

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

(19) **BG**

(11) **65896 B1**

(51) Int.Cl.

C 07 D 515/22 (2006.01)

C 07 D 491/22 (2006.01)

C 07 D 471/18 (2006.01)



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

- (21) Заявителски № 107301
(22) Заявено на 20.11.2002
(24) Начало на действие
на патента от: 15.05.2001

Приоритетни данни

(31) PCT/GB00/01852 (32) 15.05.2000 (33) GB

- (41) Публикувана заявка в
бюлетин № 7 на 31.07.2003
(45) Отпечатано на 30.04.2010
(46) Публикувано в бюлетин № 4
на 30.04.2010
(56) Информационни източници:
EP 309477; US 5721362;
WO1998/012198

(62) Разделена заявка от рег. №

(73) Патентоприетател(и):
PHARMA MAR S. A., E-28760 MADRID,
CALLE DE LA CALERA 3, POLIGONO
INDUSTRIAL DE TRES CANTOS, TRES
CANTOS (ES)

(72) Изобретател(и):
Andres Francesch
Carolina Fernandez
Jose Luis Chicharro
Pilar Gallego
Maria Zarzuelo
Ignacio Manzanares
Marta Perez
Carmen Cuevas
Maria Jesus Martin
Simon Munt
E-28760 Madrid (ES)

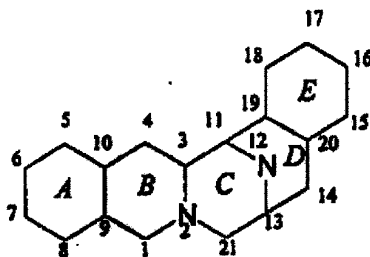
(74) Представител по индустриална
собственост:
Красимира Дамянова Цоцова,
1113 София, ул. "Ген. Щерю Атанасов" 5

(86) № и дата на PCT заявка:
PCT/GB01/02120, 15.05.2001

(87) № и дата на PCT публикация:
WO2001/087895, 22.11.2001

(54) СИНТЕТИЧЕН МЕТОД ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА ЕКТЕИНАСЦИДИНОВО СЪЕДИНЕНИЕ

(57) Изобретението се отнася до методи за получаване на съединения с кондензирана пръстенна структура с формула



BG 65896 B1

Тези съединения включват ектеинасцидини и имат спироамин-1,4-мост. По метода се получава 1,4-мост, като се използва 1-лабилен, 10-хидрокси, 18-защитен хидрокси, ди-6,8-ен-5-он кондензирано пръстенно съединение. След формиране на 1,4-моста, защитата при C-18 се отстранява преди въвеждане на спироamina.

(54) СИНТЕТИЧЕН МЕТОД ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА ЕКТЕИНАСЦИДИНОВО СЪЕДИНЕНИЕ

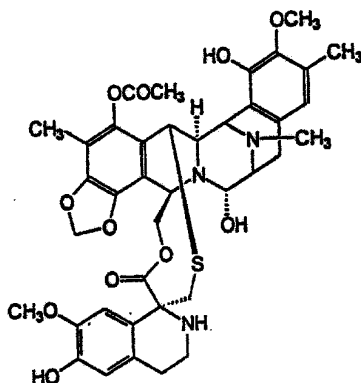
Област на техниката

Настоящото изобретение се отнася до синтетични методи и, по-специално, до синтетични методи за получаване на ектеинасцидинови съединения.

Предшестващо състояние на техниката

EP 309, 477 се отнася до ектеинасцидини 729, 743, 745, 759A, 759B и 770. Установено е, че ектеинасцидиновите съединения притежават антибактериални и други полезни свойства. Ектеинасцидин 743 в момента е подложен на клинични изпитания като антитуморно средство.

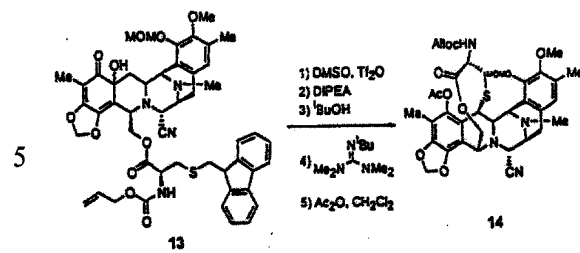
Ектеинасцидин 743 притежава сложна трис(тетрахидроизохинолинфенол) структура със следната формула (I):



Напоследък ектеинасцидините се получават чрез изолиране от морското безгръбначно *Ecteinascidia turbinata*. Добивът е нисък и се търсят алтернативни препаративни методи.

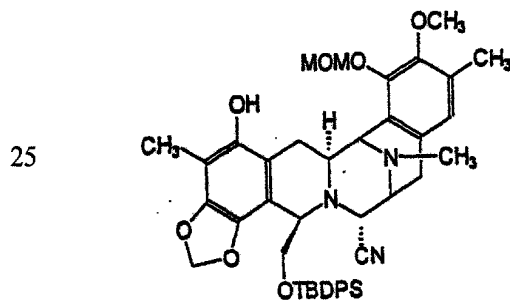
В US 5, 721, 362, виж също и WO 1998/012198, е описан синтетичен метод за получаване на ектеинасцидинови съединения. Описаният метод е дълъг и сложен. За илюстрация са дадени 38 примера, описващи един или повече етапи на синтетичната последователност за получаване на ектеинасцидин 743.

При известния синтетичен метод се получава 1, 4-мост при използване на 1-лабилен, 10-хидрокси, 18-защитен хидрокси, ди-6, 8-ен-5-он кондензирано пръстенно съединение. Както е показано в Пример 33, съединение (13) се превръща в съединение (14):



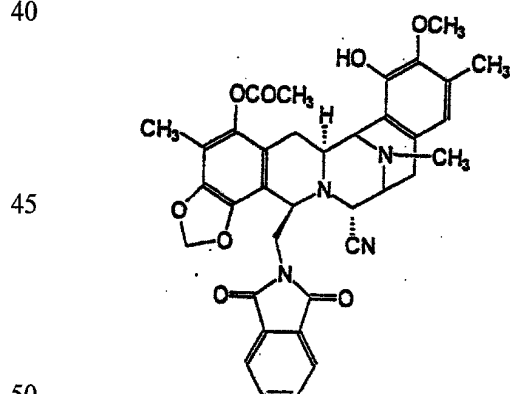
Съгласно известния синтетичен метод, след това в 1, 4-моста се образува спирохинолин, съгласно етапите на Примери от 34 до 36, и 18-MOM защитаващата група се отделя до получаване на ектеинасцидин 770, който след това се превръща в ектеинасцидин 743.

Претенция 25 на US 5, 721, 362 се отнася до междинно фенолово съединение с дадена формула (11), което ще наричаме Междинно съединение 11 или Int-11. То притежава следната бис(тетрахидроизохинолинфенолова) структура (II):

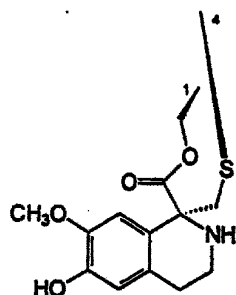


в която MOM е метоксиметиллов заместител и TBDPS е терт-бутилдифенилсилилов заместител.

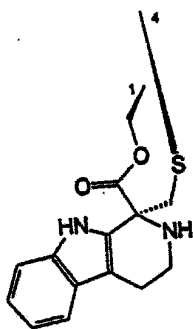
От Междинно съединение 11 е възможно да се синтезира друго интересно антитуморно средство, фталасцидин, виж Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 3496-3501, 1999. Фталасцидинът представлява бис(тетрахидроизохинолинфенолово)производно с формула (III):



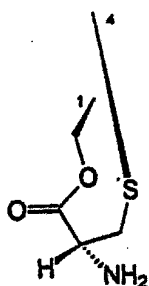
В ектеинасцидини 743 и 770 1, 4-мостът има структура с формула (IV):



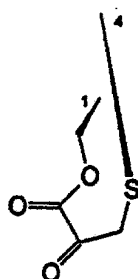
Другите известни ектеинасцидини включват съединения с различни мостово свързани циклични пръстенни системи, както при ектеинасцидини 722 и 736, където мостът има структура с формула (V):



ектеинасцидини 583 и 597, където мостът има структура с формула (VI):



и ектеинасцидини 594 и 596, където мостът има структура с формула (VII):



Пълната структура на тези и съответните съединения е дадена в J. Am. Chem. Soc. (1996) 118, 9017-9023. Съобщението е дадено за сравнение.

- 5 Други литературни източници за ектеинасцидинови съединения включват: Corey, E. J., J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, pp. 9202-9203; Rinehart, et al., Journal of Natural Products, 1990, "Bioactive Compounds from Aquatic and Terrestrial
- 10 Sources", vol. 53, pp. 771-792; Rinehart, et al., Pure and Appl. Chem., 1990, "Biologically active natural products", vol. 62, pp. 1277-1280; Rinehart, et al., J. Org. Chem., 1990, "Ecteinascidins 729, 743, 745, 759A, 759B and 770: Potent Antitumour
- 15 Agents from the Caribbean tunicate Ecteinascidia turbinata", vol. 55, pp. 4512-4515; Wright et al., J. Org. Chem., 1990, "Antitumour Tetrahydroisoquinoline Alkaloids from the Colonial Ascidian Ecteinascidia turbinata", vol. 55, pp. 4508-4512;
- 20 Sakai et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1992, "Additional antitumour ecteinascidins from a Caribbean tunicate: Crystal structures and activities in vivo", vol. 89, 11456-11460; Science 1994, "Chemical Prospectors Scour the Seas for
- 25 Promising Drugs", vol. 266, pp. 1324; Koenig, K. E., "Asymmetric Synthesis", ed. Morrison, Academic Press, Inc., Orlando, FL, vol. 5, 1985, p. 71; Barton et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1, 1982, "Synthesis and Properties of a Series of
- 30 Sterically Hindered Guanidine Bases", pp. 2085; Fukuyama, et al., J. Am. Chem. Soc., 1982, "Stereocontrolled Total Synthesis of (+)-Saframycin B", vol. 104, pp. 4957; Fukuyama, et al., J. Am. Chem. Soc., 1990, "Total Synthesis of (+)-
- 35 Saframycin A", vol. 112, pp. 3712; Saito, et al., J. Org. Chem., 1989, "Synthesis of Saframycins. Preparation of a Key Tricyclic Lactam Intermediate to Saframycin A", vol. 54, pp. 5391; Still, et al., J. Org. Chem., 1978, "Rapid Chromatographic
- 40 Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution", vol. 43, p. 2923; Kofron, W. G., Baclawski, L. M., J. Org. Chem., 1976, vol. 41, 1879; Guan et al., J. Biomolec. Struct. & Dynam., vol. 10, pp. 793-817 (1993); Shamma et al., "Carbon-13 NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids", p. 206 (1979); Lown et al., Biochemistry, 21, 419-428 (1982); Zmijewski et al., Chem. Biol. interactions, 52, 361-375 (1985); Ito, CRC GRIT. Rev. Anal. Chem., 17, 65-143 (1986);
- 50 Rinehart et al., "Topics in Pharmaceutical Sciences

1989”, pp. 613-626, D. D. Breimer, D. J. A. Cromwelin, K. K. Midha, Eds., Amsterdam Medical Press B. V., Noordwijk, The Netherlands (1989); Rinehart et al., “Biological Mass Spectrometry”, 233-258, Burlingame et al., Elsevier Amsterdam (1990); Guan et al., *Jour. Biomolec. Struct. & Dynam.*, vol. 10, pp. 793-817 (1993); Nakagawa et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 111: 2721-2722 (1989); Lichter et al., “Food and Drugs from the Sea Proceedings” (1972), Marine Technology Society, Washington, D. C. 10 1973, 117-127; Sakai et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1996, 118, 9017; Garcia-Rocha et al., *Brit. J. Cancer*, 1996, 73: 875-883; Pommier et al., *Biochemistry*, 1996, 35: 13303-13309;

Известни са и други природно съществуващи съединения, в които липсва мостова цик-

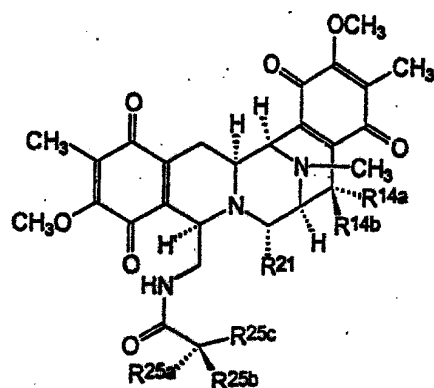
лична пръстенна система. Те включват бис(тетрахидроизохинолинхиноновите) антиту-морни-антимикробни антибиотици сафрасини и сафрамицини и морските природни продукти рениерамицини и ксестомицин, изолирани от култивирани микроби или гъби. Всички те притежават обикновена димерна тетраhydroизохинолин-въглеродна рамка. Тези съединения могат да бъдат класифицирани в четири типа, от I до IV, по отношение на окислението на ароматните ядра.

Тип I, димерни изохинолинхинони, представлява система с формула (VIII), която е най-обща за този клас съединения, виж следващата

15 Таблица I.

Таблица I

Структура на тип I сафрамицинови антибиотици (saframycin)

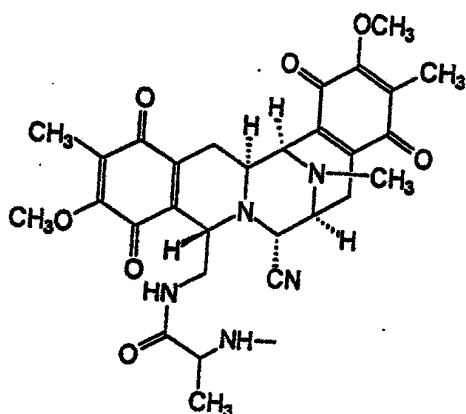


Заместители

Съединение	R ^{14a}	R ^{14b}	R ²¹	R ^{25a}	R ^{25b}	R ^{25c}
saframycin A	H	H	CN	O	O	CH ₃
saframycin B	H	H	H	O	O	CH ₃
saframycin C	H	OCH ₃	H	O	O	CH ₃
saframycin G	H	OH	CN	O	O	CH ₃
saframycin H	H	H	CN	OH	CH ₂ COCH ₃	CH ₃
saframycin S	H	H	OH	O	O	CH ₃
saframycin Y ₃	H	H	CN	NH ₂	H	CH ₃
saframycin Yd ₁	H	H	CN	NH ₂	H	C ₂ H ₅
saframycin Ad ₁	H	H	CN	O	O	C ₂ H ₅
saframycin Yd ₂	H	H	CN	NH ₂	H	H
saframycin Y _{2b}	H	Q ^b	CN	NH ₂	H	CH ₃
saframycin Y _{2b-d}	H	Q ^b	CN	NH ₂	H	C ₂ H ₅
saframycin AH ₂	H	H	CN	H ^a	OH ^a	CH ₃
saframycin AH ₂ Ac	H	H	CN	H	OAc	CH ₃
saframycin AH ₁	H	H	CN	OH ^a	H ^a	CH ₃
saframycin AH ₁ Ac	H	H	CN	OAc	H	CH ₃
saframycin AR ₃	H	H	H	H	OH	CH ₃

^a означенията са взаимно заменяеми

^b когато групата Q има формула (IX):



Тип I ароматни пръстени се виждат при сафрамицини A, B и C; G и H; и S изолиран от *Streptomyces lavendulae* като компоненти в минимално количество. Цианопроизводно на сафрамицин A, наречено цианохинонамин, е известно от Japanese Kokai JP-A2 59/225189 и 60/084288. Сафрамицини Y₃, Yd₁, Ad₁ и Yd₂ се получават от *Streptomyces lavendulae* при директна биосинтеза, при подходящо използване на културна среда. Сафрамицините Y_{2b} и Y_{2b-d} димери, получени чрез свързване на азот върху C-25 на

едно звено с C-14 на друго, също се получават в подходяща културна среда на *Streptomyces lavendulae*. Сафрамицините AR₁ (=AH₂), микробен редукиционен продукт на сафрамицин A при

- 5 C-25, получен от *Rhodococcus amidophilus*, също се получава посредством нестереоселективна химична редукция на сафрамицин A с натриев борхидрид като 1:1 смес на епимери, последвана от хроматографско разделяне (другият изомер AH₁ е по-слабо полярен). Другият редукиционен продукт сафрамицин AR₃, 21-дециано-25-дихидросафрамицин A, (=25-дихидросафрамицин B) се получава при същата микробна конверсия. При друг тип микробна конверсия на
- 15 сафрамицин A при използване на вида *Nocardia* се получава сафрамицин B и при следващо редуциране с вида *Mycobacterium* се получава сафрамицин AH¹Ac. 25-O-ацетатите на сафрамицин AH₂ и AH₁ също са получени по химичен начин
- 20 за биологични изследвания.

Тип I съединенията с формула (X) също са изолирани от морски гъби, виж Таблица II.

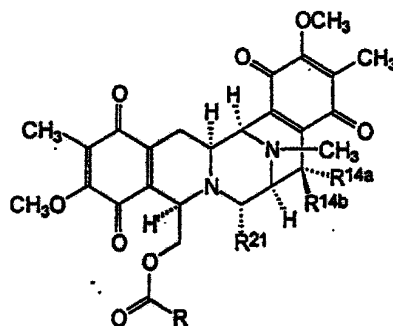
Таблица II

Структури на тип I съединения от морски

25 гъби

Таблица II

Структури на тип I съединения от морски гъби



Заместители

	R ^{14a}	R ^{14b}	R ²¹	R
renieramycin A	OH	H	H	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
renieramycin B	OC ₂ H ₅	H	H	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
renieramycin C	OH	O	O	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
renieramycin D	OC ₂ H ₅	O	O	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
renieramycin E	H	H	OH	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
renieramycin F	OCH ₃	H	OH	-C(CH ₃)=CH-CH ₃
xestomycin	OCH ₃	H	H	-CH ₃

Рениерамицините А-Д са изолирани от антимикробен екстракт на гъба от вида *Reniera*, събирана в Мексико, заедно с биогенетично свързания мономерен изохинолин рениерон и съответни съединения. Структурата на рениерамицин А първоначално е означена със стереохимия при С-3, С-11 и С-13. Обаче, при внимателно разглеждане на данните от $^1\text{H NMR}$ за новите свързани съединения рениерамицините Е и F, изолирани от същата гъба, събирана в Palau, е установено, че пръстенното свързване на рениерамицините в идентично като това на сафрамицините.

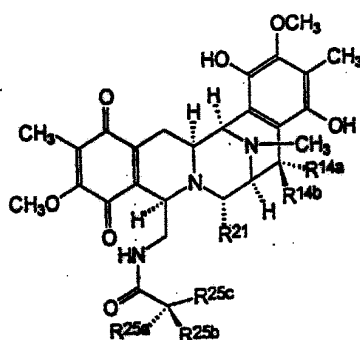
Този резултат води до извода, че преди установената стереохимия на рениерамицините от А до D трябва да бъде същата като тази на сафрамицините.

Ксестомининът е намерен в гъба от вида *Xestospongia*, събирана от водите на Шриланка.

Тип II съединенията с формула (XI) с редуциран хидрохинонов пръстен включват сафрамицини D и F, изолирани от *Streptomyces lavendulae* и сафрамицини Mx-1 и Mx-2, изолирани от *Muxosoccus xanthus*. Виж Таблица III.

Таблица III

Тип II съединения



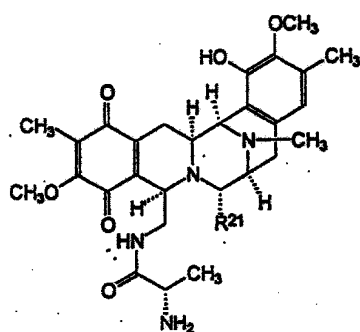
Заместители

Съединение	R ^{14a}	R ^{14b}	R ²¹	R ^{25a}	R ^{25b}	R ^{25c}
saframycin D	O	O	H	O	O	CH ₃
saframycin F	O	O	CN	O	O	CH ₃
saframycin Mx-1	H	OCH ₃	OH	H	CH ₃	NH ₂
saframycin Mx-2	H	OCH ₃	H	H	CH ₃	NH ₂

Тип III скелет е установен в антибиотиците сафрацини А и В, изолирани от култивирани *Pseudomonas fluorescens*. Тези антибиотици с формула (XII) се състоят от тетраhydroизохинолинхиноново подзвено и тетраhydroизохинолинфенолно подзвено

където R²¹ е водород в сафрацин А и хидроксилна група в сафрацин В.

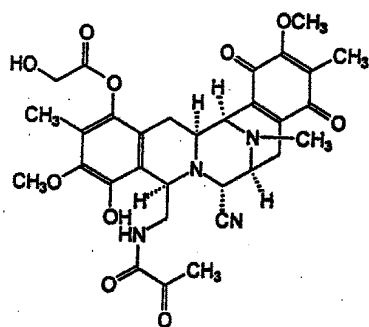
Сафрамицин R, единственото съединение, класифицирано като тип IV скелет, също се изолира от *Streptomyces lavendulae*. Това съединение с формула (XIII), състоящо се от хидрохинонов пръстен със странична верига от гликолов естер при един от фенолните кислородни атоми, е прекурсор на сафрамицин А, поради умерената си токсичност.



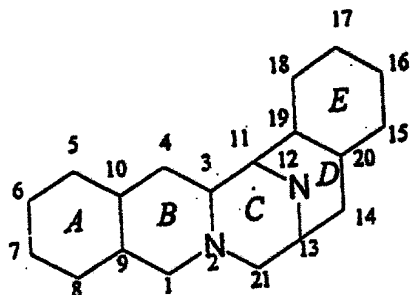
40

45

50



Всички тези известни съединения включват кондензирана система от пет пръстена от (A) до (E), както е показано в следната структура с формула (XIV):



Пръстените A и E са фенолни в ектеинасцидините и някои други съединения, докато в други съединения, особено сафрамицините, пръстените A и E са хинолинови. В известните съединения пръстените B и D са тетраhydro, докато пръстен C е перхидро.

Техническа същност на изобретението

Остава необходимостта от алтернативни синтетични методи за получаване на ектеинасцидинови съединения и свързани с тях съединения. Тези синтетични методи дават възможност за по-икономично получаване на известните антитуморни средства, както и за получаване на нови активни съединения.

Настоящото изобретение се отнася до синтетични методи за получаване на междинни съединения, производни и свързани структури на ектеинасцидин или други тетраhydroизохинолинфенолови съединения.

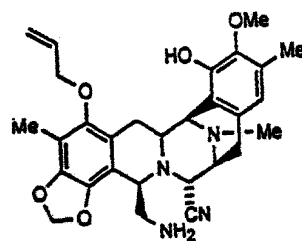
В един аспект, настоящото изобретение се отнася до метод за получаване на ектеинасцидиново съединение със спироамин-1, 4-мост. Методът включва получаване на 1, 4-мост при използване на 1-лабилен, 10-хидрокси, 18-защитен хидрокси, ди-6, 8-ен-5-он кондензирано

пръстенно съединение като кондензираният пръстен има формула (XIV). В настоящото изобретение, защитата при C-18 се отстранява преди въвеждане на спироамина.

- 5 Подходящите изходни съединения за новите синтетични методи, включват съединения, свързани с природните бис(тетраhydroизохинолин) алкалоиди. Тези изходни съединения могат да бъдат получени или от различни класове сафрамицин и сафрамицинови антибиотици от различни културни среди, както е описано в WO 2000/069862, или по други синтетични или биохимични методи. В това отношение, WO 2000/069862 е даден в настоящото изобретение за сравнение. Настоящата заявка претендира за приоритет от заявката PCT/GB 2000/001852, публикуван като WO 2000/069862. Въвеждаме този текст за сравнение и разширение, тъй като там има описание, което не е дадено в настоящата спецификация.

Предпочитани аспекти

- В един аспект, настоящото изобретение се отнася до приложение на междинно съединение 21 в редица нови синтетични методи за получаване на ектеинасцидин 743 и съответни съединения,



21

- Междинно съединение 21 има 5-алилоксигрупа, в която алиловата група служи да защитава 5-хидроксигрупата. Трябва да се разбира, че лесно може да се приложат и други защитаващи групи и, по този начин, настоящото изобретение е разширено най-общо до приложение на други такива 5-защитени хидроксилини съединения.

- Получавана на Ектеинасцидин 743 и съответни съединения

Най-общо, превръщането на междинно съединение 21 или на съответни съединения в ектеинасцидинов продукт включва следните основни трансформации:

- (а) Превръщане на аминокгрупата в хидроксилна група при взаимодействие, например, с натриев нитрит в оцетна киселина,
 (б) Фенолно защитаване на Е-пръстена.
 (в) Етерифициране посредством защитаване на първичната 1-хидроксилна функционалност със защитена цистеинова странична верига.
 (г) Премахване на защитата на алиловата група и окисление.
 (д) Създаване на мостовия пръстен при реакция на циклизиране.
 (ж) Премахване на защитата на фенола от Е-пръстена и на цистеиновата част.
 (з) Въвеждане на хиолин посредством транс-аминиране и реакция на Fetter Spengler.
- Високата функционалност на междинните съединения изисква използване на защитаващи групи за Е-пръстенния фенол и за цистеиновата

странична верига за да се предотвратят нежелани странични реакции.

В зависимост от различните защитаващи групи могат да бъдат получени редица алтернативни междинни съединения.

Възможни са различни последователности за комбиниране на тези трансформации в зависимост от защитаващите групи, подбрани за фенолния пръстен и за амина от цистеиновата странична верига.

Общият брой синтетични трансформации е също и функцията на подбраните защитаващи групи.

За илюстрация, използването на различни комбинации от защитаващи групи е описано по-долу за шест типични метода за получаване на ET-743 от междинно съединение 21, означено в настоящото изобретение, също така, като SF21.

Метод	Фенолна защита	Цистеинова защита	Брой етапи
1	MOM	Boc	12
2	MEM	Boc	10
3	MEM	Cbz	11
4	MOM	Alloc	13
5	MEM	Alloc	13
6	MOM	Cbz	15

На специалистите в областта е ясно, че описаните в настоящото изобретение реакционни схеми могат да бъдат модифицирани и/или комбинирани по различен начин, като възможните последователности на етапи и на получените при тях съединения представляват част от настоящото изобретение.

Още повече, използването на други защи-

таващи групи е също част от настоящото изобретение.

Подробно описание на шест синтетични метода

На следващите Схеми от 1 до 6 са представени пълните реакционни схеми за всеки метод.

Схема 1 - ET-743: Полусинтетичен възможен метод 1

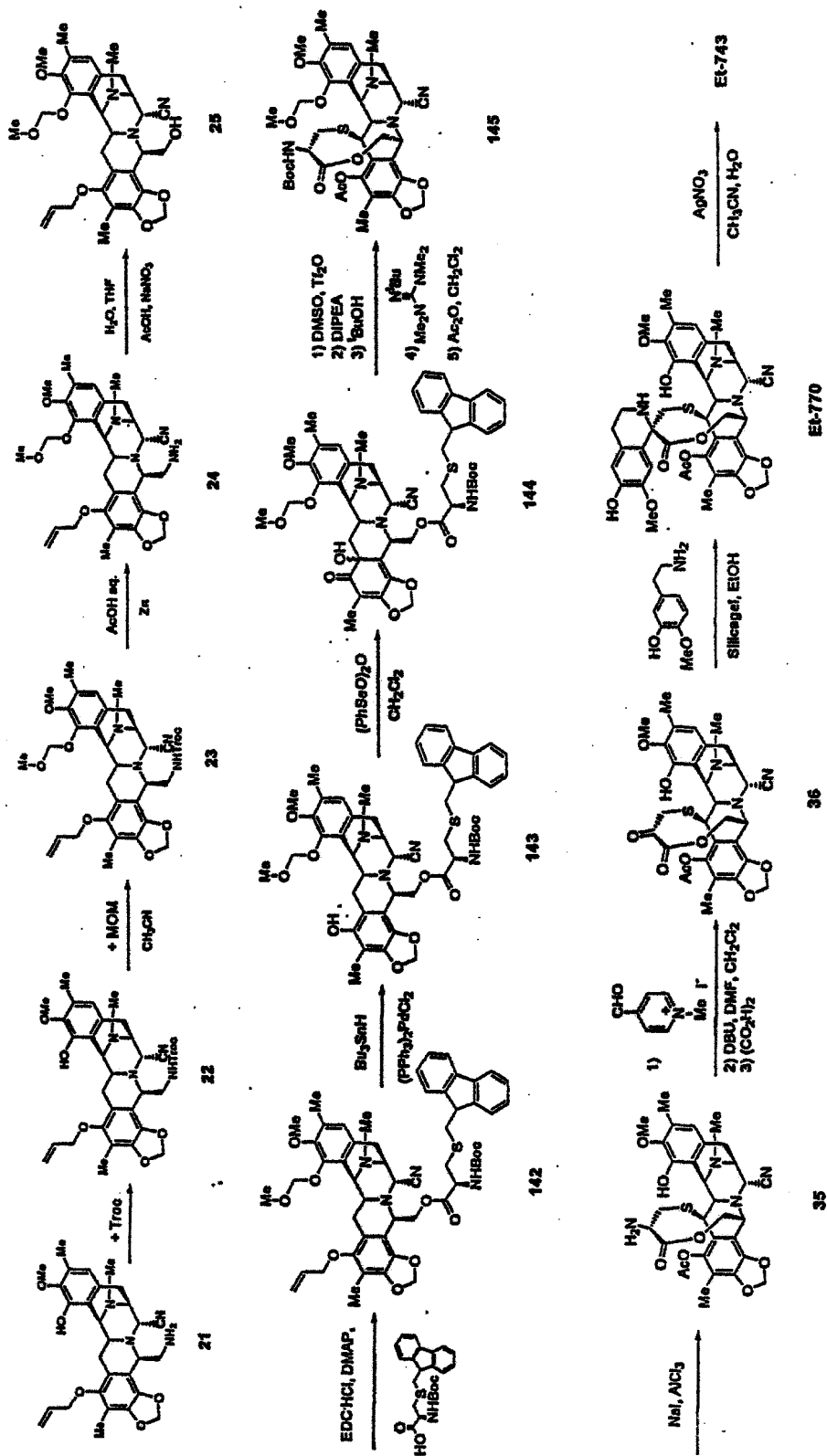


Схема 2 - ET-743: Полусинтетичен възможен метод 2

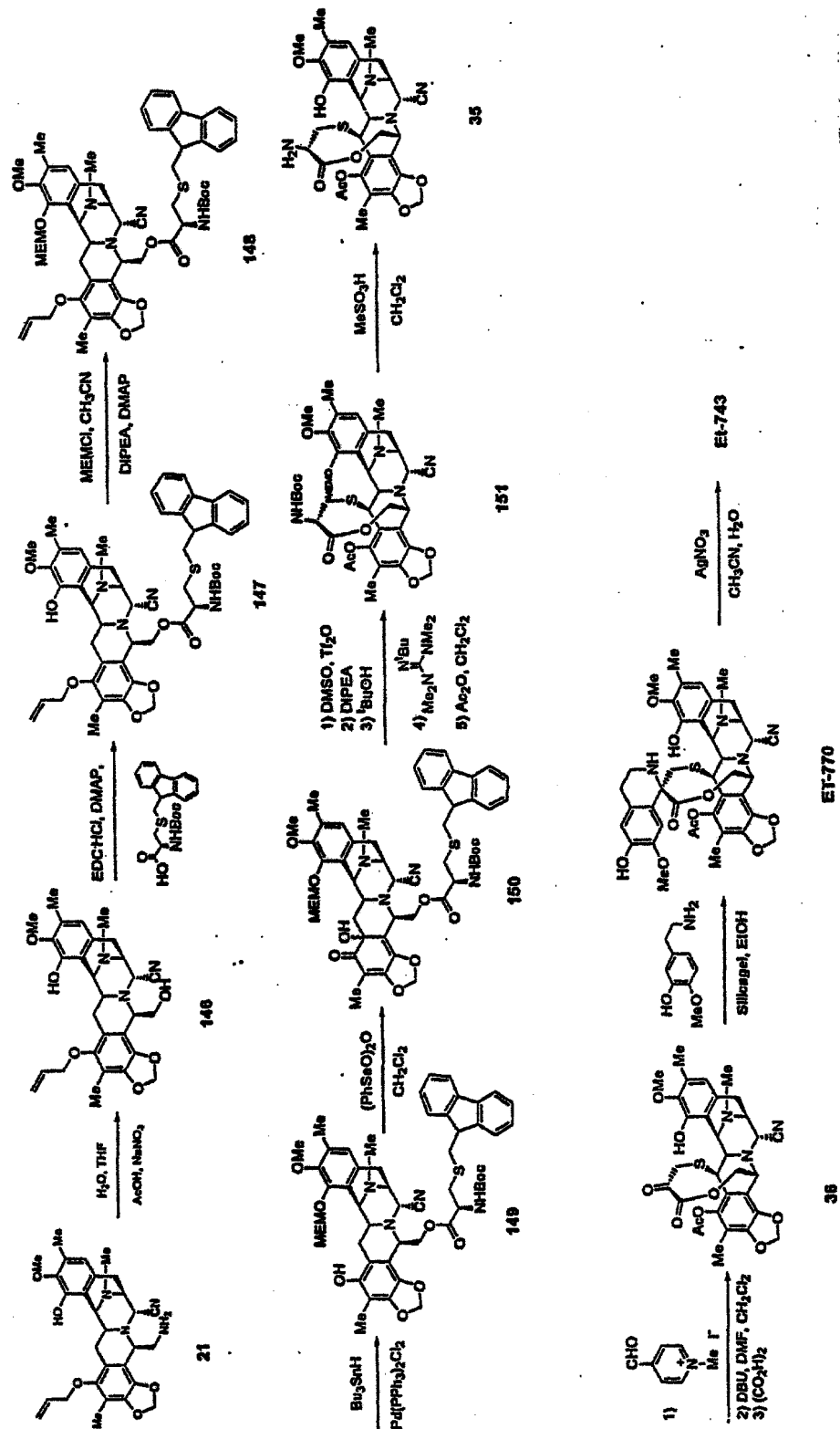


Схема 3 - ET-743: Полусинтетичен възможен метод 3

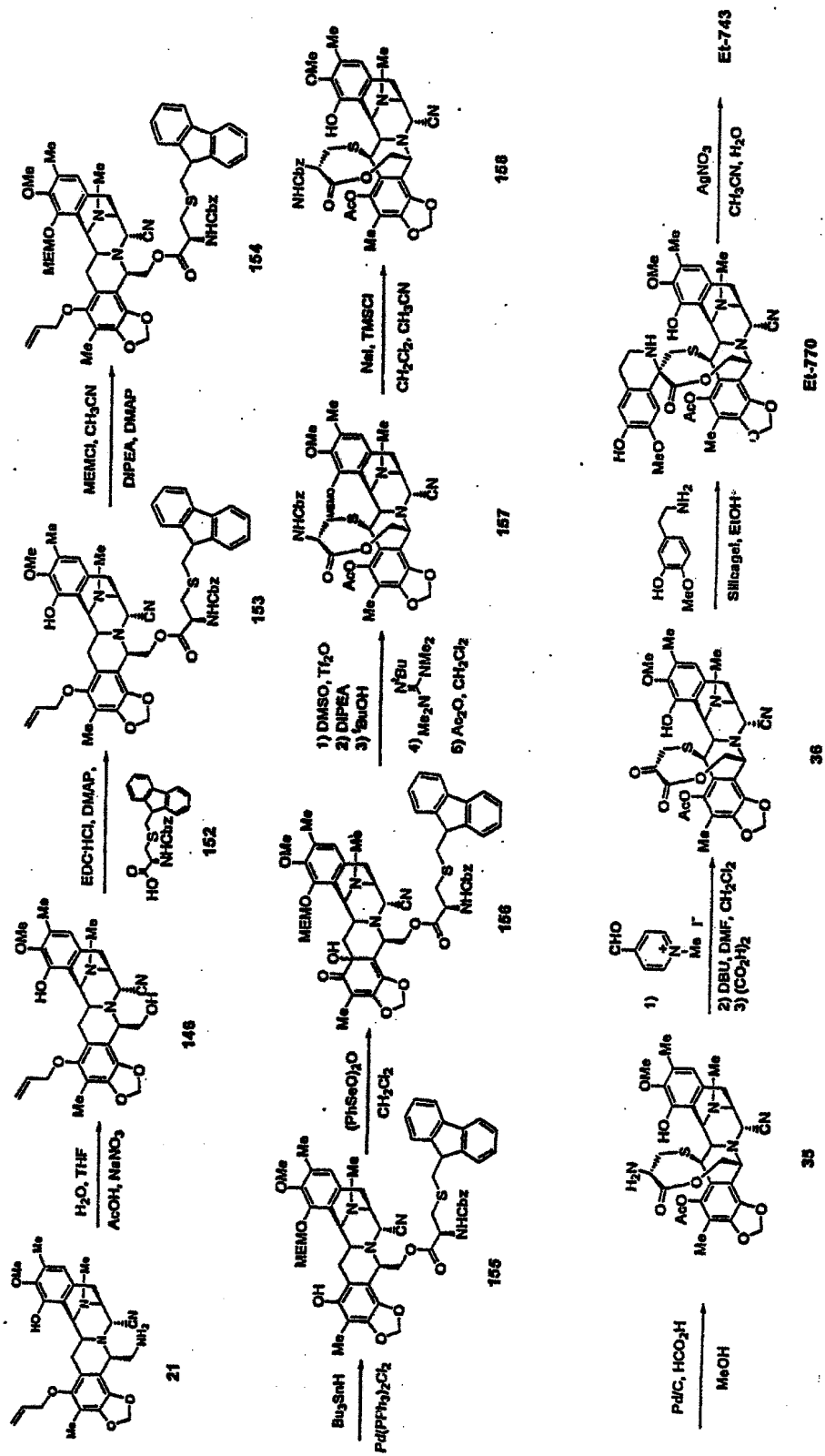
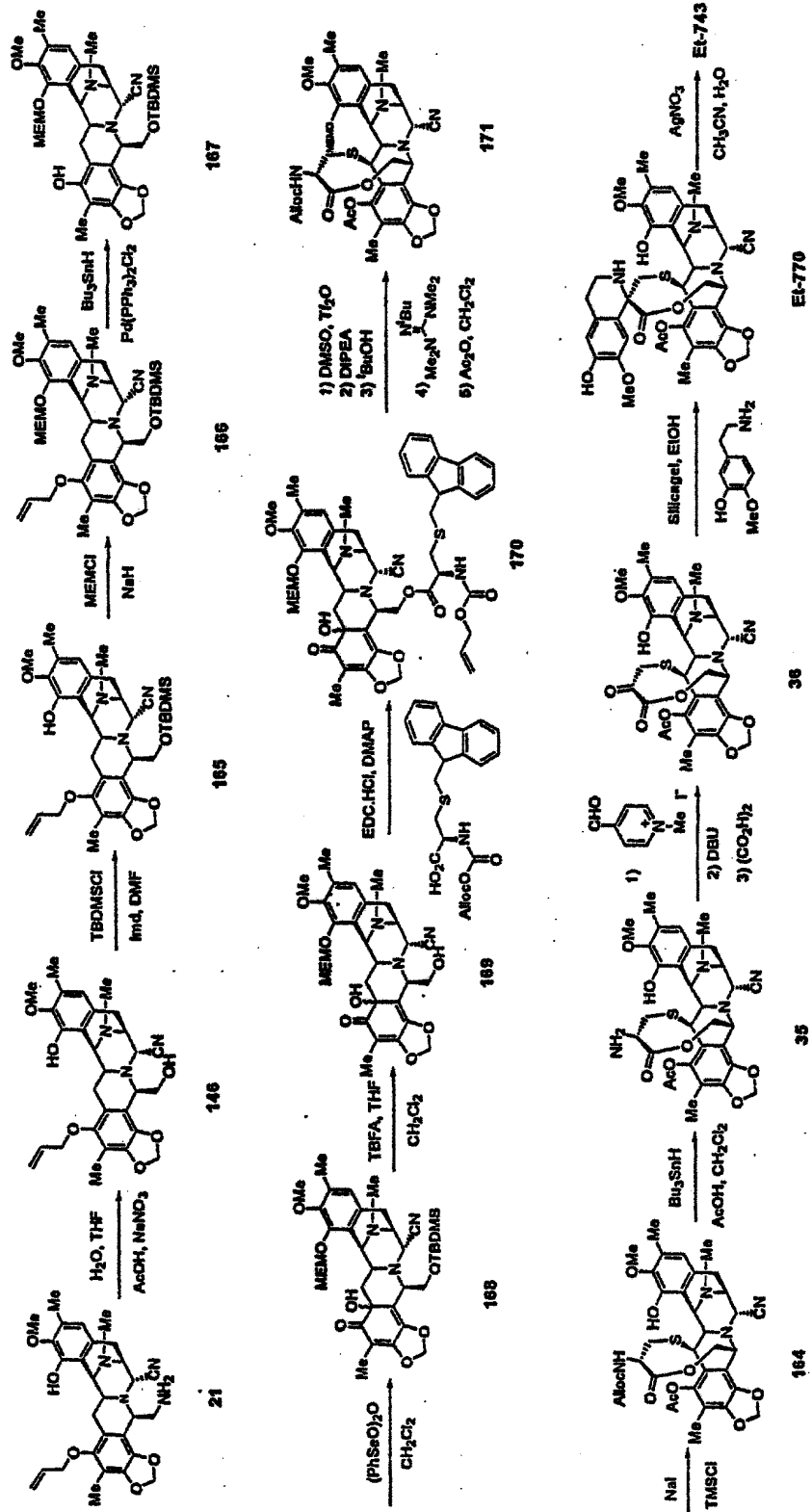


Схема 5 - ET-743: Полусинтетичен възможен метод 5



При метод 1, защитата на Е-пръстенния фенол се осъществява в три етапа, включващи защитаване/премахване на защитата на амина на SF21 с Трос.

При методи 1 и 2, защитата на цистеиновата странична верига с Вос позволява на фенола и цистеиновите групи да бъде премахната защитата в един етап, а не в два отделни етапа. При останалите методи се изисква допълнителен етап на премахване на защитата.

При метод 2, избягва се получаване на междинно съединение 25 чрез прилагане на директно естерифициране и следващо защитаване на фенола с MEM група.

При методи 2 и 3, защитаването на Е-пръстенния фенол се задържа докато етапите на диазотиране и естерификация позволяват фенолът да защитен в един етап, а не в три етапа, както е при метод 1.

При методи 1, 2 и 3, при директното естерифициране на първичния алкохол с цистеиново производно се елиминират непродуктивните етапи на защитаване/премахване на защитата на първичния алкохол със силилова група (методи 4 и 5), при което последователността се скъсява с два етапа.

При метод 6 се отнася само до последните етапи от междинно съединение 161, което лесно може да бъде получено от междинно съединение 21.

При методи 4 и 5, полученият при началния етап на диазотиране първичен алкохол се защитава със силиций, за да се осигури селективна защита на Е-пръстенния фенол и да се избегне получаването на междинно съединение 25. Следвайки модификацията на А-пръстена (премахване на защитата/окисление), силициевата група се отделя и първичният алкохол се естерифицира с цистеиновото производно.

Тези промени представляват директно следствие на проблемите от метода, даден в WO 2000/069862. В резултат на тези промени, общият метод 2 е с три етапа по-кратък и потенциално по-подходящ и/или по-евтин за рутинно производство.

Описание на метода

От гледна точка на методи от 1 до 6, настоящото изобретение се отнася до метод за по-

лучаване на ектеинасцидинов продукт със спироамин-1, 4-мост, като методът включва получаване на 1, 4-мост, при използване на 1-лабилно, 10-хидрокси, 18-защитен хидрокси, ди-6, 8-ен-5-он кондензирано съединение, където защитата при С-18 се отстранява преди въвеждане на спироамина.

В един аспект на метода, ектеинасцидиновият продукт притежава 21-хидроксилна група и методът включва превръщане на 21-цианогрупата в 21-хидроксилна група.

Обикновено спироаминът е спирохинолин, особено спирохинолин на ектеинасцидин 743.

При предпочитания метод, 18-защитената група на 1-лабилно, 10-хидрокси, 18-защитен хидрокси, ди-6, 8-ен-5-он кондензираното пръстенно съединение е защитена с MOM (метокси-метил), или MEM (метоксиетоксиметил).

Подходящо е, 1-лабилната група да е N-защитена цистеинилоксиметиленова група с формула $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{H}$.

В тази формула Prot^1 обикновено е Вос (t-бутилоксикарбонил), Трос (2, 2, 2-трихлоретил-оксикарбонил), Сbz (бензилоксикарбонил), или Alloc (алилоксикарбонил).

В някои аспекти на метода, Prot^1 се отстранява в етапа на С-18 защитаването.

1-Лабилната група може да бъде получена от 1-заместител с формула: $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Prot}^2$.

В тази формула Prot^2 обикновено е Fm (9-флуоренилметил).

1-Заместител с формула: $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Prot}^2$ може да бъде получен при естерифициране на $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$ заместител.

Естерифицирането може да бъде проведено преди или след получаване на 10-хидрокси, ди-6, 8-ен-5-он структурата.

В един аспект на настоящото изобретение, при метода се изхожда от 1-аминометилен, 5-защитен хидрокси, 7, 8-диоксиметилен, 18-хидрокси, 21-циано кондензирано пръстенно съединение.

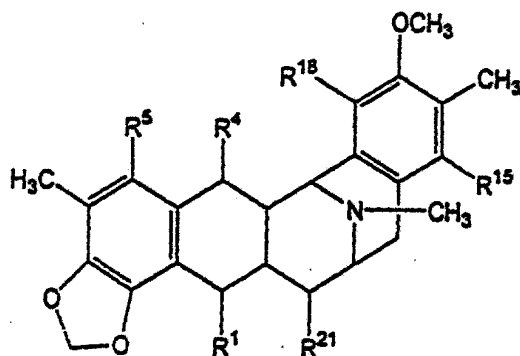
1-Аминометиленовата група може временно да бъде защитена, за да се осигури защита на 18-хидроксилната група и временно да се отстрани защитата.

Или пък, С-18 хидроксилната група може да бъде защитена след получаването на 1-естер-

ната функционалност.

В друг аспект на настоящото изобретение, 1-аминометиленовата група се превръща в 1-хидроксиметиленовата група и 1-хидроксиметиленовата група временно може да бъде защитена, за да се осигури защита на 18-хидроксилната група и временно да се отстрани защитата.

Подходящо е, кондензираната пръстенна структура да има формула:



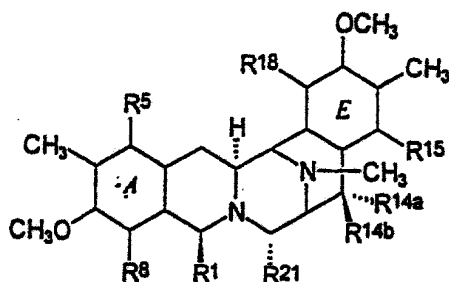
особено, когато R¹⁵ е водород. Един или повече или всички останали заместители могат да бъдат като в ектеинасцидин 743.

Полусинтез

Настоящото изобретение позволява използването в полусинтетичния метод на известно съединение, сафрацин В, означено също като хинонамин.

По-общо, настоящото изобретение се отнася до полусинтетичен метод за получаване на междинни съединения, производни и свързани структури на ектеинасцидин или други тетрахидроизохинолинфенолови съединения, като се изхожда от природни бис(тетрахидроизохинолин) алкалоиди. Подходящите предпочитани изходни вещества за полусинтетичния метод включват класове сафрамицин и сафрацинови антибиотици, получени от различни културни среди, а също и класове реинерамицин и ксестомицинови съединения, получени от морски гъби.

Общата формула (XV) за изходните съединения е следната:



в която:

R¹ е амидометиленова група като -CH₂-NH-CO-CR^{25a}R^{25b}R^{25c}, където R^{25a} и R^{25b} формират кетогрупа или единият е хидроксилна група, аминокгрупа или -OCOCH₃, а другият е -CH₂COCH₃, водород, хидроксилна група или -OCOCH₃, при условие, че, когато R^{25a} е хидроксилна група или аминокгрупа, R^{25b} не е хидроксилна група, и R^{25c} е водород, метил или етил, или R¹ е ацилоксиметиленова група като -CH₂OCOR, където R е -C(CH₃)=CH-CH₃ или -CH₃;

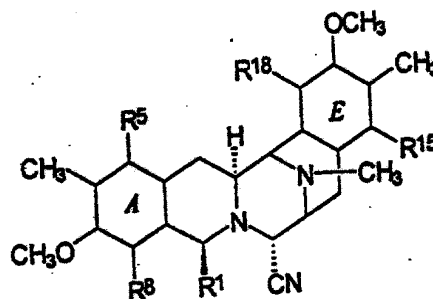
R⁵ и R⁸ независимо един от друг са подбрани между водород, хидроксилна група или -OCOCH₂OH, или и двата R⁵ и R⁸ са кето, а пръстенът А е р-бензохинонов пръстен;

и двата R^{14a} и R^{14b} са водород или единият е водород, а другият е хидроксилна група, -OCH₃ или -OCH₂CH₃ или и двата R^{14a} и R^{14b} заедно формират кетогрупа;

R¹⁵ и R¹⁸ независимо един от друг са подбрани между водород или хидроксилна група, или и двата R⁵ и R⁸ са кето, а пръстенът А е р-бензохинонов пръстен; и

R²¹ е хидроксилна група или циано.

По-обща формула за този клас съединения е дадена по-долу:



в която всяка от заместителните групи, дефинирани с R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀ е независимо подбрана от групата, състояща се от водород, хидроксилна група, OCH₃, циано, =O, метил;

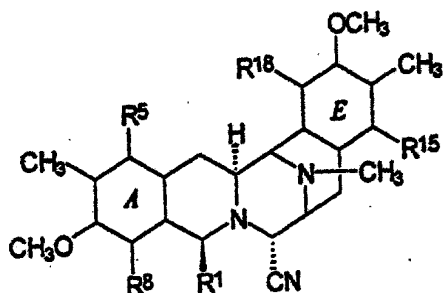
в която X е амидна или естерна функционалност, съдържаща в споменатите природни продукти;

в която всяко пунктирано кръгче представлява една, две или три възможни двойни връзки.

Следователно, настоящото изобретение се отнася до полусинтетични методи за получава-

не на междинни съединения, включващи междинно съединение 11 и, оттук, до получаване на ектеинасцидинови съединения, както и на фталасцидин и други съединения. Полусинтетичните методи, съгласно настоящото изобретение, включват редица етапи на трансформиране, за да се стигне до желанния продукт. Всеки етап сам по себе си е метод, съгласно настоящото изобретение. Настоящото изобретение не се ограничава от дадените за пример методи, а алтернативните методи могат да се осъществяват, например, чрез промяна на реда на етапите на трансформиране, ако е подходящо или чрез промяна на използваните защитаващи групи.

В частност, настоящото изобретение включва 21-циано изходно вещество с обща формула (XVI):



в която R^1 , R^5 , R^8 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} и R^{18} са, както са дефинирани по-горе.

И други съединения с формула (XVI) с различни заместители на 21-ва позиция също могат да представляват възможни изходни вещества. Най-общо, всяко производно, способно да бъде получено чрез нуклеофилно заместване на 21-хидроксилна група на съединенията с формула (XV), в която R^{21} е хидроксилна група, може да бъде използвано. Примерите за подходящи 21-заместители включват, но без да е ограничение: меркаптогрупа;

алкилтиогрупа (алкиловата група притежава от 1 до 6 въглеродни атома);

арилтиогрупа (ариловата група притежава от 6 до 10 въглеродни атома и е незаместена или заместена с от 1 до 5 заместителя, избрани от, например, алкилова група, притежаваща от 1 до 8 въглеродни атома, алкоксигрупа, притежаваща от 1 до 6 въглеродни атома, халогенни атоми, меркаптогрупи и нитрогрупи);

аминогрупа;

моно- или диалкиламиногрупа (всяка ал-

килова група притежава от 1 до 6 въглеродни атома);

моно- или диариламиногрупа (всяка арилова група е, както е дефинирана по-горе във връзка с арилтиогрупите);

алфа-карбонилалкилова група с формула $-C(R^a)(R^b)-C(=O)R^c$, в която R^a и R^b са избрани между водородни атоми, алкилови групи, притежаващи от 1 до 20 въглеродни атома, арилови групи (дефинирани по-горе във връзка с арилтиогрупите) и аралкилови групи (в които алкилова група, притежаваща от 1 до 4 атома е заместена с арилова група, както е дефинирана по-горе във връзка с арилтиогрупите) при условие, че единият от R^a и R^b е водороден атом;

R^c е избран водороден атом, алкилова група, притежаваща от 1 до 20 въглеродни атома, арилова група (дефинирана по-горе във връзка с арилтиогрупите), аралкилова група (в която алкилова група, притежаваща от 1 до 4 въглеродни атома е заместена с арилова група, както е дефинирана по-горе във връзка с арилтиогрупите), алкоксигрупа, притежаваща от 1 до 6 въглеродни атома, аминагрупа или моно- или диалкиламиногрупа, както е дефинирана по-горе.

Следователно, в по-общ аспект, настоящото изобретение се отнася до методи, при които в първия етап се формира 21-производно при използване на нуклеофилен реагент. Такива съединения наричаме 21-Nuc съединения.

Наличие на 21-цианогрупа се изисква за някои от крайните продукти, особено ектеинасцидин 770 и фталасцидин, докато за други крайни продукти тя действа като защитаваща група, която лесно се превръща в друг заместител, като 21-хидроксилната група на ектеинасцидин 743 или на 21-хидроксифталасцидин. Приемането на 21-цианосъединението като изходно съединение ефективно стабилизира молекулата през време на етапите на синтеза, докато е възможно да бъде отстранено. Това и други предимства предлагат и други 21-Nuc съединения.

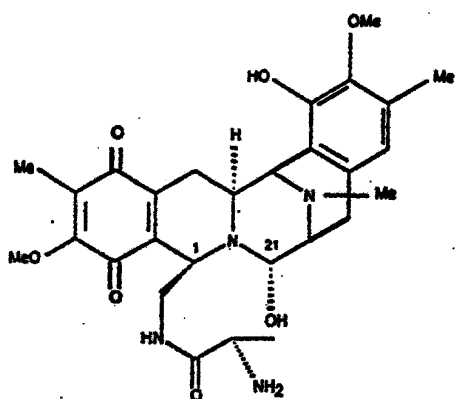
В един предпочитан аспект, настоящото изобретение се отнася до приложение на 21-цианосъединение с обща формула (XVI) при получаването на бис- и трис-(тетрахидроизохинолинфенолови) съединения. Съединенията, които могат да бъдат получени включват междинни съединения, като междинно съединение 11 и ектеинасцидини и фталасцидин, както и нови и съ-

единения с подобна структура.

Предпочитаните изходни съединения включват тези съединения с формула (XV) или (XVI), в която и двата R^{14a} и R^{14b} са водород. Предпочитаните изходни съединения включват и съединения с формула (XV) или (XVI), в която R¹⁵ е водород. Още повече, предпочитаните изходни съединения включват съединения с формула (XV) или (XVI), в която пръстен E е фенолов пръстен. Предпочитаните изходни съединения включват и съединения с формула (XV) или (XVI), в която поне един от, за предпочитане, поне два или три от R⁵, R⁸, R¹⁵ и R¹⁸ не са водород.

Примерите за подходящи изходни съединения, съгласно настоящото изобретение, включват сафрамицин А, сафрамицин В, сафрамицин С, сафрамицин G, сафрамицин H, сафрамицин S, сафрамицин Y₃, сафрамицин Yd₁, сафрамицин Ad₁, сафрамицин Yd₂, сафрамицин AN₂, сафрамицин AN₂Ac, сафрамицин AN₁, сафрамицин AN₁Ac, сафрамицин AR₃, рениерамицин А, рениерамицин В, рениерамицин С, рениерамицин D, рениерамицин E, рениерамицин F, ксестомицин, сафрамицин D, сафрамицин F, сафрамицин Mx-1, сафрамицин Mx-2, сафрацин А, сафрацин В и сафрамицин R. Предпочитаните изходни съединения имат цианогрупа в позиция 2, за групата R²¹.

