

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2003 - 1178

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26.07.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **03.11.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/RM000569**

(33) Země priority: **IT**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.11.2003**
(Věstník č. 11/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/IT01/00407**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/036561**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 207/34 A 61 K 31/40
C 07 D 207/32 A 61 K 31/416
C 07 D 209/12 A 61 K 31/428
C 07 D 209/10
C 07 D 277/64
C 07 D 235/08
C 07 D 471/04
C 07 D 491/04

/(C 07 D 471/04, C 07 D 221:00, C 07 D 209:00)

(71) Přihlašovatel:

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE
RIUNITE S. P. A., Rome, IT;

(72) Původce:

Marzi Mauro, Pomezia, IT;
Minetti Patricia, Pomezia, IT;
Moretti Gian Piero, Pomezia, IT;
Giannini Giuseppe, Pomezia, IT;
Garattini Enrico, Milan, IT;
Tinti Maria Ornella, Pomezia, IT;
Pisano Claudio, Pomezia, IT;
Penco Sergio, Milan, IT;

(74) Zástupce:

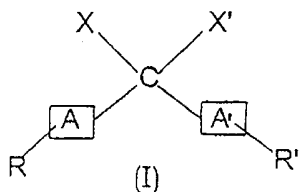
Vandělková Jana Ing., Hradební 3, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Bis-heterocyklické sloučeniny s protinádorovými
chemosensitivizujícími účinky**

(57) Anotace:

Popsány jsou bis-heterocyklické sloučeniny obecného vzorce I
vhodné jako protinádorové a chemosensitivizující látky.



Bis-heterocyklické sloučeniny s protinádorovými a chemosensitivizujícími účinky

Oblast techniky

Zde popisovaný vynález se týká bis-heterocyklických sloučenin s protinádorovým a chemosensitivizujícími účinky.

Dosavadní stav

Používání antineoplastických léčiv v humánní terapii působí četné toxické nebo vedlejší účinky, které následně vedou k omezení množství podávaného léčiva a v některých případech i k přerušení terapie. Omezení množství podávaného léčiva nebo přerušení terapie způsobuje zvýšení růstu primárního nádoru a/nebo výskyt nádorových metastáz. V těchto případech se často mnoho pacientů, kteří umírají na rakovinu, nevyhnutelně zvyšuje.

Další velmi důležitou a pochopitelnou stránkou onkologické terapie je nástup rezistence na léčivo používané k zásahu na nádorových buňkách. Buňky, u kterých se vyvine rezistence na léčivo jsou často schopny odolávat účinkům mnoha dalších protinádorových léčiv, i když tyto látky nejsou chemicky příbuzné, nebo působí jiným mechanismem. Tento typ rezistence

se nazývá rezistence na řadu léčiv (MDR) (Annu. Rev. Med., 42, 277 – 286, 1991; Drugs of the Future, 22, 653 – 660, 1997).

Mnoho nádorů, jako jsou například nádory kůry nadledvinek, střev, ledvin a lačníku a karcinom jater, projevuje rezistenci na léčiva od samého počátku léčby protinádorovými léčivy (Barrows, L. R., Antineoplastic and Immunoactive Drugs, 75, 1236 – 1262, 1995).

V jiných případech získávají nádorové buňky rezistenci podobným způsobem jako je tomu u bakteriální rezistence na antibiotika. Tento typ rezistence je založen na genetických změnách, které v nádorových buňkách nastávají během léčby; tyto změny umožní dceřiným buňkám proliferovat v prostředí, ve kterém je přítomna protinádorová látka.

Pokud tomu tak je, a pokud způsobuje rezistenci cokoliv, vede to k neúčinnosti antineoplastické léčby.

Mnoho studií předpokládá, že se obvyklé formy rezistence na léčivo v lidském nádoru odvíjejí od přítomnosti glykoproteinu P (Ann. Med. Interna, 14, (3), 145 – 153, březen 1997; Acta Scient Venez., 51, (1), 45 – 52, 2000).

Tento glykoprotein působí jako energeticky závislé membránové čerpadlo, které vytlačuje protinádorové léčivo z vnitřku buňky a tak omezuje koncentraci tohoto léčiva v buňce.

Chemosensitiva jsou sloučeniny, které přivodí změny v nádorových buňkách nebo v těle a podporují růst terapeutické účinnosti použitých protinádorových látek.

Mezi chemosensitiva známá tím, že mají schopnost upravovat funkci glykoproteinu P náleží blokátory vápníkového kanálu (verapamil), kalmodulinové inhibitory (trifluoperazin), indolové alkaloidy (reserpin), lysosomotropní látky (chlorochin), steroidy (progesteron), triparanolové analogy (tamoxifen), detergenty (kremophor EL) a cyklická peptidová antibiotika (cyklosporiny) (Cancer, Principles & Practice of Oncology, 4. vyd., J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., 2661 – 2664, 1993).

Sloučeniny s bis-heterocyklickou strukturou jsou již známy. Například WO 95/08540 popisuje bis-(amino-di-benzimidazolyl)alkany s antivirovými účinky.

WO 99/00381 popisuje bis-indolové deriváty s antimetastatickými účinky.

US 5,780,461 popisuje bis-indolové deriváty s protinádorovými účinky.

Bis-indoly popisované ve WO 95/08540, WO 99/00381 a US 5,780,461 a citované výše jsou jinými sloučeninami než sloučeniny popisované v předloženém vynálezu.

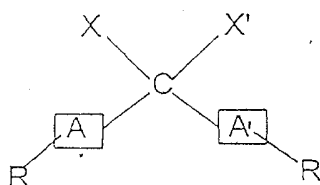
V oblasti medicíny trvá stále potřeba nových terapeutických prostředků, které by byly vhodné k léčbě nádorů, a to ať už by byly použity samotné nebo s dalšími známými antineoplastickými léčivy.

V této oblasti také stále trvá potřeba nových sloučenin obdařených protinádorovým a/nebo chemosensitivizačním působením, tj. sloučenin,

- které jsou účinné proti nádorům odolným léčivům, a/nebo schopných vytvářet známá protinádorová léčiva účinná proti nádorům, proti kterým byly neúčinné pro nástup výše uvedené rezistence na léčiva.

Nyní bylo zjištěno, že bis- heterocyklické sloučeniny obecného vzorce (I) jsou vhodnými látkami jak jako sloučeniny proti nádorům, tak jako chemosensitiva.

Předmětem vynálezu jsou bis- heterocyklické sloučeniny obecného vzorce (I)



(I)

kde:

A, které může být stejné nebo jiné než A', je mono- nebo bicyklický systém s 5 až 7 atomy obsahující jeden nebo více atomů vybíraných ze skupiny N, S, O, a to v jednom nebo obou cyklech;

A a A' mohou být vázány na C-X symetricky nebo asymetricky;

X, které může být stejné nebo jiné než X' reprezentují:

- a) H, OH, a v případě, že vazba X a X' je spojena, jde o: =O, =CH-(CH₂)_nCH₃, kde n je celé číslo od 1 do 3;

- b) nasycený nebo nenasycený přímý nebo rozvětvený alkylový C_1 - C_{18} řetězec, substituovaný případně 1) cykloalkylem $C_3 - C_7$; 2) NR_1R_2 , kde R_1 a R_2 , které mohou být stejné nebo různé, a to H či přímý nebo rozvětvený alkyl $C_1 - C_5$; 3) azidem; 4) halogenem; 5) jednou nebo více skupinami OR_3 , ve kterých R_3 představuje H, přímý nebo rozvětvený alkyl $C_1 - C_5$, nebo mezl, tosyl, triflyl, nebo R_3 představuje společně s vicinální OH isopropyliden; 6) fenylem substituovaným halogeny, nitroskupinou, hydroxylem, alkoxykem nebo amino NR_1R_2 , kde R_1 a R_2 mají stejný význam jako výše; 7) volným nebo esterifikovaným karboxylem s přímými nebo rozvětvenými alkyly s 1 až 5 uhlíkovými atomy; 8) morfolinem nebo methoxymorfolinem;
- c) cykloalkyl $C_3 - C_7$;
- d) fenyl nebo naftyl, případně substituovaný halogenem, nitroskupinou, hydroxylem, alkoxykem nebo aminoskupinami NR_1R_2 , ve kterých mají R_1 a R_2 stejný význam jako výše;
- e) heterocyklus $C_5 - C_7$ případně substituovaný halogenem, nitroskupinou, hydroxylem, alkoxykem nebo aminoskupinami NR_1R_2 , ve kterých mají R_1 a R_2 stejný význam jako výše;
- f) nasycený heterocyklus obsahující jeden nebo více heteroatomů vybíraných ze skupiny N, O substituovaný případně OH, CN, O-alkylem $C_1 - C_4$;
- s výjimkou, kdy $A = A1 = \text{indol}$, $X = H$, není X' heterocyklus nebo fenyl či alkyl,

ve kterých může být R stejná nebo jiná než R', a je představována H, hydroxylem, případně esterifikovaná acyly C₁ – C₄, methylenedioxyem, nitroskupinou, aminoskupinou, případně mono- nebo alkylovaným C₁ – C₄, mono nebo dialkanoyl C₁ – C₄ karboxylem, alkyloxykarbonylem, halogenem, C₁ – C₄ alkylem;

pokud A a A', které mohou být stejné nebo různé, obsahují dusíkový atom, může být tento benzylovaný nebo alkylovaný C₁ – C₆;

pokud A a A', které mohou být stejné nebo různé, obsahují atom síry, může být tento atom v jednom nebo obou kruzích oxidovaný.

Chemosensitivizující mechanismus sloučenin podle vynálezu zde popsaného, tj. schopnost těchto sloučenin navodit zvrát rezistence na léčivo je dosud neznám. Míní se, že to souvisí s mechanismem interakce s nádorovými buňkami a ne s protinádorovými léčivy, na které se nádorové buňky staly rezistentní.

Získané pokusné výsledky (uvedené dále) ukazují, že sloučeniny obecného vzorce (I), a to jak samotné, tak v kombinaci s dalšími známými antiblastomickými léčivy, jsou vhodnými látkami k léčbě nádorů.

Předmětem zde popisovaného vynálezu jsou tedy sloučeniny obecného vzorce (I).

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce (I) a jejich použití v oblasti medicíny.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je farmaceutický přípravek obsahující jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce (I) a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný excipient a/nebo diluent.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce (I) a postup jejich přípravy.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je farmaceutický přípravek obsahující jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce (I) pro léčbu patologických nádorů, u kterých nádor náleží do skupiny do níž patří sarkom, karcinom, karcinoid, kostní nádor, neuroendokrinní nádor, lymfoidní leukemie, akutní promyelocytická leukemie, myeloidní leukemie, monocytická leukemie, megakaryoblastemická leukemie a Hodgkinsova choroba.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je farmaceutický přípravek obsahující jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce (I) k léčbě patologických nádorů, u kterých nádor vykazuje rezistenci k antibiotiku před tím používanému k léčbě, u kterého jmenovaná sloučenina obecného vzorce (I) vyvolává chemosensitivizační účinek na jmenovaný nádor, který je rezistentní na jmenované léčivo.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je farmaceutický přípravek obsahující jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce (I) v kombinaci s jednou nebo více známými protinádorovými látkami, kde se tato protinádorová sloučenina vybírá ze skupiny sloučenin obsahující alkylační činidla, topoisomerázové inhibitory, antitubulinové látky, interkalační sloučeniny, antimetabolity, přirozené produkty jako jsou alkaloidy barvínku,

epipodophylotoxiny, antibiotika, enzymy, taxany a cytodiferenciační sloučeniny.

Mezi cytodiferenciačními protinádorovými látkami se dává přednost kyselině trans-retinové (all-trans retinoic acid).

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je použití sloučeniny obecného vzorce (I) k přípravě léčiva k léčbě patologických nádorů.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je použití sloučeniny obecného vzorce (I) k přípravě léčiva k léčbě patologických nádorů, u kterých nádor vykazoval rezistenci na léčivo před tím používané pro léčbu jako protinádorové léčivo, a u kterých sloučenina obecného vzorce (I) vykazovala chemosensitivizační účinek na jmenovaný nádor rezistentní k tomuto léčivu.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je použití sloučeniny obecného vzorce (I) v kombinaci s jednou nebo více známými protinádorovými látkami k přípravě léčiva k léčbě patologických nádorů.

Dalším předmětem zde popisovaného vynálezu je použití sloučeniny obecného vzorce (I) v kombinaci s kyselinou trans-retinovou k přípravě léčiva k léčbě akutní promyelocytické leukemie.

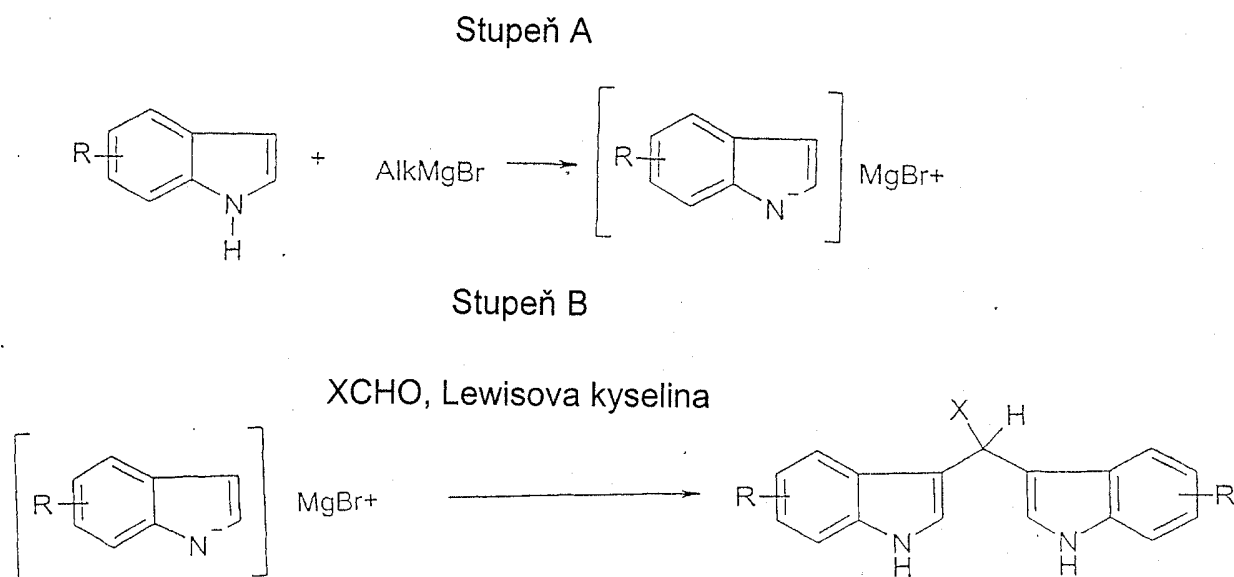
Následující příklady dále vynález objasňují.

Příklady provedení

Příklad 1

Sloučenina v příkladu 1 byla připravena za využití schématu syntézy 1 uvedeného níže, kde stupně A a B byly provedeny podle postupu popsaného Casiraghi, G., et al., *Tetrahedron*, 48, (27), 5619, 1992; Casiraghi, G., et al., *J. Org. Chem.*, 59, (7), 1801, 1994; Cornia, M., et al., *J. Org. Chem.*, 56, (7), 5466, 1991; Cornia, M., et al., *Tetrahedron: Asymmetry*, 8, (17), 2905, 1997.

Schéma 1



Stupeň A

Příprava alkylmagneziiových solí

K bezvodému etherovému roztoku obsahujícímu 2 moly alkylmagneziumbromidu připraveného ze 2 molů alkylbromidu a 2 molů Mg v bezvodém rozpouštědle (např. ethylether nebo tetrahydrofuran), byly za míchání při okolní teplotě přidány 2 moly indolu nebo derivátu indolu nebo některého z jeho analogů.

Pod vakuem bylo rozpouštědlo odstraněno a zbytek použit v dalším stupni.

Stupeň B

Příprava bis-indolových derivátů

Zbytek získaný v předešlém stupni byl rozpuštěn v inertním organickém rozpouštědle, jakým je například CH_2Cl_2 nebo CHCl_3 nebo $\text{CHCl}_2\text{CHCl}_2$. Potom byly přidány 2 nebo více molů Lewisovy kyseliny (např. SnCl_4 , TiCl_4 , CeCl_3 , $\text{TiCl}(\text{OPr})_3$) a 1 mol aldehydu. Za míchání ponecháno reagovat po dobu 12 až 72 hodin při teplotě od $-80\text{ }^\circ\text{C}$ do $+80\text{ }^\circ\text{C}$. Po uplynutí této doby byla reakce zablokována slabě alkalickým vodným roztokem NaHCO_3 a Na_2CO_3 .

Organická fáze byla oddělena, promyta malým množstvím vody, vysušena nad bezvodým MgSO_4 , zfiltrována a zkoncentrováno do sucha. Výsledný produkt byl izolován a přečištěn běžnými chromatografickými systémy.

Příklad 1/1

Příprava 2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-7-azaindol-3-yl-1-deoxy-D-manitolu (ST 1353)

K roztoku 890 mg (4 mmol) 7-azaindolylmagneziumbromidu v bezvodém CH_2Cl_2 (50 ml) připraveném odděleně ze 7-azaindolu a ethylmagneziumbromidu v bezvodém ethyletheru, byly přidány 4 ml 1M roztoku SnCl_2 v bezvodém CH_2Cl_2 a 260,3 mg (1 mmol) 2,3-5,6-di-O-isopropyliden-di-alfa-D-manofuranosy.

Reakční směs byla pod refluxem zahřívána v dusíkové atmosféře po dobu 24 hodin a potom reakce zablokována přidavkem 50 ml nasyceného vodného roztoku NaHCO_3 . Výsledná směs byla extrahována ethyletherem (3 x 100 ml) a spojené extrakty promyty malým množstvím H_2O , vysušeny nad MgSO_4 , zfiltrvány a zkoncentrováno do sucha.

Surový produkt byl podroben chromatografickému přečištění na SiO_2 koloně s použitím, směsi hexanu s ethylacetátem jako elučního činidla s gradientovou elucí od 9 : 1 do 6 : 4. Čistý produkt byl izolován s výtěžkem 8 %.

$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5$ (478); bod tání = rozklad při 210 °C; $R_f = 0,17$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{COCH}_3 = 1 : 1$).

^1H (CD_3OD) $\delta = 8,15 - 8,08$ (2H, dd, CH aromatická); 8,10 – 8,05 (1H, d, CH aromatická); 7,95 – 7,9 (1H, d, CH aromatická); 7,60 (1H, s, CH aromatická); 7,08 (1H, s, CH aromatická); 7,06 – 6,95 (2H, m, CH aromatická); 5,05 – 5,35 (2H, 2m, CH alifatická); 4,42 (1H, d, CH geminální); 3,98 – 3,9 (1H, m, CH alifatická); 3,84 – 3,76 (1H, m, CH alifatická); 3,45 – 3,38 (1H, m, CH alifatická); 1,45; 1,35; 1,16; 0,78 (12H, 4s, CH_3).

MS (IS) $M^- = 477$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 65,26 %; H = 6,32 %; N = 11,70 %;
nalezeno: C = 65,47 %; H = 6,35 %; N = 12,01 %.

Příklad 1/2

Příprava 4,4-di-(7-azaindol-3-yl)-1-butanol (ST 1866)

Tato sloučenina se připravuje stejným způsobem jako v příkladu 1/1, ale vychází se ze 7-azaindolu a 2-methoxytetrahydrofuranu.

$C_{18}H_{18}N_4O$ (306,37); bod tání = rozklad při 221 °C; $R_f = 0,18$ (hexan/AcOEt).

