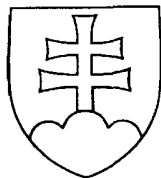


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **1527-2002**  
(22) Dátum podania prihlášky: **15. 5. 2001**  
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **3. 2. 2012**  
Vestník ÚPV SR č.: **2/2012**  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **PCT/GB00/01852**  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **15. 5. 2000**  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **GB**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **3. 6. 2003**  
Vestník ÚPV SR č.: **6/2003**  
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **23. 1. 2012**  
(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/GB01/02120**  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/87895**  
(96) Číslo podania európskej patentovej prihlášky:

(11) Číslo dokumentu:

# 287879

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. (2012.01):

**C07D 515/00**  
**C07D 491/00**  
**C07D 471/00**  
**A61K 35/00**  
**C07D 291/00**  
**C07D 241/00**  
**C07D 221/00**  
**C07D 317/00**

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

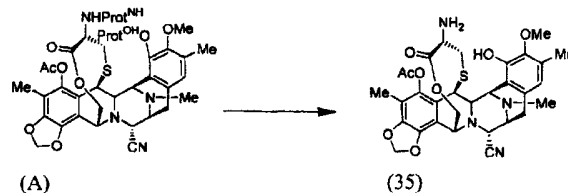
(72) Pôvodca: **Cuevas Carmen, Madrid, ES;**  
**Perez Marta, Madrid, ES;**  
**Francesch Andrés, Madrid, ES;**  
**Fernández Carolina, Madrid, ES;**  
**Chicharro Jose Luis, Madrid, ES;**  
**Gallego Pilar, Madrid, ES;**  
**Zarzuolo Maria, Madrid, ES;**  
**Manzanares Ignacio, Madrid, ES;**  
**Martin Maria Jesus, Madrid, ES;**  
**Munt Simon, Madrid, ES;**

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

(54) Názov: **Spôsob prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny a medziprodukt na jej syntézu**

(57) Anotácia:

Spôsob prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny zahŕňa odstránenie ochrany zlúčeniny vzorca (A) odstránením obidvoch chrániacich skupín v jednom kroku za poskytnutia  $\alpha$ -amínolaktónu vzorca (35) podľa schémy opísanej v opise. Opísaný je aj medziprodukt na prípravu tejto zlúčeniny.



SK 287879 B6

### Oblasť techniky

Tento vynález sa týka spôsobu prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny a medziproduktu na jej prípravu.

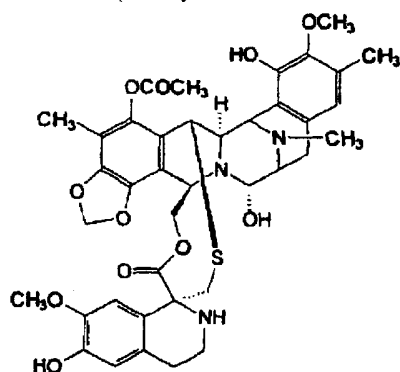
5

### Doterajší stav techniky

Európsky patent 309477 sa týka ekteínascidínov 729, 743, 745, 759A, 759B a 770. Opisuje sa tam, že ekteínascidínové zlúčeniny vykazujú antibakteriálne a iné užitočné vlastnosti. S ekteínascidínom 743 ako protinádorovým činidlom sa teraz vykonávajú klinické testy.

10

Ekteínascidín 743 je tvorený komplexnou tris(tetrahydroizochinolínfenolovou) štruktúrou a má vzorec (I).



(I)

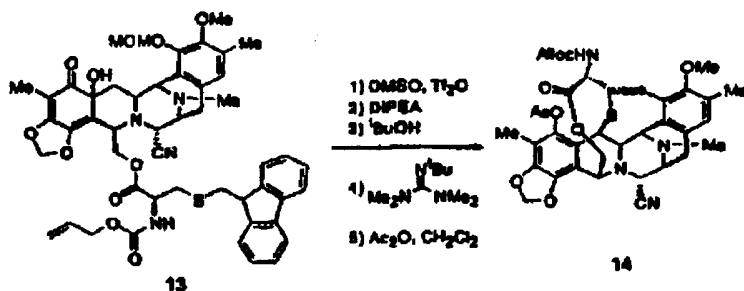
V súčasnosti sa získava izoláciou z extraktov morského pláštenca *Ecteinascidin turbinata*. Výťažok je nízky a hľadajú sa alternatívne spôsoby prípravy.

15

Syntetický spôsob výroby zlúčenín je opísaný v americkom patent US 5721 362, pozri aj WO 9812 198, ktorý je uvedený v odkazoch. Tento spôsob je dlhý a komplikovaný a je tam uvedených 38 príkladov, kde každý opisuje jeden alebo viac krokov syntézy ekteínascidínu 743.

V tomto známom syntetickom spôsobe sa 1,4 mostík vytvorí použitím kondenzovanej 1-labilnej, 10-hydroxy, 18-chránená hydroxy, di-6,8-en-5-on zlúčeniny. Ako je ukázané v príklade 33, premení sa zlúčenina 13 na zlúčeninu 14.

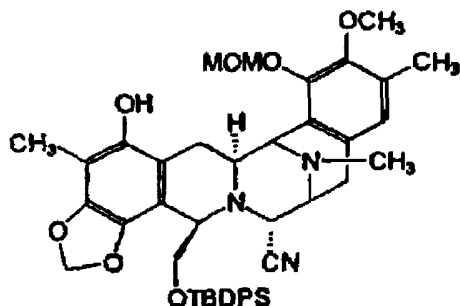
20



V tomto známom syntetickom spôsobe sa ďalej na 1,4 mostíku vytvorí spirochinolín pomocou krokov uvedených v príkladoch 34 až 36, čím dôjde k odstráneniu 18-MOM chrániacej skupiny, čo vedie ku vzniku ekteínascidínu 770, ktorý je možné potom premeniť na ekteínascidín 743.

25

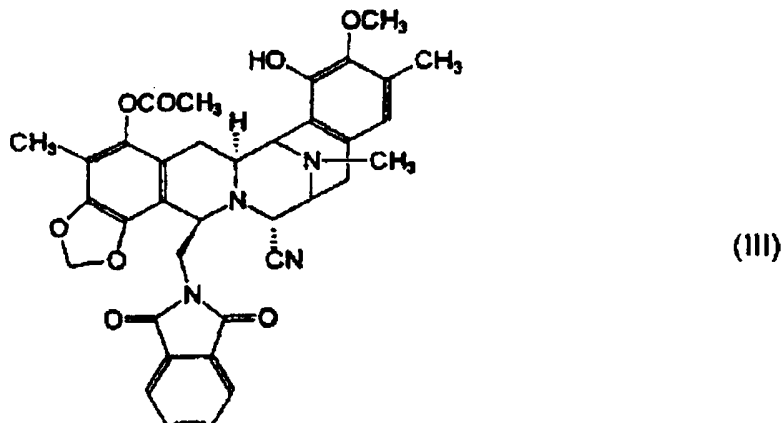
V nároku 25 US Patent 5 721 362 je ako medziprodukt opísaná fenolová zlúčenina, ktorá je označovaná tiež ako medziprodukt 11 alebo Int-11. Táto zlúčenina je tvorená bis(tetrahydroizochinolínfenolovou) štruktúrou a má vzorec (II),



(II)

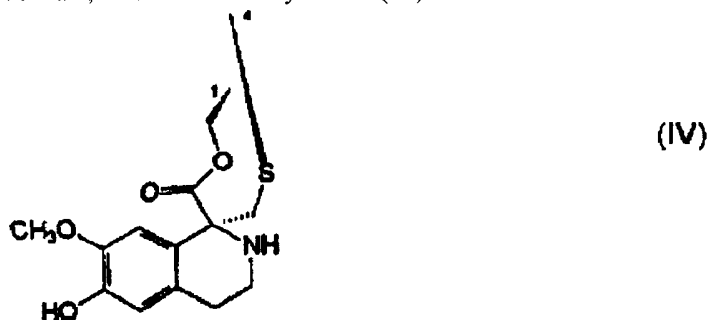
kde MOM je metoxymetyl a TBDPS je terc.butyldifenylsilyl.

Z medziproduktu 11 je možné syntetizovať ďalšie protinádorové činidlo ftalascidín, pozri Proc. Nati. Acad. Sci. USA, 96, 3496-3501, 1999. Ftalascidín je derivát bis(tetrahydroizochinolínfenolu) a má vzorec (III).

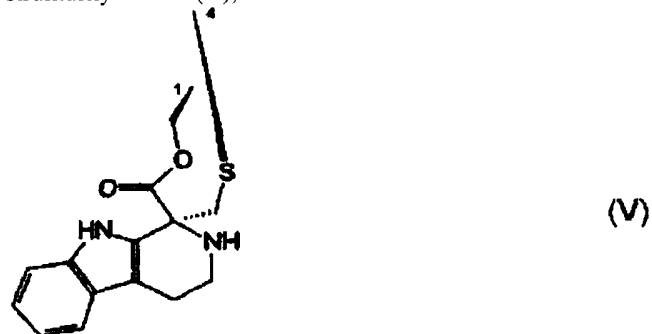


5

V ekteínascidínoch 743 a 770 má 1,4 mostík štruktúrny vzorec (IV).



Medzi ďalšie známe ekteínascidíny patria zlúčeniny s odlišným systémom premostenia, napríklad v ekteínascidíne 722 a 736, kde má mostík štruktúrny vzorec (V),

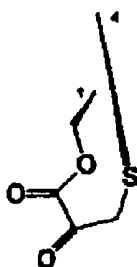


10

ďalej v ekteínascidíne 583 a 597, kde má mostík štruktúrny vzorec (VI),



a ďalej v ekteínascidíne 594 a 596, kde má mostík štruktúrny vzorec (VII).



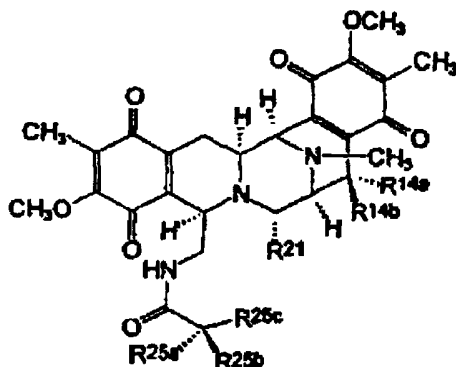
(VII)

Kompletná štruktúra týchto a odvodených zlúčenín je uvedená v J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, 9017 až 9023. Tento článok je uvedený v odkazoch.

Medzi ďalšie ecteinascidínové zlúčeniny patrí Corey, E. J., J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, pp. 920 až 9203, ďalej Rinehart et al., Journal of Natural Products, 1990, „Bioactive Compounds from Aquatic and Terrestrial Source“, vol. 53, pp. 771 - 792, ďalej Rinehart et al., Pure and Appl. Chem., 1990, „Biologically active natural products“, vol. 62, pp. 1277 - 1280, ďalej Rinehart et al., J. Org. Chem., 1990, „Ecteinascidiny 729, 743, 745, 759A, 759B, and 770, patent Antitumour Agents from the Caribbean Tunicate Ecteinascidia rumb/nafa“, vol. 55, pp. 4512 - 4515, ďalej Wright et al., J. Org. Chem., 1990, „Antitumour Tetrahydroizoquinoline Alkaloids from the Colonial Ascidian Ecteinascidia turbinata“, vol. 55, pp. 4508 - 4512, ďalej Sakai et al., Proc. Nati. Acad. Sci. USA 1992, „Additional antitumor ecteinascidins from Caribbean tunicate: Crystal structures and activities in vivo“, vol. 89, pp. 11456 - 11460, ďalej Science, 1994, „Chemical Prospectors Scour the Seas for Promising Drugs“, vol. 266, pp. 1324, ďalej Koenig, K. E., „Asymmetric Synthesis“, ed. Morrison, Academic Press, Inc., Orlando, FL, vol. 5, 1985, pp. 71, ďalej Barton et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans, 1, 1982, „Synthesis and Properties of Series of Sterically Hindered Guanidine bases“, pp. 2085, ďalej Fukuyama et al., J. Am. Chem. Soc., 1982, „Stereocontrolled Total Synthesis of (+)-Saframycin B“, vol. 104, pp. 4957, ďalej Fukuyama et al., J. Am. Chem. Soc., 1990, „Total Synthesis of (+)-Saframycin A“, vol. 112, p. 3712, ďalej Saito et al., J. Org. Chem., 1989, „Synthesis of Saframycins. Preparation of a Key tricyclic Lactam Intermediate to Saframycin A“, vol. 54, 5391, ďalej Still et al., J. Org. Chem., 1978, „Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution“, vol. 43, p. 2923, ďalej Kofron, W. G., Baclawski, L. M., J. Org. Chem., 1976, vol. 41, 1879, ďalej Guan et al., J. Biomolec. Struct. & Dynam., 1993, vol. 10, pp. 793 - 817, ďalej Shamma et al., „Carbon-13 NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids“, 1979, p. 206, ďalej Lown et al., Biochemistry, 1982, 21, 419 - 428, ďalej Zmijewski et al., Ceem. Biol. Interactions, 1985, 52, 361 - 375, ďalej CRC Crit Rev. Anal. Chem., 1986, 17, 65 - 143, ďalej Rinehart et al., „Topics in Pharmaceutical Sciences 7989“, 1989, pp. 613 - 626, Breimer, D. D., Cromwelin, D. J. A., Midha K., eds. Amsterdam Medical Press B. V., Noordwijk, Te Neterlands, ďalej Rinehart et al., „Biological Mass Spectrometry“, 1990, pp. 233 - 258, eds. Burlingame et al., Elsevier Amsterdam, ďalej Guan et al., Jour. Biomolec. Struct. & Dynam., 1993, vol. 10, pp. 793 - 817, ďalej Nakagawa et al., J. Am. Chem. Soc., 1989, 111, pp. 2721 - 2722, ďalej Lichter et al., „Food and Drugs from the Sea Proceedings“, 1972, Marine Technology Society, Washington, D.C. 1973, pp. 117 - 127, ďalej Sakai et al., J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, p. 9017, ďalej Garcia-Rocha et al., Brit. J. Cancer, 1996, 73, pp. 875 - 883, a ďalej Pommier et al., Biochemistry, 1996, 35, pp. 13 303 - 13 309.

Ďalej sú známe zlúčeniny, ktorým systém premostenia chýba. Patria medzi nich napríklad bis(tetrahydroizochinolínchinonová) protinádorové antimikrobiálne antibiotiká, to sú safracíny a saframycíny, a morské prírodné látky, to sú renieramicíny a xestomycín, ktoré boli izolované z kultivovaných mikroorganizmov alebo húb. Všetky tieto zlúčeniny majú dimernú tetrahydroizochinolínovú uhlíkovú štruktúru. Tieto zlúčeniny je možné klasifikovať do štyroch typov, typy I až IV, podľa typu oxidácie aromatických kruhov.

Do triedy typ I, dimerické izochinolínchinony, patria zlúčeniny všeobecného vzorca (VIII),



(VIII)

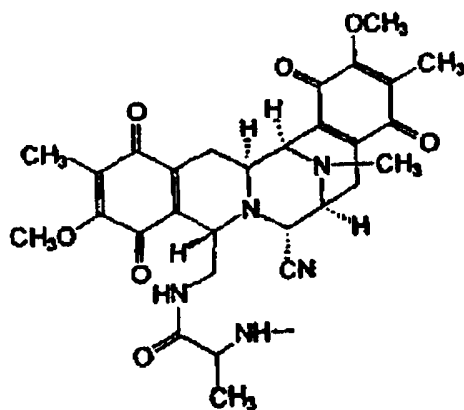
pozri nasleduje tabuľka I.

Tabuľka I. Saframycínové antibiotiká typu I

Zlúčenina	Substituenty					
	R <sup>14a</sup>	R <sup>14b</sup>	R <sup>21</sup>	R <sup>25a</sup>	R <sup>25b</sup>	R <sup>25c</sup>
saframycín A	H	H	CN	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín B	H	H	H	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín C	H	OCH <sub>3</sub>	H	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín G	H	OH	CN	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín H	H	H	CN	OH	CH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
saframycín S	H	H	OH	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín Y <sub>3</sub>	H	H	CN	NH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
saframycín Yd <sub>1</sub>	H	H	CN	NH <sub>2</sub>	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
saframycín Ad <sub>1</sub>	H	H	CN	O	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
saframycín Yd <sub>2</sub>	H	H	CN	NH <sub>2</sub>	H	H
saframycín Y <sub>2b</sub>	H	Q <sup>b</sup>	CN	NH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Saframycín Y <sub>2b-d</sub>	H	Q <sup>b</sup>	CN	NH <sub>2</sub>	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
Saframycín AH <sub>2</sub>	H	H	CN	H <sup>a</sup>	OH <sup>a</sup>	CH <sub>3</sub>
Saframycín AH <sub>2</sub> Ac	H	H	CN			
Saframycín AH <sub>1</sub>	H	H	CN	OH <sup>a</sup>	H <sup>a</sup>	CH <sub>3</sub>
Saframycín AH <sub>1</sub> Ac	H	H	CN	OAc	H	CH <sub>3</sub>
Saframycín AR <sub>3</sub>	H	H	H	H	OH	CH <sub>3</sub>

<sup>a</sup> substituenty je možné zameniť

5 <sup>b</sup> kde má skupina Q vzorec (IX)

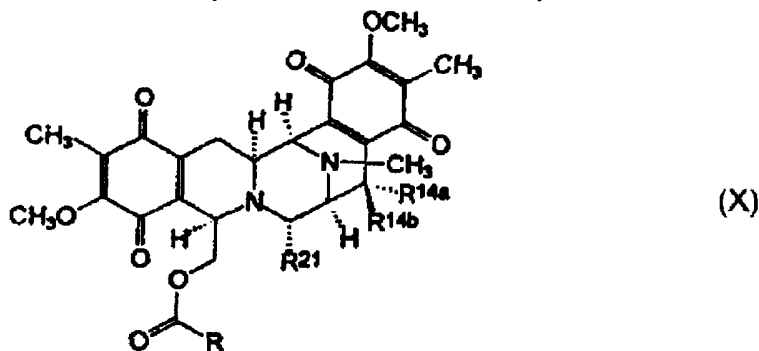


(IX)

10 Aromatické kruhy typu I sa nachádzajú v saframycínoch A, B a C, ďalej G a H, a ďalej S, ktoré sa ako vedľajšie zložky izolujú zo *Streptomyces lavendulae*. Kyano derivát saframycínu A, ktorý je označovaný ako kyanochinonamín, je známy z Japanese Kokai JP-A2 59/225 189 a 60/084 288. Saframycíny Y<sub>3</sub>, Yd<sub>1</sub>, Ad<sub>1</sub>, a Yd<sub>2</sub> boli pripravené zo *S. lavendulae* riadenou biosyntézou vo vhodnom zloženom kultivačnom médiu. Dime-  
 15 ry saframycínu Y<sub>2b</sub> a Y<sub>2b-d</sub>, pripravené spojením dusíka na C-25 jednej jednotky s C-14 druhej jednotky, boli tiež pripravené vo vhodnom zloženom kultivačnom médiu *S. lavendulae*. Saframycín AR<sub>1</sub> (= AH<sub>2</sub>), produkt mikrobiálnej redukcie saframycínu A na C-25, ktorý je produkovaný *Rhodococcus amidophilus*, je možné tiež pripraviť nestereoselektívnou chemickou redukciou saframycínu A pomocou tetrahydroboritanu sodného za vzniku 1 : 1 zmesi epimérov s následnou chromatografickou separáciou (druhý izomér AH<sub>1</sub> je menej polárny). Ďalší produkt redukcie saframycín AR<sub>3</sub>, 21-dekyano-25-dihydrosafamycín A(25- dihydrosafamycín B), bol pripravený rovnakou mikrobiologickou premenou. V inom type mikrobiologickej premeny saframy-

cínu A vzniká za prítomnosti druhov *Nocardia* saframycín B a redukciou za prítomnosti druhov *Mycobacterium* ďalej vzniká saframycín AH<sub>1</sub>Ac. 25-O-acetáty saframycínu AH<sub>2</sub> a AH<sub>1</sub> je možné na biologické štúdie pripraviť tiež chemicky.

Zlúčeniny typu I všeobecného vzorca (X) je možné tiež izolovať z morských húb,



5

pozri tabuľka II.

Tabuľka II. Zlúčeniny typu I z morských húb

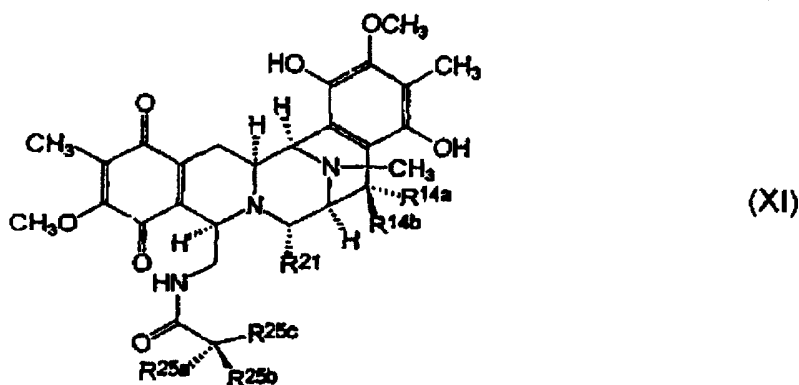
Zlúčenina	Substituenty			
	R <sup>14a</sup>	R <sup>14b</sup>	R <sup>21</sup>	R
renieramycín A	OH	H	H	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
renieramycín B	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
renieramycín c	OH	O	O	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
renieramycín D	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	O	O	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
renieramycín E	H	H	OH	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
renieramycín F	OCH <sub>3</sub>	H	OH	-C(CH <sub>3</sub> )=CH-CH <sub>3</sub>
xestomycín	OCH <sub>3</sub>	H	H	-CH <sub>3</sub>

10 Renieramycíny A až D spolu s biogeneticky príbuznými monomernými izochinolíni (renieron) a príbuznými zlúčeninami boli izolované z antimikrobiálneho extraktu húb, z druhov *Reniera* pozbieraných v Mexiku. Štruktúra renieramycínu A bola pôvodne určená s inverznou stereochemiou na uhlíkoch C-3, C-11 a C-13. Dôkladným skúmaním <sup>1</sup>H NMR údajov príbuzných zlúčenín (renieramycínov E a F) izolovaných z rovnakých húb pozbieraných v Palau bolo zistené, že kruhové spojenie je pri renieramycínoch rovnaké ako pri saframycínoch. Tento výsledok viedol k záveru, že kedysi určené stereochemie renieramycínov A až D sú rovnaké ako pri saframycínoch.

15

Xestomycín bol nájdený v hube, druhy *Xestospongia*, odobraté z vôd Srí Lancan.

Medzi zlúčeniny typu II s redukovaným hydrochinonovým kruhom patria saframycíny D a F, izolované z *S. lavendulae*, a saframycíny Mx-1 a Mx-2, izolované z *Mycococcus xanthus* všeobecného vzorca (XI),



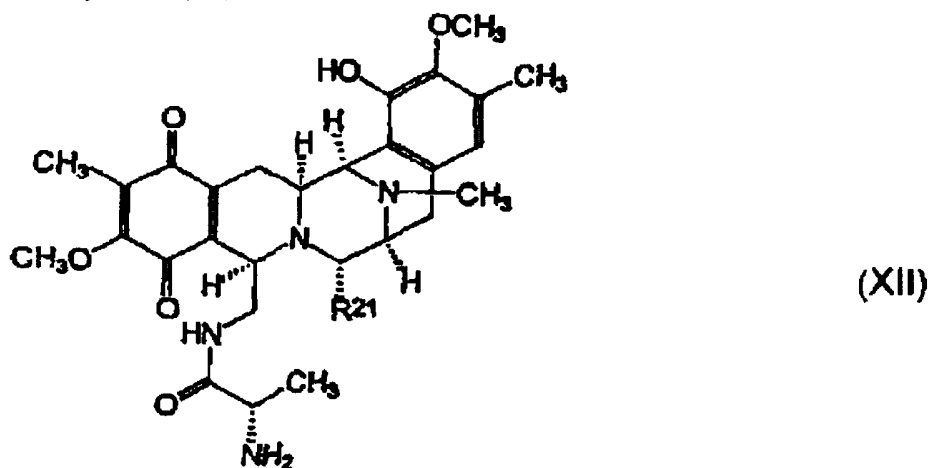
20

pozri tabuľka III.

Tabuľka III. Zlúčeniny typu II

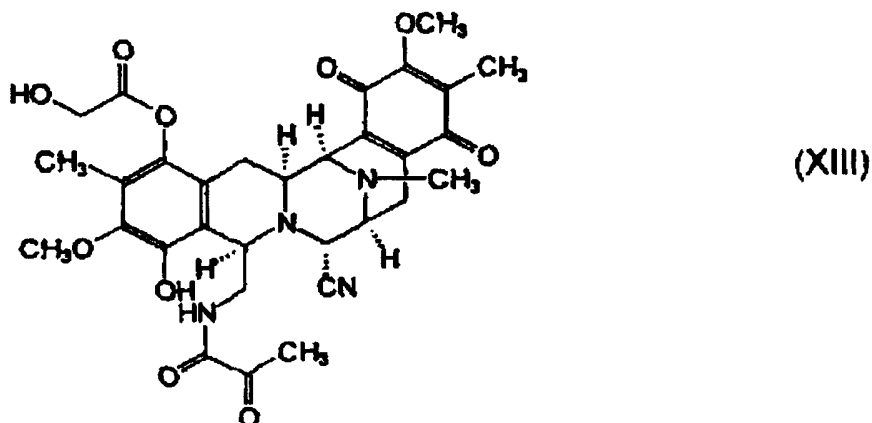
Zlúčenina	Substituenty					
	R <sup>14a</sup>	R <sup>14b</sup>	R <sup>21</sup>	R <sup>25a</sup>	R <sup>25b</sup>	R <sup>25c</sup>
saframycín D	O	O	H	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín F	O	O	CN	O	O	CH <sub>3</sub>
saframycín Mx-1	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
saframycín Mx-2	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>

Štruktúra typu III bola nájdená v antibiotikách safracínu A a B izolovaných z kultivovanej *Pseudomonas fluorescens*. Tieto antibiotiká sú tvorené tetrahydrozochinolinchinonovou a tetrahydrozochinolinfenolovou jednotkou a majú všeobecný vzorec (XII),

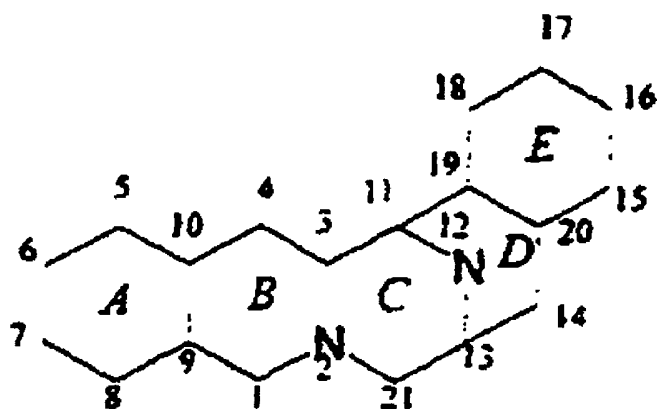


kde R<sup>21</sup> je -H v safracíne A a je -OH v safracíne B.

Saframycín R, jediná zlúčenina klasifikovaná so štruktúrou typu IV, bola tiež izolovaná zo *S. lavendulae*. Táto zlúčenina je tvorená hydrochinonovým kruhom s esterom kyseliny glykolovej ako postranným reťazcom na jednom z kyslíku fenolu, je považovaná za prekursor saframycínu A pre jej miernu toxicitu a má vzorec (XIII).



Všetky tieto známe zlúčeniny majú systém kondenzovaných piatich kruhov A až E, ako je zrejme z nasledujúceho všeobecného vzorca (XIV).



(XIV)

V ekteínascidínoch a niektorých ďalších zlúčeninách sú kruhy A a E fenolické, v iných zlúčeninách, menovite v saframycínoch, sú kruhy A a E chinolické. V známych zlúčeninách sú kruhy B a D tetrahydro, zatiaľ čo kruh C je perhydro.

5

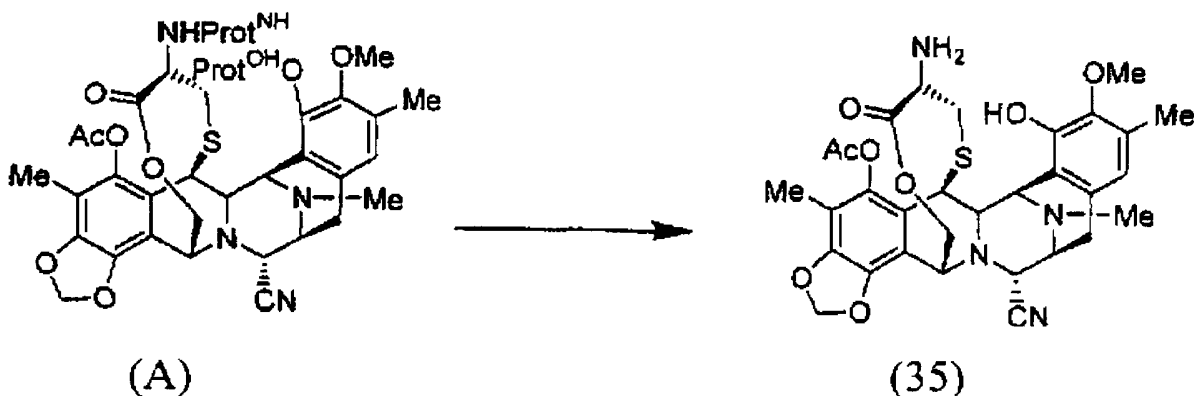
#### Podstata vynálezu

Stále existuje potreba hľadať alternatívne syntetické spôsoby vedúce na prípravu ekteínascidínových a im príbuzných zlúčenín. Takéto syntetické spôsoby prípadne znamenajú ekonomickejšie cesty na prípravu známych protinádorových činidiel rovnako ako na prípravu nových účinných zlúčenín.

Tento vynález sa týka syntetických spôsobov prípravy medziproduktov, derivátov a zlúčenín so štruktúrou príbuznou ekteínascidínom alebo iných tetrahydroizochinolínenolových zlúčenín.

Tento vynález sa konkrétne týka spôsobu prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny, ktorý zahŕňa odstránenie ochrany zlúčeniny vzorca (A) odstránením obidvoch chrániacich skupín v jednom kroku za poskytnutia  $\alpha$ -amínolaktónu vzorca (35) podľa nasledujúcej schémy:

15



(A)

(35)

kde  $\text{Prot}^{\text{NH}}$  je skupina chrániaca amín a  $\text{Prot}^{\text{OH}}$  je skupina chrániaca hydroxyskupinu.

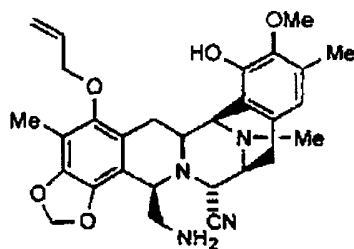
Medzi výhodné východiskové látky pre nové syntetické spôsoby patria zlúčeniny príbuzné prírodným bis(tetrahydroizochinolínovým) alkaloidom. Takéto východiskové látky sa môžu pripraviť buď z rôznych tried saframycínových a safracínových antibiotík dostupných z rôznych kultivačných pôd, ako je potrebné uvedené WO 0 069 862, ktorý je uvedený v odkazoch alebo inými syntetickými alebo biochemickými postupmi. Táto PCT prihláška nárokuje prioritu z prihlášky PCT/GB 00/01 582 publikovanej ako WO 0 069 862. Tento text je v plnom rozsahu uvedený v odkazoch a nie je uvedený v opise vynálezu.

20

25

Tento vynález sa týka použitia medziproduktu 21 v rade nových syntetických spôsobov prípravy ekteínascidínu 743 a príbuzných zlúčenín a má vzorec (XV).





21

Medziprodukt 21 má 5-allyloxy skupinu, kde allylová skupina slúži na ochranu 5-hydroxylovej skupiny. Tento vynález sa týka aj použitia iných skupín chrániacich 5-hydroxylovú skupinu.

- 5 Príprava ekteínascidínu 743 a príbuzných zlúčenín  
 Premena medziproduktu 21 alebo príbuznej látky na ekteínascidínovú zlúčeninu zvyčajne obsahuje nasledujúce kľúčové premeny:
- premena  $\text{NH}_2$  na  $\text{OH}$  reakciou napríklad s dusitanom sodným v kyseline octovej,
  - E-kruhovú fenolovú ochranu,
  - 10 esterifikácia pomocou chránenia primárnej 1-hydroxylovej funkčnej skupiny chráneným cysteínovým postranným reťazcom,
  - odobratie skupiny chrániacej allylovú skupinu a oxidácie,
  - vytvorenie premostenia cyklizačnou reakciou,
  - 15 odobratie chrániacich skupín z E-kruhového fenolu a cysteínového zvyšku,
  - 20 vnesenie chinolínu trans-aminačnou reakciou a Pictet-Spenglerovou reakciou.
- Vysoká funkčnosť medziproduktov vyžaduje pre E-kruhový fenol a pre cysteínový postranný reťazec použitím chrániacich skupín, aby sa zabránilo nežiaducim vedľajším reakciám.
- V závislosti od výberu chrániacich skupín je možné vytvoriť množstvo alternatívnych medziproduktov. Tieto premeny je možné navzájom akokoľvek kombinovať v závislosti od chrániacich skupín vybraných pre fenolový kruh a pre amín na cysteínovom postrannom reťazci.
- 20 Celkový počet syntetických premien je tiež funkciou vybraných chrániacich skupín.
- Na ilustráciu je opísané použitie rôznych kombinácií chrániacich skupín na šiestich typických cestách prípravy ET-743 z medziproduktu 21, ktorý je tu označený tiež ako SF21.

Cesta	fenolová ochrana	cysteínová ochrana	počet krokov
1	MOM	Boc	12
2	MEM	Boc	10
3	MEM	Cbz	11
4	MOM	Alloc	13
5	MEM	Alloc	13
6	MOM	Cbz	15

25 MEM je metoxyetoxymetyl, Boc je *tert.*butyloxykarbonyl, Cbz je benzyloxykarbonyl a Alloc je allyloxykarbonyl.

30 Reakčné schémy opísané neskôr je možné modifikovať a/alebo rôznymi spôsobmi kombinovať a tento vynález sa tiež týka i týchto alternatívnych spôsobov.  
 Tento vynález sa týka tiež použitia iných chrániacich skupín.

Detailný opis šiestich typických syntetických ciest  
 35 Celé reakčné schémy pre každú cestu sú uvedené na nasledujúcich schémach 1 až 6.

Schéma 1 - ET-743. Semisynthetická alternatívna cesta 1.

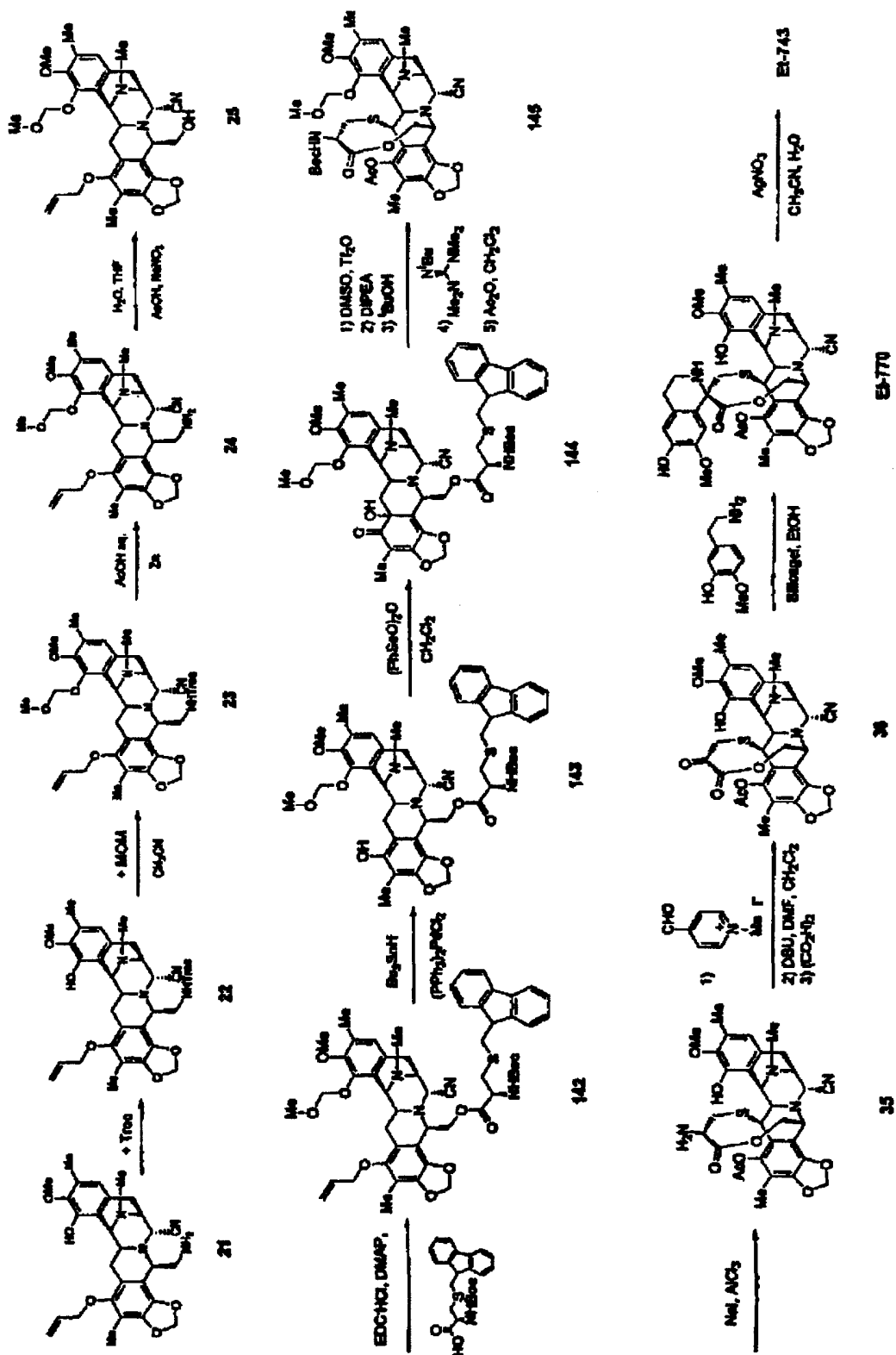


Schéma 2 - ET-743. Semisynetická alternatívna cesta 2.

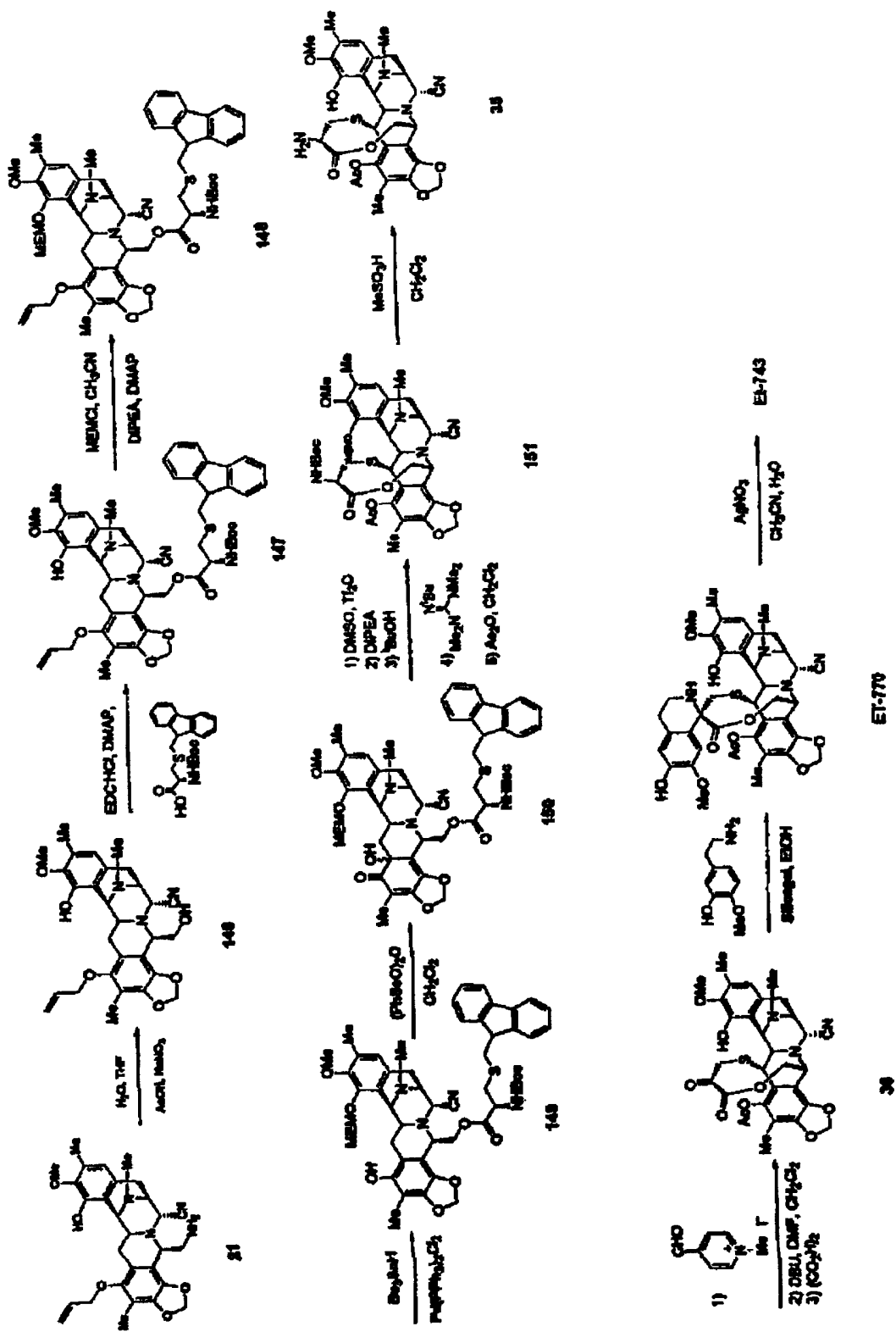


Schéma 3 - ET-743. Semisynetická alternatívna cesta 3.

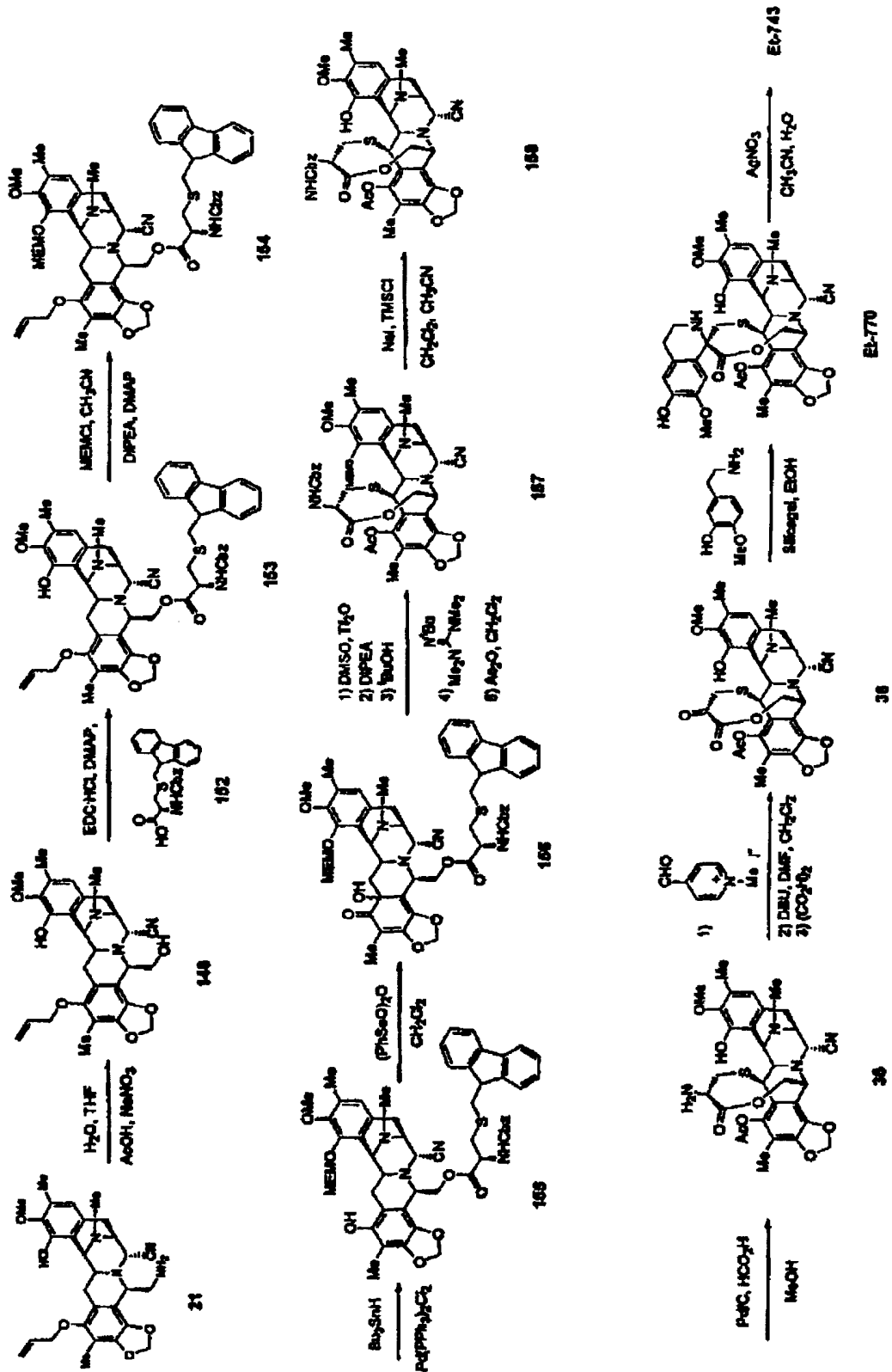


Schéma 4 - ET-743. Semisyntetická alternatívna cesta 4.

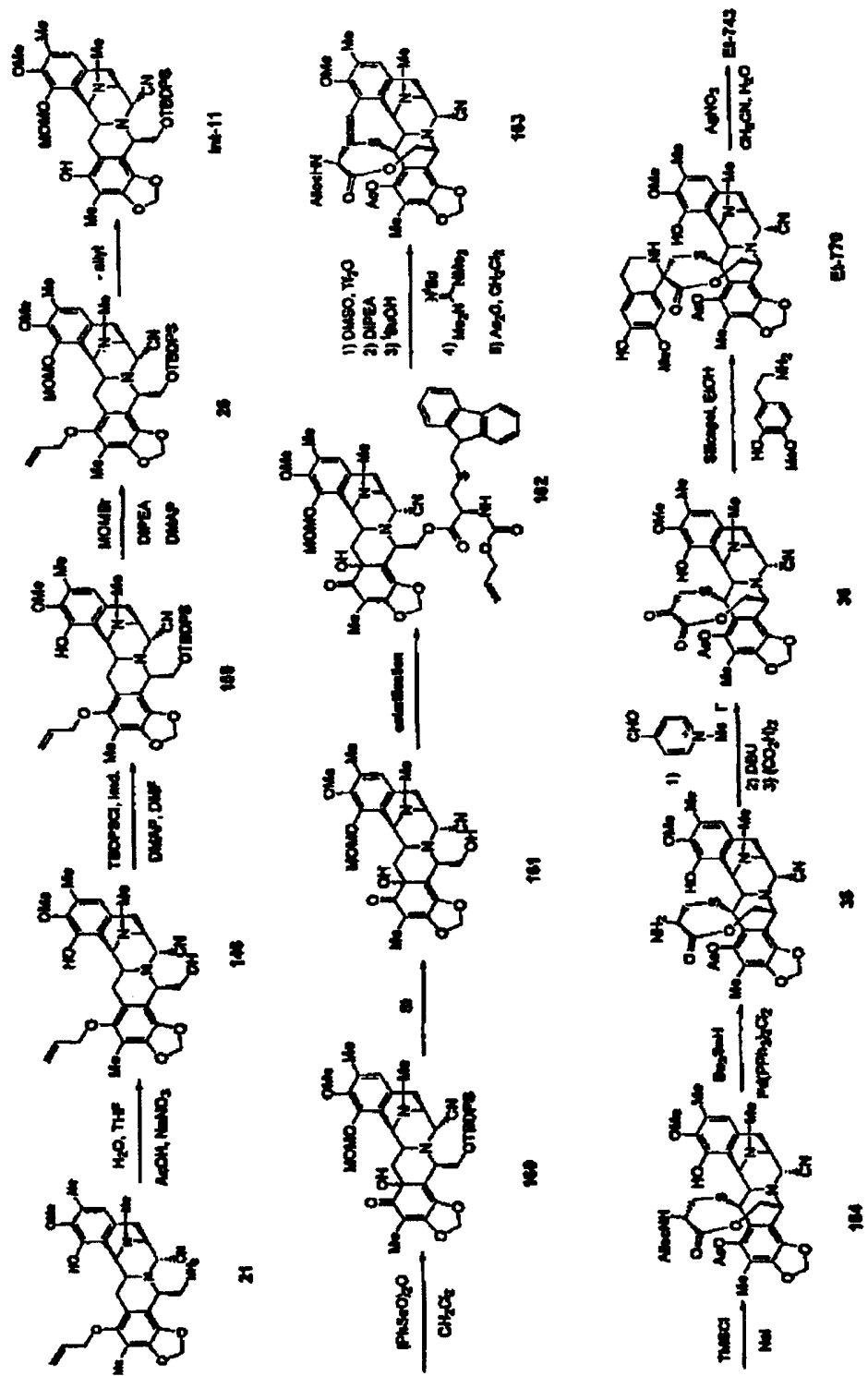


Schéma 5 - ET-743. Semisyntetická alternatívna cesta 5.

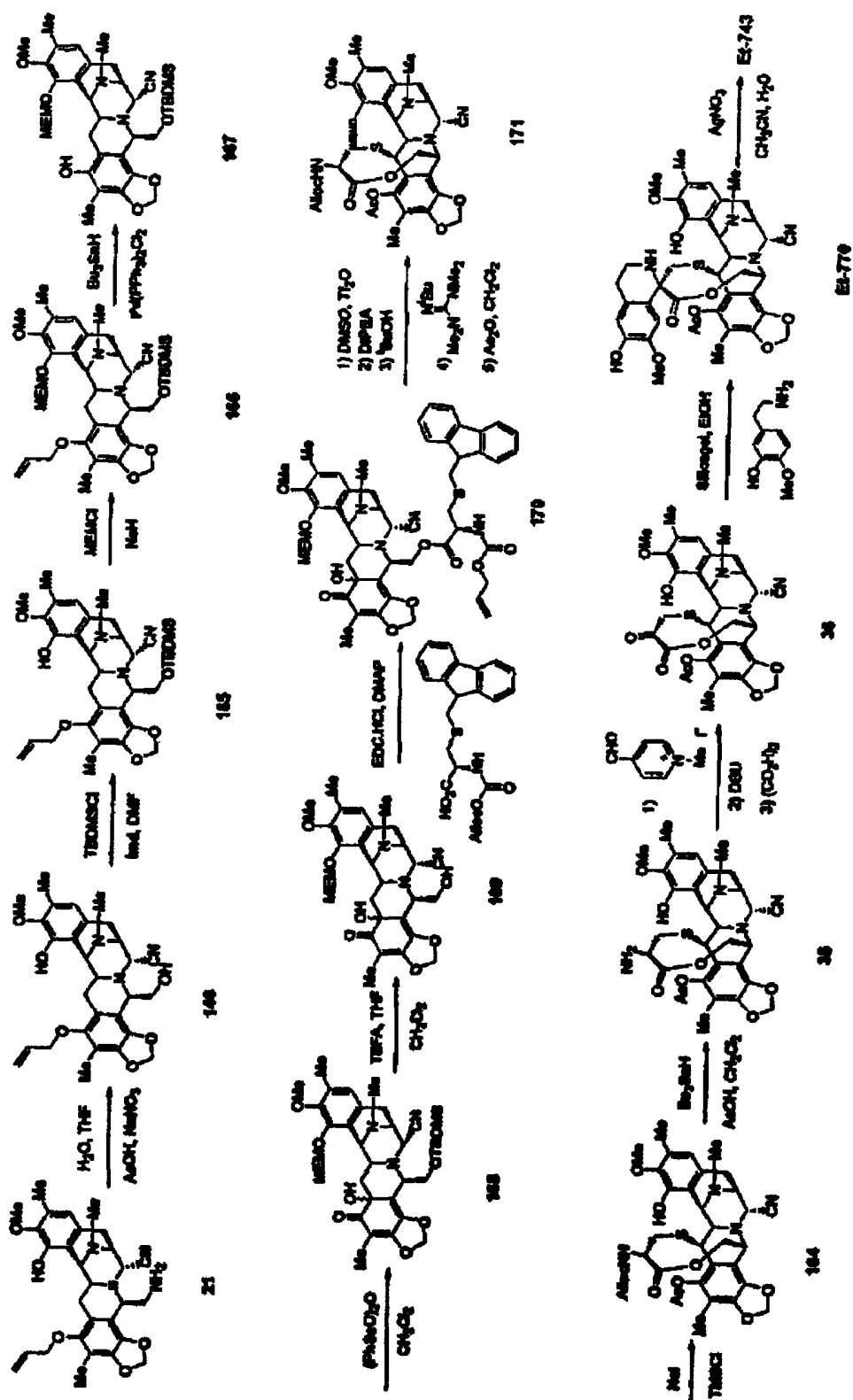
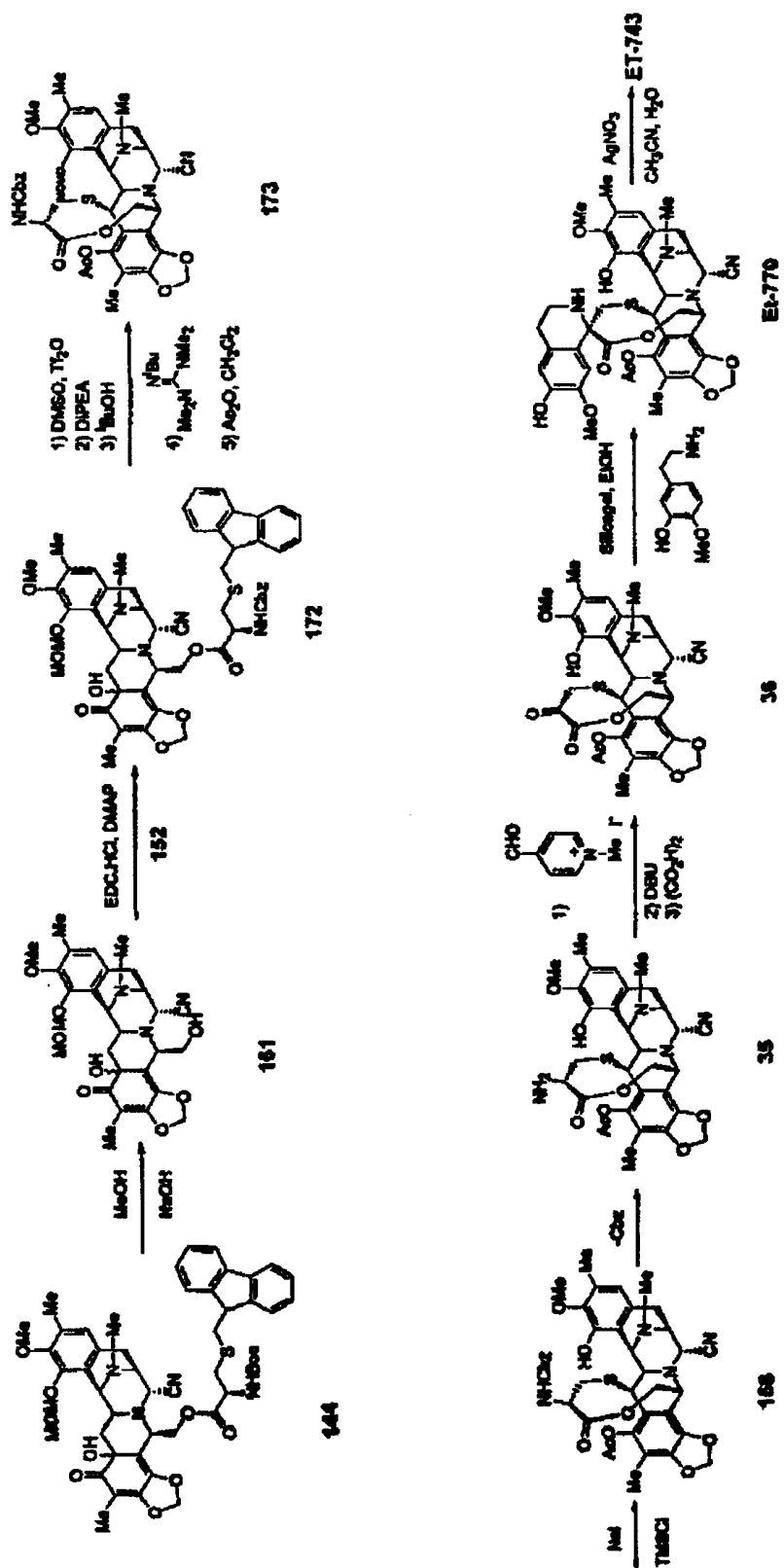


Schéma 6 - ET-743. Semisyntetická alternatívna cesta 6.



