

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
HEMIJSKI FAKULTET**

**Milka B. Jadranin**

**IZOLOVANJE, KARAKTERIZACIJA I  
BIOLOŠKA AKTIVNOST  
JATROFANSKIH DITERPENA  
IZ *EUPHORBIA DENDROIDES* L.**

**Doktorska disertacija**

**Beograd, 2013.**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF CHEMISTRY**

**Milka B. Jadranin**

**ISOLATION, CHARACTERIZATION AND  
BIOLOGICAL ACTIVITY OF  
JATROPHANE DITERPENES  
FROM *EUPHORBIA DENDROIDES* L.**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2013**

**MENTOR:**

Dr Vele Tešević  
vanredni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

Dr Vlatka Vajs  
naučni savetnik Centra za hemiju IHTM Univerziteta u Beogradu  
i redovni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Dr Ivana Aljančić  
naučni savetnik Centra za hemiju IHTM Univerziteta u Beogradu

Dr Bogdan Šolaja  
redovni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu  
i redovni član SANU

Dr Milica Pešić  
viši naučni saradnik Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković“  
Univerziteta u Beogradu

Beograd, 2013.

*Ova doktorska disertacija je urađena u laboratorijama Odeljenja za instrumentalnu analizu Centra za hemiju IHTM i Hemijskog fakulteta u saradnji sa Institutom za biološka istraživanja „Siniša Stanković“.*

*Prof. dr Veleto Teševiću, prof. dr Vlatki Vajs, dr Ivani Aljančić i prof. dr Slobodanu Milosavljeviću zahvaljujem se na ukazanom poverenju, nesebičnoj pomoći i sugestijama u svim fazama izrade ove disertacije. Imam čast i sreću da sa njima saradujem i učim od njih.*

*Prof. dr Bogdanu Šolaji se zahvaljujem na korisnim sugestijama u završnoj fazi pisanja disertacije.*

*Dr Milici Pešić, koja je neposredno rukovodila eksperimentima za ispitivanje bioloških aktivnosti, zahvaljujem se na konstruktivnim primedbama koje su mi pomogle u razumevanju ove problematike.*

*Kolegama iz CIA zahvaljujem se na razumevanju, podršci i pomoći tokom rada.*

*Autor*

## **Izolovanje, karakterizacija i biološka aktivnost jatrofanskih diterpena iz *Euphorbia dendroides* L.**

### **IZVOD**

Rod *Euphorbia*, sa više od 2.000 vrsta jednogodišnjih, dvogodišnjih ili višegodišnjih cvetnica koje su članovi porodice Euphorbiaceae, jedan je od najvećih i najraznovrsnijih rodova ne samo u svojoj porodici, već u celom biljnom carstvu.

Biljke ovog roda koriste se u tradicionalnoj medicini još od antičkih vremena. Dosadašnja fitohemijska proučavanja pokazala su da vrste roda *Euphorbia* proizvode veoma raznovrsne sekundarne metabolite, uključujući različite terpene (seskviterpeni, diterpeni i triterpeni), steroide, cerebrozide, glicerole i fenolna jedinjenja (floracetofenoni, flavonoidi, tanini, kumarini). Mnoga od ovih jedinjenja pokazuju biološke aktivnosti, a najvažnije su reverzija višestruke rezistencije na lekove, antimitotsko, antiproliferativno, citotoksično, antivirusno, antimikrobno, antitumorsko, antiinflamatorno, tumor promotorsko i proinflamatorno dejstvo.

Vrste iz roda *Euphorbia* su bogat izvor jatrofana, makrocikličnih diterpena osnovne *trans*-biciklo[10.3.0]pentadekanske strukture, za koje je karakteristično postojanje veoma fleksibilnog dvanaestočlanog prstena. To su veoma funkcionalizovana, različito oksigenovana jedinjenja; u biljkama se obično nalaze u obliku polihidroksilovanih diterpena esterifikovanih različitim kiselinama (acetil, propanoil, *n*-butanoil, izobutanoil, izovaleril, angeloil, tigloil, benzoil, nikotinoil derivati, itd.), zbog čega su poznati i pod nazivom jatrofanski poliestri.

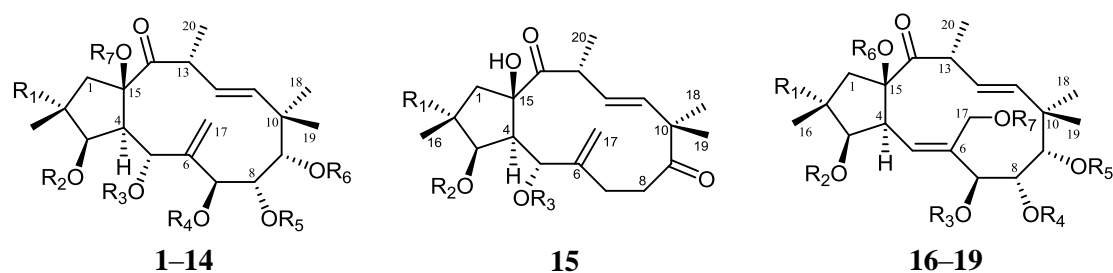
U okviru ove disertacije ispitivani su jatrofanski diterpeni iz vrste *Euphorbia dendroides* L. poreklom iz Crne Gore koja do sada nije fitohemijski proučavana. Proučavanje je obuhvatalo dve celine: nadzemni deo i mlečni lateks.

Iz nadzemnog dela *E. dendroides* izolovano je i okarakterisano šest novih jatrofana, koji su nazvani eufodendrofani A – F (**1 – 5, 16**), a iz mlečnog lateksa *E. dendroides* izolovano je i okarakterisano trinaest novih jatrofana, eufodendrofani G – S (**6 – 15, 17 – 19**), kao i tri jatrofana izolovana iz nadzemnih delova (**1, 2, 16**).

Izolovani jatrofani imaju vrlo slične strukture. Jatrofani **1 – 15** se međusobno razlikuju samo po vrsti, broju i položaju supstituenata, dok se jatrofani **16 – 19** od njih

razlikuju po tome što sadrže endocikličnu ( $\Delta^5$ ) umesto egzociklične ( $\Delta^{6(17)}$ ) dvostruke veze. Jedinjenja **1** – **14** su penta- ili heksaesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrže keto grupu u položaju C-14, jednu endocikličnu 11 *E*- i jednu egzocikličnu C-6(17) dvostruku vezu. Jedinjenje **15** je triesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrži dve keto grupe (u položajima C-9 i C-14), jednu endocikličnu 11 *E*- i jednu egzocikličnu C-6(17) dvostruku vezu. Jedinjenja **16** – **19** su heptaesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrže keto grupu u položaju C-14 i dve endociklične dvostruke veze ( $\Delta^5$  i  $\Delta^{11}$ ).

Jatrofani izolovani iz *E. dendroides*.



Izolovano jedinjenje	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
<b>1</b> (Eufodendrofan A)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>2</b> (Eufodendrofan B)	H	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>3</b> (Eufodendrofan C)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac
<b>4</b> (Eufodendrofan D)	H	iBu	Ac	Ac	Bz	Ac	H
<b>5</b> (Eufodendrofan E)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Ac	H
<b>6</b> (Eufodendrofan H)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>7</b> (Eufodendrofan I)	H	Pr	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>8</b> (Eufodendrofan J)	H	Pr	Ac	iBu	iBu	Nic	H
<b>9</b> (Eufodendrofan K)	H	iBu	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>10</b> (Eufodendrofan L)	H	iBu	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>11</b> (Eufodendrofan M)	H	iBu	Ac	Ac	Nic	Ac	H
<b>12</b> (Eufodendrofan N)	H	Ac	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>13</b> (Eufodendrofan O)	OAc	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>14</b> (Eufodendrofan P)	OAc	iBu	Nic	iBu	Ac	Nic	H
<b>15</b> (Eufodendrofan G)	ONic	iVal	Ac	/	/	/	/
<b>16</b> (Eufodendrofan F)	OAc	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>17</b> (Eufodendrofan Q)	OAc	Pr	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>18</b> (Eufodendrofan R)	OAc	Ac	iBu	Nic	Nic	Ac	Ac
<b>19</b> (Eufodendrofan S)	OAc	Ac	iBu	Ac	Bz	Ac	Ac

Ac-acetil; Bz-benzoil; iBu-izobutanoil; iVal-izovaleril; Nic-nikotinoil; Pr-propanoil

Neka od izolovanih jedinjenja su podvrgnuta testovima za ispitivanje bioloških aktivnosti.

Sposobnost jedinjenja **1 – 7, 9, 10 i 16 – 19** da *in vitro* inhibiraju rast senzitivih i rezistentnih ćelijskih linija humanog karcinoma pluća (NCI-H460 i NCI-H460/R), karcinoma debelog creva (DLD1 i DLD-TxR) i glioblastoma (U87 i U87-TxR) procenjavana je pomoću sulforodamin B (SRB) testa. Kao kontrolna supstanca upotrebljen je paklitaksel. Od ukupno trinaest analiziranih jatrofana, jedinjenja **2, 6, 9, 10, 17 – 19** efikasnije od ostalih inhibiraju rast kako NCI-H460 tako i NCI-H460/R ćelija ( $IC_{50}$  4,7 – 16,2  $\mu$ M, odnosno  $IC_{50}$  8,3 – 26,8  $\mu$ M). Jedino je otpornost NCI-H460/R ćelija na jedinjenje **16** značajna. Jedinjenja **10 i 18** najefikasnije od ispitivanih jatrofana inhibiraju rast U87 ćelija ( $IC_{50}$  10,0, odnosno 8,6  $\mu$ M), a postižu zadovoljavajuće dejstvo i na U87-TxR ćelijama ( $IC_{50}$  57,1, odnosno 28,5  $\mu$ M).

Sposobnost jatrofanskih diterpena **1, 2, 6 – 10 i 15 – 19** da inhibiraju dejstvo P-glikoproteina (P-gp) ispitana je na MDR ćelijskim linijama humanog karcinoma pluća (NCI-H460/R), karcinoma debelog creva (DLD1-TxR) i glioblastoma (U87-TxR). U tu svrhu korišćen je standardni test kojim se akumulacija rodamina 123 prati protočnom citometrijom. Utvrđeno je se da su među ispitivanim jatrofanima jedinjenja **6 i 9** najjači inhibitori P-gp-a u MDR ćelijama humanog karcinoma pluća i humanog karcinoma debelog creva, efikasnija od R(+)-verapamila koji je korišćen kao pozitivna kontrolna supstanca. Jedanaest ispitivanih jedinjenja (**1, 2, 6 – 10 i 16 – 19**), kao i pozitivne kontrolne supstance (verapamil i tarikvidar), pokazali su umerenu aktivnost ka P-gp pumpi u MDR ćelijskoj liniji humanog glioblastoma (U87-TxR). Jedino je jedinjenje **15** bilo potpuno neaktivno.

Proučen je i senzitivijući uticaj jedinjenja **1, 2, 6, 8, 18 i 19** na MDR ćelijsku liniju humanog karcinoma pluća u kombinaciji sa paklitakselom, kao i uticaj jedinjenja **1 i 2** u kombinaciji sa doksorubicinom. Svi jatrofani su uticali na povećanje senzitivnosti rezistentnih NCI-H460/R ćelija na paklitaksel, odnosno doksorubicin, što ukazuje na sposobnost ovih jatrofana da smanje rezistenciju MDR ćelijskih linija prema paklitakselu ili doksorubicinu.

Na osnovu izvršenih ispitivanja, ne postoji očigledna razlika u aktivnosti između jatrofana sa 6(17) *egzo* dvostrukom vezom (**1, 2, 6 – 10, 15**) i jatrofana sa 5 *endo*

dvostrukom vezom (**16 – 19**), što ukazuje da položaj dvostruke veze vrlo malo utiče na aktivnost i da mnogo veći uticaj na aktivnost ima stepen oksigenacije.

Ispitivanje bioloških aktivnosti dve grupe *egzo* jatrofana koji imaju identičnu strukturu osim supstituenta vezanog za C-8, a to su **1, 6 – 8** i **2, 9** i **10**, pokazalo je da se aktivnost jedinjenja znatno povećava ako je za C-8 vezana benzoiloksi grupa umesto acetoksi, izobutanoiloksi ili nikotinoiloksi grupe. Tako od jatrofana sa 6(17) *egzo* dvostrukom vezom, jedinjenja **6** i **9** sa C-8 benzoiloksi grupom najjače inhibiraju dejstvo P-gp-a i to naročito u MDR ćelijama humanog karcinoma debelog creva.

Od ispitivanih jatrofana sa 5 *endo* dvostrukom vezom (**16 – 19**) najefikasniji inhibitor P-gp-a je jedinjenje **19** kod kojeg je za C-9 vezana benzoiloksi grupa.

Vrsta supstituenta vezanog za C-3, tj. propanoiloksi grupa umesto izobutanoiloksi grupe, ne utiče na aktivnost jedinjenja **1** i **2** ili **6** i **9**. Međutim, zamena acetoksi grupe na C-3 propanoiloksi grupom u potpunosti sprečava inhibitorstva svojstva jedinjenja **17** u odnosu na jedinjenje **16**.

Slaba aktivnost jedinjenja **15** potvrđuje značaj tipa supstitucije na C-7, C-8 i C-9. Nepostojanje supstituenta u ovim položajima veoma smanjuje MDR modulatornu aktivnost jedinjenja **15** u odnosu na aktivnost ostalih ispitivanih jedinjenja.

U ovom radu izolovana su strukturno vrlo slična jedinjenja – sva imaju isti skelet, a glavne razlike potiču od vrste i broja supstituenta vezanih za prsten srednje veličine, i ispitana je njihova biološka aktivnost. Zahvaljujući tome, može se zaključiti da aktivnost eufodendrofana sa *egzo*, odnosno *endo* dvostrukom vezom zavisi od toga da li je za položaj C-8, odnosno C-9 vezana benzoiloksi grupa.

**Ključne reči:** *Euphorbia dendroides*, Euphorbiaceae, Izolovanje, Karakterizacija, Jatrofani, Eufodendrofani A–S, P-glikoprotein (P-gp), Višestruka reverzija na lekove (MDR), Tubulin.

**Naučna oblast:** Hemija

**Uža naučna oblast:** Organska hemija

**UDK broj:** 547



## Isolation, characterization and biological activity of jatrophane diterpenes from *Euphorbia dendroides* L.

### ABSTRACT

Genus *Euphorbia*, with more than 2,000 species of annual, biennial or perennial flowering plants belonging to the family Euphorbiaceae, is one of the largest and most diverse genera not only in the spurge family but in the entire plant kingdom.

Plants of this genus are used in traditional medicine since ancient times. Phytochemical studies up to now have shown that the species of the genus *Euphorbia* produce a variety of secondary metabolites, including various terpenes (sesquiterpenes, diterpenes and triterpenes), steroids, cerebrosides, glycerols and phenolic compounds (phloracetophenones, flavonoids, tannins, coumarins). These compounds perform many different activities, including modulability of multidrug resistance, microtubule-interacting activity, antiproliferative, cytotoxic, antiviral, antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory, tumor promoting and proinflammatory effects.

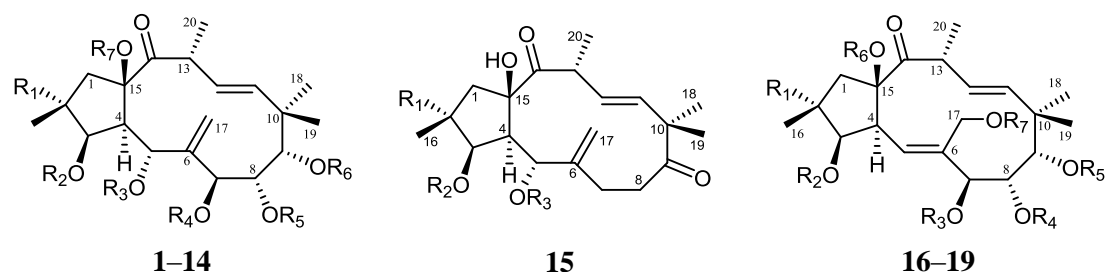
Genus *Euphorbia* is a rich source of jatrophanes, macrocyclic diterpenes with basic *trans*-bicyclo[10.3.0]pentadecane structure, which are characterized by the existence of a flexible twelve membered ring. These are very functionalized compounds with various oxygenation stages; in plants are usually found in the form of polyhydroxylated diterpenes esterified with various acids (acetyl, propanoic, *n*-butanoic, isobutanoic, isovaleric, angelic, tiglic, benzoic, nicotinic derivatives, etc...), and are sometimes called jatrophane polyesters.

In this dissertation, jatrophane diterpenes from *Euphorbia dendroides* L. originating from Montenegro were investigated. The study comprises investigation of the aerial parts and of the milky latex.

From the aerial parts of *E. dendroides* six new jatrophanes, namely euphodendrophanes A – F (**1** – **5**, and **16**), were isolated and characterized. From the milky latex of *E. dendroides*, in addition to **1**, **2**, and **16**, the constituents of the aerial parts, thirteen new jatrophanes, euphodendrophanes G – S (**6** – **15**, and **17** – **19**), were isolated and characterized.

All isolated jatrophanes have very similar structures. Jatrophanes **1** – **15** are differing only in the type, number and position of substituents, while jatrophanes **16** – **19** differ from them in that they contain endocyclic ( $\Delta^5$ ) instead of exocyclic ( $\Delta^{6(17)}$ ) double bond. Compounds **1** – **14** are penta- or hexaesterified jatrophane-type polyols containing a keto carbonyl group at C-14, an endocyclic 11 *E*- and an exocyclic C-6(17) double bond. Compound **15** is triesterified jatrophane-type polyol containing two keto carbonyl groups (at C-9 and C-14), an endocyclic 11 *E*- and an exocyclic C-6(17) double bond. Compounds **16** – **19** are heptaesterified jatrophane-type polyols containing a ketone carbonyl group at C-14 and two endocyclic double bonds ( $\Delta^5$  and  $\Delta^{11}$ ).

Jatrophanes isolated from the *E. dendroides*.



Isolated compound	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
<b>1</b> (Euphodendrophane A)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>2</b> (Euphodendrophane B)	H	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>3</b> (Euphodendrophane C)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac
<b>4</b> (Euphodendrophane D)	H	iBu	Ac	Ac	Bz	Ac	H
<b>5</b> (Euphodendrophane E)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Ac	H
<b>6</b> (Euphodendrophane H)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>7</b> (Euphodendrophane I)	H	Pr	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>8</b> (Euphodendrophane J)	H	Pr	Ac	iBu	iBu	Nic	H
<b>9</b> (Euphodendrophane K)	H	iBu	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>10</b> (Euphodendrophane L)	H	iBu	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>11</b> (Euphodendrophane M)	H	iBu	Ac	Ac	Nic	Ac	H
<b>12</b> (Euphodendrophane N)	H	Ac	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>13</b> (Euphodendrophane O)	OAc	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>14</b> (Euphodendrophane P)	OAc	iBu	Nic	iBu	Ac	Nic	H
<b>15</b> (Euphodendrophane G)	ONic	iVal	Ac	/	/	/	/
<b>16</b> (Euphodendrophane F)	OAc	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>17</b> (Euphodendrophane Q)	OAc	Pr	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>18</b> (Euphodendrophane R)	OAc	Ac	iBu	Nic	Nic	Ac	Ac
<b>19</b> (Euphodendrophane S)	OAc	Ac	iBu	Ac	Bz	Ac	Ac

Ac-acetyl; Bz-benzoyl; iBu-isobutanoyl; iVal-isovaleryl; Nic-nicotinoyl; Pr-propanoyl

The biological activities of the representative set of isolated jatrophanes have been assessed.

Compounds **1 – 7**, **9**, **10**, and **16 – 19** were evaluated for their capacity to inhibit *in vitro* growth of six human cancer cell lines: non-small cell lung carcinoma (NCI-H460 and NCI-H460/R), colorectal carcinoma (DLD-1 and DLD-TxR), and glioblastoma (U-87 and U87-TxR) using a sulforhodamine B (SRB) assay. Paclitaxel was used as a positive control. Compounds **2**, **6**, **9**, **10**, and **17 – 19** more efficient than the others inhibited the growth of both NCI-H460 and NCI-H460/R cells ( $IC_{50}$  4.7 – 16.2 and 8.3 – 26.8  $\mu$ M, respectively). Only the sensitivity to **16** was decreased considerably against the NCI-H460/R cell line. Compounds **10** and **18** the most efficient of the tested jatrophanes inhibited the growth of U-87 cells ( $IC_{50}$  10.0 and 8.6  $\mu$ M, respectively) and quite effectively inhibited the growth of U87-TxR cells ( $IC_{50}$  57.1 and 28.5  $\mu$ M, respectively).

Jatrophane diterpenoids **1**, **2**, **6 – 10**, and **15 – 19** were tested for their P-gp inhibiting activity on three different human MDR cancer cell lines: NCI-H460/R, DLD1-TxR and U87-TxR. Standard functional assay with Rhodamine (Rho) 123 as a fluorescent substrate for P-gp was assessed by flow-cytometry. Among the investigated jatrophanes, compounds **6** i **9** were found to be the most powerful inhibitors of P-gp in NCI-H460/R and DLD-TxR cells. Their efficacy was significantly higher than R(+)-verapamil's taken as a positive control. Tested compounds (**1**, **2**, **6 – 10**, and **16 – 19**), along with positive controls (verapamil and tariquidar), were moderately active against P-gp pump in glioblastoma U87-TxR cell line. Only compound **15** was ineffective.

The interaction and reversal potential of compounds **1**, **2**, **6**, **8**, **18** and **19** in simultaneous treatment with paclitaxel, and effects of **1** and **2** in simultaneous combination with doxorubicin were examined. All jatrophanes induced the increase in paclitaxel or doxorubicin sensitivity in resistant NCI-H460/R cell line. These results point to the potential of tested jatrophanes to reverse paclitaxel and doxorubicin resistance in the MDR cancer cell line used.

Preliminary structure–activity relationship showed no obvious difference in the activity of jatrophanes with 6(17) *exo*- (**1**, **2**, **6 – 10**, **15**), and those with 5 *endo* double bond (**16 – 19**), what suggests that double bond position make little change in activity, rather the oxygenation pattern governs the activity.

The biological evaluation of two groups of *exo* jatrophanes with identical structures except for the substitution on C-8, namely **1**, **6 – 8** and **2**, **9** and **10**, have shown dramatic increase in the activity upon substitution of either acetyloxy, isobutanoiloxy or nicotinoiloxy with benzoyloxy group at C-8. Within the set of jatrophanes with 6(17) *exo* double bond ((**1**, **2**, **6 – 10**, **15**)), the compounds **6** and **9** with benzoyloxy group at C-8 were the most effective inhibitors of P-gp activity.

Among tested jatrophanes with 5 *endo* double bond (**16 – 19**) the most powerful inhibitor of P-gp was **19** with benzoyloxy group at C-9.

Substitution of propanoyloxy by isobutanoyloxy group at C-3 do not influence on inhibitory activities of compounds **1** i **2** or **6** i **9**. However substitution of acetyloxy by propanoyloxy group at C-3 completely abolished inhibitory effect of **17** compared with **16**.

Poor activity of compound **15** confirms the relevance of the substitution pattern at C-7, C-8 and C-9. The lack of substitution at these positions dramatically decreased the MDR-modulatory activity.

Within the set of jatrophanes isolated and tested in this work were closely related compounds based on structurally homogeneous skeleton with main differences in the substitution pattern on medium sized ring. Thus it can be stressed that the activity is strongly affected by the benzoyloxy group at the positions C-8 and C-9 for jatrophanes with *exo*- and *endo* double bond, respectively.

**Keywords:** *Euphorbia dendroides*, Euphorbiaceae, Isolation, Characterization, Jatrophanes, Euphodendrophanes A–S, P-glycoprotein (P-gp), Multidrug resistance (MDR), Tubulin.

**Academic Expertise:** Chemistry

**Field of Academic Expertise:** Organic Chemistry

**UDK number:** 547

# SADRŽAJ

UVOD .....	1
1. OPŠTI DEO .....	2
1.1. Familija Euphorbiaceae .....	3
1.1.1. Opšte karakteristike familije Euphorbiaceae .....	5
1.2. Rod <i>Euphorbia</i> .....	5
1.3. Jatrofani izolovani iz familije Euphorbiaceae .....	7
1.3.1. Biosinteza diterpena iz vrsta familije Euphorbiaceae .....	37
1.4. Primena vrsta iz familije Euphorbiaceae u tradicionalnoj medicini .....	39
1.5. Toksičnost vrsta iz familije Euphorbiaceae .....	40
1.6. Primena vrsta iz familije Euphorbiaceae u savremenoj medicini .....	41
1.7. Biološke aktivnosti jatrofana .....	43
1.7.1. Reverzija višestruke rezistencije na lekove .....	44
1.7.2. Interakcije sa tubulinom (antimitotsko dejstvo) .....	47
1.7.3. Antiproliferativno dejstvo .....	49
1.7.4. Citotoksično dejstvo .....	50
1.7.5. Antivirusno dejstvo .....	50
1.7.6. Antimikrobno dejstvo .....	51
1.7.7. Antitumorsko dejstvo .....	51
1.7.8. Proinflamatorno i tumor promotorsko dejstvo .....	51
1.8. Biljna vrsta <i>Euphorbia dendroides</i> .....	52
2. NAŠI RADOVI .....	54
2.1. Jatrofani iz <i>Euphorbia dendroides</i> .....	55
2.1.1. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ - propanoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan A) .....	57
2.1.2. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksija- trofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan B) .....	65
2.1.3. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ -Triacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoil- oksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan C) .....	67
2.1.4. 5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -Triacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksija- trofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan D) .....	70

2.1.5. 5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -Diacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan E).....	70
2.1.6. 5 $\alpha$ -Acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan H).....	73
2.1.7. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan I) i 5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan J).....	76
2.1.8. 5 $\alpha$ -Acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan K) .....	79
2.1.9. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan L).....	79
2.1.10. 5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan M) .....	82
2.1.11. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan N) .....	82
2.1.12. 2 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan O).....	87
2.1.13. 2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan P) .....	87
2.1.14. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izovaleriloksi-2 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11 <i>E</i> -dien-9,14-dion (Eufodendrofan G).....	91
2.1.15. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,17-Pentaacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan F).....	99
2.1.16. 2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,17-Tetraacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan Q).....	104
2.1.17. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-Tetraacetoksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan R).....	107
2.1.18. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-Pentaacetoksi-9 $\alpha$ -benzoiloksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on (Eufodendrofan S).....	107
2.2. Hemotaksonomski značaj izolovanih jedinjenja.....	111
2.3. Biološke aktivnosti izolovanih jedinjenja.....	112
2.3.1. Uticaj jatrofana na inhibiciju rasta ćelija karcinoma pluća, debelog creva i glioblastoma, kao i normalnih ćelija.....	112
2.3.2. Antimitotska aktivnost.....	115

2.3.3. Inhibicija P-glikoproteina .....	115
2.3.4. Kombinovano dejstvo jatrofana sa klasičnim hemioterapeuticima .....	118
2.4. Uticaj strukture ispitivanih jedinjenja na njihovu aktivnost .....	120
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	123
3.1. Hemijsko ispitivanje .....	124
3.1.1. Eksperimentalne tehnike, instrumenti i rastvarači .....	124
3.1.2. Biljni materijal i postupak izolovanja jedinjenja .....	126
3.1.3. Spektralni podaci izolovanih jedinjenja.....	129
3.2. Ispitivanje biološke aktivnosti .....	133
3.2.1. Lekovi .....	133
3.2.2. Hemikalije.....	134
3.2.3. Ispitivana jedinjenja .....	134
3.2.4. Čelije i ćelijske kulture .....	134
3.2.5. Određivanje hemosenzitivnosti pomoću sulforodamina B (SRB).....	135
3.2.6. Određivanje inhibicije aktivnosti P-gp-a testom akumulacije rodamina 123 .....	136
3.2.7. Izolovanje mononuklearnih ćelija periferne krvi (PBMC) .....	137
3.2.8. Merenje citotoksičnosti kolorimetrijskim MTT testom.....	137
3.2.9. Određivanje antimitotske aktivnosti .....	138
LITERATURA.....	139
BIOGRAFIJA.....	150

# UVOD

Ovaj rad predstavlja početak fitohemijskog proučavanja biljnih vrsta iz roda *Euphorbia* (familija Euphorbiaceae) na Odeljenju za instrumentalnu analizu Centra za hemiju IHTM i Hemijskog fakulteta. Predmet rada je izolovanje i hemijska karakterizacija jatrofanskih diterpena iz biljne vrste *Euphorbia dendroides* L., kao i *in vitro* ispitivanje mogućnosti reverzije višestruke rezistencije na lekove nekih od izolovanih jedinjenja.

U **OPŠTEM DELU** ovog rada dati su osnovni podaci o familiji Euphorbiaceae i rodu *Euphorbia*, sa kratkim opštim karakteristikama i mogućnostima primene. Zatim su predstavljeni rezultati dosadašnjih fitohemijskih ispitivanja jatrofana ove familije i navedene su njihove najvažnije biološke aktivnosti. Na kraju je opisana ispitivana biljna vrsta.

U delu **NAŠI RADOVI** prikazan je detaljan postupak određivanja strukture izolovanih jedinjenja primenom savremenih spektrometrijskih i spektroskopskih metoda: masene spektrometrije visokog razlaganja (HRESIMS), 1D i 2D NMR spektroskopije ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, NOESY, HSQC, HMBC), UV i IR spektroskopije, a zatim su analizirani rezultati bioloških testova i dat je komentar o uticaju strukture ispitivanih jedinjenja na njihovu biološku aktivnost.

U **EKSPERIMENTALNOM DELU** date su informacije o korišćenim eksperimentalnim tehnikama, instrumentima i rastvaračima, kao i o biljnom materijalu, predstavljeni su postupci izolovanja svih jedinjenja i navedeni njihovi spektralni podaci, a dati su i podaci koji se tiču ispitivanja bioloških aktivnosti.



# **1. OPŠTI DEO**

## 1.1. Familija Euphorbiaceae

Familija mlečika u najširem smislu (Euphorbiaceae *s.l.*) jedna je od najvećih i najbrojnijih biljnih familija dikotiledonih skrivenosemenica koju čini pet podfamilija, 49 tribusa, 317 rodova i više od 8.000 vrsta.<sup>1</sup> U Srbiji su spontano zastupljena samo dva roda, *Euphorbia* i *Mercurialis*. Na Balkanskom poluostrvu sreću se spontano ili supspontano i sledeći rodovi ove familije: *Andrachne* L., *Chrozophora* Neck. i *Ricinus* L.<sup>2</sup>

Familija Euphorbiaceae je veoma raznovrsna – njeni članovi su jednogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, žbunovi i drveće sa listovima koji, po pravilu, imaju zalistke, kao i biljke kaktusolikog izgleda, sukulenti, često redukovanih listova, pri čemu osovina izdanka preuzima ulogu fotosinteze.<sup>2,3</sup> Članovi ove familije su rasprostranjeni širom kopnenog dela zemljine kugle i rastu na skoro svim staništima, u veoma različitim klimatskim uslovima i na zemljištima različitog kvaliteta – neki od njih naseljavaju predele tropske klime i preživljavaju u toplim i suvim pustinjama, a neki drugi su stanovnici kišnih šuma.

Nekoliko vrsta iz ove familije ima veliki ekonomski značaj i komercijalno se uzgaja, uključujući *Ricinus communis* L., čije seme je sirovina za izolovanje ricinusovog ulja, *Manihot esculenta* Crantz (manioka ili kasava), čiji se krtolasti koren koristi za dobijanje brašna, hleba i pića,<sup>4,5,6</sup> *Hevea brasiliensis* Willd. Ex. A. Juss (kaučukovo drvo), čiji se lateks koristi kao sirovina za proizvodnju guma, *Mallotus philippinensis* Muell., koji se koristi za proizvodnju crvene boje, *Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw (Syn. *Aleurites fordii* Hemsl.), iz čijeg semena se izoluje tungovo ulje. Neke vrste se gaje kao ukrasne biljke, npr. *Euphorbia pulcherrima* Willd., *Euphorbia milii* Des Moul i *Euphorbia obesa*, a mnoge vrste, kao što su *Euphorbia esula* L., *Euphorbia maculata* L. i *Triadica sebifera*, su korovi koji rastu na obradivom zemljištu i predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i stoke. Vrste familije Euphorbiaceae se koriste i za proizvodnju biodizela, između ostalih *Euphorbia tirucalli*,<sup>7,8</sup> *Euphorbia lathyris*,<sup>7</sup> *Jatropha curcas*,<sup>9,10,11,12</sup> *M. esculenta*<sup>13</sup> i *R. communis*.<sup>14,15</sup> U mnogo manjoj meri se koriste za ogrev, kao sirovine u zanatstvu, i za pošumljavanje zemljišta.<sup>16</sup>

Pojedine vrste mlečika, poput *E. esula*, služe kao hrana za larve nekih Lepidoptera (leptiri i moljci), kao što su *Hyles euphorbiae* i *Hyles tithymali*.

S obzirom na široku rasprostranjenost, veliku raznovrsnost i brojnost, vrste familije Euphorbiaceae su veoma pogodan materijal za naučno-istraživački rad.



Slika 1. Odabrani članovi familije Euphorbiaceae: *Ricinus. communis*,<sup>17</sup> *Vernicia fordii*,<sup>18</sup> *Hevea brasiliensis*,<sup>19</sup> *Manihot esculenta*,<sup>20</sup> *Euphorbia obesa*,<sup>21</sup> *Euphorbia pulcherrima*,<sup>22</sup> *Euphorbia milii*,<sup>23</sup> *Euphorbia esula*,<sup>24</sup> *Euphorbia maculata*,<sup>25</sup> *Triadica sebifera*.<sup>26</sup>

### 1.1.1. Opšte karakteristike familije Euphorbiaceae

Listovi Euphorbiaceae su većinom naizmenični, ređe naspramni sa sporednim listićima. Uglavnom su jednostavni, ali na spojevima sa stablom su uvek zrakasti, nikad perasti. Sporedni listići se javljaju u obliku dlačica, žlezda ili bodlji, a neke vrste (sukulente) ih ni ne poseduju. Građa cveta i cvasti je vrlo raznovrsna. Cvasti su većinom složene, ređe proste, sa malo cvetova ili su cvetovi sakupljeni u zajedničkom čašicolikom omotaču, čime se obrazuje specifična cvast – cijatijum. Retki su dvopolni cvetovi sa dvojnim cvetnim omotačem; cvetovi su uglavnom jednopolni, a biljke jednodome ili dvodome. Cvetni omotač ili uopšte nije razvijen ili ga čine i čašični i krunični listići ili samo čašični listići koji se oblikom i veličinom razlikuju kod muških i ženskih cvetova. Broj prašnika je različit, od jednog do mnogo, često koliko i listića cvetnog omotača. Filamenti su slobodni ili srasli. Cvetovi su tučkasti sa staminodijama ili bez njih. Plodnik ima tri oplodna listića; većinom je trook, ređe dvook (retko jednook ili višeok) sa najčešće jednim, retko dva anatrofna viseća semena zametka u svakom okcu. Stubići su slobodni ili srasli, a većinom su na vrhu razdvojeni na dva režnja (retko na više). Plod je najčešće čahura koja se raspada na tri dela, a ponekad može biti bobičast ili koštuničast. Semena obično ima koliko i semenih zametaka.<sup>2</sup>

## 1.2. Rod *Euphorbia*

*Euphorbia* je rod jednogodišnjih, dvogodišnjih ili višegodišnjih cvetnica koje su članovi familije Euphorbiaceae (podfamilija Euphorbioideae, tribus Euphorbieae, subtribus Euphorbiinae Griseb.). Sa više od 2.000 vrsta jedan je od najvećih i najraznovrsnijih rodova ne samo u svojoj familiji, već u celom biljnom carstvu.<sup>27</sup>

Vrste koje su članovi roda *Euphorbia* najčešće rastu u tropskim i subtropskim predelima, ali se sreću i u umerenoj zoni. Indikatori su suve klime. Pored vrsta sa vrlo širokim, postoji i znatan broj onih sa ograničenim arealom rasprostranjenosti, od kojih se neke nalaze samo na pojedinim ostrvima kao endemiti.<sup>2</sup>

Morfološki su vrlo raznolike – mogu biti veliki pustinjski kaktusoliki sukulenti, drveće, žbunovi, ali i male zeljaste biljke.<sup>3</sup> Vrste ovog roda odlikuju se i nekim

zajedničkim morfološkim osobinama: obično su blede zelene boje i imaju specifičnu građu cveta i cvasti. Cvetovi su jednopolni – jedan ženski i više muških cvetova sakupljeni su u zajednički omotač i grade specifičnu složenu cvast – cijatijum. Svaki cijatijum je izgrađen od jednog središnjeg ženskog cveta (trokarpelni tučak na dugačkoj dršci) koji je savijen naniže i opkoljen sa više prašnika, pri čemu svaki pojedinačni prašnik predstavlja muški cvet. Cela ova cvast obavijena je zajedničkim peharastim omotačem. Omotač na gornjoj ivici ima pet uspravnih ili untrasavijenih zubaca (brakteje), koji služe kao krunični listići i između kojih se nalazi 4 – 5 poprečno jajastih ili ovalnih ili polumesečastih žlezda (nektarije). Listovi su uglavnom naizmenično, ređe naspramno, raspoređeni na stabljici; obično su prosti sa zaliscima i celi.<sup>2</sup> U stablu i listovima se nalaze mlečne cevi u kojima se, u velikoj količini, nalazi mlečni sok – lateks koji je bogat terpenima.<sup>3</sup>

Lateks je verovatno nastao kako bi se biljke odbranile od biljojeda. Prema tome, ima odbrambenu ulogu – otrovan je za biljojede, odbija insekte, a deluje i kao iscelitelj rana biljaka koje ga luče. Kod većine vrsta je beo ili bezbojan, ali može biti i žute boje (*Euphorbia abdelkuri*). Iz biljke ističe kada se ona mehanički ošteti. Kada lateks dođe u dodir sa vazduhom, posle nekoliko minuta očvršćava i više nije rastvoran u vodi. Hemijski sastav lateksa (diterpenski i/ili triterpenski estri) se razlikuje od vrste do vrste i od njega zavisi koliko je pojedina vrsta otrovna. Neke komponente lateksa deluju kao iritanti za kožu i sluzokožu, i mogu uzrokovati veoma bolna zapaljenja, pa u radu sa njima treba biti veoma obazriv.

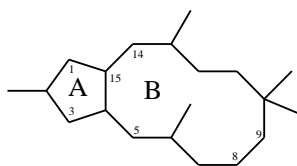
### 1.3. Jatrofani izolovani iz familije Euphorbiaceae

Kako bi se prilagodile raznolikim životnim uslovima i opstale, vrste iz familije Euphorbiaceae proizvode veoma raznovrsne sekundarne metabolite. Iz korena, nadzemnih delova, drvenastih stabala, kore, mlečnih cevi, lateksa, listova, semena, kao i celih biljaka izolovani su različiti terpeni (seskviterpeni, diterpeni i triterpeni), steroidi, cerebrozidi, gliceroli i fenolna jedinjenja (floracetofenoni, flavonoidi, tanini, kumarini).<sup>28</sup>

Glavni sekundarni metaboliti diterpenskog tipa zastupljeni u vrstama familije Euphorbiaceae su „niži“ diterpeni različitih skeletnih tipova, kao što su kazbani, jatrofani, *abeo*-jatrofani, latirani, mirsinani, ciklomirsinani, jatrofolani, krotofolani, ramnofolani, dafnani, tiglijani, ingenani, segetani, paralijsani, pepluani, euforaktini, mada ove vrste proizvode i nespecifične „više“ diterpene poput bicikličnih labdana i klerodana, tricikličnih abijetana, izopimarana i pimarana, i tetracikličnih bajerana, atisana i kaurana.<sup>28,29</sup> „Niži“ diterpeni se, osim u vrstama iz familije Euphorbiaceae, mogu naći i u vrstama iz familije Thymeleaceae, dok se „viši“ diterpeni nalaze u mnogim biljnim familijama.<sup>29</sup> Triterpenski alkoholi izolovani iz lateksa vrsta ove familije se koriste kao hemotaksonomski markeri.<sup>30,31</sup>

Euforbijasteroid je prvi diterpen izolovan iz vrste koja je član familije Euphorbiaceae (rod *Euphorbia*) i dobijen je 1937. iz ulja semena *E. lathyris*.<sup>32</sup> Njegova struktura, sa tricikličnim latiranskim skeletom, određena je 1970.<sup>33,34</sup> Kasnije je iz ovog roda izolovan veliki broj diterpena čije su strukture veoma raznovrsne, što je posledica raznolikosti njihovih ugljeničnih skeleta, prirode supstituenata (estarske, olefinske, keto, laktonske i druge grupe), stepena supstituisanosti, ali i stereohemijske kompleksnosti.

Vrste iz roda *Euphorbia* su izuzetno bogat izvor jatrofana, makrocikličnih diterpena osnovne *trans*-biciklo[10.3.0]pentadekanske strukture (Slika 2), za koje je karakteristično postojanje veoma fleksibilnog dvanaestočlanog prstena.<sup>35</sup> To su veoma funkcionalizovana, različito oksigenovana jedinjenja; u biljkama se obično nalaze u obliku polihidroksilovanih diterpena supstituisanih različitim acil grupama (acetil, propanoil, *n*-butanoil, izobutanoil, izovaleril, angeloil, tigloil, benzoil, nikotinoil, itd.), zbog čega su poznati i pod nazivom jatrofanski poliestri.



Slika 2. Osnovni strukturni skelet jatrofana.

Obimno fitohemijsko istraživanje familije Euphorbiaceae rezultiralo je otkrićem velikog broja strukturno jedinstvenih makrocikličnih diterpena jatrofanskog tipa. Na osnovu dostupnih literaturnih podataka, do sada je izolovano 288 različitih jatrofana i to uglavnom iz vrsta roda *Euphorbia* (284), dok je iz vrsta koje su članovi drugih rodova familije Euphorbiaceae (rod *Jatropha*) izolovano samo četiri jatrofana. Ovi jatrofani su, prema nekim zajedničkim strukturnim karakteristikama, razvrstani u 16 grupa (Tabele 1 – 16). U tabelama koje slede koriste se sledeće skraćenice:

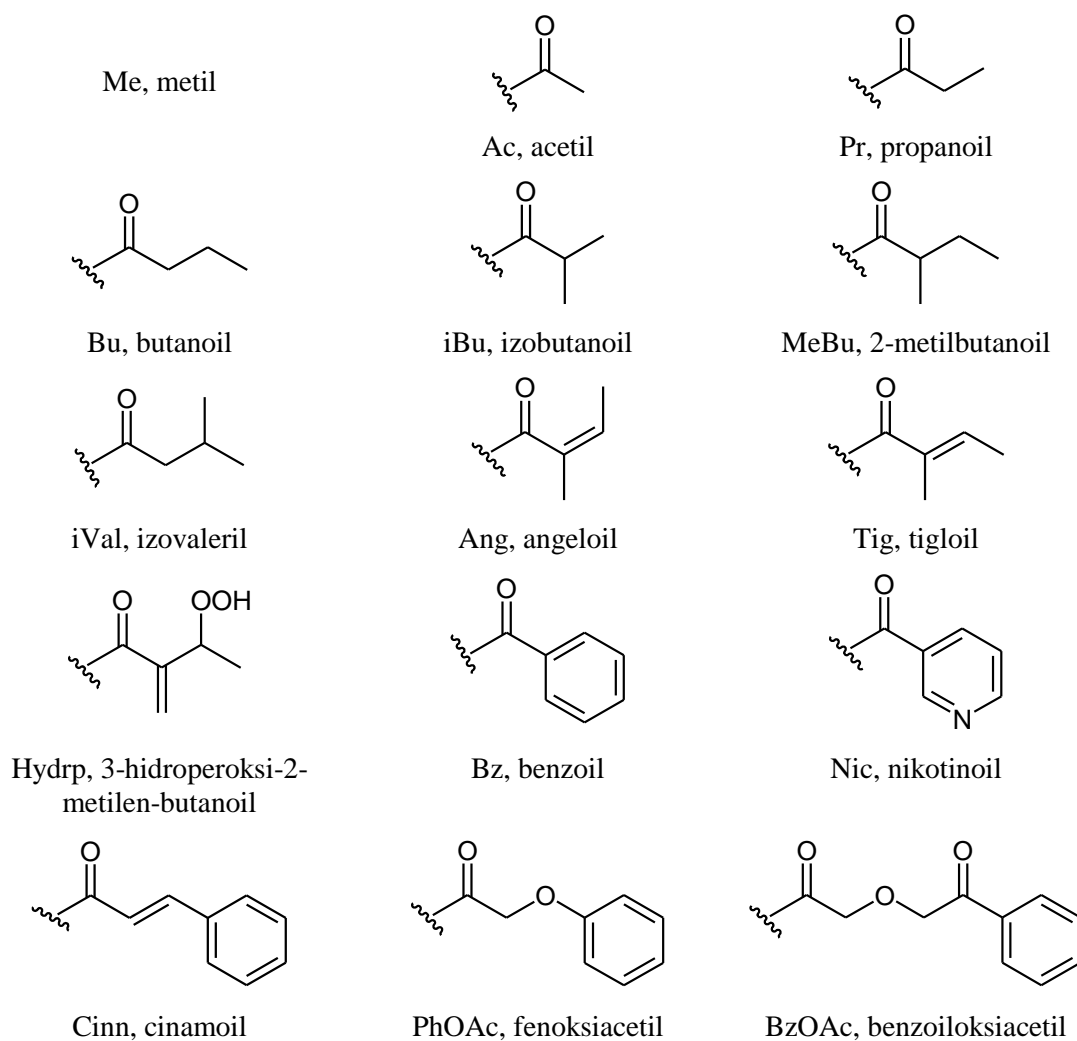


Tabela 1. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom.

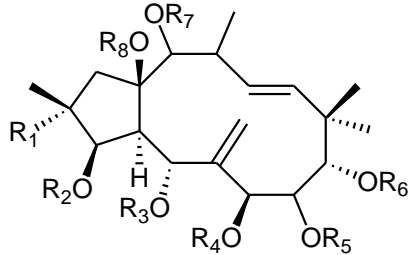
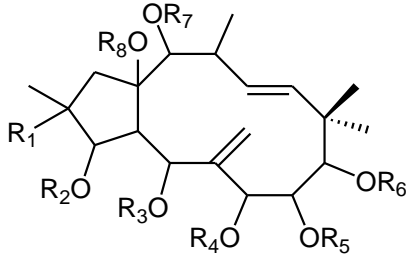
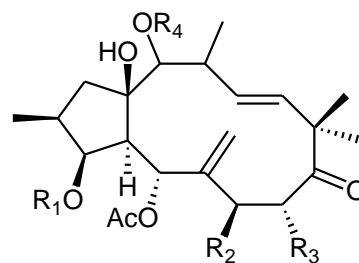
														
		1-14						15-19						
Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	OR <sub>2</sub>	OR <sub>3</sub>	OR <sub>4</sub>	OR <sub>5</sub>	OR <sub>6</sub>	OR <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	20-Me	Biljna vrsta i ref			
1	14-acetoksi-7-izobutanoiloksi-5,8-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11E-dien-3,9,15-triol	H- $\alpha$	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	iBu- $\alpha$	MeBu- $\alpha$	H- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>			
2	14-acetoksi-5,7-diizobutanoiloksi-8-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11E-dien-3,9,15-triol	H- $\alpha$	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	iBu- $\beta$	MeBu- $\alpha$	H- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>			
3	14-acetoksi-5,7-diizobutanoiloksi-8-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11E-dien-3,9,15-triol	H- $\alpha$	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	iBu- $\beta$	MeBu- $\beta$	H- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>			
4	2,5,14-triacetoksijatrofa-3-benzoiloksi-7-izobutanoiloksi-9-nikotinoiloksi-6(17),11E-dien-8,15-diol	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	iBu- $\beta$	H- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>38</sup>			
5	2,5,7,8,9,14-heksaacetoksijatrofa-3-benzoiloksi-6(17),11E-dien-15-ol	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>38</sup>			
6	2,5,9,14-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-7-izobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-8,15-diol	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	iBu- $\beta$	H- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>38</sup>			
7	2,5,7,14-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-9-nikotinoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-8,15-diol	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>38</sup>			
8	2,5,7,9,14-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-8,15-diol	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>38,39</sup>			
9	pepluanin A	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>40</sup>			



Tabela 1. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom (nastavak).

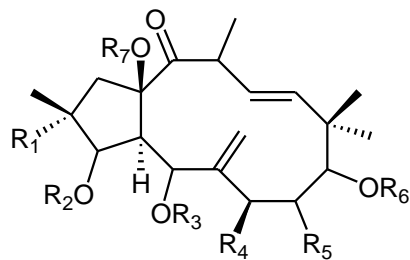
10	pepluanin B	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	MeBu- $\beta$	H- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>40</sup>
11	pepluanin C	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	iBu- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>40</sup>
12	eufopeplin A	OAc- $\alpha$	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	iBu- $\beta$	Ac- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>41</sup>
13	7,8,9,15-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-2-izobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-5,14-diol	OiBu- $\alpha$	Bz- $\beta$	H- $\alpha$	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H- $\beta$	Ac	$\alpha$	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
14	3,5,8,9-tetraacetoksi-14-benzoiloksi-2,7-diizobutanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol	OiBu- $\alpha$	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	iBu- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Bz- $\beta$	H	$\alpha$	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
15	2,3,8,9-tetraacetoksi-14-benzoiloksi-7-izobutanoiloksi-5-propanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol <sup>a</sup>	OAc	Ac	Pr	iBu	Ac	Ac	Bz	H	/	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>
16	2,3,8,9-tetraacetoksi-14-benzoiloksi-5-izobutanoiloksi-7-propanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol <sup>a</sup>	OAc	Ac	iBu	Pr	Ac	Ac	Bz	H	/	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>
17	2,3,8,9,14-pentaacetoksi-5-benzoiloksi-7-izobutanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol <sup>a</sup>	OAc	Ac	Bz	iBu	Ac	Ac	Ac	H	/	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>
18	2,3,8,9-tetraacetoksi-5,14-dibenzoiloksi-7-izobutanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol <sup>a</sup>	OAc	Ac	Bz	iBu	Ac	Ac	Bz	H	/	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>
19	2,3,8,9-tetraacetoksi-14-benzoiloksi-5,7-diizobutanoiloksjatrofa-6(17),11E-dien-15-ol <sup>a</sup>	OAc	Ac	iBu	iBu	Ac	Ac	Bz	H	/	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>

<sup>a</sup> Relativna konfiguracija jedinjenja nije određena.

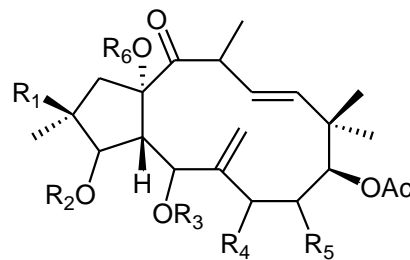
Tabela 2. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 9.

20-29

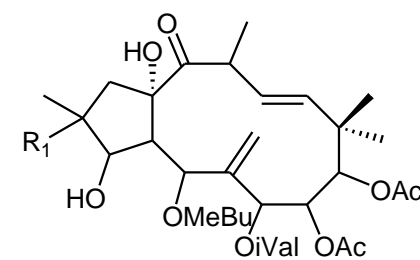
Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
20	5,7,8,14-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	OAc	Ac- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
21	5,7,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksi-8-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	OiBu	Ac- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
22	5,7-diacetoksi-3-benzoiloksi-8,14,15-trihidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	OH	H- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
23	5,7,8-triacetoksi-3-benzoiloksi-14,15-dihidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	OAc	H- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
24	5,7,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-8,15-dihidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	OH	Ac- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
25	5,7,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	H	Ac- $\beta$	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
26	gujonianin E	Bz	H	H	Ac- $\alpha$	$\alpha$	<i>E. guyoniana</i> <sup>45</sup>
27	5,7,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9-on	Bz	OAc	H	Ac- $\beta$	$\alpha$	<i>E. hyberna</i> subsp. <i>insularis</i> <sup>46</sup> <i>E. semiperfoliata</i> <sup>47</sup>
28	tukejanol A	Ac	OMeBu	OAc	Bz- $\beta$	$\beta$	<i>E. tuckeyana</i> <sup>48</sup>
29	tukejanol B	Ac	iBu	OAc	Bz- $\beta$	$\beta$	<i>E. tuckeyana</i> <sup>48</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14.

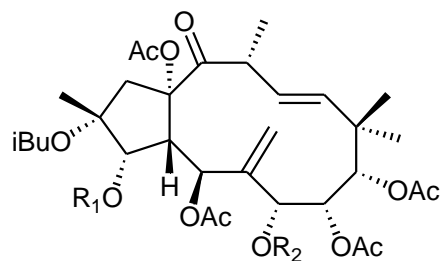
30-94



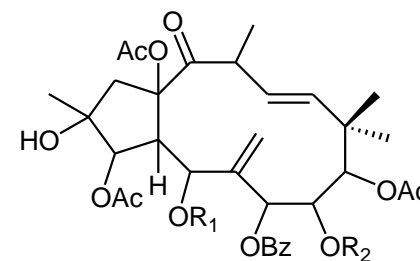
95-100



101, 102



103-106



107-109

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	20-Me	Biljna vrsta i ref
30	3,9,15-trihidroksi-5,7,8-triizobutanoiloksijatrofa-6(17), 11E-dien-14-on	H	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	OiBu	OiBu- $\beta$	H	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
31	3,9,15-trihidroksi-7-izobutanoiloksi-5,8-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17), 11E-dien-14-on	H	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OiBu	OMeBu- $\beta$	H	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
32	3,9,15-trihidroksi-5,7-diizobutanoiloksi-8-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17), 11E-dien-14-on	H	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	OiBu	OMeBu- $\beta$	H	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
33	1,5,8,9-tetraacetoksi-2-benzoiloksiacetoksi-7-izobutanoiloksijatrofa-6(17), 11E-dien-14-on	OAc	BzOAc- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OAc- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
34	5-acetoksi-3-benzoiloksi-9-cinamoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17), 11E-dien-14-on	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	H	Cinn- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14 (nastavak).

35	5-acetoksi-3,9-dicinamoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-14-on	H	Cinn- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	H	Cinn- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
36	3,9,15-trihidroksi-5,7,8-tris(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	H	H	MeBu- $\alpha$	OMeBu	OMeBu- $\alpha$	H	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
37	3,9,15-trihidroksi-5,7,8-triizobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11-dien-14-on	H	H	iBu- $\alpha$	OiBu	OiBu- $\alpha$	H	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
38	3,9,15-trihidroksi-7-izobutanoiloksi-5,8-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	H	H	MeBu- $\alpha$	OiBu	OMeBu- $\alpha$	H	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
39	3,9,15-trihidroksi-5,7-diizobutanoiloksi-8-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	H	H	iBu- $\alpha$	OiBu	OMeBu- $\alpha$	H	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
40	pepluanin D	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc	H	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>40</sup>
41	pepluanin E	OAc	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OH- $\alpha$	Nic- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>40</sup>
42	2,3,5,8,9,15-heksaacetoksi-7-benzoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-14-on	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
43	3,5,8,9,15-pentaacetoksi-7-benzoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-14-on-e	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
44	3,5,7,8,9,15-heksaacetoksi-2-benzoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-14-on	OBz	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
45	3-acetoksi-5,9,15-trihidroksi-7-izobutanoiloksi-8-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11E-dien-14-on	H	Ac- $\beta$	H- $\alpha$	OiBu	OMeBu- $\alpha$	H	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
46	5,7,8,9,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksi-jatrofa-6(17),11E-dien-14-on	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>50</sup> <i>E. bungei</i> <sup>51</sup>
47	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-2,5-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
48	7,8,9-triacetoksi-3,7,8,9,15-pentahidroksi-2-izobutanoiloksi-5-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OiBu	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
49	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-2-nikotinoiloksi-5-(2-metilbutanoiloksi)jatropha-6(17),11-dien-14-on	ONic	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14 (nastavak).

50	8,9-diacetoksi-3,15-dihidroksi-7-izobutanoiloksi-2,5-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
51	2,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-7-izobutanoiloksi-5-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OAc	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
52	7,9-diacetoksi-8-benzoiloksi-5,8,15-trihidroksi-2,3-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	MeBu- $\beta$	H- $\alpha$	OAc	OBz- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
53	8,9-diacetoksi-5,15-dihidroksi-7-izobutanoiloksi-2,3-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	MeBu- $\beta$	H- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>52</sup>
54	2,3,8,9-tetraacetoksi-15-hidroksi-5,7-diizobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OAc	Ac- $\beta$	iBu- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
55	2,3,8,9-tetraacetoksi-5-benzoiloksi-15-hidroksi-7-izobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OAc	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
56	2,5,8,9-tetraacetoksi-3-(benzoiloksiacetoksi)-15-hidroksi-7-izobutanoiloksi-jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OAc	BzOAc- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
57	eufodendroidin A	OAc	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
58	eufodendroidin B	OAc	H- $\beta$	MeBu- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
59	eufodendroidin C	OAc	H- $\beta$	Nic- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
60	eufodendroidin D	H	H- $\beta$	iBu- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
61	eufodendroidin E	H	Ac- $\beta$	iBu- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
62	eufodendroidin F	OH	Ac- $\beta$	iBu- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
63	eufodendroidin G	OAc	Nic- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
64	eufodendroidin H	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14 (nastavak).

65	eufodendroidin I	ONic	Ac- $\beta$	iBu- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53</sup>
66	2,5,8,9-tetraacetoksi-3-(fenoksiacetoksi)-15-hidroksi-7-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	OAc	PhOAc- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. dendroides</i> <sup>53,54</sup>
67	altotibetin A	H	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>50</sup> <i>E. altotibetic</i> <sup>55</sup>
68	altotibetin B	H	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. altotibetic</i> <sup>55</sup>
69	altotibetin C	OH	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OAc	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. altotibetic</i> <sup>55</sup>
70	altotibetin D	OH	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OBu	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. altotibetic</i> <sup>55</sup>
71	eufotukejanol	OBz	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBz	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. tuckeyana</i> <sup>48</sup>
72	eufoharakin A	OH	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
73	eufoharakin B	OH	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
74	eufoharakin C	OH	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Bz- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
75	eufoharakin D	OH	MeBu- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
76	eufoharakin E	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
77	eufoharakin F	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
78	eufoharakin G	H	iBu- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
79	eufoharakin H	H	iBu- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14 (nastavak).