1H (CD_3OD) $\delta = 8,10$ (2H, t, CH); 7,80 (7,8 d, 2H, d, CH); 7,30 (2H, s, CH_2); 6,90 (2H, m, CH); 4,40 (4,4 t, 1H, t, CH); 3,60 (t, 2H, t, CH_2); 2,30 (2H, m, CH_2); 1,60 (2H, m, CH_2);

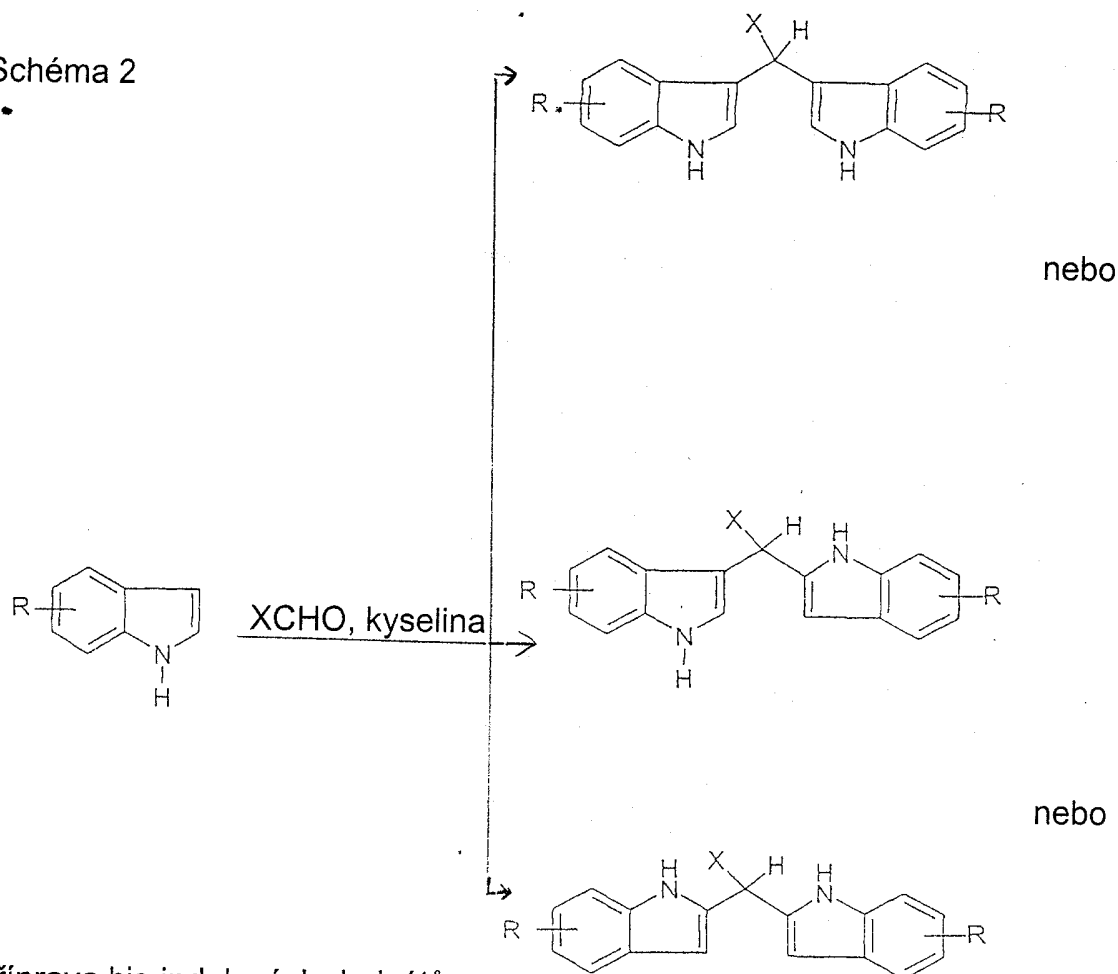
MS (IS) $M^+ = 305$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 70,57 %; H = 5,92 %; N = 18,29 %;
nalezeno: C = 70,67 %; H = 5,60 %; N = 18,10 %.

Příklad 2

Sloučeniny v příkladu 2 byly připraveny syntézou podle schématu 2 uvedeného níže.

Schéma 2



Příprava bis-indolových derivátů

V roztoku alkoholu a vody (například voda a ethanol nebo methanol nebo isopropanol v různém poměru) byly rozpuštěny 2 moly indolu a od 1 do 8 molů butyraldehydu. Potom byl přidán katalyzátor ve formě anorganické minerální kyseliny (např. HCl), organické kyseliny (např. CH₃COOH), Lewisovy kyseliny (zvláště účinné jsou trifláty lanthanidů – Ln(OTf)₃, které mohou být též regenerovány a použity znovu).

Roztok vyl za míchání ponechán po dobu 12 až 72 hodin při teplotě sahající od 20 ° do 80 °C. Po uplynutí této doby byl alkohol extrahován organickým rozpouštědlem. Organická fáze byla promyta malým množstvím H₂O nebo

zalkalizované H_2O , vysušena nad bezvodým Na_2SO_4 , zfiltrována a zkoncentrováno k suchu.

Výsledný produkt byl izolován a přečištěn obvyklými chromatografickými metodami.

Příklad 2/1

Příprava 1,1-di-indol-3-yl-butanu (ST 1385)

282 mg indolu (2,4 mmol) bylo rozpuštěno v 10 ml CH_3OH a 5 ml H_2O ; potom bylo přidáno 72 mg (1 mmol) butyraldehydu a 240 mg dysprosium triflátu $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Dy}$ – (0,393 mmol).

Výsledný roztok byl míchán při okolní teplotě 24 hodin. Po uplynutí této doby byl methanol pod vakuem odstraněn a zbytek extrahován ethylacetátem (3 x 50 ml). Organické extrakty byly spojeny, promyty malým množstvím vody, vysušeny nad Na_2SO_4 , zfiltrovány a zkoncentrováno k suchu. Výsledný produkt byl izolován a přečištěn na koloně SiO_2 s použitím hexanu s ethyletherem jako elučního činidla s gradientovou elucí od 9 : 1 do 7 : 3.

Bylo získáno 284 mg produktu s výtěžkem 84 %.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2$ (288); bod tání = 150 – 151 °C; R_f = 0,3 (ethylether : hexan = 1:1).

^1H (CD_3CN) δ = 9,10 (2H, br-s, NH); 7,60 – 7,50 (4H, d, H_4' - H_7'); 7,30 (2H, br-s, NH); 7,00 – 7,20 (4H, t, CH aromatická); 4,60 (1H, t, CH); 2,30 (2H, m, CH_2); 1,50 (2H, m, CH_2); 1,10 (3H, t, CH_3).

MS (IS) M^+ = 287.

Elementární analýza: vypočteno (0,77 % H₂O): C = 82,65 %; H = 7,02 %; N = 9,63 %; nalezeno: C = 82,36 %; H = 7,17 %; N = 9,35 %.

Příklad 2/2

Příprava 1,1-di-(5-nitroindol-3-yl)-butanu (ST 1429)

ST 1429 byl připraven z 5-nitroindolu a butyraldehydu za použití metody popsané v příkladu 2/1.

Při reakci však byla doba zahřívání pod refluxem 48 hodin.

Výsledný produkt byl chromatograficky přečištěn na SiO₂ s použitím směsi hexanu a ethyletheru jako elučním činidlem s gradientovou elucí od 6 : 4 do 2 : 8.

Výtěžek 85 %

C₂₀H₁₈N₄O₄ (378); R_f = 0,4 (Et₂O : hexan = 8:2).

¹H (CDCl₃) δ = 10,63 (2H, br, NH); 8,0 (2H, s, CH aromatická); 7,58 (2H, d, CH aromatická); 7,18 – 6,86 (4H, m, CH aromatická); 4,17 (1H, t, CH); 1,94 – 1,72 (2H, q, CH); 1,02 – 0,8 (2H, m, CH₂); 0,55 (3H, t, CH₃).

MS (IS) M⁺ = 377.

Elementární analýza: vypočteno: C = 63,48 %; H = 4,79 %; N = 14,80 %; nalezeno: C = 63,90 %; H = 4,75 %; N = 14,34 %.

Příklad 2/3

Příprava 1,1-di-(5-fluorindol-3-yl)-butanu (ST 1438)

Tato látka byla připravena stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/2 z výchozího 5-fluorindolu a butyraldehydu. Při reakci však byla doba zahřívání pod refluxem 24 hodin. Výsledný produkt byl izolován a

chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím směsi hexanu a ethyletheru jako elučního činidla s gradientovou elucí od 7 : 3 do 4 : 6. Výtěžek 45 %.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_2$ (324); bod tání = rozkládá se při $>200^\circ\text{C}$ $R_f = 0,36$ (hexan : AcOEt = 7 : 3).

^1H (CDCl_3) $\delta = 8,95$ (2H, br, NH); 7,35 – 7,02 (6H, m, CH aromatická); 6,92 – 6,8 (2H, m, CH aromatická); 4,33 (1H, t, CH geminální); 2,18 (2H, q, CH_2); 1,44 – 1,32 (2H, m, CH_2); 0,96 (3H, t, CH_3).

MS (IS) $M^+ = 323$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,05 %; H = 5,59 %; N = 8,63 %; F = 11,71; nalezeno: C = 73,78 %; H = 6,01 %; N = 8,29 %; F = 11,98.

Příklad 2/4

Příprava 1,1-di-(5-hydroxyindol-3-yl)-butanu (ST 1393)

Tato látka byla připravena stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/2 z výchozího 5-hydroxyindolu a butyraldehydu. Výsledný produkt byl chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím směsi ethyletheru a hexanu v poměru 7 : 3. Výtěžek 65 %.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ (324); bod tání = rozkládá se při $>200^\circ\text{C}$ $R_f = 0,3$ (ethylether : hexan = 2 : 8).

^1H (DMSO) $\delta = 8,40$ (2H, s, NH); 7,10 – 7,00 (2H, d, CH aromatická); 6,98 – 6,90 (2H, m, CH aromatická); 6,80 – 6,70 (2H, m, CH aromatická); 6,60 – 6,40 (2H, m, CH aromatická); 4,20 – 4,00 (1H, t, CH); 2,10 – 2,0 (2H, m, CH_2); 1,40 – 1,20 (2H, m, CH_2); 1,00 – 0,80 (3H, t, CH_3);

MS (IS) M^- = 319.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,97 %; H = 6,29 %; N = 8,74 %;
nalezeno: C = 74,57 %; H = 6,00 %; N = 8,41 %;

Příklad 2/5

Příprava 1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butanu (ST 1478)

ST 1478 byl připraven stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/2 z 5,6-methylenedioxy-indolu a butyraldehydu. Výsledný produkt byl izolován a chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím směsi hexanu a ethylacetátu jako elučního činidla s gradientovou elucí 7 : 3. Výtěžek 38 %.

$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$ (376); bod tání = rozkládá se při $>200^\circ\text{C}$ R_f = 0,58 (hexan : AcOEt = 6 : 4).

^1H (CD_3CN) δ = 9,10 – 8,90 (2H, br-s, NH); 7,20 (1H, s, CH aromatická); 7,00 (2H, d, CH aromatická); 6,80 – 6,90 (2H, d, CH aromatická); 6,30 (1H, s, CH); 5,90 (4H, s, CH_2); 4,30 (1H, t, CH); 2,30 (2H, m, CH_2); 1,50 (2H, m, CH_3); 1,10 (3H, t, H_4).

MS (IS) M^- = 375.

Elementární analýza: vypočteno: C = 66,65 %; H = 6,10 %; N = 7,06 %;
nalezeno: C = 65,98 %; H = 5,90 %; N = 6,96 %.

Příklad 2/6

Příprava 1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethanu (ST 1487)

ST 1487 byl připraven stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/2 z indolu a cyklohexankarboxylaldehydu. Při reakci se však zahřívalo pod refluxem po dobu 48 hodin.

Výsledný produkt byl chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím směsi hexanu a etheru jako elučního činidla v poměru 7 : 3. Výtěžek 75 %.

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2$ (328); bod tání = rozkládá se při $>210^\circ\text{C}$ $R_f = 0,20$ (hexan : Et_2O = 6 : 4).

^1H (CDCl_3) $\delta = 7,84$ (2H, br, NH); 7,63 (2H, d, CH aromatická); 7,25 (2H, d, CH aromatická); 7,18 – 6,90 (4H, m, CH aromatická); 4,25 (1H, d, CH); 2,35 – 2,15 (1H, m, CH); 1,90 – 0,85 (10H, mm, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 327$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 84,10 %; H = 7,36 %; N = 8,52 %; nalezeno: C = 83,81 %; H = 7,43 %; N = 8,30 %.

Příklad 2/7

Příprava 1,1-di-(7-azaindol-3-yl)-butanu (ST 1436)

ST 1436 byl připraven stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/2 z 7-azaindolu a butyraldehydu. Při reakci se však zahřívalo pod refluxem po dobu 48 hodin. Výsledný produkt byl izolován a chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím směsi CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 jako elučního činidla s gradientovou elucí od 9 : 1 do 4 : 6. Výtěžek 15 %.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4$ (291); bod tání = rozkládá se při $>200^\circ\text{C}$ $R_f = 0,26$ (CH_2Cl_2 : CH_3COCH_3 = 6 : 4).

^1H ($\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 11,32$ (2H, br, NH); 8,12 (2H, d, CH aromatická); 7,85 (2H, d, CH aromatická); 7,40 (2H, s, CH aromatická); 6,98 – 6,82 (2H, m, CH aromatická); 4,35 (1H, t, CH); 2,15 (2H, q, CH_2); 1,35 – 1,05 (2H, m, CH_2); 0,88 (3H, t, CH_3 alifatická).

MS (IS) $M^+ = 290$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,95 %; H = 6,24 %; N = 19,29 %;
nalezeno: C = 74,52 %; H = 6,38 %; N = 18,98 %.

Příklad 2/8

Příprava 1,3-dihydroxy-2,2-(diindol-3-yl)-propanu (ST 1368)

Sloučenina byla připravena stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/4, avšak dihydroxyacetone byl nahrazen aldehydem. Výtěžek 60 %.

$C_{19}H_{18}N_2O_2$ (306,3); bod tání = rozkládá se při 223 °C; $(\alpha)_D = 23,8^\circ$ (0,4 % $CHCl_3$); $R_f = 0,77$ (ethylether).

1H (CD_3OD) $\delta = 7,30 - 7,20$ (4H, m, CH aromatická); $7,70 - 7,60$ (2H, m, CH aromatická); $7,30 - 7,05$ (4H, d, CH aromatická); $7,04 - 6,96$ (2H, d, CH aromatická); $6,90 - 6,80$ (2H, m, CH); $6,62 - 6,58$ (2H, m, CH aromatická); $4,40$ (4H, s, CH_2).

MS (IS) $M^+ (-H_2O) = 287$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,48 %; H = 5,92 %; N = 9,14 %;
nalezeno: C = 74,08 %; H = 5,65 %; N = 8,97 %.

Příklad 2/9

Příprava 1,1-diindol-3-yl-tetradekanu (ST 1369)

Sloučenina byla připravena stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/4, avšak reagovaly spolu indol a tetradekanaldehyd. Výtěžek 80 %.

$C_{30}H_{40}N_2$ (428,6); bod tání = měkne při 50 °C; $R_f = 0,28$ (hexan : AcOEt = 85 : 15).

1H ($CDCl_3$) $\delta = 7,80$ (2H, s, NH); 7,60 – 7,44 (2H, d, CH aromatická); 7,30 – 7,20 (2H, d, CH aromatická); 7,10 – 7,00 (2H, m, CH aromatická); 7,00 – 6,90 (4H, m, CH) aromatická; 4,42 – 3,938 (1H, t, CH); 2,20 – 2,00 (2H, m, CH_2); 1,40 – 1,00 (22H, m, CH_2); 0,90 – 0,70 (3H, t, CH_3).

MS (IS) M^+ (+Na) = 451.

Elementární analýza: vypočteno: C = 84,05 %; H = 9,40 %; N = 6,53 %; nalezeno: C = 83,70 %; H = 9,77 %; N = 6,17 %.

Příklad 2/10

Příprava 1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-glukozy (ST 1350)

Sloučenina byla připravena stejným způsobem jako to je popsáno v příkladu 2/4, avšak reagovaly spolu indol a glukóza. Výtěžek 60 %.

$C_{22}H_{24}N_2O_5$ (396,45); bod tání = rozkládá se při 60 °C; $(\alpha)_{D_C} = +66,3^\circ$ (0,5 % CH_3OH); $R_f = 0$, ($CHCl_3$: $CH_3OH = 7 : 3$).

1H (CD_3OD) $\delta = 7,70$ (1H, d, CH aromatická); 7,60 (1H, d, CH aromatická); 7,40 (1H, s, CH aromatická); 7,30 – 7,20 (2H, m, CH aromatická); 7,10 (1H, s, CH aromatická); 7,10 – 6,8 (4H, m, CH aromatická); 5,0 (1H, d, CH); 4,70 – 4,60 (1H, dd, CH); 3,92 – 3,85 (1H, m, CH); 3,80 – 3,60 (3H, m, CH_2OH a CH); 3,58 – 3,40 (1H, m, CH).

MS (IS) M^+ = 395.

Elementární analýza: vypočteno (2,2 % H_2O) : C = 65,18 %; H = 6,20 %; N = 6,87 %; nalezeno: C = 65,10 %; H = 6,23 %; N = 6,40 %.

Příklad 2/11

Příprava (R,S)-1,1-(indol-2-yl, indol-3-yl) butanu (ST 1625)

282 mg indolu (2,4 mmol) bylo rozpuštěno v 10 ml CH_3OH a 5 ml 1N HCl. Dále bylo přidáno 72 mg (1 mmol) butyraldehydu. Výsledný roztok byl zahříván při teplotě 80 °C po dobu 16 hodin. Na konci této doby byl methanol pod vakuem odstraněn a zbytek extrahován CH_2Cl_2 . Organické extrakty byly spojeny, promyty vodou, vysušeny nad Na_2SO_4 , zfiltrvány a zkoncentrováno k suchu. Výsledný produkt byl izolován a chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím hexanu a ethyletheru jako elučního činidla s gradientovou elucí od 9 : 1 do 7 : 3. Výtěžek 62 %.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2$ (288); bod tání = rozkládá se při >250 °C; $R_f = 0,25$ (ethylether : hexan = 1 : 1).

^1H (CD_3Cl_3) $\delta = 8,10$ (1H, br-s, NH); $\delta = 7,80$ (1H, br-s, NH); 7,60 – 7,50 (4H, d, CH aromatická); 7,30 (1H, br-s, NH); 7,20 – 7,00 (4H, t, CH aromatická); 6,50 (1H, br-s, CH); 4,60 (1H, t, CH); 2,30 (2H, m, CH_2); 1,50 (2H, m, CH_2); 1,10 (3H, t, CH_3).

MS (IS) $M^+ = 287$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 83,29 %; H = 6,99 %; N = 9,71 %; nalezeno: C = 82,77 %; H = 6,90 %; N = 9,41%.

Příklad 2/12

Příprava (R,S)-5-hydroxy-1,1-(indol-2-yl, indol-3-yl) pentanu (ST 1345)

Tato látka byla připravena podle popisu v příkladu 2/11 reakcí indolu s 5-hydroxypentanalem. Výtěžek 40 %.

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ (31,42); bod tání = rozkládá se při 200 °C; $R_f = 0,5$ (hexan : iPrOH = 97,5 : 2,5).

^1H (CD_3Cl_3) δ = 8,00 (1H, s, NH); 7,8 (1H, s, NH); 7,54 – 7,48 (1H, m, CH aromatická); 7,40 – 7,36 (1H, d, CH aromatická); 7,30 – 7,20 (1H, d, CH aromatická); 7,1 – 6,86 (6H, m, CH aromatická); 6,40 (1H, s, CH aromatická); 4,30 (1H, t, CH); 3,5 (2H, t, CH_2); 2,20 – 2,00 (2H, m, CH_2); 1,60 – 1,40 (2H, m, CH_2); 1,40 – 1,20 (3H, m, CH_2 e OH).

MS (IS) $M^+ = 317$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 79,21 %; H = 6,96 %; N = 8,79 %; nalezeno: C = 78,64 %; H = 7,15 %; N = 8,45%.

Příklad 2/13

Příprava (R,S)-5-hydroxy-1,1-(5,6-methylenedioxy-indol-2-yl, 5,6-methylenedioxy-indol-3-yl) pentanu (ST 1423)

Tato látka byla připravena podle popisu v příkladu 2/11 z výchozího 5,6-methylenedioxy derivátu indolu. Výtěžek 20 %.

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ (406); bod tání = rozkládá se při 220 °C; $R_f = 0,63$ (hexan : iPrOH = 97,5 : 2,5).

^1H (CD_3CN) δ = 9,1 – 8,90 (2H, br-s, NH); 7,20 (1H, s, CH aromatická); 7,00 (2H, d, CH aromatická); 6,80 – 6,90 (2H, d, CH aromatická); 6,30 (1H, s, CH aromatická); 5,90 (4H, s, CH_2); 4,30 (1H, t, H1); 3,50 (2H, m, H5); 2,20 (2H, m, CH_2); 1,40 - 1,60 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 407$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,98%; H = 5,42 %; N = 6,89 %; nalezeno: C = 67,90 %; H = 5,50 %; N = 6,82%.

