

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2000-58**
(22) Přihlášeno: **16.06.1998**
(30) Právo přednosti: **08.07.1997 US 1997/051951**
04.12.1997 US 1997/67524
(40) Zveřejněno: **17.01.2001**
(Věstník č. 1/2001)
(47) Uděleno: **15.03.2007**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **25.04.2007**
(Věstník č. 17/2007)
(86) PCT číslo: **PCT/US1998/012550**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 1999/002514**

(11) Číslo dokumentu:

297 904

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:
C07D 417/06 (2006.01)
C07D 225/00 (2006.01)
C07D 491/044 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 97/10986 A1; DE 41 38 042 A1.

Bollag D.M. et al.: Cancer Research 1995, 55, 2325-2333 celý dokument; Nicolaou K.C. et al.: Journal of the American Chemical Society 1997, 119, 7960-7973 celý dokument; Nicolaou K.C. et al.: Angewandte Chemie International Edition 1997, 36(19), 2097-2103 celý dokument; Victory S.F. et al.: Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 1996, 6(7), 893-898 celý dokument; Winkler J.D., Axelsen P.H.: Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 1996, 6(24), 2963-2966 celý dokument.

(73) Majitel patentu:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, Princeton,
NJ, US

(72) Původce:

Vite Gregory D., Titusville, NJ, US
Borzilleri Robert M., New Hope, PA, US
Kim Soong-Hoon, Lawrenceville, NJ, US
Johnson James A., Lawrenceville, NJ, US

(74) Zástupce:

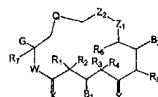
JUDr. Petr Kalenský, Hálkova 2, Praha 2, 12000

(54) Název vynálezu:

Derivát epothilonu

(57) Anotace:

Deriváty epothilonu obecného vzorce V', ve kterém Q je vybráno ze souboru sestávajícího z skupin vzorce Q₁ a Q₂, G je skupina vzorce G₁, W je NH; X a Y jsou O; Z₁ a Z₂ jsou každý CH₂; B₁ a B₂ jsou OH; R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₇ a R₁₂ jsou vybrány ze souboru sestávajícího z vodíku a nižšího alkylu; R₆ je methyl; R₈ je vodík nebo methyl a R₁₁ je vybráno ze souboru sestávajícího z skupin vzorce R₁₁¹ a R₁₁², R je vodík, nižší alkyl nebo nižší alkyl substituovaný OH; a jejich stereomery.



V'



Q₁



Q₂



R₁₁¹



R₁₁²



U₁

CZ 297904 B6

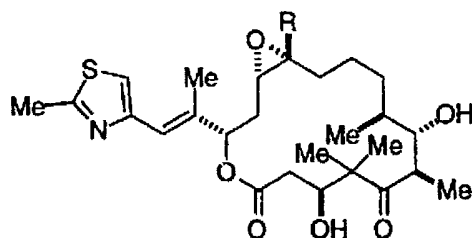
Derivát epothilonuOblast techniky

5

Tento vynález se týká derivátů epothilonu. Zmiňují se také způsoby přípravy těchto derivátů a meziprodukty pro jejich přípravu.

10 Dosavadní stav techniky

Epothilony jsou makrolidové sloučeniny, které nacházejí uplatnění v oblasti farmacie. Například se zjistilo, že epothilony A a B, které mají následující strukturu:



I Epothilon A R = H

II Epothilon B R = Me

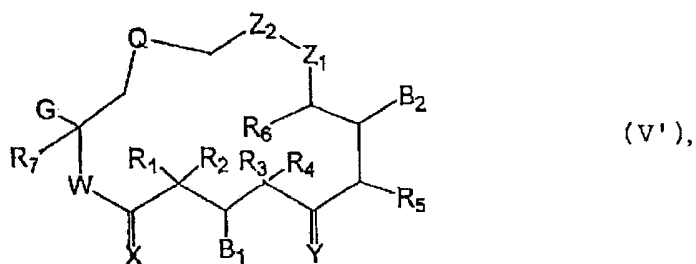
15

vykazují stabilizující vliv na mikrotubuly, podobně jako TAXOL, a proto cytotoxické působení proti rychle zhoubně bujícím buňkám, jako nádorovým buňkám nebo proti jiným buněčným hyperproliferačním onemocněním, viz Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 13/14, 35 (1996).

20

Podstata vynálezu

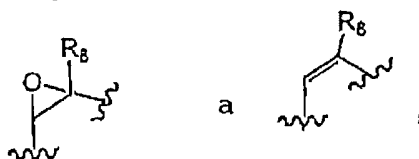
Předmětem tohoto vynálezu je derivát epothilonu obecného vzorce V'



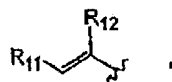
25

ve kterém

Q je vybráno ze souboru sestávajícího z



G je



30

W je NH;

X je O;

5 Y je O;

Z₁ a Z₂ jsou každý CH₂;

B₁ a B₂ jsou OH;

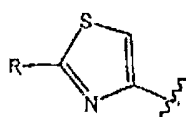
10

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₇ a R₁₂ jsou vybrány ze souboru sestávajícího z vodíku a nižšího alkylu;

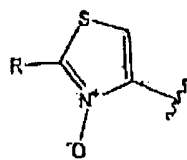
R₆ je methyl;

15 R₈ je vodík nebo methyl a

R₁₁ je



nebo



kde

20

R je vodík, nižší alkyl nebo nižší alkyl substituovaný OH;

a jejich stereomery, kde

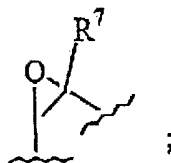
25

výraz „nižší alkyl“ se týká přímé nebo rozvětvené nesubstituované uhlovodíkové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku.

Výhodnou formou tohoto vynálezu je derivát epithilonu uvedený svrchu, kde

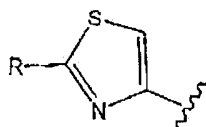
30

Q je skupina vzorce

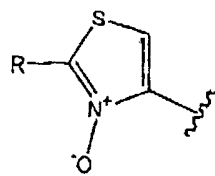


R₈ je methyl a

R₁₁ je



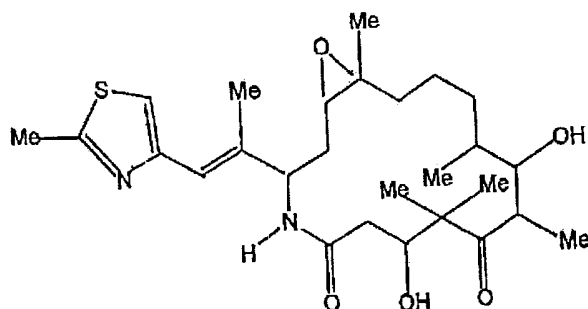
nebo



35

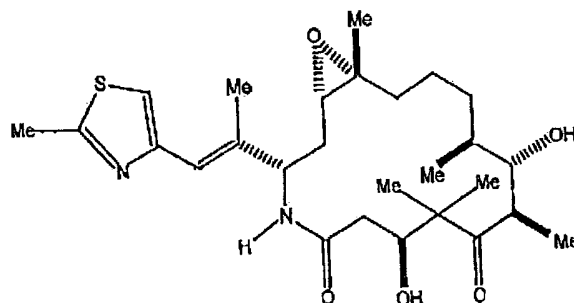
R je methyl nebo hydroxymethyl.

Zvláštní formou tohoto vynálezu je derivát epithilonu vzorce



nebo jeho stereoizomer.

- 5 Jinou zvláštní formou tohoto vynálezu je derivát epithilonu vzorce



Výhodnou formou tohoto vynálezu je derivát epithilonu, který je vybrán ze souboru zahrnujícího

- 10 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(E)-cyklohexadecen-2,6-dion,

- [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

- 15 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

- 20 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion,

- [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion a

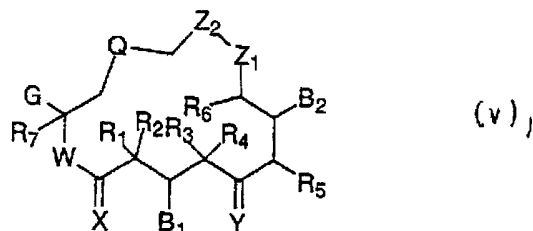
- 25 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion,

přičemž obzvláště výhodnou formou podle tohoto vynálezu je derivát epithilonu, kterým je

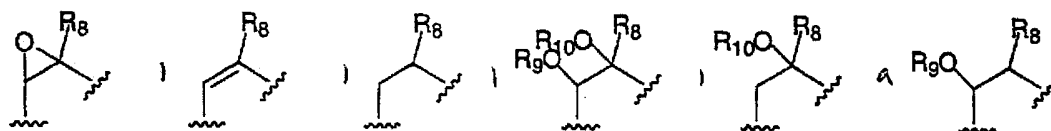
- 30 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion.

Dále se uvádí podrobnější údaje vztahující se k tomuto vynálezu. Současně se uvádějí údaje, které umožňují zařadit předmětný vynález do širších souvislostí.

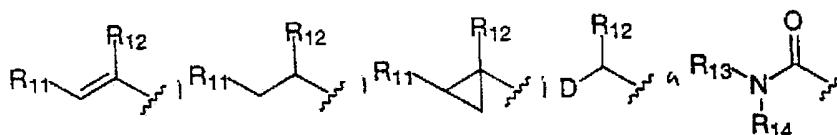
Sloučeniny obecného vzorce V' podle tohoto vynálezu spadají mezi sloučeniny obecného vzorce V



kde Q je vybráno ze skupiny obsahující



G je vybráno ze skupiny obsahující alkyl, substituovaný alkyl, substituovaný nebo nesubstituovaný aryl, heterocykloskupinu,



W je atom kyslíku nebo NR₁₅;

X je atom kyslíku nebo H, H;

Y je vybráno ze skupiny obsahující atom kyslíku; atom vodíku, OR₁₆; OR₁₇, OR₁₇; NOR₁₈; atom vodíku, NOR₁₉; atom vodíku, NR₂₀R₂₁; H, H; nebo CHR₂₂; OR₁₇OR₁₇ může být cyklický ketal;

Z₁ a Z₂ jsou vybrány ze skupiny obsahující CH₂, atom kyslíku, NR₂₃, atom síry nebo SO₂, přičemž pouze jedna skupina Z₁ nebo Z₂ může být heteroatomem;

B₁ a B₂ jsou vybrány ze skupiny obsahující OR₂₄ nebo OCOR₂₅ nebo O₂CNR₂₆R₂₇, pokud B₁ je atom vodíku a Y je OH, H pak mohou tvořit šestičlenný ketalový nebo acetalový kruh;

D je vybráno ze skupiny obsahující NR₂₈R₂₉, NR₃₀COR₃₁ nebo nasycený heterocyklus;

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₁₃, R₁₄, R₁₈, R₁₉, R₂₀, R₂₁, R₂₂, R₂₆ a R₂₇ jsou vybrány ze skupiny zahrnující atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl nebo aryl a pokud jsou R₁ a R₂ alkyly, mohou být spojeny za vzniku cykloalkylu, jsou-li R₃ a R₄ alkyly, mohou být spojeny za vzniku cykloalkylu;

R₉, R₁₀, R₁₆, R₁₇, R₂₄, R₂₅ a R₃₁ jsou vybrány ze skupiny obsahující atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl;

R₈, R₁₁, R₁₂, R₂₈, R₃₀, R₃₂, R₃₃ a R₃₀ jsou vybrány ze skupiny obsahující atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, substituovaný aryl, cykloalkyl nebo heterocykloskupinu;

5 R₁₅, R₂₃ a R₂₉ jsou vybrány ze skupiny obsahující atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, aryl, substituovaný aryl, cykloalkyl, heterocykloskupinu, R₃₂C=O, R₃₃SO₂, hydroxyskupinu, O-alkyl nebo O-substituovaný alkoxy;

a kterékoli jejich soli, solváty a hydráty.

10 Podmínka

Tento vynález nezahrnuje sloučeniny obecného vzorce V, kde

W a X jsou oba atomy kyslíku;

15

R₁, R₂ a R₇ jsou atomy vodíku;

R₃, R₄ a R₆ jsou methyly; a

20 R₈ je atom vodíku nebo methyl; a

Z₁ a Z₂ jsou skupinou CH₂; a

G je 1-methyl-2-(substituovaný-4-thiazolyl)ethenyl;

25

Q má stejný význam jako se uvádí výše.

Podrobný popis vynálezu

30

Níže se uvádějí definice různých termínů použitých pro popis tohoto vynálezu. Tyto definice se vztahují k termínům, jak se používají v celém tomto popisu vynálezu, kromě omezení ve zvláštních případech, buď jednotlivě, nebo jako část větší skupiny.

35 Termín „alkyl“ se týká lineárního nebo větveného řetězce nesubstituovaných uhlovodíkových skupin obsahujících 1 až 20 atomů uhlíku, výhodně 1 až 7 atomů uhlíku. Vyjádření „nižší alkyl“ se týká nesubstituovaných alkylových skupin obsahujících 1 až 4 atomy uhlíku.

40 Termín „substituovaný alkyl“ se týká alkylové skupiny substituované například jedním až čtyřmi substituenty, jako halogenem, trifluormethylem, trifluormethoxy-, hydroxy-, alkoxy-, cykloalkoxy-, heterocyklooxyskupinou, oxoskupinou, alkanoylovou skupinou, aryloxy-, alkanoyloxy-, amino-, alkylamino-, arylamino-, aralkylamino-, cykloalkylamino-, heterocykloamino-skupinou, disubstituovanými aminy, ve kterých jsou 2 substituenty aminu vybrány z alkylu, arylu nebo arylalkylu, alkanoylamino-, aroylamino-, arylalkanoylaminoskupinou, substituovanou alkanoylaminoskupinou, substituovanou arylaminoskupinou, substituovanou aralkanoylamino-skupinou, thio-, alkylthio-, arylthio-, aralkylthio-, cykloalkylthio-, heterocyklothio-, alkyl-thiono-, arylthiono-, arylalkylthionoskupinou, alkylsulfonylovou skupinou, arylsulfonylovou skupinou, arylalkylsulfonylovou skupinou, sulfonamidoskupinou (např. SO₂NH₂), substituovanou sulfonamidoskupinou, nitro-, kyano-, karboxyskupinou, karbamylem (např. CONH₂), substituovaným karbamylem (např. CONH-alkyl, CONH-aryl, CONH-arylalkyl nebo případy, ve kterých jsou na atomu dusíku dva substituenty vybrané z alkylu, arylu nebo aralkylu), alkoxy-karbonylem, arylem, substituovaným arylem, guanidino- a heterocykloskupinami, jako indoly-lem, imidazolylem, furylem, thienylem, thiazolylem, pyrrolidylem, pyridylem, pyrimidylem a podobně. Pokud se výše zmiňuje, že substituent je dále substituován, bude se jednat o substituci

55 halogenem, alkylem, alkoxykupinou, arylem nebo aralkylem.

Termín „halogen“ se týká fluoru, chloru, bromu a jodu.

Termín „aryl“ se týká monocyklických nebo bicyklických aromatických uhlovodíkových skupin obsahujících 6 až 12 atomů uhlíku v kruhové části, jako fenylových, naftylových, bifenylových a difenylových skupin, přičemž každá z nich může být substituována.

Termín „aralkyl“ se týká arylové skupiny přímo vázané na alkylovou skupinu, jako benzylu.

Termín „substituovaný aryl“ se týká arylové skupiny substituované například jedním až čtyřmi substituenty, jako alkylem, substituovaným alkylem, halogenem, trifluormethoxyskupinou, trifluormethylem, hydroxy-, alkoxy-, cykloalkoxy-, heterocyklooxyskupinou, alkanoylovou skupinou, alkanoyloxy-, amino-, alkylamino-, aralkylamino-, cykloalkylamino-, heterocykloamino-, dialkylamino-, alkanoylaminoskupinou, thio-, alkylthio-, cykloalkylthio-, heterocyklothio-, ureido-, nitro-, kyano-, karboxyskupinou, karboxyalkylem, karbamylem, alkoxykarbonylem, alkylthiono-, arylthionoskupinou, alkylsulfonylem, sulfonamido-, aryloxyskupinou a podobně. Substituent může být dále substituován halogenem, hydroxyskupinou, alkylem, alkoxyskupinou, arylem, substituovaným arylem, substituovaným alkylem nebo aralkylem.

Termín „cykloalkyl“ se týká případně substituovaných, nasycených uhlovodíkových kruhových soustav, výhodně obsahujících 1 až 3 kruhy a 3 až 7 atomů uhlíku v kruhu, které mohou být dále kondenzovány s nenasyceným karbocyklickým kruhem obsahujícím 3 až 7 atomů uhlíku. Příkladné skupiny zahrnují cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cykloheptyl, cyklo-oktyl, cyklodecyl, cyklododecyl a adamantyl. Příkladné substituenty zahrnují jednu nebo více alkylových skupin jak jsou uvedeny výše nebo jednu nebo více skupin popsanych výše jako alkylové substituenty.

Termíny „heterocyklus“, „heterocyklický“ a „heterocyklo-“ se týkají případně substituované, plně nasycené nebo nenasycené, aromatické nebo nearomatické kruhové skupiny, která je například 4- až 7-člennou bicyklickou, 7- až 11-člennou bicyklickou nebo 10- až 15-člennou tri-cyklickou kruhovou soustavou, která má alespoň jeden heteroatom v alespoň jednom kruhu obsahujícím atomy uhlíku. Každý kruh heterocyklické skupiny obsahující heteroatom může mít 1, 2 nebo 3 heteroatomy vybrané z atomů dusíku, atomů kyslíku a atomů síry, přičemž heteroatomy dusíku a síry mohou být dále oxidovány a dusíkové heteroatomy mohou být dále kvarterizovány. Heterocyklická skupina se může vázat na kterýkoli heteroatom nebo atom uhlíku.

Příkladné monocyklické heterocyklické skupiny zahrnují pyrrolidinyl, pyrrolyl, indolyl, pyrazolyl, oxetanyl, pyrazolinyl, imidazolyl, imidazoliny, imidazolidinyl, oxazolyl, oxazolidinyl, izoxazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, thiazolidinyl, izothiazolyl, izothiazolidinyl, furyl, tetrahydrofuryl, thienyl, oxadiazolyl, piperidinyl, piperazinyl, 2-oxopiperazinyl, 2-oxopiperidinyl, 2-oxopyrrolidinyl, 2-oxazepinyl, azepinyl, 4-piperidonyl, pyridyl, N-oxopyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, tetrahydropyranyl, tetrahydrothiopyranyl, tetrahydropyranylsulfon, morfolinyl, thiomorfolinyl, thiomorfolinylsulfoxid, thiomorfolinylsulfon, zbytek 1,3-dioxolanu a tetrahydro-1,1-dioxothienyl, dioxanyl, izothiazolidinyl, thietanyl, thiiranyl, triazinyl a triazolyl a podobně.