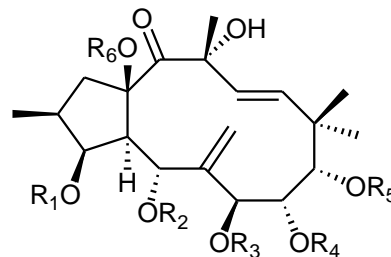
<b>80</b>	eufoharakin I	H	Pr- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
<b>81</b>	eufoharakin J	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
<b>82</b>	eufoharakin K	H	iBu- $\beta$	H- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
<b>83</b>	eufoharakin L	OH	Bz- $\beta$	H- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>56</sup>
<b>84</b>	esulatin K	ONic	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
<b>85</b>	esulatin L	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
<b>86</b>	esulatin M	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
<b>87</b>	esulatin D	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Ac- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>58</sup>
<b>88</b>	esulatin F	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>59</sup>
<b>89</b>	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-9-nikotinoiloksijatropa-6(17), 11E-dien-14-on	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. peplus</i> <sup>38,39,40</sup> <i>E. esula</i> <sup>57</sup>
<b>90</b>	3,5,7,15-tetraacetoksi-9-nikotinoiloksijatropa-6(17), 11E-dien-14-on	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. peplus</i> <sup>60</sup>
<b>91</b>	2,5,8-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksi-7-izobutanoiloksi-9-nikotinoiloksijatropa-6(17),11E-dien-14-on	OAc	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	Nic- $\alpha$	H	$\alpha$	<i>E. peplus</i> <sup>61</sup>
<b>92</b>	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-9-nikotinoiloksijatropa-6(17), 11E-dien-14-on	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Nic- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. peplus</i> <sup>61</sup>
<b>93</b>	gujonianin C	ONic	Ac- $\alpha$	Bz- $\beta$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. guyoniana</i> <sup>62</sup>
<b>94</b>	gujonianin D	H	Bz- $\alpha$	Ac- $\beta$	H	H	Ac- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. guyoniana</i> <sup>62</sup>

Tabela 3. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14 (nastavak).

95	gujonianin A	ONic	Ac- $\alpha$	Bz- $\beta$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. guyoniana</i> <sup>63</sup>
96	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-7-izovaleriloksi-5-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OiVal	H- $\alpha$	MeBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
97	8,9-diacetoksi-5,15-dihidroksi-7-izovaleriloksi-2,3-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	MeBu- $\alpha$	H- $\beta$	OiVal- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
98	7,9-diacetoksi-8-benzoiloksi-5,15-dihidroksi-3-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	MeBu- $\alpha$	H- $\beta$	OAc- $\alpha$	OBz- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
99	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-5-(2-metilbutanoiloksi)-2-nikotinoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	ONic	H- $\alpha$	MeBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
100	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-2,5-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on	OMeBu	H- $\alpha$	MeBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
101	7,8,9-triacetoksi-3,15-dihidroksi-7-izovaleriloksi-5-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on <sup>a</sup>	OAc	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
102	8,9-diacetoksi-3,15-dihidroksi-7-izovaleriloksi-2,5-bis(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-dien-14-on <sup>a</sup>	OMeBu	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. obtusifolia</i> <sup>64</sup>
103	5,7,8,9,15-pentaacetoksi-2-izobutanoiloksi-3-nikotinoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	Nic	Ac	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
104	5,8,9,15-tetraacetoksi-2,7-diizobutanoiloksi-3-nikotinoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	Nic	iBu	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
105	5,8,9,15-tetraacetoksi-2,7-diizobutanoiloksi-3-benzoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	Bz	iBu	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
106	5,7,8,9,15-pentaacetoksi-2-izobutanoiloksi-3-benzoiloksijatrofa-6(17),11-dien-14-on	Bz	Ac	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>42</sup>
107	3,5,9,15-tetraacetoksi-7,8-dibenzoiloksi-2-hidroksijatrofa-6(17),11-dien-14-on <sup>a</sup>	Ac	Bz	/	/	/	/	/	/	<i>E. sieboldiana</i> <sup>65</sup>
108	3,5,8,9,15-pentaacetoksi-7-benzoiloksi-2-hidroksijatrofa-6(17),11-dien-14-on <sup>a</sup>	Ac	Ac	/	/	/	/	/	/	<i>E. sieboldiana</i> <sup>65</sup>
109	sieboldanin A <sup>a</sup>	Bz	Ac	/	/	/	/	/	/	<i>E. sieboldiana</i> <sup>65</sup>

<sup>a</sup> Relativna konfiguracija jedinjenja nije određena.



Tabela 4. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom, karbonilnom grupom u položaju 14 i hidroksilnom grupom u položaju 13.

## 110-121

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Biljna vrsta i referenca
110	amigdaloidin A	Ac	Ac	Ang	Ang	Nic	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
111	amigdaloidin B	Ang	H	Ang	Ac	Nic	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
112	amigdaloidin C	Hydrp	H	Ang	Ac	Nic	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
113	amigdaloidin D	Ang	H	Ang	Ac	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
114	amigdaloidin E	Ang	H	Hydrp	Ac	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
115	amigdaloidin F	Ang	H	Hydrp	Ac	Ac	Ac	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
116	amigdaloidin G	Ang	Ac	H	Hydrp	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
117	amigdaloidin H	Hydrp	Ac	H	Ang	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
118	amigdaloidin I	Ac	Hydrp	H	Ang	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
119	amigdaloidin J	Hydrp	Ac	Ang	H	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
120	amigdaloidin K	Ac	Hydrp	Ang	H	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>
121	amigdaloidin L	Ang	Ac	Hydrp	H	Ac	H	<i>E. amygdaloides</i> <sup>66</sup>

Tabela 5. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položajima 9 (ili 8) i 14.

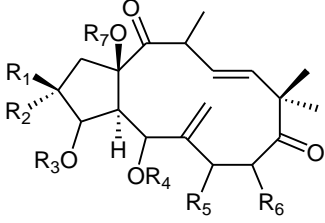
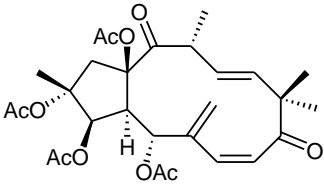
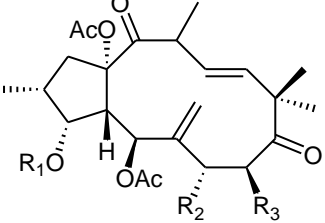
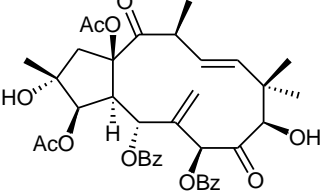
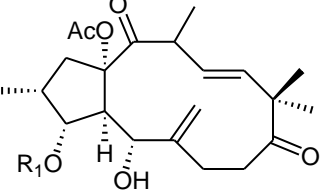
										
		122-157	158	159-161	162	163-165				
Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
122	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OiBu- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
123	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-tigloiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OTig- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>67</sup> <i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
124	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OBz- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
125	3,5,7,8,15-pentaacetoksi-2-nikotinoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	ONic	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
126	2,3,5,8,15-pentaacetoksi-7-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBz- $\beta$	OBz- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
127	2,3,5,8,15-pentaacetoksi-7-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup> <i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
128	3,5,7,8,15-pentaacetoksi-2-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OBz	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
129	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OH- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>
130	2,3,5,15-tetraacetoksi-7-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	H	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup>

Tabela 5. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položajima 9 (ili 8) i 14 (nastavak).

131	esulatin B	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Ac	$\alpha$	<i>E. semiperfoliata</i> <sup>44</sup> <i>E. esula</i> <sup>68</sup>
132	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OiBu- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup>
133	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-angeloiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAng- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup>
134	3,5,7,15-tetraacetoksi-8-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OiBu- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup>
135	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-(2-metilbutanoiloksi)-jatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OMeBu- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup>
136	2,3,5,7,15-pentaacetoksi-8-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OBz- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup>
137	2,3,5,7,8,15-heksaacetoksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion (SJ23B)	Me	OAc	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. paralias</i> <sup>69</sup> <i>E. hyberna</i> <sup>46</sup>
138	3,5,7,8,15-pentaacetoksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\alpha$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
139	3,5,8,15-tetraacetoksi-7-izobutanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
140	3,7,8,15-tetraacetoksi-5-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. bungei</i> <sup>51</sup>
141	3,8,15-triacetoksi-5,7-dibenzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OBz- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. bungei</i> <sup>51</sup>
142	5,7,8-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	OAc- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>50</sup>
143	5,8,15-triacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	H	Me	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. hyberna</i> <sup>70</sup>
144	3,5,8,15-tetraacetoksi-7-benzoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBz- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>49</sup>
145	eufopubescenol	Me	H	Bz- $\alpha$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. pubescens</i> <sup>71</sup>

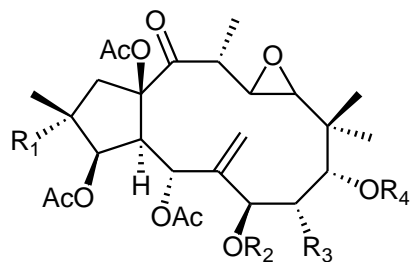
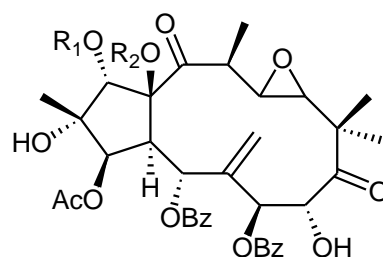
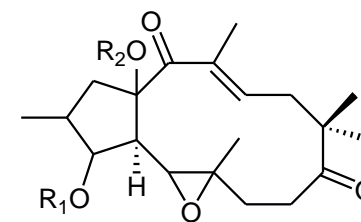
Tabela 5. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položajima 9 (ili 8) i 14 (nastavak).

146	pubescenol	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	H	OAc- $\beta$	Ac	$\alpha$	<i>E. pubescens</i> <sup>72</sup>
147	5,6-diacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17), 11E-dien-9,14-dion	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	H	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>73</sup>
148	5,7-diacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksi-6-propanoil-oksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OPr- $\beta$	OAc- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>73</sup>
149	5,7-diacetoksi-3-benzoiloksi-6-butanoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>73</sup>
150	5,7-diacetoksi-3-benzoiloksi-6-izobutanoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Me	H	Bz- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OAc- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. mongolica</i> <sup>73</sup>
151	esulatin I	Me	OBz	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OAc- $\beta$	H	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
152	esulatin J	Me	OBz	Ac- $\beta$	Ac- $\alpha$	OiBu- $\beta$	H	Ac	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
153	enukokurin A	Me	H	Pr- $\beta$	Bz- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OH- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. lateriflora</i> <sup>74</sup>
154	enukokurin B	Me	H	Pr- $\beta$	iBu- $\alpha$	OiBu- $\beta$	OH- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. lateriflora</i> <sup>75</sup>
155	enukokurin C	Me	H	Pr- $\beta$	Bz- $\alpha$	OPr- $\beta$	OH- $\alpha$	H	$\beta$	<i>E. lateriflora</i> <sup>75</sup>
156	esulon A	Me	OH	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OBz- $\beta$	OH- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. esula</i> <sup>76</sup>
157	esulon B	Me	OH	Ac- $\beta$	Bz- $\alpha$	OBz- $\beta$	OAc- $\alpha$	Ac	$\beta$	<i>E. esula</i> <sup>76</sup>
158	esulatin E	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. esula</i> <sup>58</sup>
159	gujonianin B	Bz- $\alpha$	H	H	/	/	/	/	$\beta$	<i>E. guyoniana</i> <sup>63</sup>
160	3,5,8,15-tetraacetoksi-7-propanoiloksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Ac- $\alpha$	OPr- $\alpha$	OAc- $\beta$	/	/	/	/	$\beta$	<i>E. sororia</i> <sup>43</sup>

Tabela 5. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  i endocikličnom  $\Delta^{11}$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položajima 9 (ili 8) i 14 (nastavak).

<b>161</b>	3,5,7,8,15-pentaacetoksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion	Ac- $\alpha$	OAc- $\alpha$	OAc- $\beta$	/	/	/	/	$\alpha$	<i>E. turczaninowii</i> <sup>77</sup>
<b>162</b>	esulon C	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. esula</i> <sup>76</sup>
<b>163</b>	3,15-diacetoksi-3-benzoiloksi-5-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion <sup>a</sup>	Bz- $\alpha$	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>
<b>164</b>	3,15-diacetoksi-3-tigloiloksi-5-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion <sup>a</sup>	Tig- $\alpha$	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>
<b>165</b>	3,15-diacetoksi-3-izobutanoiloksi-5-hidroksijatrofa-6(17),11E-dien-9,14-dion <sup>a</sup>	iBu- $\alpha$	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>

<sup>a</sup> Relativna konfiguracija 20-Me grupe nije određena.

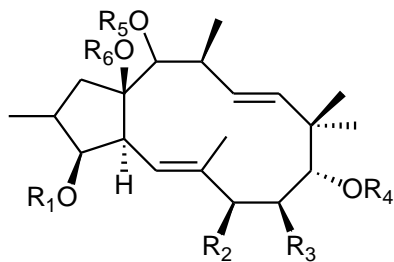
Tabela 6. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  dvostrukom vezom, karbonilnom grupom u položaju 14 i 11,12-epoksidnom grupom i jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^{12}$  dvostrukom vezom, karbonilnom grupom u položaju 14 i 5,6 epoksidnom grupom.**166-171****172, 173****174-177**

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
<b>166</b>	kansuinin E	H	Ac	OBz	Nic	/	<i>E. kansui</i> <sup>79</sup>
<b>167</b>	esulatin A	OAc	iBu	OAc	Ac	/	<i>E. esula</i> , <sup>68</sup> <i>E. salicifolia</i> <sup>80</sup>

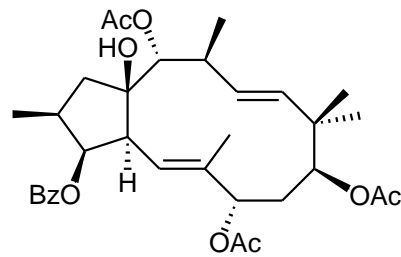
Tabela 6. Jatrofani sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  dvostrukom vezom, karbonilnom grupom u položaju 14 i 11,12-epoksidnom grupom i jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^{12}$  dvostrukom vezom, karbonilnom grupom u položaju 14 i 5,6 epoksidnom grupom (nastavak).

<b>168</b>	2,3,5,9-tetraacetoksi-11,12-epoksi-7,8-diizobutanoiloksijatrof-6(17)-en-14-on	OAc	iBu	OiBu	Ac	/	<i>E. salicifolia</i> <sup>80</sup>
<b>169</b>	2,3,5,6,9-pentaacetoksi-11,12-epoksi-8-izobutanoiloksijatrof-6(17)-en-14-on	OAc	Ac	OiBu	Ac	/	<i>E. salicifolia</i> <sup>80</sup>
<b>170</b>	kansuinin F	H	Ac	OBz	Bz	/	<i>E. kansui</i> <sup>81</sup>
<b>171</b>	kansuinin G	H	Ac	H	Nic	/	<i>E. kansui</i> <sup>81</sup>
<b>172</b>	kansuinin C	Ac- $\alpha$	H- $\beta$	/	/	/	<i>E. kansui</i> <sup>82</sup>
<b>173</b>	kansuinin B	H- $\alpha$	Ac- $\beta$	/	/	/	<i>E. kansui</i> <sup>82,83</sup>
<b>174</b>	15-acetoksi-3-benzoiloksi-5,6-epoksijatrof-12-en-9,14-dion	Bz- $\beta$	OAc- $\beta$	/	/	$\beta$	<i>E. mongolica</i> , <sup>73</sup> <i>E. characias</i> <sup>78</sup>
<b>175</b>	15-acetoksi-5,6-epoksi-3-propanoiloksijatrof-12-en-9,14-dion	Pr- $\beta$	OAc- $\beta$	/	/	$\beta$	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>
<b>176</b>	5,6-epoksi-15-hidroksi-3-tigloiloksijatrof-12-en-9,14-dion <sup>a</sup>	Tig	OH	/	/	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>
<b>177</b>	15-acetoksi-3-angeloiloksi-5,6-epoksijatrof-12-en-9,14-dion <sup>a</sup>	Ang	OAc	/	/	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>

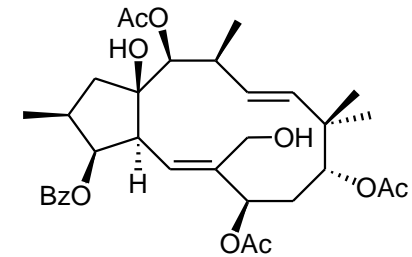
<sup>a</sup> Relativna konfiguracija jedinjenja nije određena.

Tabela 7. Jatrofani sa endocikličnim  $\Delta^5$  i  $\Delta^{11}$  dvostrukim vezama.

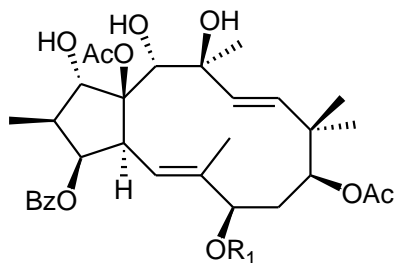
178-183



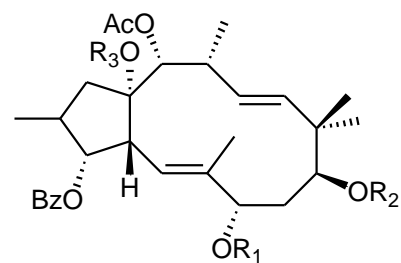
184



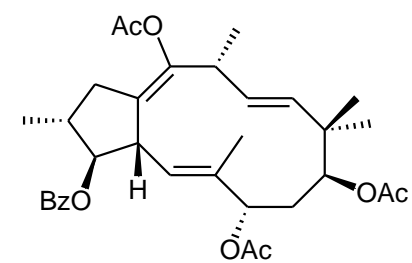
185



186, 187



188-192



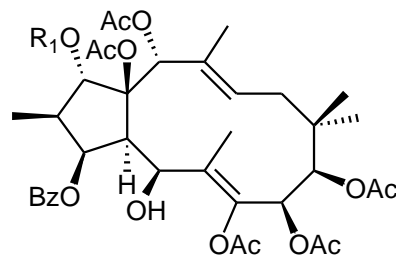
193

Broj	Naziv jedinjenja	2-Me	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Biljna vrsta i referenca
178	8,9,14,15-tetraacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-7-ol	$\alpha$	Bz	H	OAc	Ac	Ac- $\beta$	Ac	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup>
179	7,8,9,14,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien	$\alpha$	Bz	OAc	OAc	Ac	Ac- $\beta$	Ac	<i>E. platyphyllos</i> <sup>85</sup>
180	14-acetoksi-3-benzoiloksijatrofa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-7,9,15-triol	$\beta$	Bz	OH	H	H	Ac- $\beta$	H	<i>E. helioscopia</i> <sup>86</sup>
181	eufopubescen	$\alpha$	Ac	OAc	OAc	Ac	Ac- $\alpha$	Ac	<i>E. pubescens</i> <sup>71</sup>
182	eufomeliferin A	$\beta$	Bz	OAc	OAc	Ac	Ac- $\beta$	Ac	<i>E. mellifera</i> <sup>87</sup>

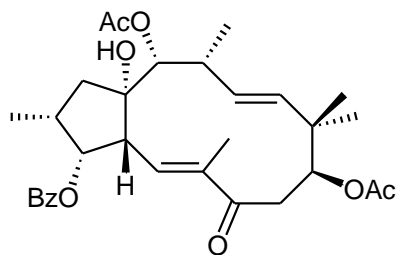
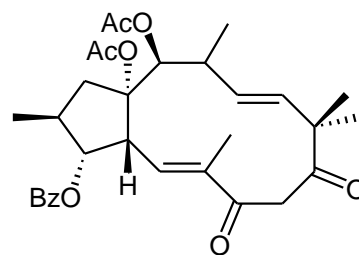
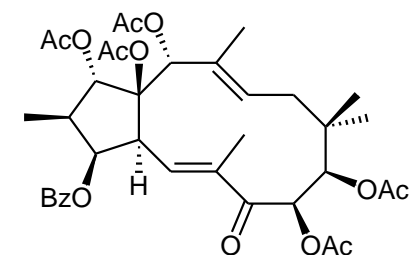
Tabela 7. Jatrofani sa endocikličnim  $\Delta^5$  i  $\Delta^{11}$  dvostrukim vezama (nastavak).

<b>183</b>	eufomeliferin B	$\beta$	Bz	OAc	OAc	Ac	Ac- $\beta$	H	<i>E. mellifera</i> <sup>87</sup>
<b>184</b>	7,9,14-triacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-5E,11E-dien-15-ol	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>88</sup>
<b>185</b>	7,9,14-triacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-5E,11E-dien-15,17-diol	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>86</sup>
<b>186</b>	9,15-diacetoksi-3,7-dibenzoiloksi-1,13,14-trihidroksijatrofa-5E,11E-dien	/	Bz	/	/	/	/	/	<i>Pedilanthus tithymaloides</i> <sup>89</sup>
<b>187</b>	9,15-diacetoksi-3-benzoiloksi-1,7,13,14-tetrahidroksijatrofa-5E,11E-dien	/	H	/	/	/	/	/	<i>P. tithymaloides</i> <sup>89</sup>
<b>188</b>	eufornin	$\alpha$	Ac	Ac	H	/	/	/	<i>E. maddeni</i> , <sup>90</sup> <i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
<b>189</b>	eufornin A	$\alpha$	H	Ac	H	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
<b>190</b>	eufornin B	$\alpha$	Ac	H	H	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
<b>191</b>	eufornin D	$\alpha$	Ac	Ac	Ac	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
<b>192</b>	eufornin L	$\beta$	H	H	Ac	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>92</sup>
<b>193</b>	eufornin E	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>



Tabela 8. Jatrofani sa endocikličnim  $\Delta^6$  i  $\Delta^{12}$  dvostrukim vezama.**194, 195**

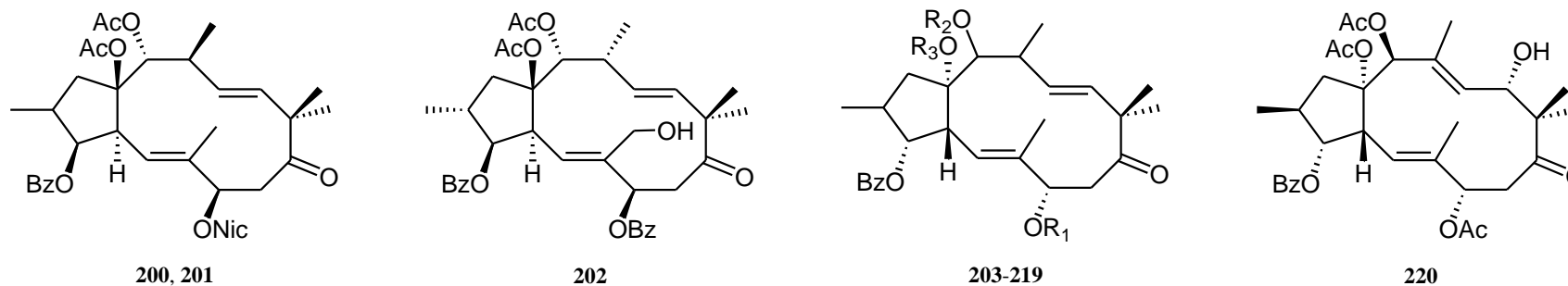
Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	Biljna vrsta i referenca
<b>194</b>	7,8,9,14,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksi-1,5-dihidroksijatrofa-6,12-dien	H	<i>P. tithymaloides</i> <sup>89</sup>
<b>195</b>	1,7,8,9,14,15-heksaacetoksi-3-benzoiloksi-5-hidroksijatrofa-6,12-dien	Ac	<i>P. tithymaloides</i> <sup>89</sup>

Tabela 9. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 7.**196****197, 198****199**

Broj	Naziv jedinjenja	20-Me	Biljna vrsta i referenca
<b>196</b>	eufornin C	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>

Tabela 9. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 7 (nastavak).

197	eufoskopin D	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
198	epieufoskopin D	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
199	1,8,9,14,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatropa-5,12-dien-7-on	/	<i>P. tithymaloides</i> <sup>89</sup>

Tabela 10. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 9.

Broj	Naziv jedinjenja	2-Me	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
200	eufoheliosnoid A	$\alpha$	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,93</sup>
201	eufoheliosnoid B	$\beta$	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,93</sup>
202	14,15-diacetoksi-3,7-dibenzoiloksi-17-hidroksijatropa-5 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-9-on	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>86</sup>
203	eufoskopin A	$\beta$	H	Ac- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
204	epieufoskopin A	$\beta$	H	Ac- $\beta$	Ac	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>

Tabela 10. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 9 (nastavak).

205	eufoskopin B	$\beta$	Ac	Ac- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
206	epieufoskopin B	$\beta$	Ac	Ac- $\beta$	Ac	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
207	eufoskopin C	$\beta$	Bz	Ac- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
208	eufoskopin G	$\beta$	H	Ac- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
209	eufoskopin H	$\beta$	Ac	Ac- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
210	eufoskopin I	$\beta$	H	H- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
211	eufoskopin J	$\beta$	Ac	H- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
212	eufoskopin K	$\beta$	Ac	H- $\beta$	H	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
213	eufornin F	$\alpha$	H	Ac- $\alpha$	H	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
214	eufornin G	$\alpha$	Ac	Ac- $\alpha$	H	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
215	eufornin H	$\alpha$	Ac	Ac- $\alpha$	Ac	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
216	eufornin I	$\alpha$	H	Ac- $\alpha$	Ac	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
217	eufornin J	$\alpha$	Ac	Ac- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
218	eufornin K	$\alpha$	H	Ac- $\beta$	Ac	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
219	eufornin N	$\alpha$	Ac	Ac- $\alpha$	Ac	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>94</sup>
220	eufoheliosnoid C	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,93</sup>

Tabela 11. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položajima 9 i 14.

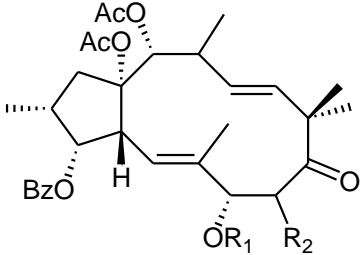
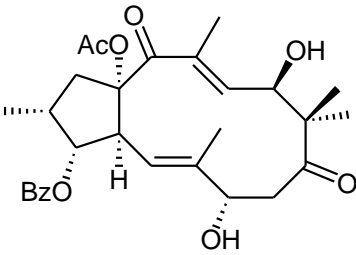
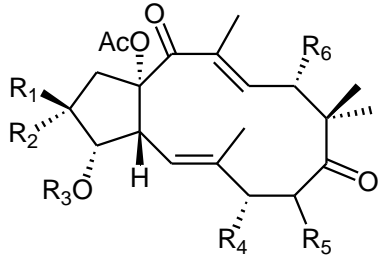
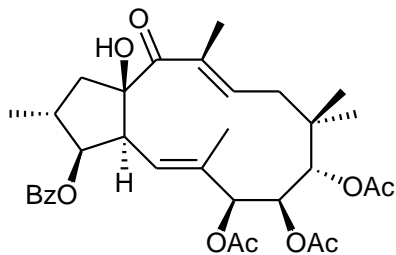
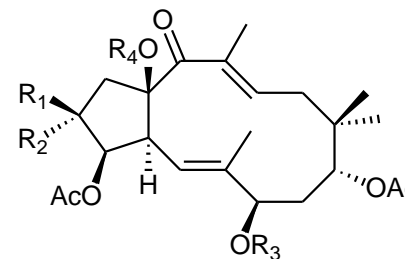
									
		221-225		226		227-229			
Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
221	eufoskopin E	H	H	/	/	/	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
222	eufoskopin F	Ac	H	/	/	/	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
223	epieufoskopin F	Ac	H	/	/	/	/	$\alpha$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91</sup>
224	eufoskopin M	Ac	OAc- $\beta$	/	/	/	/	$\beta$	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,92</sup>
225	15-acetoksi-3-benzoiloksi-7,11-dihidroksijatrofa-5,12-dien-9,14-dion	Ac	OAc- $\alpha$	/	/	/	/	$\alpha$	<i>E. lunulata</i> <sup>95</sup>
226	eufoheliosnoid D	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>93,96</sup>
227	eufoskopin L	Me	H	Bz	OAc	OAc- $\beta$	H	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,92</sup>
228	eufoskopin N	Me	H	Bz	OH	H	H	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>91,92</sup>
229	15-acetoksi-3-propanoiloksjatrofa-5,12-dien-9,14-dion	H	Me	Pr	H	H	H	/	<i>E. characias</i> <sup>78</sup>

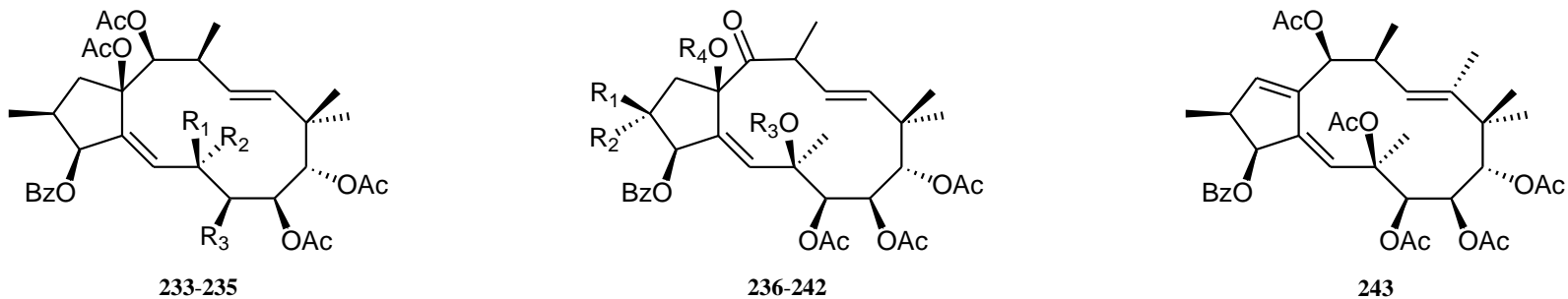
Tabela 12. Jatrofani sa endocikličnom  $\Delta^5$  dvostrukom vezom i karbonilnom grupom u položaju 14.

230



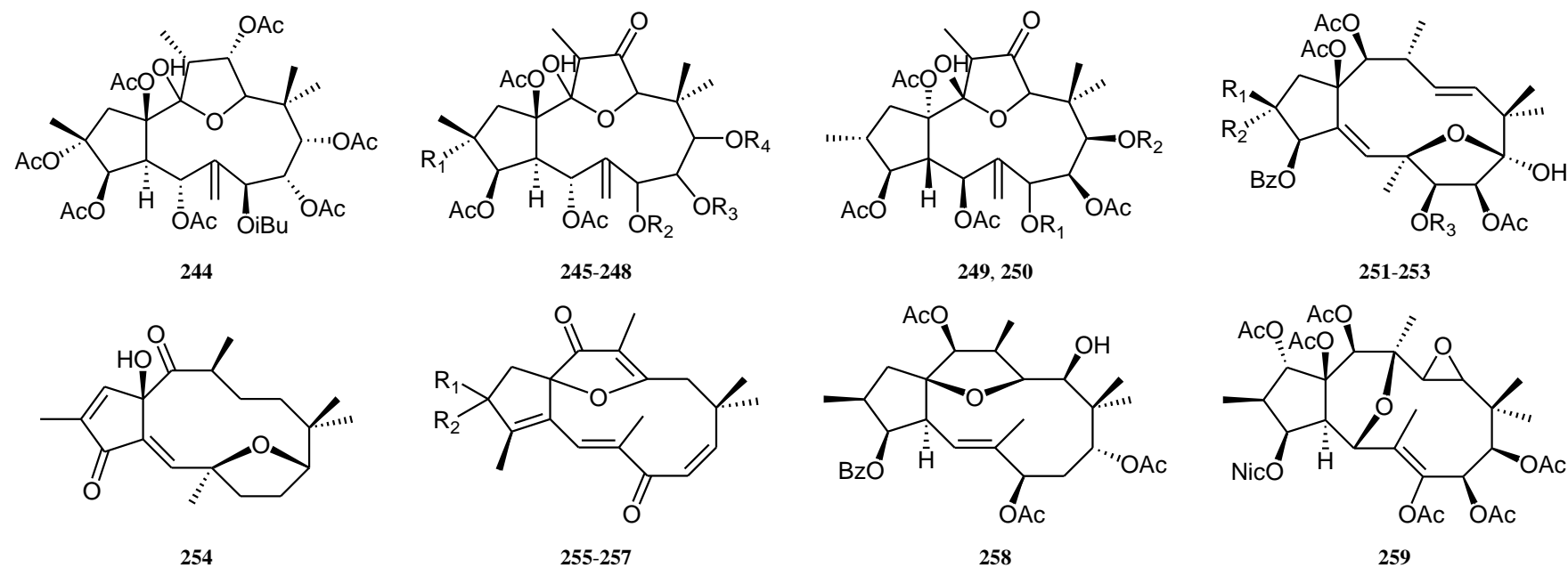
231, 232

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Biljna vrsta i referenca
230	eufomeliferin	/	/	/	/	<i>E. mellifera</i> <sup>87</sup>
231	pubescen D	H	Me	Bz	H	<i>E. pubescens</i> <sup>97</sup>
232	3,9,15-triacetoksi-7-butaniloksijatrofa-5 <i>E</i> ,12 <i>E</i> -dien-14-on	Me	H	Bu	Ac	<i>E. pubescens</i> <sup>98</sup>

Tabela 13. Jatrofani sa endocikličnim  $\Delta^4$  i  $\Delta^{11}$  dvostrukim vezama.

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
<b>233</b>	7,8,9,14,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-6-ol	OH	Me	Ac	/	/	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup>
<b>234</b>	8,9,14,15-tetraacetoksi-3,7-dibenzoiloksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-6-ol	OH	Me	Bz	/	/	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup>
<b>235</b>	7,8,9,14,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-6-ol	Me	OH	Ac	/	/	<i>E. platyphyllos</i> <sup>85</sup>
<b>236</b>	6,7,8,9,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksi-2-hidroksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	Me	OH	Ac	Ac	β	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup>
<b>237</b>	7,8,9,15-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-6-hidroksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	H	Me	H	Ac	β	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup> <i>E. platyphyllos</i> <sup>85</sup>
<b>238</b>	6,7,8,9,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	H	Me	Ac	Ac	β	<i>E. serrulata</i> <sup>84</sup>
<b>239</b>	2,7,8,9-tetraacetoksi-3-benzoiloksi-6,15-dihidroksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	Me	OAc	H	H	β	<i>E. serrulata</i> <sup>99</sup>
<b>240</b>	2,6,7,8,9,15-heksaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-4 <i>E</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	Me	OAc	Ac	Ac	β	<i>E. serrulata</i> <sup>99</sup>
<b>241</b>	serulatin B	Me	H	Ac	Ac	α	<i>E. serrulata</i> <sup>100</sup>
<b>242</b>	6,7,8,9,15-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-4 <i>Z</i> ,11 <i>E</i> -dien-14-on	Me	H	Ac	Ac	α	<i>E. serrulata</i> <sup>101</sup>
<b>243</b>	6,7,8,9,14-pentaacetoksi-3-benzoiloksijatrofa-1(15),4 <i>Z</i> ,11 <i>E</i> -trien	/	/	/	/	/	<i>E. serrulata</i> <sup>101</sup>

Tabela 14. Jatrofani sa oksaciklopentanskim prstenom.



Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
244	esulatin H	/	/	/	/	/	<i>E. esula</i> <sup>57</sup>
245	kansuinin A	H	Ac-β	Bz-α	Ac-α	α	<i>E. kansui</i> <sup>82,102</sup>
246	kansuinin D	H	Ac-β	Bz-α	Nic-α	α	<i>E. kansui</i> <sup>79</sup>
247	kansuinin H	OH	Ac-β	Bz-α	Ac-α	α	<i>E. kansui</i> <sup>81</sup>
248	esulatin C <sup>a</sup>	OAc	iBu	Bz	Ac	/	<i>E. esula</i> <sup>68</sup>

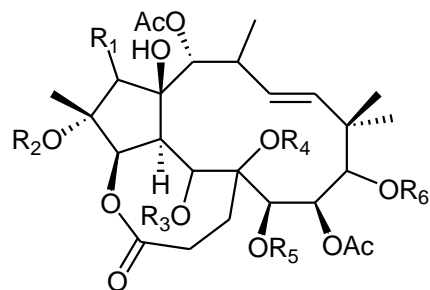
Tabela 14. Jatrofani sa oksaciklopentanskim prstenom (nastavak).

249	kansuinin D1	Bz- $\alpha$	Nic	/	/	$\beta$	<i>E. kansui</i> <sup>103</sup>
250	3,5,7,8,9,15-heksaacetoksi-10,13-epoksi-13-hidroksijatrofa-6(17)-en-12-on	Ac- $\beta$	Ac	/	/	$\alpha$	<i>E. esula</i> <sup>104</sup>
251	serulatin A	Me	H	Tig	/	/	<i>E. serulata</i> <sup>100</sup>
252	8,14,15-triacetoksi-3-benzoiloksi-6,9-epoksi-7-tigloiloksijatrofa-4E,11E-dien-9-ol	H	Me	Tig	/	/	<i>E. serulata</i> <sup>99</sup>
253	8,14,15-triacetoksi-3,7-dibenzoiloksi-6,9-epoksijatrofa-4E,11E-dien-9-ol	H	Me	Bz	/	/	<i>E. platyphyllos</i> <sup>85</sup>
254	japodagron	/	/	/	/	/	<i>Jatropha podagrica</i> <sup>105</sup>
255	jatrofon	H- $\beta$	Me- $\alpha$	/	/	/	<i>Jatropha gossypifolia</i> <sup>106, 107</sup>
256	hidroksijatrofon A	OH- $\alpha$	Me- $\beta$	/	/	/	<i>J. gossypifolia</i> <sup>108</sup>
257	hidroksijatrofon B	OH- $\beta$	Me- $\alpha$	/	/	/	<i>J. gossypifolia</i> <sup>108</sup>
258	7,9,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-12,15-epoksijatrof-5E-en-11-ol	/	/	/	/	/	<i>E. helioscopia</i> <sup>86</sup>
259	1,7,8,9,14,15-heksaacetoksi-5,13-epoksi-11,12-epoksi-3-nikotinoil-oksijatrof-6-en	/	/	/	/	/	<i>P. tithymaloides</i> <sup>89</sup>

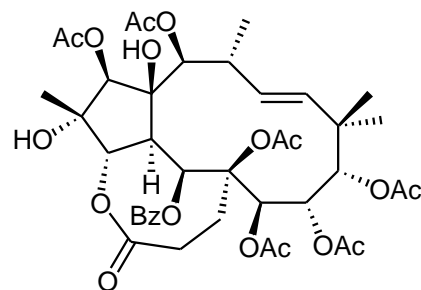
<sup>a</sup> Relativna konfiguracija na C-7, 8 i 9 nije određena.



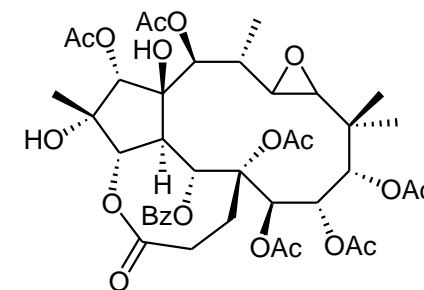
Tabela 15. 17-Bishomojatrofani.



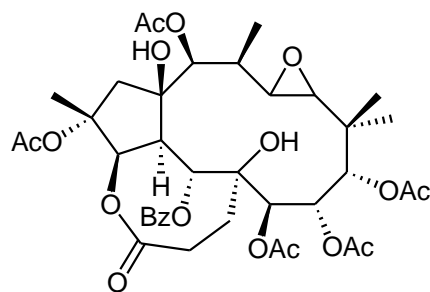
260-262



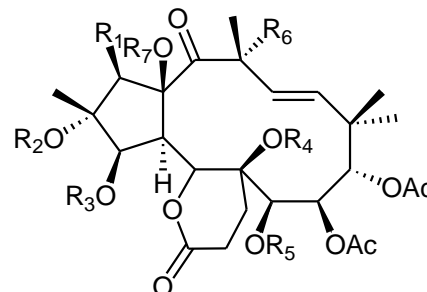
263



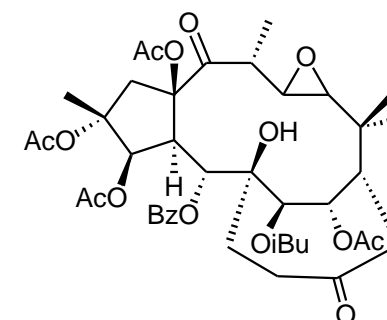
264



265



266-282

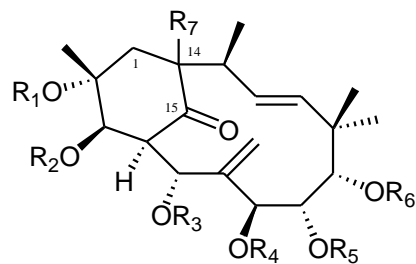
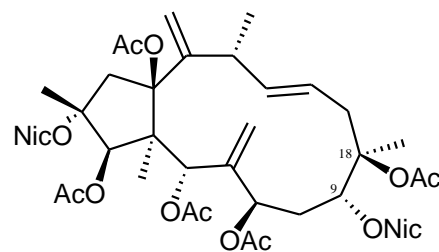
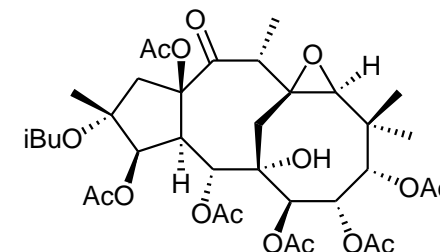


283

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	20-Me	Biljna vrsta i referenca
260	sororianolid C	OAc- $\alpha$	Bz	H- $\beta$	Ac- $\alpha$	Ac	Ac- $\beta$	/	$\alpha$	<i>E. sororia</i> <sup>109</sup>
261	izoteracinolid A	H	Ac	Bz- $\alpha$	H- $\beta$	iBu	Ac- $\alpha$	/	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>110</sup>
262	izoteracinolid B	H	Ac	Bz- $\alpha$	H- $\beta$	Pr	Ac- $\alpha$	/	$\beta$	<i>E. terracina</i> <sup>110</sup>
263	sororianolid A	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>109</sup>
264	sororianolid B	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. sororia</i> <sup>109</sup>

Tabela 15. 17-Bishomojatrofani (nastavak).

265	gujanianin F	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. guyoniana</i> <sup>45</sup>
266	teracinolid A	H	Ac	Ac	Bz	iBu	H	Ac	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. terracina</i> <sup>101</sup>
267	teracinolid B	H	Ac	Ac	Ac	iBu	H	Ac	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. terracina</i> , <sup>101</sup> <i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
268	teracinolid C	H	Ac	H	Ac	iBu	H	Ac	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. dendroides</i> , <sup>111</sup> <i>E. terracina</i> <sup>112</sup>
269	teracinolid D	H	Ac	Ac	Bz	Ac	H	Ac	/	<i>E. terracina</i> <sup>112</sup>
270	teracinolid E	H	Ac	Ac	Bz	Pr	H	Ac	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. terracina</i> <sup>112</sup>
271	teracinolid F	H	Ac	Ac	iBu	iBu	H	Ac	/	<i>E. dendroides</i> , <sup>111</sup> <i>E. terracina</i> <sup>112</sup>
272	teracinolid G	H	Ac	Ac	Ac	iBu	H	H	/	<i>E. terracina</i> <sup>112</sup>
273	teracinolid H	H	Ac	Ac	iBu	iBu	H	Ac	/	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
274	teracinolid I	OAc	Ac	Ac	Ac	iBu	H	H	/	<i>E. segetalis</i> <sup>37</sup>
275	teracinolid J	H	Ac	Ac	iBu	iBu	H	H	/	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
276	teracinolid K	H	H	Ac	Ac	iBu	H	Ac	/	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
277	teracinolid L	H	H	Ac	iBu	iBu	H	Ac	/	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
278	13 $\alpha$ -hidroksiteracinolid B	H	Ac	Ac	Ac	iBu	OH	Ac	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. terracina</i> , <sup>110</sup> <i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
279	13 $\alpha$ -hidroksiteracinolid F	H	Ac	Ac	iBu	iBu	OH	Ac	/	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
280	13 $\alpha$ -hidroksiteracinolid G	H	Ac	Ac	Ac	iBu	OH	H	/	<i>E. terracina</i> , <sup>110</sup> <i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
281	13 $\alpha$ -hidroksiteracinolid I	OAc	Ac	Ac	Ac	iBu	OH	H	/	<i>E. segetalis</i> , <sup>37</sup> <i>E. terracina</i> <sup>110</sup>
282	15- <i>O</i> -deacetyl-13 $\alpha$ -hidroksiteracinolid A	H	Ac	Ac	Bz	iBu	OH	H	/	<i>E. terracina</i> <sup>110</sup>
283	salicinolid	/	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. salicifolia</i> <sup>113</sup>

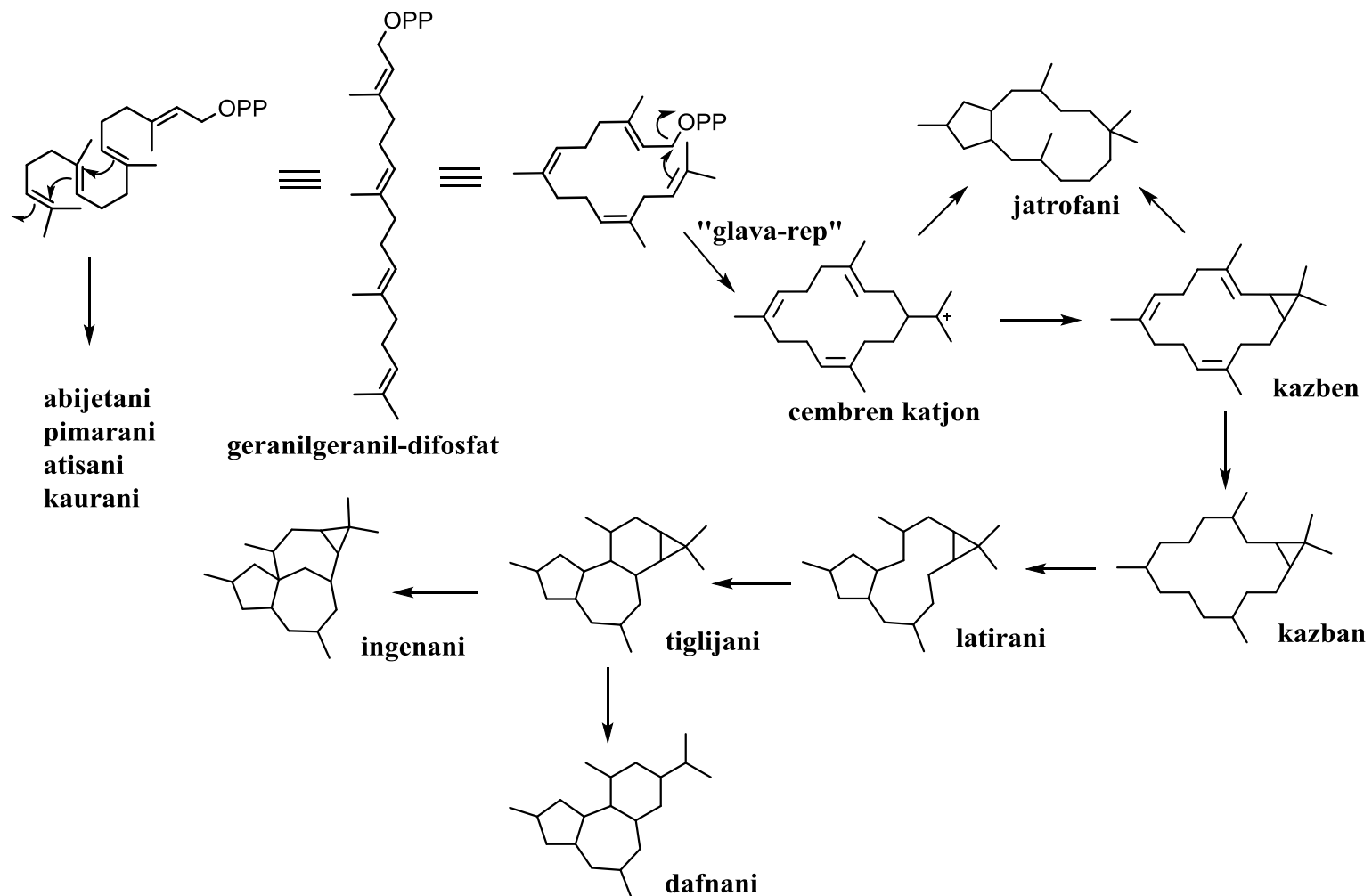
Tabela 16. 1(15→14)*Abeo*jatrofani, 9(10→18)*abeo*jatrofan i 12,17-ciklojatrofan.**284-286****287****288**

Broj	Naziv jedinjenja	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	Biljna vrsta i referenca
<b>284</b>	3,5,7,8,9,14-heksahidroksi-7-izobutanoiloksi-5,8-bis(2-metilbutanoiloksi)-1(15→14) <i>abeo</i> jatrofa-6(17),11-dien-15-on	H	H	MeBu	iBu	MeBu	H	OH-β	<i>E. terracina</i> <sup>36</sup>
<b>285</b>	abeodendroidin F	OH	Ac	iBu	Bz	Ac	Ac	OH-β	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
<b>286</b>	<i>epi</i> -abeodendroidin F	OH	Ac	iBu	Bz	Ac	Ac	OH-α	<i>E. dendroides</i> <sup>111</sup>
<b>287</b>	eufosalicin	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. salicifolia</i> <sup>80</sup>
<b>288</b>	salicifolin	/	/	/	/	/	/	/	<i>E. salicifolia</i> <sup>113</sup>

### 1.3.1. Biosinteza diterpena iz vrsta familije Euphorbiaceae

Do sada nije objavljena nijedna biohemijska studija, ali se pretpostavlja da biosinteza diterpena iz vrsta familije Euphorbiaceae počinje kondenzacijom geranilgeranil-difosfata. Pri tome, „niži“ diterpeni nastaju „glava-rep“ ciklizacijom geranilgeranil-difosfata, dok se skeleti nespecifičnih „viših“ diterpena formiraju iz geranilgeranil-difosfata klasičnom kaskadnom ciklizacijom koja je tipična za mnoge diterpene, triterpene i steroide. Smatra se da do funkcionalizacije diterpena dolazi posle ciklizacije.

Najpre se kondenzacijom geranilgeranil-difosfata formiraju kazben ili cembrenski katjon (Slika 3). (Makrociklični diterpen kazben nastaje iz geranilgeranila u bezćelijskim kulturama *Ricinus communis*.<sup>114</sup>) Tako nastali kazben se smatra prekursorom policikličnih i polifunkcionalnih diterpena tiglijanskog, dafnanskog i ingenanskog tipa. Makrociklični diterpeni mogu nastati kao intermedijeri u tom biosintetskom procesu.<sup>115</sup> Pri tome, u biljnom organizmu makrociklični jatrofani nastaju ili iz cembrenskog karbokatjona ili iz kazbenskog prekursora daljom ciklizacijom i otvaranjem njegovog ciklopropanskog prstena.<sup>116</sup> Latirani mogu nastati ili iz kazbana daljom intramolekulskom ciklizacijom između C-4 i C-15<sup>116</sup> ili iz jatrofana ciklizacijom između C-9 i C-11.<sup>117</sup> Daljom ciklizacijom latirana i intramolekulskim formiranjem nove C–C veze mogu se dobiti tiglijani, ingenani i dafnani.<sup>116</sup>



Slika 3. Pretpostavljeni put biosinteze diterpena iz vrsta familije Euphorbiaceae.

Prisustvo velikog broja sekundarnih metabolita koji ispoljavaju različite biološke aktivnosti u tesnoj je vezi sa raznovrsnom primenom vrsta iz familije Euphorbiaceae u tradicionalnoj i savremenoj medicini. Ipak, treba imati u vidu da su neki od sastojaka i toksični.<sup>118</sup>

## 1.4. Primena vrsta iz familije Euphorbiaceae u tradicionalnoj medicini

Od pamtiveka se mnoge vrste koje su članovi familije Euphorbiaceae koriste kao popularno lekovito bilje. Poznati švedski botaničar Karl Line (Carl Nilsson Linnæus) je rodu *Euphorbia* i familiji Euphorbiaceae dao ova imena u čast starogrčkog lekara Euphorbus-a za koga se veruje da je koristio lateks vrste *Euphorbia resinifera* za lečenje stomaćnih tegoba Juba II, romanizovanog kralja Severnoafričkog kraljevstva.<sup>8,119</sup> Prema indijskom Ajurveda medicinskom sistemu<sup>120</sup> u drugom veku pre Hrista neke vrste iz familije Euphorbiaceae korišćene su za lečenje bolesti jetre, uganuća, ujeda zmiya i kao purgativ (*Croton oblongifolius* Roxb.), odnosno za lečenje ludila, konvulzija, astme, tumora i reume (*Croton tiglium* Willd.). U drevnom Ajurveda sistemu, za lečenje različitih bolesti primenjivane su i *Euphorbia polycarpa*, *Euphorbia hirta* i *Acalipha indica* L.<sup>121</sup> U drevnoj kineskoj medicini korišćene su 33 vrste inače razvrstane u 17 rodova familije Euphorbiaceae.<sup>122</sup> *Euphorbia pekinensis* Rupr. se smatra jednom od 50 osnovnih lekovitih biljaka. U drevnom Jukatanskom biljnom sistemu primenjivane su različite vrste iz familije Euphorbiaceae, npr. *Euphorbia ptercineura* za lečenje astme i kašlja, *Croton peraeuginosus* za lečenje bubuljica, a *Phyllanthus micrandrus* Müll. Arg. za lečenje rana, zapaljenja i infekcija.<sup>123</sup>

Čak i danas, mnogi preparati, svež lateks i čajevi koji se pripremaju od biljaka iz familije Euphorbiaceae koriste se u alternativnoj medicini. Na primer, *E. tirucalli* je poznata po svojoj lekovitosti protiv bradavica, izraslina, tumora, karcinoma, gonoreje, artritisa, astme, kašlja, bola u uhu, neuralgije, reumatizma, zubobolje i dr.<sup>7,124,125</sup> *Euphorbia thimifolia* se koristi kao antivirusno sredstvo protiv *Herpes simplex* virusa tipa 2,<sup>126</sup> dok se *E. maculata* koristi za lečenje kolere, dijareje i dizenterije.<sup>127</sup> Niz drugih biljnih vrsta iz ove familije koje su članovi roda *Euphorbia* takođe poseduje različita lekovita svojstva: *E. peplus* L., *E. peplodes*, *E. pilosa*, *E. palustris* leče

hidrofobiju; *E. peplus*, *E. helioscopia*, *E. humistrata*, *E. hipericifolia*, *E. portulacoides* L., *E. iata* Engelm, *E. marginata* Pursh, *E. drummondii* i *E. heterodoxa* primenjuju se za lečenje uobičajenih kućnih oboljenja.<sup>127</sup> Međutim, u lekovitim preparatima koji se koriste u narodnoj medicini sadržaj aktivnih komponenti i efikasnost nisu tačno određeni i uvek isti. Otuda postoji potreba za detaljnim istraživanjima koja bi utvrdila njihovu bezbednost.

## 1.5. Toksičnost vrsta iz familije Euphorbiaceae

Lekovitost nije jedina osobina kojom se odlikuju vrste iz familije Euphorbiaceae. Naime, većina članova familije je otrovna. Jedna od najotrovnijih supstanci biljnog porekla je ricin, protein izolovan iz *R. communis*,<sup>128</sup> mada su i druge vrste, kao što je npr. *J. curcas* L., jednako otrovne.<sup>129</sup> Pokazalo se da su, od vrsta iz ove familije koje su članovi roda *Euphorbia*, za ljude otrovne: *E. ledienii* A. Berger, *E. heterophilla* L., *E. cooperi* N.E.Br. ex A. Berger, *E. candelabrum* Kotschy, *E. virosa* Willd., *E. poissonii* Pax, *E. unispina* N.E.Br. i *E. venenifica* Tremaux ex Kotschy; za domaće životinje otrovne su: *E. caput-medusae* L., *E. silenifolia* (Haworth) Sweet, *E. ingens* E. Mey. ex Boiss; za ribe su otrovne: *E. scheffleri* Pax, *E. tirucalli* L. i *E. inaequilatera* Sond. Neke vrste izazivaju iritaciju, npr. *E. tirucalli*, *E. poissonii*, *E. unispina* i *E. venenifica*.<sup>130</sup> Pored toga, neki članovi familije izazivaju određena oboljenja ili utiču na podložnost organizama ka njima. Na primer, *E. tirucalli*, *E. leuconeura*, *J. curcas* i druge vrste su poznate kao kokarcinogenici i mogu izazvati/potpomagati prekomernu deobu ćelija što dovodi do pojave i rasta tumora.<sup>8,131,132</sup> Takođe, lateks vrsta *E. tirucalli* i *Euphorbia royleana* izaziva konjuktivitis u dodiru sa očima.<sup>125,133</sup>

Toksičnost ovih vrsta može biti uzrok toksičnosti hrane. Tako je, na primer, utvrđeno da neki uzorci meda gorkog ukusa izazivaju iritaciju zbog toga što sadrže ingenanske diterpene iz polena *Euphorbia seguieriana* kojim su se pčele hranile. Takođe, mleko može biti kontaminirano kokarcinogenim metabolitima biljaka – otrovno mleko koza hranjenih *E. peplus* izazvalo je slabu iritaciju u standardnom ogledu. Ekstrakt tog mleka je sadržavao tri toksična diterpena, ingenol-20-acetat-3-angelat, 20-deoksiingenol-3-angelat i 20-deoksiingenol-6a,7a-epoksid-3-angelat.

