer dojke, dok je u zavisnosti od literaturnog izvora redosled naredna tri različiti ali su to uterus, kolon i pluća [12, 14-18]. Ovo, kao i činjenica da je procenat incidencije veći kod žena, stavlja kancer dojke na prvo mesto u svetu. U procentima to je 12% svih kancera, dok kod žena kancer dojke čini 25% svih kancera [19, 20]. Procenjuje se da jedna od osam žena oboli

od ovog kancera u toku života [21]. Kada je u pitanju mortalitet, na globalnom nivou kod žena ne dominira kancer dojke, koji je na drugom mestu, već kancer pluća, dok je treći po smrtnosti kancer kolona. U Srbiji je kancer dojke najrasprostranjeniji kancer kod žena i drugi najčešći nezarazni uzročnik smrti posle kardiovaskularnih bolesti [22, 23].

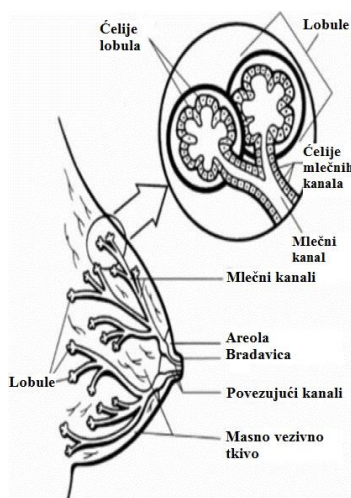
Uzimajući u obzir rasprostranjenost kancera dojke, decenijama unazad je jedna od gorućih tema naučnih istraživanja upravo pronalazak što efikasnijeg leka za ovu opaku bolest. Utvrđena je hormon zavisna, odnosno estrogen zavisna karakteristika kod čak 80% kancera dojke. Ovo znači da njihov rast i razvoj zavisi od koncentracije ženskih polnih hormona u krvi [24]. S obzirom na ovu činjenicu hormonska terapija je pronašla značajnu primenu u smanjenju i sprečavanju rasta metastatskih tumora dojke pre hirurške intervencije, ali pre svega radi sprečavanja ponovne pojave kod početnih faza tumora nakon hirurške intervencije. Među hormonskim lekovima za kancer dojke se ističu steroidni inhibitori enzima aromataze [25-29]. Oni sprečavanjem biosinteze estrogenih hormona, smanjuju njihovu koncentraciju u krvi pa i njihov uticaj na razvoj kancera. Steroidni inhibitori enzima aromataze poseduju raznolike strukturne karakteristike. Jedan od ranije upotrebljivanih inhibitora je testolakton (Teslac<sup>®</sup>, 17 $\alpha$ -oksa-17 $\alpha$ -homoandrost-1,4-dien-3,17-dion), koji u svojoj strukturi sadrži modifikovan D-prsten i to u obliku laktonske funkcije [30-31]. Pošto je ovaj lek ispoljio niz neželjenih efekata od 2008. god. nije u upotrebi, ali istraživanja usmerena ka dobijanju novih steroidnih laktonskih inhibitora aromataze nisu stala [32-34]. S druge strane, C19-modifikovani steroidi su takođe pokazali značajnu antiaromataznu aktivnost [35]. U biološkim ispitivanjima se najdalje otišlo sa plomestanom (10-propargilestr-4-en-3,17-dion), koji je u prekliničkim studijama pokazao značajnu potentnost i smanjenu pojavu neželjenih efekata. Dalja ispitivanja su zaustavljena iz „tehničkih razloga“ [1, 36-39].

Imajući u vidu navedene činjenice, cilj istraživanja ove doktorske disertacije je sinteza niza novih C19-derivatizovanih steroidnih D-laktona i njihovih 5,6-disupstituisanih prekursora. Važan cilj rada je i ispitivanje antitumorskog potencijala odabranih novosintetisanih jedinjenja koje podrazumeva ispitivanje biorasploživosti molekula upoređivanjem izračunatih molekulskih deskriptora sa kriterijumima *Lipinski-og* i *Veber-a*, zatim *in vitro* ispitivanje njihove antiproliferativne aktivnosti, utvrđivanje korelacionih odnosa između strukture i antiproliferativne aktivnosti, ispitivanje vezivanja za steroidne hormonske receptore i inhibicije pojedinih enzima steroidogeneze.

## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. KANCER DOJKE

Kancer dojke obično nastaje ili od ćelija lobula (mlečnih žlezda) ili ćelija mlečnih kanala (slika 2.1.1). Mnogo ređe nastaje od masnog ili vezivnog tkiva dojke [40, 41]. S obzirom na mogućnost nastanka od ćelija više različitih tkiva, kancer dojke je veoma heterogena bolest, ako ne i grupa bolesti. Tipovi kancera se razlikuju ne samo po biološkim osobinama već i prema kliničkom ponašanju [41-43]. Zahvaljujući velikom broju različitih tipova kancera dojke postoji više različitih klasifikacija, ali i nekoliko zajedničkih podela [41, 44, 45]. To su prema: raširenosti, učestalosti pojavljivanja i prema fazama u razvoju. Prema raširenosti na susedna tkiva kanceri dojke se dele na invazivni (ili infiltrirajući) i neinvazivni (ili *in situ*). Prema učestalosti pojavljivanja kanceri dojke se mogu podeliti na česte i retke, ali se oni dalje prema poreklu dele, učestali na lobularne i duktalne, a retki na medularne, mucinuozne i tubularne. Kao posebni tipovi kancera dojke se javljaju i inflamatorni kancer, zatim *Peget-ova* bolest bradavica i filoidni tumori. Ovaj veliki broj tipova kancera ima zajedničke faktore rizika, ali se razlikuje prema kliničkom manifestovanju, patološkim osobinama, kao i reakcijama na terapiju i ishodima.



Slika 2.1.1. Građa dojke [41]

### **2.1.1. FAKTORI RIZIKA KOD KANCERA DOJKE**

Osim već pomenutih faktora rizika koji su zajednički za sve kancere, za kancer dojke postoje i neki specifični. Veći deo njih je u vezi sa količinom estrogenih hormona u krvi. Kao što je već pomenuto u tkivu dojke postoje estrogeni receptori i rast i razvoj dojki je dirigovan upravo ovim hormonima [46]. Pošto tumor dojke nastaje nekontrolisanim deljenjem ćelija dojke i u oko dve trećine ovih tumora se nalaze estrogeni receptori, rast ovih tumora zavisi od koncentracije ženskih polnih hormona u krvi. Stoga je kontrola unosa estrogenih hormona u organizam jedan od bitnih oblika prevencije kancera dojke. Međutim, nije svaki doprinos količini estrogenih hormona u organizmu moguće kontrolisati, pa se tako faktori rizika mogu podeliti na one koje nije i koje je moguće kontrolisati. U prve spadaju genetske predispozicije (nasledni faktor), zatim pol, starost, lična istorija bolesti, rasa, terapija zračenjem, izlaganje estrogenu, trudnoća i dojenje i izlaganje dietilstilbestrolu (skr. DES) [47-52]. Razlog za veću zastupljenost raka dojke kod žena nego kod muškaraca, je konstantno manjanje i rast ženskih dojki usled stalne izloženosti estrogenima i progesteronu. Takođe se pokazalo da sa starenjem rizik od oboljevanja raste, pa je tako rizik između 30 i 39. godine života oko 0,44%, dok se u šezdesetim godinama povećava na nešto ispod 4% [53]. Uticaj ljudske rase se manifestuje većom verovatnoćom od oboljevanja kod žena bele puti u odnosu na žene afričko-američkog, hispanškog, azijskog ili indijanskog porekla. Izlaganje estrogenim hormonima u dužem vremenskom periodu je nemoguće kontrolisati u slučajevima rane prve menstruacije (pre 12. godine života) i kasne menopause (nakon 55. god.), zatim i u slučaju estrogena iz spoljašnje sredine (kao npr. hormoni iz mesa ili pesticidi, npr. DDT, iz kojih se dobijaju supstance slične estrogenima kada se metabolišu). Pošto trudnoća i dojenje smanjuju broj menstrualnih ciklusa u toku života, smanjuju i verovatnoću od oboljevanja od kancera dojke. Svaka trudnoća izneta do kraja smanjuje rizik od kancera dojke dijagnostifikovanog pre menopause za 3%, i za 12% kod kancera koji se javljaju nakon menopause [54]. Žene koje nikada nisu rađale ili su imale prvu trudnoću nakon tridesete godine života imaju veću verovatnoću oboljevanja. Rizik je povećan i usled izlaganja DES-u koji se koristio za sprečavanje spontanog pobačaja od '40tih do '60tih godina prošlog veka, kako za žene koje su ga uzimale tako i za one čije su majke uzimale isti tokom trudnoće.

Faktori rizika koje možemo kontrolisati su: težina, ishrana, fizička aktivnost/neaktivnost, konzumacija alkohola, pušenje, izlaganje estrogenim hormonima, upotreba oralnih kontraceptiva, stres i anksioznost. Povećana telesna težina se povezuje sa povećanjem rizika posebno kod žena u menopauzi, pošto nakon prestanka proizvodnje estrogena u ovarijumima, masno tkivo postaje glavni izvor ženskih polnih hormona u organizmu. Više masnog tkiva proizvodi više estrogenih hormona što povećava rizik od kancera dojke. Količinu estrogena moguće je kontrolisati i u slučaju upotrebe hormona radi ublažavanja simptoma menopause (eng. hormone replacement therapy, skr. HRT). Ovde je rizična upotreba kombinacije estrogena i

progesterona u toku nekoliko godina ili samih estrogenih hormona u toku deset i više godina, jer se ova vrsta terapije upotrebljava u životnom dobu u kom je povećan rizik od oboljevanja od ove opake bolesti. Upotreba oralnih kontraceptiva relativno malo povećava rizik od kancera dojke, ali u toku kraćeg vremenskog perioda, a s obzirom da se u životnom dobu u kom se upotrebljavaju retko javlja kancer dojke njihov uticaj se može zanemariti. Takođe žene koje su prestale da koriste oralne kontraceptive pre više od deset godina ne pokazuju povećan rizik od oboljevanja. Što se tiče stresa i anksioznosti, ne postoji jasan dokaz da na bilo koji način utiču na povećanje rizika od kancera dojke, ali su istraživanja pokazala da opuštajuće vežbe kao što su meditacija i joga mogu da ojačaju imuni sistem [55].

## **2.1.2. SIMPTOMI I DIJAGNOSTIČKE METODE KANCERA DOJKE**

Bolji uvid u faktore rizika omogućava da se uticaj spoljnih faktora na pojavu ili ponovno javljanje kancera dojke smanji na minimum. Ovde je naročito bitna edukacija žena ne samo o prevenciji, nego i o simptomima i samopregledu dojke. U početku kancer dojke najčešće ne pokazuje nikave simptome. Čvorić je isuviše mali da bi se osetio i izazvao bilo kakve promene koje pacijent može sam zapaziti i često se promena zapaža tek na mamogramu. Bez obzira na to, najčešće je prvi znak oboljenja čvorić ili izbočina na dojci koja se može opipati, većinom bezbojna, tvrda i nejednakih ivica, ali je nekada meka, nežna i okrugla. Ovaj simptom se javlja kod 65-86% slučajeva [56]. Međutim, bilo koja od sledećih promena na dojci može biti simptom kancera dojke: oticanje cele ili dela dojke, iritacija kože ili njeno povlačenje (3-5% slučajeva), osetljivost, neprijatan osećaj i bol u grudima (4-12% slučajeva), bolne bradavice ili njihovo povlačenje unutra (2-15%), crvenilo ili zadebljanje bradavice ili kože dojke, iscedak iz bradavice (osim mleka, 2-12%), izbočine u pazušnoj jami [41, 56, 57]. Ali ove promene mogu biti i znaci nekog manje ozbiljnog oboljenja kao što je infekcija ili cista. S obzirom na ovu činjenicu, reakcija na simptom kako pacijenta, tako i lekara, je odložena ukoliko nema izrasline odnosno čvorića [56]. Kod metastatske bolesti osim gore navedenih simptoma, javljaju se uvećani pazušni limfni čvorovi, zatim bol u kostima (metastaza na kostima), gubljenje daha (metastaza na plućima), gubitak apetita i neplanski gubitak na težini (metastaza na jetri), kao i glavobolje, neurološki problemi i slabost [41].

Iako je 40% kancera dojke detektovano zahvaljujući samopregledu i poznavanju simptoma od strane samih pacijentkinja, postoji značajan broj onih koji se na ovaj način ne mogu detektovati ili i same pacijentkinje ne odreaguju na vreme na pojavu simptoma [58]. Takođe postoje i studije koje poriču značaj samopregleda, i kažu da se istim ne povećava broj detektovanih kancera [59]. Iz tog razloga, kod žena iznad četrdeset godina starosti ili žena koje

spadaju u visoko rizičnu grupu se preporučuje godišnje mamografsko testiranje i klinički pregled dojke [60-62]. Mamogram predstavlja rendgensko testiranje pri čemu se na rendgenskom snimku zapaža svetlije područje, zbog promene u gustini tkiva. Osim u svrhu skrininga, mamografija se koristi i u dijagnostičke svrhe, kad dođe do pojave nekog od simptoma [63]. Kod mlađih žena (do tridesetpete godine života) zbog velike gustine tkiva mamografija je slabo primenljiva, pa se u tim slučajevima najčešće radi ultrazvučni pregled dojke [64]. Takođe mamografijom je otežano detektovanje tumora kod žena sa hirurški povećanim grudima [65]. Pored mamografije i ultrazvuka, koji mogu da daju i lažni negativni nalaz, u dijagnostičke svrhe se koristi i MRI (skr. od eng. Magnetic resonance imaging) [66, 67], ređe CT i dr [68]. Ove testove je potrebno uraditi iz predostrožnosti, ali pre svega radi skraćanja vremena između otkrića i postavljanja tačne dijagnoze [69]. Osim njih kao dalji dijagnostički test koristi se i biopsija. Ona se vrši kako bi se utvrdilo/potvrdilo da li je u pitanju kancer dojke, koji tip i da li se proširio van tkiva dojke [70]. Uzimajući u obzir da i pored ovih testova postoje kanceri dojke koji se ne uspeju detektovati, u toku je razvoj novih testova, ali mamografija i dalje ostaje najefikasnija dijagnostička metoda [71].

### **2.1.3. TERAPIJA KANCERA DOJKE**

Proces lečenja kancera dojke zavisi od tipa kancera, njegove faze u razvoju, ekspresije estrogena, starosti pacijenta i menopauzalnog statusa [72-74]. Obično obuhvata više vrsta terapija, koje se mogu podeliti na lokalnu i sistemsku terapiju [75].

Lokalnom terapijom se uklanja ili uništava tumor u dojci i obuhvata hiruršku intervenciju i radioterapiju. Ukoliko se kancer proširio na druge delove tela, lokalna terapija se koristi za kontrolu bolesti u tim konkretnim delovima tela.

Za lečenje kancera dojke se najčešće upotrebljava hirurška intervencija, ali nikad samostalno jer se smatra da za potpuno lečenje kancera nije dovoljno njegovo hirurško uklanjanje, pa se koristi samo kao palijativna mera [76]. Može da se podeli u dve grupe: poštednu i mastektomiju. Poštednom hirurškom intervencijom se uklanja samo tumor i eventualno okolno zdravo tkivo [77]. Mastektomija predstavlja potpuno uklanjanje tkiva dojke zajedno sa pazušnim limfnim čvorovima i grudnim mišićima [41, 75].

Radioterapija predstavlja zračenje tkiva dojke i eventualno limfnih čvorova jonizujućim zračenjem (X-zracima). Ova terapija se primenjuje kod skoro svih pacijenata radi uništenja eventualno zaostalih ćelija kancera i smanjenja rizika od pojave lokalnog recidiva. Postoji mogućnost njenog izostanka, ali samo kod pacijenata starijih od 70 god. sa dobrim prognostičkim parametrima (mali tumor i pozitivan na steroidne receptore) i kod kojih se može primeniti tamoksifen [78]. Nažalost neželjeni efekti ove terapije su brojni, a oni karaktotrajni

obuhvataju crvenilo i osip na koži kao i zapaljenje plućnog tkiva [79]. Dugotrajni neželjeni efekti su oštećenje srca, pluća i krvnih sudova u grudnom košu, razvoj kancera pluća i osteonekroze.

Sistemska terapija se aplicira putem krvotoka kojim se ona transportuje kroz celo telo i na taj način deluje na kancer. Postoje tri tipa ove terapije: hemoterapija, biološka i hormonska [75, 80]. Ova vrsta terapije može da se administrira pre operacije i tada se naziva neoadjuvantna, ili nakon, adjuvantna. Pojedina istraživanja daju prednost neoadjuvantnoj terapiji pošto ona vrši smanjenje kancera i pomoću nje je moguće testirati efikasnost terapije za svakog pojedinačnog pacijenta [81-83]. Sistemski lekovi deluju na početku terapije kod 90% primarnih kancera dojke i 50% metastaza [84]. Ipak nakon različitih vremenskih perioda dolazi do progresije, odnosno razvoj rezistencije je neminovan. Da bi se ovo izbeglo ili verovatnoća za rezistenciju smanjila obično se koristi kombinacija više vrsta medikamenata.

Hemoterapija se koristi za uništavanje ćelija kancera koje cirkulišu u organizmu i mogu da zahvate vitalne organe, u njima da nastave razmnožavanje i na taj način da prouzrokuju metastazu. Koristi se za ER+ i PR+ kancere, kancere sa metastazom na vitalnim organima i one koji ne reaguju na hormonsku terapiju, tzv. hormon refraktorne bolesti. U lečenju kancera dojke se upotrebljavaju sledeći hemoterapeutici: taksani (paklitaksel, docetaksel), antraciklini (doksorubicin, epirubicin), jedinjenja platine (cisplatina, carboplatina) i dr.

Biološka terapija se zasniva na činjenici da je receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2 (eng. human epidermal growth factor receptor 2, skr. HER2) ekspresovan kod 20-25% kancera dojke sa lošom prognozom i smanjenom verovatnoćom od izlečenja. Stoga se HER2 koristi za prognozu odgovora na terapiju kod žena u naprednim fazama bolesti. Takođe je utvrđeno da antitela koja se vezuju za ekstracelularni deo HER2 proteina imaju antiproliferativno dejstvo na ćelije kancera dojke. Upravo se ova antitela sa određenim modifikacijama koriste u okviru biološke vrste sistemske terapije kancera [85].

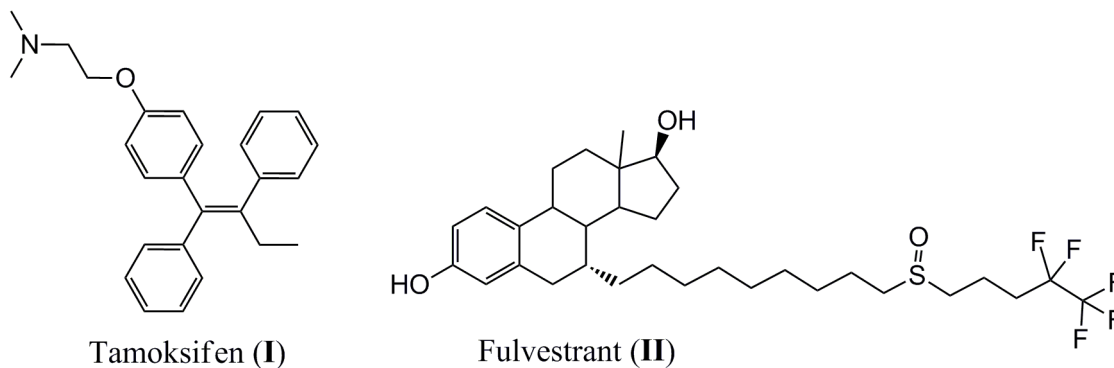
Hormonska terapija se koristi kod hormon-senzitivnih tipova kancera (ER+ i PR+) [86]. Vrlo često se primenjuje u kombinaciji sa hemoterapijom, koja se može koristiti i nakon hormonske terapije ukoliko dođe do razvitka hormon-rezistentne bolesti. Umesto ove vrste terapije se ranije pribegavalo hirurškom uklanjanju endokrinih žlezda (jajnika), ali je ovaj postupak vrlo često povezan sa morbiditetima i smrtnim slučajevima. Stoga je hirurško uklanjanje jajnika zamenila hormonska terapija, a ono se danas primenjuje samo u retkim slučajevima kancera dojke kod žena koje nisu ušle u menopauzu. Hormonska terapija je godinama unazad jedan od glavnih načina lečenja kancera dojke. Dva glavna tipa hormonskih medikamenata su antiestrogeni i inhibitori enzima aromataze (skr. IA). Ređe se upotrebljavaju lekovi iz grupe progestina, androgeni, agonisti gonadotropin-oslobađajućeg hormona i velike doze estrogena.

Antiestrogeni deluju tako što interaguju sa estrogenim receptorima i na taj način sprečavaju vezivanje estrogena za ove receptore i njihovo ekspresovanje [1]. Upotrebljavaju se i kod žena pre menopauze i u postmenopauzi [87]. Postoje dva tipa antiestrogena:

1. modulatori ili nesteroidni antiestrogeni (eng. Selective estrogen receptor modulator, skr. SERM) i
2. antagonisti ili čisti antiestrogeni ili steroidni antiestrogeni.

SERM su jedinjenja nesteroidne prirode, najčešće sa trifeniletilemskim sistemom. Postoji više vrsta estrogenih receptora koji su ekspresovani u različitim tkivima. Biološki odgovor ovih jedinjenja zavisi od vrste tkiva na koje deluju, pa tako u nekima imaju antagonističko a u nekim tkivima agonističko dejstvo. Idealni SERM imaju antagonističko dejstvo na grudi i uterus, a agonističko na jetru, kosti i centralni nervni sistem. Ova jedinjenja se osim za lečenje kancera dojke koriste i za njegovu prevenciju kao i za prevenciju osteoporoze i kancera uterusa [88]. Jedan od najčešćih lekova ovog tipa je tamoksifen (Nolvadex<sup>®</sup>, Genox<sup>®</sup>, Tamifen<sup>®</sup> itd., **I**, slika 2.1.2), koji je efikasan antiestrogen sa par nuspojava (valunzi, problemi sa vidom, osipi na koži) [75, 89]. Međutim, on svojim agonističkim dejstvom može da dovede do razvoja sekundarnih tumora kao što su tumori jetre i uterusa, kao i do pojave rezistencije ovih tumora na lek.

Čisti antiestrogeni su analozi prirodnih hormona koji poseduju dugačak, lipofilan i fleksibilan lanac u položaju C7 $\alpha$ , i ređe bočni niz na C11 i C17 [1]. Oni za razliku od SERM-a imaju samo estrogen antagonističko dejstvo u svim proučavanim tkivima [88]. Ovoj grupi pripada i fulvestrant (Faslodex<sup>®</sup>, **II**, slika 2.1.2)[90]. On pripada drugoj generaciji antiestrogenih lekova sa visokim afinitetom prema ER (89% afiniteta estradiola), istim kao i kod tamoksifena, ali za razliku od njega ne poseduje agonističko dejstvo na uterus. Ovo jedinjenje se pre svega upotrebljava za lečenje kancera nakon razvitka rezistencije na tamoksifen.



Slika 2.1.2. Strukture dva najpoznatija antiestrogena



Inhibitori enzima aromataze sprečavaju proliferativno dejstvo estrogena na ćelije kancera dojke tako što smanjuju njihovu koncentraciju u organizmu sprečavanjem njihove biosinteze [27, 28]. Iako u biosintezi estrogena učestvuje niz enzima, enzim aromataza je izabran kao cilj pošto katalizuje poslednju fazu u biosintezi estrogena, aromatizaciju prstena A kod androgena. Na ovaj način se ne inhibira biosinteza drugih fiziološki aktivnih i važnih steroida. Inhibitori aromataze se, za razliku od antiestrogena, koriste isključivo u lečenju kancera dojke kod žena u postmenopauzi. Kada bi se ova jedinjenja upotrebljavala kod žena pre menopauze došlo bi do nepotpunog suzbijanja biosinteze estrogena i povećane stimulacije gonada zahvaljujući „feedback“ regulatornom mehanizmu koji povećava koncentraciju luteinizirajućeg hormona i folikul-stimulirajućeg hormona nakon inhibicije aromataze [1, 26, 27, 91]. Inhibitori aromataze pokazuju veću brzinu i dužinu odgovora na dejstvo u poređenju sa antiestrogenima. Takođe kod njih je retka pojava rezistencije kao i neželjenih efekata, koji su i kada se pojave blaži u odnosu na one nastale usled upotrebe antiestrogena [92, 93].

Progestini se primenjuju za lečenje PR+ kancera dojke, a njihov najpoznatiji predstavnik je megestrol-acetat (Megace®) [75, 89]. Ovaj lek daje brži odgovor u poređenju sa tamoksifenom, posebno kod kancera koji je metastazirao na kosti. Nažalost, on poseduje niz neželjenih efekata: mučnina, povećanje telesne težine, retencija tečnosti, vaginalno krvarenje itd. Iz tog razloga se progestini koriste kao druga ili treća linija terapeutika, nakon antiestrogena i/ili inhibitora aromateze.

Poslednjih godina postoje dokazi o povezanosti androgenih receptora (skr. AR) sa razvojem pojedinih tipova kancera dojke [94]. Međutim, primena androgena nosi sa sobom i neželjene efekte: virilizacija, edem, valunzi, žutica itd. Stoga je terapija androgenima ograničena. I pored toga oni predstavljaju dobru osnovu za razvoj novih terapeutika [89, 94].

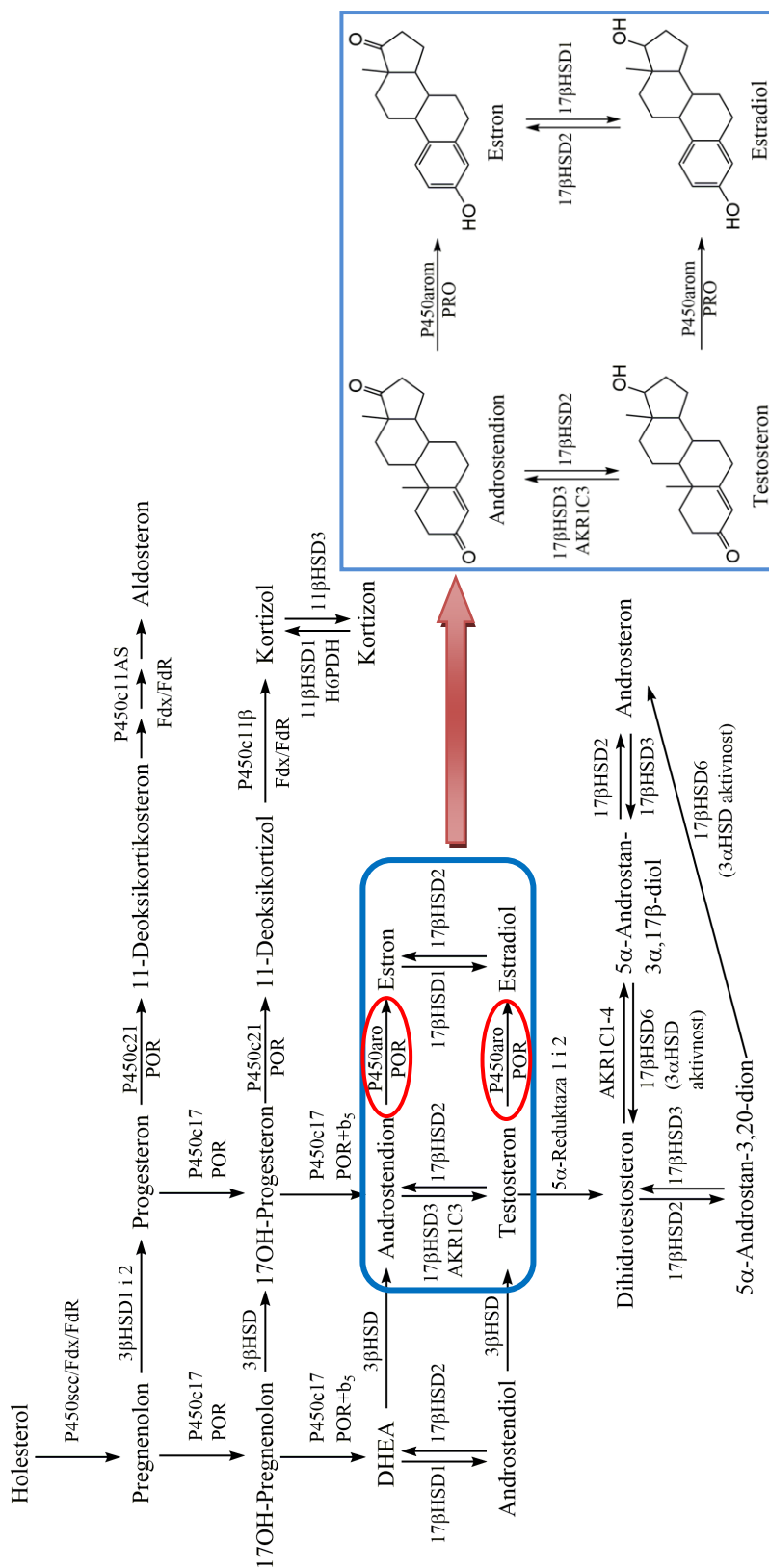
Agonisti gonadotropin-oslobađajućeg hormona (eng. Gonadotropin-releasing hormone, skr. GnRH ili eng. Lutenising Hormone Releasing Hormone, skr. LHRH) je grupa terapeutika koja potiskuje proizvodnju estrogena od strane ovarijuma na postmenopauzalni nivo [75, 89]. Najčešće se koriste za lečenje ER+ kancera dojke kod žena koje još uvek nisu ušle u menopauzu.

Velike doze estrogena su se pokazale kao efikasna terapija kancera dojke iako stimulišu njegov razvoj („estrogen paradoks“) [89, 95]. Ova vrsta terapije je efikasna kada se primenjuje na kancere u naprednim fazama razvoja, kako kao prva linija, tako i nakon pojave rezistencije na tamoksifen i inhibitore aromataze. Međutim ova vrsta terapije je primenljiva samo kod žena u postmenopauzi.

### **2.1.3.1. CITOHRM P450 AROMATAZA**

Steroidogeneza je proces biosinteze steroidnih hormona (glukokortikoida, mineralokortikoida, progestina, androgena i estrogena) polazeći od holesterola (shema 2.1.1) [91, 96, 97]. Sve transformacije koje se vrše u okviru steroidogeneze su katalizovane odgovarajućim enzimima. Ovi enzimi se mogu podeliti u dve velike klase proteina: citohrom P450 proteine koji sadrže hem i hidroksi steroid dehidrogenaze [96, 98]. Citohrom P450 je grupa oksidativnih enzima koji u svojoj strukturi sadrže oko 500 amino kiselina i jednu hem grupu [99-101]. Oznaku P450 su dobili kao skraćanicu od pigment 450, zato što u svom redukovanom stanju kompleksiranom sa ugljen-monoksidom apsorbuju svetlost na 450 nm. Ovi enzimi u procesu steroidogeneze vrše reakcije hidroksilacije i raskidanja veze između ugljenika [97]. Postoje dva tipa P450 enzima, koja se biohemijski razlikuju prema mehanizmu po kojem primaju elektrone od NADPH, kao i njihovoj intracelularnoj lokaciji. Enzimi tipa 1 primaju elektrone od NADPH preko flavoproteina feredoksin reduktaze i malog proteina feredoksina, dok oni tipa 2 primaju elektrone od NADPH preko jednog 2-flavin proteina nazvanog P450 oksidoreduktaza (skr. POR) [100]. Tipu 2 pripada enzim aromataza koji se nalazi u endoplazmatičnom retikulumu [99-101].

Citohrom P450 aromataza (dr. nazivi: Aromataza, CYP19, P450arom, citohrom P450arom, estrogen sintaza) katalizuje konverziju C19 androgena, androstendiona i testosterona, u C18 estrogene, estron i estradiol, respektivno, i to aromatizacijom prstena A steroidnog skeleta (shema 2.1.1) [91, 98, 99]. S obzirom da su androgeni, muški polni hormoni, odgovorni za proces stimulacije rasta i razvoja muških sekundarnih polnih karakteristika, a estrogeni, ženski polni hormoni, odgovorni za ženke sekundarne polne karakteristike, ekspresija aromataze je izuzetno bitna pre svega u razvoju, a zatim i pravilnom funkcionisanju organizma, kako kod žena tako i kod muškaraca. Kod žena je ovaj enzim najviše ekspresovan u granulosa ćelijama ovarijuma, ali i u adipocitima (masnom tkivu), grudima, kostima, centralnom nervnom sistemu i placenti, kao i testisima muškaraca, hipofizi, tumorima mozga, dojke itd. [91, 100, 102].



Shema 2.1.1. Steroidogeneza i uloga aromataze u biosintezi steroida

Kao i svi citohrom P450 enzimi, aromataza se sastoji iz proteinskog dela i hema [103, 104]. Proteinski deo predstavlja jedan polipeptidni lanac koji se sastoji iz dvanaest  $\alpha$ -heliksa (A-L) i deset  $\beta$ -nizova (1-10) raspoređenih u jednu veću i tri manje ploče, i prati karakteristično citohrom P450 savijanje (slika 2.1.2). Aminokiselinske rezidue koje su uključene u koordinaciju hema su Arg115, Trp141, Arg145, Arg375 i Arg435 i za njihove bočne lance se HEM vezuje preko svojih propionskih ostataka jonskim i vodoničnim vezama. Androstendion se vezuje za aktivni centar u kome se nalazi hem pomoću tri vodonične veze koje se formiraju između kiseonika iz karbonilnih grupa i bočnih nizova Asp309 i Arg115 i Met374. Ovaj supstrat se vezuje svojom  $\beta$ -stranom okrenutom ka HEMu i 19-metil grupom udaljenom 4 Å od atoma gvožđa. Predloženo je više različitih mehanizama aromatizacije steroidnog A prstena [1]. U svim predloženim mehanizmima je zajednička oksidacija C-19 metil grupe do aldehidne i potom njena eliminacija u obliku mravlje kiseline, a u koje je uključen HEM.



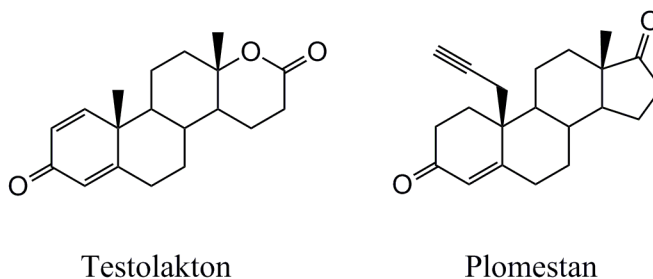
**Slika 2.1.3.** Struktura aromataze [104]

S obzirom na blizinu HEMu i učešće C19 metil grupe androgena u procesu biosinteze estrogena, hemijske transformacije androgena u cilju dobijanja 19-derivatizovanih steroidnih jedinjenja su bile i ostale značajna tema naučnih istraživanja. Ova istraživanja se vrše ne samo radi utvrđivanja mehanizama aromatizacije već i radi sinteze potencijalnih medikamenata. Pre svega svrha ovih lekova bi bila lečenje kancera dojke [105]. Pošto je aromataza značajno bolje ekspresovana u humanom tkivu kancera dojke nego u zdravom tkivu dojke, za lečenje ove bolesti potiskivanje ekspresije ili inhibicija aktivnosti aromataze su jedni od glavnih pravaca istraživanja. Mehanizam ekspresije aromataze u tkivu kancera dojke jos uvek nije u potpunosti razjašnjen, pa je terapija inhibitorima aromataze druga terapija koja se primenjuje, odmah nakon antiestrogena.

### 2.1.3.2. INHIBITORI CITOHRUM P450 AROMATAZE

Inhibitori aromataze se u kliničkoj praksi upotrebljavaju kao druga linija terapije nakon antiestrogena, pre svega njihovog najvažnijeg predstavnika tamoksifena. Ukoliko kancer razvije rezistenciju na tamoksifen, lekari se okreću ovoj vrsti hormonske terapije. Od 2002. godine istraživanja su usmerena na ispitivanje njihove neoadjuvantne i adjuvantne, ali i preventivne primene [106-110]. IA su pokazali istu ili bolju efikasnost u lečenju karcinoma dojke u poređenju sa tamoksifenom. Za razliku od tamoksifena, upotrebom inhibitora ne dolazi do pojave kancera endometrijuma, vaginalnih krvarenja i tromboembolije, ali se povećava verovatnoća pojave osteoporoze i fraktura kostiju [111-113]. Negativan uticaj na kosti se sprečava upotrebom steroidnih IA, koji pak mogu da poseduju androgeno dejstvo [114].

Do sada je sintetisan niz steroidnih jedinjenja sa različitim modifikacijama u A, B ili D prstenu [28], kao i C19-derivatizovana jedinjenja koja su se pokazala kao potentni IA [115, 116]. Na slici 2.1.4 prikazane su strukture testolaktona i plomestana.



**Slika 2.1.4.** Strukture steroidnih inhibitora aromataze

Testolakton (trgovački naziv: Teslac<sup>®</sup>, drugi nazivi: Fludestrin, Teolit, 1-Dehidrotestololacton, slika 2.1.4) je neselektivni, ireverzibilni steroidni inhibitor aromataze (tip I) prve generacije. Često se meša sa svojim monohidrogenovanim derivatom testololaktonom (hidrotestololaktonom) [117-120]. Njegova primena u lečenju kancera dojke je počela 1960. god., iako do 1979. god. nije utvrđena njegoova sposobnost inhibicije aromataze [1]. Ovo jedinjenje osim inhibitorne aktivnosti poseduje i anaboličko i slabo androgeno dejstvo [121]. Upravo zbog slabog inhibitornog dejstva, niza neželjenih efekata, su njegoova klinička primena i proizvodnja zvanično prestale 2008. godine.

Plomestan (drugi nazivi: 10-propargilestr-4-en-3,17-dion, propargilestrendion, PED, razvojni kod: MDL-18,962, slika 2.1.4) je ireverzibilni suicidalni inhibitor aromataze. Izuzetno je potentan i vrši inhibiciju aromataze pri nanomolarnim koncentracijama [122]. Ovo jedinjenje je i specifično s obzirom da ne inhibira dejstvo drugih P450 enzima [37]. Takođe pokazuje

minimalno hormonsko delovanje, zbog niskog afiniteta prema estrogenim, androgenim i receptorima progesterona. Upravo je ovo dovelo do smanjene pojave neželjenih efekata u prekliničkim studijama, ali su dalja ispitivanja zaustavljena iz „tehničkih razloga“ [1].

### 2.1.3.3. ALDO-KETO REDUKTAZE I NJIHOVA MEDICINSKA PRIMENA

Aldo-keto reduktaze (AKR) su superfamilija NAD(P)(H)-zavisnih oksidoreduktaza citosola [123]. Sastoji se od oko 190 monomernih proteina klasifikovanih u 16 familija:

1. AKR1 (reduktaze aldehida, aldoze, hidroksisteroid dehidrogenaze i steroid 5 $\beta$ -reduktaze),
2. AKR2 (reduktaze manoze i ksiloze),
3. AKR3 (AKR-e kvasaca),
4. AKR4 (reduktaze halkona i kodeinona),
5. AKR5 (reduktaze glukonske kiseline);
6. AKR6 ( $\beta$ -podjedinice voltažnih kanala za K<sup>+</sup>),
7. AKR7 (reduktaze aflatoksin dialdehida i sukcin semialdehida),
8. AKR8 (reduktaze piridoksala),
9. AKR9 (aril alkohol dehidrogenaze),
10. AKR10 (*Streptomyces* AKR-e),
11. AKR11 (*Bacillus* AKR-e),
12. AKR12 (*Streptomyces* reduktaze šećernih aldehida),
13. AKR13 (reduktaze hipertermofilnih bakterija),
14. AKR14 (reduktaze *E.coli*),
15. AKR15 (*Mycobacterium* reduktaze) i
16. AKR16 (*V. Cholera* reduktaze).

U familije se grupišu na osnovu funkcije proteina i sličnosti u aminokiselinskoj sekvenci. Članovi jedne familije imaju sličnost u više od 40% sekvence, dok subfamilije u više od 60%. Ova klasifikacija predstavlja i osnovu za nomenklaturu ove velike grupe enzima [124]. Osnova naziva svakog proteina je skraćena AKR, zatim sledi arapski broj koji označava familiju, veliko slovo abecede koje označava subfamiliju (kada postoje) i na kraju arapski broj koji označava jedinstvenu proteinsku sekvencu. Tako se npr. AKR1 familija sastoji iz pet subfamilija: A. aldehyd reduktaze (kod sisara), B. reduktaze aldoza, C. hidroksi steroid dehidrogenaze (skr. HSD), D.  $\Delta^4$ -3-ketosteroid-5 $\beta$ -reduktaze i E. aldehyd reduktaze (u biljkama).

Postoji oko 15 humanih AKR-a koje se mogu svrstati u tri familije AKR1, AKR6 i AKR7 [125,126]. Među humanim enzimima u steroidogenezu i metabolizam steroida su uključeni AKR1C1-4 (redukuju ketosteroide do hidroksi steroida), pa je njihova inhibicija jedan od važnih pravaca u lečenju hormon zavisnih oboljenja [127, 128].

AKR1C1 ima najčešće ulogu  $20\alpha$ -HSD-e i redukuje progesteron (potentni progestin) do  $20\alpha$ -hidroksiprogesterona (slab progestin) [127, 128]. On takođe ima ulogu  $3\beta$ -HSD-e i redukuje  $5\alpha$ -dihidrottestosteron (DHT) u  $3\beta$ -androstendiol koji je ligand  $ER\beta$  u tkivima poput prostate. Ovaj enzim je ekspresovan i u plućima, jetri i mlečnim žlezdama, nešto manje u testisima, i zajedno sa AKR1C2-4 u androgen nezavisnim kancerima prostate. Velika ekspresija AKR1C1 enzima dovodi do pojave cisplatina rezistentnog kancera ovarijuma. Stoga je sintetisan značajan broj inhibitora ovog enzima koji se svrstavaju u sledeće grupe jedinjenja: benzodiazepame, steroidne karboksilate, fitoestrogene, derivate pirimidina, ftalimide, derivate antranilne kiseline, ciklopentane, flavone i komplekse rutenijuma.

AKR1C2 je dominantno  $3\alpha$ -HSD-a i redukuje  $5\alpha$ -dihidrottestosteron u  $3\beta$ -androstendiol koji je ligand AR u prostati. Poput AKR1C1 je najviše ekspresovan u mlečnim žlezdama i karcinomoma dojke, endometriju i kolorektalnim kancerima. On je važan s obzirom da redukuje DHT do slabog metabolita  $5\alpha$ -androstan- $3\alpha,17\beta$ -diola bez konverzije  $3\alpha$ -diola do DHT-a u PC-3 ćelijskoj liniji. Zajedno sa AKR1C1 održava proestrogeno i proandrogeno stanje koje dovodi do kancera prostate otpornog na kastraciju. S obzirom na veliku sličnost u strukturi AKR1C1 i AKR1C2 veoma su retki selektivni inhibitori ovih enzima.

AKR1C3 je poznat još i kao prostaglandin-F sintaza, ali se najčešće nalazi u ulozi  $17\beta$ -HSD-e i redukuje  $\Delta^4$ -androgen- $3,17$ -dion i estron do testosterona i  $17\beta$ -estradiola, respektivno. Stoga ovaj enzim utiče na koncentraciju potentnih androgena i estrogena u organizmu, a samim tim i na njihovo vezivanje za AR-e i ER-e. Zahvaljujući tome ovaj enzim ima uticaj na prostatu, dojke, endometriju itd. S obzirom da osim estrona, AKR1C3 redukuje i progesteron do  $20\alpha$ -hidroksiprogesterona, kombinovanim dejstvom u dojkama može dovesti do proestrogenog stanja i pogoršanja sposobnosti biosinteze testosterona, supstrata aromataze. Ovaj enzim zajedno sa AKR1C1 kontoliše odnos estradiola i progesterona koji se formiraju lokalno u endometriju i mlečnim žlezdama. Osim u ova dva tkiva ekspresovan je i u plućima, jetri i najviše od svih pomenutih AKR1C enzima u hormon zavisnim i nezavisnim malignitetima. Najčešće se dovodi u vezu sa hormon nezavisnim karcinomom prostate, karcinomom pluća i gastroesofagealnog spoja. AKR1C3 katalizuje inaktivaciju doksorubicina i povezuje se sa pojavom doksorubicin rezistentnog kancera dojke. Takođe smanjuje aktivnost daunorubicina koji se primenjuje za lečenje leukemije. Inhibitori AKR1C3 obuhvataju: nesteroidne anti-inflamatorne lekove i njihove derivate, steroidne hormonske analoge, flavonoide, ciklopentane, derivate benzojeve kiseline, progestine, komplekse rutenijuma i najšire upotrebljavane antidijabetske lekove, sulfoniluree [129]. S obzirom da je ovaj enzim uključen u biosintezu

prostaglandina, koji vrše indukciju kontrakcija materice u toku porođaja, pojedini inhibitori ovog enzima se koriste za tokolizu [130].

AKR1C4 je ekspresovan u jetri. Ovaj enzim je zadužen za sintezu žučnih kiselina i redukciju  $5\alpha$ -pregnan-3,20-diona do  $3\alpha$ -hidroksi- $5\alpha$ -pregnan-20-ona (alopregnanolona). Dokazano je da ovaj enzim utiče na maničnu iritabilnost kod muškaraca. Međutim njegova inhibicija dovodi do nedostatka žučnih kiselina u organizmu.



## 2.2. C19-DERIVATIZOVANI STEROIDI

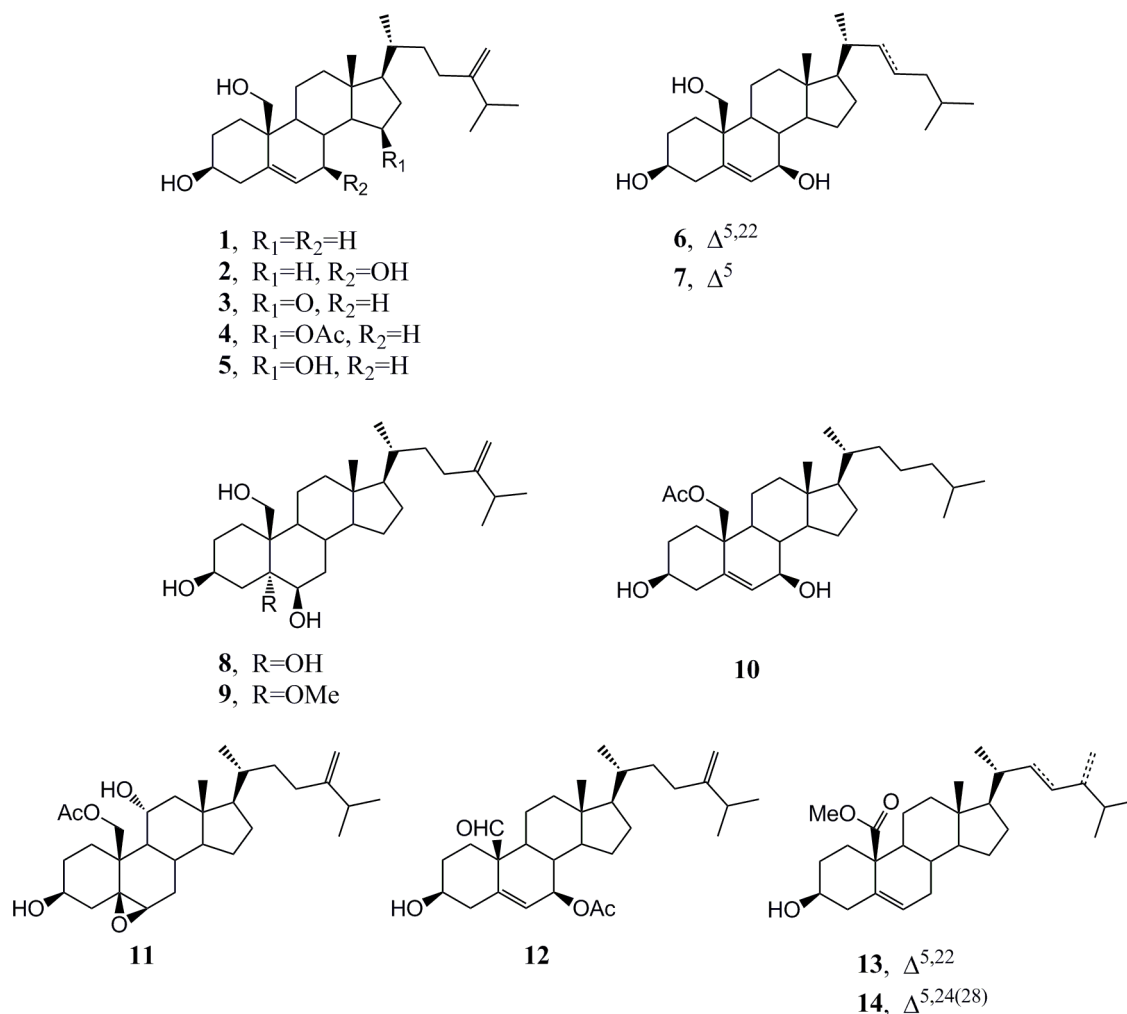
C19 derivatizovani steroidi su steroidi kod kojih je vodonik/ci iz metil grupe u položaju C10 supstituisan/i drugim atomom/ima ili atomskom grupom. Takođe za derivate C19 steroida mogu se smatrati i jedinjenja kod kojih je ugljenik u položaju C19 povezan sa ugljenikom iz steroidnog skeleta čineći na taj način dodatni, peti prsten u steroidnoj strukturi, pri čemu je ovaj prsten često heterociklični.

### 2.2.1. PRIRODNI C19-DERIVATIZOVANI STEROIDI

Značajan broj C19-derivatizovanih steroida je nađen u prirodi. Izolovani su iz nekih morskih organizama (meki i crni korali, morski sunđer), kao i iz biljaka. Uglavnom u položaju C19 sadrže kiseoničnu funkcionalnu grupu, supstituente u različitim položajima steroidnog jezgra i različitim bočnim nizovima u 17 $\beta$  položaju [131-143]. Neki od njih su u biološkim testovima pokazali značajnu aktivnost, kao što je antiinflamatorna [135], citotoksična [137, 138, 141] i neuroprotektivna [139] aktivnost. Ovde će biti prikazane samo strukture jedinjenja sa značajnom biološkom aktivnošću, a koji su izolovani iz morskih mekih korala i biljaka.

#### 2.2.1.1. STEROIDI IZOLOVANI IZ MEKIH KORALA

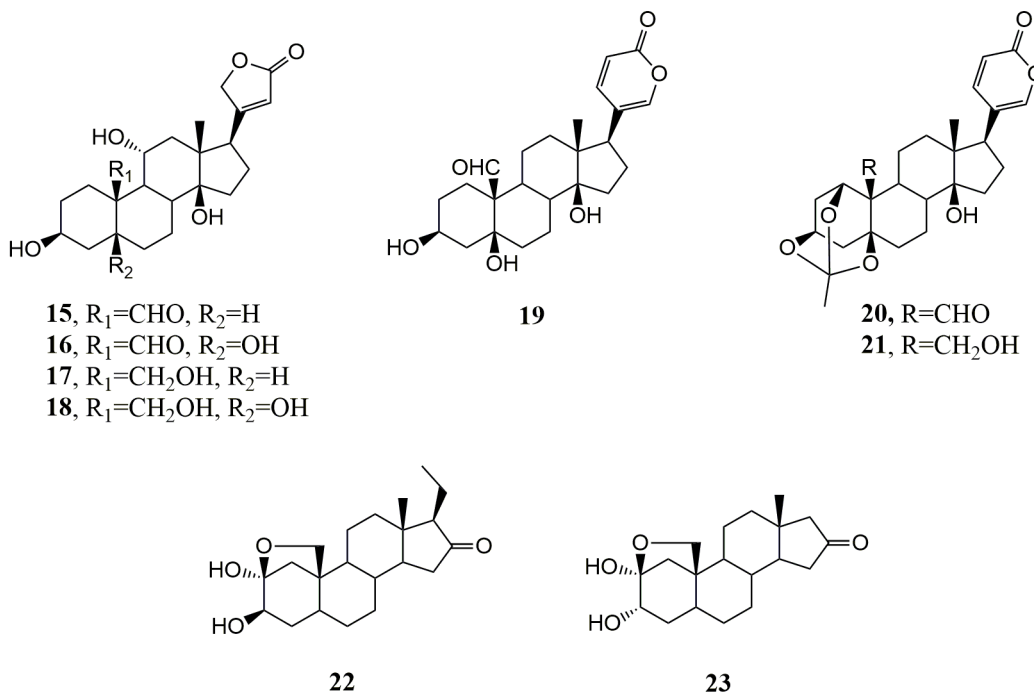
U literaturi je do sada objavljeno više od 50 različitih C19 derivatizovanih steroidnih jedinjenja izolovanih iz mekih korala [131, 133-140, 144]. Ova jedinjenja u položaju C19 poseduju hidrosilnu grupu [133, 134, 137-139, 144], aldehidnu [135], acetoksi grupu [137], hlor [140] ili C10 metoksikarbonil grupu [135]. Na slici 2.2.1.1. date su strukture samo biološki potentnih jedinjenja. C19 hidroksi derivati **1-5** su pokazali jaku citotoksičnu aktivnost prema A549, HT-29, KB i P-388 ćelijama kancera [144]. Trioli **6** i **7** su pokazali jaku citotoksičnost prema MCF7/ADR, PC-3 i HCT-116 ćelijama [138]. Tetrol **8** je pokazao dobru neuroprotektivnu aktivnost [139], dok je njegov 5-metoksi analog **9** bio aktivan na P-388 ćelije kancera [137]. Prema limfocitnoj leukemiji kod miševa (P-388) aktivni su bili i 19-acetoksi derivati **10** i **11** [137]. 19-Okso derivat **12**, kao i 10-metoksikarbonil derivati **13** i **14** su pokazali antiinflamatornu aktivnost [135].



**Slika 2.2.1.1.** Strukture odabranih biološki aktivnih C19-derivatizovanih steroida izolovanih iz mekih korala

### 2.2.1.2. STEROIDI IZOLOVANI IZ BILJAKA

C19-Modifikovani steroidi koji su izolovani iz biljaka najčešće pripadaju kardenolidima [142, 143, 145] i bufadienolidima [141, 146], ali su poznati i pregnanski i androstanski derivati [132] (slika 2.2.1.2).



**Slika 2.2.1.2.** Strukture C19-derivatizovanih steroida izolovanih iz biljaka

Kardenolidi **15-18** su izolovani iz korena biljke *Crossopetalum gaumeri* i pokazali su snažnu citotoksičnu aktivnost prema KB ćelijskoj liniji [145]. 19-Hidroksisarmentogenin (**17**) je 2013. godine dobijen totalnom sintezom [142], dok je ouabagenin ( $1\beta$ -hidroksi analog jedinjenja **18**) dobijen parcijalnom sintezom [143, 147]. Iz jedne vrste kukureka (*Helleborus cancosicus*) izolovan je bufadienolid **19** koji je pokazao snažnu citotoksičnu aktivnost prema nekoliko ćelijskih linija kancera [138]. Iz listova biljke *Kalanchoe pinnata* izolovana su dva bufadienolida sa okso (**20**) ili hidrosilnom (**21**) grupom u C-19 položaju i 1,3,5-ortoacetatnim delom. Oba jedinjenja su pokazala snažnu insekticidnu aktivnost prema larvama svilene bube [146]. Brazilski naučnici [132] su iz lista biljke *Trichilia claussenii* izolovali i utvrdili strukturu serije steroidnih jedinjenja, među kojima su i pregnanski derivati **22** i androstanski derivat **23** koji u svojoj strukturi poseduju  $2\beta,19$ -hemiketalnu grupu i moguće da imaju značajan antiparazitski potencijal s obzirom da ga poseduje ekstrakt ove biljke [148].

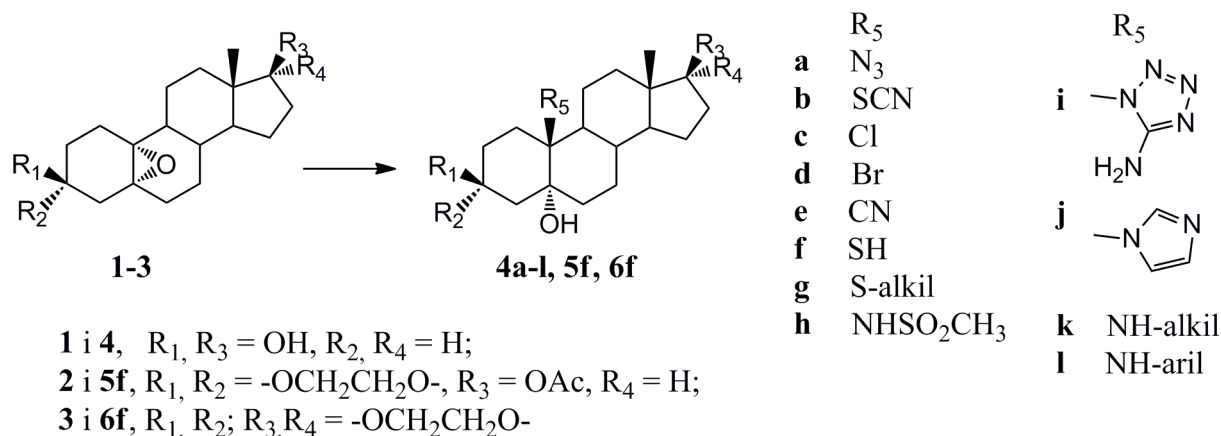
## 2.2.2. ODABRANE PARCIJALNE SINTEZE C19 DERIVATIZOVANIH STEROIDA

Osim C-19 modifikovanih steroida koji su dobijeni iz prirodnih izvora, postoji i velik broj onih koji su dobijeni sintezom. Oni su sintetisani radi utvrđivanja/potvrđivanja mehanizma aromatizacije A prstena kod androgena, ali i za dobijanje potentnih i selektivnih inhibitora aromataze, kao i citotoksičnih agenasa. Najčešći pristupi u sintezi ovakvih jedinjenja su:

1. Otvaranje 5,10-epoksida
2. Sigmatropna [3,3]- ili [2,3]-premeštanja
3. Polazeći od 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi derivata

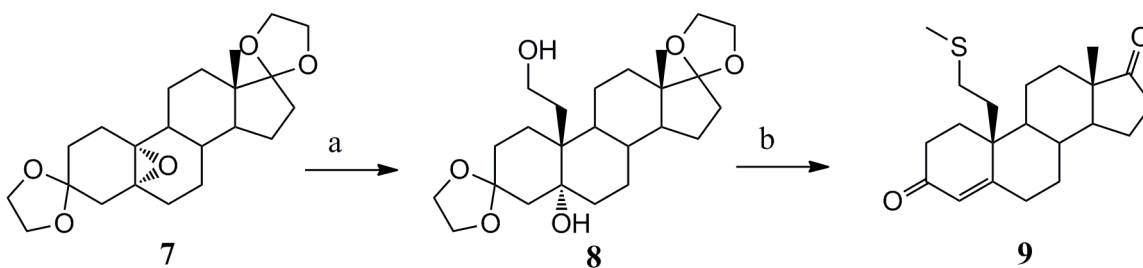
### 2.2.2.1. OTVARANJE 5,10-EPOKSIDA

Otvaranje 5,10-epoksida je najčešće korišćeno za uvođenje heteroatoma, npr. azota, sumpora ili halogena (Cl, Br) u položaj C10 (shema 2.2.2.1) [149-152]. 10 $\beta$ -Azido jedinjenje **4a** se dobija reakcijom epoksida **1** sa natrijum-azidom u etilen-glikolu, dok njegovom reakcijom sa odgovarajućim kiselinama nastaju jedinjenja **4b-d**. Zagrevanjem ovog epoksida sa različitim alkalnim ili amonijum solima u etilen-glikolu dobijaju se jedinjenja **4e-j** [149]. Tioli **5f** i **6f** nastaju zagrevanjem epoksida **2** i **3** sa natrijum, odnosno kalijum-hidrogensulfidom [150, 151]. Sekundarni amini **4k** i **4l** nastaju pak reakcijom epoksida **1** sa odgovarajućim primarnim aminima [149].



**Shema 2.2.2.1.** a) NaN<sub>3</sub> ili HSCN ili HCl ili HBr u THFu ili odgovarjuće alkalne ili amonijum soli kiselina za **4e-d** (npr. KSH, NaSH itd.) ili NH<sub>2</sub>-alkil ili NH<sub>2</sub>-aril u etilen-glikolu ili propilen-glikolu

U prethodnim primerima su otvaranjem 5,10-epoksida dobijana 19-nor jedinjenja, odnosno jedinjenja koja umesto C19 metil grupe poseduju heteroatom. Međutim, na ovaj način se dobijaju i derivati kod kojih je supstituisan vodonik iz angularne metil grupe. Tako je sintetisan 9,11-hidrogenovani analog potentnog inhibitora aromataze RU54115 (**9**, shema 2.2.2.2), i to najpre otvaranjem epoksida **7** sa litijum-acetilidom [152]. Ovako dobijena trostruka veza je potom hidrogenovana do olefinske iz koje je hidroborovanjem pa oksidacijom dobijen alkohol **8**. Mezilovanjem je hidroksilna grupa prevedena u dobro odlazeću meziloksi funkciju, čijom je supstitucijom sa natrijum-tiometoksidom, a zatim hidrolizom etilenoksidnih grupa dobijen C19-derivat **9**.

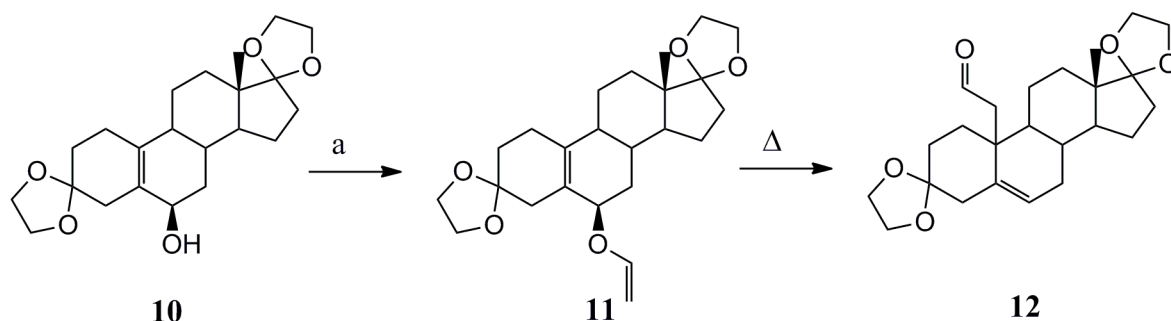


**Shema 2.2.2.2.** a) 1.  $\text{LiC}\equiv\text{CH}$ , EDA; 2.  $\text{H}_2$ ,  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{Pd}(\text{OH})_2$ ; 3.  $\text{BH}_3$ ,  $\text{Me}_2\text{S}$ ; 4.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NaOH}$ ; b) 1.  $\text{MsCl}$ ; 2.  $\text{MeSNa}$ ; 3.  $\text{HCl}$ .

5,10-Epoksidi mogu biti otvoreni i dejstvom *Grignard*-ovog reagensa, ali su prinosi niski, a reakcija je praćena premeštanjem dvostruke veze iz položaja 9(11) u položaj 9(10) i vezivanjem alkil ili aril grupe u položaju 11 [153]. Ovom reakcijom je moguće uvesti metil grupu [154] ili deuterio metil grupu [155] kod 19-nor steroida.

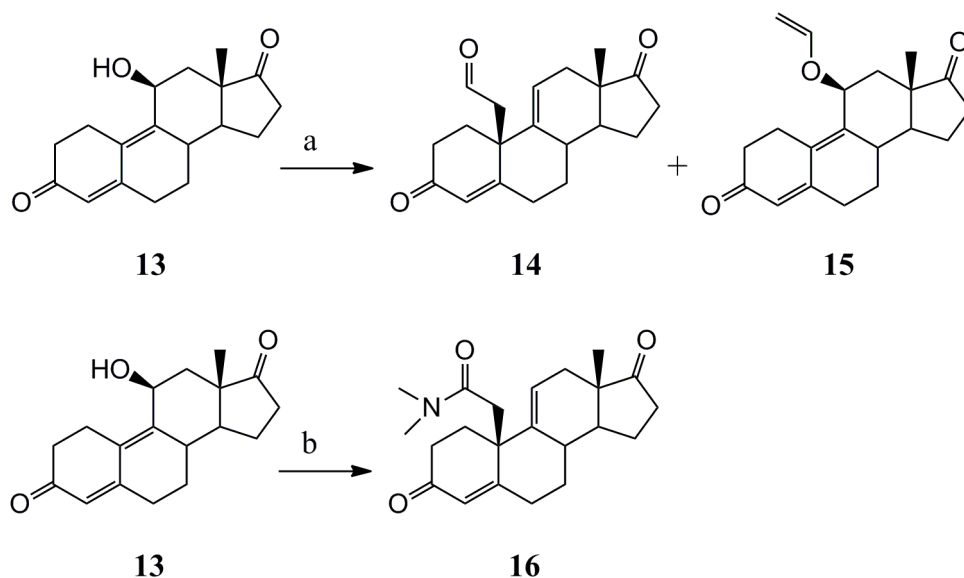
### 2.2.2.2. SINTEZE C19-DERIVATIZOVANIH STEROIDA SIGMATROPNIM [3,3]- ILI [2,3]-PREMEŠTANJEM

Iz alilnih alkohola sa hidroksilnom grupom u položaju C6 ili C11 preko etara i njihovim kasnijim premeštanjem moguće je dobiti odgovarajuće C19 modifikovane steroide [156, 157]. Tako se reakcijom 6-hidroksilnog derivata **10** sa etilvinil-etrom u prisustvu živinih soli, npr. žive(II)-acetata, dobija 6 $\beta$ -viniloksi derivat **11** (shema 2.2.2.3). Do premeštanja etra **11** dolazi zagrevanjem uz nastajanje 19-karbaldehida **12** [156].



Shema 2.2.2.3. a)  $\text{EtOCH}=\text{CH}_2$ ,  $\text{Hg}^{2+}$

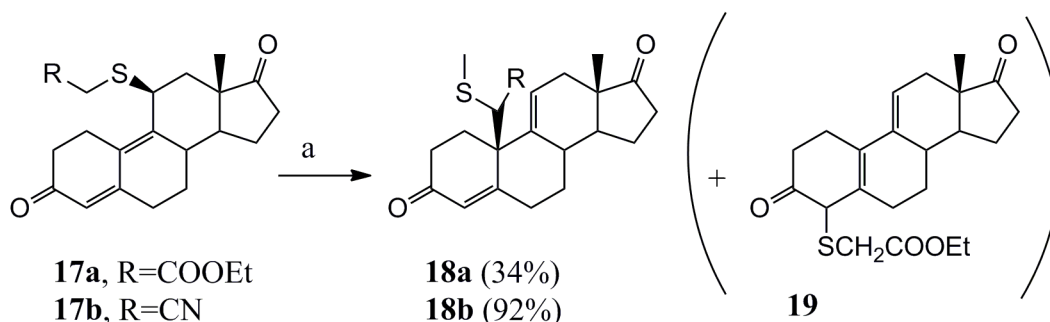
Kao što je već rečeno, do sigmatropnog [3,3]-premeštanja (*Claisen*-ovog premeštanja) dolazi i kod 9-en-11 $\beta$ -ola (shema 2.2.2.4). Kod ovih alkohola do premeštanja dolazi već pri samoj sintezi etara, pa se tako u sintezi etra **15**, koja se vrši na temperaturi ključanja etilvinil-etra, dobija 3% C19 derivata **14**. Njegov prinos se povećava sa povećanjem reakcione temperature, i na 80 °C iznosi 80%. Isti je i prinos jedinjenja **16**, koje se dobija reakcijom dienona **13** sa dimetilacetamid-dimetilacetalom zagrevanjem uz refluks [157].



Shema 2.2.2.4. a)  $\text{EtOCH}=\text{CH}_2$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ; b)  $\text{Me}_2\text{NC}(\text{OMe})_2\text{Me}$ , ksilen.

Za razliku od [3,3]-premeštanja, kod [2,3]-premeštanja (*Wittig*-ova premeštanja) 11-alilnih steroidnih etara ili tioetara radi dobijanja dobrih prinosa reakciju je potrebno izvoditi na niskoj temperaturi. Tako do premeštanja kod tioetara **17a** i **17b** dolazi na -78 °C, pri

čemu se u reakciji jedinjenja **17a** dobija i jedinjenje **19** koje verovatno nastaje duplim premeštanjem i to u prinosu od 4% (shema 2.2.2.5) [157].



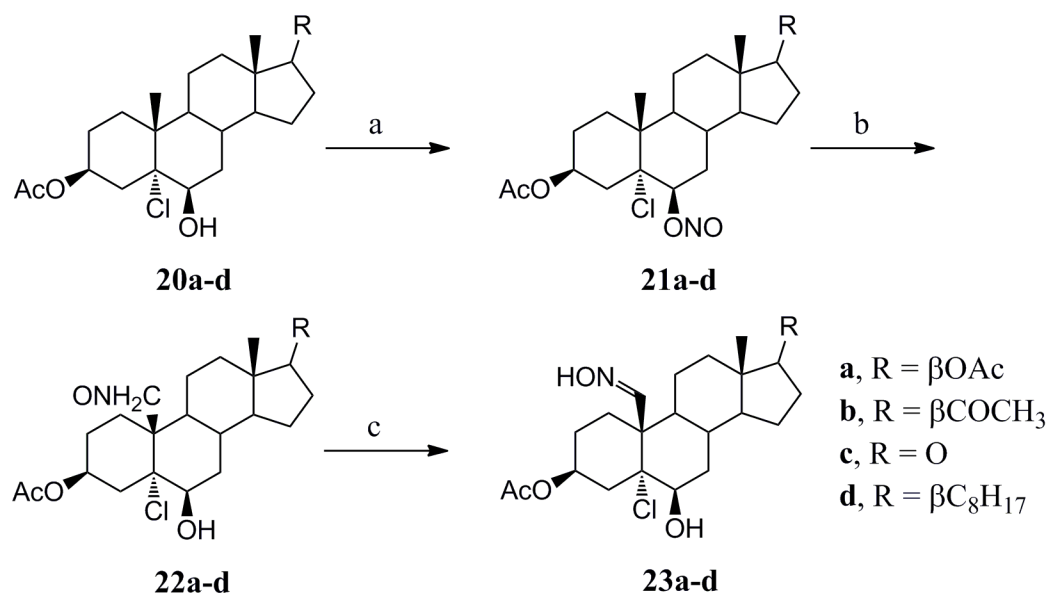
Shema 2.2.2.5. a) 1. LiN(TMS)<sub>2</sub>, THF; 2. MeI.

### 2.2.2.3. SINTEZE C19-DERIVATIZOVANIH STEROIDA POLAZEĆI OD 5 $\alpha$ -HALO-6 $\beta$ -HIDROKSI DERIVATA

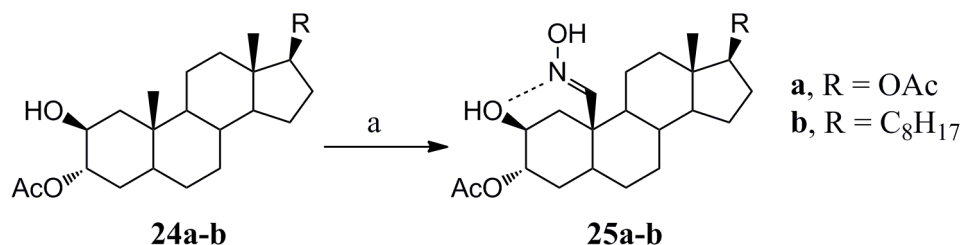
Najčešća polazna jedinjenja u sintezi C19-derivatizovanih steroida su 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi derivati. Oni se jednostavno dobijaju iz 5,6-olefina adicijom odgovarajuće HOX, gde je X = Cl ili Br. Postoje dva sintetska puta kojima se polazeći od pomenutih halohidrina dolazi do C19-derivata steroida. Prvi je preko nestabilnih nitrita, a drugi preko 6,19-epoksida.

#### 2.2.2.3.1. SINTEZE 19-DERIVATIZOVANIH STEROIDA PREKO NITRITA

Više različitih steroida (androstendiol-diacetat, dehidroepiandrosteron-acetat, pregnenolon-acetat i holesteril-acetat) su prevedeni u 5 $\alpha$ -hlor-6 $\beta$ -hidroksi derivate **20a-d**, koji su korišćeni kao polazna jedinjenja u sintezi C19-derivatizovanih steroida. Iz ovih halohidrina su reakcijom sa nitrozil-hloridom dobijeni nestabilni nitriti **21a-d** (shema 2.2.2.6) [158-160]. Fotolizom (ozračivanjem sa živinom lampom) ovih jedinjenja u toluenskom rastvoru su dobijena nitrozo jedinjenja **22a-d**, čijim je daljim zagrevanjem u metanolu ili 2-propanolu došlo do premeštanja i nastajanja oksima **23a-d**. Na sličan način su dobijeni 19-oksimi **25a** i **25b** polazeći od 2 $\beta$ -hidroksilnih derivata **24a** i **24b** (shema 2.2.2.7) [161].



**Shema 2.2.2.6.** a) NOCl, piridin; b) toluen, hv; c) MeOH ili 2-PrOH,  $\Delta$ .



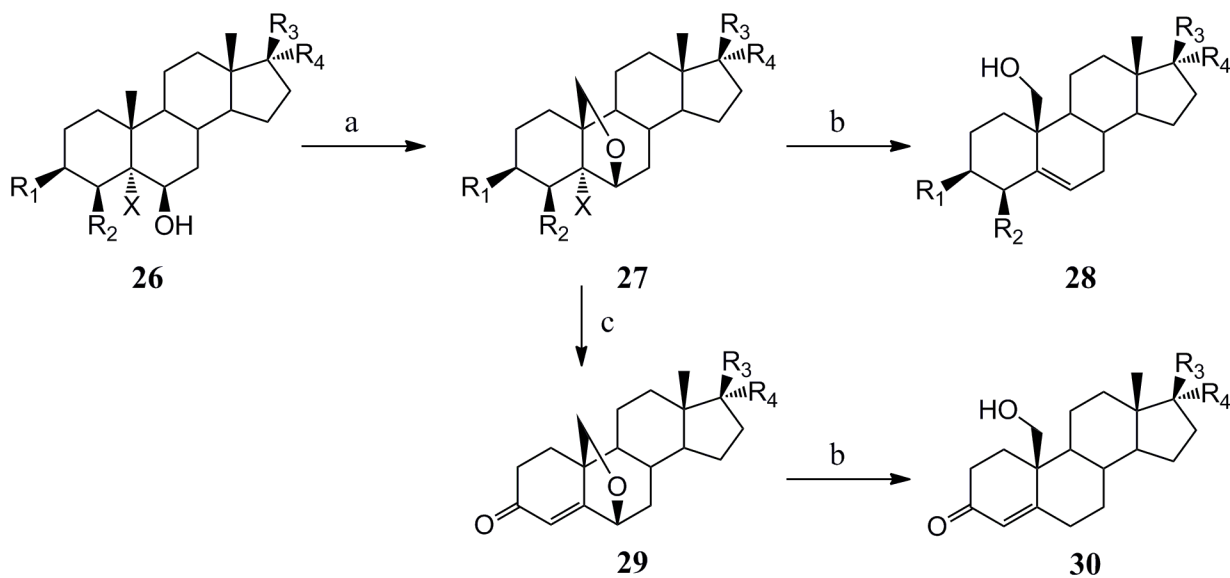
**Shema 2.2.2.7.** a) 1. NOCl, piridin; 2. toluen, hv; 3. 2-PrOH,  $\Delta$

### 2.2.2.3.2. SINTEZE 19-DERIVATIZOVANIH STEROIDA PREKO 6,19-EPOKSIDA

Najčešće korišćeni način za dobijanje C19-derivatizovanih steroidnih jedinjenja je preko reakcije ciklizacije halohidrina slične *Hofman-Löffler-Freytag*-ovoj reakciji halogenovanih amina [157, 162]. U ovim sintezama se polazeći od 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi derivata **26** prvo dobija 6,19-epoksid **27** reakcijom hidroksilne grupe sa olovo-tetraacetatom (shema 2.2.2.8) [163-166]. Potom se vrši njegovo reduktivno otvaranje uz nastajanje 5-en-19-ola **28**. R<sub>1</sub> i R<sub>2</sub> kod ovih jedinjenja mogu biti vodonik ili acetoksi grupa, dok je X hlor ili brom. Reakcije se rađene kod različitih C-17 steroida. Naime, R<sub>3</sub> i R<sub>4</sub> može biti keto grupa, odnosno R<sub>3</sub> može biti OH, OAc, C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>, CHOCH<sub>3</sub>, CHOAcCH<sub>3</sub>, COCH<sub>3</sub> itd., a R<sub>4</sub> vodonik ili metil grupa.



Iz 6,19-epoksida **27** se mogu dobiti i 19-modifikovani steroidi sa 4-en-3-on sistemom **30** (shema 2.2.2.8) [167, 168]. Ovo je moguće izvršiti samo kod jedinjenja kod kojih je  $R_1$  acetoksi grupa, a  $R_2$  vodonik. Prvo se vrši hidroliza acetoksi grupe najčešće kalijum-karbonatom, a zatim oksidacija dobijene hidroksilne grupe do keto. Na taj način se dobija nestabilni 3-keto-5 $\alpha$ -halo derivat, koji lako podleže dehidrohalogenovanju uz nastajanje 4-en-3-on-6,19-etra **29** [169]. Njegovim reduktivnim otvaranjem se zatim dobija 19-hidroksi derivat **30**. Ovo je jednostavniji i brži način sinteze 19-hidroksi enona **30** od ranije upotrebljivanih u kojima su kao polazna jedinjenja služili 5,19-dihidroksi derivati [170-172].

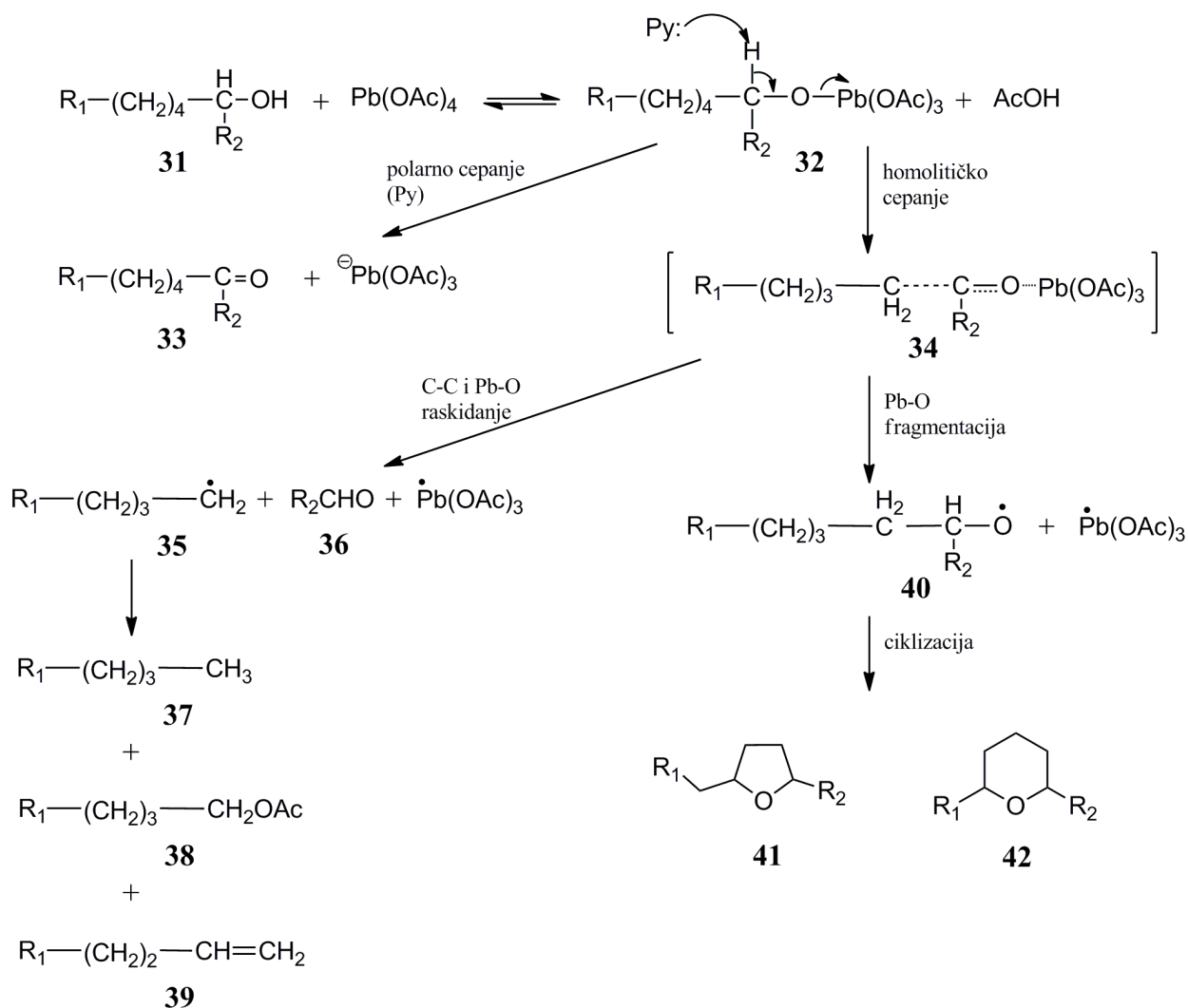


**Shema 2.2.2.8.** a)  $Pb(OAc)_4$ ; b) reduktivno otvaranje;  
c) 1.  $K_2CO_3$ , MeOH,  $H_2O$ ; 2. Jones-ov reagens,  $Me_2CO$ ; 3. NaOAc, MeOH.

#### DOBIJANJE 6 $\beta$ ,19-EPOKSIDA REAKCIJOM 6 $\beta$ -ALKOHOLA SA OLOVO-TETRAACETATOM

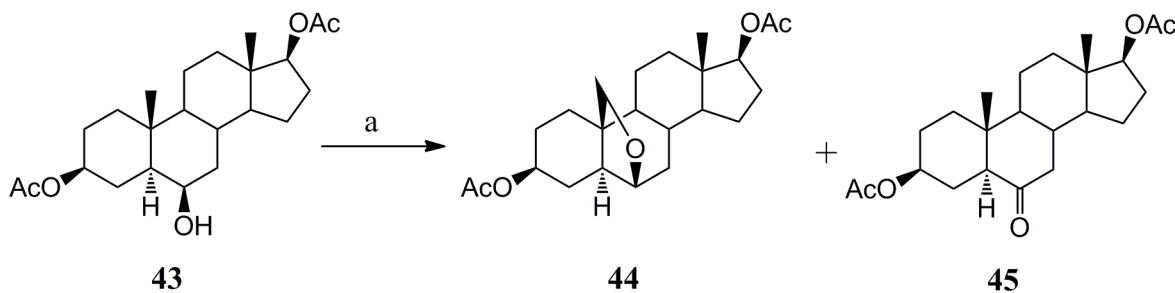
S obzirom da su dve ključne faze u dobijanju C19-derivatizovanih steroida preko 6 $\beta$ ,19-epoksida ciklizacija i reduktivno otvaranje, potrebno je reći nešto više o svakoj od ovih faza. Ciklični 6,19-etar se dobija iz 6 $\beta$ -alkohola pomoću olovo-tetraacetata. Olovo-tetraacetat je oksidacioni agens, izvor acetoksi grupe u organskoj sintezi, kao i reagens koji se koristi za uvođenje olova u organo-olovna jedinjenja [173]. Njegovom reakcijom sa alifatičnim alkoholima se dobijaju karbonilna jedinjenja i/ili ciklični etri [174]. U kom smeru će se reakcija odvijati i njen prinos zavise od rastvarača koji se upotrebljava, ali i od samog supstrata. Dobijanje karbonilnih jedinjenja je favorizovano u polarnim ili baznim rastvaračima (posebno piridinu), dok ciklični etri nastaju u neutralnim nepolarnim rastvaračima (npr. refluktujućem benzenu).

Mehanizam mogućih reakcija alifatičnih alkohola sa olovo-tetraacetatom je prikazan na shemi 2.2.2.9 [174-176]. Iz sheme se vidi da u prvoj fazi nastaje intermedijer **32** koji heterolitičkim cepanjem veza daje keton **33**. Homolitičkim cepanjem veza dobija se aldehid **36** zajedno sa alkanom **37**, alkenom **38** i acetatnim estrom **39**. Poput ovog i mehanizam nastajanja cikličnih etara **41** i **42** je radikalni. Dodavanje joda u procesu dobijanja cikličnih etara se povećava njihov prinos, ali taj mehanizam još uvek nije razjašnjen. S obzirom da je olovo-tetraacetat nestabilan i degradira se na elementarno olovo i sirćetnu kiselinu, radi njegove stabilizacije u reagens se dodaje sirćetna kiselina. Kako bi se neutralizovala sirćetna kiselina u reakcionu smešu se često dodaje kalcijum-karbonat. Pošto se ove reakcije odvijaju po radikalnom mehanizmu, one vrlo često zahtevaju primenu fotokatalizatora ili ozračivanje lampom značajne jačine, npr. 500 W u slučaju steroida, i zagrevanje uz refluks.



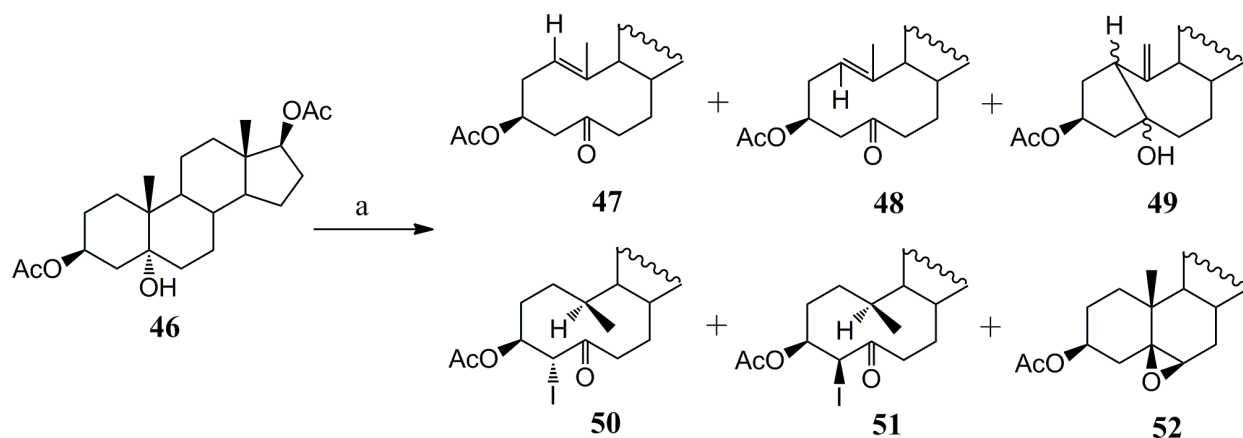
Shema 2.2.2.9. Mehanizmi reakcije alkohola sa olovo-tetraacetatom

Kod dobijanja steroidnih 6 $\beta$ ,19-epoksida u reakcionu smešu se uvek dodaju jod i kalcijum-karbonat, dok se kao rastvarač najčešće koriste cikloheksan [163-167], benzen [168,169] ili njihova smeša [177]. Kao izuzetak se javlja dobijanje epoksidnog mosta **44** iz 6 $\beta$ -alkohola **43** (shema 2.2.2.10) koji u položaju C5 ne sadrži halogen [178]. Kod njega je epoksidacija izvršena olovo-tetraacetatom u suvom benzenu, ali bez prisustva joda i kalcijum-karbonata. Međutim, na taj način je reakciono vreme bilo duže, i umesto 50 min.-2,5 h iznosilo je 18 h. U ovom slučaju je identifikovan i sporedni proizvod, 6-keto derivat **45**, nastao oksidacijom 6 $\beta$ -hidroksilne grupe polaznog alkohola **43**.



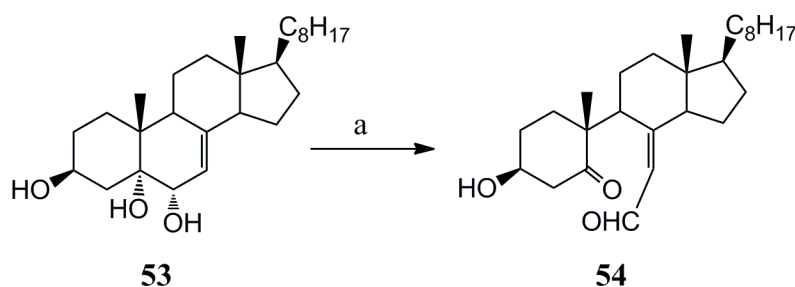
Shema 2.2.2.10. a) Pb(OAc)<sub>4</sub>, suvi C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, refluks, 18h.

U ovim reakcijama karbonilna i acetilovana jedinjenja nisu jedini sporedni proizvodi. Kao alternativa dobijanju cikličnih steroidnih etara sa olovo-tetraacetatom se često dešavaju skeletne fragmentacije [174, 179]. Do ovih fragmentacija dolazi kada nema odgovarajuće C-H veze dostupne alkoksi radikalima **40** (shema 2.2.2.9) generisanim u nepolarnim uslovima. Tada dolazi do raskidanja veze između dva ugljenikova atoma i to one kod više supstituisanog susednog centra u skladu sa redosledom stabilnosti alkil radikala (*terc* > *sec* > *prim*). Tako kod 5-hidroksi steroida **46** (shema 2.2.2.11) dolazi do oksidativne C5-C10  $\beta$ -fragmentacije i dobijaju se dva stereoizomerna nezasićena 5,10-sekosteroidna 5-keto derivata **47** i **48** kao glavni proizvodi, i još četiri sporedna proizvoda od kojih su dva seko [180-184]. Do sličnih fragmentacija dolazi i kod hidroksilne grupe u položaju C14 [185, 186].



Shema 2.2.2.11. a)  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ ,  $\text{I}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6$ .

Do fragmentacije dolazi i kod polihidroksilnog sterola **53** (shema 2.2.2.12) u reakciji sa olovo-tetraacetatom, ali ovaj put u sirćetnoj kiselini kao rastvaraču [187, 188]. Na ovaj način se dobija 5-okso-5,6-seko-6-aldehid **54**. Ova reakcija je izvedena i u  $5\alpha$ -ergostanskoj seriji, pri čemu je dobijen analogni 5,6-seko derivat.

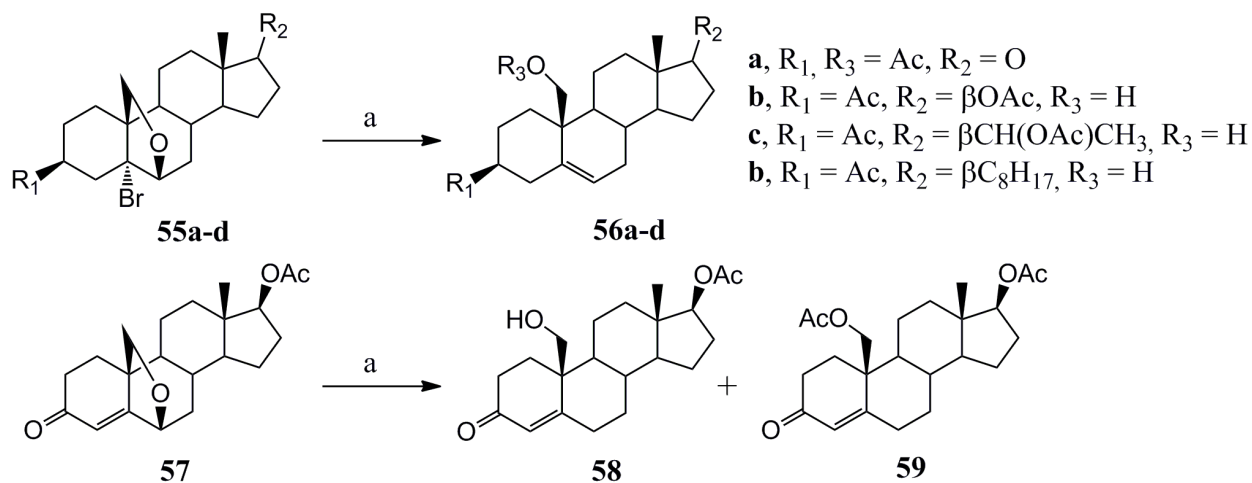


Shema 2.2.2.12. a)  $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ ,  $\text{AcOH}$ .

#### REDUKTIVNO OTVARANJE $6\beta,19$ -EPOKSIDA

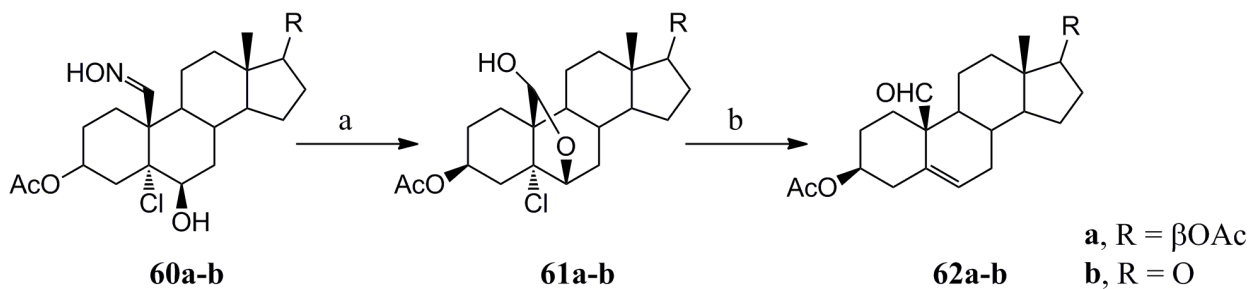
Reduktivno otvaranje  $6\beta,19$ -epoksida uz nastajanje 19-alkohola je moguće izvršiti sa cinkom u prahu u različitim rastvaračima ili sa litijumom u tečnom amonijaku [163, 164]. Najčešće se ova redukcija vrši sveže aktiviranim cinkom u prahu u etanolu [165, 166, 177], glacijalnoj sirćetnoj kiselini [164, 167, 168] ili smeši glac. sirćetne kiseline i 2-propanola [189, 190], zagrevanjem uz reflux. Kada se reduktivno otvaranje  $6,19$ -oksida vrši cinkom u prahu u glac. sirćetnoj kiselini nastaju 19-alkoholi ili/i 19-acetoksi derivati (shema 2.2.2.13) [174, 168]. Tako otvaranjem epoksida epiandrosteronske serije **55a** se dobija 19-acetoksi derivat **56a**, dok se

kod jedinjenja **55b-d** dobijaju samo 19-alkoholi **56b-d** [164]. U slučaju enona **57**, reduktivnim otvaranjem se dobija smeša 19-alkohola **58** i 19-acetoksi derivata **59** [168].



Shema 2.2.2.13. a) Zn, glac. AcOH.

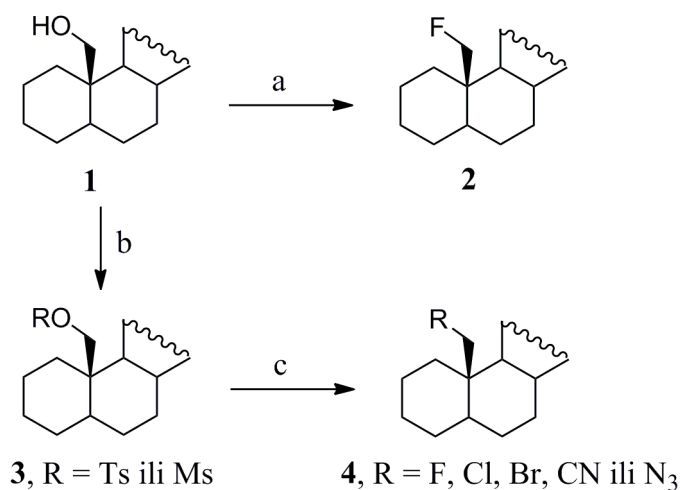
Reduktivnim otvaranjem hemiketala **61a** i **61b**, prethodno dobijenih reakcijom oksima **60a** i **60b** sa *in situ* generisanom azotastom kiselinom, se ne dobijaju 19-alkoholi već 19-aldehidna jedinjenja **62a** i **62b** (shema 2.2.2.14) [191].



Shema 2.2.2.14. a)  $NaNO_2$ , AcOH, st, 2h; b) Zn, AcOH, refluks, 30min.

### 2.2.3. HEMIJSKE TRANSFORMACIJE 19-HIDROKSILNIH STEROIDA U CILJU DOBIJANJA DRUGIH C19 STEROIDNIH DERIVATA

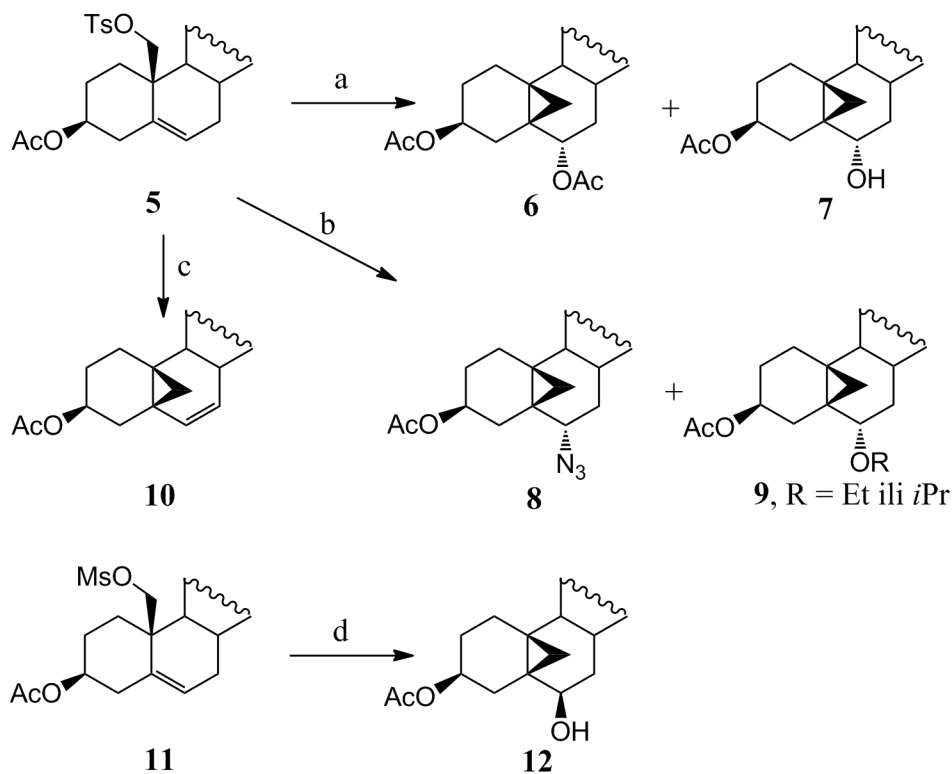
Najčešćim načinom za C19-derivatizaciju steroida, reduktivnim otvaranjem cikličnih 6,19-etara, se dobijaju 19-alkoholi. Ovako dobijeni alkoholi su dalje podvrgavani hemijskim transformacijama u cilju modifikovanja drugih delova steroidnog skeleta. Tako su uvedene ili uklanjane dvostruke veze [192], epoksidne i hidroksilne grupe [193]. Ali i sama 19-hidroksilna grupa je poslužila za dobijanje drugih 19-derivatizovanih steroida. Kao i svi alkoholi oni se lako prevode u odgovarajuće etre i estre [194, 195]. Ove funkcionalne grupe su najčešće uvedene radi zaštite hidroksilne grupe u daljim sintezama, ali i radi dobijanja dobro odlazećih grupa za reakcije supstitucije, npr. toziloksi i meziloksi grupe. Upravo supstitucijom ovih grupa se u C19-položaj uvode halogeni, ali i nitrilna i azidna funkcija, i to kod različitih steroidnih sistema (androstana, kortikoida, pregnana, kardenolida, holestana) (shema 2.2.3.1) [196-205]. Od halogena, jedino je fluor uveden direktno supstitucijom hidroksilne grupe i to reakcijom sa  $\alpha$ -fluorovanim aminima, npr. 2-hloro-1,1,2-trifluoro-trimetilaminom [196].



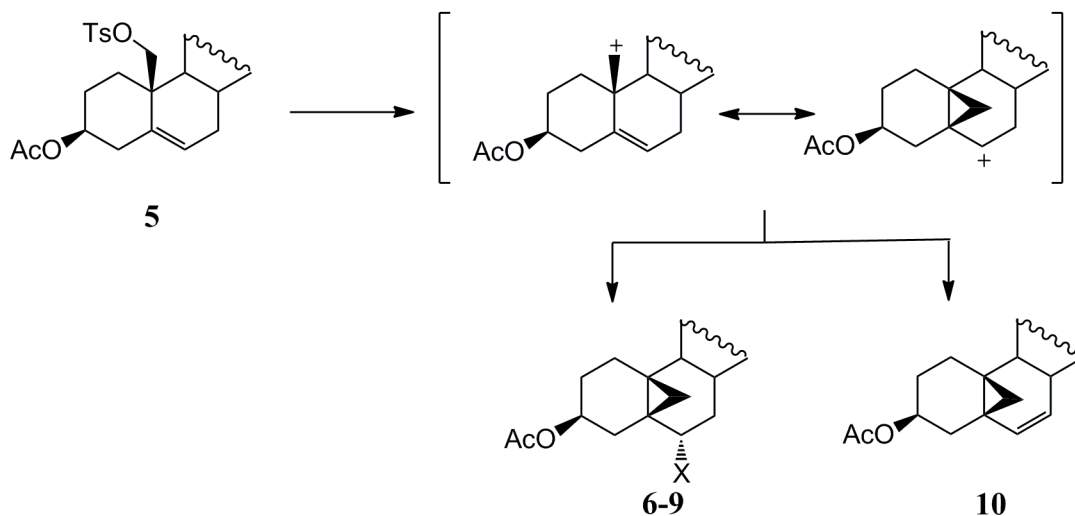
**Shema 2.2.3.1.** a)  $\alpha$ -fluorovan amin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b) TsCl ili MsCl, aps. Py; c) metalni halid (LiF, LiCl, LiBr ili AgF),  $\text{CH}_3\text{CN}$  ili DMA ili NaCN ili  $\text{NaN}_3$ , HMPA

19-Tozil i mezil estri se koriste i za dobijanje 5,10-ciklopropanskih derivata (shema 2.2.3.2) [206-208]. 19-Toziloksi derivat **5** u reakciji sa kalijum-acetatom daje dva proizvoda, 6 $\alpha$ -acetat **6** i 6 $\alpha$ -alkohol **7**, dok njegov meziloksi analog **11** daje 6 $\beta$ -hidroksi derivat **12**. U reakciji sa natrijum-azidom 19-tozilati **5** daje takođe dva 5,10-ciklopropanska steroida i to sa

6 $\alpha$ -azidnom (**8**) i 6 $\alpha$ -alkoksidnom (**9**) funkcijom. Zagrevanjem uz refluks jedinjenje **5** u piridinskom rastvoru daje 5,19-ciklo-6-en derivat **10**. Mehanizam ovih reakcija je prikazan na shemi 2.2.3.3. Iz ovog mehanizma je moguće zaključiti da je homoalilni premošćeni karbokatjon koji nastaje iz tozilata stabilizovan distribucijom naelektrisanja između položaja C19 i C6 [208].

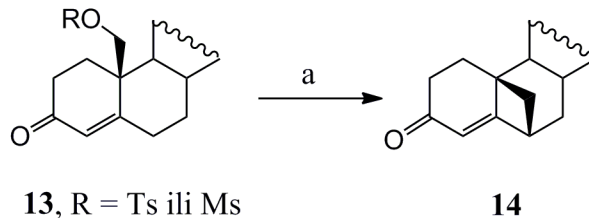


**Shema 2.2.3.2.** a) KOAc, dioksan/H<sub>2</sub>O; b) NaN<sub>3</sub>, EtOH ili 2-PrOH; c) Py, refluks; d) KOAc, dioksan/H<sub>2</sub>O.



**Shema 2.2.3.3.** Mehanizam dobijanja 5,10-ciklopropanskih steroidnih derivata

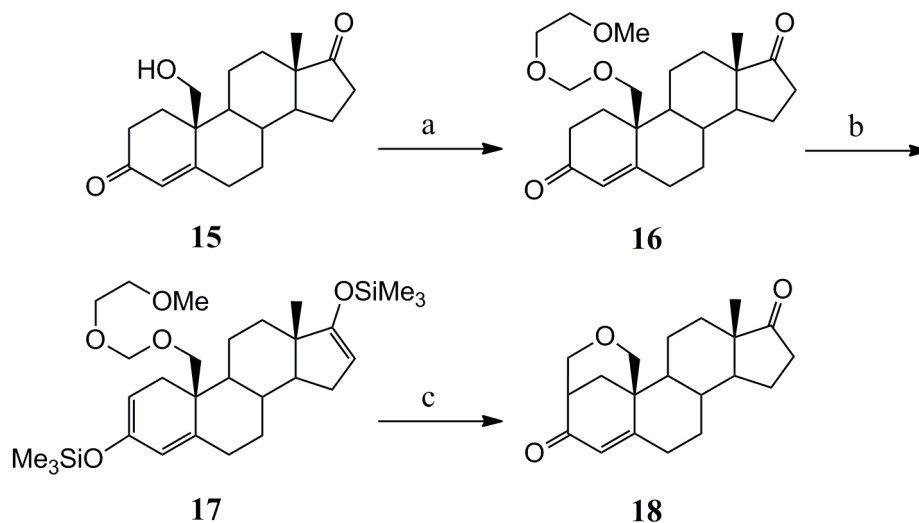
Ukoliko 19-toziloksi ili meziloksi steroid ima 3-en-4-onski sistem, kao što je to slučaj kod jedinjenja **13** tada do intramolekulske ciklizacije dolazi u položaju C6 i nastaje 6,19-ciklo proizvod **14** (shema 2.2.3.4) [209, 210].



**Shema 2.2.3.4.** a) NaOMe u MeOH ili KOH u *i*PrOH

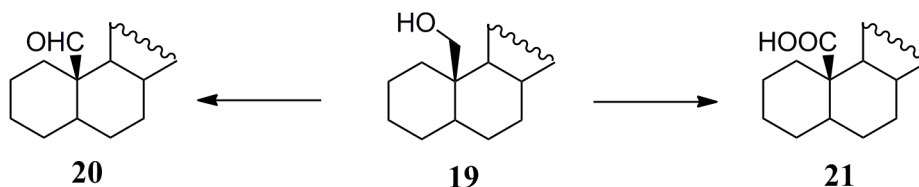
Polazeći od 19-hidroksilnih steroida dobijen je i značajan broj 2,19-premošćenih derivata [211-214]. Jedan od najznačajnijih primera ovih transformacija je dobijanje 2,19-metilenoksi derivata **18** polazeći od alkohola **15** (shema 2.2.3.5) [212, 213]. Sintezom metoksimetil etra **16** i njegovom daljom transformacijom u dienol etar **17**, a zatim intramolekulskim alkilovanjem katalizovanim *Lewis*-ovom kiselinom dobija se premošćeni derivat **18**.





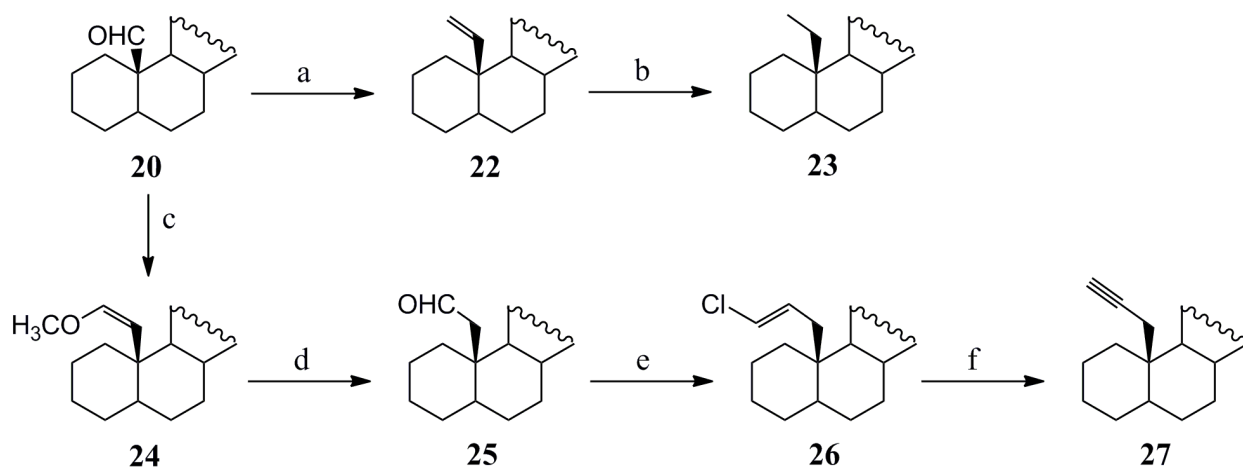
**Shema 2.2.3.5.** a)  $\text{ClCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ,  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b) LDA,  $\text{Me}_3\text{SiCl}$ , THF; c)  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Jedna od najčešćih i najvažnijih hemijskih transformacija 19-hidroksilne grupe **19** je oksidacija do odgovarajućeg aldehida **20** ili karboksilne kiseline **21** (shema 2.2.3.6) [215, 216]. Ove transformacije su vršene na skoro svim steroidnim grupama, od androstana, pregnana i holestana, do kardenolida i spirostana. Oksidacija do aldehydne grupe se vrši nizom oksidacionih reagenasa: hrom(VI)-oksidom u smeši piridina i vode, kompleksom  $\text{CrO}_3$ - $t\text{BuOH}$  u aps. benzenu, piridinijum-dihromatom u metilen-hloridu, *Swern*-ovim reagensom (1. oksalil-hlorid, DMSO; 2.  $\text{Et}_3\text{N}$ ), kao i TPAPom u metilen-hloridu i uz prisustvo NMO-a kao kooksidansa [166, 215-223]. Alhidi se takođe dobijaju i mikrobiološkim oksidacijama [172]. Karboksilna grupa se dobija oksidacijom hrom(VI)-oksidom i sumpornom kiselinom u acetonu kao rastvaraču ili *Jones*-ovim reagensom ( $\text{CrO}_3$ , sumporna kiselina i voda) [167, 215, 216, 224].



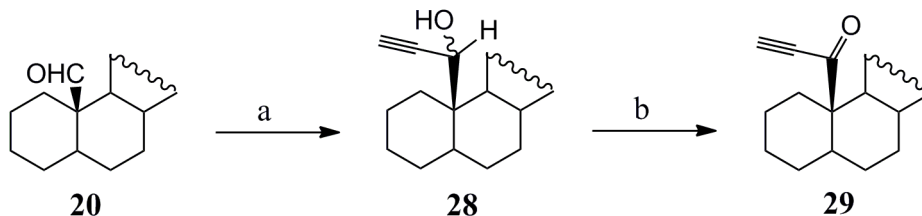
**Shema 2.2.3.6.** Oksidacije 19-alkohola

Sinteza 19-aldehida je izuzetno bitna zbog njegove reaktivnosti u velikom broju reakcija nukleofilne adicije. Upravo ovo omogućava dobijanje raznovrsnih C19 steroidnih derivata polazeći od odgovarajućih aldehida. Pomoću dve takve reakcije se produžava ugljovodonični niz na C19 a to su *Grignard*-eva i *Wittig*-ova reakcija. *Wittig*-ovom reakcijom se dobijaju odgovarajući olefini **22** koji hidrogenovanjem daju alkil derivate **23**, ili pak ukoliko na olefinskom ugljeniku postoji halogen, dehidrohalogenovanjem nastaje alkin **27** (shema 2.2.3.7) [189, 225, 226]. Na ovaj način je uvedena etinil grupa u C19 položaj koja je inače prisutna u plomestanu (MDL-18,962), potentnom inhibitoru enzima aromataze [227].



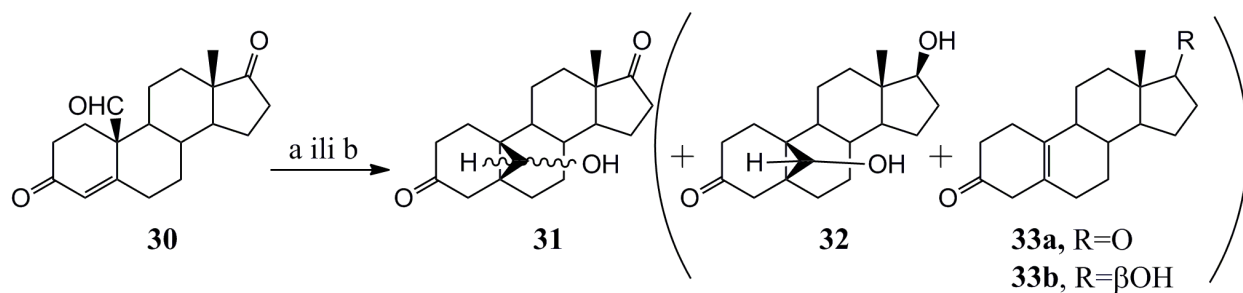
**Shema 2.2.3.7.** a)  $\text{MePPh}_3\text{Br}$ ,  $n\text{BuLi}$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ; b)  $\text{H}_2$ ,  $\text{PtO}_2$ ,  $\text{EtOH}$ ; c)  $\text{MeOCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ ,  $n\text{BuLi}$ ,  $\text{THF}$ ; d)  $\text{HCl}$ ,  $\text{Me}_2\text{CO}$ ; e)  $\text{ClCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ ,  $n\text{BuLi}$ ,  $\text{THF}$ ; f)  $n\text{BuLi}$ ,  $\text{THF}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ .

*Grignard*-evom reakcijom se iz aldehida dobijaju odgovarajući stereoizomerni sekundarni alkoholi **28** (shema 2.2.3.8) [228-231]. Njihovom oksidacijom se dobijaju odgovarajući 19-keto derivati **29**.