Chránenie *E*-kruhového fenolu je na ceste 1 dosiahnuté tromi krokmi, ktoré obsahujú naviazanie/odobra-  
tie chrániacej skupiny Troc (2,2,2-trichloretyloxykarbonyl) z amínu SF21.

Chránenie cysteínového postranného reťazca pomocou Boc na ceste 1 a 2 vedie k tomu, že pri fenolovej a  
cysteínovej skupine dôjde k odobratiu chrániacej skupiny v jednom kroku namiesto dvoch oddelených kro-  
kov. Pri ostatných cestách je na odobratie chrániacej skupiny nutný jeden krok navyše.

Na ceste 2 nevzniká medziprodukt 25, pretože sa použije priama esterifikačná metóda nasledovaná chrá-  
nením fenolu MEM skupinou.

Na ceste 2 a 3 dochádza k chráneniu *E*-kruhového fenolu až po prebehnutí diazotačných a esterifikačných  
krokov, čo vedie k naviazaniu skupiny chrániacej fenol v jednom kroku namiesto troch krokov uvedených na  
ceste 1.

Na ceste 1, 2 a 3 eliminuje priama esterifikácia primárneho alkoholu cysteínovým derivátom neproduk-  
tívne naviazanie/odobratie silylovej skupiny (cesty 4 a 5) chrániacej primárny alkohol, čím sa cesty skrátia o  
dva kroky.

Cesta 6 len opisuje posledné kroky premeny medziproduktu 161, ktorý je možné ľahko získať z medzi-  
produktu 21.

Na ceste 4 a 5 sa primárny alkohol pripravený v počiatočnom kroku diazotácie chráni pomocou kremíka,  
čo vedie k selektívnemu chráneniu *E*-kruhového fenolu a nedochádza ku vzniku medziproduktu 25. Nasledu-  
júce modifikácie A-kruhu (odobratie chrániacej skupiny/oxidácie) dôjde k odstráneniu kremíkovej skupiny,  
čo vedie k esterifikácii primárneho alkoholu cysteínovým derivátom.

Tieto zmeny sú priamym dôsledkom problémov, ktoré boli nájdené pri ceste uvedenej vo WO 0 069 862.  
Ako výsledok týchto zmien je celá cesta 2 kratšia o tri kroky, a preto je teda potenciálne výhodnejšia a/alebo  
lacnejšia na bežnú výrobu.

#### Prehľad spôsobov

Z pohľadu cesty 1 až 6 sa tento vynález týka spôsobu prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny so spiroamín-  
1,4-mostíkom, pri ktorom dochádza k vytvoreniu 1,4 mostíka u kondenzovanej 1-labilnej, 10-hydroxy, 18-  
chránená hydroxy, di-6,8-en-5-on zlúčeniny odobratím C-18 chrániacej skupiny a vnesením spiroamínu.

V jednom uskutočnení má ekteínascidínová zlúčenina 21-hydroxylovú skupinu a tento spôsob obsahuje  
premenu 21-kyano skupiny na 21-hydroxylovú skupinu.

Spiroamín je typicky spirochinolín, najmä spirochinolín ekteínascidínu 743.

Vo výhodnom uskutočnení je 18-chránená skupina kondenzovanej 1-labilnej, 10-hydroxy, 18-chránená  
hydroxy, di-6,8-en-5-on zlúčeniny chránená MOM (metoxymetyl) alebo MEM (metoxyetoxymetyl) skupi-  
nou.

Výhodná 1-labilná skupina je N-chránená cysteínyloxymetylénová skupina vzorca-CH<sub>2</sub>-O-CO-CNH  
Prot<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-S-H.

V tomto vzorci je Prot<sup>1</sup> typicky Boc (terc.butyloxykarbonyl), Troc (2,2,2-trichlóretyloxykarbonyl), Cbz  
(benzyloxykarbonyl) alebo Alloc (allyloxykarbonyl).

V niektorých uskutočneniach dôjde k odobratiu Prot<sup>1</sup> v rovnakom kroku ako k odobratiu C-18 chrániacej  
skupiny.

Túto 1-labilnú skupinu je možné pripraviť z 1-substituentu vzorca -CH<sub>2</sub>-O-CO-CNHProt<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-S-Prot<sup>2</sup>.

V tomto vzorci je Prot<sup>2</sup> typicky Fm (9-fluorenylmetyl).

1-substituent vzorca -CH<sub>2</sub>-O-CO-CNHProt<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-S-Prot<sup>2</sup> je možné pripraviť esterifikáciou -CH<sub>2</sub>-O-H  
substituentu.

Esterifikáciu je možné uskutočniť pred vytvorením alebo po vytvorení 10-hydroxy, di-6,8-en-5-on štruk-  
túry.

V jednom uskutočnení vychádza nárokováný spôsob z kondenzovanej 1-amino-metylen, 5-chránená hyd-  
roxy, 7,8-dioxymetylén, 18-hydroxy, 21-kyano zlúčeniny.

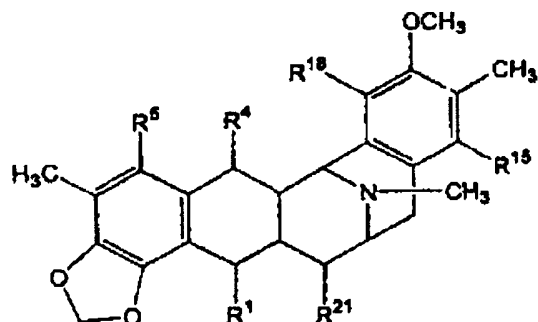
1-aminometylénovú skupinu je možné dočasne chrániť, čo vedie ku chráneniu 18-hydroxylovej skupiny,  
a chrániacu skupinu potom odstrániť.

C-18 hydroxylovú skupinu je možné tiež chrániť po vytvorení 1-esterovej funkčnej skupiny.

V iných uskutočneniach sa 1-aminometylénová skupina prevedie na 1-hydroxy-metylénovú skupinu, kto-  
rá sa dočasne chráni, čo vedie ku chráneniu 18-hydroxylovej skupiny, a chrániaca skupina sa potom odobe-  
rie.

Kondenzovaná štruktúra má výhodný všeobecný vzorec (XVI),





(XVI)

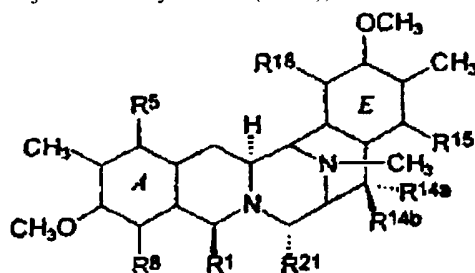
kde  $R^{15}$  je výhodne H. Jeden, viac alebo všetky zostávajúce substituenty sú rovnaké ako v prípade ekteínascidínu 743.

### 5 Semisyntéza

Tento vynález sa týka použitia známej zlúčeniny, safracínu B, tiež označovaného ako chinonamín, v semisyntéze.

Tento vynález sa týka semisyntetického spôsobu prípravy medziproduktov, derivátov a zlúčenín so štruktúrou príbuznou ekteínascidínu alebo iných tetrahydroizochinolínfenolových zlúčenín pôvodom z prírodných bis(tetrahydroizochinolínových) alkaloidov. Medzi výhodné východiskové látky pre semisyntetický spôsob patria triedy saframycinových a safracinových antibiotík dostupných z rôznych kultivačných pôd a tiež triedy reineramicinových a xestomycinových zlúčenín dostupných z morských húb.

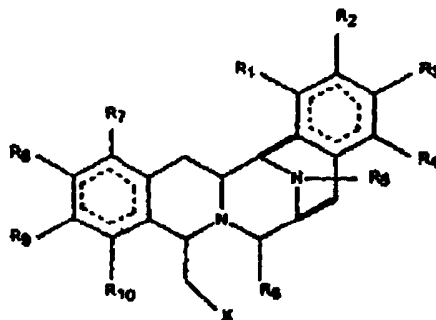
Východiskové látky majú všeobecný vzorec (XVII),



(XVII)

15 kde  $R^1$  je amidometylenová skupina, ako je  $-\text{CH}_2\text{-NH-CO-CR}^{25a}\text{R}^{25b}\text{R}^{25c}$ , kde  $R^{25a}$  a  $R^{25b}$  tvoria keto skupinu, alebo kde jedno je  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$  alebo  $-\text{OCOCH}_3$  a druhé je  $-\text{CH}_2\text{COCH}_3$ ,  $-\text{H}$ ,  $-\text{OH}$  alebo  $-\text{OCOCH}_3$  za predpokladu, že 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 je  $R^1$  acyloxymetylenová skupina, ako je  $-\text{CH}_2\text{-O-CO-R}$ , kde  $R$  je  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH-CH}_3$  alebo  $-\text{CH}_3$ , ďalej  $R^5$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané zo skupiny obsahujúcej  $-\text{H}$ ,  $-\text{OH}$  alebo  $-\text{OCOCH}_2\text{OH}$  alebo sú  $R^5$  a  $R^8$  keto skupiny a kruh A je p-benzochinonový kruh, ďalej  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  sú obe  $-\text{H}$  alebo jedno je  $-\text{H}$  a ďalšie je  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$  alebo  $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$  alebo  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  tvoria keto skupinu, ďalej  $R^{15}$  a  $R^{18}$  sú nezávisle vybrané zo skupiny obsahujúcej  $-\text{H}$  alebo  $-\text{OH}$  alebo  $R^{15}$  a  $R^{18}$  sú obe keto skupiny a kruh A je p-benzochinonový kruh, a ďalej  $R^{21}$  je  $-\text{OH}$  alebo  $-\text{CN}$ .

Táto trieda má všeobecný vzorec (XVIII),



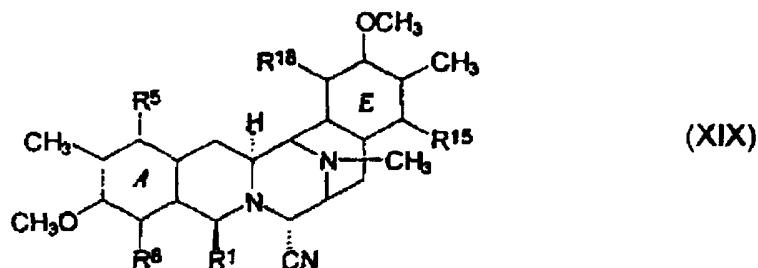
(XVIII)

25

kde substituenty definované pomocou  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$  sú nezávisle vybrané zo skupiny obsahujúcej  $\text{H}, \text{OH}, \text{OCH}_3, \text{CN}, =\text{O}, \text{CH}_3$ , ďalej kde  $X$  sú rôzne amidy alebo esterové funkčné skupiny obsiahnuté v spomínaných prírodných látkach, ďalej kde každý bodkovaný kruh predstavuje jednu, dve alebo tri dvojité väzby.

Tento vynález sa týka semisyntetických ciest prípravy medziproduktov vrátane medziproduktu 11 alebo 21, a teda prípravy ekteínascidínových zlúčenín, ako je ftalascidín a ďalšie zlúčeniny. Každá semisyntetická cesta tohto vynálezu obsahuje niekoľko krokov, ktoré vedú k požadovanej zlúčenine. Každý krok sám osebe je spôsobom podľa tohto vynálezu. Tento vynález nie je uvedenými cestami limitovaný a je možné použiť i alternatívne cesty, ktoré vzniknú vhodnou zmenou poradia krokov alebo výmenou používaných chrániacich skupín.

Tento vynález vyžaduje predovšetkým prípravu 21-kyano východiskovej látky všeobecného vzorca (XIX),



kde  $R^1$ ,  $R^5$ ,  $R^8$ ,  $R^{14a}$ ,  $R^{14b}$ ,  $R^{15}$  a  $R^{18}$  už boli definované.

Výhodnými východiskovými látkami sú tiež zlúčeniny všeobecného vzorca (XIX) s odlišnými substituentmi na 21-pozícii. Akýkoľvek derivát, ktorý vzniká nukleofilným nahradením 21-hydroxylovej skupiny zlúčenín všeobecného vzorca (XVII), kde  $R^{21}$  je hydroxylová skupina, je vhodný. Medzi príklady vhodných 21-substituentov patrí napríklad merkpto skupina, ďalej alkyltio skupina (alkylová skupina s 1 až 6 atómami uhlíka), ďalej aryltio skupina (arylová skupina s 6 až 10 atómami uhlíka a substituovaná alebo nesubstituovaná 1 až 5 substituentmi vybranými zo skupiny obsahujúcej napríklad alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, alkoxy skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, atómami halogénov, merkpto skupiny a nitro skupiny), ďalej amino skupina, ďalej mono- alebo dialkylamino skupina (každá alkylová skupina s 1 až 6 atómami uhlíka), ďalej mono- alebo diarylamino skupina (každá arylová skupina, ako bolo definované vyššie v opise aryltio skupiny), ďalej  $\alpha$ -karbonylalkylová skupina všeobecného vzorca  $-C(R^a)(R^b)-C(=O)R^c$ , kde  $R^a$  a  $R^b$  sú vybrané zo skupiny obsahujúcej atómy vodíka, alkylové skupiny s 1 až 20 atómami uhlíka, arylové skupiny (ako bolo definované v opise aryltio skupiny) a aralkylové skupiny (v ktorých alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka je substituovaná arylovou skupinou, ako bolo definované v opise aryltio skupiny) za predpokladu, že jeden z  $R^a$  a  $R^b$  je atóm vodíka a kde  $R^c$  sa vyberie zo skupiny obsahujúcej atóm vodíka, alkylovú skupinu s 1 až 20 atómami uhlíka, arylovú skupinu (ako bolo definované v opise aryltio skupiny), aralkylovú skupinu (v ktorých alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka je substituovaná arylovou skupinou, ako bolo definované v opise aryltio skupiny), alkoxy skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, amino skupinu alebo mono- alebo dialkylamino skupinu, ako bolo definované.

Tento vynález sa týka spôsobov, v ktorých v prvom kroku dochádza použitím nukleofilného činidla ku vzniku 21-derivátu. Tieto zlúčeniny sa označujú ako 21-Nuc zlúčeniny.

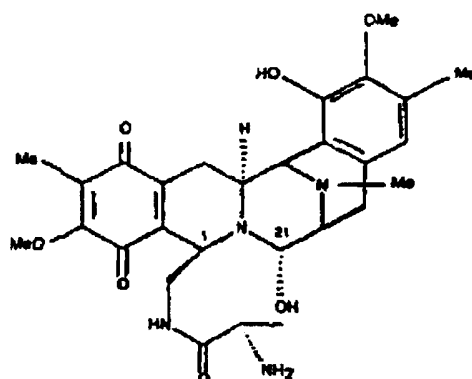
Na získanie niektorých konečných zlúčenín, menovite ekteínascidínu 770 aftalascidínu, je nutná prítomnosť 21-kyano skupiny, zatiaľ čo pri iných konečných zlúčeninách táto skupina vystupuje ako chrániaca skupina, ktorú je možné ľahko premeniť na iný substituent, ako je napríklad 21-hydroxylová skupina v ekteínascidíne 743 alebo 21-hydroxylová skupina v ftalascidíne. Použitím 21-kyano zlúčeniny ako východiskovej látky účinne stabilizuje molekulu počas následných syntetických krokov, dokiaľ nie je odstránená. Iné 21-Nuc zlúčeniny ponúkajú tieto a iné výhody.

Tento vynález sa týka použitia 21-kyano zlúčeniny všeobecného vzorca (XIX) na prípravu bis- alebo tris(tetrahydroizochinolínfenolových) zlúčenín. Medzi zlúčeniny, ktoré je možné pripraviť, patrí napríklad medziprodukt 11 alebo 21 a ekteínascidíny rovnako ako nové a známe zlúčeniny príbuznej štruktúry.

Medzi výhodné východiskové látky patria zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII) alebo (XIX), kde  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  sú vodík. Medzi výhodné východiskové látky tiež patria zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII) alebo (XIX), kde  $R^{15}$  je vodík. Medzi výhodné východiskové látky ďalej tiež patria zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII) alebo (XIX), kde kruh E je fenolový kruh. Medzi výhodné východiskové látky ďalej patria zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII) alebo (XIX), kde minimálne jeden, lepšie minimálne dva alebo tri z  $R^5$ ,  $R^8$ ,  $R^{15}$  a  $R^{18}$  nie sú vodík.

Medzi príklady výhodných východiskových látok pre tento vynález patrí saframycín A, saframycín B, saframycín C, saframycín G, saframycín H, saframycín S, saframycín Y<sub>3</sub>, saframycín Yd<sub>1</sub>, saframycín Ad<sub>1</sub>, saframycín Yd<sub>3</sub>, saframycín AH<sub>2</sub>, saframycín AH<sub>2</sub>Ac, saframycín AH<sub>1</sub>, saframycín AH<sub>1</sub>Ac, saframycín AR<sub>3</sub>, renieramycín A, renieramycín B, renieramycín C, renieramycín D, renieramycín E, renieramycín F, xestomycín, saframycín F, saframycín Mx-1, saframycín Mx-2, safracín A, safracín B a saframycín R. Výhodné východiskové látky majú v 21-pozícii kyano skupinu ako skupinu  $R^{21}$ .

Tento vynález sa týka semisyntetického spôsobu, kde sa ako východisková látka použije safracín B, ktorý má vzorec (XX).

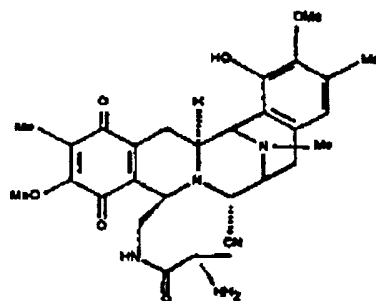


(XX)

Safracín B je tvorený systémom kruhov, ktorý je úzko príbuzný k ekteínascidínom. Táto zlúčenina má rovnakú pentacyklickú štruktúru a rovnaký systém substituentov v pravotočivom aromatickom kruhu E. Safracín B je tiež veľmi podobný niektorým syntetickým medziproduktom na čele syntézy ET-743, predovšetkým medziproduktu 11 alebo 21. Takýto medziprodukt je možné premeniť na ET-743 pomocou dobre známeho spôsobu. Syntetická premena safracínu B na medziprodukt 11 alebo 21 vedie ku vzniku ET-743 semi-syntetickým spôsobom.

Tento vynález sa týka medziproduktu 11 alebo 21 pripraveného zo safracínu B a zlúčenín odvodených z medziproduktu 11 alebo 21, predovšetkým ekteínascidínové zlúčeniny. Ďalej sa vynález týka ftalascidínu pripraveného zo safracínu B. Tento vynález sa tiež týka použitia safracínu B pri príprave medziproduktu 11 alebo 21, ekteínascidínových zlúčenín a ďalších medziproduktov. Tento vynález sa ďalej týka zlúčenín odvodených z ďalších navrhovaných východiskových látok a použitia východiskových látok na prípravu takýchto zlúčenín.

Výhodnejšie východiskové látky tohto vynálezu majú 21-kyano skupinu. V súčasnosti je najvýhodnejšia zlúčenina 2 tohto vynálezu. Táto zlúčenina sa získa priamo zo safracínu B, je považovaná za kľúčový medziprodukt v semisyntetickom spôsobe a má vzorec (XXI).

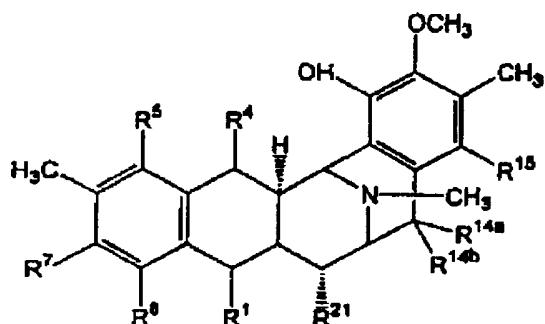


(XXI)

Tento vynález sa týka kyanosafracínu B pripraveného fermentáciou safracínu B produkujúceho kmeň *Pseudomonas fluorescens* a úpravou kultivačnej pôdy použitím kyanidového iónu. Medzi výhodný kmeň *Pseudomonas fluorescens* patrí kmeň A2-2, FERM BP-14, ktorý sa používa v postupe uvedenom v EP 055 299. Výhodným zdrojom kyanidového iónu je kyanid draselný. Pri typickej úprave sa kultivačná pôda prefiltruje a pridá sa nadbytok kyanidového iónu. Po dôkladnom premiešaní, napríklad jednu hodinu, potom sa pH upraví na 9,5 a organickou extrakciou vzniká surový extrakt, ktorý je možné ďalej čistiť za vzniku kyanosafracínu B.

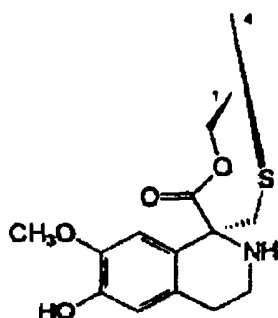
Stereochemické označenie použité v tomto vynáleze, ktoré vykazuje chyby, je treba opraviť. A pretože je možné syntézy modifikovať, týka sa tento vynález tiež stereoisomérov, kde  $R^1$  a  $R^4$  tvoria skupinu vzorcov (IV), (V), (VI) alebo (VII),

Vynález sa týka zlúčenín všeobecného vzorca (XXII),

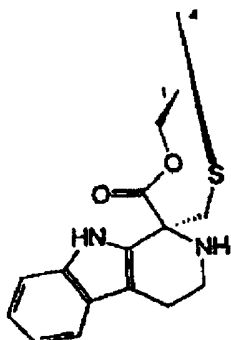


(XXII)

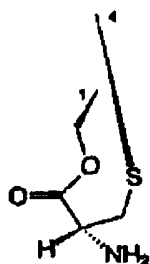
kde  $R^1$  a  $R^4$  tvoria skupinu vzorcov (IV), (V), (VI) alebo (VII),



(IV)



(V)



(VI)



(VII)

5 ďalej kde  $R^5$  je -H alebo -OH, ďalej  $R^7$  a  $R^8$  tvoria skupinu -O-CH<sub>2</sub>-O- ďalej  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  sú -H alebo jedna je -H a druhá je -OH, -OCH<sub>3</sub> alebo -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> alebo  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  tvoria keto skupinu, ďalej  $R^{15}$  je -H alebo -OH,

d'alej  $R^{21}$  je -H, -OH alebo -CN, a d'alej ich deriváty, ako sú acyl deriváty, predovšetkým tie, kde  $R^5$  je acetyloxy alebo iná acyloxy skupina s maximálne 4 atómami uhlíka.

Vo všeobecnom vzorci (XXII)  $R^1$  s  $R^4$  zvyčajne tvoria skupinu vzorca (IV) alebo (V). Skupina  $R^{18}$  je zvyčajne chránená.  $R^{21}$  je zvyčajne kyano skupina.

5 Výhodne je  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  vodík. Výhodne je  $R^{15}$  vodík. Medzi výhodné O-acyl deriváty patria alifatické O-acylové deriváty, predovšetkým tie, ktoré majú 1 až 4 atómy uhlíka a typicky O-acetylovú skupinu umiestnenú na 5-pozícii.

10 Medzi výhodné chrániace skupiny pre fenoly a hydroxylové skupiny patria etery a estery, ako je alkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, aryloxyalkylová skupina, alkoxyalkoxyalkylová skupina, alkylsilylalkoxyalkylová skupina, alkytioalkylová skupina, arylioalkylová skupina, azidoalkylová skupina, kyanoalkylová skupina, chloralkylová skupina, heterocyklická skupina, arylacylová skupina, haloarylacylová skupina, cykloalkylalkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, alkylarylalkylová skupina, alkoxyarylal-  
15 klylová skupina, nitroarylalkylová skupina, haloarylalkylová skupina, alyklaminokarbonylarylalkylová skupina, alkylsulfínylarylalkylová skupina, alkylsilylová skupina a ďalšie etery, a ďalej arylacylová skupina, arylalkylkarbonát, alifatický karbonát, alkylsulfínylarylalkylkarbonát, alkylkarbonát, arylhaloalkylkarbonát, arylalkenylkarbonát, arylkarbamát, alkylfosfíniová skupina, alkylfosfínioxylová skupina, arylfosfínioxylová skupina, arylalkylsulfonát a ďalšie estery. Tieto skupiny je možné prípadne nahradiť substituentmi uvedenými u  $R^1$ .

20 Medzi vhodné chrániace skupiny pre amíny patria karbamáty, amidy a iné chrániace skupiny, ako je alkylová skupina, arylalkylová skupina, sulfo- alebo haloarylalkylová skupina, haloalkylová skupina, alkylsilylalkylová skupina, arylalkylová skupina, cykloalkylalkylová skupina, alyklarylalkylová skupina, heteocyklylalkylová skupina, nitroarylalkylová skupina, acylaminoalkylová skupina, nitroarylditioarylalkylová skupina, dicykloalkylkarboxamidoalkylová skupina, cykloalkylová skupina, alkenylová skupina, arylalkenylová skupina, nitroarylalkenylová skupina, heterocyklylalkenylová skupina, heterocyklylová skupina, hydroxyheterocyklylová skupina, alkylitio skupina, alkoxy- alebo halo- alebo alkylsulfínylarylalkylová skupina, heterocyklylacylová skupina a iné karbamáty, a ďalej alkanoylová skupina, haloalkanoylová skupina, arylalkanoylová skupina, alkenoylová skupina, heterocyklylacylová skupina, aroylová skupina, arylaroylová skupina, haloaroylová skupina, nitroaroylová skupina, a ďalej ďalšie amidy ako je alkylová skupina, alkenylová skupina, alkylsilylalkoxyalkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, kyanoalkylová skupina, heterocyklylová skupina, alkoxyarylalkylová skupina, cykloalkylová skupina, nitroarylová skupina, arylalkylová skupina, alkoxy- alebo hydroxyarylaikylová skupina a mnoho ďalších skupín. Tieto skupiny je možné prípadne nahradiť substituentmi uvedenými u  $R^1$ .

Príklady týchto chrániacich skupín sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

chrániace skupiny pre -OH skupinu	
étery	skratka
metyl	
metoxymetyl	MOM
benzyloxymetyl	BOM
metoxyetoxymetyl	MEM
2-(trimetylsilyl)etoxymetyl	SEM
chrániace skupiny pre -OH skupinu	
étery	skratka
metyltiometyl	MTM
fenyliometyl	PTM
azidometylkyanometyl	
2,2-dichlór-1,1-difluoretyl	
2-chloretyl	
2-brometyl	
tetrahydropranyl	THP
1-etoxyetyl	EE

fenacyl 4-bromfenacyl	
cyklopropylmetyl	
allyl	
propargyl	
izopropyl	
cyklohexyl	
terc.butyl	
benzyl	
2,6-dimetylbenzyl	
4-metoxybenzyl	MPM alebo PMB
<i>o</i> -nitrobenzyl	
2,6-dichlorbenzyl	
3,4-dichlorbenzyl	
4-(dimetylamino)karbonylbenzyl	
4-metylsulfinylbenzyl	Msib
9-antrylmetyl	
4-pikolyl	
heptafluór- <i>p</i> -tolyl	
tetrafluór-4-pyridyl	

---

**chrániace skupiny pre -OH skupinu**

---

<b>étery</b>	skratka
trimetylsilyl	TMS
terc.butyl dimetylsilyl	TBDMS
terc.butyl difenylsilyl	TBDPS
triizopropylsilyl	TIPS
<b>estery</b>	
arylformiát	
arylacetát	
aryllevulinát	
arylpivaloát	ArIPv
arylbenzoát	
aryl-9-fluórkarboxylát	
arylmetylkarbonát	
1-adamantylkarbonát	
terc.butylkarbonát	BOC-OAr
4-metylsulfinylbenzylkarbonát	Msz-Oar
2,4-dimetylpent-3-ylkarbonát	Doc-Oar
aryl-2,2,2-trichloretylkarbonát	
arylvinylnkarbonát	

arylbenzylkarbonát	
arylkarbamát	
dimetylfosfínyl	Dmp-OAr
dimetylfosfinotioyl	Mpt-OAr
difenylfosfinotioyl	Dpt-Oar
arylmetánsulfonát	
aryltoluénsulfonát	
aryl-2-formylbenzénsulfonát	

---

**chrániace skupiny pre -NH<sub>2</sub> skupinu**


---

<b>karbamáty</b>	skratka
metyl	
etyl	
9-fluorenylmetyl	Fmoc
9-(2-sulfo)fluorenylmetyl	
9-(2,7-dibróm)fluorenylmetyl	
17-tetrabenzo[a,c,g,i]fluorenylmetyl	Tbfmoc
2-chlór-3-indenylmetyl	Climoc
benz[f]inden-3-ylmetyl	Bimoc
2,7-di-terc.butyl[9-(10,10-dioxo-10,10,10,10-tetrahydrotioxyantyl)]metyl	DBD-Tmoc
2,2,2-trichloretyl	Troc
2-trimetylsilyletyl	Teoc
2-fenyletyl	hZ
1-(1-adamantyl)-1-metyletyl	Adpoc
2-chloretyl	
1,1-dimetyl-2-chloretyl	
1,1-dimetyl-2-brometyl	
1,1-dimetyl-2,2-dibrometyl	DB-t-BOC
1,1-dimetyl-2,2,2-trichloretyl	TCBOC
1-metyl-1-(4-bifenylyl)etyl	Bpoc
1-(3,5-di-terc.butylfenyl)-1-mety[etyl	t-Burmeoc
2-(2- a 4'-pyridyl)etyl	Pyoc
2,2-bis(4'-nitrofenyl)etyl	Bnpeoc
n-(2-pivaloylamino)-1,1-dimetyletyl	
2-[(2-nitrofenyl)ditio]-1-fenyletyl	NpSSPeoc
2-(n,n-dicyklohexylkarboxamido)etyl-terc.butyl	BOC
1-adamantyl	1-Adoc
2-adamantyl	2-Adoc
vinyl	Voc

---

**chrániace skupiny pre -NH<sub>2</sub> skupinu**


---

<b>karbamáty</b>	skratka
allyl	Aloe alebo Alloc
1-izopropylallyl	Ipaoc
cinnamyl-(3-fenyl-2-propen-1-yl)	Coc
4-nitrocinnamyl	Noc
3-(3'-pyridyl)prop-2-enyl	Paloc
8-chinolyl	
n-hydroxypiperidinyl	
alkylditio	
benzyl	Cbz alebo Z
<i>p</i> -metoxybenzyl	Moz
<i>p</i> -nitrobenzyl	PNZ
<i>p</i> -brombenzyl	
<i>p</i> -chlorbenzyl	
2,4-dichlórbenzyl	
4-metylsulfinylbenzyl	Msz
9-antrylmetyl	
difenylmetyl	
fenotiazinyl-(10)-karbonyl	
n'- <i>p</i> -toluénsulfonylaminokarbonyl	
n'-fenylaminotio-karbonyl	
<b>amidy</b>	
formamid	
acetamid	
chloracetamid	
trifluóracetamid	TFA
fenylacetamid	
3-fenylpropanamid	
pent-4-enamid	
pikolinamid	
<b>chrániace skupiny pre -NH<sub>2</sub> skupinu</b>	
<b>amidy</b>	skratka
3-pyridylkarboxamid	
benzamid	
<i>p</i> -fenylbenzamid	
n-ftalimid	
n-tetrachlorftalimid	TCP
4-nitro-n-ftalimid	
n-dítiasukcinimid	Dts
n-2,3-difenylmaleimid	



n-2,5-dimetylpyrrol	
n-2,5-bis(triizopropylsilyloxy)pyrrol	BIPSOP
n-1,1,4,4-tetrametyldisiliazacyklopentánový adukt	STABASE
1,1,3,3-tetrametyl-1,3-disilaizoindolin	BSB

---

**špecifické chrániace skupiny pre -NH skupiny**

---

n-metylamín	
n-terc.butylamín	
n-allylamín	
n-[(2-trimetylsilyl)etoxy]metylamín	SEM
n-3-acetoxypopylamín	
n-kyanometylamín	
n-(1-izopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolín-3-yl)amín	
n-2,4-dimetoxybenzylamín	Dmb
2-azanorborneny (2-azabicyklo[2,2,1]hept-5-eny)	
n-2,4-dinitrofenylamín	
n-benzylamín	Bn
n-4-metoxybenzylamín	MPM
n-2,4-dimetoxybenzylamín	DMPM
n-2-hydroxybenzylamín	Hbn
n-(difenylmetyl)amín	DPM
n-bis(4-metoxyfenyl)metylamín	

---

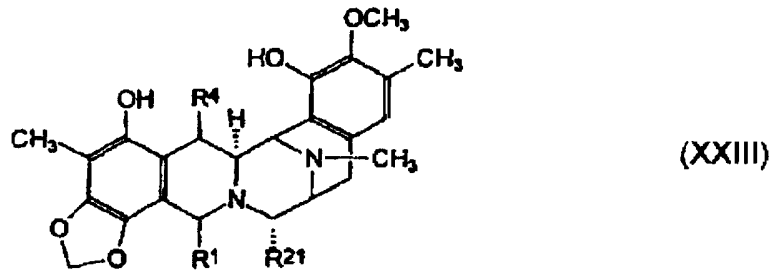
**špecifické chrániace skupiny pre -NH skupiny**

---

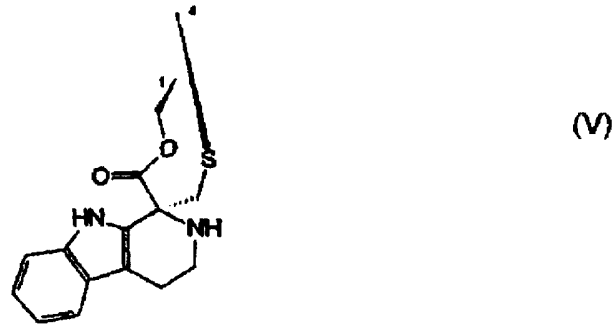
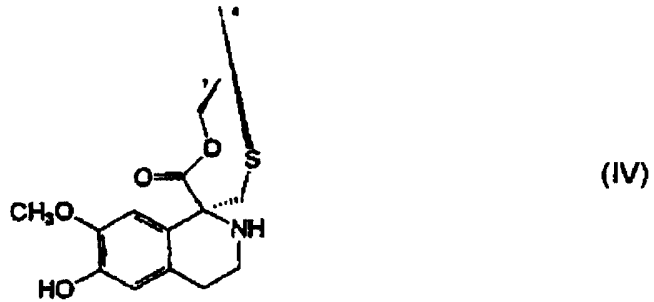
n-5-dibenzosuberylamín	DBS
n-trifenylmetylamín	Tr
n-[(4-metoxyfenyl)difenylmetyl]amín	MMTr
n-9-fenylfluorenylamín	Pf
n-ferrocenylmetylamín	Fcm
n-2-pikolyamín-n'-oxid	
n-1,1 -dimetyltiometylenamín	
n-benzylidenamín	
n-p-metoxybenzylidenamín	
n-difenylmetylenamín	
n-(5,5-dimetyl-3-oxo-1-cyklohexenyl)amín	
n-nitroamín	
n-nitrosoamín	
difenylfosfinamid	Dpp
dimetyltiofosfinamid	Mpt
difenyltiofosfinamid	Ppt
dibenzylfosforamidát	
2-nitrobenzensulfenamid	Nps

n-1-(2,2,2-trifluór-1,1-difeny)etylsulfenamid	TDE
3-nitro-2-pyridinsulfenamid	Npys
p-toluénsulfenamid	Ts
benzensulfenamid	

Vynález sa týka ekteinascidínových zlúčenín všeobecného vzorca (XXIII),



kde R<sup>1</sup> a R<sup>4</sup> tvoria skupinu vzorca (IV), (V), (VI) alebo (VII),



predovšetkým skupinu IV alebo V, ďalej kde  $R^{21}$  je -H, -OH alebo -CN, predovšetkým -OH alebo -CN, a ďalej ich acylových derivátov, predovšetkým 5-acyl derivátov vrátane 5-acetyl derivátu.

Premena 21-kyano východiskovej látky na ekteinascidínovú zlúčeninu všeobecného vzorca (XXIII) prebieha zvyčajne v nasledujúcich krokoch,

- 5 a) pokiaľ je to nutné, premenu chinonového systému kruhu E na fenolový systém
- b) pokiaľ je to nutné, premenu chinonového systému kruhu A na fenolový systém,
- c) premenu fenolového systému kruhu A na metyléndioxyfenolový kruh,
- d) vytvorením premosteného spiro kruhového systému vzorca (IV), (VI) alebo (VII) na 1-pozícii a 4-pozícii kruhu B,
- 10 e) vytvorením vhodného derivátu napríklad acylácii.

Krok (a), prípadnou premenu chinonového systému kruhu E na fenolový systém, je možné vykonať konvenčnými redukčnými postupmi. Vhodným reakčným prostredím je vodík s katalyzátorom paládium-uhlík, ale je možné použiť i ďalšie redukčné postupy.

- 15 (a).

- 20 Krok (c), premenu fenolového systému kruhu A na metyléndioxyfenolový kruh, je možné vykonať niekoľkými spôsobmi, prípadne spolu s krokom (b). Chinonový kruh A je možné napríklad demetylovať odstránením metoxy substituentu na 7-pozícii, redukovať na dihydrochinón a zachytiť vhodným elektrofilným činidlom, ako je napríklad  $CH_2Br_2$ ,  $BrCH_3Cl$  alebo podobným divalentným činidlom, čím priamo vzniká metyléndioxy kruhového systému, alebo divalentným činidlom, ako je napríklad tiocarbonyldiimidazol, čím vzniká substituovaný metyléndioxy kruhového systému, ktorý je možné premeniť na požadovaný kruh.

- 25 Krok (d) sa zvyčajne vykonáva vhodnou substitúciou na 1-pozícii premostujúcim činidlom, ktoré napomáha vytvoreniu požadovaného mostíka, čo vedie k vytvoreniu chinonmetidovej skupiny na 4-pozícii a vedie k tomu, že metidová skupina reaguje s 1-substituentom za vzniku premostenej štruktúry. Výhodné premostujúce činidla majú všeobecný vzorec (XXIV),



kde Fu označuje chránenú funkčnú skupinu, ako je skupina  $-NHProt^{4''}$ , ďalej  $Prot^3$  je chrániaca skupina a ďalej bodkovaná čiara predstavuje prípadnú dvojitú väzbu.

- 30 alebo výhodnejšie štruktúry všeobecného vzorca (XXVI),



alebo výhodnejšie štruktúry všeobecného vzorca (XXVI),



- 35 kde sa skupina  $R''$  zvolí podľa požadovanej skupiny vzorcov (IV), (V), (VI) alebo (VII). Pri prvých dvoch týchto skupín má skupina  $R''$  zvyčajne vzorec  $-CHF_u-CH_2-SProt^3$ . Chrániace skupiny je možné potom odstrániť a vhodne upraviť, čím vznikajú požadované zlúčeniny.

Zvyčajný postup kroku (d) je opísaný v US patente 5 721 362, ktorý je uvedený v odkazoch. Konkrétne je odkazovaná časť v stĺpci 8, kroku (1) a príklade 33 tohto US patentu a príbuznej časti.

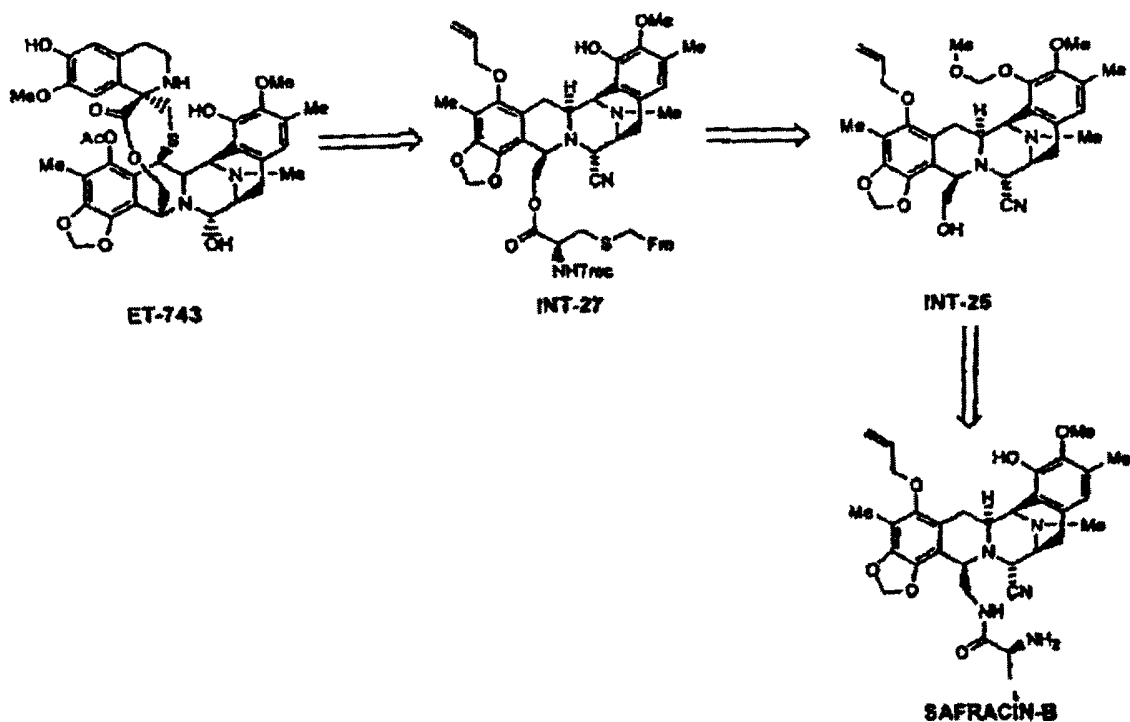
Vytvorenie derivátu v kroku (e) prípadne prebieha acyláciou napríklad skupinou  $R^a$ -CO-, kde  $R^a$  sa prípadne vyberie zo skupiny obsahujúcej napríklad alkylovú skupinu, alkoxy skupinu, alkylenovú skupinu, arylalkylovú skupinu, arylalkylénovú skupinu, acylaminokyselinu alebo heterocyklylovú skupinu, pričom každá je prípadne substituovaná halogénom, kyano skupinou, nitro skupinou, karboxyalkylovou skupinou, alkoxy skupinou, arylovou skupinou, aryloxy skupinou, heterocyklylovou skupinou, heterocyklyloxy skupinou, alkylovou skupinou, amino skupinou alebo substituovanou amino skupinou. Medzi ďalšie acylačné činidlá patria izotiokyanáty, ako je arylizotiokyanát, menovite fenyilizotiokyanát. Táto alkylová, alkoxy alebo alkylenová skupina  $R^a$  výhodne obsahuje 1 až 6 alebo 12 atómov uhlíka a je prípadne lineárna, rozvetvená alebo cyklická. Medzi arylové skupiny patrí fenyľ, bifenyľ alebo naftyl. Heterocyklylové skupiny sú prípadne aromatické alebo čiastočne alebo úplne nenasýtené a výhodne majú 4 až 8 atómov v kruhu, výhodnejšie 5 alebo 6 atómov v kruhu s jedným alebo viac heteroatómami vybranými zo skupiny obsahujúcej dusík, síru a kyslík.

Medzi príklady  $R^a$  skupiny patrí alkylová skupina, haloalkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, haloalkoxyalkylová skupina, arylalkylenová skupina, haloalkylarylalkylenová skupina, acylová skupina, haloacylová skupina, arylalkylová skupina, alkenylová skupina a aminokyselina. Skupina  $R^a$ -CO-je napríklad acetyl, trifluoracetyl, 2,2,2-trichloretoxykarbonyl, izovalerylkarbonyl, *trans*-3-(trifluormetyl)-cinnamoylkarbonyl, heptafluorbutyrylkarbonyl, dekanoylkarbonyl, *trans*-cinnamoylkarbonyl, butyrylkarbonyl, 3-chlorpropionylkarbonyl, cinnamoylkarbonyl, 4-metylcinnamoylkarbonyl, hydrocinnamoylkarbonyl alebo *trans*-hexenoylkarbonyl, alebo ďalej alanyl, arginyl, aspartyl, cystyl, glutamyl, glutaminyl, glycyľ, histidyl, hydroxypropyl, izoleucyl, leucyl, lysyl, metionyl, fenylalanyl, prolyl, seryl, treonyl, tyronyl, tryptofyl, tyrosyl, valyl, rovnako ako ďalšie menej obvyklé acylové skupiny aminokyselín, rovnako ako ftalimido a ďalšie cyklické amidy. Ďalšie príklady je možné nájsť medzi spomenutými chrániacimi skupinami. Zlúčeniny, kde je  $R^a$ -CO- odvodená z aminokyseliny a obsahuje amino skupinu, prípadne sama tvorí acyl deriváty. Medzi výhodné N-acyl skupiny patria dipeptidy, ktoré prípadne striedavo tvoria N-acyl deriváty.

V porovnaní so skôr opísanými postupmi je možné teraz uskutočniť premenu zlúčeniny 2 (kyanosafračín B) na ET-743 kratšou a priamejšou cestou.

Retrosyntéza ET-743 použitím zlúčeniny 29 je znázornená na schéme 7.

### 30 Schéma 7



Postupom znázorneným na schéme 7 je možné pripraviť ET-743 v 21 lineárnych krokoch. V tejto syntéze dochádza k premene kyanosafracínu B na medziprodukt 25 reakciou, z ktorej medzi základné patrí (1) odstránenie metoxy skupiny umiestenej na kruhu A, (2) redukcia kruhu A a vytvorenie metyléndioxy skupiny, (3) hydrolyza funkčného amidu umiesteného cez uhlík 1, (4) premena vzniknutej amino skupiny na hydroxylovú skupinu. V tejto syntéze okrem toho nedochádza k chráneniu a odobratiu chrániacej skupiny funkčného primárneho alkoholu na 1-pozícii v kruhu B zlúčeniny 25 a medziprodukt 27 vzniká priamo z cysteínového zvyšku 29. Amin skupina cysteínového derivátu 29 je chránená priamo  $\beta$ - $\beta$ - $\beta$ -trichloretoxykarbonylovou chrániacou skupinou, aby sa dosiahlo kompatibility s existujúcou allylovou skupinou a MOM skupinou. Medziprodukt 27 je priamo oxidovaný a cyklovaný. Tieto okolnosti spoločne s odlišnými stratégiami odobratia chrániacej skupiny v koncových stupňoch syntézy sú príčinou novosti tejto syntézy a jej lepšej prispôbitel'nosti priemyslovému vývoju než spôsob uvedený v US patente 5 721 362.

Premena 2-kyano zlúčeniny na medziprodukt 25 prebieha zvyčajne v nasledujúcich krokoch (pozri schéma 8)

- a) vznik chránenej zlúčeniny 14 reakciou zlúčeniny 2 s anhydridom terc.butoxykarbonylu,
- b) premena zlúčeniny 14 na di-chránenu zlúčeninu 15 reakciou s brómmetyl metyleterom a diizopropyletylamínom v acetonitrile,
- c) selektívnym odstránením metoxy skupiny chinonového systému v zlúčenine 15 za vzniku zlúčeniny 16 reakciou s metanolickým roztokom hydroxidu sodného,
- d) premena zlúčeniny 16 na metyléndioxy zlúčeninu 18 uskutočnením nasledujúcej výhodnej sekvencie krokov (1) chinonová skupina zlúčeniny 16 sa redukuje 10 % Pd/C vo vodíkovej atmosfére, (2) hydrochinonový medziprodukt sa premení na metyléndioxy zlúčeninu 17 reakciou s brómchlormetánom a uhličitanom céznym vo vodíkovej atmosfére, (3) zlúčenina 17 sa premení na zlúčeninu 18 chránením voľnej hydroxylovej skupiny, ako je  $\text{OCH}_2\text{R}$  skupina. Táto reakcia sa vykonáva s  $\text{BrCH}_2\text{R}$  a uhličitanom céznym, kde R je prípadne aryl,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $\text{OR}'$  a pod.,
- e) odstránením terc.butoxykarbonylovej a metyloxymetylovej chrániacej skupiny v zlúčenine 18 za vzniku zlúčeniny 19 reakciou s roztokom HCl v dioxáne. Reakciu tiež dosiahneme zmiešaním zlúčeniny 18 s roztokom kyseliny trifluóroctovej v dichlórmetáne,
- f) vytvorením tiomočovínovej zlúčeniny 20 reakciou zlúčeniny 19 s fenyliizotiokyanátom,
- g) premena zlúčeniny 20 na amino zlúčeninu 21 reakciou s roztokom HCl v dioxáne,
- h) premena zlúčeniny 21 na N-Troc derivát 22 reakciou s trichloretylchlorformiátom a pyridínom,
- i) premena chránenej hydroxylovej zlúčeniny 23 reakciou zlúčeniny 22 s brommetyl-metyleterom a diizopropyletylamínom,
- j) premena zlúčeniny 23 na N-H derivát zlúčeniny 24 reakciou s kyselinou octovou a zinkom,
- k) premena zlúčeniny 24 na hydroxylovú zlúčeninu 25 reakciou s dusitanom sodným v kyseline octovej. Alternatívne je možné použiť oxid dusičitý v zmesi kyseliny octovej a acetonitrile s následnou úpravou hydroxidom sodným. Je možné tiež použiť dusitan sodný v zmesi kyseliny octovej a acetanhydridu s následnou úpravou hydroxidom sodným.