Pretpostavlja se da bi to mogao biti uzrok razvoja kancera jednjaka u primorskom području Kaspijskog mora u Iranu.<sup>134</sup>

## 1.6. Primena vrsta iz familije Euphorbiaceae u savremenoj medicini

Iako se vrste iz familije Euphorbiaceae koriste u tradicionalnoj medicini, njihovu primenu u savremenoj medicini do nedavno su ograničavala toksična dejstva, odnosno sposobnost nekih diterpena prisutnih u njihovom lateksu da izazivaju iritacije, ali i pojavu tumora. Farmakološka ispitivanja vrsta ove familije su stoga usmeravana uglavnom na iritaciono dejstvo policikličnih diterpena. Kada je 1968. godine Erich Heker (Erich Hecker) iz ulja semena *Croton tiglium* izolovao tumor promotorske forbol-12,13-diestre i odredio njihovu strukturu<sup>135</sup> pokrenuta su intenzivna istraživanja proinflamatornih i tumor promotorskih diterpena izolovanih iz vrsta familije Euphorbiaceae. Ova jedinjenja su imala presudnu ulogu u razumevanju oboljenja kao što su karcinomi i razni zapaljenski procesi. Najviše proučavano jedinjenje, 12-*O*-tetradekanoilforbol 13-acetat (TPA), dugi niz godina se koristi kao sredstvo za izazivanje zapaljenja i za proučavanje mehanizama koji dovode do pojave tumora u *in vivo* i *in vitro* sistemima.<sup>136</sup>

U poslednjoj deceniji 20-og veka, forboidi su smatrani pre svega za tumor promotorske i proinflamatorne supstance koje aktiviraju protein kinazu C (PKC) i koje su odgovorne za toksične efekte i sposobnost lateksa, korenja, nadzemnih delova biljaka i semena vrsta iz familije Euphorbiaceae da izazivaju iritaciju kože,<sup>116</sup> odnosno za veoma moćne karcinogene prirodnog porekla koje ne bi trebalo primenjivati u razvoju lekova.

Od 2000-te godine, međutim, detaljnije su poznate funkcije PKC izoenzima u ćelijskoj signalizaciji i regulaciji različitih ćelijskih odgovora. Osim toga, proučene su biološke aktivnosti forboida koje su bitne za terapijske svrhe. Zahvaljujući tome, forboidi su postali vrlo atraktivne supstance za razvoj lekova<sup>137</sup> i za njihovu primenu u pretkliničkim i kliničkim studijama. Tako, ingenol 3-angelat je u drugoj fazi kliničkih ispitivanja kao lek za lokalni tretman nemelanomskih kancera kože kao što su



bazocelularni karcinom, skvamocelularni karcinom i intraepidermalni karcinom,<sup>138</sup> a obećava i kao novi agens protiv leukemije.<sup>139</sup> Od januara 2012. godine ovo jedinjenje (ingenol mebutat, PEP005, Picato<sup>®</sup>, Leo Pharma), na osnovu odobrenja koje je dala Američka Savezna Uprava za hranu i lekove (engl. Food i Drug Administration, FDA), može da se koristi za lečenje aktinične keratoze, prekanceroznog stanja kože.<sup>29</sup> To je prvi put posle mnogo vremena da je jedan biljni hemotip – prirodni proizvod bez strukturnih izmena – uveden u kliničku praksu, što samo dokazuje veliki značaj diterpena izolovanih iz vrsta familije Euphorbiaceae. Pri tome, ne treba smetnuti sa uma da je ingenol 3-angelat bio „stari“ molekul (prvi put je izolovan iz *Euphorbia paralias* 1980.,<sup>140</sup> a iz *E. peplus* 2000.<sup>61</sup>) kada su 2004. u Australiji<sup>141</sup> počela njegova preklinička ispitivanja. To ukazuje da ponovno ispitivanje poznatih jedinjenja može dovesti do prepoznavanja veoma vrednih supstanci i novih bioloških ciljeva.

I strukturno slično jedinjenje, 20-*O*-acetilingenol 3-angelat (PEP008), takođe ima potencijal u terapiji niza različitih solidnih karcinoma (tumor dojke, tumor debelog creva i melanomi).<sup>142</sup> Pored ovih, još neka obećavajuća jedinjenja su trenutno predmet projekata razvoja lekova. Neki forbol i ingenol derivati, posebno prostratin, postali su veoma interesantni za terapiju HIV: oni reaktiviraju latentnost HIV-1 kroz PKC-zavisnu NF-κB aktivaciju i na taj način sprečavaju novu infekciju CD4+ ćelija. Primena ovih agenasa u kombinaciji sa drugim antiretrovirusnim lekovima predlaže se kao potencijalna strategija u aktiviranju rezervoara virusa i eliminaciji skladišta latentne HIV infekcije.<sup>143</sup> Reziniferatoksin, diterpen dafnanskog tipa, ultrapotentni analog kapsaicina, prolazi kroz evaluaciju u drugoj i trećoj fazi kliničkih ispitivanja. Ovo jedinjenje aktivira tranzitorni receptorski potencijal vaniloida 1 u subpopulaciji primarnih aferentnih senzornih neurona uključenih u prenos bolnih impulsa (transmisija fiziološkog bola) i stoga deluju obećavajuće u sprovođenju dugotrajne analgezije.<sup>144</sup> Osim toga, pepluanski diterpen pepluanon izolovan iz *E. peplus* ima sposobnost da deluje kao antiinflamatorni agens *in vitro* i *in vivo*, što može otvoriti nove perspektive u dizajniranju i razvoju novih nesteroidnih antiinflamatornih lekova.<sup>145,146</sup>

Neki od ekstrakata su registrovani lekovi i kao takvi su dostupni na tržištu. Takav je npr. Euphorbium (aktivna supstanca je reziniferatoksin) dobijen iz lateksa vrste *E. resinifera*<sup>147</sup> koji se prodaje kao „Complexe Lehning Euphorbium N 88“ i upotrebljava kao nazalni sprej ili smeša protiv virusnih infekcija, rinitisa, sinuzitisa,

hronične sekrecije iz nosa, suve i zapaljene nosne sluznice, kao i simptoma gripa. Ekstrakt *Euphorbia pilulifera* je naveden u Stedman-ovoj listi lekova i može se primeniti protiv astme, prehlade i drugih respiratornih infekcija, ali i kao sredstvo protiv grčeva.<sup>148</sup> Disentral<sup>®</sup> je ekstrakt vrste *E. hirta* i koristi se u lečenju dijareje,<sup>149</sup> dok se preparat Radix (ekstrakt korena vrste *Euphorbia kansui*) koristi kao purgativ. *Mallotus philippinensis* se upotrebljava za proizvodnju lekovitih biljnih preparata – ova biljka produkuje rotlerin, snažan otvarač kalcijum-zavisnih kalijumovih kanala velike provodljivosti.<sup>29</sup> Mnoge druge vrste iz familije Euphorbiaceae su potencijalno važni veterinarski i poljoprivredni biocidi.<sup>16</sup>

Imajući u vidu da su vrste iz familije Euphorbiaceae lako dostupne i vrlo rasprostranjene i da se glavni sastojci diterpenske frakcije ovih biljaka relativno lako izoluju, one se mogu smatrati važnim izvorom veoma vrednih biološki aktivnih supstanci.

Nekim vrstama familije Euphorbiaceae, uprkos njihovoj lekovitosti, preči izumiranje. To je, npr., slučaj sa vrstama *Euphorbia apparicana*, *Euphorbia crossadenia* i *Euphorbia gymnoclada*.<sup>150</sup>

## 1.7. Biološke aktivnosti jatrofana

Uprkos tome što je prvi izolovani diterpen imao makrociklični skelet, makrociklični diterpeni su, na neki način, bili zanemareni. S obzirom da se u biljkama obično nalaze u malim količinama i u veoma složenim smešama, i pošto se ne karakterišu izrazitim toksikološkim dejstvima, dugo su bili interesantni samo hemičarima. Mnogo su interesantniji bili policiklični diterpeni tiglijanskog, ingenanskog i dafnanskog tipa, nazvani zajedničkim imenom „forboidi“, koji imaju proinflamatorno i tumor promotorsko dejstvo. Tako je bilo do 1970., kada su rezultati intenzivnog anti kancer skrining programa pokazali da makrociklični diterpeni jatrofanskog tipa imaju značajnu antileukemijsku aktivnost protiv limfocitne leukemije *in vivo*.<sup>106</sup> Posle toga utvrđeno je da nekoliko klasa makrocikličnih diterpena izolovanih iz vrsta familije Euphorbiaceae ispoljava antitumorsko dejstvo *in vivo*<sup>90,151</sup> i citotoksično dejstvo *in vitro*<sup>152</sup> i da su, shodno tome, ova jedinjenja potencijalni hemioterapeutske agensi ili polazna jedinjenja u dizajnu novih hemioterapeutika. Od

tada su makrociklični diterpeni, prvenstveno jatrofani, zbog svog biološkog značaja, kompleksnosti strukture i biološke aktivnosti postali predmet intenzivnog proučavanja. Najvažniji rezultat proučavanja je saznanje da su jatrofani inhibitori P-glikoproteina i potencijalni MDR modulatori.<sup>40,53,56,73,84,85,87,92,111,153,154,155</sup>

### 1.7.1. Reverzija višestruke rezistencije na lekove

Poslednjih decenija hemioterapija je jedan od najvažnijih načina lečenja karcinoma. Farmaceutska industrija proizvodi mnoštvo antitumorskih preparata, ali su najčešći tumori na većinu njih rezistentni, te i dalje postoji potreba za dobijanjem još efikasnijih lekova. Rezistencija na lekove može biti urođena ili stečena. Pojam „stečena rezistencija“ se odnosi na slučaj kada lek primenjen u dozi koja je ranije bila efikasna više ne deluje. Izgledalo je da je način da se ovaj problem prevaziđe kombinovana hemioterapija – primena više agenasa, koji svoje efekte ispoljavaju različitim mehanizmima. Međutim ćelije karcinoma su razvile višestruku rezistenciju. Tako je pojava višestruke rezistencije na lekove (engl. multidrug resistance, MDR), odnosno rezistencije ćelija na široki spektar strukturno i funkcionalno različitih lekova koji deluju različitim mehanizmima i imaju različite ciljne molekule,<sup>156</sup> postala glavna prepreka uspešnoj hemioterapiji. MDR je složena pojava za koju su zaslužni brojni biohemijski mehanizmi, uključujući smanjenu apsorpciju leka ili pojačano izlučivanje leka; prekomernu produkciju ciljnih enzima ili produkciju modifikovanih ciljnih enzima; promene u mestu dejstva leka; izmenjen metabolizam lekova; ubrzanu popravku oštećenja DNK nastalih dejstvom leka; nemogućnost započinjanja apoptoze (programirana ćelijska smrt).<sup>156,157</sup> Molekulske promene koje doprinose nastanku MDR uključuju ushodnu regulaciju ili aktivaciju transportnih proteina, detoksikacionih sistema i mehanizama za reparaciju ciljnih mesta (dejstva leka), kao i poremećaj (regulacije) mehanizama ćelijske smrti.

Uprkos različitim mehanizmima koji dovode do MDR, najvažniji i najbolje proučen je onaj koji nastaje kao rezultat ili pojačanja ili prekomerne ekspresije *mdr1* gena, koji kodira P-glikoprotein (P-gp). P-glikoprotein je ATP vezujući (engl. ATP-binding cassette, ABC) transportni membranski protein. Nalazi se u mnogim normalnim tkivima (bubrezi, pluća, jetra, tanko i debelo crevo, pankreas, placenta, endotelijalne

ćelije kapilara testisa i krvno-moždane barijere), ali i u tumorskim ćelijama i to ne samo u eksperimentalnim modelima, već i u karcinomom zahvaćenim tkivima pacijenata.<sup>158</sup> Deluje kao energetska zavisna ekskretorna pumpa koja, koristeći energiju dobijenu hidrolizom ATP-a, iz ćelije izbacuje hemijski raznovrsne hidrofobne, uglavnom neutralne ili katjonske molekule,<sup>157</sup> uključujući antikancerske agense (antraciklini, Vinka alkaloidi, taksani, epipodofilotoksini, imanitab, nilotinib, everolimus), pre nego što dospeju u citosol i na taj način smanjuje njihovu unutarćelijsku koncentraciju na nivo koji je niži od letalnog. Učestvovanje u procesima detoksikacije ćelija u normalnim tkivima jedna je od njegovih fizioloških uloga.<sup>159</sup> Međutim, ovaj protein tumorske ćelije čini sposobnim da se odupru letalnim dozama pojedinih citotoksičnih lekova.

Postoji nekoliko strategija za prevazilaženje MDR posredovane prekomernom ekspresijom P-glikoproteina. Najviše obećava ona koja se zasniva na razvoju netoksičnih jedinjenja (MDR modulatori, inhibitori ili hemosenzitivatori) koja su u stanju da, kada se primene kombinovano, inhibicijom ekskretorne aktivnosti proteina vrate citotoksičnost postojećih antikancerskih lekova prema MDR tumorskim ćelijama,<sup>160</sup> odnosno da omoguće njihov unos u ćeliju u koncentraciji koja deluje. Tako je utvrđeno da su neka jedinjenja (verapamil, kvinidin, ciklosporin A, progesteron, VX-710, PSC-833, itd.) u stanju da vrše reverziju MDR *in vitro* i *in vivo*. Međutim, iako su neka od tih jedinjenja prošla klinička ispitivanja (npr. verapamil i ciklosporin A), i dalje ne postoji klinički dostupan MDR modulator. Razvoj efikasnog modulatora ograničen je toksičnošću za normalne ćelije u dozama koje deluju na tumorske ćelije, neželjenim sporednim efektima, slabom efikasnošću i slabom rastvorljivošću.<sup>73</sup> Tako, P-gp inhibitori prve generacije, npr. verapamil, kvinidin i ciklosporin A, koji se ne odlikuju supstratnom specifičnošću, moraju da se primene u velikim dozama da bi doveli do reverzije MDR, a neprihvatljivo su toksični. Inhibitori druge generacije, npr. valspodar, elakridar, birikodar i deksverapamil, su jači, specifičniji i manje toksični u odnosu na inhibitore prve generacije, ali interaguju i sa drugim transportnim proteinima. Treća generacija P-gp inhibitora, npr. tarikvidar, zosukvidar, lanikvidar i ONT-093, deluje veoma snažno na P-gp i pokazuje veliku specifičnost za ovaj protein. Dosadašnje farmakokinetičke studije nisu pokazale ni značajno metabolisanje ovih lekova preko sistema citohroma P450, kao ni klinički značajne interakcije sa konvencionalnim hemioterapeutskim agensima.<sup>54</sup>

U poslednjih nekoliko decenija sprovedene su obimne studije sa ciljem da se nađe efikasan MDR modulator iz prirodnih izvora. Istraživanjem je, između ostalog, utvrđeno da jatrofanski diterpeni mnogo obećavaju kao MDR modulatori. Ovo je prvi put uočeno 2002. u eksperimentu na rezistentnim L5178 ćelijama limfoma miševa.<sup>84</sup> Posle toga su rađena ispitivanja i na drugim test modelima.

Neki jatrofanski diterpeni izolovani iz *Euphorbia serrulata* i *E. peplus* veoma snažno inhibiraju aktivnost P-glikoproteina u MDR ćelijskoj liniji humanog karcinoma debelog creva (COLO320).<sup>84,154</sup>

Efikasnost euphodendroidina A – I, teracinolida B, C, F, H, J – L i 13 $\alpha$ -OH teracinolida B i G, izolovanih iz *Euphorbia dendroides*, zatim pepluanina izolovanih iz *E. peplus* i eufoharakina iz *Euphorbia characias* da inhibiraju P-glikoproteinom posredovanu ekskreciju daunomicina ispitivana je praćenjem intracelularne akumulacije ovog leka<sup>40,53,56,111</sup> Na osnovu rezultata, eufodendroidin D i pepluanin A su najsnažniji P-gp inhibitori, s obzirom da su dva puta efikasniji od ciklosporina A („zlatni standard“ P-gp modulatora). Od ciklosporina A efikasniji P-gp inhibitori su i teracinolid H i eufoharakini C i I. Eufodendroidini A, B i G, teracinolid J, 13 $\alpha$ -OH teracinolid G, pepluanin E i eufoharakin E inhibiraju P-gp u istoj meri kao ciklosporin A. Ostala jedinjenja su manje efikasna, a teracinolidi C i L uopšte ne inhibiraju P-gp. To ukazuje da je, osim lipofilnosti, za ispoljavanje inhibicije P-glikoproteina veoma bitan stepen oksigenacije jatrofanskog skeleta, kao i položaj i vrsta supstituenata.<sup>53,111</sup>

Pubesceni A – D, izolovani iz *Euphorbia pubescens*, inhibiraju aktivnost P-glikoproteina u L5178 MDR ćelijskoj liniji limfoma miševa.<sup>71</sup> Međutim, ova jedinjenja, kao i eufopubescenol, eufopubescen i pubescenol, izolovani iz iste biljne vrste, ne inhibiraju P-gp u MDA-MB-231 MDR ćelijskoj liniji karcinoma dojke.<sup>155</sup>

Epieufoskopin B iz *E. helioscopia* je dva puta efikasniji od ciklosporina A u inhibiciji P-glikoproteina da vrši ekskreciju mitoksantrona. Ostali ispitani jatrofani izolovani iz ove vrste su aktivni koliko i ciklosporin A (eufoskopini C, M i N) ili manje (eufornin).<sup>92</sup>

Tukejanoli A i B i eufotukejanol, izolovani iz *Euphorbia tuckeyana*, u znatnoj meri produžavaju zadržavanje hemioterapeutika u L5178 ćelijama limfoma miševa

zahvaljujući tome što inhibiraju P-gp. Oni su za red veličine aktivniji od verapamila koji je služio kao pozitivna kontrola, što ih čini jakim inhibitorima MDR.<sup>153</sup>

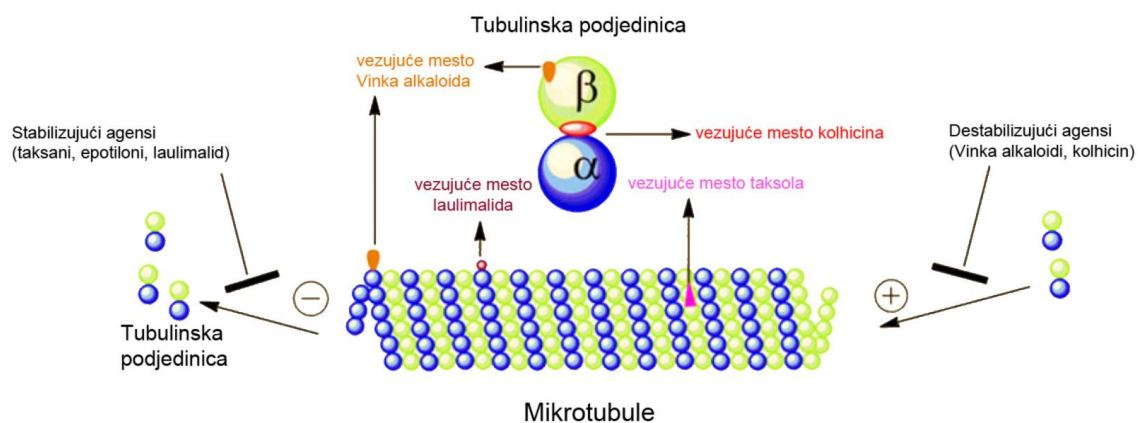
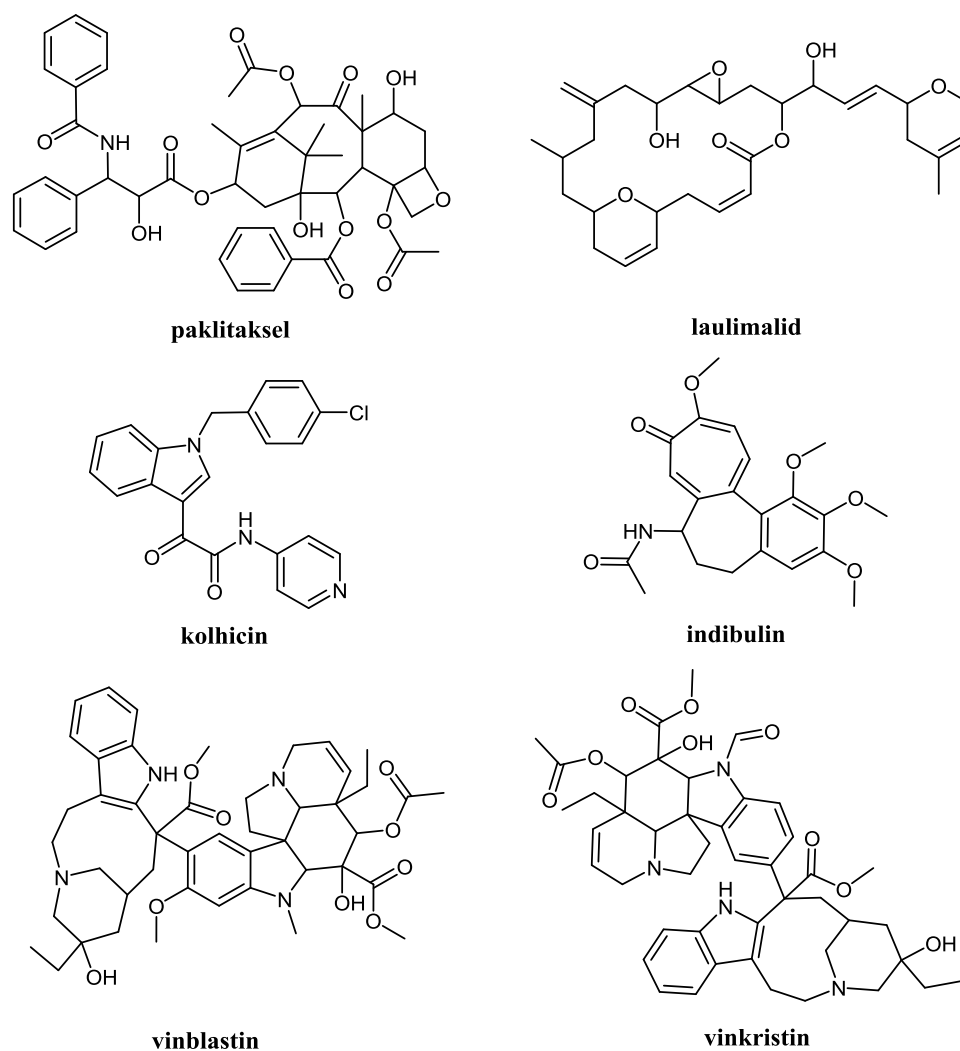
Jatrofani izolovani iz *Euphorbia mongolica* Porph. uglavnom veoma snažno inhibiraju aktivnost P-glikoproteina u MDR L5178 ćelijama limfoma miševa.<sup>73,85</sup>

Eufomeliferin i eufomelifereni A i B, izolovani iz metanolnog ekstrakta *Euphorbia mellifera*, inhibiraju aktivnost P-glikoproteina u L5178Y MDR ćelijskoj liniji limfoma miševa na koncentraciono zavisani način, ali na aktivnost P-glikoproteina ćelijske linije humanog karcinoma debelog creva (COLO320) ili ne utiču ili je njihovo dejstvo veoma slabo.<sup>87</sup>

### 1.7.2. Interakcije sa tubulinom (antimitotsko dejstvo)

Tubulin je globularni heterodimerni protein koji se sastoji iz dve skoro identične podjedinice od po 55 kDa nazvane  $\alpha$ - i  $\beta$ -tubulin. U fiziološkim uslovima heterodimeri polimerizuju u tzv. protofilamente, a oni se uređuju formirajući cilindrične filamente – mikrotubule. Mikrotubule imaju važnu ulogu u brojnim ćelijskim procesima, kao što su održavanje oblika ćelije, deoba ćelije, kretanje i međućelijski transport.<sup>161</sup> To su veoma dinamične strukture koje se kontinuirano polimerizuju i depolimerizuju – heterodimeri se ugrađuju u mikrotubule, pa depolimerizuju, odnosno oslobađaju se u citoplazmu.<sup>162</sup> Na taj način se uspostavlja dinamička ravnoteža, koju regulišu brojni proteini koji se vezuju za mikrotubule i stabilizuju ih.

Tubulin je ciljani molekul mnogih antimitotskih agenasa. Neki antimitotski agensi interaguju sa mikrotubulama, sprečavaju njihovu depolimerizaciju i na taj način remete dinamičku ravnotežu i ometaju normalno odvijanje ćelijske deobe<sup>163</sup> i drugih ćelijskih funkcija koje zavise od mikrotubula. Takav je, na primer, paklitaksel (taksol) koji se specifično vezuje za tubulin (i to za  $\beta$ -tubulin na polimerizovanim mikrotubulama), stabilizuje mikrotubule deobnog vretena i sprečava njihovu depolimerizaciju, što dovodi do zaustavljanja ćelijske deobe u G2/M fazi ćelijskog ciklusa.<sup>164</sup> Neki drugi antimitotski agensi, npr. indibulin, vinblastin, kolhicin i Vinka alkaloidi, imaju suprotno dejstvo – sprečavaju polimerizaciju tubulina i nastanak mikrotubula (Slika 4).

Slika 4. Interakcije antimitotskih agenasa sa tubulinom.<sup>165</sup>

Slika 5. Strukture nekih tubulinskih inhibitora.

Paklitaksel je antitumorski agens koji se koristi u lečenju brojnih tumora,<sup>166</sup> uključujući tumore prostate, jajnika, dojke, pluća, glave i vrata. Međutim, slaba rastvorljivost u vodi i neželjeni efekti koji se javljaju prilikom terapije paklitakselom (neurotoksičnost, preosetljivost, hematotoksičnost i kardiotoksičnost)<sup>167</sup> ograničavaju njegovu primenu. Glavno ograničenje u korišćenju ovog agensa u lečenju tumora predstavlja razvoj rezistencije. Osim toga, izoluje se u malim prinosima, a njegova hemijska sinteza je komplikovana. To je podstaklo istraživanja u cilju otkrivanja bioloških analoga koji deluju istim mehanizmom kao i paklitaksel, ali nemaju navedene nedostatke.

Mnogi strukturno različiti prirodni proizvodi su predloženi za nove antimitotske agense. Kao potencijalna zamena za paklitaksel ispitivani su, između ostalog, i pojedini makrociklični diterpeni jatrofanskog tipa izolovani iz *Euphorbia semiperfoliata* Viv.<sup>47</sup> Tom prilikom je utvrđeno da ispitani jatrofani interaguju sa mikrotubulama na sličan način kao i paklitaksel (stimulišu polimerizaciju tubulina), inhibiraju rast ćelijskih linija nekih humanih kancera, ali ne zaustavljaju ćelijski ciklus u G2/M fazi.

### 1.7.3. Antiproliferativno dejstvo

Pubesceni A – C izolovani iz *E. pubescens* *in vitro* umereno inhibiraju rast ćelijske linije NCI-H460 (humani karcinom pluća) na koncentraciono zavisin način, ali ne inhibiraju rast ćelijskih linija MCF-7 (humani adenokarcinom dojke) i SF-268 (humani karcinom CNS-a).<sup>98</sup> Jatrofani pubescenol i pubescen D izolovani iz iste vrste umereno inhibiraju rast sve tri pomenute ćelijske linije humanih karcinoma *in vitro*.<sup>72</sup> I eufopubescenol i eufopubescen, takođe izolovani iz *E. pubescens*, inhibiraju rast MCF-7 i NCI-H460 ćelijskih linija, pri čemu se GI<sub>50</sub> vrednosti nalaze u opsegu 40,9 – 75 µM, ali ne utiču inhibitorno na rast SF-268 ćelijske linije.<sup>71</sup>

Neki jatrofanski diterpeni izolovani iz *E. esula*, *E. peplus* i *Euphorbia serrulata* imaju umereno do snažno antiproliferativno dejstvo na ćelije humanog karcinoma debelog creva (COLO320).<sup>154</sup>

Tukejanoli A i B i eufotukejanol, izolovani iz *E. tuckeyana*, *in vitro* deluju umereno antiproliferativno na ćelijsku liniju limfoma miševa (PAR) osetljivu na doksorubicin, kao i na odgovarajuću rezistentnu liniju.<sup>48</sup>



#### 1.7.4. Citotoksično dejstvo

Eufornin (IC<sub>50</sub> 3,1, odnosno 13,4 μM), izolovan iz *E. helioscopia*, deluje citotoksično na HeLa ćelije humanog karcinoma grlića materice i MDA-MB-231 ćelije humanog tumora dojke.<sup>86</sup>

Gujonianini E i F i (2*S*\*,3*S*\*,4*R*\*,5*R*\*,7*R*\*,13*R*\*,14*R*\*,15*R*\*)-5,7,14-triacetoksi-3-benzoiloksi-15-hidroksijatrofa-6(17),11*E*-dien-9-on, jatrofanski diterpeni izolovani iz *Euphorbia guyoniana*, ispoljavaju snažnu do umerenu citotoksičnost prema HEK293, humanim embrionalnim ćelijama bubrega 293, sa IC<sub>50</sub> vrednostima od 35, 70, odnosno 100 μM.<sup>45</sup>

Jatrofani izolovani iz *Euphorbia turczaninowii* ne deluju citotoksično na B16 ćelijsku liniju melanoma miševa.<sup>49</sup>

Jatrofon je citotoksičan za ćelijsku kulturu *Mycobacterium tuberculosis* (Kohov bacil) u koncentraciji od 0,17 μg/mL.<sup>107</sup>

#### 1.7.5. Antivirusno dejstvo

Analizom niza jatrofana izolovanih iz *Euphorbia hyberna* ustanovljeno je da se jedan od njih, SJ23B, odlikuje snažnim antivirusnim dejstvom – podstiče internalizaciju HIV-1 receptora (CD4, CCR5 i CXCR4) i sprečava R5 i X4 virusne infekcije u ljudskim osnovnim primarnim T ćelijama u nanomolarnim koncentracijama. Osim toga, SJ23B je i snažan antagonist HIV-1 latencije. Iz svega ovoga sledi da jatrofanski diterpeni predstavljaju potencijalne anti-HIV agense, koji bi mogli da se koriste za ublažavanje reaktivacije HIV-a.<sup>168</sup>

### 1.7.6. Antimikrobno dejstvo

Japodagron, jatrofanski diterpen izolovan iz korena *Jatropha podagrica* Hook, ispoljava antibakterijsko dejstvo protiv *Bacillus subtilis* (ATCC 6051), dajući zonu bez porasta od 12 mm na 20 µg/disku u standardnoj disk probi.<sup>105</sup>

Jatrofani izolovani iz lateksa *Pedilanthus tithymaloides* pokazuju antimalarijsko dejstvo prema *Plasmodium falciparum* K1 (IC<sub>50</sub> vrednosti u opsegu 3,4 – 4,4 µg/mL) i umereno do slabo antituberkulozno dejstvo protiv *Mycobacterium tuberculosis* H37 Ra sa vrednostima minimalnih inhibitornih koncentracija (MIC) u opsegu 12,5 – 100 µg/mL.<sup>89</sup>

### 1.7.7. Antitumorsko dejstvo

Jatrofon, eufoskopin A, eufoskopin B i eufornin pokazuju antitumorsko dejstvo.<sup>59</sup> Jatrofon je, npr., ispoljio značajno antileukemijsko dejstvo na P-388 limfocitnu leukemiju miševa kada je primenjen u koncentracijama od 27 i 12 mg/kg.<sup>107</sup>

### 1.7.8. Proinflamatorno i tumor promotorsko dejstvo

Standardnim ogledom na miševima, koji se svodi na aplikovanje ispitivanih supstanci na kožu ušiju miševa, procenjivano je proinflamatorno dejstvo nekih jatrofana izolovanih iz *E. peplus* i *E. esula*.<sup>60</sup> Utvrđeno je da, od svih ispitivanih jedinjenja, samo (2S\*,3S\*,4R\*,5R\*,7S\*,8S\*,9S\*,13S\*,15R\*)-3,9,15-trihidroksi-7-izobutanoiloksi-5,8-bis-(2-metilbutanoiloksi)jatrofa-6(17),11-E-dien-14-on ima slabo proinflamatorno dejstvo koje se ispoljava pojavom crvenila na tretiranom mestu: ID<sub>50</sub><sup>4</sup> = ID<sub>50</sub><sup>24</sup> = 29 µg/uhu (crvenilo kože uha procenjivano je 4 i 24 sata po nanošenju acetonskog rastvora ispitivanih jedinjenja). Ovi rezultati ukazuju da jatrofani ne izazivaju iritaciju kože i ne doprinose u značajnoj meri proinflamatornom dejstvu vrsta iz familije Euphorbiaceae, i da su za snažno iritantno dejstvo ili toksično dejstvo ovih vrsta, pa i *E. peplus*, uglavnom odgovorni forboidi. To potkrepljuju i rezultati dobijeni sa serijom neiritantnih jatrofanskih estara izolovanih iz acetonskog i metanolnog ekstrakta *E. characias*, koji su

u ogledima pokazali iritantno dejstvo,<sup>78</sup> kao i sa serijom jatrofana izolovanih iz *E. turczaninowii*.<sup>49</sup>

## 1.8. Biljna vrsta *Euphorbia dendroides*

*E. dendroides* L. je višegodišnji listopadni drvenoliki semisukulentni grm široke krošnje, kratkih i šibolikih grana koje se granaju rašljasto, visine do 3 m. Ima koru smeđe do crvenkastosmeđe boje koja, kao i grančice, sadrži obilje mlečnog soka. Korenov sistem je dobro razvijen i prodire duboko u pukotine krečnjačkih stena. Listovi su jednostavni, naizmenični, pri vrhu izdanaka gusto zbijeni, duguljasto-kopljasti, tupog ili šiljastog vrha, klinaste osnove, sa celom ivicom, sedeći. Na licu i naličju su svetlozeleni ili plavkastosivi, goli, a pre opadanja ljubičastocrvene boje. Biljka lista početkom jeseni, u proleće odbacuje lišće tako da je u vreme letnjih suša u bezlisnom stanju i ponovo lista s jesenjim kišama. Cvetovi od kasne jeseni pa sve do maja. Cvetovi su grupisani u tzv. cijatijume koji se sastoje iz središnjeg ženskog cveta opkoljenog sa 10 ili više izrazito jednostavnih muških cvetova sastavljenih iz po jednog jedinog prašnika u peharolikom omotaču na čijem obodu se nalazi 4 – 5 žlezda. Vrat tučka je razdeljen na tri dela. Plod je čahura sa 2 – 6 semena, pomalo spljošten i gladak. Seme je ovalno, tamno i glatko. Biljka se razmnožava iz semena ili vegetativno. Osetljiva je na mraz, pa raste na zaštićenim i sunčanim obroncima brdovitih priobalnih područja Mediterana na kamenitoj podlozi, obično u pukotinama stena<sup>169</sup> (Slika 6).

*E. dendroides* L. se od antičkih vremena upotrebljava u etnofarmakologiji, što je dokumentovano u starogrčkoj i rimskoj medicinskoj literaturi. Biljka, kao i druge mlečike, ima mlečne kanale iz kojih luči lateks koji je upotrebljavan za uklanjanje bradavica, kao riblji otrov i kao purgativ (sredstvo za čišćenje) po čemu je veoma slična *E. characias* L., jednoj od najefikasnijih mlečika prema podacima iz antičkog doba.<sup>170</sup>

Uprkos svom obilju, *E. dendroides* nije mnogo fitohemijski proučavana. Glavni cilj naučnog istraživanja ove vrste dugo je bio ograničen na njenu upotrebu kao bogatog izvora biomase za proizvodnju goriva.<sup>171</sup> S druge strane, vrste familije Euphorbiaceae iz roda *Euphorbia* predmet su mnogih savremenih istraživanja, najpre zbog toga što su veoma plodni proizvođači biološki aktivnih sekundarnih metabolita, prvenstveno jedinstvenih diterpena velikog biomedicinskog značaja.<sup>39,116,172</sup> To je podstaklo

naučnike da mnogo detaljnije proučavaju *E. dendroides*. Do sada je proučavana ova vrsta različitog geografskog porekla: isparljive supstance *E. dendroides* poreklom iz Grčke,<sup>173</sup> epikutikularni voskovi *E. dendroides*,<sup>174</sup> antioksidativna i citotoksična aktivnost *E. dendroides* iz Egipta,<sup>175</sup> ulje,<sup>176</sup> tokoferoli, masne kiseline i steroli,<sup>177</sup> kao i diterpeni<sup>53,111</sup> *E. dendroides* poreklom sa Sardinije, ali ova vrsta sa izabranog lokaliteta (Crna Gora) do sada nije fitohemijski proučavana.



Slika 6. *E. dendroides*.<sup>178,179,180,181,182,183,178</sup>

## **2. NAŠI RADOVI**

Cilj ove doktorske disertacije bio je izolovanje diterpena jatrofanskog tipa iz biljnog materijala – *Euphorbia dendroides*, određivanje strukture izolovanih jedinjenja i ispitivanje njihovih bioloških aktivnosti.

Jedinjenja su izolovana primenom standardnih tehnika: „dry-column flash“ hromatografije, hromatografije na koloni i preparativne tankoslojne hromatografije, kao i preparativne tečne hromatografije.

Strukture i relativne konfiguracije izolovanih jedinjenja određene su primenom savremenih spektrometrijskih i spektroskopskih metoda: masene spektrometrije visokog razlaganja (HRESIMS), 1D i 2D NMR spektroskopije ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, COSY, NOESY, HSQC, HMBC), UV i IR spektroskopije i polarimetrije, kao i poređenjem dobijenih spektralnih podataka sa spektralnim podacima srodnih jedinjenja izolovanih iz *E. dendroides*<sup>53</sup> i iz drugih vrsta roda *Euphorbia*, kao što su: *E. turczaninowii*,<sup>49</sup> *E. obtusifolia*,<sup>52</sup> *E. terracina*,<sup>36</sup> *E. amygdaloides*,<sup>66</sup> *E. altotibetic*,<sup>55</sup> *E. segetalis*,<sup>37</sup> *E. peplus*,<sup>38</sup> *E. semiperfoliata*<sup>44</sup> i *E. paralias*.<sup>69</sup>

Odabrana jedinjenja su podvrgnuta testovima za ispitivanje bioloških aktivnosti.

## 2.1. Jatrofani iz *Euphorbia dendroides*

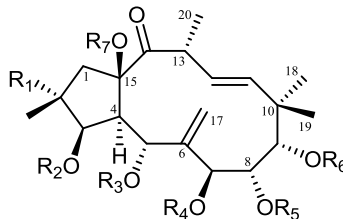
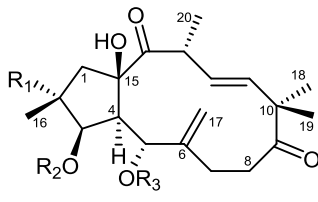
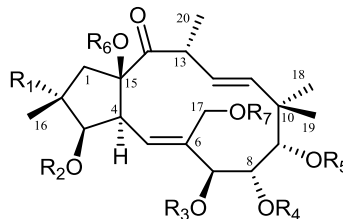
Iz nadzemnog dela *E. dendroides*, posle liofilizacije vodeno–etanolnog ekstrakta, ekstrakcije dobijenog koncentrata *n*-heksanom i prečišćavanja heksanskog ekstrakta „dry-column flash“ hromatografijom (DCFC), preparativnom tankoslojnom hromatografijom (TLC) i preparativnom tečnom hromatografijom (LC), izolovano je i okarakterisano šest novih jatrofana, koji su nazvani eufodendrofani A – F (**1 – 5, 16**) (Tabela 17).

Prečišćavanjem liofilizovanog mlečnog lateksa *E. dendroides* „dry-column flash“ hromatografijom, hromatografijom na koloni (CC) i preparativnom tečnom hromatografijom izolovano je trinaest novih jatrofana, eufodendrofani G – S (**6 – 15, 17 – 19**), kao i tri jatrofana izolovana iz nadzemnih delova (**1, 2, 16**) (Tabela 17).

Izolovani jatrofani imaju vrlo slične strukture. Jatrofani **1 – 15** se međusobno razlikuju samo po vrsti, broju i položaju supstituenata, dok se jatrofani **16 – 19** od njih razlikuju po tome što sadrže endocikličnu ( $\Delta^5$ ) umesto egzociklične ( $\Delta^{6(17)}$ ) dvostruke

veze. Jedinjenja **1** – **14** su penta- ili heksaesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrže keto grupu u položaju C-14, jednu endocikličnu 11 *E*- i jednu egzocikličnu C-6(17) dvostruku vezu. Jedinjenje **15** je triesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrži dve keto grupe (u položajima C-9 i C-14), jednu endocikličnu 11 *E*- i jednu egzocikličnu C-6(17) dvostruku vezu. Jedinjenja **16** – **19** su heptaesterifikovani jatrofanski polioli koji sadrže keto grupu u položaju C-14 i dve endociklične dvostruke veze ( $\Delta^5$  i  $\Delta^{11}$ ).

Tabela 17. Jatrofani izolovani iz *E. dendroides*.

							
	<b>1–14</b>		<b>15</b>		<b>16–19</b>		
Izolovano jedinjenje	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
<b>1</b> (Eufodendrofan A)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>2</b> (Eufodendrofan B)	H	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>3</b> (Eufodendrofan C)	H	Pr	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac
<b>4</b> (Eufodendrofan D)	H	iBu	Ac	Ac	Bz	Ac	H
<b>5</b> (Eufodendrofan E)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Ac	H
<b>6</b> (Eufodendrofan H)	H	Pr	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>7</b> (Eufodendrofan I)	H	Pr	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>8</b> (Eufodendrofan J)	H	Pr	Ac	iBu	iBu	Nic	H
<b>9</b> (Eufodendrofan K)	H	iBu	Ac	iBu	Bz	Nic	H
<b>10</b> (Eufodendrofan L)	H	iBu	Ac	iBu	Nic	Nic	H
<b>11</b> (Eufodendrofan M)	H	iBu	Ac	Ac	Nic	Ac	H
<b>12</b> (Eufodendrofan N)	H	Ac	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>13</b> (Eufodendrofan O)	OAc	iBu	Ac	iBu	Ac	Nic	H
<b>14</b> (Eufodendrofan P)	OAc	iBu	Nic	iBu	Ac	Nic	H
<b>15</b> (Eufodendrofan G)	ONic	iVal	Ac	/	/	/	/
<b>16</b> (Eufodendrofan F)	OAc	Ac	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>17</b> (Eufodendrofan Q)	OAc	Pr	iBu	Ac	Nic	Ac	Ac
<b>18</b> (Eufodendrofan R)	OAc	Ac	iBu	Nic	Nic	Ac	Ac
<b>19</b> (Eufodendrofan S)	OAc	Ac	iBu	Ac	Bz	Ac	Ac

Ac–acetil; Bz–benzoil; iBu–izobutanoil; iVal–izovaleril; Nic–nikotinoil; Pr–propanoil

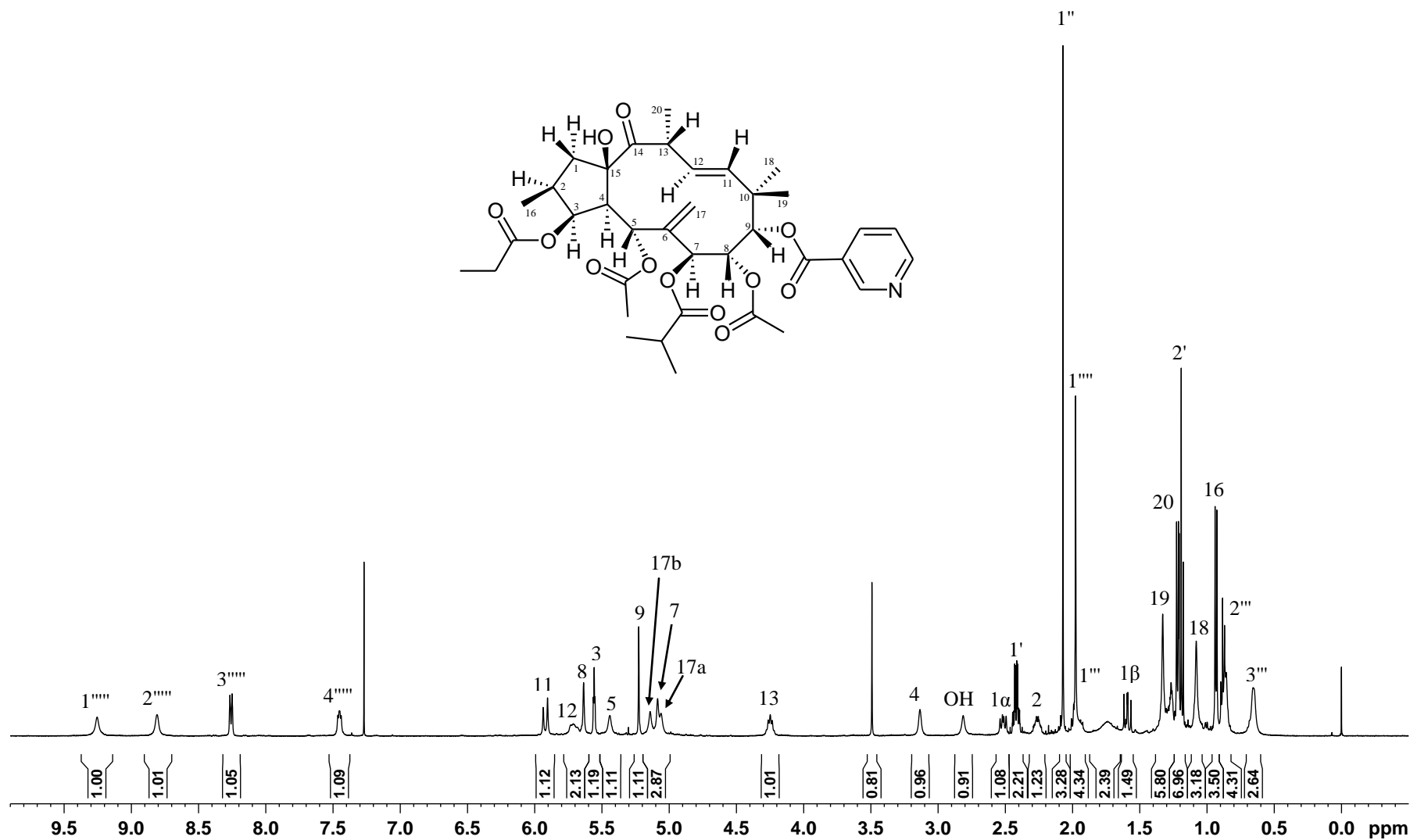
### 2.1.1. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan A)

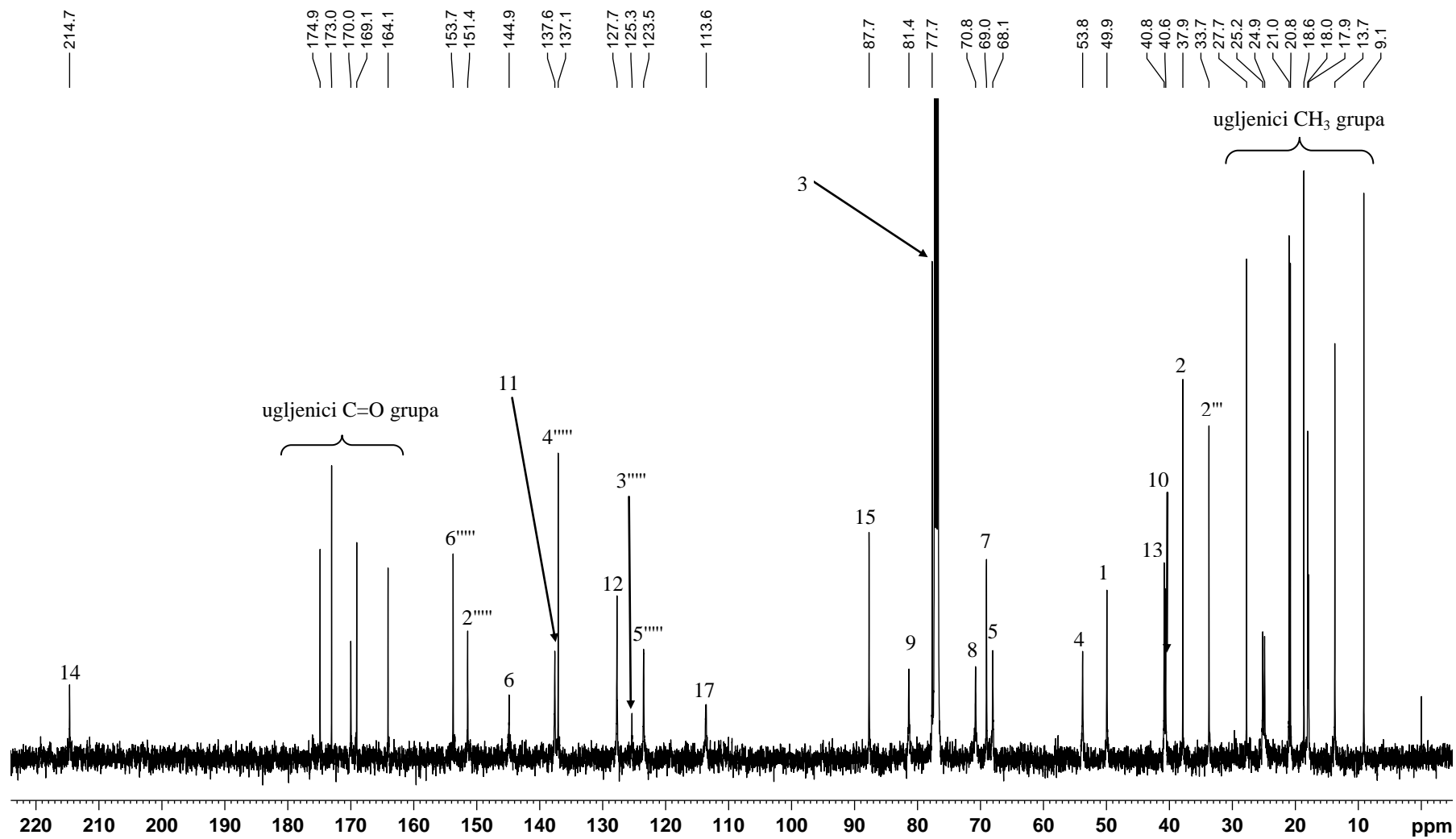
Eufodendrofan A (**1**) je izolovan kao bezbojna amorfnu čvrsta supstanca. Na osnovu molekulskog jona  $[M + H]^+$  koji se u HRESI masenom spektru javlja na  $m/z$  700,3335, utvrđeno je da je molekulska formula jedinjenja  $C_{37}H_{49}NO_{12}$ . Analizom  $^{13}C$  i  $^1H$  NMR spektara (Slike 7 i 8, Tabela 18), ustanovljeno je da jedinjenje **1** sadrži šest oksigenovanih  $sp^3$  ugljenika (pet sekundarnih i jedan tercijarni), od kojih su za pet vezane estarske grupe (dve acetoksi, jedna izobutanoiloksi, jedna nikotinoiloksi i jedna propanoiloksi), a za preostali je vezana hidroksilna grupa ( $\delta_H$  2,81 s, izmenljiv sa  $D_2O$ ). U NMR spektrima se takođe uočavaju signali keto grupe ( $\delta_C$  214,7), dve dvostruke veze (jedna egzociklična i jedna *trans* disupstituisana), jedne alifatične metilenske grupe, četiri metil grupe (dva dubleta i dva singleta u  $^1H$  NMR) i jednog kvaternernog  $sp^3$  ugljenika ( $\delta_C$  40,6). Ukupni izgled NMR spektara, u kombinaciji sa molekulskom formulom, ukazao je na biciklični diterpenski skelet.

Primena 2D NMR tehnika (COSY, HMBC i NOESY) omogućila je potpuno određivanje strukture jedinjenja **1**.  $^1H$ - $^1H$  COSY korelacije ukazale su da u molekulu postoje tri odvojena spinska sistema: **A** ( $H_2$ -1/ $H$ -2,  $H$ -2/ $H_3$ -16,  $H$ -2/ $H$ -3,  $H$ -3/ $H$ -4 i  $H$ -4/ $H$ -5), **B** ( $H$ -7/ $H$ -8 i  $H$ -8/ $H$ -9) i **C** ( $H$ -11/ $H$ -12,  $H$ -12/ $H$ -13 i  $H$ -13/ $H_3$ -20) (Slika 9).

Povezivanje fragmenata **A**, **B** i **C** omogućeno je analizom  $^{2,3}J_{C-H}$  korelacija iz HMBC spektra (Slika 10). Postojanje daljinskog spreznja  $H$ -5 i  $H$ -7 sa  $C$ -6 i  $C$ -17 (egzociklična dvostruka veza) ukazuje da su fragmenti **A** i **B** međusobno vezani  $C$ -6 atomom. Veza između fragmenata **B** i **C** ostvarena je preko atoma  $C$ -10, što je ustanovljeno postojanjem HMBC korelacije protona geminalnih metil-grupa  $H_3$ -18 i  $H_3$ -19 (vezane na  $C$ -10) sa  $C$ -9,  $C$ -10 i  $C$ -11. Na kraju, HMBC korelacija ugljenika keto-grupe ( $C$ -14) sa  $H$ -13,  $H_3$ -20 i sa metilenskom grupom  $H_2$ -1 dokazuje da su fragmenti **A** i **C** međusobno povezani. Ovakvo povezivanje fragmenata ukazalo je da biciklični diterpenski skelet jedinjenja **1** odgovara jatrofanskom tipu, tj. da je to biciklo[10.3.0]pentadekan sa 2,10,10,13-tetrametil-6-egzo-metilen supstitucijom i oksigenovanim ugljenikovim atomima  $C$ -3,  $C$ -5,  $C$ -7,  $C$ -8,  $C$ -9,  $C$ -14 (keton) i  $C$ -15, pri



Slika 7.  $^1\text{H}$  NMR spektar jedinjenja **1**.

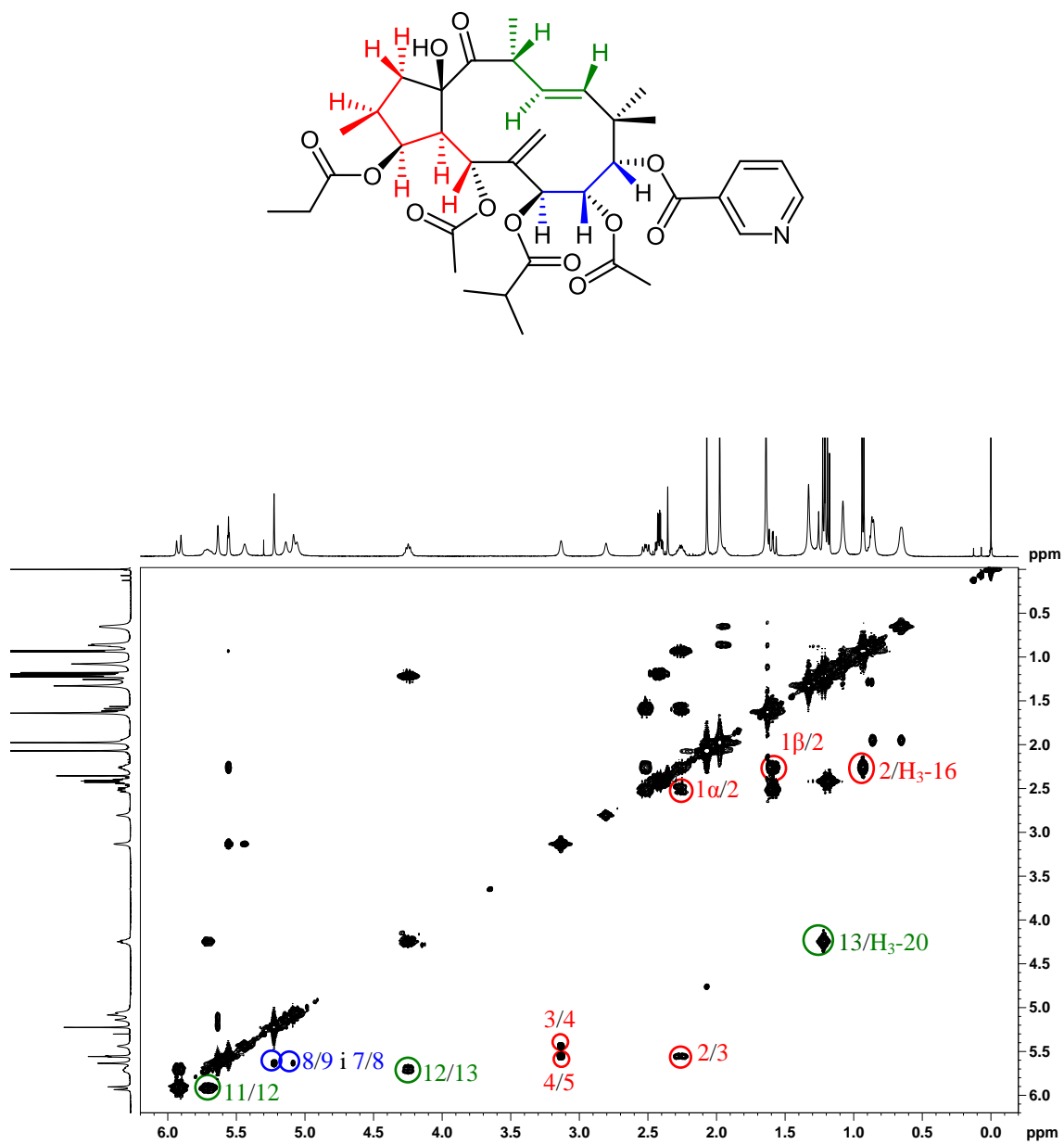


Slika 8. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 1.