Příkladné bicyklické heterocyklické skupiny zahrnují benzthiazolyl, benzoxazolyl, benzthienyl, chinuklidinyl, chinolinyl, chinolinyl-N-oxid, tetrahydroizochinolinyl, izochinolinyl, benzimidazolyl, benzpyranyl, indoliziny, benzofuryl, chromonyl, kumarinyl, cinnolinyl, chinoxaliny, indazolyl, pyrrolpyridyl, furopyridinyl (jako furo[2,3-c]pyridyl, furo[3,1-b]pyridyl nebo furo[2,3-b]pyridyl), dihydroizoindolyl, dihydrochinazolinyl (jako 3,4-dihydro-4-oxochinazolinyl), benzizothiazolyl, benzizoxazolyl, benzodiazinyl, benzofurazanyl, benzothiopyranyl, benzotriazolyl, benzotriazolyl, dihydrobenzofuryl, dihydrobenzothienyl, dihydrobenzothiopyranyl, dihydrobenzothiopyranylsulfon, dihydrobenzopyranyl, indoliny, izochromanyl, izoindoliny, naftyridinyl, ftalazinyl, piperonyl, purinyl, pyridopyridyl, chinazolinyl, tetrahydrochinolinyl, thienofuryl, thienopyridyl, thienothienyl a podobně.

Příkladné substituenty zahrnují jednu nebo více alkylových skupin, jak se popisují výše, nebo jednu nebo více skupin výše popsaných jako alkylové substituenty. Zahrnují také menší heterocykly, jako epoxidy a aziridiny.

5

Termín „heteroatom“ zahrnuje kyslík, síru a dusík.

Sloučeniny obecného vzorce V mohou tvořit soli s alkalickými kovy, jako sodíkem, draslíkem a lithiem, s kovy alkalických zemin, jako vápníkem nebo hořčíkem, s organickými bázemi, jako dicyklohexylaminem, tributylaminem, pyridinem a aminokyselinami, jako argininem, lysinem a podobně. Takové soli se mohou získat například záměnou protonů karboxylové kyseliny ve sloučeninách obecného vzorce V, pokud obsahují karboxylovou kyselinu, požadovaným iontem, v prostředí, ve kterém se sůl sráží nebo ve vodném prostředí s následným odpařením. Jiné soli mohou vznikat, jak je odborníkovi v oboru známo.

15

Sloučeniny obecného vzorce V tvoří soli s různými organickými a anorganickými kyselinami. Takové soli zahrnují soli, které se tvoří s chlorovodíkem, bromovodíkem, kyselinou methansulfonovou, kyselinou hydroxyethansulfonovou, kyselinou sírovou, kyselinou octovou, kyselinou trifluoroctovou, kyselinou maleinovou, kyselinou benzensulfonovou, kyselinou toluensulfonovou a různými jinými kyselinami (např. nitráty, fosfáty, boráty, tartaráty, citráty, sukcináty, benzoáty, askorbáty, salicyláty a podobně). Takové soli se tvoří reakcí sloučeniny obecného vzorce V s ekvivalentním množstvím kyseliny v prostředí, ve kterém se sůl sráží nebo ve vodném prostředí a následným odpařením.

25

Navíc se tvoří obojetné ionty („vnitřní soli“).

Sloučeniny obecného vzorce V mohou také mít formy prekurzoru léčiva. Kterákoli sloučenina, která se konvertuje *in vivo* a poskytne bioaktivní činidlo (tj. sloučeninu pro obecného vzorce V) je prekurzorem léčiva v rozsahu a duchu tohoto vynálezu.

30

Například sloučeniny obecného vzorce V mohou tvořit esterovou skupinu karboxylátu skupinu. Estery karboxylátu se vhodně tvoří esterifikací kterýchkoli funkčních skupin karboxylové kyseliny nalézajících se na popisované kruhové struktuře (strukturách).

35

V obou jsou dobře známy různé formy prekurzorů léčiva. Pro příklady takových prekurzorových derivátů viz:

40

a) Design of Prodrugs, vydal H. Bundgaard, (Elsevier) (1985) a Methods in Enzymology, 42, 309 až 396, vydal K. Widder a kol. (Academic Press) (1985);

b) A Textbook of Drug Design and Development, vydal Krosgaard-Larsen a H. Bundgaard, Kapitola 5, „Design and Application of Prodrugs“, H. Bundgaard, str. 113 až 191 (1991);

45

c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1 až 38 (1992);

d) H. Bundgaard a kol., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1998) a

e) N. Kakeya a kol., Chem. Phar. Bull., 32, 692 (1984).

50

Rozumí se dále, že solváty (např. hydráty) sloučenin obecného vzorce V jsou v rozsahu tohoto vynálezu. Způsoby solvatace jsou v oboru obecně známy.

Použití a prospěšnost

Sloučeniny obecného vzorce V jsou prostředky stabilizující mikrotubuly. Mohou se tedy používat při léčení různých karcinomů nebo jiných onemocnění spojených s abnormální proliferací, včetně
 5 následujících (bez omezení pouze na ně):

- rakoviny, včetně rakoviny močového měchýře, prsu, tlustého střeva, ledvin, jater, plic, vaječníku, slinivky břišní, žaludku, děložního hrdla, štítné žlázy a kůže; včetně spinocelulárního karcinomu;
- 10 – krvevtorných nádorů lymfoidního původu, včetně leukémie, akutní lymfocytární leukémie, akutní lymfoblastické leukémie, lymfomu B–buněk, lymfomu T–buněk, Hodgkinova lymfomu, non–Hodgkinova lymfomu, lymfomu vlasových buněk a Burkettova lymfomu;
- 15 – krvevtorných nádorů myeloidního původu, včetně akutní a chronické myelogenní leukémie a promyelocytické leukémie;
- nádorů mesenchymálního původu, včetně zhoubného nádoru vazivové tkáně a zhoubného nádoru příčně pruhované svaloviny;
- 20 – jiných nádorů, včetně nádoru tvořeného z pigmentových buněk, nádoru varlete, nádoru u nezralých tkání různého druhu, zhoubného nádoru zárodečné tkáně zárodečného typu a gliomu;
- nádorů centrální a periferní nervové soustavy, včetně nádoru podpůrné tkáně nervové, zhoubného nádoru zárodečné tkáně zárodečného typu, gliomu a *schwannomas*;
- 25 – nádorů mesenchymálního původu, včetně zhoubného nádoru vazivové tkáně, zhoubného nádoru příčně pruhované svaloviny a zhoubného nádoru kosti;
- 30 – jiných nádorů, včetně nádoru tvořeného z pigmentových buněk, xenoderma pigmentosum, keratoactanthomy, nádoru varlete, rakoviny štítného váčku a nádoru nezralých tkání různého druhu.

Sloučeniny obecného vzorce V mohou také potlačovat angiogenesi nádoru, čímž ovlivňuje nadměrné zhoubné buněčné bujení. Tyto antiangiogenní vlastnosti sloučenin obecného vzorce V mohou být užitečné v léčení jistých forem slepoty souvisejících s cévním zásobením sítnice, artritidy, zvláště zánětlivé artritidy, roztroušené sklerózy, restinózy a lupénky.

Sloučeniny obecného vzorce V mohou přivodit nebo potlačit apoptózu, fyziologický děj zámku buňky kritický pro běžný vývoj a homeostázi. Střídání apoptotických cest přispívá ke vzniku a vývoji chorobných změn u různých onemocnění lidí. Sloučeniny obecného vzorce V, jako modulatory apoptózy, budou užitečné v léčení různých onemocnění lidí s odchylkami v apoptóze, včetně rakoviny (zvláště folikulárních lymfomů, karcinomů s mutací p53, nádorů prsu, předstojné žlázy a vaječníku, závislých na hormonech a předrakovinných lézí, jako familiární adenomatózní polypózy, ale bez omezení pouze na ně), virových infekcí (včetně herpesviru, neštovic, viru Epstein–Barrové, viru Sindbis a adenoviru, ale bez omezení pouze na ně), autoimunitních onemocnění (včetně systemického zarudlého šířavého vředu, imunně zprostředkované glomerulonefritidy, revmatoidní artritidy, lupénky, zánětlivého onemocnění střev a autoimunitní cukrovky, ale bez omezení pouze na ně), neurodegenerativních onemocnění (včetně Alzheimerovy choroby, demence spojené s AIDS, Parkinsonovy choroby, amyotropické laterální sklerózy, pigmentózního zánětu sliznice, zakrnění páteřního svalstva a degenerace mozečku, ale bez omezení pouze na ně), AIDS, myelodysplastických syndromů, aplastické chudokrevnosti, infarktů myokardu spojených s ischemickým poškozením mrtvice a reperfusních poškození, arytmií, aterosklerózy, onemocnění jater vyvolaného toxinem nebo alkoholem, hematologického onemocnění (včetně ale bez omezení na chronické anemie a aplastické anemie), degenerativního onemocnění svalovkos-

terní soustavy (včetně ale bez omezení na osteoporózy a artritidy), rhinosinusitidy při citlivosti na aspirin, cystické fibrózy, roztroušené sklerózy, onemocnění ledvin a rakovinné bolesti.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou také užitečné v kombinaci se známými protirakovinnými a cytostatickými činidly a léčivy, včetně ozařování. Připraví-li se v pevných dávkách, využívají takové kombinované prostředky sloučenin podle tohoto vynálezu v rozmezí dávek popsaném níže a jiných farmaceuticky účinných činidel v doporučených rozmezích dávek. Sloučeniny obecného vzorce V se mohou používat postupně se známými protirakovinnými a cytostatickými činidly a léčivy, včetně ozařování, pokud není kombinovaný prostředek nevhodný. Zvláště účinná jsou kombinace cytostatických léčiv, ve kterých působí druhé léčivo v odlišném stadiu buněčného cyklu, např. v S-fázi, než přítomné sloučeniny obecného vzorce V, které projevují svůj účinek v G₂-M fázi.

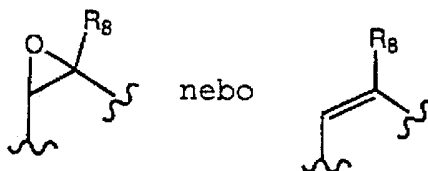
Např. inhibitory thymidilátsyntázy,
činidla způsobující zesítnění DNA,
inhibitory topoizomerázy I a II,
činidla způsobující alkylaci DNA,
inhibitory ribonukleosidreduktázy,
cytotoxické faktory, např. TNF- α nebo
inhibitory růstového faktoru, např. HER2 receptorů MAB.

Předkládané sloučeniny se mohou vyskytovat v násobných optických, geometrických izomerech a stereoizomerech. V rozsahu tohoto vynálezu jsou všechny takové izomery a jejich směsi.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu se mohou zpracovávat s farmaceutickými pomocnými prostředky nebo rozpouštědly pro ústní, nitrožilní nebo podkožní podávání. Farmaceutické prostředky se mohou zpracovávat běžným způsobem za použití pevných nebo kapalných pomocných prostředků, ředidel a doplňkových přísad vhodných pro požadovaný způsob podávání. Ústně se sloučeniny mohou podávat v podobě tablet, kapslí, granulí, prášků a podobně. Sloučeniny se podávají v dávkách v rozmezí od 0,05 do 200 mg.kg⁻¹ za den, výhodně méně než 100 mg.kg⁻¹ za den v jedné dávce nebo se toto množství rozdělí do 2 až 4 dávek.

Výhodné sloučeniny

Zvláště výhodnými sloučeninami obecného vzorce V jsou ty sloučeniny, ve kterých



X je atom kyslíku,

Y je atom kyslíku,

40

Z₁ a Z₂ jsou skupinami CH₂ a

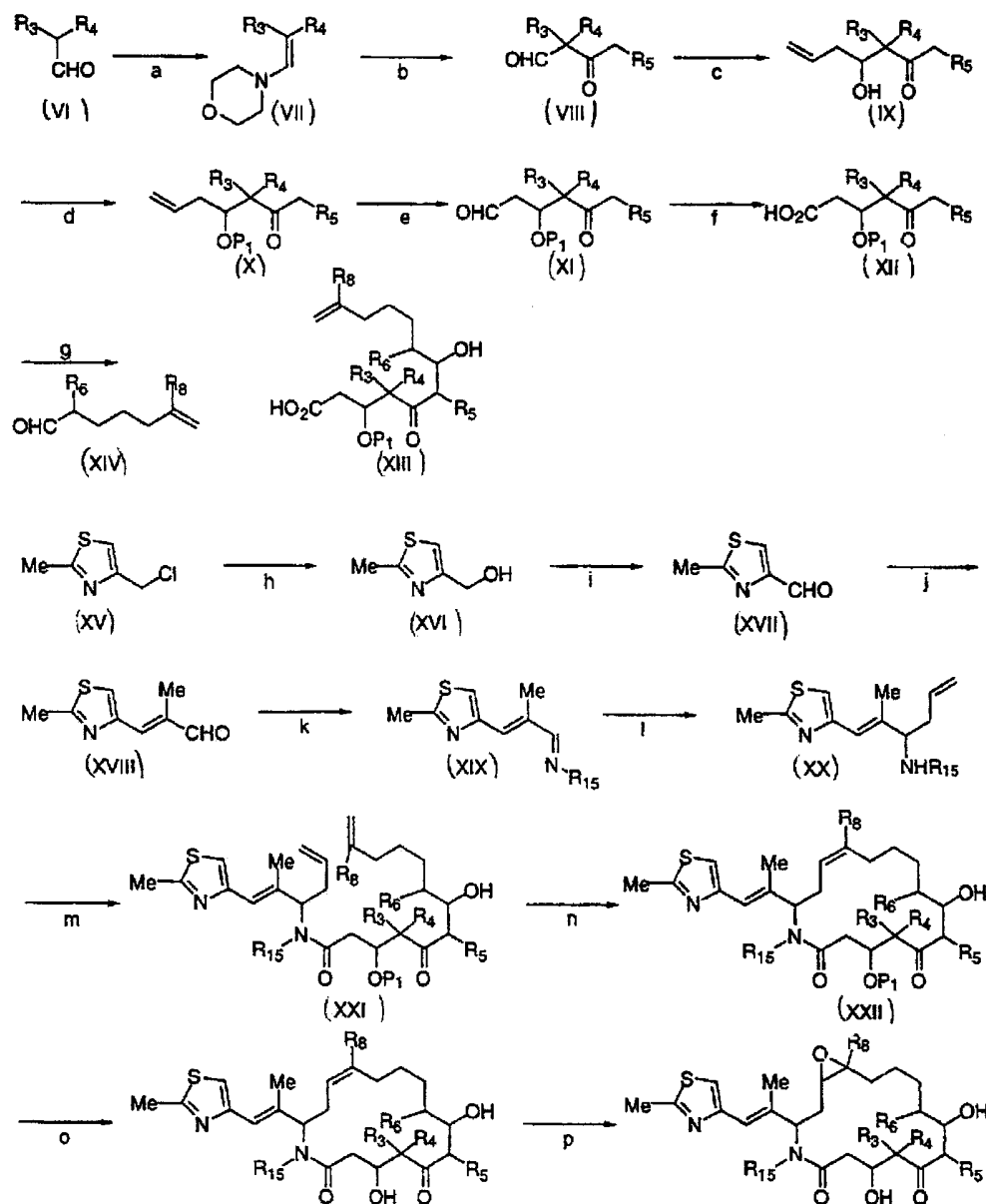
W je NR₁₅.

Způsob přípravy

Sloučeniny obecného vzorce V se připravují podle následujících schémat:

5

Schéma 1



V (Q je ethylenová skupina) V (Q je oxiranová skupina) ,

kde R₃, R₄, R₅, R₆, R₈ a R₁₅ mají stejný význam jako výše a

10

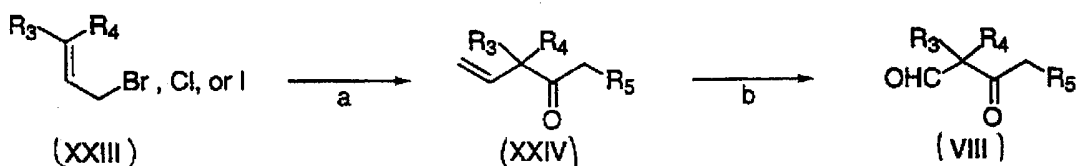
P₁ je skupina chránící atom kyslíku.

Sloučeniny obecného vzorce V, ve kterých W je NR₁₅ a X je atom kyslíku se mohou připravit podle schématu 1. Sloučenina obecného vzorce XII, kde P₁ je skupina chránící atom kyslíku, jako *tert*-butyldimethylsilyl, se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce VI známými způsoby (tj. Nicolaou K. C. a kol., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 36, 166 až 168 (1997)). Aldolová reakce

15

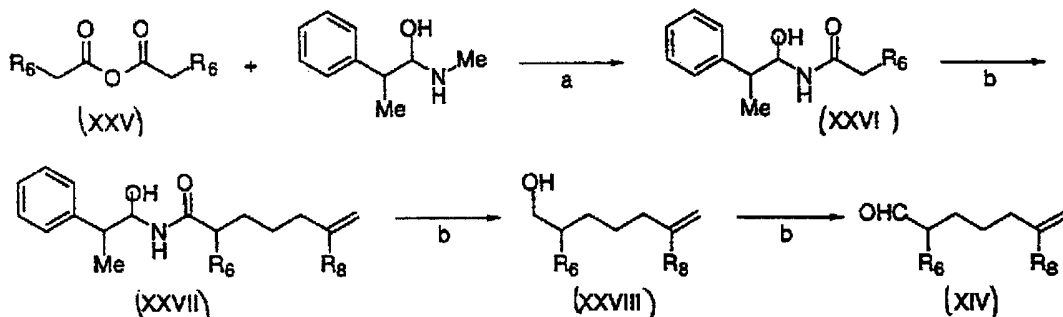
sloučeniny obecného vzorce XII a sloučeniny obecného vzorce XIV poskytuje sloučeninu obecného vzorce XIII. Sloučenina obecného vzorce XIV se může připravit známými způsoby (tj. Schinzer D. a kol., Eur. Chem. Chron., 1, 7 až 10 (1996)). Aldehyd vzorce XVIII se může připravit ze sloučeniny vzorce XV podle schématu 1 nebo známými způsoby (tj. Taylor R. E. a kol., Tetrahedron Lett., 38, 2061 až 2064 (1997)). Sloučenina obecného vzorce XIX se může připravit ze sloučeniny vzorce XVIII zpracováním s aminem za užití dehydratačních podmínek, jako katalytického množství kyseliny *p*-toluensulfonové a azeotropickým odstraněním vody. Sloučenina obecného vzorce XX se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XIX zpracováním s allylačním činidlem, jako allylmagnesiumbromidem. Sloučenina obecného vzorce XXI se může připravit ze sloučenin obecných vzorců XIII a XX, reakcí s běžnými činidly vázícími se amidovou vazbou (tj. DCC, BOP, EDC/HOBT, PyBrOP). Sloučenina obecného vzorce XXII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXI uzavřením kruhu výměnnou reakcí za použití buď Grubbsova ($\text{RuCl}_2(=\text{CHphenyl})(\text{PCY}_3)_2$, viz Grubbs R. H. a kol., Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 34, 2039 (1995), nebo Schrockova katalyzátoru (viz Schrock R. R. a kol., J. Am. Chem. Soc., 112, 3875 (1990)). Odstranění chránicí skupiny ve sloučenině obecného vzorce XXI za použití, například je-li P_1 *tert*-butyldimethylsilylová skupina, fluorovodíku v acetonitrilu nebo tetra-*n*-butylamoniumfluoridu v THF poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde Q je ethylenová skupina, W je NR_{15} , X je atom kyslíku a R_3 , R_4 , R_5 a R_6 mají stejný význam jako výše. Regioselektivní epoxidace sloučeniny obecného vzorce V, kde Q je ethylenová skupina, za použití dimethyldioxiranu poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde Q je oxiranová skupina, W je NR_{15} , X je atom kyslíku a R_3 , R_4 , R_5 a R_{15} mají stejný význam jako výše.