Schéma 8

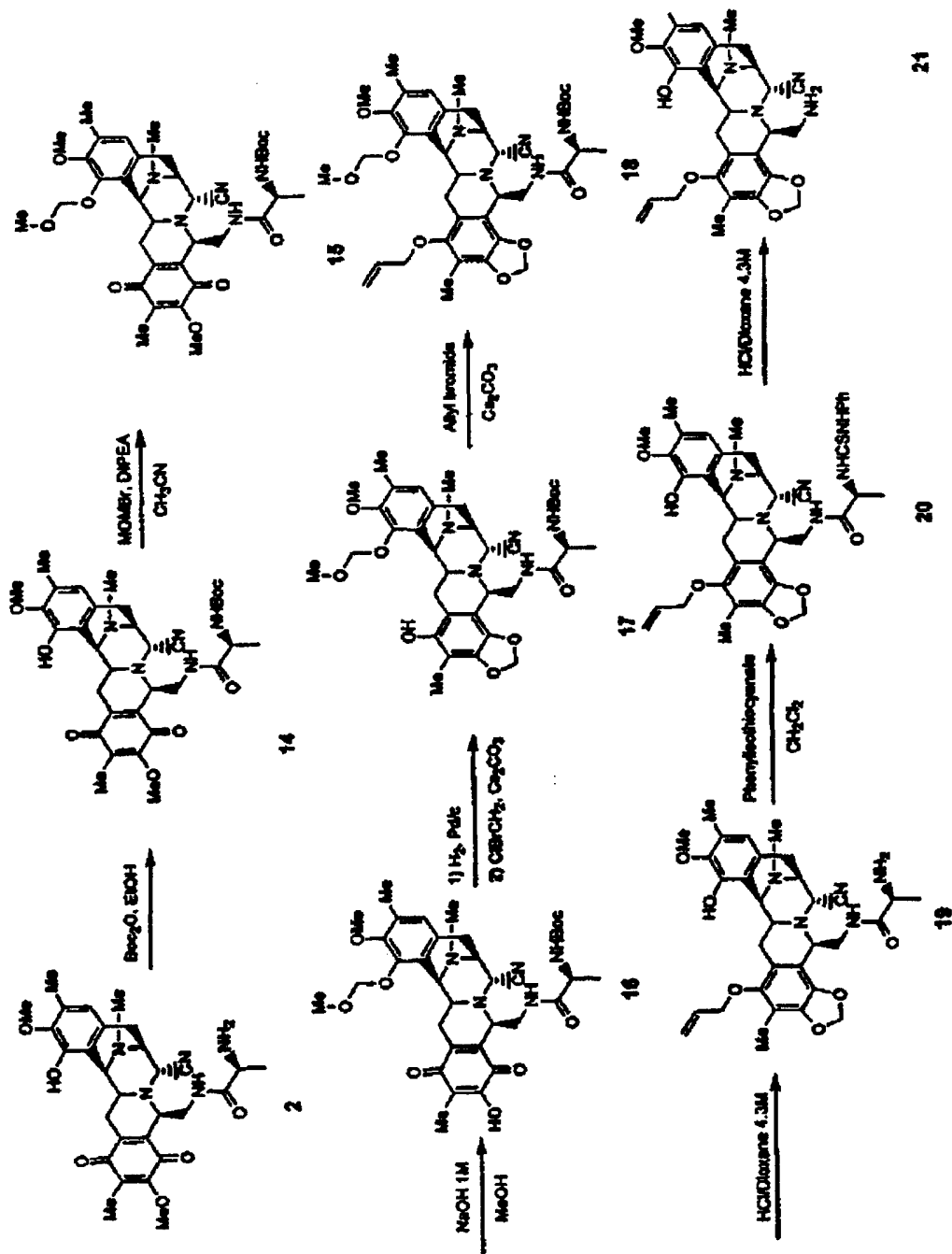
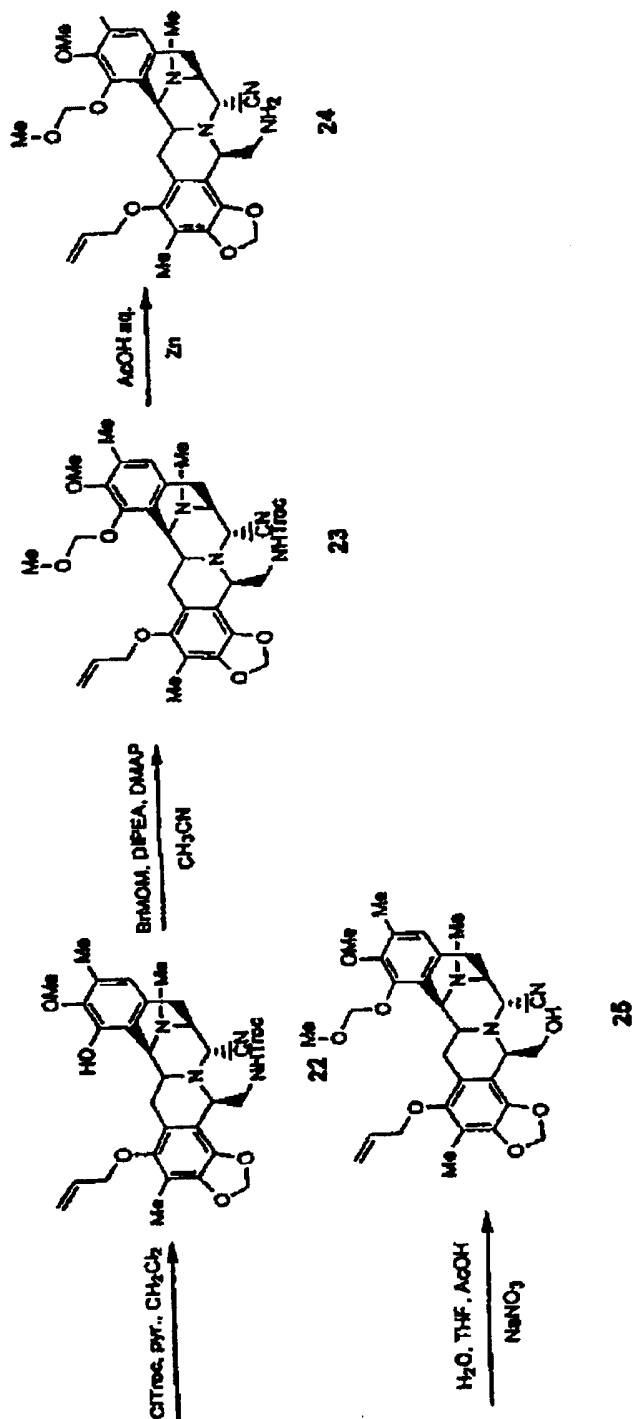


Schéma 8 - pokračovanie



5 Premena medziproduktu 25 na ET-743 použitím cysteínového derivátu 29 prebieha zvyčajne v nasledujúcich krokoch (pozri schéma 9)

Schéma 9

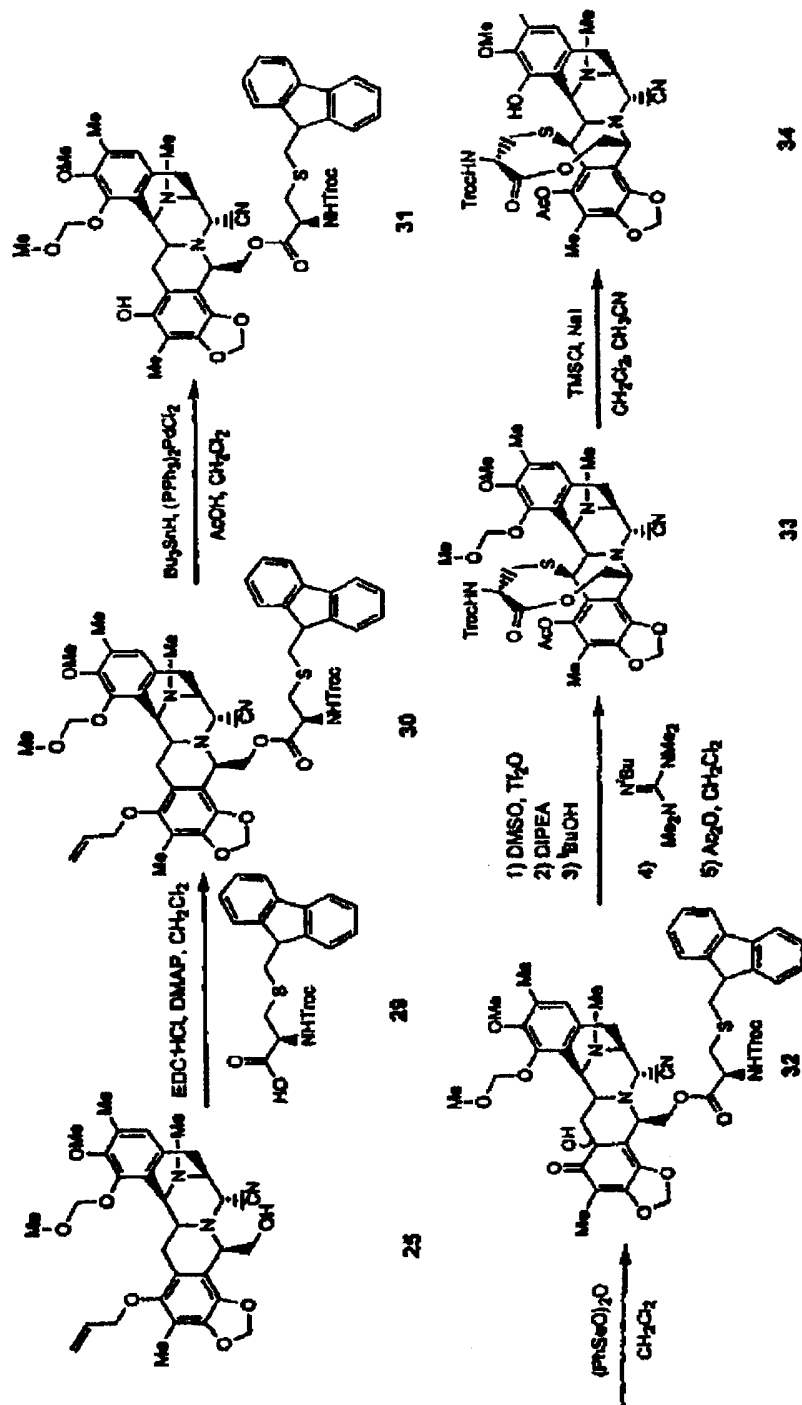
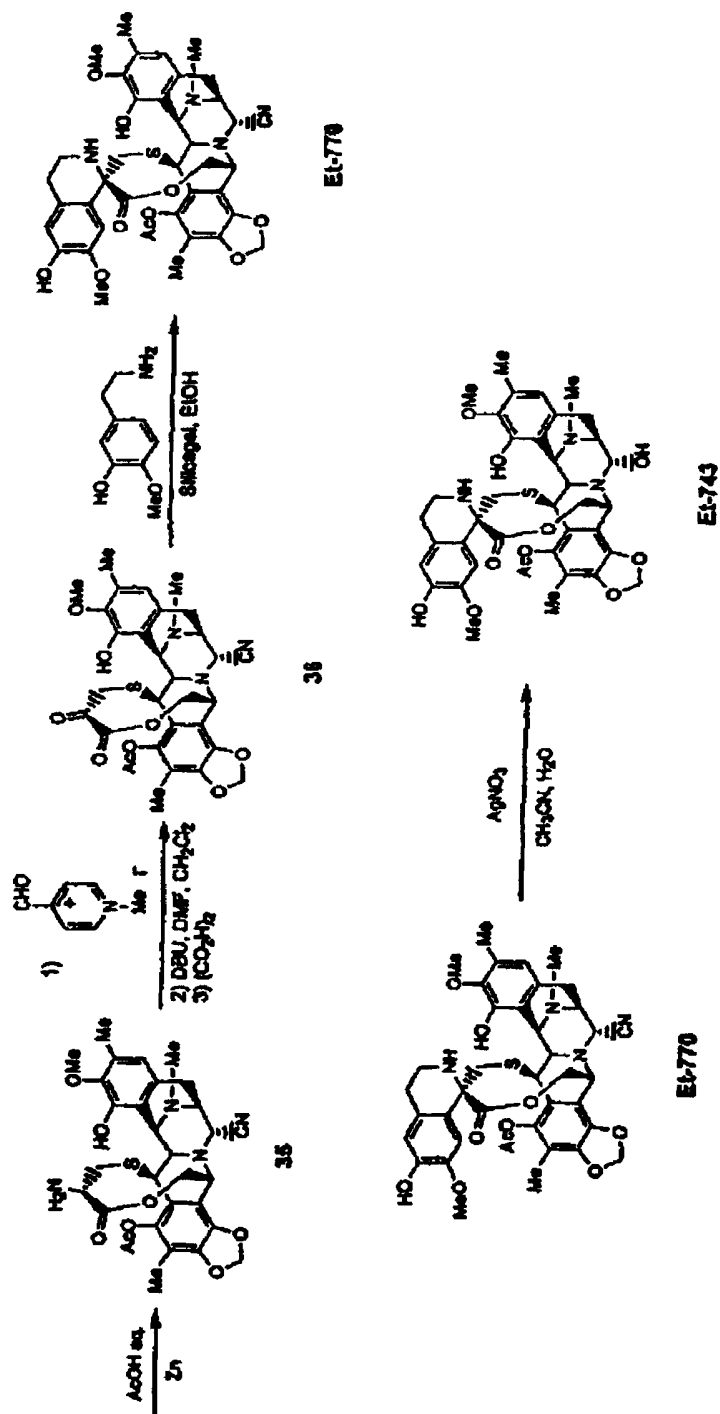




Schéma 9 - pokračovanie



- 5 a) premena zlúčeniny 24 na derivát 30 chránením funkčného primárneho hydroxyly zlúčeninou 29, (S)-N-2,2,2-trichloretoxykarbonyl-S-(fluorén-9-ylmetyl)cysteín,
- b) premena chránenej zlúčeniny 30 na fenolový derivát 31 štiepením allylovej skupiny tributylstanniumhydridom a dichlorbis(trifenylfosfinom) paládnatým,
- c) premena fenolovej zlúčeniny 31 na zlúčeninu 32 oxidáciou anhydridom kyseliny benzénelénovej pri nízkej teplote,
- 10 d) premena hydroxylovej zlúčeniny 32 na laktónovú zlúčeninu 33 uskutočnením nasledujúcich sekvenčných krokov (1) reakcia zlúčeniny 32 sa 0,22 mmol (2 ekvivalenty) anhydridu kyseliny trifluórmetánsulfónovej a 0,55 mmol (5 ekvivalentov) DMSO (dimetylsulfoxid), (2) reakcia s 0,88 mmol (8 ekviva-

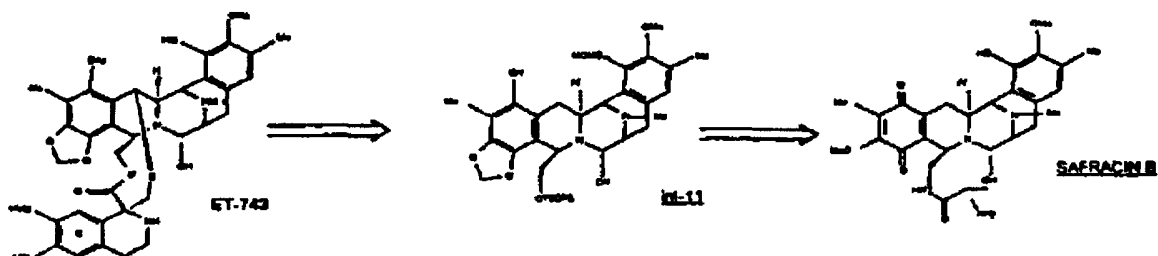
lentov) diizopropyletylamínu, (3) reakcia sa 0,44 mmol (4 ekvivalenty) terc.butylalkoholu, (4) reakcia sa 0,77 mmol (7 ekvivalentov) 2-terc.butyl-1,1,3,3-tetrametyl-guanidínu, (5) reakcia s 1,10 mmol (10 ekvivalentov) acetanhydridu,

- e) premena laktónovej zlúčeniny 33 na hydroxylovú zlúčeninu 34 odstránením MOM chrániacej skupiny pomocou TMSI (trimetylsulfoxonium jodid),
- f) štiepením N-trichloretoxykarboxylovej skupiny zlúčeniny 34 na zlúčeninu 35 reakciou so Zn/AcOH (Zn/kyselina octová),
- g) premena amino zlúčeniny 35 na zodpovedajúcu  $\alpha$ -ketolaktónovú zlúčeninu 36 reakciou s N-metylpyridiniumkarboxaldehydchlorid nasledovanej DBU (1,8-diaza-bicyklo[5,4,0]undek-7-en),
- h) vznik ET-770 reakciou zlúčeniny 36 s 3-hydroxy-4-metoxifenyletylamíno,
- i) premena ET-770 na ET-743 reakciou s dusičnanom strieborným v zmesi AcN/HaO (acetonitril/voda).

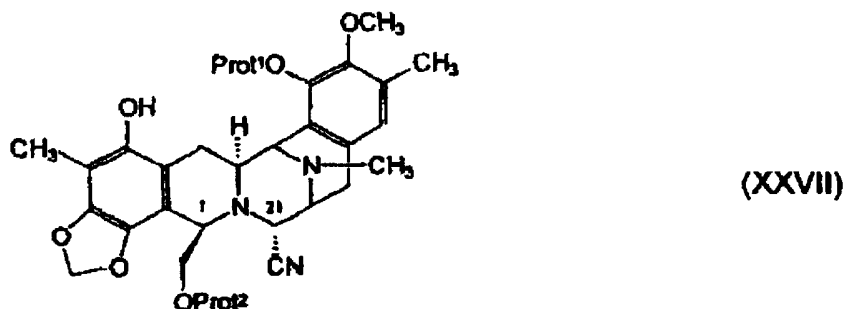
Vznik medziproduktu 11 a príbuzných medzi produktov

Retrosyntéza je opísaná nasledujúcou rovnicou (pozri schéma 10).

Schéma 10



Medzi kľúčovú triedu medziproduktov tohto vynálezu patrí medziprodukt 11 všeobecného vzorca (XXVII),



kde Prot<sup>1</sup> a Prot<sup>2</sup> sú výhodne rôzne hydroxy chrániace skupiny. Pre medziprodukt 11 je Prot<sup>1</sup> metoxymetyl skupina a Prot<sup>2</sup> terc.butylidifenylylylová skupina.

Premena 21-kyano zlúčeniny na medziprodukt 11 alebo príbuzný medziprodukt všeobecného vzorca (XXVII) prebieha zvyčajne v nasledujúcich krokoch

- a) pokiaľ je to nutné, premenu chinonového systému kruhu E na fenolový systém,
- b) vznik -OProt<sup>1</sup> skupiny na 18-pozícii kruhu E,
- c) vznik -CH<sub>2</sub>-OProt<sup>2</sup> skupiny na 1-pozícii kruhu B,
- d) pokiaľ je to nutné, premenu chinonového systému kruhu A na fenolový systém,
- e) premenu fenolového systému kruhu A na metyléndioxyfenolový kruh.

Krok (b), vznik -OProt<sup>1</sup> skupiny na 18-pozícii kruhu E, je typická reakcia vedúca na chránenie fenolovej skupiny a nie je potreba to viac komentovať. V závislosti od povahy chrániacej skupiny sa vyberú zodpovedajúce podmienky. Ďalšie kroky sú podobné ako pri ostatných reakciách.

Krok (b), vznik -CH<sub>2</sub>OProt<sup>2</sup> skupiny na 1-pozícii kruhu B, zvyčajne prebieha tak, že sa vytvorí skupina -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> na 1-pozícii a potom sa funkčný amín premení na funkčnú hydroxylovú skupinu a chráni sa. Ak má východisková látka skupinu R<sup>1</sup> so štruktúrou -CH<sub>2</sub>-NH-CO-CR<sup>25a</sup>R<sup>25b</sup>R<sup>25c</sup>, dochádza k odstráneniu N-acyl skupiny. Ak má východisková látka skupinu R<sup>1</sup> so štruktúrou -CH<sub>2</sub>-O-CO-R, nedochádza k žiadnej zmene, pretože ekteinascidínová zlúčenina má rovnaký substituent R<sup>1</sup>. Pre iné zlúčeniny dochádza k odstráneniu O-acyl skupiny. Deacylácie prebiehajú najrôznejšími spôsobmi. V jednom z nich prebieha deacylácia a premena na funkčnú hydroxylovú skupinu v jednom kroku. Hydroxylovú skupinu je možné potom acylovať alebo inak premeniť na zodpovedajúcu R<sup>1</sup> skupinu.

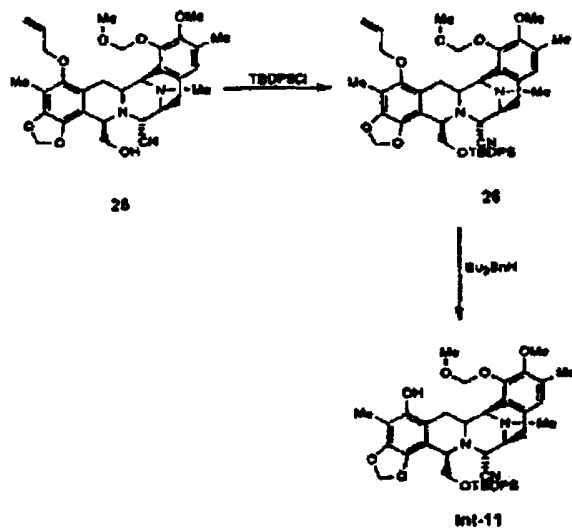
V US patente No. 5 721 362 sú opísané syntetické spôsoby prípravy ET-743 prostredníctvom dlhej mnohostupňovej syntézy. Jedným z medziproduktov tejto syntézy je medziprodukt 11. Použitím kyanosafracínu

B ako východiskovej látky je možné pripraviť medziprodukt 11 oveľa kratšou cestou, čo je zlepšenie spôsobu prípravy ET-743.

Kyanosafracín B je možné premeniť na medziprodukt 25 opísanými spôsobmi. Z medziproduktu 25 je možné získať medziprodukt 11 nasledujúcimi krokmi (pozri schéma 11).

- 5 a) vytvorením chránenej hydroxylovej zlúčeniny 26 reakciou zlúčeniny 25 s terc.butyl-difenylsilylchloridom v prítomnosti zásady,
- b) rozštiepením allylovej skupiny tributylstanniumhydridom a dichlorbis(trifenyľfosfínom) paládnatým v zlúčenine 26, čím vzniká medziprodukt 11.

10 Schéma 11



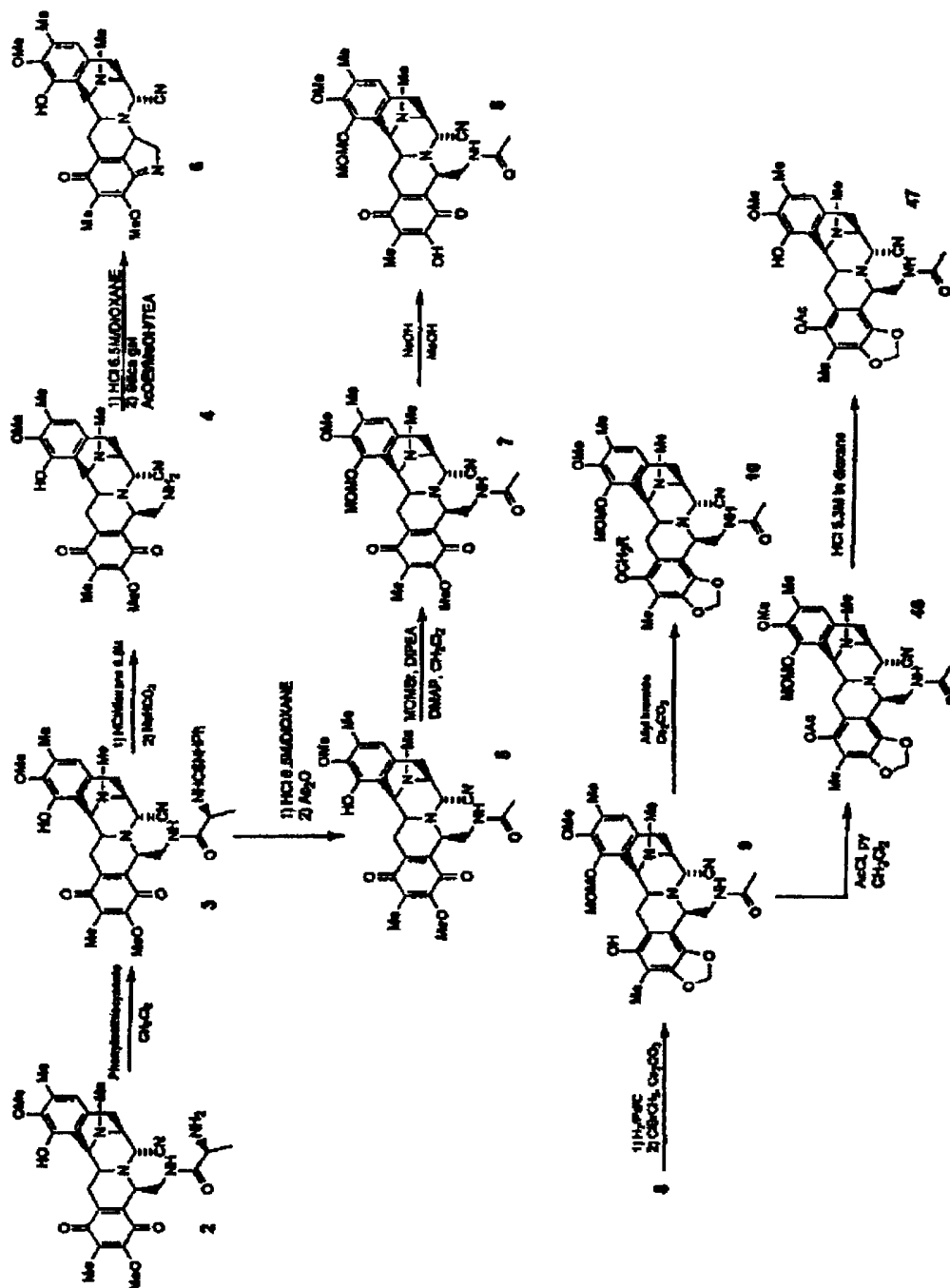
Jedným uskutočnením syntetického spôsobu tohto vynálezu, to jest premeny safracínu B na medziprodukt 11, je modifikácia a rozšírenie spôsobu uvedeného na schéme 12 a obsahuje nasledujúce kroky.

- 15 a) stereošpecifickou premenu safracínu B na zlúčeninu 2 selektívnym nahradením skupiny OH skupinou CN reakciou s KCN v kyslom médiu,
- b) vytvorením tiomočovínovej zlúčeniny 3 reakciou zlúčeniny 2 s fenyľizotiokyanátom,
- c) premenu tiomočovínovej zlúčeniny 3 na acetamid 5 hydrolyzou v kyslom médiu nasledovanou adíciou acetanhydridu. Aminovú zlúčeninu 4 je možné ako medziprodukt izolovať rýchlym ochladením hydrolyzy v kyslom médiu hydrogenuhličitanom sodným, ale tento medziprodukt je veľmi nestabilný a rýchlo dochádza k jeho premene na päťčlenný cyklický imin 6,
- 20 d) vytvorením chránenej zlúčeniny 7 reakciou s brómmetylmetyleterom a diizopropyletylamínom v dichlórmetáne,
- e) selektívnou demetyláciou metoxy skupiny chinonového systému zlúčeniny 7 za vzniku zlúčeniny 8 reakciou s metanolickým roztokom hydroxidu sodného,
- 25 f) premenu zlúčeniny 8 na metylendioxy zlúčeninu 9 uskutočnením nasledujúcej výhodnej sekvencie krokov (1) chinónová skupina zlúčeniny 8 sa redukuje 10 % Pd/C vo vodíkovej atmosfére, (2) hydrochinónový medziprodukt sa premení na metylendioxy zlúčeninu 9 reakciou s brómchlormetanom a uhličitanom céznym vo vodíkovej atmosfére, (3) zlúčenina 9 sa premení na zlúčeninu 10 chránením voľnej hydroxylovej skupiny, ako je OCH<sub>2</sub>R skupina reakciou s BrCH<sub>2</sub>R a uhličitanom céznym, kde R je prípadne aryl, CH=CH<sub>2</sub>, OR' a pod.,
- 30 g) premenu acetamidovej skupiny zlúčeniny 10 na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu zlúčeniny 25 reakciou s oxidom dusičitým v zmesi kyseliny octovej a acetacetátu s následnou úpravou hydroxidom sodným, ďalej je možné alternatívne použiť dusitan sodný v zmesi kyseliny octovej a acetanhydridu s následnou úpravou hydroxidom sodným, ďalej je možné alternatívne acetamidovú skupinu zlúčeniny 10 premeniť na primárnu aminovú skupinu reakciou s hydrazínom alebo reakciou s Boc<sub>2</sub>O, DMAP (dimetylaminopyridín) s následnou úpravou hydrazínom, ďalej je možné takýto primárny amín premeniť na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu (zlúčenina 25) oxidačnou premenu primárneho aminu na zodpovedajúci aldehyd použitím 4-formyl-1-metylpyridiniumbenzensulfonátu alebo iného pyridínového iónu s následnou úpravou DBU alebo inou zásadou a ďalej hydrolyzou nasledovanou redukciou aldehydu na zodpovedajúcu hydroxylovú skupinu tetrahydridohlinitanom lítym alebo iným redukčným činidlom,
- 40

- h) vytvorením chránenej zlúčeniny 26 reakciou s terc.butylidifenylsilylchloridom a dimetylaminopyridínom v dichlórmetáne (schéma 11),
- i) premenu silylovej zlúčeniny 26 na medziprodukt 11 odobratím  $\text{OCH}_2\text{R}$  chrániacej skupiny prostredníctvom reakcie za redukčných podmienok alebo kyslých podmienok. Medzi typické spôsoby patrí reakcia s paládiom na uhlíku vo vodíkovej atmosfére alebo s vodným roztokom TFA alebo s tributylstanniumhydridom a dichlorbis(trifényl-fosfinom) paládnatým.

5

Schéma 12



10

V inej výhodnej modifikácii je možné kyano zlúčeninu 2 vykonať na medziprodukt 11 prostredníctvom rozšírenia spôsobu uvedeného na schéme 8 pomocou týchto krokov,

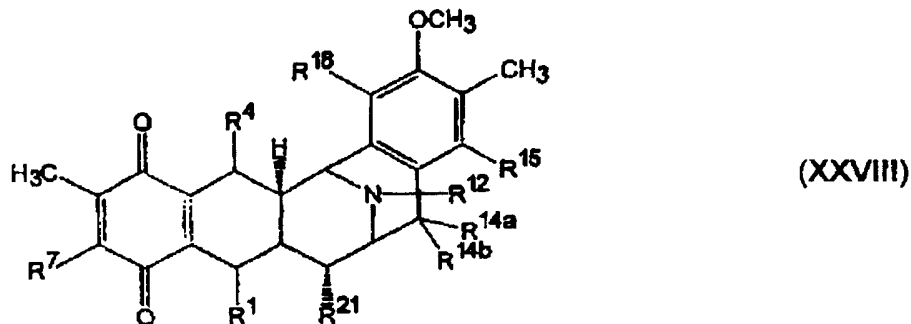
- a) vytvorením chránenej hydroxylovej zlúčeniny 26 reakciou zlúčeniny 25 s terc.butylidifenylsilylchloridom v prítomnosti zásady,

b) rozštiepením allylovej skupiny tributylstanniumhydridom a dichlorbis(trifenylfosfínom) paládnatým v zlúčenine 26, čím vzniká medziprodukt 11.

Týmito a ďalšími cestami je možné teda premeniť kyanosafracin B na množstvo medziproduktov a derivátov s potenciálnym protinádorovým liečebným účinkom. Tieto medziprodukty je možné pripraviť z už opísaných zlúčenín alebo použitím alternatívnych ciest.

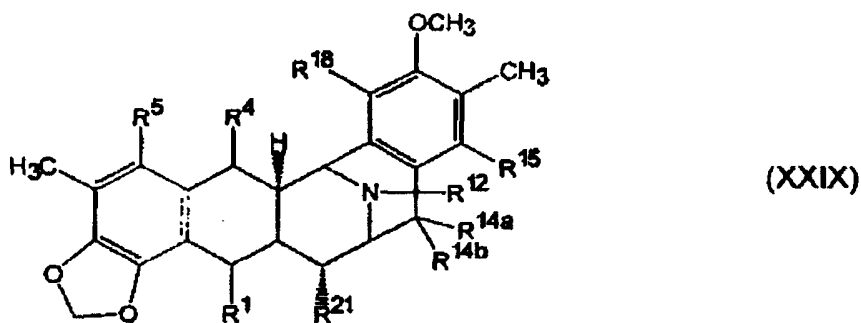
#### Nové medziprodukty

Tento vynález sa týka nových medziproduktov. V závislosti od kruhu A majú medziprodukty všeobecný vzorec (XXVIII)

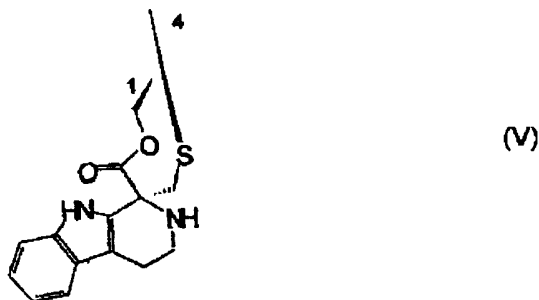
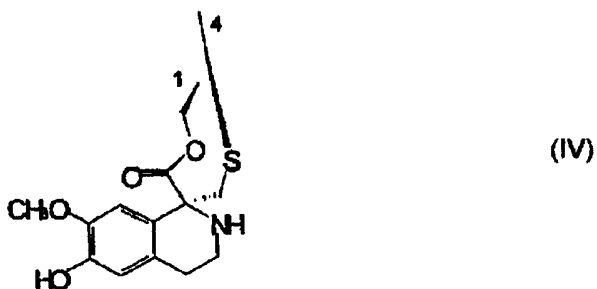


10

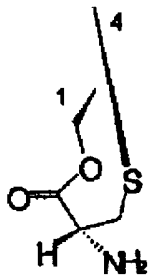
alebo všeobecný vzorec (XXIX),



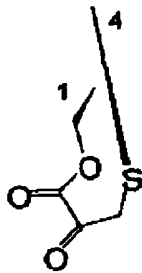
kde  $R^1$  je  $-CH_2NH_2$  alebo  $-CH_2OH$  alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny a  $R^4$  je  $-H$ , alebo  $R^1$  a  $R^4$  tvoria skupinu vzorca (IV,) (V), (VI) alebo (VII),



15



(VI)



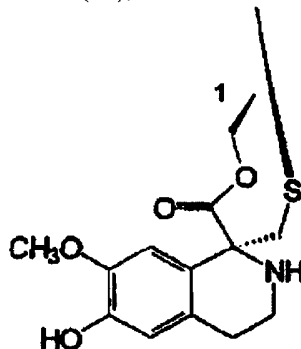
(VII)

d'alej  $R^5$  je -OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny, d'alej  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  sú -H alebo je jedna -H a druhá je -OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny, -OCH<sub>3</sub> alebo -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, alebo  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  tvoria keto skupinu, d'alej  $R^{12}$  je -H, -CH<sub>3</sub> alebo -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>- d'alej  $R^{15}$  je -H, -OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny, a d'alej  $R^{18}$  je -OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny.

Vo výhodnom uskutočnení je aspoň jeden substituent z  $R^1$ ,  $R^5$ ,  $R^{14a}$ ,  $R^{14b}$ ,  $R^{15}$   $R^{18}$  chránená alebo derivatizovaná skupina.

V inom uskutočnení tohto vynálezu nie je skupina  $R^1$  terc.butylidifenylylsilylový substituent a/alebo skupina  $R^{18}$  nie je metoxymetylová skupina.

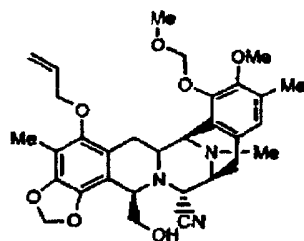
$R^1$  je výhodne -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> alebo CH<sub>2</sub>OH alebo chránená alebo derivatizovaná verzia tejto skupiny a  $R^4$  je -H, alebo d'alej  $R^1$  a  $R^4$  tvoria skupinu vzorca (IV),



(IV)

kde  $R^{14a}$  a  $R^{14b}$  sú výhodne -H.

Do jednej výhodnej triedy medziproduktov patrí zlúčenina, ktorá sa označuje ako zlúčenina 25 a má vzorec (XXX).

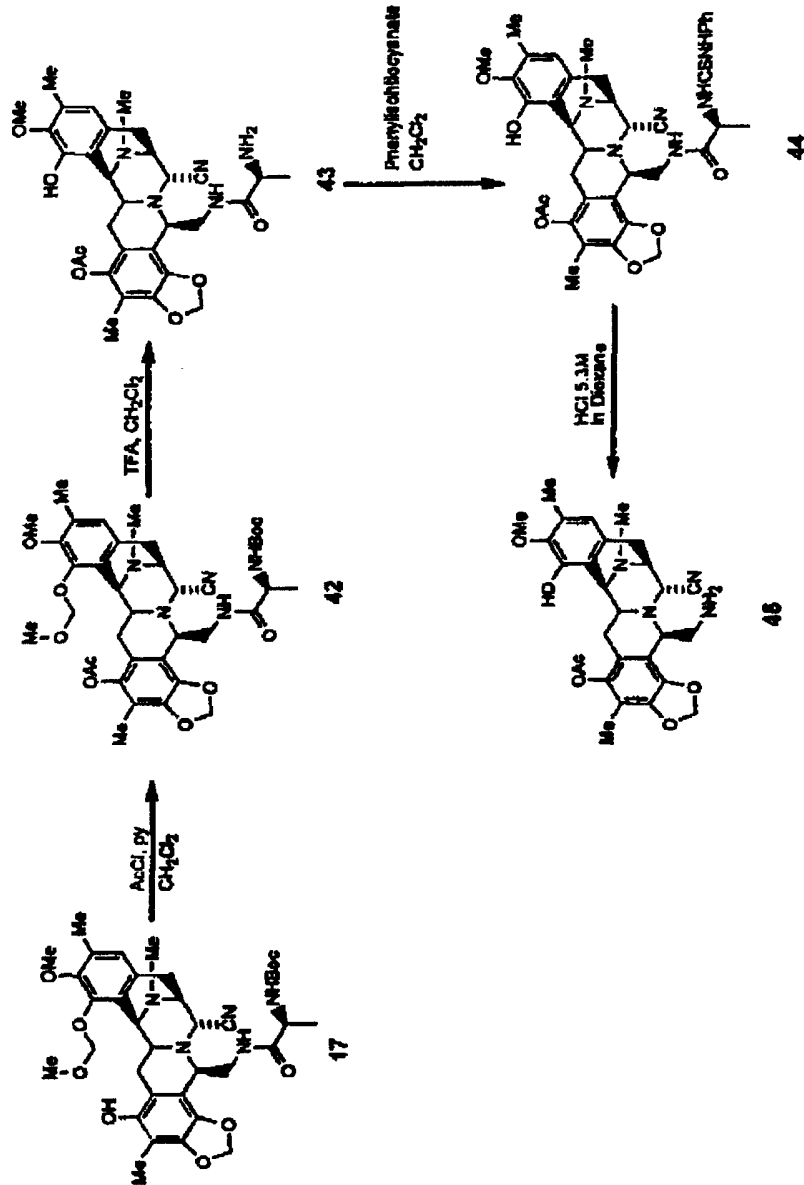


(XXX)

Výhodná trieda má teda všeobecný vzorec, kde je skupina MOM nahradená inou chrániacou skupinou.

Medzi ďalšie výhodné medziprodukty patria zlúčeniny, ktoré sa označujú ako zlúčenina 45 a 43 (pozri schéma 13).

5 Schéma 13



Ďalšie N-acyl deriváty je možné ľahko pripraviť zo zlúčeniny 45 a sú dôležitou súčasťou tohto vynálezu. Medzi výhodné acylové skupiny patria tie, ktoré sú spomenuté skôr. Zodpovedajúce 21-hydroxylové zlúčeniny sú tiež výhodné a patria medzi nájdené účinné zlúčeniny.

10

Nové účinné zlúčeniny

Bolo zistené, že určité zlúčeniny tohto vynálezu, ktoré boli pôvodne pripravené ako medziprodukty, majú značný účinok pri liečbe karcinómov, ako je leukémia, rakovina pľúc, rakovina hrubého čreva, rakovina ľadvín a melanóm.

15

Tento vynález sa týka spôsobu liečenia všetkých cicavcov, najmä ľudí, trpiacich rakovinou, ktorý zahŕňa podanie účinného množstva zlúčeniny tohto vynálezu alebo farmaceutického prostriedku obsahujúceho zlúčeninu tohto vynálezu spomínanému jedincovi.

Tento vynález sa tiež týka farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú ako účinnú zložku zlúčeninu alebo zlúčeniny tohto vynálezu a ďalej spôsobov ich prípravy.

Medzi príklady farmaceutických prostriedkov patria pevné (napríklad tablety, pilulky, kapsuly, granuly atď.) alebo kvapalné prostriedky (roztoky, suspenzie alebo emulzie) s vhodným zložením na orálne, miestne alebo parenterálne podanie a prípadne obsahujú čistú zlúčeninu alebo čistú zlúčeninu v kombinácii s nosičom alebo s inými farmakologicky účinnými zlúčeninami. Na účely parenterálneho podávania je nutné tieto prostriedky sterilizovať.

Podanie zlúčenín alebo prostriedkov tohto vynálezu je možné vykonať akýmikoľvek vhodnými metódami, ako je intravenózna infúzia, orálne podanie, intraperitoneálne a intravenózne podanie. Výhodné sú intervaly infúzie do 24 hodín, výhodnejšie 2 až 12 hodín, najvýhodnejšie 2 až 6 hodín. Žiaduce sú predovšetkým krátke intervaly infúzií, čo umožňuje vykonávať liečbu bez toho, aby pacient zostával cez noc v nemocnici. Ak je to nutné, je možné infúziu zaviesť počas 12 až 24 hodín alebo dokonca aj dlhšie. Infúziu je možné vykonávať vo vhodných intervaloch, napríklad 2 až 4 týždne. Farmaceutické prostriedky obsahujúce zlúčeninu tohto vynálezu je možné podávať prostredníctvom liposomálnej alebo nanosférickej enkapsulácie v prostriedku s trvalým uvoľňovaním alebo pomocou iných štandardných možností podania.

Optimálna dávka zlúčeniny sa mení v závislosti od druhu prostriedku, spôsobu podania a jednotlivých situácií, hostiteľa a nádoru, ktoré sú liečené. Do úvahy je nutné brať i ďalšie faktory, ako je vek, telesná hmotnosť, pohlavie, strava, doba podávania, rýchlosť exkrécie, stav hostiteľa, kombinácie liekov, citlivosť reakcie a vážnosť ochorenia. Podávanie je možné vykonávať kontinuálne alebo periodicky až do maximálnej prípustnej dávky.

Zlúčeniny a prostriedky tohto vynálezu je možné pri liečbe použiť v kombinácii s inými liekmi. Tieto iné lieky tvoria buď časť rovnakého prostriedku, alebo sú vo forme oddeleného prostriedku podávaného rovnaký alebo rôzny čas. Medzi príklady týchto iných liekov patria napríklad

- a) lieky s antimitotickými účinkami, najmä tie, ktoré sa zameriavajú na cytoskeletálne prvky vrátane modulátorov mikrotubulu, ako sú taxánové lieky (ako je taxol, paclitaxel, taxoter, docetaxel), podofylotoxíny alebo vinca alkaloidy (získané z rastliny *Vinca rosea*) (vincristin, vinblastin),
- b) antimetabolické lieky, ako je 5-fluórouracil, cytarabín, gemcitabín, analogy purínu (ako je pentostatín, metotrexat),
- c) alkylačné lieky, ako je horčíčny dusík (ako je cyklofosfamid alebo ifosfamid),
- d) lieky, ktoré sa zameriavajú na DNA, ako sú antracyklínové lieky, adriamycín, doxorubicín, pharmorubicín alebo epirubicín,
- e) lieky, ktoré sa zameriavajú na topoizomérázy, ako je etoposid,
- f) hormóny a hormonálne agonisty alebo antagonisty, ako sú estrogény, antiestrogény (tamoxifén a príbuzné zlúčeniny) a androgény, flutamid, leuprorelín, goserelín, cyprottron alebo octreotid,
- g) lieky, ktoré sa zameriavajú na prenos signálu v nádorových bunkách vrátane derivátov protilátok, ako je herceptín,
- h) alkylačné lieky, ako sú platinové lieky (*cis*-platín, carboplatín, oxaliplatín, paraplatín) alebo nitroso-močoviny,
- i) lieky potenciálne ovplyvňujúce metastázy nádorov ako sú matrix metaloproteinázové inhibítory,
- j) génová terapia a antisencia (komplementárne sekvencie génu) činidla,
- k) protilátky,
- l) ďalšie biologicky účinné zlúčeniny morského pôvodu, hlavne didemniny (skupina látok pôvodom z mora), ako je aplidin,
- m) analógy steroidov najmä dexametason,
- n) protizápalové lieky najmä dexametason,
- o) lieky proti dáveniu najmä dexametason.

Tento vynález sa tiež týka zlúčenín používaných v spôsobe liečby a použitia týchto zlúčenín na prípravu prostriedku na liečbu rakoviny.

#### Cytotoxický účinok

Bunkové kultúry. Bunky boli udržiavané v logaritmickú fázu rastu v Eagle's Minimum Essential Mediu (EMEM), s Earle's Balanced Salts, s 2,0 mmol/l (2,0 mM) L-glutamínom, s neesenciálnymi aminokyselinami (neaa), bez hydrogenuhličitanu sodného (EMEM/neaa), doplnený 10 % fetálnym teľacím sérom (Fetal Calf Serum, FCS),  $10^{-2}$  mol/l ( $10^{-2}$  M) hydrogenuhličitanom sodným a 0,1 g/l penicilínom G + streptomycín-sulfátom.

Použitím jednoduchého testovacieho spôsobu boli stanovené a porovnané protinádorové účinky týchto zlúčenín, pričom bola použitá prispôbena forma spôsobu uvedeného v Bergeron et al., 1984. Použitými líniami nádorových buniek boli P-388 (suspenzná kultúra lymfoidného novotvaru z myši DBA/2), A-549 (jedno vrstevná kultúra rakovinového nádoru pľúc človeka), HT-29 (jednovrstevná kultúra rakovinového nádoru hrubého čreva človeka) a MEL-28 (jednovrstevná kultúra melanómu človeka).

Bunky P-388 boli naočkované do jamiek s veľkosťou 16 mm v množstve  $1 \times 10^4$  buniek na jamku v 1 ml MEM 5FCS obsahujúcom danú koncentráciu lieku. Aby sa zaistilo, že bunky zostanú v exponenciálnej fáze

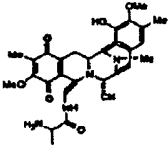
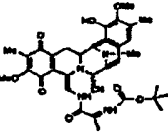
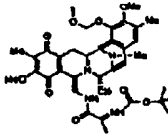
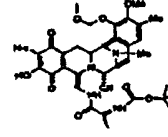
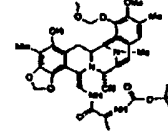
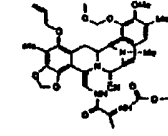


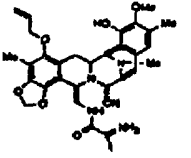
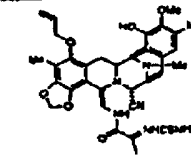
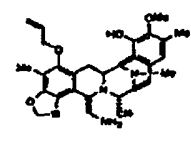
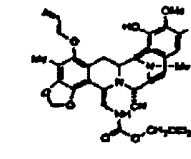
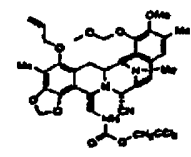
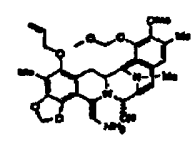
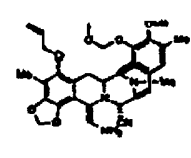
rastu, boli pre kontrolu naočkované bunky do média neobsahujúceho liek. Všetky stanovenia boli vykonané duplicitne. Po troch dňoch inkubácie pri teplote 37 °C, 10 % CO<sub>2</sub> v 98 % atmosférickej vlhkosti boli jamky zafarbené roztokom kryštálovej violeti s koncentráciou 0,1 %. Porovnaním rastu v jamkách obsahujúcich liek s kontrolnými jamkami bola stanovená hodnota IC<sub>50</sub>.

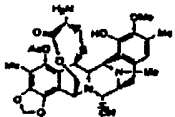
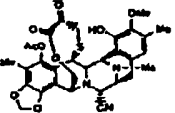
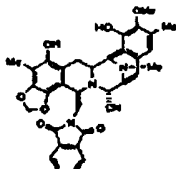
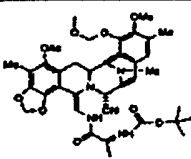
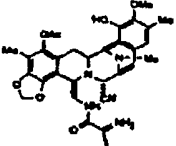
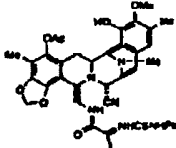
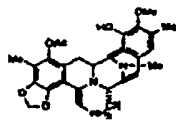
5 Bunky A-549, HT-29 a MEL-28 boli naočkované do jamiek s veľkosťou 16 mm v množstve 2 x 10<sup>4</sup> buniek na jamku v 1 ml MEM 10FCS obsahujúcom danú koncentráciu lieku. Aby sa zaistilo, že bunky zostanú v exponenciálnej fáze rastu, boli na kontrolu naočkované bunky do média neobsahujúceho liek. Všetky stanovenia boli vykonané duplicitne. Po troch dňoch inkubácie pri teplote 37 °C, 10 % CO<sub>2</sub> v 98 % atmosférickej vlhkosti boli jamky zafarbené roztokom kryštálovej violeti s koncentráciou 0,1 %. Porovnaním rastu v jamkách obsahujúcich liek s kontrolnými jamkami bola stanovená hodnota IC<sub>50</sub>.

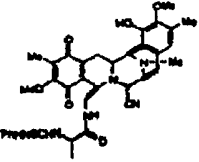
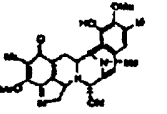
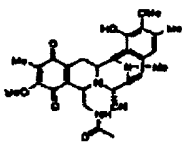
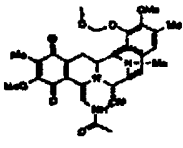
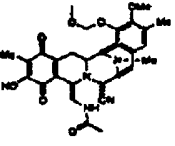
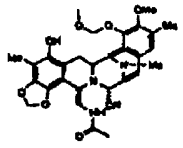
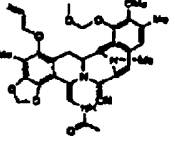
- 10 1. Raymond J. Bergeron, Paul F. Cavanaugh, jr., Steven J. Kline, Robert G. Hughes, Jr., Gary T. Elliot and Cari W. Porter. Antineoplastic and antiherpetic activity of spermidine catecholamide iron chelators. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1984, 121(3), pp. 848 - 854.
- 15 2. Alan C. Schroeder, Robert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

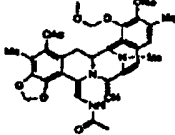
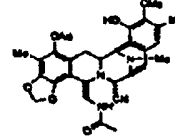
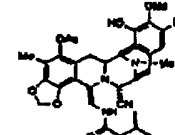
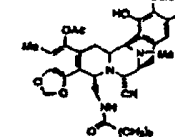
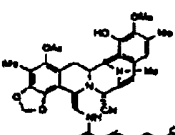
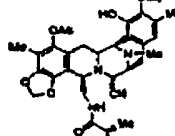
## Cytotoxický účinok

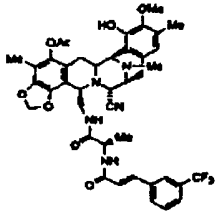
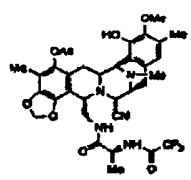
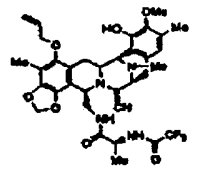
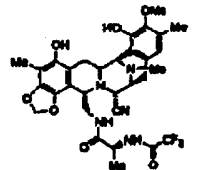
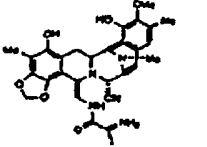
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 2	0,009	0,018	0,018	0,018	0,023	
 14	0,15	>0,15	0,15	>0,15		
 15	1,44	1,44	1,44	1,44		
 16	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5		
 17	1,4	1,4	1,4	1,4		
 18	0,01	0,01	0,01	0,01		

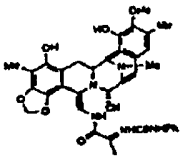
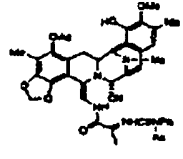
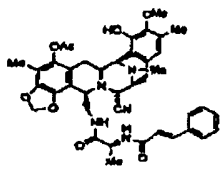
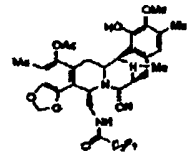
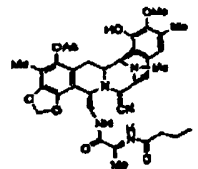
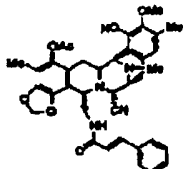
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 19	0,08	0,16	0,01	0,16		
 20	0,01	0,01	0,01	0,01		
 21	0,019	0,019	0,019	0,019		
 22	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
 23	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
 24	0,18	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
 25	0,2	0,2	0,2	0,2		0,2

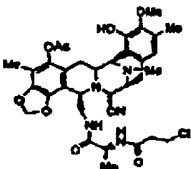
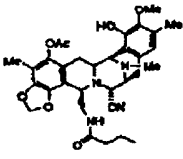
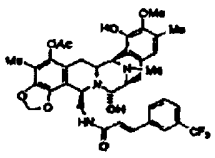
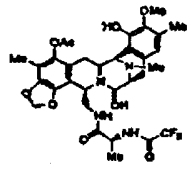
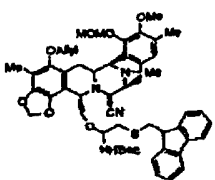
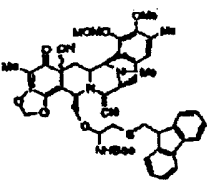
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 <b>35</b>	0,008	0,008	0,008	0,008		
 <b>36</b>	0,01	0,01	0,01	0,01		
 <b>28</b>	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
 <b>42</b>	0,13	0,13	0,13	0,13		0,13
 <b>43</b>	0,008	0,016	0,008	0,008		0,016
 <b>44</b>	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 <b>45</b>	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01

ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 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

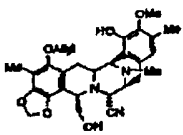
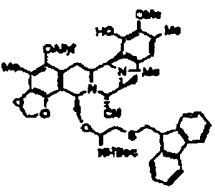
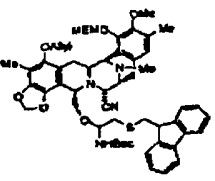
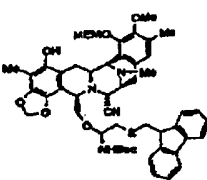
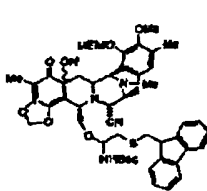
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 46	0,016	0,016	0,016	0,016		0,016
 47	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 48	0,0008	0,001	0,0008	0,0008		0,001
 49	0,007	0,007	0,007	0,007		0,007
 50	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 51	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001

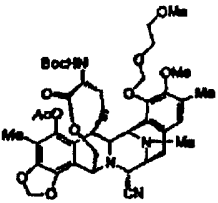
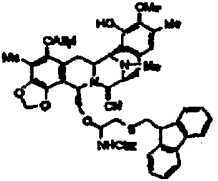
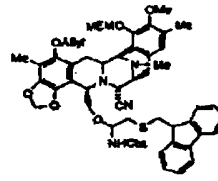
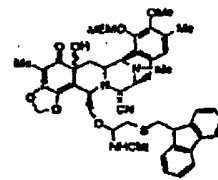
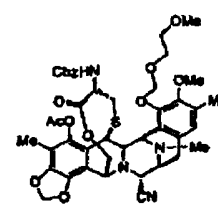
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 <p>52</p>	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 <p>53</p>	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 <p>54</p>	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 <p>55</p>	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
 <p>56</p>	0,18	0,9	0,18	0,8		0,9

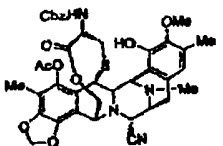
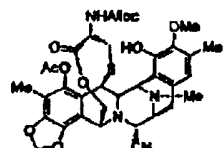
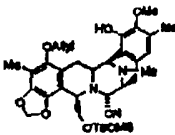
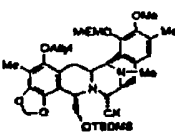
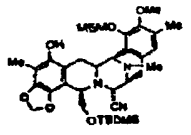
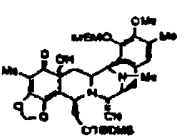
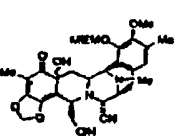
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 57	0,14	0,14	0,14	0,14		0,14
 58	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 60	0,001	0,001	0,0005	0,001		0,0005
 61	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 62	0,001	0,001	0,0005	0,0005		0,001
 63	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001

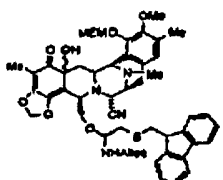
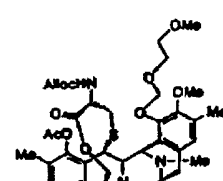
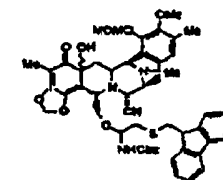
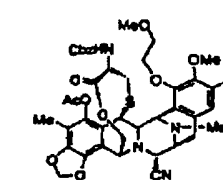
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 64	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 65	0,0001	0,0005	0,0001	0,0001		0,0005
 66	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 67	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 142		>1	>1			
 144		>1	>1			



ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 <b>146</b>	0,19	0,19	0,19	0,19		
 <b>147</b>		0,0055	0,0055			
 <b>148</b>		>1	>1			
 <b>149</b>		0,01	0,01			
 <b>150</b>		0,051	0,051			

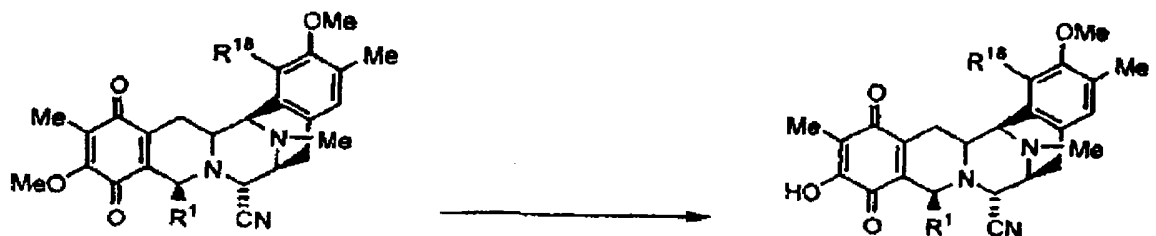
ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 <b>151</b>		0,012	0,012			
 <b>153</b>		0,11	0,11			
 <b>154</b>		>1	>1			
 <b>156</b>		>1	>1			
 <b>157</b>		0,59	0,59			

ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 158		0,0013	0,0013			
 164		0,00015	0,00015			
 165		>1	>1			
 166		>1	>1			
 167		>1	>1			
 168		>1	>1			
 169		>1	>1			

ZLÚČENINA	IC <sub>50</sub> (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 170		>1	>1			
 171		0,012	0,012			
 172		>1	>1			
 173		0,062	0,062			

Medzi účinné zlúčeniny tohto vynálezu patria zlúčeniny s 10-hydroxy a 1-labilnou skupinou.

Vo výhodnom uskutočnení tohto vynálezu dochádza k nasledujúcej reakcii.



5

V ďalšom výhodnom uskutočnení tohto vynálezu dochádza k nasledujúcej reakcii.



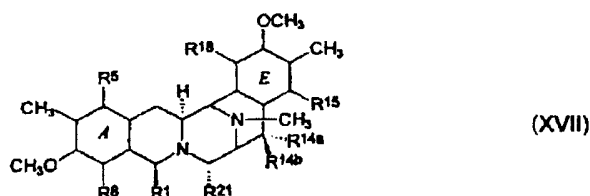
Ďalším výhodným uskutočnením tohto vynálezu je reakcia, kde sa R<sup>1</sup>, čo je aminometylénová skupina, premení na hydroxymetylénovú skupinu.

Ďalším výhodným uskutočnením tohto vynálezu je reakcia, kde zlúčenina so substituentom R<sup>1</sup>, čo je hydroxymetylénová skupina, reaguje s činidlom všeobecného vzorca (XXIV),



kde Fu označuje chránenú funkčnú skupinu, Prot<sup>3</sup> je chrániaca skupina a bodkovaná čiara predstavuje prípadnú dvojitú väzbu.

Ďalším výhodným uskutočnením tohto vynálezu je príprava 21-kyano zlúčeniny všeobecného vzorca (XIX) reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII),



kde R<sup>1</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>14a</sup>, R<sup>14b</sup>, R<sup>15</sup> a R<sup>19</sup> sú definované vyššie a R<sup>21</sup> je hydroxylová skupina, so zdrojom kyanidového iónu, čo vedie k požadovanej 21-kyano zlúčenine.