Příklad 2/14

Příprava [di-(2-pyrryl)fenyl]-methanu (ST 1430)

Tato látka byla připravena podle popisu v příkladu 2/4 reakcí pyrrolového derivátu s benzaldehydem. Výtěžek 40 %.

$C_{15}H_{14}N_2$ (222); $R_f = 0,25$ (hexan : AcOEt = 8 : 2); bod tání = rozkládá se při 200 °C.

1H ($CDCl_3$) δ = 7,90 (2H, br-s, NH); 7,30 (5H, m, CH aromatická); 6,70 (2H, m, CH aromatická); 6,20 (2H, s, CH aromatická); 5,90 (2H, s, CH aromatická); 5,50 (1H, s, CH).

MS (IS) $M^+ = 221$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,56%; H = 6,30 %; N = 12,61 %; nalezeno: C = 67,90 %; H = 6,50 %; N = 12,45%.

Příklad 2/15

Příprava di-(5-ethoxykarbonyl-pyrrol-2-yl)-fenylmethanu (ST 1431)

Tato látka byla připravena podle popisu v příkladu 2/14 reakcí pyrrolového derivátu s benzaldehydem. Výtěžek 30 %.

$C_{21}H_{22}N_2O_4$ (366); bod tání = rozkládá se při 200 °C; $R_f = 0,25$ (hexan : AcOEt = 7 : 3).

1H ($CDCl_3$) δ = 9,40 (2H, br-s, NH); 7,30 (5H, m, CH aromatická); 5,90 - 6,80 (4H, t, CH aromatická); 5,50 (1H, s, CH); 4,20 (4H, q, CH_2); 1,30 (6H, t, CH_3).

MS (IS) $M^+ = 365$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 57,37%; H = 6,01%; N = 7,65 %; nalezeno: C = 57,00 %; H = 6,50 %; N = 7,52%.

Příklad 2/16

Příprava 1,1-di-(2-pyrrol)butanu (ST 1432)

Tato látka byla připravena podle popisu v příkladu 2/4 reakcí pyrrolového derivátu s butyraldehydem. Výtěžek 45 %.

$C_{12}H_{16}N_2$ (188); bod tání = rozkládá se při 200 °C; $R_f = 0,32$ (hexan : AcOEt : $NEt_3 = 80 : 19 : 1$).

1H ($CDCl_3$) 7,40 (2H, br-s, NH); 6,60 (2H, s, CH aromatická); 6,20 (2H, s, CH aromatická); 6,10 (2H, s, CH aromatická); 4,00 (1H, t, CH); 2,00 (4H, q, CH_2); 1,30 (3H, m, CH_3).

MS (IS) $M^+ = 187$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 76,59 %; H = 8,51 %; N = 14,89 %; nalezeno: C = 76,44 %; H = 8,50 %; N = 14,38 %.

Příklad 2/17

Příprava kyseliny 4,4-di-(1H-indolyl)-butanové (ST 1961)

282 mg indolu (2,4 mmol) bylo rozpuštěno v 10 ml CH_3OH a 5 ml H_2O ; potom bylo přidáno 102 mg semijantaraldehydu (1 mmol) a 240 mg dysprosium triflátu – $(CF_3SO_3)_3Dy$ – (0,393 mmol). Výsledný roztok byl míchán při 35 °C po dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby byl methanol odstraněn vakuem a zbytek extrahován ethylacetátem (3 x 50 ml). Organické extrakty byly spojeny, promyty malým množstvím vody, vysušeny nad bezvodým Na_2SO_4 , zfiltrvány a zkoncentrováno do sucha. Výsledný produkt byl izolován a chromatograficky přečištěn na koloně SiO_2 s použitím hexanu a isopropylalkoholu s gradientovou elucí od 9 : 1 do 8 : 2.

Bylo získáno 108 mg produktu s výtěžkem 34 %.

$C_{20}H_{18}N_2O_2$ (318,37); bod tání = rozkládá se při $>200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,31$ (hexan : isopropylalkohol = 8 : 2).

^1H (DMSO- D_6) $\delta = 9,18$ (2H, br-s, NH); 7,55 (2H, d, CH aromatická); 7,30 (2H, t, CH aromatická); 7,14 – 6,82 (6H, m, CH aromatická); 5,40 (1H, br-s, COOH); 4,45 (1H, t, CH); 2,58 – 2,39 (2H, m, CH_2); 2,39 – 2,25 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 317$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 75,45 %; H = 5,70 %; N = 8,80 %; nalezeno: C = 75,12 %; H = 5,49 %; N = 8,56 %.

Příklad 2/18

Příprava 4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butanu (ST 1730)

Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 2/4 z výchozích 5,6-methylenedioxyindolu a 2-methoxytetrahydrofuranu. Výtěžek 35 %.

$C_{22}H_{20}N_2O_5$ (392,41); bod tání = rozkládá se při $> 240\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,44$ (hexan : iPrOH = 75 : 25).

^1H (CD_3CN) $\delta = 9,00$ (2H, široký pás, NH); 7,20 (2H, s, CH aromatická); 6,90 (4H, m, CH aromatická); 6,00 (4H, m, CH_2); 4,30 (1H, t, CH); 3,60 (2H, q, CH_2); 2,30 (2H, m, CH_2); 1,60 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 393$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,34 %; H = 5,14 %; N = 7,14 %; nalezeno: C = 67,30 %; H = 5,20 %; N = 7,10 %.

Příklad 2/19

Příprava (R,S)-4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-2-yl, 5,6-methylenedioxy-indol-3-yl) butanu (ST 1731)

Tato sloučenina byla připravena podle popisu v příkladu 2/11 z výchozích 5,6-methylenedioxyindolu a indolu. Výtěžek 15 %.

$C_{22}H_{20}N_2O_5$ (392,41); bod tání = rozkládá se při 205 °C; $R_f = 0,41$ (hexan : iPrOH = 75 : 25).

1H (CD_3CN) $\delta = 9,10$ (1H, široký pás, NH); 8,90 (1H, široký pás, NH); 7,20 (1H, s, CH aromatická); 7,00 (2H, s, CH aromatická); 6,90 – 6,80 (2H, m, CH aromatická); 6,40 (1H, s, CH aromatická); 6,00 (4H, m, CH_2); 4,30 (1H, t, CH); 3,70 (2H, m, CH_2); 2,20 (2H, m, CH_2); 1,60 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 391$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,34 %; H = 5,14 %; N = 7,14 %; nalezeno: C = 67,14 %; H = 5,36 %; N = 7,10 %.

Příklad 2/20

Příprava 1,1-di-(indol-3-yl)-4-hydroxybutanu (ST 1707)

Tato sloučenina byla připravena stejným způsobem jak je to popsáno v příkladu 2/4 z výchozího indolu a 2-methoxytetrahydrofuranu.

$C_{20}H_{20}N_2O$ (304,39); bod tání = 110 – 115 °C; $R_f = 0,26$ (hexan : AcOEt = 1 : 1).

1H (CD_3CN) $\delta = 10,70$ (2H, široký pás, NH); 7,50 (2H, d, CH aromatická); 7,20 (4H, m, CH aromatická); 6,90 (2H, m, CH aromatická); 6,80 (2H, m, CH

aromatická); 4,30 (1H, t, CH); 3,40 (2H, m, CH₂); 2,20 (2H, m, CH₂); 1,40 (2H, m, CH₂);

MS (IS) M⁺ = 303.

Elementární analýza: vypočteno: C = 78,92 %; H = 6,62 %; N = 9,20 %; nalezeno: C = 78,88 %; H = 6,70 %; N = 9,10 %.

Příklad 2/21

Příprava 4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl) butanu (ST 1750)

Tato sloučenina byla izolována z reakční směsi uvedené v příkladu 2/20.

C₂₂H₂₀N₂O₅ (392,41); bod tání = rozkládá se při 250 °C; R_f = 0,60 (hexan : iPrOH = 75 : 25).

¹H (CD₃CN) δ = 9,10 (2H, široký pás, NH); 7,00 – 6,90 (4H, m, CH aromatická); 6,40 (2H, s, CH aromatická); 6,00 (4H, s, CH₂); 4,30 (1H, t, CH); 3,60 (2H, q, CH₂); 2,30 (2H, m, CH₂); 1,60 (2H, m, CH₂).

MS (IS) M⁺ = 391.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,34 %; H = 5,14 %; N = 7,14 %; nalezeno: C = 67,26 %; H = 5,35 %; N = 7,10 %.

Příklad 2/22

Příprava 1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-5-hydroxypentanu

Tato sloučenina byla připravena stejně jako v příkladu 2/4 z výchozího 5-hydroxyindolu.

C₂₁H₂₂N₂O₃ (350,42); bod tání = rozkládá se při >200 °C; R_f = 0,58 (AcOEt).

^1H (CD_3OD) δ = 7,20 – 7,00 (2H, d, CH aromatická); 7,00 – 6,90 (2H, m, CH aromatická); 6,90 – 6,80 (2H, m, CH aromatická); 6,70 – 6,50 (2H, m, CH aromatická); 4,30 – 4,20 (1H, t, CH); 3,60 – 3,40 (2H, t, CH_2); 2,30 – 2,05 (2H, m, CH_2); 1,70 – 1,50 (2H, m, CH_2); 1,50 – 1,40 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 349$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 71,97 %; H = 6,32 %; N = 7,99 %; nalezeno: C = 71,00 %; H = 6,46 %; N = 7,50 %.

Příklad 3

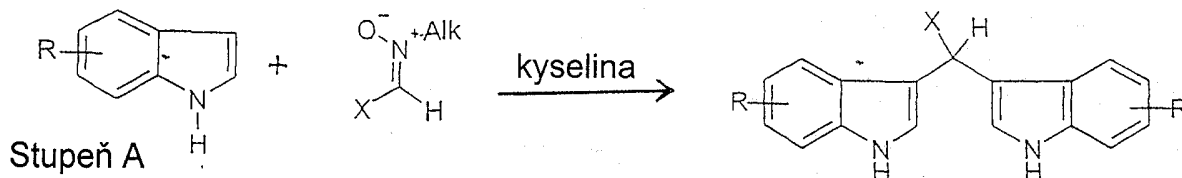
Sloučenina v příkladu 3 byla připravena syntézou podle schématu 3 uvedeného níže, ve kterém je stupeň A proveden podle postupu popsaneho Dondoni, G., et al., Tetrahedron Lett., 33, (29), 4221, 1992; Dondoni, G., et al., Synth. Commun., 24, (18), 2537, 1994.

Schéma 3

Stupeň A



Stupeň B



Příprava derivátu nitronu

Stupeň B

Příprava bis-indolového derivátu

Derivát nitronu ze stupně A byl rozpuštěn v bezvodém rozpouštědle (např. CH_2Cl_2 , AcOEt, THF, dioxan) společně s indolem ve stechiometrickém množství nebo v nadbytku. K takto získanému roztoku byla za laboratorní teploty přidána organická nebo anorganická kyselina (např. HCl, kyselina octová, kyselina trifluoroctová, SnCl_4 , trimethylsilylchlorid). Reakce probíhala až do vymizení indolu nebo derivátu indolu a po přidávání organického rozpouštědla a intenzivním třepání se zalkalizovaným vodným roztokem se odstranila kyselost roztoku. Organický roztok byl po vysušení dehydratačním činidlem zkoncentrován. Tuhý zbytek byl chromatografován na silikagelu k izolaci a přečištění derivátu bis-indolu.

Příklad 3/1

Příprava (2S)-2,3-O-isopropyliden-2,3-dihydroxy-1,1-diindol-3-yl-propanu (ST 1330)

V baňce byl rozpuštěn 2,3-O-isopropylidenglyceraldehyd (1,8 g; 14 mmol) (čerstvě připravený z diisopropylidenového derivátu D-manitolu) a N-benzylhydroxylamin (1,23 g; 10 mmol) ve 20 ml CH_2Cl_2 . V roztoku bylo suspendováno 10 g Na_2SO_4 a ponecháno míchat 16 hodin při okolní teplotě. Po zreagování byl roztok zfiltrován a koncentrován až do získání tuhé látky, která byla potom překrystalizovala z hexanu. Derivát nitronu byl získán jako bílá tuhá látka (2,1 g; výtěžek 89 %).

Část této tuhé látky (1,2 g; 5,11 mmol) bylo v baňce rozpuštěno v bezvodém CH_2Cl_2 (30 ml) s indolem (1,5 g; 12,8 mmol) a k výslednému roztoku bylo za okolní teploty po kapkách přidáváno 20 ml CH_2Cl_2 .

Po 16 hodinách míchání za okolní teploty byla reakční směs zpracovávána jejím rozpouštěním v CH_2Cl_2 (70 ml) a silným protřepáváním s nasyceným roztokem NaHCO_3 . Po rozdělení fází v dělicí nálevce byla organická fáze zkoncentrována k suchu. Získaná tuhá látka byla chromatografována na silikagelu (ethylether : hexan = 1 : 1) za získání (2S)-2,3-O-isopropyliden-2,3-dihydroxy-1,1-diindol-3-yl-propanu (1,59 g; výtěžek 90 %).

$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ (346,4); bod tání = rozkládá se při 100 až 110 °C; $(\alpha)_D = 18,3^\circ$; $R_f = 0,5$ (ethylether : hexan = 1 : 1).

^1H (CDCl_3) $\delta = 8,00$ (2H, s, NH); 7,60 – 7,44 (2H, dd, CH aromatická); 7,26 – 7,24 (2H, dd, CH aromatická); 7,20 – 6,86 (6H, m, CH aromatická); 5,00 – 4,84 (1H, m, CH); 4,64 (1H, d, CH); 4,00 – 3,80 (2H, dd, CH); 1,40 (6H, s, CH_3).

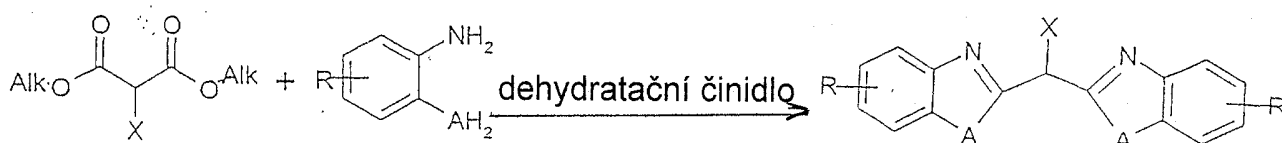
MS (IS) $M^- = 345$.

Elementární analýza: vypočteno (4 % H_2O , 2,3 % AcOEt): C = 74,34 %; H = 6,50 %; N = 7,70 %; nalezeno: C = 74,66 %; H = 6,84 %; N = 7,26 %.

Příklad 4

Sloučeniny v příkladu 4 byly připraveny syntézou podle dále uvedeného schématu 4.

Schéma 4



A=N o S

Příprava derivátů bis-benzimidazolu a bis-benzothiazolu:

Do baňky s dobrým mícháním bylo přidáno dehydratační činidlo (např. kyselina polyfosforečná nebo její estery, thionylchlorid, oxid fosforečný) (1,5 až 20 molů), estery derivátů kyseliny malonové (1 až 2 moly) a 1,2-fenyldiamin nebo jeho deriváty (1 až 4 moly) k získání bis-benzimidazolů nebo 2-thioaminofenyl nebo jeho deriváty (1 až 4 moly) k získání bis-benzthiazolů. Po skončení přidávání všech látek byla směs velmi pomalu zahřívána na 160 až 200 °C a při této teplotě ponechána v bezvodém prostředí a bezkyslíkaté atmosféře dalších 20 až 30 hodin. Po uplynutí této doby byl k ochlazené směsi přidán vodný roztok báze současně s organickým rozpouštědlem nemísitelným s vodou (např. methylenchlorid, ethylacetát, ethylether, tetrahydrofuran). Po úplném rozpuštění byla organická fáze oddělena od vodné fáze a zkoncentrována za získání polotuhého surového produktu.

Všechny výsledné produkty byly izolovány a od nečistot přečištěny na silikagelu přímou chromatografií.

Příklad 4/1

Příprava fenyl-dibenzothiazol-2-yl-methanu (ST 1433)

Do vysušené baňky s argonovou atmosférou bylo dáno 6 g PPA (kyseliny polyfosforečné), 2,54 ml 2-aminothiofenolu (techický 90 %) (23 mmol) a 2,60 ml (11 mmol) diethylfenylmalonátu. Směs se pomalu zahřívala na 140 až 145 °C a potom byla na této teplotě ponechána přibližně 16 hodin až do vymizení aminu.

V dalším postupu byl přidán ethylacetát (300 ml) a nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (200 ml). Organická fáze byla oddělena a vakuově odpařována až do úplného odstranění rozpouštědla. Výsledná tuhá látka byla chromatograficky přečištěna na koloně silikagelu (mobilní fáze hexan : dioxan - gradient až do 8 : 2) za získání 500 mg výsledného produktu (výtěžek 12 %).

$C_{21}H_{14}N_2S_2$ (358,5); bod tání = 178 °C; R_f = 0,41 (hexan : dioxan = 8 : 2).

^1H (DMSO) δ = 7,80 – 7,70 (3H, m, CH aromatická); 7,60 – 7,40 (5H, m, CH aromatická); 7,40 – 7,20 (3H, m, CH aromatická); 7,20 – 7,00 (3H, m, CH aromatická, CH).

MS (IS) M^+ ($-\text{H}_2\text{O}$) = 359.

Elementární analýza: vypočteno: C = 70,36 %; H = 3,73 %; N = 7,81 %; nalezeno: C = 70,10 %; H = 3,85 %; N = 7,49 %.

Příklad 4/2

Do suché baňky s argonovou atmosférou a vybavenou mícháním bylo dáno 3 g PPA společně s 1,165 g (11 mmol) 1,2-fenyldiaminu a 1,153 ml (5,5 mmol) diethyl-propylmalonátu. Po ukončeném přidávání byla reakční směs pomalu zahřívána na 150 až 155 °C a na této teplotě udržována dalších 16 hodin. Po uplynutí této doby byl po ochlazení k reakční směsi přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml) a ethylacetát (150 ml). Po chromatografickém přečištění surového produktu na koloně se silikagelem (mobilní fáze: hexan : THF = 8 : 2) byl získán požadovaný produkt. Výtěžek 10 %.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4$ (290,3); bod tání = rozkládá se při 260 °C; R_f = 0,38 (AcOEt : MeOH = 95 : 0,5).

^1H (DMSO + D_2O) δ = 7,50 – 7,40 (4H, m, CH aromatická); 7,20 – 7,00 (4H, m, CH aromatická); 4,60 – 4,50 (1H, t, CH); 2,40 – 2,20 (2H, m, CH_2); 1,40 – 1,20 (2H, m, CH_2); 1,00 – 0,90 (3H, t, CH_3).

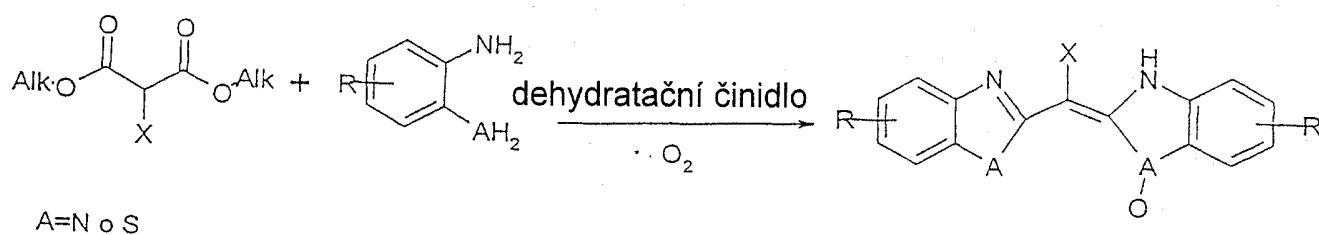
MS (IS) $M^+ = 289$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,45 %; H = 6,24 %; N = 19,29 %;
nalezeno: C = 74,21 %; H = 5,98 %; N = 18,90 %.