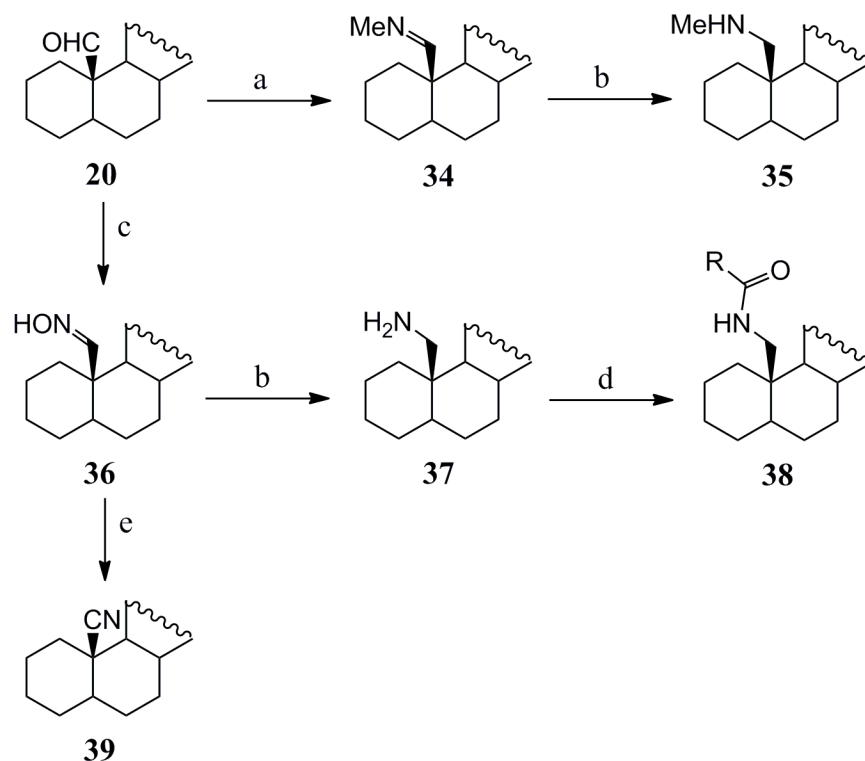
**Shema 2.2.3.8.** a)  $\text{HC}\equiv\text{CMgBr}$ ,  $\text{THF}$ ; b) *Jones*-ov reagens,  $\text{Me}_2\text{CO}$ .

19-Aldehidi podležu reakcijama redukcije, ali ono što je specifično za aldehide sa 4-en-3-on sistemom **30** jeste da osim redukcije aldehidne grupe do hidroksilne dolazi i do ciklizacije (shema 2.2.3.9) [232]. Tako reakcijom aldehida **30** sa cinkom u razblaženoj sirćetnoj kiselini dolazi do reduktivne ciklizacije i dobija smeša se *R* i *S* izomera **31**, u kojoj je *R*-izomer glavni proizvod. Međutim kada je ova reakcija izvršena litijumom u amonijaku, osim ova dva proizvoda dobijen je 17 $\beta$ -hidroksilni analog **32**, 19-dekarboksilovani  $\Delta^{5(10)}$  derivat **33a** i njegov 17-hidroksilni analog **33b**.



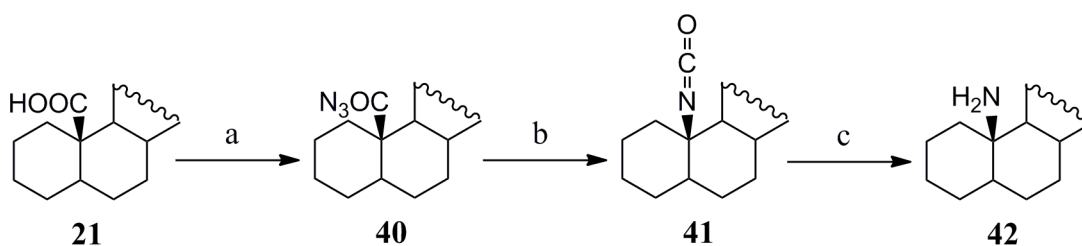
**Shema 2.2.3.9.** a) Zn, AcOH, H<sub>2</sub>O; b) Li, tečni NH<sub>3</sub>.

Nukleofilnom adicijom azotnih jedinjenja na aldehidnu grupu se dobijaju odgovarajući imini (shema 2.2.3.10) [204]. Tako se iz aldehida **20** dobija imin **34** koji redukcijom daje sekundarni amin **35**. Ovaj sintetski postupak je odlična alternativa dobijanju 19-oksima iz steroidnih nitrita. Polazeći od aldehida **20** oksim **36** se dobija reakcijom sa hidroksilamin-hidrohloridom [158, 204, 233]. Njegovom redukcijom se dobija primarni amin **37** koji sa anhidridima organskih kiselina daje amid **38**. Najčešća transformacija steroidnih 19-oksima **36** je reakcija dehidratacije u kojoj se dobijaju nitrili **39** [158-161, 226, 234].



**Shema 2.2.3.10.** a)  $\text{MeNH}_2$ , EtOH,  $\text{H}_2\text{O}$ ; b)  $\text{LiAlH}_4$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ; c)  $\text{HONH}_2 \cdot \text{HCl}$ , EtOH,  $\text{H}_2\text{O}$  ili Py; d)  $\text{Ac}_2\text{O}$  ili  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ , DMAP, atm.  $\text{N}_2$ ; e)  $\text{Ac}_2\text{O}$ .

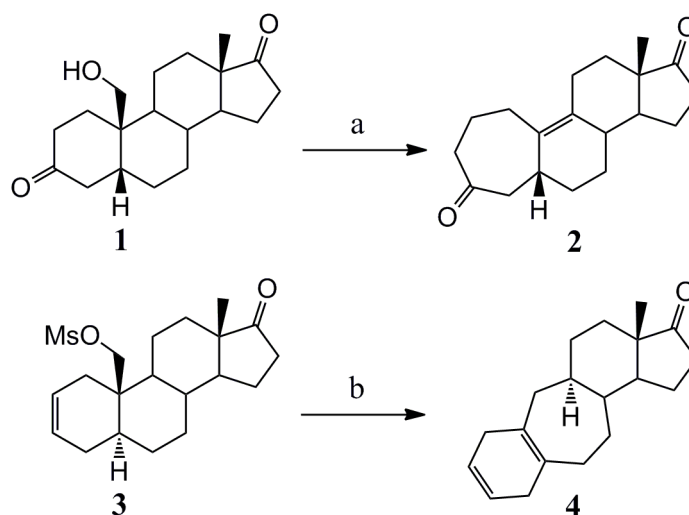
I 19-karboksilne kiseline se mogu koristiti za dobijanje amino derivata (shema 2.2.3.11), a na ovaj način se dobijaju 19-nor-10-amini [233, 235]. Najbolji prinosi ovih sinteza se postižu prema modifikovanoj *Ruggieri*-voj proceduri [235, 236]. Prvo se 19-karboksilna kiselina **21** prevede u mešoviti anhidrid, a potom se nukleofilnom supstitucijom dobija azid **40**. Zagrevanjem azida **40** u toluenu, dolazi do njegovog premeštanja i dobija se izocijanat **41**. Kiselim hidrolizom izocijanata **41** nastaje 10-amino derivat **42**.



**Shema 2.2.3.11.** a) 1.  $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ , THF, 2.  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , atm.  $\text{N}_2$ ; b)  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ; c) AcOH ili HCl.

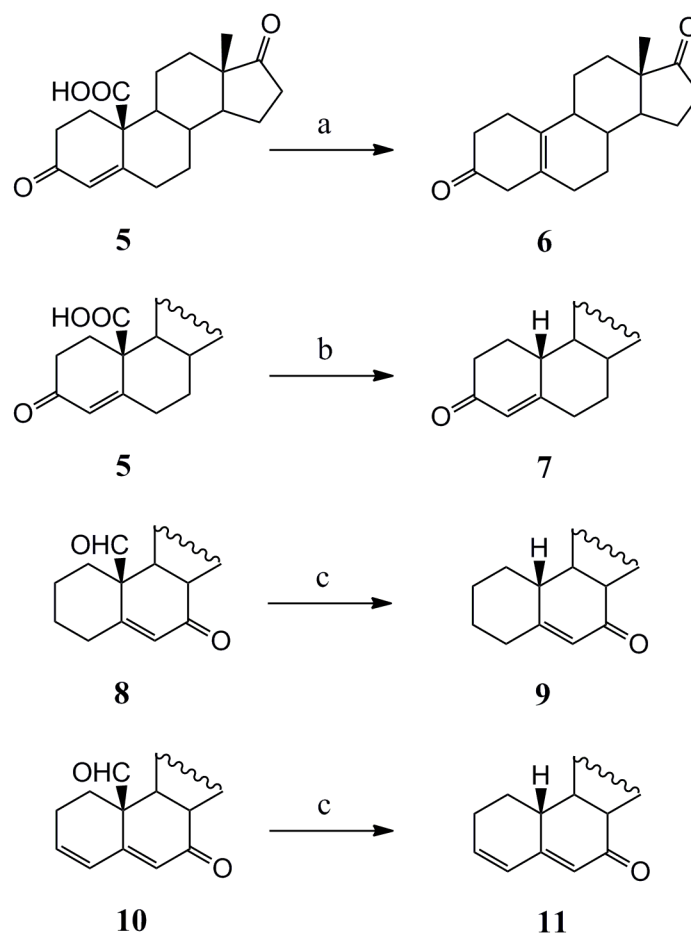
## 2.2.4. HEMIJSKE TRANSFORMACIJE C19-DERIVATIZOVANIH ANDROSTANA U CILJU DOBIJANJA ESTRANSKIH DERIVATA

C19-Derivatizovani androstani se mogu hemijskim transformacijama prevesti u A ili B-homo estrane. Homo steroidi se mogu dobiti iz 19-hidroksi i meziloksi derivata (shema 2.2.4.1) [237, 238]. Tako je jedinjenje **2**, A-homo strukture, dobijeno slučajno. Naime, u cilju uvođenja atoma joda u C19 položaj, alkohol **1** je podvrgnut reakciji sa MTPI u dimetilformamidu, ali je kao proizvod dobijen steroid sa sedmočlanim A prstenom [237]. B-homo jedinjenje **4** je pak dobijeno iz 19-meziloksi derivata **3** zagrevanjem uz refluks u piridinskom rastvoru [238].



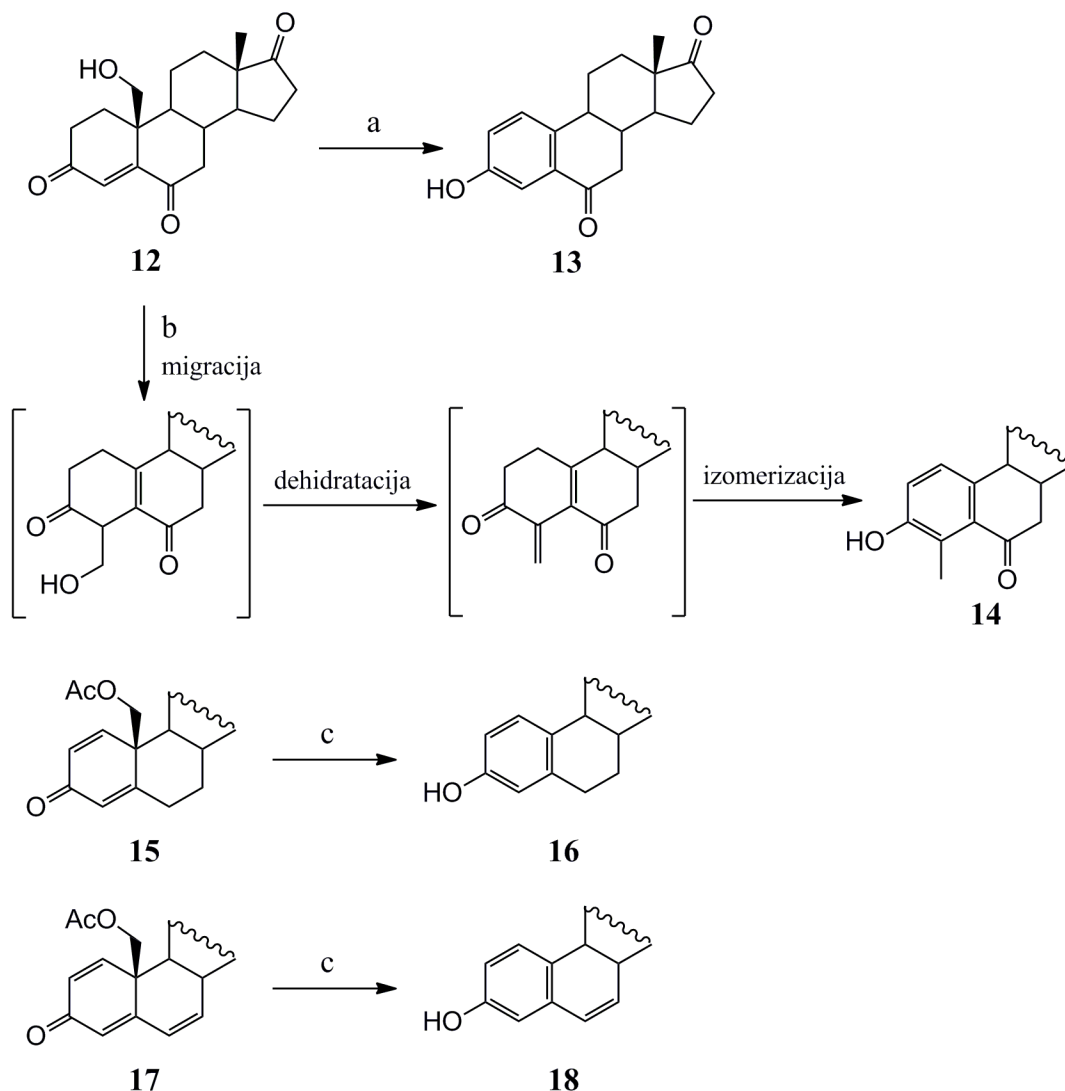
**Shema 2.2.4.1.** a) MTPI, DMF, st; b) Py, refluks.

Kada se 19-karboksilna kiselina **5** zagreva u piridinu dolazi do dekarboksilacije i nastanka 19-nor steroida **6**, uz pomeranje dvostruke veze iz položaja  $\Delta^4$  u  $\Delta^{5(10)}$  (shema 2.2.4.2) [167]. 4-En-3-onska konjugacija se zadržava kada se dekarboksilacija vrši dejstvom kiseline u metanolnom rastvoru [239, 240]. 19-Nor steroidi se mogu dobiti i iz aldehida i to dejstvom jake baze [241].



**Shema 2.2.4.2.** a) Py,  $\Delta$ ; b)  $H^+$ , MeOH; c) KOH, MeOH,  $H_2O$ .

Jedan od načina za laboratorijsko dobijanje estrogenih hormona i njihovih derivata iz odgovarajućih androgena je upravo polazeći od 19-hidroksi androstana (shema 2.2.4.3) [242, 243]. Dejstvom kalijum-hidroksida na jedinjenje **12** dobija se estronski derivat **13**. Međutim kada se na isto jedinjenje deluje natrijum-hidrogenkarbonatom, dobija se jedinjenje **14**. Ono nastaje u tri faze. Prvo se vrši migracija hidroksimetil grupe sa položaja C10 u položaj C4. Potom dolazi do dehidratacije, nakon koje izomerizacijom nastaje estronski proizvod **14**. Kada su kao polazna jedinjenja korišćeni 19-acetoksi derivati **15** i **17** reakcije aromatizacije su takođe izvođene u metanolu, ali su kao katalizatori korišćeni natrijum-hidroksid, kalijum-karbonat i *p*-toluensulfonska kiselina [244, 245].

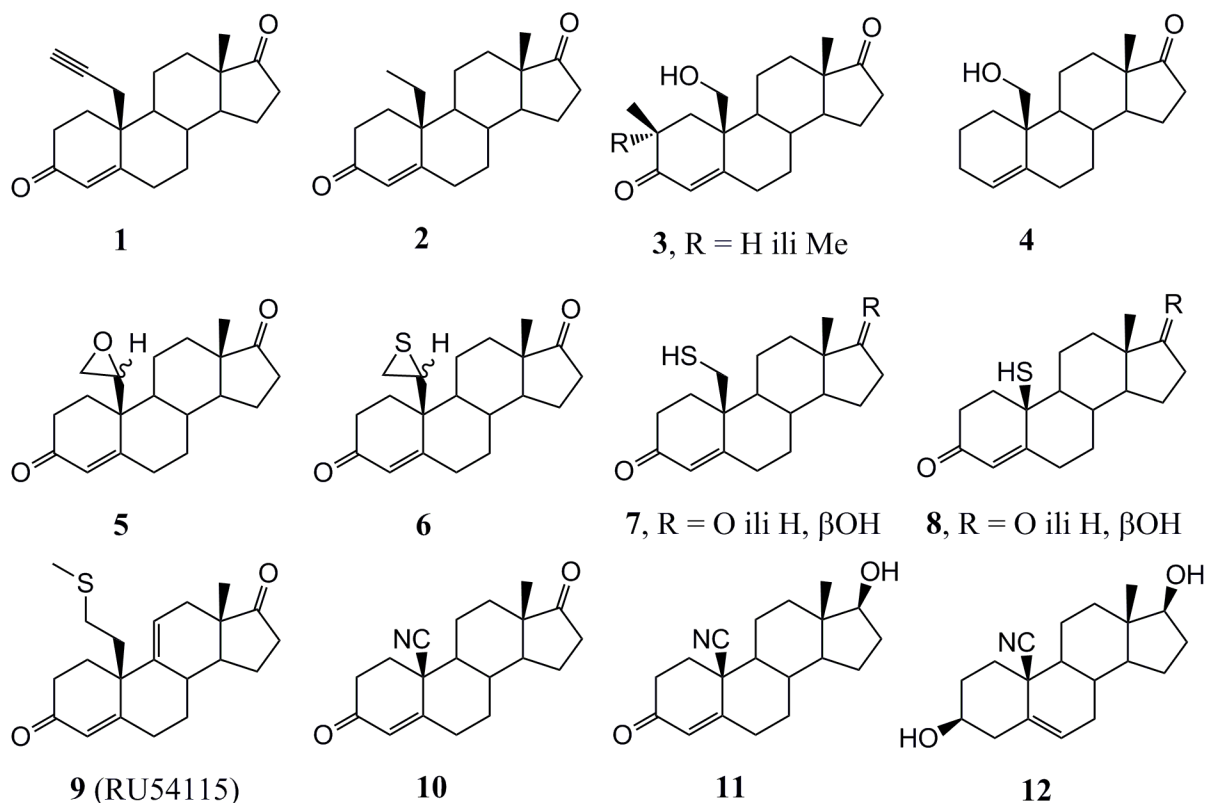


**Shema 2.2.4.3.** a) KOH, MeOH; b) NaHCO<sub>3</sub>, MeOH; c) NaOH ili K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ili *p*-TsOH, MeOH.

Ove sinteze estrogena ukazuju da su 19-hidroksilovani androgeni intermedijeri u poslednjoj fazi biosinteze estrogena, aromatizaciji A prstena androgena. Iz ovih istraživanja se vidi da je dovoljna jedna 19-hidroksilna grupa da do aromatizacije dođe [246, 247]. Pored toga utvrđeno je i postojanje 19-okso intermedijera u biosintezi estrogena [248, 249], koji može da nastane samo daljom oksidacijom ili hidroksilacijom na C19 [250]. Treća hidroksilacija na C19 se ne dešava usled sternih smetnji koje su potvrđene kristalografskim ispitivanjem 19-hidroksilovanih androgena [251]. Ipak do treće oksidacije dolazi i tada se vrši raskidanje C10-C19 veze, koje je inicirano apstrahovanjem 1 $\beta$ -vodonika [252]. Ovo je potvrđeno upotrebom 19-hidroksilovanih steroida kao supstrata aromataze placente.

## 2.2.5. BIOLOŠKA AKTIVNOST SINTETIZOVANIH C19-DERIVATIZOVANIH STEROIDA

Istraživanja su pokazala da je C19-pozicija u steroidnoj strukturi bitna za orijentaciju steroidnog supstrata u aktivnom centru enzima aromataze i da se pojedine grupe, kao npr. hidroksilna, u ovom položaju mogu koordinisati sa hemom [253, 254]. Ovo je dovelo do sinteze i ispitivanja inhibitorne aktivnosti velikog broja C19-derivatizovanih steroida, od kojih su neki prikazani na slici 2.2.6.1. Najpoznatiji među njima i izuzetno potentan IA je plomestan (**1**) [255, 256]. On je odličan ireverzibilni inhibitor aromataze, čiji pojedini 19-hidroksi derivati su takođe pokazali značajnu inhibitornu aktivnost [230, 231]. Kao dobri IA su se istakli 19-metil **2** [257] i hidroksi derivati **3** i **4** [187, 258], ali i oksiranski i tiiranski derivati **5** i **6** [259-262]. Kod oksirana i tiirana, *R*-izomeri su bolji IA, i sumporni derivati od kiseoničnih, s obzirom da bolje koordinišu sa hemom. U skladu sa ovom činjenicom, i tio jedinjenja **7**, **8** i **9** su pokazala izuzetnu antiaromataznu aktivnost [150-152, 263]. Utvrđeno je takođe da se uvođenjem nitrilne grupe u položaj C10 postiže izuzetna inhibitorna aktivnost na enzim aromatazu, ali i selektivnost, jer jedinjenja **10**, **11** i **12** gube anaboličko, androgeno i progesteronsko dejstvo [158, 160].



Slika 2.2.5.1. Strukture pojedinih C19 derivatizovanih steroida

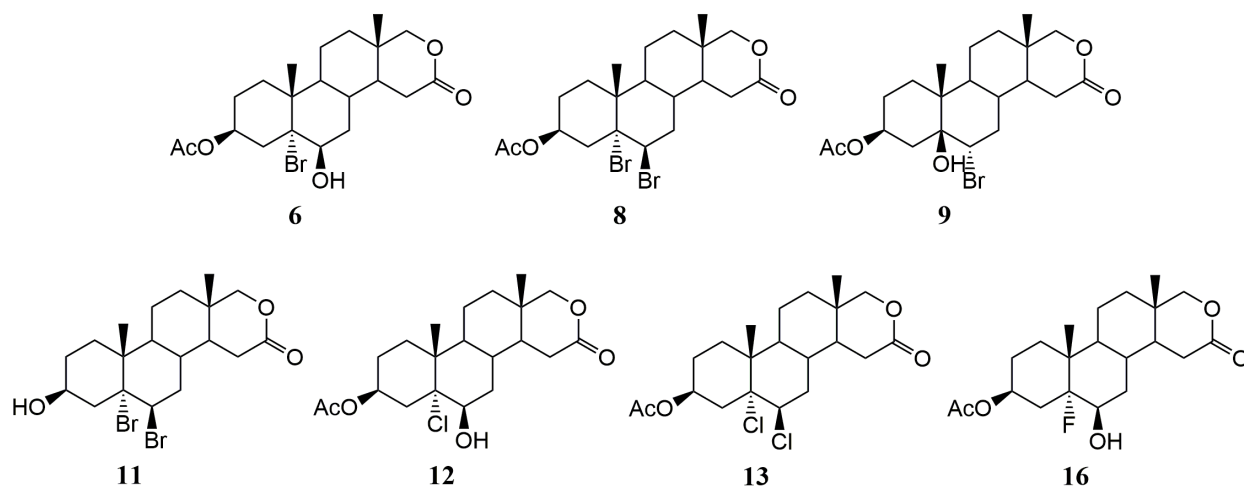


Međutim, nisu svi 19-derivatizovani steroidi selektivni. U androstanskoj seriji pojedini 19-hidroksi derivati pokazuju androgeno dejstvo [264], dok se neki 19-okso i alkoksi derivati mogu koristiti u lečenju benigne hipertrofije prostate i simptoma menopauze, ali i za povećanje libida i u kontraceptivne svrhe [265-268]. Novija istraživanja ukazuju i na antiviralno dejstvo koje pokazuju pojedini C19 pregnanski derivati prema virusu herpesa [269].

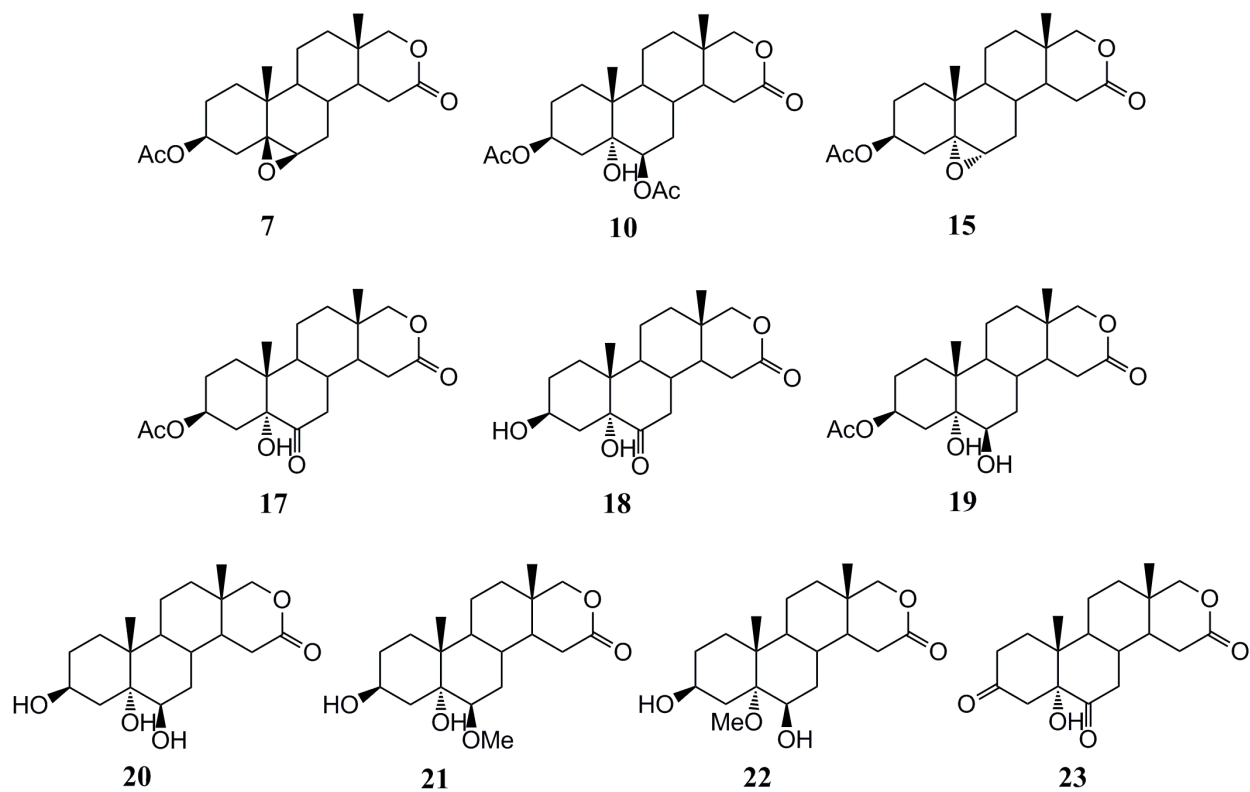


### 3. REZULTATI I DISKUSIJA

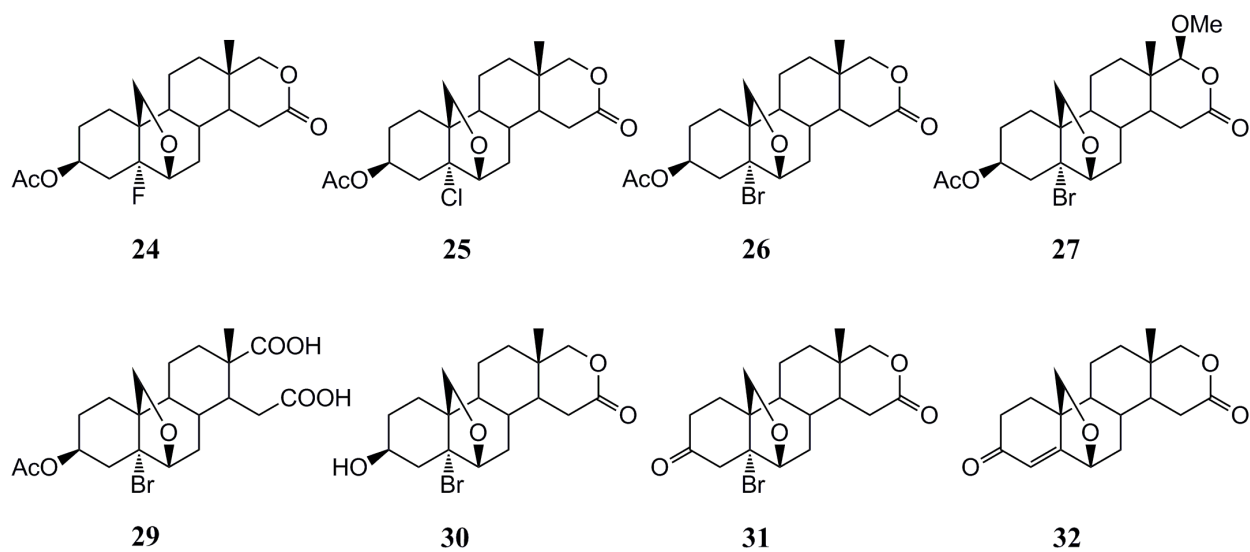
Imajući u vidu antitumorski potencijal steroidnih D-homo laktona, kao i C19-derivatizovanih steroida, u ovom radu je sintetisan niz jedinjenja sa ovim strukturnim karakteristikama. Polazni D-homo lakton je dobijen prema poznatom postupku [270-272], a uz izvesne eksperimentalne modifikacije. Iz D-homo laktona su dobijeni steroidni 5,6-halohidrini, koji su oksidativnom ciklizacijom dali 6,19-epoksi steroide, a oni su reduktivnim otvaranjem dali 19-hidroksi derivate. 19-Hidroksi derivati daljim hemijskim transformacijama daju niz C19-derivatizovanih steroida. Na slikama 3.1-3.4. su prikazane strukture sintetisanih jedinjenja. Na slici 3.1. su prikazane strukture 5,6-disupstituisanih halohidrina i dihalogenida, a na slici 3.2. strukture 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata. Strukture sintetisani 6,19-epoksi steroida su prikazane na slici 3.3, dok su svi novosintetisani C19-derivatizovani D-homo laktoni prikazani na slici 3.4. U cilju utvrđivanja biorasploživosti sintetisanih molekula izvršena je analiza podudarnosti izračunatih molekulskih deskriptora sa *Lipinski*, *Veber* i *Oprea* pravilima. Antitumorski potencijal novosintetisanih jedinjenja je ispitan testiranjem njihove *in vitro* antiproliferativne aktivnosti prema odabranim ćelijskim linijama humanih tumora, zatim sposobnošću vezivanja za ključne steroidne receptore i inhibitorne aktivnosti na neke od enzima steroidogeneze. Kod novosintetisanih jedinjenja koja su pokazala značajnu biološku aktivnost urađen je virtuelni skrining zasnovan na strukturi liganda, a u cilju utvrđivanja molekulskih osnova dobijenih rezultata.



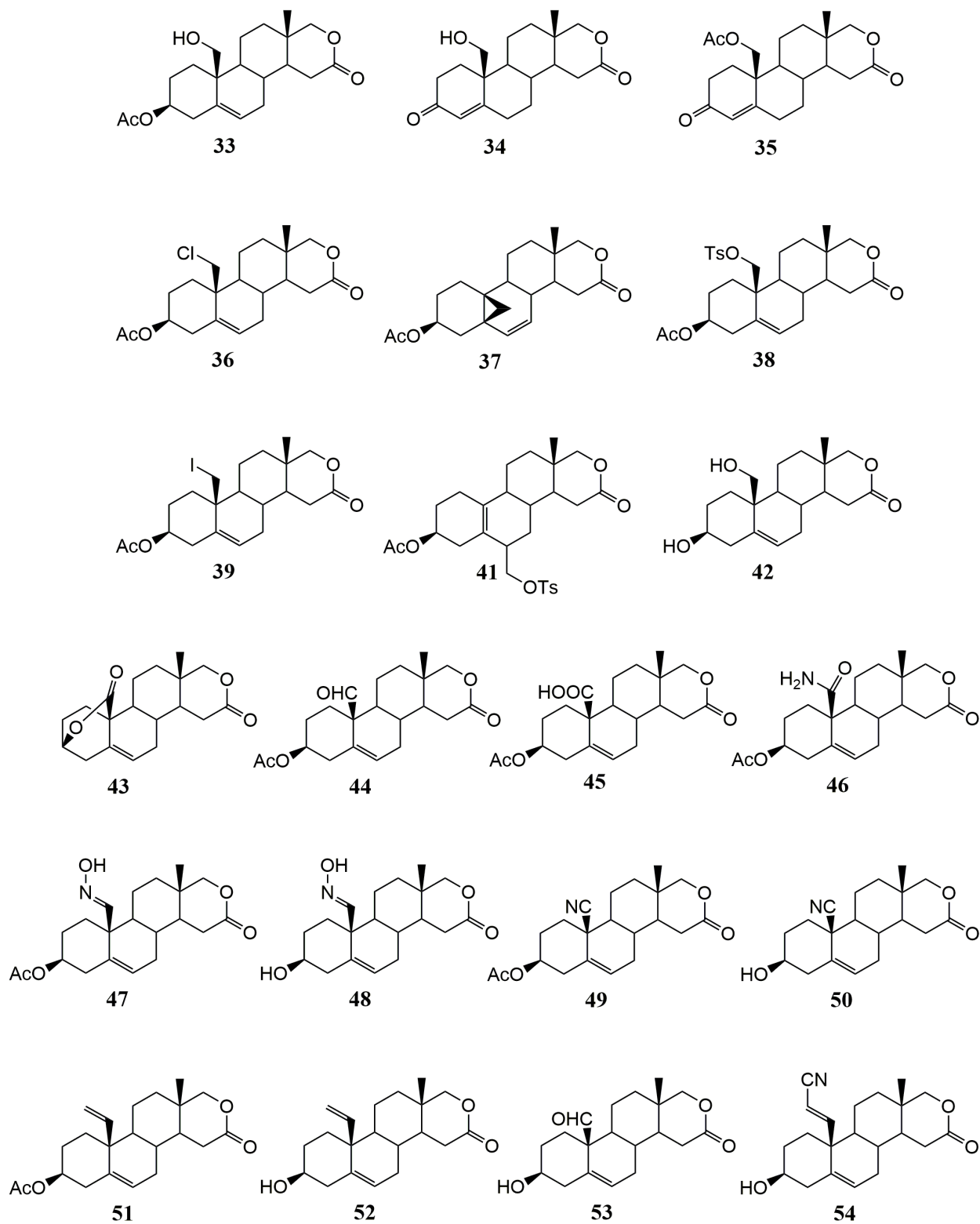
**Slika 3.1.** Strukture sintetisanih 5,6-disupstituisanih halogenih derivata



**Slika 3.2.** Strukture sintetisanih 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata



**Slika 3.3.** Strukture sintetisanih 6,19-epoksi derivata

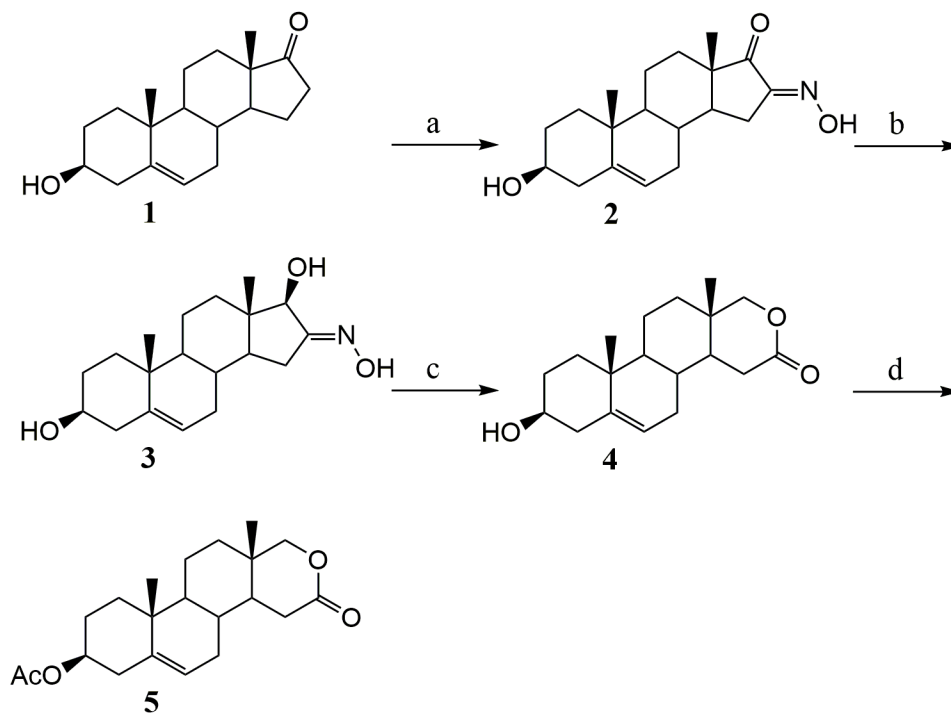


Slika 3.4. Strukture sintetisanih C19-derivatizovanih steroida

### 3.1. SINTEZA

#### 3.1.1. SINTEZA POLAZNOG STEROIDNOG D-HOMO LAKTONA

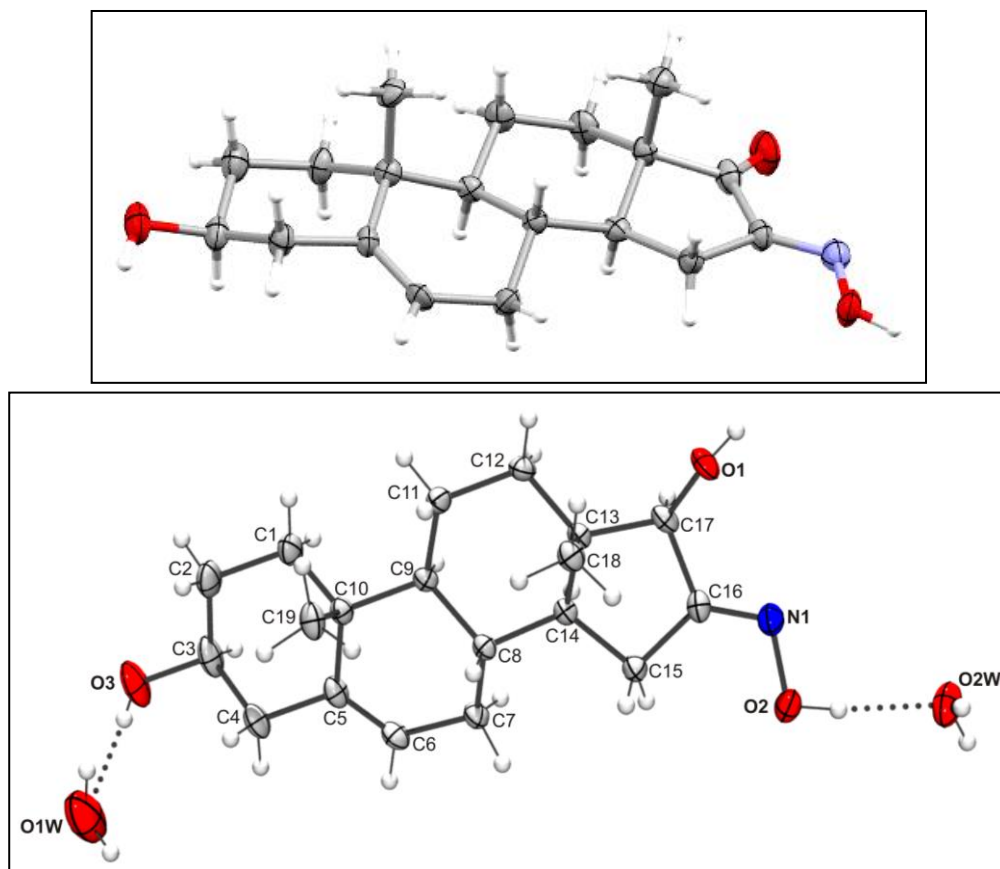
Prekursor u sintezi svih novosintetisanih androstanskih derivata bio je 3 $\beta$ -acetoksi-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (**5**). Ovo jedinjenje je dobijeno višefaznom sintezom polazeći od dehidroepiandrosterona **1** prema poznatom postupku uz izvesne eksperimentalne modifikacije (shema 3.1.1) [270-272].



**Shema 3.1.1.** Reakcioni uslovi: a) *i*-AmONO, *t*-BuOK, *t*-BuOH, st, 24h (99%); b) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, st, 90 min. (86%); c) 1. KOH, (CH<sub>2</sub>OH)<sub>2</sub>, refluks, 3h, 2. HCl (1:1) (96%); d) Ac<sub>2</sub>O, aps. Py, st, 23h (81%).

U prvoj fazi sinteze izvršeno je oksiminovanje pomoću *i*-amil-nitrita u baznoj sredini, na sobnoj temperaturi u toku 24h. Na ovaj način je dobijen 17-keto-16-oksimum **2** u prinosu od 99%.

Stereospecifičnom redukcijom keto grupe na C-17 jedinjenja **2** natrijum-borhidridom u etanolu na sobnoj temperaturi u toku 90 min. dobijen je 17 $\beta$ -hidroksi derivat **3** u prinosu od 86%. Stereochemija na dvostrukoj vezi oksiimno grupe kod jedinjenja **2**, kao i hidroksilne grupe kod jedinjenja **3** potvrđena je rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.1). Dobijeni 17 $\beta$ -hidroksi-16-oksim **3** je zagrevan uz refluks sa kalijum-hidroksidom u etilen-gikolu u toku 3h, pri čemu dolazi do *Beckmann*-ove fragmentacije i nastajanja 16,17-seko-17-hidroksi-16-karboksilne kiseline na način opisan u literaturi [273]. Do laktonizacije dolazi pri kiseljoj obradi reakcione smeše uz nastajanje D-homo laktona **4** u prinosu od 96%. Na kraju, jedinjenje **5** je dobijeno acetilovanjem hidroksilne grupe u položaju C-3 acetanhidridom u apsolutnom piridinu na sobnoj temperaturi u toku 23h. Prinos ove reakcije je bio 81%.



Slika 3.1.1. ORTEP 3D [274] prikazi molekulske strukture jedinjenja **2** i **3**

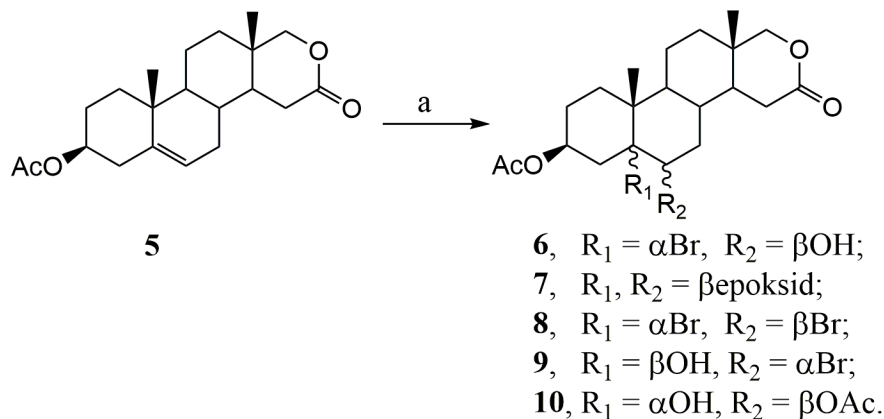


## 3.1.2. SINTEZA 5,6-DISUPSTITUISANIH STEROIDNIH D-HOMO LAKTONA

### 3.1.2.1. SINTEZA 5,6-HALOHIDRINA

Kao što je već navedeno steroidni 5,6-halohidrini su prekursori u sintezi 19-derivatizovanih steroida [163-166]. Međutim, njihov značaj je znatno širi, pa se tako mogu upotrebiti za sintezu 6-keto derivata [275], pokazuju i citotoksičnu aktivnost na neke od ćelija kancera [276]. Ovu aktivnost poseduju, pre svega zbog hidroksilne grupe u položaju C-6 $\beta$  [277-280], ali i atoma halogena koji se nalazi u strukturi mnogih biološki aktivnih steroida [281-282]. 5 $\alpha$ -Halo-6 $\beta$ -hidroksi steroidi se najčešće dobijaju *trans*-adicijom *in situ* generisane hipohalogenaste kiseline na  $\Delta^5$  dvostruku vezu. U zavisnosti od upotrebljenog supstrata, ali i reagenasa i reakcionih uslova, u ovim reakcijama se može dobiti halohidrin kao jedini proizvod [283-285, 166, 178], ili u smeši sa različitim sporednim proizvodima [165]. Za sintezu steroidnih 5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroksi derivata se najčešće upotrebljavaju *N*-bromacetamid (NBA) ili *N*-bromosukcinimid (NBS) i perhlorna kiselina u različitim rastvaračima. Imajući u vidu ove činjenice, u ovom radu je reakcija dobijanja 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17 $\alpha$ -homoandrostan-16-ona (**6**, shema 3.1.2) rađena sa oba reagensa i u različitim reakcionim ulovima, kako bi se ispitao uticaj istih na broj i prinose reakcionih proizvoda. Pored reagensa, varirani su i reakciona temperatura, vreme, prisustvo dnevne svetlosti, rastvarač i koncentracija perhlorne kiseline. Kako se u ovim reakcijama najčešće upotrebljavaju etarski rastvarači, to su za ovu konkretnu reakciju ispitani dioksan, dimetoksietan i tetrahidrofuran. Reakcioni uslovi i prinosi dobijenih proizvoda su prikazani u tabeli 3.1.1.

Reakcija jedinjenja **5** sa NBA-om je prvo izvedena u mraku, na sobnoj temperaturi, u dioksanu i sa 0,28 M HClO<sub>4</sub>, a varirano je reakciono vreme (eksperimenti br. 1 i 2 u tabeli 3.1.1). Utvrđeno je da 5 min. kraće reakciono vreme daje isti broj proizvoda: bromhidrin **6**, epoksid **7** i dibromid **8**, ali da se dibromid **8** dobija u većem prinosu, dok se smanjuje prinos epoksida **7**. S obzirom da je ukupan prinos sva tri proizvoda veći pri dužem reakcionom vremenu naredne dve reakcije su izvedene u toku 40 min, ali na različitim temperaturama i u mraku, tj. na dnevnom svetlu. Utvrđeno je da sniženje reakcione temperature na 0 °C neznatno smanjuje prinose sva tri proizvoda (eksp. br. 3).



**Shema 3.1.2.** Reakcioni uslovi su dati u Tabeli 3.1.1.

**Tabela 3.1.1.** Reakcioni uslovi i prinosi dobijenih jedinjenja

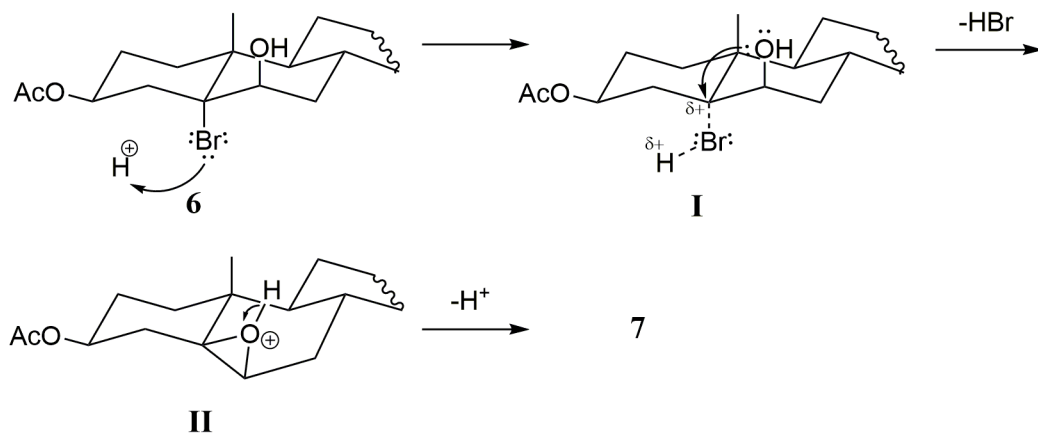
Br. eksp.	Reagens	Rast.	Konc. kiseline (M)	t	svetlost	Reak. vreme (min.)	Prinos jedinjenja (%)				
							6	7	8	9	10
1 [276]	NBA	Dioksan	0,28	st	Mrak	40	49	27	3	0	0
2	NBA	Dioksan	0,28	st	Mrak	35	52	16	7	0	0
3	NBA	Dioksan	0,28	0 °C	Mrak	40	44	22	2	0	0
4	NBA	Dioksan	0,28	st	Dan	40	67	23	1,4	1,9	0,8
5	NBA	Dioksan	0,28	st	Dan	30	36	22	9	0	0
6	NBA	DME	0,28	st	Dan	40	55	36	2,7	0	0
7	NBS	Dioksan	0,28	st	Dan	40	21	43	3,1	0	0
8	NBA	Dioksan	0,14	st	Dan	40	67	19	2,7	0	0
9	NBA	Dioksan	0,03	st	Dan	40	61	31	0	0	0
10* [276]	NBA	Dioksan	0,03	st	Mrak	35	51	42	0	0	0

\*U ovom eksperimentu je izolovano i 23% polaznog jedinjenja **5**. Kada se računa na ukupnu količinu jedinjenja **5** prinosi su 32% za bromhidrin **6** i 40% za epoksid **7**.

Međutim, kada je reakcija izvedena na dnevnoj svetlosti dobijen je ne samo veći prinos bromhidrina **6**, već i dva nova proizvoda, 6 $\alpha$ -brom-5 $\beta$ -hidroksi derivat **9** i 6 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -hidroksi derivat **10** (eksp. br. 4). Kraće reakciono vreme (eksp. br. 5) uz iste ostale reakcione uslove kao i u eksp. br. 4 ne daje ova dva proizvoda i smanjuje prinos bromhidrina **6**. Na osnovu rezultata dobijenih u ovim ogledima moglo se zaključiti da se najveći prinos bromhidrina **6** dobija na sobnoj temperaturi, dnevnoj svetlosti i u toku 40 min. Imajući ovo u vidu dalje reakcije su izvedene u ovim uslovima. Upotrebom DME umesto dioksana dobijaju se jedinjenja **6**, **7** i **8** (eksp. br. 6), ali je prinos bromhidrina **6** smanjen, dok su povećani prinosi epoksida **7** i dibromida **8**. Kada je kao rastvarač upotrebljen THF dobijena je veoma kompleksna smeša proizvoda, a komponente ove smeše nije bilo moguće razdvojiti fleš hromatografijom. U eksperimentu br. 7 je umesto NBA-a upotrebljen NBS. Za razliku od reakcije koja je izvedena u istim uslovima ali sa NBA-om, ovde je umesto pet dobijeno tri proizvoda. Prinosi jedinjenja **7** i **8** su povećani, dok je prinos bromhidrina **6** smanjen čak tri puta. Promenom rastvarača, odnosno upotrebom THF je takođe dobijena kompleksna smeša proizvoda. Ispitan je i uticaj različitih koncentracija perhlorne kiseline (eks. br. 8 i 9). U četvrtom eksperimentu je upotrebljena 0,28 M perhlorna kiselina i dobijeno je pet proizvoda, a smanjenjem njene koncentracije je smanjen i broj proizvoda. Kada je koncentracija bila 0,14 M dobijena su jedinjenja **6**, **7** i **8**. Prinosi bromhidrina **6** i epoksida **7** su praktično nepromenjeni, dok se prinos dibromida **8** udvostručio (eks.br. 8). Daljim smanjenjem koncentracije na 0,03 M su dobijeni samo bromhidrin **6** nešto manjeg prinosa i epoksid **7** povećanog prinosa. Radi dodatne potvrde da do smanjenja prinosa dolazi kraćim reakcionim vremenom, upotrebom razblaženije HClO<sub>4</sub> i u mraku, poslednji ogled je izveden u prisustvu 0,03 M HClO<sub>4</sub> u toku 35 min. i u mraku (eksp. br. 10). U ovom ogledu je izolovana značajna količina neizreagovanog polaznog jedinjenja **5**, a dobijeni su samo bromhidrin **6** u smanjenom prinosu i epoksid **7** povećanog prinosa.

Od ukupno pet proizvoda dobijenih u ovoj reakciji može se pretpostaviti da jedinjenja **6**, **8** i **9** nastaju *trans*-adicijom na dvostruku vezu [286]. Međutim, mehanizam nastanka epoksida u ovim uslovima se razlikuje od literaturno poznatih dobijanja epoksida iz halohidrina. Takve reakcije su bazno katalizovane intramoleulske S<sub>N</sub>2 supstitucije i odgovaraju *Williamson*-ovoj sintezi etara, u kojoj prvo dolazi do deprotonovanja hidroksilne grupe, a potom nukleofilnog napada alkoksidnog anjona na ugljenik na kom se nalazi atom halogena. *Numazawa* i *Yamada* [165] su u reakciji androst-5-en-17-ona sa HOBr/HClO<sub>4</sub> takođe dobili 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksid, čiju su strukturu dokazali poređenjem sa ranije sintetisanim epoksidom [287], kao i tretiranjem 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ -ola sa NaOH. Predloženi mehanizam ove reakcije je prikazan na shemi 3.1.3. Može se pretpostaviti da do polarizacije Br-C5 veze (**I**) dolazi dejstvom kiseline, usled čega C5 ugljenik postaje elektrofilniji i time podložniji napadu slabo nukleofilne hidroksilne grupe. Osim toga, eksperimentalno je potvrđeno da ovako nastao epoksid pod dejstvom HClO<sub>4</sub> hidrolizuje do

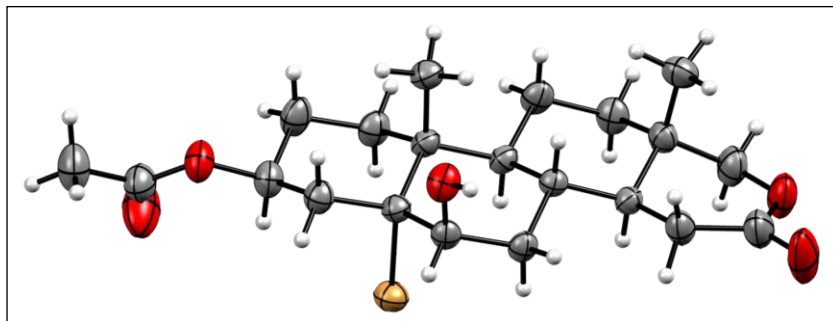
5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -diola [165]. Međutim, u ovoj reakciji takav proizvod nije izolovan, već se pretpostavlja da je njegovim acetilovanjem dobijen 6 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -hidroksi derivat **10**.



Shema 3.1.3. Mehanizam nastajanja epoksida **7**

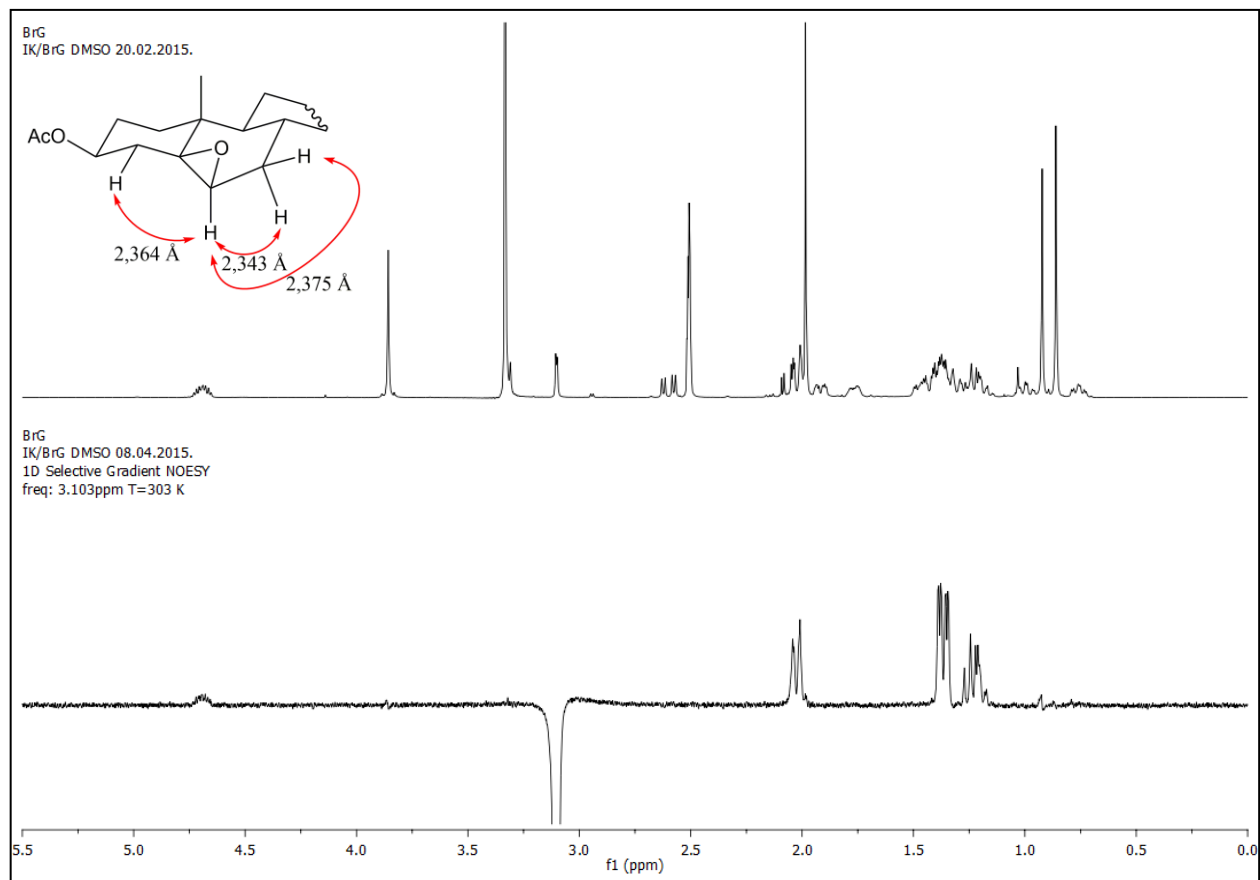
Strukture novosintetisanih jedinjenja **6**, **7**, **8**, **9** i **10** su utvrđene na osnovu detaljne analize spektroskopskih podataka<sup>1</sup>, dok su njihove molekulske formule potvrđene masenom spektrometrijom visoke rezolucije. U IR spektru jedinjenja **6** se pored intenzivne trake na 1731  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilnih grupa laktona i acetata na C-3, javlja i široka traka na 3456  $\text{cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru najvažniji signal za identifikaciju bromhidrina **6** je signal vodonika na C-6, koji se javlja na 3,98 ppm u obliku multipleta jako male konstante kuplovanja. Ovo ukazuje na ekvatorijanu orijentaciju H-6 vodonika, odnosno aksijalnu ( $\beta$ -orijentaciju) hidroksilne grupe na C6. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se primećuje odsustvo olefinskih ugljenika, a ugljenici u položajima 6 i 5 daju signale na 74,02 i 90,79 ppm respektivno. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{BrO}_5$ ) je potvrđena pomoću četiri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  443,14146),  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  ( $m/z$  460,16861),  $[\text{M}+\text{K}]^+$  ( $m/z$  481,09853) i  $[2\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  885,27848). Struktura jedinjenja **6** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.2).

<sup>1</sup> Slike IR i NMR spektara svih novosintetisanih jedinjenja su date u Prilogu.

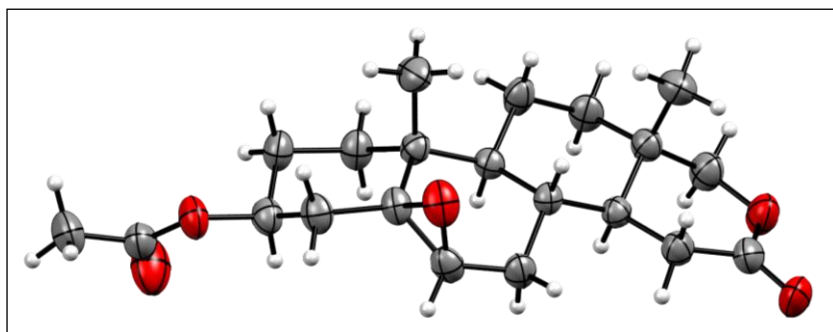


Slika 3.1.2. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture bromhidrina **6**

U IR spektru epoksida **7** se ne javlja široka traka hidroksilne grupe na oko  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Kao i kod jedinjenja **6**, za utvrđivanje strukture u protonskom NMR spektru je najvažniji signal H-6 vodonika. On se javlja na 3,10 ppm u obliku dubleta malog sprežanja (2,4 Hz) što ukazuje na njegov ekvatorijalan položaj, odnosno  $\beta$ -orijentaciju epoksidne grupe. Dodatna potvrda prisustva ove funkcije u steroidnoj strukturi, dolazi iz  $^{13}\text{C}$  NMR spektra gde signali na 62,17 i 62,73 ppm potiču od C-5 i C-6, respektivno. 1D NOESY spektar je od posebnog značaja za određivanje stereochemije epoksida **7** (slika 3.1.3). U ovom spektru se mogu zapaziti nOe interakcije između H-6 i ekvatorijalnih H-4 i H-7 protona, kao i nešto slabija interakcija sa aksijalnim H-7. Takođe, odsustvo interakcije H-6 sa protonima C-19 angularne metil grupe ukazuje na  $\alpha$ -orijentaciju ovog protona. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$ ) je potvrđena pomoću četiri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  363,21537),  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  ( $m/z$  380,24211),  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ( $m/z$  385,19833) i  $[\text{M}+\text{K}]^+$  ( $m/z$  401,17238). Struktura jedinjenja **7** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.4).



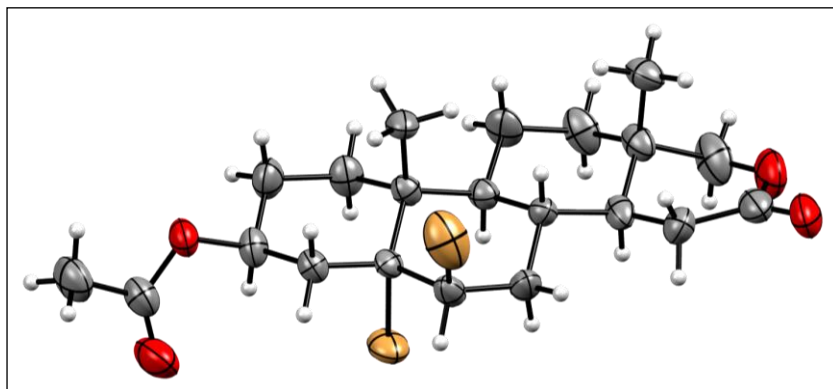
Slika 3.1.3.  $^1\text{H}$  NMR i 1D NOESY spektri epoksida **7**



Slika 3.1.4. ORTEP 3D Prikaz molekulske strukture epoksida **7**

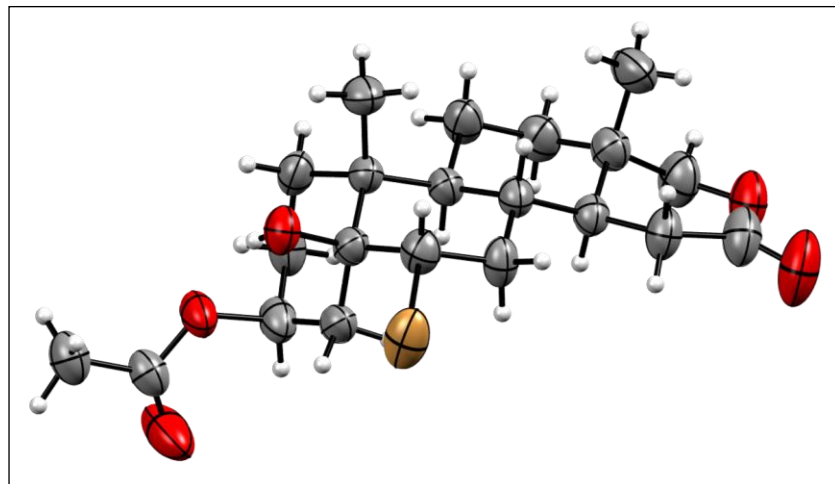
IR spektar dibromida **8** takođe sadrži intenzivnu traku na  $1733\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa. Ključni signal u protonskom NMR spektru je signal vodonika na C-6 koji se javlja na 4,82 ppm. S obzirom na veće hemijsko pomeranje u odnosu na isto kod jedinjenja **6**

može se zaključiti da je ovde umesto hidroksilne grupe za C-6 vezan atom broma. Oblik signala i mala konstanta kuplovanja ( $d, J = 2,1 \text{ Hz}$ ) ukazuju na ekvatorijalnu orijentaciju vodonika H-6, odnosno  $\beta$ -orijentaciju broma. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signali na 63,49 i 88,53 ppm odgovaraju C-6 i C-5 atomima respektivno. Struktura jedinjenja **8** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.5), koja nepobitno dokazuje *trans*-diaksijalni raspored dva atoma broma.



Slika 3.1.5. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture dibromida **8**

Prisustvo hidroksilne grupe kod  $6\alpha$ -brom- $5\beta$ -hidroksi derivata **9** je potvrđeno širokom trakom na  $3580 \text{ cm}^{-1}$  u IR spektru. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se javljaju dva karakteristična signala i to singlet na 4,12 ppm koji potiče od vodonika iz hidroksilne grupe i signal H-6 na 4,51 ppm. Poslednji je u obliku dublet dubleta sa konstantama kuplovanja 12,1 i 4,9 Hz što ukazuje na njegovu aksijalnu orijentaciju, odnosno na  $\alpha$ -orijentaciju vezanog atoma broma. Signali C-6 i C-5 se javljaju na 66,17 i 73,78 ppm respektivno u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{BrO}_5$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  465,12471. Struktura jedinjenja **9** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.6).

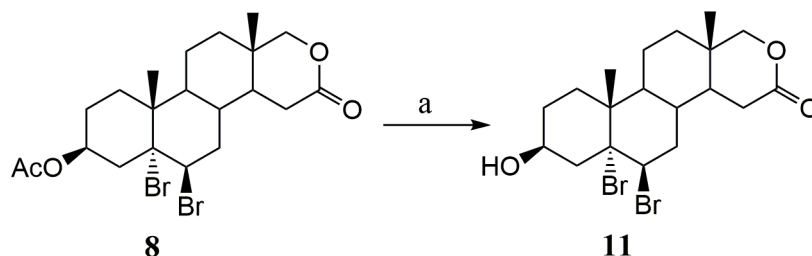


Slika 3.1.6. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 6 $\alpha$ -brom-5 $\beta$ -hidroksi derivata **9**

IR spektar diacetata **10** sadrži intenzivnu traku na 1732 cm<sup>-1</sup> koja potiče od karbonilnih grupa laktona i dva acetata, ali sadrži i široku traku na 3440 cm<sup>-1</sup> koja potiče od hidroksilne grupe na C-5. U protonskom NMR spektru ovog jedinjenja se javljaju dva singleta na 2,00 i 2,08 ppm koja potiču od dveju metil grupa iz dva acetata. Takođe, zapaža se i singlet na 5,19 ppm koji potiče od H-6. Oblik signala ukazuje na ekvatorijalan položaj tog vodonika. Na osnovu ovoga kao i podataka daljinskih sprežanja iz 2D HMBC spektra se može zaključiti da jedinjenje **10** poseduje acetoksi funkciju u položaju C-6 i to  $\beta$ -orijentacije. U <sup>13</sup>C NMR spektru ovog jedinjenja se u odnosu na spektre prethodnih jedinjenja zapažaju dva dodatna signala i to na 21,47 i 169,90 ppm, a to su signali koji potiču od primarnog i kvaternernog ugljenika acetoksi grupe na C-6. Signali ugljenika u položaju 6 i 5 se javljaju na 74,40 i 85,67 ppm, respektivno, što takođe potvrđuje da su za ove ugljenike vezane acetoksi, tj. hidroksilna grupa.

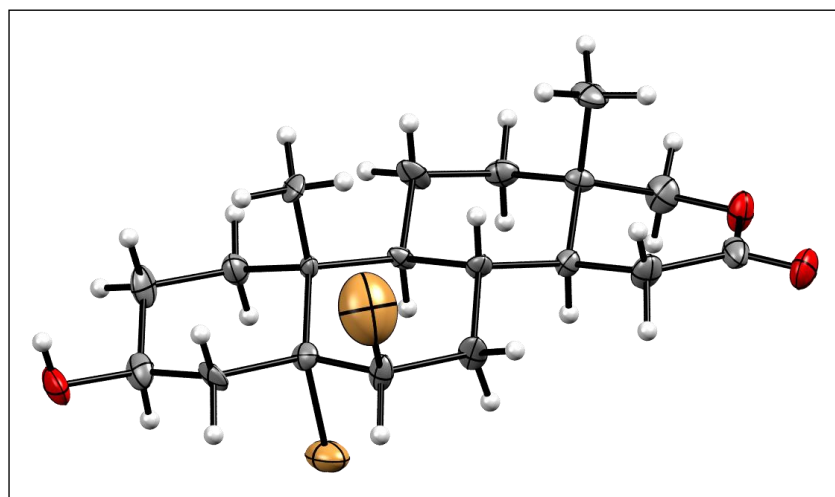
U cilju dobijanja slobodne hidroksilne grupe kod dibromida **8** je izvršeno uklanjanje acetoksi zaštite natrijum-etoksidom u etanolu na sobnoj temperaturi u toku 1h i 40 min (shema 3.1.4). Dobijen je 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibrom-3 $\beta$ -hidroksi derivat **11** u prinosu od 62%.





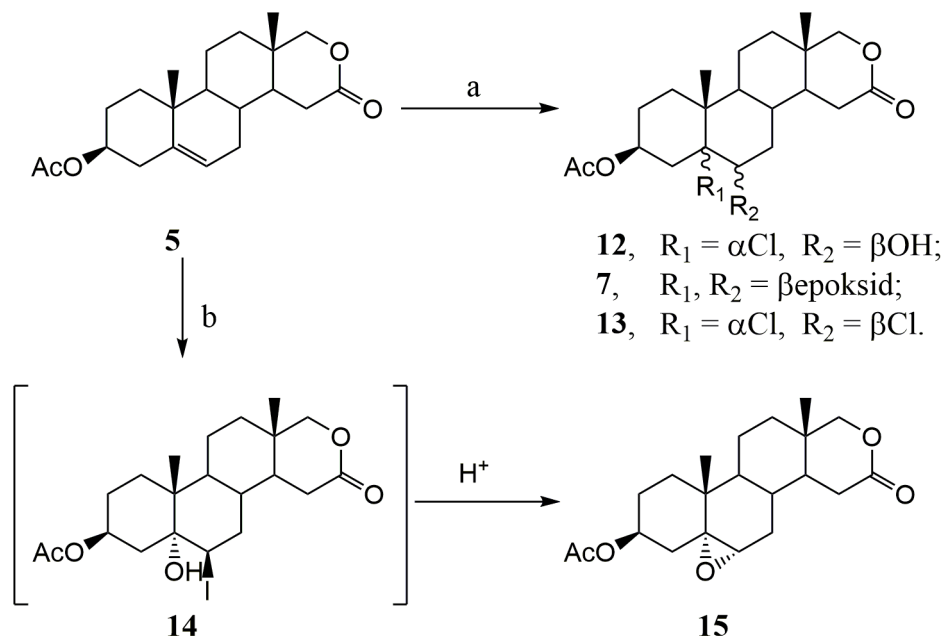
**Shema 3.1.4.** Reakcioni uslovi: a) NaOEt, EtOH, st, 1h 40 min. (62%).

Odsustvo acetoksi grupe kod jedinjenja **11** je potvrđeno poređenjem njegovih IR i NMR spektara sa spektrima njegovog prekursora **8**. Tako se u IR spektru jedinjenja **11** za razliku od spektra jedinjenja **8**, javlja široka traka na  $3433\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-3. U protonskom NMR spektru se primećuje izostanak singleta koji je kod jedinjenja **8** poticao od metil grupe iz acetoksi funkcije. Takođe, u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se zapaža izostanak dva signala i to od ugljenika metil i karbonilne grupe acetoksi funkcije. Struktura jedinjenja **11** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.7).



**Slika 3.1.7.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromo-3 $\beta$ -hidroksi derivata **11**

Adicijom na dvostruku vezu je moguće dobiti i hlorhidrine i jodhidrine [159, 160, 288]. Tako je i u ovom radu adicijom *in situ* generisane hipohloraste kiseline na dvostruku vezu jedinjenja **5** dobijen hlorhidrin **12** (shema 3.1.5). Hipohlorasta kiselina je generisana dejstvom sirćetne kiseline na kalcijum-hipohlorit. Reakcija je izvedena na sobnoj temperaturi u dvofaznom sistemu etra i vode u toku 30 min. Osim hlorhidrina **12** koji je dobijen u prinosu od 50%, u ovoj reakciji su slično reakciji dobijanja bromhidrina dobijena još dva proizvoda: epoksid **7** (43%) i dihlorid **13** (5%).



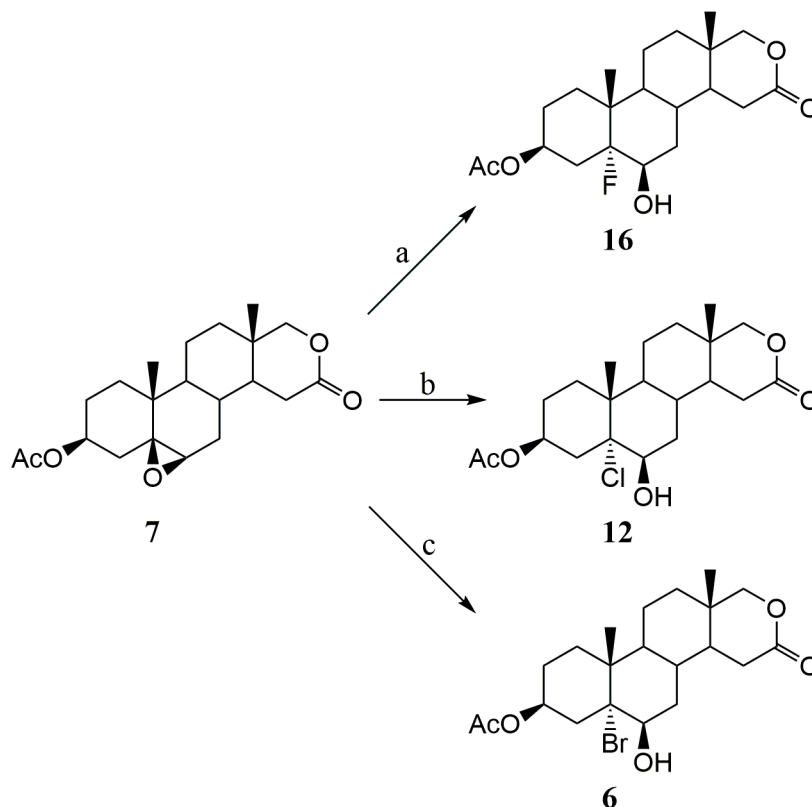
**Shema 3.1.5.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , glac.  $\text{AcOH}$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , st, 30 min. (**12** 50%, **7** 43%, **13** 5%); b)  $\text{I}_2$ ,  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ , dioksan,  $\text{H}_2\text{O}$ , st, 24 h (45%).

U IR spektru hlorhidrina **12** se očekivano vidi široka traka na  $3445\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-6, kao i intenzivna traka na  $1732\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa iz laktona i acetata. U protonskom NMR spektru je za identifikaciju važan signal vodonika na C-6 koji se javlja na 3,75 ppm i to u obliku multiplleta izuzetno malih hemijskih sprezanja što ukazuje na ekvatorijalni položaj H-6 vodonika, odnosno  $\beta$ -orijentaciju hidroksilne grupe. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se primećuje odsustvo signala olefinskih ugljenika, a signali za C-5 i C-6 se javljaju na 85,99 i 73,80 ppm respektivno. Molekulska formula jedinjenja **12** ( $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{ClO}_5$ ) je potvrđena pomoću masenog spektra visoke rezolucije u kom se javlja pik na  $m/z$  421,17433 koji potiče od  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  jona.

Struktura dihlorida **13** je takođe potvrđena navedenim spektroskopskim metodama. Za razliku od IR spektra hlorhidrina **12** u IR spektru jedinjenja **13** se ne zapaža široka traka koja potiče od vibracija hidroksilne grupe. Najvažniji signal za utvrđivanje strukture ovog jedinjenja u protonskom NMR spektru je signal vodonika na C-6, koji se javlja na 4,39 ppm u obliku dubleta izuzetno male konstantne kuplovanja (1,8 Hz). Ovo ukazuje na ekvatorijalnu orijentaciju H-6, odnosno  $\beta$ -orijentaciju atoma hlora na C-6. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se takođe primećuje odsustvo olefinskih ugljenika, a C-5 i C-6 daju signale na 83,56 i 62,63 ppm, respektivno. Molekulska formula jedinjenja **13** je potvrđena pomoću masenog spektra visoke rezolucije u kom se javlja pik na  $m/z$  439,14075 koji potiče od  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  jona.

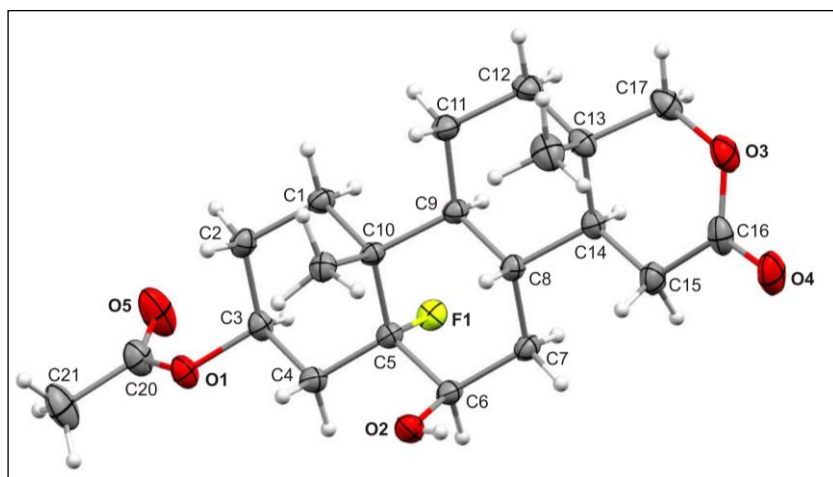
U cilju dobijanja steroidnog jodhidrina izvršena je reakcija olefina **5** sa jodom i bakar(II)-acetatom kao katalizatorom, u smeši dioksana i vode na sobnoj temperaturi u toku 24 h (shema 3.1.5). Međutim, iako se na osnovu literaturnog podatka moglo očekivati da nastane  $5\alpha$ -hidroksi- $6\beta$ -jodo derivat [288], ovde je izolovan samo od ranije poznat  $5\alpha,6\alpha$ -epoksid **15** u prinosu od 45% [289]. Može se pretpostaviti da je do građenja epoksida **15** došlo intramolekulskom  $S_N2$  supstitucijom intermedijerno nastalog  $5\alpha$ -hidroksi- $6\beta$ -jodo derivata **14**. Struktura dobijenog epoksida **15** je potvrđena poređenjem spektroskopskih podataka sa podacima ranije dobijenog jedinjenja [289].

Drugi način za dobijanje halohidrina je otvaranjem epoksida reakcijom sa nukleofilima. Na taj način su u ovom radu dobijeni fluorhidrin **16**, kao i hlorhidrin **12** i bromhidrin **6**.  $5\alpha$ -Fluor- $6\beta$ -hidroksi derivat **16** je dobijen reakcijom epoksida **7** sa bortrifluorid eteratom u dietiletru (shema 3.1.6) [290-292]. Reakcija je rađena na sobnoj temperaturi u toku 3 h i 30 min., ali je samo 34% epoksida izreagovalo, a prinos fluorhidrina je bio 59,5%, računato na izreagovani epoksid.



**Shema 3.1.6.** Reakcioni uslovi: a)  $BF_3 \cdot Et_2O$ ,  $Et_2O$ , s. t., 3 h 30 min. (59,5%); b)  $BiCl_3$ , cc  $HCl$ , dioksan, st, 1h (92%); c)  $HBr$ ,  $CH_2Cl_2$ , st, 15min. (79%).

U IR spektru ovog jedinjenja se kao i IR spektrima drugih halohidrina zapažaju dve karakteristične trake. To su široka traka na  $3451\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od vibracija hidroksilne grupe i intenzivna traka karbonilnih grupa koja se javlja na  $1732\text{ cm}^{-1}$ . U protonskom NMR spektru ovog jedinjenja su za identifikaciju izuzetno važna dva signala, i to signal na 3,53 ppm koji se javlja u obliku multipleta izuzetno malih konstanti kuplovanja, a koji potiče od vodonika u položaju C-6 i koji ukazuje na njegovu ekvatorijalnu  $\alpha$ -orijentaciju. Drugi važan signal potiče od hidroksilnog protona i javlja se na 5,06 ppm u obliku dubleta konstante sprezanja 4,4 Hz. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signali ugljenika C-1, C-3, C-4, C-5, C-6, C-9, C-10 i C-19 se javljaju u obliku dubleta usled sprezanja sa atomom fluora. Signal jezgra fluora se u snimljenom  $^{19}\text{F}$  NMR spektru nalazi u obliku dubleta na  $-159,6\text{ ppm}$ , usled sprezanja sa jednim od vodonika na C-4. Konstanta ovog sprezanja je iznosila 42,8 Hz. Molekulska formula jedinjenja **16** ( $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{FO}_5$ ) je potvrđena pomoću masenog spektra visoke rezolucije u kom se javlja pik na  $m/z\ 405,20413$  koji potiče od  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  jona. Struktura jedinjenja **16** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.8).



Slika 3.1.8. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture jedinjenja **16**

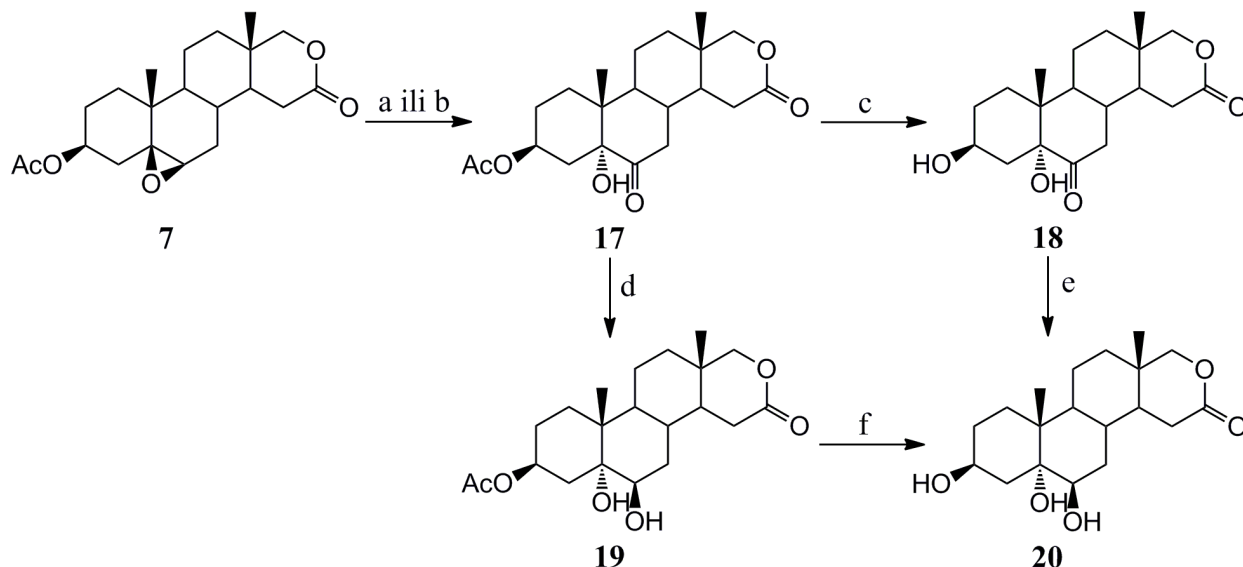
Hlorhidrin **12** je osim adicijom na dvostruku vezu dobijen i otvaranjem epoksida **7** i to prema modifikovanom postupku objavljenom 2007. god. (shema 3.1.6) [293]. Reakcija je izvedena tako što je u suspenziju bizmut(III)-hlorida u dioksanu dokapavana hlorovodonična kiselina do pH 1, a zatim dodat epoksid **7**. Reakciona smeša je potom mešana na sobnoj temperaturi u toku 1h pri čemu je dobijen željeni hlorhidrin **12** u prinosu od 92% računato u odnosu na izreagovani epoksid i 75% neizreagovanog epoksida.

Otvaranjem epoksida **7** je dobijen i bromhidrin **6** i to reakcijom sa HBr u metilen-hloridu na sobnoj temperaturi u toku 15 min (shema 3.1.6) [275]. Na ovaj način je dobijen bromhidrin **6** u prinosu od 79%, računato u odnosu na izreagovani epoksid.

### 3.1.2.2. SINTEZA 5,6-DISUPSTITUISANIH KISEONIČNIH DERIVATA

Funkcionalne grupe koje sadrže atom kiseonika i najčešće se uvode u steroidnu strukturu su hidroksilna i karbonilna. One se izdvajaju kao dosta česte farmakofore biološki aktivnih steroida. Jedan takav primer je naveden u poglavlju 3.1.2.1 (str. 49) gde je istaknut izuzetan biološki potencijal jedinjenja sa 6 $\beta$ -hidroksilnom grupom. Osim navedene hidroksilne grupe značajnim za raznovrsne biološke aktivnosti su se pokazale i okso i/ili hidroksilne grupe u položajima C-3, C-5 i C-6 [177, 271, 275, 280, 289, 294]. Ove grupe je u steroidnu strukturu moguće uvesti oksidativnim otvaranjem epoksida [271, 289]. Imajući ovo u vidu, kao i činjenicu da se u reakciji dobijanja bromhidrina **6**, kao drugi po količini proizvod dobija upravo 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksid **7**, u ovom radu su izvršene hemijske transformacije pomenutog jedinjenja **7** a u cilju dobijanja niza steroida sa kiseoničnim supstituentima u položajima C-3, C-5 i C-6.

Oksidativno otvaranje 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksida **7** je izvršeno prema poznatom postupku (shema 3.1.7)[271]. Ovaj postupak se sastojao iz oksidacije hrom(VI)-oksidom u acetonu na 0 °C u toku 30 min., a zatim na sobnoj temperaturi u toku 40 min. Na ovaj način je dobijeno jedinjenje **17** u prinosu od 58%, a njegovi spektroskopski podaci su bili identični sa onima iz literature [271]. U nešto nižem prinosu od 45% jedinjenje **17** je dobijeno i oksidacijom epoksida **7** piridinijum-hlorhromatom u dihlormetanu na sobnoj temperaturi u toku 20 dana.



**Shema 3.1.7.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{CrO}_3$ , aceton,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 30 min.  $\rightarrow$  st 40 min. (58%); b) PCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , st, 20 dana (45%); c) NaOEt, EtOH, st, 2 h (78%); d)  $\text{NaBH}_4$ , MeOH, st, 30 min. (84,5%); e)  $\text{NaBH}_4$ , MeOH, st, 1 h (62%); f) NaOEt, EtOH,  $50\text{-}55^\circ\text{C}$ , 1 h (65%).

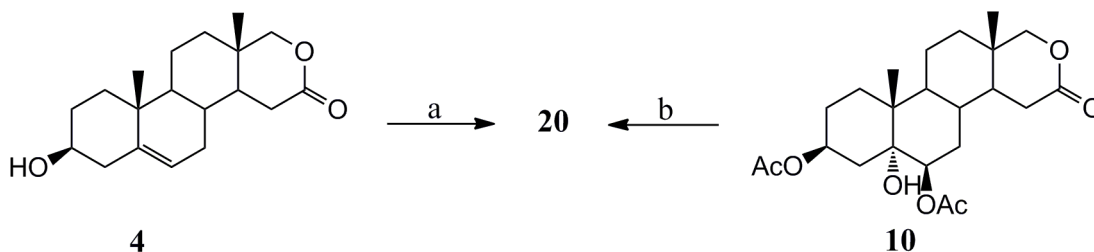
U narednoj fazi sinteze je uklonjena acetatna zaštita hidroksilne grupe na C-3 jedinjenja **17** i to reakcijom sa natrijum-etoksidom u etanolu na sobnoj temperaturi u toku 2 h (shema 3.1.7). Na ovaj način je dobijen  $3\beta,5\alpha$ -dihidroksi-6-okso derivat **18** u prinosu od 78%. U IR spektru se zapažaju dve karakteristične trake: široka na  $3401\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju hidroksilnih grupa i intenzivna na  $1712\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa. U protonskom NMR spektru se zapaža odsustvo signala protona metil grupe acetata, a prisustvo dva signala protona hidroksilnih grupa. Vodonik hidroksilne grupe na C-3 daje dublet na 3,52 ppm konstante kuplovanja 4,1 Hz, dok singlet na 4,48 ppm potiče od vodonika hidroksilne grupe na C-5. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru je pored odsustva dva karakteristična signala ugljenika acetata, za identifikaciju bitan signal karbonilnog C-6 ugljenika koji se javlja na 210,61 ppm. Molekulska formula ( $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_5$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  359,18371.

Izvršena je i redukcija karbonilne C-6 grupe jedinjenja **17** i to natrijum-borhidridom u metanolu na sobnoj temperaturi u toku 30 min (shema 3.1.7). Na ovaj način je dobijen  $3\beta$ -acetoksi- $5\alpha,6\beta$ -dihidroksi derivat **19** u prinosu od 84,5%. U njegovom IR spektru se zapaža široka traka na  $3436\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju hidroksilnih grupa na C-5 i C-6, kao i intenzivna traka na  $1728\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilnih grupa acetata i laktona. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se zapaža singlet na 2,04 ppm poreklom od tri vodonika iz acetatne metil grupe i singlet na 3,58 ppm od vodonika na H-6. Imajući u vidu odsustvo sprezanja kod signala H-6 vodonika može se zaključiti da je on ekvatorijalne orijentacije odnosno da je hidroksilna grupa na C-6

$\beta$ -orijentacije. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se javlja signal ugljenika metil grupe acetata na 21,47 ppm, ali se signal karbonilnog ugljenika acetata preklapa sa signalom laktonskog C-16 ugljenika na 171,15 ppm. Signali na 75,19 i 75,49 ppm potiču od C-5 i C-6 respektivno. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_6$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  403,20998.

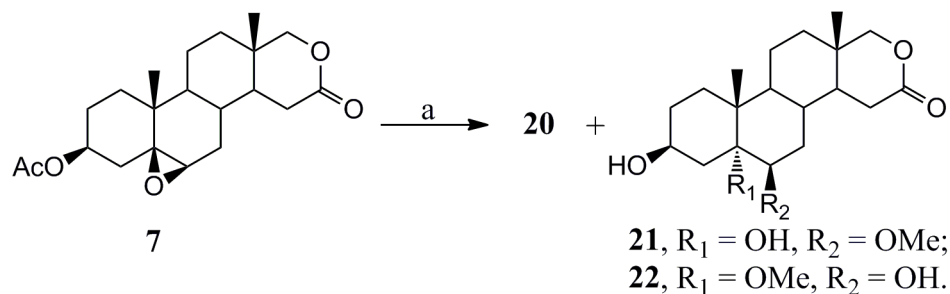
S obzirom da su različiti  $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihidroksi steroidi pokazali značajan antitumorski potencijal [280, 295, 296], jedan od ciljnih jedinjenja u okviru ovog sintetskog pravca bio je  $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihidroksi derivat **20**. On je dobijen polazeći od pet različitih jedinjenja. Iz jedinjenja **18** je dobijen redukcijom C-6 keto grupe natrijum-borhidridom u metanolu na sobnoj temperaturi u toku 1h u prinosu od 62% (shema 3.1.7). Uklanjanjem acetatne zaštite hidroksilne grupe na C-3 jedinjenja **19** se takođe dobija jedinjenje **20**. Reakcija je izvršena natrijum-etoksidom u etanolu na 50-55 °C u toku 1h, a željeni proizvod je dobijen u prinosu od 65%.

Jedinjenje **20** je dobijeno i vicinalnom *trans*-dihidroksilacijom olefina **4** vodonik-peroksidom (shema 3.1.8) prema poznatom postupku [297]. Ova reakcija je katalizovana kalijum-jodidom i sumpornom kiselinom i odvijala se u smeši dioksana i vode zagrevanjem uz refluks u toku 3 h. Na ovaj način je jedinjenje **20** dobijeno u prinosu od 30,5%. Trihidroksi derivat **20** je dobijen i iz  $3\beta,6\beta$ -diacetoksi- $5\alpha$ -hidroksi derivata **10** (shema 3.1.8). Baznom hidrolizom acetatnih grupa na C-3 i C-6 kalijum-hidroksidom u metanolu zagrevanjem uz refluks u toku 1h i 30 min. dobija se triol **20** u prinosu od 37%.



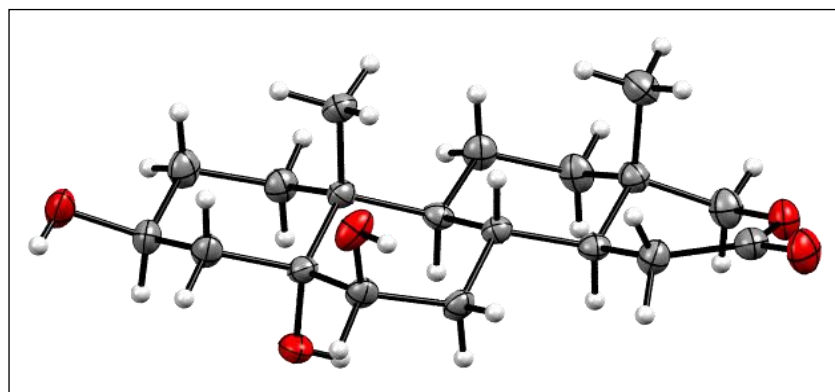
**Shema 3.1.8.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , KI,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , dioksan,  $\text{H}_2\text{O}$ , refluks, 3h (30,5%); b) KOH, MeOH, refluks, 1h 30 min. (37%).

Metanolizom epoksida **7** se  $3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihidroksi derivat **20** dobija u malom prinosu (1,6%) kao sporedni proizvod (shema 3.1.9), dok se kao dva glavna proizvoda dobijaju  $3\beta,5\alpha$ -dihidroksi- $6\beta$ -metoksi derivat **21** (37%) i  $3\beta,6\beta$ -dihidroksi- $5\alpha$ -metoksi derivat **22** (20%) [298]. Reakcija je izvršena u metanolu uz NBS kao katalizator na sobnoj temperaturi u toku 2 dana.



**Shema 3.1.9.** Reakcioni uslovi: a) NBS, MeOH, st, 2 dana (**20** 1,6%, **21** 37%, **22** 20%).

Potvrda prisustva tri hidroksilne grupe u strukturi jedinjenja **20** dolazi već iz IR spektra pošto se u njemu javljaju tri trake i to na 3548, 3394 i 3355  $\text{cm}^{-1}$ . U protonskom NMR spektru vodonici hidroksilnih grupa daju tri signala. Vodonik hidroksilne grupe na C-5 daje singlet na 3,75 ppm, dok oni na C-3 i C-6 daju dublete na 4,20 ppm i 4,45 ppm, respektivno. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru karakteristini su signali ugljenika C-3, C-5 i C-6 koji se javljaju na 66,16, 74,21 i 74,39 ppm, respektivno. Molekulska formula ( $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_5$ ) je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  339,21597),  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  ( $m/z$  356,24332) i  $[\text{M}+\text{K}]^+$  ( $m/z$  377,17178). Struktura jedinjenja **20** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.9).

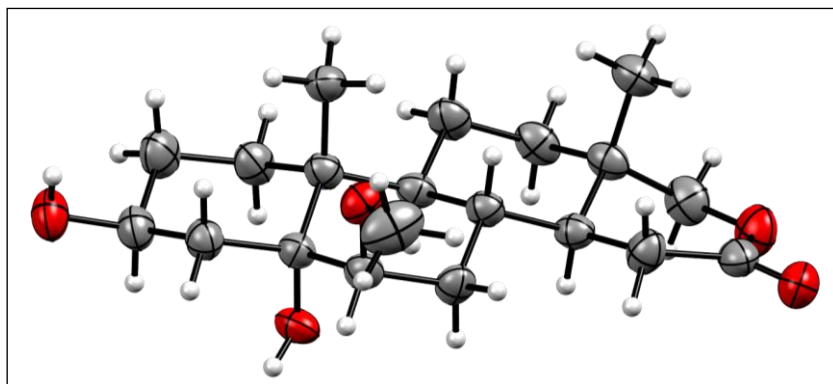


**Slika 3.1.9.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 3β,5α,6β-trihidroksilnog derivata **20**

U IR spektru jedinjenja **21** se zapaža široka traka koja potiče od hidroksilnih grupa na C-3 i C-5. U protonskom NMR spektru za identifikaciju ovog jedinjenja su bitna dva signala a to su multiplet H-6 vodonika na 2,99 ppm izuzetno malog sprezanja koji ukazuje na njegovu ekvatorijalnu orijentaciju i singlet na 3,31 ppm koji potiče od vodonika 6β-metoksi grupe. Signal ugljenika ove grupe se javlja na 58,15 ppm u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru i daljinski se spreže sa H-6.



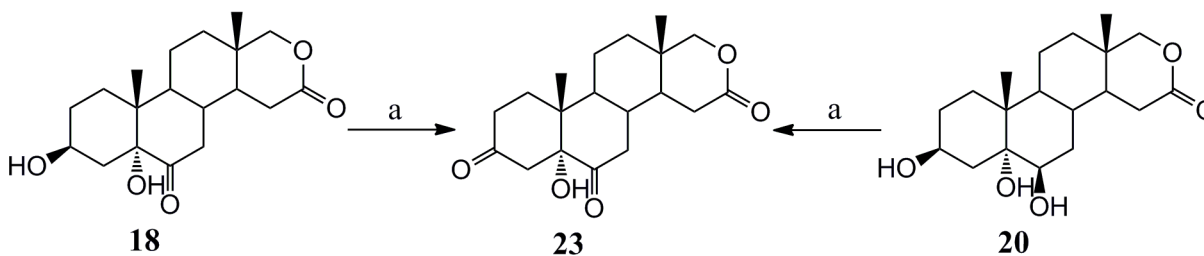
Ugljenici C-3, C-5 i C-6 imaju signale na 67,52, 75,82 i 85,24 ppm respektivno. Molekulska formula ( $C_{20}H_{32}O_5$ ) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[M+H]^+$  ( $m/z$  353,23225) i  $[M+H-H_2O]^+$  ( $m/z$  335,22249). Struktura jedinjenja **21** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.10).



Slika 3.1.10. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 3β,5α-dihidroksi-6β-metoksi derivata **21**

Hidroksilne grupe na C-3 i C-6 jedinjenja **22** u IR spektru daju široku traku na  $3401\text{ cm}^{-1}$ . U protonskom NMR spektru ovog jedinjenja se signal H-6 preklapa sa signalom jednog metilenskog vodonika na C-17a. Za njegovu identifikaciju je izuzetno bitan singlet na 3,17 ppm koji potiče od tri vodonikova atoma 5α-metoksi grupe. Ugljenik ove grupe u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru daje signal na 48,18 ppm i on se daljinski ne spreže sa H-6. U ovom spektru su još bitni i signali na 67,44, 69,03 i 78,44 ppm koji potiču od C-3, C-6 i C-5 respektivno. Molekulska formula ( $C_{20}H_{32}O_5$ ) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[M+H]^+$  ( $m/z$  353,23172) i  $[M+K]^+$  ( $m/z$  391,18791).

5α-Hidroksi-3,6-dioksido derivat **23** je dobijen oksidacijom jedinjenja **18** i **20** (shema 3.1.10). Obe oksidacije su izvedene Jones-ovim reagensom u acetonu na  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  u toku 50 min. Prinos novosintetisanog jedinjenja **23** je polazeći od jedinjenja **18** bio 84% a polazeći od jedinjenja **20** 63%.



**Shema 3.1.10.** Reakcioni uslovi: a) *Jones*-ov reagens, aceton, 0 °C, 50 min.  
(84% iz **18**, 63% iz **20**).

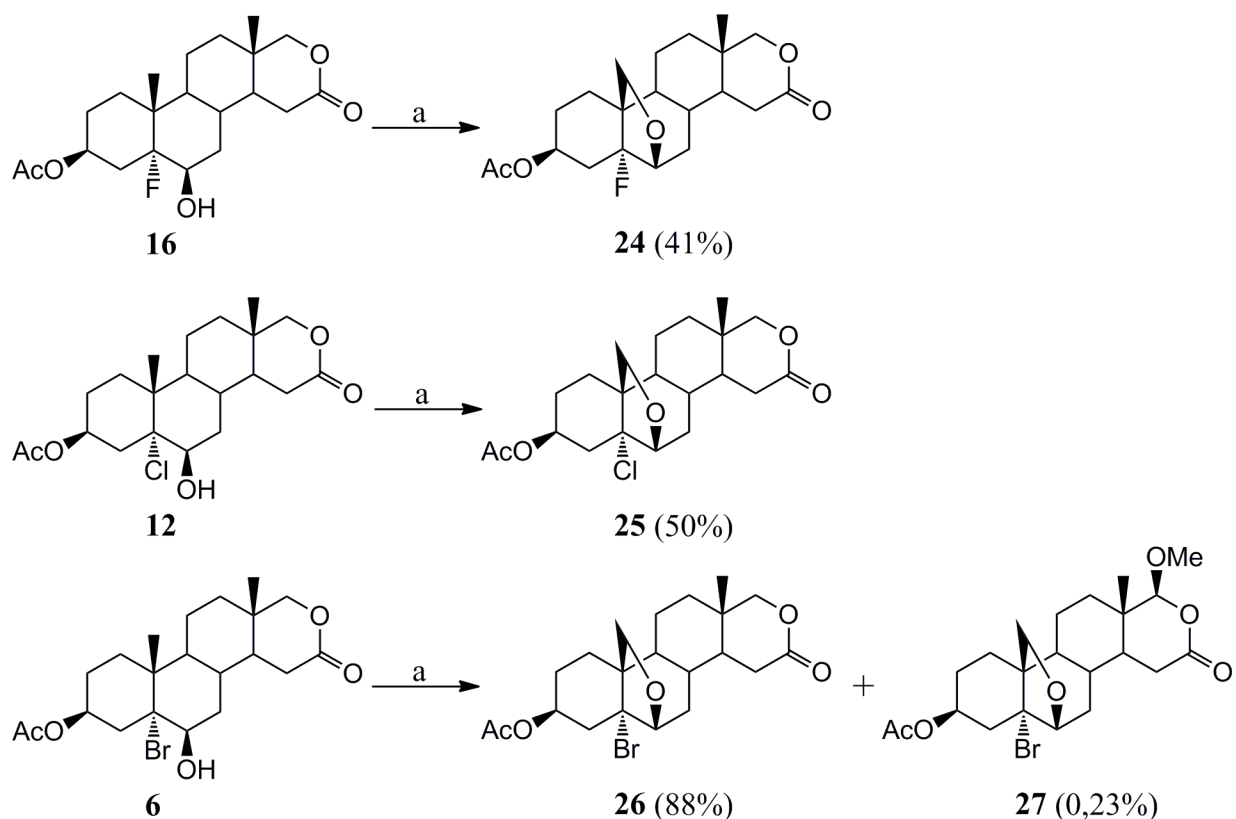
U IR spektru jedinjenja **23** se zapaža široka traka hidroksilne grupe na  $3435\text{ cm}^{-1}$  kao i intenzivna traka na  $1715\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od tri karbonilne grupe. U  $^1\text{H}$  NMR spektru se primećuje singlet na 0,91 ppm koji potiče od šest vodonika obe angularne metil grupe. Drugi važan signal u ovom spektru je signal  $5\alpha$ -hidroksilnog vodonika koji je oblika singleta na 5,99 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru se javljaju dva signala karbonilnih ugljenika na 210,51 i 211,08 ppm koji potiču od C-3 i C-6 respektivno. Važan je još i signal na 81,63 ppm koji potiče od kvaternernog C-5 ugljenika. Molekulska formula ( $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_5$ ) jedinjenja **23** je potvrđena pomoću pika na  $m/z$  357,16637 u masenom spektru visoke rezolucije a koji odgovara  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  jonu.

### 3.1.3. SINTEZA 6,19-EPOKSI STEROIDNIH D-HOMO LAKTONA

6,19-Epoksi steroidi pored toga što su prekursori u sintezi 19-modifikovanih steroida pokazali su i značajnu biološku aktivnost [299-300]. Stoga je važan deo ovog rada bio i proučavanje njihove sinteze iz 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi steroidnih derivata. Na shemi 3.1.11 je prikazano dobijanje 5 $\alpha$ -halo-6,19-epoksi derivata **24**, **25** i **26** polazeći od odgovarajućih halohidrina **16**, **12** i **6**. Pre početka reakcije je reagens olovo-tetraacetat zagrevan sa kalcijum-karbonatom u apsolutnom benzenu i atmosferi argona. Ovo je vršeno radi uklanjanja sirćetne kiseline koja se u reagensu nalazi kao stabilizator, a nastaje i njegovom degradacijom. Potom je reakcionoj smeši dodavana suspenzija polaznog jedinjenja u benzenu i jod koji ima ulogu katalizatora. Reakcije ciklizacije su izvršene zagrevanjem uz refluks i ozračivanje sijalicom od 500 W u toku 1 h. Polazeći od fluorhidrina **16** dobijen je 5 $\alpha$ -fluor-6,19-epoksi derivat **24** u prinosu od 41%, dok hlorhidrin **12** daje 5 $\alpha$ -hlor-6,19-epoksi derivat **25** u prinosu od 50%. U sintezi 19-modifikovanih steroida najčešće se polazi od bromhidrina. I u ovom radu je polazeći od bromhidrina **6**, pri gore opisanim reakcionim uslovima dobijen 5 $\alpha$ -brom-6,19-epoksidni most **26** i to u značajno većem prinosu u odnosu na prethodno navedene derivate **24** i **25** od čak 88%. Osim njega u ovoj reakciji je dobijen i 17 $\alpha$ -metoksi derivat **27** u veoma malom prinosu od 0,23%. Ovo jedinjenje nije dobijeno kada je reakcija izvršena u cikloheksanu kao rastvaraču, a prinos jedinjenja **26** je bio duplo manji (43%).

U IR spektru jedinjenja **24** za razliku od IR spektra polaznog fluorhidrina **16** se zapaža odsustvo široke trake na oko 3400 cm<sup>-1</sup> što ukazuje na odsustvo hidroksilne grupe na C-6. U protonskom NMR spektru se zapaža signal samo jedne angularne metil grupe i to na 0,96 ppm, dok dva vodonika na C-19 daju dva dubleta na 3,75 i 3,80 ppm. Dublet na 3,85 ppm potiče od H-6. U <sup>13</sup>C NMR spektru se sedam signala javlja u obliku dubleta i to signali na 29,83, 36,02, 43,58, 44,02, 67,24, 77,58 i 97,91 ppm koji potiču od C-7, C-4, C-10, C-9, C-19, C-6 i C-5, respektivno. Signal jezgra fluora se u snimljenom <sup>19</sup>F NMR spektru nalazi u obliku dubleta dubleta na -176,60 ppm. Molekulska formula (C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>FO<sub>5</sub>) je potvrđena pomoću [M+Na]<sup>+</sup> pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na m/z 403,18933.

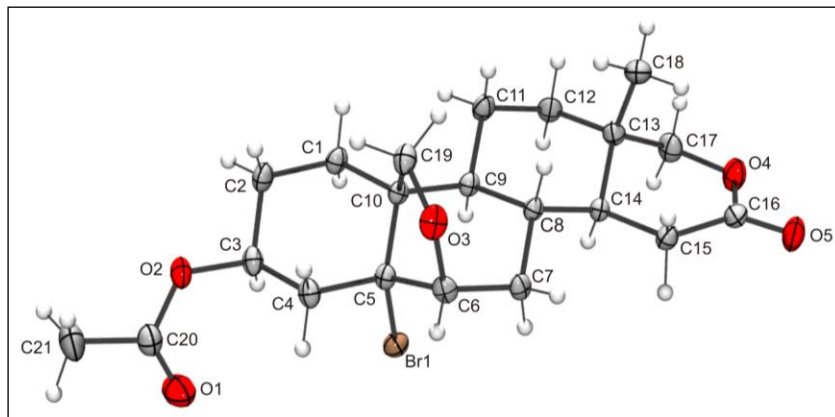
U IR spektru 5 $\alpha$ -hlor-6,19-epoksidnog derivata **25** se takođe zapaža odsustvo trake koja je u spektru hlorhidrina **12** poticala od hidroksilne grupe na C-6. U protonskom NMR spektru se zapaža signal samo jedne angularne metil grupe i to na 0,96 ppm. U ovom spektru dva vodonika na C-19 daju dva signala, prvi u obliku dubleta na 3,80 ppm i drugi koji se pokalapa sa signalom jednog vodonika na C-17a na 3,86 ppm, dok dublet na 4,01 ppm potiče od H-6. U <sup>13</sup>C NMR spektru se signal koji potiče od C-19 javlja na višem hemijskom pomeranju (67,70 ppm) u odnosu na signal istog ugljenika jedinjenja **12** (18,23 ppm). Molekulska formula (C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>ClO<sub>5</sub>) je potvrđena pomoću [M+Na]<sup>+</sup> pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na m/z 419,15844.



**Shema 3.1.11.** Reakcioni uslovi: a) Pb(OAc)<sub>4</sub>, I<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub>, aps. C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, atm. Ar, hv, refluks, 1h.

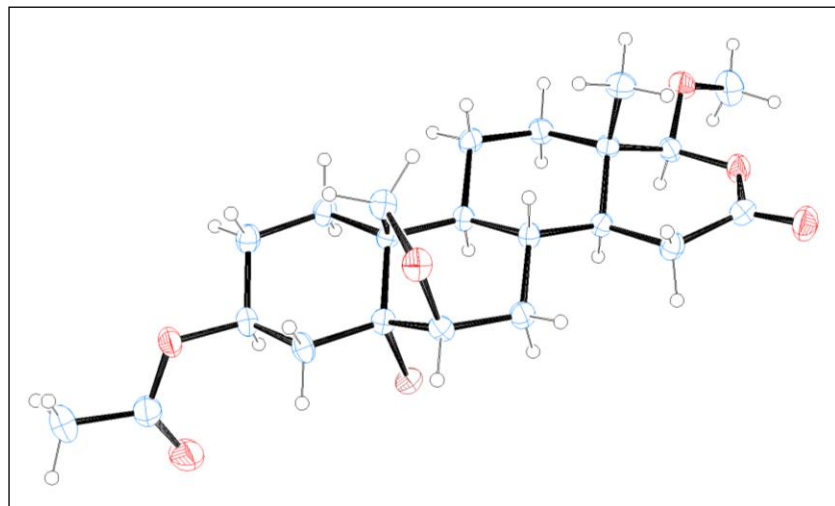
Odsustvo trake hidroksilne grupe se zapaža i u IR spektru 5 $\alpha$ -brom-6,19-epoksidnog derivata **26**, kao i odsustvo singleta u <sup>1</sup>H NMR spektru koji je poticao od vodonika C-19 angularne metil grupe. U ovom položaju se nalaze dva vodonika od kojih jedan daje dublet na 3,74 ppm, a signal drugog se preklapa sa signalom jednog metilenskog vodonika sa C-17a i nalazi se u opsegu hemijskih pomeranja 3,96-4,02 ppm. Signal C-19 angularnog ugljenika u <sup>13</sup>C

NMR spektru se više ne nalazi na 18,28 ppm kao u spektru jedinjenja **6** već ima veće hemijsko pomeranje i javlja se na 67,24 ppm. Molekulska formula ( $C_{21}H_{29}BrO_5$ ) je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[M+H]^+$  ( $m/z$  441,12537),  $[M+K]^+$  ( $m/z$  479,08299) i  $[M+NH_4]^+$  ( $m/z$  458,15288). Struktura jedinjenja **26** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.11).



**Slika 3.1.11.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksidnog derivata **26**

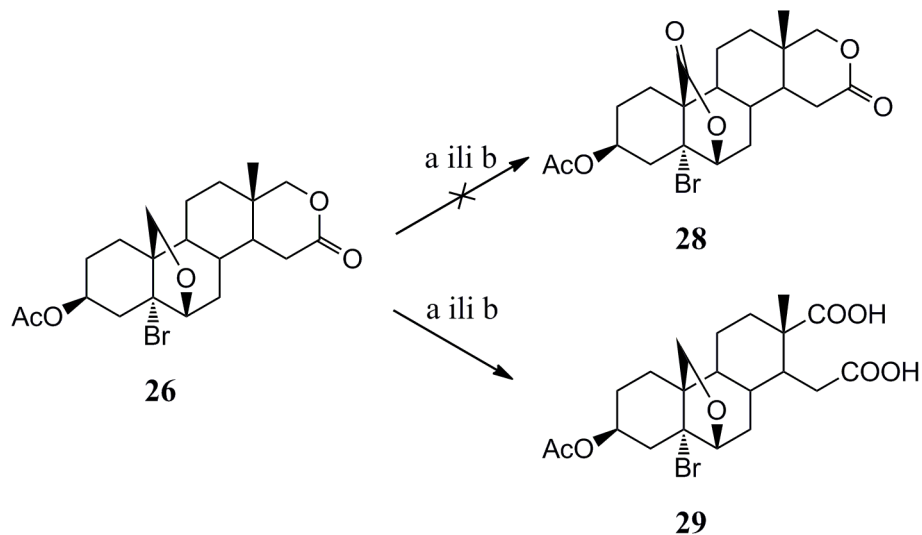
U IR spektru 17 $\alpha\beta$ -metoksi derivata **27** takođe se zapaža odsustvo trake koja je u spektru jedinjenja **6** poticala od hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru se ne zapaža signal vodonika angularne C-19 metil grupe, dva H-19 vodonika daju dva signala u obliku dubleta na 3,73 i 3,96 ppm. Stuktura ovog jedinjenja je utvrđena zahvaljujući singletima na 3,57 i 4,75 ppm. Prvi potiče od tri vodonika metoksi grupe, a drugi od jednog vodonika na C-17a. Odsustvo drugog H-17a vodonika kao i međusobna sprezanja C-17a i H iz MeO i ugljenika iz MeO i H-17a u HMBC spektru ukazuju da se metoksi grupa nalazi upravo u ovom položaju. U  $^{13}C$  NMR spektru se primećuje dvadeset i dva signala, jedan signal više u odnosu na spektar jedinjenja **26** i polaznog bromhidrina **6**. Taj signal potiče od ugljenika metoksi grupe i javlja se na 57,66 ppm. Signal ugljenika C-19 se nalazi na 67,16 ppm, dok se signal koji potiče od C-17a javlja na 111,64 ppm. Molekulska formula ( $C_{22}H_{31}BrO_6$ ) je potvrđena pomoću  $[M+Na]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  493,11981. Struktura jedinjenja **27**, a naročito stereohemija na C-17a je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.12).