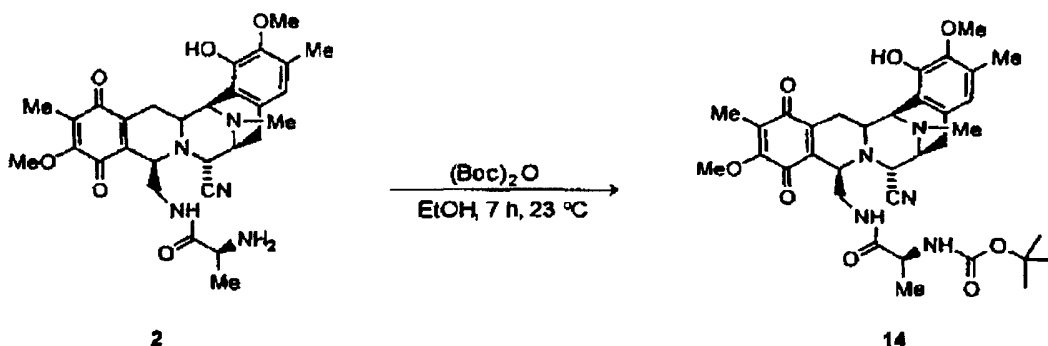
Vynález sa tiež týka spôsobov, v ktorých sa používajú aj iné zlúčeniny obsahujúce nukleofil, čím vznikajú zlúčeniny všeobecného vzorca (XIX), kde 21-pozícia je chránená nukleofilnou skupinou, 21-Nuc skupinou. 21-Nuc zlúčeninu všeobecného vzorca (XIX) s alkylamino substituentom na 21-pozícii je možné pripraviť reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII), kde R<sup>21</sup> je hydroxylová skupina, s vhodným alkylamínom. 21-Nuc zlúčeninu všeobecného vzorca (XIX) s alkyltio substituentom na 21-pozícii je možné tiež pripraviť reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca (XVII), kde R<sup>21</sup> je hydroxylová skupina, s vhodným alkantiolom. 21-Nuc zlúčeninu všeobecného vzorca (XIX) s α-karbonylalkylovým substituentom na 21-pozícii je možné pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca (XVII), kde R<sup>21</sup> je hydroxylová skupina, s vhodnou karbonylovou zlúčeninou zvyčajne v prítomnosti zásady. Pre iné 21-Nuc zlúčeniny existujú iné syntetické cesty.

Ďalším výhodným uskutočnením tohto vynálezu je reakcia 21-kyano zlúčeniny tohto vynálezu za vzniku 21-hydroxylovej zlúčeniny. Takéto zlúčeniny majú zaujímavé in vivo vlastnosti.

### Príklady uskutočnenia vynálezu

Tento vynález je opísaný nasledujúcimi príkladmi.

#### Príklad 1



K roztoku zlúčeniny 2 (21,53 g, 39,17 mmol) v etanole (EtOH) (200 ml) sa pridá anhydrid terc.butoxykarbonylu ((Boc)<sub>2</sub>O) (7,7 g, 35,25 mmol) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 7 hodín. Potom sa reakčná zmes koncentruje vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou (flash) stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : etylacetát (EtOAc) 6 : 4), čím vzniká zlúčenina 14 (20,6 g, 81 %) vo forme žltej pevnej látky.

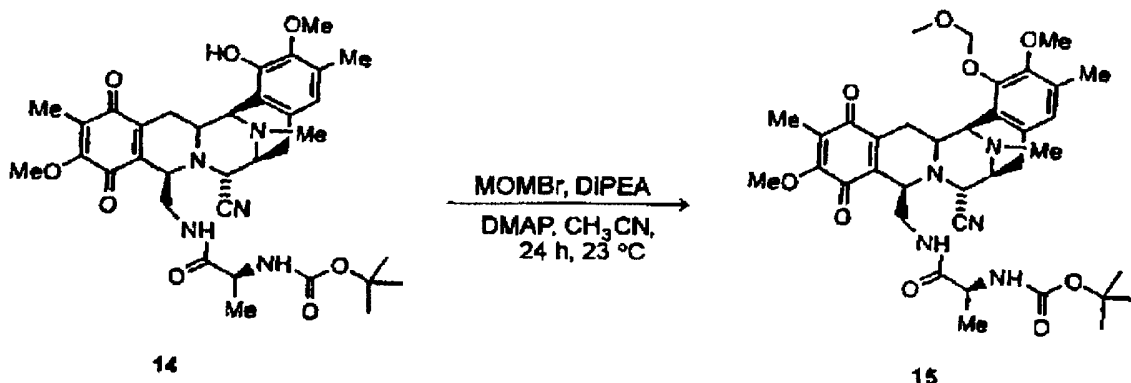
5 Rf: 0,52 (etylacetát : CHCl<sub>3</sub> 5 : 2).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 6,49 (s, 1H), 6,32 (bs, 1H), 5,26 (bs, 1H), 4,60 (bs, 1H), 4,14 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,05 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,81 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,34 (brd, J = 7,2 Hz, 1H), 3,18 až 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 až 1,65 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 0,86 (d, J = 5,7 Hz, 3H).

10 <sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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: vypočítaná C<sub>34</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>: 649,7, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 650,3.

15 Príklad 2



K roztoku zlúčeniny 14 (20,6 g, 31,75 mmol) v CH<sub>3</sub>CN (159 ml) sa pri teplote 0 °C za stáleho miešania pridá diizopropyletylamín (DIPEA) (82,96 ml, 476,2 mmol), metoxymetylenbromid (MOMBr) (25,9 ml, 317,5 mmol) a dimetylaminopyridín (155 mg, 1,27 mmol). Zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 24 hodín. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí na teplotu 0 °C vodným roztokom HCl (750 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N) (pH = 5) a extrahuje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 400 ml). Organická fáza sa vysuší síranom sodným a koncentruje sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : etylacetát s gradientom 4 : 1 až 3 : 2), čím vzniká zlúčenina 15 (17,6 g, 83 %) vo forme žltej pevnej látky.

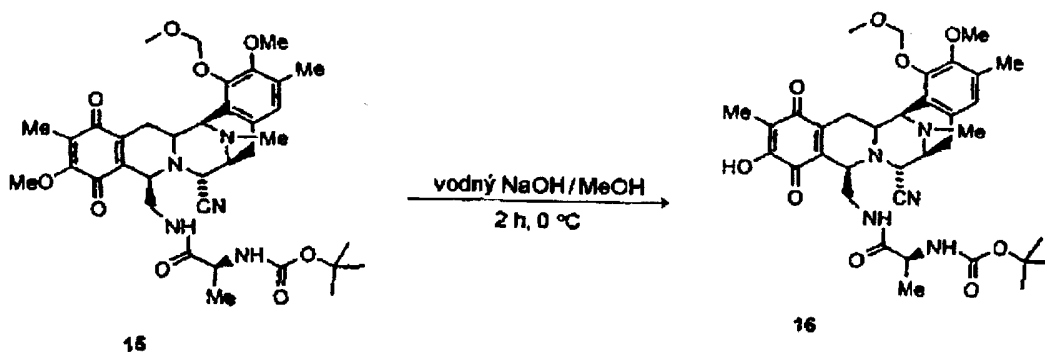
25 Rf: 0,38 (hexán : etylacetát 3 : 7).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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 až 3,65 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,39 až 3,37 (m, 1H), 3,20 až 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).

30 <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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: vypočítaná C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: 693,8, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 694,3.

35 Príklad 3



Do skúmavky obsahujúcej zlúčeninu 15 (8 g, 1,5 ml) v metanole (MeOH) (1,6 l) sa pri teplote 0 °C pridá vodný roztok hydroxidu sodného (3,2 l) s koncentráciou 1 mol/l (1 M). Reakčná zmes sa pri tejto teplote mieša počas 2 hodín a potom sa pridá roztok HCl s koncentráciou 6 mol/l (6 M) na pH = 5. Zmes sa extrahuje etylacetátom (3 x 1 l) a organické vrstvy sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, s gradientom CHCl<sub>3</sub> až CHCl<sub>3</sub> : etylacetát 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 16 (5,3 mg, 68 %).

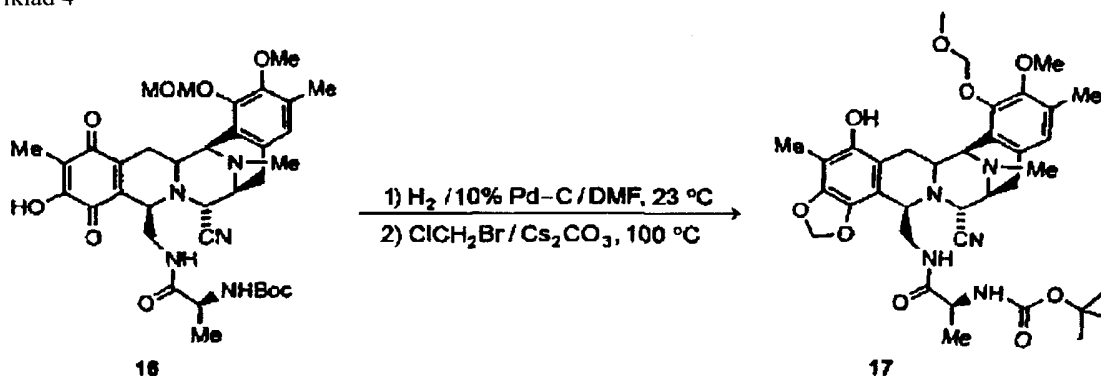
Rf: 0,48 (CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 7 : 3, RP-C18).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,73 (s, 1H), 5,43 (bs, 1H), 5,16 (s, 2H), 4,54 (bs, 1H), 4,26 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 4,04 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,84 (bs, 1H), 3,80 až 3,64 (m, 1H), 3,58 (s, 3H), 3,41 až 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 až 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 (brd, J = 6,6 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>35</sub>H<sub>45</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: 679,7, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 680,3.

#### Príklad 4



K odplynenému roztoku zlúčeniny 16 (1,8 g, 2,64 mmol) v DMF (dimetylformamid) (221 ml) sa pridá 10 % Pd/C (360 mg) a zmes sa mieša počas 45 minút vo vodíkovej atmosfére (atmosférický tlak). Reakčná zmes sa prefiltruje v argónovej atmosfére cez celit do skúmavky obsahujúcej bezvodný Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,58 g, 7,92 mmol). Potom sa k zmesi pridá brómchlórmetán (3,40 ml, 52,8 mmol), skúmavka sa uzavrie a zmes sa pri teplote 100 °C mieša počas 2 hodín. Reakčná zmes sa ochladí, prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Organická vrstva sa koncentruje a vysuší síranom sodným, čím vzniká zlúčenina 17 vo forme hnedého oleja, ktorý sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcom kroku.

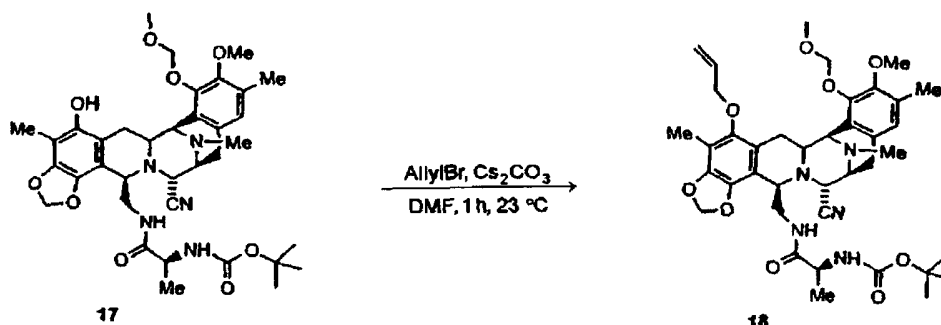
Rf: 0,36 (SiO<sub>2</sub>, hexán : etylacetát 1 : 5).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,68 (s, 1H), 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 až 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).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>36</sub>H<sub>47</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: 693,34, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 694,3.

#### Príklad 5



Do skúmavky obsahujúcej roztok zlúčeniny 17 (1,83 g, 2,65 mmol) v DMF (13 ml) sa pri teplote 0 °C pridá Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,6 g, 7,97 mmol) a allylbromid (AllylBr) (1,15 ml, 13,28 mmol). Výsledná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Organická vrstva sa vysuší síranom sodným a koncentruje sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub> : etylacetát 1 : 4), čím vzniká zlúčenina 18 (1,08 mg, 56 %) vo forme bielej pevnej látky.

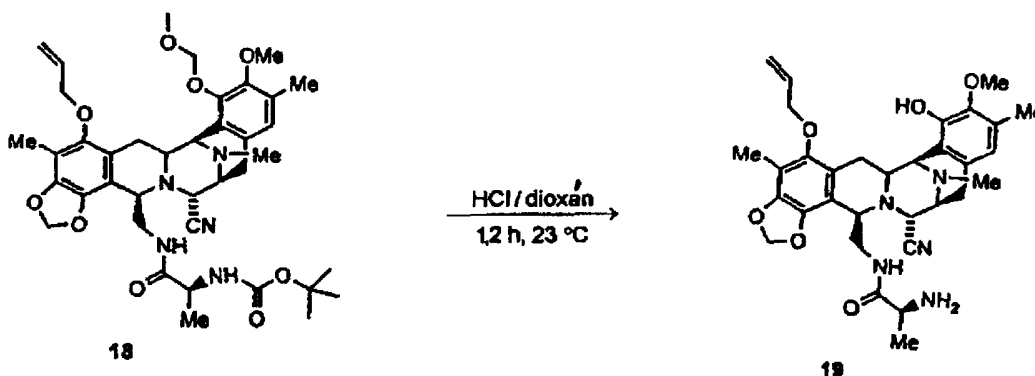
Rf: 0,36 (CHCl<sub>3</sub> : etylacetát 1 : 3).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,70 (s, 1H), 6,27 až 6,02 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,83 (s, 1H), 5,37 (dd, J<sub>1</sub> = 1,01 Hz, J<sub>2</sub> = 16,8 Hz, 1H), 5,40 (bs, 1H), 5,25 (dd, J = 1,0 Hz, J<sub>2</sub> = 10,5 Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,91 (bs, 1H), 4,25 až 4,22 (m, 1H), 4,21 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,14 až 4,10 (m, 1H), 4,08 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,00 (bs, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,59 (s, 3H), 3,56 až 3,35 (m, 2H), 3,26 až 3,20 (m, 2H), 3,05 až 2,96 (dd, J<sub>1</sub> = 8,1 Hz, J<sub>2</sub> = 18 Hz, 1H), 2,63 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,91 až 1,80 (m, 1H), 1,24 (s, 9H), 0,94 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>39</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: 733,4, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 734,4.

#### Príklad 6



K roztoku zlúčeniny 18 (0,1 g, 0,137 mmol) v dioxáne (2 ml) sa pridá zmes HCl/dioxán (1,46 ml) s koncentráciou HCl 4,2 mmol/l (4,2 M) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 1,2 hodiny. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí na teplotu 0 °C nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje sa etylacetátom (2 x 70 ml). Organické vrstvy sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu, čím vzniká zlúčenina 19 (267 mg, 95 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich reakciách.

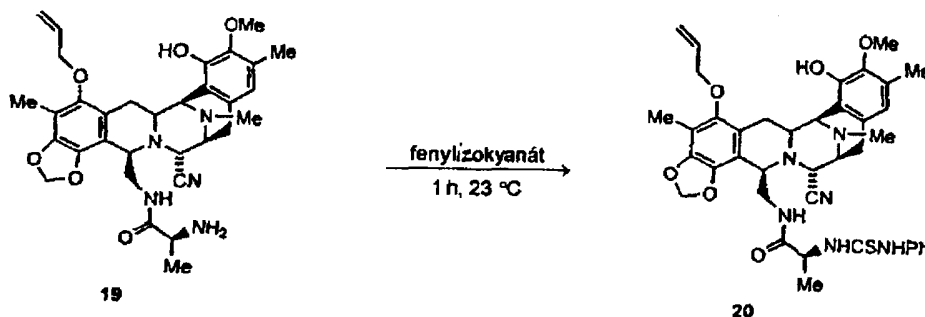
Rf: 0,17 (SiO<sub>2</sub>, etylacetát : metanol 10 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,49 (s, 1H), 6,12 až 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 až 3,76 (m, 5H), 3,74 (s, 3H), 3,71 až 3,59 (m, 1H), 3,36 až 3,20 (m, 4H), 3,01 až 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 až 1,86 (m, 1H), 0,93 (d, J = 8,7 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>: 589, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 590.

#### Príklad 7





K roztoku zlúčeniny 19 (250 mg, 0,42 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,5 mmol) sa pridá fenyliizotiokyanát (0,3 ml, 2,51 mmol) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa koncentruje vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 20 (270 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky.

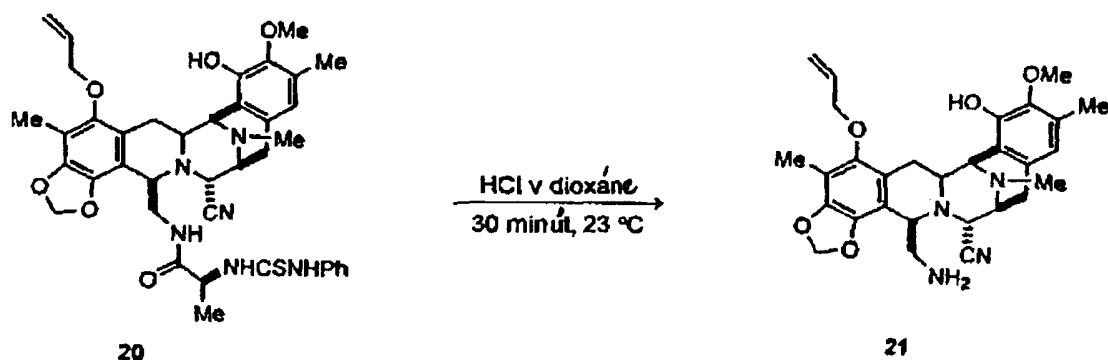
Rf: 0,56 ( $\text{CHCl}_3$  : etylacetát 1 : 4).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  8,00 (bs, 1H), 7,45 až 6,97 (m, 4H), 6,10 (s, 1H), 6,08 až 6,00 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,40 (dd,  $J = 1,5\text{ Hz}$ ,  $J = 17,1\text{ Hz}$ , 1H), 3,38 (bs, 1H), 5,23 (dd,  $J = 1,5\text{ Hz}$ ,  $J = 10,5\text{ Hz}$ , 1H), 4,42 až 4,36 (m, 1H), 4,19 až 4,03 (m, 5H), 3,71 (s, 3H), 3,68 až 3,17 (m, 4H), 2,90 (dd,  $J = 7,8\text{ Hz}$ ,  $J = 18,3\text{ Hz}$ , 1H), 2,57 (d,  $J = 18,3\text{ Hz}$ , 1H), 2,25 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 1,90 (dd,  $J = 12,3\text{ Hz}$ ,  $J = 16,5\text{ Hz}$ , 1H), 0,81 (d,  $J = 6,9\text{ Hz}$ , 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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.

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

#### Príklad 8



K roztoku zlúčeniny 20 (270 mg, 0,37 mmol) v dioxáne (1 ml) sa pridá zmes HCl/dioxán (3,5 ml) s koncentráciou HCl 4,2 mol/l (4,2 N) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 30 minút. Potom sa ku zmesi pridá etylacetát (20 ml) a  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) a organická vrstva sa oddelí dekantáciou. Vodná fáza sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  zalkalizuje nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) ( $\text{pH} = 8$ ) a extrahuje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 50 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , etylacetát : metanol 5 : 1), čím vznikne zlúčenina 21 (158 mg, 82 %) vo forme bielej pevnej látky.

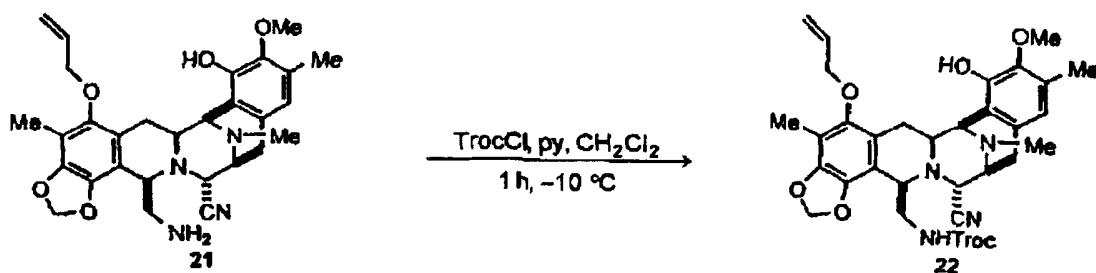
Rf: 0,3 (etylacetát : metanol 1 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,45 (s, 1H), 6,12 až 6,03 (m, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,85 (s, 1H), 5,38 (dd,  $J_1 = 1,2\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 17,1\text{ Hz}$ , 1H), 5,24 (dd,  $J_1 = 1,2\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 10,5\text{ Hz}$ , 1H), 4,23 až 4,09 (m, 4H), 3,98 (d,  $J = 2,1\text{ Hz}$ , 1H), 3,90 (bs, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,36 až 3,02 (m, 5H), 2,72 až 2,71 (m, 2H), 2,48 (d,  $J = 18,0\text{ Hz}$ , 1H), 2,33 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,85 (dd,  $J_1 = 11,7\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 15,6\text{ Hz}$ , 1H).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5$ : 518,3, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 519,2.

#### Príklad 9



K roztoku zlúčeniny 21 (0,64 g, 1,22 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6,13 ml) sa pri teplote  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  pridá pyridín (py) (0,104 ml, 1,28 mmol) a 2,2,2-trichloretylchlorformiát (TrocCl) (0,177 ml, 1,28 mmol). Zmes sa pri tejto teplote mieša počas 1 hodiny, potom sa reakčná zmes rýchlo ochladí prídavkom HCl (10 ml) s koncentráciou

0,1 mol/l (0,1 N) a extrahuje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným a koncentruje sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 22 (0,84 g, 98 %) vo forme bielej poréznej pevnej látky.

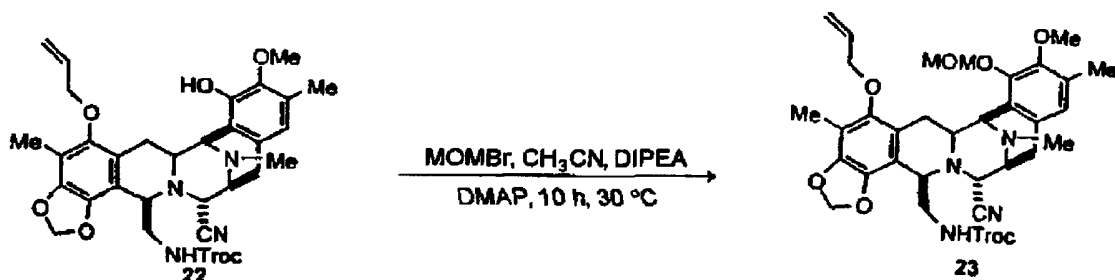
Rf: 0,57 (etylacetát : metanol 5 : 1).

5  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,50 (s, 1H), 6,10 až 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 až 4,10 (m, 4H), 4,19 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,37 až 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).

10  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$ : 694,17, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 695,2.

### 15 Príklad 10



K roztoku zlúčeniny 22 (0,32 g, 0,46 mmol) v  $\text{CH}_3\text{CN}$  (2,33 ml) sa pri teplote 0 °C pridá diizopropyletylamín (1,62 ml, 9,34 mmol), brómmetylmetyléter (0,57 ml, 7,0 mmol) a dimethylaminopyridín (6 mg, 0,046 mmol). Zmes sa udržiava pri teplote 30 °C počas 10 hodín. Reakčná zmes sa potom nariedi dichlórmetánom (30 ml) a prevedie sa do vodného roztoku HCl (10 ml) pH = 5. Organická vrstva sa vysuší síranom sodným a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 2 : 1), čím vznikne zlúčenina 23 (0,304 g, 88 %) vo forme bielej poréznej pevnej látky.

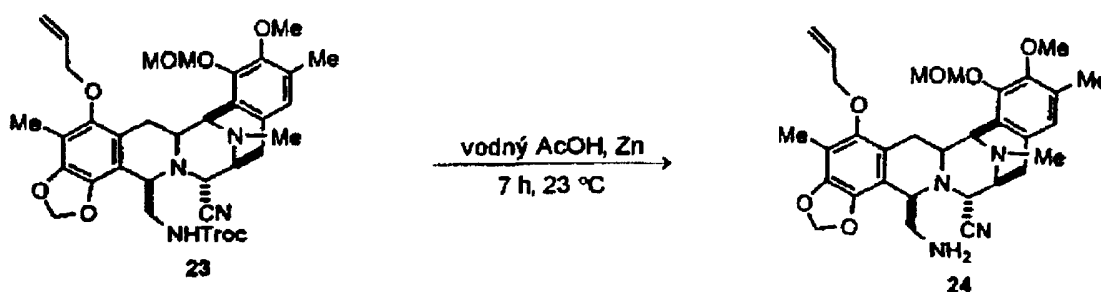
Rf: 0,62 (hexán : etylacetát 1 : 3).

25  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,11 (m, 4H), 4,03 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,38 až 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).

30  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_8$ : 738,20, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 739,0.

### 35 Príklad 11



K suspenzii zlúčeniny 23 (0,304 g, 0,41 mmol) v 90 % vodnom roztoku kyseliny octovej (4 ml) sa pridá práškový zinok (0,2 g, 6,17 mmol) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 7 hodín. Zmes sa prefiltruje cez podložku z celitu, ktorá sa premyje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Organická vrstva sa premyje nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (15 ml) (pH = 9) a vysuší sa síranom sodným. Rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 24 (0,191 g, 83 %) vo forme bielej pevnej látky.

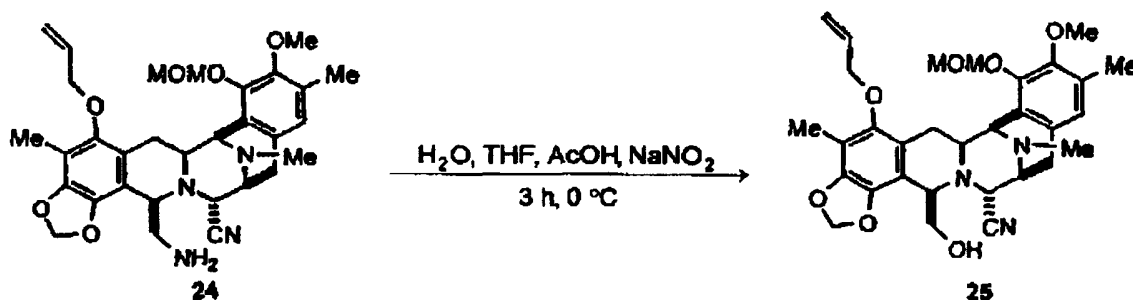
Rf: 0,3 (etylacetát : metanol 5 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,68 (s, 1H), 6,09 (m, 1H), 5,90 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 5,83 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 5,39 (dq,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 17,1$  Hz, 1H), 5,25 (dq,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 10,2$  Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,22 až 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 až 3,17 (m, 3H), 3,07 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18$  Hz, 1H), 2,71 (m, 2H), 2,48 (d,  $J = 18$  Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,80 (dd,  $J_1 = 12,3$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>: 562,66, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 563,1.

#### Príklad 12



K roztoku zlúčeniny 24 (20 mg, 0,035 mmol) vo H<sub>2</sub>O (0,7 mmol) a TF (tetrahydrofuráne) (0,7 mmol) sa pri teplote 0 °C pridá NaNO<sub>2</sub> (12 mg, 0,17 mmol) a 90 % vodný roztok AcOH (0,06 ml) a zmes sa pri teplote 0 °C mieša počas 3 hodín. Potom sa zmes nariedi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml), organická vrstva sa premyje vodou (1 ml), vysuší sa síranom sodným a koncentruje sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : etylacetát 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 25 (9,8 mg, 50 %) vo forme bielej pevnej látky.

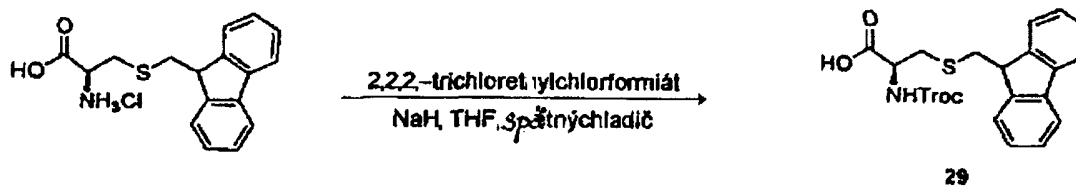
Rf: 0,34 (hexán : etylacetát 1 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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 až 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 až 3,32 (m, 4H), 3,58 (s, 3H), 3,24 (dd,  $J_1 = 2,7$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H), 3,12 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18,0$  Hz, 1H), 2,51 (d,  $J = 18$  Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,83 (dd,  $J_1 = 12,3$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>31</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: 563,64, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 564,1.

#### Príklad 13



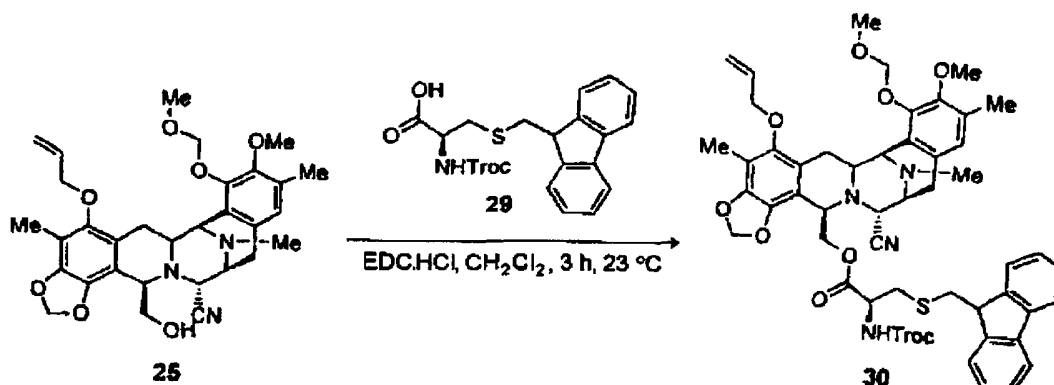
K suspenzii hydridu sodného (354 mg, 8,86 mmol) v THF (40 ml) sa pri teplote 23 °C pridá východisková látka (2,0 g, 5,90 mmol). K tejto suspenzii sa pri teplote 23 °C pridá allylchloroformiátom (1,135 ml, 8,25 mmol) a suspenzia sa potom pod spätným chladičom varí počas 3 hodín. Suspenzia sa ochladí, prefiltruje, pevný zvyšok sa premyje etylacetátom (100 ml) a filtrát sa koncentruje. Olejovitý zvyšok sa nariedi hexánom (100 ml) a pri teplote 4 °C sa nechá stáť cez noc. Rozpúšťadlo sa oddelí dekantáciou a k svetložltej kaši sa pridá CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) a vyzráža sa hexánom (100 ml). Po uplynutí 10 minút sa rozpúšťadlo opäť oddelí dekantáciou. Postup sa opakuje pokiaľ nevznikne biela pevná látka. Biela pevná látka sa prefiltruje a vysuší, čím vzniká zlúčenina 29 (1,80 g, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>S: 474,8, nameraná (M+Na)<sup>+</sup>: 497,8.

## Príklad 14



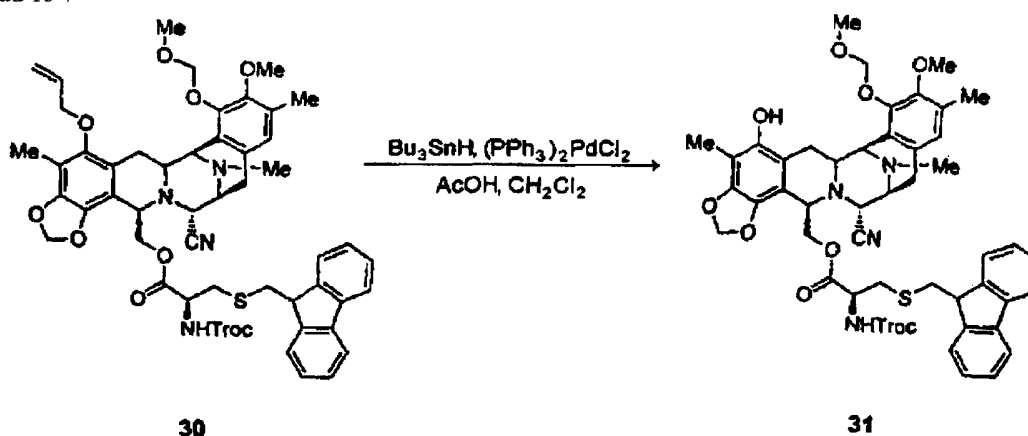
Zmes zlúčeniny 25 (585 mg, 1,03 mmol) a zlúčeniny 29 (1,47 mg, 3,11 mmol) sa azeotropicky destiluje s bezvodným toluénom (3 x 10 ml). K roztoku zlúčeniny 25 a zlúčeniny 29 v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 ml) sa pri teplote 23 °C pridá DMAP (633 mg, 5,18 mmol) a EDC-HCl (1,3-dimetylaminopropyl-3-etylkarbodiimidhydrochlorid) (994 mg, 5,18 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 3 hodín. Zmes sa rozdelí nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a vrstvy sa oddelia. Vodná vrstva sa premyje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 ml). Organické vrstvy sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú a koncentrujú sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (etylacetát : hexán 1 : 3), čím vzniká zlúčenina 30 (1,00 g, 95 %)

vo forme svetlej krémovej žltej pevnej látky.  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,96 (m, 9H), 3,89 (i,  $J = 6,4$  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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{51}\text{H}_{53}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 1020,4, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 1021,2.

## Príklad 15 .



K roztoku zlúčeniny 30 (845 mg, 0,82 mmol), kyseliny octovej (500 mg, 8,28 mmol) a dichlorbis(trifenylfosfín) paládnatý ( $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ ) (29 mg, 0,04 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) sa pri teplote 23 °C po kvapkách pridá tributylstanniumhydrid ( $\text{Bu}_3\text{SnH}$ ) (650 mg, 2,23 mmol). Reakčná zmes sa pri tejto teplote prebublávaním mieša počas 15 minút. Zvyšok sa rýchlo ochladí vodou (50 ml) a extrahuje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 50 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a koncentruje sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (etylacetát : hexán s gradientom 1 : 5 až 1 : 3), čím vzniká zlúčenina 31 (730 mg, 90 %) vo forme svetlej krémovej žltej pevnej látky.

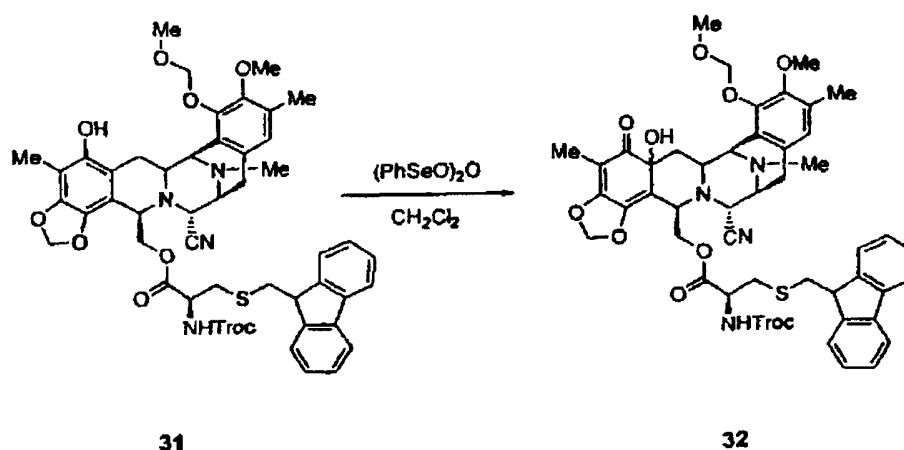
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,72 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,37 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 6,65 (s, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,74 (s, 1H), 5,36 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 5,32 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 5,20 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 4,75 (d,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 4,73 (m, 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 až 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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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,

5 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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 980,3, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 981,2.

## Príklad 16



10 K roztoku zlúčeniny 31 (310 mg, 0,32 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) sa pri teplote  $-10$  °C pomocou kanyly pridá 70 % roztok anhydridu kyseliny benzénselenovej ( $(\text{PhSeO})_2\text{O}$ ) (165 mg, 0,32 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7 ml), pričom sa táto teplota udržiava. Reakčná zmes sa pri teplote  $-10$  °C mieša počas 5 minút. Pri tejto teplote sa k zmesi pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (30 ml). Vodná vrstva sa premyje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 ml). Organické vrstvy sa vysuší síranom sodným, prefiltrujú a koncentrujú.

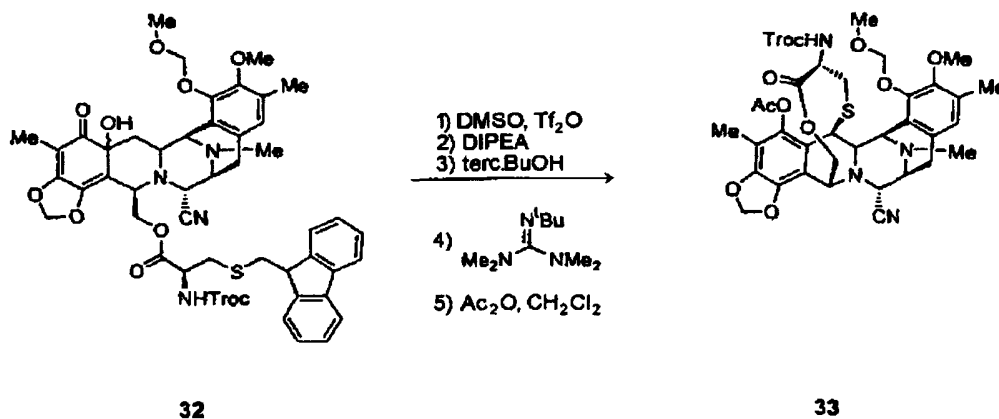
15 Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (etylacetát : hexán s gradientom 1 : 5 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 32 (287 mg, 91 %, HPLC 91,3 %) vo forme svetlokrémovej žltej pevnej látky tvorenej dvoma izomermi (65 : 35), ktoré sa použijú v nasledujúcom kroku.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  (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 až 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 až 4,63 (m, 6H), 4,60 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,38 (d,  $J = 12,8$  Hz,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 4,27 (dd,  $J = 12,8$  Hz,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 4,16 až 3,90 (m, 10H), 3,84 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 3,33 až 2,83 (m, 14H), 2,45 až 2,18 (m, 2H), 2,21 (s, 6H), 2,17 (s, 6H), 1,77 (s, 6H), 1,67 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  (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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ : 996,3, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 997,2.

## 30 Príklad 17



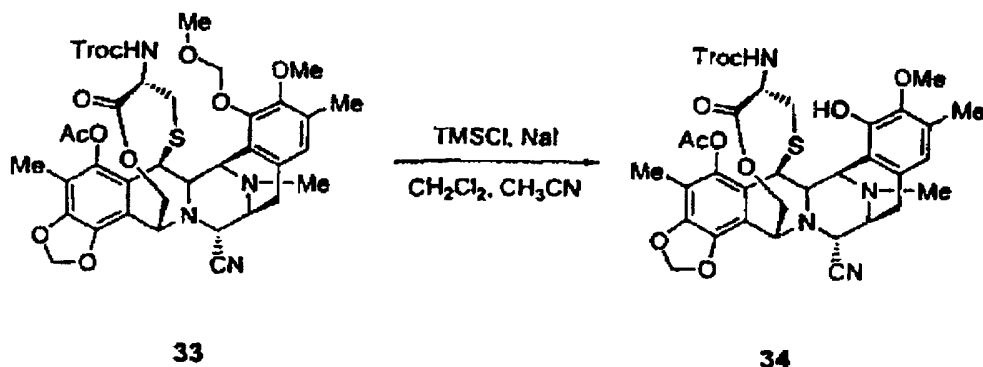
Reakčná skúmavka sa dvakrát vyžiha, niekoľkokrát sa premyje argónom a udržuje sa v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (39,1 ml, 0,55 mmol, 5 ekvivalentov) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4,5 ml) sa pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  po kvapkách pridá anhydrid kyseliny trifluormetánsulfónovej ( $\text{Tf}_2\text{O}$ ) (37,3 ml, 0,22 mmol, 2 ekvivalenty). Reakčná zmes sa pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  mieša počas 20 minút, potom sa pomocou kanyly pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  pridá roztok zlúčeniny 32 (110 mg, 0,11 mmol, HPLC 91,3 %) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 ml ako hlavný prídavok a 0,5 ml na premytí). Počas pridávania sa v skúmavkách udržuje teplota  $-78^\circ\text{C}$  a farba sa zmení zo žltej na hnedú. Reakčná zmes sa pri teplote  $-40^\circ\text{C}$  mieša počas 35 minút. Počas tohto časového intervalu sa roztok zmení zo žltej na tmavozelenú. Po uplynutí tohto času sa po kvapkách pridá  $\text{Pr}_2\text{NEt}$  (diizopropyletylamín) (153 ml, 0,88 mmol, 8 ekvivalentov), reakčná zmes sa pri teplote  $0^\circ\text{C}$  nechá reagovať počas 45 minút a počas tohto času sa farba roztoku zmení na hnedú. Potom sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá terc.butanol (terc.BuOH) (41,6 ml, 0,44 mmol, 4 ekvivalenty) a 2-terc.butyl-1,1,3,3-tetrametylguanidín (132,8 ml, 0,77 mmol, 7 ekvivalentov) a zmes sa pri teplote  $23^\circ\text{C}$  mieša počas 40 minút. Po uplynutí tohto času sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá acetanhydrid (104,3 ml, 1,10 mmol, 10 ekvivalentov) a zmes sa nechá reagovať pri teplote  $23^\circ\text{C}$  po viac než 1 hodinu. Potom sa reakčná zmes nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) a premyje sa nasýteným vodným roztokom  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50 ml), hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a chloridu sodného (50 ml). Organické vrstvy sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú a koncentrujú sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 3 až 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 33 (54 mg, 58 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,85 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,20 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 5,14 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H), 5,03 (m, 1H), 4,82 (d,  $J = 12,2$  Hz, 1H), 4,63 (d,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,35 až 4,17 (m, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,45 (m, 2H), 2,91 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,12 (m, 2H), 2,03 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ : 842,1, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 843,1.

## Príklad 18

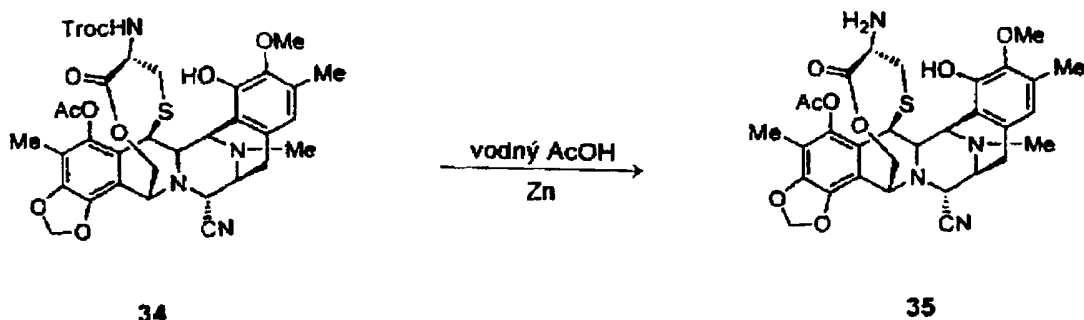


K roztoku zlúčeniny 33 (12 mg, 0,014 mmol) v suchom dichlórmetáne (1,2 ml) a pre HPLC použiteľnom acetonitrile (1,2 ml) sa pri teplote  $23^\circ\text{C}$  pridá jodid sodný (21 mg, 0,14 mmol) a čerstvo predestilovaný (použitím hydridu vápenatého za atmosférického tlaku) trimetylsilylchlorid (TMSCl) (15,4 mg, 0,14 mmol). Reakčná zmes zmení farbu na oranžovú. Po uplynutí 15 minút sa roztok nariedi dichlórmetánom (10 ml) a premyje sa čerstvým nasýteným vodným roztokom  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (3 x 10 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a koncentruje sa, čím vzniká zlúčenina 34 (13 mg, kvantitatívna) vo forme svetložltej pevnej látky, ktorá sa použije bez ďalšieho čistenia.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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).

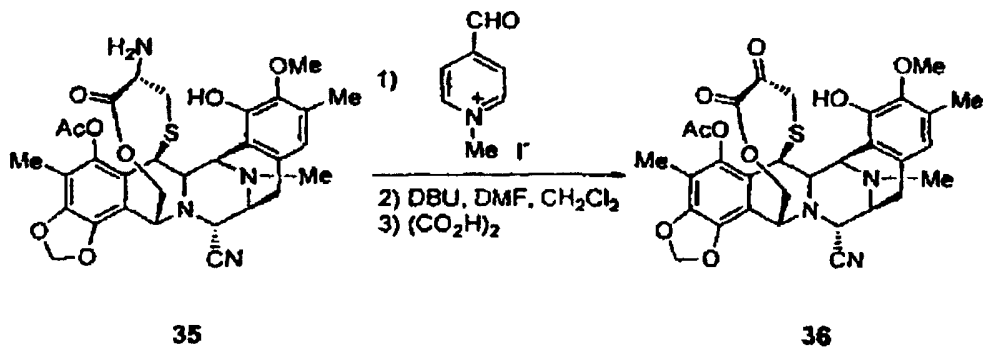
ESI-MS  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 798,1, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 799,1.

## Príklad 19



- K roztoku zlúčeniny 34 (13 mg, 0,016 mmol) v zmesi kyselina octová/voda (90 : 10, 1 ml) sa pri teplote 23 °C pridá práškový zinok (5,3 mg, 0,081 mmol). Reakčná zmes sa udržiava pri teplote 70 °C počas 6 hodín. Po uplynutí tohto času sa zmes ochladí na teplotu 23 °C, nariedi sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) a premyje sa nasýteným vodným roztokom hydrogenuhlíčanu sodného (15 ml) a vodným roztokom EtsN (trietylamin) (15 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a koncentruje sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (oxid kremičitý - $\text{NH}_2$ , eluent etylacetát : hexán s gradientom 0 : 100 až 50 : 50), čím vzniká zlúčenina 35 (6,8 mg, 77 % pre dva kroky) vo forme svetložltej pevnej látky.
- $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 2,10 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,02 (s, 3H).
- $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$ : 622,7, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 623,2.

## Príklad 20



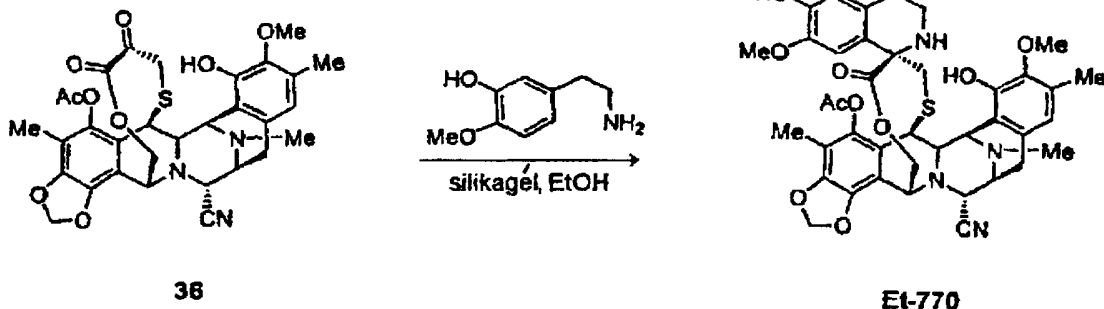
- K roztoku N-metylpyridín-4-karboxaldehydiodidu (378 mg, 1,5 mmol) v bezvodnom DMF (5,8 ml) sa pridá bezvodný toluén (2 x 10 ml), aby sa pomocou azeotropickej destilácie toluénu eliminoval obsah vody. Potom sa k tomuto oranžovému roztoku pomocou kanyly pri teplote 23 °C pridá roztok zlúčeniny 35 (134 mg, 0,21 mmol), vopred upravený bezvodným toluénom (2 x 10 ml), v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (destilovaný s  $\text{CaH}_2$ , 7,2 ml). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 4 hodín. Po uplynutí tohto času sa pri teplote 23 °C po kvapkách pridá DBU (32,2  $\mu\text{l}$ , 0,21 mmol) a pri teplote 23 °C sa mieša počas 15 minút. K reakčnej zmesi sa pridá čerstvý nasýtený vodný roztok kyseliny šťaveľovej (5,8 ml) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 30 minút. Potom sa reakčná zmes ochladí na teplotu 0 °C a po častiach sa pridá  $\text{NaHCO}_3$  a následne sa pridá nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$ . Zmes sa extrahuje  $\text{Et}_2\text{O}$  (dietyléter). K vodnej vrstve sa pridá  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a zmes sa extrahuje  $\text{Et}_2\text{O}$ . Organické vrstvy sa vysušia  $\text{MgSO}_4$  a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{EtOAc}$  : hexán 1 : 3 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 36 (77 mg, 57 %) vo forme svetložltej pevnej látky.
- $^1\text{HNMR}$ (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,48 (s, 1H), 6,11 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H), 6,02 (d,  $J = 1,3$  Hz, 1H), 5,70 (bs, 1H), 5,09 (d,  $J = 11,3$  Hz, 1H), 4,66 (bs, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,27 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 4,21 (d,  $J = 10,5$  Hz, 1H), 4,16 (d,  $J = 2,6$  Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,54 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 3,42 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 2,88 až 2,54 (m, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  186,7, 168,5, 160,5, 147,1, 146,4, 142,9, 141,6, 140,7, 130,4, 129,8, 121,7 (2C), 120,0, 117,8, 117,1, 113,5, 102,2, 61,7, 61,4, 60,3, 59,8, 58,9, 54,6, 41,6, 36,9, 29,7, 24,1, 20,3, 15,8, 14,1, 9,6.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$ : 621,7, nameraná (M+H) $^+$ : 622,2.

5

## Príklad 21



K roztoku zlúčeniny 36 (49 mg, 0,08 mmol) a 2-[3-hydroxy-4-metoxyfenyl]-etylaminu (46,2 mg, 0,27 mmol) v etanole (2,5 ml) sa pri teplote 23 °C pridá silikagél (105 mg). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 14 hodín. Zmes sa nariedi hexánom a preleje sa kolónou na stĺpcovej chromatografii (etylacetát : hexán 1 : 3 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina ET-770 (55 mg, 90 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

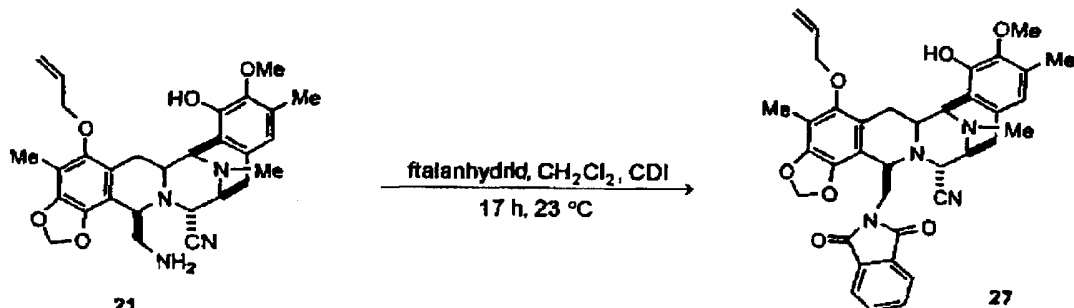
10

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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,  $J_2 = 10,0$  Hz,  $J_3 = 11,0$  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).

15

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 770,7, nameraná (M+H) $^+$ : 771,2.

## Príklad 22



20

K roztoku zlúčeniny 21 (22 mg, 0,042 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,8 ml) sa pridá ftalanhydrid (6,44 mg, 0,042 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 2 hodín. Potom sa pridá karbonyldiimidazol (CDI) (1 mg, 0,006 mmol) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 7 hodín. Potom sa opäť pridá karbonyldiimidazol (5,86 mg, 0,035 mmol) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 17 hodín. Roztok sa nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) a premyje sa HCl (15 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 27 (26,4 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

25

Rf: 0,58 (etylacetát).

30

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,73 až 7,64 (m, 4H), 6,40 (s, 1H), 6,12 až 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, 1H), 5,23 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 10,5$  Hz, 1H), 5,12 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 4,22 až 4,15 (m, 3H), 4,08 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,59 až 3,55 (m, 2H), 3,35 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,27 až 3,16 (m, 2H), 3,05 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18,3$  Hz, 1H), 2,64 (d,  $J = 18,0$  Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,80 (dd,  $J_1 = 11,4$  Hz,  $J_2 = 15$  Hz, 1H).

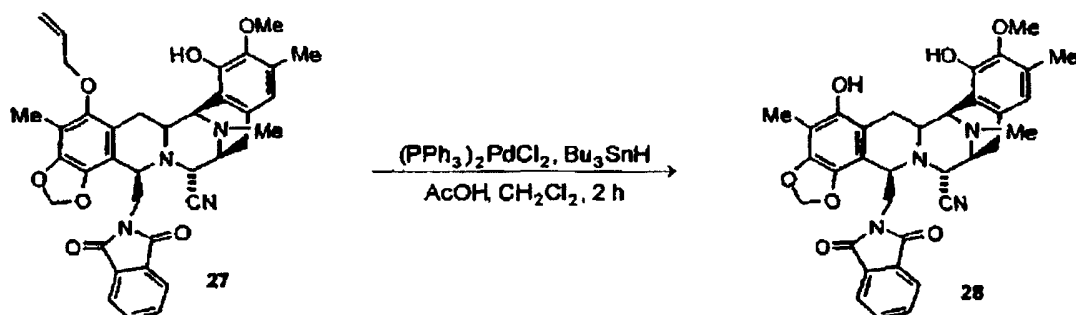
35

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  167,7, 148,9, 146,4, 144,2, 142,6, 139,5, 134,0, 133,5, 132,0, 131,0, 128,3, 123,0, 121,3, 120,9, 118,1, 117,5, 116,8, 113,6, 112,4, 100,8, 74,5, 60,6, 60,5, 57,7, 56,6, 55,6, 55,5, 42,3, 41,7, 26,6, 25,5, 15,9, 9,46.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_7$ : 648,79, nameraná (M+H) $^+$ : 649,3.



## Príklad 23



K roztoku zlúčeniny 27 (26 mg, 0,041 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (11 ml) sa pri teplote  $23^\circ\text{C}$  pridá kyselina octová (11 ml),  $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$  (2,36 mg) a  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  (28 ml, 0,10 mmol). Zmes sa pri tejto teplote mieša počas 2 hodín a potom sa preleje kolónou na stĺpcovej chromatografii ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 28 (24,7 mg, 99 %) vo forme bielej pevnej látky.

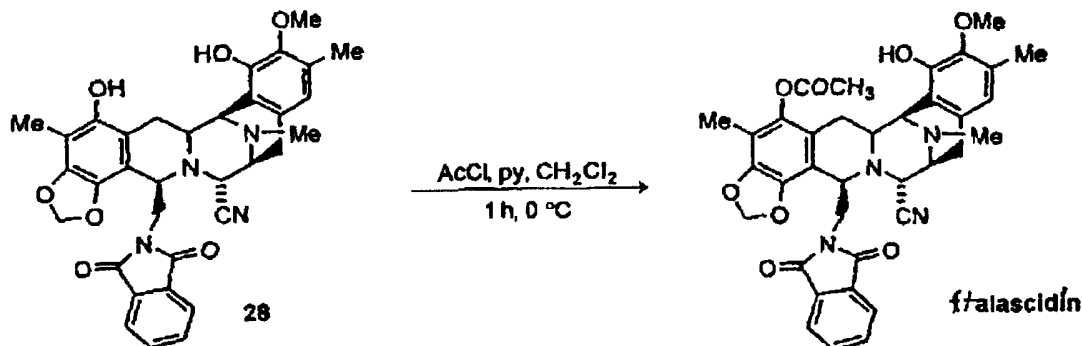
Rf: 0,33 (hexán : etylacetát 2 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,75 až 7,70 (m, 2H), 7,69 až 7,65 (m, 2H), 6,39 (s, 1H), 5,82 (bs, 1H), 5,50 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 5,0 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 4,45 (bs, 1H), 4,23 až 4,19 (m, 2H), 4,10 až 4,09 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,60 až 3,48 (m, 2H), 3,36 až 3,33 (m, 1H), 3,26 až 3,20 (m, 1H), 3,14 až 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, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_7$ : 608,6, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 609,2.