Schéma 2



Případně se sloučenina obecného vzorce VIII může připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce XXIII s hořčíkem a chloridem kyseliny ($\text{R}_5\text{CH}_2\text{COCl}$) za vzniku sloučeniny obecného vzorce XXIV (viz například Heathcock C. a kol., J. Org. Chem., 55 1114 až 1117 (1990)) a následnou ozonolýzou za vzniku sloučeniny obecného vzorce VIII, jak se ukazuje ve schématu 2.

Schéma 3

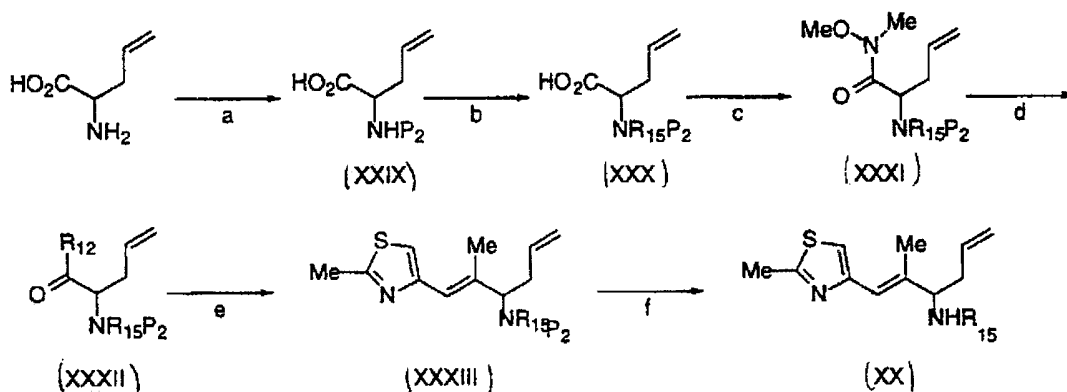


Sloučenina obecného vzorce XIV se může případně připravit jak znázorněno ve schématu 3. Reakce sloučeniny obecného vzorce XXV a pseudoefedrinu poskytuje sloučeninu obecného vzorce XXVI. Sloučenina obecného vzorce XXVII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXVI alkylací pentenylhalogenidem, jako 5-brompentenem, způsobem podle Meyerse (tj. Meyers A. a kol., J. Am. Chem. Soc., 116, 9361 a 9362 (1994)). Sloučenina obecného vzorce XXVIII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXVII reakcí s redukčním činidlem,

jako lithiumpyrrolidinylborohydridem. Oxidace sloučeniny obecného vzorce XXVIII za použití například pyridiniumchlorchromatu poskytuje sloučeninu obecného vzorce XIV. Přímého převedení sloučeniny obecného vzorce XXVII na sloučeninu obecného vzorce XIV se může dosáhnout redukčním činidlem, jako lithiumtriethoxyaluminiumhydridu.

5

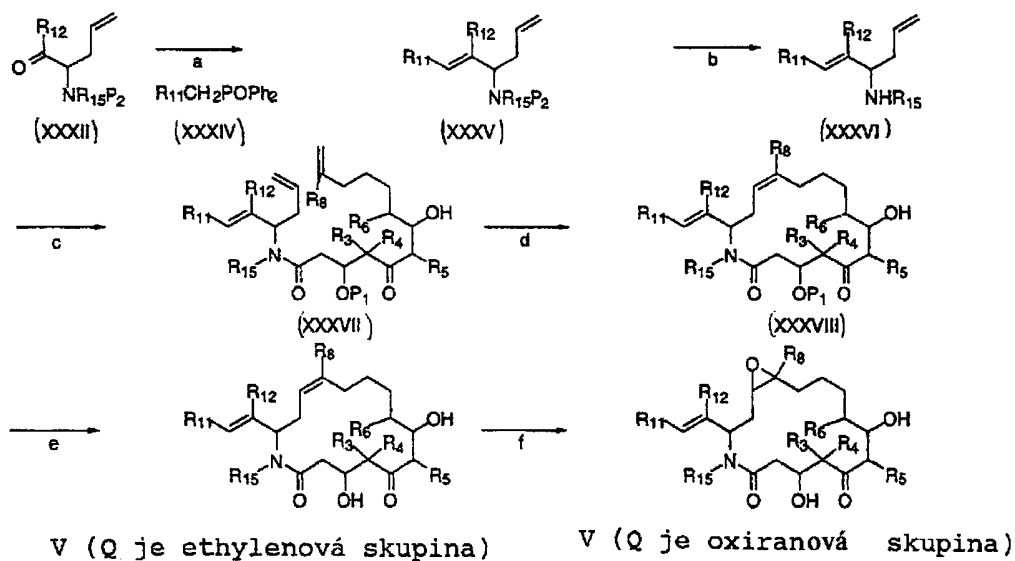
Schéma 4



- Sloučenina obecného vzorce XX se může případně připravit z allylglycinu, jak se ukazuje ve schématu 4. Atom dusíku v allylglycinu se může chránit způsoby známými v oboru za vzniku sloučeniny obecného vzorce XXIX, kde P₂ je vhodná chránicí skupina atomu dusíku, jako *tert*-butoxykarbonyl. Případně, není-li R₂₉ atom vodíku, se sloučenina obecného vzorce XXX může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXIX alkylací alkylhalogenidem v přítomnosti báze, jako hydridu sodného. Sloučenina obecného vzorce XXXI se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXX použitím N,O-dimethylhydroxylaminu a běžných kondenzačních činidel, jako EDCI a HOBT. Sloučenina obecného vzorce XXXII se může připravit z hydroxamátu obecného vzorce XXXI zpracováním s organokovovým činidlem, jako alkyl- nebo arylmagneziumhalogenidem. Wittigova olefinace sloučeniny obecného vzorce XXXII poskytuje sloučeninu obecného vzorce XXXIII (Wittigovo činidlo se připraví jak uvádí Danishefsky S. E: a kol., J. Org. Chem., 61, 7998 až 7999 (1996)). Odstranění skupiny chránící atom dusíku ve sloučenině obecného vzorce XXXIII způsoby známými v oboru poskytuje sloučeninu obecného vzorce XX.

20

Schéma 5

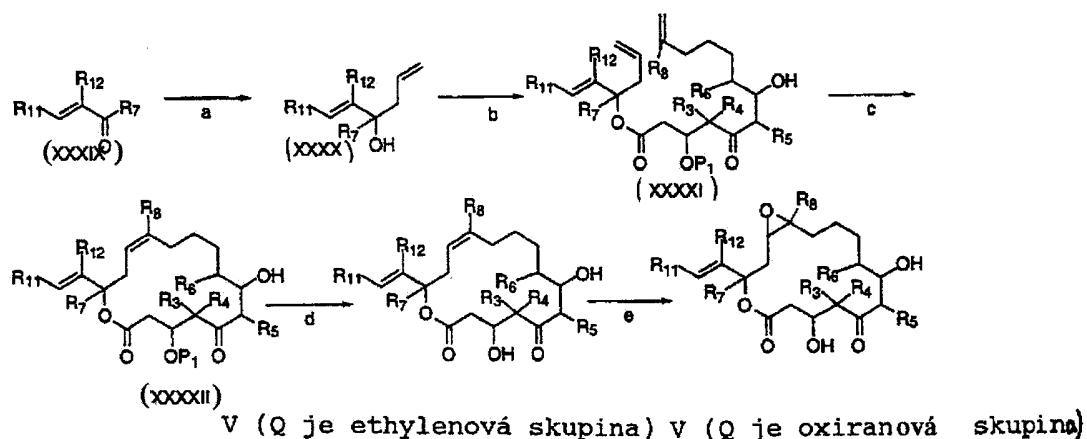


25

Sloučenina obecného vzorce V, kde W je NR_{15} , X je atom kyslíku a G je 1,2-disubstituovaný olefin se může připravit jak je znázorněno na schématu 5. Sloučenina obecného vzorce XXXV se může připravit Wittigovou olefinací sloučeniny obecného vzorce XXXII. Sloučenina obecného vzorce XXXIV se může připravit způsoby známými v oboru. Sloučenina obecného vzorce XXXVI se může připravit odstraněním skupiny chránící atom dusíku ve sloučenině obecného vzorce XXXV použitím způsobů známých v oboru. Sloučenina obecného vzorce XXXVII se může připravit kondenzační reakcí sloučeniny obecného vzorce XXXVI a sloučeniny obecného vzorce XIII použitím běžných kondenzačních činidel, jako EDCI a HOBT. Sloučenina obecného vzorce XXXVIII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXVII způsoby, které se popisují ve schématu 1 pro přípravu sloučeniny obecného vzorce XXII. Použitím způsobů, které se popisují ve schématu 1 (kroky o a p), se může převést sloučenina obecného vzorce XXXVIII na sloučeniny obecného vzorce V, kde W je NR_{15} , X je atom kyslíku a G je 1,2-disubstituovaný olefin.

15

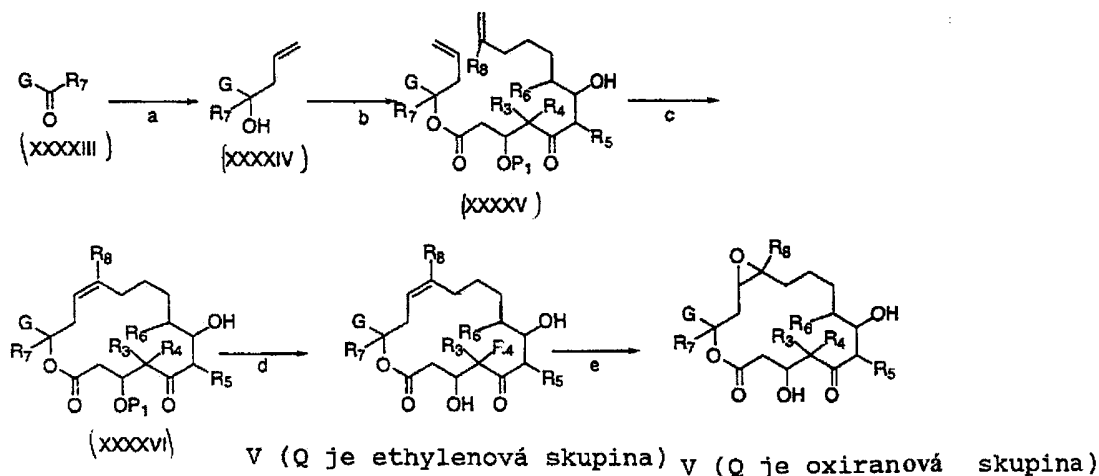
Schéma 6



Sloučenina obecného vzorce V, kde W a X jsou atomy kyslíku a G je 1,2-disubstituovaný olefin se může připravit jak znázorněno ve schématu 6. Sloučenina obecného vzorce XXXX se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXIX zpracováním s allylačním činidlem, jako allylmagnesiumbromidem. Enantiomerně čistá sloučenina obecného vzorce XXXX se může připravit užitím chirálních činidel (viz například Taylor R. E. a kol., *Tetrahedron Lett.* **38**, 2061 až 2064 (1997), Nicolaou K. C. a kol., *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, **36**, 166 až 168 (1997), Keck G. a kol., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 8467 (1993)). Sloučenina obecného vzorce XXXXI se může připravit ze sloučenin obecných vzorců XXXX a XIII použitím známých způsobů esterifikace, jako s použitím DCC a DMAP. Sloučenina obecného vzorce XXXXII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXXI pomocí výměnné reakce kruh uzavírajícího olefinu, jak se popisuje ve schématu 1 pro přípravu sloučeniny obecného vzorce XXII. Sloučeniny obecného vzorce V, kde W a X jsou atomy kyslíku a G je 1,2-disubstituovaný olefin se mohou připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXXII odstraněním chránící skupiny (pokud je Q ethylenová skupina) a, požaduje-li se, epoxidací (pokud je Q oxiranová skupina), jak se popisuje výše.

30

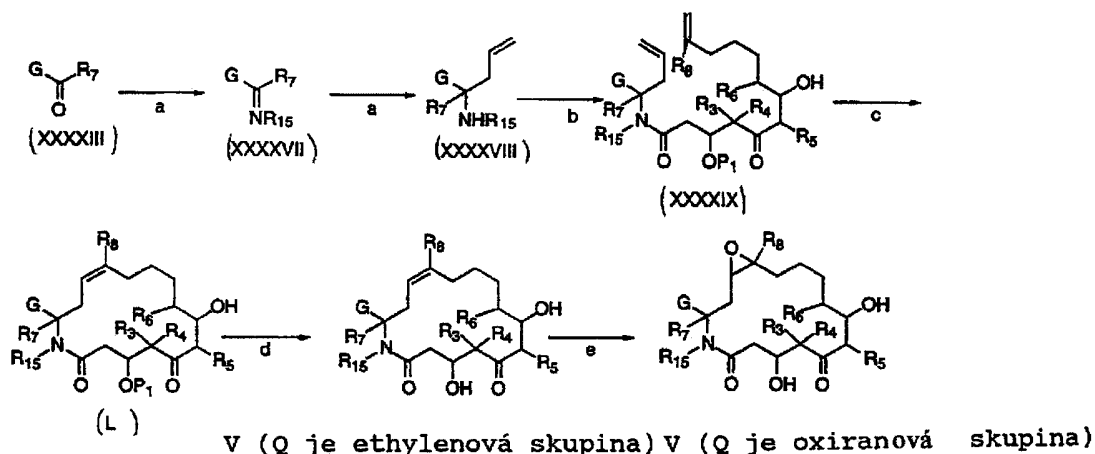
Schéma 7



Sloučenina obecného vzorce V, kde W a X jsou atomy kyslíku a G je alkyl, aryl, heteroaryl, bicykloaryl nebo bicykloheteroaryl se může připravit jak znázorněno ve schématu 7. Sloučenina obecného vzorce XXXIV se může připravit allylací sloučeniny obecného vzorce XXXIII, kde G je alkyl, substituovaný alkyl, aryl, heteroaryl, bicykloaryl nebo bicykloheteroaryl, reakcí s allylačným činidlem, jako allylmagnesiumbromidem. Sloučenina obecného vzorce XXXV se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXIV esterifikací se sloučeninou obecného vzorce XIII použitím například DCC nebo DMAP. Sloučenina obecného vzorce XXXVI se může připravit ze sloučeniny XXXV uzavřením kruhu výměnnou reakcí, jak se popisuje výše. Následují způsoby, které se popisují výše ve schématu 1, sloučenina obecného vzorce XXXVI se může převést na sloučeniny obecného vzorce V odstraněním chránicí skupiny a následnou epoxidací.

15

Schéma 8

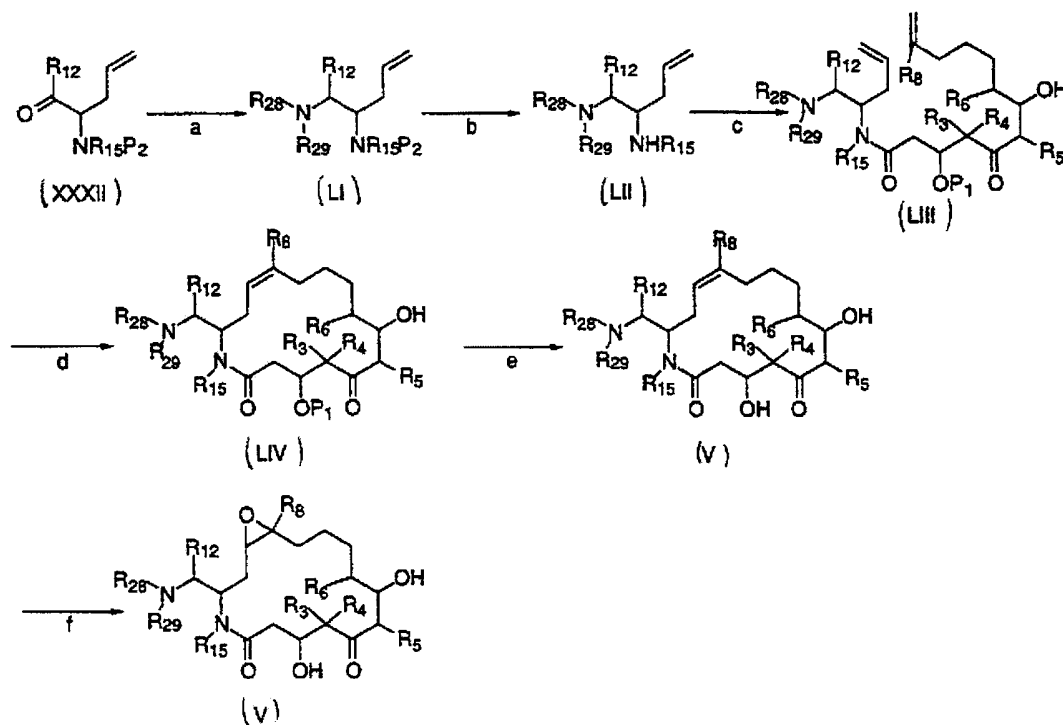


Sloučenina obecného vzorce V, kde W je NR₁₅, X je atom kyslíku a G je alkyl, aryl, heteroaryl, bicykloaryl nebo bicykloheteroaryl se může připravit jak znázorněno ve schématu 8. Sloučenina obecného vzorce XXXVII se může připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce XXXIII, kde G je alkyl, substituovaný alkyl, aryl, heteroaryl, bicykloaryl nebo bicykloheteroaryl, a aminu za dehydratačních podmínek. Sloučenina obecného vzorce XXXVIII se může připravit ze sloučeniny XXXVII zpracováním s allylačným činidlem, jako allylmagnesiumbromidem. Sloučenina obecného vzorce XXXIX se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXVIII a sloučeniny obecného vzorce XIII běžnými kondenzačními způsoby tvorby amidové vazby za použití

například EDCI nebo HOBt. Sloučenina obecného vzorce L se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXIX uzavřením kruhu výměnnou reakcí, jak se popisuje výše. Následující způsoby, které se popisují výše ve schématu 1, sloučenina obecného vzorce L se může převést na sloučeniny obecných vzorců V odstraněním chránicí skupiny a následnou epoxidací.

5

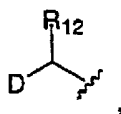
Schéma 9



Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku, W je NR_{15} a

10

G je

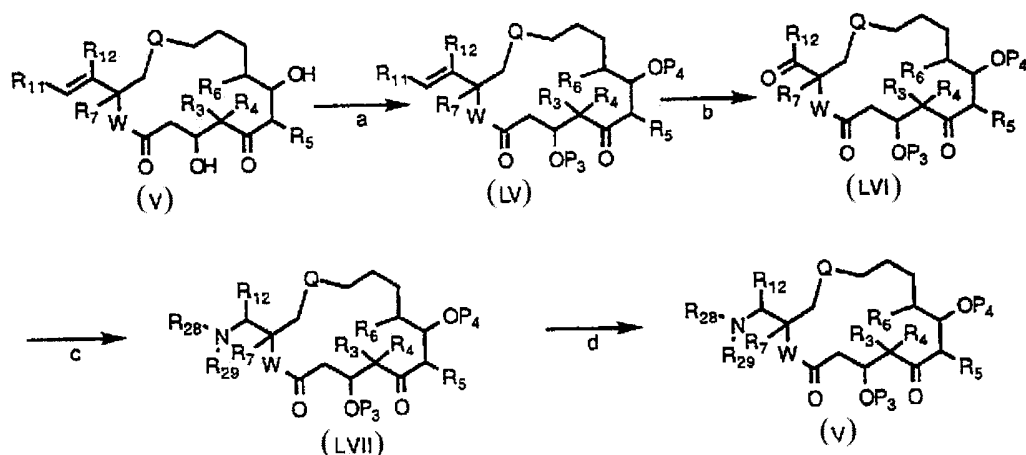


a D je vybráno ze skupiny obsahující $\text{NR}_{28}\text{R}_{29}$, $\text{NR}_{30}\text{COR}_{31}$ a nasycený heterocyklus (tj. piperidinyl, morfolinyl, piperazinyl atd.), se může připravit jak je uvedeno ve schématu 9. Sloučenina obecného vzorce LI se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce XXXII reductivní aminací za použití primárního nebo sekundárního aminu a redukčního činidla, jako triacetoxyborohydridu sodného. Sloučeniny obecného vzorce LIII, LIV a V se poté mohou připravit následnými způsoby, které se popisují výše ve schématu 1.

