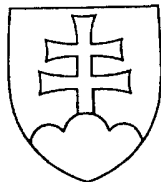


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287835

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. (2011.01):

C07D 515/00

C07D 491/00

C07D 471/00

- (21) Číslo prihlášky: **1650-2001**
(22) Dátum podania prihlášky: **15. 5. 2000**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **5. 12. 2011**
Vestník ÚPV SR č.: **12/2011**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **9911345.8, 9918178.6, 9923632.5, 0001063.7**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **14. 5. 1999, 2. 8. 1999, 6. 10. 1999, 17. 1. 2000**
(33) Krajina alebo regionálna, organizácia priority: **GB, GB, GB, GB**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **4. 6. 2002**
Vestník ÚPV SR č.: **06/2002**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **9. 11. 2011**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(67) Číslo pôvodnej prihlášky úžitkového vzoru v prípade odbočenia:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/GB00/01852**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO00/69862**
(96) Číslo podania európskej patentovej prihlášky:

(73) Majiteľ: **PHARMA MAR, S. A., Madrid, ES;**

(72) Pôvodca: **Cuevas Carmen, Madrid, ES;**
Perez Marta, Madrid, ES;
Francesch Andrés, Madrid, ES;
Fernández Carolina, Madrid, ES;
Chicharro Jose Luis, Madrid, ES;
Gallego Pilar, Madrid, ES;
Zarzuelo Maria, Madrid, ES;
De La Calle Fernando, Madrid, ES;
Manzanares Ignacio, Madrid, ES;

(74) Zástupca: **PATENTSERVIS BRATISLAVA, a. s., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Spôsob prípravy zlúčenín hemisyntézou**

(57) Anotácia:
Medziprodukty, deriváty a príbuzné zlúčeniny ekteinascidínov alebo iných tetrahydroizochinolínfenolových zlúčenín sa pripravujú hemisyntetickými procesmi, kde východiskovým materiálom sú prírodné bis(tetrahydroizochinolín)ové alkaloidy.

SK 287835 B6

Oblasť techniky

Vynález sa týka syntetických metód so zvláštnym dôrazom na polosyntetické metódy.

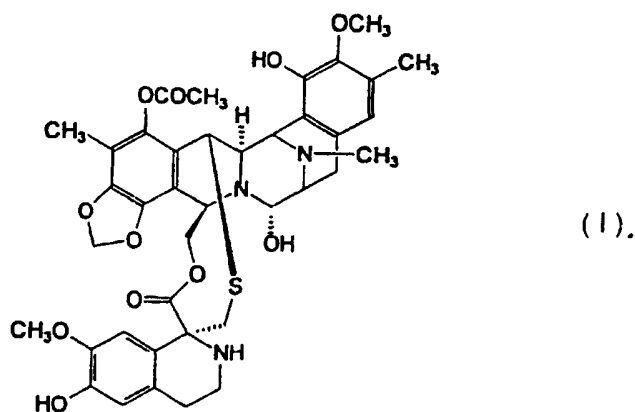
5

Doterajší stav techniky

Európsky patent 309 477 sa týka ekteinascidínov 729, 743, 745, 759A, 759B a 770. Bolo zistené, že zlúčeniny ekteinascidínov majú antibakteriálne a iné užitočné vlastnosti. Protinádorové vlastnosti ekteinascidínu 743 sa teraz overujú v klinických štúdiách.

10

Ekteinascidín 743 má komplexnú tris(tetrahydroizochinolínfenol)ovú štruktúru podľa všeobecného vzorca (I)



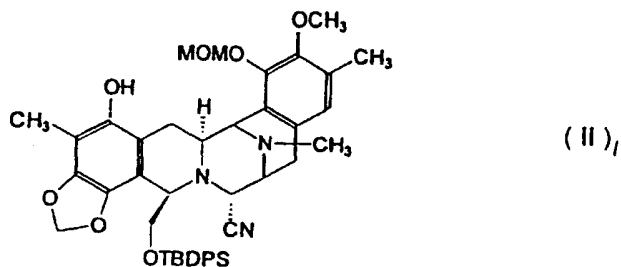
V súčasnosti sa táto zlúčenina pripravuje izoláciou z extraktov *Ecteinasidin turbinata*. Pretože výťažok je malý, hľadajú sa iné spôsoby prípravy ekteinascidínov.

15

Syntetický proces prípravy zlúčenín ekteinascidínov je opísaný v US Patent 5 721 362. Patentovaná metóda je dlhá a komplikovaná, pozostávajúca z 38 príkladov, opisujúcich každý krok syntézy až po prípravu ekteinascidínu 743.

20

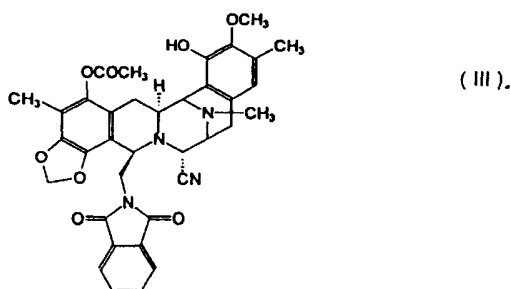
Patentový nárok číslo 25 z US nárokov 5 721 362 je zameraný na fenolový medziprodukt podľa všeobecného vzorca (I), ktorý sa tak isto nazýva medziproduktom číslo 11. Táto zlúčenina má nasledovnú bis(tetrahydroizochinolínfenol)ovú štruktúru II:



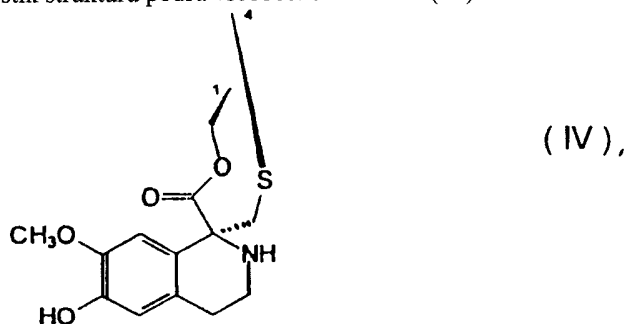
kde MOM je metoxymetylová substitučná skupina a TBSPS je 3,5-t-butyldifenylsilylová substitučná skupina.

Z medziproduktu 11 je možné syntetizovať inú zaujímavú protinádorovú látku, ftalascidín. Pozri Proc. Natl. Sci. USA, 96, 3496 - 3501, 1999. Ftalascidín je bis(tetrahydroizochinolín)ový derivát podľa všeobecného vzorca (III):

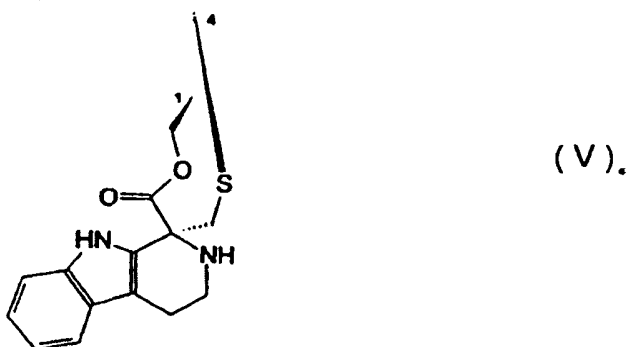
25



V ekteinascidíne 743 má 1,4 mostík štruktúru podľa všeobecného vzorca (IV):

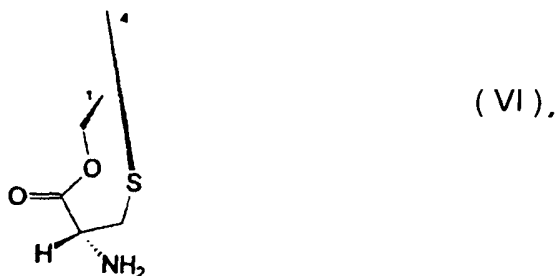


Ďalšie známe ekteinascidíny zahŕňajú zlúčeniny s inými systémami premostenia cyklických kruhov, ako je to napríklad v ekteinascidíne 722 a 736, kde mostík má štruktúru podľa všeobecného vzorca (V):

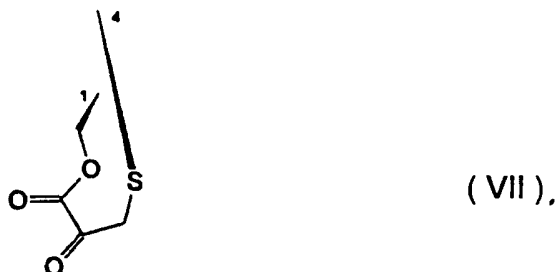


5

Ďalším príkladom je ekteinascidín 583 a 597, kde mostík má štruktúru podľa všeobecného vzorca (VI):



Iným príkladom je ekteinascidín 594 a 596, kde mostík má štruktúru podľa všeobecného vzorca (VII):



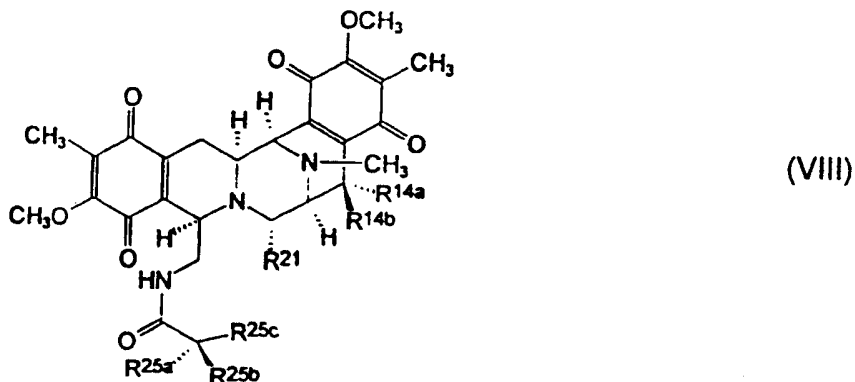
10 Kompletná štruktúra týchto a príbuzných zlúčenín je uvedená v J. Am. Chem. Soc., 1996. 118, 9 017 - 9 023. Odkaz na článok sa nachádza v zozname citovanej literatúry.

15 Ďalšie známe zlúčeniny neobsahujú systém premostených cyklických kruhov. Tieto zahŕňajú bis(tetrahydroizochinolínchinon)y - protinádorové a antimikrobiálne látky safracíny a saframycíny, a prírodné morské produkty renieramycíny a xestomycíny, izolované z kultúr mikrobov alebo húb. Všetky majú spoločnú dimerickú tetrahydroizochinolínovú uhlíkovú kostru. Podľa charakteru oxidácie aromatických kruhov je možné tieto zlúčeniny rozdeliť do štyroch typov I až IV.

Typ I alebo dimerické izochinolinochinóny predstavujú systém podľa všeobecného vzorca (VIII). Najčastejšie sa vyskytujú v tejto skupine zlúčenín - pozri tab. I:

Tab. I

5 Štruktúra saframycínových antibiotík typu I



Substitučná skupina

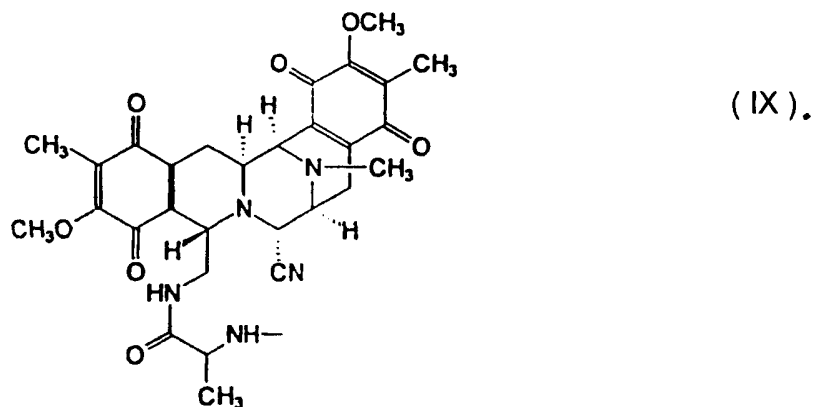
10

Zlúčenina	R ^{14a}	R ^{14b}	R ²¹	R ^{25a}	R ^{25b}	R ^{25c}
Saframicín A	H	H	CN	O	O	CH ₃
Saframicín B	H	H	H	O	O	CH ₃
Saframicín C	H	OCH ₃	CN	O	O	CH ₃
Saframicín G	H	OH	CN	O	O	CH ₃
Saframicín H	H	H	CN	OH	CH ₂ COCH ₃	CH ₃
Saframicín S	H	H	OH	O	O	CH ₃
Saframicín Y ₃	H	H	CN	O	O	CH ₃
saframicín Y _{d1}	H	H	CN	NH ₂	H	C ₂ H ₅
saframicín Ad ₁	H	H	CN	O	O	C ₂ H ₅
saframicín Y _{d2}	H	H	CN	NH ₂	H	H
saframicín Y _{2b}	H	Q ^b	CN	NH ₂	H	CH ₃
saframicín Y _{2b-d}	H	Q ^b	CN	NH ₂	H	C ₂ H ₅
saframicín AH ₂	H	H	CN	H ^a	OH ^a	CH ₃
saframicín AH ₂ Ac	H	H	CN	H	OAc	CH ₃
saframicín AH ₁	H	H	CN	OH ^a	H ^a	CH ₃

saframicín AH ₁ Ac	H	H	CN	OAc	H	CH ₃
saframicín AR ₃	H	H	H	H	OH	CH ₃

^a navzájom zameniteľné

^b kde skupina Q má všeobecný vzorec (IX):



5

Aromatické kruhy typu I sa nachádzajú v saframycínoch A, B, C, G, H a S, ktoré je možno izolovať zo *Straptomyces lavendulae* v malom množstve. Kyano derivát saframycínu A, ktorý sa nazýva kyanochinonamin, je známy z japonského kokai JP-A2 59/225 189 a 60/084 288. Saframycíny Y₃, Yd₁, Ad₁ a Yd₂ boli pripravené z organizmu *S. lavendulae* procesom priamej biosyntézy pri vhodnej suplementácii média, v ktorom organizmus rástol. Rovnako boli vytvorené diméry saframycínov Y_{2b} a Y_{2b-d} vytvorené naviazaním dusíka na C-25 jednej podjednotky na C-14 druhej podjednotky. Tieto zlúčeniny pochádzajú z kultúr *S. lavendulae* rastúcich v suplementovaných médiách. Saframycín AR₁(= AH₂), mikrobiálny produkt redukcie saframycínu A na C-25, vytvorený mikroorganizmom *Rhodococcus amidohpilus* bol tiež pripravený nonstereoselektívnou chemickou redukciou saframycínu A pomocou borohydrátu sodného ako zmes epimérov 1 : 1, za ktorou nasledovala chromatografická separácia (druhý AH₁ izomér je menej polárny).

10

15

Produkt ďalšej redukcie, saframycín AR₃, 21-dekyano-25-dihydro-saframycín A, (t. j. 25-dihydro-saframycín B) bol vytvorený rovnakou mikrobiálnou konverziou. Iným typom mikrobiálnej konverzie saframycínu A pomocou *Nocardia spec.* bol vytvorený saframycín B a ďalšou redukciou mikroorganizmom *Mycobacterium spec.* bol vytvorený saframycín AH₁Ac. Pre biologické experimenty boli tak isto pripravené 25-O-acetáty saframycínu AH₂ a AH₁.

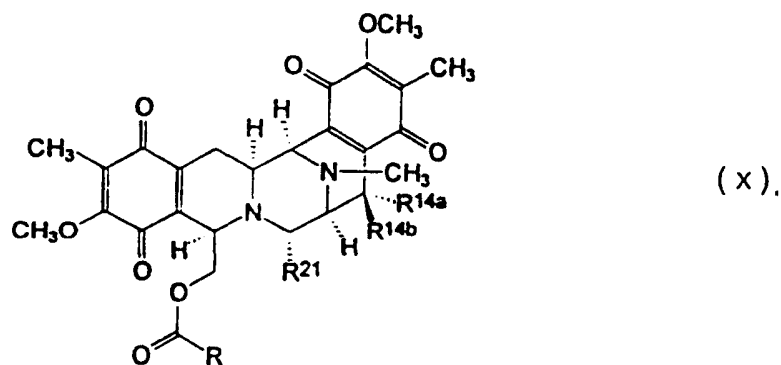
20

Zlúčeniny typu I podľa všeobecného vzorca (X) boli izolované z morských sasaniek - pozri tab. 2

Tab. 2

25

Štruktúry zlúčenín typu I pochádzajúcich z morských sasaniek



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

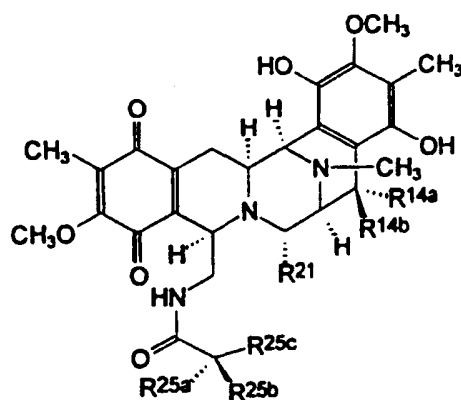
Renieramycíny A až D boli izolované z antimikrobiálneho extraktu huby *Reniera spec.*, pochádzajúcej z Mexika, spoločne s biogeneticky príbuznými monomernými izochinolínmi, ako sú renieron a príbuzné zlúčeniny.

Štruktúra renieramycínu A bola pôvodne stanovená pomocou invertovanej stereochemie na C-3, C-11 a C-13. Dôkladným rozborom dát získaných pomocou ¹H NMR analýzy príbuzných zlúčenín renieramycínu E a F, izolovaných z rovnakej sasanky nájdenej v Palau, bolo zistené, že spojenie kruhov renieramycínov je identické so spojením kruhov nájdených pri saframycínoch. Toto zistenie viedlo k záveru, že pôvodne stanovená stereochemia renieramycínov A až D musí byť rovnaká ako pri saframycínoch.

Xestomycín bol nájdený v sasanke *Xestospongia spec.*, žijúca vo vodách Srí Lanky.

Zlúčeniny typu II podľa všeobecného vzorca (XI) nesúci redukovaný hydrochinónový kruh zahŕňajú saframycíny D a F, izolované zo *S. lavendulae* a saframycíny Mx-1 a Mx-2 izolované z *Myxococcus xanthus*. Pozri tab. 3.

Tab. 3
Zlúčeniny typu II

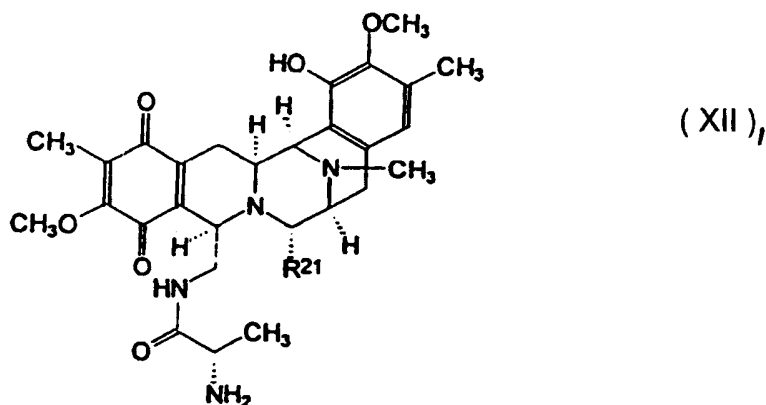


(XI).

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

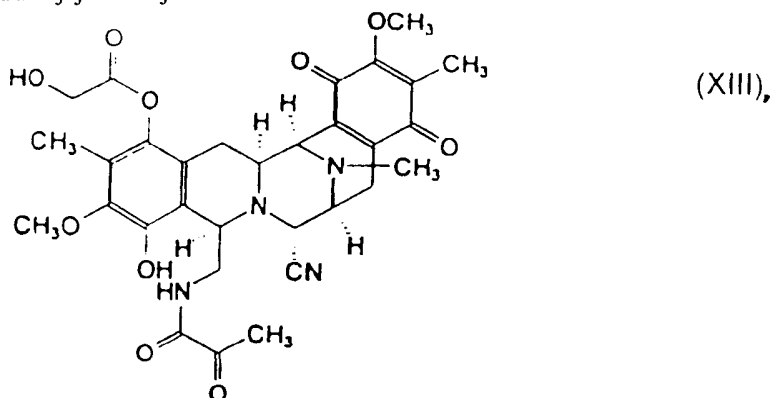
5 Kostra typu III bola nájdená v antibiotikách safracín A a B, izolovaných z kultúry *Pseudomonas fluorescens*.

Tieto antibiotiká podľa všeobecného vzorca (XII) sa skladajú z tetrahydroizochinolínchinonovej a tetrahydroizochinolínfenolovej podjednotky,

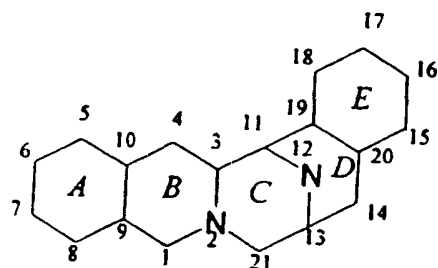


10 kde
R²¹ je -H v safracíne A a -OH v safracíne B.

15 Saftamycín R, jediná zlúčenina, klasifikovaná ako zlúčenina nesúca kostru typu IV, bol rovnako izolovaný zo *S. lavendulae*. Táto zlúčenina podľa všeobecného vzorca (XIII), pozostávajúca z hydrochinónového kruhu s postranným glykolesterovým reťazcom na jednom z fenolických kyslíkov je pravdepodobne výhodnejší ako saframycín A, a to vďaka jej miernej toxicite.



Všetky tieto známe zlúčeniny majú systém fúzaných piatich kruhov A až E, ako je to znázornené na nasledovnej štruktúre všeobecného vzorca (XIV):



(XIV).

V ekteinascidínoch a niektorých ďalších zlúčeninách sú kruhy A a E fenolické, zatiaľ čo v iných zlúčeninách, najmä v saframycínoch, sú kruhy A a E chinónové. V známych zlúčeninách sú kruhy B a D tetrahydro, pričom kruh C je perhydro.

5 Predmetom vynálezu je potreba výroby aktívnych zlúčenín so systémom fúzovaných piatich kruhov zo zlúčenín dnes známych. Tak isto je predmetom potreba vývoja alternatívnych ciest na syntézu ekteinascidínov a príbuzných zlúčenín. Takéto spôsoby syntézy znamenajú omnoho ekonomickejší prístup k už známym protinádorovým látkam, a tiež dovoľujú prípravu nových aktívnych zlúčenín.

10

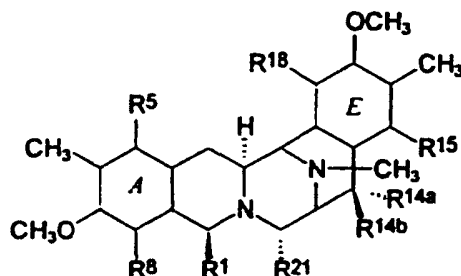
Podstata vynálezu

Vynález je zameraný na použitie známej zlúčeniny safracín B, nazývanej tiež chinónamín, v polosyntetickej syntéze.

15 Všeobecnejšie, vynález je podobný polosyntetickému spôsobu prípravy medziproduktov, derivátov a príbuzných štruktúr ekteinascidínu alebo iných zlúčenín tetrahydroizochinolínfenolu, počínajúc z prírodných bis(tetrahydroizochinolín)-ových alkaloidov. Vhodný východiskový materiál polosyntetického procesu obsahuje triedy saframycínových a safracínových antibiotík, nachádzajúcich sa v kultivačných médiách rôznych mikroorganizmov, ako aj triedy zlúčenín reineramycínu a xestomycínu, nachádzajúcich sa v morských sa-

20

sankách.
Všeobecný vzorec (XV) východiskových zlúčenín je nasledovný:

(XV)₁

kde R^1 je amidometylová skupina ako napríklad $-\text{CH}_2\text{-NH-CO-CR}^{25a}\text{R}^{25b}\text{R}^{25c}$, kde R^{25b} tvorí keto-skupina alebo jedna je $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ alebo $-\text{OCOCH}_3$, a druhá je $-\text{CH}_2\text{COCH}_3$, $-\text{H}$, $-\text{OH}$ alebo $-\text{OCOCH}_3$, keď R^{25a} je $-\text{OH}$ alebo $-\text{NH}_2$, potom R^{25b} nie je $-\text{OH}$ a R^{25c} je $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ alebo $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, alebo R^1 je acyloxymetylenová skupina ako napríklad $-\text{CH}_2\text{-O-CO-R}$, kde R je $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH-CH}_3$ alebo $-\text{CH}_3$, kde R^5 a R^8 sú vybrané nezávisle z $-\text{H}$, $-\text{OH}$ alebo $-\text{OCOCH}_2\text{OH}$, alebo R^5 a R^8 sú obidva keto a kruh A je p-benzochinónový,

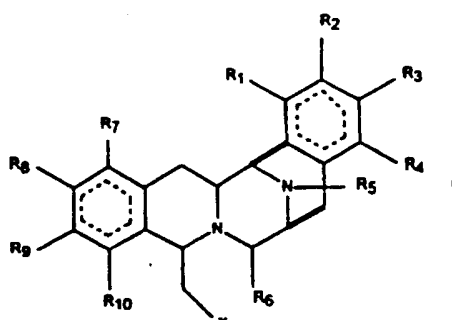
25

R^{14a} a R^{14b} sú obidva $-\text{H}$ alebo jeden je $-\text{H}$ a druhý je $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$ alebo $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, alebo R^{14a} a R^{14b} tvoria spoločne keto skupinu,

30

R^{15} a R^{18} sú vybrané nezávisle z $-\text{H}$ alebo $-\text{OH}$, alebo R^5 a R^8 sú obidva keto a kruh A je p-benzochinónový a kde R^{21} je $-\text{OH}$ alebo $-\text{CN}$.

Všeobecnejší vzorec tejto triedy zlúčenín je znázornený neskôr:



kde substitučné skupiny definované ako $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z $-H, -OH, OCH_3, CN, =O, CH_3$;

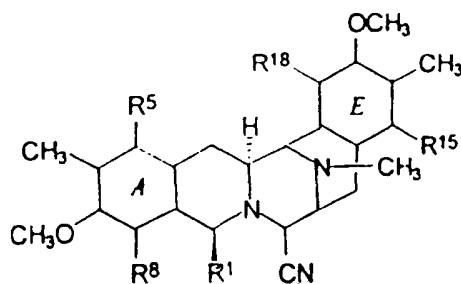
kde X predstavuje rôzne amidové alebo esterové funkčné skupiny obsiahnuté v prírodných produktoch;

5 kde každý bodkovaný kruh predstavuje jednu, dve alebo tri prípadne dvojité väzby.

V predkladanom vynáleze sa definujú polosyntetické postupy na prípravu medziproduktov obsahujúcich medziprodukt 11, a teda na prípravu zlúčenín ekteinascidínu, ako aj ftalascidínu a prídavných zlúčenín. Polosyntetické postupy vynálezu obsahujú veľký počet krokov potrebných na dosiahnutie žiadaného produktu. Každý samostatný krok je proces súvisiaci s predkladaným vynálezom. Vynález nie je obmedzený len na postupy tu uvedené; alternatívne postupy, ako napríklad zmena poradia jednotlivých krokov, sú tak isto možné.

10

Tento vynález je založený na dostatočnom množstve 21-kyanovej východiskovej zlúčeniny všeobecného vzorca (XVI):



(XVI)₁

kde R^1, R^5, R^8, R^{15} a R^{18} sú opísané.

15

Iné zlúčeniny všeobecného vzorca (XVI) s rôznymi substituentmi v polohe 21 tak isto predstavujú možný východiskový materiál. Všeobecne, akýkoľvek derivát, ktorý je možné vyrobiť nukleofilným nahradením 21-hydroxylovej skupiny zlúčenín všeobecného vzorca (XV), kde R^{21} je hydroxylová skupina, je derivátom kandidátnym. Príklady vhodných 21-substituentov obsahujú nasledovné funkčné skupiny, ale nie sú na ne obmedzené:

20

merkpto-skupina;

alkyltio skupina (alkylová skupina s 1 až 6 uhlíkovými atómami);

aryltio skupina (arylová skupina so 6 až 10 uhlíkovými atómami, nesubstituovaná alebo substituovaná 1 až 5 substituentmi, vybranými napríklad z: alkylová skupina s 1 až 6 atómami uhlíka, alkoxy skupiny s 1 až 6 atómami uhlíka, halogénové atómy, merkpto skupiny a nitro skupiny);

25

amino-skupina;

mono alebo dialkylamino-skupina (táto alebo každá alkylová skupina má 1 až 6 uhlíkových atómov);

mono alebo diarylamino-skupina (táto alebo každá arylo skupina definovaná rovnako ako spomenuté aryltio skupiny);

30

α -karbonylalkyl skupina všeobecného vzorca $-C(R^a)(R^b)-C(=O)R^c$, kde

R^a a R^b sú vybrané z atómov vodíka, alkylových skupín s 1 až 20 atómami uhlíka, arylových skupín (ako je definované v súvislosti s aryltio skupinami) a aralkyl-skupín (v ktorých alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka je nahradená arylovou skupinou, definovanou v súvislosti s aryltio-skupinami), s podmienkou, že jeden z R^a a R^b je atóm vodíka;

35

R^c je vybraný z atómov vodíka, alkylové skupiny s 1 až 20 atómami uhlíka, arylových skupín (ako je definované v súvislosti s aryltio skupinami), aralkylové skupiny (v ktorých alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka je nahradená arylovou skupinou, definovanou v súvislosti s aryltio skupinami), alkoxy-skupiny s 1 až 6 atómami uhlíka, amino-skupiny a mono- alebo dialkylamino skupiny, ako je uvedené.

Zo všeobecnejšieho hľadiska súvisí predkladaný vynález s procesmi, v ktorých je prvým krokom príprava 21-derivátu pri použití nukleofilného činidla. Zlúčeniny tohto druhu sa nazývajú 21-Nuc zlúčeniny.

40

Prítomnosť 21-kyano-skupiny je potrebná pre niektoré konečné produkty, predovšetkým ekteinascidín 770 a ftalascidín, pokiaľ pre iné konečné produkty pôsobí ako ochranná skupina, ktorá môže byť okamžite

premenená na iný substituent, ako napríklad 21-hydroxy skupinu ekteinascidínu 743 alebo 21-hydroxyftalascidínu. Zavedenie 21-kyano zlúčeniny ako východiskového materiálu výrazne stabilizuje molekulu počas ďalších syntetických krokov, než je prípadne odstránená. Iné 21-Nuc zlúčeniny ponúkajú túto a iné výhody.

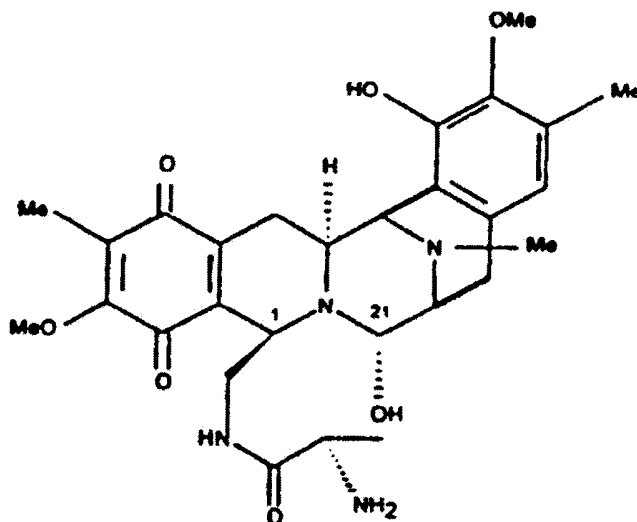
Z jedného dôležitého hľadiska spočíva predkladaný vynález v použití 21-kyano zlúčeniny so všeobecným vzorcom (XVI) pri príprave bis- alebo tris(tetrahydroizochinolínfenol)ových zlúčenín. Produkty, ktoré sa pripravujú, zahŕňajú medziprodukty, ako napríklad medziprodukt 11 a ekteinascidíny a ftalascidín, ako aj nové a známe zlúčeniny príbuznej štruktúry.

Výhodným východiskovým materiálom sú zlúčeniny všeobecného vzorca (XV), kde R^{14a} a R^{14b} sú obidva atómy vodíka. Vhodným východiskovým materiálom sú také zlúčeniny všeobecného vzorca (XV) alebo (XVI), kde R^{15} je atóm vodíka. Ďalším výhodným východiskovým materiálom sú zlúčeniny všeobecného vzorca (XV) alebo (XVI), kde kruh E je fenolový. Výhodným východiskovým materiálom sú zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XV) alebo (XVI), kde aspoň jeden, lepšie aspoň dva alebo tri z R^5 , R^8 , R^{15} a R^{18} nie sú atómy vodíka.

Príklady vhodného východiskového materiálu pre tento vynález zahŕňajú saframycín A, saframycín B, saframycín C, saframycín G, saframycín H, saframycín S, saframycín Y_3 , saframycín Y_{d1} , saframycín A_{d1} , saframycín Y_{d2} , saframycín AH_2 , saframycín AH_2Ac , saframycín AH_1 , saframycín AH_1Ac , saframycín AR_3 , renieramycín A, renieramycín B, renieramycín C, renieramycín D, renieramycín E, renieramycín F, xestomycín, saframycín D, saframycín F, saframycín Mx-1, saframycín Mx-2, safracín A, safracín B a saframycín R.

Vhodný východiskový materiál má kyano skupinu v polohe 21 (pre skupinu R^{21}).

Zvlášť významnou okolnosťou je, že vynález zahŕňa polosyntetický proces, v ktorom sa transformačné kroky týkajú safracínu B.



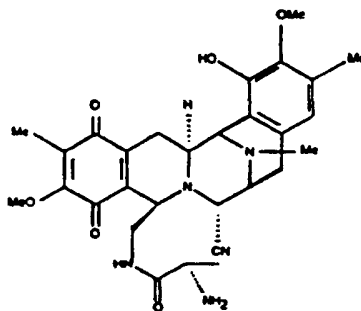
SAFRACÍN B

Safracín B predstavuje kruhový systém priamo príbuzným s ekteinascidínmi. Táto zlúčenina má rovnakú pentacyklovú štruktúru a rovnaký substitučný vzorec aromatického kruhu E. Tak isto je safracín B veľmi podobný niektorým syntetickým medziproduktom celkovej syntézy ET-743, predovšetkým medziproduktu 11.

Medziprodukt tohto druhu sa mení na ET-743 pomocou dobre uplatnenej metódy. Syntetická konverzia safracínu B v medziprodukte 11 totiž predstavuje polosyntetickú metódu na získanie ET-743.

Týmto spôsobom sa zo safracínu B pripraví medziprodukt 11 a zlúčeniny odvodené od medziproduktu 11, konkrétne zlúčeniny ekteinascidínu. Ďalej sa zo safracínu B pripraví ftalascidín. Predkladaný vynález súvisí s použitím safracínu B v príprave medziproduktu 11, ftalascidínu, zlúčenín ekteinascidínu a iných medziproduktov vynálezu. Vynález tak isto súvisí so zlúčeninami opísanými v predkladanom vynáleze a so zlúčeninami odvodenými od iných uvedených vhodných východiskových materiálov, ako aj s použitím týchto zlúčenín pri príprave týchto zlúčenín.

Výhodnejšie východiskové produkty tohto vynálezu majú 21-kyano skupinu. V súčasnosti najvýhodnejšou zlúčeninou predkladaného vynálezu je zlúčenina podľa všeobecného vzorca (2). Tento produkt sa získava priamo zo safracínu B a je považovaný za kľúčový medziprodukt v polosyntetickom procese.

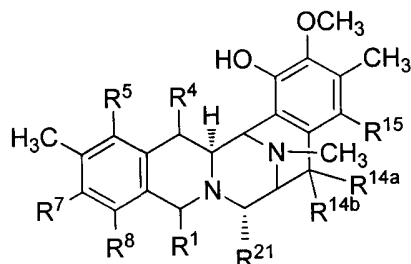


(2),

Kyanosafracín B sa pripravuje kvasením safracínu B produkujúceho kmeňa *Pseudomonas fluorescens* a spracovaním kultivačného média pomocou kyanidového iónu. Výhodným kmeňom *Pseudomonas fluorescens* je kmeň A2-2, FERM BP-14, ktorý sa využíva pri príprave EP 055, 299. Vhodným zdrojom kyanidového iónu je kyanid draselný. Kultivačné médium sa prefiltruje a pridá sa nadbytok kyanidového iónu. Po jednej hodine trepania sa upraví pH na hodnotu 9,5 a po organickej extrakcii sa získa hrubý bunkový extrakt. Následnou purifikáciou hrubého extraktu sa získa kyanosafracín B.

Stereochémia uvedená v tomto patente je založená na poznatkoch správnej stereochemie prírodných produktov. V prípade, že by bola odhalená chyba v použitej stereochemii, je potrebné urobiť potrebné opravy vo vzorkách v rozsahu celého patentu.

Z dôvodu, že uvedené syntézy je možné modifikovať, sa tento vynález rozširuje o stereoizoméry. Produkty tohto vynálezu sú typické podľa všeobecného vzorca (XVIIb):



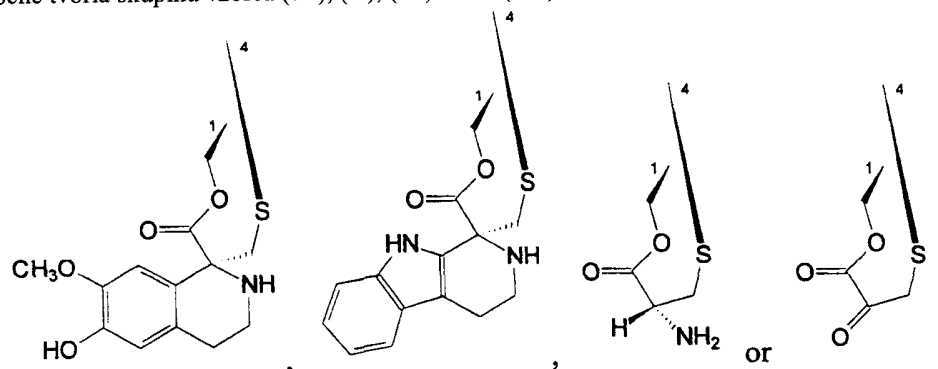
kde:

R^1 is aminometylénová skupina, chránená aminometylénová skupina, derivatizovaná aminometylénová skupina, hydroxymetylénová skupina, chránená hydroxymetylénová skupina alebo derivatizovaná hydroxymetylénová skupina; a

R^4 je -H;

alebo

R^1 a R^4 spoločne tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII):

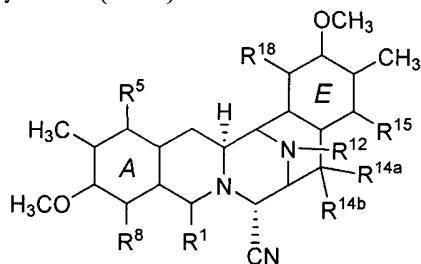


R^5 je -H, -OH;

R^7 je -OCH₃ a R^8 je -OH alebo R^7 a R^8 spoločne tvoria skupinu -O-CH₂-O-;

R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedno je -H a druhé je -OH, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria ketoskupinu;

R¹⁵ je -H, -OH;
 R²¹ je -H, -OH alebo -CN;
 a deriváty;
 a vyrábajú sa z 21-kyano zlúčeniny vzorca (XVIb):



kde:

R¹ je amidometylénová skupina alebo acyloxymetylénová skupina;

R⁵ a R⁸ sú nezávisle vybrané z -H, -OH alebo -OCOCH₂OH, alebo R⁵ a R⁸ sú obidve ketoskupiny a kruh A je *p*-benzochinónový kruh;

R¹² je -H, -CH₃ alebo -CH₂CH₃;

R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedna je -H a druhá je -OH, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria keto skupinu; a

R¹⁵ a R¹⁸ sú nezávisle vybrané z -H alebo -OH, alebo R¹⁵ a R¹⁸ sú obidve ketoskupiny a kruh E je *p*-benzochinónový kruh;

za predpokladu, že najmenej jeden z kruhov A alebo E je *p*-benzochinónový kruh, pričom reakcie spôsobu obsahujú podľa potreby:

a) konverziu chinónového systému pre kruh E na fenolový systém;

b) konverziu chinónového systému pre kruh A na fenolový systém;

c) konverziu fenolového systému pre kruh A na metyléndioxyfenolový kruh;

d) tvorbu mostíkového spirokruhového systému vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII) cez polohu 1 a polohu 4 v kruhu B;

e) derivatizáciu;

f) konverziu 21-kyano substituenta na substituent -H alebo -OH;

za poskytnutia požadovanej zlúčeniny vzorca (XVIIb).