## Príklad 24



K roztoku zlúčeniny 28 (357 mg, 0,058 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 ml) sa pri teplote  $0^\circ\text{C}$  pridá acetylchlorid (41,58 ml, 0,58 mmol) a pyridín (47,3 ml, 0,58 ml). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nareďuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (15 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (RP-18,  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  60 : 40), čím vzniká f/alscidín (354 mg, 94 %) vo forme bielej pevnej látky.

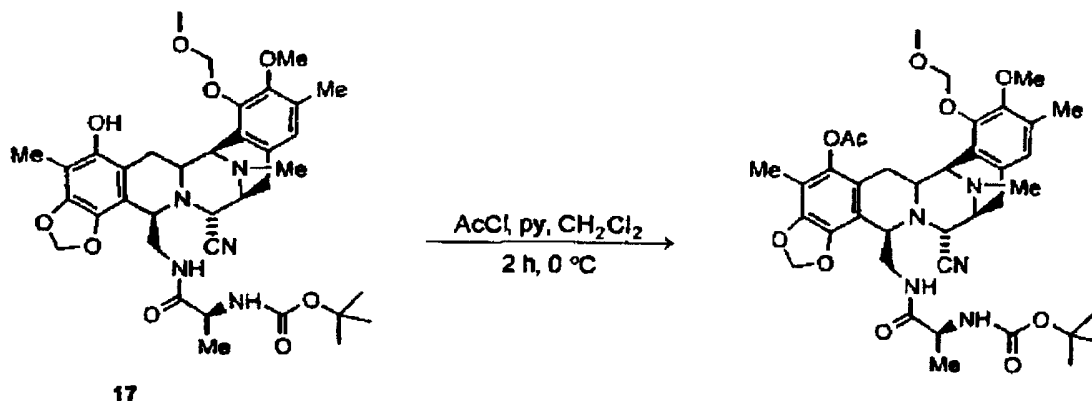
Rf: 0,37 ( $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  7 : 3, RP-18).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,72 až 7,68 (m, 2H), 7,67 až 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 až 4,21 (m, 2H), 4,02 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 3,64 až 3,62 (m, 5H), 3,33 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 3,21 až 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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8$ : 650, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 651,2.

## Príklad 25



17

K roztoku zlúčeniny 17 (300 mg, 0,432 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá acetylchlorid (AcCl) (30,7 ml, 0,432 mmol) a pyridín (34,9 ml, 0,432 mmol). Reakčná zmes sa pri tejto teplote mieša počas 2 hodín, potom sa roztok nariedi (15 ml) a premyje sa HCl (15 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 42 (318 mg, 100 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich reakciách.

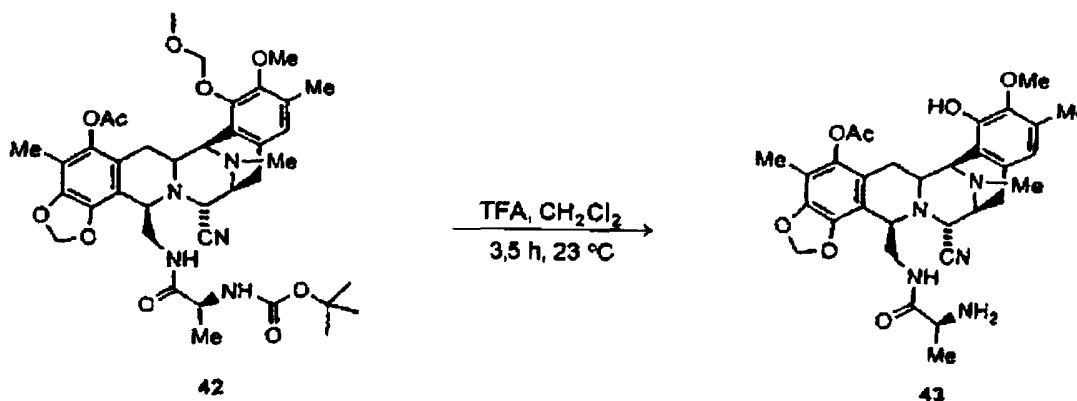
Rf: 0,5 (etylacetát : metanol 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,61 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,52 až 3,48 (m, 1H), 3,50 (s, 3H), 3,33 (d,  $J = 9,6$  Hz, 1H), 3,17 až 3,14 (m, 1H), 2,97 až 2,87 (m, 1H), 2,75 až 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,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{10}$ : 735,82, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 736,3.

## 20 Príklad 26



42

43

K roztoku zlúčeniny 42 (318 mg, 0,432 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2,16 mmol) sa pridá kyselina trifluóroctová (TFA) (1,33 ml, 17,30 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 3,5 hodiny. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí na teplotu  $0\text{ }^\circ\text{C}$  nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 70 ml). Organické vrstvy sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čisti rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , etylacetátmetanol 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 43 (154 mg, 60 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,22 (etylacetátmetanol 5 : 1).

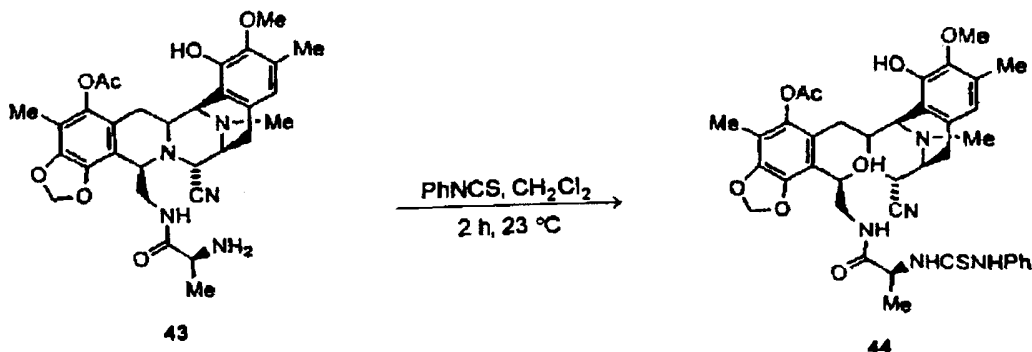
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,47 (s, 1H), 6,22 (bs, 1H), 5,95 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,88 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 4,08 až 4,06 (m, 2H), 4,01 (bs, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,49 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H), 3,33 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,26 až 3,22 (m, 1H), 2,95 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18$  Hz, 1H), 2,80 až 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,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$ : 591,65, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 592,3.

5

## Príklad 27



K roztoku zlúčeniny 43 (154 mg, 0,26 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,3 ml) sa pridá fenylizotiokyanát (PhNCS) (186 ml, 1,56 mmol) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 2 hodín. Reakčná zmes sa koncentruje vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 44 (120 mg, 63 %) vo forme bielej pevnej látky.

10

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

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  8,17 (s, 1H), 7,49 až 7,44 (m, 3H), 7,31 až 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 až 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).

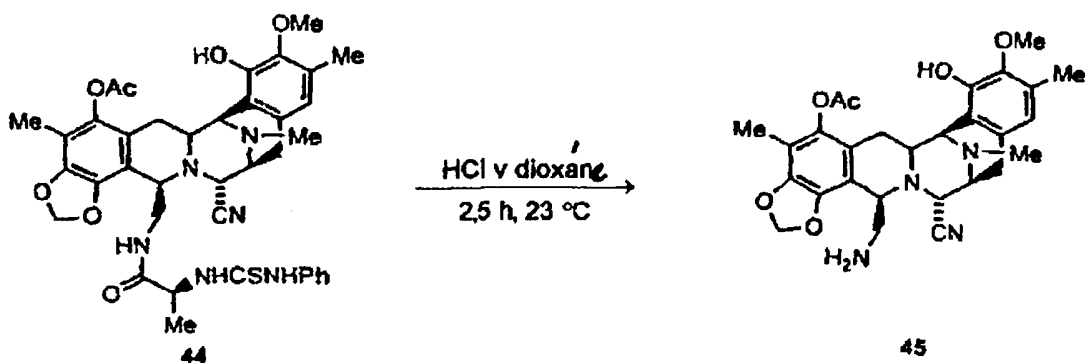
15

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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.

20

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

## Príklad 28



K roztoku zlúčeniny 44 (120 mg, 0,165 mmol) v dioxáne (0,9 ml) sa pridá zmes HCl/dioxán (1,8 ml) s koncentráciou HCl 5,3 mol/l (5,3 N) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 2,5 hodiny. K zmesi sa potom pridá  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml) a organická vrstva sa oddelí dekantáciou. Vodná fáza sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  zalkalizuje nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (20 ml) ( $\text{pH} = 8$ ) a potom sa extrahuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 15 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu, čím vzniká zlúčenina 45 (75 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich reakciách.

30

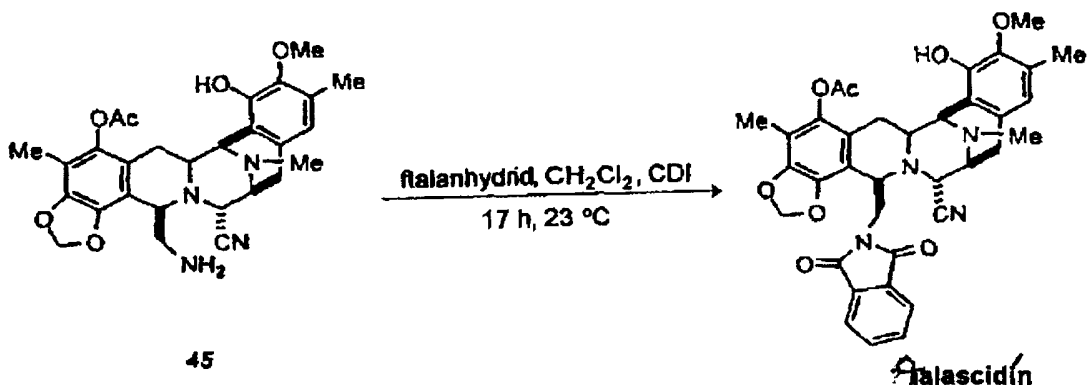
Rf: 0,23 (etylacetát/metanol 5 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,43 (s, 1H), 5,94 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,87 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 4,10 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 3,98 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 3,91 (bs, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,34 až 3,25 (m, 2H), 3,05 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 8,1$  Hz, 1H), 2,80 až 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).

35

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6$ : 520,58, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 521,3.

## 5 Príklad 29



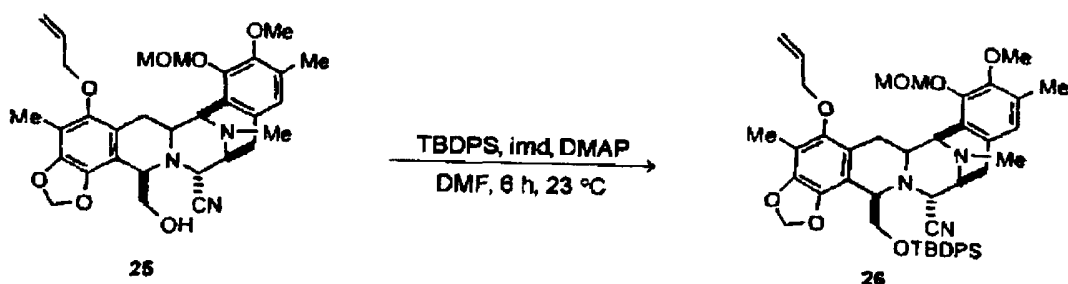
K roztoku zlúčeniny 45 (10 mg, 0,02 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,4 ml) sa pridá ftalanhydrid (2,84 mg, 0,02 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 2 hodín. Potom sa pridá karbonyldiimidazol (0,5 mg, 0,003 mmol) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 7 hodín. Potom sa opäť pridá karbonyldiimidazol (2,61 mg, 0,016 mmol) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas ďalších 17 hodín. Roztok sa nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (RP-18,  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  60 : 40), čím vzniká ftalascidín (11,7 mg, 93 %) ako biela pevná látka.  
Rf: 0,37 ( $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  7 : 3, RP-18).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,72 až 7,68 (m, 2H), 7,67 až 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 až 4,21 (m, 2H), 4,02 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 3,64 až 3,62 (m, 5H), 3,33 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 3,21 až 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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8$ : 650, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 651,2.

## 25 Príklad 30



K roztoku zlúčeniny 25 (18 mg, 0,032 mmol) v DMF (0,05 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá katalyzátor DMAP (0,5 mg, 0,004 mmol), imidazol (Imd) (5 mg, 0,08 mmol) a terc.butylidifenylsilylchlorid (12,5 ml, 0,048 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 6 hodín. K zmesi sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá voda (10 ml) a vodná fáza sa extrahuje zmesou hexán : etylacetát 1 : 10 (2 x 10ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 3 : 1), čím vzniká zlúčenina 26 (27 mg, 88 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,29 (hexán : etylacetát 3 : 1).

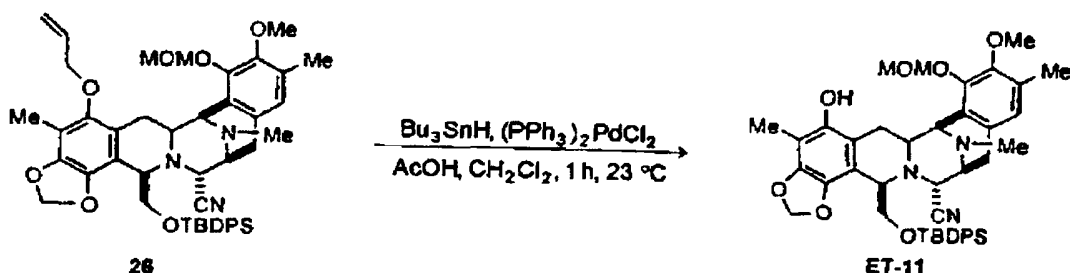
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,61 až 7,58 (m, 2H), 7,42 až 7,28 (m, 8H), 6,71 (s, 1H), 6,19 až 6,02 (m, 1H), 5,78 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,64 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,40 (dd,  $J_1 = 1,2$  Hz,  $J_2 = 17,1$  Hz, 1H), 5,27 (dd,  $J_1 = 1,2$  Hz,  $J_2 = 10,2$  Hz, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,45 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 4,24 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 4,17 až 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 až 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 až 1,89 (m, 1H), 0,87 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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,

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

## Príklad 31



K roztoku zlúčeniny 26 (7 mg, 0,0087mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,15 ml) sa pri teplote 23 °C pridá 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  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  (3,5 ml, 0,013 mmol). Reakčná zmes sa pri tejto teplote mieša počas 1 hodiny. Roztok sa nariedi zmesou hexán : etylacetát 5 : 1 (0,5 ml) a preleje sa kolónou na rýchlej stĺpcovej chromatografii ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát s gradientom 5 : 1 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina ET-11 (5 mg, 75 %) vo forme bielej pevnej látky.

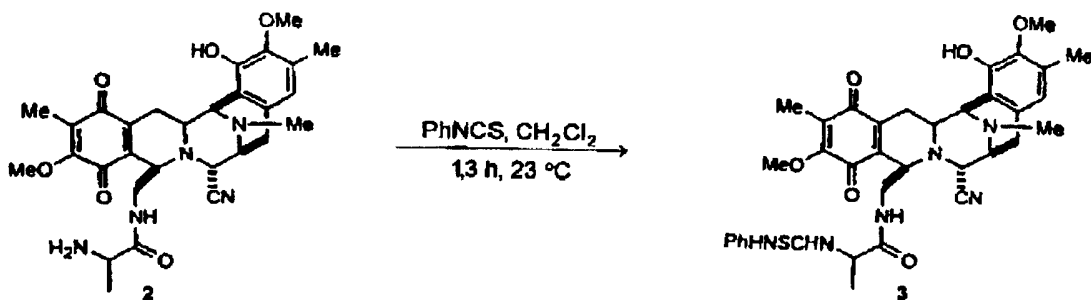
Rf: 0,36 (hexán : etylacetát 1 : 5, oxid kremičitý).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,56 (m, 2H), 7,41 až 7,25 (m, 8H), 6,67 (s, 1H), 5,72 (d,  $J = 1,0$  Hz, 1H), 5,58 (d,  $J = 1,0$  Hz, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,38 (d,  $J = 5,75$  Hz, 1H), 5,16 (d,  $J = 5,7$  Hz, 1H), 4,57 (d,  $J = 2,9$  Hz, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,68 (dd,  $J_1 = 2,1$  Hz,  $J_2 = 10,4$  Hz, 1H), 3,38 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,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{44}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}$ : 761, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 762.

## Príklad 32



Roztok zlúčeniny 2 (3,0 g, 5,46 mmol) a fenyliizotiokyanátu (3,92 ml, 32,76 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (27 ml) sa pri teplote 23 °C mieša počas 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa rozdelí medzi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a koncentruje sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 2 : 3), čím vzniká zlúčenina 3 (3,29 g, 88 %) vo forme žltej pevnej látky.

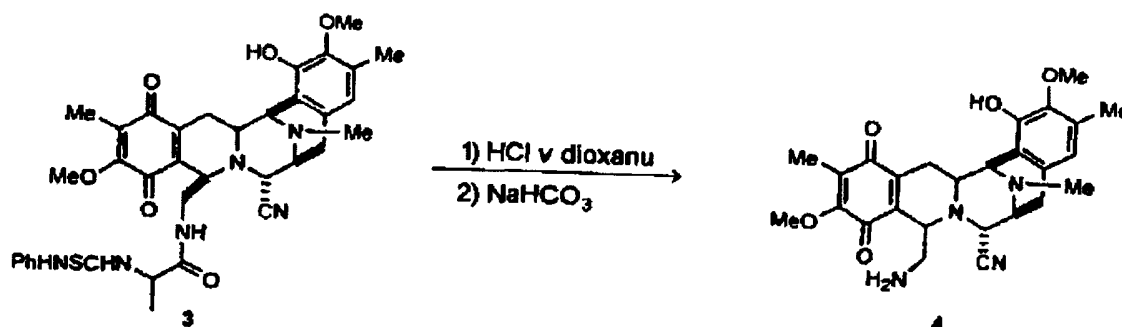
Rf: 0,27 (ACN :  $\text{H}_2\text{O}$  3 : 2, RP-C18).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,77 (bs, 1H), 7,42 až 7,11 (m, 5H), 6,65 (d, 1H), 6,29 (s, 1H), 5,6 až 5,5 (m, 1H), 4,19 až 4,14 (m, 2H), 4,08 (d, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,87 až 3,65 (m, 6H), 3,77 (s, 3H), 3,37 až 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 až 1,75 (m, 1H), 0,96 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$ : 684,8, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 685,2.

## Príklad 33



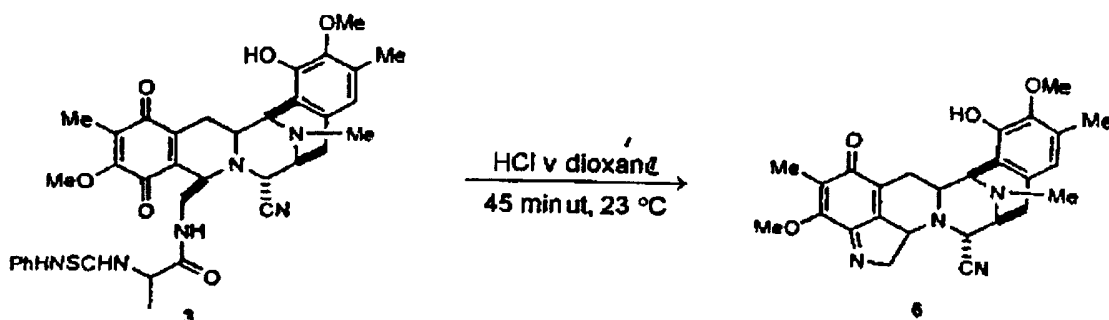
Roztok zlúčeniny 3 (0,143 g, 0,208 mmol) v zmesi HCl/dioxán (150 ml) s koncentráciou HCl 6,5 mmol/l (6,5 M) sa pri teplote 23 °C mieša počas 6 hodín. K reakčnej zmesi sa potom pridá toluén (3 ml) a organická vrstva sa oddelí dekantáciou. Zvyšok sa rozdelí medzi nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (3 ml) a  $\text{CHCl}_3$  (3 x 3 ml). Organické vrstvy sa vysušia a koncentrujú sa, čím vzniká zmes zlúčeniny 4 a 6 (4 : 6 90 : 10), ktorá pri státi pomaly cyklizuje na zlúčeninu 6.

Rf: 0,4 (etylacetát : metanol 5 : 1, oxid kremičitý).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 ž 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 až 1,5 (m, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5$ : 478,5, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 479,2.

## Príklad 34



Roztok zlúčeniny 3 (0,143 g, 0,208 mmol) vo zmesi HCl/dioxán (150 ml) s koncentráciou HCl 6,5 mmol/l (6,5 M) sa pri teplote 23 °C mieša počas 1 hodiny. Rozpúšťadlo sa odparí a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , etylacetát : metanol : trietylamin 100 : 25 : 0,1), čím vzniká zlúčenina 6 (80 mg, 83 %) vo forme žltej pevnej látky.

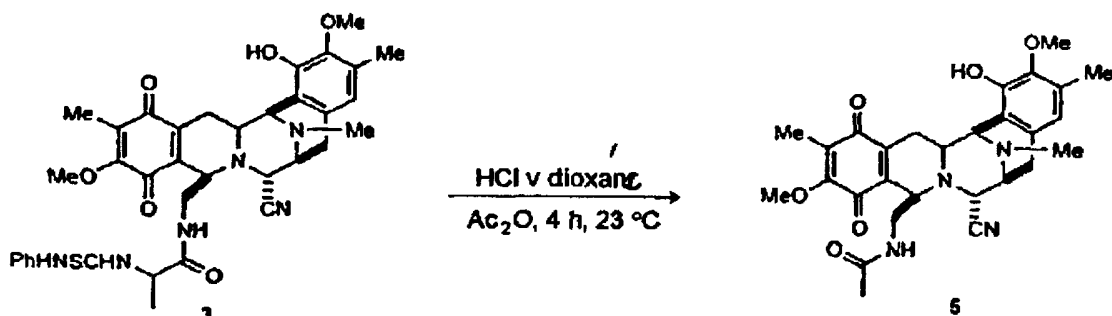
Rf: 0,26 (ACN :  $\text{H}_2\text{O}$  3 : 2, RP-C18).

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  186,2, 162,1, 154,9, 146,9, 145,3, 143,0, 130,1, 129,4, 128,1, 125,0, 121,4, 116,4, 116,2, 66,6, 60,7, 60,7, 60,1, 59,6, 58,8, 55,6, 54,9, 41,9, 25,3, 24,7, 15,7, 8,9.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ : 460,5, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 461,1.

## Príklad 35



K roztoku zlúčeniny 3 (2,38 g, 3,47 mmol) v dioxáne (5 ml) sa pridá HCl s koncentráciou 5,3 mmol/l (5,3 M) v dioxáne (34 ml) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 45 minút. Potom sa k zmesi pridá AC20 (51 ml, 539,5 mmol) a mieša sa počas 4 hodín. Reakčná zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a pri tejto teplote sa rozdelí medzi nasýtený vodný roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (300 ml) a etylacetát (300 ml). Organická fáza sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a koncentruje sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, s gradientom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> až CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 5 (1,75 g, 97 %) vo forme žltej pevnej látky.

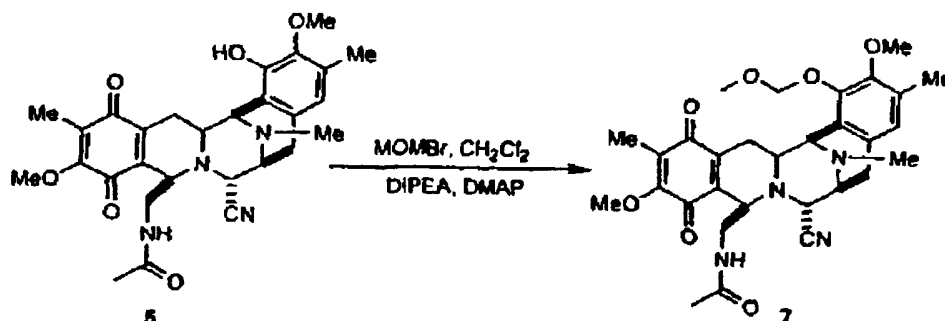
Rf: 0,53 (ACN : H<sub>2</sub>O 3 : 2, RP-18).

<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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 až 1,50 (m, 2H), 1,29 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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: vypočítaná C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>: 520,6, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 521,1.

#### Príklad 36



K roztoku zlúčeniny 5 (1,75 g, 3,36 mmol) v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (17 ml) sa pri teplote 0 °C pridá diizopropyletylamín (11,71 ml, 67,23 mmol), DMAP (20 mg, 0,17 mmol) a brommetylmetyléter (4,11 ml, 50,42 mmol). Po uplynutí 6 hodín sa pri teplote 23 °C reakčná zmes rozdelí medzi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) a nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (25 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (RP-18, CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 7 (1,32 g, 70 %) vo forme žltej pevnej látky.

Rf: 0,34 (ACN : H<sub>2</sub>O 2 : 3, RP-C18).

<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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 až 2,95 (m, 6H), 2,43 (d, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,89 (s, 3H), 1,5 až 1,4 (m, 2H), 1,31 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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: vypočítaná C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: 564,6, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 565,3.

#### Príklad 37



K roztoku zlúčeniny 7 (0,37 g, 0,65 mmol) v metanole (74 ml) sa pri teplote 0 °C pridá hydroxid sodný (130 ml) s koncentráciou 1 mol/l (1 M). Reakčná zmes sa mieša počas 15 minút a potom sa rýchlo ochladí na teplotu 0 °C HCl s koncentráciou 6 mol/l (6 M) na pH = 5. Reakčná zmes sa extrahuje etylacetátom (3 x 50 ml), organické vrstvy sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou

chromatografiou (RP-C18, CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 8 (232 mg, 65 %) vo forme žltého oleja.

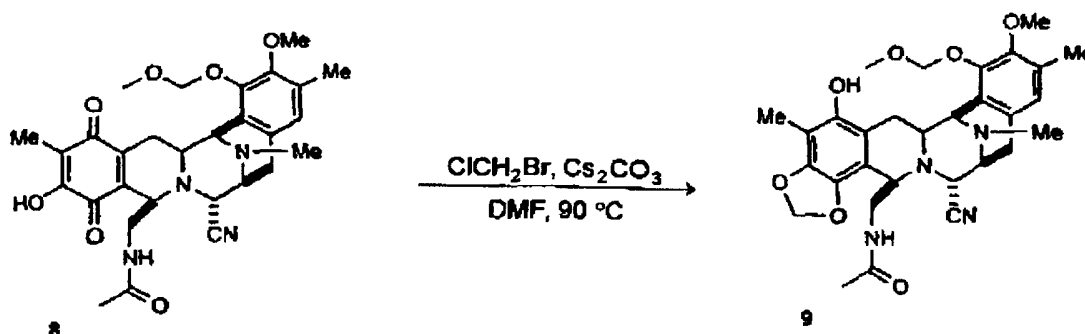
Rf: 0,5 (ACN : H<sub>2</sub>O 3 : 2, RP-C18).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,75 (s, 1H), 5,15 (s, 2H), 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 až 3,21 (m, 1H), 3,18 až 3,08 (m, 2H), 3,03 až 2,97 (m, 1H), 2,47 (d, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,57 až 1,46 (m, 2H), 1,33 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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: vypočítaná C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: 550,6, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 551,2.

#### Príklad 38



K odplynenému roztoku zlúčeniny 8 (240 mg, 0,435 mmol) v DMF (30 ml) sa pridá 10 % Pd/C (48 mg) a reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny vo vodíkovej atmosfére (atmosférický tlak). Reakčná zmes sa prefiltruje, ako bezfarebný roztok, v argónovej atmosfére cez podložku z celitu do skúmavky obsahujúcej bezvodný Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (240 mg, 0,739 mmol). Potom sa k zmesi pridá brómchlórmetán (0,566 ml, 8,71 mmol). Skúmavka sa uzavrie a zmes sa pri teplote 90 °C mieša počas 3 hodín. Reakčná zmes sa ochladí, prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Organická vrstva sa koncentruje a vysuší síranom sodným, čím vzniká zlúčenina 9 vo forme hnedého oleja, ktorý sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcom kroku.

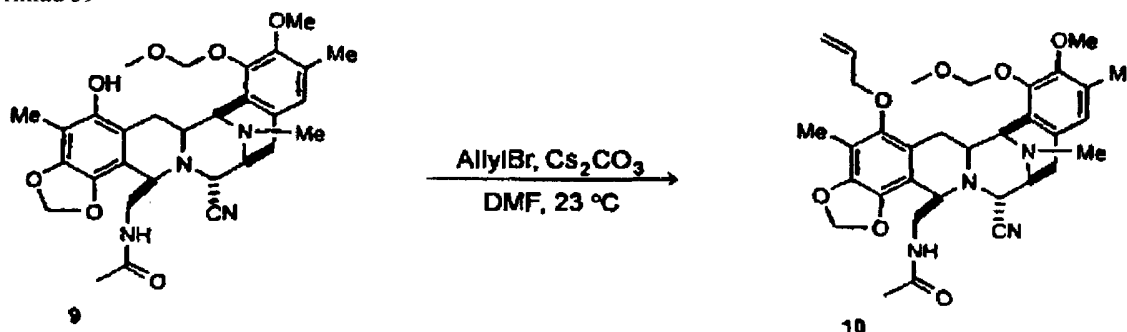
Rf: 0,36 (SiO<sub>2</sub>, hexán : etylacetát 1 : 5).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  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 až 3,47 (m, 4H), 3,37 až 3,27 (m, 2H), 3,14 až 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).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  169,8, 149,1, 147,4, 145,5, 136,2, 130,9, 130,8, 125,0, 122,9, 117,7, 112,6, 111,8, 106,4, 100,8, 99,8, 59,8, 58,9, 57,7, 56,6, 56,4, 55,5, 55,2, 41,6, 40,1, 29,6, 25,9, 25,0, 22,6, 15,6, 8,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>SiN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: 564,6, nameraná (M+H)<sup>+</sup>: 565,3.

#### Príklad 39



Do skúmavky obsahujúcej zlúčeninu 9 (245 mg, 0,435 mmol) v DMF (4 ml) sa pri teplote 0 °C pridá uhličitan cézny (425 mg, 1,30 mmol) a allylbromid (376  $\mu$ l, 4,35 mmol) a zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa prefiltruje cez podložku z celitu a rozdelí sa medzi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 ml) a H<sub>2</sub>O (10 ml). Organická fáza sa vysuší síranom sodným, koncentruje sa destiláciou pri zníženom tlaku a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub> : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 10 (113 mg, 43 %) vo forme žltého oleja.

Rf: 0,36 (hexán : etylacetát 1 : 5).

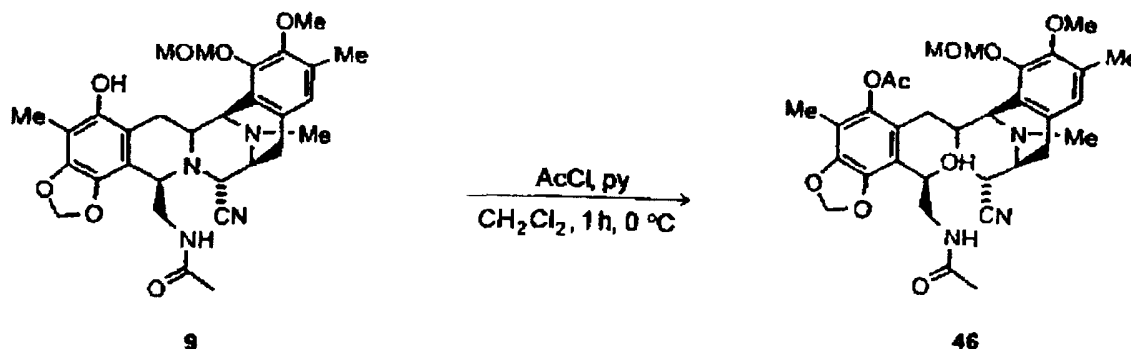


$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,74 (s, 1H), 6,3 až 6,0 (m, 1H), 5,94 (d, 1H), 5,87 (d, 1H), 5,43 až 5,36 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 5,00 (m, 1H), 4,22 (m, 1H), 4,17 až 4,01 (m, 1H), 3,98 (m, 2H), 3,71 až 3,67 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,62 až 3,51 (m, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,39 až 3,37 (m, 1H), 3,31 až 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 až 2,10 (m, 1H), 1,82 až 1,73 (m, 1H), 1,24 (bs, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_7$ : 604,7, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 605,3.

## Príklad 40



10

K roztoku zlúčeniny 9 (22 mg, 0,039 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá acetylchlorid (2,79 ml, 0,039 mmol) a pyridín (3,2 ml, 0,039 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje  $\text{HCl}$  (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 46 (22 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

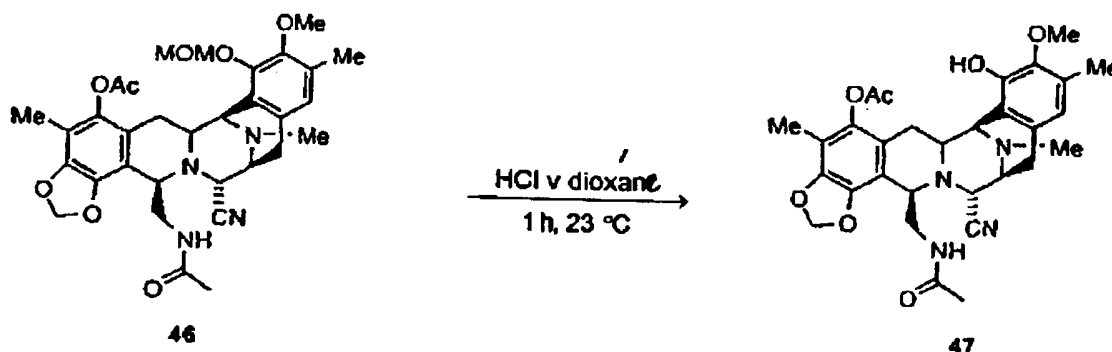
Rf: 0,4 (hexán : etylacetát 1 : 5).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,44 (m, 2H), 3,38 až 3,36 (m, 1H), 3,30 až 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).

20

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

## Príklad 41



25

K roztoku zlúčeniny 46 (8 mg, 0,013 mmol) v dioxáne (0,1 ml) sa pridá zmes  $\text{HCl}$ /dioxán (0,5 ml) s koncentráciou  $\text{HCl}$  5,3 mol/l (5,3 N) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 1 hodiny. Potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 47 (5 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky.

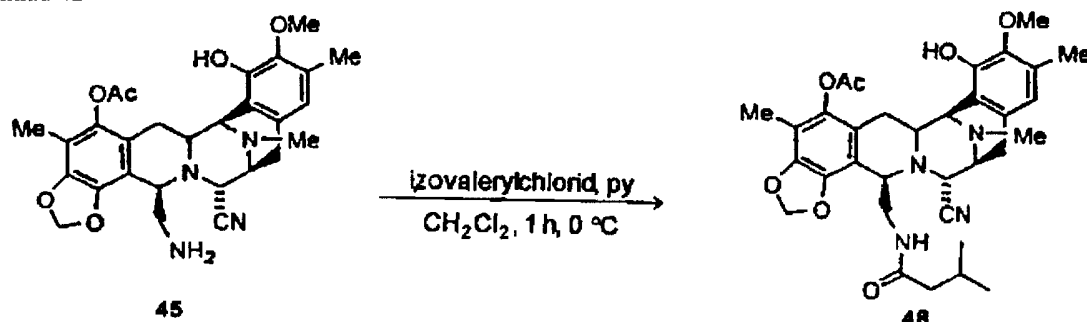
Rf: 0,4 (hexán : etylacetát 1 : 5).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,02 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,65 (d,  $J = 2,1$  Hz, 2H), 3,56 až 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).

35

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

## Príklad 42



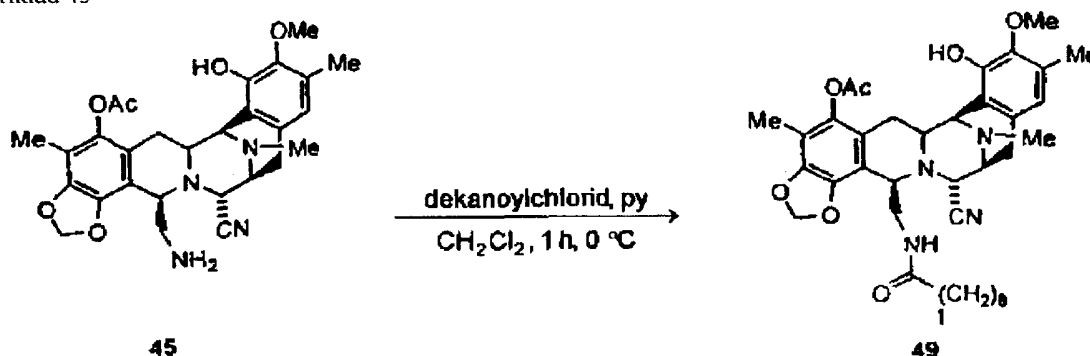
K roztoku zlúčeniny 45 (10 mg, 0,0192 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá izovalerylchlorid (2,34 ml, 0,0192 mmol) a pyridín (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 48 (11 mg, 95 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,12 (hexán : etylacetát 1 : 2).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,71 (m, 1H), 3,86 až 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 až 1,68 (m, 2H), 1,36 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 0,69 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H), 0,62 (d,  $J = 6,6$  Hz, 3H).

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

## Príklad 43



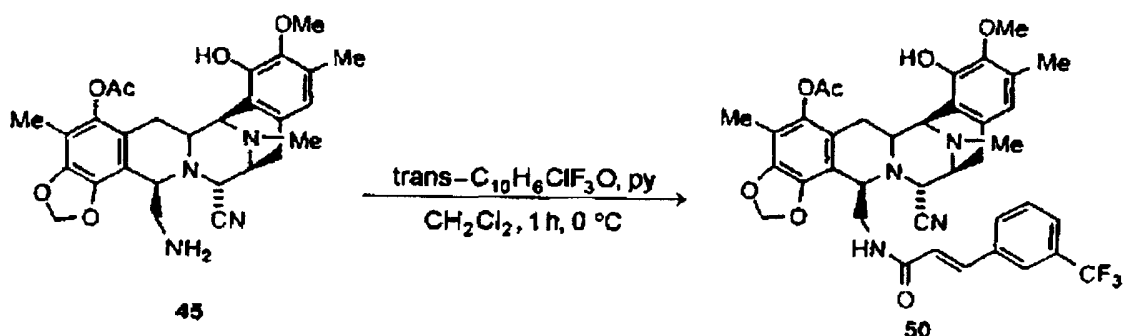
K roztoku zlúčeniny 45 (10 mg, 0,0192 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá izovalerylchlorid (3,98 ml, 0,0192 mmol) a pyridín (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 49 (12,4 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,61 (m, 1H), 3,40 až 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 až 1,18 (m, 10H), 1,03 (m, 2H), 0,87 (t,  $J = 6,6$  Hz, 3H).

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

## Príklad 44



K roztoku zlúčeniny 45 (14,5 mg, 0,0278 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá *trans*-3-trifluormetylcinnamoylchlorid (4,76 ml, 0,0278 mmol) a pyridín (2,25 ml, 0,0278 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa HCl (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 50 (18,7 mg, 94 %) vo forme bielej pevnej látky.

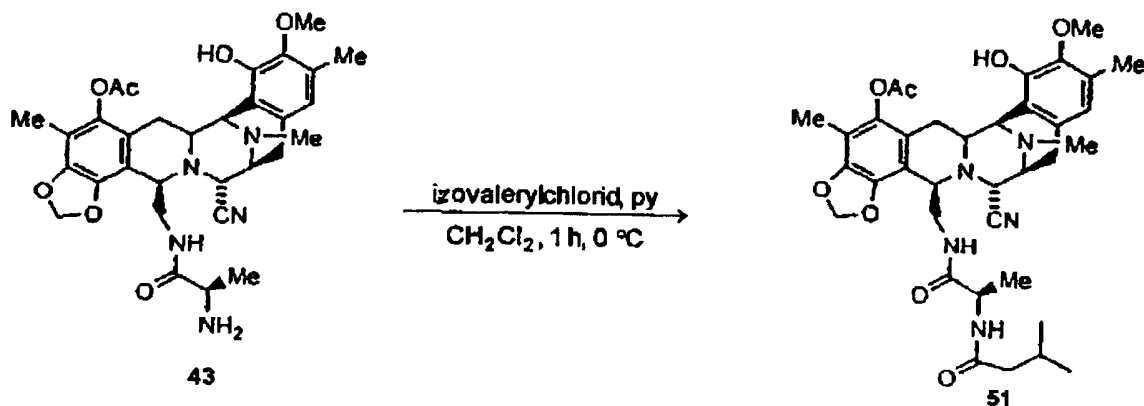
Rf: 0,64 (etylacetátmetanol 5 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CH}_3\text{OD}$ ):  $\sigma$  7,74 až 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 až 4,05 (m, 1H), 3,81 (bs, 1H), 3,46 až 3,51 (m, 3H), 3,42 (s, 3H), 3,09 (brd,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 2,94 až 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 až 1,75 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{38}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_7$ : 718,72, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 719,3.

## Príklad 45



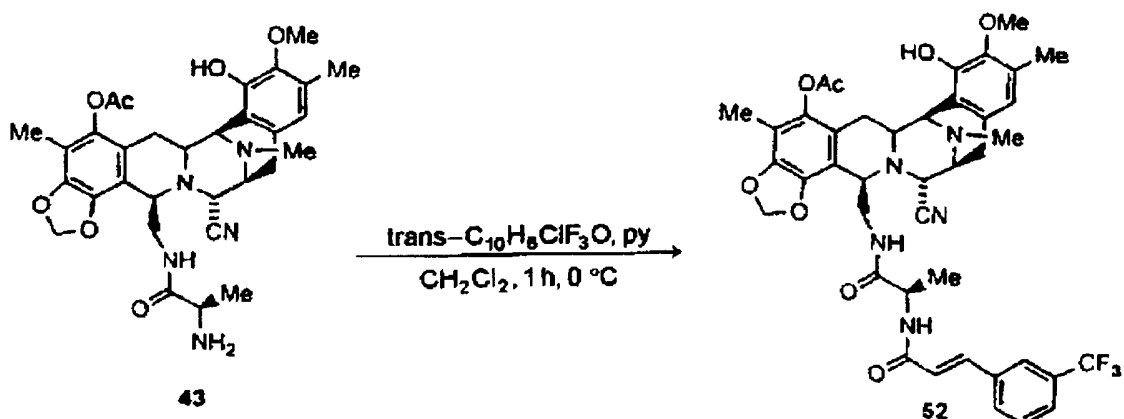
K roztoku zlúčeniny 43 (33 mg, 0,0557 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,4 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá izovalerylchlorid (6,79 ml, 0,0557 mmol) a pyridín (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa HCl (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 51 (34 mg, 91 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,09 (hexán : etylacetát 1 : 2).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,05 (m, 3H), 3,81 (bs, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,54 (bs, 1H), 3,38 až 3,36 (m, 1H), 3,29 až 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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_8$ : 675,77, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 676,3.

## Príklad 46



K roztoku zlúčeniny 43 (33 mg, 0,0557 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,4 ml) sa pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá *trans*-3-trifluormetylcinnamoylchlorid (9,52 ml, 0,0557 mmol) a pyridín (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa HCl (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 52 (40 mg, 92 %) vo forme bielej pevnej látky.

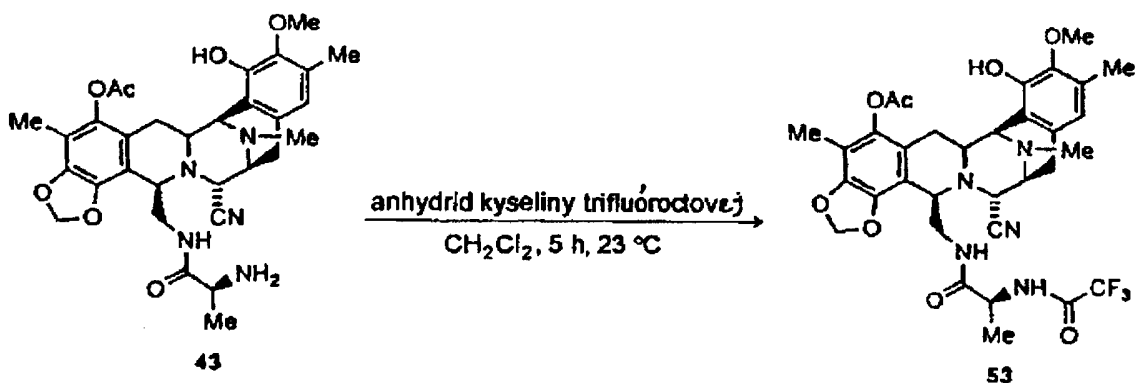
Rf: 0,21 (hexán : etylacetát 1 : 2).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\sigma$  7,74 až 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 až 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 až 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 až 1,80 (m, 1H), 0,85 až 0,84 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$ : 789,8, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 790,3.

## 20 Príklad 47



K roztoku zlúčeniny 43 (10 mg, 0,0169 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 ml) sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá anhydrid kyseliny trifluóroctovej (2,38  $\mu\text{l}$ , 0,0169 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 5 hodín, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa HCl (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 3 : 2), čím vzniká zlúčenina 53 (10,7 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,57 (etylacetátmetanol 5 : 1).

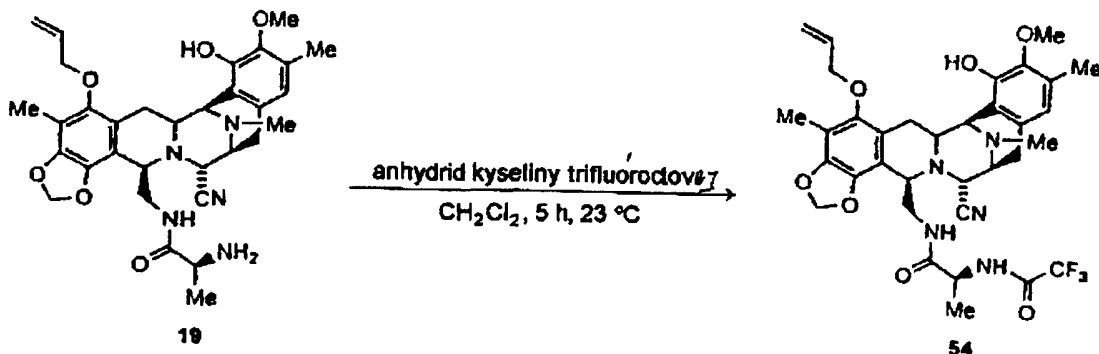
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,45 (s, 1H), 6,00 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,90 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,87 (bs, 1H), 5,32 (bs, 1H), 4,12 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 4,08 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 3,78 až 3,56 (m, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,40 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,25 (d,  $J = 9,3$  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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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: vypočítaná  $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$ : 687,63, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 688,66.

5

## Príklad 48



K roztoku zlúčeniny 19 (11 mg, 0,0169 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,2 ml) sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá anhydrid kyseliny trifluorodovovej (2,38 ml, 0,0169 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 5 hodín, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (3 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , hexán : etylacetát 3 : 2), čím vzniká zlúčenina 54 (10,7 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

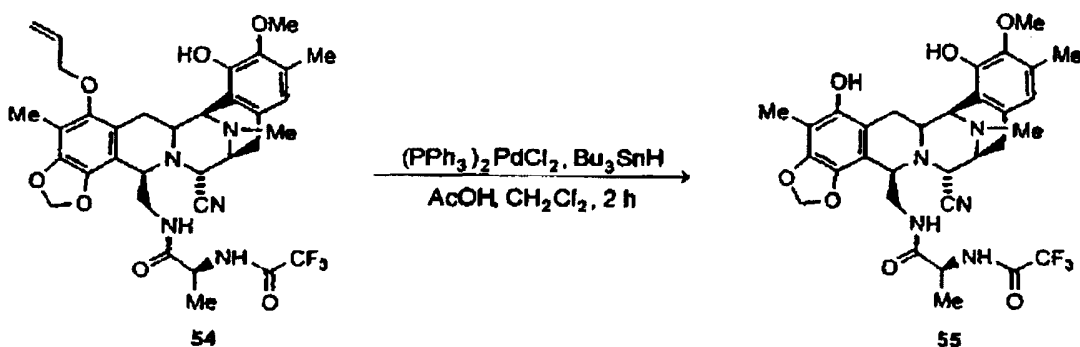
Rf: 0,6 (etylacetátmetanol 5 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18,3$  Hz, 1H), 2,60 (d,  $J = 18,3$  Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,86 (dd,  $J_1 = 12$  Hz,  $J_2 = 16,2$  Hz, 1H), 0,82 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,0, 156,0, 148,4, 147,1, 144,3, 143,0, 138,7, 133,8, 130,5, 129,4, 120,6, 120,4, 117,6, 117,5, 117,0, 113,5, 112,5, 112,4, 101,1, 74,1, 66,8, 60,4, 59,3, 56,9, 56,6, 56,3, 55,4, 48,7, 41,6, 40,1, 26,2, 25,0, 17,6, 15,4, 9,1.

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

## Príklad 49



25

K roztoku zlúčeniny 54 (100 mg, 0,415 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 ml) sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá kyselina octová (40 ml),  $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$  (8,4 mg, 0,012 mmol) a  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  (157 ml, 0,56 mmol). Reakčná zmes sa pri danej teplote mieša počas 2 hodín a potom sa preleje kolónou na rýchlej stĺpcovej chromatografii ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 55 (90 mg, 96 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,6 (hexán : etylacetát 1 : 2).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 3,31 (m, 2H), 3,19 až 3,15 (d,  $J = 11,7$  Hz, 1H), 3,08 až 3,00 (m, 2H), 2,56 (d,  $J = 18,3$  Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,91 (dd,  $J_1 = 12,0$  Hz,  $J_2 = 15,6$  Hz, 1H), 0,84 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H).

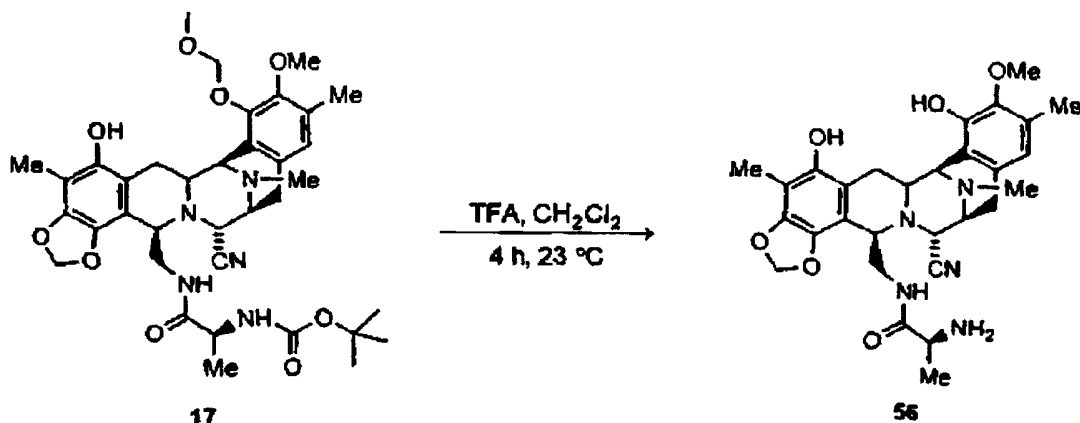
35

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$ : 645,63, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 646,2.

5

## Príklad 50



K roztoku zlúčeniny 17 (200 mg, 0,288 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,44 ml) sa pridá kyselina trifluóroctová (888 ml, 11,53 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 4 hodín. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí na teplotu  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje sa etylacetátom (2 x 70 ml). Organické vrstvy sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu, čím vzniká zlúčenina 56 (147 mg, 93 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich reakciách.

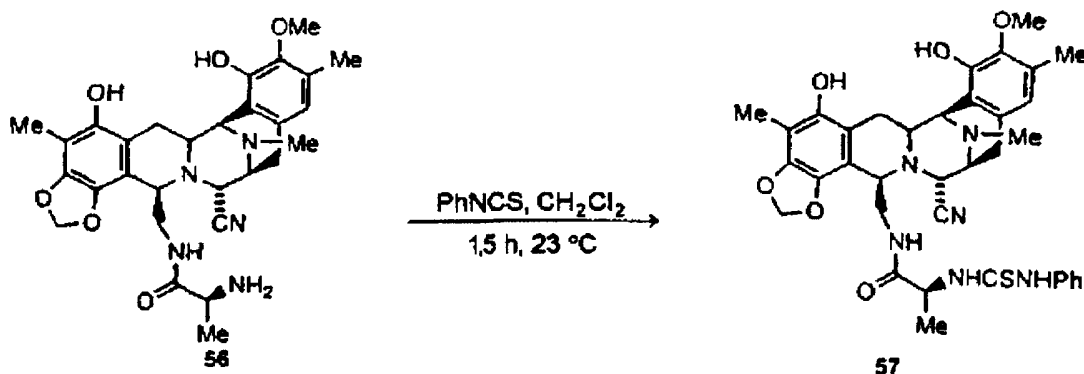
Rf: 0,19 (etylacetátmetanol 5 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\sigma$  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 až 3,98 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,52 až 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).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_6$ : 549,62, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 550,3.

## Príklad 51



K roztoku zlúčeniny 56 (10 mg, 0,018 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,4 ml) sa pridá fenylizotiokyanát (13 ml, 0,109 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 1,5 hodiny. Zmes sa koncentruje vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , s gradientom hexán až hexán : etylacetát 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 57 (8 mg, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

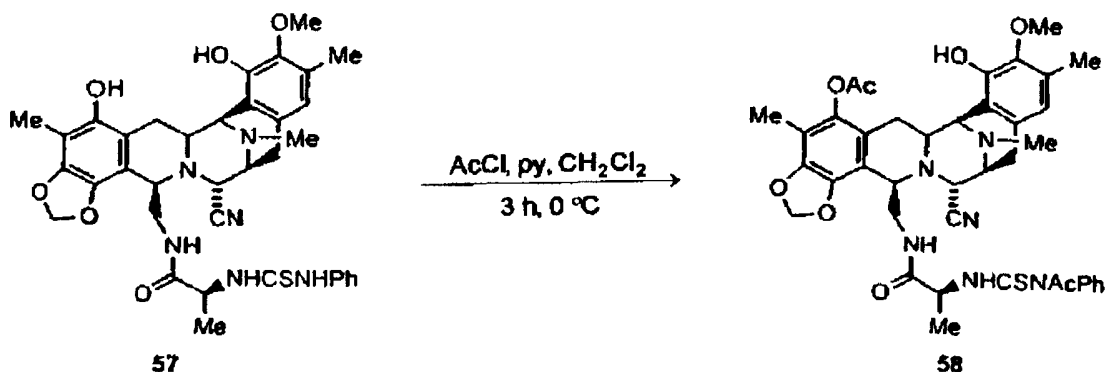
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,88 (bs, 1H), 7,41 až 7,36 (m, 2H), 7,27 až 7,22 (m, 1H), 7,02 až 7,00 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 6,71 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,17 (bs, 1H), 5,93 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,83 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,55 (bs, 1H), 5,20 až 5,17 (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 až 3,71 (m, 1H), 3,35 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 3,28 až 3,19 (m, 2H), 3,12 až 2,97 (m, 2H), 2,50

(d,  $J = 18,3$  Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,15 až 2,09 (dd,  $J_1 = 11,4$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H), 1,95 (s, 3H), 0,88 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$ : 684,81, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 685,3.

## Príklad 52



10 K roztoku zlúčeniny 57 (45 mg, 0,065 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,5 ml) sa pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá acetylchlorid (4,67 ml, 0,065 mmol) a pyridín (5,3 ml, 0,065 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 3 hodín, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje  $\text{HCl}$  (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (RP-18,  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  40 : 60), čím vzniká zlúčenina 58 (14 mg, 28 %) vo forme bielej pevnej látky.