**Slika 3.1.12.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksidnog derivata **27**

Dalje je izvršena oksidacija jedinjenja **26** na dva načina (shema 3.1.12). Prema literaturnom postupku [186, 199] oksidacija je izvršena rastvorom hrom(VI)-oksida u smeši vode i sirćetne kiseline na 90-95 °C u toku 1 h i 15 min. Međutim, na ovaj način nije dobijen očekivani 6,19-lakton **28** već 16,17-seko dikiselina **29** u prinosu od 48%. Oksidacija je izvršena i *Jones*-ovim reagensom koji je u acetonu rastvor jedinjenja **26** dokapavan do stabilne narandžaste boje, a potom je reakciona smeša zagrevana uz refluks u toku 5 h i 30 min. uz TLC praćenje reakcionog toka i povremeno dokapavanje *Jones*-ovog reagensa. I na ovaj način je dobijena dikiselina **29** ali u nešto manjem prinosu od 40%.

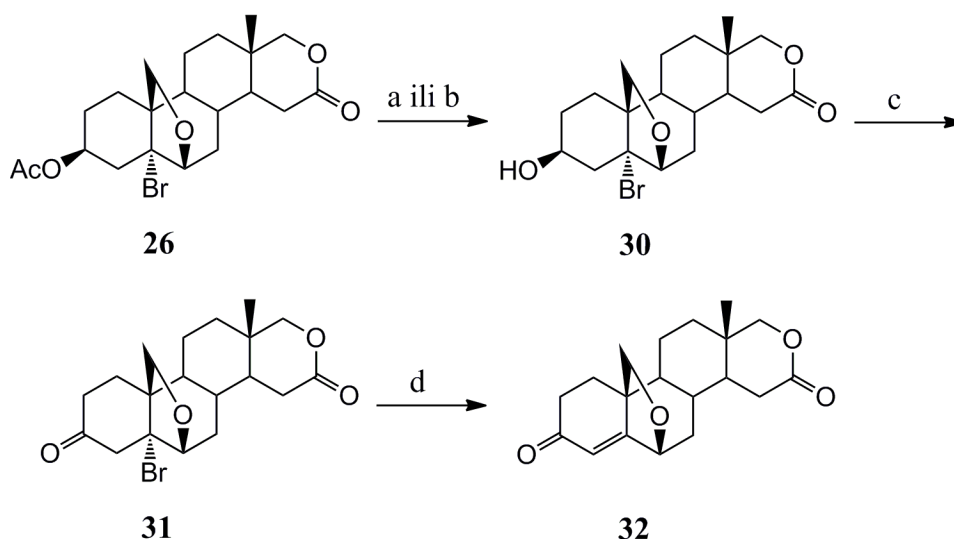
U IR spektru dikiseline **29** se za razliku od spektra polaznog 6,19-epoksida **26** zapaža široka traka na 3440 cm<sup>-1</sup>. Ova traka potiče od dveju karboksilnih grupa na C-16 i C-17. U protonskom NMR spektru ove dve grupe daju jedan široki signal na 12,14 ppm. Da je do oksidacije došlo samo u D-prstenu, a ne i na C-19, ukazuje postojanje dva dubleta na 3,71 i 3,86 ppm koji potiču od vodonika na C-19. U <sup>13</sup>C NMR spektru ovaj ugljenik daje signal na 66,67 ppm, dok C-16 i C-17 karboksilni ugljenici imaju signale na 170,45 i 179,06 ppm, respektivno. Molekulska formula dikiseline **29** (C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>BrO<sub>7</sub>) je potvrđena pomoću [M+Na]<sup>+</sup> pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na m/z 495,09978.



**Shema 3.1.12.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , glac.  $\text{AcOH}$ ,  $90\text{--}95\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 h i 15 min. (48%);  
b) Jones-ov reagens, aceton, refluks, 5 h 30 min. (40%).

U ovom radu je ostvaren i niz hemijskih transformacija  $5\alpha$ -brom- $6\beta$ , $19$ -epoksidnog derivata **26** u cilju dobijanja jedinjenja **32** sa 4-en-3-onskim sistemom (shema 3.1.13). Prvo je izvršeno uklanjanje acetatne zaštite hidroksilne grupe u položaju C-3 steroidnog skeleta i to na dva načina. Baznom hidrolizom sa kalijum-karbonatom u metanolu i vodi, na sobnoj temperaturi, u toku jednog sata, a zatim zakišeljavanjem reakcione smeše do pH 1 sa HCl je dobijen alkohol **30** u prinosu od 68%. Kada je hidroliza izvršena natrijum-etoksidom u etanolu na  $50\text{--}55\text{ }^\circ\text{C}$  u toku 1 h 20 min. dobijeno je takođe jedinjenje **30** u nešto manjem prinosu od 53%.

U IR spektru jedinjenja **30** se zapaža široka traka na  $3433\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od novonastale hidroksilne grupe, i intenzivna traka na  $1729\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilne grupe na C-16. U protonskom NMR spektru se zapažaju dva dubleta na 3,69 i 3,96 ppm koja potiču od po jednog protona na C-19 i C-17a, respektivno. Signali druga dva vodonika u ovim položajima se preklapaju i zajedno sa signalom za H-3 nalaze se u opsegu 3,79-3,88 ppm. Dva dubleta na 4,04 i 4,73 ppm daju protoni na C-6 i iz hidroksilne grupe na C-3, respektivno. Da je do deprotekcije došlo osim signala vodonika hidroksilne grupe na C-3, ukazuje nam i odsustvo singleta na 2,06 ppm koji u spektru jedinjenja **26** poticao od tri vodonika acetatne grupe. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru alkohola **30** se zapaža devetnaest signala, dva manje u odnosu na spektar jedinjenja **26** što takođe ukazuje da je do deprotekcije došlo. Za utvrđivanje strukture ovog jedinjenja su važni signali ugljenika u položaju C-3, C-19, C-5 i C-6 i oni se javljaju na 65,64, 66,91; 77,08 i 81,16, respektivno. Molekulska formula je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z$  399,11558),  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  ( $m/z$  416,14278) i  $[\text{M}+\text{K}]^+$  ( $m/z$  437,07233).



**Shema 3.1.13.** Reakcioni uslovi: a)  $K_2CO_3$ , MeOH,  $H_2O$ , st, 1h zatim HCl (1:1) (68%); b) NaOEt, EtOH, 50-55 °C, 1 h 20 min. zatim HCl (1:1) (53%); c) Jones-ov reagens, acetone, 0 °C, 15 min.; d) AcONa, MeOH, refluks, 1h 30 min. (70% u odnosu na jedinjenje **30**).

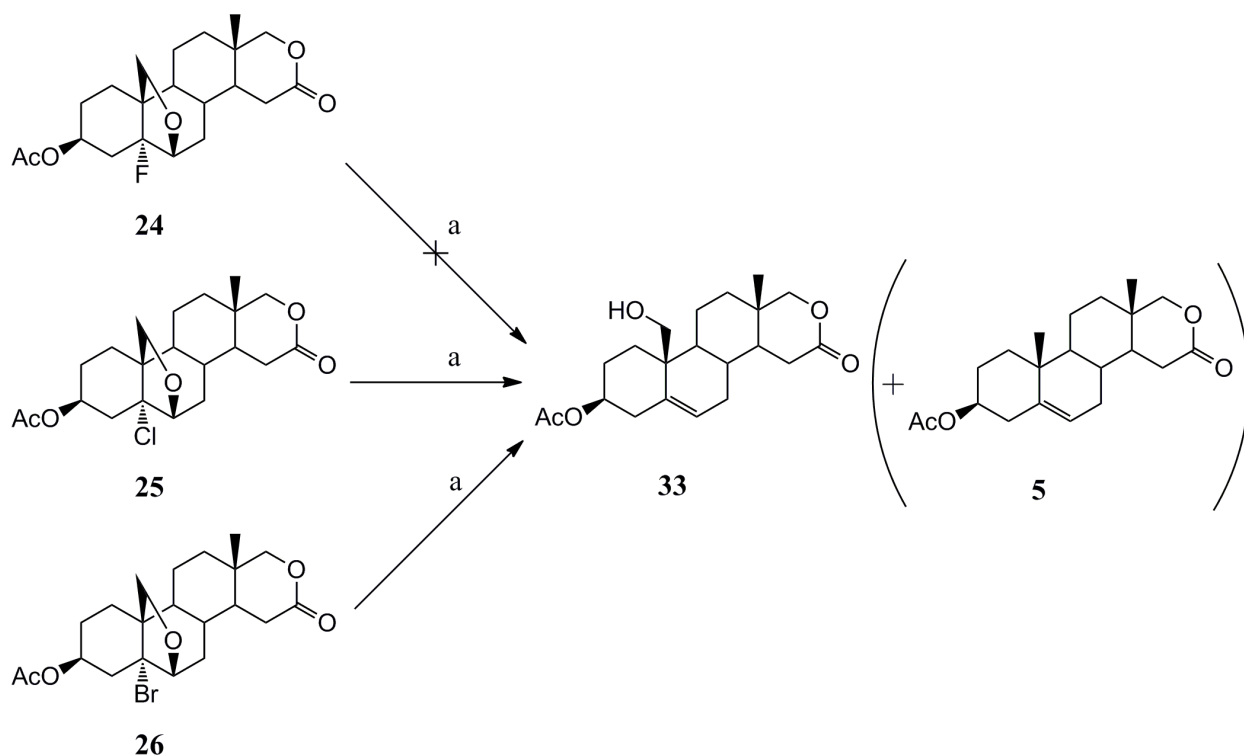
U narednoj fazi je izvršena oksidacija hidroksilne grupe u položaju C-3 jedinjenja **30** Jones-ovim reagensom na 0 °C u toku 15 min.. Dobijeno je nestabilno jedinjenje **31**. Zbog male stabilnosti ketona **31** prečišćavanje nije izvršeno, već su snimljeni IR i NMR spektri sirovog jedinjenja i kao takav je korišćen u narednoj fazi sinteze. U IR spektru jedinjenja **31** ne zapaža se široka i intenzivna traka na oko  $3400\text{ cm}^{-1}$  koja je u spektru jedinjenja **30** poticala od hidroksilne grupe. Na tom položaju se zapažaju samo tragovi rezidualne vode. Zapaža se intenzivna traka na  $1727\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa, na C-3 i C-16. U protonskom NMR spektru ketona **31** se zapaža dublet na 4,20 ppm koji potiče od vodonika sa C-6, ali najvažnije za potvrđivanje dobijene strukture je odsustvo signala H-3 kao i vodonika hidroksilne grupe na C-3. U  $^{13}C$  NMR spektru jedinjenja **31** zapaža se signal ugljenika keto grupe u položaju C-3 koji se javlja na 206,94 ppm.

Dehidrohalogenovanjem jedinjenja **31** u narednoj fazi sinteze je dobijen enon **32**. Ovo jedinjenje je dobijeno dejstvom natrijum-acetata u metanolu, na tački ključanja reakcione smeše, u toku 1 h i 30 min., a njegov prinos je 70%, računat u odnosu na jedinjenje **30**. Traka karakteristična za konjugovanu keto grupu se može zapaziti u IR spektru enona **32** i to na  $1674\text{ cm}^{-1}$ , dok traka koja potiče od karbonilne grupe laktone se javlja na  $1732\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1H$  NMR spektru se javlja singlet na 5,86 ppm koji potiče od olefinskog vodonika na C-4. Takođe se zapažaju dva dubleta na 3,54 i 4,22 ppm koja potiču od metilenskih vodonika na C-19. U  $^{13}C$  NMR spektru jedinjenja **32** se zapažaju signali olefinskih ugljenika C-4 i C-5 sa hemijskim pomeranjima od 115,53 i 170,53 ppm, respektivno. Signal karbonilnog ugljenika C-3 usled konjugacije ima niže hemijsko pomeranje u odnosu na signal u spektru polaznog jedinjenja **31** [ $\delta$  206,94 kod jedinjenja **31**  $\rightarrow$  198,25 kod jedinjenja **32**]. Molekulska formula ( $C_{19}H_{24}O_4$ ) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[M+H]^+$  ( $m/z$  317,17468) i  $[M+K]^+$  ( $m/z$  355,13082).



### 3.1.4. SINTEZA 19-DERIVATIZOVANIH STEROIDNIH D-HOMO LAKTONA

Reduktivnim otvaranjem 6 $\beta$ ,19-epoksida mogu se dobiti 19-hidroksi derivati [165,166]. Reakcija je rađena sa cinkom u prahu u ključalom etanolu pri čemu su 5 $\alpha$ -hlor i 5 $\alpha$ -brom epoksidi **25** i **26** dali 19-hidroksi derivat **33** (shema 3.1.14). Ovde se može zapaziti značajna razlika u reaktivnosti jedinjenja **25** i **26**. Naime reduktivno otvaranje 5 $\alpha$ -hlor-6,19-epoksida **25** se odigrava uz 51 ekvivalent sveže aktiviranog cinka u prahu i u toku 22h. Pri tome, ne izreaguje sva količina polaznog jedinjenja, već 84%, dok je prinos novosintetisanog alkohola **33** 43%. Reakcija jedinjenja **26**, se pak, odigrava u toku 3h i sa 21 ekvivalentom cinka u prahu. Ovde izreaguje sva količina polaznog jedinjenja **26**, a prinos jedinjenja **33** je 80%. Pored alkohola **33** u ovoj reakciji nastaje i jedinjenje **5** u prinosu od 6%.



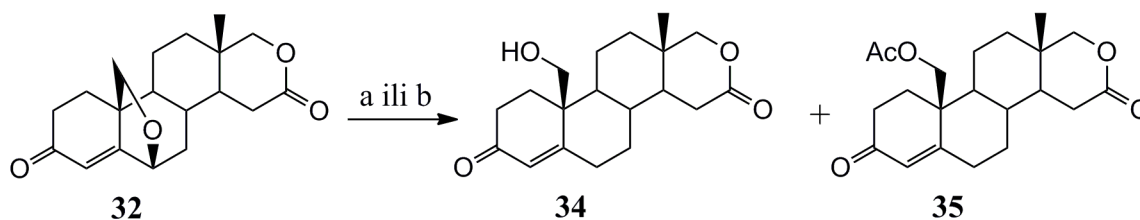
**Shema 3.1.14.** Reakcioni uslovi: a) prah Zn, EtOH, refluks, 22h za **25** (43%), 3h za **26** (80%).

S obzirom da je od svih halogena fluor najlošija odlazeća grupa, do reduktivnog otvaranja 5 $\alpha$ -fluor-6,19-epoksida **24** ne dolazi čak ni kada se koristi 105 ekvivalenata cinka i refluks

odigrava u toku 37 h. Reakcija se nije odigravala ni u sirćetnoj kiselini uz 112 ekvivalenata cinka u toku 34 h, kao ni u smeši 2-propanola i sirćetne kiseline uz 207 ekvivalenata cinka u toku 32h.

U IR spektru alkohola **33** zapaža se široka traka na  $3440\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-19. Pojava ove trake u spektru jedinjenja **33** za razliku od spektra epoksidnih mostova **25** i **26** je dokaz da je uvedena hidroksilna grupa u položaj C-19. U protonskom NMR spektru alkohola **33** se zapaža signal samo jedne angularne metil grupe i to C-18 na 1,07 ppm. Dublet na 3,62 ppm potiče od jednog vodonika sa C-19, dok se signal drugog vodonika poklapa sa signalima C-17a metilenske grupe, dajući više preklapljenih signala u opsegu 3,88-3,91 ppm. Signal H-6 se javlja na 5,79 ppm i znatno je pomeren ka većim vrednostima  $\delta$  u odnosu na isti kod jedinjenja **25** ( $\delta = 4,01\text{ ppm}$ ) tj. **26** ( $\delta = 4,13\text{ ppm}$ ). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **33** karakteristični su olefinski signali na 126,91 i 134,61 ppm koji potiču od C-6 i C-5, respektivno, kao i signal C-19 na 62,76 ppm. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$ ) je potvrđena pomoću četiri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[\text{M}+\text{K}]^+$  ( $m/z\ 401,17237$ ),  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  ( $m/z\ 385,19836$ ),  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  ( $m/z\ 380,24289$ ) i  $[2\text{M}+\text{H}]^+$  ( $m/z\ 725,42667$ ).

Reduktivno otvaranje 6,19-epoksida sa 4-en-3-on sistemom **32** je izvršeno cinkom u prahu na dva načina (shema 3.1.15) [167-169]. Zagrevanjem uz refluks u etanolu u toku 19 h 30 min. dobijen je 19-alkohol **34** u prinosu od 65%, dok je zagrevanjem u glacijalnoj sirćetnoj kiselini u toku 6 h pored jedinjenja **34** (3%) kao glavni proizvod reakcije dobijen acetat **35** u prinosu od 44%.



**Shema 3.1.15.** a) Zn (prah), EtOH, refluks, 19 h 30 min., **34** (65%); b) Zn (prah), glac. AcOH, refluks, 6 h, **34** (3%) i **35** (44%).

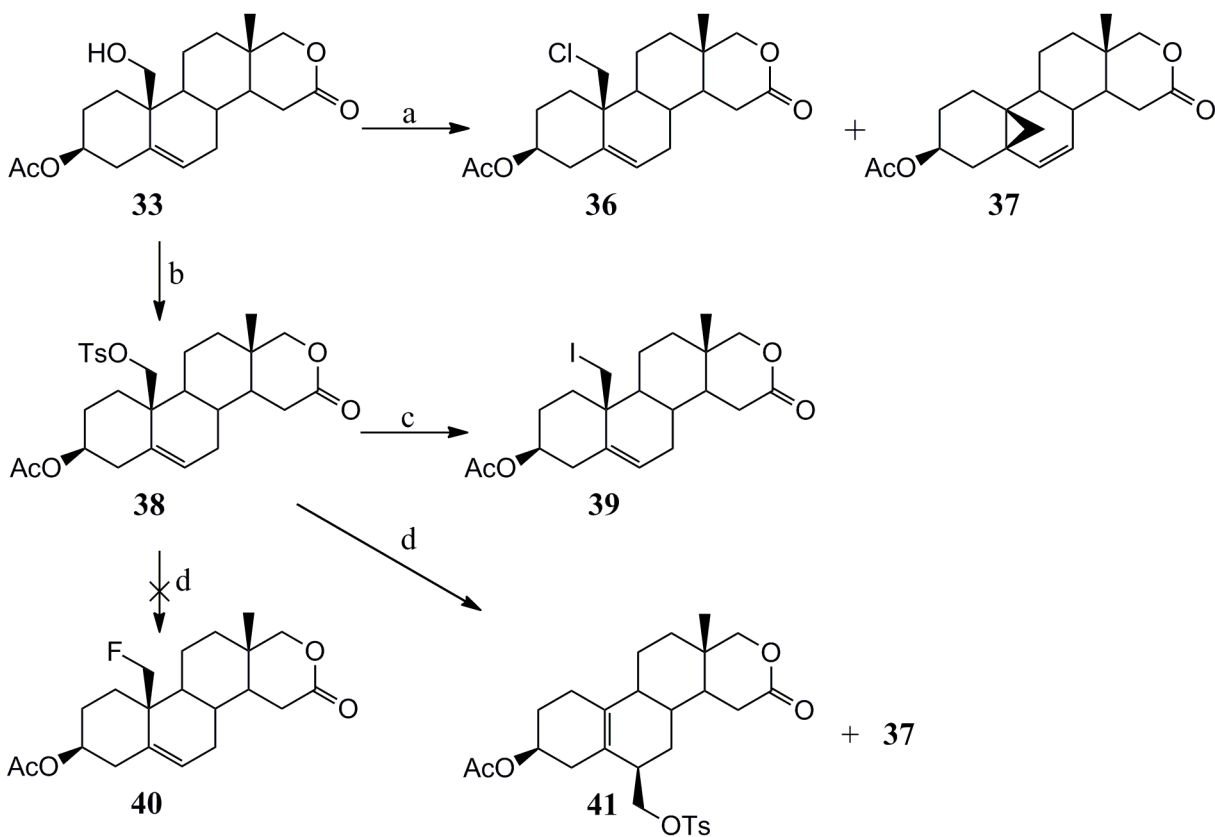
U IR spektru jedinjenja **34** se zapaža široka traka na  $3496\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-19, kao i dve trake na  $1732$  i  $1674\text{ cm}^{-1}$  koje potiču od karbonilnih grupa na C-16 i C-3, respektivno. U protonskom NMR spektru jedinjenja **34** singlet na 5,93 ppm potiče od olefinskog vodonika na C-4. Signali vodonika na C-19 i C-17a su preklapljeni i javljaju se u opsegu hemijskih pomeranja 3,88-4,04 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **34** se zapaža signal na 65,64 ppm koji potiče od C-19, kao i signali olefinskih ugljenika C-4 i C-5 na 126,70 i 170,54 ppm, respektivno. Signali ugljenika iz karbonilnih grupa na C-16 i C-3 se javljaju na 166,29 i

199,89 ppm. Molekulska formula ( $C_{19}H_{26}O_4$ ) je potvrđena pomoću  $[M+Na]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  341,17282.

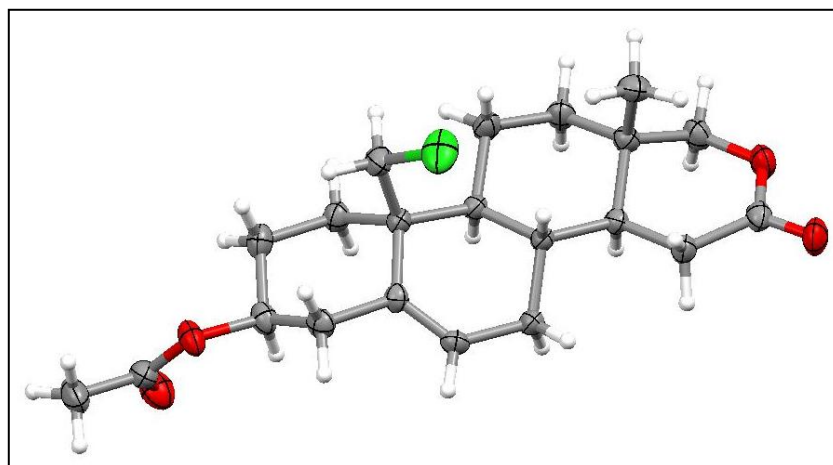
IR spektar jedinjenja **35** takođe poseduje dve trake koje potiču od karbonilnih grupa, ali ne i traku hidroksilne grupe. Intenzivna traka na  $1737\text{ cm}^{-1}$  potiče od karbonilnih grupa acetata i laktona, dok konjugovana keto grupa na C-3 daje traku na  $1670\text{ cm}^{-1}$ . U  $^1\text{H}$  NMR spektru jedinjenja **35** se zapažaju singleti na 2,04 ppm od vodonika iz acetata i na 5,95 ppm od olefinskog vodonika na C-4. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru ovog jedinjenja olefinski ugljenici C-4 i C-5 imaju hemijska pomeranja 126,99 i 164,06 ppm. Tri karbonilna ugljenika, C-16, acetatni i C-3, imaju sledeća hemijska pomeranja 170,06; 170,58 i 198,85 ppm, respektivno. Molekulska formula ( $C_{21}H_{28}O_5$ ) je potvrđena pomoću  $[M+Na]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  383,18393.

Polazeći od alkohola **33** sintetisan je niz drugih 19-derivatizovanih steroida. Tako je, u želji da se dobije bolja odlazeća grupa izvršeno tozilovanje hidroksilne grupe na C-19 tozil-hloridom u apsolutnom piridinu. Kada je ova hemijska reakcija rađena zagrevanjem uz refluks u toku 2 h i 10 min. nije dobijen željeni proizvod, već su nastali 19-hlorid **36** u prinosu od 16% i  $5\beta,10$ -ciklopropil derivat **37** u prinosu od 19% (shema 3.1.16). Može se pretpostaviti da u ovoj reakciji prvo nastaje 19-toziloksi derivat **38** iz koga se potom supstitucijom sa hlorom dobija jedinjenje **36**. Slična transformacija se sreće u literaturi i ona obuhvata tozilovanje na sobnoj temperaturi, a potom supstituciju litijum-hloridom, pri čemu se kao sporedni proizvod dobija  $5\beta,10$ -ciklopropil derivat koji nastaje i u ovoj reakciji [301]. Tozilovanje 19-hidroksilne grupe jedinjenja **33** je postignuto reakcijom na sobnoj temperaturi u toku 76 h pri čemu je dobijeno jedinjenje **38** u prinosu od 64%. U ovoj reakciji nastaje i  $5\beta,10$ -ciklopropil derivat **37** kao sporedni proizvod u prinosu od 2,2%. Jedinjenje **37** u obe pomenute reakcije nastaje intramolekulskom reakcijom iz 19-toziloksi derivata **38** [206].

Za utvrđivanje strukture 19-hlorida **36** u IR spektru je bilo značajno odsustvo trake na oko  $3400\text{ cm}^{-1}$  koja je u spektru polaznog jedinjenja **33** poticala od vibracija hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru hlorida **36** se zapaža signal samo jedne angularne metil grupe i to C-18 na 1,08 ppm. Dublet na 3,59 ppm potiče od jednog atoma vodonika na C-19, dok se signal drugog atoma vodonika na C-19 poklapa sa signalom jednog vodonika C-17a metilenske grupe i javlja se u opsegu 3,82-3,92 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **36** se signal C-19 javlja na nižem hemijskom pomeranju ( $\delta = 45,98\text{ ppm}$ ) u odnosu na signal istog ugljenika u spektru polaznog alkohola **33** koji se javlja na 62,76 ppm. Molekulska formula ( $C_{21}H_{29}ClO_4$ ) je potvrđena pomoću  $[M+Na]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  403,16437. Struktura jedinjenja **36** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.13).



**Shema 3.1.16.** Reakcioni uslovi: a) TsCl, aps. Py, refluks, 2 h 10 min., **36** (16%) i **37** (19%); b) TsCl, aps. Py, st, 76 h, **38** (64%) i **37** (2,2%); c) NaI, aceton, refluks, 9 h (74%); d) LiF, MeCN, refluks, 5 h, **41** (54%) i **37** (38%).



**Slika 3.1.13.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 19-hlor derivata **36**

U IR spektru ciklopropil derivata **37** se takođe zapaža odsustvo trake hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru ovog jedinjenja se zapaža odsustvo signala na 3,62 ppm koji je u spektru jedinjenja **33** poticao od jednog vodonika sa C-19. Vodonici u položaju 19 daju dva dubleta na 0,59 ppm i 1,13 ppm, što ukazuje na strukturu ciklopropana. U ovom spektru su za identifikaciju jedinjenja bitna i dva olefinska dubleta na 5,16 i 5,81 ppm sa jednakim konstantama kuplovanja od 10 Hz, a koji potiču od H-6 i H-7, respektivno. C-19 Ugljenik u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru ovog jedinjenja daje signal na 21,38 ppm, što je znatno niže hemijsko pomeranje u odnosu na ono u spektru polaznog alkohola **33** ( $\delta = 62,76$  ppm). Signal C-5 je pomeren ka značajno nižim vrednostima  $\delta$  u poređenju sa signalom u spektru polaznog alkohola **33** [ $\delta$  134,61 kod jedinjenja **33**  $\rightarrow$  27,79 kod jedinjenja **37**]. Signali olefinskih ugljenika C-7 i C-6 se u ovom spektru javljaju na 120,18 i 137,36 ppm, respektivno. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  367,18685.

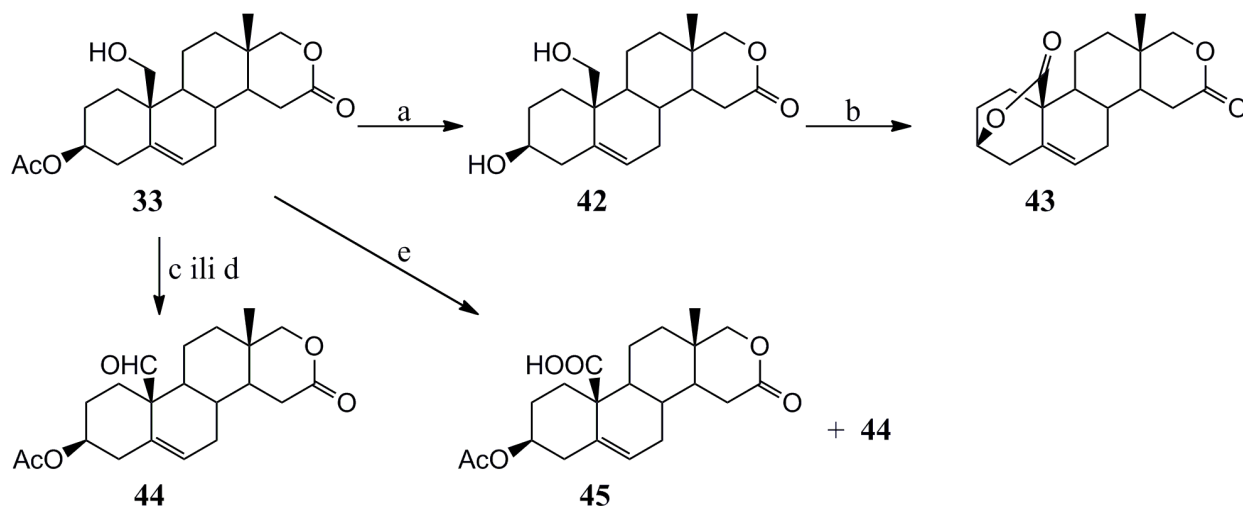
I za identifikaciju 19-toziloksi derivata **38** u IR spektru je bilo važno odsustvo trake hidroksilne grupe. U protonskom spektru su važni: singlet na 2,48 ppm koji potiče od tri vodonika iz metil grupe tozilata, kao i dva dubleta na 7,38 i 7,80 ppm koji potiču od po dva vodonika iz benzenovog prstena tozil grupe. Aromatični ugljenici u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru daju signale na 127,86, 129,93, 132,78 i 145,11 ppm, dok se signal ugljenika metil grupe tozilata nalazi na 21,68 ppm. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_7\text{S}$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  539,20742.

Nukleofilna supstitucija toziloksi grupe jodom je izvršena u acetonu uz zagrevanje uz refluks u toku 9 h i dobijen je 19-jodo derivat **39** u prinosu od 74% (shema 3.1.16). Najznačajnija traka u IR spektru ovog jedinjenja je intenzivna traka na  $1733\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilnih grupa acetata i laktona. Dva metilenska vodonika na C-19 daju dublete na 3,27 i 3,59 ppm u protonskom NMR spektru, dok olefinski H-6 daje dublet na 5,67 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **39** se signal C-19 javlja na 10,34 ppm, dok olefinski C-6 i C-5 imaju signale sa hemijskim pomeranjima od 125,29 i 135,45 ppm. U odnosu na NMR spektre polaznog tozilata **38** ovde se zapaža odsustvo signala aromatičnih vodonika, odnosno ugljenika. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{IO}_4$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  495,09992.

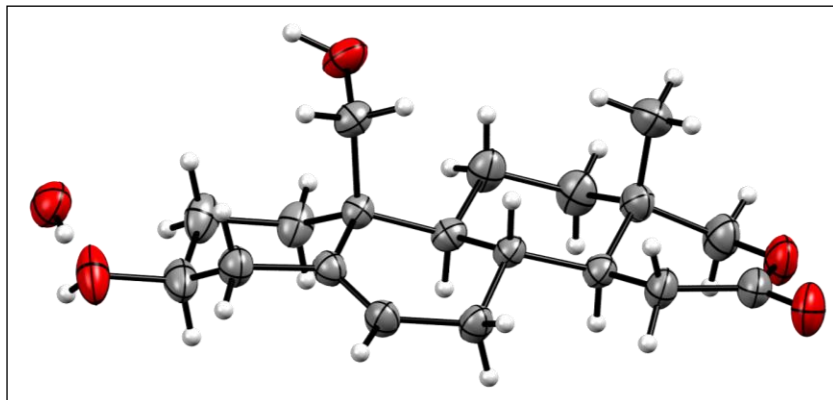
Pokušaj supstitucije toziloksi grupe jedinjenja **38** litijum-fluoridom u acetonitrilu zagrevanjem uz refluks u toku 5 h, nije dao željeni 19-fluornog derivata **40**. U ovoj reakciji je došlo do sigmatrofnog premeštanja uz nastajanje 6 $\beta$ -(p-toluensulfoniloksimetil) derivata **41** u prinosu od 54%, kao što je prethodno i opisano u literaturi [302]. Međutim za razliku od literaturno poznatih reakcija ovog tipa u ovoj reakciji se dobija i 5 $\beta$ ,10-ciklo derivat **37** i to u značajnom prinosu od 37%. U IR spektru jedinjenja **41** se zapaža intenzivna traka na  $1734\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa. U  $^1\text{H}$  NMR spektru su važni signali vodonika iz

p-toluensulfonil grupe: 2,46 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz Ts); 7,41 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H-3'' i H-5'') i 7,83 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H-2'' i H-6''). U <sup>13</sup>C NMR spektru metil ugljenik iz tozil grupe daje signal na 21,65 ppm, a aromatični na 127,89, 130,09, 132,99 i 145,22 ppm. Takođe su važni i signali olefinskih ugljenika na 122,47 i 134,45 ppm koji potiču od C-5 i C-10 respektivno, kao i signal metilenskog C-6' ugljenika na 70,38 ppm. Molekulska formula jedinjenja (C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub>S) je potvrđena pomoću [M+Na]<sup>+</sup> pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na m/z 539,20740.

U cilju dobijanja 3,19-laktona **43** je izvršena deprotekcija 3β-hidroksilne grupe jedinjenja **33**. Reakcija je izvršena natrijum-etoksidom u etanolu na 60 °C u toku 1h pri čemu je dobijen 3β,19-diol **42** (shema 3.1.17). U IR spektru ovog jedinjenja se zapaža široka traka na 3400 cm<sup>-1</sup> koja potiče od dveju hidroksilnih grupa. Međutim, dokaz da je izvršeno uklanjanje acetatne grupe se nalazi u NMR spektrima i to zahvaljujući odsustvu signala koji potiču od ove grupe. Tako se u protonskom NMR spektru ne javlja signal tri vodonika metil grupe acetata, dok u <sup>13</sup>C NMR spektru izostaju signali metil i karbonilnog ugljenika acetata. Molekulska formula jedinjenja (C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to: [M+H]<sup>+</sup> (m/z 321,20552) i [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (m/z 338,23280). Struktura jedinjenja **42** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.14).



**Shema 3.1.17.** Reakcioni uslovi: a) NaOEt, EtOH, 60 °C, 1 h (88,5%); b) Jones-ov reagens, aceton, 0 °C, 40 min. (20%); c) PCC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, atm. Ar, st 1h 40 min. (92%); d) H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>, CrO<sub>3</sub>, MeCN, H<sub>2</sub>O, 0 °C, 1 h 50 min. (53%); e) Jones-ov reagens, aceton, st, 4h 30 min. **44** (7,8%) i **45** (40%).



**Slika 3.1.14.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture dihidroksi derivata **42**

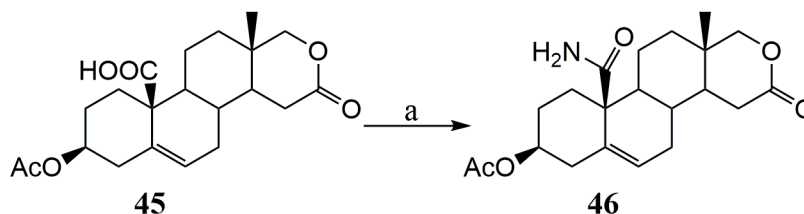
Oksidacijom diola **42** Jones-ovim reagensom na 0 °C u toku 40 min. dobijen je 3,19-lakton **43** u prinosu od 20% (shema 3.1.17). Do nastanka ovog jedinjenja dolazi oksidacijom primarne hidroksilne grupe do karboksilne, a zatim kiselo katalizovanom laktonizacijom. Dokaz da je dobijen lakton se nalazi već u IR spektru u kom se zapaža odsustvo trake koja je u spektru diola **42** poticala od hidroksilnih grupa, a i prisustvo intenzivne trake na 1733 cm<sup>-1</sup> koja se javlja usled vibracija dveju karbonilnih grupa laktona. U protonskom NMR spektru se primećuje izostanak signala H-19 koji su se u spektru jedinjenja **42** nalazili u opsegu od 3,56 do 3,89 ppm. Osim ove, najveća razliku u protonskim NMR spektrima jedinjenja **43** i polaznog **42** je u položaju signala vodonika na C-3. Ovo jezgro u spektru jedinjenja **42** daje signal koji se preklapa sa signalom jednog vodonika na C-19 i nalazi se u intervalu od 3,56-3,66 ppm, dok u spektru dilaktona **43** on ima veće hemijsko pomeranje ( $\delta = 4,77$  ppm) i oblika širokog singleta. U <sup>13</sup>C NMR spektru se signal C-19 nalazi na 173,59 ppm što u odnosu na 62,83 ppm u spektru polaznog jedinjenja ukazuje da je do oksidacije došlo upravo u ovom položaju. Molekulska formula jedinjenja (C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to: [M+H]<sup>+</sup> (m/z 317,17451) i [M+K]<sup>+</sup> (m/z 355,13148).

Oksidacijom alkohola **33** sa piridinium-hlorohromatom u dihlormetanu i atmosferi argona u toku 1 h i 40 min. na sobnoj temperaturi dobijen je 19-aldehid **44** u prinosu od 92% (shema 3.1.17). Kada je za oksidaciju upotrebljena smeša perjodne kiseline i hrom(VI)-oksida u acetonitrilu i vodi aldehid **44** je dobijen u prinosu od 53%. Reakcija je tekla na 0 °C u toku 1 h i 50 min. U IR spektru aldehida **44** se zapaža intenzivna traka na 1731 cm<sup>-1</sup> koja potiče od tri karbonilne grupe, na C-16, C-19, kao i iz acetata na C-3. U protonskom NMR spektru se zapaža signal vodonika iz aldehidne grupe na 9,69 ppm. U <sup>13</sup>C NMR spektru ugljenik u položaju 19 ima hemijsko pomeranje 204,38 ppm što odgovara pomeranju aldehidnih ugljenika. Molekulska formula jedinjenja (C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>) je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke

rezolucije, i to:  $[M+K]^+$  (m/z 399,15659),  $[M+Na]^+$  (m/z 383,18203) i  $[M+NH_4]^+$  (m/z 378,22654).

Kada je za oksidaciju alkohola **33** upotrebljen *Jones-ov* reagens u acetonu na sobnoj temperaturi u toku 4h 30 min (shema 3.1.17) dobijena je kiselina **45** u prinosu od 40%. U ovoj reakciji se dobija i aldehyd **44** u prinosu od 7,8%. Prisustvo karboksilne grupe u strukturi jedinjenja **45** je potvrđeno već analizom IR spektra. U ovom spektru se javlja izuzetno široka traka na  $3440\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od ove grupe. U protonskom NMR spektru se zapaža odsustvo signala vodonika sa C-19 koji su u spektru polaznog jedinjenja **33** davali dva dubleta. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru ugljenik C-19 se javlja na 178,03 ppm. Molekulska formula ( $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_6$ ) je potvrđena pomoću  $[M+Na]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na m/z 399,17673.

Iz kiseline **45** je dobijen amid **46**. Amid **46** je sintetisan reakcijom sa ureom u etil-acetatu uz imidazol kao katalizator (shema 3.1.18) [303, 304]. Reakciona smeša je zagrevana u mikrotalasnom reaktoru na  $165\text{ }^\circ\text{C}$  u toku 15 min., a amid **46** je dobijen u prinosu od 72%. U protonskom NMR spektru se zapaža osustvo protona na C-19, dok to ugljenikovo jezgro u  $^{13}\text{C}$  NMR spektru daje signal na 177,31 ppm.

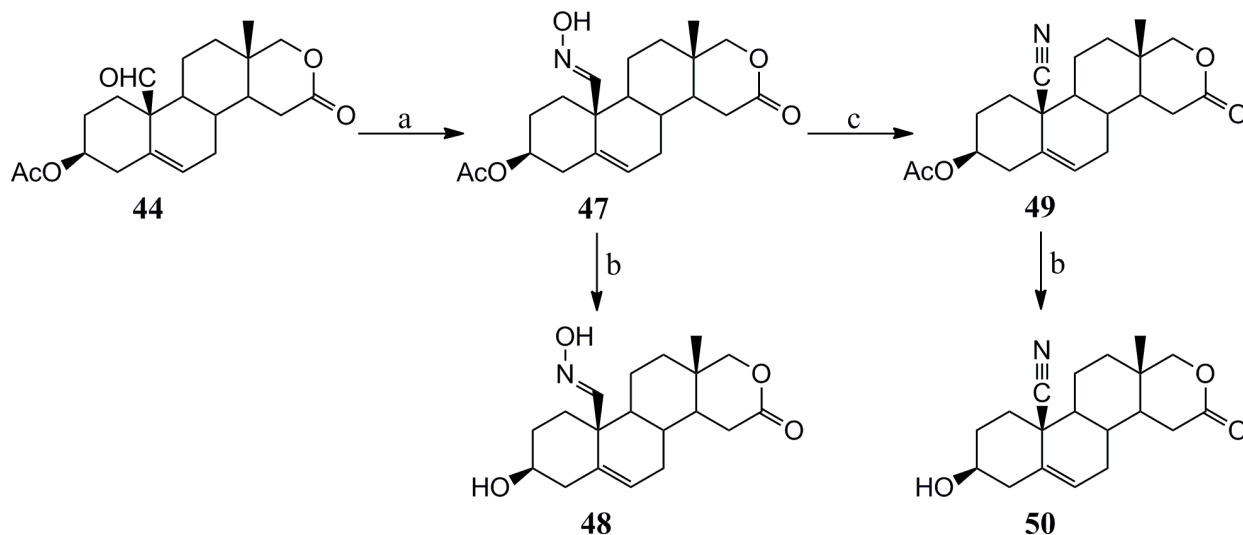


**Shema 3.1.18.** Reakcioni uslovi: a) urea, imidazol, AcOEt, MW/165 °C, 15 min. (72%).

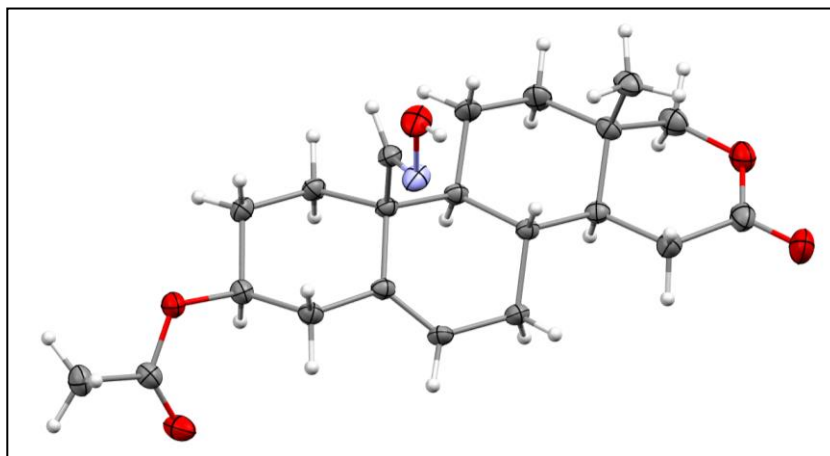
U cilju dobijanja 19-hidroksiimino derivata izvršena je nukleofilna adicija hidroksilamina na karbonilnu grupu jedinjenja **44** (shema 3.1.19). U suspenziju aldehyda **44** u smeši metanola i vode je dodat hidroksilamin hidrohlorid i natrijum-hidrogenkarbonat, a reakcija se odigrala na sobnoj temperaturi u toku 7h. Nastao je samo jedan od dva moguća stereoizomerna oksima i to oksim **47** u prinosu od 75%. U IR spektru ovog jedinjenja se za razliku od spektra polaznog aldehyda **44** zapaža široka traka na  $3367\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru oksima **47** se zapaža odsustvo signala aldehydnog vodonika na 9,67 ppm, a javlja se singlet na 7,33 ppm koji potiče od vodonika na C-19. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru signal C-19 ugljenika ima znatno manje hemijsko pomeranje ( $\delta\ 154,83\text{ ppm}$ ) nego kod polaznog aldehyda **44** ( $\delta\ 204,38\text{ ppm}$ ). Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$ ) je potvrđena pomoću dva pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to:  $[M+K]^+$  (m/z 414,16815) i  $[M+H]^+$  (m/z 376,21225).



Struktura jedinjenja **47** a naročito stereochemija na C=N vezi je utvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.15) čiji rezultati govore da se radi o *E* konfiguraciji.



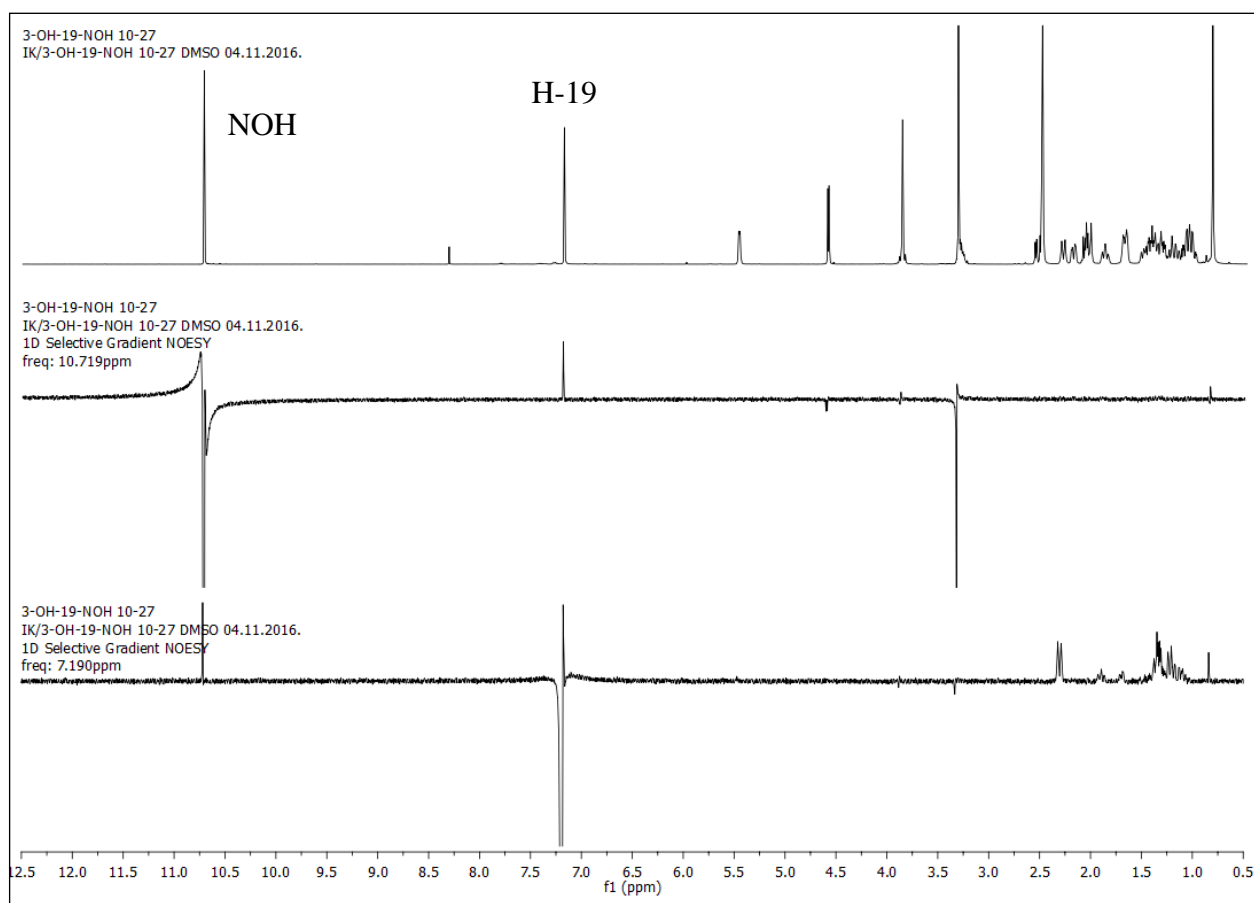
**Shema 3.1.19.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , st, 7h (75%);  
 b) NaOEt, EtOH, 50-55 °C, **48** (1 h 15 min., 87%) i **50** (2 h 30 min., 91%) potom HCl (1:1);  
 c) MsCl, aps. Py, -15 °C, 30 min. → st 1 h (74%).



**Slika 3.1.15.** ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 3β-acetoksi-19-oksima **47**

Uklanjanje acetatne zaštite u položaju 3 kod oksima **47** je izvršeno natrijum-etoksidom u etanolu uz zagrevanje na 50-55 °C u toku 1 h 15 min. (shema 3.1.19). Na ovaj način je dobijen 3β-hidroksi-19-oksime **48** u prinosu od 87%. U IR spektru ovog jedinjenja se javlja široka traka

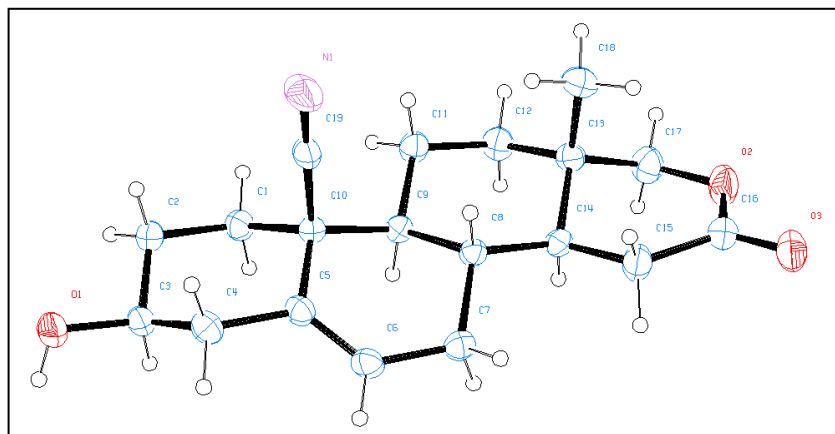
na  $3401\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dve hidroksilne grupe. U protonskom NMR spektru se za razliku od spektra polaznog jedinjenja **47** zapaža odsustvo singleta koji je poticao od tri vodonika acetatne grupe, kao i značajno pomeranje signala H-3 ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja ( $\delta$  4,67 kod **47**  $\rightarrow$  3,30 ppm kod **48**). U spektru su prisutni i signali dveju hidroksilnih grupa. Naime, dublet na 4,61 ppm sa hemijskim sprezanjem od 4,7 Hz potiče od vodonika hidroksilne grupe na C-3, dok proton hidroksilne grupe oksima daje singlet na 10,72 ppm. 1D NOESY spektri su od posebnog značaja za određivanje stereochemije oksima **48** (slika 3.1.16). U ovim spektrima se mogu zapaziti nOe interakcije između H-19 i protona hidroksilne grupe oksima. Ovo ukazuje na prostornu bliskost ovih protona odnosno *E*-konfiguraciju hidoksiimino grupe U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **48** izostaju dva signala acetata, a ugljenikovo jezgro u položaju 19 daje signal na 153,02 ppm. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  356,18242.



Slika 3.1.16.  $^1\text{H}$  NMR i 1D NOESY spektri 3 $\beta$ -hidroksi-19-oksima **48**

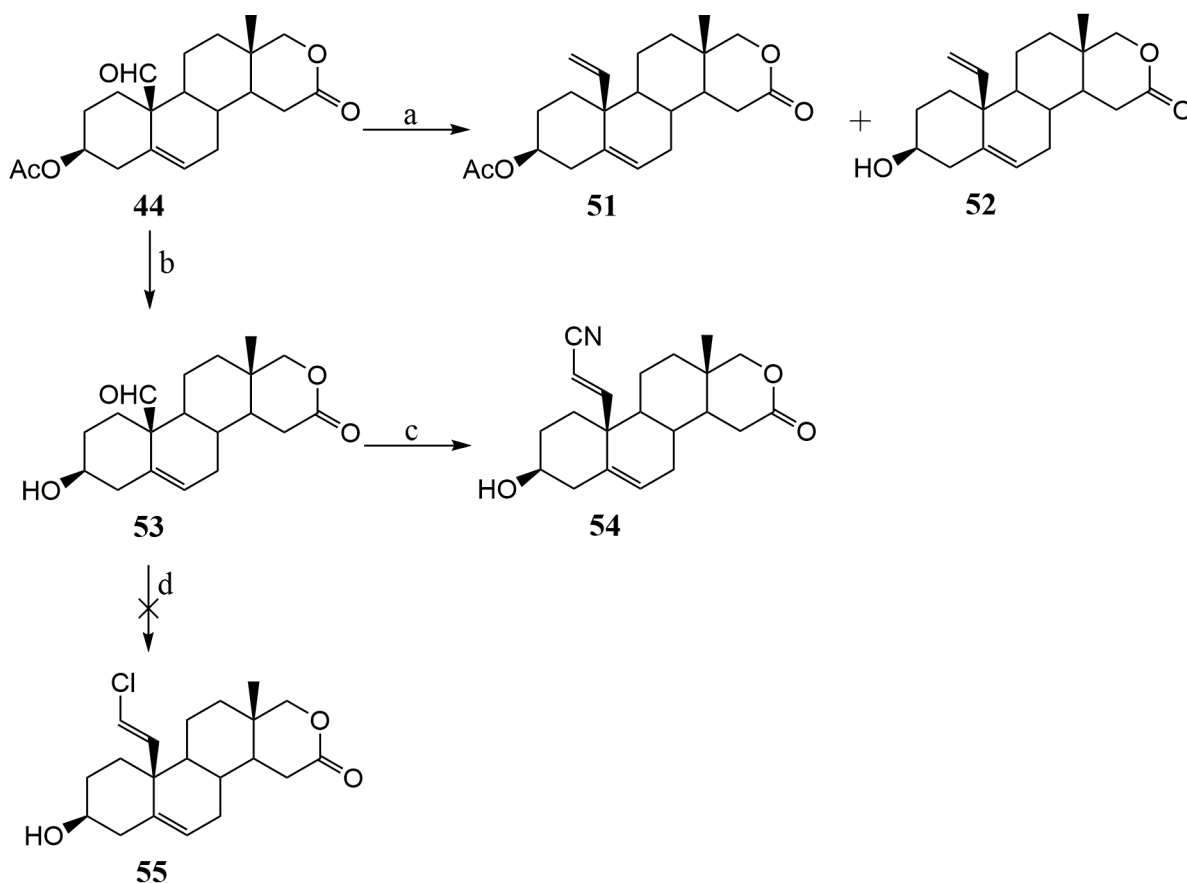
Dehidratacijom 3 $\beta$ -acetoksi-19-oksima **47** mezil-hloridom u apsolutnom piridinu dobija se nitril **49** (shema 3.1.19). Reakcija je tekla na -15 °C u toku 30 min. i nakon toga još 1 h na sobnoj temperaturi, pri čemu je prinos jedinjenja **49** bio 74%. U poređenju sa spektrom polaznog oksima **47**, u IR spektru ovog jedinjenja očekivano izostaje široka traka hidroksilne grupe na oko 3400 cm<sup>-1</sup>, ali se javlja traka slabog intenziteta na 2228 cm<sup>-1</sup> koja potiče od nitrilne grupe. U protonskom NMR spektru jedinjenja **49** se zapaža izostanak signala vodonika na C-19, dok je u <sup>13</sup>C NMR spektru signal ovog ugljenika na nižem hemijskom pomeranju (120,54 ppm) u odnosu na isti u spektru jedinjenja **47** (154,83 ppm). Molekulska formula jedinjenja (C<sub>21</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>4</sub>) je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to: [M+H]<sup>+</sup> (m/z 358,20136), [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (m/z 375,22816) i [M+Na]<sup>+</sup> (m/z 380,18497).

3 $\beta$ -Hidroksi-19-nitril **50** je dobijen deprotekcijom hidroksilne grupe na C-3 jedinjenja **49** (shema 3.1.19). Reakcija je izvedena natrijum-etoksidom u etanolu na 50-55 °C u toku 2 h 30 min., a jedinjenje **50** je dobijeno u prinosu od 91%. Prisustvo široke trake u IR spektru na 3432 cm<sup>-1</sup> koja potiče od vibracija hidroksilne grupe na C-3 potvrđuje da je dobijeno jedinjenje **50**. U protonskom NMR spektru ovo potvrđuje izostanak singleta acetatnih vodonika, kao i pomeranje signala H-3 ka nižim vrednostima hemijskog pomeranja ( $\delta$  4,63 ppm kod **49** → 3,55 ppm kod **50**), dok u <sup>13</sup>C NMR spektru izostaju dva signala ugljenika acetane grupe. Molekulska formula jedinjenja (C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>) je potvrđena pomoću tri pika u masenom spektru visoke rezolucije, i to: [M+H]<sup>+</sup> (m/z 316,19120), [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (m/z 333,21715) i [M+K]<sup>+</sup> (m/z 354,14721). Struktura jedinjenja **50** je dodatno potvrđena rendgeno-strukturnom analizom (slika 3.1.17).



Slika 3.1.17. ORTEP 3D prikaz molekulske strukture 3 $\beta$ -hidroksi-19-nitrila **50**

Jedan od ciljeva ovog rada bio je i ispitivanje reaktivnosti 19-aldehida **44** sa Wittig-ovim reagensima (shema 3.1.20). Prvo je izvršena reakcija sa metiltrifenilfosfonijum-jodidom u prisustvu kalijum-*tert*-butoksida u apsolutnom tetrahidrofuranu u toku 90 min. na sobnoj temperaturi [200]. U ovoj reakciji je dobijen željeni proizvod **51** u skromnom prinosu od 4,1% kao i deacetilovani proizvod **52** u nešto boljem, ali i dalje niskom prinosu od 7,9%.



**Shema 3.1.20.** Reakcioni uslovi: a)  $\text{MePPh}_3\text{I}$ , *t*BuOK, aps. THF, atm. Ar, st, 90 min., zatim HCl (1:1) **51** (4,1%) i **52** (7,9%); b)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , st 90 min., zatim HCl (1:1) (79%); c)  $\text{NCCH}_2\text{PPh}_3\text{Cl}$ , *t*BuOK, aps. THF, atm. Ar, refluks, 7,5 h  $\rightarrow$  st, 18 h, zatim HCl (1:1) (37%); d)  $\text{ClCH}_2\text{P}(\text{Cl})\text{Ph}_3$ , *t*BuOK ili BuLi, aps. THF, atm. Ar, st, 20 h.

U IR spektru jedinjenja **51** se zapaža intenzivna traka na  $1734\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od dveju karbonilnih grupa laktona i acetata. U protonskom NMR spektru  $3\beta$ -acetoksi-19-metilen derivata **51** dva terminalna olefinska vodonika na C-19a daju dva dublet dubleta na 4,98 i 5,36 ppm. Signali dva olefinska vodonika na C-6 i C-19 su preklopljeni i nalaze se u opsegu hemijskih

pomeranja 5,61-5,72 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **51** se javljaju četiri signala olefinskih ugljenika C-19a, C-6, C-5 i C-19 na 118,56; 124,18; 136,02 i 141,54, respektivno. Takođe se zapaža prisustvo dva signala karbonilnih ugljenika na 170,55 (C=O iz Ac) i 170,72 (C-16). Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  381,20299.

U IR spektru jedinjenja **52** se za razliku od spektra polaznog jedinjenja **44** i jedinjenja **51** zapaža široka traka na  $3435\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-3. U protonskom NMR spektru jedinjenja **52** se zapažaju dva dubleta na 4,96 i 5,32 ppm koja potiču od dva diastereoizotopna vodonika na C-19a, dok vodonici na C-6 i C-19 daju signale koji se preklapaju i javljaju u opsegu hemijskih pomeranja 5,59-5,68 ppm. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jedinjenja **52** se signali olefinskih ugljenika C-19a, C-19, C-5 i C-6 javljaju na 118,47; 123,29; 137,04 i 141,72 ppm, respektivno. U ovom spektru se, kao i u spektru jedinjenja **51**, zapaža izostanak signala aldehidnog ugljenika, ali i izostanak signala ugljenika acetatne grupe, a javlja se samo jedan signal karbonilnog ugljenika i to ugljenika u položaju 16 na 170,81 ppm. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  339,19236.

Pošto je u prethodnoj reakciji utvrđeno da osim *Wittig*-ove olefinacije dolazi i do bazne hidrolize acetoksi grupe u položaju C-3, pre izvođenja naredne dve reakcije olefinacije izvršena je bazna hidroliza acetatne zaštite pomenute hidroksilne grupe kod jedinjenja **44** (Shema 3.1.20). Ovo je postignuto kalijum-karbonatom, u smeši metanola i vode, na sobnoj temperaturi u toku 90 min., pri čemu je dobijeno jedinjenje **53** u prinosu od 79%. U IR spektru  $3\beta$ -hidroksi-19-aldehida **53** se za razliku od spektra jedinjenja **44** javlja široka traka na  $3417\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe u položaju 3. U protonskom NMR spektru jedinjenja **53** se javlja singlet na 9,67 ppm koji potiče od vodonika aldehidne grupe na C-19. Takođe se primećuje izostanak singleta vodonika acetata. Signal H-3 ima niže hemijsko pomeranje (3,54 ppm) od onog u spektru jedinjenja **44** (4,62 ppm). U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru aldehida **53** se, slično spektru aldehida **44**, aldehidni ugljenik C-19 javlja na 204,73 ppm. Takođe se zapaža izostanak signala dva ugljenika acetatne grupe. Molekulska formula jedinjenja ( $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ) je potvrđena pomoću  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  pika u masenom spektru visoke rezolucije koji se javlja na  $m/z$  341,17183.

$3\beta$ -Hidroksi-19-aldehid **53** je dalje podvrgnut reakcijama *Wittig*-ove olefinacije sa ilidima dobijenim iz (cijanometil)trifenilfosfonijum-hlorida i (hlorometil)trifenilfosfonijum-hlorida (Shema 3.1.20) [305]. U reakciji aldehida **53** sa ilidom dobijenim iz (cijanometil)trifenilfosfonijum-hlorida dejstvom kalijum-*terc*-butoksida, dobijen je željeni proizvod **54**. Međutim, samo 23% polaznog jedinjenja je izreagovalo, a dobijeni 19-cijanometilidenski derivat **54** je bio nestabilan tako da je snimljen samo njegov IR spektar. U ovom spektru se pored široke trake na  $3412\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od hidroksilne grupe na C-3 i

intenzivne trake na  $1730\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od karbonilne grupe na C-16, javlja i slaba traka na  $2228\text{ cm}^{-1}$  koja potiče od novouvedene nitrilne grupe.

Aldehid **53** sa (hlorometil)trifenilfosfonijum-hloridom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida ne reaguje ni posle 20 h mešanja na sobnoj temperaturi, dok u prisustvu butil-litijuma reaguje i nakon 20 h mešanja na sobnoj temperaturi daje tri proizvoda čije strukture nije bilo moguće utvrditi zbog njihove velike nestabilnosti. Pretpostavlja se da do olefinacije dolazi i na karbonilnoj grupi laktanske funkcije i da druga dva proizvoda nastaju upravo ovom hemijskom transformacijom.

## 3.2. ANTITUMORSKI POTENCIJAL SINTETISANIH JEDINJENJA

U cilju utvrđivanja antitumorskog potencijala sintetisanih jedinjenja izvršeno je niz analiza. Prvo je ispitana bioraspoloživost molekula poređenjem molekulskih osobina sa *Lipinski*, *Veber* i *Oprea* pravilima. Potom je ispitana antiproliferativna aktivnost dobijenih jedinjenja na niz ćelijskih linija humanih kancera i jednoj zdravoj humanoj ćelijskoj liniji. Dobijeni rezultati su upotrebljeni za utvrđivanje korelacionih odnosa između strukture i aktivnosti. Za jedinjenja koja su pokazala značajnu antiproliferativnu aktivnost u cilju utvrđivanja molekulskih osnova iste izvršen je virtuelni skrining. Osim toga ispitano je i vezivanje jedinjenja za odabrane hormonske receptore, kao i inhibitorna aktivnost na dva enzima steroidogeneze.

### 3.2.1. BIORASPOLOŽIVOST SINTETISANIH JEDINJENJA

Tokom potrage za novim farmakološki aktivnim supstancama u istraživanjima koja se bave pronalaskom novog leka često se zanemaruju biofarmaceutske osobine kao što je apsorpcija leka. Kao rezultat toga loše biofarmaceutske karakteristike predstavljaju jedan od glavnih razloga neuspeha u kliničkim istraživanjima. Pošto su troškovi razvoja leka značajno viši od troškova njegovog pronalaska, od izuzetne važnosti su metode kojima je moguće izvršiti predviđanje bioraspoloživosti kandidata u ovim studijama. Velika većina dobro apsorbovanih lekova se prenosi pasivnim transportom kroz ćelijsku membranu koja je lipofilne prirode. Stoga se fiziko-hemijski deskriptori molekula leka, za koje se veruje da utiču na transćelijski transport, rutinski koriste za predviđanje apsorpcije leka. Jedan fiziko-hemijski deskriptor nije dovoljan za pouzdano predviđanje apsorpcije leka. Niz istraživačkih grupa je predložio nekoliko grupa fiziko-hemijskih deskriptora kojima bi se opisala tzv. sličnost-leku (eng. drug-likeness), odnosno predvidela njihova bioraspoloživost [306, 307].

Najpoznatija takva grupa deskriptora je predložena od strane *Lipinski*-og i saradnika [308, 309] i predstavlja najčešće primenjivanu grupu kriterijuma pri skriningu supstanci kod medicinskih hemičara. Kolika je zastupljenost ovih kriterijuma ukazuje i citiranost njihovog prvog rada na ovu temu koja je prema Scopus-u 21.3.2018. god. iznosila 5139. Navedena pravila su kreirana radi primene u predviđanju oralne bioraspoloživosti, ali su danas najčešće primenjena kao pravila za utvrđivanje sličnosti sa osobinama lekova. Do ovoga je došlo usled tendencije ka primeni oralnih lekova, pre svega zbog praktičnosti iste, što je farmaceutske kompanije nateralo da izjednače ova dva pojma. Oralna bioraspoloživost se najčešće definiše kao frakcija oralne doze koja dospe u cirkulaciju [310]. Na to utiču apsorpcija i metabolizam u želucu i jetri. Količina i brzina apsorpcije molekula su

određene njegovom lipofilnošću i rastvorljivošću. Prema *Lipinski*-om da bi lek bio oralno bioraspoloživ mora da poseduje bar tri od navedena četiri pravila koja su upravo u vezi sa lipofilnošću i rastvorljivošću:

1. broj donora vodonične veze (eng. hydrogen bond donors, skr. HBD) ne sme biti veći od 5 i najčešće je izražen kao zbir OH i NH grupa;
2. broj akceptora vodonične veze (eng. hydrogen bond acceptors, skr. HBA) ne sme biti veći od 10 i najčešće je izražen kao suma N i O atoma;
3. molekulska masa (eng. molecular weight, skr. MW) ne sme biti veća od 500 i
4. LogP ne sme biti veći od 5. LogP je logaritam particionog koeficijenta supstance između n-oktanol i vode i predstavlja standardnu meru hidrofilitnosti jedinjenja. Ovaj parametar je moguće kompjuterski izračunati i tada se naziva izračunati LogP (eng. calculated logP, skr. cLogP).

Ova pravila se najčešće nazivaju pravila Lipinskog ili pravila 5 (pošto je zajednički činilac svih ograničenja broj pet), ili pak najčešće pravilo Lipinskog od 5 (eng. Lipinski's rule of 5).

Oralnu bioraspoloživost su ispitivali i *Veber* i saradnici [311] na 1100 potencijalnih lekova i utvrdili da redukovana fleksibilnost molekula određena brojem rotabilnih veza (skr. rotb, 10 ili manje) i niska oblast polarne površine (eng. polar surface area, skr. PSA) odgovaraju dobroj bioraspoloživosti. PSA predstavlja zbir površina polarnih atoma u molekuli i oni najčešće obuhvataju atome kiseonika, azota i halogena koji su vezani u molekulu. Trodimenziona (3D)-PSA se može lako izračunati i nazvana je topološka oblast polarne površine (eng. topological PSA, skr. TPSA). *Veber* i saradnici su utvrdili da ova vrednost ne sme biti veća od  $140 \text{ \AA}^2$  (odnosno  $70 \text{ \AA}^2$  za intestinalnu apsorpciju).

Smatra se da su molekuli čiji se parametri slažu sa *Lipinski* i *Veber* pravilima slični lekovima i mogu da se upotrebe za dalja ispitivanja. Tu se pre svega misli na *in vitro* a zatim *in vivo* testove, koji za sprovođenje zahtevaju ne samo više vremena nego i finansija. Slična pravila su predložena i od strane drugih istraživačkih grupa. Tako su *Oprea* i saradnici [312] utvrdili da 70% lekova poseduje sledeće osobine:

1. 0-2 donora vodonične veze
2. 2-9 akceptora vodonične veze
3. 2-8 rotabilnih veza
4. 1-4 prstena u strukturi.

Ova pravila se nazivaju *Oprea* pravila i upotrebljavaju se ređe od *Lipinski* i *Veber* pravila, s obzirom da čak 30% lekova ne poseduje navedene osobine.

Još jedan jednostavan način da se utvrdi sličnost leku kod molekula dao je *Muegge* [313]. Takvi su molekuli koji ne poseduju druge atome do C, N, O, S, H, P, Cl, Br, F, I, Na, K, Mg, Ca i Li.



U sastav svih novosintetisanih jedinjenja ulaze isključivo gore navedeni atomi. Stoga su radi utvrđivanja sličnosti leku odnosno potencijala za oralnu bioraspodivnost izračunati parametri za *Lipinski* i *Veber* kriterijume za skoro sva sintetisana jedinjenja i upoređeni sa datim kriterijumima. Iz ovih testova su isključena samo jedinjenja **31** i **54** zbog njihove male stabilnosti. Izračunavanja su izvršena pomoću *Molinspiration* online programa [314]. Međutim izračunata vrednost logP (cLogP) može da varira u zavisnosti od softverskog paketa koji je upotrebljen za izračunavanje. Imajući ovo u vidu ovaj parametar je izračunat pomoću *ChemDraw 12.0* programskog paketa (označen je sa cLogP) i pomoću *Molinspiration* online programa (označen sa miLogP).

U tabeli 3.2.1. su dati izračunati podaci prema *Lipinski* i *Veber* pravilima za 5,6-disupstituisane halogene derivate. Može se videti da jedinjenja **6**, **9**, **11**, **12**, **13** i **16** nemaju ni jedno prekoračenje navedenih pravila. 3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromo derivat **8** nije pokazao prekoračenje Veberovih pravila, ali je pokazao malo prekoračenje u veličini molekulske mase, dok drugo prekoračenje predstavlja samo miLogP. Kada je ovaj parametar izračunat pomoću ChemDraw 12.0 softvera ovo jedinjenje ne pokazuje prekoračenje u cLogP, a samim tim se i uklapa u parametre *Lipinski*-og za biodostupnost.

**Tabela 3.2.1.** Parametri bioraspodivosti 5,6-disupstituisanih halogenih derivata prema *Lipinski*-om i *Veber*-u

br. jed.	MW	HBD	HBA	LogP		Lipinski prekoračenja	nroth	TPSA (Å)	Veber prekoračenja
				cLogP	miLogP				
opseg	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5		≤ 1	≤ 10	≤ 140 Å	
<b>6</b>	443,38	1	5	2,36	3,75	0	2	72,84	0
<b>8</b>	<b>506,27</b>	0	4	4,32	<b>5,12</b>	<b>1-2</b>	2	52,61	0
<b>9</b>	443,38	1	5	2,36	3,75	0	2	72,84	0
<b>11</b>	464,24	1	3	3,38	4,42	0	0	46,53	0
<b>12</b>	398,93	1	5	2,19	3,62	0	2	72,84	0
<b>13</b>	417,37	0	4	4,04	4,86	0	2	52,61	0
<b>16</b>	382,47	1	5	1,86	3,32	0	2	72,84	0

Nijedno odstupanje nije uočeno upoređivanjem vrednosti parametara sa propisanim opsezima *Lipinski* i *Veber* pravila za 5,6-disupstituisane kiseonične derivate (tabela 3.2.2) i 6,19-epoksi derivate (tabela 3.2.3).

**Tabela 3.2.2.** Parametri bioraspoloživosti 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata prema *Lipinski*-om i *Veber*-u

br. jed.	MW	HBD	HBA	LogP		Lipinski prekoračenja	nrotb	TPSA (Å)	Veber prekoračenja
				cLogP	miLogP				
opseg	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5		≤ 1	≤ 10	≤ 140 Å	
<b>7</b>	362,47	0	5	1,76	3,50	0	2	65,14	0
<b>10</b>	422,52	1	6	2,14	3,22	0	4	89,91	0
<b>15</b>	362,47	0	5	1,76	3,50	0	2	65,14	0
<b>17</b>	378,46	1	6	0,66	2,20	0	2	89,91	0
<b>18</b>	336,43	2	5	-0,28	1,50	0	0	83,83	0
<b>19</b>	380,48	2	6	1,24	2,39	0	2	93,07	0
<b>20</b>	338,44	3	5	0,34	1,68	0	0	86,99	0
<b>21</b>	352,47	2	5	1,10	2,30	0	1	76,00	0
<b>22</b>	352,47	2	5	1,14	2,30	0	1	76,00	0
<b>23</b>	334,41	1	5	-0,01	1,31	0	0	80,67	0

**Tabela 3.2.3.** Parametri bioraspoloživosti 6,19-epoksi derivata prema *Lipinski*-om i *Veber*-u

br. jed.	MW	HBD	HBA	LogP		Lipinski prekoračenja	nrotb	TPSA (Å)	Veber prekoračenja
				cLogP	miLogP				
opseg	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5		≤ 1	≤ 10	≤ 140 Å	
<b>24</b>	380,46	0	5	1,62	3,25	0	2	61,84	0
<b>25</b>	396,91	0	5	1,96	3,56	0	2	61,84	0
<b>26</b>	441,36	0	5	2,08	3,69	0	2	61,84	0
<b>27</b>	471,39	0	6	2,07	3,65	0	3	71,08	0
<b>29</b>	473,36	2	7	2,28	2,77	0	5	110,14	0
<b>30</b>	399,32	1	4	1,15	2,98	0	0	55,77	0
<b>32</b>	316,40	0	4	0,84	2,16	0	0	52,61	0

Usaglašenost sa *Lipinski* i *Veber* pravilima novosintetisanih 19-modifikovanih steroidnih derivata je prikazana u tabeli 3.2.4. Zapažaju se dva odstupanja u molekulskoj masi toziloški derivata **38** i **41**, dok za jedinjenje **41** izračunati LogP odstupa samo kad je za račun upotrebljen *Molinspiration*. Ova činjenica nam ukazuje da bi ovo jedinjenje moglo da posluži za dalje testove.

**Tabela 3.2.4.** Parametri bioraspoloživosti 19-derivatizovanih jedinjenja prema *Lipinski*-om i *Veber*-u

br. jed.	MW	HBD	HBA	LogP		Lipinski prekoračenja	nrotb	TPSA (Å)	Veber prekoračenja
				cLogP	miLogP				
opseg	≤ 500	≤ 5	≤ 10	≤ 5		≤ 1	≤ 10	≤ 140 Å	
<b>33</b>	362,47	1	5	1,48	2,89	0	3	72,84	0
<b>34</b>	318,41	1	4	0,47	2,00	0	1	63,60	0
<b>35</b>	360,45	0	5	1,42	2,70	0	3	69,68	0
<b>36</b>	380,91	0	4	3,18	4,12	0	3	52,61	0
<b>37</b>	344,45	0	4	3,74	3,02	0	2	52,61	0
<b>38</b>	<b>514,68</b>	0	6	3,56	4,73	<b>1</b>	6	86,75	0
<b>39</b>	472,36	0	4	3,71	4,53	0	3	52,61	0
<b>41</b>	<b>516,66</b>	0	7	3,56	<b>5,10</b>	<b>1-2</b>	6	95,99	0
<b>42</b>	320,43	2	4	0,53	2,18	0	1	66,76	0
<b>43</b>	316,40	0	4	1,00	3,17	0	0	52,61	0
<b>44</b>	360,45	0	5	1,59	3,34	0	3	69,68	0
<b>45</b>	376,45	1	6	1,63	2,76	0	3	89,91	0
<b>46</b>	375,46	2	6	0,71	2,25	0	3	95,70	0
<b>47</b>	375,46	1	6	1,68	3,07	0	3	85,20	0
<b>48</b>	333,43	2	5	0,73	2,36	0	1	79,12	0
<b>49</b>	357,45	0	5	1,48	3,30	0	2	76,40	0
<b>50</b>	315,41	1	4	0,53	2,60	0	0	70,33	0
<b>51</b>	358,48	0	4	3,51	4,16	0	3	52,61	0
<b>52</b>	316,44	1	3	2,56	3,46	0	1	46,53	0
<b>53</b>	318,41	1	4	0,65	2,63	0	1	63,60	0

Izračunati parametri svih sintetisanih jedinjenja su u skladu sa ograničenjima *Veber* pravila. Kada su u pitanju *Lipinski* pravila, kod jedinjenja **38** se javlja jedino odstupanje u molarnoj masi, ali ovo ne predstavlja prekoračenje ukupnog *Lipinski* kriterijuma. Za jedinjenja **8** i **41** pored neslaganja u iznosu molekulske mase, postoji i potencijalno odstupanje u izračunatom LogP, ali pošto nije potvrđeno od strane oba upotrebljena programa ovo prekoračenje ograničenja treba uzeti sa rezervom. S obzirom na ove činjenice moglo se pristupiti *in vitro* testovima svih sintetisanih jedinjenja.



U ovom radu proučavan je uticaj sintetisanih i referentnih jedinjenja na proliferaciju šest ćelijskih linija humanih tumora, dok je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija:

- **MCF-7** – adenokarcinom dojke, estrogen receptor pozitivan (ER+),
- **MDA-MB-231** – adenokarcinom dojke, estrogen receptor negativan (ER–),
- **PC-3** – karcinom prostate, androgen receptor negativan (AR–),
- **HeLa** – karcinom grlića materice,
- **HT-29** – adenokarcinom debelog creva
- **A549** – adenokarcinom pluća,
- **MRC-5** – zdrava ćelijska linija fibroblasta pluća.

U tabeli 3.2.5 prikazane su  $IC_{50}$  vrednosti sintetisanih steroidnih 5,6-disupstituisanih halogenih derivata.  $5\alpha$ -Brom- $6\beta$ -hidroksi derivat **6** je pokazao dobru antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama kancera grlića materice, a umerenu prema dvema ćelijskim linijama, MDA-MB-231 i A549. Slabu aktivnost je pokazao prema ćelijama ER+ kancera dojke (MCF-7), dok je neaktivan prema ćelijama karcinoma prostate (PC-3) i kolona (HT-29).  $5\alpha,6\beta$ -Dibromo derivat **8** je prema HeLa ćelijama pokazao odličnu antiproliferativnu aktivnost, a dobru prema ćelijama ER– karcinoma dojke. Na čak tri ćelijske linije je njegova aktivnost bila umerena i to na MCF-7, HT-29 i A549, dok je neaktivan bio prema ćelijama karcinoma prostate. U odnosu na referentni formestan aktivniji je prema tri ćelijske linije MCF-7, MDA-MB-231 i HT-29, a selektivniji u odnosu na referentnu cisplatinu. Kada je u pitanju  $6\alpha$ -brom- $5\beta$ -hidroksi derivat **9** može se zapaziti njegova selektivnost prema ćelijama ER+ karcinoma dojke. Ovo jedinjenje je pokazalo dobru aktivnost prema ovim ćelijama, a nije bilo aktivno prema ostalim testiranim ćelijskim linijama.  $5\alpha,6\beta$ -Dibromo- $3\beta$ -hidroksi derivat **11** je slabo aktivan prema ćelijama ER+ i ER– karcinoma dojke, neaktivan prema PC-3 i HeLa ćelijskim linijama, ali je pokazao odličnu antiproliferativnu aktivnost na dve ćelijske linije. To su ćelije karcinoma kolona i pluća, i prema njima je aktivniji u odnosu na referentni formestan, a selektivniji u odnosu na cisplatinu. Umerenu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma grlića materice, kao i slabu prema ćelijama karcinoma kolona je pokazao  $5\alpha$ -hlor- $6\beta$ -hidroksi derivat **12**. Ovaj derivat nije pokazao aktivnost prema ostalim ćelijama.  $5\alpha,6\beta$ -Dihloro derivat **13** nije pokazao antiproliferativnu aktivnost prema MCF-7 i PC-3, ali je pokazao umerenu aktivnost na ćelije ER– karcinoma dojke i karcinoma grlića materice, kao i dobru aktivnost na ćelije karcinoma kolona i pluća.  $5\alpha$ -Fluor- $6\beta$ -hidroksi derivat **16** ima dobru antiproliferativnu aktivnost na ER– ćelije karcinoma dojke, umerenu na ćelije kancera kolona, a slabu na ćelije ER+ kancera dojke. Prema ovim ćelijama ovo jedinjenje je aktivnije od referentnog formestana. Prema PC-3, HeLa, A549 i MRC-5 nije pokazao aktivnost, pa je ovo jedinjenje selektivnije na ćelije kancera od referentnog jedinjenja cisplatine.

**Tabela 3.2.5.** *In vitro* antiproliferativna aktivnost 5,6-disupstituisanih halogenih derivata i referentnih jedinjenja

Jedinjenje	MCF-7	MDA-MB-231	PC-3	HeLa	HT-29	A549	MRC-5
<b>6</b>	86,59	26,48	*	<b>13,63</b>	*	26,06	*
<b>8</b>	34,86	<b>13,32</b>	*	<b>9,46</b>	23,21	36,87	*
<b>9</b>	<b>12,90</b>	*	*	*	*	*	*
<b>11</b>	50,75	74,72	*	*	<b>7,07</b>	<b>8,29</b>	*
<b>12</b>	*	*	*	36,89	72,32	*	*
<b>13</b>	*	23,45	*	25,86	<b>10,85</b>	<b>15,45</b>	*
<b>16</b>	42,92	<b>9,10</b>	*	*	21,24	*	*
Formestan	*	19,61	26,37	3,36	*	38,59	*
Cisplatina	1,60	2,64	4,56	2,10	4,10	3,20	0,24

\* IC<sub>50</sub> > 100 µM

IC<sub>50</sub> vrednosti 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata su prikazane u tabeli 3.2.6, iz koje se može videti da 5β,6β-epoksid **7** pokazuje dobru antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma grlića materice i kolona, i umerenu prema ćelijama ER– karcinoma dojke. U odnosu na referentni formestan epoksid **7** je potentniji prema HT-29 ćelijama. 5α,6α-Epoksid **15** je takođe pokazao umerenu aktivnost prema ćelijama ER– karcinoma dojke i slabu prema HeLa ćelijama, dok prema ostalim ćelijskim linijama nije bio aktivan. 5α-Hidroksi-3β,6β-diacetoksi derivat **10** je odličnu antiproliferativnu aktivnost pokazao prema ćelijama karcinoma prostate i grlića materice, dobru prema ćelijama ER+ karcinoma dojke, a umerenu prema MDA-MB-231 ćelijama. Ovo jedinjenje je prema MCF-7 i PC-3 ćelijama značajno aktivnije od kontrole, formestana. Jedinjenje **17** je pokazalo umerenu aktivnost prema ER–, a slabu prema ER+ ćelijama kancera dojke. Prema ostalim ćelijskim linijama ovo jedinjenje ne pokazuje antiproliferativnu aktivnost, pa ga to čini selektivnim na MDA-MB-231 ćelije. Selektivnost prema ovim ćelijama pokazuje i njegov 3β-hidroksi analog **18** što je njegova aktivnost značajno veća i iznosi 6,16 µM (veća je i od formestana). Ovo jedinjenje pokazuje i umerenu aktivnost prema HeLa ćelijama, dok se na ostale ćelijske linije pokazalo neaktivnim. 3β-Acetoksi-5α,6β-dihidroksi derivat **19** je pokazao samo slabu aktivnost prema HT-9 ćelijskoj liniji. Međutim, 3β,5α,6β-Trihidroksi derivat **20** je pokazao odličnu aktivnost na čak tri ćelijske linije: MCF-7 (IC<sub>50</sub> 8,62 µM), HT-29 (IC<sub>50</sub> 9,34 µM) i A549 prema

kojoj je IC<sub>50</sub> vrednost submikromolarnog reda veličine (IC<sub>50</sub> 0,99 μM). Ono je prema poslednjoj ćelijskoj liniji potentnije od oba kontrolna jedinjenja. Ovo jedinjenje dobru aktivnost pokazuje prema ćelijama ER– kancera dojke, a slabu prema HeLa ćelijama. 3β,5α-Dihidroksi-6β-metoksi derivat **21** je ispoljio odličnu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama ER– karcinoma dojke, dobru prema ćelijama karcinoma prostate, umerenu prema HeLa i slabu aktivnost prema MCF-7 ćelijama. Na tri ćelijske linije, MCF-7, MDA-MB-231 i PC-3, je potentniji od formestana. 3β,6β-Dihidroksi-5α-metoksi derivat **22** ima odličnu antiproliferativnu aktivnost na ćelije ER– kancera dojke i kancera grlića materice, a umerenu na PC-3 ćelije. Derivat **23** koji poseduje keto grupe u položajima C3 i C6 ima dobru aktivnost na MDA-MB-231 ćelije, a umerenu na HeLa i HT-29. Prema ostalim ćelijskim linijama nije pokazao aktivnost.

**Tabela 3.2.6.** *In vitro* antiproliferativna aktivnost 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata i referentnih jedinjenja

Jedinjenje	MCF-7	MDA-MB-231	PC-3	HeLa	HT-29	A549	MRC-5
<b>7</b>	*	33,91	*	<b>16,89</b>	<b>13,98</b>	*	*
<b>10</b>	<b>12,68</b>	30,97	<b>6,60</b>	<b>8,66</b>	*	*	*
<b>15</b>	*	27,62	*	99,15	*	*	*
<b>17</b>	81,77	23,73	*	*	*	*	*
<b>18</b>	*	<b>6,16</b>	*	33,65	*	*	*
<b>19</b>	*	*	*	*	86,56	*	*
<b>20</b>	<b>8,62</b>	<b>13,84</b>	*	93,58	<b>9,34</b>	<b>0,99</b>	*
<b>21</b>	73,63	<b>3,38</b>	<b>10,75</b>	27,01	*	*	*
<b>22</b>	*	<b>4,40</b>	24,84	<b>7,06</b>	*	*	*
<b>23</b>	*	<b>4,81</b>	*	40,09	42,16	*	*
Formestan	*	19,61	26,37	3,36	*	38,59	*
Cisplatina	1,60	2,64	4,56	2,10	4,10	3,20	0,24

\* IC<sub>50</sub> > 100 μM



Antiproliferativna aktivnost 6,19-epoksi derivata je data u tabeli 3.2.7. Iz tabele se može zapaziti da 5 $\alpha$ -fluoro (**24**) i hlоро (**25**) derivati pokazuju odličnu inhibiciju rasta ćelija ER–karcinoma dojke i karcinoma prostate. Jedinjenje **24** pokazuje i umerenu aktivnost prema HT-29 ćelijama. Prema ostalim testiranim ćelijskim linijama ova jedinjenja nisu pokazala aktivnost. 5 $\alpha$ -Bromo derivat **26** je pokazao inhibiciju rasta ćelija dve ćelijske linije. Odličnu inhibiciju je pokazao prema ćelijama karcinoma prostate, a umerenu prema ćelijama karcinoma pluća. U odnosu na referentni formestan on je znatno potentniji prema PC-3 ćelijama, a slične je aktivnosti kao cisplatina. Njegov 17 $\alpha$ -metoksi derivat **27** je takođe aktivan na dve ćelijske linije (HT-29 i A549), ali je njegova aktivnost umerena kod obe. D-Seko dikiselina **29** je pokazala izuzetnu i aktivnost i selektivnost na ćelije karcinoma pluća. Njena antiproliferativna aktivnost je značajno bolja od aktivnosti formestana, a slična cisplatinu, s tim da je od cisplatine značajno selektivnija. Jedinjenje **30** sa slobodnom hidroksilnom grupom u položaju C3 je pokazalo umerenu aktivnost prema ćelijama karcinoma kolona. Međutim jedino od svih testiranih jedinjenja, ovo jedinjenje je aktivno i prema zdravim MRC-5 ćelijama. 4-En-3-on derivat **32** je pokazao slabu aktivnost na MDA-MB-231 i PC-3 ćelije, dok je na ostale ćelijske linije neaktivan.

**Tabela 3.2.7.** *In vitro* antiproliferativna aktivnost 6,19-epoksi derivata i referentnih jedinjenja

Jedinjenje	MCF-7	MDA-MB-231	PC-3	HeLa	HT-29	A549	MRC-5
<b>24</b>	*	<b>9,69</b>	<b>11,39</b>	*	30,44	*	*
<b>25</b>	*	<b>6,99</b>	<b>7,37</b>	*	*	99,81	*
<b>26</b>	*	*	<b>6,71</b>	*	*	45,32	*
<b>27</b>	*	*	*	*	31,89	48,51	*
<b>29</b>	*	*	*	*	*	<b>4,38</b>	*
<b>30</b>	*	*	*	*	47,15	*	27,18
<b>32</b>	*	59,01	81,58	*	*	*	*
Formestan	*	19,61	26,37	3,36	*	38,59	*
Cisplatina	1,60	2,64	4,56	2,10	4,10	3,20	0,24

\* IC<sub>50</sub> > 100  $\mu$ M

Rezultati *in vitro* testova antiproliferativne aktivnosti 19-derivatizovanih jedinjenja su prikazani u tabeli 3.2.8. Prvi u nizu sintetisanih 19-derivatizovanih derivata, 19-hidroksi derivat **33**, je pokazao slabu aktivnost prema ćelijama karcinoma grlića materice i pluća, dok se prema ostalim ćelijskim linijama pokazao neaktivnim. 19-Hidroksi-4-en-3-on **34** ima dobru antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma pluća, umerenu prema ćelijama ER+ karcinoma dojke i slabu prema ćelijama ER- karcinoma dojke, dok prema ostalim testiranim ćelijama nije pokazao aktivost. Izuzetnu aktivnost i selektivnost prema ćelijama ER+ karcinoma dojke je pokazao 19-acetoksi-4-en-3-on derivat **35** i njegova IC<sub>50</sub> vrednost za ovu ćelijsku liniju iznosi 1,71 µM. Jedinjenje **36**, kod kojeg je za C19 vezan hlorov atom, je pokazalo umerenu antiproliferativnu aktivnost samo prema ćelijama karcinoma pluća. 5,19-Ciklopropanski derivat **37** je osim umerene antiproliferativne aktivnosti prema ćelijama ER- karcinoma dojke i karcinoma grlića materice pokazao odličnu aktivnost prema ćelijama karcinoma kolona i pluća. 19-Toziloksi jedinjenje **38** se pokazalo aktivnim na dve ćelijske linije i to slabo aktivnim na ćelije karcinoma pluća i odličnim na ćelije karcinoma kolona. Stoga se ovo jedinjenje može smatrati i selektivnim na ćelijsku liniju karcinoma kolona. Jedinjenje kod kojeg je za C19 vezan jod (**39**) je pokazalo selektivnost na ćelije karcinoma pluća, s obzirom da samo prema ovoj ćelijskoj liniji ima odličnu aktivnost (IC<sub>50</sub> 5,28 µM). 6-Toziloksimetil-5(10)-en derivat **41** je pokazao umerenu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama ER- karcinoma dojke i slabu prema ćelijama karcinoma grlića materice. 3β,19-Dihidroksi derivat **42** je pokazao slabu antiproliferativnu aktivnost samo prema ćelijama ER- karcinoma dojke, dok 3,19-lakton **43** nije inhibirao rast nijedne od testiranih ćelijskih linija. Jedinjenje sa aldehidnom grupom u položaju C19 (**44**) je pokazalo umerenu antiproliferativnu aktivnost na dve ćelijske linije, karcinom grlića materice i pluća. Umerenu aktivnost na ćelije karcinoma prostate, kolona i pluća je pokazala kiselina **45**. Njen amid **46** je pokazao odličnu antiproliferativnu aktivnost na čak dve ćelijske linije, ER+ karcinom dojke i karcinom kolona, dobru aktivnost na ćelije karcinoma pluća i slabu na ćelije ER- karcinoma dojke. 19-Oksim **47** je pokazao odličnu inhibiciju rasta ćelija ER+ karcinoma dojke i dobru karcinoma kolona, dok je rast PC-3 ćelijske linije inhibirao slabo. Njegov 3β-hidroksi derivat **48** je pokazao umerenu aktivnost prema ćelijama karcinoma prostate i slabu prema A549 i MDA-MB-231 ćelijama. 3β-Acetoksi-10-cijano derivat **49** je pokazao samo slabu antiproliferativnu aktivnost prema ER- karcinomu dojke, dok je njegov 3β-hidroksi analog **50** pokazao takođe slabu aktivnost prema ovoj ćelijskoj liniji, ali i umerenu prema ćelijama karcinoma prostate i odličnu prema ćelijama karcinoma kolona. Odličnu antiproliferativnu aktivnost na čak tri ćelijske linije je pokazao 19-metilidenski derivat **51**. To su ćelije ER- karcinoma dojke, karcinoma kolona i pluća. Osim toga, ovo jedinjenje je pokazalo i umerenu aktivnost prema ćelijskoj linije ER+ karcinoma dojke i slabu prema ćelijama AR- karcinoma prostate. Submikromolarnu aktivnost (IC<sub>50</sub> 0,50 µM) je pokazao 3β-hidroksi-19-metilidenski derivat **52** prema ćelijama karcinoma pluća, odličnu prema ćelijama

karcinoma kolona i ER– karcinoma dojke, a umerenu prema ćelijama karcinoma grlića materice i ER+ karcinoma dojke. 3 $\beta$ -Hidroksi-19-aldehid **53** je pokazao jedino umerenu inhibiciju rasta ćelija karcinoma grlića materice. Naročito je potrebno istaći da sva sintetisana jedinjenja, sem jedinjenja **30**, nisu pokazala antiproliferativnu aktivnost na zdrave fibroblaste pluća (MRC-5), dok je referentno jedinjenje, cisplatina, izuzetno toksično na ove ćelije.

**Tabela 3.2.8.** *In vitro* antiproliferativna aktivnost 19-derivatizovanih jedinjenja

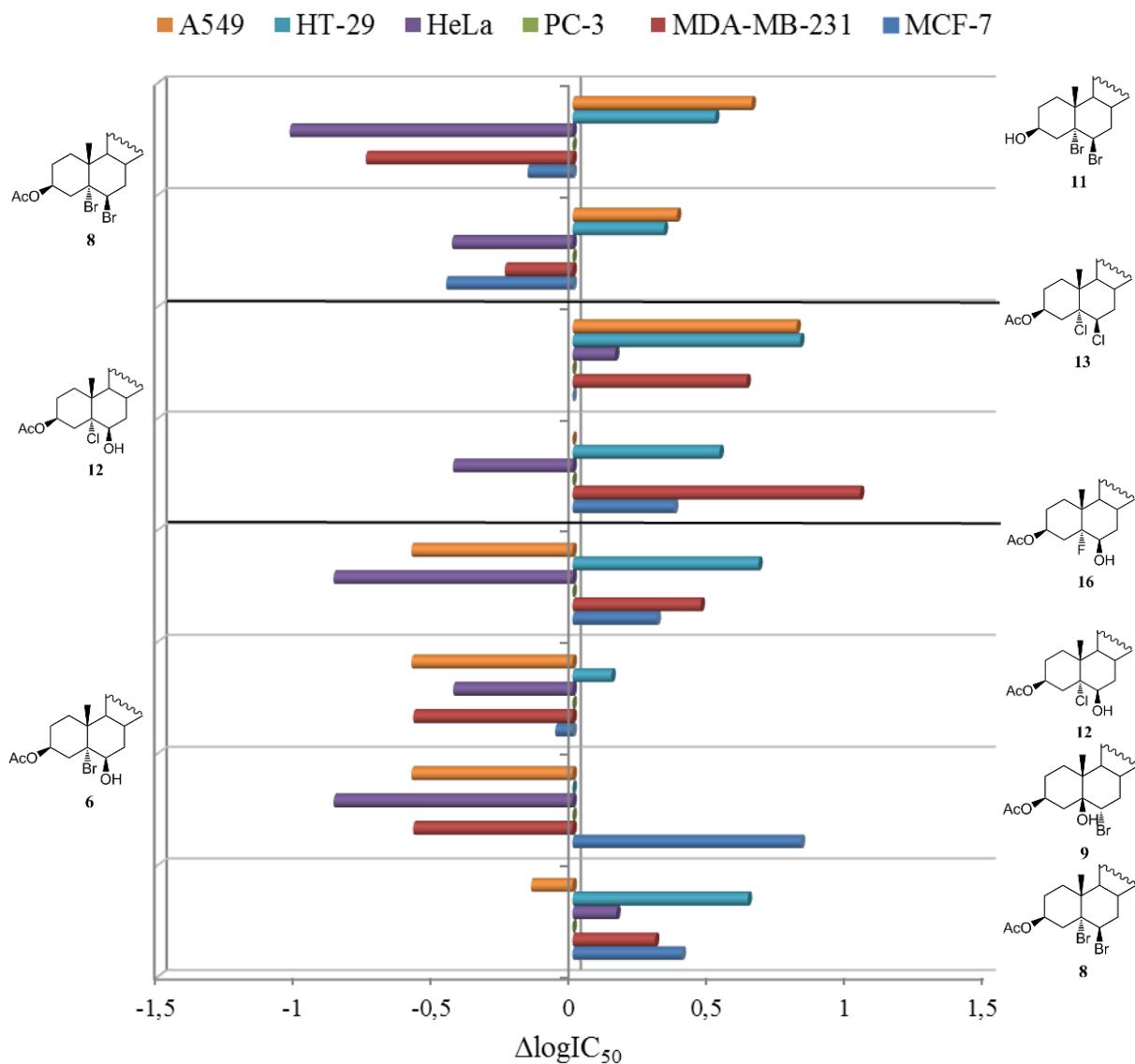
Jedinjenje	MCF-7	MDA-MB-231	PC-3	HeLa	HT-29	A549	MRC-5
<b>33</b>	*	*	*	75,21	*	65,54	*
<b>34</b>	20,27	55,90	*	*	*	<b>15,62</b>	*
<b>35</b>	<b>1,71</b>	*	*	*	*	99,89	*
<b>36</b>	*	*	*	*	*	21,29	*
<b>37</b>	*	33,37	*	35,64	<b>1,78</b>	<b>4,41</b>	*
<b>38</b>	*	*	*	*	<b>9,20</b>	69,01	*
<b>39</b>	*	*	*	84,33	*	<b>5,28</b>	*
<b>41</b>	*	27,05	*	75,34	*	*	*
<b>42</b>	*	83,03	*	*	*	*	*
<b>43</b>	*	*	*	*	*	*	*
<b>44</b>	*	*	*	49,02	*	27,61	*
<b>45</b>	*	*	22,11	*	28,64	36,84	*
<b>46</b>	<b>8,01</b>	68,04	*	*	<b>2,07</b>	<b>11,08</b>	*
<b>47</b>	<b>4,83</b>	*	94,76	*	<b>11,08</b>	*	*
<b>48</b>	*	92,02	28,33	*	*	63,73	*
<b>49</b>	*	56,99	*	*	*	*	*
<b>50</b>	*	54,62	41,12	*	<b>8,68</b>	*	*
<b>51</b>	24,10	<b>7,56</b>	75,44	*	<b>6,30</b>	<b>5,31</b>	*
<b>52</b>	60,45	<b>6,64</b>	*	38,08	<b>1,99</b>	<b>0,50</b>	*
<b>53</b>	*	*	*	45,69	*	*	*

\* IC<sub>50</sub> > 100 μM

### 3.2.3. KORELACIJA IZMEĐU ANTIPROLIFERATIVNE AKTIVNOSTI I STRUKTURE SINTETISANIH JEDINJENJA

Radi uspostavljanja korelacionih odnosa između strukture i antiproliferativne aktivnosti (SAR, engl. structure-activity relationship) ispitivanih jedinjenja, uticaj varijacije funkcionalnih grupa na antitumorsku aktivnost ispitan je upoređivanjem antiproliferativne aktivnosti jedinjenja. Ova aktivnost je kvantitativno izražena kao razlika dekadnih logaritama  $IC_{50}$  vrednosti pojedinih parova jedinjenja za svaku ćelijsku liniju. Negativna vrednost  $\Delta\log(IC_{50})$  pokazuje da analog I ima snažniju antiproliferativnu aktivnost od analoga II, dok pozitivne vrednosti odgovaraju većoj aktivnosti analoga II u odnosu na analog I za datu ćelijsku liniju. Obrada podataka i kreiranje slika je izvršena pomoću programa *Excel*.

Na slici 3.2.2 je prikazana korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti različitih novosintetisanih 5,6-disupstituisanih halogenih derivata. Može se videti da supstitucijom hidroksilne grupe bromom kod bromhidrina **6** dolazi do povećanja antiproliferativne aktivnosti kod četiri ćelijske linije. Izuzetak je kod PC-3 za koju nema promene i A549 gde se aktivnost smanjuje. Do promene aktivnosti prema PC-3 ćelijskoj liniji ne dolazi ni supstitucijom broma sa drugima halogenima, a ni izomerizacijom. Supstitucijom broma kod bromhidrina **6** hlorom jedinjenje postaje aktivno samo prema ćelijama karcinoma kolona, dok supstitucijom fluorom dolazi do povećanja aktivnosti i prema dve ćelijske linije karcinoma dojke. Izomerizacijom ovog jedinjenja jedino se povećava aktivnost prema ER+ ćelijama karcinoma dojke. Upoređivanjem aktivnosti hlorhidrina **12** i fluorhidrina **16** vidi se da je hlorhidrin za razliku od fluorhidrina aktivan prema ćelijama karcinoma grlića materice. Supstitucijom hidroksilne grupe hlorom kod hlorhidrina **12** povećava se antiproliferativna aktivnost prema svim ćelijskim linijama sem MCF-7 i PC-3 na koje jedinjenje ostaje neaktivno. SAR analizom dihlorida **13** i dibromida **8** dolazi se do zaključka da oba nisu aktivna prema PC-3 ćelijama, a da je dihlorid potentniji prema ćelijama karcinoma kolona i pluća.



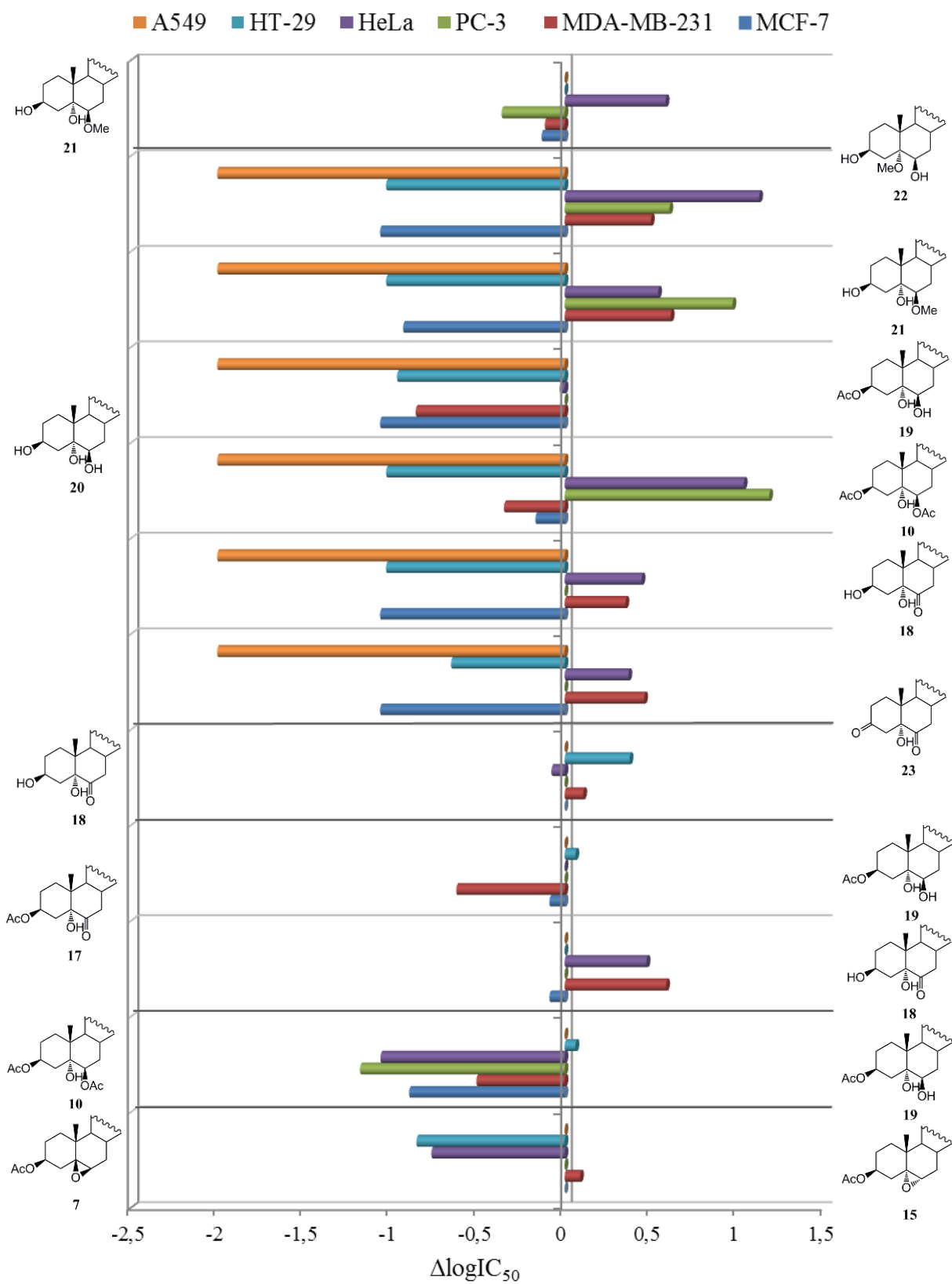
Slika 3.2.2. Korelacioni odnosi 5,6-disupstituisanih halogenih derivata

Na slici 3.2.3. je prikazana korelacija između strukture i antiproliferativne aktivnosti kiseoničnih derivata. Može se zapaziti da  $5\beta,6\beta$ -epoksid **7** pokazuje bolju aktivnost prema ćelijama kancera grlića materice i kolona od  $5\alpha,6\alpha$ -epoksida **15**, dok je nešto malo slabije aktivan od njega prema ćelijama ER– kancera dojke. Uklanjanjem acetoksi zaštite hidroksilne grupe jedinjenja **17** povećava se aktivnost prema HeLa i MDA-MB-231 ćelijama, a gubi prema MCF-7 ćelijskoj liniji. Međutim redukcijom C6 keto grupe se dobija jedinjenje **19** kod koga se gubi aktivnost prema ER+ i ER– kancerima dojke, a zanemarljivo malo povećava prema HT-29 ćelijskoj liniji. Dalje je izvršeno upoređivanje aktivnosti jedinjenja **18** sa njegovim C3 oksidovanim derivatom **23**. Može se videti da oksidacija hidroksilne grupe u položaju C3 dovodi

do povećanja aktivnosti prema MDA-MB-231 i HT-29 ćelijama, a blagog smanjenja prema HeLa ćelijama. Međutim 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi-6-keto derivat **18**, kao i 5 $\alpha$ -hidroksi-3,6-dion **23** su pokazali bolju aktivnost od 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivata **20** prema dve ćelijske linije kancera i to ER– kanceru dojke i kanceru grlića materice. Triol **20** je od njih značajno aktivniji na tri ćelijske linije: ER+ karcinom dojke, karcinom kolona i pluća. Prema ove tri ćelijske linije je bolju antiproliferativnu aktivnost pokazao i u odnosu na svoje acetilovane derivate **10** i **19** i metilovane derivate **21** i **22**. U odnosu na acetilovane derivate potentniji je i prema MDA-MB-231 ćelijskoj liniji, dok se samo diacetat **10** pokazao boljim prema PC-3 i HeLa ćelijama. U odnosu na jedinjenje **19**, diacetat **10** je aktivan prema četiri ćelijske linije: MCF-7, MDA-MB-231, PC-3 i HeLa. Metoksi derivati **21** i **22** su pokazali bolju aktivnost od 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triola **20** na tri ćelijske linije: MDA-MB-231, PC-3 i HeLa. S druge strane 6 $\beta$ -metoksi derivat **21** ima bolju aktivnost od 5 $\alpha$ -metoksi derivata **22** prema ćelijama ER+ i ER– karcinoma dojke i karcinoma prostate, dok slabiju antiproliferativnu aktivnost ispoljava prema ćelijama karcinoma grlića materice.

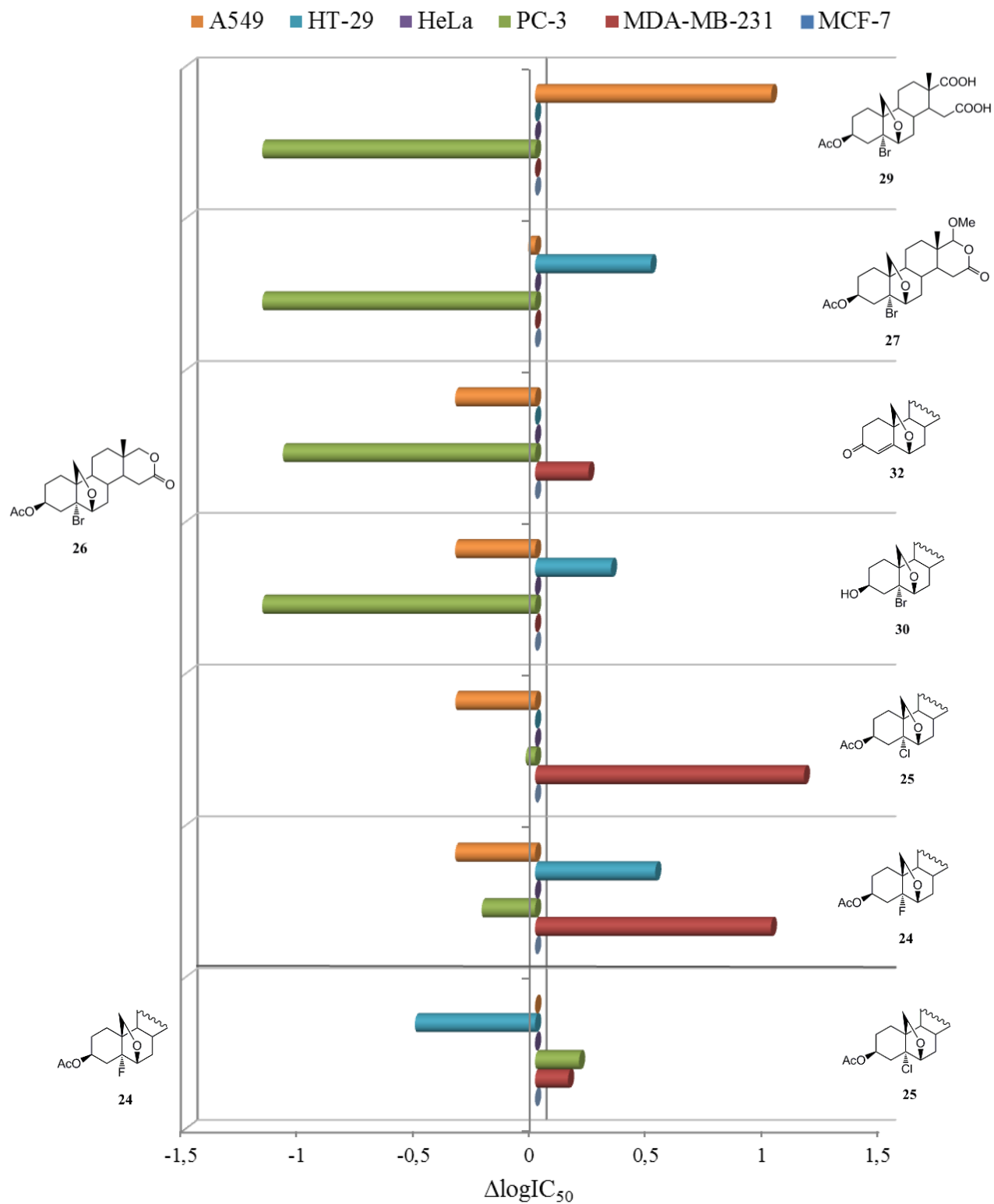
Korelacioni odnosi između antiproliferativnih aktivnosti i strukture različitih 6,19-epoksi derivata su prikazani na slici 3.2.4. Zamenom atoma fluora hlorom na C5 kod jedinjenja **24** gubi se antiproliferativna aktivnost prema ćelijama karcinoma kolona dok se povećava prema MDA-MB-231 i PC-3 ćelijskim linijama. Upoređivanjem antiproliferativne aktivnosti 5 $\alpha$ -bromo-6,19-epoksi derivata **26** sa odgovarajućim 5 $\alpha$ -fluoro (**24**) i 5 $\alpha$ -hloro (**25**) derivatima dolazi se do zaključka da bromni derivat pokazuje bolju aktivnost prema PC-3 i A549, dok druga dva derivata inhibiraju i rast ćelija ER– karcinoma dojke, a fluorni derivat i ćelija karcinoma kolona. Deacetilovanjem hidroksilne grupe jedinjenja **26** dobija se jedinjenje **30** koje je manje aktivno prema PC-3 i A549 ćelijskim linijama, ali je potentnije prema HT-29 ćelijskoj liniji. Upoređivanjem aktivnosti jedinjenja **26** sa 4-en-3-onskim derivatom **32** vidi se takođe smanjenje aktivnosti prema ćelijama karcinoma prostate i pluća, a povećanje aktivnosti prema ćelijama ER– karcinoma dojke. Do značajnog smanjenja aktivnosti jedinjenja **26** prema ćelijama karcinoma prostate dolazi i nakon strukturnih promena u D prstenu. S druge strane, uvođenjem metoksi grupe u položaj C17 $\alpha$  $\beta$  (jedinjenje **27**) jedinjenje postaje aktivno prema ćelijama karcinoma kolona, a do značajnog povećanja aktivnosti prema ćelijama karcinoma pluća dolazi otvaranjem laktona i oksidacijom hidroksilne grupe do karboksilne uz nastajanje dikiseline **29**.