Skupina R¹ môže byť acylovaná na skupine NH₂, a napríklad N-acylové deriváty sa pripravujú zo skupín -CH₂-NH₂ a -CH₂-NH-aa. Acyl deriváty môžu byť N-acyl deriváty alebo z nich N-tioacyl deriváty, rovnako ako cyklické amidy.

Na ilustráciu, acyl skupiny môžu byť alkanoyl, haloalkanoyl, arylalkanoyl, alkenoyl, heteocyklylacyl, aroyl, arylaroyl, haloaroyl, nitroaroyl alebo iné acyl skupiny. Acyl skupiny majú všeobecný vzorec -CO-R^a, kde R^a predstavuje rôzne skupiny ako napríklad alkyl, alkoxy, alkylén, arylalkyl, arylalkylén, aminoacyl alebo heterocyklyl, každý prípadne substituovaný halo, kyano, nitro, carboxyalkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, heterocyklyl, heterocyklyloxy, alkyl, amino alebo substituovanú amino skupinu.

Iné alkylujúce látky zahŕňajú izotiokyanáty, ako napríklad aryl izotiokyanáty, najmä fenyl izokyanát. Alkyl, alkoxy alebo alkylénová skupina R^a má výhodne 1 až 6 až 12 atómov uhlíka a môže byť lineárna, vetvená alebo cyklická. Arylové skupiny sú typicky fenyl, bifenyl alebo naftyl.

Heterocyklylové skupiny môžu byť aromatické alebo čiastočne alebo úplne nenasýtené a výhodne majú 4 až 8 kruhových atómov, najvýhodnejšie 5 alebo 6 kruhových atómov, s jedným alebo viacerými heteroatómami, ktorými sú buď dusík, síra alebo kyslík.

Aby bol zoznam kompletný, typické R^a skupiny zahŕňujú alkyl, haloalkyl, alkoxyalkyl, haloalkoxyalkyl, arylalkylén, haloalkylarylalkylén, acyl, haloacyl, arylalkyl, alkenyl a aminokyselinu.

Napríklad R^a-CO môže byť acetyl, trifluoroacetyl, 2,2,2-trichloroetoxykarbonyl, izovalerylkarbonyl trans-3-(trifluorometyl)cinamoylkarbonyl, heptafluorobutyryl-carbonyl, dekanoylkarbonyl, trans-cinamoylkarbonyl, butyrylkarbonyl, 3-chloro-propyonylkarbonyl, cinamoylkarbonyl, 4-metylcinamoylkarbonyl, hydrocinamoyl-karbonyl alebo trans-hexenoylkarbonyl, alebo alanyl, arginyl, aspartyl, asparagyl, cystyl, glutamyl, glutaminyl, glycylyl, histidyl, hydroxypropyl, izoleucyl, leucyl, lyzyl, metionyl, fenylalanyl, prolyl, seryl, treonyl, tyronyl, tryptofyl, tyrosyl, valyl, ako aj iné menej známe amino acyl skupiny, ako aj ftalimido a iné cyklické amidy. Iné príklady je možné nájsť v zozname chrániacich skupín.

Zlúčeniny, kde -CO-R^a je odvodený od aminokyseliny a obsahuje amino skupinu, môžu samé tvoriť acylové deriváty. Vhodné N-acylové zlúčeniny zahŕňujú dipeptidy, ktoré sú obratom schopné tvoriť N-acylové deriváty.

V jednej modifikácii, ktorá sa týka medziproduktov, je kruh A zmenený tak, že inkorporuje podštruktúru, uvedenú ako zlúčenina podľa všeobecného vzorca (XX) alebo (XXI), ako bude uvedené.

V inej modifikácii, ktorá sa týka medziproduktov, môže byť skupina R^1 -CH₂O-CO-Cfu-CH₂-S-Prot³ odvodená od zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XIX), kde Prot³ a Fu majú naznačené významy. V takom prípade R⁷ a R⁸ tvoria oxymetylénoxy skupinu. Skupina R¹⁸ je obvykle chránená. R²¹ je obvykle kyano.

R^{14a} a R^{14b} sú výhodne atómy vodíka. R¹⁵ je výhodne atóm vodíka. O-acylové deriváty sú výhodne alifatické O-acyl deriváty, hlavne acylové deriváty veľkosti 1 až 4 uhlíkových atómov, a typicky je to O-acetylová skupina, predovšetkým na pozícii 5.

Vhodné chrániace skupiny pre fenoly a hydroxy skupiny zahŕňujú étery a estery, ako sú alkyl, alkoxyalkyl, aryloxyalkyl, alkoxyalkoxyalkyl, alkylsilylalkoxyalkyl, alkyltioalkyl, aryltioalkyl, azidoalkyl, cyanoalkyl, chloroalkyl heterocyklyl, arylacyl, haloarylacyl, cycloalkylalkyl, alkenyl, cykloalkyl, alkylarylalkyl, alkoxyarylalkyl, nitroarylalkyl, haloarylalkyl, alkylaminokarbonylarylalkyl; alkylsulfanylarylalkyl, alkylsilyl a iné étery, rovnako ako arylacyl, arylalkylkarbonát, alifatický karbonát, alkylsulfanylarylalkyl karbonát, alkyl karbonát, arylhaloalkyl karbonát, arylalkenyl karbonát, aryl karbamát, alkyl fosfinyl, alkylfosfotioyl, aryl fosfotioyl, arylalkyl sulfonát a iné estery. Tieto skupiny sa prípadne môžu nahradiť uvedenými skupinami v R¹.

Vhodné chrániace skupiny amínov zahŕňujú karbamáty, amidy a iné chrániace skupiny, ako napríklad alkyl, arylaldyl, sulfo- alebo halo-arylalkyl, haloalkyl, alkylsilylalkyl, arylalkyl, cykloalkylalkyl, alkylarylalkyl, heterocyklylalkyl, nitroarylalkyl, acylaminoalkyl, nitroarylditioarylalkyl, dicykloalkylkarboxamidoalkyl, cykloalkyl, alkenyl, arylalkenyl, nitroarylalkenyl, heterocyklylalkenyl, heterocyklyl, hydroxyheterocyklyl, alkyliditio, alkoxy- alebo halo-, alebo alkylsulfanyl arylalkyl, heterocyklylacyl, aroyl, arylaroyl, haloaroyl, nitroalroyl a iné amidy, ako aj alkyl, aldenyl, alkylsilylalkoxyalkyl, alkoxyalkyl, kyanoalkyl, haetrocyklyl, alkoxyarylalkyl, cykloalkyl, nitroaryl, arylalkyl, alkoxy- alebo hydroxy-arylalkyl a mnoho iných skupín. Tieto skupiny sa prípadne môžu nahradiť uvedenými skupinami v R¹.

Príklady chrániacich skupín sú uvedené v nasledujúcich tabuľkách:

25 Ochrana -OH skupiny

Éter	Skratka
metyl	
30 metoxymetyl	MOM
benzyloxymetyl	BOM
metoxyetoxymetyl	MEM
2-(trimetylsilyl)etoxymetyl	SEM
metyltiometyl	MTM
35 phenyltiometyl	PTM
azidometyl	
cyanometyl	
2,2-dichloro-1,1-difluoroetyl	
2-chloroetyl	
40 2-bromoetyl	
tetrahydropyranyl	THP
1-etoxyetyl	EE
phenacyl	
4-bromophenacyl	
45 cyklopropylmetyl	
allyl	
propargyl	
izopropyl	
cyklohexyl	
50 <i>t</i> -butyl	
benzyl	
2,6-dimetylbenzyl	
4-metoxybenzyl	MPM/PMB
<i>o</i> -nitrobenzyl	
55 2,6-dichlorobenzyl	
3,4-dichlorobenzyl	
4-(dimetylamino)carbonylbenzyl	
4-metylsufinylbenzyl	Msib
9-antrylmetyl	
60 4-picoly	

	heptafluoro- <i>p</i> -tolyl tetrafluoro-4-pyridyl	
5	trimetylsilyl <i>t</i> -butyldimetylsilyl <i>t</i> -butyldiphenylsilyl triizopropylsilyl	TMS TBDMS TBDPS TIPS
10	Estery aryl formiát aryl acetát aryl levulinát aryl pivaloát aryl benzoát	ArOPv
15	aryl 9-fluorocarboxylát	
20	aryl metyl carbonát 1-adamantyl carbonát <i>t</i> -butyl carbonát 4-metylsulfinylbenzyl carbonát 2,4-dimetylpent-3-yl carbonát aryl 2,2,2-trichloroetyl carbonát	BOC-OAr Msz-Oar Doc-Oar
25	aryl vinyl carbonát aryl benzyl carbonát aryl carbamát	
30	dimetylphosphinyl dimetylphosphinotioyl diphenylphosphinotioyl	Dmp-OAr Mpt-OAr Dpt-OAr
35	aryl metanesulfonát aryl toluénesulfonát aryl 2-formylbenzenesulfonát	
	Karbamáty	Ochrana -NH ₂ skupiny Skratka
40	metyl etyl 9-fluorenylmetyl 9-(2-sulfo)fluorenylmetyl 9-(2,7-dibromo)fluorenylmetyl	Fmoc
45	17-tetrabenzol[a,c,g,i]fluorenylmetyl 2-chloro-3-indenylmetyl benz[f]inden-3-ylmetyl 2,7-di- <i>t</i> -butyl[9-(10,10-dioxo-10,10,10,10-tetrahydrodioxantyl)]metyl	Tbfbmoc Climoc Bimoc
50	2,2,2-trichloroetyl 2-trimetylsilyletyl 2-fenyletyl 1-(1-adamantyl)-1-metyletyl 2-chloroetyl	DBD-Tmoc Troc Teoc hZ Adpoc
55	1,1-dimetyl-2-chloroetyl 1,1-dimetyl-2-bromoetyl 1,1-dimetyl-2,2-dibromoetyl 1,1-dimetyl-2,2,2-trichloroetyl 1-metyl-1-(4-bifenyl)etyl	DB- <i>t</i> -BOC TCBOC Bpoc
60	1-(3,5-di- <i>t</i> -butylfenyl)-1-1-metyletyl	<i>t</i> -Burmeoc

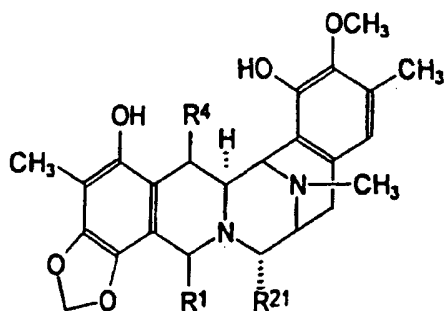
SK 287835 B6

	2-(2'-and 4'-pyridyl)etyl	Pyoc
	2,2-bis(4'-nitrofenyl)etyl	Bnpeoc
	n-(2-pivaloylamino)-1,1-dimetyletyl	
	2-[(2-nitrofenyl)ditio]-1-fenyletyl	NpSSPeoc
5	2-(n,n-dicyklohexylcarboxamido)etyl	
	<i>t</i> -butyl	BOC
	1-adamantyl	1-Adoc
	2-adamantyl	2-Adoc
	vinyl	Voc
10	allyl	Aloc or Alloc
	1-izopropylallyl	Ipaoc
	cinnamyl	Coc
	4-nitrocinnamyl	Noc
	3-(3'-pyridyl)prop-2-enyl	Paloc
15	8-chinolyl	
	<i>n</i> -hydroxypiperidinyl	
	alkylditio	
	benzyl	Cbz/Z
	<i>p</i> -metoxybenzyl	Moz
20	<i>p</i> -nitrobenzyl	PNZ
	<i>p</i> -bromobenzyl	
	<i>p</i> -chlorobenzyl	
	2,4-dichlorobenzyl	
	4-metylsulfinylbenzyl	Msz
25	9-antrylmetyl	
	difenylmetyl	
	phenotiazinyl-(10)-carbonyl	
	<i>n'</i> - <i>p</i> -toluenesulfonylamino-carbonyl	
30	<i>n'</i> - <i>p</i> -fenylaminotio-carbonyl	
	Amidy	
	formamid	
	acetamid	
	chloroacetamid	
35	trifluoroacetamid	TFA
	fenylacetamid	
	3-fenylpropanamid	
	pent-4-enamid	
	picolinamid	
40	3 pyridylcarboxamid	
	benzamid	
	<i>p</i> -fenylbenzamid	
	<i>n</i> -phtalimid	
	<i>n</i> -tetrachlorophtalimid	TCP
45	4-nitro- <i>n</i> -phtalimid	
	<i>n</i> -ditiasuccinimid	Dts
	<i>n</i> -2,3-difenylmaleimid	
	<i>n</i> -2,5-dimetylpyrrol	
	<i>n</i> -2,5-bis(triizopropylsilyloxy)pyrrol	BIPSOP
50	<i>n</i> -1,1,4,4-tetrametyldisiliazacyclopentant addukt	STABASE
	1,1,3,3-tetrametyl-1,3-disilaisoindolín	BSB
	Zvláštne -NH chrániace skupiny	
	<i>n</i> -metylamín	
55	<i>n</i> - <i>t</i> -butylamín	
	<i>n</i> -allylamín	
	<i>n</i> -[2 trimetylsilyl)etoxy]metylamín	SEM
	<i>n</i> -3-acetoxypropylamín	
	<i>n</i> -cyanometylamín	
60	<i>n</i> -(1-izopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolin-3-yl)amín	

	<i>n</i> -2,4-dimetoxybenzylamín	Dmb
	2-azanorbornenes	
	<i>n</i> -2,4-dinitrofenylamín	
	<i>n</i> -benzylamín	Bn
5	<i>n</i> -4-metoxybenzylamín	MPM
	<i>n</i> -2,4-dimetoxybenzylamín	DMPM
	<i>n</i> -2-hydroxybenzylamín	Hbn
	<i>n</i> -(difenylmetyl)amino	DPM
	<i>n</i> -bis(4-metoxyfenyl)metylamín	
10	<i>n</i> -5-dibenzosuberylamín	DBS
	<i>n</i> -trifenylmetylamín	Tr
	<i>n</i> -[(4-metoxyfenyl)difenylmetyl]amino	MMTr
	<i>n</i> -9-fenylflurenylamín	Pf
	<i>n</i> -ferrocenylmetylamín	Fcm
15	<i>n</i> -2-picolylamine <i>n</i> '-oxid	
	<i>n</i> -1,1-dimetyltiometylénamín	
	<i>n</i> -benzylideneamín	
	<i>n</i> - <i>p</i> -metoxybenzylideneamín	
	<i>n</i> -difenylmetyleneamín	
20	<i>n</i> -(5,5-dimetyl-3-oxo-1-cyklohexenyl)amín	
	<i>n</i> -nitroamín	
	<i>n</i> -nitrosoamín	
	difenylfosfinamid	DPP
	dimetyltiofosfinamid	Mpt
25	difenyltiofosfinamid	Ppt
	dibenzyl fosforamidát	
	2-nitrobenzenesulfenamid	Nps
	<i>n</i> -1-(2,2,2-trifluoro-1,1-difenyl)etylsufenamid.	TDE
	3-nitro-2-pyridinesulfenamid	Npys
30	<i>p</i> -toluenesulfonamid	Ts
	benzenesulfonamid	

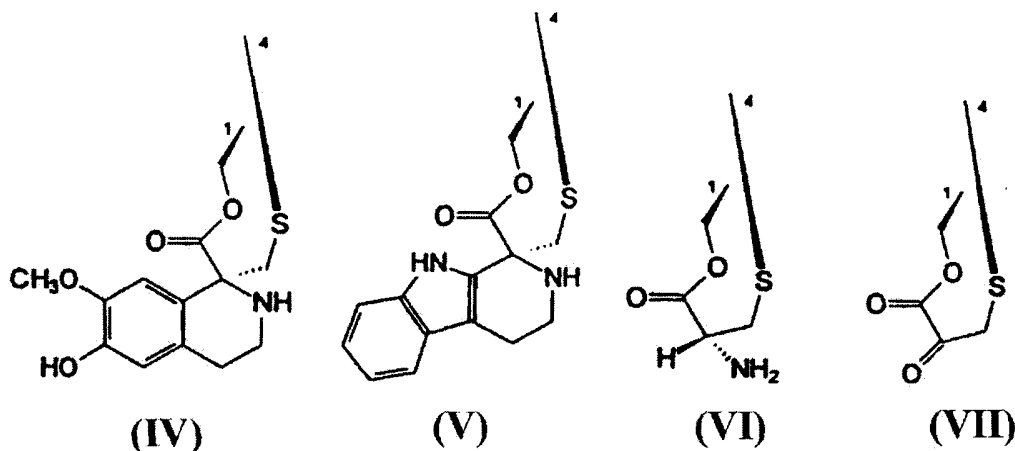
35 Safracín B obsahuje alanylový postranný reťazec. Bolo zistené, že chránenie voľnej amino skupiny Boc skupinou je veľmi osožné.

Konkrétne ekteinascidínové produkty tohto vynálezu zahŕňujú zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XVIII):



(XVIII)₁

kde R¹ a R⁴ tvoria skupinu podľa všeobecného vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII):



zriedkavo skupinu podľa všeobecného vzorca (IV) alebo (V);
 R^{21} je -H, -OH alebo -CN, zriedkavo -OH alebo -CN;
 a ich acylové deriváty, zriedkavo 5-acyl deriváty zahŕňajúce 5-acyl derivát.

5

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príprava ekteinascidínu 743 a príbuzných zlúčenín

10 Všeobecne, premena 21-kyano východiskovej zlúčeniny na ekteinascidín - napríklad podľa všeobecného vzorca (XVIII) - zahŕňa:

- a) v prípade potreby premenu E kruhu chinónového systému na systém fenolový,
- b) v prípade potreby premenu A kruhu chinónového systému na systém fenolový,
- 15 c) premenu A kruhu fenolového systému na metyléndioxyfenolový kruh,
- d) tvorbu premosteného spiro kruhového systému podľa všeobecného vzorca (IV), (VI) alebo (VII) cez pozíciu 1 a 4 kruhu B; a
- e) derivatizáciu, podľa potreby, ako napríklad acylácia.

20 Krok (a) - v prípade potreby premena E kruhu chinónového systému na systém fenolový, sa uskutoční obvyklým redukčným procesom. Vhodným reakčným systémom je vodík s paládiovou-uhlíkovým katalyzátorom, aj keď je možné použiť akýkoľvek iný redukčný systém.

Krok (b) - v prípade potreby premena A kruhu chinónového systému na systém fenolový, je analogický kroku (a).

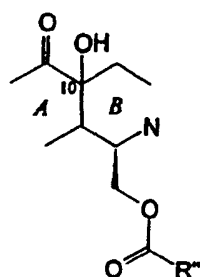
25 Krok (c) - premena A kruhu fenolového systému na metyléndioxyfenolový kruh, môže byť ovplyvnený rôznymi spôsobmi, pravdepodobne spoločne s krokom (b). Napríklad, chinónový kruh môže byť demetylovaný na metoxy skupine na pozíciu 7 a redukovaný na dihydrochinón a zachytený vhodnou elektrofilnou látkou ako napríklad CH_2Br_2 , BrCH_2Cl alebo podobnou dvojmocnou látkou, čím sa priamo získa metyléndioxy kruhový systém, alebo pomocou dvojmocného reagentu ako napríklad tiokarbonyldiimidazol, čím sa získa substituovaný metyléndioxy kruhový systém, ktorý sa môže konvertovať na želaný kruh.

30 Krok (d) je typicky ovplyvnený vhodnou substitúciou na pozíciu 1 pomocou premostovacieho reagentu, ktorý napomáha formovaniu želaného mostíka tým, že tvorí exendo chinónmetid na pozícii 4 a dovoľuje metidu reagovať s 1-substituentom pri tvorbe premostenej štruktúry. Výhodne používané premostovacie reagenty sú podľa všeobecného vzorca (XIX):

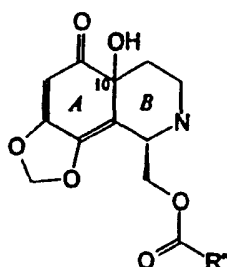


35 kde Fu predstavuje chránenú funkčnú skupinu, ako napríklad -NHProt^{4a} alebo OProt^{4b} ;
 Prot^3 je chrániaca skupina a bodkovaná čiara naznačuje prípadnú dvojitzú väzbu.

Metid sa výhodne pripraví vnesením hydroxy skupiny v polohe 10 v oblasti spoja kruhov A a B, čím vznikne produkt so všeobecným vzorcem (XX):

(XXI)₁

alebo výhodnejšie produkt so všeobecným vzorcom (XXI):

(XXI)₁

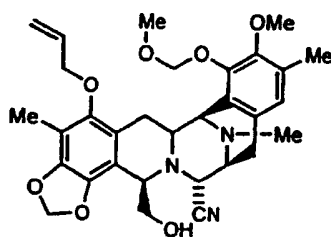
kde skupina R'' je zvolená tak, aby vznikla zlúčenina podľa všeobecného vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII).
5 Pre prvé dve takéto zlúčeniny má skupina R'' obvykle tvar -CHF_u-CH₂ = SProt³.

Chrániace skupiny môžu byť potom odstránené a modifikované podľa potreby tak, aby vznikla želaná zlúčenina.

Typický postup pre krok (d) je uvedený v US Patente 5 721 362, ktorý je tu citovaný. Zvláštne odkazy sú k pasáži stĺpca 8, krok (1) a príklad 33 US Patentu, a k príbuzným oblastiam.

10 Derivatizácia v kroku (e) zahŕňa acyláciu, napríklad pomocou skupiny R^a-CO, ako aj premenu 12-NCH₃ skupiny na 12-NH alebo 12-NCH₂CH₃. Táto reakcia môže predchádzať alebo nasledovať iné kroky.

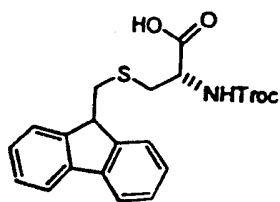
Na ilustráciu, teraz je možné premeniť zlúčeninu kyanosafracínu B podľa všeobecného vzorca (2) na ET-743. Tento spôsob prípravy ET-743 je omnoho priamejší a kratší, ako ponúkali skôr známe metódy. Kyanosafracín B sa mení na medziprodukt 25;



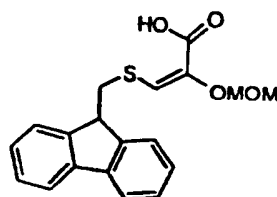
INT-25

15

a z tohto derivátu je možné pripraviť veľké množstvo cysteinových derivátov, ktoré sa potom premienia na ET-743. Výhodne používané cysteinové deriváty sú znázornené pomocou týchto zlúčenín podľa všeobecného vzorca:



Int-29

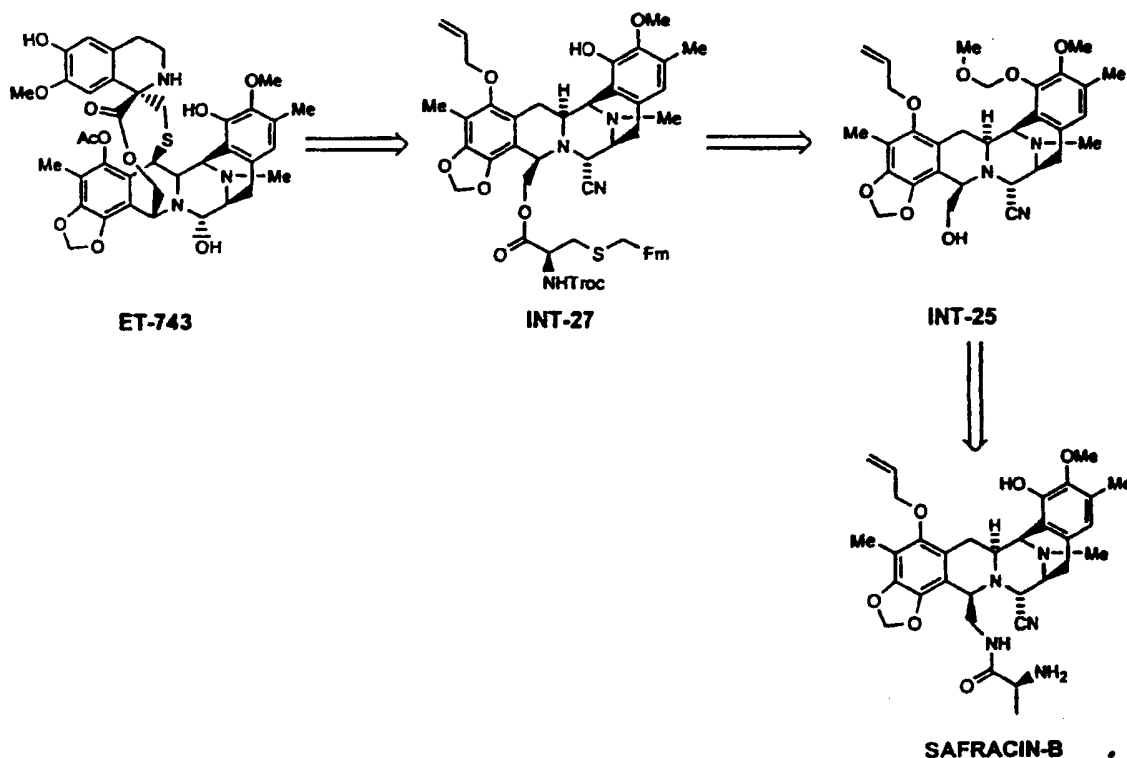


Int-37 .

20

Retrosyntetická analýza na prípravu ET-743 použitím zlúčeniny 29 je znázornená na schéme I.

Schéma I:



Podľa schémy I je možné získať **ET-743** v 21 lineárnych krokoch. Táto metóda premieňa kyanosfracin B na medziprodukt 25, a to pomocou postupnosti reakcií, ktoré zahŕňujú (1) odstránenie metoxy skupiny umiestnenej v kruhu **A**, (2) redukciu kruhu **A** a formáciu metyléndioxy skupiny; to všetko v jednej reakčnej nádobe, (3) hydrolyzu amidovej funkčnej skupiny na uhlíku 1, (4) premenu vzniknutej amino skupiny na hydroxylovú skupinu. Reakčný postup nechráni primárnu alkoholovú funkčnú skupinu v polohe 1 v kruhu **B** zlúčeniny **25**; reakcia priamo využíva cysteinový zvyšok **29** na prípravu medziproduktu **27**. Derivát cysteínu **29** je chránený na amino skupine s β - β -trichloroetoxykarbonylovou chrániacou skupinou, aby sa zachovala kompatibilita s existujúcou allylovou a MOM skupinou. Medziprodukt **27** je okamžite oxidovaný a zacyklovaný. Tieto okolnosti, spolu s rôznou deprotektívnou stratégiou v neskorších štádiách reakcie, znamenajú nové cesty syntézy, prístupnejšie priemyselnému vývoju než proces vedený pod názvom US 5 721 362.

Premena zlúčeniny 2-kyano na medziprodukt **25** obvykle zahŕňa tieto kroky (pozri schéma II):

- 15 • prípravu chránenej zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (14), vytvorenej reakciou **2** s anhydridom *tert*-butoxykarbonylu;
- premenu zlúčeniny **14** na chránenú zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (15), vytvorenej reakciou s bromometylmetyl etherom a diizopropyletylamínom v acetonitrile;
- 20 • selektívne odstránenie metoxy skupiny chinónového systému v zlúčenine **15**, čím sa získa zlúčenina podľa všeobecného vzorca (16), vytvorená reakciou s metanolovým roztokom hydroxidu sodného;
- premenu zlúčeniny **16** na zlúčeninu dioxymetylénovú podľa všeobecného vzorca (18) tak, že sa využije táto postupnosť reakcií:
 - (1) chinónová skupina zlúčeniny **16** sa redukuje 10 % Pd/C vo vodíkovej atmosfére;
 - (2) hydrochinónový medziprodukt sa premení na metyléndioxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (17) tak, že reaguje s bromochlorometánom a cézium karbonátom vo vodíkovej atmosfére;
 - (3) zlúčenina **17** sa premení na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (18) tým, že sa chráni voľná hydroxylová skupina pri vzniku OCH_2R . Táto reakcia prebieha s BrCH_2R a cézium karbonátom, kde R môže byť aryl, $\text{CH}=\text{CH}_2$, OR' atď.
- 30 • odstránenie *tert*-butoxykarbonylu a metyloxymetylových chrániacich skupín zlúčeniny **18** dovoľuje prípravu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (19) tým, že reaguje s roztokom HCl v dioxáne. Táto reakcia sa tiež uskutoční zmiešaním zlúčeniny **18** s roztokom trifluórooctovej kyseliny v dichlorometáne;
- prípravu zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (20) tým, že reaguje zlúčenina **19** s fenylizotiokyanátom;

- konverziu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (20) na amino zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (21) tým, že reaguje s roztokom HCl v dioxane;
- premenu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (21) na N-Troc derivát 22 tým, že reaguje s trichloretyl chloroformiátom a pyridínom;
- 5 • prípravu chránenej hydroxy zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (23) tým, že reaguje 22 s bromometyl-metyl éterom a diizopropyletylamínom;
- premenu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (23) na -NH derivát 24 tým, že reaguje s kyselinou octovou a zinkom;
- 10 • premenu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (24) na hydroxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (25) tým, že reaguje s nitritom sodným a kyselinou octovou. Inou možnosťou je použitie nitrogén tetroxidu v kombinácii s kyselinou octovou a acetonitrilom, s následnou aplikáciou hydroxidu sodného. Je možné tiež použiť nitrit sodný v kombinácii s acetanhydridom kyseliny octovej, s následnou aplikáciou hydroxidu sodného.

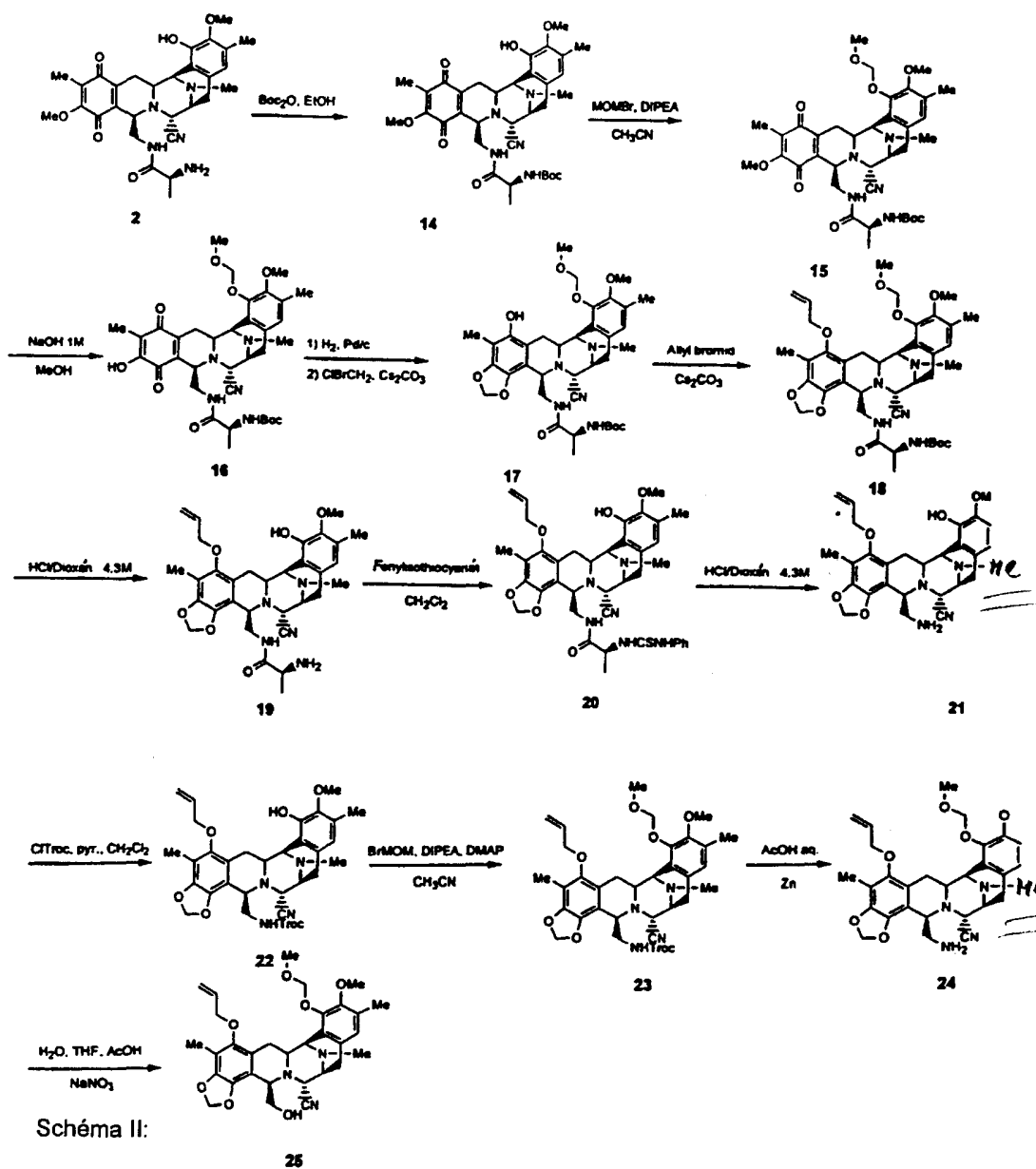


Schéma II:

15

Premena medziproduktu 25 na ET-743 pomocou derivátu cysteínu 29 obvykle zahŕňa tieto kroky (pozri schéma III):

- premenu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (24) na derivát 30 tým, že sa ochráni primárna hydroxylová funkčná skupina (S)-N-2,2,2-trichloroetoxykarbonyl-S-(9H-fluorén-9-ylmetyl)cysteínom 29;

20

- konverzia chránenej zlučieniny podľa všeobecného vzorca (30) na derivát fenolu 31 tým, že sa odštípi allylová skupina tributyltín hydridom a dichloropaládium-bis(trifenylfosfín)om;
- premena fenolovej zlučieniny podľa všeobecného vzorca (31) na zlučieninu podľa všeobecného vzorca (32) tým, že sa oxiduje anhydridom benzénselenínu pri nízkej teplote;
- 5 • premena hydroxy zlučieniny podľa všeobecného vzorca (32) na laktón 33 nasledovným postupom:
 - (1) Zlučienina podľa všeobecného vzorca (32) reaguje s dvomi ekvivalentmi triflic anhydridu a piatimi ekvivalentmi DMSO,
 - (2) pridá sa osem ekvivalentov diizopropyletylamínu;
 - (3) pridajú sa štyri ekvivalenty t-butyl alkoholu;
 - 10 (4) pridá sa sedem ekvivalentov 2-tert-butyl-1,1,3,3,tetrametylguanidínu;
 - (5) pridá sa desať ekvivalentov acetanhydridu;
- premenu laktónovej zlučieniny podľa všeobecného vzorca (33) na hydroxylovú zlučieninu 34 tým, že sa odstráni MOM chrániaca skupina pomocou TMSI;
- 15 • štiepenie N-trichloroetoxykarbonylovej skupiny zlučieniny podľa všeobecného vzorca (34) na zlučieninu 35 tým, že reaguje s Zn/AcOH;
- premenu aminozlučieniny 35 na zodpovedajúcu α -keto laktónovú zlučieninu 36 tým, že reaguje s N-metylpiperidinium karboxaldehyd chloridom, s následným DBU;
- prípravu ET-770 tým, že zlučienina podľa všeobecného vzorca (36) reaguje s 3-hydroxy-4-metoxifenyl-etylaminom;
- 20 • premenu ET-770 na ET-743 tým, že reaguje s dusičnanom strieborným v zmesi s AcN/H₂O

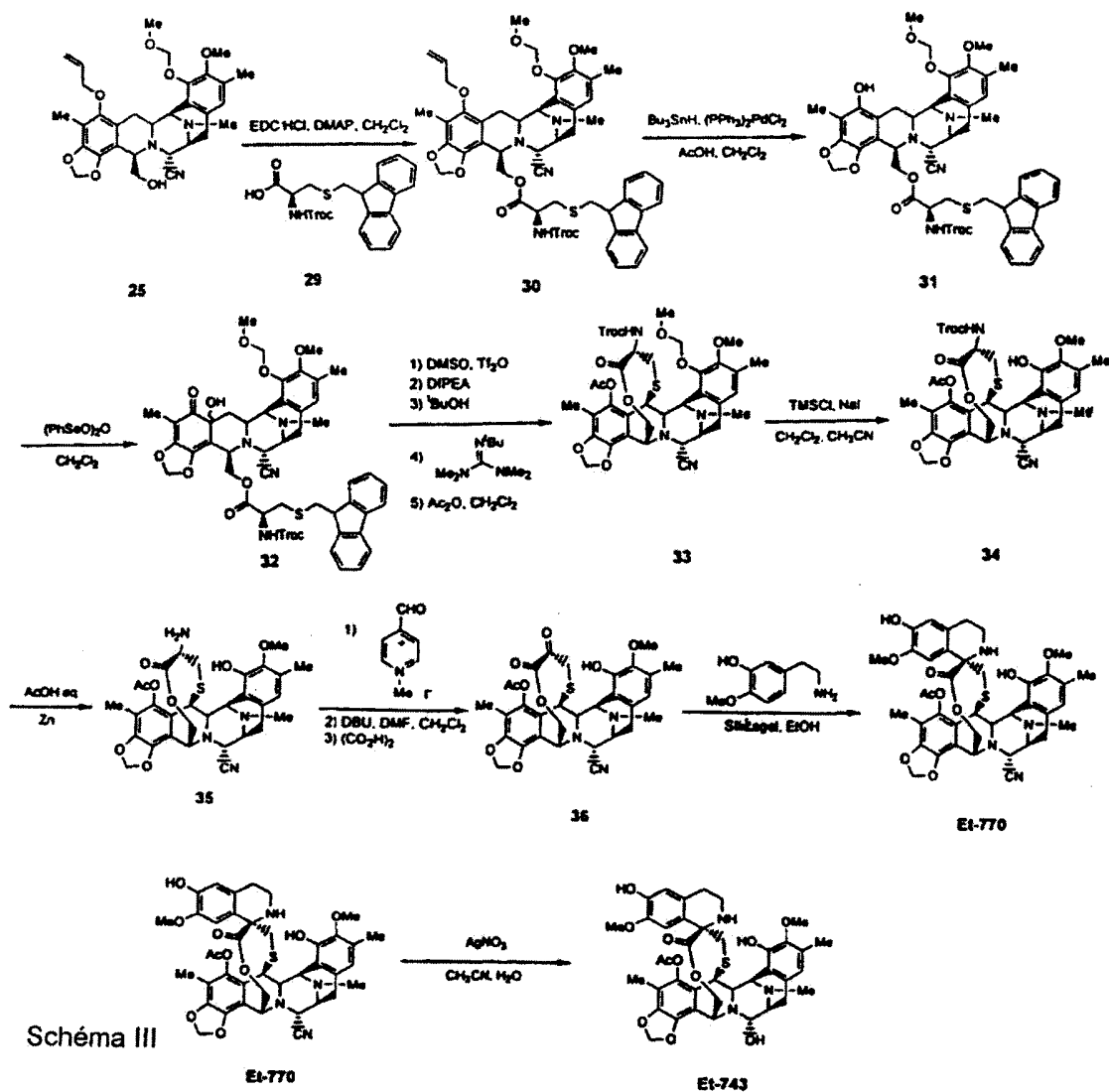
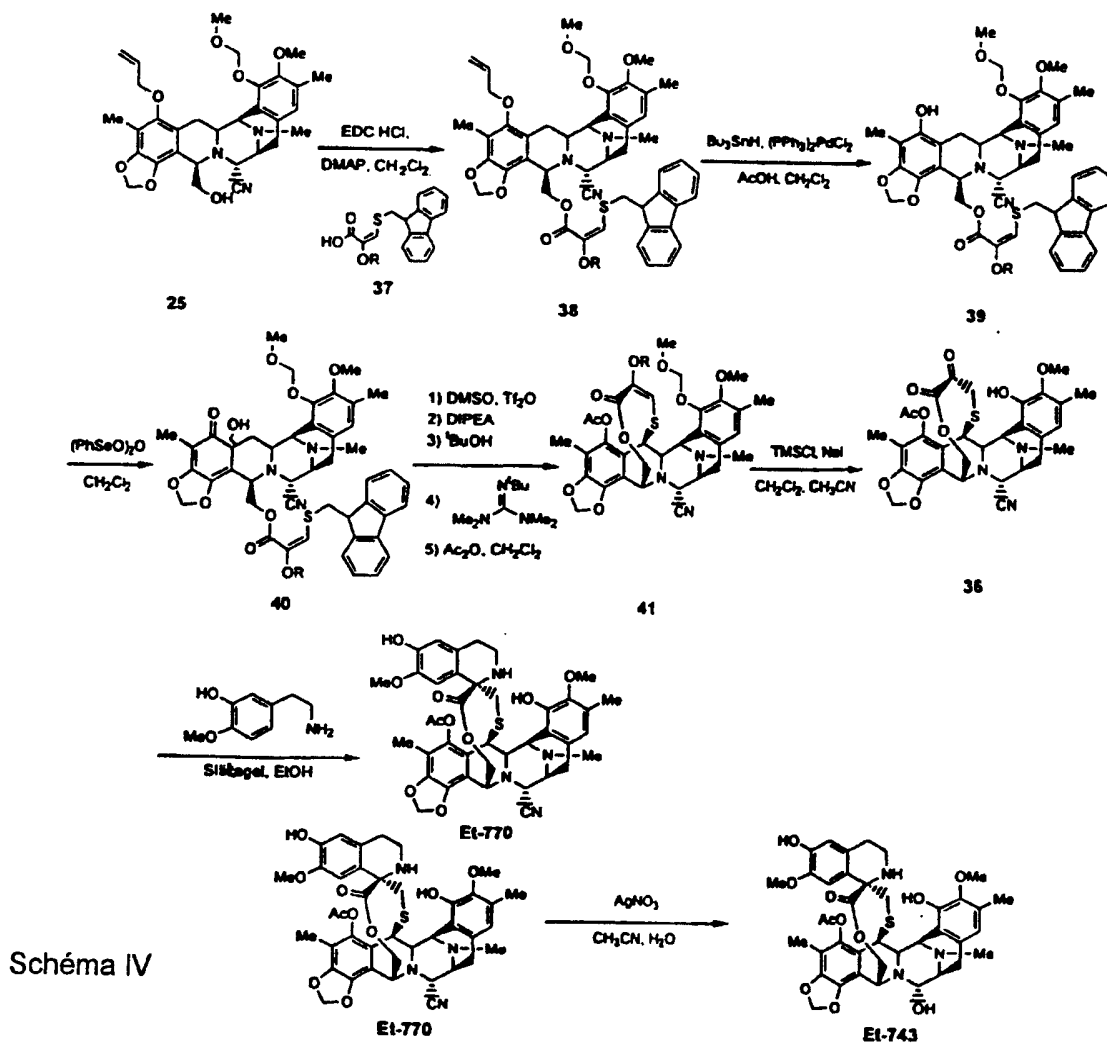


Schéma III

Postup znázornenej syntézy, smerujúci k premene medziproduktu **25** v **ET-743**, môžu byť výhodne modifikované pomocou iných derivátov cysteínu, napríklad zlúčeniny **37**, s názvom 2-metoxymetoxyl-oxy-3-(9H-fluoren-9-ylmetyl)propenová kyselina. Táto zlúčenina má už keto skupinu vo forme enoléteru, pokým iné analógy obsahujú aminoskupinu, ktorá má byť premenená na keto skupinu procesom transaminácie. Táto reakcia má výťažok 55 - 60 %. Použitím zlúčeniny **37** je možné podstatne zvýšiť výťažok lineárnej syntézy, pretože je možné sa vyhnúť transaminačnému kroku.