Příklad 5

Sloučenina v příkladu 5 byla připravena synteticky podle dále uvedeného schématu 5:

Schéma 5



Příprava derivátů N-oxo bis-benzimidazolu a S-oxo bis-benzothiazolu

Do baňky vybavené dobrým mícháním bylo dáno dehydratační činidlo (např. kyselina polyfosforečná nebo její estery, thionylchlorid, oxid fosforečný) (od 1,5 až do 20 molů), estery derivátů kyseliny malonové (1 až 2 moly) a 1,2-fenyldiamin nebo jeho deriváty (1 až 4 moly) k získání bis-benzimidazolů, nebo 2-thioaminofenyl nebo jeho deriváty (1 až 4 moly) k získání bis-benzthiazolů. Po ukončení přidávání těchto látek se směs velmi pomalu zahřívala na 160 až 200 °C a na této teplotě ponechána po dobu dalších 20 až 30 hodin.

Po uplynutí této doby se k ochlazené směsi přidal zásaditý vodný roztok společně rozpouštědlem nemísitelným s vodou (např. methylenchlorid, ethylacetát, ethylether nebo tetrahydrofuran). Po ukončeném rozpouštění byla organická fáze oddělena a zkoncentrována za získání polotuhého surového reakčního produktu.

Všechny výsledné produkty byly izolovány a ze surového reakčního produktu na silikagelu přečištěny přímou chromatografií.

Příklad 5/1

Příprava (benzthiazol-2-yl, benzthiazol-3-oxid-2-yl)-fenylmethanu (ST 1424)

Do baňky vybavené dobrým mícháním bylo dáno 6 g PPA (kyselina polyfosforečná), 2,54 ml 2-aminothiofenolu (technický 90 %) (23 mmol) a 2,60 ml (11 mmol) diethylfenylmalonátu. Reakční směs byla pomalu zahřívána na 140 až 160 °C a na této teplotě udržována přibližně dalších 16 hodin.

Po uplynutí této doby byl do reakční směsi přidán ethylacetát (300 ml) a intenzivně třepáno s nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (200 ml). Organická fáze byla od vodné fáze oddělena a pod vakuově zkoncentrována. Výsledná tuhá látka byla podrobena prvnímu chromatografickému přečištění na koloně se silikagelem (hexan : dioxan = 8 : 2) a potom druhému přečištění na preparační HPLC koloně s reverzní fází (kolona Hibar, 250 x 25 mm, RP-18; průtok 10 ml.min⁻¹; RT 28 min.; UV detektor 360 nm). Byl získán benzthiazol-2-yl, benzthiazol-3-oxid-2-yl)-fenylmethan s výtěžkem 15 %.

C₂₁H₁₄N₂OS₂ (374,5); bod tání = 152 °C; R_f = 0,33 (hexan : dioxan = 8 : 2).

^1H (DMSO) δ = 8,5 (1H, s, NH); 8,14 – 8,08 (2H, d, CH aromatická); 8,04 – 7,98 (2H, d, CH aromatická); 7,80 – 7,68 (2H, d, CH aromatická); 7,60 – 7,40 (7H, m, CH aromatická).

MS (IS) M^+ ($-\text{H}_2\text{O}$) = 357.

Elementární analýza: vypočteno: C = 67,38 %; H = 3,70 %; N = 7,47 %;
nalezeno: C = 67,39 %; H = 3,80 %; N = 7,39 %.

Příklad 6

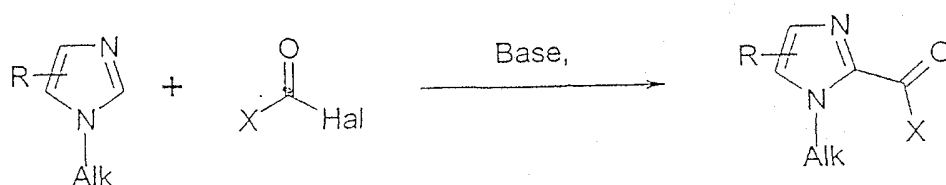
Sloučenina v příkladu 6 byla připravena synteticky podle dále uvedeného schématu 6, kde se stupeň A provádí podle postupu popsaneho Diez-Barra, E., et al., Synth. Commun., 23, (13), 1783, 1993; a stupeň B se provádí podle postupu popsaneho Lasta, H., D.J. Tetrahedron Lett., 31, (41), 5833, 1990.

Schéma 6

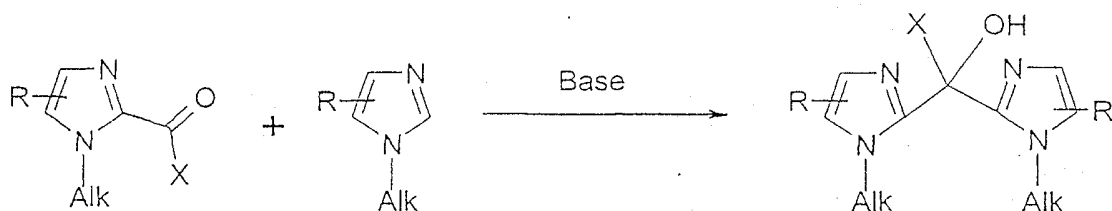
Stupeň A



Stupeň B



Stupeň C



Stupeň A

Příprava N-alkylových derivátů imidazolu

Stupeň B

Příprava N-alkyl-2-alkanoylových nebo N-alkyl-2-aroylevých derivátů N-alkylimidazolu

Stupeň C

Příprava derivátů bis-imidazolu

Jeden mol N-alkylimidazolu (přípraveného podle postupu popsáního Diez-Barra, E., et al., Synth. Commun., 23, (13), 1783, 1993) byl v baňce opatřené mícháním a v inertní atmosféře rozpuštěn ve vysušeném organickém rozpouštědle (např. hexan, ethylether, dioxan nebo tetrahydrofuran). K tomuto roztoku byl při nízké teplotě (od -10 do -70 °C) přidán roztok nebo disoerze bazického činidla (např. butyllithium, hydrid sodný, lithium dialkylamin, amid sodný, t-butyllithium) v molárním poměru nebo mírném nadbytku. Na konci přidávání a po ponechání směsi reagovat ještě dále (od 10 minut do 1 hodiny), byl po kapkách přidáván roztok ketonového derivátu N-alkylimidazolu (vyrobeného podle postupu popsáního Lasta, H., D.J., Tetrahedron Lett., 31, (41), 5833, 1990) ve stechiometrickém nebo nadstechiometrickém množství vzhledem k N-alkylimidazolu (od 1 do 2 mmolů).

Po dalších 30 minutách při původní teplotě byla reakční směs za míchání ponechána ohřát na okolní teplotu (25 až 30 °C) až k úplnému vymizení N-alkylimidazolu. K reakční směsi bylo přidáno organické rozpouštědlo a nasycený roztok chloridu sodného. Po oddělení organického rozpouštědla od vodné fáze byla tato ?vodná? (spíše organická !) fáze vysušena síranem

sodným a zkoncentrována. Výsledný tuhý produkt byl chromatografován na silikagelu, nebo nechán vykrystalizovat, za získání požadovaného produktu.

Příklad 6/1

Příprava fenyl,hydroxy,di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan (ST 1440)

Roztok 0,8 g (5 mmol) N-benzylimidazolu (vyrobeného podle postupu popsaného Diez-Barra, E., et al., Synth.Comm., 23, (13), 1783, 1993) v 10 ml bezvodého THF byl ochlazen na $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Při dosažení této teploty bylo přidáno 3,5 ml (5,6 mmol) roztoku 1,6 M n-butyllithia v hexanu (5,6 mmol). Následně bylo po kapkách přidáváno 1,47 g (5,6 molů) N-benzyl-2-benzoylimidazolu připraveného postupem popsaným Lasta, H., D.J., Tetrahedron Lett., 31, (41), 5833, 1990) před tím rozpuštěného v THF (1,5 ml). Po ukončeném přidávání byla směs přivedena na teplotu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a na této teplotě za míchání udržována po dobu 16 hodin. Po uplynutí této doby byl roztok zředěn 200 ml CH_2Cl_2 a intenzivně protřepáván s nasyceným roztokem NaCl (100 ml). Organická fáze oddělená od vodné fáze byla vysušena nad Na_2SO_4 a zkoncentrována. Získaný surový produkt byl přečištěn krystalizací z ethylacetátu a získán fenyl,hydroxy,di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan s výtěžkem 71,4 %.

$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$ (420,51); bod tání = rozkládá se při $160\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,72$ (AcOEt : $\text{NH}_3 = 98 : 0,2$).

^1H (CDCl_3) δ = 7,30 – 7,10 (12H, m, CH aromatická, OH); 7,00 (2H, s, CH imid); 6,98 – 6,82 (4H, m, CH aromatická); 6,80 (2H; s, CH imid); 5,40 (4H, d, CH_2).

MS (IS) $\text{M}^+ = 421$.

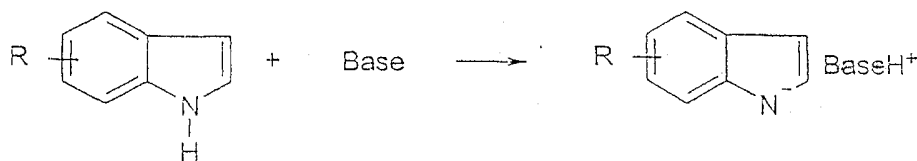
Elementární analýza: vypočteno: C = 77,11 %; H = 5,75%; N = 13,32 %; nalezeno: C = 77,07 %; H = 5,44 %; N = 13,45 %.

Příklad 7

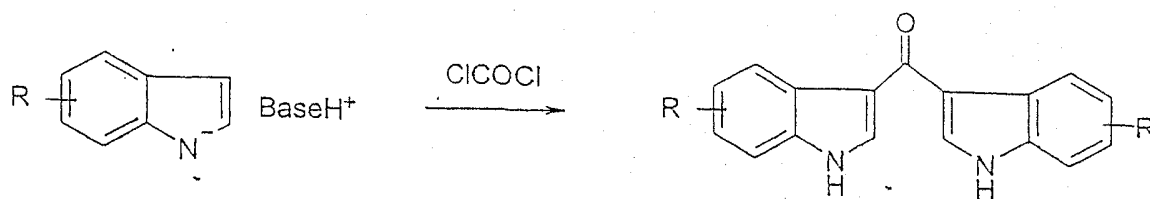
Sloučenina v příkladu 7 byla připravena synteticky podle dále uvedeného schématu 7, kde se stupeň A provádí podle postupu popsání Cornia, M., et al., Tetrahedron: assymetry, 8, (17), 2905, 1997; Casiraghi, G., et al., Tetrahedron, 48, (27), 5619, 1992 a postupu popsání v příkladu 1 ve stupni A.

Schéma 7

Stupeň A



Stupeň B



Stupeň A

Příprava sole indolu a jeho derivátů

Stupeň B

Kondenzační reakce pro přípravu bis-indolu a derivátů bis-indolu

Sůl z reakčního stupně A (1 mol) byla rozpuštěna v bezvodém organickém rozpouštědle (např. hydrochloridová rozpouštědla, dioxan, THF, ethylether) a roztok nalit do studeného roztoku (od -15 do -50 °C) fosgenu (s takovým organickým rozpouštědlem, jako například CH_2Cl_2 , toluen, THF, ethylether). Po 1 hodině byla ponechána teplota vystoupit (na 0 až 50 °C) a roztok při této teplotě ponechán dalších 10 až 24 hodin. Po uplynutí této doby byla reakční směs zfiltrována a kapalina zkoncentrována. Takto získaná tuhá látka byla podrobena chromatografickému přečištění na koloně se silikagelem za získání kondenzačního produktu.

Příklad 7/1

Příprava 1,1-diindol-3-yl-oxomethanu (ST 1463)

Hořčnatá sůl indolu (2,43 g; 11 mmol) (získaná postupem popsáním Casiraghi, G., et al., Tetrahedron, 48, (27), 5619, 1992) byla rozpuštěna ve 12 ml CH_2Cl_2 a potom nalita do roztoku fosgenu ve 20 % toluenu (6,2 ml) a CH_2Cl_2 (10 ml). Reakční směs byla ponechána stát při $+5$ °C 16 hodin. Organická fáze byla od pevné oddělena filtrací a zkoncentrována do sucha. Výsledný tuhý produkt po přečištění na koloně se silikagelem za použití

směsi ethylacetátu s hexanem v poměru 6 : 4 jako mobilní fází poskytnul derivát diindol-oxomethanu jako žlutou tuhou látku. Výtěžek 90 %.

$C_{17}H_{12}N_2O$ (260,29); bod tání = rozkládá se při 300 °C; $R_f = 0,54$ (hexan : ethylacetát = 4 : 6).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 8,36 - 8,24$ (2H, d, CH aromatická); 8,20 (2H, s, CH indol); 7,90 (2H, br, NH); 7,60 – 7,50 (2H, d, CH aromatická); 7,30 – 7,10 (4H, m, CH aromatická).

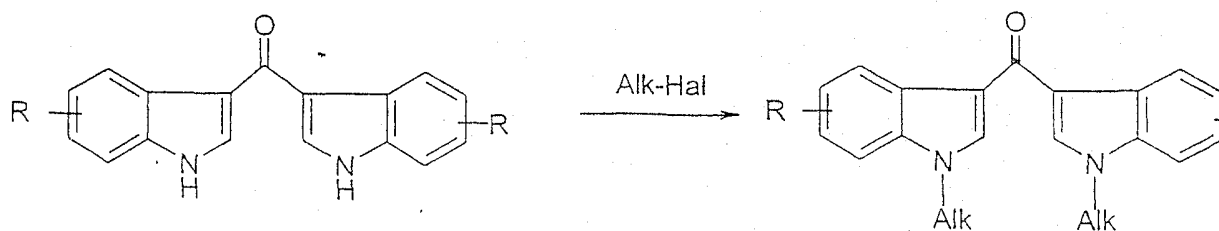
MS (IS) $M^+ = 259$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 77,84 %; H = 5,38%; N = 10,68 %; nalezeno: C = 77,79 %; H = 5,02 %; N = 10,62 %.

Příklad 8

Sloučenina v příkladu 8 byla připravena za použití dále uvedeného schématu syntézy 8 podle postupu popsaného Diez-Barra, E., et al., Synth. Commun., 23, (13), 1783, 1993.

Schéma 8



Hal=Cl, Br

Příklad 8/1

Příprava di-(N-benzyl-indol-3-yl)-oxomethanu (ST 1473)

Sloučenina byla připravena podle postupu popsaného Diez-Barra, E., et al., Synth. Commun., 23, (13), 1783, 1993 z výchozí látky připravené v příkladu 7/1.

Byla získána žlutá tuhá látka. Výtěžek 90 %.

$C_{31}H_{24}N_2O$ (440,54); bod tání = rozkládá se při 305 °C; $R_f = 0,52$ (hexan : ethylacetát = 7 : 3).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 8,50 - 8,48$ (2H, m, CH aromatická); $8,40 - 8,30$ (2H, m, CH aromatická); $7,60 - 7,50$ (2H, m, CH aromatická); $7,42 - 7,20$ (14H, m, CH aromatická, indol); $5,62 - 5,58$ (4H, m, CH_2).

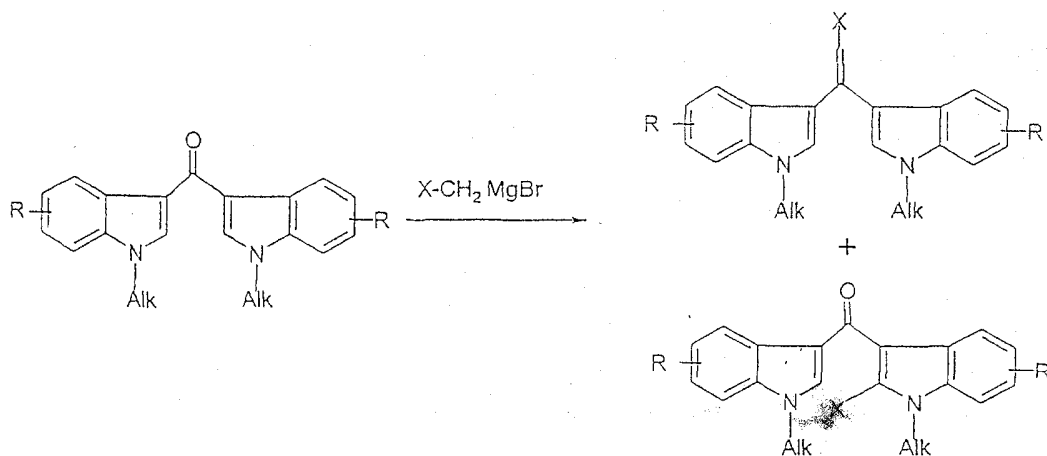
MS (IS) $M^+ = 441$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 84,51 %; H = 5,49%; N = 6,35 %; nalezeno: C = 84,19 %; H = 5,98 %; N = 6,29 %.

Příklad 9

Sloučenina v příkladu 9 byla připravena synteticky podle dále uvedeného schématu 9.

Schéma 9



Alkylace a alkylace s dehydratací oxomethanových derivátů

V bezvodém rozpouštědle (např. THF, dioxan, ethylether) byl rozpuštěn 1 mol derivátu oxomethanu (připraveného podle popisu v příkladu 8/1) a za nízké teploty (od -50 do $+10$ °C) a v nadbytku vzhledem k substrátu (od 2 do 10 molů) přidána sůl (např. fosfoniová sůl lithia, hořčíku, mědi) alkylu, jehož derivát se má připravit. K dokončení reakce byla reakční směs ponechána ohřát na okolní teplotu (22 až 30 °C). Po ukončení reakce byl roztok zkoncentrován vakuovým odpařením rozpouštědla, a takto získaná polotuhá látka zředěna CH_2Cl_2 .

Roztok byl promyt vodou a potom nasyceným roztokem NaCl. Organická fáze byla opět zkoncentrována a výsledná tuhá látka k získání požadovaného produktu přečištěna.

Příklad 9/1

Příprava 1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-1-buteny a di-(N-benzyl-indol-3-yl, N-benzyl-2-propyl-indol-3-yl)-oxomethanu (ST 1492 a ST 1494)

Sloučenina popisovaná v příkladu 2/4 (1 g; 2,3 mmol) byla rozpuštěna v bezvodém THF (13 ml) a výsledný roztok ochlazen na +5 °C. Dále bylo přidáno sedm ml roztoku 2M propylmagneziumchloridu v ethyletheru. Po 1 hodině bylo přidáno 100 ml CH₂Cl₂ a 50 ml vody. Organická fáze byla před jejím zkoncentrováním do sucha promyta 100 ml nasyceného roztoku NaCl. Takto získaný surový reakční produkt byl chromatografován na silikagelu a eluován směsí hexan : ethylacetát v poměru 8 : 2. Takto byly výsledné sloučeniny izolovány a přečištěny ze surového reakčního produktu (výtěžek obou sloučenin 10 %).

(ST 1492) C₃₄H₃₀N₂ (466,63); bod tání = rozkládá se při 240 °C; R_f = 0,31 (hexan : ethylacetát = 9 : 1).

¹H (DMSO-D₆) δ = 7,60 – 6,80 (20H, m, CH aromatická, indol); 6,20 – 6,00 (1H, t, CH); 5,42 (2H, s, CH₂); 5,30 (2H, s, CH₂); 2,24 – 2,18 (2H, q, CH₂); 1,10 – 1,00 (3H, t, CH₃).

MS (IS) M⁺ = 465.

Elementární analýza: vypočteno: C = 87,51 %; H = 6,48%; N = 6,00 %;
nalezeno: C = 87,74 %; H = 6,48 %; N = 5,79 %.

(ST 1494) $C_{34}H_{30}N_2O$ (482,63); bod tání = rozkládá se při 325 °C; $R_f = 0,68$
(hexan : ethylacetát = 7 : 3).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 8,20 - 8,10$ (1H, m, CH aromatická, indol); 8,00 (1H, s, CH); 7,70 – 6,60 (1H, m, CH); 7,40 – 7,00 (16H, m, aromatická, indol); 5,60 (2H, s, CH_2); 5,50 (2H, s, CH_2); 3,00 – 2,90 (2H, q, CH_2); 1,60 – 1,40 (2H, m, CH_2); 0,90 – 0,80 (3H, t, CH_3).