15

20

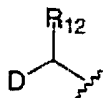
Schéma 10



Alternativně se sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku W je atom kyslíku nebo NR₁₅ nebo kyslík a

5

G je



a D je vybráno ze skupiny obsahující NR₂₈R₂₉, NR₃₀COR₃₁ a nasycený heterocyklus (tj. piperidinyl, morfolinyl, piperazinyl atd.) může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V jak je uvedeno ve schématu 10. Sloučenina obecného vzorce V se může převést na sloučeninu obecného vzorce LV chráněním hydroxylových skupiny vhodnými chránicími skupinami, jako *tert*-butyldimethylsilyl. Sloučenina obecného vzorce LVI se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LV ozonolýzou. Zpracování sloučeniny obecného vzorce LVI s aminem a redukčním činidlem, jako triacetoxyborohydridem sodným poskytuje sloučeninu obecného vzorce LVII. Odstranění ochranných skupin ze sloučeniny obecného vzorce LVII, například fluorovodíkem, poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku W je NR₁₅ nebo atom kyslíku a

15

G je

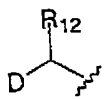
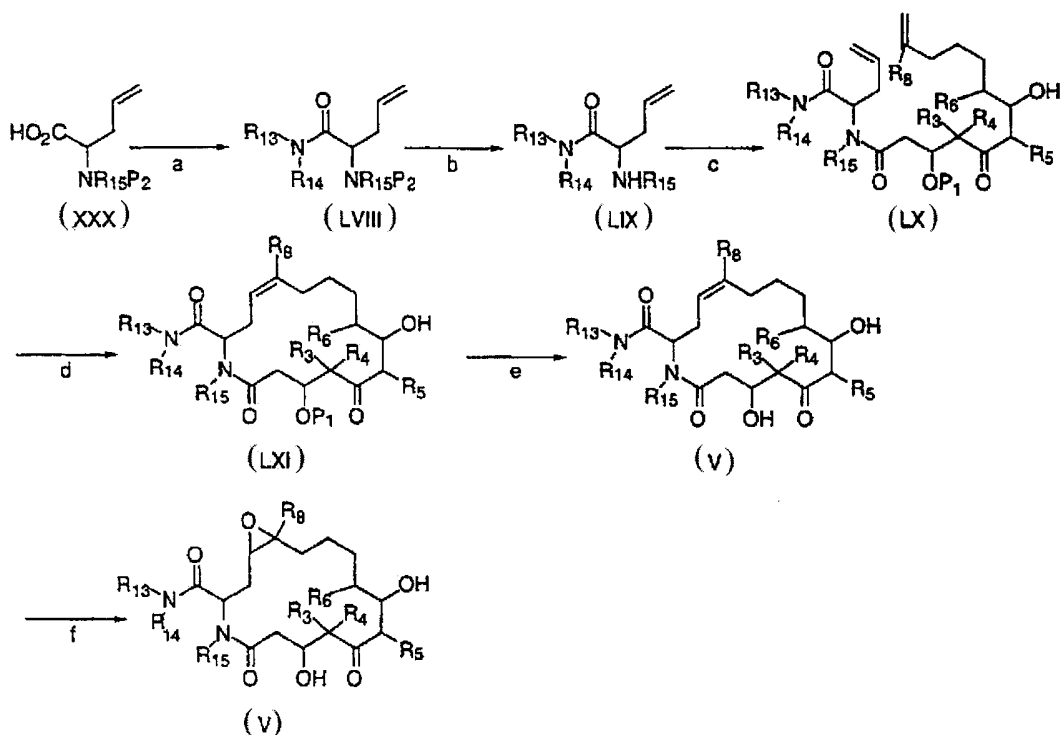
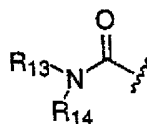


Schéma 11



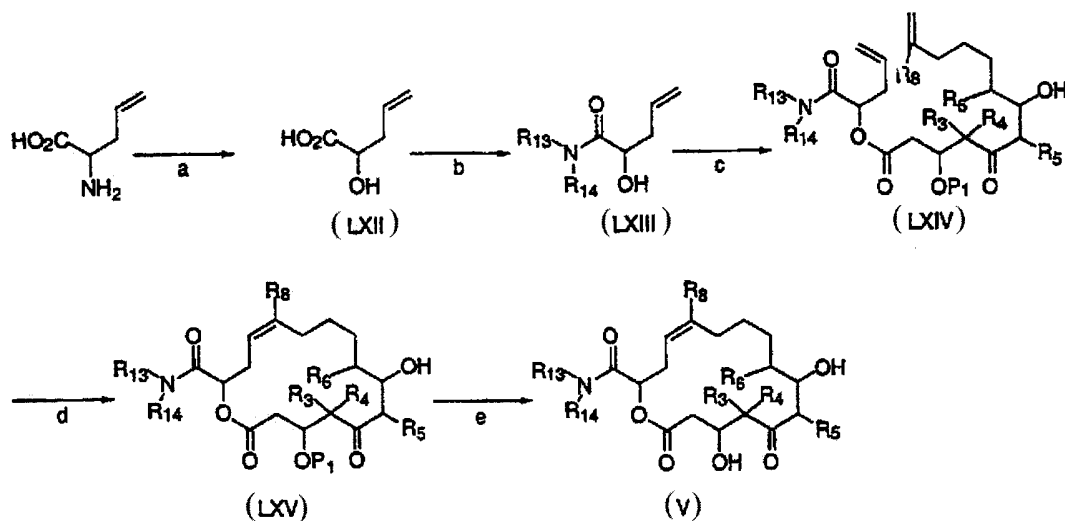
Sloučenina obecného vzorce V, kde W je NR₁₅, X je atom kyslíku a

5 G je



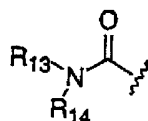
- se může připravit jak je uvedeno ve schématu 11. Sloučenina obecného vzorce LVIII se může připravit ze sloučenin obecného vzorce XXX zpracováním s aminem a běžnými kondenzačními činidly tvořícími amidovou vazbu, jako EDCI a HOBT. Sloučenina obecného vzorce LX se může
- 10 připravit ze sloučeniny obecného vzorce LVIII odstraněním skupiny chránící atom dusíku za použití například kyseliny trifluoroctové, je-li P₂ *tert*-butoxykarbonylová skupina, následnou kondenzací sloučenin obecných vzorců LIX a XIII použitím běžných kondenzačních činidel tvořících amidovou vazbu, jako EDCI a HOBT. Sloučenina obecného vzorce LXI se může
- 15 připravit ze sloučeniny obecného vzorce LX uzavřením kruhu výměnnou reakcí. Sloučenina obecného vzorce V se může následně připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXI způsoby, které se popisují výše ve schématu 1.

Schéma 12



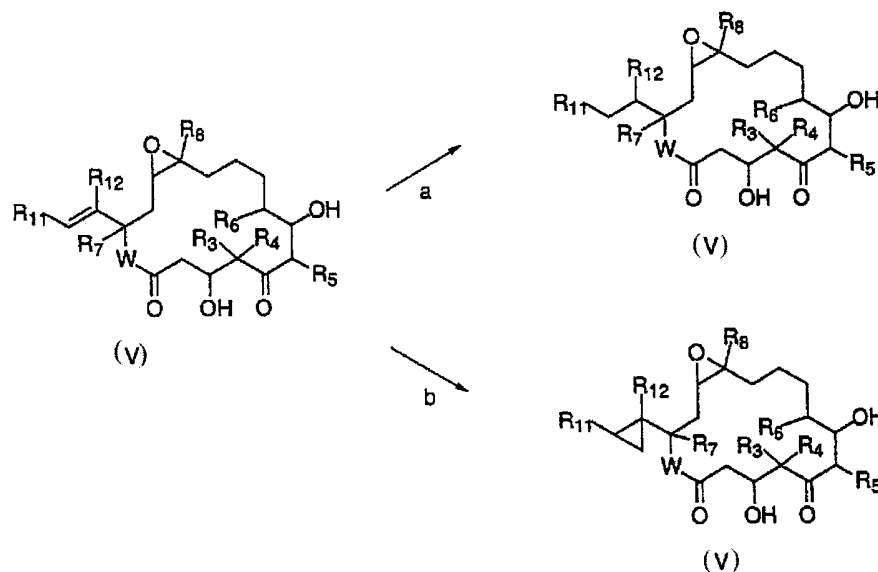
Sloučenina obecného vzorce V, kde W je atom kyslíku, X je atom kyslíku a

5 G je



se může připravit jak je uvedeno ve schématu 12. Sloučenina obecného vzorce LXII se může připravit z allylglycinu zpracováním s kyselinou dusitou. Sloučenina obecného vzorce LXIII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXII zpracováním s aminem a běžnými kondenzačními činidly tvořícími amidovou vazbu, jako EDCI a HOBt. Sloučenina obecného vzorce LXIV se může připravit ze sloučenin obecných vzorců LXIII a XIII použitím běžných kondenzačních činidel tvořících amidovou vazbu, jako EDCI a HOBt. Sloučenina obecného vzorce LXV se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXIV uzavřením kruhu výměnnou reakcí. Sloučenina obecného vzorce V se může následně připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXV způsoby, které se popisují ve schématu 1.

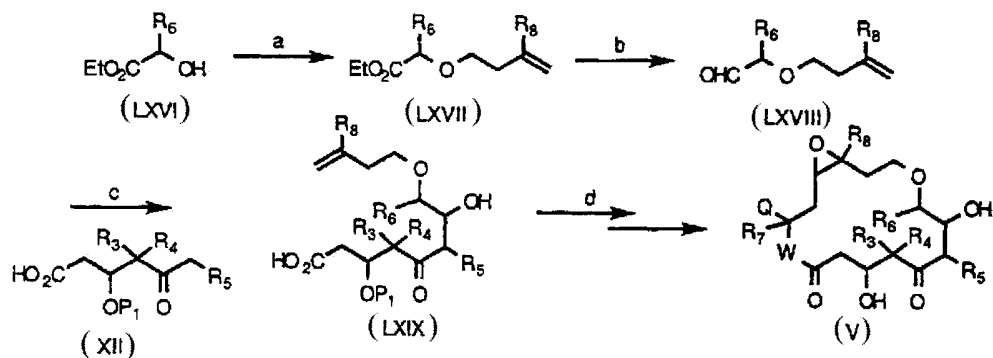
Schéma 13



Sloučenina obecného vzorce V, kde G je 1,2-disubstituovaná ethylová skupina, se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde G je 1,2-disubstituovaná ethylenová skupina, hydrogenací s katalyzátorem, jako palladiem na uhlí, jak se ukazuje ve schématu 13. Kromě toho se může sloučenina obecného vzorce V, kde G je 1,2-disubstituovaná cyklopropylová skupina, připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde G je 1,2-disubstituovaná ethylenová skupina cyklopropanací s diiodmethanem a dvojicí zinek-měď, jak se ukazuje ve schématu 4.

10

Schéma 14

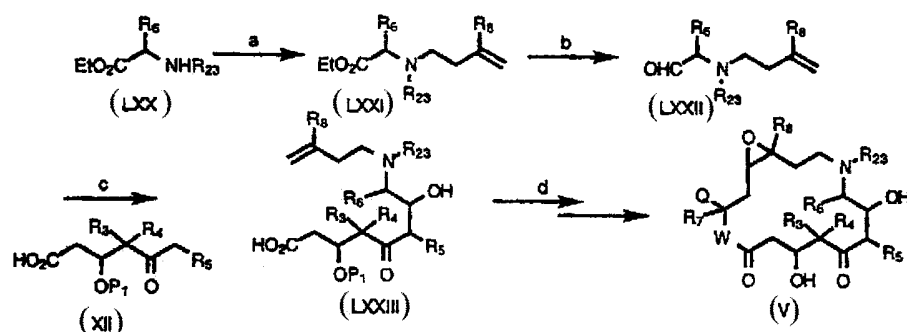


Sloučenina obecného vzorce V, kde je Z₁ atom kyslíku se může připravit jak je uvedeno ve schématu 14. Sloučenina obecného vzorce LXVII se může připravit z α -hydroxyesteru obecného vzorce LXVI a 3-buten-1-yltrifluormethansulfonátu (nebo s 3-butenylbromidem a trifluormethylsulfonátem stříbrným). Sloučenina obecného vzorce LXVII se může redukovat redukčním činidlem, jako diizobutylaluminiumhydridem, pro poskytnutí sloučeniny obecného vzorce LXVIII. Případně se sloučenina obecného vzorce LXVIII může získat ze sloučeniny obecného vzorce LXVII dvoukrokovým postupem zahrnujícím redukcí lithiumborohydridem a oxidací pyridiniumchlorchromátem. Tato sloučenina obecného vzorce LXVIII se může substituovat sloučeninou obecného vzorce XIV ze schématu 1 za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXIX. Další zpracování sloučeniny obecného vzorce LXIX způsobem popsáným výše poskytne sloučeninu obecného vzorce V, kde Z₁ je atom kyslíku.

15

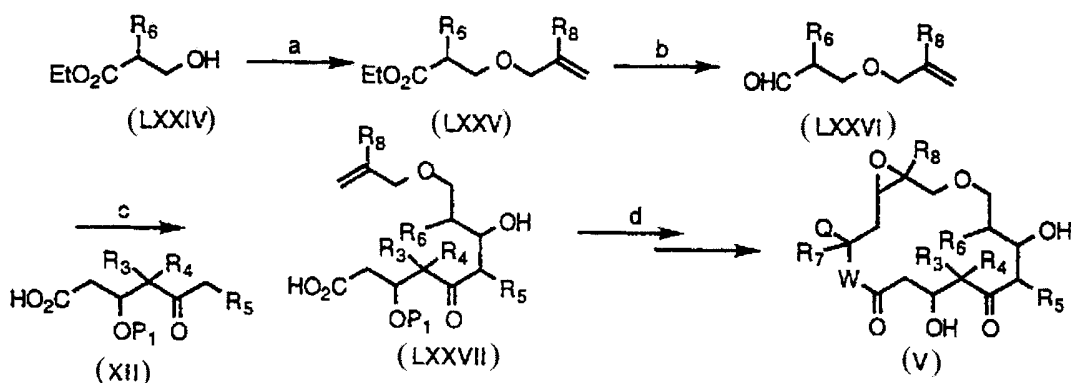
20

Schéma 15



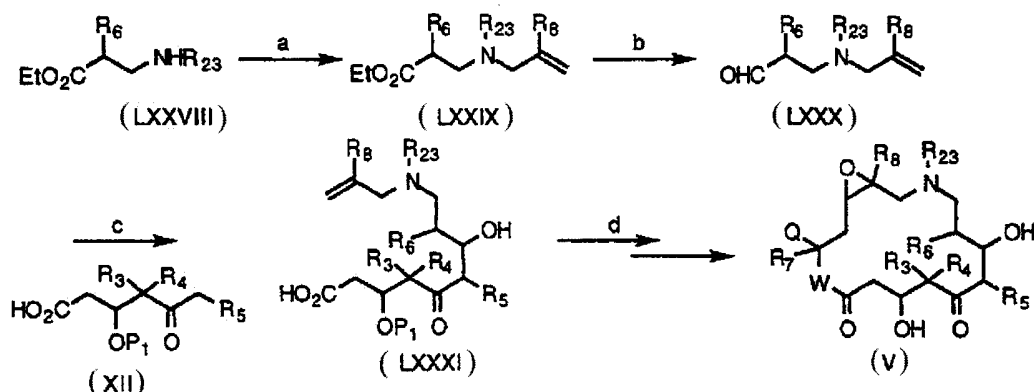
Podobně se může sloučenina obecného vzorce V, kde Z_1 je NR_{23} připravit jak je uvedeno ve schématu 15. Sloučenina obecného vzorce LXXI se může připravit z α-aminoesteru obecného vzorce LXX a 3-buten-1-ylbromidu. Sloučenina obecného vzorce LXXI se může redukovat redukčním činidlem, jako diizobutylaluminiumhydridem pro poskytnutí sloučeniny obecného vzorce LXXII. Případně se sloučenina obecného vzorce LXXII může získat ze sloučeniny obecného vzorce LXXI dvoukrokovým postupem zahrnujícím redukcí lithiumborohydridem a oxidací pyridiniumchlorchromátem. Tato sloučenina obecného vzorce LXXII se může substituovat sloučeninou obecného vzorce XIV ze schématu 1 za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXXIII. Dalším zpracováním sloučeniny obecného vzorce LXXIII způsobem popsáním výše poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde Z_1 je NR_{23} .

Schéma 16



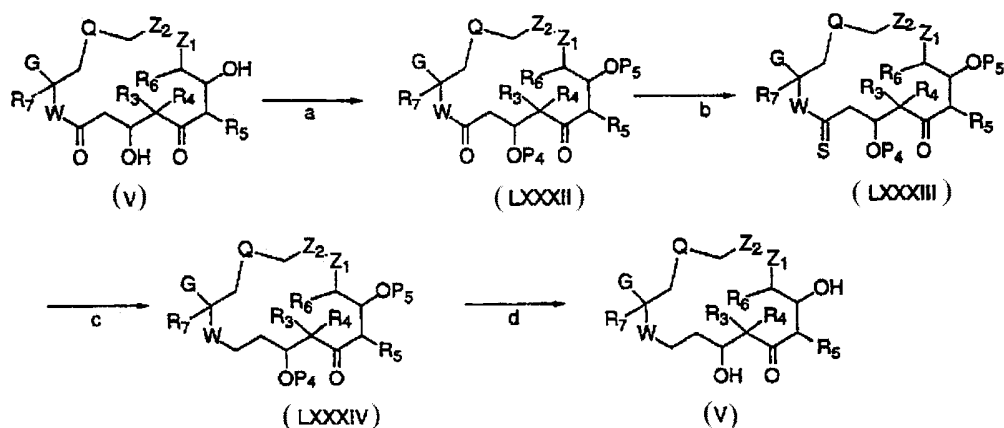
Sloučenina obecného vzorce V, kde Z_2 je atom kyslíku se může připravit jak je uvedeno ve schématu 16. Sloučenina obecného vzorce LXXV se může připravit z β-hydroxyesteru obecného vzorce LXXIV a allylačního činidla, jako allylbromidu (nebo allylbromidu a trifluormethylsulfonátu stříbrného). Sloučenina obecného vzorce LXXV se může redukovat redukčním činidlem, jako diizobutylamoniumhydridem pro poskytnutí sloučeniny obecného vzorce LXXVI. Případně se může sloučenina obecného vzorce LXXVI získat ze sloučeniny obecného vzorce LXXV dvoukrokovým postupem zahrnujícím redukcí lithiumborohydridem a oxidací pyridiniumchlorchromátem. Tato sloučenina obecného vzorce LXXVI se může substituovat sloučeninou obecného vzorce XIV ze schématu 1 za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXXVII. Další zpracování sloučeniny obecného vzorce LXXVII způsobem popsáním výše poskytne sloučeninu obecného vzorce V, kde Z_2 je atom kyslíku.