В особено предпочитан аспект, настоящото изобретение се отнася до полусинтетичен метод, при който етапите на трансформация се прилагат за сафрацин В:



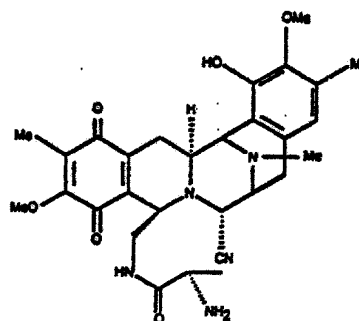
SAFRACIN B

Сафрацин В притежава пръстенна система, близка до тази на ектеинасцидините. Това съединение притежава същата пентациклична структура

ра и същата схема на заместване в десния ароматен пръстен, пръстен E. Следователно, сафрацин В проявява близко сходство с някои от синтетичните междинни съединения в общата синтеза на ET-743, в частност, с междинните съединения 11 или 21. Това междинно съединение може да бъде трансформирано в Et-743 при използване на добре установен метод. Синтетичното превръщане на сафрацин В в междинните съединения 11 или 21 представлява полусинтетичен метод за получаване на ET-743.

Следователно, ние предлагаме междинните съединения 11 или 21, получени от това съединение сафрацин В и съединения, получени от междинно съединение 11 или 21, в частност, ектеинасцидинови съединения. Ние предлагаме също и фталасцидин, получен от сафрацин В. Настоящото изобретение се отнася и до приложение на сафрацин В при получаване на междинни съединения 11 или 21, ектеинасцидинови съединения и други междинни съединения, съгласно настоящото изобретение. Настоящото изобретение се отнася и до съединения, получени от другите изходни съединения и до приложение на тези съединения при получаването на съединенията.

По-предпочитаните изходни съединения, съгласно настоящото изобретение, имат 21-цианогрупа. Най-предпочитаното съединение, съгласно настоящото изобретение, е съединението с Формула 2. Това съединение се получава директно от сафрацин В и се счита за ключово междинно съединение в полусинтетичния метод.



Съединение 2

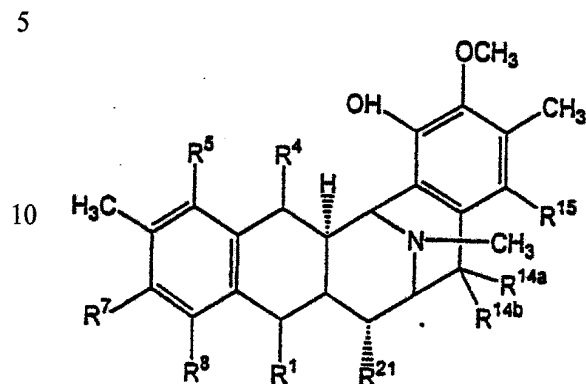
В свързан аспект, цианосафрацин В се получава при ферментация на сафрацин В, от щам *Pseudomonas fluorescens*, в културна среда

при използване на цианиден йон. Предпочитаният щам на *Pseudomonas fluorescens* е щам A2-2, PERM BP-14, който се прилага при метода, съгласно EP-A-055 299. Подходящ източник на цианиден йон е калиевият цианид. Най-общо, културната среда се филтрува и се прибавя излишък от цианиден йон. След подходящ период на разбъркване, например, 1 h, рН се установява алкално, например, рН 9.5, и при органична екстракция се получава суров екстракт, който след това може да бъде пречистен до получаване на цианосафрацин В.

За да се избегнат съмнения, показаната в настоящото изобретение стереохимия се базира на схващането за коректната стереохимия на природните продукти. Ако се открие грешка в обозначената стереохимия, трябва да се направи подходяща корекция в дадените в настоящото изобретение формули. Още повече, тъй като синте-

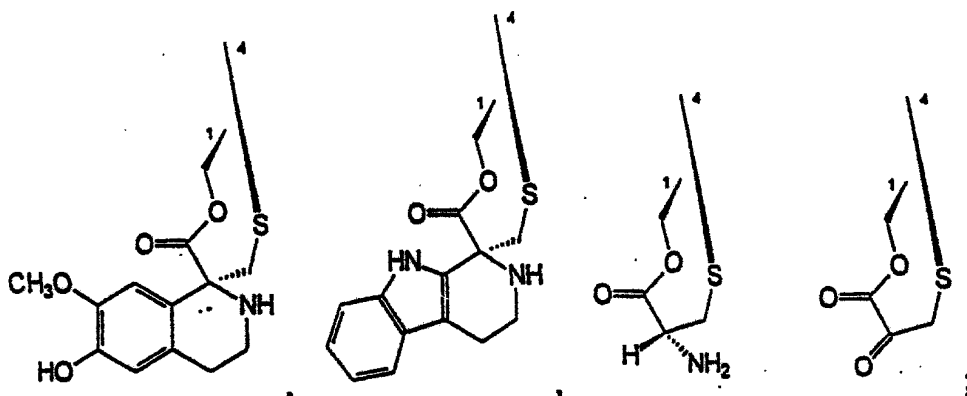
зите могат да бъдат модифицирани, настоящото изобретение се отнася и до стереоизомери.

Съединенията, съгласно настоящото изобретение обикновено имат формула (XVIIb):



в която

R^1 и R^4 заедно формират група с формула (IV), (V), (VI) или (VII);



R^5 е водород или хидроксилна група;
 R^7 и R^8 заедно образуват групата $-O-CH_2-$
O-;

и двата R^{14a} и R^{14b} са водород или единият е водород, а другият е хидроксилна група, $-OCH_3$ или $-OCH_2CH_3$ или и двата R^{14a} и R^{14b} заедно формират кетогрупа;

и R^{15} е водород или хидроксилна група;
 R^{21} е водород, хидроксилна група или циано;

и техни производни, включващи техни ацилови производни, по-специално, в които R^5 е ацетилокси или друга ацилоксигрупа, съдържаща до 4 въглеродни атома.

Във формула (XVIIb) обикновено R^1 и R^4 заедно формират група с формула (IV) или (V). Групата R^{18} обикновено е защитена. Обикновено R^{21} е циано.

Предпочита се, R^{14a} и R^{14b} да са водород.

Предпочита се, R^{15} да е водород. Подходящо е, O-ациловите производни да бъдат алифатни O-ацилови производни, особено ацилови производни с от 1 до 4 въглеродни атома, и O-ацетилова група, особено на 5-та позиция.

Подходящите защитавщи групи за феноли и хидроксилни групи включват етери и естери, като алкил, алкоксиалкил, арилоксиалкил, алкоксиалкоксиалкил, алкилсилилалкоксиалкил, алкилтиоалкил, арилтиоалкил, азиоалкил, цианоалкил, хлоралкил, хетероцикъл, ариацил, халоарилацил, циклоалкилалкил, алкенил, циклоалкил, алкиларилалкил, алкоксиарилалкил, нитроарилалкил, халоарилалкил, алкиламинокарбониларилалкил, алкил-сулфиниларилалкил, алкилсилил и други етери и ариацил, арилалкилкарбонат, алифатен карбонат, алкилсулфиниларилалкилкарбонат, алкилкарбонат, арилхалоалкилкарбонат, арилалкенилкар-

бонат, арилкарбамат, алкилфосфинил, алкилфосфинотиоил, арилфосфинотиоил, арилалкилсулфонат и други естери. Тези групи е възможно да бъдат заместени със споменатите по-горе групи в R¹.

Подходящите защитаващи групи за амини включват карбамати, амиди и други защитаващи групи като алкил, арилалкил, сулфо- или халоарилалкил, халоалкил, алкилсилилалкил, арилалкил, циклоалкилалкил, алкиларилалкил, хетероциклилалкил, нитроарилалкил, ациламиноалкил, нитроарилдитиоарилалкил, дициклоалкилкарбоксамидоалкил, циклоалкил, алкенил, арилалкенил, нитроарилалкенил, хетероциклилалкенил, хетероциклил, хидроксихетероциклил,

алкилдитио, алкокси- или хало- или алкилсулфиниларилалкил, хетероциклилацил и други карбамати и алканоил, халоалканоил, арилалканоил, алкеноил, хетероциклилацил, ароил, арилароил, халоароил, нитроароил и други амиди, както и алкил, алкенил, алкилсилилалкоксиалкил, алкоксиалкил, цианоалкил, хетероциклил, алкоксиарилалкил, циклоалкил, нитроалкил, арилалкил, алкокси- или хидроксиарилалкил и много други групи. Тези групи е възможно да бъдат заместени със споменатите по-горе групи в R¹.

Примерите за такива защитаващи групи са дадени в списъка по-долу.

Защита за хидроксилна група

Етери	Съкращение
метил	
метоксиметил	MOM
бензилоксиметил	BOM
метоксиетоксиметил	MEM
2-(триметилсилил)етоксиметил	SEM
метилтиометил	MTM
фенилтиометил	PTM
азидометил	
цианометил	
2,2-дихлор-1,1-дифлуоретил	
2-хлоретил	
2-брометил	
тетраhydroпиранил	THP
1-етоксиетил	EE
фенацил	
4-бромфенацил	
циклопропилметил	
алил	
пропаргил	
изопропил	
циклохексил	
t-бутил	
бензил	
2,6-диметилбензил	
4-метоксибензил	MPM или PMB
o-нитробензил	
2,6-дихлорбензил	
3,4-дихлорбензил	
4-(диметиламино)карбонилбензил	
4-метилсулфинилбензил	Msib
9-антрилметил	
4-пиколил	
хептафлуор-p-толил	
тетрафлуор-4-пиридил	
триметилсилил	TMS
t-бутилдиметилсилил	TBDMS
t-бутилдифенилсилил	TBDPS
триизопропилсилил	TIPS

Естери

арилформиат	
арилацетат	
ариллевулинат	
арилпивалоат	ArOPv
арилбензоат	
арил-9-флуоркарбоксилат	
арилметилкарбонат	
1-адамантилкарбонат	
t-бутилкарбонат	BOC-Oar
4-метилсулфинилбензилкарбонат	Msx-Oar
2,4-диметилпент-3-илкарбонат	Doc-Oar
арил-2,2,2-трихлоретилкарбонат	
арилвинилкарбонат	
арилбензилкарбонат	
арилкарбамат	
диметилфосфинил	Dmp-Oar
диметилфосфинотиоил	Mpt-Oar
дифенилфосфинотиоил	Dpt-Oar
арилметансулфонат	
арилтолуенсулфонат	
арил-2-формилбензенсулфонат	

Защита за аминогрупа

Карбамати	Съкращение
метил	
етил	
9-флуоренилметил	Fmoc
9-(2-сулфо)флуоренилметил	
9-(2,7-дибром)флуоренилметил	
17-тетрабензо[a,c,g,l]флуоренилметил	Tbifmoc
2-хлор-3-инденилметил	
бенз[f]инден-3-илметил	Bimoc
2,7-ди-t-бутил[9-(10,10-диоксо-10,10,10-тетрахидротиоксантил)]метил	DBD-Tmoc
2,2,2-трихлоретил	Troc
2-триметилсилилетил	Teoc

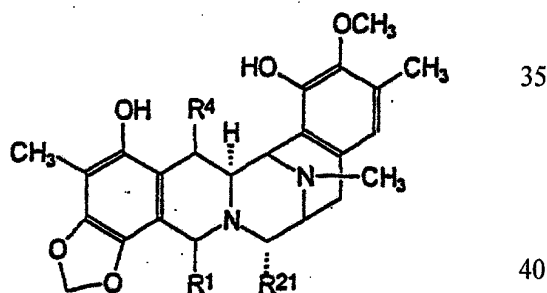
2-фенилетил	hZ
1-(1-адамантил)-1-метилетил	Adpoc
2-хлоретил	
1,1-диметил-2-хлоретил	
1,1-диметил-2-брометил	
1,1-диметил-2,2-диброметил	DB-t-BOC
1,1-диметил-2,2,2-трихлоретил	TCBOC
1-метил-1-(4-бифенил)етил	Bpoc
1-(3,5-ди- <i>t</i> -бутилфенил)-1,1-метилетил	t-Burmeoc
2-(2' и 4'-пиридил)етил	Pyoc
2,2-бис(4'-нитрофенил)етил	Bnpoc
<i>n</i> -(2-пивалоиламино)-1,1-диметилетил	
2-[(2-нитрофенил)дитио]-1-фенилетил	NpSSPеoc
2-(<i>n,n</i> -дициклогексилкарбоксамидо)етил	
<i>t</i> -бутил	BOC
1-адамантил	1-Adoc
2-адамантил	2-Adoc
винил	Voc
алил	Aloc или Alloc
1-изопропилалил	Ipaoc
синамил	Coc
4-нитросинамил	Noc
3-(3'-пиридил)проп-2-енил	Paloc
8-хинолил	
<i>n</i> -гидроксипиперидинил	
алкилдитио	
бензил	Cbz или Z
<i>p</i> -метоксибензил	Moz
<i>p</i> -нитробензил	PNZ
<i>p</i> -бромбензил	
<i>p</i> -хлорбензил	
2,4-дихлорбензил	
4-метилсульфинилбензил	MsZ
9-антрилметил	
дифенилметил	
фенотиазинил-(10)-карбонил	
<i>n</i> '- <i>p</i> -толуенсульфониламинокарбонил	
<i>n</i> '-фениламинотиокарбонил	

Амиди

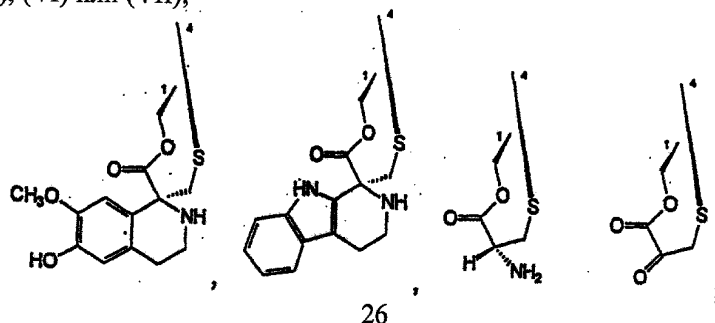
формаид	
ацетаид	
хлорацетаид	
трифлуорацетаид	TFA
фенилацетаид	
3-фенилпропанаид	
пент-4-енаид	
пиколинаид	
3-пиридилкарбоксаид	
бензаид	
p-фенилбензаид	
p-фталиид	
p-тетрахлорфталиид	TCP
4-нитро-p-фталиид	
p-дитиасукциниид	Dts
p-2,3-дифенилмалеиид	
p-2,5-диметилпирол	
p-2,5-бис(диизопропилсилоксил)пирол	BIPSOP
p-1,1,4,4-тетраметилдисиблиазациклопентан	STABASE
1,1,3,3-тетраметил-1,3-дисиблиаизоиндолин	BSB
Специални -NH защитени групи	
p-метиламин	
p-t-бутиламин	
p-алиламин	
p-[2-триметилсилил)етокси]метиламин	SEM
p-3-ацетоксипропиламин	
p-цианометиламин	
p-(1-изопропил-4-нитро-2-окси-3-пироли-3-ил)амин	
p-2,4-диметоксибензиламин	Dmb
2-азанорборнени	
p-2,4-динитрофениламин	
p-бензиламин	Bn
p-4-метоксибензиламин	MPM
p-2,4-диметоксибензиламин	DMPM
p-2-хидроксибензиламин	Hbn
p-(дифенилметил)амино	DPM

п-бис(4-метоксифенил)метиламин	
п-5-добензосубериламин	DBS
п-трифенилметиламин	Tr
п-[(4-метоксифенил)дифенилметил]амино	MMTr
п-9-фенилфурениламин	Pf
п-фероценилметиламин	Fcm
п-2-пиколиламин-п'-оксид	
п-1,1-диметилтиометиленамин	
п-бенилиденамин	
п-р-метоксибензилиденамин	
п-дифенилметиленамин	
п-(5,5-диметил-3-оксо-1-циклохексенил)амин	
п-нитроамин	
п-нитрозамин	
дифенилфосфинамид	Dpp
диметилтиофосфинамид	Mpt
дифенилтиофосфинамид	Ppt
добензилфосфорамидат	
2-нитробензенсулфенамид	Nps
п-1-(2,2,2-трифлуор-1,1-дифенил)етилсулфенамид	TDE
3-нитро-2-пиридинсулфенамид	Npys
р-толуенсулфенамид	Ts
бензенсулфенамид	

Отделни ектеинасцидинови съединения, съгласно настоящото изобретение, включват съединения с формула (XVIII):



в която R¹ и R⁴ заедно формират група с формула (IV), (V), (VI) или (VII);



по-специално, група (IV) или (V);

R^{21} е водород, хидроксилна група или циано, по-специално, хидроксилна група или циано;

и техни ацилови производни, по-специално, 5-ацилови производни, включващи 5-ацетиловото производно.

Най-общо, превръщането на 21-циано изходното съединение в ектеинасцидиново съединение с, например, формула (XVIII), включва:

а) конверсия, ако е необходима, на хионовата система за пръстен E до фенолна система;

б) конверсия, ако е необходима, на хионовата система за пръстен A до фенолна система;

в) конверсия на фенолната система за пръстен A в метилendioксифенолов пръстен; и

г) получаване на мостова спиропръстенна система с формула (IV), (VI) или (VII) през първа и четвърта позиция в пръстен B; и

д) дериватизация, ако е необходима, като ацилиране.

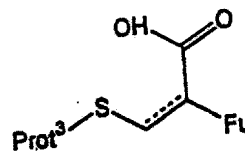
Етап (а), конверсия, ако е необходима, на хионовата система за пръстен E до фенолна система, може да бъде проведен като конвенционален редукиционен метод. Подходяща реакционна способна система е водород с паладиево-въглероден катализатор, въпреки че могат да бъдат използвани и други редукиционни системи.

Етап (б), конверсия, ако е необходима, на хионовата система за пръстен A до фенолна система, е аналогичен на етап (а) и не са необходими повече подробности.

Етап (в), конверсия на фенолната система за пръстен A в метилendioксифенолов пръстен, може да бъде осъществен по различни начини, по възможност, заедно с етап (б). Например, хионовият пръстен A може да се деметилира в метоксизаместител в 7-ма позиция и да се редуцира до дихидрохинон и да се обработи с подходящ електрофилен реактив, като дибромметан, хлорбромметан или подобен бивалентен реактив, при което директно се получава метилendioксипръстенна система, или с бивалентен реактив, като тиокарбонилдиимидазол, при което се получава заместена метилendioксипръстенна система, която може да бъде превърната в желаната пръстен.

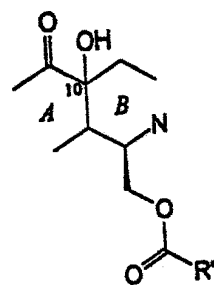
Етап (г) обикновено се осъществява чрез подходящо заместване в позиция 1 с мостов реактив, който може да подпомогне формиране-

то на желания мост, образувайки ексендохинон-метид на позиция 4, което позволява метидът да взаимодейства с 1-заместителя за формиране на мостовата структура. Предпочитаните мостови реактиви са с формула (XIX)

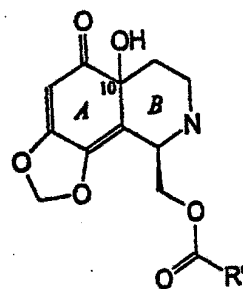


в която Fu означава защитена функционална група, като групите $-NHProt^{4a}$ или $OProt^{4b}$, $Prot^3$ е защитаваща група, а пунктираната линия показва възможна двойна връзка.

Подходящо е метидът да се получава като най-напред се въвежда хидроксилна група на позиция 10 при свързването на пръстени A и B до получаване на частична структура с формула (XX):



или, повече се предпочита частична структура с формула (XXI):



в която групата R'' е подбрана за желаната група с формула (IV), (V), (VI) или (VII). За първите две такива групи, групата R'' обикновено е $-CHF_u-CH_2-SProt^3$. След това защитаващите групи могат да бъдат отстранени и подходящо модифицирани до получаване на желаното съединение.

Методът, съгласно етап (г) е описан в US 5, 721, 362, даден за сравнение. Частично сравнение е направено с пасажа в колона 8, етап (I) и Пример 33 на US и съответните пасажи.

Дериватизацията, съгласно етап (д) може да включва ацилиране, например с групата R^a-CO-, където R^a може да представлява различни групи, като алкил, алкокси, алкилен, арилалкил, арилалкилен, ацил на аминокиселина или хетероциклил, всички възможно заместени с хало, циано, нитро, карбоксиалкил, алкокси, арил, арилокси, хетероциклил, хетероциклилоксиди, алкил, amino или заместен amino. Други ацилиращи агенти са изотиоцианати като арилизоцианати, особено фенилизоцианат. Алкил, алкокси или алкиленовите групи на R^a е подходящо да притежават от 1 до 6 или 12 въглеродни атома и могат да бъдат линейни, разклонени или циклични. Ариловите групи обикновено са фенил, бифенил или нафтил. Хетероцикличните групи могат да бъдат ароматни или частично или напълно ненаситени и е подходящо да притежават от 4 до 8 пръстенни атома, за предпочитане, 5 или 6 пръстенни атома, с един или повече хетероатома, избрани между азот, сяра и кислород.

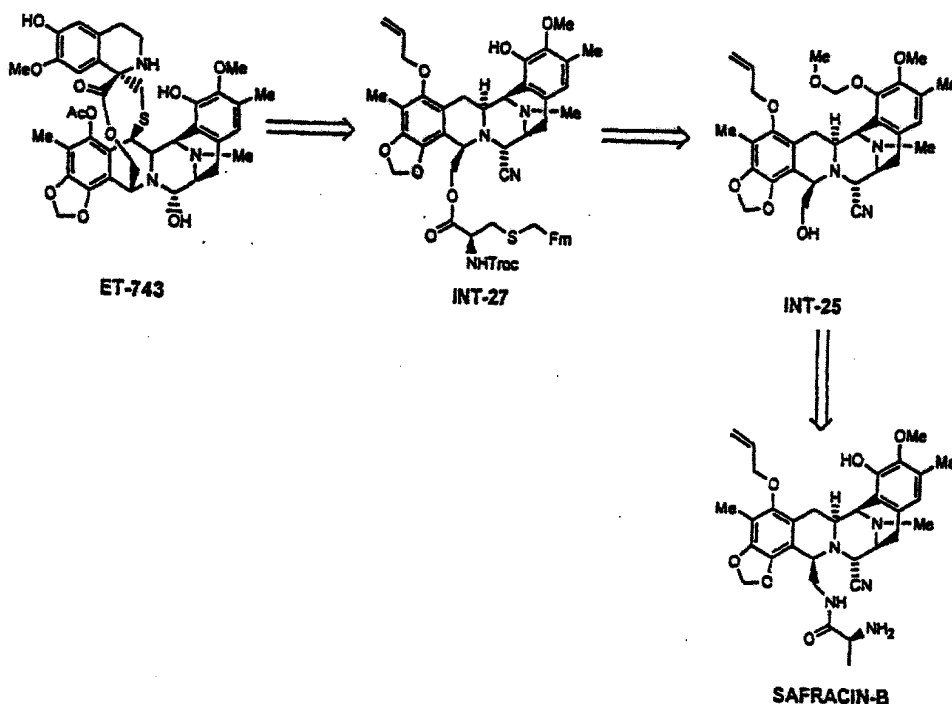
Без да е изчерпателно, обикновено групите R^a включват алкия, халоалкил, алкоксиалкил, халоалкоксиалкил, арилалкилен, халоалкиларилалкилен, ацил, халоацил, арилалкил, алкенил и аминокиселина. Например R^a-CO- може да бъде ацетил, трифлуорацетил, 2, 2, 2-трихлоретоксикарбонил, изовалерилкарбонил, транс-3-

(трифлуорметил)синамоилкарбонил, хептафлуорбутирилкарбонил, деканоилкарбонил, транс-синамоилкарбонил, бутирилкарбонил, 3-хлорпропионилкарбонил, синамоилкарбонил, 4-метил-синамоилкарбонил, хидросинамоилкарбонил или транс-хексеноилкарбонил, или аланил, аргинил, аспартил, аспарагил, цистил, глутамил, глутаминил, глицил, хистидил, хидроксипропил, изолеуцил, леуцил, лизил, метионил, фенилаланил, пролил, серил, треонил, тиронил, триптофил, тирозил, валил, както и други по-необичайни ацилови групи на аминокиселини, както и фталимида или други циклични амиди. Други примери могат да се намерят в списъка на защитаващите групи. Съединенията, в които R^a-CO- се получава от аминокиселина и включва аминогрупа, могат сами да образуват ацилови производни. Подходящите N-ацили включват дипептиди, които могат да формират N-ацилови производни.

За илюстрация, осъществимо е превръщането на цианосафрацин В с формула 2 в ЕТ-743, при което се постига по-кратък и по-правилнолинеен метод за получаване на ЕТ-743 от преди описаните методи.

Ретросинтетичният анализ за получаване на ЕТ-743 при използване на съединение 29 е показан на Схема I.

Схема I



Следвайки Схема I, ET-743 може да се получи при 21 линейни етапа. При този метод се трансформира цианосафрацин В в междинно съединение 25 посредством редица взаимодействия, които включват главно (1) отделяне на метоксигрупа от пръстен А, (2) редуциране на пръстен А и получаване на метилендиоксигрупа в един съд, (3) хидролиза на amidната функционалност при въглерод 1, (4) превръщане на получената аминогрупа в хидроксилна група. Още повече, при този метод се избягва защитаване и премахване на защитата на първичната алкохолна функционалност в позиция 1 в пръстен В на съединение 25 при директно използване на цистеинов остатък 29 до получаване на междинно съединение 27. Цистеиновото производно 29 е защитено при аминогрупата с бета, бета, бета-трихлоретоксикарбонилна защитаваща група, за да има съвместимост със съществуващите алилови и MOM групи. Междинното съединение 27 директно се окислява и циклизира. Тези обстоятелства, заедно с различна стратегия за премахване на защитата в по-късните етапи на синтеза, правят метода нов и по-приемлив за индустриално развитие от метода, съгласно US 5, 721, 362.

Превръщането на 2-циановото съединение в междинно съединение 25 обикновено включва следните етапи (виж Схема II):

формиране на защитено съединение с формула 14 при взаимодействие на 2 с tert-бутоксикарбониланхидрид;

превръщане на 14 в дизащитено съединение с формула 15 при взаимодействие с бромметилметилов етер и диизопропилетиламин в ацетонитрил;

селективно елиминирание на метоксигрупата на хионовата система в 15 до получаване на съединението с формула 16 при взаимодействие с метанолов разтвор на натриев хидроксид;

превръщане на 16 в метилендиокси съединение с формула 18 при използване на следната предпочитана последователност: (1) хионовата група на съединение 16 се редуцира с 10% палладий върху въглен в атмосфера на водород; (2) хидроксихионовото междинно съединение се

превръща в метилендиокси съединението с формула 17 при взаимодействие с бромхлорметан и цезиев карбонат в атмосфера на водород; (3) 17 се превръща в съединението с формула 18 чрез премахване на защитата на свободната хидроксилна група като OCH_2R група. Тази реакция се провежда с BrCH_2R и цезиев карбонат, където R може да бъде арил, $\text{CH}=\text{CH}_2$, OR' и т.н.;

елиминирание на tert-бутоксикарбонил- и метилоксиметил-защитаващите групи на 18 до получаване на съединението с формула 19 при взаимодействие с разтвор на хлороводород в диоксан. Тази реакция може да бъде осъществена и при смесване на 18 с разтвор на трифлуороцетна киселина в дихлорметан;

получаване на тиокарбамидното съединение с формула 20 при взаимодействие на 19 с фенилизотиоцианат;

превръщане на съединението с формула 20 в аминно съединение с формула 21 при взаимодействие с разтвор на хлороводород в диоксан;

превръщане на съединението с формула 21 в N-Трос производно 22 при взаимодействие с трихлоретилхлорформат и пиридин;

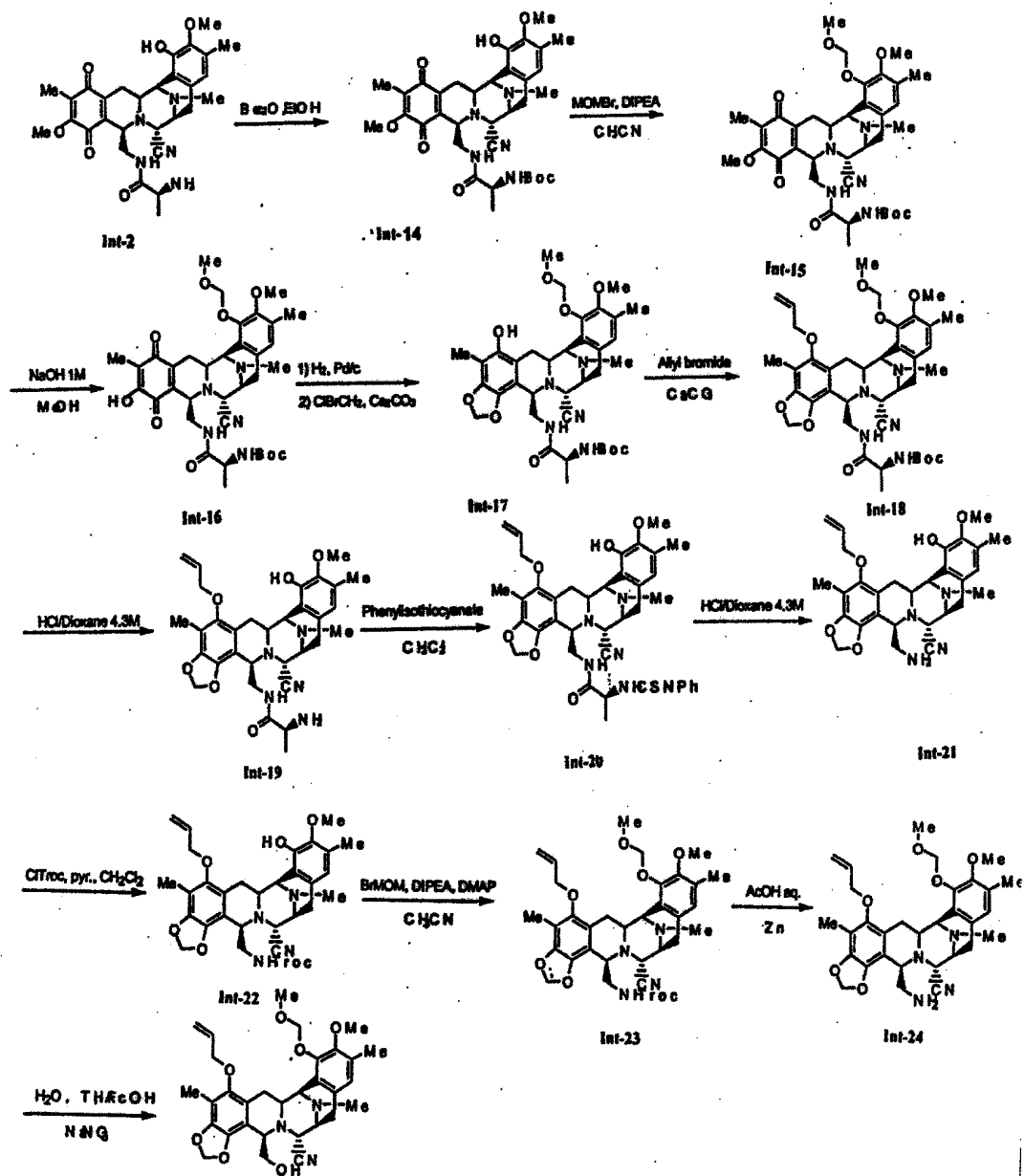
получаване на хидрокси-защитено съединение с формула 23 при взаимодействие на 22 с бромметилметилов етер и диизопропилетиламин;

превръщане на съединението с формула 23 в N-H производно 24 при взаимодействие с оцетна киселина и цинк;

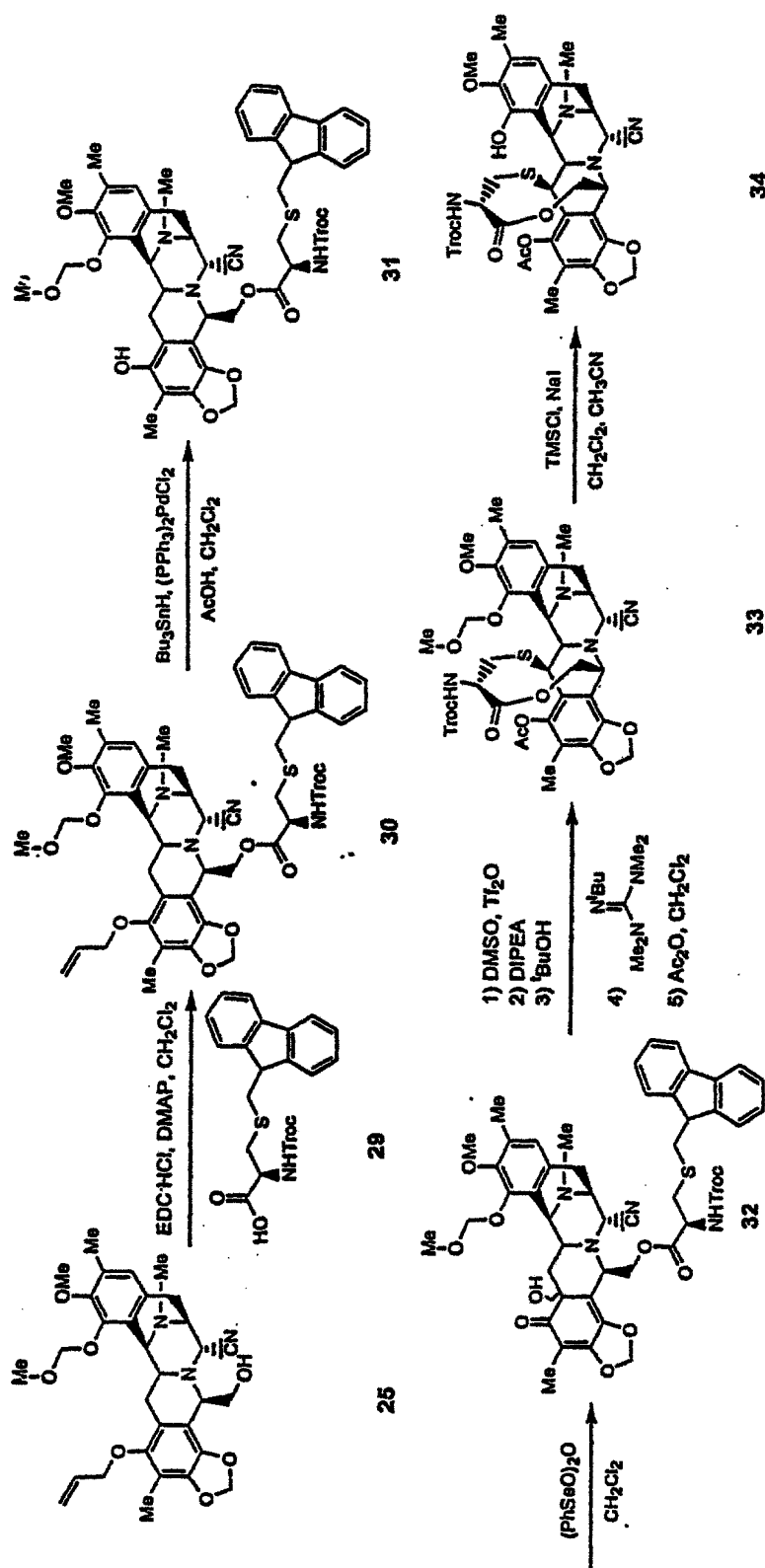
превръщане на съединението с формула 24 в хидроксилното съединение 25 при взаимодействие с натриев нитрит в оцетна киселина. Или пък, може да се използва азотен тетроксид в смес на оцетна киселина и ацетонитрил, последвано от третиране с натриев хидроксид. Също така, може да се използва натриев нитрит в смес на оцетен анхидрид и оцетна киселина, последвано от третиране с натриев хидроксид.

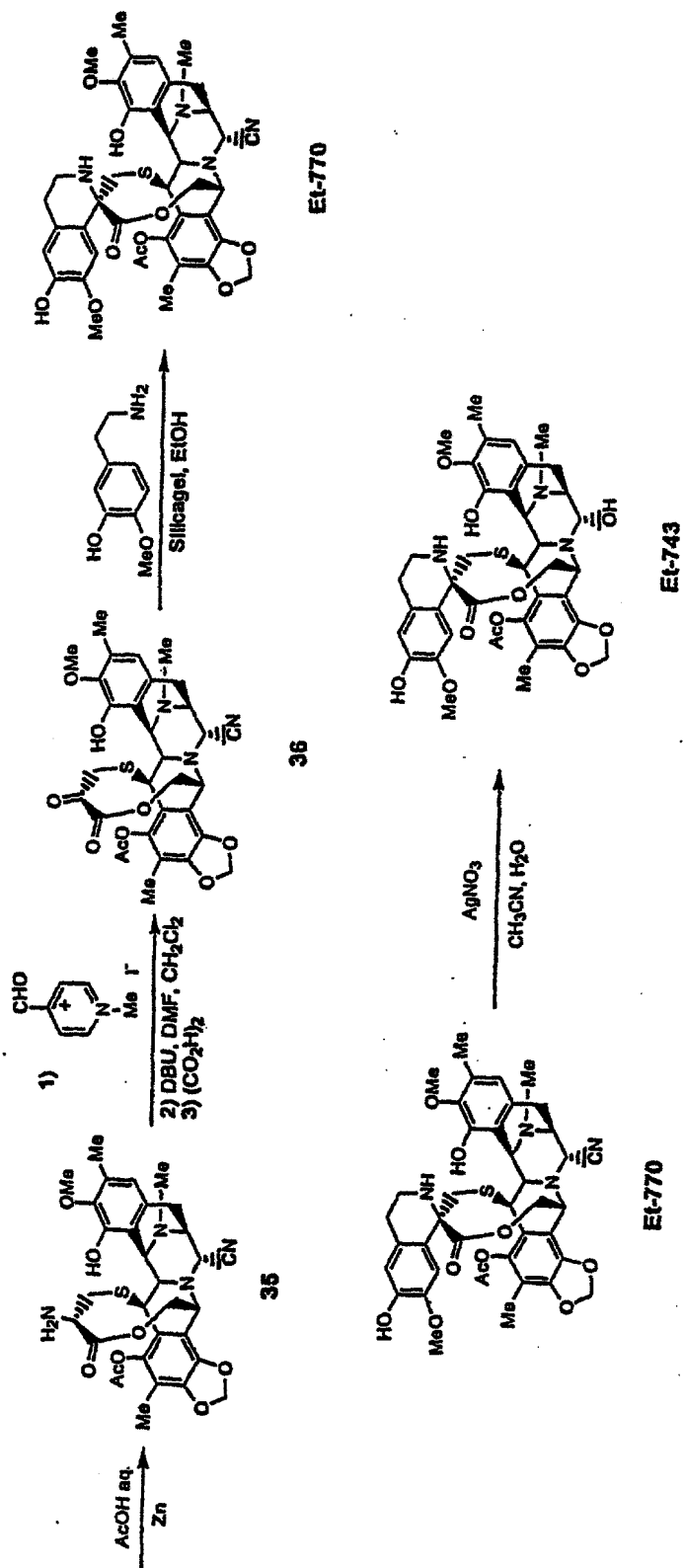
Превръщането на междинно съединение 25 в ET-743 при използване на цистеиново производно 29 обикновено включва следните етапи (виж Схема III):

Scheme II



Scheme III





трансформиране на съединението с формула 24 в производното 30 чрез защитаване на първичната хидроксилна функционалност с (S)-N-2, 2, 2-трихлоретоксикарбонил-S-(9H-флуорен-9-илметил)цистеин 29;

превръщане на защитеното съединение с формула 30 във фенолното производно 31 чрез разцепване на алиловата група с трибутилкалаен хидрид и дихлорпаладиев-бис(трифенилфосфин);

трансформиране на фенолното съединение с формула 31 в съединение с формула 32 чрез окисление с бензенселенов анхидрид при ниска температура;

трансформиране на хидроксилното съединение с формула 32 в лактон 33 при спазване на следната последователност: (1) взаимодействие на съединението с формула 32 с 2 ед трифлик анхидрид и 5 ед диметилсулфоксид, (2) последвано от взаимодействие с 8 ед диизопропилетил-амин, (3) последвано от взаимодействие с 4 ед t-бутилов алкохол, (4) последвано от взаимодействие със 7 ед 2-tert-бутил-1, 1, 3, 3-тетраметил-

гуанидин, (5) последвано от взаимодействие с 10 еквивалента оцетен анхидрид;

трансформиране на лактона 33 в хидроксилно съединение 34 чрез отделяне на MOM защитаващата група с TMSI;

отцепване на N-трихлоретоксикарбониловата група на съединението с формула 34 в съединение 35 при взаимодействие с цинк/оцетна киселина;

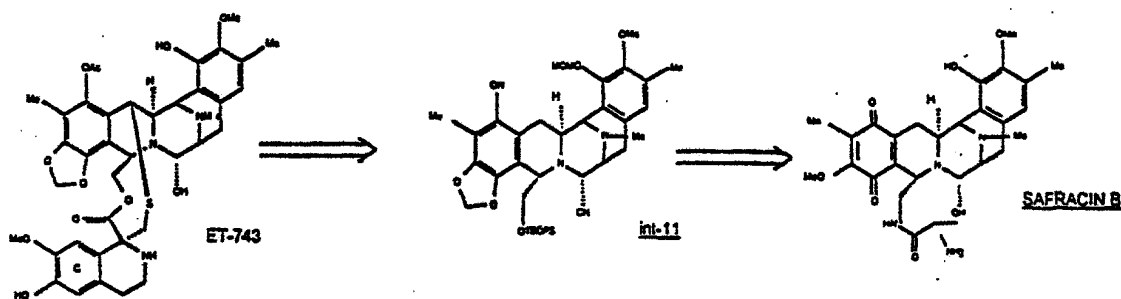
трансформиране на аминокъединението 35 в съответния алфа кетолактон 36 при взаимодействие с N-метилпиридиниев карбоксалдехид хлорид, последвано от DBU;

получаване на ET-770 при взаимодействие на съединение с формула 36 с 3-хидрокси-4-метоксифенилетиламин;

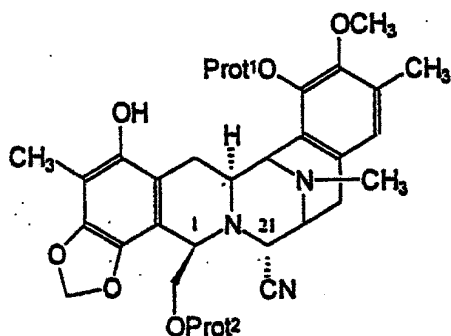
превръщане на ET-770 в ET-743 при взаимодействие със сребърен нитрат в смес на AcN/вода.

Получаване на междинно съединение 11 и съответни междинни съединения

Ретросинтетичният анализ е описан в следната последователност:



В настоящото изобретение, ключов клас междинни съединения и аналози включват Междинно съединение 11 със следната обща формула (XXI):



в която

Prot¹ и Prot² са хидрокси защитени групи, за предпочитане, различни. За самото Междинно съединение 11, групата Prot¹ е метоксиметилова група, а Prot² е t-бутилдифенилсилилова група.

Конверсията на 21-цианосъединението в междинно съединение 11 или съответно междинно съединение с формула (XXI), обикновено включва следните етапи:

а) конверсия, ако е необходима, на хиновата система за пръстен Е до фенолна система;

б) образуване на -OProt¹ група на 18-та позиция в пръстен Е;

в) образуване на -CH₂-OProt² група на 1-ва позиция в пръстен В; и

г) конверсия, ако е необходима, на хиновата система за пръстен А до фенолна система;

д) конверсия на фенолната система за пръстен А в метилendioксифенолов пръстен.

Етап (б), образуване на $-OProt^1$ група на 18-та позиция в пръстен Е, е обикновена реакция на защита на фенолна група и няма смисъл от допълнителен коментар. Избрани са подходящи условия в зависимост от природата на защитаващата група. Другите етапи са подобни на другите реакции.

Етап (в), образуване на $-CH_2-OProt^2$ група на 1-ва позиция в пръстен В, обикновено се провежда при образуване на аминотиленова група на първа позиция и след това аминната функционалност се превръща в хидроксилна функционалност, която се защитава. Следователно, когато изходното съединение притежава група R^1 , която е $-CH_2-NH-CO-CR^{25a}R^{25b}R^{25c}$, тогава N-ациловата група се отстранява. Когато изходното съединение притежава група R^1 , която е $-CH_2-O-CO-R$, тогава не се прави промяна на ектеинасцидина, в който заместителят R^1 е същият. При другите продукти трябва да се отстрани O-ациловата група. За такава деацилиране се използват различни методи. При един от тях, деацилирането и конверсията в хидроксилна функционалност се извършват

едноетапно. След това хидроксилната група може да бъде ацилирана или по друг начин променена до получаване на подходяща R^1 група.

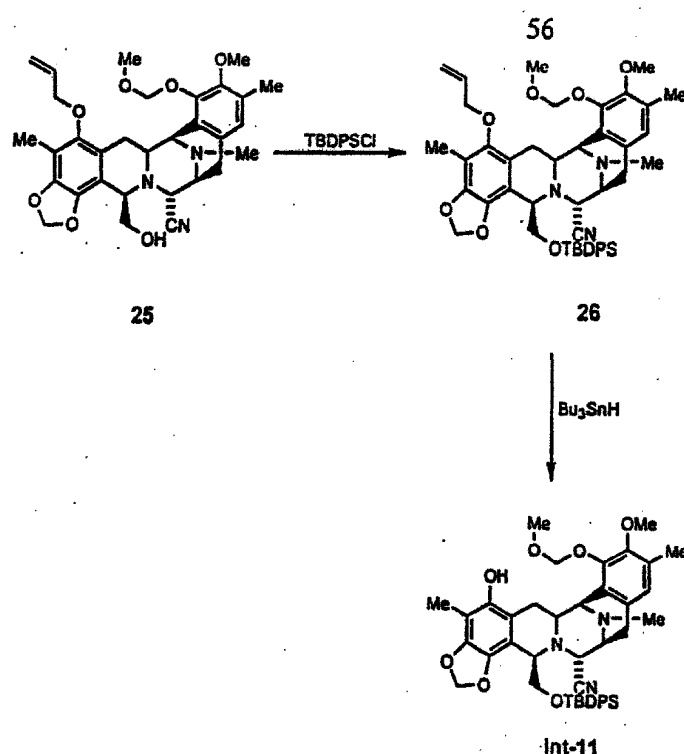
В US 5, 721, 362 са описани синтетични методи за получаване на ET-743 посредством дълга многоетапна синтеза. Едно от междинните съединения на тази синтеза е междинно съединение 11. Възможно е да се достигне до междинно съединение 11 при използване на цианосафрацин В като изходно съединение по много по-кратък метод за получаване на такова междинно съединение при подобряване на метода за получаване на ET-743.

Цианосафрацин В може да се превърне в междинно съединение 25 по описаните по-горе методи. От междинно съединение 25 може да се получи междинно съединение 11 при използване на следните етапи, виж Схема VII:

получаване на защитено хидроксилно съединение с формула 26 при взаимодействие на 25 с tert-бутилдифенилсилилхлорид в присъствие на база;

крайно отцепване на алиловата група с трибутилкалаен хидрид и дихлорпаладиев-бис(трифенилфосфин) от 26, което води до получаване на междинно съединение 11.

Схема VII



Един аспект на синтетичния метод, съгласно настоящото изобретение, за трансформиране на сафрацин В в междинно съединение 11, е модификация и разширяване на Схема VIII и включване на допълнителни етапи на:

стереоспецифично превръщане на съединението сафрацин S в съединение с формула 2 чрез селективно заменяне на хидроксилна група с цианогрупа при взаимодействие с калиев цианид в кисела среда;

получаване на тиокарбамидно съединение с формула 3 при взаимодействие на съединение с формула 2 с фенилизотиоцианат;

превръщане на тиокарбамидното съединение с формула 3 в ацетамид с формула 5 при хидролиза в кисела среда, последвано от добавяне на оцетен анхидрид. Междинното аминно съединение с формула 4 може да бъде изолирано чрез спиране на хидролизата в кисела среда с натриев бикарбонат, но това междинно съединение е много нестабилно и бързо се превръща в 5-членен цикличен имин, наречен съединение 6;

получаване на защитено съединение с формула 7 при взаимодействие с бромметилметилол етер и диизопропилетиламин в дихлорметан;

селективно деметилиране на метоксигрупата на хиноновата система на съединението с формула 7 в съединение с формула 8 при взаимодействие с метанолов разтвор на натриев хидроксид;

превръщане на съединението с формула 8 в метилendioкси съединение с формула 9 при следната последователност от етапи: (1) хиноновата група на съединение 8 се редуцира с 10% паладий върху въглен в атмосфера на водород; (2) хидроксихиноновото междинно съединение се превръща в метилendioкисъединение с формула 9 при взаимодействие с бромхлорметан и цезиев карбонат в атмосфера на водород; (3) съединение с формула 9 се превръща в съединение

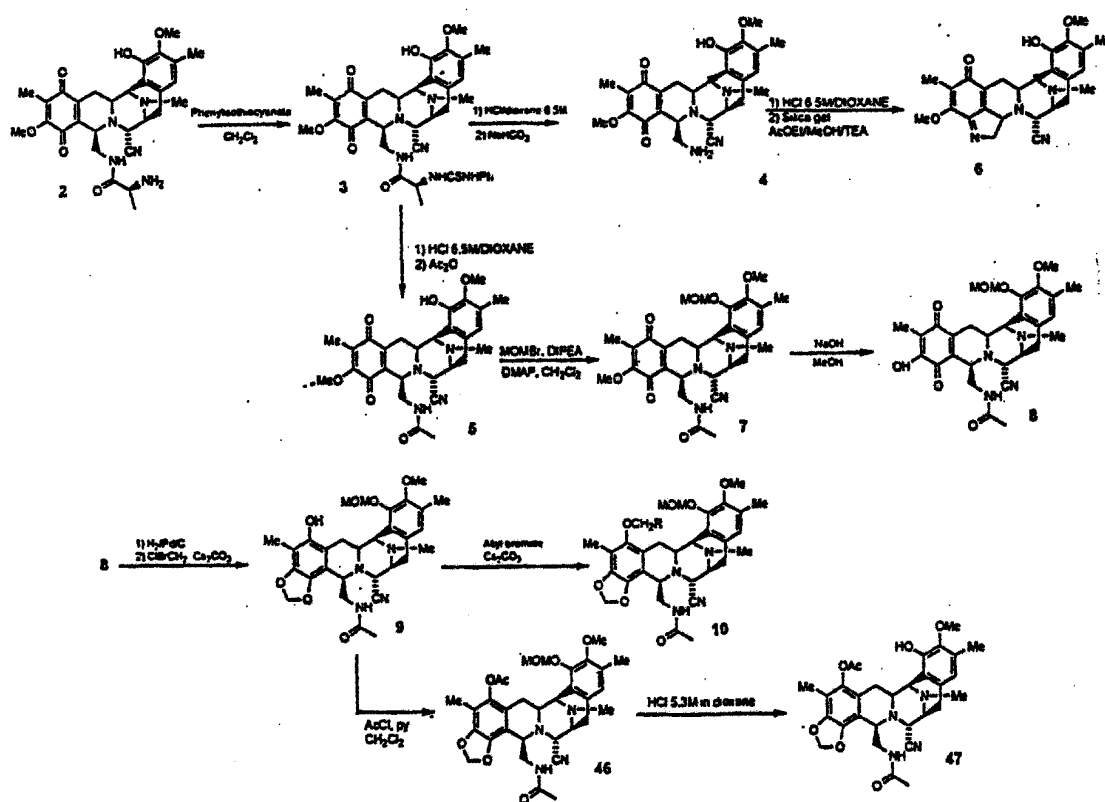
с формула 10 чрез защитаване на свободната хидроксилна група като OCH_2R група при реакция с BrCH_2R и цезиев карбонат, където R може да бъде арил, $\text{CH}=\text{CH}_2$, OR' и т.н.;

5 превръщане на ацетамидната група на съединение с формула 10 в съответната хидроксилна група на съединение с формула 11 при взаимодействие с азотен тетраоксид в смес на оцетна киселина и ацетоацетат, последвано от третиране с натриев хидроксид; или пък може да бъде използван натриев нитрит в смес на оцетен анхидрид и оцетна киселина, последвано от третиране с натриев хидроксид; или пък ацетамидната група на съединение с формула 10 може да бъде превърната в първична аминогрупа при взаимодействие с хидразин или с $\text{Noc}_2\text{O.DMAP}$, последван от хидразин; този първичен амин може да бъде превърнат в съответната хидроксилна група (съединение с формула 11) при окислителна конверсия на първичния амин в съответния алдехид с 4-формил-1-метилпиридиниев бензенсулфонат или друг пиридиниев йон, последвано от третиране с DBU или с друга база с последващо хидролизиране, последвано от редукция на алдехида до съответна хидроксилна група с литиево алуминиев хидрид или друг редуциращ агент;

получаване на защитеното съединение с формула 26 при взаимодействие с t-бутилдифенилсиллилхлорид и диметиламинопиридин в дихлорметан;

35 превръщане на силираното съединение с формула 26 в междинно съединение с формула 11 чрез премахване на защитата на OCH_2R защитавашата група при взаимодействие в редуционни условия или киселинни условия. Обикновено методът се провежда с паладий върху въглен в атмосфера на водород или водна трифлуороцетна киселина, или трибутилкалаен хидрид и дихлорбис(трифенилфосфин паладий).

Схема VII



При друга предпочитана модификация, цианосъединението с формула 2 може да бъде превърнато в междинно съединение 11 при разширяване на Схема II със следните етапи:

получаване на защитено хидроксилно съединение с формула 26 при взаимодействие на 25 с *tert*-бутилдифенилсилилхлорид в присъствие на база;

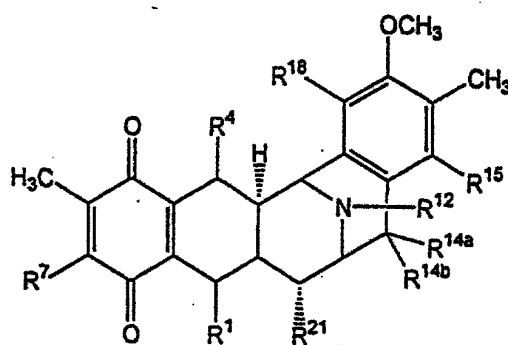
крайно отцепване на алиловата група с трибутилкалаен хидрид и дихлорпаладиевбис(трифенилфосфин) в 26, което води до получаване на междинно съединение 11.

Следователно, по тези и други методи е възможно трансформиране на цианосафрацин В в редица междинни съединения и производни с потенциална антитуморна терапевтична активност. Тези междинни съединения могат да бъдат получени като се излиза от вече описани съединения или при използване на алтернативни методи.