Konverzia medziproduktu **25** v **ET-743** použitím derivátu cysteínu **37** môže byť uskutočnená podobným spôsobom a s rovnakými reagentmi, na rozdiel od derivátu cysteínu **29**, s výnimkou premien (f) a (g). Reakčný postup je znázornený v schéme IV:

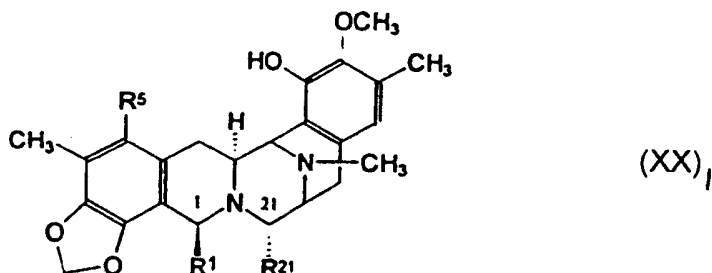


10

Zlúčenina **38** sa pripraví tak isto tým, že reaguje medziprodukt **12** opísaný v US patente N 5 721 362 s medziproduktom **37**. Táto reakcia znamená výrazné zlepšenie reakčnej schémy uvedenej v US patente.

15 Príprava ftalascidínu a príbuzných zlúčenín

V predkladanom vynáleze zahrnuje kľúčová skupina produktov ftalascidín s nasledovným všeobecným vzorcom (XX)



kde R¹ je amidometylénová skupina; R⁵ je krátky oxy-postranný reťazec; a R²¹ je kyano skupina alebo hydroxy skupina. V prípade ftalascidínu R¹ je ftalimidometylénová skupina; R⁵ je acetoxy skupina; R²¹ je kyano skupina. Iné skupiny predstavujúce R¹ zahrnujú mono- a di-N-amidometylény ako aj iné cyklické amidometylény, a iné skupiny predstavujúce R⁵ zahrnujú C¹ až C⁴ acylovej skupiny, ako aj C¹ až C⁴ alkylovej skupiny.

Konverzia 21 kyano zlúčeniny vo ftalascidíne alebo príbuznej zlúčenine podľa všeobecného vzorca (XX) obvykle obsahuje nasledovné kroky:

- v prípade potreby konverziu E kruhu chinónového systému na systém fenolový;
- tvorbu R⁵ skupiny na pozícii 5 v kruhu A;
- tvorbu R¹ skupiny na pozícii 1 v kruhu B;
- v prípade potreby konverziu A kruhu chinónového systému na systém fenolový;
- v prípade potreby konverziu A kruhu fenolového systému na kruh metyléndioxyfenolový.

Uvedené kroky sú veľmi podobné tým, ktoré boli uvedené pri príprave ekteinascidínov. Krok (c) obvykle zahŕňa tvorbu -CH₂NH₂ skupiny v polohe 1 a jej acyláciu.

Ftalascidín sa pripraví pomocou medziproduktov opísaných v časti pojednávajúcej o premene kyanosafaracínu B na medziprodukt 25. Napríklad medziprodukty 21 a 17 sú vhodné východiskové zlúčeniny na prípravu ftalascidínu.

Ako bolo uvedené v schéme V, proces syntetickej prípravy ftalascidínu začínajúci medziproduktom 21 zahŕňa tieto za sebou nasledujúce kroky:

- premenu zlúčeniny 21 na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (27) tým, že reaguje s ftalát anhydridom v dichlormetáne a karbonylimidazole
- konverziu zlúčeniny 27 na ftalascidín tým, že reaguje s tributyltín hydridom a dichloropaládium-bis(trifenylfosfin)om alebo zásaditým médiom, nasledovaná reakciou s acetyl chloridom.

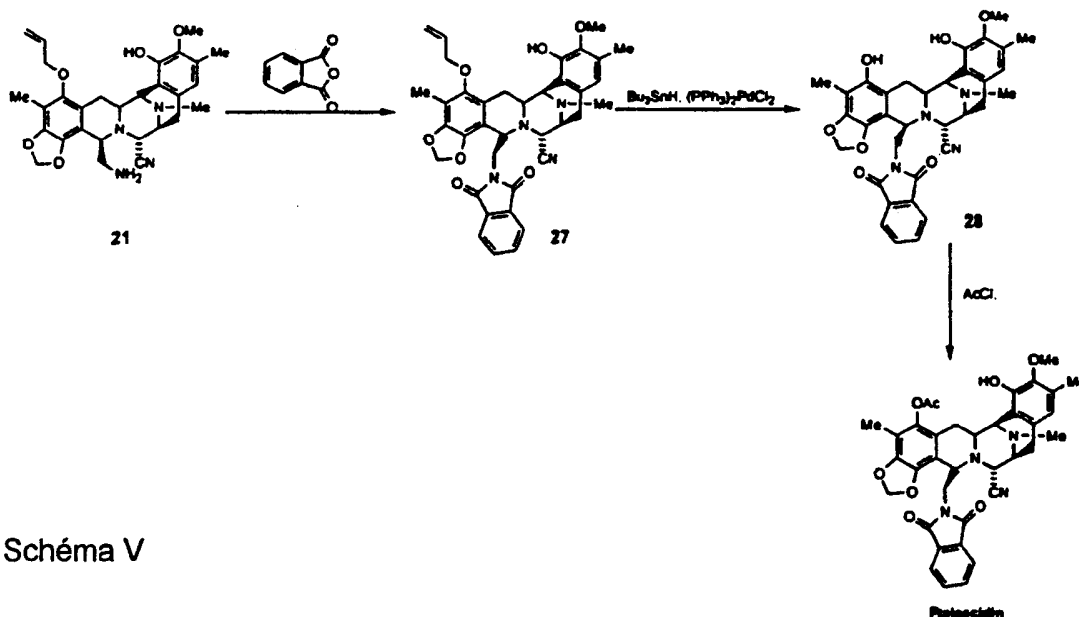


Schéma V

Ako bolo uvedené v schéme VI, proces syntetickej prípravy ftalascidínu začínajúci medziproduktom 17 zahŕňa tieto za sebou nasledujúce kroky:

- Acetyláciu hydroxylovej skupiny zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (17) pomocou acetyl chloridu a pyridínu tak, že vznikne acetylovaný medziprodukt podľa všeobecného vzorca (42).
- Odstránenie *tert*-butoxykarbonylu a ochrannej metyloxymetylovej skupiny zlúčeniny 42 na prípravu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (43) tým, že reaguje s roztokom HCl v dioxáne. Táto reakcia sa tak isto dosiahne zmiešaním zlúčeniny 42 s roztokom trifluórooctovej kyseliny v dichlórmetáne.
- Prípravu zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (44) tým, že reaguje 43 s fenylyzotiokyanátom.
- Konverziu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (44) na emino zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (45) tým, že reaguje s roztokom HCl v dioxáne.
- Premenu 45 na ftalascidín tým, že reaguje s ftalát anhydridom v dichlórmetáne a karbonylimidazole.

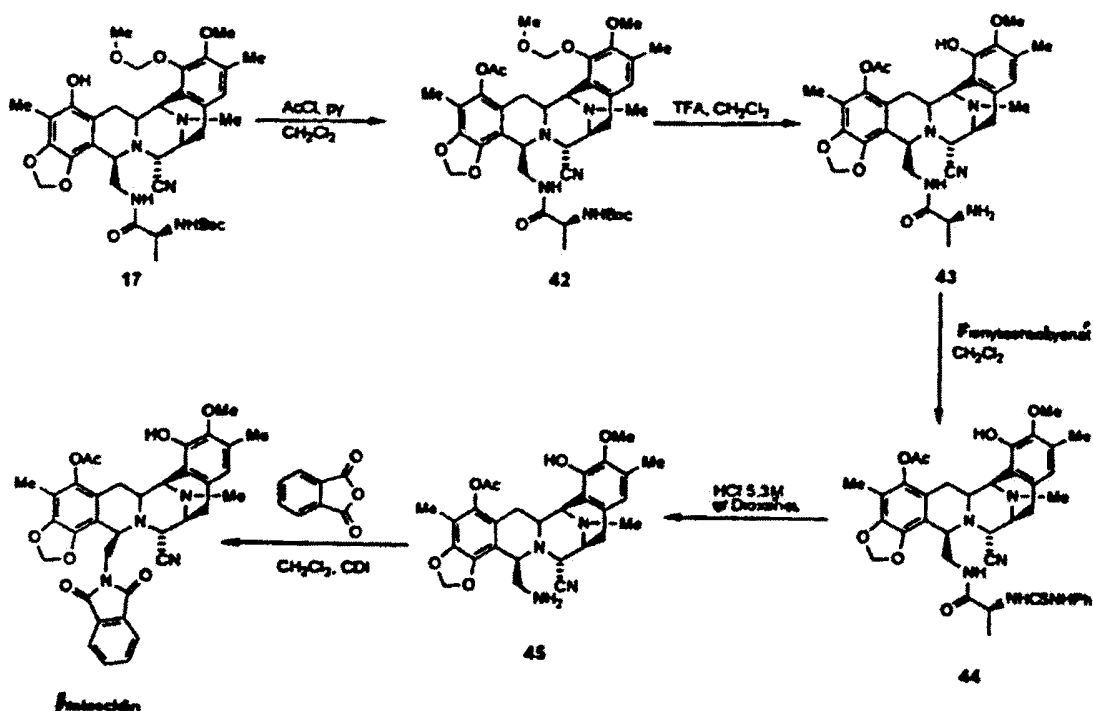
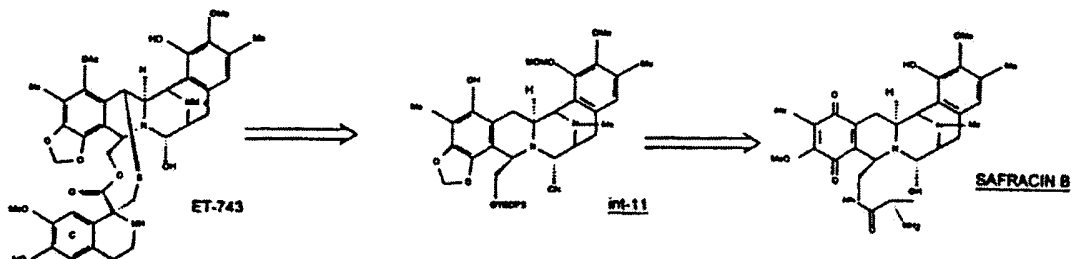


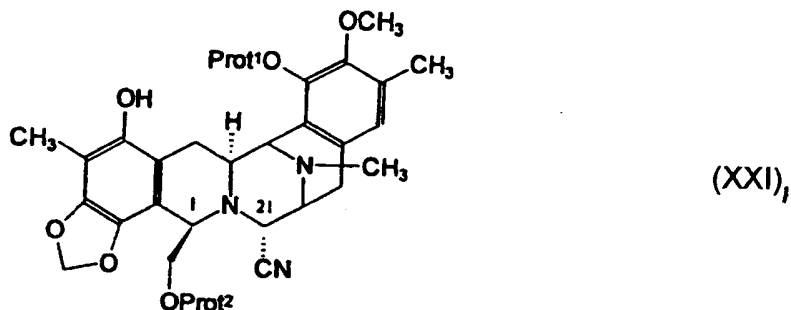
Schéma VI

5 Príprava medziproduktu 11 a príbuzných medziproduktov

Retrosyntetická analýza je opísaná v nasledujúcej schéme.



V predkladanom vynáleze obsahuje kľúčová skupina medziproduktov medziprodukt 11 a má všeobecný vzorec (XXI)



10 kde Prot¹ a Prot² sú hydroxy chrániace skupiny, podľa možnosti rozdielne. Prot¹ je obvykle Prot² je obvykle Čo sa týka samotného medziproduktu 11, je Prot¹ skupina predstavovaná metoxymetylovou skupinou, Prot² je t-butyl-difenylsilylová skupina.

Konverzia 21-kyano zlúčeniny na medziprodukt 11 alebo príbuzné medziprodukty podľa všeobecného vzorca (XXI) obvykle zahŕňa za sebou idúce kroky:

15 a) v prípade potreby konverziu E kruhu chinónového systému na systém fenolový;

- b) tvorbu -Oprot¹ skupiny v polohe 18 v kruhu E;
 c) tvorbu -CH₂-Oprot² skupiny v polohe 1 v kruhu B;
 d) v prípade potreby konverziu kruhu A chinónového systému na fenolový systém;
 e) konverziu fenolového systému kruhu A na metyléndioxyfenolový kruh.

5

Krok (b), tvorba -Oprot¹ skupiny v polohe 18 kruhu E, je typickou chrániacou reakciou fenolovej skupiny. Reakčné podmienky sa vyberú podľa charakteru chrániacej skupiny. Ďalšie kroky sú podobné iným reakciami.

Krok (c), tvorba -CH₂-Oprot² skupiny v polohe 1 kruhu B, sa obvykle uskutočňuje tvorbou -CH₂NH₂ na pozícii 1 a potom premenou aminovej funkčnej skupiny na hydroxy a chránením. Reaktant s funkčnou skupinou R¹ v tvare -CH₂-NH-CO-CR^{25a}R^{25b}R^{25z} stratí N-acylovú skupinu. V prípade, že východiskový produkt má skupinu R¹ v tvare -CH₂-O-CO-R, nie je potrebné ekeinascidín nijako upravovať, pretože jeho R¹ substitučná skupina je rovnaká.

Čo sa týka iných produktov, je potrebné odstrániť O-acylovú skupinu. Na tieto deacylácie sú k dispozícii rôzne metódy. V jednej z nich je deacylácia a konverzia na hydroxylovú funkčnú skupinu uskutočnená v jednom kroku. Potom je hydroxylová skupina acetylovaná alebo akokoľvek inak upravovaná tak, aby vznikla vhodná R¹ funkčná skupina.

US patent 5 721 362 opisuje syntetickú metódu na prípravu ET-743 pozostávajúcu z mnohých krokov. Jeden z medziproduktov syntézy je medziprodukt 11. Použitím kyanosafračínu B ako východiskovej zlúčeniny je možné dosiahnuť medziprodukt 11 oveľa jednoduchším spôsobom a teda vylepšiť metódu na prípravu ET-743.

Kyanosafračín B je premenený na medziprodukt 25 pomocou opisanej metódy. Medziprodukt 11 sa z medziproduktu 25 získa pomocou týchto krokov (pozri schéma VII).

- tvorba chránenej hydroxy zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (26) tým, že reaguje 25 s *tert*-butyldifenylsilyl chloridom za prítomnosti bázy;
- konečné odštiepenie allylovej skupiny pomocou tributyltín hydridu a dichloropaládium-bis(trifenyfosfin)om na zlúčeninu 26, ktorá vedie k tvorbe medziproduktu 11.

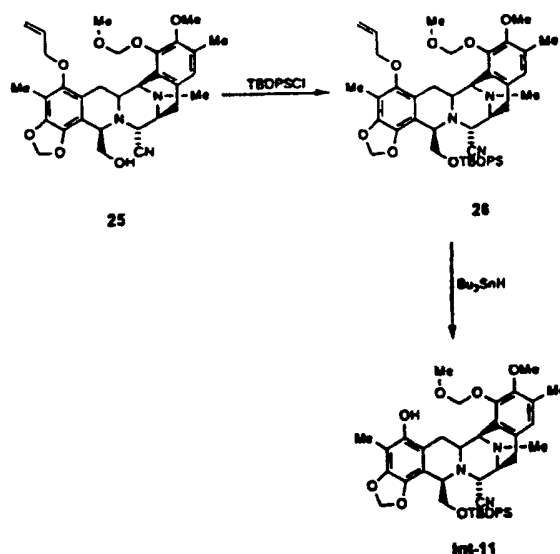


Schéma VII

30 Predstava syntetického procesu, uvedená v predkladanom vynáleze a zameraná na premenu safracínu B na medziprodukt 11, je modifikáciou schémy VIII a pozostáva z týchto krokov:

- stereospecifické premeny zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (1) (safracín B) na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (2) tým, že sa selektívne nahradí -OH skupina -CN skupinou tým, že reaguje s KCN v kyslom prostredí;
- tvorby zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (3) tým, že reaguje zlúčenina podľa všeobecného vzorca (2) s fenyl izotiokyanátom;
- premeny zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (3) na acetamid podľa všeobecného vzorca (5) tým, že sa hydrolyzuje v kyslom prostredí a je nasledovaný pridaním acetanhydridu; medziprodukt amino zlúčenina podľa všeobecného vzorca (4) sa pripraví ukončením hydrolyzy v kyslom prostredí s bikarbonátom sodným. Tento medziprodukt je ale značne nestabilný a je okamžite premenený na päčlenný cyklický imín 6;

40

- tvorby chránenej zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (7) tým, že reaguje s bromometyl metyléterom a diizopropyletylamínom v dichlórmetáne;
- selektívnu demetyláciu metoxy skupiny chinónového systému zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (7) na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (8) tým, že reaguje s roztokom metanolu a hydroxidu sodného;
- 5 • premeny zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (8) na metyléndioxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (9) tým, že dôjde k:
 - (1) chinónová skupina zlúčeniny **8** sa redukuje 10 % Pd/C vo vodíkovej atmosfére;
 - (2) hydrochinónový medziprodukt je premenený na metyléndioxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (9) tým, že reaguje s bromochlorometánom a cézium karbonátom vo vodíkovej atmosfére;
 - 10 (3) zlúčenina podľa všeobecného vzorca (9) je premenená na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (10) tým, že sa chráni voľná hydroxylová skupina ako OCH₂R skupina tým, že reaguje s BrCH₂R a cézium karbonátom, kde R predstavuje aryl, CH = CH₂, OR' atď.;
 - (4) premene acetamidovej skupiny zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (10) na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu podľa všeobecného vzorca (11) tým, že reaguje s nitrogén tetroxidom v zmesi s kyselinou octovou a octanu sodného, nasledovaná pridaním hydroxidu sodného;
 - 15 (5) prípadne sa acetamidová skupina zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (10) premení na primárnu amínovú skupinu tým, že reaguje s hydrazínom alebo s Boc₂O, DMAP nasledovaná pridaním hydrazínu; tento primárny amín sa premení na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu (zlúčenina podľa všeobecného vzorca (11)) tým, že sa primárny amín oxidatívne premení na zodpovedajúci aldehyd so 4-formyl-1-metylpyridinium sulfonátom alebo iným pyridíniom, nasledovaný DBU alebo inou zásadou a ďalšou hydrolyzou a nasledovaný redukciami aldehydu na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu pomocou hydridu lítiohlinitého alebo inej redukujúcej látky;
 - (6) tvorbe chránenej zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (26) tým, že reaguje s t-butyldifenylsilyl chloridom a dimetylamino-pyridínom v dichlórmetáne;
 - 25 (7) premene silylovej zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (26) na medziprodukt 11 tým, že sa odkryje -OCH₂R ochranná skupina tým, že reaguje v kyslom alebo zásaditom prostredí. Typické reakcie zahŕňujú paládiovú čerň vo vodíkovej atmosfére, alebo vodný roztok TFA, alebo tributyltín hydrid a dichloro bis(trifenylfosfin paládium). V ešte inej úprave reakčného postupu dochádza k premene kyano zlúčeniny podľa všeobecného vzorca
 - 30 (2) na medziprodukt 11 pomocou rozšírenej schémy II, ktorá zahŕňa tieto kroky:
 - tvorbu chránenej hydroxy zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (26) tým, že reaguje **25** s *tert*-butyl-difenylsilyl chloridom za prítomnosti zásady;
 - záverečné odštiepenie allylovej skupiny pomocou tributyltín hydridu a dichloropaládium-bis(trifenylfosfin) na zlúčeninu **26**, ktorá vedie ku príprave medziproduktu 11.

Príprava aktívnych zlúčenín

Kyanosafračín B sa premieňa na veľký počet medziproduktov a derivátov s potenciálnou protinádorovou terapeutickou aktivitou. Tieto medziprodukty sa dajú vytvoriť už z opísaných zlúčenín alebo použitím alternatívnych reakčných postupov.

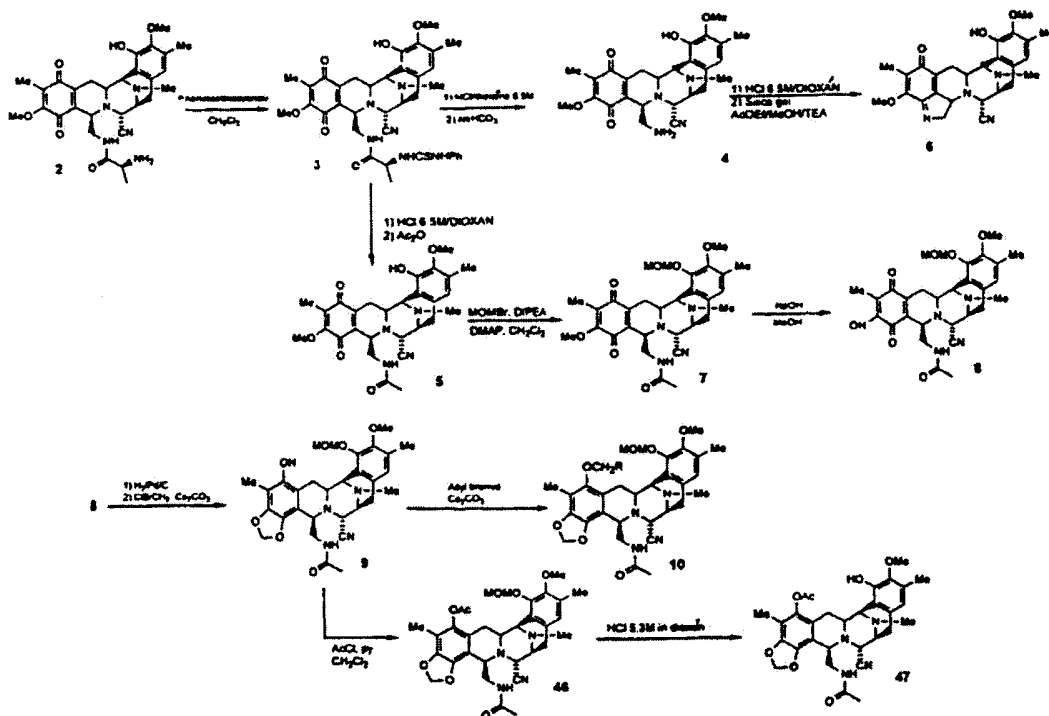
- 40 Medziprodukty tu opísané zahŕňujú zlúčeninu **47** a mnoho ďalších amidových derivátov, ktoré sa pripravujú pomocou zlúčenín **45** alebo **43**.

Na schéme VIII je znázornená príprava zlúčeniny **47** použitím týchto krokov:

- príprava zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (3) tým, že reaguje zlúčenina podľa všeobecného vzorca (2) s fenyliozotiokyanátom;
- 45 • premena zlúčeniny tiourey podľa všeobecného vzorca (3) na acetamid podľa všeobecného vzorca (5) tým, že dochádza k hydrolyze v kyslom prostredí a následnému pridávaniu acetanhydridu. Medziproduktom je amínová zlúčenina podľa všeobecného vzorca (4), ktorá sa izoluje ukončením hydrolyzy v kyslom prostredí pomocou bikarbonátu sodného. Medziprodukt je veľmi nestabilný a okamžite sa mení na päťčlenný cyklický imín **6**;
- 50 • príprava chránenej zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (7) tým, že reaguje s bromometylmetyl éterom a diizopropyletylamínom v dichlórmetáne;
- selektívna demetylácia metoxy skupiny chinónového systému zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (7) na zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (8) tým, že reaguje s metanolovým roztokom hydroxidu sodného;
- premena zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (8) na metyléndioxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca
- 55 (10) pomocou týchto reakčných krokov:
 - (1) chinónová skupina zlúčeniny **8** sa redukuje pomocou 10 % Pd/C vo vodíkovej atmosfére;
 - (2) hydrochinónový medziprodukt sa premení na metyléndioxy zlúčeninu podľa všeobecného vzorca (9) tým, že reaguje s bromochlorometánom a cézium karbonátom vo vodíkovej atmosfére;

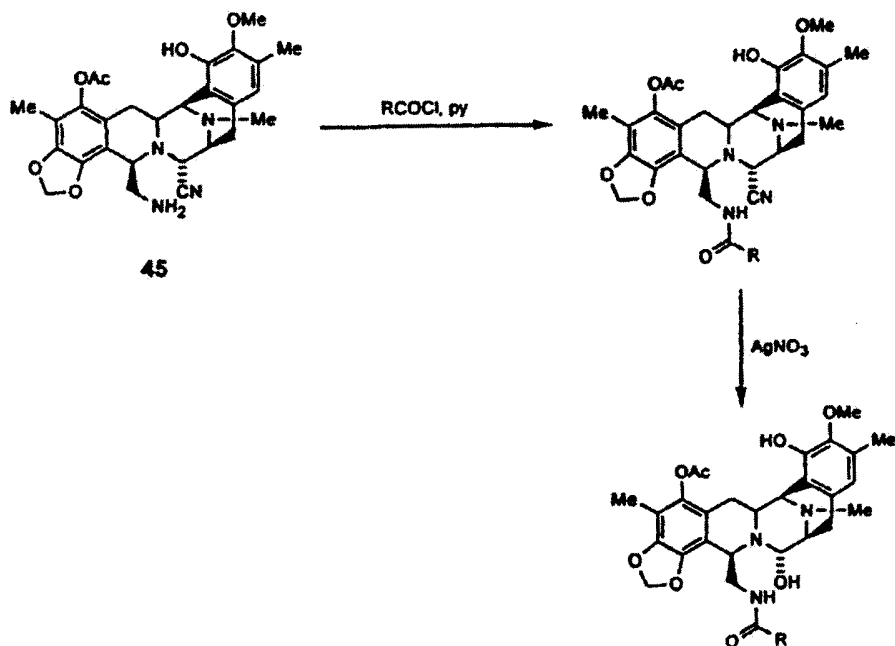
(3) zlučienina podľa všeobecného vzorca (9) sa premieňa na zlučieninu podľa všeobecného vzorca (10) tým, že sa chráni voľná hydroxylová skupina, akou je allyloxy skupina tým, že reaguje s allylbromidom a cézium karbonátom;

- premena zlučieniny podľa všeobecného vzorca (9) na acetyl derivát 46 tým, že reaguje s acetylchloridom v pyridíne;
- premena zlučieniny podľa všeobecného vzorca (46) na nechránenú zlučieninu 47 tým, že reaguje s kyselinou chlorovodíkovou v dioxáne.



10 Schéma VIII

Iné užitočné deriváty amidových medziproduktov sa vytvoria už z opísaného medziproduktu 45 pomocou nasledujúcej schémy:



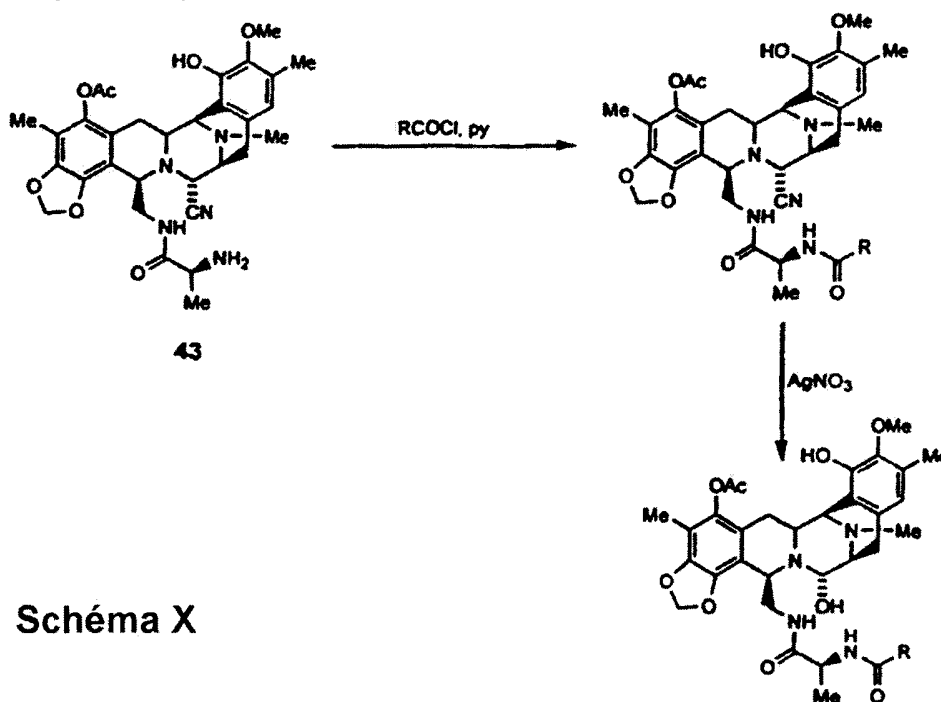
- Druhý krok nie je bezprostredne potrebný. Tento proces predstavuje dôležitú časť vynálezu, obzvlášť tam, kde skupina R je skupinou R^a, ako to bolo uvedené skôr. Schému VIII je možné ľahko rozšíriť tak, že

umožní prípravu zlúčenín podľa všeobecného vzorca (XXIII) tým, že sa vo východiskovej zlúčenine v polohe 5 umiestni iná funkčná skupina, a to buď skupina priamo potrebná pre produkt, alebo skupina, ktorú je možné odstrániť alebo inak modifikovať tak, že vznikne želaná funkčná skupina.

5 Schéma IX

Zo zlúčeniny 45 sa pripraví skupina analógov pomocou nasledovných reakčných krokov:

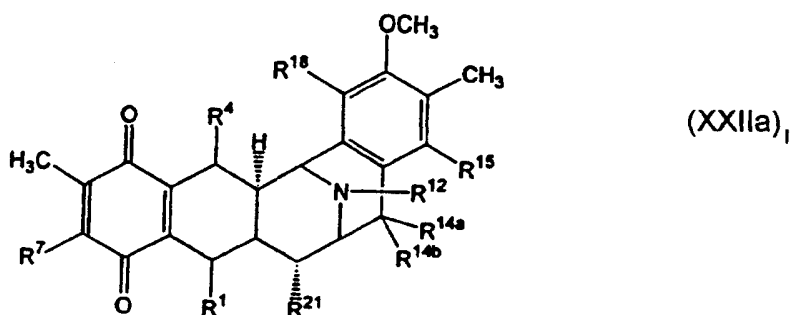
- acylácia amino skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca (45) pomocou veľkej skupiny acylových derivátov, ktoré poskytnú zodpovedajúce amidy, kde preferovanými acylovými skupinami sú acetyl, cinnamoylchlorid, p-trifluorocinnamoylchlorid, izovalerylchlorid-fenylizotiokyanát alebo aminokyseliny, alebo iné uvedené skupiny R^3CO- .
- transformácia $-CN$ skupiny na $-OH$ skupinu tým, že reaguje s nitrátom strieborným v zmesi s AcN/H_2O . Iné užitočné deriváty amidového medziproduktu sa pripravia použitím už opísaného medziproduktu 43 podľa nasledujúcej schémy:



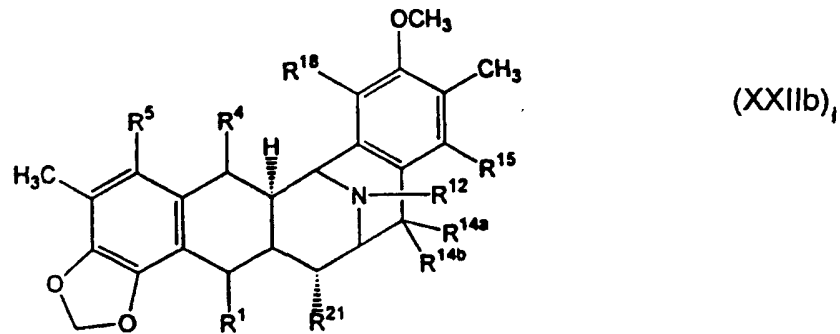
- 15 Použitím nasledujúceho postupu sa zo zlúčeniny 43 získa iná skupina zaujímavých derivátov.
- a) acylácia amino skupiny zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (43) pomocou veľkej škály acylových derivátov, ktoré poskytnú zodpovedajúce amidy, kde preferovanými acylovými skupinami sú acetyl, cinnamoylchlorid, p-trifluorocinnamoylchlorid, izovalerylchlorid alebo aminokyseliny, alebo iné uvedené zlúčeniny skupiny,
 - b) transformácia $-CN$ skupiny na $-OH$ skupinu tým, že reaguje s nitrátom striebra v zmesi AcN/H_2O .

Nové medziprodukty

Vzhľadom na uvedené je zrejmé, že v predkladanom vynáleze sa vyskytuje mnoho medziproduktov. Podľa charakteru kruhu A majú tieto medziprodukty všeobecný vzorec (XXIIa)

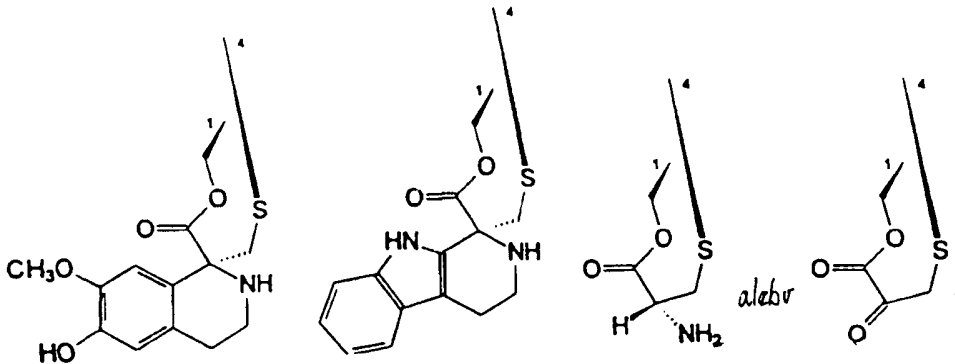


alebo všeobecný vzorec (XXIIb)



kde R¹ je -CH₂NH₂ alebo -CH₂OH, chránený, alebo derivatizovaný variant takejto skupiny a R⁴ je -H; alebo

- 5 R¹ a R⁴ spoločne tvoria skupinu podľa všeobecného vzorca (IV), (VI) alebo (VII)



R⁵ je -OH, chránený alebo derivatizovaný variant takejto skupiny;

R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedna je -H a druhá je -OH, chránený alebo derivatizovaný variant takejto skupiny, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria keto skupinu;

- 10 R¹² je -H, -CH₃ - alebo -CH₂CH₃;

R¹⁵ je -OH, chránený alebo derivatizovaný variant takejto skupiny;

R¹⁸ je -OH, chránený alebo derivatizovaný variant takejto skupiny a

R²¹ je -H, -OH alebo -CN.

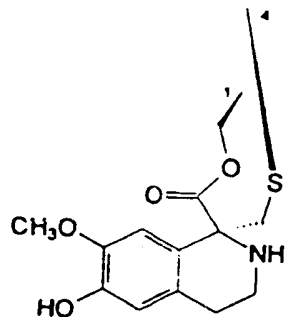
V jednom usporiadaní, aspoň R¹, R⁵, R^{14a}, R^{14b}, R¹⁵ alebo R¹⁸ je chránená alebo derivatizovaná skupina.

- 15 V jednej modifikácii tohto vynálezu R¹ nie je skupina 3,5-*tert*-butyldifenylsilylová a/alebo skupina R¹⁸ nie je metoxymetylová.

Výhodne je R¹ -CH₂NH₂ alebo -CH₂OH, alebo chránený, alebo derivatizovaný variant takejto skupiny a R⁴ je -H;

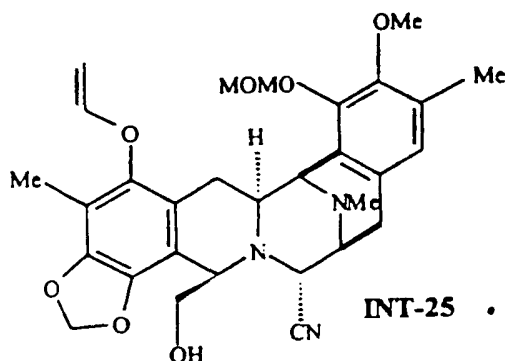
alebo

- 20 R¹ a R⁴ spoločne tvoria skupinu:



Výhodne sú R^{14a} a R^{14b} obidva -H.

Jedna dôležitá kategória medziproduktov obsahuje zlúčeninu, nazvanou ako zlúčenina 25, ktorá má všeobecný vzorec:



Vo všeobecnom vzorci uvedenej kategórie zlúčenín je skupina MOM nahraditeľná akoukoľvek chrániacou skupinou.

Iné dôležité medziprodukty zahrnujú zlúčeniny nazvané ako zlúčeniny 45 a 47. Zo zlúčeniny 45 sa jednoduchým spôsobom pripraví N-acyl deriváty, ktoré sú dôležitou súčasťou predkladaného vynálezu. Vhodné acylové skupiny už boli uvedené. Zodpovedajúce aktívne 21-hydroxy zlúčeniny sú tiež dôležité a sú súčasťou tohto vynálezu.

Nové aktívne zlúčeniny

Bolo zistené, že zlúčeniny tohto vynálezu, ktoré boli pôvodne pripravené ako medziprodukty, majú výrazné účinky pri liečbe malígnych nádorov, ako napríklad leukémie, nádory pľúc, čreva, ľadvín a melanómu.