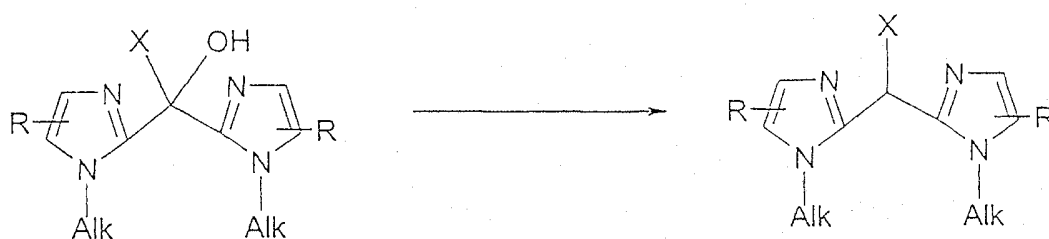
MS (IS) $M^+ = 465$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 84,61 %; H = 6,26%; N = 5,80 %;
nalezeno: C = 84,54 %; H = 6,38 %; N = 5,69 %.

Příklad 10

Sloučenina v příkladu 10 byla připravena synteticky podle dále uvedeného schématu 10.

Schéma 10



Příklad 10/1

Příprava fenyl-di-(1-N-benzyl-imidazol-2-yl)-methanu (ST 1447)

0,84 g (2 mmol) sloučeniny připravené podle popisu v příkladu 6/1 bylo rozpuštěno ve 12 ml HCOOH společně se 2 g uhlíku a výsledná směs byla pod refluxem zahřívána 24 hodin. Po uplynutí této doby byl roztok ochlazen a zředěn 50 ml MeOH, zfiltrován na celitu a potom zkoncentrován k suchu. Výsledný produkt byl od surového reakčního produktu oddělen chromatografií na silikagelu (eluční činidlo hexan a ethylacetát v poměru 7 : 3). Výtěžek 40 %.

$C_{27}H_{24}N_4$ (404,51); bod tání = rozkládá se při $>200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,66$ (hexan : ethylacetát = 7 : 3).

^1H (DMSO- D_6) $\delta = 8,30 - 8,20$ (4H, m, CH aromatická); $7,80 - 7,70$ (2H, m CH aromatická); $7,68 - 7,50$ (4H, m, CH aromatická a imid); $7,40 - 7,20$ (10H, m, CH aromatická, imid a CH); $5,70 - 5,60$ (4H, m, CH_2);

MS (IS) $M^+ = 403$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 80,16 %; H = 5,98 %; N = 13,85 %; nalezeno: C = 80,10 %; H = 5,89 %; N = 13,54 %.

Příklad 11

Sloučeniny v příkladu 11 byly připraveny postupem popsaným Diez-Barra, E., et al., Synth. Commun., 23, (13), 1783, 1993.

Příklad 11/1

Příprava 1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-butanu (ST 1442)

290 mg ST 1385 1,1-di-indol-3-yl-butanu (1 mmol) byl opatrně smísen a vmíchán do kalium tercbutylátu (280 mg) a tetrabutylamoniumbromidu (20 mg). Takto získaná směs byla za okolní teploty míchána ultrazvukem. Potom bylo při 0 °C přidáno 640 mg (5 mmol) benzylochloridu a pokračováno v míchání ultrazvukem za laboratorní teploty po dobu 2 hodin. Po uplynutí této doby bylo na směs působeno H₂O/CHCl₃; chloroformová fáze byla oddělena, promyta malým množstvím vody, vysušena nad Na₂SO₄, zfiltrována a zkoncentrováno do sucha. Výsledný produkt byl izolován a na silikagelu chromatograficky přečištěn, eluován směsí hexanu s ethyletherem v poměru 95 : 5. Získáno bylo 351 mg produktu s výtěžností 78 %.

C₃₄H₃₂N₂ (468); bod tání = rozkládá se při >210 °C; R_f = 0,53 (hexan : ether = 8 : 2).

¹H (CDCl₃) δ = 7,55 (2H, d, CH aromatická); 7,16 – 7,05 (10H, mm CH aromatická); 7,04 – 6,88 (12H, mm, CH aromatická); 5,22 (4H, s, CH₂ aromatická); 4,42 (1H, t, CH); 2,13 (2H, q, CH₂); 1,40 – 1,23 (2H, m, CH₂); 0,98 (3H, t, CH₃).

MS (IS) M⁺ = 467.

Elementární analýza: vypočteno: C = 87,13 %; H = 6,88 %; N = 5,17 %; nalezeno: C = 86,83 %; H = 7,04 %; N = 4,99 %.

Příklad 11/2

Příprava 1,1-di-(N-methyl-indol-3-yl)-butanu (ST 1534)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena za použití přesně stejného postupu, který byl popsán v příkladu 11/1 z výchozího ST 1385 a methyljodidu. Výtěžek 84 %

$C_{22}H_{24}N_2$ (316); bod tání = rozkládá se při $>200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,45$ (hexan : AcOEt = 9 : 1).

^1H (CDCl_3) $\delta = 7,29$ (2H, d, CH aromatická); 7,24 (2H, d, CH aromatická); 7,21 (2H, t, CH aromatická); 7,08 (2H, t, CH aromatická); 6,88 (2H, s, CH aromatická); 4,52 (1H, s, CH); 3,72 (6H, s, CH_3); 2,22 (2H, q, CH_2); 1,56 – 1,39 (2H, m, CH_2); 0,99 (3H, t, CH_3).

MS (IS) $M^+ = 315$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 83,50 %; H = 7,64 %; N = 8,85 %; nalezeno: C = 82,98 %; H = 7,49 %; N = 8,72 %.

Příklad 11/3

Příprava 5,5-bis-(1-methyl-1H-indol-3-yl)-1-pentanolu (ST 1974)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena přesně stejným způsobem, který je popsán v příkladu 11/1 z výchozího ST 1346 a methyljodidu. Výtěžek 75 %.

$C_{23}H_{26}N_2O$ (346,47); $R_f = 0,25$ (hexan : AcOEt = 7 : 3).

^1H (CDCl_3) $\delta = 7,62$ (2H, d, CH aromatická); 7,35 – 7,15 (4H, m, CH + CH aromatická); 7,12 – 6,98 (2H, m, CH aromatická); 6,85 (2H, s, CH aromatická); 4,60 (1H, t, CH); 3,75 (6H, s, N- CH_3); 3,65 (2H, t, CH_2O); 2,35 – 2,16 (2H, m, CH_2); 1,76 – 1,58 (2H, m, CH_2); 1,58 – 1,39 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 345$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 79,73 %; H = 7,56 %; N = 8,08 %; nalezeno: C = 79,61 %; H = 7,49 %; N = 8,01 %.

Příklad 12

Sloučeniny příkladu 12 byly připraveny postupem popsáním Angyal, S. J., Beveridge, R. J., Carbohydr. Res., 65, 229, 1978.

Příklad 12/1

Příprava (2S)-2,3-dihydroxy-1,1-diindol-3-yl-propanu (ST 1331)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla získána s výtěžkem 95 % za použití metody popsané Angyal, S. J., Beveridge, R. J., Carbohydr. Res., 65, 229, 1978 z výchozí sloučeniny připravené podle popisu v příkladu 3/1.

$C_{19}H_{18}N_2O_2$ (306,4); bod tání = rozkládá se při 200 °C; $(\alpha)_D = +38,5^\circ$ (0,5 % CH_3OH); $R_f = 0,5$ (ethylacetát).

1H ($CDCl_3$) $\delta = 8,00$ (2H, br, NH); 7,62 – 7,48 (2H, dd, CH aromatická); 7,26 7,20 (2H, m, CH aromatická); 7,20 – 6,86 (6H, m, CH aromatická); 4,64 (1H, d, CH); 4,60 – 4,20 (1H, d, CH); 3,80 – 3,26 (2H, dd, CH); 1,80 (2H, br, OH).

MS (IS) $M^+ = 305$.

Elementární analýza: vypočteno (4 % H_2O , 2,7 % ethylether): C = 72,03 %; H = 6,60 %; N = 8,81 %; nalezeno: C = 72,51 %; H = 6,47 %; N = 7,75 %.

Příklad 12/2

Příprava 1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-manitolu (ST 1349)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla získána postupem popsaným A ngyal, S. J., Beveridge, R. J., Carbohydr. Res., 65, 229, 1978 z výchozí sloučeniny ze stupně A, příkladu 1. Výtěžek 84 %.

$C_{22}H_{24}N_2O_5$ (396); bod tání = rozkládá se při 60 °C; $(\alpha)_D = -38,6^\circ$ (0,07 % v CH_3OH); $R_f = 0,5$ ($CHCl_3 : CH_3OH = 7 : 3$).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 10,60 - 10,70$ (2H, br-s, NH); 7,50 (2H, t, CH aromatická); 7,25 (2H, d, CH aromatická); 7,13 (2H, s, CH aromatická); 6,90 (2H, m, CH aromatická); 6,80 (2H, m, CH aromatická); 5,00 (1H, br-s, CH); 4,00 – 4,40 (5H, m, OH); 3,30 – 3,60 (6H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 395$.

Elementární analýza: vypočteno (3 % H_2O): C = 65,18 %; H = 6,20 %; N = 6,87 %; nalezeno: C = 65,00 %; H = 6,40 %; N = 6,35 %.

Příklad 13

Sloučeniny v příkladu 13 byly připraveny za použití postupu popsaného Sainbury, M., Hogan, I. T., Synthesis, 4, 872, 1984.

Příklad 13/1

Příprava 1,3-diacetoxy-2,2-(diindol-3-yl)-propanu (ST 1370)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena z výchozí sloučeniny příkladu 2/8 postupem popsáným Sainbury, M., Hogan, I. T., Synthesis, 4, 872, 1984 s dvojnásobným množstvím Ac_2O a AcONa . Výtěžek 70 %.

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ (390,4); bod tání = 183 - 185 °C; R_f = 0,78 (ethylether).

^1H (CDCl_3) δ = 8,10 (2H, s, NH); 7,32 – 7,24 (2H, d, CH aromatická); 7,22 – 7,16 (2H, m, CH aromatická); 7,14 – 7,08 (2H, d, CH aromatická); 7,04 – 6,98 (2H, t, CH aromatická); 6,80 – 6,64 (2H, t, CH aromatická); 4,84 (4H, s, CH_2); 1,90 (6H, s, CH_3).

MS (IS) M^+ = 390.

Elementární analýza: vypočteno: C = 70,75 %; H = 5,68 %; N = 7,17 %; nalezeno: C = 70,50 %; H = 5,35 %; N = 6,83 %.

Příklad 13/2

Příprava 5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentanu (ST 1371)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena z výchozí sloučeniny příkladu 2/4 postupem popsáným Sainbury, M., Hogan, I. T., Synthesis, 4, 872, 1984. Výtěžek 80 %.

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ (360,4); bod tání = rozkládá se při > 200 °C; R_f = 0,42 (ethylether : hexan = 7 : 3).

^1H (CDCl_3) δ = 7,80 (2H, br, NH); 7,62 – 7,48 (2H, dd, CH aromatická); 7,24 – 7,20 (2H, d, CH aromatická); 7,16 – 7,10 (2H, m, CH aromatická); 7,00 – 6,86 (4H, m, CH aromatická); 4,42 – 4,40 (1H, t, CH); 4,00 – 3,84 (2H, t, CH_2); 2,22 – 1,86 (2H, m, CH_2); 1,90 (3H, s, CH_3); 1,80 – 1,60 (2H, m, CH_2); 1,50 – 1,40 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 361$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 76,57 %; H = 6,65 %; N = 7,77 %;
nalezeno: C = 76,27 %; H = 6,78 %; N = 7,25 %.

Příklad 13/3

Příprava 1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukozy (ST 1363)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena z výchozí sloučeniny příkladu 2/10 postupem popsaným Sainbury, M., Hogan, I. T., Synthesis, 4, 872, 1984 s použitím 10 násobného nadbytku Ac_2O a $AcONa$. Výtěžek 70 %.

$C_{32}H_{34}N_2O_{10}$ (606,1); bod tání = 190 °C; $(\alpha)_D = -23,8^\circ$ (0,4 % $CHCl_3$); $R_f = 0,8$ ($CHCl_3$: $CH_3OH = 9 : 1$).

1H ($CDCl_3$) δ = 8,00 (2H, s, NH); 7,70 – 7,60 (2H, m, CH aromatická); 7,30 – 7,05 (4H, m, CH aromatická); 7,04 – 6,90 (4H, m, CH aromatická); 5,80 – 5,70 (1H, t, CH); 5,40 – 5,20 (2H, m, CH); 5,00 (2H, m, CH); 4,00 – 3,80 (2H, m, CH); 2,10 (3H, s, CH_3); 2,00 (3H, s, CH_3); 1,82 (3H, s, CH_3); 1,68 (3H, s, Ac); 1,64 (3H, s, Ac).

MS (IS) $M^+ = 605$.

Elementární analýza: vypočteno (3,4 % H_2O): C = 65,18 %; H = 6,20 %; N = 6,87 %; nalezeno: C = 65,10 %; H = 6,23 %; N = 6,40 %.

Příklad 14

Příprava 1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentanu (ST 1488)

Sloučenina uvedená v nadpise byla získána postupem popsaným Kim, J. H., Yang, M., et al., J. Chem. Soc. Perkin. Trans.,1, (17), 2877 – 2880, 1998 z výchozí sloučeniny popsané v příkladu 2/4. Výtěžek 60 %.

$C_{22}H_{24}N_2O_3S$ (396); bod tání = rozkládá se při $> 200\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f = 0,18$ (Et_2O : hexan = 6 : 4).

^1H (CDCl_3) $\delta = 7,90$ (2H, s, NH); 7,3 - 7,5 (2H, d, CH aromatická); 6,95 – 7,10 (2H, t, CH aromatická); 6,90 (1H, s, CH aromatická); 4,20 (1H, t, CH); 2,80 (3H, s, CH_3S); 1,60 – 2,40 (8H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 395$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 66,66 %; H = 6,06 %; N = 7,07 %; nalezeno: C = 66,54 %; H = 6,24 %; N = 6,98 %.

Příklad 15

Sloučeniny v příkladu 15 byly získány postupem popsaným Tao, M., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 6, (24), 3009, 1996.

Příklad 15/1

Příprava fenyl, hydroxy, di-(imidazol-2-yl)-methanu (ST 1441)

Směs sestávající ze 4,20 g (10 mmol) sloučeniny z příkladu 6/1 a 1 g $\text{Pd}(\text{OH})_2$ ve 200 ml methanolu byla hydrogenována H_2 při tlaku 60 psi. Hydrogenační reakce byla prováděna za okolní teploty po dobu 16 hodin.

Po uplynutí této doby bylo Pd odstraněno filtrací a roztok zkoncentrován; vzniklá tuhá látka byla podrobena přečištění. Výsledný produkt byl izolován a chromatograficky přečištěn na silikagelu (mobilní fáze AcOEt : MeOH = 1 : 1). Výtěžek 98 %.

$C_{13}H_{12}N_4$ (240,26); bod tání = rozkládá se při 200 °C; $R_f = 0,65$ (AcOEt : MeOH : $NH_3 = 90 : 10 : 0,2$).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 12,10 - 11,80$ (2H, široký pás, NH); 7,40 - 7,34 (3H, m, CH aromatická); 7,30 - 7,14 (4H, m, CH imid); 7,20 - 6,8 (4H, m, CH aromatická, OH).

MS (IS) $M^+ = 241$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 64,98 %; H = 5,03 %; N = 23,32 %; nalezeno: C = 64,36 %; H = 5,23 %; N = 23,00 %.

Příklad 15/2

Příprava 1,1-di-(5-amino-indol-3yl)-butanu.2HCl (ST 1437)

250 mg (0,66 mmol) ST 1429, 1,1-di-(5-nitroindol-3yl)-butanu, bylo hydrogenováno za tlaku 15 psi se 100 mg 5 % Pd/c katalyzátorem v roztoku ethanolu v přítomnosti 2 ml 15 % HCl v absolutním ethanolu. Po 4 hodinách byla redukce skončena; roztok byl zfiltrován, zkoncentrován na malý objem a potom byl za míchání přidán aceton. Vysrážený produkt byl odsát vakuem a vysušen. Bylo získáno 216 mg čistého produktu s výtěžkem 84 %.

$C_{20}H_{22}N_4 \cdot 2HCl$ (391); bod tání = rozkládá se při 248 - 243 °C; $R_f = 0,62$ ($CH_3CN : EtOH = 6 : 4$).

1H (DMSO- D_6) $\delta = 11,95$ (2H, br, NH); 10,50 (4H, br, NH_2); 7,55 (2H, s, CH aromatická); 7,50 – 7,25 (3H, m, CH aromatická); 7,10 – 6,90 (2H, m, CH aromatická); 4,35 (1H, t, CH); 2,15 (2H, q, CH_2); 1,40 – 1,15 (2H, m, CH_2); 0,90 (3H, t, CH_3 alifatický).

MS (IS) $M^+ = 319$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 61,38 %; H = 6,18 %; N = 14,31 %; Cl = 18,11 %; nalezeno: C = 61,08 %; H = 6,25 %; N = 14,02 %; Cl = 18,48 %.

Příklad 16

Sloučeniny příkladu 16 byly připraveny za použití postupu popsaného Smith, S.O., et al., J. Org. Chem., 62, (11), 3638, 1997).

Příklad 16/1

Příprava 1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentanu (ST 1381)

Sloučenina z příkladu 2/4 (318 mg; 1 mmol) byla rozpuštěna v CH_2Cl_2 (20 ml). K roztoku udržovanému na teplotě 25 °C byl přidán DAST (200 μ l; 1,5 mmol) a směs ponechána reagovat 30 minut.

Po uplynutí této doby byl k reakční směsi přidán 10 % roztok $NaHCO_3$ (10 ml) a CH_2Cl_2 (10 ml). Organická fáze byla oddělena, vysušena nad Na_2SO_4 a zkoncentrováno k získání tuhé látky. Produkt byl izolován a přečištěn s použitím HPLC kolony s reverzní fází (kolona RP-18, mobilní fáze $CH_3CN : H_2O = 60 : 40$). Výtěžek 15 %.

$C_{21}H_{20}N_2$ (300); bod tání = 206 - 208 °C; R_f = 0,78 (hexan : iPrOH = 9 : 1).

1H (DMSO- D_6) δ = 10,40 – 10,80 (2H, br-s, NH); 7,52 (1H, d, CH aromatická); 7,45 (1H, m, CH aromatická); 7,37 (1H, d, CH aromatická); 7,20 (1H, m, CH aromatická); 7,07 (1H, t, CH); 6,95 (2H, m, CH); 6,68 (1H, s, CH); 4,65 (1H, br-s, CH); 2,75 – 3,00 (2H, m, CH_2); 1,95 – 2,40 (2H, m, CH_2); 1,90 – 1,60 (2H, m, CH_2); 1,70 (2H, m, CH_2).

MS (IS) M^+ = 299.

Elementární analýza: vypočteno: C = 84,00 %; H = 6,66 %; N = 9,33 %; nalezeno: C = 84,19 %; H = 6,50 %; N = 9,03 %.

Příklad 16/2

Příprava (R,S)-5-fluor-1,1-(indol-2-yl, indol-3-yl)-pentanu (ST 1421)

Sloučenina z příkladu 2/12 (318 mg; 1 mmol) byla rozpuštěna v CH_2Cl_2 (20 ml). K roztoku udržovanému na teplotě 25 °C byl přidán DAST (200 μ l; 1,5 mmol) a směs ponechána reagovat 30 minut.

Po uplynutí této doby byl k reakční směsi přidán 10 % roztok $NaHCO_3$ (10 ml) a CH_2Cl_2 (10 ml). Organická fáze byla oddělena, vysušena nad Na_2SO_4 a zkoncentrována k získání tuhé látky. Produkt byl izolován a přečištěn s použitím HPLC kolony s reverzní fází (kolona RP-18, mobilní fáze CH_3CN : H_2O = 60 : 40). Výtěžek 15 %.

$C_{21}H_{21}FN_2$ (320); bod tání = 77 - 81 °C; R_f = 0,44 (hexan : iPrOH = 85 : 15).

1H (CH_3CN) δ = 9,00 – 8,80 (2H, br-s, NH); 7,40 (4H, m, CH aromatická); 7,30 (1H, br-s, CH); 6,95 (4H, m, CH aromatická); 6,60 (1H, s, H3'b); 4,65 (1H, t, CH); 4,50 – 4,75 (2H, t, CH_2); 2,20 (2H, m, CH_2); 1,70 – 1,80 (2H, m, CH_2); 1,40 (2H, m, CH_2).

MS (IS) M^+ = 319.