Schéma 17



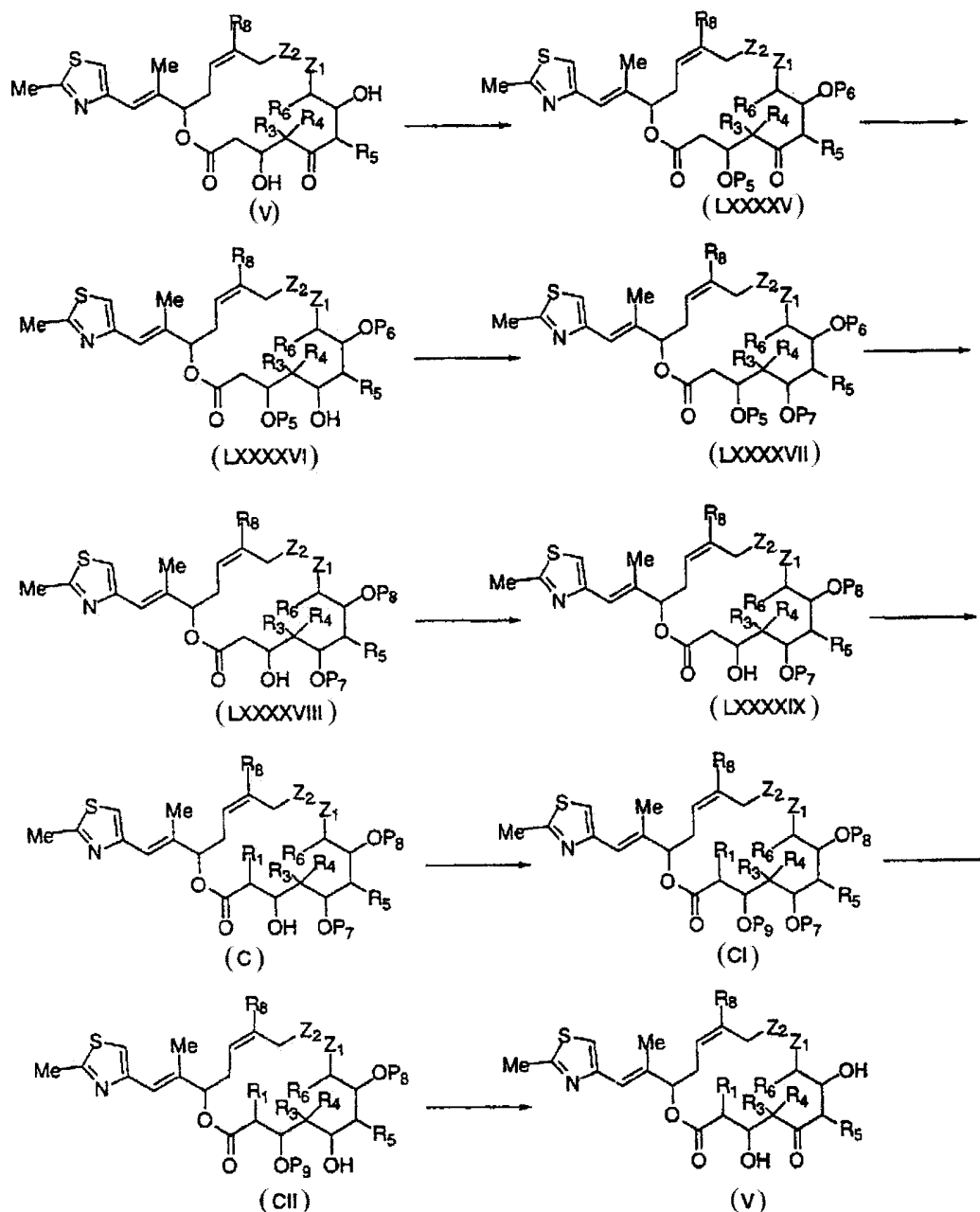
Podobně se může sloučenina obecného vzorce V, kde Z_2 je NR_{23} , připravit jak je uvedeno ve schématu 17. Sloučenina obecného vzorce LXXIX se může připravit z β -aminoesteru obecného vzorce LXXVIII a allylačního činidla, jako allylbromidu. Sloučenina obecného vzorce LXXIX se může redukovat redukčním činidlem, jako diizobutylaluminiumhydridem, pro poskytnutí sloučeniny obecného vzorce LXXX. Případně se sloučenina obecného vzorce LXXX může získat ze sloučeniny obecného vzorce LXXIX dvoukrokovým postupem zahrnujícím redukcí lithiumborohydridem a oxidací pyridiniumchlorchromátem. Tato sloučenina obecného vzorce LXXX se může substituovat sloučeninou obecného vzorce XIV ze schématu 1 za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXXXI. Další zpracování sloučeniny obecného vzorce LXXXI způsobem popsaným výše poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde Z_2 je NR_{23} .

Schéma 18



Sloučenina obecného vzorce V, kde W je atom kyslíku nebo NR_{15} a Y je H, H se může připravit jak je uvedeno ve schématu 18. Sloučenina obecného vzorce V se může převést na sloučeninu obecného vzorce LXXXII, kde P_4 a P_5 jsou skupiny chránící hydroxylové skupiny, zpracováním s činidlem, jako *tert*-butyldimethylsilyltrimethylsulfonátem. Sloučenina obecného vzorce LXXXIII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce zpracováním s Lawessonovým činidlem. Sloučenina obecného vzorce LXXXIV se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXXXIII použitím redukčního činidla, jako tri-*n*-butylcínhydridu, je-li W atom kyslíku, nebo zpracováním s methyljodidem a borohydridem sodným, je-li W NR_{15} . Odstranění chránících skupin ze sloučeniny obecného vzorce LXXXIV použitím například fluorovodíku, jsou-li P_4 a P_5 silylové skupiny, poskytuje sloučeninu obecného vzorce V, kde W je atom kyslíku nebo NR_{15} a Y je H, H.

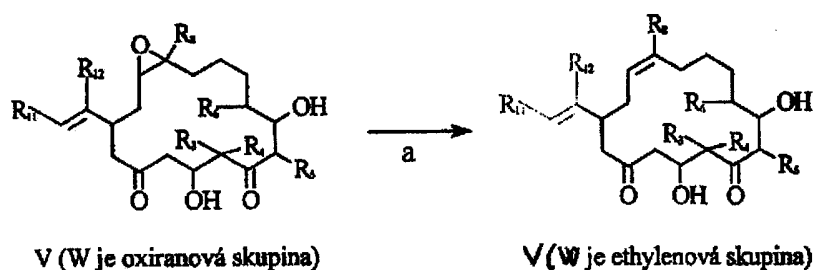
Schéma 19



- Sloučenina obecného vzorce V, kde W a Y jsou atomy kyslíku a R₁ je alkyl nebo substituovaný alkyl se může připravit jak je uvedeno ve schématu 19. Sloučenina obecného vzorce V se může chránit za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXXXV, kde P₅ a P₆ jsou skupiny chránící hydroxylové skupiny, zpracováním s činidlem, jako *tert*-butyldimethylsilyltrifluormethansulfonátem. Sloučenina obecného vzorce LXXXVI se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXXXV zpracováním s redukčním činidlem, jako borohydridem sodným. Sloučenina obecného vzorce LXXXVII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXXXVI zavedením skupiny chránící hydroxylovou skupinu, kde P₇ je například *p*-methoxybenzyl, s použitím *p*-methoxybenzyltrichloracetimidátu. Odstraněním chránících skupin P₅ a P₆ ze sloučeniny obecného vzorce LXXXVII, s použitím například fluorovodíku v pyridinu, jsou-li P₅ a P₆ *tert*-butyldimethylsilylové skupiny, poskytuje sloučeninu obecného vzorce LXXXVIII, která se poté může selektivně chránit použitím například *tert*-butyldimethylsilylchloridu, za vzniku sloučeniny obecného vzorce LXXXIX, kde P₈ je *tert*-butyldimethylsilylová skupina. Sloučenina obecného vzorce C se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce LXXXIX zpracováním s bází, jako lithiundiizo-

propylamidem, a následným zpracováním s alkylačním činidlem, jako methyljodidem. Sloučenina obecného vzorce C se může chránit za vzniku sloučeniny obecného vzorce CI, kde P_9 je skupina chránící hydroxylovou skupinu, zpracováním s činidlem, jako *tert*-butyldimethylsilyltri-
 5 fluormethansulfonátem. Sloučenina obecného vzorce CII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce CI, odstraněním skupiny P_7 použitím například DDQ, je-li P_7 *p*-methoxybenzyllová skupina. Sloučenina obecného vzorce V, kde W a Y jsou atomy kyslíku a R_1 je alkyl nebo substi-
 10 tuovaný alkyl se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce CII oxidací za použití například TPAP/NMO a následným odstraněním chránících skupin, použitím například fluorovodíku, jsou-li P_8 a P_9 silylové skupiny. Tato sloučenina obecného vzorce V se může dále oxidovat dimethyl-
 dioxiranem podle schématu 1 pro poskytnutí odpovídající epoxidové sloučeniny obecného vzorce V.

Schéma 20

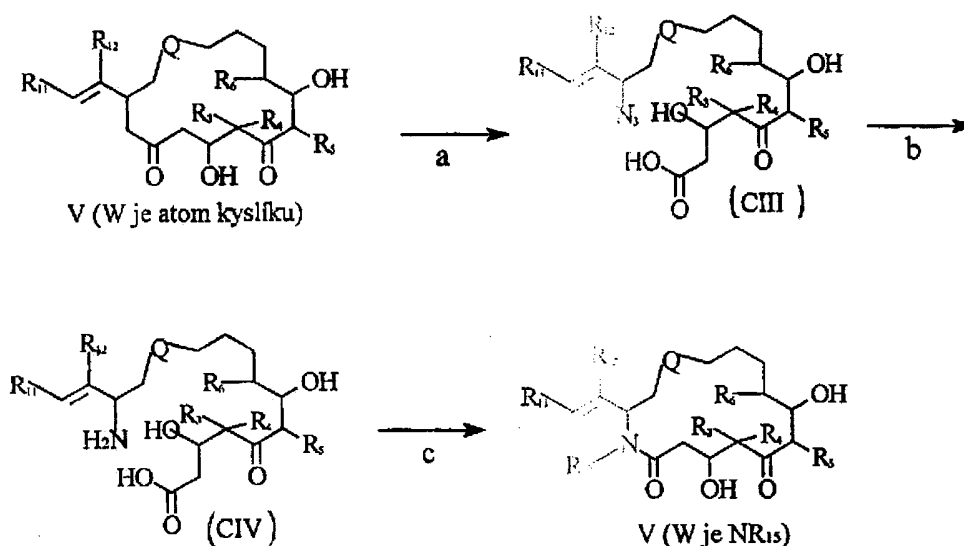


15

Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a Q je olefin, se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a Q je oxiranový kruh, zpracováním s reaktivním metalocenem, jako titanocenem, zirkonocenem nebo niobocenem jak je uvedeno ve schématu 20
 (viz například R. Schobert a U. Hohlein, Synlett, 465 až 466 (1990)).

20

Schéma 21

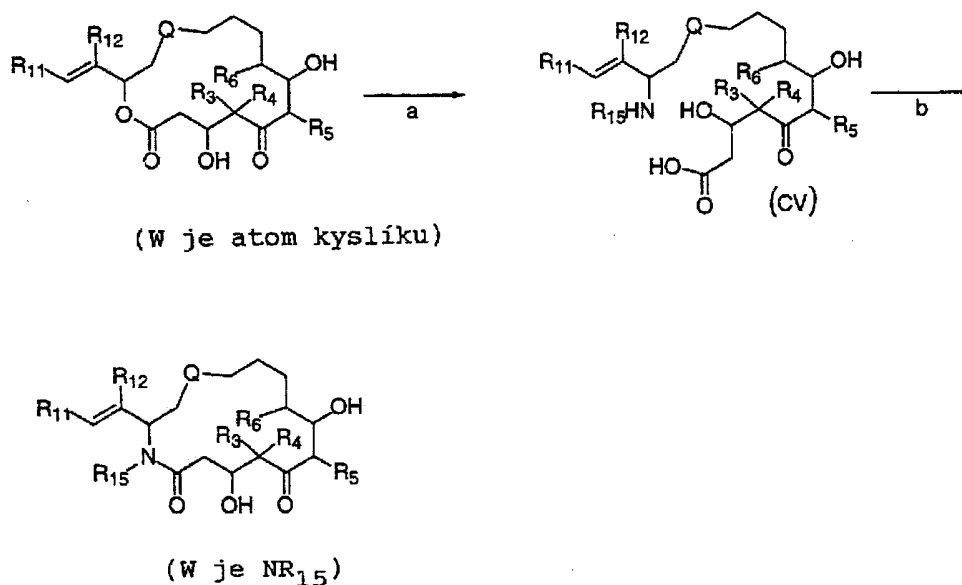


25

Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a W je NR_{15} , přičemž R_{15} je atom vodíku se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde jak X, tak W jsou atomy kyslíku, jak je uvedeno ve schématu 21. Sloučenina obecného vzorce CIII se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde jak X tak W jsou atomy kyslíku, vytvořením π -allylpalladiového komplexu za použití například palladiumtetrakis(trifenylofosfinu) a následným zpracováním s azidem sodným
 (viz například: Murahashi S.-I. a kol., J. Org. Chem., 54, 3292 (1989)). Následná redukce slouče-

niny obecného vzorce CIII s redukčním činidlem, jako trifenylfosfinem, poskytuje sloučeninu obecného vzorce CIV. Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a W je NR_{15} , přičemž R_{15} je atom vodíku, se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce CIV makrolaktamizací za použití například difenylfosforylazidu nebo bromtripyrrolidinofosfoniumhexafluorofosfátu (PyBroP).

Schéma 22



- Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a W je NR_{15} , přičemž R_{15} je alkyl, substituovaný alkyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl, heterocyklyl, O-alkyl, O-substituovaný alkyl se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde jak X tak W jsou atomy kyslíku, jak je uvedeno ve schématu 22. Sloučenina obecného vzorce CV se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V, kde jak X, tak W jsou atomy kyslíku, vytvořením pi-allylpalladiového komplexu za použití například palladiumtetrakisfenylfosfinu a následným zpracováním s primárním aminem. Sloučenina obecného vzorce V, kde X je atom kyslíku a W je NR_{15} , přičemž R_{15} je alkyl, substituovaný alkyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl, heterocyklyl, hydroxylová skupina, O-alkyl, O-substituovaný alkyl, se může připravit ze sloučeniny obecného vzorce V makrolaktamizací za použití například difenylfosforylazidu nebo bromtripyrrolidinofosfoniumhexafluorofosfátu (PyBroP). V případě, že R_{15} je hydroxylová skupina, může být nezbytné odstranění chránicí skupiny, jako *tert*-butyldimethylsilylu, z meziprojektu, kde R_{15} je O-*tert*-butyldimethylsilyl.

In vitro sledování biologické aktivity sloučenin obecného vzorce V se provádělo následovně:

Polymerace tubulinu *in vitro*

- Dvakrát cyklovaný tubulin z telecích mozků se připravil podle způsobu Williamse a Leehe (viz Williams R. C. Jr., and Lee J. C., Preparation of tubulin from brain. *Methods in Enzymology*, **85**, část D: 376 až 385 (1982)) a před použitím se uchovával v tekutém dusíku. Kvantifikace účinnosti polymerace tubulinu se dosáhlo následujícím upraveným postupem podle Swindella a kol. (viz Swindell C. S., Krauss N. E., Horwitz S. B. and Ringel I., Biologically active taxol analogues with deleted A-ring side chain substituents and variable C-2' configurations. *J. Med. Chem.*, **34**, 1176 až 1184 (1991)). Tyto úpravy částečně vyústily ve vyjádření účinnosti polymerace tubulinu jako účinné koncentrace pro kteroukoli danou sloučeninu. Při tomto způsobu se v mikrokrytových celách UV spektrofotometru Beckman Model DU 7400 (Beckman Instruments) přidávají do tubulinu při 37 °C různé koncentrace sloučeniny v polymeračním pufru (0,1 M MES, 1 mM

EGTA, 0,5 mM MgCl₂, pH 6,6). Používají se konečná koncentrace mikrotubulárního proteinu 1,0 mg.ml⁻¹ a koncentrace sloučeniny obvykle 2,5, 5,0 a 10 μM. Výchozí směrnice změny optické hustoty (OD) měřené každých 10 sekund se počítala programem včleněným do přístroje poté, co ručně určily počáteční a koncové časy lineární oblasti zahrnující alespoň 3 časové body. Za těchto podmínek byly lineární odchylky obvykle <10⁻⁶, směrnice se pohybovaly v rozmezí od 0,03 do 0,002 jednotek absorbance za minutu a největší absorbance byla 0,15 jednotek absorbance. Účinná koncentrace (EC_{0,01}) se určuje jako interpolovaná koncentrace schopná vyvolání směrnice 0,01 OD.min⁻¹ a vypočítá se podle rovnice: EC_{0,01}=koncentrace/směrnice. Hodnoty EC_{0,01} jsou vyjádřeny jako průměr standardní odchylky získané ze 3 různých koncentrací. Hodnoty EC_{0,01} sloučenin podle tohoto vynálezu spadají do rozmezí od 0,01 do 1000 μM.

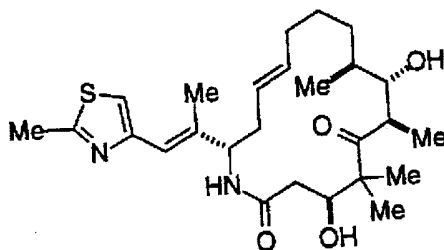
Cytotoxicita (*in vitro*)

Cytotoxicita se stanovila na buňkách lidského karcinomu tračníku HCT-116 stanovením pomocí MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-karboxymethoxyfenyl)-2-(4-sulfenyl)-2H-tetrazolium, inertní sůl), jak uvádí T. L. Riss a kol. v Comparison of MTT, XTT and a novel tetrazolium compound MTS for *in vitro* proliferation and chemosensitivity assays, Mol. Biol. Cell, 3, (Suppl.), 184a (1992). Buňky se naočkovaly 4000 buněk na jamku na 96-jamkové mikrofiltrační plotny a po 24 hodinách se přidalo léčivo a postupně se ředilo. Buňky se inkubovaly při 37 °C po dobu 72 hodin, v této době se zbarvily tetrazoliem, přidalo se MTS v koncentraci 333 μg.ml⁻¹ (konečná koncentrace), v kombinaci s elektronovým kondenzačním činidlem fenazinmethosulfátem v koncentraci 25 μM (konečná koncentrace). Enzym dehydrogenáza v živých buňkách redukuje MTS na formu, která absorbuje světlo vlnové délky 492 nm, která se může stanovit spektrofotometricky. Čím větší je absorbance, tím větší je množství živých buněk. Výsledky se vyjádřily jako IC₅₀, což je koncentrace léčiva nutná k zamezení buněčného zhoubného bujení (tj. absorbance na vlnové délce 450 nm) u 50 % buněk ve srovnání s neošetřenými srovnávacími buňkami. Hodnoty IC₅₀ pro sloučeniny podle tohoto vynálezu spadají do rozmezí od 0,01 do 1000 nM.