Predkladaný vynález teda ponúka možnosť liečby karcinómov cicavcov, predovšetkým človeka, terapeuticky efektívnou dávkou zlúčeniny podľa vynálezu, ako aj ich farmakologických zlúčenín.

Predkladaný vynález sa tiež týka farmaceutických prípravkov, ktoré ako aktívnu zložku obsahujú zlúčeninu alebo zlúčeniny podľa vynálezu, ako aj proces ich prípravy.

Príklady farmaceutických prípravkov zahrnujú akékoľvek pevné (tablety, pilulky, kapsuly, granuly) alebo kvapalné (roztoky, suspenzie alebo emulzie) prípravky s vhodným zložením, alebo prípravky na orálne, miestne alebo parenterálne podávanie. Tieto prípravky obsahujú buď čistú zlúčeninu, alebo v kombinácii s nosičom alebo inou farmakologicky aktívnou látkou. Tieto prípravky musia byť sterilné, v prípade, že sa podávajú parenterálne.

Podávanie zlúčenín alebo prípravkov predkladaného vynálezu je buď vo forme intravenózných infúzií, orálnych preparátov, alebo sú podávané intraperitoneálne. Výhodne sa použije 24 hodinová infúzia, ešte výhodnejšie infúzia 1 až 12 hodín, najlepšie 2 až 6 hodín. Krátke infúzne časy, ktoré dovoľujú krátku nemocničnú hospitalizáciu, sú obzvlášť výhodné. V prípade potreby je však možné nastaviť čas infúzie na 12 až 24 hodín. Infúzie sa opakujú vo vhodných intervaloch 2 až 4 týždňov. Farmakologické prípravky, ktoré obsahujú zlúčeniny uvedené v predkladanom vynáleze, sa do tela chorého dopravujú vo forme lipozómov alebo nanosférových mechúrikov vo forme umožňujúcej uvoľnenie aktívnych látok, alebo použitím iných štandardných prostriedkov dodania účinnej látky na miesto pôsobenia.

Vhodná dávka zlúčenín sa líši podľa konkrétneho prípravku, spôsobu aplikácie, konkrétneho stavu nemocného a nádoru, ktorý je potrebné liečiť. Iné faktory, ako napríklad vek, telesná hmotnosť, pohlavie, diéta, doba podávania, pomer vylučovania aktívnej látky, stav pacienta, kombinácia liekov, citlivosť na podávané látky a závažnosť ochorenia sa musí tiež zohľadniť. Podávanie môže prebiehať kontinuálne alebo periodicky s maximálnou tolerovateľnou dávkou.

Zlúčeniny a prípravky podľa predkladaného vynálezu môžu byť použité v kombinácii s inými liekmi vo forme kombinovanej terapie. Iné lieky môžu byť súčasťou rovnakého prípravku, alebo môžu byť podávané ako samostatný prípravok súčasne alebo s časovým odstupom. Iné lieky nie sú špeciálne obmedzené a vhodnými kandidátmi sú:

- a) lieky s antimitotickým účinkom, predovšetkým tie, ktoré sú zacielené proti cytoskeletu bunky, zahŕňajúce modulátory mikrotubulov, ako napríklad taxanové látky (taxol, paclitaxel, taxoter, docetaxel), podofylotoxíny alebo vinca alkaloidy (vincristín, vinblastín);
- b) antimetabolity, ako napríklad 5-fluorouracil, cytarabín, gemcitabín, purínové analógy (ako napríklad pentostatin, metotrexát);
- c) alkylujúce látky ako napríklad cyklofosfamid alebo ifosfamid;
- d) látky, ktorých cieľom je DNA, ako napríklad antracyklíny adriamycín, doxorubicín, farmorubicín alebo epirubicín;
- e) látky, ktorých cieľom je topoizoméráza ako napríklad etoposid;

- f) hormóny alebo antagonisty hormónov ako napríklad estrogény, antiestrogény (tamoxifen a príbuzné zlúčeniny) a androgény, flutamid, leuprorelín, goserelín, cyprotron alebo octreotid;
- g) látky, ktorých cieľom je prenos signálov v malignej bunke, obsahujúce deriváty protilátok ako napríklad herceptín;
- 5 h) alkylujúce látky ako napríklad deriváty platiny (cis-platina, karbónplatina, oxaliplatina, paraplatina) alebo nitrosourea;
- i) látky potenciálne ovplyvňujúce metastázy tumorov ako napríklad inhibítory matrixových metaloproteáz;
- j) génová terapia a antisense-látky;
- k) protilátková terapia;
- 10 l) iné bioaktívne zlúčeniny morského pôvodu, hlavne didemíny ako napríklad aplidín;
- m) steroidné analógy, konkrétne dexametazon;
- n) antiemetické látky, konkrétne dexametazon.

Predkladaný vynález sa tiež týka zlúčenín podľa vynálezu použiteľných v metodike liečby a použitia zlúčenín pri príprave prípravkov na liečbu rakoviny.

15

Cytotoxická aktivita

Bunkové kultúry

Bunky boli udržiavané v logaritmickú fázu rastu v EMEM (Earle's Minimum Essential Medium) s EBS (Earle's Balanced Salts), s 2, mM L-glutamínom, neesenciálnymi aminokyselinami, bez bikarbonátu sodného (EMEM/nea).

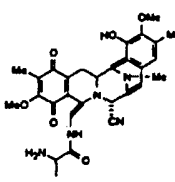
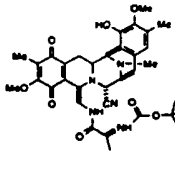
Médium bolo doplnené o 10 % fetálneho teľacieho séra /FCS/, 10 - 2 M bikarbonátu sodného a 0,1 g/l penicilín-G a streptomycín sulfátu.

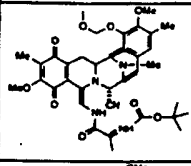
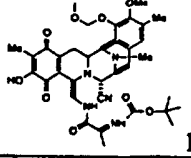
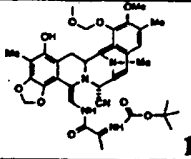
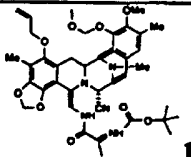
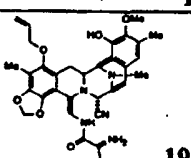
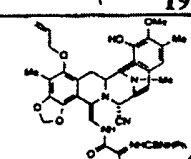
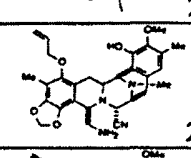
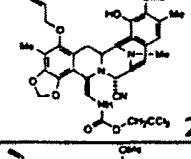
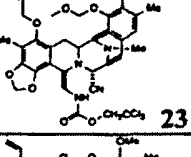
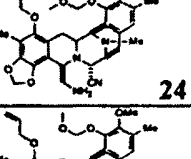
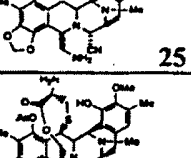
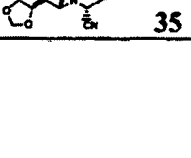
Pomocou jednoduchej modifikovanej metódy (Bergeron et.al., 1984) bola testovaná a porovnávaná protinádorová aktivita zlúčenín. V experimentoch boli použité tieto línie: P-388 (suspenná kultúra maligných lymfoidných buniek pochádzajúcich z DBA/2 myši), A-549 (kultúra ľudského pľúcneho karcinómu rastúceho v jednej vrstve), HT-29 (ľudská kultúra karcinómu čreva rastúceho v jednej vrstve) a MEL-28 (ľudská kultúra maligného melanómu rastúceho v jednej vrstve).

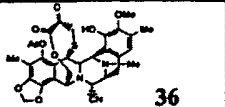
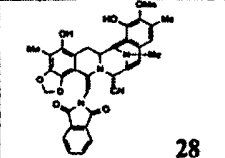
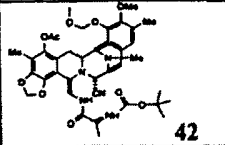
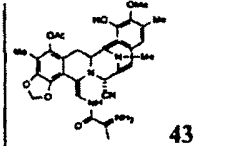
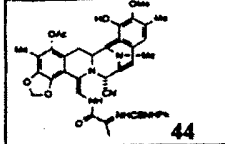
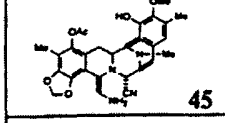
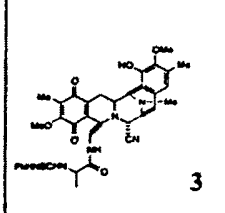
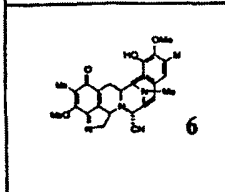
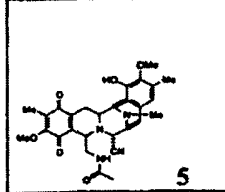
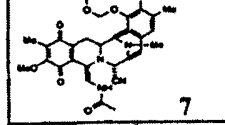
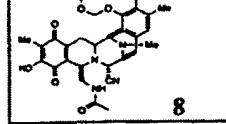
P-388 boli vysiate do 16 mm komôrok s hustotou 1×10^4 buniek na jednu komôrku v 1 ml MEM 5 FCS média, ktoré obsahovalo presnú koncentráciu testovanej látky. Na kontrolu exponenciálneho rastu buniek boli oddelene vysiate rovnaké bunky, rastúce však v médiu bez prídavku testovanej látky. Všetky experimenty boli uskutočnené duplicitne. Po troch dňoch inkubácie pri 37 °C, 10 % CO₂ vo vlhkej atmosfére (98 %) boli komôrky zafarbené 0,1 % kryštálovou violetou. Približná IC₅₀ bola stanovená porovnaním rastu buniek v komôrkach s testovanou látkou s bunkami v komôrkach rastúcich bez prítomnosti testovanej látky.

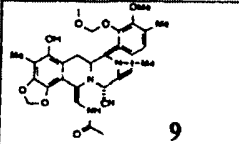
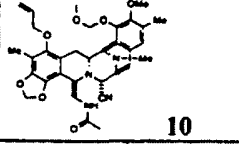
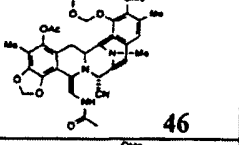
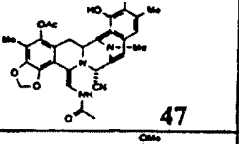
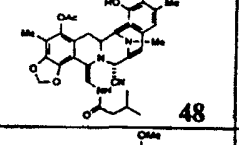
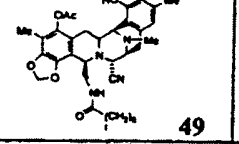
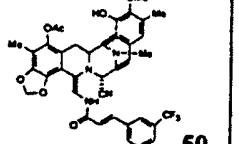
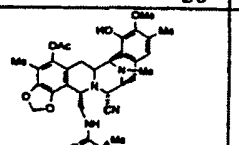
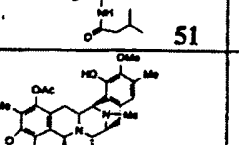
- 35 1. Raymond J. Bergeron, Paul F. Cavanaugh, Jr., Steven J. Kline: Robert G. Hughes, Jr., Gary T. Elliot a Carl W. Porter. Antineoplastic and antiherpetic activity of spermidine catecholamide iron chelators. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1984, 121 (3), 848 - 854
2. Alan C. Schroeder, Robert G. Hughes, Jr. a Alexander Bloch. Effects of Acyclic Pyrimidine Nucleoside Analogues. *J. Med. Chem.* 1981, 24, 1078 - 1083.

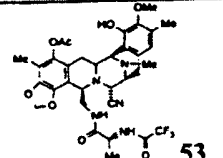
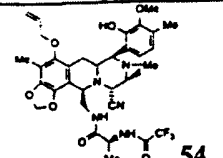
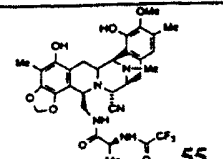
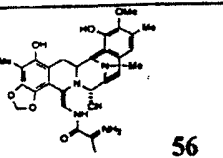
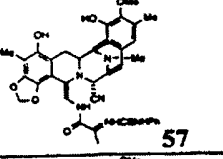
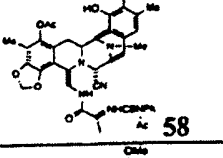
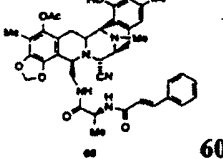
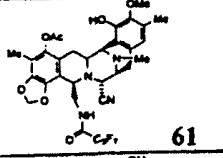
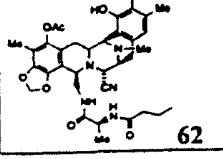
40

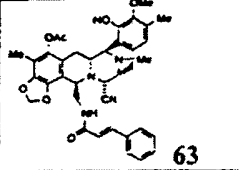
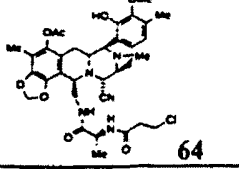
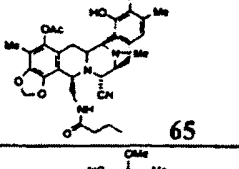
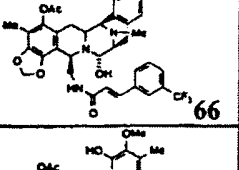
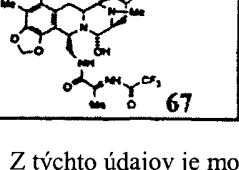
Zlúčenina	IC ₅₀ (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 <p>2</p>	0,009	0,018	0,018	0,018	0,023	
 <p>14</p>	0,15	>0,15	0,15	>0,15		

 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		

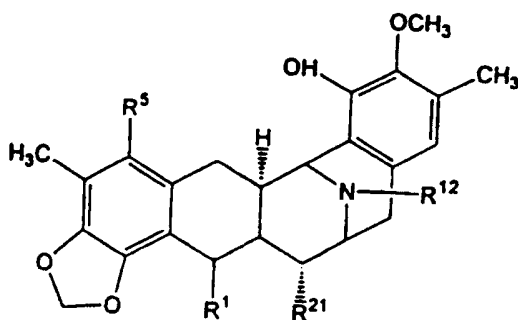
 36	0,01	0,01	0,01	0,01		
 28	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
 42	0,13	0,13	0,13	0,13		0,13
 43	0,008	0,016	0,008	0,008		0,016
 44	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 45	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
 3	0,015	0,015	0,015	0,015	0,018	
 6	2,171	2,171	2,171	2,171	2,171	
 5	0,005	0,005	0,005	0,005		
 7	0,22	0,22	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
 52	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001

 53	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 54	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 55	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
 56	0,18	0,9	0,18	0,8		0,9
 57	0,14	0,14	0,14	0,14		0,14
 58	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 60	0,001	0,001	0,0005	0,001		0,0005
 61	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 62	0,001	0,001	0,0005	0,0005		0,001

	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
	0,0001	0,0005	0,0001	0,0001	0,0005
	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Z týchto údajov je možno vidieť, že aktívne zlúčeniny podľa predkladaného vynálezu zahŕňujú zaujímavú triedu zlúčenín podľa všeobecného vzorca (XXIII)



(XXIII),

5 kde R^1 je, ako bolo definované pre všeobecný vzorec (XVIIb) a je výhodne stredne veľká derivatizovaná aminometylenová skupina;

R^5 je, ako bolo definované pre všeobecný vzorec (XVIIb) a je výhodne menšia derivatizovaná hydroxy skupina;

R^{12} je, ako je uvedené, a je výhodne $-CH_3$ - a

10 R^{21} je hydroxy alebo kyanoskupina.

R^1 je výhodne hydrofóbná skupina, ktorá teda nemá voľnú amino, hydroxy alebo inú hydrofilnú funkčnú skupinu. R^1 je typicky skupina $-CH_2-NH-CO-R^a$, kde R^a je, ako bolo uvedené, výhodne má však lineárny reťazec kratší ako 20 atómov, ešte výhodnejšie menej než 15 alebo 10 atómov, kde 1,4-fenyl sa ráta ako reťazec s dĺžkou 4 atómov a podobne je to aj s inými cyklickými skupinami (napríklad 1,2-cyklohexyl je reťazec s dĺžkou 2 atómov). Lineárny reťazec kratší než 10, 15 alebo 20 atómov môže byť nahradený. Podľa týchto údajov je potrebné nájsť rovnováhu medzi zlúčeninou, ktorá nemá žiadnu skupinu R^a-CO - a zlúčeninou, ktorá má objemnú skupinu.

15 V jednej modifikácii sa uprednostňuje R^1 bez cyklických skupín, hlavne bez skupín aromatických. V príbuznom variante nie je predkladaný vynález zameraný na prípravu zlúčenín opísaných v článku Proc. Natl. Acad. Sci USA, 96, 3 496 - 3 501, 1999, ktorý sa nachádza v citovanej literatúre. Naše výhodne používané

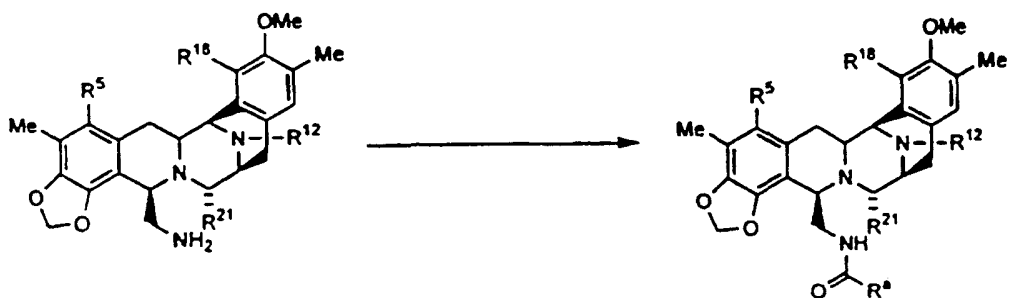
skupiny R^1 nezahŕnjú zodpovedajúce substituenty CH_2R_2 , ktoré sa nachádzajú v tabuľke 1 citovaného článku, obzvlášť skupiny A, B, C a D pre R_2 .

R^5 je výhodne acetylová skupina.

V mimoriadne dôležitých zlúčeninách je skupina R^1 acetylovaná na $-NH_2$ skupine a napríklad N-acyl deriváty je možné pripraviť zo skupín $-CN_2NH_2$ a $-CH_2-NH-aa$. Acylové deriváty sú ich N-acylové alebo N-tioacylové deriváty. Acylová skupina má všeobecný vzorec $-CO-R^a$, kde R^a je vybraný tak, aby spĺňal uvedené kritériá. Vhodné acyl skupiny zahŕnjú alanyl, arginyl, aspartyl, asparagyl, cystyl, glutamyl, glutaminyl, glycyl, histidyl, hydroxypropyl, izoleucyl, leucyl, lysyl, metionyl, fenylalanyl, prolyl, seryl, treonyl, tyronyl, tryptofyl, tyrosyl, valyl, ako aj iné aminokyselinové zvyšky. Tieto aminokyselinové zvyšky sú výhodne derivatizované na amino skupine, čím zlúčenine dodávajú hydrofobicitu.

V jednej modifikácii je R^1 derivatizovaná hydroxymetylélová skupina. Podobné je to s derivatizovanou aminometylélovou skupinou.

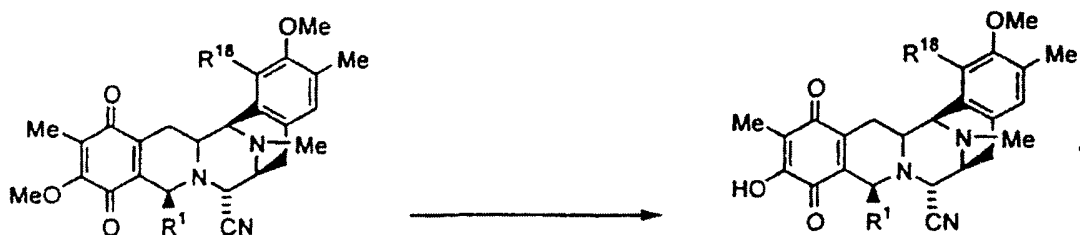
S ohľadom na spomenuté aktívne zlúčeniny, predkladaný patent zahŕňa tento proces:



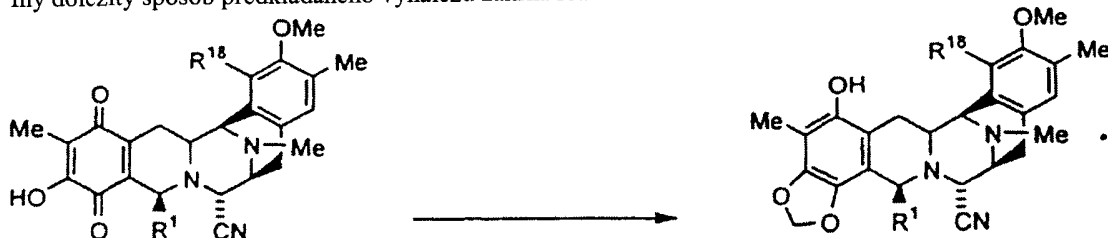
15 kde skupina R^5 vo výslednom produkte je rovnaká ako pre zlúčeninu XXII a môže sa líšiť vo východiskovej zlúčenine a byť konvertovaná do nej ako súčasť procesu,
 R^{18} je hydroxyskupina vo výslednom produkte, ale môže byť chránenou hydroxy skupinou vo východiskovej zlúčenine a byť konvertovaná do nej ako súčasť procesu,
 R^{12} skupina vo východiskovej zlúčenine je rovnaká ako vo výslednom produkte, alebo je v nej premenená
 20 ako súčasť procesu,
 R^{21} vo výslednom produkte, je ako už bolo uvedené a v prípade, že hydroxy skupina je tvorená z kyano skupiny ako súčasť procesu,
 R^a je, ako už bolo uvedené a je acylovaná ako súčasť procesu pri vzniku konečného produktu, ktorý má acylovanú R^a skupinu.

25 R^5 je vo východiskovej zlúčenine výhodne acetyl alebo iná malá acylová skupina a počas reakcie sa nemení. R^{18} je vo východiskovej zlúčenine výhodne hydroxy skupina a počas reakcie sa nemení. R^{12} je vo východiskovej zlúčenine výhodne $-CH_3$ a počas reakcie sa nemení. R^{21} vo výslednom produkte je, ako už bolo uvedené a hydroxy skupina je tvorená z kyano skupiny ako súčasť procesu. R^a sa nachádza vo výslednom produkte a je definovaný vo vzťahu k zlúčenine všeobecného vzorca (XXIII).

30 Iný dôležitý spôsob predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu:

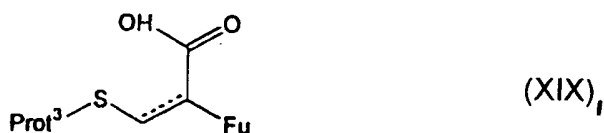


Iný dôležitý spôsob predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu:



Iný dôležitý spôsob predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu, kde R^1 predstavujúcu aminometylén sa mení na hydroxymetylénovú skupinu.

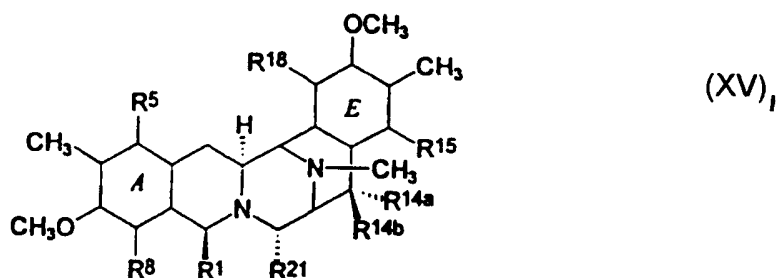
Iná dôležitá metóda predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu, kde zlúčenina, ktorá má skupinu R^1 , predstavujúcu hydroxymetylén reaguje so zlúčeninou podľa všeobecného vzorca (XIX)



5

kde Fu predstavuje chránenú funkčnú skupinu, Prot3 je chrániaca skupina a bodkovaná čiara predstavuje prípadnú dvojitú väzbu.

Iná dôležitá metóda predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu na prípravu 21-kyano zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XVI), ktorá zahŕňa reakciu zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XV)



10

kde R^1 , R^5 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} a R^{18} boli už definované a R^{21} je hydroxy skupina, so zdrojom kyanidového iónu pri vzniku 21-kyano zlúčeniny.

Možné je využiť aj procesy, ktoré využívajú zlúčeniny obsahujúce nukleofil na prípravu podobných zlúčenín podľa všeobecného vzorca (XVI), v ktorých poloha 21 je chránená inou nukleofilnou skupinou (21-Nuc skupinou). Napríklad 21-Nuc zlúčenina podľa všeobecného vzorca (XVI) s alkylamino substituentom v polohe 21 sa pripraví reakciou zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XV), kde R^{21} je hydroxy skupina, s vhodným alkylaminom. 21-Nuc zlúčenina podľa všeobecného vzorca (XVI) so substituentom v polohe 21 sa pripraví reakciou zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XV), kde R^{21} je hydroxy skupina, s vhodným alkanoliolom. Prípadne, 21-Nuc zlúčenina podľa všeobecného vzorca (XVI) s α -karbonylalkylom ako substituentom v polohe 21 sa pripraví reakciou zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (XV), kde R^{21} je hydroxy skupina, s vhodnou karbonylovou zlúčeninou, typicky v prítomnosti zásady. Na prípravu iných 21-Nuc zlúčenín je možné použiť aj alternatívne spôsoby.

15

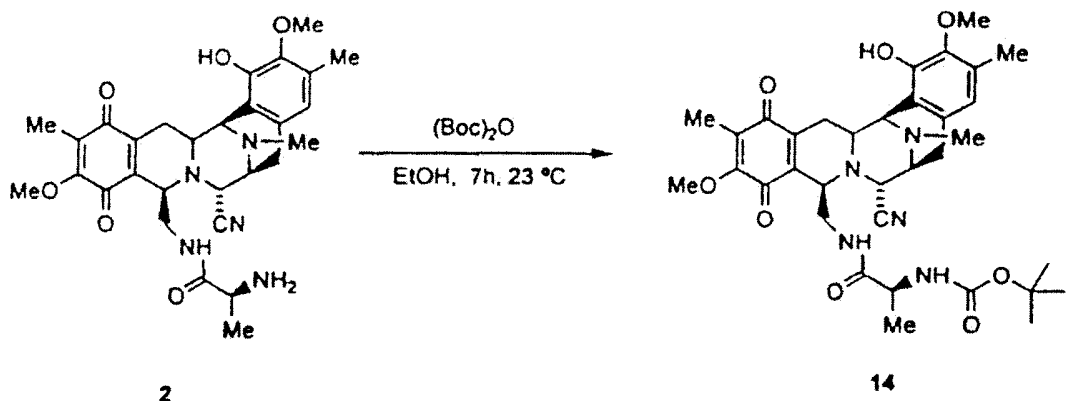
20

Iná dôležitá metóda predkladaného vynálezu zahŕňa reakciu 21-kyano produktu predkladaného vynálezu, v ktorej vzniká 21-hydroxy zlúčenina. Tieto zlúčeniny majú zaujímavé *in vivo* vlastnosti.

25

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1



30

K roztoku **2** (21,53 g, 39,17 mmol) v etanole (200 ml) bol pridaný *tert*-butoxykarbonyl anhydrid (7,7 g, 35,25 mmol) a zmes sa miešala 7 hod. pri teplote 23 °C. Potom bola reakcia koncentrovaná vo vákuu a zvy-

šok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, hexán : etylacetát 6 : 4) pri vzniku **14** (20,6 g, 81 %) vo forme žltej pevnej látky.

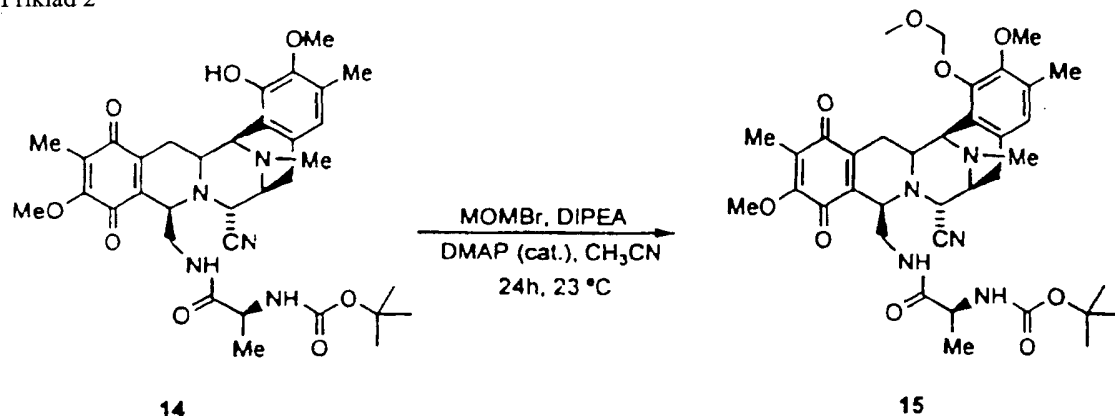
Rf: 0,52 (etyl acetát : CHCl₃ 5 : 2).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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 (br d, *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): δ 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* vyrátané pre C₃₄H₄₃N₅O₈: 649,7. Zistené (M+H)⁺: 650,3

Príklad 2



Za stáleho miešania roztoku **14** (20,6 g, 31,75 mmol v CH₃CN (159 ml) pri 0 °C sa pridal diizopropyletylamin (82,96 ml, 476,2 mmol), metoxymetylénbromid (25,9 ml, 317,5 mmol) a dimethylaminopyridín (155 mg, 1,27 mmol). Zmes sa miešala pri 23 °C 24 hod. Reakcia bola ukončená pri 0 °C pomocou vodného roztoku 0,1 N HCl (750 ml) (pH = 5), a extrahovaná CH₂Cl₂ (2x 400 ml). Organická fáza bola usušená (sulfát sodný) a koncentrovaná vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, gradient hexán : etylacetát 4 : 1 až hexán : etylacetát 3 : 2) pri vzniku **15** (17,6 g, 83 %) vo forme žltej pevnej látky.

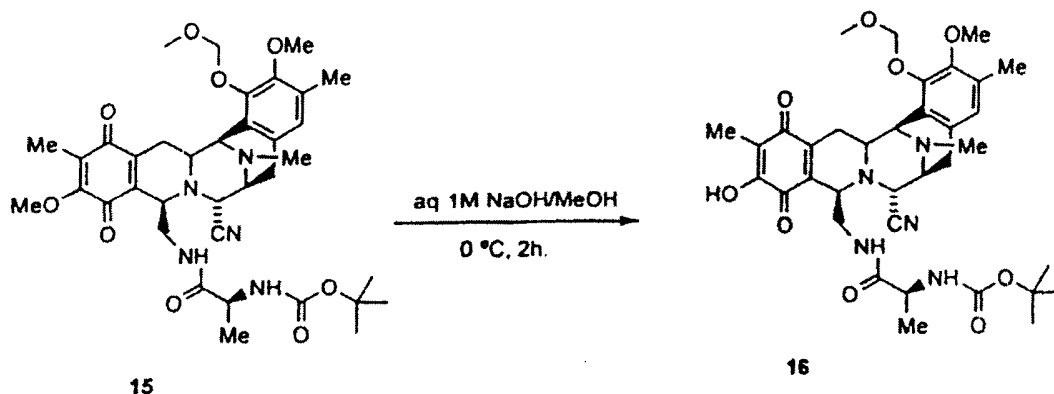
Rf: 0,38 (hexán : etylacetát 3 : 7).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,6,73 (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 až 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 až 1,63 (m, 1H), 1,29 (s, 9H), 0,93 (d, *J* = 5, 1 Hz, 3H)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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*: vyrátané pre C₃₆H₄₇N₅O₉: 693,8. Zistené (M+H)⁺: 694,3

Príklad 3

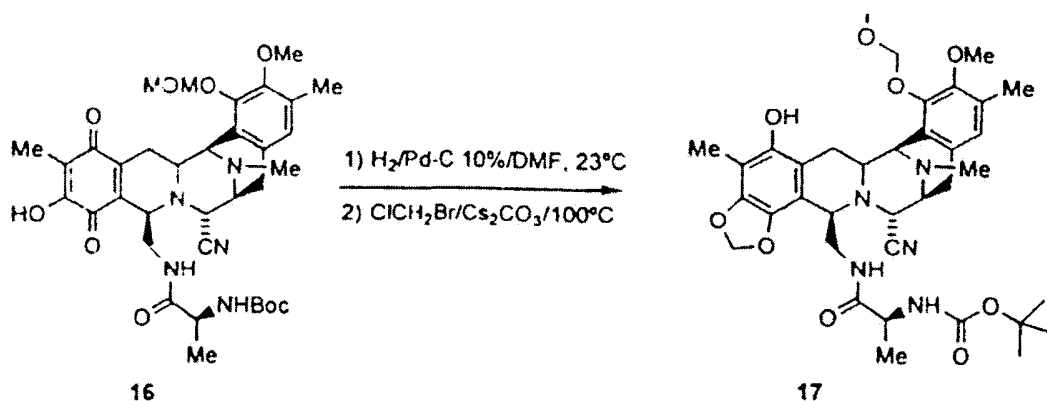


Do nádoby obsahujúcej roztok **15** (8 g, 1,5 mmol) v metanole (1,6 l) bol pri teplote 0 °C pridaný vodný roztok 1 M hydroxidu sodného (3,2 l). Zmes bola 2 hod. miešaná pri teplote 0 °C a potom nastavená 6 M

HCl na pH = 5. Zmes bola extrahovaná etylacetátom (3x1 l) a zmiešané organické vrstvy boli usušené (sulfát sodný) a skoncentrované vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, gradient CHCl₃ k CHCl₃ : etylacetát 2 : 1) pri vzniku **16** (5,3 mg, 68 %).

- 5 Rf: 0,48 (CH₃CN : H₂O 7 : 3, RP-C18)
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,73 (s, 1H), 5,43 (bs, 1H), 5,1 b (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 až 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 až 1,33 (m, 1H), 1,19 (s, 9H), 1,00 (br d, *J* = 6,6 Hz 3H)
- 10 ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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* vyrátané pre C₃₅H₄₅N₅O₉: 679,7. Zistené (M+H)⁺: 680,3

15 Príklad 4

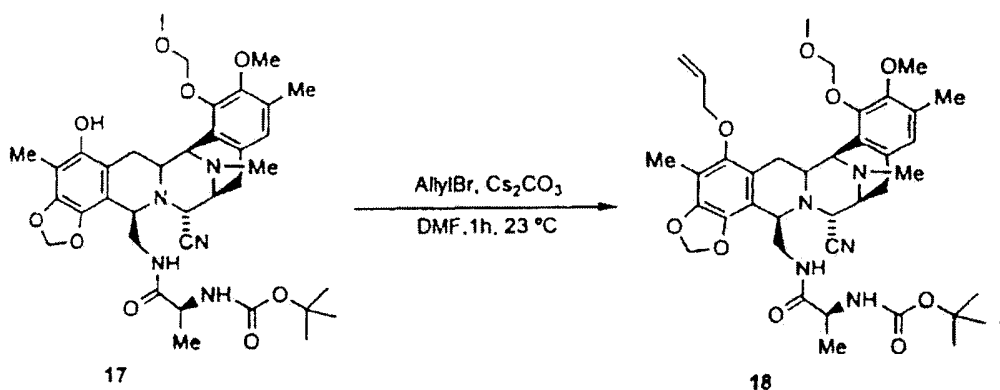


K odplynenému roztoku zlúčeniny **16** (1,8 g, 2,64 mmol) v DMF (221 ml) bolo pridané 10 % Pd/C (360 mg) a roztok sa miešal vo vodíkovej atmosfére (atmosférický tlak) 45 min. Zmes bola prefiltrovaná cez celit v argónovej atmosfére do nádoby obsahujúcej bezvodý Cs₂CO₃ (2,58 g, 7,92 mmol). Potom bol pridaný brómchlórmetán (3,40 ml, 52,8 mmol). Nádoba s reakčnou zmesou bola uzatvorená a zmes bola miešaná pri 100 °C 2 hod. Reakčná zmes bola ochladená, filtrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH₂Cl₂. Organická vrstva bola skoncentrovaná a vysušená (sulfát sodný) pri vzniku **17** vo forme hnedej olejovitej látky, ktorá bola použitá v ďalšom kroku bez akejkoľvek purifikácie.

Rf: 0,36 (hexán : etylacetát 1 : 5, SiO₂).

- 25 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,68 (s, 1 H), 6,05 (bs, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,40 (bs, 1H), 5,31 až 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 až 1,95 (m, 1H), 1,28 (s, 9H), 0,87 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H)
- 30 ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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, 31,6, 29,7, 28,2, 26,3, 25,0, 22,6, 18,2, 15,8, 14,1, 8,8.
- ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₃₆H₄₇N₅O₉: 693,34. Zistené (M+H)⁺: 694,3

Príklad 5



35

Do nádoby obsahujúcej roztok **17** (1,83 g, 2,65 mmol) v DMF (13 ml) bol pridaný Cs_2CO_3 (2,6 g, 7,97 mmol) a alylbromid (1,15 ml, 13,28 mmol) pri teplote 0°C . Výsledná zmes bola miešaná pri 23°C 1 hod. Reakčná zmes bola filtrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 . Organická vrstva bola vysušená a skoncentrovaná (sulfát sodný). Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , CHCl_3 : etylacetát 1 : 4) pri vzniku **18** (1,08 mg, 56 %) vo forme bielej pevnej látky.

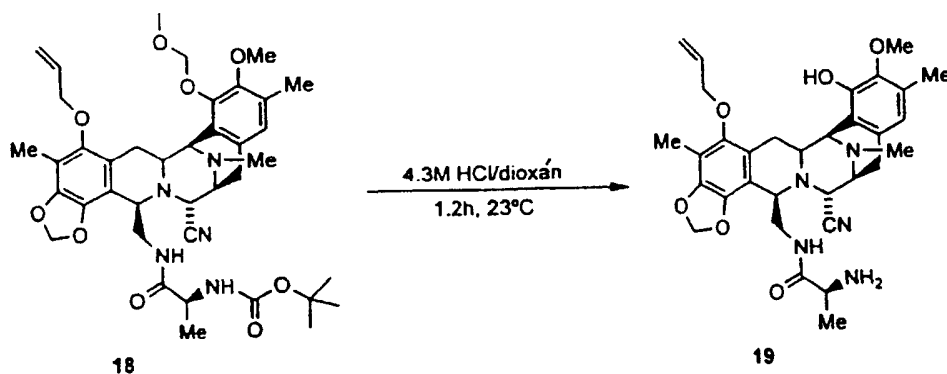
Rf: 0,36 (CHCl_3 : etylacetát: 1 : 3).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,70 (s, 1H), 6,27 - 6,02 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,83 (s, 1H), 5,37 (dd, $J = 1,01$ Hz, $J_2 = 16,8$ Hz, 1H), 5,40 (bs, 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, 2H), 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}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_9$: 733,4. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 734,4

Príklad 6



20

K roztoku **18** (0,1 g, 0,137 mmol) v dioxáne (2 ml) bol pridaný 4,2 M HCl/dioxán (1,46 ml) a zmes bola miešaná pri 23°C 1,2 hod.. Reakcia bola zastavená pri 0°C pomocou nasýteného vodného roztoku bikarbonátu sodného (60 ml) a extrahovaná s etylacetátom (2 x 70 ml). Organické vrstvy boli spojené a vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované *in vacuo* pri vzniku **19** (267 mg, 95 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá

25

bola v ďalších reakciách použitá bez akejkoľvek purifikácie

Rf: 0,17 (etyl acetát : metanol 10 : 1, SiO_2)

30

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,49 (s, 1H), 6,12 - 6,00 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,86 (s, 1H), 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), 3,74 (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)

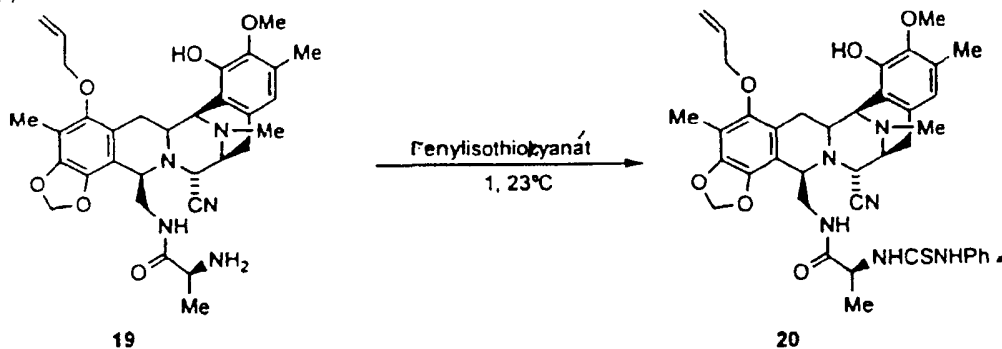
35

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_6$: 589. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 590

35

Príklad 7



K roztoku **19** (250 mg, 0,42 mmol) v CH_2Cl_2 (1,5 ml) bol pridaný fenyliizotiokyanát (0,3 ml, 2,51 mmol) a zmes sa miešala pri 23 °C 1 hod. Reakčná zmes bola skoncentrovaná vo vákuu a zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , gradient hexán až 5 : 1 hexán : etylacetát) pri vzniku zlúčeniny **20** (270 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky.