Ispitivanjem korelacije između strukture i antiproliferativne aktivnosti 6 $\beta$ ,19-epoksi derivata **24-26** i njihovih 5 $\alpha$ -halo-6 $\beta$ -hidroksi prekursora **16**, **12** i **6** respektivno zapaža se da formiranje etarskog mosta dovodi do pojave aktivnosti prema ćelijama karcinoma prostate (slika 3.2.5). U slučaju 5 $\alpha$ -hloro derivata javlja se i aktivnost prema ćelijama ER– karcinoma dojke, a gubi prema HeLa i HT-29 ćelijskoj liniji. Aktivnost prema MCF-7 i HT-29 ćelijama se smanjuje pri transformaciji 5 $\alpha$ -fluor-6 $\beta$ -hidroksi derivata **16** u epoksid **24**, dok se inhibicija proliferacije MCF-7, MDA-MB-231, HeLa i A549 ćelija gubi pri prevođenju bromhidrina **6** u 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksi derivat **26**.

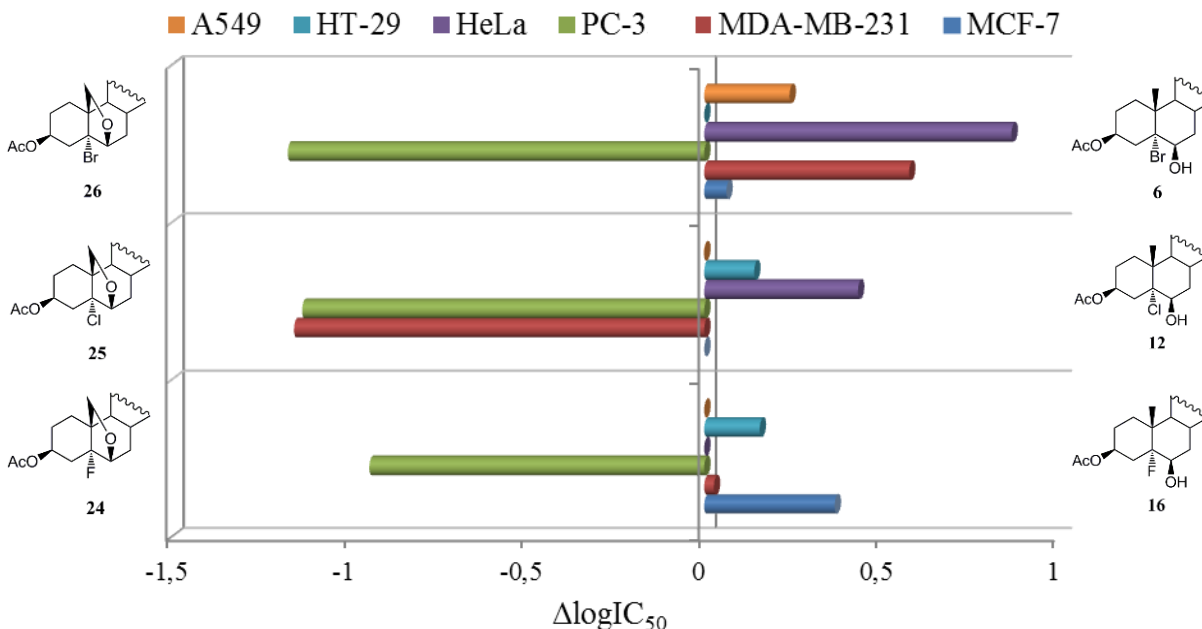


Slika 3.2.3. Korelacioni odnosi 5,6-dikiseoničnih derivata



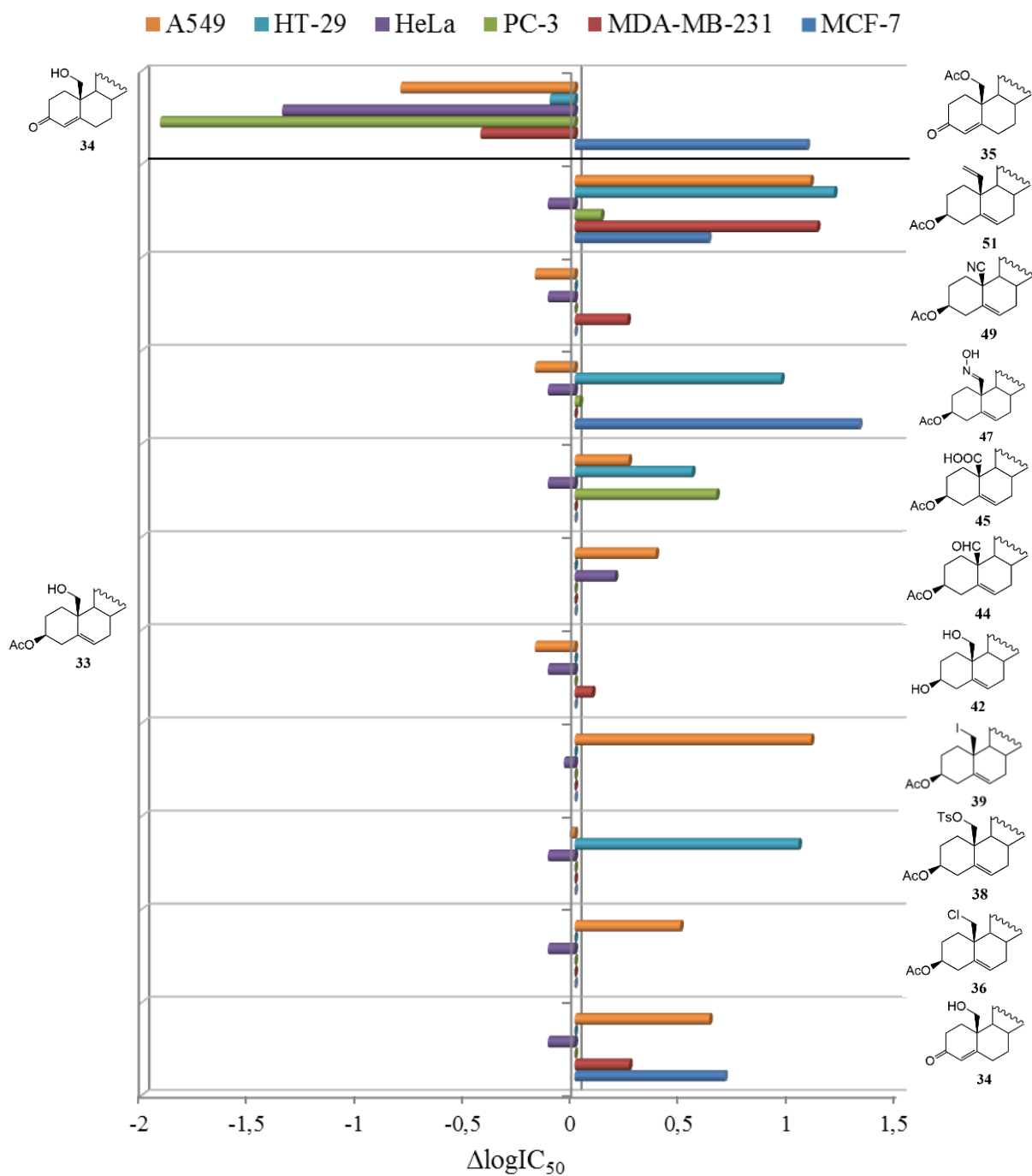


Slika 3.2.4. Korelacioni odnosi 6,19-epoksi derivata



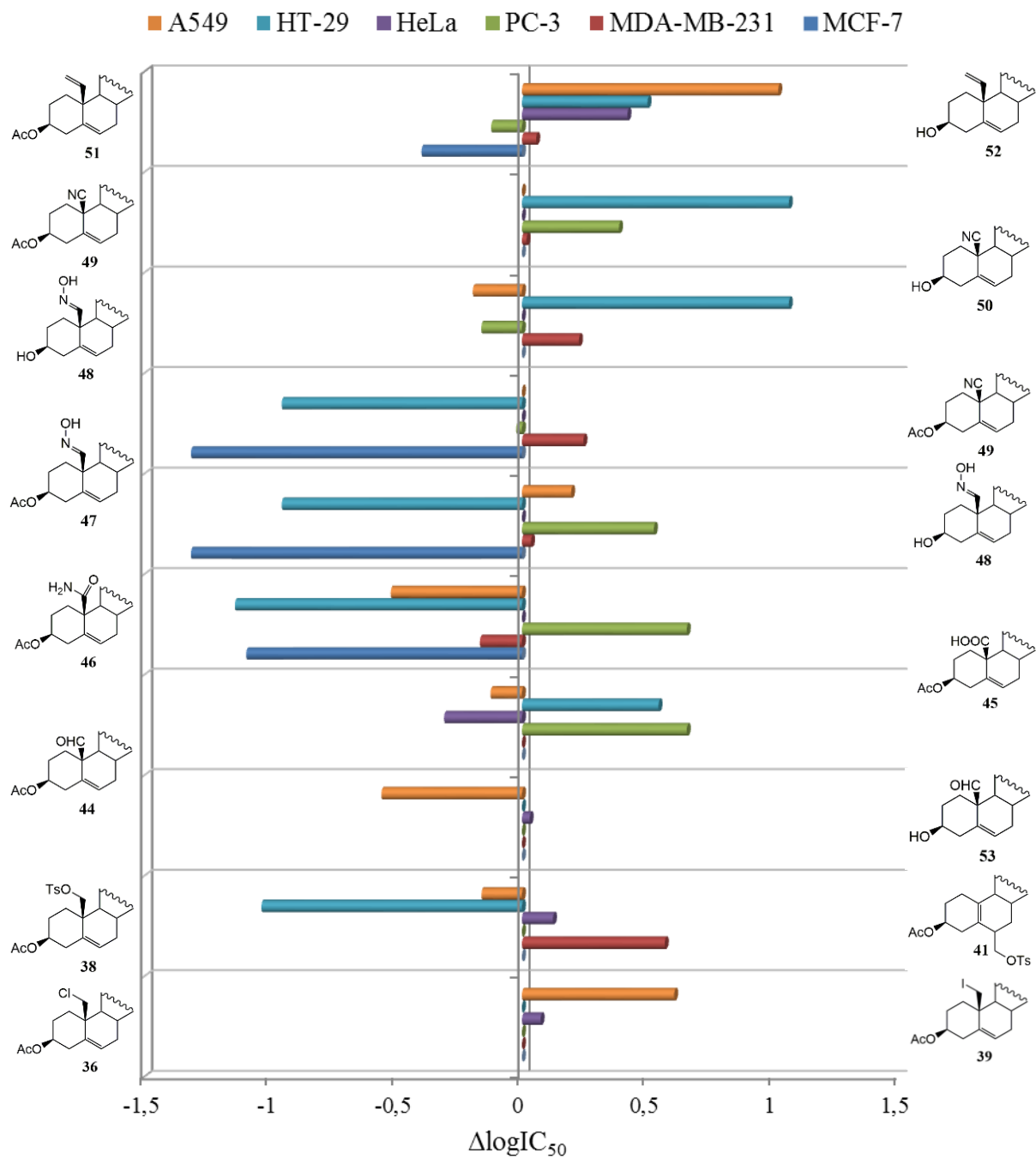
Slika 3.2.5. Korelacioni odnosi 6,19-epoksi jedinjenja i halohidrina

Korelacioni odnosi između strukture i aktivnosti 19-alkohola i drugih 19-derivatizovanih steroidnih jedinjenja su prikazani na slici 3.2.6. Može se zapaziti da uvođenjem 4-en-3-on sistema kod alkohola **33** dolazi do pojave aktivnosti na tri ćelijske linije: ER<sup>+</sup> i ER<sup>-</sup> karcinom dojke i karcinom pluća, a gubitka prema karcinomu grlića materice. Acetilovanjem C19-hidroksilne grupe jedinjenja **34** se povećava antiproliferativna aktivnost samo na MCF-7 ćelijsku liniju. Supstitucijom hidroksilne grupe hlorom ili jodom smanjuje se aktivnost prema HeLa ćelijama, a povećava prema ćelijama karcinoma pluća. Na obe navedene ćelijske linije se aktivnost smanjuje tozilovanjem hidroksilne grupe. Međutim 19-toziloksi derivat **38** ima značajno veću antiproliferativnu aktivnost od 19-alkohola **33** prema ćelijama karcinoma kolona. 3β,19-Dihidroksi derivat **42** poseduje aktivnost prema MDA-MB-231 ćelijama, a gubi prema HeLa i A549 u odnosu na 3β-acetoksi-19-hidroksi jedinjenje **33**. Do povećanja inhibicije rasta ove dve ćelijske linije dolazi oksidacijom hidroksilne grupe jedinjenja **33** do aldehidne. Karboksilna kiselina **45** je potentnija od alkohola **33** na tri ćelijske linije: PC-3, HT-29 i A549, dok ima slabiju aktivnost na ćelije karcinoma grlića materice. 19-Oksim **47** i 19-nitril **49** imaju manju aktivnost prema HeLa i A549 ćelijama u odnosu na 19-alkohol **33**. Međutim 19-oksim **47** ima znatno bolju aktivnost od alkohola **33** prema ćelijama ER<sup>+</sup> karcinoma dojke i karcinoma kolona, dok 19-nitril **49** prema MDA-MB-231 ćelijama. 19-Metilidenski derivat **51** ima bolju antiproliferativnu aktivnost od 19-alkohola **33** prema svim testiranim ćelijskim linijama sem ćelija karcinoma grlića materice.



Slika 3.2.6. Korelacioni odnosi 19-alkohola i drugih 19-derivatizovanih jedinjenja

Korelacioni odnosi između odabranih C19 derivata su prikazana na slici 3.2.7. Sa slike se vidi da supstitucijom hlora jodom u položaju C19 dolazi do povećanja aktivnosti prema HeLa i A459 ćelijama. Migracijom toziloksimetil grupe iz položaja C10 u položaj C6 praćene izomerizacijom dvostruke veze iz položaja 5,6 u položaj 5,10, dolazi do povećanja aktivnosti prema MDA-MB-231 i HeLa ćelijskim linijama, a smanjenja prema HT-29 i A549. Aldehid **53** sa OH grupom u položaju C3 je manje aktivan prema ćelijama karcinoma pluća i gotovo jednako aktivan prema ćelijama karcinoma grlića materice od svog acetatnog analoga **44**. Kod oksima **47** dolazi do značajnog smanjenja antiproliferativne aktivnosti prema ćelijama ER+ karcinoma dojke i karcinoma kolona, a povećanja prema ćelijama karcinoma prostate i pluća nakon uklanjanja acetoksi zaštite. Deprotekcijom hidroksilne grupe na C3 kod nitrila **49** dolazi do povećanja aktivnosti prema ćelijama karcinoma prostate i kolona, dok kod 19-metilidenskog derivata **51** dolazi do smanjenja inhibicije rasta MCF-7 i PC-3 ćelija, a povećanja kod MDA-MB-231, HeLa, HT-29 i A549. Oksidacijom aldehida **44** do kiseline **45** javlja se antiproliferativna aktivnost na ćelije karcinoma prostate i kolona, a smanjuje se aktivnost na ćelije karcinoma grlića materice i pluća. Amidacijom ove kiseline se gubi jedino aktivnost prema ćelijama karcinoma prostate. Dehidratacijom oksima **47** i **48** se povećava aktivnost prema ćelijama ER– karcinoma dojke, a kod jedinjenja **48** i prema ćelijama karcinoma kolona. Antiproliferativna aktivnost prema MCF-7 i HT-29 ćelijskim linijama se smanjuje dehidratacijom oksima **47**, dok do smanjenja aktivnosti na PC-3 i A459 ćelije dolazi dehidratacijom jedinjenja **48**.



Slika 3.2.7. Korelacioni odnosi odabranih C19 derivatizovanih steroida

### 3.2.4. VIRTUELNI SKRINING ODABRANIH NOVOSINTETISANIH STEROIDNIH DERIVATA

U cilju utvrđivanja molekulskih osnova antiproliferativne aktivnosti izvršen je virtuelni skrining kod odabranih jedinjenja. Virtuelni skrining ili *in silico* skrining predstavlja analizu velikih hemijskih baza podataka u cilju identifikacije potencijalnih lekova, a upotrebom tehnika kompjuterske hemije. Tehnike virtuelnog skrininga mogu biti jednostavne i tada se zasnivaju na identifikaciji specifičnih delova strukture ili upoređivanju molekulskih osobina, dok one kompleksne se zasnivaju na metodi dokinga koja ima za cilj da utvrdi mogućnost vezivanja molekula u aktivnom centru enzima ili receptora.

U ovom radu virtuelni skrining je izvršen pomoću tri programa: *Molinspiration* [314], *ChemMapper3D* [317] i *SwissTargetPrediction* [318]. U ovim programima se virtuelni skrining vrši na pretpostavci da mali molekuli sličnih strukturnih karakteristika poseduju slične biološke aktivnosti i interaguju sa istim proteinima. Program *Molinspiration* poseduje šest prethodno kreiranih modela za šest važnih klasa lekova sa čijom strukturom se upoređuje struktura ispitivanog molekula. To su: GPCR ligandi, modulatori jonskih kanala, inhibitori kinaze, ligandi nuklearnih receptora, inhibitori proteaze i enzima. Nakon skrininga molekula broj koji se dobija predstavlja rezultat molekulske aktivnosti i njegova vrednost se kreće od -3 do 3. Očekivano veća vrednost ovog rezultata predstavlja veću verovatnoću za aktivnost.

Za razliku od njega *ChemMapper3D* upoređuje strukturu ispitivanog jedinjenja sa bazom podataka hemijskih struktura i njihovim biološkim aktivnostima i proteinima za koje se vezuju. Virtuelni skrining jedinjenja u ovoj tezi je vršen poređenjem 3D strukture novosintetisanih jedinjenja sa strukturama u DrugBank bazi podataka [319, 320], koja sadrži 11037 struktura povezanih sa 4913 proteina.

*SwissTargetPrediction* kombinuje 2D i 3D sličnost testiranog molekula sa preko 280000 aktivnih jedinjenja koji interaguju sa preko 2000 proteina iz 5 vrsta organizama: *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Bos Taurus* i *Equus caballus*. U ovom radu su testovi vršeni samo na grupu humanih proteina. Rezultat koji predstavlja procenu sličnosti testiranog molekula sa 2D i 3D strukturama poznatih liganada iznosi od 0 do 1, i predstavlja verovatnoću vezivanja za dati protein. Vrednost 1 imaju isključivo poznati ligandi datog proteina. Jedan od rezultata je i broj liganada koji su po svojoj 2D ili 3D strukturi slični testiranom jedinjenju. Takođe u izveštaju koji se dobija pri analizi se nalazi pie dijagram gde je prikazana distribucija identifikovanih potencijalnih proteinskih meta u klase.

Pri izboru jedinjenja za virtuelni skrining posmatrana je  $IC_{50}$  vrednost i testirana su jedinjenja kod kojih je  $IC_{50}$  vrednost za ćelijske linije kancera bila manja od 5. Selekcija jedinjenja za ovu analizu nije vršena samo na osnovu  $IC_{50}$  vrednosti nego i na osnovu njihove

selektivnosti. Pošto su sva sintetisana jedinjenja, sem derivata **30**, pokazala selektivnost prema ćelijama testiranih karcinoma, odnosno nisu inhibirala proliferaciju zdravih ćelija fibroblasta pluća, posmatrala se selektivnost na pojedine ćelijske linije kancera.

Od 5,6-disupstituisanih steroidnih derivata za virtuelni skrining je izabran 6 $\alpha$ -bromo-5 $\beta$ -hidroksi derivat **9** koji iako nije najpotentniji u ovoj grupi jedinjenja, poseduje dobru antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama estrogen pozitivnog adenokarcinoma dojke (MCF-7). Međutim iako je IC<sub>50</sub> vrednost za ovu ćelijsku liniju 12,90  $\mu$ M, ona nije bila glavni razlog za njegov izbor, već njegova selektivnost. Ovo jedinjenje je potentno samo prema ovoj ćelijskoj liniji dok na ostale testirane ćelijske linije kancera nije pokazao antiproliferativnu aktivnost. Virtuelnim skriningom pomoću *Molinspiration* programa dobijeni rezultati očekivano ukazuju da je ovo jedinjenje odličan potencijalni inhibitor enzima (dobijeni rezultat potencijalne molekulske aktivnosti je 0,50) i ligand nuklearnih receptora (0,68). Precizniji podaci su dobijeni pomoću *ChemMapper3D* i prikazani su u tabeli 3.2.13. Među ovim rezultatima se upravo ističu nuklearni receptori: progesteron, mineralokortikoid i estrogen. *SwissTargetPrediction* izveštaj<sup>2</sup> takođe potvrđuje da su enzimi i receptori najverovatniji proteinski uzročnici ove aktivnosti.

**Tabela 3.2.9.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **9** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Progesteron receptor	P06401	1,259	1
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,259	0,336
Estrogen receptor	P03372	1,221	0,002
3 $\beta$ -Hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tip II	P26439	1,221	0,002
3 $\beta$ -Hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tip I	P14060	1,221	0,002

Među 5,6-disupstituisanim kiseoničnim derivatima se svojom antiproliferativnom aktivnošću posebno istakao 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivat **20** i to pre svega submikromolarnom IC<sub>50</sub> vrednošću za ćelije karcinoma pluća (0,99  $\mu$ M). Ovo jedinjenje je pokazalo selektivnost prema ćelijama kancera, ali ne i na jednu konkretnu ćelijsku liniju. Izuzetno dobru inhibiciju rasta ćelija je pokazao i prema ER<sup>+</sup> kanceru dojke (8,62  $\mu$ M), ER<sup>-</sup> kanceru dojke (13,84  $\mu$ M) i kanceru kolona (9,34  $\mu$ M). Virtuelnim skriningom pomoću *Molinspiration* programa dobijeni rezultati ukazuju da postoji velika verovatnoća da se ovo jedinjenje pokaže kao odličan ligand

<sup>2</sup> *SwissTargetPrediction* izveštaji su dati u Prilogu.

nuklearnih receptora (0,98), inhibitor enzima (0,73) i modulator jonskih kanala (0,54), ali nije zanemarljiva ni mogućnost njegove primene kao GPCR liganda (0,29) i inhibitora proteaze (0,36), što je u skladu sa njegovim širokim spektrom dejstva. Precizniji podaci su dobijeni pomoću *ChemMapper3D* i prikazani su u tabeli 3.2.14. Među ovim podacima se očekivano ističu nuklearni receptori i enzimi što je u skladu sa prethodno dobijenim rezultatima. To su pre svega steroidni receptori i enzimi uključeni u proces steroidogeneze, koji se i ekspresuju u ćelijama karcinoma dojke a čime se može objasniti izuzetna antiproliferativna aktivnost jedinjenja **20** prema ovim ćelijskim linijama. Kada je u pitanju ćelijska linija karcinoma pluća na koju je ovo jedinjenje pokazalo najveću antiproliferativnu aktivnost, ni jedan od navedenih *ChemMapper3D* rezultata nije ekspresovan u ovoj ćelijskoj liniji. Međutim, poznato je da su pojedine protein kinaze ekspresovane [321, 322], što se uklapa u rezultate virtuelnog skrininga pomoću *Molinspiration* i *SwissTargetPrediction* programa koji sa velikom verovatnoćom predviđa inhibitornu aktivnost na različite enzime, pre svega kinaze, za ovo jedinjenje.

**Tabela 3.2.10.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **20** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Estradiol 17 $\beta$ -dehidrogenaza 1	P14061	1,241	1
Progesteron receptor	P06401	1,39	0,657
Estrogen receptor	P03372	1,225	0,656
Nuklear receptor koaktivator 5	Q9HCD5	1,319	0,53
Naftalen 1,2-dioksigenaza podjedinica $\alpha$	P0A110	1,253	0,495
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,39	0,386
Androgen receptor	P10275	1,225	0,385
3 $\beta$ -Hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tip I	P14060	1,231	0,229
6-Deoksieritronolid B hidrosilaza	Q00441	1,231	0,229
ATP sintaza podjedinica $\alpha$ , mitohondrijalna	P25705	1,209	0,158
ATP sintaza podjedinica $\beta$ , mitohondrijalna	P06576	1,209	0,158
Prolaktin receptor	P16471	1,225	0,114
Estrogen receptor $\beta$	Q92731	1,22	0,114
3 $\alpha$ -(ili 20 $\beta$ )-Hidroksisteroid dehidrogenaza	P69167	1,332	0,074
Sulfotransferaza žučnih kiselina	Q06520	1,332	0,074



16,17-Seko dikarboksilna kiselina **29** se među 6,19-epoksi derivatima ističe izuzetnom potentnošću, ali i selektivnošću na ćelije karcinoma pluća ( $IC_{50}$  4,38  $\mu$ M). Virtuelnim skriningom pomoću *Molinspiration* programa je utvrđeno da ona pokazuje podjednako dobar potencijal (0,39) za inhibitornu aktivnost na enzime i vezivanje za nuklearne receptore. S obzirom na kompleksnost strukture jedinjenja **29**, za unos strukture u *ChemMapper3D* nije korišćen ponuđeni *JSME Molecular Editor* već 3D struktura modelovana polazeći od kristalne strukture jedinjenja **6** pomoću programa *Avogadro* i uneta u obliku mol2 fajla. U tabeli 3.2.15 su prikazani rezultati *ChemMapper3D* virtuelnog skrininga. Vidi se preklapanje rezultata dobijenih pomoću oba programa, ali kao i u prethodnom slučaju trebalo bi detaljnije utvrditi poreklo antiproliferativne aktivnosti, za koju se može pretpostaviti da potiče od antienzimatske. Na osnovu rezultata *SwissTargetPrediction* programa zaključuje se da je to pre svega inhibitorno dejstvo na kinaze, kojima pripada 33% enzima sa čijim ligandima je jedinjenje **29** pokazalo strukturnu sličnost.

**Tabela 3.2.11.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **29** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Estrogen receptor	P03372	1,362	1
Estradiol 17 $\beta$ -dehidrogenaza 1	P14061	1,239	0,465
3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tipa I	P14060	1,362	0,266
Progesteron receptor	P06401	1,28	0,246
3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tipa II	P26439	1,362	0,074
Estrogen receptor $\beta$	Q92731	1,251	0,072
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,28	0,068
Androgen receptor	P10275	1,219	0,063
Karboksipeptidaza A1	P15085	1,262	0,054

19-Acetoksi-4-en-3-on **35** je pokazao izuzetnu antiproliferativnu aktivnost i selektivnost na ćelije ER+ kancera dojke ( $IC_{50}$  1,71  $\mu$ M). Rezultati procene biološke aktivnosti pomoću *Molinspiration* programa ukazuju na nuklearne receptore (0,69) i enzime (0,51) kao moguće uzročnike ove aktivnosti. U tabeli 3.2.16 su dati rezultati virtuelnog skrininga pomoću *ChemMapper3D* koji predviđaju vezivanje za steroidne receptore: progesteron, estrogen, androgen i mineralokortikoidne receptore. Međutim *SwissTargetPrediction* program predviđa pre svega inhibitornu aktivnost na enzime. Kao najverovatniji enzim za koji se vezuje jedinjenje

**35** predviđena je aromataza čijih 189 liganada pokazuje sličnost u 3D strukturi, a 122 u 2D strukturi sa testiranim jedinjenjem, i ima verovatnoću od čak 0,83. Iako postoji neslaganje u rezultatima dobijenim pomoću ova dva programa, objašnjenje za antiproliferativnu aktivnost jedinjenja **35** daju oba. U ovoj ćelijskoj liniji su ekspresovani i steroidni receptori i enzim aromataza.

**Tabela 3.2.12.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **35** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Progesteron receptor	P06401	1,350	1,0
Estrogen receptor	P03372	1,349	0,713
Estradiol 17 $\beta$ -dehidrogenaza 1	P14061	1,453	0,374
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,350	0,191
Androgen receptor	P10275	1,264	0,188
Nuklearni receptor koaktivator 5	Q9HCD5	1,261	0,167
3 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta$ 5->4-izomeraza tipa I	P14060	1,281	0,166
Prostaglandin G/H sintaza 2	P35354	1,237	0,162
Hemoglobin podjedinica $\alpha$	P69905	1,225	0,160
Stanozolol vezujući protein (STBP)	-	1,208	0,156

5,19-Ciklo derivat **37** je pokazao značajnu antiproliferativnu aktivnost na dve ćelijske linije: karcinom pluća ( $IC_{50}$  4,41  $\mu$ M) i kolona ( $IC_{50}$  1,78  $\mu$ M). Ovo jedinjenje je pokazalo i umerenu aktivnost prema ćelijama ER– karcinoma dojke i karcinoma grlića materice. *Molinspiration* predviđa njegovo vezivanje za nuklearne receptore (0.69) i inhibitornu aktivnost na enzime (0,50), a nešto slabiju aktivnost prema GPCR ligandu i modulatoru jonskih kanala. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima dobijenim *ChemMapper3D* i *SwissTargetPrediction* programom (tabela 3.2.17). Među identifikovanim potencijalnim proteinima odgovornim za aktivnost jedinjenja **37** se ne nalaze oni ekspresovani u ovim ćelijskim linijama [323, 324].

**Tabela 3.2.13.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **37** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Estrogen receptor	P03372	1,395	1,0
Progesteron receptor	P06401	1,451	0,758
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,451	0,597
Prostaglandin G/H sintaza 2	P35354	1,278	0,477
Nuklearni receptor koaktivator 5	Q9HCD5	1,389	0,251
Stanozolol vezujući protein (STBP)	-	1,308	0,235
3β-hidroksisteroid dehidrogenaza/Δ5->4-izomeraza tipa I	P14060	1,344	0,233

19-Amid **46** je pokazao izuzetnu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma kolona (IC<sub>50</sub> 2,08 μM), ali i ćelijama ER+ karcinoma dojke (IC<sub>50</sub> 8,01 μM) i karcinoma pluća (IC<sub>50</sub> 11,08 μM). Prema *Molinspiration* programu ovo jedinjenje je potencijalni ligand nuklearnih receptora (0,51), a slab inhibitor enzima (0,49). Rezultati virtuelnog skrininga urađenog pomoću *ChemMapper3D* su prikazani u tabeli 3.2.14 i u skladu su sa prethodno dobijenim rezultatima. Međutim *SwissTargetPrediction* kao rezultat daje najveći potencijal inhibitorne aktivnosti na enzime i to pre svega aromatazu što može da objasni njegovu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama ER+ karcinoma dojke.

**Tabela 3.2.14.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **46** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Nuklearni receptor koaktivator 5	Q9HCD5	1,279	1,0
DNA polimeraza κ	Q9UBT6	1,218	0,93
Progesteron receptor	P06401	1,246	0,253
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,246	0,253

19-Oksimino derivat **47** ima izuzetnu antiproliferativnu aktivnost na ćelije ER+ karcinoma dojke (IC<sub>50</sub> 4,83 μM), ali nije zanemarljiva ni aktivnost na HT-29 ćelijsku liniju (IC<sub>50</sub> 11,08 μM). Na osnovu *Molinspiration* predviđanja može se pretpostaviti da ovo jedinjenje svoju aktivnost duguje antienzimatskoj aktivnosti (0,54), ili u manjem obimu vezivanju za nuklearne

receptore (0,48). Među rezultatima virtuelnog skrininga pomoću *SwissTargetPrediction* programa, enzim aromataza objašnjava aktivnost ovog jedinjenja na MCF-7 ćelijsku liniju i u skladu je sa *Molinspiration* rezultatima.

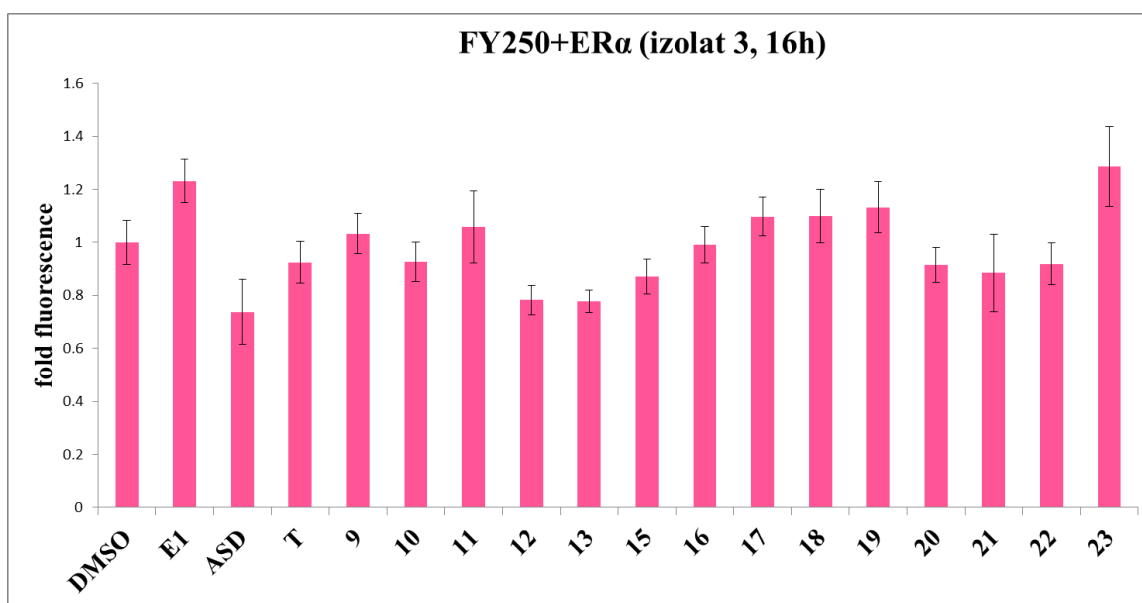
Na kraju, 19-metiliden derivat **52** je pokazao izuzetnu antiproliferativnu aktivnost na čak tri tumorske ćelijske linije: MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 6,64 μM), HT-29 (IC<sub>50</sub> 1,99 μM) i A549 (IC<sub>50</sub> 0,50 μM). Prema *Molinspiration* prediktoru on je potencijalni ligand nuklearnih receptora (1,02), inhibitor enzima (0,69) i proteaze (sa nešto manjom verovatnoćom 0,22). U skladu sa ovim su i rezultati dobijeni *ChemMapper3D* programom, ali i pomoću *SwissTargetPrediction* programa (tabela 3.2.19). Međutim ovi rezultati ukazuju na potencijal vezivanja jedinjenja **52** za ER i enzim aromatazu što objašnjava slabu antiproliferativnu aktivost prema MCF-7 ćelijama (IC<sub>50</sub> 60,45 μM). Među potencijalnim proteinskim metama se ne javljaju do sada identifikovani proteini ekspresovani u A549 i HT-29 ćelijskim linijama.

**Tabela 3.2.15.** Rezultati virtuelnog skrininga za jedinjenje **37** pomoću *ChemMapper3D*

Protein	UniProt	sličnost	rezultat
Estrogen receptor	P03372	1,287	1,0
Mineralokortikoid receptor	P08235	1,341	0,694
Progesteron receptor	P06401	1,341	0,694
Nuklearni receptor koaktivator 5	Q9HCD5	1,286	0,414
Estradiol 17-β-dehidrogenaza 1	P14061	1,339	0,412
3β-hidroksisteroid dehidrogenaza/Δ5->4-izomeraza tipa I	P14060	1,254	0,410

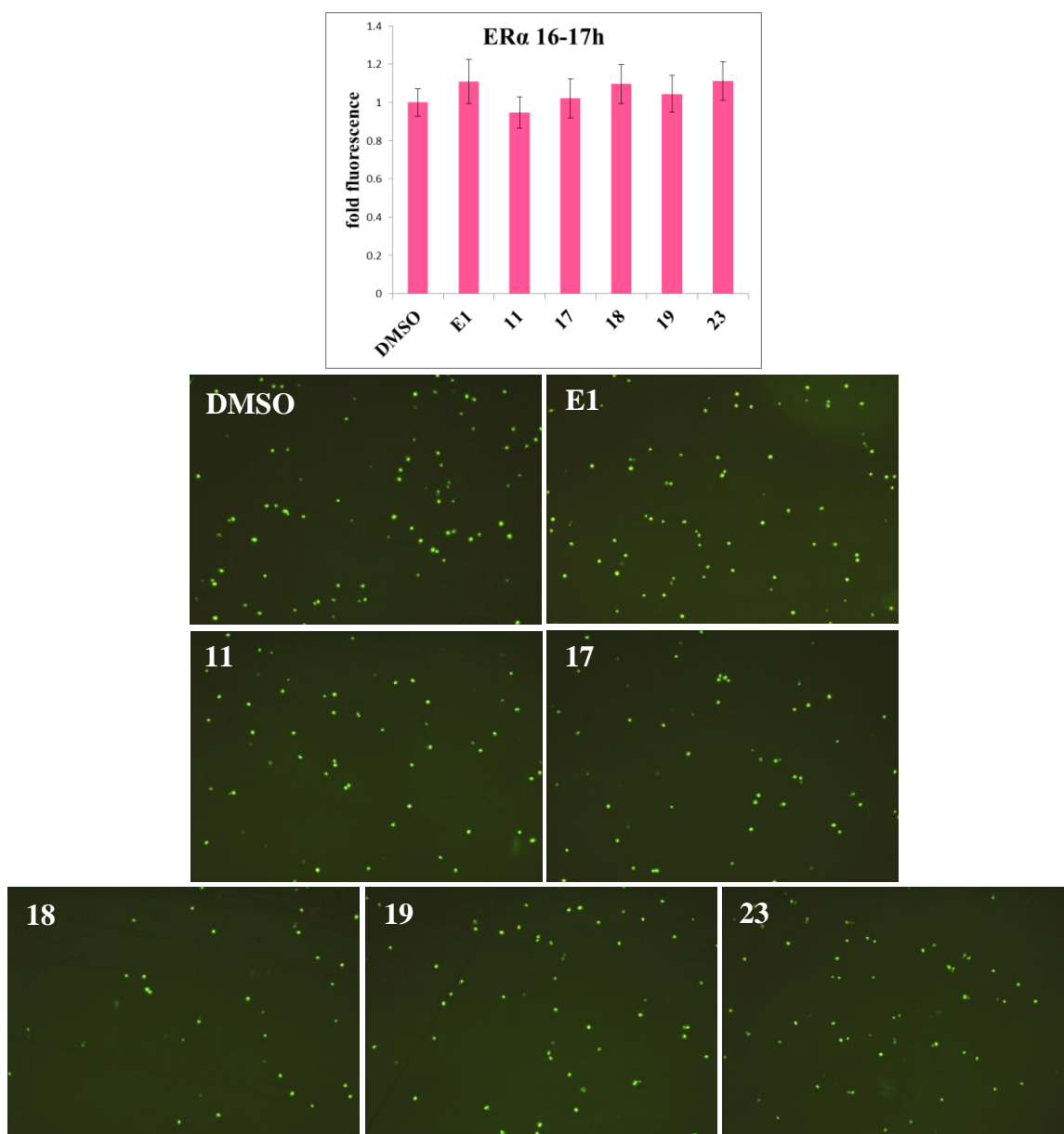
### 3.2.5. ISPITIVANJE VEZIVANJA SINTETISANIH JEDINJENJA ZA STEROIDNE RECEPTORE

S obzirom da sva sintetisana jedinjenja poseduju steroidnu strukturu, većina značajnu antiproliferativnu aktivnost na različite ćelijske linije kancera i da su jedinjenja za koja je urađen virtelni skrining pokazala potencijal vezivanja za steroidne receptore, u ovom delu rada su izloženi rezultati njihovog *in vitro* ispitivanja vezivanja za steroidne hormonske receptore. Ispitano je vezivanje za estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ), estrogen receptor  $\beta$  (ER $\beta$ ) i androgeni receptor (AR). Test koji je upotrebljen za ove analize je optimizovani netranskripcioni fluorescentni ćelijski test u kvascu *Saccharomyces cerevisiae* [325]. U testovima su korišćeni 10  $\mu$ M rastvori supstanci u 1% DMSO. Kao pozitivne kontrole u testovima estrogenih receptora su korišćeni estron (E1) i estradiol (E2), a negativne androstendion (ASD) i testosteron (T), dok je suprotna upotreba u slučaju androgenih receptora. Da bi se testirala fluorescencija rastvarača kao kontrola je poslužio i DMSO bez liganda. Inkubacija sa dodatim rastvorima liganda i kontrolama je vršena na 23 °C u mraku u toku 14-16 h. Fluorescencija je merena u 96-well formatu fluorimetrom, a za jedinjenja koja su pokazala vezivanje i pomoću fluorescentnog mikroskopa.



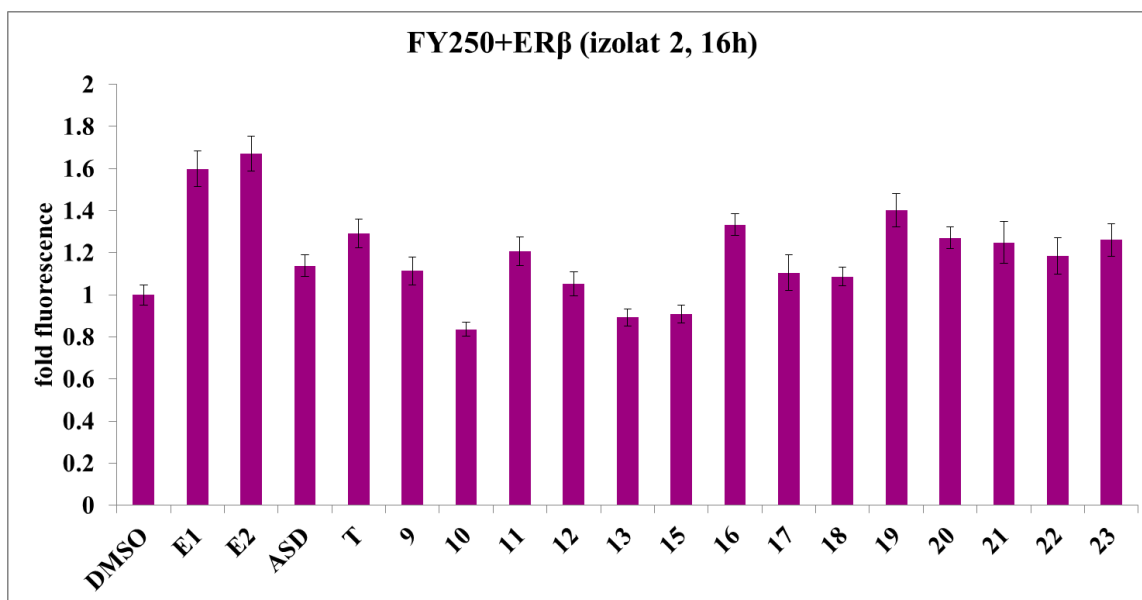
Slika 3.2.8. Rezultati ispitivanja vezivanja A,B-derivatizovanih steroida za ER $\alpha$  merenjem fluorimetrom

Na slici 3.2.8 je prikazano vezivanje većine sintetisanih A,B-derivatizovanih steroidnih D-laktona za ER $\alpha$ . Sa slike se vidi da je najbolje vezivanje za ER $\alpha$  pokazao 5 $\alpha$ -hidroksi-3,6-dion **23**, dok su za nijansu slabija vezivanja od estrona pokazala jedinjenja **11**, **17**, **18** i **19** pa je radi potvrde njihovog vezivanja fluorescencija merena i pomoću fluorescentnog mikroskopa (slika 3.2.9). Od testiranih jedinjenja bolje vezivanje za ER $\alpha$  od estrona (E1) je jedino pokazalo jedinjenja **23**, dok slično vezivanje pokazuje 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -hidroksi-6-on derivat **18**.

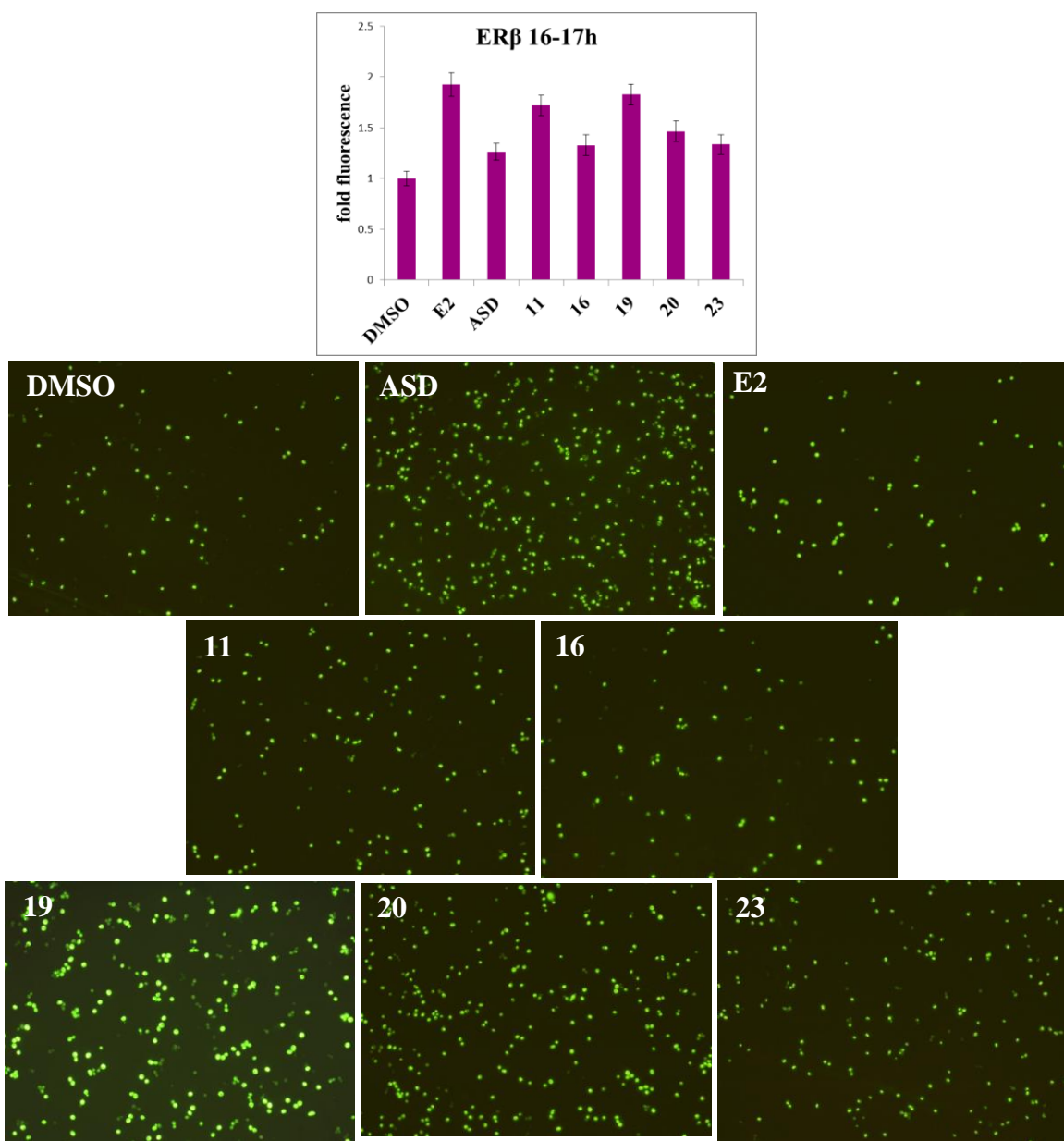


Slika 3.2.9. Rezultati ispitivanja vezivanja A,B-derivatizovanih steroida za ER $\alpha$  merenjem fluorescentnim mikroskopom

Među testiranim A,B-derivatizovanim jedinjenjima najbolja vezivanja za ER $\beta$  su pokazala jedinjenja **11**, **16**, **19**, **20** i **23** (slika 3.2.10). Provera dobijenih rezultata je izvršena meranjem fluorescencije fluorescentnim mikroskopom. Ovi rezultati su pokazali da se za ER $\beta$  najbolje vezuje 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroksi derivat **19**, a nešto slabije 3 $\beta$ -hidroksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromo derivat **11** (slika 3.2.11). Međutim nijedno testirano jedinjenje nije pokazalo bolje vezivanje za ER $\beta$  od njegovog prirodnog liganda estradiola (E2).



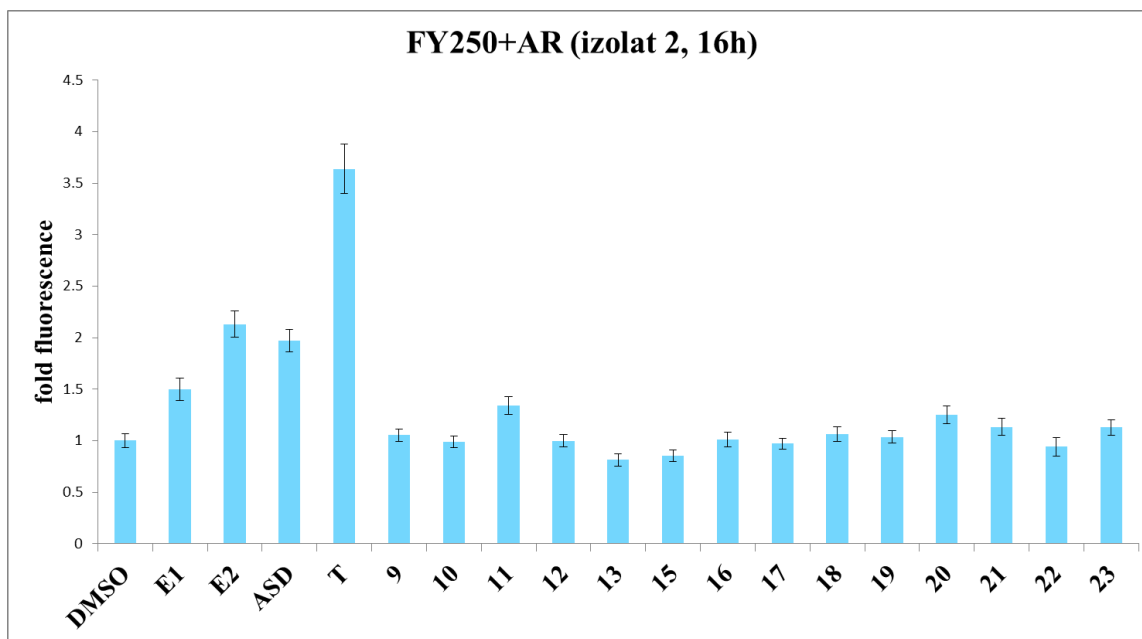
Slika 3.2.10. Rezultati ispitivanja vezivanja A,B-derivatizovanih steroida za ER $\beta$  meranjem fluorimetrom



**Slika 3.2.11.** Rezultati ispitivanja vezivanja A,B-derivatizovanih steroida za ER $\beta$  merenjem fluorescentnim mikroskopom

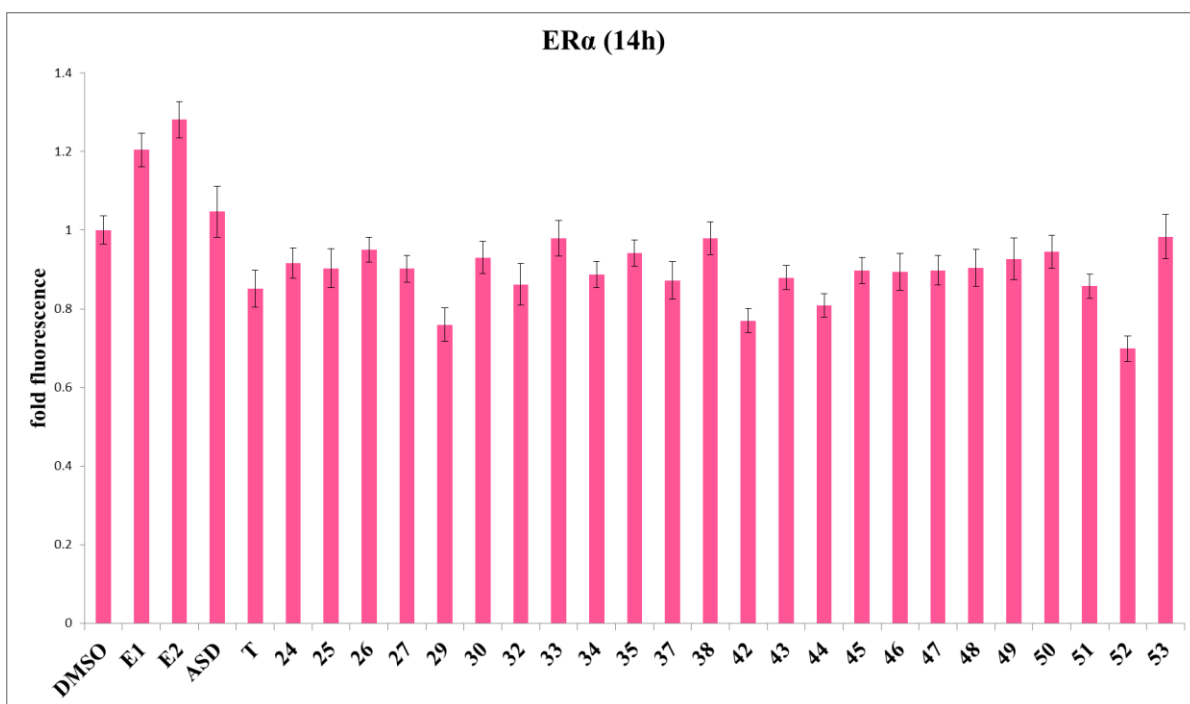
Na slici 3.2.12 su prikazani rezultati vezivanja za androgene receptore A,B-derivatizovanih steroidnih jedinjenja. Analizom ovih rezultata se može zaključiti da nijedno ispitano jedinjenje nije pokazalo značajnije vezivanje za AR u poređenju sa referentnim prirodnim ligandom testosteronom i androstendionom, a samim tim nije ni vršeno merenje fluorescentnim mikroskopom.



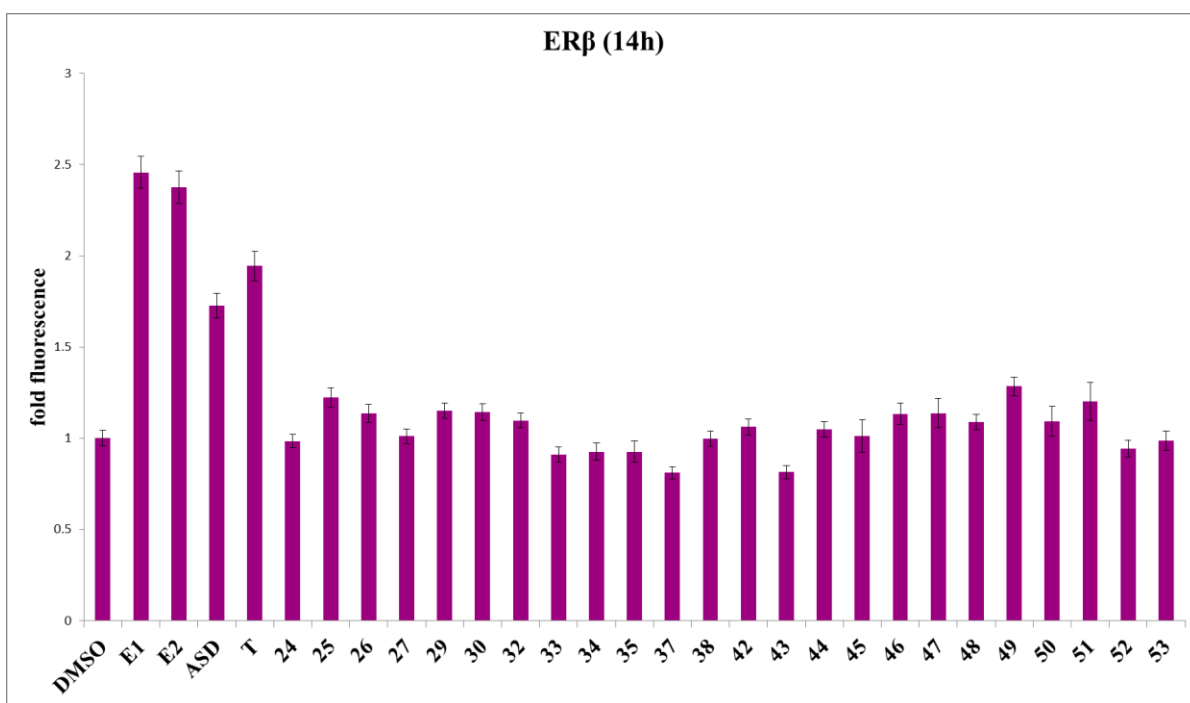


**Slika 3.2.12.** Rezultati ispitivanja vezaivanja A,B-derivatizovanih steroida za AR merenjem fluorimetrom

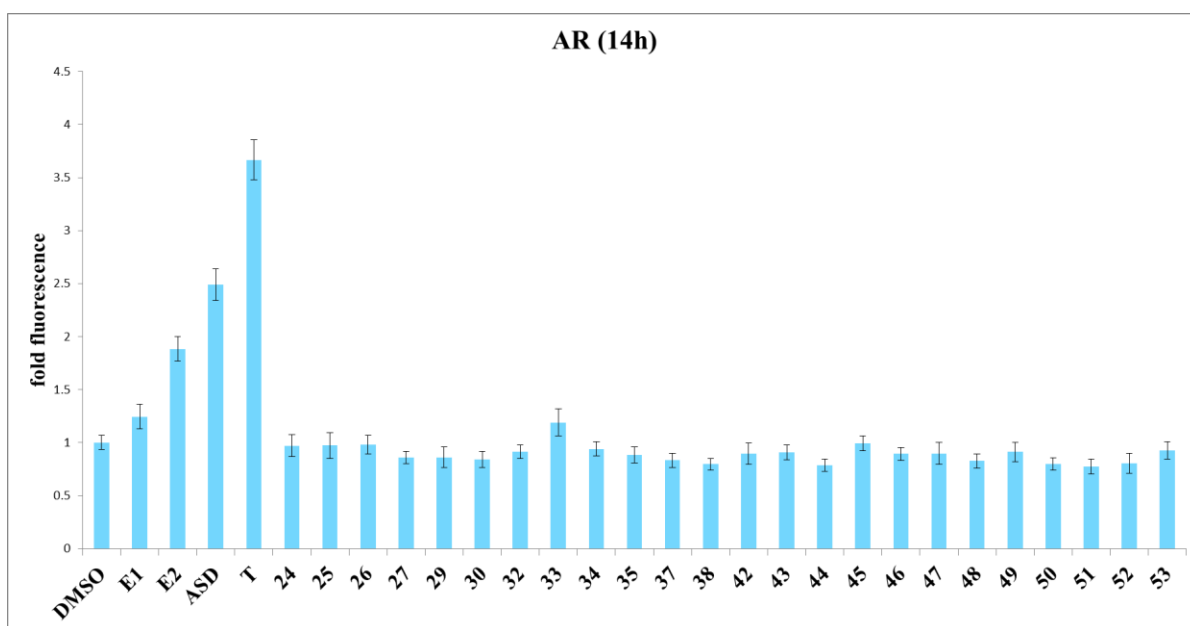
Test vezivanja za  $ER\alpha$ ,  $ER\beta$  i AR je urađen i za  $6\beta,19$ -epokside i 19-derivatizovane steroide. Rezultati su prikazani na slikama 3.2.13, 3.2.13 i 3.2.15. S obzirom da su sva jedinjenja pokazala značajno manji intenzitet vezivanja od referentnih prirodnih liganada testiranih receptora dalja ispitivanja nisu vršena.



Slika 3.2.13. Rezultati ispitivanja vezivanja 6 $\beta$ ,19-epoksida i 19-derivatizovanih steroida za ER $\alpha$  merenjem fluorimetrom



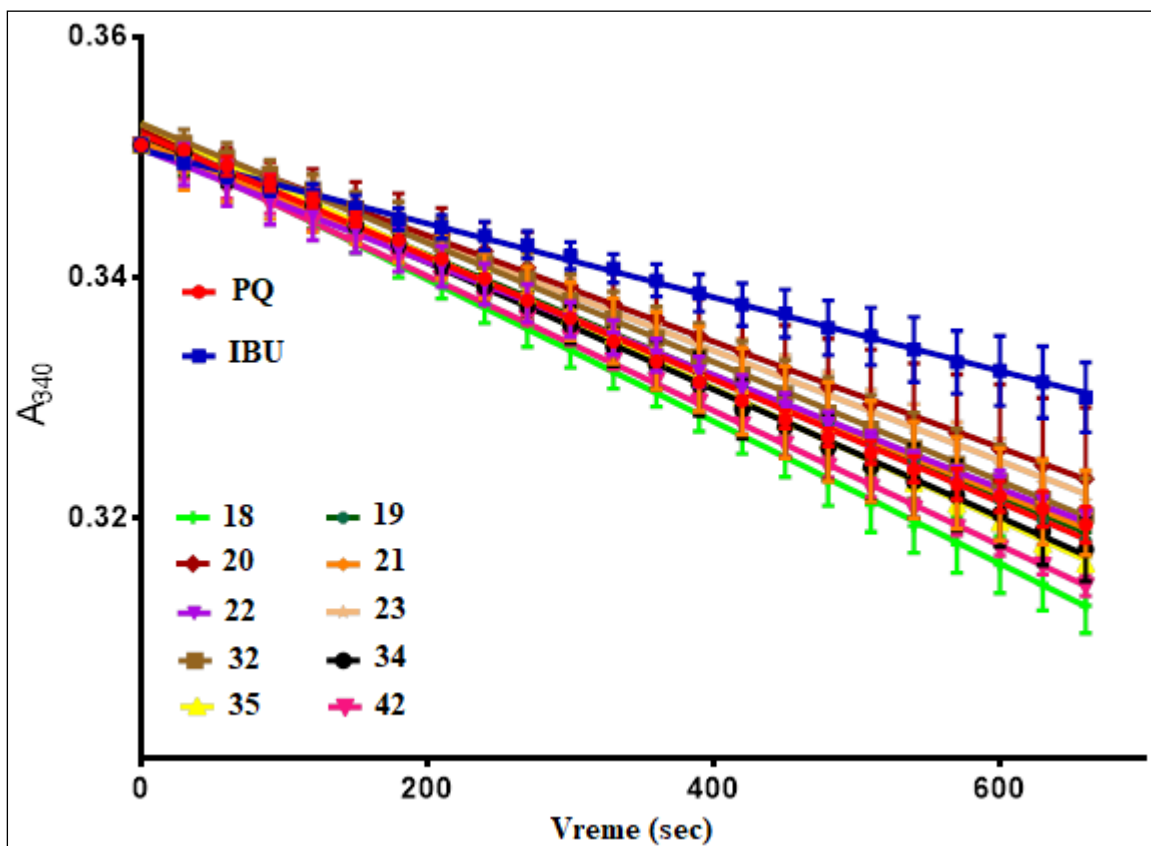
Slika 3.2.14. Rezultati ispitivanja vezivanja 6 $\beta$ ,19-epoksida i 19-derivatizovanih steroida za ER $\beta$  merenjem fluorimetrom



**Slika 3.2.15.** Rezultati ispitivanja vezivanja  $6\beta,19$ -epoksida i 19-derivatizovanih steroida za AR merenjem fluorimetrom

### 3.2.6. ISPITIVANJE INHIBITORNE AKTIVNOSTI ODABRANIH NOVOSINTETISANIH JEDINJENJA NA ODABRANI ENZIM STEROIDOGENEZE

Od enzima steroidogeneze, za ispitivanje inhibitorne aktivnosti odabran je AKR1C3, zbog njegove velike zastupljenosti u različitim tkivima, a pre svega tkivima različitih hormon zavisnih i nezavisnih kancera. Enzim upotrebljen za ovu analizu je izolovan iz bakterije BL21(DE3) *E. Coli*. [326, 327]. Spektrofotometrijskim esejom je merena redukcija pan-AKR1C3 substrata 9,10-fenantrohinona (PQ) rekombinatorskim AKR1C3 u prisustvu kofaktora NADPH [328, 329]. Inhibicija AKR1C3 se prati merenjem apsorbance na 340 nm u toku vremena, što odgovara gubitku NADPH. Kao pozitivna kontrola je korišćen inhibitor enzima AKR1C3 ibuprofen (IBU). Aktivnost ovog enzima je prvo izmerena povećavajući koncentracije PQ od 0 do 25  $\mu\text{M}$  i utvrđeno je da je  $K_m$  0,30  $\mu\text{M}$ . Efekat inhibicije testiranih jedinjenja **18-23**, **32**, **34**, **35** i **42** i IBU-a je meren podešavanjem koncentracije PQ na  $K_m$  vrednost. Rezultati su predstavljeni kao odnos apsorbance na 340 nm i vremena merenja i to linearnom regresijom čiji nagib za PQ predstavlja 100% aktivnost AKR1C3 enzima (slika 3.2.17). Sa slike se vidi da su jedinjenja **19**, **20**, **21**, **22**, **23** i **32** pokazala slabu inhibitornu aktivnost, dok su jedinjenja **18**, **34**, **35** i **42** povećavala aktivnost ovog enzima. Ovi rezultati ukazuju da 5,6-disupstutuisana jedinjenja i 6,19-epoksidi poseduju slabu inhibitornu aktivnost, dok 19-derivatizovana jedinjenja povećavaju aktivnost ovog enzima. Izuzetak je samo 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi derivat **18** koji je pokazao najveći uticaj na povećanje aktivnosti ovog enzima. Najveću, ali ipak zanemarljivu, inhibitornu aktivnost je pokazao 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol **20**.



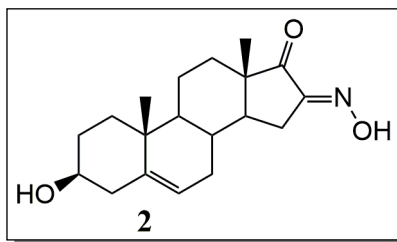
Slika 3.2.16. Inhibicija AKR1C3 odabranim novosintetisanim steroidnim D-homo laktonima



## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

**OPŠTE METODE** – NMR spektri snimljeni su u  $\text{CDCl}_3$ , acetonu- $\text{d}_6$  ili  $\text{DMSO-d}_6$ , a hemijska pomeranja izražena su u ppm ( $\delta$ ) u odnosu na tetrametilsilan (interni standard) ili signale rezidualnih rastvarača. Korišćeni spektrometar je bio Bruker Avance III 400 MHz opremljen krioprobom ( $^1\text{H}$  NMR na 400 MHz, a  $^{13}\text{C}$  na 100 MHz). Protonski NMR spektri su asignirani metodom *homo*-dekuplovanja ili 2D COSY, HSQC, HMBC, NOESY tehnikama.  $^{13}\text{C}$  NMR spektri su asignirani metodom selektivnog dekuplovanja. IR spektri snimljeni su na IR spektrofotometrima NEXUS 670 SP-IR i PerkinElmer Spectrum Two, a položaj traka je dat u  $\text{cm}^{-1}$ . Maseni spektri visoke rezolucije (HRMS) su snimljeni na aparatu Agilent 6210 Time-of-Flight LC/MS Agilent Technologies (ESI+) ili Thermo LTQ Orbitrap XL (HESI). Za rendgenostrukturu analizu je korišćen Oxford Diffraction Gemini S difraktometar. Tačke topljenja su određene na aparatu Boetius (VEB Kombinat Nagema), metodom po Kofler-u i nisu korigovane. Za fleš hromatografiju korišćen je Kieselgel 60 (0,04-0,063 mm, Merck). Tok reakcije je praćen tankoslojnom hromatografijom na aluminijumskim folijama Kieselgel 60 F254 (Merck), a hromatogrami su izazivani sa  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:1) uz naknadno zagrevanje na 120 °C, dok su pojedini posmatrani i UV lampom (254 nm). Ukoliko nije posebno naglašeno,  $R_f$  vrednosi se odnose na eluent korišćen za hromatografsko prečišćavanje. Mase su merene na tehničkoj vagi Sartorius TE512-OCE i analitičkoj vagi Sartorius Extend ED224S-OCE. Rastvarači su uklanjani rotacionim vakuum uparivačem IKA RV 10 basic. Za sintezu su korišćene komercijalno dostupne hemikalije p.a. kvaliteta od sledećih proizvođača: Lach-Ner, Fluka, Aldrich i Merck.

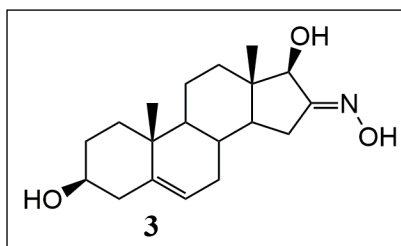
#### 4.1. 3 $\beta$ -HIDROKSIANDROST-5-EN-16,17-DION-16E-OKSIM (2)



U rastvor kalijum-*terc*-butoksida (0,88 g, 7,84 mmol) u *terc*-butil-alkoholu (30 mL) uz mešanje doda se dehidroepiandrosteron (**1**, 1,00 g, 3,47 mmol) i izoamil-nitrit (1,1 mL, 8,07 mmol). Reakciona smeša se ostavi na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Po završetku reakcije, reakciona smeša izlije se u 100 mL vode i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 6, pri čemu se izdvaja proizvod u obliku belog taloga. Nakon ceđenja i sušenja dobija se jedinjenje **2** u prinosu od 1,06 g (99%).

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

#### 4.2. 16E-HIDROKSIIMINOANDROST-5-EN-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -DIOL (3)

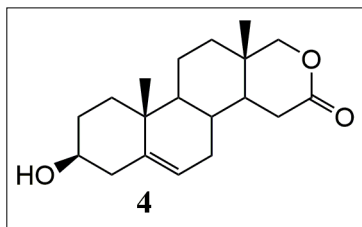


Oksim **2** (1,06 g, 3,34 mmol) rastvori se u 95% etanolu (60 mL) i doda se natrijum-borhidrid (0,26 g, 6,87 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 90 min. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (150 mL) i zakiseli hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 5, pri čemu se izdvoji beli talog. Nakon ceđenja i sušenja dobija se jedinjenje **3** u prinosu od 0,93 g (86%).

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



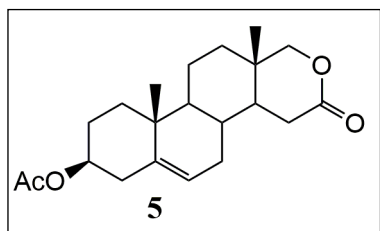
#### 4.3. 3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (4)



Jedinjenje **3** (0,93 g, 2,91 mmol) rastvori se u etilen-glikolu (8 mL) i doda se kalijum-hidroksid (1,68 g, 29,9 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks u toku 3 h. Po završetku reakcije, smeša se izlije u vodu (50 mL), a podesi na pH 1 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), pri čemu se izdvaja smeđ talog. Nakon ceđenja i sušenja dobija se sirovi lakton **4** u prinosu od 0,86 g (96%).

IR spektar (KBr,  $\nu_{\max}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3481, 3348, 2962, 2933, 2887, 1714, 1471, 1263, 1207, 1038, 812.

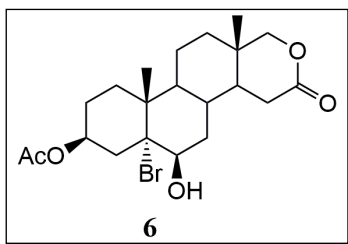
#### 4.4. 3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (5)



U rastvor jedinjenja **4** (1,42 g, 4,09 mmol) u apsolutnom piridinu (30 mL) se uz intenzivno mešanje doda anhidrid sirćetne kiseline (15 mL, 159 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 23 h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 300 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 2, pri čemu se izdvaja beli talog. Nakon ceđenja i sušenja dobija se jedinjenje **5** u prinosu od 0,99 g (81%).

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

#### 4.5. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (6)



##### Postupak A

Smeša jedinjenja **5** (0,5 g, 1,44 mmol), NBA-a (0,46 g, 3,33 mmol) ili NBS-a (0,593 g, 3,33 mmol), HClO<sub>4</sub> (0,03-0,28 M, 0,36 mL) u dioksanu, DME-u ili THF-u (10 mL) se meša na sobnoj temperaturi u toku 30-40 min. u mraku ili uz prisustvo svetlosti. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se razblaži sa etil-acetatom (40 mL), ispere sa zasićenim rast. natrijum-tiosulfata (2×40 mL), zasićenim rast. natrijum-hidrogenkarbonata (40 mL), zasićenim rast. natrijum-hlorida (40 mL) i vodom (40 mL). Etil-acetatni rastvor se osuši sa anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), pri čemu se, prema redosledu eluiranja, dobijaju 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibrom-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**8**,  $R_f = 0,33$ ), 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -diacetoksi-5 $\alpha$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**10**,  $R_f = 0,25$ ), 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**7**,  $R_f = 0,17$ ), 3 $\beta$ -acetoksi-6 $\alpha$ -bromo-5 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**9**,  $R_f = 0,13$ ) i/ili 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -bromo-6 $\beta$ -hidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**6**,  $R_f = 0,11$ ).

##### Postupak B

U rastvor epoksida **7** (50,0 mg, 0,14 mmol) u dihlormetanu (2 mL) doda se uz mešanje 48% vodeni rastvor bromovodonične kiseline (0,80 mL, 14,7 mmol). Reakciona smeša se intenzivno meša na sobnoj temperaturi u toku 15 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se ispere vodom (3×2,5 mL), nakon čega se dihlormetanski rastvor suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod prečisti se fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), pri čemu se izoluju neizreagovani epoksid **7** (28,1 mg,  $R_f = 0,17$ ) i čist bromhidrin **6** (21,1 mg,  $R_f = 0,11$ ) u prinosu od 79%, računato u odnosu na izreagovani epoksid.

##### Jedinjenje 6:

t.t. 143-145 °C (nakon prekrizalizacije iz smeše PE/acetone)

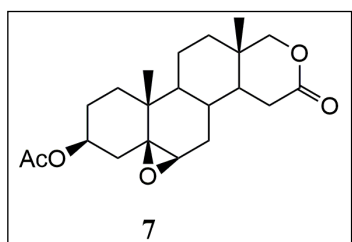
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3456, 2923, 1731, 1365, 1241, 1030, 732.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 0,91 (s, 3H, H-18); 1,10 (m, 1H, H-12a); 1,25 (s, 3H, H-19); 1,28 (m, 1H, H-11a); 1,42-1,66 (više preklopljenih signala, 9H, H-1, H-2a, H-7a, H-8, H-9, H-11b, H-12b i H-14); 1,85 (m, 1H, H-2b); 1,98 (delimično preklopljen sa Ac, 1H, H-7b); 2,00 (s, 3H, Ac); 2,03-2,10 (preklopljeni signali, 2H, H-15a i H-4a); 2,45 (dd,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 14,0$  Hz, 1H, H-4b); 2,59 (dd,  $J_1 = 5,3$  Hz,  $J_2 = 18,5$  Hz, 1H, H-15b); 3,87 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,94 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 3,98 (m, 1H, H-6); 5,31 (m, 1H, H-3).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 15,11 (C-18); 18,28 (C-19); 19,65 (C-11); 21,49 (CH<sub>3</sub>, Ac); 26,35 (C-2); 31,35 (C-8); 31,88 (C-15); 32,36 (C-13); 32,93 (C-7); 33,81 (C-12); 34,89 (C-1); 38,87 (C-4); 40,56 (C-10); 43,48 (C-14); 46,83 (C-9); 71,85 (C-3); 74,02 (C-6); 80,37 (C-17a); 90,79 (C-5); 170,34 (C=O, Ac); 170,45 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>BrO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 443,14276; nađeno: 443,14146; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 460,16931; nađeno: 460,16861; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 481,09865; nađeno: 481,09853; [2M+H]<sup>+</sup> izračunato: 885,27825; nađeno: 885,27848.

#### Jedinjenje 7:



t.t. 154 °C (nakon prekrystalizacije iz smeše PE/acetona)

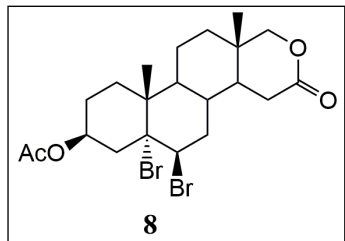
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\text{max}}$ , cm<sup>-1</sup>): 2948, 1734, 1244, 1193, 1036, 734.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 0,76 (td,  $J_1 = 11,8$  Hz,  $J_2 = 3,8$  Hz, 1H, H-9); 0,86 (s, 3H, H-18); 0,92 (s, 3H, H-19); 1,03 (m, 1H, H-12); 1,22-1,50 (više preklopljenih signala, 8H, H-1, H-2, H-4, H-7, 2H na H-11, H-12, H-14); 1,76 (d,  $J = 9,7$  Hz, 1H, H-2); 1,92 (dd,  $J_1 = 13,3$  Hz,  $J_2 = 2,6$  Hz, 1H, H-1); 1,98 (s, 3H, Ac); 2,02-2,08 (više preklopljenih signala, 3H, H-4, H-7 i H-15a); 2,60 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,10 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H, H-6); 3,86 (s, 2H, H-17a); 4,69 (ddt,  $J_1 = 14,7$  Hz,  $J_2 = 9,7$  Hz,  $J_3 = 4,8$  Hz, 1H, H-3).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 14,70 (C-18); 17,35 (C-19); 20,13 (C-11); 21,47 (CH<sub>3</sub>, Ac); 27,15 (C-2); 30,41 (C-7); 30,47 (C-8); 31,89 (C-15); 31,99 (C-13); 33,73 (C-12); 35,16 (C-10); 35,85 (C-1); 37,79 (C-4); 43,37 (C-14); 49,14 (C-9); 62,17 (C-5); 62,73 (C-6); 71,18 (C-3); 80,35 (C-17); 170,24 (C-16); 170,44 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 363,21660; nađeno: 363,21537; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 380,24315; nađeno: 380,24211; [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 385,19855; nađeno: 385,19833; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 401,17248; nađeno: 401,17238.

Jedinjenje 8:



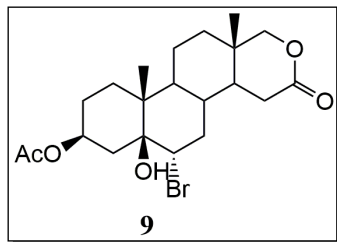
t.t. 210 °C (nakon prekrystalizacije iz smeše PE/acetona)

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2952, 1733, 1236, 1029, 627.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,93 (s, 3H, H-18); 1,12 (td,  $J_1 = 12,6$  Hz,  $J_2 = 2,7$  Hz, 1H, H-12a); 1,33 (s, 3H, H-19); 1,27 (m, 1H, H-11a); 1,86 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-2a); 1,96 (d,  $J = 15,1$  Hz, 1H, H-7a); 2,01 (s, 3H, Ac); 2,07 (dd,  $J_1 = 18,4$  Hz,  $J_2 = 12,1$  Hz, 1H, H-15a); 2,27 (dd,  $J_1 = 13,9$  Hz,  $J_2 = 5,4$  Hz, 1H, H-4a); 2,61 (dd,  $J = 18,4, 5,2$  Hz, 1H, H-15b); 3,88 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-17aa); 3,95 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,82 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H, H-6); 5,32 (m, 3H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,11 (C-18); 19,56 (C-11); 19,63 (C-19); 21,44 (CH<sub>3</sub>, Ac); 26,14 (C-2); 31,07 (C-8); 31,79 (C-15); 32,32 (C-13); 33,62 (C-12); 34,43 (C-7); 35,84 (C-1); 39,88 (C-4); 41,40 (C-10); 42,86 (C-14); 46,51 (C-9); 63,49 (C-6); 71,45 (C-3); 80,27 (C-17); 88,53 (C-5); 170,25 (C-16); 170,35 (C=O, Ac).

Jedinjenje 9:



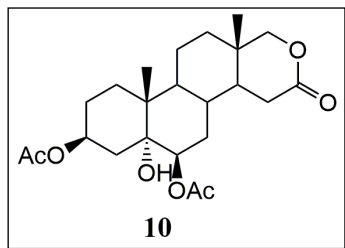
t.t. 169 °C (nakon prekrystalizacije iz smeše PE/acetona)

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3580, 2948, 1733, 1380, 1240, 1039, 1029, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,87 (s, 3H, H-18); 0,89 (s, 3H, H-19); 1,10 (m, 1H, H-12a); 1,24 (više preklopljenih signala, 2H, H-4 i H-11a); 1,41-1,65 (više preklopljenih signala, 8H, H-2, H-7a, H-8, H-9, H-11b, H-12b, H-14); 1,84 (td,  $J_1 = 14,1, J_2 = 3,2$  Hz, 1H, H-4); 1,94-2,17 (više preklopljenih signala, 7H, H-1, H-7b, H-15a, Ac); 2,56 (m delimično preklopljen sa signalom DMSO, 1H, H-15b); 3,86 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,89 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 4,12 (s, 1H, OH); 4,51 (dd,  $J_1 = 12,1$  Hz,  $J_2 = 4,9$  Hz, 1H, H-6); 4,99 (s, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 14,86 (C-18); 16,78 (C-19); 19,71 (C-11); 22,01 (CH<sub>3</sub> from Ac); 24,38 (C-2); 26,54 (C-4); 31,48 (C-1); 31,79 (C-15); 32,30 (C-13); 33,71 (C-12); 36,87 (C-8); 38,75 (C-7); 40,79 (C-9); 43,08 (C-14); 43,18 (C-10); 66,17 (C-6); 69,31 (C-3); 73,78 (C-5); 80,36 (C-17a); 170,34 (C=O iz Ac); 170,39 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>BrO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 465,1253; nađeno: 465,12471.

Jedinjenje **10**:

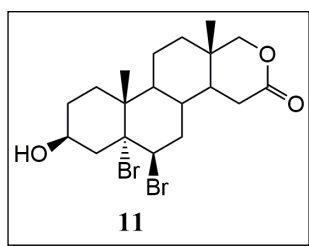
t.t. 243-245 °C (nakon prekrizalizacije iz smeše PE/acetona)

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3440, 2926, 1732, 1381, 1242, 1031, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,91 (s, 3H, H-18); 1,15 (m, 1H, H-12a); 1,26 (s, 3H, H-19); 1,30 (m delimično preklopljen sa signalom za H-19, 1H, H-4a); 1,45 (d, J = 12,6 Hz, 1H, H-12b); 1,53-1,72 (više preklopljenih signala, 6H, H-1a, H-4b, H-8, H-9, 2H-11); 1,86 (d, J = 7,2 Hz, 1H, H-1b); 2,00 (s, 3H, Ac na C-3); 2,08 (s, 3H, Ac na C-6); 2,22 (dd, J<sub>1</sub> = 13,7 Hz, J<sub>2</sub> = 10,6 Hz, 1H, H-2b); 2,57 (m delimično preklopljen sa signalom rastvarača, 1H, H-15b); 3,88 (d, J = 10,5 Hz, 1H, H-17aa); 3,95 (d, J = 10,5 Hz, 1H, H-17ab); 5,19 (s, 1H, H-6); 5,28-5,31 (m, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,19 (C-18); 17,55 (C-19); 19,62 (C-4); 21,44 (CH<sub>3</sub>, Ac na C-3); 21,47 (CH<sub>3</sub>, Ac na C-6); 26,26 (C-1); 29,90 (C-9); 31,50 (C-15); 31,74 (C-8); 32,38 (C-14); 33,69 (C-12); 34,59 (C-11); 38,07 (C-2); 40,70 (C-7); 43,37 (C-13); 46,51 (C-10); 71,33 (C-3); 74,40 (C-6), 80,28 (C-17a); 85,67 (C-5); 169,90 (C=O, iz Ac na C-6); 170,30 (C-16); 170,36 (C=O iz Ac na C-3).

#### 4.6. 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIBROM-3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (**11**)



Jedinjenje **8** (46,5 mg, 0,092 mmol) se sa natrijum-etoksidom (18 mg, 0,264 mmol) u etanolu (1,5 mL) meša na sobnoj temperaturi u toku 1 h i 40 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 10 mL vode i zakiselji sa HCl (1:1) do pH 1 pri čemu se izdvoji beo talog koji se procedi preko Büchner-ovog levka. Dobija se 32 mg sirovog proizvoda koji se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetona, 5:1), pri čemu se dobija čist 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibrom-3 $\beta$ -hidroksi derivat **11** (26,4 mg,  $R_f$  = 0,26) u obliku belog praha i prinosu od 62%.

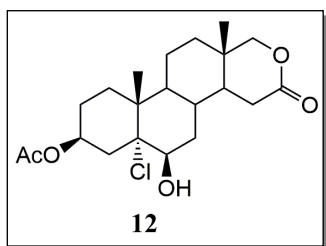
t.t. 155-158 °C (nakon prekrizalizacije iz smeše PE/acetona)

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3433, 2951, 1729, 1244, 1196, 1035, 736, 628.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,93 (s, 3H, H-18); 1,15 (s, 1H, H-12a); 1,26 (m, 1H, H-11a); 1,30 (s, 3H, H-19); 1,43-1,64 (više preklopljenih signala, 8H, 2H-1, H-2a, H-8, H-9, H-11b, H-12b i H-14); 1,76 (m, 1H, H-2b); 2,04 (više preklopljenih signala, 3H, H-4a, H-7a i H-15a); 2,31 (dd,  $J_1 = 14,2$  Hz,  $J_2 = 9,9$  Hz, 1H, H-4b); 2,41 (ddd,  $J_1 = 15,1$  Hz,  $J_2 = 11,3$  Hz,  $J_3 = 4,0$  Hz, 1H, H-7b); 2,60 (dd,  $J_1 = 18,4$  Hz,  $J_2 = 4,8$  Hz, 1H, H-15b); 3,88 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,95 (d,  $J = 10,6$  Hz, 1H, H-17ab); 4,09 (m, 1H, H-3); 4,80 (s, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,13 (C-18); 19,63 (C-11); 19,82 (C-19); 30,38 (C-2); 31,14 (C-8); 31,81 (C-15); 32,33 (C-13); 33,69 (C-12); 34,54 (C-7); 36,22 (C-1); 41,52 (C-10); 42,92 (C-14); 44,10 (C-4); 46,69 (C-9); 63,92 (C-6); 67,48 (C-3); 80,27 (C-17a); 90,49 (C-5); 170,21 (C-16).

#### 4.7. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HLOR-6 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (12)



##### Postupak A

Jedinjenje **5** (0,1 g, 0,29 mmol), kalcijum-hipohlorit (0,26 g, 1,82 mmol) i glac. sirćetna kiselina (0,2 mL) se intenzivno mešaju na sobnoj temperaturi u dietiletru (2,7 mL) i vodi (8 mL) u toku 30 min. Nakon isteka reakcionog vremena odvoji se etarski sloj, a vodeni ekstrahuje etrom (3×3mL). Etarski slojevi se spoje, isperu zasićenim rast. natrijum-hidrogenkarbonata (2×4 mL) i vodom (2×4mL), a potom suše anhidrovanim natrijum-sulfatom. Nakon uparavanja dobija se 125 mg smeše koja se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:1), pri čemu se prema redosledu eluiranja dobijaju 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihlor-17-oksa-17a-homoandrostane-16-on (**13**, 6,1 mg u obliku bezbojnog ulja, 5%,  $R_f = 0,39$ ), epoksid **7** (45,3 mg, 43%,  $R_f = 0,18$ ) i hlorhidrin **12** (21,1 mg u obliku bezbojnog ulja, 50%,  $R_f = 0,15$ ).

##### Postupak B

U suspenziju bizmut(III)-hlorida (0,35 mg, 1,1 mmol) u dioksanu (17 mL) se uz mešanje dokapava koncentrovana hlorovodonična kiselina do pH 1. Zatim se doda epoksid **7** (0,17 g, 0,47 mmol) i reakciona smeša meša na sobnoj temperaturi u toku 1 h. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se doda 30 mL etil-acetata i izvrši ispiranje zasićenim rast.

natrijum-bisulfita (2×20 mL), zasićenim rast. natrijum-hidrogenkarbonata (20 mL) i vodom (2×20 mL). Etil-acetatni rastvor se suši sa anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod prečisti se fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:1), nakon čega se izoluju neizreagovani epoksid **7** (127,5 mg, 75 %) i čist hlorhidrin **12** (42,9 mg, 92%, računato u odnosu na izreagovani epoksida).

#### Jedinjenje **12**:

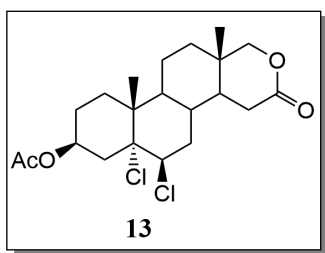
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3445, 2945, 1732, 1245, 1031, 739.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,90 (s, 3H, H-18); 1,10 (m, 1H, H-12a); 1,21 (s, 3H, H-19); 1,28 (m, 1H, H-11a); 1,41-1,58 (više preklopljenih signala, 9H, 2H-1, H-2a, H-7a, H-8, H-9, H-11b, H-12b i H-14); 1,74 (m, 1H, H-7b); 1,84 (m, 1H, H-2b); 1,91 (dd,  $J_1 = 5,5$  Hz,  $J_2 = 13,7$  Hz, 1H, H-4a); 2,00 (s, 3H, Ac); 2,02 (m, 1H, H-15a); 2,39 (dd,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 13,7$  Hz, 1H, H-4b); 2,58 (dd,  $J_1 = 5,2$  Hz,  $J_2 = 18,4$  Hz, 1H, H-15b); 3,75 (m, 1H, H-6); 3,87 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,93 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 5,19 (m, 1H, H-3); 5,4 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, OH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,09 (C-18); 18,23 (C-19); 19,54 (C-11); 21,49 (CH<sub>3</sub>, Ac); 26,34 (C-2); 31,14 (C-8); 31,89 (C-15); 32,35 (C-13); 32,45 (C-7); 33,13 (C-1); 33,83 (C-12); 37,98 (C-4); 39,93 (C-10); 43,42 (C-14); 45,30 (C-9); 71,69 (C-3); 73,80 (C-6); 80,39 (C-17a); 85,99 (C-5); 170,33 (C=O, Ac); 170,47 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>ClO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 421,1758; nađeno: 421,17433.

#### Jedinjenje **13**:



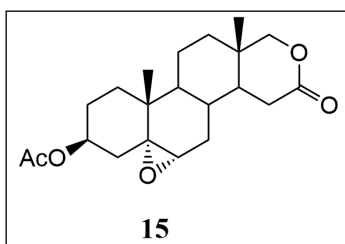
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2951, 1735, 1241, 1032, 781, 755, 647.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,06 (s, 3H, H-18); 1,19 (td,  $J_1 = 12,9$  Hz,  $J_2 = 3,7$  Hz, 1H, H-12a); 1,37 (s, 1H, H-1a); 1,40 (s, 3H, H-19); 1,54-1,78 (više preklopljenih signala, 8H, H-1b, H-2a, H-7a, H-8, H-9, H-11a, H-12b i H-14); 1,92-2,03 (dva preklopljena signala, 2H, H-2b i H-11b); 2,07 (s, 3H, Ac); 2,11-2,24 (dva preklopljena signala, 2H, H-4a i H-15a); 2,33 (m, 1H, H-7b); 2,57 (dd,  $J_1 = 13,7$  Hz,  $J_2 = 10,7$  Hz, 1H, H-4b); 2,71 (dd,  $J_1 = 18,7$  Hz,  $J_2 = 6,1$  Hz, 1H, H-15b); 3,94 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 4,00 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,39 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H-6); 5,36 (tt,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 5,6$  Hz, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,17 (C-18); 19,44 (C-1); 19,60 (C-19); 21,31 (CH<sub>3</sub>, Ac); 26,07 (C-2); 31,11 (C-9); 31,72 (C-15); 32,41 (C-13); 33,82 (C-7); 33,97 (C-11); 34,18 (C-12); 38,98 (C-4); 40,72 (C-10); 43,54 (C-14); 44,83 (C-8); 62,63 (C-6); 70,45 (C-3); 80,88 (C-17a); 83,56 (C-5); 170,22 (C-16); 170,41 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 439,1419; nađeno: 439,14075.

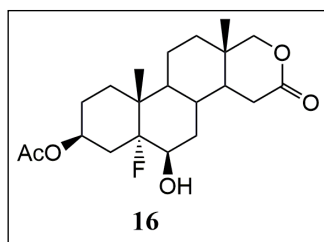
#### 4.8. 3β-ACETOKSI-5α,6α-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (15)



Jedinjenje **5** (52,1 mg, 0,15 mmol), jod (336 mg, 1,32 mmol) i bakar(II)-acetat (343,5 mg, 1,89 mmol) se mešaju u smeši dioksana (2 mL) i vode (2 mL) na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se razblaži sa 5 mL etil-acetata, a potom ispere zasićenim rast. natrijum-tiosulfata (2×20 mL), zasićenim rast. natrijum-hlorida (20 mL) i vodom (20 mL). Organski sloj se potom suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetona 4:1), nakon čega se dobija čist 5α,6α-epoksid **15** ( $R_f = 0,18$ ) u obliku belog praha i u prinosu od 24,6 mg (45%).

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2946, 1733, 1243, 1037, 734.

#### 4.9. 3β-ACETOKSI-5α-FLUOR-6β-HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (16)



U rastvor epoksida **7** (131,6 mg, 0,363 mmol) u dietil-eteru (23 mL) uz mešanje se dokapava bor-trifluorid dietil-eterat (~50%, 0,56 mL). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 3 h 30 min. Reakcija se prekida izlivanjem reakcione smeše u zasićeni rast. natrijum-karbonata (50 mL), koji se zatim ekstrahuje dihlormetanom (2×10 mL). Dobijeni organski rastvor se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetona 4:1), nakon čega se dobijaju neizreagovani epoksid **7** (86,7 mg) i fluorhidrin **16** u obliku bezbojnog ulja i u prinosu od 28,2 mg (59,5%,  $R_f = 0,14$ ).



IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3451, 2943, 1732, 1244, 1063, 1032.

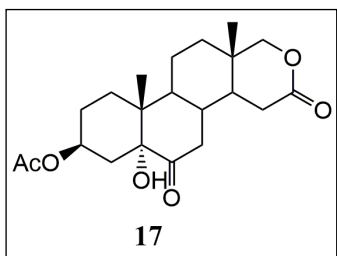
<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,91 (s, 3H, H-18); 1,09-1,15 (preklopljeni signali, 4H, H-12a i H-19); 1,24-1,59 (više preklopljenih signala, 11H, 2H-1, H-2a, 2H-7, H-8, H-9, 2H-11, H-12b i H-14); 1,77-1,83 (preklopljeni signali, 2H, H-2b i H-4a); 1,99-2,14 (više preklopljenih signala, 5H, 3Ac, H-15a i H-4b); 2,59 (dd,  $J_1 = 5,4$  Hz,  $J_2 = 18,5$  Hz, 1H, H-15b); 3,53 (m, 1H, H-6); 3,89 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,91 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 4,89 (m, 1H, H-3); 5,06 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,02 (C-18); 16,66 (d,  $J = 6,8$  Hz, C-19); 19,23 (C-11); 21,50 (CH<sub>3</sub>, Ac); 26,49 (C-2); 30,54 (C-8); 31,85 (d,  $J = 2,7$  Hz, C-1); 31,96 (C-15); 32,32 (C-13); 33,08 (C-7); 33,86 (C-12); 35,67 (d,  $J = 20,4$  Hz, C-4); 38,38 (d,  $J = 18,5$  Hz, C-10); 43,24 (C-14); 45,15 (d,  $J = 1,2$  Hz, C-9); 70,18 (d,  $J = 4$  Hz, C-3); 71,12 (d,  $J = 33,6$  Hz, C-6); 80,46 (C-17a); 99,60 (d,  $J = 165,8$  Hz, C-5); 170,30 (C=O, Ac); 170,51 (C-16).

<sup>19</sup>F NMR spektar (377 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): -159,6 (d,  $J_{F,4\beta H} = 42,8$  Hz).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 405,2053; nađeno: 405,20413.

#### 4.10. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-6,16-DION (17)



##### Postupak A

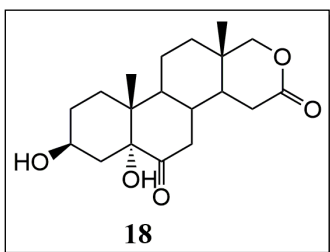
3 $\beta$ -Acetoksi-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksi-17a-homo-17-oksaandrostan-16-on (**7**) (64,3 mg, 0,18 mmol) se rastvori u acetonu (3 mL) i doda rastvor hrom(VI)-oksida (0,13 g, 1,3 mmol) u vodi (0,5 mL) uz intenzivno mešanje i hlađenje na 0 °C u toku 30 minuta, a zatim ostavi na sobnoj temperaturi narednih 40 minuta. Po isteku reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u vodu (10 mL) i ekstrahuje dihlormetanom (3 × 10 mL). Dihlormetanski rastvor se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:1, 4:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **17** ( $R_f = 0,27$ ) u prinosu od 39,2 mg (58%).

### Postupak B

U rastvor epoksida **7** (50 mg, 0,14 mmol) u dihlormetanu (3 mL) doda se piridinjum-hlorohromat (309 mg, 1,43 mmol). Reakciona smeša se meša u toku 20 dana na sobnoj temperaturi. Sirova reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **17** u prinosu od 23,3 mg (45%).

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3431, 2944, 1716, 1381, 1243, 1031, 754.

### 4.11. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-6,16-DION (18)



Jedinjenje **17** (0,3 g, 0,79 mmol) se meša sa natrijum-etoksidom (184 mg, 2,7 mmol) u etanolu (10 mL) na sobnoj temperaturi u toku 2 h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeše se izlije u 60 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 pri čemu se rastvor zamuti. Nakon ekstrakcije dihlormetanom (3×20 mL) i sušenja anhidrovanim natrijum-sulfatom dobija se sirovi proizvod. Prečišćavanjem fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:2) dobija se čist derivat **18** (0,21 g,  $R_f = 0,30$ ) u obliku belog praha i prinosu od 78%.

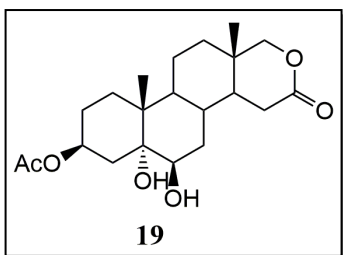
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3401, 2936, 1712, 1382, 1248, 1029.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, acetone-d<sub>6</sub>, ppm): 0,80 (s, 3H, H-19), 1,02 (s, 3H, H-18), 1,26-1,86 (više preklopljenih signala, 12H, 2H-1, 2H-2, 2H-4, H-8, 2H-11, 2H-12 i H-14), 2,08-2,21 (više preklopljenih signala, 3H, H-7a, H-9 i H-15a), 2,57 (dd,  $J_1 = 18,4$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b), 2,73 (t,  $J = 12,5$  Hz, 1H, H-7b), 3,52 (d,  $J = 4,1$  Hz, 1H, OH na C-3), 3,93 (dva preklopljena signala, 2H, H-3 i H-17aa), 3,99 (d,  $J = 10,6$  Hz, 1H, H-17ab), 4,48 (s, 1H, OH na C-5).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, acetone-d<sub>6</sub>, ppm): 13,32 (C-19), 14,30 (C-18), 19,76, 29,62 (C-4), 30,57, 31,16 (C-15), 32,62 (C-13), 34,11 (C-12), 36,05, 37,47 (C-8), 39,44 (C-7), 41,87 (C-10), 43,42 (C-9), 44,45 (C-14), 65,96 (C-3), 79,52 (C-5), 80,24 (C-17a), 169,07 (C-16), 210,61 (C-6).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 359,1834; nađeno: 359,18371.

#### 4.12. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (19)



U rastvor jedinjenja **17** (39,2 mg, 0,1 mmol) u metanolu (6 mL) se doda natrijum-borhidrid (2,9 mg, 0,08 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 30 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 16 mL vode i zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1. Potom se vrši ekstrakcija dihlormetanom (5 × 5 mL). Dihlormetanski rastvor se osuši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 2:1) dobija se čist 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihidroksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**19**,  $R_f = 0,20$ ) u obliku bezbojnog ulja i prinosu od 33,3 mg (84,5%).

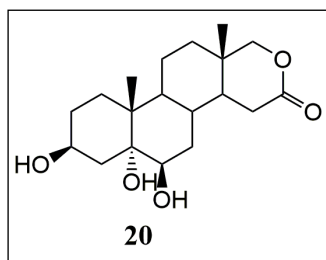
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3436, 2922, 2852, 1728, 1619, 1384, 1113, 1026, 662, 619.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,02 (s, 3H, H-18); 1,15 (s, 1H, H-11a); 1,18 (s, 3H, H-19); 1,36 (d,  $J = 14,6$  Hz, 1H, H-1a); 1,49-1,73 (više preklopljenih signala, 10H, H-1b, H-2a, H-4a, 2H-7, H-8, H-11b, 2H-12 i H-14); 1,86 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H, H-2b); 2,04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz Ac); 2,11-2,24 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,72 (dd,  $J_1 = 6$  Hz,  $J_2 = 18,7$  Hz, 1H, H-15b); 3,58 (s, 1H, H-6); 3,90 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17a); 3,98 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17a); 5,14 (tt,  $J_1 = 10,6$  Hz,  $J_2 = 5,3$  Hz, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,11 (C-18); 16,59 (C-19); 19,32 (C-1); 21,47 (CH<sub>3</sub> iz Ac); 26,55 (C-2); 31,11 (C-8); 31,79 (C-15); 31,83; 32,43 (C-12); 32,78 (C-7); 34,41 (C-11); 36,92 (C-4); 38,35 (C-10); 43,96 (C-14); 44,15 (C-13); 71,15 (C-3); 75,19 (C-5); 75,49 (C-6); 81,23 (C-17a); 171,15 (C-16 i C=O iz Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 403,2097; nađeno: 403,20998.

### 4.13. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -TRIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (20)



#### Postupak A

Jedinjenje **18** (0,21 g, 0,624 mmol) se rastvori u metanolu (38 mL) i doda mu se natrijum-borhidrid (21 mg, 0,56 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1 h, nakon čega se izliva u 90 mL vode i zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1. Dobijeni rastvor se ostavi da odstoji preko noći pri čemu se izdvaja 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivat **20** u obliku prozirnih igličastih kristala i u prinosu od 131,6 mg (62%).

#### Postupak B

Jedinjenje **19** (33,3 mg, 0,087 mmol) se rastvori u etanolu (1,2 mL) i doda se natrijum-etoksid (18,8 mg, 0,28 mmol). Reakciona smeša se zagreva na 50-55 °C u toku 1h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 12 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1. Vodeni rastvor se ostavi da stoji dva dana, pri čemu kristališe proizvod u obliku belih igličastih kristala. Nakon ceđenja i sušenja se dobija čisto jedinjenje **20** u prinosu od 19,3 mg (65%).

#### Postupak C

U rastvor jedinjenja **4** (0,1 g, 0,33 mmol) u smeši dioksana i vode (2:1, 6 mL) doda se kalijum-jodid (40 mg, 0,24 mmol), sumporna kiselina (96%, 0,01 mL) i vodonik-peroksid (30%, 0,3 mL). Reakciona smeša se zagreva uz reflux u toku 3 h. Po završetku reakcije, u reakcionu smešu se dodaje zasićeni rastvor natrijum-hidrogensulfita dok boja ne pređe iz crvene u žutu. Vodeni rastvor se ekstrahuje dihlormetanom (3  $\times$  5 mL). Spojeni ekstrakti se osuše anhidrovanim natrijum-sulfatom i rastvarač upari. Zaostalo ulje se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 1:2). Dobija se čisto jedinjenje **20** ( $R_f$  = 0,18) u prinosu od 34 mg (30,5%) u obliku bezbojnih kristala.

### Postupak D

Smeša jedinjenja **10** (25,6 mg, 0,061 mmol), kalijum-hidroksida (34,6 mg, 0,62 mmol) i metanola (1 mL) se zagreva uz refluks u toku 1h i 30 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 10 mL vode i zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1, pri čemu kristališe jedinjenje **20** u obliku prozirnih kristala. Nakon ceđenja i sušenja jedinjenje **20** dobija se u prinosu od 8,2 mg (37%).

### Postupak E

U rastvor epoksida **7** (41,3 mg, 0,114 mmol) u metanolu (0,30 mL) doda se uz mešanje NBS (21,0 mg, 0,118 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 2 dana. Nakon isteka reakcionog vremena, u reakcionu smešu se doda 3 mL vode i vrši ekstrakcija etil-acetatom (4 × 2 mL). Dobijeni etil-acetatni ekstrakt se suši sa anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/aceton, 3:1, 2:1, 1:1), nakon čega se dobijaju čisti 3β,5α-dihidroksi-6β-metoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**21**,  $R_f = 0,47$  PE/aceton 1:1, beli kristali, 14,8 mg, 37%), 3β,6β-dihidroksi-5α-metoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**22**,  $R_f = 0,33$  PE/aceton 1:1, bela amorfná supstanca, 8,0 mg, 20%) i 3β,5α,6β-trihidroksi-17-oksa-17a-homoandrost-16-on (**20**,  $R_f = 0,12$  PE/aceton 1:1, 0,6 mg, 1,6%).

Jedinjenje **20**:

t. t. iznad 250 °C (nakon prekrizalizacije iz n-heksan/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

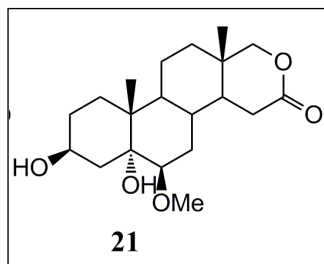
IR spektar (KBr,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3548, 3394, 3355, 2938, 1707, 1245, 1047, 1038.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,88 (s, 3H, H-18); 1,07 (m, 1H, H-12a); 1,02 (s, 3H, H-19); 1,16-1,52 (više preklopljenih signala, 12H, 2H-1, H-2a, H-4a, 2H-7, H-8, H-9, 2H-11, H-12b i H-14); 1,60 (m, 1H, H-2b); 1,84-2,00 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,56 (dd,  $J_1 = 4,5$  Hz,  $J_2 = 18,6$  Hz, 1H, H-15b); 3,33 (m, 1H, H-6); 3,75 (s, 1H, 5α-OH); 3,80 (m delimično preklopljen sa H-17aa, 1H, H-3); 3,85 (d, 1H,  $J = 10,8$  Hz, H-17aa); 3,90 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,20 (d,  $J = 5,7$  Hz, 1H, 3β-OH); 4,45 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1H, 6β-OH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,09 (C-18); 16,85 (C-19); 19,49 (C-11); 31,22 (C-8); 31,47 (C-2); 32,13 (C-15); 32,22 (C-1); 32,38 (C-13); 32,96 (C-7); 34,22 (C-12); 38,27 (C-10); 41,22 (C-4); 43,59 (C-14); 44,11 (C-9); 66,16 (C-3); 74,21 (C-5); 74,39 (C-6); 80,65 (C-17); 170,74 (C-16).

HRMS (m/z) za C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>: [M+H]<sup>+</sup> izracunato: 339,21660; nađeno: 339,21597; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> računato 356,24315, nađeno 356,24332; [M+K]<sup>+</sup> izracunato: 377,17248; nađeno: 377,17178.

Jedinjenje **21**:



t. t. > 250 °C (nakon prekrystalizacije iz PE/acetona)

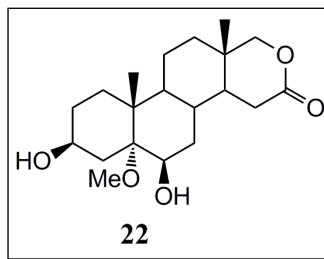
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3428, 2937, 1717, 1382, 1245, 1196, 1163, 1034, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,03 (s, 3H, H-18); 1,10 (s, 3H, H-19); 1,14 (m, 1H, H-12a); 1,41-1,62 (više preklopljenih signala, 11H, H-1, H-2a, H-4a, H-7a, H-8, H-9, H-11, H-12b i H-14); 1,79 (m, 1H, H-7b); 1,88 (m, 1H, H-2b); 2,10-2,21 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,77 (dd,  $J_1 = 5,3$  Hz,  $J_2 = 18,6$  Hz, 1H, H-15b); 2,99 (m, 1H, H-6); 3,91 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H, H-17aa); 3,98 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H, H-17ab); 3,31 (s, 3H, 6 $\beta$ -OMe); 4,08 (m, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,14 (C-18); 16,38 (C-19); 19,35 (C-11); 27,51 (C-7); 30,80 (C-2); 31,49 (C-8); 31,81 (C-1); 31,92 (C-15); 32,46 (C-13); 34,46 (C-12); 38,55 (C-10); 41,22 (C-4); 44,05 (C-14); 44,54 (C-9); 58,15 (6 $\beta$ -OMe); 67,52 (C-3); 75,82 (C-5); 81,22 (C-17); 85,24 (C-6); 170,94 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 353,23225; nađeno: 353,23225; [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> izračunato: 335,22169; nađeno: 335,22249.

Jedinjenje **22**:

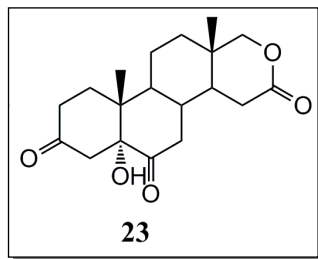


IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3401, 2937, 1717, 1381, 1247, 1196, 1163, 1032.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,03 (s, 3H, H-18); 1,20 (s, 3H, H-19); 1,14 (m, 1H, H-12a); 1,35-1,61 (više preklopljenih signala, 10H, H-1a, H-2a, 2H-7, H-8, H-9, 2H-11, H-12b i H-14); 1,68 (ptd,  $J_1 = 4,0$  Hz,  $J_2 = J_3 = 13,5$  Hz, 1H, H-1b); 1,87-1,93 (dva preklopljena signala, 2H, H-2b i H-4a); 1,99 (dd,  $J_1 = 4,6$  Hz,  $J_2 = 13,6$  Hz, 1H, H-4b); 2,17 (dd,  $J_1 = 12,7$  Hz,  $J_2 = 18,6$  Hz, 1H, H-15a); 2,74 (dd,  $J_1 = 5,9$  Hz,  $J_2 = 18,6$  Hz, 1H, H-15b); 3,17 (s, 3H, 5 $\alpha$ -OMe); 3,85 (m, 1H, H-3); 3,91 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H, H-17aa); 3,96-3,99 (dva preklopljena signala, 2H, H-6 i H-17ab).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,18 (C-18); 17,57 (C-19); 19,43 (C-11); 30,92 (C-8); 31,00 (C-2); 31,84 (C-15); 31,86 (C-1); 32,48 (C-13); 32,61 (C-7); 33,29 (C-4); 34,54 (C-12); 39,39 (C-10); 43,77 (C-9); 44,10 (C-14); 48,18 (5 $\alpha$ -OMe); 67,44 (C-3); 69,30 (C-6); 78,44 (C-5); 81,27 (C-17a); 170,99 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 353,23225; nađeno: 353,23172; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 391,18813; nađeno: 391,18791.

**4.14. 5 $\alpha$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-3,6,16-TRION (23)****Postupak A**

U rastvor jedinjenja **18** (34,6 mg, 0,101 mmol) u acetonu (7 mL) se, uz intenzivno mešanje i hlađenje na 0 °C, dokapava *Jones*-ov reagens (3,43 g CrO<sub>3</sub> u 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i 12 mL H<sub>2</sub>O) dok se ne dobije postojana narandžasta boja. Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 50 min. Nakon isteka reakcionog vremena u reakcionu smešu se dokapava 2-propanol do prelaska narandžaste boje u zelenu. Potom se reakciona smeša uparava na jednu četvrtinu zapremine, doda joj se 7 mL vode, ekstrahuje se dihlormetanom (5 × 3 mL) i spojeni ekstrakti se suše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Dobijeni sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1) i dobija se čisto belo praškasto jedinjenje **23** (29 mg, 84%).

**Postupak B**

U rastvor jedinjenja **20** (48 mg, 0,142 mmol) u acetonu (10 mL) se, uz intenzivno mešanje i hlađenje na 0 °C, dokapava *Jones*-ov reagens (pripremljen kao u ogledu 4.14A) dok se ne dobije postojana narandžasta boja. Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 50 min. Nakon isteka reakcionog vremena u reakcionu smešu se dokapava 2-propanol do prelaska narandžaste boje u zelenu. Potom se reakciona smeša uparava na jednu petinu zapremine, doda joj se 10 mL vode, ekstrahuje se dihlormetanom (5 × 3 mL) i spojeni ekstrakti se suše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Dobijeni sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1) i dobija se čisto belo praškasto jedinjenje **23** ( $R_f = 0,20$ , 30 mg, 63%).

t. t. iznad 250 °C (nakon prekrizalizacije iz PE/acetone)

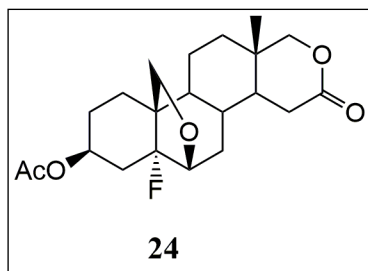
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3435, 2929, 1715, 1392, 1123, 1030.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,91 (s, 6H, H-18 i H-19); 1,97-2,18 (više preklapljenih signala, H-4a, H-8 i H-15a), 2,51 (m, 1H, H-15b); 2,76 (d,  $J = 15,5$  Hz, 1H, H-4b); 3,89 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,95 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 5,99 (s, 1H, 5 $\alpha$ -OH).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 13,65 (C-18); 15,04 (C-19); 19,96; 31,40; 31,57; 32,73 (C-13); 37,19; 33,92; 37,51 (C-9); 39,84 (C-15); 42,81 (C-10); 43,65 (C-8); 43,93 (C-14); 44,35 (C-4); 80,29 (C-17a); 81,63 (C-5); 170,35 (C-16); 210,51 (C-3); 211,08 (C-6).

HRMS m/z:  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato 357,1678, nađeno 357,16637.

#### 4.15. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -FLUOR-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (24)



Suspenzija kalcijum-karbonata (0,45 g, 4,49 mmol) i olovo-tetraacetata (0,52 g, 1,17 mmol) u 7 mL apsolutnog benzena se zagreva uz refluks i intenzivno mešanje u atmosferi argona u toku 30 min. Potom se dodaje još 15 mL apsolutnog benzena, jod (0,17 g, 0,67 mmol) i jedinjenje **16** (45 mg, 0,12 mmol), i zagreva uz refluks u atmosferi argona još 1h uz ozračivanje sijalicom od 500 W. Nakon završetka reakcije, reakciona smeša se upari. Prečišćavanjem sirove reakcione smeše fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1) dobija se jedinjenje **24** ( $R_f = 0,10$ ) u obliku bezbojnog ulja i prinosu od 18,4 mg (41%).

IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2932, 2899, 2858, 1732, 1380, 1365, 1243, 1204, 1180, 1164, 1032, 953.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 0,96 (s, 3H, H-18); 1,08-1,88 (više preklopljenih signala, 14H, 2H-1, H-2, H-4a, 2H-7, H-8, H-9, H-14, 2H-12 i 2H-11); 2,00 (s, 3H, Ac); 2,06-2,21 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,46 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H, H-15b); 3,75 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-19a); 3,80 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-19b); 3,85 (d,  $J = 3,8$  Hz, 1H, H-6); 3,88 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17aa); 3,94 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H, H-17ab); 4,76 (m, 1H, H-3).