Elementární analýza: vypočteno: C = 78,75 %; H = 6,56 %; F = 5,93 %; N = 8,75 %; nalezeno: C = 78,85 %; H = 6,70 %; F = 5,90; N = 8,94 %.

Příklad 17

Příprava bis-[1,1-di-(N-karbonyl-indol-3-yl)-butanu] (ST 1533)

580 mg ST 1385 (2 mmol) a 500 mg karbonyl-di-imidazolu (3 mmol) byly rozpuštěny v 10 ml bezvodého dimethylsulfoxidu. Za míchání ponecháno reagovat při 125 °C po dobu 2 hodin. Po uplynutí této doby byla reakční směs ochlazená a pomalu přidáno 200 ml ledové vody. Vysrážený produkt byl odfiltrován, na filtru promyt ledovou vodou a potom překrystalizován z methanolu. Bylo získáno 520 mg sloučeniny uvedené v nadpisu. Výtěžek 82,7 %.

Produkt sestával ze směsi dvou stereoizomerů – jeden se dvěma butyrátovými řetězci v poloze trans (65 %) a druhý v poloze cis (35 %).

$C_{21}H_{14}N_2S_2$ (358,5); bod tání = 178 °C; R_f = 0,41 (hexan : dioxan = 8 : 2).

1H (DMSO- D_6) δ = 7,80 – 7,70 (3H, m, CH aromatická); 7,60 – 7,40 (5H, m, CH aromatická); 7,40 – 7,20 (3H, m, CH aromatická); 7,20 – 7,00 (3H, m, CH aromatická, CH).

MS (IS) M^+ ($-H_2O$) = 359.

Elementární analýza: vypočteno: C = 70,36 %; H = 3,93 %; N = 7,81 %; nalezeno: C = 70,10 %; H = 3,85 %; N = 7,49 %.

Příklad 18

Příprava 3-(5-brom-1-(1H-indol-3-yl)pentyl)-1H-indolu (ST 1880)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena s použitím postupu popsaného Campbell, J. A., et al., J. Org. Chem., 61, (18), 6313 – 6325, (1996) z výchozí ST 1346.

318 mg ST 1346 (1 mmol) byl rozpuštěn ve 20 ml bezvodého CH_2Cl_2 ; roztok byl ochlazen na -5 °C a nejprve bylo pomalu po malých dávkách přidáváno 904 mg trifenylofosfinu (4 mmol) a potom 1,324 tetrabrommethanu (4 mmol). Reakční směs byla ponechána po dobu 42 hodin při -5 °C a potom, po ukončení reakce zkoncentrováno k suchu. Zbytek byl chromatografován na SiO_2 koloně s použitím směsi hexanu a ethylacetátu v poměru 8 : 2 jako elučního činidla. Bylo získáno 297 mg čistého produktu s výtěžkem 78 %.

$C_{21}H_{21}BrN_2$ (381,32); R_f = 0,68 (hexan : AcOEt = 6 : 4).

^1H (CDCl_3) δ = 7,86 (2H, br-s, NH); 7,66 (2H, d, CH aromatická); 7,34 (2H, d, CH aromatická); 7,27 – 7,16 (2H, m, CH aromatická); 7,16 – 7,03 (2H, m, CH aromatická); 6,37 (2H, s, CH aromatická); 4,53 (1H, t, CH); 3,40 (2H, t, CH_2Br); 2,37 – 2,19 (2H, m, CH_2); 2,05 – 1,97 (2H, m, CH_2); 1,71 – 1,49 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 380$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 66,15 %; H = 5,55 %; Br = 20,95; N = 7,35 %; nalezeno: C = 66,28 %; H = 5,51 %; Br = 20,64; N = 7,29 %.

Příklad 19

Příprava 4-(5,5-di-(1H-indol-3-yl)pentyl)-2-morfolinyl-methyletheru (ST 1860)

Sloučenina uvedená v nadpisu byla připravena s použitím postupu popsaného Dutta, A.K., et al., J. Med. Chem., 39, (3), 749 – 756, 1996 z výchozí sloučeniny ST 1880 a 2-methoxymorfolinu připraveného podle popisu Cavaraghi, G., et al., J. Heterocycl. Chem., 18, 825, 1981.

381 mg ST 1880 (1 mmol), 234 mg 2-methoxymorfolinu (2 mmol) a 690 mg K_2CO_3 (5 mmol) jemně rozetřených bylo opatrně míseno s 5 ml bezvodého DMA a za míchání zahříváno na 80 °C po dobu 5 hodin. Po uplynutí této doby bylo přidáno 30 ml H_2O a extrahováno ethylacetátem (3 x 50 ml). Organické fáze byly spojeny, promyty malým množstvím vody, vysušeny nad bezvodým Na_2SO_4 a zkoncentrováno do sucha. Zbytek byl přečištěn na

chromatografické koloně SiO_2 s elučním gradientem hexan : ethylacetát od 7 : 3 do 4 : 6. Bylo získáno 160 mg produktu (výtěžek 38 %).

$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2$ (417,55); $R_f = 0,19$ (hexan : AcOEt = 6 : 4).

^1H (CDCl_3) δ = 7,93 (2H, br-s, NH); 7,55 (2H, d, CH aromatická); 7,32 (2H, d, CH aromatická); 7,19 – 7,07 (2H, m, CH aromatická); 7,06 – 6,93 (4H, m, 2 CH aromatická); 4,60 (1H, t, CH morf.); 4,45 (1H, t, CH geminální); 4,02 – 3,89 (1H, m, CH morf.); 3,72 – 3,58 (1H, m, CH morf.); 3,42 (3H, s, CH_3); 2,52 – 2,43 (2H, m, CH_2); 2,42 – 2,28 (2H, m, CH_2 morf.); 2,28 – 2,15 (2H, m, CH_2); 1,82 – 1,47 (4H, m, CH_2 e CH_2 morf.); 1,47 – 1,35 (2H, m, CH_2).

MS (IS) $M^+ = 416$.

Elementární analýza: vypočteno: C = 74,79 %; H = 7,48 %; N = 10,06 %; nalezeno: C = 74,98 %; H = 7,36 %; N = 9,93 %.

Příklad 20

Zkouška cytotoxicity na citlivé linie nádorových buněk

Tato zkouška byla použita k hodnocení přežívání lidských buněčných linií MCF-7 (lidský karcinom prsu), LoVo (lidský střevní adenokarcinom) a MES-SA (lidský děložní sarkom). Nádorové buňky byly po dobu 24 hodin inkubovány se sloučeninou v odstupňovaných koncentracích (500 μM až 0,97 μM); potom byla sloučenina odstraněna a hodnoceno přežití buněk po 48 hodinách za použití zkoušky se sulforodaminem B (J. Natl. Cancer Inst., 82, 1107 – 1112. Antiproliferační aktivita sloučenin byla hodnocena jako

IC₅₀ (koncentrace látky, která inhibuje přežití 50 % buněk) a vyhodnocena programem pro prokládání bodů regresní křivkou (Am. J. Physiol., 235, E97 – E102, 1978) a vyjádřena jako $\mu\text{M} \pm \text{std. odch.}$.

Zkoušené sloučeniny a získané výsledky jsou uvedeny v dále uvedených tabulkách 1, 2 a 3.

Tabulka 1

(Antiproliferační účinky na buněčné linie MCF-7)

ST ^(a)	zkoušená sloučenina ^(b)	MCF-7 ^(c)
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	25±2,8
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	27,7±4,2
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	28,5±6
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	27±3,2
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	5,9±0,8
1421	(R,S)-5-fluor-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-pentan	20,4±2,8
1422	5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-pentan	43,1±1,2
1429	1,1-di-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	10,4±0,3
1431	di-(5-ethoxykarbonyl-pyrrol-2-yl)fenyl-methan	20,3±1,4
1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan	8,3±1,2
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	28,1±0,9
1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	17±2,9
1477	1,1-di-(5-acetamido-indol-3-yl)-butan	33,1±2,9
1478	1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	11,8±0,4
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	29,9±0,006
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	13,4±2,2
1625	(R,S)-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-butan	13,4±1
1730	4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	24,5±3,7
1731	(R,S)-4-hydroxy-1,1-(5,6-methylendioxy-indol-2-yl, 5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	30,1±4

^(a) identifikační kód zkoušené sloučeniny^(b) chemický název zkoušené sloučeniny^(c) hodnota antiproliferačních účinků vyjádřená jako IC₅₀ (μM ± std. odch.)

Tabulka 2

(Antiproliferační účinky na buněčné linie Mes-Sa)

ST ^(a)	zkoušená sloučenina ^(b)	Mes-Sa ^(c)
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	33,6±5,9
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	nestanoveno
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	40,2±4,1
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	19,5±4,0
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	5,7±0,1
1421	(R,S)-5-fluor-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-pentan	nestanoveno
1422	5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentan	79,3±7,8
1429	1,1-di-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	15±2,5
1431	di-(5-ethoxykarbonyl-pyrrol-2-yl)fenyl-methan	nestanoveno
1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan	4,4±0,06
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	21,8±4,4
1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	4,7±0,4
1477	1,1-di-(5-acetamido-indol-3-yl)-butan	28,7±0,2
1478	1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butan	17±2
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	38,7±0,03
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	15,8±1,8
1625	(R,S)-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-butan	14,1±3,8
1730	4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butan	nestanoveno
1731	(R,S)-4-hydroxy-1,1-(5,6-methylenedioxy-indol-2-yl, 5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butan	nestanoveno

^(a) identifikační kód zkoušené sloučeniny^(b) chemický název zkoušené sloučeniny^(c) hodnota antiproliferačních účinků vyjádřená jako IC₅₀ (μM ± std. odch.)

Tabulka 3

(Antiproliferační účinky na buněčné linie Mes-Sa)

ST ^(a)	zkoušená sloučenina ^(b)	LoVo ^(c)
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	31,3±1,6
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	33±3
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	33,5±3,7
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	26,4±0,4
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	3,0±0,5
1421	(R,S)-5-fluor-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-pentan	20,7±0,7
1422	5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-pentan	23±4,4
1429	1,1-di-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	23,6±0,5
1431	di-(5-ethoxykarbonyl-pyrrol-2-yl)fenyl-methan	35,6±0,5
1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan	16,7±3,4
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	20±0,8
1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	11,7±0,2
1477	1,1-di-(5-acetamido-indol-3-yl)-butan	59,4±6,9
1478	1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	15,4±1,8
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	24,9±0,1
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	11±1,6
1625	(R,S)-1,1-(indol-2-yl,indol-3-yl)-butan	17,1±3,8
1730	4-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	9,3±0,9
1731	(R,S)-4-hydroxy-1,1-(5,6-methylendioxy-indol-2-yl, 5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	23,9±0,7

^(a) identifikační kód zkoušené sloučeniny^(b) chemický název zkoušené sloučeniny^(c) hodnota antiproliferačních účinků vyjádřená jako IC₅₀ (μM ± std. odch.)

Příklad 21

Zkouška cytotoxicity na rezistentních nádorových buněčných liniích

Tato zkouška byla použita k hodnocení přežívání lidských buněčných linií odolných vůči doxorubicinu (asi 100 násobně) a křížově rezistentních vůči daunorubicinu, actinomycinu D, mitoxantronu, vincristinu, vinblastinu, taxolu, kolchicinu a etoposidu.

Byly použity tyto buněčné linie: MCF-7-Dx (lidský karcinom prsu), LoVo-Dx (lidský střevní adenokarcinom) a MES-SA (lidský děložní sarkom).

Zkoušené sloučeniny jsou uvedeny v tabulkách 4, 5 a 6. Před použitím zkoušených sloučenin pro asociaci s doxorubicinem byla cytotoxicita buněk hodnocena se zkoušenými sloučeninami (samotnými) takto: buňky byly inkubovány se sloučeninou v odstupňovaných koncentracích (500 μM až 0,97 μM) po dobu 24 hodin; potom byly sloučeniny odstraněny a přežití buněk hodnoceno po 48 hodinách výše uvedenou zkouškou se sulforodaminem B. Antiproliferační účinky sloučenin byly hodnoceny jako IC_{50} (koncentrace sloučeniny, která inhibuje přežití 50 % buněk) výše uvedeným programem pro prokládání bodů regresní křivkou.

Potom byly vyneseny křivky pro doxorubicin samotný a pro doxorubicin v přítomnosti zkoušené sloučeniny při netoxické koncentraci ($\text{IC} \leq 20$).

Hodnoty IC_{50} uvedené v tabulce 4, 5 a 6 ukazují stupeň potenciace účinků doxorubicinu vyvolaný sloučeninami (poměr MDR).

Tabulka 4

(Chemosensitivizující účinky buněčných linií MCF-7 Dx)

ST ^(d)	zkoušená sloučenina ^(e)	MCF-7 Dx ^(f)	
		IC_{50} (μ M)	poměr MDR
1339	2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	98,2 $\pm$ 12	3,2/1,0=3,2*** (IC0=20); 3,6/1,6=2,2*** (IC0=10)
1350	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-glukoza	70,8 $\pm$ 3,7	6,6/1,6=4,1*** (IC2=50); 7,2/3,6=2,0** (IC0=25)
1353	1,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-7-azaindol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	>500	6,5/1,0=6,5*** (IC17=500)
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	65,4 $\pm$	5,8/1,9=3** (IC6=20)
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	74,1 $\pm$ 2,5	11,1/2,6=4,3*** (IC0=30) 5,5/2,5=2,2**** (IC5=40)
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	40,2 $\pm$ 3	6,1/3,6=1,7* (IC4=10) 7,4/1,9=3,8*** (IC9=20)
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	34,6 $\pm$ 2,0	3,9/1,9=2,0** (IC2=20) 4,4/4,3=1,0 (IC0=10)
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	9,2 $\pm$ 0,4	5,3/4,5=1,1 (IC0=4) 6,1/4,6=1,3 (IC0=2)

Tabulka 4 (pokračování)

1422	5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentan	40,1±1,2	7,8/4,6=1,7 (IC3=20) 3,3/3,2=1 (IC7=10)
1429	1,1-di-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	12,9±0,7	nestanoveno
1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan dihydrochlorid	28,6±5,5 18,4±1,4	nestanoveno
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	41,8±5,3	10,7/3,5=3* (IC1=20)
1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	29,7±2,6	14,2/5,6=2,5 (IC8=10) 1,8/1,3=1,4 (IC8 = 5)
1473	di-(N-benzyl-indol-3-yl)-oxomethan	>500	3,4/1,1=3,2* (IC19=50)
1478	1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butan	15,2±1,9	9,4/4,5=2,1* (IC0=2)
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	15,3±1	nestanoveno
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	9,7±1,3	7,1/1,2=5,7** (IC0=4) 2,6/4=0,65 (IC0=4)
1492	1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-1-buten	>500 117±7	8/0,8=9,6**** (IC5=50) 1,5/0,51=3*** (IC0=10) 2,4/0,3=7,1*** (IC0=5)
1494	di-(N-benzyl-indol-3-yl,N-benzyl-2-propyl-indol-3-yl)-oxomethan	>200	2,1/0,17=12,2*** (IC10=50) 0,9/0,28=3,1* (IC8=5) 1,2/0,37=3,3** (IC3=10)

(d) identifikační číslo sloučeniny

(e) chemický název zkoušené sloučeniny

(f) hodnota chemisensitivizujících účinků vyjádřená jako poměr MDR vypočítaný takto: $IC_{50} \text{ doxorubicin} / IC_{50} \text{ doxorubicin kombinovaný se zkoušenou sloučeninou v subtoxických koncentracích}$.

$P < 0,05$, $**P < 0,01$, $***P < 0,001$, $****P < 0,0001$ jsou hodnoty P vypočítané programem pro prokládání bodů regresní křivkou popsany výše sloužící k porovnání křivek doxorubicinu v přítomnosti a nepřítomnosti zkoušené sloučeniny.

Hodnoty v závorkách uvádějí subtoxické koncentrace produktu použitého pro výpočet poměru MDR v μM .

Levý sloupec uvádí hodnoty IC_{50} pro samotnou zkoušenou sloučeninu vyjádřené v $\mu\text{M} \pm \text{std. odch.}$; při zpracování IC_{50} jsou vyhodnoceny také údaje subtoxických koncentrací $\text{IC} \leq 20$ zkoušených sloučenin.

Tabulka 5

(Chemosensitivizující účinky na buněčné linie Mes-Sa Dx)

ST ^(d)	zkoušená sloučenina ^(e)	Mes-SA Dx ^(f)	
		IC_{50} (μM)	poměr MDR
1339	2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	$56,1 \pm 11$	nestanoveno
1350	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-glukoza	$81,4 \pm 8,0$	$2,4/1,4=1,7^*$ ($\text{IC}_{50}=50$)
1353	2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-7-azaindol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	nestanoven o	nestanoveno
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	nestanoven o	nestanoveno
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	$53 \pm 0,4$	nestanoveno
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	$12,45 \pm 0,3$	$0,7/0,9=0,82$ ($\text{IC}_{20}=5$)
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	$33,6 \pm 2,9$	nestanoveno
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	$7,5 \pm 0,3$	$3,03/2,2=1,4^*$ ($\text{IC}_7=3$)
1422	5-hydroxy-1,1-di(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentan	$73,3 \pm 2,7$	$1,8/1,8=1$ ($\text{IC}_3=15$)
1429	1,1-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	$15,3 \pm 0,4$	$3,4/0,8=4,3^{***}$ ($\text{IC}_0=10$)

Tabulka 5 (pokračování)

1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan dihydrochlorid	12,2±0,8	2,8/2,4=1,2 (IC ₅ =5) 3,2/2,4=1,3 (IC ₅ =2,5)
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	35,6±1,7	2,6/2,2=1,2 (IC ₂₀ =20) 2,1/3,2=0,7 (IC ₀ =10)
1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	14,9±2,5	6/2,2=2,8** (IC ₈ =5)
1473	di-(N-benzyl-indol-3-yl)-oxomethan	>500	nestanoveno
1478	1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-butan	7,8±1,5	1,2/1,5=0,8 (IC ₃ =2)
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	16±3,5	1,3/1,6=0,8 (IC ₁₁ =4)
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	10,3±1,9	0,95/0,72=1,3 (IC ₁₅ =5)
1492	1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-1-buten	178,3±41	nestanoveno
1494	di-(N-benzyl-indol-3-yl,N-benzyl-2-propyl-indol-3-yl)-oxomethan	>200	nestanoveno

(d) identifikační číslo sloučeniny

(e) chemický název zkoušené sloučeniny

(f) hodnota chemisensitivizujících účinků vyjádřená jako poměr MDR vypočítaný takto: $IC_{50} \text{ doxorubicin} / IC_{50} \text{ doxorubicin kombinovaný se zkoušenou sloučeninou}$ v subtoxických koncentracích.

$P < 0,05$, $**P < 0,01$, $***P < 0,001$, $****P < 0,0001$ jsou hodnoty P vypočítané programem pro prokládání bodů regresní křivkou popsany výše sloužící k porovnání křivek doxorubicinu v přítomnosti a nepřítomnosti zkoušené sloučeniny.

Hodnoty v závorkách uvádějí subtoxické koncentrace produktu použitého pro výpočet poměru MDR v μM .

Levý sloupec uvádí hodnoty IC_{50} pro zkoušenou sloučeninu samotnou vyjádřené v $\mu\text{M} \pm \text{std. odch.}$; při zpracování IC_{50} jsou vyhodnoceny také údaje subtoxických koncentrací $IC \leq 20$ zkoušených sloučenin.