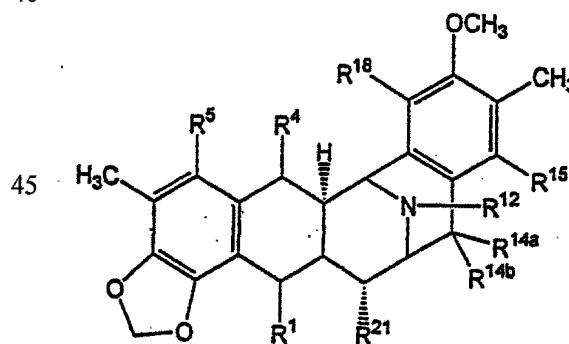
Нови междинни съединения

В светлината на предишните обяснения може да се види, че настоящото изобретение се отнася до нови междинни съединения. В зависимост от пръстен А, междинните съединения са с

формула (XXIIa):

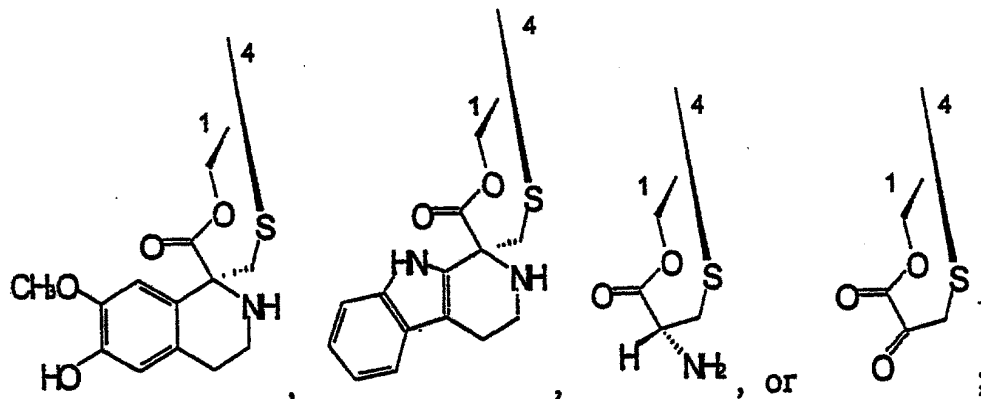


или формула (XXIIb):



в която

R^1 е $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$ или защитена или получена разновидност на такава група и R^4 е водород; или



R^{1a} и R^4 заедно формират група с формула (IV), (V), (VI) или (VII);

R^5 е хидроксилна група или защитена или получена разновидност на такава група;

и двата R^{14a} и R^{14b} са водород или единият е водород, а другият е хидроксилна група, или защитена или получена разновидност на такава група, $-\text{OCH}_3$ или $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ или и двата R^{14a} и R^{14b} заедно формират кетогрупа;

R^{12} е водород, $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}_2\text{CH}_3$;

R^{15} е водород, хидроксилна група или защитена или получена разновидност на такава група; и

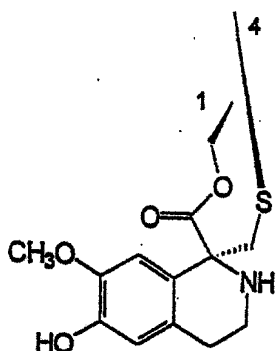
R^{18} е хидроксилна група или защитена или получена разновидност на такава група.

В един аспект, предпочита се поне един от R^1 , R^5 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} или R^{18} да е защитена или получена група.

В един аспект на настоящото изобретение, групата R^1 не е *tert*-бутилдифенилсилилов заместител и/или групата R^{18} не е метоксиметилова група.

Предпочита се, R^1 да е $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$ или защитена или получена разновидност на такава група и R^4 да е водород; или

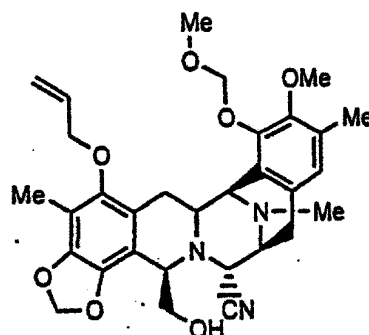
R^{1a} и R^4 заедно да формират група:



Предпочита се, R^{14a} и R^{14b} да са водород.

Предпочитан клас междинни съединения

включва съединение 25 с формула:



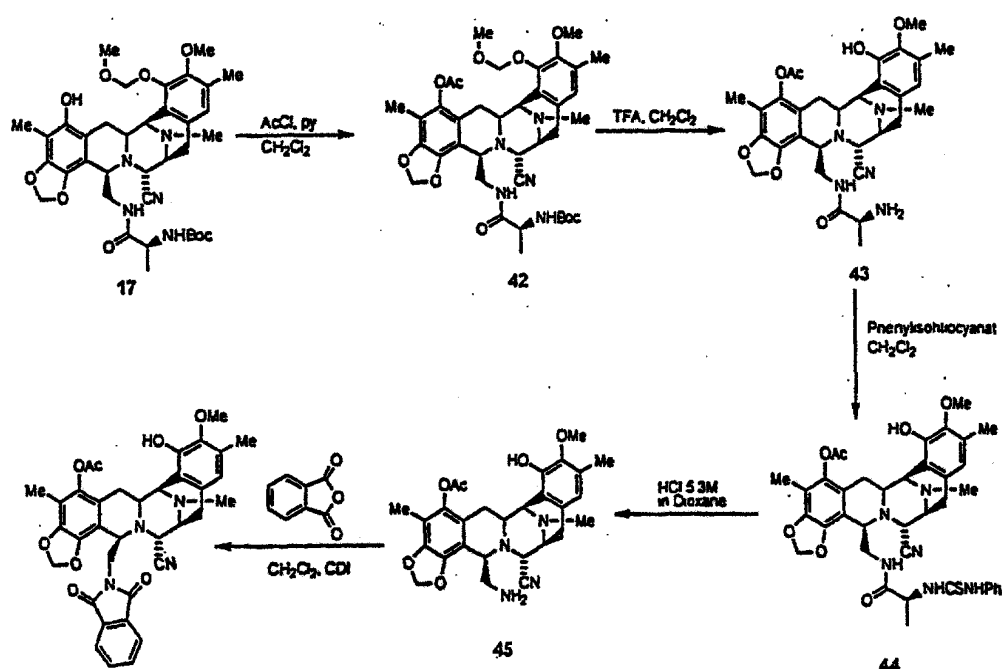
25

Следователно, предпочитаният клас има обща формула, в която групата MOM е заменена с някоя друга защитаваща група.

Други предпочитани междинни съединения включват съединение 45 и 43 (Схема IX).

Други N-ацилови производни могат лесно да бъдат получени от съединение 45 и представляват важна част от настоящото изобретение. Подходящите ацилови групи включват такива, които са споменати по-горе. Съответните 21-хидроксилни съединения са също полезни и са сред активните съединения, които сме установили.

Схема IX



Нови активни съединения

Установено е също така, че някои от съединенията, съгласно настоящото изобретение, които първоначално бяха получени като междинни съединения, притежават изключителна активност при лечение на рак, като левкемии, рак на белия дроб, рак на дебелото черво, рак на бъбрека и меланома.

Следователно, настоящото изобретение се отнася до метод за лечение на бозайници, особено на човек, страдащи от рак, характеризиращ се с това, че включва администриране върху страдащия индивид на терапевтично ефективно количество съединение, съгласно настоящото изобретение, или на фармацевтичен състав на негова база.

Настоящото изобретение се отнася и до фармацевтични състави, които съдържат като активен ингредиент съединение или съединения, съгласно настоящото изобретение, както и до методи за тяхното получаване.

Примерите за фармацевтични състави включват твърди състави (таблетки, хапчета, капсули, гранули и т.н.) или течни състави (разтвори, суспензии или емулсии) с подходящ състав за орално, локално или парентерално администриране, а те могат да съдържат чистото съединение или то да е в комбинация с носи-

тел или други фармакологично активни съединения. Тези състави трябва да бъдат стерилни при парентералното администриране.

Администрирането на съединенията или съставите, съгласно настоящото изобретение, може да се осъществи по кой да е подходящ метод, като интравенозна инфузия, орално приемане, интраперитонеално и интравенозно администриране. Предпочита се времето за инфузия да бъде до 24 h, повече се предпочита, между 2 и 12 h, а най-много се предпочита, от 2 до 6 h. Особено желани са кратките времена за инфузия, които позволяват лечението да се провежда без да се пренощува в болница. Обаче, изисква се инфузия от 12 до 24 h или по-дълготрайна. Инфузията може да се провежда на подходящи интервали от 2 до 4 седмици, фармацевтичните състави, съдържащи съединенията, съгласно настоящото изобретение, могат да бъдат доставени чрез липозомно или наносферно капсулиране, в състави със задържано освобождаване или посредством други стандартни начини.

Правилната доза на съединенията варира в зависимост от отделния състав, начина на прилагане и отделния situs, приемника и тумора, който ще се лекува. Други фактори, които се взимат под внимание, са възраст, телесно тегло, пол, хранителен режим, време за администриране,

скорост на отделяне, състояние на приемника, лекарствена комбинация, реакции на чувствителност и тежест на заболяването. Администрирането може да се провежда непрекъснато или периодично в рамките на максималната поносима доза.

Съединенията и съставите, съгласно настоящото изобретение, могат да се използват с други лекарства за провеждане на комбинирана терапия. Другите лекарства могат да бъдат част от същия състав или да се администрират като отделен състав едновременно или по друго време. Идентичността на другото лекарство не е ограничена, като подходящи могат да бъдат:

а) лекарства с антимиотично действие, особено тези, които са насочени към цитоскелетни елементи, включващи микротубулни модулатори, като таксанови лекарства (като таксол, паклитаксел, таксотер, доцетаксел), подофилоксини или *vinca* алкалоиди (винкристин, винбластин);

б) антиметаболитни лекарства като 5-флуорурацил, цитарабин, гемцитабин, пуринови аналози като пентостатин, метотрексат);

в) алкилиращи средства като азотни мустарди (като циклофосфамид или ифосфамид);

г) лекарства, насочени към DNA, като антрациклиновите лекарства адриамицин, доксорубицин, фарморубицин или епирубицин;

д) лекарства, насочени към топоизомеразите, като етопозид;

е) хормони и хормонни агонисти и антагонисти, като естрогени, антиестрогени (тамоксифен и свързани съединения) и андрогени, флутамид, леупрорелин, гoserelin, ципротрон или октреотид;

ж) лекарства, насочени към сигналната трансдукция в туморните клетки, включващи производни и антитела, като херцептин;

з) алкилиращи лекарства като платинови лекарства (цис-платина, карбонплатина, оксалиплатина, параплатина) или нитрозокарбамиди;

и) лекарства, силно действащи на метастазите на туморите, като инхибитори на металопотеиназата;

й) средства за генна терапия и антисензорни средства;

к) терапевтици за антитела;

л) други биоактивни съединения с морски произход, особено дидемнините като аплидин;

м) стероидни аналози, в частност, дексаметазон;

н) противовъзпалителни лекарства, в частност, дексаметазон; и

о) антиеметични лекарства, в частност, дексаметазон.

Настоящото изобретение се отнася и до приложение на съединенията, съгласно настоящото изобретение, в метод за лечение и до приложение на съединенията, съгласно настоящото изобретение, при получаването на състави за лечение на рак.

Цитотоксична активност

Клетъчни култури. Клетките се държат в логаритмична фаза на растеж в Eagle's Minimum Essential Medium *ici* Earle's Balanced Salts, с 2, 0 mM L-глутамин, с несъществени аминокиселини, без натриев бикарбонат (EMEM/nea); с прибавени 10% ембрионален телешки серум (FCS), 10^{-2} M натриев бикарбонат и 0.1 g/l пеницилин-G + стрептомицин сулфат.

Провежда се проста процедура за определяне и сравняване на антитуморната активност на тези съединения, при използване на адаптирана форма на описания от Bergeron et al. (1984) метод. Използваната туморна клетъчна линия е P-388 (суспензионна култура на лимфоидни неоплазми от мишка DBA/2), A-549 (еднослойна култура на карцином на белия дроб при човек), HT-29 (еднослойна култура на карцином на дебелото черво при човек) и MEL-28 (еднослойна култура на меланома при човек).

Клетките P-388 се посадят в 16 mm кладенчета при 1×10^4 клетки на кладенче в 1 ml аликвотни части MEM 5FCS, съдържащи необходимата лекарствена концентрация. Други култури без лекарство се посадят за контролен растеж, за да е сигурно, че клетките остават в експоненциална фаза на растеж. Всички определения се извършват двукратно. След инкубиране в продължение на 3 дни при 37°C и 10% въглероден двуокис в 98% влажна атмосфера, чрез сравнение на растежа в кладенчетата с лекарство и растежа в контролните кладенчета се определя средния IC_{50} .

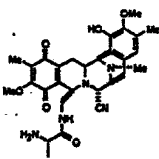
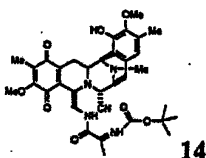
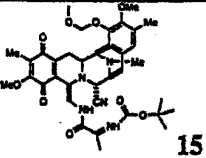
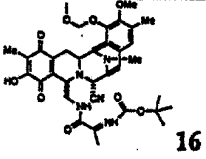
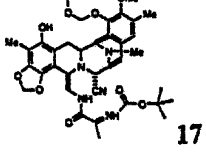
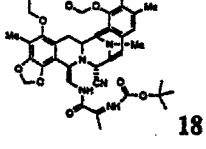
A-549, HT-29 и MEL-28 се посадят в 16 mm кладенчета при 2×10^4 клетки на кладенче в 1 ml аликвотни части MEM 10FCS, съдържащи необходимата лекарствена концентрация. Други култури без лекарство се посадят за контро-

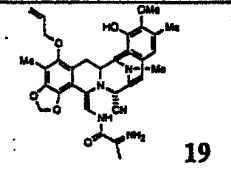
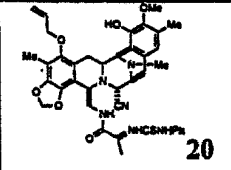
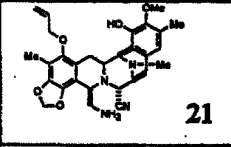
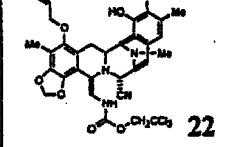
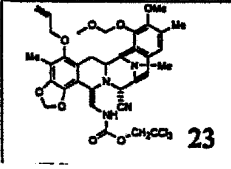
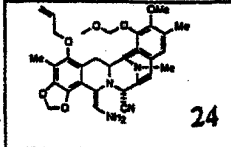
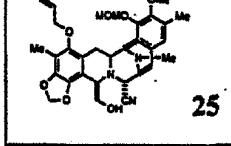
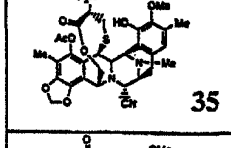
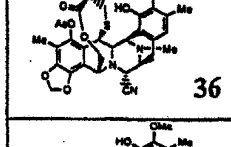
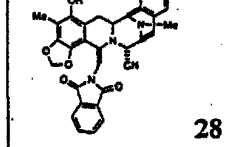
лен растеж, за да е сигурно, че клетките остават в експоненциална фаза на растеж. Всички определения се извършват двукратно. След инкубиране в продължение на 3 дни при 37°C и 10% въглероден двуокис в 98% влажна атмосфера, кладенчетата се оцветяват с 0.1% Crystal Violet. Чрез сравнение на растежа в кладенчетата с лекарство и растежа в контролните кладенчета се определя средния IC_{50} .

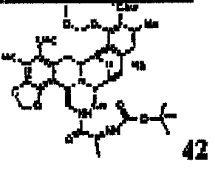
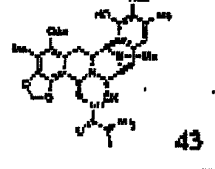
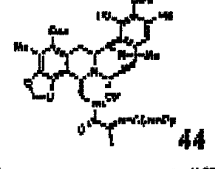
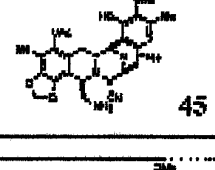
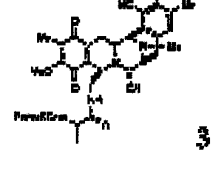
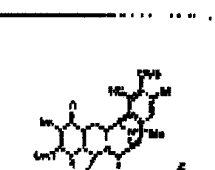
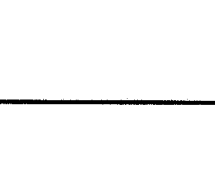
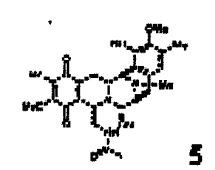
1. Raymond J. Bergeron, Paul F. Cavanaugh, Jr., Steven J. Kline, Robert G. Hughes, Jr., Gary T. Elliot, Carl W. Porter. Antineoplastic and antiherpetic activity of spermidine catecholamide iron chelators. *Biochem. Bioph. Res. Comm.*, 1984, 121 (3), 848-854.

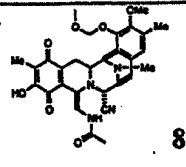
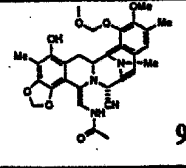
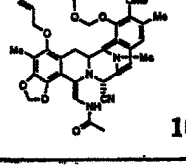
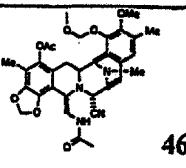
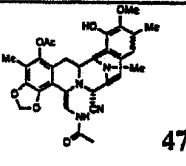
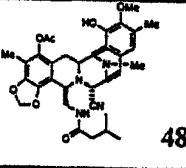
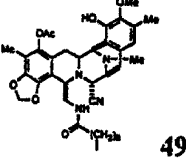
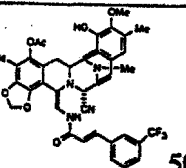
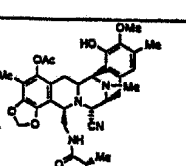
2. Alan C. Schroeder, Robert G. Hughes, Jr., Alexander Bloch. Effects of Acyclic Pyrimidine Nucleoside Analogues. *J. Med. Chem.* 1981, 24, 1078-1083.

ЦИТОТОКСИЧНА АКТИВНОСТ

Compound	IC_{50} (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 2	0.009	0.018	0.018	0.018	0.023	
 14	0.15	>0.15	0.15	>0.15		
 15	1.44	1.44	1.44	1.44		
 16	>1.5	>1.5	>1.5	>1.5		
 17	1.4	1.4	1.4	1.4		
 18	0.01	0.01	0.01	0.01		

 19	0.08	0.16	0.01	0.16		
 20	0.01	0.01	0.01	0.01		
 21	0.019	0.019	0.019	0.019		
 22	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
 23	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
 24	0.18	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
 25	0.2	0.2	0.2	0.2		0.2
 35	0.008	0.008	0.008	0.008		
 36	0.01	0.01	0.01	0.01		
 28	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

 42	0.13	0.13	0.13	0.13		0.13
 43	0.008	0.016	0.008	0.008		0.016
 44	0.001	0.001	0.001	0.001		0.001
 45	0.01	0.01	0.01	0.01		0.01
 3	0.015	0.015	0.015	0.015	0.018	
 6	2.171	2.171	2.171	2.171	2.171	
 5	0.005	0.005	0.005	0.005		
 7	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	

 8	>9	>18.1	>18.1	>18.1	>18.1	
 9	>1.77	>1.77	>1.77	>1.77		>1.77
 10	>1.65	>1.65	>1.65	>1.65		>1.65
 46	0.016	0.016	0.016	0.016		0.016
 47	0.001	0.001	0.001	0.001		0.001
 48	0.0008	0.001	0.0008	0.0008		0.001
 49	0.007	0.007	0.007	0.007		0.007
 50	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001
 51	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001

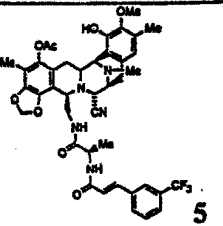
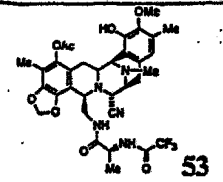
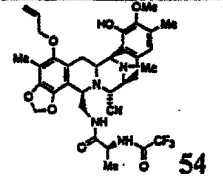
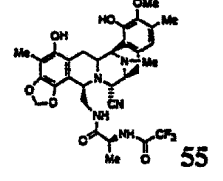
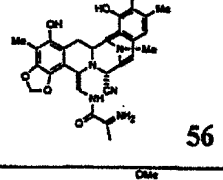
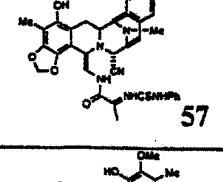
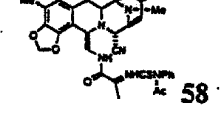
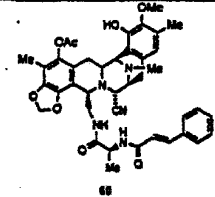
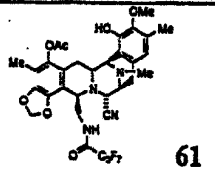
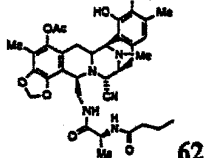
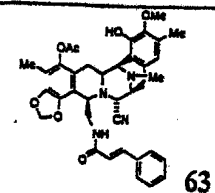
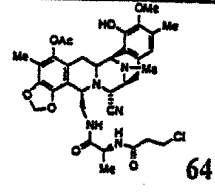
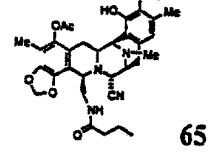
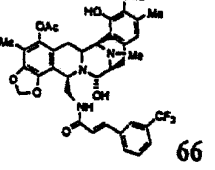
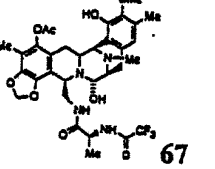
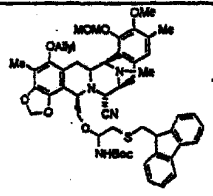
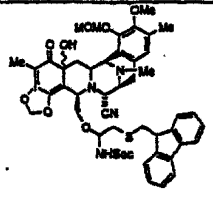
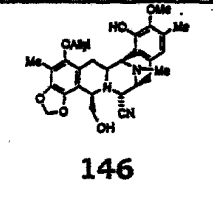
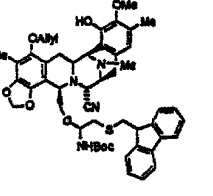
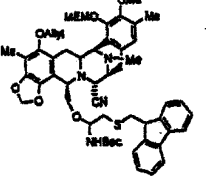
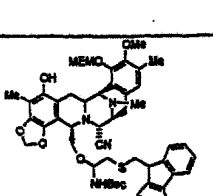
 <p>2</p>	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
 <p>53</p>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

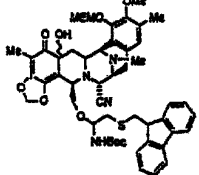
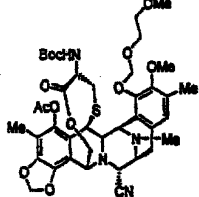
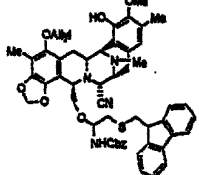
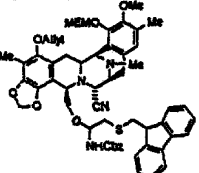
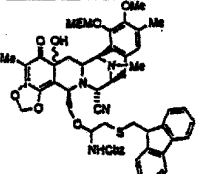
TABLE 1. Inhibitory activity of compounds 2, 53, 54, 55, 56, 57, and 58 against the growth of *S. aureus* (ATCC 29219) in a 24-hour broth microdilution assay.

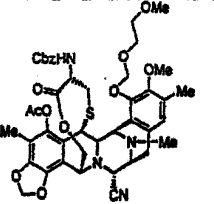
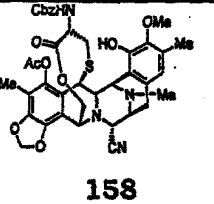
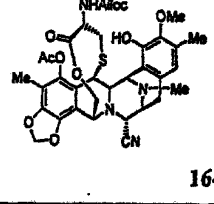
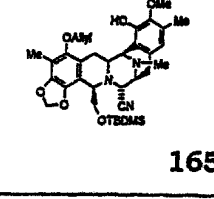
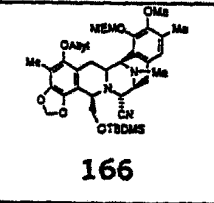
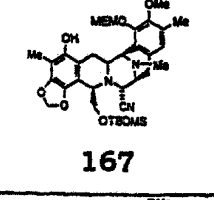
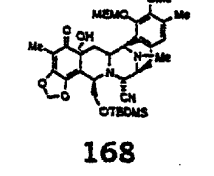
 <p>54</p>	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
 <p>55</p>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
 <p>56</p>	0.18	0.9	0.18	0.8	0.8	0.9
 <p>57</p>	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
 <p>58</p>	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

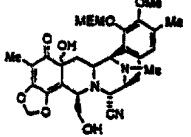
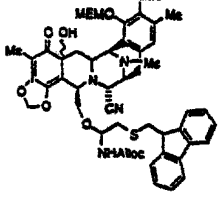
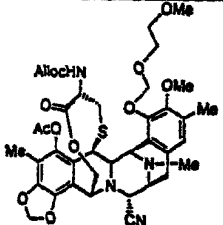
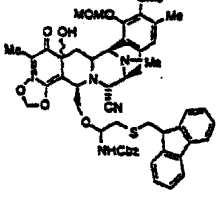
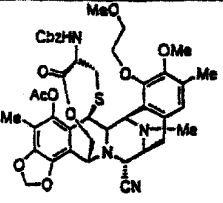
 <p>60</p>	0.001	0.001	0.0001	0.001		0.0005
 <p>61</p>	0.001	0.001	0.001	0.001		0.001
 <p>62</p>	0.001	0.001		0.0005		0.001

 <p>63</p>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001
 <p>64</p>	0.001	0.001		0.001		0.001
 <p>65</p>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001
 <p>66</p>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001
 <p>67</p>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001

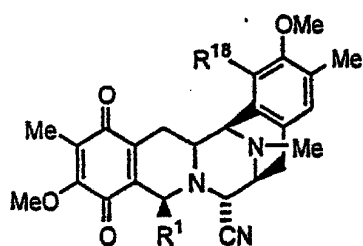
 <p>142</p>		>1	>1			
 <p>144</p>		>1	>1			
 <p>146</p>	0.19	0.19	0.19	0.19		
 <p>147</p>		0.0055	0.0055			
 <p>148</p>		>1	>1			
 <p>149</p>		0.01	0.01			

 <p style="text-align: center;">150</p>		0.051	0.051			
 <p style="text-align: center;">151</p>		0.012	0.012			
 <p style="text-align: center;">153</p>		0.11	0.11			
 <p style="text-align: center;">154</p>		>1	>1			
 <p style="text-align: center;">156</p>		>1	>1			

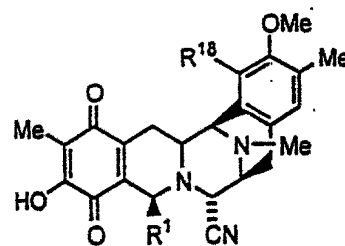
 <p>157</p>		0.59	0.59			
 <p>158</p>		0.0013	0.0013			
 <p>164</p>		0.0001	0.0001			
 <p>165</p>		>1	>1			
 <p>166</p>		>1	>1			
 <p>167</p>		>1	>1			
 <p>168</p>		>1	>1			

 <p>169</p>		>1	>1			
 <p>170</p>		>1	>1			
 <p>171</p>		0.012	0.012			
 <p>172</p>		>1	>1			
 <p>173</p>		0.062	0.062			

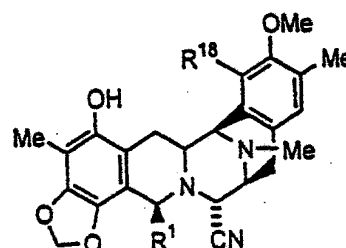
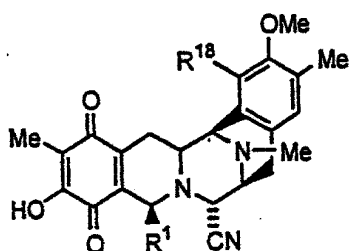
Активните съединения, съгласно настоящото изобретение, следователно, включват съединения с 10-хидроксилна група и 1-лабилна група.



Важен метод, съгласно настоящото изобретение, включва реакцията:

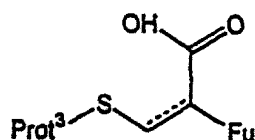


Друг важен метод, съгласно настоящото изобретение, включва реакцията:



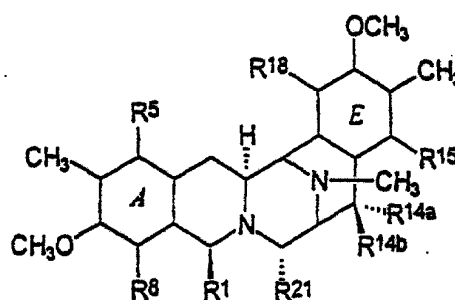
Друг важен метод, съгласно настоящото изобретение, включва реакцията, при която групата R¹ е аминометиленова и се превръща в хидроксиметиленова група. 30 мула (XV):

Друг важен метод, съгласно настоящото изобретение, включва реакцията, при която съединение с групата R¹, която е хидроксиметиленова взаимодейства с реагент с формула (XIX) 35



където Fu представлява защитена функционална група, Prot³ е защитаваша група и пунктираната линия показва възможна двойна връзка. 45

Друг важен метод, съгласно настоящото изобретение, включва реакцията за получаване на 21-цианосъединение с формула (XVI), която включва взаимодействие на съединение с фор-



в която R¹, R⁵, R⁸, R^{14a}, R^{14b}, R¹⁵ и R¹⁸ са, както са дефинирани по-горе и R²¹ е хидроксилна група, с източник на цианиден йон, до получаване на желаното 21-цианосъединение. 40

В допълнение, настоящото изобретение се отнася и до методи, при които се използват и други нуклеофилсъдържащи съединения за получаване на съединения с формула (XVI), в които 21-та позиция е защитена с друга нуклеофил-

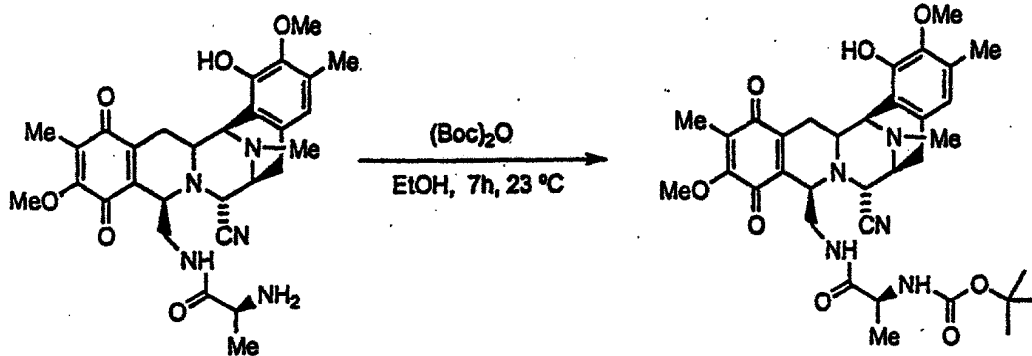
на група, 21-Nuc група. Например, 21-Nuc съединение с формула (XVI) с алкиламинозаместител на 21 позиция може да бъде получено при взаимодействие на съединение с формула (XV), в която R²¹ е хидроксилна група с подходящ алкиламин. 21-Nuc съединение с формула (XVI) с алкилтиозаместител на 21 позиция може също да бъде получено при взаимодействие на съединение с формула (XV), в която R²¹ е хидроксилна група с подходящ алкантиол. Или пък, 21-Nuc съединение с формула (XVI) с алфа-карбонилалкилов заместител може да бъде получено при взаимодействие на съединение с формула (XV), в

която R²¹ е хидроксилна група с подходящо карбонилно съединение, обикновено в присъствие на база. Има и други методи за получаване на други 21-Nuc съединения.

Друго важно взаимодействие, съгласно настоящото изобретение, включва третиране на 21-цианов продукт, съгласно настоящото изобретение, до получаване на 21-хидроксилно съединение. Тези съединения притежават интересни *in vivo* свойства.

Примери за изпълнение на изобретението
Настоящото изобретение е илюстрирано с помощта на следващите примери.

Пример 1



Към разтвор на Int-2 (21.53 g, 39.17 ml) в етанол (200 ml) се прибавя *tert*-бутоксикарбониланхидрид (7.7 g, 35.25 ml) и сместа се разбърква в продължение на 7 h при 23°C. След това реакционната смес се концентрира под вакуум и остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 6:4) до получаване на Int-14 (20.6 g, 81%) като жълто твърдо вещество. Rf: 0.52 (етилацетат:хлороформ 5:2).

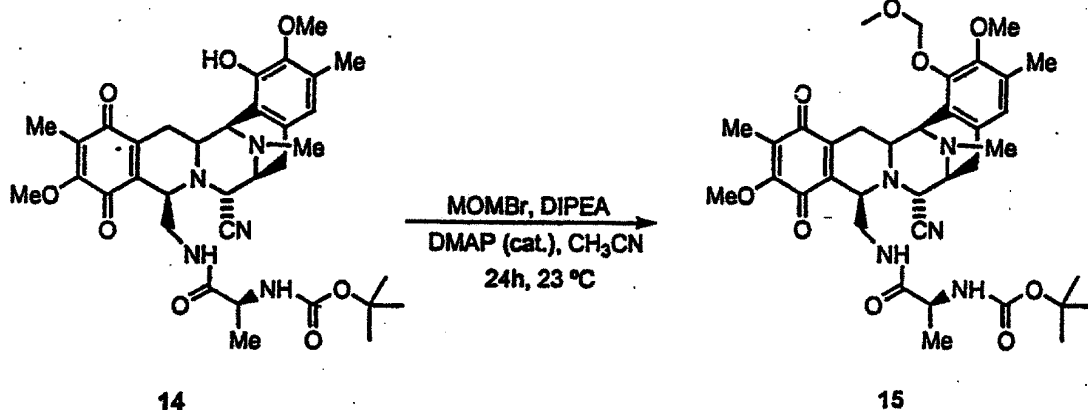
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.49 (s, 1H), 6.32 (bs, 1H), 5.26 (bs, 1H), 4.60 (bs, 1H), 4.14 (d, J=2.4 Hz, 1H), 4.05 (d, J=2.4 Hz, 1H),

3.94 (s, 3H), 3.81 (d, J=4.8 Hz, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.34 (brd, J=7.2 Hz, 1H), 3.18-3.00 (m, 5H), 2.44 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.80-1.65 (m, 1H), 1.48 (s, 9H), 0.86 (d, J=5.7 Hz, 3H).

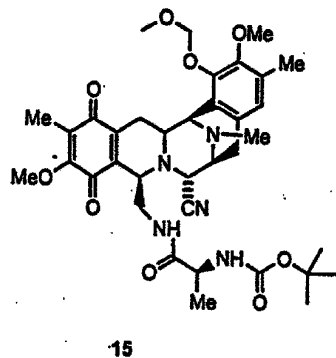
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 185.5, 180.8, 172.7, 155.9, 154.5, 147.3, 143.3, 141.5, 135.3, 130.4, 129.2, 127.5, 120.2, 117.4, 116.9, 80.2, 60.7, 60.3, 58.5, 55.9, 55.8, 54.9, 54.4, 50.0, 41.6, 40.3, 28.0, 25.3, 24.0, 18.1, 15.6, 8.5.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₄H₄₃N₅O₈: 649.7. Намерено (M+H)⁺: 650.3.

Пример 2

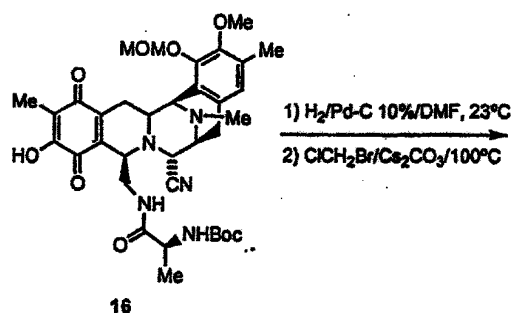


Към разтвор на Int-14 (20.6 g, 31.75 ml) в CH_3CN (159 ml) при разбъркване и при 0°C се прибавят диизопропилетиламин (82.96 ml, 476.2 ml), метоксиметиленбромид (25.9 ml, 317.5 ml) и диметиламинопиридин (155 mg, 1.27 ml). Сместа се разбърква в продължение на 24 h при 23°C . След това реакционната смес се закалява при 0°C с водна 0.1N солна киселина (750 ml) (pH=5) и се екстрахира с метиленхлорид (2 x 400 ml). Органичната фаза се суши с натриев сулфат и се концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, градиент от хексан:етилацетат 4:1 до хексан:етилацетат 3:2) до получаване на Int-15 (17.6 g, 83%) като жълто твърдо вещество. Rf: 0.38 (хексан:етилацетат 3:7).



Към колба, съдържаща Int-15 (8 g, 1.5 ml) в метанол (1.6 l) при 0°C се прибавя воден разтвор на 1M натриев хидроксид (3.2 l). Реакционната смес се разбърква в продължение на 2 h при тази температура и след това се закалява с 6M солна киселина до pH=5. Сместа се екстрахира с етилацетат (3 x 1 l) и смесените органични слоеве се сушат над натриев сулфат и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, градиент от хлороформ до хлороформ:етилацетат 2:1) до получаване на Int-16 (5.3 mg, 68%). Rf: 0.48 (CH_3CN :вода 7:3, RP-C18).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.73 (s,



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.73 (s, 1H), 5.35 (bs, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.50 (bs, 1H), 4.25 (d, J=2.7 Hz, 1H), 4.03 (d, J=2.7 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.84 (bs, 1H), 3.82-3.65 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.39-3.37 (m, 1H), 3.20-3.00 (m, 5H), 2.46 (d, J=18 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.73-1.63 (m, 1H), 1.29 (s, 9H), 0.93 (d, J=5.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 185.4, 180.9, 172.4, 155.9, 154.5, 149.0, 148.4, 141.6, 135.1, 131.0, 129.9, 127.6, 124.4, 123.7, 117.3, 99.1, 79.3, 60.7, 59.7, 58.4, 57.5, 56.2, 55.9, 55.0, 54.2, 50.0, 41.5, 39.9, 28.0, 25.2, 24.0, 18.1, 15.6, 8.5. ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_9$: 693.8. Намерено (M+H)⁺: 694.3.

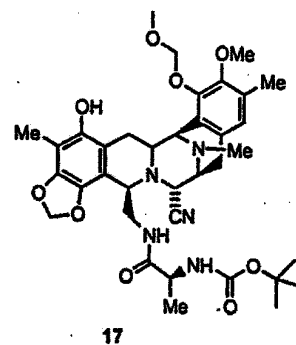
Пример 3

1H), 5.43 (bs, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.54 (bs, 1H), 4.26 (d, J=1.8 Hz, 1H), 4.04 (d, J=2.7 Hz, 1H), 3.84 (bs, 1H), 3.80-3.64 (m, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.41-3.39 (m, 1H), 3.22-3.06 (m, 5H), 2.49 (d, J=18.6 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.30-2.25 (m, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.45-1.33 (m, 1H), 1.19 (s, 9H), 1.00 (brd, J=6.6 Hz, 3H).

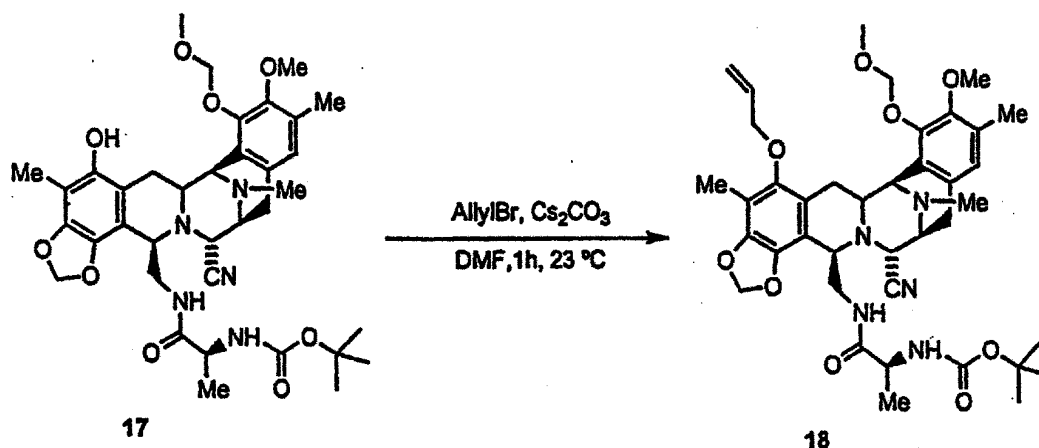
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 184.9, 180.9, 172.6, 154.7, 151.3, 149.1, 148.6, 144.7, 132.9, 131.3, 129.8, 124.5, 123.7, 117.3, 116.8, 99.1, 79.4, 59.8, 58.6, 57.7, 56.2, 55.6, 54.9, 54.5, 50.1, 41.6, 40.1, 28.0, 25.3, 24.4, 18.1, 15.7, 8.0.

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_9$: 679.7. Намерено (M+H)⁺: 680.3.

Пример 4



Към дегазиран разтвор на съединение Int-16 (1.8 g, 2.64 ml) в диметилформамид (221 ml) се прибавя 10% паладий върху въглерод (360 mg) и се разбърква в атмосфера на водород (при атмосферно налягане) в продължение на 45 min. След това реакционната смес се филтрува през селит под аргон в колба, съдържаща безводен цезиев карбонат (2.58 g, 7.92 ml). След това се прибавя бромхлорметан (3.40 ml, 52.8 ml), епруветката се заварява и се разбърква при 100°C в продължение на 2 h. Реакционната смес се охлажда, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид. Органичният слой се концентрира и се суши с натриев сулфат до получаване на Int-17 като кафяво масло, което се използва в следващия етап без допълнително пречистване. Rf: 0.36 (хексан:етилацетат 1:5, силициев двуокис).



Към колба, съдържаща разтвор на Int-17 (1.83 g, 2.65 ml) в диметилформамид (13 ml) при 0°C се прибавят цезиев карбонат (2.6 g, 7.97 ml) и алилбромид (1.15 ml, 13.28 ml). Получената реакционна смес се разбърква в продължение на 1 h при 23°C. Реакционната смес се филтрува през слой от селит и се промива с метиленхлорид. Органичният слой се суши над натриев сулфат и се концентрира. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хлороформ:етилацетат 1:4) до получаване на Int-18 (1.08 mg, 56%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.36 (хлороформ:етилацетат 1:3).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.70 (s, 1H), 6.27-6.02 (m, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.37 (dd, $J_1=1.01$ Hz, $J_2=16.8$ Hz, 1H), 5.40 (bs,

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.68 (s, 1H), 6.05 (bs, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 5.40 (bs, 1H), 5.31-5.24 (m, 2H), 4.67 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 4.07 (bs, 1H), 4.01 (bs, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.64-2.96 (m, 5H), 2.65 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.01-1.95 (m, 1H), 1.28 (s, 9H), 0.87 (d, $J=6.3$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 172.1, 162.6, 154.9, 149.1, 145.7, 135.9, 130.8, 130.7, 125.1, 123.1, 117.8, 100.8, 99.8, 76.6, 59.8, 59.2, 57.7, 57.0, 56.7, 55.8, 55.2, 49.5, 41.6, 40.1, 36.5, 31.9, 31.9, 31.6, 29.7, 28.2, 26.3, 25.0, 22.6, 18.2, 15.8, 14.1, 8.8.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_9$: 693.34. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 694.3.

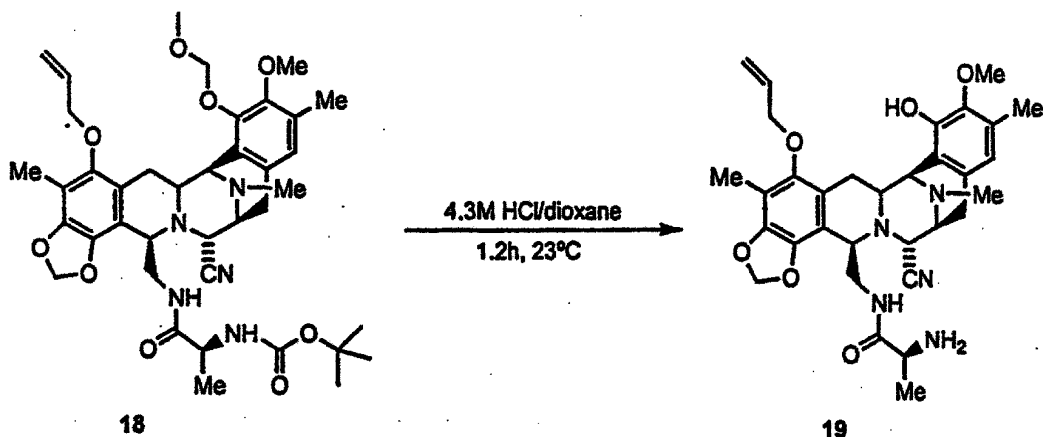
Пример 5

1H), 5.25 (dd, $J_1=1.0$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.91 (bs, 1H), 4.25-4.22 (m, 1H), 4.21 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.14-4.10 (m, 1H), 4.08 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.00 (bs, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.56-3.35 (m, 2H), 3.26-3.20 (m, 2H), 3.05-2.96 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.91-1.80 (m, 1H), 1.24 (s, 9H), 0.94 (d, $J=6.6$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 172.0, 154.8, 148.8, 148.6, 148.4, 144.4, 138.8, 133.7, 130.9, 130.3, 125.1, 124.0, 120.9, 117.8, 117.4, 112.8, 112.6, 101.1, 99.2, 73.9, 59.7, 59.3, 57.7, 56.9, 56.8, 56.2, 55.2, 40.1, 34.6, 31.5, 28.1, 26.4, 25.1, 22.6, 18.5, 15.7, 14.0, 9.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_9$: 733.4. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 734.4.

Пример 6



Към разтвор на Int-18 (0.1 g, 0.137 ml) в диоксан (2 ml) се прибавя 4.2M солна киселина/диоксан (1.46 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 1.2 h при 23°C. След това реакционната смес се закалява при 0°C с наситен воден натриев бикарбонат (60 ml) и се екстрахира с етилацетат (2 x 70 ml). Органичният слой се суши с натриев сулфат и се концентрира под вакуум до получаване на Int-19 (267 mg, 95%) като бяло твърдо вещество, което се използва в следващите реакции без допълнително пречистване. Rf: 0.36 (етилацетат:метанол 10:1, силициев двуокис).

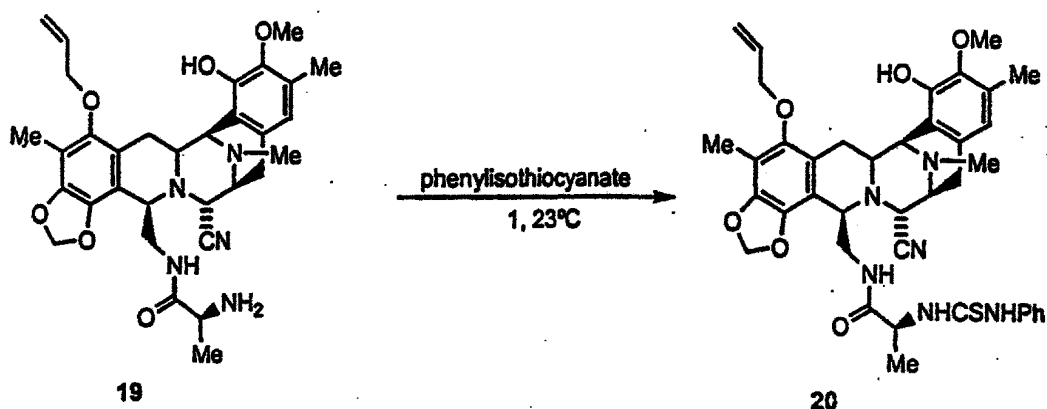
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.49 (s, 1H), 6.12-6.00 (m, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 30

5.34 (dd, $J=1.0$ Hz, $J=17.4$ Hz, 1H), 5.25 (dd, $J=1.0$ Hz, $J=10.2$ Hz, 1H), 4.18-3.76 (m, 5H), 3⁴ (s, 3H), 3.71-3.59 (m, 1H), 3.36-3.20 (m, 4H), 3.01-2.90 (m, 1H), 2.60 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.97-1.86 (m, 1H), 0.93 (d, $J=8.7$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 175.5, 148.4, 146.7, 144.4, 142.4, 138.9, 133.7, 131.3, 128.3, 120.8, 117.9, 117.4, 113.8, 112.4, 101.1, 74.2, 60.5, 59.1, 56.5, 56.1, 56.3, 56.0, 55.0, 50.5, 41.6, 39.5, 29.5, 26.4, 24.9, 21.1, 15.5, 9.33.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$: 589. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 590.

Пример 7



Към разтвор на Int-19 (250 mg, 0.42 ml) в метиленхлорид (1.5 ml) се прибавя фенилизотиоцианат (0.3 ml, 2.51 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h при 23°C. След това реакционната смес се концентрира под вакуум и остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, градиент от хексан до 5:1

хексан:етилацетат) до получаване на Int-20 (270 mg, 87%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.56 (хлороформ:етилацетат 1:4).

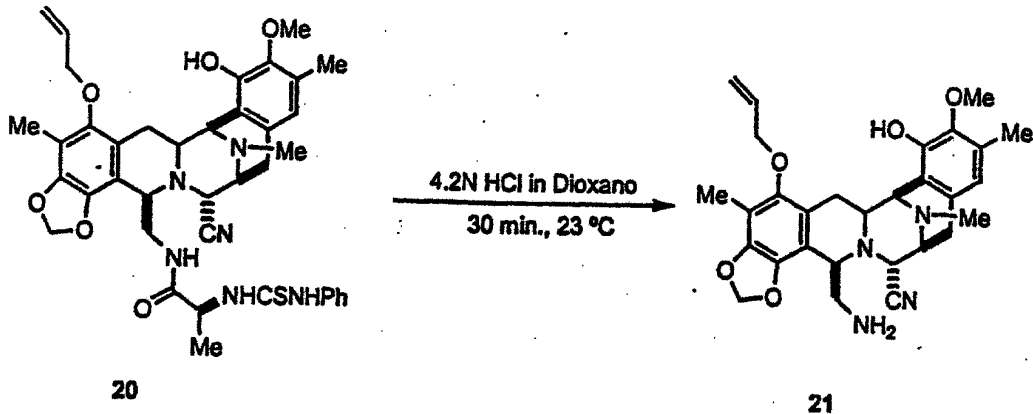
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 8.00 (bs, 1H), 7.45-6.97 (m, 4H), 6.10 (s, 1H), 6.08-6.00 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.40 (dd, $J=1.5$ Hz, $J=17.1$ Hz, 1H), 5.38 (bs, 1H), 5.23 (dd, $J=1.5$ Hz, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.42-

4.36 (m, 1H), 4.19-4.03 (m, 5H), 3.71 (s, 3H), 3.68-3.17 (m, 4H), 2.90 (dd, $J=7.8$ Hz, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.57 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.90 (dd, $J=12.3$ Hz, $J=16.5$ Hz, 1H), 0.81 (d, $J=6.9$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 178.4, 171.6, 148.6, 146.8, 144.3, 142.7, 138.7, 136.2,

133.6, 130.7, 129.8, 126.6, 124.2, 124.1, 120.9, 120.5, 117.7, 117.4, 116.7, 112.6, 112.5, 101.0, 74.0, 60.6, 59.0, 57.0, 56.2, 56.1, 55.0, 53.3, 41.4, 39.7, 26.3, 24.8, 18.3, 15.5, 9.2.

5 ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 724.8. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 725.3.
Пример 8



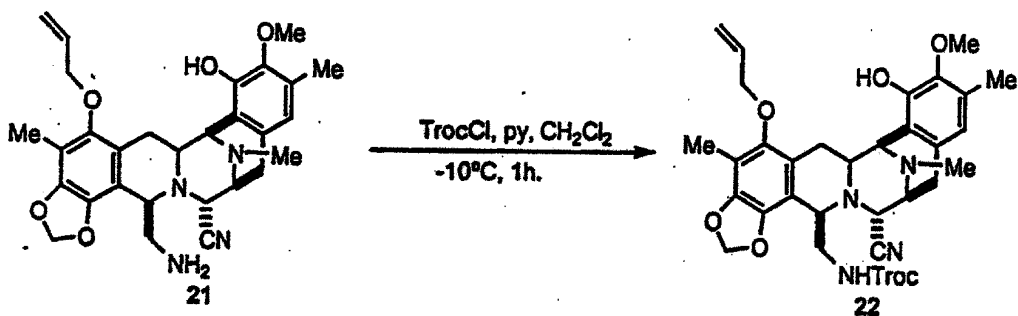
Към разтвор на Int-20 (270 mg, 0.37 ml) в диоксан (1 ml) се прибавя 4N солна киселина/диоксан (3.5 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 30 min при 23°C. След това се прибавят етилацетат (20 ml) и вода (20 ml) и органичният слой се декантира. Водната фаза се базифицира с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (60 ml) ($\text{pH}=8$) при 0°C и се екстрахира с метиленхлорид (2 x 50 ml). Смесените органични екстракти се сушат с натриев сулфат и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:1) до получаване на съединението Int-21 (158 mg, 82%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.3 (етилацетат:метанол 1:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.45 (s, 1H), 6.125-6.03 (п, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.85 (я, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.38 (ddp $J_1=1.2$ Hz, $J_2=17.1$ Hz, 1H), 5.24 (dd, $J_1=1.2$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, 1H), 4.23-4.09 (m, 4H), 3.98 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 3.90 (bs, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.36-3.02 (m, 5H), 2.72-2.71 (m, 2H), 2.48 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.85 (dd, $J_1=11.7$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 148.4, 146.7, 144.4, 142.8, 138.8, 133.8, 130.5, 128.8, 121.5, 120.8, 118.0, 117.5, 116.9, 113.6, 112.2, 101.1, 74.3, 60.7, 59.9, 58.8, 56.6, 56.5, 55.3, 44.2, 41.8, 29.7, 26.5, 25.7, 15.7, 9.4.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5$: 518.3. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 519.2.

Пример 9



Към разтвор на Int-21 (0.64 g, 1.22 ml) в метиленхлорид (6.13 ml) при -10°C се прибавят пиридин (1.104 ml, 1.28 ml) и 2,2,2-трихлоретилхлорформиатат (0.177 ml, 1.28 ml). Реакционната смес се разбърква при тази температура в продължение на 1 h и след това реакционната смес се закалява чрез прибавяне на 0.1 N солна киселина (10 ml) и се екстрахира с метиленхлорид (2 x 10 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат и се концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:2) до получаване на Int-22 (0.84 g, 98%) като бяло пеноподобно твърдо вещество. Rf: 0.57 (етилацетат: метанол 5:1).

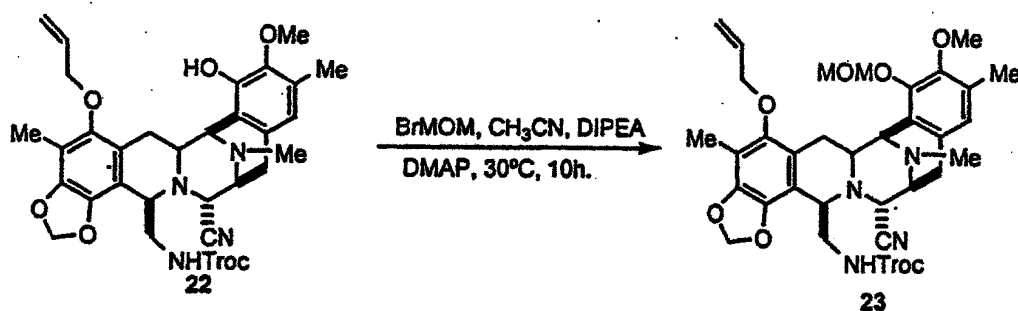
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.50 (s,

1H), 6.10-6.00 (m, 1H), 6.94 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.87 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.73 (bs, 1H), 5.37 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=17.1$ Hz, 1H), 5.26 (dq, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 4.60 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.22-4.10 (m, 4H), 4.19 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.02 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.37-3.18 (m, 5H), 3.04 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18$ Hz, 1H), 2.63 (d, $J=18$ Hz, 1H), 3.31 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.85 (dd, $J=12.3$ Hz, $J=15.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 154.3, 148.5, 146.7, 144.5, 142.8, 139.0, 133.8, 130.7, 128.7, 121.3, 120.8, 117.8, 117.7, 116.8, 112.7, 101.2, 77.2, 74.3, 60.7, 59.9, 57.0, 56.4, 55.3, 43.3, 41.7, 31.6, 26.4, 25.3, 22.6, 15.9, 14.1, 9.4.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$: 694.17. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 695.2.