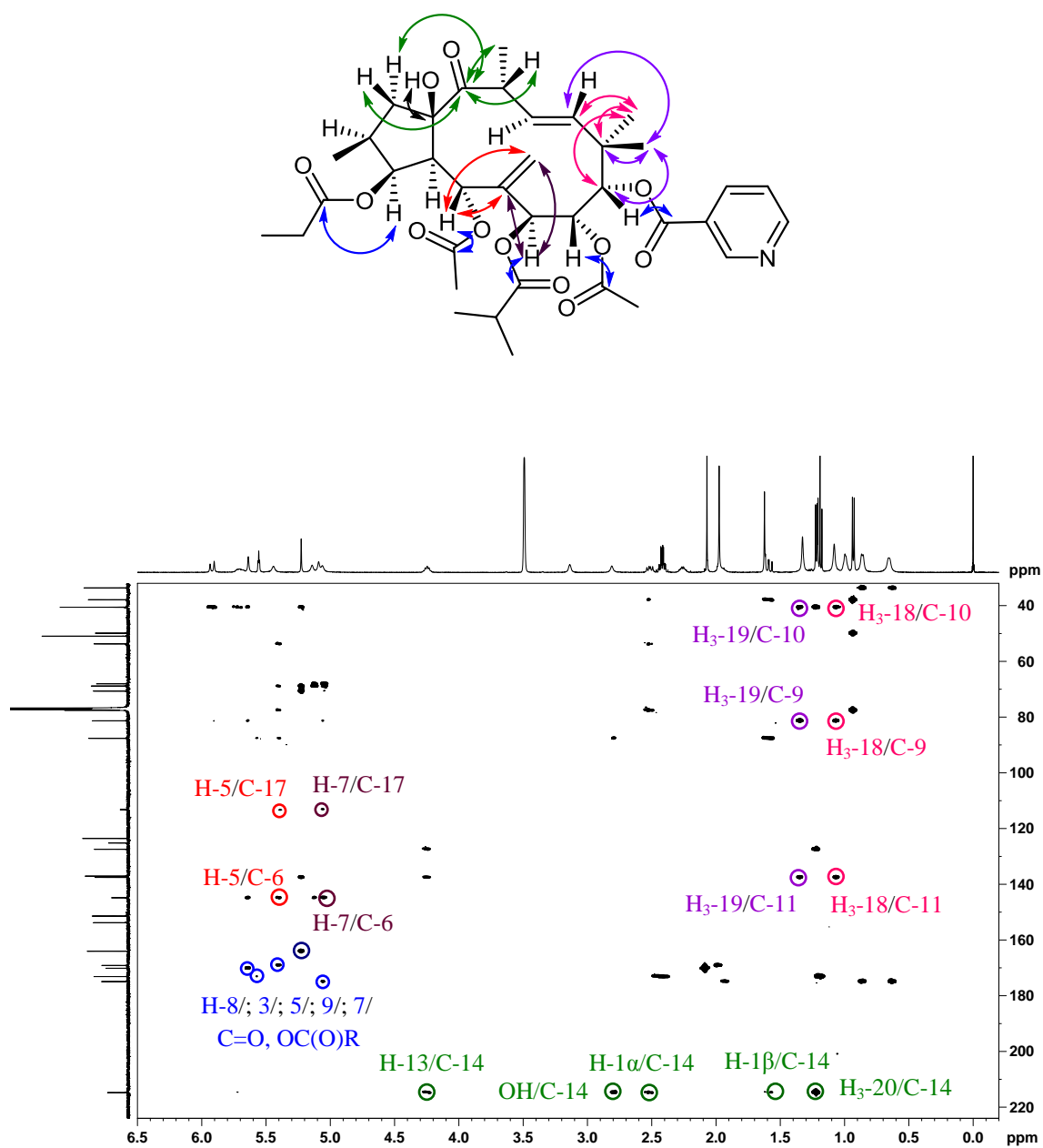
čemu je za poslednji, sudeći po HMBC korelaciji OH/C-15, vezana slobodna hidroksilna grupa.

Položaj estarskih grupa utvrđen je zahvaljujući postojanju korelacija između oksimetinskih protona i ugljenikovih atoma estarskih karbonilnih grupa (Slika 10). Naime, HMBC korelacije H-3 sa karbonilom propanoiloksi grupe ( $\delta_C$  173,1), H-7 sa karbonilom izobutanoiloksi grupe ( $\delta_C$  174,9) i H-9 sa karbonilom nikotinoiloksi grupe ( $\delta_C$  164,1) pokazuju da je propanoiloksi grupa vezana za C-3, izobutanoiloksi grupa za C-7, a nikotinoiloksi grupa za C-9. Pored toga, HMBC korelacije H-5 i H-8 sa karbonilima acetoksi grupa ( $\delta_C$  170,0, odnosno 169,1) dokazuju da su acetoksi grupe vezane za C-5 i C-8. Kao posledica paralelne orijentacije estarskih grupa vezanih za C-7 i C-9, do izražaja dolazi anizotropni uticaj aromatičnog prstena nikotinata vezanog u položaju C-9 koji uzrokuje da se protoni metil-grupa u izobutanoatu nalaze na niskim vrednostima hemijskih pomeranja ( $\delta_H$  0,86 i 0,65).<sup>38</sup>

Relativna konfiguracija jedinjenja **1** određena je iz njegovih skalarnih i dipolarnih sprežanja (Slika 11), kao i poređenjem NMR spektara sa spektralnim podacima sličnih jedinjenja.<sup>38,101,112</sup> Pod pretpostavkom da za H-4 $\alpha$  konfiguraciju postoje biogenetske osnove,<sup>74</sup> NOE korelacije koje se javljaju između protona H-4/H-2 i H-4/H-3 u skladu su sa  $\beta$ -orijentacijom metil-grupe vezane za C-2 i propanoiloksi grupe vezane za C-3. S obzirom na vrednost konstante vicinalnog sprežanja između protona H-4 i H-5 ( $J_{4,5} = 0$  Hz), ovi protoni se jedan u odnosu na drugi nalaze u ortogonalnom (*trans*) položaju, što znači da acetoksi grupa vezana za C-5 zauzima  $\alpha$ -orijentaciju.

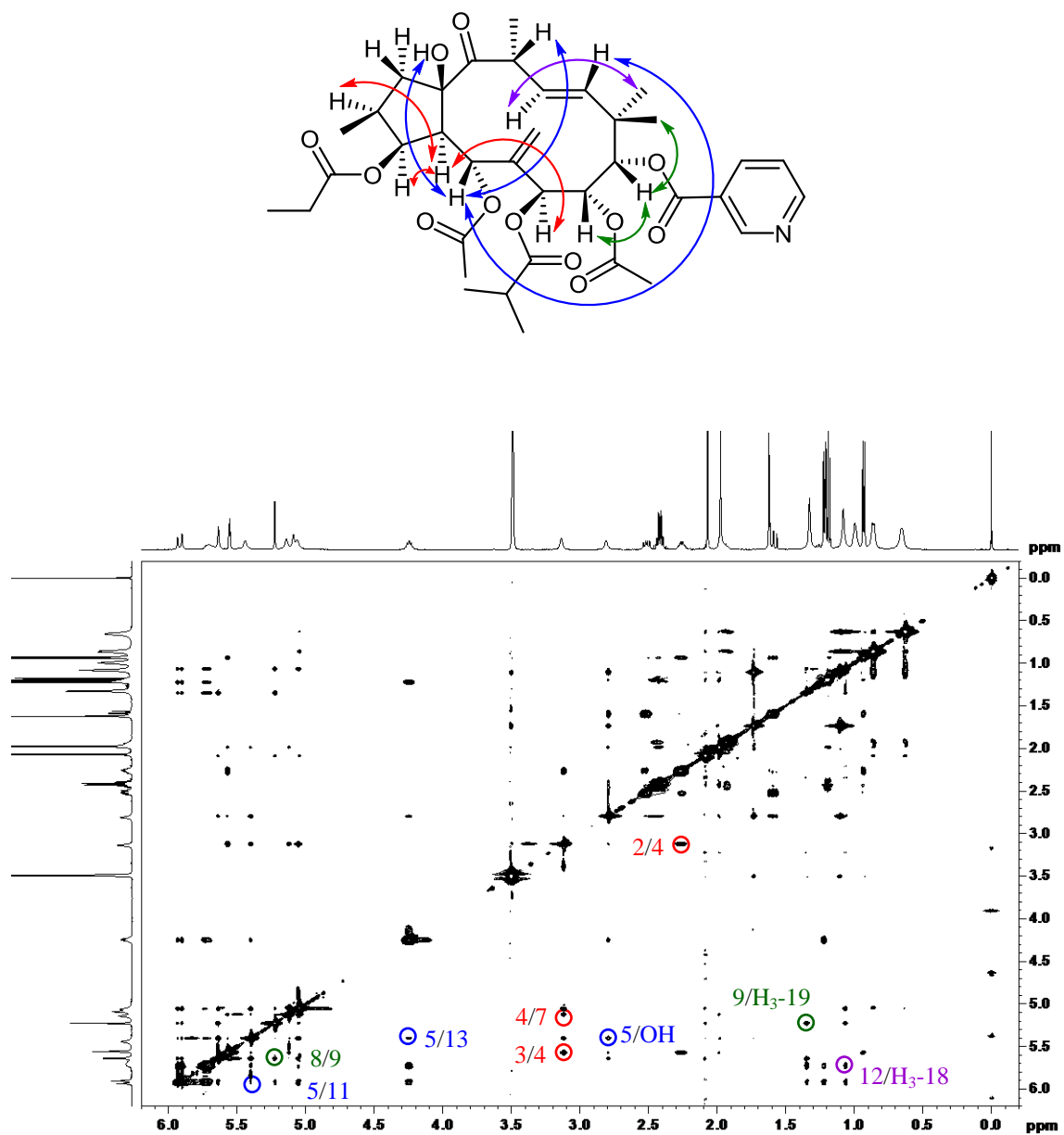


Slika 9. Deo COSY spektra sa odabranim  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY korelacijama jedinjenja **1**.



Slika 10. Deo HMBC spektra sa odabranim HMBC korelacijama jedinjenja **1**.

Postojanje NOESY korelacije između H-4 i H-7 ukazuje na  $\beta$ -orijentaciju izobutanoiloksi grupe vezane za C-7. Nepostojanje dipolarnog sprežanja između H-7 i H-8 u skladu je sa  $\alpha$ -orijentacijom acetoksi grupe na C-8. Pojava NOE između H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  5,43) i H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  5,92) ukazuje na njihovu prostornu bliskost, tj. da se nalaze na istoj ( $\beta$ ) strani makrocikličnog prstena. NOE korelacije koje se javljaju između parova H-5/H-11 i H-5/H-13 definišu  $\alpha$ -orijentaciju metil-grupe vezane za C-13. Velika vrednost konstante sprežanja između olefinskih protona H-11 i H-12 ( $J_{11,12} = 15,5$  Hz) ukazuje na *E*-konfiguraciju endociklične dvostruke veze, pri čemu se H-12 nalazi na  $\alpha$ -strani diterpenoidnog jezgra. S obzirom da se NOE javlja između H-12 i metil-grupe na C-10 (H<sub>3</sub>-18,  $\delta_{\text{H}}$  1,08), ova metil-grupa zauzima  $\alpha$ -orijentaciju. Istovremeno, to znači da je preostala geminalna metil-grupa vezana za C-10 (H<sub>3</sub>-19,  $\delta_{\text{H}}$  1,33)  $\beta$ -orijentisana. NOE korelacije koje postoje između H<sub>3</sub>-19 i H-9, kao i između H-8 i H-9 ukazuju da je nikotinoiloksi grupa vezana za C-9  $\alpha$ -orijentisana. NOE korelacije koje se javljaju između OH-15 i H-5 definišu konfiguraciju na C-15 tako da hidroksilna grupa zauzima  $\beta$ -orijentaciju. Nepostojanje NOESY korelacije između H-4 i OH-15 potvrđuje *trans* vezivanje ciklopentanskog prstena koje je uobičajeno za jatrofanska jedinjenja.<sup>93,184</sup>



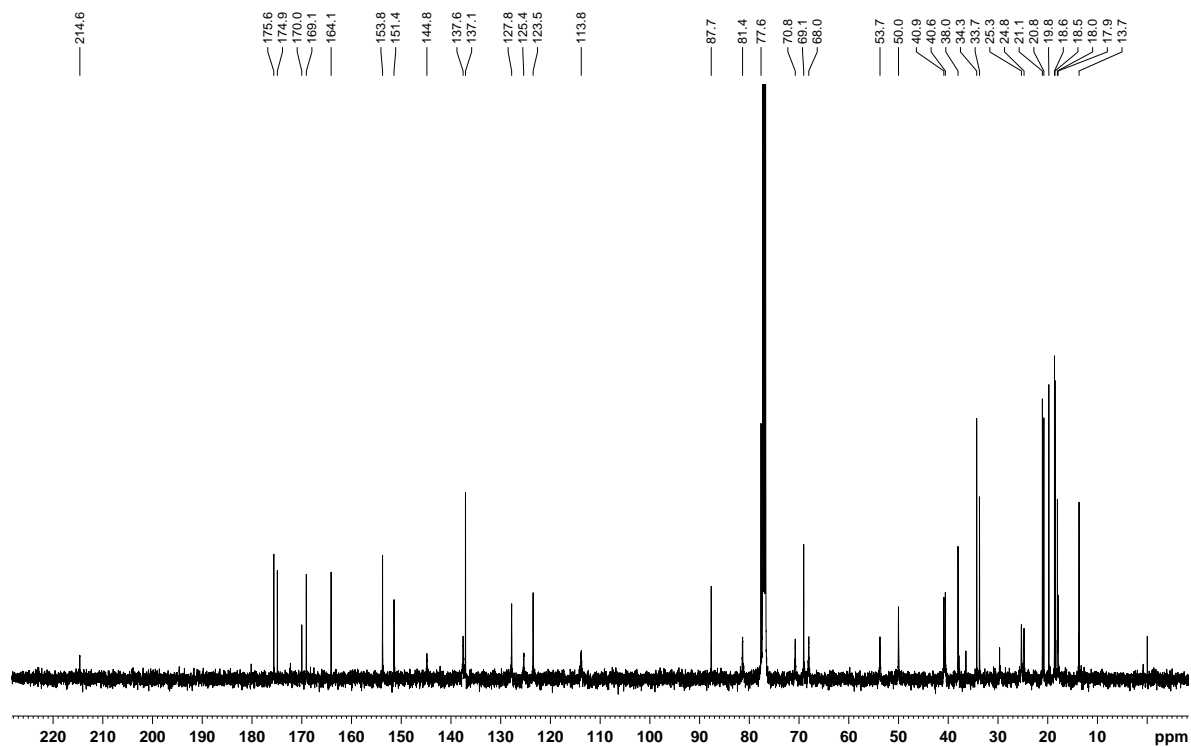
Slika 11. Deo NOESY spektra jedinjenja 1 sa najvažnijim NOESY korelacijama.

### 2.1.2. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksija-trofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan B)

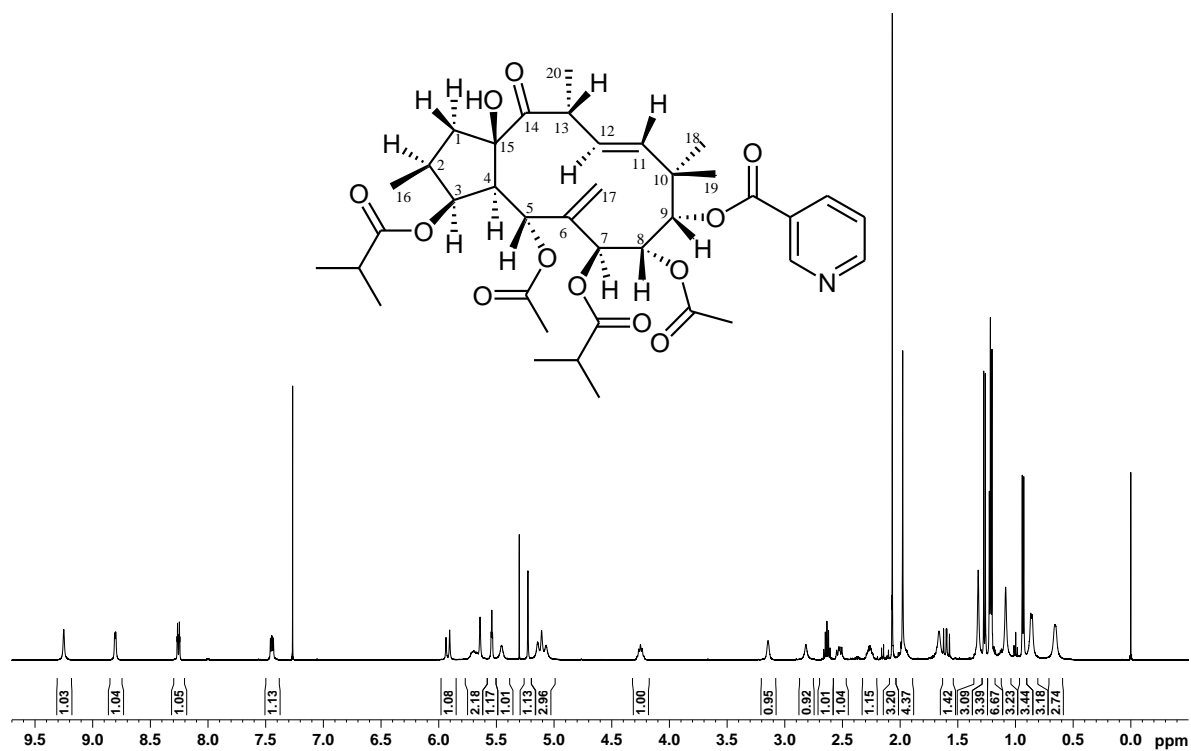
Eufodendrofan B (**2**) je izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>38</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>12</sub>, što je utvrđeno na osnovu molekuskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 714,3489. Masa ovog jedinjenja se razlikuje za 14 masenih jedinica (CH<sub>2</sub> grupa) od mase jedinjenja **1**. <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektri jedinjenja **2** (Slika 12, Tabela 18) skoro su identični odgovarajućim spektrima jedinjenja **1**. Jedina razlika je pojava signala tipičnih za izobutanoiloksi grupu ( $\delta_H$  2,64 (H-2'), 1,27 (H<sub>3</sub>-3') i 1,22 (H<sub>3</sub>-4') i  $\delta_C$  175,6 (C-1'), 34,28 (C-2'), 19,8 (C-3') i 18,5 (C-4')) umesto signala propanoiloksi grupe vezane za C-3. U HMBC spektru jedinjenja **2** postoji korelacioni signal daljinskog sprezanja ugljenikovog atoma karbonilne grupe izobutanoata (C-1') i protona H-3. Jedinjenja **1** i **2** imaju i istu relativnu konfiguraciju, što je dokazano poređenjem njihovih NOESY spektara.



B



A

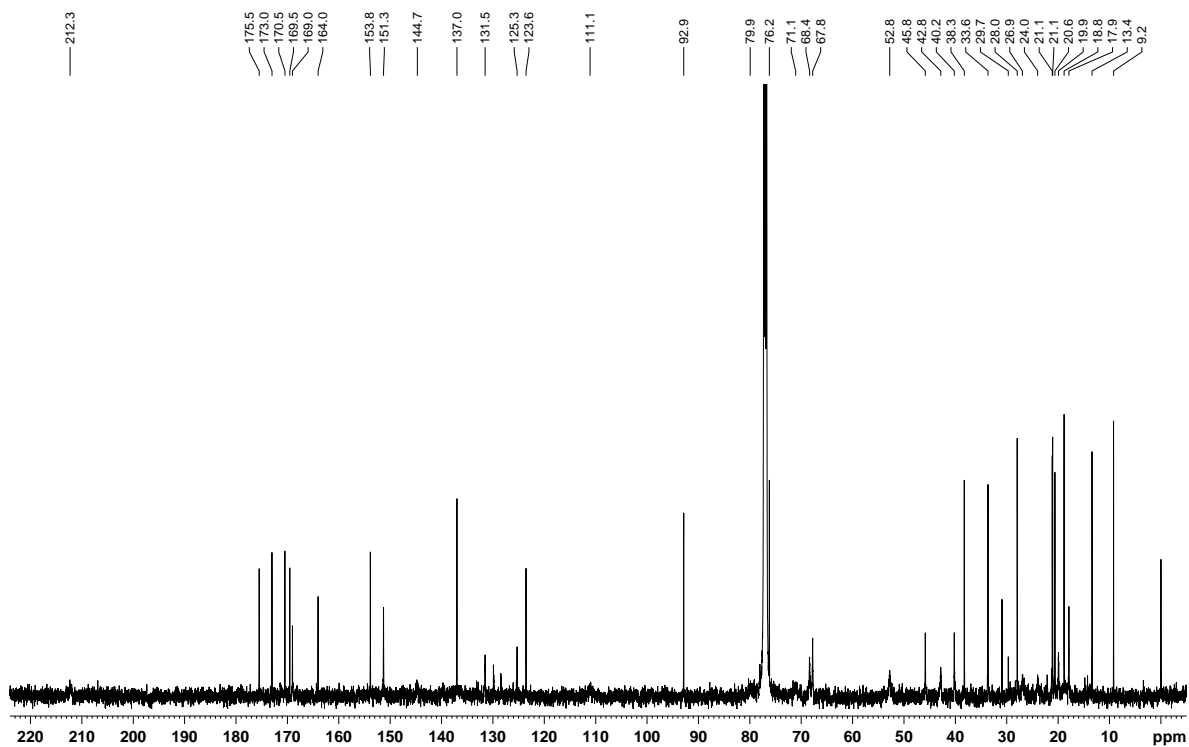


Slika 12.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 2.

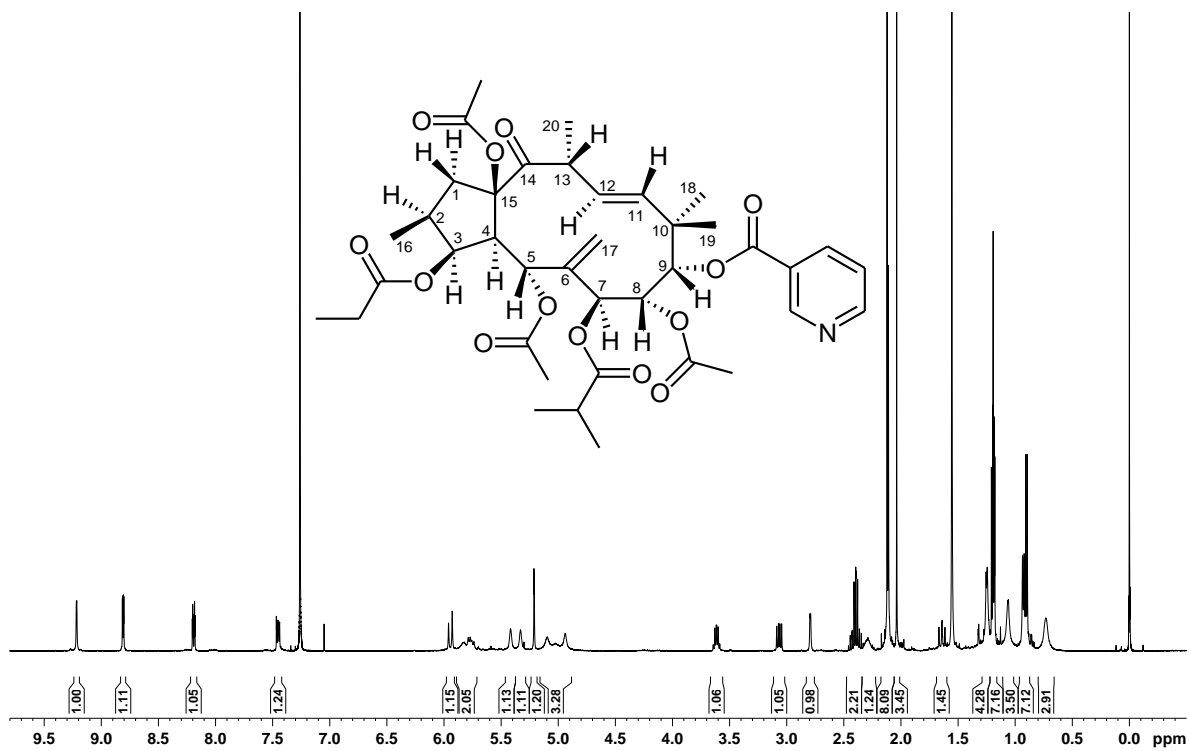
### 2.1.3. 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ -Triacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoil-oksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan C)

Eufodendrofan C (**3**) je izolovan kao bezbojna amorfnna čvrsta supstanca. Na osnovu molekulskog jona  $[M + H]^+$  koji se u HRESI masenom spektru javlja na  $m/z$  742,3438, molekulska formula ovog jedinjenja je  $C_{39}H_{51}NO_{13}$ . NMR spektri jedinjenja **3** (Slika 13, Tabela 18) veoma su slični NMR spektrima jedinjenja **1**. Jedina razlika je pojava signala dodatne acetoksi grupe ( $\delta_H$  2,12 i  $\delta_C$  20,6 i 169,0) uz izostanak signala protona hidroksilne grupe. Molekulska formula jedinjenja **3** u skladu je sa strukturnim elementima koji se uočavaju u  $^1H$  i  $^{13}C$  NMR spektrima – to je biciklični diterpenoid koji sadrži šest estarskih funkcionalnih grupa (tri acetoksi, jedna propanoiloksi, jedna izobutanoiloksi i jedna nikotinoiloksi grupa). Položaj estarskih grupa utvrđen je zahvaljujući HMBC korelacionim signalima estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona. Karbonili nikotinoiloksi, izobutanoiloksi i propanoiloksi grupa se sprežu sa H-9, H-7, odnosno H-3, dok se karbonili dve acetoksi grupe sprežu sa protonima H-5 i H-8, što potvrđuje da je položaj ovih estarskih grupa isti kao u jedinjenju **1**. Daljinska sprezanja između karbonilnog ugljenikovog atoma preostale acetoksi grupe i protona iz prstena ne postoje, što ukazuje da je ova estarska grupa vezana za C-15, tj. na mestu spajanja dva prstena. Acetoksi grupa u položaju 15 uzrokuje paramagnetno pomeranje H-1 $\alpha$  i H-5 ( $\Delta\delta = 0,55$ , odnosno 0,40 ppm) i dijamagnetno pomeranje H-4 i H-13 ( $\Delta\delta = -0,34$ , odnosno -0,64 ppm) u poređenju sa njihovim položajem u jedinjenju **1**. NOESY eksperiment je pokazao da jedinjenja **3** i **1** imaju istu relativnu konfiguraciju. Na osnovu molekulske formule i NMR spektara, jedinjenje **3** je acetilovani analog jedinjenja **1**.

B



A



Slika 13.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 3.

Tabela 18. NMR podaci za jedinjenja 1–3 [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

Položaj	1		2		3	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	2,51 dd (14; 11)	49,9	2,53 dd (14; 11)	50,0	3,06 dd (14; 6,5)	45,8
1 $\beta$	1,59 dd (14; 11)		1,60 dd (14; 11)		1,64 bt (14)	
2	2,26 m	37,9	2,26 m	38,0	2,29 m	38,3
3	5,55 t (4,5)	77,7	5,55 t (4,5)	77,6	5,41 bs	76,2
4	3,13 brs	53,8	3,13 brs	53,7	2,79 d (3,0)	52,8
5	5,43 brs	68,0	5,41 brs	68,0	5,83 brs	67,8
6		144,9		144,8		144,7
7	5,08 brs	69,0	5,07 brs	69,1	5,08 brs	68,4
8	5,63 brs	70,8	5,68 brs	70,8	5,53 brs	71,1
9	5,22 brs	81,4	5,22 brs	81,4	5,21 d (2,0)	80,0
10		40,6		40,9		40,2
11	5,92 d (15,5)	137,6	5,92 d (15,5)	137,6	5,94 d (16)	137,0
12	5,71 m	127,7	5,71 m	127,8	5,76 m	131,5
13	4,25	40,8	4,25	40,6	3,61 m	42,8
14		214,7		214,6		212,3
15		87,7		87,9		92,9
16	0,93 d (6,5)	13,7	0,93 d (6,5)	13,7	0,92 d (6,5)	13,4
17a	5,06 brs		5,05 brs		5,06 brs	
17b	5,14 brs	113,6	5,14 brs	113,8	5,09 brs	111,1
18	1,08 brs	25,2	1,07 brs	25,3	1,06 brs	26,9
19	1,33 brs	24,9	1,34 brs	24,8	1,25 brs	24,0
20	1,22 d (7,02)	18,6	1,23 d (7,02)	18,6	1,20 d (6,0)	19,9
OR <sub>2-3</sub>						
1'	2,41 dq (7,5; 4,5)	173,1	2,64 h (7,0)	175,6	2,40 dq (7,5; 4,5)	173,0
2'	1,19 t (7,5)	27,7	1,27 (7,0)	34,3	1,19 d (7,5)	28,0
3'		9,1	1,22 (7,0)	19,8		9,2
4'				18,5		
OR <sub>3-5</sub>						
1''	2,07 s	170,0	2,08 s	169,1	2,03 s	169,5
2''		20,8		21,1		21,1
OR <sub>4-7</sub>						
1'''	1,95 bm	174,9	1,98 bm	174,9	2,49 h (7,5)	175,5
2'''	0,86 brs	33,7	0,86 d (7,0)	33,7	0,93d (7,0)	33,7
3'''	0,65 brs	17,9	0,63 d (7,0)	17,9	0,73 brs	18,8
4'''		18,0		18,0		17,9
OR <sub>5-8</sub>						
1''''	1,98 s	169,1	1,98 s	170,0	2,10 s	170,5
2''''		21,0		20,8		21,1
OR <sub>6-9</sub>						
1'''''	9,25 brs	164,1	9,26 brs	164,1	9,21 brs	164,0
2'''''	8,80 brs	151,4	8,82 brs	151,5	8,81 brs	151,3
3'''''	8,26 brd	125,3	8,26 brd	125,4	8,20 brd	125,3
4'''''	7,45 brdd	137,1	7,47 brdd	137,1	7,45 brdd	137,0
5'''''		123,5		123,5		123,6
6'''''		153,7		153,8		153,9
OR <sub>7-15</sub>						
1''''''	2,81 s		2,81 s		2,12 s	169,0
2''''''						20,6

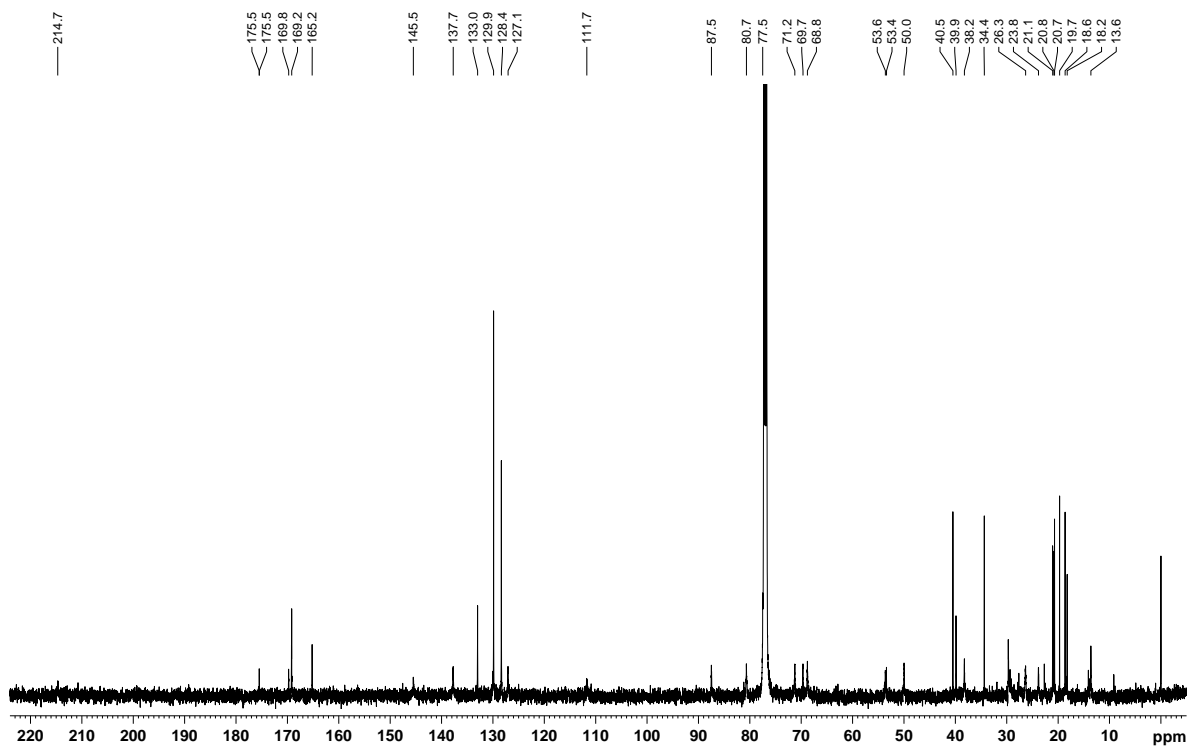
#### 2.1.4. **5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -Triacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan D)**

Eufodendrofan D (**4**) je izolovan kao bezbojna amorfnu čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>O<sub>12</sub>, što je utvrđeno na osnovu molekulskog jona [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 702,3483. Poređenje njegovih <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektara (Slika 14, Tabela 19) sa NMR spektrima jedinjenja **1** pokazalo je da su ova jedinjenja slična i da je jedina razlika broj, vrsta i položaj estarskih grupa. Na osnovu NMR spektara, jedinjenje **4** sadrži benzoiloksi, izobutanoiloksi i tri acetoksi grupe. Na prisustvo benzoiloksi grupe upućuju <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C signali na  $\delta_H$  7,42, 7,54 i 8,01 i  $\delta_C$  165,2, 130,0, 129,9 i 133,0. U HMBC spektru postoji korelacija H-8 sa karbonilnim ugljenikovim atomom benzoata, što predstavlja dokaz da je benzoiloksi grupa vezana za C-8. Položaj preostalih estarskih grupa (3-izobutanoiloksi i 5,7,9-triacetoksi) takođe je određen na osnovu daljinskih sprezanja između estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona.

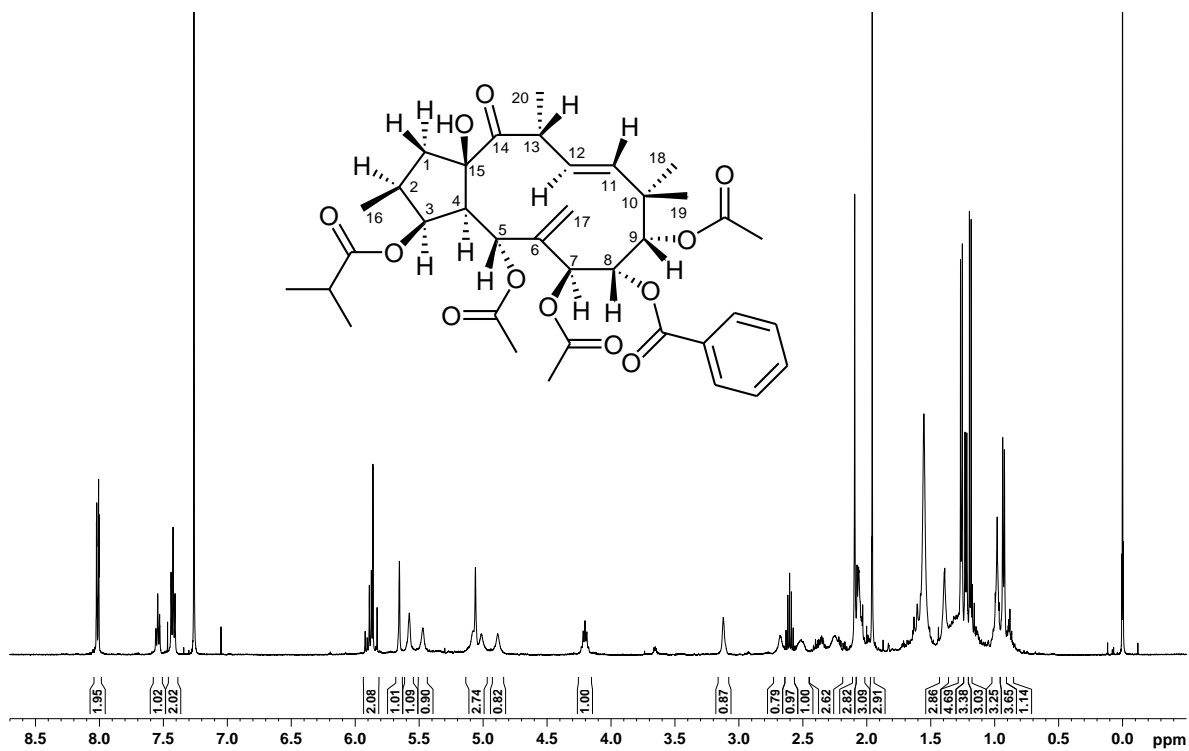
#### 2.1.5. **5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -Diacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan E)**

Eufodendrofan E (**5**) je izolovan kao bezbojna amorfnu čvrsta supstanca. U HRESI masenom spektru ovog jedinjenja na *m/z* 716,3652 javlja se jon [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> koji je u skladu sa molekulskom formulom C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>O<sub>12</sub>. Podaci u <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektrima jedinjenja **5**, koji su dobijeni zahvaljujući 2D NMR eksperimentima (Slika 15, Tabela 19), veoma su slični odgovarajućim podacima jedinjenja **4**. Razlikuju se jedino u signalima za propanoiloksi grupu na C-3, umesto izobutanoiloksi i za izobutanoiloksi grupu na C-7, umesto acetoksi. Položaj navedenih estarskih grupa je određen na osnovu HMBC korelacija karbonilnih ugljenika odgovarajućih estara ( $\delta_C$  173,2 i 174,9) i H-3, odnosno H-7. Ostali korelacioni signali u HMBC spektru potvrđuju predloženu strukturu.

**B**

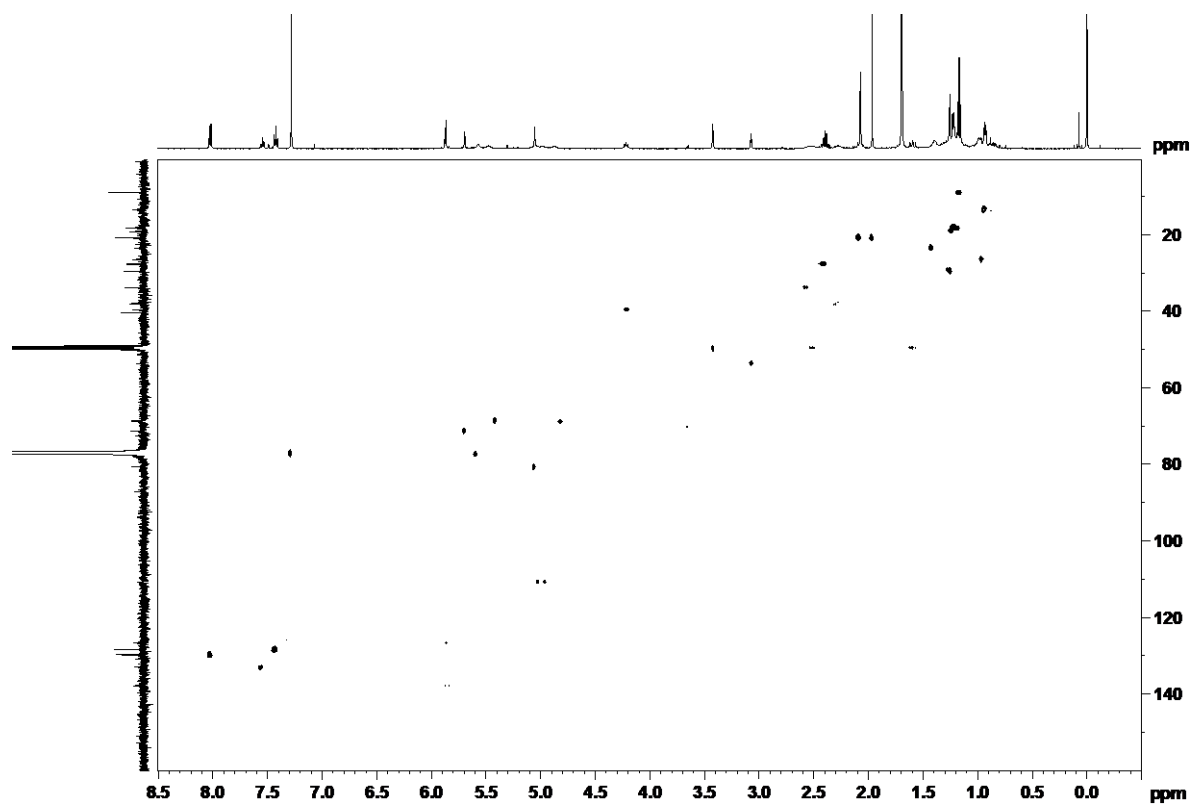


**A**

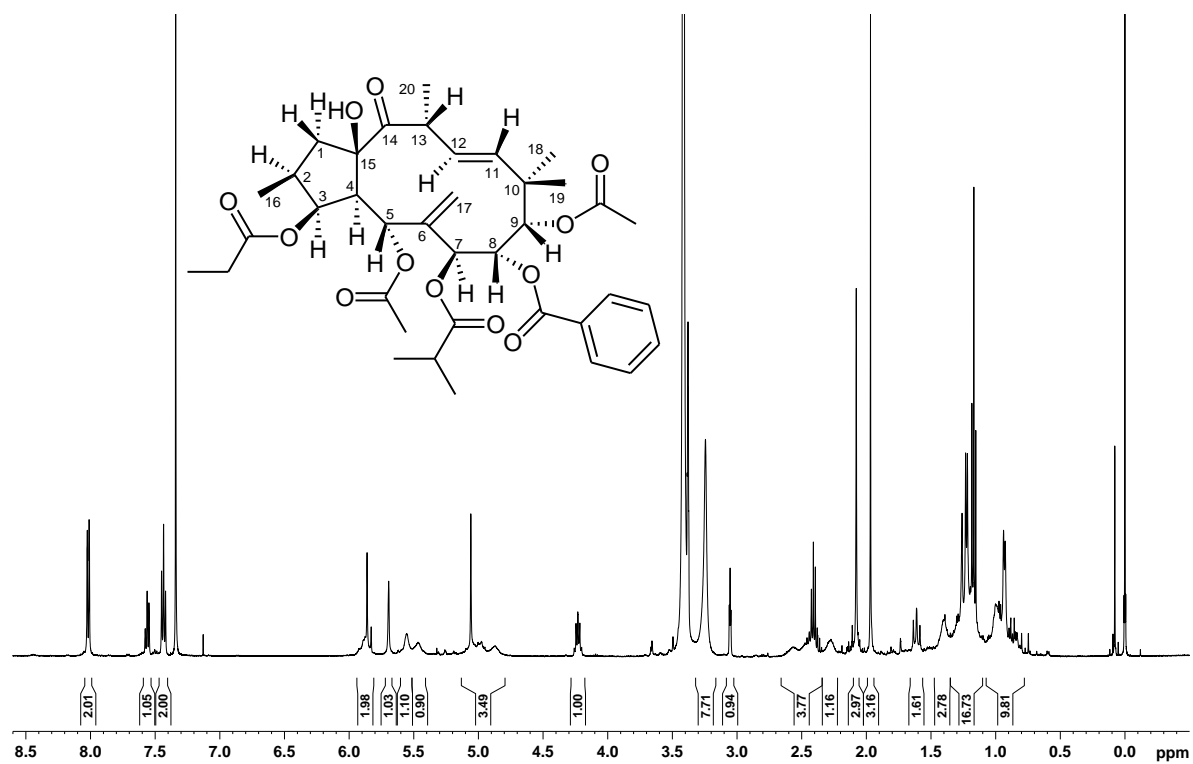


Slika 14.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 4.

B



A

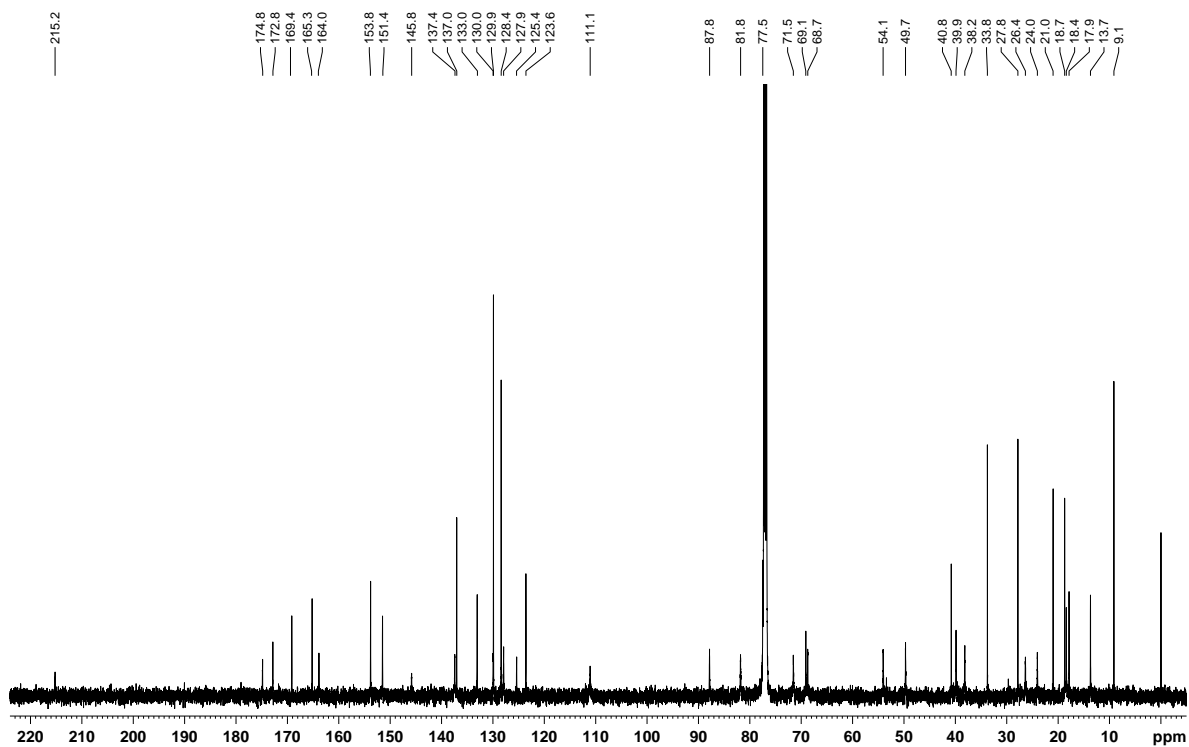
Slika 15.  $^1\text{H}$  NMR (A) i HSQC (B) spektar jedinjenja 5.

### 2.1.6. 5 $\alpha$ -Acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksi-jatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan H)

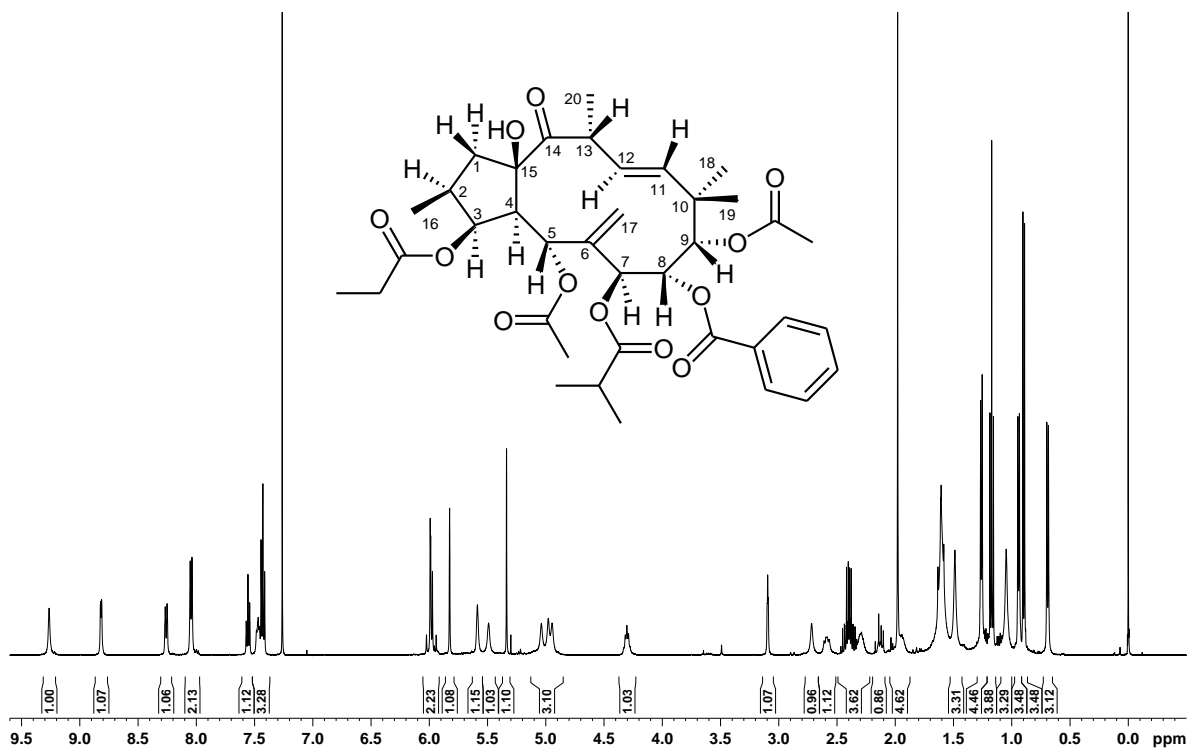
Eufodendrofan H (**6**) je izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>12</sub>, što je utvrđeno na osnovu molekulskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 762,3487. Poređenjem <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektralnih podataka ovog jedinjenja (Slika 16, Tabela 19) sa odgovarajućim podacima za eufodendrofan A, može se zaključiti da je jedina razlika između ova dva jedinjenja vezivanje benzoiloksi grupe za C-8 u jatrofanu **6**, umesto acetoksi grupe koja je u jatrofanu **1** vezana u istom položaju. Prisustvo benzoiloksi grupe je očigledno na osnovu pojave <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR signala na  $\delta_H$  7,44, 7,55, 8,04 i  $\delta_C$  165,3, 130,0, 129,9, 128,4, 133,1, 128,4, 129,9, dok postojanje HMBC korelacije između H-8 i ugljenikovog atoma karbonilne grupe benzoata potvrđuje da je ova estarska grupa vezana u položaju C-8. Položaji ostalih estarskih grupa, 3-propanoiloksi, 5-acetoksi, 7-izobutanoiloksi i 9-nikotinoiloksi, takođe su određeni na osnovu daljinskih sprežanja između estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona.



B



A



Slika 16.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 6.

Tabela 19. NMR podaci za jedinjenja 4–6 [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

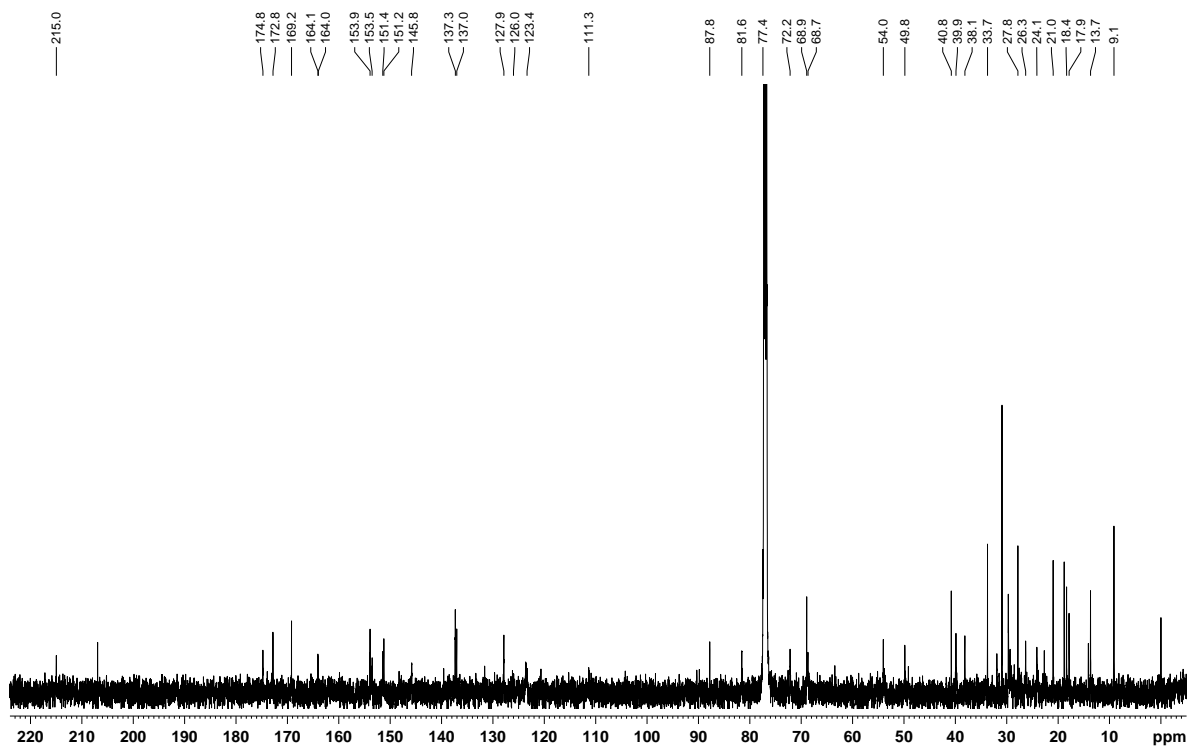
Položaj	4		5 <sup>a</sup>		6	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	2,51 brs		2,40 m		2,59 m	
1 $\beta$	1,58 dd	50,0	1,60 t (12)	49,7	1,60 m	49,7
2	2,25 brs	38,2	2,29 bm	38,3	2,29 bm	38,1
3	5,57 brs	77,5	5,60 brs	77,3	5,58 brs	77,5
4	3,12 brs	53,6	3,07 brs	53,9	3,09 brt	54,0
5	5,47 brs	68,8	5,42 brs	68,7	5,49 brs	68,7
6		145,5		145,9		145,8
7	4,88 brs	69,7	4,82 brs	69,0	4,98 brs	69,1
8	5,65 brs	71,2	5,70 brs	71,3	5,82 s	71,5
9	5,06 brs	80,7	5,06 brs	80,6	5,33 s	81,8
10		40,5		40,6		40,8
11	5,90 d (16,0)	137,8	5,86 d (16,0)	137,7	5,99 d (16,0)	137,4
12	5,83 m	127,1	5,92 m	127,0	5,97 dd (16,0; 9,5)	128,4
13	4,20 m	39,9	4,21 m	39,8	4,30 m	39,9
14		214,7		215,1		215,2
15		87,5		87,1		87,8
16	0,93 d (6,5)	13,6	0,93 d (6,5)	13,5	0,94 d (6,5)	13,7
17a	5,01 brs	111,8	4,96 brs	110,9	5,04 brs	111,1
17b	5,08 brs		5,03 brs		4,94 brs	
18	0,98 brs	26,3	0,96 brs	26,6	1,05 brs	24,0
19	1,39 brs	23,8	1,42 brs	23,4	1,49 brs	26,4
20	1,22 d (7,0)	18,2	1,16 d (7,0)	18,3	1,25 d (6,5)	18,7
OR <sub>2-3</sub>						
1'	2,60 h (7,0)	175,5	2,40 q (7,5)	173,2	2,41 dq (7,5; 4,5)	172,8
2'	1,26 d (7,0)	34,4	1,17 t (7,5)	27,8	1,17 t (7,5)	27,8
3'	1,19 d (7,0)	18,6		9,3		9,1
4'/5'		19,7				
OR <sub>3-5</sub>						
1''	2,09 s	169,2	2,09 s	169,2		169,4
2''		20,7		20,8	1,98 s	21,0
OR <sub>4-7</sub>						
1'''	2,07 s	169,2	2,06 h (7,0)	174,9	1,94 brm	174,8
2'''		20,8	1,20 d (7,0)	34,1	0,90 d (7,0)	33,8
3'''			1,16 d (7,0)	19,2	0,69 d (7,0)	17,9
4'''				18,5		18,4
OR <sub>5-8</sub>						
1''''		165,2		165,2		165,3
2''''	8,01 d (8,5)	130,0	8,02 d (8,5)	129,8	8,04 d (7,5)	130,0
3''''	7,54 t (7,5)	129,9	7,56 t (7,5)	129,9	7,55 t (7,5)	129,9
4''''	7,42 t (8,0)	128,3	7,43 t (8,0)	128,6	7,44 t (7,5)	128,4
5''''	7,54 t (7,5)	133,0	7,56 t (7,5)	133,2	7,55 t (7,5)	133,1
6''''	8,01 d (8,5)	128,4	8,02 d (8,5)	128,4	8,04 d (7,5)	128,4
7''''		129,9		129,9		129,9
OR <sub>6-9</sub>						
1'''''	1,95 s	169,9	1,97 s	170,0	9,26 brs	
2'''''		21,2		21,0	8,82 brd (3,5)	151,4
3'''''					8,26 brd (8,0)	125,4
4'''''						137,0
5'''''						123,6
6'''''						153,8
7'''''						164,0
OR <sub>7-15</sub>						
1''''''	2,67 s		2,53 s		2,72 s	

<sup>a</sup> Podaci dobijeni na osnovu HMBC i HSQC spektara.

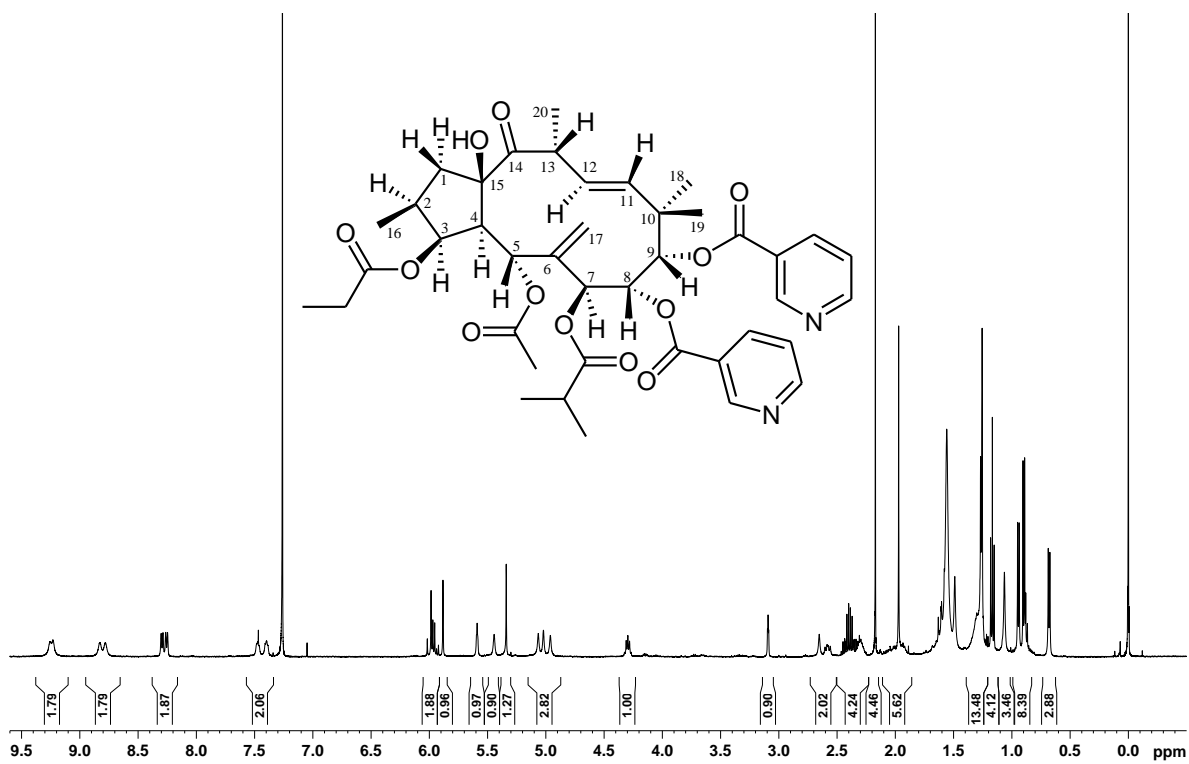
**2.1.7. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksiatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan I) i 5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksiatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan J)**

Eufodendrofan I (**7**) i eufodendrofan J (**8**) izolovani su kao bezbojne amorfne čvrste supstance molekulskih formula C<sub>41</sub>H<sub>50</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>, odnosno C<sub>39</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>12</sub>, na osnovu molekulskih jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenim spektrima ovih jedinjenja javljaju na *m/z* 763,3449, odnosno 728,3651. Jedinjenja **7** i **8** se, kao i jedinjenje **6**, među sobom razlikuju samo po vrsti estarske grupe vezane za C-8 atom. Umesto 8-benzoiloksi grupe u jedinjenju **6**, na osnovu NMR podataka (Slike 17 i 18, Tabela 20), u jedinjenju **7** u ovom položaju je vezana nikotinoiloksi, a u jedinjenju **8** izobutanoiloksi grupa. Da se ove estarske grupe nalaze u ovom položaju potvrđuju HMBC korelacije između odgovarajućih estarskih karbonilnih ugljenika ( $\delta_C$  164,0, odnosno 175,6) sa protonom H-8 ( $\delta_H$  5,88, odnosno 5,59). Položaji ostalih estarskih grupa (3-propanoiloksi, 5-acetoksi, 7-izobutanoiloksi, 9-nikotinoiloksi, za oba jedinjenja) takođe su određeni na osnovu daljinskih sprezanja između estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona.