Následující příklady objasňují tento vynález.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1



[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-Dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(E)-cyklohexadecen-2,6-dion

A. N-[(2-Methyl)-1-propenyl]morfolin

Do míchaného morfolinu (165,5 g, 1,9 mmol) se přidal izobutyraldehyd (173 ml, 1,9 mol) rychlostí, která nedovolila reakční směsi přesáhnout teplotu 30 °C. Po úplném přidání se reakční směs míchala při teplotě místnosti po dobu 2 hodin, poté se baňka opatřila Dean-Starkovým nástavcem a zahřívala se na 160 °C po dobu 20 hodin. Reakční směs se poté ochladila na teplotu místnosti a baňka se opatřila kolonovým destilačním přístrojem vigreux. Destilace za vysokého vakua poskytla 135 g (50 %) sloučeniny A ve formě čistého bezbarvého oleje. MS (M + H, 142).

B. 2,2-Dimethyl-3-oxopentanal

Do míchaného roztoku propionylchloridu (44 ml, 0,50 mol) v etheru (135 ml) se při 0 °C pod dusíkem přidal během 45 minut roztok sloučeniny A (69 g, 0,50 mol) v etheru (135 ml). Po úplném přidání se směs míchala pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin a poté se míchala při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Reakční směs se zfiltrovala a filtrační koláč se promyl etherem (50 ml). Těkavé podíly se vakuově oddestilovaly. Odparek se rozpustil v H₂O (80 ml) a roztok se upravil na pH 4. Přidal se ether a dvoufázová směs se míchala po dobu 16 hodin. Reakční směs se přelila do dělicí nálevky, vrstvy se oddělily a vodná vrstva se extrahovala etherem (5x100 ml). Spojené organické fáze se vysušily (MgSO₄), zfiltrovaly a odpařily za vakua. Odparek se destiloval za vysokého vakua a poskytl 10,4 g (16 %) sloučeniny B ve formě čirého bezbarvého oleje. MS (M–H, 217).

C. 4-*terc*-Butyldimethylsilyloxy-5,5-dimethyl-6-oxo-1-okten

Do roztoku (–)-B-methoxydiizopinokamfenylboranu (25,7 g, 81 mmol) v etheru (80 ml) se při 0 °C pod atmosférou dusíku během 1,5 hodiny přidal 1,0M roztok allylmagnesiumbromidu v etheru (77 ml, 77 mmol). Reakční směs se míchala při 25 °C po dobu 1 hodiny a poté se odpařila za vakua. Odparek se extrahoval pentanem (2x150 ml) a extrakty se pod dusíkem zfiltrovaly přes Celite. Spojené extrakty se poté odpařily za vakua a poskytly B-allyldiizopropinokamfenylboran. Tato látka se rozpustila v etheru (200 ml) a ochladila se pod dusíkem na –100 °C. Poté se přidal během 1 hodiny při –78 °C roztok sloučeniny B (11,42 g, 89 mmol) v etheru (90 mmol). Reakční směs se míchala další 0,5 hodiny a poté se přidal methanol (1,5 ml). Reakční směs se přivedla k teplotě místnosti, zpracovala se s 3N roztokem NaOH (32 ml) a 30% H₂O₂ (64 ml) a poté se udržovala pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin. Reakční směs se ochladila na teplotu místnosti, oddělily se vrstvy a organická fáze se promyla H₂O (500 ml). Spojené vodné promývací podíly se reextrahovaly etherem (2x100 ml). Spojené organické extrakty se promyly nasyceným vodným roztokem NaCl (100 ml), vysušily (MgSO₄), zfiltrovaly a odpařily za vakua. Zbytek se rozpustil v CH₂Cl₂ (250 ml), ochladil na 0 °C a přidal se diizopropylethylamin (93 ml, 535 mmol). Do míchaného roztoku se poté pomalu přidal *terc*-butyldimethylsilyltrifluormethansulfonát (69 g, 260 mmol) tak, aby teplota nestoupala nad 10 °C. Po úplném přidání se reakční směs přelila do H₂O (650 ml), vrstvy se oddělily a vodná vrstva se promyla CH₂Cl₂ (2x650 ml). Spojené organické podíly se vysušily (Na₂SO₄), zfiltrovaly a odpařily za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií při eluci hexany a následně směsí 10 % EtOAc/hexany pro poskytnutí 17,2 g (78 %) sloučeniny C ve formě čirého bezbarvého oleje. Zjistil se enantiomerní rozdíl 94 % při stanovení ¹H NMR analýzou Mosherova esteru alkoholu. ¹³C NMR (CDCl₃, 80 MHz) δ 215,8, 136,1, 116,5, 52,8, 39,0, 31,9, 26,0, 22,4, 20,1, 18,1, 7,6, –3,6, –4,4.

D. 3-*terc*-Butyldimethylsilyloxy-4,4-dimethyl-5-oxoheptanal

Roztokem sloučeniny C (10,8 g, 38,0 mmol) v CH₂Cl₂ se při –78 °C probublával O₃, dokud roztok nebyl nastalo modrým (1 hodinu). Poté se probublával O₂ po dobu 15 minut, následovalo probublávání N₂ po dobu 30 minut, po této době se roztok stal čirý. Poté se přidal trifenyfosfin (10 g, 38 mmol) a reakční směs se ohřála na –35 °C a ponechala stát po dobu 16 hodin. Těkavé podíly se odpařily za vakua a odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií při eluci směsí 8 % EtOAc/hexany pro poskytnutí 8,9 g (74 %) sloučeniny D ve formě čirého bezbarvého oleje. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 9,75 (m, 1H), 4,53 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 3,40 až 3,60 (m, 4H), 1,10 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 0,98 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,07 (s, 3H), 0,04 (s, 3H).

E. Kyselina 3-*terc*-butyldimethylsilyloxy-4,4-dimethyl-5-oxoheptanová

Do roztoku sloučeniny D (3,90 g, 13,6 mmol) v *terc*.butanolu (75 ml) se přidal 2-methyl-2-buten (5,85 ml, 55,2 mmol) a poté se při teplotě místnosti po kapkách přidal roztok chloritanu sodného (4,61 g, 40,8 mmol) a jednosytného fosforečnanu sodného (2,81 g, 20,4 mmol) v H₂O

(15 ml). Reakční směs se míchala po dobu 0,5 hodiny a poté se rozpouštědla za vakua odstranila. Do odparku se přidala H₂O (150 ml) a následovala extrakce EtOAc (3x150 ml). Spojené organické extrakty se vysušily (MgSO₄), zfiltrovaly a těkavé látky se odstranily za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií při eluci směsí 20 % EtOAc/hexany/1 % AcOH pro poskytnutí 3,79 g (92 %) sloučeniny E ve formě čirého bezbarvého vazkého oleje. MS (M + H, 303).

F. (R,R)-N-(2-Hydroxy-1-methyl-2-fenethyl)-N,2-(S)-dimethyl-6-heptenamid

10 Suspenze LiCl (6,9 g, 0,16 mol) a předem připraveného lithiumdiiizopropylamidu (Aldrich, 2,0M roztok v heptanu/ethylbenzenu/THF, 27,6 ml, 55 mmol) v dodatečném THF (70 ml) se při -78 °C po kapkách zpracovala s roztokem (R,R)-N-(2-hydroxy-1-methyl-2-fenethyl)-N-methylpropionamidem (6,0 g, 27 mmol, Meyers A. G. a kol., J. Am. Chem. Soc., 116, 9361 (1994)) v THF (30 ml) po dobu 10 minut. Světle žlutá reakční směs se míchala při -78 °C (1 hodinu), při 0 °C (15 minut) a při 25 °C (5 minut) před tím, než se znovu ochladila na 0 °C a zpracovala s roztokem 5-brom-1-pentenu (4,8 ml, 40 mmol) v THF (5 ml). Reakční směs se míchala při 0 °C (24 hodin), přelila do nasyceného vodného roztoku NH₄Cl (100 ml) a EtOAc (100 ml). Oddělily se dvě fáze a vodná fáze se dále extrahovala EtOAc (3x100 ml). Organické extrakty se spojily, promyly se nasyceným vodným roztokem NaCl (200 ml), vysušily (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO₂, 4,0x25 cm, 2 % MeOH-CHCl₃) poskytla sloučeninu F (6,9 g, 88 %) ve formě žlutého oleje. MS (ESI⁺): 290 (M + H)⁺, MS (ESI⁻): 288,2 (M - H)⁻.

G. (S)-2-Methyl-6-heptanol

25 Baňka s kulatým dnem o objemu 250 ml se postupně plnila pyrrolidinem (2,6 ml, 30 mmol) a komplexem BH₃-THF (1,0M v THF, 31 ml, 30 mmol) při teplotě 0 °C. Komplex boran-pyrrolidin se zahříval na 25 °C (1 hodinu), ochladil na 0 °C a po kapkách se zpracoval s *n*-butyllithiem (1,6M v hexanu, 19 ml, 30 mmol) během 30 minut, zatímco se pečlivě udržovala vnitřní teplotě 5,5 °C. Reakční směs se míchala při 0 °C po dalších 30 minut před tím, než se po kapkách během 10 minut přidal roztok sloučeniny F (3,0 g, 10 mmol) v THF (23 ml). Reakční směs se míchala při 25 °C (6 hodin), dříve než se reakce přerušila přidáním po kapkách vodného roztoku 3N HCl (25 ml). Reakční směs se poté přelila do vodného roztoku 1N HCl (200 ml) a extrahovala se Et₂O (4x80 ml). Spojené organické podíly se promyly směsí 1:1 nasyceného vodného roztoku NaCl a 1N vodné HCl (2x150 ml) a odpařila se za vakua. K odparku se přidal vodný roztok NaOH (1N, 200 ml) a suspenze se míchala po dobu 30 minut. Směs se extrahovala Et₂O (3x100 ml) a spojené etherové vrstvy se promyly směsí 1:1 nasyceného vodného roztoku NaCl a 1N NaOH (2x200 ml), vysušily (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO₂, 4,0x25 cm, gradientová eluce 15 až 25% roztokem Et₂O-pentan) poskytla sloučeninu G (1,26 g, 95 %) ve formě bezbarvého oleje. $[\alpha]_D^{25} -11^\circ$ (c 12, CH₂Cl₂).

H. (S)-2-Methyl-6-heptenal

45 Roztok sloučeniny G (0,24 g, 1,9 mmol) v CH₂Cl₂ (6 ml) se zpracoval s pyridiniumchlorchromatem (0,61 g, 2,8 mmol) a reakční směs se míchala při 25 °C po dobu 5 hodin. Výsledná tmavo hnědá viskózní suspenze se vedla přes sloupec směsí silikagel-Celite (Celite 1,0x1 cm na vrcholu SiO₂, 1,0x5 cm, eluce 50 ml CH₂Cl₂). Rozpouštědlo se odpařilo za vakua pro poskytnutí surové sloučeniny H (0,15 g, 63 %) ve formě bezbarvého oleje, která se byl dostatečně čistý pro použití v následných reakcích. ¹H NMR (300 MHz, CD₂Cl₂): δ 9,62 (s, 1H), 5,88 až 5,68 (m, 1H), 5,13 až 4,92 (m, 2H), 2,37 až 2,24 (m, 1H), 2,15 až 2,05 (m, 2H), 1,62 až 1,78 (m, 1H), 1,51 až 1,32 (m, 3H), 1,07 (d, 3H, J = 7,0 Hz).

I. Kyselina (3S,6R,7S,8S)-3-*tert*-butyldimethylsiloxy-4,4,6,8-tetramethyl-7-hydroxy-5-oxo-12-tridecenová

Do předem připraveného roztoku LDA (Aldrich, 2,0M roztok ve směsi heptan/ethylbenzen/THF, 3,8 ml, 7,6 mmol) v dodatečném THF (25 ml) se při -78°C po kapkách během 3 minut přidal roztok sloučeniny E (1,0 g, 3,4 mmol) v THF (5 ml). Reakční směs se míchala při -78°C (10 minut), ohřála se na -40°C (20 minut) a znovu se ochladila na -78°C před tím, než se přidala sloučenina H (0,56 g, 4,4 mmol) v THF (5 ml). Reakční směs se ohřála na -40°C , míchala 1 hodinu a zředila se nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (50 ml). Oddělily se dvě vrstvy a vodná fáze se extrahovala EtOAc (4x50 ml). Spojené organické vrstvy se promyly nasyceným vodným roztokem NaCl (100 ml), vysušily se (Na_2SO_4) a odpařily se za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO_2 , 2,5x20 cm, gradientová eluce 2 až 5% MeOH- CHCl_3) následovaná oddělením pomocí HPLC (YMC S-10, ODS, 30x500 mm kolona, eluce MeOH průtokem $20\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) poskytla požadovaný syn-aldolový produkt, sloučeninu I (0,60 g, 43 %) a nežádoucí diastereoizomer (0,32 g, 22 %) spolu s výchozí sloučeninou E (asi 10 %).

MS (ESI^+): 879,3 ($2\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 451,2 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$, 429,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, MS (ESI^-) 427,3 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

Stereochemie se potvrdila přímým srovnáním ^{13}C NMR a ^1H NMR následujícího esterového derivátu (použitého v syntéze epothilonu C) se stejným meziproduktem, který dříve popsal K. C. Nicolaou a kol. v Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 36, 166 (1997).

J. Kyselina (S)-2-[N-[(*tert*-butyloxy)karbonyl]amino]-4-pentenová

Roztok kyseliny L-2-amino-4-pentenové (NovaBiochem, 3,0 g, 26 mmol) v THF- H_2O (1:1, 200 ml) se při 0°C postupně zpracoval s NaHCO_3 (6,6 g, 78 mmol) a di-*tert*-butyldikarbonátem (10,4 g, 1,8 mmol). Reakční směs se zahřála na 25°C a míchala po dobu 16 hodin. pH směsi se upravilo na pH 4 pečlivým přidáním nasyceného vodného roztoku kyseliny citrónové při 0°C a směs se extrahovala EtOAc (4x50 ml). Spojené organické vrstvy se promyly nasyceným vodným roztokem NaCl (75 ml), vysušily (Na_2SO_4) a odpařily za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO_2 , 4,0x6 cm, gradientová eluce směsí 5 až 10% MeOH- CHCl_3) poskytla sloučeninu J (5,5 g, 99 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI^-): 429,3 ($2\text{M}-\text{H}$) $^-$, 214,1 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

K. (S)-2-[N 2 -[(*tert*-Butyloxy)karbonyl]amino]-N-methoxy-N-methyl-4-pentenamid

Roztok sloučeniny J (2,9 g, 13 mmol) v CHCl_3 (55 ml) se při 0°C zpracoval postupně s N,O-dimethylhydroxylaminhydrochloridem (1,4 g, 15 mmol), 1-hydroxybenzotriazolem (2,0 g, 15 mmol), 4-methylmorfolinem (4,4 ml, 40 mmol) a 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidhydrochloridem (3,4 g, 18 mmol). Reakční směs se pozvolna zahřála na 25°C , míchala se po dobu 16 hodin a zředila se H_2O (100 ml). Oddělily se dvě vrstvy a vodná fáze se extrahovala EtOAc (3x75 ml). Spojené organické fáze se promyly 5% vodným roztokem HCl (100 ml), nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (100 ml), nasyceným vodným roztokem NaCl (100 ml), vysušily se (Na_2SO_4) a odpařily za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO_2 , 3,0x20 cm, gradientová eluce 25 až 50% EtOAc-hexan) poskytla sloučeninu K (2,5 g, 71 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI^+): 258,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 202,9 (M -izobutylen), 158,9 (M -BOC), MS (ESI^-): 257,2 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

L. (S)-3-[N-[(*tert*-Butyloxy)karbonyl]amino]-5-hexen-2-on

Roztok sloučeniny K (2,5 g, 1,0 mmol) v THF (65 ml) se při 0°C zpracoval s methylmagnesiumbromidem (3,0M roztok v Et_2O , 8,1 ml, 2,4 mmol). Reakční směs se míchala při 0°C (2,5 hodiny) a opatrně se přelila do nasyceného vodného roztoku NH_4Cl (100 ml). Oddělily se dvě vrstvy a vodná fáze se extrahovala EtOAc (3x75 ml). Spojené organické extrakty se promyly nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (75 ml), H_2O (75 ml), nasyceným vodným roztokem NaCl (75 ml), vysušily se (MgSO_4) a odpařily se za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO_2 ,

3,0x20 cm, gradientová eluce směsí 10 až 25% EtOAc–hexan) poskytla (S)–2–[N–[(*tert*–butyl–oxy)karbonyl]amino]–5–hexen–2–on (2,2 g, 67 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI⁺): 213,9 (M+H)⁺, 157,9 (M–izobutylem), 113,9 (M–BOC), MS (ESI[–]): 212,2 (M–H)[–].

- 5 M. (S)–4–[3–[N–[(*tert*–Butyloxy)karbonyl]amino]–2–methyl–1(E),5–hexadienyl]–2–methyl–thiazol

Roztok 2–methyl–4–thiazolylmethyl–difenyldifosfinoxidu (2,5 g, 8,0 mmol, Danishefsky a kol., J. Org. Chem., 61, 7998 (1996)) v THF (38 ml) se při –78 °C po kapkách během 5 minut zpracoval s *n*–butyllithiem (1,6M roztok v hexanu, 5,2 ml, 8,4 mmol). Vzniklá zářivě oranžová směs se
10 míchala po dobu 15 minut při –78 °C a zpracovala s roztokem sloučeniny L (0,81 g, 3,8 mmol) v THF (5 ml). Po 10 minutách při –78 °C se odstranila chladicí lázeň a reakční směs se ponechala zahřát na 25 °C (2 hodiny). Směs se přelila do nasyceného vodného roztoku NH₄Cl (50 ml) a oddělily se dvě vrstvy. Vodná fáze se extrahovala Et₂O (3x50 ml) a spojené organické extrakty
15 se postupně promyly H₂O (75 ml), nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ (75 ml), nasyceným vodným roztokem NaCl (75 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily se za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO₂, 4,0x30 cm, gradientová eluce směsí 10 až 20% EtOAc–hexan) poskytla sloučeninu M (0,23 g, 18 %) ve formě bezbarvého oleje spolu s obnoveným výchozím ketonem (20 až 30 %). MS (ESI⁺): 309,1 (M+H)⁺, 253,0 (M–izobutylem), MS (ESI[–]): 307,3 (M–H)[–].

- 20 N. (S)–4–(3–Amino–2–methyl–1(E),5–hexadienyl)–2–methylthiazol

Sloučenina M (0,15 g, 0,49 mmol) se zpracovala s 4,0N HCl v 1,4–dioxanu (5 ml) při 0 °C pod argonem. Těkavé podíly se vakuově odpařily a výsledná bílá pěna se rozpustila v chladném nasyceném NaHCO₃ (3 ml). Tento roztok se extrahoval EtOAc (4x10 ml) a spojené EtOAc podíly se
25 vysušily (Na₂SO₄) a vakuově se odpařily. Velmi rychlá chromatografie (SiO₂, 1,0x5 cm, gradientová eluce 5 až 10% MeOH–CHCl₃) poskytla sloučeninu N (88 mg, 88 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI⁺): 209,0 (M+H), MS (ESI[–]): 207,2 (M–H)[–].