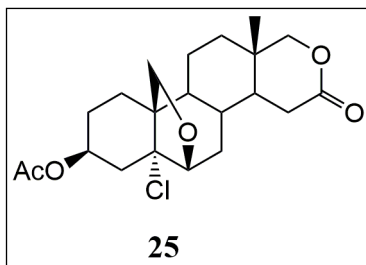
$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): 15,37 (C-18); 20,45 (C-11); 21,46 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 23,74 (C-1); 26,80 (C-2); 29,83 (d,  $J = 10$  Hz, C-7); 31,54 (C-15); 32,70 (C-13); 33,58 (C-8); 34,02 (C-12); 36,02 (d,  $J = 25$  Hz, C-4); 42,37 (C-14); 43,58 (d,  $J = 17$  Hz, C-10); 44,02 (d,  $J = 7$  Hz, C-9); 67,24 (d,  $J = 7$  Hz, C-19); 68,86 (C-3); 77,58 (d,  $J = 21$  Hz, C-6); 80,63 (C-17a); 97,91 (d,  $J = 198$  Hz, C-5); 170,28 (C=O, Ac); 170,36 (C-16).

$^{19}\text{F}$  NMR spektar (377 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): -176,60 (dd,  $J_1 = 11,3$  Hz,  $J_2 = 45,2$  Hz).



HRMS m/z:  $C_{21}H_{29}FO_5$   $[M+Na]^+$  izračunato 403,1897, nađeno 403,18933.

#### 4.16. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HLOR-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (25)



Suspenzija kalcijum-karbonata (0,35 g, 3,49 mmol) i olovo-tetraacetata (0,58 g, 1,31 mmol) u 7 mL apsolutnog benzena se zagreva uz refluks i intenzivno mešanje u atmosferi argona u toku 10 min. Potom se doda još 18 mL apsolutnog benzena, jod (0,2 g, 0,79 mmol) i jedinjenje **12** (58 mg, 0,14 mmol), i zagreva uz refluks u atmosferi argona još 1h uz ozračivanje sijalicom od 500 W. Nakon završetka reakcije, reakciona smeša se upari. Prečišćavanjem sirove reakcione smeše fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1) dobija se belo amorfno jedinjenje **25** ( $R_f = 0,12$ ) u prinosu od 29 mg (50%).

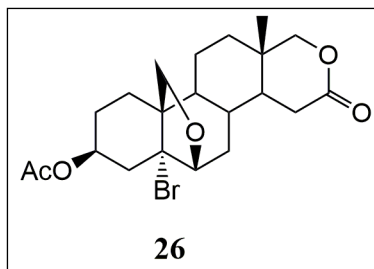
IR spektar ( $CH_2Cl_2$  film,  $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ ): 2942, 1732, 1444, 1239, 1202, 1096, 1034, 976, 923.

$^1H$  NMR spektar (400 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm): 0,96 (s, 3H, H-18); 1,11-1,49 (više preklopljenih signala, 6H, H-2, H-7, H-8 i H-11a); 1,56-1,72 (više preklopljenih signala, 6H, H-1a, H-9, H-11b, 2H-12 i H-14); 1,85 (d,  $J = 12,4$  Hz, 1H, H-1b); 1,99 (s, 3H, Ac); 2,01-2,19 (dva preklopljena signala, 3H, 2H-4 i H-15a); 2,45 (delimično preklopljen sa signalom rastvarača, 1H, H-15b); 3,80 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H, H-19a); 3,86-3,89 (dva preklopljena signala, 2H, H-19b i H-17aa); 3,95 (d,  $J = 10,4$  Hz, 1H, H-17ab); 4,01 (d,  $J = 4,1$  Hz, 1H, H-6); 4,96 (m, 1H, H-3).

$^{13}C$  NMR spektar (100 MHz,  $DMSO-d_6$ , ppm): 15,40 (C-18); 20,83 (C-2); 21,45 ( $CH_3$ , Ac); 23,02 (C-11); 26,70 (C-1); 30,30 (C-12); 31,49 (C-15); 32,71 (C-13); 33,69 (C-8); 33,98 (C-7); 42,31 (C-14); 45,56 (C-10); 45,82 (C-9); 67,70 (C-19); 69,11 (C-3); 76,76 (C-5); 80,58 (C-17a); 80,82 (C-6); 170,26 (C-16); 170,9 (C=O, Ac); signal koji potiče od C-4 se preklapa sa signalom rastvarača.

HRMS m/z:  $C_{21}H_{29}ClO_5$   $[M+Na]^+$  izračunato 419,1601, nađeno 419,15844.

#### 4.17. 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (26)



Suspenzija kalcijum-karbonata (8,8 g, 87,9 mmol) i olovo-tetraacetata (14,69 g, 33,1 mmol) u 100 mL apsolutnog benzena se zagreva uz refluks i intenzivno mešanje u atmosferi argona u toku 30 min. Potom se doda još 330 mL apsolutnog benzena, jod (4,44 g, 17,5 mmol) i jedinjenje **6** (2,36 g, 5,3 mmol), i zagreva uz refluks u atmosferi argona još 1h uz ozračivanje sijalicom od 500W. Nakon završetka reakcije, reakciona smeša se upari. Prečišćavanjem sirove reakcione smeše fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1) dobija se 3 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksi-17a $\beta$ -metoksi-17-oksa-17a-homoandrostan-16-on (**27**,  $R_f = 0,28$ , 5,7 mg, 0,23%) u obliku bezbojnih kristala i jedinjenje **26** ( $R_f = 0,19$ ), takođe u obliku bezbojnih kristala i prinosu od 2,07 g (88%).

Jedinjenje **26**:

t. t. 248 °C (nakon prekrizalizacije iz n-heksan/dihlormetan)

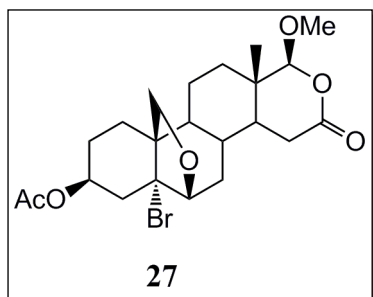
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2943, 2859, 1734, 1444, 1368, 1240, 1188, 1157, 1096, 1079, 1034, 1012, 967, 917, 734.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,07 (s, 3H, H-18); 2,06 (s, 3H, Ac); 2,11-2,32 (dva preklopljena signala, 3H, 2H-4 i H-15a); 2,64 (dd,  $J_1 = 18,5$  Hz,  $J_2 = 5,8$  Hz, 1H, H-15b); 3,74 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H, H-19a); 3,96-4,02 (više preklopljenih signala, 3H, 2H-17a i H-19b); 4,13 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, H-6); 5,21 (m, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,49 (C-18); 21,19; 21,28 (CH<sub>3</sub>, Ac); 23,02; 26,74; 31,36 (C-15 i C-11); 32,74 (C-13); 34,01 (C-8); 34,38; 41,06 (C-4); 42,67 (C-14); 45,87 (C-10); 47,58 (C-9); 67,24 (C-19); 69,67 (C-3); 73,54 (C-5); 81,83 (C-17a); 81,67 (C-6); 170,23 (C-16); 170,34 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>BrO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 441,12711; nađeno: 441,12537; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 479,08299; nađeno: 479,08299; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 458,15366; nađeno: 458,15288.

Jedinjenje **27**:



t. t. 238 °C (nakon prekrystalizacije iz n-heksan/acetona)

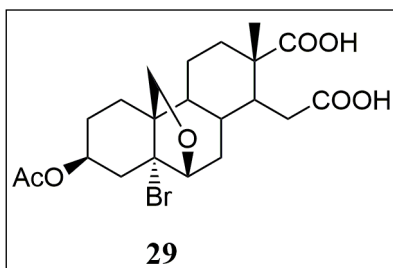
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2937, 2857, 1732, 1243, 1126, 1039, 991, 976, 917, 731.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,95 (s, 3H, H-18); 2,06 (s, 3H, Ac); 2,29 (d, J = 11,3 Hz, 1H, H-15a); 2,58 (dd, J<sub>1</sub> = 18,6 Hz, J<sub>2</sub> = 5,2 Hz, 1H, H-15b); 3,57 (s, 3H, MeO na C-17a); 3,73 (d, J = 8,6 Hz, 1H, H-19a); 3,96 (d, J = 8,6 Hz, 1H, H-19b); 4,12 (d, J = 4,6 Hz, 1H, H-6); 4,75 (s, 1H, H-17a); 5,21 (m, 1H, H-3).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 10,52 (C-18); 15,28; 21,28 (CH<sub>3</sub>, Ac); 23,02; 26,73; 31,10 (C-15); 31,77; 33,22; 34,22; 36,99 (C-13); 40,86 (C-8); 41,03 (C-10); 45,80; 47,51; 57,66 (MeO na C-17a); 67,16 (C-19); 69,68 (C-3); 73,51 (C-5); 81,65 (C-6); 111,64 (C-17a); 169,68 (C-16); 170,35 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>BrO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 493,1202; nađeno: 493,11981.

#### 4.18. 3β-ACETOKSI-5α-BROM-6β,19-EPOKSI-16,17-SEKOANDROSTAN-16,17-DIONSKA KISELINA (**29**)



##### Postupak A

Rastvor CrO<sub>3</sub> (47 mg, 0,47 mmol) u vodi (0,13 mL) i sirćetnoj kiselini (1,3 mL) se dodaje u rastvor jedinjenja **26** (51 mg, 0,12 mmol) u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (1,5 mL). Reakciona smeša se zagreva na 90-95 °C u toku 1 h i 15 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 20 mL vode i ekstrahuje dihlormetanom (5 × 5 mL). Organski slojevi se spoje, suše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetona 2:1, uz dodatak AcOH, 0,5 mL na 100 mL eluenta) i pri čemu se dobija čista dikiselina **29** ( $R_f$  = 0,24, 26,3 mg, 48%) u obliku bezbojnog ulja.

## Postupak B

U rastvor jedinjenja **26** (55 mg, 0,125 mmol) u acetonu (10 mL) se, uz intenzivno mešanje na sobnoj temperaturi dokapava *Jones*-ov reagens (pripremljen kao u ogledu 4.14A) dok se ne dobije postojana narandžasta boja. Reakciona smeša se zagreva uz reflux u toku 5h i 30 min. uz povremeno dokapavanje *Jones*-ovog reagensa. Nakon isteka reakcionog vremena reakciona smeša se upari na četvrtinu zapremine, i razblaži vodom (25 mL). Zatim se izvrši ekstrakcija dihlormetanom (3 × 10 mL), spojeni ekstrakti se suše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (kao u postupku A) pri čemu se dobija čisto jedinjenje **29** (23,5 mg, 40%) u obliku bezbojnog ulja.

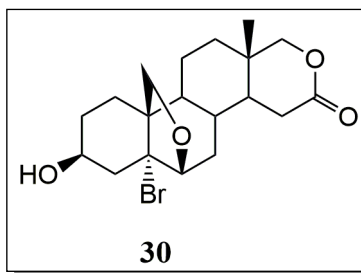
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3440, 2926, 1730, 1369, 1242, 1024.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 1,03 (s, 3H, H-18); 1,99 (s, 5H, CH<sub>3</sub>, Ac i H-15); 3,71 (d, J = 8,7 Hz, 1H, H-19a); 3,86 (d, J = 8,7 Hz, 1H, H-19b); 4,06 (d, J = 4,5 Hz, 1H, H-6); 5,05 (m, 1H, H-3); 12,14 (bs, 2H, COOH na C-17 i C-16)

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,97 (C-18); 21,45 (CH<sub>3</sub>, Ac); 23,25; 26,68 (C-7); 32,10; 35,50 (C-8); 36,07 (C-15); 36,51 (C-12); 41,04 (C-4); 41,85 (C-14); 45,70 (C-10); 46,80 (C-13); 47,96 (C-9); 66,67 (C-19); 69,85 (C-3); 75,50 (C-5); 80,97 (C-6); 129,37; 170,21 (Ac); 170,45 (C-16, COOH); 179,06 (C-17, COOH).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>BrO<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 495,09943; nađeno: 495,09978.

### 4.19. 5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (30)



## Postupak A

Jedinjenje **26** (0,34 g, 0,77 mmol) se rastvori u smeši metanola i vode (36 mL, 5:1) i doda se kalijum-karbonat (0,68 g, 4,92 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 1 h. Po završetku reakcije, smeša se upari na petinu zapremine, izlije se u vodu (20 mL) i podesi pH 1 hlorovodoničnom kiselinom (1:1), pri čemu se izdvaja beo talog. Nakon ceđenja i sušenja

dobija se sirovo jedinjenje **30**. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1) dobija se čisto jedinjenje **30** ( $R_f = 0,24$ ) u prinosu od 0,21 g (68%).

### Postupak B

Jedinjenje **26** (54,2 mg, 0,11 mmol) i natrijum-etoksid (22 mg, 0,31 mmol) u etanolu (1,5 mL) se zagrevaju na 50-55 °C toku 1 h i 20 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 12 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 pri čemu dolazi do taloženja belog proizvoda. Prečišćavanjem fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1) dobija se čisto jedinjenje **30** u obliku belog amorfnog praha i prinosu od 26,2 mg (53%).

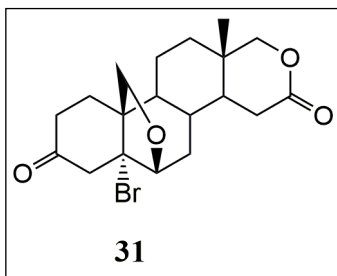
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3433, 2935, 2858, 1729, 1444, 1242, 1053, 1031, 909, 743.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,95 (s, 3H, H-18); 1,09-1,33 (više preklopljenih signala, 4H, H-1a, H-2a, H-7a i H-12a); 1,38-1,50 (više preklopljenih signala, 3H, H-1b, H-8 i H-12b); 1,59-1,66 (više preklopljenih signala, 3H, H-4a, H-9 i H-11a); 1,75-1,85 (dva preklopljena signala, 2H, H-2b i H-11b); 1,93-2,02 (m, 1H, H-4a); 2,07-2,19 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,44 (delimično preklopljen sa signalom rastvarača, 1H, H-15b); 3,69 (d, J = 8,6 Hz, 1H, H-19a); 3,79-3,88 (preklopljeni signali, 3H, H-19b, H-3 i H-17aa); 3,96 (d, J = 10,4 Hz, 1H, H-17ab); 4,04 (d, J = 4,5 Hz, 1H, H-6); 4,73 (d, J = 5,1 Hz, 1H, OH).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,42 (C-18); 21,12 (C-7); 23,53 (C-1); 30,78 (C-2); 31,53 (C-11); 31,54 (C-15); 32,72 (C-13); 33,88 (C-8); 34,02 (C-12); 42,37 (C-14); 45,24 (C-4); 45,78 (C-10); 48,09 (C-9); 65,64 (C-3); 66,91 (C-19); 77,08 (C-5); 80,56 (C-17a); 81,16 (C-6); 170,23 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>BrO<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 399,11655; nađeno: 399,11558; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 416,14310; nađeno: 416,14278; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 437,07243; nađeno: 437,07233.

#### 4.20. 5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-3,16-DION (31)



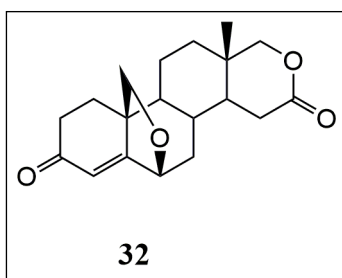
U rastvor jedinjenja **30** (0,18 g, 0,45 mmol) u acetonu (36 mL) se uz intenzivno mešanje i hlađenje na 0 °C dokapava Jones-ov reagens do stabilne narandžaste boje. Nakon toga se reakciona smeša meša na istoj temperaturi u toku 15 min. Potom se reakcionoj smeši na sobnoj temperaturi dokapava 2-propanol do prelaska narandžaste boje u zelenu, uparava skoro do suva i doda se voda (40 mL), pri čemu se izdvaja beo talog. Pošto je bromketon **31** nestabilan, sirov se bez sušenja i daljeg prečišćavanja koristi u narednoj fazi sinteze.

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2927, 2857, 1727, 1382, 1238, 1032, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,98 (s, 3H, H-18); 3,87-3,97 (preklopljeni signali, 3H, 2H-19 i H-17aa); 4,07 (s, 1H, H-17ab); 4,20 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 15,41 (C-18); 20,99; 25,14; 31,22; 31,50; 32,72; 33,80; 33,96; 36,57; 42,30; 46,13; 48,06; 51,84; 66,29 (C-19); 76,18 (C-5); 80,44 (C-6); 80,54 (C-17); 170,21 (C-16); 206,94 (C-3).

#### 4.21. 6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (32)



Vlažan bromketon **31** se rastvori u metanolu (7 mL) i doda natrijum-acetat (0,25 g, 3 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz reflux u toku 1 h 30 min. Nakon isteka reakcionog vremena smeša sa upari na trećinu zapremine, doda voda (20 mL) i ekstrahuje sa dihlorometanom

(4 × 8 mL). Organski sloj se suši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari. Sirov proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 2:1), pri čemu se dobija čist enon **32** ( $R_f = 0,27$ , 99,5 mg), u obliku belih kristala i prinosu od 70% (računato u odnosu na jedinjenje **30**).

t. t. 233-237 °C (nakon prekrizalizacije iz PE/dihlormetan)

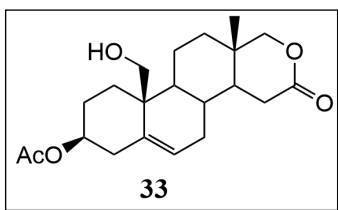
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2936, 1732, 1674, 1240, 1199, 1040, 1028, 877, 734.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,12 (s, 3H, H-18); 2,22 (m, 1H, H-15a); 2,65 (dd,  $J_1 = 18,5$  Hz,  $J_2 = 5,8$  Hz, 1H, H-15b); 3,54 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, H-19a); 3,93 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 4,03 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,22 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, H-19b); 4,74 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, H-6); 5,86 (s, 1H, H-4).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,36 (C-18); 22,40; 26,04; 31,56 (C-15); 32,91 (C-13); 33,11; 34,28; 34,55 (C-8); 39,43; 43,31 (C-14); 45,76 (C-10); 48,93 (C-9); 75,32 (C-19); 76,51 (C-6); 80,81 (C-17a); 115,53 (C-4); 169,85 (C-16); 170,53 (C-5); 198,25 (C-3).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 317,17474; nađeno: 317,17468; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 355,13062; nađeno: 355,13082.

#### 4.22. 3β-ACETOKSI-19-HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (**33**)



##### Postupak A

Jedinjenje **25** (24,4 mg, 0,06 mmol) se rastvori u etanolu (2 mL) i doda se cink u prahu\* (0,2 mg, 3,06 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks i intenzivno mešanje u toku 22 h. Nakon završetka reakcije, reakciona smeša se upari i prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1). Izoluje se čisto polazno jedinjenje **25** (3,6 mg) i 19-alkohol **33** ( $R_f = 0,28$ , 8,1 mg, 43%).

\* Zn u prahu se neposredno pre dodavanja aktivira ispiranjem sa HCl (1:4). Odnosi se na sve eksperimente u kojima je korišćen.

## **Postupak B**

Jedinjenje **26** (170 mg, 0,38 mmol) se rastvori u etanolu (15 mL) i doda se sveže aktiviran cink u prahu (520 mg, 7,9 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks i intenzivno mešanje u toku 3 h. Nakon završetka reakcije, reakciona smeša se upari i prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1). Dobija se čisto belo amorfnno jedinjenje **33** (111,5 mg, 80%) i jedinjenje **5** (8,4 mg, 6%).

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3440, 2945, 1729, 1405, 1381, 1246, 1034, 734, 701, 607.

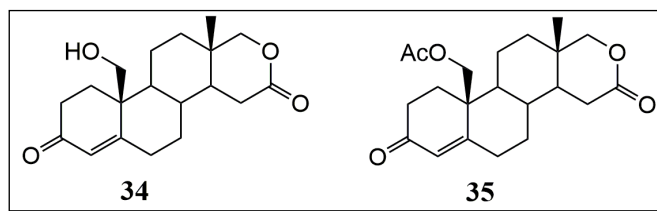
<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,01-1,06 (m, 1H, H-9); 1,07 (s, 3H, H-18); 1,11-1,20 (dva preklopljena signala, 2H, H-1a i H-12a); 1,33 (ddd,  $J_1 = 12,9$  Hz,  $J_2 = 10,6$  Hz,  $J_3 = 6,0$  Hz, 1H, H-14); 1,43-1,61 (tri preklopljena signala, 3H, H-2a, H-7a i H-12b); 1,71 (m, 2H, H-11); 1,79-1,94 (dva preklopljena signala, 2H, H-2b i H-8); 1,98 (dt,  $J_1 = 13,8$  Hz,  $J_2 = 3,5$  Hz, 1H, H-1b); 2,05 (s, 3H, Ac); 2,08-2,19 (dva preklopljena signala, 2H, H-7b i H-15a); 2,28 (m, 1H, H-4a); 2,47 (ddd,  $J_1 = 13,0$  Hz,  $J_2 = 4,8$  Hz,  $J_3 = 2,1$  Hz, 1H, H-4b); 2,69 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,9$  Hz, 1H, H-15b); 3,62 (d,  $J = 11,6$  Hz, 1H, H-19a); 3,88-3,91 (dva preklopljena signala, 2H, H-17aa i H-19b); 3,99 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 4,65 (m, 1H, H-3), 5,79 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,20 (C-18); 19,99 (C-11); 21,36 (CH<sub>3</sub>, Ac); 27,95 (C-2); 29,74 (C-7); 31,68 (C-15); 32,36 (C-13); 32,88 (C-1); 33,83 (C-8); 34,53 (C-12); 37,92 (C-4); 41,63 (C-10); 45,61 (C-14); 49,18 (C-9); 62,76 (C-19); 73,11 (C-3); 81,06 (C-17a); 126,91 (C-6); 134,61 (C-5); 170,50 (C-16); 170,81 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 401,17248; nađeno: 401,17237; [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 385,19855; nađeno: 385,19836; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 380,24315; nađeno: 380,24289; [2M+H]<sup>+</sup> izračunato: 725,42592; nađeno: 725,42667.



### 4.23. 19-HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (34) I 19-ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (35)



#### Postupak A

U rastvor jedinjenja **32** (45 mg, 0,14 mmol) u etanolu (5 mL) se doda sveže aktiviran cink u prahu (0,85 g, 13 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks u toku 19,5 h. Nakon isteka reakcionog vremena reakciona smeša se upari i prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **34** ( $R_f = 0,14$ , 29,4 mg, 64,9%) u obliku belog amorfno praša.

#### Postupak B

U rastvor jedinjenja **32** (54,5 mg, 0,17 mmol) u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (2,4 mL) se doda sveže aktiviran cink u prahu (0,17 g, 2,6 mmol). Reakciona smeša se zagreva uz refluks u toku 6 h. Nakon isteka reakcionog vremena sirćetna kiselina se ukloni kodestilacijom sa toluenom i reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **34** ( $R_f = 0,14$ , 1,6 mg, 3%) i 19-acetoksi derivat **35** ( $R_f = 0,35$ , 27,1 mg, 43,7%) u obliku belog amorfno praša.

Jedinjenje **34**:

IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3496, 2938, 1732, 1674, 1240, 1199, 1040, 1028, 734.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1,05 (s, 3H, H-18); 1,39 (m, 1H, H-8); 2,66-2,80 (dva preklopljena signala, 2H, H-2a i H-6a); 3,88-4,04 (preklopljeni signali, 4H, H-19 i H-17a); 5,93 (s, 1H, H-4).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 15,09 (C-18); 19,97; 30,07; 31,74 (C-6); 32,31 (C-13); 33,06 (C-15); 33,17; 34,72 (C-2); 34,80; 36,84 (C-9); 43,64 (C-10); 44,42 (C-8); 52,80 (C-14); 65,64 (C-19); 80,82 (C-17a); 126,70 (C-4); 166,29 (C-16); 170,54 (C-5); 199,89 (C-3).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 341,1729; nađeno: 341,17282.

Jedinjenje **35**:

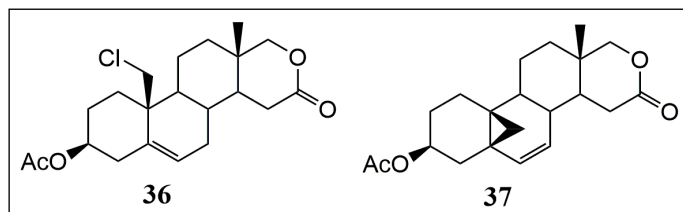
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2943, 2856, 1737, 1670, 1237, 1037.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,07 (s, 3H, H-18); 2,04 (s, 3H, Ac); 2,18 (dd, J<sub>1</sub> = 18,6 Hz, J<sub>2</sub> = 12,7 Hz, 1H, H-15a); 2,77 (dd, J<sub>1</sub> = 18,6 Hz, J<sub>2</sub> = 6 Hz, 1H, H-15b); 3,90 (d, J = 10,9 Hz, 1H, H-17aa); 4,00 (d, J = 10,9 Hz, 1H, H-17ab); 4,17 (d, J = 11,3 Hz, 1H, H-19a); 4,64 (d, J = 11,3 Hz, 1H, H-19b); 5,95 (s, 1H, H-4)

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,08 (C-18); 19,95; 20,93 (CH<sub>3</sub>, Ac); 30,14; 31,69 (C-15); 32,28 (C-13); 32,62; 33,34; 34,52; 34,68; 36,76 (C-8); 41,72 (C-10); 44,51 (C-14); 52,92 (C-9); 66,43 (C-19); 80,65 (C-17a); 126,99 (C-4); 164,06 (C-5); 170,06 (C-16); 170,58 (C=O, Ac); 198,85 (C-3).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 383,1834; nađeno: 383,18393.

#### 4.24. 3β-ACETOKSI-19-HLOR-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (36) I 3β-ACETOKSI-5β,19-CIKLO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-6-EN-16-ON (37)



Jedinjenje **33** (31,1 mg, 0,086 mmol) i TsCl (102 mg, 0,54 mmol) se rastvore u aps. piridinu (1 mL) i rastvor se zagreva uz refluks u toku 2h 10 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 20 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1, a potom ekstrahuje dihlormetanom (4 × 4 mL). Ekstrakt se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i potom upari. Sirova reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 7:1), pri čemu se dobija čist 5β,19-ciklo derivat **37** ( $R_f$  = 0,21, 5,5 mg, 19%) u obliku bezbojnog ulja i 19-hlor derivat **36** ( $R_f$  = 0,15, 5,3 mg, 16%) u obliku belih kristala.

Jedinjenje **36**:

t. t. 164-166 °C (nakon prekrizalizacije iz acetona)

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2935, 2853, 1733, 1467, 1370, 1244, 1034, 905, 820, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,08 (s, 3H, H-18); 1,74 (m, 2H, H-11); 1,84 (dd,  $J_1 = 11,0$  Hz,  $J_2 = 5,4$  Hz, 1H, H-8); 2,04 (s, 3H, Ac); 2,09-2,19 (dva preklopljena signala, 2H, H-7b i H-15a); 2,24 (t,  $J = 13$  Hz, 1H, H-4a); 2,47 (dd,  $J_1 = 13$  Hz,  $J_2 = 3,5$  Hz, 1H, H-4b); 2,70 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,59 (d,  $J = 12,1$  Hz, 1H, H-19a); 3,82-3,92 (dva preklopljena signala, 2H, H-17aa i H-19b); 3,99 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 4,65 (m, 1H, H-3), 5,70 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,20 (C-18); 20,20 (C-11); 21,33 (CH<sub>3</sub>, Ac); 27,66; 29,68 (C-7); 31,68 (C-15); 32,34 (C-13); 33,17 (C-8); 34,47; 34,68; 37,70 (C-4); 40,92 (C-10); 45,56 (C-14); 45,98 (C-19); 49,39 (C-9); 72,84 (C-3); 80,93 (C-17a); 126,12 (C-6); 134,25 (C-5); 170,48 (C=O, Ac); 170,59 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>ClO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 403,1652; nađeno: 403,16437.

#### Jedinjenje 37:

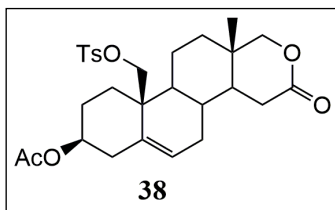
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3019, 2919, 2860, 1732, 1452, 1382, 1248, 1195, 1165, 1036, 929, 764, 686, 610.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,59 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, H-19a); 1,01 (s, 3H, H-18); 1,06 (d,  $J = 9,3$  Hz, 1H, H-9); 1,13 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H, H-19b); 1,19-1,34 (četiri preklopljena signala, 4H, H-1a, H-2a, H-11a i H-12a); 1,49-1,60 (tri preklopljena signala, 3H, H-8, H-12b i H-14); 1,67 (td,  $J_1 = 12,9$  Hz,  $J_2 = 5,2$  Hz, 1H, H-1b); 1,74-1,82 (dva preklopljena signala, 2H, H-2b i H-4a); 2,01 (dva preklopljena signala, 4H, Ac i H-11b); 2,11-2,27 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-15a); 2,86 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,7$  Hz, 1H, H-15b); 3,93 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H, H-17aa); 4,00 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H, H-17ab), 4,64 (m, 1H, H-3), 5,16 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H, H-6), 5,81 (dd,  $J_1 = 10,0$  Hz,  $J_2 = 2,4$  Hz, 1H, H-7).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,22 (C-18); 20,23 (C-10); 20,30 (CH<sub>3</sub>, Ac); 21,38 (C-19); 23,96 (C-11); 26,30 (C-2); 27,56 (C-1); 27,79 (C-5); 31,55 (C-15) (C-7); 32,99 (C-13); 34,93 (C-12); 36,65 (C-8); 37,59 (C-4); 41,98 (C-14); 43,19 (C-9); 70,65 (C-3); 81,09 (C-17a); 120,18 (C-7); 137,36 (C-6); 170,50 (C-16); 170,58 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 367,1885; nađeno: 367,18685.

#### 4.25. 3 $\beta$ -ACETOKSI-19-(p-TOLUENSULFONILOKSI)-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (38)



Rastvor jedinjenja **33** (60,8 mg, 0,17 mmol) i TsCl (212,7 mg, 1,12 mmol) u aps. piridinu (1,2 mL) se mešan na s. t. u toku 76 h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 60 mL vode, zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 i ostavi da stoji preko noći. Izdvoji se beo talog koji se procedi preko *Büchner*-ovog levka, osuši, a potom prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), pri čemu se dobija čist 19-toziloksi derivat **38** ( $R_f = 0,07$ , 69,3 mg, 64%) u obliku belog amorfno praša i 5 $\beta$ ,19-ciklo derivat **37** ( $R_f = 0,17$ , 1,3 mg, 2,2%).

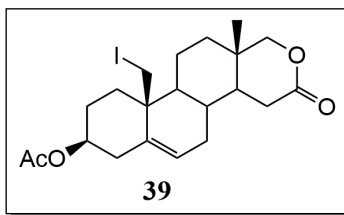
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2923, 2852, 1743, 1596, 1458, 1384, 1117, 1039, 792, 668.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,92 (s, 3H, H-18); 1,03-1,19 (tri preklopljena signala, 3H, H-1a, H-9 i H-12a); 1,28-1,55 (više preklopljenih signala, 6H, H-2a, H-7a, H-8, H-11a, H-12b i H-14); 1,70 (m, 1H, H-11b); 1,89 (m, 1H, H-2b); 2,04 (s, 3H, Ac); 2,05-2,18 (više preklopljenih signala, 4H, H-1b, H-4a, H-7b i H-15a); 2,39 (ddd,  $J_1 = 13,3$  Hz,  $J_2 = 4,9$  Hz,  $J_3 = 2,1$  Hz, 1H, H-4b); 2,48 (s, 3H, CH<sub>3</sub> iz Ts); 2,66 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,9$  Hz, 1H, H-15b); 3,87 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 3,97 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, 17ab); 4,03 (d,  $J = 10,4$  Hz, 1H, H-19a); 4,18 (d,  $J = 10,4$  Hz, 1H, H-19b); 4,60 (m, 1H, H-3); 5,63 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, H-6); 7,38 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H, H-3' i H-5'); 7,80 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H, H-2' i H-6').

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,83 (C-18); 19,89 (C-11); 21,30 (CH<sub>3</sub>, Ac); 21,68 (CH<sub>3</sub>, Ts); 27,50 (C-2); 29,75 (C-7); 31,61 (C-15); 32,17 (C-1); 32,30 (C-13); 33,05 (C-8); 34,31 (C-12); 37,62 (C-4); 40,06 (C-10); 45,26 (C-14); 48,62 (C-9); 69,17 (C-19); 72,60 (C-3); 80,88 (C-17a); 126,70 (C-6); 127,86 (2C, C-2' i C-6'); 129,93 (2C, H-3' i H-5'); 132,78 (1C, C-1'); 133,28 (C-5); 145,11 (1C, C-4'); 170,42 (C=O, Ac); 170,47 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub>S [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 539,2079; nađeno: 539,20742.

#### 4.26. 3 $\beta$ -ACETOKSI-19-JOD-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (39)



Jedinjenje **38** (11,3 mg, 0,022 mmol) i natrijum-jodid (159,9 mg, 1,07 mmol) se rastvore u acetonu i zagrevaju uz refluxu u toku 9h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/aceton, 11:2), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **39** ( $R_f = 0,18$ , 7,6 mg, 74%) u obliku belog amorfno praška.

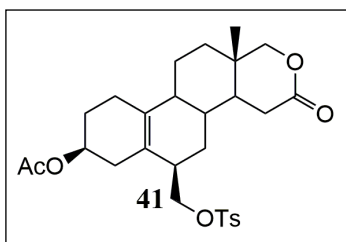
IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2923, 2853, 1733, 1380, 1367, 1239, 1198, 1035, 819, 734, 609.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1,12 (s, 3H, H-18); 1,20-1,32 (više preklopljenih signala, 4H, H-1a, H-9, H-14 i H-12a); 1,50-1,63 (tri preklopljena signala, 3H, H-2a, H-7a i H-12b); 1,73 (m, 2H, H-11); 1,92 (d,  $J = 13,4$  Hz, 1H, H-2b); 2,04 (s, 3H, Ac); 2,05-2,21 (više preklopljenih signala, 5H, H-1b, H-4a, H-7b, H-8 i H-15a); 2,43 (ddd,  $J_1 = 13,0$  Hz,  $J_2 = 4,9$  Hz,  $J_3 = 1,7$  Hz, 1H, H-4b); 2,69 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,27 (d,  $J = 11,1$  Hz, 1H, H-19a); 3,59 (d,  $J = 11,1$  Hz, 1H, H-19b); 3,89 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 3,99 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 4,60 (m, 1H, H-3), 5,67 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, H-6).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 10,34 (C-19); 15,37 (C-18); 20,31 (C-11); 21,33 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 27,67 (C-2); 29,48 (C-7); 31,71 (C-15); 32,34 (C-8); 32,47 (C-13); 34,44 (C-12); 36,89 (C-1); 37,71 (C-4); 38,77 (C-10); 45,68 (C-14); 49,87 (C-9); 72,74 (C-3); 80,86 (C-17a); 125,29 (C-6); 135,45 (C-5); 170,44 (C=O, Ac); 170,51 (C-16).

HRMS m/z:  $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{IO}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato: 495,1008; nađeno: 495,09992.

#### 4.27. 3 $\beta$ -ACETOKSI-6 $\beta$ -(p-TOLUENSULFONILOKSI)METIL-19-NOR-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5(10)-EN-16-ON (41)



Rastvor jedinjenja **38** (20 mg, 0,04 mmol) i litijum-fluorida (128,7 mg, 4,96 mmol) u acetonitrilu (0,6 mL) se zagreva uz reflux u toku 5 h. Reakciona smeša se potom prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **41** ( $R_f = 0,17$ , 10,8 mg, 54%) u obliku bezbojnog ulja i jedinjenje **37** ( $R_f = 0,48$ ) prinosu od 5,2 mg (38%).

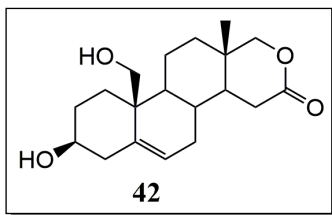
IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2924, 1734, 1363, 1243, 1189, 1177, 1097, 1042, 1030, 950, 816, 736, 665, 555.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,91 (s, 3H, H-18); 2,06 (s, 3H, Ac); 2,46 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  Ts); 2,56 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 6,1$  Hz, 1H, H-15a); 3,84-3,91 (dva preklopljena signala, 2H, H-17aa i H-6'a); 3,97 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H, 17ab); 4,09 (dd,  $J_1 = 9,8$  Hz,  $J_2 = 3,2$  Hz, 1H, H-6'b); 5,00 (m, 1H, H-3); 7,41 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H, H-3'' i H-5''); 7,83 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H, H-2'' i H-6'').

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 15,15 (C-18); 21,42 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 21,65 ( $\text{CH}_3$ , Ts); 23,88; 24,07; 26,31; 27,06; 31,18 (C-15); 32,69 (C-13); 34,41; 34,67; 34,70; 39,33; 42,54; 45,26; 69,13 (C-3); 70,38 (C-6'); 81,04 (C-17a); 122,47 (C-5); 127,89 (2C, C-2'' i C-6''); 130,09 (2C, C-3'' i C-5''); 132,99 (1C, C-1''); 134,45 (C-10); 145,22 (1C, C-4''); 170,29 (C-16); 170,78 (C=O, Ac).

HRMS m/z:  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_7\text{S}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato: 539,2079; nađeno: 539,20740.

#### 4.28. 3 $\beta$ ,19-DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (42)



Jedinjenje **33** (0,18 g, 0,49 mmol) se dodaje u rastvor natrijum-etoksida u etanolu (0,1 M, 7,5 mL) i reakciona smeša zagreva na 60 °C toku 1 h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 45 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 pri čemu dolazi do taloženja belog proizvoda, koji se procedi preko *Büchner*-ovog levka i osuši. Prečišćavanjem fleš hromatografijom (eluent PE/acetona, 2:1) dobija se čisto jedinjenje **42** ( $R_f = 0,29$ ) u obliku belih kristala i prinosu od 140,8 mg (88,5%).

t. t. 240 °C (nakon prekrizalizacije iz smeše PE/acetona)

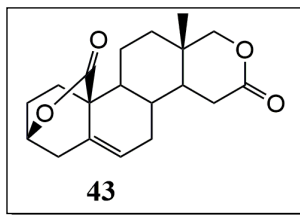
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3400, 2923, 2851, 1729, 1463, 1379, 1245, 1039, 735, 702.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,03 (m, 1H, H-9); 1,09 (s, 3H, H-18); 1,11-1,18 (dva preklopljena signala, 2H, H-1a i H-2a); 1,32-1,54 (više preklopljenih signala, 4H, H-2b, H-7a, H-12a i H-14); 1,69-1,76 (m, 2H, H-11); 1,85-1,91 (dva preklopljena signala, 2H, H-8 i H-12b); 1,97 (dt,  $J_1 = 13,7$  Hz,  $J_2 = 3,4$  Hz, 1H, H-1b); 2,09-2,27 (tri preklopljena signala, 3H, H-4a, H-7b i H-15a); 2,44 (ddd,  $J_1 = 12,9$  Hz,  $J_2 = 4,7$  Hz,  $J_3 = 2,2$  Hz, 1H, H-4b); 2,70 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,9$  Hz, 1H, H-15b); 3,56-3,66 (dva preklopljena signala, 2H, H-3 i H-19a); 3,89 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H, H-19b); 3,91 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa), 4,00 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 5,78 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 15,23 (C-18); 20,05 (C-11); 29,74 (C-7); 31,69 (C-15); 31,78 (C-12); 32,37 (C-13); 33,14 (C-1); 33,90 (C-8); 34,60 (C-2); 41,58 (C-10); 42,00 (C-4); 45,73 (C-14); 49,28 (C-9); 62,83 (C-19); 71,19 (C-3); 81,11 (C-17a); 126,12 (C-6); 135,53 (C-5); 170,85 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 321,20604; nađeno: 321,20552; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 338,23258; nađeno: 338,23280.

#### 4.29. 3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-ONSKA KISELINA 3,19-LAKTON (43)



U rastvor jedinjenja **42** (50 mg, 0,16 mmol) u acetonu (15 mL) se, uz intenzivno mešanje i hlađenje na 0 °C, dokapava *Jones*-ov reagens (3,43 g CrO<sub>3</sub> u 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i 12 mL H<sub>2</sub>O) dok se ne dobije postojana narandžasta boja. Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 40 min., nakon čega se u reakcionu smešu dokapava 2-propanol do prelaska narandžaste boje u zelenu. Potom se reakciona smeša upari na četvrtinu zapremine, doda joj se 20 mL vode i ekstrahuje se dihlormetanom (5 × 5 mL). Spojeni ekstrakti se suše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Dobijeni sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/aceton, 4:1) pri čemu se dobija beli amorfnii prah jedinjenja **43** ( $R_f$  = 0,28, 9,8 mg, 20%).

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2957, 2926, 1733, 1359, 1381, 1263, 1247, 1075, 1057, 1040, 975.

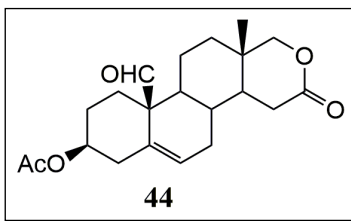
<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,12 (td,  $J_1 = 13,5$ ,  $J_2 = 4,2$  Hz, 1H, H-12a); 1,19 (s, 3H, H-18); 1,23 (dd,  $J_1 = 11,7$  Hz,  $J_2 = 7,5$  Hz, 1H, H-9); 1,40 (ddd,  $J_1 = 12,6$  Hz,  $J_2 = 10,9$  Hz,  $J_3 = 6,1$  Hz, 1H, H-14); 1,55-1,71 (više preklopljenih signala, 4H, H-1a, H-4a, H-11a i H-12b); 1,76-1,90 (dva preklopljena signala, 2H, H-2a i H-8); 2,08 (m, 1H, H-2b); 2,15-2,26 (više preklopljenih signala, 4H, H-1b, H-4b, H-7a i H-15a); 2,50 (m, 1H, H-11b); 2,69-2,76 (dva preklopljena signala, 2H, H-7b i H-15b); 3,92 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 4,02 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,77 (bs, 1H, H-3), 5,65 (d,  $J = 4,3$  Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,81 (C-18); 18,95 (C-11); 25,94 (C-4); 26,92 (C-2); 30,04 (C-1); 31,85 (C-13); 32,22 (C-15); 32,58 (C-7); 33,20 (C-8); 34,32 (C-12); 43,63 (C-9); 44,53 (C-14); 46,03 (C-10); 74,01 (C-3); 81,05 (C-17a); 124,07 (C-6); 132,57 (C-5); 170,73 (C-16); 173,59 (C-19).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 317,17474; nađeno: 317,17451; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 355,13062; nađeno: 355,13148.



### 4.30. 3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-16,19-DIOKSO-17a-HOMOANDROST-5-EN (44)



#### Postupak A

U rastvor alkohola **33** (84,3 mg, 0,23 mmol) u dihlormetanu (12 mL) doda se piridinium-hlorohromat (210 mg, 0,97 mmol). Reakciona smeša se meša u atmosferi argona u toku 1h i 40 min. na sobnoj temperaturi. Sirova reakciona smeša se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), pri čemu se dobija čisto jedinjenje **44** ( $R_f = 0,28$ ) u obliku belog amorfno praša u prinosu od 76,2 mg (92%).

#### Postupak B

Alkohol **33** (15 mg, 0,04 mmol) se rastvori u smeši acetonitrila (0,3 mL) i vode (0,02 mL) i doda mu se 0,31 mL rastvora za oksidaciju (3,71 g  $H_5IO_6$  i 7 mg  $CrO_3$  u 35 mL MeCN i 0,26 mL  $H_2O$ ). Reakciona smeša se meša na 0 °C u toku 1h i 50 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakcionoj smeši se doda 6% rastvor kalijum-dihidrogenfosfata (1 mL) i dihlormetan (1 mL). Organski sloj se ispere zasićenim rast. NaCl (2×2 mL), zasićenim rast.  $Na_2S_2O_3$  (2 mL) i vodom (2 mL), pa potom suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), dobija se čisto jedinjenje **44** u prinosu od 7,7 mg (53%).

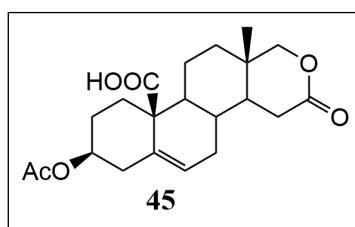
IR spektar ( $CH_2Cl_2$  film,  $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ ): 2925, 1731, 1381, 1244, 1198, 1035, 734.

$^1H$  NMR spektar (400 MHz,  $CDCl_3$ , ppm): 0,99 (s, 3H, H-18); 1,10-1,20 (dva preklapljeni signala, 2H, H-1a i H-12a); 1,27-1,30 (dva preklapljeni signala, 2H, H-9 i H-11a); 1,40 (ddd,  $J_1 = 12,7$  Hz,  $J_2 = 10,4$  Hz,  $J_3 = 6,0$  Hz, 1H, H-14); 1,53-1,75 (više preklapljenih signala, 4H, H-2a, H-7a, H-8 i H-12b); 1,82-1,91 (dva preklapljeni signala, 2H, H-4a i H-11b); 1,99 (m delimično preklapljen sa Ac, 1H, H-2b); 2,03 (s, 3H, Ac); 2,16 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 12,8$  Hz, 1H, H-15a); 2,28 (ddd,  $J_1 = 17,3$  Hz,  $J_2 = 7,8$  Hz,  $J_3 = 5,1$  Hz, 1H, H-7b); 2,54 (ddd,  $J_1 = 13,1$  Hz,  $J_2 = 4,4$  Hz,  $J_3 = 2,3$  Hz, 1H, H-4b); 2,63 (dt,  $J_1 = 13,6$  Hz,  $J_2 = 3,5$  Hz, 1H, H-1b); 2,74 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,90 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H, H-17aa); 3,99 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,62 (m, 1H, H-3); 5,90 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H, H-6); 9,69 (s, 1H, H-19).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14,82 (C-18); 20,45 (C-11); 21,30 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 28,58 (C-2); 29,71 (C-7); 30,00 (C-1); 31,49 (C-15); 32,04 (C-13); 33,43 (C-8); 34,10 (C-12); 39,28 (C-4); 44,75 (C-14); 47,60 (C-9); 53,42 (C-10); 72,30 (C-3); 80,71 (C-17a); 127,17 (C-6); 131,81 (C-5); 170,11 (C-16); 170,50 (C=O, Ac); 204,38 (C-19).

HRMS m/z:  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$   $[\text{M}+\text{K}]^+$  izračunato: 399,15683; nađeno: 399,15659;  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato: 383,18290; nađeno: 383,18203;  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$  izračunato: 378,2275; nađeno: 378,22654.

#### 4.31. 3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-ONSKA KISELINA (45)



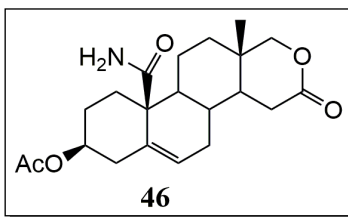
U rastvor alkohola **33** (53,6 mg, 0,15 mmol) u acetonu (5 mL) dokapava se *Jones*-ov reagens do stabilne narandžaste boje. Reakciona smeša se meša u toku 4h i 30 min. na sobnoj temperaturi. Nakon isteka reakcionog vremena, u smešu se doda 20 mL vode, ekstrahuje se dihlormetanom ( $3 \times 10$  mL), organski ekstrakt se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Potom se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/aceton 2:1 uz dodatak AcOH, 0,5 mL na 100 mL eluenta), pri čemu se dobija aldehyd **44** ( $R_f = 0,31$ , 4,4 mg, 7,8%) i čisto jedinjenje **45** ( $R_f = 0,09$ ) u obliku bezbojnog ulja u prinosu od 22,2 mg (40%).

IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440, 2925, 2854, 1732, 1441, 1406, 1382, 1368, 1248, 1202, 1121, 1035, 990, 965, 735, 702.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1,00 (s, 3H, H-18); 1,43 (ddd,  $J_1 = 12,7$  Hz,  $J_2 = 10,8$  Hz,  $J_3 = 6,0$  Hz, 1H, H-14); 1,97-2,08 (tri preklopljena signala, 5H, H-4a, H-7a i Ac); 2,13-2,24 (dva preklopljena signala, 2H, H-7b i H-15a); 2,74 (dd,  $J_1 = 18,7$  Hz,  $J_2 = 6,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,92 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H, H-17aa); 4,00 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H, H-17ab), 4,60-4,72 (m, 1H, H-3), 5,75 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, H-6).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14,96 (C-18); 21,33; 21,40 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 28,97; 29,44 (C-7); 31,60 (C-15); 32,20 (C-8); 32,42 (C-13); 33,00; 34,12; 39,81 (C-4); 44,56 (C-14); 47,33 (C-9); 50,51 (C-10); 72,47 (C-3); 80,78 (C-17a); 125,11 (C-6); 133,35 (C-5); 170,46 (C-16); 170,51 (C=O, Ac); 178,03 (C-19).

HRMS m/z:  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato: 399,1784; nađeno: 399,17673.

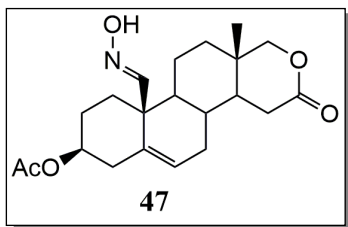
**4.32. 3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-AMID (46)**

U suspenziju kiseline **45** (22,2 mg, 0,06 mmol) u etil-acetatu (3 mL) se dodaju urea (30 mg, 0,5 mmol) i imidazol (15 mg, 0,22 mmol). Reakciona smeša se zagreva u mikrotalasnom reaktoru u zatvorenom sistemu na 165 °C u toku 15 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se upari i ostatak se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 3:1 uz dodatak AcOH, 0,5 mL na 100 mL eluenta), pri čemu se dobija aldehid čisto jedinjenje **46** ( $R_f = 0,13$ ) u obliku belog amornog praha u prinosu od 16,3 mg (72%).

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1,00 (s, 3H, H-18); 1,11-1,20 (dva preklopljena signala, 2H, H-7a i H-9); 1,43 (m, 1H, H-14); 2,01 (signal delimično preklopljen sa Ac, 1H, H-4a); 2,05 (s, 3H, Ac); 2,57-2,65 (dva preklopljena signala, 2H, H-4b i H-7b); 2,74 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,8$  Hz, 1H, H-15b); 3,92 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 4,00 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 4,66 (m, 1H, H-3), 5,75 (d,  $J = 3,1$  Hz, 1H, H-6).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14,96 (C-18); 21,33; 21,42 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 28,98; 29,44; 31,61 (C-15); 32,21 (C-8); 32,44 (C-13); 33,06 (C-7); 34,12; 39,81 (C-4); 44,58 (C-14); 47,33 (C-9); 50,49 (C-10); 72,48 (C-3); 80,80 (C-17a); 125,05 (C-6); 133,45 (C-5); 170,48 (C-16); 170,51 (C=O, Ac); 177,31 (C-19).

### 4.33. 3 $\beta$ -ACETOKSI-(19E)-HIDROKSIIMINO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (47)



U suspenziju aldehida **44** (200 mg, 0,55 mmol) u smeši metanola (10 mL) i vode (1,15 mL) se dodaju hidroksilamin hidroklorid (294,8 mg, 4,24 mmol) i natrijum-hidrogenkarbonat (314,5 mg, 3,74 mmol). Reakciona smeša se meša na sobnoj temperaturi u toku 7h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 100 mL vode i zakiseli sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) do pH 1, pri čemu se izdvaja obiman beo talog koji se procedi preko *Büchner*-ovog levka i osuši. Prečišćavanjem fleš hromatografijom (eluent PE/acetone 3:1) se dobija čisto jedinjenje **47** ( $R_f = 0,20$ ) u obliku bezbojnih kristala u prinosu od 155,5 mg (75%).

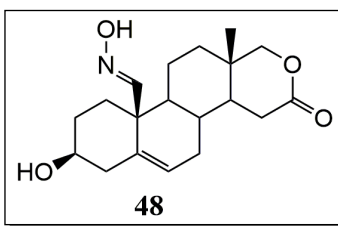
t. t. 237 °C (nakon prekrizalizacije iz dihlormetana)

IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3367, 2940, 1732, 1437, 1369, 1248, 1201, 1034, 937, 918, 861, 831, 735, 701, 607.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,98 (s, 3H, H-18); 1,13 (m, 1H, H-12a); 1,22-1,45 (više preklopljenih signala, 5H, H-1a, H-8, H-9, H-11a, H-12a i H-14); 1,51-1,63 (tri preklopljena signala, 3H, H-2a, H-7a i H-12b); 1,83 (m, 1H, H-11b); 1,97 (m, 1H, H-2b); 2,04 (s, 3H, Ac); 2,09-2,25 (tri preklopljena signala, 3H, H-4a, H-7b i H-15a); 2,36-2,49 (dva preklopljena signala, 2H, H-1b i H-4b); 2,72 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,0$  Hz, 1H, H-15b); 3,90 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 3,99 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 4,67 (m, 1H, H-3), 5,69 (m, 1H, H-6); 7,33 (s, 1H, H-19).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14,80 (C-18); 20,08 (C-11); 21,35 ( $\text{CH}_3$ , Ac); 28,26 (C-2); 29,98 (C-7); 31,68 (C-15); 32,01 (C-13); 32,51 (C-8); 33,41 (C-1); 33,96 (C-12); 38,38 (C-4); 43,54 (C-10); 44,38 (C-14); 48,69 (C-9); 72,93 (C-3); 80,85 (C-17a); 125,45 (C-6); 134,93 (C-5); 154,83 (C-19); 170,49 (C=O, Ac); 170,57 (C-16).

HRMS m/z:  $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$   $[\text{M}+\text{K}]^+$  izračunato: 414,16773; nađeno: 414,16815;  $[\text{M}+\text{H}]^+$  izračunato: 376,21185; nađeno: 376,21225.

**4.34. 3 $\beta$ -HIDROKSI-(19E)-HIDROKSIIMINO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (48)**

Jedinjenje **47** (22,3 mg, 0,06 mmol) se zagreva sa natrijum-etoksidom (20 mg, 0,29 mmol) u etanolu (1 mL) na 50-55 °C u toku 1 h i 15 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeše se izlije u 9 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1. Nakon ekstrakcije dihlormetanom (3×4 mL), organski ekstrakt se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Sirovi proizvod se prečisti fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 2:1), pri čemu se dobija čist oksiminoalkohol **48** (17,2 mg,  $R_f = 0,09$ ) u obliku belog amorfnog praha i prinosu od 87%.

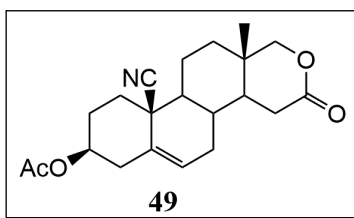
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3401, 2923, 2852, 1743, 1592, 1463, 1385, 1260, 1122, 1041, 765, 668.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 0,84 (s, 3H, H-18); 1,89 (m, 1H, H-4a); 2,01-2,13 (dva preklapljeni signala, 2H, H-7a i H-15a); 2,20 (ddd,  $J_1 = 12,9$  Hz,  $J_2 = 4,4$  Hz,  $J_3 = 1,52$  Hz, 1H, H-4b); 2,56 (dd delimično preklapljen sa signalom rastvarača, 1H, H-15b); 3,30 (m delimično preklapljen sa signalom rastvarača, 1H, H-3); 3,88 (s, 2H, H-17a); 4,61 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH na C-3); 5,48 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, H-6); 7,19 (s, 1H, H-19); 10,72 (s, 1H, OH iz NOH), ,

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm): 14,75 (C-18); 20,25; 29,87 (C-7); 31,84 (C-15); 31,92 (C-13); 32,42 (C-8); 32,54; 33,38; 33,47; 43,18 (C-4); 43,39 (C-10); 43,68 (C-14); 48,67 (C-9); 70,02 (C-3); 80,33 (C-17a); 122,67 (C-6); 137,39 (C-5); 153,02 (C-19); 170,4 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 356,1838; nađeno: 356,18242.

### 4.35. 3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-NITRIL (49)



U ohlađen (-15 °C) rastvor oksima **47** (25,5 mg, 0,068 mmol) u aps. piridinu (1 mL) se doda mezil-hlorid (0,025 mL, 0,34 mmol). Reakciona smeša se meša na -15 °C u toku 30 min., a potom na sobnoj temperaturi u toku 1h. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 20 mL vode, zakiseli se sa hlorovodoničnom kiselinom (1:1) pri čemu se izdvaja beli talog koji se procedi preko *Büchner*-ovog levka i osuši. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 4:1), dobija se čist 19-nitril **49** (18,1 mg,  $R_f = 0,14$ ) u obliku belog amorfnog praha i prinosu od 74%.

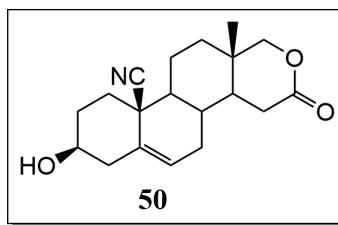
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2944, 2890, 2228, 1733, 1475, 1441, 1405, 1382, 1368, 1248, 1200, 1166, 1076, 1038, 969, 735, 701, 606.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,12 (s, 3H, H-18); 2,07 (s, 3H, Ac); 2,63 (m, 1H, H-4b); 2,73 (dd,  $J_1 = 18,6$  Hz,  $J_2 = 5,5$  Hz, 1H, H-15b); 3,93 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H, H-17aa); 4,04 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab), 4,63 (m, 1H, H-3), 5,73 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,75 (C-18); 21,26 (CH<sub>3</sub>, Ac); 21,50; 28,46; 29,64 (C-7); 31,53 (C-15); 32,04 (C-13); 33,41; 33,47; 34,01 (C-8); 38,00 (C-4); 42,27 (C-10); 43,89 (C-14); 45,66 (C-9); 71,25 (C-3); 80,69 (C-17a); 120,54 (C-19); 126,36 (C-6); 131,26 (C-5); 169,95 (C-16); 170,50 (C=O, Ac).

HRMS m/z: C<sub>21</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 358,20128; nađeno: 358,20136; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 375,22783; nađeno: 375,22816; [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 380,18323; nađeno: 380,18497.

### 4.36. 3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-NITRIL (**50**)



Jedinjenje **49** (91,4 mg, 0,26 mmol) se sa natrijum-etoksidom (61,5 mg, 0,9 mmol) u etanolu (3,5 mL) zagreva na 50-55 °C u toku 2 h i 30 min. Nakon isteka reakcionog vremena, reakciona smeša se izlije u 25 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1, a potom ekstrahuje dihlormetanom (4×5 mL). Organski ekstrakt se suši anhidrovanim natrijum-sulfatom i upari. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 2:1), dobija se čist 3 $\beta$ -hidroksi-19-nitril **50** (73,3 mg,  $R_f$  = 0,16) u obliku belog amorfne praška i prinosu od 91%.

t. t. 199-202 °C (nakon prekrizalizacije iz dihlormetan/n-heksan)

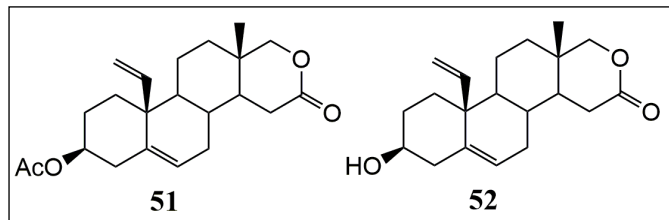
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3432, 3058, 2938, 2226, 1732, 1245, 1199, 1041, 972, 735, 700, 602.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 1,11 (s, 3H, H-18); 1,45-1,54 (dva preklopljena signala, 2H, H-8 i H-14); 1,72 (dt,  $J_1$  = 5,6 Hz,  $J_2$  = 2,5 Hz, 1H, H-2a); 1,85 (m, 1H, H-11a); 2,09 (m, 1H, H-2b); 2,27-2,41 (dva preklopljena signala, 2H, H-1b i H-4a); 2,58 (ddd,  $J_1$  = 13,6 Hz,  $J_2$  = 4,6 Hz,  $J_3$  = 2,3 Hz, 1H, H-4b); 2,72 (dd,  $J_1$  = 18,6 Hz,  $J_2$  = 5,7 Hz, 1H, H-15b); 3,55 (tt,  $J_1$  = 11,2 Hz,  $J_2$  = 4,4 Hz, 1H, H-3); 3,92 (d,  $J$  = 10,9 Hz, 1H, H-17aa); 4,03 (d,  $J$  = 10,9 Hz, 1H, H-17ab); 5,68 (dd,  $J_1$  = 3,4 Hz,  $J_2$  = 2,2 Hz, 1H, H-6).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,76 (C-18); 21,53 (C-11); 29,62 (C-7); 31,54 (C-15); 32,03 (C-12); 32,25 (C-2); 33,43 (C-1); 33,71 (C-8); 34,04 (C-13); 42,11 (C-4); 42,15 (C-10); 43,90 (C-14); 45,71 (C-9); 69,62 (C-3); 80,74 (C-17a); 120,71 (C-19); 125,40 (C-6); 132,23 (C-5); 170,12 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> izračunato: 316,19072; nađeno: 316,19120; [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> izračunato: 333,21727; nađeno: 333,21715; [M+K]<sup>+</sup> izračunato: 354,14660; nađeno: 354,14721.

**4.37. 3 $\beta$ -ACETOKSI-19-METILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (51) i 3 $\beta$ -HIDROKSI-19-METILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (52)**



Metiltrifenilfosfonijum-jodid (0,32 g, 0,79 mmol) i kalijum-*tert*-butoksid (0,12 g, 1,06 mmol) se u aps. tetrahidrofuranu (7 mL) i u atmosferi argona zagrevaju u toku 20 min. Nakon toga se reakciona smeša ohladi na sobnu temperaturu, doda rastvor jedinjenja **44** (0,11 g, 0,3 mmol) u aps. tetrahidrofuranu (3 mL) i nastavi sa mešanjem na sobnoj temperaturi u toku 90 min. Nakon isteka reakcionog vremena smeša se zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 i ekstrahuje sa dihlormetanom (5 $\times$ 5 mL). Organski sloj se osuši anhidrovanim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i upari. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 6:1 do 4:1) dobijaju se 3 $\beta$ -acetoksi-19-metiliden-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (**51**,  $R_f$  = 0,22 PE/acetone 6:1) u obliku bezbojnog ulja i prinosu od 4,4 mg (4,1%) i 3 $\beta$ -hidroksi-19-metiliden-17-oksa-17a-homoandrost-5-en-16-on (**52**,  $R_f$  = 0,07 PE/acetone 6:1) u obliku bezbojnog ulja i prinosu od 7,5 mg (7,9%).

Jedinjenje **51**:

IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 2938, 2854, 1734, 1242, 1033, 735.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,95 (s, 3H, H-18); 1,04-1,54 (više preklopljenih signala, 9H, H-1b, H-2a, H-7b, H-8, H-9, H-14, H-11a i H-12); 1,75 (m, 1H, H-11b); 1,91 (m, 1H, H-2b); 2,03 (s, 3H, Ac); 2,06-2,16 (dva preklopljena signala, 2H, H-1b i H-15a); 2,17-2,28 (dva preklopljena signala, 2H, H-4a i H-7b); 2,35 (ddd,  $J_1$  = 12,9 Hz,  $J_2$  = 5,1 Hz,  $J_3$  = 2,3 Hz, 1H, H-4b); 2,71 (dd,  $J_1$  = 18,6 Hz,  $J_2$  = 5,8 Hz, 1H, H-15b); 3,90 (d,  $J$  = 10,8 Hz, 1H, H-17aa); 3,97 (d,  $J$  = 10,8 Hz, 1H, H-17ab); 4,65 (tt,  $J_1$  = 11,4 Hz,  $J_2$  = 4,7 Hz, 1H, H-3); 4,98 (dd,  $J_1$  = 17,5 Hz,  $J_2$  = 1,7 Hz, 1H, H-19aa); 5,36 (dd,  $J_1$  = 10,5 Hz,  $J_2$  = 1,7 Hz, 1H, H-19ab); 5,61-5,72 (dva preklopljena signala, 2H, H-6 i H-19).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,84 (C-18); 19,50 (C-11); 21,37 (CH<sub>3</sub>, Ac); 28,15 (C-2); 30,21 (C-1); 31,72 (C-14); 31,77 (C-15); 32,05 (C-13); 34,11 (C-12); 35,33 (C-7); 38,11 (C-4); 44,42 (C-8); 44,72 (C-10); 48,89 (C-9); 73,56 (C-3); 81,03 (C-17a); 118,56 (C-19a); 124,18 (C-6); 136,02 (C-5); 141,54 (C-19); 170,55 (C=O, Ac); 170,72 (C-16).



HRMS m/z: C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 381,2042; nađeno: 381,20299.

Jedinjenje **52**:

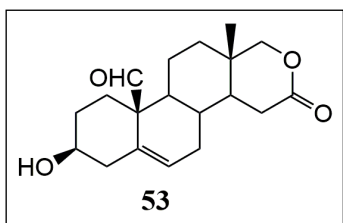
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3435, 2924, 2853, 1729, 1462, 1380, 1244, 1040, 917, 732.

<sup>1</sup>H NMR spektar (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 0,93 (s, 3H, H-18); 2,31 (ddd, J<sub>1</sub> = 12,8 Hz, J<sub>2</sub> = 4,7 Hz, J<sub>3</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-4a); 2,70 (dd, J<sub>1</sub> = 18,6 Hz, J<sub>2</sub> = 5,6 Hz, 1H, H-15a); 3,56 (ddd, J<sub>1</sub> = 15,6 Hz, J<sub>2</sub> = 10,9 Hz, J<sub>3</sub> = 4,4 Hz, 1H, H-3); 3,88 (d, J = 10,7 Hz, 1H, H-17aa); 3,96 (d, J = 10,8 Hz, 1H, H-17ab); 4,96 (d, J = 17,5 Hz, 1H, H-19aa); 5,32 (d, J = 11,5 Hz, 1H, H-19ab); 5,59-5,68 (dva preklapljeni signala, 2H, H-6 i H-19).

<sup>13</sup>C NMR spektar (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): 14,86 (C-18); 19,56; 29,71; 30,21 (C-10); 31,74 (C-9); 31,78 (C-15); 32,04; 34,17; 35,60 (C-7); 42,34 (C-4); 44,47 (C-8); 44,62 (C-13); 48,97 (C-14); 71,49 (C-3); 81,07 (C-17a); 118,47 (C-19a); 123,29 (C-19); 137,04 (C-5); 141,72 (C-6); 170,81 (C-16).

HRMS m/z: C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub> [M+Na]<sup>+</sup> izračunato: 339,1936; nađeno: 339,19236.

#### 4.38. 3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-16,19-DIOKSO-17a-HOMOANDROST-5-EN (53)



3 $\beta$ -Acetoksi-17-oksa-16,19-dioekso-17a-homoandrost-5-en (**44**, 90 mg, 0,25 mmol) se meša sa K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,44 g, 3,24 mmol) u metanolu (11 mL) i vodi (2,2 mL) na sobnoj temperaturi u toku 90 min. Nakon isteka reakcionog vremena reakciona smeša se upari na petinu zapremine, doda joj se 10 mL vode i zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1. Potom se ekstrahuje sa dihlormetanom (6×6 mL). Organski slojevi se spoje, osuše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:2) dobija se čist aldehyd **53** ( $R_f$  = 0,27) u obliku belog praha i u prinosu od 61,7 mg (79%).

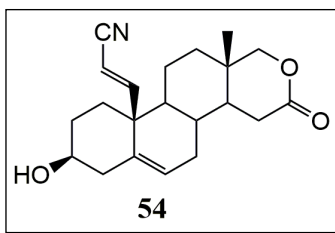
IR spektar (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> film,  $\nu_{\max}$ , cm<sup>-1</sup>): 3417, 2934, 1715, 1245, 1199, 1039, 805, 734.

$^1\text{H}$  NMR spektar (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 0,97 (s, 3H, H-18); 1,01-1,16 (dva preklapljeni signala, 2H, H-1a i H-12a); 1,23-1,81 (više preklapljenih signala, 8H, H-2a, H-4a, H-7a, H-8, H-9, H-11a, H-12b i H-14); 1,86 (m, 1H, H-11b); 1,97 (m, 1H, H-2b); 2,17 (m, 1H, H-15a); 2,28 (m, 1H, H-7b); 2,50 (d,  $J = 12,9$  Hz, 1H, H-4b); 2,60 (m, 1H, H-1b); 2,72 (dd,  $J_1 = 18,7$  Hz,  $J_2 = 5,9$  Hz, 1H, H-15b); 3,54 (m, 1H, H-3); 3,88 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17aa); 3,97 (d,  $J = 10,8$  Hz, 1H, H-17ab); 5,85 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, H-6), 9,67 (s, 1H, H-19).

$^{13}\text{C}$  NMR spektar (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 14,84 (C-18); 20,50 (C-11); 29,72 (C-7); 30,31 (C-1); 31,50 (C-15); 32,04 (C-13); 32,48 (C-2); 33,45 (C-8); 34,16 (C-12); 43,38 (C-4); 44,80 (C-14); 47,69 (C-9); 53,35 (C-10); 70,43 (C-3); 80,76 (C-17a); 126,18 (C-6); 132,86 (C-5); 170,24 (C-16); 204,73 (C-19).

HRMS m/z:  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  izračunato: 341,1729; nađeno: 341,17183.

#### 4.39. 3 $\beta$ -HIDROKSI-19-CIJANOMETILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (54)



(Cijanometil)trifenilfosfonijum-hlorid (0,11 g, 0,32 mmol) i kalijum-*terc*-butoksid (0,05 g, 0,45 mmol) u aps. tetrahidrofuranu (2,8 mL) se mešaju na sobnoj temperaturi u toku 2 h. Potom se doda aldehyd **53** (39 mg, 0,12 mmol) u aps. THF (1,2 mL) i reakciona smeša se zagreva uz refluks u toku 7,5 h, a nakon toga meša na sobnoj temperaturi 18 h. Nakon isteka reakcionog vremena reakcionoj smeši se doda 3 mL vode, zakiseli sa HCl (1:1) do pH 1 i ekstrahuje sa dihlormetanom (4 $\times$ 3 mL). Organski slojevi se spoje, osuše anhidrovanim natrijum-sulfatom i upare. Nakon prečišćavanja fleš hromatografijom (eluent PE/acetone, 5:1) dobija se 30 mg polaznog aldehyda **53** i 3,6 mg (37% u odnosu na izreagovano jedinjenje **53**) nestabilnog 19-cijanometiliden derivata **54** ( $R_f = 0,28$ ) u obliku žutog ulja.

IR spektar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  film,  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3412, 2924, 2228, 1730, 1239, 1200, 1039, 802.

## 5. ZAKLJUČAK

U prvom delu ovog rada ostvarene su sinteze C19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona. Takođe, sintetisani su i 5,6-halogeni derivati, 5,6-supstituisani kiseonični derivati, kao i 6,19-epoksi steroidi. Za sva sintetisana jedinjenja je utvrđen antitumorski potencijal ispitivanjem njihove oralne biorasploživosti, antiproliferativne aktivnosti na šest ćelijskih linija kancera, vezivanja za odabrane steroidne receptore i inhibitorne aktivnosti na enzim AKR1C3.

Prekursor u sintezi svih novosintetisanih jedinjenja je bio 3 $\beta$ -acetoksi-17-oksa-17 $\alpha$ -homoandrost-5-en-16-on (**5**), koji je dobijen iz dehidroepiandrosterona (**1**). U prvoj fazi ove sinteze je izvršeno oksiminovanje *i*-amil-nitritom i dobijen je 17-keto-16 $E$ -oksim **2** u prinosu od 99%. Njegovom stereospecifičnom redukcijom je potom dobijen 17 $\beta$ -hidroksi derivat **3** u prinosu od 86%. Bazno katalizovanom *Beckmann*-ovom fragmentacijom u prisustvu etilenglikola, a zatim kiselo katalizovanom laktonizacijom je iz jedinjenja **3** dobijen D-homo lakton **4** u prinosu od 96%. 3 $\beta$ -Acetoksi derivat **5** je dobijen iz jedinjenja **4** u prinosu od 81%. Lakton **5** je poslužio za dobijanje niza 5,6-disupstituisanih halogenih derivata. Ova jedinjenja su sintetisana zbog potencijalne dobre biološke aktivnosti, a neki od njih i kao prekursori za dobijanje 6,19-epoksi jedinjenja, a time i 19-derivatizovanih steroida. Bromhidrin **6** i hlorhidrin **12** su dobijeni adicijom odgovarajuće *in situ* generisane hipohalogenaste kiseline na dvostruku vezu laktona **5**. Prinos bromhidrina **6** jako varira u zavisnosti od reakcionih uslova i najviši je kada se reakcija izvodi na sobnoj temperaturi, dnevnoj svetlosti u dioksanu, u toku 40 minuta i uz dodatak 0,14-0,28 M HClO<sub>4</sub> i iznosi 67%. Pri navedenim reakcionim uslovima, u prisustvu 0,28 M HClO<sub>4</sub> nastaje i najveći broj proizvoda. Naime, pored bromhidrina **6** dobijaju se i 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksid **7** (23%), 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromid **8** (1,4%), 6 $\alpha$ -brom-5 $\beta$ -hidroksi derivat **9** (1,9%) i 6 $\beta$ -acetoksi-5 $\alpha$ -hidroksi derivat **10** (0,8%). Kod dibromida **8** je potom natrijum-etoksidom u etanolu uklonjena acetoksi grupa i dobijen je 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibrom-3 $\beta$ -hidroksi derivat **11** u prinosu od 62%. U sintezi hlorhidrina **12** (50%) kao sporedni proizvodi su dobijeni epoksid **7** (43%) i 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dihlorid **13** (5%). S druge strane, u reakciji  $\Delta^5$ -laktona **5** sa jodom i bakar(II)-acetatom kao katalizatorom u smeši dioksana i vode, na sobnoj temperaturi u toku 24 h umesto željenog 5 $\alpha$ -hidroksi-6 $\beta$ -jodo derivata **14** dobijen je 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoksid **15** u prinosu od 45%. Halohidriini su u ovom radu dobijeni i iz 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksida **7**. Tako je bromhidrin **6** dobijen reakcijom epoksida **7** sa bromovodoničnom kiselinom u prinosu od 79% (računato u odnosu na izreagovani epoksid). Hlorhidrin **12** je dobijen reakcijom epoksida **7** sa bizmut(III)-hloridom i cc HCl u prinosu od 92%, takođe računato u odnosu na izreagovani epoksid. Reakcijom epoksida **7** sa bortrifluorid-eteratom dobija se fluorhidrin **16** (prinos 59,5% računato u odnosu na izreagovani epoksid).

5 $\beta$ ,6 $\beta$ -Epoksid **7** je poslužio i za dobijanje 5,6-disupstituisanih kiseoničnih derivata. Prvo je izvršeno njegovo oksidativno otvaranje i to na dva načina, hrom(VI)-oksidom i piridinium-hlorohromatom, i dobijen je 5 $\alpha$ -hidroksi-6-keto derivat **17** (58% i 45%, respektivno). Deprotekcijom 3 $\beta$ -hidroksi grupe jedinjenja **17** dobijen je 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi-6-keto derivat **18** (78%). Redukcijom keto grupe u položaju C6 jedinjenja **18** dobijen je 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivat **20** (62%). Ovo jedinjenje je dobijeno i prvobitnom redukcijom keto grupe jedinjenja **17** pri čemu je nastao dihidroksi derivat **19** (84,5%), a potom deprotekcijom C3 hidroksilne grupe u prinosu od 65%. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Triol **20** je dobijen i vicinalnom dihidroksilacijom jedinjenja **4** u prinosu od 30,5%, kao i baznom hidrolizom acetoksi grupa kod diacetata **10** (37%). U prinosu od 1,6% jedinjenje **20** je dobijeno i u reakciji metanolize epoksida **7**, u kojoj su kao glavni proizvodi dobijeni 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi-6 $\beta$ -metoksi derivat **21** (37%) i 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihidroksi-5 $\alpha$ -metoksi derivat **22** (20%). Oksidacijom 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihidroksi-6-keto jedinjenja **18** i 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivata **20** Jones-ovim reagensom dobijen je 5 $\alpha$ -hidroksi-3,6-diketo derivat **23** u prinosu od 84%, odnosno 63%, respektivno.

Polazeći od halohidrina **16**, **12** i **6** u reakciji sa olovo-tetraacetatom u apsolutnom benzenu i atmosferi argona, uz dodatak joda, kalcijum-karbonata i ozračivanjem sijalicom od 500 W, dobijeni su odgovarajući 6,19-epoksi derivati: 5 $\alpha$ -fluor- (**24**, 41%), 5 $\alpha$ -hlor- (**25**, 50%) i 5 $\alpha$ -brom- (**26**, 88%). U reakciji dobijanja jedinjenja **26**, kao sporedni proizvod je dobijen 17 $\alpha$  $\beta$ -metoksi derivat **27** u prinosu od 0,23%. Potom je, u cilju dobijanja 6,19-laktone **28**, izvršena oksidacija jedinjenja **26** hrom(VI)-oksidom u smeši vode i sirćetne kiseline, kao i Jones-ovim reagensom. Međutim u obe reakcije je dobijena 16,17-seko dikiselina **29** u prinosu od 48%, odnosno 40%, respektivno. Za dobijanje jedinjenja sa 4-en-3-onkim sistemom iskorišćen je 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoksi derivat **26**. Naime, prvo je kod jedinjenja **26** izvršeno uklanjanje acetatne zaštite hidroksilne grupe u položaju C-3 steroidnog skeleta i to na dva načina, pri čemu je dobijen alkohol **30**, čijom oksidacijom Jones-ovim reagensom je dobijen nestabilni 3-keto derivat **31**. Dehidrohalogenovanjem jedinjenja **31** natrijum-acetatom u metanolu dobijen je 4-en-3-on derivat **32** (70% računato u odnosu na jedinjenje **30**).

Prvi u nizu novosintetisanih C19-derivatizovanih jedinjenja, 19-hidroksi derivat **33** je dobijen reduktivnim otvaranjem 6 $\beta$ ,19-epoksidnog mosta kod jedinjenja **25** i **26**. Reakcija je izvedena sa cinkom u prahu u ključalom etanolu. U ovoj reakciji dolazi do izražaja razlika u reaktivnosti halogenih derivata **24**, **25** i **26**. Dok fluorni derivat **24** ne podleže reduktivnom otvaranju 6,19-mosta, hlorni derivat **25** podleže ali uz veliki višak cinka (51 ekvivalent) i u toku 21 h. Međutim, izreaguje 84% polaznog jedinjenja **25**, a prinos alkohola **33** je 43%. Najreaktivniji 5 $\alpha$ -bromo derivat zahteva manju količinu cinka u prahu (21 ekvivalent) i kraće reakciono vreme (3 h), izreaguje u potpunosti i dobija se jedinjenje **33** u prinosu od 80% i jedinjenje **5** u prinosu od 6%. 6,19-Epoksi derivat sa 4-en-3-on sistemom **32** podleže reduktivnom otvaranju u gore navedenim uslovima u toku 19,5 h i daje 19-hidroksi-4-en-3-on

jedinjenje **34** u prinosu od 65%. Reakcija reduktivnog otvaranja ovog jedinjenja u glacijalnoj sirćetnoj kiselini se odvijala znatno kraće (6 h), ali se alkohol **34** dobija u veoma malom procentu (3%), dok je glavni proizvod 19-acetoksi derivat **35** (44%).

Polazeći od alkohola **33** sintetisan je niz drugih 19-derivatizovanih jedinjenja. Tako je reakcijom sa *p*-toluensulfonil-hloridom u aps. piridinu uz zagrevanje uz refluks dobijen 19-hlorni derivat **36** i 5 $\beta$ ,10-ciklopropil derivat **37**, u prinosu od 16% i 19%, respektivno. Izvođenjem ove reakcije na sobnoj temperaturi je osim jedinjenja **37** (2,2%), dobijen 19-toziloksi derivat **38** (64%). Reakcijom jedinjenja **38** sa natrijum-jodidom u acetonu uz zagrevanje uz refluks je dobijen 19-jodo derivat **39** (74%). Kada je u cilju dobijanja 19-fluornog derivata **40** izvedena reakcija 19-toziloksi jedinjenja **38** sa litijum-fluoridom u ključalom acetonitrilu dobijeni su 5 $\beta$ ,10-ciklopropil derivat **37** (38%) i 19-nor-6 $\beta$ -(*p*-toluensulfoniloksimetil) derivat **41** (54%).

U ovom radu je 19-alkohol **33** podvrgnut i reakcijama oksidacije. Oksidacijom sa piridinium-hlorohromatom u dihlormetanu, kao i rastvorom perjodne kiseline i hrom(VI)-oksida u smeši acetonitrila i vode je dobijen 19-aldehid **44** u prinosu od 92% i 53% respektivno. Oksidacijom *Jones*-ovim reagensom na sobnoj temperaturi je 19-aldehid **44** dobijen u prinosu od 7,8%, a 19-karboksilna kiselina **45** u prinosu od 40%. S druge strane, kada je najpre izvršena deprotekcija 3 $\beta$ -hidroksilne grupe i dobijeni 3 $\beta$ ,19-diol **42** podvrgnut oksidaciji sa *Jones*-ovim reagensom na 0 °C nastao je 3,19-lakton **43** u prinosu od 20%. Kiselina **45** je poslužila za dobijanje amida **46**. Reakcija je izvedena sa ureom i imidazolom u etil-acetatu i u mikrotalasnom reaktoru na 165 °C u toku 15 min. Amid **46** je dobijen u prinosu od 72%.

I 19-okso derivat **44** je iskorišćen za dalje hemijske transformacije i dobijanje drugih 19-derivatizovanih jedinjenja. Tako je reakcijom sa hidroksilaminom dobijen 19*E*-oksim **47** (75%), a deprotekcijom njegove 3 $\beta$ -hidroksilne grupe je dobijeno jedinjenje **48** (87%). Dehidratacijom 19*E*-oksima **47** mezil-hloridom je dobijen 19-nitril **49** (74%), čijom deprotekcijom je sintetisan 3 $\beta$ -hidroksi-19-nitril **50**. U reakciji 19-aldehida **44** sa metiltrifenilfosfonijum-jodidom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida dobijeni su 3 $\beta$ -hidroksi-19-metilidenski derivat **52** (7,9%) i njegov 3 $\beta$ -acetoksi analog **51** (4,1%). S obzirom da je u ovoj reakciji dolazilo i do deprotekcije hidroksilne grupe u položaju C3, pre izvođenja narednih reakcija sa *Wittig*-ovim reagensom je izvršena bazna hidroliza 3 $\beta$ -acetoksi grupe jedinjenja **44** i dobijen je derivat **53** (79%). Njegovom reakcijom *Wittig*-ove olefinacije sa ilidom dobijenim iz (cijanometil)trifenilfosfonijum-hlorida izreagovalo je samo 23% polaznog jedinjenja i nastao je nestabilni 19-cijanometilidenski derivat **54**. Aldehid **53** sa (hlorometil)trifenilfosfonijum-hloridom u prisustvu kalijum-*terc*-butoksida nije reagovao ni posle 20 h mešanja na sobnoj temperaturi, dok u prisustvu butil-litijuma je reagovao i nakon 20 h mešanja na sobnoj temperaturi dao tri proizvoda čije strukture nije bilo moguće utvrditi zbog njihove velike nestabilnosti.

Oralna bioraspoloživost svih novosintetisanih jedinjenja je ispitana izračunavanjem njihovih fiziko-hemijskih deskriptora i upoređivanjem sa parametrima za *Lipinski* i *Veber* pravila. Izračunati parametri svih sintetisanih jedinjenja su u skladu sa ograničenjima *Veber* pravila. Kada su u pitanju *Lipinski* pravila, kod jedinjenja **38** se javlja jedino odstupanje u molarnoj masi, ali ovo ne predstavlja prekoračenje ukupnog *Lipinski* kriterijuma. Za jedinjenja **8** i **41** pored neslaganja u iznosu molekulske mase, postoji i potencijalno odstupanje u izračunatom LogP ali pošto nije potvrđeno od strane oba korišćena programa ovo prekoračenje ograničenja treba uzeti sa rezervom. S obzirom na ove činjenice moglo se pristupiti *in vitro* testovima svih sintetisanih jedinjenja.

Prvi u nizu *in vitro* testova je test antiproliferativne aktivnosti, koja predstavlja inhibiciju rasta ćelija. Antiproliferativna aktivnost je ispitana na šest tumorskih ćelija: **MCF-7** (adenokarcinom dojke, estrogen receptor pozitivan, ER+), **MDA-MB-231** (adenokarcinom dojke, estrogen receptor negativan, ER-), **PC-3** (karcinom prostate, androgen receptor negativan, AR-), **HeLa** (karcinom grlića materice), **HT-29** (adenokarcinom debelog creva) i **A549** (adenokarcinom pluća), dok je kao kontrola služila jedna zdrava humana ćelijska linija **MRC-5** (zdrava ćelijska linija fibroblasta pluća). Osim antiproliferativne aktivnosti, utvrđeni su korelacioni odnosi između ove aktivnosti i strukture sintetisanih jedinjenja. Prema zdravoj ćelijskoj liniji sva jedinjenja sem jedinjenja **30** su se pokazala netoksičnim. Dobru antiproliferativnu aktivnost prema MCF-7 ćelijskoj liniji je od 5,6-disupstituisanih derivata pokazao 6 $\alpha$ -brom-5 $\beta$ -hidroksi derivat **9** (IC<sub>50</sub> 12,90  $\mu$ M), među kiseoničnim derivatima diacetat **10** (IC<sub>50</sub> 12,68  $\mu$ M) i 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivat **20** (IC<sub>50</sub> 8,62  $\mu$ M). U grupi 19-derivatizovanih jedinjenja prema ovoj ćelijskoj liniji su dobru aktivnost pokazali 19-acetoksi-4-en-3-on derivat **35** (IC<sub>50</sub> 1,71  $\mu$ M), 19-amid **46** (IC<sub>50</sub> 8,01  $\mu$ M) i 19E-oksim **47** (IC<sub>50</sub> 4,83  $\mu$ M). Prema MDA-MB-231 ćelijskoj liniji odličnu antiproliferativnu aktivnost su pokazali dibromid **8** (IC<sub>50</sub> 13,32  $\mu$ M) i fluorhidrin **16** (IC<sub>50</sub> 9,10  $\mu$ M), dok kod 5,6-disupstituisanim kiseoničnim jedinjenjima ona sa slobodnom hidroksilnom ili keto grupom na C3 (**18**, IC<sub>50</sub> 6,16  $\mu$ M, **20**, IC<sub>50</sub> 13,84  $\mu$ M, **21**, IC<sub>50</sub> 3,38  $\mu$ M, **22**, IC<sub>50</sub> 4,40  $\mu$ M i **23**, IC<sub>50</sub> 4,81  $\mu$ M). 6,19-Epoksi-5 $\alpha$ -fluor (**24**, IC<sub>50</sub> 9,69  $\mu$ M) i 5 $\alpha$ -hlor (**25**, IC<sub>50</sub> 6,99  $\mu$ M), kao i 19-metilidenski derivati **51** (IC<sub>50</sub> 7,56  $\mu$ M) i **52** (IC<sub>50</sub> 6,64  $\mu$ M) su takođe pokazali izuzetnu antiproliferativnu aktivnost prema ovoj ćelijskoj liniji. Na ćelije karcinoma prostate su dobru antiproliferativnu aktivnost osim diacetata **10** (IC<sub>50</sub> 6,60  $\mu$ M) i 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol-6 $\beta$ -metoksi derivata **21** (IC<sub>50</sub> 10,75  $\mu$ M), pokazali 6,19-epoksi derivati: 5 $\alpha$ -fluorid **24** (IC<sub>50</sub> 11,39  $\mu$ M), 5 $\alpha$ -hlorid **25** (IC<sub>50</sub> 7,37  $\mu$ M) i 5 $\alpha$ -bromid **26** (IC<sub>50</sub> 6,71  $\mu$ M). Značajnu antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma grlića materice su imali 5 $\alpha$ -brom derivati **6** (IC<sub>50</sub> 13,63  $\mu$ M) i **8** (IC<sub>50</sub> 9,46  $\mu$ M), kao i epoksid **7** (IC<sub>50</sub> 16,89  $\mu$ M), diacetat **10** (IC<sub>50</sub> 8,66  $\mu$ M) i 5 $\alpha$ -metoksi derivat **22** (IC<sub>50</sub> 7,06  $\mu$ M). Prema ćelijama karcinoma kolona 3 $\beta$ -hidroksi dibromid **11** (IC<sub>50</sub> 7,07  $\mu$ M) i dihlorid **13** (IC<sub>50</sub> 10,85  $\mu$ M) su pokazali dobru antiproliferativnu aktivnost, ali i 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoksid **7** (IC<sub>50</sub> 13,98  $\mu$ M) i triol **20** (IC<sub>50</sub> 9,34  $\mu$ M). Odličnu antiproliferativnu aktivnost prema ovoj ćelijskoj liniji je pokazao i značajan broj 19-derivatizovanih jedinjenja i to: 5 $\beta$ ,10-ciklopropil derivat **37** (IC<sub>50</sub> 1,78

$\mu\text{M}$ ), 19-toziloksi derivat **38** ( $\text{IC}_{50}$  9,20  $\mu\text{M}$ ), 19-amid **46** ( $\text{IC}_{50}$  2,07  $\mu\text{M}$ ), 3 $\beta$ -acetoksi-19*E*-oksim **47** ( $\text{IC}_{50}$  11,08  $\mu\text{M}$ ), 3 $\beta$ -hidroksi-19-nitril **50** ( $\text{IC}_{50}$  8,68  $\mu\text{M}$ ) i 19-metilidenski derivati **51** ( $\text{IC}_{50}$  6,30  $\mu\text{M}$ ) i **52** ( $\text{IC}_{50}$  1,99  $\mu\text{M}$ ). Odličnu antiproliferativnu aktivnost prema A549 ćelijskoj liniji imala su jedinjenja iz svih grupa novosintetisanih derivata. Tako se među 5,6-disupstituisanim halogenim derivatima svojom aktivnošću ističu 3 $\beta$ -hidroksi dibromid **11** ( $\text{IC}_{50}$  8,29  $\mu\text{M}$ ) i dihlorid **13** ( $\text{IC}_{50}$  15,45  $\mu\text{M}$ ), a među kiseoničnim derivatima 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol **20** je pokazao submikromolarnu aktivnost ( $\text{IC}_{50}$  0,99  $\mu\text{M}$ ). 6,19-Epoksi dikiselina **29** se ističe ne samo svojom aktivnošću prema ovoj ćelijskoj liniji ( $\text{IC}_{50}$  4,38  $\mu\text{M}$ ) već i visokom selektivnošću. Značajnu inhibiciju rasta ćelija karcinoma pluća među 19-derivatizovanim jedinjenjima su pokazali: 19-hidroksi-4-en-3-on **34** ( $\text{IC}_{50}$  15,62  $\mu\text{M}$ ), 5 $\beta$ ,10-ciklopropil derivat **37** ( $\text{IC}_{50}$  4,41  $\mu\text{M}$ ), 19-jodid **39** ( $\text{IC}_{50}$  5,28  $\mu\text{M}$ ), 19-amid **46** ( $\text{IC}_{50}$  11,60  $\mu\text{M}$ ) i 19-metilidenski derivati **51** ( $\text{IC}_{50}$  5,31  $\mu\text{M}$ ) i **52** ( $\text{IC}_{50}$  0,50  $\mu\text{M}$ ).

U cilju utvrđivanja molekulskih osnova antiproliferativne aktivnosti izvršen je virtuelni skrining kod odabranih jedinjenja. Dobijeni rezultati ukazuju da 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroksi derivat **20** i dikiselina **29** dobru antiproliferativnu aktivnost prema ćelijama karcinoma pluća imaju verovatno zahvaljujući inhibitornoj aktivnosti prema protein kinazama. Takođe antiproliferativna aktivnost prema ćelijama ER+ karcinoma dojke kod jedinjenja **9**, **20**, **35**, **46** i **47** verovatno vodi poreklo u vezivanju za nuklearne receptore i u inhibiciji enzima aromataze.

U okviru *in vitro* testova u ovom radu je sprovedeno i ispitivanje vezivanja za estrogene i androgene receptore. Ni jedno od sintetisanih jedinjenja nije pokazalo značajno vezivanje za ER $\alpha$  i ER $\beta$ , kao ni AR. Dalje je urađeno ispitivanje inhibicije enzima AKR1C3 za pojedina sintetisana jedinjenja. Utvrđeno je da 5,6-disupstituisana jedinjenja i 6,19-epoksidi poseduju slabu inhibitornu aktivnost, dok 19-derivatizovana jedinjenja povećavaju aktivnost ovog enzima.





## 6. SUMMARY

The aim of the first part of this doctoral thesis was synthesis of C19-derivatized compounds. In this part, 5,6-halogenated, 5,6-dihydroxy and/or 6-keto derivatives and 6,19-epoxides were synthesized as well. Antitumor potential was evaluated for all synthesized compounds by testing their oral bioavailability, antiproliferative activity on six cancer cell lines, affinity for steroid receptors and inhibition of AKR1C3 enzyme.

Starting compound in synthesis of all newly synthesized compounds was 3 $\beta$ -acetoxy-17-oxa-17a-homoandrost-5-en-16-one (**5**). This compound was obtained from dehydroepiandrosterone (**1**). In the first synthetic step reaction with *i*-amyl-nitrite was conducted and 17-keto-16*E*-oxime **2** was obtained in 99% yield. Its stereospecific reduction afforded 17 $\beta$ -hydroxy derivative **3** (86%). Starting from compound **3** base catalyzed Beckmann fragmentation, followed by acid catalyzed lactonization, gave D-lactone **4** in 96% yield. Further acetylation afforded 3 $\beta$ -acetoxy derivative **5** (81%). Lactone **5** was further used for synthesis of 5,6-disubstituted halogen derivatives. These compounds were synthesized because of their biological potential, but also as precursors of 6,19-epoxy and C19-derivatised compounds. Bromohydrin **6** and chlorohydrin **12** were obtained by addition of corresponding *in situ* generated hypohalogenic acid on double bond of compound **5**. The yield of bromohydrin **6** varies greatly depending on the reaction conditions. It is highest (67%) when the reaction is carried out at room temperature, daylight in dioxane, for 40 minutes and with the addition of 0.14-0.28 M HClO<sub>4</sub>. In these reaction conditions (and 0.28 M HClO<sub>4</sub>) besides bromohydrin **6** there was four reaction products isolated: 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxide **7** (23%), 5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromide **8** (1.4%), 6 $\alpha$ -brom-5 $\beta$ -hydroxy derivative **9** (1.9%) and 5 $\alpha$ -hydroksi-6 $\beta$ -acetoxy derivative **10** (0.8%). Acetoxy group of dibromide **8** was removed by reaction with sodium-ethoxide in ethanol and 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -dibromide **11** was obtained in 62% yield. By-products in chlorohydrin **12** (50%) synthesis were epoxide **7** (43%) and 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -dichloride **13** (5%). On the other hand, reaction of  $\Delta^5$ -lactone **5** with iodine and copper(II)-acetate in mixture of dioxane and water, at room temperature and in 24 h instead of the desired 5 $\alpha$ -hydroxy-6 $\beta$ -iodo derivative **14** gave 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxide **15** in 45% yield. Halohydrins were also obtained starting from 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxide **7**. By reaction of epoxide **7** with hydrobromic acid, bromohydrin **6** was obtained in 79% yield (calculated relative to reacted epoxide **7**). Chlorohydrin **12** was synthesized in reaction of epoxide **7** with bismuth(III)-chloride and cc HCl in 92% yield, also calculated relative to reacted epoxide **7**. Reaction of epoxide **7** with boron trifluoride etherate gave fluorohydrin **16** (yield 59.5% calculated relative to reacted epoxide).

The 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxide **7** was starting compound in synthesis of 5,6-dihydroxy and/or 6-keto derivatives. Oxidative opening of epoxide **7** with pyridinium chlorochromate or chromium(VI) oxide gave 5 $\alpha$ -hydroxy-6-keto derivative **17** (58% and 45%, respectively). Deprotection of the 3 $\beta$ -hydroxy group of compound **17** afforded 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-6-keto derivative **18** (78%). By reduction of C6 keto group of compound **18**, 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihydroxy derivative **20** (62%) was obtained. Initial reduction of the keto group of compound **17** in which the dihydroxy derivative **19** (84.5%) was formed, followed by deprotection of the C3 hydroxyl group of compound **19** also afforded compound **20** in 65% yield. This derivative was also obtained by vicinal dihydroxylation of compound **4** in 30.5% yield, and by basic hydrolysis of diacetate **10** (37%). Methanolysis of epoxide **7** afforded compound **20** (1.6%), 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxy derivative **21** (37%) and 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -methoxy derivative **22** (20%). Oxidation of 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-6-keto compound **18** and 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihydroxy derivative **20** with *Jones* reagent gives 5 $\alpha$ -hydroxy-3,6-diketo derivative **23** in 84% and 63% yield respectively.

Reaction of halohydrins **16**, **12** and **6** with lead tetraacetate in *aps.* benzene and atm. argon, with addition iodine and calcium carbonate and illumination afforded 6,19-epoxy derivatives: 5 $\alpha$ -fluoro- (**24**, 41%), 5 $\alpha$ -chloro- (**25**, 50%) i 5 $\alpha$ -bromo- (**26**, 88%). When obtaining compound **26**, as by-product 17 $\alpha$  $\beta$ -methoxy derivative **27** (0.23%) was isolated. In order to synthesize 6,19-lactone **28**, oxidation of 5 $\alpha$ -bromo-6,19-epoxide **26** with *Jones* reagent or chromium(VI)-oxide in water-acetic acid mixture was conducted. Instead 6,19-lactone **26**, 16,17-seco dicarboxylic acid **29** was obtained in 48% and 40% yield, respectively. Starting from 5 $\alpha$ -brom-6 $\beta$ ,19-epoxy derivative **26**, 6 $\beta$ ,19-epoxy-4-en-3-one compound **32** was synthesized. First deprotection of 3 $\beta$ -hydroxyl group was conducted and alcohol **30** was obtained, by which oxidation with *Jones* reagent gave unstable 3-keto compound **31**. Dehydrohalogenation of compound **31** with sodium acetate afforded derivative **32** (70% calculated from compound **30**).

The first synthesized 19-derivatized compound was 19-hydroxy derivative **33**. It was obtained by reductive opening of 6,19-epoxides **25** and **26** with zinc in boiling ethanol. In this reaction difference in reactivity of derivatives **24**, **25** and **26** was observed. While fluor derivative **24** did not react, chlor derivative **25** did but with large excess of zinc (51 equivalent) and in 21 h. In this reaction 84% of starting compound **25** reacted and yield of product **33** was 43%. Best reactivity was shown by brom derivative **26**. Reaction was conducted with 21 equivalent of zinc in 3h, entire amount of starting compound reacted and yield of product **33** was 80%. Also compound **5** was isolated as reaction by-product in 6% yield. 6,19-Epoxy-4-en-3-one derivative **32** reacted with zinc in ethanol during 19.5 h and 19-hydroxy-4-en-3-one compound **34** (65%) was obtained. When this reaction was conducted in glacial acetic acid reaction time was 6 h, and compound **34** (3%) was obtained alongside 19-acetoxy derivative **35** (44%).

Starting from alcohol **33** a number of new 19-derivatized compounds were synthesized. In the reaction with *p*-toluenesulfonyl chloride in refluxing pyridine two products were obtained:

19-chloride **36** (16%) and 5,19-ciclopropil derivative **37** (19%). When reaction was conducted at room temperature besides compound **37** (2.2%), 19-tosyloxy derivative **38** (64%) was obtained. Reaction of compound **38** with sodium-iodide gave 19-iodo derivative **39** (74%). in order to synthesize 19-fluoro derivative **40**, reaction of **38** with lithium-fluoride in boiling acetonitrile was conducted but 5,19-cyclopropyl derivative **37** (38%) and 19-nor-6-tosyloxymethyl derivative **41** (54%) were obtained.

In this thesis oxidation of alcohol **33** was also conducted. Oxidation with pyridinium chlorochromate in dichloromethane as well as solution of periodic acid and chromium(VI) oxide in a mixture of acetonitrile and water gave 19-aldehyde **44** in 92% and 53% yield, respectively. By oxidation with *Jones* reagent at room temperature, 19-aldehyde **44** was obtained in 7.8% yield, and 19-carboxylic acid **45** in 40% yield. When beforehand deprotection of 3 $\beta$ -hydroxy group was conducted and obtained dihydroxy compound **42** oxidized by *Jones* reagent at 0 °C 3,19-lactone **43** was formed in 20% yield. 19-Amide **46** was synthesized from 19-carboxylic acid **45** in the reaction with carbamide and imidazole in ethyl-acetate in microwave reactor on 165 °C during 15 min. Amide **46** yield was 72%.

As well as alcohol **33**, 19-aldehyde **44** was used for synthesis of other 19-derivatized compounds. By reaction with hydroxylamine it gave 19*E*-oxime **47** (75%), further deprotection of 3-hydroxyl group yielded compound **48** (87%). Dehydration of 19*E*-oxime **47** with mesyl choride gave 19-nitrile **49** (74%), upon which deprotection 3 $\beta$ -hydroxy-19-nitrile **50** was obtained. In the reaction of 19-aldehyde **44** with methyltriphenylphosphonium iodide in the presence of potassium *tert*-butoxide, 3 $\beta$ -hydroxy-19-methylidene derivative **52** (7.9%) and its 3 $\beta$ -acetoxy analogue **51** (4.1%) were obtained. Taking into account that in this reaction deprotection of 3-hydroxyl group also occurs, before next *Wittig* reaction was conducted, 3 $\beta$ -hydroxy-19-aldehyde **53** was obtained by base hydrolysis. Its *Wittig* olefination with (cyanomethyl)triphenylphosphonium chloride yielded unstable 19-cyanomethylidene derivative **54**. Aldehyde **53** did not react with (chloromethyl)triphenylphosphonium chloride in the presence of potassium *tert*-butoxide even after 20 h of stirring at room temperature, while in the presence of butyl lithium reacted and after 3 h stirring at room temperature gave three products whose structure could not be determined because of their low stability.

The oral bioavailability of all newly synthesized compounds was tested by calculating their physico-chemical descriptors and comparing them with parameters for *Lipinski* and *Veber* rules. The calculated parameters of all synthesized compounds are in accordance with the *Veber* rules and limitations. When it comes to *Lipinski* rules, the only exception for compound **38** is the deviation in molar mass, but this does not exceed the total *Lipinski* criteria. For compounds **8** and **41**, in addition to the disagreement in molecular mass, there is a potential deviation in the calculated LogP, but since it has not been confirmed by both programs, this result should be

taken with caution. Given these facts, *in vitro* tests were conducted for all of the synthesized compounds.

The first in a series of *in vitro* tests is an antiproliferative activity assay. Antiproliferative activity represents the inhibition of cell growth. The antiproliferative activity was tested on six tumour cell lines: MCF-7 (breast adenocarcinoma, estrogen receptor positive, ER+), MDA-MB-231 (breast adenocarcinoma, estrogen receptor negative, ER-), PC-3 (prostate cancer, androgen receptor negative, AR-), HeLa (human cervical carcinoma), HT-29 (colon adenocarcinoma) and A549 (human lung adenocarcinoma), while a healthy human cell line MRC-5 (fetal lung fibroblasts) was used as control. In addition to antiproliferative activity, the correlation between this activity and the structure of the synthesized compounds has been established. All synthesized compounds, except compound **30**, were not toxic to healthy fetal lung fibroblasts. Among 5,6-disubstituted halogen derivatives, 6 $\alpha$ -bromo-5 $\beta$ -hydroxy derivative **9** (IC<sub>50</sub> 12.90  $\mu$ M) has shown high antiproliferative activity on MCF-7 cell line, as well as two oxygen derivatives diacetate **10** (IC<sub>50</sub> 12.68  $\mu$ M) and 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihydroxy derivative **20** (IC<sub>50</sub> 8.62  $\mu$ M). Among 19-derivatized steroids good activity against this cell line have shown: 19-acetoxy-4-en-3-one derivative **35** (IC<sub>50</sub> 1.71  $\mu$ M), 19-amide **46** (IC<sub>50</sub> 8.01  $\mu$ M) and 19*E*-oxime **47** (IC<sub>50</sub> 4.83  $\mu$ M). Against MDA-MB-231 cell line significant activity was observed for dibromide **8** (IC<sub>50</sub> 13.32  $\mu$ M) and fluorohydrin **16** (IC<sub>50</sub> 9.10  $\mu$ M), also compounds with hydroxyl and ketone group on C3 (**18**, IC<sub>50</sub> 6.16  $\mu$ M, **20**, IC<sub>50</sub> 13.84  $\mu$ M, **21**, IC<sub>50</sub> 3.38  $\mu$ M, **22**, IC<sub>50</sub> 4.40  $\mu$ M i **23**, IC<sub>50</sub> 4.81  $\mu$ M). 6,19-Epoxy-5 $\alpha$ -fluor (**24**, IC<sub>50</sub> 9.69  $\mu$ M), 5 $\alpha$ -chlor (**25**, IC<sub>50</sub> 6.99  $\mu$ M) and 19-methylidene derivatives **51** (IC<sub>50</sub> 7.56  $\mu$ M) and **52** (IC<sub>50</sub> 6.64  $\mu$ M) had high activity against this cell line. On prostate cancer cells, good antiproliferative activity besides diacetate **10** (IC<sub>50</sub> 6.60  $\mu$ M) and 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol-6 $\beta$ -methoxy derivative **21** (IC<sub>50</sub> 10.75  $\mu$ M), also showed 6,19-epoxy derivatives: 5-fluoride **24** (IC<sub>50</sub> 11.39  $\mu$ M), 5 $\alpha$ -chloride **25** (IC<sub>50</sub> 7.37  $\mu$ M) and 5 $\alpha$ -bromide **26** (IC<sub>50</sub> 6.71  $\mu$ M). Significant antiproliferative activity on cervical carcinoma cells had 5 $\alpha$ -bromine derivatives **6** (IC<sub>50</sub> 13.63  $\mu$ M) and **8** (IC<sub>50</sub> 9.46  $\mu$ M), as well as epoxide **7** (IC<sub>50</sub> 16.89  $\mu$ M), diacetate **10** (IC<sub>50</sub> 8.66  $\mu$ M) and 5 $\alpha$ -methoxy derivative **22** (IC<sub>50</sub> 7.06  $\mu$ M). 3 $\beta$ -Hydroxy dibromide **11** (IC<sub>50</sub> 7.07  $\mu$ M) and dichloride **13** (IC<sub>50</sub> 10.85  $\mu$ M) showed good antiproliferative activity against colon carcinoma cells, as well as 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxide **7** (IC<sub>50</sub> 13.98  $\mu$ M) and triole **20** (IC<sub>50</sub> 9.34  $\mu$ M). High activity against this cell line has significant number of 19-derivatized steroids: 5 $\beta$ ,10-cyclopropyl derivative **37** (IC<sub>50</sub> 1.78  $\mu$ M), 19-tosyloxy derivative **38** (IC<sub>50</sub> 9.20  $\mu$ M), 19-amide **46** (IC<sub>50</sub> 2.07  $\mu$ M), 3 $\beta$ -acetoxy-19*E*-oxyme **47** (IC<sub>50</sub> 11.08  $\mu$ M), 3 $\beta$ -hydroxy-19-nitrile **50** (IC<sub>50</sub> 8.68  $\mu$ M) and 19-methylidene derivatives **51** (IC<sub>50</sub> 6.30  $\mu$ M) and **52** (IC<sub>50</sub> 1.99  $\mu$ M). Excellent antiproliferative activity on A549 cell line had compounds from all groups of newly synthesized derivatives. Thus, among 5,6-disubstituted halogen derivatives highest activity had 3 $\beta$ -hydroxy dibromide **11** (IC<sub>50</sub> 8.29  $\mu$ M) and dichloride **13** (IC<sub>50</sub> 15.45  $\mu$ M) and among oxygen derivatives 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triole **20** has showed submicromolar activity (IC<sub>50</sub> 0.99

$\mu\text{M}$ ). 6,19-Epoxy dicarboxylic acid **29** has not only high activity ( $\text{IC}_{50}$  4,38  $\mu\text{M}$ ) but also selectivity towards this cell line. Significant inhibition of lung cancer cell growth among the 19-derivatized compounds have shown: 19-hydroxy-4-en-3-one **34** ( $\text{IC}_{50}$  15.62  $\mu\text{M}$ ), 5 $\beta$ ,10-cyclopropyl derivative **37** ( $\text{IC}_{50}$  4.41  $\mu\text{M}$ ), 19-iodide **39** ( $\text{IC}_{50}$  5.28  $\mu\text{M}$ ), 19-amide **46** ( $\text{IC}_{50}$  11.60  $\mu\text{M}$ ) and 19-methylidene derivatives **51** ( $\text{IC}_{50}$  5.31  $\mu\text{M}$ ) and **52** ( $\text{IC}_{50}$  0.50  $\mu\text{M}$ ).

In order to determine the molecular basis of antiproliferative activity, virtual screenings were performed for selected compounds. The obtained results indicate that the 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihydroxy derivative **20** and dicarboxylic acid **29** have a good antiproliferative activity towards lung carcinoma cells, possibly due to inhibitory activity against protein kinases. Also antiproliferative activity against ER+ breast cancer cells of compounds **9**, **20**, **35**, **46** and **47** is likely due to binding to nuclear receptors and/or inhibition of aromatase.

Further *in vitro* assays were conducted in order to determine binding affinity for estrogen  $\alpha$  and  $\beta$  and androgen receptors and inhibitor activity on selected steroidogenesis enzyme. None of newly synthesised compounds has shown significant affinity towards estrogen and androgen receptors. It was also found that 5,6-disubstituted compounds and 6,19-epoxides have poor inhibitory activity against AKR1C3 enzyme, while 19-derivatized compounds increase the activity of this enzyme.



## 7. SKRAĆENICE

Ac	Acetil
AKR	Aldo-keto reduktaze
Am	Amil
aps.	apsolutni
AR	Androgen receptor
atm.	Atmosfera
COSY	Correlation spectroscopy
DDT	Dihlorodifeniltrihloroetan
DES	Dietilstilbestrol
DHT	dihidrotestosteron
DMA	Dimetilacetamid
DMAP	4-(Dimetilamino)piridin
DME	Dimetoksietan
DMF	Dimetilformamid
DMSO	Dimetilsulfoksid
EDA	Etilen-diamin
ER	Estrogen receptor
ESI	Electrospray ionization
Et	Etil
GPCR	G-protein kuplovani receptor
HESI	Heated electrospray ionization
HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy
HMPA	Heksametilfosforamid
HRMS	High resolution mass spectrometry
HSD	Hidroksi steroid dehidrogenaze
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence
IA	Inhibitori aromataze
IBU	Ibuprofen

K <sub>m</sub>	Michaelis-Menten-ova konstanta
LDA	Litijum-diizopropilamid
LiN(TMS) <sub>2</sub>	Litijum-bis(trimetilsilil)amid
Me	Metil
Ms	Mezil (metansulfonil)
MTPI	Trifenilfosfit-metil-jodid
NBA	<i>N</i> -bromacetamid
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NIS	<i>N</i> -jodsukcinimid
NMO	<i>N</i> -metilmorfolin- <i>N</i> -oksid
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
PCC	Piridinijum-hlorhromat
PDC	Piridinijum-dihromat
PE	Petrol etar
Ph	Fenil
PQ	9,10-Fenantrohinon
Pr	Propil
PR	Progesteron receptor
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -toluensulfonska kiselina
Py	Piridin
rast.	rastvor
SDS	Natrijum-dodecilsulfat
st	Sobna temperatura
SREM	modulatori ili nesteroidni antiestrogeni (eng. Selective estrogen receptor modulator)
TBS	<i>tert</i> -Butildimetilsilil
TBSOTf	<i>tert</i> -Butildimetilsilil-trifluorometansulfonat
tBu	<i>tert</i> -Butil
THF	Tetrahidrofur
TMS	trimetilsilil
TPAP	Tetrapropilamonijum-perrutenat



## 8. LITERATURA

1. C. Avendano, J. C. Menendes, *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevir, 2015, str. 1, 81–131
2. L. Pecorino, *Molecular Biology of Cancer Mechanisms, Targets and Therapeutics*, Third Edition, Oxford University Press, 2012, str. 2, 4
3. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
4. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms?cdrid=45333> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
5. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> (pristupljeno 19.12.2017.god.)
6. Y. Cao, *Cell Biosci* 7:61 (2017) DOI 10.1186/s13578-017-0188-9
7. I. G. Kim, Y. S. Lee, *J Biochem Mol Biol* 36:1 (2003) 144–148
8. D. Belpomme, P. Irigaray, A. J. Sasco, J. A. Newby, V. Howard, R. Clapp i L. Hardell, *Int J Oncol* 30 (2007) 1039–1047
9. B. W. Stewart, C. P. Wild, *World Cancer Report 2014*, Lyon, France, IARC Press, 2014
10. H. J. Burstein i dr., *J Clin Oncol* 35 (2017) 1341–1367
11. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/statistics> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
12. D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay, P. Pisani, *CA Cancer J Clin* 55 (2005) 74–108
13. <https://www.cdc.gov/cancer/dcpc/data/men.htm> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
14. A. Jemal i dr., *J Natl Cancer Inst* 109:9 (2017) doi: 10.1093/jnci/djx030
15. S. Pecorelli, G. Favalli, L. Zigliani, F. Odicino, *Int J Gynecol Obstet* 82 (2003) 369–379
16. <https://www.cdc.gov/cancer/dcpc/data/women.htm> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
17. <https://www.cdc.gov/cancer/breast/statistics/> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
18. A. Jemal, M. M. Center, C. DeSantis, E. M. Ward, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19:8 (2010) 1893–907
19. <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/data-specific-cancers/breast-cancer-statistics> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
20. <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html> (pristupljeno 19.12.2017. god.)
21. T. Pekmezović, „Epidemiologija raka dojke“, u: G. Milašinović, Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije, Beograd, 2013., str. 9–10

22. Demografska statistika 2015, Republički zavod za statistiku Republike Srbije, Beograd 2016.
23. Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije, Institut za javno zdravlje „Dr Milan Jovanovic Batut“, Beograd 2017., str. 431
24. [http://www.breastcancer.org/treatment/hormonal/what\\_is](http://www.breastcancer.org/treatment/hormonal/what_is) (pristupljeno 20.12.2017. god.)
25. A. Gupta, B. S. Kumar, A. S. Nagi, *J Steroid Biochem Mol Biol* 137 (2013) 242–270
26. A. M. H. Brodie, V. C. O. Njar, *Steroids* 65 (2000) 171–179
27. R. W. Brueggemeier, J. C. Hackett, E. S. Diaz-Cruz, *Endocr Rev* 26:3 (2005) 331–345
28. M. R. Yadav, M. A. Barmade, R. S. Tamboli, P. R. Murumkar, *Eur J Med Chem* 105 (2015) 1–38
29. A. M. H. Brodie, *Pharmac Ther* 60 (1993) 501–515
30. F. Sciarra, *J Endocrinol Invest* 11 (1988) 755–762
31. I. S. Goldenberg, M. N. Waters, R. S. Ravdin, F. J. Ansfield, A. Segaloff, *JAMA* 223:11 (1973) 1267–1268
32. K. Florey, *Anal Profiles Drug Subst* 5 (1976) 533–553
33. E. A. Djurendić, M. N. Sakač, M. P. Zaviš, A. R. Gaković, J. J. Čanadi, S. A. Andrić, O. R. Klisurić, V. V. Kojić, G. M. Bogdanović, K. M. Penov Gaši, *Steroids* 73 (2008) 681–688
34. M. P. Savić, O. R. Klisurić, K. M. Penov-Gaši, D. S. Jakimov, M. N. Sakač, E. A. Djurendić, *J Chem Crystallogr* 46:2 (2016) 84–92
35. S. Dubey, *Curr Enzym Inhib* 2 (2006) 189–198
36. B. W. Metcalf, C. L. Wright, J. P. Burkhart, J. O. Johnston, *J Am Chem Soc* 103 (1981) 3221–3222
37. J. O. Johnston, C. L. Wright, B. W. Metcalf, *Endocrinology* 115:2 (1984) 776–785
38. E. di Salle, G. Briatico, D. Giudici, G. Ornati, T. Zaccheo, *J Steroid Biochem* 34:16 (1989) 431–434
39. A. Howell, S. Downey, E. Anderson, *Eur J Cancer* 32A:4 (1996) 516–580
40. [http://www.breastcancer.org/symptoms/understand\\_bc/what\\_is\\_bc](http://www.breastcancer.org/symptoms/understand_bc/what_is_bc) (pristupljeno 21.12.2017)
41. G. N. Sharma, R. Dave, J. Sanadya, P. Sharma, K. K Sharma, *J Adv Pharm Technol Res* 1:2 (2010) 109–126
42. B. Weigelt, J. S. Reis-Filho, *Nat Rev Clin Oncol* 6 (2009) 718–730
43. B. Weigelt, F. C. Geyer, J. S. Reis-Filho, *Mol Oncol* 4 (2010) 192–208
44. F. A. Tavassoli, P. Devilee, Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs, World Health Organization Classification of Tumours, International Agency for Research on Cancer (IARC), IARCPress, Lyon, 2003, str. 9–112
45. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer.html> (pristupljeno 21.12.2017. god.)