B

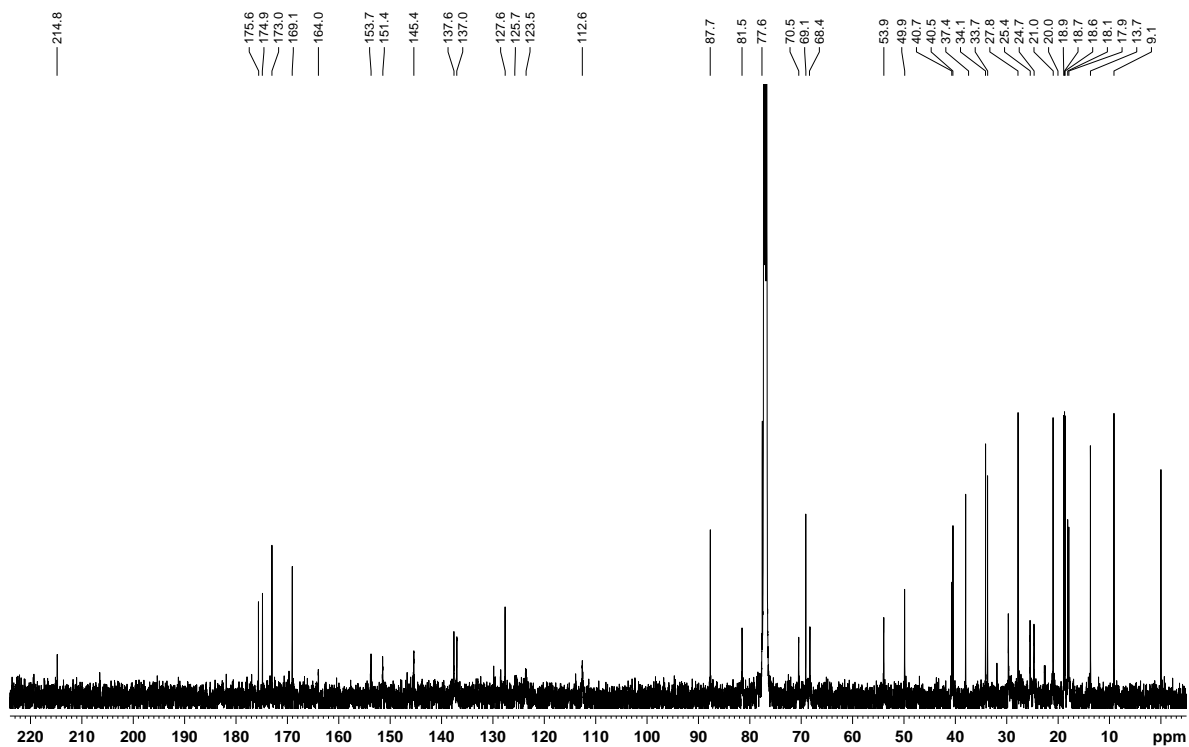


A

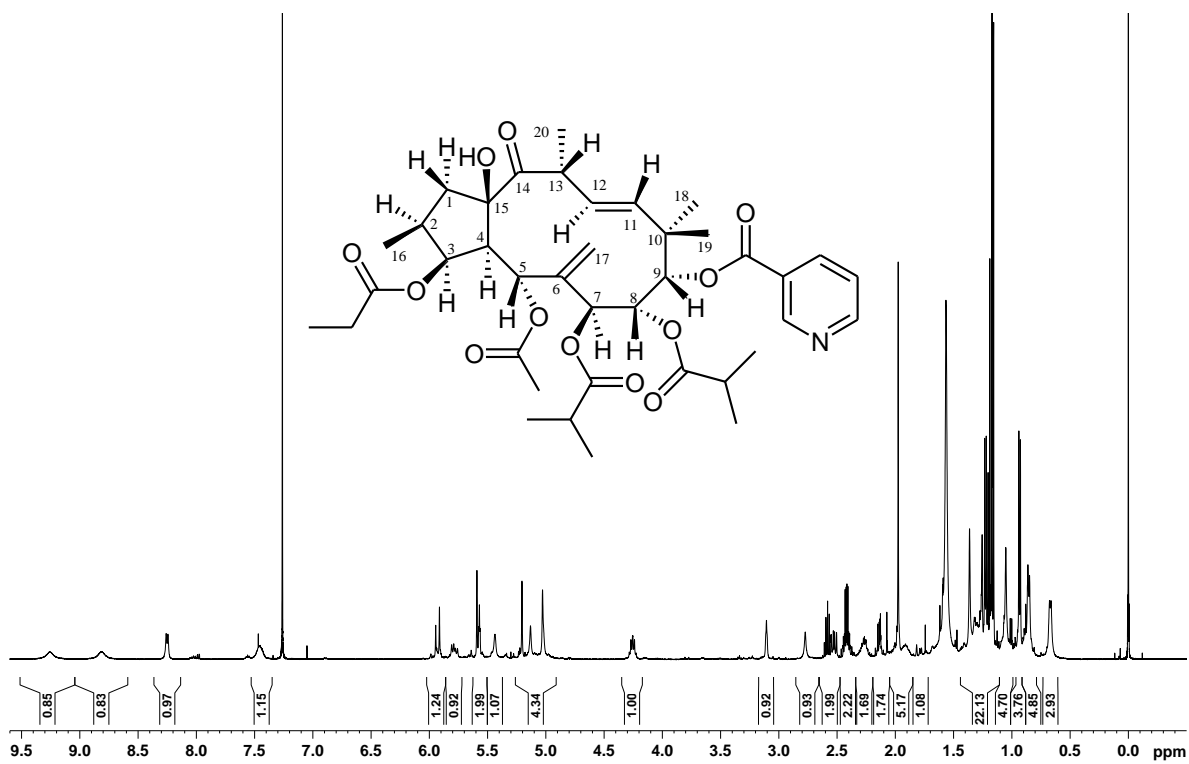


Slika 17.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 7.

B



A



Slika 18.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja 8.

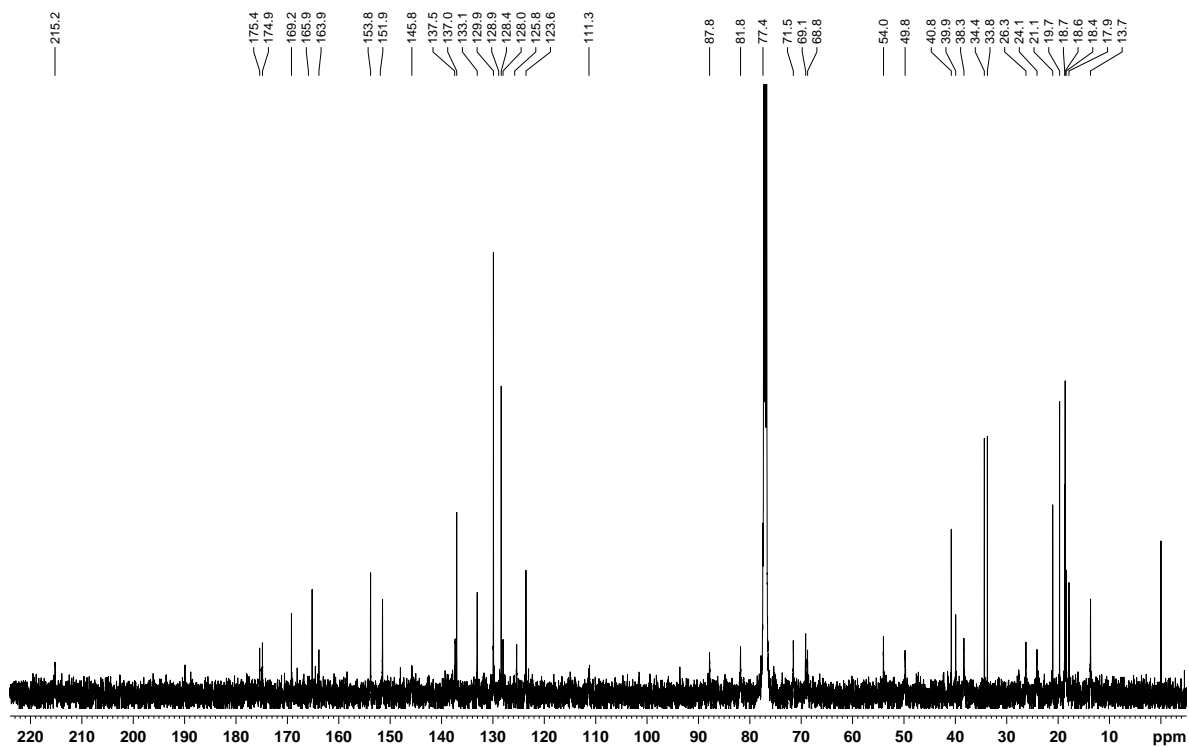
### 2.1.8. 5 $\alpha$ -Acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan K)

Eufodendrofan K (**9**), izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>12</sub>, na osnovu molekulskog jona [M + Na]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 798,3457, razlikuje se za 14 masenih jedinica (CH<sub>2</sub>) od molekulske mase jedinjenja **6**. Ova razlika se objašnjava vezivanjem izobutanoiloksi grupe za C-3 atom (umesto propanoiloksi grupe vezane za isti C-atom u jedinjenju **6**). <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci (Slika 19, Tabela 20) i HMBC korelacije koje se javljaju između estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona omogućili su određivanje položaja ostalih estarskih grupa. Tako je za C-5 vezana acetoksi, za C-8 benzoiloksi, za C-9 nikotinoiloksi grupa, a izobutanoiloksi grupa je, osim za C-3, vezana i za C-7 atom.

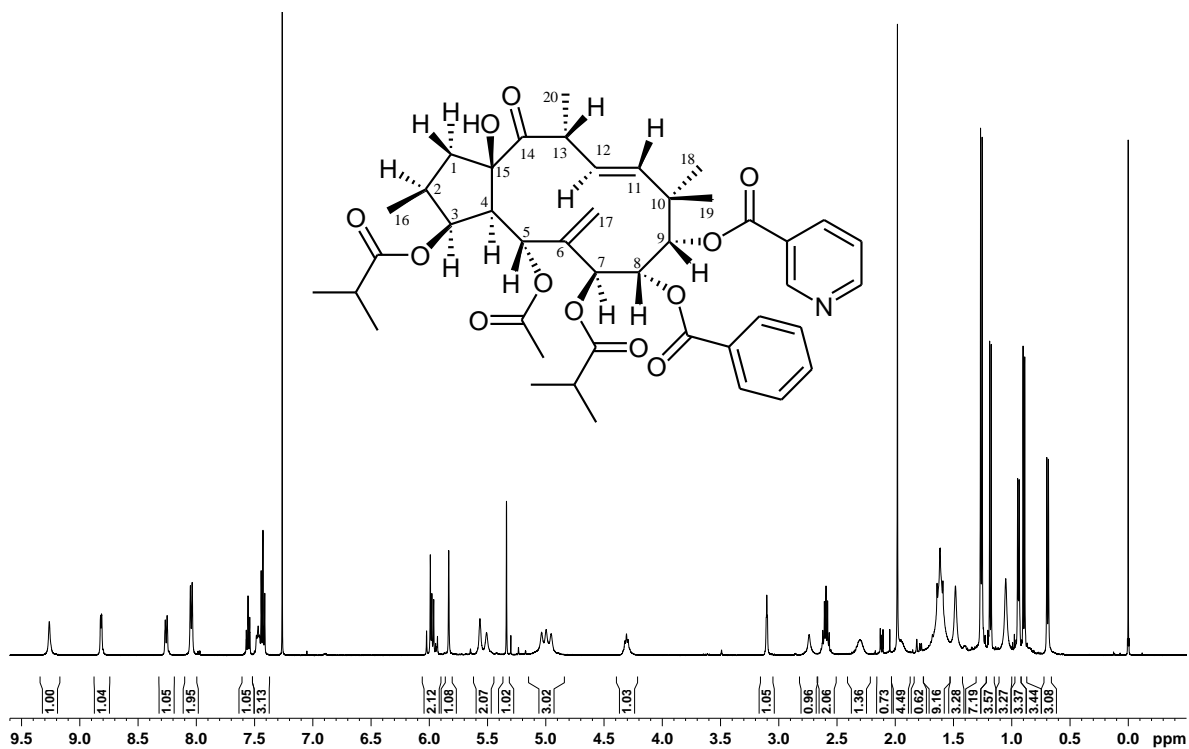
### 2.1.9. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan L)

Eufodendrofan L (**10**) je izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>, na osnovu molekulskog jona [M]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 777,3607. <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektri (Slika 20, Tabela 21) ovog jedinjenja slični su odgovarajućim spektrima jedinjenja **2** i **9**. Jedina razlika potiče od pojave signala 8-nikotinoiloksi umesto signala 8-acetoksi grupe u jedinjenju **2**, odnosno 8-benzoiloksi grupe u jedinjenju **9**. Položaji ostalih estarskih grupa (acetoksi u položaju C-5, izobutanoiloksi u položajima C-3 i C-7 i nikotinoiloksi u položajima C-8 i C-9) potvrđeni su HMBC korelacijama između estarskih karbonilnih ugljenikovih atoma i susednih oksimetinskih protona.

**B**



**A**



Slika 19.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **9**.

Tabela 20. NMR podaci za jedinjenja 7–9 [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

Položaj	7		8		9	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	2,58 m	49,8	2,52 m	49,9	2,58 m	49,8
1 $\beta$	1,60 m		1,59 m		1,61 m	
2	2,30 m	38,1	2,26 brm	37,4	2,30 brm	38,3
3	5,59 brs	77,4	5,57 brs	77,6	5,56 brs	77,4
4	3,09 brt	54,0	3,10 brs	53,9	3,10 brt	54,0
5	5,44 brs	68,7	5,43 brs	68,4	5,50 brs	68,8
6		145,8		145,4		145,8
7	5,02 brs	68,9	5,03 brs	69,1	4,99 brs	69,1
8	5,88 s	72,1	5,59 brs	70,5	5,83 s	71,5
9	5,34 s	81,6	5,20 s	81,5	5,34 s	81,8
10		40,8		40,7		40,8
11	6,01 d (16,0)	137,3	5,92 d (16,0)	137,6	5,99 m	137,3
12	5,97 m	127,9	5,78 m	127,6	5,97 m	128,0
13	4,29 m	39,9	4,25 m	40,5	4,31 m	39,9
14		215,0		214,8		215,2
15		87,8		87,7		87,8
16	0,94 d (7,0)	13,7	0,93 d (6,5)	13,7	0,94 d (6,5)	13,7
17a	5,06 brs	111,3	5,13 brs	112,6	5,04 brs	111,3
17b	4,96 brs		5,03 brs		4,94 brs	
18	1,06 brs	24,1	1,05 brs	24,7	1,05 brs	24,1
19	1,49 brs	26,3	1,36 brs	25,5	1,48 brs	26,2
20	1,26 (7,0)	18,3	1,22 d (6,5)	18,1	1,25 d (7,0)	18,7
OR <sub>2-3</sub>						
1'	2,40 m	172,8	2,41 m	173,0	2,60 m	175,4
2'	1,16 t (7,5)	27,8	1,19 t (7,5)	27,8	1,18 d (7,0)	34,3
3'		9,1		9,1	1,26 d (7,0)	18,6
4'/5'						19,7
OR <sub>3-5</sub>						
1''	1,97 s	169,2	1,97 s	169,0	1,98 s	169,2
2''		21,0		21,0		21,0
OR <sub>4-7</sub>						
1'''	1,94 brm	174,8	1,96 brm	174,8	1,94 brm	174,8
2'''	0,90 d (7,0)	33,7	0,85 d (7,0)	33,7	0,89 d (7,0)	33,8
3'''	0,68 d (7,0)	17,9	0,67 d (7,0)	17,9	0,69 d (7,0)	17,9
4'''		18,4		18,6		18,4
OR <sub>5-8</sub>						
1''''	9,25 brs	151,2	2,57 h (7,0)	175,6		165,9
2''''	8,78 brs	125,9	1,16 d (7,0)	34,1	8,04 d (7,5)	129,9
3''''	8,25 brd (8,0)	137,3	1,16 d (7,0)	18,9	7,55 t (7,5)	129,9
4''''	7,39 brm	123,4		18,8	7,43 t (7,5)	128,4
5''''		153,5			7,55 t (7,5)	133,0
6''''		164,0			8,04 d (7,5)	128,8
7''''						129,9
OR <sub>6-9</sub>						
1'''''	9,26 brs		9,26 brs		9,26 brs	
2'''''	8,82 brs	151,4	8,81 brs	151,5	8,82 brd (5,0)	151,9
3'''''	8,29 brd (8,0)	126,0	8,25 d (7,5)	125,7	8,26 brd (8,0)	125,8
4'''''	7,46 brm	137,0	7,45 brm	137,0	7,47 brm	137,5
5'''''		123,6		123,6		123,6
6'''''		153,9		153,8		153,8
7'''''		164,0		164,0		163,9
OR <sub>7-15</sub>						
1''''''	2,65 s		2,77 s		2,74 s	



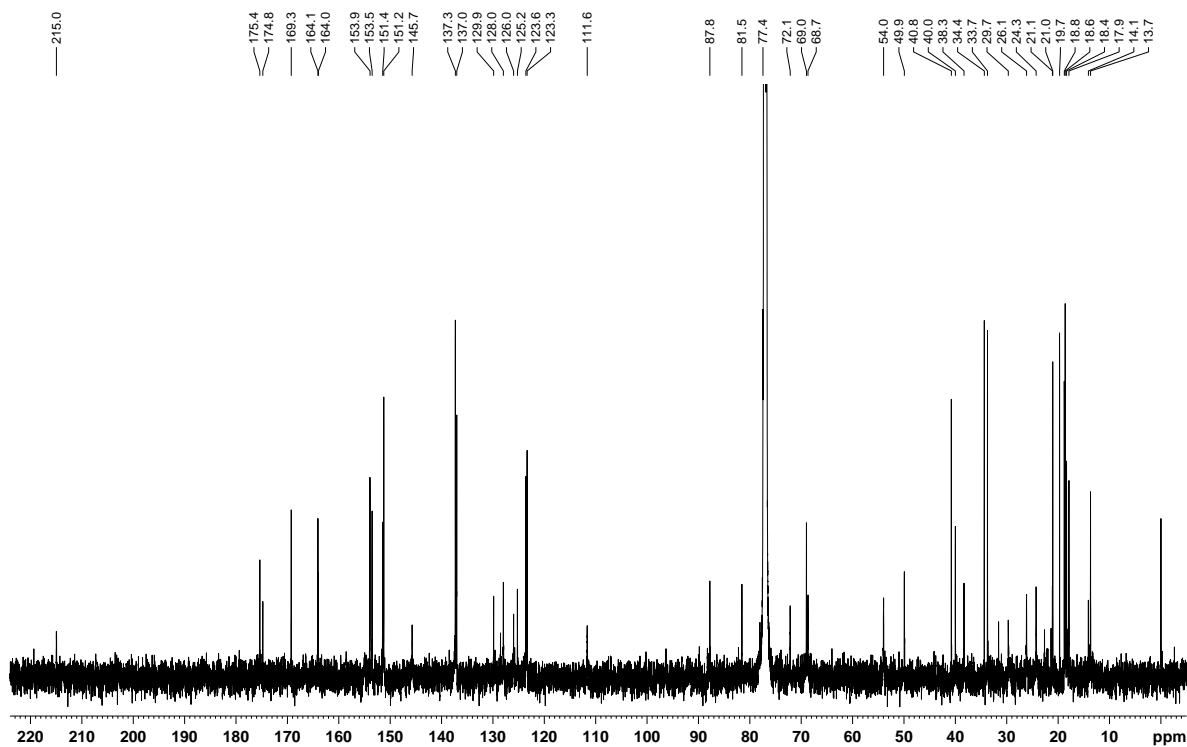
**2.1.10. 5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ -nikotinoiloksija-trofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan M)**

Eufodendrofan M (**11**) je bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>12</sub>, na osnovu molekuskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 686,3186. Spektralni podaci ovog jedinjenja (Slika 21, Tabela 21) ukazuju da je strukturno slično jedinjenju **4**, od kojeg se razlikuje po tome što za C-8 ima vezanu nikotinoiloksi grupu umesto benzoiloksi. Prema tome, jedinjenje **11** je pentaesterifikovani diterpenski poliol jatrofanskog tipa kod kojeg je izobutanoiloksi grupa vezana za C-3, nikotinoiloksi za C-8, a acetoksi grupe se nalaze u položajima C-5, C-7 i C-9.

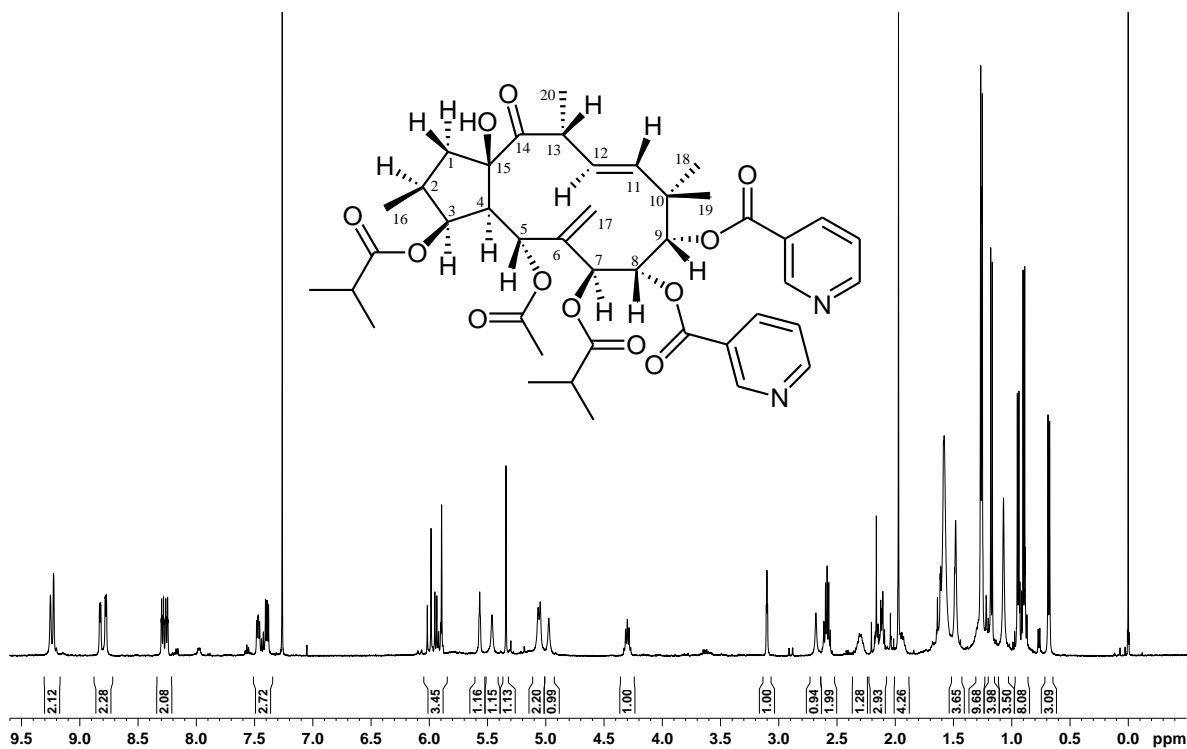
**2.1.11. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksija-trofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan N)**

Eufodendrofan N (**12**) je izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca. Na osnovu molekuskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 688,3184, utvrđeno je da je molekulska formula ovog jedinjenja C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>12</sub> i da je, prema tome, njegova molekulska masa za 28 masenih jedinica (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) manja od molekulske mase jedinjenja **2**. <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektri jedinjenja **12** (Slika 22, Tabela 21) veoma su slični odgovarajućim spektrima jedinjenja **2**, s tom razlikom da je izobutanoiloksi grupa vezana za C-3 u jedinjenju **2** zamenjena acetoksi grupom u jedinjenju **12**. Na osnovu HMBC korelacija, ostale estarske grupe su raspoređene na sledeći način: 5-acetoksi, 7-izobutanoiloksi, 8-acetoksi i 9-nicotinoiloksi.

**B**

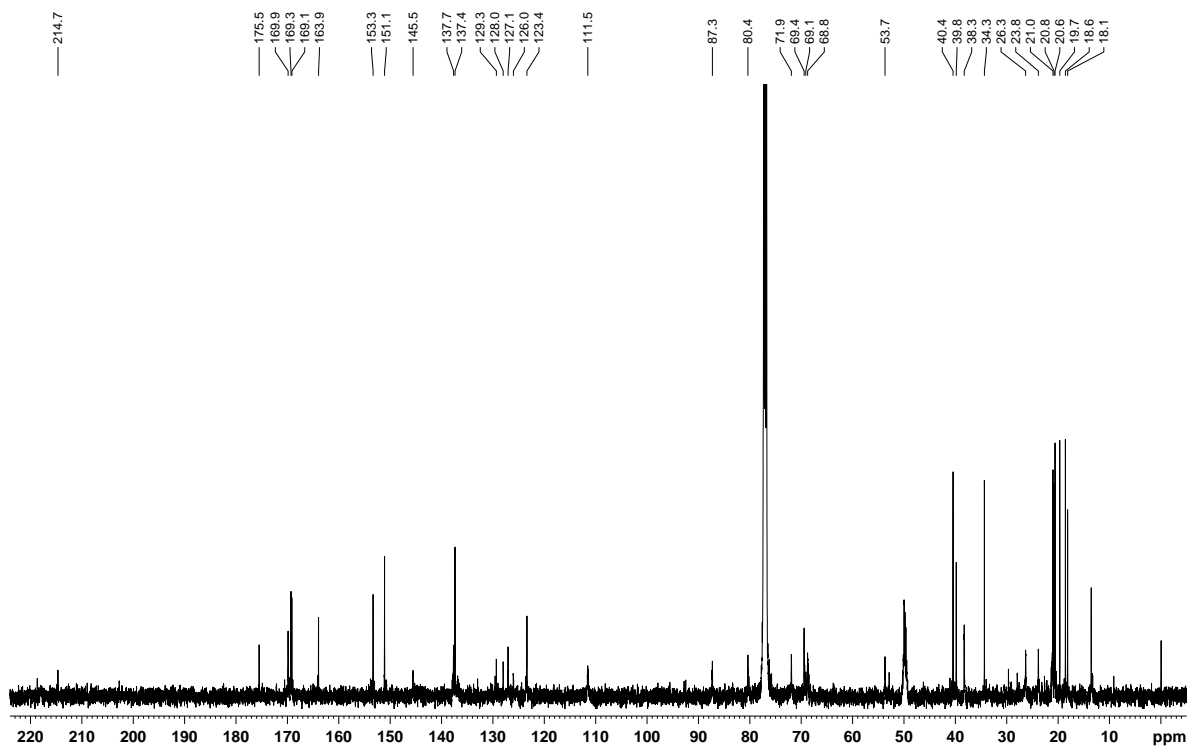


**A**

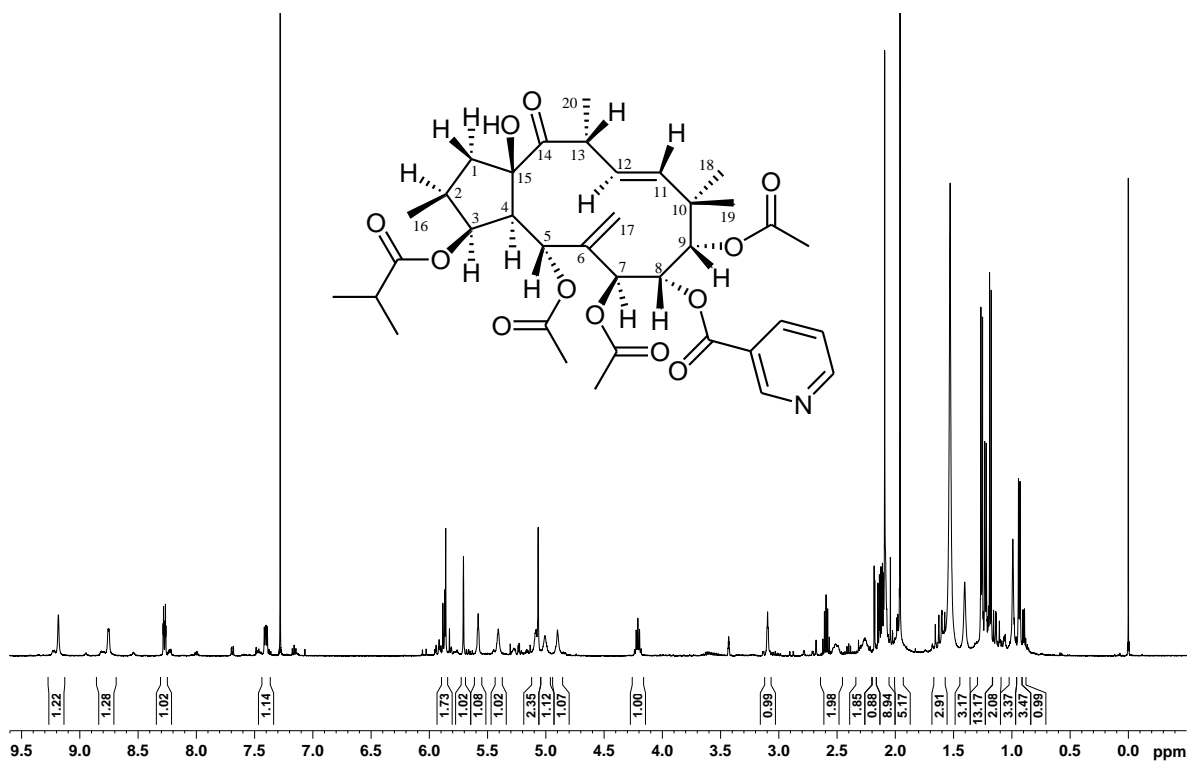


Slika 20.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **10**.

B

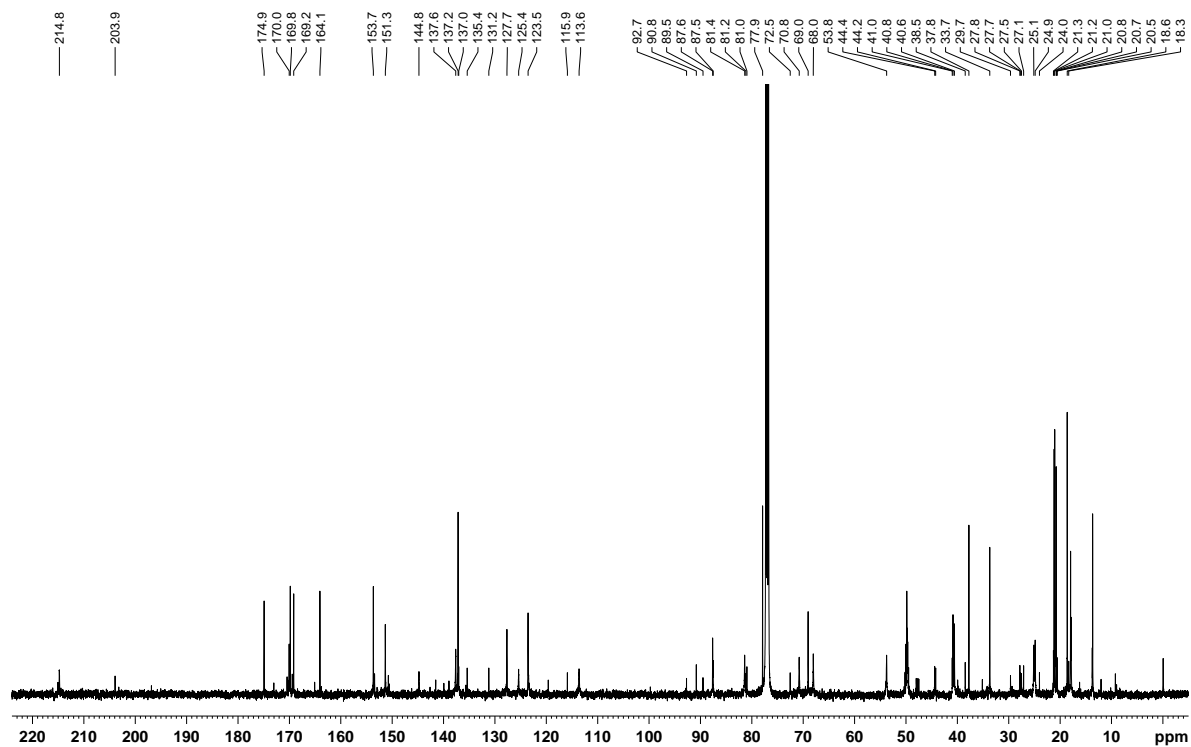


A

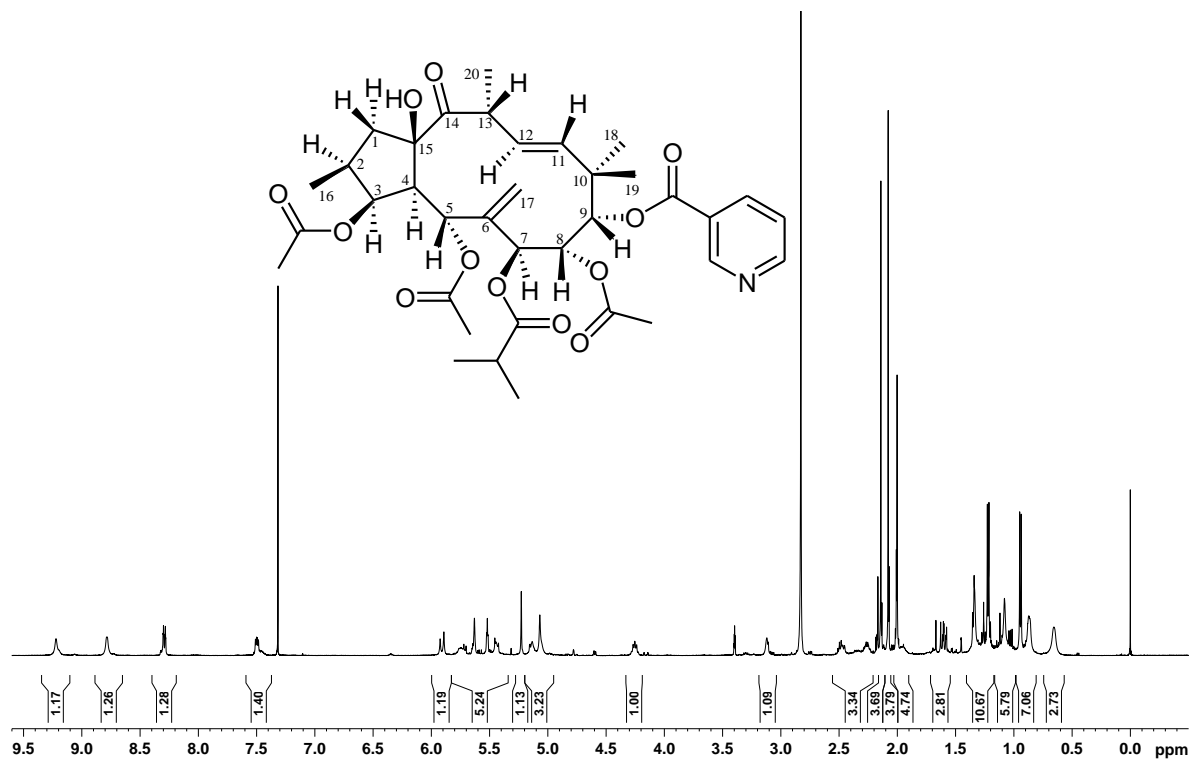


Slika 21.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **11**.

**B**



**A**



Slika 22.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **12**.

Tabela 21. NMR podaci za jedinjenja **10–12** [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

Položaj	<b>10</b>		<b>11</b>		<b>12</b>	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	2,59 m	49,9	2,51 m	50,0	2,48 m	49,8
1 $\beta$	1,60 m		1,61 m		1,60 m	
2	2,30 brm	38,3	2,26 brm	38,3	2,26 brm	37,8
3	5,57 brs	77,4	5,58 brs	77,6	5,51 brs	77,9
4	3,10 brt	54,0	3,09 brt	53,7	3,13 brs	53,8
5	5,46 brs	68,7	5,41 brs	69,4	5,44 brs	68,0
6		145,7		145,6		144,8
7	5,05 brs	69,0	5,01 brs	68,7	5,07 brs	69,0
8	5,90 s	72,1	5,70 brs	71,9	5,63 brs	70,8
9	5,34 s	81,5	5,07 brs	80,5	5,23 s	81,4
10		40,8		40,4		40,8
11	5,99 d (16,0)	137,3	5,87 d (16,0)	137,7	5,91 d (16,0)	137,6
12	5,94 m	127,9	5,84 m	128,0	5,75 m	127,7
13	4,30 m	40,0	4,21 m	39,8	4,25 m	40,6
14		214,9		214,7		214,8
15		87,8		87,3		87,6
16	0,95 d (6,5)	13,7	0,93 d (7,0)	13,5	0,94 d (7,0)	13,7
17a	5,07 brs	111,6	5,08 brs	111,6	5,13 brs	113,6
17b	4,98 brs		4,90 brs		5,07 brs	
18	1,07 brs	24,3	0,99 brs	23,8	1,08 brs	24,8
19	1,49 brs	26,1	1,40 brs	26,3	1,34 brs	25,1
20	1,26 d (7,0)	18,8	1,22 d (7,0)	18,1	1,22 d (6,5)	18,6
OR <sub>2-3</sub>						
1'	2,58 h (7,5)	175,4	2,63 h (7,0)	175,4	2,07 s	169,8
2'	1,18 d (7,5)	34,4	1,23 d (7,0)	34,3		21,7
3'	1,25 d (7,5)	18,6	1,27 d (7,0)	18,6		
4'/5'		19,7		19,7		
OR <sub>3-5</sub>						
1''	1,97 s	169,2	2,09 s	169,1	2,00 s	169,2
2''		21,0		20,8		20,8
OR <sub>4-7</sub>						
1'''	1,94 brm	174,8	1,96 s	169,3	1,96 brm	174,9
2'''	0,90 d (7,0)	33,7		20,6	0,87 brs	33,7
3'''	0,68 d (7,0)	17,9			0,65 brs	17,9
4'''		18,4			2,14 s	18,8
OR <sub>5-8</sub>						
1''''	9,22 brs		9,18 brs		2,14 s	170,0
2''''	8,77 bd (4,5)	151,2	8,75 brd	151,1		21,0
3''''	8,25 brd (8,0)	125,2	8,25 brd (8,0)	127,1		
4''''	7,39 dd (8,0; 5,0)	137,0	7,46 dd (8,0; 5,0)	137,2		
5''''		123,3		123,4		
6''''		153,5		153,3		
7''''		164,1		163,1		
OR <sub>6-9</sub>						
1'''''	9,25brs		2,09 s	169,9	9,22 brs	
2'''''	8,83 brd (5,0)	151,5		21,0	8,78 brs	150,7
3'''''	8,29 brd (7,5)	126,0			8,29d (8,0)	125,4
4'''''	7,47 brm	137,1			7,50 brm	137,2
5'''''		123,6				123,6
6'''''		153,9				153,1
7'''''		164,0				164,1
OR <sub>7-15</sub>						
1''''''	2,68 s		2,67 s		3,12 s	

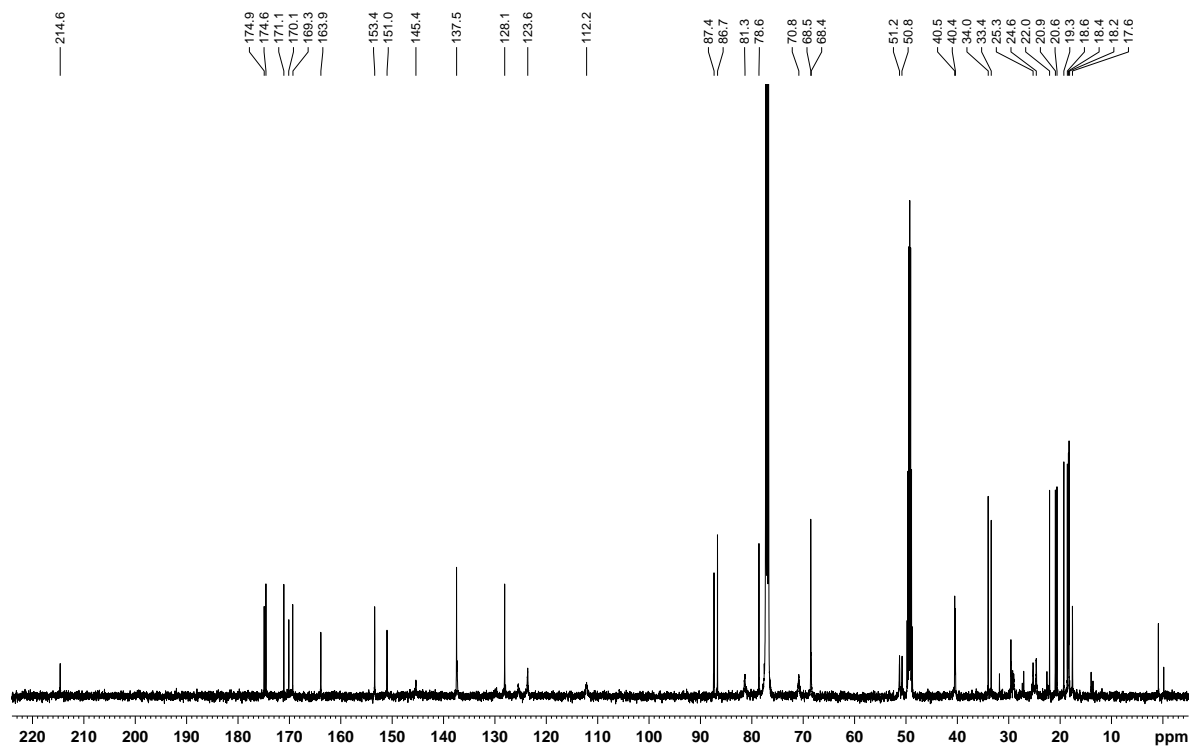
### 2.1.12. 2 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoil-oksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan O)

Eufodendrofan O (**13**) je izolovan kao bezbojna amorfnu čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>14</sub>, na osnovu molekulskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 772,3557. Singlet u <sup>1</sup>H NMR spektru koji potiče od tri protona ( $\delta$  1,51, H<sub>3</sub>-16) a tipičan je za tercijarnu metil grupu geminalnu sa estarskom grupom, kao i signal acetoksi grupe ( $\delta_{\text{H}}$  2,00 s, 3H;  $\delta_{\text{C}}$  171,1, 22,0) čiji karbonilni ugljenikov atom ne pokazuje korelaciju u HMBC spektru, ali i pojava <sup>13</sup>C NMR signala tercijarnog ugljenika ( $\delta_{\text{C}}$  87,4), ukazali su na 2-acetoksi supstituciju. Relativna konfiguracija na C-2, tj. 2 $\alpha$ -orijentacija acetoksi grupe, određena je na osnovu pojave korelacionog signala H-1 $\beta$ /H<sub>3</sub>-16 u NOESY spektru. Spektralni podaci ostatka molekula (Slika 23, Tabela 22) slični su odgovarajućim podacima jedinjenja **2** i **12**, na osnovu čega je zaključeno da je u ovom slučaju jatrofanski poliol esterifikovan acetil grupom u položajima C-2, C-5 i C-8, izobutanoil grupom u položajima C-3 i C-7, a nikotinoil grupom u položaju C-9.

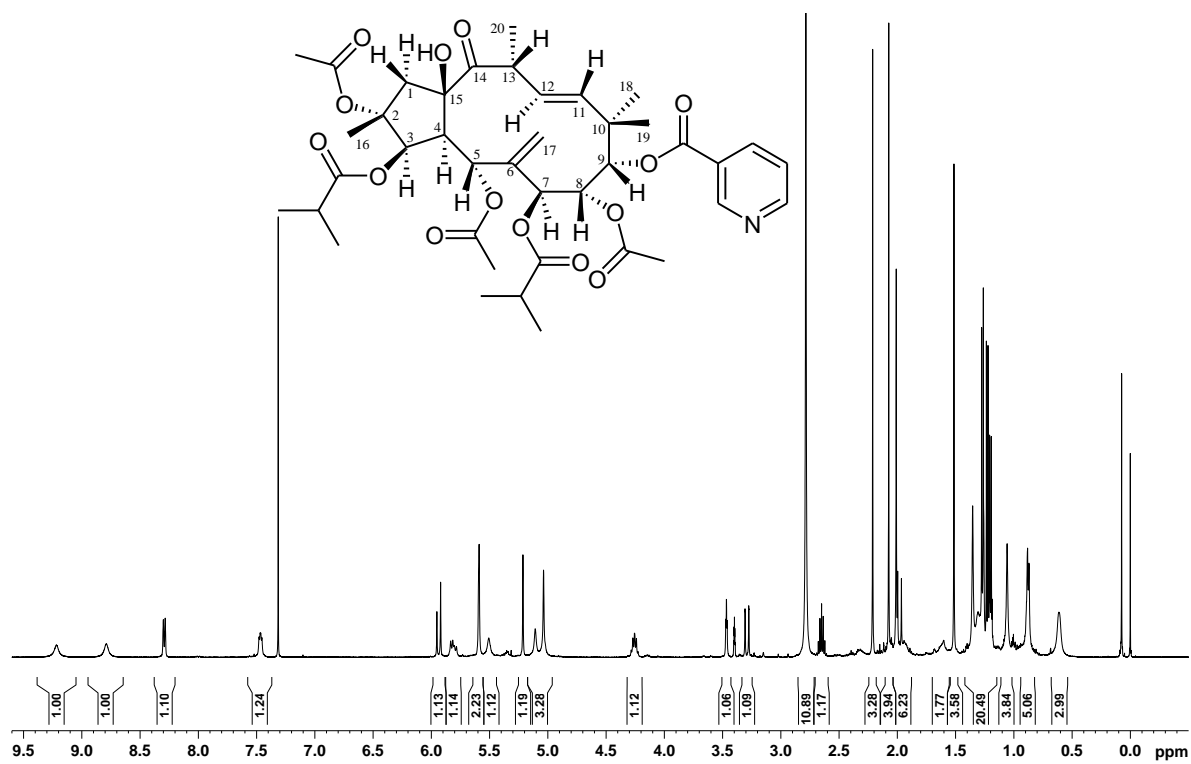
### 2.1.13. 2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -Diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoil-oksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan P)

Eufodendrofan P (**14**) je bezbojna amorfnu čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>44</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>, na osnovu molekulskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 835,3659. <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci jedinjenja **14** (Slika 24, Tabela 22) razlikuju se od odgovarajućih podataka jedinjenja **13** samo po pojavi signala nikotinoiloksi grupe vezane za C-5 umesto acetoksi. Da se nikotinoiloksi grupa nalazi u ovom položaju zaključeno je na osnovu korelacionog HMBC signala između odgovarajućeg estarskog karbonilnog ugljenika ( $\delta_{\text{C}}$  166,9) i H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  5,58). Preostale HMBC korelacije za ostatak molekula u skladu su sa strukturom u kojoj je acetoksi grupa vezana za C-2 i C-3, izobutanoiloksi grupa za C-3 i C-7, a nikotinoiloksi za C-9.

B

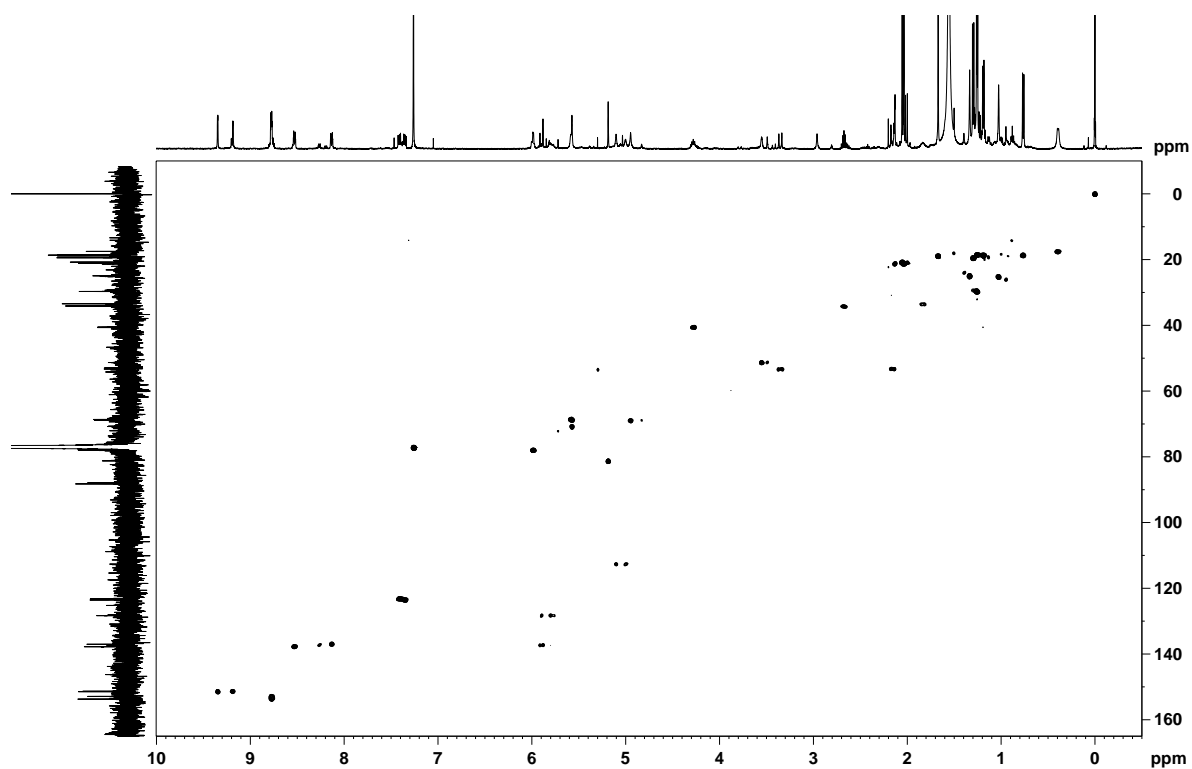


A



Slika 23.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **13**.

B



A

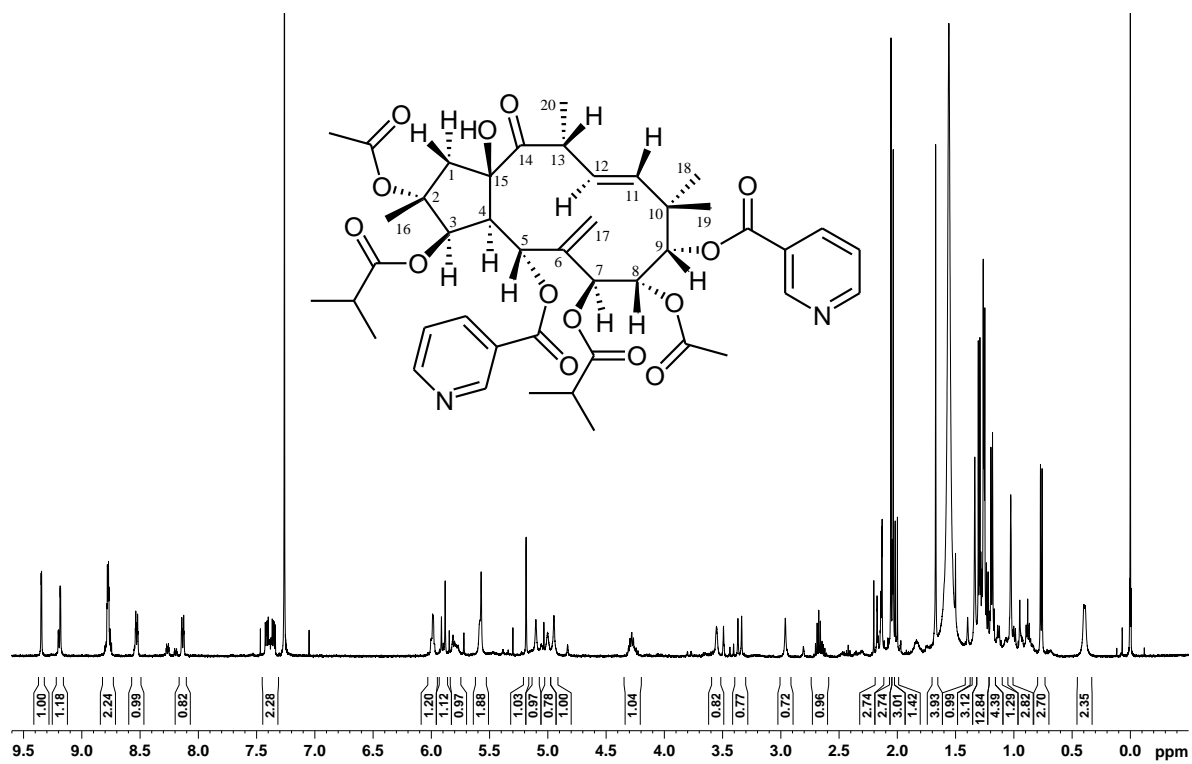
Slika 24.  $^1\text{H}$  NMR (A) i HSQC (B) spektar jedinjenja 14.



Tabela 22. NMR podaci za jedinjenja **13–14** [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

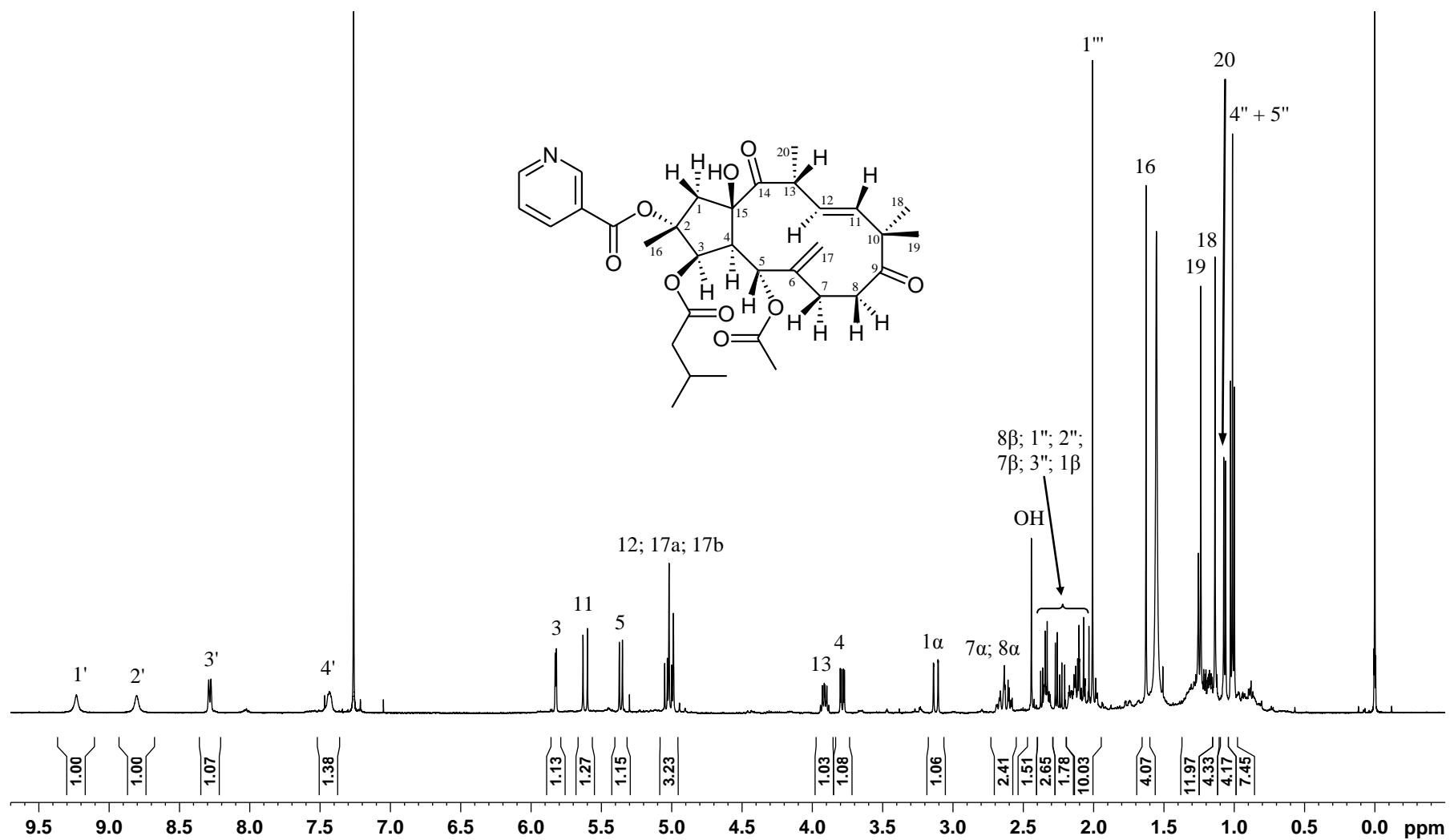
Položaj	<b>13</b>		<b>14<sup>a</sup></b>	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	3,29 d (16,0)	51,2	3,34 d (16,0)	53,3
1 $\beta$	1,98 d (16,0)		2,15 d (16,5)	
2		87,4		87,9
3	5,60 brs	78,6	5,98 brs	77,9
4	3,47 brt	50,8	3,55 brs	51,3
5	5,50 brs	68,4	5,58 brs	70,3
6		145,4		145,4
7	5,04 brs	68,5	5,00 brs	68,9
8	5,60 brs	70,8	5,57 brs	68,6
9	5,21 brs	81,3	5,18 s	81,2
10		40,5		40,6
11	5,94 d (16,0)	137,5	5,90 (16,5)	137,2
12	5,81 m	128,1	5,80 m	128,3
13	4,25 m	40,4	4,27 m	40,5
14		214,6		214,2
15		86,7		88,2
16	1,51 s	18,4	1,67 s	18,8
17a	5,10 brs	112,2	5,10 brs	113,8
17b	5,04 brs		4,94 brs	
18	1,06 brs	25,3	1,02 brs	25,1
19	1,35brs	24,6	1,33 brs	24,9
20	1,20 d (7,0)	18,2	1,18 d (6,5)	19,1
R <sub>1</sub> -2:	1	171,1	2,03 s	169,9
	2	22,0		21,1
OR <sub>2</sub> -3:	1'	174,6	2, 67 m	174,5
	2'	33,4	1,26 d (6,5)	33,4
	3'	18,6	1,29 d (6,5)	18,6
	4'/5'	19,3		19,4
OR <sub>3</sub> -5:	1''	169,3	9,35 d (1,6)	
	2''	20,9	8,77 m	151,3
	3''		8,54 dt, (8,0; 2,0)	128,3
	4''		7,41 dd (8,0; 5,0)	137,0
	5''			123,1
	6''			152,9
	7''			166,9
OR <sub>4</sub> -7:	1'''	174,9	1,94 brm	174,7
	2'''	34,0	0,76 d (7,0)	34,1
	3'''	17,6	0,39 d (7,0)	17,5
	4'''	18,6		18,5
OR <sub>5</sub> -8:	1''''	170,1	2,05 s	169,3
	2''''	20,6		20,7
OR <sub>6</sub> -9:	1'''''		9,18 d (1,6)	
	2'''''	151,0	8,77 m	151,4
	3'''''	128,1	8,14 dt (8,0; 3,0)	127,9
	4'''''	137,4	7,35 dd (8,0; 5,0)	137,7
	5'''''	123,6		123,5
	6'''''	153,4		153,7
	7'''''	163,9		164,4
OR <sub>7</sub> -15:	1''''''		2,96 s	
		2,09 s		

<sup>a</sup> Podaci dobijeni na osnovu HMBC i HSQC spektara.