5

Rf: 0,56 (CHCl_3 : etylacetát 1 : 4).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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), 3,38 (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).

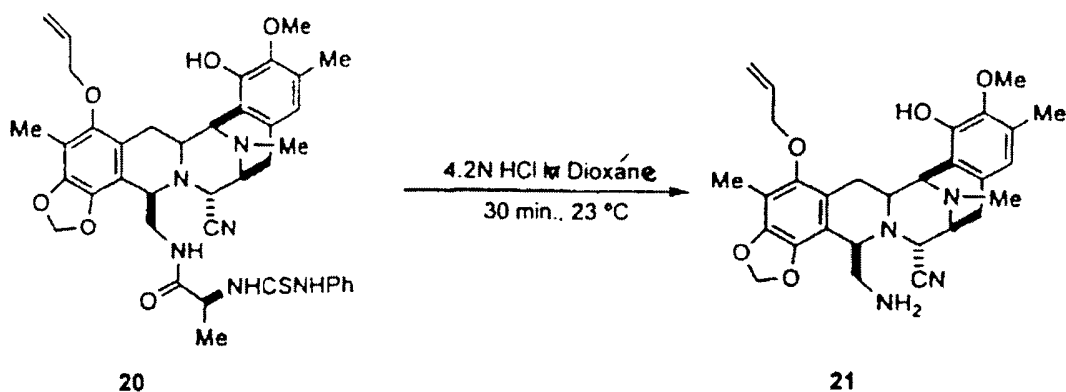
10

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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.

15

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 724,8. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 725,3

Príklad 8



K roztoku **20** (270 mg, 0,37 mmol) v dioxáne (1 ml) bol pridaný 4,2 N $\text{CCl}_4/\text{dioxán}$ (3,5 ml) a reakčná zmes sa miešala pri 23 °C 30 min. Potom sa pridal etylacetát (20 ml) a H_2O (20 ml) a organická vrstva bola centrifugovaná. Vodná fáza bola bazifikovaná pomocou saturovaného vodného roztoku bikarbonátu sodného (60 ml) (pH = 8) pri 0 °C a potom extrahovaná CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). Organické extrakty boli spojené a vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , etylacetát : metanol) pri vzniku zlúčeniny **21** (158 mg, 82 %) vo forme bielej pevnej látky.

20

25

Rf: 0,3 (etylacetát : metanol 1 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,45 (s, 1H), 6,12 - 6,03 (m, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,85 (s, 1H), 5,38 (dd, $J_1 = 1,2$ 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).

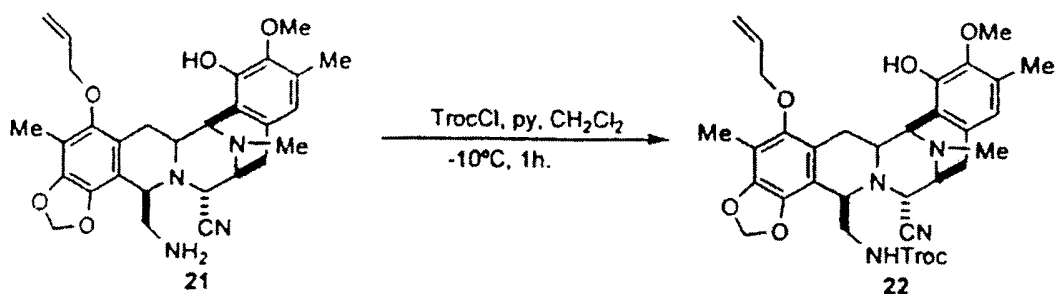
30

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5$: 518,3. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 519,2

35

Príklad 9



K roztoku **21** (0,64 g, 1,22 mmol) v CH_2Cl_2 (6,13 ml) bol pridaný pyridín (0,104 ml, 1,28 mmol) a 2,2,2-trichlóretylchlórformiát (0,177 ml, 1,28 ml) pri teplote -10°C . Reakčná zmes bola miešaná pri tejto teplote 1 hod., a potom bola reakcia zastavená pridaním 0,1 N HCl (10 ml) a extrahovaná CH_2Cl_2 (2x10 ml). Organická vrstva bola vysušená (sulfát sodný) a skoncentrovaná vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku **22** (0,84 g, 98 %) vo forme bielej penovej pevnej látky.

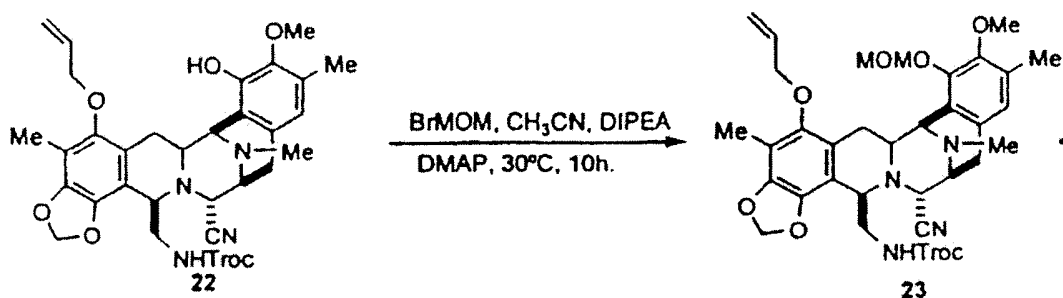
Rf: 0,57 (etyl acetát : metanol 5 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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), 2,31 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,85 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$: 694,17. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 695,2

Príklad 10



K roztoku **22** (0,32 g, 0,46 mmol) v CH_3CN (2,33 ml) bol pridaný diizopropyletylamin (1,62 ml, 9,34 mmol), brómetylmetyléter (0,57 ml, 7,0 mmol) a dimetylaminopyridín (6 mg, 0,046 mmol) pri teplote 0°C . Reakčná zmes bola ohrievaná pri 30°C 10 hod. Potom bola reakčná zmes zriedená dichlorometánom (30 ml) a pridaná do vodného roztoku HCl, pH5 (10 ml). Organická vrstva bola vysušená (sulfát sodný) a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom pri vzniku zvyšku, ktorý bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 2 : 1) pri vzniku **23** (0,304 g, 88 %) vo forme bielej penovej pevnej látky.

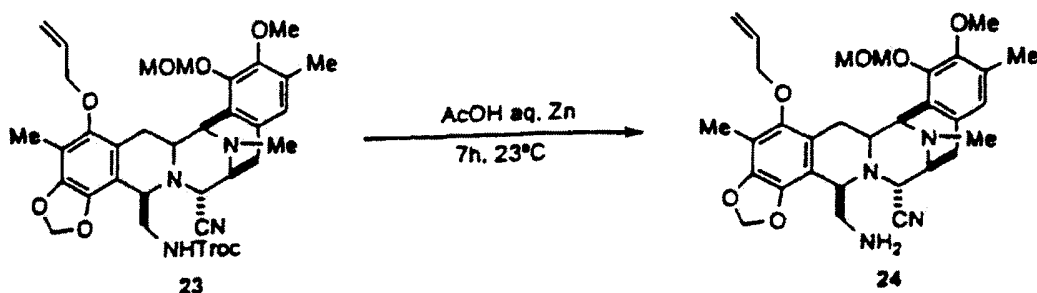
Rf: 0,62 (hexán : etylacetát 1 : 3).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, 2H), 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}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 154,3, 148,6, 148,4, 144,5, 139,0, 133,6, 130,6, 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, 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 vyrátané pre $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_8$: 738,2. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 739,0

Príklad 11



K suspenzii **23** (0,304 g, 0,41 mmol) v 90 % vodnom roztoku kyseliny octovej (4 ml) bol pridaný zinkový prášok (0,2 g, 6,17 mmol) a reakčná zmes bola miešaná pri 23°C 7 hod. Zmes bola filtrovaná cez vrstvu celi-

tu, ktorá bola premytá CH_2Cl_2 . Organická vrstva bola premytá saturovaným vodným roztokom bikarbonátu sodného (pH 9) (15 ml) a vysušená (sulfát sodný). Rozpúšťadlo bolo odparené podtlakom pri vzniku **24** (0,191 g, 83 %) vo forme bielej pevnej látky.

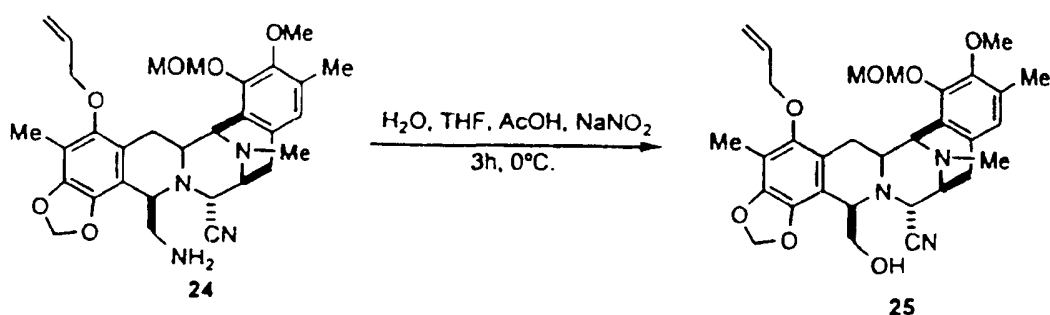
Rf: 0,3 (etylacetát : metanol 5 : 1).

5 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,68 (s, 1 H), 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), 21,7 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H)

10 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6$: 562,66. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 563,1

15 Príklad 12



K roztoku **24** (20 mg, 0,035 mmol) v H_2O (0,7 ml) a THF (0,7 ml) bol pridaný NaNO_2 (12 mg, 0,17 mmol) a 90 % voľný roztok AcOH (0,06 ml) pri teplote 0°C a pri tejto teplote sa reakčná zmes miešala 3 hod. Po zriedení CH_2Cl_2 (5 ml) bola organická vrstva premytá vodou (1 ml), vysušená cez sulfát sodný a skoncentrovaná vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 2 : 1) pri vzniku **25** (9,8 mg, 50 %) vo forme bielej pevnej látky.

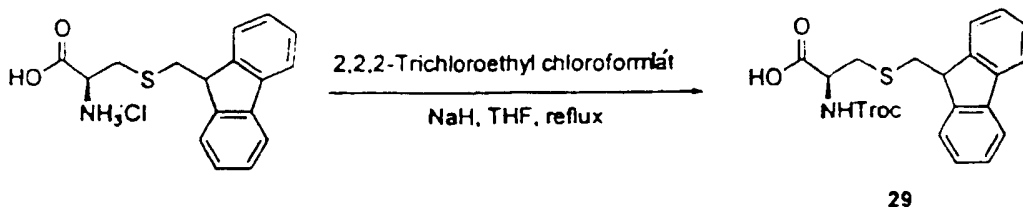
Rf: 0,34 (hexán : etylacetát 1 : 1).

25 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, 2H), 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, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,51 (d, $J = 18,0$ 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)

30 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 148,7, 148,4, 138,9, 133,7, 131,1, 129,4, 125,1, 123,9, 120,7, 117,6, 117,5, 113,2, 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 vyrátané pre $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_7$: 563,64. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 564,1

Príklad 13



35 Východisková zlúčenina (2,0 g, 5,90 mmol) sa pridala k suspenzii hydridu sodného (354 mg, 8,86 mmol) v THF (40 ml) pri teplote 23°C . Potom bol k suspenzii pridaný alychlórformiát (1,135 ml, 8,25 mmol) pri teplote 23°C a táto reakcia prebiehala 3 hod. Suspenzia bola ochladená, odfiltrovaná, pevná látka bola premytá etylacetátom (100 ml) a filtrát bol skoncentrovaný. Olejovitý hrubý produkt sa rozotrel s hexánom (100 ml) a cez noc uložený do 4°C . Potom sa rozpúšťadlo odstredilo a ku svetložltej riedkej hmote sa pridal CH_2Cl_2 (20 ml). Reakčná zmes bola precipitovaná hexánom (100 ml). Po 10 minútach sa rozpúšťadlo opäť odstredilo.

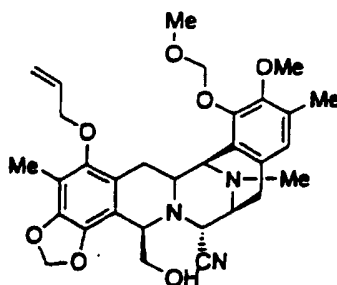
40 Táto procedúra bola opakovaná do tej doby, až sa objavila biela pevná látka. Biela pevná látka bola odfiltrovaná a vysušená pri vzniku zlúčeniny **29** (1,80 g, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J = 6,0$ Hz, $J = 2,7$ Hz, 2H), 3,20 (dd, $J = 5,4$ Hz, $J = 2,1$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{C}_{13}\text{NO}_4\text{S}$: 474,8. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 497,8

Príklad 14



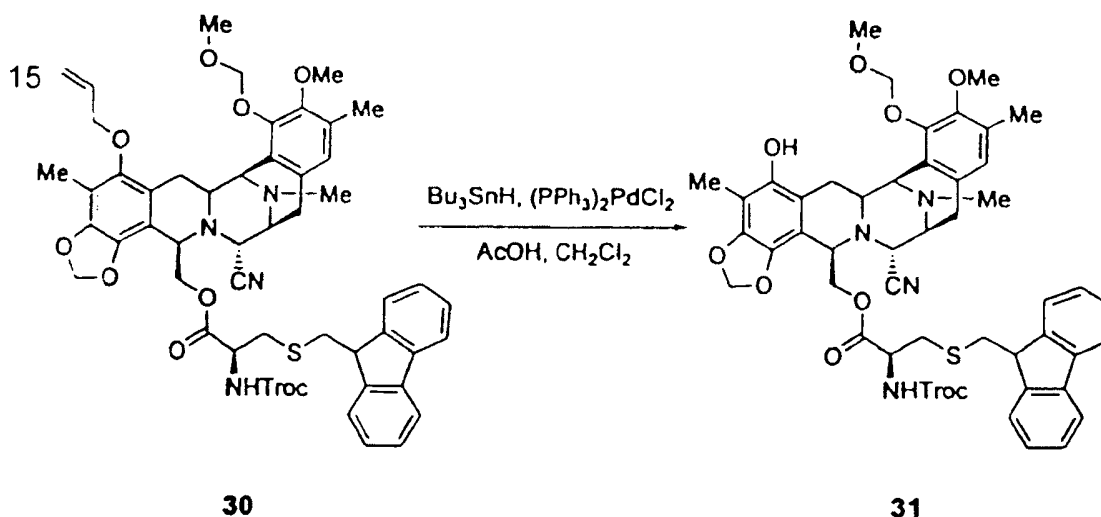
Zmes zlúčeniny **25** (585 mg, 1,03 mmol) a zlúčeniny **29** (1,47 mg, 3,11 mmol) bola azeotropovaná bezvodým toluénom (3x10 ml). K roztoku **25** a **29** v bezvodom CH_2Cl_2 (40 ml) sa pridal DMAP (633 mg, 5,18 mmol) a EDC · HCl (994 mg, 5,18 mmol) pri teplote 23 °C. Reakčná zmes bola miešaná 3 hod. pri 23 °C. Zmes bola rozdelená pomocou nasýteného vodného roztoku bikarbonátu sodného (50 ml) a vrstvy boli oddelené. Vodná fáza bola premytá CH_2Cl_2 (50 ml). Organické fázy boli spojené a vysušené cez sulfát sodný, filtrované a skoncentrované. Hrubý produkt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (etylacetát/hexán 1 : 3) pri vzniku **30** (1,00 g, 95 %) vo forme svetlosmotanovej žltej pevnej látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, 1H), 5,39 (m, 1H), 5,29 (dq, $J = 10,3$ Hz, $J = 1,5$ 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, $J = 16,0$ Hz, $J = 11,9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{51}\text{H}_{53}\text{C}_{13}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 1020,4. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 1021,2

Príklad 15



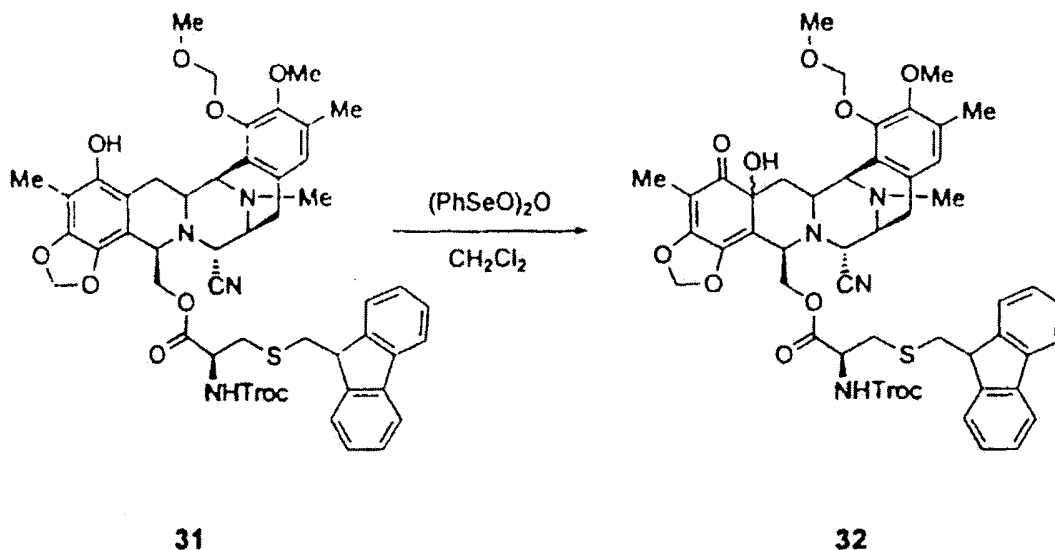
K roztoku **30** (854 mg, 0,82 mmol) sa pri teplote 23 °C pridala kyselina octová (500 mg, 8,28 mmol), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (29 mg, 0,04 mmol) v bezvodom CH_2Cl_2 (20 ml) a po kvapkách Bu_3SnH (650 mg, 2,23 mmol). Reakčná zmes bola miešaná pri tejto teplote 15 min. Reakcia bola zastavená vodou (50 ml) a extrahovaná CH_2Cl_2 (3x50 ml). Spojené organické fázy boli vysušené cez sulfát sodný, filtrované a skoncentrované. Hrubý produkt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (etylacetát/hexán s gradientom od 1 : 5 až po 1 : 3) pri vzniku zlúčeniny **31** (730 mg, 90 %) vo forme svetlosmotanovej žltej pevnej látky.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,7,2 (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 Hz, 1H), 4,75 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,73 (m, 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* = 14,3 Hz, *J* = 4,5 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,83 (m, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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* vyrátané pre C₄₈H₄₉C₁₃N₄O₁₀: 980,3. Zistené (M+H)⁺: 981,2

Príklad 16



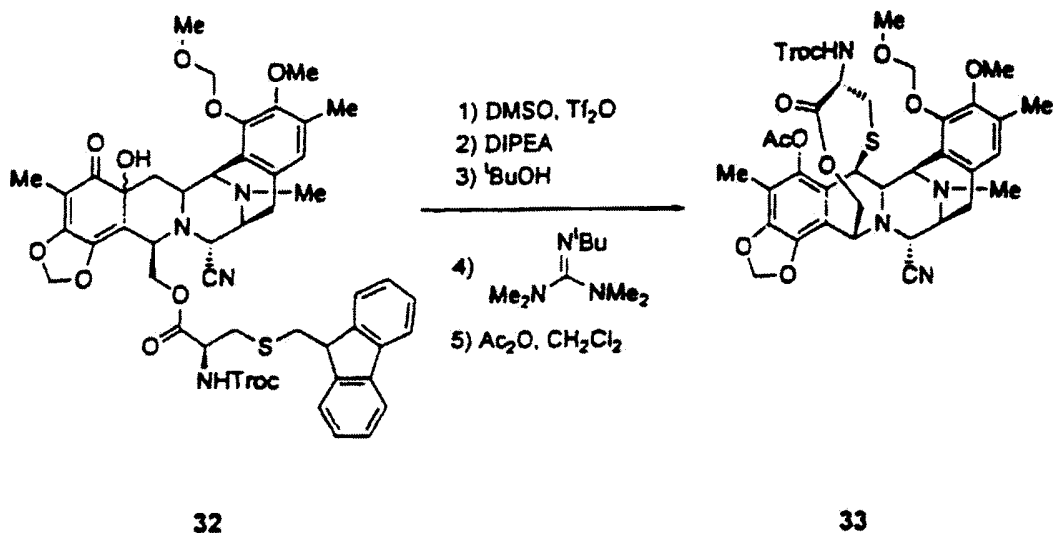
K roztoku **31** (310 mg, 0,32 mmol) v bezvodom CH₂Cl₂ (15 ml) pri teplote -10 °C bol pomocou kanyly pridaný roztok 70 % anhydridu benzénselénu (165 mg, 0,32 mmol) v bezvodom CH₂Cl₂ (7 ml). Teplota reakčnej zmesi bola udržiavaná na -10 °C a miešaná 5 min. Pri tejto teplote sa pridal nasýtený roztok bikarbonátu sodného (30 ml). Vodná fáza bola premytá nadbytkom CH₂Cl₂ (40 ml). Spojené organické vrstvy boli vysušené pomocou sulfátu sodného, filtrované a skoncentrované. Hrubý extrakt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (etylacetát/hexán s gradientom od 1 : 5 až po 2 : 1) pri vzniku zlúčeniny **32** (287 mg, 91 %) vo forme zmesi dvoch izomérov (65 : 35) svetlosmotanovej žltej pevnej látky, ktoré boli použité v nasledujúcom kroku.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (zmes izomérov) 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 (d, *J* = 128 Hz, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,27 (dd, *J* = 12,8 Hz, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,16 - 3,90 (m, 10H), 3,84 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 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).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (zmes izomérov) 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, 126,5, 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* vyrátané pre C₄₈H₄₉C₁₃N₄O₁₁S: 996,3. Zistené (M+H)⁺: 997,2

Príklad 17



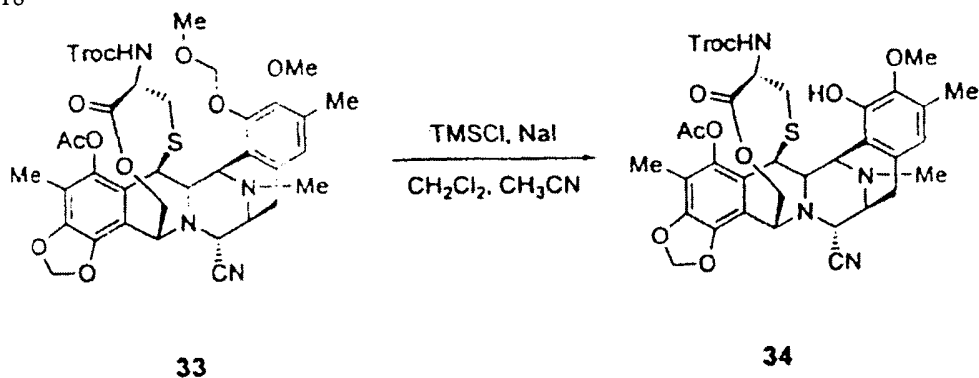
Reakčná nádoba bola dva razy vypálená plameňom, viac ráz na ňu pôsobilo vákuum/argón a uskladnená v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (39,1 ml, 0,55 mmol, 5 ekvivalentov) v bezvodom CH₂Cl₂ (4,5 ml) bol po kvapkách pridaný triflic anhydrid (37,3 ml, 0,22 mmol, 2 ekvivalent), pri teplote -78 °C. Reakčná zmes bola miešaná pri -78 °C 20 min., potom sa kanylou pridal roztok **32** (110 mg, 0,11 mmol, HPLC: 91,3 %) v bezvodom CH₂Cl₂ (1 ml ako hlavný prídavok, 0,5 ml na premývanie), pri -78 °C. Počas pridávania reaktantov bola teplota reakčnej zmesi udržiavaná na -78 °C v obidvoch nádobách a farba zmesi sa zmenila zo žltej na hnedú. Reakčná zmes sa miešala 35 min. pri teplote -40 °C. Farba roztoku sa zmenila zo žltej na tmavozele-
 5 lenú. Potom sa po kvapkách pridal ^{Pr}₂NEt (153 ml, 0,88 ml, 8 ekvivalentov) a teplota reakčnej zmesi bola udržiavaná na 0 °C počas 45 min. a farba roztoku sa zmenila na hnedú. Potom sa po kvapkách pridal *tert*-butanol (41,6 ml, 0,44 mmol, 4 ekvivalenty) a 2-*tert*-butyl-1,1,3,3-tetrametylguanidín (132,8 ml, 0,77 mmol, 7 ekvivalentov). Reakčná zmes sa miešala 40 min. pri teplote 23 °C. Potom sa po kvapkách pridal acetanhydrid (104,3 ml, 1,10 mmol, 10 ekvivalentov) a reakčná zmes sa ďalšiu hodinu udržiavala pri teplote 23 °C. Potom sa reakčná zmes zriedila CH₂Cl₂ (20 ml) a premyla vodným nasýteným roztokom NH₄Cl (50 ml), bikarbonátu sodného (50 ml) a chloridu sodného (50 ml). Spojené organické fázy boli usušené pomocou sulfátu sodného, filtrované a skoncentrované. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (elučné činidlo: etylacetát/hexánový gradient od 1 : 3 až po 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **33** (54 mg, 58 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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, 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).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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, 53,3, 53,1, 40,6, 40,0, 31,0, 22,2, 18,9, 14,4, 8,1.

ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₃₆H₃₉C₁₃N₄O₁₁S: 842,1. Zistené (M+H)⁺: 843,1

Príklad 18

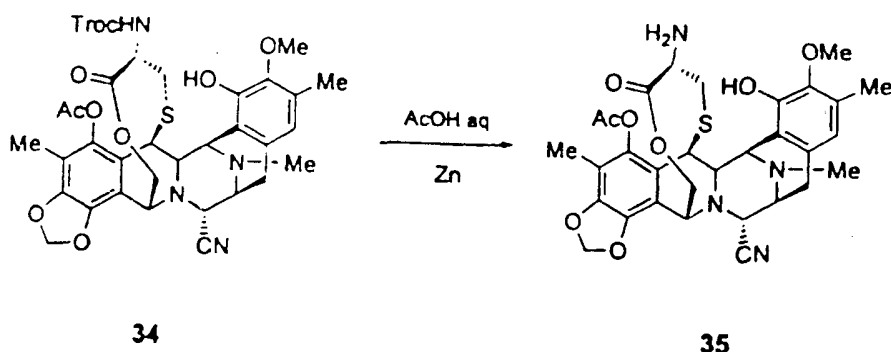


K roztoku **33** (12 mg, 0,014 mmol) v suchom dichlórmetáne (1,2 ml) a HPLC čistom acetonitrile (1,2 ml) sa pridal pri teplote 23 °C jodid sodný (21 mg, 0,14 mmol) a čerstvo destilovaný (cez kalciumhydrid pod atmosférickým tlakom) trimetylsilylchlorid (15,4 mg, 0,14 mmol). Farba reakčnej zmesi sa zmenila na oranžovú. Po 15 min. bol roztok zriedený dichlórmetánom (10 ml) a premytý čerstvým, vodou nasýteným roztokom Na₂S₂O₄ (3x10 ml). Organická fáza bola vysušená pomocou sulfátu sodného, filtrovaná a skoncentrovaná. Získaná bola zlúčenina **34** (13 mg, kvantitatívnych) vo forme svetložltej pevnej látky, ktorá sa ďalej použila bez akejkoľvek purifikácie.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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* vyrátané pre C₃₄H₃₅N₄O₁₀S: 798,1. Zistené (M+H)⁺: 799,1

Príklad 19



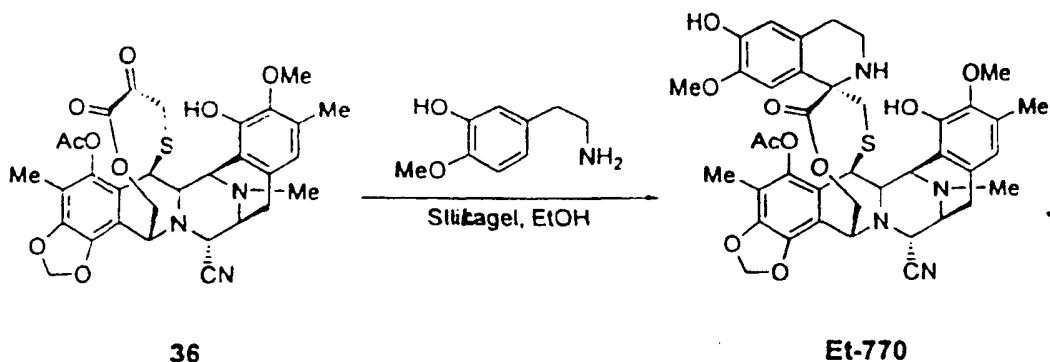
K roztoku **34** (13 mg, 0,016 mmol) v zmesi kyseliny octovej vo vode (90 : 1, 1 ml) bol pridaný zinkový prášok (5,3 mg, 0,081 mmol) pri teplote 23 °C. Reakčná zmes bola ohrievaná 6 hod. na teplotu 70 °C. Potom bola reakčná zmes ochladená na 23 °C, zriedená CH₂Cl₂ (20 ml) a premytá vodným nasýteným roztokom bikarbonátu sodného (15 ml) a vodným roztokom Et₃N (15 ml). Organická fáza bola vysušená pomocou sulfátu sodného, filtrovaná a skoncentrovaná. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (elučné činidlo: etylacetát/hexánový gradient od 0 : 100 až po 50 : 50) pri vzniku zlúčeniny **35** (6,8 mg, 77 % - 2 kroky) vo forme svetložltej pevnej látky.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,51 (s, 1H), 6,03 (dd, *J* = 1,3 Hz, *J* = 26,5 Hz, 2H), 5,75 (bs, 1H), 5,02 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,25 (m, 2H), 4,18 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 4,12 (dd, *J* = 1,9 Hz, *J* = 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): δ 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, 41,3, 41,5, 34,1, 23,6, 20,3, 15,5, 9,4.

ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₃₁H₃₄N₄O₈S: 622,7 Zistené (M+H)⁺: 623,2

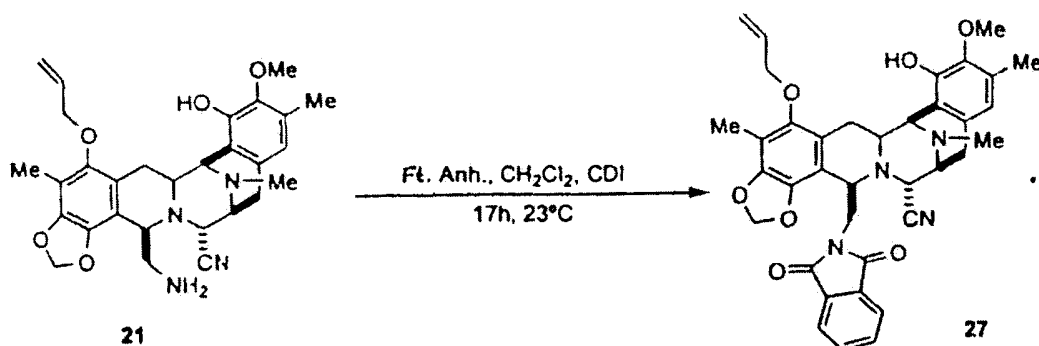
Príklad 20



K roztoku **36** (49 mg, 0,08 mmol) a 2-[3-hydroxy-4-metoxyfenyl]etylaminu (46,2 mg, 0,27 mmol) v etanole (2,5 ml) bol pridaný silikágel (105 mg) pri teplote 23 °C. Reakčná zmes bola miešaná 14 hod. pri teplote 23 °C. Reakčná zmes bola zriedená hexánom a naliata do chromatografickej kolóny (etylacetát/hexán od 1 : 3 až do 1 : 1) pri vzniku **Et-770** (55 mg, 90 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

- 5 ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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).
- 10 ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₄₀H₄₂N₄O₁₀S: 770,7. Zistené (M+H)⁺: 771,2

Príklad 22



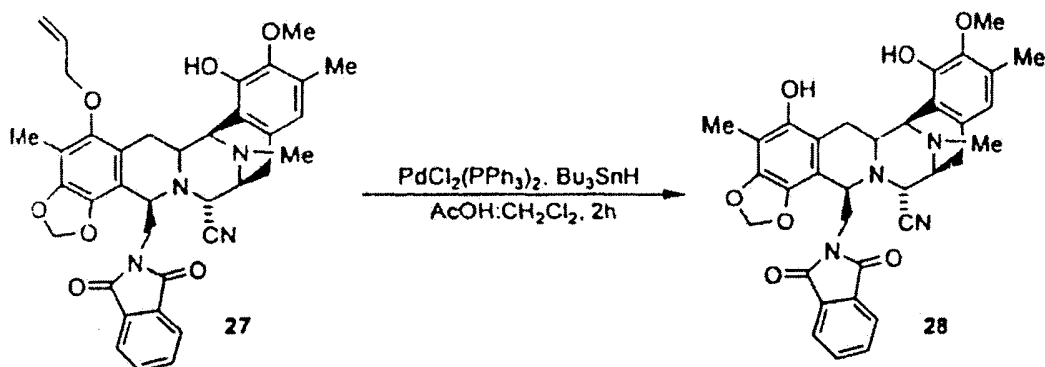
- 15 K roztoku **21** (22 mg, 0,042 mmol) v CH₂Cl₂ (0,8 ml) bol pridaný ftalát anhydrid (6,44 mg, 0,042 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 2 hod. pri 23 °C. Potom bol pridaný karbonyldiimidazol (1 mg, 0,006 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 7 hod. pri teplote 23 °C. Potom bol pridaný karbonyldiimidazol (5,86 mg, 0,035 mmol) a reakčná zmes bola miešaná ďalších 17 hod. pri teplote 23 °C. Roztok bol zriedený CH₂Cl₂ (15 ml) a premytý 0,1 N HCl (15 ml). Organická fáza bola vysušená pomocou sulfátu sodného, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, hexán :
- 20 : etylacetát 2 : 1) pri vzniku **27** (26,4 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,58 (etylacetát).

- ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 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, 1 H), 5,12 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 4,22 - 4,15 (m, 3H), 4,08 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 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, 1 H), 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 = 11,4 Hz, *J*₂ = 15 Hz, 1 H);
- 25 ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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.

- 30 ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₃₇H₃₅N₄O₇: 648,79. Zistené (M+H)⁺: 649,3

Príklad 23



- 35 K roztoku **27** (26 mg, 0,041 mmol) v CH₂Cl₂ (11 ml) bola pridaná kyselina octová (11 ml), (PPh₃)PdCl₂ (2,36 mg) a Bu₃SnH (28 ml, 0,10 mmol) pri teplote 23 °C. Po dvojhodinovom miešaní pri tejto teplote sa re-

akčná zmes naliala do separačnej kolóny (SiO₂, gradient hexán : etylacetát 2 : 1) pri vzniku **28** (24,7 mg, 99 %) vo forme bielej pevnej látky.

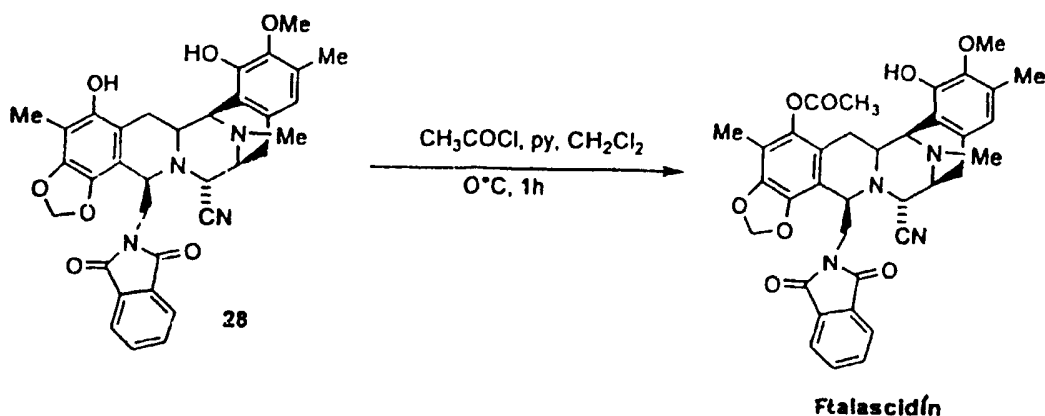
Rf: 0,33 (hexán : etylacetát. 2 : 1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,75 - 7,70 (m, 2H), 7,69 - 7,65 (m, 2H), 6,39 (s, 1H), 5,82 (bs, 1H), 5,50 (á, *J* = 1,5 Hz, 1H), 5,0 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 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);

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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* vyrátané pre C₃₄H₃₂N₄O₇: 608,6. Zistené (M+H)⁺: 609,2

Príklad 24



K roztoku **28** (375 mg, 0,058 mmol) v CH₂Cl₂ (3 ml) bol pridaný acetylchlorid (41,58 ml, 0,58 mmol) a pyridín (47,3 ml, 0,58 mmol) pri teplote 0 °C. Reakčná zmes sa miešala 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH₂Cl₂ (15 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (15 ml). Organická fáza bola vysušená pomocou sulfátu sodného, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (RP-18, CH₃CN : H₂O 60 : 40) pri vzniku ftalascidínu (354 mg, 94 %) vo forme bielej pevnej látky.

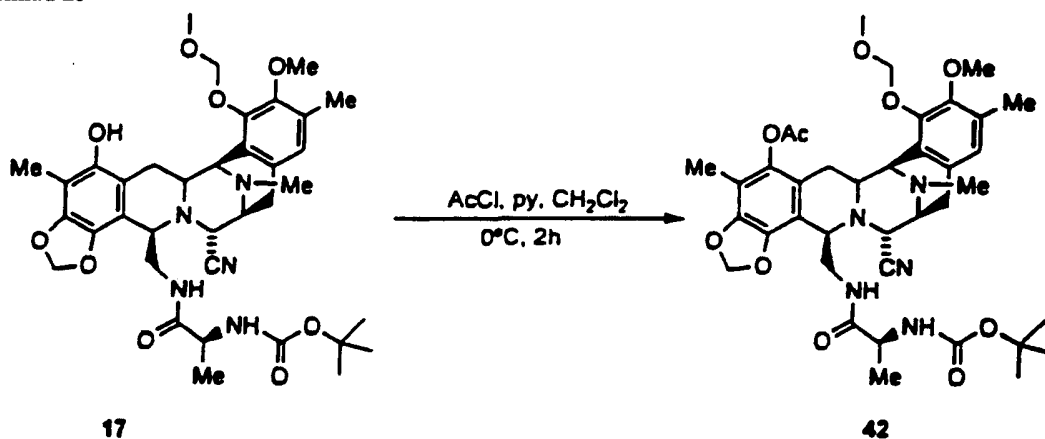
Rf: 0,37 (CH₃CN : H₂O 7 : 3, RP-18).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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* = 1,2 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, *J*₁ = 8,1 Hz, *J*₂ = 18 Hz, 1 H), 2,76 (dd, *J*₁ = 1,8 Hz, *J*₂ = 15,6 Hz, 1 H), 2,63 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 2,29 (s, 3 H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,73 (dd, *J*₁ = 12,0 Hz, *J*₂ = 15,3 Hz, 1 H)

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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* vyrátané pre C₃₆H₃₄N₄O₈: 650. Zistené (M+H)⁺: 651,2

Príklad 25



K roztoku **17** (300 mg, 0,432 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) bol pri teplote 0°C pridaný acetylchlorid (30,7 ml, 0,432 mmol) a pyridín (34,9 ml, 0,432 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 2 hod. pri teplote 0°C a potom sa roztok zriedil pomocou CH_2Cl_2 (15 ml) a prepláchol 0,1 N HCl (15 ml). Organická vrstva bola vysušená cez vrstvu sulfátu sodného, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom pri vzniku zlúčeniny **42** (318 mg, 100 %) v podobe bielej pevnej látky, ktorá bola použitá v nasledujúcich reakciách bez ďalšej purifikácie.