46. L. G. de Almeida Chuffa, L. A. Lupi-Júnior, A. Balandis Costa, J. P. de Arruda Amorim, F. Rodrigues Ferreira Seiva, *Steroids* 118 (2017) 93–108
47. J. Chun, B. Pocock, K. A. Joseph, M. El-Tamer, L. Klein, F. Schnabel, *Ann Surg Oncol* 16 (2009) 96–99
48. V. G. Vogel, *CA Cancer J Clin* 50 (2000) 156–170
49. ESHRE Capri Workshop Group, *Hum Reprod Update* 10:4 (2004) 281–293
50. S. Tominaga, T. Kuroishi, *Breast Cancer* 6:4 (1999) 283–288
51. A. J. Sasco, R. Kaaks, R. E. Little, *Expert Rev Anticancer Ther* 3:4 (2003) 546–562
52. B. MacMahon, *Int J Cancer* 118 (2006) 2373–2378
53. J.A. Collins, J. M. Blake, P. G. Crosignani, *Hum Reprod Update* 11:6 (2005) 545–560
54. F. Clavel-Chapelon, M. Gerber, *Breast Cancer Res Treat* 72 (2002) 107–115
55. H. Cramer, R. Lauche, P. Klose, S. Lange, J. Langhorst, G. J. Dobos, *Cochrane Database Syst Rev* 1 (2017) DOI 10.1002/14651858.CD010802.pub2
56. N. C. Facione, *Sot Sci Med* 36:12 (1993) 1521–1534
57. [http://www.breastcancer.org/symptoms/understand\\_bc/symptoms](http://www.breastcancer.org/symptoms/understand_bc/symptoms) (pristupljeno 21.12.2017. god.)
58. S. C. Jones, K. Johnson, *Women's Health* 8:5 (2012) 579–591
59. D. B. Thomas, D. L. Gao, R. M. Ray i dr., *J Natl Cancer Inst* 94:19 (2002) 1445–1457
60. A. J. Alberg, S. Singh, J. W. May, K. J. Helzlsouer, *Curr Opin Oncol* 12 (2000) 515–520
61. C. H. Lee, *Radiol Clin North Am* 40:3 (2002) 395–407
62. R. Džodić, I. Marković, M. Buta, „Klinički pregled dojke“, u: G. Milašinović, Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije, Beograd, 2013., str. 15–18
63. K. Ford, E. Marcus, B. Lum, *Dis Mon* 45:9 (1999) 333–405
64. N. Perry, M. Broeders, C. de Wolf, S. Törnberg, R. Holland, L. von Karsa, *Ann Oncol* 19 (2008) 614–622
65. N. Handel, M. J. Silverstein, *Plast Reconstr Surg* 118:3 (2006) 587–593
66. A. K. Swayampakula, C. Dillis, J. Abraham, *Expert Rev Anticancer Ther* 8:5 (2008) 811–817
67. D. S. Salem, R. M. Kamal, S. M. Mansour, L. A. Salah, R. Wessam, *J Thorac Dis* 5 (2013) S9–S18
68. T. B. Bevers i dr., *J Natl Compr Cancer Netw* 7:10 (2009) 1060–1096
69. L. S. Caplan, D. S. May, L. C. Richardson, *Am J Public Health* 90 (2000) 130–134
70. C. M. Furnival, *Aust N Z J Surg* 67 (1997) 47–58
71. T. Wright, A. McGechan, *Mol Diagn* 7:1 (2003) 49–55
72. J. Sood, *Pharm Pract* 18:5 (2008) 166–172
73. F. Andre, Z. Benbrahim, S. Delalogue, *Curr Breast Cancer Rep* 2 (2010) 152–158

74. D. Simosa, M. Clemonsa, O. M. Ginsburgb, C. Jacobs, *Curr Opin Support Palliat Care* 8:1 (2014) 33–38
75. H. Kaur, S. Saini, S. Peer, J. Singh, *Sys Rev Pharm* 1:1 (2010) 40–49
76. D. J. Benjamin, *Med Hypotheses* 47 (1996) 389–397
77. R. Džodić, I. Marković, V. Pošarac, M. Buta, „Hirurške preporuke za dijagnostifikovanje i lečenje karcinoma dojke“, u: G. Milašinović, Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije, Beograd, 2013., str. 57–76
78. J. Mladenović, „Radioterapija karcinoma dojke“, u: G. Milašinović, Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije, Beograd, 2013., str. 77–84
79. N. Carlson, J. King, *J Midwifery Womens Health* 57 (2012) 558–568
80. C. Liedtke, H. C. Kolberg, *Breast Care* 11 (2016) 275–281
81. M. Colleoni, A. Goldhirsch, *Lancet Oncol* 15:2 (2014)131–132
82. A. M. Thompson, S. L. Moulder-Thompson, *Ann Oncol* 23 (2012) 231–236
83. M. Van de Wiela, Y. Dockx, T. Van den Wyngaert, S. Stroobants, W. A. A. Tjalmaa, M. T. Huizing, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 210 (2017) 144–156
84. A. M. Gonzalez-Angulo, F. Morales-Vasquez, G. N. Hortobagyi, „Overview of Resistance to Systemic Therapy in Patients with Breast Cancer“, u: D. Yu, M. Chie Hung, Breast Cancer Chemosensitivity, Landes Bioscience and Springer Science+Business Media, New York, 2007., str. 1–22
85. M. Z. Ladjemi, W. Jacot, T. Chardes, A. Pelegrin, I. Navarro-Teulon, *Cancer Immunol Immunother* 59 (2010) 1295–1312
86. G. Y. Locker, *Cancer Treat Rev* 24 (1998) 221–240
87. K. L. Cheung, *The Breast* 16 (2007) 327–343
88. A. Jameera Begam, S. Jubie, M. J. Nanjan, *Bioor Chem* 71 (2017) 257–274
89. C. Heldermon, M. Ellis, *Update Cancer Ther.* 1 (2006) 285–297
90. A. Howell, *Endocr Relat Cancer* 13 (2006) 689–706
91. K. Penov-Gaši, E. Đurendić, Lj. Medić-Matijević, Hemija androgena, antiandrogena i njihova primena u biomedicini, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, 2001, str. 9–11, 15, 115, 116
92. A. Howell, A. Buzdar, *J Steroid Biochem Mol Biol* 93 (2005) 237–247
93. A. Howell, M. Dowsett, *Breast Cancer Res* 6 (2004) 269–274
94. T. G. Lyons, T. A. Traina, *Curr Breast Cancer Rep* 9 (2017) 242–250
95. H. J. T. Coelingh Benninka, C. Verhoevena, A. E. Dutmana, J. Thijssen, *Maturitas* 95 (2017) 11–23
96. J. T. Sanderson, *Toxicol Sci* 94:1 (2006) 3–21
97. H. K. Ghayee, R. J. Auchus, *Rev Endocr Metab Disord* 8 (2007) 289–300

98. A. H. Payne, D. B. Hales, *Endocr Rev* 25:6 (2004) 947–970
99. W. L. Miller, *Endocr Rev* 9:3 (1988) 295–318
100. W. L. Miller, R. J. Auchus, *Endocr Rev* 32:1 (2011) 81–151
101. W. L. Miller, *Disorders of the Human Adrenal Cortex Endocr Dev Basel, Karger* 13 (2008) 1–18
102. I. Hanukoglu, *J Steroid Biochem Molec Biol* 43:8 (1992) 779–804
103. D. Ghosh, J. Griswold, M. Erman, W. Pangborn, *Nature* 457:7226 (2009) 219–223
104. D. Ghosh, Jennifer Griswold, M. Erman, W. Pangborn, *J Steroid Biochem Mol Biol* 118 (2010) 197–202
105. S. Chen, *Front in Biosci* 3 (1998) 922–933
106. A. Brodie, *Trends Endocrinol Metab* 13:2 (2002) 61–65
107. V. J. Assikis, A. Buzdar, *Am J Cancer* 1:2 (2002) 93–100
108. A. U. Buzdar, *Clin Breast Cancer* 4, Suppl. 2 (2003) S84–S88
109. R. Kudchadkar, R. M. O'Regan, *CA Cancer J Clin* 55 (2005) 145–163
110. J. M. Nabholz, *EJSO* 34 (2008) 1199–1207
111. I. C. Henderson, M. J. Piccart-Gebhart, *Clin Breast Cancer* 6:3 (2005) 206–215
112. M. Kalidas, P. Brown, *Clin Breast Cancer* 6:1 (2005) 27–37
113. J. M. Dixon, *Expert Opin Pharmacother* 7:18 (2006) 2465–2479
114. W. R. Miller, J. Bartlett, A. M. H. Brodie, R. W. Brueggemeier, E. Di Salle, P. E. Lønning, A. Llombart, N. Maass, T. Maudelonde, H. Sasano, P. E. Goss, *The Oncologist* 13 (2008) 829–837
115. M. Numazawa, Y. Watari, S. Komatsu, K. Yamashita, M. Nagaoka, *Steroids* 73 (2008) 1262–1269
116. L. Banting, S. Ahmed, *Anticancer Agents Med Chem* 9 (2009) 627–641
117. R. J. Santen, H. A. Harvey, *Endocr Relat Cancer* 6 (1999) 75–92
118. P. E. Lønning, *Drugs Aging* 19:4 (2002) 277–298
119. U. Dutta, K. Pant, *Med Oncol* 25 (2008) 113–124
120. G. Cocconi, *Breast Cancer Res Treat* 30 (1994) 57–80
121. T. L. Lemke, D. A. Williams, V. F. Roche, S. W. Zito, Foye's principles of medicinal chemistry: Seventh edition, Wolters Kluwer Health Adis (ESP), 2012, str. 1362
122. G. J. Kelloff, R. A. Lubet, R. Lieberman, K. Eisenhauer, V. E. Steele, J. A. Crowell, E. T. Hawk, C. W. Boone, C. C. Sigman, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7 (1998) 65–78
123. T. M. Penning, *Chem Biol Interact* 234 (2015) 236–246
124. J. M. Jez, T. Geoffrey Flynn, T. M. Penning, *Biochem Pharmacol* 54 (1997) 639–647
125. T. M. Penning, J. E. Drury, *Arch Biochem Biophys* 464:2 (2007): 241–250
126. [https://www.med.upenn.edu/akr/documents/AllAKRtoMay21\\_2006humansequential.pdf](https://www.med.upenn.edu/akr/documents/AllAKRtoMay21_2006humansequential.pdf)
127. T. M. Penning, M. C. Byrns, *Steroid Enzymes and Cancer: Ann NY Acad Sci* 1155 (2009) 33–42

128. C. M. Zeng, L. L. Chang, M. D. Ying, J. Cao, Q. J. He, H. Zhu, B. Yang, *Front. Pharmacol.* 8 (2017) 119
129. M. C. Byrns, Y. Jin, T. M. Penning, *J Steroid Biochem Mol Biol* 125 (2011) 95–104
130. M. C. Byrns, *Front Pharmacol* 2:92 (2012) 1-6
131. N. S. Sarma, M. S. Krishna, Sk. G. Pasha, T. S. Prakasa Rao, Y. Venkateswarlu, P. S. Parameswaran, *Chem Rev* 109:6 (2009) 2803–2828
132. M. T. Pupo, P. C. Vieira, J. B. Fernandes, M. F. das G. F. Da Silva, E. Rodrigues Fo, *Phytochemistry* 45:7 (1997) 1495–1500
133. W. Zhang, Y. W. Guo, E. Mollo, A. Fontana, G. Cimino, *J Nat Prod* 67 (2004) 2083–2085
134. S. Y. Cheng, C. Feng Dai, C. Y. Duh, *J Nat Prod* 70 (2007) 1449–1453
135. S. Y. Cheng, Y. C. Huang, Z. H. Wen, C. H. Hsu, S. K. Wang, C. F. Dai, C. Y. Duh, *Steroids* 74 (2009) 543–547
136. F. Amir, Y. C. Koay, W. S. Yam, *Trop J Pharm Res* 11:3 (2012) 499–517
137. S. K. Wang, S. Y. Puu, C. Y. Duh, *Mar Drugs* 10 (2012) 1288–1296
138. M. Chen, L. Han, X. L. Zhang, C. Y. Wang, *Nat Prod Res* 30:12 (2016) 1431–1435
139. T. Leng i dr., *Steroids* 105 (2016) 96–105
140. N. V. Zhukova, T. A. Glorizova, V. V. Poroikov, V. Dembitsky, *Pharma Innovation* 6:11 (2017) 456–462
141. S. Martucciello, G. Paoletta, T. Muzashvili, A. Skhirtladze, C. Pizza, I. Caputoa, S. Piacente, *Chem Biol Interact* 279 (2018) 43–50
142. K. Mukai, D. Urabe, S. Kasuya, N. Aoki, M. Inoue, *Angew Chem Int Ed* 52 (2013) 5300–5304
143. H. Renata, Q. Zhou, P. S. Baran, *Science* 339 (2013) 59–63
144. C. Y. Duh, S. K. Wang, M. J. Chu, J. H. Sheu, *J Nat Prod* 61:8 (1998) 1022–1024
145. A. Ankli, J. Heilmann, M. Heinrich, O. Sticher, *Phytochemistry* 54 (2000) 531–537
146. U. Supratman, T. Fujita, K. Akiyama, H. Hayashi, *Biosci Biotechnol Biochem* 64 (2000) 1310–1312
147. H. Renata, Q. Zhou, G. Dünstl, J. Felding, R. R. Merchant, C. H. Yeh, P. S. Baran, *J Am Chem Soc* 137:3 (2015) 1330–1340
148. A. C. Cala, A. C. S. Chagas, M. C. S. Oliveira, A. P. Matos, L. M. F. Borges, L. A. D. Sousa, F. A. Souza, G. P. Oliveira, *Exp Parasitol* 130 (2012) 98–102
149. K. Ponsold, M. Wunderwald, W. Schade, *Tetrahedron Lett* 16 (1969) 1209–1212
150. P. J. Bednarski, D. J. Porubek, S. D. Nelson, *J Med Chem* 28 (1985) 775–779
151. P. J. Bednarski, S. D. Nelson, *J Med Chem* 32 (1989) 203–213
152. D. Lesuisse, J. F. Gourvest, O. Benslimane, F. Canu, C. Delaisi, B. Doucet, C. Hartmann, J. M. Lefrancçois, B. Tric, D. Mansuy, D. Philibert, G. Teutsch, *J Med Chem* 39 (1996) 757–772

153. V. E. Ottow, G. Neef, R. Wiechert, *Angew Chem* 101:6 (1989) 776–778
154. J. C. Gasc, L. Nedelec, *Tetrahedron Lett* 22 (1971) 2005–2008
155. Y. Shinohara, S. Baba, Y. Kasuya, *Steroids* 44:3 (1984) 253–260
156. B. W. Metcalf, J. O'Neal Johnston, US Patent 4,322,416 (1981)
157. D. Lesuisse, F. Canu, B. Tric, *Tetrahedron* 50: 28 (1994) 8491–8504
158. T. Jen, M. E. Wolff, *J Med Pharm Chem* 5:1 (1962) 876–878
159. T. Jen, M. E. Wolff, *J Org Chem* 28:6 (1963) 1573–1575
160. M. E. Wolff, T. Jen, *J Med Chem* 6:6 (1963) 726–732
161. R. Kwok, M. E. Wolff, *J Org Chem* 28:2 (1963) 423–427
162. M. E. Wolff, *Chem Rev* 1 (1963) 55–64
163. K. Heusler, J. Kalvoda, Ch. Meystre, H. Ueberwasser, P. Wieland, G. Anner, A. Wettstein, *Experientia* 18 (1962) 464–466
164. J. Kalvoda, K. Heusler, H. Ueberwasser, G. Anner, A. Wettstein, *Helv Chim Acta* 46:150 (1963) 1361–1369
165. M. Numazawa, K. Yamada, *Steroids* 63 (1998) 62–69
166. M. Numazawa, K. Yamada, *Steroids* 64 (1999) 320–327
167. H. Ueberwasser, K. Heusler, J. Kalvoda, Ch. Meystre, P. Wieland, G. Anner, A. Wettstein, *Helv Chim Acta* 46:34 (1963) 344–352
168. N. V. Kovganko, Zh. N. Kashkan, Yu. G. Chernov, *Chem Nat Compd* 28 (1992) 584–588
169. J. Hnilíčková, L. Kohout, *Collect Czech Chem Commun* 65 (2000) 380–384
170. M. Ehrenstein, M. Dunnenberger, *J Org Chem* 21:7 (1956) 774–782
171. M. Ehrenstein, M. Dunnenberger, *J Org Chem* 21:7 (1956) 783–790
172. C. J. Sih, S. M. Kupchan, N. Katsui, O. El Tayeb, *J Org Chem* 28:3 (1963) 854–855
173. M. Stefanović, Z. Djarmati, M. Gašić, *Tetrahedron Lett* 32 (1970) 2769–2771
174. D. N. Kirk, M. P. Hartshon, *Steroid Reaction Mechanisms (Reaction Mechanisms in Organic Chemistry)*, Elsevir Science, 1969, str. 406–408
175. D. Hauser, K. Heusler, J. Kalvoda, K. Schaffner, O. Jeger, *Helv Chim Acta* 47:7 (1964) 216–217
176. K. Heusler, J. Kalvoda, *Angew Chem* 3:8 (1964) 525–596
177. W. Chen, X. Chen, S. Zhou, H. Zhang, L. Wanga, J. Xu, X. Hu, W. Yin, G. Yan, J. Zhang, *Steroids* 110 (2016) 1–8
178. A. Bowers, E. Denot, L. Cuellar Ibanes, E. Cabezas, H. J. Ringold, *J Org Chem* 27 (1962) 1862–1867
179. L. F. Fieser, M. Fieser, *Steroids*, Reinhold Publishing Corporation, 1967, str. 354
180. Lj. Lorenc, L. Bondarenko, M. Rajković, A. Milovanović, M. Lj. Mihailović, *Tetrahedron* 39 (1983) 3609–3614
181. M. Lj. Mihailović, M. M. Rajković, Lj. B. Lorenc, V. D. Pavlović, A. Z. Milovanović, B. Tinant, J. Declercq, *Tetrahedron* 52 (1996) 11995–12008

182. V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. I. Kuchto, Z. Z. Zhiburtovich, A. S. Lyakhov, A. A. Govorova, M. B. Groen, J. van der Louw, A. de Groot, *Steroids* 71 (2006) 504–509
183. M. S. Bjelaković, N. M. Krstić, N. Todorović, A. Krunić, B. Tinant, M. M. Dabović, V. D. Pavlović, *Tetrahedron* 65 (2009) 9557–9568
184. M. S. Bjelaković, N. M. Krstić, D. R. Milić, T. J. Kop, K. Robeyns, V. D. Pavlović, *Tetrahedron* 68 (2012) 7479–7488
185. M. S. Bjelaković, Lj. B. Lorenc, V. D. Pavlović, M. Lj. Mihailović, B. Tinant, J. Declercq, J. Kalvoda, *Helv Chim Acta* 82 (1999) 707–721
186. V. A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A. I. Kotyatkina, G. P. Fando, Y. Y. Zhiburtovich, A. S. Lyakhov, A. A. Govorova, M. B. Groen, J. vander Louw, A. de Groot, *Collect Czech Chem C* 66 (2001) 1764–1776
187. A. Madaio, V. Piccialli, D. Sica, *Tetrahedron Lett* 29:46 (1988) 5999–6000
188. A. Madaio, G. Notaro, V. Piccialli, D. Sica, *J Nat Prod* 53 (1990) 565–572
189. M. Joselevich, A. A. Ghini, G. Burton, *Org Biomol Chem* 1 (2003) 939–943
190. M. Numazawa, Y. Watari, K. Yamada, N. Umemura, W. Handa, *Steroids* 68 (2003) 503–513
191. M. E. Wolff, S. Y. Cheng, *J Org Chem* 32:4 (1967) 1029–1034
192. Q. Cheng, C. D. Sohl, F. K. Yoshimoto, F. P. Guengerich, *J Biol Chem* 287:35 (2012) 29554–29567
193. Y. Yan, T. Li, T. Liu, Q. Dou, K. Ding, W. Tian, *Chin J Chem* 31 (2013) 63–66
194. A. Zaifaroni, US patent 3,013,025 (1961)
195. E. Santaniello, E. Caspi, *J Steroid Biochem* 7 (1976) 223–227
196. A. Bowers, US Patent 3,210,389 (1965)
197. A. Bowers, US Patent 3,186,988 (1965)
198. L. H. Knox, E. Blossey, H. Carpio, L. Cervantes, P. Crabbé, E. Velarde, J. A. Edwards, *J Org Chem* 30:7 (1965) 2198–2205
199. A. Bowers, US Patent 3,228,932 (1966)
200. O. Halpern, I. Delfin, L. Magana, A. Bowers, *J Org Chem* 31 (1966) 693–699
201. M. E. Wolff, W. Ho, *J Pharm Sci* 56: 6 (1967) 705–708
202. J. N. Wright, M. R. Calder, M. Akhtar, *J Chem Soc, Chem Commun* 0 (1985) 1733–1735
203. J. N. Wright, P. T. van Leersum, (in part) S. G. Chamberlin, M. Akhtar, *J Chem Soc, Perkin Trans* 1:0 (1989) 1647–1655
204. M. S. Mathai, R. A. Pascal, Jr., *Steroids* 59 (1994) 244–247
205. M. Numazawa, M. Nagaoka, W. Handa, Y. Ogawa, S. Matsuoka, *J Steroid Biochem Mol Biol* 107 (2007) 211–219
206. O. Halpern, P. Crabbe, A. D. Cross, I. Delfin, L. Cervantes, A. Bowers, *Steroids* 4:1 (1964) 1–30
207. A. Bowers, O. Halpern, US Patent 3,128,290 (1964)



208. D. P. Kranz, A. Meier zu Greffen, S. El Sheikh, J. M. Neudörfl, H. G. Schmalz, *Eur J Org Chem* (2011) 2860–2866
209. P. H. Di Chenna, A. S. Veleiro, J. M. Sonego, N. R. Ceballos, M. T. Garland, R. F. Baggiod, G. Burton, *Org Biomol Chem* 5 (2007) 2453–2457
210. S. Komatsu, A. Yaguchi, K. Yamashita, M. Nagaoka, M. Numazaw, *Steroids* 74 (2009) 884–889
211. H. Mastalerz, P. Morand, *J Chem Soc, Perkin Trans 1* 0 (1981) 154–160
212. N. P. Peet, J. P. Burkhardt, C. Lee Wright, J. O'Neal Johnston, *J Med Chem* 35 (1992) 3303–3306
213. N. P. Peet, J. O'Neal Johnston, J. P. Burkhardt, C. Lee Wright, *J Steroid Biochem Molec Biol* 44:4-6 (1993) 409–420
214. J. F. Templeton, W. Lin, Y. Ling, H. Majgier-Baranowska, K. Marat, *J Chem Soc, Perkin Trans 1* 14 (1997) 2037–2043
215. A. Wettstein, G. Anner, Karl Hoosier, J. Kalvoda, H. Ueberwasser, US Patent 3,077,482 (1963)
216. A. Wettstein, G. Anner, Karl Hoosier, J. Kalvoda, H. Ueberwasser, US Patent 3,170,934 (1965)
217. Y. Watanabe, Y. Mizuhara, M. Shiota, *J Org Chem* 31:11 (1966) 3785–3787
218. H. R. Schlatter, C. Lüthy, W. Graf, *Helv Chim Acta* 57:114 (1974) 1044–1055
219. J. P. Burkhardt, N. P. Peet, C. Lee Wright, J. O'Neal Johnston, *J Med Chem* 34 (1991) 1748–1750
220. V. C. O. Njar, E. Safi, J. V. Silverton, C. H. Robinson, *J Chem Soc, Perkin Trans 1* 0 (1993) 1161–1168
221. S. S. Oh, C. H. Robinson, *J Chem Soc, Perkin Trans 1* 0 (1994) 2237–2243
222. M. Numazawa, A. Yoshimura, *Chem Pharm Bull* 48:9 (2000) 1359–1362
223. M. Numazawa, A. Yoshimura, *Biol Pharm Bull* 23:9 (2000) 1059–1065
224. F. Alvarez, A. N. Watt, *J Org Chem* 37: 23 (1972) 3725–3730
225. Y. Watanaba, Y. Mizuhara, *J Org Chem* 36:17 (1971) 2558–2560
226. P. A. Marcotte, C. H. Robinson, *Steroids* 39:3 (1982) 325–344
227. D. Lednicer, *Steroid Chemistry at a Glance*, John Wiley & Sons Ltd, 2011, str. 53–54
228. K. Jaworski, P. A. Cole, C. H. Robinson, *Bioorg Chem* 21 (1993) 330–341
229. D. F. Covey, V. D. Parikh, W. W. Chien, *Tetrahedron Lett* 23 (1979) 2105–2108
230. M. Numazawa, A. Mutsumi, K. Hoshi, M. Oshibe, E. Ishikawa, H. Kigawa, *J Med Chem* 34 (1991) 2496–2504
231. M. Numazawa, A. Mutsumi, N. Asano, Y. Ito, *Steroids* 58 (1993) 40–46
232. J. F. Templeton, Y. Ling, W. Lin, H. Majgier-Baranowska, K. Marat, *J Chem Soc, Perkin Trans 1* 0 (1997) 1895–1904
233. J. A. Lovett, M. V. Darby, R. E. Counsell, *J Med Chem* 27 (1984) 734–740

234. M. Wolff, J. Munoz, *J Org Chem* 30:3 (1965) 920–924
235. P. de Ruggieri, C. Gandolfi, U. Guzzi, US Patent 3,567,712 (1971)
236. P. de Ruggieri, C. Gandolfi, U. Guzzi, *Tetrahedron Lett* 8: 23 (1967) 2195–2200
237. E. Santaniellol, E. Caspi, *J Org Chem* 42:3 (1977) 482–486
238. F. Kohen, W. Van Bever, R. E. Counsel, *J Org Chem* 35:7 (1970) 2272–2275
239. G. W. Barber, M. Ehrenstein, *Justus Liebigs Ann Chem* 603 (1957) 89–109
240. A. Bowers, R. Villotti, J. A. Edwards, E. Denot, O. Halpern, *J Am Chem Soc* 84:16 (1962) 3204–3205
241. M. Numazawa, A. Mutsumi, M. Tachibana, K. Hoshi, *J Med Chem* 37 (1994) 2198–2205
242. M. Nagaoka, M. Numazawa, *Chem Pharm Bull* 52:8 (2004) 983–985
243. T. Yue, H. Ping Li, K. Ding, *Tetrahedron Lett* 57 (2016) 4850–4853
244. M. Ehrenstein, K. Otto, *J Org Chem*. 24:12 (1959) 2006–2012
245. Y. Jing, C. G. Xu, K. Ding, J. R. Lin, R. H. Jin, W. S. Tian, *Tetrahedron Lett* 51 (2010) 3242–3245
246. M. Numazawa, K. Yamashita, N. Kimura, M. Takahashi, *Steroids* 74 (2009) 208–211
247. S. Watanabe, Y. Tohma, H. Chiba, Y. Shimizu, H. Saito, T. Yanaihara, *Endocr J* 41:4 (1994) 421–427
248. G. Di Nardo, S. Castrignanò, S. J. Sadeghi, R. Baravalle, G. Gilardi, *Electrochem commun* 52 (2015) 25–28
249. M. Numazawa, K. Yamada, M. Nagaoka, *Biol Pharm Bull* 24:4 (2001) 332–335
250. F. K. Yoshimoto, F. P. Guengerich, *J Am Chem Soc* 136 (2014) 15016–15025
251. W. L. Duax, Y. Osawa, *J Steroid Biochem* 13 (1980) 383–386
252. D. F. Covey, H. L. Carrell, D. D. Beusen, *Steroids* 50 (1987) 4–6
253. P. Pratim Roy, K. Roy, *J Pharm Pharmacol* 62 (2010) 1717–1728
254. Y. Dai, Q. Wang, X. Zhang, S. Jia, H. Zheng, D. Feng, P. Yu, *Eur J Med Chem* 45 (2010) 5612–5620
255. J. O. Johnston, C. L. Wright, B. W. Metcalf, *J Steroid Biochem* 20:6A (1984) 1221–1226
256. I. Ahmad, Shagufta, *Eur J Med Chem* 102 (2015) 375–386
257. M. Numazawa, M. Nagaoka, W. Handa, A. Yamada, *Biol Pharm Bull* 29:6 (2006) 1242–1245
258. M. Numazawa, A. Mutsumi, K. Hoshi, R. Koike, *Biochem Biophys Res Commun* 160:3 (1989) 1009–1014
259. J. T. Kellis, Jr., W. E. Childers, C. H. Robinson, L. E. Vickery, *J Biol Chem* 262:9 (1987) 4421–4426
260. W. E. Childers, C. H. Robinson, *J Chem Soc, Chem Commun* 0 (1987) 320–321
261. M. J. Shih, M. H. Carrell, H. L. Carrell, C. Lee Wright, J. O'Neal Johnston, Cecil H. Robinson, *J Chem Soc, Chem Commun* 0 (1987) 213–214

262. W. E. Childers, J. V. Silverton, J. T. Kellis, Jr., L. E. Vickery, C. H. Robinson, *J Med Chem* 34 (1991) 1344–1349
263. C. Delaisi, B. Doucet, C. Hartmann, B. Tric, J. F. Gourvest, D. Lesuisse, *J Steroid Biochem Molec Biol* 41: 3-8 (1992) 773–777
264. R. F. Parrott, *Horm Behav* 7 (1976) 207–215
265. H. D. Benson, J. Francis Grunwell, J. O'Neal Johnston, V. Petrow, US Patent 4,054,651 (1977)
266. H. D. Benson, J. Francis Grunwell, J. O'Neal Johnston, V. Petrow, US Patent 4,055,641 (1977)
267. H. D. Benson, J. Francis Grunwell, J. O'Neal Johnston, V. Petrow, US Patent 4,096,254 (1978)
268. J. E Grunwell, V. Petrow, US Patent 4,139,617 (1979)
269. E. Petrera, M. Joselevich, A. Ghini, G. Burton, C. E Coto, *Antivir Chem Chemother* 14 (2003) 243–248
270. D. Miljković, J. Petrović, M. Stajić, M. Miljković, *J Org Chem* 38:20 (1973) 3585–3588
271. E. A. Djurendić, M. P. Savić, O. R. Klisurić, M. N. Sakač, G. M. Bogdanović, D. S. Jakimov, K. M. Penov Gaši, *Struct Chem* 23 (2012) 1761–1767
272. K. Penov Gaši, M. Sakač, S. Jovanović-Šanta, E. Djurendić, *Curr Org Chem* 18:2 (2014) 216–259
273. D. Miljković, J. Petrović, *J Org Chem* 42:12 (1977) 2101–2102
274. I. J. Bruno, J. C. Cole, P. R. Edgington, M. K. Kessler, C. F. Macrae, P. McCabe, J. Pearson, R. Taylor, *Acta Crystallogr B* 58 (2002) 389–397
275. M. A. Iglesias-Arteaga, E. M. Símuta-Lopez, S. Xochihua-Moreno, O. Viñas-Bravo, S. Montiel Smith, S. Meza Reyes, J. Sandoval-Ramírez, *J Braz Chem Soc* 16:3A (2005) 381–385
276. I. Kuzminac, O. Klisurić, D. Škorić, D. Jakimov, M. Sakač, *Struc Chem* 28 (2017) 567–576
277. M. J. Balunas, B. Su, S. Riswan, H. H. S. Fong, R. W. Brueggemeier, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, *Phytochem Lett* 2 (2009) 29–33
278. N. V. Ivanchina, A. A. Kicha, V. A. Stonik, *Steroids* 76 (2011) 425–454
279. T. F. Liu, X. Lu, H. Tang, M. M. Zhang, P. Wanga, P. Sun, Z. Y. Liu, Z. L. Wang, L. Li, Y. C. Rui, T. J. Li, W. Zhang, *Steroids* 78 (2013) 108–114
280. J. F. S. Carvalho, M. M. Cruz Silva, J. N. Moreira, S. Simoes, M. L. Sa e Melo, *J Med Chem* 53 (2010) 7632–7638
281. M. Numazawa, W. Handa, C. Hasegawa, M. Takahashi, *J Steroid Biochem Mol Bio.* 97 (2005) 353–359
282. G. G. LLanos, L. M. Araujo, I. A. Jiménez, L. M. Moujir, I. L. Bazzocchi, *Eur J Med Chem* 54 (2012) 499–511

283. S. J. Zhang, F. Xu, W. X. Hu, *J Chem Crystallogr* 40 (2010) 997–1001
284. V. Grenville, D. K. Patel, V. Petrow, I. A. Stuart-Webb, D. M. Williamson, *J Chem Soc O* (1957) 4105–4111
285. V. Šoškić, M. Vujović, M. Stefanović, *J Serb Chem Soc* 58 (1993) 21–23
286. R. Bruckner, *Organic Mechanisms: Reactions, Stereochemistry and Synthesis*, Springer, 2010, str. 144–147
287. J. R. Hanson, A. Truneh, *J Chem Soc Perkin Trans 1* 0 (1988) 2001–2003
288. M. Mushfiq, Sultanat, R. Rehman, *IJRPC* 1:4 (2011) 807–811
289. M. P. Savić, E. A. Djurendić, E. T. Petri, A. Čelić, O. R. Klisurić, M. N. Sakač, D. S. Jakimov, V. V. Kojić, K. M. Penov Gaši, *RSC Adv* 3 (2013) 10385–10395
290. J. M. Coxon, M. P. Hartshorn, C. N. Muir, *Tetrahedron* 25 (1969) 3925–3933
291. B. N. Blackett, J. M. Coxon, M. P. Hartshorn, K. E. Richards, *Tetrahedron* 25 (1969) 4999–5005
292. A. J. Cresswell, S. G. Davies, P. M. Roberts, J. E. Thomson, *Chem Rev* 2 (2015) 566–611
293. R. M. A. Pinto, J. A. R. Salvador, C. Le Roux, *Tetrahedron* 63 (2007) 9221–9228
294. M. Numazava, M. Tachibana, *Steroids* 59 (1994) 579–585
295. A. Aiello, E. Fattorusso, M. Menna, *Steroids* 64 (1999) 687–714
296. Q. Wu, K. Huang, *Biochim Biophys Acta* 1761 (2006) 350–359
297. T. Li i C. Li, *J. Agric. Food Chem* 61 (2013) 12522–12530
298. N. Iranpoor, H. Firouzabadi, M. Chitsazi, A. Ali Jafari, *Tetrahedron* 58 (2002) 7037–7042
299. G. P. Vicent, M. C. Monteserín, A. S. Veleiro, G. Burton, C. P. Lantos, M. D. Galigniana, *Mol Pharmacol* 52 (1997) 749–753
300. A. S. Veleiro, R. Rosenstein, M. L. Grilli, C. Jaliffa, F. Speroni, G. Burton, *Bioorg Med Chem Lett* 13 (2003) 343–346
301. J. A. Edwards, M. C. Calzada, L. C. Ibanez, A. Bowers, *Steroids* 6:4 (1965) 371–396
302. H. Komatsu, M. Maeda, M. Kojima, *ChemInform* 8:18 (1977) 36–37
303. K. Pavlović, "Mikrotalasno stimulisanje transformacije prirodnih i sintetičkih karboksilnih kiselina i njihovih derivata", Doktorska disertacija, PMF Novi Sad, 2014.
304. B. W. Baldwin, T. Hirose, Z. H. J. Wang, *Chem Commun* 23 (1996) 2669–2670
305. A. K. Bose, M. S. Manhas, R. M. Ramer, *J Chem Soc C* 0 (1969) 2728–2730
306. D. C. Young, *Computational Drug Design*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2009., str. 27–30
307. R. B. Silverman, *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, 2<sup>nd</sup> Edition, Elsevier, Amsterdam, 2004., str. 32–34
308. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv Drug Deliv Rev* 23 (1997) 3–25

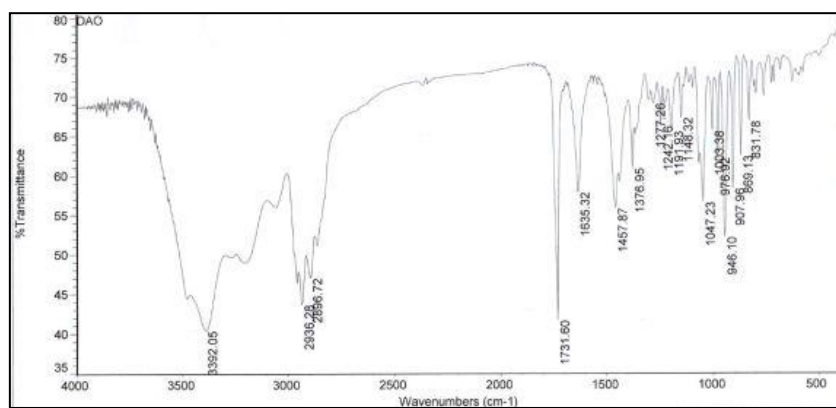
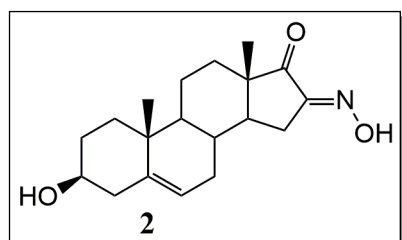
309. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv Drug Deliv Rev* 26 (2001) 3–26
310. W. P. Walters, Ajay, M. A Murcko, *Curr Opin Chem Biol* 3 (1999) 384–387
311. D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, *J Med Chem* 45 (2002) 2615–2623
312. M. M. Hann, T. I. Oprea, *Curr Opin Chem Bio* 8 (2004) 255–263
313. I. Muegge, *Med Res Rev* 23:3 (2003) 302–321
314. <http://www.molinspiration.com/> (pristupljeno april-maj 2018. god.)
315. T. Mosmann, *J Immunol Meth* 65:1-2 (1983) 55–63
316. G. Bogdanović, J. Raletić-Savić, N. Marković, *Onkološki arhiv* 2:4 (1994) 181–184
317. J. Gong, C. Cai, X. Liu, X. Ku, H. Jiang, D. Gao, H. Li, *Bioinformatics* 29:14 (2013) 1827–1829
318. D. Gfeller, A. Grosdidier, M. Wirth, A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Nucl Acids Res* 42 (2014) W32–W38
319. V. Law, C. Knox, Y. Djoumbou, T. Jewison, A. C. Guo, Y. Liu, A. Maciejewski, D. Arndt, M. Wilson, V. Neveu, A. Tang, G. Gabriel, C. Ly, S. Adamjee, Z. T. Dame, B. Han, Y. Zhou, D. S. Wishart, *Nucleic Acids Res* 42 (2014) D1091–D1097
320. D. S. Wishart, C. Knox, A. C. Guo, S. Shrivastava, M. Hassanali, P. Stothard, Z. Chang, J. Woolsey, *Nucleic Acids Res* 34 (2006) D668–D672
321. Y. Zhao, P. Loyer, H. Li, V. Valentine, V. Kidd, A. S. Kraft, *J Biol Chem* 272:15 (1997) 10013–10020
322. A. Rubporn, C. Srisomsap, P. Subhasitanont, D. Chokchaichamnankit, K. Chiablaem, J. Svasti, P. Sangvanich, *Cancer Genomics Proteomics* 6 (2009) 229–238
323. H. N. Lee, S. H. Park, E. K. Lee, R. Bernardo, C. W. Kim, *Biochem Biophys Res Commun* 427 (2012) 171–177
324. K. Lenaerts, F. G Bouwman, W. H Lamers, J. Renes, E. C Mariman, *BMC Genomics* 8 (2007) 91-104
325. S. S. Bekić, M. A. Marinović, E. T. Petri, M. N. Sakač, A. R. Nikolić, V. V. Kojić, A. S. Ćelić, *Steroids* 130 (2018) 22–30
326. A. L. Lovering, J. P. Ride, C. M. Bunce, J. C. Desmond, S. M. Cummings, S. A. White, *Cancer Res.* 64 (2004) 1802–1810
327. N. J. Davies, R. E. Hayden, P. J. Simpson, J. Birtwistle, K. Mayer, J. P. Ride, C. M. Bunce, *Cancer Res.* 69 (2009) 4769–4775
328. P. Veliça, N. J. Davies, P. P. Rocha, H. Schrewe, J. P. Ride, C. M. Bunce, *Mol. Cancer* 8 (2009) 121–132
329. M. P. Savić, J. J. Ajduković, J. J. Plavša, S. S. Bekić, A. S. Ćelić, O. R. Klisurić, D. S. Jakimov, E. T. Petri, E. A. Djurendić, *MedChemComm* (2018) 10.1039/c8md00077h



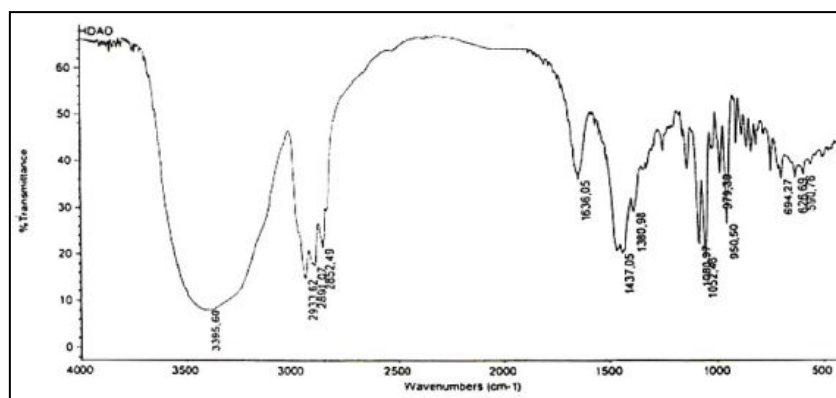
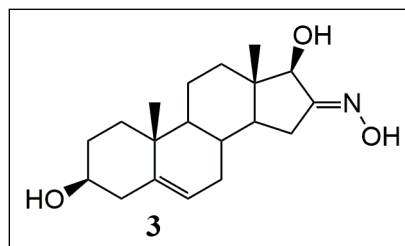
## 9. PRILOG

### IR I NMR SPEKTRI SINTETISANIH JEDINJENJA

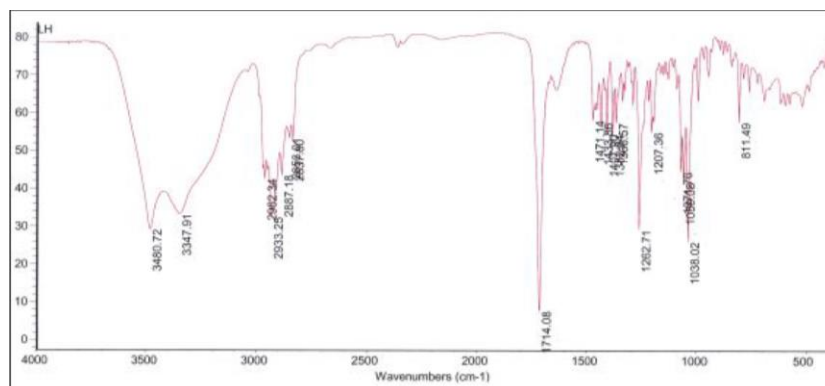
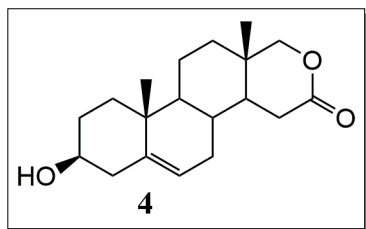
#### 3 $\beta$ -HIDROKSANDROST-5-EN-16,17-DION-16E-OKSIM (2)



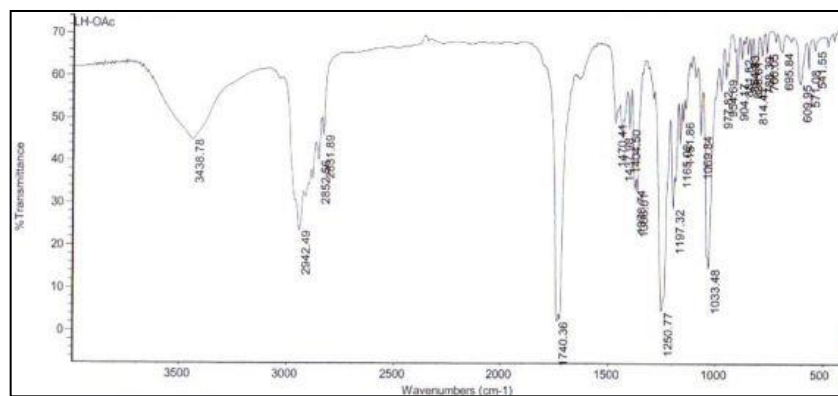
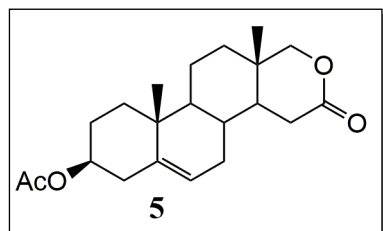
#### 16E-HIDROKSIIMINOANDROST-5-EN-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -DIOL (3)



**3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (4)**



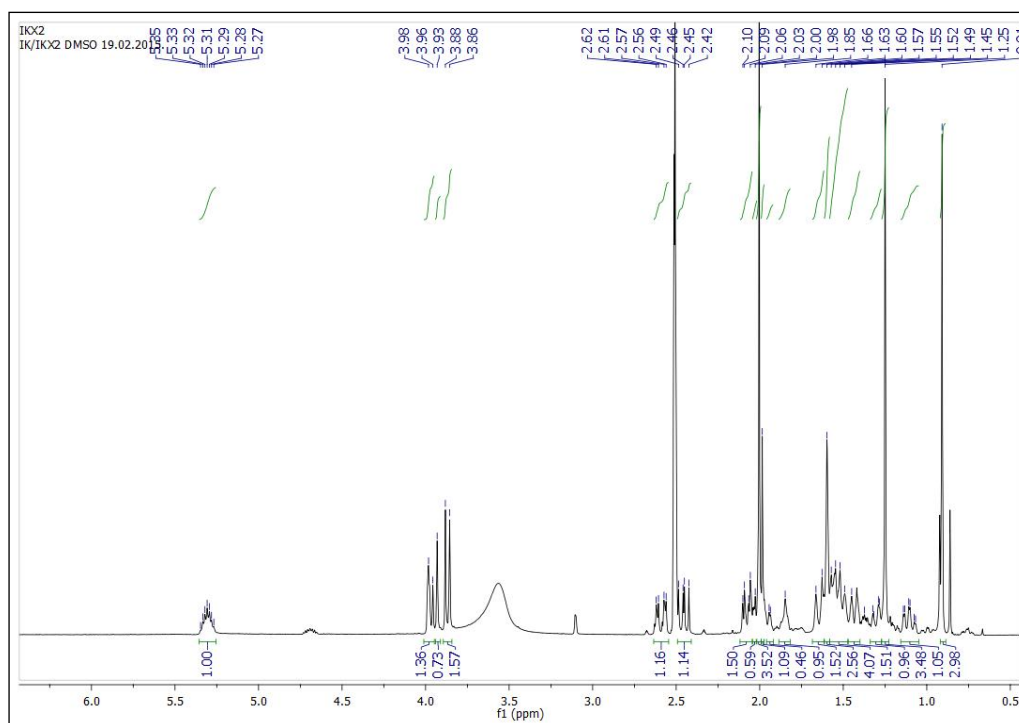
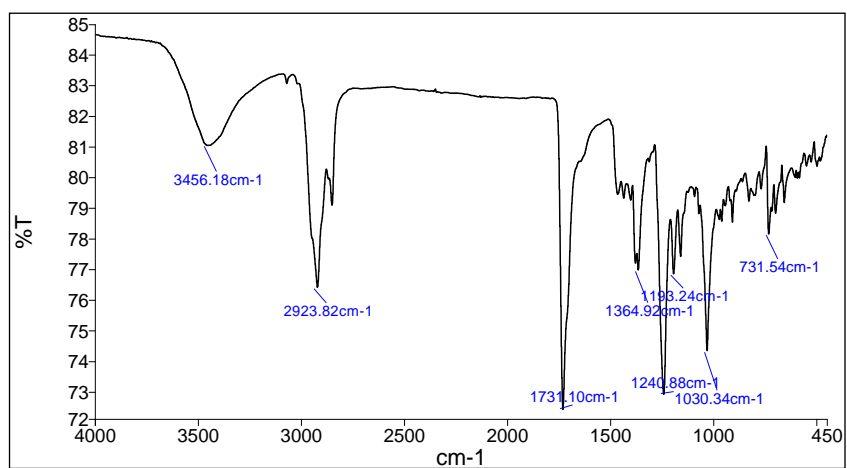
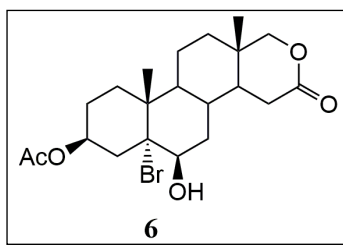
**3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (5)**

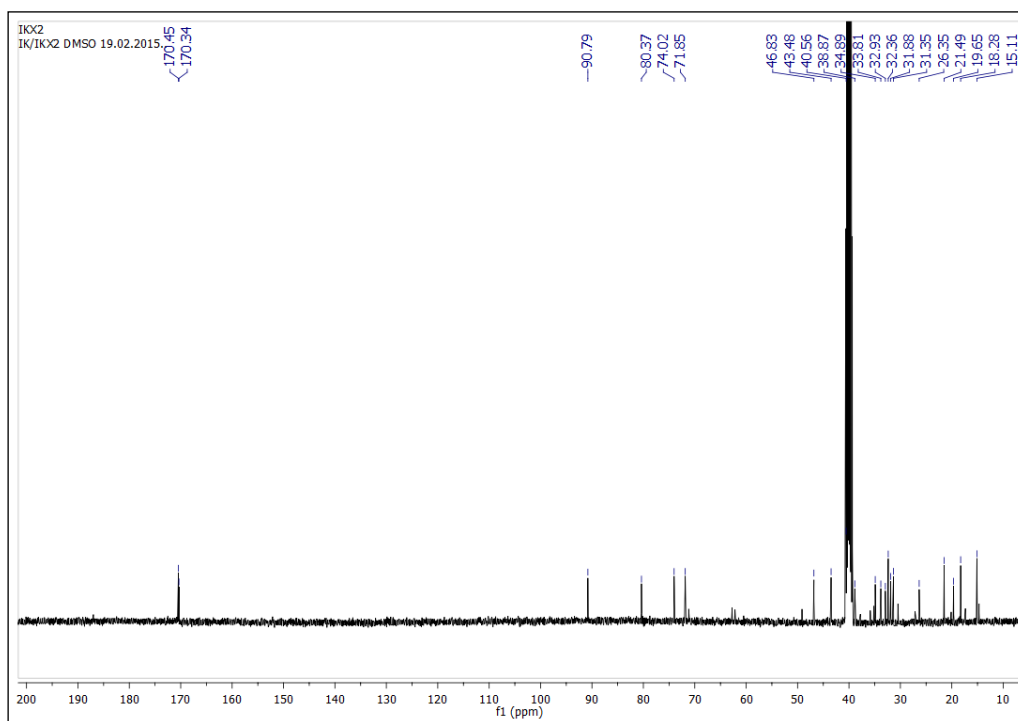




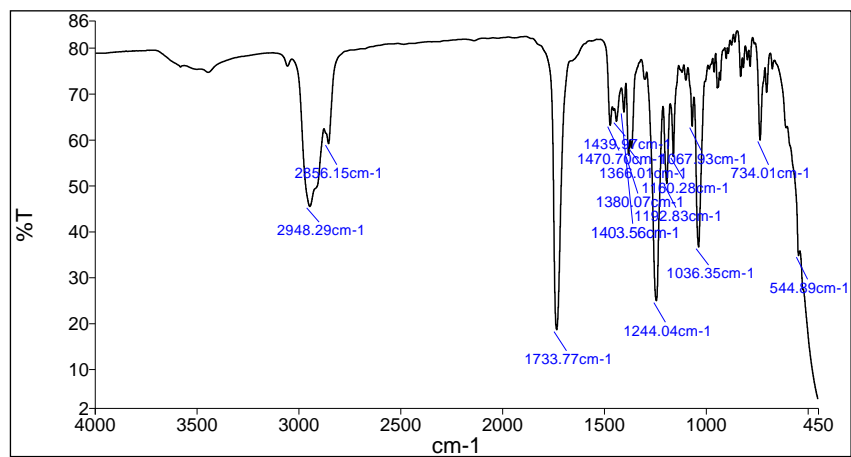
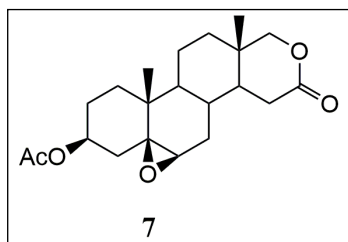
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROMO-6 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**

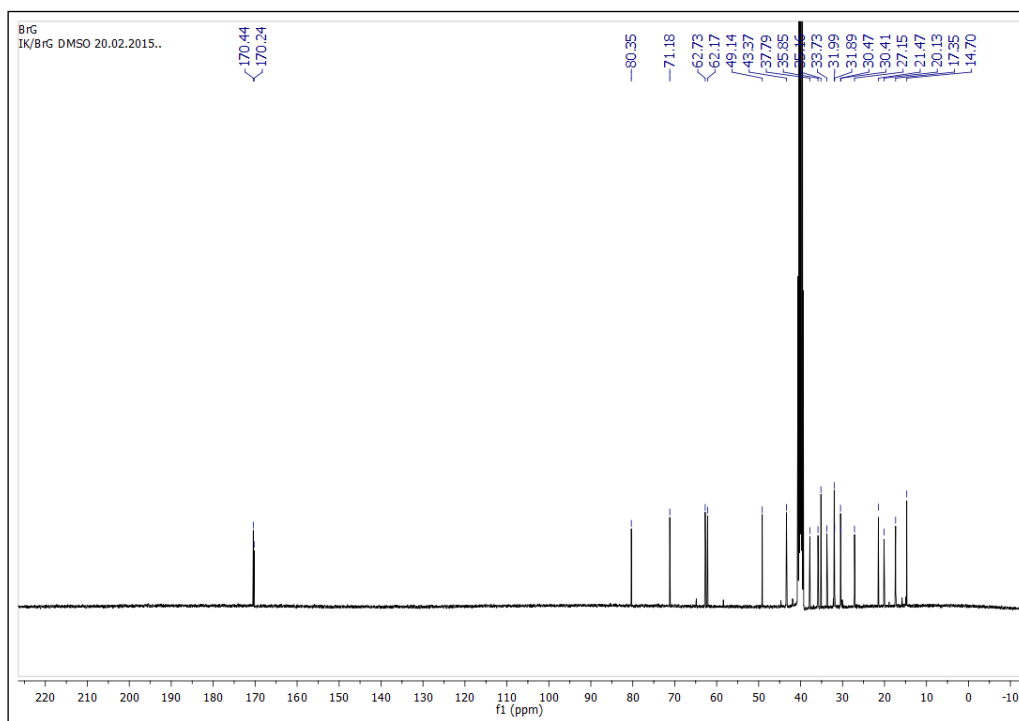
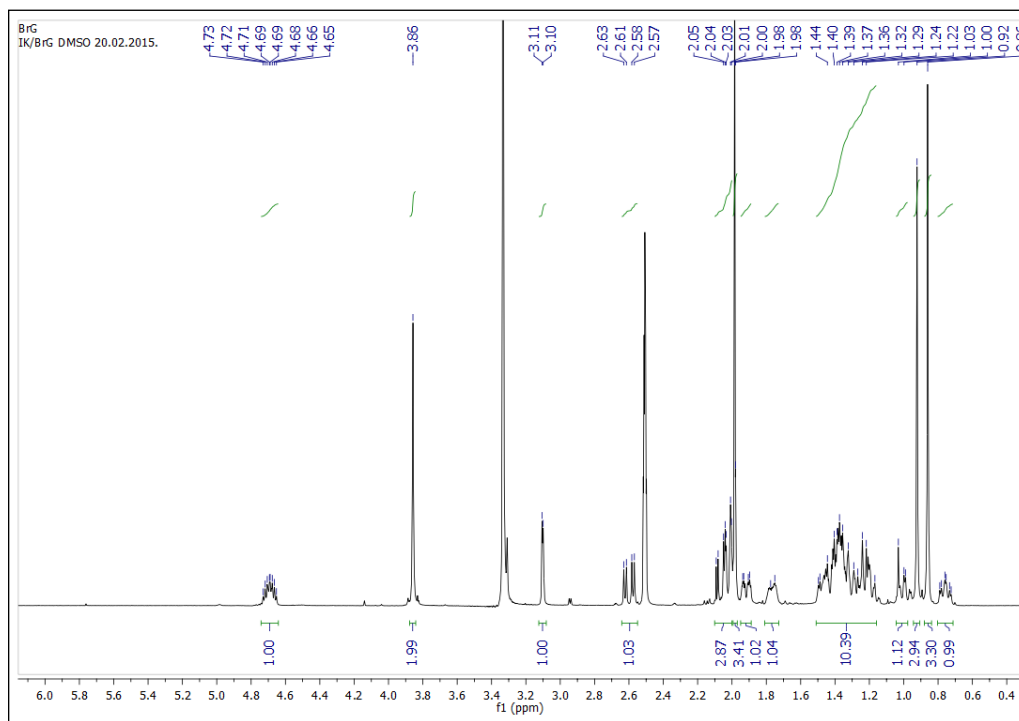
**(6)**



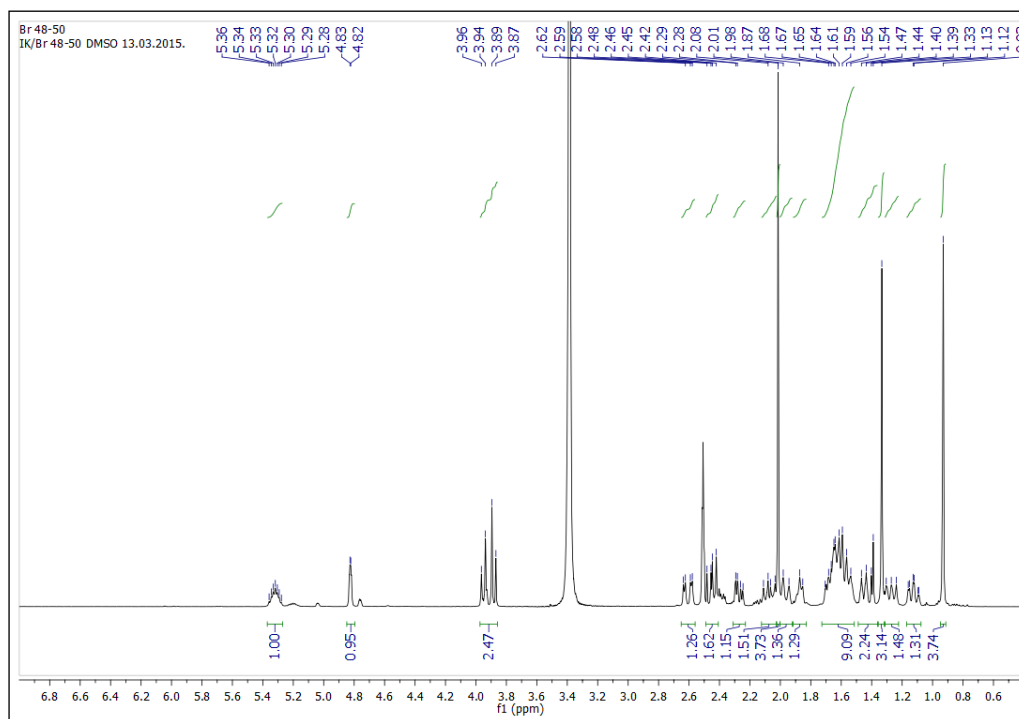
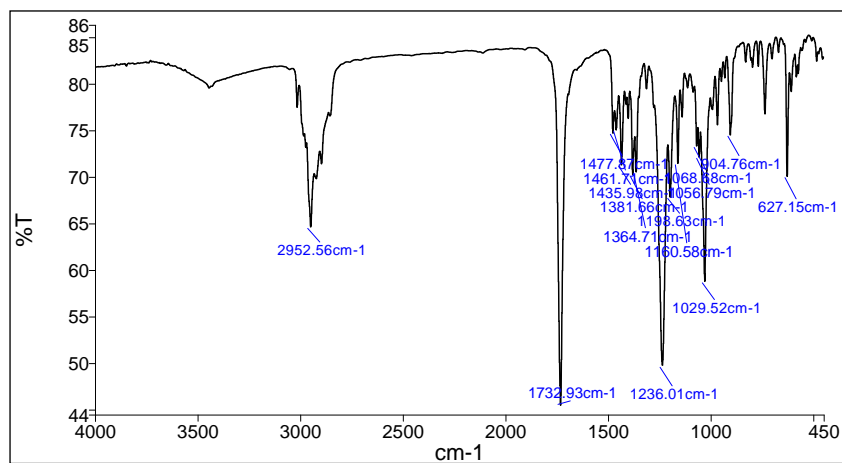
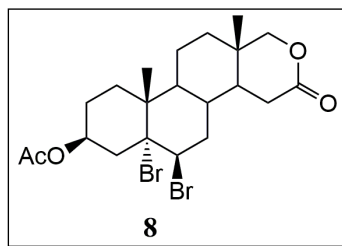


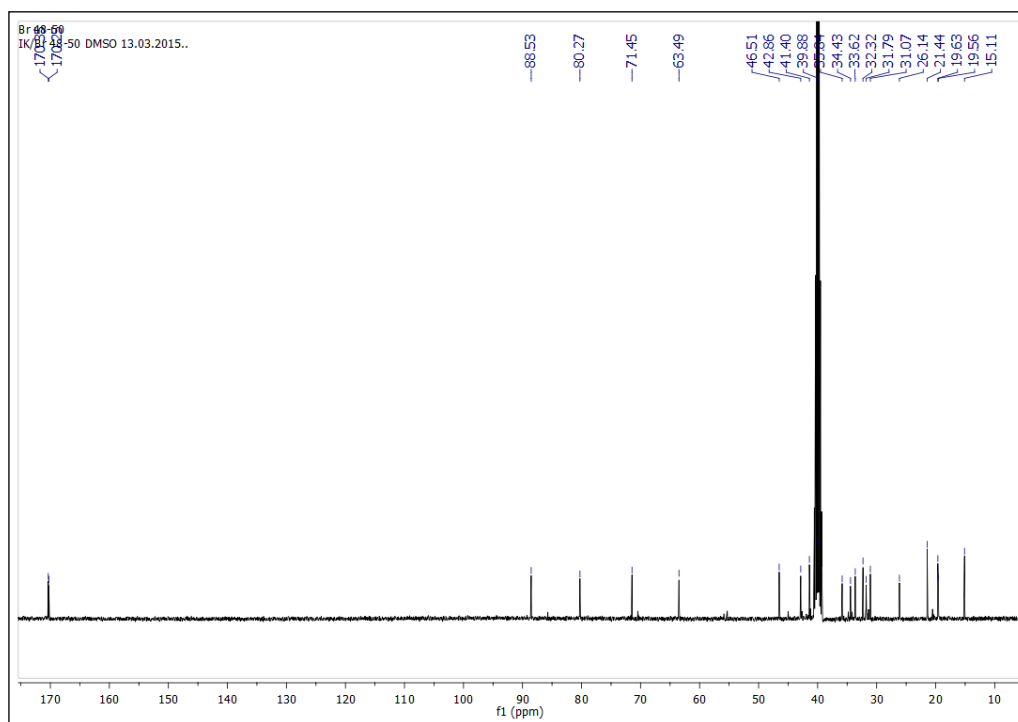
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\beta$ ,6 $\beta$ -EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (7)**





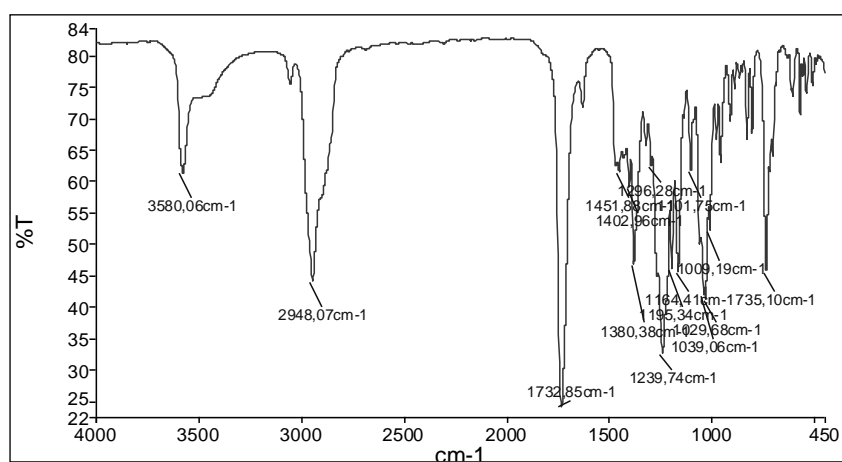
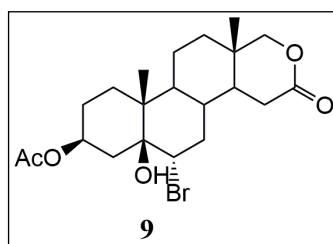
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIBROMO-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (8)**

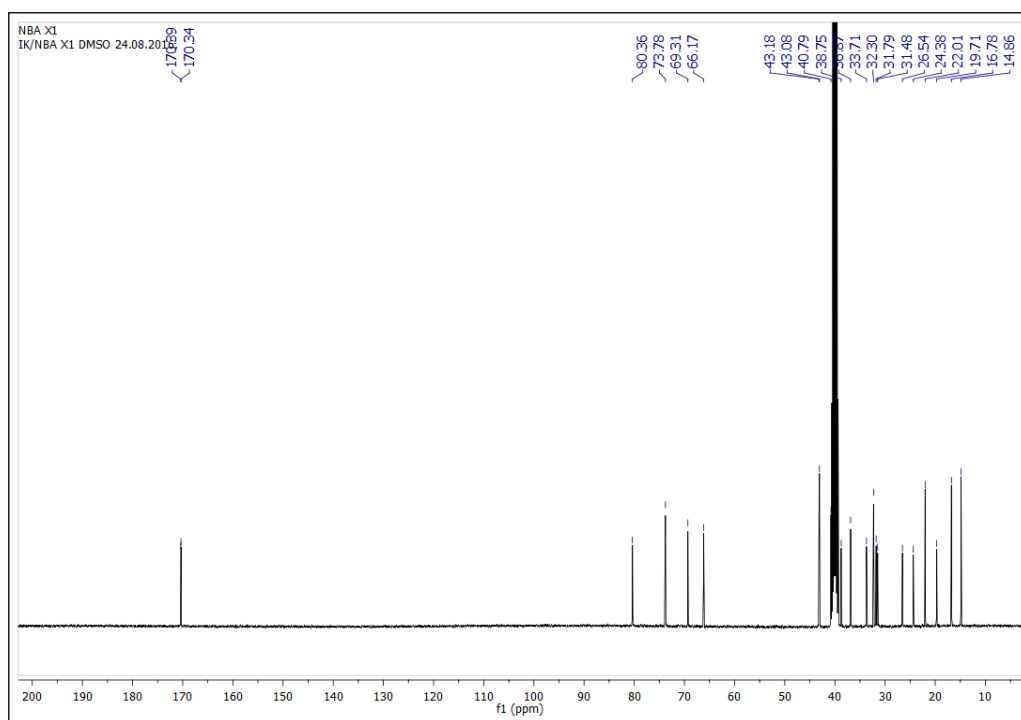
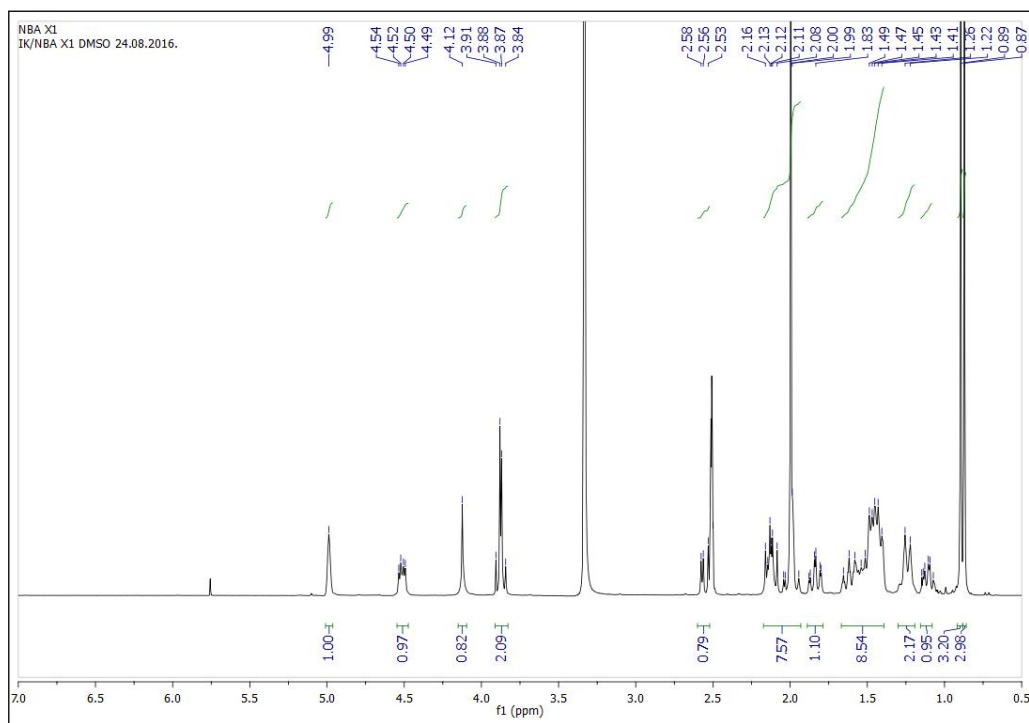




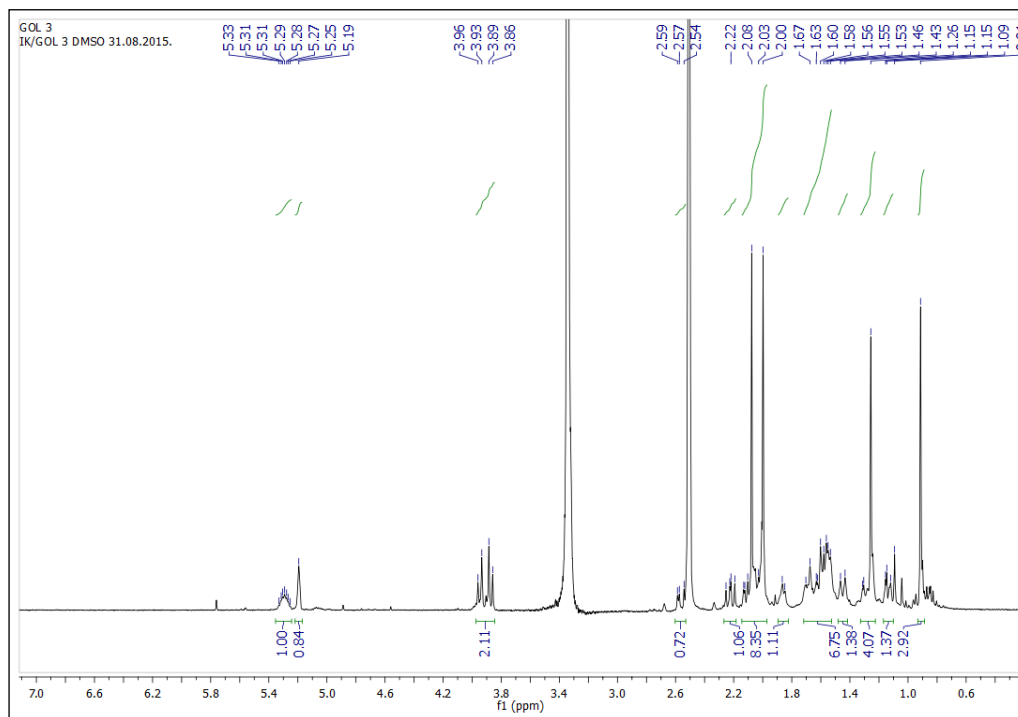
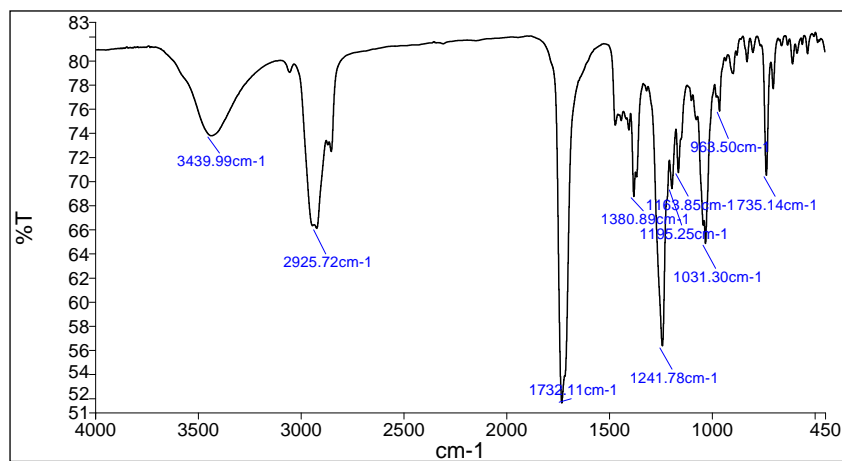
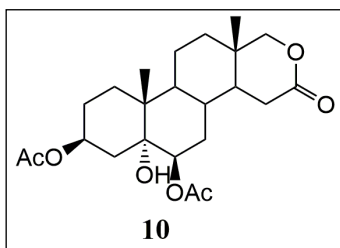
**3 $\beta$ -ACETOKSI-6 $\alpha$ -BROMO-5 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**

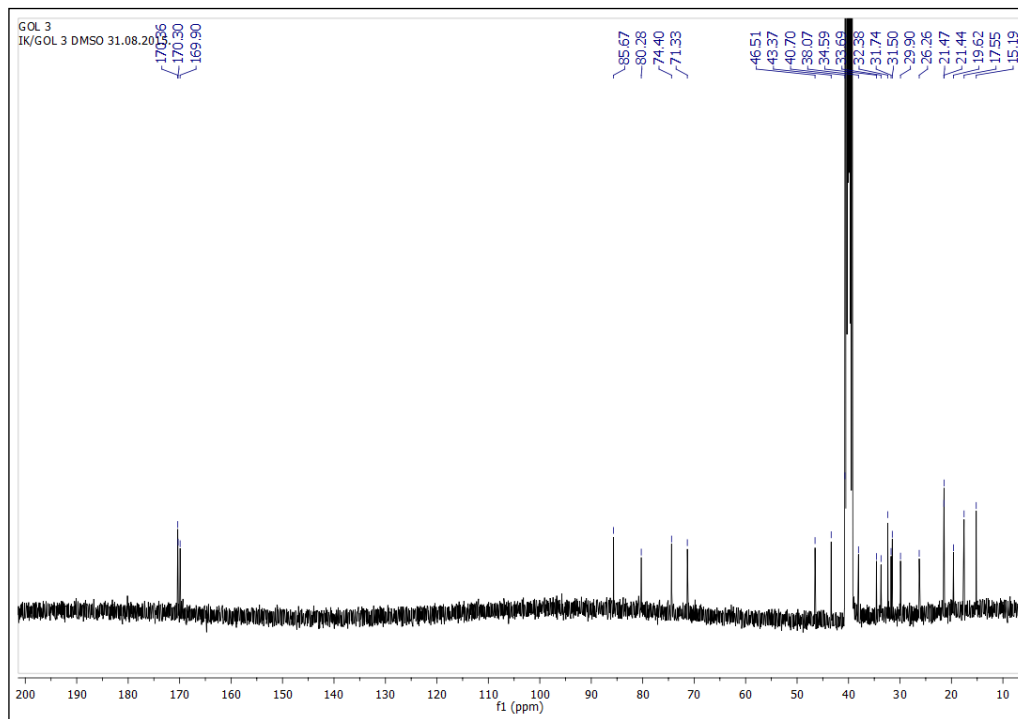
(9)



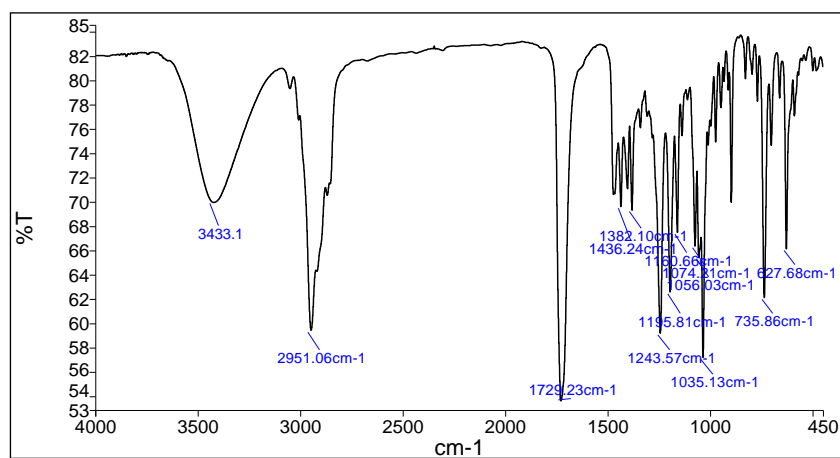
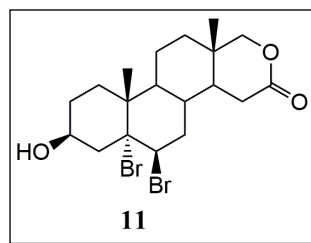


**3 $\beta$ ,6 $\beta$ -DIACETOKSI-5 $\alpha$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (10)**

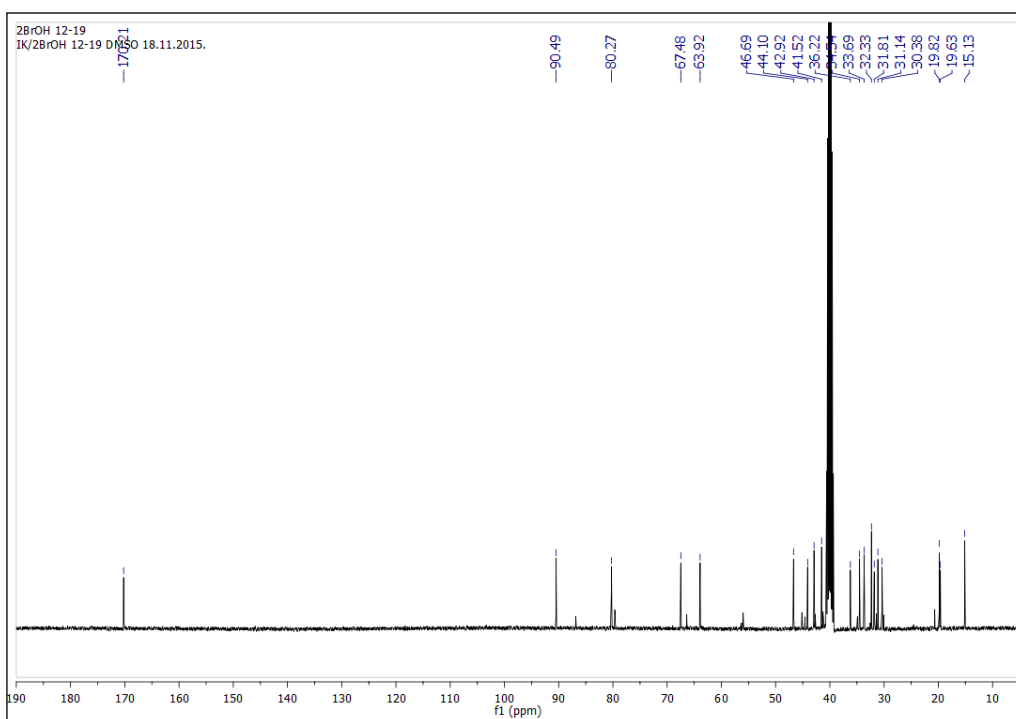
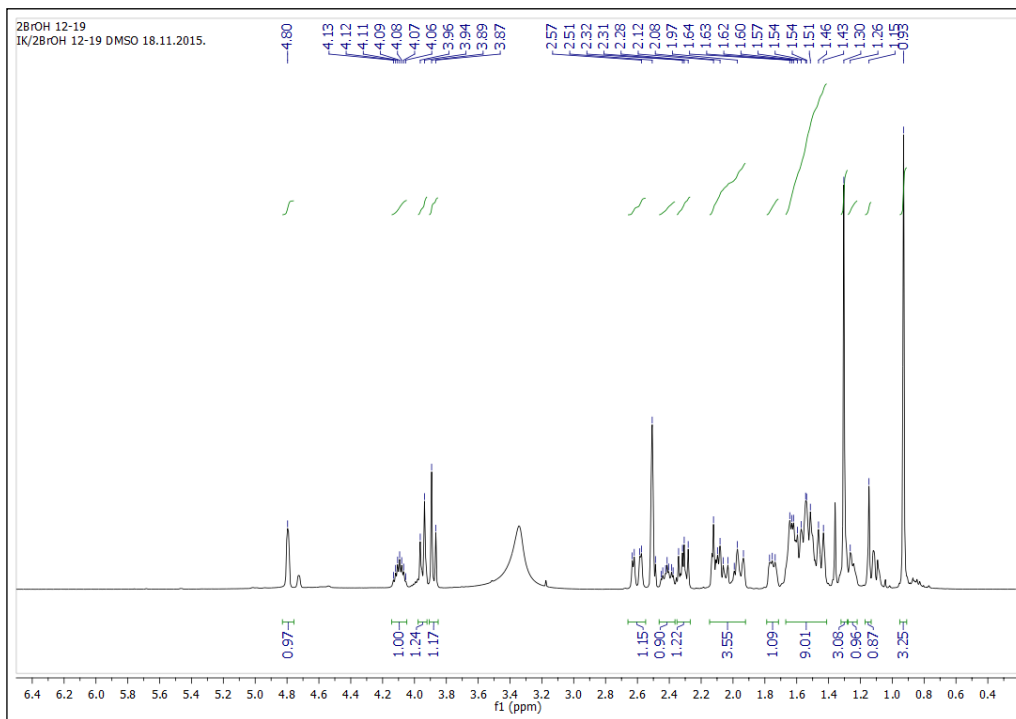




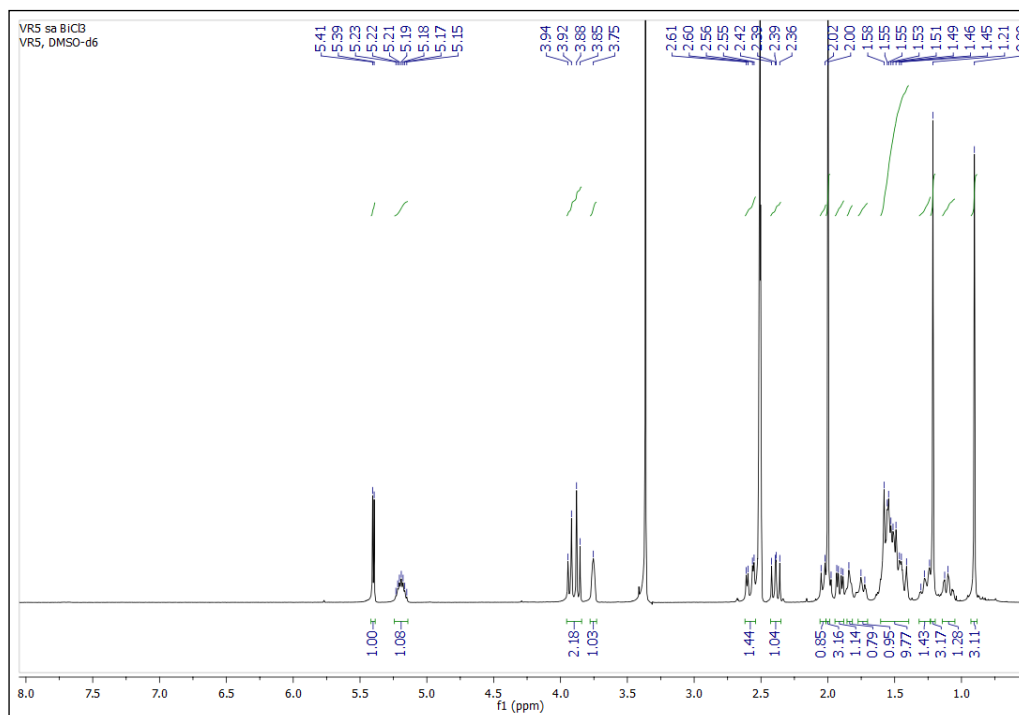
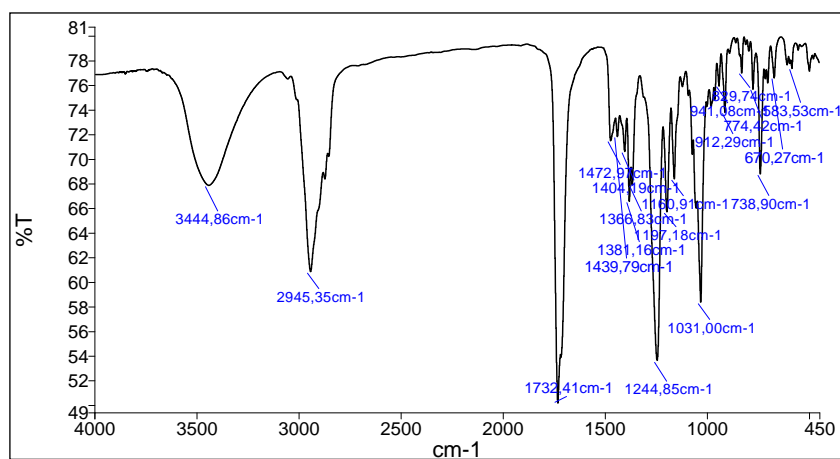
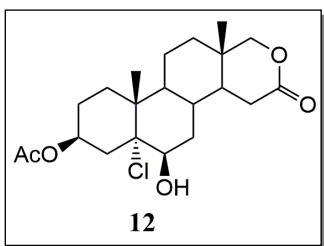
**5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIBROMO-3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (11)**

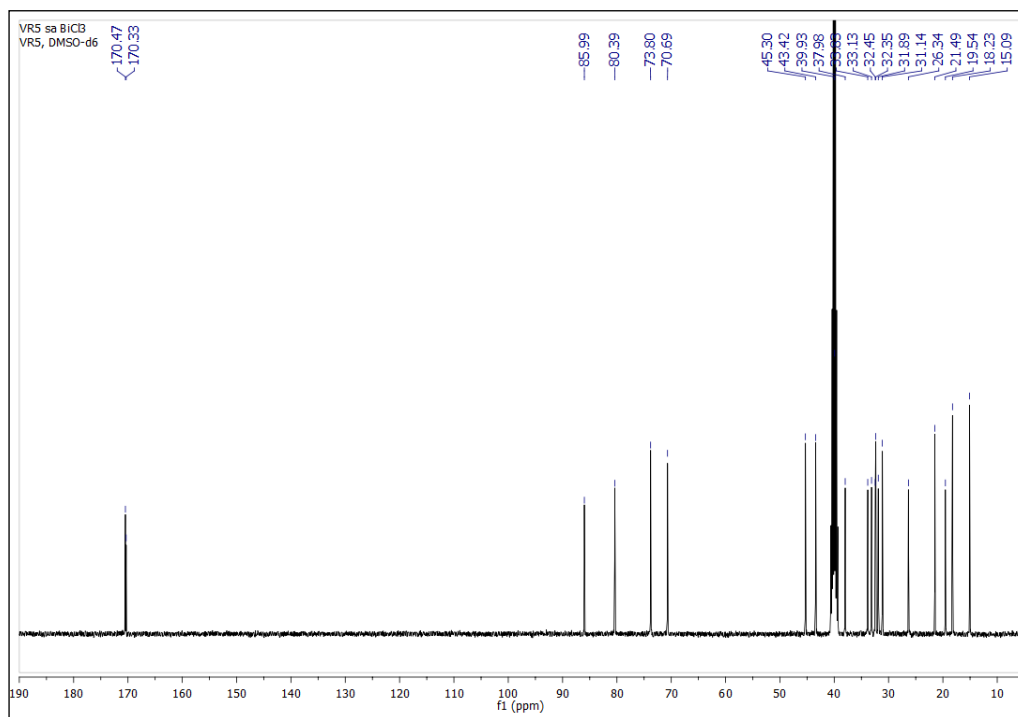




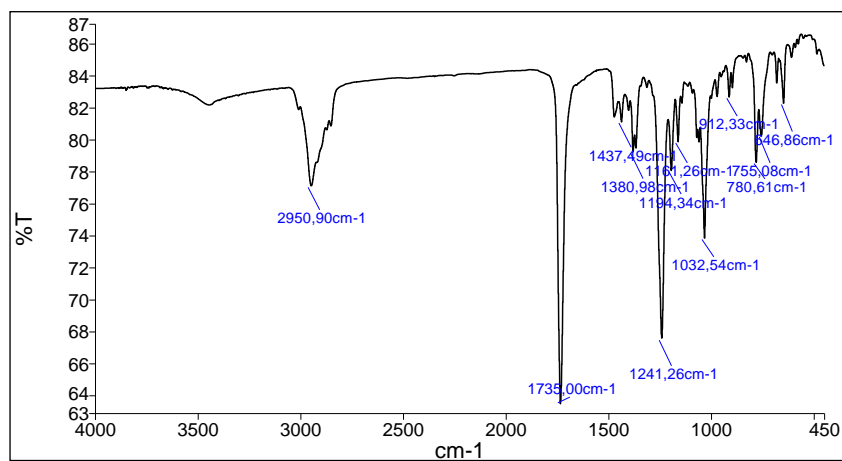
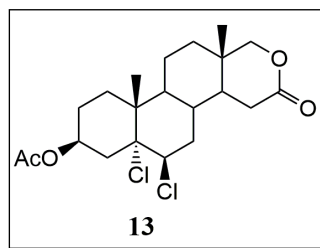


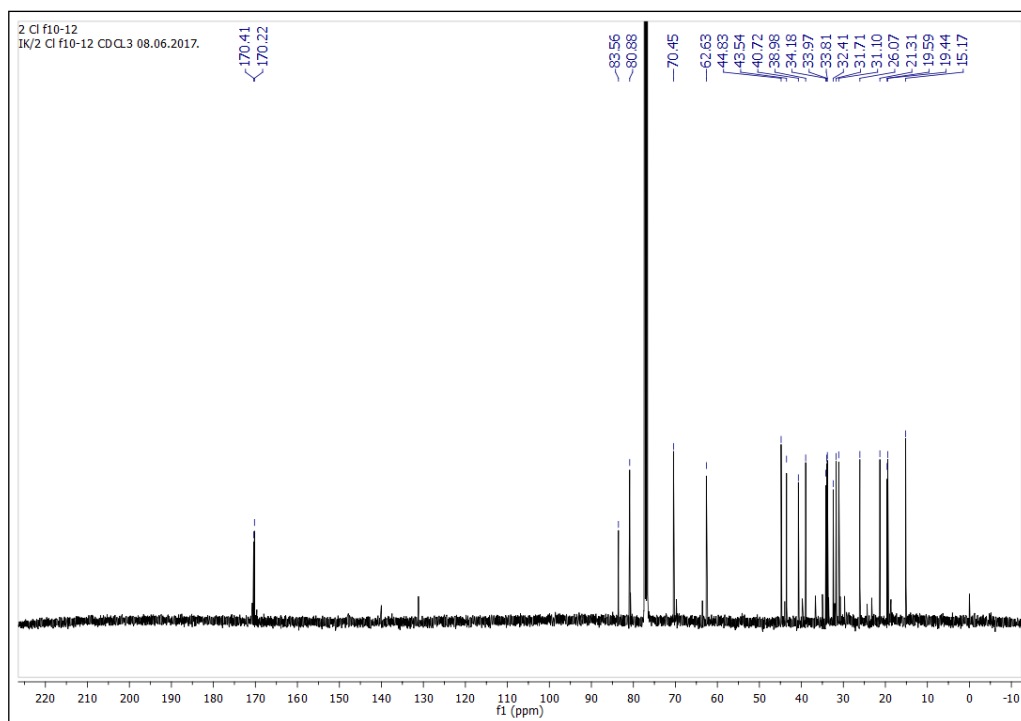
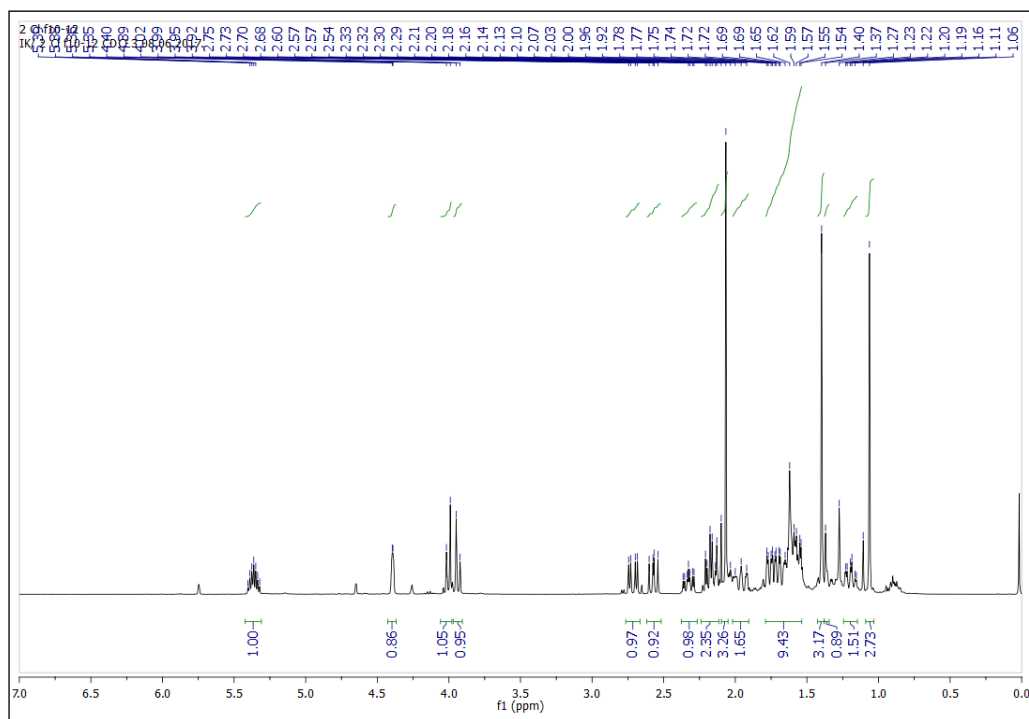
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HLOR-6 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**  
(12)



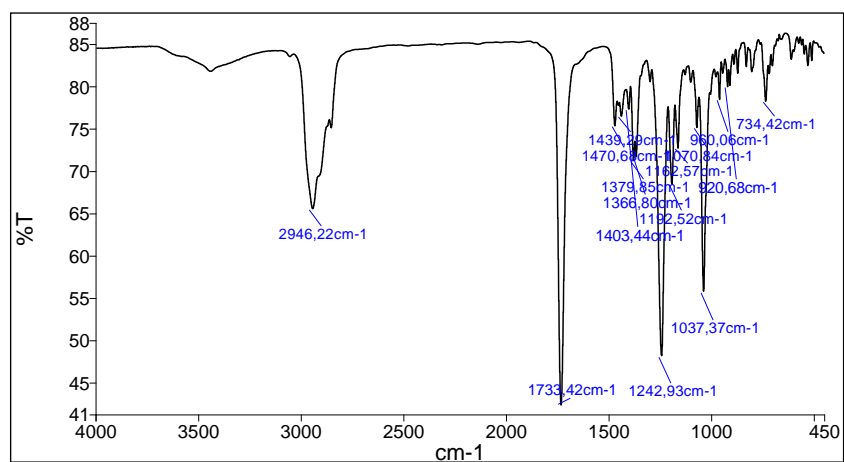
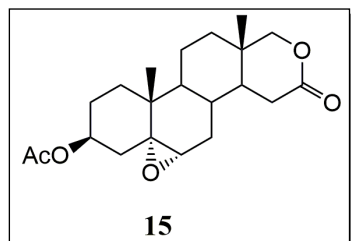


**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIHLOORO-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (13)**

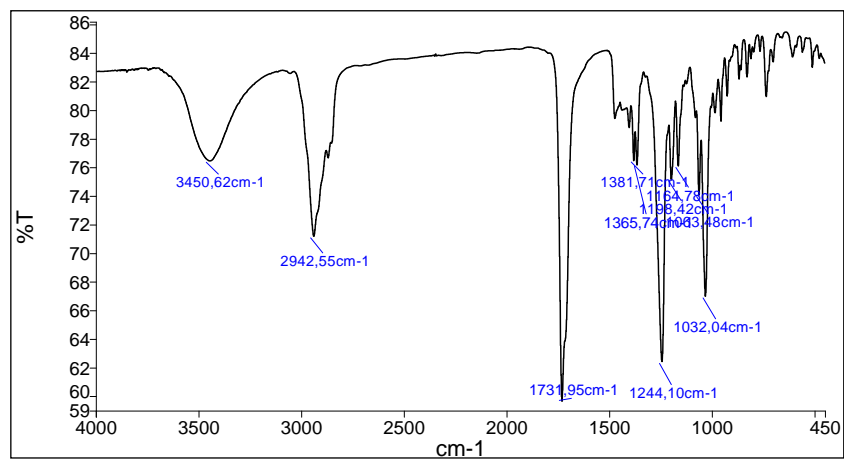
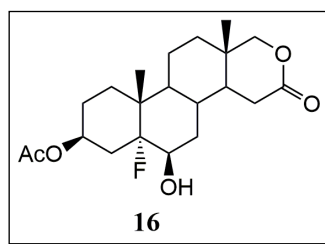


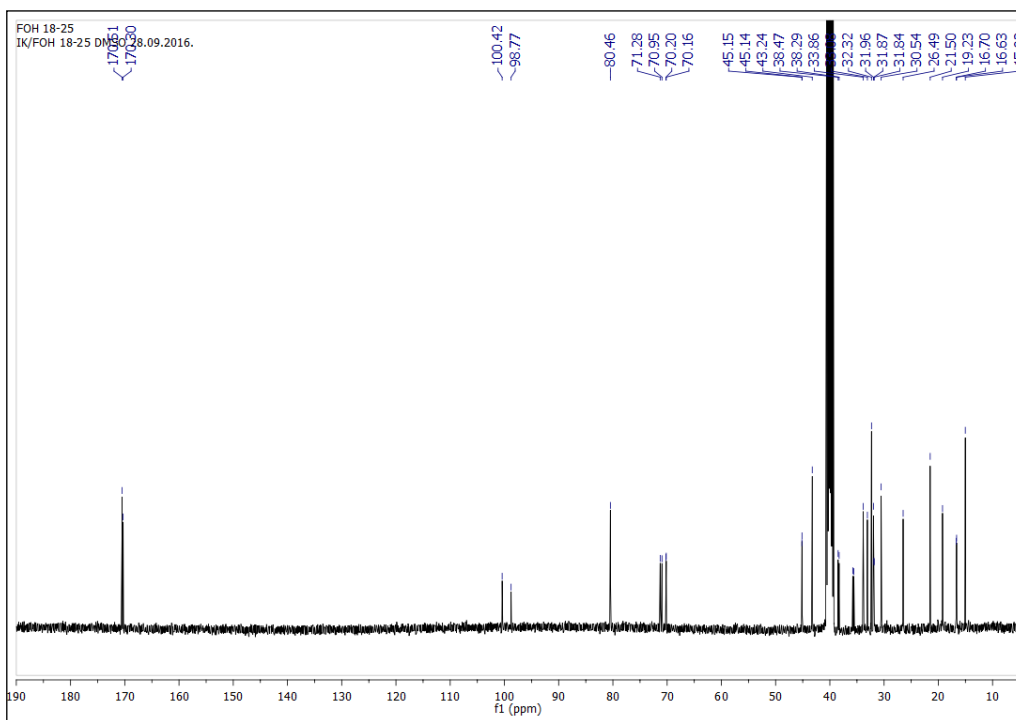
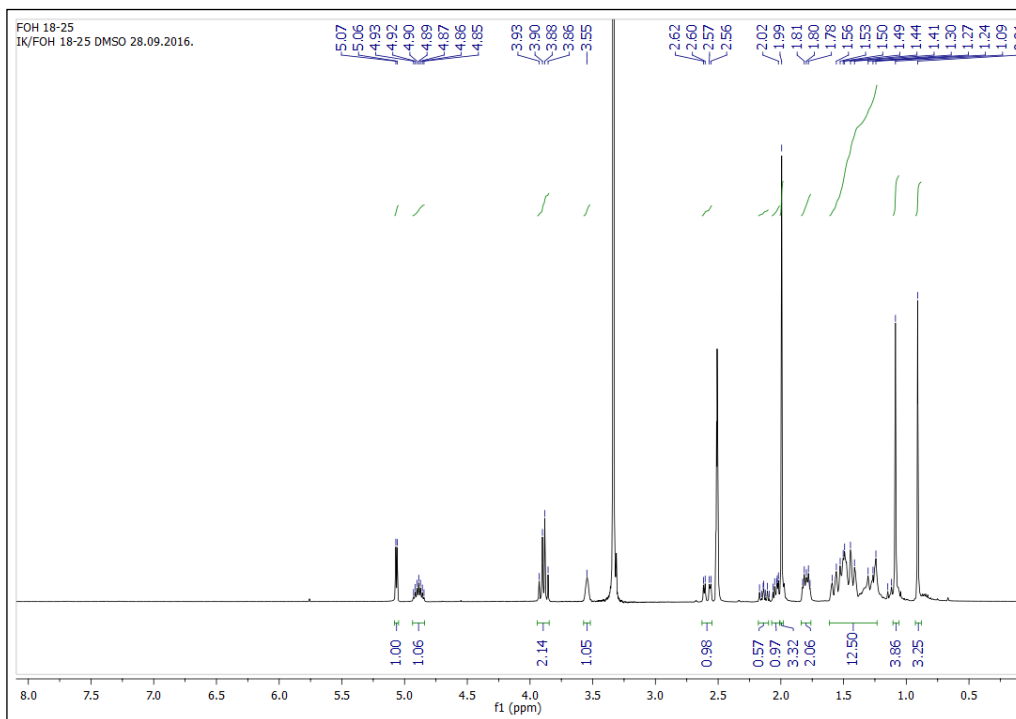


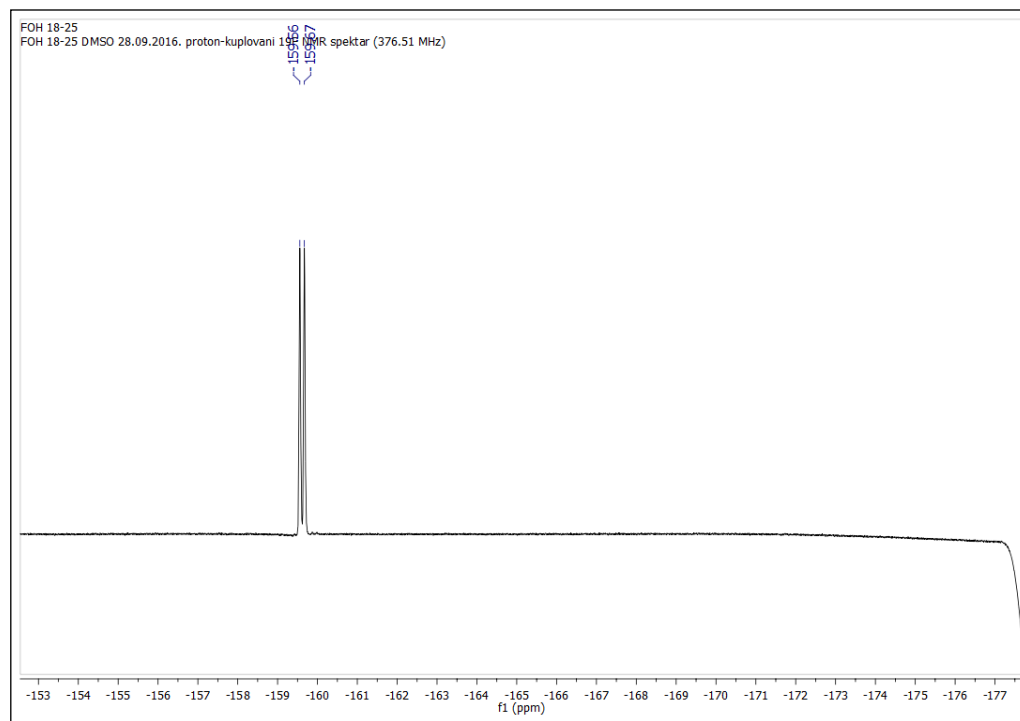
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (15)**



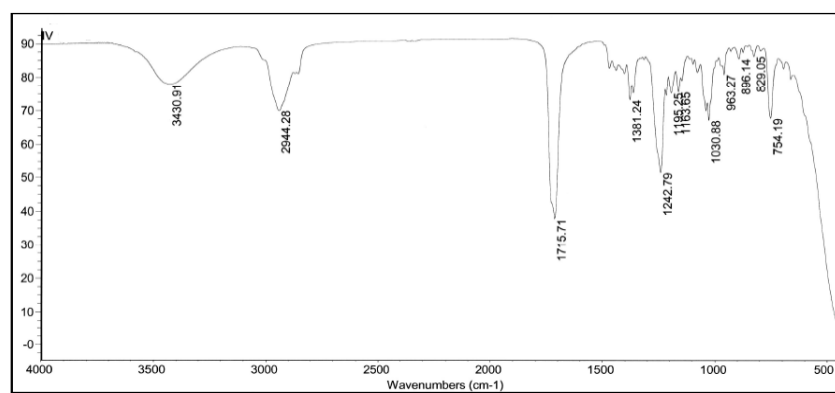
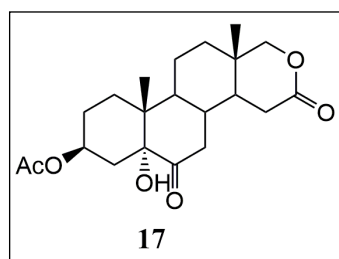
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -FLUOR-6 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (16)**



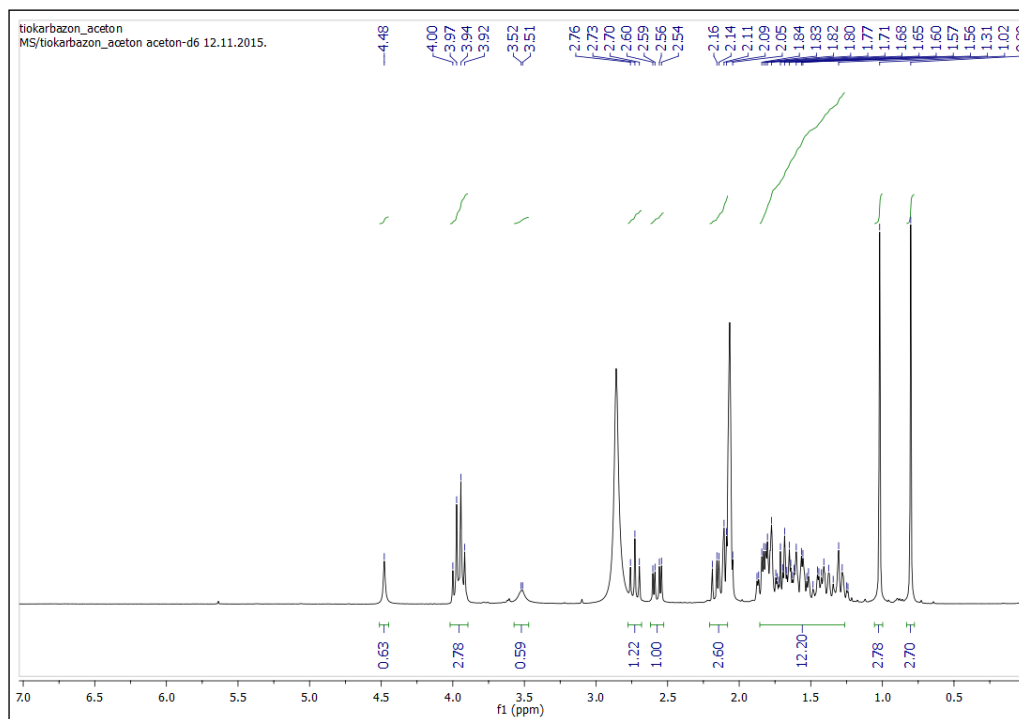
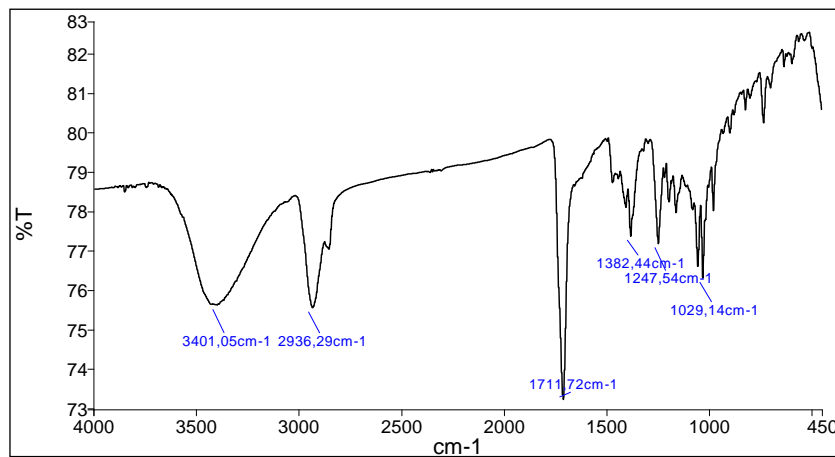
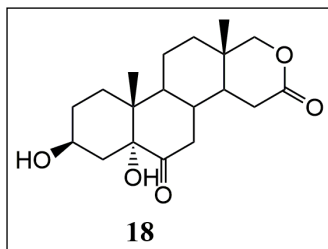




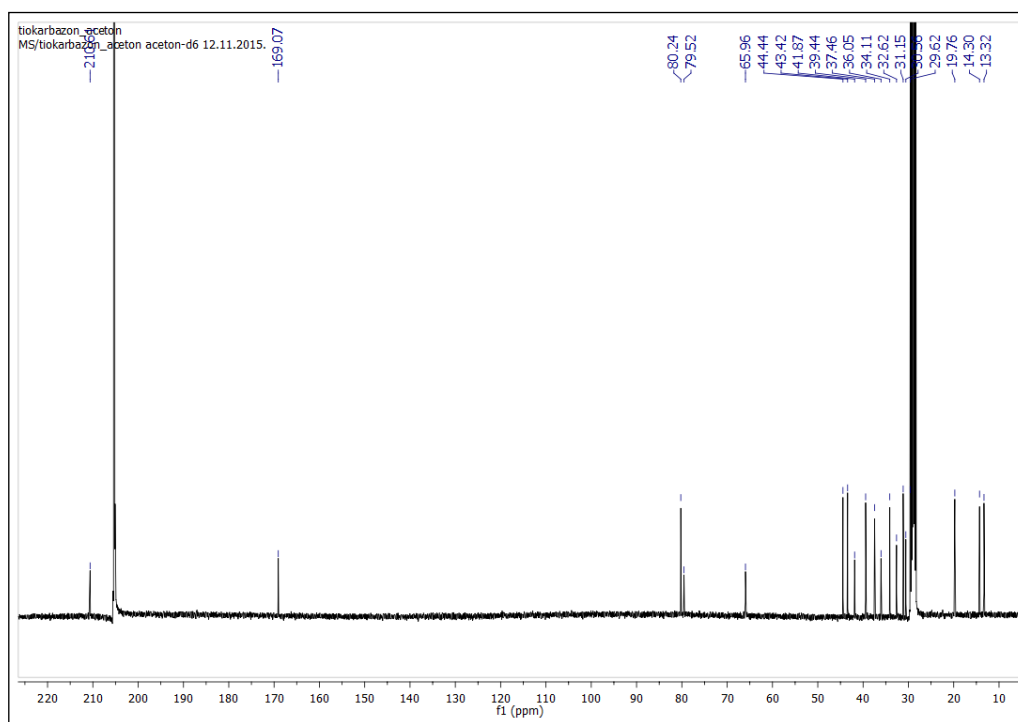
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-6,16-DION (17)**



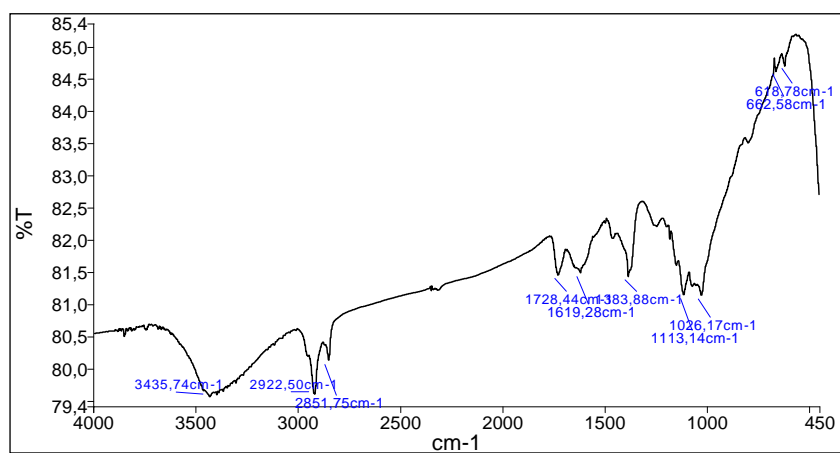
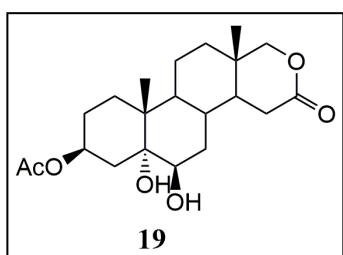
**3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-6,16-DION (18)**

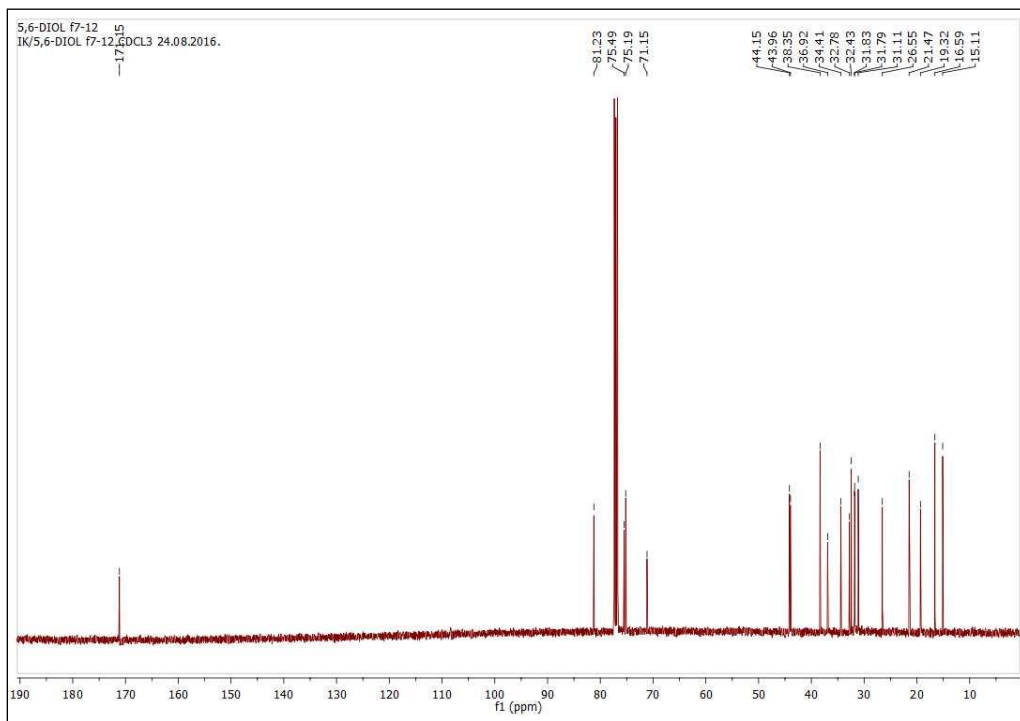
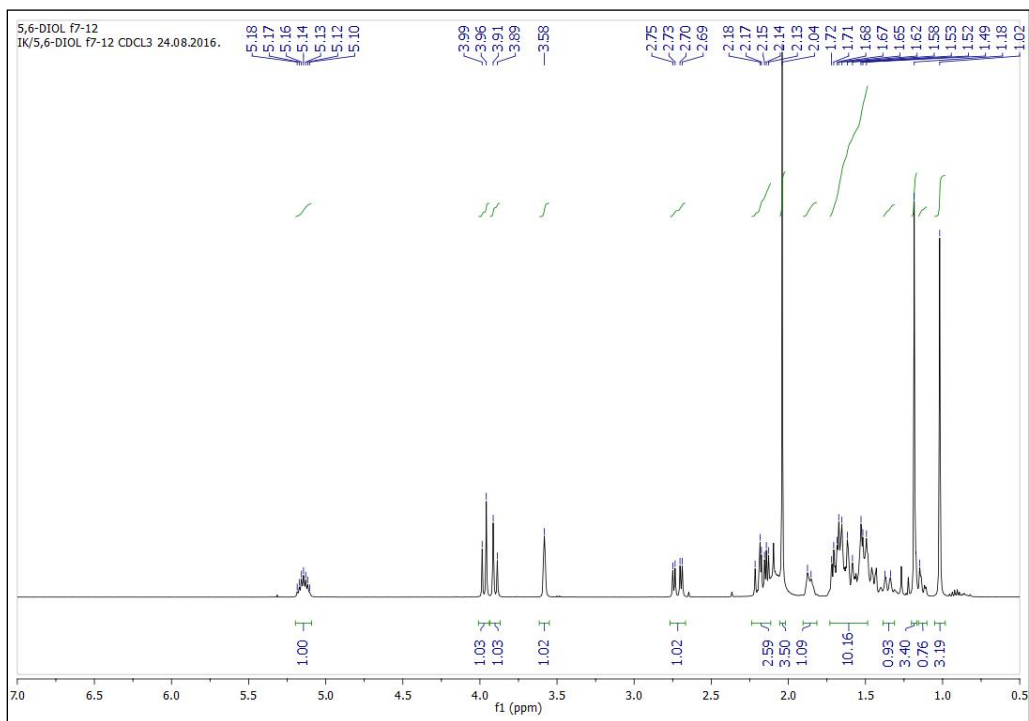




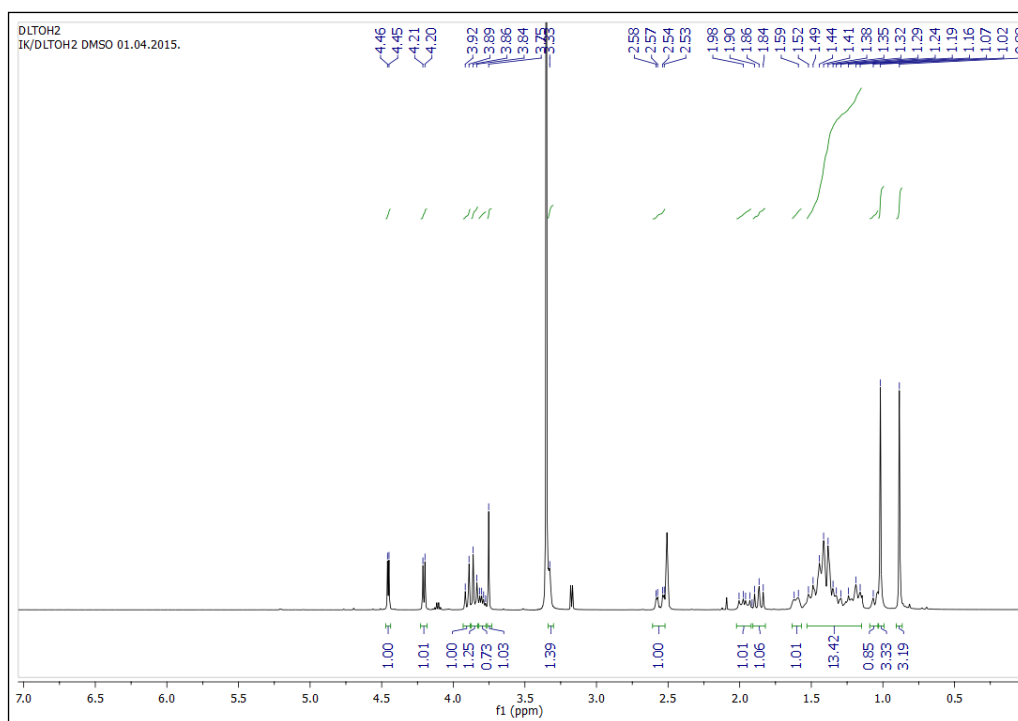
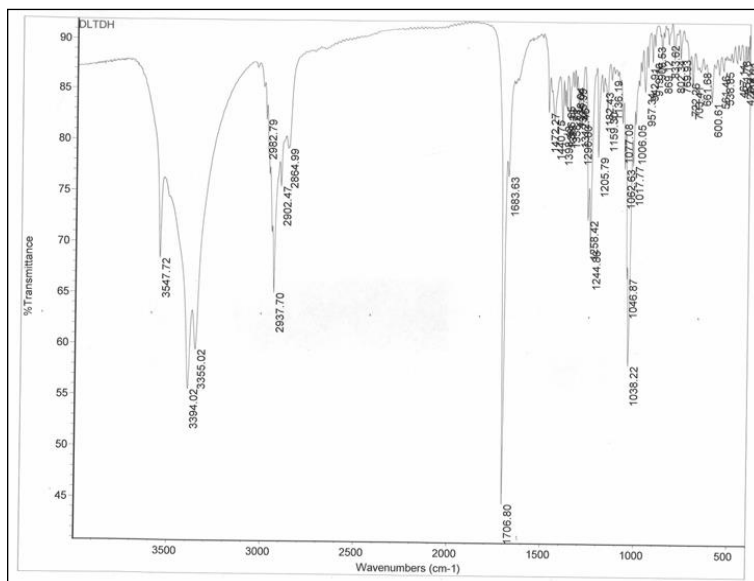
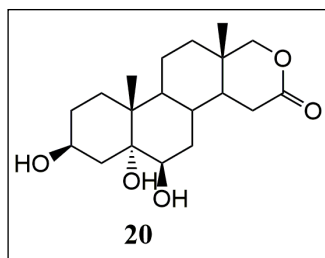


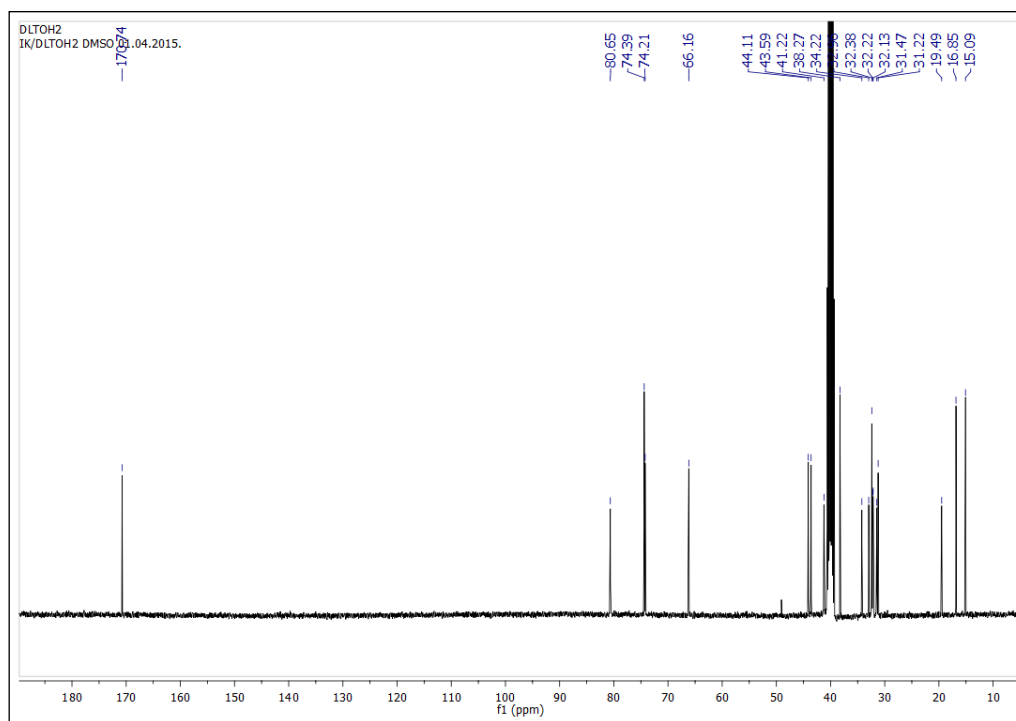
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (19)**



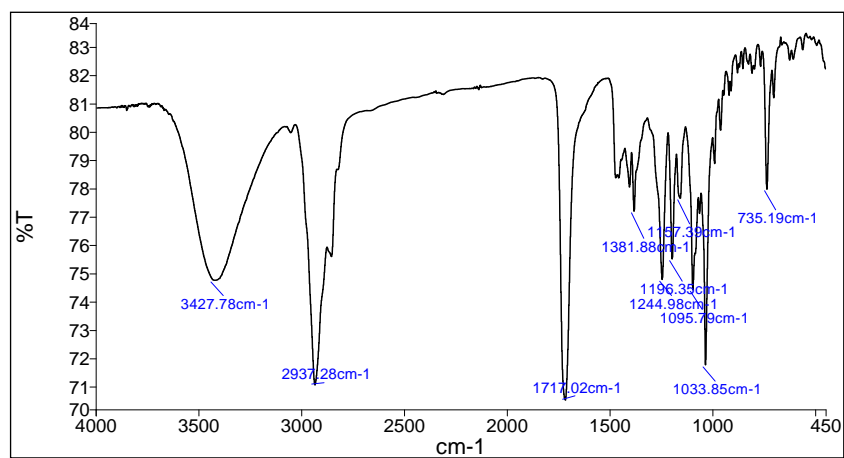
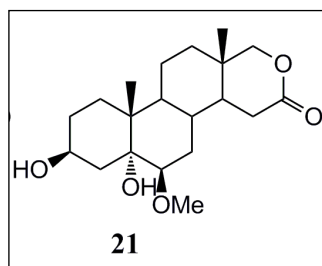


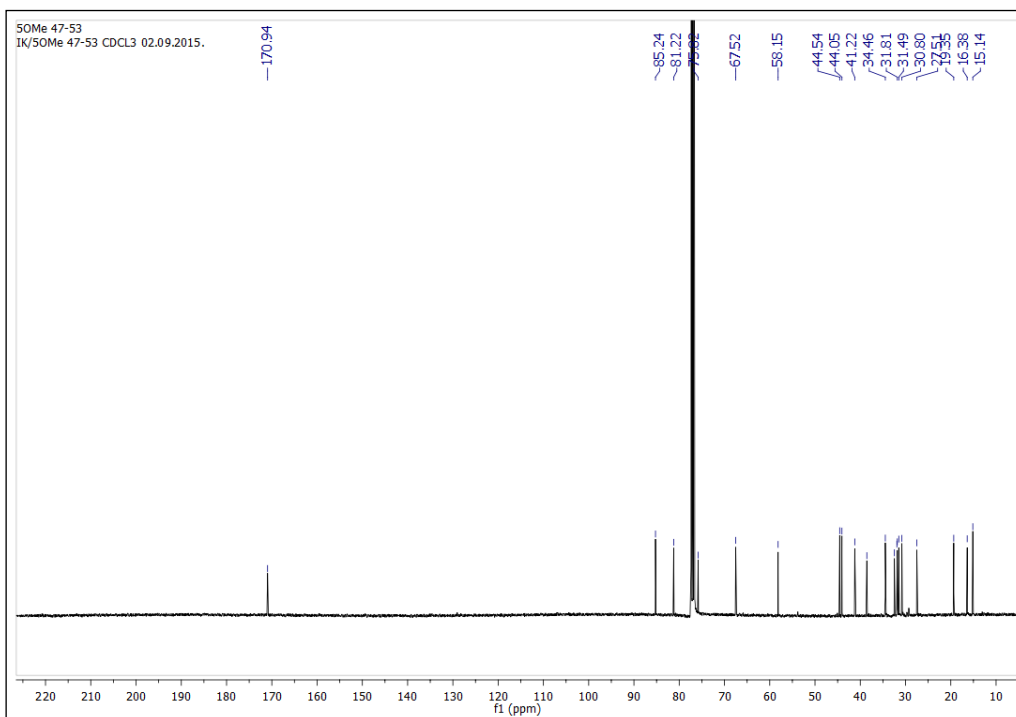
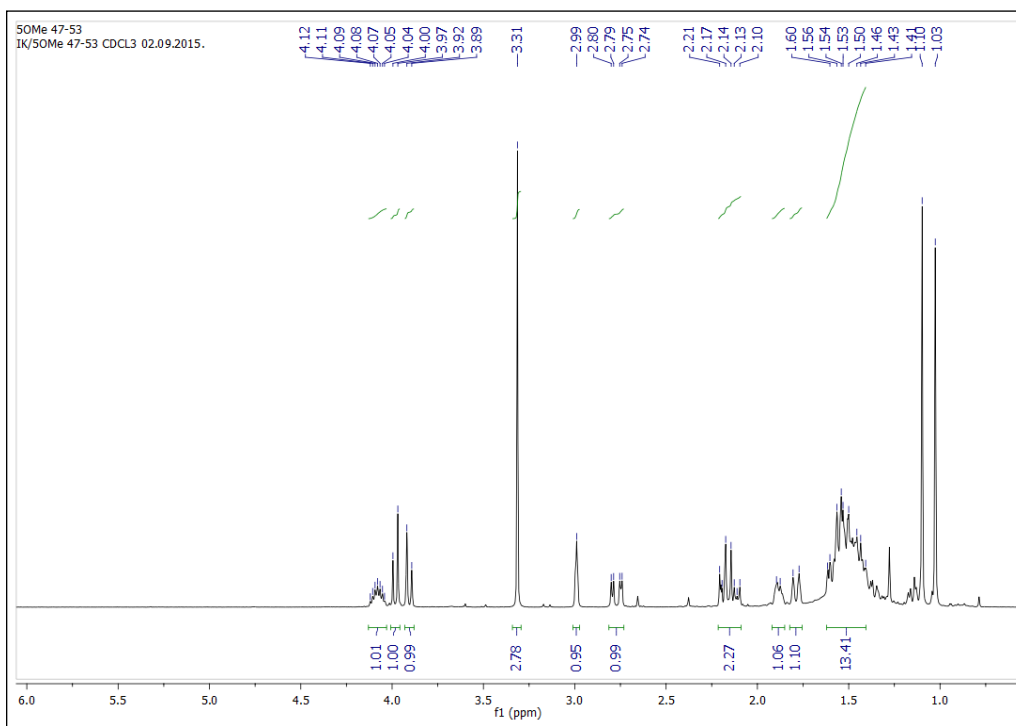
**3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -TRIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (20)**



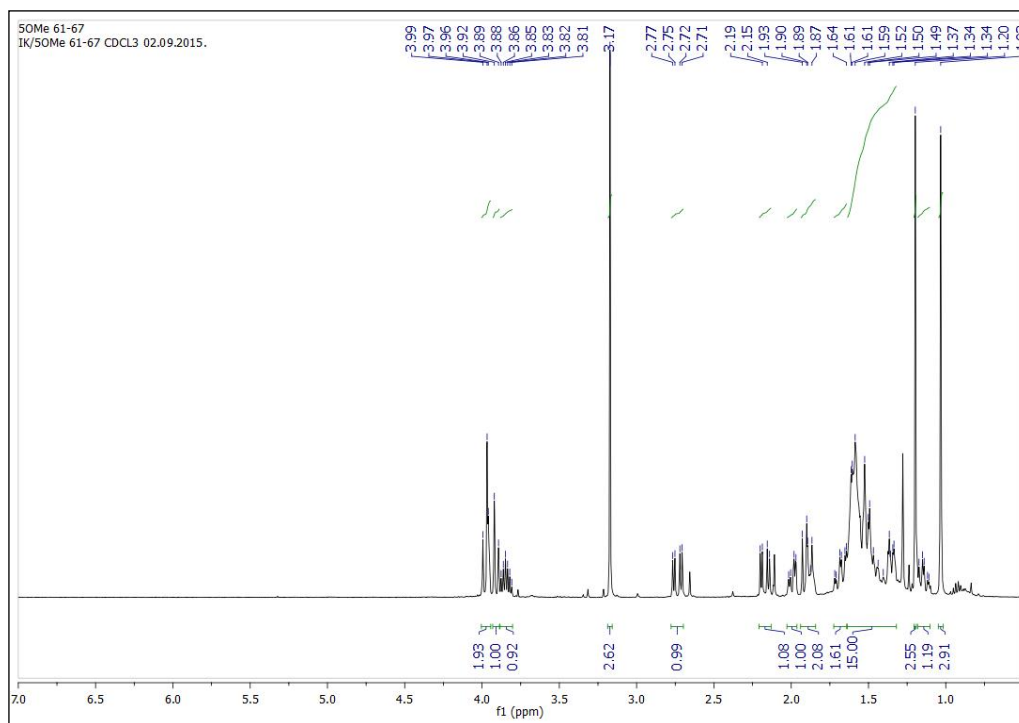
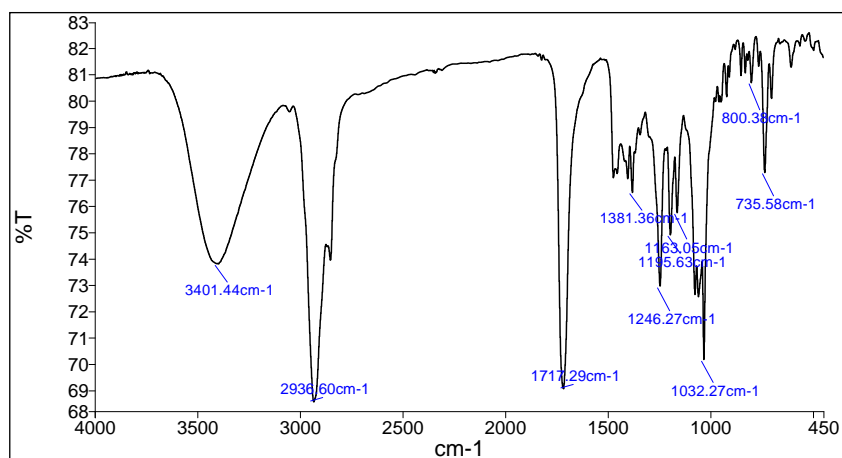
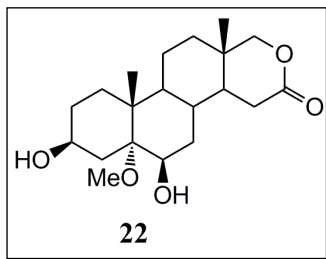


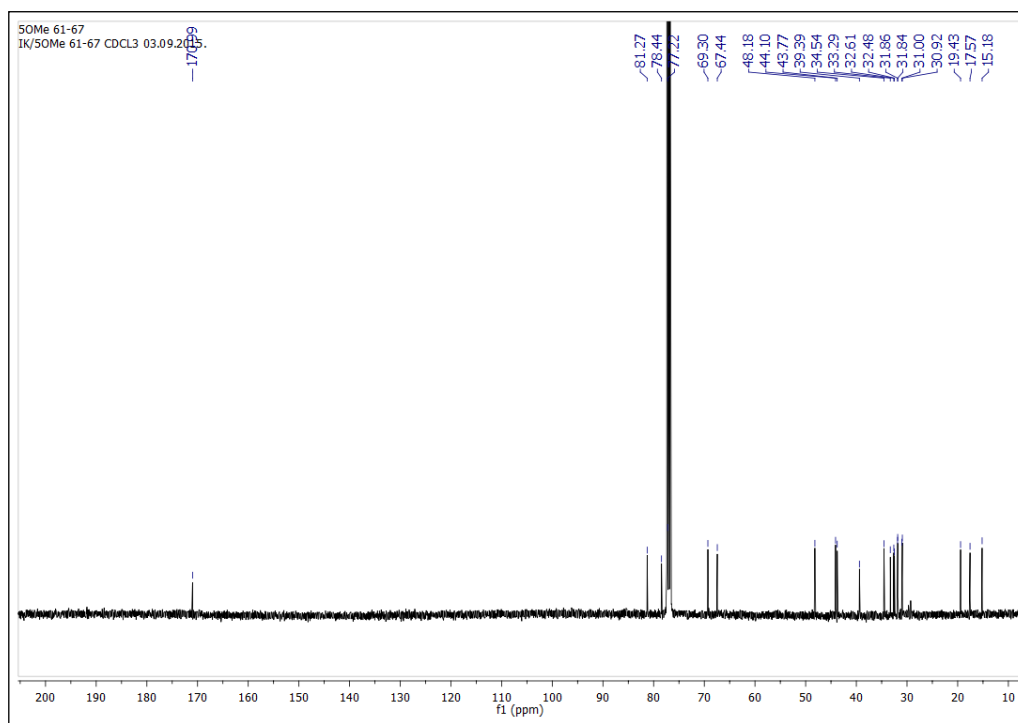
**3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -DIHIDROKSI-6 $\beta$ -METOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (21)**



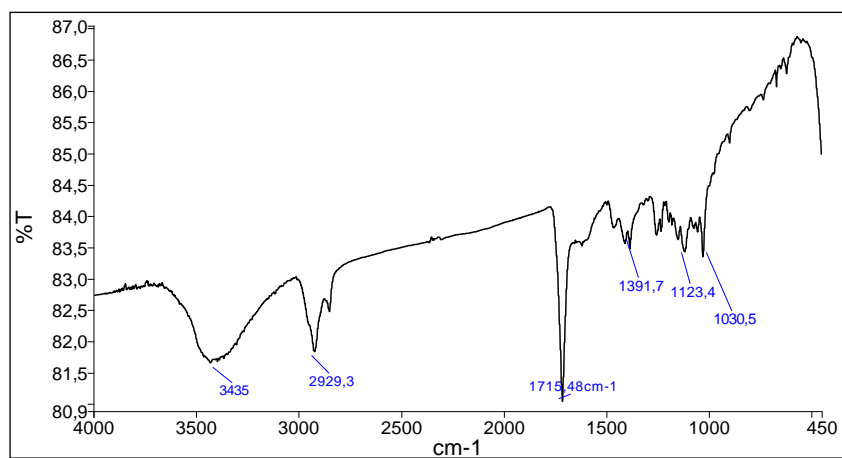
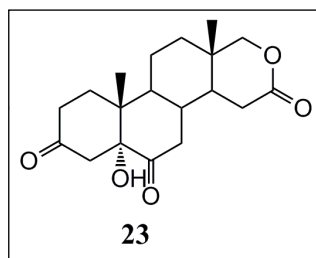


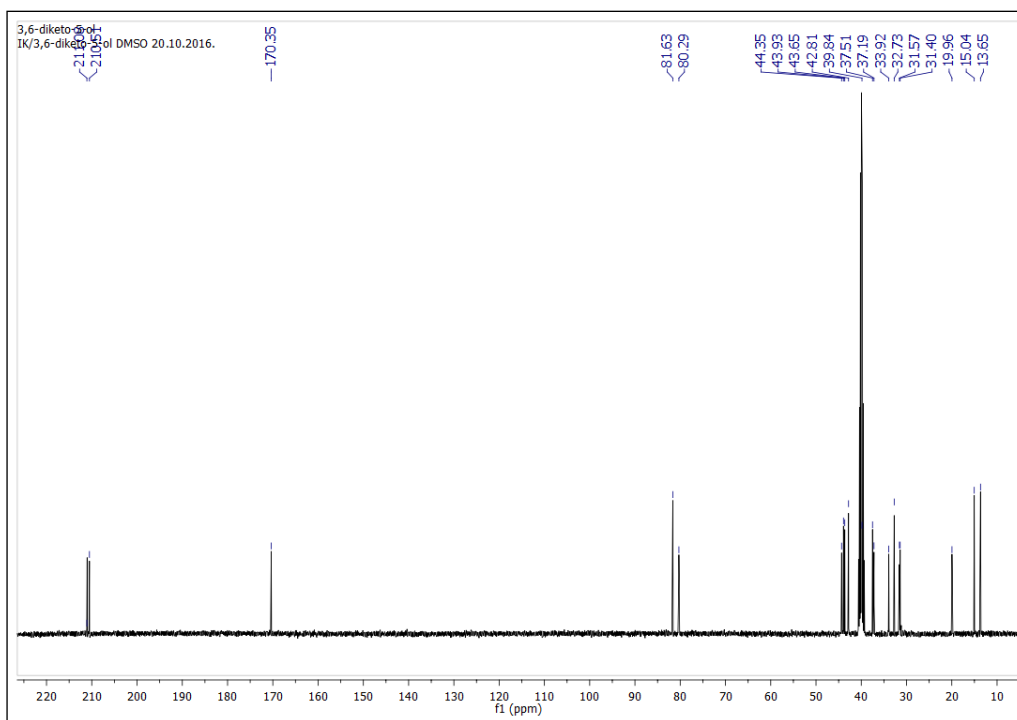
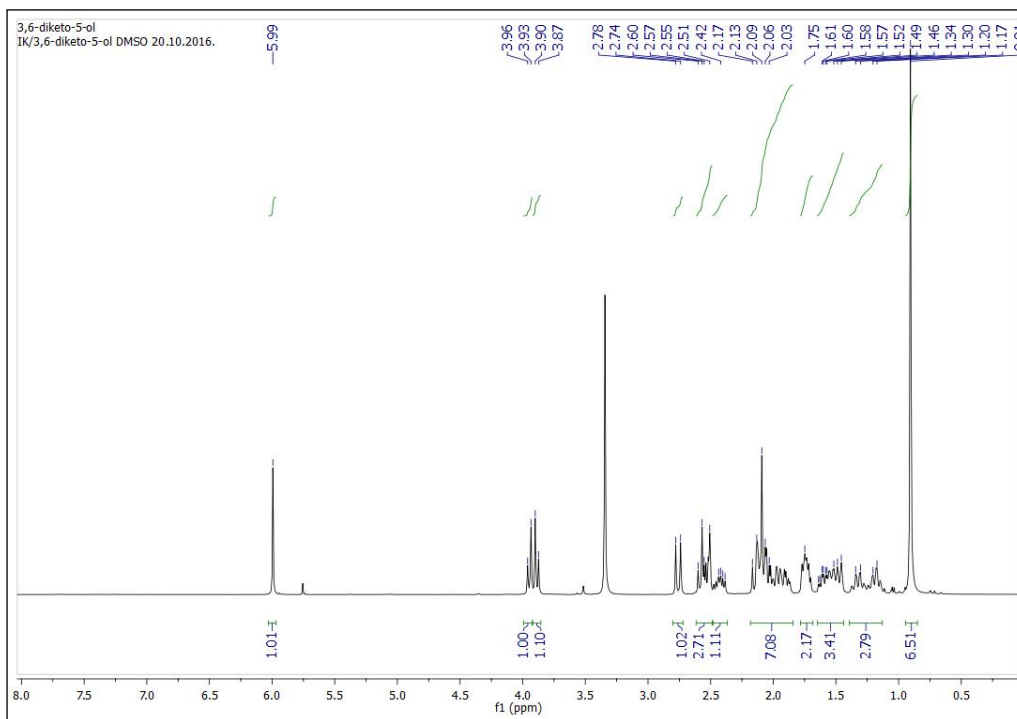
**3 $\beta$ ,6 $\beta$ -DIHIDROKSI-5 $\alpha$ -METOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (22)**





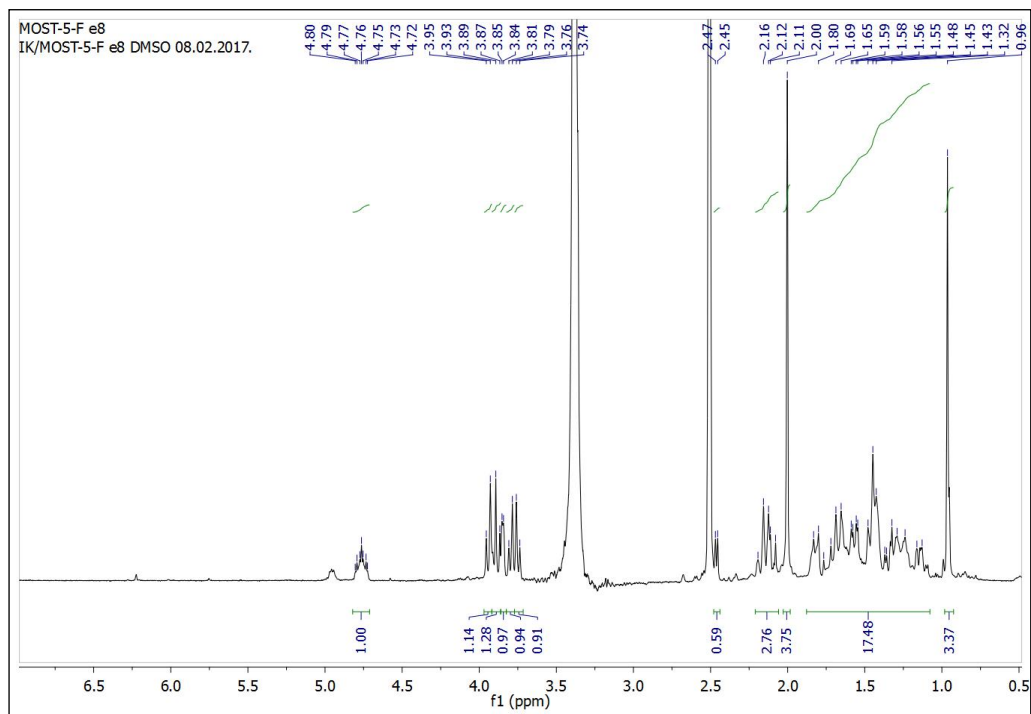
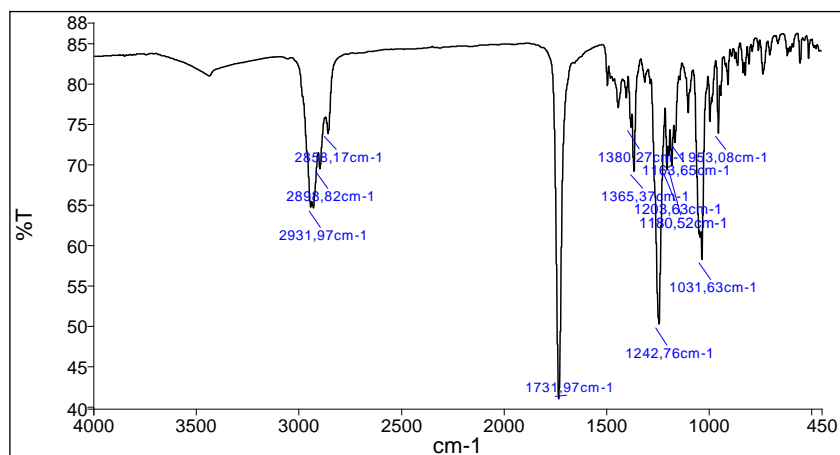
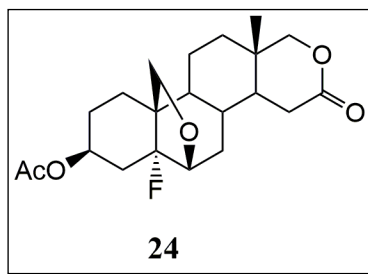
**5 $\alpha$ -HIDROKSI-17-OKSA-17 $\alpha$ -HOMOANDROSTAN-3,6,16-TRION (23)**

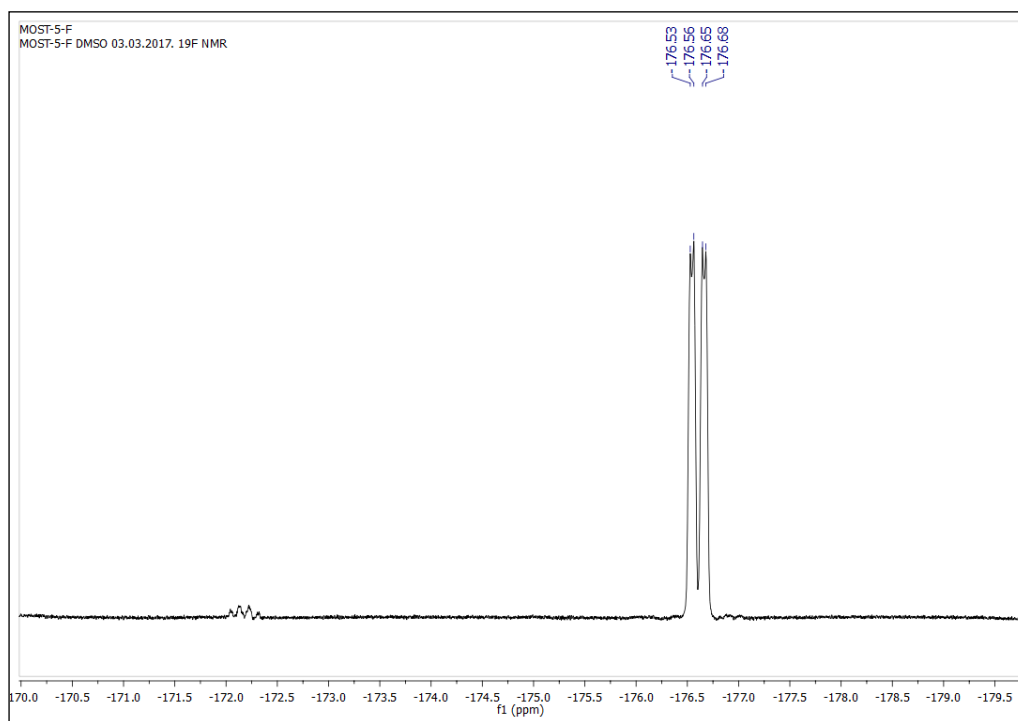
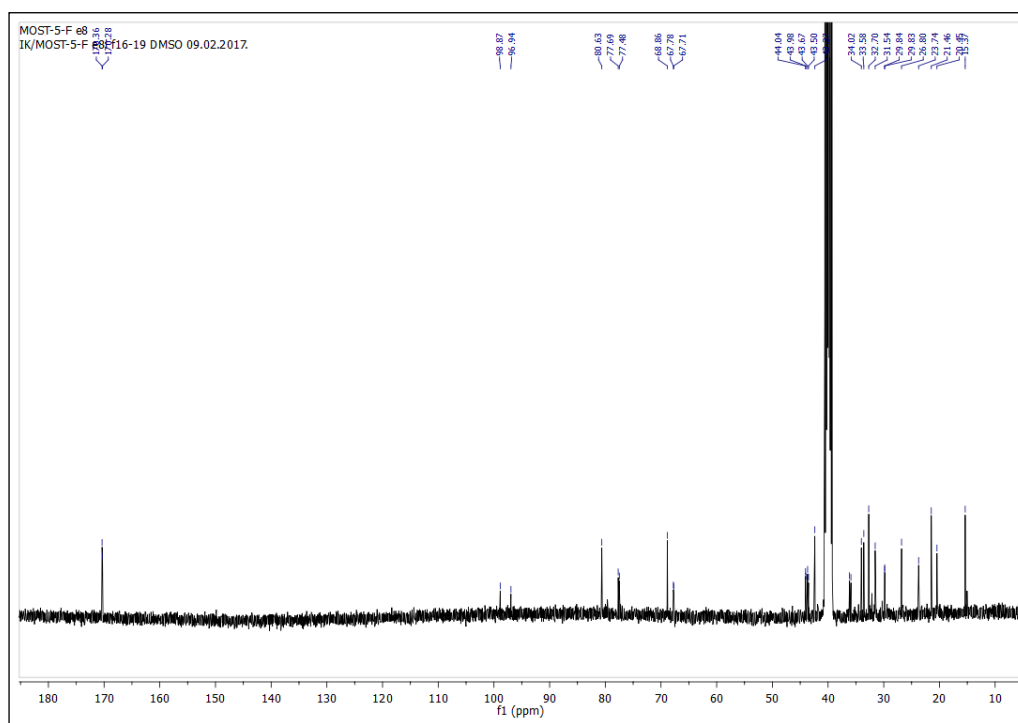




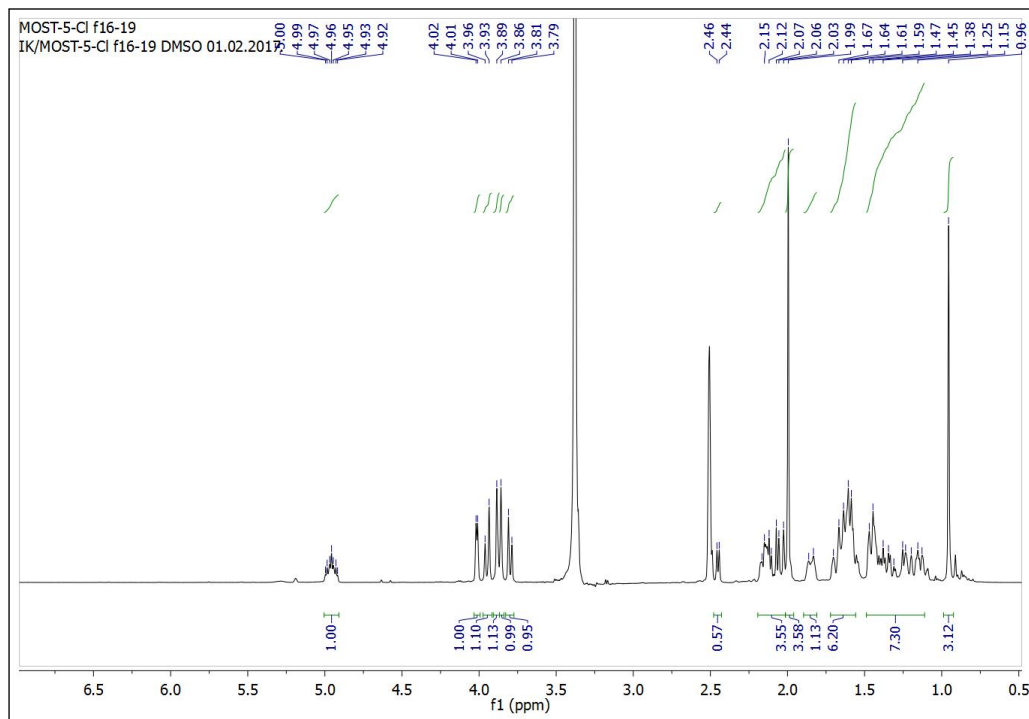
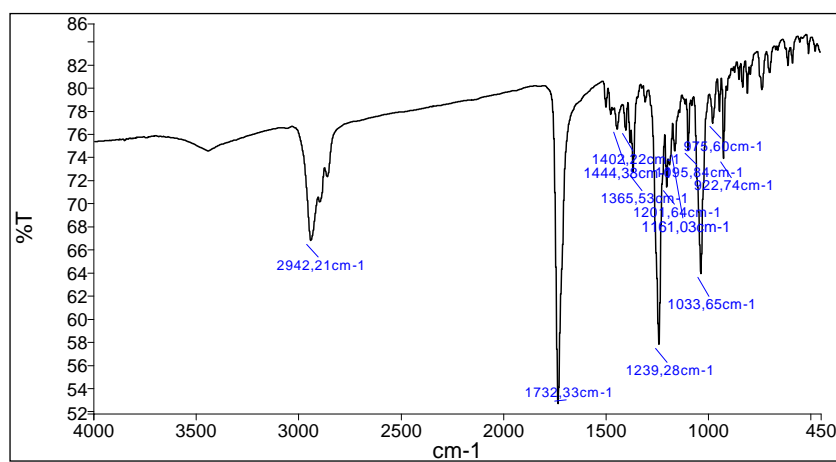
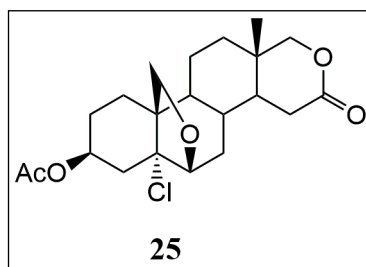


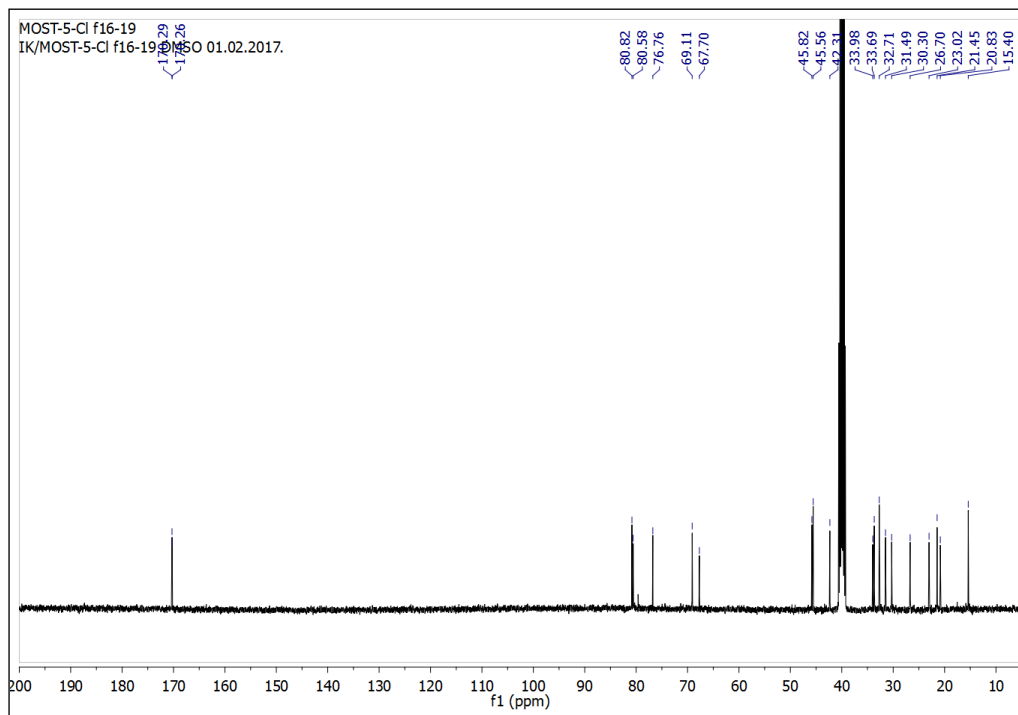
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -FLUOR-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**  
(24)



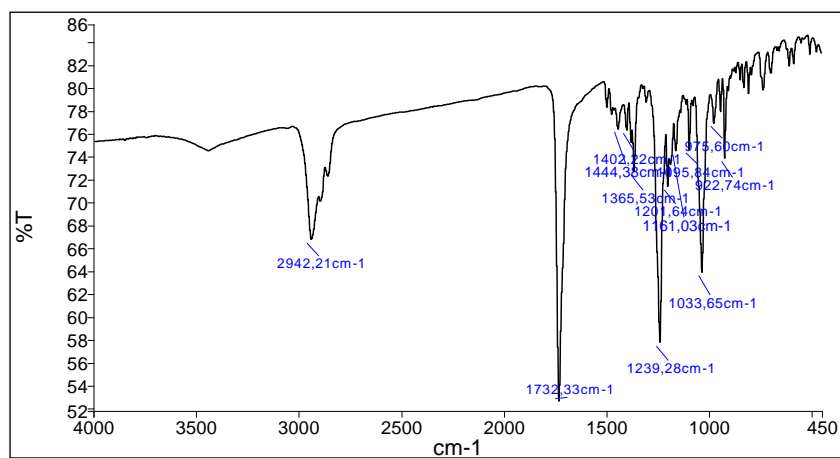
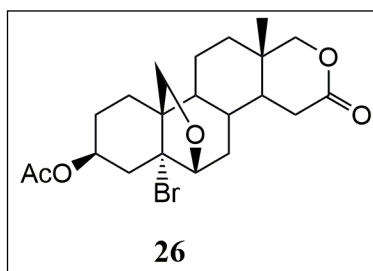


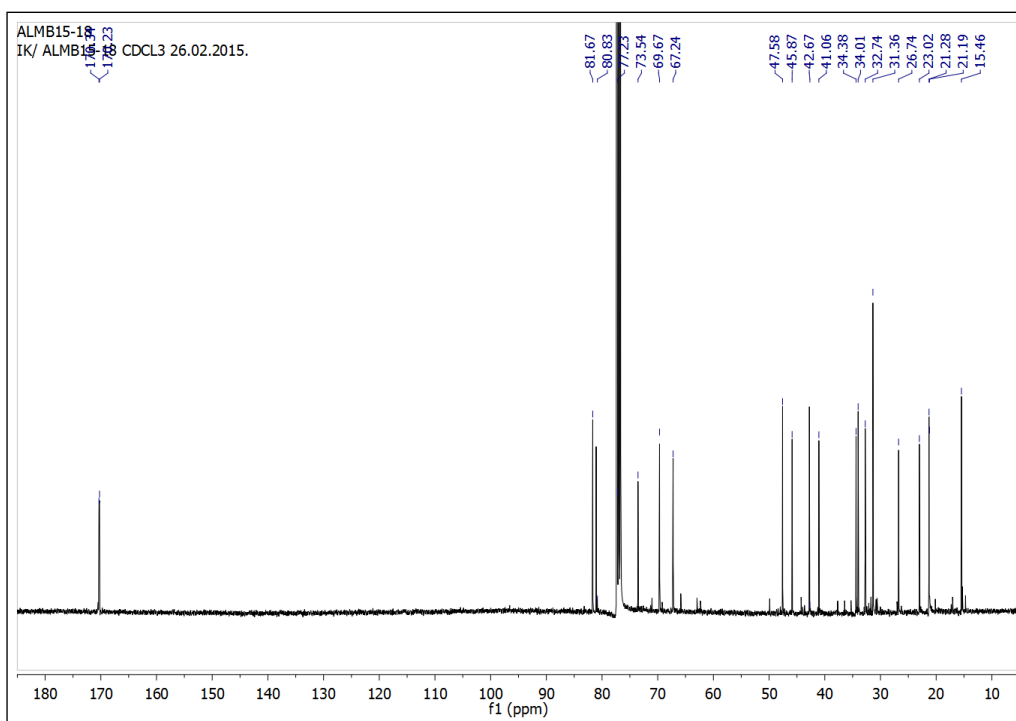
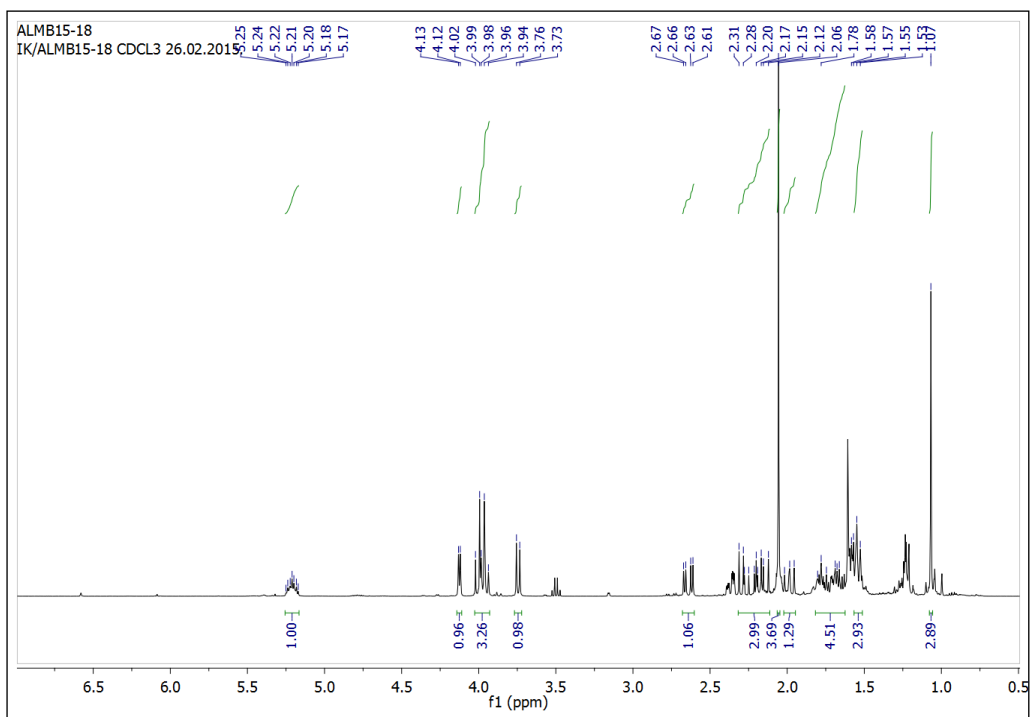
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -HLOR-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**  
(25)



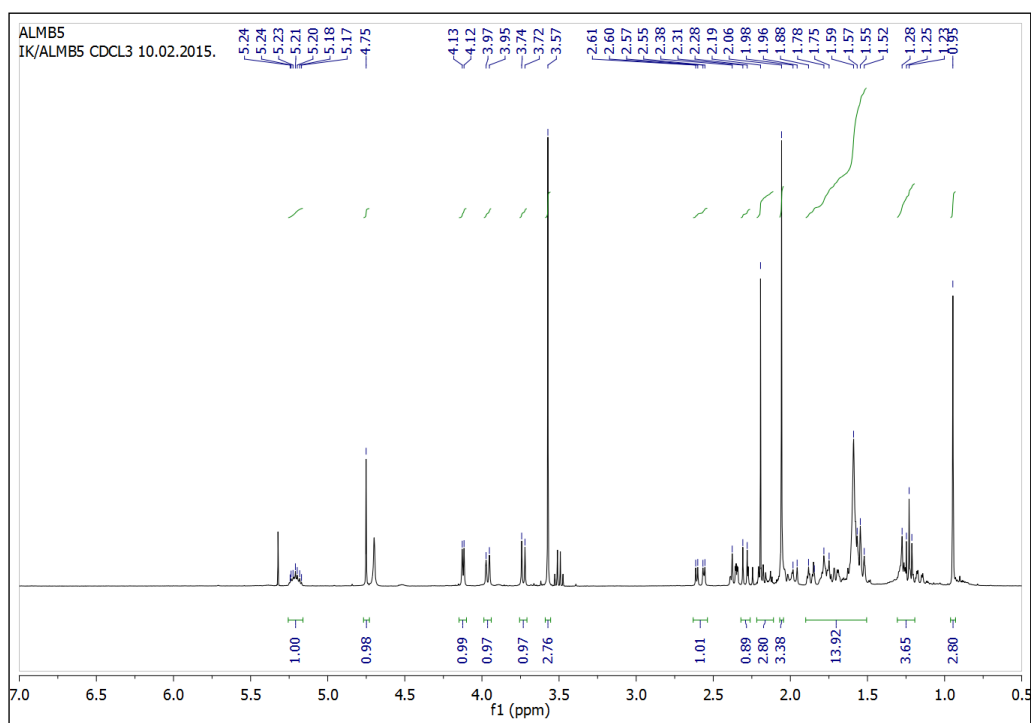
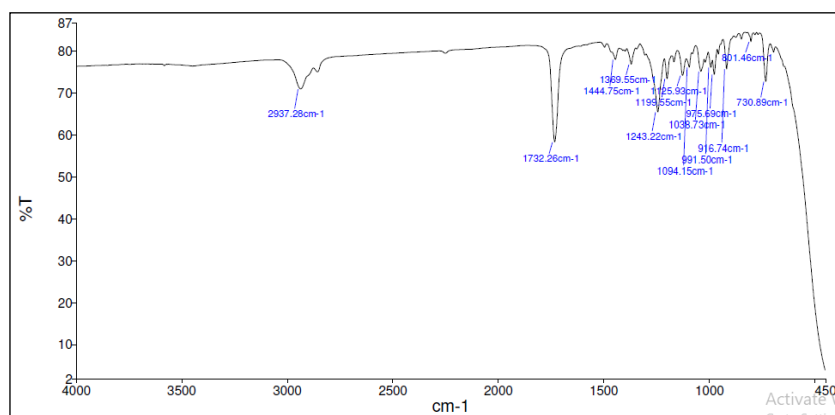
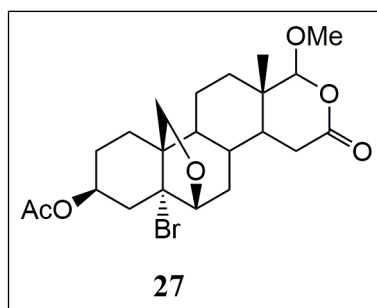


**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**  
**(26)**

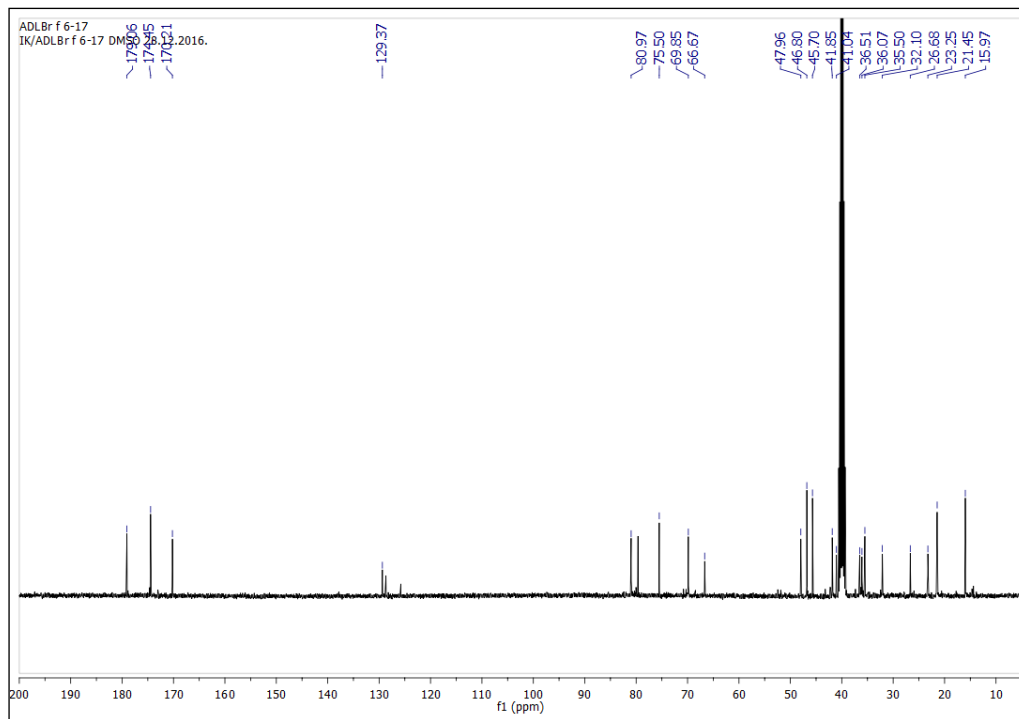
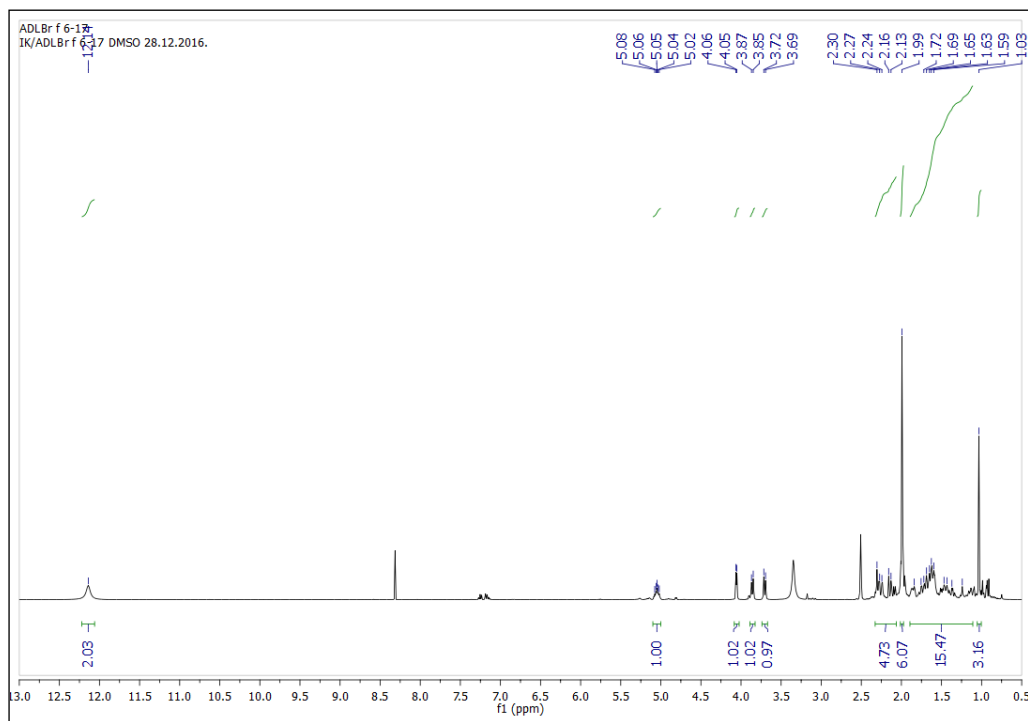




**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17 $\alpha$ -METOKSI-17-OKSA-17 $\alpha$ -HOMOANDROSTAN-16-ON (27)**

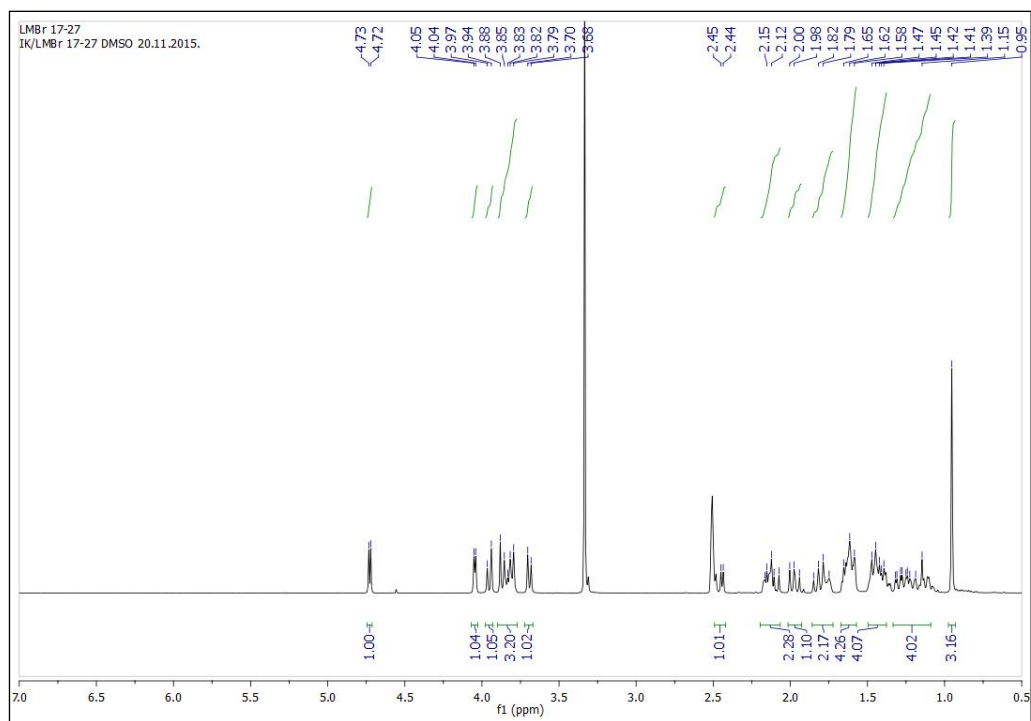
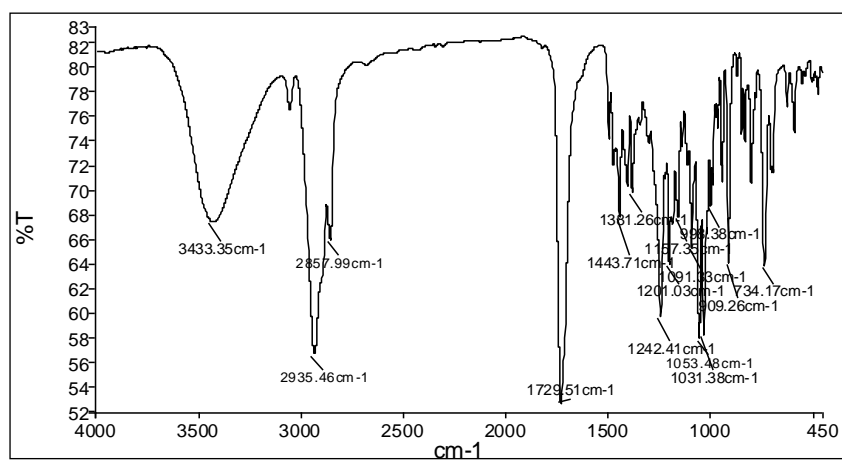
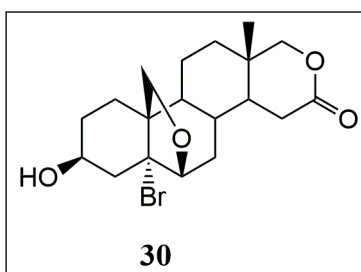


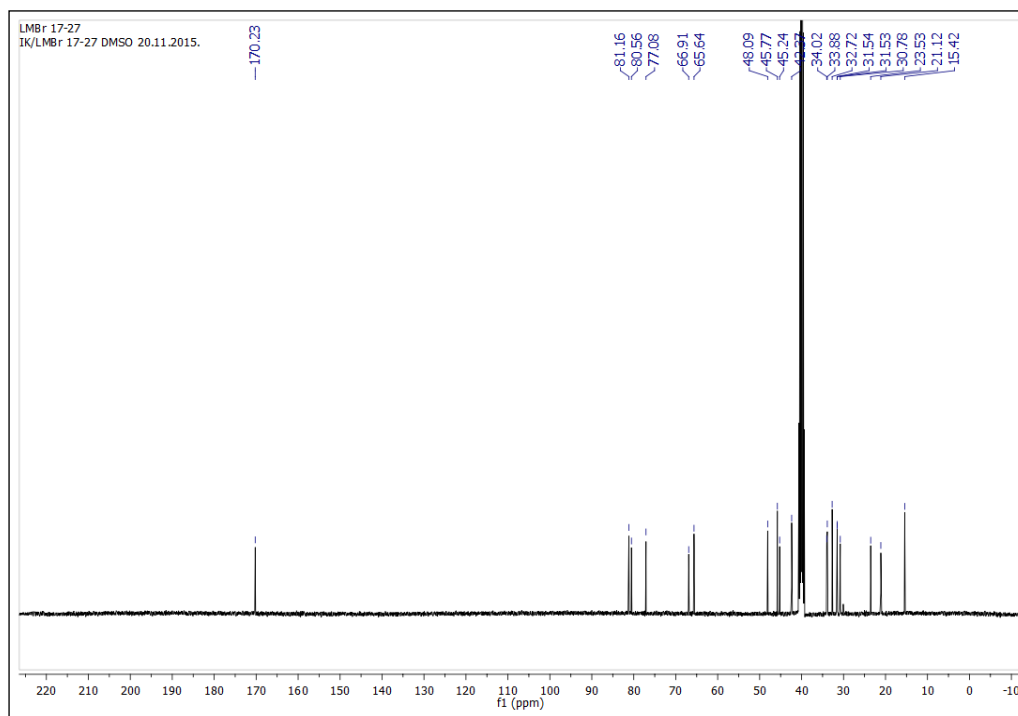




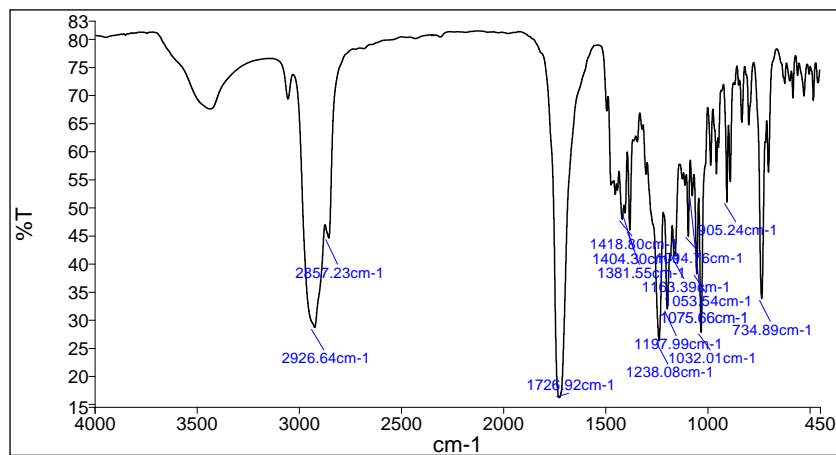
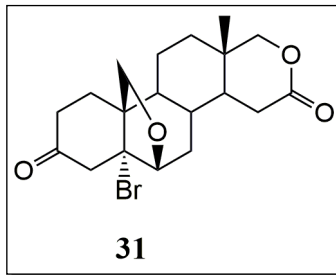


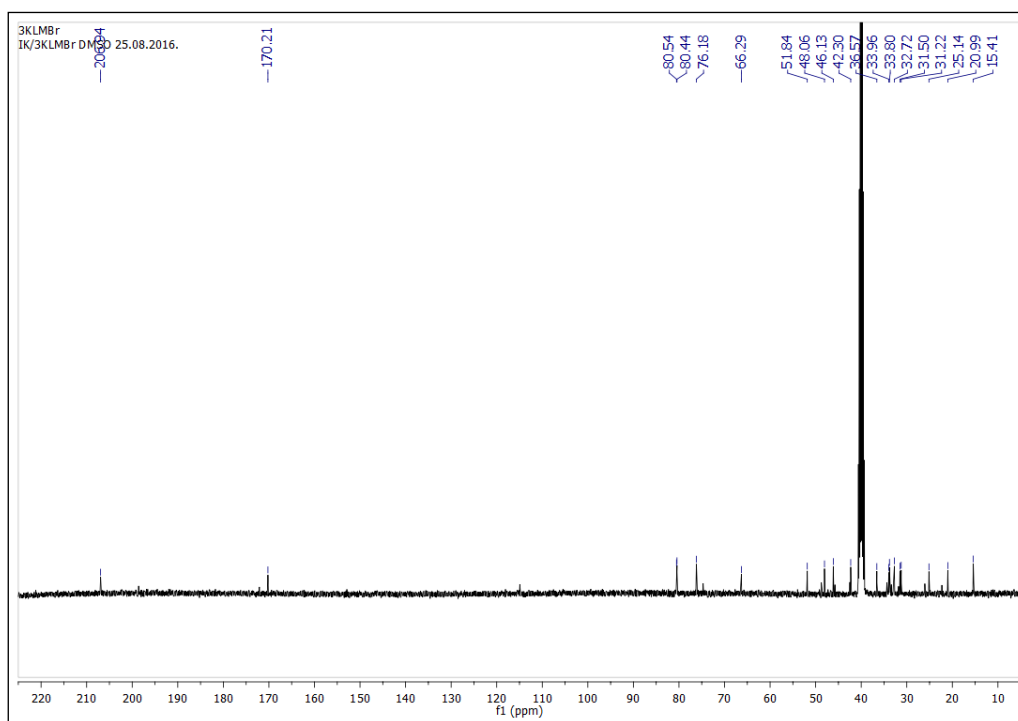
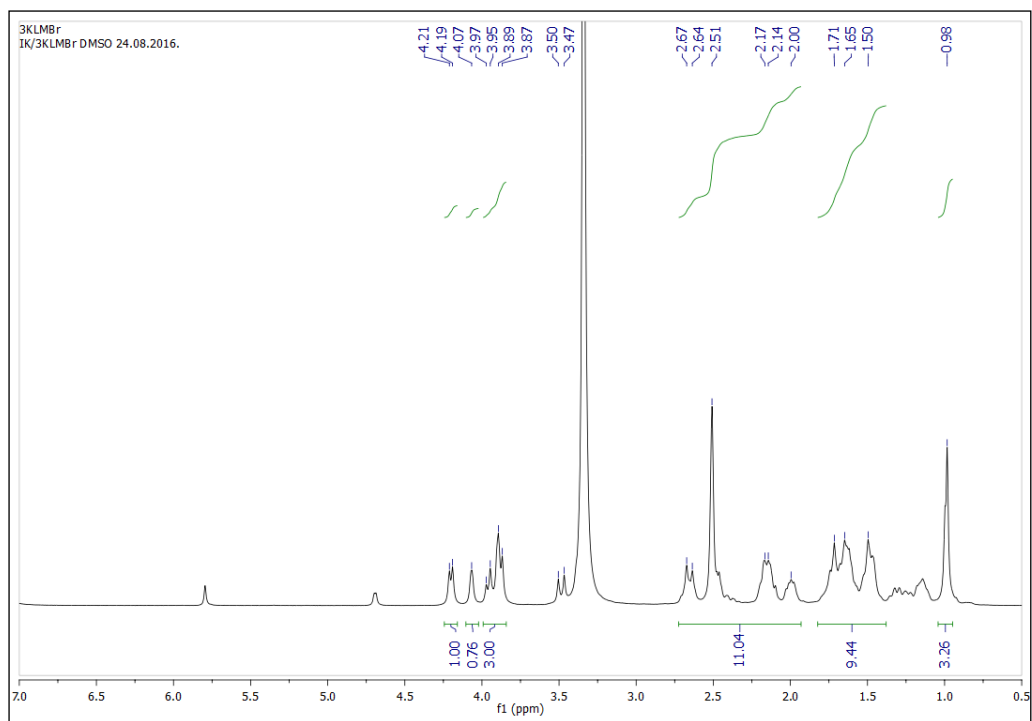
**5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON**  
**(30)**



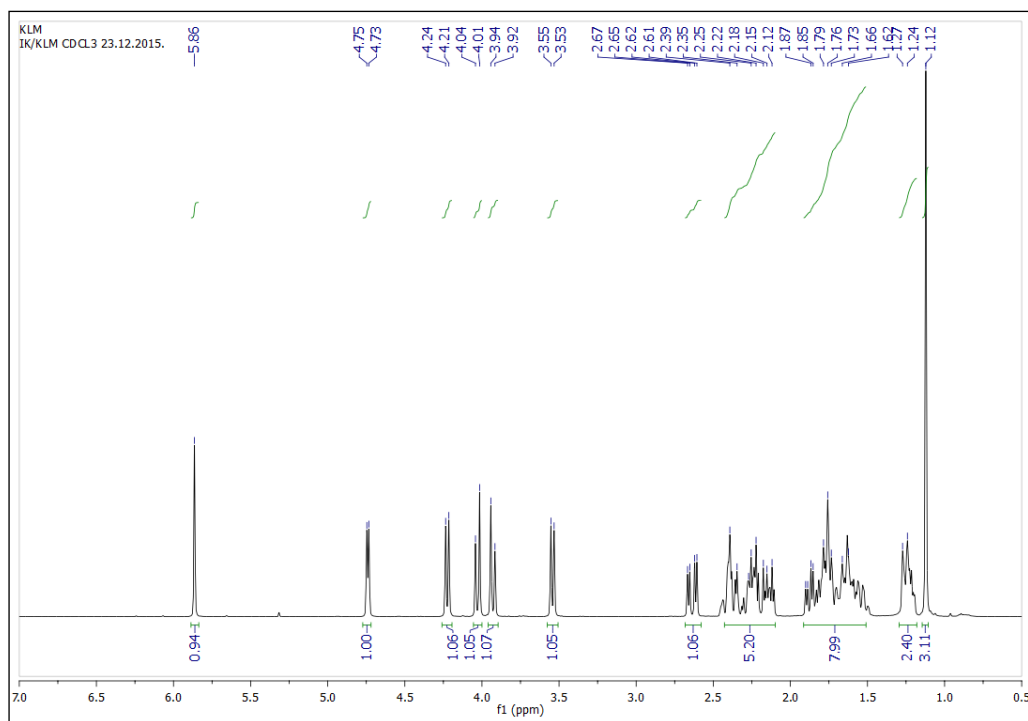
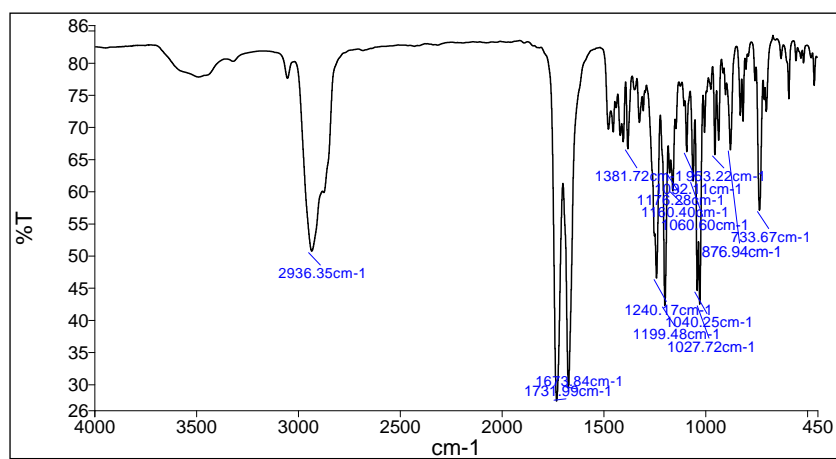
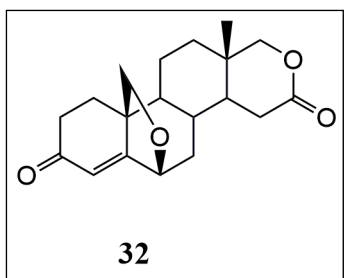


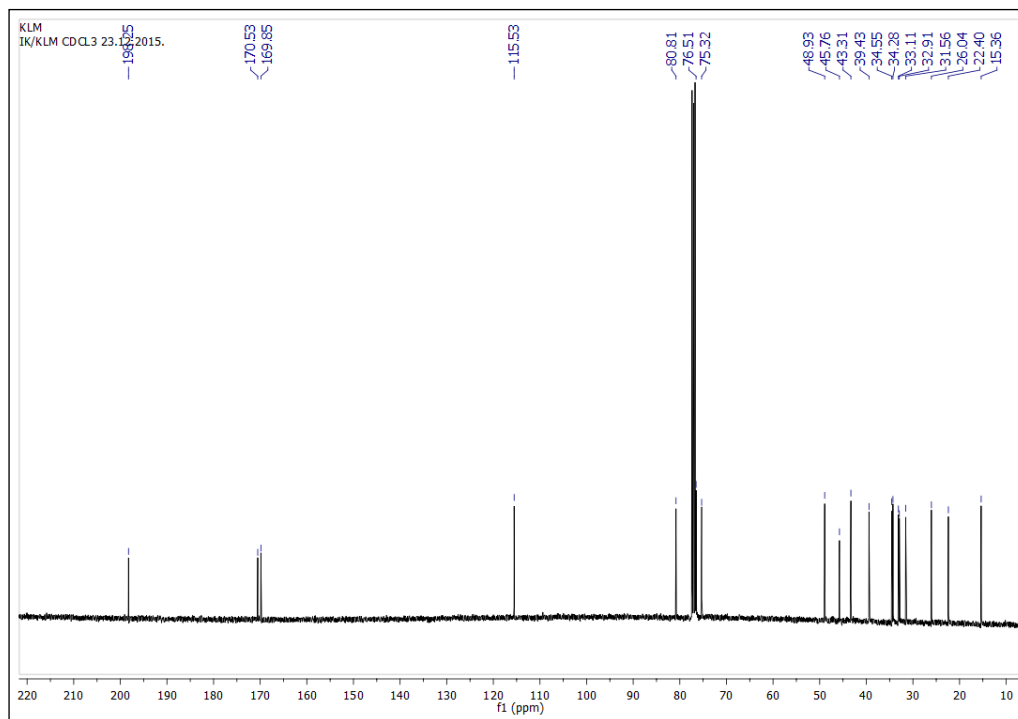
**5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-3,16-DION (31)**



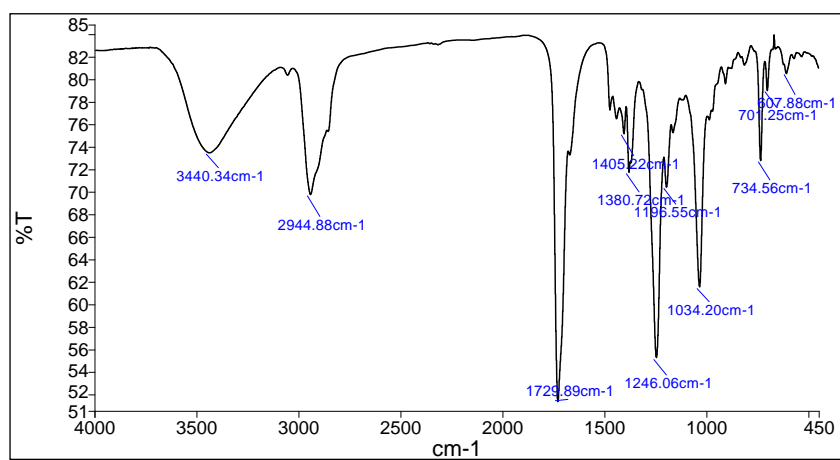
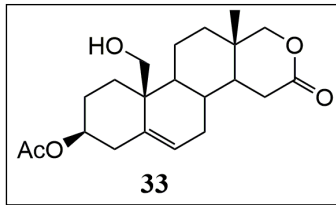


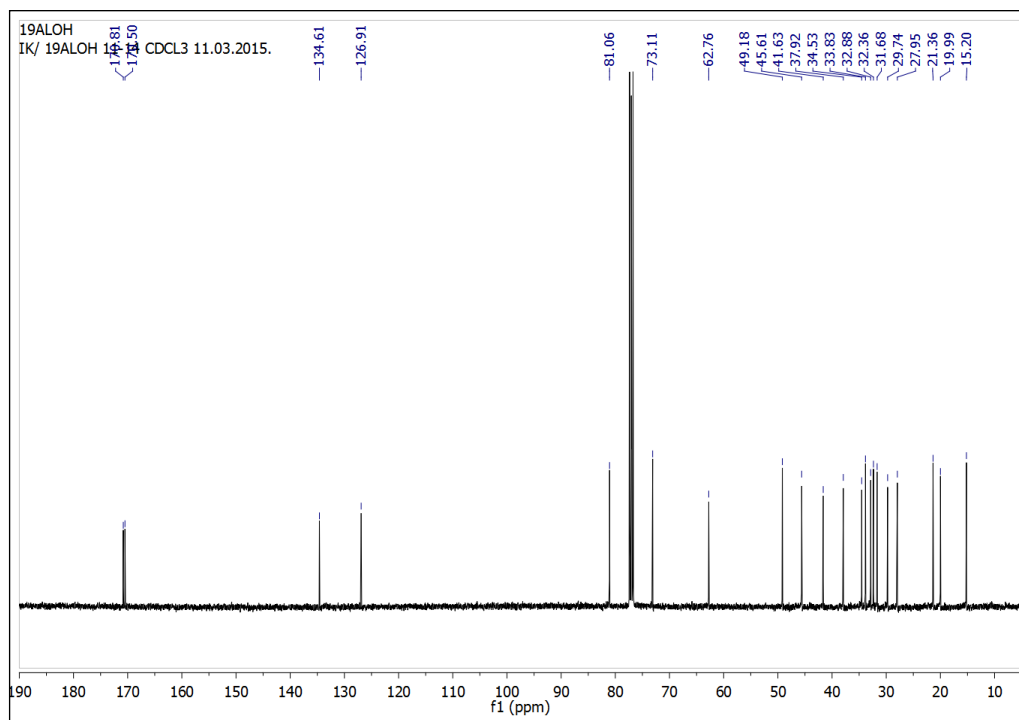
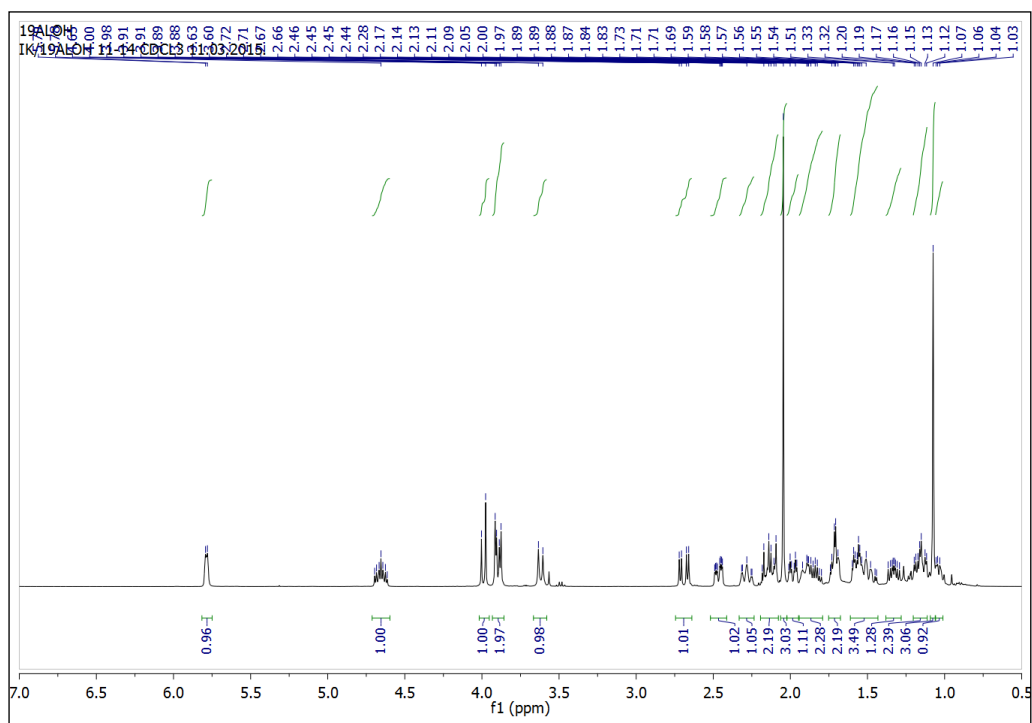
6 $\beta$ ,19-EPOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (32)



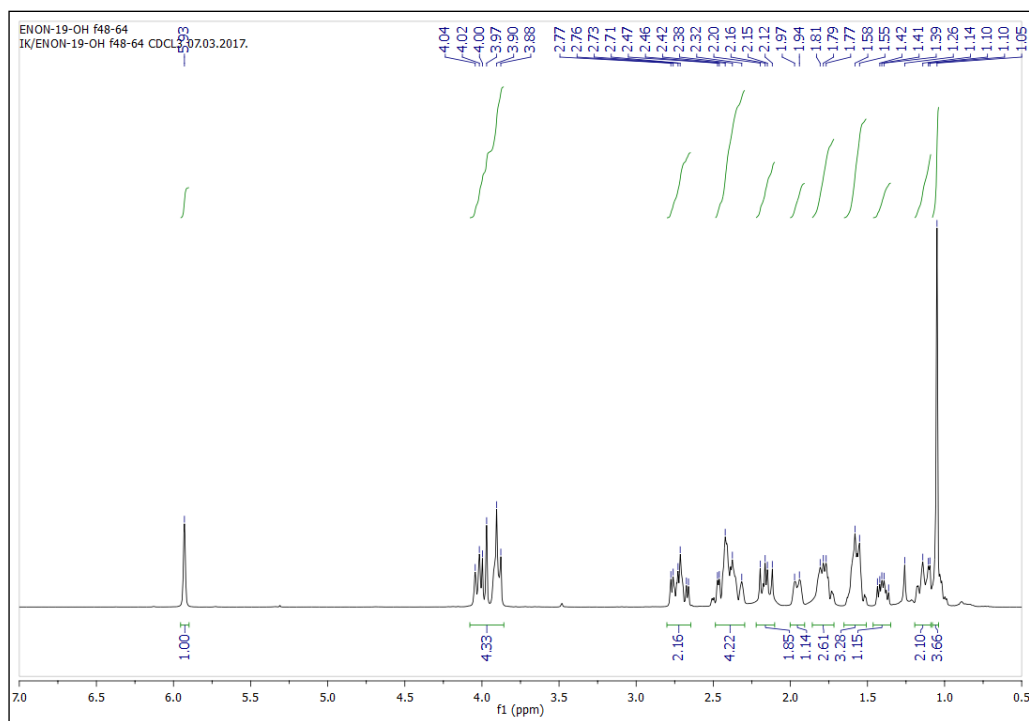
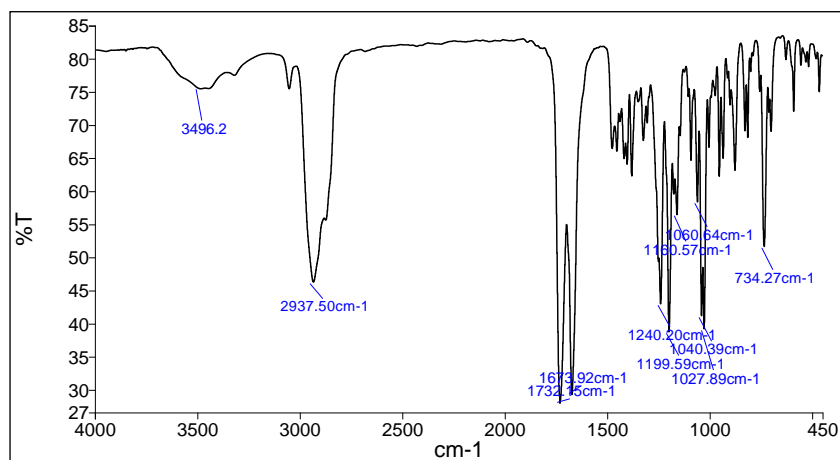
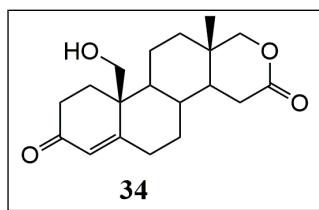


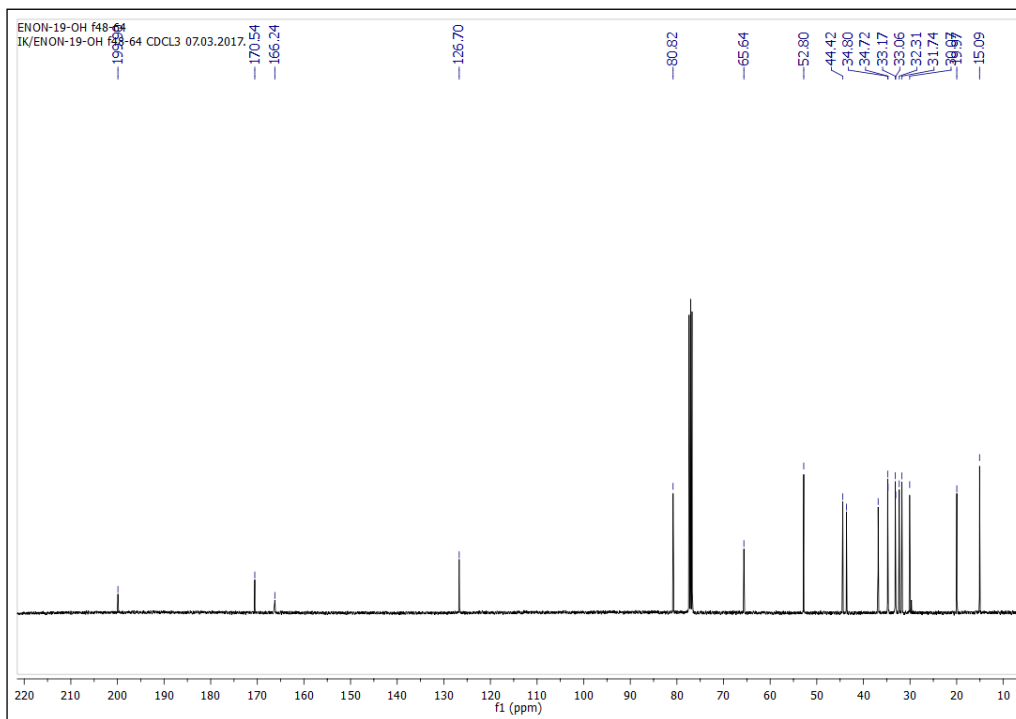
**3 $\beta$ -ACETOKSI-19-HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (33)**



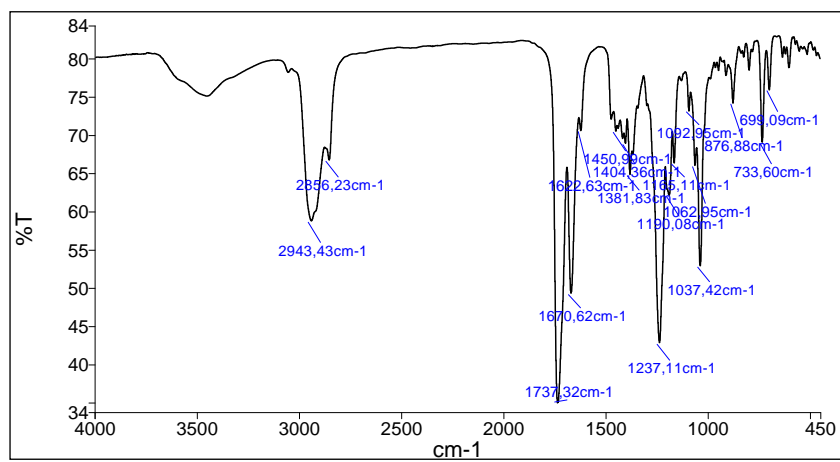
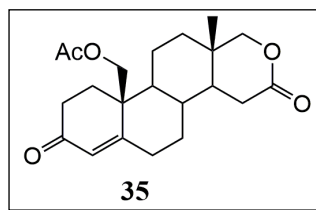


**19-HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (34)**

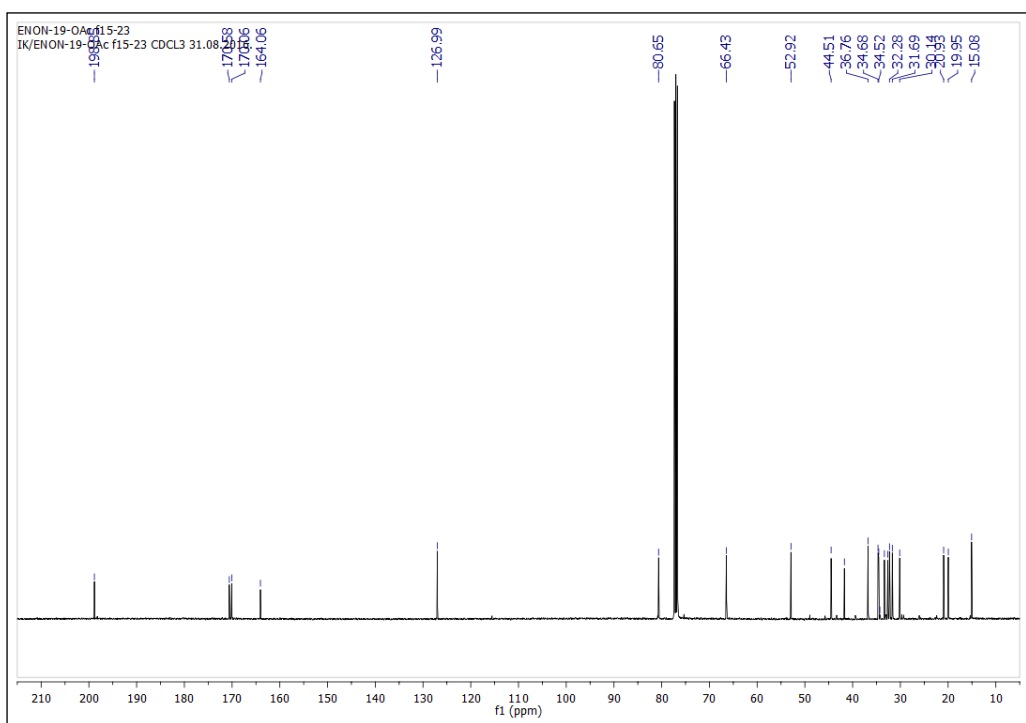
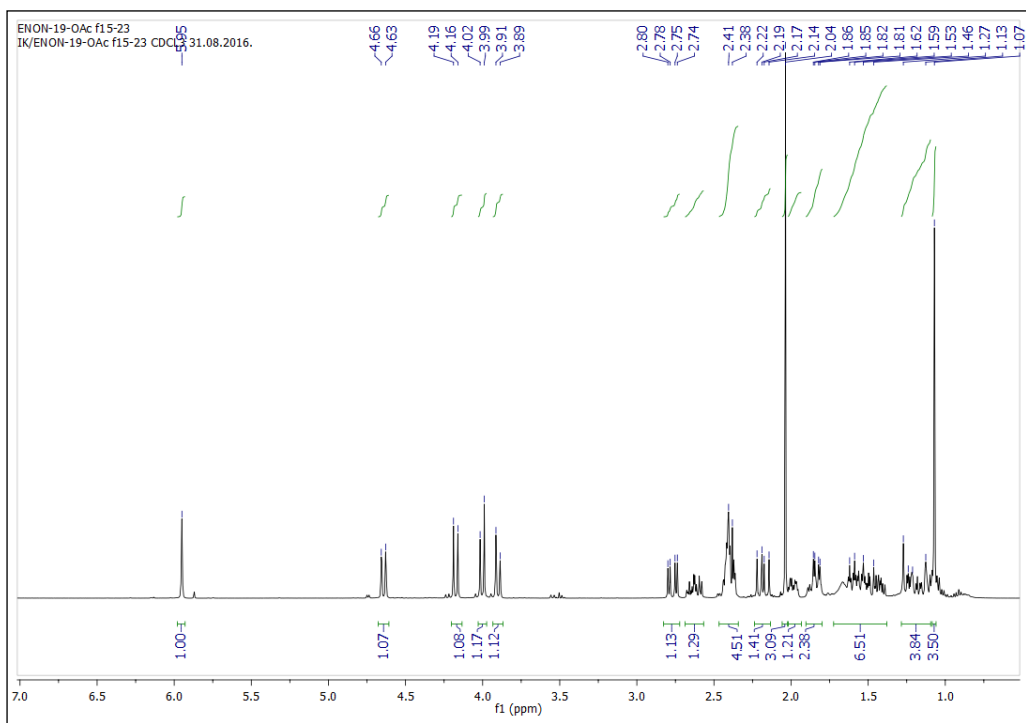




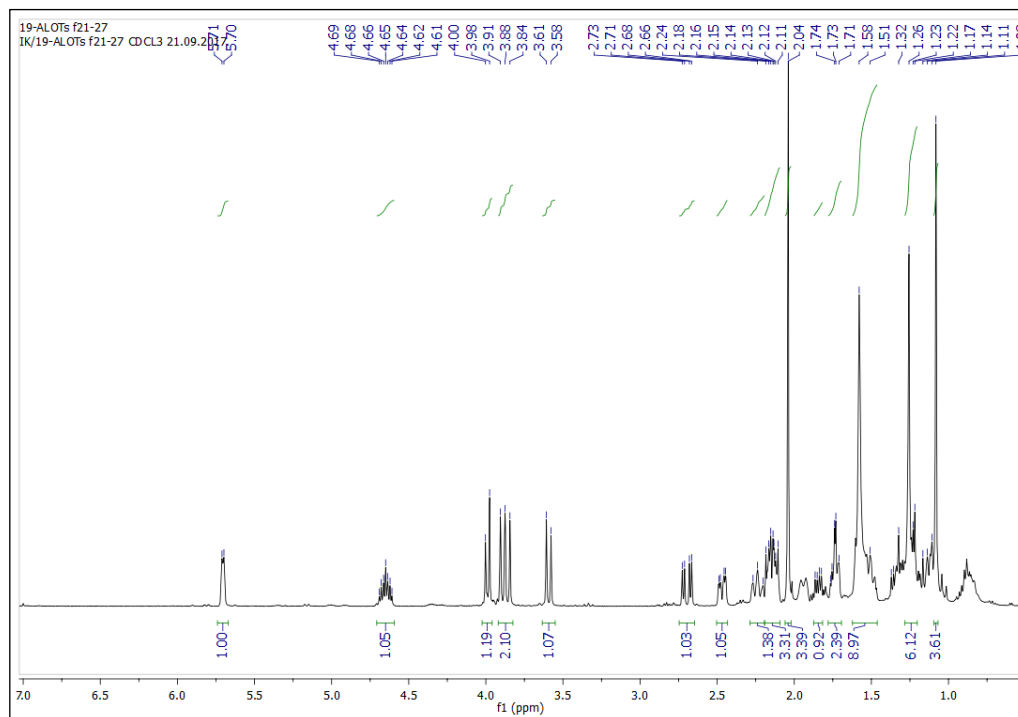
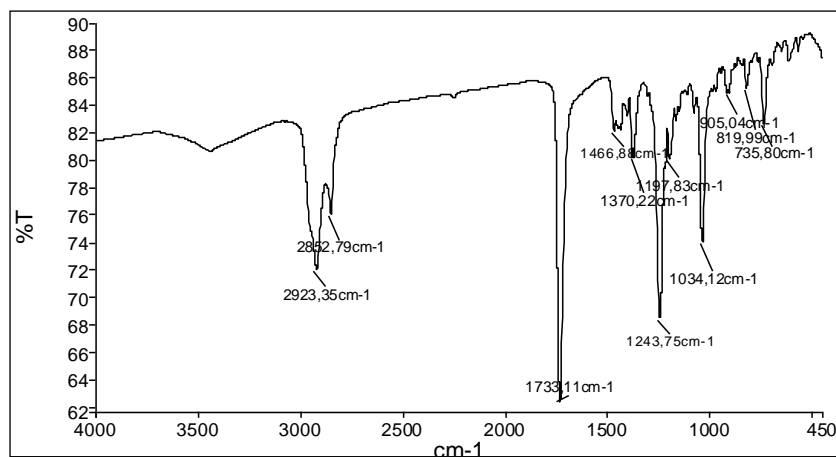
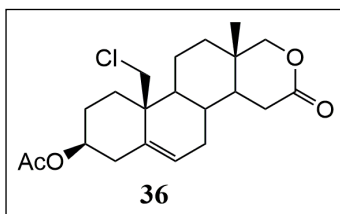
**19-ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (35)**

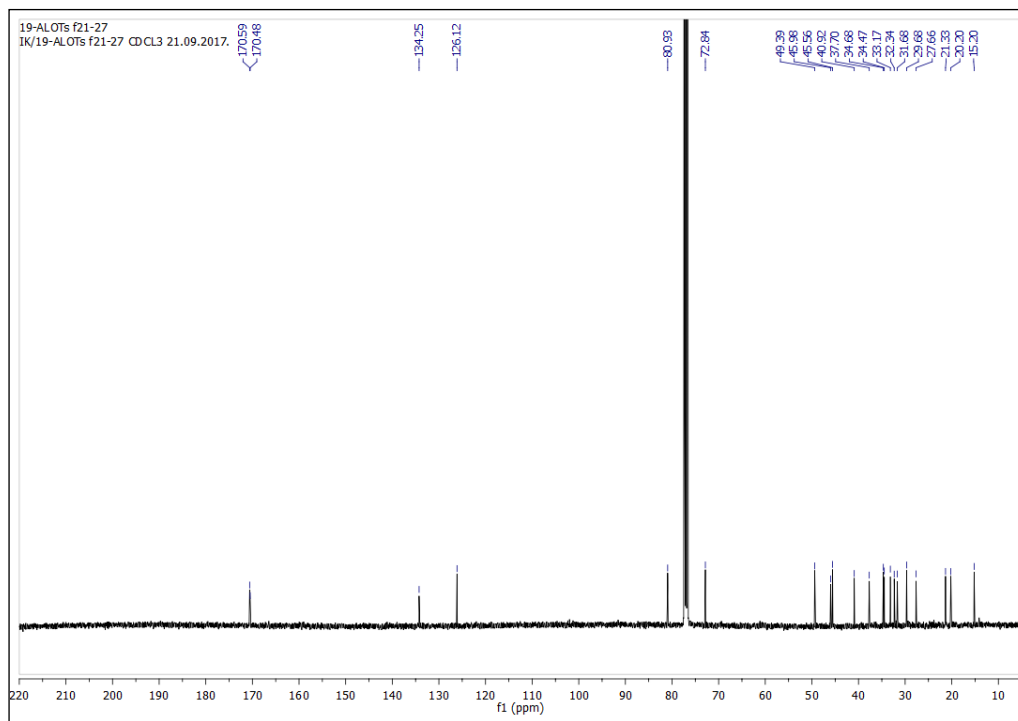




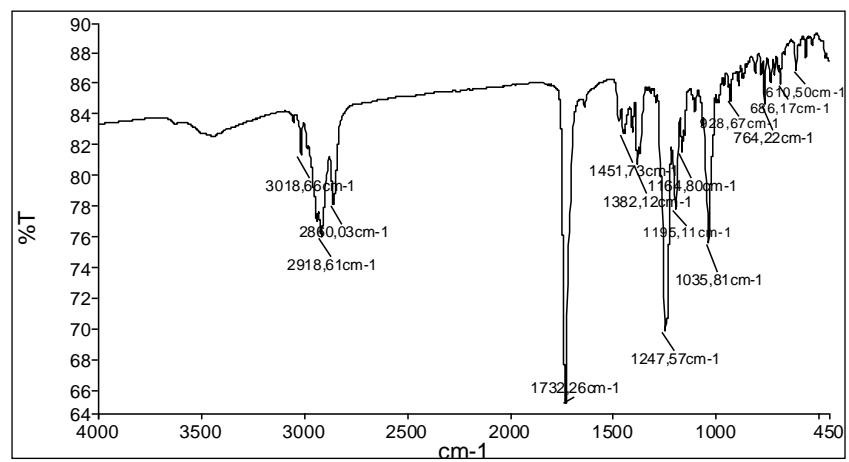
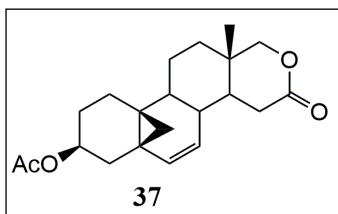


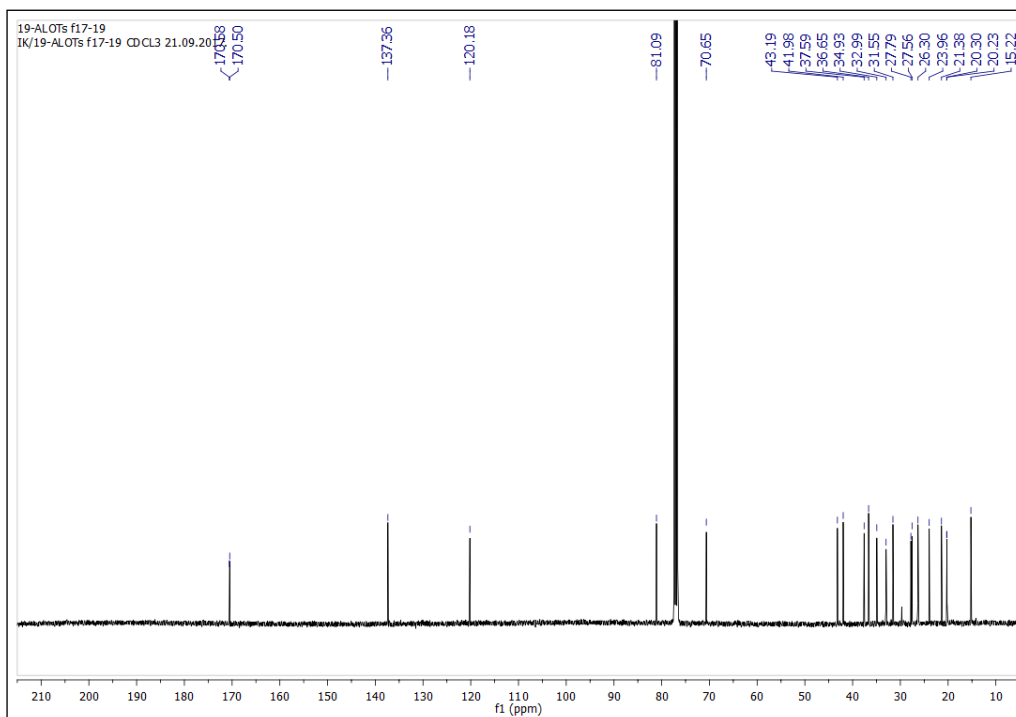
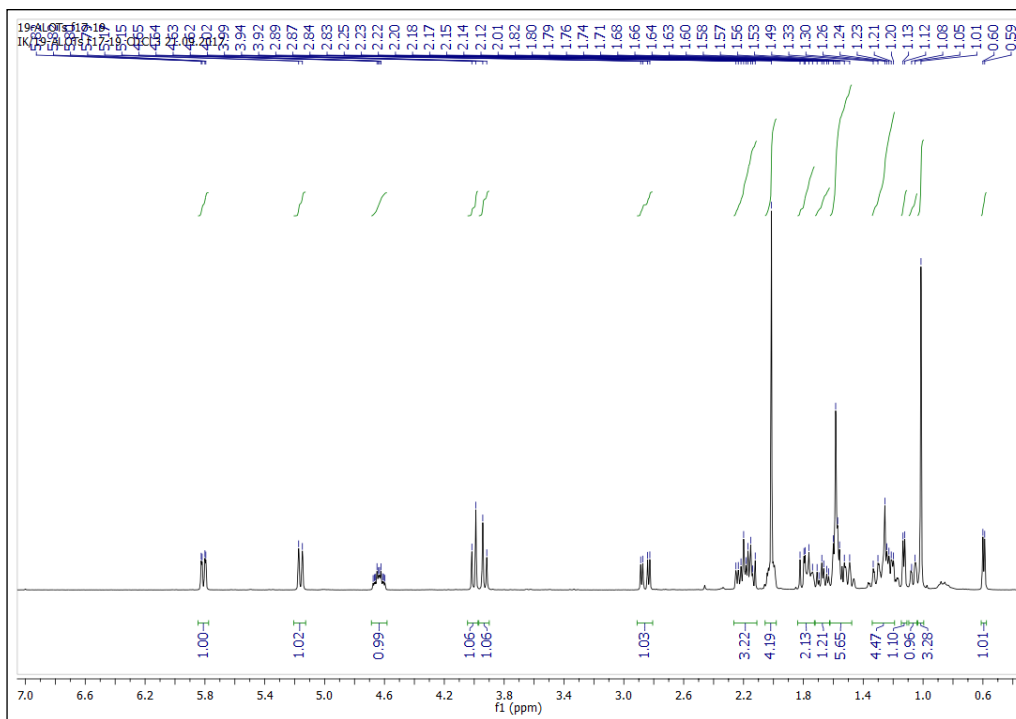
**3 $\beta$ -ACETOKSI-19-HLOR-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (36)**



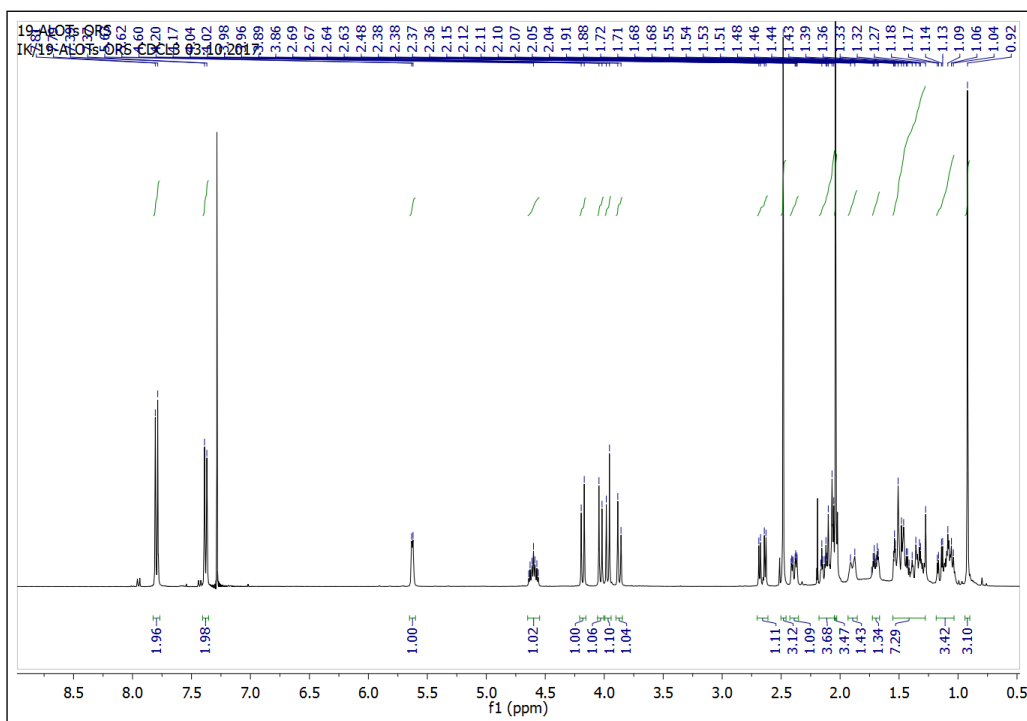
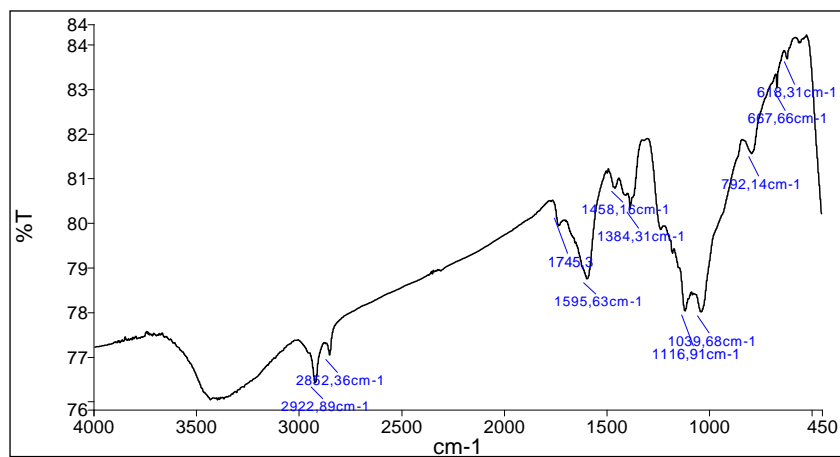
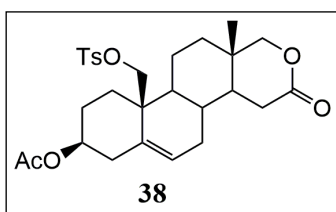


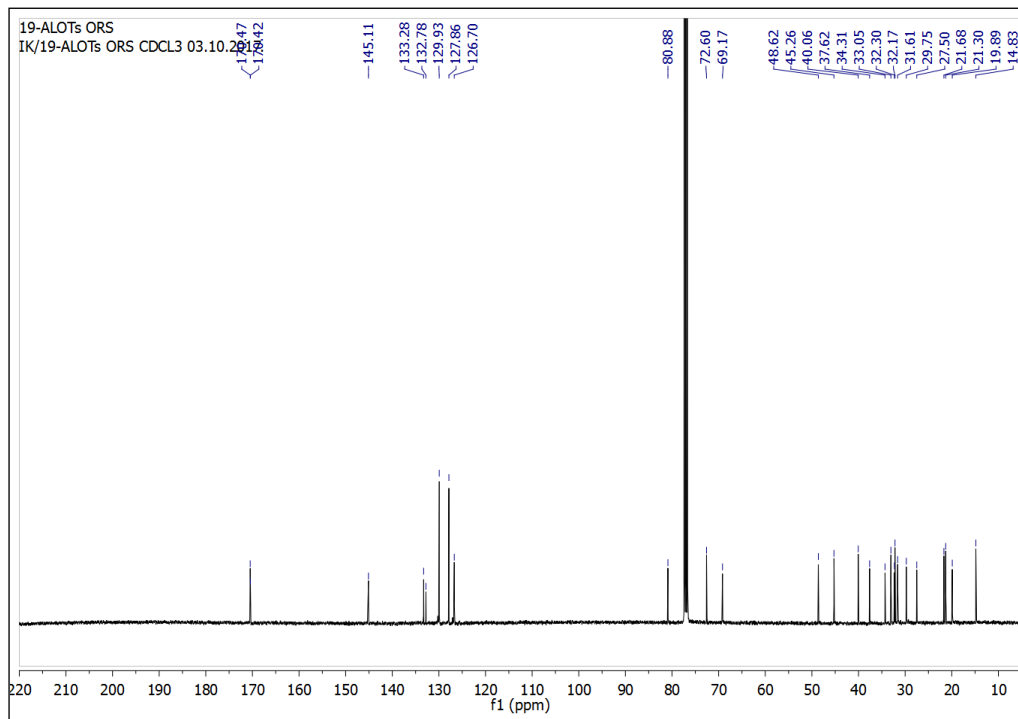
**3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\beta$ ,19-CIKLO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-6-EN-16-ON (37)**



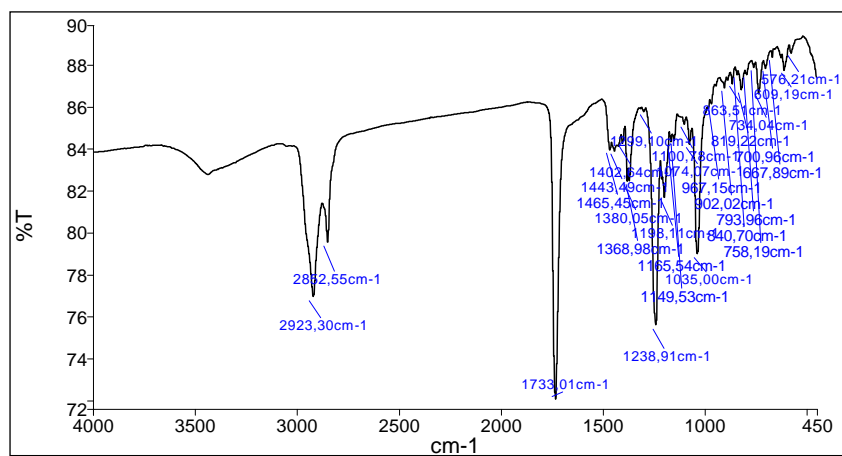
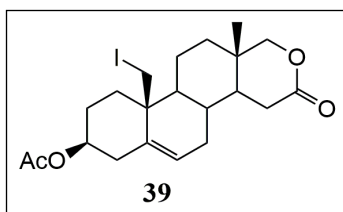


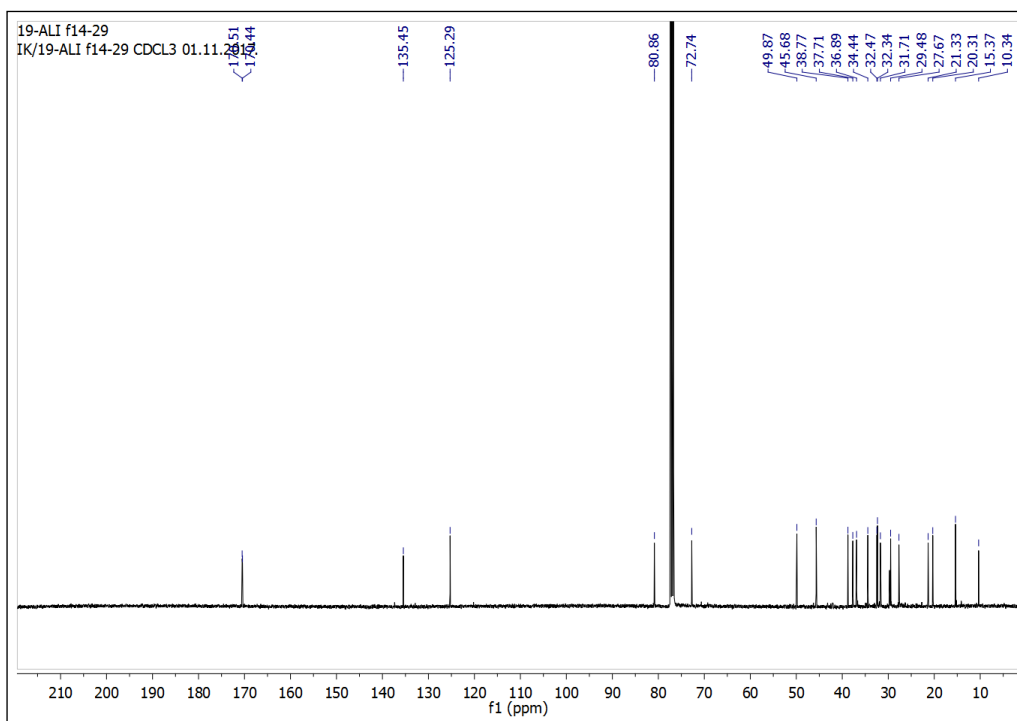
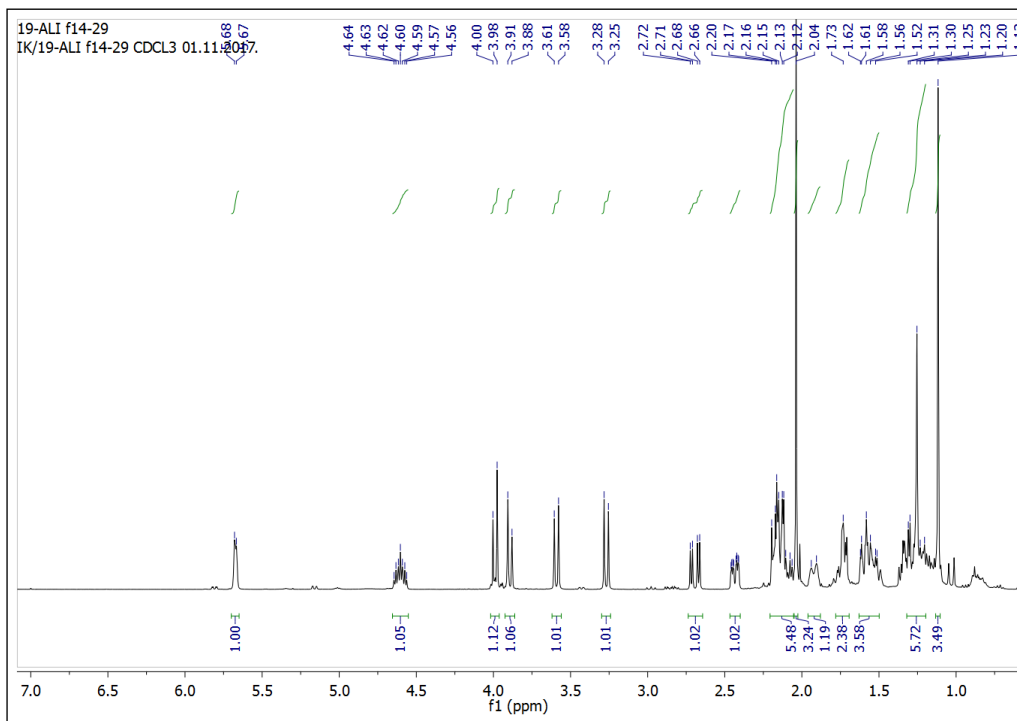
**3 $\beta$ -ACETOKSI-19-(p-TOLUENSULFONILOKSI)-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (38)**



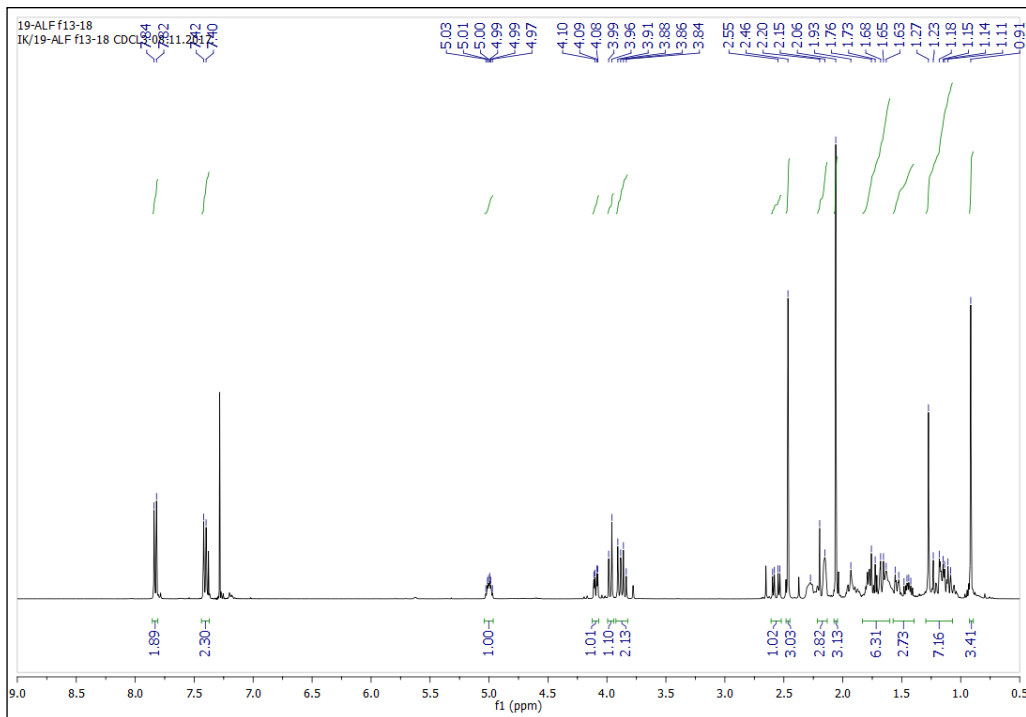
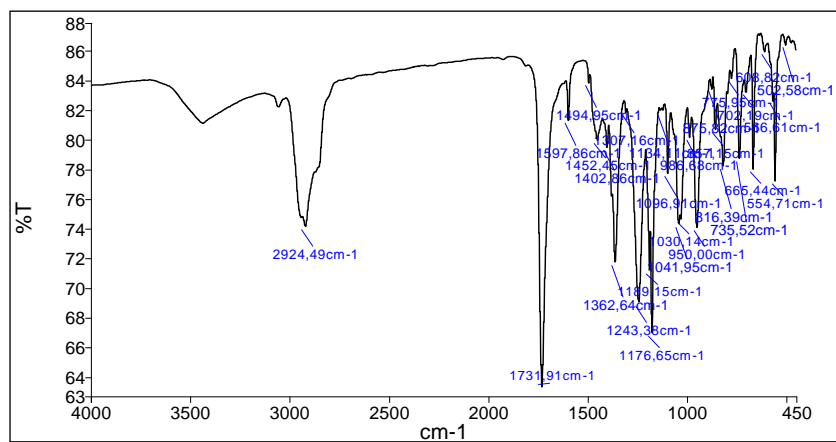
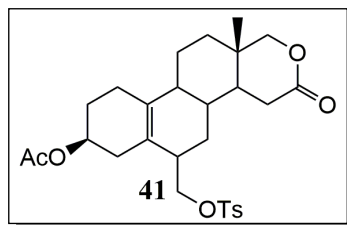


**3 $\beta$ -ACETOKSI-19-JOD-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (39)**

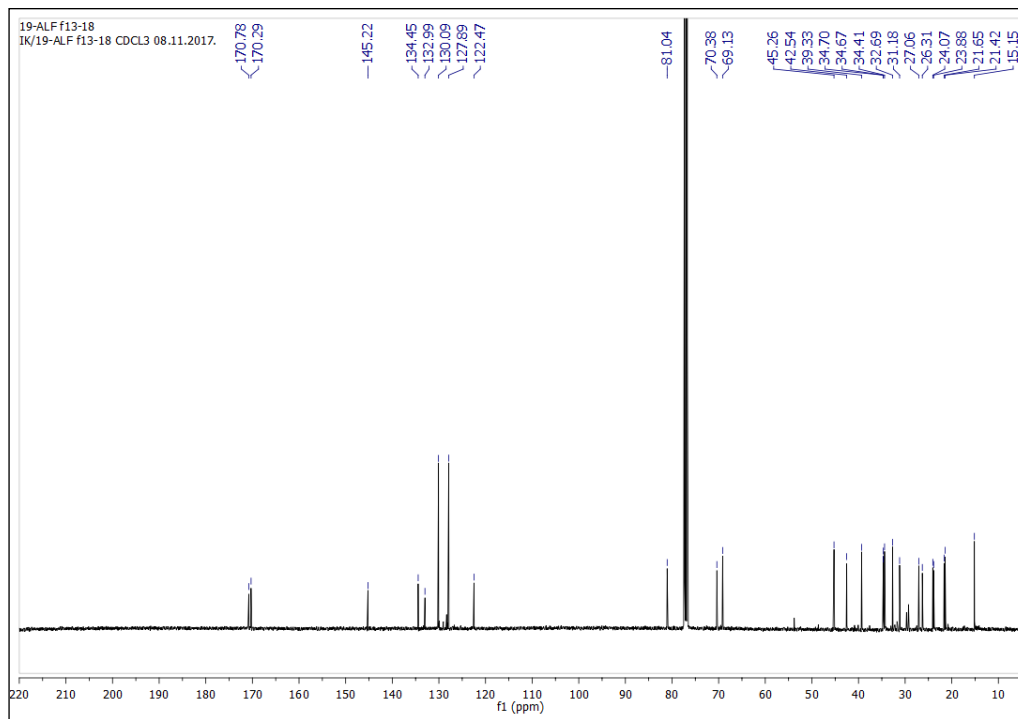




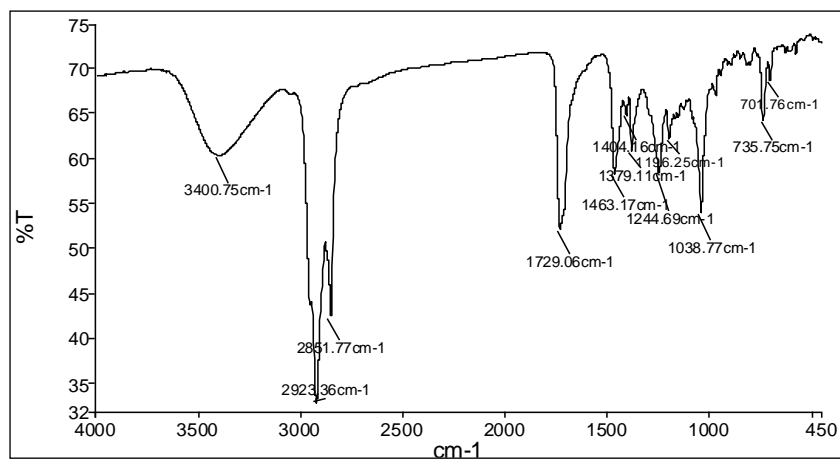
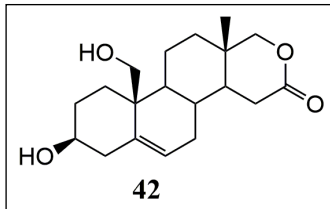
**3 $\beta$ -ACETOKSI-6 $\beta$ -(p-TOLUENSULFONILOKSI)METIL-19-NOR-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5(10)-EN-16-ON (41)**

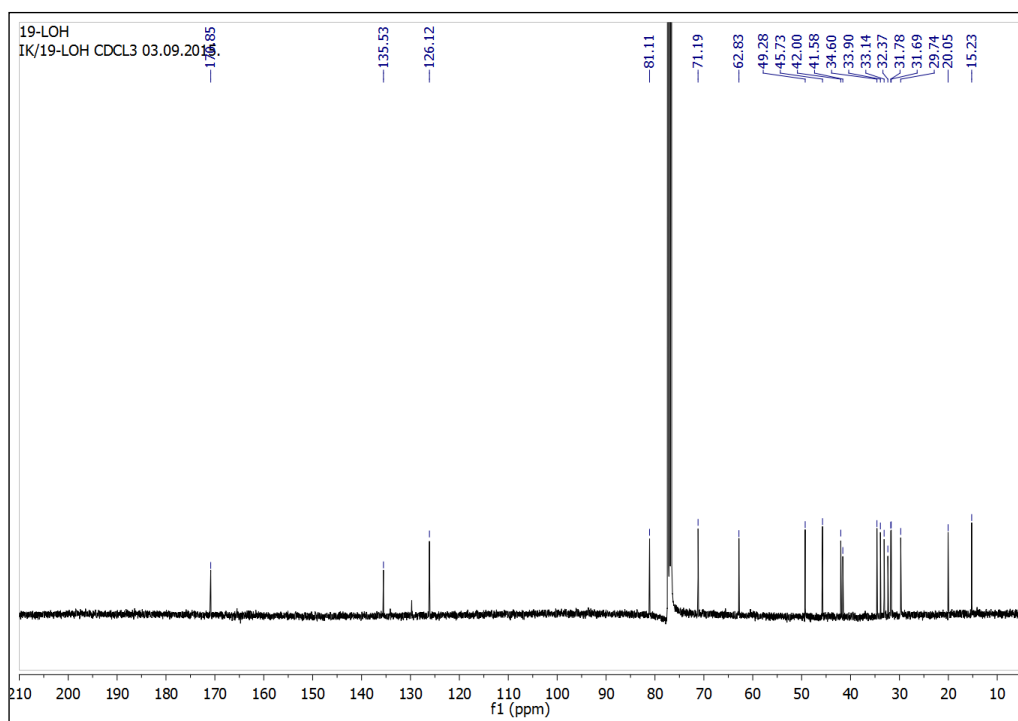
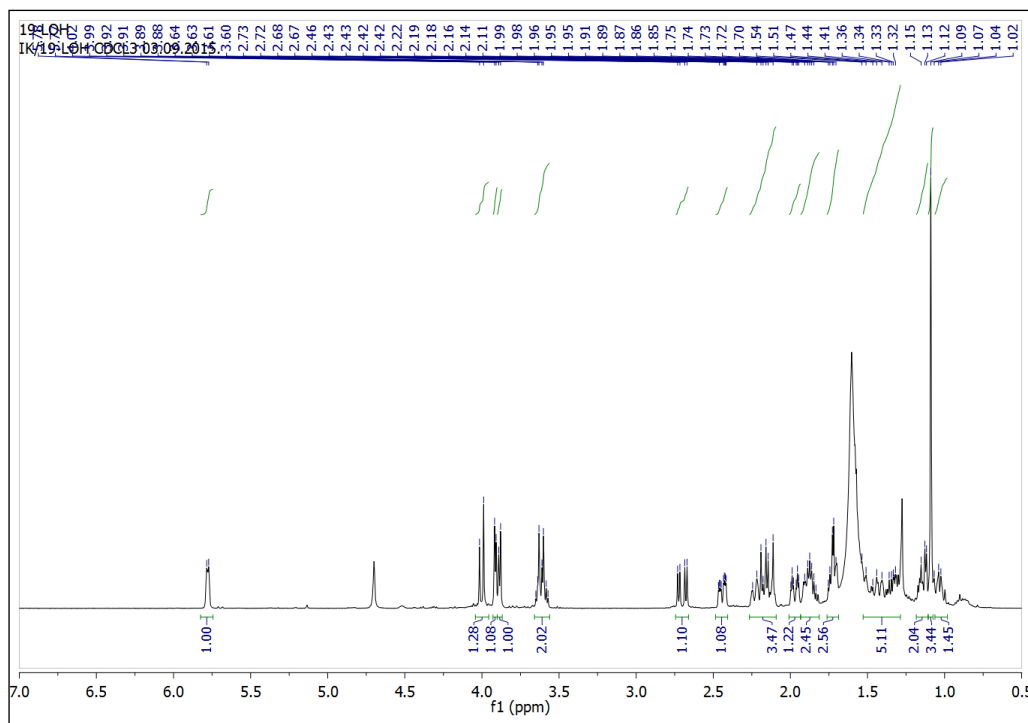




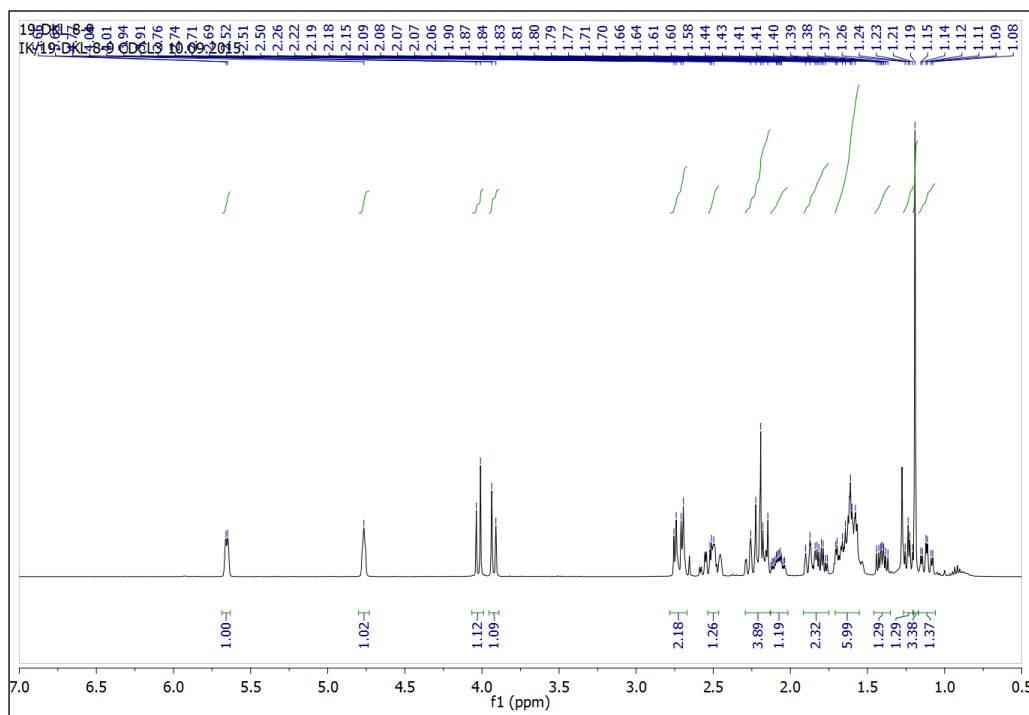
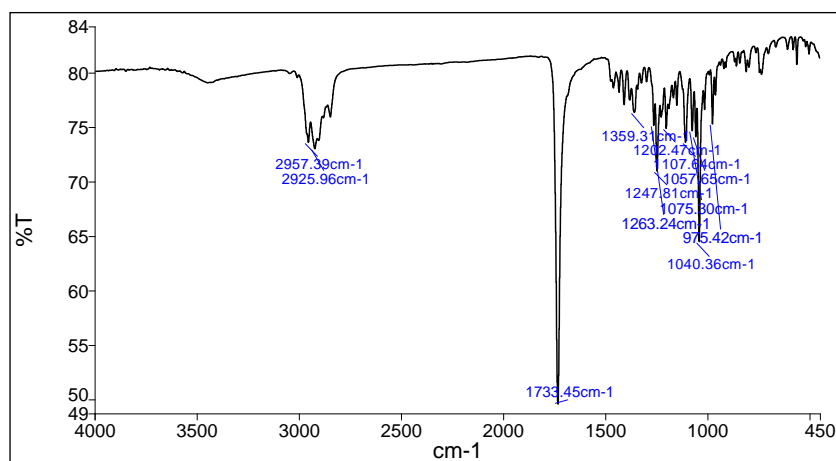
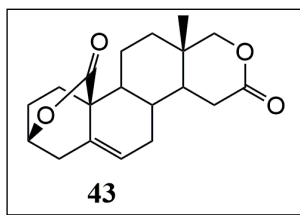


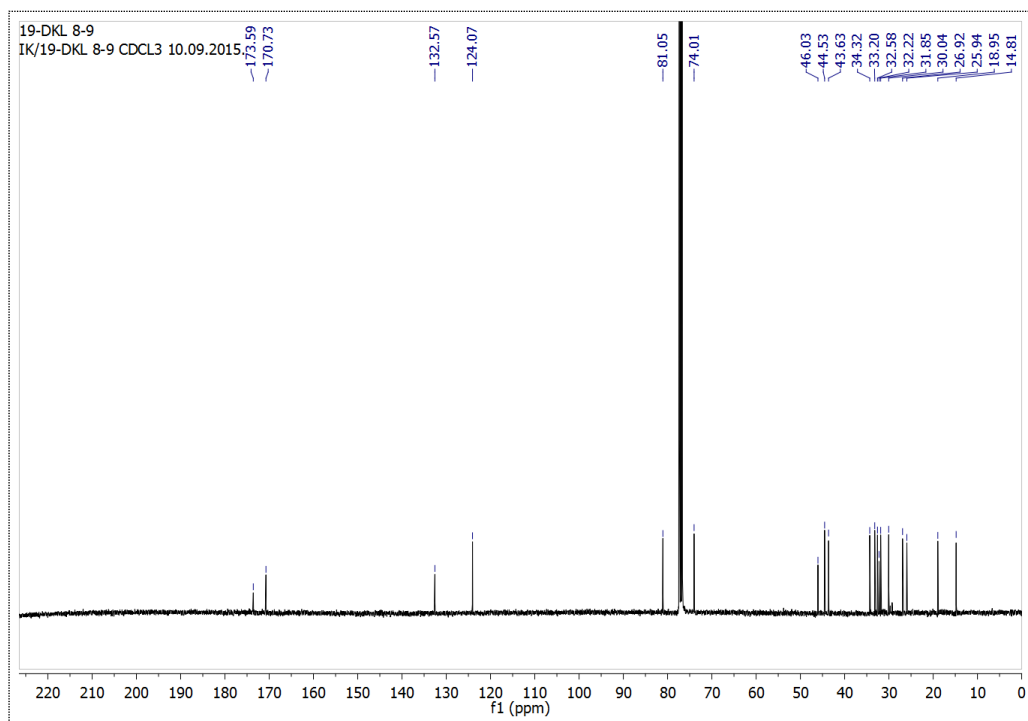
**3 $\beta$ ,19-DIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (42)**



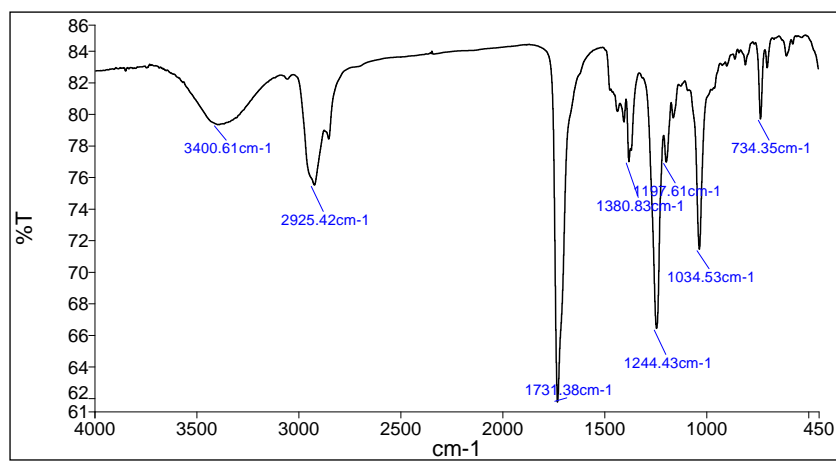
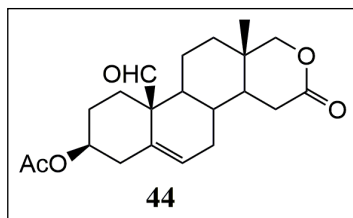


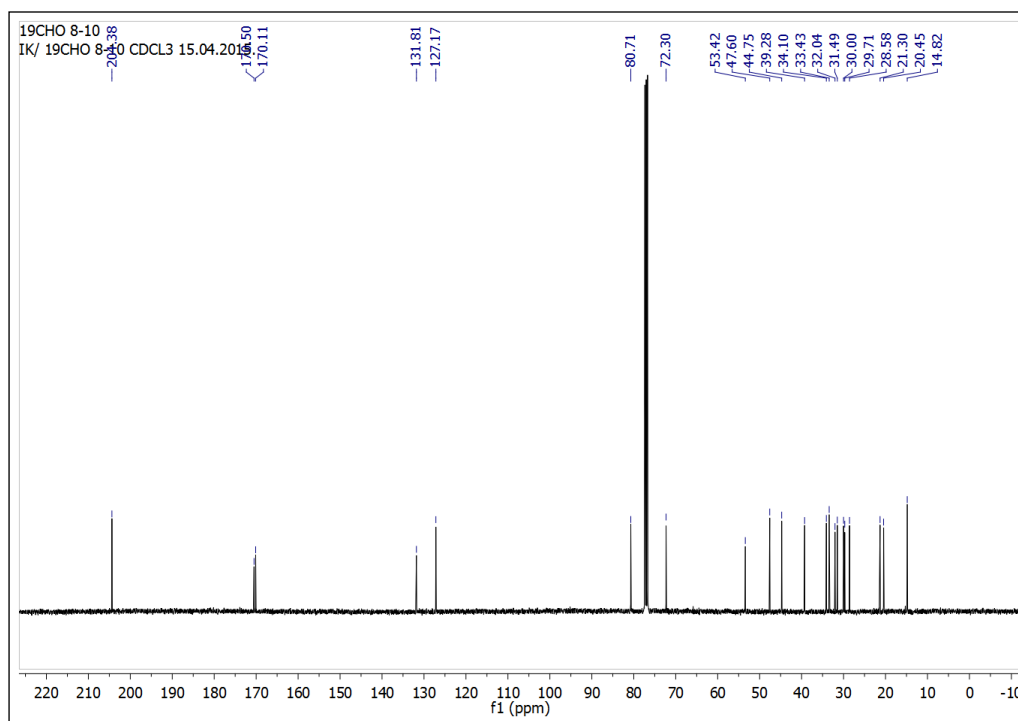
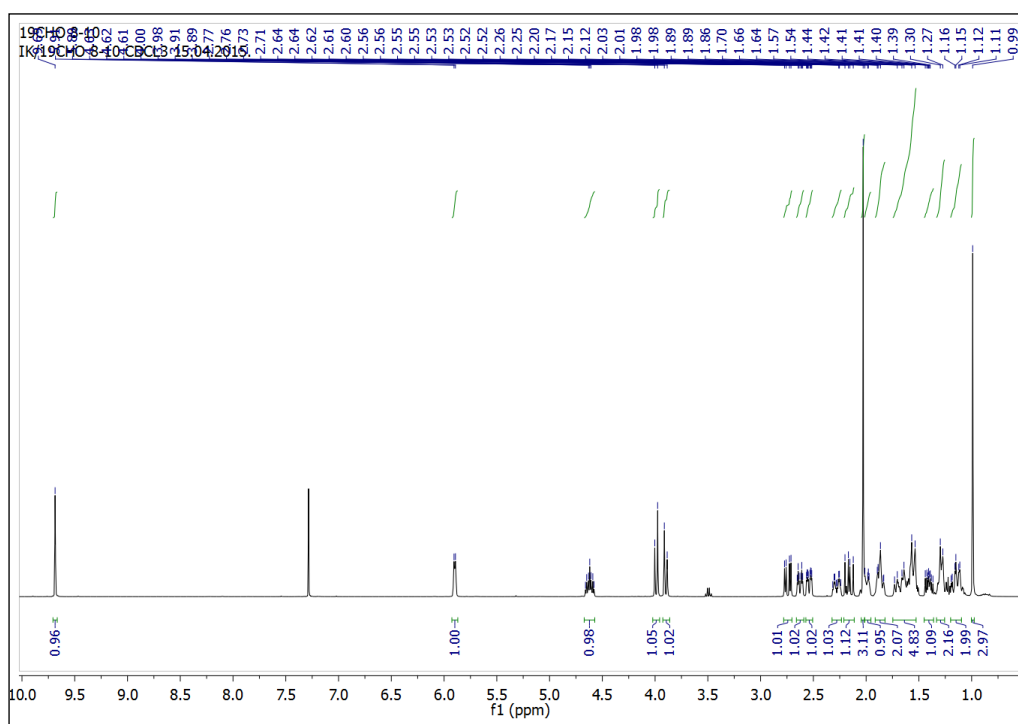
**3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-ONSKA KISELINA  
3,19-LAKTON (43)**



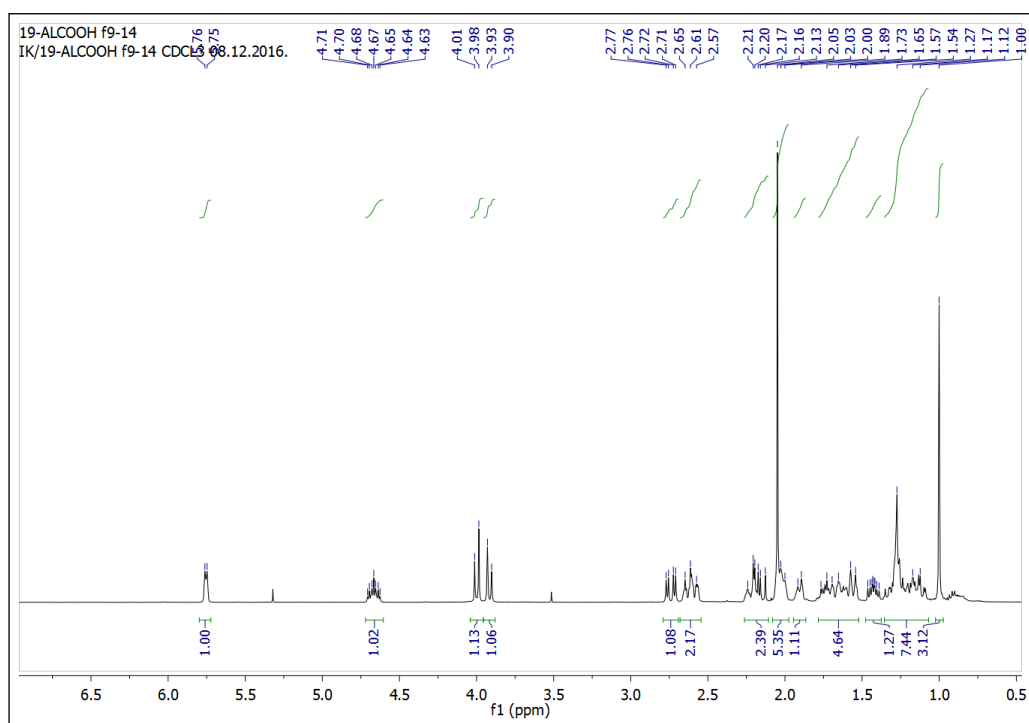
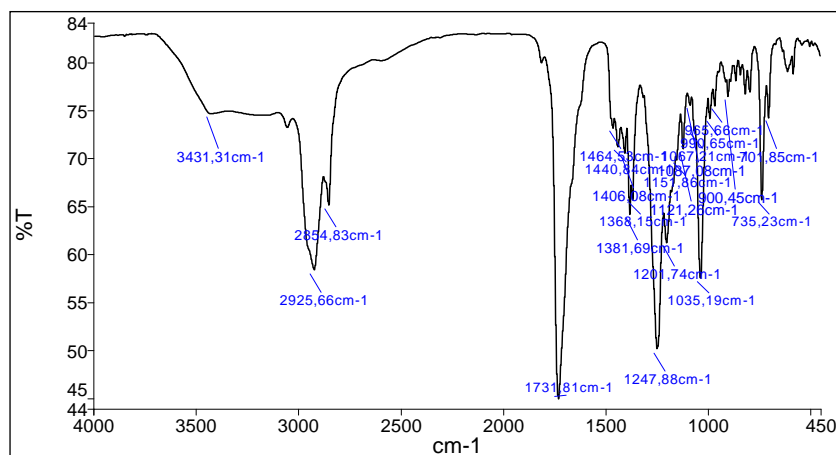
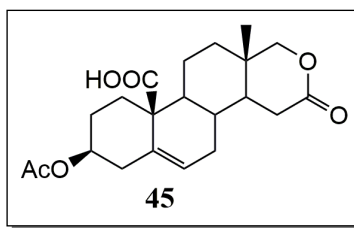


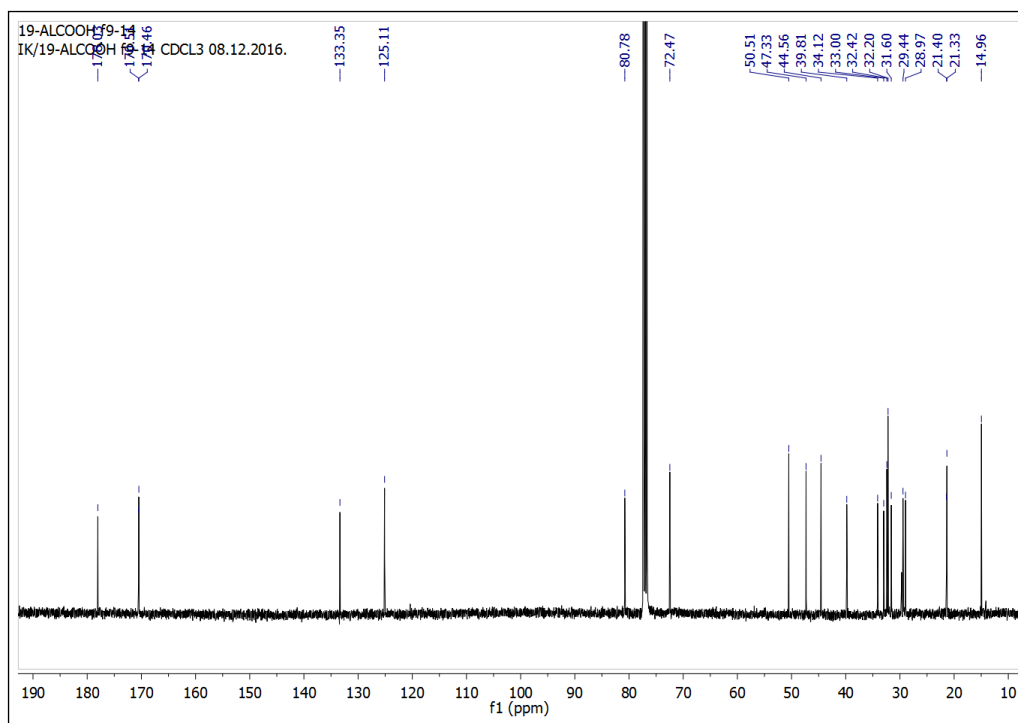
**3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-16,19-DIOKSO-17a-HOMOANDROST-5-EN (44)**



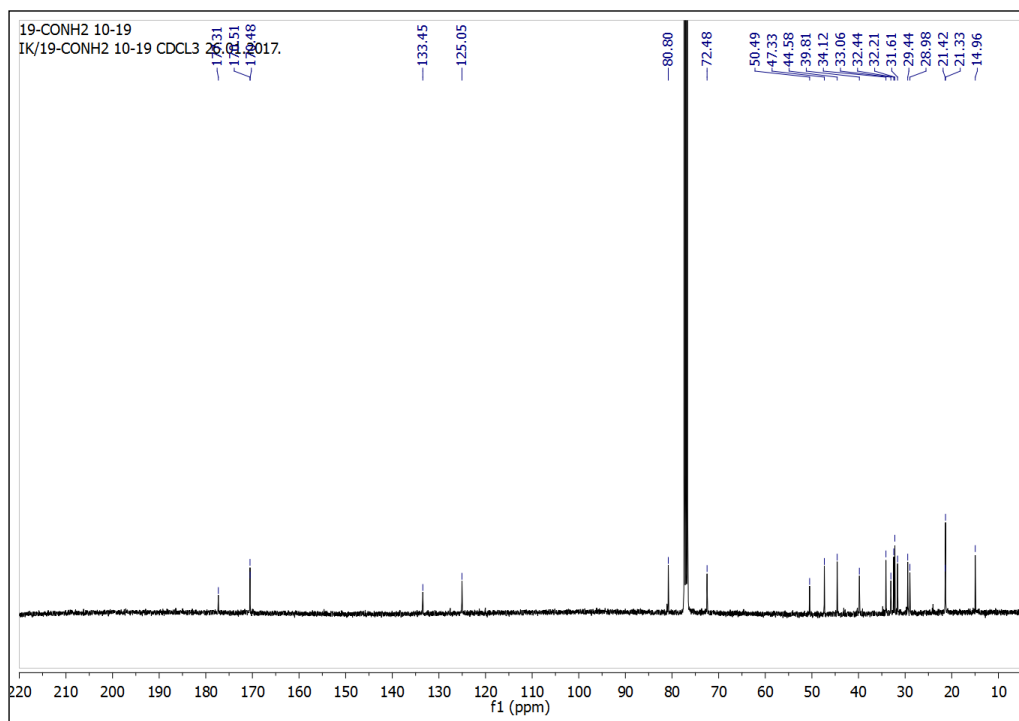
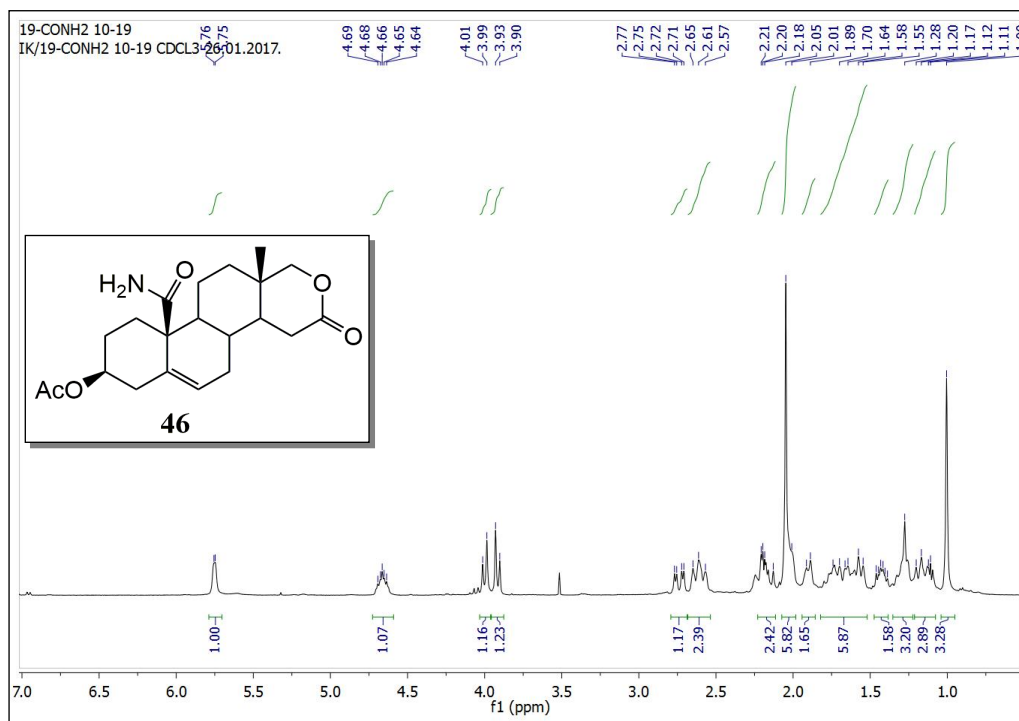


**3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-ONSKA KISELINA**  
**(45)**



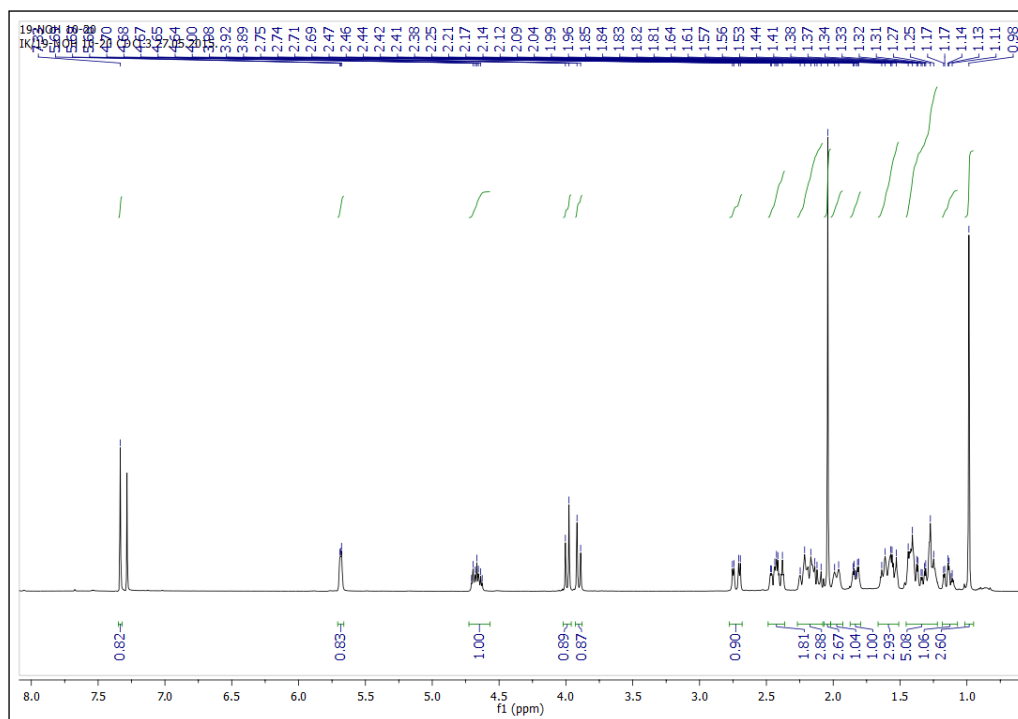
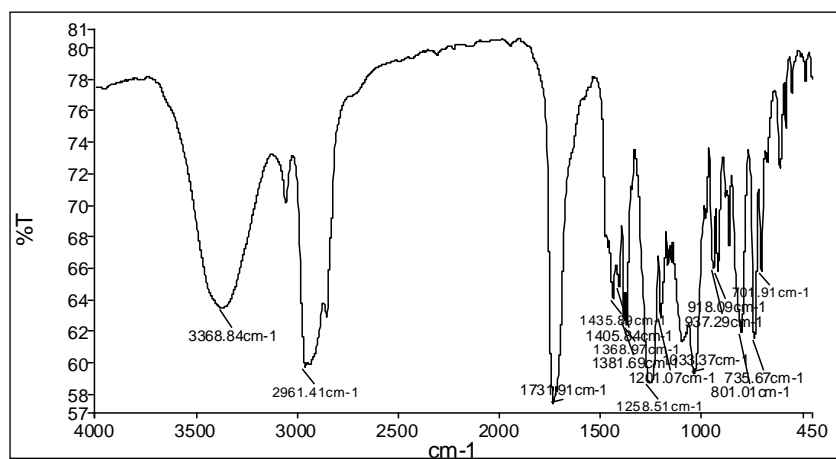
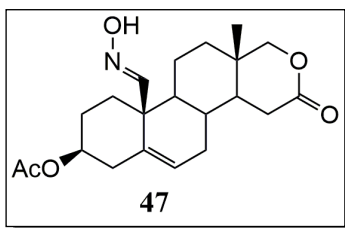


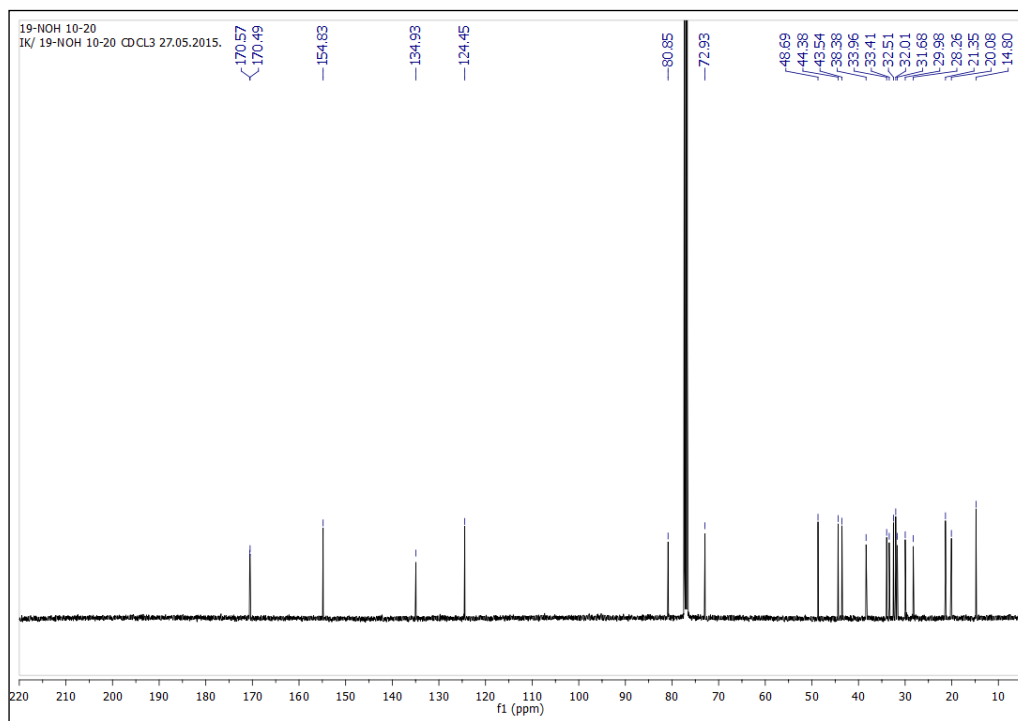
**3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-AMID (46)**



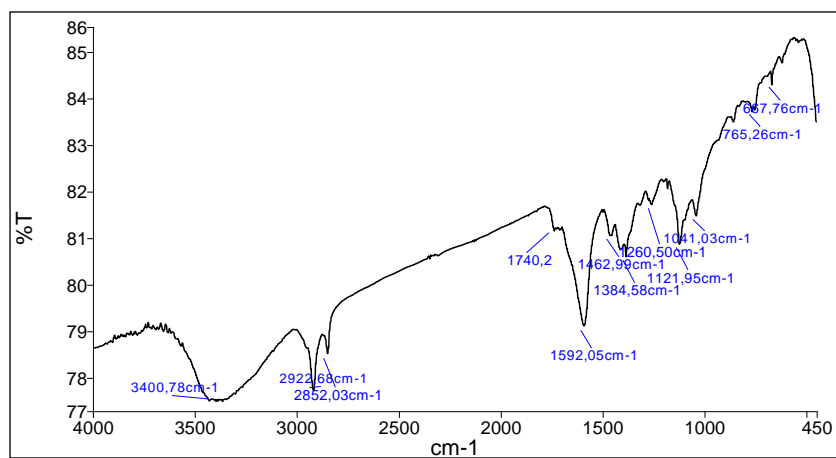
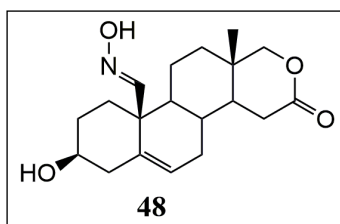


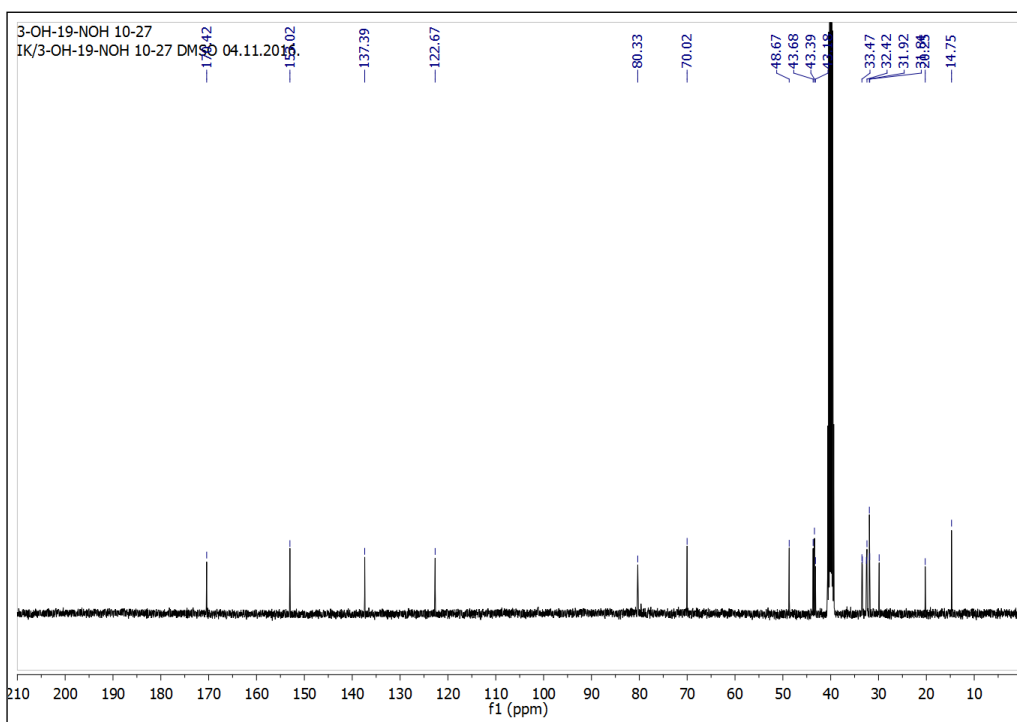
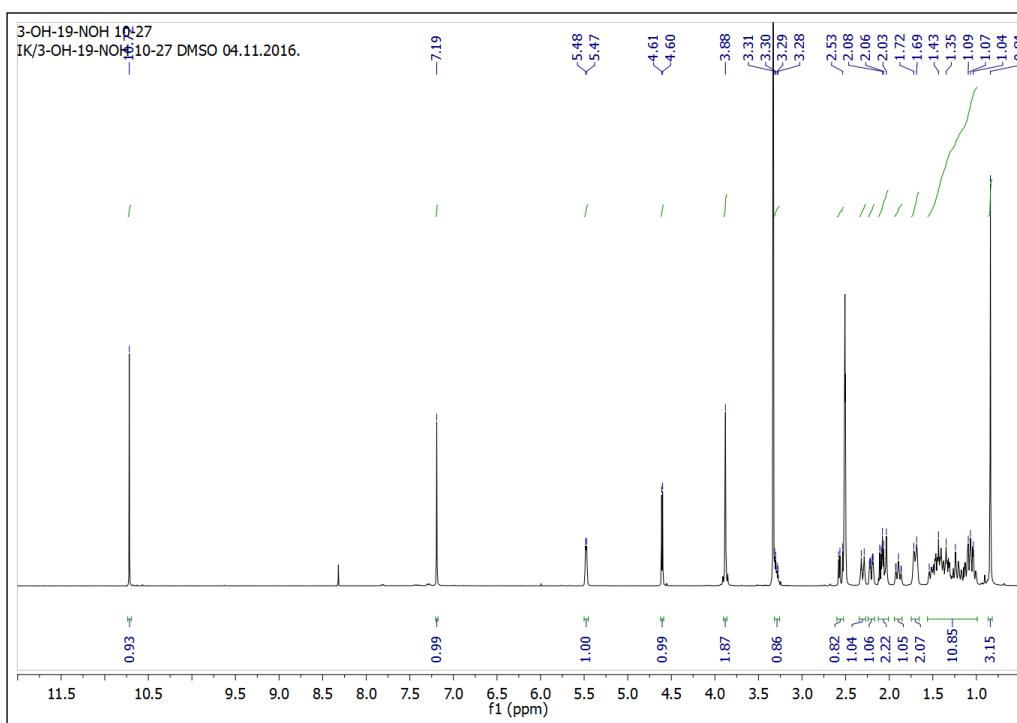
**3 $\beta$ -ACETOKSI-(19E)-HIDROKSIIMINO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON**  
(47)



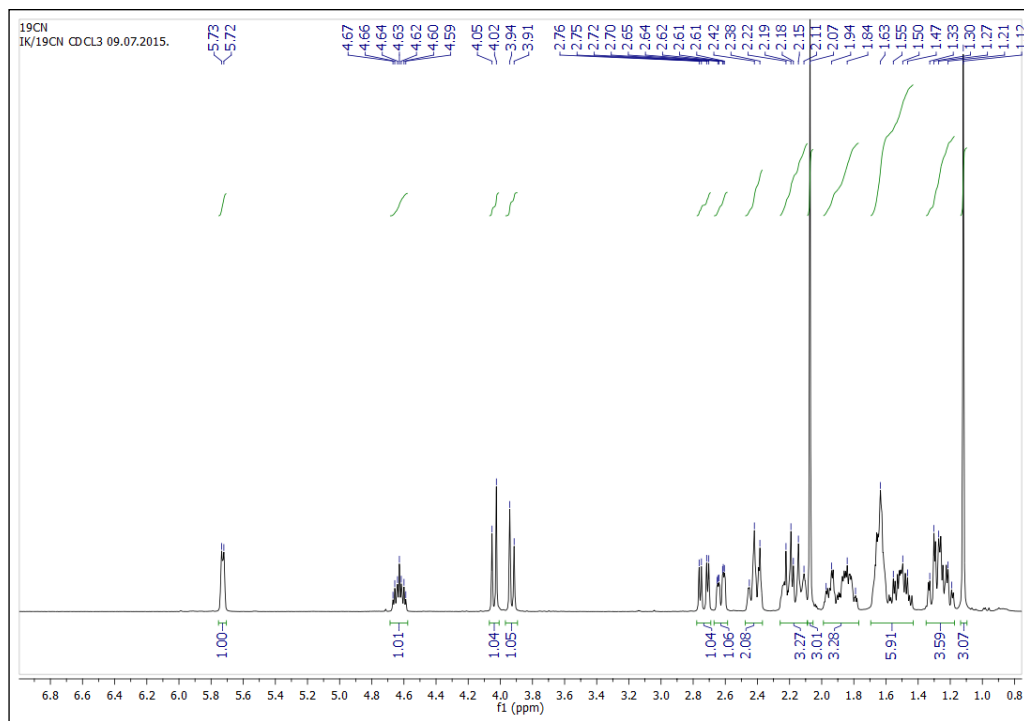
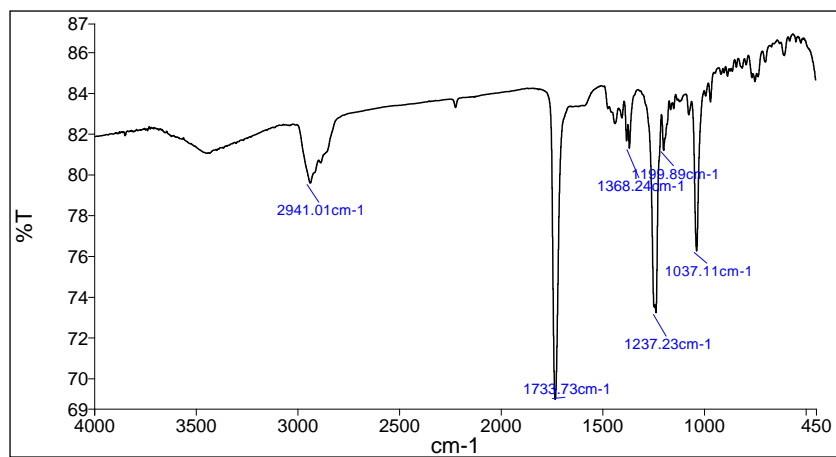
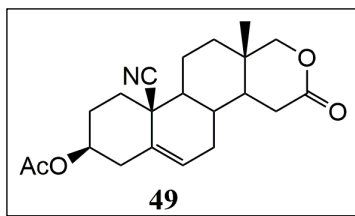


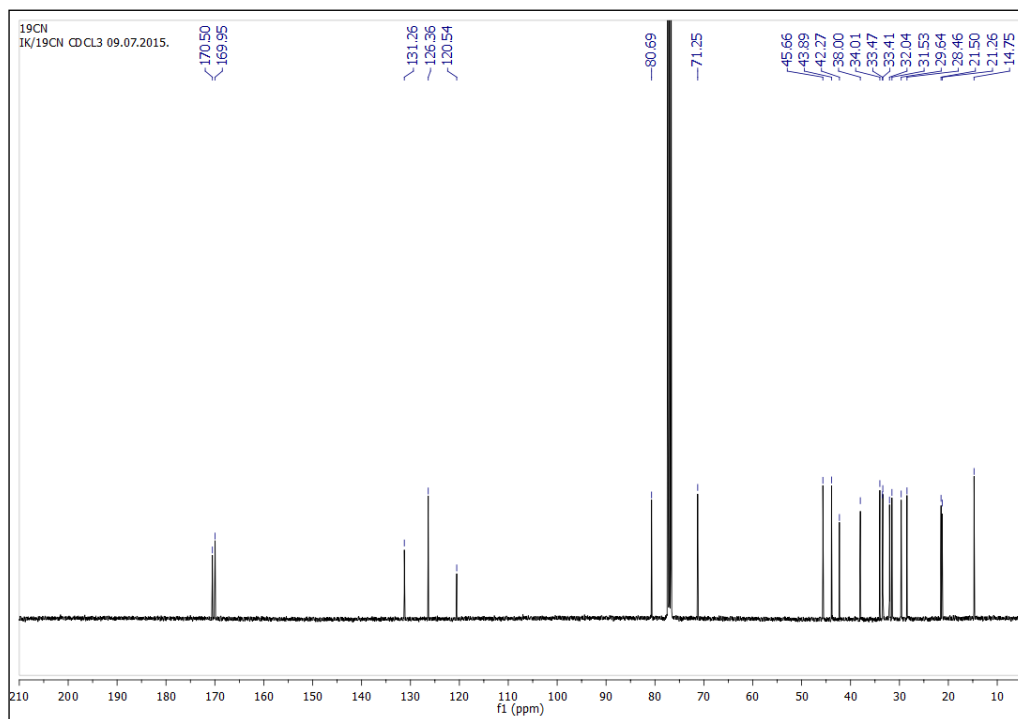
**3 $\beta$ -HIDROKSI-(19E)-HIDROKSIIMINO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON**  
**(48)**



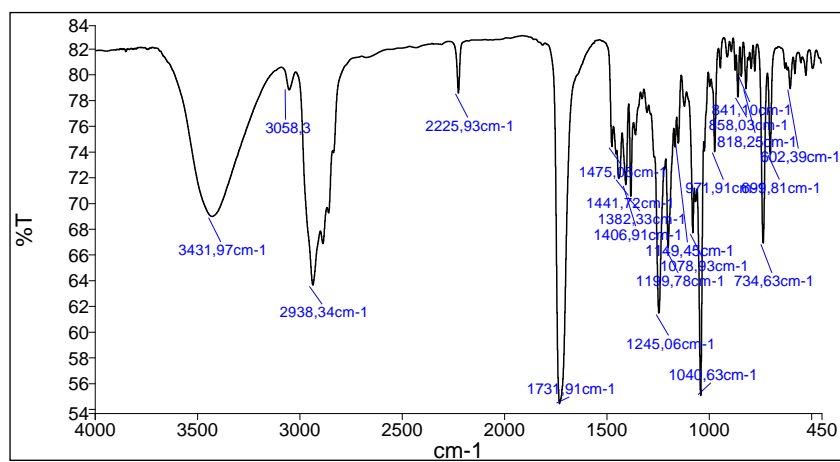
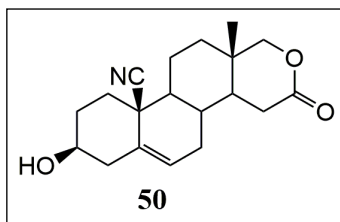


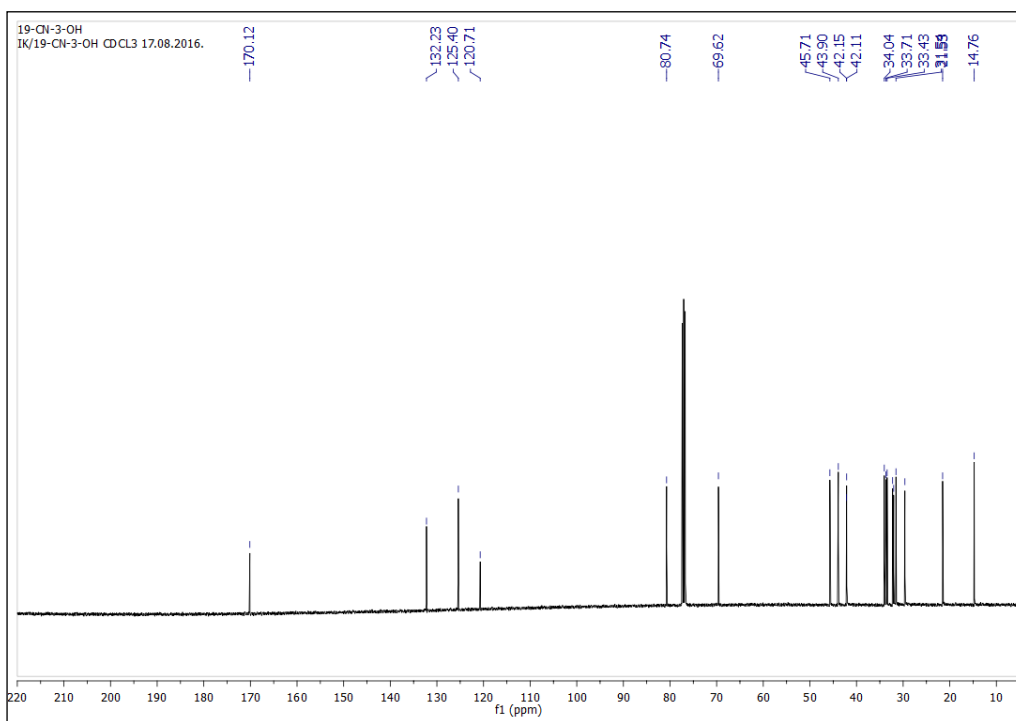
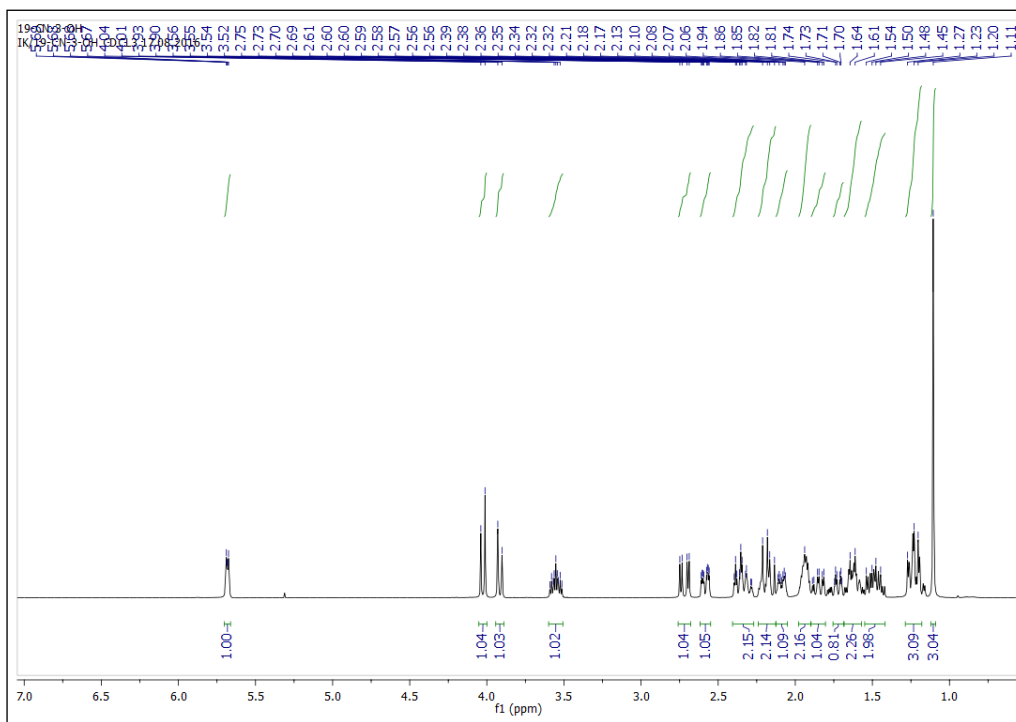
**3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-NITRIL (49)**



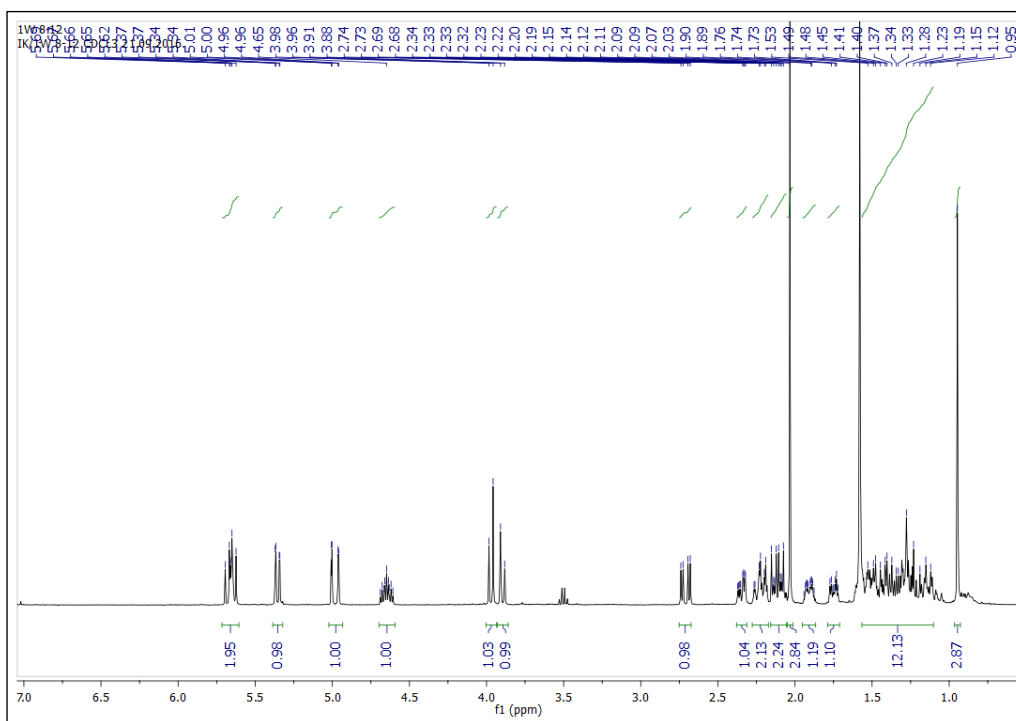
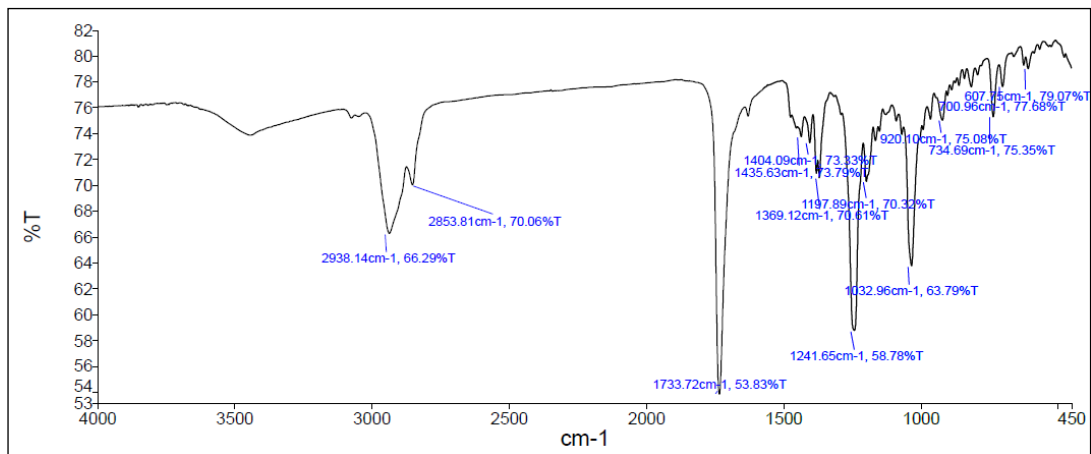
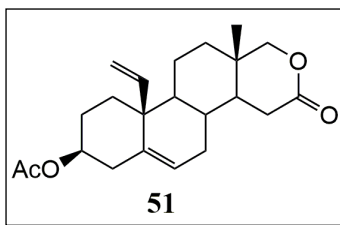


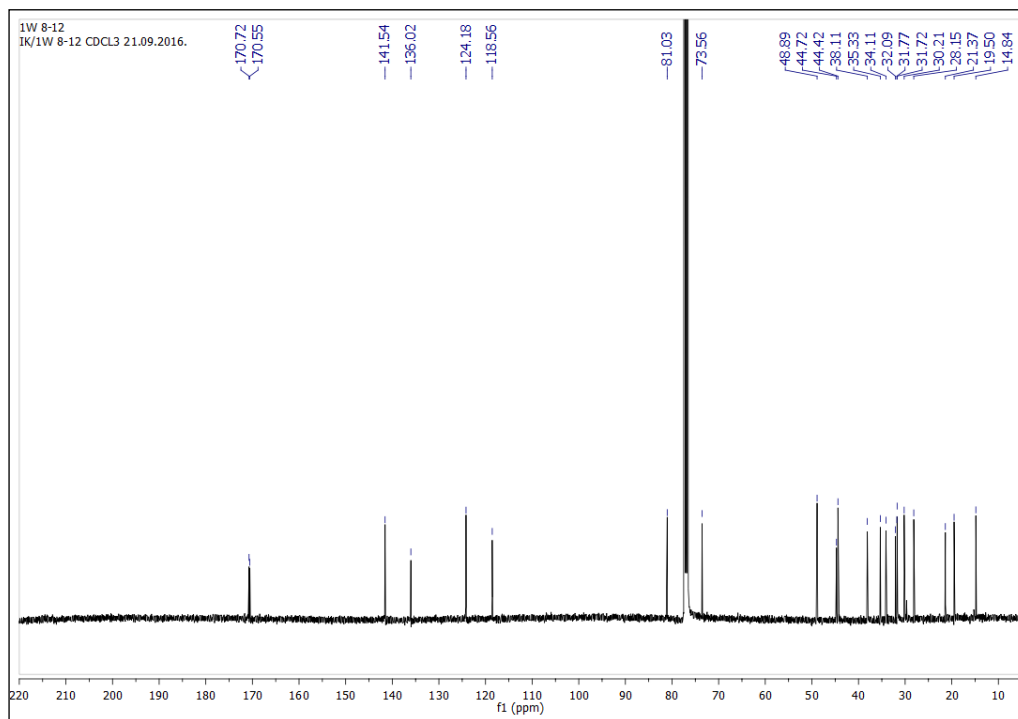
**3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-NITRIL (50)**



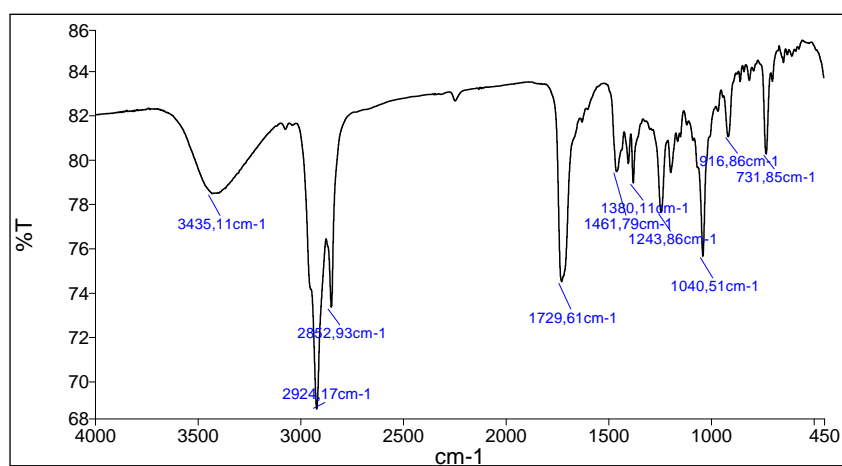
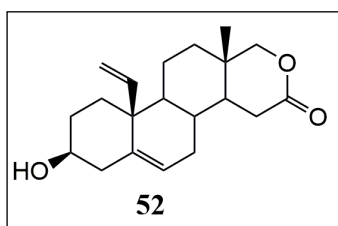


**3 $\beta$ -ACETOKSI-19-METILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (51)**

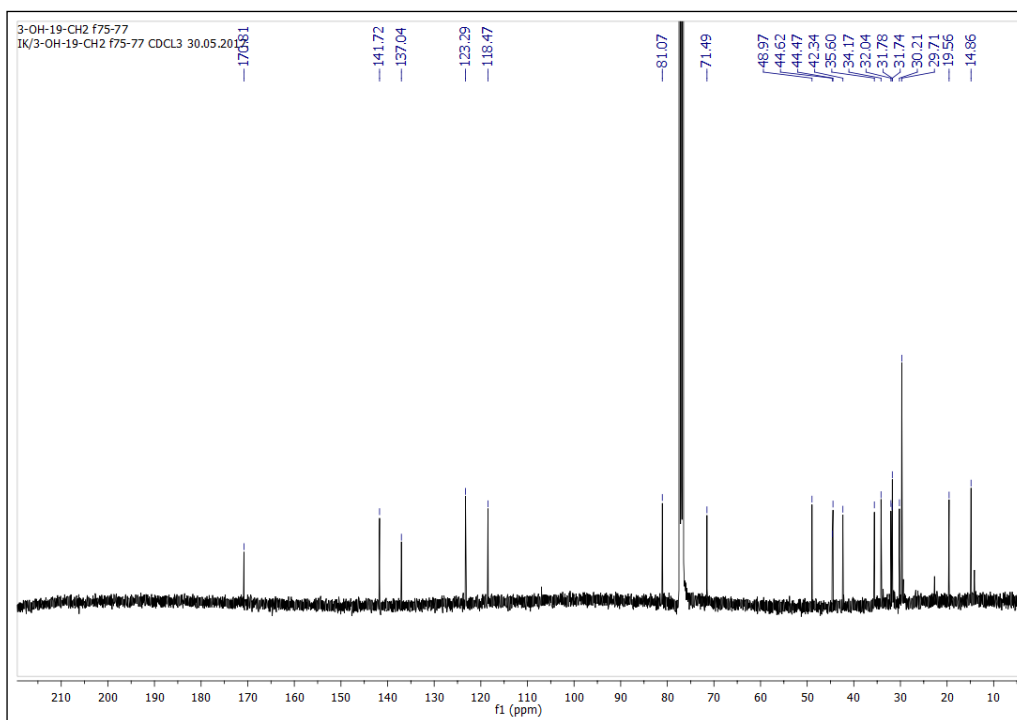
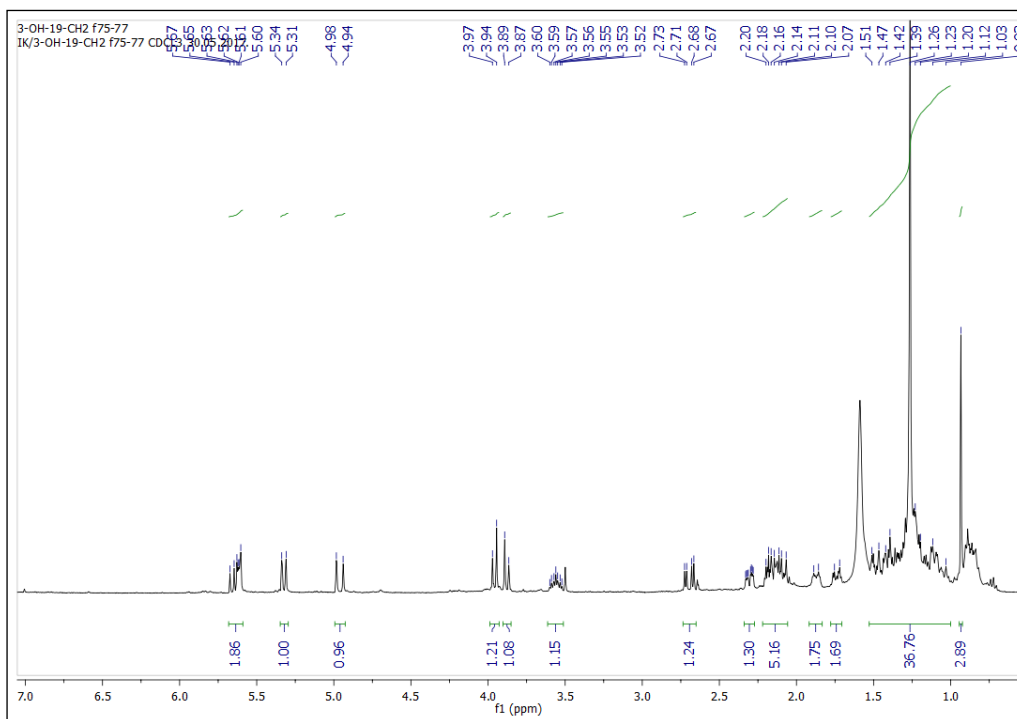




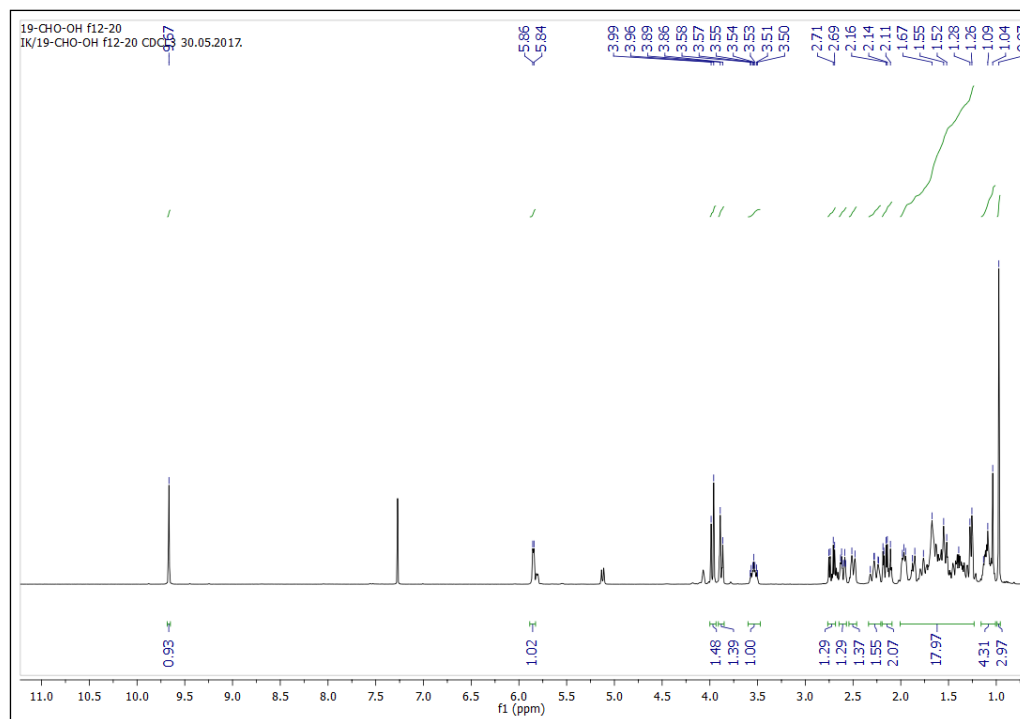
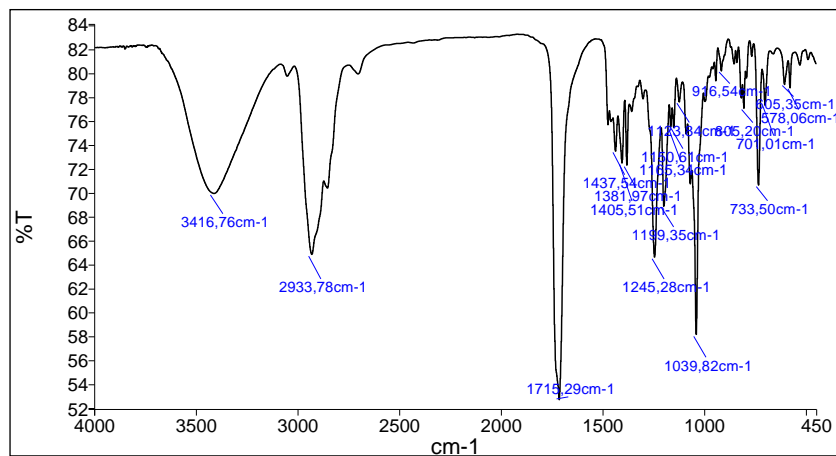
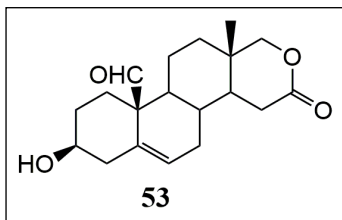
**3 $\beta$ -HIDROKSI-19-METILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (52)**

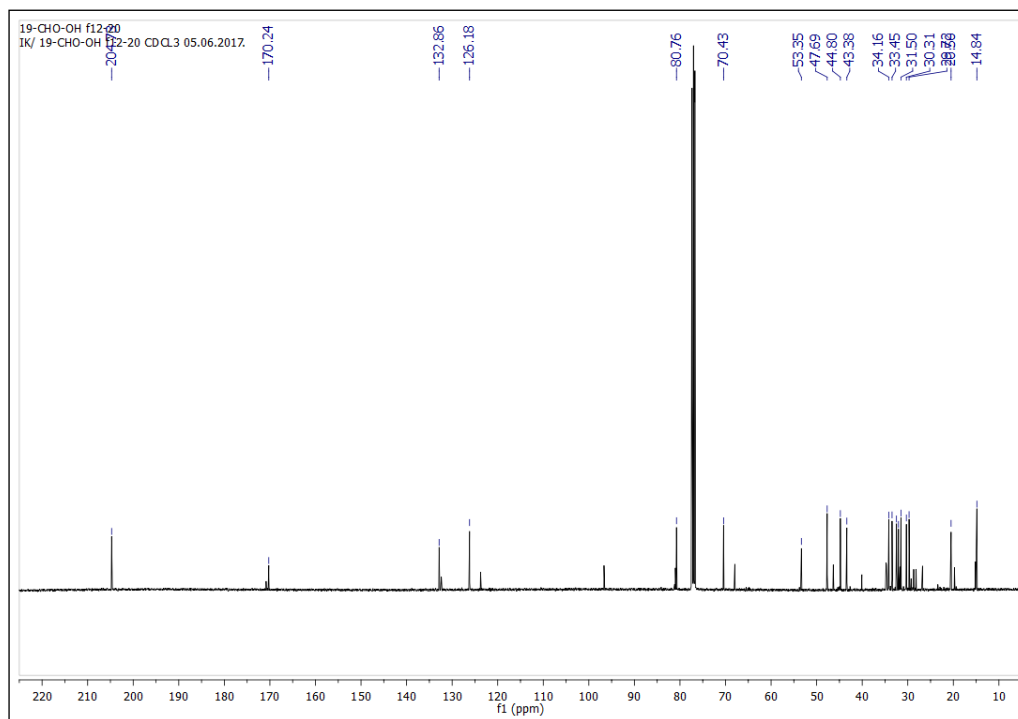




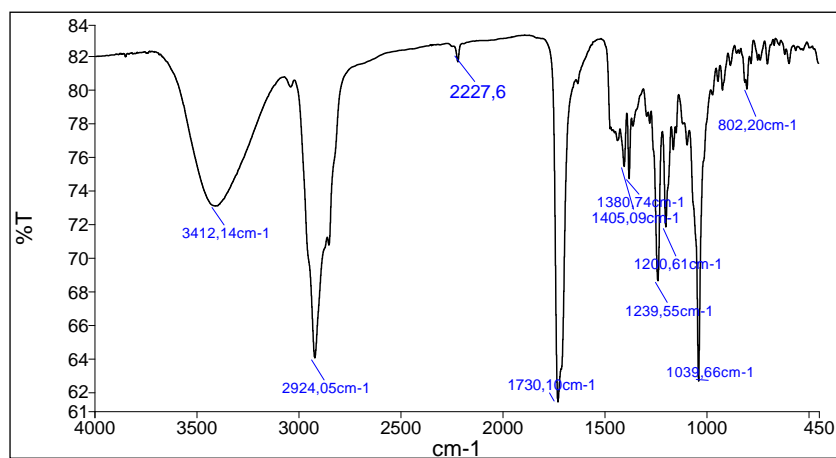
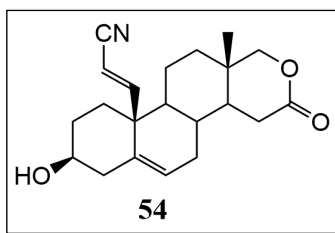


**3 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-16,19-DIOKSO-17a-HOMOANDROST-5-EN (53)**





**3 $\beta$ -HIDROKSI-19-CIJANOMETILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON**  
**(54)**



## SwissTargetPrediction IZVEŠTAJI

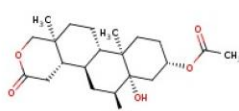
### 3 $\beta$ -ACETOKSI-6 $\alpha$ -BROMO-5 $\beta$ -HIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (9)

#### SwissTargetPrediction report:

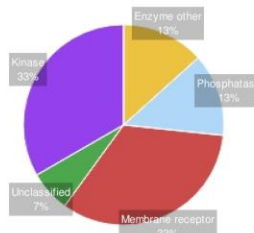
**Reference:**

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V.  
Shaping the interaction landscape of  
bioactive molecules, *Bioinformatics*  
(2013) 29:3073-3079.

**Query Molecule**



**Frequency of Target Class**



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (by homology)	P04035	HMGCR	CHEMBL402	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	61 / 69	Enzyme
M-phase inducer phosphatase 1	P30304	CDC25A	CHEMBL3775	<div style="width: 75%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 3	Ser_Thr_Tyr Phosphatase
M-phase inducer phosphatase 2 (by homology)	P30305	CDC25B	CHEMBL4804	<div style="width: 75%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 3	Ser_Thr_Tyr Phosphatase
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	65 / 3	Enzyme
Mu-type opioid receptor	P35372	OPRM1	CHEMBL233	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	485 / 15	Membrane receptor
Delta-type opioid receptor	P41143	OPRD1	CHEMBL236	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	485 / 15	Membrane receptor
Kappa-type opioid receptor	P41145	OPRK1	CHEMBL237	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	405 / 15	Membrane receptor
Nociceptin receptor (by homology)	P41146	OPRL1	CHEMBL2014	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	375 / 15	Membrane receptor
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	174 / 9	Unclassified
Protein kinase C gamma type (by homology)	P05129	PRKCG	CHEMBL2938	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	44 / 32	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C beta type (by homology)	P05771	PRKCB	CHEMBL3045	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	44 / 32	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C alpha type	P17252	PRKCA	CHEMBL299	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	44 / 32	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C theta type	Q04759	PRKCO	CHEMBL3920	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	43 / 31	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C delta type regulatory subunit	Q05655	PRKCD	CHEMBL2996	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	43 / 31	Ser_Thr Kinase
Platelet-activating factor receptor	P25105	PTAFR	CHEMBL250	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	17 / 22	Membrane receptor

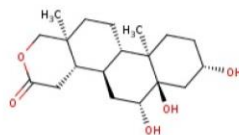
3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -TRIHIDROKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROSTAN-16-ON (20)

## SwissTargetPrediction report:

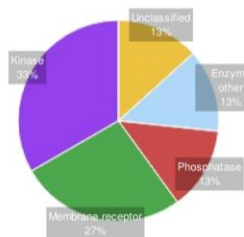
## Reference:

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V.  
 Shaping the interaction landscape of  
 bioactive molecules, *Bioinformatics*  
 (2013) 29:3073-3079.

## Query Molecule



## Frequency of Target Class



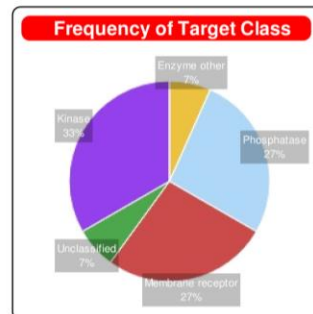
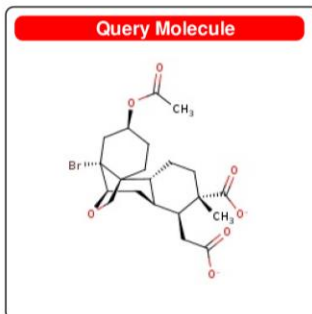
Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224		31 / 16	Unclassified
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P04035	HMGCR	CHEMBL402		41 / 84	Enzyme
M-phase inducer phosphatase 1	P30304	CDC25A	CHEMBL3775		5 / 8	Ser_Thr_Tyr Phosphatase
M-phase inducer phosphatase 2	P30305	CDC25B	CHEMBL4804		5 / 8	Ser_Thr_Tyr Phosphatase
Mu-type opioid receptor	P35372	OPRM1	CHEMBL233		91 / 19	Membrane receptor
Delta-type opioid receptor ( <i>by homology</i> )	P41143	OPRD1	CHEMBL236		91 / 19	Membrane receptor
Kappa-type opioid receptor	P41145	OPRK1	CHEMBL237		82 / 19	Membrane receptor
Nociceptin receptor ( <i>by homology</i> )	P41146	OPRL1	CHEMBL2014		78 / 19	Membrane receptor
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138		21 / 9	Enzyme
Protein kinase C gamma type ( <i>by homology</i> )	P05129	PRKCG	CHEMBL2938		14 / 35	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C beta type ( <i>by homology</i> )	P05771	PRKCB	CHEMBL3045		14 / 35	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C alpha type	P17252	PRKCA	CHEMBL299		14 / 35	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C theta type ( <i>by homology</i> )	Q04759	PRKCO	CHEMBL3920		15 / 34	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C delta type regulatory subunit ( <i>by homology</i> )	Q05655	PRKCD	CHEMBL2996		15 / 34	Ser_Thr Kinase
Muscleblind-like protein 1	Q9NR56	MBNL1	CHEMBL1293317		50 / 4	Unclassified

## 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\alpha$ -BROM-6 $\beta$ ,19-EPOKSI-16,17-SEKOANDROSTAN-16,17-DIONSKA KISELINA (29)

### SwissTargetPrediction report:

**Reference:**

Gfeller D., Michelin O. & Zoete V.  
 Shaping the interaction landscape of  
 bioactive molecules, *Bioinformatics*  
 (2013) 29:3073-3079.

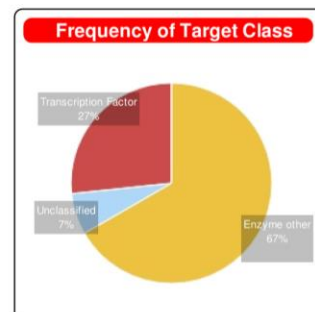
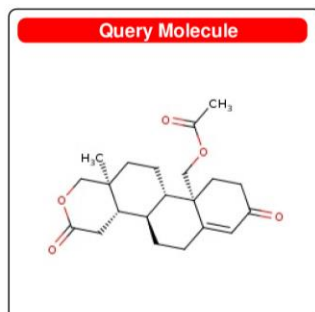


Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P04035	HMGCR	CHEMBL402	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	36 / 17	Enzyme
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2	P17706	PTPN2	CHEMBL3807	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	9 / 6	Tyr Phosphatase
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	P18031	PTPN1	CHEMBL335	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	9 / 6	Tyr Phosphatase
Mu-type opioid receptor ( <i>by homology</i> )	P35372	OPRM1	CHEMBL233	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	17 / 15	Membrane receptor
Delta-type opioid receptor ( <i>by homology</i> )	P41143	OPRD1	CHEMBL236	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	17 / 15	Membrane receptor
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	44 / 3	Unclassified
Protein kinase C beta type	P05771	PRKCB	CHEMBL3045	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	1 / 24	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C alpha type	P17252	PRKCA	CHEMBL299	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	1 / 24	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C theta type ( <i>by homology</i> )	Q04759	PRKCG	CHEMBL3920	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	1 / 23	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C gamma type ( <i>by homology</i> )	P05129	PRKCG	CHEMBL2938	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	1 / 24	Ser_Thr Kinase
Protein kinase C delta type regulatory subunit ( <i>by homology</i> )	Q05655	PRKCD	CHEMBL2996	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	1 / 23	Ser_Thr Kinase
Kappa-type opioid receptor	P41145	OPRK1	CHEMBL237	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 15	Membrane receptor
Nociceptin receptor ( <i>by homology</i> )	P41146	OPRL1	CHEMBL2014	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 15	Membrane receptor
M-phase inducer phosphatase 1	P30304	CDC25A	CHEMBL3775	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	10 / 3	Ser_Thr_Tyr Phosphatase
M-phase inducer phosphatase 2 ( <i>by homology</i> )	P30305	CDC25B	CHEMBL4804	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	10 / 3	Ser_Thr_Tyr Phosphatase

## 19-ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-4-EN-3,16-DION (35)

## SwissTargetPrediction report:

**Reference:**  
Gfeller D., Michielin O. & Zoete V.  
Shaping the interaction landscape of  
bioactive molecules, *Bioinformatics*  
(2013) 29:3073-3079.



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Cytochrome P450 19A1	P11511	CYP19A1	CHEMBL1978	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	189 / 122	Enzyme
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	449 / 34	Unclassified
Androgen receptor	P10275	AR	CHEMBL1871	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	25 / 79	Transcription Factor
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	93 / 14	Enzyme
Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	P05093	CYP17A1	CHEMBL3522	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	10 / 21	Enzyme
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	P28845	HSD11B1	CHEMBL4235	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	88 / 26	Enzyme
Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	Q7Z5J1	HSD11B1L		<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	88 / 26	Enzyme
Mineralocorticoid receptor	P08235	NR3C2	CHEMBL1994	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	67 / 43	Transcription Factor
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 2	P80365	HSD11B2	CHEMBL3746	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	9 / 22	Enzyme
Progesterone receptor	P06401	PGR	CHEMBL208	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	43 / 13	Transcription Factor
Glucocorticoid receptor	P04150	NR3C1	CHEMBL2034	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	66 / 40	Transcription Factor
Cytochrome P450 2C9 (by homology)	P11712	CYP2C9	CHEMBL3397	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 6	Enzyme
Cytochrome P450 2C19	P33261	CYP2C19	CHEMBL3622	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 6	Enzyme
Cytochrome P450 2E1 (by homology)	P05181	CYP2E1	CHEMBL5281	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 6	Enzyme
Cytochrome P450 2C8 (by homology)	P10632	CYP2C8	CHEMBL3721	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	4 / 6	Enzyme

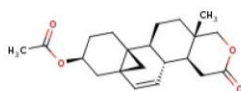
### 3 $\beta$ -ACETOKSI-5 $\beta$ ,19-CIKLO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-6-EN-16-ON (37)

#### SwissTargetPrediction report:

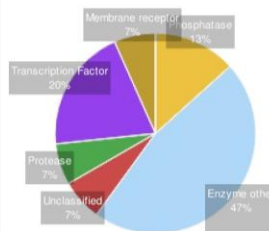
**Reference:**

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V.  
 Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, *Bioinformatics* (2013) 29:3073-3079.

**Query Molecule**



**Frequency of Target Class**



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2 (by homology)	P17706	PTPN2	CHEMBL3807	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	19 / 48	Tyr Phosphatase
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	P18031	PTPN1	CHEMBL335	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	19 / 48	Tyr Phosphatase
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	P28845	HSD11B1	CHEMBL4235	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	115 / 20	Enzyme
Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	Q7Z5J1	HSD11B1L		<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	115 / 20	Enzyme
Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	P05093	CYP17A1	CHEMBL3522	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	69 / 13	Enzyme
Complex	P49354/P49356	FNTA/FNTB	CHEMBL2094108	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	110 / 7	Enzyme
Cytochrome P450 19A1	P11511	CYP19A1	CHEMBL1978	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	261 / 107	Enzyme
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	492 / 23	Unclassified
Activation peptide fragment 1	P00734	F2	CHEMBL204	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	13 / 11	Serine Protease
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 2	P80365	HSD11B2	CHEMBL3746	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	12 / 15	Enzyme
Androgen receptor	P10275	AR	CHEMBL1871	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	44 / 52	Transcription Factor
Glucocorticoid receptor	P04150	NR3C1	CHEMBL2034	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	104 / 33	Transcription Factor
Mineralocorticoid receptor	P08235	NR3C2	CHEMBL1994	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	107 / 35	Transcription Factor
Platelet-activating factor receptor	P25105	PTAFR	CHEMBL250	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	31 / 24	Membrane receptor
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	P37059	HSD17B2	CHEMBL2789	<div style="width: 60%; background-color: green;"></div>	3 / 2	Enzyme



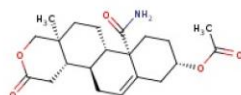
3 $\beta$ -ACETOKSI-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON-19-AMID (46)

## SwissTargetPrediction report:

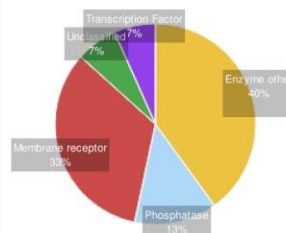
## Reference:

Gfeller D., Michelin O. & Zoete V.  
 Shaping the interaction landscape of  
 bioactive molecules, *Bioinformatics*  
 (2013) 29:3073-3079.

## Query Molecule



## Frequency of Target Class



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	123 / 3	Enzyme
Cytochrome P450 19A1	P11511	CYP19A1	CHEMBL1978	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	162 / 49	Enzyme
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2 (by homology)	P17706	PTPN2	CHEMBL3807	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	28 / 43	Tyr Phosphatase
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	P18031	PTPN1	CHEMBL335	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	28 / 43	Tyr Phosphatase
Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	P05093	CYP17A1	CHEMBL3522	<div style="width: 80%; height: 10px; background-color: green;"></div>	27 / 22	Enzyme
Muscarinic acetylcholine receptor M2	P08172	CHRM2	CHEMBL211	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	64 / 31	Membrane receptor
Muscarinic acetylcholine receptor M4 (by homology)	P08173	CHRM4	CHEMBL1821	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	70 / 31	Membrane receptor
Muscarinic acetylcholine receptor M5 (by homology)	P08912	CHRM5	CHEMBL2035	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	44 / 26	Membrane receptor
Muscarinic acetylcholine receptor M1	P11229	CHRM1	CHEMBL216	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	64 / 31	Membrane receptor
Muscarinic acetylcholine receptor M3 (by homology)	P20309	CHRM3	CHEMBL245	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	57 / 26	Membrane receptor
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	760 / 26	Unclassified
Androgen receptor	P10275	AR	CHEMBL1871	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	46 / 19	Transcription Factor
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	P28845	HSD11B1	CHEMBL4235	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	140 / 20	Enzyme
Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	Q7Z5J1	HSD11B1L		<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	140 / 20	Enzyme
Cholinesterase (by homology)	P06276	BCHE	CHEMBL1914	<div style="width: 60%; height: 10px; background-color: green;"></div>	88 / 2	Enzyme

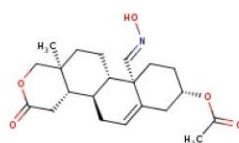
**3 $\beta$ -ACETOKSI-(19E)-HIDROKSIIMINO-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON**  
(47)

**SwissTargetPrediction report:**

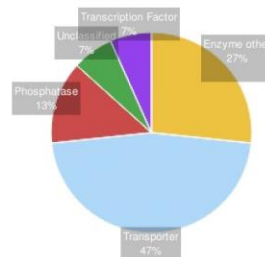
**Reference:**

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V.  
Shaping the interaction landscape of  
bioactive molecules, *Bioinformatics*  
(2013) 29:3073-3079.

**Query Molecule**



**Frequency of Target Class**



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	40 / 3	Enzyme
Sodium-dependent noradrenaline transporter	P23975	SLC6A2	CHEMBL222	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	212 / 1	Transporter
Sodium-dependent dopamine transporter	Q01959	SLC6A3	CHEMBL238	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	212 / 1	Transporter
Sodium-dependent serotonin transporter	P31645	SLC6A4	CHEMBL228	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	200 / 1	Transporter
Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 1 (by homology)	P48067	SLC6A9	CHEMBL2337	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	134 / 1	Transporter
Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 2 (by homology)	Q9Y345	SLC6A5	CHEMBL3060	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	134 / 1	Transporter
Sodium-dependent proline transporter (by homology)	Q99884	SLC6A7		<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	134 / 1	Transporter
Sodium- and chloride-dependent neutral and basic amino acid transporter B(0+) (by homology)	Q9UN76	SLC6A14		<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	134 / 1	Transporter
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2 (by homology)	P17706	PTPN2	CHEMBL3807	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	7 / 25	Tyr Phosphatase
Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	P18031	PTPN1	CHEMBL335	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	7 / 25	Tyr Phosphatase
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	101 / 17	Unclassified
Cytochrome P450 19A1	P11511	CYP19A1	CHEMBL1978	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	5 / 41	Enzyme
Androgen receptor	P10275	AR	CHEMBL1871	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	9 / 14	Transcription Factor
Cholinesterase (by homology)	P06276	BCHE	CHEMBL1914	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	50 / 1	Enzyme
Acetylcholinesterase	P22303	ACHE	CHEMBL220	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	50 / 1	Enzyme

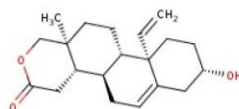
3 $\beta$ -HIDROKSI-19-METILIDEN-17-OKSA-17a-HOMOANDROST-5-EN-16-ON (52)

## SwissTargetPrediction report:

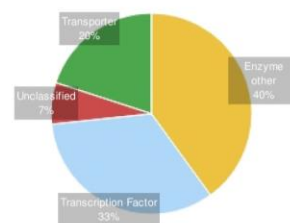
## Reference:

Gfeller D., Michelin O. & Zoete V.  
 Shaping the interaction landscape of  
 bioactive molecules, *Bioinformatics*  
 (2013) 29:3073-3079.

## Query Molecule



## Frequency of Target Class



Target	Uniprot ID	Gene code	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Cytochrome P450 19A1	P11511	CYP19A1	CHEMBL1978		51 / 141	Enzyme
Androgen receptor	P10275	AR	CHEMBL1871		135 / 96	Transcription Factor
Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase	P05093	CYP17A1	CHEMBL3522		35 / 36	Enzyme
Microtubule-associated protein tau	P10636	MAPT	CHEMBL1293224		45 / 30	Unclassified
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (by homology)	P04035	HMGCR	CHEMBL402		98 / 101	Enzyme
Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	Q9NUW8	TDP1	CHEMBL1075138		17 / 14	Enzyme
Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	P28845	HSD11B1	CHEMBL4235		26 / 23	Enzyme
Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	Q7Z5J1	HSD11B1L			26 / 23	Enzyme
Sodium-dependent noradrenaline transporter	P23975	SLC6A2	CHEMBL222		315 / 6	Transporter
Sodium-dependent serotonin transporter (by homology)	P31645	SLC6A4	CHEMBL228		307 / 6	Transporter
Sodium-dependent dopamine transporter	Q01959	SLC6A3	CHEMBL238		315 / 6	Transporter
Oxysterols receptor LXR-beta	P55055	NR1H2	CHEMBL4093		3 / 21	Transcription Factor
Oxysterols receptor LXR-alpha	Q13133	NR1H3	CHEMBL2808		3 / 21	Transcription Factor
Glucocorticoid receptor	P04150	NR3C1	CHEMBL2034		28 / 40	Transcription Factor
Mineralocorticoid receptor	P08235	NR3C2	CHEMBL1994		28 / 42	Transcription Factor



## 10. BIOGRAFIJA



Ivana Kuzminac je rođena 26.7.1989. godine u Sremskoj Mitrovici. Pohađala je osnovnu školu “Triva Vitasović-Lebarnik” u Laćarku, koju je završila 2004. god. kao nosilac diplome “Vuk Stefanović Karadžić” i dve specijalne diplome iz oblasti fizike i biologije. Iste godine upisuje Mitrovačku gimnaziju koju završava 2008. god. kao nosilac diplome “Vuk Stefanović Karadžić”. U toku srednjoškolskog obrazovanja bila je polaznik Istraživačke stanice Petnice.

Osnovne akademske studije hemije na Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu je upisala 2008. god., a završila 2012. god. sa prosečnom ocenom 10,00. Master akademske studije hemije, modul organska hemija, upisala je 2012. god. na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu i završila ih 2013. god. sa prosečnom ocenom 10,00. Doktorske akademske studije hemije na istom fakultetu je upisala 2013. god. i sve ispite položila sa prosečnom ocenom 10,00.

Za svoj naučni rad u toku osnovnih studija nagrađena je 1. mestom na Primatijadi 2011. god. i Izuzetnom nagradom za naučni i stručni rad u školskoj 2011/2012. god. koju dodeljuje Univerzitet u Novom Sadu. U toku studija bila je stipendista Ministarstva prosvete Republike Srbije, fonda Atanasije Stojković iz Sremske Mitrovice, opštine Sremska Mitrovica, Fonda za mlade talente Republike Srbije i Fonda stipendiranja i podsticanje napredovanja darovitih studenata i mladih naučnih radnika i umetnika Univerziteta u Novom Sadu. Višestruki je dobitnik Izuzetne nagrade Univerziteta u Novom Sadu za postignut uspeh u prethodnom studiranju. Dobitnik je nagrada Univerziteta u Novom Sadu i Vlade AP Vojvodine za najboljeg studenta Univerziteta u Novom Sadu u školskoj 2011/2012., zatim nagrade za najboljeg studenta Prirodno-matematičkog fakulteta i Izuzetne nagrade za završene studije u školskoj 2011/2012.god. Univerziteta u Novom Sadu, kao i godišnje nagrade Srpskog hemijskog društva za 2013. god. za izuzetan uspeh u toku studija. Dobitnik je nagrade za najbolji master rad fonda Nenad Kostić za hemijske nauke 2014. god.

U zvanje istraživača-pripravnika za užu naučnu oblast Organska hemija izabrana je 17.12.2013. god., a u zvanje istraživača saradnika 17.12.2016. god. Na projektu Ministarstva

obrazovanja, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom „Sinteza, karakterizacija i biološka ispitivanja steroidnih derivata i njihovih molekulskih agregata“ (br. projekta 172021) je zaposlena od marta 2014. god. Od školske 2013/2014. angažovana je u izvođenju vežbi na kursovima Organska hemija 1 i 2, Preparativna organska hemija i Hemija steroida na Katedri za organsku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu.

Autor i koautor je dva rada u međunarodnim časopisima kategorije M22, jedanaest saopštenja na skupovima međunarodnog i jedanaest saopštenja na skupovima nacionalnog značaja, kao i jednog predavanja po pozivu na skupu nacionalnog značaja. Dobitnik je nagrade za najbolju postersku prezentaciju na 55. Savetovanju srpskog hemijskog društva, IUPAC Poster Prize.

Govori engleski i španski jezik i član je Srpskog hemijskog društva.

Novi Sad, 2018. god.

---

Ivana Kuzminac

**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	Ivana Kuzminac
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Dr Marija Sakač, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Sinteza i antitumorski potencijal C19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2018.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

Fizički opis rada: FO	Broj poglavlja: 10 (uključujući Prilog)/ Stranica: 278/ Slika: 191 (od toga 147 slika u Prilogu)/ Tabela: 16/ Shema: 49/ Referenci: 329
Naučna oblast: NO	Hemija
Naučna disciplina: ND	Organska hemija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Sinteza, D-homo steroidi, androgeni, antiproliferativna aktivnost
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	U ovom radu ostvarene su sinteze C19-derivatizovanih steroidnih D-homo laktona. Takođe, sintetisani su i 5,6-halogeni derivati, 5,6-supstituisani kiseonični derivati, kao i 6,19-epoksi steroidi. Za sva sintetisana jedinjenja je utvrđen antitumorski potencijal ispitivanjem njihove oralne bioraspodivnosti, antiproliferativne aktivnosti na šest ćelijskih linija kancera, vezivanja za odabrane steroidne receptore i inhibitorne aktivnosti na enzim AKR1C3.
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	08.09.2016.
Datum odbrane: DO	2018.
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	dr Mirjana Popsavin, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, predsednik dr Marija Sakač, redovni profesor PMF-a u Novom Sadu, mentor dr Edward Petri, docent PMF-a u Novom Sadu, član dr Andrea Nikolić, docent PMF-a u Novom Sadu, član dr Dimitar Jakimov, naučni saradnik Instituta za onkologiju Vojvodine, Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, član



**UNIVERSITY OF NOVI SAD**  
**FACULTY OF SCIENCES**

**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	Ivana Kuzminac
Mentor: MN	Professor Marija Sakač, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad
Title: TI	Synthesis and antitumor potential of C19-derivatized steroidal D-homo lactones
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	2018.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Trg Dositaja Obradovića 3

Physical description: PD	Chapters: 10 (including the chapter Appendix)/ Pages: 278/. Figures: 191 (147 figures in the chapter Appendix)/ Tables: 16/ Schemes: 49/ References: 329
Scientific field SF	Chemistry
Scientific discipline SD	Organic Chemistry
Subject, Key words SKW	Synthesis, D-homo steroids, androgen, antiproliferative activity
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 paper, a synthesis of C19-derivatized steroidal D-homo lactones has been conducted. 5,6-Halogen derivatives, 5,6-substituted oxygen derivatives and 6,19-epoxy steroids were also synthesized. Antitumor potential was determined for all synthesized compounds by examining their oral bioavailability, antiproliferative activity on six cancer cell lines, binding to selected steroid receptors and inhibitor activity on the AKR1C3 enzyme.
Accepted on Senate on: AS	08.09.2016.
Defended: DE	2018.
Thesis Defend Board: DB	Professor Mirjana Popsavin, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, president Professor Marija Sakač, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, mentor Assistant professor Edward Petri, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, member Assistant professor Andrea Nikolić, PhD, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, member Research Associate Dimitar Jakimov, PhD, Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, member