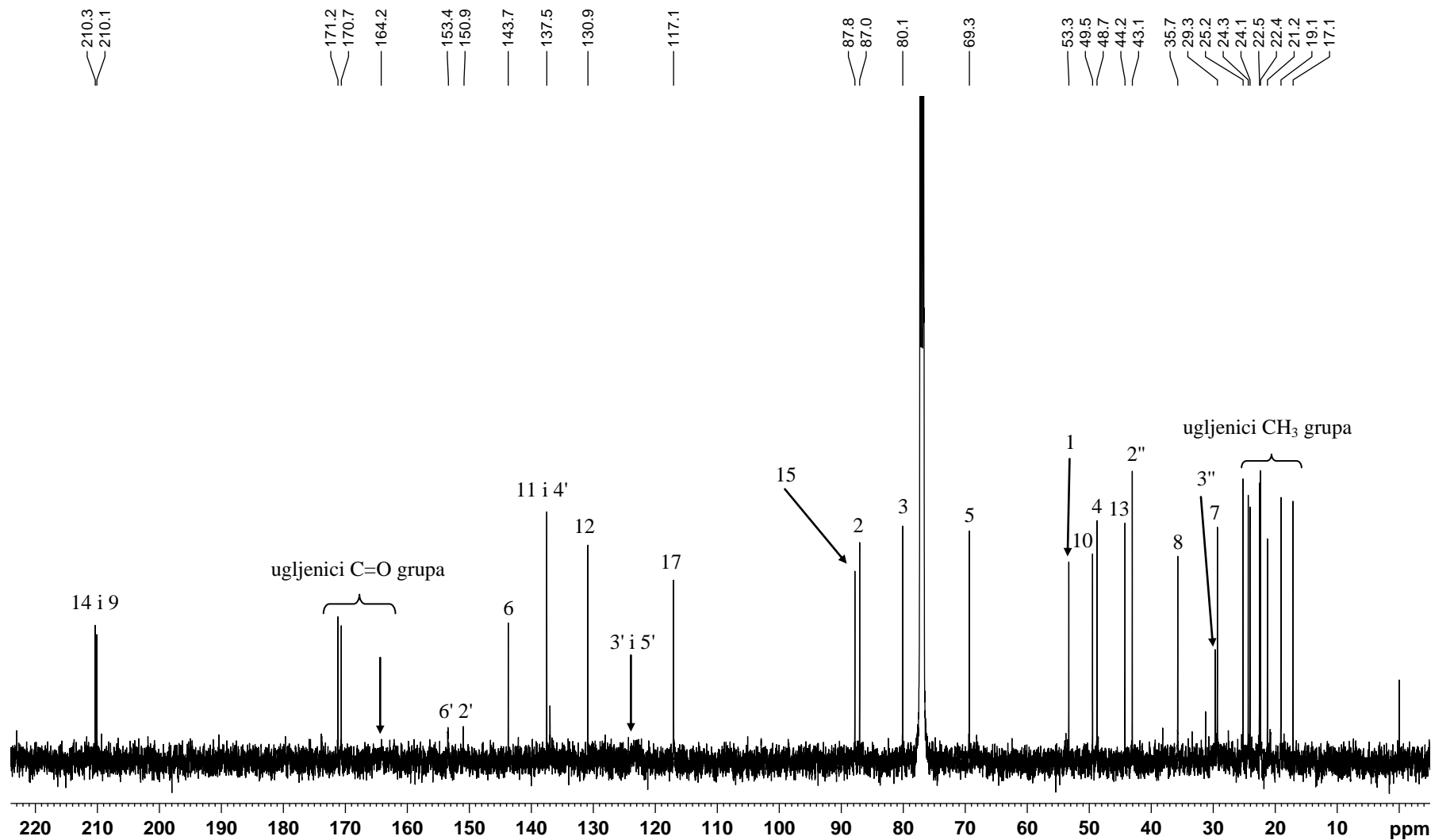
### 2.1.14. 5 $\alpha$ -Acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izovaleriloksi-2 $\alpha$ -nikotinoiloksijatropa-6(17), 11*E*-dien-9,14-dion (Eufodendrofan G)

Eufodendrofan G (**15**) je bezbojna amorfnna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>33</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>9</sub>, na osnovu molekulskog jona [M + H]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na *m/z* 598,3024. Na osnovu <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektara (Slike 25 i 26, Tabela 23), ovo jedinjenje sadrži tri estarske grupe: nikotinatnu ( $\delta_{\text{H}}$  9,23 brs, 8,81 brs, 8,28 brd i 7,42 brs;  $\delta_{\text{C}}$  150,9, 124,3, 137,5, 123,8, 153,4 i 164,2), acetatnu ( $\delta_{\text{H}}$  2,00 s;  $\delta_{\text{C}}$  21,3 i 170,6) i izovaleratnu ( $\delta_{\text{H}}$  2,36 dd, 2,26 dd, 2,12 m, 1,02 d i 1,01 d;  $\delta_{\text{C}}$  171,2, 43,1, 31,2 i 22,5). Osim toga, <sup>13</sup>C NMR i DEPT spektri pokazuju signale karakteristične za ugljenikove atome dve keto grupe, jedan O-supstituisan i jedan alkil-supstituisan kvaternerni ugljenikov atom, jedan nezasićen kvaternerni ugljenikov atom, jedan nezasićen metilenski ugljenikov atom (egzometilenska grupa), dva tercijarna nezasićena ugljenikova atoma, tri alkil metilenska ugljenika, dva O-supstituisana tercijarna ugljenikova atoma, dva alkil-supstituisana tercijarna ugljenikova atoma, jedan sekundarni i tri tercijarna ugljenikova atoma metil grupa.

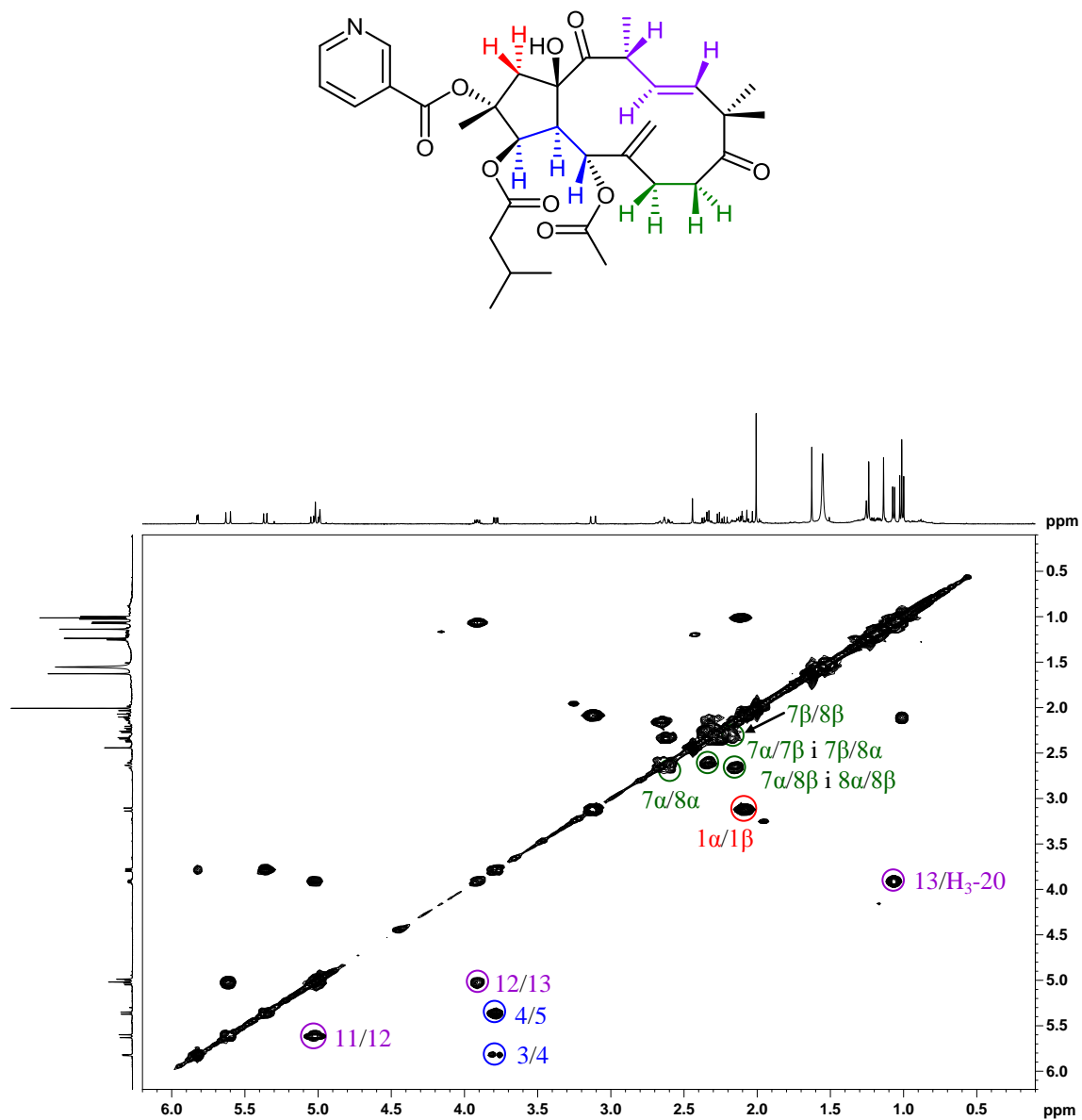
<sup>1</sup>H NMR i <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spektri (Slike 25 i 27) ukazali su da u molekulu postoje četiri nezavisna spinska sistema (**A** – **D**): **A** -CH<sub>2</sub>- ( $\delta_{\text{H}}$  3,12 d i 2,05 d); **B** -CHR-CH-CHR- ( $\delta_{\text{H}}$  5,82 d, 3,79 dd i 5,36 d); **C** -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- ( $\delta_{\text{H}}$  2,64 m, 2,15 m, 2,62 m i 2,35 m) i **D** *trans*-CH=CH-CH(CH<sub>3</sub>) ( $\delta_{\text{H}}$  5,61 d, 5,02 dd, 3,91 m i 1,07 d), gde R označava estarsku grupu. Na osnovu velikih vrednosti vicinalnih konstanti sprezanja signala na  $\delta_{\text{H}}$  5,61 (H-11, *J* = 16,0 Hz) i 5,02 (H-12, *J* = 16,0; 9,5 Hz) zaključeno je da endociklična dvostruka veza u položaju C-11 ima *E*-geometriju. Povezivanje fragmenata **A**, **B**, **C** i **D** omogućeno je analizom <sup>2,3</sup>J<sub>C-H</sub> korelacija iz HMBC spektra (Slika 28). Sprezanja preko dve ili tri veze između kvaternernog ugljenika,  $\delta_{\text{C}}$  87,0 (C-2) i protona čiji se signali javljaju na  $\delta_{\text{H}}$  5,82 (H-3), 3,79 (H-4), 2,44 (OH-15) i 2,05 (H-1) ukazuju da fragmenti **A** i **B**, zajedno sa ugljenicima C-2 i C-15, zatvaraju petočlani prsten supstituisan metil grupom, hidroksilnom i dvema estarskim grupama. Postojanje daljinskih sprezanja između ugljenika keto grupe ( $\delta_{\text{C}}$  210,3, C-14) i protona čiji se signali javljaju na  $\delta_{\text{H}}$  3,12 (H-1), 3,79 (H-4), 1,07 (H<sub>3</sub>-20) i 2,44 (OH-15) dokazuje da je fragment **D** preko atoma C-14 povezan sa petočlanim prstenom. HMBC korelacije ugljenika preostale keto grupe



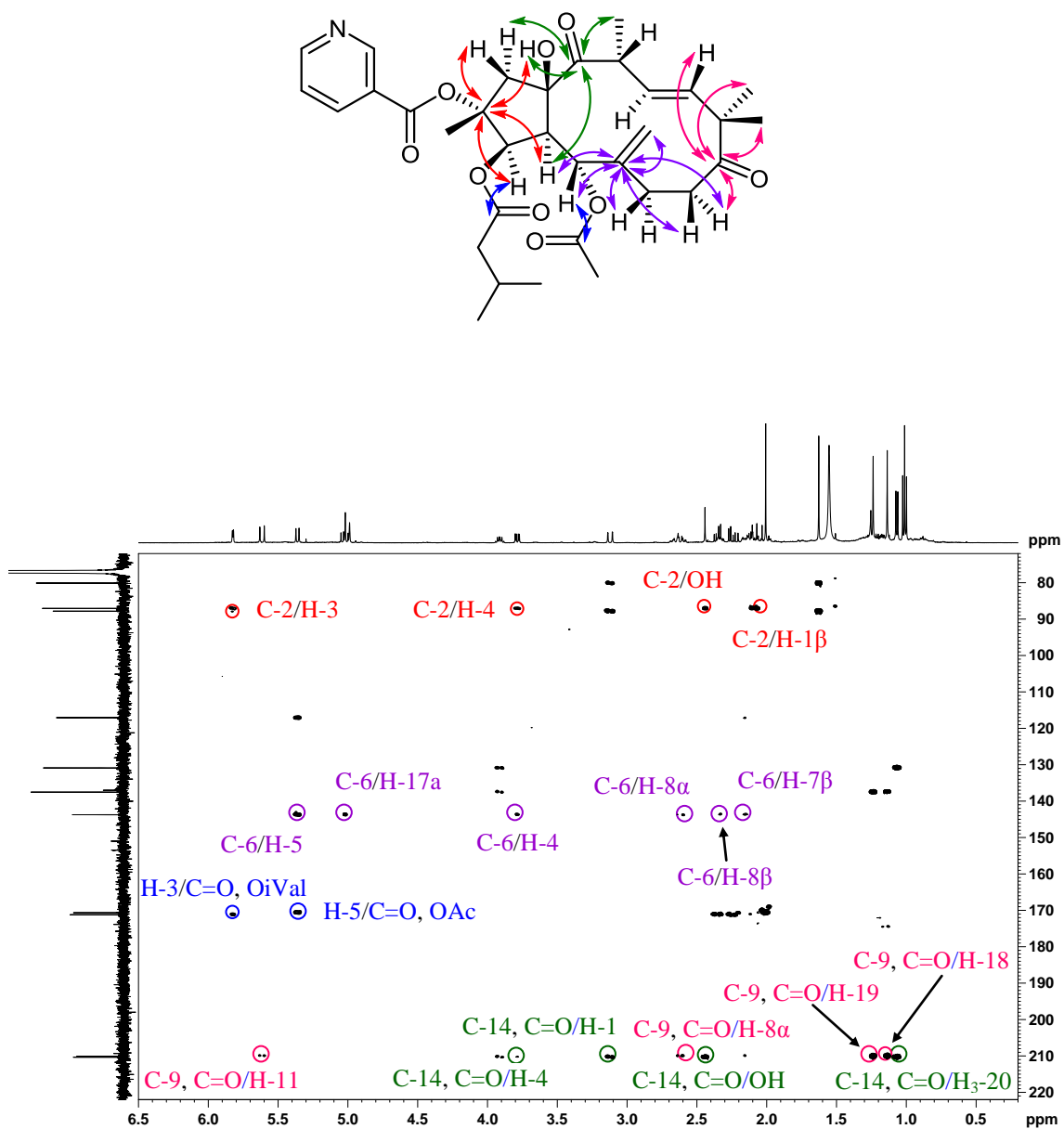
Slika 25. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 15.



Slika 26. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja **15**.



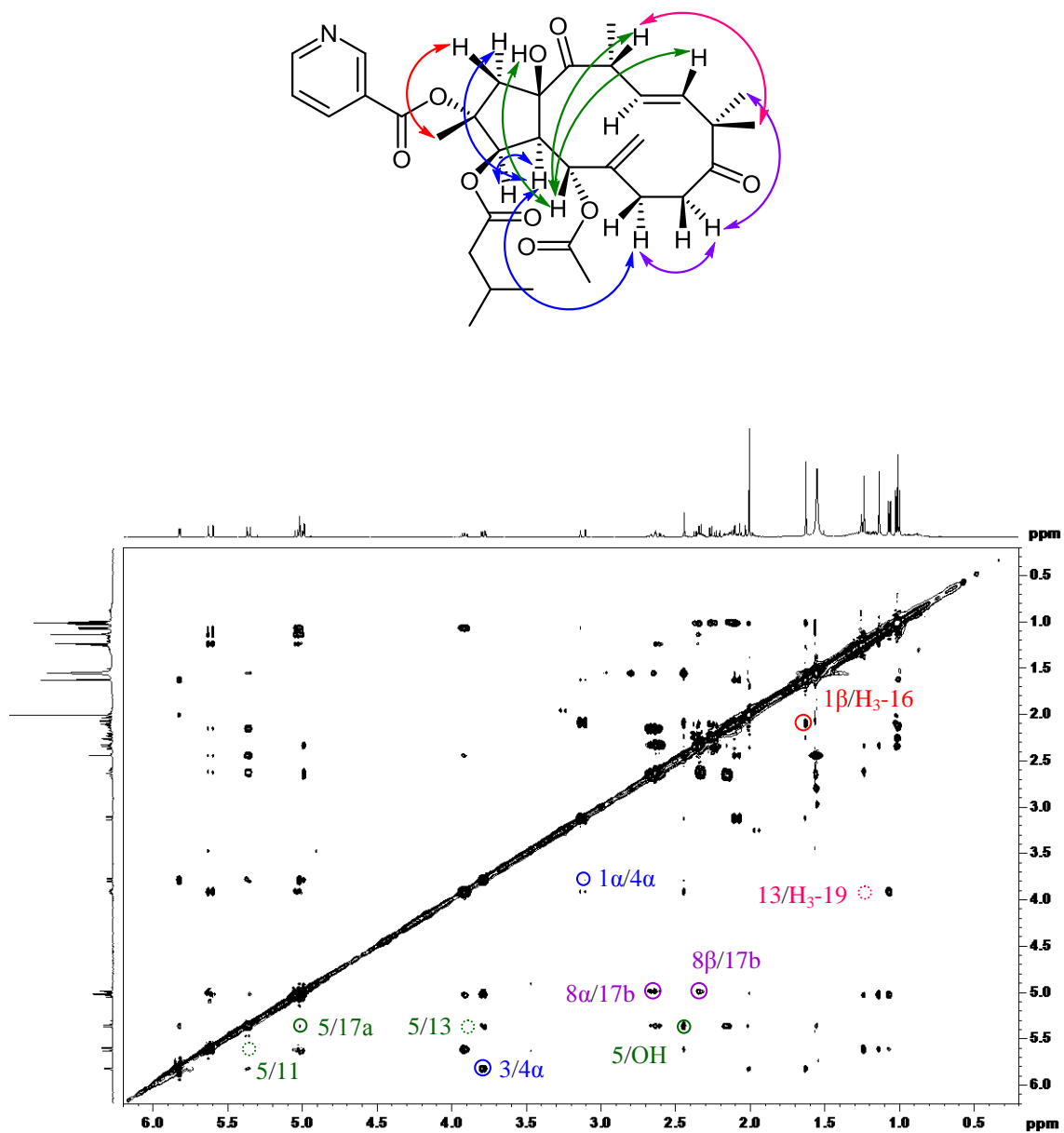
Slika 27. Deo COSY spektra jedinjenja **15** sa odabranim <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY korelacijama.



Slika 28. Deo HMBC spektra jedinjenja **15** sa odabranim HMBC korelacijama.

( $\delta_C$  210,1, C-9) sa protonima čiji se signali javljaju na  $\delta_H$  5,61 (H-11), 2,62 (H-8), 1,14 (H-18) i 1,24 (H-19) dokazuju da su fragmenti **C** i **D** povezani pomoću kvaternernih ugljenikovih atoma C-9 i C-10. Korelacije koje se u HMBC spektru uočavaju između signala ugljenika na  $\delta_C$  143,7 (C-6) i signala protona na  $\delta_H$  5,36 (H-5), 5,02 (H-17a), 3,79 (H-4), 2,15 (H-7 $\beta$ ), 2,62 (H-8 $\alpha$ ) i 2,35 (H-8 $\beta$ ) dokazuju da su fragmenti **B** i **C** međusobno povezani. Na ovaj način postaje očigledno da jedinjenje **15** ima jatrofansku strukturu esterifikovanu u položajima C-2, C-3 i C-5, sa hidroksilnom grupom u položaju C-15 i keto grupama u položajima C-9 i C-14. Korelacije estarskih karbonila ( $\delta_C$  171,2 i 170,6) sa oksimetinskim protonima ( $\delta_H$  5,82, odnosno 5,36) jasno pokazuju da je za C-3 vezan izovalerat, a za C-5 acetat. S obzirom da između ugljenikovog atoma karbonilne grupe nikotinata i oksimetinskih protona ne postoje daljinska sprežanja, može se zaključiti da je on vezan za kvaternerni ugljenik C-2 ( $\delta_C$  87,0).

Relativna konfiguracija jedinjenja **15** određena je na osnovu korelacionih signala koji se vide u NOESY spektru (Slika 29). Izražene NOE interakcije protona H-4 $\alpha$  (konfiguracija pretpostavljena na biogenetskoj osnovi)<sup>74</sup> sa protonima H-3 i H-1 $\alpha$  ukazuju da je izovalerat vezan za C-3 atom  $\beta$ -orijentisan. Korelacioni signal H-1 $\beta$ /H<sub>3</sub>-16 ukazuje na 2 $\beta$ -orijentaciju H<sub>3</sub>-16 metil grupe, pa prema tome i na  $\alpha$ -orijentaciju 2-nikotinata. Postojanje NOESY korelacije između H-5 i OH-15, kao i nepostojanje korelacije H-4 $\alpha$ /H-5 dokazuje 5 $\beta$ -H orijentaciju (i istovremeno  $\alpha$  orijentaciju 5-acetata), ali i da su prstenovi međusobno *trans* povezani. Osim toga, NOE interakcije H-5/H-11, H-5/H-13 i H-13/H<sub>3</sub>-19 upućuje da su ovi protoni  $\beta$  orijentisani. Velika vrednost vicinalne konstante sprežanja  $J_{4,5}$  (11 Hz), zajedno sa pojavom NOE signala H-5/H-17a i H-8/H-17b ukazuje da eufodendrofan G pripada „endo“ konformacionom tipu.<sup>66</sup> Na osnovu svega navedenog, jedinjenje **15** je 5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izovaleriloksi-2 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-9,14-dion.



Slika 29. Deo NOESY spektra jedinjenja **15** sa najvažnijim NOESY korelacijama.



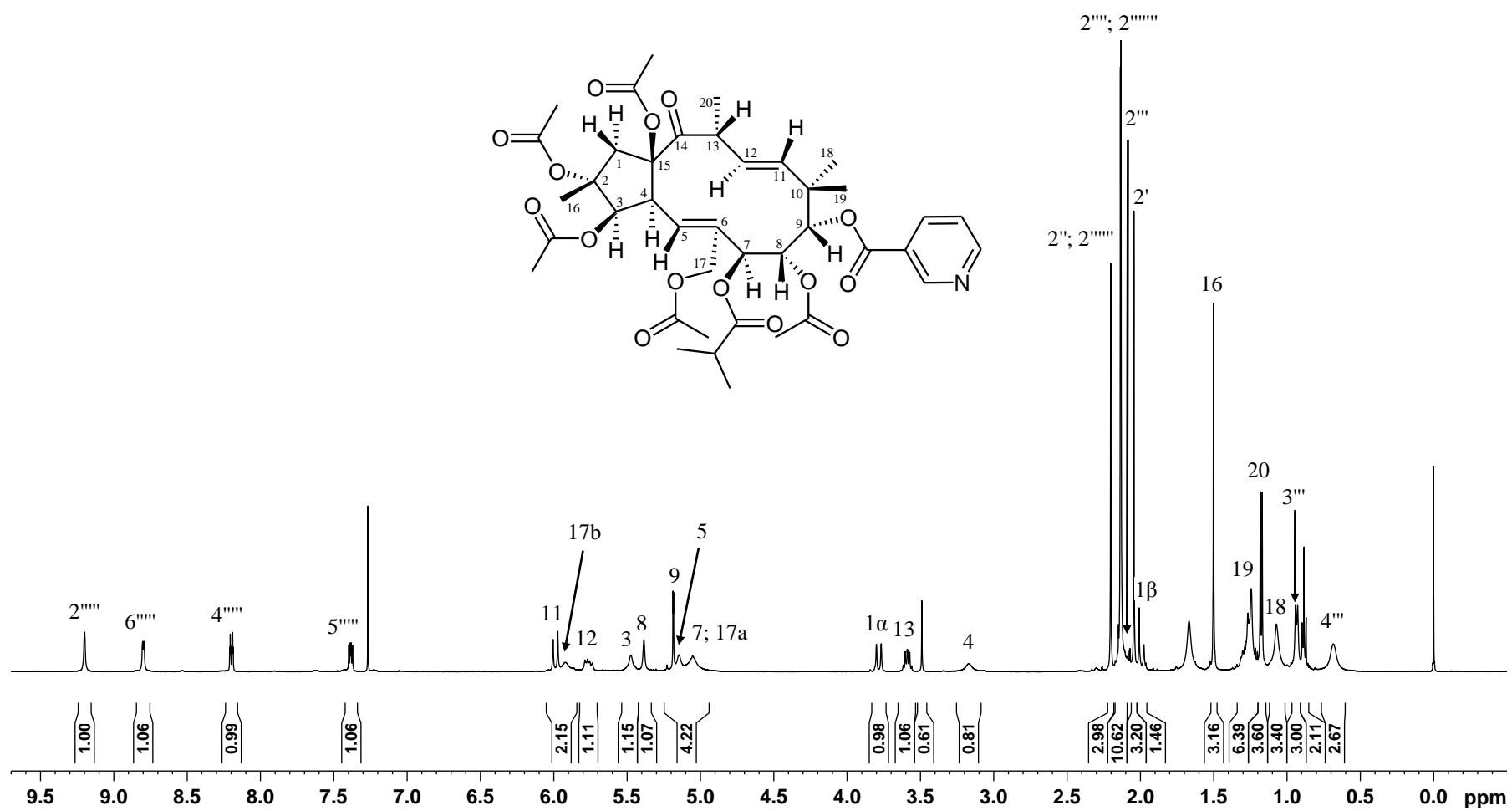
Tabela 23. NMR podaci za jedinjenje **15** [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

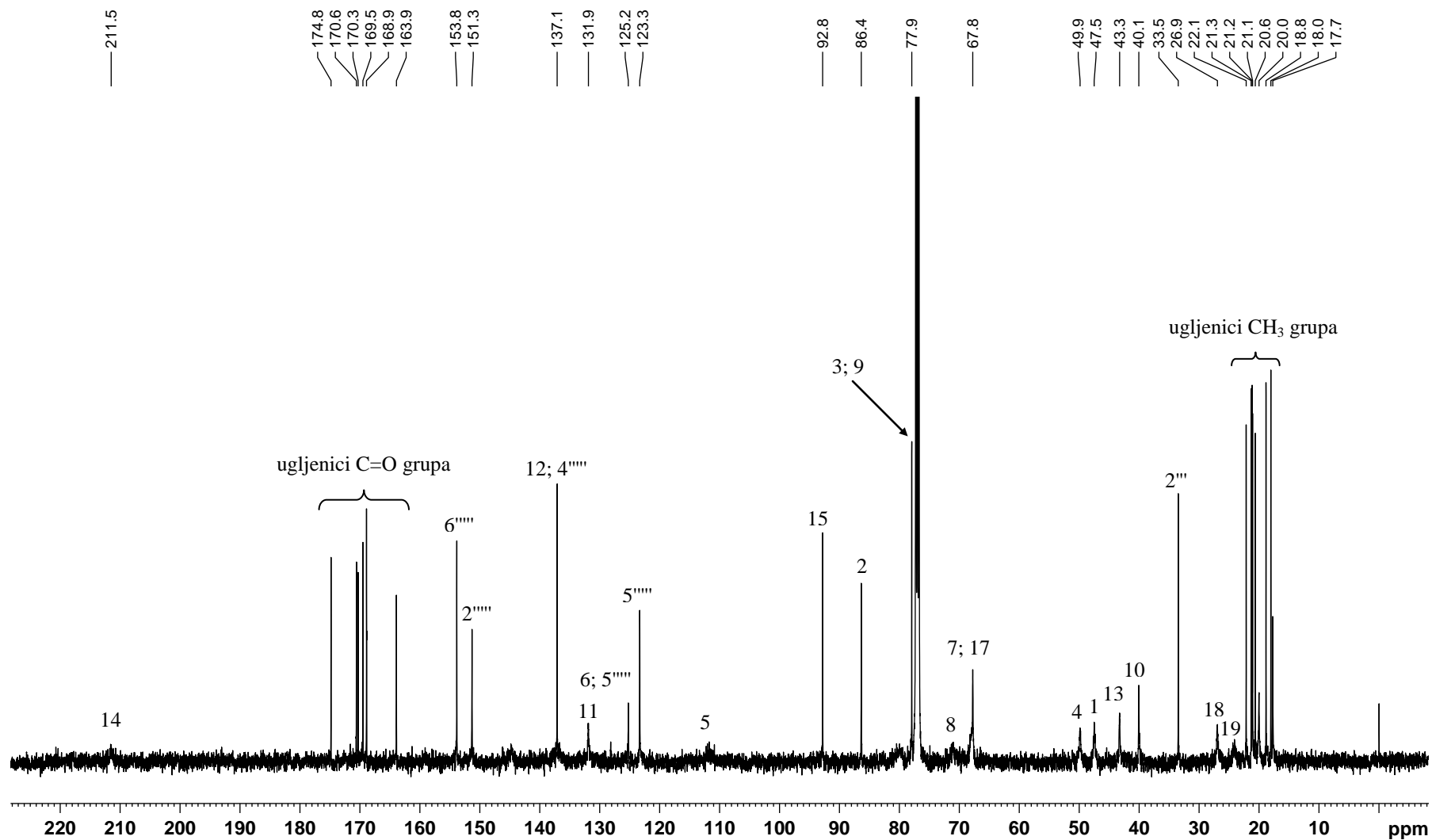
Položaj	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	3,12 dd (16,5; 1)	53,3
1 $\beta$	2,05 d (16,5)	
2		87,0
3	5,82 d (4,0)	80,1
4	3,79 dd (11,0; 3,5)	48,7
5	5,36 d (11,0)	69,3
6		143,7
7 $\alpha$	2,64 m	29,7
7 $\beta$	2,15 m	
8 $\alpha$	2,62 m	
8 $\beta$	2,35 m	35,7
9		210,1
10		49,5
11	5,61 d (16,0)	137,5
12	5,02 dd (16,0; 9,5)	130,9
13	3,91 m	44,2
14		210,3
15		87,8
16	1,67 s	19,1
17a	5,02 s	
17b	4,99 brs	117,0
18	1,14 brs	24,1
19	1,24 brs	24,4
20	1,07 d (6,5)	17,1
R <sub>1-2</sub>		
1'	9,23 brs	
2'	8,81 brs	150,9
3'	8,28 brd (7,7)	124,3
4'	7,42 brs	137,5
5'		123,8
6'		153,4
7'		164,2
OR <sub>2-3</sub>		
1''	2,36 dd (16,0; 7,0)	171,2
2''	2,26 dd (16,0; 7,0)	43,1
3''	2,12 m	31,2
4''	1,02 d (7,0)	22,4
5''	1,01 d (7,0)	22,6
OR <sub>3-5</sub>		
1'''	2,00 s	170,6
2'''		21,3
OR <sub>7-15</sub>		
1''''	2,44 s	

### 2.1.15. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,17-Pentaacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-5E,11E-dien-14-on (Eufodendrofan F)

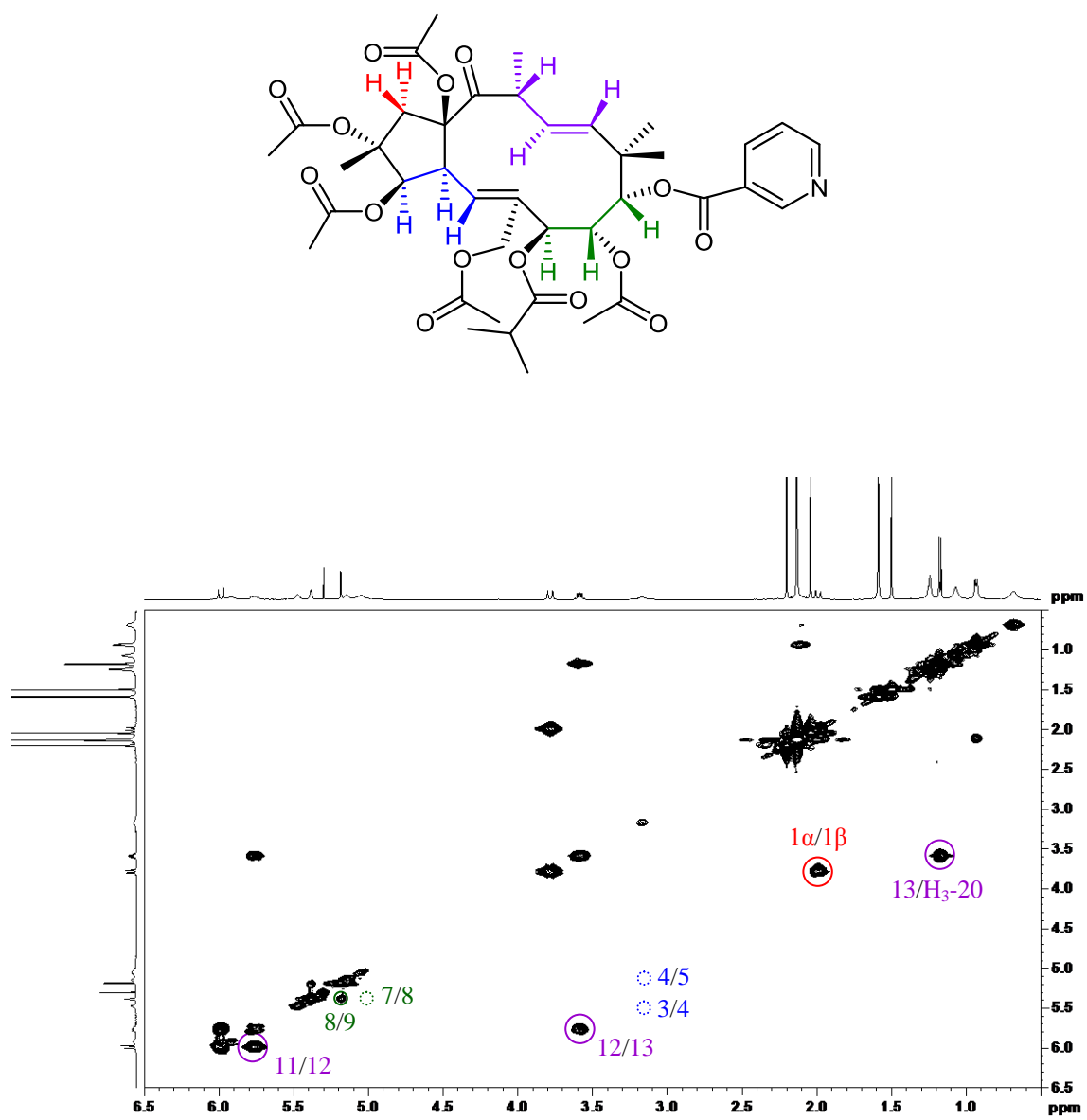
Eufodendrofan F (**16**) izolovan je kao amorfnu čvrstu supstancu. Masenom spektrometrijom visokog razlaganja, na osnovu molekuskog jona  $[M + H]^+$  koji se javlja na  $m/z$  786,3346, utvrđeno je da je molekulska formula ovog jedinjenja  $C_{40}H_{51}NO_{15}$ . Njegova struktura je određena primenom 1D i 2D NMR spektroskopije, kao i poređenjem tako dobijenih NMR spektara sa odgovarajućim spektrima jatrofana **1** – **15** i srodnih jedinjenja.<sup>38</sup>

Na osnovu NMR podataka (Slike 30 i 31, Tabela 24), jedinjenje **16** ima strukturu jatrofanskog poliola sa sedam estarskih grupa (pet acetata, jedan izobutanoat i jedan nikotinat) koje se mogu povezati sa sedam oksigenovanih  $sp^3$ -ugljenikovih atoma, od kojih je jedan primarni, četiri su sekundarna, a dva su tercijarna. U NMR spektrima se javljaju i signali karakteristični za ugljenik keto-grupe ( $\delta_C$  211,5, C-14), dve endociklične dvostruke veze ( $\Delta^5$  i  $\Delta^{11}$ ), od kojih je jedna ( $\Delta^{11}$ ) *trans*-disupstituisana kao u jedinjenjima **1** – **15**, a druga trisupstituisana ( $\Delta^5$ :  $\delta_H$  5,14 brs,  $\delta_C$  111,7, 125,2), jednu alifatičnu metilensku grupu (H<sub>2</sub>-1), četiri metil grupe (jedna sekundarna:  $\delta_H$  1,17 d, H<sub>3</sub>-20 i tri tercijarne:  $\delta_H$  1,07 s, 1,24 s i 1,50 s, H<sub>3</sub>-18, -19, odnosno -16) i jedan kvaternarni  $sp^3$ -ugljenikov atom ( $\delta_C$  40,1, C-10). Ovo, u kombinaciji sa molekulskom formulom i COSY i HMBC korelacijama (Slike 32 i 33), upućuje na biciklični diterpenski skelet jatrofanskog tipa koji se od prethodno navedenih jedinjenja **1** – **15** razlikuje po tome što sadrži endocikličnu dvostruku vezu u položaju 5 ( $\Delta^5$ ) umesto egzociklične u položaju 6(17) ( $\Delta^{6(17)}$ ). Postojanje NOESY korelacije između H-4 ( $\delta_H$  3,17) i H<sub>2</sub>-17 ( $\delta_H$  5,05, 5,92) (Slika 34) u skladu je sa *E*-konfiguracijom ove dvostruke veze, koja je takođe utvrđena kod diterpena jatrofanskog tipa ranije izolovanih iz *Euphorbia helioscopia*.<sup>86</sup> HMBC korelacije preko tri veze koje se javljaju između H-3 ( $\delta_H$  5,47), H-8 ( $\delta_H$  5,38) i H<sub>2</sub>-17 ( $\delta_H$  5,05, brs, 5,92, brs) i acetatnih karbonilnih ugljenika ( $\delta_C$  170,6, 168,9 i 170,3) ukazuju na 3,8,17-triacetoksi supstituisani sistem. HMBC korelacije između H-7 ( $\delta_H$  5,05) i karbonilnog ugljenika izobutanoata ( $\delta_C$  174,8), kao i korelacije između H-9 ( $\delta_H$  5,18) i karbonilnog ugljenikovog atoma nikotinata ( $\delta_C$  163,9), upućuju na strukturu u kojoj je za C-7 vezana izobutanoiloksi, a za C-9 nikotinoiloksi grupa.

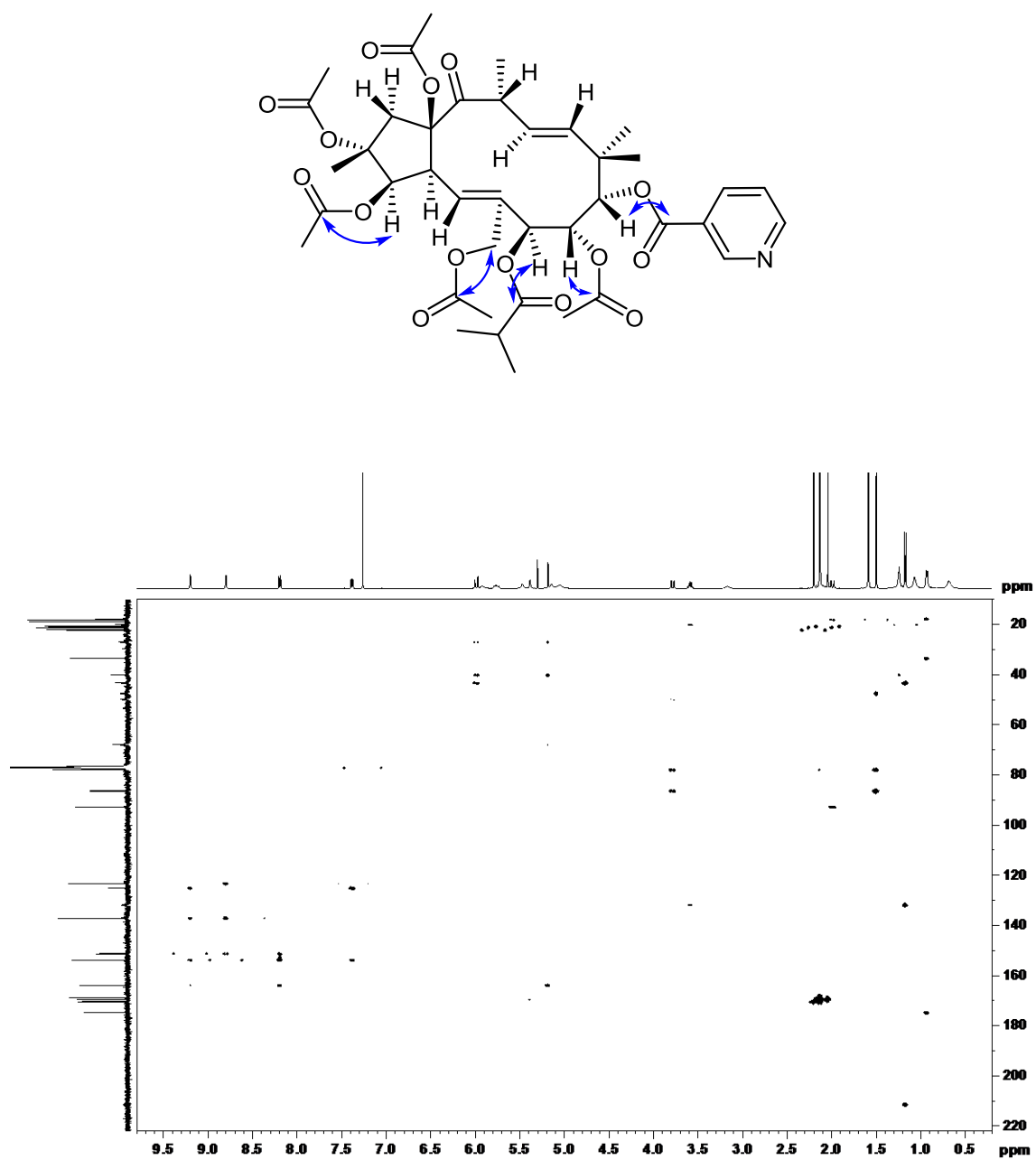
Slika 30. <sup>1</sup>H NMR spektar jedinjenja 16.



Slika 31. <sup>13</sup>C NMR spektar jedinjenja 16.



Slika 32. Deo COSY spektra jedinjenja **16** sa odabranim  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY korelacijama.



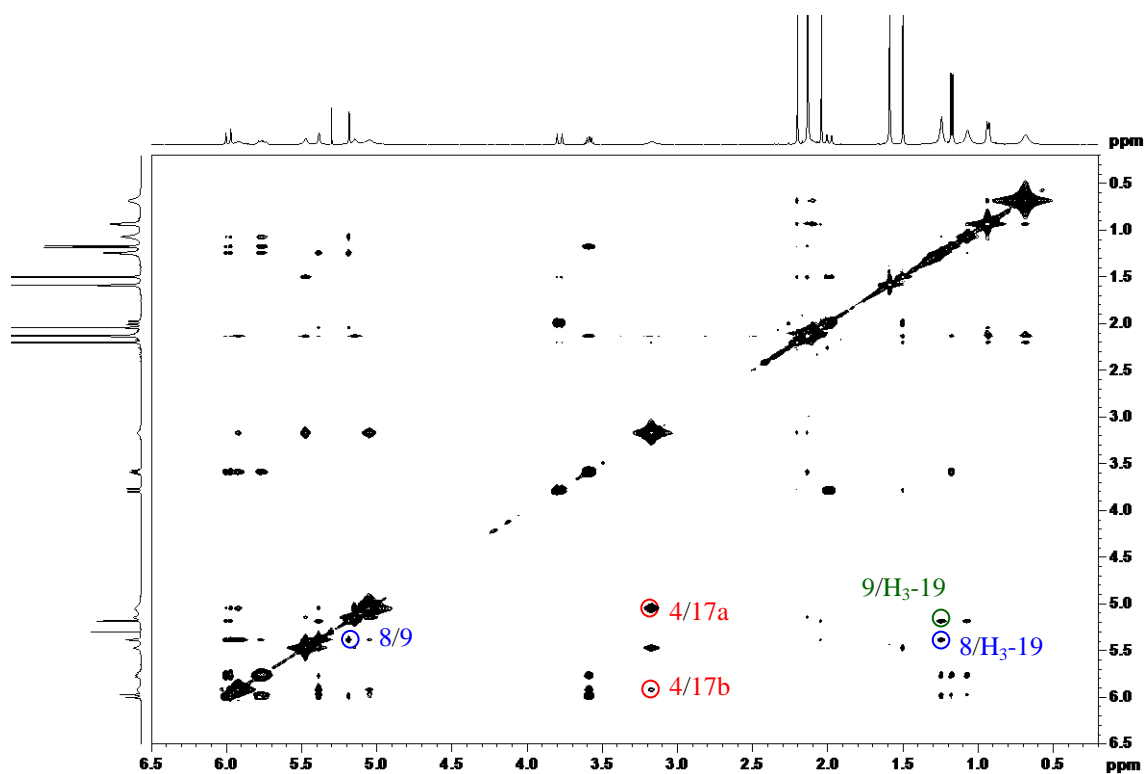
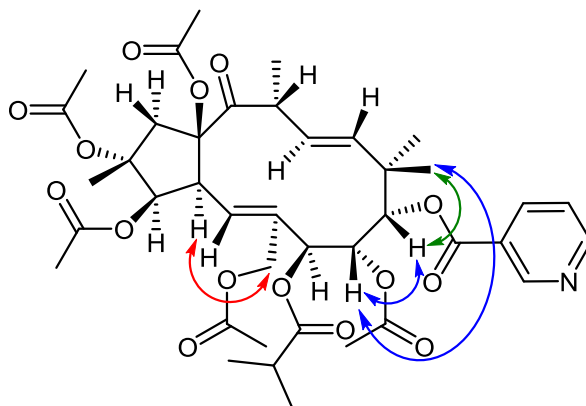
Slika 33. HMBC spektar jedinjenja **16** i odabrane HMBC korelacije.

Signali karbonilnih ugljenika preostalih acetoksi grupa ( $\delta_C$  168,9 i 169,5) ne pokazuju korelacije u HMBC spektru. Ove grupe su vezane u položajima C-2 i C-15 ( $\delta_C$  86,4 i 92,8) kao  $2\alpha$ - i  $15\beta$ -supstituenti, što je utvrđeno na osnovu sličnosti hemijskih pomeranja ugljenika C(1)H<sub>2</sub>, C-2, C(3)H i C(16)H<sub>3</sub> (Tabela 24) sa hemijskim pomeranjima odgovarajućih ugljenikovih atoma u jedinjenju  $2\alpha,3\beta,5\alpha,7\beta,15\beta$ -pentaacetoksi-9-nikotinoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on izolovanom iz *E. peplus*.<sup>38</sup>

Relativna konfiguracija preostalih stereocentara utvrđena je na osnovu konstanti sprežanja, NOESY korelacija (Slika 34) i poređenjem sa podacima<sup>37,38,53</sup> za srodna jedinjenja poznata od ranije, kao i sa spektralnim podacima za jedinjenja **1** – **15**. Na osnovu postojanja NOE korelacija između H-8 i H<sub>3</sub>-19 $\beta$ , kao i H-9 i H<sub>3</sub>-19 $\beta$ <sup>37,53,86</sup> ustanovljeno je da molekul poseduje uobičajeni *cis*-orijentisani  $8\alpha,9\alpha$ -diaciloksi raspored. Da su acil grupe vezane za C-8 i C-9 *cis*-orijentisane potvrđuje i pojava NOE korelacije između protona H-8 i H-9. S druge strane, veoma mala vrednost konstante sprežanja  $J_{7,8}$  u skladu je sa *trans*-orijentacijom aciloksi grupa vezanih za C-7 i C-8,<sup>38,53</sup> odnosno  $\beta$ -orijentacijom aciloksi supstituenta vezanog za C-7. Da metil grupa u položaju 13 ima  $\alpha$ -konfiguraciju utvrđeno je na osnovu sličnosti hemijskih pomeranja atoma H-13 ( $\delta_H$  3,58), C-13 ( $\delta_C$  43,3), H<sub>3</sub>-20 ( $\delta_H$  1,17) i C-20 ( $\delta_C$  20,0) sa hemijskim pomeranjima odgovarajućih atoma u jedinjenju **3** koje takođe sadrži OAc-15 $\beta$  grupu.

#### **2.1.16. $2\alpha,8\alpha,15\beta,17$ -Tetraacetoksi- $7\beta$ -izobutanoiloksi- $9\alpha$ -nikotinoiloksi- $3\beta$ -propanoiloksijatrofa- $5E,11E$ -dien-14-on (Eufodendrofan Q)**

Eufodendrofan Q (**17**) je izolovan kao bezbojna amorfnna čvrsta supstanca molekulske formule C<sub>41</sub>H<sub>53</sub>O<sub>15</sub>N, na osnovu molekulskog jona [M + Na]<sup>+</sup> koji se u HRESI masenom spektru javlja na  $m/z$  822,3316, odnosno molekulske mase koja je za 14 atomskih masenih jedinica veća od molekulske mase jedinjenja **16**. Pažljivom analizom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektralnih podataka (Slika 35, Tabela 24) utvrđeno je da je jedinjenje **17** 3-propanoiloksi homolog jedinjenja **16**, što potvrđuje i pojava H-1 $\beta$ /H<sub>3</sub>-16 i OPr-3/H<sub>3</sub>-16 korelacionih pikova u NOESY spektru.



Slika 34. Deo NOESY spektra jedinjenja 16 sa najvažnijim NOESY korelacijama.



Tabela 24. NMR podaci za jedinjenja **16–19** [500 MHz ( $^1\text{H}$ ), 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ),  $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$  (ppm),  $J$  (Hz)].

Položaj	16		17		18		19	
	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1 $\alpha$	3,78 d (16,5)		3,78 d (16,5)		3,80 d (16,5)		3,76 d (16,0)	
1 $\beta$	2,00 d (16,5)	47,5	1,99 d (16,5)	47,5	2,01 m	47,5	2,05 m	47,7
2		86,4		86,4		86,4		86,4
3	5,47 brs	77,9	5,47 brs	77,8	5,67 brs	77,9	5,50 brs	78,0
4	3,17 brs	49,9	3,17 brs	49,9	3,21 brs	49,8	3,41 brs	49,9
5	5,14 brs	111,7	5,14 brs	111,4	5,14 brs	111,7	5,14 brs	111,5
6		125,2		125,2		125,8		125,4
7	5,05 brs	68,0	5,05 brs	68,2	5,05 brs	67,8	4,96 brs	68,3
8	5,38 brs	71,2	5,38 brs	71,2	5,67 brs	71,2	5,36 brs	71,3
9	5,18 d (1,5)	80,0	5,18 d (1,5)	79,6	5,30 s	79,6	5,13 s	79,6
10		40,1		40,1		40,0		40,0
11	5,99 d (16,5)	131,9	5,99 d (16,5)	131,9	6,05 d (16,5)	132,0	5,99 d (16,5)	131,8
12	5,75 m	137,1	5,76 m	137,1	5,83 m	137,1	5,80 m	137,4
13	3,58 m	43,3	3,59 m	43,3	3,60 m	43,3	3,58 m	43,1
14		211,5		212,1		211,7		211,9
15		92,8		92,8		92,8		92,9
16	1,50 s	18,8	1,49 s	18,0	1,50 s	18,0	1,50 s	18,0
17a	5,05 brs	67,8	5,05 brs	67,8	5,05 brs	67,9	5,00 brs	67,7
17b	5,92 brs		5,92 brs		5,95 brs		5,91 brs	
18	1,07 brs	26,9	1,07 brs	24,0	1,16 brs	24,4	1,04 brs	24,5
19	1,24 brs	24,1	1,24 brs	27,0	1,33 brs	27,0	1,26 brs	26,5
20	1,17 d (6,5)	20,0	1,17 d (6,5)	20,0	1,21d (6,5)	20,0	1,18 d (6,5)	20,1
OR <sub>1-2</sub>								
1'		168,9		169,5		170,6		169,0
2'	2,04 s	20,6	2,04 s	22,2	2,04 s	21,3	2,13 s	22,0
OR <sub>2-3</sub>								
1''		170,6		172,2		169,1		170,4
2''	2,20 s	21,1	2,41 dq (7,6; 1,7)	27,9	2,20 s	22,2	2,14 s	21,8
3''			1,20 t (7,6)	9,0				
OR <sub>3-7</sub>								
1'''		174,8		174,8		174,6		174,8
2'''	2,10 bm	33,5	2,10 bm	33,5	2,10 bm	33,6	1,94 brm	33,3
3'''	0,94 brd (7,0)	18,0	0,94 brd (6,8)	18,0	0,91 d (6,5)	17,7	0,88 d (7,0)	17,4
4'''	0,68 brd (7,0)	17,7	0,68 brs	18,9	0,68 d (6,5)	18,8	0,56 brs	18,7
OR <sub>4-8</sub>								
1''''		168,9		170,6				169,7
2''''	2,13 s	21,2	2,11	20,6	9,19 brs	151,2	2,05s	20,6
3''''						125,6		
4''''					8,28 brd (7,0)	137,2		
5''''					7,40 m	123,4		
6''''					8,80 brt (4,8)	153,9		
7''''						163,8		
OR <sub>5-9</sub>								
1'''''								130,0
2'''''	9,20 s	151,3	9,20 brs	151,3	9,22 brs	151,3	7,97 d (7,0)	129,9
3'''''		125,2		124,9		125,1	7,43 t (7,0)	128,4
4'''''	8,20 brd (8,0)	137,1	8,20 dt (8,0; 2,0)	137,2	8,20 br (7,0)	137,1	7,57 t (7,0)	133,1
5'''''	7,38 dd (8,5)	123,3	7,38ddd (1,5; 5,0; 8,0)	123,3	7,40 m	123,4	7,43 t (7,0)	128,4
6'''''	8,80 brd (5,0)	153,8	8,80 dd (5,0; 2,0)	153,8	8,80 brt (4,8)	153,8	7,97 d (7,0)	129,9
7'''''		163,9		163,9		163,8		165,3
OR <sub>6-15</sub>								
1''''''		170,3		170,3		168,9		168,9
2''''''	2,20 s	22,2	2,20 s	21,1	2,13 s	21,1	2,21 s	21,3
OR <sub>7-17</sub>								
1'''''''		169,5		170,0		170,3		170,8
2'''''''	2,13 s	21,3	2,12 s	21,1	2,13 s	21,1	2,14 s	21,0

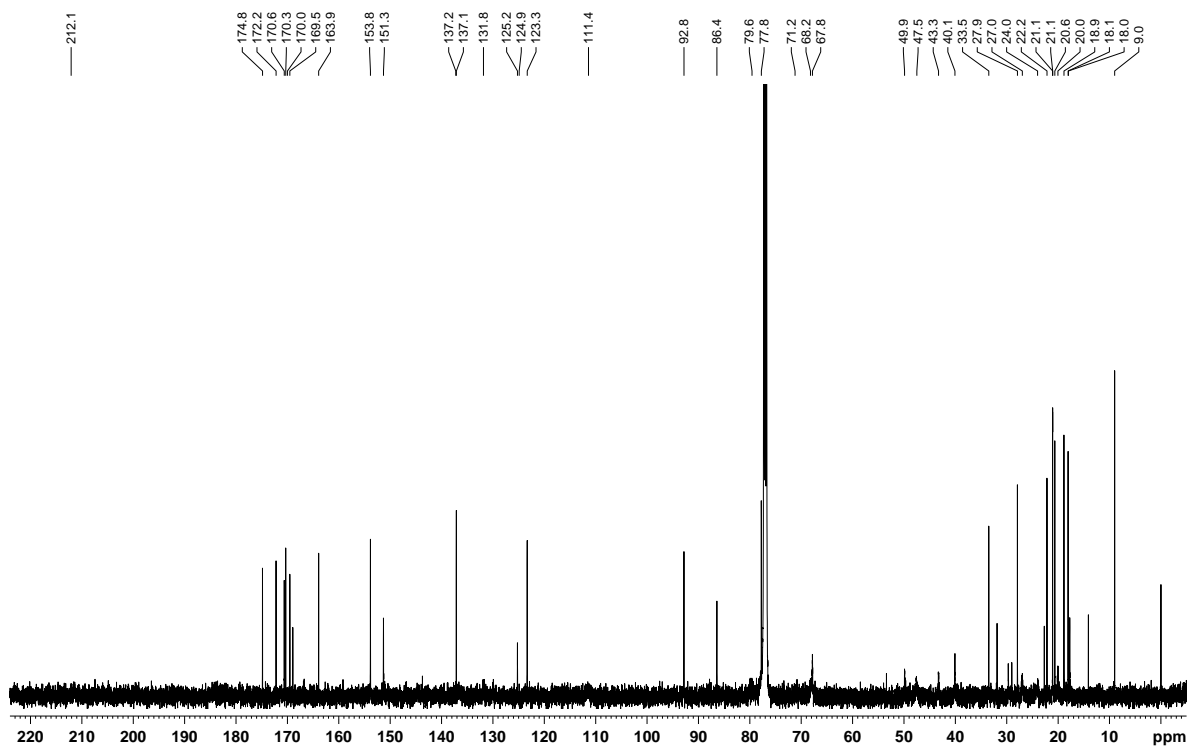
**2.1.17. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-Tetraacetoksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksija-trofa-5*E*,11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan R)**

Eufodendrofan R (**18**) je izolovan kao bezbojna amorfna čvrsta supstanca. Masenom spektrometrijom visokog razlaganja, na osnovu molekulskog jona  $[M + H]^+$  koji se javlja na  $m/z$  849,3463, određena je molekulska formula  $C_{44}H_{52}N_2O_{15}$ .  $^1H$  i  $^{13}C$  NMR spektralni podaci (Slika 36, Tabela 24) ovog jedinjenja veoma su slični spektralnim podacima jedinjenja **16**, i razlikuju se u signalima nikotinoiloksi grupe vezane za C-8, umesto acetoksi grupe vezane u istom položaju u jatrofanu **16**. Prema tome, jedinjenje **18** je jatrofanski poliol esterifikovan acetatom u položajima C-2, C-3, C-15 i C-17, izobutanoatom u položaju C-7 i nikotinatom u položajima C-8 i C-9.