Tabulka 6

(Chemosensitivizující účinky na buněčné linie LoVoDx)

ST ^(d)	zkoušená sloučenina ^(e)	LoVo Dx ^(f)	
		IC ₅₀ (μM)	poměr MDR
1339	2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	11±0,6	3,8/1,4=2,8*** (IC9=4) 3,5/1,8=2** (IC15=8)
1350	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-D-glukoza	>500	nestanoveno
1353	2,3-5,6-di-O-isopropyliden-1,1-di-7-azaindol-3-yl-1-deoxy-D-manitol	367±82	nestanoveno
1363	1,1-di-indol-3-yl-1-deoxy-pentaacetyl-D-glukoza	121±12	nestanoveno
1371	5-acetoxy-1,1-diindol-3-yl-pentan	47,9±4,7	1,93/1,95=0,98 (IC0=15)
1382	1,1-(diindol-3-yl)-5-fluor-pentan	34,3±6,9	2,2/2,6=0,9 (IC16=20) 3,4/5,4=0,6 (IC0=10)
1385	1,1-di-(indol-3-yl)-butan	17,6±0,9	2,7/1,4=1,9 (IC14=10) 1,4/2,8=0,5 (IC31=5)
1393	1,1-di-(5-hydroxy-indol-3-yl)-butan	2,7±0,4	3,4/1,75=1,95 (IC7=0,5)
1422	5-hydroxy-1,1-di(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentan	22,3±2,9	1,8/2,1=0,9 (IC11=15) 4,2/1,7=2,4 (IC0=7,5)
1429	1,1-(5-nitro-indol-3-yl)-butan	10,2±0,5	2,6/1,2=2,1* (IC0=5) 2,4/2,2=1,1 (IC14=2,5)
1437	1,1-di-(5-amino-indol-3-yl)-butan dihydrochlorid	8±0,6	4,7/4,1=1,2 (IC14=2)
1438	1,1-di-(5-fluor-indol-3-yl)-butan	25,9±3,1	5/9,2=0,5 (IC0=10)

Tabulka 6 (pokračování)

1440	fenyl, hydroxy, di-(N,N-dibenzyl-imidazol-2-yl)-methan	4,6±0,6	5,6/14,9=0,4 (IC0=2)
1473	di-(N-benzyl-indol-3-yl)-oxomethan	8,6±2,9	3,7/1,2=3,1 (IC0=0,5)
1478	1,1-di-(5,6-methylendioxy-indol-3-yl)-butan	10,7±0,6	2,3/2,8=0,8 (IC19=4)
1487	1,1-di-(indol-3-yl)-cyklohexylmethan	27,8±2,1	2,2/1,3=1,7* (IC0=2)
1488	1,1-di-(indol-3-yl)-5-mesyloxy-pentan	18,1±0,6	3,8/3,2=1,2 (IC15=3,5)
1492	1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-1-buten	>350	1,8/0,4=4,4*** (IC9=50) 1,82/0,49=3,7** (IC2=25)
1494	di-(N-benzyl-indol-3-yl,N-benzyl-2-propyl-indol-3-yl)-oxomethan	>200	2,2/0,12=18*** (IC5=50)

(d) identifikační číslo sloučeniny

(e) chemický název zkoušené sloučeniny

(f) hodnota chemisensitivizujících účinků vyjádřená jako poměr MDR vypočítaný takto: $IC_{50} \text{ doxorubicin} / IC_{50} \text{ doxorubicin kombinovaný se zkoušenou sloučeninou}$ v subtoxických koncentracích.

$P < 0,05$, $**P < 0,01$, $***P < 0,001$, $****P < 0,0001$ jsou hodnoty P vypočítané programem pro prokládání bodů regresní křivkou popsany výše sloužící k porovnání křivek doxorubicinu v přítomnosti a nepřítomnosti zkoušené sloučeniny.

Hodnoty v závorkách uvádějí subtoxické koncentrace produktu použitého pro výpočet poměru MDR v μM .

Levý sloupec uvádí hodnoty IC_{50} pro samotnou zkoušenou sloučeninu vyjádřené v $\mu\text{M} \pm \text{std. odch.}$; při zpracování IC_{50} jsou vyhodnoceny také údaje subtoxických koncentrací $IC \leq 20$ zkoušených sloučenin.

Příklad 22

Chemosensitivizující účinek na kyselinu trans-retinovou (ATRA) působící na akutní promyelocytické leukemické buňky

ATRA je potentní induktor terminální diferenciace u akutní promyelocytické leukemie (APL).

Klinické studie prokázaly, že léčba APL pacientů pomocí ATRA působí zvýšení počtu přežití a přežití bez dalších příhod (EFS) (Blood, 72, (2), 567 – 572, 1988; Blood, 76, 1704 – 1709, 1990; N. Engl. J. Med., 324, (20), 1385 – 1393, 1991; Blood, 78, (6), 1413 – 1419, 1991).

Podávání terapeutických dávek ATRA (10^{-6} M) vyvolává u léčených pacientů dermatotoxický a hepatotoxický typ reakcí (syndrom ATRA) (Blood, 76, 260a, (abstr. Suppl.), 1990; Ann. Intern. Med., 117, (4), 292 - 296, 1992).

Za tím účelem byly provedeny pokusy k ověření možnosti použití ATRA v nižších dávkách, aby se omezily vedlejší účinky způsobené touto sloučeninou a aby se udržela stejná terapeutická účinnost.

K dosažení tohoto cíle bylo použito mnoho sloučenin podle zde popisovaného vynálezu a na mnoha liniích leukemických buněk byla studována jejich schopnost zlepšit citlivost ATRA a potencovat její antiproliferační a diferenciační a apoptogenní účinky.

V provedených pokusech dále uváděných byly použity dvě buněčné linie APL.

První použitou linií byla buněčná linie NB4 nesoucí t(15;17) chromozomální translokaci, která generuje fuzovaný protein PML/RAR α . Tato linie je velmi citlivá na diferenciační působení farmakologických dávek ATRA (10^{-7} – 10^{-6} M).

Druhou použitou linií byla buněčná linie HL60, která reaguje na ATRA (ale je méně citlivá než buněčná linie NB4). Tato buněčná linie nemá výše zmíněnou chromozomální translokaci.

Buňky HL60 a NB4 byly naočkovány v ředění 150000 buněk na ml na medium RPMI 1640 obsahující 10 % fetální telecí sérum, a na ně bylo potmě působeno zkoušenými sloučeninami v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA (5 až 10 nM u NB4 a 0,5 μ M u HL60) a potom byly navraceny do inkubátoru na 3 dny bez výměny kultivačního media.

Maximální diferenciační účinek vyvolaný ATRA je normálně pozorován ve 3. až 4. dnu působení a je doprovázený značným blokováním růstu.

Na kontrolní kultury bylo působeno DMSO ve stejných koncentracích, jaké byly použity k ředění zkoušených sloučenin a ATRA, kde toto vehikulum působí za určitých pokusných podmínek diferenciačně samo.

Hodnocení diferenciace buněk zkouškou redukce nitrotetrazoliové modře (NTB)

K analýze diferenciačního účinku zkoušených sloučenin vzhledem k ATRA bylo z každého vzorku třetí den odebráno 500 000 životaschopných buněk, ty 10 minut centrifugovány při 1000 l.min^{-1} a resuspendovány v 1 ml media RPMI 1640 obsahujícího 10 % fetální telecí sérum, 1 mg.ml^{-1} nitrotetrazoliové modři (NTB) a 100 ng PMA (phorbol 12-myristát 13-acetát).

Takto resuspendované buňky byly inkubovány potmě při 37°C po dobu 60 minut.

Po uplynutí inkubační doby byla buněčná suspenze 10 minut centrifugována při 10000 l.min^{-1} ; získaný sediment byl potom resuspendován v 1 ml PBS obsahujícím 10 % Triton X-100 a lyzován ultrazvukem.

Spektrofotometrické měření vzorků bylo provedeno při vlnové délce 540 nm: barva vzorků obsahujících diferencované buňky se posunula k fialové oblasti, zatímco kontrolní vzorky a/nebo vzorky s nediferencovanými buňkami byly bezbarvé, nebo mnohem méně intenzivně zabarvené.

Analýza buněčného cyklu průtokovou cytometrií

K posouzení účinku zkoušených sloučenin na různé fáze buněčného cyklu bylo v třetím dni pokusu odebráno 500 000 buněk, ty byly 10 minut centrifugovány při 1000 l.min^{-1} , dvakrát promyty PBS w/o (PBS bez vápníku a hořčíku) a fixovány v roztoku 50 % PBS w/o + 50 % směsi methanolu s acetonem (1 : 4 obj./obj.) alespoň 1 hodinu; potom byly buňky

centrifugovány stejným způsobem, jak to je popsáno, promyty PBS w/o a opět zcentrifugovány.

Potom bylo k buněčnému sedimentu přidáno 200 μ l propidium jodidu ($100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) a 200 μ l RNasy ($150 \text{ kJ} \cdot \text{mg}^{-1}$).

Po 30 minutové inkubaci v temnu při laboratorní teplotě byly vzorky analyzovány průtokovou cytofluorimetrií.

Příklad 22/1

Diferenciace buněk NB4, na které se působilo 5-hydroxy-1,1-di-(indol-3-yl)-pentanem (ST 1346) v kombinaci se suboptimálními dávkami ATRA

U pokusů in vitro provedených s buňkami NB4 podrobených jednoduchému nebo kombinovanému působení ST 1346 dávkami 1, 5, 10 a 50 μM a ATRA ($0,5 - 0,01 \mu\text{M}$) se ukazuje, že zkoušená sloučenina (ST 1346) je schopná podstatně zcitlivět ATRA (podávanou v suboptimálních dávkách) při vyvolání terminální diferenciace, s dosažením maximálního účinku již v dávce 10 μM .

Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 1 a ukazují, že kombinované působení vede k hodnotám AC_{50} $1,5 \pm 0,5 \mu\text{M}$; (sdružená indukce: 3,0).

AC_{50} (aktivační koncentrace) je koncentrace, při které zkoušené sloučeniny vyvolají 50 % diferenciaci buněk.

Sdružená (fold) indukce je vzrůst hodnoty diferenciace vzorku buněk, na který se působilo zkoušenou sloučeninou + ATRA, vzhledem k hodnotě vzorku buněk, na který se působilo samotnou ATRA. Tato hodnota podává

informaci o schopnosti (potenci) zkoušené sloučeniny zvýšit diferenciaci buněk vyvolanou ATRA.

Příklad 22/2

Hodnocení účinku ST 1346 na buněčný cyklus buněčné linie NB4 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

Byly hodnoceny účinky jednoduchého nebo kombinovaného působení ST 1346 na buněčný cyklus NB4 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μM a ATRA v suboptimálních dávkách.

Získané výsledky ukazují, že vysoké dávky zkoušených sloučenin samotných vyvolávají blokování růstu (ve fázi G0/G1 buněčného cyklu) a apoptozu, zatímco kombinace sloučeniny podle vynálezu a ATRA způsobí dramatické blokování růstu (v závislosti na dávce) fáze G0/G1 cyklu s vyvoláním buněčné diferenciaci (obrázek 1).

Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 7.

Je nutno poznamenat, že pokud se sloučenina podle vynálezu zde popisovaného podává v kombinaci s ATRA, a to i v nejvyšších dávkách, ztrácí svůj apoptogenní účinek.

Tabulka 7

(Chemosensitivizující účinky ST 1346 na ATRA v buněčném cyklu NB4)

Látka	G0/G1	G2/M	S	apoptosa
kontrolní	46,2	12,3	41,5	18,5
ST 1346 1 μ M	46,9	15,7	37,4	23
ST 1346 5 μ M	47,4	13,8	38,8	24
ST 1346 10 μ M	50,0	14,7	35,3	23
ST 1346 50 μ M	59,4	7,3	33,3	46
ATRA 0,01 μ M	54,6	14,4	31,0	10
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 1 μ M	61,5	12,9	25,6	14
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 5 μ M	58,0	13,5	28,5	13,5
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 10 μ M	60,0	12,6	27,4	13
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 50 μ M	84,2	6,3	9,5	17

Příklad 22/3

Účinek ST 1346 na vyvolání terminální diferenciace buněk HL60 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byl hodnocen účinek sloučeniny podle vynálezu na vyvolání terminální diferenciace buněk HL60.

Křivka dávkové odezvy v přítomnosti nebo nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA na buňky HL60 byla vynesena pro ST 1346 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μ M.

Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 2 a ukazují, že sloučenina podle vynálezu je schopná v závislosti na dávce podstatně zcitlivět ATRA při vyvolávání terminální buněčné diferenciaci nádorových buněk s hodnotou AC_{50} $14,8 \pm 1,6 \mu M$; hodnota sdružené indukce je 2,7.

Příklad 22/4

Hodnocení účinku 1,1-di-(indol-3-yl)-4-hydroxybutanu (ST 1707) na diferenciaci a na buněčný cyklus NB4 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

K hodnocení účinku zlepšování diferenciaci zkoušených sloučenin bylo na buňky NB4 působeno odstupňovanými dávkami 1, 5, 10 a 50 μM ST 1707 v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA.

Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 3 a ukazují, že zkoušené sloučeniny jsou schopné významně potenciovat terminální diferenciaci leukemických buněk vyvolanou ATRA, v závislosti na velikosti dávky (AC_{50} : $8,3 \pm 0,05 \mu M$; sdružená indukce: 2,5).

Získané výsledky analýzy buněčného cyklu jsou uvedeny v tabulce 8 a ukazují, že sloučeniny podle vynálezu, pokud jsou podávány samostatně, nemění množství buněk vyskytujících se v různých fázích cyklu v porovnání s kontrolním pozorováním, a nevyvolávají apoptosu. Pokud se podávají v kombinaci s ATRA, vyvolává se značné dávkově závislé blokování buněk ve fázi G0/G1 cyklu, jakožto markeru buněčné diferenciaci.

Tabulka 8

(Chemosensitivizující účinky ST 1707 na ATRA v buněčném cyklu NB4)

Látka	G0/G1	G2/M	S	apoptosa
kontrolní	52,9	9,6	37,5	20,5
ST 1707 1 μ M	51,7	10,1	38,2	17,0
ST 1707 5 μ M	52,5	11,1	36,4	19,5
ST 1707 10 μ M	52,2	10,8	37,0	17,5
ST 1707 50 μ M	52,0	12,0	36,0	17,0
ATRA 0,01 μ M	65,0	11,0	24,0	17,5
ATRA 0,01 μ M + ST 1707 1 μ M	65,4	11,8	22,8	17,0
ATRA 0,01 μ M + ST 1707 5 μ M	69,8	11,3	18,9	14,0
ATRA 0,01 μ M + ST 1707 10 μ M	70,4	11,5	18,1	13,0
ATRA 0,01 μ M + ST 1707 50 μ M	80,6	9,0	10,4	11,5

Příklad 22/5

Hodnocení účinku 5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentanu (ST 1422) na vyvolání terminální diferenciacce buněk NB4 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byla hodnocena aktivita ST 1422 na buňky NB4 dávkami 1, 5, 10 a 50 μ M v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA. Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 4 a ukazují, že výše zmíněná zkouška NBT ukazuje na významný sensitivizující účinek zkoušených sloučenin na zvýšení terminální diferenciacce vyvolané ATRA s hodnotami AC_{50} $9,8 \pm 0,1$; sdružená indukce: 1,85.

Příklad 22/6

Hodnocení účinku 5-hydroxy-1,1-di-(5,6-methylenedioxy-indol-3-yl)-pentanu (ST 1422) na vyvolání terminální diferenciaci a na buněčný cyklus HL60 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byl hodnocen účinek ST 1422 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μM na vyvolání terminální diferenciaci a na buněčný cyklus HL60 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA. Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 5 a ukazují, že sloučenina podle vynálezu byla schopná vyvolat velmi podstatný sensitivizující účinek na terminální diferenciaci zkoušených linií nádorových buněk, vyvolaný působením ATRA, s hodnotami AC_{50} $13,6 \pm 2,6 \mu\text{M}$; sdružená indukce: 2,2.

Výsledky získané analýzou buněčného cyklu uvedené v tabulce 9 navíc ukazují, že i v tomto případě jsou sloučeniny podle vynálezu schopné blokovat růst buněk ve fázi G0/G1, vyvolaný působením ATRA. Pokud jsou sloučeniny podle vynálezu zkoušeny samotné, nevykazují žádný účinek na vyvolání apoptosy.

Tabulka 8

(Chemosensitivizující účinky ST 1707 na ATRA v buněčném cyklu NB4)

Látka	G0/G1	G2/M	S
kontrolní	59,1	9,2	31,7
ST 1422 1 μ M	56,2	10,0	33,8
ST 1422 5 μ M	57,6	10,4	32,0
ST 1422 10 μ M	57,8	10,5	31,7
ST 1422 50 μ M	65,8	16,4	17,8
ATRA 0,05 μ M	63,3	11,0	25,7
ATRA 0,05 μ M + ST 1422 1 μ M	66,8	11,0	22,2
ATRA 0,05 μ M + ST 1422 5 μ M	65,1	11,4	23,5
ATRA 0,05 μ M + ST 1422 10 μ M	62,5	12,5	25,0
ATRA 0,05 μ M + ST 1422 50 μ M	75,7	13,8	10,5

Příklad 22/7

Účinek 5,5-bis-(1-methyl-1H-indol-3-yl)-1-pentanolu (ST 1974) na buňky NB4 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byl hodnocen účinek sloučeniny podle vynálezu na buňky NB4 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μ M v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA.

Získané výsledky uvedené na obrázku 6 ukazují, že sloučenina podle vynálezu byla schopná podstatně zvýšit diferenciační účinek ATRA

v závislosti na dávce, s hodnotami AC_{50} $7,8 \pm 2,6 \mu M$; sdružená indukce: 1,8.

Příklad 22/8

Účinek 5,5-bis-(1-methyl-1H-indol-3-yl)-1-pentanolu (ST 1974) na vyvolání terminální diferenciace a na buněčný cyklus HL60 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byl hodnocen účinek sloučeniny podle vynálezu na vyvolání terminální diferenciace a na buněčný cyklus HL60 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μM v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA.

Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 7 a ukazují, že výše uvedená zkouška NBT prozrazuje sensitivizující dávkově závislý účinek sloučeniny podle vynálezu na schopnost ATRA vyvolat terminální buněčnou diferenciaci HL60, s hodnotami AC_{50} $9,5 \pm 2,6 \mu M$; sdružená indukce: 1,6.

Pokud byla sloučenina podle vynálezu podávána v kombinaci s ATRA, vyvolala ve fázi buněčného cyklu G0/G1 významné blokování buněk.

Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 10.

Tabulka 8

(Chemosensitivizující účinky ST 1707 na ATRA v buněčném cyklu NB4)

Látka	G0/G1	G2/M	S
kontrolní	59,1	9,2	31,7
ST 1974 1 μ M	58,9	11,1	30
ST 1974 5 μ M	59,3	11,4	29,3
ST 1974 10 μ M	57,8	12,2	30
ST 1974 50 μ M	67,7	12,3	20
ATRA 0,05 μ M	63,4	11,0	25,6
ATRA 0,05 μ M + ST 1974 1 μ M	62,0	11,7	26,3
ATRA 0,05 μ M + ST 1974 5 μ M	63,8	10,5	25,7
ATRA 0,05 μ M + ST 1974 10 μ M	65,4	10,5	24,1
ATRA 0,05 μ M + ST 1974 50 μ M	81,8	10,6	7,6

Příklad 22/9

Účinek kyseliny 4,4-di-(1H-indol-3-yl)-butanové (ST 1961) na vyvolání terminální diferenciacce a na buněčný cyklus NB4 v přítomnosti a nepřítomnosti ATRA

V tomto pokusu byl hodnocen účinek sloučeniny podle vynálezu na vyvolání terminální diferenciacce a na buněčný cyklus NB4 v dávkách 1, 5, 10 a 50 μ M v přítomnosti a nepřítomnosti suboptimálních dávek ATRA.

Získané výsledky jsou uvedeny na obrázku 8: zkouška NBT prozrazuje, že se získal sensitivizující účinek sloučeniny podle vynálezu na schopnost ATRA podporovat vyvolání terminální buněčné diferenciacce, s hodnotami AC_{50} $6,6 \pm 2,0$ μ M; sdružená indukce: 1,4.

Získané výsledky analýzy buněčného cyklu uvedené v tabulce 11 navíc ukazují, že vysoké dávky zkoušené sloučeniny velmi podstatně potencují účinek aktivity ATRA při vyvolání blokování buněk ve fázi G0/G1.