Пример 10



Към разтвор на Int-22 (0.32 g, 0.46 ml) в CH_3CN (2.33 ml) при 0°C се прибавят диизопропилетиламин (1.62 ml, 9.34 ml), бромметилметилол етер (0.57 ml, 7.0 ml) и диметиламинопиридин (6 mg, 0.046 ml). Сместа се нагрява в продължение на 10 h при 30°C. След това реакционната смес се разрежда с дихлорметан (30 ml) и се излива във воден разтвор на солна киселина при pH 5 (10 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат и разтворителят се отделя при понижено налягане до получаване на остатък, който се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 2:1) до получаване на Int-23 (0.304 g, 88%) като бяло пеноподобно твърдо вещество. Rf: 0.62 (хексан:етилацетат 1:3).

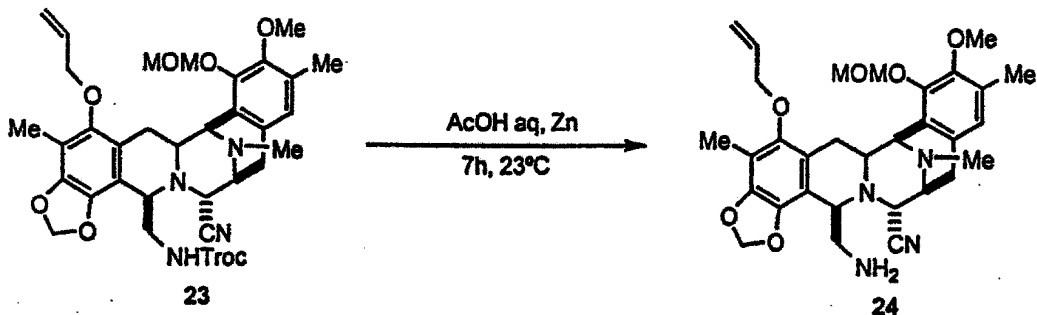
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.73 (s,

1H), 6.10 (m, 1H), 5.94 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.88 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.39 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=17.1$ Hz, 1H), 5.26 (dq, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.61 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.55 (t, $J=6.6$ Hz, 1H), 4.25 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.22-4.11 (m, 4H), 4.03 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 3.38-3.21 (m, 5H), 3.05 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 1.79 (dd, $J_1=12.3$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 154.3, 148.6, 148.4, 144.5, 139.0, 133.6, 130.1, 125.07, 124.7, 124.0, 121.1, 117.7, 112.6, 101.2, 99.2, 77.2, 74.4, 74.1, 59.8, 57.7, 57.0, 56.8, 56.68, 55.3, 43.2, 41.5, 26.4, 25.2, 15.9, 9.3.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_8$: 738.20. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 739.0.

Пример 11



Към суспензия на Int-23 (0.304 g, 0.41 ml) в 90% водна оцетна киселина (4 ml) се прибавя прахообразен цинк (0.2 g, 6.17 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 7 h при 23°C. След това реакционната смес се филтрува през слой от селит, който се промива с метилехлорид. Органичният слой се промива с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (pH 9) (15 ml) и се суши над натриев сулфат. Разтворителят се отделя при понижено налягане до получаване на Int-24 (0.191 g, 83%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.3 (етилацетат:метанол 5:1).

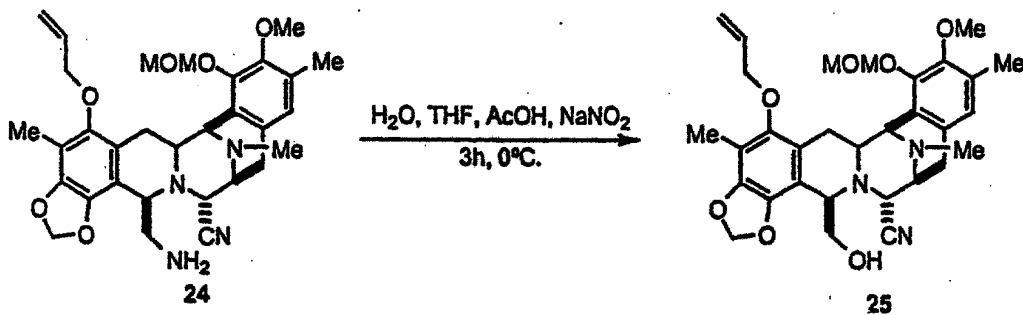
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.68 (s, 1H), 6.09 (m, 1H), 5.90 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.83 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.39 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=17.1$

Hz, 1H), 5.25 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.22-4.09 (m, 3H), 3.98 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 3.89 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 3.37-3.17 (m, 3H), 3.07 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18$ Hz, 1H), 2.71 (m, 2H), 2.48 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.80 (dd, $J_1=12.3$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 148.5, 148.2, 144.3, 138.7, 133.7, 130.7, 129.9, 125.0, 123.9, 121.3, 117.9, 117.5, 113.6, 112.0, 101.0, 99.2, 74.0, 59.8, 59.7, 58.8, 57.6, 57.0, 56.2, 55.2, 44.2, 41.5, 31.5, 26.4, 25.6, 22.5, 16.7, 14.0, 9.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6$: 562.66. Намерено (M+H)⁺: 563.1.

Пример 12



Към разтвор на Int-24 (20 mg, 0.035 ml) във вода (0.7 ml) и тетраhydroфуран (0.7 ml) при 0°C се прибавят натриев нитрит (12 mg, 0.17 ml) и 90% водна оцетна киселина (0.06 ml) и сместа се разбърква в продължение на 3 h при 0°C. След разреждане с дихлорметан (5 ml), органичният слой се промива с вода (1 ml), суши се над натриев сулфат и се концентрира под вакуум, разтворителят се отделя при понижено налягане до получаване на остатък. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 2:1) до получаване на Int-25 (9.8 mg, 50%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.34 (хексан:етилацетат 1:1).

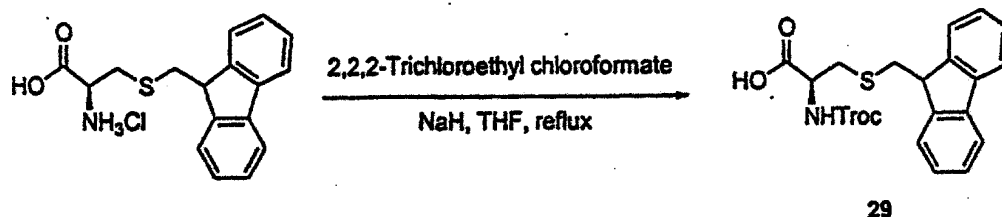
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.71 (s, 1H), 6.11 (m, 1H), 5.92 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.87 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.42 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=17.1$ Hz, 1H), 5.28 (dq, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.26-4.09 (m, 3H), 4.05 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 3.97 (t, $J=3.0$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.67-3.32 (m, 4H), 3.58 (s, 3H), 3.24 (dd, $J_1=2.7$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H), 3.12 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18.0$ Hz, 1H), 2.51 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 1.83 (dd, $J_1=12.3$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 148.7, 148.4, 138.9, 133.7, 131.1, 129.4, 125.1, 123.9, 120.7, 117.6, 117.5, 113.6, 112.3, 101.1, 99.2,

74.0, 63.2, 59.8, 59.7, 57.9, 57.7, 57.0, 56.5, 55.2,
41.6, 29.6, 26.1, 25.6, 22.6, 15.7, 9.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{31}H_{37}N_3O_7$:
563.64. Намерено $(M+H)^+$: 564.1.

Пример 13



Изходният материал (2 g, 5.90 ml) се при-
бавя към суспензия на натриев хидрид (354 mg,
8.86 ml) в тетраhydroфуран при 23°C, след ко-
ето суспензията се третира с алилхлорформиат
(1.135 ml, 8.25 ml) при 23°C, след което се на-
грива при кипене на обратен хладник в продъл-
жение на 3 h. Суспензията се охлажда, филтрува
се и твърдото вещество се промива с етилацетат
(100 ml) и филтратът се концентрира. Суrowото
масло се смива с хексан (100 ml) и се държи
при 4°C в продължение на една нощ. След това
разтворителят се декантира и получената светло-
жълта каша се третира с метиленхлорид (20 ml)
и се утаява с хексан (100 ml). След 10 min раз-
творителят отново се декантира. Операцията се
повтаря до получаване на бяло твърдо вещество.

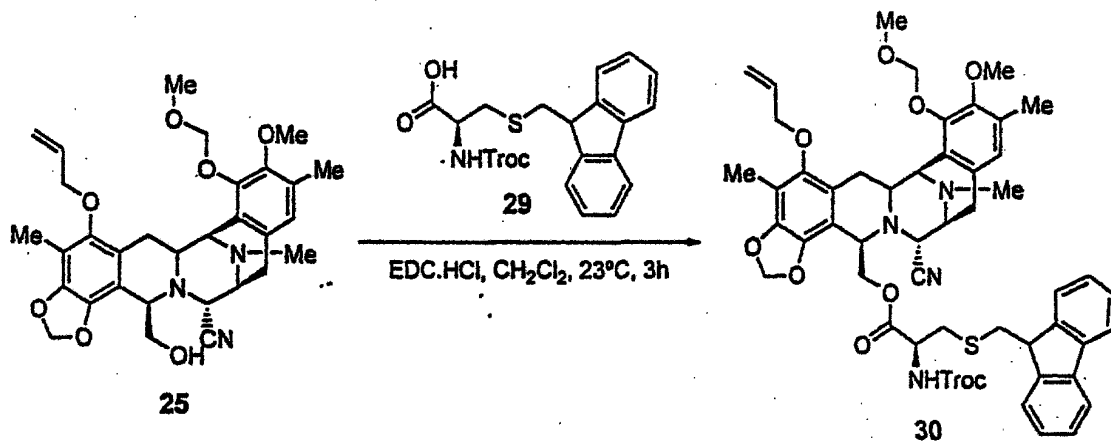
Твърдото бяло вещество се отфилтрува и се су-
ши до получаване на съединението Int-29 (1.80
g, 65%) като бяло твърдо вещество.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): делта 7.74 (d,
 $J=7.5$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 7.33 (t,
 $J=7.5$ Hz, 2H), 7.30 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 5.71 (d,
 $J=7.8$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 4.59 (m,
1H), 4.11 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 3.17 (dd, $J_1=6.0$ Hz,
 $J_2=2.7$ Hz, 2H), 3.20 (dd, $J_1=5.4$ Hz, $J_2=2.1$ Hz,
2H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): делта 173.6,
152.7, 144.0, 139.7, 137.8, 126.0, 125.6, 123.4,
118.3, 73.4, 52.4, 45.5, 35.8, 33.7.

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{20}H_{18}Cl_3NO_4S$:
474.8. Намерено $(M+Na)^+$: 497.8.

Пример 14



Получава се азеотропна смес на съедине-
нието Int-25 (585 mg, 1.03 ml) съединението Int-
29 (1.47 mg, 3.11 ml) с безводен толуен (3 x 10
ml). Към разтвор на Int-25 и Int-29 в безводен
метиленхлорид (40 ml) се прибавят DMAP (633
mg, 5, 18 ml) и EDC.HCl (994 mg, 5.18 ml) при
23°C. Реакционната смес се разбърква при 23°C
в продължение на 3 h. Реакционната смес се раз-
пределя в наситен воден разтвор на натриев би-
карбонат (50 ml) и слоевете се разделят. Водният
слой се промива с метиленхлорид (50 ml).

Смесените органични слоеве се сушат над на-
триев сулфат, филтруват се и се концентрират.
Суrowият продукт се пречиства посредством ко-
лонна хроматография под налягане (силициев
двуокис, хексан:етилацетат 3:1) до получаване
на Int-30 (1.00 g, 95%) като бледокремаво жълто
твърдо вещество.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): делта 7.72 (m,
2H), 7.52 (m, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 6,
65 (s, 1H), 6.03 (m, 1H), 5.92 (d, $J=1.5$ Hz, 1H),
5.79 (d, $J=1.5$ Hz, 2H), 5.39 (m, 1H), 5.29 (dq, J_1

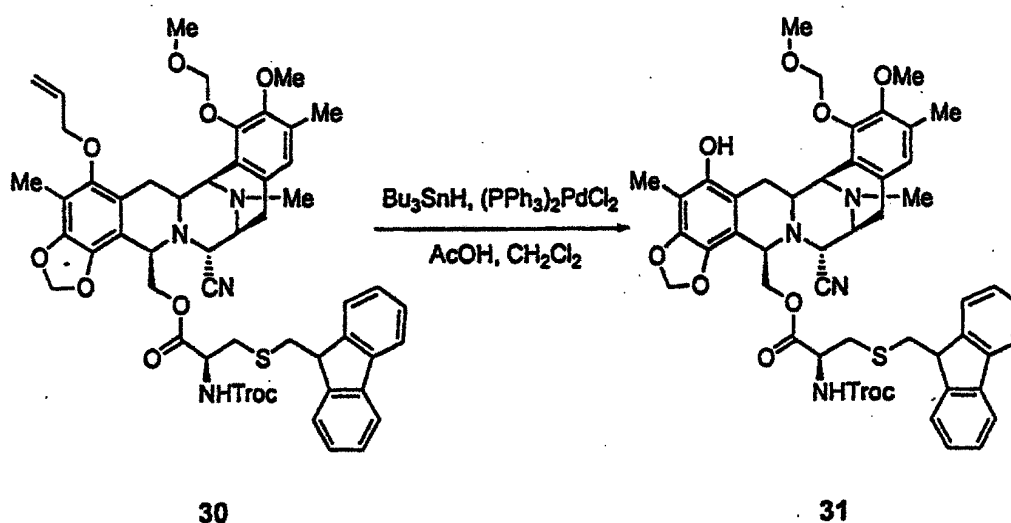
= 10.3 Hz, $J_2=1.5$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4, 73 (d, $J=11.9$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J=11.9$ Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 4.36-3.96 (m, 9H), 3.89 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3, 33 (m, 1H), 3.20 (m, 2H), 2.94 (m, 3H), 2.59 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.83 (dd, $J_1=16.0$ Hz, $J_2=11.9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 169.7, 154, 0, 148.8, 148.4, 145, 7, 144, 5, 140.9, 139, 0,

133.7, 130.9, 130.6, 127.6, 127.0, 124.8, 124.6, 124.1, 120.8, 119.9, 118.2, 117, 7, 117.3, 112.7, 112.1, 101.3, 99.2, 74.7, 73.9, 64.4, 59.8, 57.7, 57.0, 56.8, 55.4, 53.3, 46.7, 41.4, 36.5, 34.7, 31.5, 26.4, 24.9, 22.6, 15.7, 14.0, 9.1.

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{51}\text{H}_{53}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 1020.4. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 1021.2.

Пример 15



Към разтвор на Int-30 (845 mg, 0.82 ml) на капки при 23°C се прибавят оцетна киселина (500 mg, 8.28 ml) и $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (29 mg, 0.04 ml) в безводен метиленхлорид (20 ml) и Bu_3SnH (650 mg, 2.23 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 15 min при тази температура. Суровият продукт се закалява с вода (50 ml) и се екстрахира с метиленхлорид (3 x 50 ml). Органичните слоеве се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират. Суровият продукт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан в градиент от 1:5 до 1:3) до получаване на съединението Int-31 (730 mg, 90%) като бледокремаво жълто твърдо вещество.

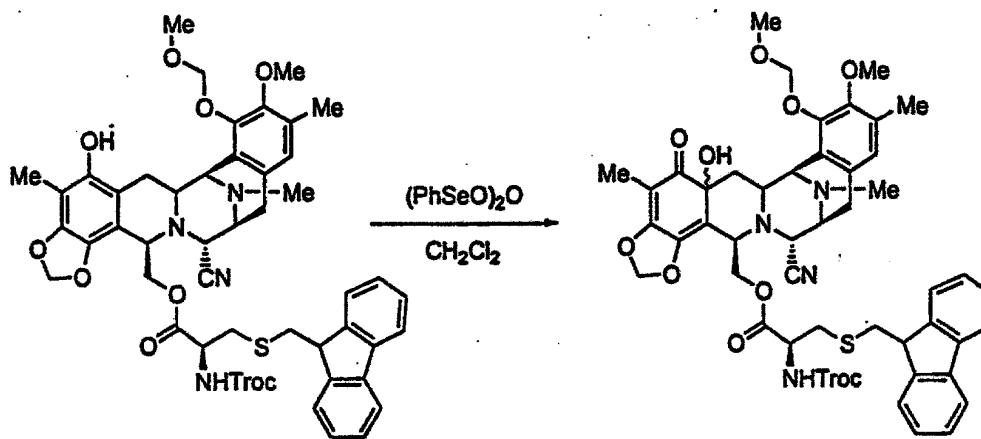
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 7.72 (m, 2H), 7.56 (m, 2H), 7.37 (m, 2H), 7.30 (m, 2H),

6.65 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.36 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.20 (d, $J=9.0$, 1H), 4.57 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 4.73 (t, 1H), 4.48 (d, $J=11.9$ Hz, 1H), 4.08 (m, 4H), 3.89 (m, 1H), 3.86 (t, $J=6.2$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 3.02-2.89 (m, 4H), 2.67 (s, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.51 (dd, $J_1=14.3$ Hz, $J_2=4.5$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.83 (m, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 168.2, 152.5, 148.1, 146.2, 144.4, 144.3, 143.3, 139.6, 134.6, 129.7, 129.6, 126.2, 125.6, 123.4, 123.3, 121.6, 118.5, 116.3, 110.7, 110.2, 105.1, 99.4, 98.5, 75.2, 73.3, 61.7, 58.4, 57.9, 56.3, 56.1, 55.1, 54.7, 53.9, 51.9, 45.2, 40.1, 35.6, 33.3, 24.8, 23.3, 14.5, 7.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 980.3. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 981.2.

Пример 16



31

32

Към разтвор на Int-31 (310 mg, 0.32 ml) в безводен метиленхлорид (15 ml) при -10°C през канюла се прибавя разтвор на бензенселенов анхидрид 70% (165 mg, 0.32 ml) в безводен метиленхлорид (7 ml) като температурата се поддържа -10°C . Реакционната смес се разбърква при -10°C в продължение на 5 min. При тази температура се прибавя наситен разтвор на натриев бикарбонат (30 ml). Водният слой се промива с още метиленхлорид (40 ml). Органичните слоеве се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан в градиент от 1:5 до 1:1) до получаване на Int-32 (287 mg, 91%, HPLC: 91.3%) като бледокремаво жълто твърдо вещество като смес на два изомера (65:35), която се използва в следващия етап.

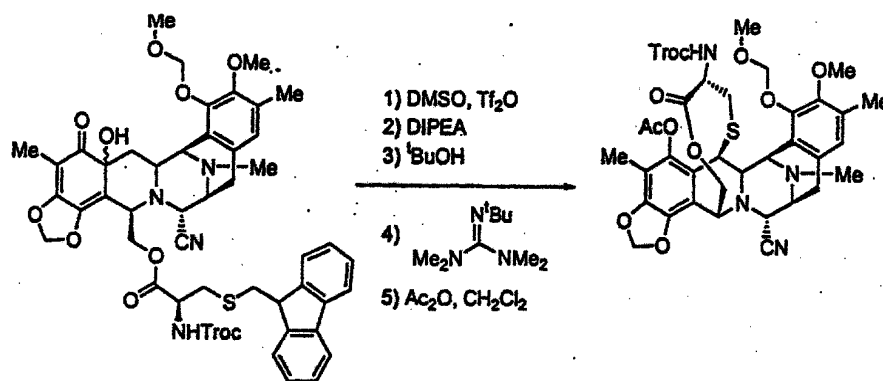
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта (Смес на изомери) 7.76 (m, 4H), 7.65 (m, 4H), 7.39 (m, 4H), 7.29 (m, 4H), 6.62 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.79-

5.63 (m, 6H), 5.09 (s, 1H), 5.02 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.80-4.63 (m, 6H), 4.60 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.38 (dd, $J_1=12.8$ Hz, $J_2=7.5$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J_1=12.8$ Hz, $J_2=7.5$ Hz, 1H), 4.16-3.90 (m, 10H), 3.84 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 3.49 (m, 1H), 3.33-2.83 (m, 14H), 2.45-2.18 (m, 2H), 2.21 (s, 6H), 2.17 (s, 6H), 1.77 (s, 6H), 1.67 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта (Смес на изомери) 168.6, 168.4, 158.6, 154.8, 152.8, 152.5, 147.3, 147.2, 146.8, 144.1, 144.0, 140.8, 139.7, 137.1, 129.8, 129.3, 128.4, 128.7, 126.8, 125.5, 123.7, 123.6, 123.5, 123.4, 122.2, 121.3, 118.3, 115.8, 115.5, 110.2, 106.9, 103.5, 103.2, 100.1, 99.6, 97.9, 97.7, 93.8, 73.4, 70.9, 69.2, 64.9, 62.5, 59.3, 58.9, 58.4, 56.7, 56.3, 56.2, 55.4, 55.2, 55.1, 54.9, 54.7, 54.3, 54.1, 53.8, 52.8, 45.5, 40.5, 40.0, 39.8, 35.8, 35.5, 33.9, 33.7, 30.1, 28.8, 24.2, 24.1, 21.2, 14.5, 14.4, 12.7, 6.0, 5.7.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 996.3. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 997.2.

Пример 17



32

33

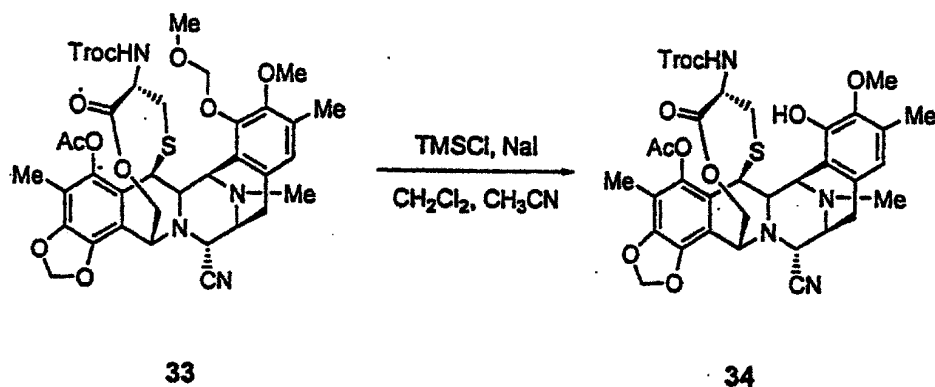
Реакционната колба се обгаря два пъти, пуска се вакуум/продухва се с аргон няколко пъти и се поддържа атмосфера на аргон за реакцията. Към разтвор на диметилсулфоксид (39.1 ml, 0.55 ml, 5 eq) в безводен метиленхлорид (4.5 ml) при -78°C на капки се прибавя трифлик анхидрид (37.3 ml, 0.22 ml, 2 eq). Реакционната смес се разбърква при -78°C в продължение на 20 min, след което при -78°C , през канюла се прибавя разтвор на Int-32 (110 mg, 0.11 ml, HPLC: 91.3%) в безводен метиленхлорид (1 ml за основното прибавяне и 0.5 ml за промиването). През време на прибавянето температурата в двете колби се поддържа -78°C и цветът се променя от жълт в кафяв. Реакционната смес се разбърква при -40°C в продължение на 35 min. През този период от време цветът на разтвора се променя от жълт в тъмнозелен. След това на капки се прибавя Pr_2NRt (153 ml, 0.88 ml, 8 eq) като температурата на реакционната смес се поддържа 0°C в продължение на 45 min и през това време цветът на разтвора става кафяв. След това на капки се прибавят *t*-бутанол (41.6 mg, 0.44 ml, 4 eq) и 24-бутил-1,1,3,3-тетраметилгуанидин (132.8 ml, 0.77 ml, 7 eq) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 40 min. През това време на капки се прибавя оцетен анхидрид (104.3 ml, 1.10 ml, 10 eq) и реакци-

онната смес се държи при 23°C в продължение на още 1 h. След това реакционната смес се разрежда с метиленхлорид (20 ml) и се промива с воден наситен разтвор на амониев хлорид (50 ml), натриев бикарбонат (50 ml) и натриев хлорид (50 ml). Смесените органични слоеве се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (елуент: етилацетат/хексан в градиент от 1:3 до 1:2) до получаване на съединението Int-33 (54 mg, 58%) като бледожълто твърдо вещество.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.85 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.20 (d, $J=5.8$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 5.03 (m, 1H), 4.82 (d, $J=12.2$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.35-4.17 (m, 4H), 3.76 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.45 (m, 2H), 2.91 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.12 (m, 2H), 2.03 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 168.5, 167.2, 152.7, 148.1, 147.1, 144.5, 139.6, 139.1, 130.5, 129.0, 123.7, 123.5, 123.3, 118.8, 116.5, 112.1, 100.6, 97.8, 73.3, 60.5, 59.4, 59.2, 58.3, 57.6, 57.4, 56.1, 53.5, 53.1, 40.6, 40.0, 31.0, 22.2, 18.9, 14.4, 8.1.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 842.1. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 843.1. Пример 18



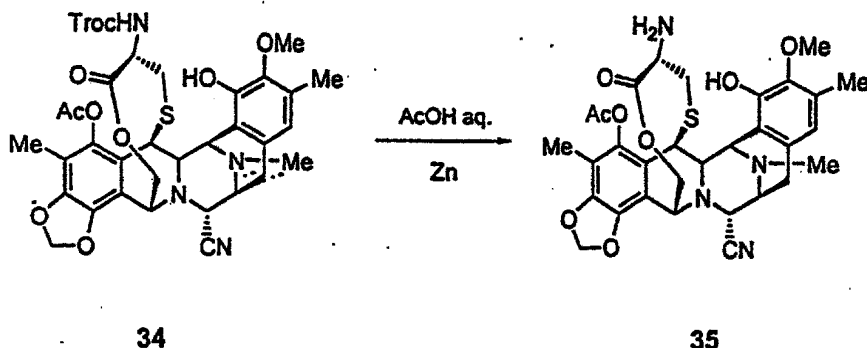
Към разтвор на Int-33 (12 mg, 0.014 ml) в сух метиленхлорид (1.2 ml) и ацетонитрил за високоефективна течна хроматография (1.2 ml) при 23°C се прибавят натриев йодид (21 mg, 0.14 ml) и прясно дестилиран (над калциев хидрид при атмосферно налягане) триметилсилилхлорид (15.4 mg, 0.14 ml). След 15 min разтворът се разрежда с дихлорметан (10 ml) и се промива с прясно приготвен воден наситен разтвор на $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (3 x 10 ml). Органичният слой се суши

над натриев сулфат, филтрува се и се концентрира. Получава се съединението Int-34 (13 mg, количествено) като бледожълто твърдо вещество, което се използва в следващия етап без допълнително пречистване.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.85 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.27 (d, $J=5.8$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 5.03 (d, $J=11.9$ Hz, 1H), 4.82 (d, $J=12.2$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J=13.0$ Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.27 (bs, 1H),

4.18 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.44 (m, 1H), 3.42 (m, 1H), 2.91 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.03 (s, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{34}H_{35}N_4O_{10}S$:
798.1. Намерено $(M+H)^+$: 799.1.
Пример 19



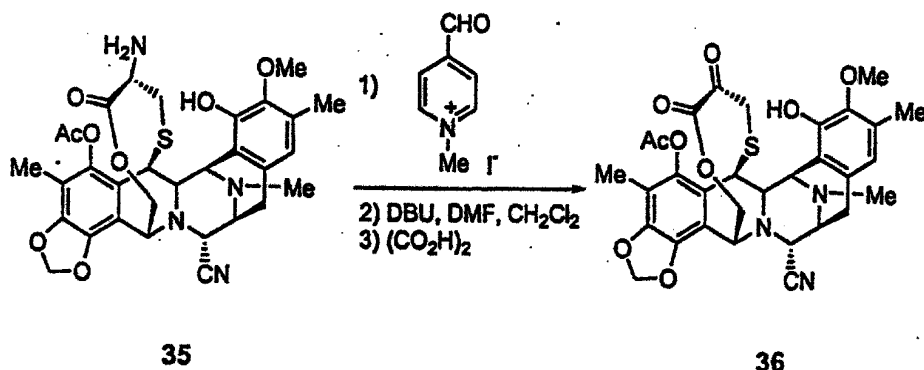
Към разтвор на Int-34 (13 mg, 0.016 ml) в 15 смес на оцетна киселина/вода (90:10, 1 ml) при 23°C се прибавя цинк на прах (5.3 mg, 0.081 ml). Реакционната смес се нагрява при 70°C в продължение на 6 h. След това разтворът се охлажда до 23°C, разрежда се с дихлорметан (20 ml) и се промива с воден наситен разтвор на натриев бикарбонат (15 ml) и воден разтвор на триетиламин (15 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и се концентрира. Остатъкът се пречиства посредством колонна 25 хроматография под налягане Silica-NH₂ (елуент: етилацетат/хексан в градиент от 0:100 до 50:50) до получаване на съединението Int-35 (6.8 mg, 77%) като бледожълто твърдо вещество.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.51 (s, 1H), 6.03 (dd, $J_1=1.3$ Hz, $J_2=26.5$ Hz, 1H), 5.75 (bs, 1H), 5.02 (d, $J=11.6$ Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.18 (d, $J=11.6$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J_1=1.9$ Hz, $J_2=11.5$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.40 (m, 2H), 3.26 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 2.88 (m, 2H), 2.30-2.10 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.02 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 174.1, 168.4, 147.8, 145.4, 142.9, 140.8, 140.1, 131.7, 130.2, 129.1, 128.3, 120.4, 118.3, 117.9, 113.8, 111.7, 101.7, 61.2, 59.8, 59.2, 58.9, 54.4, 53.8, 54.4, 41.1, 41.5, 34.1, 23.6, 20.3, 15.5, 9.4.

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{31}H_{34}N_4O_8S$:
622.7. Намерено $(M+H)^+$: 623.2.

Пример 20



Разтвор на N-метилпиридин-4-карбоксалдеhid йодид (378 mg, 1.5 mmol) в безводен диметилформамид (5.8 ml) се третира с безводен 45 толуен (2x10 ml), за да се елиминира водата посредством азеотропно отделяне на толуена. Разтвор на Int-35 (134 mg, 0.21 mmol), предварително третиран с безводен толуен (2 x 10 ml), в безводен дихлорметан (дестилиран над калциев хидрид, 50

7.2 ml) през канюла при 23°C се прибавя към горния оранжев разтвор. Реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 4 h. След това време при 23°C на капки се прибавя DBU (32.2 l, 0.21 mmol) и се разбърква при 23°C в продължение на 15 min. Към реакционната смес се прибавя пряко приготвен воден наситен разтвор на оксалова киселина (5.8 ml) и се раз-

бърква при 23°C в продължение на 30 min. След това реакционната смес се охлажда до 0°C и на порции се прибавя натриев бикарбонат (15 ml), последвано от прибавяне на воден наситен разтвор на натриев бикарбонат. Сместа се екстрахира с етиленов окис. Към водния слой се прибавя калиев карбонат и се екстрахира с етиленов окис. Смесените органични слоеве се сушат над магнезиев сулфат и разтворителят се отделя при понижено налягане. Суровият продукт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (етилацетат/хексан в градиент от 1:3 до 1:1) до получаване на съединението Int-36 (77 mg, 57%) като бледожълто твърдо вещество.

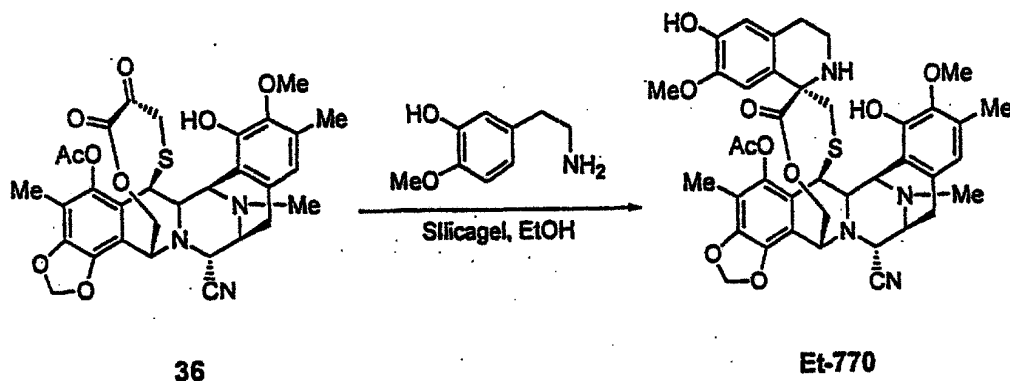
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.48 (s, 15

1H), 6.11 (d, $J=1.3$ Hz, 1H), 6.02 (d, $J=1.3$ Hz, 1H), 5.70 (bs, 1H), 5.09 (d, $J=11.3$ Hz, 1H), 4.66 (bs, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.27 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.21 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.54 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 3.42 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 2.88-2.54 (m, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.04 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 186.7, 168.5, 160.5, 146.4, 142.9, 141.6, 140.7, 130.4, 129.8, 121.7 (2C), 120.0, 117.8, 117.1, 113.5, 61.7, 61.4, 60.3, 59.8, 58.9, 54.6, 41.6, 36.9, 29.7, 24.1, 20.3, 15.8, 14.1, 9.6.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$: 621.7. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 622.2.

Пример 21



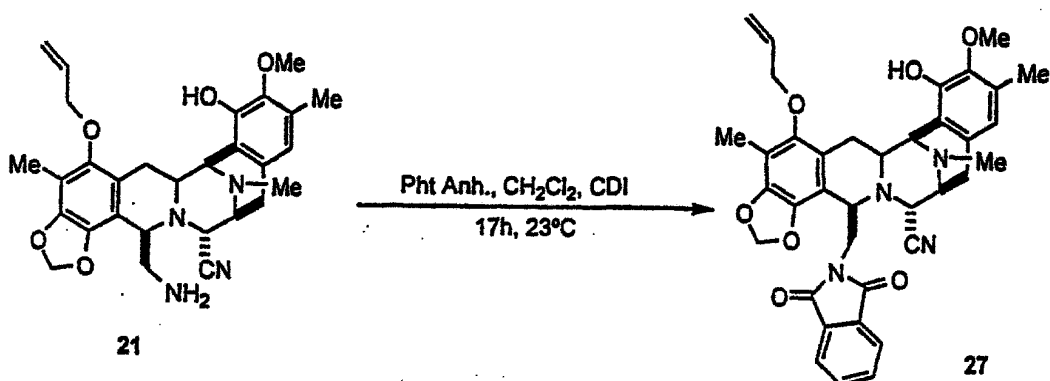
Към разтвор на 36 (49 mg, 0.08 ml) и 2-[3-хидрокси-4-метоксифенил]етиламин (46.2 mg, 0.27 ml) в етанол (2.5 ml) при 23°C се прибавя силикагел (105 mg). Реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 14 h. Разрежда се с хексан и се излива в хроматографска колона (етилацетат/хексан от 1/3 до 1/1) до получаване на Et-770 (55 mg, 90%) като бледожълто твърдо вещество.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.60 (s, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.02 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 4.57 (bs, 1H),

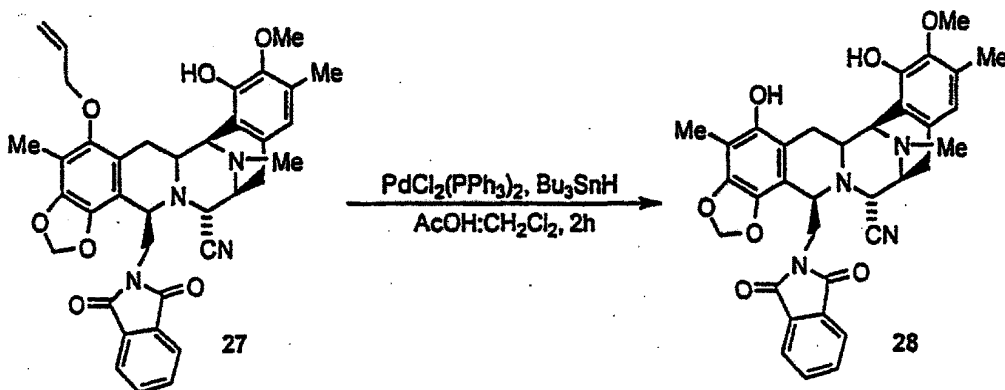
4.32 (bs, 1H), 4.28 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 4.18 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J=2.1$ Hz, $J=11.5$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.50 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.10 (ddd, $J=4.0$ Hz, $J=10.0$ Hz, $J=11.0$ Hz, 1H), 2.94 (m, 2H), 2.79 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.35 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.09 (m, 1H), 2.04 (s, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 770.7. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 771.2.

Пример 22



Към разтвор на 21 (22 mg, 0.042 ml) в метиленхлорид (0.8 ml) се прибавя фталов анхидрид (6.44 mg, 0.042 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 2 h при 23°C. След това се прибавя карбонилдиимидазол (1 mg, 0.006 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 7 h при 23°C. След това се прибавя карбонилдиимидазол (5.86 mg, 0.035 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на още 17 h при 23°C. Разтворът се разрежда с метиленхлорид (15 ml) и се промива с 0.1 N солна киселина (15 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силикагел, хексан:етилацетат 2:1) до получаване на 27 (26.4 mg, 96%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.58 (етилацетат).



Към разтвор на 27 (26 mg, 0.041 ml) в метиленхлорид (11 ml) при 23°C се прибавят оцетна киселина (11 ml), $(PPh_3)_2PdCl_2$ (2.36 mg) и Bu_3SnH (28 ml, 0.10 ml). След разбъркване при тази температура в продължение на 2 h, реакционната смес се излива в хроматографска колона под налягане (силикагел, градиент хексан към хексан:етилацетат 2:1) до получаване на 28 (24.7 mg, 99%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.33 (хексан:етилацетат 2:1).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): делта 7.75-7.70 (m, 2H), 7.69-7.65 (m, 2H), 6.39 (s, 1H), 5.82 (bs, 1H), 5.50 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.0 (d, $J=1.5$ Hz, 1H),

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 7.73-7.64 (m, 4H), 6.40 (s, 1H), 6.12-6.01 (m, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.58 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.37 (dd, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=17.4$ Hz), 5.23 (dd, $J_1=1.8$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 4.22-4.15 (m, 3H), 4.08 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.59-3.55 (m, 2H), 3.35 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 3.27-3.16 (m, 2H), 3.05 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18.3$ Hz, 1H), 2.64 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.80 (dd, $J_1=1$ Hz, $J_2=15$ Hz, 1H);

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): делта 167.7, 148.9, 146.4, 144.2, 142.6, 139.5, 134.0, 133.5, 132.0, 131.0, 128.3, 123.0, 121.3, 120.9, 118.1, 117.5, 116.8, 113.6, 112.4, 100.8, 74.5, 60.6, 60.5, 57.7, 56.6, 55.6, 55.5, 42.3, 41.7, 26.6, 25.5, 15.9, 9.46.

ESI-MS m/z: Изчислено за $C_{37}H_{35}N_4O_7$: 648.79. Намерено $(M+H)^+$: 649.3.

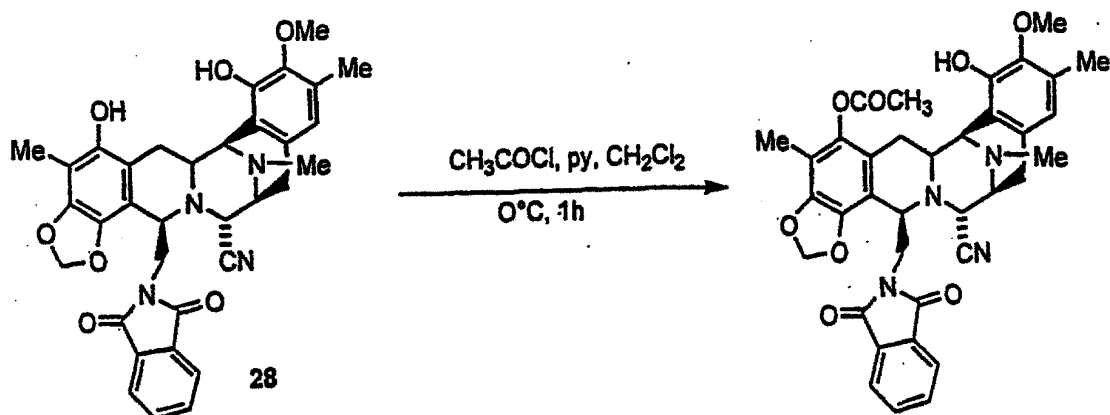
Пример 23

4.45 (bs, 1H), 4.23-4.19 (m, 2H), 4.10-4.09 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.60-3.48 (m, 2H), 3.36-3.33 (m, 1H), 3.26-3.20 (m, 1H), 3.14-3.08 (m, 1H), 3.98(d, $J=14.4$ Hz, 1H), 2.61 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H). 2.23 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.85 (dd, $J_1=12$ Hz, $J_2=15.3$ Hz);

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): делта 167.8, 146.4, 145.1, 143.9, 142.7, 137.1, 133.5, 131.9, 130.8, 128.4, 122.9, 120.8, 118.0, 116.8, 114.0, 113.4, 106.4, 100.4, 60.6, 60.5, 57.8, 56.6, 55.5, 55.2, 42.6, 41.5, 25.6, 25.5, 15.8, 8.9.

ESI-MS m/z: Изчислено за $C_{34}H_{32}N_4O_7$: 608.6. Намерено $(M+H)^+$: 609.2.

Пример 24



Към разтвор на 28 (357 mg, 0.058 ml) в метиленхлорид (3 ml) при 0°C се прибавят ацетилхлорид (41.58 ml, 0.58 ml), и пиридин (47.3 ml, 0.58 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h и след това разтворът се разрежда с метиленхлорид (15 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (15 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (RP-18, CH₃CN:вода 60:40) до получаване на фталасцидин (354 mg, 94%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.57 (CH₃CN:вода 7:3, RP-18).

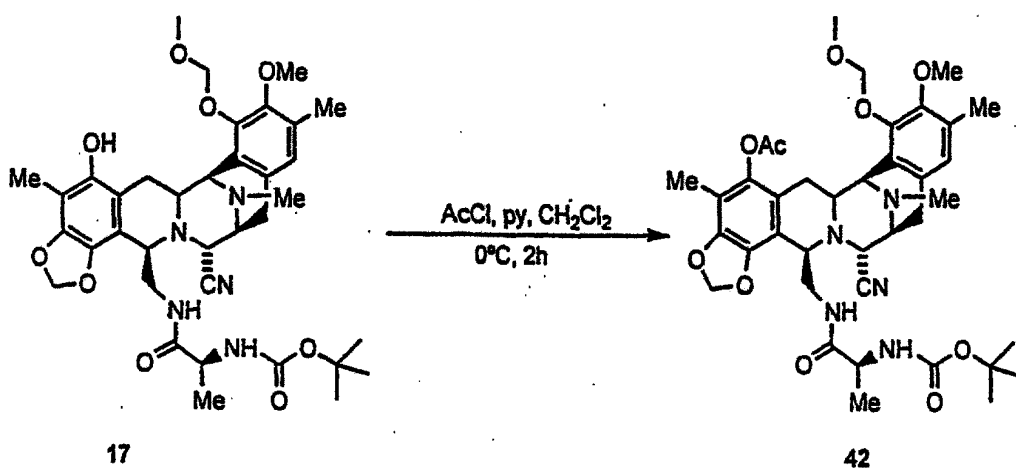
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 7.72-7.68 (m, 2H), 7.67-7.63 (m, 2H), 6.38 (s, 1H), 5.69 (d,

J=1.2 Hz, 1H), 5.64(d, J=1.2Hz, 1H), 5.30 (bs, 1H), 4.25-4.21 (m, 2H), 4.02 (d, J=2.1 Hz, 1H), 3.64-3.62 (m, 5H), 3.33 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 3.21-3.16 (m, 1H), 3.02 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18 Hz, 1H), 2.76 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 2.63 (d, J=17.7 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 1.73 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=15.3 Hz, 1H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 168.5, 167.6, 146.2, 144.2, 142.5, 141.0, 140.5, 133.4, 131.8, 130.7, 128.2, 120.9, 120.8, 117.9, 116.4, 113.6, 101.1, 60.4, 60.0, 57.0, 56.3, 55.6, 55.4, 41.6, 41.5, 26.5, 25.2, 20.2, 15.7, 9.4.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₃₄N₄O₈:650. Намерено (M+H)⁺: 651.2.

Пример 25



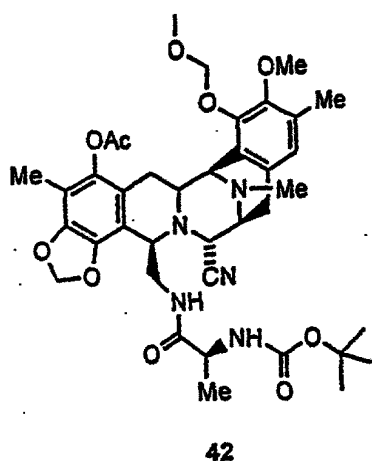
Към разтвор на 17 (300 mg, 0.432 ml) в метиленхлорид (2 ml) при 0°C се прибавят ацетилхлорид (30.7 ml, 0.432 ml), и пиридин (34.9 ml, 0.432 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 2 h при тази температура и след това разтворът се разрежда с метиленхлорид (15 ml) и се промива с 0.1N солна киселина

(15 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане до получаване на 42 (318 mg, 100%) като бяло твърдо вещество, което се използва в следващите реакции без допълнително пречистване. Rf: 0.5 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.66 (s,

1H), 5.93 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.83 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.42 (t, J=6.6 Hz, 1H), 5.07 (d, J=5.7 Hz, 1H), 4.98 (d, J=5.7 Hz, 1H), 4.16 (d, J=1.8 Hz, 1H), 4.11 (d, J=2.7 Hz, 1H), 3.98 (bs, 1H), 3.73-3.61 (m, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.52-3.48 (m, 1H), 3.50 (s, 3H), 3.33 (d, J=9.6 Hz, 1H), 3.17-3.14 (m, 1H), 2.97-2.87 (m, 1H), 2.75-2.70 (d, J=16.8 Hz, 1H), 2.26 (s, 6H), 2.16 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.70 (dd, J₁=11.7 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 1.33 (s, 9H), 0.59 (d, J=6.0 Hz, 3H).

10



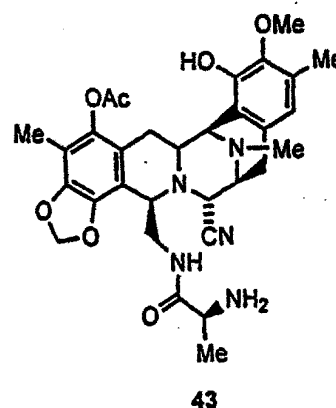
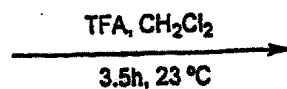
Към разтвор на 42 (318 mg, 0.432 ml) в метиленхлорид (2.16 ml) се прибавя трифлуороцетна киселина (1.33 ml, 17.30 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 3.5 h при 23°C. Реакционната смес се закалява при 0°C с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (60 ml) и се екстрахира с метиленхлорид (2 x 70 ml). Смесените органични слоеве се сушат над натриев сулфат и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силикагел, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 43 (154 mg, 60%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.22 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.47 (s,

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 172.0, 168.3, 162.3, 148.2, 144.4, 140.4, 140.2, 130.9, 130.5, 125.3, 123.4, 120.8, 117.6, 112.7, 111.7, 101.4, 99.1, 79.2, 59.5, 58.8, 57.5, 57.4, 56.4, 55.5, 55.0, 41.3, 39.0, 28.2, 26.4, 24.6, 19.9, 18.4, 15.4, 9.1.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₈H₄₉N₅O₁₀: 735.82. Намерено (M+H)⁺: 736.3.

Пример 26



25

30

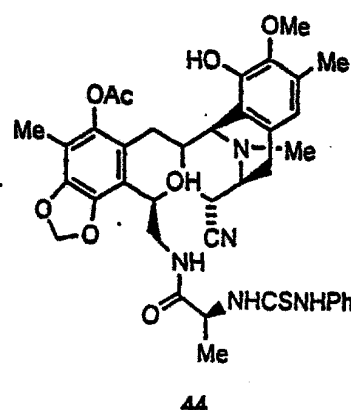
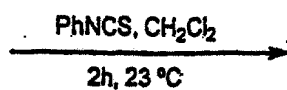
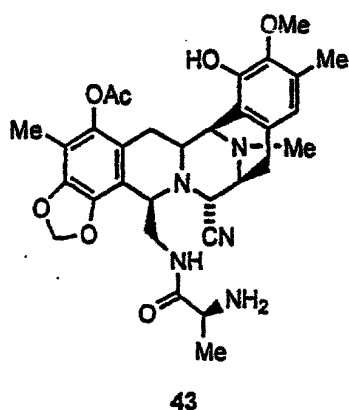
35

1H), 6.22 (bs, 1H), 5.95 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.88 (d, J=1.2 Hz, 1H), 4.08-4.06 (m, 2H), 4.01 (bs, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.49 (d, J=3.6 Hz, 1H), 3.33 (d, J=8.1 Hz, 1H), 3.26-3.22 (m, 1H), 2.95 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18 Hz, 1H), 2.80-2.76 (m, 2H), 2.58 (d, J=18 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.77 (dd, J₁=12.3 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 0.90 (d, J=6.9 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 174.8, 169.0, 146.8, 144.4, 142.8, 140.5, 140.2, 131.1, 128.8, 120.8, 120.5, 117.1, 112.9, 111.6, 101.5, 60.3, 59.0, 56.5, 56.3, 55.6, 55.1, 50.2, 41.6, 39.5, 26.8, 26.3, 24.9, 20.2, 15.4, 9.2.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₁H₃₇N₅O₇: 591.65. Намерено (M+H)⁺: 592.3.

Пример 27



Към разтвор на 43 (154 mg, 0.26 ml) в метиленхлорид (1.3 ml) се прибавя фенилизотиоцианат (186 ml, 1.56 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 2 h при 23°C. Реакционната смес се концентрира под вакуум и остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силикагел, градиент хексан към хексан:етилацетат 1:1) до получаване на 44 (120 mg, 63%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.41 (етилацетат:метанол 5:1).

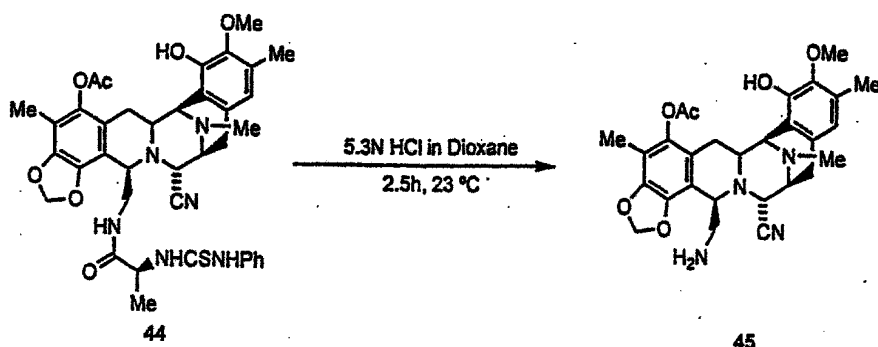
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 8.17 (s, 1H), 7.49-7.44 (m, 3H), 7.31-7.24 (m, 3H), 7.05 (d, J=6.9 Hz, 1H), 5.98 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.87 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.52 (bs, 1H), 4.54 (t, J=6.6 Hz,

1H), 4.15 (d, J=2.1 Hz, 1H), 4.03 (d, J=2.7 Hz, 2H), 3.80 (bs, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.40 (bs, 1H), 3.32 (d, J=7.8 Hz, 1H), 3.16 (d, J=11.7 Hz, 1H), 2.82-2.61 (m, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.80 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 0.62 (d, J=6.0 Hz, 3H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₈H₄₂N₆O₇S: 726.3. Намерено (M+H)⁺: 727.3.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 178.5, 171.9, 168.7, 146.7, 144.5, 142.6, 140.6, 140.3, 136.3, 131.0, 129.9, 128.9, 126.7, 124.4, 120.9, 120.6, 117.7, 116.6, 112.7, 111.9, 101.4, 60.4, 58.7, 57.5, 56.1, 55.7, 55.1, 53.3, 41.4, 38.8, 26.3, 24.4, 20.2, 18.1, 15.3, 9.2.

Пример 28



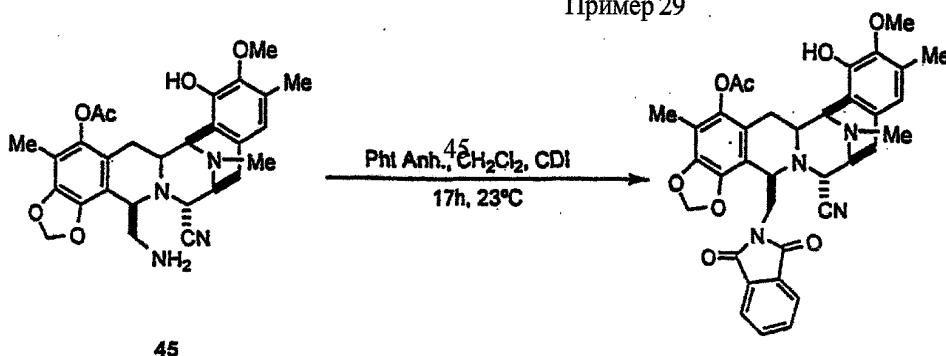
Към разтвор на 44 (120 mg, 0.165 ml) в диоксан (0.9 ml) се прибавя 5.3N солна киселина/диоксан (1.8 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 2.5 h при 23°C. След това към тази реакционна смес се прибавят метиленхлорид (10 ml) и вода (5 ml) и органичният слой се декантира. Водната фаза се базифицира при 0°C с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (20 ml) (pH 8) и се екстрахира с метиленхлорид (2x15 ml). Смесените органични екстракти се сушат с натриев сулфат и се концентрират под вакуум до получаване на 45 (75 mg, 87%) като бяло твърдо вещество, което се използва в следващите реакции без допълнително пречистване. Rf: 0.23 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.43 (s, 1H), 5.94 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.87 (d, J=1.2 Hz, 1H), 4.10 (d, J=2.1 Hz, 1H), 3.98 (d, J=2.4 Hz, 1H), 3.91 (bs, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.34-3.25 (m, 2H), 3.05 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=8.1 Hz, 1H), 2.80-2.73 (m, 3H), 2.46 (d, J=18 Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.79 (dd, J₁=12.6 Hz, J₂=16.2 Hz, 1H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 168.7, 146.7, 144.4, 142.9, 140.4, 130.4, 128.9, 121.1, 120.8, 117.8, 116.8, 113.6, 111.5, 101.4, 67.6, 60.5, 59.8, 58.4, 56.6, 55.8, 55.3, 43.6, 41.8, 31.3, 25.6, 20.2, 15.6, 9.2.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₂₈H₃₂N₄O₆: 520.58. Намерено (M+H)⁺: 521.3.

Пример 29



Към разтвор на 45 (10 mg, 0.02 ml) в метиленхлорид (0.4 ml) се прибавя фталов анхидрид (2.84 mg, 0.02 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 2 h при 23°C. След това към тази реакционна смес се прибавя карбонилдиимидазол (0.5 mg, 0.003 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 7 h при 23°C. След това се прибавя карбонилдиимидазол (2.61 mg, 0.016 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на още 17 h при 23°C. Разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (RP-18, CH₃CN:вода 60:40) до получаване на фталасцидин (11.7 mg, 93%) като бяло твър-

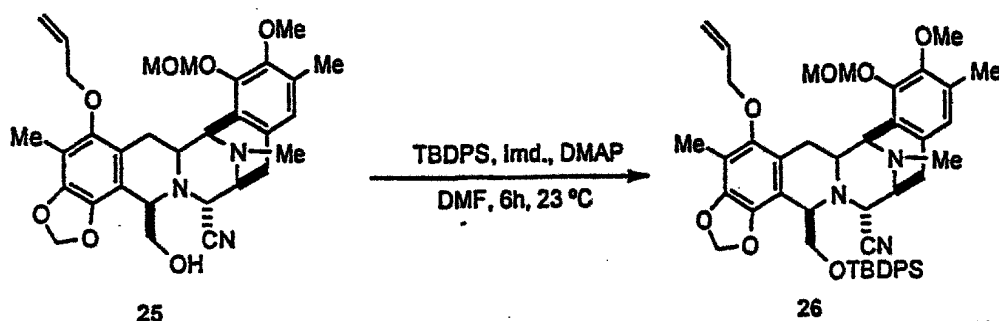
до вещество. Rf: 0.37 (CH₃CN:вода 7:3, RP-18).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 7.72-7.68 (m, 2 h), 7.67-7.63 (m, 2 h), 6.38 (s, 1H), 5.69 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.64 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.30 (bs, 1H), 4.25-4.21 (m, 2H), 4.02 (d, J=2.1 Hz, 1H), 3.64-3.62 (m, 5H), 3.33 (d, J=8.4 Hz, 1H), 3.21-3.16 (m, 1H), 3.02 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18 Hz, 1H), 2.76 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 2.63 (d, J=17.7 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 1.73 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=15.3 Hz, 1H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 168.5, 167.6, 146.2, 144.2, 142.5, 141.0, 140.5, 133.4, 131.8, 130.7, 128.2, 120.9, 120.8, 117.9, 116.4, 113.6, 101.1, 60.4, 60.0, 57.0, 56.3, 55.6, 55.4, 41.6, 41.5, 26.5, 25.2, 20.2, 15.7, 9.4.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₃₄N₄O₈: 650. Намерено (M+H)⁺: 651.2.

Пример 30



Към разтвор на 25 (18 mg, 0.032 ml) в диметилформамид (0.05 ml) при 0°C се прибавят катализатор DMAP (0.5 mg, 0.004 ml), имидазол (5 mg, 0.08 ml) и терт-бутилдифенилсилилхлорид (12.5 ml, 0.048 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 6 h при 23°C. След това към тази реакционна смес при 0°C се прибавя вода (10 ml) и водната фаза се екстрахира с хексан:етилацетат 1:10 (2 x 10 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 3:1) до получаване на 26 (27 mg, 88%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.29 (хексан:етилацетат 3:1).

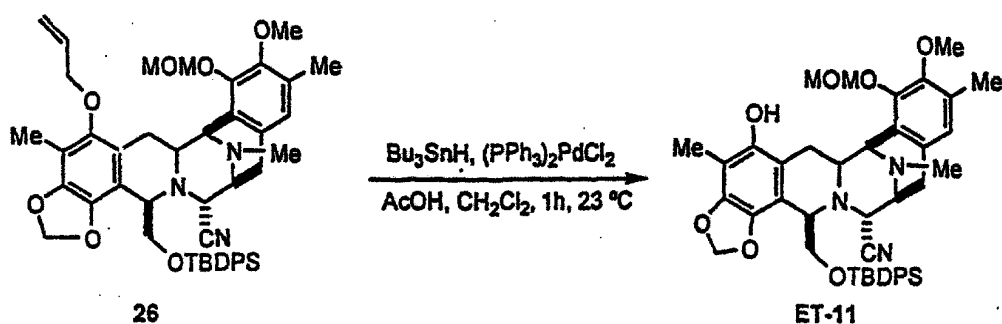
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.61-7.58 (m, 2H), 7.42-7.28 (m, 8H), 6.71 (s, 1H), 6.19-

6.02 (m, 1H), 5.78 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.64 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.40 (dd, J₁=1.2 Hz, J₂=17.1 Hz, 1H), 5.27 (dd, J₁=1.2 Hz, J₂=10.2 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.45 (d, J=2.4 Hz, 1H), 4.24 (d, J=2.1 Hz, 1H), 4.17-4.06 (m, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.64 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=9.9 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.42-3.21 (m, 4H), 3.10 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=17.7 Hz, 1H), 2.70 (d, J=17.7 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.08-1.89 (m, 1H), 0.87 (s, 9H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 148.5, 148.3, 148.1, 144.0, 139.0, 135.6, 135.4, 133.8, 133.1, 132.6, 130.5, 130.3, 129.6, 129.4, 127.5, 127.4, 125.1, 124.3, 121.6, 118.5, 117.5, 112.9, 111.7, 100.8, 99.2, 74.0, 67.7, 61.5, 59.6, 59.0, 57.7, 57.1, 55.4, 41.6, 29.6, 26.6, 25.5, 18.8.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₄₇H₅₅N₃O₇Si: 801.3. Намерено (M+H)⁺: 802.3.

Пример 31



Към разтвор на 26 (7 mg, 0.0087 ml) в метиленхлорид (0.11 ml) при 23°C се прибавят оцетна киселина (2.5 ml, 0.044 ml), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (0.5 mg, 6.96×10^{-4} ml) и Bu_3SnH (3.5 ml, 0.013 ml). След разбъркване при тази температура в продължение на 1 h. Разтворът се разрежда със смес на хексан:етилацетат 5:1 (0.5 ml) и се излива в хроматографска колона под налягане (силикагел, градиент хексан към хексан:етилацетат от 5:1 до 1:1) до получаване на ET-11 (5 mg, 75%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.36 (хексан:етилацетат 1:5, силициев двуокис).

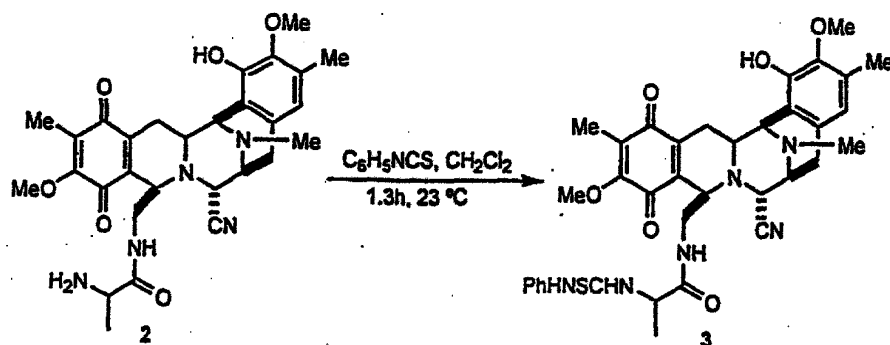
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 7.56 (m, 2H), 7.41-7.25 (m, 8H), 6.67 (s, 1H), 5.72 (d, $J=1.0$ Hz, 1H), 5.58 (d, $J=1.0$ Hz, 1H), 5.51 (s, 1H), 5.38

(d, $J=5.75$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.68 (dd, $J_1=2.1$ Hz, $J_2=10.4$ Hz, 1H), 3.38-3.26 (m, 3H), 3.11 (dd, $J_1=2.5$ Hz, $J_2=15.7$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J_1=8.9$ Hz, $J_2=17.9$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J=17.9$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.89 (dd, $J_1=12.1$ Hz, $J_2=15.7$ Hz, 1H), 0.9 (s, 9H);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 149.0, 147.4, 145.3, 144.3, 136.3, 135.7, -135.4, 133.2, 130.9, 130.5, 129.6, 129.5, 127.5, 125.0, 118.6, 112.5, 112.1, 105.7, 100.5, 99.8, 68.5, 61.5, 59.7.

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{44}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}$: 761. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 762.

Пример 32

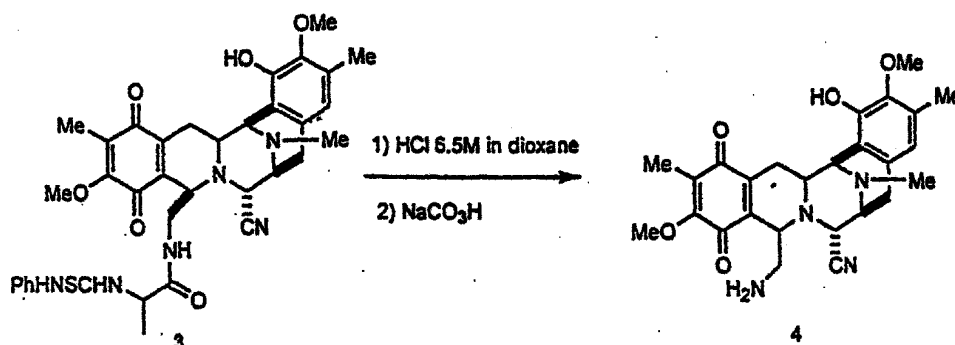


Разтвор на 2 (3.0 g, 5.46 ml) и фенилизоотиоцианат (3.92 ml, 32.76 ml) в метиленхлорид (27 ml) се разбърква в продължение на 1.5 h при 23°C. След това реакционната смес се разделя между метиленхлорид (10 ml) и вода (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и се концентрира. Остагъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, градиент от хексан до 2:3 хексан:етилацетат) до получаване на 3 (3.29 mg, 88%) като жълто твърдо вещество. Rf: 0.27 (ацетонитрил:вода 3:2, RP-C18).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 7.77 (bs, 1H), 7.42-7.11 (m, 5H), 6.65 (d, 1H), 6.29 (s, 1H), 5.6-5.5 (m, 1H), 4.19-4.14 (m, 2 h), 4.08 (d, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.87-3.65 (m, 6H), 3.77 (s, 3H), 3.37-2.98 (m, 8H), 2.50 (d, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.96 (d, 1H), 1.87 (s, 3H), 1.81-1.75 (m, 1H), 0.96 (d, 3H);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 185.7, 180.9, 178.9, 172.0, 155.7, 147.1, 143.2, 142.4, 136.0, 135.1, 130.5, 129.9, 129.3, 128.5, 126.9, 124.4, 120.2, 117.4, 116.3, 77.1, 60.9, 58.6, 56.2, 55.8, 55.0, 54.6, 53.5, 41.7, 40.3, 25.1, 24.5, 18.4, 15.8, 8.7

ESI-MS m/z : Изчислено за
 $C_{36}H_{40}N_6O_6S$: 684.8. Намерено $(M+H)^+$: 685.2.
 Пример 33



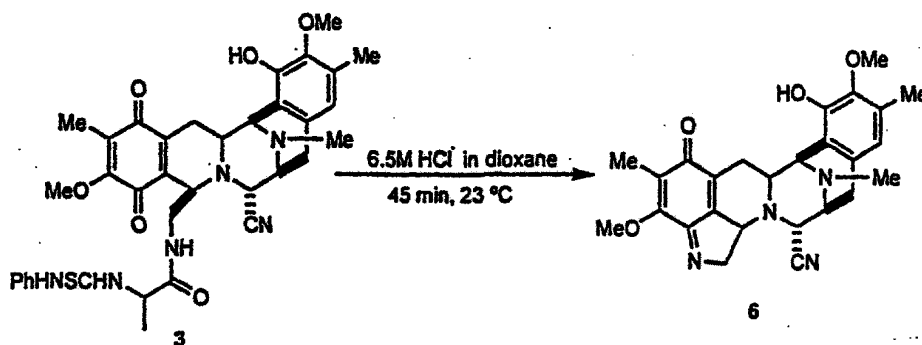
Разтвор на 3 (0.143 g, 0.208 ml) в 6.5M
 солна киселина/диоксан (150 ml) се разбърква в
 продължение на 6 h при 23°C. След това към ре-
 акционната смес се прибавя толуен (3 ml) и ор-
 ганичният слой се декантира. Остатъкът се разп-
 ределя между наситен воден разтвор на натриев
 бикарбонат (3 ml) и метиленхлорид (3x3 ml).
 Органичният спой се суши и концентрира до по-
 лучаване на съединението от заглавието като смес
 на 4 и 6 (4:6 90:10), която бавно се циклизира до

6 при престояване. Rf: 0.4 (етилацетат:метанол
 15:1, силициев двуокис).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.45 (s,
 1H), 4.16 (m, 1H), 4.02 (d, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.79
 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.35 (m, 1H), 3.20-3.00
 (m, 3H), 2.87 (d, 1H), 2.75 (d, 1H), 2.43 (d, 1H),
 2.34 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.72-1.5
 (m, 3H);

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{26}H_{30}N_4O_5$:
 478.5. Намерено $(M+H)^+$: 479.2.

Пример 34



Разтвор на 3 (0.143 g, 0.208 ml) в 6.5M
 солна киселина/диоксан (150 ml) се разбърква в
 продължение на 1 h при 23°C. При изпаряване
 на разтворителя се получава остатък, който се
 пречиства посредством колонна хроматография
 под налягане (етилацетат/метанол/триетиламин
 100:25:0.1) до получаване на 6 (80 mg, 83%) ка-
 то жълто твърдо вещество. Rf: 0.27 (ацетонитри-
 л:вода 3:2, RP-C18).

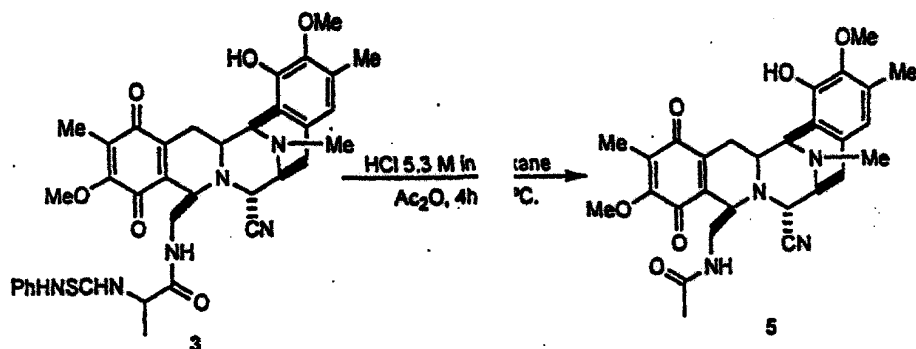
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): делта 6.46 (s,
 1H), 5.9 (bs, 1H), 4.67 (dd, J=18.3 Hz, J=7.8 Hz,

1H), 4.24 (d, 1H), 4.16 (s, 3H), 3.93 (d, J=2.7
 Hz, 1H), 3.8 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.45 (m, 2H),
 3.08 (dd, J=17.9 Hz, J=3.6 Hz, 1H), 2.78 (m, 1H),
 2.55 (d, 1H), 2.3 (m, 1H), 2.3 (s, 3H), 2.28 (s,
 3H), 1.90 (s, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 186.2,
 162.1, 154.9, 146.9, 145.3, 143.0, 130.1, 129.4,
 128, 1, 125.0, 121.4, 116.4, 116.2, 66.6, 60.7,
 60.7, 60.1, 59.6, 58.8, 55.6, 54.9, 41.9, 25.3, 24.7,
 15.7, 8.9.

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{26}H_{28}N_4O_4$:
 460.5. Намерено $(M+H)^+$: 461.1

Пример 35



Към разтвор на 3 (2.38 g, 3.47 ml) в диоксан (5 ml) се прибавя 5.3M солна киселина в диоксан (34 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 45 min при 23°C. След това към тази реакционна смес се прибавя оцетен анхидрид (51 ml, 539.5 ml) и реакционната смес се разбърква в продължение на 4 h. След това реакционната смес се охлажда до 0°C и се разпределя между наситен воден разтвор на натриев карбонат (300 ml) и етилацетат (300 ml) при тази температура. Органичната фаза се суши над натриев сулфат, филтрува се и се концентрира. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, градиент от метиленхлорид до метиленхлорид:етилацетат 1:2) до получаване на 5 (1.75 g, 97%)

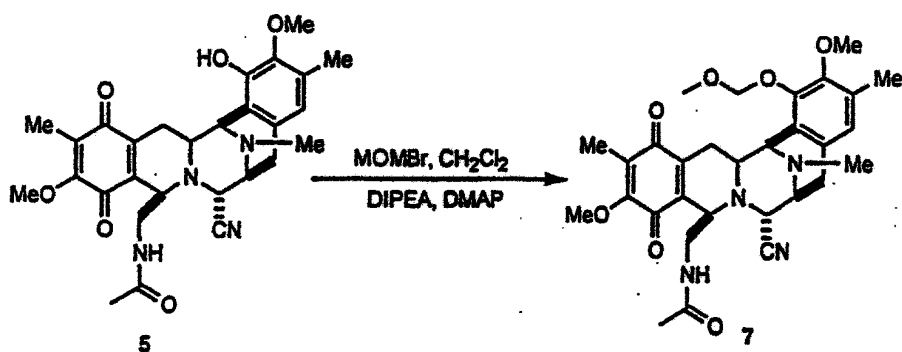
като жълто твърдо вещество. Rf: 0.53 (CH₃CN:вода 3:2, RP-18).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.51 (s, 1H), 5.98 (bs, 1H), 4.84 (dd, 1H), 4.17 (d, 1H), 4.00 (d, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.85 (bs, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.70 (d, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.11 (dd, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 2.44 (d, 1H), 3.67 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.29 (s, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 185.9, 180.8, 169.9, 160.2, 156.2, 147.0, 143.1, 140.4, 136.1, 130.6, 129.6, 127.9, 120.4, 117.2, 61.0, 60.7, 58.6, 56.1, 55.7, 55.1, 54.3, 41.8, 41.1, 25.7, 23.9, 22.2, 15.7, 8.7.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₃₄N₄O₈: 650. Намерено (M+H)⁺: 651.2.

Пример 36



Към разтвор на 5 (1.75 g, 3.36 ml) в метиленхлорид (17 ml) при 0°C се прибавят диизопропиламин (11.71 ml, 67.23 ml), DMAP (20 mg, 0.17 ml) и бромметилметалов етер (4.11 ml, 50.42 ml). След разбъркване в продължение на 6 h при 23°C, реакционната смес се разпределя между наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (25 ml) и метиленхлорид (50 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат и разтворителят се отделя при понижено налягане.

Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (RP-18, CH₃CN:вода 1:1) до получаване на 7 (1.32 g, 70%) като жълто твърдо вещество. Rf: 0.34 (CH₃CN:вода 2:3, RP-C18).

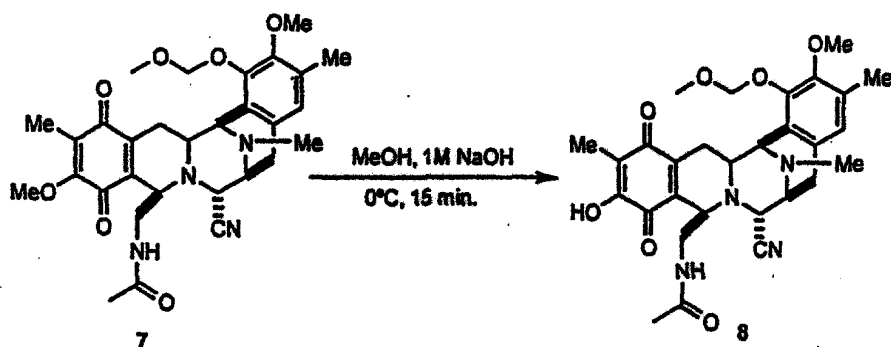
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.74 (s, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.82 (m, 1H), 4.22 (d, 1H), 4.00 (s, 3H), 4.0 (m, 1H), 3.83 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 3.58 (s, 3H), 3.4 (m, 1H), 3.2-2.95 (m, 6H), 2.43 (d, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.89 (s,

3H), 1.5-1.4 (m, 2 h), 1.31 (s, 3H);
 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 185.9,
 180.7, 169.6, 156.2, 148.9, 148.5, 140.3, 136.2,
 131.3, 130.1, 127.7, 124.6, 123.7, 117.3, 99.5,
 99.2, 60.9, 59.7, 58.8, 57.7, 56.4, 55.7, 55.0, 54.2, 5

51.0, 41.6, 41.0, 40.5, 25.5, 23.9, 22.3, 19.3, 15.6,
 14.6, 8.6.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_7$:
 564.6. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 565.3.

Пример 37



Към разтвор на 7 (0.37 g, 0.65 ml) в мета-
 нол (74 ml) при 0°C се прибавя 1M разтвор на
 натриев хидроксид (130 ml). Реакционната смес
 се разбърква в продължение на 15 min, след ко-
 ето се закалява при 0°C с 6M солна киселина до
 pH 5. Реакционната смес се екстрахира с етила-
 цетат (3 x 50 ml) и смесените органични слоеве
 се сушат над натриев сулфат и се концентрират
 под вакуум. Остатъкът се пречиства посредст-
 вом колонна хроматография под налягане (RP-
 18, CH_3CN :вода 1:1) до получаване на 8 (232 mg,
 65%) като жълто масло. Rf: 0.5 (ACN:вода 3:2,
 RP-C18).

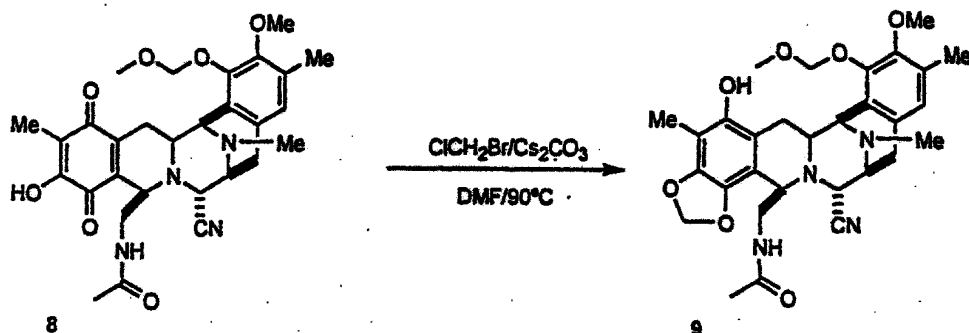
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 6.75 (s, 30

1H), 5.15 (s, 2 h), 4.86 (m, 1H), 4.26 (d, 1H),
 4.01 (d, 1H), 3.88-3.81 (m, 2 h), 3.70 (s, 3H),
 3.58 (s, 3H), 3.39 (m, 1H), 3.27-3.21 (m, 1H),
 3.18-3.08 (m, 2 h), 3.03-2.97 (m, 1H) 2.47 (d,
 1H), 2.37 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.90 (s, 3H), 1.57-
 1.46(m, 2h), 1.33 (s, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 185.3,
 180.6, 175.9, 170.1, 151.5, 148.9, 148.6, 143.3,
 133.7, 131.5, 129.9, 124.7, 123.5, 117.1, 117.0,
 99.2, 59.8, 58.7, 57.8, 56.3, 55.3, 54.9, 54.3, 41.5,
 40.7, 29.6, 25.5, 24.4, 22.2, 20.7, 15.7, 8.0.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_7$:
 550.6. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 551.2.

Пример 38



Към дегазиран разтвор на съединение 8
 (240 mg, 3.36 ml) в диметилформамид (30 ml) се
 прибавя 10% палатий върху въглен (48 mg) и ре-
 акционната смес се разбърква под водород (ат-
 мосферно налягане) в продължение на 1 h.
 Реакционната смес се филтрува през слой от се-
 лит под аргон в епруветка на Schlenk като безц-
 ветен разтвор, съдържащ безводен цезиев кар-
 бонат (240 mg, 0.739 ml). След това се прибавя

бромхлорметан (0.566 ml, 8.71 ml). Епруветката
 се заварява и се разбърква при 90°C в продъл-
 жение на 3 h. Реакционната смес се охлажда и
 филтрува през селит и се промива с
 метиленхлорид. Органичният слой се концент-
 рираща и суши над натриев сулфат до получаване
 на 9 като кафяво масло, което се използва в
 следващия етап без допълнително пречистване.

Rf: 0.36 (силициев двуокис, хексан:ети-

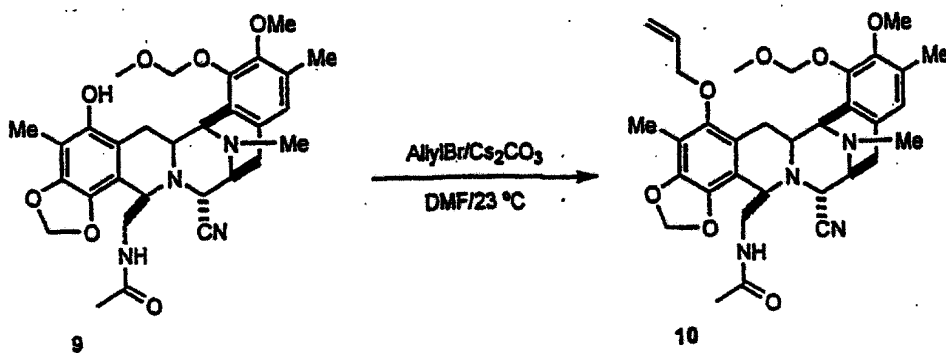
лацетат 1:5).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.71 (s, 3H), 5.89 (d, 1H), 5.81 (d, 1H), 5.63 (bsp 1H), 5.33 (d, 1H), 5.17 (d, 1H), 4.97 (m, 1H), 4.20 (d, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.65 (s, 6H), 3.59-3.47 (m, 4H), 3.37-3.27 (m, 2 h), 3.14-2.97 (m, 2 h), 2.62 (d, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.72 (m, 1H), 1.36 (s, 3H);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 169.8, 149.1, 147.4, 145.5, 136.2, 130.9, 130.8, 125.0, 122.9, 117.7, 112.6, 111.8, 106.4, 100.8, 99.8, 59.8, 58.9, 57.7, 56.6, 56.4, 55.5, 55.2, 41.6, 40.1, 29.6, 25.9, 25.0, 22.6, 15.6, 8.8.

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{SiN}_4\text{O}_7$: 564.6. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 565.3.

Пример 39



Към колба, съдържаща 9 (245 mg, 0.435 ml) в диметилформамид (4 ml) при 0°C се прибавят цезиев карбонат (425 mg, 1.30 ml) и алилбромид (376 ml, 4.35 ml) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 1 h. Реакционната смес се филтрува през слой от селит и се разпределя между метиленхлорид (25 ml) и вода (10 ml). Органичната фаза се суши над натриев сулфат и се концентрира при понижено налягане до получаване на остатък, който се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хлороформ:етилацетат 1:2) до получаване на 10 като жълто масло (113 mg, 43%). Rf: 0.36 (хексан:етилацетат 1:5).

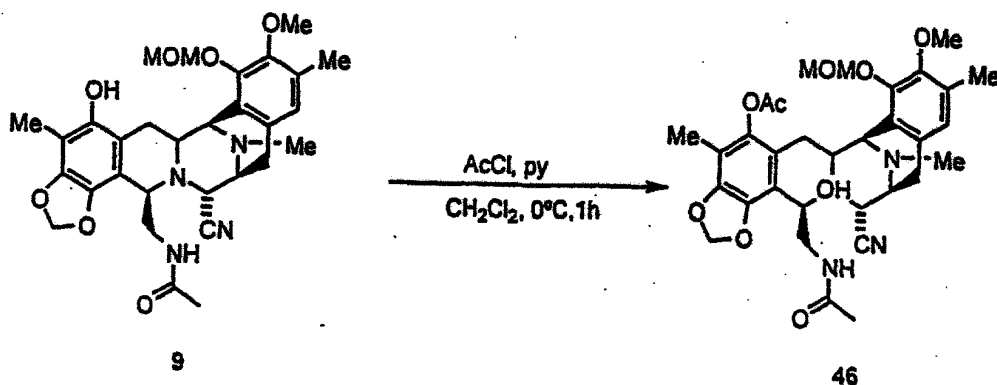
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): делта 6.74 (s,

1H), 6.3-6.0 (m, 1H), 5.94 (d, 1H), 5.87 (d, 1H), 5.43-5.36 (m, 2 h), 5.22 (s, 2 h), 5.00 (m, 1H), 4.22 (m, 1H), 4.17-4.01 (m, 1H), 3.98 (m, 2 h), 3.71-3.67 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.62-3.51 (m, 3H), 3.58 (s, 3H), 3.39-3.37 (m, 1H), 3.31-3.26 (m, 3H), 3.09 (dd, 1H), 2.56 (d, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.24-2.10 (m, 1H), 1.82-1.73 (m, 1H), 1.24 (bs, 3H);

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): делта 169.4, 148.8, 148.3, 139.1, 133.7, 130.9, 130.3, 125.2, 120.2, 117.7, 113.1, 112.6, 101.3, 99.3, 74.1, 59.7, 59.3, 57.8, 57.0, 56.1, 56.1, 55.2, 41.6, 41.0, 40.9, 29.7, 26.3, 22.5, 15.6, 9.3

ESI-MS m/z: Изчислено за $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_7$: 604.7. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 605.3.

Пример 40

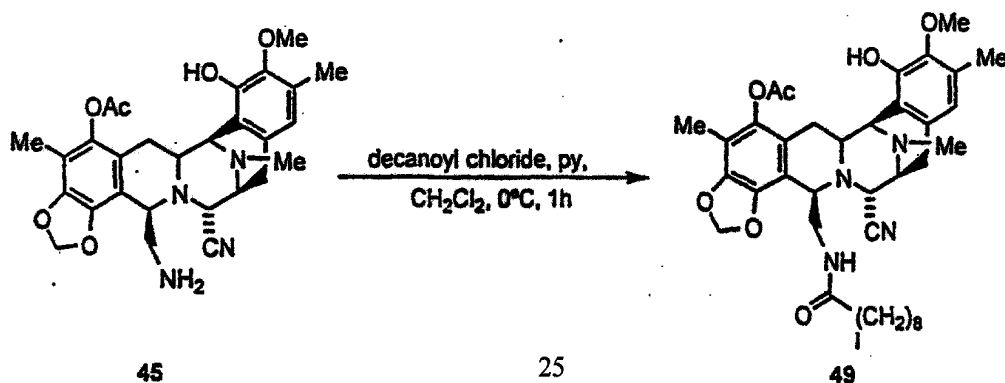


Към разтвор на 45 (10 mg, 0.0192 ml) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят изовалерилхлорид (2.34 ml, 0.0192 ml) и пиридин (1.55 ml, 0.0192 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:2) до получаване на 48 (11 mg, 95%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.12 (хексан:етилацетат 1:2).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.50 (s, 1H), 5.98 (d, J=1.5Hz, 1H), 5.91 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.02 (t, J=5.4 Hz, 1H), 4.10 (d, J=1.5 Hz, 1H), 4.06 (d, J=2.7 Hz, 1H), 4.02 (d, J=2.7 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.76-3.71 (m, 1H), 3.86-3.28 (m, 3H), 3.04 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.3Hz, 1H), 2.78 (d, J=15.9 Hz, 1H), 2.55 (d, J=18 Hz, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.26 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.84-1.68 (m, 2 h), 1.36 (d, J=7.2 Hz, 2 h), 0.69 (d, J=6.6 Hz, 3H), 0.62 (d, J=6.6 Hz, 3H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₃H₄₀N₄O₇: 604.69. Намерено (M+H)⁺: 605.3.

Пример 43

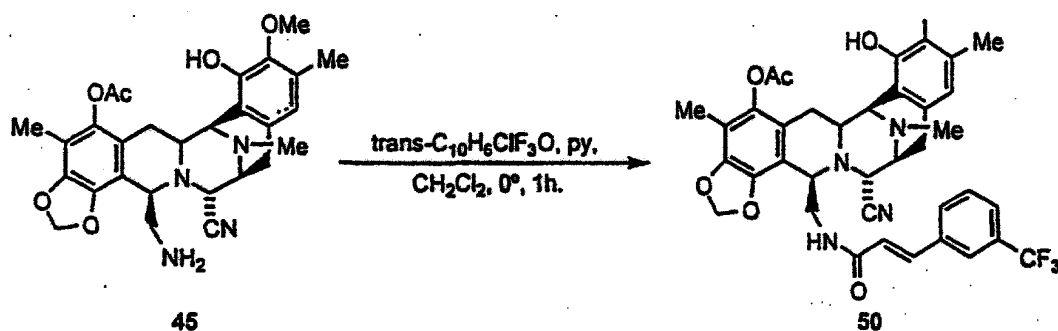


Към разтвор на 45 (10 mg, 0.0192 ml) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят изовалерилхлорид (3.98 ml, 0.0192 ml) и пиридин (1.55 ml, 0.0192 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:2) до получаване на 49 (12.4 mg, 96%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.7 (етилацетат:метанол 10:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.50 (s, 1H), 5.98 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.91 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.08 (t, J=5.4 Hz, 1H), 4.10 (d, J=1.5 Hz, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.65-3.61 (m, 1H), 3.40-3.27 (m, 3H), 3.03 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.6 Hz, 1H), 2.78 (d, J=13.2 Hz, 1H), 2.57 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.79 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=16.5 Hz, 1H), 1.73-1.42 (m, 4H), 1.33-1.18 (m, 10H), 1.03 (m, 2 h), 0.87 (t, J=6.6 Hz, 3H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₈H₅₀N₄O₇: 674.83. Намерено (M+H)⁺: 675.5.

Пример 44



Към разтвор на 45 (14.5 mg, 0.0278 ml) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят транс-3-трифлуорметилсинамоилхлорид (4.76 ml, 0.0278 ml) и пиридин (2.25 ml, 0.0278 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:1) до получаване на 50 (18.7 mg, 94%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.64 (етилацетат:метанол 15:1).

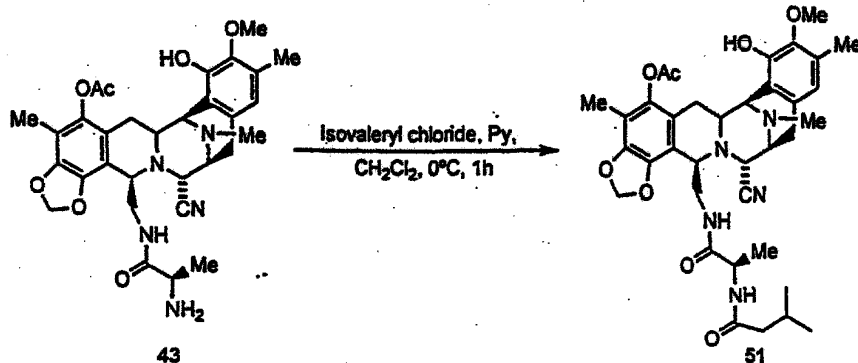
¹H NMR (300 MHz, CH₃OD): делта 7.74-7.55 (m, 4H), 7.23 (d, J=16.0 Hz, 1H), 6.34 (s,

1H), 6.12 (d, J=16.0 Hz, 1H), 6.07 (d, J=0.9 Hz, 1H), 5.96 (d, J=0.9 Hz, 1H), 4.39 (d, J=2.4 Hz, 1H), 4.07-4.05 (m, 1 H), 3.81 (bs, 1H), 3.46-3.51 (m, 3H), 3.42 (s, 3H), 3.09 (br d, J=12.0 Hz, 1H), 2.94-2.85 (m, 2 h), 2.74 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.84-1.75 (m, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 168.7, 165.3, 146.5, 144.7, 142.6, 140.6, 138.0, 135.9, 131.0, 130.9, 129.1, 128.6, 125.8, 125.7, 124.5, 124.4, 122.7, 121.2, 117.8, 116.5, 113.0, 112.0, 101.7, 60.4, 59.1, 56.5, 56.4, 55.6, 55.3, 41.8, 40.3, 26.6, 25.1, 20.3, 15.4, 9.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₈H₃₇F₃N₄O₇: 718.72. Намерено (M+H)⁺: 719.3.

Пример 45

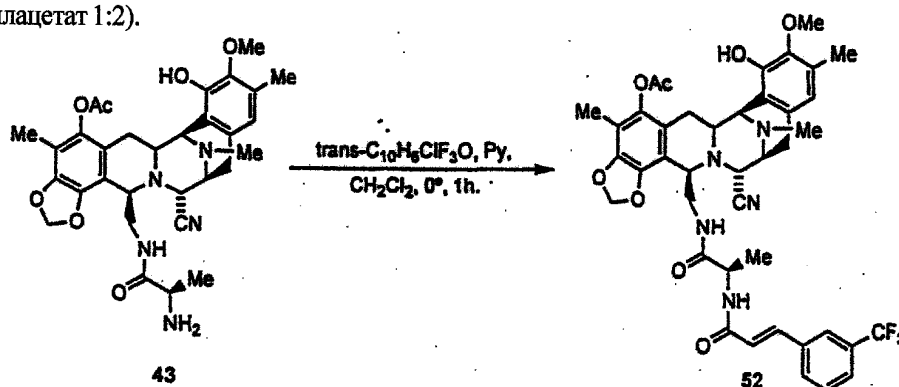


Към разтвор на 43 (33 mg, 0.0557 ml) в метиленхлорид (0.4 ml) при 0°C се прибавят изовалерилхлорид (6.79 ml, 0.0557 ml) и пиридин (4.5 ml, 0.0557 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1 N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:2) до получаване на 51 (11 mg, 95%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.12 (хексан:етилацетат 1:2).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.46 (s, 1H), 6.10 (bs, 1H), 5.99 (d, J=0.9 Hz, 1H), 5.90 (d, J=0.9 Hz, 1H), 5.30 (t, J=6.0 Hz, 1H), 4.10-4.05 (m, 3H), 3.81 (bs, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.54 (bs, 1H), 3.38-3.36 (m, 1H), 3.29-3.21 (m, 1H), 3.00 (dd, J₁=8.0 Hz, J₂=18.0 Hz, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.95-1.90 (m, 3H), 0.87 (d, J=6.6 Hz, 6H), 0.76 (d, J=6.0 Hz, 3H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₄₅N₅O₈: 675.77. Намерено (M+H)⁺: 676.3.

Пример 46



Към разтвор на 43 (33 mg, 0.0557 ml) в метиленхлорид (0.4 ml) при 0°C се прибавят транс-3-трифлуорметилсинамоилхлорид (9.52 ml, 0.0557 ml) и пиридин (4.5 ml, 0.0557 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 1:2) до получаване на 52 (40 mg, 92%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.21 (хексан:етилацетат 1:2).

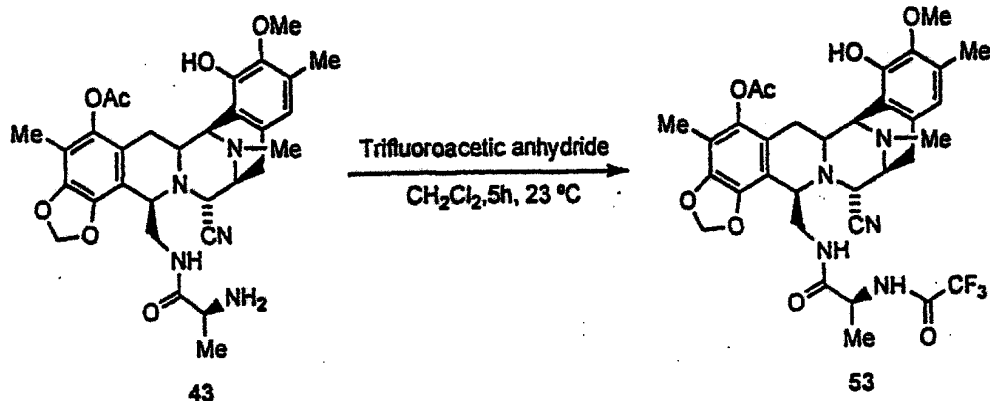
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): делта 7.74-7.47 (m, 4H), 6.49 (s, 1H), 6.40 (d, J=15.6 Hz, 1H), 6.00 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.90 (d, J=1.5 Hz,

1H), 5.47 (t, J=6 Hz, 1H), 4.12-4.09 (m, 3H), 3.93 (bs, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.59-3.58 (m, 1H), 3.38 (d, J=7.5 Hz, 1H), 3.29 (d, J=12.0 Hz, 1H), 3.00 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.3 Hz, 1H), 2.79-2.78 (m, 1H), 2.65 (d, J=18.3 Hz, 1H) 2.29 (s, 6H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.84-1.80 (m, 1H), 0.85-0.84 (m, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 171.9, 168.8, 164.4, 146.9, 144.6, 143.0, 140.5, 140.5, 139.3, 135.7, 131.1, 131.0, 129.4, 129.1, 126.0, 124.1, 124.0, 122.4, 121.1, 120.7, 120.6, 117.7, 116.9, 112.8, 112.0, 101.6, 60.6, 59.3, 57.1, 56.3, 55.9, 55.2, 49.0, 41.7, 49.9, 26.5, 25.1, 20.2, 18.4, 15.7, 9.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₄₁H₄₂F₃N₅O₈: 789.8. Намерено (M+H)⁺: 790.3.

Пример 47



Към разтвор на 43 (10 mg, 0.0169 ml) в метиленхлорид (0.2 ml) при 23°C се прибавя трифлуороцетен анхидрид (2.38 microl, 0.0169 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 5 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 3:2) до получаване на 53 (10.7 mg, 93%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.57 (етилацетат:метанол 15:1).

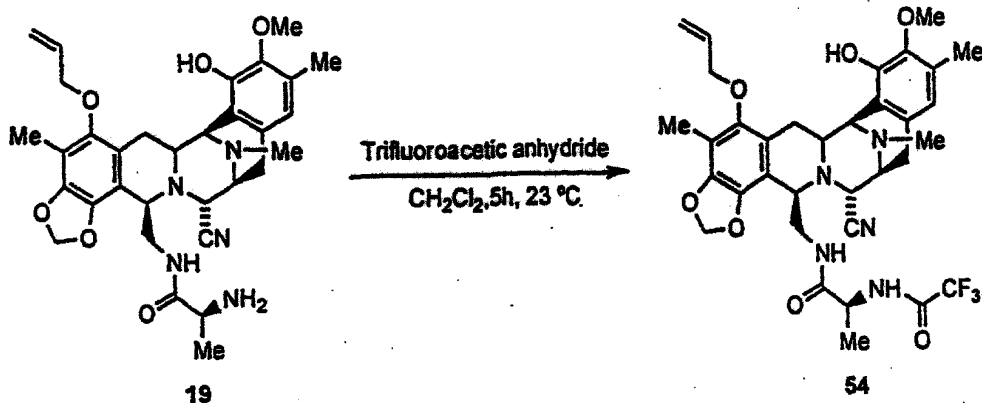
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 6.45 (s,

1H), 6.00 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.90 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.87 (bs, 1H), 5.32 (bs, 1H), 4.12 (d, J=2.1 Hz, 1H), 4.08 (d, J=1.8 Hz, 1H), 3.78-3.56 (m, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.40 (d, J=8.1 Hz, 1H), 3.25 (d, J=9.3 Hz, 1H), 3.00 (dd, J₁=8.4 Hz, J₂=18.0 Hz, 1H), 2.77 (dd, J₁=2.1 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 2.68 (d, J=18.6 Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.75 (dd, J₁=11.4 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 0.69 (d, J=6.3 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 170.1, 168.6, 156.0, 147.0, 144.6, 143.0, 140.6, 140.4, 131.0, 129.4, 120.9, 120.7, 117.6, 116.8, 112.4, 112.1, 101.6, 60.5, 59.0, 57.1, 56.3, 55.6, 55.2, 48.7, 41.6, 39.4, 26.5, 24.9, 20.2, 17.8, 15.4, 9.2.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₃H₃₆F₃N₅O₈: 687.63. Намерено (M+H)⁺: 688.66.

Пример 48



Към разтвор на 19 (11 mg, 0.0169 ml) в метиленхлорид (0.2 ml) при 23°C се прибавя трифлуороцетен анхидрид (2.38 ml, 0.0169 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 5 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (5 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (3 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 3:2) до получаване на 54 (10.7 mg, 93%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.6 (етилацетат:метанол 15:1).

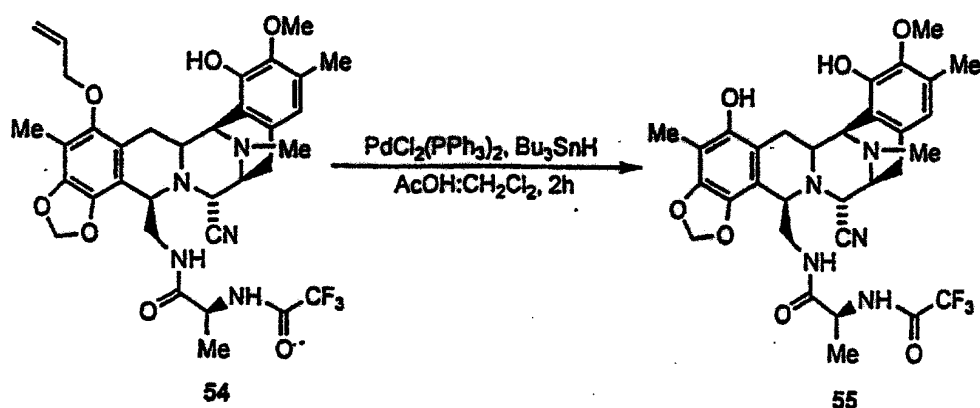
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.33 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.04 (m, 1H), 5.95 (d,

$J=1.5$ Hz, 1H), 5.84 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.32 (m, 2 h), 5.21 (m, 1H), 4.11 (m, 4H), 3.73 (s, 3H), 3.64 (m, 2 h), 3.51 (m, 1H), 3.37 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 3.22 (m, 2 h), 3.03 (dd, 1H, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18.3$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.86 (dd, $J_1=12$ Hz, $J_2=16.2$ Hz, 1H), 0.82 (d, $J=7.2$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) делта 170.0, 156.0, 148.4, 147.1, 144.3, 143.0, 138.7, 133.8, 130.5, 129.4, 120.6, 120.4, 117.6, 117.5, 117.0, 113.5, 112.5, 112.4, 101.1, 74.1, 66.8, 60.4, 59.3, 56.9, 56.6, 56.3, 55.4, 48.7, 41.6, 40.1, 26.2, 25.0, 17.6, 15.4, 9.1.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$: 685.69. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 686.3.

Пример 49



Към разтвор на 54 (100 mg, 0.415 ml) в метиленхлорид (4 ml) при 23°C се прибавят оцетна киселина (40 ml), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (8.4 mg, 0.012 ml) и Bu_3SnH (157 ml, 0.56 ml). След разбъркване при тази температура в продължение на 2 h, реакционната смес се излива в хроматографска колона под налягане (силициев двуокис, градиент хексан до хексан:етилацетат от 2:1) до получаване на 55 (90 mg, 96%) като бяло твърдо

вещество. Rf: 0.6 (хексан:етилацетат 1:2).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.55 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 5.90 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.82 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.37 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.15 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 4.04 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.66-3.53 (m, 2 h), 3.37-3.31 (m, 2 h), 3.19-3.15 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 3.08-3.00 (m, 2 h), 2.56 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.91 (dd, $J_1=12.0$ Hz,

$J_2=15.6$ Hz, 1H), 0.84 (d, $J=6.9$ Hz, 3H).

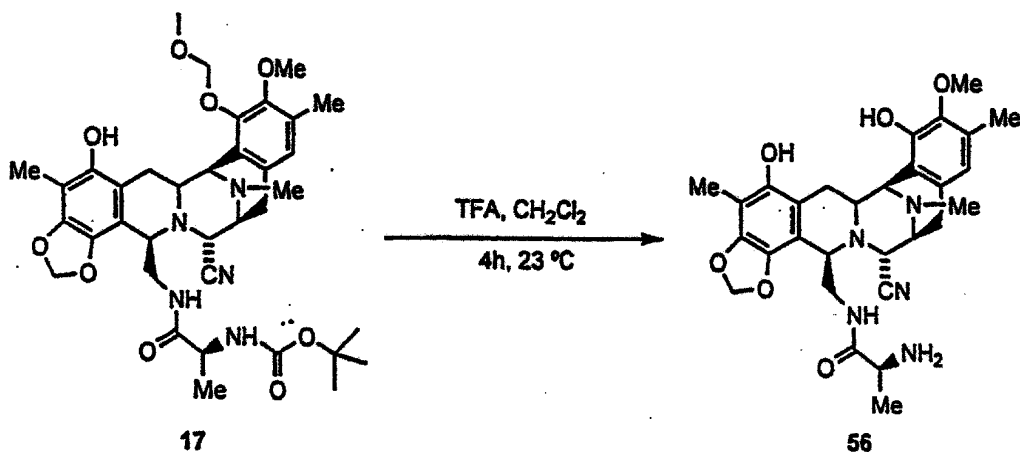
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 170.1, 156.3, 147.3, 144.9, 144.4, 143.3, 136.7, 130.7, 129.3, 120.6, 117.6, 117.4, 114.4, 112.1, 107.7,

101.0, 85.8, 60.5, 59.3, 56.5, 56.4, 56.2, 55.2, 48.9, 41.6, 40.9, 25.7, 25.3, 18.0, 15.6, 8.7.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$: 645.63. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 646.2.

5

Пример 50



Към разтвор на 17 (200 mg, 0.288 ml) в метиленхлорид (1.44 ml) се прибавя трифлуоро-
20 цетна киселина (888 ml, 11.53 ml) и реакционна-
та смес се разбърква в продължение на 4 h при
23°C. Реакционната смес се закалява при 0°C с
наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (60
ml) и се екстрахира с етилацетат (2 x 70 ml).
Смесените органични слоеве се сушат над нат-
риев сулфат и се концентрират под вакуум до
получаване на 56 (147 mg, 93%) като бяло твър-
до вещество, което се използва в следващите
реакции без допълнително пречистване. Rf: 0.19
(етилацетат:метанол 15:1).

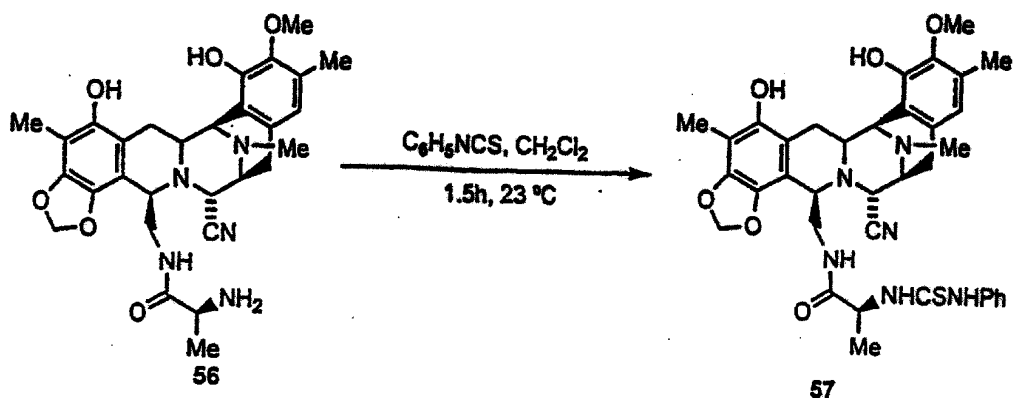
^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) делта 6.48 (s,

1H), 5.88 (d, $J=0.9$ Hz, 1H), 5.81 (d, $J=0.9$ Hz,
1H), 4.35 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.15 (d, $J=1.8$ Hz,
1H), 3.99-3.98 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.52-2.96
(m, 7H), 2.68 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.24 (s, 3H),
2.23 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.85 (dd, $J_1=11.7$ Hz,
 $J_2=15.6$ Hz, 1H), 0.91 (d, $J=6.6$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD): делта
173.2, 149.1, 145.6, 144.9, 138.0, 132.2, 130.6,
121.4, 119.6, 117.4, 114.3, 109.2, 102.5, 82.3,
60.4, 58.4, 58.3, 57.8, 56.6, 50.1, 42.3, 41.6, 27.8,
26.2, 19.5, 15.5, 9.8.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_6$:
549.62. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 550.3.

Пример 51



Към разтвор на 56 (10 mg, 0.018 ml) в метиленхлорид (0.4 ml) се прибавя фенилизоти-
оцианат (13 ml, 0.109 ml) и реакционната смес
се разбърква в продължение на 1.5 h при 23°C.
Сместа се концентрира под вакуум и остатъкът

се пречиства посредством колонна хроматогра-
фия под налягане (силициев двуокис, градиент
от хексан до 1:1 хексан:етилацетат) до получа-
ване на 57 (8 mg, 65%) като бяло твърдо
вещество. Rf: 0.57 (етилацетат:метанол 10:1).

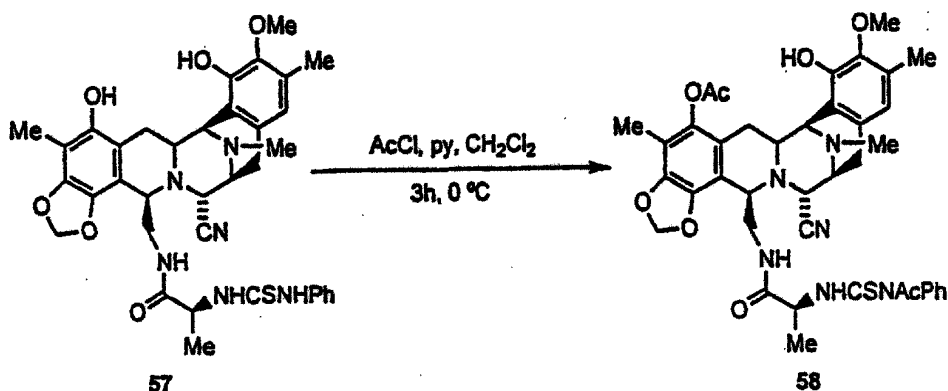
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 7.88 (bs, 1H), 7.41-7.36 (m, 2 h), 7.27-7.22 (m, 1H), 7.02-7.00 (d, $J=7.8$ Hz, 2 h), 6.71 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.17 (bs, 1H), 5.93 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.83 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.55 (bs, 1H), 5.20-5.17 (m, 1H), 4.16 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 4.05 (bs, 1H), 4.02 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.75-3.71 (m, 1H), 3.35 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 3.28-3.19 (m, 2 h), 3.12-2.97 (m, 2 h), 2.50 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.15-2.09 (dd,

$J_1=11.4$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H), 1.95 (s, 3H), 0.88 (d, $J=6.9$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 178.5, 171.7, 147.2, 145.0, 144.3, 143.3, 137.0, 135.7, 130.6, 130.4, 129.6, 127.5, 124.3, 120.6, 117.7, 117.2, 115.3, 112.1, 108.3, 100.9, 60.9, 59.5, 56.7, 56.5, 56.2, 55.2, 54.1, 41.7, 41.1, 26.3, 25.4, 18.5, 15.8, 9.0.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 684.81. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 685.3.

Пример 52



Към разтвор на 57 (45 mg, 0.065 ml) в метиленхлорид (0.5 ml) при 0°C се прибавят ацетилхлорид (4.67 ml, 0.065 ml) и пиридин (5.3 ml, 0.065 ml). Реакционната смес се разбърква в продължение на 3 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (RP-18, CH_3CN :вода 40:60) до получаване на 58 (14 mg, 28%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.34 (CH_3CN :вода 7:15).

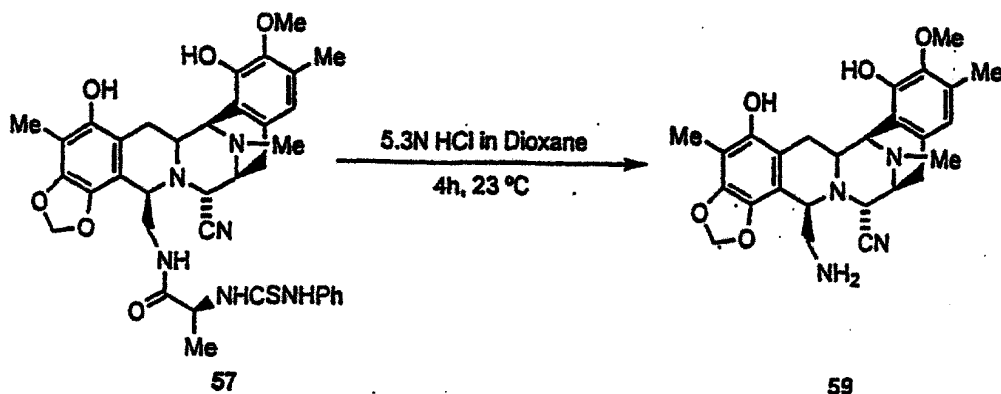
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): делта 11.90 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.45-7.40 (m, 3H), 7.18-7.15 (m, 2 h),

6.58 (s, 1H), 6.00 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.37 ($J=4.8$ Hz, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.23 (bs, 1H), 4.07 (bs, 2 h), 3.85-3.75 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.46-3.41 (m, 2 h), 3.24-3.20 (m, 1H), 3.00-2.95 (m, 1H), 2.87-2.75 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.85 (dd, $J_1=11.4$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, 1H), 1.66 (s, 3H), 0.82 (d, $J=6.0$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта: 8 182.6, 174.3, 171.0, 146.6, 144.6, 142.7, 142.3, 140.7, 140.2, 131.3, 129.8, 129.3, 128.9, 128.8, 121.5, 120.4, 117.3, 116.6, 112.8, 112.0, 111.3, 101.5, 60.5, 59.0, 57.6, 56.2, 55.9, 55.3, 55.1, 41.6, 39.4, 27.8, 26.5, 24.8, 20.2, 17.1, 15.5, 9.3.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 768.88. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 769.2.

Пример 53



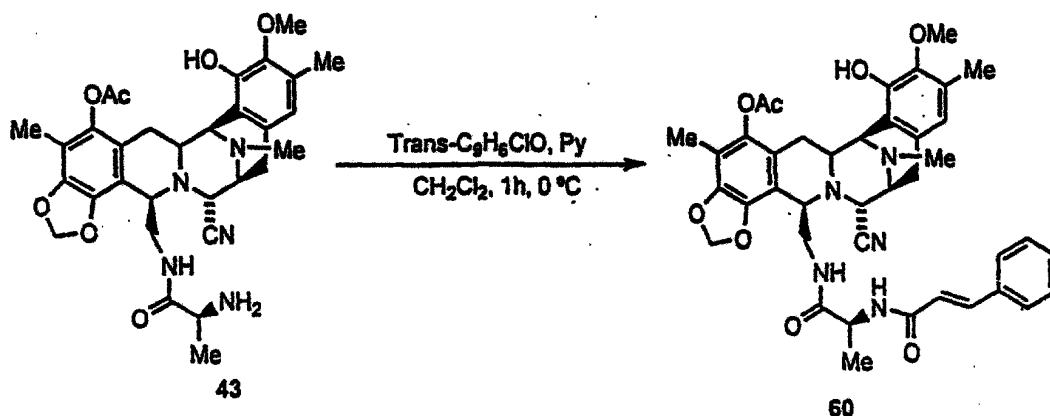
Към разтвор на 57 (130 mg, 0.189 ml) в диоксан (1 ml) се прибавя 5.3N солна киселина/диоксан (1.87 ml) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 4 h. След това към реакционната смес се прибавят метиленхлорид (15 ml) и вода (10 ml) и органичният слой се декантира. Водната фаза се базифицира при 0°C с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (60 ml) (pH 8) и след това се екстрахира с етилацетат (2 x 50 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат и се концентрират под вакуум до получаване на 59 (63

mg, 70%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.15 (етилацетат:метанол 15:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.67 (s, 1H), 5.99 (d, J=0.9 Hz, 1H), 5.91 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.10 (bs, 1H), 4.32 (d, J=7.2 Hz, 1H), 4.25 (dd, J₁=3.6 Hz, J₂=9.3 Hz, 1H), 3.7 (s, 3H), 3.71-3.64 (m, 2 h), 3.50 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 3.42-3.37 (m, 2 h), 3.16 (dd, J₁=3.6 Hz, J₂=12.9 Hz, 1H), 2.57 (dd, J₁=9.3 Hz, J₂=12.9 Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.91 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₂₆H₃₀N₄O₅: 478.5. Намерено (M+H)⁺: 479.3.

Пример 54



Към разтвор на 43 (20 mg, 0.0338 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят синамоилхлорид (5.63 mg, 0.0338 mmol) и пиридин (2.73 ml, 0.0338 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 60 (22 mg, 90%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.56 (етилацетат:метанол 5:1).

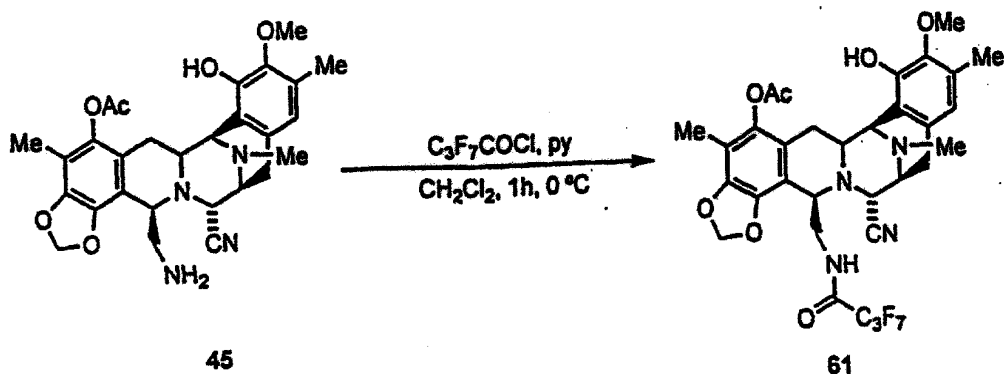
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.51 (s, 1H), 7.50-7.47 (m, 2H), 7.36-7.35 (m, 2H), 6.43

(s, 1H), 6.36 (brd, J=15.9 Hz, 2H), 6.01 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.90 (brd, J=1.5 Hz, 2H), 5.42 (t, J=6.0 Hz, 1H), 4.12-4.07 (m, 3H), 3.96-3.95 (m, 1H), 3.73 (bs, 3H), 3.58 (bs, 2H), 3.39 (d, J=8.7 Hz, 1H), 3.25 (d, J=11.7 Hz, 1H), 3.0 (dd, J₁=7.5 Hz, J₂=17.7 Hz, 1H), 2.78 (d, J=15.9 Hz, 1H), 2.67 (d, J=16.5 Hz, 1H), 2.29 (s, 6H), 2.23 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.82 (dd, J₁=11.4 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 0.83 (d, J=6.0 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 172.0, 165.0, 146.9, 144.6, 143.1, 141.0, 140.5, 134.8, 131.0, 129.7, 129.1, 128.8, 127.8, 125.5, 123.8, 123.0, 121.1, 120.5, 117.7, 116.9, 112.8, 112.0, 101.9, 60.6, 59.2, 57.1, 56.4, 55.9, 55.3, 48.8, 41.7, 40.0, 26.5, 25.1, 20.3, 18.5, 15.7, 9.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₄₀H₄₃N₅O₈: 721.8. Намерено (M+H)⁺: 722.3.

Пример 55



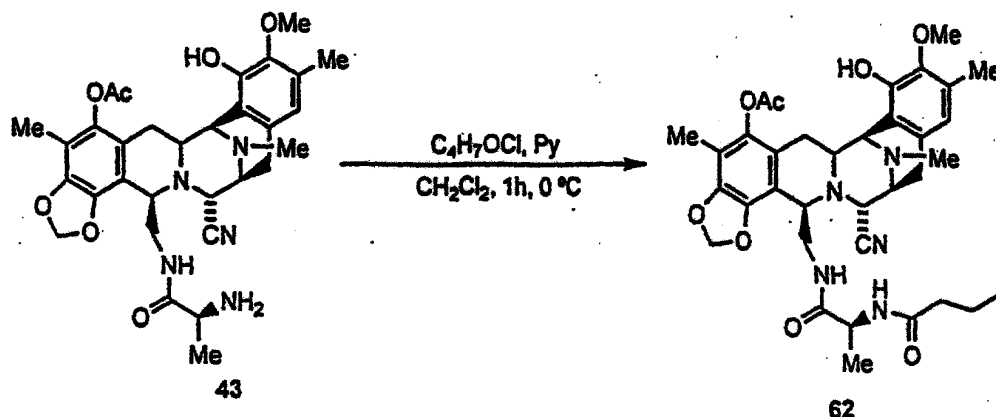
Към разтвор на 45 (19 mg, 0.0364 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят хептафлуорбутирилхлорид (5.44 ml, 0.0364 mmol) и пиридин (2.95 ml, 0.0364 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 61 (11.7 mg, 45%) като бяло твърдо

вещество. Rf: 0.76 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 6.46 (s, 1H), 6.12 (bs, 1H), 5.98 (d, J=1.2 Hzp 1H), 5.93 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.72 (bs, 1H), 4.13-4.11 (m, 2H), 4.0 (d, J=2.4 Hz, 1H), 3.98-3.96 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.39 (d, J=7.5 Hz, 1H), 3.39-3.28 (m, 2H), 3.09 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.0 Hz, 1H), 2.80 (d, J=16.2 Hz, 1H), 2.46 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.21 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.80 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=16.2 Hz, 1H).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₂H₃₁F₇N₄O₇: 716.6. Намерено (M+H)⁺: 717.2.

Пример 56



Към разтвор на 43 (24 mg, 0.04 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят бутирилхлорид (4.15 ml, 0.04 mmol) и пиридин (3.28 ml, 0.04 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до по-

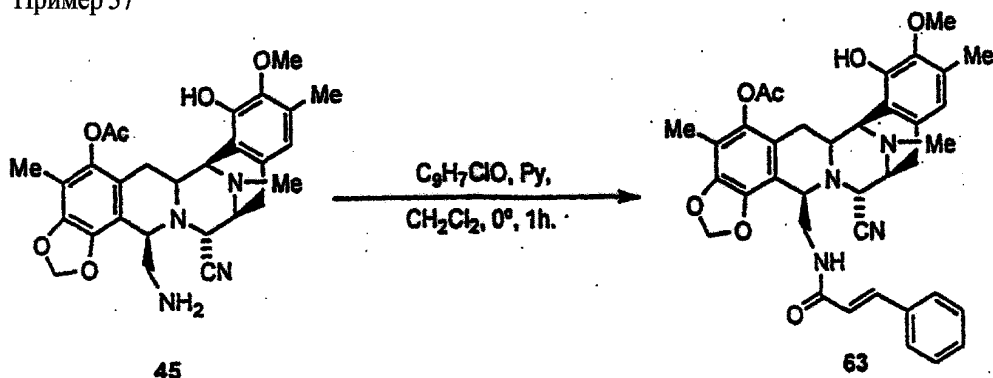
лучаване на 62 (24 mg, 90%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.35 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 6.47 (s, 1H), 6.10 (d, J=6.5 Hz, 1H), 6.0 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.91 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.86 (bs, 1H), 5.31 (d, J=6.9 Hz, 1H), 4.11-4.06 (m, 3H), 3.85-3.81 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.59-3.53 (m, 2H), 3.38 (d, J=7.5 Hz, 1H), 3.27-3.22 (m, 1H), 3.0 (dd, J₁=7.8 Hz, J₂=17.4 Hz, 1H), 2.79 (d, J=15.3 Hz, 1H), 2.63 (d, J=17.7 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 1.80 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 1.58 (q, J=7.2 Hz, 2H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 3H), 0.76 (d,

$J=6.6$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{35}H_{43}N_5O_8$:
661.64. Намерено $(M+H)^+$: 662.3.

Пример 57



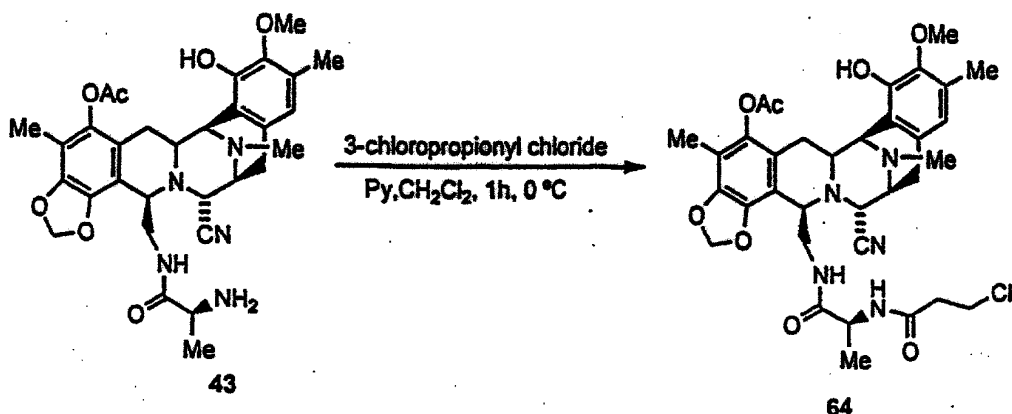
Към разтвор на 43 (19 mg, 0.0364 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят синамоилхлорид (6.06 mg, 0.0364 mmol) и пиридин (2.95 ml, 0.0364 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 63 (20.1 mg, 85%) като бяло

15 твърдо вещество. Rf: 0.65 (етилацетат:метанол 5:1).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) делта 7.39-7.29 (m, 5H), 6.42, (s, 1H), 6.01 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.92 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.73 (bs, 1H), 5.24 (t, $J=6.8$ Hz, 1H), 4.12-4.08 (m, 3H), 3.66-3.64 (m, 2H), 3.58 (bs, 3H), 3.36 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 3.29 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 2.98 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18$ Hz, 1H), 2.33 (s, 6H), 2.29 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.84 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H).

20 ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{37}H_{38}N_4O_7$:
650.72. Намерено $(M+H)^+$: 651.2.

Пример 58



Към разтвор на 43 (20 mg, 0.0338 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят 3-хлорпропионилхлорид (3.22 ml, 0.0338 mmol) и пиридин (2.73 ml, 0.0338 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под наля-

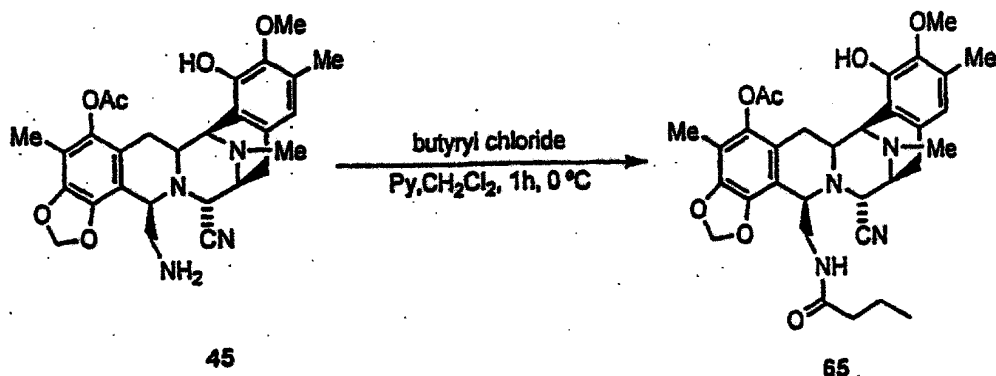
гане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 64 (20.5 mg, 89%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.32 (етилацетат:хексан 5:1).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) 6.48 (s, 3H), 6.28 (m, 1H), 5.99 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.86 (bs, 1H), 5.31 (m, 1H), 4.08-4.07 (m, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.72-3.53 (m, 5H), 3.39 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 3.24 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 3.00 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=18.0$ Hz, 1H), 2.79 (d,

$J=13.5$ Hz, 1H), 2.50 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 2.32 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.0 (s, 3H), 1.79

(dd, $J_1=12.3$ Hz, $J_2=14.8$ Hz, 1H), 0.81 (d, $J=6.3$ Hz, 3H).

Пример 59

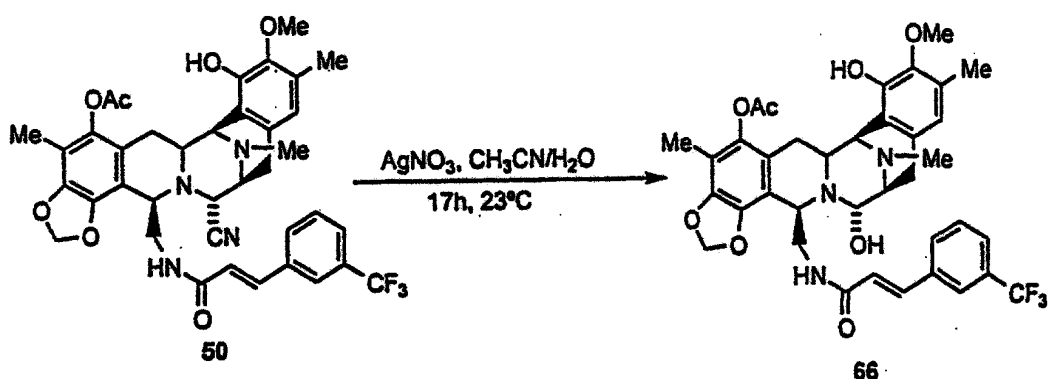


Към разтвор на 43 (19 mg, 0.0364 mmol) в метиленхлорид (0.3 ml) при 0°C се прибавят бутирилхлорид (3.78 ml, 0.0364 mmol) и пиридин (2.95 ml, 0.0364 mmol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 1 h, след което разтворът се разрежда с метиленхлорид (10 ml) и се промива с 0.1N солна киселина (5 ml). Органичният слой се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 20:1) до получаване на 64 (19 mg, 87%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.60 (етилацетат:метанол 5:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) 6.50 (s, 1H), 5.98 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.01 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 4.10-4.09 (m, 1H), 4.06 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 4.03-4.02 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.67-3.60 (m, 1H), 3.42-3.35 (m, 2H), 3.29 (d, $J=12.0$ Hz, 1H), 3.02 (dd, $J_1=7.8$ Hz, $J_2=17.7$ Hz, 1H), 2.79 (d, $J=14.1$ Hz, 1H), 2.56 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.78 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H), 1.63 (s, 3H), 1.53-1.46 (m, 2H), 1.28-1.16 (m, 2H), 0.68 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_7$: 590.67. Намерено $(\text{M}+\text{H})^+$: 591.2.

Пример 60



Към разтвор на 50 (31.7 mg, 0.044 mmol) в CH_3CN /вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (225 mg, 1.32 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 17 h. При 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под

вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:1) до получаване на 66 (16 mg, 51%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.26 (етилацетат:метанол 5:1).

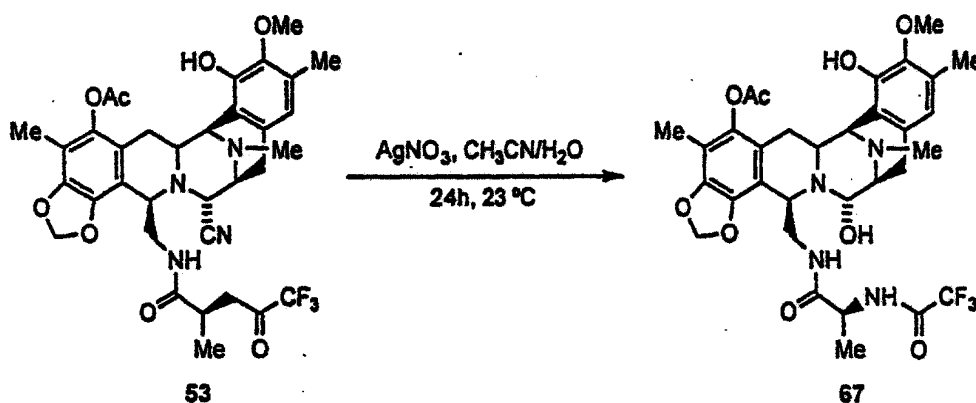
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.66-7.42 (m, 4H), 7.20 (bs, 1H), 6.44 (s, 1H), 5.97 (b, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.90 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.76 (bs, 1H), 5.28 (bs, 1H), 4.54 (bs, 1H), 4.43 (bs, 1H), 4.00 (bs, 1H), 3.68-3.57 (m, 4H), 3.47 (d, $J=3.3$ Hz,

1H), 3.40 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 3.17 (d, $J=6.9$ Hz, 1H), 2.92 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=17.7$ Hz, 1H), 2.74 (d, $J=17.1$ Hz, 1H), 2.48 (d, $J=18.6$ Hz, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.28 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.76 (dd, $J_1=12.0$

Hz, $J_2=16.2$ Hz, 1H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{37}H_{38}F_3N_3O_8$: 709. Намерено (M^+-17): 692.3.

Пример 61



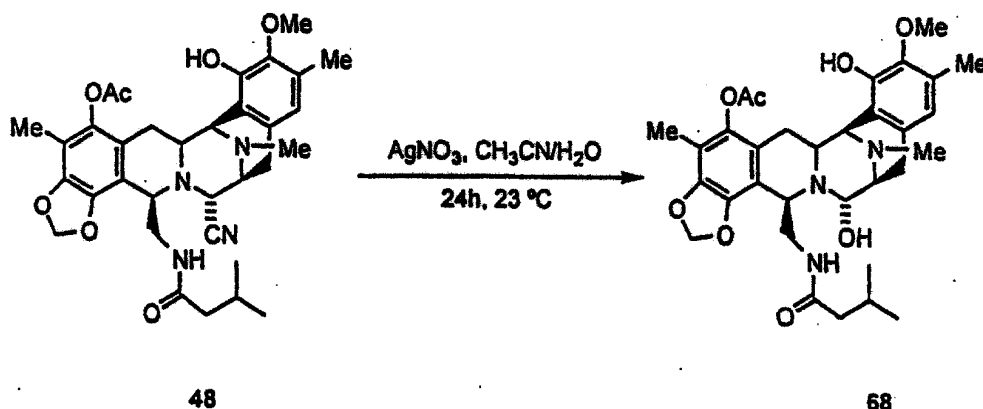
Към разтвор на 53 (57 mg, 0.0828 mmol) в CH_3CN /вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (650 mg, 3.81 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 24 h. След това при 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:1) до получаване на 67 (28 mg, 50%)

като бяло твърдо вещество. Rf: 0.28 (етилацетат:метанол 10:1).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) делта 6.47 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.35 (bs, 1H), 4.51 (bs, 1H), 4.41 (bs, 1H), 4.12-4.05 (m, 1H), 4.00 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.64 (bs, 1H), 3.46 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 3.34 (d, $J=11.4$ Hz, 1H), 3.18 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 2.95 (dd, $J_1=8.4$ Hz, $J_2=18.3$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 2.48 (d, $J=17.7$ Hz, 1H), 2.28 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.68 (dd, $J_1=12$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, 1H), 0.86 (d, $J=6.3$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{32}H_{37}F_3N_4O_9$: 678.66. Намерено (M^+-17): 661.2.

Пример 62



Към разтвор на 48 (32 mg, 0.0529 mmol) в CH_3CN /вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (270 mg, 1.58 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 24 h. След това при 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикар-

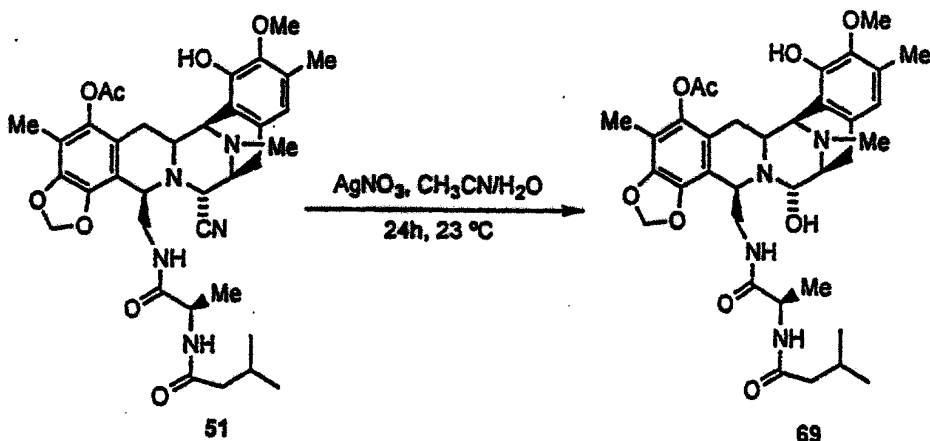
бонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография

под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:1) до получаване на 68 (18 mg, 56%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.40 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) d 6.50 (s, 1H), 5.95 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.88 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.23 (d, J=6.9 Hz, 1H), 4.45 (d, J=3.3 Hz, 1H),

4.38 (s, 1H), 4.01 (d, J=2.4 Hz, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.41-3.37 (m, 1H), 3.17-3.15 (m, 1H), 2.96 (dd, J₁=7.8 Hz, J₂=18.0 Hz, 1H), 2.70 (d, J=15.3 Hz, 1H), 2.40 (d, J=18.0 Hz, 1H), 2.30 (s, 6H), 2.27 (s, 3H), 1.76-1.65 (m, 1H), 1.35-1.25 (m, 2H), 0.89-0.82 (m, 1H), 0.69 (d, J=6.6 Hz, 3H), 0.58 (d, J=6.6 Hz, 3H).

Пример 63

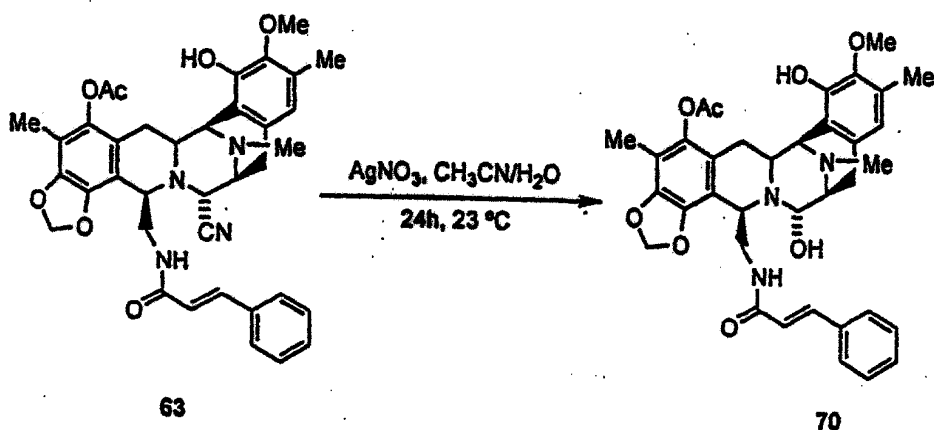


Към разтвор на 51 (27 mg, 0.04 mmol) в CH₃CN/вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (204 mg, 1.19 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 24 h. След това при 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метилхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:1) до полу-

чаване на 69 (10 mg, 38%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.38 (етилацетат:метанол 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) d 6.48 (s, 1H), 6.16 (bs, 1H), 5.98 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.89 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.33 (t, J=6.0 Hz, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.11-4.09 (m, 1H), 4.00 (d, J=2.6 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.41-3.32 (m, 3H), 3.18 (d, J=8.4 Hz, 1H), 2.94 (dd, J₁=8.4 Hz, J₂=18.3 Hz, 1H), 2.70 (d, J=14.4 Hz, 1H), 4.45 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.00-1.86 (m, 3H), 1.73 (m, 1H), 0.87 (d, J=6.3 Hz, 6H).

Пример 64

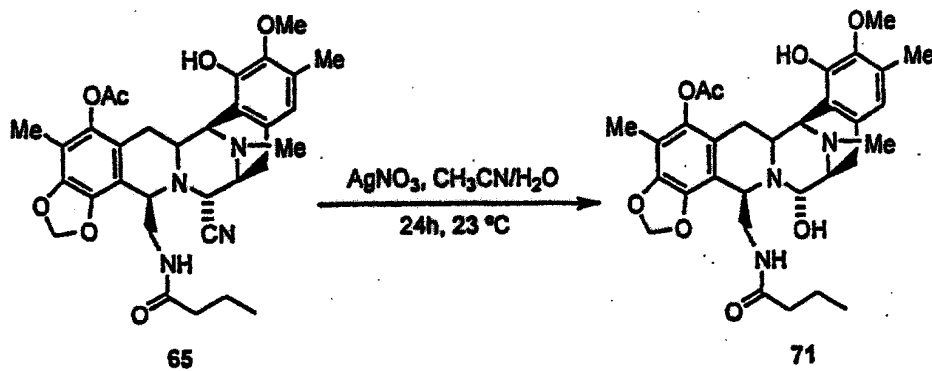


Към разтвор на 63 (15 mg, 0.023 mmol) в CH_3CN /вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (118 mg, 0.691 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 24 h. След това при 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:ме-

танол 5:1) до получаване на 70 (20.1 mg, 85%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.43 (етилацетат:метанол 5:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.28 (m, 5H), 6.48 (s, 1H), 5.98 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.75 (bs, 1H), 5.38 (brd, 1H), 5.30 (bs, 1H), 4.53 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.02 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 3.78-3.65 (m, 5H), 3.46-3.40 (m, 2H), 3.17 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 2.94 (dd, $J_1=7.8$ Hz, $J_2=17.7$ Hz, 1H), 2.73 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 2.45 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 2.31 (s, 6H), 2.28 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.77 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=15.3$ Hz, 1H).

Пример 65



Към разтвор на 65 (25 mg, 0.042 mmol) в CH_3CN /вода (1.5 ml/0.5 ml) се прибавя сребърен нитрат (215.56 mg, 1.269 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 24 h. След това при 0°C се прибавят разсол (10 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (10 ml) и сместа се разбърква в продължение на 15 min, филтрува се през слой от селит и се промива с метиленхлорид (20 ml). Разтворът се декантира и органичният слой се суши и концентрира под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:метанол 5:2) до получаване на 71 (16 mg, 65%) като бяло твърдо вещество. Rf: 0.05 (етилацетат:метанол 5:2).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6.50 (s, 1H), 5.95 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.19 (bs, 1H), 4.45 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 4.37 (bs, 1H), 4.11 (brd, $J=4.8$ Hz, 1H), 4.01 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 3.76 (s, 1H), 3.71-3.69 (m, 1H), 3.49-3.35 (m, 1H), 3.24 (d, $J=13.5$ Hz, 1H), 3.15 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 2.95 (dd, $J_1=8.1$ Hz, $J_2=17.7$ Hz, 1H), 2.70 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 2.40 (d, $J=18.0$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.75-

1.66 (m, 1H), 1.52-1.17 (m, 2H), 0.66 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

Методи за ферментация

Пример А

Посадъчна среда YMP3, съдържаща 1% глюкоза; 0.25% говежди екстракт; 0.5% бактопептон; 0.25% натриев хлорид и 0.8% калциев карбонат се инокулира с 0.1% замразена вегетативна маса от микроорганизма, щам A2-2 на *Pseudomonas fluorescens* и се инкубира в ротационен шейкър (250 об./min) при 27°C. След инкубиране в продължение на 30 h, посадъчната култура се поставя в съд за ферментация при разбъркване с хранителна среда, съставена от 2% декстроза; 4% манитол; 2% суха мая (Vitalevor® Biolux, Belgium); 1% амониев сулфат; 0.04% дикалиев хидрофосфат; 0.8% калиев хлорид; 0.001% железен трихлорид; 0.1% L-Тур; 0.1% калциев карбонат; 0.05% полипропиленгликол-2000; 0.2% силикон антипенител (ASSAF-100, RHODIA UK). Стерилизирането се провежда при 122°C в продължение на 30 min. Обемът за инокулиране е 2% (об./об.). Температурата е 27°C (от нулевия до шестнадесетия час) и 24°C от шестнадесетия час до края на процеса (41 h).

Кислородното налягане е до 25%. рН се установява 6.0 с разрежена сярна киселина 28 h до завършване на процеса. Свърхналягането е 0.5 bar. От шестнадесетия час до края на процеса (протича в продължение на 2 дни) се прибавя 1% манитол или сорбитол и 2% за тридневен процес на ферментация.

След 41 или 64 h, ферментационният бульон трябва да се екстрахира за възстановяване на сафрацин В или да се третира с калиев цианид за възстановяване на сафрацин В-циано.

Пример Б

Получаване на сафрацин В-циано от суровия екстракт

При избистрянето или филтрацията на ферментационния бульон при рН 6 се отделят твърдите вещества. Бистрият бульон се установява на рН 6 с разреден натриев хидроксид и се екстрахира два пъти с 2:1 (об./об.) етилацетат, метилхлорид или бутилацетат. Екстракцията се провежда в съд при разбъркване в продължение на 20 min, като температурата на сместа се поддържа от 8 до 10°C. Посредством центрофугиране се разделят две фази. Органичната фаза се суши с безводен натриев сулфат или се замразява и след това се филтрува за да се отдели ледът. Тази органична фаза (етилацетатен слой) се изпарява до получаване на суров маслен екстракт.

Пример В

Получаване на сафрацин В-циано от избистрения бульон

При избистрянето или филтрацията на ферментационния бульон при рН 6 се отделят твърдите вещества. Бистрият бульон се установява на рН 3.9 с концентрирана оцетна киселина. Към избистрения бульон се прибавят 0.5 грама на литър калиев цианид и се инкубира при 20°C в продължение на 1 h при разбъркване. След това температурата се понижава до 15°C и рН се установява 9.5 с разреден натриев хидроксид и се екстрахира с 2:1.5 (об./об.) етилацетат. Екстракцията се провежда в съд при разбъркване в продължение на 20 min, като температурата на сместа се поддържа от 8 до 10°C. Посредством центрофугиране се разделят две фази. Органичната фаза се суши с безводен натриев сулфат. Тази органична фаза (етилацетатен слой) се изпарява до получаване на суров маслен екстракт. Този екстракт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, гра-

диент от 20:1 до 10 до 5:1 етилацетат:метанол) до количествено получаване на съединението 2 като светложълто твърдо вещество.

Rf: 0.55 (етилацетат:метанол 15:1); $t_R = 19.9$ min [HPLC, Delta Pack C4, 5 microm, 300A, 150 x 3 mm, ламбда = 215 nm, поток = 0.7 ml/min, температура = 50°C, градиент: CH₃CN-воден NaOAc (10 mM) 85% - 70% (20 min)];

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): делта 6.54 (dd, $J_1=4.4$ Hz, $J_2=8.4$ Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 4.12 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.04 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.87 (bs, 1H), 3.65 (ddd, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=8.7$ Hz, $J_3=9.9$ Hz, 1H), 3.35 (br. D, $J=8.4$ Hz, 1H), 3.15-2.96 (m, 4H), 2.92 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 2.47 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.83 (s, 3H), 1.64 (ddd, $J_1=2.7$ Hz, $J_2=11.1$ Hz, $J_3=14.1$ Hz, 1H), 0.79 (d, $J=7.2$ Hz, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): делта 186.0 (q), 175.9 (q), 156.2 (q), 146.8 (q), 142.8 (q), 140.7 (q), 136.6 (q), 130.5 (q), 128.8 (q), 127.0 (q), 120.5 (s), 117.4 (q), 116.5 (q), 60.8 (t), 60.4 (s), 58.7 (t), 56.2 (s), 55.7 (s), 54.8 (s), 54.8 (s), 54.4 (s), 50.0 (s), 41.6 (t), 39.8 (d), 25.2 (d), 24.4 (d), 21.2 (t), 15.5 (t), 8.4 (t).

ESI-MS m/z: Изчислено за C₂₉H₃₅N₅O₆: 549.6. Намерено (M+Na)⁺: 572.3.

Пример Г

Среда (50 l), съдържаща 2% декстроза; 4% манитол; 2% суха мая; 1% амониев сулфат; 0.04% дикалиев хидрофосфат; 0.8% калиев хлорид; 0.001% железен трихлорид 6-хидрат; 0.1% L-тирозин; 0.8% калциев карбонат; 0.05% полипропиленгликол-2000; 0.2% антипенител ASSAF-100 се излива във ферментатор със 75 l общ капацитет и, след стерилизация, се инокулира с посадъчна култура (2%) от A2-2 щам (PERM BP-14) и култивацията се аерира при разбъркване при от 27°C до 24°C в продължение на 64 h (аерираре на 75 l/min и разбъркване от 350 до 500 об./min). рН се контролира посредством автоматично подаване на разрежена сярна киселина от 27-ия час до края на процеса. От 16-тия час до края на процеса се прибавят 2% манитол. Така получената културна среда (45 l), след отделяне на клетки чрез центрофугиране, се установява на рН 9.5 с разреден натриев хидроксид и двукратно се екстрахира с 25 l етилацетат. Сместа се поставя в съд при разбъркване при 8°C в продължение на 20 min. Посредством центрофугиране се разделят две фази. Орга-

ничната фаза се замразява при -20°C и се филтрува за отделяне на леда, ледът се изпарява и се изпарява до получаване на 40 g тъмен маслен суров екстракт. След въвеждане на цианидна група и пречистване се получават 3.0 g сафрацин В-циано.

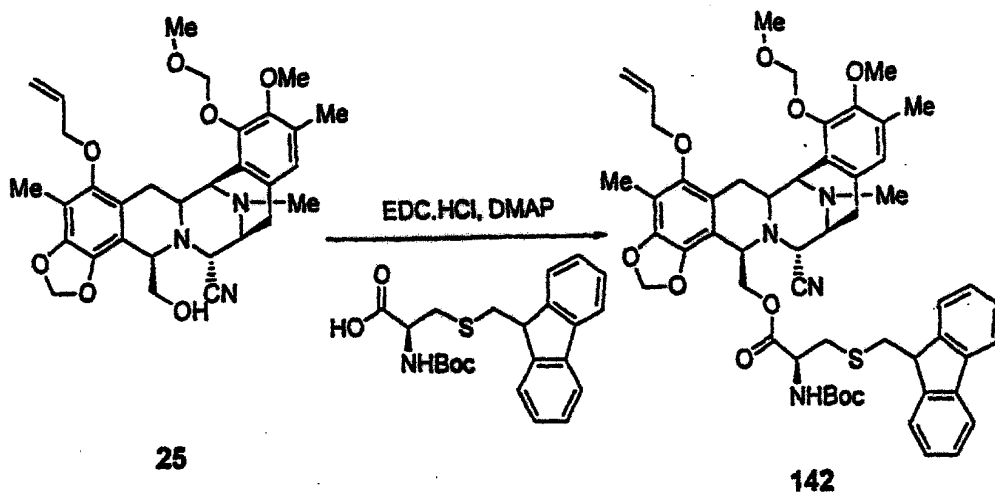
Пример Д

Среда (50 l), съдържаща 2% декстроза; 4% манитол; 2% суха мая; 1% амониев сулфат; 0.02% дикалиев хидрофосфат; 0.2% калиев хлорид; 0.001% железен трихлорид 6-хидрат; 0.1% L-тирозин; 0.8% калциев карбонат; 0.05% полипропиленгликол-2000; 0.2% антипенител ASSAF-100 се излива във ферментатор със 75 l общ капацитет и, след стерилизация, се инокулира с посадъчна култура (2%) от A2-2 щам (FERMBP-14) и култивацията се аерира при разбъркване при от 27 до 24°C в продължение на 41 h (аериране на 75 l/min и разбъркване от 350

до 500 об./min). pH се контролира посредством автоматично подаване на разрежена сярна киселина от 28-ия час до края на процеса. От 16-тия час до края на процеса се прибавят 1% манитол. Така получената културна среда (45 l), след отделяне на клетки чрез центрофугиране, се установява на pH 3.9 с 200 ml концентрирана оцетна киселина. Прибавят се 25 g калиев цианид 97% и след 1 h разбъркване при 20°C , pH се установява 9.5 с 1500 ml разтвор 10% натриев хидроксид. След това се екстрахира с 35 l етилацетат. Сместа се поставя в съд при разбъркване при 8°C в продължение на 20 min. Посредством центрофугиране се разделят две фази. Органичната фаза се суши с безводен натриев сулфат и се изпарява до получаване на 60 g тъмен маслен суров екстракт.

След хроматографиране се получават 4.9 g сафрацин В-циано.

Пример 66



Към разтвор на 25 (7.83 g, 0.0139 mol) и търговско производно на Boc-Cys (Fm) (Wachem) (8.33 g, 35.04 mmol) в дихлорметан (535 ml) под аргон, при разбъркване и при 23°C се прибавят диметиламинопиридин (4.28 g, 35.04 mmol) и 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-етилкарбодиимид хидрохлорид (6.66 g, 35.04 mmol). След това сместа се разбърква при 23°C в продължение на 2.5 h. След това реакцията се спира чрез прибавяне на наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (500 ml), органичната фаза се отделя и водният слой се екстрахира с дихлорметан (250 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се изпаряват до сухо при понижено налягане. Суровият продукт се пречиства посредством колонна хрома-

тография под налягане при елуиране със смес на етилацетат и хексан с градиент от 1:4 до 2:1 до получаване на 142 (12.21 g, 93%) като светложълто твърдо вещество. $R_f=0.35$ (хексан:етилацетат 1:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.72 (d, $J=7.3$, 2.7 Hz 2H), 7.55 (dd, $J_1=14.6$, $J_2=7.6$ 2H), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.30-7.24 (m, 2H), 6.63 (s, 1H), 6.08-5.99 (m, 1H), 5.91 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.80 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.39 (dd, $J_1=17.3$, $J_2=1.7$ Hz 1H), 5.24 (dd, $J_1=10.5$, $J_2=1.7$ Hz, 1H), 5.09 (AB, $J=4.48$ Hz, 2H), 5.07 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.34-4.29 (m, 2H), 4.17 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 4.16-4.04 (m, 4H), 4.02-3.96 (m, 2H), 3.93 (t, $J=5.3$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.32 (d, $J=8.0$, 1H), 3.23-3.17 (m, 2H), 3.0-2.89 (m, 3H), 2.65-

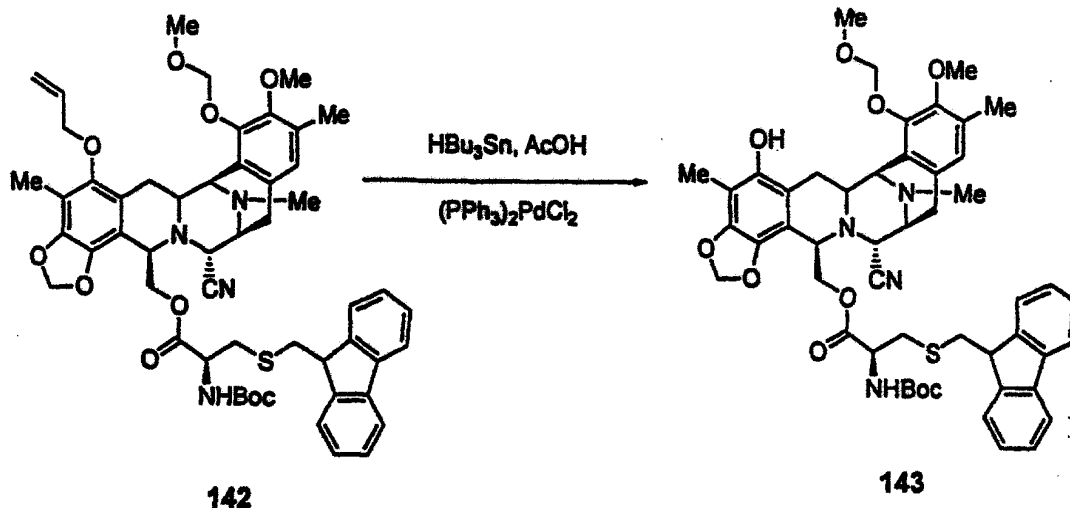
2.57 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.76 (dd, $J_1=16.3$, $J_2=12.7$ Hz, 1H), 1.45, 1.44 (s, 9H).

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): делта 170.9, 155.3, 148.9, 148.6, 146.1, 146.0, 144.7, 141.2, 141.1, 139.4, 134.0, 131.0, 130.1, 127.8, 127.2,

125.2, 125.0, 124.3, 121.3, 121.2, 120.1, 118.1, 117.6, 112.9, 101.4, 99.5, 80.3, 74.2, 65.6, 60.4, 60.1, 57.9, 57.4, 57.2, 57.1, 56.9, 55.6, 53.2, 47.0, 41.8, 41.7, 36.7, 35.3, 28.5, 26.6, 25.3, 15.9, 9.4.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{53}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 945.13. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 946.3

Пример 67



Към разтвор на 142 (12.01 g, 0.0127 mol) в дихлорметан (318 ml), при разбъркване и при 23°C под аргон се прибавят дихлорбис(трифенилфосфин)паладий(II) (0.71 g, 1.015 mmol) и оцетна киселина (3.6 ml, 0.176 mol). След това на капки се прибавя трибутилкалаен хидрид (10.27 ml, 0.037 mol). Сместа се разбърква при 23°C в продължение на 10 min. След това реакционната смес се филтрува през колона със слой от силикагел, компактиран с хексан. Получава се 143 (10.89 g, 95%) като жълто твърдо вещество при следващо елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:4, 1:1 до 7:3. $R_f = 0.25$ (хексан:етилацетат 2:1).

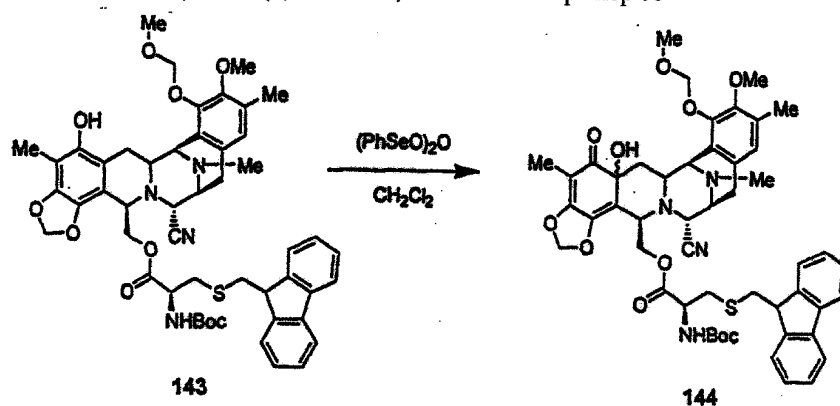
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) делта 7.72 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.61 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.28 (m, 2H), 6.63 (s, 1H), 5.87 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.76 (d, $J = 1.5$ Hz,

1H), 5.58 (bs, 1H), 5.31 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 5.17 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.91 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.17-4.06 (m, 4-6H), 3.85 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.34 (brd, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.23 (brd, $J = 11.2$ Hz, 1H), 3.06 (brd, $J = 12.9$ Hz, 1H), 3.04-2.86 (m, 3H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.80 (dd, $J_1 = 11.5$ Hz, $J_2 = 15.8$ Hz, 1H), 1.45 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 175.3, 170.5, 154.9, 149.1, 147.6, 145.9, 145.8, 145.7, 144.5, 140.9, 140.8, 136.1, 130.9, 127.4, 126.9, 124.3, 124.7, 122.9, 119.7, 117.6, 112.3, 111.4, 106.6, 100.7, 99.7, 80.0, 60.3, 59.8, 57.6, 57.0, 56.5, 56.4, 55.2, 52.7, 46.7, 46.5, 41.4, 36.9, 36.6, 34.9, 28.2, 26.0, 24.9, 20.9, 20.7, 15.7, 14.1, 8.5.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 905.5. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 906.3.

Пример 68



Към разтвор на 143 (10 g, 0.011 mol) в безводен дихлорметан (185 ml) при -10°C (температура на банята -15°C) се прибавя разтвор на бензенселенинов анхидрид (5.7 g, 0.011 mol) в безводен дихлорметан (185 ml), разтваряйки бялото твърдо вещество, присъстващо в разтвора. Сместа се разбърква при същата температура в продължение на 10 min. След това реакционната смес се разрежда с дихлорметан (200 ml) и при -10°C се прибавя наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (500 ml). Органичната фаза се отделя и се суши над натриев сулфат, филтрува се и се изпарява до сухо при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:1, 3:2, 7:3 до 4:1 до получаване на 144 (9.34 g, 92%) като жълто твърдо вещество. Пречистеното посредством хроматография твърдо вещество се разтваря в дихлорметан (250 ml), прибавя се въглен (3.3 g) и суспензията се разбърква при 23°C в продължение на 1 h. Сместа се филтрува през селит и селитът се промива с дихлорметан (80 ml). Разтворителят се изпарява при понижено налягане като температурата се поддържа $25\text{--}30^{\circ}\text{C}$ до получаване на 144 (8.96 g, 88%) като жълто твърдо вещество. $R_f = 0.30$ и 0.25 (смес на

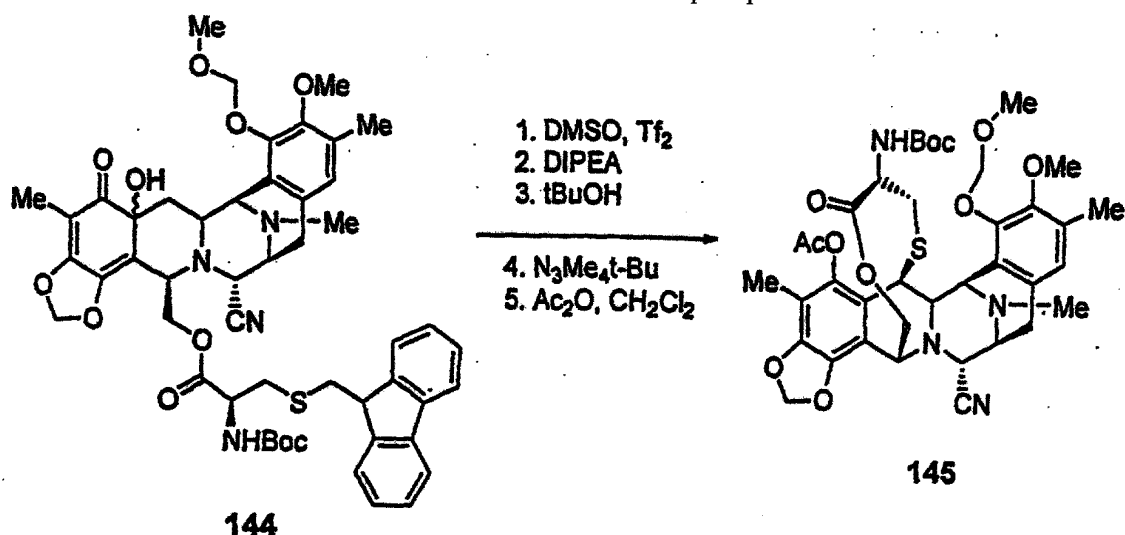
изомери) (хексан:етилацетат 1:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) δ 7.73-7.61 (m, 4H), 7.37-7.30 (m, 4H), 6.62 (s, 1H), 6.59 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.61 (s, 1H), 5.55 (bs, 1H), 5.34 (m, 2H), 5.08 (AB sist., $J_{AB} = 6.7$ Hz, 1H), 5.00 (AB sist., $J_{AB} = 5.9$ Hz, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.38 (dd, $J_1 = 4.9$ Hz, $J_2 = 12.9$ Hz, 1H), 4.21 (dd, $J_1 = 6.3$ Hz, $J_2 = 12.9$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 4.02 (m, 3H), 3.87 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.72 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.27 (m, 1H), 3.15 (dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 6.2$ Hz, 2H), 3.07 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 2.94 (m, 4H), 2.86 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.08 (dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, 1H), 1.77 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 1.43 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) δ 200.6, 171.2, 160.4, 155.6, 148.9, 148.8, 148.3, 145.9, 145.8, 141.3, 141.2, 138.7, 130.9, 127.9, 127.4, 127.3, 127.3, 125.3, 125.1, 124.2, 120.1, 117.1, 111.9, 108.5, 105.0, 104.7, 101.7, 101.3, 99.5, 99.4, 80.5, 72.5, 70.8, 60.5, 60.1, 58.4, 58.0, 57.9, 56.9, 56.8, 56.3, 55.9, 55.5, 55.4, 53.8, 53.7, 47.1, 42.0, 41.8, 41.5, 37.4, 37.3, 35.6, 35.5, 28.5, 25.8, 25.7, 16.1, 16.0, 7.7, 7.3.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{50}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 921.3. Намерено $(M+1)^+$: 922.3.

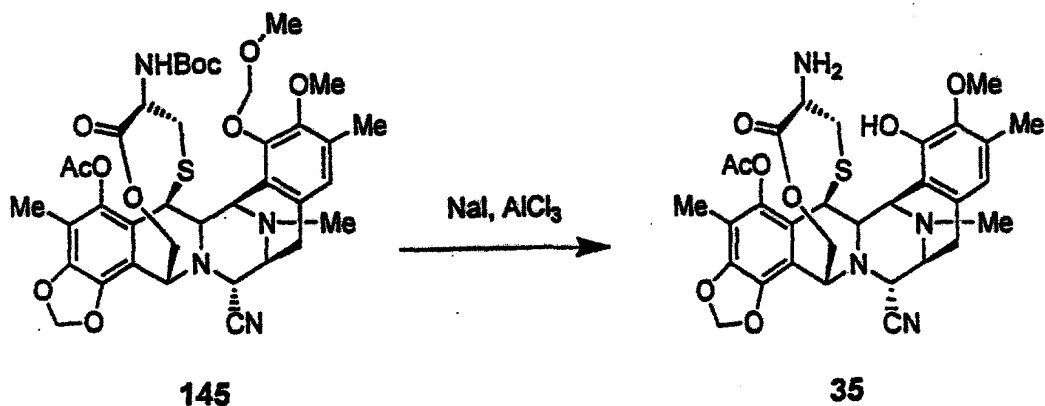
Пример 69



Към разтвор на диметилсулфоксид (3.44 ml) в безводен дихлорметан (396 ml) под аргон при -78°C се прибавя трифлик анхидрид (3.27 ml, 19.45 mmol) и сместа се разбърква при тази температура в продължение на 20 min. След това, при -78°C се прибавя разтвор на 144 (8.92 g, 9.6 mmol) в безводен дихлорметан (124 ml) и смес-

та се разбърква под аргон при -40°C в продължение на 35 min. Прибавя се диизопропилетиламин (13.5 ml, 73.43 mmol) и сместа се разбърква под аргон при 0°C в продължение на 45 min. Прибавят се терт-бутанол (3.65 ml, 38.6 mmol) и терт-бутилтетраметилгуанидин (11.6 ml, 67.46 mmol) и сместа се разбърква под аргон при 23°C

в продължение на 40 min. След това се прибавя оцетен анхидрид (9.15 ml, 96.78 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на още 1 h. Реакционната смес се разрежда с дихлорметан (250 ml) и се прибавя наситен воден разтвор на амониев хлорид (500 ml). Органичният слой се отделя и се промива последователно с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (500 ml) и наситен воден разтвор на натриев хлорид (500 ml). Органичният слой се отделя, суши се над натриев сулфат, филтрува се и се изпарява до сухо при понижено налягане като температурата се поддържа 25-30°C. След това суровото твърдо вещество се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:4 до 2:3 до получаване на 145 (4.99 g, 68%) като жълто твърдо вещество. Rf = 0.44 (хексан:етилацетат 3:2).



Към разтвор на 145 (1.0 g, 1.3 mmol) в ацетонитрил (50 ml) и дихлорметан (25 ml) при 23°C се прибавя натриев йодид (1.52 g, 10.01 mmol). След това сместа се охлажда до 0°C и на порции се прибавя алуминиев трихлорид (1.33 g, 10.01 mmol) като температурата се поддържа 0°C. След това сместа се разбърква при 0°C в продължение на 2.5 h. Реакционната смес се разрежда с дихлорметан (25 ml) и се прибавя наситен воден разтвор на натриево-калиев тартарат (100 ml). Водната фаза се отделя и се екстрахира с дихлорметан (2 x 75 ml). След това към водната фаза се прибавя наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (50 ml) и се екстрахира с дихлорметан (2 x 50 ml). Смесените органични ек-

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) делта 6.79 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.20 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 5.14 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 5.02 (d, $J=11.7$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.33 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.25 (bs, 1H), 4.18 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.17 (dd, $J_1=1.3$ Hz, $J_2=11.7$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 3.42 (m, 2H), 2.93 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.09 (m, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.45 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 207.3, 170.9, 168.8, 155.4, 149.8, 148.6, 146.0, 141.1, 140.7, 131.7, 130.6, 125.1, 120.6, 118.3, 113.7, 102.2, 99.4, 80.0, 61.6, 60.4, 59.8, 59.4, 59.2, 57.7, 55.0, 54.7, 54.0, 41.9, 41.6, 33.1, 31.8, 28.7, 23.9, 20.6, 16.1, 14.3, 9.8.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 766.86. Намерено $(M+1)^+$: 767.3.

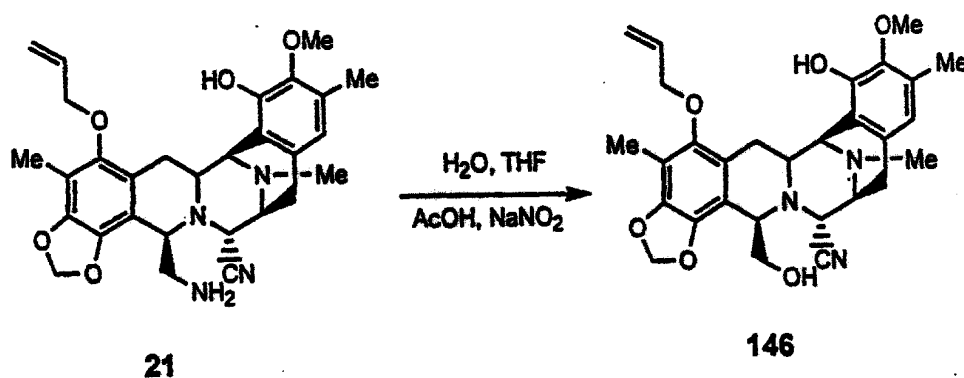
Пример 70

тракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се изпаряват до сухо при понижено налягане, като температурата се поддържа под 25°C. След това суровото твърдо вещество се пречиства посредством колонна хроматография под налягане върху аминосиликагел и се елуира със смеси на етилацетат и хексан с градиент. Получава се 35 (487 mg, 60%) като жълто твърдо вещество. Експериментални данни за 35 са вече описани в PCT/GB2000/001852.

36, ET-770 и ET-743 се получават, по същите методи, вече описани в PCT/GB2000/001852.

Метод 2

Пример 71



Разтвор на 21 (9.84 g, 18.97 mmol) в тетрагидрофуран (569 ml) и вода (285 ml) се охлажда при 0°C на ледена баня. След това при 0°C се прибавят натриев нитрит (1.96 g, 28.45 mmol) и 90% водна оцетна киселина (18.97 ml, 0.33 mol) и сместа се разбърква при 23°C в продължение на 18 h. След охлаждане на реакционната смес до 0°C се прибавят наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (300 ml, основно рН) и дихлорметан (500 ml). След това водната фаза се екстрахира с дихлорметан (2 x 300 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат и се изпаряват до сухо при по-нижешо налягане. След това суровото твърдо вещество се разтваря в метанол (379 ml) и при 0°C се прибавя 1M натриев хидроксид (38 ml). Сместа се разбърква при 23°C в продължение на 4 h. След разреждане с етилацетат (600 ml) при 0°C, органичният слой се промива със смес на вода (400 ml) и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (100 ml, основно рН). След това водната фаза се екстрахира с етилацетат (3 x 300 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства

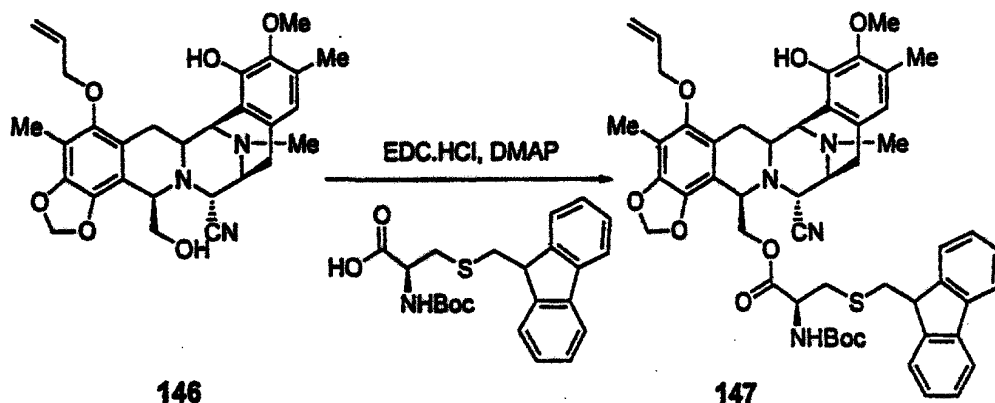
посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат, градиент от 3:1 до 2:1) до получаване на 146 (4.55 до 46%) като бяло твърдо вещество. Rf=0.33 (хексан:етилацетат 1:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 6.48 (s, 1H), 6.15-6.02 (m, 1H), 5.92 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.86 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.39 (dd, J₁=1.5 Hz, J₂=17.1 Hz, 1H), 5.26 (dd, J₁=1.5 Hz, J₂=10.5 Hz, 1H), 4.24-4.15 (m, 3H), 4.04 (d, J=2.4 Hz, 1H), 3.97 (t, J=3.3 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.64 (dt, J₁=3.3 Hz, J₂=11.1 Hz, 1H), 3.43 (dd, J₁=3.3 Hz, J₂=10.5 Hz, 1H), 3.38-3.34 (m, 2H), 3.31 (t, J=2.7 Hz, 1H), 3.22 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=15.6 Hz, 1H), 3.10 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.3 Hz, 1H), 2.49 (d, J=18.3 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.88 (dd, J₁=12 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 148.6, 146.7, 144.4, 143.0, 138.9, 133.9, 130.2, 129.1, 121.1, 120.9, 117.7, 117.4, 116.8, 113.3, 112.3, 101.1, 74.3, 63.7, 60.6, 60.1, 58.1, 56.9, 56.7, 55.4, 41.7, 26.2, 25.7, 15.7, 9.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₂₉H₃₃N₃O₆: 519.59. Намерено (M+)⁺: 520.5.

Пример 72



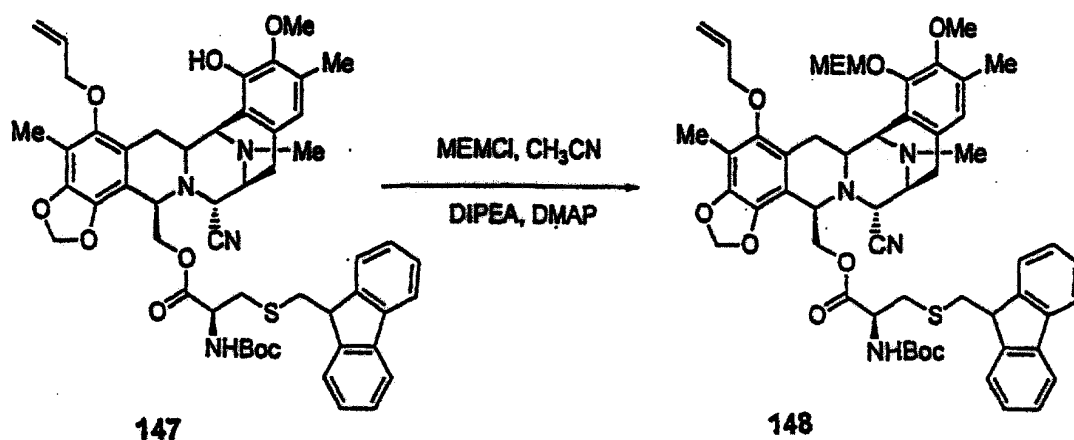
Към разтвор на 146 (47.35 g, 0.091 mol) и търговско производно на Вос-Cys (Fm) (54.6 g, 0.137 mol) в дихлорметан (2.8 l) под аргон, при разбъркване и при 23°C, на порции в продължение на 1.5 h се прибавят диметиламинопиридин 5 (5.6 g, 0.046 mol) и 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-етилкарбодиимид хидрохлорид (43.6 g, 0.227 mmol). След това сместа се разбърква при 23°C в продължение на още 1 h. След това реакцията се спира чрез прибавяне на наситен воден раз- 10 тор на натриев бикарбонат (1 l) и органичната фаза се отделя. Водният слой се екстрахира с дихлорметан (2 x 500 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се изпаряват до сухо при понижено налягане. 15 Суровият продукт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:4 до 3:1 до получаване на 147 (74.3 g, 93%) като бяло твърдо вещество. Rf = 0.5 (хексан:- 20 етилацетат 1:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.73 (d, J=7.8 Hz, 2H), 7.63-7.55 (m, 2H), 7.39-7.35 (m, 2H), 7.29-7.25 (m, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.07-5.97 (m, 1H), 5.92 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.80 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 5.34 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=17.4 Hz, 1H), 5.23 (dd, J₁=1.8 Hz, J₂=10.5 Hz, 1H), 5.04 (d, J=9.3 Hz, 1H), 4.32-4.29 (m, 1H), 4.13-3.91 (m, 9H), 3.72 (s, 3H), 3.31 (d, J=7.2 Hz, 1H), 3.26-3.17 (m, 2H), 2.96-2.87 (m, 3H), 2.68-2.54 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.83 (dd, J₁=12.6 Hz, J₂=15.9 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 170.9, 155.4, 149.0, 147.1, 146.2, 146.0, 144.7, 143.0, 141.1, 139.4, 134.1, 131.5, 129.1, 127.8, 127.2, 125.0, 121.3, 120.9, 120.1, 118.2, 117.6, 117.2, 112.9, 112.4, 101.4, 80.3, 76.6, 74.4, 65.3, 61.0, 60.4, 57.4, 56.9, 56.7, 55.6, 53.0, 46.9, 41.8, 36.7, 35.3, 31.8, 28.5, 26.6, 25.2, 22.9, 16.0, 14.4, 9.5.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₅₁H₃₆N₄O₉S: 900.3. Намерено (M+1)⁺: 901.3

Пример 73



Към разтвор на 147 (0.562 g, 0.624 mol) в CH₃CN (3.12 ml) при 0°C се прибавят MEMCl (1.07 ml, 9.36 mmol), DIPEA (2.17 ml, 12.48 mmol) и DMAP (0.0076 g, 0.06 mmol). Сместа се разбърква в продължение на 5.5 h при 23°C. Реакционната смес се разрежда с дихлорметан (50 ml) и се екстрахира с 0.1N солна киселина (50 ml). Водната фаза отново се екстрахира с дихлорметан (50 ml). Смесените органични фази се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират под вакуум до получаване на остатък, който се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (дихлорметан:етилацетат 10:1, 5:1) до получаване на 148 (539 mg, 87%)

като бяло твърдо вещество. Rf = 0.50 (дихлорметан:етилацетат 6:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.73-7.71 (m, 2H), 7.57 (dd, J₁=7.2 Hz, J₂=15.3 Hz, 2H), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.29-7.26 (m, 2H), 6.62 (s, 1H), 6.08-5.99 (m, 1H), 5.91 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.79 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.35 (dd, J₁=1.2 Hz, J₂=17.1 Hz, 1H), 5.23 (d, J=6.3 Hz, 1H), 5.21 (bs, 1H), 5.13 (d, J=6.3 Hz, 1H), 5.04 (brd, J=9 Hz, 1H), 4.33-4.29 (m, 2H), 4.16-3.90 (m, 8H), 3.85-3.78 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.60-3.55 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.31 (brd, J=8.1 Hz, 1H), 3.21-3.17 (m, 2H), 2.98-2.88 (m, 3H), 2.64-2.56 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.75 (dd, J₁=11.7

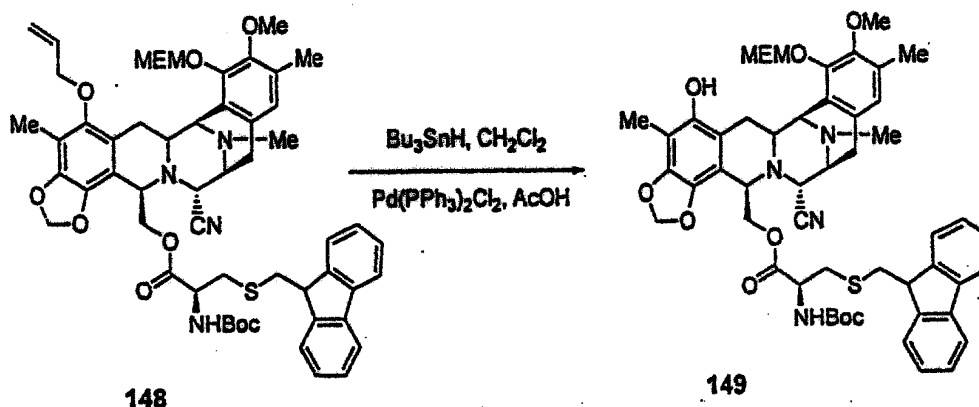
Hz, $J_2=15.6$ Hz, 1H), 1.47 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 170.5, 155.0, 148.6, 148.5, 148.2, 145.77, 145.6, 144.4, 140.8, 140.7, 139.0, 133.6, 130.7, 130.5, 127.4, 126.9, 124.8, 124.6, 123.8, 120.8, 119.7, 117.8, 117.2, 122.5, 111.9, 101.0, 98.1, 80.0, 77.4, 77.0,

76.6, 73.8, 71.6, 69.2, 65.0, 60.2, 60.0, 59.8, 59.0, 56.8, 56.7, 56.6, 55.2, 52.7, 46.6, 41.3, 36.2, 34.9, 29.6, 28.2, 26.3, 24.9, 15.6, 14.1, 9.0.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{55}\text{H}_{64}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 988.4. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 989.3.

Пример 74



Към разтвор на 148 (38.32 g, 0.039 mol) в дихлорметан (1 l), при разбъркване и при 23°C под аргон се прибавят дихлорбис(трифенилфосфин) паладий(II) (2.17 g, 0.0031 mol) и оцетна киселина (11.1 ml, 0.195 mol). След това на капки се прибавя трибутилкалаен хидрид (36.5 ml, 0.136 mol). Сместа се разбърква при 23°C в продължение на 15 min. След това реакционната смес се филтрува през колона със слой от силикагел, компактиран с хексан. Получава се 149 (35.07 g, 95%) като бяло твърдо вещество при следващо елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 0:100, 1:4, 1:3, 2:5, 2:3, 1:1, 2:1, 3:1 до 100:0. $R_f=0.25$ (хексан:етилацетат 2:1).

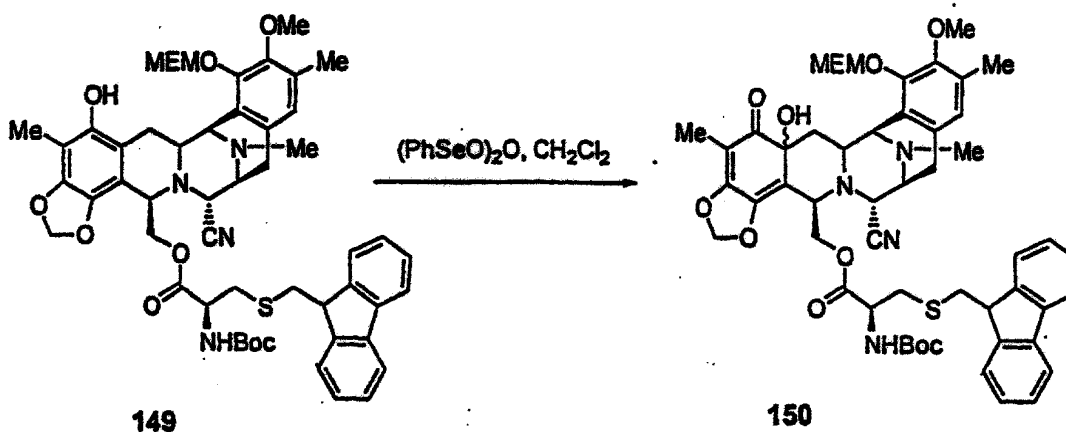
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) делта 7.74 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.63-7.53 (m, 2H), 7.39-7.34 (m, 2H), 7.30-7.27 (m, 2H), 6.62 (s, 1H), 5.87 (m,

1H), 5.75 (s, 1H), 5.69 (bs, 1H), 5.37 (d, $J=6$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 4.96 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 4.44 (brd, $J=8.7$ Hz, 1H), 4.18-3.70 (m, 11H), 3.69 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 3.34-3.18 (m, 3H), 2.99-2.88 (m, 3H), 2.63-2.58 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.78 (dd, $J_1=12.9$ Hz, $J_2=15.63$ Hz, 1H), 1.41 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 170.8, 155.2, 149.0, 148.0, 146.2, 146.0, 144.8, 141.1, 136.4, 131.3, 131.2, 127.8, 127.2, 125.1, 125.0, 123.2, 120.0, 118.1, 112.6, 111.6, 107.2, 101.0, 98.9, 98.8, 80.3, 71.8, 69.8, 64.9, 60.6, 60.2, 59.2, 57.1, 56.9, 55.5, 53.0, 47.0, 46.9, 41.8, 37.0, 35.3, 28.5, 26.2, 25.2, 21.9, 21.3, 16.1, 14.4, 9.0.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 948.4. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 949.3.

Пример 75



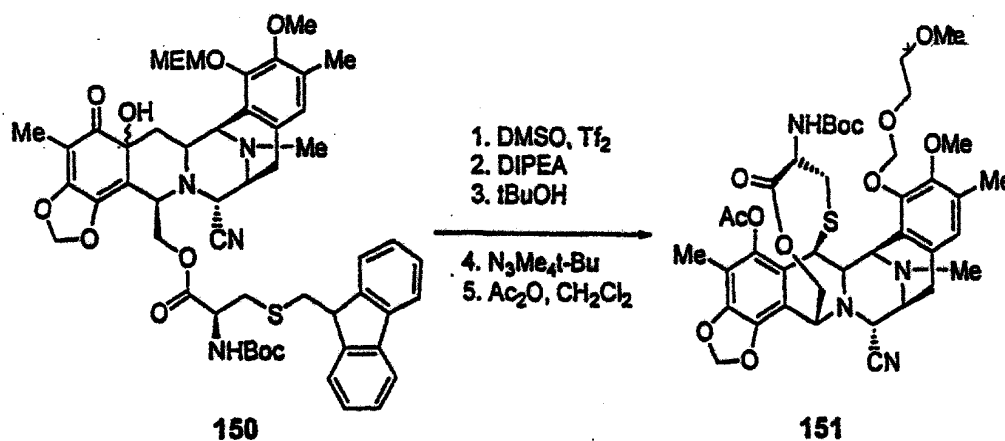
Към разтвор на 149 (15 g, 0.0158 mol) в безводен дихлорметан (265 ml) при -10°C (температура на банята -15°C), на капки в продължение на 30 min, се прибавя разтвор на бензенселенинов анхидрид (7.4 g, 0.0143 mol) в безводен дихлорметан (265 ml), разтваряйки бялото твърдо вещество, присъстващо в разтвора. Сместа се разбърква при същата температура в продължение на още 10 min. След това реакционната смес се разрежда с дихлорметан (200 ml) и при -10°C се прибавя наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (500 ml). Органичната фаза се отделя и се суши над натриев сулфат, филтрува се и се изпарява до сухо при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:2 до 100:0 до получаване на 150 (14.20 g, 89%) като жълто твърдо вещество. Пречистеното посредством хроматография твърдо вещество се разтваря в дихлорметан (250 ml), прибавя се въглен (4.95 g) и суспензията се разбърква при 23°C в продължение на 1 h. Сместа се филтрува през селит и селитът се промива с дихлорметан (80 ml). Разтворителят се изпарява при понижено налягане до получаване на 150 (13.72 g, 86%) като бяло твърдо вещество. $R_f=0.37$ (хексан:етилацетат 1:2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) δ 7.73 (t, $J=6.7$ Hz, 4H), 7.63 (m, 2H), 7.54 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.40-7.34 (m, 4H), 7.31-7.27 (m, 4H), 6.62 (s, 2H), 5.86 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.35 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.30 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.22 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J=5.9$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.43 (m, 2H), 4.20-4.01 (m, 8H), 3.97-3.86 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 3.80-3.74 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.66-3.64 (m, 4H), 3.54 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 3.34-2.90 (m, 8H), 2.60-2.31 (m, 4H), 2.27 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.94-1.81 (m, 2H), 1.77 (s, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.41 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) δ 200.2, 198.3, 170.7, 170.5, 160.0, 155.2, 154.9, 148.5, 148.4, 145.5, 142.1, 140.9, 138.3, 130.9, 130.5, 130.0, 129.8, 127.5, 126.9, 125.0, 124.9, 124.7, 123.8, 122.5, 119.8, 117.2, 116.7, 111.5, 108.1, 104.6, 104.3, 101.3, 100.9, 98.0, 80.1, 72.1, 71.5, 70.5, 69.2, 69.0, 66.4, 63.5, 60.7, 60.1, 59.6, 58.9, 58.8, 58.0, 56.7, 56.4, 56.2, 55.9, 55.5, 55.0, 53.5, 46.7, 41.7, 41.3, 41.1, 36.9, 35.2, 35.1, 31.4, 28.1, 25.4, 25.3, 22.5, 15.7, 15.6, 14.0, 7.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$: 964.4. Намерено $(M+1)^+$: 965.3, $(M+23)^+$: 987.3.

Пример 76



Реакционната колба се обгаря двукратно, продухва се с аргон/вакуум няколко пъти и се държи в атмосфера на аргон в продължение на реакцията. Към разтвор на диметилсулфоксид (385 μmol) в безводен дихлорметан (42 ml) на капки при -78°C се прибавя трифлик анхидрид (366 μmol , 2.16 mmol). Реакционната смес се разбърква при -78°C в продължение на 20 min.

След това, при -78°C през канюла (време за прибавяне: 5 min) се прибавя разтвор на 150 (1 g, 1.03 mmol) в безводен дихлорметан (10 ml, 5 ml за основното прибавяне и 5 ml за промиване). През време на прибавянето температурата в двете колби се поддържа -78°C и цветът се променя от жълт в кафяв. Реакционната смес се разбърква при -40°C в продължение на 35 min. През

този период цветът на разтвора става от жълт до тъмнозелен. След това, на капки се прибавя ди-
 изопропилетиламин (1.51 ml, 9.55 mmol) и ре-
 акционната смес се държи при 0°C в продълже-
 ние на 45 min като през това време цветът на
 разтвора става кафяв. След това, на капки се при-
 бавят терт-бутанол (409.5 ml, 4.33 mmol) и терт-
 бутилтетраметилгуанидин (1.31 ml, 7.61 mmol)
 и реакционната смес се разбърква при 23°C в
 продължение на 40 min. След това, на капки се
 прибавя оцетен анхидрид (1.03 ml, 10.89 mmol)
 и реакционната смес се разрежда с дихлорметан
 (25 ml) и се промива с наситени водни раз-
 твори на амониев хлорид (50 ml), натриев бикар-
 бонат (50 ml) и натриев хлорид (50 ml). Смесените
 органични слоеве се сушат над натриев сулфат,
 филтруват се и се концентрират. Остатъкът се
 пречиства посредством колонна хроматография
 под налягане (вътрешен диаметър: 2.0 cm, ви-
 сочина на слоя от силициев двуокис: 9 cm;
 елуент: етилацетат/хексан с градиент от 20:80,
 30:70 до 40:60 до получаване на 151 (832.6 mg,

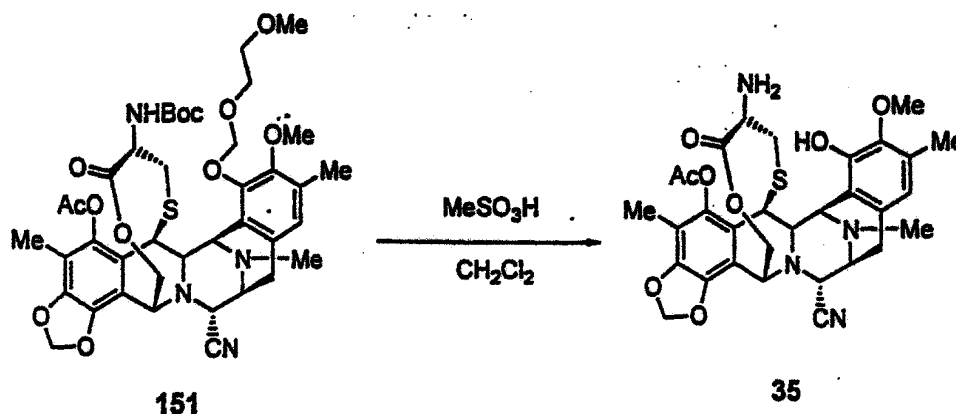
99%) като бяло твърдо вещество. Rf = 0.48 (хек-
 сан:етилацетат 3:2).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 6.78 (s,
 1H), 6.09 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.99 (d, J=1.2 Hz,
 1H), 5.32 (d, J=5.8 Hz, 1H), 5.19 (d, J=5.6 Hz,
 1H), 5.01 (d, J=11.7 Hz, 1H), 4.62 (d, J=9.8 Hz,
 1H), 4.50 (bs, 1H), 4.34 (d, J=5.1 Hz, 1H), 4.28
 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=6.8 Hz, 1H), 4.24 (s, 1H), 4.17
 (m, 2H), 3.90 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.58 (t, J=4.8
 Hz, 2H), 3.42-3.37 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.91
 (m, 2H), 2.36-2.08 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.28 (s,
 3H), 2.21 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.44 (s, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 170.9,
 168.9, 168.0, 155.4, 149.8, 148.6, 146.0, 141.1,
 140.6, 131.6, 131.1, 130.6, 129.0, 125.1, 120.6,
 118.3, 102.2, 98.4, 79.9, 71.9, 69.4, 61.6, 60.4,
 59.8, 59.4, 59.2, 54.9, 54.7, 54.0, 41.6, 30.6, 29.1,
 28.7, 23.9, 23.2, 20.6, 16.1, 14.2, 11.2, 9.8.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₄₀H₅₀N₄O₁₂S:
 20 810.91. Намерено (M+1)⁺: 811.3.

Пример 77



Към разтвор на 151 (2.9 g, 3.57 mmol) в
 дихлорметан (120 ml) при 23°C се прибавя
 MeSO₃H (1.4 ml, 21.46 mmol). След разбърква-
 не на реакционната смес в продължение на 30
 min при 23°C, при 0°C се прибавя наситен во-
 ден разтвор на натриев бикарбонат (200 ml).
 Органичната фаза се отделя, суши се над натри-
 ев сулфат, филтрува се и се концентрира до су-
 хо при понижено налягане. Остатъкът се пречи-
 ства посредством колонна хроматография под на-
 лягане при елуиране със смеси на етилацетат и

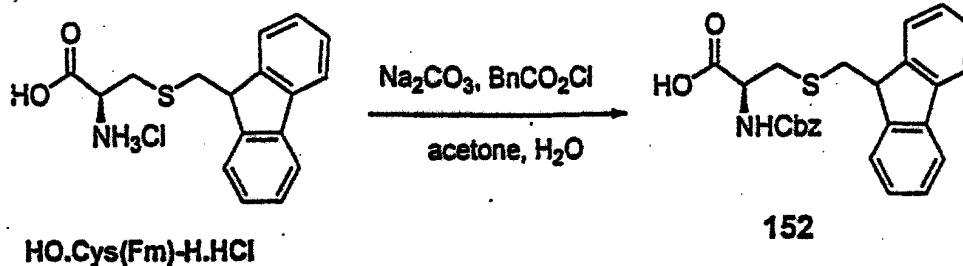
35 хексан с градиент от 0:1 до 1:0 до получаване на
 35 (1.43 g, 64%) като бледожълто твърдо
 вещество. Експериментални данни за 35 са вече
 описани в PCT/GB2000/001852.

36, ET-770 и ET-743 се получават по съ-
 щите методи, вече описани в PCT/GB2000/
 001852.

Метод 3

Първият етап на този метод (превръщане
 на 21 в 146) е описан по-горе, в Пример 71.

Пример 78



Към разтвор на търговски HO.Cys(Fm)-H.HCl (Wachem) (40 g, 0.119 mol) в ацетон (500 ml) и вода (500 ml) при 0°C се прибавят 1M разтвор на натриев карбонат (238 ml) и BnCO₂Cl (18.7 ml, 0.131 mol). След разбъркване на реакционната смес при 60°C в продължение на 30 min, реакцията се спира чрез прибавяне на 1N солна киселина (pH 0.1) и се екстрахира с етер (3 x 400 ml). Органичната фаза се отделя, суши се над магнезиев сулфат, филтрува се и се изпаряват до сухо при понижено налягане. Суровият продукт се разтваря в смес на етилацетат/дихлорметан 1:1, утаява се с хексан и се държи при 4°C в продължение на една нощ. След това суспензията се

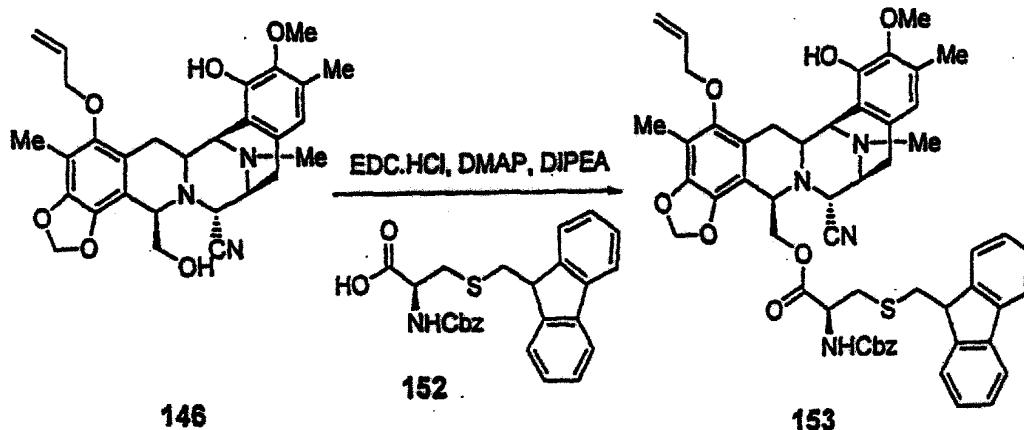
филтрува, твърдото вещество се промива с хексан (200 ml) и филтратът се суши под вакуум до получаване на 152 (50.16 g, 97%) като бяло твърдо вещество.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 10.66 (bs, 1H), 7.74 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.69-7.64 (m, 2H), 7.62-7.29 (m, 9H), 5.67 (d, J=7.5 Hz, 1H), 5.14 (bs, 2H), 4.70-4.64 (m, 1H), 4.09-4.05 (m, 1H), 3.12-3.09 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 175.2, 155.9, 145.5, 141.0, 135.8, 128.5, 128.2, 128.1, 127.5, 127.0, 124.7, 119.8, 84.8, 67.3, 46.8, 37.0.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₂₅H₂₃NO₄S: 433.52. Намерено (M+1)⁺: 434.4.

Пример 79



При разбъркване, към разтвор на 146 (10 g, 19.2 mmol) и 152 (12.5 g, 28.8 mmol) в дихлорметан (800 ml) под аргон, при 0°C, на капки в продължение на 1 h, се прибавят диметиламинопиридин (705 mg, 5.77 mmol), 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-етилкарбодимид хидрохлорид (9.2 g, 48.1 mmol) и диизопропилетиламин (7.4 ml, 42.3 mmol). След това сместа се разбърква при 23°C в продължение на още 1.5 h. След това реакцията се спира чрез прибавяне на наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (600 ml). Органичната фаза се отделя и отново се промива

с наситен воден разтвор на амониев хлорид (500 ml) и наситен воден разтвор на натриев хлорид (500 ml). Органичният екстракт се суши над натриев сулфат, филтрува се и се изпарява до сухо при понижено налягане. Суровият продукт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (RP-18, CH₃CN:вода 4:1) до получаване на 153 (13.89 g, 77%) като бледожълто твърдо вещество.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.74-7.72 (m, 2H), 7.61-7.53 (m, 2H), 7.37-7.24 (m, 9H), 6.39 (s, 1H), 6.09-5.96 (m, 1H), 5.90 (s, 1H),

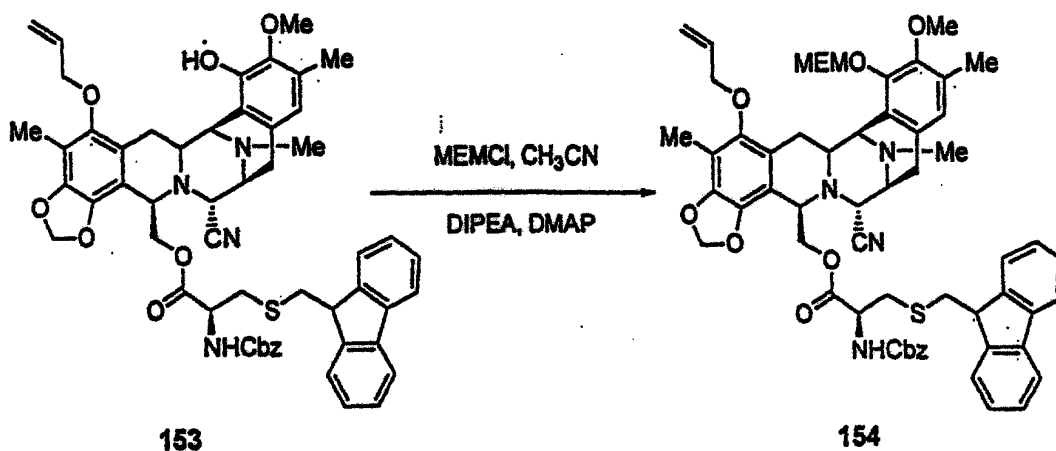
5.84 (s, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.34 (dd, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=17.4$ Hz, 1H), 5.32 (bs, 1H), 5.24 (dd, $J_1=1.5$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 5.17-5.07 (m, 2H), 4.40 (dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=10.8$ Hz, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.18-4.01 (m, 6H), 3.92 (brt, $J=6.3$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.30-3.19 (m, 3H), 2.99-2.85 (m, 3H), 2.65 (dd, $J_1=4.5$ Hz, $J_2=14.4$ Hz, 1H), 2.55 (d, $J=18.3$ Hz, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.86 (dd, $J_1=11.7$ Hz, $J_2=15.9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 170.2, 155.6, 148.6, 146.8, 145.7, 145.6, 144.3, 142.6, 140.7, 139.0, 133.7, 131.1, 128.8, 128.4, 128.1, 128.0, 127.4, 126.9, 124.7, 124.6, 121.0, 120.5, 119.7, 117.8, 117.3, 116.8, 112.5, 112.0, 101.0, 74.1, 67.0, 64.7, 60.7, 59.9, 57.0, 56.6, 56.3, 55.2, 53.1, 46.5, 41.4, 36.4, 34.8, 26.2, 24.8, 15.6, 9.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$: 934.36 Намерено ($M+1$) $^+$: 935.4

10

Пример 80



153

154

Към разтвор на 153 (13.89 g, 14.85 mol) в CH_3CN (74.3 ml) при 0°C се прибавят MEMCl (25.4 ml, 223 mmol), DIPEA (52 ml, 297 mmol) и DMAP (0.181 g, 0.15 mmol). Сместа се разбърква в продължение на 5 h при 23°C . Реакционната смес се разрежда с дихлорметан (400 ml) и се екстрахира с 0.1N солна киселина (300 ml) и 3N солна киселина (pH 3). Водната фаза отново се екстрахира с дихлорметан (2 x 50 ml). Смесените органични фази се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират под вакуум до получаване на остатък, който се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, дихлорметан:етилацетат 10:1, 5:1) до получаване на 154 (13.47 g, 88%) като бяло твърдо вещество. $R_f = 0.27$ (дихлорметан:етилацетат 6:1).

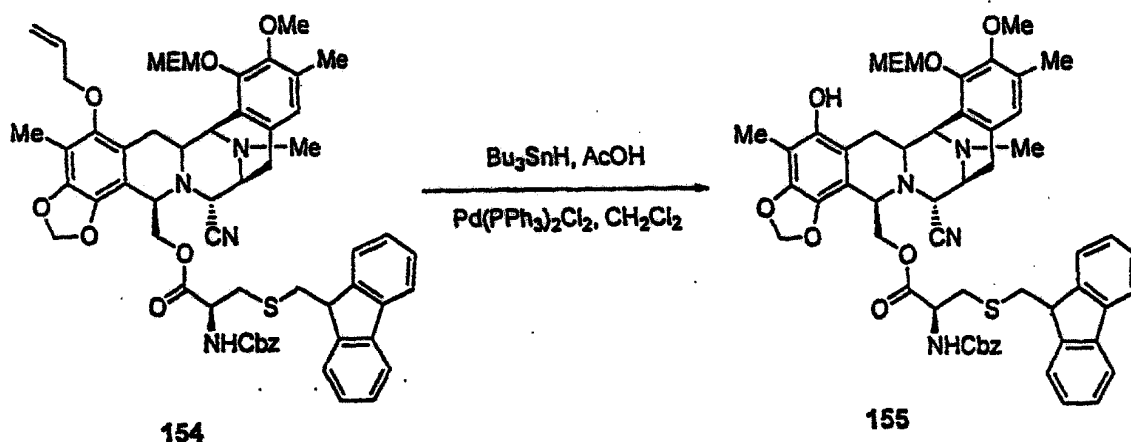
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) делта 7.73-7.70 (m, 2H), 7.58-7.50 (m, 2H), 7.38-7.22 (m, 9H), 6.59 (s, 1H), 6.08-5.98 (m, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77

(s, 1H), 5.35 (d, $J=17.1$ Hz, 1H), 5.31-5.28 (m, 1H), 5.23 (d, $J=6.9$ Hz, 1H), 5.13 (d, $J=6.9$ Hz, 1H), 5.12-5.05 (m, 2H), 4.37-4.29 (m, 2H), 4.15-3.77 (m, 9H), 3.68 (s, 3H), 3.58-3.55 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.30-3.27 (m, 1H), 3.21-3.16 (m, 2H), 2.96-2.84 (m, 4H), 2.64-2.58 (m, 1H), 2.55 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.75 (dd, $J_1=12.3$ Hz, $J_2=16.2$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 171.9, 170.2, 155.5, 148.7, 148.6, 148.3, 145.8, 145.7, 144.5, 142.1, 140.9, 139.1, 136.1, 133.8, 130.8, 130.5, 128.5, 128.3, 128.1, 127.6, 127.0, 124.9, 124.7, 123.9, 122.2, 120.9, -119.8, 117.8, 117.3, 112.6, 112.0, 101.1, 98.2, 74.0, 71.7, 69.3, 67.1, 65.1, 60.1, 59.8, 59.0, 56.9, 56.8, 56.7, 55.3, 53.3, 46.7, 41.4, 36.5, 35.0, 31.6, 29.7, 26.4, 25.0, 22.6, 15.7, 14.1, 9.2.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{58}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 1023.2. Намерено ($M+23$) $^+$: 1046.3.

Пример 81



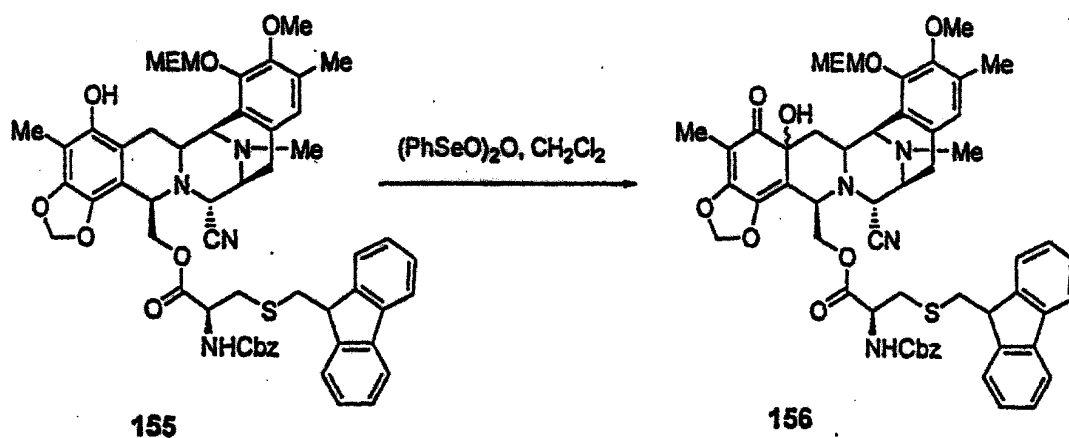
При разбъркване към разтвор на 154 (20.84 g, 0.02 mol) в дихлорметан (530 ml), под аргон при 23°C се прибавят дихлорбис(трифенилфосфин) паладий(II) (1.14 g, 1.63 mmol) и оцетна киселина (11.64 ml, 0.2 mol). След това на капки се прибавя трибутилкалаен хидрид (27.44 ml, 0.1 mol). Сместа се разбърква при 23°C в продължение на 15 min. След това реакционната смес се филтрува през колона със слой от силикагел, компактиран с хексан. Получава се 155 (18.78 g, 94%) като бледожълто твърдо вещество при следващо елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:4, 1:1, 3:2 до 7:3.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.71 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.41-7.23 (m, 9H), 6.60 (s, 1H),

5.87 (bs, 2H), 5.74 (s, 1H), 5.40 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J=5.8$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J=9$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J=12$ Hz, 1H), 4.56 (dd, $J_1=3$ Hz, $J_2=11.1$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 4.16-3.87 (m, 9H), 3.66 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 3.32-3.20 (m, 3H), 2.96-2.87 (m, 3H), 2.62-2.54 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.82 (dd, $J_1=13.2$ Hz, $J_2=15.6$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) делта 170.0, 155.4, 149.0, 147.5/145.7, 145.6, 144.4, 140.8, 135.9, 130.9, 128.4, 128.1, 128.0, 127.4, 126.9, 124.7, 124.6, 122.7, 119.7, 117.7, 112.4, 111.4, 100.6, 98.7, 71.5, 69.4, 67.0, 64.9, 63.9, 59.7, 59.6, 58.8, 57.0, 56.5, 56.4, 55.1, 54.9, 53.1, 52.5, 46.5, 41.4, 36.8, 34.9, 25.8, 24.7, 15.7, 8.7.

Пример 82



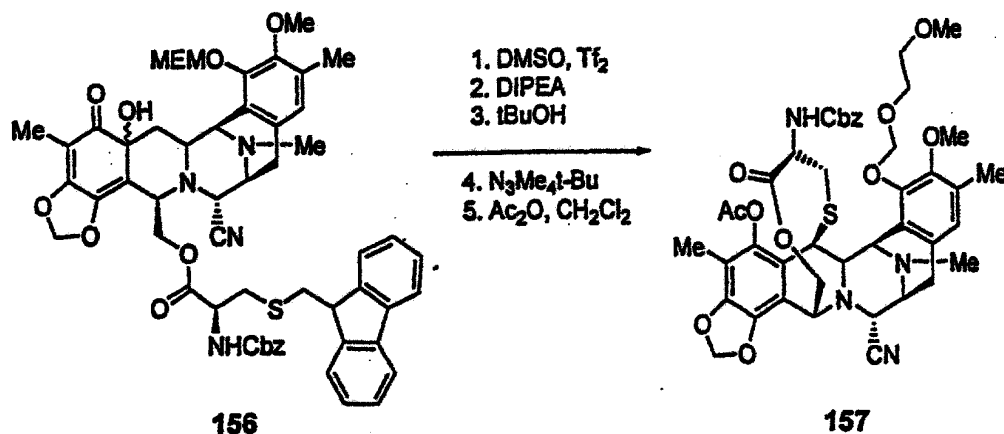
Към разтвор на 155 (18.5 g, 18.82 mmol) в безводен дихлорметан (530 ml) при -10°C (температура на банята -15°C), на капки се прибавя разтвор на бензенселенинов анхидрид (9.68 g, 18.82 mmol) в безводен дихлорметан (290 ml), разтваряйки бялото твърдо вещество, присъстващо в разтвора. Сместа се разбърква при същата температура в продължение на 10 min. След това реакцията се спира с наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (600 ml). Органичната фаза се отделя и водната фаза се екстрахира с дихлорметан (2 x 300 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтрат се и се изпаряват до сухо при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при елуиране със смеси на етилацетат и хексан с гради-

ент от 1:1, 3:2, 7:3 до 4:1 до получаване на 156 (17.62 g, 88%) като бледожълто твърдо вещество.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (mixture of isomers) delta 7.73 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.40-7.29 (m, 9H), 6.59 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 5.58 (s, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.23 (d, $J=6$ Hz, 1H), 5.15-5.05 (m, 4H), 4.76-4.68 (m, 1H), 4.64-4.55 (m, 1H), 4.40-4.37 (m, 1H), 4.15-3.68 (m, 8H), 3.60 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.25-2.78 (m, 7H), 2.38-2.24 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.09 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.58 (s, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{55}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$: 999.13. Намерено $(M+1)^+$: 1000.0.

Пример 83



Реакционната колба се обгаря двукратно, продухва се с аргон/вакуум няколко пъти и се държи в атмосфера на аргон в продължение на реакцията. Към разтвор на диметилсулфоксид (178 microl) в безводен дихлорметан (20 ml) на капки при -78°C се прибавя трифлик анхидрид (169 microl, 1 mmol). Реакционната смес се разбърква при -78°C в продължение на 20 min. След това, при -78°C през канюла (време за прибавяне: 5 min) се прибавя разтвор на 156 (0.5 g, 0.5 mmol) в безводен дихлорметан (4 ml за основното прибавяне и 1.5 ml за промиване). През време на прибавянето температурата в двете колби се поддържа -78°C и цветът се променя от жълт в кафяв. Реакционната смес се разбърква при -40°C в продължение на 35 min. През този период цветът на разтвора става от жълт до тъмнозелен. След това, на капки се прибавя ди-

ционната смес се държи при 0°C в продължение на 45 min като през това време цветът на разтвора става кафяв. След това, на капки се прибавят терт-бутанол (1899.5 microl, 2 mmol) и терт-бутилтетраметилгуанидин (0.6 ml, 3.49 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 40 min. След това, на капки се прибавя оцетен анхидрид (0.47 ml, 4.97 mmol) и реакционната смес се държи при 23°C в продължение на още 1 h. След това реакционната смес се разрежда с дихлорметан (15 ml) и се промива с наситени водни разтвори на амониев хлорид (25 ml), натриев бикарбонат (25 ml) и натриев хлорид (25 ml). Смесените органични слоеве се сушат над натриев сулфат, филтрат се и се концентрират. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (вътрешен диаметър: 2.0 cm, височина на слоя от силициев двуокис: 9 cm; елуент: етилацетат/

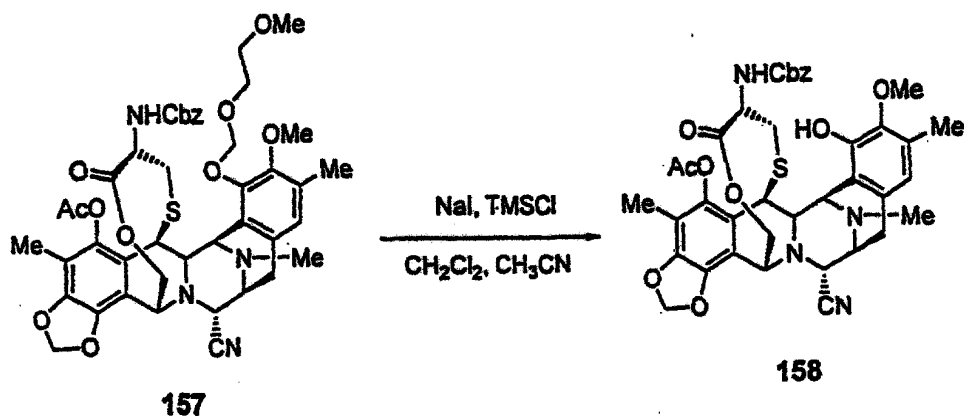
хексан с градиент от 1:4, 1:3, 1:2 до 1:1) до получаване на 157 (128 mg, 30%) като светложълто твърдо вещество. $R_f = 0.37$ (хексан:етилацетат 3:2).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.37 (bs, 5H), 6.66 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.30 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 5.17 (d, $J=6$ Hz, 1H), 5.06 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.83 (d, $J=9.3$ Hz, 1H),

4.50 (s, 1H), 4.34-4.17 (m, 7H), 3.90-3.87 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.65-3.56 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.89-2.90 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.15-2.04 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 1.99 (s, 3H).

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{43}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$: 844.93. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 845.8.

Пример 84



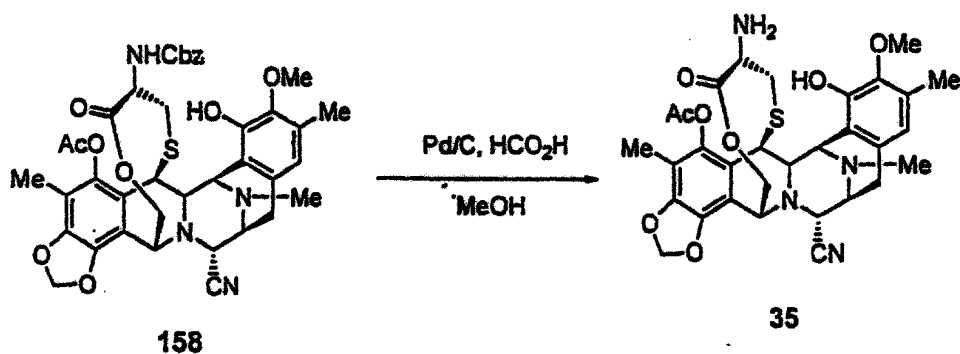
Към разтвор на 157 (110 mg, 0.118 mmol) в дихлорметан (2 ml) и CH_3CN (2 ml) при 0°C се прибавят натриев йодид (71 mg, 0.472 mmol) и TMSCl (60 ml, 0.472 mmol). След разбъркване на реакционната смес при 23°C в продължение на 50 min, сместа се закалява с вода (30 ml) и се екстрахира с дихлорметан (2 x 20 ml). Смесените органични фази се промиват успешно с наситен воден разтвор на натриев хлорид (20 ml) и наситен воден разтвор на натриев дитионит (20 ml), сушат се над натриев сулфат, филтрат се и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (елуент: етилацетат/хексан с градиент от 1:4, 1:2 до 1:1) до получаване на 158 (62 mg, 70% като бяло твърдо вещество. $R_f=0.21$ (хексан:етилацетат 1:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 7.36 (bs, 5H), 6.44 (s, 1H), 6.07 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.97 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.81 (bs, 1H), 5.10-5.00 (m, 3H), 4.82 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 4.49 (bs, 1H), 4.35-4.30 (m, 1H), 4.21-4.17 (m, 2H), 4.16-4.14 (m, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.41-3.36 (m, 2H), 2.88-2.85 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.24-2.03 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) делта 170.5, 168.8, 155.9, 148.3, 146.0, 143.1, 141.2, 140.6, 136.6, 130.6, 130.0, 128.8, 128.7, 128.5, 121.0, 120.3, 118.2, 113.7, 113.6, 102.2, 67.2, 61.5, 60.8, 60.3, 59.6, 59.5, 54.8, 54.7, 54.1, 41.9, 41.6, 32.9, 23.9, 20.8, 15.5, 9.8.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{43}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$: 844.93. Намерено $(\text{M}+1)^+$: 845.8.

Пример 85



Към разтвор на 158 (100 mg, 0.132 mmol) в метанол (6.8 ml) при 23°C се прибавят HCO₂H (360 μ mol) и 10% паладий върху въглен (140 mg, 0.132 mmol) и сместа се разбърква в продължение на 15 min. След това към реакционната смес се прибавя толуен (7 ml) и разтворителът се изпарява при понижено налягане. Азеотропната дестилация с толуен се повтаря 3 пъти. След това остатъкът се разрежда с дихлорметан (15 ml) и се прибавя наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (15 ml). Водната фаза се отделя и се екстрахира с дихлорметан (2x10 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се изпаряват до сухо при понижено налягане. След това оста-

тъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане над аминосиликагел и се елуира със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:2, 1:1 до 2:1 до получаване на 35 (57 mg, 70%) като жълто твърдо вещество.

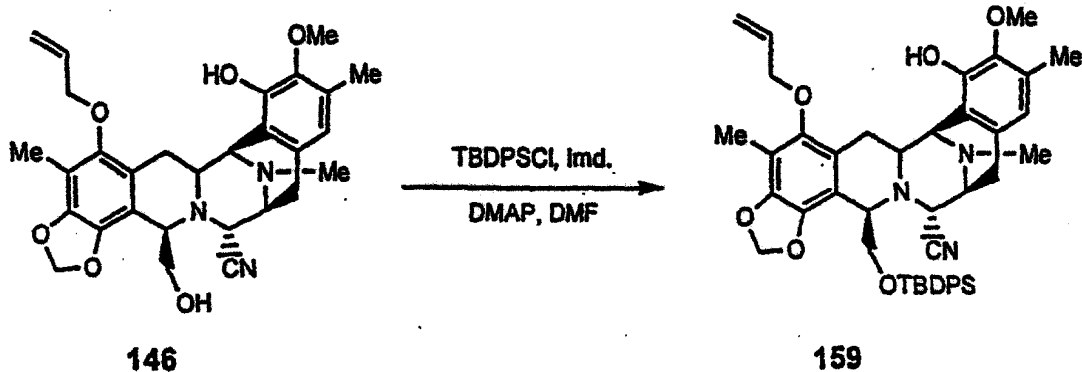
Експериментални данни за 35 са вече описани в PCT/GB2000/001852.

36, ET-770 и ET-743 се получават по същите методи, вече описани в PCT/GB2000/001852.

Метод 4

Първият етап на този метод (превърщане на 21 в 146) е описан по-горе, в Пример 71.

Пример 86



Към разтвор на 146 (18 mg, 0.032 mmol), каталитичен DMAP и имидазол (5 mg, 0.08 mmol) в диметилформаид (0.05 ml) при 0°C се прибавя трет-бутилдифенилсилилхлорид (12.5 μ mol, 0.048 mmol) и сместа се разбърква в продължение на 4 h при 23°C. След това при 0°C към реакционната смес се прибавя вода (30 ml) и сместа се екстрахира с хексан:етилацетат 1:10 (2 x 40 ml). Смесените органични фази екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и разтворителят се отделя при понижено налягане. След това остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, хексан:етилацетат 3:1) до получаване на 159 (27 mg, 88%) като бяло твърдо вещество. R_f = 0.29 (хексан:етилацетат 3:1).

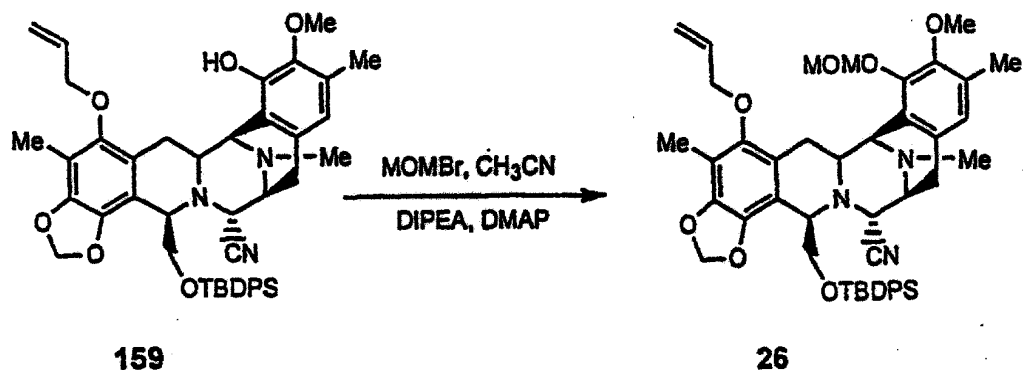
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) делта 7.72-7.41 (m, 2H), 7.40-7.20 (m, 8H), 6.46 (s, 1H), 6.16-

6.00 (m, 1H), 5.77 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.63 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.24 (dd, J₁=1.2 Hz, J₂=17.1 Hz, 1H), 5.23 (dd, J₁=1.2 Hz, J₂=10.2 Hz, 1H), 4.18 (d, J=2.4 Hz, 1H), 4.13-4.00 (m, 4H), 3.77 (s, 3H), 3.63 (dd, J₁=2.4 Hz, J₂=7.5 Hz, 1H), 3.39-3.19 (m, 4H), 2.99 (dd, J₁=8.1 Hz, J₂=18.0 Hz, 1H), 2.68 (d, J=17.7 Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.99 (dd, J₁=12.6 Hz, J₂=16.3 Hz, 1H), 0.89 (s, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) делта 148.3, 146.6, 144.0, 142.5, 139.0, 135.7, 135.4, 133.9, 133.6, 132.2, 131.2, 129.5, 129.4, 128.3, 127.5, 127.4, 121.8, 120.9, 118.7, 117.3, 117.2, 112.9, 111.7, 100.8, 74.2, 68.0, 61.6, 60.6, 60.3, 59.0, 57.4, 56.7, 55.4, 41.7, 29.6, 26.6, 26.5, 25.5, 18.9, 15.8, 9.3.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₄₅H₅₁N₃O₆Si: 757.9. Намерено (M+1)⁺: 758.4.

Пример 87

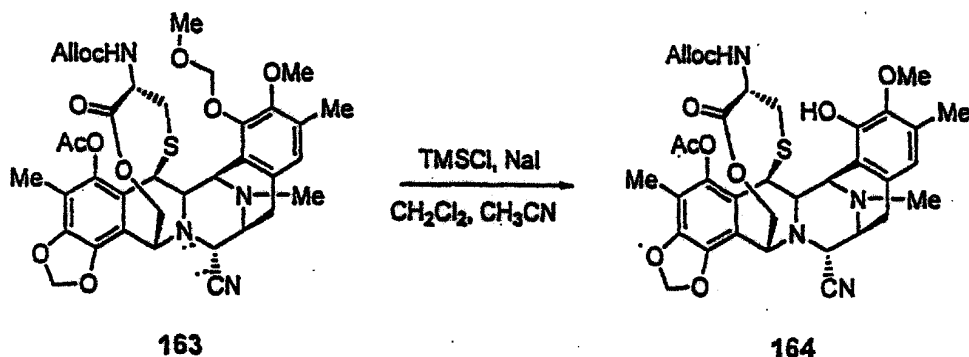


Към разтвор на 159 (2.4 g, 3.17 mmol) в CH_3CN (16 ml) при 0°C се прибавят MOMBr (2.6 ml, 31.75 mmol), DIPEA (8.3 ml, 47.6 mmol) и DMAP (16 mg, 0.127 mmol). Сместа се разбърква в продължение на 6 h при 23°C . Реакционната смес се разрежда с дихлорметан (50 ml) и се екстрахира с 0.1N солна киселина (50 ml). Водната фаза отново се екстрахира с дихлорметан (50 ml). Смесените органични фази се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират

под вакуум до получаване на остатък, който се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, дихлорметан: етилацетат 15:1, 5:1) до получаване на 26 (1.78 g, 70%) като бяло твърдо вещество. Експериментални данни за 26 са вече описани в PCT/GB2000/001852.

Експерименталните методи за получаване на междинно съединение 11, 160, 161, 162 и 163 вече описани в US 5,721,362.

Пример 88



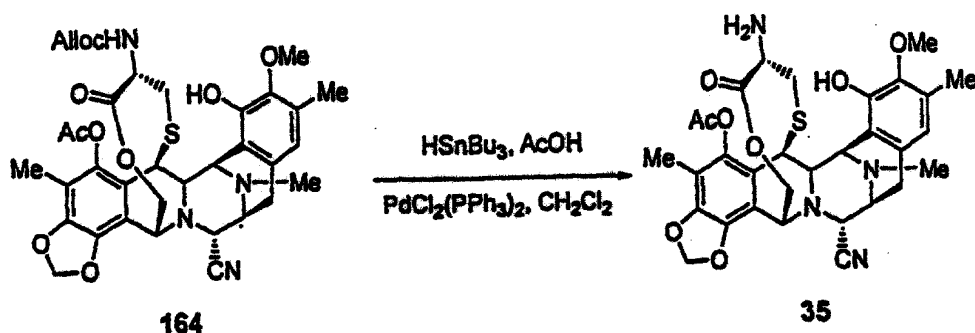
Към разтвор на 163 (15.8 g, 0.02 mol) в безводен дихлорметан (250 ml) и ацетонитрил (300 ml) при 23°C в атмосфера на аргон се прибавят натриев йодид (31.5 g, 0.21 mol) и СИТМС (пряно дестилиран над калциев хидрид, 26.7 ml, 0.21 mol). Реакционната смес се разбърква в продължение на 40 min. След това реакционната смес се разпределя между дихлорметан (200 ml) и вода (300 ml). Органичният слой се промива с наситен воден разтвор на натриев хлорид (2 x 300 ml). Органичната фаза се суши над натриев сулфат, филтрува се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Суровият продукт се пречиства посредством колонна хроматография под налягане при използване на етилацетат/хексан 2:3 като елуент до получаване на 164 (10.74 g, 76%) като бледожълто твърдо вещество. Rf

=0.25 (хексан:етилацетат 3:2).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) делта 6.57 (s, 1H), 6.08 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.98 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.96-5.85 (m, 1H), 5.76 (bs, 1H), 5.30 (dd, $J_1=1.5$, $J_2=17.3$ Hz, 1H), 5.23 (dd, $J_1=1.5$, $J_2=10.2$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 4.81 (d, $J=9.8$ Hz, 1H), 4.58-4.45 (m, 3H), 4.34-4.28 (m, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.17-4.00 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.40-3.38 (m, 2H), 2.91-2.85 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.24-2.23 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.02 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) делта 170.1, 168.4, 155.2, 148.0, 145.5, 142.8, 140.7, 140.1, 132.7, 130.2, 129.6, 120.7, 119.9, 117.8, 113.3, 101.9, 65.6, 61.0, 60.4, 59.9, 59.2, 59.0, 54.3, 53.6, 41.5, 41.2, 32.6, 29.5, 23.5, 20.4, 15.6, 9.4.

ESI-MS m/z : Изчислено за $C_{35}H_{38}N_4O_{10}S$:
706.76. Намерено $(M+1)^+$: 707.2
Пример 89



При разбъркване към разтвор на 164 (2 g, 2.85 mmol) в дихлорметан (142 ml), под аргон при 23°C се прибавят дихлорбис(трифенилфосфин)паладий(II) (0.2 g, 0.28 mmol) и оцетна киселина (0.65 ml, 11.4 mmol). След това на капки, в продължение на 25 min, се прибавя трибутилкалаен хидрид (4.51 ml, 17.02 mol). След прибавянето на трибутил калаения хидрид, сместа се разбърква при 23°C в продължение на още 20 min. След това реакционната смес се филтрува през колона със слой от силикагел, компактиран с хексан. Получава се 35 (1.38 g, 78%)

15 като бледожълто твърдо вещество при следващо елуиране със смеси на етилацетат и хексан с градиент от 1:2 до 15:1.

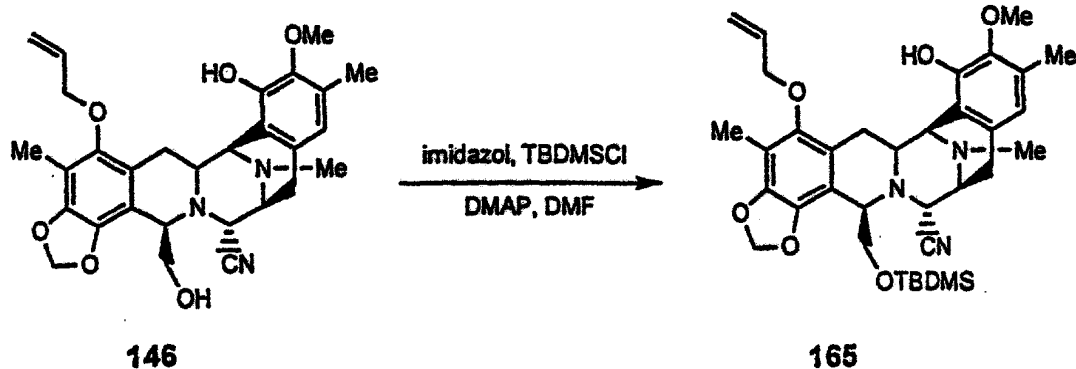
Експериментални данни за 35 са вече описани в PCT/GB2000/001852.

20 36, ET-770 и ET-743 се получават по същите методи, вече описани в PCT/GB2000/001852.

Метод 5

Първият етап на този метод (превръщане на 21 в 146) е описан по-горе, в Пример 71.

25 Пример 90



Към разтвор на 146 (8.72 g, 16.78 mmol) в диметилформамид (20.1 ml), при 0°C се прибавят имидазол (3.43 g, 50.34 mmol), терт-бутилдиметилхлорсилан (7.58 ml, 50.34 mmol) и DMAP (0.2 g, 1.7 mmol). След разбъркване при 23°C в продължение на 3.5 h, реакционната смес се закалява с вода (100 ml) и се екстрахира с етилацетат/хексан (2 x 75 ml). Смесените органични фази се промиват с 0.1 M солна киселина (50 ml) и водната фаза отново се екстрахира с етилацетат/хексан 1:3 (40 ml). Смесените органични фази се сушат над натриев сулфат, филт-

40 руват се и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (хексан:етилацетат 10:1, 3:1) до получаване на 165 (9.85 g, 93%) като бяло твърдо вещество. $R_f = 0.39$ (хексан:етилацетат 2:1).

45 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) делта 6.43 (s, 1H), 6.15-6.03 (m, 1H), 5.92 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.84 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 5.41 (dd, $J_1=1.5$, $J_2=17.1$ Hz, 1H), 5.26 (dd, $J_1=1.5$, $J_2=10.5$ Hz, 1H), 4.44 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 4.20-4.08 (m, 3H), 3.97 (dd, $J_1=2.7$, $J_2=8.1$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.61 (dd, $J_1=2.71$, $J_2=9.9$ Hz, 1H), 3.18 (brd, $J=8.7$

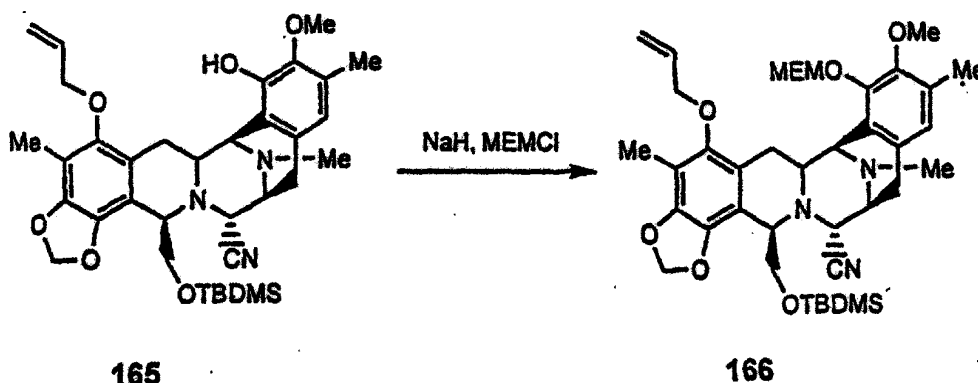
Hz, 1H), 3.22-3.16 (m, 2H), 2.99 (dd, $J_1=8.1$, $J_2=17.4$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 2.28 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.89 (dd, $J_1=12$, $J_2=15.6$ Hz, 1H), 0.8 (s, 9H), -0.05 (s, 3H), -0.09 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 148.2, 146.5, 143.8, 142.4, 138.9, 133.8, 131.0, 128.0,

121.5, 120.4, 118.4, 117.1, 1.12.8, 111.6, 100.7, 74.0, 68.2, 61.5, 60.2, 58.6, 57.1, 56.5, 55.2, 41.3, 26.2, 25.4, 25.2, 20.6, 17.8, 15.3, 13.8, 9.0, -3.9, -6.0.

5 ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{35}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$: 633.85. Намерено $(M+1)^+$: 634.2.

Пример 91



Към разтвор на 165 (7.62 g, 12.02 mmol) в 20 тетраhydroфуран (87.64 ml) и вода (0.24 ml), при -6°C се прибавя MEMCl (2.33 ml, 20.43 mmol). След прибавяне на порции, в продължение на 45 min, на 60% натриев хидрид (0.72 g, 18.03 mmol), реакционната смес се разбърква при тази температура в продължение на 1.5 h. Реакционната смес се закалява с вода (150 ml) и се екстрахира с дихлорметан (2 x 100 ml). Смесените органични фази се сушат над натриев сулфат, филтрат се и се концентрират под вакуум до получаване на 30 166 (8.69 g, 100%) като бяло твърдо вещество, което се използва в следващите етапи без допълнително пречистване. $R_f=0.24$ (хексан:етилацетат 2:1).

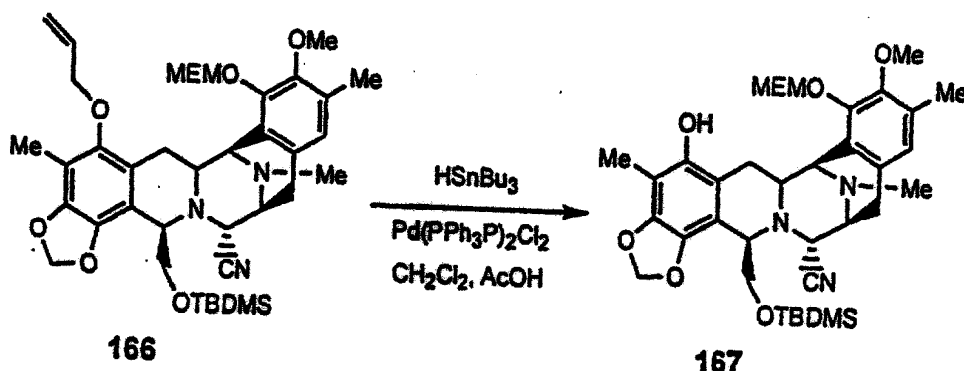
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) делта 6.64 (s, 35 1H), 6.16-6.05 (m, 1H), 5.92 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.85 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 5.41 (dd, $J_1=1.51$, $J_2=17.1$

Hz, 1H), 5.29-5.24 (m, 2H), 5.14 (d, $J=6$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 4.21-4.06 (m, 3H), 4.01-3.95 (m, 2H), 3.88-3.82 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.64-3.57 (m, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.29 (brd, $J=7.5$ Hz, 1H), 3.25-3.15 (m, 2H), 3.00 (dd, $J_1=8.1$, $J_2=17.4$ Hz, 1H), 2.65 (d, $J=18$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.82 (dd $J_1=12$, $J_2=15.6$ Hz, 1H), 0.79 (s, 9H), -0.06 (s, 3H), -0.11 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) делта 148.4, 148.1, 144.1, 139.2, 133.9, 130.9, 130.8, 130.2, 128.8, 125.1, 124.2, 121.5, 118.8, 117.45, 113.0, 111.9, 101.0, 98.2, 74.1, 71.7, 69.3, 683, 61.7, 59.6, 59.0, 58.9, 57.3, 57.1, 55.5, 41.6, 29.7, 26.4, 25.8, 25.5, 25.4, 15.7, 9.2, -5.6, -5.6.

ESI-MS m/z : Изчислено за $\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}$: 721.3. Намерено $(M+1)^+$: 722.3.

Пример 92



Към разтвор на 166 (10.76 g, 14.9 mmol) в безводен дихлорметан (275 ml), в атмосфера на аргон при 23°C се прибавят дихлорбис(трифенилфосфин) паладий(II) (837 mg, 1.63 mmol), оцетна киселина (4.26 ml, 74.5 mmol) и трибутилкалаен хидрид (11.85 ml, 44.7 mmol). Сместа се разбърква при 23°C в продължение на 15 min. Данните от тънкослойната хроматография етилацетат/хексан 1:1 не показват наличие на изходни вещества. Прибавя се хексан (100 ml) и сместа се излива в колона за хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан с градиент от 0:100, 1:4, 2:3 до 1:1) до получаване на 167 (9.95 g, 98%) като жълто твърдо вещество. Rf = 0.42 (хексан:етилацетат 3:7).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): делта 6.63 (s, 1H), 5.89 (d, J=1.4 Hz, 1H), 5.79 (d, J=1.4 Hz, 1H), 5.76 (m, 1H), 5.38 (d, J=5.6 Hz, 1H), 5.23 (d, J=5.9 Hz, 1H), 4.53 (d, J=2.7 Hz, 1H), 4.17 (dd, J₁=1.95 Hz, J₂=6.05 Hz, 1H), 4.11 (dd, J₁=7.0 Hz, J₂=12.5 Hz, 1H), 4.01-3.92 (m, 2H), 3.70 (s,

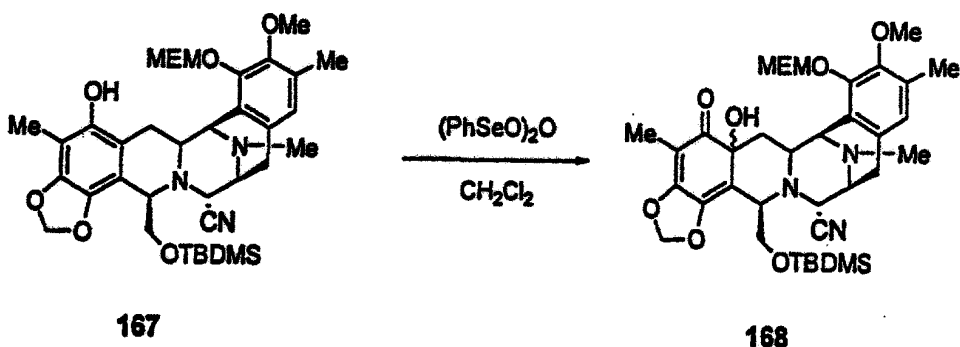
3H), 3.67 (m, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.29 (m, 1H), 3.24-3.13 (m, 3H), 2.99 (dd, J₁=8.0 Hz, J₂=17.5 Hz, 1H), 2.67 (d, J=17.5 Hz, 1H), 2.28 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.80 (dd, J₁=11.2 Hz, J₂=14.9 Hz, 1H), 0.82 (s, 9H), -0.03 (s, 3H), -0.07 (s, 3H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): делта 148.4, 147.3, 145.5, 144.1, 136.2, 134.9, 134.8, 130.9, 130.2, 124.8, 123.1, 118.6, 112.8, 112.1, 106.2, 100.4, 98.4, 71.5, 69.2, 68.9, 61.7, 59.6, 58.7, 58.6, 56.9, 56.6, 55.3, 41.5, 29.5, 25.7, 25.3, 17.9, 15.5, 8.7, -5.7, -5.8.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₅₁N₃O₈Si: 681.89. Намерено (M+1)⁺: 682.3.

HPLC: Условия: Колона: Симетрия C 18; подвижна фаза: AcN-буфер фосфат 25 mM, pH 5, изократност на AcN (65%) за 5 min и градиент в AcN от 65 до 92% за 31 min, Ø: 0.6 ml/min, температура: 40°C. Време на задържане: 27.89 min. HPLC чистота в областта: 89.62%.

Пример 93



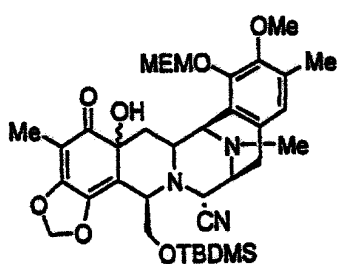
Към разтвор на 167 (9.95 g, 14.6 mmol) в безводен дихлорметан (300 ml), в атмосфера на аргон, при -15°C (елиминира се остатъчното бяло твърдо вещество), на капки се прибавя разтвор на бензенселенинов анхидрид (7.51 g, 14.6 mmol, чистота 70%) в безводен дихлорметан (120 ml). След това разтворът се разбърква при -15°C в продължение на 15 min (Данните от тънкослойната хроматография етилацетат/хексан 2:3 не показват наличие на изходни вещества.) Към реакционната смес при тази температура се прибавя наситен воден разтвор на натриев бикарбонат (500 ml). Органичната фаза се отделя и водната фаза се екстрахира с дихлорметан (500 ml). Смесените органични екстракти се сушат над натриев сулфат, филтруват се и разтворителят се отделя при понижено налягане. Суровият продукт на реакцията се пречиства посредством ко-

лонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан с градиент от 2:3 до 3:1) до получаване на 168 (9.86 g, 97%) като жълто твърдо вещество. Rf = 0.33 (хексан:етилацетат 3:7).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) (Isomers ratio: ~ 3:2): делта 6.59 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.19 (d, J=6.0 Hz, 1H), 5.09 (d, J=6.0 Hz, 1H), 5.07 (d, J=6.1 Hz, 1H), 5.00 (d, J=6.1 Hz, 1H), 4.40 (d, J=2.7 Hz, 1H), 4.27 (d, J=2.44 Hz, 1H), 4.22 (d, J=10.5 Hz, 1H), 3.95 (d, J=1.7 Hz, 1H), 3.86-3.75 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.72-3.68 (m, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.54 (s, 3H), 3.50 (m, 3H), 3.31 (s, 3H), 3.29 (s, 3H); 3.24 (m, 1H), 3.09 (dt, J=3.2 Hz, J=7.6 Hz, 1H), 3.02 (d, J=11.2 Hz, 1H), 2.92 (m, 2H), 2.48 (d, J=9.5 Hz, 1H), 2.43 (d, J=9.3 Hz, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.03

(m, 2H), 1.73 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 0.86 (s, 9H), 0.77 (s, 9H), 0.04 (s, 3H), 0.02 (s, 3H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): 200.5, 197.2, 159.8, 157.7, 148.4, 148.2, 147.7, 140.0, 137.6, 130.5, 130.2, 129.9, 129.4, 124.9, 124.7, 124.0, 122.7, 117.1, 116.9, 113.4, 110.8, 103.9, 103.8, 101.0, 100.4, 97.8, 72.8, 71.3, 69.7, 68.9, 68.8, 65.4, 64.1, 60.2, 59.9, 59.3, 59.1, 59.0, 58.6, 58.5, 56.8, 56.5, 56.2, 55.5, 54.9, 54.8, 42.5, 41.1, 40.9, 35.8, 25.6, 25.5, 25.4, 25.3, 20.6, 17.9, 17.8, 15.5, 10



168

Към разтвор на 168 (16.38 g, 23.47 mmol) в безводен тетраhydroфуран (727 ml, 0.03 M) на капки при 23°C се прибавя разтвор на TBAF в 1M (59 ml, 59 mmol). Реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 45 min. След това сместа се разпределя между наситен воден разтвор на натриев хлорид (850 ml) и дихлорметан (950 ml). Двата слоя се разделят и органичният слой се суши над безводен натриев сулфат, филтрува се и се концентрира при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан с градиент от 40:60, 50:50, 70:30, 90:10 до 100:0) до получаване на 169 (12.17 g, 89%) като светложълто твърдо вещество. R_f = 0.1 (хексан:етилацетат 3:7).

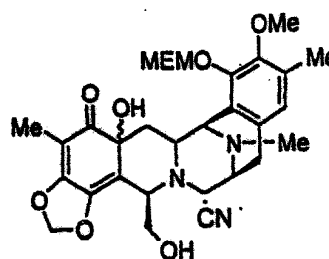
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) (Isomers ratio: 3:2): 5.63 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.23 (s, 1H), 5.18 (d, J=6.1 Hz, 1H), 5.08 (d, J=6.1 Hz,

15.3, 13.8, 7.0, 6.7, -5.7, -6.0, -6.1.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₆H₅₁N₃O₉Si: 697.89. Намерено (M+)⁺: 698.8.

HPLC: Условия: Колона: Симетрия C 18; подвижна фаза: AcN-буфер фосфат 25 mM, pH 5, градиент в AcN от 30 до 100% за 50 min, Ø: 1.2 ml/min, температура: 40°C. Време на задържане: 30.70 min и 30.95 min (два изомера). HPLC чистота в областта: 60.77% и 31.99%.

Пример 94



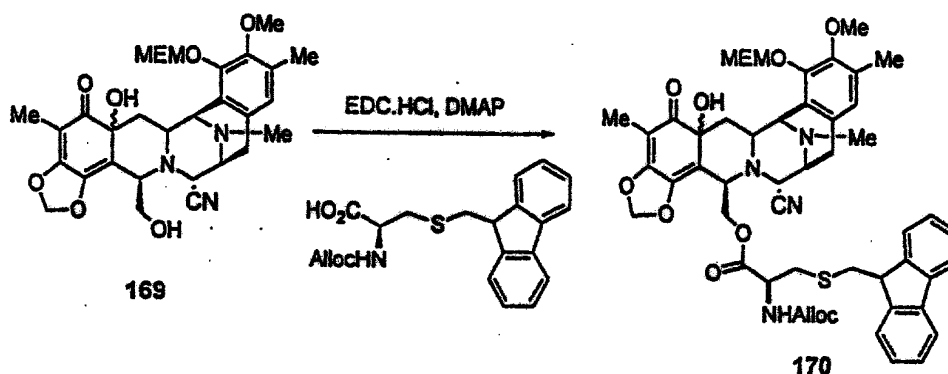
169

1H), 5.01 (d, J=6.1 Hz, 1H), 4.22 (d, J=2.7 Hz, 1H), 4.09 (d, J=2.4 Hz, 1H), 4.00 (m, 4H), 3.82 (s, 3H), 3.87-3.64 (m, 6H), 3.55 (s, 3H), 3.51-3.44 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 3.26 (m, 1H), 3.18 (dt, J₁=2.9 Hz, J₂=7.3 Hz, 1H), 2.94 (m, 4H), 2.50 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.02 (d, J=7.3 Hz, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.69 (s, 3H).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): 200.2, 200.1, 159.6, 158.5, 148.5, 148.4, 148.1, 147.9, 140.5, 137.4, 130.9, 130.4, 130.1, 130.0, 125.1, 124.9, 123.8, 122.7, 116.9, 116.6, 113.3, 110.7, 104.5, 103.9, 101.4, 100.7, 98.1, 97.9, 71.9, 71.5, 71.4, 70.1, 69.0, 69.0, 62.0, 60.1, 59.5, 58.7, 58.5, 58.1, 57.4, 56.9, 56.8, 56.4, 55.9, 55.1, 55.0, 41.3, 41.0, 36.1, 31.3, 25.3, 25.2, 22.4, 15.6, 15.5, 13.8, 7.0, 6.8.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₀H₃₇N₃O₉: 583.63. Намерено (M+)⁺: 584.2.

Пример 95



169

170

Към разтвор на 169 (11.49 g, 19.69 mmol) и Alloc-Cys-(Fm) (11.32 g, 29.53 mmol) (за получаването, виж Kruse, C. H., Holden, K. G., J. Org. Chem., 1985, 50, pp. 2792-2794) в безводен дихлорметан (688 ml) при 23°C се прибавят 5 DMAP (2.4 g, 19.69 mmol) и EDC.HCl (9.44 g, 49.22 mmol). След това при 0°C се прибавя DIPEA (5.14 ml, 29.53 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 3 h. Сместа се промива успешно с наситени водни разтвори на натриев бикарбонат (500 ml), натриев хлорид (400 ml) и амониев хлорид (2 x 300 ml). Органичният слой се суши над безводен натриев сулфат, филтрува се и се концентрира при понижено налягане. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат:хексан с градиент от 1:1, 6:1 до 7:3) до получаване на 170 (14.76 g, 79%) като бледожълто твърдо вещество. Rf = 0.31 и 0.40 (хексан:етилацетат 3:7) (смес на 20 изомери).

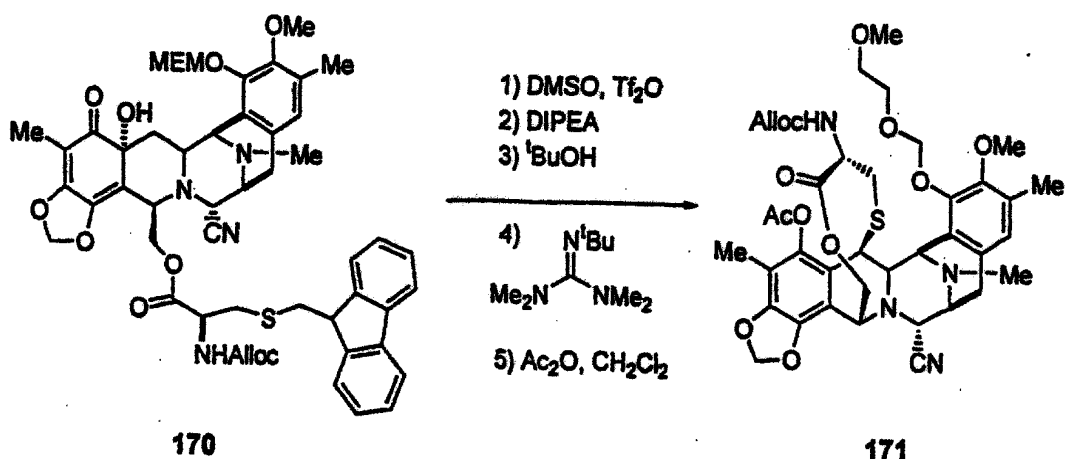
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 7.74 (d, J=7.6 Hz, 4H), 7.63 (dd, J=7.0 Hz, J=15.3 Hz, 4H), 7.38 (t, J=7.3 Hz, 4H), 7.29 (m, 4H), 6.61 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.89 (m, 2H); 5.73 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.69 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.55 (m, 1H), 5.32 (d, J=15.1 Hz, 1H), 5.23 (d, J=6.1 Hz, 1H), 5.22 (d,

J=10.6 Hz, 1H), 5.14 (d, J=5.9 Hz, 1H), 5.13 (d, J=6.0 Hz, 1H), 5.07 (d, J=6.3 Hz, 1H), 4.68 (m, 1H), 4.56 (m, 4H), 4.51 (m, 2H), 4.38 (dd, J₁=4.5 Hz, J₂=12.6 Hz, 1H), 4.22 (dd, J₁=6.2 Hz, J₂=11.1 Hz, 1H), 4.14-3.88 (m, 12H), 3.83 (s, 3H), 3.79-3.69 (m, 4H), 3.61 (s, 3H), 3.56 (m, 4H), 3.39 (s, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.23 (m, 2H), 3.16 (d, J=6.0 Hz, 2H), 3.07 (d, J=6.1 Hz, 2H), 3.00-2.81 (m, 6H), 2.46-2.34 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.07 (m, 1H), 1.83 (dd, J₁=9.5 Hz, J₂=15.1 Hz, 1H), 1.78 (s, 3H), 1.77 (s, 3H).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): делта 200.3, 198.4, 170.3, 160.0, 158.1, 148.7, 148.7, 148, 5, 148.2, 145.6, 145.6, 145.5, 142.2, 141.1, 141.0, 141.0, 138.5, 132.4, 132.3, 131.1, 130.6, 130.1, 129.8, 128.8, 127.6, 127.1, 127.1, 125.1, 125.0, 124.8, 124.7, 124.7, 124.0, 122.7, 119.9, 118.1, 118.0, 117.2, 116.8, 111.6, 108.3, 104.8, 104.5, 101.5, 101.0, 98.2, 72.3, 71.7, 71.7, 70.6, 69.3, 69.2, 66.4, 66.0, 66.0, 65.5, 63.8, 60.8, 60.2, 59.8, 59.0, 58.9, 58.1, 56.8, 56.6, 56.5, 56.3, 56.1, 55.7, 55.3, 55.2, 53.9, 46.9, 41.9, 41.4, 41.2, 37.2, 36.9, 35.4, 31.5, 29.6, 25.6, 25.4, 22.6, 15.8, 15.7, 14.1, 7.3, 7.0.

ESI-MS m/z: Изчислено за C₅₁H₅₆N₄O₁₂S: 948.36. Намерено (M+)⁺: 949.3.

Пример 96



Реакционната колба се обгаря двукратно, продухва се с аргон/вакуум няколко пъти и се държи в атмосфера на аргон в продължение на реакцията. Към разтвор на диметилсулфоксид 45 (5.4 ml) в безводен дихлорметан (554 ml) на капки при -78°C се прибавя трифлик анхидрид (5.11 ml, 30.4 mmol). Реакционната смес се разбърква при -78°C в продължение на 20 min. След това, при -78°C през канюла се прибавя разтвор 50

на 170 (14.43 g, 15.2 mmol) в безводен дихлорметан (188 ml). През време на прибавянето температурата в двете колби се поддържа -78°C и цветът на реакционната смес е жълт. Реакционната смес се разбърква при -40°C в продължение на 35 min. През този период цветът на разтвора става от жълт до тъмнозелен. След това, на капки се прибавя диизопропилетиламин (21.2 ml, 121, 6 mmol) и реакционната смес се държи при

0°C в продължение на 45 min като през това време цветът на разтвора става бледокафяв. След това, на капки се прибавят терт-бутанол (5.8 ml, 60.8 mmol) и терт-бутилтетраметилгуанидин (18.3 ml, 106.4 mmol) и реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 40 min. След това, на капки се прибавя оцетен анхидрид (14.34 ml, 152 mmol) и реакционната смес се държи при 23°C в продължение на още 1 h. След това реакционната смес се разрежда с дихлорметан (38 ml) и се промива с наситени водни разтвори на амониев хлорид (500 ml), натриев бикарбонат (500 ml) и натриев хлорид (500 ml). Смесените органични слоеве се сушат над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат/хексан с градиент от 3:7 до 4:6) до получаване на 171 (6.24 g, 52%) като бледожълто твърдо вещество. Rf = 0.38 (хексан:етилацетат 1:1).

¹H-RMN (CDCl₃): 6.78 (s, 1H), 6.07 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.98 (d, J=1.2 Hz, 1H), 5.92 (m, 1H), 5.32 (d, J=5.9 Hz, 1H), 5.31 (dd, J₁=1.5 Hz,

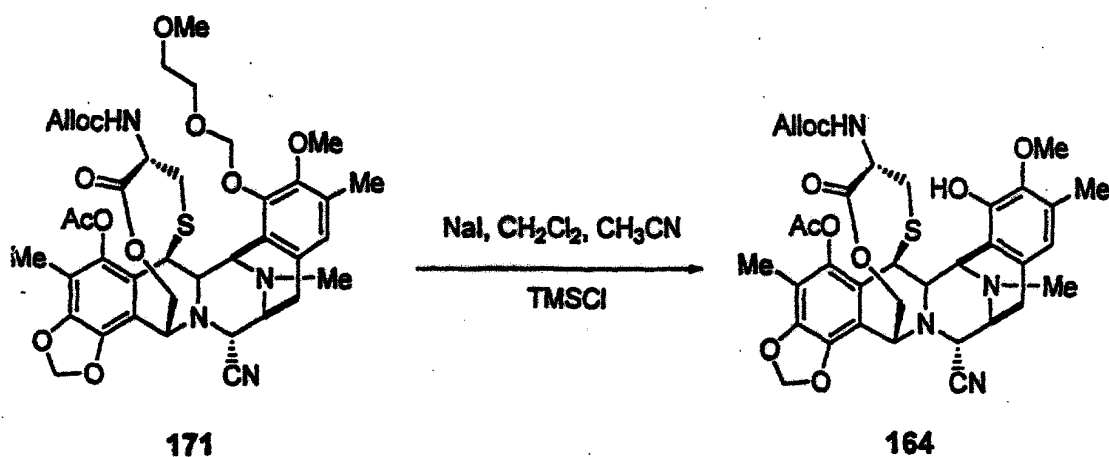
J₂=17.1 Hz, 1H), 5.23 (dd, J₁=1.5 Hz, J₂=10.4 Hz, 1H), 5.19 (d, J=5.6 Hz, 1H), 5.01 (d, J=11.5 Hz, 1H), 4.81 (d, J=9.8 Hz, 1H), 4.53-4.51 (m, 3H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.24 (s, 1H), 4.18-4.13 (m, 2H), 3.94-3.84 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.58 (t, J=4.7 Hz, 2H), 3.43-3.37 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.91 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.36-2.06 (m, 2H), 2.02 (s, 3H).

¹³C-RMN (CDCl₃): 170.23, 168.49, 155.26, 149.62, 148.26, 145.63, 140.85, 140.24, 132.74, 131.60, 130.11, 124.89, 124.70, 120.14, 117.89, 117.84, 113.21, 101.89, 98.03, 92.67, 71.60, 69.04, 65.70, 61.20, 60.35, 59.36, 59.01, 58.89, 54.71, 54.42, 53.79, 41.53, 41.19, 32.68, 29.53, 23.57, 20.26, 15.62, 9.45.

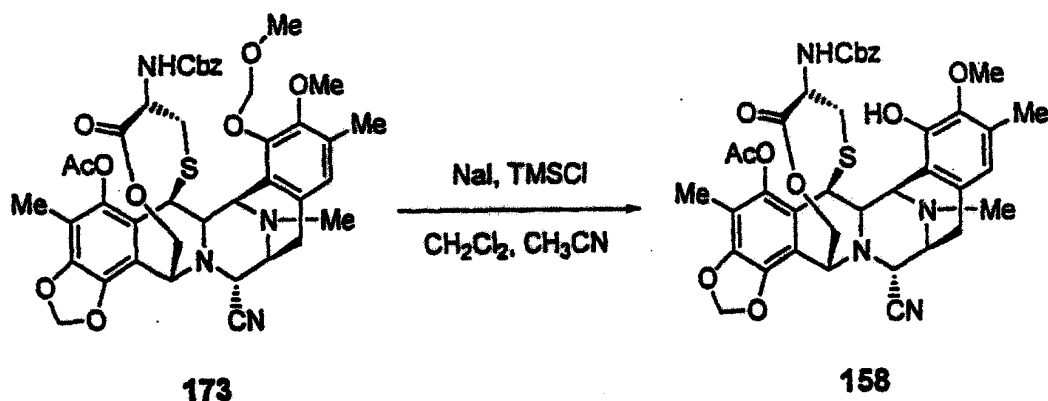
ESI-MS m/z: Изчислено за C₃₉H₅₄N₄O₁₂S: 794.87. Намерено (M+1)⁺: 796, (M+23)⁺: 817.

HPLC: Условия: Колона: Симетрия C 18; подвижна фаза: AcN-буфер фосфат 25 mM, pH 5, градиент в AcN от 45 до 65% за 15 min и 65-90% за 36 min, Ø: 0.8 ml/min, температура: 40°C. Време на задържане: 19.734 min. HPLC чистота в областта: 83.17%.

Пример 97



Пример 101



Към разтвор на 173 (100 mg, 0.125 mmol) в дихлорметан (2 ml) и ацетонитрил (2 ml) при 0°C се прибавят натриев йодид (75 mg, 0.5 mmol) и TMSCl (63 ml, 0.5 mmol). Реакционната смес се разбърква при 23°C в продължение на 50 min, сместа се закалява с вода (30 ml) и се екстрахира с дихлорметан (2 x 20 ml). Смесените органични екстракти се промиват с наситени водни разтвори на натриев хлорид (20 ml) и натриев дитионит (20 ml), сушат се над натриев сулфат, филтруват се и се концентрират под вакуум. Остатъкът се пречиства посредством колонна хроматография под налягане (силициев двуокис, етилацетат/хексан с градиент от 1:4, 1:2 до 1:1) до получаване на 158 (66 mg, 70%) като бяло твърдо вещество, което се използва в следващите реакции без допълнително пречистване. Rf

= 0.21 (хексан:етилацетат 1:1).

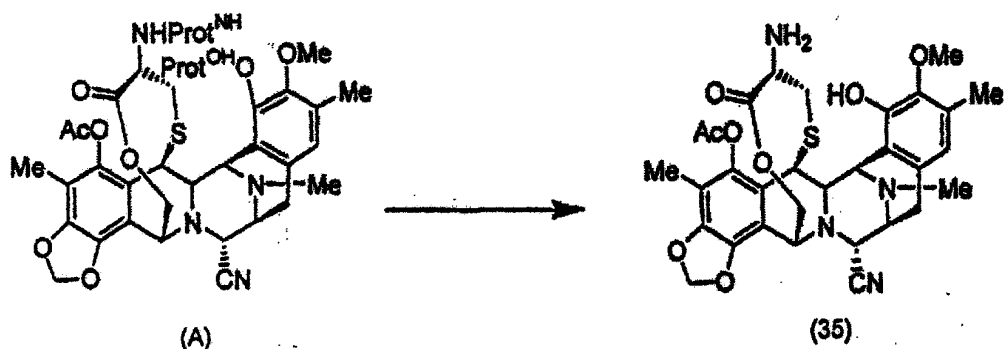
Експерименталните данни за 158 са описани по-горе, в Пример 19.

Превръщането на 158 в 35 е вече описано по-горе, в Пример 85.

Междинните съединения 36, ET-770 и ET-743 се получават, съгласно методите, описани в PCT/GB2000/001852.

Патентни претенции

1. Етап на метод при производството на ектеинасцидин, характеризиращ се с това, че етапът включва сваляне на защита на съединение с формула (A) чрез отстраняване на двете защитни групи в единичен етап, за да се получи алфа-аминолактон с формула (35), в съответствие със следната схема:



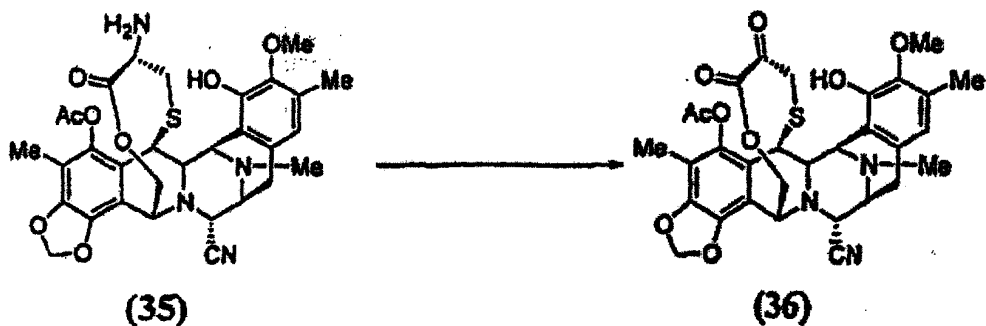
където Prot^{NH} е аминоксигнална група и Prot^{OH} е хидроксизащитна група.

2. Метод съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че Prot^{NH} е t-бутоксикарбонил и Prot^{OH} е метоксиметил.

3. Метод съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че Prot^{NH} е t-бутилоксикарбо-

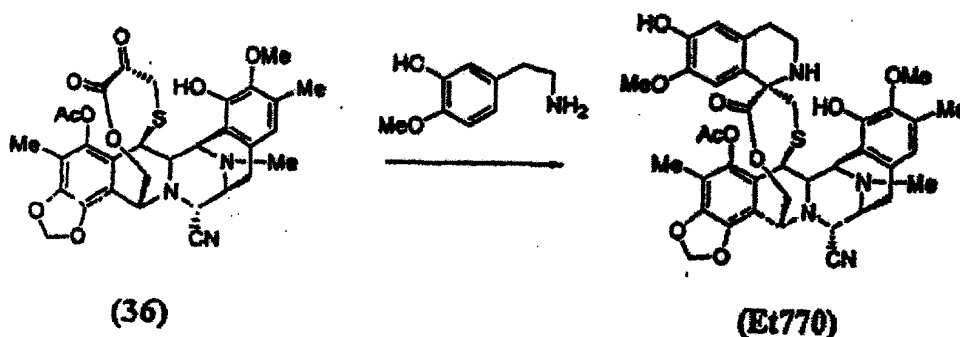
нил и Prot^{OH} е метоксietокси метил.

4. Метод съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че включва допълнителен етап на окисляване на алфа-аминолактона с формула (35) до съответния алфа-кетолактон с формула (36) чрез трансаминиране:



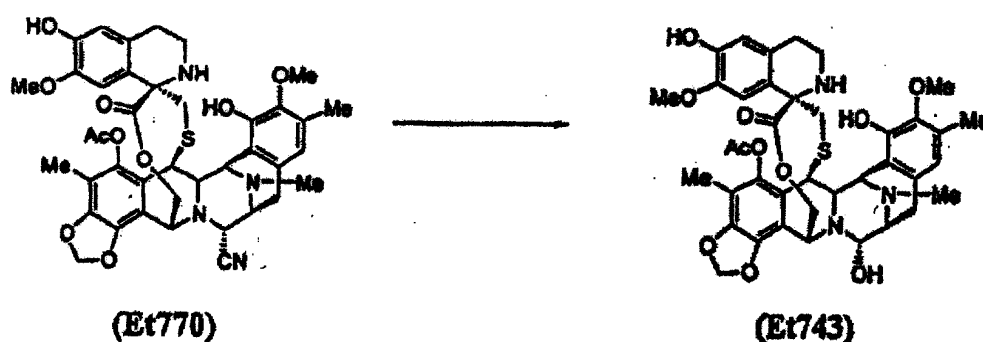
5. Метод съгласно претенция 4, характеризиращ се с това, че включва допълнителния етап на стереоспецифично формиране на спиро-

тетраhydroизохинолиново съединение Et770 от алфа-кетолактона с формула (36) чрез реакцията на Pictet-Spengler:



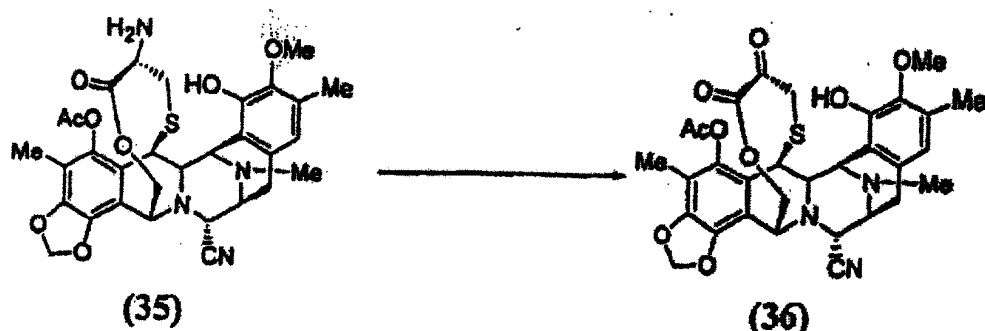
6. Метод съгласно претенция 5, характеризиращ се с това, че включва допълнителния

етап на заместване на нитрил при C-21 на Et770 с хидроксиди, за да се получи ET743:



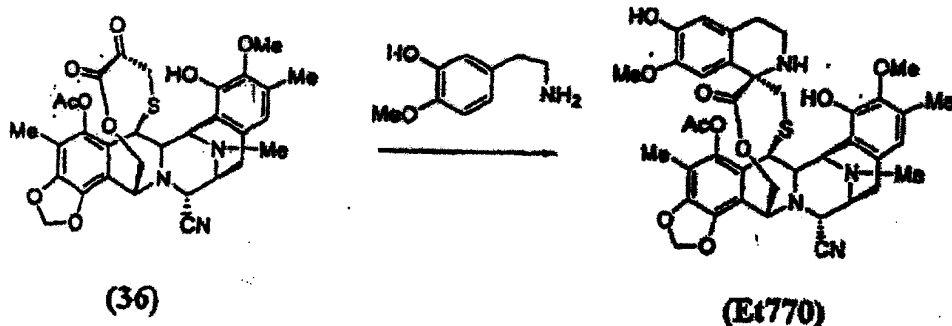
7. Етап на метод при производството на ектеинасцидиново съединение чрез окисляване

на алфа-аминолактон с формула (35) до съответния алфа-кетолактон с формула (36) чрез трансаминиране:



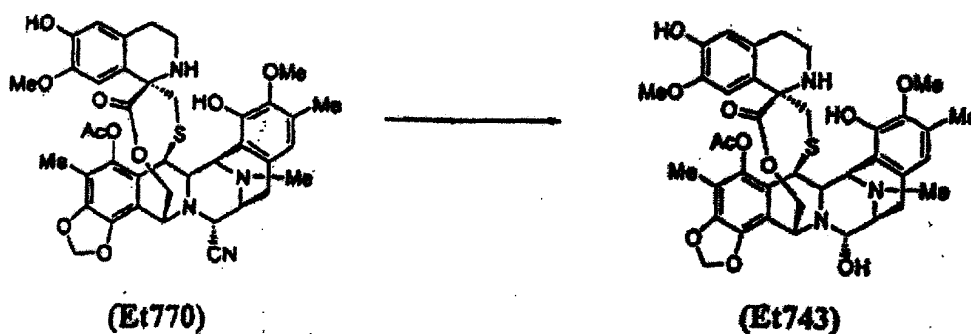
8. Метод съгласно претенция 7, характеризира се с това, че включва допълнителния етап на стереоспецифично формиране на спиро-

тетрахидроизохинолиново съединение Et770 от алфа-кетолактона с формула (36) чрез реакцията на Pictet-Spengler:



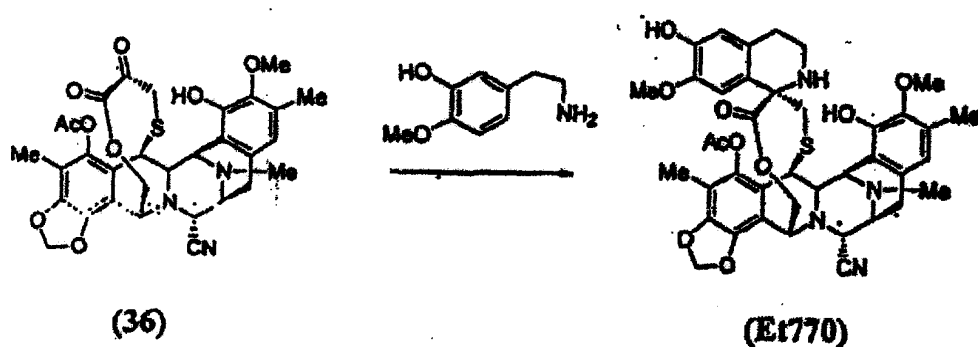
9. Метод съгласно претенция 8, характеризира се с това, че включва допълнителния

етап на заместване на нитрил при C-21 на Et770 с хидроксиди, за да се получи Et743:



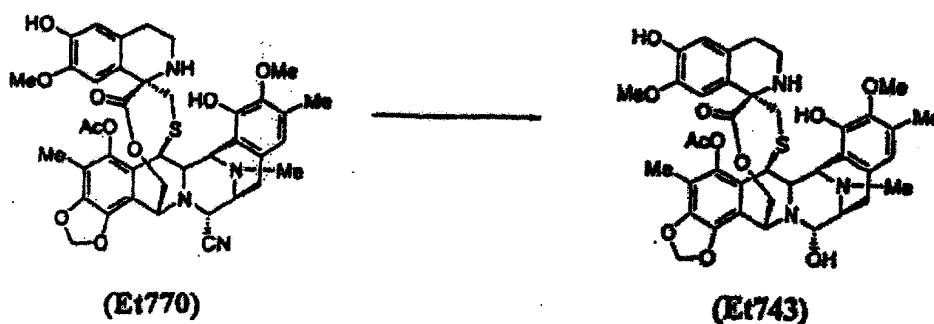
10. Етап на метод при производството на ектеинасцидиново съединение чрез стереоспецифично формиране на спиротетраизохинолиново

съединение Et770 от алфа-кетолактона с формула (36) чрез реакцията на Pictet-Spengler:

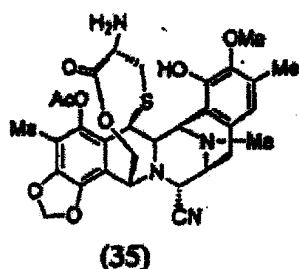


11. Метод съгласно претенция 10, характеризира се с това, че включва допълнителния

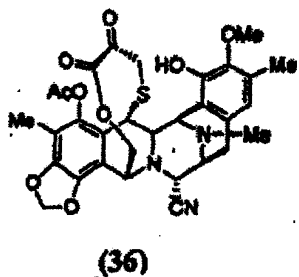
етап на заместване на нитрил при C-21 на Et770 с хидроксиди, за да се получи Et743:



12. Междинно съединение за синтеза на ектеинасцидиново съединение, междинното съединение е с формулата (35):



13. Междинно съединение за синтеза на ектеинасцидиново съединение, междинното съединение е с формулата (36):



Литература

- EP 309,477.
US 5,721,362.
Sakai, R., Jares-Erijman, E. A. Manzanares, i., Elipe, M. V. S., and Rinehart, K. L., J. Am. Chem. Soc. (1996) 118, 9017-9023.
Martinez, E. J., Owa, T., Schreiber, S. L., Corey, E. J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1999, 96, 3496-3501.
Japanese Kokai JP-A2 59/225189.
Japanese Kokai JP-A2 60/084288.
Arai, T., Kubo, A., in *The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology*; Brossi, A. Ed.; Academic: New York, 1983, Vol 21; pp 56-110.
Renters, W. A.: In *The Chemistry of Antitumor Antibiotics*; Vol. 2; Wiley: New York, 1988, pp 93-118.
Gulavita, N. K., Scheuer, P. J., Desilva, E. D., Abst. Indo-Untted Symp. On Bioactive Compounds from Marine Organisms, Goa, India, Feb. 23-27, 1989, p. 28.
Arai, T., Takahashi, K., Kobe, A., J. Antibiot, 1977, 30, 1015-1018.
Arai, T., Takahashi, K., Nakahara, S., Kubo, A., *Experientia* 1980, 36, 1025-1028.
Mikami, Y., Takahashi, K., Yazawa, K., Hour-Young, G., Arai, T., Saito, N., Kubo, A., J. Antibiot., 1988, 41, 734-740.
Arai, T., Takahashi, K., Ishiguro, T., Yazawa, K., J. Antibiot., 1980, 33, 951-960.
Yazawa, K., Takahashi, K., Mikami, Y., Arai, T., Saito, N., Kubo, A., J. Antibiot., 1986, 39, 1639-1650.
Arai, T., Yazawa, K., Takahashi, K., Maeda, A., Mikami, Y., *Antimicrob. Agent Chemother.* 1985, 28, 5-11.
Takahashi, K., Yazawa, K., Kishi, K., Mikami, Y., Arai, T., Kubo, A., J. Antibiot., 1982, 35, 196-201.
Yazawa, K., Asaoka, T., Takahashi, K., Mikami, Y., Arai, T., J. Antibiot., 1982, 35, 915-917.
Frincke, J. M., Faulkner, D. J., J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 265-289.
He, H.-Y., Faulkner, D. J., J. Org. Chem. 1989, 54, 5822-5824.
Kubo, A., Saito, N., Kitahara, Y., Takahashi, K., Yazawa, K., Arai, T., *Chem. Pharm. Bull.* 1987, 35, 440-442.
Trowitzsch-Kienast, W., Irschik, H., Reichenbaek, H., Wray, V., Hoefle, G., *Liebigs Ann. Chem.* 1988, 475-481.
Ikeda, Y., Idemoto, H., Hirayama, F., Yamamoto, K., Iwao, K., Asano, T., Munakata, T., J. Antibiot., 1983, 36, 1279-1283.
Asaoka, T., Yazawa, K., Mikami, Y., Arai, T., Takahashi, K., J. Antibiot., 1982, 35, 1708-1710.
Lown, J. W., Hanstock, C. C., Joshua, A V., Arai, T., Takahashi, K., J., Antibiot., 1983, 36, 1184-1194.
Munakata et al., US 4,400,752, 1984.
Y. Ikeda et al., *The Journal of Antibiotics*, Vol. XXXVI, No. 10, 1284, 1983.
R. Cooper, S. Unger, *The Journal of Antibiotics*, Vol. XXXVIII, No. 1, 1985.
Corey et al., US 5,721,362, 1998.
Corey et al., J. Am. Chem. Soc., vol. 118, pp. 9202-92034, 1996.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 3496-3501, 1999.

Издание на Патентното ведомство на Република България

1797 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: Р. Курукафова