- 30 O. (3S,6R,7S,8S)–N–(S)–[1–(2–Methyl–4–thiazolyl)–2–methyl–1(E),5–hexadien–3–yl]–3–*tert*–butyldimethylsiloxy–4,4,6,8–tetra–methyl–7–hydroxy–5–oxo–12–tridecenamid

Roztok sloučeniny M (88 mg, 0,42 mmol) v DMF (1,3 ml) se při 0 °C postupně zpracoval se sloučeninou I (0,15 g, 0,35 mmol), 1–hydroxybenzotriazolem (49 mg, 0,36 mmol) a 1–(3–dimethylaminopropyl)–3–ethylkarbodiimidhydrochloridem (0,10 g, 0,52 mmol). Reakční směs se
35 pozvolna zahřála na 25 °C, míchala po dobu 15 hodin a zředila se H₂O (3 ml). Směs se extrahovala EtOAc (3x10 ml) a spojené organické fáze se promyly 5% vodným roztokem HCl (10 ml), nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ (10 ml), nasyceným vodným roztokem NaCl (10 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. Velmi rychlá chromatografie (SiO₂, 1,5x20 cm, 2,5% směsí MeOH–CHCl₃) poskytla sloučeninu O (0,17 g, 77 %) ve formě bílé pěny. MS (ESI⁺): 619,3 (M+H)⁺.

- 45 P. [4S–[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]–4–*tert*–Butyldimethylsiloxy–8–hydroxy–5,5,7,9–tetra–methyl–16–[1–methyl–2–(2–methyl–4–thiazolyl)ethenyl]–1–aza–13(E)–cyklohexadecen–2,6–dion

Roztok sloučeniny O (17 mg, 27 mmol) v odplyněném benzenu (8,0 ml) se pod atmosférou argonu zpracoval s Grubbovým katalyzátorem [bis(tricyklohexylfosfin)benzylidenrutheniumdichlorid, Strem Chemicals, 11 mg, 14 mmol). Reakční směs se míchala při 25 °C po dobu 15 hodin
50 a znovu se zpracovala s dalším podílem katalyzátoru (5,0 mg, 4,5 mmol). Po dalších 7 hodinách se benzen odpařil za vakua a černý viskózní odparek se vede přes vrstvu silikagelu (1,0x3 cm) za eluce Et₂O (25 ml). Eluent se odpařil za vakua pro poskytnutí dělitelné směsi 5:1 (E/Z) geometrických izomerů. PTLC (SiO₂, 1 mm deska, 2 eluce roztokem 1:1:1 hexan–toluen–ethylacetát) poskytla E–izomer sloučeniny P (5,1 mg, 34 %) a odpovídající Z–izomer (1,0 g, 6,7 %). Pro slou-

čeninu P: MS (ESI⁺): 1181,7 (2M+H)⁺, 591,4 (M+H)⁺. Pro Z-izomer: MS (ESI⁺): 1181,5 (2M+H)⁺, 613,2 (2M+Na)⁺, 591,2 (M+H)⁺, MS (ESI⁻): 589,3 (M-H)⁻.

5 Q. [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-Dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(E)-cyklohexadecen-2,6-dion

Do vialky o obsahu 3,55 cm⁻³ naplněné roztokem sloučeniny P (2,3 g, 3,9 mmol) v CH₂Cl₂ (0,4 ml) se při 0 °C přidala kyselina trifluoroctová (0,1 ml). Reakční směs se utěsnila pod atmosférou argonu a míchala se při 0 °C. Po 4 hodinách se těkavé podíly odstranily při 0 °C za konstantního proudění argonu. Do zbytku se přidal nasycený vodný roztok NaHCO₃ (1 ml) a EtOAc (1 ml) a oddělily se dvě vrstvy. Vodná fáze se extrahovala EtOAc (4x1 ml) a spojené ethylacetátové vrstvy se vysušily (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. PTLC (SiO₂, 20x10x0,25 cm, eluce směsí 5% MeOH-CHCl₃) poskytla [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(E)-cyklohexadecen-2,6-dion (1,3 mg, 68 %) ve formě bílého filmu. MS(ESI): 953,5 (2M+H)⁺, 477,3 (M+H)⁺, MS(ESI⁻): 475,5 (M-H)⁻.

Příklad 2

20

Následující sloučeniny se mohou připravit podle dříve popsanych reakčních schémat:

25 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,13,17-trioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,13,17-trioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

30 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1,10-dioxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1,10-dioxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

35

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,14,17-trioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

40 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,14,17-trioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1,11-dioxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

45

[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1,11-dioxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

50 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

- [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-3,8,8,10,12,16-hexamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- 5 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-3,8,8,10,12-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13,16-hexamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 10 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,16-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-6,8,8,10,12,16-hexamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- 15 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-6,8,8,10,12-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 20 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-4,8,8,10,12,16-hexamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- 25 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-4,8,8,10,12-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-1,5,5,7,9,13-hexamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 30 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-1,5,5,7,9-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 35 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-13-aza-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- 40 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-13-aza-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,
- [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-10-aza-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 45 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-10-aza-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,
- 50 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-14-aza-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-14-aza-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

5 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-11-aza-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

10 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-11-aza-1-oxa-13-cyklohexadecen-2,6-dion,

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-N-Fenyl-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-5,9-dioxo-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-3-karboxamid,

15 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-N-Fenyl-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-5,9-dioxo-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-3-karboxamid,

[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-N-Fenyl-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-2,6-dioxo-1-oxa-13-cyklohexadecen-16-karboxamid,

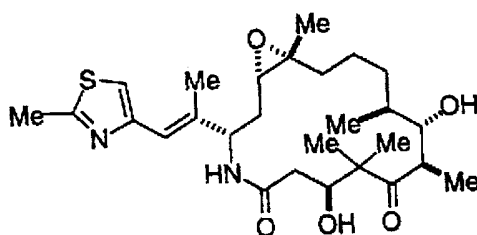
20 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-N-Fenyl-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-2,6-dioxo-1-oxa-13-cyklohexadecen-16-karboxamid,

25 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)cyklopropyl]-4,17-dioxabicyklo-[14,1,0]heptadekan-3-dion a

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)cyklopropyl]-4,17-dioxabicyklo[14,1,0]heptadekan-3-dion.

30

Příklad 3



35 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)cyklopropyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-3-dion.

A. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-azido-12,13-epoxy-4,4,6,8,12,16-hexamethyl-7-hydroxy-17-(2-methyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16-heptadecenová

40 Roztok epothilonu B (0,35 g, 0,69 mmol) v odplyněném THF (4,5 ml) se zpracoval s katalytickým množstvím (80 mg, 69 mmol) tetrakis(trifenylfosfin)palladia (0) a suspenze se míchala pod argonem při 25 °C po dobu 30 minut. Výsledný jasně žlutý homogenní roztok se všechn naráz zpracoval s roztokem azidu sodného (54 mg, 0,83 mmol) v odplyněné H₂O (2,2 ml). Reakční směs se zahřívala na 45 °C po dobu 1 hodiny, zředila se H₂O (5 ml) a extrahovala se EtOAc (4x75 ml). Organické extrakty se promyly nasyceným vodným roztokem NaCl (15 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO₂,

45

3,0x15 cm, 95:5,0:0,5 CHCl₃-MeOH-AcOH) pro poskytnutí sloučeniny A (0,23 g, 61 %) ve formě bezbarvého oleje. MS(ESI⁺): 551 (M+H)⁺, MS(ESI⁻): 549 (M-H)⁻.

- 5 B. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-amino-12,13-epoxy-4,4,6,8,12,16-hexamethyl-7-hydroxy-17-(2-methyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16-heptadecenová

10 Roztok sloučeniny A (0,23 g, 0,42 mmol) v THF (4,0 ml) se při 25 °C zpracoval s H₂O (23 ml, 1,25 mmol) a na polymeru naneseným trifenyfosfinem (Aldrich, polystyren zesíťovaný 2 % DVB, 0,28 g, 0,84 mmol). Výsledná suspenze se míchala při 25 °C pod atmosférou argonu (32 hodin), přefiltrovala se přes Celite a odpařila za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO₂, 1,5x10 cm, gradientová eluce od 95:5,0:0,5 do 90:10:1,0 CHCl₃-MeOH-AcOH) pro poskytnutí sloučeniny B (96 mg, 44 %) ve formě bezbarvého oleje. MS(ESI⁺): 525,2 (M+H)⁺, MS(ESI⁻): 523,4 (M-H)⁻.

15 Případně se do 25ml baňky s kulatým dnem naplněné sloučeninou A (0,26 g, 0,47 mmol) a PtO₂ (0,13 g, 50 % hmotnostních) pod argonem přidal absolutní EtOH. Výsledná černá směs se míchala pod atmosférou H₂ po dobu 10 minut, po této době se soustava propláchlá N₂ a přidala se další část PtO₂ (65 mg, 25 % hmotnostních). Ještě jednou se reakční směs míchala pod atmosférou H₂ po dobu 10 hodin. Soustava se poté propláchlá N₂ a reakční směs se zfiltrovala přes vrstvu Celite
20 při eluci CH₂Cl₂ (3x25 ml). Rozpouštědla se odpařila za vakua a odparek se přečistil výše uvedeným způsobem pro poskytnutí sloučeniny B (0,19 g, 75 %).

25 Případně se roztok sloučeniny A (20 mg, 36 mmol) v THF (0,4 ml) pod argonem zpracoval s trifenyfosfinem (19 mg, 73 mmol). Reakční směs se zahřála na 45 °C, míchala po dobu 14 hodin a ochladila na 25 °C. Vzniklý iminofosforan se zpracoval s hydroxidem amonným (28%, 0,1 ml) a reakční směs se ještě jednou zahřála na 45 °C. Po 4 hodinách se těkavé podíly odstranily za vakua a odparek se přečistil výše uvedeným způsobem pro poskytnutí sloučeniny B (13 mg, 70 %).

- 30 C. [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion

35 Roztok sloučeniny B (0,33 g, 0,63 mmol) v odplyněném DMF (250 ml) se při 0 °C pod atmosférou argonu zpracovával s pevným NaHCO₃ (0,42 g, 5,0 mmol) a difenyfosforylazidem (0,54 ml, 2,5 mmol). Výsledná suspenze se míchala při 4 °C po dobu 24 hodin, při 0 °C se zředila fosforečnanovým puřem (250 ml, pH 7) a extrahovala se EtOAc (5x100 ml). Organické extrakty se promyly 10% vodným roztokem LiCl (2x125 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily za vakua. Odparek se nejprve přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO₂, 2,0x10 cm, gradientová eluce
40 2 až 5% MeOH-CHCl₃) a poté se přečistil za použití Chromatotronu (2 mm SiO₂, GF rotor, gradientová eluce 2 až 5 % MeOH-CHCl₃) pro poskytnutí uvedené sloučeniny (0,13 g, 40 %) ve formě bezbarvého oleje. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 6,98 (s, 1H), 6,71 (d, 1H, NH, J = 8,1 Hz), 6,56 (s, 1H), 4,69 až 4,62 (m, 1H), 4,18 až 4,12 (m, 1H), 4,01 až 3,96 (m, 1H), 3,86 (s, 1H), 3,38 až 3,34 (m, 1H), 2,92 (dd, 1H, J = 5,6, 6,0 Hz), 2,71 (s, 3H), 2,58 (s, 1H), 2,43 (dd, h,
45 J = 9,0, 14,5 Hz), 3,34 (dd, 1H, J = 3,0, 14,5 Hz), 2,14 (s, 3H), 2,05 až 1,92 (m, 2H), 1,82 až 1,41 (série multipletů, 7H), 1,35 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,18 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,14 (s, 3H), 1,00 (d, 3H, J = 6,8 Hz); MS(ESI⁺): 507,2 (M+H)⁺; MS(ESI⁻): 505,4 (M-H)⁻.

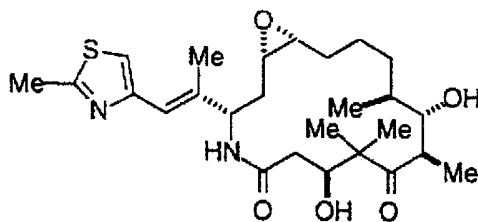
50 Příklad 4

Způsob redukce oxiranového kruhu epothilonu a analogů epothilonu

55 Do dvouhrdlé baňky se vložily nasekané kousky třísek hořčíku (24 mg, 1,0 mmol). Baňka se za vakua vysušila plamenem a ochladila se pod argonem. Přidal se bis(cyklopentadienyl)titandichlo-

rid (250 mg, 1,0 mmol) a následně bezvodý THF (5 ml). Míchaná suspenze se odplynula hlubokým vakuem a baňka se znovu naplnila argonem. Červená suspenze se stala tmavou, přičemž přecházela po 1,5 hodině do rovnoměrně tmavě zelené s tím, jak se spotřeboval téměř veškerý kovový hořčík. Odebral se alikvotní podíl (3,5 ml, 0,70 mmol, 3,5 ekv.) a ochladil se pod argonem na -78°C . Do tohoto roztoku se přidal epothilon A (99 mg, 0,20 mmol, 1,0 eq). Reakční směs se zahřála na teplotu místnosti a míchala po dobu 15 minut. Těkavé podíly se odpařily za vakua a odparek se dvakrát chromatografoval na oxidu křemičitém (25 g), přičemž se jako nosná kapalina použila směs 35% EtOAc/hexany při poskytnutí 76 mg (80 %) epothilonu C ve formě světle žlutého viskózního oleje.

Příklad 5



[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)cyclopropyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion

A. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-azido-3,7-dihydroxy-12,13-epoxy-4,4,6,8,16-pentamethyl-17-(2-methyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16(E)-heptadecenová

Do roztoku epothilonu A (4,97 g, 10,1 mmol, 1,0 ekv.) v odplyněném THF (100 ml) se při teplotě místnosti přidalo tetrakis(trifenyfosfin)palladium (0) (1,17 g, 1,01 mmol, 0,10 ekv.) a míchalo se po dobu 30 minut pod argonem. Do této reakční směsi se přidala azid sodný (0,980 g, 15,1 mmol, 1,5 ekv.) a následně se přidala odplyněná voda (10 ml). Reakční směs se zahřívала po dobu 1 hodiny na 45°C , ochladila se na teplotu místnosti, zředila se ethylacetátem (300 ml) a dále se zředila vodou (150 ml). Vodné vrstvy se extrahovaly ethylacetátem (3x100 ml). Spojené organické extrakty se promyly roztokem NaCl (150 ml), vysušily se (síranem sodným), zfiltrovaly a odpařily se za vakua. Olejovitý zbytek se přečistil velmi rychlou chromatografií na silikagelu (eluze 0 až 5 % methanol/chloroform s 0,1 % kyseliny octové) pro poskytnutí sloučeniny A (1,84 g, 34,0% výtěžek) ve formě sklovité pevné látky. MS (ESI⁺): 537 (M+H)⁺, MS (ESI⁻): 535 (M-H)⁻.

B. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-amino-3,7-dihydro-12-13-epoxy-4,4,6,8,16-pentamethyl-17-(2-methyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16(E)-heptadecenová

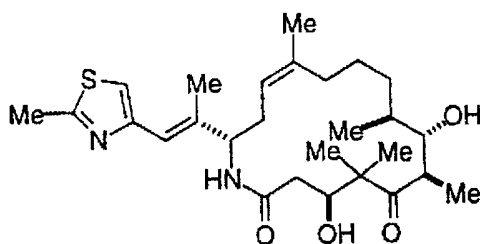
Do roztoku sloučeniny A (1,85 g, 3,44 mmol, 1,0 ekv.) v absolutním ethanolu (137 ml) se přidala oxid platičitý (0,980 g, 4,30 mmol, 1,25 ekv.). Reakční směs se silně míchala při teplotě místnosti pod vodíkovým balónkem po dobu 16 hodin. Reakční směs se zfiltrovala a filtrát se odpařil za vakua. Olejovitý odparek se přečistil preparativní HPLC (YMC S-15 ODS 50x500 mm kolona, 45 minut/gradientová eluce, 0 až 100%, B, 50 ml.min⁻¹, retenční čas 17 minut, A = 0,1 % kyseliny octové/5 % acetonitrilu/95 % vody, B = 0,1 % kyseliny octové/5 % vody/95 % acetonitrilu). Příslušné frakce se odpařily za vakua a zbytek se lyofilizoval z vodného roztoku acetonitrilu pro poskytnutí sloučeniny B (1,33 g, 76,0% výtěžek) ve formě bezbarvé pevné látky.

MS (ESI⁺): 511 (M+H)⁺, MS (ESI⁻): 509 (M-H)⁻.

C. [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)cyklopropyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion

- 5 Sloučenina B (0,860 g, 1,68 mmol, 1,0 ekv.) se rozpustila v bezvodém DMF (0,00250 M, 672 ml) a odplyňovala se po dobu 1 hodiny při teplotě místnosti. Roztok se ochladil na 0 °C a pod atmosférou argonu se přidal bezvodý hydrogenuhličitan sodný (1,13 g, 13,4 mmol, 4,0 ekv.) a difenylfosforylazid (1,85 g, 6,72 mmol, 8,0 ekv.). Reakční směs se udržovala pod atmosférou argonu na teplotě 4 °C a míchala se po dobu 16 hodin. Poté se reakční směs ochladila na -60 °C a pomalu se po přerušení reakce přidal fosforečnanový pufr o pH 7 (400 ml). Teplota se udržovala pod -30 °C. Tato směs se ponechala pomalu zahřát na teplotu místnosti a extrahovala se ethylacetátem (1 litr). Vodná vrstva se promyla ethylacetátem (4x300 ml). Organické extrakty se spojily, promyly se 10% roztokem LiCl (500 ml), vysušily se (síranem sodným) zfiltrovaly a odpařily se za vakua. Olejovitý odparek se přečistil preparativní HPLC (kolona YMC S-15 ODS 50x500 mm, 45 minut/gradientová eluce, 0 až 100 % B, 50 ml.min⁻¹, retenční čas = 35 minut, A = 5 % acetonitrilu/95 % vody, B = 5 % vody/95 % acetonitrilu). Příslušná frakce se odpařily za vakua a odparek se lyofilizoval z vodného roztoku acetonitrilu pro poskytnutí uvedené sloučeniny (0,220 g, 26,0% výtěžek) ve formě bezbarvé pevné látky.
- 20 MS (ESI⁺): 493 (M+H)⁺; MS (ESI⁻): 491 (M-H)⁻.