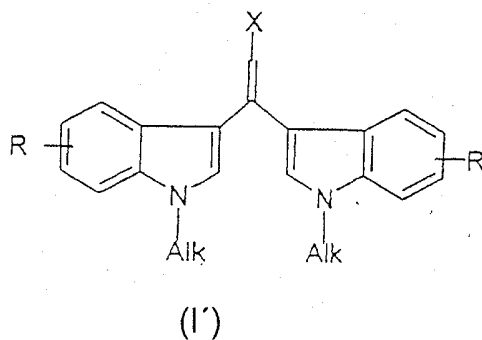
Tabulka 11

(Účinek kombinace ST 1961 a ATRA na buněčný cyklus NB4)

Látka	G0/G1	G2/M	S	apoptosa
kontrolní	45,5	14,5	40,0	22,0
ST 1961 1 μ M	47,5	15,6	36,9	18,5
ST 1961 5 μ M	49,7	13,0	37,3	24,0
ST 1961 10 μ M	48,4	14,1	37,5	24,0
ST 1961 50 μ M	56,3	14,0	29,7	24,0
ATRA 0,01 μ M	55,8	17,3	26,9	12,5
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 1 μ M	57,1	13,9	29,0	17,5
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 5 μ M	58,4	13,9	27,7	17,0
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 10 μ M	58,4	13,0	28,6	15,0
ATRA 0,01 μ M + ST 1346 50 μ M	82,2	8,0	9,8	10,0

Patentové nároky

1. Sloučenina obecného vzorce (I')



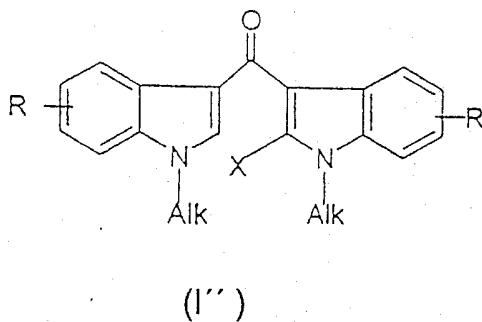
kde

X představuje $(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, kde n je celé číslo sahající od 1 do 3;

R představuje: H, hydroxyl, případně esterifikovaný acyl $\text{C}_1\text{-C}_4$, mono nebo dialkanoyl $\text{C}_1\text{-C}_4$, karboxyl, alkoxykarboxyl, halogen, alkyl $\text{C}_1\text{-C}_4$;

Alk představuje: benzyl, alkyl $\text{C}_1\text{-C}_6$;

2. Sloučenina obecného vzorce (I'')



kde

X představuje: alkyl C_1-C_4 ;

R představuje: H, hydroxyl, případně esterifikovaný acyl C_1-C_4 , mono nebo dialkanoyl C_1-C_4 , karboxyl, alkoxykarboxyl, halogen, alkyl C_1-C_4 ;

Alk představuje: benzyl, alkyl C_1-C_6 ;

3. Sloučenina obecného vzorce (I') podle nároku 1, kterou je 1,1-di-(N-benzyl-indol-3-yl)-1-buten (ST 1492).
4. Sloučenina obecného vzorce (I'') podle nároku 2, kterou je (N-benzyl-indol-3-yl, N-benzyl-2-propyl-indol-3-yl)-oxomethan (ST 1494).
5. Použití sloučenin podle nároku 1 jako léčiva.
6. Farmaceutický přípravek obsahující jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce (I' nebo I'') z nároku 1 až 4 a alespoň jeden farmaceuticky přijatelný excipient a/nebo diluent.
7. Přípravek podle nároku 6 k léčbě patologických nádorů.
8. Přípravek podle nároku 6 k léčbě patologických nádorů, ve kterých nádor vykazuje rezistenci vůči dříve používanému protinádorovému léčivu použitému k léčbě, kde jmenovaná sloučenina obecného vzorce (I' nebo

I'') vykazuje chemosensitivizující účinky na jmenovaný nádor, který je rezistentní k léčivu.

9. Přípravek podle nároku 7 nebo 8, ve kterém patologický nádor náleží do skupiny sestávající ze sarkomu, karcinomu, karcinoidu, kostního nádoru, neuroendokrinního nádoru, lymfoidní leukemie, akutní promyelocytické leukemie, myeloidní leukemie, monocytické leukemie, megakaryoblastické leukemie a Hodgkinova onemocnění.
10. Přípravek podle nároku 7 nebo 8, kde se sloučenina obecného vzorce (I) podává v kombinaci s jednou nebo více známými protinádorovými látkami.
11. Přípravek podle nároku 10, kde se protinádorová látka vybírá ze skupiny sestávající z alkylačních činidel, topoisomérázových inhibitorů, antitubulinových látek, interkalačních sloučenin, antimetabolitů, přirozených produktů jako jsou alkaloidy barvíčku, epipodophylotoxinů, antibiotik, enzymů, taxanů a cytodiferenciačních sloučenin.
12. Přípravek podle nároku 11, kde cytodiferenciační protinádorovou sloučeninou je kyselina trans-retinová.
13. Použití sloučeniny obecného vzorce (I' nebo I'') z nároku 1 až 4 pro přípravu léčiva s protinádorovými účinky.
14. Použití sloučeniny obecného vzorce (I' nebo I'') z nároku 1 až 4 pro přípravu léčiva k léčbě patologických nádorů, u kterých nádor vykazuje rezistenci k dříve používanému protinádorovému léčivu

použitému k léčbě, kde jmenovaná sloučenina obecného vzorce (I) vyvolává chemosensitivizující účinek na jmenované léčivo rezistentní k nádoru .

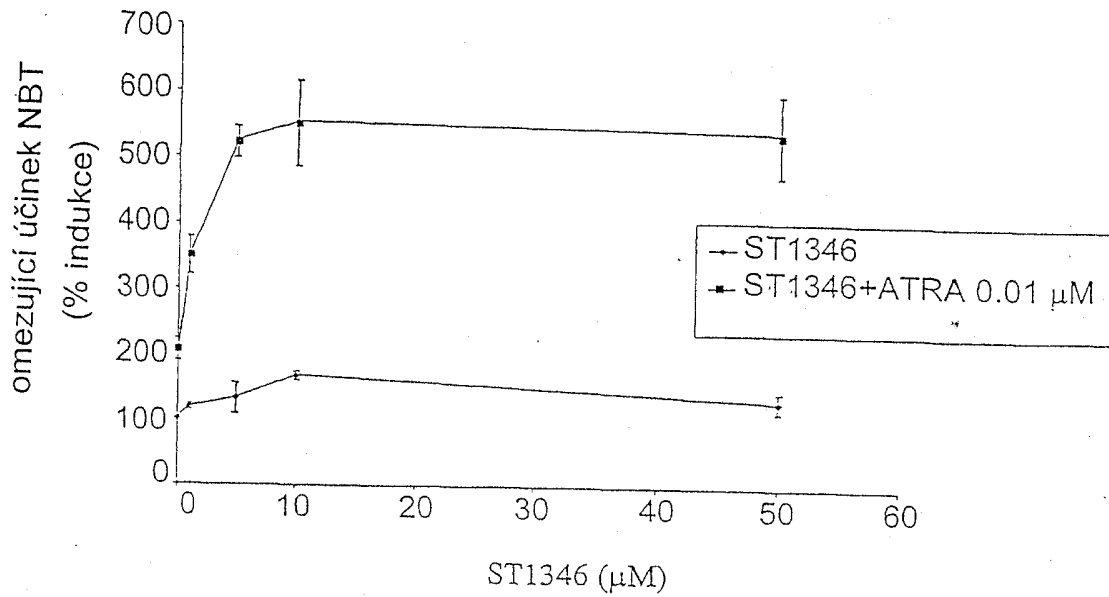
15. Použití podle nároku 13 nebo 14, kde nádor náleží do skupiny sestávající ze sarkomu, karcinomu, karcinoidu, kostního nádoru, neuroendokrinního nádoru, lymfoidní leukemie, akutní promyelocytické leukemie, myeloidní leukemie, monocytické leukemie, megakaryoblastemicé leukemie a Hodgkinsovy choroby.
16. Použití podle nároku 15, kde je nádorem akutní promyelocytická leukemie.
17. Použití podle nároku 13 nebo 14, kde sloučenina obecného vzorce (I' nebo I'') je zkombinována s jednou nebo více protinádorovými látkami.
18. Použití podle nároku 17, kde je protinádorovou látkou kyselina trans-retinová.

01.08.03

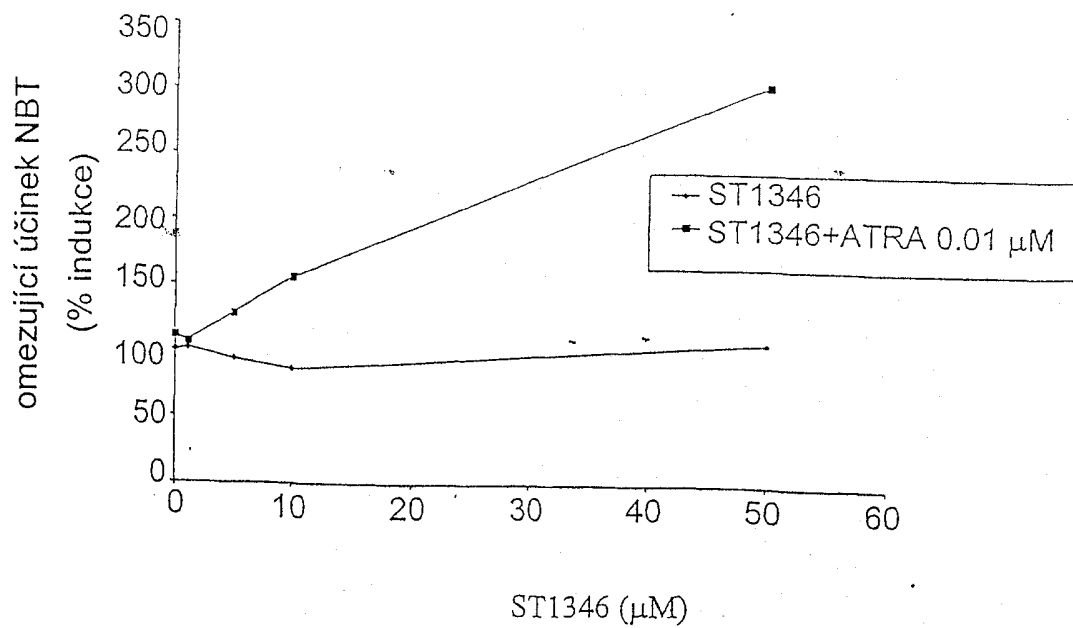
1/4

2003-1148

Obrázek 1



Obrázek 2

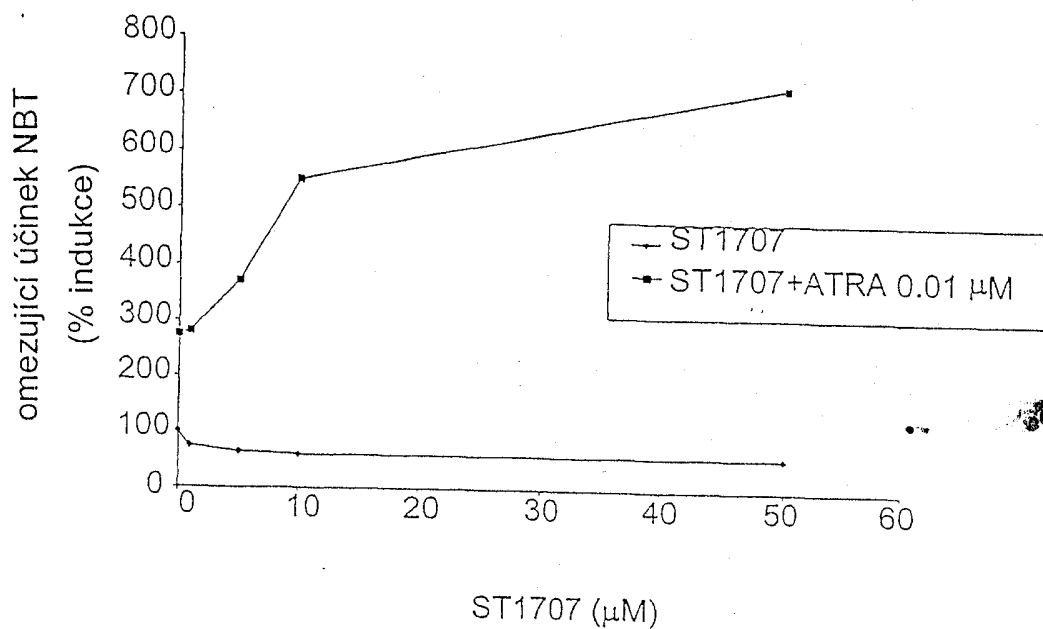


01.08.03

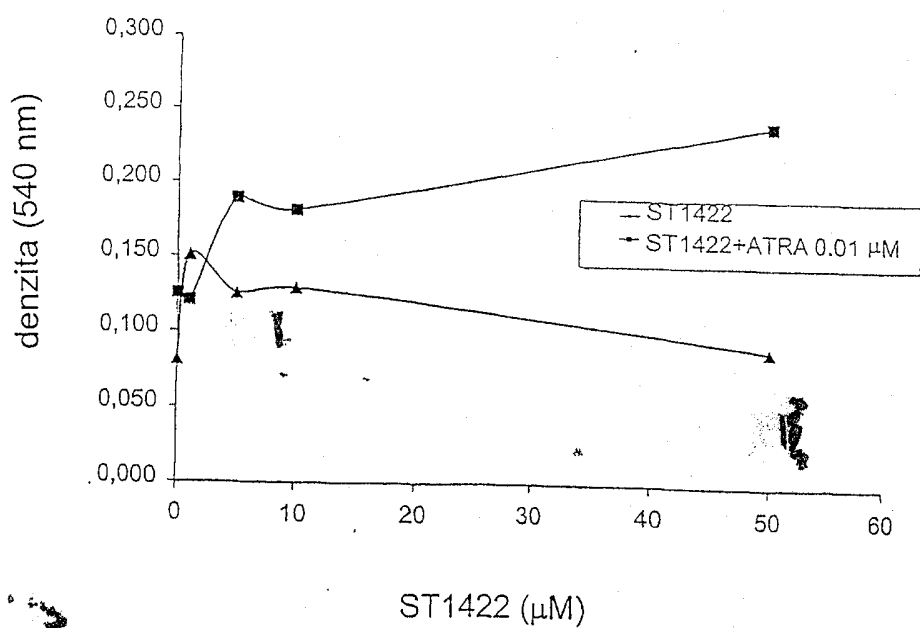
2003-1948

2 / 4

Obrázek 3



Obrázek 4

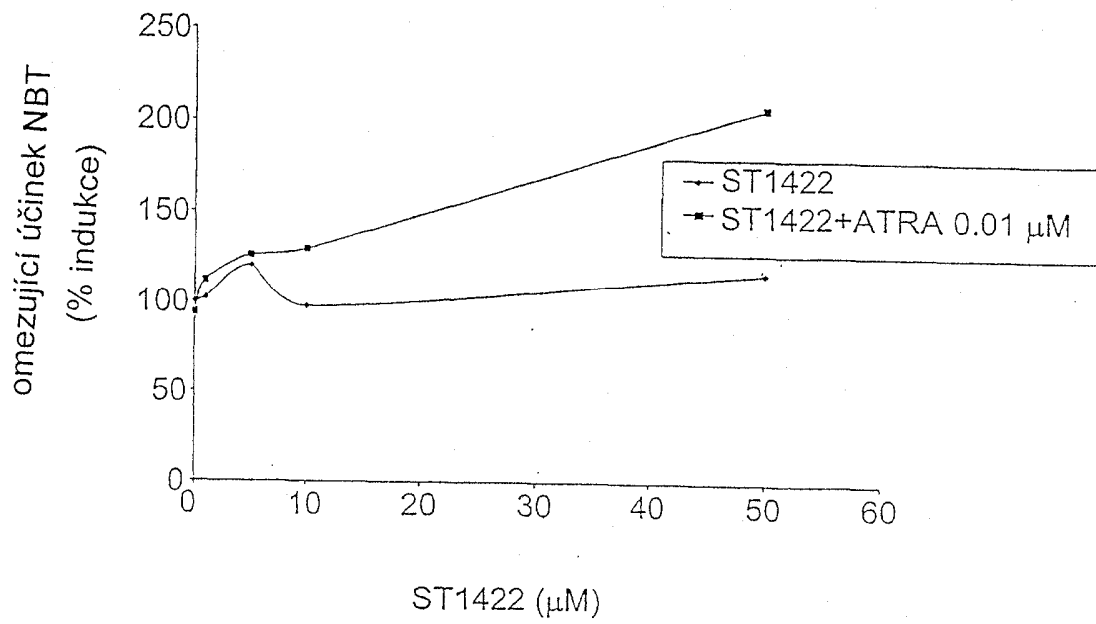


01.08.03

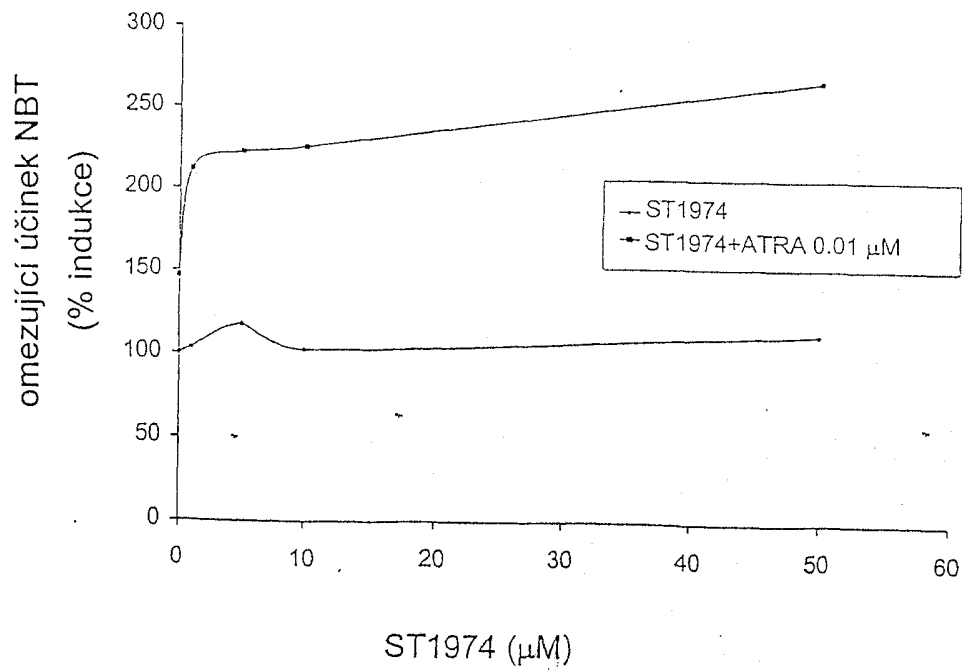
2003-1148

3/4

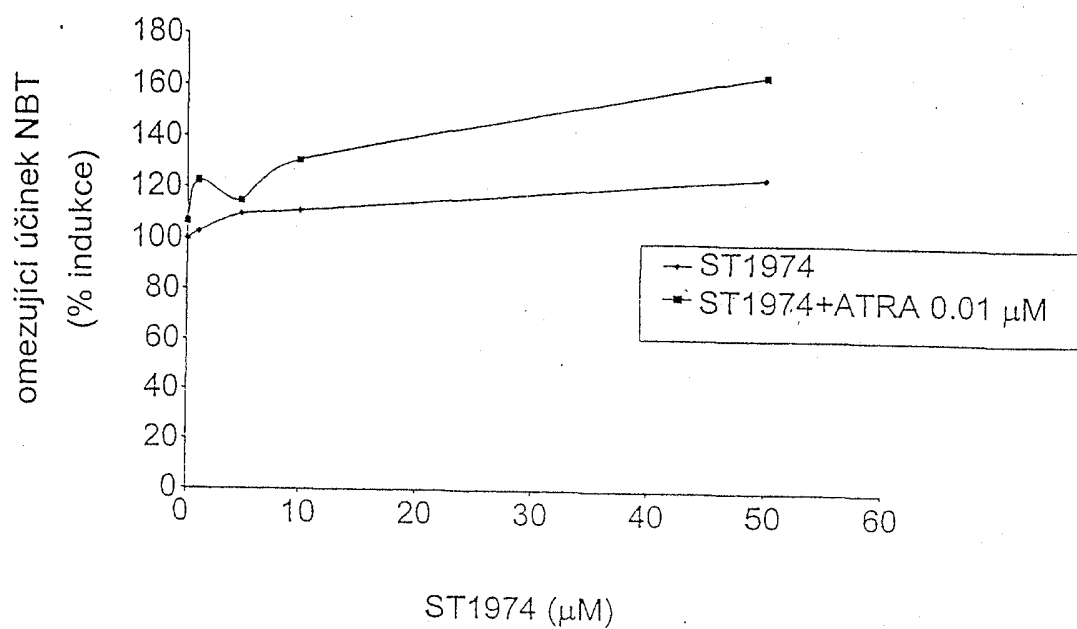
Obrázek 5



Obrázek 6



Obrázek 7



Obrázek 8