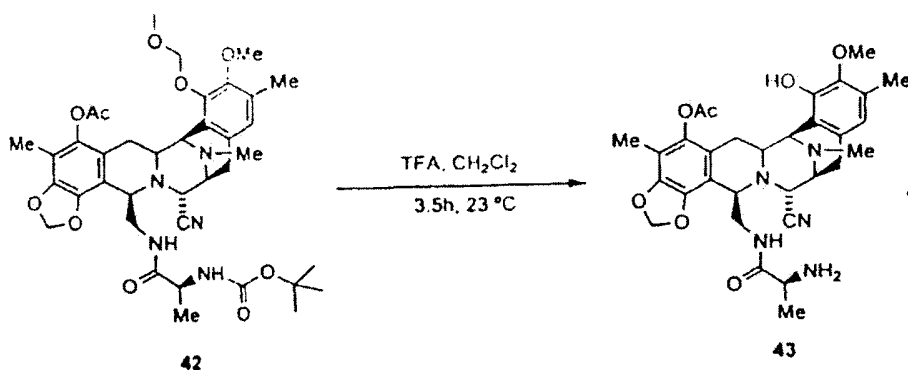
Rf: 0,5 (etylacetát : metanol 5 : 1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 1,33 (s, 9H), 0,59 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{10}$: 735,82. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 736,3

Príklad 26



K roztoku **42** (318 mg, 0,432 mmol) v CH_2Cl_2 (2,16 ml) bola pridaná trifluoroctová kyselina (1,33 ml, 17,30 mmol) a reakčná zmes bola miešaná pri teplote 23°C 3,5-hod. Reakcia bola zastavená pri teplote 0°C pomocou nasýteného vodného roztoku bikarbonátu sodného (60 ml) a extrahovaná CH_2Cl_2 (2x 70 ml). Spojené organické vrstvy boli vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , etylacetát : metanol 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (**43**) (154 mg, 60 %) v podobe bielej pevnej látky.

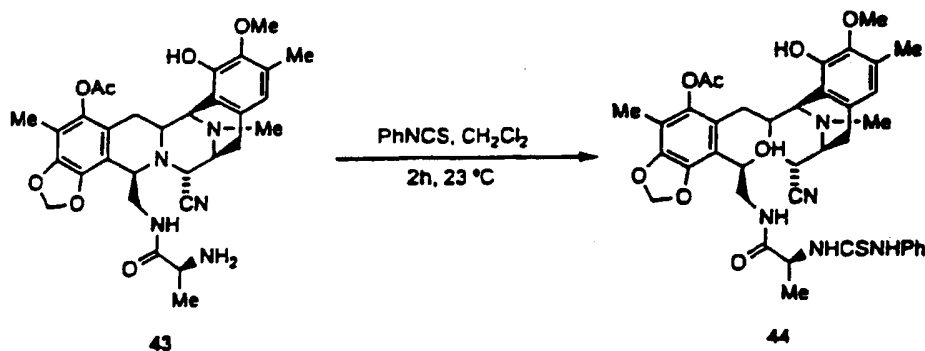
Rf: 0,22 (etylacetát : metanol 5 : 1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 6,47 (s, 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, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ 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, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 0,90 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$: 591,65. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 592,3

Príklad 27



K roztoku **43** (154 mg, 0,26 mmol) v CH_2Cl_2 (1,3 ml) bol pridaný fenyliizotiokyanát (186 ml, 1,56 mmol) a reakčná zmes bola pri teplote 23°C miešaná 2 hod. Reakčná zmes bola skoncentrovaná vo vákuu a zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , gradient hexán až po hexán : etylacetát 1 : 1) pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (**44**) (120 mg, 63 %) v tvare bielej pevnej látky.

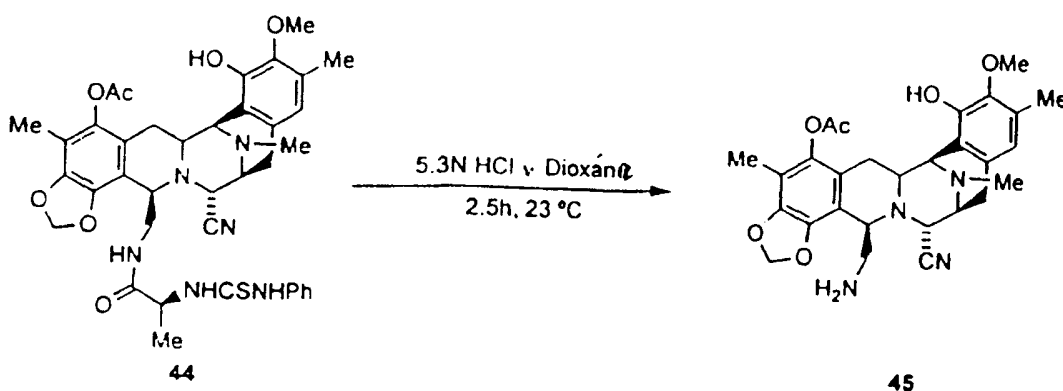
Rf: 0,41 (etylacetát : metanol 5 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 0,62 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 8 178,5, 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.

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$: 726,3. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 727,3

Príklad 28



K roztoku **44** (120 mg, 0,165 mmol) v dioxáne (0,9 ml) sa pridal 5,3 N HCl/dioxán (1,8 ml) a reakčná zmes bola pri teplote 23°C miešaná 2,5-hod. Potom sa k reakčnej zmesi pridal CH_2Cl_2 (10 ml) a H_2O (5 ml) a organická fáza bola odstredená. Vodná fáza bola alkalizovaná pomocou roztoku saturovaného bikarbonátu sodného (20 ml) (pH 8) pri teplote 0°C a potom extrahovaná pomocou CH_2Cl_2 (2x15 ml). Spojené organické extrakty boli vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované vo vákuu pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (**45**) (75 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá bola použitá v nasledujúcich reakciách bez ďalšej purifikácie.

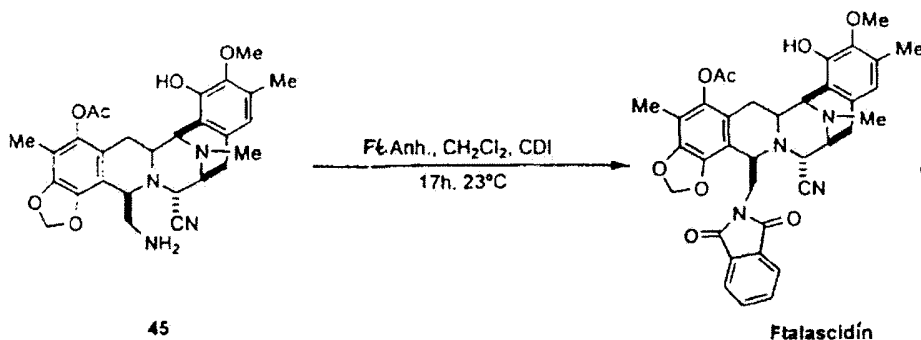
Rf: 0,23 (etylacetát : metanol 5 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 8,1$ 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, $J_1 = 12,6$ Hz, $J_2 = 16,2$ Hz, 1H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6$: 520,58. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 521,3

Príklad 29



K roztoku **45** (10 mg, 0,02 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) bol pridaný ftalát anhydrid (2,84 mg, 0,02 mmol) a reakčná zmes bola pri teplote 23 °C miešaná 2 hod. Potom sa pridal karbonylimidazol (0,5 mg, 0,003 mmol) a reakčná zmes bola pri teplote 23 °C miešaná 7 hod. Potom sa pridal karbonylimidazol (2,61 mg, 0,016 mmol) a reakčná zmes bola pri teplote 23 °C miešaná ďalších 7 hod. Roztok bol zriedený pomocou CH_2Cl_2 (10 ml) a premytý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená pomocou sulfátu sodného, filtrovaná a rozpúšťadlo sa odstránilo podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ 60 : 40) pri vzniku ftalacidínu (11,7 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

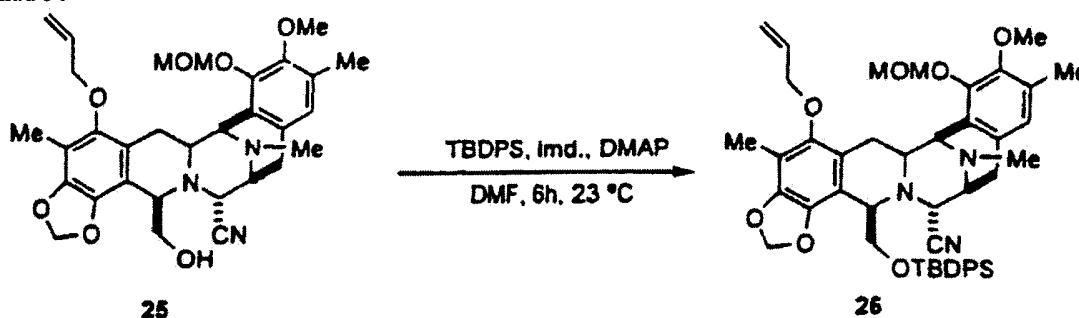
Rf: 0,37 ($\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ 7 : 3, RP-18).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, 2 h), 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, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,76 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 15,6$ 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, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz, 1H);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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, 64,0, 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 vyrátané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8$: 650. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 651,2

Príklad 30



K roztoku **25** (18 mg, 0,032 mmol) v DMF (0,05 ml) sa pri teplote 0 °C pridal DMAP (0,5 mg, 0,004 mmol), imidazol (5 mg, 0,08 mmol) a *tert*-butyldifenylsilyl-chlorid (12,5 ml, 0,048 mmol) a reakčná zmes bola pri teplote 23 °C miešaná 6 hod. Pri teplote 0 °C sa pridala voda (10 ml) a vodná fáza sa extrahovala pomocou hexán : etylacetát 1 : 10 (2x10 ml). Organická vrstva bola vysušená (sulfát sodný), filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené vo vákuu. Hrubý extrakt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 3 : 1) pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (**26**) (27 mg, 88 %) vo forme bielej pevnej látky.

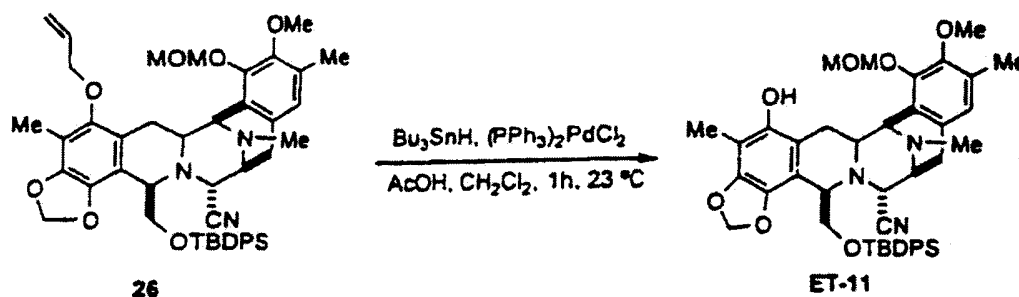
Rf: 0,29 (hexán : etylacetát 3 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 - 7,58 (m, 2 h), 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), 5,44 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 17,1$ Hz, 1H), 5,27 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 10,2$ 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, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,42 - 3,21 (m, 4H), 3,10 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 17,7$ 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);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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, 15,8, 9,2.

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{47}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}$: 801,3. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 802,3

40 Príklad 31



K roztoku **26** (7 mg, 0,0087 mmol) v CH_2Cl_2 (0,15 ml) bola pri teplote 23 °C pridaná kyselina octová (2,5 ml, 0,044 mmol), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (0,5 mg, $6,96 \times 10^{-4}$ mmol) a Bu_3SnH (3,5 ml, 0,013 mmol). Pri tejto teplote sa reakčná zmes miešala 1 hod. Roztok bol zriedený zmesou hexán : etylacetát 5 : 1 (0,5 ml) a naliaty na stĺpec separačnej kolóny (SiO_2 , gradient 5 : 1 až po 1 : 1 hexán : etylacetát) pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca **ET-11** (5 mg, 75 %) vo forme bielej pevnej látky.

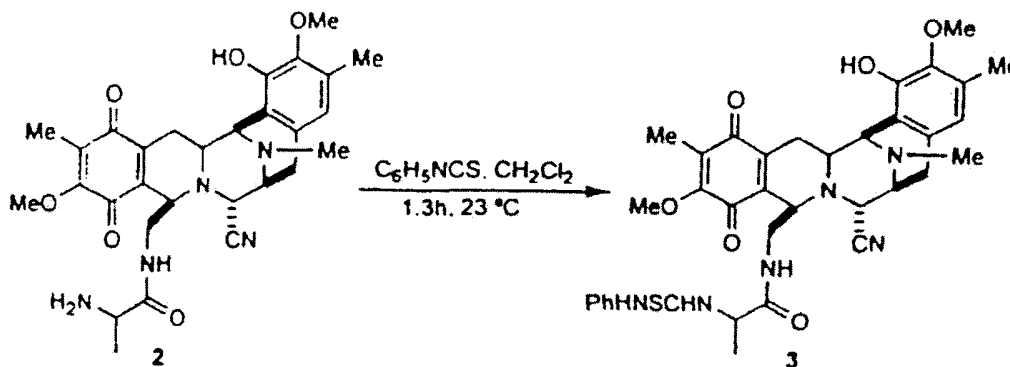
Rf: 0,36 (hexán : etylacetát 1 : 5, silica).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7,56 (m, 2 h), 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, 11H), 3,72 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,68 (dd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, 1H), 3,38 až 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): δ 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, 58,8, 57,7, 56,9, 56,5, 55,4, 41,7, 26,6, 26,2, 25,5, 18,9, 15,8, 14,2, 8,7.

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

Príklad 32



Roztok, zložený z roztoku **2** (3,0 g, 5,46 mmol) a fenylyzotiokyanátu (3,92 ml, 32,76 mmol) v CH_2Cl_2 (27 ml) sa pri teplote 23 °C miešal 1,5-hod. Reakčná zmes bola rozdelená medzi CH_2Cl_2 (10 ml) a H_2O (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a skoncentrovaná. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , gradient hexán až hexán : etylacetát 2 : 3) pri vzniku zlúčeniny podľa všeobecného vzorca (**3**) (3,29 g, 99 %) vo forme žltej pevnej látky.

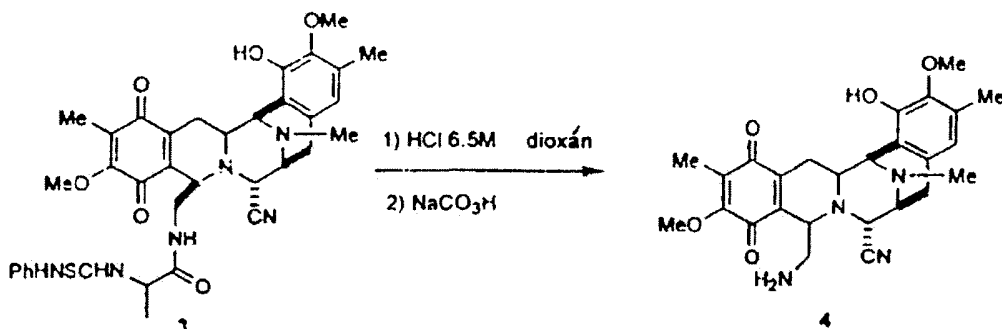
Rf: 0,27 (ACN : H_2O 3 : 2, RP-C18);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 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, 2h), 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): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 684,8. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 685,2

Príklad 33



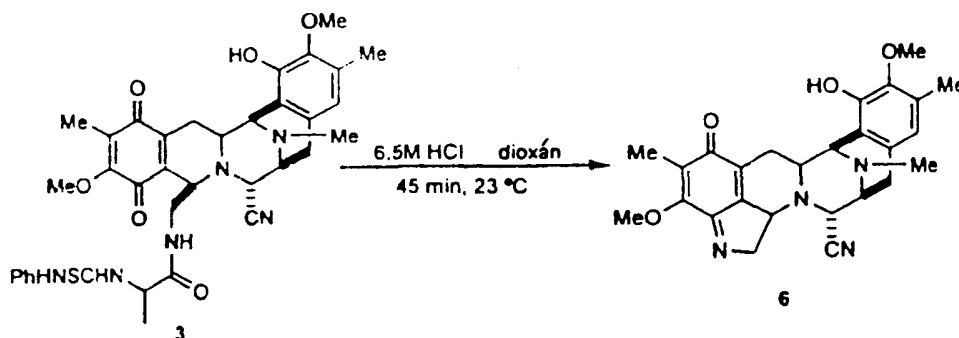
Roztok **3** (0,143 g, 0,208 mmol) v 6,5 M roztoku HCl/dioxán (150 ml) sa pri teplote 23 °C miešal 6 hod. Potom sa k reakčnej zmesi pridal toluén (3 ml) a organická vrstva bola odstredená. Zvyšok bol rozdelený

medzi nasýtený roztok bikarbonátu sodného (3 ml) a CHCl_3 (3x3 ml). Organické vrstvy boli vysušené a skoncentrované pri vzniku zlúčeniny ako zmesi zlúčenín 4 a 6 (4 : 6 90 : 10), ktorá pomaly stáťm cyklizuje na zlúčeninu 6.

Rf: 0,4 (etylacetát : metanol 5 : 1, silica);

- 5 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5$: 478,5. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 479,2

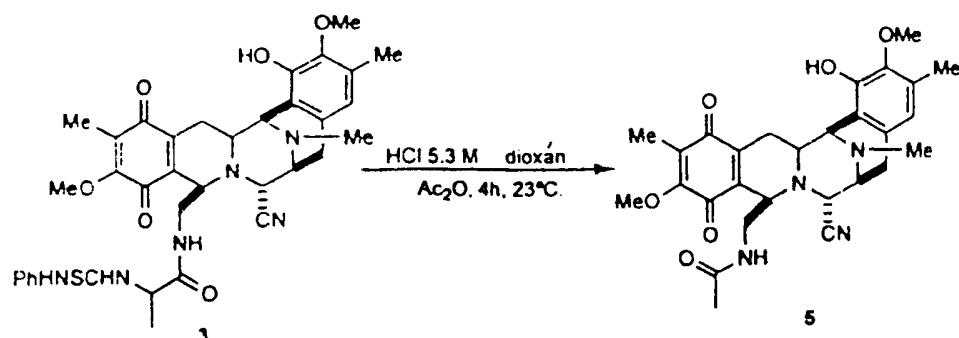
10 Príklad 34



Roztok 3 (0,143 g, 0,208 mmol) v 6,5 M HCl v dioxáne (150 ml) sa pri teplote 23 °C miešal 1 hod. Odparením rozpúšťadla vznikol zvyšok, ktorý bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (etylacetát : metanol : trietylamin 100 : 25 : 0,1) pri vzniku zlúčeniny 6 (80 mg, 83 %) vo forme žltej pevnej látky.

- 15 Rf: 0,26 ($\text{ACN} : \text{H}_2\text{O}$ 3 : 2, RP-C18);
 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 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);
 $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 186,2, 162,1, 154,9, 146,9, 145,3, 143,0, 130,1, 129,4, 128,1, 125,0, 121,4,
20 116,4, 116,2, 66,6, 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 vyrátané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$: 460,5. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 461,1

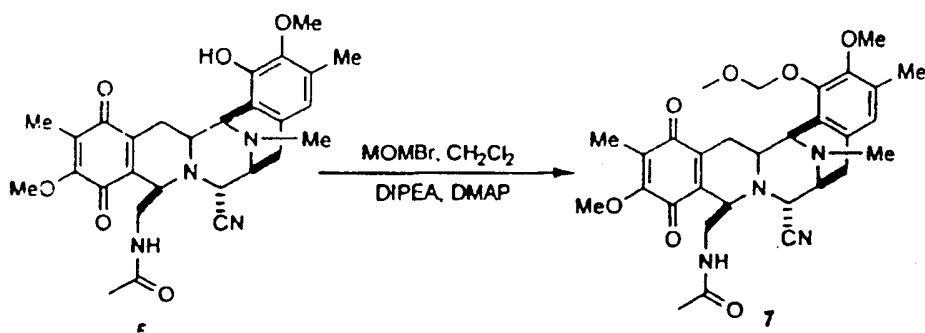
Príklad 35



- 25 K roztoku 3 (2,38 g, 3,47 mmol) v dioxáne (5 ml) sa pridal 5,3 M HCl v dioxáne (34 ml) a reakčná zmes sa miešala pri teplote 23 °C 45 min. Potom sa pridal Ac_2O (51 ml, 539,5 mmol) a reakčná zmes sa miešala 4 hod. Reakčná zmes bola ochladená na 0 °C a pri tejto teplote rozdelená medzi vodný nasýtený roztok Na_2CO_3 (300 ml) a etyl acetát (300 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a skoncentrovaná. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , gradient CH_2Cl_2 až CH_2Cl_2 : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny 5 (1,75 g, 97 %) vo forme žltej pevnej látky.
30 Rf: 0,53 ($\text{ACN} : \text{H}_2\text{O}$ 3 : 2, RP-C18);
 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 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);
35 $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $C_{28}H_{32}N_4O_6$: 520,6. Zistené $(M+H)^+$: 521,1

Príklad 36



5 K roztoku **5** (1,75 g, 3,36 mmol) v CH_2Cl_2 (17 ml) sa pri teplote $0\text{ }^\circ C$ pridal diizopropyletylamín (11,71 ml, 67,23 mmol), DMAP (20 mg, 0,17 mmol) a bromometylmetyléter (4,11 ml, 50,42 mmol). Po 6 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ C$ bola reakčná zmes rozdelená medzi CH_2Cl_2 (50 ml) a nasýtený vodný roztok bikarbonátu sodného (25 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný a rozpúšťadlo bolo odstránené vo vákuu. Hrubý extrakt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (RP-18, $CH_3CN : H_2O$ 1 : 1) pri vzniku zlúčeniny **7** (1,32 g, 70 %) vo forme žltej pevnej látky.

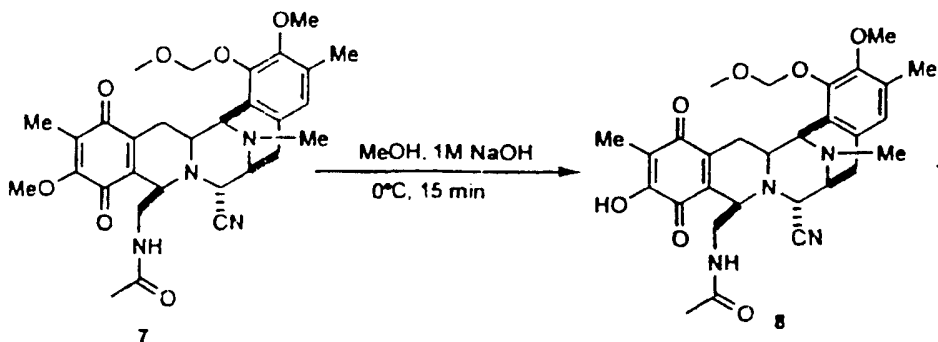
Rf: 0,34 ($ACN : H_2O$ 2 : 3, RP-C 18);

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 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);

15 ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 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, 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 vyrátané pre $C_{30}H_{36}N_4O_7$: 564,6. Zistené $(M+H)^+$: 565,3

20 Príklad 37



K roztoku **7** (0,37 g, 0,65 mmol) v metanole (74 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ C$ pridaný 1M hydroxid sodný (130 ml). Reakčná zmes bola miešaná 15 min. a potom bola nastavená pri teplote $0\text{ }^\circ C$ pomocou 6M HCl na pH 5. Reakčná zmes bola extrahovaná etylacetátom (3 x 50 ml) a spojené organické vrstvy boli vysušené pomocou sulfátu sodného a skoncentrované vo vákuu. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (RP-18, $CH_3CN : H_2O$ 1 : 11) pri vzniku zlúčeniny **8** (232 mg, 65 %) vo forme žltej olejovitej látky.

Rf: 0,5 ($ACN : H_2O$ 3 : 2, RP-C18);

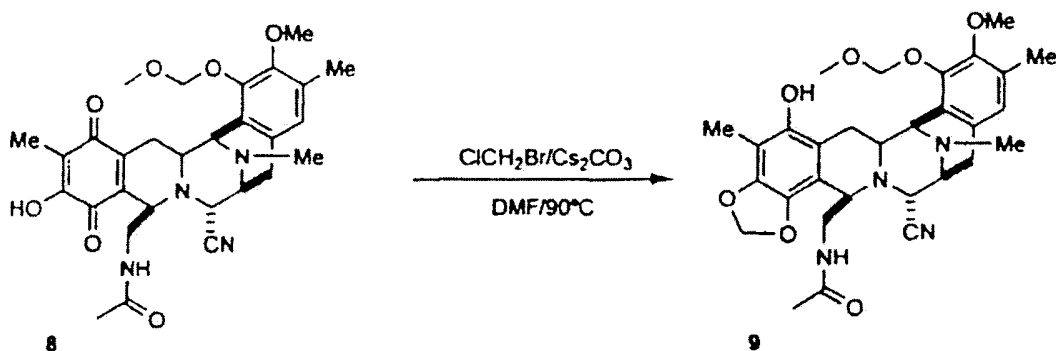
25 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,75 (s, 1H), 5,15 (s, 2 h), 4,86 (m, 1H), 4,26 (d, 1H), 4,01 (d, 1H), 3,88 až 3,81 (m, 2h), 3,70 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,39 (m, 1H), 3,27 - 3,21 (m, 1H), 3,18 - 3,08 (m, 2h), 3,03 - 2,97 (m, 1H), 2,47 (d, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,57 - 1,46 (m, 2h), 1,33 (s, 3H);

30 ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 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 vyrátané pre $C_{29}H_{34}N_4O_7$: 550,6. Zistené $(M+H)^+$: 551,2

35

Príklad 38



K odplynenému roztoku zlúčeniny **8** (240 mg, 0,435 mmol) v DMF (30 ml) bol pridaný 10 % Pd/C (48 mg) a reakčná zmes bola miešaná vo vodíkovej atmosfére (atmosférický tlak) 1 hod. Reakčná zmes bola filtrovaná cez vrstvu celitu pod argónom do Schlenkovej skúmavky ako bezfarebný roztok, obsahujúci bezvodý Cs₂CO₃ (240 mg, 0,739 mmol). Potom bol pridaný bromochlorometán (0,566 ml, 8,71 mmol). Skúmavka bola uzatvorená a reakčná zmes bola miešaná 3 hod. pri teplote 90 °C. Reakčná zmes bola ochladená a filtrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH₂Cl₂. Organická vrstva bola skoncentrovaná a vysušená (sulfát sodný) pri vzniku zlúčeniny **9** vo forme hnejdej olejovitej látky, ktorá bola použitá v nasledujúcom kroku bez ďalšej purifikácie.

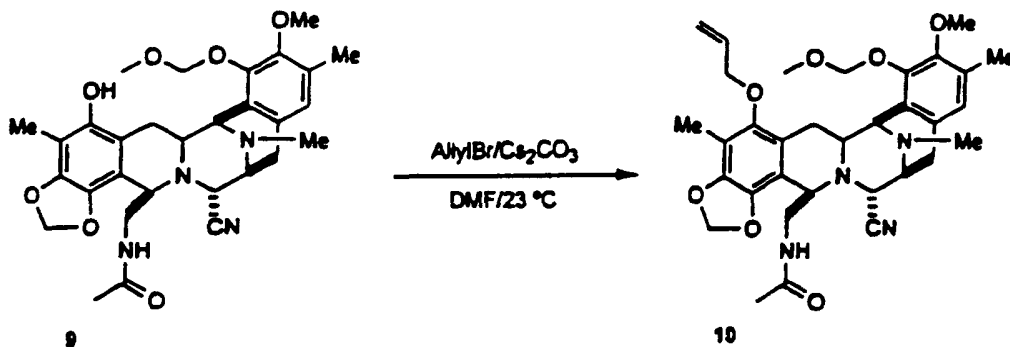
Rf: 0,36 (SiO₂, hexán : etylacetát 1 : 5)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,71 (s, 3H), 5,89 (d, 1H), 5,81 (d, 1H), 5,63 (bs, 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, 2h), 2,62 (d, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,72 (m, 1H), 1,36 (s, 3H);

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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, 22,5, 15,6, 8,8.

ESI-MS m/z vyrátané pre C₃₀H₃₆SiN₄O₇: 564,6. Zistené (M+H)⁺: 565,3

20 Príklad 39



Do nádoby obsahujúcej zlúčeninu **9** (245 mg, 0,435 mmol) v DMF (4 ml) bol pri teplote 0 °C pridaný cézium karbonát (425 ml, 1,30 mmol) a allylbromid (376 ml, 4,35 mmol) a zmes bola miešaná 1 hod. pri 23 °C. Reakčná zmes bola filtrovaná cez vrstvu celitu a rozdelená medzi CH₂Cl₂ (25 ml) a H₂O (10 ml). Organická fáza bola usušená (sulfát sodný) a skoncentrovaná podtlakom pri vzniku zvyšku, ktorý bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, CHCl₃ : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **10** (113 mg, 43 %) vo forme žltej olejovitej látky.

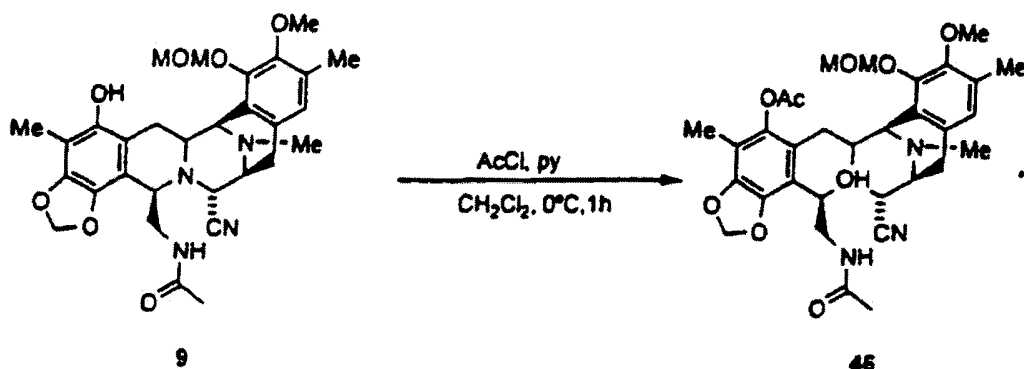
Rf: 0,36 (hexán : etylacetát 1 : 5)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,74 (s, 1H), 6,3 - 6,0 (m, 1H), 5,94 (d, 1H), 5,87 (d, 1H), 5,43 - 5,36 (m, 2h), 5,22 (s, 2h), 5,00 (m, 1H), 4,22 (m, 1H), 4,17 - 4,01 (m, 1H), 3,98 (m, 2h), 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)

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 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 vyrátané pre C₃₃H₄₀N₄O₇: 604,7. Zistené (M+H)⁺: 605,3

Príklad 40



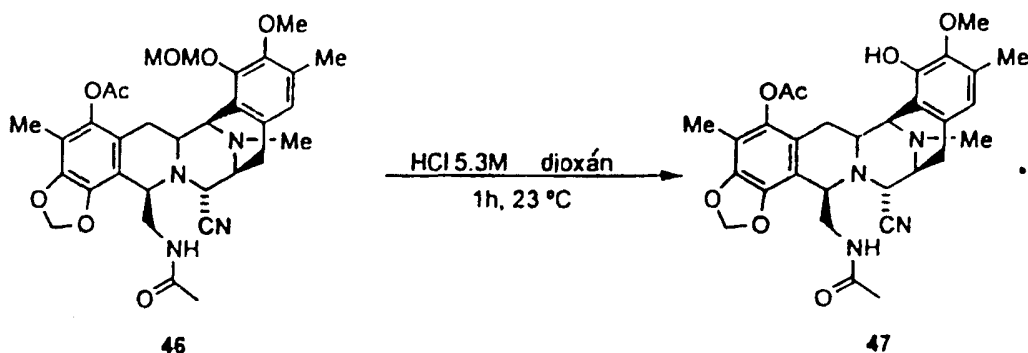
K roztoku **9** (22 mg, 0,039 mmol) v CH_2Cl_2 (0,2 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný acetylchlorid (2,79 ml, 0,039 mmol) a pyridín (3,2 ml, 0,039 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom pri vzniku zlúčeniny **46** (22 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,4 (hexán : etylacetát 1 : 5)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,74 (s, 1H), 5,97 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,12 (d, $J = 5,7$ Hz, 2h), 5,04 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,90 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 4,17 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,05 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,01 (bs, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,50 - 3,44 (m, 2h), 3,38 - 3,36 (m, 1H), 3,30 - 3,26 (m, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,79 (d, $J = 12,9$ Hz, 1H), 2,60 (d, $J = 18,0$ Hz, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,68 (dd, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H).

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8$: 606,67. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 607,3

15 Príklad 41



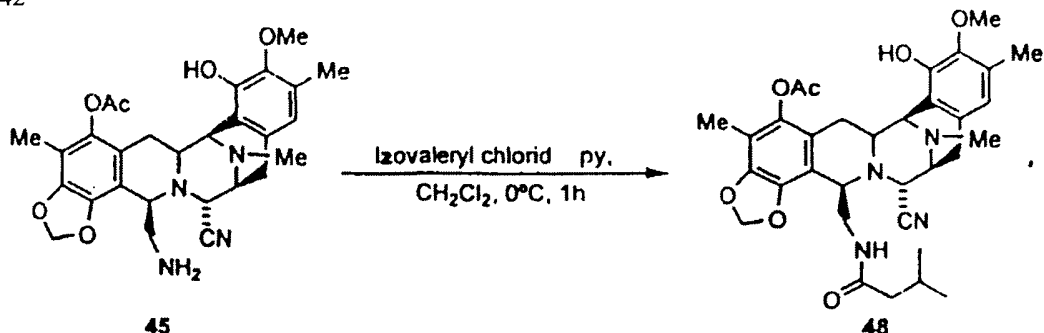
K roztoku **46** (8 mg, 0,013 mmol) v dioxáne (0,1 ml) bol pridaný 5,3 N roztok HCl v dioxáne (0,5 ml) a zmes bola miešaná 1 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Potom bol roztok zriedený pomocou CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom pri vzniku zlúčeniny **47** (5 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,4 (hexán : etylacetát 1 : 5)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,51 (s, 1H), 5,97 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 4,97 (bs, 1H), 4,11 (bs, 1H), 4,04 - 4,02 (m, 2h), 3,75 (s, 3H), 3,65 (d, $J = 2,1$ Hz, 2h), 3,56 - 3,30 (m, 2h), 3,04 (dd, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,80 (d, $J = 14,4$ Hz, 1H), 2,59 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,00 (s, 3H); 1,76 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,33 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_7$: 562,61. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 563,3

Príklad 42



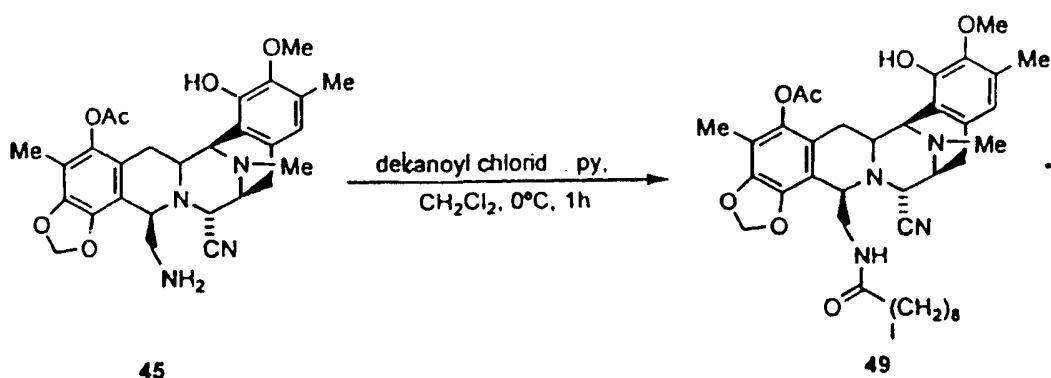
K roztoku **45** (10 mg, 0,0192 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) bol pri teplote 0°C pridaný izovalerylchlorid (2,34 ml, 0,00192 mmol) a pyridín (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený pomocou CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **48** (11 mg, 95 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,12 (Hex : etylacetát 1 : 2).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 6,50 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,02 (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, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,3$ Hz, 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, 2h), 1,36 (d, $J = 7,12$ Hz, 2h), 0,69 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,62 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_7$: 604,69. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 605,3

Príklad 43



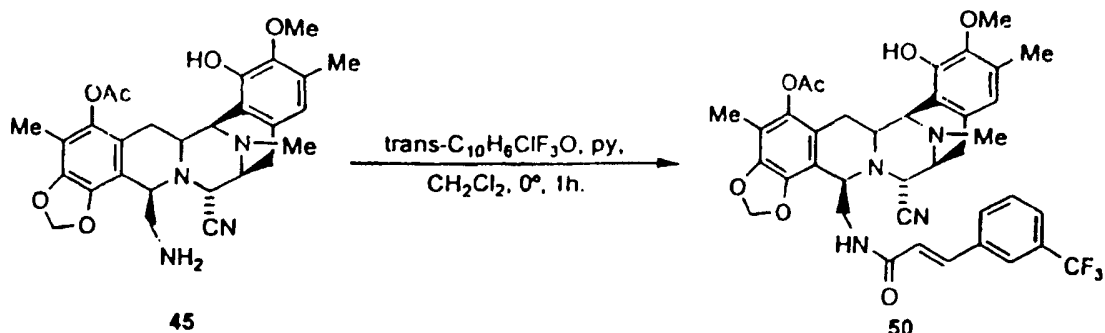
K roztoku **45** (10 mg, 0,0192 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) bol pri teplote 0°C pridaný izovalerylchlorid (3,98 ml, 0,0192 mmol) a pyridín (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **49** (12,4 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,7 (etylacetát : metanol 10 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,6$ 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, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 16,5$ Hz, 1H), 1,73 až 1,42 (m, 4H), 1,33 - 1,18 (m, 10H), 1,03 (m, 2h), 0,87 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_7$: 674,83. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 675,5

Príklad 44



K roztoku **45** (14,5 mg, 0,0278 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) bol pri teplote 0°C pridaný *trans*-3-trifluórmetylcinnamoylchlorid (4,76 ml, 0,0278 mmol) a pyridín (2,25 ml, 0,0278 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom sa roztok zriedil CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchol 0,1 N HCl (3 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 1) pri vzniku zlúčeniny **50** (18,7 mg, 94 %) vo forme bielej pevnej látky.

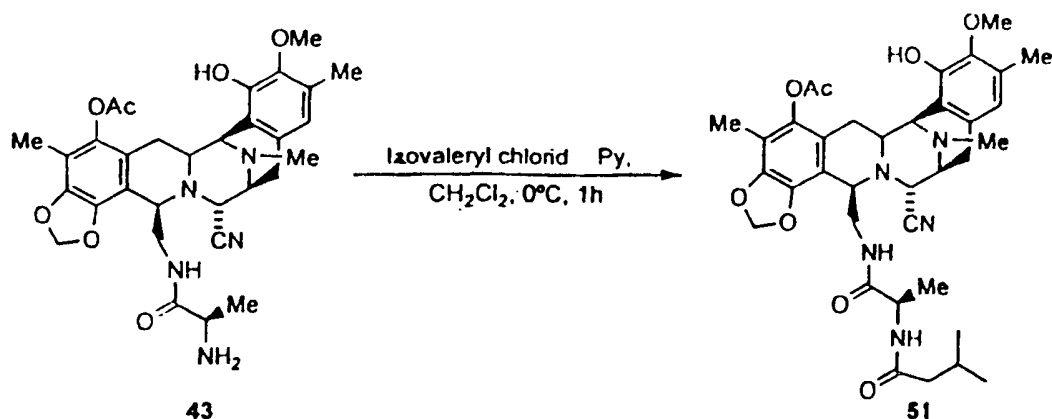
Rf: 0,64 (etylacetát : metanol 15 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CH_3OD) δ 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, 1H), 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, 2H), 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).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{38}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_7$: 718,72. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 719,3

Príklad 45



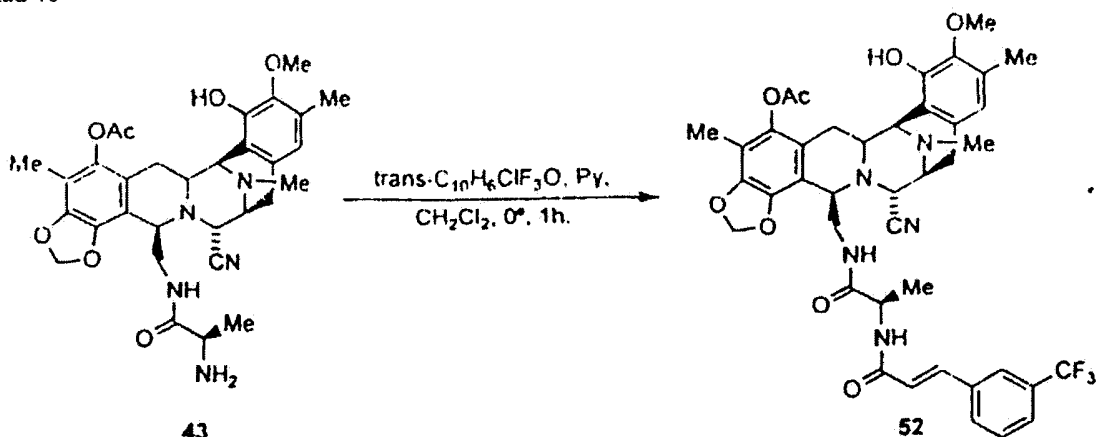
K roztoku **43** (33 mg, 0,0557 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) bol pri teplote 0°C pridaný izovalerylchlorid (6,79 ml, 0,0557 mmol) a pyridín (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **51** (34 mg, 91 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,09 (Hexán : etylacetát 1 : 2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 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, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,95 až 1,90 (m, 3H), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,76 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_8$: 675,77. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 676,3

Príklad 46



K roztoku zlúčeniny **43** (33 mg, 0,0557 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný *trans*-3-trifluórmetylcinnamoylchlorid (9,52 ml, 0,0557 mmol) a pyridín (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **52** (40 mg, 92 %) vo forme bielej pevnej látky.