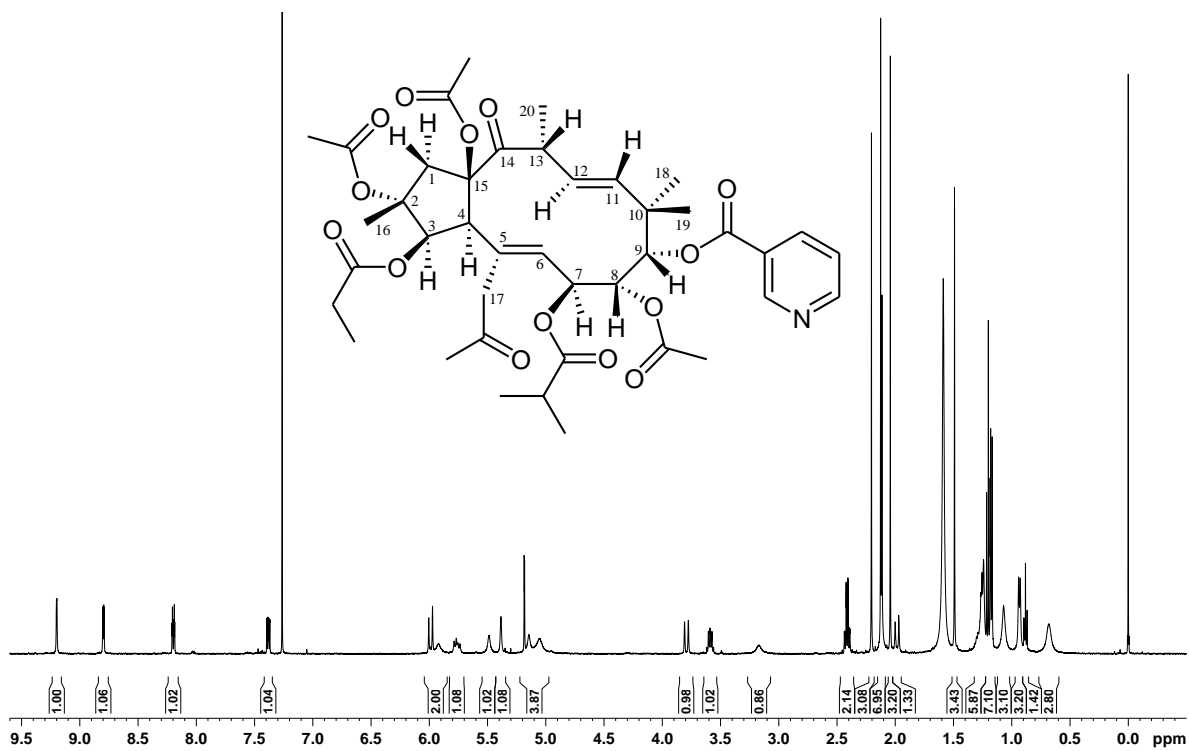
**2.1.18. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-Pentaacetoksi-9 $\alpha$ -benzoiloksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksijatrofa-5*E*,11*E*-dien-14-on (Eufodendrofan S)**

Eufodendrofan S (**19**) je bezbojna amorfna čvrsta supstanca molekulske formule  $C_{41}H_{52}O_{15}$ , na osnovu molekulskog jona  $[M + Na]^+$  koji se u HRESI masenom spektru javlja na  $m/z$  807,3196. Njegovi  $^1H$  i  $^{13}C$  NMR spektri (Slika 37, Tabela 24) su slični NMR spektrima jedinjenja **16**. Jedina razlika potiče od prisustva 9-benzoata umesto 9-nikotinata. Na osnovu toga, jedinjenje **19** je heptaesterifikovani diterpenski poliol jatrofanskog tipa kod kojeg su acetati vezani u položajima C-2, C-3, C-8, C-15 i C-17, benzoat je vezan za C-9, a izobutanoat za C-7.

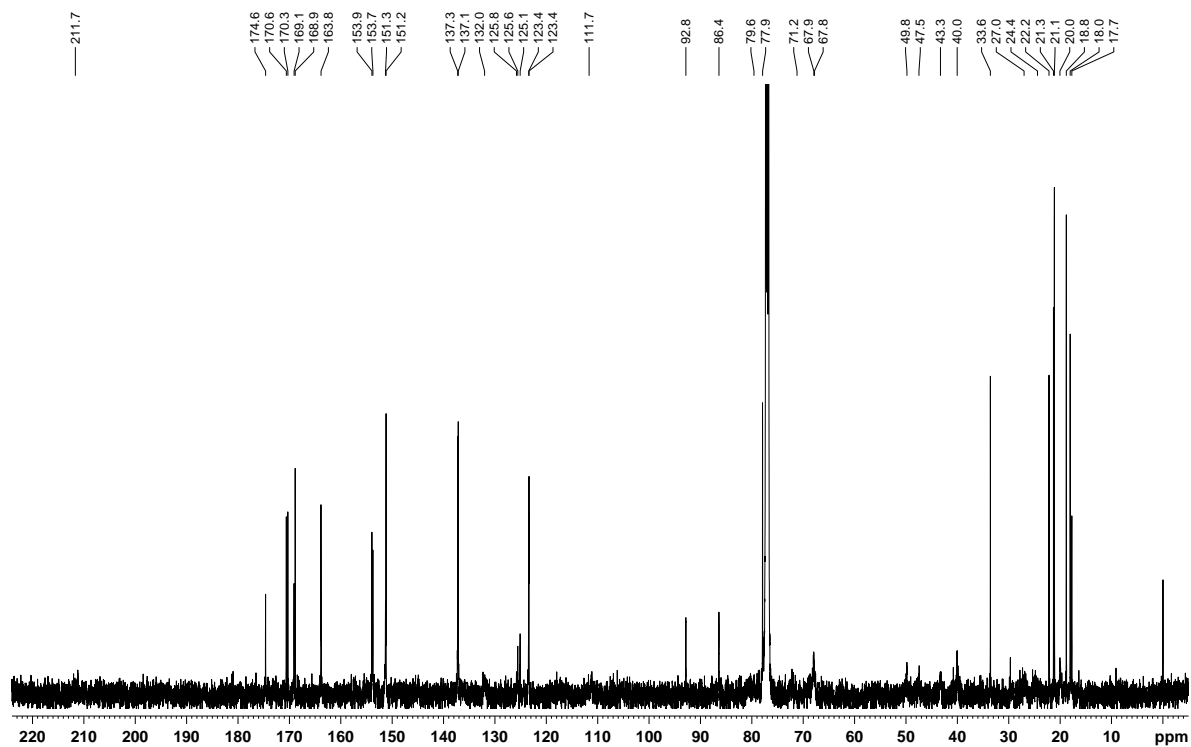
B



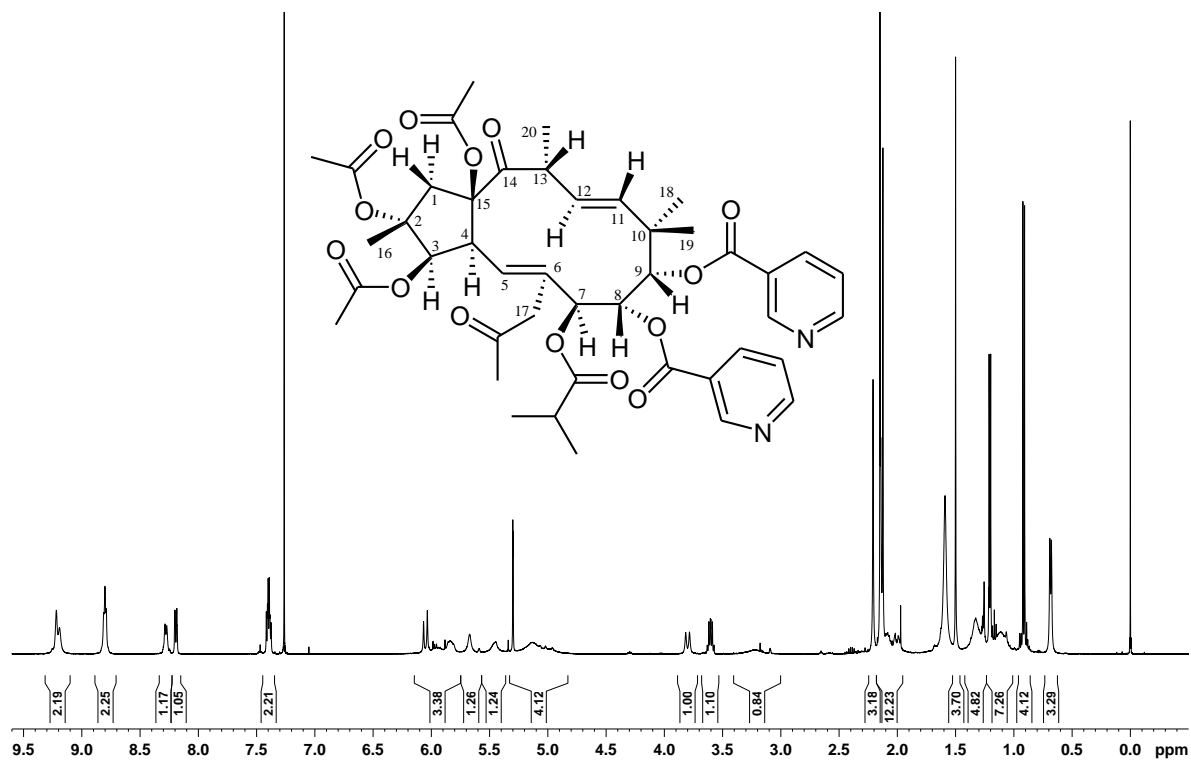
A

Slika 35.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **17**.

B

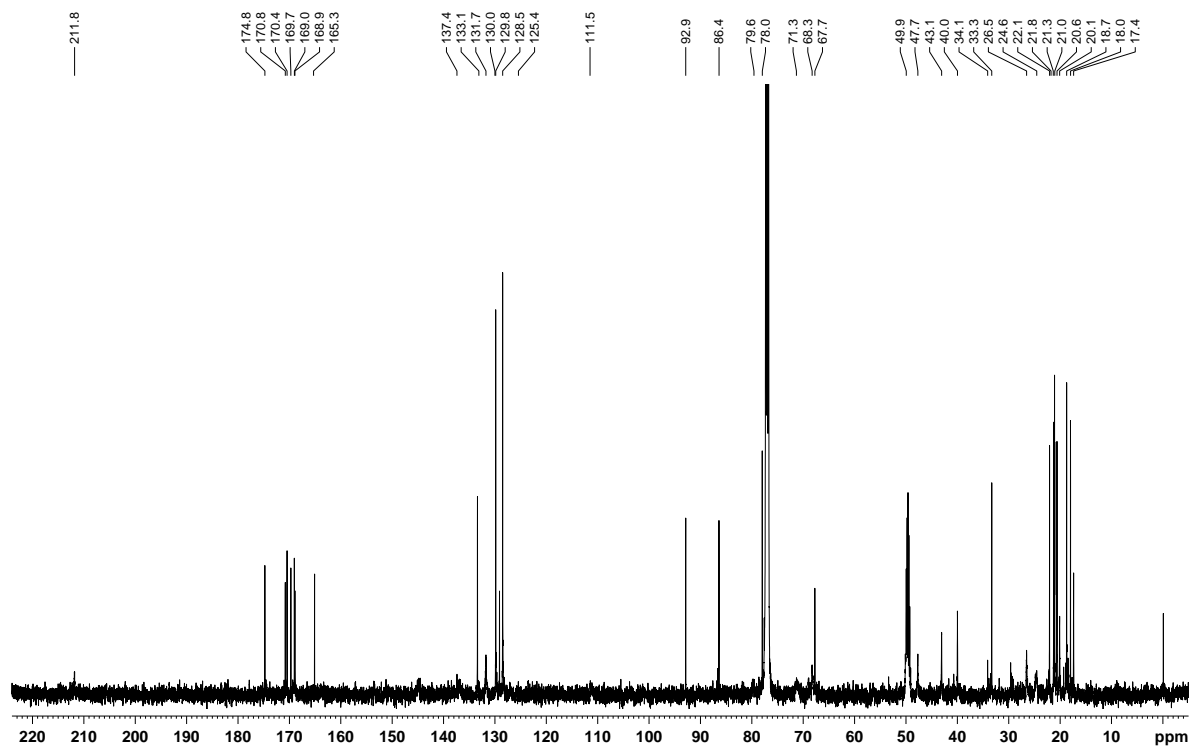


A

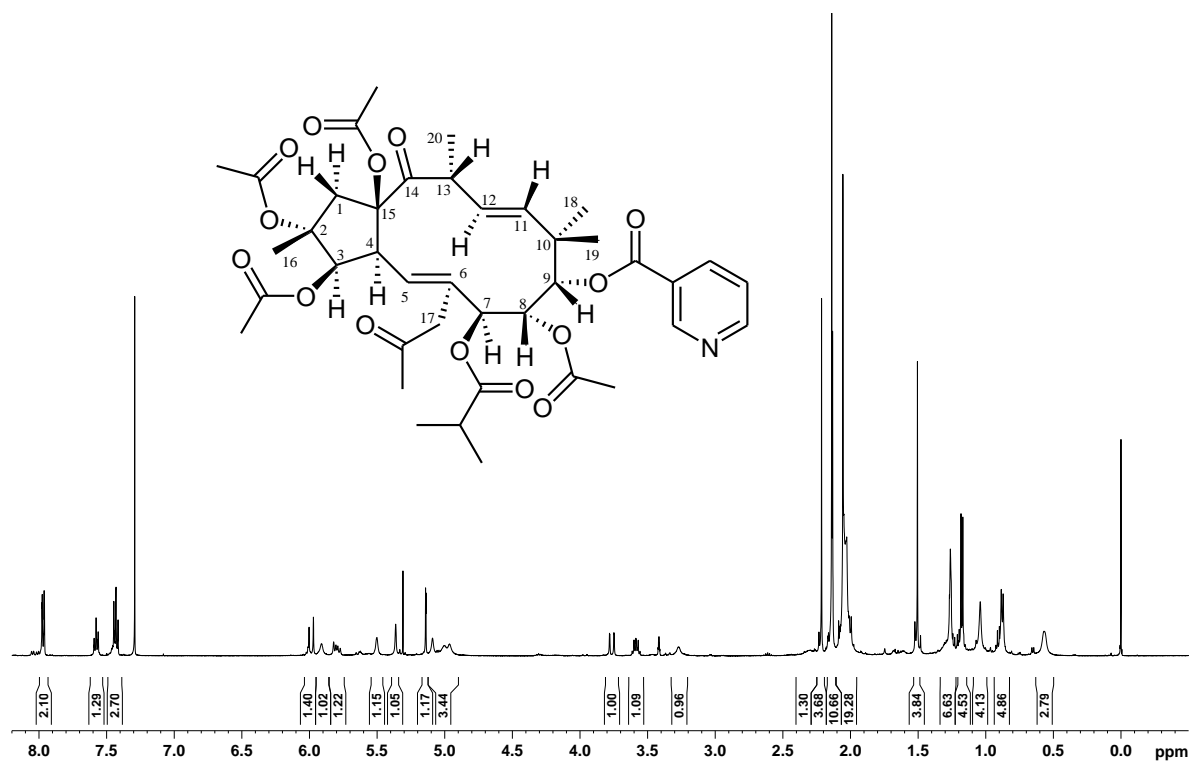


Slika 36.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **18**.

B



A



Slika 37.  $^1\text{H}$  (A) i  $^{13}\text{C}$  NMR (B) spektar jedinjenja **19**.

## 2.2. Hemotaksonomski značaj izolovanih jedinjenja

Za biljnu vrstu *E. dendroides* sakupljenu na dve lokacije (Sardinija i Crna Gora) karakteristično je prisustvo diterpena jatrofanskog tipa istog osnovnog ugljeničnog skeleta, sa egzocikličnom  $\Delta^{6(17)}$  dvostrukom vezom i sličnog rasporeda estarskih grupa. Eufodendrijani A-I i jatrofan Jedinjenje 7,<sup>54</sup> koji su uglavnom heksaestri sa više acetoksi, izobutanoiloksi i benzoiloksi grupa, svojstveni su za *E. dendroides* sa Sardinije,<sup>53</sup> dok je iz crnogorske populacije ove biljne vrste izolovano petnaest jatrofana (eufodendrofani A-E i G-P) koji su uglavnom pentaestri sa više acetoksi, izobutanoiloksi i nikotinoiloksi grupa.

Osim ovih neznatnih razlika, hemotaksonomski marker biljne vrste *E. dendroides* sa dve lokacije može biti prostorna orijentacija metil grupe u položaju 20. Naime, ova metil grupa u jatrofanima iz *E. dendroides* ubrane na Sardiniji zauzima  $\beta$ -orijentaciju, dok u jatrofanima iz biljke sakupljene u Crnoj Gori zauzima suprotnu, tj.  $\alpha$ -orijentaciju. Relativna stereohemija preostalog dela jatrofanskog molekula je identična kod obe populacije.

Najveću razliku u hemijskom sastavu ove biljne vrste sa dva geografska lokaliteta predstavlja polarnija jatrofanska frakcija. Deset modifikovanih jatrofana – teracinolida i dva abeo-dendroidina su karakteristični za *E. dendroides* sa Sardinije.<sup>111</sup> Nasuprot tome, polarnija frakcija *E. dendroides* iz Crne Gore sadrži četiri jatrofana sa endocikličnom 5,6-dvostrukom vezom (eufodendrofani F, Q, R i S).

Precizno poređenje hemijskog sastava ukupnog ekstrakta *E. dendroides* sa različitih lokaliteta najbolje se ostvaruje HPLC-DAD-MS tehnikom. Dobijeni hromatogrami daju integralne profile ovih ekstrakata.

## 2.3. Biološke aktivnosti izolovanih jedinjenja

### 2.3.1. Uticaj jatrofana na inhibiciju rasta ćelija karcinoma pluća, debelog creva i glioblastoma, kao i normalnih ćelija

Sposobnost jedinjenja **1 – 7, 9, 10 i 16 – 19** da *in vitro* inhibiraju rast senzitivnih i rezistentnih ćelijskih linija humanog nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460 i NCI-H460/R), humanog karcinoma debelog creva (DLD1 i DLD-TxR) i glioblastoma (U87 i U87-TxR) procenjavana je pomoću sulforodamin B (SRB) testa. Kao kontrolna supstanca upotrebljen je paklitaksel.

Od ukupno trinaest analiziranih jatrofana, jedinjenja **2, 6, 9, 10, 17 – 19** efikasnije od ostalih inhibiraju rast kako senzitivnih tako i rezistentnih ćelijskih linija humanog karcinoma pluća (Tabela 25).

Efikasnost sredstava za lečenje karcinoma često je ograničena pojavom višestruke rezistencije na lekove (engl. multidrug resistance, MDR). Međutim, prisustvo MDR fenotipa u NCI-H460/R ćelijskoj liniji, sa povišenom ekspresijom P-glikoproteina (P-gp) koji sprečava unutarćelijsku akumulaciju paklitaksela i doksorubicina, nije znatno uticalo na inhibitorno dejstvo ispitivanih jedinjenja. Jedino je otpornost NCI-H460/R ćelija na jedinjenje **16** značajna.

Jedinjenja **1, 2, 3, 9 i 17** efikasno inhibiraju rast senzitivnih ćelijskih linija humanog karcinoma debelog creva ( $IC_{50} < 50 \mu M$ ), dok je jedinjenje **6** efikasno i na senzitivnim i na rezistentnim ćelijama ovog karcinoma (Tabela 25).

Jedinjenja **10 i 18** najefikasnije od ispitivanih jatrofana inhibiraju rast senzitivnih ćelijskih linija glioblastoma, a postižu zadovoljavajuće dejstvo i na rezistentnim ćelijama glioblastoma. Rast rezistentnih ćelija glioblastoma takođe efikasno inhibiraju i jedinjenja **1, 2, 9 i 17** (Tabela 25).

Tabela 25. Uticaj eufodendofana na inhibiciju rasta senzitivnih i rezistentnih humanih tumorskih ćelijskih linija.

Jedinjenje	NCI-H460		NCI-H460/R		DLD1		DLD1-TxR		U87		U87-TxR	
	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>	IC <sub>30</sub> (μM) <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b</sup>
<b>1</b>	31,0	46,6	26,6	44,8	2,5	21,3	27,8	67,2	5,9	100,0	5,0	43,3
<b>2</b>	6,1	16,2	3,9	17,2	4,8	22,1	8,6	63,8	5,9	78,6	5,5	60,0
<b>3</b>	17,4	22,0	20,5	35,0	7,1	20,0	16,4	35,0	13,6	112,5	18,0	50,0
<b>4</b>	11,7	21,3	14,6	30,1	14,2	42,7	/	/	10,4	52,6	/	/
<b>5</b>	8,3	21,9	15,2	49,8	13,7	37,9	/	/	14,1	73,1	/	/
<b>6</b>	2,4	6,0	5,5	15,0	6,7	40,0	6,4	39,3	6,3	158,3	2,4	162,5
<b>7</b>	17,3	39,6	16,8	33,3	8,6	54,0	50,8	68,0	10,0	73,1	17,5	48,5
<b>9</b>	2,3	4,7	6,6	18,0	2,3	5,0	13,5	121,0	5,0	150,0	2,3	50,0
<b>10</b>	2,8	6,4	3,3	9,1	22,9	40,0	33,9	45,8	3,3	10,0	7,9	57,1
<b>16</b>	4,8	14,8	51,9	90,8	38,8	75,3	/	/	27,3	65,5	/	/
<b>17</b>	2,2	11,2	8,7	26,8	3,8	30,0	27,3	80,0	3,1	30,0	4,2	43,8
<b>18</b>	3,5	10,0	6,4	17,0	18,6	30,5	33,6	19,2	2,3	8,6	4,0	28,5
<b>19</b>	2,3	7,5	2,3	8,3	54	143	17,5	/	44	169	9,6	/
paklitaksel <sup>b</sup>	3,6	9,4	440	2078	23	39	3410	6410	49	90	3610	9360

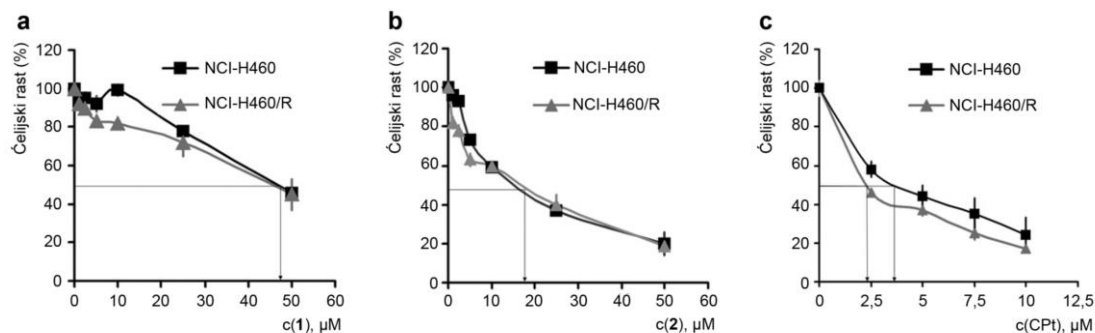
<sup>a</sup> Navedene vrednosti predstavljaju srednju vrednost koncentracija koje inhibiraju ćelijski rast za 30% (IC<sub>30</sub>) i dobijene su iz pet nezavisnih merenja metodom linearne regresije pomoću Excel softvera.

<sup>b</sup> Navedene vrednosti predstavljaju srednju vrednost koncentracija koje inhibiraju ćelijski rast za 50% (IC<sub>50</sub>) i dobijene su iz pet nezavisnih merenja metodom linearne regresije pomoću Excel softvera.

<sup>c</sup> Podaci za paklitaksel (pozitivna kontrola) dati su u nM.



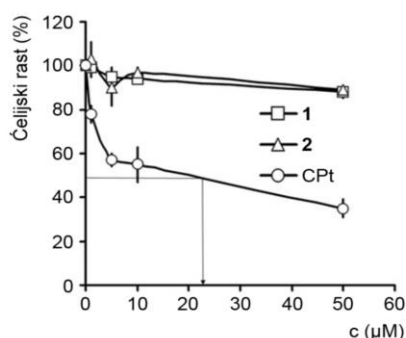
Mehanizam dejstva dva najzastupljenija jatrofana **1** i **2** (izolovana u najvećoj količini) je dalje ispitan kod nesitnoćelijskog karcinoma pluća. U poređenju sa cisplatinom, koji nije supstrat za P-gp pumpu, ispitivani jatrofani su pokazali umerenu efikasnost u suzbijanju ćelijskog rasta (Slika 38).



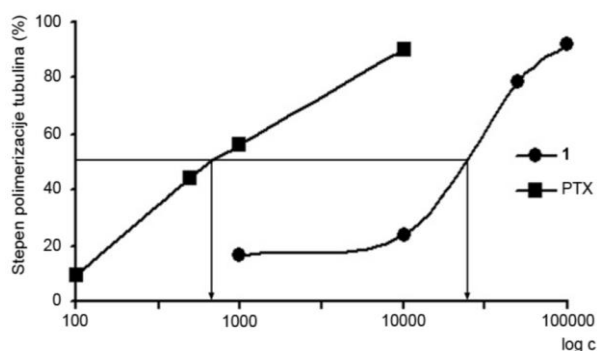
Slika 38. Uticaj jedinjenja **1** (a), **2** (b) i cisplatina (c) na rast senzitivnih i rezistentnih ćelija humanog karcinoma pluća.

Stepen inhibicije rasta senzitivnih NCI-H460 ćelijskih linija delovanjem jedinjenja **1** i **2** ne razlikuje se bitno od stepena inhibicije rasta rezistentnih linija (NCI-H460/R), što ukazuje da se ova dva jedinjenja, poput cisplatina, iz ćelije ne izbacuju P-gp pumpom. Međutim, jedinjenje **2** znatno efikasnije deluje na obe ćelijske linije od jedinjenja **1** ( $\text{IC}_{50}$  (**2**)  $\approx$  20  $\mu\text{M}$ ;  $\text{IC}_{50}$  (**1**)  $\approx$  50  $\mu\text{M}$ ). Na osnovu toga bi se moglo zaključiti da prisustvo izobutanoiloksi grupe u položaju 3 favorizuje inhibitorno dejstvo jedinjenja **2** u odnosu na jedinjenje **1** kod kojeg je u položaju 3 vezana propanoiloksi grupa. S druge strane, prethodna istraživanja ističu važnost postojanja propanoiloksi grupe u položaju 3 jatrofana za njihovo inhibitorno dejstvo na ćelije karcinoma.<sup>54</sup>

Budući da je primena sredstava za lečenje karcinoma ograničena njihovom toksičnošću za normalne ćelije, upoređeno je dejstvo jatrofana **1** i **2** i cisplatina na mononuklearne ćelije periferne krvi (PBMC) izolovane iz krvi zdravih osoba. Uticaj na rast PBMC posle 72 sata neprekidnog tretmana procenjen je MTT testom (kolorimetrijski test). Jedinjenja **1** i **2** u koncentracijama koje su pokazale inhibiciju rasta ćelija karcinoma nisu uticala na smanjenje broja PBMC, dok se pokazalo da je cisplatin u znatnoj meri citotoksičan za normalne ćelije (Slika 39).



Slika 39. Uticaj jedinjenja **1**, **2** i cisplatina na rast PMBC.



Slika 40. Zavisnost stepena polimerizacije tubulina od koncentracije ispitivanog jedinjenja.

### 2.3.2. Antimitotska aktivnost

Antimitotski potencijal jedinjenja **1** proveren je tubulinskim testom.<sup>185</sup>

Različite koncentracije jedinjenja **1** (1, 10, 50 i 100 µM) inkubirane su sa rastvorom tubulina (1,1 – 10 µM) i posmatrano je ponašanje mikrotubula. Jedinjenje **1** dovodi do polimerizacije tubulina *in vitro* i to pri koncentraciji koja efikasno inhibira rast ćelija (IC<sub>50</sub> 29 µM). Paklitaksel polimerizuje tubulin pri znatno nižoj koncentraciji (IC<sub>50</sub> 0,7 µM).

### 2.3.3. Inhibicija P-glikoproteina

Makrociklični diterpeni jatrofanskog tipa izolovani iz *E. dendroides* sa Sardinije deluju kao inhibitori P-gp pumpe.<sup>53</sup> Stoga se može pretpostaviti da i jedinjenja izolovana iz iste biljne vrste, ali drugačijeg geografskog porekla imaju slične osobine. Kako bi proverili da li je ova pretpostavka tačna, sposobnost jatrofanskih diterpena **1**, **2**, **6** – **10**, **15** – **19** da inhibiraju dejstvo P-gp-a ispitana je na MDR ćelijskim linijama humanog nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460/R), karcinoma debelog creva (DLD1-TxR) i glioblastoma (U87-TxR). U tu svrhu korišćen je standardni test kojim se akumulacija rodamina 123 (fluorescentni supstrat P-gp-a) prati protočnom citometrijom. Utvrđeno je da se izolovani jatrofani znatno razlikuju u stepenu inhibicije dejstva P-gp-a u NCI-H460/R i DLD1-TxR ćelijama, dok se njihova aktivnost prema P-gp-u u U87-TxR ćelijama ne razlikuje mnogo (Tabela 26).

Tabela 26. Uticaj jatrofana na dejstvo P-gp-a tri MDR ćelijske linije humanih karcinoma.

Jedinjenje	MFI <sup>a</sup>	FAR <sup>b</sup>	SI <sup>c</sup>
NCI-H460	686		100,00
NCI-H460/R	23		3,35
<b>1</b>	143	6,23	20,85
<b>2</b>	119	5,17	17,35
<b>6</b>	519	22,57	75,66
<b>7</b>	72	3,13	10,50
<b>8</b>	374	16,26	54,52
<b>9</b>	509	22,13	74,20
<b>10</b>	384	16,70	55,98
<b>15</b>	28	1,22	4,08
<b>16</b>	150	6,52	21,87
<b>17</b>	45	1,96	6,56
<b>18</b>	191	8,30	27,84
<b>19</b>	362	15,74	52,77
R(+)-verapamil <sup>d</sup>	319	13,87	46,50
tarikvidar <sup>e</sup>	629	27,35	91,69
DLD1	314		100,00
DLD1-TxR	31		9,87
<b>1</b>	192	6,19	61,15
<b>2</b>	114	3,68	36,31
<b>6</b>	1058	34,13	336,94
<b>7</b>	169	5,45	53,82
<b>8</b>	435	14,03	138,54
<b>9</b>	1110	35,81	353,50
<b>10</b>	434	14,00	138,22
<b>15</b>	94	3,03	29,87
<b>16</b>	243	7,84	77,39
<b>17</b>	37	1,19	11,78
<b>18</b>	74	2,39	23,57
<b>19</b>	415	13,39	132,17
R(+)-verapamil	277	8,94	88,22
tarikvidar	507	16,35	161,46
U87	511		100,00
U87-TxR	31		6,07
<b>1</b>	125	4,03	24,46
<b>2</b>	119	3,84	23,29
<b>6</b>	241	6,90	41,88
<b>7</b>	194	6,26	37,96
<b>8</b>	129	4,16	25,24
<b>9</b>	217	7,00	42,47
<b>10</b>	186	6,00	36,40
<b>15</b>	28	1,87	11,35
<b>16</b>	110	3,55	21,53
<b>17</b>	105	3,38	20,55
<b>18</b>	169	5,45	33,07
<b>19</b>	124	4,00	24,26
R(+)-verapamil	93	3,00	19,00
tarikvidar	116	3,74	22,72

<sup>a</sup> Srednja vrednost izmerenog intenziteta fluorescencije (MFI) koristi se za izračunavanje

<sup>b</sup> odnosa fluorescencije i aktivnosti (FAR) primenom jednačine:  $FAR = MFI_{\text{tretiranih MDR ćelija}} / MFI_{\text{netretiranih MDR ćelija}}$ .

<sup>c</sup> Indeks senzitivnosti (SI) izračunat je iz srednje vrednosti izmerenog intenziteta fluorescencije (MFI) primenom jednačine:  $SI = MFI_{\text{tretiranih MDR ćelija}} \times 100 / MFI_{\text{senzitivnih ćelija}}$ .

<sup>d</sup> R(+)-Verapamil je primenjen u istoj koncentraciji (10 µM) kao i ispitivani jatrofani.

<sup>e</sup> Tarikvidar je primenjen u koncentraciji 50 nM.

Sposobnost ispitivanih jedinjenja da inhibiraju aktivnost P-gp-a u MDR ćelijskim linijama karcinoma meri se kao povećana akumulacija Rho 123, a izražava se kao odnos fluorescencije i aktivnosti (FAR, Tabela 26). Na osnovu FAR vrednosti, jedinjenja za koja je  $1 < FAR < 2$  su nedelotvorna u inhibiciji P-gp-a, jedinjenja sa  $2 < FAR < 10$  umereno, jedinjenja sa  $10 < FAR < 20$  veoma, a ona sa  $FAR > 20$  veoma snažno inhibiraju aktivnost P-gp-a. Osim toga, može se koristiti indeks senzitivnosti (SI) koji upoređuje akumulaciju Rho 123 u MDR ćelijskim linijama karcinoma posle njihovog tretiranja jatrofanima sa akumulacijom dobijenom kod netretiranih senzitivnih ćelijskih linija karcinoma (Tabela 26). U tom slučaju, SI vrednosti predstavljaju kapacitet ispitivanih jedinjenja da dostignu akumulaciju Rho 123 koja se postiže sa senzitivnim ćelijskim linijama karcinoma. Na skali SI vrednosti, kada je  $SI < 10$  nema povećanja senzitivnosti; povećanje senzitivnosti je umereno za  $10 < SI < 50$ , odnosno veliko za  $50 < SI < 100$ , a kada je  $SI > 100$  aktivnost P-gp-a se u potpunosti blokira (tada je akumulacija Rho 123 veća od akumulacije dobijene sa senzitivnom ćelijskom linijom kancera).

Ispostavilo se da su među ispitivanim jatrofanima jedinjenja **6** i **9** najjači inhibitori P-gp-a u MDR ćelijskoj liniji humanog nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460/R, Tabela 26), efikasnija od R(+)-verapamila (kompetitivni inhibitor P-gp-a, druga generacija P-gp modulatora) koji je korišćen kao pozitivna kontrolna supstanca. Međutim, tarikvidar, nekompetitivni inhibitor P-gp-a,<sup>186</sup> je efikasniji od jedinjenja **6** i **9**. Jedinjenja **8**, **10** i **19** su pokazala relativno visok anti-MDR potencijal, jedinjenja **1**, **2**, **16** i **18** su umereno efikasna, jedinjenje **7** je jedva efikasno, a jedinjenja **15** i **17** su potpuno neefikasna kod NCI-H460/R ćelija.

Najveći porast nagomilavanja Rho 123 i potpuna blokada P-gp pumpe zapaženi su u MDR ćelijama humanog karcinoma debelog creva (DLD1-TxR) tretiranim jedinjenjima **6** i **9** (Tabela 26). Potpuna blokada P-gp pumpe nastupila je i tretiranjem ovih ćelija jedinjenjima **8**, **10**, **19** i tarikvidarom. Veliki kapacitet povećanja senzitivnosti koji se postiže primenom jedinjenja **16** uporediv je sa vrednošću verapamila. Umerena inhibicija P-gp-a, ali veliko povećanje senzitivnosti postiže se i tretmanom jedinjenjima **1** i **7**, dok su jedinjenja **2**, **15** i **18** izazvala umerenu inhibiciju P-gp-a i umereno povećanje senzitivnosti. Jedinjenje **17** ne deluje na MDR ćelije humanog karcinoma debelog creva.

Jedanaest ispitivanih jedinjenja (**1**, **2**, **6** – **10**, **16** – **19**), kao i pozitivne kontrolne supstance (verapamil i tarikvidar), pokazali su umerenu aktivnost ka P-gp pumpi u MDR ćelijskoj liniji humanog glioblastoma (U87-TxR). Jedino je jedinjenje **15** bilo potpuno neaktivno.

#### **2.3.4. Kombinovano dejstvo jatrofana sa klasičnim hemioterapeuticima**

S obzirom na to što se akumulacija Rho 123 povećala prilikom tretmana MDR ćelijske linije humanog nesitnoćelijskog karcinoma pluća, proučen je i senzitivniji potencijal jedinjenja **1**, **2**, **6**, **8**, **18** i **19** na pomenutu ćelijsku liniju u kombinaciji sa paklitakselom, kao i uticaj jedinjenja **1** i **2** u kombinaciji sa doksorubicinom. U tu svrhu rezistentne NCI-H460/R ćelije izlagane su 72 sata kombinovanom dejstvu 1, 2,5 i 5  $\mu\text{M}$  jedinjenja **1**, odnosno **2** ili 5  $\mu\text{M}$  jedinjenja **6**, **8**, **18** i **19** i 0,005 – 5  $\mu\text{M}$  paklitaksela, kao i dejstvu 5  $\mu\text{M}$  jedinjenja **1**, odnosno **2** i 0,05 – 5  $\mu\text{M}$  doksorubicina (Tabela 27). Sposobnost izabranih jatrofana da smanje rezistenciju MDR ćelija na paklitaksel poređena je sa sposobnošću verapamila i tarikvidara, dok je sposobnost jedinjenja **1** i **2** da smanje rezistenciju MDR ćelija na doksorubicin poređena sa sposobnošću verapamila. Ovi efekti su procenjeni SRB testom. Svi jatrofani su uticali na povećanje senzitivnosti rezistentnih NCI-H460/R ćelija na paklitaksel, odnosno doksorubicin. Na primer, jedinjenje **1** smanjilo je  $\text{IC}_{50}$  vrednost paklitaksela 3, 19, odnosno 38 puta. Efekat jedinjenja **2** je još izraženiji – dovelo je do smanjenja  $\text{IC}_{50}$  vrednosti paklitaksela 11, 25, odnosno 60 puta. Utvrđeno je da ne postoje znatne razlike u aktivnosti jedinjenja **1** i **2** u koncentracijama 2,5 i 5  $\mu\text{M}$  i verapamila. Oba jatrofana u koncentracijama 5  $\mu\text{M}$  znatno smanjuju  $\text{IC}_{50}$  vrednost doksorubicina (Tabela 27).

Rezultati dobijeni za kombinovano dejstvo jatrofana, verapamila ili tarikvidara i paklitaksela, odnosno doksorubicina na rezistentne NCI-H460/R ćelije podvrgnuti su kompjuterskoj analizi (engl. synergism/antagonism CalcuSyn software analysis). Sve kombinacije koje su korišćene za ispitivanje kombinovanog uticaja na rezistentne NCI-H460/R ćelije imale su sinergističko ( $\text{CI} < 1$ ) ili snažno sinergističko dejstvo ( $\text{CI} < 0,5$ ). Ovi rezultati ukazuju na sposobnost ovih jatrofana da smanje rezistenciju MDR ćelijskih linija prema paklitakselu ili doksorubicinu. Rezistentne NCI-H460/R ćelijske linije pokazuju slabu senzitivnost na paklitaksel, vinblastin, doksorubicin, epirubicin i

etopozid.<sup>187</sup> Poznato je da između jatrofanskih diterpena i antraciklina (doksorubicin i epirubicin) postoje sinergističke interakcije.<sup>153,154</sup> Jedinjenja **1** i **2** čine NCI-H460/R ćelije senzitivnim na paklitaksel, pri čemu je senzitivnost koncentraciono zavisna (Tabela 27). Ovo je prvi put da je uočeno sinergističko dejstvo između jatrofana i paklitaksela.

Tabela 27. Uticaj jedinjenja **1**, **2**, **6**, **8**, **18**, **19**, verapamila i tarikvidara na senzitivizaciju rezistentnih NCI-H460/R ćelija na dejstvo klasičnih citostatika.

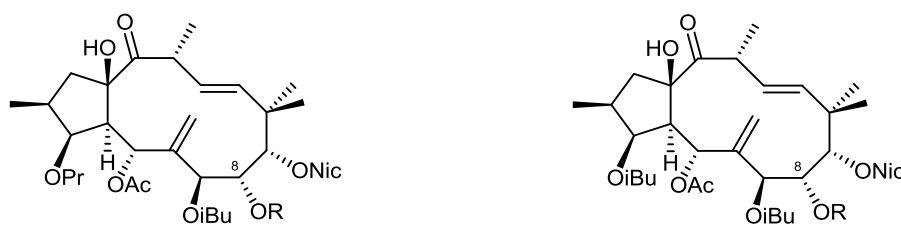
Jedinjenje	Koncentracija (μM)	Koeficijent relativne reverzije <sup>a</sup>
paklitaksel	0,005 – 5	
<b>1</b> + paklitaksel	1 2,5 5	3 19 38
<b>2</b> + paklitaksel	1 2,5 5	11 25 60
<b>6</b> + paklitaksel	5	20
<b>8</b> + paklitaksel	5	10
<b>18</b> + paklitaksel	5	5
<b>19</b> + paklitaksel	5	5
verapamil + paklitaksel	1 2,5 5	20 22 46
tarikvidar + paklitaksel	5	25
doksorubicin	0,05 – 5	
<b>1</b> + doksorubicin	5	19
<b>2</b> + doksorubicin	5	28
verapamil + doksorubicin	5	20

<sup>a</sup> Koeficijent relativne reverzije izračunat je kao količnik IC<sub>50</sub> citostatika i IC<sub>50</sub> citostatika u kombinaciji sa izabranim jatrofanima, verapamilom ili tarikvidarom.

## 2.4. Uticaj strukture ispitivanih jedinjenja na njihovu aktivnost

Na osnovu dosadašnjih ispitivanja, ne postoji očigledna razlika u aktivnosti između jatrofana sa 6(17) *egzo* dvostrukom vezom (**1**, **2**, **6** – **10**, **15**) i jatrofana sa 5 *endo* dvostrukom vezom (**16** – **19**). To se slaže sa rezultatima ranijih istraživanja koji ukazuju da način vezivanja vrlo malo utiče na aktivnost i da mnogo veći uticaj na aktivnost ima stepen oksigenacije.<sup>111</sup>

Ispitivanje bioloških aktivnosti dve grupe *egzo* jatrofana koji imaju identičnu strukturu osim supstituenta vezanog za C-8, a to su **1**, **6** – **8** i **2**, **9** i **10** (Slika 41), pokazalo je da se aktivnost jedinjenja znatno povećava ako je za C-8 vezana benzoiloksi grupa umesto acetoksi, izobutanoiloksi ili nikotinoiloksi grupe. Tako od jatrofana sa 6(17) *egzo* dvostrukom vezom, jedinjenja **6** i **9** sa C-8 benzoiloksi grupom najjače inhibiraju dejstvo P-glikoproteina. Prisustvo benzoiloksi grupe na C-8, umesto acetoksi ili nikotinoiloksi grupe, utiče na povećanu akumulaciju Rho 123, naročito u MDR ćelijama humanog karcinoma debelog creva, što ukazuje na veću efikasnost jedinjenja **6** i **9** u poređenju sa jedinjenjima **1**, **7** i **8**, odnosno **2** i **10**.



R=Ac, **1**

R=Bz, **6** (eufodendrofan H)

R=Nic, **7**

R=iBu, **8**

Ac–acetil; Bz–benzoil; iBu–izobutanoil; Nic–nikotinoil; Pr–propanoil

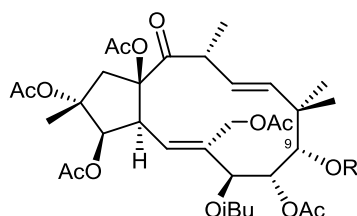
R=Ac, **2**

R=Bz, **9** (eufodendrofan K)

R=Nic, **10**

Slika 41. Dve grupe strukturno sličnih jatrofana sa 6(17) *egzo* dvostrukom vezom.

Od ispitivanih jatrofana sa 5 *endo* dvostrukom vezom (**16** – **19**) najefikasniji inhibitor P-glikoproteina je jedinjenje **19** (Slika 42) kod kojeg je za C-9 atom vezana benzoiloksi grupa umesto nikotinoiloksi grupe (**16**).



R=Nic, **16**

R=Bz, **19** (eufodendrofan S)

Ac–acetil; Bz–benzoil; iBu–izobutanoil; Nic–nikotinoil

Slika 42. Strukturno slični jatrofani sa 5 *endo* dvostrukom vezom.

Vrsta supstituenata vezanih za C-8 i C-9 jatrofanskog skeleta pokazala se bitnom i prilikom ispitivanja grupe strukturno sličnih jatrofanskih poliestara izolovanih iz *E. dendroides* sa Sardinije.<sup>54</sup>

Uticaj strukture na aktivnost jedinjenja sa *egzo* jatrofanskim skeletom, izolovanih iz biljnog materijala sa Sardinije, istakao je značaj neesterifikovane (slobodne) hidroksilne grupe vezane za C-3, kao i vrste i tipa supstitucije u položajima C-2 i C-5. Naime, inhibicija dejstva P-glikoproteina znatno se smanjuje acilovanjem hidroksilne grupe vezane za C-3.<sup>53</sup> Isti je slučaj i sa modifikovanim jatrofanima.<sup>111</sup> Vrsta supstituenta vezanog za C-3, tj. propanoiloksi grupa umesto izobutanoiloksi grupe, ne utiče na aktivnost jedinjenja **1** i **2** ili **6** i **9**. Međutim, zamena acetoksi grupe na C-3 propanoiloksi grupom u potpunosti sprečava inhibitorska svojstva jedinjenja **17** u odnosu na jedinjenje **16**.

Slaba aktivnost jedinjenja **15** potvrđuje značaj tipa supstitucije na C-7, C-8 i C-9. Nepostojanje supstituenata u ovim položajima veoma smanjuje MDR modulatornu aktivnost jedinjenja **15** u odnosu na aktivnost ostalih ispitivanih jedinjenja.

Proučavanje uticaja strukture na aktivnost jatrofana **1**, **2**, **6** – **10**, kao i eufodendroidina A – I,<sup>53</sup> koji imaju identične ugljenične skelete dokazalo je da oba prstena (i mali i srednje veličine) učestvuju u vezivanju P-glikoproteina, mada je u slučaju eufodendroidina za vezivanje naročito važan mali prsten.<sup>53</sup>



U ovom radu izolovana su strukturno vrlo slična jedinjenja – sva imaju isti skelet, a glavne razlike potiču od vrste i broja supstituenata vezanih za prsten srednje veličine, i ispitana je njihova biološka aktivnost. Zahvaljujući tome, može se zaključiti da aktivnost eufodendrofana sa *egzo*, odnosno *endo* dvostrukom vezom zavisi od toga da li je za položaj C-8, odnosno C-9 vezana benzoiloksi grupa.

Od svih jedinjenja koja su izolovana iz *E. dendroides* iz Crne Gore najaktivnija su jedinjenja **6** i **9** koja u potpunosti sprečavaju dejstvo P-glikoproteina i aktivnija su od verapamila i tarikvidara. Međutim, ni efekti jedinjenja **8**, **10** i **19** nisu beznačajni, s obzirom da i ona u potpunosti sprečavaju dejstvo P-glikoproteina u MDR ćelijama humanog karcinoma debelog creva, a i aktivnija su od verapamila. Ovih pet jedinjenja moglo bi se dalje koristiti u razvoju lekova i poboljšanju hemoterapije kod MDR karcinoma.

### **3. EKSPERIMENTALNI DEO**

## 3.1. Hemijsko ispitivanje

### 3.1.1. Eksperimentalne tehnike, instrumenti i rastvarači

Za izolovanje i identifikaciju jedinjenja korišćene su sledeće tehnike i instrumenti:

1. „*Dry-column flash*“ hromatografija, DCFC<sup>188</sup> na silika gelu kao stracionarnoj fazi (Silica gel less than 0.08 mm for column chromatography, Merck i ICN Silica 12–26 60 Å), za frakcionisanje liofilizovanog vodeno–etanolnog ekstrakta *E. dendroides*, kao i liofilizata lateksa ove biljne vrste. Frakcionisanje se vrši eluiranjem nanetog uzorka pogodnim rastvaračima ili njihovom smešom čija se polarnost postepeno povećava.
2. *Hromatografija na koloni*, CC na silika gelu kao stacionarnoj fazi (Silica gel 60, particle size 0.200 mm for column chromatography, 70–230 mesh, ASTM Merck), za prečišćavanje frakcija dobijenih „dry-column flash“ hromatografijom. Uzorak se nanosi na vrh kolone u obliku rastvora ili u čvrstom stanju, adsorbovan na silika gel, a eluiranje se vrši pogodnim rastvaračem ili smešom rastvarača čija se polarnost postepeno povećava.
3. *Preparativna tankoslojna hromatografija*, TLC na gotovim aluminijumskim pločama (AL TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> Layer thickness 0.5 mm i 2 mm, dimenzija 20 × 20 cm, Merck), za prečišćavanje frakcija dobijenih „dry-column flash“ hromatografijom.
4. *Analitička tankoslojna hromatografija*, TLC na gotovim aluminijumskim pločama (Al TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> Layer thickness 0.25 mm, Merck), za izbor najpogodnijeg eluenta i praćenje toka „dry-column flash“ hromatografije i hromatografije na koloni. Hromatogrami se posmatraju pod ultraljubičastom svetlošću talasne dužine  $\lambda = 254$  nm, a zatim se izazivaju CAM reagensom (rastvor cerijumamonijum–molibdata u razblaženoj sumpornoj kiselini) i zagrevaju.
5. *Preparativna tečna hromatografija*, LC (Tečni hromatograf Agilent Technologies 1100 Series opremljen autosamplerom, DAD detektorom i Zorbax XDB C18 kolonom (250 × 9,4 mm i. d.; 5  $\mu$ m); LC uslovi: temperatura kolone

- 25 °C, mobilna faza (4,00 mL/min): A (0,2% mravlja kiselina u MilliQ vodi) i B (acetonitril) u gradijentnom modu, 55–90% B (0–25 min), 90% B (25–35 min), 90–55% B (35–36 min), 55% B (36–40 min), talasna dužina  $\lambda = 260$  nm), za detekciju i finalno prečišćavanje komponenti dobijenih preparativnom tankoslojnom hromatografijom i hromatografijom na koloni.
6. *Polarimetrija* (Automatic Polarimeter AUTOPOL<sup>®</sup> IV, Rudolph Research Analytical, opremljen natrijumovom lampom (589 nm) i ćelijom za merenje dužine 10 cm), za određivanje specifične rotacije,  $[\alpha]_D^{20}$ .
  7. *Ultraljubičasta–vidljiva spektroskopija*, UV/Vis (GBC Cintra 40 UV–Visible spektrometar), za određivanje apsorpcionih maksimuma i molarne apsorptivnosti izolovanih jedinjenja.
  8. *Infracrvena spektroskopija*, IR (Infracrveni spektrometar Thermo Scientific Nicolet 6700 FT–IR), za snimanje IR spektara nanošenjem uzoraka u vidu kapilarnog filma na KBr pločicu.
  9. *Nuklearno-magnetna rezonantna spektroskopija*, NMR (NMR spektrometar Bruker 500 Avance III (500 MHz za <sup>1</sup>H i 125 MHz za <sup>13</sup>C)), za snimanje <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C 1D i 2D NMR spektara u deuterisanom hloroformu, CDCl<sub>3</sub>, kao rastvaraču i uz tetrametil-silan (TMS) kao interni standard.
  10. *Tečna hromatografija–masena spektroskopija*, LC/MS (Tečni hromatograf Agilent Technologies 1200 Series opremljen autosamplernom, DAD detektorom i Zorbax Eclipse Plus C18 kolonom (150 × 4,6 mm i. d.; 1,8 μm) povezan sa Agilent Technologies 6210 Time–of–Flight LC/MS sistemom; LC uslovi: temperatura kolone 40 °C, mobilna faza (1,00 mL/min): A (5 mM amonijum–formijat u MilliQ vodi) i B (acetonitril) u gradijentnom modu, 55–90% B (0–25 min), 90–55% B (25–26 min), 55% B (26–30 min), spektralni opseg  $\lambda = 190–450$  nm; MS uslovi: pozitivni mod, napon kapilare 4000 V, temperatura nebulizacionog gasa 350 °C, brzina gasa za sušenje 12 L/min, pritisak nebulajzera 45 psig, napon na fragmentoru 140 V, napon na skimeru 60 V, radiofrekventni napon oktapola 250 V, opseg  $m/z$  100–2000), za snimanje ESI masenih spektara visoke rezolucije.

Za pripremu ekstrakta, prečišćavanje i izolovanje jedinjenja hromatografskim tehnikama korišćeni su rastvarači analitičke čistoće, dodatno prečišćeni destilacijom i pre upotrebe sušeni kalcijum–hloridom ili natrijum–sulfatom. Za HPLC, LC/MS, UV/Vis i polarimetriju korišćeni su rastvarači HPLC čistoće.