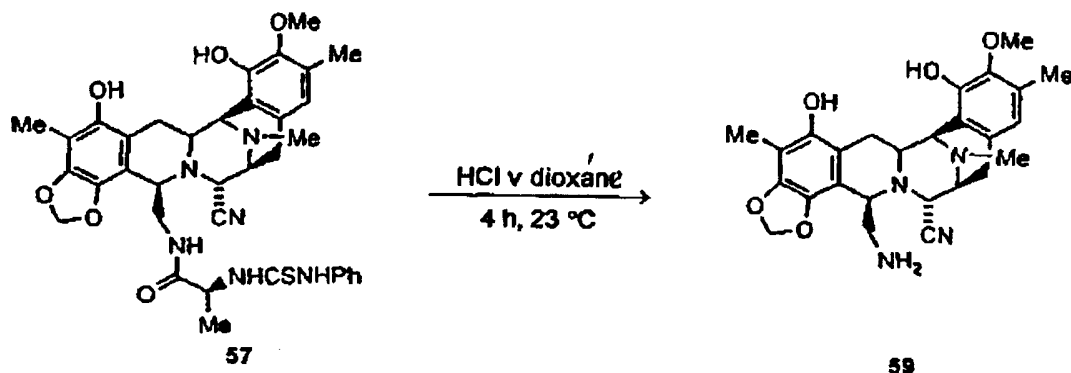
Rf: 0,34 ( $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  7 : 15).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  11,90 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 7,45 až 7,40 (m, 3H), 7,18 až 7,15 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 6,00 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,89 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,37 (t,  $J = 4,8$  Hz, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,23 (bs, 1H), 4,07 (bs, 2H), 3,85 až 3,75 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,46 až 3,41 (m, 2H), 3,24 až 3,20 (m, 1H), 3,00 až 2,95 (m, 1H), 2,87 až 2,75 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,85 (dd,  $J_1 = 11,4$  Hz,  $J_2 = 15,6$  Hz, 1H), 1,66 (s, 3H), 0,82 (d,  $J = 6,0$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$ : 768,88, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 769,2.

## Príklad 53



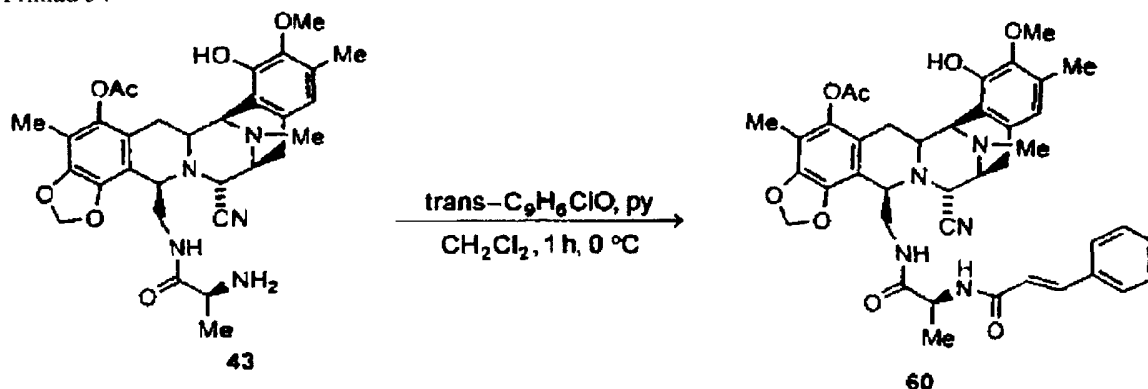
30 K roztoku zlúčeniny 57 (130 mg, 0,189 mmol) v dioxáne (1 ml) sa pridá zmes  $\text{HCl}$ /dioxán (1,87 ml) s koncentráciou  $\text{HCl}$  5,3 mol/l (5,3 N) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 4 hodín. Potom sa k tejto reakčnej zmesi pridá  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) a  $\text{H}_2\text{O}$  (10 ml) a organická vrstva sa oddelí dekantáciou. Vodná fáza sa pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  zalkalizuje nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) ( $\text{pH} = 8$ ) a potom sa extrahuje etylacetátom (2 x 50 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a koncentrujú sa vo vákuu, čím vzniká zlúčenina 59 (63 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,15 (etylacetátmetanol 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,67 (s, 1H), 5,99 (d,  $J = 0,9$  Hz, 1H), 5,91 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,10 (bs, 1H), 4,32 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 4,25 (dd,  $J_1 = 3,6$  Hz,  $J_2 = 9,3$  Hz, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,71 až 3,64 (m, 2H), 3,50 (dd,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H), 3,42 až 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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5$ : 478,5, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 479,3.

## Príklad 54



K roztoku zlúčeniny 43 (20 mg, 0,0338 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0^\circ\text{C}$  pridá cinnamoylchlorid (5,63 mg, 0,0338 mmol) a pyridín (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje sa  $\text{HCl}$  (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 60 (22 mg, 90 %) vo forme bielej pevnej látky.

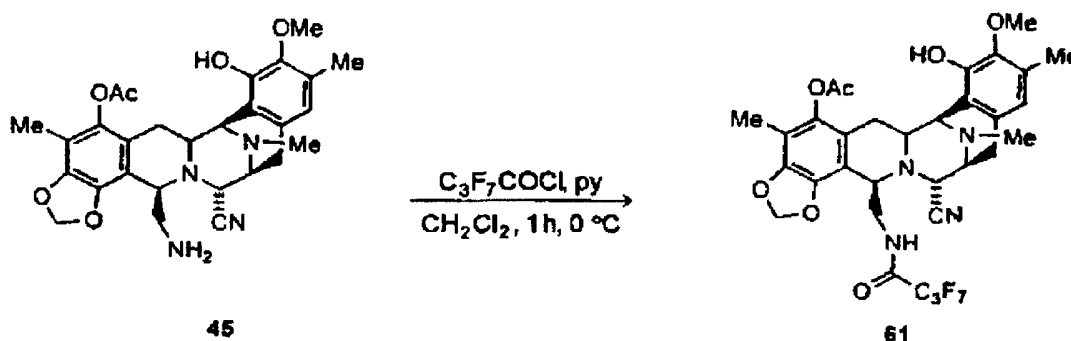
Rf: 0,56 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,51 (s, 1H), 7,50 až 7,47 (m, 2H), 7,36 až 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 až 4,07 (m, 3H), 3,96 až 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).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{40}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_8$ : 721,8, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 722,3.

## Príklad 55



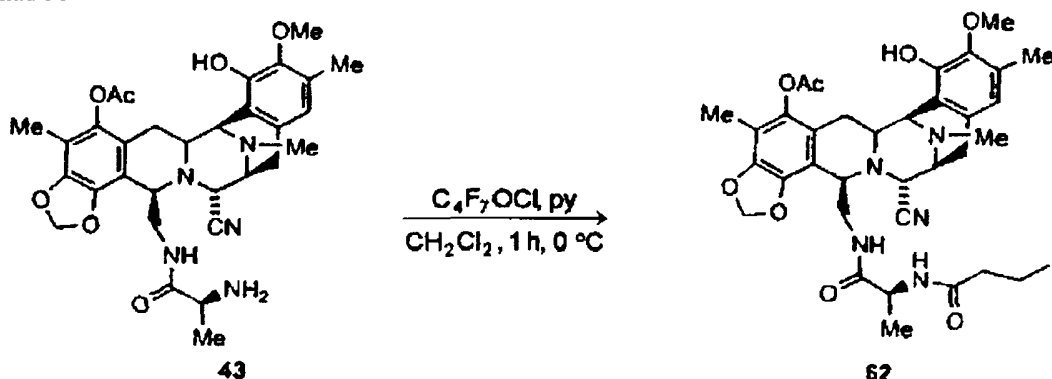
K roztoku zlúčeniny 45 (19 mg, 0,0364 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0^\circ\text{C}$  pridá heptafluorbutyrylchlorid (5,44 ml, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje  $\text{HCl}$  (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 61 (11,7 mg, 45 %) vo forme bielej pevnej látky. Rf: 0,76 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,11 (m, 2H), 4,0 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 3,98 až 3,96 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,39 (d,  $J =$



= 7,5 Hz, 1H), 3,39 až 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: vypočítaná  $C_{32}H_{31}F_7N_4O_7$ : 716,6, vypočítaná  $(M+H)^+$ : 717,2.

## 5 Príklad 56



K roztoku zlúčeniny 43 (24 mg, 0,04 mmol) v  $CH_2Cl_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ C$  pridá butyrylchlorid (4,15 ml, 0,04 mmol) a pyridín (3,28 ml, 0,04 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $CH_2Cl_2$  (10 ml) a premyje HCl (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $SiO_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 62 (24 mg, 90 %) vo forme bielej pevnej látky.

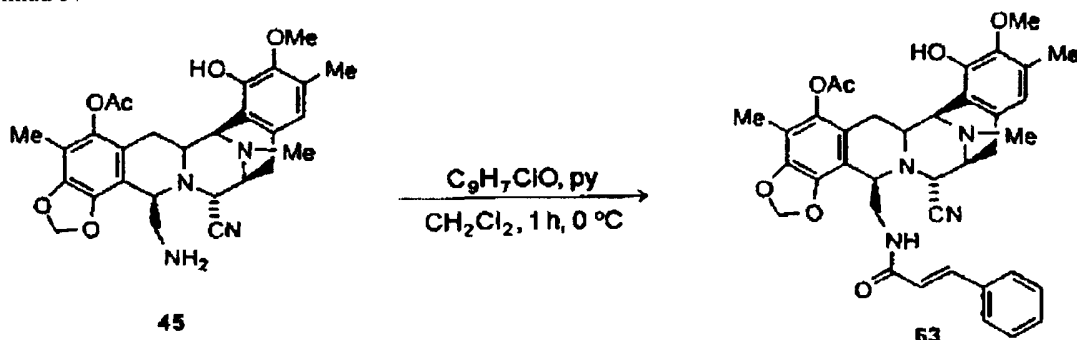
Rf: 0,35 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

$^1H$  NMR(300MHz,  $CDCl_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,06 (m, 3H), 3,85 až 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 až 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), 2,0 (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: vypočítaná  $C_{35}H_{43}N_5O_8$ : 661,64, nameraná  $(M+H)^+$ : 662,3.

20

## Príklad 57



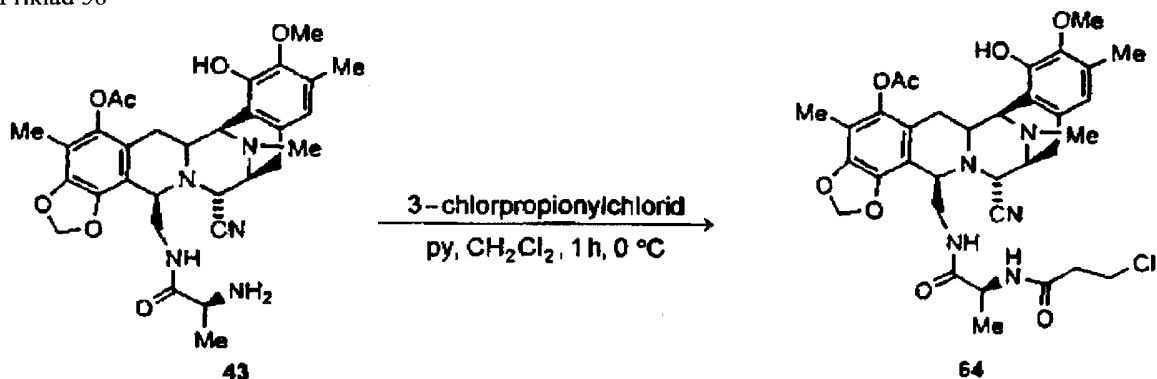
K roztoku zlúčeniny 45 (19 mg, 0,0364mmol) v  $CH_2Cl_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ C$  pridá cinnamoylchlorid (6,06 mg, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $CH_2Cl_2$  (10 ml) a premyje HCl (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $SiO_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 63 (20,1 mg, 85 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\sigma$  7,39 až 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 až 4,08 (m, 3H), 3,66 až 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: vypočítaná  $C_{37}H_{38}N_4O_7$ : 650,72, nameraná  $(M+H)^+$ : 651,2.

## Príklad 58

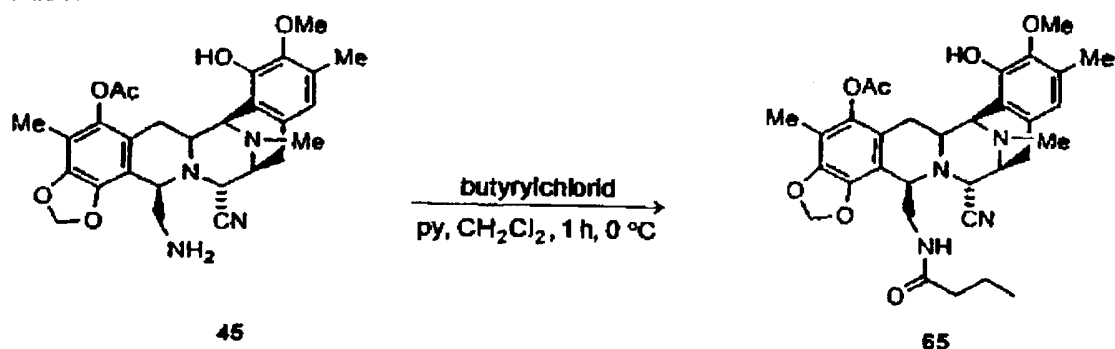


K roztoku zlúčeniny 43 (20 mg, 0,0338 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá 3-chlorpropionylchlorid (3,22 ml, 0,0338 mmol) a pyridín (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje HCl (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 64 (20,5 mg, 89 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,32 (EtOAc : hexán 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,07 (m, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,72 až 3,53 (m, 5H), 3,39 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,24 (d,  $J = 12,0$  Hz, 1H), 3,00 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18,0$  Hz, 1H), 2,79 (d,  $J = 13,5$  Hz, 1H), 2,50 (t,  $J = 6,3$  Hz, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,79 (dd,  $J_1 = 12,3$  Hz,  $J_2 = 14,8$  Hz, 1H), 0,81 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H).

## Príklad 59



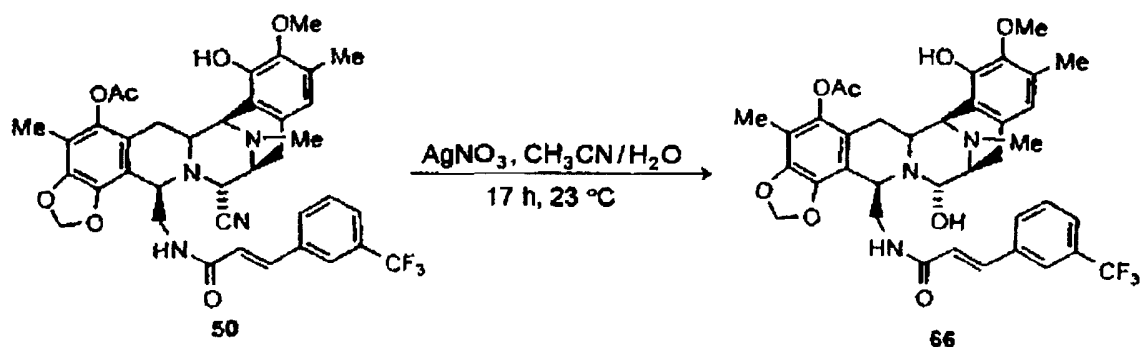
K roztoku zlúčeniny 45 (19 mg, 0,0364 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,3 ml) sa pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá butyrylchlorid (3,78 ml, 0,0364 mmol) a pyridín (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 1 hodiny, potom sa roztok nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) a premyje HCl (5 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 20 : 1), čím vzniká zlúčenina 65 (19 mg, 87 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 4,09 (m, 1H), 4,06 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 4,03 až 4,02 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,67 až 3,60 (m, 1H), 3,42 až 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 až 1,46 (m, 2H), 1,28 až 1,16 (m, 2H), 0,68 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_7$ : 590,67, nameraná  $(\text{M}+\text{H})^+$ : 591,2.

## Príklad 60



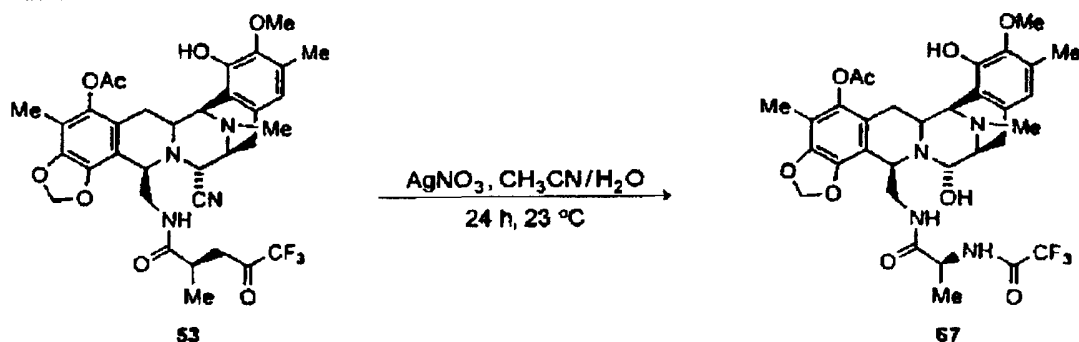
K roztoku zlúčeniny 50 (31,7 mg, 0,044 mmol) vo zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (225 mg, 1,32 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 17 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 66 (16 mg, 51 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,26 (EtOAc : MeOH 5 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,66 až 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 až 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: vypočítaná  $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_8$ : 709, nameraná ( $\text{M}^+-17$ ): 692,3.

## Príklad 61



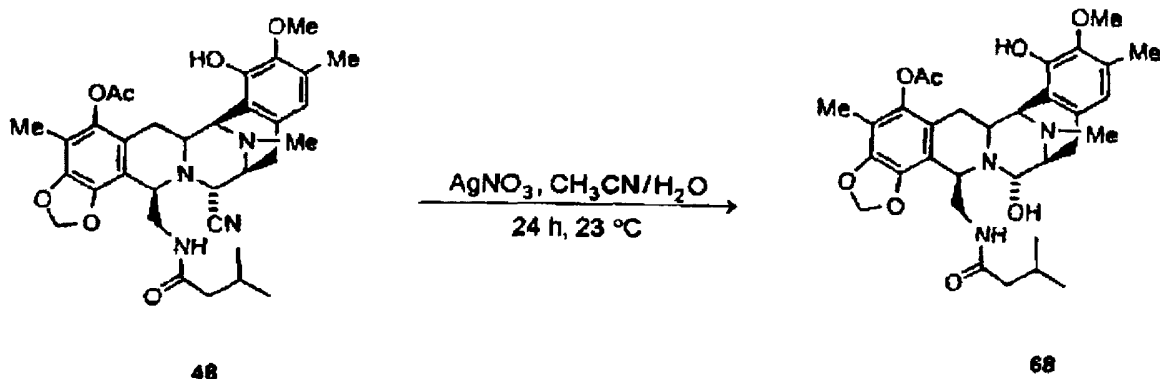
K roztoku zlúčeniny 53 (57 mg, 0,0828 mmol) vo zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (650 mg, 3,81 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 24 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : MeOH 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 67 (28 mg, 50 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,28 (EtOAc : MeOH 10 : 1).

$^1\text{HNMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  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 až 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: vypočítaná  $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_9$ : 678,66, nameraná ( $\text{M}^+-17$ ): 661,2.

## Príklad 62

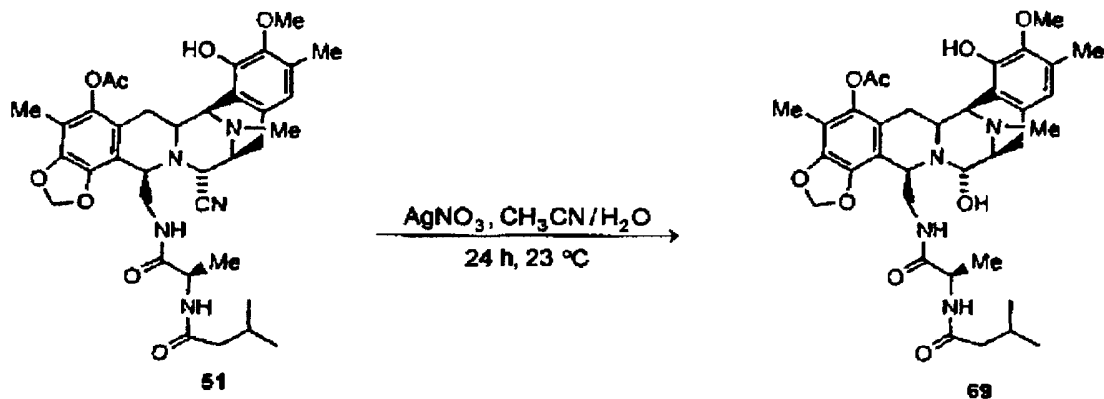


K roztoku zlúčeniny 48 (32 mg, 0,0529 mmol) v zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (270 mg, 1,58 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 24 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$ ), čím vzniká zlúčenina 68 (18 mg, 56 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,50 (s, 1H), 5,95 (d,  $J = 1,2 \text{ Hz}$ , 1H), 5,88 (d,  $J = 1,2 \text{ Hz}$ , 1H), 5,23 (d,  $J = 6,9 \text{ Hz}$ , 1H), 4,45 (d,  $J = 3,3 \text{ Hz}$ , 1H), 4,38 (s, 1H), 4,01 (d,  $J = 2,4 \text{ Hz}$ , 1H), 3,78 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,41 až 3,37 (m, 1H), 3,17 až 3,15 (m, 1H), 2,96 (dd,  $J_1 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 18,0 \text{ Hz}$ , 1H), 2,70 (d,  $J = 15,3 \text{ Hz}$ , 1H), 2,40 (d,  $J = 18,0 \text{ Hz}$ , 1H), 2,30 (s, 6H), 2,27 (s, 3H), 1,76 až 1,65 (m, 1H), 1,35 až 1,25 (m, 2H), 0,89 až 0,82 (m, 1H), 0,69 (d,  $J = 6,6 \text{ Hz}$ , 3H), 0,58 (d,  $J = 6,6 \text{ Hz}$ , 3H).

## Príklad 63

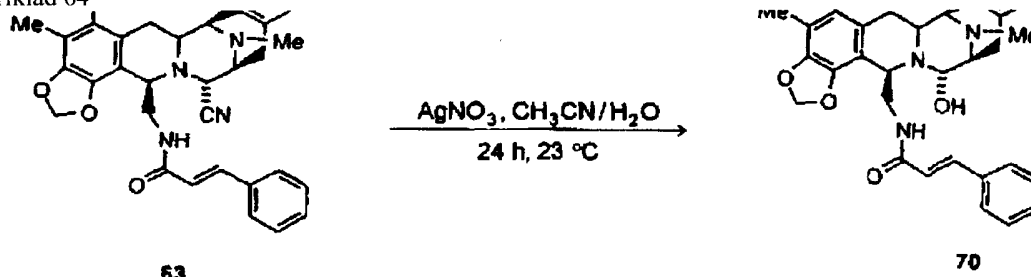


K roztoku zlúčeniny 51 (27 mg, 0,04 mmol) vo zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (204 mg, 1,19 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 24 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$ ), čím vzniká zlúčenina 69 (10 mg, 38 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,48 (s, 1H), 6,16 (bs, 1H), 5,98 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H), 5,89 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H), 5,33 (t,  $J = 6,0 \text{ Hz}$ , 1H), 4,50 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,11 až 4,09 (m, 1H), 4,00 (d,  $J = 2,6 \text{ Hz}$ , 1H), 3,78 (s, 3H), 3,41 až 3,32 (m, 3H), 3,18 (d,  $J = 8,4 \text{ Hz}$ , 1H), 2,94 (dd,  $J_1 = 8,4 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 18,3 \text{ Hz}$ , 1H), 2,70 (d,  $J = 14,4 \text{ Hz}$ , 1H), 4,45 (d,  $J = 18,3 \text{ Hz}$ , 1H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,00 až 1,86 (m, 3H), 1,73 (m, 1H), 0,87 (d,  $J = 6,3 \text{ Hz}$ , 6H).

## Príklad 64



63

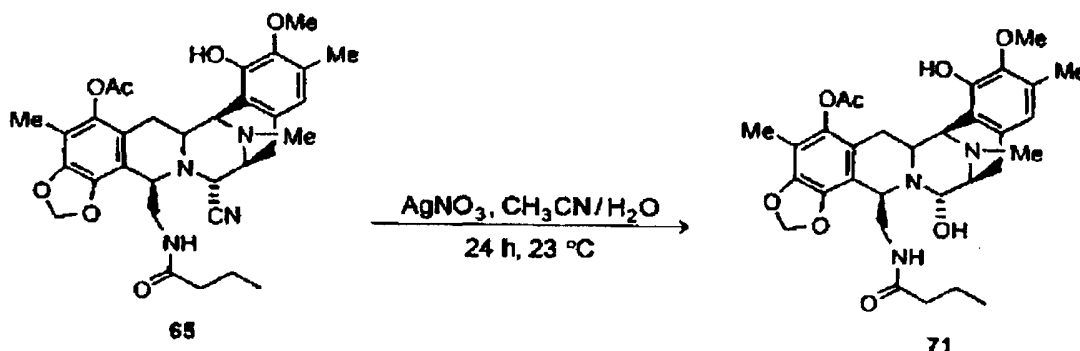
70

K roztoku zlúčeniny 63 (15 mg, 0,023 mmol) v zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (118 mg, 0,691 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 24 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$ ), čím vzniká zlúčenina 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,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,38 až 7,28 (m, 5H), 6,48 (s, 1H), 5,98 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H), 5,91 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H), 5,75 (bs, 1H), 5,38 (brd, 1H), 5,30 (bs, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,02 (d,  $J = 2,7 \text{ Hz}$ , 1H), 3,78 až 3,65 (m, 5H), 3,46 až 3,40 (m, 2H), 3,17 (d,  $J = 7,8 \text{ Hz}$ , 1H), 2,94 (dd,  $J_1 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 17,7 \text{ Hz}$ , 1H), 2,73 (d,  $J = 16,8 \text{ Hz}$ , 1H), 2,45 (d,  $J = 18,0 \text{ Hz}$ , 1H), 2,31 (s, 6H), 2,28 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,77 (dd,  $J_1 = 12,0 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 15,3 \text{ Hz}$ , 1H).

## Príklad 65



65

71

K roztoku zlúčeniny 65 (25 mg, 0,042 mmol) v zmesi  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (1,5 ml/0,5 ml) sa pridá  $\text{AgNO}_3$  (215,56 mg, 1,269 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 24 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok soľanky (10 ml) a nasýtený vodný roztok  $\text{NaHCO}_3$  (10 ml) a zmes sa mieša počas 15 minút, potom sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). Roztok sa dekantuje a organická vrstva sa vysuší a koncentruje vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{EtOAc} : \text{MeOH} 5 : 1$ ), čím vzniká zlúčenina 71 (16 mg, 65 %) vo forme bielej pevnej látky.

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

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,50 (s, 1H), 5,95 (d,  $J = 1,5 \text{ Hz}$ , 1H), 5,78 (s, 1H), 5,19 (bs, 1H), 4,45 (d,  $J = 3,3 \text{ Hz}$ , 1H), 4,37 (bs, 1H), 4,11 (brd,  $J = 4,8 \text{ Hz}$ , 1H), 4,01 (d,  $J = 2,1 \text{ Hz}$ , 1H), 3,76 (s, 1H), 3,71 až 3,69 (m, 1H), 3,49 až 3,35 (m, 1H), 3,24 (d,  $J = 13,5 \text{ Hz}$ , 1H), 3,15 (d,  $J = 9,3 \text{ Hz}$ , 1H), 2,95 (dd,  $J_1 = 8,1 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 17,7 \text{ Hz}$ , 1H), 2,70 (d,  $J = 15,6 \text{ Hz}$ , 1H), 2,40 (d,  $J = 18,0 \text{ Hz}$ , 1H), 2,31 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,75 až 1,66 (m, 1H), 1,52 až 1,17 (m, 2H), 0,66 (t,  $J = 7,2 \text{ Hz}$ , 3H).

## Fermentačné postupy

## Príklad A

Inokulačné médium YMP3 obsahujúce 1 % glukózu, 0,25 % hovädzí extrakt, 0,5 % bacto-peptón, 0,25 %  $\text{NaCl}$ , 0,8 %  $\text{CaCO}_3$  sa inokuluje 0,1 % z mrazeným vegetatívnym kmeňom mikroorganizmov, kmeň A2-2 *Pseudomonas fluorescens*, a inkubuje sa pri teplote  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  v rotačnom vibrátore (250 otáčok za minútu). Po uplynutí 30 hodín inkubácie sa inokulačná kultúra pridá do miešaného fermentora s médiom obsahujúcim 2 % dextrózu, 4 % mannitol, 2 % vysušené pivovarské droždie (kvasinky) (Vitalevor® Biolux, Belgium), 1 %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,04 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,8 %  $\text{KCl}$ , 0,001 %  $\text{FeCl}_3$ , 0,1 % L-Tyr (tyrozín), 0,8 %  $\text{CaCO}_3$ , 0,05 % PPG-2000, 0,2 % silikón proti peneniu (ASSAF-100, RHODIA UK). Sterilizácia sa vykonáva pri teplote  $122 \text{ }^\circ\text{C}$

počas 30 minút. Objemový pomer medzi inokulom a médiom je 2 % objemu. Od 0 hodiny do 16 hodiny sa udržiava teplota 27 °C a od 16 hodiny do konca prípravy (41 hodín) sa udržiava teplota 24 °C. Tlak rozpusteneho kyslíka sa udržiava maximálne na hodnote 25 %. Hodnota pH sa udržiava na 6,0 pomocou zriedenej kyseliny sírovej od 28 hodiny až do konca prípravy. Pretlak sa udržiava na hodnote 50 kPa (0,5 bar). Od 16 hodiny do konca prípravy (beží počas 2 dní) sa pridáva 1 % mannitol alebo sorbitol a 2 % mannitol alebo sorbitol v prípade, že fermentačná príprava prebieha počas 3 dní.

Po uplynutí 41 hodín alebo 64 hodín sa fermentačná kultivačná pôda buď extrahuje, čo vedie na získanie safracínu B, alebo upraví KCN, čo vedie k získaniu kyanosafracínu B.

#### 10 Príklad B

Získanie kyanosafracínu B zo surového extraktu

Čistením alebo filtráciou pri pH 6 sa z fermentačnej kultivačnej pôdy odstráni pevné látky. Takto vyčistená kultivačná pôda sa upraví na pH 9,5 zriedeným hydroxidom sodným a dvakrát sa extrahuje etylacetátom, metylénchloridom alebo butylacetátom v objemovom pomere 2 : 1. Extrakcia sa vykonáva v miešacej nádobe počas 20 minút, teplota zmesi sa udržiava na 8 °C až 10 °C. Vzniknuté fázy sa oddelia na kvapalina - kvapalina odstredivke. Organická fáza sa vysuší bezvodým alebo zmrazeným síranom sodným a potom sa prefiltruje, aby sa odstránil ľad. Táto organická fáza (etylacetátová vrstva) sa odparuje kým nevznikne olejovitý surový extrakt.

#### 20 Príklad C

Získanie kyanosafracínu B z vyčistenej kultivačnej pôdy

Čistením alebo filtráciou pri pH 6 sa z fermentačnej kultivačnej pôdy odstráni pevná látka. Takto vyčistená kultivačná pôda sa upraví na pH 3,9 koncentrovanou kyselinou octovou. K vyčistenej kultivačnej pôde sa pridá 0,5 gramu KCN v litri a miešaním sa pri teplote 20 °C inkubuje počas 1 hodiny. Potom sa teplota zníži na 15 °C a pH sa upraví na 9,5 zriedeným hydroxidom sodným a dvakrát sa extrahuje etylacetátom v objemovom pomere 2 : 1,5. Extrakcia sa vykonáva v miešacej nádobe počas 20 minút, teplota zmesi sa udržiava na 8 °C až 10 °C. Vzniknuté fázy sa oddelia na kvapalina - kvapalina v odstredivke. Organická fáza sa vysuší bezvodým síranom sodným. Táto organická fáza (etylacetátová vrstva) sa odparuje kým nevznikne olejovitý surový extrakt. Tento extrakt sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, etylacetát : metanol

s gradientom 20 : 1 až 10 : 1 až 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 2 vo forme svetložltej pevnej látky.

Rf: 0,55 (etylacetát/metanol 5 : 1), ďalej  $t_R$  - 19,9 minút [HPLC, Delta Pack C4, 5 µm, 300 Å, 150 x 3 mm, A = 215 nm, prietok = 0,7 ml/minút, teplota = 50 °C, s gradientom CH<sub>3</sub>CN: vodný NaOAc (10 mmol/l (10 mM)) 85 % až 70 % (20 minút)].

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 6,54 (dd, J<sub>1</sub> = 4,4 Hz, J<sub>2</sub> = 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<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 8,7 Hz, J<sub>3</sub> = 9,9 Hz, 1H),

3,35 (brd, J = 8,4 Hz, 1H), 3,15 až 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<sub>1</sub> = 2,7 Hz, J<sub>2</sub> = 11,1 Hz, J<sub>3</sub> = 14,1 Hz, 1H), 0,79 (d, J = 7,2 Hz,

3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 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: vypočítaná C<sub>20</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>: 549,6, nameraná (M+Na)<sup>+</sup>: 572,3.

#### Príklad D

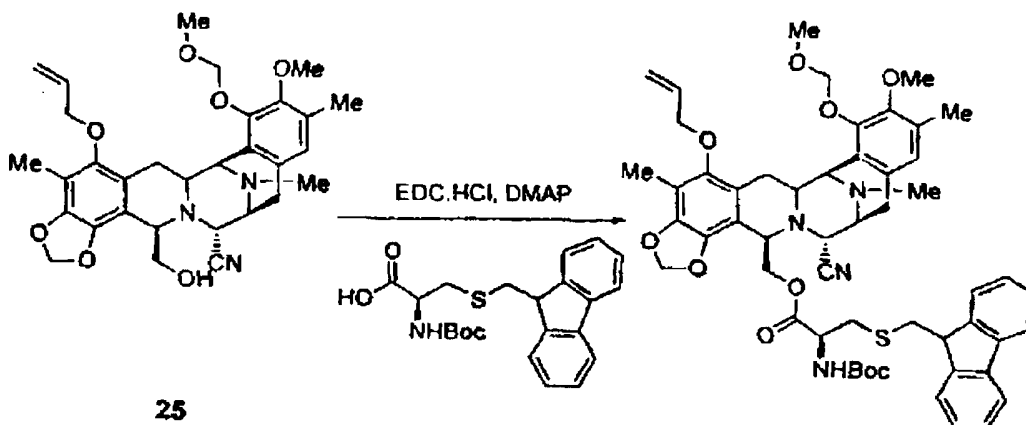
Médium (50 l) obsahujúce dextrózu (2 %), mannitol (4 %), vysušené pivovarské droždie (kvasinky) (2 %), síran amónny (1 %), hydrogenfosforečnan draselný (0,04 %), chlorid draselný (0,8 %), hexahydrát chloridu železitého (0,001 %), L-tyrosín (0,1 %), uhličitan vápenatý (0,8 %), polypropylénglykol 2000 (0,05 %) a ASSAF 1000 (0,2 %) proti peneniu sa naleje do sterilizovaného fermentoru s celkovou kapacitou 75 l, inokuluje sa inokulačnou kultúrou (2 %) kmeňa A2-2 (FERM BP-14) a za stáleho miešania sa pri teplote 27 °C až 24 °C počas 64 hodín vykonáva prevzdušňovaná kultivácia (prevzdušňovanie 75 l/minút a miešania 350 otáčok za minútu (350 rpm) až 500 otáčok za minútu (500 rpm). Hodnota pH sa udržiava automatickým dávkovaním zriedenej kyseliny sírovej od 27 hodiny do konca prípravy. Od 16 hodiny do konca prípravy sa pridáva 2 % mannitol. V kultivačnom médiu (45 l), po odstránení buniek odstredením, sa pH upraví na hodnotu 9,5 zriedeným hydroxidom sodným a médiom sa dvakrát extrahuje 25 litrami etylacetátu. Zmes sa pri teplote 8 °C mieša počas 20 minút. Vzniknuté fázy sa oddelia na kvapalina - kvapalina odstredivke. Organické fázy sa zmrazia na teplotu -20 °C, prefiltrujú sa, aby sa odstránil ľad, a odparujú sa dovtedy, kým nevznikne 40 g tmavého olejovitého surového extraktu. Po vnesení kyano skupiny a vyčistení sa získajú 3 gramy kyanosafracínu B.

## Príklad E

Médium (50 l) obsahujúce dextrózu (2 %), mannitol (4 %), vysušené pivovarské droždie (kvasinky) (2 %), síran amónny (1 %), hydrogenfosforečnan draselný (0,02 %), chlorid draselný (0,2 %), hexahydrát chloridu železitého (0,001 %), L-tyrosín (0,1 %), uhličitan vápenatý (0,8 %), polypropylenglykol 2000 (0,05 %) a ASSAF 1000 (0,2 %) proti peneniu sa naleje do sterilizovaného fermentoru s celkovou kapacitou 75 l, inokuluje sa inokulačnou kultúrou (2 %) kmeňa A2-2 (FERM BP-14) a za stáleho miešania sa pri teplote 27 °C až 24 °C počas 41 hodín vykonáva prevzdušňovaná kultivácia (prevzdušňovanie 75 l/minút a miešanie 350 otáčok za minútu (350 rpm) až 500 otáčok za minútu (500 rpm). Hodnota pH sa udržiava automatickým dávkovaním zriedenej kyseliny sírovej od 28 hodiny do konca prípravy. Od 16 hodiny do konca prípravy sa pridáva 1 % mannitol. V kultivačnom médiu (45 l), po odstránení buniek odstredením, sa pH upraví na hodnotu 3,9 pridávkou 200 ml koncentrovanej kyseliny octovej. Pridá sa 25 gramov 97 % kyanidu sodného a pri teplote 20 °C sa mieša počas 1 hodiny a potom sa pH upraví na 9,5 pridávkou 1500 ml 10 % roztoku hydroxidu sodného. Potom sa extrahuje 35 litrami etylacetátu. Zmes sa pri teplote 8 °C mieša počas 20 minút. Vzniknuté fázy sa oddelia na kvapalina - kvapalina odstredivke. Organická fáza sa vysuší bezvodým síranom sodným a odparuje sa do tvedy, kým nevznikne 60 g tmavého olejovitého surového extraktu.

Chromatografiou sa získa 4,9 gramov kyanosafracinu B.

## Príklad 66



K roztoku zlúčeniny 25 (7,83 g, 0,0139 mol) a komerčne dostupného Boc-Cys(Fm) derivátu (Bachem) (8,33 g, 35,04 mmol) v dichlórmetáne (535 ml) sa za stáleho miešania v argónovej atmosfére pri teplote 23 °C pridá dimetylaminopyridín (4,28 g, 35,04 mmol) a 1-[3-(dimetylamino)propyl]-3-etylkarbodiimidhydrochlorid (6,66 g, 35,04 mmol). Zmes sa pri teplote 23 °C mieša 2,5 hodiny. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí nasýteným vodným roztokom hydrogenuhlíčanu sodného (500 ml), organická fáza sa oddelí a vodná vrstva sa spätne extrahuje dichlórmetánom (250 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát:hexán s gradientom 1 : 4 až 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 142 (12,21 g, 93 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

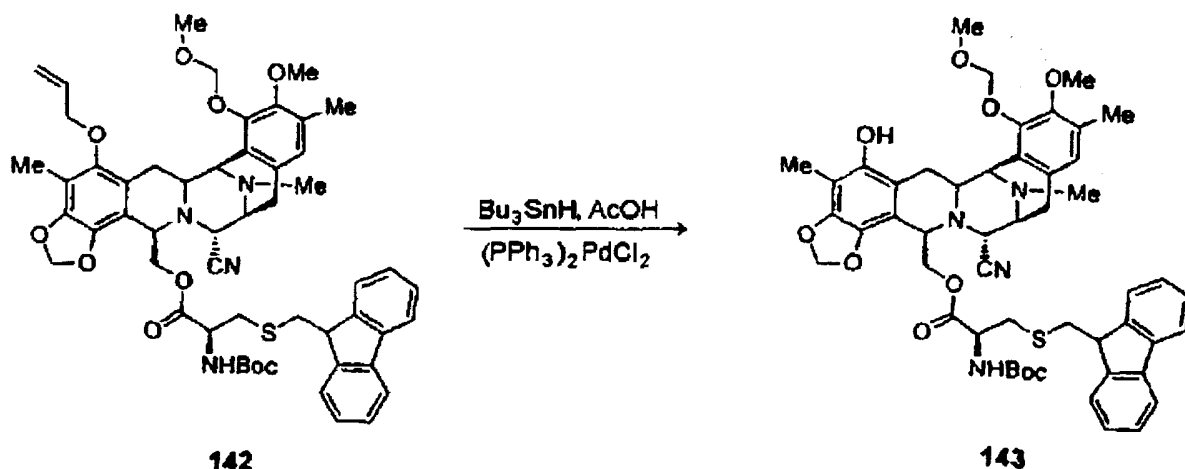
Rf: 0,35 (hexán : EtOAc 1 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  7,72 (d, J = 7,3, 2,7 Hz, 2H), 7,55 (dd, J<sub>1</sub> = 14,6 Hz, J<sub>2</sub> = 7,6 Hz, 2H), 7,40 až 7,34 (m, 2H), 7,30 až 7,24 (m, 2H), 6,63 (s, 1H), 6,08 až 5,99 (m, 1H), 5,91 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,80 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,39 (dd, J<sub>1</sub> = 17,3 Hz, J<sub>2</sub> = 1,7 Hz, 1H), 5,24 (dd, J<sub>1</sub> = 10,5 Hz, J<sub>2</sub> = 1,7 Hz, 1H), 5,09 (AB, J = 4,48 Hz, 2H), 5,07 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,34 až 4,29 (m, 2H), 4,17 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 4,16 až 4,04 (m, 4H), 4,02 až 3,96 (m, 2H), 3,93 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,32 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,23 až 3,17 (m, 2H), 3,0 až 2,89 (m, 3H), 2,65 až 2,57 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,76 (dd, J<sub>1</sub> = 16,3 Hz, J<sub>2</sub> = 12,7 Hz, 1H), 1,45, 1,44 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  170,9, 155,3, 148,9, 148,6, 146,1, 146,0, 144,7, 141,2, 141,1, 139,4, 134,0, 131,0, 130,1, 127,8, 127,2, 125,2, 125,0, 124,3, 121,3, 121,2, 120,1, 118,1, 117,6, 112,9, 101,4, 99,5, 80,3, 74,2, 65,6, 60,4, 60,1, 57,9, 57,4, 57,2, 57,1, 56,9, 55,6, 53,2, 47,0, 41,8, 41,7, 36,7, 35,3, 28,5, 26,6, 25,3, 15,9, 9,4.

ESI-MS m/s: vypočítaná C<sub>53</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>S: 945,13, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 946,3.

## Príklad 67



K roztoku zlúčeniny 142 (12,01 g, 0,0127 mol) v dichlórmetáne (318 ml) sa za stáleho miešania v argó-  
 novej atmosfére pri teplote 23 °C pridá dichlorbis(trifenyl-fosfín) palladnatý (0,71 g, 1,015 mmol) a kyselina  
 5 octová (3,6 ml, 0,176 mol). Potom sa k zmesi po kvapkách pridá tributylstanniumhydrid (10,27 ml, 0,037  
 mol). Zmes sa mieša pri teplote 23 °C 10 minút. Reakčná zmes sa prefiltruje cez stĺpec silikagélu spojený s  
 hexánom. Zvyšok sa premyje zmesou etylacetátu a hexánu s gradientom 1 : 4, 1 : 1 až 7 : 3, čím vznikne zlú-  
 čenina 143 (10,89 g, 95 %) vo forme žltej pevnej látky.

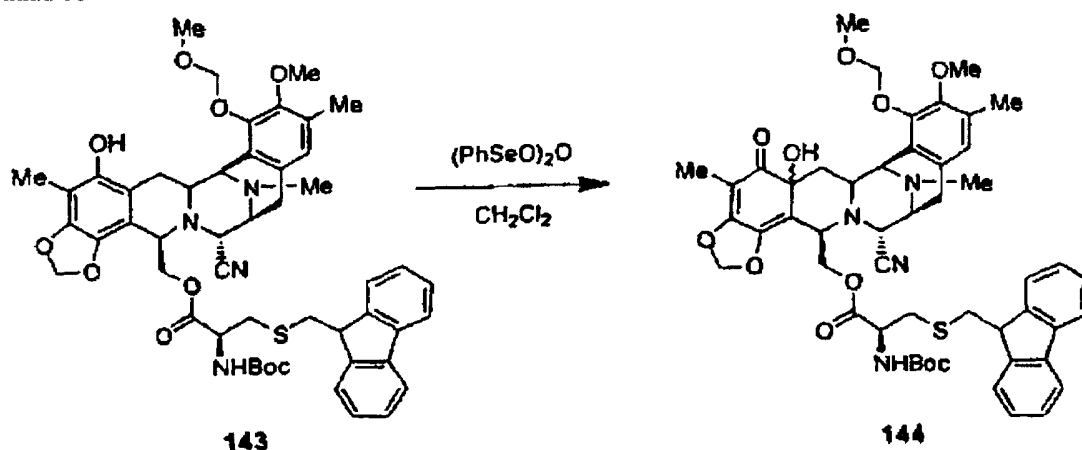
Rf: 0,25 (hexán : EtOAc 2 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  7,72 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,61 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 7,3 Hz, 1H),  
 7,37 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 7,28 (m, 2H), 6,63 (s, 1H), 5,87 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,76 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,58  
 (bs, 1H), 5,31 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 5,17 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,17 až 4,06 (m, 4 až  
 6H), 3,85 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,34 (brd, J = 6,6 Hz, 1H), 3,23 (brd, J = 11,2 Hz,  
 1H), 3,06 (brd, J = 12,9 Hz, 1H), 3,04 až 2,86 (m, 3H), 2,65 až 2,54 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,94  
 (s, 3H), 1,80 (dd, J<sub>1</sub> = 11,5 Hz, J<sub>2</sub> = 1 5,8 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  175,3, 170,5, 154,9, 149,1, 147,6, 145,9, 145,8, 145,7, 144,5, 140,9, 140,8,  
 136,1, 130,9, 127,4, 126,9, 124,3, 124,7, 122,9, 119,7, 117,6, 112,3, 111,4, 106,6, 100,7, 99,7, 80,0, 64,2,  
 60,3, 59,8, 57,6, 57,0, 56,5, 56,4, 55,2, 52,7, 46,7, 46,5, 41,4, 41,3, 36,9, 36,6, 34,9, 28,2, 26,0, 24,9, 20,9,  
 20,7, 15,7, 14,1, 8,5.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>50</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>S: 905,5, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 906,3.

## Príklad 68



K roztoku zlúčeniny 143 (10 g, 0,011 mol) v bezvodnom dichlórmetáne (185 ml) sa pri teplote -10 °C  
 (teplota kúpeľa -15 °C) pridá roztok anhydridu kyseliny benzénselénovej (5,7 g, 0,011 mol) v bezvodnom  
 dichlórmetáne (185 ml), čo vedie k úplnému rozpusteniu bielych častíc prítomných v roztoku. Pri tejto  
 teplote sa reakčná zmes mieša počas 10 minút. Reakčná zmes sa nariedi dichlórmetánom (200 ml) a pri teplote  
 -10 °C sa pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická fáza sa oddelí,  
 vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺp-  
 covou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 1, 3 : 2, 7 : 3 až 4 : 1), čím vzniká zlúče-  
 30 nina 144.



na 144 (9,34 g, 92 %) vo forme žltej pevnej látky. Chromatograficky vyčistená pevná látka sa rozpustí v dichlórmetáne (250 ml), pridá sa aktívne uhlie (3,3 g) a suspenzia sa mieša pri teplote 23 °C počas 1 hodiny. Zmes sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa dichlórmetánom (80 ml). Rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku pri teplote 25 °C až 30 °C, čím vzniká zlúčenina 144 (8,96 g, 88 %) vo forme žltej pevnej látky.

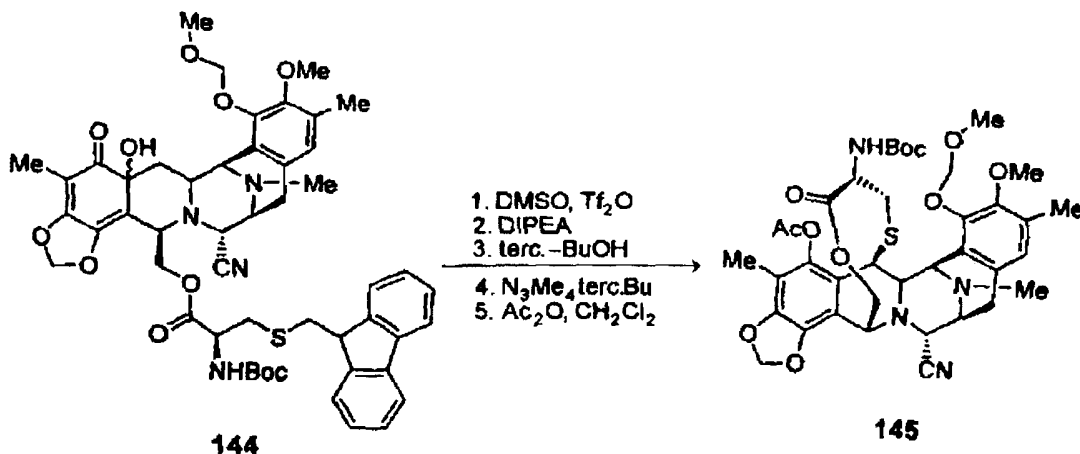
Rf: 0,30 a 0,25 (zmes izomérov, hexán : EtOAc 1 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (zmes izomérov):  $\sigma$  7,73 až 7,61 (m, 4H), 7,37 až 7,30 (m, 4H), 6,62 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 5,72 (s, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,55 (bs, 1H), 5,34 (m, 2H), 5,08 (AB sist,  $J_{AB} = 6,7$  Hz, 1H), 5,00 (AB sist,  $J_{AB} = 5,9$  Hz, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,38 (dd,  $J_1 = 4,9$  Hz,  $J_2 = 12,9$  Hz, 1H), 4,21 (dd,  $J_1 = 6,3$  Hz,  $J_2 = 12,9$  Hz, 1H), 4,11 (t,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,02 (m, 3H), 3,87 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,72 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 3,27 (m, 1H), 3,15 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 6,2$  Hz, 2H), 3,07 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H), 2,94 (m, 4H), 2,86 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,08 (dd,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 13,9$  Hz, 1H), 1,77 (s, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,43 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (zmes izomérov):  $\sigma$  200,6, 171,2, 160,4, 155,6, 148,9, 148,8, 148,3, 145,9, 145,8, 141,3, 141,2, 138,7, 130,9, 127,9, 127,4, 127,3, 127,3, 125,3, 125,1, 124,2, 120,1, 117,1, 111,9, 108,5, 105,0, 104,7, 101,7, 101,3, 99,5, 99,4, 80,5, 72,5, 70,8, 60,5, 60,1, 58,4, 58,0, 57,9, 56,9, 56,8, 56,3, 55,9, 55,5, 55,4, 53,8, 53,7, 47,1, 42,0, 41,8, 41,5, 37,4, 37,3, 35,6, 35,5, 28,5, 25,8, 25,7, 16,1, 16,0, 7,7, 7,3.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>50</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>S: 921,3, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 922,3.

## 20 Príklad 69



K roztoku zlúčeniny 144 v DMSO (3,44 ml) v bezvodnom dichlórmetáne (396 ml) sa v argónovej atmosfére pri teplote -78 °C pridá anhydrid kyseliny trifluórmetánsulionovej (3,27 ml, 19,45 mmol) a zmes sa pri tejto teplote mieša počas 20 minút. Potom sa k zmesi pri teplote -78 °C pridá roztok zlúčeniny 144 (8,92 g, 9,6 mmol) v bezvodnom dichlórmetáne (124 ml) a reakčná zmes sa v argónovej atmosfére mieša pri teplote -40 °C počas 30 minút. K zmesi sa ďalej pridá diizopropyletylamín (13,5 ml, 73,43 mmol) a zmes sa v argónovej atmosfére pri teplote 0 °C mieša počas 45 minút. K zmesi sa ďalej pridá terc.butanol (3,65 ml, 38,6 mmol) a terc.butyltetrametylguanidín (N<sub>3</sub>Me<sub>4</sub>,tert.Bu) (11,6 ml, 67,46 mmol) a zmes sa v argónovej atmosfére pri teplote 23 °C mieša počas 40 minút. Potom sa k zmesi pridá acetynanhydrid (9,15 ml, 96,78 mmol) a reakčná zmes sa ďalej pri teplote 23 °C mieša počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa nariedi dichlórmetánom (250 ml) a pridá sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická vrstva sa oddelí a následne premyje nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (500 ml) a potom nasýteným vodným roztokom chloridu sodného (500 ml). Organická vrstva sa oddelí, vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku pri teplote 25 °C až 30 °C. Zvyšok vo forme pevnej látky sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 4 až 2 : 3), čím vzniká zlúčenina 145 (4,99 g, 68 %) vo forme žltej pevnej látky.

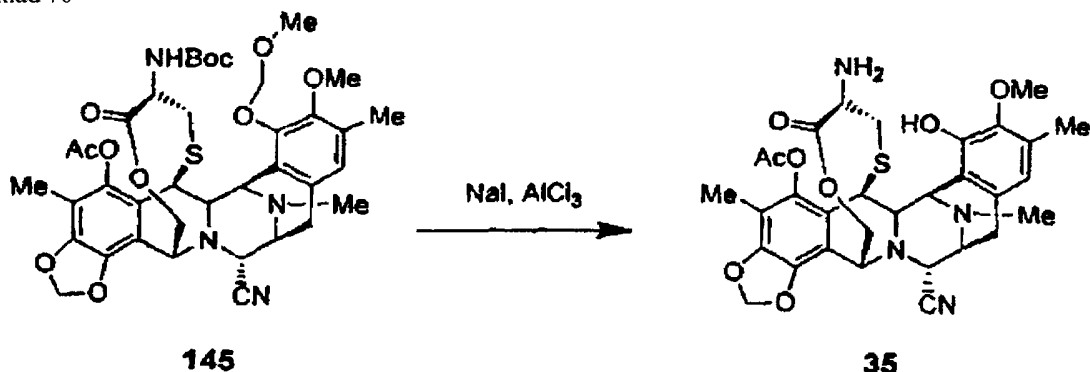
Rf: 0,44 (hexán : EtOAc 3 : 2).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (zmes izomérov):  $\sigma$  6,79 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 6,00 (s, 1H), 5,20 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 5,14 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 5,02 (d,  $J = 11,7$  Hz, 1H), 4,63 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,33 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,25 (bs, 1H), 4,18 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 4,17 (dd,  $J_1 = 1,3$  Hz,  $J_2 = 11,7$  Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,42 (m, 2H), 2,93 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,09 (m, 1H), 2,05 (s, 3H), 1,45 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  207,3, 170,9, 168,8, 155,4, 149,8, 148,6, 146,0, 141,1, 140,7, 131,7, 130,6, 125,1, 120,6, 118,3, 113,7, 102,2, 99,4, 80,0, 61,6, 60,4, 59,8, 59,4, 59,2, 57,7, 55,0, 54,7, 54,0, 41,9, 41,6, 33,1, 31,8, 28,7, 23,9, 20,6, 16,1, 14,3, 9,8.

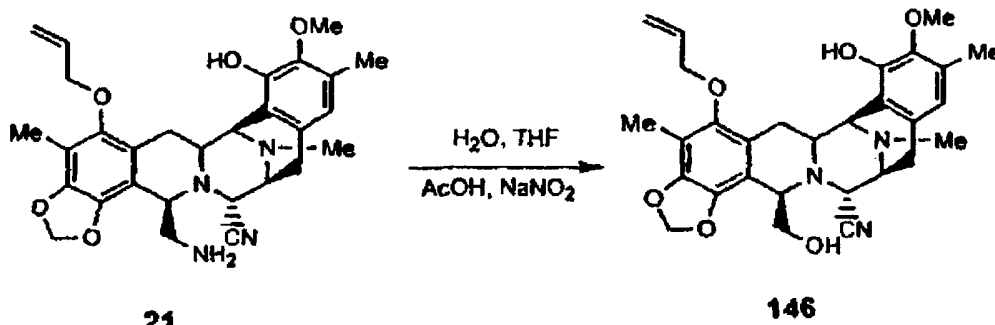
ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>S: 766,86, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 767,3.