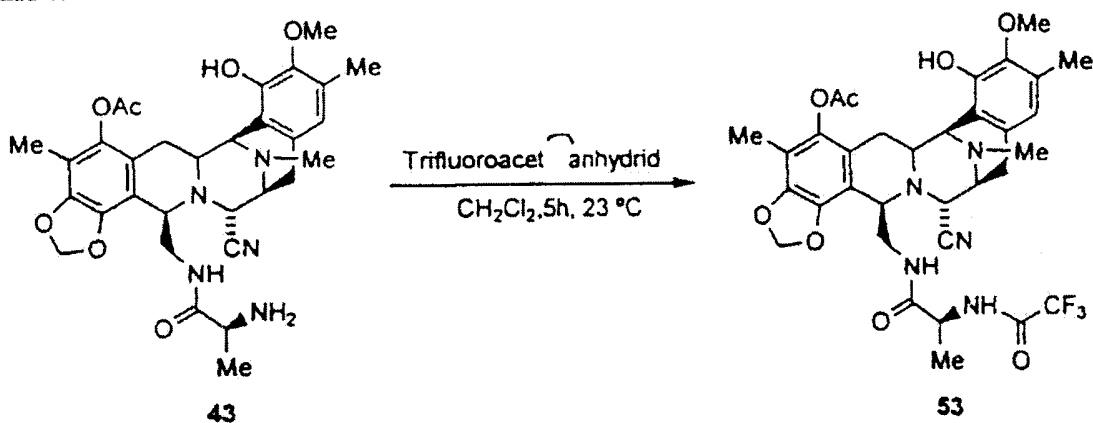
Rf: 0,21 (hexán : etylacetát 1 : 2).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 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 až 3,58 (m, 1H), 3,38 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,29 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,3$ 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).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$: 789,8. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 7903

20 Príklad 47



K roztoku zlúčeniny **43** (10 mg, 0,0169 mmol) v CH_2Cl_2 (0,2 ml) bol pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný anhydrid trifluóroctovej kyseliny (2,38 μl , 0,0169 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 5 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 1 : 2) pri vzniku zlúčeniny **53** (10,7 mg, 92 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,57 (etylacetát : metanol 5 : 1).

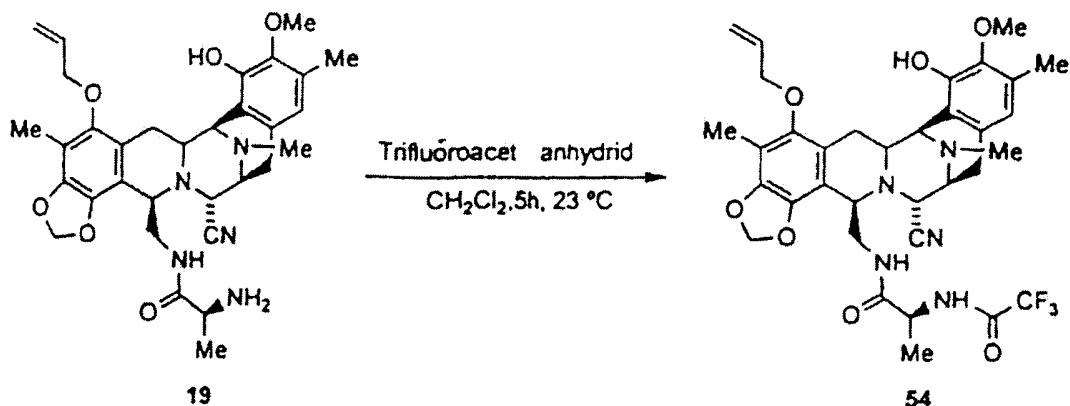
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,45 (s, 1H), 6,00 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,90 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,87 (bs, 1H), 5,32 (bs, 1H), 4,12 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,08 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 3,78 - 3,56 (m, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,40 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,25 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,77 (dd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 15,9$ 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, $J_1 = 11,4$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 0,69 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$: 687,63. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 688,66

5

Príklad 48



K roztoku zlúčeniny **19** (11 mg, 0,0169 mmol) v CH_2Cl_2 (0,2 ml) bol pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný anhydrid trifluoáocetovej kyseliny (2,38 ml, 0,0169 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 5 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (5 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (3 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , hexán : etylacetát 3 : 2) pri vzniku zlúčeniny **54** (107 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

10

Rf: 0,6 (etylacetát : metanol 5 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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, 2H), 5,21 (m, 1H), 4,11 (m, 4H), 3,73 (s, 3H), 3,64 (m, 2H), 3,51 (m, 1H), 3,37 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,22 (m, 2H), 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).

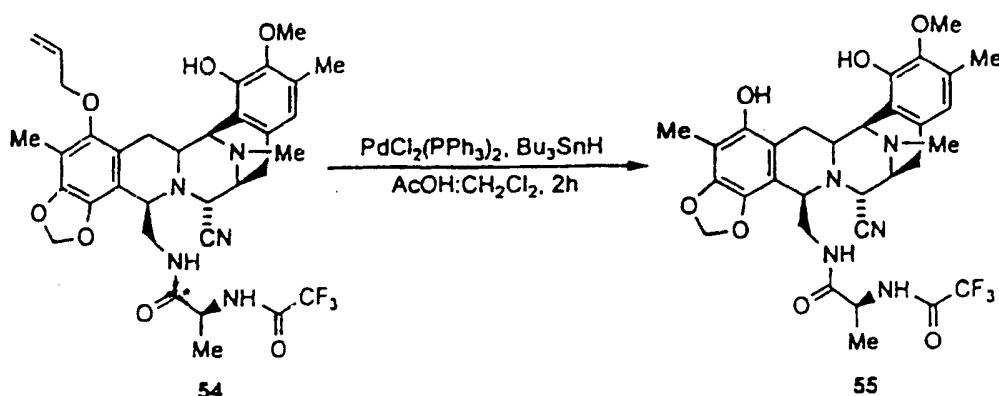
15

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 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.

20

ESI-MS m/z vyrátané pre $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$: 685,69. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 686,3

Príklad 49



K roztoku **54** (100 mg, 0,415 mmol) v CH_2Cl_2 (4 ml) bola pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$ pridaná kyselina octová (40 ml), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (8,4 mg, 0,012 mmol) a Bu_3SnH (157 ml, 0,56 mmol). Pri tejto teplote bola reakčná zmes miešaná 2 hod. a potom naliata na stĺpec separačnej kolóny (SiO_2 , gradient hexán : etylacetát 2 : 1) pri vzniku zlúčeniny **55** (90 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

25

Rf: 0,6 (hexán : etylacetát 1 : 2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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 až 3,53 (m, 2H), 3,37 - 3,31 (m, 2H), 3,19 - 3,15 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 3,08 - 3,00 (m, 2H), 2,56 (d, $J = 18,3$ Hz,

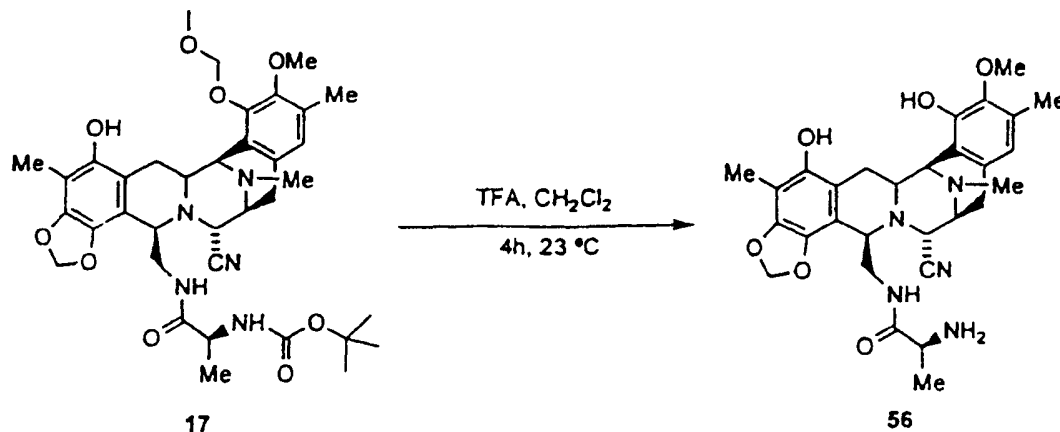
30

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) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$: 645,63. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 646,2

Príklad 50



K roztoku **17** (200 mg, 0,288 mmol) v CH_2Cl_2 (1,44 ml) bola pridaná trifluóroctová kyselina (888 ml, 11,53 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 4 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Reakcia bola zastavená pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pomocou nasýteného vodného roztoku bikarbonátu sodného (60 ml) a extrahovaná etylacetátom (2x70 ml). Spojené organické vrstvy boli vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované *in vacuo* pri vzniku zlúčeniny **56** (147 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá bola použitá v nasledujúcich reakciách bez ďalšej purifikácie.

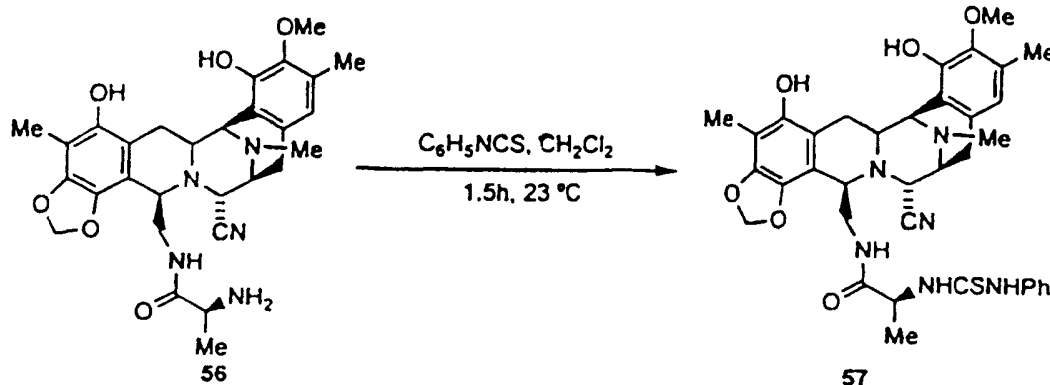
Rf: 0,19 (etylacetát : metanol 15 : 1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_6$: 549,62. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 550,3

25 Príklad 51



K roztoku **56** (10 mg, 0,018 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) bol pridaný fenylizotiokyanát (13 ml, 0,109 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 1,5-hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Reakčná zmes bola skoncentrovaná vo vákuu a zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , gradient hexán až po hexán : etylacetát 1 : 1) pri vzniku zlúčeniny **57** (8 mg, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,57 (etylacetát : metanol 10 : 1).

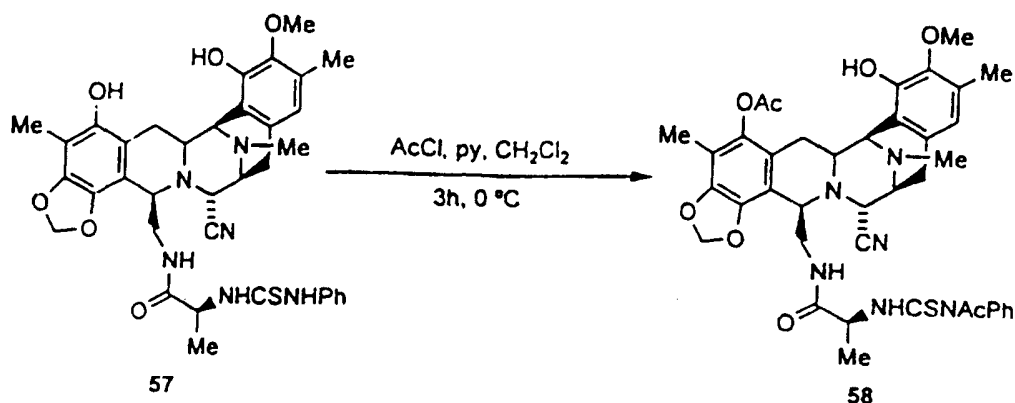
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (bs, 1H), 7,41 - 7,36 (m, 2h), 7,27 - 7,22 (m, 1H), 7,02 - 7,00 (d, $J = 7,8$ Hz, 2h), 6,71 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,17 (bs, 1H), 5,93 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,83 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H),

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, 2h), 3,12 - 2,97 (m, 2h), 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).

5 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 684,81. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 685,3

10 Príklad 52



K roztoku **57** (45 mg, 0,065 mmol) v CH_2Cl_2 (0,5 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný acetylchlorid (4,67 ml, 0,065 mmol) a pyridín (5,3 ml, 0,065 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 3 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (10 ml) a prepláchnutý 0,1 NHCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ 40 : 60) pri vzniku zlúčeniny **58** (14 mg, 28 %) vo forme bielej pevnej látky.

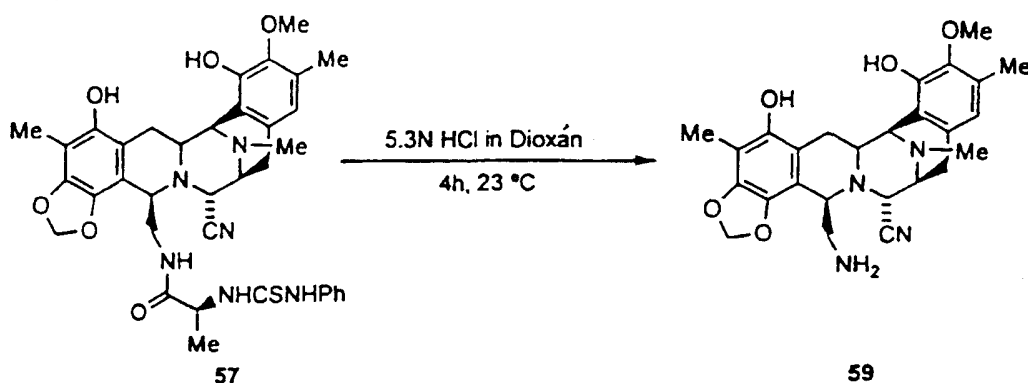
Rf: 0,34 ($\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$ 7 : 15).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 11,90 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 7,45 - 7,40 (m, 3H), 7,18 - 7,15 (m, 2h), 6,58 (s, 1H), 6,0 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,89 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,37 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,23 (bs, 1H), 4,07 (bs, 2h), 3,85 - 3,75 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,46 - 3,41 (m, 2h), 3,24 - 3,20 (m, 1H), 3,00 až 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, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,66 (s, 3H), 0,82 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 768,88. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 769,2

Príklad 53



30 K roztoku **57** (130 mg, 0,189 mmol) v dioxáne (1 ml) bol pridaný 5,3 N HCl /dioxán (1,87 ml) a reakčná zmes bola miešaná 4 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Potom sa k reakčnej zmesi pridal CH_2Cl_2 (15 ml) a H_2O (10 ml) a organická fáza bola odstredená. Vodná fáza bola alkalizovaná pomocou roztoku nasýteného bikarbonátu sodného (60 ml) (pH 8) pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ a potom extrahovaná pomocou etylacetátu (2x50 ml). Spojené orga-

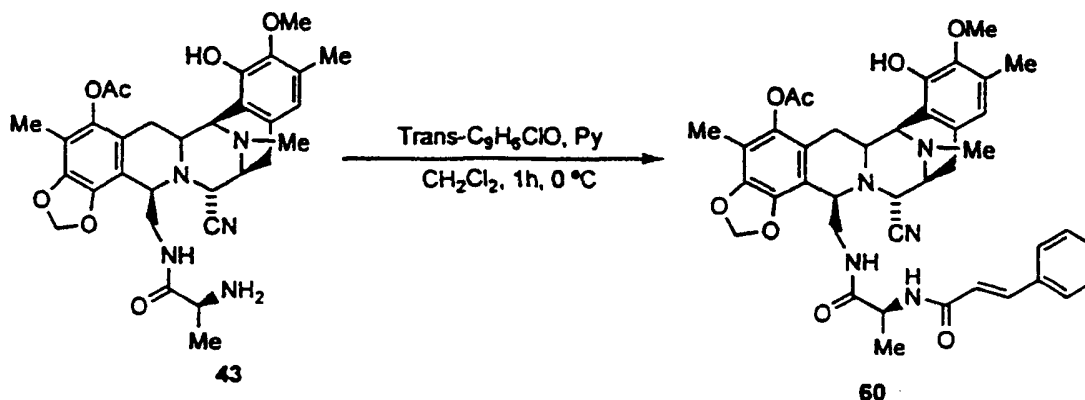
nické extrakty boli vysušené (sulfát sodný) a skoncentrované *in vacuo* pri vzniku zlúčeniny **59** (63 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,15 (etylacetát : metanol 5 : 1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 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), 4r25 (dd, *J*₁ = 3,6 Hz, *J*₂ = 9,3 Hz, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,71 - 3,64 (m, 2h), 3,50 (dd, *J*₁ = 2,4 Hz, *J*₂ = 15,9 Hz, 1H), 3,42 - 3,37 (m, 2h), 3,16 (dd, *J*₁ = 3,6 Hz, *J*₂ = 12,9 Hz, 1H), 2,57 (dd, *J*₁ = 9,3 Hz, *J*₂ = 12,9 Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,91 (dd, *J*₁ = 12,0 Hz, *J*₂ = 15,9 Hz, 1H).

ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₂₆H₃₀N₄O₅: 478,5. Zistené (M+H)⁺: 479,3

10 Príklad 54



K roztoku **43** (20 mg, 0,0338 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) bol pri teplote 0 °C pridaný cinnamoylchlorid (5,63 ml, 0,0338 mmol) a pyridín (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH₂Cl₂ (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická fáza bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, EtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **60** (22 mg, 90 %) vo forme bielej pevnej látky.

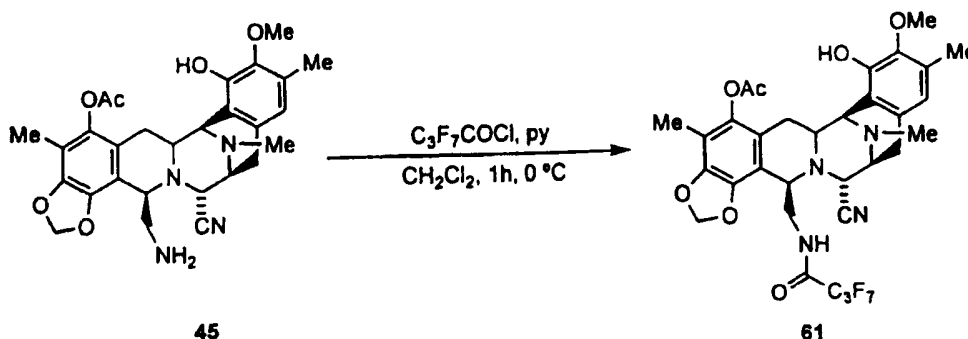
Rf: 0,56 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 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, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 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, *J*₁ = 11,4 Hz, *J*₂ = 15,6 Hz, 1H), 0,83 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 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* vyrátané pre C₄₀H₄₃N₅O₈: 721,8. Zistené (M+H)⁺: 722,3

Príklad 55



30

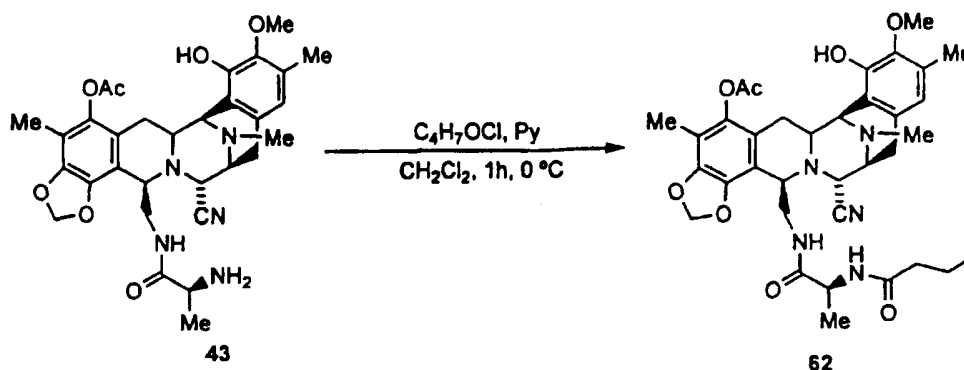
K roztoku **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) bol pri teplote 0 °C pridaný heptafluorobutyrylchlorid (5,44 ml, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH₂Cl₂ (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou

stĺpcovej chromatografie (SiO₂, EtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **61** (11,7 mg, 45 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,76 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,46 (s, 1H), 6,12 (bs, 1H), 5,98 (d, *J* = 1,2 Hz, 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, *J*₁ = 8,1 Hz, *J*₂ = 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, *J*₁ = 12,0 Hz, *J*₂ = 16,2 Hz, 1H), ESI-MS *m/z* vyrátané pre C₃₂H₃₁F₇N₄O₇: 716,6. Zistené (M+H)⁺: 717,2

10 Príklad 56

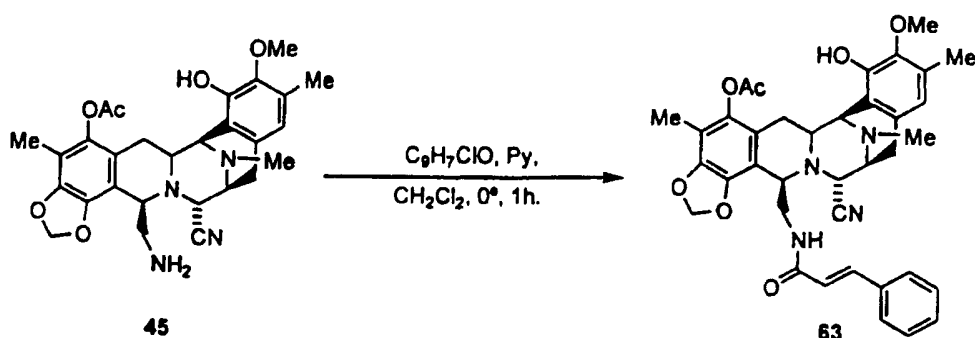


K roztoku **43** (24 mg, 0,04 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) bol pri teplote 0 °C pridaný butyrylchlorid (4,15 ml, 0,04 mmol) a pyridín (3,28 ml, 0,04 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH₂Cl₂ (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný, filtrovaná a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, EtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **62** (24 mg, 90 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,35 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 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 až 3,53 (m, 2H), 3,38 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 3,27 - 3,22 (m, 1H), 3,0 (dd, *J*₁ = 7,8 Hz, *J*₂ = 17,4 Hz, 1H), 2,79 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H), 2,63 (d, *J* = 17,7 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 1,80 (dd, *J*₁ = 12,0 Hz, *J*₂ = 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* vyrátané pre C₃₃H₄₃N₅O₈: 716,6. Zistené (M+H)⁺: 717,2

25 Príklad 57



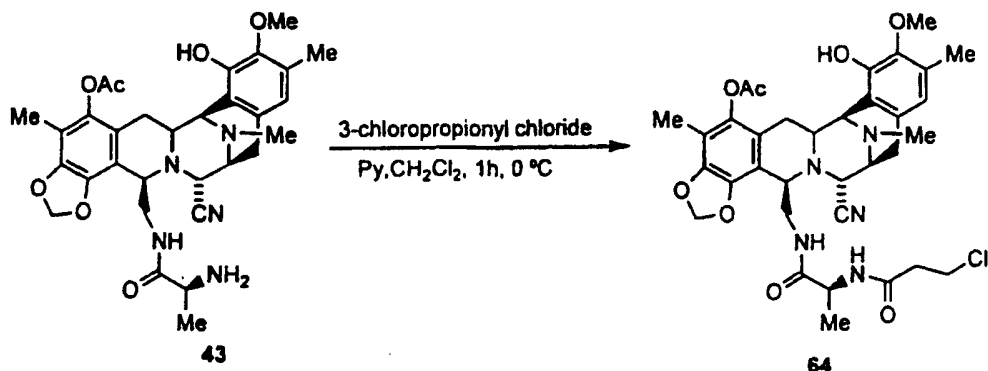
K roztoku **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) bol pri teplote 0 °C pridaný cinnamoylchlorid (6,06 mg, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH₂Cl₂ (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, EtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **63** (24 mg, 90 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,65 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 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).

ESI-MS m/z vyrátané pre $C_{37}H_{38}N_4O_7$: 650,72. Zistené $(M+H)^+$: 651,2

Príklad 58



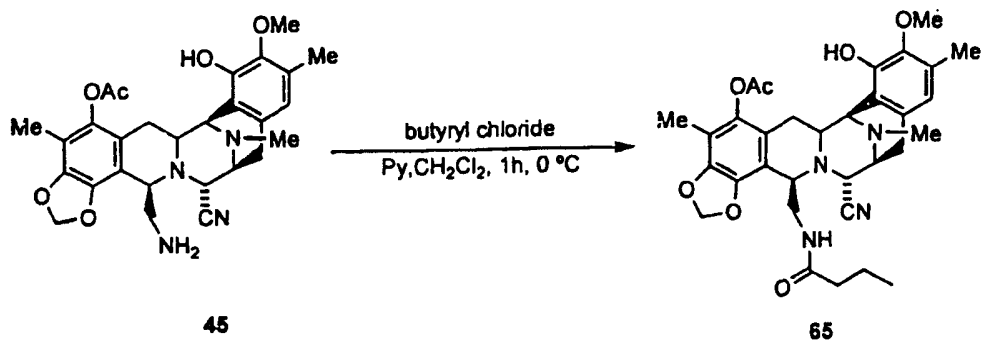
5 K roztoku **43** (20 mg, 0,0338 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný 3-chloropropionylchlorid (3,22 ml, 0,0338 mmol) a pyridín (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , AtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **64** (20,5 mg, 89 %) vo forme bielej pevnej látky.

10 Rf: 032 (EtOAc : Hexán 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (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, $J_2 = 18$ 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, 1 H), 0,81 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H).

15

Príklad 59



20 K roztoku **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) bol pri teplote $0\text{ }^\circ\text{C}$ pridaný butyrylchlorid (3,78 ml, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 1 hod. a potom bol roztok zriedený CH_2Cl_2 (10 ml) a prepláchnutý 0,1 N HCl (5 ml). Organická vrstva bola vysušená cez sulfát sodný a rozpúšťadlo bolo odstránené podtlakom. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , AtOAc : MeOH 20 : 1) pri vzniku zlúčeniny **65** (19 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky.

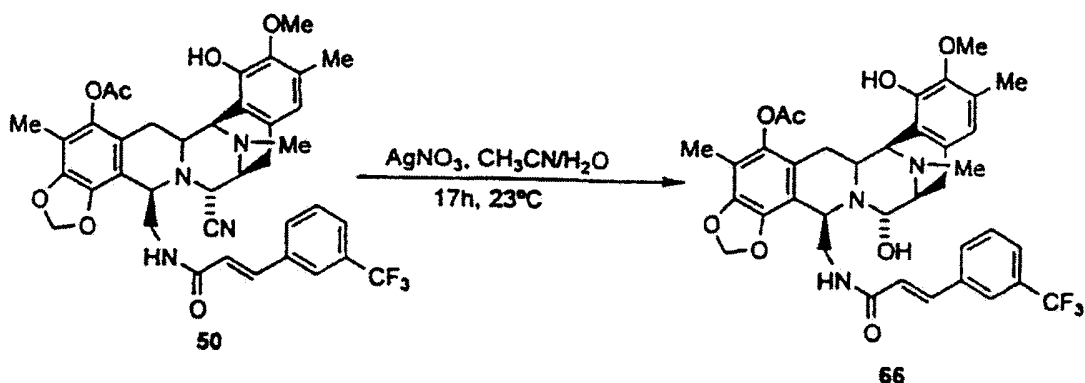
25 Rf: 0,60 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (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 až 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).

30

ESI-MS m/z vyrátané pre $C_{32}H_{38}N_4O_7$: 590,67. Zistené $(M+H)^+$: 591,2

Príklad 60



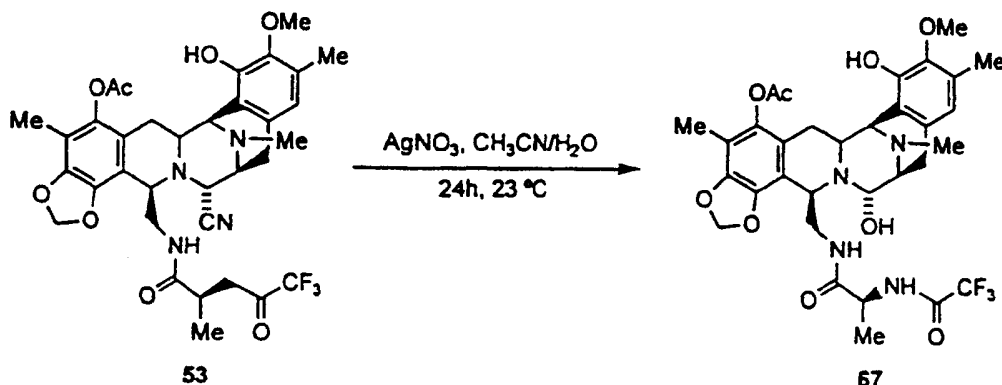
K roztoku **50** (31,7 mg, 0,044 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (225 mg, 1,32 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 17 hod. pri teplote 23°C . Potom bol pridaný soľný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{EtOAc} : \text{MeOH}$ 5 : 1) pri vzniku zlúčeniny **66** (16 mg, 51 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,26 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH}$ 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 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 vyrátané pre $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_8$: 709. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 692,3

Príklad 61



K roztoku **53** (57 mg, 0,0828 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (650 mg, 3,81 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 hod. pri teplote 23°C . Potom bol pridaný soľný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{EtOAc} : \text{MeOH}$ 5 : 1) pri vzniku zlúčeniny **67** (28 mg, 50 %) vo forme bielej pevnej látky.

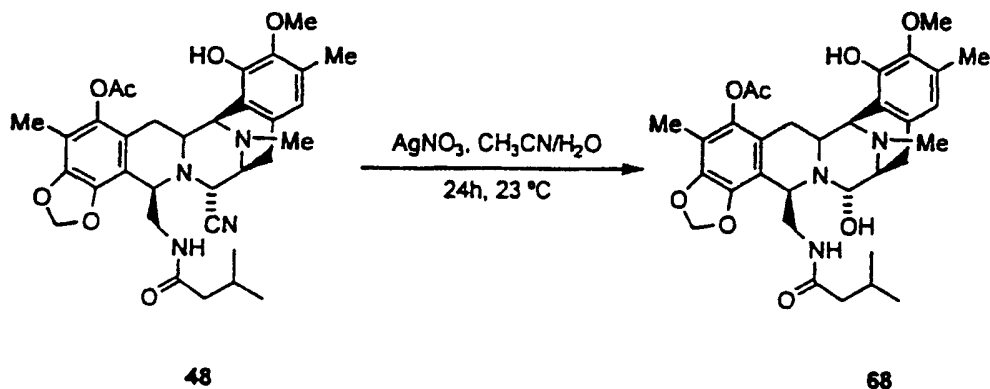
Rf: 0,28 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH}$ 10 : 1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ

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 vyrátané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_9$: 678,66. Zistené $(\text{M}+\text{H})^+$: 661,2

Príklad 62

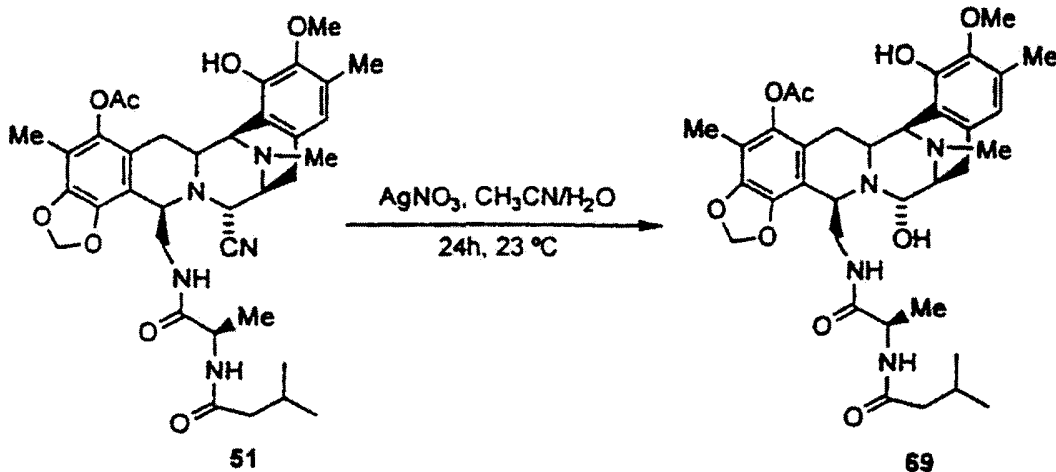


K roztoku **48** (32 mg, 0,0529 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (270 mg, 1,58 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 hod. pri teplote 23 °C. Potom bol pridaný solný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$) pri vzniku zlúčeniny **68** (18 mg, 56 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,40 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 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, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 18,0$ 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)

Príklad 63

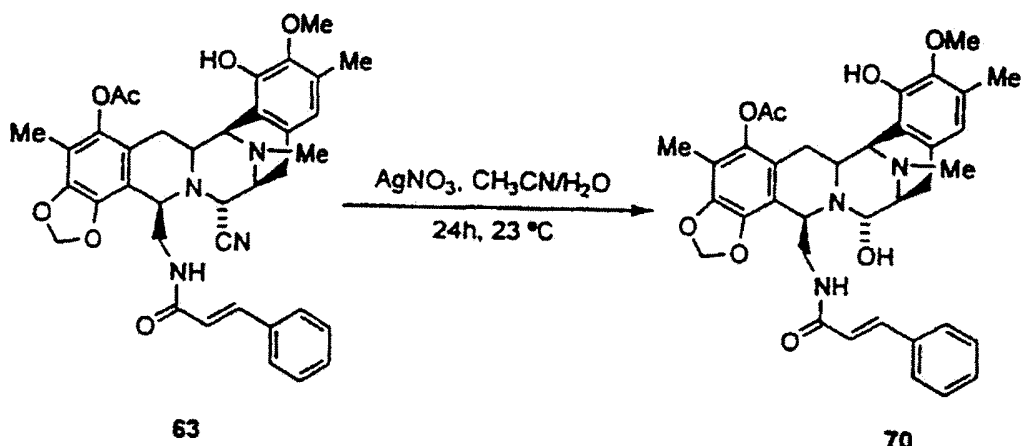


K roztoku **51** (27 mg, 0,04 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (204 mg, 1,19 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 hod. pri teplote 23 °C. Potom bol pridaný solný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$) pri vzniku zlúčeniny **69** (10 mg, 38 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,38 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 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, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 18,3$ 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).

Príklad 64

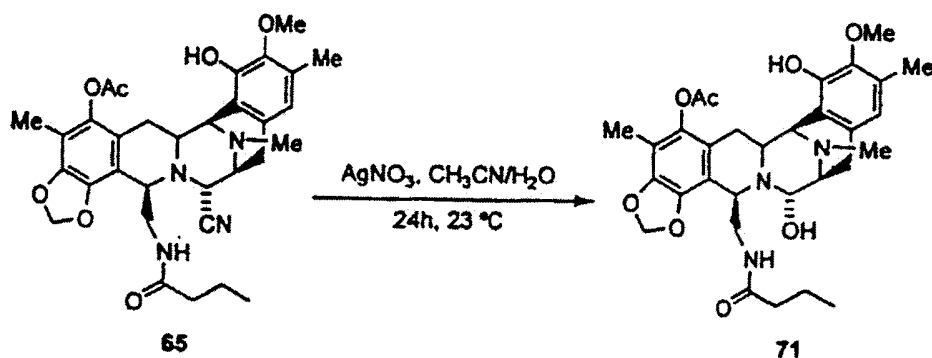


K roztoku **63** (15 mg, 0,023 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (118 mg, 0,691 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Potom bol pridaný soľný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{AcOAc} : \text{MeOH } 5 : 1$) pri vzniku zlúčeniny **70** (20,1 mg, 85 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,43 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH } 5 : 1$).

$^1\text{H NMR}$ (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 až 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).

Príklad 65



K roztoku **65** (25 mg, 0,042 mmol) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) bol pridaný AgNO_3 (215,56 mg, 1,269 mmol) a reakčná zmes bola miešaná 24 hod. pri teplote $23\text{ }^\circ\text{C}$. Potom bol pridaný soľný roztok (10 ml) a vodou saturovaný roztok NaHCO_3 (10 ml) a reakčná zmes bola miešaná 15 min., prefiltrovaná cez vrstvu celitu a premytá CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok bol odstredený a organická fáza bola vysušená a skoncentrovaná *in vacuo*. Zvyšok bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO_2 , $\text{AcOAc} : \text{MeOH } 5 : 1$) pri vzniku zlúčeniny **71** (16 mg, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,05 ($\text{EtOAc} : \text{MeOH } 5 : 2$).

$^1\text{H NMR}$ (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).

Kvasné procesy

Príklad A

Kultivačné médium ZMP3 obsahujúce 1 % glukózu, 0,25 % hovädzí vývar, 0,5 % bakto-pepton, 0,25 % NaCl a 0,8 % CaCO₃ bolo naočkované 0,1 % zmrazenou vegetatívnou kultúrou mikroorganizmu *Pseudomonas fluorescens*, kmeň A2-2. Bakteriálna kultúra bola inkubovaná na rotačnej trepačke (250 ot./min.) pri teplote 27 °C. Po 30 hod. inkubácii bola kultúra prenesená do fermentora, kde za stáleho trepania prebiehala ďalšia inkubácia v produkčnom médiu obsahujúcom 2 % dextrózu, 4 % manitol, 2 % sušené pivovarnícke kvasnice (vitalevor R Biolux, Belgicko), 1 % (NH₄)₂SO₄, 0,04 % K₂HPO₄, 0,8 % KCl, 0,001 % FeCl₃, 0,1 % L-Tyr, 0,8 % CaCO₃, 0,05 % PPG-200, 0,2 % protipenivého silikónu (ASSAF-100, RHODIA UK). Sterilizácia prebiehala pri teplote 122 °C 30 min. Zaočkovaný objem bol 2 % (v/v). Teplota bola 27 °C (0 až 16 hod.) a 24 °C od 16 hod. až po konečné spracovanie (41 hod.). Kultúra rástla v kyslíkovej atmosfére 25 %. pH bolo udržiavané na hodnote 6,0 pomocou kyseliny sírovej od 28 hod. inkubácie až po konečné spracovanie. Pretlak bol 0,5 bar. Od 16. hod. kultivácie bol do kultivačného média pridaný 1 % manitol alebo sorbol (na 2 dni) a 2 % manitol alebo sorbol na 3 dni počas fermentačného procesu.

Po 41 alebo 64 hodinách sa extrahuje fermentačné médium na získanie safracínu B, alebo po pridaní KCN do kultivačného média je možné z vyčereného média získať kyanosafracín B.