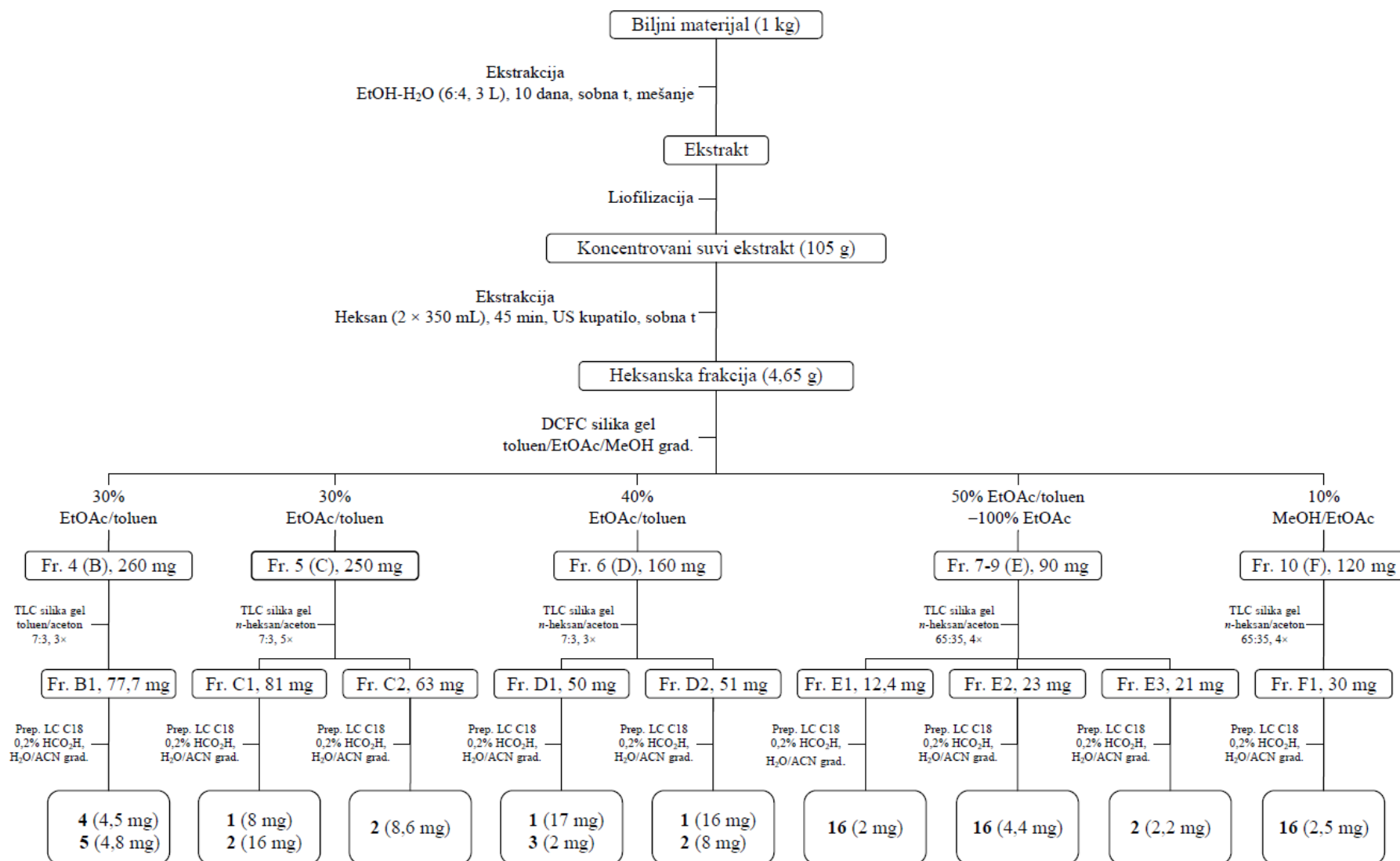
### **3.1.2. Biljni materijal i postupak izolovanja jedinjenja**

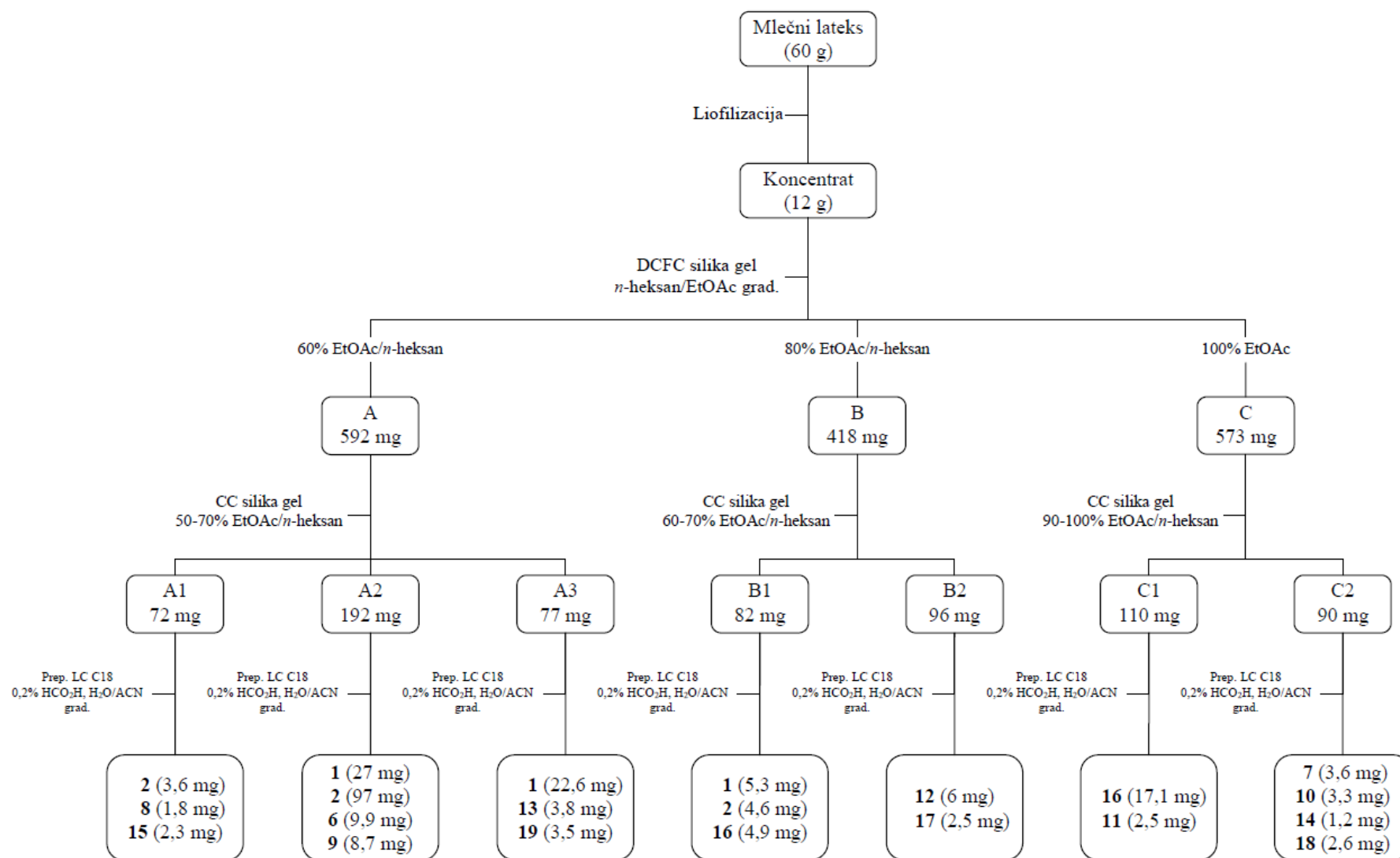
Nadzemni delovi *E. dendroides* sakupljeni su u aprilu 2009. godine u okolini Petrovca, Crna Gora, i osušeni na promajnom mestu bez direktnog izlaganja sunčevoj svetlosti. Vaučer (No. 030409) je deponovan u herbarijumu Botaničke bašte „Jevremovac“ Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Lateks *E. dendroides* sakupljen je u aprilu 2011. godine na istom lokalitetu.

Odvojeno su proučavani nadzemni delovi i lateks.

Postupak izolovanja jedinjenja iz osušenog i samlevenog biljnog materijala (nadzemni delovi), odnosno lateksa predstavljen je šematski na Slici 43, odnosno 44.

Slika 43. Postupak izolovanja jedinjenja iz nadzemnih delova *E. dendroides*.

Slika 44. Postupak izolovanja jedinjenja iz lateksa *E. dendroides*.

### 3.1.3. Spektralni podaci izolovanih jedinjenja

**Eufodendrofan A (5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 1), C<sub>37</sub>H<sub>49</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +31,0$  (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 227 (3,48), 264 (3,28) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  3446, 2926, 1738, 1278, 1240 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 18; HRESIMS *m/z* 700,3335 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>37</sub>H<sub>50</sub>O<sub>12</sub>N 700,3328).

**Eufodendrofan B (5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -diacetoksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 2), C<sub>38</sub>H<sub>51</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +41,6$  (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 217 (3,80), 264 (3,17) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  3446, 2972, 1737, 1278, 1240 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 18; HRESIMS *m/z* 714,3489 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>O<sub>12</sub>N 714,3484).

**Eufodendrofan C (5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ -triacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 3), C<sub>39</sub>H<sub>51</sub>O<sub>13</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +10,1$  (*c* 0,06, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 213 (4,13), 264 (3,60) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2975, 1736, 1373, 1253, 1190 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 18; HRESIMS *m/z* 742,3438 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>39</sub>H<sub>52</sub>O<sub>13</sub>N 742,3433).

**Eufodendrofan D (5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -triacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksijatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 4), C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>O<sub>12</sub>:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +26,0$  (*c* 0,08, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 228 (3,98), 273 (2,97) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  3478, 2929, 1740, 1273, 1235 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 19; HRESIMS *m/z* 702,3483 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>O<sub>12</sub>N 702,3484).



**Eufodendrofan E (5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -diacetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksi-jatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 5), C<sub>38</sub>H<sub>50</sub>O<sub>12</sub>:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  +28,0 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 229 (4,03), 273 (3,00) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  3446, 2924, 1738, 1271, 1234 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 19; HRESIMS  $m/z$  716,3652 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>38</sub>H<sub>54</sub>O<sub>12</sub>N 716,3640).

**Eufodendrofan F (2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,17-pentaacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-jatrofa-5*E*,11*E*-dien-14-on, 16), C<sub>40</sub>H<sub>51</sub>O<sub>15</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -8,0 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 217 (4,00), 264 (3,41) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  3447, 2931, 1737, 1231 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 24; HRESIMS  $m/z$  786,3346 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub>N 786,3332).

**Eufodendrofan G (5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izovaleriloksi-2 $\alpha$ -nikotinoiloksi-jatrofa-6(17),11*E*-dien-9,14-dion, 15), C<sub>33</sub>H<sub>43</sub>O<sub>9</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -21 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 217 (3,96), 262 (3,36) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2928, 1735, 1719, 1370, 1235 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 23; HRESIMS  $m/z$  598,3024 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>33</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub>N 598,3011).

**Eufodendrofan H (5 $\alpha$ -acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksi-jatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 6), C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  +77 (*c* 0,2, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 224 (4,22), 264 (3,46) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2972, 1736, 1262, 1111, 1028 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 19; HRESIMS  $m/z$  762,3487 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>42</sub>H<sub>52</sub>O<sub>12</sub>N 762,3484).

**Eufodendrofan I (5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dini-  
kotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksjatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 7), C<sub>41</sub>H<sub>50</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +55$  (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 220 (4,29), 263 (3,77) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2928, 1736, 1285, 1113, 1025 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 20; HRESIMS *m/z* 763,3449 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>41</sub>H<sub>51</sub>O<sub>12</sub>N<sub>2</sub> 763,3436).

**Eufodendrofan J (5 $\alpha$ -acetoksi-7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -diizobutanoiloksi-15 $\beta$ -hidroksi-9 $\alpha$ -ni-  
kotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksjatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 8), C<sub>39</sub>H<sub>53</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +51$  (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 218 (4,10), 263 (3,49) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2930, 1738, 1277, 1238, 1154, cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 20; HRESIMS *m/z* 728,3651 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>39</sub>H<sub>54</sub>O<sub>12</sub>N 728,3640).

**Eufodendrofan K (5 $\alpha$ -acetoksi-8 $\alpha$ -benzoiloksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-15 $\beta$ -  
hidroksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksjatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 9), C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +61$  (*c* 0,2, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 224 (4,15), 264 (3,39) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2970, 1734, 1263, 1113 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 20; HRESIMS *m/z* 798,3457 [M+Na]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>O<sub>12</sub>NNa 798,3460).

**Eufodendrofan L (5 $\alpha$ -acetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -  
dinikotinoiloksjatrofa-6(17),11*E*-dien-14-on, 10), C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>O<sub>12</sub>N<sub>2</sub>:**

Bezbojna amorfna čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20} +54$  (*c* 0,2, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 220 (4,22), 263 (3,64) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2973, 1736, 1283, 1266, 1112 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 21; HRESIMS *m/z* 777,3607 [M]<sup>+</sup>, (izračunato za C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>O<sub>12</sub>N<sub>2</sub> 777,3593).

**Eufodendrofan M (5 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,9 $\alpha$ -triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ -nikotinoiloksijatropa-6(17),11E-dien-14-on, 11), C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -9 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 217 (4,04), 263 (3,43) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2973, 1737, 1373, 1279, 1234 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 21; HRESIMS *m/z* 686,3186 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>O<sub>12</sub>N 686,3171).

**Eufodendrofan N (3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatropa-6(17),11E-dien-14-on, 12), C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>O<sub>12</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  +41 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 217 (4,02), 263 (3,43) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2929, 1738, 1374, 1239, 1156 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 21; HRESIMS *m/z* 686,3184 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>36</sub>H<sub>48</sub>O<sub>12</sub>N 686,3171).

**Eufodendrofan O (2 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -triacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksijatropa-6(17),11E-dien-14-on, 13), C<sub>40</sub>H<sub>53</sub>O<sub>14</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  +22 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 216 (4,06), 263 (3,46) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2930, 1737, 1371, 1239, 1152 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 22; HRESIMS *m/z* 772,3557 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>O<sub>14</sub>N 772,3539).

**Eufodendrofan P (2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -diacetoksi-15 $\beta$ -hidroksi-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -diizobutanoiloksi-5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinikotinoiloksijatropa-6(17),11E-dien-14-on, 14), C<sub>44</sub>H<sub>54</sub>O<sub>14</sub>N<sub>2</sub>:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -15 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 218 (4,26), 263 (3,70) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2927, 1738, 1286, 1240, 1113 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 22; HRESIMS *m/z* 835,3659 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>44</sub>H<sub>55</sub>O<sub>14</sub>N<sub>2</sub> 835,3648).

**Eufodendrofan Q (2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,17-tetraacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-9 $\alpha$ -nikotinoiloksi-3 $\beta$ -propanoiloksi-jatrofa-5*E*,11*E*-dien-14-on, 17), C<sub>41</sub>H<sub>53</sub>O<sub>15</sub>N:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -17 (*c* 0,2, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 219 (3,99), 263 (3,40) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2976, 1737, 1371, 1240, 1102 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 24; HRESIMS *m/z* 822,3316 [M+Na]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>41</sub>H<sub>53</sub>O<sub>15</sub>NNa 822,3307).

**Eufodendrofan R (2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-tetraacetoksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -dinitotinoiloksi-jatrofa-5*E*,11*E*-dien-14-on, 18), C<sub>44</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub>N<sub>2</sub>:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -2 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 219 (4,20), 263 (3,66) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2934, 1737, 1373, 1246, 1107 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 24; HRESIMS *m/z* 849,3463 [M+H]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>44</sub>H<sub>53</sub>O<sub>15</sub>N<sub>2</sub> 849,3440).

**Eufodendrofan S (2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,8 $\beta$ ,15 $\beta$ ,17-pentaacetoksi-9 $\alpha$ -benzoiloksi-7 $\beta$ -izobutanoiloksi-jatrofa-5*E*,11*E*-dien-14-on, 19), C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub>:**

Bezbojna amorfná čvrsta supstanca;  $[\alpha]_D^{20}$  -14 (*c* 0,1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 230 (4,01), 268 (3,00) nm; IR (film)  $\nu_{\max}$  2926, 1738, 1373, 1248, 1104 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR podaci, Tabela 24; HRESIMS *m/z* 807,3196 [M+Na]<sup>+</sup> (izračunato za C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub>Na 807,3198).

## 3.2. Ispitivanje biološke aktivnosti

### 3.2.1. Lekovi

R(+)-Verapamil (Dex-Ver) je komercijalni proizvod (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). Čuvan je kao 1 mM rastvor na sobnoj temperaturi.

Tarikvidar (Tariquidar, TQ) je poklon dr Svena Rotenberga iz Holandskog instituta za kancer u Amsterdamu (Dr. Sven Rottenberg, The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam). Rastvoren je u dimetil-sulfoksidu i čuvan u obliku 10 mM alikvota na -20 °C.

Paklitaksel (PTX) je komercijalni proizvod (Sigma–Aldrich Chemie GmbH, Germany). Rastvoren je u apsolutnom etanolu i 1 mM alikvoti su čuvani na -20 °C.

Doksorubicin (DOX) je komercijalni proizvod (EBEWE Arzneimittel GmbH, Vienna, Austria). Rastvoren je u dejonizovanoj vodi i 1 mM rastvor je čuvan na -20 °C.

Cisplatin (CPT) je komercijalni proizvod (Pfizer (Perth) Pty. Ltd., Bentley, Australia). Čuvan je na sobnoj temperaturi kao 1 mM rastvor.

Pre tretmana svi lekovi su razblaživani sterilnom vodom do postizanja željene koncentracije.

### **3.2.2. Hemikalije**

RPMI 1640 medijum, MEM (minimalni esencijalni medijum, engl. Minimum Essential Medium), rastvor penicilin–streptomycin, rastvor smeše antibiotik–antimikotik, L-glutamin i tripsin/EDTA su komercijalno dostupni proizvodi (PAA, Vienna, Austria). Fetalni goveđi serum (FBS), sulforodamin B (SRB), rodamin 123 (Rho 123) i dimetil–sulfoksid (DMSO) su proizvodi Sigma–Aldrich Chemie GmbH, Germany. Medijum za odvajanje limfocita (Lymphocyte separation medium) proizvodi ICN Biomedicals, Costa Mesa, California, USA. 3-(4,5-Dimetil-2-tizolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolijum bromid (MTT sredstvo) je proizvod Sigma, St. Louis, Missouri, USA.

### **3.2.3. Ispitivana jedinjenja**

Jatrofanski diterpeni (**1**, **2**, **6-10** i **15-19**) su čuvani na -20 °C u obliku 20 mM rastvora u apsolutnom etanolu. Radni rastvori (1 mM) pripremani su u 25% etanolu.

### **3.2.4. Čelije i ćelijske kulture**

Ćelijske linije humanog nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460), karcinoma debelog creva (DLD1) i glioblastoma (U87) su komercijalni proizvodi (American Type Culture Collection, Rockville, MD). Ove parentalne ćelijske linije se smatraju senzitivnim s obzirom na to što su dobijene od pacijenata koji nisu podvrgnuti lečenju, a kod kojih je dijagnostikovao primarni tumor. Odgovarajuće rezistentne

ćelijske linije dobijene su selekcijom iz parentalnih ćelijskih linija koje su izlagane lekovima: ćelije NCI-H460/R potiču od NCI-H460 ćelija gajenih u medijumu sa 100 nM doksorubicina;<sup>187</sup> DLD1-TxR i U87-TxR ćelije su dobijene stalnim izlaganjem DLD1, odnosno U87 ćelija sve višim i višim koncentracijama paklitaksela.<sup>189</sup> MDR ćelijske linije (NCI-H460/R i DLD1-TxR) i odgovarajući senzitivni parovi kultivisani su u RPMI 1640 medijumu koji je obogaćen dodavanjem 10% rastvora toplotno inaktiviranog fetalnog goveđeg seruma, 2 mM rastvora L–glutamina, 4,4 g/L glukoze i smeše antibiotika i antimikotika (rastvor koji sadrži 10.000 U/mL penicilina, 10 mg/mL streptomocina i 25 µg/mL amfotericina B) u inkubatoru (Sanyo Instruments, Japan) na temperaturi 37 °C u vlažnoj atmosferi sa 5% ugljen–dioksida. Ćelije U87 i U87-TxR su kultivisane u MEM medijumu uz dodatak 10% rastvora toplotno inaktiviranog fetalnog goveđeg seruma, L–glutamina i smeše antibiotika (5.000 U/mL penicilina i 5 mg/mL streptomocina). Ćelije su presejavane pomoću 0,25% rastvora tripsin/EDTA na svakih 72 sata i gajene u svežem medijumu tako da je njihova gustina bila 8.000 ćelija/cm<sup>2</sup> za NCI-H460, DLD1 i DLD1-TxR, 16.000 ćelija/cm<sup>2</sup> za U87 i NCI-H460/R i 32.000 ćelija/cm<sup>2</sup> za U87-TxR.

### 3.2.5. Određivanje hemosenzitivnosti pomoću sulforodamina B (SRB)

Ćelije gajene u flaskovima površine 25 cm<sup>2</sup> tretirane su tripsinom i zasejavane u mikrotitar pločama sa 96 bunarića (za NCI-H460 i DLD1 po 2.000 ćelija/bunariću, a za U87 i NCI-H460/R po 4.000 ćelija/bunariću), gde su ostavljane preko noći. Tretman jatrofanimi **1** i **2** (1 – 50 µM), kao i cisplatinom (2,5 – 10 µM) trajao je 72 sata. Efekti jedinjenja **1**, **2**, **6**, **8**, **18** i **19** uz istovremeni tretman klasičnim hemioterapeuticima (paklitaksel i doksorubicin) proučavani su na MDR ćelijskoj liniji – NCI-H460/R. Jedinjenja **1** i **2** i verapamil koncentracije 1, 2,5 i 5 µM, kao i jedinjenja **6**, **8**, **18** i **19** koncentracije 5 µM i tarikvidar koncentracije 50 nM kombinovana su sa paklitakselom (0,005 – 5 µM), a jedinjenja **1** i **2** i verapamil koncentracije 5 µM kombinovana su sa doksorubicinom (0,05 – 5 µM). Test hemosenzitivnosti urađen je posle 72 sata. Ćelijski proteini su bojani sulforodaminom B (SRB) po delimično izmenjenoj proceduri koju je razvio Skehan sa saradnicima.<sup>190</sup> SRB je negativno naelektrisana supstanca koja sadrži dve sulfonske grupe kojima se elektrostatički vezuje za bazne ostatke aminokiseline

bojeći ukupne proteine ćelija ružičasto. Ukratko, na kraju perioda predviđenog za tretman ćelija, u mikrotitar pločama sa 96 bunarića ćelije su fiksirane dejstvom 50% trihlorsirćetne kiseline (50  $\mu\text{L}$ /bunariću) 60 minuta na 4  $^{\circ}\text{C}$ , a zatim su četiri puta ispirane česmenskom vodom i bojene 0,4% (w/v) rastvorom SRB u 1% sirćetnoj kiselinu (50  $\mu\text{L}$ /bunariću) 30 minuta na sobnoj temperaturi. Posle toga, kako bi se uklonio višak boje, ćelije su tri puta ispirane sa po 250  $\mu\text{L}$  1% sirćetne kiseline i osušene na 45  $^{\circ}\text{C}$  u termostatu. Kompleks proteina vezanog za boju ekstrahovan je sa po 200  $\mu\text{L}$  10 mM Tris baze (pH 10,5) po bunariću, a njegova optička gustina je merena na  $\lambda = 540 \text{ nm}$  i korigovana za vrednost optičke gustine SRB boje rastvorene u puferisanoj 10 mM Tris bazi (pH 10,5) očitano na  $\lambda = 670 \text{ nm}$  (LKB 5060–006 Micro Plate Reader, Vienna, Austria). Inhibicija rasta ćelija (I) određena je primenom sledeće jednačine:

$$I (\%) = 1 - \frac{A_{\text{testiranih uzoraka}}}{A_{\text{nestiranih kontrola}}} \times 100$$

gde je A – apsorbancija.

Koncentracija testirane supstance koja smanjuje ćelijski rast za 50% u odnosu na ćelijski rast u kontroli,  $\text{IC}_{50}$  izračunata je metodom linearne regresije pomoću Excel softvera.

### 3.2.6. Određivanje inhibicije aktivnosti P-gp-a testom akumulacije rodamina 123

Uticaj jatrofana **1**, **2**, **6 – 10** i **15 – 19** na funkciju P-gp-a analiziran je metodom protočne citometrije zahvaljujući sposobnosti njegovog supstrata Rho 123 da fluorescira, pri čemu je intenzitet fluorescencije srazmeran akumulaciji Rho 123. Verapamil (kompetitivni P-gp inhibitor) i tarikvidar (nekompetitivni P-gp inhibitor) su poslužili kao pozitivne kontrolne supstance. Ćelije NCI-H460 i NCI-H460/R su kultivisane u flaskovima površine 75  $\text{cm}^2$  do postizanja 80% konfluentnosti, kada su tretirane tripsinom i prebacivane u kivete za centrifugiranje zapremine 10 mL rastvaranjem u medijumu koji je sadržavao 5  $\mu\text{M}$  Rho 123. Tada im je dodavan verapamil (5 i 20  $\mu\text{M}$ ), tarikvidar (50 nM), odnosno jatrofani **1**, **2**, **6 – 10** i **15 – 19** (10  $\mu\text{M}$ ), pa su ostavljane da stoje 30 minuta na 37  $^{\circ}\text{C}$  u vlažnoj atmosferi sa 5% ugljen-dioksida. Na kraju perioda predviđenog za akumulaciju, ćelije su odvajane centrifugiranjem, dva puta ispirane fosfatnim puferom i ostavljene da stoje u 0,5 mL hladnog rastvora fosfatnog pufera na ledu na tamnom mestu do analize pomoću

FACScalibur protočnog citometra (Becton Dickinson, Oxford, U.K.). Fluorescencija Rho 123 merena je na kanalu 2 (FL2-H) na talasnoj dužini  $\lambda = 530$  nm. Za svaki uzorak prikupljeno je bar 10.000 pojedinačnih događaja. Razlike u obliku krive su kvantifikovane primenom Komogorov–Smirnov neparametarske statistike. CellQuest Pro na Macintosh računaru je upotrebljen za izračunavanje  $P$  vrednosti.

### 3.2.7. Izolovanje mononuklearnih ćelija periferne krvi (PBMC)

Heparinom tretirana krv zdravih dobrovoljnih davalaca krvi centrifugirana je 10 minuta brzinom 115 G. Na taj način su razdvojena dva sloja: gornji žućkasti sloj (plazma) i donji crveni sloj. Plazma i 1 mL najgornjeg dela donjeg sloja su odvojeni, promešani i naneti na 4 mL medijuma za odvajanje limfocita. Kivete ispunjene medijumom za odvajanje i uzorcima centrifugirane su 20 minuta brzinom 800 G. Tada su se jasno razlikovala dva sloja: gornji žućkasti sloj koji je sadržavao pločice i donji bezbojni sloj medijuma za razdvajanje. Ova dva sloja razdvajao je sloj u kome su se nalazile mononuklearne ćelije periferne krvi. Te ćelije su pažljivo odvojene da bi se izbeglo mešanje sa krvnim pločicama i dva puta isprane rastvorom fosfatnog pufera centrifugiranjem 10 minuta brzinom 700 G. Na kraju su PBMC ćelije sastvorene u RPMI 1640 medijumu koji je sadržavao 5% fetalnog govedeg seruma i antibiotike. Ćelije su obojene tripan plavom bojom (engl. trypan blue) kako bi se razlikovale mrtve od živih ćelija, i izbrojane pomoću hemocitometra. Bojenjem ćelija tripan plavom bojom stiće se uvid u njihovu brojnost i kvalitet. Naime, boja ne prodire u unutrašnjost živih ćelija koje imaju intaktnu ćelijsku membranu, te one ostaju nebojene (pod mikroskopom se vide kao svetle beličaste ćelije). S druge strane, mrtve ćelije vezuju boju. Na taj način žive (vijabilne) ćelije se razlikuju od mrtvih. Ćelije su brojane mikroskopski na hemocitometru.

### 3.2.8. Merenje citotoksičnosti kolorimetrijskim MTT testom

Stepen preživljavanja ćelija određena je kolorimetrijski, MTT testom koji se zasniva na redukciji 3-(4,5-dimetil-2-tizolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolijum bromida u formazan boju dejstvom aktivnih mitohondrija živih ćelija. Ukratko, ćelije su nanete u bunariće mikrotitar ploče sa 96 bunarića tako da je njihova gustina bila 500.000 ćelija/bunariću u 100  $\mu$ L RPMI 1640 medijuma koji je sadržavao 5% fetalnog govedeg seruma i antibiotike. Posle 24 sata ćelije su tretirane različitim koncentracijama



jedinjenja **1**, **2** i cisplatina i ostavljene da tako stoje narednih 72 sata. Tada je u svaki bunarić dodato po 50  $\mu\text{L}$  rastvora MTT sredstva (2,5 mg MTT/mL medijuma za gajenje kultura) i ploča je ostavljena 60 minuta na 37 °C. Da bi se rastvorila formazan boja, čija je količina proporcionalna broju živih ćelija, dodat je DMSO. Apsorbancija rastvorene boje merena je na 540 nm pomoću automatskog čitača (LKB 5060-006 Micro Plate Reader, Vienna, Austria).

### 3.2.9. Određivanje antimitotske aktivnosti

Uticaj jedinjenja **1** na polimerizaciju tubulina praćen je turbidimetrijski po delimično izmenjenom standardnom postupku.<sup>185</sup> Paklitaksel je korišćen kao pozitivna kontrolna supstanca. Mikrotubularni protein goveđeg mozga (tubulin) izolovan je po proceduri koju su opisali Shelanski i saradnici.<sup>191</sup> Svež rastvor tubulina koncentracije 2,2 mg/mL i MES (2-(*N*-morfolino)etansulfonska kiselina) pufer koji je sadržavao GTP čuvani su na ledu pre početka ogleada. Osnovni rastvori paklitaksela i jedinjenja **1** (10 mM) pripremljeni su u dimetil-sulfoksidu, a zatim su razblaženi rastvorom dimetil-sulfoksida u vodi (1:1, v/v) do koncentracije 1 mM. Od ovih rastvora, razblaživanjem vodom, pripremani su radni rastvori željenih koncentracija (1 – 1000  $\mu\text{M}$ ). Po 40  $\mu\text{L}$  rastvora jedinjenja **1**, odnosno paklitaksela (pozitivna kontrola) različitih koncentracija dodavano je rastvoru tubulina (460  $\mu\text{L}$ ) i ostavljano da stoji 45 minuta na 37 °C. Slepa proba je napravljena mešanjem MES pufera (40  $\mu\text{L}$ ) i rastvora tubulina (460  $\mu\text{L}$ ). Po isteku 45 minuta, rastvori su prebacivani u UV kivete, pa je 15 minuta neprekidno merena njihova apsorbancija na GBC Cintra 40 UV-Visible spektrometru povezanom sa termostatičkim cirkulatorom Petrotest 25-0359 ohlađenim na 4 °C. (Tubulin na 37 °C gradi mikrotubule i ima maksimum apsorpcije na 350 nm. Hlađenjem do 4 °C dolazi do depolimerizacije i apsorpcija opada. Inkubiranjem tubulina sa različitim koncentracijama ispitivanih jedinjenja dolazi do različitog stepena polimerizacije što se ogleda u smanjenoj promeni apsorbcije na 350 nm.) Stepem polimerizacije tubulina određen je iz razlike vrednosti apsorbcije na početku ogleada ( $t = 0$  min, 37 °C) i posle 15 minuta ( $t = 15$  min, 4 °C) u odnosu na odgovarajuću razliku slepe probe. Iz grafika zavisnosti stepena polimerizacije tubulina od koncentracije ispitivanog jedinjenja određena je  $\text{IC}_{50}$  vrednost, tj. koncentracija pri kojoj je 50% tubulina polimerizovano. Uticaj paklitaksela i jedinjenja **1** na polimerizaciju tubulina izražen je njihovom koncentracijom koja dovodi do 50% polimerizacije tubulina ( $\text{IC}_{50}$ ).

# LITERATURA

---

1. Webster G.L., **1994**. *Ann. Mo. Bot. Gard.* *81*, 3.
2. Janković M.M. i Nikolić V., **1972**. U: Josifović M. (urednik), *Flora SR Srbije*, III tom, SANU, Beograd, str. 537.
3. Kojić M., 1991. *Botanika*, V izdanje, IP „Nauka“ Beograd, str. 322.
4. Sanchez T., Salcedo E., Ceballos H., Dufou, D., Mafla G., Morante N., Calle F., Perez J.C., Debouck D., Jaramillo G., Moreno I.X., **2009**. *Starch-Starke* *61*, 12.
5. Srinivas T. **2007**. *Starch-Starke* *59*, 477.
6. Aloys N., Ming Z.H., **2006**. *Food Rev. Int.* *22*, 1.
7. Duke J.A., **1983**. *Handbook of Energy Crops*. Purdue University centre for new crops and plant products. [www.hort.purdue.edu](http://www.hort.purdue.edu). Accessed on 1 March 2013.
8. Van Damme P.L.J., **2001**. In: Schlissel A. and Pasternak D. (Eds.) *Combating desertification with plants*. Kluwer Academic Pub. p. 169.
9. Achten W.M.J., Verchot L., Franken Y.J., Mathijs E., Singh V.P., Aerts R., Muys B., **2008**. *Biomass Bioenerg.* *32*, 1063.
10. de Oliveira J.S., Leite P.M., de Souza L.B., Mello V.M., Silva E.C., Rubim J.C., Meneghetti S.M.P., Suarez P.A.Z., **2009**. *Biomass Bioenerg.* *33*, 449.
11. Kaushik N., Kumar K., Kumar S., **2007**. *J. Biobased Mater. Biol.* *1*, 301.
12. Kumar N., Sharma P.B., **2005**. *J. Sci. Ind. Res. India* *64*, 883.
13. Adeniyi O.D., Kovo A.S., Abdulkareem A.S., Chukwudozie C., **2007**. *J. Disper. Sci. Technol.* *28*, 501.
14. Benavides A., Benjumea P., Pashova V., **2007**. *Dyna-Colombia* *74*, 141.
15. Meneghetti S.A.P., Meneghetti M.R., Serra T.A., Barbosa D.C., Wolf C.R., **2007**. *Energ. Fuel* *21*, 3746.
16. Mwine J.T., Van Damme P., **2011**. *J. Med. Plants Res.* *5*, 652.

- 
17. [http://rainyside.com/images/annuals/Ricinus\\_communisGibsonii092604.jpg](http://rainyside.com/images/annuals/Ricinus_communisGibsonii092604.jpg)
  18. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/07/Vernicia\\_fordii4.jpg/220px-Vernicia\\_fordii4.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/07/Vernicia_fordii4.jpg/220px-Vernicia_fordii4.jpg)
  19. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2c/Rubber\\_tree\\_plantation.JPG/360px-Rubber\\_tree\\_plantation.JPG](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2c/Rubber_tree_plantation.JPG/360px-Rubber_tree_plantation.JPG)
  20. [https://fbcdn-sphotos-e-a.akamaihd.net/hphotos-ak-ash4/p480x480/398607\\_216455131811500\\_1148798776\\_n.jpg](https://fbcdn-sphotos-e-a.akamaihd.net/hphotos-ak-ash4/p480x480/398607_216455131811500_1148798776_n.jpg)
  21. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/67/Euphorbia\\_obesa\\_2.jpg/467px-Euphorbia\\_obesa\\_2.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/67/Euphorbia_obesa_2.jpg/467px-Euphorbia_obesa_2.jpg)
  22. [http://aminus3.s3.amazonaws.com/image/g0010/u00009738/i00447129/a6036a5bffe728af765aa9a4a96d21ee\\_large.jpg](http://aminus3.s3.amazonaws.com/image/g0010/u00009738/i00447129/a6036a5bffe728af765aa9a4a96d21ee_large.jpg)
  23. [http://s3.amazonaws.com/sagebudphotos/EUMI9/Euphorbia\\_milii\\_Red\\_Plant\\_TorreLaMata\\_600.jpg](http://s3.amazonaws.com/sagebudphotos/EUMI9/Euphorbia_milii_Red_Plant_TorreLaMata_600.jpg)
  24. [http://www.floracyberia.net/spermatophyta/angiospermae/dicotyledoneae/euphorbiaceae/euphorbia\\_esula\\_tommasiniana.jpg](http://www.floracyberia.net/spermatophyta/angiospermae/dicotyledoneae/euphorbiaceae/euphorbia_esula_tommasiniana.jpg)
  25. <http://luirig.altervista.org/cpm/albums/15d/010165-euphorbia-maculata.jpg>
  26. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8a/Tallow2232.JPG>
  27. WCSP (World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 2013-05-26)
  28. Shi Q.-W., Su X.-H, Kiyota H., **2008**. *Chem. Rev.* *108*, 4295.
  29. Vasas A., Rédei D., Csupor D., Molnár J., Hohmann J., **2012**. *Eur. J. Org. Chem.* *2012*(27), 5115.
  30. Ponsinet G., Ourisson G., **1968**. *Phytochemistry* *7*, 89.
  31. Nielsen P.E., Nishimura H., Liang Y., Calvin M., **1979**. *Phytochemistry* *18*, 103.
  32. Dublyanskaya N.F., **1937**. *Pharmazie Pharmakol.* *11-12*, 50.
  33. Adolf W., Hecker E., **1970**. *Tetrahedron Lett.* *11*, 2241.
  34. Hecker E., Adolf W., Kubinyi H., **1970**. *Tetrahedron Lett.* *11*,3071.

- 
35. Lentsch C., Rinner U., **2009**. *Organic Letters* *11*, 5326.
36. Marco A., Sanz-Cervera F.J., Yuste A., Jakupovic J., Jeske F., **1998**. *Phytochemistry* *47*, 1621.
37. Jakupovic J., Jeske F., Morgenstern T., Tschritzis F., Marco J.A., Berendsohn W., **1998**. *Phytochemistry* *47*, 1583.
38. Jakupovic J., Morgenstern T., Bittner M., Silva M., **1998**. *Phytochemistry* *47*, 1601.
39. Hecker E., **1971**. In: Wagner H., Horhammer L. (Eds). *Pharmacognosy and Phytochemistry*. Springer, Berlin, p 147.
40. Corea G., Fattorusso E., Lanzotti V., Motti R., Simon P., Dumontet C., Di Pietro A., **2004**. *J. Med. Chem.* *47*, 988.
41. Song Z.-Q., Mu S.-Z., Di Y.-T., Hao X.-J., **2010**. *Zhongguo Tianran Yaowu* *8*, 81.
42. Huang Y., Aisa H.A., **2010**. *Phytochem. Lett.* *3*, 176.
43. Aisa A., Lu D., **2013**. *Faming Zhuanli Shenqing* CN 103086882 A 20130508
44. Appendino G., Jakupovic S., Tron G.C., Jakupovic J., Milon V., Ballero M., **1998**. *J. Nat. Prod.* *61*, 749.
45. Hegazy M.-E.F., Mohamed A.E.-H.H., Aoki N., Ikeuchi T., Ohta E., Ohta S., **2010**. *Phytochemistry* *71*, 249.
46. Appendino G., Spagliardi P., Ballero M., Seu G., **2002**. *Fitoterapia* *73*, 576.
47. Miglietta A., Gabriel L., Appendino G., Bocca C., **2003**. *Cancer Chemother. Pharmacol.* *51*, 67.
48. Duarte N., Lage H., Ferreira M.-J.U., **2008**. *Planta Med.* *74*,61.
49. Liu L.G., Tan R.X., **2001**. *J. Nat. Prod.* *64*, 1064.
50. Hohmann J., Rédei D., Forgo P., Molnár J., Dombi G., Zorig T., **2003**. *J. Nat. Prod.* *66*, 976.
51. Shokoohinia Y., Chianese G., Zolfaghari B., Sajjadi S.-E., Appendino G., Taglialatela-Scafati O., **2011**. *Fitoterapia* *82*, 317.
52. Marco J.A., Sanz-Cervera F.J., Checa J., Palomares B.E., Fraga M., **1999**. *Phytochemistry* *52*, 479.

- 
53. Corea G., Fattorusso E., Lanzotti V., Taglialatela-Scafati O., Appendino G., Ballero M., Simon P.-N., Dumontet C., Di Pietro A., **2003**. *J. Med. Chem.* *46*, 3395.
54. Corea G., Di Pietro A., Dumontet C., Fattorusso E., Lanzotti V., **2009**. *Phytochem. Rev.* *8*, 431.
55. Pan L., Zhang X.F., Deng Y., Wang H., Wu D.G., Luo X.D., **2003**. *Helv. Chim. Acta* *86*, 2525.
56. Corea G., Fattorusso E., Lanzotti V., Motti R., Simon P.-N., Dumontet C., Di Pietro A., **2004**. *Planta Med.* *70*, 657.
57. Vasas A., Sulyok E., Rédei D., Forgo P., Szabó P., Zupkó I., Berényi Á., Molnár J., Hohmann J., **2011**. *J. Nat. Prod.*, *74*, 1453.
58. Günther G., Hohmann J., Vasas A., Máthé I., Dombi G., Jerkovich G., **1998**. *Phytochemistry* *47*, 1309.
59. Günther G., Martinek T., Dombi G., Hohmann J., Vasas A., **1999**. *Magn. Reson. Chem.* *37*, 365.
60. Hohmann J., Vasas A., Günther G., Dombi G., Blazsó G., Falkay G., Máthé I., Jerkovich G., **1999**. *Phytochemistry* *51*, 673.
61. Hohmann J., Evanics F., Berta L., Bartók T., **2000**. *Planta Med.* *66*, 291.
62. El-Bassuony A.A., **2007**. *Asian J. Chem.* *19*, 4553.
63. Ahmed A.A., Gheraf N., El-Bassuony A.A., Rhouati S., Gad M.H., Ohta S., Hirata T., **2006**. *Nat. Prod. Commun.* *1*, 273.
64. Betancur-Galvis L., Checa J., Marco J.A., Estornel E., **2003**. *Planta Med.* *69*, 177.
65. Kamano Y., Kuroda N., Kizu H., Komiyama K., **1997**. *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu* *39*, 505.
66. Corea G., Fattorusso C., Fattorusso E., Lanzotti V., **2005**. *Tetrahedron* *61*, 4485.
67. Abdelgaleil S.A.M., Kassem S.M.I., Doe M., Baba M., Nakatani M., **2001**. *Phytochemistry* *58*, 1135.
68. Hohmann J., Vasas A., Günther G., Máthé I., Evanics F., Dombi G., Jerkovich G., **1997**. *J. Nat. Prod.* *60*, 331.

- 
69. Jakupovic J., Morgenstern T., Marco J.A., Berendsohn W., **1998**. *Phytochemistry* *47*, 1611.
70. Ferreira A.M.V.D., Carvalho L.H.M., Carvalho M.J.M., Sequeira M.M., Silva A.M.S., **2002**. *Phytochemistry* *61*, 373.
71. Valente C., Pedro M., Ascenso J.R., Abreu P.M., Nascimento M.S.J., Ferreira M.J.U., **2004**. *Planta Med.* *70*, 244.
72. Valente C., Pedro M., Duarte A., Nascimento M.S.J., Abreu P.M., Ferreira M.J.U., **2004a**. *J. Nat. Prod.* *67*, 902.
73. Rédei D., Forgo P., Molnár J., Szabó P., Zorig T., Hohmann J., **2012**. *Tetrahedron* *68*, 8403.
74. Fakunle C.O., Connolly J.D., Rycroft D.S., **1989**. *J. Nat. Prod.* *52*, 279.
75. Fakunle C.O., Connolly J.D., Rycroft D.S., **1992**. *Fitoterapia* *63*, 329.
76. Manners G. D., Wong R. Y., **1985**. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* *10*, 2075.
77. Liu L.G., Tan R.X., Gong Y.M., **2006**. *Chinese Chem. Lett.* *17*, 201.
78. Seip E.H., Hecker E., **1984**. *Phytochemistry* *23*, 1689.
79. Wang L.Y., Wang L.N., Yao X.S., Miyata S., Kitanaka S., **2003**. *Chem. Pharm. Bull.* *51*, 935.
80. Hohmann J., Evanics F., Dombi G., Molnár J., Szabó P., **2001**. *Tetrahedron* *57*, 211.
81. Pan Q., Ip F.C. F., Ip N.Y., Zhu H.X., Min Z.D., **2004**. *J. Nat. Prod.* *67*, 1548.
82. Wang L.Y., Wang N.L., Yao X.S., Miyata S., Kitanaka S., **2002**. *J. Nat. Prod.* *65*, 1246.
83. Uemura D., Katayama C., Uno E., Sasaki K., Hirate Y., **1975**. *Tetrahedron Lett.* *21*, 1703.
84. Hohmann J., Molnár J., Rédei D., Evanics F., Forgo P., Kálmán A., Argay G., Szabó P., **2002**. *J. Med. Chem.* *45*, 2425.
85. Hohmann J., Forgo P., Csupor D., Schlosser G., **2003**. *Helv. Chim. Acta* *86*, 3386.

- 
86. Lu Z.-Q., Guan S.-H., Li X.-N., Chen G.-T., Zhang J.-Q., Huang H.-L., Liu X., Guo D.-A., **2008**. *J. Nat. Prod.* *71*, 873.
87. Valente I., Reis M., Duarte N., Serly J., Molnár J., Ferreira M.-J. U., **2012**. *J. Nat. Prod.* *75*, 1915.
88. Barla A., Birman H., Kültür S., Öksüz S., **2006**. *Turk. J. Chem.* *30*, 325.
89. Mongkolvisut W., Sutthivaiyakit S., **2007**. *J. Nat. Prod.* *70*, 1434.
90. Sahai R., Rastogi R.P., Jakupovic J., Bohlmann F., **1981**. *Phytochemistry* *20*, 1665.
91. Yamamura S., Shizuri Y., Kosemura S., Ohtsuka J., Tayama T., Ohba S., Ito M., Saito Y., Terada Y., **1989**. *Phytochemistry* *28*, 3421.
92. Barile E., Borriello M., Di Pietro A., Doreau A., Fattorusso C., Fattorusso E., Lanzotti V., **2008**. *Org. Biomol. Chem.* *6*, 1756.
93. Zhang W., Guo Y.-W., **2005**. *Planta Med.* *71*, 283.
94. Geng D., Shi Y., Min Z.D., Liang J.Y., **2010**. *Chinese Chem. Lett.* *21*, 73.
95. Wang Y., Li X.-f., Xie P., Wang T.-j., **2012**. *Zhongcaoyao* *43*, 1981.
96. Zhang W., Guo Y.-W., **2006**. *Chem. Pharm. Bull.* *54*, 1037.
97. Valente C., Ferreira M.J.U., Abreu P.M., Gyémánt N., Ugocsai K., Hohmann J., Molnár, J., **2004**. *Planta Med.* *70*, 81.
98. Valente C., Ferreira M.J.U., Abreu P.M., Pedro M., Cerqueira F., Nascimento M.S.J., **2003**. *Planta Med.* *69*, 361.
99. Rédei D., Hohmann, J., Evanics F., Forgo P., Szabó P., Máthé I., **2003**. *Helv. Chim. Acta* *86*, 280.
100. Hohmann J., Rédei D., Evanics F., Kálmán A., Argay G., Bartók T., **2000**. *Tetrahedron* *56*, 3619.
101. Marco J.A., Sanz-Cervera J.F., Yuste A., Jakupovic J., Lex J., **1996**. *J. Org. Chem.* *61*, 1707.
102. Uemura D., Hirata Y., **1975**. *Tetrahedron Lett.* *21*, 1697.
103. Chen Y., Yuan D., Xu X., Fu H., **2008**. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* *33*, 1836.

- 
104. Liu L.G., Meng J.C., Wu S.X., Li X.Y., Zhao X.C., Tan R.X., **2002**. *Planta med.* *68*, 244.
105. Aiyelaagbe O.O., Adesogan K., Ekundayo O., Gloer J.B., **2007**. *Phytochemistry* *68*, 2420.
106. Kupchan S.M., Sigel C.W., Matz M.J., Renauld J.A.S., Haltiwanger R.C., Bryan R.F., **1970**. *J. Amer. Chem. Soc.* *92*, 4476.
107. Kupchan S.M., Siegel C.W., Matz M.J., Gilmore C.J., Bryan R.F., **1976**. *J. Am. Chem. Soc.* *98*, 2295.
108. Taylor M.D., Smith A.B.III, Furst G.T., Gunsekara S.P., Bevelle C.A., Cordell G.A., Farnsworth N.R., Kupchan S.M., Uchida H., Branfman A.R., Dailey R.G.Jr, Sneden A.T., **1983**. *J. Am. Chem. Soc.* *105*, 3177.
109. Huang Y., Aisa H.A., **2010**. *Helv. Chim. Acta* *93*, 1156.
110. Marco J.A., Sanz-Cervera J.F., Yuste A., Jakupovic J., **1999**. *J. Nat. Prod.* *62*, 110.
111. Corea G., Fattorusso E., Lanzotti V., Tagliatela-Scafati O., Appendino G., Ballero M., Simon P.-N., Dumontet C., Di Pietro A., **2003**. *Bioorg. Med. Chem.* *11*, 5221.
112. Marco J.A., Sanz-Cervera J.F., Yuste A., Jakupovic J., **1997**. *Phytochemistry* *45*, 137.
113. Hohmann J., Evanics F., Dombi, G., Szabó P., **2001**. *Tetrahedron Lett.* *42*, 6581.
114. Robinson D.R., West C.A., **1970**. *Biochemistry* *9*, 70.
115. Adolf W., Hecker E., **1977**. *Isr. J. Chem.* *16*, 75.
116. Evans F.J., Taylor S.E., **1983**. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* *44*, 1.
117. Onwukaeme N.D., Rowan M.G., **1992**. *Phytochemistry*, *31*, 3479.
118. Seigler D.S., **1994**. *Ann. Mol. Bot. Gard.* *81*, 380.
119. Lovell C.R., **1998**. *Clin. Dermatol.* *16*, 33.
120. Kapoor L.D., **1989**. *Handbook of Ayurvedic medicinal plants*, In: L.D. Kapoor, (Ed.). *Med. plants*. CRC Press.



- 
121. Hooper M., **2002**. Major herbs of Ayurveda. Elsevier Health Sciences, Elsevier, The Netherlands, p. 340.
122. Lai X.Z., Yang Y.B., Shan X.L., **2004**. *Econ. Bot.* 58, S307–S320.
123. Ankli A., Sticher O., Heinrich M., **1999**. *Econ. Bot.* 53, 144.
124. Cataluna R.S.M.K., **1999**. Second World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare Wocmap, 2: 501, 289.
125. Van Damme P., **1989**. *Afr. Focus* 5, 176.
126. Gupta B., Rasmi S., Goyal R., **2007**. *Pharmacogn. Rev.* 1, 299.
127. [www.botanical.com](http://www.botanical.com)
128. Palatnick W., Tenenbein M., **2000**. *Clin. Toxicol.* 38, 67.
129. Mampane K.J., Joubert P.H., Hay I.T., **1987**. *Phytother. Res.* 1, 50.
130. Abdel-Fattah M.R., **1987**. *Bot. J. Linn. Soc.* 94, 293.
131. Hirota M., Suttajit M., **1988**. *Cancer Res.* 48, 5800.
132. Vogg G., Mattes E., Rothenburger J., Hertkorn N., Achatz S., Sandermann H., **1999**. *Phytochemistry* 51, 289.
133. Shlamovitz G.Z., Gupta M., Diaz J.A., **2009**. *A J. Emerg. Med.* 36, 239.
134. Jassbi A. R., **2006**. *Phytochemistry* 67, 1977.
135. Hecker E., **1968**. *Cancer Res.* 28, 2338.
136. Hecker E., **1977**. *Pure Appl. Chem.*, 49, 1423.
137. Kedei N., Lundberg D.J., Tóth A., Welburn P., Garfield S.H., Blumberg P.M., **2004**. *Cancer Res.* 64, 3243.
138. Ramsay J.R., Suhrbier A., Aylward J.H., Ogbourne S., Cozzi S.J., Poulsen M.G., Baumann K.C., Welburn P., Redlich G.L., Parsons P.G., **2011**. *Brit. J. Dermatol.* 164, 633.
139. Lee W.Y., Hampson P., Coulthard L., Ali F., Salmon M., Lord J.M., Scheel-Toellner D., **2010**. *J. Biol. Chem.* 285, 23889.

- 
140. Sayed M.D., Risz A., Hammouda F.M., El-Missiry M.M., Williamson E.M., Evans F.J., **1980**. *Experientia*, *36*, 1206.
141. Ogbourne S.M., Suhrbier A., Jones B., Cozzi S.J., Boyle G.M., Morris M., McAlpine D., Johns J., Scott T.M., Sutherland K.P., Gardner J.M., Le T.T.T., Lenarczyk A., Aylward J.H., Parsons P. G., **2004** *Cancer Res.* *64*, 2833.
142. Mason S.A., Cozzi S.J., Pierce C.J., Pavey S.J., Parsons P.G., Boyle G.M., **2010**. *Invest. New Drugs* *28*, 575–586.
143. Sánchez-Duffhues G., Vo M.Q., Pérez M., Calzado M.A., Moreno S., Appendino G., Muñoz E., **2011**. *Curr. Drug Targets* *12*, 348–356.
144. Kissin I., Szallasi A., **2011**. *Curr. Top. Med. Chem.* *11*, 2159.
145. Barile E., Corea G., Lanzotti V., **2008**. *Nat. Prod. Commun.* *3*, 1003.
146. Corea G., Fattorusso E., Lanzotti V., Di Meglio P., Maffia P., Grassia G., Ialenti A., Ianaro A., **2005**. *J. Med. Chem.* *48*, 7055.
147. Appendino G., Szallasi A., **1997**. *Life Sci.* *60*, 681.
148. [www.drugs.com](http://www.drugs.com)
149. Elujoba A.A., Odeleye O.M., Ogunyemi C.M., **2005**. *Afr. J. Trad. Complem.* *2*, 46.
150. [Names.cria.org.br](http://Names.cria.org.br)
151. Torrance S.J., Wiedhopf R.M., Cole J.R., Arora S.K., Bates R.B., Beaver W.A., Cutler R.S., **1976**. *J. Org. Chem.* *41*, 1855.
152. Abo K., Evans F.J., **1981**. *Phytochemistry* *20*, 2535.
153. Duarte N., Járdánházy A., Molnár J., Hilgeroth A.; Ferreira M., **2008**. *J. Bioorg. Med. Chem.* *16*, 9323.
154. Engi H., Vasas A., Rédei D., Molnár J., Hohmann J., **2007**. *Anticancer Res.* *27*, 3451.
155. Ferreira M.J.U., Gyémant N., Madureira A.M., Tanaka M., Koos K., Didziapetris, R., Molnár, **2005**. *J. Anticancer Res.* *25*, 4173.
156. Teodori E., Dei S., Martelli C., Scapecchi, C., Gualtieri F., **2006**. *Curr. Drug Targets* *7*, 893.

- 
157. Szakács G., Paterson J., Ludwig J., Genthe C., Gottesman M., **2006**. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 219.
158. Nobili S., Landini I., Mazzei T., Mini E., **2012**. *Med. Res. Rev.* 32, 1220.
159. Srinivas E., Murthy J., Rao A., Sastry G., **2006**. *Curr. Drug Metab.* 7, 205.
160. Borowski E., Bontemps-Gracz M.M., Piwkowskam A., **2005**. *Acta Biochim. Pol.* 52, 609.
161. Galletti E., Magnani M., Renzulli M.L., Botta M., **2007**. *Chem. Med. Chem.* 2, 920.
162. Orr G.A., Verdier-Pinard P., McDaid H., Horwitz S.B., **2003**. *Oncogene* 22, 7280.
163. Kavallaris M., Kuo D.Y.-S., Burkhart C.A., Regl D.L., Norris M., Haber M., Horwitz S.B., **1997**. *J. Clin. Invest.* 100, 1282.
164. Derry W.B., Wilson L., Jordan M.A., **1995**. *Biochemistry* 34, 2203.
165. Lu Y., Chen J., Xiao M., Li W., Miller D.D., **2012**. *Pharm. Res.* 29, 2943.
166. Cortes J.E., Pazdur R., **1995**. *Docetaxel. J. Clin. Oncol.* 13, 2643.
167. Rowinsky E.K., Donehower R.C., **1995**. *N. Engl. J. Med.* 332, 1004.
168. Bedoya L.M., Marquez N., Martinez N., Gutierrez-Eisman S., Alvarez A., Calzado M.A., Rojas J.M., Appendino G., Muñoz E., Alcami J., **2009**. *Biochem. Pharmacol.* 77, 965.
169. Šilić Č., **1983**. U: Korene Z. i Mitić V. (urednici), *Atlas drveća i grmlja. „Svjetlost“* OOUR Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Sarajevo i Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, str. 84.
170. Pliny the Elder, *Naturalis Historia*, XXVI, 45. Mayhoff, K.F.T. (Ed.) **1906** Lipsiae, Teubner.
171. Sharma D.K., Tiwari M., Behera B.K., **1994**. *Biores. Technol.* 49, 1.
172. Singla A.K., Pathak K., **1990**. *Fitoterapia* 61, 483.
173. Fokialakis N., Mellion E., Magiatis P., Harvala C., Mitaku S., **2003**. *Flavour Frag. J.* 18, 39.

- 
174. Guelz P.G., Hemmers H., Bodden J., Marner F.J., **1987**. *Zeitschrift fuer Naturforschung C: Journal of Biosciences* *42*, 191.
175. Ibrahim A.Y., Mahmoud K., El-Hallouty S.M., **2011**. *Journal of Applied Sciences Research* *7*, 1246.
176. Conti L., Marchetti M., Botteghi C., **1988**. *Phytochemistry* *27*, 791.
177. Bruni R., Muzzoli M., Loi M.C., Fantin G., Poli F., Sacchetti G., **2004**. *Fitoterapia* *75*, 50.
178. <http://www.montenegreen.com/modro-zeleno/spasu-nema-spasa/>
179. <http://www.trigoso.it/Le%20nostra%20flora/Euforbia-04.jpg>
180. [http://www.dipbot.unict.it/sistematica\\_es/Immagini/1865\\_051.jpg](http://www.dipbot.unict.it/sistematica_es/Immagini/1865_051.jpg)
181. <http://www.janjina.croatia1.com/images/S1-18.jpg>
182. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/73/Euforbia\\_dendroides02.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/73/Euforbia_dendroides02.jpg)
183. [http://www.naturamediterraneo.com/Public/data7/spin/100\\_7559.JPG\\_2009223151147\\_100\\_7559.JPG](http://www.naturamediterraneo.com/Public/data7/spin/100_7559.JPG_2009223151147_100_7559.JPG)
184. Shizuri Y., Kosemura S., Ohtsuka J., Terada Y., Yamamura S., **1983**. *Tetrahedron Lett.* *24*, 2577.
185. Gaskin F., Cantor C.R., Shelanski M.L., **1974**. *J. Mol. Biol.* *89*, 737.
186. Fox E., Bates S.E., **2007**. *Expert Rev. Anticancer Ther.* *7*, 447.
187. Pešić M., Marković J.Z., Janković D., Kanazir S., Marković I.D., Rakić L., Ruždijić S., **2006**. *J. Chemother.* *18*, 66.
188. Shusterman A.J., Mc Dougal P.G., Glasfeld A., **1997**. *J. Chem. Edu.* *74*, 1222.
189. Podolski-Renić A., Anđelković T., Banković J., Tanić N., Ruždijić S., Pešić M., **2011**. *Biomed. Pharmacother.* *65*, 345.
190. Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J.T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M.R., **1990**. *J. Natl. Cancer Inst.* *82*, 1107.
191. Shelanski M.L., Gaskin F., Cantor C.R., **1973**. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *70*, 765.

---

# BIOGRAFIJA

Milka (Branislav) Jadranin je rođena 21. januara 1971. godine u Obrenovcu. Osnovnu školu je završila u selu Stubline kod Obrenovca, a srednju u Obrenovcu. Školske 1989/90. upisala se na Hemijski fakultet u Beogradu, a diplomirala je 7. oktobra 2004. sa srednjom ocenom 8,75 tokom studija i ocenom 10 na diplomskom ispitu. Poslediplomske studije na Hemijskom fakultetu u Beogradu, na Odeljenju za instrumentalnu analizu pri Katedri za organsku hemiju kod mentora prof. dr Slobodana Milosavljevića, upisala je školske 2004/05. godine i završila ih sa prosečnom ocenom 10,00. Magistarsku tezu pod naslovom „Sekundarni metaboliti biljnog roda *Amphoricarpos*“ odbranila je 24. decembra 2007. godine. Od 1. decembra 2004. zaposlena je u Centru za hemiju IHTM kao istraživač pripravnik, a u zvanje istraživač saradnik izabrana je 23. aprila 2008. godine.

U okviru svog naučno-istraživačkog rada bavi se hemijom sekundarnih metabolita biljaka, proučavanjem hemijskog sastava odbrambenih supstanci životinja, spektroskopskim i hromatografskim tehnikama analize strukture organskih jedinjenja, kao i biološkim dejstvima hemijskih jedinjenja i biljnih ekstrakata.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписана: Милка Јадранин

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

„Изоловање, карактеризација и биолошка активност јатрофанских дитерпена из *Euphorbia dendroides* L.“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанта

У Београду, 08.11.2013.

Милка Јадранин

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Милка Јадранин

Број индекса: /

Студијски програм: /

Наслов рада: „Изоловање, карактеризација и биолошка активност јатрофанских дитерпена из *Euphorbia dendroides* L.“

Ментор: проф. др Веле Тешевић

Потписана: Милка Јадранин

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанта**

У Београду, 08.11.2013.

Милка Јадранин

### Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Изоловање, карактеризација и биолошка активност јатрофанских дитерпена из *Euphorbia dendroides* L.“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанта**

У Београду, 08.11.2013.

Милана Јаграница



1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.