Příklad 6

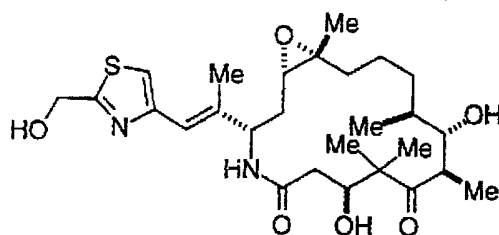


- 25 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-Dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion

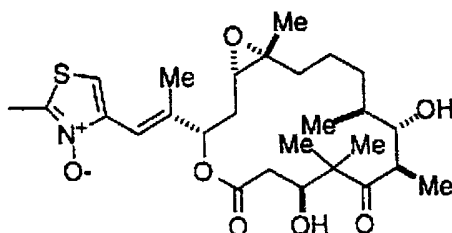
- Chlorid wolframový (0,19 g, 0,49 mmol, 0,5 ekv.) se rozpustil v THF (5,0 ml) a roztok se ochladil na -78 °C. Najednou se přidal roztok n-butyllithia v hexanu (1,6M, 0,63 ml, 1,0 mmol, 1,0 ekv.) a reakční směs se ponechala během 20 minut zahřát na teplotu místnosti (během zahřívání na teplotu místnosti roztok nabýval tmavě zelené barvy). 0,1M roztok takto připraveného wolframového činidla (0,79 ml, 0,079 mmol, 2,0 mmol) se při teplotě místnosti přidal ke sloučenině 4C (0,020 g, 0,039 mmol, 1,0 ekv.). Reakční směs se míchala při teplotě místnosti po dobu 30 minut a poté se přelila nasyceným roztokem NaHCO₃ (2,0 ml). Tento roztok se zředil vodou (10 ml) a roztok se extrahoval CH₂Cl₂ (4x20 ml). Spojené organické extrakty se vysušily (Na₂SO₄), zfiltrovaly a odpařily za vakua. Anorganické látky se odstranily vedením odparku přes vrstvu silikagelu (eluce roztokem CHCl₃/MeOH v poměru 19/1). Eluent se odpařil za vakua. Odparek se přečistil PHPLC (YMC S-5 ODS, 30 až 100 % B, A = 5% vodný roztok CH₃CN, B = 95% vodný roztok CH₃CN, 3 ml.min⁻¹, 220 nm, 30 minut, gradientová eluce) a příslušné frakce se odpařily za vakua. Lepkává pevná látka se lyofilizovala z vodného roztoku acetonitrilu pro poskytnutí sloučeniny pojmenované v nadpisu (4,3 mg, 29 %), ve formě bílé pevné látky. TLC: R_f = 0,57 (9/1 CHCl₃/MeOH, zviditelnění pomocí UV záření), HRMS: (M+H)⁺, vypočteno 491,29436, nalezeno 491,2934.

45

Příklad 7

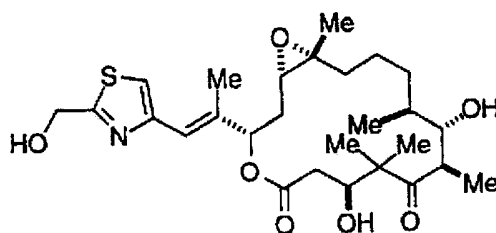


[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]heptadecan-5,9-dionu



A. N-Oxid [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-4,8,8,10,12-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]heptadecan-5,9-dionu

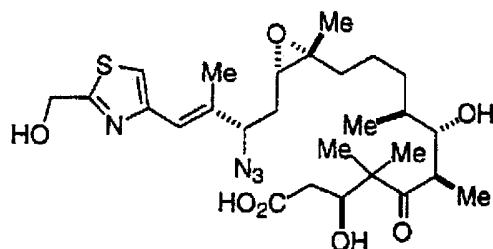
Roztok epothilonu B (2,0 g, 3,9 mmol) v CH_2Cl_2 (30 ml) se při 25 °C během 2 hodin pod atmosférou argonu zpracoval s kyselinou 3-chlorperoxybenzoovou (1,0 g, 5,9 mmol). Přidalo se dalších 0,5 g (3,0 mmol) kyseliny 3-chlorperoxybenzoové a reakční směs se míchala po dobu 2 hodin. Reakční směs se zfiltravala a filtrát se odpařil za vakua. Odparek se rozpustil v EtOAc (100 ml), promyl se nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (75 ml), 5% vodným roztokem Na_2SO_3 (75 ml), H_2O (75 ml), vysušil se (Na_2SO_4) a odpařil se za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO_2 , 4,5x30 cm, gradientová eluce 2 až 10% roztokem $\text{MeOH}-\text{CHCl}_3$) pro poskytnutí sloučeniny A (1,04 g, 50 %) ve formě bílé pevné látky. MS (ESI^+): 524,3 ($\text{M}+\text{H}^+$); MS (ESI^-): 522,5 ($\text{M}-\text{H}^-$).



B. [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4,17-dioxabicyclo[14,1,0]heptadecan-5,9-dionu [epothilon F]

Do roztoku sloučeniny A (0,46 g, 0,88 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml) v opakovaně uzavíratelné zkumavce se pod atmosférou argonu přidal 2,6-lutidin (0,82 ml, 7,0 mmol) a anhydrid kyseliny tri-fluoroctové (0,87 ml, 6,2 mmol). Reakční nádoba se pod atmosférou argonu utěsnila, zahřála se na 75 °C (12 minut), ochladila se na 25 °C a těkavé podíly se odstranily pod stálým proudem N_2 . Reakční zkumavka se poté připojila k vysokopodtlakovému čerpadlu na 15 minut. Výsledný zbytek se rozpustil v MeOH (10 ml) a zpracoval s hydroxidem amonným (28 až 30 % NH_4 v H_2O , 1 ml). Směs se zahřívavala na 45 °C (10 minut) a těkavé podíly se odpařily za vakua. Surový reakční směs se přečistila HPLC (kolona YMC S-15 ODS 30x500 mm, 50% roztok acetonitril-

voda, izokratické podmínky, průtok 20 ml.min⁻¹, retenční čas 28 minut). Příslušné frakce se odpařily za vakua a odparek se lyofilizoval z vodného acetonitrilu pro poskytnutí sloučeniny B (0,22 g, 48 %) ve formě bílé pevné látky. MS(ESI⁺): 524,3 (M+H)⁺, 1047,6 (2M+H)⁺, MS (ESI⁻): 522,5 (M-H)⁻.

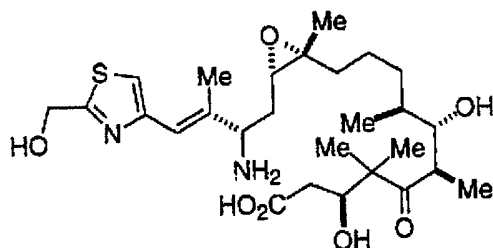


5

C. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-azido-3,7-dihydroxy-12,13-epoxy-4,4,6,8,12,16-hexamethyl-17-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16(E)-heptadecenová

Roztok sloučeniny B (0,18 g, 0,34 mmol) v odplyněném THF (3,0 ml) se zpracoval s katalytickým množstvím (40 mg, 3,4.10⁻² mmol) tetrakis(trifenylfosfin)palladia (0) a směs se míchala pod atmosférou argonu při 25 °C po dobu 30 minut. Výsledný jasně žlutý homogenní roztok se všechnen najednou zpracoval s roztokem azidu sodného (27 mg, 0,41 mmol) v odplyněné H₂O (1,5 mmol). Reakční směs se zahřívala na 45 °C po dobu 1 hodiny, zředila se H₂O (5 ml) a extrahovala se EtOAc (4x10 ml). Organické extrakty se promyly nasyceným vodným roztokem NaCl (15 ml), vysušily (Na₂SO₄) a odpařily se za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO₂, 2,5x15 cm, gradientová eluce 95:5,0:0,5 CHCl₃-MeOH-AcOH) pro poskytnutí sloučeniny C (39 mg, 20 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI⁺): 567,4 (M+H)⁺, 1136,6 (2M+H)⁺, MS (ESI⁻): 565,5 (M-H)⁻, 1131,8 (M-H)⁻.

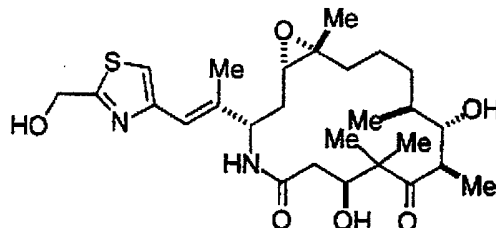
15



D. Kyselina (3S,6R,7S,8S,12R,13S,15S)-15-amino-3,7-dihydroxy-12,13-epoxy-4,4,6,8,12,16-hexamethyl-17-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)-5-oxo-16(E)-heptadecenová

Do baňky s kulatým dnem o objemu 10 ml naplněné sloučeninou C (40 mg, 71 mmol) a PtO₂ (12 mg, 30 % hmotnostních) se pod atmosférou argonu přidal absolutní ethanol (3 ml). Výsledná černá směs se míchala pod atmosférou vodíku po dobu 10 hodin. Soustava se naplnila dusíkem a reakční směs se zfiltrvala přes nylonovou membránu (promytou 25 ml MeOH). Rozpouštědla se odpařila za vakua pro poskytnutí sloučeniny D (29 mg, 76 %) ve formě pěny, která byla dostatečně čistá pro použití v dalším kroku. LCMS: 541,3 (M+H)⁺.

25

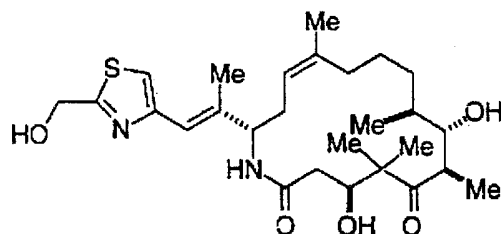


30

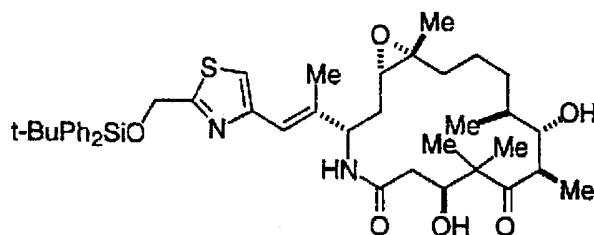
E. [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]-heptadekan-5,9-dion

Roztok sloučeniny D (29 mg, 54 μ mol) v odplyněném DMF (21 ml) se při 0 °C pod atmosférou argonu zpracoval s pevným NaHCO₃ (36 mg, 0,43 mmol) a difenylfosforylazidem (46 ml, 0,21 mmol). Výsledná suspenze se míchala při 4 °C po dobu 19 hodin, ochladila se na -40 °C, zředila se 25 ml fosforečnanového pufru o pH 7 (opatrně přidávat, aby vnitřní teplota zůstala pod -30 °C) a extrahovala se EtOAc (4x10 ml). Organické extrakty se promyly chladným 10% vodným roztokem LiCl (25 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily se za vakua. Odparek se přečistil za použití chromatotronu (1 mm SiO₂, GF rotor, gradientová eluce směsí 2 až 5% MeOH-CHCl₃) pro poskytnutí sloučeniny E uvedené v nadpisu (9,1 mg, 34 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI⁺): 523,2 (M+H)⁺, MS (ESI⁻): 521,5 (M-H)⁻.

Příklad 8

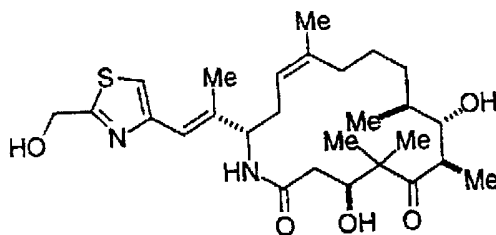


15 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-Dihydro-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion



A. [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyclo[14,1,0]heptadecan-5,9-dion

Roztok sloučeniny 7E (6,8 mg, 13 μ mol) v CH₂Cl₂ (0,5 ml) se při 0 °C pod atmosférou argonu zpracoval s triethylaminem (2,7 ml, 20 mmol), 4-N,N-dimethylaminopyridinem (0,2 mg, 1,3 mmol) a *tert*-butyldiphenylsilylchloridem (3,7 ml, 14 mmol). Reakční směs se postupně zahřívala při 25 °C (1 hodinu), ochladila se na 0 °C, reakce se přerušila přidáním nasyceného vodného roztoku NaHCO₃ (1 ml) a reakční směs se extrahovala EtOAc (4x2 ml). Spojené organické extrakty se promyly roztokem chloridu sodného (5 ml), vysušily se (Na₂SO₄) a odpařily se za vakua. Odparek se přečistil velmi rychlou chromatografií (SiO₂, 1,0x5 cm, gradientová eluce směsí 2 až 5% MeOH-CHCl₃) pro poskytnutí sloučeniny A (7,0 mg, 71 %) ve formě bezbarvého oleje. MS (ESI⁺): 761,5 (M+H)⁺, MS (ESI⁻): 759,7 (M-H)⁻.



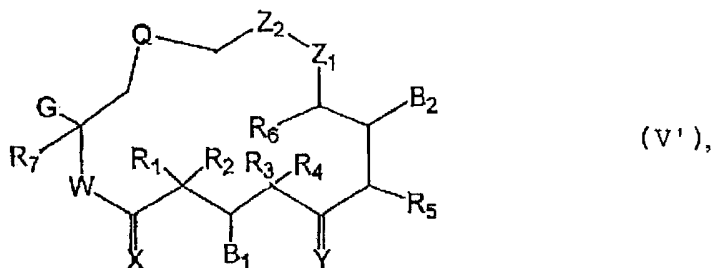
B. [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-Dihydro-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion

Roztok chloridu wolframičitého (0,10 g, 0,25 mmol) v bezvodém THF se při -78°C pod atmosférou argonu zpracoval s *n*-BuLi (1,6M roztok v hexanu, 0,32 ml, 0,50 mmol). Reakční směs se zahřívala při 25°C po dobu 40 minut a poté se znovu ochladila na 0°C . Alikvotní podíl (0,2 ml, 20 mmol) výsledného tmavě zeleného, homogenního roztoku se při 0°C pod atmosférou argonu přidal do vialky o obsahu $3,55\text{ cm}^3$ (1 dram) naplněné sloučeninou A (7,0 mg, 9,2 mmol). Reakční směs se zahřála na 25°C , míchala se 30 minut, reakce se přerušila přidáním nasyceného vodného roztoku NaHCO_3 (0,5 ml) a reakční směs se extrahovala EtOAc (4x1 ml). Spojené organické extrakty se vysušily (Na_2SO_4) a odpařily za vakua. Odparek se přečistil preparativní TLC (SiO_2 , $20 \times 20 \times 0,025\text{ cm}$, eluce směsí 5% MeOH- CHCl_3) pro poskytnutí nedělitelné směsi silylem chráněného (13Z) izomeru sloučeniny B a malého množství (<10 %) menšinového (13E) izomeru, u kterého se bezprostředně v následujícím kroku odstranila chránicí skupina.

Směs silylem chráněných izomerů sloučeniny B (2,3 mg, 3,1 mmol) se při 25°C zpracovala s 0,3 ml pufrovaného roztoku HF-pyridin v THF (roztok 2:1:0,5 THF/pyridin/HF-pyridin od Aldrich Chemical Co.). Po 1 hodině se směs zneutralizovala nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (0,5 ml) a extrahovala se EtOAc (4x1 ml). Spojené organické extrakty se promyly nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (1 ml), vysušily se (Na_2SO_4) a těkavé podíly se odstranily za vakua. Odparek se přečistil preparativní TLC (SiO_2 , $20 \times 10 \times 0,025\text{ cm}$, eluce směsí 5% MeOH- CHCl_3) pro poskytnutí sloučeniny pojmenované v nadpisu (13Z-izomeru) spolu s neoddělitelným množstvím (<10 %) menšinového (13E) izomeru (0,96 mg, 20 % pro dva kroky) ve formě tenkého filmu. MS (ESI^+): 507,3 ($\text{M}+\text{H}^+$), MS (ESI^-): 505,6 ($\text{M}-\text{H}^-$).

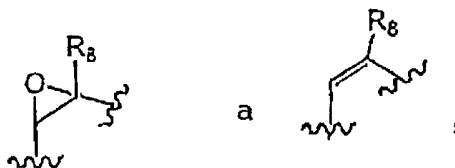
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Derivát epithilonu obecného vzorce V'

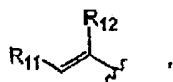


ve kterém

Q je vybráno ze souboru sestávajícího z



G je



W je NH;

5 X je O;

Y je O;

Z₁ a Z₂ jsou každý CH₂;

10

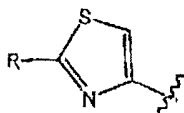
B₁ a B₂ jsou OH;

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₇ a R₁₂ jsou vybrány ze souboru sestávajícího z vodíku a nižšího alkylu;

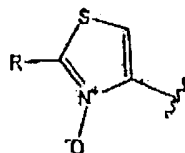
15 R₆ je methyl;

R₈ je vodík nebo methyl a

R₁₁ je



nebo



20

kde

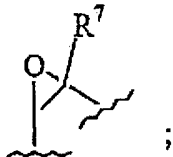
R je vodík, nižší alkyl nebo nižší alkyl substituovaný OH;

25 a jejich stereomery, kde

výraz „nižší alkyl“ se týká přímé nebo rozvětvené nesubstituované uhlovodíkové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku.

30 2. Derivát epithilonu podle nároku 1 obecného vzorce V', kde

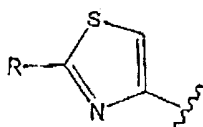
Q je skupina vzorce



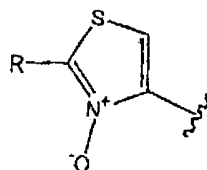
R₈ je methyl a

35

R₁₁ je

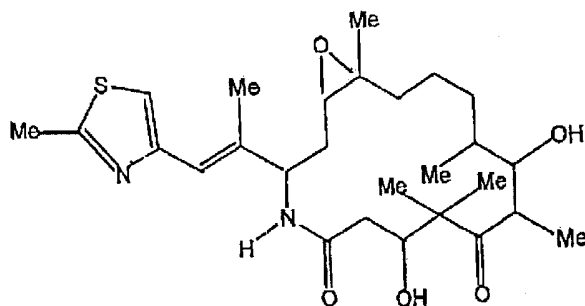


nebo



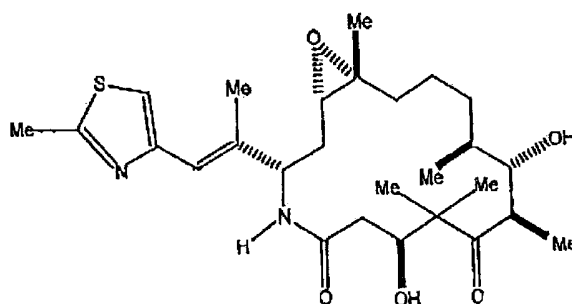
R je methyl nebo hydroxymethyl.

3. Derivát epithilonu vzorce



nebo jeho stereoizomer.

5 4. Derivát epithilonu vzorce



5. Derivát epithilonu, který je vybrán ze souboru zahrnujícího

10 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9-tetramethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(E)-cyklohexadecen-2,6-dion,

15 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12-tetramethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion,

20 [4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion,

25 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion a

[4S-[4R*,7S*,8R*,9R*,15R*(E)]]-4,8-dihydroxy-5,5,7,9,13-pentamethyl-16-[1-methyl-2-(2-hydroxymethyl-4-thiazolyl)ethenyl]-1-aza-13(Z)-cyklohexadecen-2,6-dion.

6. Derivát epithilonu, kterým je

30 [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihydroxy-8,8,10,12,16-pentamethyl-3-[1-methyl-2-(2-methyl-4-thiazolyl)ethenyl]-4-aza-17-oxabicyklo[14,1,0]heptadekan-5,9-dion.

35

Konec dokumentu