## Príklad 70



- 5 K roztoku zlúčeniny 145 (1,0 g, 1,3 mmol) v acetonitrile (50 ml) a dichlórmetáne (25 ml) sa pri teplote 23 °C pridá jodid sodný (1,52 g, 10,01 mmol). Zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a po častiach pri udržiavaní teploty na 0 °C sa pridá chlorid hlinitý (1,33 g, 10,01 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 0 °C mieša 2,5 hodiny. Reakčná zmes sa nariedi dichlórmetánom (25 ml) a pridá sa nasýtený vodný roztok vianu draselného (100 ml). Vodná fáza sa oddelí a extrahuje sa dichlórmetánom (2 x 75 ml). Nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) sa pridá k vodnej fáze, ktorá sa ďalej extrahuje dichlórmetánom (2 x 50 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku pri teplote nižšej než 25 °C. Zvyšok vo forme pevnej látky sa čistí stĺpcovou chromatografiou na amino-silikagéli (eluent etylacetát : hexán), čím vzniká zlúčenina 35 (487 mg, 60 %) vo forme žltej pevnej látky. Experimentálne údaje zlúčeniny 35 boli už skôr opísané v PCT/GBOO/01 852.
- 15 Zlúčenina 36, ET-770 a ET-743 sa pripraví postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

## Cesta 2



## 20 Príklad 71

- Roztok zlúčeniny 21 (9,84 g, 18,97 mmol) v THF (569 ml) a H<sub>2</sub>O (285 ml) sa v ľadovom kúpeli ochladí na teplotu 0 °C. Potom sa k zmesi pri teplote 0 °C pridá NaNO<sub>2</sub> (1,96 g, 28,45 mmol) a 90 % vodný roztok AcOH (18,97 ml, 0,33 mol) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša 18 hodín. Po ochladení reakčnej zmesi na teplotu 0 °C sa pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (300 ml, alkalické pH) a dichlórmetán (500 ml). Po extrakcii sa vodná fáza ďalej extrahuje dichlórmetánom (2 x 300 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok vo forme pevnej látky sa rozpustí v MeOH (379 ml) a pri teplote 0 °C sa pridá NaOH (38 ml) s koncentráciou 1 mol/l (1 M). Zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 4 hodín. Po nariedení EtOAc (600 ml) pri teplote 0 °C sa organická vrstva premyje vodou (400 ml) a nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (100 ml, alkalické pH). Po extrakcii sa vodná fáza ďalej extrahuje EtOAc (3 x 300 ml). Organické extrakty sa vysušia Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : EtOAc s gradientom 3 : 1 až 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 146 (4,55 g, 46 %) vo forme bielej pevnej látky. Rf: 0,33 (hexán: EtOAc 1 : 1).

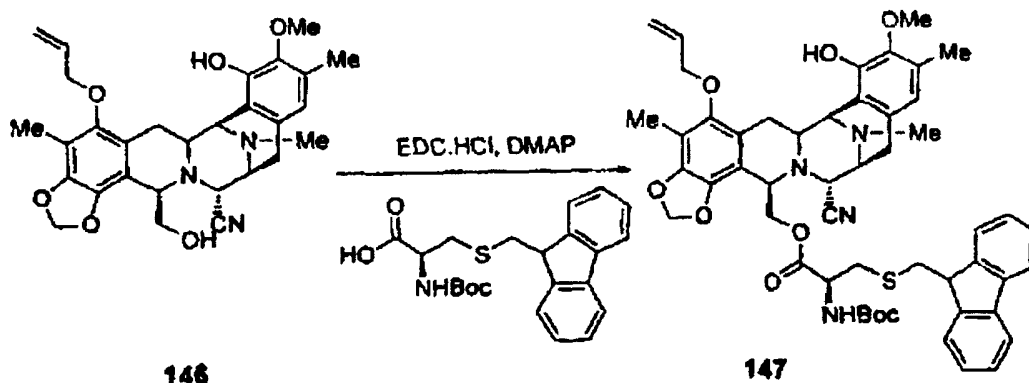
- <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 6,48 (s, 1H), 6,15 až 6,02 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,86 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,39 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 17,1 Hz, 1H), 5,26 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 10,5 Hz, 1H), 4,24 až 4,15 (m, 3H), 4,04 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,97 (t, J = 3,3 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,64 (dt, J<sub>1</sub> = 3,3 Hz, J<sub>2</sub> = 11,1 Hz, 1H), 3,43 (dd, J<sub>1</sub> = 3,3 Hz, J<sub>2</sub> = 10,5 Hz, 1H), 3,38 až 3,34 (m, 2H), 3,31 (t, J = 2,7 Hz, 1H), 3,22

(dd,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 15,6$  Hz, 1H), 3,10 (dd,  $J_1 = 8,1$  Hz,  $J_2 = 18,3$  Hz, 1H), 2,49 (d,  $J = 18,3$  Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,88 (dd,  $J_1 = 12$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  148,6, 146,7, 144,4, 143,0, 138,9, 133,9, 130,2, 129,1, 121,1, 120,9, 117,7, 117,4, 116,8, 113,3, 112,3, 101,1, 74,3, 63,7, 60,6, 60,1, 58,1, 56,9, 56,7, 55,4, 41,7, 26,2, 25,7, 15,7, 9,3.

5 ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$ . 519,59, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 520,5.

## Príklad 72



K roztoku zlúčeniny 146 (47,35 g, 0,091 mol) a komerčne dostupného Boc-Cys(Fm) derivátu (Bachem) (54,6 g, 0,137 mol) v dichlórmetáne (2,8 l) sa za stáleho miešania v argónovej atmosfére pri teplote 23 °C po kvapkách pridá počas 1,5 hodiny dimetylaminopyridín (5,6 g, 0,046 mol) a 1-[3-(dimetylamino)propyl]-3-etylkarbodiimidhydrochlorid (43,6 g, 0,227 mol). Zmes sa pri teplote 23 °C mieša viac než 1 hodinu. Reakcia sa rýchlo ochladí nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (1 l) a organická fáza sa oddelí. Vodná vrstva sa spätne extrahuje dichlórmetánom (2 x 500 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 4 až 3 : 1), čím vzniká zlúčenina 147 (74,3 g, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

Rf: 0,5(hexán : EtOAc 1 : 1).

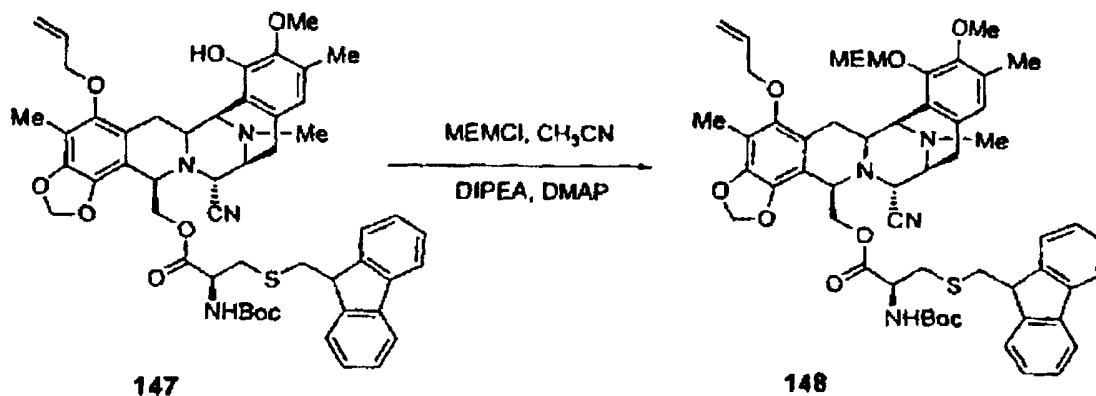
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,73 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H), 7,63 až 7,55 (m, 2H), 7,39 až 7,35 (m, 2H), 7,29 až 7,25 (m, 2H), 6,41 (s, 1H), 6,07 až 5,97 (m, 1H), 5,92 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,80 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 5,34 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 17,4$  Hz, 1H), 5,23 (dd,  $J_1 = 1,8$  Hz,  $J_2 = 10,5$  Hz, 1H), 5,04 (d,  $J = 9,3$  Hz, 1H), 4,32 až 4,29 (m, 1H), 4,13 až 3,91 (m, 9H), 3,72 (s, 3H), 3,31 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 3,26 až 3,17 (m, 2H), 2,96 až 2,87 (m, 3H), 2,68 až 2,54 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,83 (dd,  $J_1 = 12,6$  Hz,  $J_2 = 15,9$  Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,9, 155,4, 149,0, 147,1, 146,2, 146,0, 144,7, 143,0, 141,1, 139,4, 134,1, 131,5, 129,1, 127,8, 127,2, 125,0, 121,3, 120,9, 120,1, 118,2, 117,6, 117,2, 112,9, 112,4, 101,4, 80,3, 76,6, 74,4, 65,3, 61,0, 60,4, 57,4, 56,9, 56,7, 55,6, 53,0, 46,9, 41,8, 36,7, 35,3, 31,8, 28,5, 26,6, 25,2, 22,9, 16,0, 9,5.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{51}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ : 900,3, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 901,3.

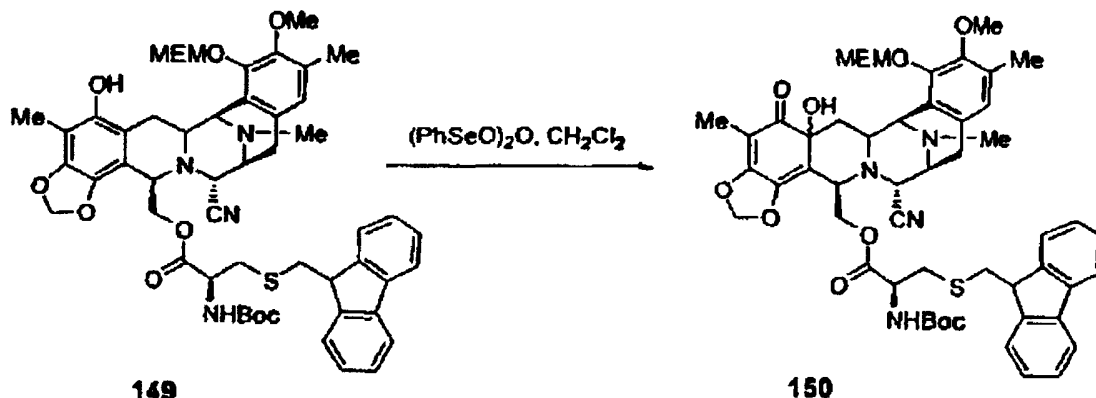
30

## Príklad 73





## Príklad 75



K roztoku zlúčeniny 149 (15 g, 0,0158 mol) v bezvodnom dichlórmetáne (265 ml) sa po kvapkách pri teplote  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  (teplota kupela  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) počas 30 minút pridáva roztok anhydridu kyseliny benzénselenovej (7,4 g, 0,0143 mol) v nezvodnom dichlórmetáne (265 ml), čo vedie k úplnému rozpusteniu bielych čiaščiek prítomných v roztoku. Pri tejto teplote sa reakčná zmes ďalej mieša počas 10 minút. Reakčná zmes sa nariedi dichlórmetánom (200 ml) a pri teplote  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sa pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická fáza sa oddelí, vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 2 až 100 : 0), čím vzniká zlúčenina 150 (14,20 g, 89 %) vo forme žltej pevnej látky. Chromatograficky vyčistená pevná látka sa rozpustí v dichlórmetáne (250 ml) a pridá sa aktívne uhlie (4,95 g). Suspenzia sa pri teplote  $23\text{ }^{\circ}\text{C}$  mieša počas 1 hodiny. Zmes sa prefiltruje cez podložku z celitu a premyje sa dichlórmetánom (80 ml). Rozpúšťadlo sa odparí pri zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 150 (13,72 g, 86 %) vo forme bielej pevnej látky.

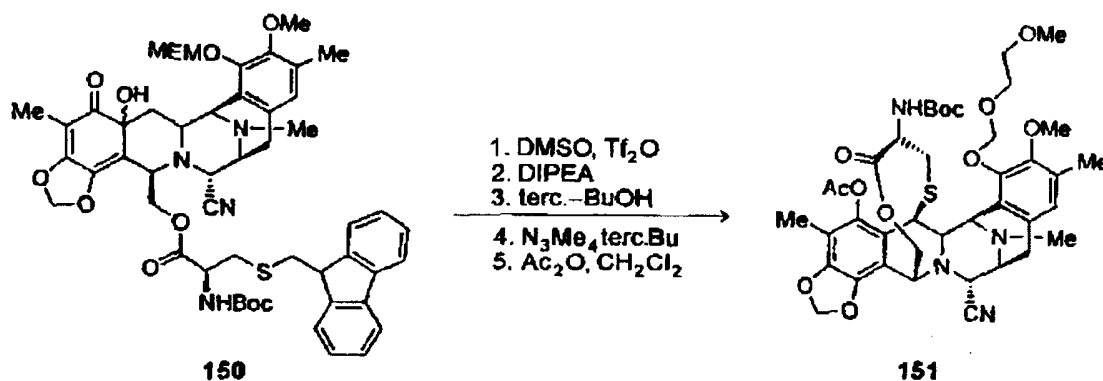
Rf: 0,37 (hexán : EtOAc 1 : 2).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (zmes izomérov):  $\sigma$  7,73 (t,  $J = 6,7\text{ Hz}$ , 4H), 7,63 (m, 2H), 7,54 (d,  $J = 7,6\text{ Hz}$ , 2H), 7,40 až 7,34 (m, 4H), 7,31 až 7,27 (m, 4H), 6,62 (s, 2H), 5,86 (s, 1H), 5,81 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,72 (s, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,35 (d,  $J = 5,9\text{ Hz}$ , 1H), 5,30 (d,  $J = 8,4\text{ Hz}$ , 1H), 5,23 (d,  $J = 5,9\text{ Hz}$ , 1H), 5,22 (d,  $J = 5,9\text{ Hz}$ , 1H), 5,13 (d,  $J = 5,9\text{ Hz}$ , 1H), 4,97 (d,  $J = 8,8\text{ Hz}$ , 1H), 4,43 (m, 2H), 4,20 až 4,01 (m, 8H), 3,97 až 3,86 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 3,80 až 3,74 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,66 až 3,64 (m, 4H), 3,54 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,34 až 2,90 (m, 8H), 2,60 až 2,31 (m, 4H), 2,27 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,94 až 1,81 (m, 2H), 1,77 (s, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,41 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (zmes izomérov):  $\sigma$  200,2, 198,3, 170,7, 170,5, 160,0, 155, 2, 154,9, 148,5, 148,4, 145,5, 142,1, 140,9, 138,3, 130,9, 130,5, 130,0, 129,8, 127,5, 126,9, 125,0, 124,9, 124,7, 123,8, 122,5, 119,8, 117,2, 116,7, 111,5, 108,1, 104,6, 104,3, 101,3, 100,9, 98,0, 80,1, 72,1, 71,5, 70,5, 69,2, 69,0, 66,4, 63,5, 60,7, 60,1, 59,6, 58,9, 58,8, 58,0, 56,7, 56,4, 56,2, 55,9, 55,5, 55,0, 53,5, 46,7, 41,7, 41,3, 41,1, 36,9, 35,2, 35,1, 31,4, 28,1, 25,4, 25,3, 22,5, 15,7, 15,6, 14,0, 7,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 964,4, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 965,3,  $(\text{M}+23)^+$ : 987,3.

## Príklad 76



Reakčná skúmavka sa dvakrát pretrasie, niekoľkokrát sa prepláchnie argónom a udržuje sa v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (385,0  $\mu\text{l}$ ) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (42 ml) sa pri teplote  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  po kvapkách pridá anhydrid kyseliny trifluormetánsulfónovej (366,5  $\mu\text{l}$ , 2,16 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mieša počas 20 minút. Potom sa pomocou kanyly (čas pridávania 5 minút) pri teplote  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  pridá roztok zlúčeniny

150 (1 g, 1,03 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml ako hlavný prídavok a 5 ml na premytie). Počas pridávania sa v skúmavkách udržiava teplota  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  a farba sa zmení zo žltej na hnedú. Reakčná zmes sa pri teplote  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 35 minút. Počas tohto časového intervalu sa roztok zmení zo žltej na tmavozelenú. Po uplynutí tohto času sa po kvapkách pridá  $\text{Pr}_2\text{NEt}$  (1,51 ml, 9,55 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  nechá stáť počas 45 minút a počas tohto času sa farba roztoku zmení na hnedú. Potom sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá *tert*.BuOH (409,5  $\mu\text{l}$ , 4,33 mmol) a *tert*.butyltetrametyl-guanidín (1,31 ml, 7,61 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 40 minút. Po uplynutí tohto času sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá acetanhydrid (1,03 ml, 10,89 mmol) a reakčná zmes sa nechá reagovať pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  počas viac než 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 ml) a premyje sa nasýteným vodným roztokom  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (50 ml),  $\text{NaHCO}_3$  (50 ml) a  $\text{NaCl}$  (50 ml). Organické vrstvy sa vysušia  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (vnútorný priemer 2,0 cm, výška náplne oxidu kremičitého 9,0 cm, eluent etylacetát : hexán s gradientom 20 : 80, 30 : 70 až 40 : 60), čím vzniká zlúčenina 151 (832,6 mg, 99 %) vo forme bielej pevnej látky.

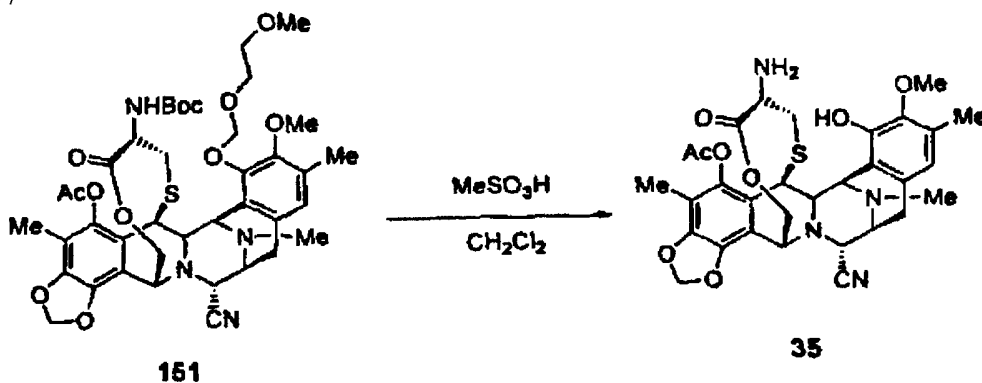
$R_f = 0,48$  (hexán : EtOAc 3 : 2).

$^1\text{H}$ NMR (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,78 (s, 1H), 6,09 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,99 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,32 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 5,19 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H), 5,01 (d,  $J = 11,7$  Hz, 1H), 4,62 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 4,50 (bs, 1H), 4,34 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 4,28 (dd,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 6,8$  Hz, 1H), 4,24 (s, 1H), 4,17 (m, 2H), 3,90 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,58 (t,  $J = 4,8$  Hz, 2H), 3,42 až 3,37 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,91 (m, 2H), 2,36 až 2,08 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,44 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\mu$  170,9, 168,9, 168,0, 155,4, 149,8, 148,6, 146,0, 141,1, 140,6, 131,6, 131,1, 130,6, 129,0, 125,1, 120,6, 118,3, 102,2, 98,4, 79,9, 71,9, 69,4, 61,6, 60,4, 59,8, 59,4, 59,2, 54,9, 54,7, 54,0, 41,6, 30,6, 29,1, 28,7, 23,9, 23,2, 20,6, 16,1, 14,2, 11,2, 9,8.

ESI-MS  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 810,91, nameraná  $(M+1)^+$ : 811,3.

#### 25 Príklad 77



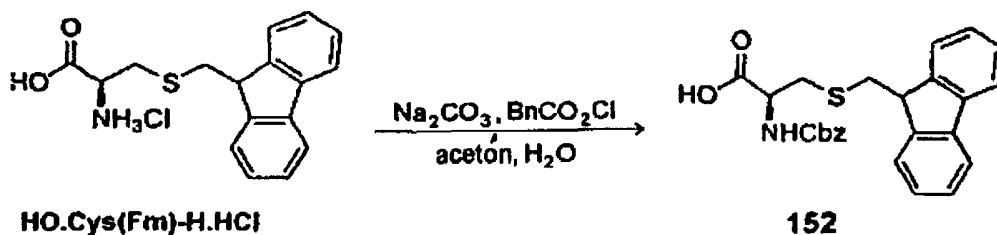
K roztoku zlúčeniny 151 (2,9 g, 3,57 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (120 ml) sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  pridá  $\text{MeSO}_3\text{H}$  (1,4 ml, 21,46 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 30 minút a po uplynutí tohto času sa k zmesi pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (200 ml). Organická fáza sa oddeľí, vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán s gradientom 0 : 1 až 1 : 0), čím vzniká zlúčenina 35 (1,43 g, 64 %) vo forme svetložltej pevnej látky. Experimentálne údaje zlúčeniny 35 boli už skôr opísané v PCT/GBOO/01 852.

Zlúčenina 36, ET-770 a ET-743 sa pripraví postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

#### 35 Cesta 3

Prvý krok tejto cesty (premena zlúčeniny 21 na zlúčeninu 146) bol opísaný v príklade 71.

#### Príklad 78



40

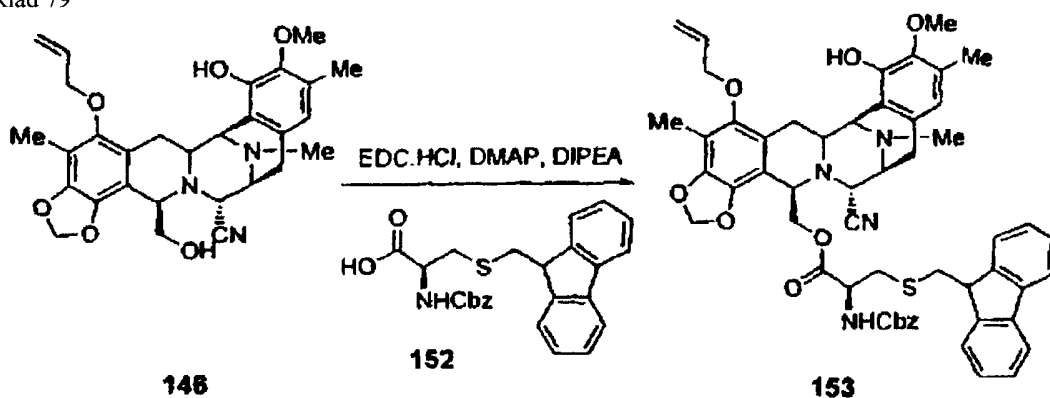
K roztoku komerčne dostupného OH-Cys(Fm)-H-HCl (Bachem) (40 g, 0,119 mol) v acetóne (500 ml) a vode (500 ml) sa pri teplote 0 °C pridá roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (238 ml) s koncentráciou 1 mol/l (1 M) a BnCO<sub>2</sub>Cl (18,7 ml, 0,131 mol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote 60 °C počas 30 minút, zmes sa rýchlo ochladí HCl s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N) a extrahuje sa éterom (3 x 400 ml). Organická fáza sa oddelí, vysuší sa síranom horečnatým, prefiltruje sa a odparí sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok vo forme pevnej látky sa rozpustí vo zmesi EtOAc/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1 : 1, vyzráža sa hexánom a nechá sa pri teplote 4 °C reagovať cez noc. Potom sa suspenzia prefiltruje, pevná látka sa premyje hexánom (200 ml) a filtrát sa vysuší vo vákuu, čím vzniká zlúčenina 152 (50,16 g, 97 %) vo forme bielej pevnej látky.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 10,66 (bs, 1H), 7,74 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,69 až 7,64 (m, 2H), 7,62 až 7,29 (m, 9H), 5,67 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 5,14 (bs, 2H), 4,70 až 4,64 (m, 1H), 4,09 až 4,05 (m, 1H), 3,12 až 3,09 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 175,2, 155,9, 145,5, 141,0, 135,8, 128,5, 128,2, 128,1, 127,5, 127,0, 124,7, 119,8, 84,8, 67,3, 46,8, 37,0.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>S: 433,52, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 434,4.

#### Príklad 79



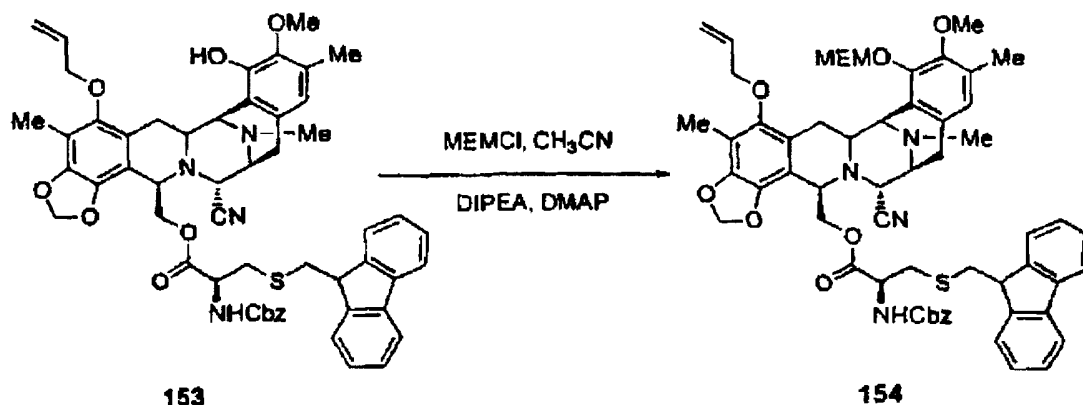
K roztoku zlúčeniny 146 (10 g, 19,2 mmol) a zlúčeniny 152 (12,5 g, 28,8 mmol) v dichlórmetáne (800 ml) sa za stáleho miešania v argónovej atmosfére pri teplote 0 °C po kvapkách počas 1 hodiny pridáva dimetylaminopyridín (705 mg, 5,77 mmol), 1-[3-(dimetylamino)propyl]-3-etylkarbodiimidhydrochlorid (9,2 g, 48,1 mmol) a diizopropyletylamín (7,4 ml, 42,3 mmol). Zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas viac než 1,5 hodiny. Reakcia sa rýchlo ochladí nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (600 ml). Organická fáza sa oddelí a opäť premyje nasýteným vodným roztokom chloridu amónneho (500 ml) a nasýteným vodným roztokom chloridu sodného (500 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (RP-18, CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O 4 : 1), čím vzniká zlúčenina 153 (13,89 g, 77 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 7,74 až 7,72 (m, 2H), 7,61 až 7,53 (m, 2H), 7,37 až 7,24 (m, 9H), 6,39 (s, 1H), 6,09 až 5,96 (m, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,84 (s, 1H), 5,78 (s, 1H), 5,34 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 17,4 Hz, 1H), 5,32 (bs, 1H), 5,24 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 10,2 Hz, 1H), 5,17 až 5,07 (m, 2H), 4,40 (dd, J<sub>1</sub> = 3,6 Hz, J<sub>2</sub> = 10,8 Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,18 až 4,01 (m, 6H), 3,92 (brt, J = 6,3 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,30 až 3,19 (m, 3H), 2,99 až 2,85 (m, 3H), 2,65 (dd, J<sub>1</sub> = 4,5 Hz, J<sub>2</sub> = 14,4 Hz, 1H), 2,55 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,86 (dd, J<sub>1</sub> = 11,7 Hz, J<sub>2</sub> = 15,9 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 170,2, 155,6, 148,6, 146,8, 145,7, 145,6, 144,3, 142,6, 140,7, 139,0, 133,7, 131,1, 128,8, 128,4, 128,1, 128,0, 127,4, 126,9, 124,7, 124,6, 121,0, 120,5, 119,7, 117,8, 117,3, 116,8, 112,5, 112,0, 101,0, 74,1, 67,0, 64,7, 60,7, 59,9, 57,0, 56,6, 56,3, 55,2, 53,1, 46,5, 41,4, 36,4, 34,8, 26,2, 24,8, 15,6, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>54</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S: 934,36, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 935,4.

## Príklad 80



K roztoku zlúčeniny 153 (13,89 g, 14,85 mmol) v  $\text{CH}_3\text{CN}$  (74,3 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá MEMCl (25,4 ml, 223 mmol), DIPEA (52 ml, 297 mmol) a DMAP (0,181 g, 0,15 mmol). Zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 5 hodín. Reakčná zmes sa nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (400 ml) a extrahuje sa HCl (300 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 N). Vodná fáza sa znova extrahuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 50 ml). Organické fázy sa vysušia na  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :EtOAc 10 : 1, 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 154 (13,47 g, 88 %) vo forme bielej pevnej látky.

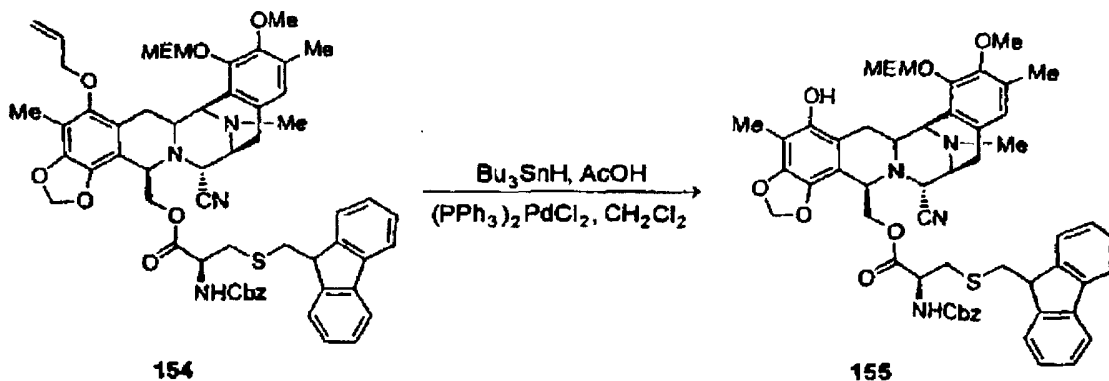
Rf: 0,27 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :EtOAc 6 : 1).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,73 až 7,70 (m, 2H), 7,58 až 7,50 (m, 2H), 7,38 až 7,22 (m, 9H), 6,59 (s, 1H), 6,08 až 5,98 (m, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,35 (d,  $J = 17,1$  Hz, 1H), 5,31 až 5,28 (m, 1H), 5,23 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 5,13 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H), 5,12 až 5,05 (m, 2H), 4,37 až 4,29 (m, 2H), 4,15 až 3,77 (m, 9H), 3,68 (s, 3H), 3,58 až 3,55 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,30 až 3,27 (m, 1H), 3,21 až 3,16 (m, 2H), 2,96 až 2,84 (m, 4H), 2,64 až 2,58 (m, 1H), 2,55 (d,  $J = 18$  Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,75 (dd,  $J_1 = 12,3$  Hz,  $J_2 = 16,2$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  171,9, 170,2, 155,5, 148,7, 148,6, 148,3, 145,8, 145,7, 144,5, 142,1, 140,9, 139,1, 136,1, 133,8, 130,8, 130,5, 128,5, 128,3, 128,1, 127,6, 127,0, 124,9, 124,7, 123,9, 122,2, 120,9, 119,8, 117,8, 117,3, 112,6, 112,0, 101,1, 98,2, 74,0, 71,7, 69,3, 67,1, 65,1, 60,1, 59,8, 59,0, 56,9, 56,8, 56,7, 55,3, 53,3, 46,7, 41,4, 36,5, 35,0, 31,6, 29,7, 26,4, 25,0, 22,6, 15,7, 14,1, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{58}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ : 1023,2, nameraná  $(\text{M}+23)^+$ : 1046,3.

## Príklad 81



K roztoku zlúčeniny 154 (20,84 g, 0,02 mol) v dichlórmetáne (530 ml) sa za stáleho miešania v argónovej atmosfére pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  pridá dichlorbis(trifenylfosfín) paládnatý (1,14 g, 1,63 mmol) a kyselina octová (11,64 ml, 0,2 mol). Potom sa k zmesi po kvapkách pridá tributylstanniumhydrid (27,44 ml, 0,1 mol). Zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 15 minút. Reakčná zmes sa prefiltruje cez stĺpec silikagélu spojený hexánom. Zvyšok sa premyje zmesou etylacetátu a hexánu s gradientom 1 : 4, 1 : 1, 3 : 2 až 7 : 3, čím vzniká zlúčenina 155 (18,78 g, 94 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

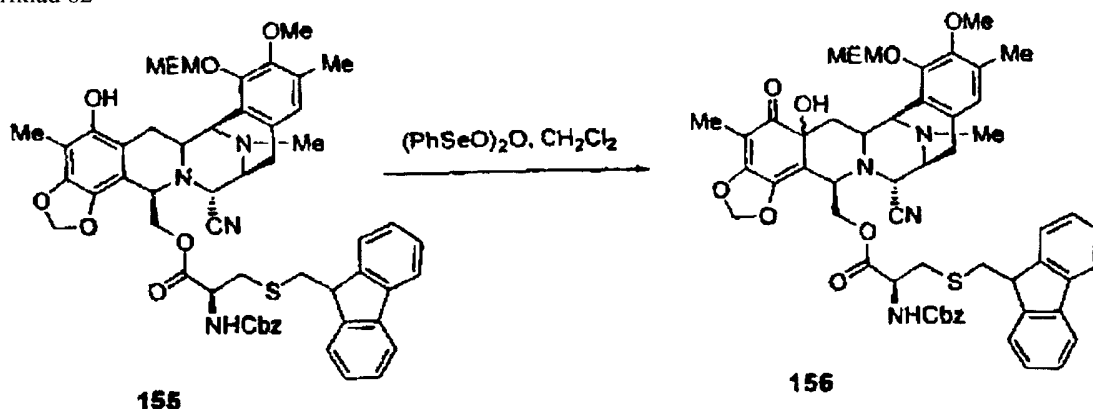
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,71 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 7,59 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,53 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 7,41 až 7,23 (m, 9H), 6,60 (s, 1H), 5,87 (bs, 2H), 5,74 (s, 1H), 5,40 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H), 5,33 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 5,18 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 5,09 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 4,97 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 4,56 (dd,  $J_1 = 3$  Hz,  $J_2 = 11,1$  Hz, 1H), 4,19 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 4,16 až 3,87 (m, 9H), 3,66 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 3,32 až 3,20 (m, 3H), 2,96 až



2,87 (m, 3H), 2,62 až 2,54 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,82 (dd,  $J_1 = 13,2$  Hz,  $J_2 = 15,6$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,0, 155,4, 149,0, 147,5, 145,7, 145,6, 144,4, 140,8, 135,9, 130,9, 128,4, 128,1, 128,0, 127,4, 126,9, 124,7, 124,6, 122,7, 119,7, 117,7, 112,4, 111,4, 100,6, 98,7, 71,5, 69,4, 67,0, 64,9, 63,9, 59,7, 59,6, 58,8, 57,0, 56,5, 56,4, 55,1, 54,9, 53,1, 52,5, 46,5, 41,4, 36,8, 34,9, 25,8, 24,7, 15,7, 8,7.

## Príklad 82

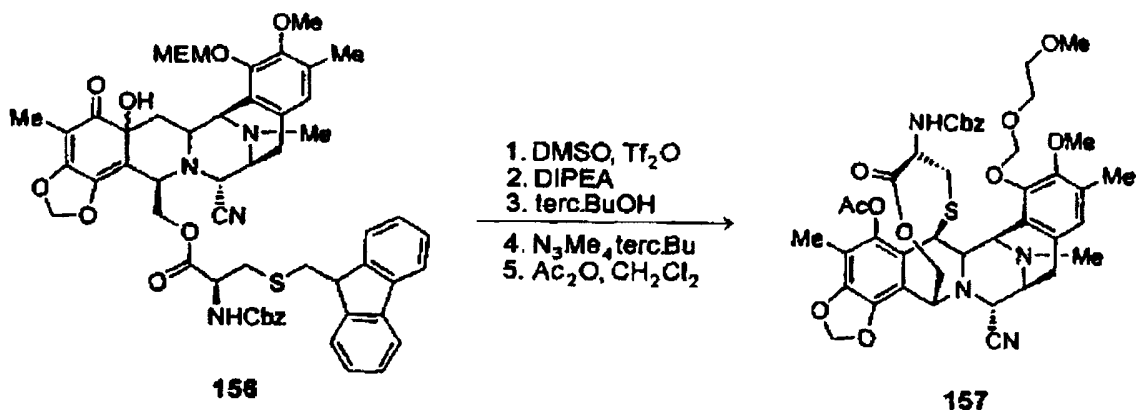


K roztoku zlúčeniny 155 (18,5 g, 18,82 mmol) v bezvodnom dichlórmetáne (530 ml) sa pri teplote  $-10$  °C (teplota kúpeľa  $-15$  °C) po kvapkách pridá roztok anhydridu kyseliny benzénelénovej (9,68 g, 18,82 mmol) v bezvodnom dichlórmetáne (290 ml), čo vedie k úplnému rozpusteniu bielych častíček prítomných v roztoku. Pri tejto teplote sa reakčná zmes mieša počas 10 minút. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (600 ml). Organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa extrahuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 300 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluentetylacetáthexán s gradientom 1 : 1, 3 : 2, 7 : 3 až 4 : 1), čím vzniká zlúčenina 156 (17,62 g, 88 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (zmes izomérov):  $\sigma$  7,73 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 7,63 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 7,40 až 7,29 (m, 9H), 6,59 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,66 (s, 1H), 5,58 (s, 1H), 5,56 (s, 1H), 5,23 (d,  $J = 6$  Hz, 1H), 5,15 až 5,05 (m, 4H), 4,76 až 4,68 (m, 1H), 4,64 až 4,55 (m, 1H), 4,40 až 4,37 (m, 1H), 4,15 až 3,68 (m, 8H), 3,60 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 3,25 až 2,78 (m, 7H), 2,38 až 2,24 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,09 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,58 (s, 3H).

ESI-MS  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{55}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 999,13, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 1000,0.

## 25 Príklad 83



Reakčná skúmavka sa dvakrát pretrepe, niekoľkokrát sa prepláchnie argónom a udržuje sa v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (178  $\mu\text{l}$ ) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) sa pri teplote  $-78$  °C po kvapkách pridá anhydrid kyseliny trifluórmetánsulfónovej (169  $\mu\text{l}$ , 1 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote  $-78$  °C mieša počas 20 minút. Potom sa pomocou kanyly (čas pridávania 5 minút) pri teplote  $-78$  °C pridá roztok zlúčeniny 156 (0,5 g, 0,5 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 ml ako hlavný prídavok a 1,5 ml na premytie). Počas pridávania sa v skúmavkách udržuje teplota  $-78$  °C a farba sa zmení zo žltej na hnedú. Reakčná zmes sa pri teplote  $-40$  °C mieša počas 35 minút. Počas tohto časového intervalu sa roztok zmení zo žltej na tmavozelenú. Po

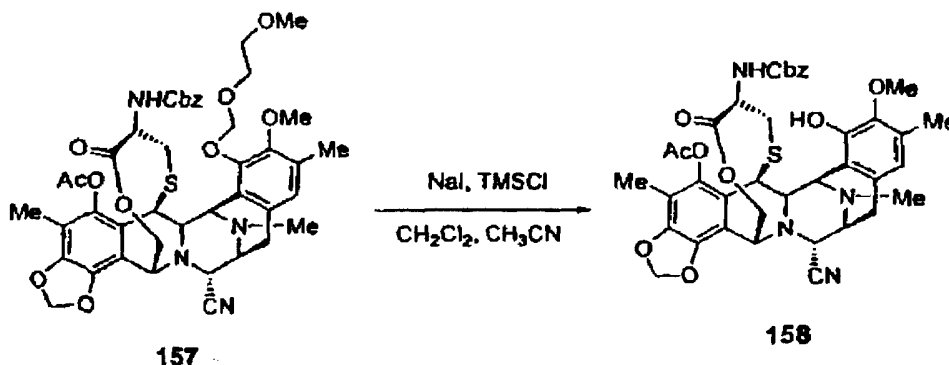
uplynutí tohto času sa po kvapkách pridá  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (0,7 ml, 4,42 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  nechá stáť počas 45 minút a počas tohto času sa farba roztoku zmení na hnedú. Potom sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá *tert*.BuOH (189  $\mu\text{l}$ , 2 mmol) a *tert*.butyl-tetrametylguanidín (0,6 ml, 3,49 mmol) a zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 40 minút. Po uplynutí tohto času sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá acentanhydrid (0,47 ml, 4,97 mmol) a zmes sa nechá reagovať pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  počas viac než 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 ml) a premyje sa nasýteným vodným roztokom  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (25 ml),  $\text{NaHCO}_3$  (25 ml) a  $\text{NaCl}$  (25 ml). Organické vrstvy sa vysušia  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (vnútorný priemer 2,0 cm, výška náplne oxidu kremičitého 9 cm, eluent etylacetát : hexán s gradientom 1 : 4, 1 : 3, 1 : 2 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 157 (128 mg, 30 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

Rf: 0,37 (hexán : EtOAc 3 : 2)

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,37 (bs, 5H), 6,66 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,30 (d,  $J = 5,4\text{ Hz}$ , 1H), 5,17 (d,  $J = 6\text{ Hz}$ , 1H), 5,06 (d,  $J = 7,8\text{ Hz}$ , 1H), 5,00 (s, 1H), 4,83 (d,  $J = 9,3\text{ Hz}$ , 1H), 4,50 (s, 1H), 4,34 až 4,17 (m, 7H), 3,90 až 3,87 (m, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,65 až 3,56 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,89 až 2,90 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,15 až 2,04 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).

ESI-MS  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{43}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 844,93, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 845,8.

#### Príklad 84



K roztoku zlúčeniny 157 (100 mg, 0,118 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 ml) a v  $\text{CH}_3\text{CN}$  (2 ml) sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  pridá  $\text{NaI}$  (71 mg, 0,472 mmol) a  $\text{TMSCl}$  (60  $\mu\text{l}$ , 0,472 mmol). Zmes sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 50 minút, reakcia sa rýchlo ochladí vodou (30 ml) a extrahuje sa  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 20 ml). Organické fázy sa postupne premyjú nasýteným vodným roztokom  $\text{NaCl}$  (20 ml) a nasýteným vodným roztokom ditioničitánu sodného (20 ml), vysušia sa  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán 1 : 4, 1 : 2 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 158 (62 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky.

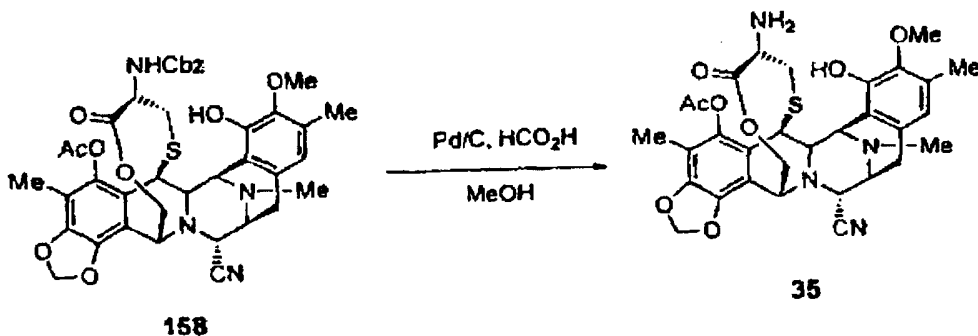
Rf: 0,21 (hexán : etylacetát 1 : 1).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,36 (bs, 5H), 6,44 (s, 1H), 6,07 (d,  $J = 1,2\text{ Hz}$ , 1H), 5,97 (d,  $J = 1,2\text{ Hz}$ , 1H), 5,81 (bs, 1H), 5,10 až 5,00 (m, 3H), 4,82 (d,  $J = 9,3\text{ Hz}$ , 1H), 4,49 (bs, 1H), 4,35 až 4,30 (m, 1H), 4,21 až 4,17 (m, 2H), 4,16 až 4,14 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,41 až 3,36 (m, 2H), 2,88 až 2,85 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,24 až 2,03 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,5, 168,8, 155,9, 148,3, 146,0, 143,1, 141,2, 140,6, 136,6, 130,6, 130,0, 128,8, 128,7, 128,5, 121,0, 120,3, 118,3, 118,2, 113,7, 113,6, 102,2, 67,2, 61,5, 60,8, 60,3, 59,6, 59,5, 54,8, 54,7, 54,1, 41,9, 41,6, 32,9, 23,9, 20,8, 15,5, 9,8.

ESI-MS  $m/z$ : vypočítaná  $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 756,82, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 757,3.

#### Príklad 85



- K roztoku zlúčeniny 158 (100 mg, 0,132 mmol) v MeOH (6,8 ml) sa pri teplote 23 °C pridá HCO<sub>2</sub>H (360 μl) a 10 % Pd/C (140 mg, 0,132 mmol) a reakčná zmes sa mieša počas 15 minút. Potom sa k reakčnej zmesi pridá toluén (7 ml) a rozpúšťadlo sa odparí pri zníženom tlaku. Azeotropická destilácia s toluénom sa trikrát opakuje. Zvyšok sa nariedi dichlórmetánom (15 ml) a pridá sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (15 ml). Vodná fáza sa oddelí a extrahuje sa dichlórmetánom (2 x 10 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a odparia sa do sucha pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou na amino-silikagéli (eluent etylacetátu : hexán s gradientom 1 : 2, 1 : 1 až 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 35 (57 mg, 70 %) vo forme žltej pevnej látky. Experimentálne údaje zlúčeniny 35 boli už skôr opísané v PCT/GBOO/01 852.
- Zlúčenina 36, ET-770 a ET-743 sa pripraví postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

## Cesta 4

Prvý krok tejto cesty (premena zlúčeniny 21 na zlúčeninu 146) bol opísaný v príklade 71.

- Príklad 86



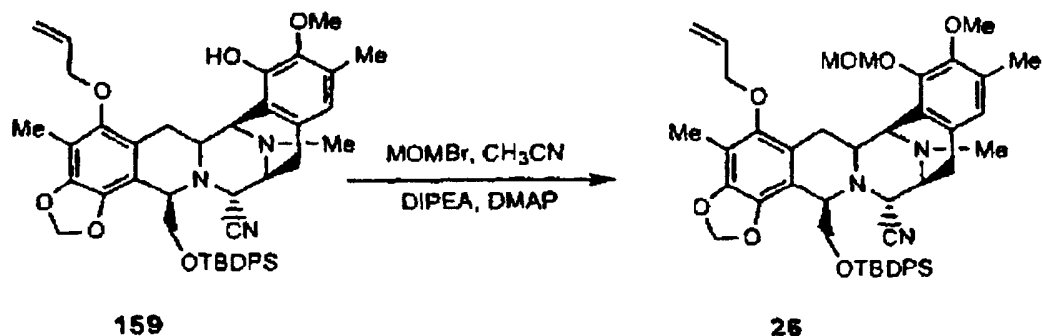
- K roztoku zlúčeniny 146 (18 mg, 0,032 mmol), katalyzátoru DMAP, imidazolu (5 mg, 0,08 mmol) v DMF (0,05 ml) sa pri teplote 0 °C pridá terc.butylidifenylsilylchlorid (12,5 μl, 0,048 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 4 hodín. Potom sa k zmesi pri teplote 0 °C pridá voda (30 ml) a zmes sa extrahuje zmesou hexán : etylacetát 1 : 10 (2 x 40 ml). Organická fáza sa vysuší síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : EtOAc 3 : 1), čím vzniká zlúčenina 159 (27 mg, 88 %) vo forme bielej pevnej látky. Rf: 0,29 (hexán : EtOAc 3 : 1).

- <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 7,72 až 7,41 (m, 2H), 7,40 až 7,20 (m, 8H), 6,46 (s, 1H), 6,16 až 6,00 (m, 1H), 5,77 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,71 (s, 1H), 5,63 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,24 (dd, J<sub>1</sub> = 1,2 Hz, J<sub>2</sub> = 17,1 Hz, 1H), 5,23 (dd, J<sub>1</sub> = 1,2 Hz, J<sub>2</sub> = 10,2 Hz, 1H), 4,18 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,13 až 4,00 (m, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,63 (dd, J<sub>1</sub> = 2,4 Hz, J<sub>2</sub> = 7,5 Hz, 1H), 3,39 až 3,19 (m, 4H), 2,99 (dd, J<sub>1</sub> = 8,1 Hz, J<sub>2</sub> = 18,0 Hz, 1H), 2,68 (d, J = 17,7 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,99 (dd, J<sub>1</sub> = 12,6 Hz, J<sub>2</sub> = 16,3 Hz, 1H), 0,89 (s, 9H).

- <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 148,3, 146,6, 144,0, 142,5, 139,0, 135,7, 135,4, 133,9, 133,6, 132,2, 131,2, 129,5, 129,4, 128,3, 127,5, 127,4, 121,8, 120,9, 118,7, 117,3, 117,2, 112,9, 111,7, 110,8, 74,2, 68,0, 61,6, 60,6, 60,3, 59,0, 57,4, 56,7, 55,4, 41,7, 29,6, 26,6, 26,5, 25,5, 18,9, 15,8, 9,3.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>45</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S: 757,9, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 758,4.

## Príklad 87

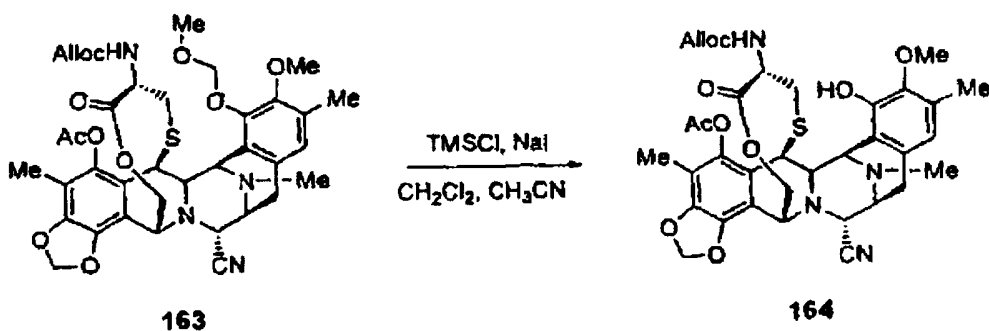


- K roztoku zlúčeniny 159 (2,4 g, 3,17 mmol) v CH<sub>3</sub>CN (16 ml) sa pri teplote 0 °C pridá MOMBr (2,6 ml, 31,75 mmol), DIPEA (8,3 ml, 47,6 mmol) a DMAP (16 mg, 0,127 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 6 hodín. Reakčná zmes sa nariedi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) a extrahuje sa HCl (50 ml) s koncentráciou 0,1

mol/l (0,1 N). Vodná fáza sa znova extrahuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 ml). Organické fázy sa vysušia  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu a zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : EtOAc 15 : 1, 5 : 1), čím vzniká zlúčenina 26 (1,78 g, 70 %) vo forme bielej pevnej látky. Experimentálne údaje zlúčeniny 26 boli už skôr opísané v PCT/GBOO/01 852.

5 Experimentálne postupy prípravy Medziproduktu 11, zlúčeniny 160, 161, 162 a 163 sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

## Príklad 88



10 K roztoku zlúčeniny 163 (15,8 g, 0,02 mol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (250 ml) a v acetonitrile (300 ml) sa v argónovej atmosfére pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  pridá NaI (31,5 g, 0,21 mol) a CITMS (čerstvo predestilovaný s  $\text{CaH}_2$ , 26,7 ml, 0,21 mol). Reakčná zmes sa mieša počas 40 minút. Potom sa reakčná zmes rozdelí medzi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 ml) a vodu (300 ml). Organická vrstva sa premyje nasýteným vodným roztokom NaCl (2 x 300 ml). Organická fáza sa vysuší  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku.

15 Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (eluent etylacetát : hexán 2 : 3), čím vzniká zlúčenina 164 (10,74 g, 76 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

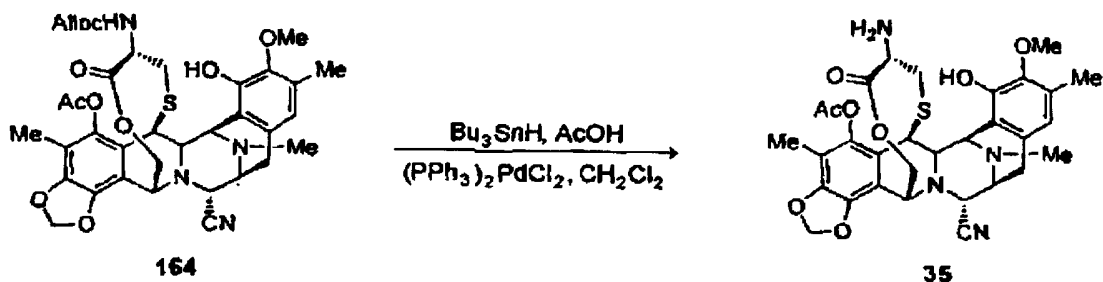
Rf: 0,25 (hexán : EtOAc 3 : 2)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,57 (s, 1H), 6,08 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 5,98 (d,  $J = 1,5$  Hz, 1H), 5,96 až 5,85 (m, 1H), 5,76 (bs, 1H), 5,30 (dd,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 17,3$  Hz, 1H), 5,23 (dd,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 10,2$  Hz, 1H), 5,00 (d,  $J = 12,1$  Hz, 1H), 4,81 (d,  $J = 9,8$  Hz, 1H), 4,58 až 4,45 (m, 3H), 4,34 až 4,28 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 4,17 až 4,00 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,40 až 3,38 (m, 2H), 2,91 až 2,85 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,24 až 2,23 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 2,02 (s, 3H).

20  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,1, 168,4, 155,2, 148,0, 145,5, 142,8, 140,7, 140,1, 132,7, 130,2, 129,6, 120,7, 119,9, 117,8, 113,3, 101,9, 65,6, 61,0, 60,4, 59,9, 59,2, 59,0, 54,3, 53,6, 41,5, 41,2, 32,6, 29,5, 23,5, 20,4, 15,6, 9,4.

25 ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ : 706,76, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 707,2.

## Príklad 89



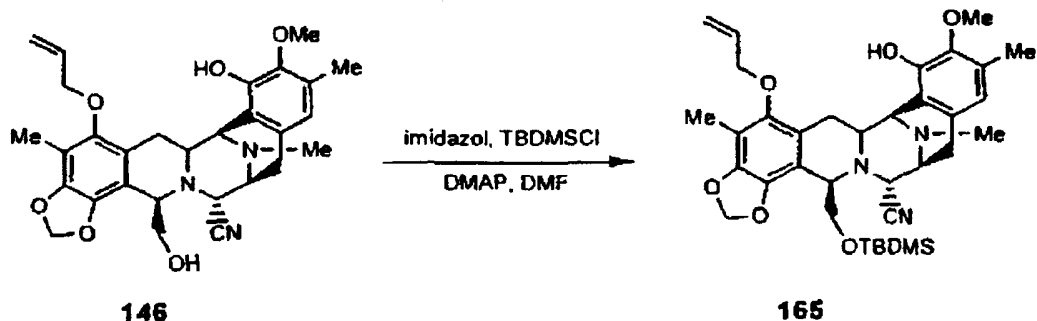
30 K roztoku zlúčeniny 164 (2 g, 2,85 mmol) v dichlórmetáne (142 ml) sa za stáleho miešania v argónovej atmosfére pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  pridá dichlorbis(trifenylofosfín) paládnatý (0,2 g, 0,28 mmol) a kyselina octová (0,65 ml, 11,4 mmol). Potom sa k zmesi po kvapkách počas 25 minút pridáva tributylstanniumhydrid (4,51 ml, 17,02 mmol). Po prídavku  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  sa zmes pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas viac než 20 minút. Reakčná zmes sa prefiltruje cez stĺpec silikagélú spojený hexánom. Zvyšok sa premyje zmesou etylacetátu a hexánu s gradientom 1 : 2 až 15 : 1, čím vzniká zlúčenina 35 (1,38 g, 78 %). Experimentálne údaje zlúčeniny 35 boli už skôr opísané v PCT/GBOO/01 852.

Zlúčenina 36, ET-770 a ET-743 sa pripraví postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

## Cesta 5

Prvý krok tejto cesty (premena zlučieniny 21 na zlučenie 146) bol opísaný v príklade 71.

## Príklad 90



5

K roztoku zlučieniny 146 (8,72 g, 16,78 mmol) v DMF (20,1 ml) sa pri teplote 0 °C pridá imidazol (3,43 g, 50,34 mmol), terc.butyl dimetylchlorosilan (7,58 ml, 50,34 mmol) a DMAP (0,2 g, 1,7 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 3,5 hodiny, potom sa reakčná zmes rýchlo ochladí vodou (100 ml) a extrahuje sa zmesou EtOAc/Hex 1 : 3 (2 x 75 ml). Organické fázy sa premyjú HCl (50 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 M) a vodná fáza sa opäť extrahuje zmesou EtOAc/hexán 1 : 3 (40 ml). Organické fázy sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (hexán : EtOAc 10 : 1, 3 : 1), čím vzniká zlučenie 165 (9,85 g, 93 %) vo forme bielej pevnej látky.

10

Rf: 0,39 (hexán : EtOAc 2 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,43 (s, 1H), 6,15 až 6,03 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,84 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 5,41 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 17,1 Hz, 1H), 5,26 (dd, J<sub>1</sub> = 1,5 Hz, J<sub>2</sub> = 10,5 Hz, 1H), 4,44 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,20 až 4,08 (m, 3H), 3,97 (dd, J<sub>1</sub> = 2,7 Hz, J<sub>2</sub> = 8,1 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,61 (dd, J<sub>1</sub> = 2,71 Hz, J<sub>2</sub> = 9,9 Hz, 1H), 3,18 (brd, J = 8,7 Hz, 1H), 3,22 až 3,16 (m, 2H), 2,99 (dd, J<sub>1</sub> = 8,1 Hz, J<sub>2</sub> = 17,4 Hz, 1H), 2,65 (d, J = 17,4 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,89 (dd, J<sub>1</sub> = 12 Hz, J<sub>2</sub> = 15,6 Hz, 1H), 0,8 (s, 9H), -0,05 (s, 3H), -0,09 (s, 3H).

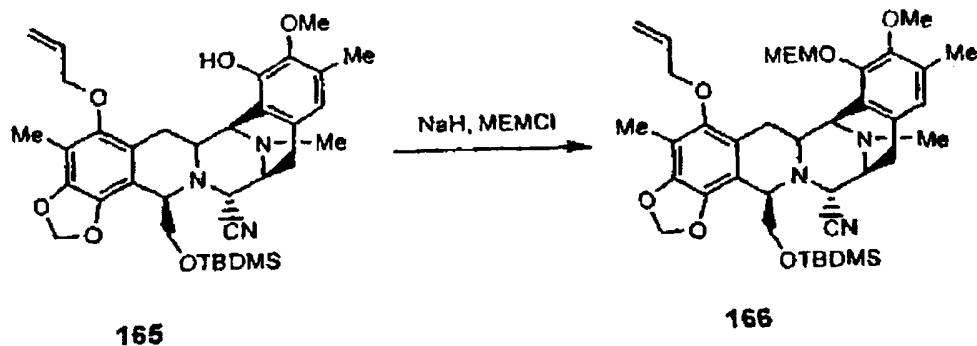
15

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  148,2, 146,5, 143,8, 142,4, 138,9, 133,8, 131,0, 128,0, 121,5, 120,4, 118,4, 117,1, 112,8, 111,6, 100,7, 74,0, 68,2, 61,5, 60,2, 58,6, 57,1, 56,5, 55,2, 41,3, 26,2, 25,4, 25,2, 20,6, 17,8, 15,3, 13,8, 9,0, -3,9, -6,0.

20

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>35</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Si: 633,85, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 634,2.

## 25 Príklad 91



25

K roztoku zlučieniny 165 (7,62 g, 12,02 mmol) v THF (87,64 ml) a H<sub>2</sub>O (0,24 ml) sa pri teplote -6 °C pridá MEMCl (2,33 ml, 20,43 mmol). Počas 45 minút sa k zmesi po častiach pridáva 60 % NaH (0,72 g, 18,03 mmol) a pri tejto teplote sa zmes mieša počas 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa rýchlo ochladí vodou (150 ml) a extrahuje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 100 ml). Organické fázy sa vysušia Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu, čím vzniká zlučenie 166 (8,69 g, 100 %) vo forme bielej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich krokoch.

30

Rf: 0,24 (hexán : EtOAc 2 : 1).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  6,64 (s, 1H), 6,16 až 6,05 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,85 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,41 (dd, J<sub>1</sub> = 1,51 Hz, J<sub>2</sub> = 17,1 Hz, 1H), 5,29 až 5,24 (m, 2H), 5,14 (d, J = 6 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,21 až 4,06 (m, 3H), 4,01 až 3,95 (m, 2H), 3,88 až 3,82 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,64 až 3,57 (m, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,29 (brd, J = 7,5 Hz, 1H), 3,25 až 3,15 (m, 2H), 3,00 (dd, J<sub>1</sub> = 8,1 Hz, J<sub>2</sub> = 17,4 Hz,

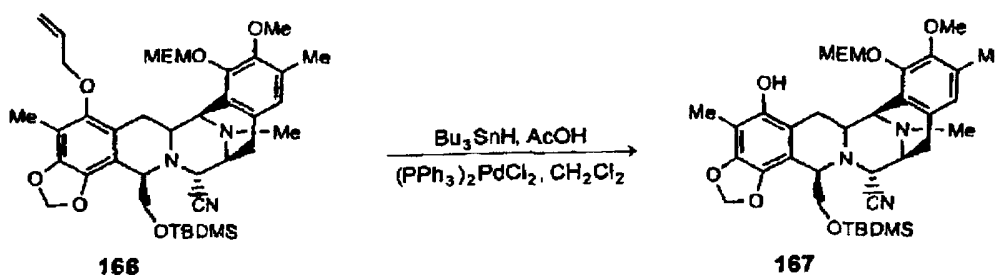
35

1H), 2,65 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,82 (dd, J<sub>1</sub> = 12 Hz, J<sub>2</sub> = 15,6 Hz, 1H), 0,79 (s, 9H), -0,06 (s, 3H), -0,11 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 148,4, 148,1, 144,1, 139,2, 133,9, 130,9, 130,8, 130,2, 128,8, 125,1, 124,2, 121,5, 118,8, 117,45, 113,0, 111,9, 101,0, 98,2, 74,1, 71,7, 69,3, 68,3, 61,7, 59,6, 59,0, 58,9, 57,3, 57,1, 55,5, 41,6, 29,7, 26,4, 25,8, 25,5, 25,4, 15,7, 9,2, -5,6, -5,6.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>39</sub>H<sub>55</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si: 721,3, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 722,3.

## Príklad 92



K roztoku zlúčeniny 166 (10,76 g, 14,90 mmol) v bezvodnom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (275 ml) sa v argónovej atmosfére pri teplote 23 °C pridá (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>PdCl<sub>2</sub> (837 mg, 1,19 mmol), kyselina octová (4,26 ml, 74,5 mmol) a tributylstanniumhydrid (11,85 ml, 44,7 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 15 minút (TLC EtOAc/hexán 1 : 1, bez obsahu východiskových látok). K zmesi sa pridá hexán (100 ml) a zmes sa preleje kolónou na rýchlej stĺpcovej chromatografii (SiO<sub>2</sub>, EtOAc : hexán s gradientom 0 : 100, 1 : 4, 2 : 3 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 167 (9,95 g, 98 %) vo forme žltej pevnej látky.

Rf: 0,42 (hexán : EtOAc 3 : 7).

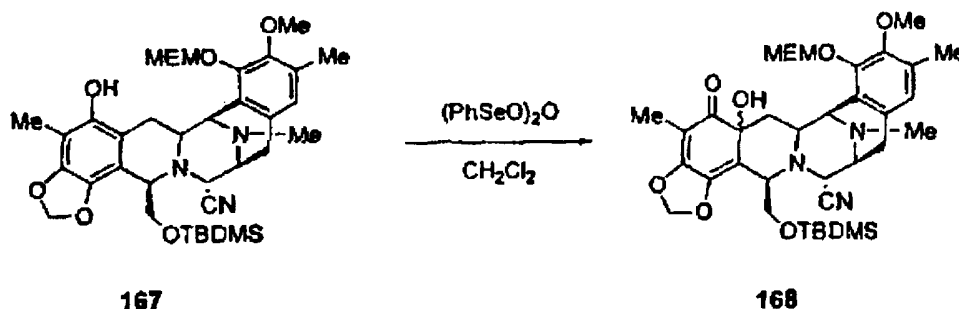
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 6,63 (s, 1H), 5,89 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 5,79 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 5,76 (m, 1H), 5,38 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 5,23 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 4,53 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,17 (dd, J<sub>1</sub> = 1,95 Hz, J<sub>2</sub> = 6,05 Hz, 1H), 4,11 (dd, J<sub>1</sub> = 7,0 Hz, J<sub>2</sub> = 12,5 Hz, 1H), 4,01 až 3,92 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,67 (m, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,29 (m, 1H), 3,24 až 3,13 (m, 3H), 2,99 (dd, J<sub>1</sub> = 8,0 Hz, J<sub>2</sub> = 17,5 Hz, 1H), 2,67 (d, J = 17,5 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,80 (dd, J<sub>1</sub> = 11,2 Hz, J<sub>2</sub> = 14,9 Hz, 1H), 0,82 (s, 9H), -0,03 (s, 3H), -0,07 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): σ 148,4, 147,3, 145,5, 144,1, 136,2, 134,9, 134,8, 130,9, 130,2, 124,8, 123,1, 118,6, 112,8, 112,1, 106,2, 100,4, 98,4, 71,5, 69,2, 68,9, 61,7, 59,6, 58,7, 58,6, 56,9, 56,6, 55,3, 41,5, 29,5, 25,7, 25,3, 17,9, 15,5, 8,7, -5,7, -5,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>36</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si: 681,89, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 682,3.

HPLC: Podmienky: Stĺpec: Symetria C18, mobilná fáza AcN-fosfátový pufer 25 mmol/l (25 mM), pH = 5, izokratická elúcia AcN (65 %) po 5 minútach s gradientom AcN 65 % až 92 % za 31 minút, ø 0,6 ml/minút, t<sup>o</sup> 40 °C. Retenčný čas 27,89 minút. HPLC čistota 89,62 %.

## Príklad 93



K roztoku zlúčeniny 167 (9,95 g, 14,6 mmol) v bezvodnom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 ml) sa po kvapkách v argónovej atmosfére pri teplote -15 °C pridá roztok anhydridu kyseliny benzénselenovej (7,51 g, 14,6 mmol, čistota činidla 70 %) v bezvodnom CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 ml), čo vedie k úplnému rozpusteniu bielych častíček prítomných v roztoku. Pri teplote -15 °C sa reakčná zmes mieša počas 15 minút (TLC EtOAc/hexán 1 : 1, bez obsahu východiskových látok). K reakčnej zmesi sa pri tejto teplote pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhlíčitánu sodného (500 ml). Organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa extrahuje CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, s gradientom 2 : 3 až 3 : 1), čím vzniká zlúčenina 168 (9,86 g, 97 %) vo forme žltej pevnej látky.

Rf: 0,33 (hexán : EtOAc 3 : 7).

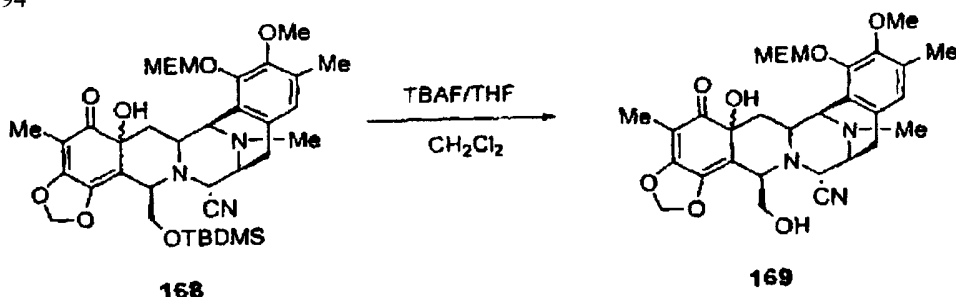
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (pomer izomérov 3 : 2):  $\sigma$  6,59 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,63 (s, 1H), 5,19 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 5,09 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 5,00 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 4,40 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,27 (d, J = 2,44 Hz, 1H), 4,22 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 3,95 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 3,86 až 3,75 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,72 až 3,68 (m, 2H), 3,65 (m, 2H), 3,54 (s, 3H), 3,50 (m, 3H), 3,31 (s, 3H), 3,29 (s, 3H), 3,24 (m, 1H), 3,09 (dt, J = 3,2 Hz, J = 7,6 Hz, 1H), 3,02 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 2,92 (m, 2H), 2,48 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 2,43 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,03 (m, 2H), 1,73 (s, 3H), 1,71 (s, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,77 (s, 9H), 0,04 (s, 3H), 0,02 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  200,5, 197,2, 159,8, 157,7, 148,4, 148,2, 147,7, 140,0, 137,6, 130,5, 130,2, 129,9, 129,4, 124,9, 124,7, 124,0, 122,7, 117,1, 116,9, 113,4, 110,8, 103,9, 103,8, 101,0, 100,4, 97,8, 72,8, 71,3, 69,7, 68,9, 68,8, 65,4, 64,1, 60,2, 59,9, 59,3, 59,1, 59,0, 58,6, 58,5, 56,8, 56,5, 56,2, 55,5, 54,9, 54,8, 42,5, 41,1, 40,9, 35,8, 25,6, 25,5, 25,4, 25,3, 20,6, 17,9, 17,8, 15,5, 15,3, 13,8, 7,0, 6,7, -5,7, -6,0, -6,1.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>36</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Si: 697,89, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 698,8.

HPLC: Podmienky: Stĺpec: Symetria C18, mobilná fáza AcN-fosfátový pufer 25 mmol/l (25 mM), pH = 5, s gradientom AcN 30 % až 100 % za 50 minút.  $\phi$  1,2 ml/minút, t<sup>a</sup> 40 °C. Retenčný čas 30,70 minút a 30,95 minút (dva izoméry). HPLC čistota 60,77 % a 31,99 %.

#### Príklad 94



K roztoku zlúčeniny 168 (16,38 g, 23,47 mmol) v bezvodnom TF (727 ml) s koncentráciou 0,03 mol/l (0,03 M) sa po kvapkách pri teplote 23 °C pridá roztok TBAF v TF (59 ml, 59 mmol) s koncentráciou 1 mol/l (1 M). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 45 minút. Potom sa reakčná zmes rozdelí medzi nasýtený vodný roztok NaCl (850 ml) a CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (950 ml). Obe vrstvy sa oddelia a organická fáza sa vysuší bezvodným Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltruje sa a koncentruje sa pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, EtOAc : hexán s gradientom 40 : 60, 50 : 50, 70 : 30, 90 : 10 až 100 : 0), čím vzniká zlúčenina 169 (12,17 g, 89 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

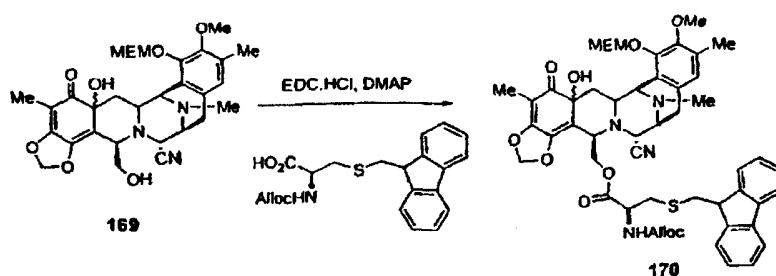
Rf: 0,1 (hexán : EtOAc 3 : 7).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (pomer izomérov 3 : 2):  $\sigma$  6,63 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,62 (s, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,18 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 5,08 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 5,01 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 4,22 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,09 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,00 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 3,87 až 3,64 (m, 6H), 3,55 (s, 3H), 3,51 až 3,44 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,29 (s, 3H), 3,26 (m, 1H), 3,18 (dt, J<sub>1</sub> = 2,9 Hz, J<sub>2</sub> = 7,3 Hz, 1H), 2,94 (m, 4H), 2,50 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,02 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,69 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  200,2, 200,1, 159,6, 158,5, 148,5, 148,4, 148,1, 147,9, 140,5, 137,4, 130,9, 130,4, 130,1, 130,0, 125,1, 124,9, 123,8, 122,7, 116,9, 116,6, 113,3, 110,7, 104,5, 103,9, 101,4, 100,7, 98,1, 97,9, 71,9, 71,5, 71,4, 70,1, 69,0, 69,0, 62,0, 60,1, 59,5, 58,7, 58,5, 58,1, 57,4, 56,9, 56,8, 56,4, 55,9, 55,1, 55,0, 41,3, 41,0, 36,1, 31,3, 25,3, 25,2, 22,4, 15,6, 15,5, 13,8, 7,0, 6,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>: 583,63, nameraná (M+1)<sup>+</sup>: 584,2.

#### 40 Príklad 95



K roztoku zlúčeniny 169 (11,49 g, 19,69 mmol) a Alloc-Cys-(Fm) (11,32 g, 29,53 mmol) (jeho príprava je uvedená v Kruse, C. H., Holden, K. G., J. Org. Chem., 1985, 50, pp. 2792 - 2794) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (688 ml) sa pri teplote  $23^\circ\text{C}$  pridá DMAP (2,4 g, 19,69 mmol) a EDC-HCl (9,44 g, 49,22 mmol). Potom sa k zmesi pri teplote  $0^\circ\text{C}$  pridá DIPEA (5,14 ml, 29,53 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $23^\circ\text{C}$  mieša počas 3

hodín. Reakčná zmes sa postupne premyva nasýteným vodným roztokom  $\text{NaHCO}_3$  (500 ml),  $\text{NaCl}$  (400 ml) a  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2 x 300 ml). Organická vrstva sa vysuší  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltruje sa a koncentruje sa pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : hexán s gradientom 1 : 1, 6 : 4 ž 7 : 3), čím vzniká zlúčenina 170 (14,76 g, 79 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

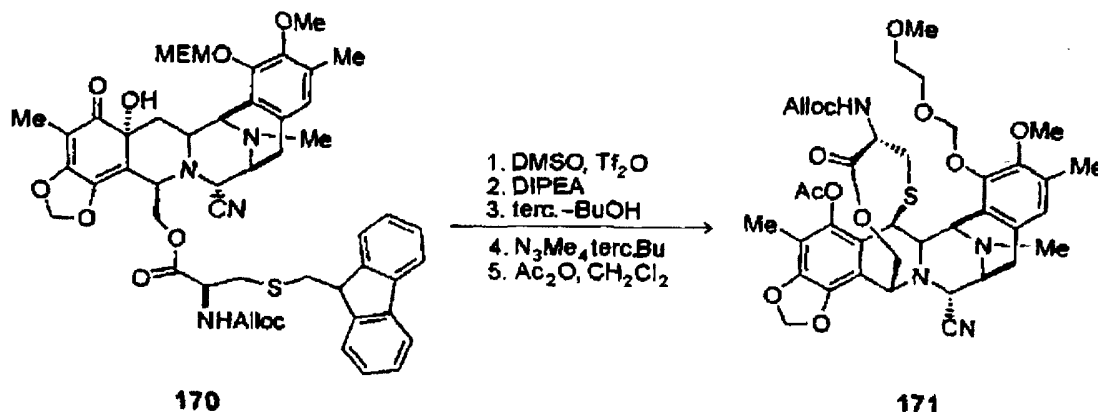
Rf: 0,31 a 0,40 (zmes izomérov) (hexán : EtOAc 3 : 7).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,74 (d,  $J = 7,6$  Hz, 4H), 7,63 (dd,  $J = 7,0$  Hz,  $J = 15,3$  Hz, 4H), 7,38 (t,  $J = 7,3$  Hz, 4H), 7,29 (m, 4H), 6,61 (s, 1H), 6,54 (s, 1H), 5,89 (m, 2H), 5,73 (s, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,69 (s, 1H), 5,62 (s, 1H), 5,55 (m, 1H), 5,32 (d,  $J = 15,1$  Hz, 1H), 5,23 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H), 5,22 (d,  $J = 10,6$  Hz, 1H), 5,14 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 5,13 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H), 5,07 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1H), 4,68 (m, 1H), 4,56 (m, 4H), 4,51 (m, 2H), 4,38 (dd,  $J_1 = 4,5$  Hz,  $J_2 = 12,6$  Hz, 1H), 4,22 (dd,  $J_1 = 6,2$  Hz,  $J_2 = 11,1$  Hz, 1H), 4,14 až 3,88 (m, 12H), 3,83 (s, 3H), 3,79 až 3,69 (m, 4H), 3,61 (s, 3H), 3,56 (m, 4H), 3,39 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 3,23 (m, 2H), 3,16 (d,  $J = 6,0$  Hz, 2H), 3,07 (d,  $J = 6,1$  Hz, 2H), 3,00 až 2,81 (m, 6H), 2,46 až 2,34 (m, 4H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,07 (m, 1H), 1,83 (dd,  $J_1 = 9,5$  Hz,  $J_2 = 15,1$  Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,77 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  200,3, 198,4, 170,3, 160,0, 158,1, 148,7, 148,7, 148,5, 148,2, 145,6, 145,6, 145,5, 142,2, 141,1, 141,0, 141,0, 138,5, 132,4, 132,3, 131,1, 130,6, 130,1, 129,8, 128,8, 127,6, 127,1, 127,1, 125,1, 125,0, 124,8, 124,7, 124,7, 124,0, 122,7, 119,9, 118,1, 118,0, 117,2, 116,8, 111,6, 108,3, 104,8, 104,5, 101,5, 101,0, 98,2, 98,2, 72,3, 71,7, 71,7, 70,6, 69,3, 69,2, 66,4, 66,0, 66,0, 65,5, 63,8, 60,8, 60,2, 59,8, 59,0, 58,9, 58,1, 56,8, 56,6, 56,5, 56,3, 56,1, 55,7, 55,3, 55,2, 53,9, 46,9, 41,9, 41,4, 41,2, 37,2, 36,9, 35,4, 31,5, 29,6, 25,6, 25,4, 22,6, 15,8, 15,7, 14,1, 7,3, 7,0.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{51}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 948,36, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 949,3.

#### Príklad 96



Reakčná skúmavka sa dvakrát pretrepe, niekoľkokrát sa prepláchne argónom a udržuje sa v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (5,4 ml) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (554 ml) sa pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  po kvapkách pridá anhydrid kyseliny trifluormetylsulfónovej (5,11 ml, 30,4 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  mieša počas 20 minút. Potom sa pomocou kanyly pri teplote  $-78^\circ\text{C}$  pridá roztok zlúčeniny 170 (14,43 g, 15,2 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (188 ml). Počas pridávania sa v skúmavkách udržuje teplota  $-78^\circ\text{C}$  a farba reakčná zmesi je žltá. Reakčná zmes sa pri teplote  $-40^\circ\text{C}$  mieša počas 35 minút. Počas tohto časového intervalu sa roztok zmení zo žltej na tmavozelenú. Po uplynutí tohto času sa po kvapkách pridá  $^1\text{Pr}_2\text{NEt}$  (21,2 ml, 121,6 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $0^\circ\text{C}$  nechá stáť počas 45 minút. Počas tohto času sa farba roztoku zmení na bledohnedú. Potom sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá  $\text{tert-BuOH}$  (5,8 ml, 60,8 mmol) a  $\text{tert-butyltetrametylguanidín}$  (18,3 ml, 106,4 mmol) a reakčná zmes sa mieša pri teplote  $23^\circ\text{C}$  počas 40 minút. Po uplynutí tohto času sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá acetanhydrid (14,34 ml, 152 mmol) a zmes sa nechá reagovať pri teplote  $23^\circ\text{C}$  počas viac než 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes nariedi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (38 ml) a premyje sa nasýteným vodným roztokom  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (500 ml),  $\text{NaHCO}_3$  (500 ml) a  $\text{NaCl}$  (500 ml). Organické vrstvy sa vysuší  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltrujú sa a koncentrujú sa. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : hexán s gradientom 3 : 7 až 4 : 6), čím vzniká zlúčenina 171 (6,24 g, 52 %) vo forme svetložltej pevnej látky.

Rf: 0,38 (hexán : EtOAc 1 : 1).

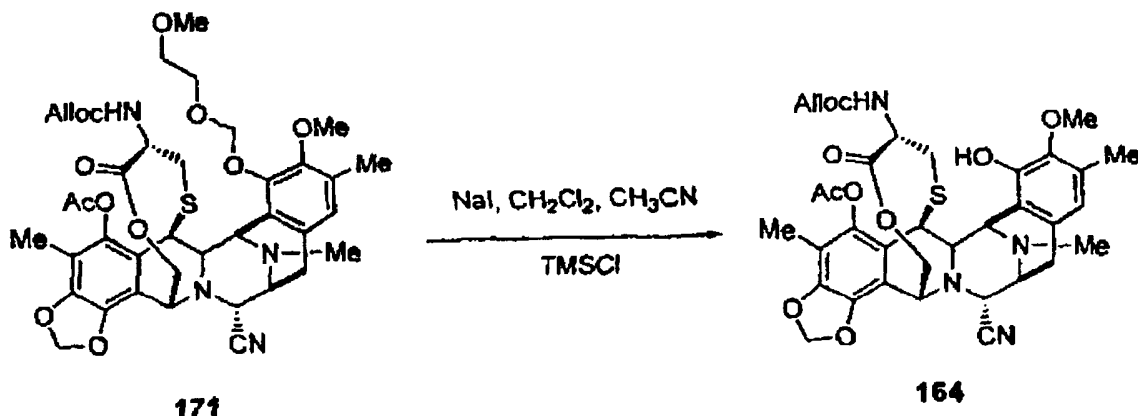
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  6,78 (s, 1H), 6,07 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,98 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H), 5,92 (m, 1H), 5,32 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 5,31 (dd,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 17,1$  Hz, 1H), 5,23 (dd,  $J_1 = 1,5$  Hz,  $J_2 = 10,4$  Hz, 1H),



5,19 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 5,01 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 4,81 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 4,53 až 4,51 (m, 3H), 4,35 až 4,27 (m, 2H), 4,24 (s, 1H), 4,18 až 4,13 (m, 2H), 3,94 až 3,84 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,58 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 3,43 až 3,37 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 2,91 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,36 až 2,06 (m, 2H), 2,02 (s, 3H).

- 5  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  170,23, 168,49, 155,26, 149,62, 148,26, 145,63, 140,85, 140,24, 132,74, 131,60, 130,11, 124,89, 124,70, 120,14, 117,89, 117,84, 113,21, 101,89, 98,03, 92,67, 71,60, 69,04, 65,70, 61,20, 60,35, 59,36, 59,01, 58,89, 54,71, 54,42, 53,79, 41,53, 41,19, 32,68, 29,53, 23,57, 20,26, 15,62, 9,45.  
ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{S}$ : 794,87, nameraná  $(\text{M}+1)^+$ : 796,  $(\text{M}+23)^+$  817.  
HPLC: Podmienky: Stĺpec: Symetria C18, mobilná fáza AcN-fosfátový pufer (pH = 5), s gradientom 45 % až 65 % za 15 minút a 65 % až 90 % za 36 minút.  $\phi$  0,8 ml/minút,  $t^a$  40 °C. Retenčný čas 19,734 minúty. HPLC čistota 83,17 %.

## Príklad 97



- 15 K roztoku zlúčeniny 171 (2,26 g, 2,85 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (74 ml) a acetonitrilu (74 ml) sa pri teplote 0 °C pridá NaI (3,42 g, 22,8 mmol) a TMSCl (čerstvo predestilovaný s  $\text{CaH}_2$ ) (2,6 ml, 22,8 mmol) a reakčná zmes sa mieša počas 35 minút. K reakčnej zmesi sa pri tejto teplote pridá nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (150 ml). Organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa extrahuje  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 100 ml). Organické extrakty sa vysušia síranom sodným, prefiltrujú sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri
- 20 zníženom tlaku, čím vzniká zlúčenina 164 (2,4 g, 100 %) ako svetložltej pevnej látky, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použije v nasledujúcich reakciách. Experimentálne údaje zlúčeniny 164 boli už skôr opísané v príklade 88.

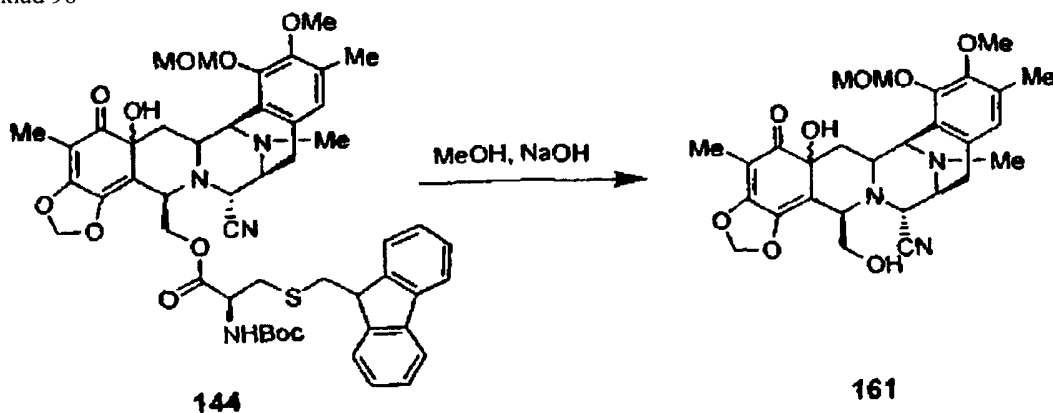
Premena zlúčeniny 164 na zlúčeninu 35 bola už skôr opísaná v príklade 89.

Medziprodukty 35, 36, ET-770 a ET-743 sa pripravujú postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

25

Cesta 6

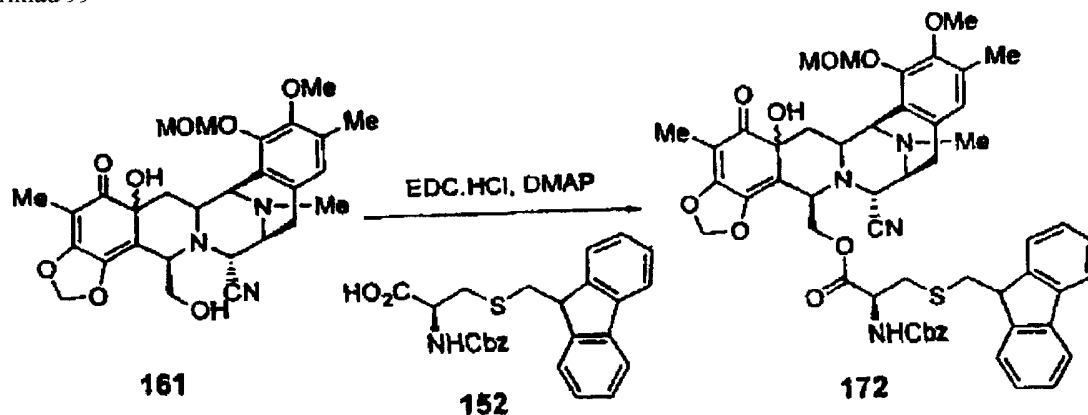
## Príklad 98



- 30 K roztoku zlúčeniny 144 (7 g, 7,6 mmol) v MeOH (140 ml) sa pridá NaOH (15,1 ml) s koncentráciou 0,1 mol/l (0,1 M) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 10 minút. K reakčnej zmesi sa pridá nasýtený vodný roztok  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 ml). Organická fáza sa oddelí a premyje sa 5 % HCl kým sa farba nezmení na žltú. Organický extrakt sa vysušia síranom sodným, prefiltruje sa a rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : hexán s gradientom 0 : 1, 1 : 3,

1 : 2, 1 : 1, 1 : 1 až 3 : 1), čím vzniká zlúčenina 161 (3,76 g, 85 %). Experimentálne údaje zlúčeniny 161 boli už skôr opísané v US Patente No. 5 721 362.

## Príklad 99



5

10

K roztoku zlúčeniny 161 (200 mg, 0,37 mmol) a cysteínu 152 (240 mg, 0,55 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml) sa pri teplote  $23\text{ }^\circ\text{C}$  pridá DMAP (110 mg, 0,925 mmol) a EDC-HCl (170 mg, 0,925 mmol) a reakčná zmes sa pri tejto teplote mieša počas 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa postupne premýva nasýteným vodným roztokom  $\text{NaHCO}_3$  (15 ml), NaCl (15 ml) a  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2 x 10 ml). Organická vrstva sa vysuší  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltruje sa a koncentruje sa pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc : hexán s gradientom 1 : 4 až 1 : 2), čím vzniká zlúčenina 172 (285 mg, 80 %) vo forme bielej pevnej látky. Rf: 0,3 (hexán : EtOAc 2 : 1).

15

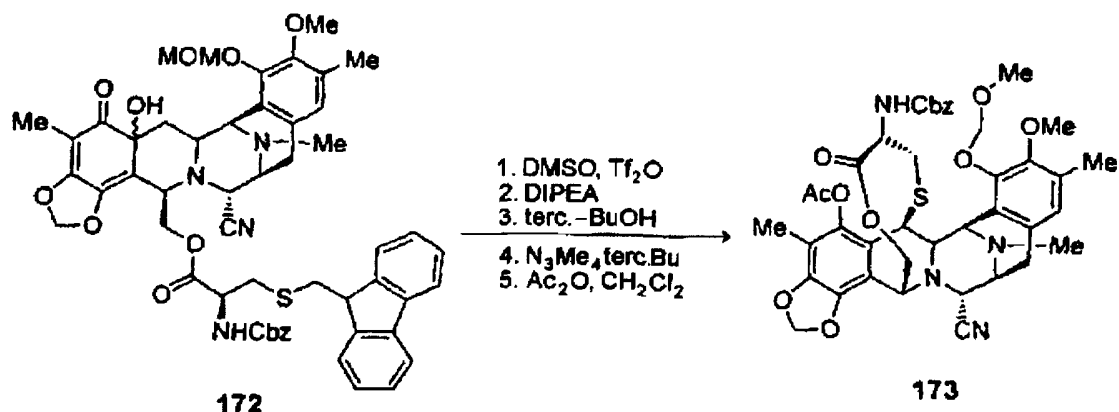
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  7,73 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 7,59 až 7,57 (m, 2H), 7,40 až 7,28 (m, 9H), 6,60 (s, 1H), 5,69 (s, 1H), 5,65 (s, 1H), 5,54 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 5,11 až 5,08 (m, 4H), 4,52 až 4,49 (m, 1H), 4,21 až 3,90 (m, 6H), 3,83 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 3,21 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H), 3,09 až 2,90 (m, 6H), 2,41 (d,  $J = 18$  Hz, 1H), 2,34 až 2,31 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,88 až 1,83 (m, 1H), 1,77 (s, 3H).

20

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\sigma$  198,7, 170,5, 158,4, 155,9, 148,9, 148,8, 145,8, 142,5, 141,3, 136,2, 131,4, 130,0, 128,8, 128,6, 128,4, 127,9, 127,3, 125,3, 125,0, 124,9, 123,0, 120,1, 117,5, 108,5, 104,8, 101,7, 99,5, 70,8, 67,4, 60,5, 57,8, 57,0, 56,5, 56,0, 55,5, 47,1, 41,6, 37,4, 37,1, 31,8, 25,8, 22,8, 15,9, 14,3, 7,6.

ESI-MS m/z: vypočítaná  $\text{C}_{53}\text{H}_{54}\text{O}_{11}\text{S}$ : 954,35, nameraná  $(\text{M}+23)^+$ : 977,8.

## Príklad 100



25

Reakčná skúmanka sa dvakrát pretrepe, niekoľkokrát sa prepláchnie argónom a udržuje sa v argónovej atmosfére. K roztoku DMSO (977  $\mu\text{l}$ ) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (118 ml) sa pri teplote  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  po kvapkách pridá anhydrid kyseliny trifluórmétánsulfónovej (930  $\mu\text{l}$ , 5,5 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 20 minút. Potom sa pomocou kanyly (čas pridávania 5 minút) pri teplote  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  pridá roztok zlúčeniny 172 (2,63 g, 2,75 mmol) v bezvodnom  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (26 ml ako hlavný prídavok a 13 ml na premytie). Počas pridávania sa v oboch skúmankách udržuje teplota  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  a farba reakčnej zmesi sa zmení zo žltej na hnedú. Reakčná zmes sa pri teplote  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  mieša počas 35 minút. Počas tohto časového intervalu sa roztok zmení zo žltej na tmavozelenú. Po uplynutí tohto času sa po kvapkách pridá  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (3,48 ml, 22 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote  $0\text{ }^\circ\text{C}$  nechá stáť 45 minút, počas tohto času sa farba roztoku zmení na hnedú. Potom sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá  $\text{tert.}\text{BuOH}$  (1,04 ml, 11 mmol) a  $\text{tert.}\text{butyltetrametylguanidín}$  (3,31 ml,

30

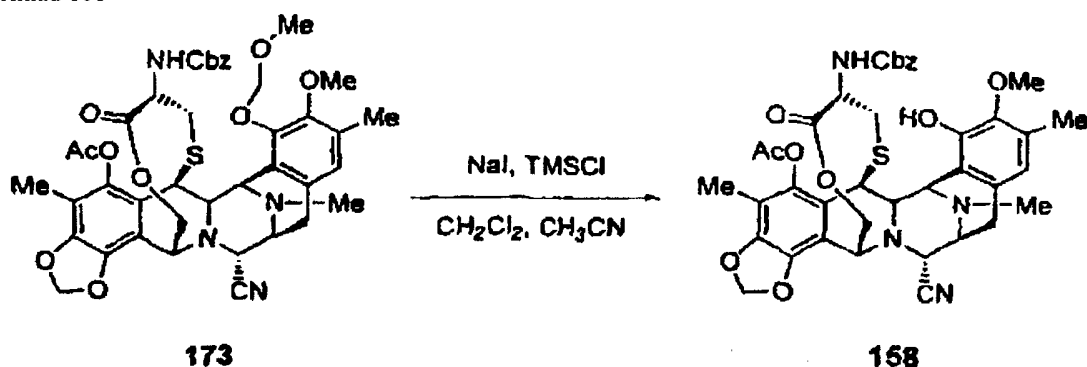
19,25 mmol) a reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša 40 minút. Po uplynutí tohto času sa k reakčnej zmesi po kvapkách pridá acetanhydrid (2,6 ml, 27,5 mmol) a zmes sa nechá reagovať pri teplote 23 °C počas viac než 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes nariedi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 ml) a postupne premyje nasýteným vodným roztokom NH<sub>4</sub>Cl (180 ml), NaHCO<sub>3</sub> (180 ml) a NaCl (180 ml). Organické vrstvy sa vysušia Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrujú sa a koncentrujú sa pri zníženom tlaku. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, hexán : EtOAc s gradientom 4 : 1, 3 : 1 až 2 : 1), čím vzniká zlúčenina 173 (1,145 g, 52 %) vo forme bielej pevnej látky. Rf: 0,31 (hexán : EtOAc 3 : 2).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  7,37 (bs, 5H), 6,67 (s, 1H), 6,08 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,99 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,19 až 5,00 (m, 4H), 4,82 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 4,49 (bs, 1H), 4,32 až 4,15 (m, 5H), 3,67 (s, 3H), 3,55 (s, 3H), 3,44 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,39 (d, J = 6 Hz, 1H), 2,90 až 2,87 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,15 až 2,07 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\sigma$  170,6, 168,8, 155,8, 149,9, 148,5, 146,0, 141,2, 140,6, 136,6, 132,0, 130,4, 128,8, 128,7, 128,5, 125,2, 124,9, 120,5, 118,2, 113,7, 113,6, 102,2, 99,4, 67,2, 61,6, 60,7, 59,7, 59,3, 57,6, 55,1, 54,8, 54,2, 41,9, 41,6, 33,0, 29,9, 23,9, 20,6, 15,6, 9,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná C<sub>41</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>S: 800,87, nameraná (M+23)<sup>+</sup> 823,7.

## Príklad 101



K roztoku zlúčeniny 173 (100 mg, 0,125 mmol) v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) a CH<sub>3</sub>CN (2 ml) sa pri teplote 0 °C pridá NaI (75 mg, 0,5 mmol) a TMSCl (63  $\mu$ l, 0,5 mmol). Reakčná zmes sa pri teplote 23 °C mieša počas 50 minút, potom sa zmes rýchlo ochladí vodou (30 ml) a extrahuje sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 ml). Organické fázy sa postupne premyjú nasýteným vodným roztokom NaCl (20 ml) a ditioničitanom sodným (20 ml), vysušia sa Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrujú sa a koncentrujú sa vo vákuu. Zvyšok sa čistí rýchlou stĺpcovou chromatografiou (SiO<sub>2</sub>, EtOAc : hexán s gradientom 1 : 4, 1 : 2 až 1 : 1), čím vzniká zlúčenina 158 (66 mg, 70 %) vo forme bielej pevnej látky. Experimentálne údaje zlúčeniny 158 boli už skôr opísané v príklade 19.

Premena zlúčeniny 158 na zlúčeninu 35 bola už skôr opísaná v príklade 85.

Medziprodukty 36, ET-770 a ET-743 sa pripravujú postupmi, ktoré sú opísané v PCT/GBOO/01 852.

Rf: 0,21 (hexán : EtOAc 1 : 1).

## 30 Odkazy na literatúru

European Patent 309 477.

US Patent 5 721 362.

Sakai, R., Jares-Erijman, E. A., Manzanares, I., Elipse, M. V. S. and Rinehart, K. L. J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, 9017 - 9023.

35 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 59/225 189.

Japanese Kokai JP-A2 60/084 288.

Arai, T., Kubo, A. In The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology, Brossi, A. Ed., Academic: New York, 1983, Vol 21, pp. 56 - 110.

40 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.

45 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., Mikami, Y., Antimicrob. Agent Chemoter, 1985, 28, 5 - 11.  
 Takahashi, K., Yazawa, K., Kishi, K., Mikami, Y., Arai, T., Kubo, A., J. Antibiot, 1982, 35, 196 - 201.  
 Yazawa, K., Asaoka, T., Takahashi, K., Mikami, Y., Arai, T., J. Antibiot., 1982, 35, 915 - 917.  
 Frincke, J. M., Faulkner, D.J., J. Am. Chem. Soc., 1982, 104, 265 - 269.  
 5 He, H. - Y., Faulkner, D. J., J. Org. Chem., 1989, 54, 5822 - 5824.  
 Kubo, A., Saito, N., Kitahara, Y., Takahashi, K., Tazawa, K., Arai, T., Chem. Pharm. Bull., 1987, 35, 440 - 442.  
 Trowitzsch-kienast, W., Irschik, H., Reichenback, H., Wray, V., Höfle, G., Liebigs Ann. Chem., 1988, 475^81.  
 10 Ikeda, Y., Idemoto, H., Hirayama, F., Yamamoto, K., Iwao, K., Asano, T., Munakata, T., J. Antibiot., 1983, 36, 1279 - 1283.  
 Asaoka, T., Yazawa, K., Mikami, Y., Arai, T., Takahashi, K., J. Antibiot, 1982, 35, 1708 - 1710.  
 Lown, J. W., Hanstock, C. C., Joshua, A. V., Arai, T., Takahashi, K., J. Antibiot, 1983, 36, 1184 - 1194.  
 Munakata et al., United States Patent 4 400 752, 1984.  
 15 Y. Ikeda et al., te Journal of Antibiotics., VOL XXXVI, N° 10, 1284, 1983.  
 Cooper, R., Unger, S., 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.

20

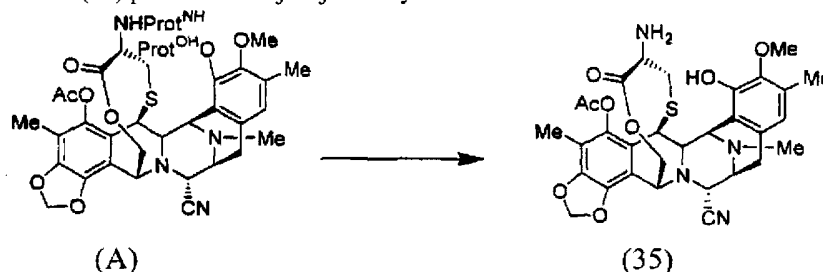
### Priemyselná využiteľnosť

Zlúčeniny tohto vynálezu sa používajú na výrobu farmaceutických prostriedkov, ktoré sa používajú na liečbu karcinómov, ako je leukémia, rakovina pľúc, rakovina hrubého čreva, rakovina ľadvín a melanóm.

25

### PATENTOVÉ NÁROKY

- 30 1. Spôsob prípravy ekteinascidínovej zlúčeniny, vyznačujúci sa tým, že zahrnuje odstránenie ochrany zlúčeniny vzorca (A) odstránením obidvoch chrániacich skupín v jednom kroku za poskytnutia  $\alpha$ -amínolaktónu vzorca (35) podľa nasledujúcej schémy:

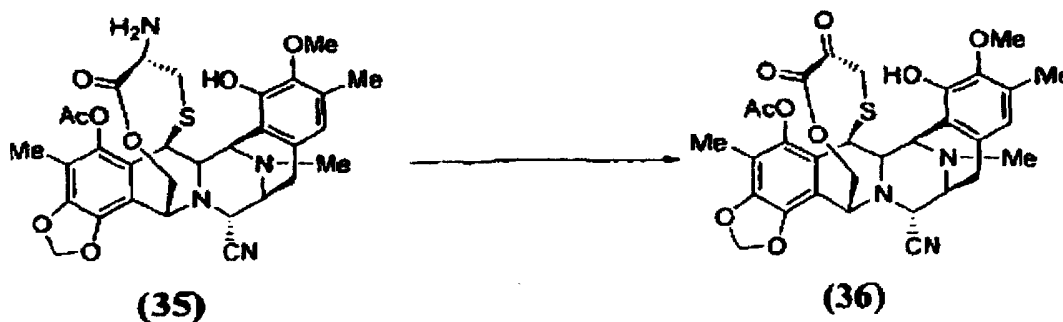


kde Prot<sup>NH</sup> je skupina chrániaca amín a Prot<sup>OH</sup> je skupina chrániaca hydroxyskupinu.

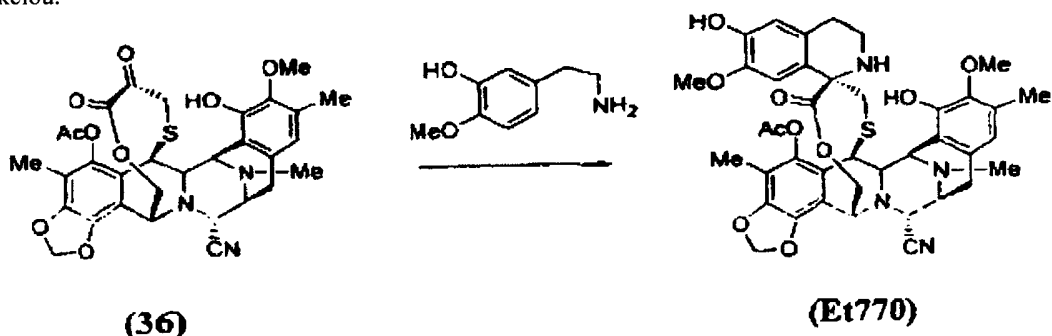
- 35 2. Spôsob podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že Prot<sup>NH</sup> je *t*-butyloxykarbonyl a Prot<sup>OH</sup> je metoxymetyl.

3. Spôsob podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že Prot<sup>NH</sup> je *t*-butyloxykarbonyl a Prot<sup>OH</sup> je metoxyetoxymetyl.

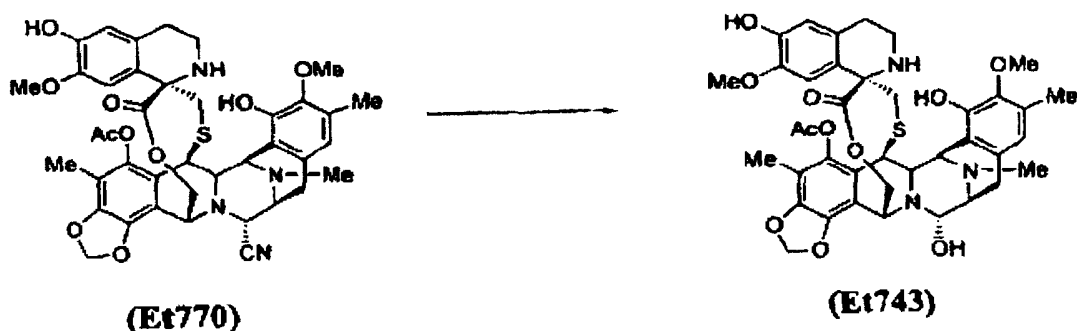
- 40 4. Spôsob podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že zahrnuje ďalší krok oxidácie  $\alpha$ -amínolaktónu vzorca (35) na zodpovedajúci  $\alpha$ -ketolaktón vzorca (36) transamináciou



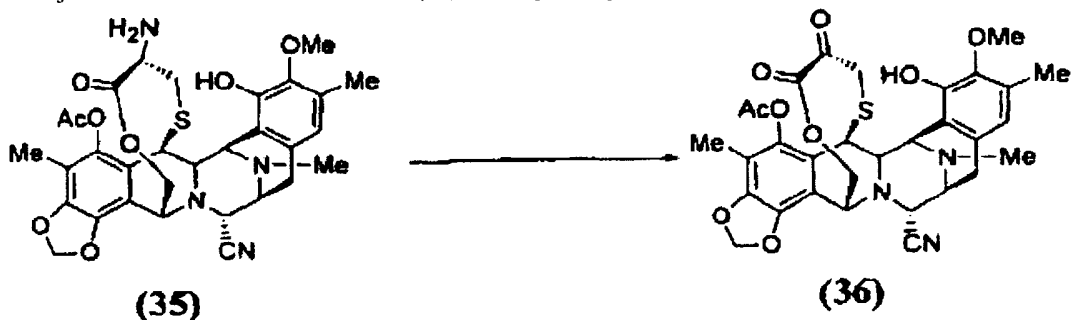
5. Spôsob podľa nároku 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahŕňa ďalší krok stereošpecifickej tvorby spirotetrahydroizochinolínovej zlúčeniny Et770 z  $\alpha$ -ketolaktónu vzorca (36) Pictetovou-Spenglerovou reakciou:



5 6. Spôsob podľa nároku 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahŕňa ďalší krok náhrady nitrilu na C-21 v Et770 hydroxyskupinou za získania ET743:

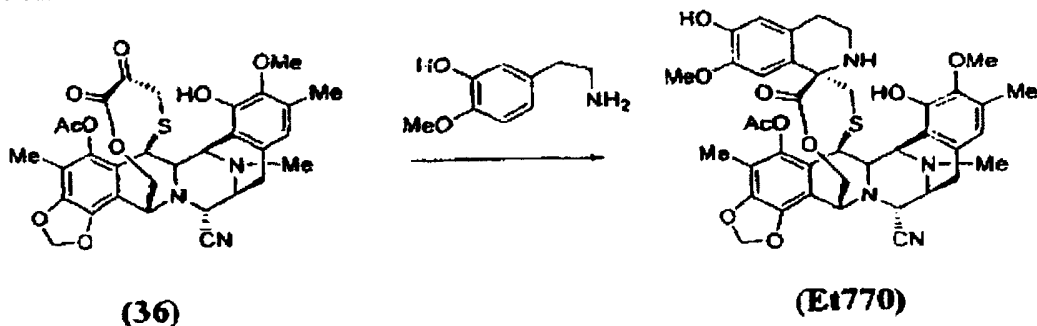


7. Spôsob v spôsobe výroby prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahŕňa oxidáciu  $\alpha$ -amínolaktónu vzorca (35) na zodpovedajúci ketolaktón vzorca (36) transamináciou:



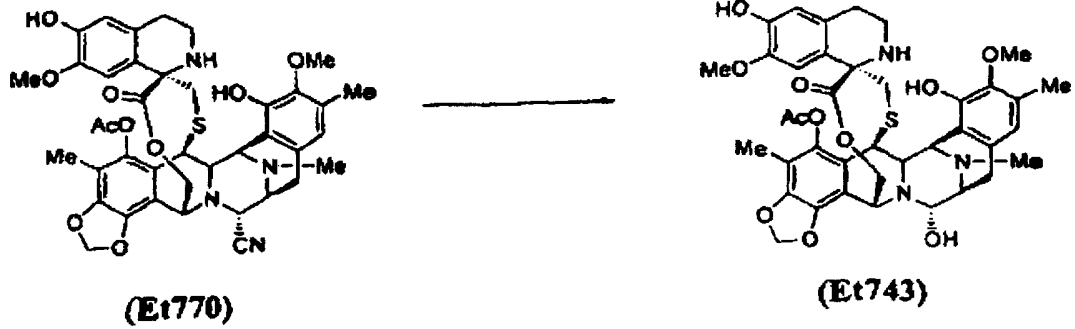
10

8. Spôsob podľa nároku 7, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahŕňa ďalší krok stereošpecifickej tvorby spirotetrahydroizochinolínovej zlúčeniny Et770 z  $\alpha$ -ketolaktónu vzorca (36) Pictetovou-Spenglerovou reakciou:

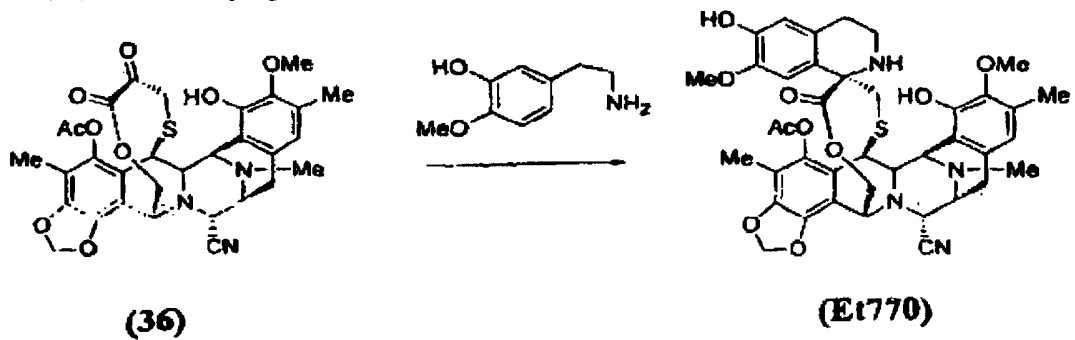


15

9. Spôsob podľa nároku 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahŕňa ďalší krok náhrady nitrilu na C-21 v Et770 hydroxyskupinou za získania ET743:

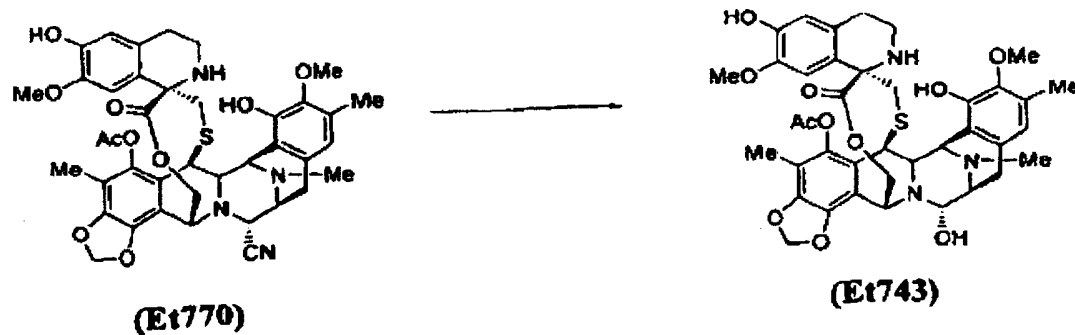


10. Spôsob v spôsobe výroby prípravy ekteínascidínovej zlúčeniny, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa krok stereospecifickej tvorby spirotetrahydroizochinolínovej zlúčeniny Et770 z  $\alpha$ -ketolaktónu vzorca (36) Pictetovou-Spenglerovou reakciou:

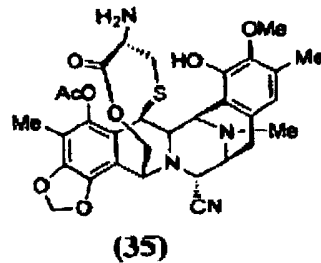


5

11. Spôsob podľa nároku 10, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa ďalší krok náhrady nitrilu na C-21 v Et770 hydroxyskupinou za získania ET743:

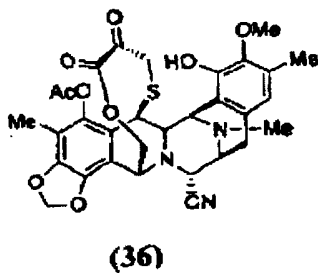


12. Medziprodukt na syntézu ekteínascidínovej zlúčeniny, ktorý je vzorca:



10

13. Medziprodukt na syntézu ekteinascidinovej zlúčeniny, ktorý je vzorca (36):



Koniec dokumentu