Príklad B

Získanie kyanosafracínu B z hrubého extraktu

Vyčerenie alebo filtrácia fermentačného média pri pH 6 odstráni pevné časti. Vyčerené kultivačné médium bolo nastavené na pH 9,5 pomocou zriedeného hydroxidu sodného a dvakrát extrahované pomocou 2 : 1 (v/v) etylacetátu, metylénchloridu alebo butylacetátu. Extrakcia prebiehala za stáleho trepania 20 min., teplota zmesi bola udržiavaná v rozsahu 8 až 10 °C. Obidve fázy boli odstreďovaním oddelené a organická fáza bola vysušená pomocou bezvodého sulfátu sodného. Iným spôsobom separácie je zmrazenie a potom filtrácie na odstránenie kryštálov ľadu. Organická fáza (etylacetátová vrstva) bola odparovaná dovtedy, pokým sa získal olejovitý hrubý extrakt.

Príklad C

Vyčerenie alebo filtrácia fermentačného média pri pH 6 odstráni pevné časti. Vyčerené kultivačné médium bolo nastavené na pH 3,9 pomocou koncentrovanej kyseliny octovej. Do vyčereného extraktu sa pridal KCN v koncentrácii 0,5 g na liter média a reakčná zmes bola za stáleho miešania inkubovaná pri teplote 20 °C 1 hod. Potom bola teplota znížená na 15 °C a pH bolo pomocou zriedeného hydroxidu sodného nastavené na hodnotu 9,5. Reakčná zmes bola extrahovaná pomocou 2 : 1,5 (v/v) etylacetátu. Extrakcia prebiehala za stáleho trepania 20 min., teplota zmesi bola udržiavaná v rozsahu 8 až 10 °C. Odstrediením boli oddelené obidve fázy. Organická fáza bola vysušená pomocou bezvodého sulfátu sodného. Organická fáza (etylacetátová vrstva) bola odparovaná dovtedy, pokým sa získal olejovitý hrubý extrakt. Tento extrakt bol purifikovaný pomocou stĺpcovej chromatografie (SiO₂, gradient 20 : 1 cez 10 : 1 až po 5 : 1 etylacetát : metanol) pri kvantitatívnom vzniku zlúčeniny **2** vo forme svetložltej pevnej látky.

Rf: 0,55 (etylacetát : metanol 5 : 1); $t_R = 19,9$ min [HPLC, Delta Park C4, 5 μ m, 300 A, 150x3 mm, $\lambda = 215$ nm, flow = 0,7 ml/min., temp = 50°C, grad: CH₃CN-aq. NaOAc (100 mM) 85 % - 70 % (20')];

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 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): δ 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 vyrátané pre C₂₉H₃₅N₅O₆: 549,6. Zistené (M+H)⁺: 572,3

Príklad D

Médium (50 l) zložené z 2 % dextrózy, 4 % manitolu, 2 % sušených pivovarníckych kvasníc, 1 % sulfátu amónneho, 0,04 % hydrogénfosforečnanu draselného, 0,8 % chloridu draselného, 0,001 % chloridu železitého, 0,1 % L-tyrozinu, 0,8 % uhličitanu vápenatého, 0,05 % polypropylénglykolu 2000 a 0,2 % protipenivej zlúčeniny ASSAF 1000 sa nalialo do fermentačnej nádoby s objemom 75 l a po sterilizácii naočkované 2 % kultúrou kmeňa A2-2 (FERM BP-14). Kultivácia prebiehala za prístupu vzduchu pri teplote od 27 do 24 °C počas 64 hod. (prevzdušňovanie 75 l za minútu a trepanie 350 až 500 obrátok za minútu). pH bolo kontrolované pomocou automatického pridávania riedenej kyseliny sírovej od 27. hodiny kultivácie až po finálne spracovanie. Od 16. hodiny kultivácie bol pridaný 2 % manitol. Po odstredení buniek sa získalo médium (45

l) a pomocou riedeného hydroxidu sodného bolo pH nastavené na 9,5. Potom bolo dvakrát extrahované 25 litrami etylacetát. Extrakcia prebiehala pri stálom trepaní 20 min. pri teplote 8 °C. Odstredením boli oddelené obidve fázy. Organické fázy boli zmrazené na teplotu -20 °C a prefiltrované kvôli odstráneniu kryštálikov ľadu a odparované až do okamihu, pokým sa získalo 40 g olejovito tmavého hrubého extraktu. Po zavedení kyanidovej skupiny a purifikácii sa získalo 3,0 g kyanosafracínu B.

Príklad E

Médium (SO I) zložené z 2 % dextrózy, 4 % manitolu, 2 % sušených pivovarníckych kvasníc, 1 % sulfátu amónneho, 0,02 % hydrogénfosforečnanu draselného, 0,2 % chloridu draselného, 0,001 % chloridu železitého, 0,1 % L-tyrozinu, 0,8 % uhličitanu vápenatého, 0,05 % polypropylénglykolu 2000 a 0,2 % protipenivej zlúčeniny ASSAF 1000 sa nalialo do fermentačnej nádoby s objemom 75 l a po sterilizácii naočkované 2 % kultúrou kmeňa A2-2 (FERM BP-14). Kultivácia prebiehala za prístupu vzduchu pri teplote od 27 do 24 °C počas 64 hod. (prevzdušňovanie 75 l za minútu a trepanie 350 až 500 obrátok za minútu). pH bolo kontrolované pomocou automatického pridávania riedenej kyseliny sírovej od 28. hodiny kultivácie až po finálne spracovanie. Od 16. hodiny kultivácie bol pridaný 1 % manitol. Po odstredení buniek sa získalo médium (45 l) a pomocou 200 ml koncentrovanej kyseliny octovej bolo pH nastavené na 3,9. Pridaných bolo 25 g 97 % KCN a po 1 hod. trepania bolo pH média pomocou 1 500 ml 10 % roztoku hydroxidu sodného nastavené na hodnotu 9,5. Potom bolo médium extrahované 35 litrami etylacetátu. Extrakcia prebiehala pri stálom trepaní 20 min. pri teplote 8 °C. Odstredením boli oddelené obidve fázy. Organická fáza bola vysušená pomocou bezvodého sulfátu sodného a odparovaná až do okamihu, pokým sa získalo 60 g olejovito tmavého hrubého extraktu.

Po chromatografickej separácii sa získalo 4,9 g kyanosafracínu B.

Citovaná literatúra

European Patent 309,477.

US Patent 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. and 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.

Remers, 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-United States Symp. on Bioactive Compounds from Marine Organisms, Goa, India, Feb. 23 - 27, 1989, p 28.

Arai, T; Takahashi, K; Kubo, 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, C.; Arai, T.; Saito, N.; Kubo, A. *J. Antibiot.* 1988, 41, 734 - 740.

Arai, T.; Takahashi, K.; Ishiguro, K.; 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.; Mitrami, Y. *Antimicrob. Agent Chemother.* 1985, 28, 5 - 11.

Takahashi, K.; Yazawa, K.; Kishi, K.; Mikami, Y.; Arci, T.; Kubo, A. *J. Antibiot.* 1982, 35, 196 - 201.

Yazawa, K.; Asaoka, T.; Takahashi, K.; Mitrami, Y.; Arai, T. *J. Antibiot.* 1982, 35, 915 - 917.

Frincke, J. M.; Faulkner, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1982, 104, 265 - 269.

He, H. -Y.; Faulkner, D. J. *J. Org. Chem.* 1989, 54, 5822 - 5824.

Kubo, A.; Saito, N.; Kitahara, Y.; Takahashi, K.; Tazawa, K.; Arci, T. *Chem Pharm. Bull.* 1987, 35, 440 až 442.

Trowitzsch-Kienast, W.; Irschik, H.; Reichenback, H.; Wray, V.; Höfle, G. *Liebigs Ann. Chem.* 1988, 475 až 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.; Mitrami, Y. Arai, T.; Takahashi, K. *J. Antibiot.* 1982, 35, 1708 - 1710.

Lown, J. W.; Hanstock, C. C.; Joshua, A. V.; Arci, T.; Takahashi, K. *J. Antibiot.* 1983, 36, 1184 - 1194.

Munakata et al. United States Patent 4, 400, 752, 1984.

Y. Ikeda et al. *The Journal of Antibiotics*. VOL XXXVI, N°10, 1284, 1983.

R Cooper, S. Unger. *The Journal of Antibiotics*. VOL XXXVIII, N°1, 1985.

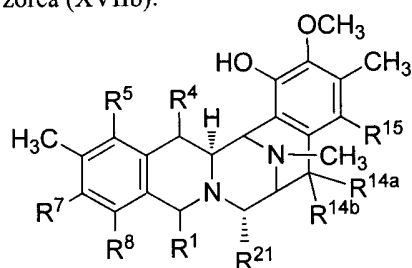
Corey et al. United States Patent 5, 721, 362. 1998.

Corey et al. *J. Am. Chem. Soc.* vol 118 pp 9202 - 92034, 1996.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 96, pp 3496 - 3501, 1999.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob prípravy zlúčeniny vzorca (XVIIb):



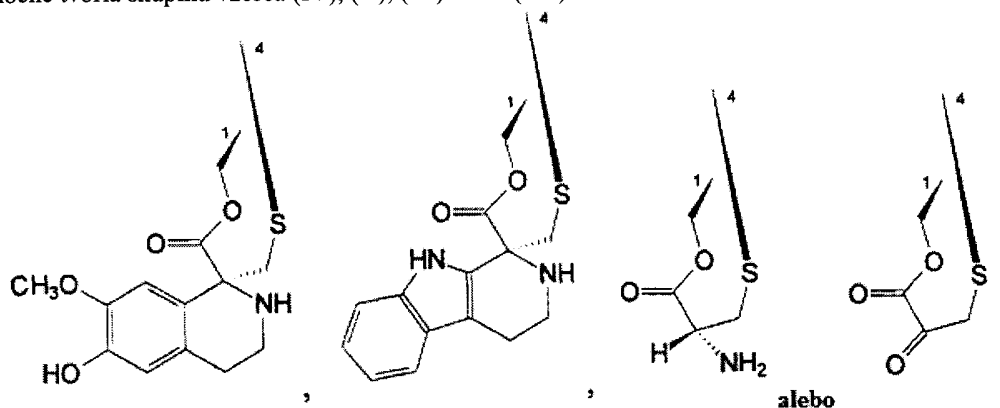
5 kde:

R¹ je aminometylénová skupina, chránená aminometylénová skupina, derivatizovaná aminometylénová skupina, hydroxymetylénová skupina, chránená hydroxymetylénová skupina alebo derivatizovaná hydroxymetylénová skupina; a

R⁴ je -H;

10 alebo

R¹ a R⁴ spoločne tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII):



15 R⁵ je -H, -OH;

R⁷ je -OCH₃ a R⁸ je -OH alebo R⁷ a R⁸ spoločne tvoria skupinu -O-CH₂-O-;

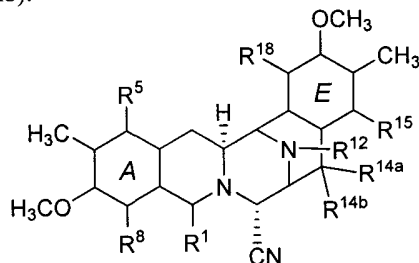
R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedno je -H a druhé je -OH, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria ketoskupinu;

R¹⁵ je -H, -OH;

R²¹ je -H, -OH alebo -CN;

a acyl deriváty;

20 z 21-kyano zlúčeniny vzorca (XVIb):



kde:

R¹ je amidometylénová skupina alebo acyloxymetylénová skupina;

25 R⁵ a R⁸ sú nezávisle vybrané z -H, -OH alebo -OCOCH₂OH, alebo R⁵ a R⁸ sú obidve ketoskupiny a kruh A je *p*-benzochinónový kruh;

R¹² je -CH₃;

R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedna je -H a druhá je -OH, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria keto skupinu; a

30 R¹⁵ a R¹⁸ sú nezávisle vybrané z -H alebo -OH, alebo R¹⁵ a R¹⁸ sú obidve ketoskupiny a kruh E je *p*-benzochinónový kruh;

za predpokladu, že najmenej jeden z kruhov *A* alebo *E* je *p*-benzochinónový kruh, pričom reakcie spôsobu obsahujú podľa potreby:

- a) konverziu chinónového systému pre kruh *E* na fenolový systém;
 - b) konverziu chinónového systému pre kruh *A* na fenolový systém;
 - 5 c) konverziu fenolového systému pre kruh *A* na metyléndioxyfenolový kruh;
 - d) tvorbu mostíkového spirokruhového systému vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII) cez polohu 1 a polohu 4 v kruhu *B*;
 - e) derivatizáciu;
- za poskytnutia požadovanej zlúčeniny vzorca (XVIIb).

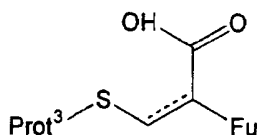
10 2. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že krok a) konverzie chinónového systému pre kruh *E* na fenolový systém sa uskutočňuje redukciou použitím vodíka s paládiovou-uhlíkovým katalyzátorom.

3. Spôsob podľa nároku 1 alebo 2, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že krok b) konverzie chinónového systému pre kruh *A* na fenolový systém sa uskutočňuje redukciou použitím vodíka s paládiovou-uhlíkovým katalyzátorom.

15 4. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že pozostáva najmenej z krokov b), c) a e).

5. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^1 a R^4 spoločne tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII) a krok d) tvorby mostíkového spirokruhového systému cez polohu 1 a polohu 4 v kruhu *B* sa uskutočňuje substitúciou v polohe 1 s mostíkovým reagentom za vytvorenia exendového chinónového metidu v polohe 4 a reakciou uvedeného metidu s 1-substituentom za vytvorenia mostíkového spirokruhového systému.

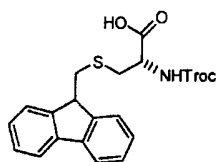
20 6. Spôsob podľa nároku 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že mostíkový reagent je vzorca (XIX)



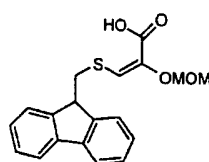
25 kde Fu znamená chránenú funkčnú skupinu, $Prot^3$ je chrániaca skupina, a prerušovaná čiara znázorňuje prípadnú dvojitú väzbu.

7. Spôsob podľa nároku 6, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že Fu je skupina $-NHProt^{4a}$ alebo $-OProt^{4b}$, kde $Prot^{4a}$ je amino chrániaca skupina a $Prot^{4b}$ je hydroxy chrániaca skupina.

30 8. Spôsob podľa nároku 7, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že mostíkovým reagentom je Int-29 alebo Int-37:

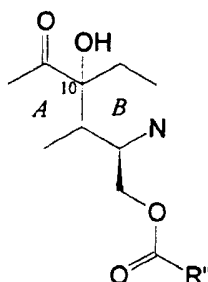


Int-29



Int-37

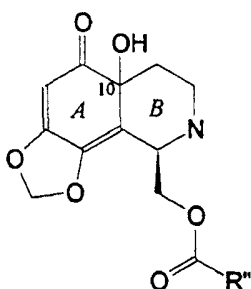
9. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 5 až 8, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že tvorba metidu zahŕňa zavedenie hydroxyskupiny v polohe 10 v spojení kruhov *A* a *B* za získania čiastočnej štruktúry vzorca (XX):



35

kde skupina R'' je vybraná na tvorbu požadovanej skupiny vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII).

10. Spôsob podľa nároku 9, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zavedenie hydroxyskupiny v polohe 10 v spojení kruhov *A* a *B* dáva parciálnu štruktúru vzorca (XXI):



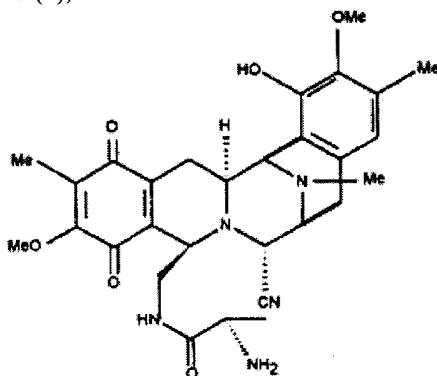
kde skupina R'' je, ako je definované v nároku 9.

11. Spôsob podľa nároku 9 alebo 10, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že skupina R'' je -CHF_u-CH₂-SProt³, kde Fu je chránená funkčná skupina a Prot³ je tiolová chrániaca skupina.

5 12. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 11, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že krok e) derivatizácie zahŕňa acyláciu.

13. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 12, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že 21-kyano zlúčenina vzorca (XVIb) je saframycín R alebo sa získa zavedením 21-kyano skupiny do saframycínu A, saframycínu B, saframycínu C, saframycínu G, saframycínu H, saframycínu S, saframycínu Y₃, saframycínu Y_{d1}, saframycínu Ad₁, saframycínu Yd₂, saframycínu AH₂, saframycínu AH₂Ac, saframycínu AH₁, saframycínu AH₁Ac, saframycínu AR₃, renieramycínu A, renieramycínu B, renieramycínu C, renieramycínu D, renieramycínu E, renieramycínu F, xestomycínu, saframycínu D, saframycínu F, saframycínu Mx-1, saframycínu Mx-2, safracínu A alebo safracínu B.

15 14. Spôsob podľa nároku 13, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že 21-kyano zlúčenina alebo vzorca (XVIb) je kyanosafracín B, zlúčenina (2), vzorca:



Zlúčenina 2

15. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 14, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R⁵ v zlúčenine vzorca (XVIIb) je alkanoyloxy s 1 až 5 atómami uhlíka.

20 16. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 15, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R⁵ v zlúčenine vzorca (XVIIb) je acetyloxy.

17. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 16, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^{14a} a R^{14b} v zlúčenine vzorca (XVIIb) sú vodík.

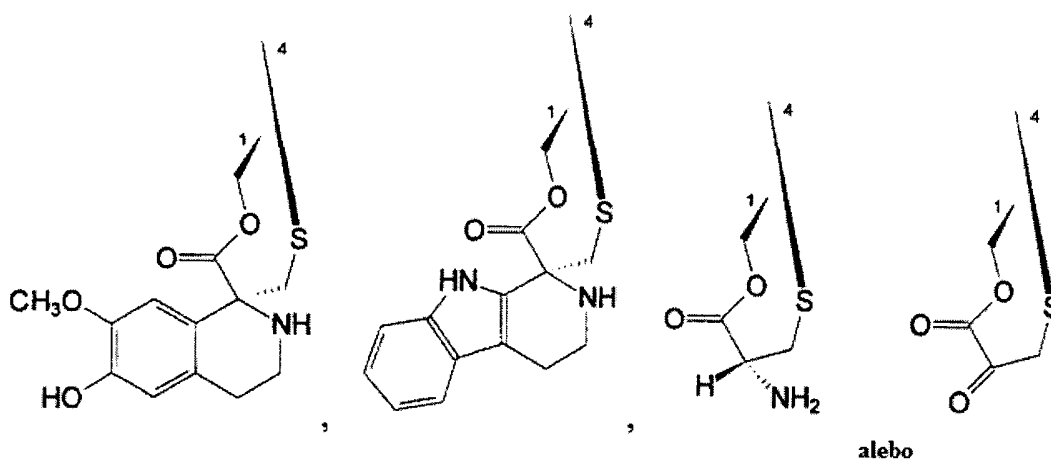
18. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 17, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R¹⁵ v zlúčenine vzorca (XVIIb) je vodík.

25 19. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 18, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R¹⁸ v zlúčenine vzorca (XVIIb) je hydroxy.

20. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R²¹ v zlúčenine vzorca (XVIIb) je -OH alebo -CN.

30 21. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 20, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R⁷ a R⁸ v zlúčenine vzorca (XVIIb) spoločne tvoria skupinu -O-CH₂-O-.

22. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 21, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R¹ a R⁴ vo vzorci vzorca (XVIIb) spoločne tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII):



alebo

23. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 4, 12 až 21, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^1 v zlučene vzorca (XVIIb) je prípadne chránená alebo derivatizovaná aminometylénová skupina, prípadne chránená alebo derivatizovaná hydroxymetylénová skupina a R^4 je -H.

24. Spôsob podľa nároku 23, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^1 v zlučene vzorca (XVIIb) je skupina $-CH_2-NH_2$ alebo $-CH_2-NH-aa$, kde aa je acyl aminokyseliny.

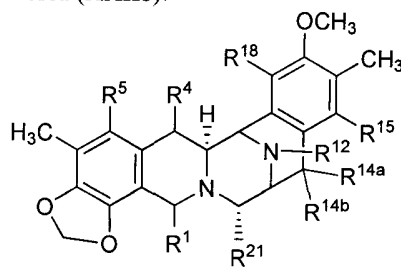
25. Spôsob podľa nároku 24, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zlučene vzorca (XVIIb) je N-acyl derivát skupiny R^1 , kde $-CH_2NH_2$ alebo $-CH_2-NH-aa$.

26. Spôsob podľa nároku 25, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^1 v zlučene vzorca (XVIIb) je N-acyl derivát, kde acylová skupina je vzorca $-CO-R^a$, kde R^a je alkyl, alkoxy, alkenyl, aralkyl, arylalkenyl, acyl aminokyseliny, alebo heterocyklyl; každý prípadne substituovaný s halo, kyano, nitro, karboxyalkylom, alkoxy, arylom, aryloxy, heterocyklylom, heterocyklyloxy, alkylom, amino alebo substituovaným amino; alebo acylová skupina je aa.

27. Spôsob podľa nároku 24, 25 alebo 26, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že je prítomná jedna alebo viac aa skupín a je alanyl, arginyl, aspartyl, asparagyl, cystyl, glutamyl, glutaminyl, glycyly, histidyl, hydroxypropyl, izoleucyl, leucyl, lyzyl, metionyl, fenyلالanyl, prolyl, seryl, treonyl, tyronyl, tryptofyl, tyrozyl alebo valyl.

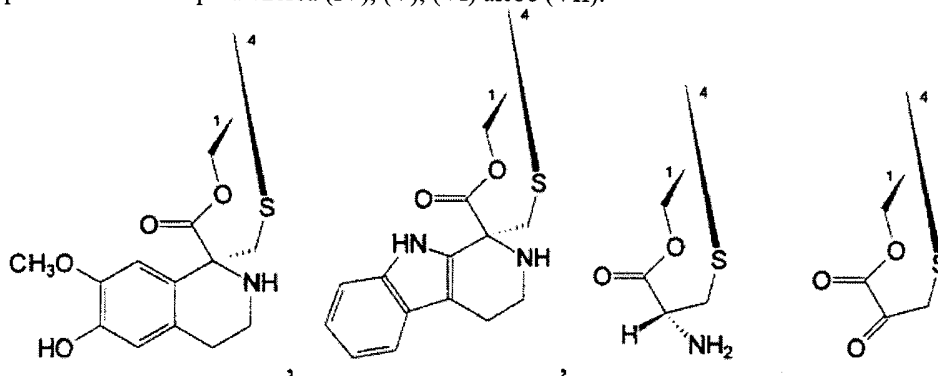
28. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 27, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že v ktorejkoľvek reakcii je chránených jedna alebo viac skupín substituentov chrániacou skupinou.

29. Spôsob prípravy zlučene vzorca (XXIIb):



kde

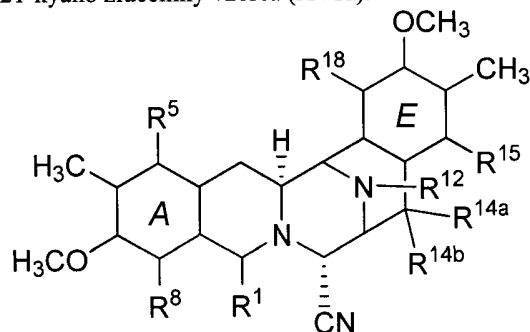
R^1 je $-CH_2NH_2$ alebo $-CH_2OH$, alebo chránená, alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny a R^4 je -H; alebo R^1 a R^4 spoločne tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII):



alebo

25

R^5 je -OH alebo chránená, alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny;
 R^{12} je -H, -CH₃ alebo -CH₂CH₃;
 R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedno je -H a druhé je -OH alebo chránená, alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo
 5 R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria ketoskupinu;
 R^{15} je -H, -OH alebo chránená, alebo derivatizovaná tejto skupiny;
 R^{18} je -OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto zlúčeniny; a
 R^{21} je -H, -OH alebo -CN; z 21-kyano zlúčeniny vzorca (XVIb):



10 kde:

R^1 je amidometylénová skupina alebo acyloxymetylénová skupina;
 R^5 a R^8 sú nezávisle vybrané z -H, -OH alebo -OCOCH₂OH, alebo R^5 a R^8 sú obidve keto skupiny a kruh *A* je *p*-benzochinónový kruh;

R^{12} je -H, -CH₃ alebo -CH₂CH₃;

15 R^{14a} a R^{14b} sú obidve -H alebo jedno je -H a druhé je -OH, -OCH₃ alebo -OCH₂CH₃, alebo R^{14a} a R^{14b} spoločne tvoria keto skupinu; a

R^{15} a R^{18} sú nezávisle vybrané z -H alebo -OH, alebo R^{15} a R^{18} sú obidve keto skupiny a kruh *E* je *p*-benzochinónový kruh;

za predpokladu, že aspoň jeden kruh *A* alebo *E* je *p*-benzochinónový kruh, pričom reakcie spôsobu obsahujú podľa potreby:

a) konverziu chinónového systému pre kruh *E* na fenolový systém;

b) konverziu chinónového systému pre kruh *A* do fenolového systému;

c) konverziu fenolového systému pre kruh *A* na metyléndioxyfenolový kruh;

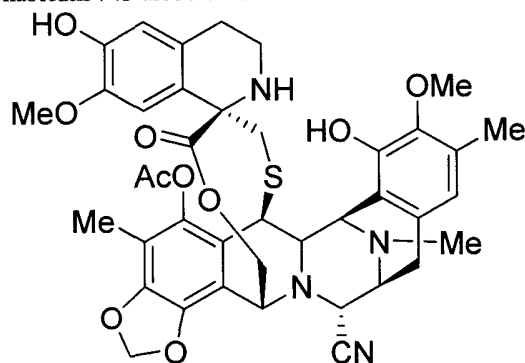
25 d) tvorbu mostíkového spirokruhového systému vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII) cez polohu 1 a polohu 4 v kruhu *B*; a

e) derivatizáciu;

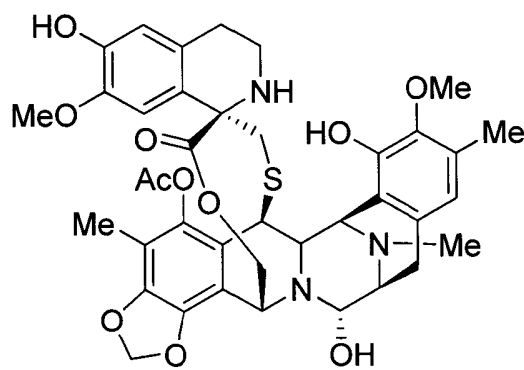
za poskytnutia požadovanej zlúčeniny vzorca (XXIIb).

30. Spôsob podľa nároku 29, vyznačujúci sa tým, že v zlúčenine vzorca (XXIIb) R^5 je OH, R^{14a} a R^{14b} sú H, R^{15} je H a R^{18} je OH.

30 31. Spôsob podľa nároku 29, vyznačujúci sa tým, že zlúčenina vzorca (XXIIb) je ekteinascidín 743 alebo ekteinascidín 770:

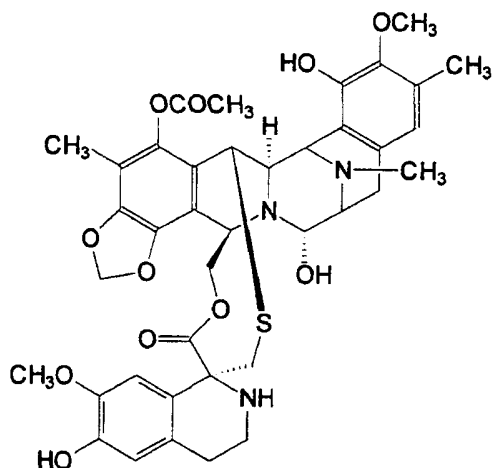


ET-770

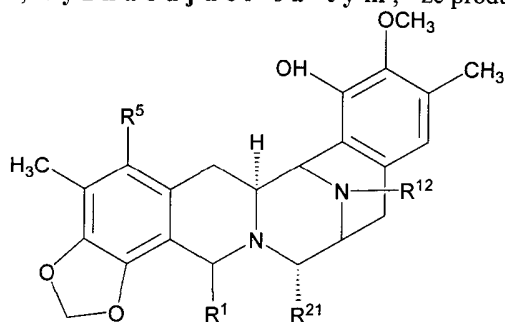


ET-743

35 32. Spôsob podľa nároku 29, vyznačujúci sa tým, že zlúčenina vzorca (XXIIb) je ekteinascidín 743:



33. Spôsob podľa nároku 29, vyznačujúci sa tým, že produkt je vzorca (XXIII):



kde

5 R^1 je derivatizovaná aminometylénová skupina strednej veľkosti;

R^5 je derivatizovaná hydroxy skupina malej veľkosti;

R^{12} je $-CH_3$ a

R^{21} je hydroxy alebo kyano skupina.

34. Spôsob podľa nároku 33, vyznačujúci sa tým, že R^1 je hydrofóbná skupina.

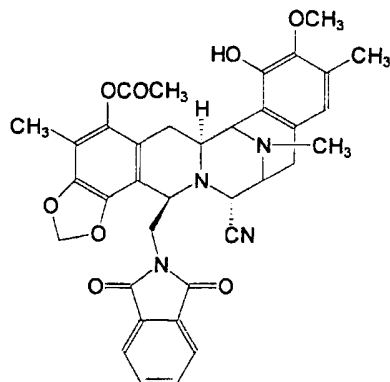
10 35. Spôsob podľa nároku 34, vyznačujúci sa tým, že R^1 je skupina $-CH_2NH-CO-R^a$, kde R^a má lineárny reťazec s dĺžkou menšou ako 20 atómov.

36. Spôsob podľa nároku 35, vyznačujúci sa tým, že R^a má lineárny reťazec s dĺžkou menšou ako 15 atómov.

15 37. Spôsob podľa nároku 36, vyznačujúci sa tým, že R^a má lineárny reťazec s dĺžkou menšou ako 10 atómov.

38. Spôsob podľa nároku 29 alebo podľa ktoréhokoľvek z nárokov 31 až 37, vyznačujúci sa tým, že R^5 je acetylová skupina.

39. Spôsob podľa nároku 33, vyznačujúci sa tým, že zlúčenina vzorca (XXIII) je ftalacidín vzorca (III):



40. Spôsob podľa nároku 24, 25 alebo 26, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že aa je alanyl.

41. Spôsob podľa nároku 40, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že alanylóvá skupina je chránená s butoxykarbonylovou skupinou.

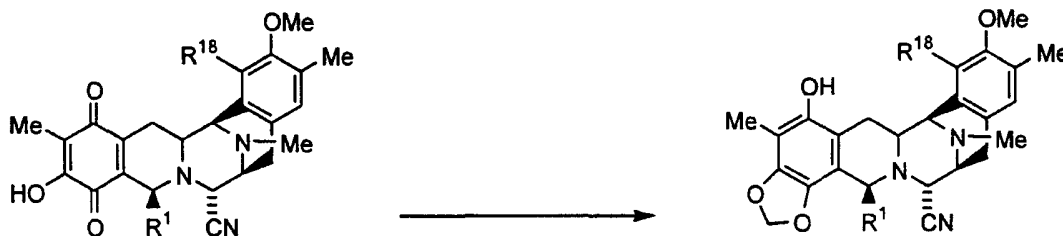
5 42. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 41, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahrnuje reakciu:



kde R^1 a R^{18} sú, ako je definované v nároku 1 alebo 29.

43. Spôsob podľa nároku 42, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že R^{18} je chránená OH skupina.

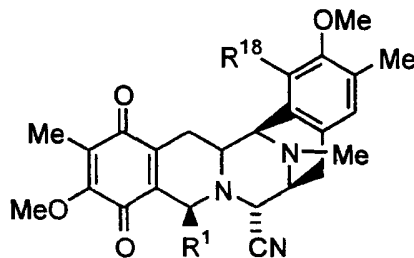
10 44. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 43, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahrnuje reakciu:



kde R^1 a R^{18} sú, ako je definované v nároku 1 alebo 29.

15 45. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 25, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahrnuje reakciu premeny zlúčeniny so skupinou R^1 , ktorá je aminometylénová skupina, na zlúčeninu so skupinou R^1 , ktorá je hydroxymetylénová skupina.

46. Zlúčenina vzorca (XVIb) ako je definovaná v nároku 1, charakterizovaná vzorcom



20 kde R^1 je prípadne chránená alebo aminometylénová skupina derivatizovaná acylom, kde chrániace skupiny pre aminometylénovú skupinu sú vybrané z alkylu, alkenylu, alkylsilylalkoxyalkylu, alkoxyalkylu, kyanoalkylu, heterocyklylu, alkoxyarylalkylu, cykloalkylu, nitroarylu, arylalkylu a hydroxyarylalkylu;

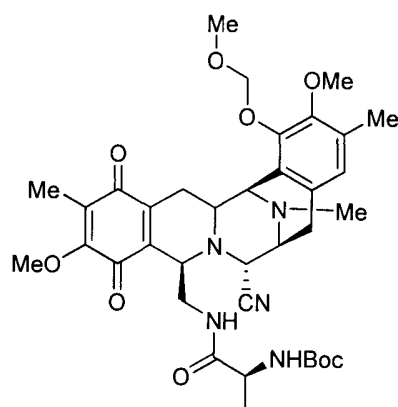
acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vybrané z alkanoylu, haloalkanoylu, arylalkanoylu, alkenoylu, heterocyklylacylu, aroylu, arylaroylu, haloaroylu a nitroaroylu; alebo

25 acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vzorca $-CO-R^a$, kde R^a je vybrané z alkylu, alkoxyly, alkenylu, arylalkylu, arylalkenylu, acylu aminokyseliny a heterocyklylu, každé prípadne substituované s halo, kyano, nitro, karboxyalkylom, alkoxy, arylom, aryloxy, heterocyklylom, heterocyklyloxy, alkylom, amino a substituovanou amino; alebo skupina $-CO-R^a$ je acyl aminokyseliny;

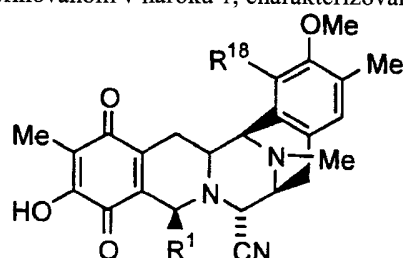
a

30 R^{18} je éter chrániaci skupinu OH, kde éter je vybraný z alkylu, alkoxyalkylu, aryloxyalkylu, alkoxyalkoxyalkylu, alkylsilylalkoxyalkylu, alkyltioalkylu, aryltioalkylu, azidoalkylu, kyanoalkylu, chlóralkylu, heterocyklylu, cykloalkylalkylu, alkenylu, cykloalkylu, alkylarylalkylu, alkoxyarylalkylu, nitroarylalkylu, haloarylalkylu, alkylaminokarbonylarylalkylu, alkylsulfanylarylalkylu a alkylsilyl éterov.

47. Zlúčenina podľa nároku 46, ktorá je vzorca



48. Medziprodukt v spôsobe definovanom v nároku 1, charakterizovaný vzorcom

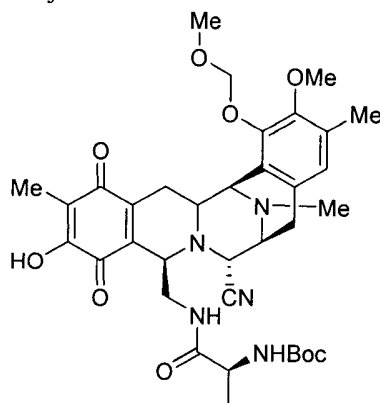


- 5 kde R¹ je prípadne chránená alebo aminometylénová skupina derivatizovaná acylom, kde chrániace skupiny pre aminometylénovú skupinu sú vybrané z alkyly, alkenyly, alkylsilylalkoxyalkyly, alkoxyalkyly, kyanoalkyly, heterocyklyly, alkoxyarylalkyly, cykloalkyly, nitroaryly, arylalkyly a hydroxyarylalkyly; acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vybrané z alkanoyly, haloalkanoyly, arylalkanoyly, alkenoyly, heterocyklylacyly, aroyly, arylaroyly, haloaroyly a nitroaroyly; alebo acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vzorca -CO-R^a, kde R^a je vybrané z alkyly, alkoxyly, alkenyly, arylalkyly, arylalkenyly, acyly aminokyseliny a heterocyklyly, každé prípadne substituované s halo, kyano, nitro, karboxyalkylom, alkoxy, arylom, aryloxy, heterocyklylom, heterocyklyloxy, alkylom, amino a substituovanou amino; alebo skupina -CO-R^a je acyl aminokyseliny;

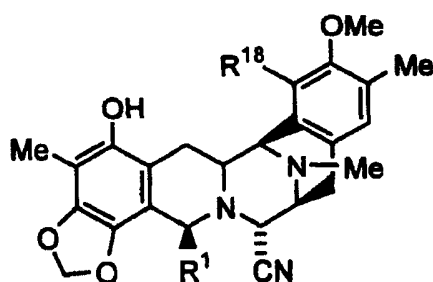
a

- 15 R¹⁸ je éter alebo ester chrániace skupinu OH, kde éterové chrániace skupiny sú vybrané z alkyly, alkoxyalkyly, aryloxyalkyly, alkoxyalkoxyalkyly, alkylsilylalkoxyalkyly, alkyltioalkyly, aryltioalkyly, azidoalkyly, kyanoalkyly, chlóralkyly, heterocyklyly, cykloalkylalkyly, alkenyly, cykloalkyly, alkylarylakyly, alkoxyarylalkyly, nitroarylalkyly, haloarylalkyly, alkylaminokarbonylarylalkyly, alkylsulfynylarylalkyly a alkylsilyl éterov; esterové chrániace skupiny sú vybrané z arylacyly, arylalkylkarbonátu, alifatického karbonátu, alkylsulfynylarylalkyl karbonátu, alkyl karbonátu, arylhaloalkyl karbonátu, arylalkenyl karbonátu, aryl karbamátu, alkyl fosfynyly, alkylfosfotionyly a arylalkyl sulfonátu.

20 49. Zlúčenina podľa nároku 48, ktorá je vzorca:



50. Zlúčenina vzorca (XXIIb) ako je definovaná v nároku 29, charakterizovaná vzorcom:



kde R^1 je chránená alebo aminometylénová skupina derivatizovaná acylom, kde chrániace skupiny aminometylénovej skupiny sú vybrané z alkylu, alkenylu,

alkylsilylalkoxyalkylu, alkoxyalkylu, kyanoalkylu, alkoxyarylalkylu, cykloalkylu, nitroarylu, arylalkylu a hydroxyarylalkylu;

acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vybrané z alkanoylu, haloalkanoylu, alkenoylu, heterocyklylacylu, arylaroylu, haloaroylu a nitroaroylu; alebo

acylové skupiny v aminometylénovej skupine derivatizovanej acylom sú vzorca $-CO-R^a$, kde R^a je vybrané z alkylu, alkoxyly, alkenylu, arylalkenylu, acylu aminokyseliny a heterocyklylu, každé prípadne substituované s halo, kyano, nitro, karboxyalkylom, alkoxy, aryloxy, heterocyklylom, heterocyklyloxy, alkylom, amino a substituovanou amino; alebo skupina $-CO-R^a$ je acyl aminokyseliny;

a

R^{18} je éter alebo ester chrániace skupinu OH, kde éterové chrániace skupiny sú vybrané z alkylu, alkoxyalkylu, aryloxyalkylu, alkoxyalkoxyalkylu, alkylsilylalkoxyalkylu, alkyltioalkylu, aryltioalkylu, azidoalkylu, kyanoalkylu, chlóralkylu, heterocyklylu, cykloalkylalkylu, alkenylu, cykloalkylu, alkoxyarylalkylu, nitroarylalkylu, haloarylalkylu, alkylaminokarbonylarylalkylu, alkylsulfinylarylalkylu a alkylsilyl éterov;

esterové chrániace skupiny sú vybrané z arylacylu, arylalkylkarbonátu, alifatického karbonátu, alkylsulfinylarylalkyl karbonátu, alkyl karbonátu, arylhaloalkyl karbonátu, arylalkenyl karbonátu, aryl karbamátu, alkyl fosfínylu, alkylfosfínionylu a arylalkyl sulfonátu.

51. Zlúčenina podľa nároku 50, ktorá je vzorca:

