

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

304 966

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 515/22 (2006.01)
C07D 491/22 (2006.01)
C07D 471/18 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2002-3746**
 (22) Přihlášeno: **15.05.2001**
 (30) Právo přednosti: **15.05.2000 WO 2000GB 0001852**
 (40) Zveřejněno: **16.04.2003**
(Věstník č. 4/2003)
 (47) Uděleno: **07.01.2015**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **18.02.2015**
(Věstník č. 7/2015)
 (86) PCT číslo: **PCT/GB2001/002120**
 (87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2001/087895**

(56) Relevantní dokumenty:
 E.J.Corey, "Enantioselective total Synthesis of Ecteinasidin", J.Am.Chem.Soc., vol. 118, 1996, str. 9202-99203.
 US 5721362.

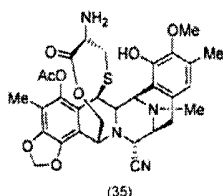
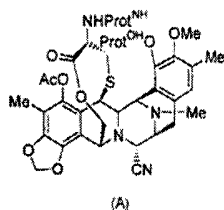
(73) Majitel patentu:
 PHARMA MAR, S.A., 28760 Madrid, ES

(72) Původce:
 Andrés Francesch, 28760 Madrid, ES
 Carolina Fernández, 28760 Madrid, ES
 Lose Luis Chicharro, 28760 Madrid, ES
 Pilar Gallego, 28760 Madrid, ES
 Maria Zarzuelo, 28760 Madrid, ES
 Ignacio Manzanares, 28760 Madrid, ES
 Marta Perez, 28760 Madrid, ES
 Carmen Cuevas, 28760 Madrid, ES
 Maria Jesús Martin, 28760 Madrid, ES
 Simon Munt, 28760 Madrid, ES

(74) Zástupce:
 PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, 140 00
 Praha 4

(54) Název vynálezu:
**Syntetický způsob výroby
 ecteinascidinových sloučenin**

(57) Anotace:
 Způsoby výroby ecteinascidinové sloučeniny, kdy se při jednom kroku způsobu odchrání sloučenina vzorce A, kde Prot^{NH} je amin chránící skupina a Prot^{OH} je hydroxy chránící skupina odstraněním obou chránících skupin v jediném kroku, za vzniku α-aminolaktonu vzorce 35.



CZ 304966 B6

Syntetický způsob výroby ecteinascidinových sloučenin

Oblast techniky

5

Tento vynález se týká syntetických způsobů zvláště syntetických způsobů výroby ecteinascidinových sloučenin.

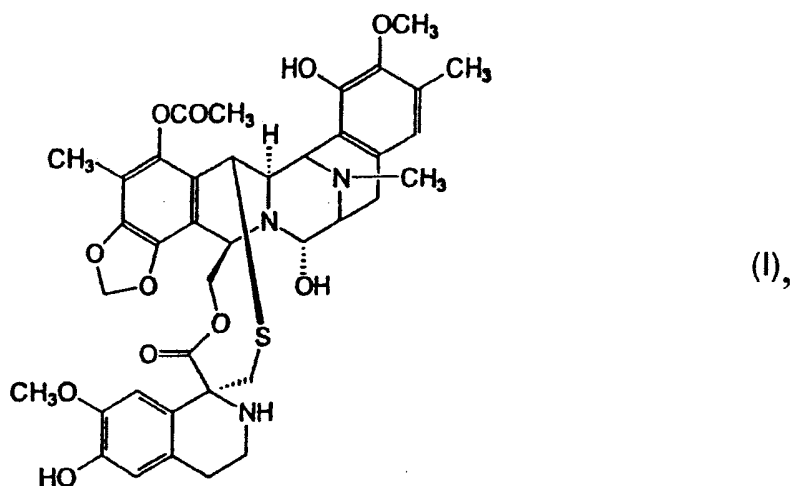
10

Dosavadní stav techniky

Evropský patent 309 477 se týká ecteinascidinů 729, 743, 745, 759A, 759B a 770. Bylo popsáno, že ecteinascidinové sloučeniny vykazují antibakteriální a jiné užitečné vlastnosti. S ecteinascidinem 743 jako protinádorovým činidlem se nyní provádějí klinické testy.

15

Ecteinascidin 743 je tvořen komplexní tris(tetrahydroisochinolinfenolovou) strukturou a má vzhled I.



20

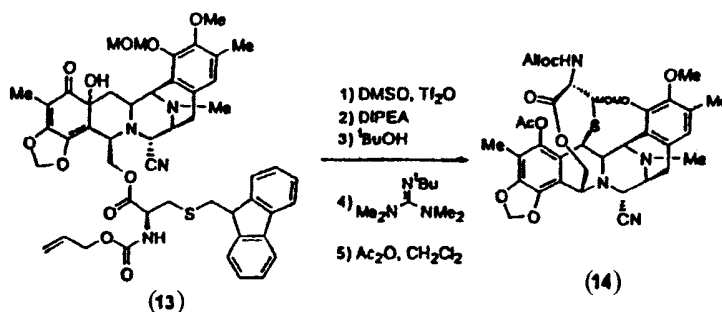
V současné době se získává izolací z extraktů mořského pláštěnce *Ecteinascidin turbinata*. Výtěžek je nízký a hledají se alternativní způsoby přípravy.

25

Syntetický způsob výroby ecteinascidinových sloučenin jsou popsány v Patentu US 5 721 362, viz také WO 9 812 198, který je uveden v odkazech. Tento způsob je dlouhý a komplikovaný a je tam uvedeno 38 příkladů, kde každý popisuje jeden nebo více kroků syntézy ecteinascidinu 743.

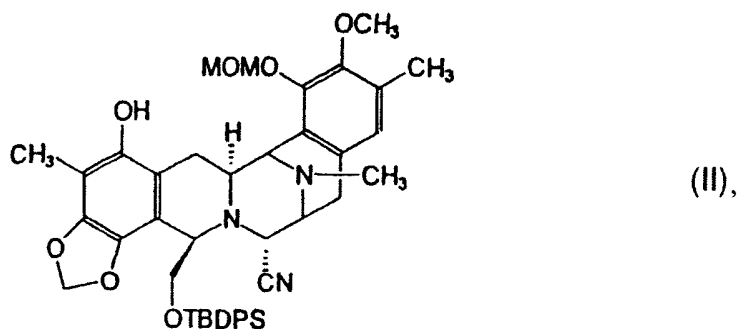
30

V tomto známém syntetickém způsobu se 1,4 můstek vytvoří použitím kondenzované 1-labilní, 10-hydroxy, 18-chráněná hydroxy, di-6,8-en-5-on sloučeniny. Jak je ukázáno v příkladu 33, přeměnění se sloučenina 13 na sloučeninu 14.



V tomto známém syntetickém způsobu se dále na 1,4 můstku vytvoří spirochinolin pomocí kroků uvedených v příkladech 34 až 36, čímž dojde k odstranění 18-MOM chránicí skupiny, což vede ke vzniku ecteinascidinu 770, který lze poté přeměnit na ecteinascidin 743.

- 5 V nároku 25 patent US 5 721 362 je jako meziprodukt popsána fenolová sloučenina, která je označována také jako meziprodukt **11** nebo Int-11. Tato sloučenina je tvořena bis(tetrahydroisochinolinfenolovou) strukturou a má vzorec II,

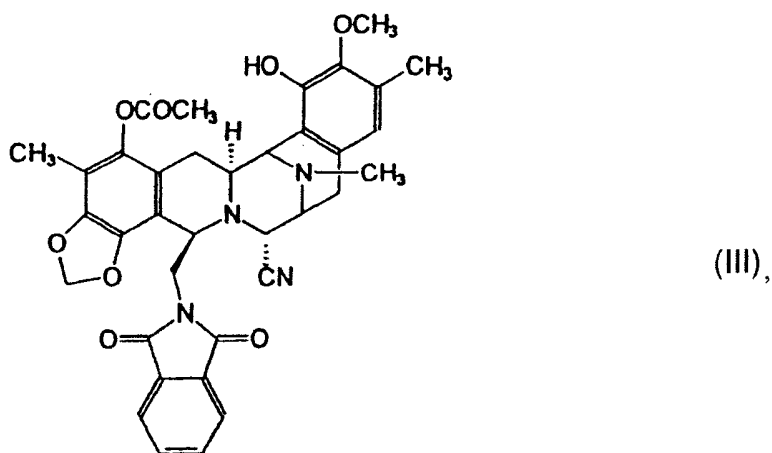


10

kde MOM je methoxymethyl a TBDPS je terc.butyldifenylsilyl.

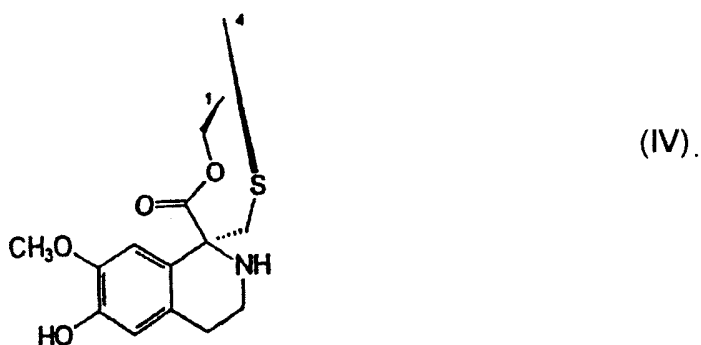
Z meziproduktu **11** lze syntetizovat další protinádorové činidlo fthalascidin, viz Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 3496–3501, 1999. Fthalascidin je derivát bis(tetrahydroisochinolinfenolu) a má vzorec III.

15

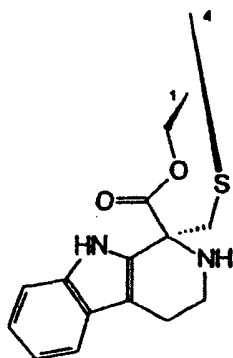


V ecteinascidinech 743 a 770 má 1,4 můstek strukturní vzorec IV.

20



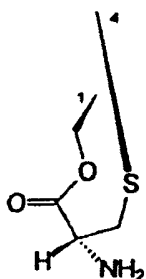
Mezi další známé ecteinascidiny patří sloučeniny s odlišným systémem přemostění, například v ecteinascidinu 722 a 736, kde má můstek strukturní vzorec V,



(V),

5

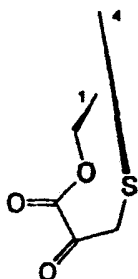
dále v ecteinascidinu 583 a 597, kde má můstek strukturní vzorec VI,



(VI),

10

a dále v ecteinascidinu 594 a 596, kde má můstek strukturní vzorec VII.



(VII),

15

Kompletní struktura těchto a odvozených sloučenin je uvedena v *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, 9017–9023. Tento článek je uveden v odkazech.

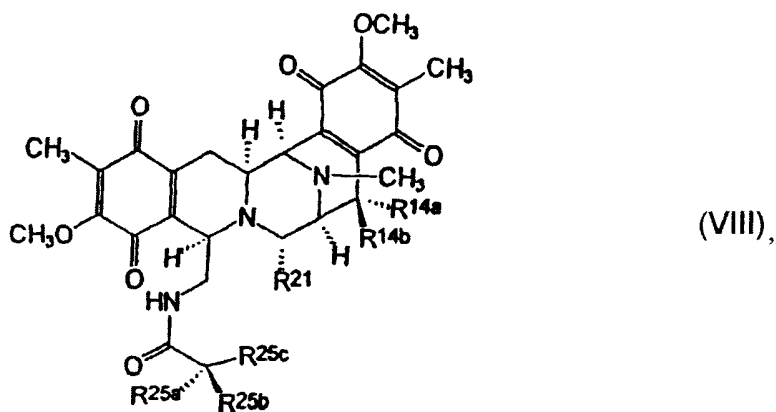
20

Mezi další literaturu týkající se ecteinascidinových sloučenin patří Corey, E. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, pp. 9202–9203, dále Rinehart et al., *Journal of Natural Products*, 1990, „Bioactive Compounds from Aquatic and Terrestrial Source“, vol. 53, pp. 771–792, dále Rinehart et al., *Pure and Appl. Chem.*, 1990, „Biologically active natural products“, vol. 62, pp. 1277–1280, dále Rinehart et al., *J. Org. Chem.* 1990, „Ecteinascidiny 729, 743, 745, 759A, 759B, and 770, potent Antitumour Agents from the Caribbean Tunicate *Ecteinascidia turbinata*“, vol. 55, pp. 4512–4515; dále Wright et al., *J. Org. Chem.*, 1990, „Antitumour Tetrahydroisoquinoline Alkaloids from the Colonial Ascidian *Ecteinascidia turbinata*“, vol. 55, pp. 4508–4512, dále Sakai et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, „Additional antitumour ecteinascidins from Caribbean tunicate: Crystal structures and activities *in vivo*“, vol. 89, pp. 11 456–11 460, dále *Science*, 1994, „Chemical Prospectors Scour the Seas for Promising Drugs“, vol. 266, pp. 1324, dále Koenig, K. E., „*Asymmetric Synthesis*“, ed. Morrison, Academic Press, Inc., Orlando, FL, vol. 5, 1985, pp. 71, dále Barton et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1982, „Synthesis and Properties of Series of Sterically Hindered Guanidine bases“, pp. 2085, dále Fukuyama et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1982,

30

- „Stereocontrolled Total Synthesis of (+)-Saframycin B“, vol. 104, pp. 4957, dále Fukuyama et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, „Total Synthesis of (+)-Saframycin A“, vol. 112, p. 3712, dále Saito et al., *J. Org. Chem.*, 1989, „Synthesis of Saframycins. Preparation of a Key tricyclic Lactam Intermediate to Saframycin A“, vol. 54, 5391, dále Still et al., *J. Org. Chem.*, 1978, „Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution“, vol. 43, p. 2923, dále Kofron, W. G., Baclawski, L. M., *J. Org. Chem.*, 1976, vol. 41, 1879, dále Guan et al., *J. Biomolec. Struc. & Dynam.*, 1993, vol. 10, pp. 793–817, dále Shamma et al., „Carbon-13 NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids“, 1979, p. 206, dále Lown et al., *Biochemistry*, 1982, 21, 419–428, dále Zmijewski et al., *Chem. Biol. Interactions*, 1985, 52, 361–375, dále *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1986, 17, 65–143, dále Rinehart et al., „Topics in Pharmaceutical Sciences 1989“, 1989, pp. 613–626, Breimer, D. D., Cromwelin, D. J. A., Midha K., eds. Amsterdam Medical Press B. V., Noordwijk, The Netherlands, dále Rinehart et al., „Biological Mass Spectrometry“, 1990, pp. 233–258, eds. Burlingame et al., Elsevier Amsterdam, dále Guan et al., *Jour. Biomolec. Struc. & Dynam.*, 1993, vol. 10, pp. 793–817, dále Nakagawa et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, pp. 2721–2722, dále Lichter et al., „Food and Drugs from the Sea Proceedings“, 1972, Marine Technology Society, Washington, D.C. 1973, pp. 117–127, dále Sakai et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118, p. 9017, dále Garcia-Rocha et al., *Brit. J. Cancer*, 1996, 73, pp. 875–883, a dále Pommier et al., *Biochemistry*, 1996, 35, pp. 13 303–13 309.
- Dále jsou známy sloučeniny, které systém přemostění postrádají. Patří mezi ně například bis(tetrahydroisochinolinchinonová) protinádorová antimikrobiální antibiotika, to jest safraciny a saframyciny, a mořské přírodní látky, to jest renieramiciny a xestomycin, které byly izolovány z kultivovaných mikroorganismů nebo hub. Všechny tyto sloučeniny mají dimerní tetrahydroisochinolinovou uhlíkovou strukturu. Tyto sloučeniny lze klasifikovat do čtyř typů, typy I až IV, podle typu oxidace aromatických kruhů.

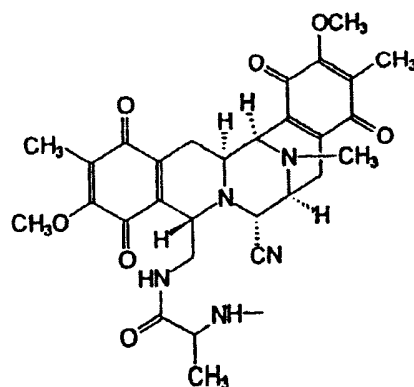
Do třídy typ I, dimerické isochinolinchinony, patří sloučeniny obecného vzorce **VIII**,



viz následující tabulka I.

Tabulka I. Saframycinová antibiotika typu I

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

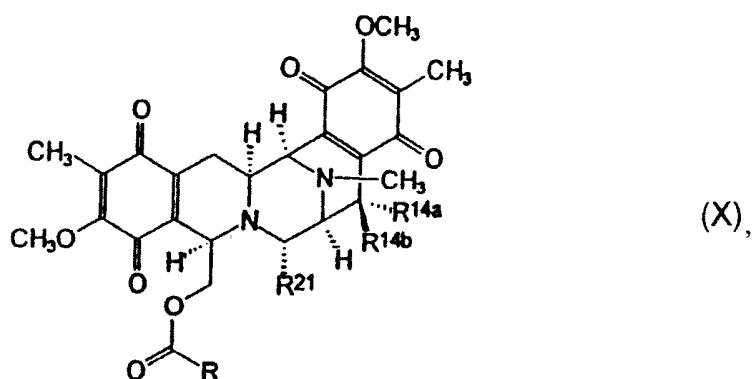
^a substituenty lze zaměnit^b kde má skupina Q vzorec IX

(IX),

- 5 Aromatické kruhy typu I se nacházejí v saframycinech A, B a C, dále G a H, a dále S, které se jako vedlejší složky izolují ze *Streptomyces lavendulae*. Kyano derivát saframycinu A, který je označován jak okyanochinonamin, je známý z Japanese Kokai JP-A2 59/225 189 a 60/084 288. Saframyciny Y₃, Yd₁, Ad₁ a Yd₂ byly připraveny ze *S. lavendulae* řízenou biosyntézou ve vhodně složeném kultivačním médiu. Dimery saframycinů Y_{2b} a Y_{2b-d}, připravené spojením dusíku na C-25 jedné jednotky s C-14 druhé jednotky, byly také připraveny ve vhodně složeném kultivačním médiu *S. lavendulae*. Saframycin AR₁ (= AH₂), produkt mikrobiální redukce saframycinu A na
- 10

C-25, který je produkován *Rhodococcus amidophilus*, lze také připravit nestereoselektivní chemickou redukcí saframycinu A pomocí tetrahydroboritanu sodného za vzniku 1:1 směsi epimerů s následnou chromatografickou separací (druhý izomer AH₁ je méně polární). Další produkt redukce saframycinu AR₃, 21-dekano-25-dihydrosafamycin A (25-dihydrosafamycin B), byl připraven stejnou mikrobiologickou přeměnou. V jiném typu mikrobiologické přeměny saframycinu A vzniká za přítomnosti druhů *Nocardia* saframycin B a redukcí za přítomnosti druhů *Mycobacterium* dále vzniká saframycin AH₁Ac. 25-O-acetáty saframycinu AH₂ a AH₁ lze pro biologické studie připravit také chemicky.

Sloučeniny typu I obecného vzorce X lze také izolovat z mořských hub,



viz tabulka II.

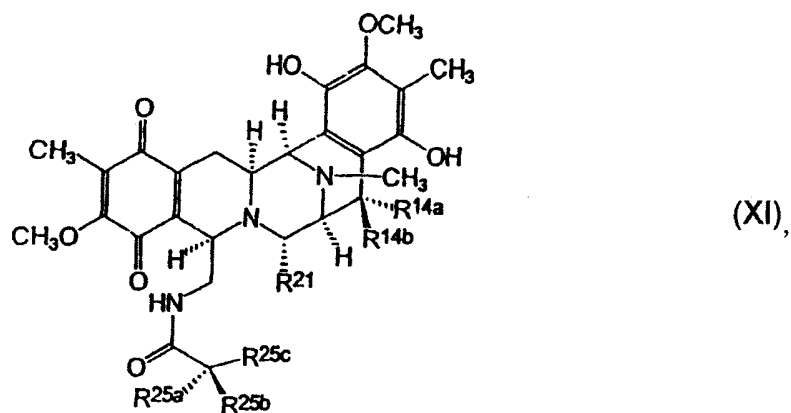
Tabulka II. Sloučeniny typu I z mořských hub

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

Renieramyciny A až D spolu s biogeneticky příbuznými monomerními isochinoliny (renieron) a příbuznými sloučeninami byly izolovány z antimikrobiálního extraktu hub, z druhů *Reniera* se sbíraných v Mexiku. Struktura renieramycinu A byla původně určena s inverzní stereochemií na uhlících C-3, C-11 a C-13. Důkladným zkoumáním ¹H NMR dat příbuzných sloučenin (renieramycinů E a F) izolovaných ze stejných hub se sbíraných v Palu bylo zjištěno, že kruhové spojení je u renieramycinů stejné jako u saframycinů. Tento výsledek vedl k závěru, že kdysi určená stereochemie renieramycinů A až D je stejná jako u saframycinů.

Xestomycin byl nalezen v houbě, druhu *Xestospongia*, odebrané z vod Sri Lankan.

Mezi sloučeniny typu II s redukovaným hydrochinonovým kruhem patří saframyciny D a F, izolované z *S. lavendulae*, a saframyciny Mx-1 a Mx-2, izolované z *Myxococcus xanthus* obecného vzorce XI,

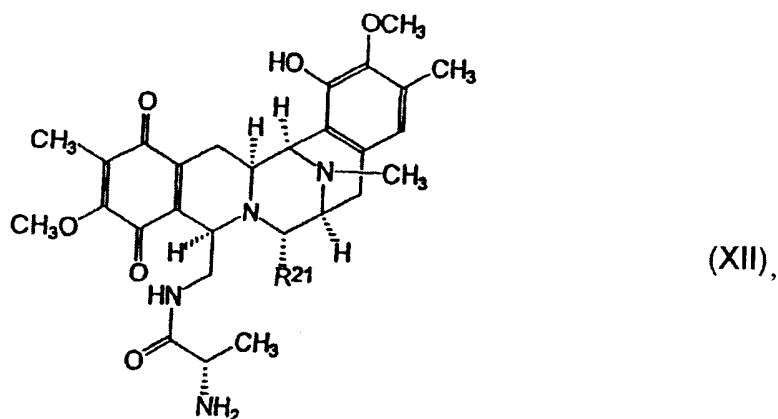


viz tabulka III.

Tabulka III. Sloučeniny typu II

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

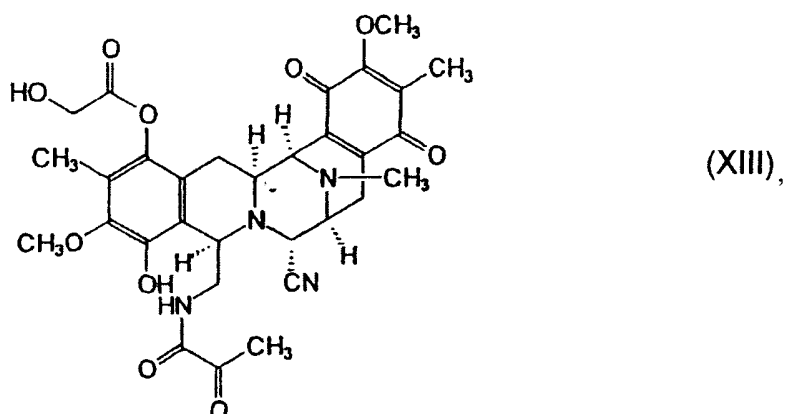
Struktur typu III byla nalezena v antibiotikách safracinu A a B izolovaných z kultivované *Pseudomonas fluorescens*. Tato antibiotika jsou tvořena tetrahydroisochinolinchinonovou a tetrahydroisochinolinfenolovou jednotkou a mají obecný vzorec XII,



kde R²¹ je -H v safracinu A a je -OH v safracinu B.

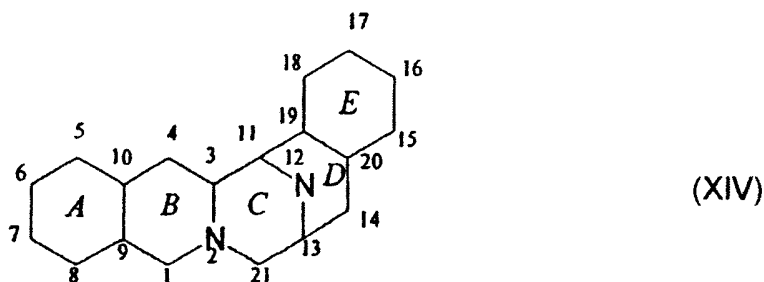
Saframycin R, jediná sloučenina klasifikovaná se strukturou typu IV, byl také izolován z *S. lavendulae*. Tato sloučenina je tvořena hydrochinonovým kruhem s esterem kyseliny glyko-

lové jako postranním řetězcem na jednom z kyslíků fenolu, je považována za prekursor saframycinu A pro její mírnou toxicitu a má vzorec XIII.



5

Všechny tyto známé sloučeniny mají systém kondenzovaných pěti kruhů *A* až *E* jak je patrné z následujícího obecného vzorce XIV.



10

V ecteinascidinech a některých dalších sloučeninách jsou kruhy *A* a *E* fenolické, v jiných sloučeninách, jmenovitě v saframycinech, jsou kruhy *A* a *E* chinolické. Ve známých sloučeninách jsou kruhy *B* a *D* tetrahydro, zatímco kruh *C* je perhydro.

15

Podstata vynálezu

Stále existuje potřeba hledat alternativní syntetické způsoby vedoucí k přípravě ecteinascidinových a jim příbuzných sloučenin. Takovéto syntetické způsoby případně znamenají ekonomičtější cesty k přípravě známých protinádorových činidel stejně jako k přípravě nových účinných sloučenin.

25

Tento vynález se týká syntetických způsobů přípravy meziproduktů, derivátů a sloučenin se strukturou příbuznou ecteinascidinům nebo jiných tetrahydroisochinolinfenolových sloučenin.

30

Tento vynález se týká způsobu přípravy ecteinascidinové sloučeniny se spiroamin-1,4-můstkem. Při této přípravě dochází k vytvoření 1,4 můstku pomocí kondenzované 1-labilní, 10-hydroxy, 18-chráněná hydroxy, di-6,8-en-5-on sloučeniny, přičemž kondenzovaný kruh má obecný vzorec XIV. V tomto vynálezu dochází k odstranění C-18 chránicí skupiny před vnesením spiroaminu.

35

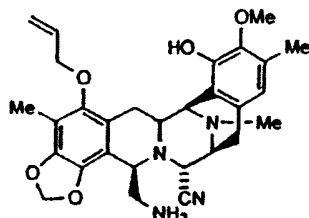
Mezi výhodné výchozí látky pro nové syntetické způsoby patří sloučeniny příbuzné přírodním bis(tetrahydroisochinolinovým) alkaloidům. Takovéto výchozí látky lze připravit buď z různých tříd saframycinových a safracinových antibiotik dostupných z různých kultivačních půd jak je detailně uvedeno ve WO 0 069 862, který je uveden v odkazech, nebo jinými syntetickými nebo biochemickými postupy. Tato PCT přihláška nárokuje prioritu z přihlášky PCT/GB 00/01 582

publikované jako WO 0 069 862. Tento text je v plném rozsahu uveden v odkazech a není uveden v popisu vynálezu.

Výhodná provedení tohoto vynálezu

5

Tento vynález se týká použití meziproductu **21** v řadě nových syntetických způsobů přípravy ecteinascidinu 743 a příbuzných sloučenin a má vzorec XV.



(XV).

10

Meziprodukt **21** má 5-allyloxy skupinu, kde allylová skupina slouží k ochraně 5-hydroxylové skupiny. Tento vynález se týká i použití jiných skupin chránících 5-hydroxylovou skupinu.

Příprava ecteinascidinu 743 a příbuzných sloučenin.

15

Přeměna meziproductu **21** nebo příbuzné látky na ecteinascidinovou sloučeninu obvykle obsahuje následující klíčové přeměny

- a) přeměna NH₂ na OH reakcí například s dusitanem sodným v kyselině octové,
- b) *E*-kruhová fenolová ochrana,
- 20 c) esterifikace pomocí chránění primární 1-hydroxylové funkční skupiny chráněným cysteinovým postranním řetězcem,
- d) sejmutí skupiny chránící allylovou skupinu a oxidace,
- e) vytvoření přemostění cyklizační reakcí,
- f) sejmutí chránících skupin z *E*-kruhového fenolu a cysteinového zbytku,
- 25 g) vnesení chinolinu trans-aminační reakcí a Pictet-Spenglerovou reakcí.

Vysoká funkčnost meziproductů vyžaduje pro *E*-kruhový fenol a pro cysteinový postranní řetězec použití chránících skupin, aby se zabránilo nežádoucím vedlejším reakcím.

30 V závislosti na výběru chránících skupin lze vytvořit množství alternativních meziproductů.

Tyto přeměny lze navzájem jakkoliv kombinovat v závislosti na chránících skupinách vybraných pro fenolový kruh a pro amin na cysteinovém postranním řetězci.

35 Celkový počet syntetických přeměn je také funkcí vybraných chránících skupin.

Pro ilustraci je níže popsáno použití různých kombinací chránících skupin v šesti typických cestách přípravy **ET-743** z meziproductu **21**, který je zde označen také jako SF21.

cesta	fenolová ochrana	cysteinová ochrana	počet kroků
1	MOM	Boc	12
2	MEM	Boc	10
3	MEM	Cbz	11
4	MOM	Alloc	13
5	MEM	Alloc	13
6	MOM	Cbz	15

MEM je methoxyethoxymethyl, Boc je terc.butyloxykarbonyl, Cbz je benzyloxykarbonyl a Alloc je allyloxykarbonyl.

5

Reakční schémata popsaná níže lze modifikovat a/nebo různými způsoby kombinovat a tento vynález se také týká i těchto alternativních způsobů a sloučenin při nich vzniklých.

Tento vynález se týká také použití jiných chránicích skupin.

10

Detailní popis šesti typických syntetických cest

Celá reakční schémata pro každou cestu jsou uvedena na následujících schématech 1 až 6.

Schéma 1 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 1.

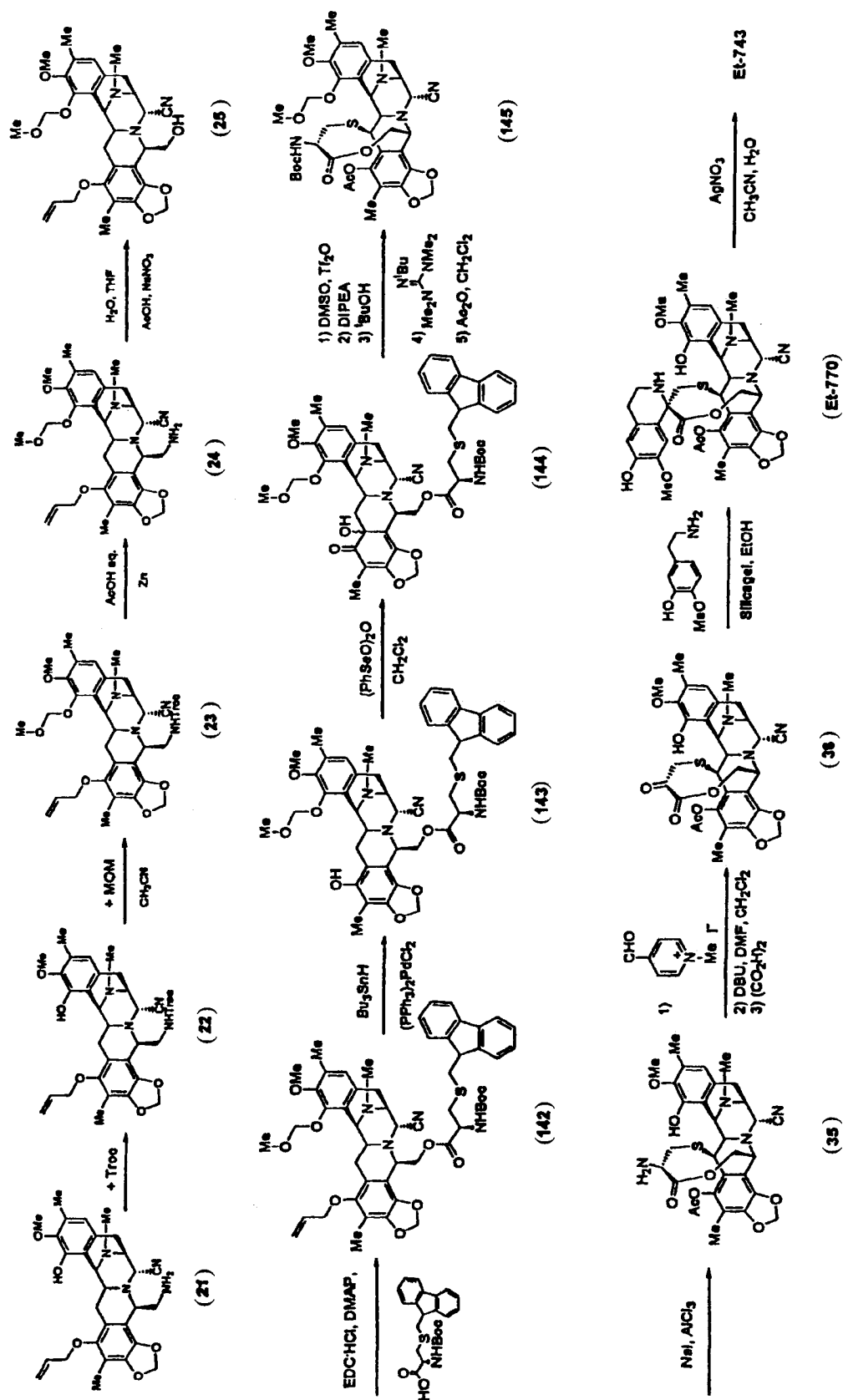


Schéma 2 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 2.

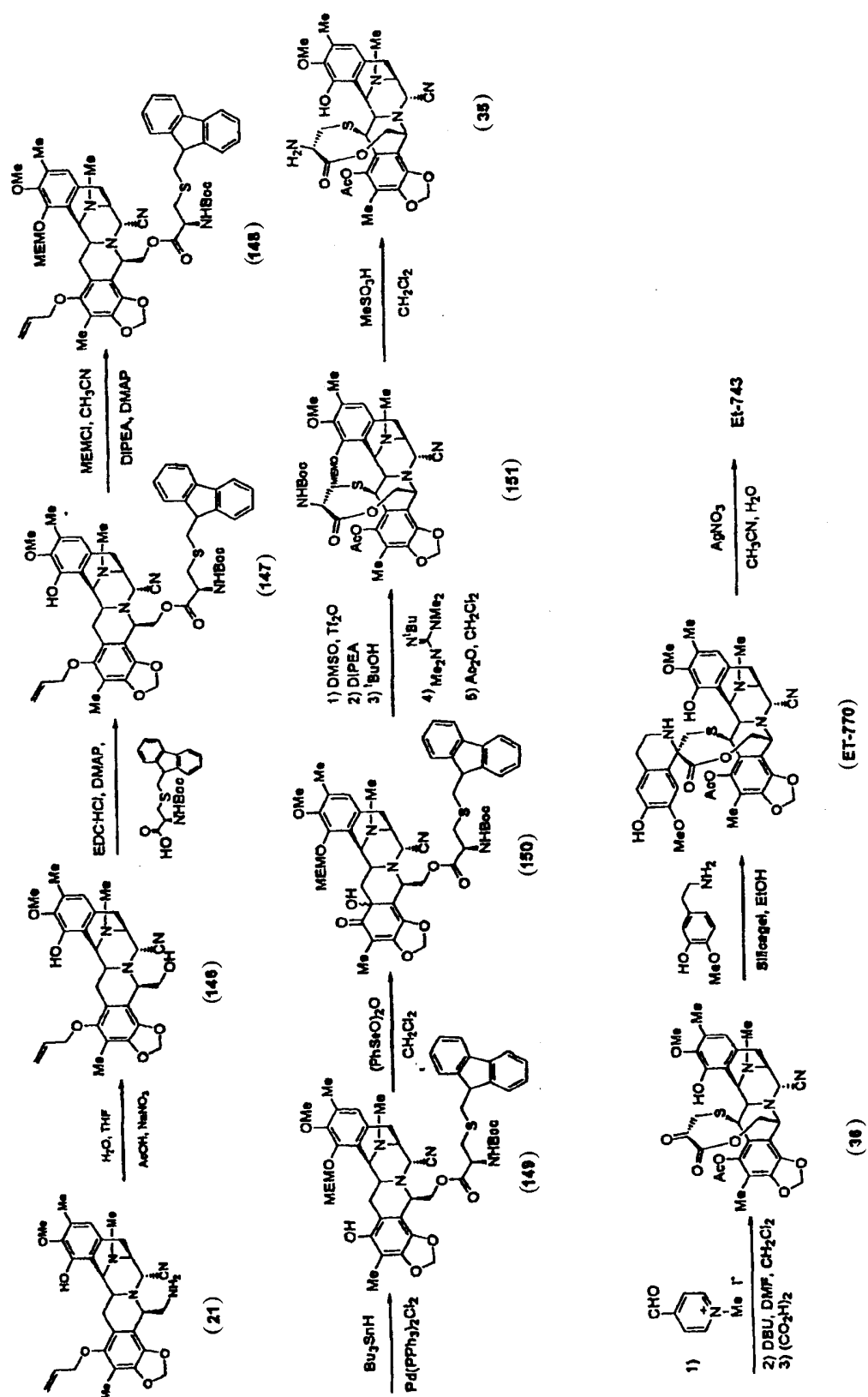


Schéma 3 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 3.

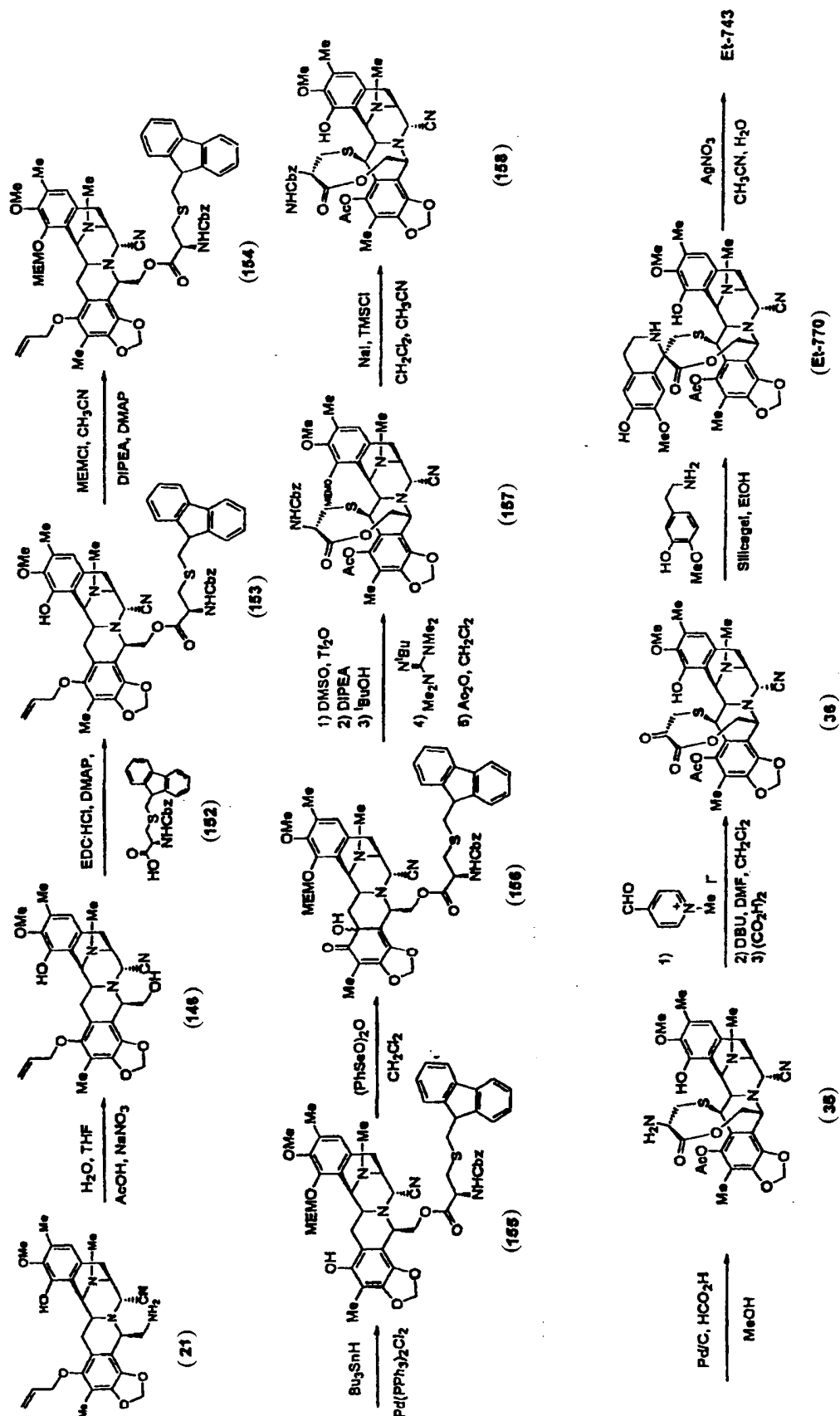


Schéma 4 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 4.

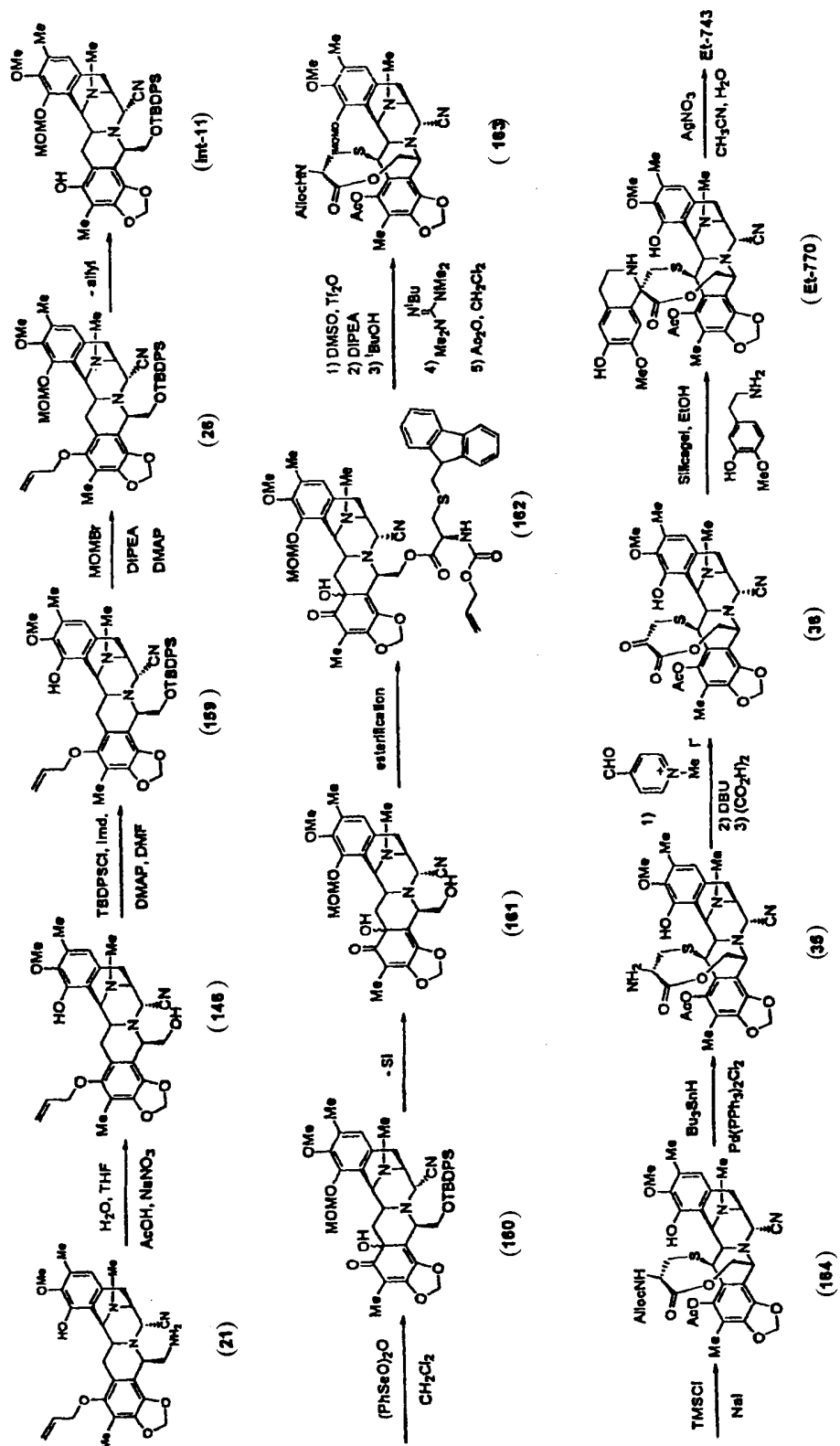


Schéma 5 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 5.

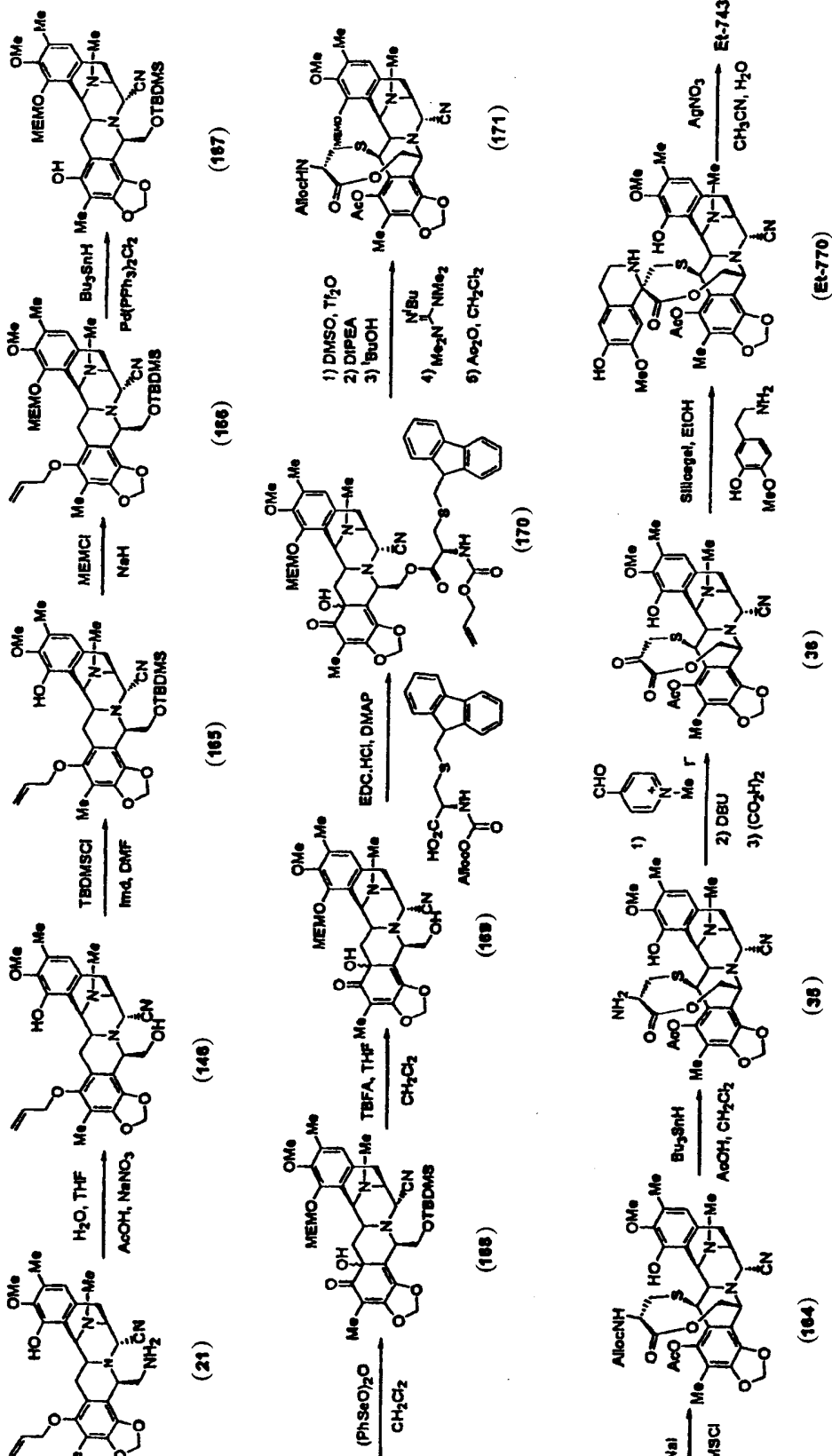
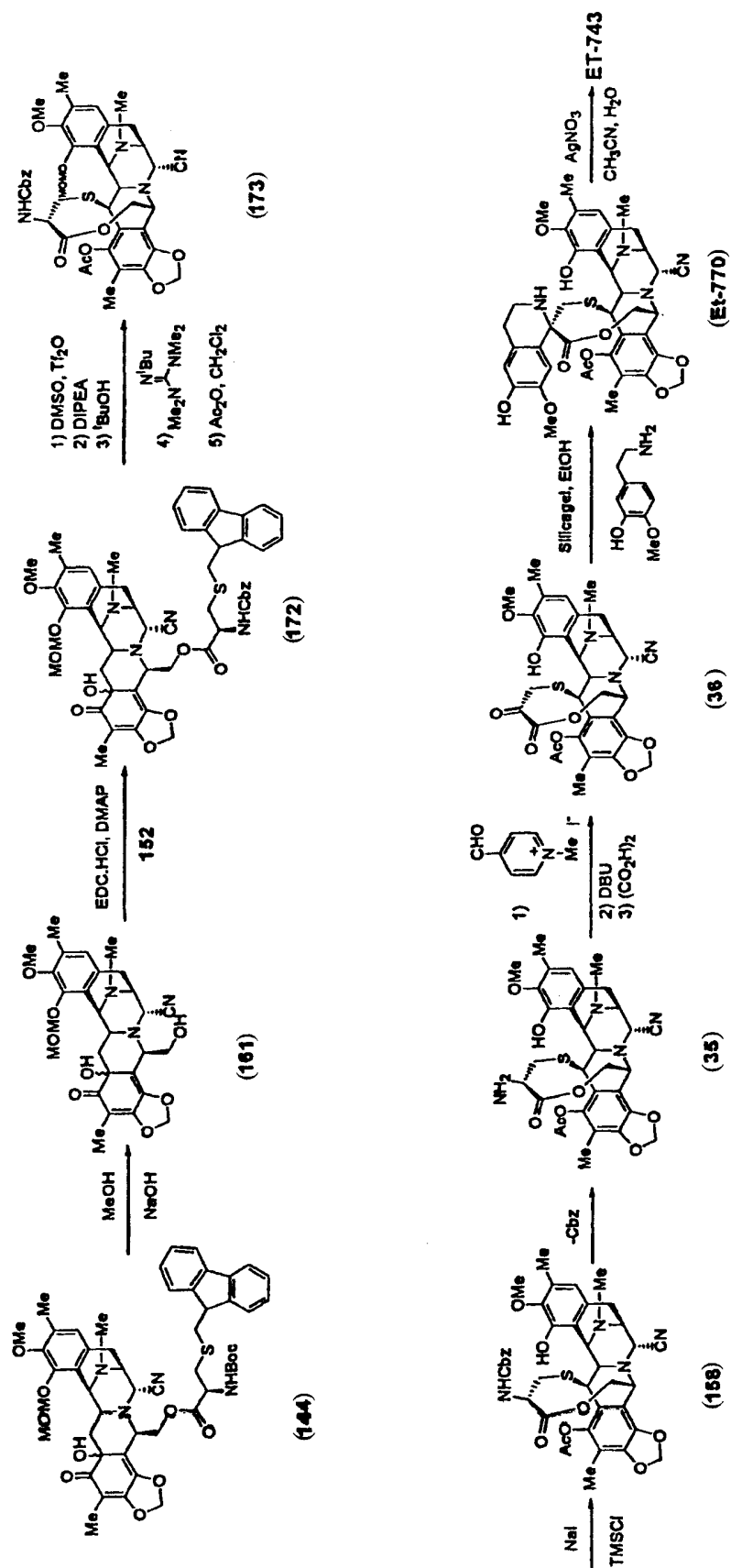


Schéma 6 - ET-743. Semisyntetická alternativní cesta 6.



Chránění *E*-kruhového fenolu je v cestě 1 dosaženo třemi kroky, které obsahují navázání/sejmutí chránič skupiny Troc (2,2,2-trichlorethyloxykarbonyl) z aminu SF21.

5 Chránění cysteinového postranního řetězce pomocí Boc v cestě 1 a 2 vede k tomu, že u fenolové a cysteinové skupiny dojde k sejmutí chránič skupiny v jednom kroku namísto dvou oddělených kroků. U ostatních cest je k sejmutí chránič skupiny nutný jeden krok navíc.

V cestě 2 nevzniká meziprodukt **25**, protože se použije přímá esterifikační metoda následovaná chráněním fenolu MEM skupinou.

10 V cestě 2 a 3 dochází k chránění *E*-kruhového fenolu až po proběhnutí diazotačních a esterifikačních kroků, což vede k navázání skupiny chránič fenol v jednom kroku namísto tří kroků uvedených v cestě 1.

15 V cestě 1, 2 a 3 eliminuje přímá esterifikace primárního alkoholu cysteinových derivátem neproduktivní navázání/sejmutí silylové skupiny (cesty 4 a 5) chránič primární alkohol, čímž se cesty zkrátí o dva kroky.

20 Cesta 6 pouze popisuje poslední kroky přeměny meziproduktu **161**, který lze snadno získat z meziproduktu **21**.

25 V cestě 4 a 5 se primární alkohol připravený v počátečním kroku diazotace chrání pomocí křemíku, což vede k selektivnímu chránění *E*-kruhového fenolu a nedochází ke vzniku meziproduktu **25**. Následující modifikací *A*-kruhu (sejmutí chránič skupiny/oxidace) dojde k odstranění křemíkové skupiny, což vede k esterifikaci primárního alkoholu cysteinovým derivátem.

30 Tyto změny jsou přímým důsledkem problémů, které byly nalezeny u cesty uvedené v WO 0 069 862. Jako výsledek těchto změn je celá cesta 2 kratší o tři kroky, a proto je tedy potenciálně výhodnější a/nebo levnější pro běžnou výrobu.

Přehled způsobů

35 Z pohledu cesty 1 až 6 se tento vynález týká způsobu přípravy ecteinascidinové sloučeniny se spiroamin-1,4-můstkem, při kterém dochází k vytvoření 1,4 můstku u kondenzované 1-labilní, 10-hydroxy, 18-chráněná hydroxy, di-6,8-en-5-on sloučeniny sejmutím C-18 chránič skupiny a vnesením spiroaminu.

40 V jednom provedení má ecteinascidinová sloučenina 21-hydroxylovou skupinu a tento způsob obsahuje přeměnu 21-kyano skupiny na 21-hydroxylovou skupinu.

Spiroamin je typicky spirochinolin, zvláště spirochinolin ecteinascidinu 743

45 Ve výhodném provedení je 18-chráněná skupina kondenzované 1-labilní, 10-hydroxy, 18-chráněná hydroxy, di-6,8-en-5-on sloučeniny chráněna MOM (methoxymethyl) nebo MEM (methoxyethoxymethyl) skupinou.

Výhodná 1-labilní skupina je N-chráněná cysteinyloxymethylenová skupina vzorce $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{H}$.

50 V tomto vzorci je Prot^1 typicky Boc (terc.butyloxykarbonyl), Troc (2,2,2-trichlorethyloxykarbonyl), Cbz (benzyloxykarbonyl) nebo Alloc (allyloxykarbonyl).

V některých provedeních dojde k sejmutí Prot^1 ve stejném kroku jako k sejmutí C-18 chránič skupiny.

55

Tuto 1-labilní skupinu lze připravit z 1-substituentu vzorce $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Prot}^2$.

V tomto vzorci je Prot^2 typicky Fm (9-fluorenylmethyl).

1-substituent vzorce $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CNHProt}^1-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Prot}^2$ lze připravit esterifikací $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$ substituentu.

Esterifikaci lze uskutečnit před nebo po vytvoření 10-hydroxy, di-6,8-en-5-on struktury.

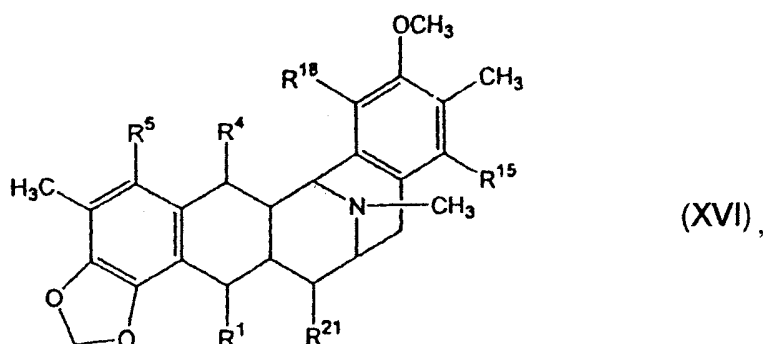
V jednom provedení vychází nárokovaný způsob z kondenzované 1-aminomethylen, 5-chráněná hydroxy, 7,8-dioxymethylen, 18-hydroxy, 21-kyano sloučeniny.

1-aminomethylenovou skupinu lze dočasně chránit, což vede ke chránění 18-hydroxylové skupiny, a chránicí skupinu poté odstranit.

C-18 hydroxylovou skupinu lze také chránit po vytvoření 1-esterové funkční skupiny.

V jiných provedeních se 1-aminomethylenová skupina převede na 1-hydroxymethylenovou skupinu, která se dočasně chrání, což vede ke chránění 18-hydroxylové skupiny, a chránicí skupina se poté sejme.

Kondenzovaná struktura má výhodný obecný vzorec XVI,



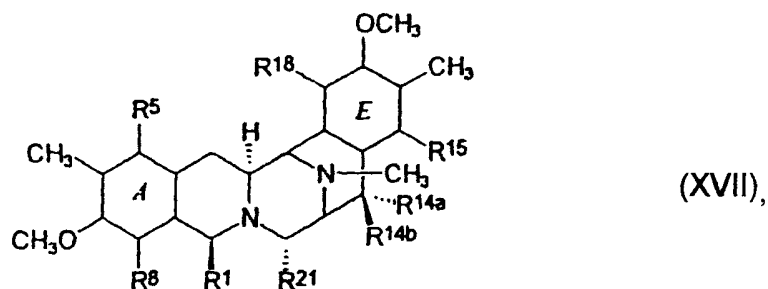
kde R^{15} je výhodně H. Jeden, více nebo všechny zbývající substituenty jsou stejné jako v případě ecteinascidinu 743.

Semisyntéza

Tento vynález se týká použití známé sloučeniny, safracinu B, také označovaného jako chinonamin, v semisyntéze.

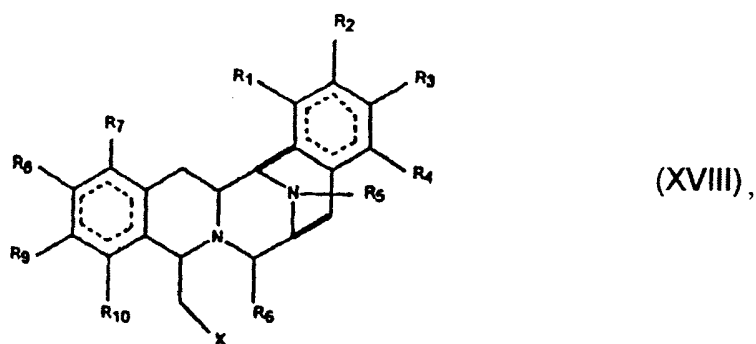
Tento vynález se týká semisyntetického způsobu přípravy meziproduktů, derivátů a sloučenin se strukturou příbuznou ecteinascidinu nebo jiných tetrahydroisochinolinfenolových sloučenin původem z přírodních bis(tetrahydroisochinolinových) alkaloidů. Mezi výhodné výchozí látky pro semisyntetický způsob patří třídy saframycinových a safracinových antibiotik dostupných z různých kultivačních půd a také třídy reineramicinových a xestomycinových sloučenin dostupných z mořských hub.

Výchozí látky mají obecný vzorec XVII,



kde R^1 je amidomethylenová skupina jako je $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CR}^{25a}\text{R}^{25b}\text{R}^{25c}$, kde R^{25a} a R^{25b} tvoří keto skupinu nebo kde jedno je $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ nebo $-\text{OCOCH}_3$ a druhé je $-\text{CH}_2\text{COCH}_3$, $-\text{H}$, $-\text{OH}$ nebo $-\text{OCOCH}_3$ za předpokladu, že když R^{25a} je $-\text{OH}$ nebo $-\text{NH}_2$ potom R^{25b} není $-\text{OH}$ a R^{25c} je $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ nebo $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ nebo je R^1 acyloxymethylenová skupina jako je $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$, kde R je $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_3$ nebo $-\text{CH}_3$, dále R^5 a R^8 jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující $-\text{H}$, $-\text{OH}$ nebo $-\text{OCOCH}_2\text{OH}$ nebo jsou R^5 a R^8 keto skupiny a kruh A je p -benzochinonový kruh, dále R^{14a} a R^{14b} jsou obě $-\text{H}$ nebo jedno je $-\text{H}$ a další je $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$ nebo $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ nebo R^{14a} a R^{14b} tvoří keto skupinu, dále R^{15} a R^{18} jsou nezávisle vybrány ze skupiny obsahující $-\text{H}$ nebo $-\text{OH}$ nebo R^{15} a R^{18} jsou obě keto skupiny a kruh E je p -benzochinonový kruh, a dále R^{21} je $-\text{OH}$ nebo $-\text{CN}$.

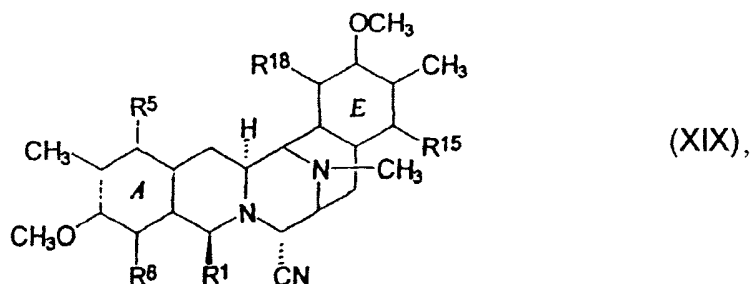
Tato třída sloučenin má obecný vzorec XVIII,



kde substituenty definované pomocí $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ jsou nezávisle vybrané ze skupiny obsahující H , OH , OCH_3 , CN , $=\text{O}$, CH_3 , dále kde X jsou různé amidy nebo esterové funkční skupiny obsažené ve zmíněných přírodních látkách, dále kde každý tečkovaný kruh představuje jednu, dvě nebo tři dvojné vazby.

Tento vynález se týká semisyntetických cest přípravy meziproduktů včetně meziproduktu 11 nebo 21, a tudíž přípravy ecteinascidinových sloučenin jako je fthalascidin a další sloučeniny. Každá semisyntetická cesta tohoto vynálezu obsahuje několik kroků, které vedou k požadované sloučenině. Každý krok sám o sobě je způsobem podle tohoto vynálezu. Tento vynález není uvedenými cestami limitován a lze použít i alternativní cesty, které vzniknou vhodnou změnou pořadí kroků nebo výměnou používaných chránicích skupin.

Tento vynález vyžaduje především přípravu 21-kyano výchozí látky obecného vzorce XIX,



kde R^1 , R^5 , R^8 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} a R^{18} již byly definovány.

- 5 Výhodnými výchozími látkami jsou také sloučeniny obecného vzorce XIX s odlišnými substituenty na 21–pozici. Jakýkoliv derivát, který vzniká nukleofilním nahrazením 21–hydroxylové skupiny sloučenin obecného vzorce XVII, kde R^{21} je hydroxylová skupina, je vhodný. Mezi příklady vhodných 21–substituentů patří například merkapto skupina, dále alkythio skupina (alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku), dále arylthio skupina (arylová skupina s 6 až 10 atomy uhlíku a substituovaná nebo nesubstituovaná 1 až 5 substituenty vybranými ze skupiny obsahující například alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, atomy halogenů, merkapto skupiny a nitro skupiny), dále amino skupina, dále mono– nebo dialkylamino skupina (každá alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku), dále mono– nebo diarylamino skupina (každá arylová skupina jak bylo definováno výše v popisu arylthio skupiny), dále α –karbonylalkylová skupina obecného vzorce $-C(R^a)(R^b)-C(=O)R^c$, kde R^a a R^b jsou vybrány ze skupiny obsahující atomy vodíku, alkylové skupiny s 1 až 20 atomy uhlíku, arylové skupiny (jak bylo definováno výše v popisu arylthio skupiny) a aralkylové skupiny (ve kterých alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku je substituována arylovou skupinou jak bylo definováno výše v popisu arylthio skupiny) za předpokladu, že jeden z R^a a R^b je atom vodíku a kde R^c se vybere ze skupiny obsahující atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 20 atomy uhlíku, arylovou skupinu (jak bylo definováno výše v popisu arylthio skupiny), aralkylovou skupinu (ve kterých alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku je substituována arylovou skupinou jak bylo definováno výše v popisu arylthio skupiny), alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, amino skupinu nebo mono– nebo dialkylamino skupinu jak bylo definována výše.

25 Tento vynález se týká způsobů, ve kterých v prvním kroku dochází použitím nukleofilního činidla ke vzniku 21–derivátu. Tyto sloučeniny se označují jako 21–Nuc sloučeniny.

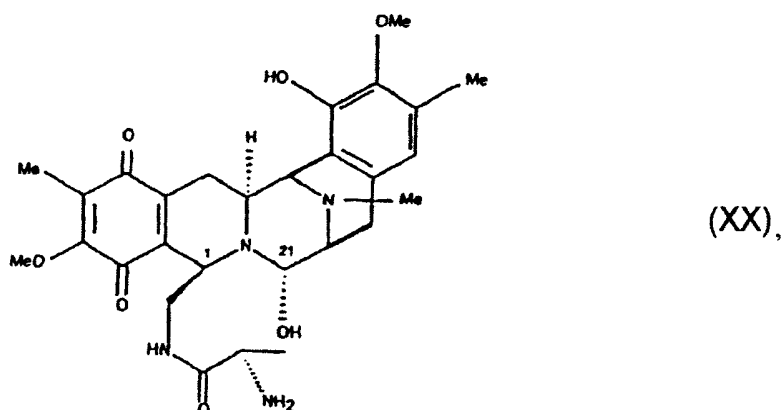
30 Pro získání některých konečných sloučenin, jmenovitě ecteinascidinu 770 a fthalascidinu, je nutná přítomnost 21–kyano skupiny, zatímco u jiných konečných sloučenin tato skupina vystupuje jako chránicí skupina, kterou lze snadno přeměnit na jiný substituent jako je například 21–hydroxylová skupina v ecteinascidinu 743 nebo 21–hydroxylová skupina v fthalascidinu. Použití 21–kyano sloučeniny jako výchozí látky účinně stabilizuje molekulu během následných syntetických kroků, dokud není odstraněna. Jiné 21–Nuc sloučeniny nabízejí tyto a jiné výhody.

35 Tento vynález se týká použití 21–kyano sloučeniny obecného vzorce XIX pro přípravu bis– nebo tris(tetrahydroisochinolinfenolových) sloučenin. Mezi sloučeniny, které lze připravit, patří například meziprodukt **11** nebo **21** a ecteinascidiny stejně jako nové a známé sloučeniny příbuzné struktury.

40 Mezi výhodné výchozí látky patří sloučeniny obecného vzorce XVII nebo XIX, kde R^{14a} a R^{14b} jsou vodík. Mezi výhodné výchozí látky také patří sloučeniny obecného vzorce XVII nebo XIX, kde R^{15} je vodík. Mezi výhodné výchozí látky dále také patří sloučeniny obecného vzorce XVII nebo XIX, kde kruh *E* je fenolový kruh. Mezi výhodné výchozí látky dále patří sloučeniny obecného vzorce XVII nebo XIX, kde minimálně jeden, lépe minimálně dva nebo tři z R^5 , R^8 , R^{15} a R^{18} nejsou vodík.

Mezi příklady výhodných výchozích látek pro tento vynález patří saframycin A, saframycin B, saframycin C, saframycin G, saframycin H, saframycin S, saframycin Y₃, saframycin Ad₁, saframycin Yd₂, saframycin AH₂, saframycin AH₂Ac, saframycin AH₁, saframycin AH₁Ac, saframycin AR₃, renieramycin A, renieramycin B, renieramycin C, renieramycin D, renieramycin E, renieramycin F, xestomycin, saframycin F, saframycin Mx-1, saframycin Mx-2, safracin A, safracin B a saframycin R. Výhodné výchozí látky mají v 21-pozici kyano skupinu jako skupinu R²¹.

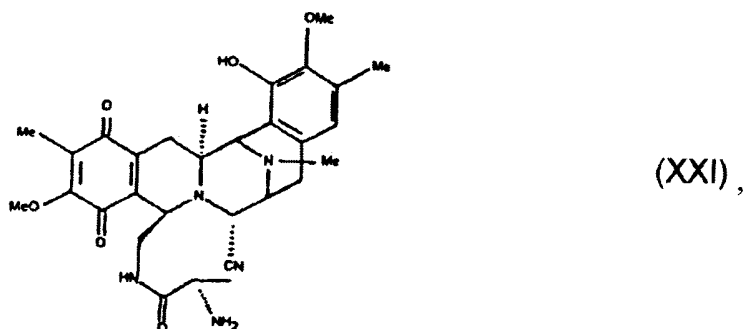
Tento vynález se týká semisyntetického způsobu, kde se jako výchozí látka použije safracin B, který má vzorec XX.



Safracin B je tvořen systémem kruhů, který je úzce příbuzný k ecteinascidinům. Tato sloučenina má stejnou pentacyklickou strukturu a stejný význam substituentů v pravotočivém aromatickém kruhu E. Safracin B je také velmi podobný některým syntetickým meziproduktům v celé syntéze ET-743, především meziproduktu 11 nebo 21. Takovýto meziprodukt lze přeměnit na ET-743 pomocí dobře známého způsobu. Syntetická přeměna safracinu B na meziprodukt 11 nebo 21 vede ke vzniku ET-743 semisyntetickým způsobem.

Tento vynález se týká meziproduktu 11 nebo 21 připraveného ze safracinu B a sloučenin odvozených z meziproduktu 11 nebo 21, především ecteinascidinové sloučeniny. Dále se vynález týká fthalascidinu připraveného ze safracinu B. Tento vynález se také týká použití safracinu B při přípravě meziproduktu 11 nebo 21, ecteinascidinových sloučenin a dalších meziproduktů. Tento vynález se dále týká sloučenin odvozených z dalších navrhovaných výchozích látek a použití výchozích látek při přípravě takovýchto sloučenin.

Výhodnější výchozí látky tohoto vynálezu mají 21-kyano skupinu. V současné době nejvýhodnější sloučenina 2 tohoto vynálezu. Tato sloučenina se získá přímo ze safracinu B, je považována za klíčový meziprodukt v semisyntetickém způsobu a má vzorec XXI.



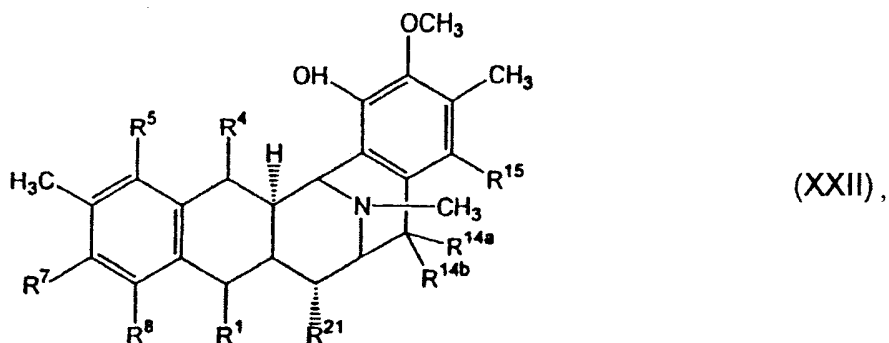
Tento vynález se týká kyanosafracinu B připraveného fermentací safracin B produkujícího kmen *Pseudomonas fluorescens* a úpravou kultivační půdy použitím kyanidového iontu. Mezi výhodný kmen *Pseudomonas fluorescens* patří kmen A2-2, FERM BP-14, který se používá

v postupu uvedeném v EP 055 299. Výhodným zdrojem kyanidového iontu je kyanid draselný. Při typické úpravě se kultivační půda přefiltruje a přidá se nadbytek kyanidového iontu. Po důkladném promíchání, například po jedné hodině, poté se pH upraví na 9,5 a organickou extrakcí vzniká surový extrakt, který lze dále čistit za vzniku kyanosafracinu B.

5

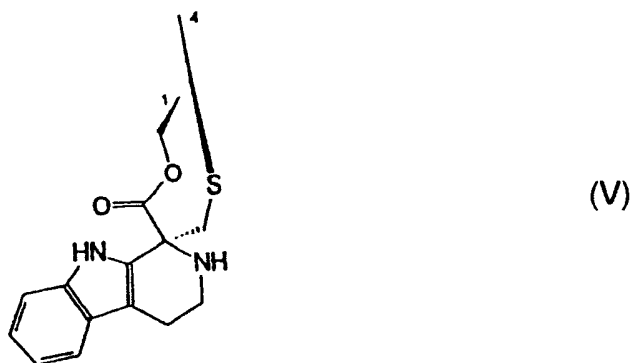
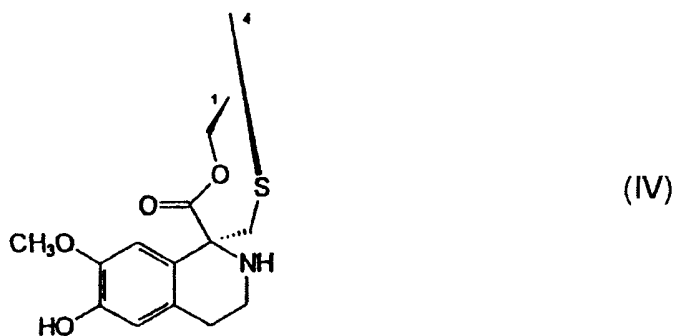
Stereochemické označení použité v tomto vynálezu, které vykazuje chyby, je třeba opravit. A protože lze syntézu modifikovat, týká se tento vynález také stereoizomerů.

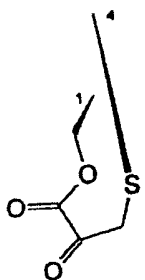
Vynález se týká sloučenin obecného vzorce XXII,



10

kde R^1 a R^4 tvoří skupinu vzorce IV, V, VI nebo VII,





(VII),

dále kde R^5 je $-H$ nebo $-OH$, dále R^7 a R^8 tvoří skupinu $-O-CH_2-O-$, dále R^{14a} a R^{14b} jsou $-H$ nebo jedna je $-H$ a druhá je $-OH$, $-OCH_3$ nebo $-OCH_2CH_3$ nebo R^{14a} a R^{14b} tvoří keto skupinu, dále R^{15} je $-H$ nebo $-OH$, dále R^{21} je $-H$, $-OH$ nebo $-CN$, a dále jejich derivátů jako jsou acyl deriváty, především ty, kde R^5 je acetyloxy nebo jiná acyloxy skupina s maximálně 4 atomy uhlíku.

V obecném vzorci XXII R^1 a R^4 obvykle tvoří skupinu vzorce IV nebo V. Skupina R^{18} je obvykle chráněná. R^{21} je obvykle kyano skupina.

Výhodně je R^{14a} a R^{14b} vodík. Výhodně je R^{15} vodík. Mezi výhodné O-acyl deriváty patří alifatické O-acylové deriváty, především ty, které mají 1 až 4 atomy uhlíku a typicky O-acetylová skupina umístěná na 5-pozici.

Mezi výhodné chránicí skupiny pro fenoly a hydroxylové skupiny patří ethery a estery jako je alkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, aryloxyalkylová skupina, alkoxyalkoxyalkylová skupina, alkylsilylalkoxyalkylová skupina, alkylthioalkylová skupina, arylthioalkylová skupina, azidoalkylová skupina, kyanoalkylová skupina, chloralkylová skupina, heterocyklická skupina, arylacylová skupina, haloarylacylová skupina, cykloalkylalkylová skupina, alkenylová skupina, cykloalkylová skupina, alkylarylalkylová skupina, alkoxyarylalkylová skupina, nitroarylalkylová skupina, haloarylalkylová skupina, alkylaminokarbonylarylalkylová skupina, alkylsulfynylarylalkylová skupina, alkylsilylová skupina a další ethery, a dále arylacylová skupina, arylalkylkarbonát, alifatický karbonát, alkylsulfynylarylalkylkarbonát, alkylkarbonát, arylhaloalkylkarbonát, arylalkenylkarbonát, arylkarbamát, alkylfosfínylová skupina, alkylfosfíniothioylová skupina, arylfosfíniothioylová skupina, arylalkylsulfonát a další estery. Tyto skupiny lze případně nahradit substituenty uvedenými u R^1 .

Mezi vhodné chránicí skupiny pro aminy patří karbamáty, amidy a jiné chránicí skupiny jako je alkylová skupina, arylalkylová skupina, sulfo- nebo haloarylalkylová skupina, haloalkylová skupina, alkylsilylalkylová skupina, arylalkylová skupina, cykloalkylalkylová skupina, alkylarylalkylová skupina, heterocyklylalkylová skupina, nitroarylalkylová skupina, acylaminoalkylová skupina, nitroaryldithioarylalkylová skupina, dicykloalkylkarboxamidoalkylová skupina, cykloalkylová skupina, alkenylová skupina, arylalkenyllová skupina, nitroarylalkenyllová skupina, heterocyklylalkenyllová skupina, heterocyklylová skupina, hydroxyheterocyklylová skupina, alkyl-dithio skupina, alkoxy- nebo halo- nebo alkylsulfynylarylalkylová skupina, heterocyklylalkylová skupina a jiné karbamáty, a dále alkanoylová skupina, haloalkanoylová skupina, arylalkanoylová skupina, alkenylová skupina, heterocyklylalkylová skupina, aroylová skupina, arylaroylová skupina, haloaroylová skupina, nitroaroylová skupina, a dále další amidy jako je alkylová skupina, alkenylová skupina, alkylsilylalkoxyalkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, kyanoalkylová skupina, heterocyklylová skupina, alkoxyarylalkylová skupina, cykloalkylová skupina, nitroarylalkylová skupina, arylalkylová skupina, alkoxy- nebo hydroxyarylalkylová skupina a mnoho dalších skupin. Tyto skupiny lze případně nahradit substituenty uvedenými u R^1 .

Příklady těchto chránicích skupin jsou uvedeny v následující tabulce.

chránicí skupiny pro -OH skupinu	
ethery	zkratka
methyl	
methoxymethyl	MOM
benzyloxymethyl	BOM
methoxyethoxymethyl	MEM
2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl	SEM
methylthiomethyl	MTM
fenylthiomethyl	PTM
azidomethyl	
kyanomethyl	
2,2-dichlor-1,1-difluorethyl	
2-chlorethyl	
2-bromethyl	
tetrahydropyranyl	THP
1-ethoxyethyl	EE
fenacyl	
4-bromfenacyl	
cyklopropylmethyl	
allyl	
propargyl	
isopropyl	
cyklohexyl	
terc.butyl	
benzyl	
2,6-dimethylbenzyl	
4-methoxybenzyl	MPM nebo PMB
o-nitrobenzyl	
2,6-dichlorbenzyl	
3,4-dichlorbenzyl	
4-(dimethylamino)karbonylbenzyl	
4-methylsulfinylbenzyl	Msib
9-anthrylmethyl	
4-pikolyl	
heptafluor- <i>p</i> -tolyl	
tetrafluor-4-pyridyl	

chránicí skupiny pro -OH skupinu	
ethery	zkratka
trimethylsilyl	TMS
terc. butyldimethylsilyl	TBDMS
terc. butyldifenylsilyl	TBDPS
triisopropylsilyl	TIPS
estery	
arylformiát	
arylacetát	
aryllevulinát	
arylpivaloát	ArIPv
arylbenzoát	
aryl-9-fluorkarboxylát	
arylmethylkarbonát	
1-adamantylkarbonát	
terc. butylkarbonát	BOC-OAr
4-methylsfinylbenzylkarbonát	Msz-Oar
2,4-dimethylpent-3-ylkarbonát	Doc-Oar
aryl-2,2,2-trichlorethylkarbonát	
arylvinylnkarbonát	
arylbenzylkarbonát	
arylkarbamát	
dimethylfosfynyl	Dmp-OAr
dimethylfosfinothiyl	Mpt-OAr
difenylfosfinothiyl	Dpt-Oar
arylmethansulfonát	
aryltoluensulfonát	
aryl-2-formylbenzensulfonát	

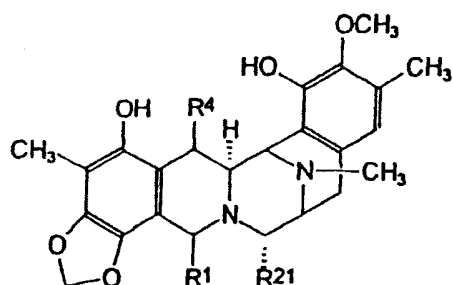
chránicí skupiny pro -NH ₂ skupinu	
karbamáty	zkratka
methyl	
ethyl	
9-fluorenylmethyl	Fmoc
9-(2-sulfo)fluorenylmethyl	
9-(2,7-dibrom)fluorenylmethyl	
17-tetrabenz[a,c,g,i]fluorenylmethyl	Tbfmoc
2-chlor-3-indenylmethyl	Climoc
benz[f]inden-3-ylmethyl	Bimoc
2,7-di-terc.butyl[9-(10,10-dioxo- -10,10,10,10-tetrahydrothioxanthyl)]methyl	DBD-Tmoc
2,2,2-trichlorethyl	Troc
2-trimethylsilylethyl	Teoc
2-fenylethyl	hZ
1-(1-adamantyl)-1-methylethyl	Adpoc
2-chlorethyl	
1,1-dimethyl-2-chlorethyl	
1,1-dimethyl-2-bromethyl	
1,1-dimethyl-2,2-dibromethyl	DB-t-BOC
1,1-dimethyl-2,2,2-trichlorethyl	TCBOC
1-methyl-1-(4-bifenyl)ethyl	Bpoc
1-(3,5-di-terc.butylfenyl)-1-methylethyl	t-Burmeoc
2-(2'- a 4'-pyridyl)ethyl	Pyoc
2,2-bis(4'-nitrofenyl)ethyl	Bnpeoc
n-(2-pivaloylamino)-1,1-dimethylethyl	
2-[(2-nitrofenyl)dithio]-1-fenylethyl	NpSSPeoc
2-(n,n-dicyklohexylkarboxamido)ethyl-terc.butyl	BOC
1-adamantyl	1-Adoc
2-adamantyl	2- Adoc
vinyl	Voc

chránicí skupiny pro -NH ₂ skupinu	
karbamáty	zkratka
allyl	Aloc nebo Alloc
1-isopropylallyl	Ipaoc
cinnamyl-(3-fenyl-2-propen-1-yl)	Coc
4-nitrocinnamyl	Noc
3-(3'-pyridyl)prop-2-enyl	Paloc
8-chinolyl	
n-hydroxypiperidiny	
alkyldithio	
benzyl	Cbz nebo Z
p-methoxybenzyl	Moz
p-nitrobenzyl	PNZ
p-brombenzyl	
p-chlorbenzyl	
2,4-dichlorbenzyl	
4-methylsulfinylbenzyl	Msz
9-anthrylmethyl	
difenylmethyl	
fenothiazinyl-(10)-karbonyl	
n'-p-toluensulfonylaminokarbonyl	
n'-fenylaminothiokarbonyl	
amidy	
formamid	
acetamid	
chloracetamid	
trifluoracetamid	TFA
fenylacetamid	
3-fenylpropanamid	
pent-4-enamid	
pikolinamid	

chránicí skupiny pro -NH ₂ skupinu	
amidy	zkratka
3-pyridylkarboxamid	
benzamid	
<i>p</i> -fenylbenzamid	
<i>n</i> -ftalimid	
<i>n</i> -tetrachlorftalimid	TCP
4-nitro- <i>n</i> -ftalimid	
<i>n</i> -dithiasukcinimid	Dts
<i>n</i> -2,3-difenylmaleimid	
<i>n</i> -2,5-dimethylpyrrol	
<i>n</i> -2,5-bis(triisopropylsiloxy)pyrrol	BIPSOP
<i>n</i> -1,1,4,4-tetramethyldisiliazacyklopentanový adukt	STABASE
1,1,3,3-tetramethyl-1,3-disilaisoindolin	BSB
specifické chránicí skupiny pro -NH skupiny	
<i>n</i> -methylamin	
<i>n</i> -terc.butylamin	
<i>n</i> -allylamin	
<i>n</i> -[(2-trimethylsilyl)ethoxy]methylamin	SEM
<i>n</i> -3-acetoxypylamin	
<i>n</i> -kyanomethylamin	
<i>n</i> -(1-isopropyl-4-nitro-2-oxo-3-pyrrolin-3-yl)amin	
<i>n</i> -2,4-dimethoxybenzylamin	Dmb
2-azanorborneny (2-azabicyklo[2,2,1]hept-5-eny)	
<i>n</i> -2,4-dinitrofenylamin	
<i>n</i> -benzylamin	Bn
<i>n</i> -4-methoxybenzylamin	MPM
<i>n</i> -2,4-dimethoxybenzylamin	DMPM
<i>n</i> -2-hydroxybenzylamin	Hbn
<i>n</i> -(difenylmethyl)amin	DPM
<i>n</i> -bis(4-methoxyfenyl)methylamin	

specifické chránicí skupiny pro -NH skupiny	
n-5-dibenzosuberylamin	DBS
n-trifenylmethylamin	Tr
n-[(4-methoxyfenyl)difenylmethyl]amin	MMTr
n-9-fenylfluorenylamin	Pf
n-ferrocenylmethylamin	Fcm
n-2-pikolyamin-n'-oxid	
n-1,1-dimethylthiomethylenamin	
n-benzylidenamin	
n-p-methoxybenzylidenamin	
n-difenylmethylenamin	
n-(5,5-dimethyl-3-oxo-1-cyklohexenyl)amin	
n-nitroamin	
n-nitrosoamin	
difenylfosfinamid	Dpp
dimethylthiofosfinamid	Mpt
difenylthiofosfinamid	Ppt
dibenzylfosforamidát	
2-nitrobenzensulfenamid	Nps
n-1-(2,2,2-trifluor-1,1-difenyl)ethylsulfenamid	TDE
3-nitro-2-pyridinsulfenamid	Npys
p-toluensulfonamid	Ts
benzensulfonamid	

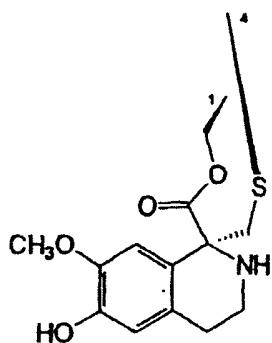
Vynález se týká ecteinascidinových sloučenin obecného vzorce XXIII,



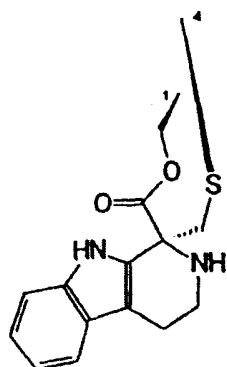
(XXIII)

5

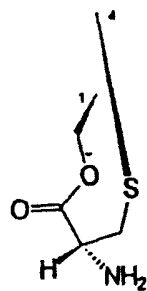
kde R¹ a R⁴ tvoří skupinu vzorce IV, V, VI nebo VII,



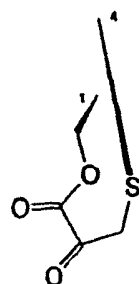
(IV)



(V)



(VI)



(VII),

především skupinu IV nebo V, dále kde R^{21} je $-H$, $-OH$ nebo $-CN$, především $-OH$ nebo $-CN$, a dále jejich acylových derivátů, především 5-acyl derivátů včetně 5-acetyl derivátu.

- 5 Přeměna 21-kyano výchozí látky na ecteinascidinovou sloučeninu obecného vzorce XXII probíhá obvykle v následujících krocích,
 - a) pokud je to nutné, přeměnu chinonového systému kruhu *E* na fenolový systém,
 - b) pokud je to nutné, přeměnu chinonového systému kruhu *A* na fenolový systém,
 - c) přeměnu fenolového systému kruhu *A* na methylenedioxyfenolový kruh,
- 10 d) vytvoření přemostěného spiro kruhového systému vzorce IV, VI nebo VII na 1-pozici a 4-pozici kruhu *B*,
- e) vytvoření vhodného derivátu například acylací.

Krok (a), případnou přeměnu chinonového systému kruhu *E* na fenolový systém, lze provést konvenčními redukčními postupy. Vhodným reakčním prostředím je vodík s katalyzátorem palladium–uhlík, avšak lze použít i další redukční postupy.

- 5 Krok (b), případnou přeměnu chinonového systému kruhu *A* na fenolový systém, je analogický kroku (a).

Krok (c), přeměnu fenolového systému kruhu *A* na methylenedioxyfenolový kruh, lze provést několika způsoby, případně spolu s krokem (b). Chinonový kruh *A* lze například demetylovat odstraněním methoxy substituentu na 7–pozici, redukovat na dihydrochinon a zachytit vhodným elektrofilním činidlem jako je například CH_2Br_2 , BrCH_2Cl nebo podobným divalentním činidlem což vede přímo ke vzniku methylenedioxy kruhového systému, nebo divalentním činidlem jako je například thiocarbonyldiimidazol, což vede ke vzniku substituovaného methylenedioxy kruhového systému, který lze přeměnit na požadovaný kruh.

15 Krok (d) se obvykle provádí vhodnou substitucí na 1–pozici přemostujícím činidlem, které napomáhá vytvoření požadovaného můstku, což vede k vytvoření chinonmethidové skupiny na 4–pozici a vede k tomu, že methidová skupina reaguje s 1–substituentem za vzniku přemostěné struktury. Výhodná přemostující činidla mají obecný vzorec XXIV,

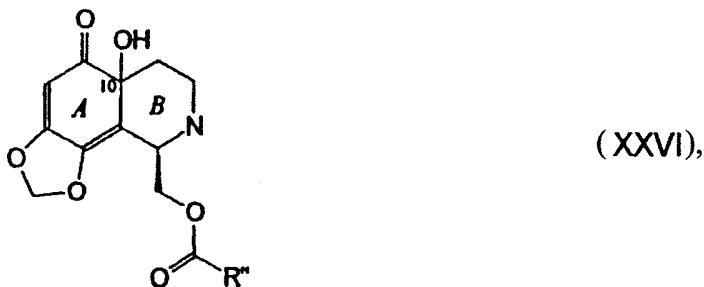


20 kde Fu označuje chráněnou funkční skupinu jako je skupina $-\text{NHProt}^{4a}$, dále Prot^3 je chránicí skupina a dále tečkovaná čára představuje případnou dvojnou vazbu.

25 Methiová skupina se výhodně vytvoří vnesením hydroxylové skupiny na 10–pozici v místě spojení kruhu *A* a *B*, což vede ke vzniku struktury obecného vzorce XXV,



nebo výhodněji struktury obecného vzorce XXVI,



30 kde se skupina R'' zvolí podle požadované skupiny vzorců IV, V, VI nebo VII. U prvních dvou těchto skupin má skupina R'' obvykle vzorec $-\text{CHF}_u-\text{CH}_2-\text{SProt}^3$. Chránicí skupiny lze poté odstranit a vhodně upravit, což vede ke vzniku požadované sloučeniny.

Obvyklý postup kroku (d) je popsán v patentu US 5 721 362, který je uveden v odkazech. Konkrétně je odkazována část ve sloupci 8, kroku (1) a příkladu 33 tohoto US patentu a příbuzné části.

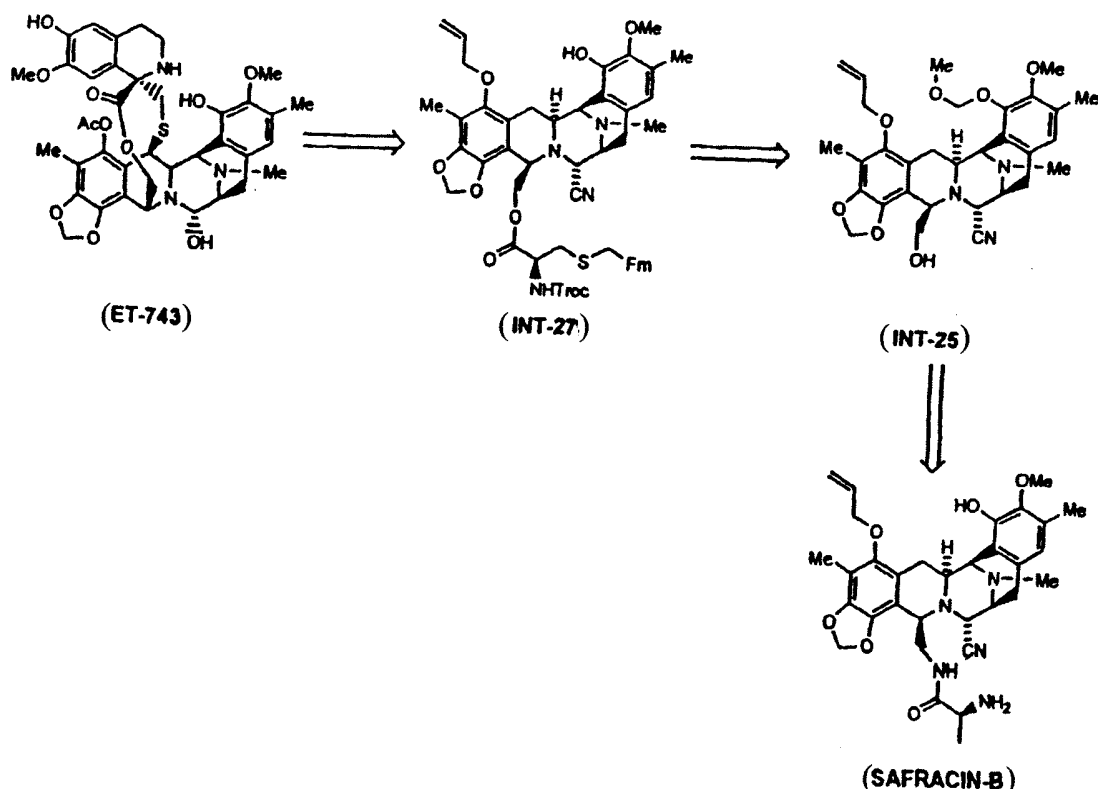
- 5 Vytvoření derivátu v kroku (e) případně probíhá acylací například skupinou R^a-CO- , kde R^a se případně vybere ze skupiny obsahující například alkylovou skupinu, alkoxy skupinu, alkylenovou skupinu, arylalkylovou skupinu, arylalkylenovou skupinu, acylaminokyselinu nebo heterocyklylovou skupinu, přičemž každá je případně substituována halogenem, kyano skupinou, nitro skupinou, karboxyalkylovou skupinou, alkoxy skupinou, aryllovou skupinou, aryloxy skupinou, heterocyklylovou skupinou, heterocyklyloxy skupinou, alkylovou skupinou, amino skupinou nebo
10 substituovanou amino skupinou. Mezi další acylační činidla patří isothiokyanáty jako je arylisothiokyanát, jmenovitě fenylisokyanát. Tato alkylová, alkoxy nebo alkylenová skupina R^a výhodně obsahuje 1 až 6 nebo 12 atomů uhlíku a je případně lineární, rozvětvená nebo cyklická. Mezi aryllové skupiny patří fenyl, bifenyl nebo naftyl. Heterocyklylové skupiny jsou případně aromatické nebo částečně nebo úplně nenasyčené a výhodně mají 4 až 8 atomů v kruhu, výhodněji 5
15 nebo 6 atomů v kruhu s jedním nebo více heteroatomy vybranými ze skupiny obsahující dusík, síru a kyslík.

- Mezi příklady R^a skupiny patří alkylová skupina, haloalkylová skupina, alkoxyalkylová skupina, haloalkoxyalkylová skupina, arylalkylenová skupina, haloalkylarylalkylenová skupina, acylová skupina, haloacylová skupina, arylalkylová skupina, alkenylová skupina a aminokyselina. Skupina R^a-CO- je například acetyl, trifluoracetyl, 2,2,2-trichlorethoxykarbonyl, isovalerylkarbonyl, *trans*-3-(trifluormethyl)cinnamoylkarbonyl, heptafluorbutyrylkarbonyl, dekanoylkarbonyl, *trans*-cinnamoylkarbonyl, butyrylkarbonyl, 3-chlorpropionylkarbonyl, cinnamoylkarbonyl, 4-methylcinnamoylkarbonyl, hydrocinnamoylkarbonyl nebo *trans*-hexenoylkarbonyl, nebo dále alanyl, arginyl, aspartyl, cystyl, glutamyl, glutaminyl, glycyl, histidyl, hydroxypropyl, isoleucyl, leucyl, lysyl, methionyl, fenylalanyl, prolyl, seryl, threonyl, thyronyl, tryptofyl, tyrosyl, valyl, stejně jako další méně obvyklé acylové skupiny aminokyselin, stejně jako ftalimido a další cyklické amidy. Další příklady lze nalézt mezi zmíněnými chránicími skupinami. Sloučeniny, kde je
25 R^a-CO- odvozena z aminokyseliny a obsahuje amino skupinu, případně sami tvoří acyl deriváty. Mezi výhodné N-acyl skupiny patří dipeptidy, které případně střídavě tvoří N-acyl deriváty.

- 30 Ve srovnání s dříve popsanými postupy lze nyní uskutečnit přeměnu sloučeniny **2** (kyanosafracin B) na **ET-743** kratší a přímější cestou.

- 35 Retrosyntéza **ET-743** použitím sloučeniny **29** je znázorněna na schématu 7.

Schéma 7



- Postupem znázorněným na schématu 7 lze připravit ET-743 v 21 lineárních krocích. V této syntéze dochází k přeměně kyanosafracinu B na meziprodukt 25 sledem reakcí, z nichž mezi základní patří (1) odstranění methoxy skupiny umístěné na kruhu A, (2) redukce kruhu A a vytvoření methylenedioxy skupiny, (3) hydrolýza funkčního amidu umístěného přes uhlík 1, (4) přeměna vzniklé amino skupiny na hydroxylovou skupinu. V této syntéze kromě toho nedochází k chránění a sejmutí chránicí skupiny funkčního primárního alkoholu na 1-pozici v kruhu B sloučeniny 25 a meziprodukt 27 vzniká přímo z cysteinového zbytku 29. Aminoskupina cysteinového derivátu 29 je chráněna β - β - β -trichlorethoxykarbonylovou chránicí skupinou, aby se dosáhlo kompatibility s existující allylovou skupinou a MOM skupinou. Meziprodukt 27 je přímo oxidován a cyklován. Tyto okolnosti společně s odlišnými strategiemi sejmutí chránicí skupiny v koncových stupních syntézy jsou příčinou novosti této syntézy a její lepší přizpůsobitelnosti průmyslovému vývoji než způsob uvedený v patentu US 5 721 362.

Přeměna 2-kyano sloučeniny na meziprodukt 25 probíhá obvykle v následujících krocích (viz schéma 8)

- a) vznik chráněné sloučeniny 14 reakcí sloučeniny 2 s anhydridem terc.butoxykarbonylu,
- b) přeměna sloučeniny 14 na di-chráněnou sloučeninu 15 reakcí s brommethylmethyletherem a diisopropylethylaminem v acetonitrilu,
- c) selektivní odstranění methoxy skupiny chinonového systému ve sloučenině 15 za vzniku sloučeniny 16 reakcí s methanolickým roztokem hydroxidu sodného,
- d) přeměna sloučeniny 16 na methylenedioxy sloučeninu 18 provedením následující výhodné sekvence kroků (1) chinonová skupina sloučeniny 16 se redukuje 10% Pd/C ve vodíkové atmosféře, (2) hydrochinonový meziprodukt se přemění na methylenedioxy sloučeninu 17 reakcí s bromchlormethanem a uhličitánem cesným ve vodíkové atmosféře, (3) sloučenina 17 se přemění na sloučeninu 18 chráněním volné hydroxylové skupiny jako je OCH_2R skupina. Tato reakce se provádí s BrCH_2R a uhličitánem cesným, kde R je případně aryl, $\text{CH}=\text{CH}_2$, OR' apod.,

- e) odstranění terc.butoxykarbonylové a methyloxymethylové chránicí skupiny ve sloučenině **18** za vzniku sloučeniny **19** reakcí s roztokem HCl v dioxanu. Této reakce se také dosáhne smísením sloučeniny **18** s roztokem kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu,
- f) vytvoření thiomocovinové sloučeniny **20** reakcí sloučeniny **19** s fenylisothiokyanátem,
- 5 g) přeměna sloučeniny **20** na amino sloučeninu **21** reakcí s roztokem HCl v dioxanu,
- h) přeměna sloučeniny **21** na N-Troc derivát **22** reakcí s trichlorethylchlorformiátem a pyridinem,
- i) přeměna chráněné hydroxylové sloučeniny **23** reakcí sloučeniny **22** s brommethylnmethyletherem a diisopropylethylaminem,
- 10 j) přeměna sloučeniny **23** na N-H derivát sloučeniny **24** reakcí s kyselinou octovou a zinkem,
- k) přeměna sloučeniny **24** na hydroxylovou sloučeninu **25** reakcí s dusitanem sodným v kyselině octové. Alternativně lze použít oxid dusičitý ve směsi kyseliny octové a acetonitrilu s následnou úpravou hydroxidem sodným. Lze také použít dusitan sodný ve směsi kyseliny octové a acetonhydridu s následnou úpravou hydroxidem sodným.

15

Schéma 8

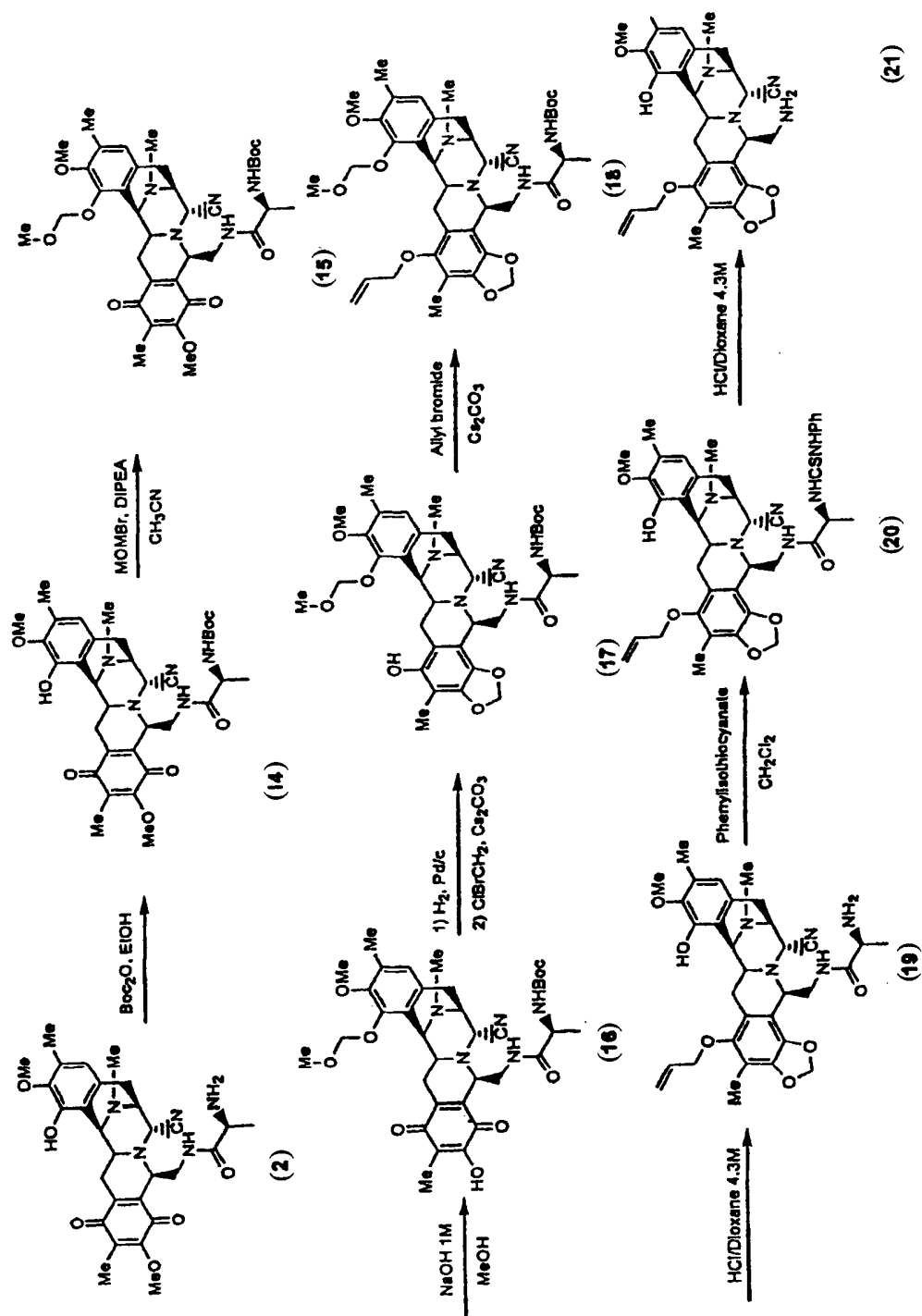
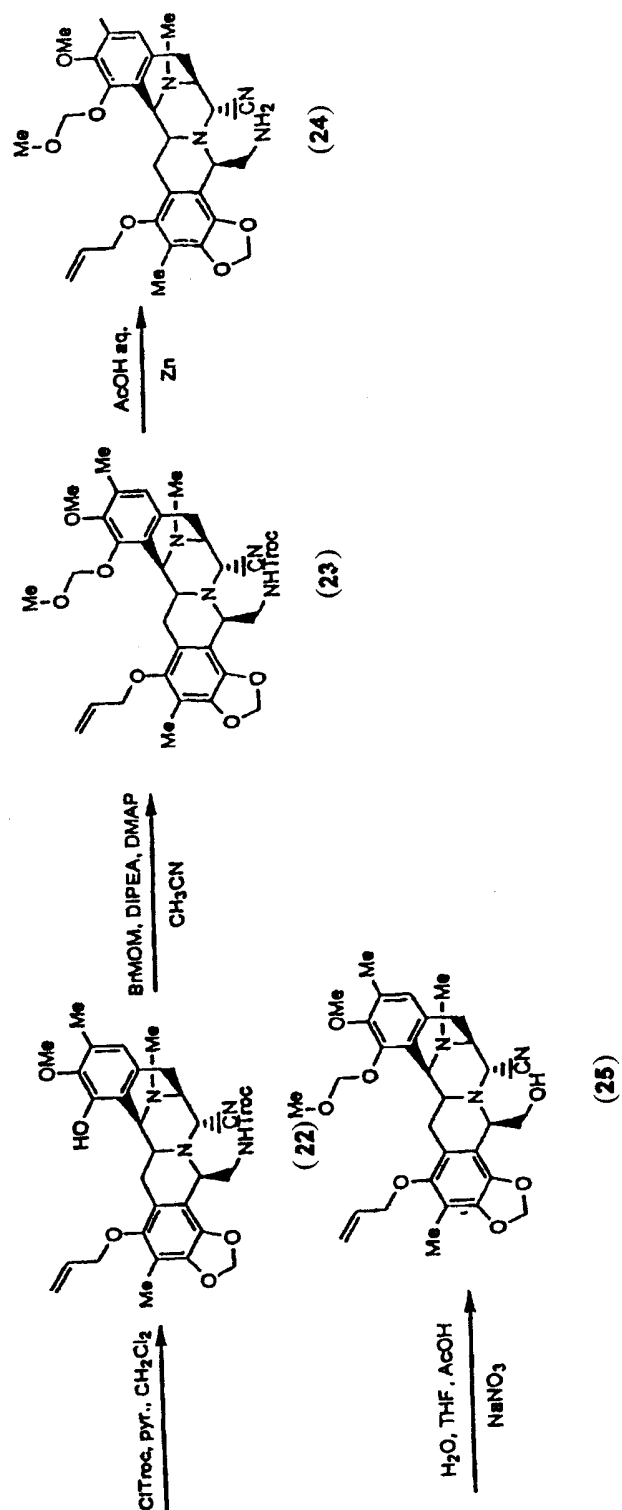
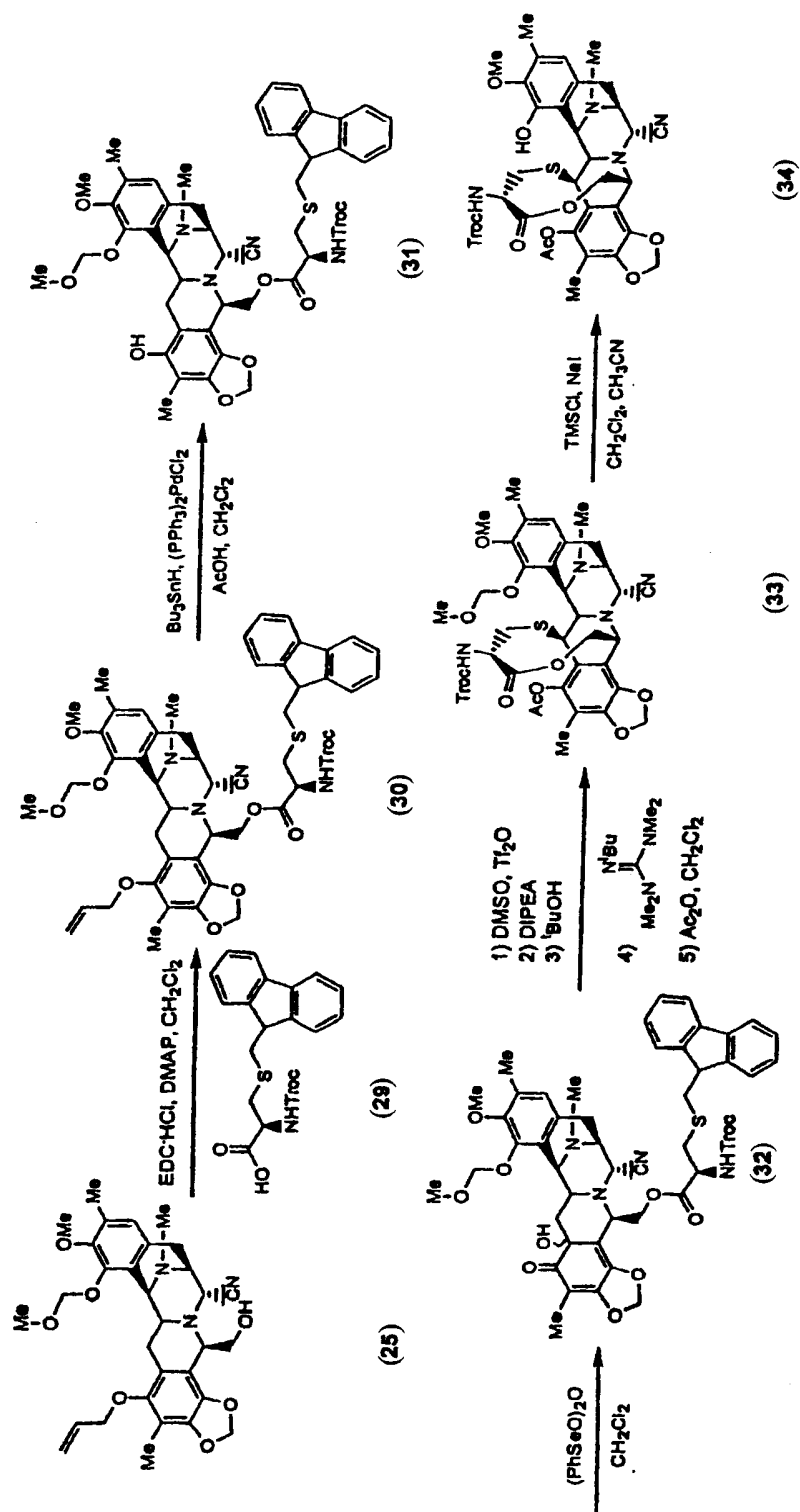


Schéma 8 - pokračování



Přeměna meziproduktu **25** na **ET-743** použitím cysteinového derivátu **29** probíhá obvykle v následujících krocích (viz schéma 9)

5 Schéma 9



10 a) přeměna sloučeniny **24** na derivát **30** chráněním funkčního primárního hydroxyly sloučeninou **29**, (S)-N-2,2,2-trichlorethoxykarbonyl-S-(fluoren-9-ylmethyl)cystein,

- b) přeměna chráněné sloučeniny **30** na fenolový derivát **31** štěpením allylové skupiny tributylstanniumhydridem a dichlorbis(trifenylfosfinem) palladnatým,
- c) přeměna fenolové sloučeniny **31** na sloučeninu **32** oxidací anhydridem kyseliny benzenselenové při nízké teplotě,
- 5 d) přeměna hydroxylové sloučeniny **32** na laktonovou sloučeninu **33** provedením následující sekvence kroků (1) reakce sloučeniny **32** se 0,22 mmol (2 ekvivalenty) anhydridu kyseliny trifluormethansulfonové a 0,55 mmol (5 ekvivalentů) DMSO (dimethylsulfoxid), (2) reakce s 0,88 mmol (8 ekvivalenty) diisopropylethylaminu, (3) reakce se 0,44 mmol (4 ekvivalenty) terc.butylalkoholu, (4) reakce se 0,77 mmol (7 ekvivalenty) 2-terc.butyl-1,1,3,3-tetramethyl-
- 10 guanidinu, (5) reakce s 1,10 mmol (10 ekvivalenty) acetanhydridu,
- e) přeměna laktonové sloučeniny **33** na hydroxylovou sloučeninu **34** odstraněním MOM chránicí skupiny pomocí TMSI (trimethylsulfoxonium jodid),
- f) štěpení N-trichlorethoxykarbonylové skupiny sloučeniny **34** na sloučeninu **35** reakcí se Zn/AcOH (Zn/kyselina octová),
- 15 g) přeměna amino sloučeniny **35** na odpovídající α -ketolaktonovou sloučeninu **36** reakcí s N-methylpyridiniumkarboxaldehydchlorid následované DBU (1,8-diazabicyklo[5,4,0]undek-7-en),
- h) vznik ET-770 reakcí sloučeniny **36** s 3-hydroxy-4-methoxyfenylethylaminem,
- i) přeměna ET-770 na ET-743 reakcí s dusičnanem stříbrným ve směsi AcN/H₂O (acetonitril/voda).

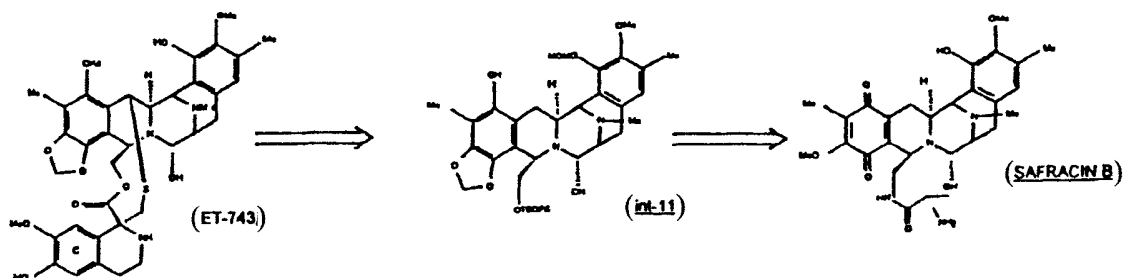
20

Vznik meziproduktu **11** a příbuzných meziproduktů

Retrosyntéza je popsána následující rovnicí (viz schéma 10).

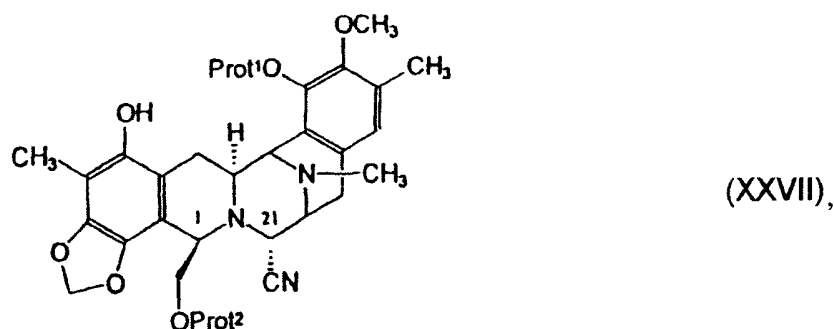
25

Schéma 10



30

Mezi klíčovou třídou meziproduktů tohoto vynálezu patří meziprodukt **11** obecného vzorce XXVII,



35

kde Prot¹ a Prot² jsou výhodně různé hydroxy chránicí skupiny. Pro meziprodukt **11** je Prot¹ methoxymethyl skupina a Prot² terc.butyldifenylsilylová skupina.

Přeměna 21–kyano sloučeniny na meziprodukt **11** nebo příbuzný meziprodukt obecného vzorce XXVII probíhá obvykle v následujících krocích

- a) pokud je to nutné, přeměnu chinonového systému kruhu *E* na fenolový systém,
 - 5 b) vznik $-\text{OProt}^1$ skupiny na 18–pozici kruhu *E*,
 - c) vznik $-\text{CH}_2-\text{OProt}^2$ skupiny na 1–pozici kruhu *B*,
 - d) pokud je to nutné, přeměnu chinonového systému kruhu *A* na fenolový systém,
 - e) přeměnu fenolového systému kruhu *A* na methylenedioxyfenolový kruh.
- 10 Krok (b), vznik $-\text{OProt}^1$ skupiny na 18–pozici kruhu *E*, je typická reakce vedoucí k chránění fenolové skupiny a není potřeba to více komentovat. V závislosti na povaze chránicí skupiny se vyberou odpovídající podmínky. Další kroky jsou podobné jako u ostatních reakcí.

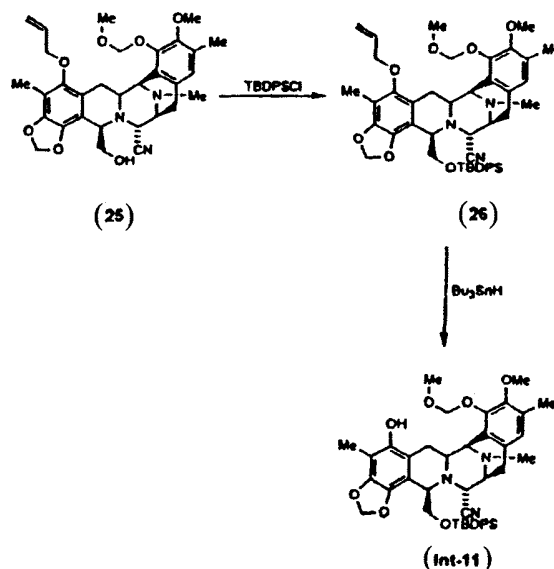
- Krok (b), vznik $-\text{CH}_2\text{Prot}^2$ skupiny na 1–pozici kruhu *B*, obvykle probíhá tak, že se vytvoří skupina $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ na 1–pozici a poté se funkční amin přemění na funkční hydroxylovou skupinu a chrání se. Má-li výchozí látka skupinu R^1 se strukturou $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CR}^{25a}\text{R}^{25b}\text{R}^{25c}$, dochází k odstranění *N*-acyl skupiny. Má-li výchozí látka skupinu R^1 se strukturou $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$, nedochází k žádné změně, protože ecteinascidinová sloučenina má stejný substituent R^1 . Pro jiné sloučeniny dochází k odstranění *O*-acyl skupiny. Deacylace probíhají nejrozličnějšími způsoby.
- 20 V jednom z nich probíhá deacylace a přeměna na funkční hydroxylovou skupinu v jednom kroku. Hydroxylovou skupinu lze poté acylovat nebo jinak přeměnit na odpovídající R^1 skupinu.

- V patentu US 5 721 362 jsou popsány syntetické způsoby přípravy **ET-743** prostřednictvím dlouhé mnohostupňové syntézy. Jedním z meziproduktů této syntézy je meziprodukt **11**. Použitím kyanosafracinu B jako výchozí látky lze připravit meziprodukt **11** mnohem kratší cestou, což je zlepšení způsobu přípravy **ET-743**.

- Kyanosafracin B lze přeměnit na meziprodukt **25** výše popsánými způsoby. Z meziproduktu **25** lze získat meziprodukt **11** následujícími kroky (viz schéma 11).

- 30 a) vytvoření chráněné hydroxylové sloučeniny **26** reakcí sloučeniny **25** s terc.butyldifenylsilylchloridem v přítomnosti zásady,
- b) rozštěpení allylové skupiny tributylstanniumhydridem a dichlorbis(trifenylfosfinem)palladným ve sloučenině **26**, což vede ke vzniku meziproduktu **11**.

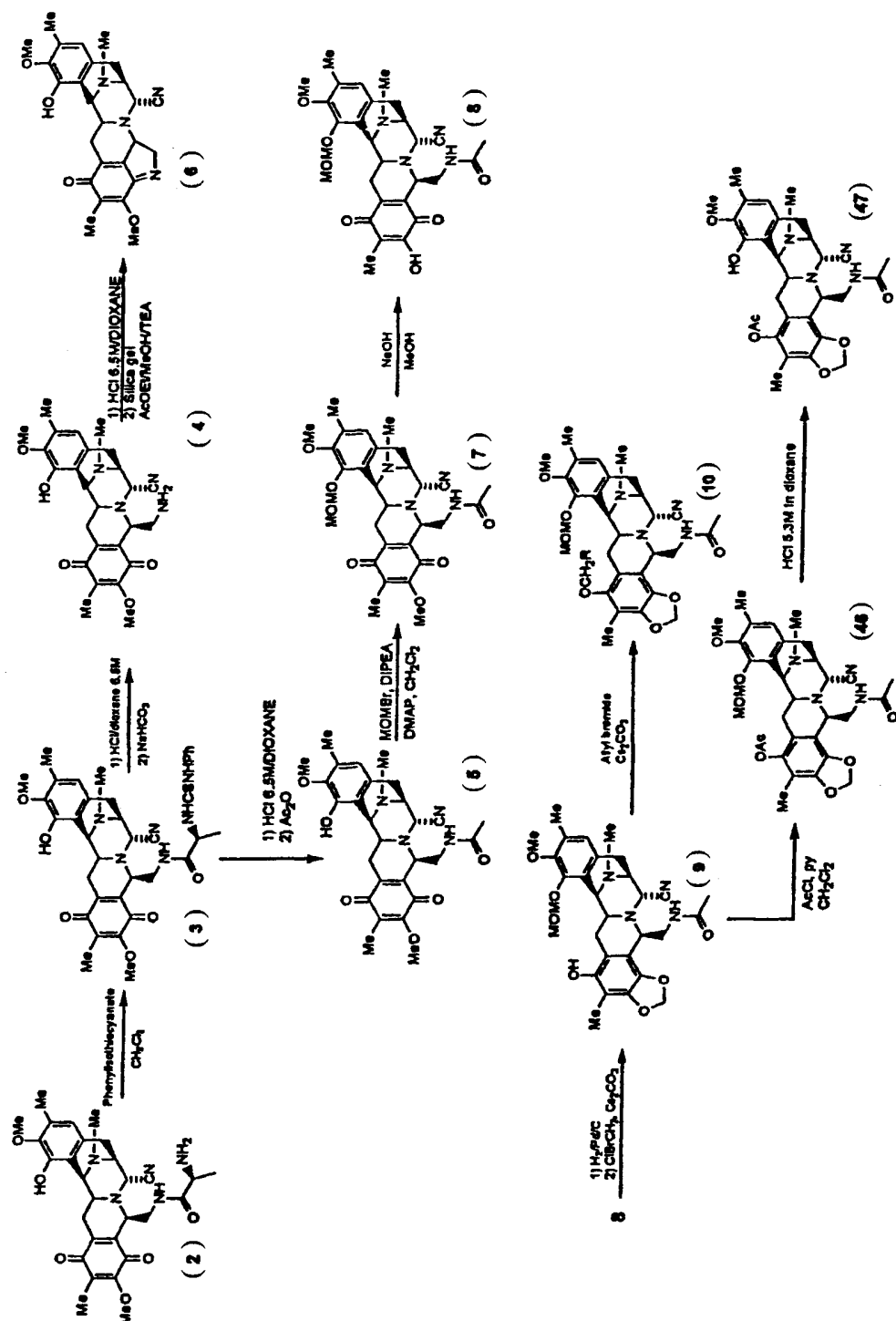
Schéma 11



Jedním provedením syntetického způsobu tohoto vynálezu, to jest přeměny safracinu B na mezi-
produkt **11**, je modifikace a rozšíření způsobu uvedeného na schématu 12 a obsahuje následující
kroky.

- a) stereospecifickou přeměnu safracinu B na sloučeninu **2** selektivním nahrazením skupiny OH
5 skupinou CN reakcí s KCN v kyselém médiu,
- b) vytvoření thiomocovinové sloučeniny **3** reakcí sloučeniny **2** s fenylisothiokyanátem,
- c) přeměnu thiomocovinové sloučeniny **3** na acetamid **5** hydrolyzou v kyselém médiu následova-
nou adicí acetanhydridu. Aminovou sloučeninu **4** lze jako meziprodukt izolovat rychlým ochla-
zením hydrolyzy v kyselém médiu hydrogenuhlíčanem sodným, ale tento meziprodukt je velmi
10 nestabilní a rychle dochází k jeho přeměně na pětičlenný cyklický imin **6**,
- d) vytvoření chráněné sloučeniny **8** reakcí s brommethyletherem a diisopropylethylami-
nem v dichlormethanu,
- e) selektivní demethylaci methoxy skupiny chinonového systému sloučeniny **7** za vzniku slouče-
niny **8** reakcí s methanolickým roztokem hydroxidu sodného,
- 15 f) přeměnu sloučeniny **8** na methyendioxy sloučeninu **9** provedením následující výhodně sek-
vence kroků (1) chinonová skupina sloučeniny **8** se redukuje 10% Pd/C ve vodíkové atmosféře,
(2) hydrochinonový meziprodukt se přemění na methyendioxy sloučeninu **9** reakcí s bromchlor-
methanem a uhlíčanem cesným ve vodíkové atmosféře, (3) sloučenina **9** se přemění na slouče-
ninu **10** chráněním volné hydroxylové skupiny jako je OCH₂R skupina reakcí s BrCH₂R a uhlíči-
tanem cesným, kde R je případně aryl, CH=CH₂, OR' apod.,
- 20 g) přeměnu acetamidové skupiny sloučeniny **10** na odpovídající hydroxylovou skupinu slouče-
niny **25** reakcí s oxidem dusičitým ve směsi kyseliny octové a acetacetátu s následnou úpravou
hydroxidem sodným, dále lze alternativně použít dusitan sodný ve směsi kyseliny octové a aceta-
nhydridu s následnou úpravou hydroxidem sodným, dále lze alternativně acetamidovou skupinu
25 sloučeniny **10** přeměnit na primární aminovou skupinu reakcí s hydrazinem nebo reakcí s Boc₂O,
DMAP (dimethylaminopyridin) s následnou úpravou hydrazinem, dále lze takovýto primární
amin přeměnit na odpovídající hydroxylovou skupinu (sloučenina **25**) oxidační přeměnou pri-
márního aminu na odpovídající aldehyd použitím 4-formyl-1-methylpyridiniumbenzensulfonátu
nebo jiného pyridiniového iontu s následnou úpravou DBU nebo jinou zásadou a dále hydrolyzou
30 následovanou redukcí aldehydu na odpovídající hydroxylovou skupinu tetrahydridohlinitanem
lithným nebo jiným redukčním činidlem,
- h) vytvoření chráněné sloučeniny **26** reakcí s terc.butyldifenylsilylchloridem a dimethylaminopy-
ridinem v dichlormethanu (schéma 11),
- i) přeměnu silylované sloučeniny **26** na meziprodukt **11** sejmutím OCH₂R chránicí skupiny pro-
střednictvím reakce za redukčních podmínek nebo kyselých podmínek. Mezi typické způsoby
35 patří reakce s palladiovou černí ve vodíkové atmosféře nebo s vodným roztokem TFA nebo
s tributylstanniumhydridem a dichlorbis(trifenylosfinem) palladnatým.

Schéma 12



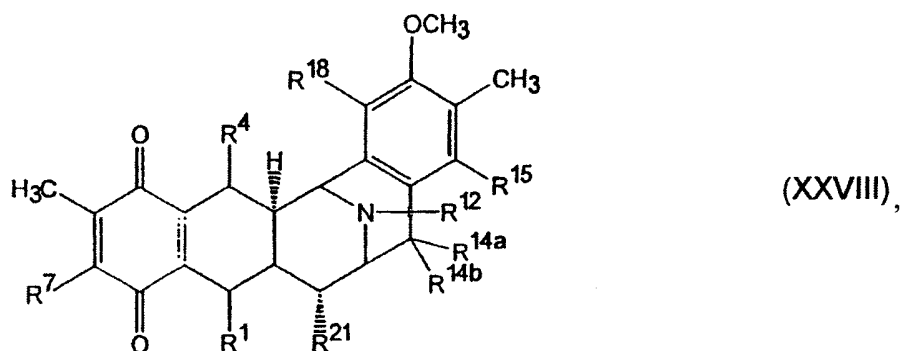
V jiné výhodné modifikaci lze kyano sloučeninu **2** převést na meziprodukt **11** prostřednictvím rozšíření způsobu uvedeného na schématu 8 pomocí těchto kroků,

- a) vytvoření chráněné hydroxylové sloučeniny **26** reakcí sloučeniny **25** s terc.butyldifenylsilylchloridem v přítomnosti zásady,
- 5 b) rozštěpení allylové skupiny tributylstanniumhydridem a dichlorbis(trifenyfosfinem) palladným ve sloučenině **26**, což vede ke vzniku meziproduktu **11**.

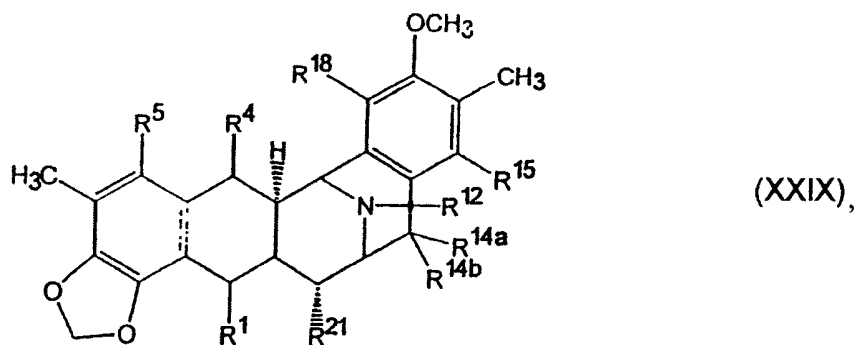
Těmito a dalšími cestami lze tedy přeměnit kyanosafracin B na množství meziproduktů a derivátů s potenciálním protinádorovým léčebným účinkem. Tyto meziprodukty lze připravit z již popsaných sloučenin nebo použitím alternativních cest.

Nové meziprodukty

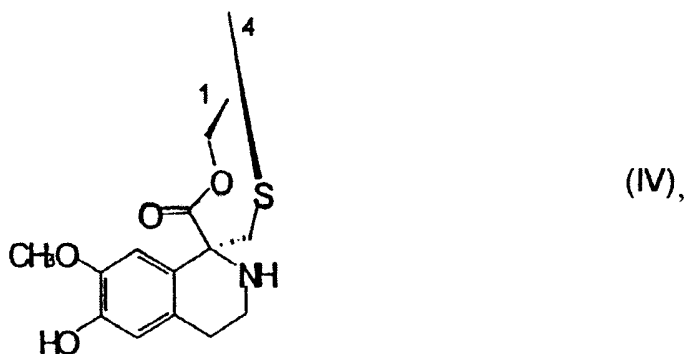
Tento vynález se týká nových meziproduktů. V závislosti na kruhu *A* mají meziprodukty obecný vzorec XXVIII

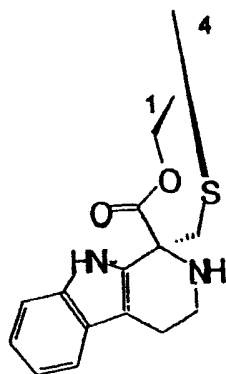


nebo obecný vzorec XXIX,

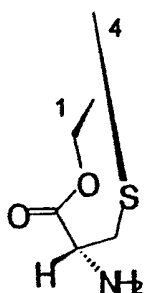


kde R^1 je $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ nebo $-\text{CH}_2\text{OH}$ nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny a R^4 je $-\text{H}$, nebo R^1 a R^4 tvoří skupinu vzorce IV, V, VI nebo VII,

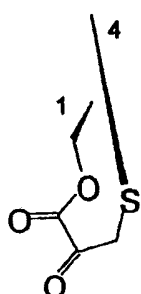




(V),



(VI),



(VII),

5

dále R^5 je $-OH$ nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny, dále R^{14a} a R^{14b} jsou $-H$ nebo je jedna $-H$ a druhá je $-OH$ nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny, $-OCH_3$ nebo $-OCH_2CH_3$, nebo R^{14a} a R^{14b} tvoří keto skupinu, dále R^{12} je $-H$, $-CH_3$ nebo $-CH_2CH_3-$, dále R^{15} je $-H$, $-OH$ nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny, a dále R^{18} je $-OH$ nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny.

10

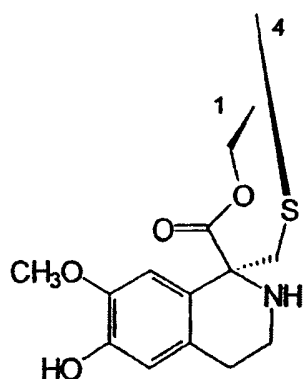
Ve výhodném provedení je alespoň jeden substituent z R^1 , R^5 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} nebo R^{18} chráněná nebo derivatizovaná skupina.

15

V jiném provedení tohoto vynálezu není skupina R^1 terc.butyldifenylsilylový substituent a/nebo skupina R^{18} není methoxymethylová skupina.

R^1 je výhodně $-CH_2NH_2$ nebo CH_2OH nebo chráněná nebo derivatizovaná verze této skupiny a R^4 je $-H$, nebo dále R^1 a R^4 tvoří skupinu vzorce IV,

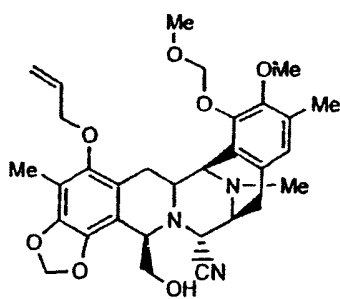
20



(IV),

kde R^{14a} a R^{14b} jsou výhodně $-H$.

- 5 Do jedné výhodné třídy meziproduktů patří sloučenina, která se označuje jako sloučenina **25** a má vzorec XXX.

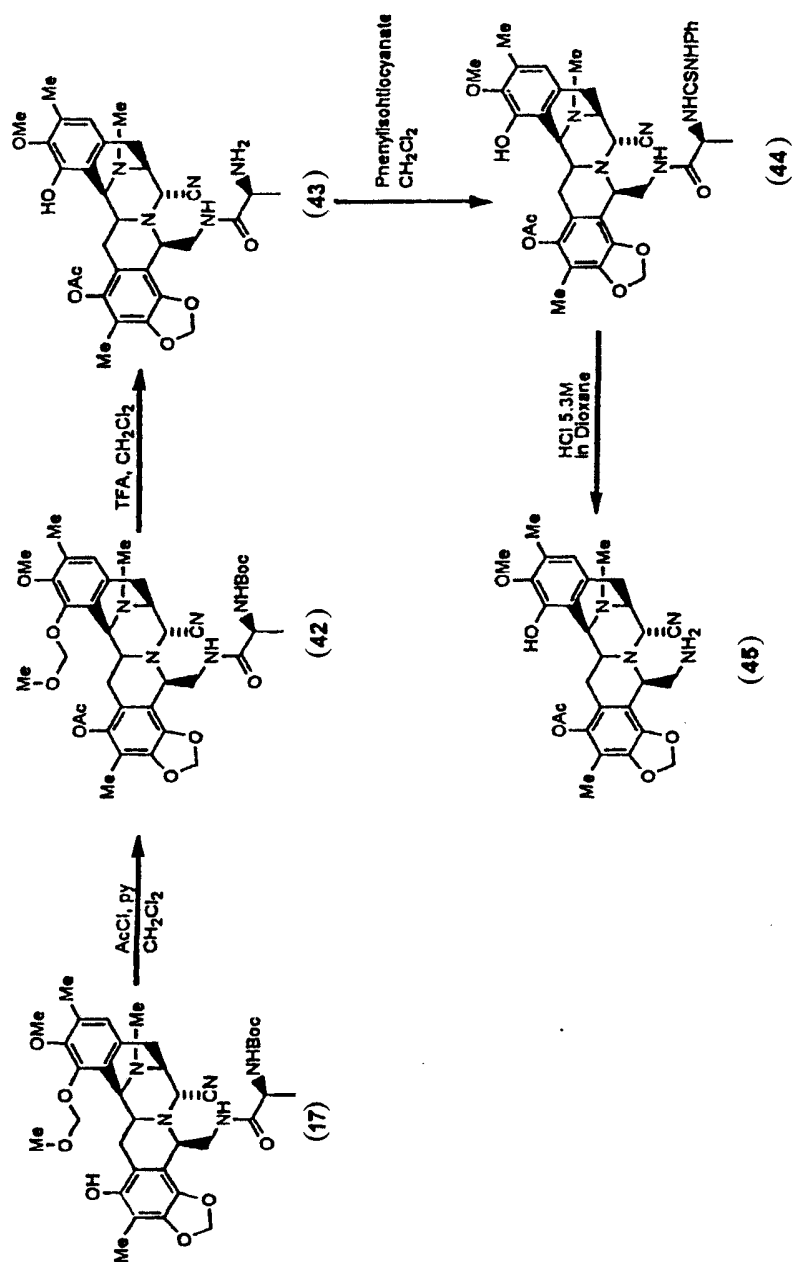


(XXX),

- 10 Výhodná třída má tedy obecný vzorec, kde je skupina MOM nahrazena jinou chránicí skupinou.

Mezi další výhodné meziprodukty patří sloučeniny, které se označují jako sloučenina **45** a **43** (viz schéma 13).

Schéma 13



Další N-acetyl deriváty lze snadno připravit ze sloučeniny 45 a jsou důležitou součástí tohoto vynálezu. Mezi výhodné acylové skupiny patří ty, které jsou zmíněny výše. Odpovídající 21-hydroxylové sloučeniny jsou také výhodné a patří mezi nalezené účinné sloučeniny.

Nové účinné sloučeniny

Bylo zjištěno, že určité sloučeniny tohoto vynálezu, které byly původně připraveny jako mezi-produkty, mají značný účinek při léčbě karcinomů jako je leukémie, rakovina plic, rakovina tlustého střeva, rakovina ledvin a melanom.

Tento vynález se týká způsobu léčení všech savců, zvláště lidí, trpících rakovinou, který zahrnuje podání účinného množství sloučeniny tohoto vynálezu nebo farmaceutického prostředku obsahujícího sloučeninu tohoto vynálezu zmíněnému jedinci.

- 5 Tento vynález se také týká farmaceutických prostředků, které obsahují jako účinnou složku sloučeninu nebo sloučeniny tohoto vynálezu a dále způsobů jejich přípravy.

Mezi příklady farmaceutických prostředků patří pevné (například tablety, pilulky, kapsle, granule atd.) nebo kapalné prostředky (roztoky, suspenze nebo emulze) s vhodným složením pro orální, místní nebo parenterální podání a případně obsahují čistou sloučeninu nebo čistou sloučeninu v kombinaci s nosičem nebo s jinými farmakologicky účinnými sloučeninami. Pro účely parenterálního podávání je nutné tyto prostředky sterilizovat.

Podání sloučenin nebo prostředků tohoto vynálezu lze provést jakýmkoliv vhodnými metodami jako je intravenózní infuze, orální podání, intraperitoneální a intravenózní podání. Výhodné jsou doby infuze do 24 hodin, výhodnější 2 až 12 hodin, nejvýhodnější 2 až 6 hodin. Žádoucí jsou především krátké doby infuze, což umožňuje provádět léčbu bez toho, aby pacient zůstal přes noc v nemocnici. Jestliže je to nutné, lze infuzi zavést na dobu 12 až 24 hodin nebo dokonce na dobu delší. Infuzi lze provádět ve vhodných intervalech, například 2 až 4 týdny. Farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu tohoto vynálezu lze podávat prostřednictvím liposomální nebo nanosférické enkapsulace v prostředku s trvalým uvolňováním nebo pomocí jiných standardních možností podání.

Optimální dávka sloučeniny se mění v závislosti na druhu prostředku, způsobu podání a jednotlivých *situs*, hostitele a nádoru, které jsou léčeny. V úvahu je nutno vzít i další faktory jako je věk, tělesná hmotnost, pohlaví, strava, doba podávání, rychlost exkrece, stav hostitele, kombinace léků, citlivost reakce a vážnost onemocnění. Podávání lze provádět kontinuálně nebo periodicky až do maximální přípustné dávky.

Sloučeniny a prostředky tohoto vynálezu lze při léčbě použít v kombinaci s jinými léky. Tyto jiné léky tvoří buď část stejného prostředku, nebo jsou ve formě odděleného prostředku podávaného ve stejnou nebo různou dobu. Mezi příklady těchto jiných léků patří například

a) léky s antimitotickými účinky, zvláště ty, které se zaměřují na cytoskeletální prvky včetně modulatorů mikrotubulu jako jsou taxanové léky (jako je taxol, paclitaxel, taxoter, docetaxel), podofylotoxiny nebo vinca alkaloidy (získané z rostliny *Vinca rosea*) (vincristin, vinblastin),

b) antimetabolické léky jako je 5-fluorouracil, cytarabin, gemcitabin, analogy purinu (jako je pentostatin, methotrexat),

c) alkylační léky jako je hořčičný dusík (jako je cyklofosfamid nebo ifosfamid),

d) léky, které se zaměřují na DNA jako jsou antracyklinové léky, adriamycin, doxorubicin, pharmorubicin nebo epirubicin,

e) léky, které se zaměřují na topoizomerázy, jako je etoposid,

f) hormony a hormonální agonisté nebo antagonisté jako jsou estrogeny, antiestrogeny (tamoxifen a příbuzné sloučeniny) a androgeny, flutamid, leuprorelin, goserelin, cypoteron nebo octreotid,

g) léky, které se zaměřují na přenos signálu v nádorových buňkách včetně derivátů protilátek jako je herceptin,

h) alkylační léky jako jsou platinové léky (*cis*-platin, carboplatin, oxaliplatin, paraplatin) nebo nitrosomočoviny,

i) léky potenciálně ovlivňující metastázy nádorů jako jsou matrix metaloproteinázové inhibitory,

j) genová terapie a antisense (komplementární sekvence genu) činidla,

k) protilátky,

l) další biologicky účinné sloučeniny mořského původu, hlavně didemniny (skupina látek původem z moře), jako je aplidin,

m) analogy steroidů zvláště dexamethason,

n) protizánětlivé léky zvláště dexamethason,

5 o) léky proti dávení zvláště dexamethason.

Tento vynález se také týká sloučenin používaných ve způsobu léčby a použití těchto sloučenin při přípravě prostředku pro léčbu rakoviny.

10 Cytotoxický účinek

Buněčné kultury. Buňky byly udržovány v logaritmické fázi růstu v Eagle's Minimum Essential Mediu (EMEM), s Earle's Balanced Salts, s 2,0 mmol/l (2,0 mM) L-glutaminem, s neesenciálními aminokyselinami (neaa), bez hydrogenuhlíčitanu sodného (EMEM/neaa), doplněný 10% fetálním telecím sérem (Fetal Calf Serum, FCS), 10^{-2} mol/l (10^{-2} M) hydrogenuhlíčitan sodným a 0,1 g/l penicilinem G + streptomycinsulfátem.

Použitím jednoduchého testovacího způsobu byly stanoveny a porovnány protinádorové účinky těchto sloučenin, přičemž byla použita přizpůsobená forma způsobu uvedeného v Bergeron et al., 1984. Použitými liniemi nádorových buněk byly P-388 (suspenní kultura lymfoidního novotvaru z myši DBA/2), A-549 (jednovrstvá kultura rakovinového nádoru plic člověka), HT-29 (jednovrstvá kultura rakovinného nádoru tlustého střeva člověka) a MEL-28 (jednovrstvá kultura melanomu člověka).

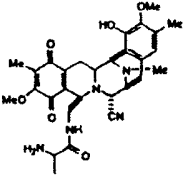
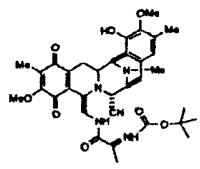
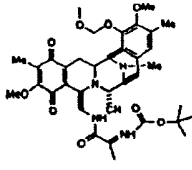
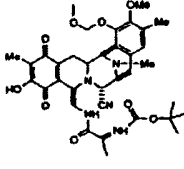
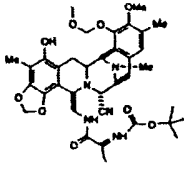
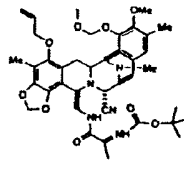
Buňky P-388 byly naočkovány do důlků o velikosti 16 mm v množství 1×10^4 buněk na důlek v 1 ml MEM 5FCS obsahující danou koncentraci léku. Aby se zajistilo, že buňky zůstanou v exponenciální fázi růstu, byly pro kontrolu naočkovány buňky do média neobsahující lék. Všechna stanovení byla provedena duplicitně. Po třech dnech inkubace při teplotě 37 °C, 10% CO₂ v 98% atmosférické vlhkosti byly důlky obarveny roztokem krystalové violeti o koncentraci 0,1 %. Porovnáním růstu v důlcích obsahujících lék s kontrolními důlky byla stanovena hodnota IC₅₀.

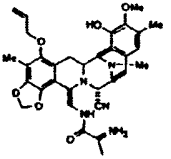
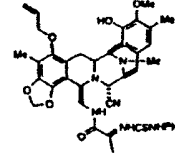
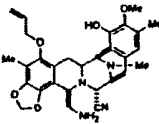
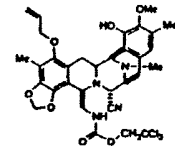
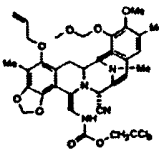
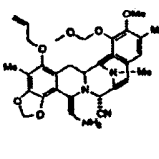
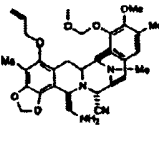
Buňky A-549, HT-29 a MEL-28 byly naočkovány do důlků o velikosti 16 mm v množství 2×10^4 buněk na důlek v 1 ml MEM 10FCS obsahující danou koncentraci léku. Aby se zajistilo, že buňky zůstanou v exponenciální fázi růstu, byly pro kontrolu naočkovány buňky do média neobsahující lék. Všechna stanovení byla provedena duplicitně. Po třech dnech inkubace při teplotě 37 °C, 10% CO₂ v 98% atmosférické vlhkosti byly důlky obarveny roztokem krystalové violeti o koncentraci 0,1 %. Porovnáním růstu v důlcích obsahujících lék s kontrolními důlky byla stanovena hodnota IC₅₀.

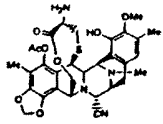
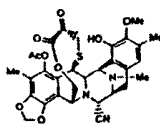
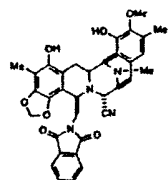
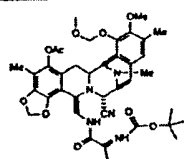
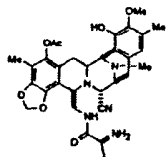
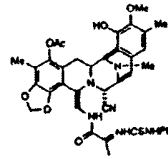
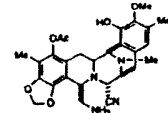
40 1. Raymond J. Bergeron, Paul F. Cavanaugh, jr., Steven J. Kline, Robert G. Hughes, Jr., Gary T. Elliot and Carl W. Porter. Antineoplastic and antiherpetic activity of spermidine catecholamide iron chelators. *Biochem. Bioph. Res. Comm.* 1984, 121(3), pp.848-854.

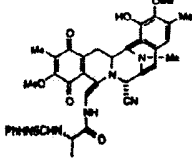
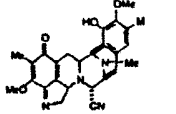
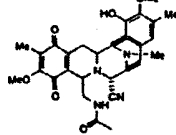
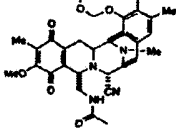
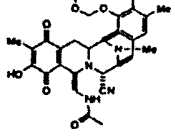
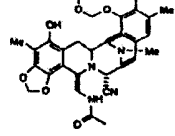
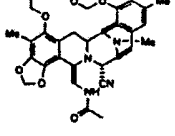
45 2. Alan C. Schroeder, Robert G. Hughes, Jr. and Alexander Bloch. Effects of Acyclic Pyrimidine Nucleoside Analogues. *J. Med. Chem.* 1981, 24, pp. 1078-1083.

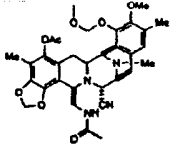
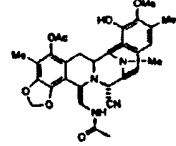
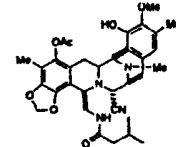
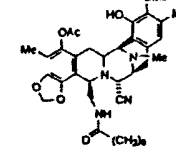
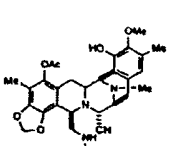
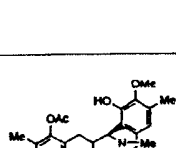
Cytotoxický účinek

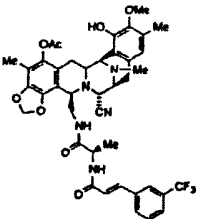
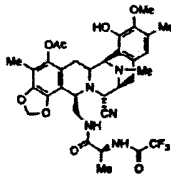
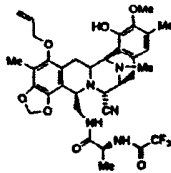
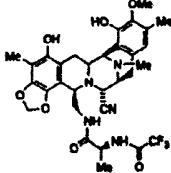
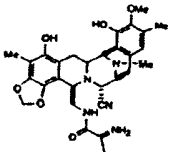
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 2	0,009	0,018	0,018	0,018	0,023	
 14	0,15	>0,15	0,15	>0,15		
 15	1,44	1,44	1,44	1,44		
 16	>1,5	>1,5	>1,5	>1,5		
 17	1,4	1,4	1,4	1,4		
 18	0,01	0,01	0,01	0,01		

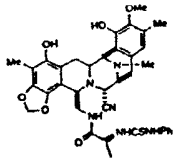
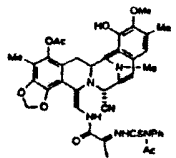
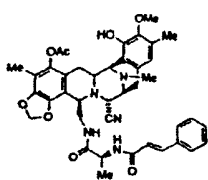
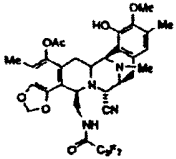
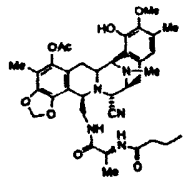
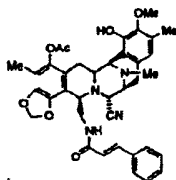
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 19	0,08	0,16	0,01	0,16		
 20	0,01	0,01	0,01	0,01		
 21	0,019	0,019	0,019	0,019		
 22	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
 23	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
 24	0,18	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
 25	0,2	0,2	0,2	0,2		0,2

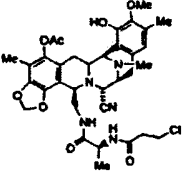
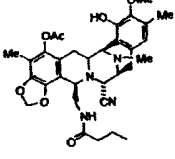
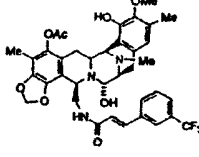
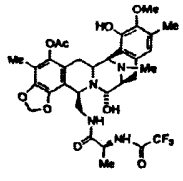
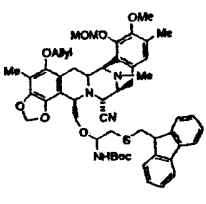
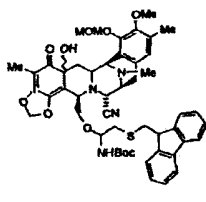
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 35	0,008	0,008	0,008	0,008		
 36	0,01	0,01	0,01	0,01		
 28	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
 42	0,13	0,13	0,13	0,13		0,13
 43	0,008	0,016	0,008	0,008		0,016
 44	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 45	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01

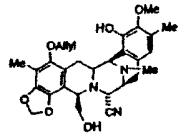
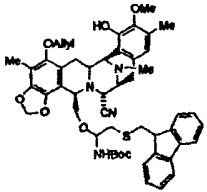
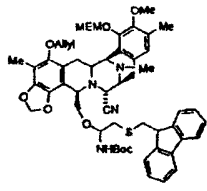
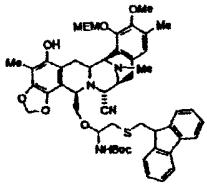
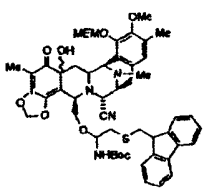
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 3	0,015	0,015	0,015	0,015	0,018	
 6	2,171	2,171	2,171	2,171	2,171	
 5	0,005	0,005	0,005	0,005		
 7	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	
 8	>9	>18,1	>18,1	>18,1	>18,1	
 9	>1,77	>1,77	>1,77	>1,77		>1,77
 10	>1,65	>1,65	>1,65	>1,65		>1,65

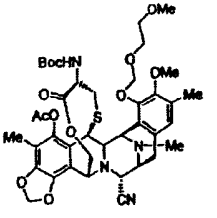
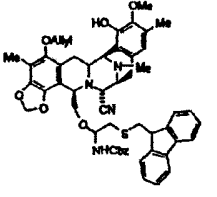
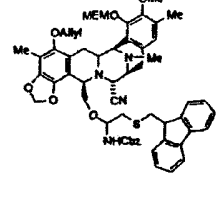
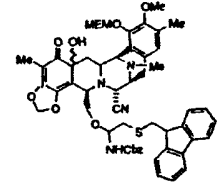
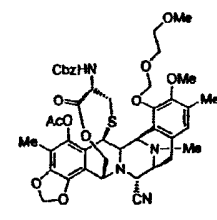
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 46	0,016	0,016	0,016	0,016		0,016
 47	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 48	0,0008	0,001	0,0008	0,0008		0,001
 49	0,007	0,007	0,007	0,007		0,007
 50	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 51	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001

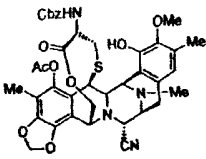
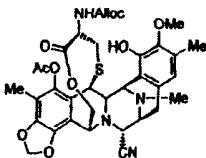
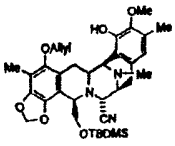
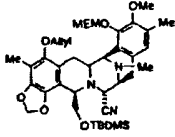
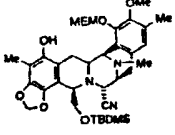
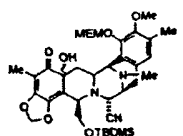
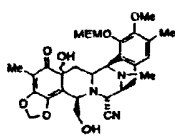
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 52	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 53	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001
 54	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 55	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
 56	0,18	0,9	0,18	0,8		0,9

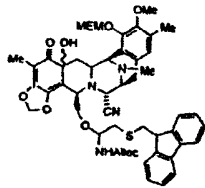
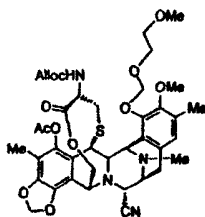
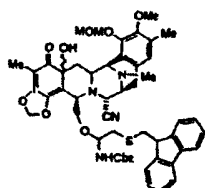
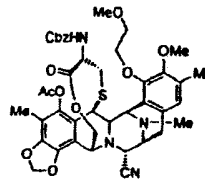
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 57	0,14	0,14	0,14	0,14		0,14
 58	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 60	0,001	0,001	0,0005	0,001		0,0005
 61	0,001	0,001	0,001	0,001		0,001
 62	0,001	0,001	0,0005	0,0005		0,001
 63	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001		0,0001

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

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

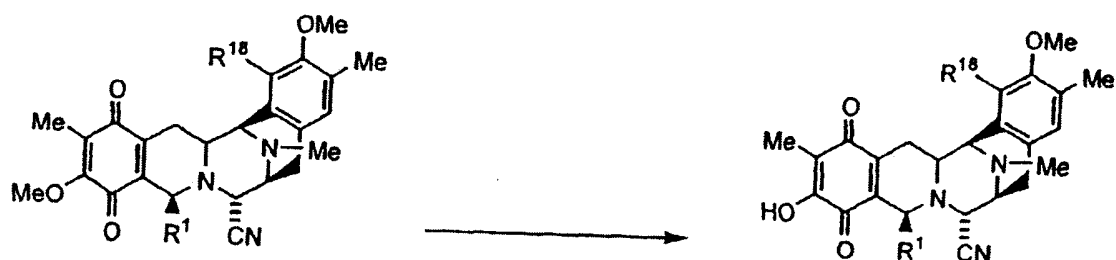
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 151		0,012	0,012			
 153		0,11	0,11			
 154		>1	>1			
 156		>1	>1			
 157		0,59	0,59			

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

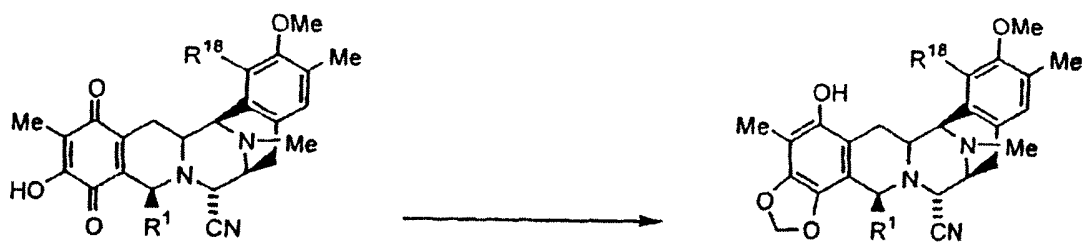
Sloučenina	IC ₅₀ (μmol/l) (μM)					
	P-388	A-549	HT-29	MEL-28	CV-1	DU-145
 170		>1	>1			
 171		0,012	0,012			
 172		>1	>1			
 173		0,062	0,062			

Mezi účinné sloučeniny tohoto vynálezu patří sloučeniny s 10-hydroxy a 1-labilní skupinou.

- 5 Ve výhodném provedení tohoto vynálezu dochází k následující reakci.



V dalším výhodném provedení tohoto vynálezu dochází k následující reakci.



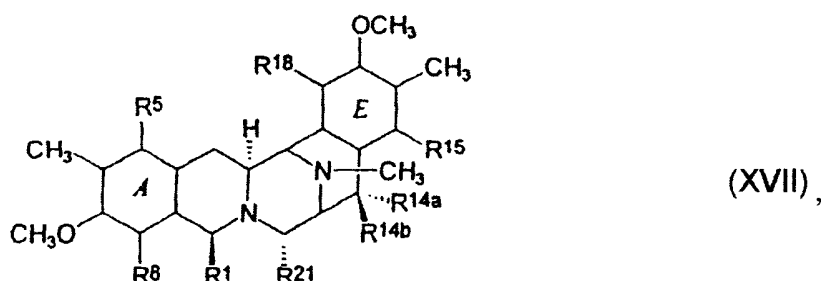
Dalším výhodným provedením tohoto vynálezu je reakce, kde se R^1 , což je aminomethylenová skupina, přemění na hydroxymethylenovou skupinu.

Dalším výhodným provedením tohoto vynálezu je reakce, kde sloučenina se substituentem R^1 , což je hydroxymethylenová skupina, reaguje s činidlem obecného vzorce XXIV,



kde Fu označuje chráněnou funkční skupinu, $Prot^3$ je chránicí skupina a tečkovaná čára představuje případnou dvojnou vazbu.

Dalším výhodným provedením tohoto vynálezu je příprava 21-kyano sloučeniny obecného vzorce XIX reakcí sloučeniny obecného vzorce XVII,



kde R^1 , R^5 , R^8 , R^{14a} , R^{14b} , R^{15} a R^{18} jsou definovány výše a R^{21} je hydroxylová skupina, se zdrojem kyanidového iontu, což vede k požadované 21-kyano sloučenině.

Vynález se také týká způsobů, ve kterých se používají i jiné sloučeniny obsahující nukleofil, což vede ke vzniku sloučenin obecného vzorce XIX, kde 21-pozice je chráněná nukleofilní skupinou, 21-Nuc skupinou. 21-Nuc sloučeninu obecného vzorce XIX s alkylamino substituentem na 21-pozici lze připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce XVII, kde R^{21} je hydroxylová skupina, s vhodným alkylaminem. 21-Nuc sloučeninu obecného vzorce XIX s alkylthio substituentem na 21-pozici lze také připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce XVII, kde R^{21} je hydroxylová skupina, s vhodným alkanthiolem. 21-Nuc sloučeninu obecného vzorce XIX s α -karbonylalkylovým substituentem na 21-pozici lze připravit reakcí sloučeniny vzorce XVII, kde R^{21} je hydroxylová skupina, s vhodnou karbonylovou sloučeninou obvykle v přítomnosti zásady. Pro jiné 21-Nuc sloučeniny existují jiné syntetické cesty.

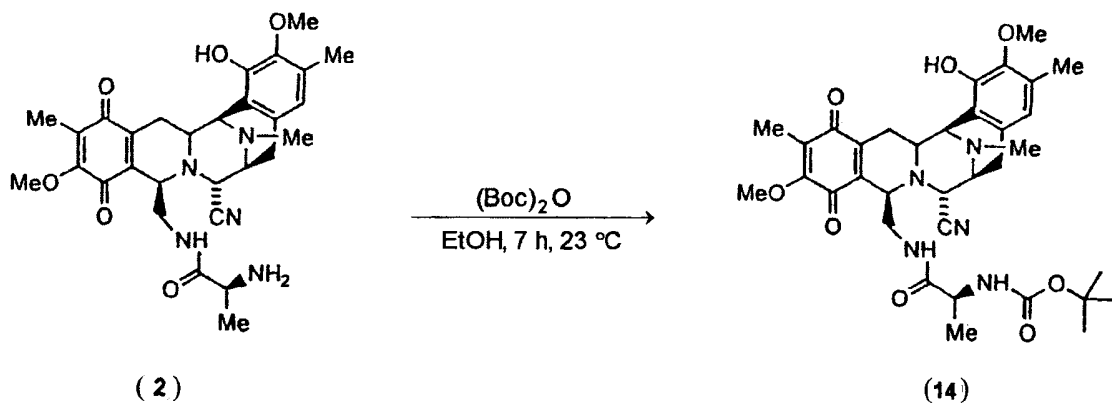
Dalším výhodným provedením tohoto vynálezu je reakce 21-kyano sloučeniny tohoto vynálezu za vzniku 21-hydroxylové sloučeniny. Takovéto sloučeniny mají zajímavé *in vivo* vlastnosti.

Příklady uskutečnění vynálezu

Tento vynález je popsán následujícími příklady

5

Příklad 1



K roztoku sloučeniny **2** (21,53 g, 39,17 mmol) v ethanolu (EtOH) (200 ml) se přidá anhydrid terc-butoxykarbonylu ((Boc)₂O) (7,7 g, 35,25 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 7 hodin. Poté se reakční směs zakoncentruje ve vakuu a zbytek se čistí rychlou (flash) sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát (EtOAc) 6:4), což vede ke vzniku sloučeniny **14** (20,6 g, 81 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,52 (ethylacetát:CHCl₃ 5:2).

15

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,49 (s, 1H), 6,32 (bs, 1H), 5,26 (bs, 1H), 4,60 (bs, 1H), 4,14 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,05 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,81 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,34 (brd, J = 7,2 Hz, 1H), 3,18 až 3,00 (m, 5H), 2,44 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,80 až 1,65 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 0,85 (d, J = 5,7 Hz, 3H).

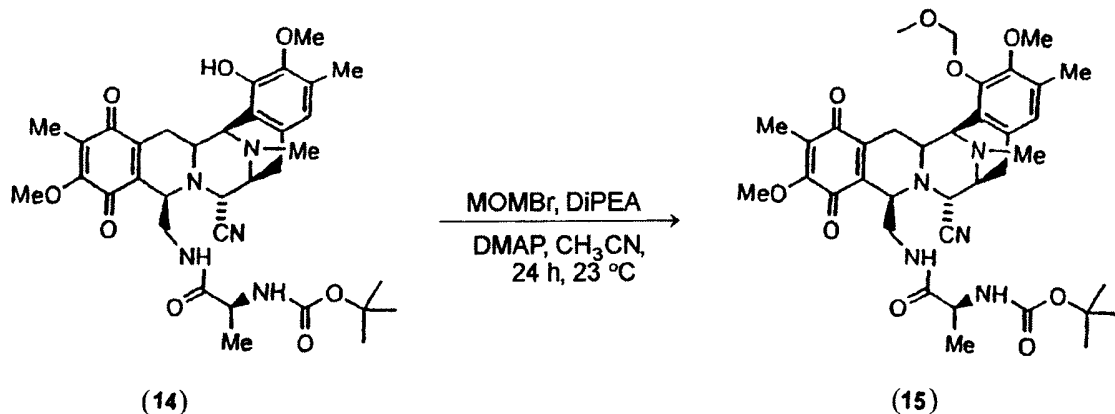
20

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 185,5, 180,8, 172,7, 155,9, 154,5, 147,3, 143,3, 141,5, 135,3, 130,4, 129,2, 127,5, 120,2, 117,4, 116,9, 80,2, 60,7, 60,3, 58,5, 55,9, 55,8, 54,9, 54,4, 50,0, 41,6, 40,3, 28,0, 25,3, 24,0, 18,1, 15,6, 8,5.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₄H₄₃N₅O₈: 649,7, naměřená (M+H)⁺: 650,3.

25

Příklad 2



K roztoku sloučeniny **14** (20,6 g, 31,75 mmol) v CH₃CN (159 ml) se při teplotě 0 °C za stálého míchání přidá diisopropylethylamin (DIPEA) (82,96 ml, 476,2 mmol), methoxymethylenbromid (MOMBr) (25,9 ml, 317,5 mmol) a dimethylaminopyridin (155 mg, 1,27 mmol). Směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 24 hodin. Reakční směs se rychle ochladí na teplotu 0 °C vodným roztokem HCl (750 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N) (pH = 5) a extrahuje se CH₂Cl₂ (2 x 400 ml). Organická fáze se vysuší síranem sodným a zakoncentruje se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát s gradientem 4:1 až 3:2), což vede ke vzniku sloučeniny **15** (17,6 g, 83 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,38 (hexan:ethylacetát 3:7).

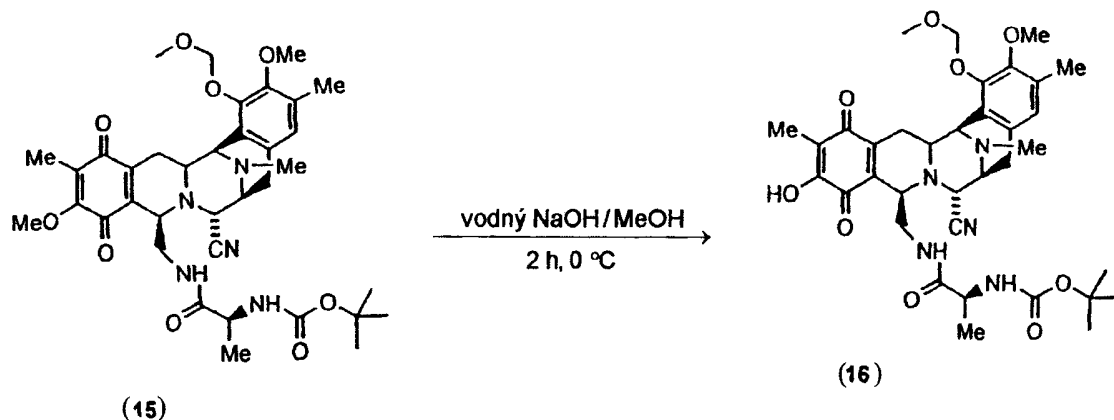
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,73 (s, 1H), 5,35 (bs, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,50 (bs, 1H), 4,25 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,03 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,84 (bs, 1H), 3,82 až 3,65 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,39 až 3,37 (m, 1H), 3,20 až 3,00 (m, 5H), 2,46 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,85 (s, 3H), 1,73 až 1,63 (m, 1H), 1,29 (s, 9H), 0,93 (d, J = 5,1 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 185,4, 180,9, 172,4, 155,9, 154,5, 149,0, 148,4, 141,6, 135,1, 131,0, 129,9, 127,6, 124,4, 123,7, 117,3, 99,1, 79,3, 60,7, 59,7, 58,4, 57,5, 56,2, 55,9, 55,0, 54,2, 50,0, 41,4, 39,9, 28,0, 25,2, 24,0, 18,1, 15,6, 8,5.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₆H₄₇N₅O₉: 693,8, naměřená (M+H)⁺: 694,3.

Příklad 3

25



Do baňky obsahující sloučeninu **15** (8 g, 1,5 ml) v methanolu (MeOH) (1,6 l) se při teplotě 0 °C přidá vodný roztok hydroxidu sodného (3,2 l) o koncentraci 1 mol/l (1 M). Reakční směs se při této teplotě míchá po dobu 2 hodin a poté se přidá roztok HCl o koncentraci 6 mol/l (6 M) na pH = 5. Směs se extrahuje ethylacetátem (3 x 1 l) a organické vrstvy se vysuší síranem sodným a zakoncentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, s gradientem CHCl₃ až CHCl₃:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **16** (5,3 mg, 68 %).

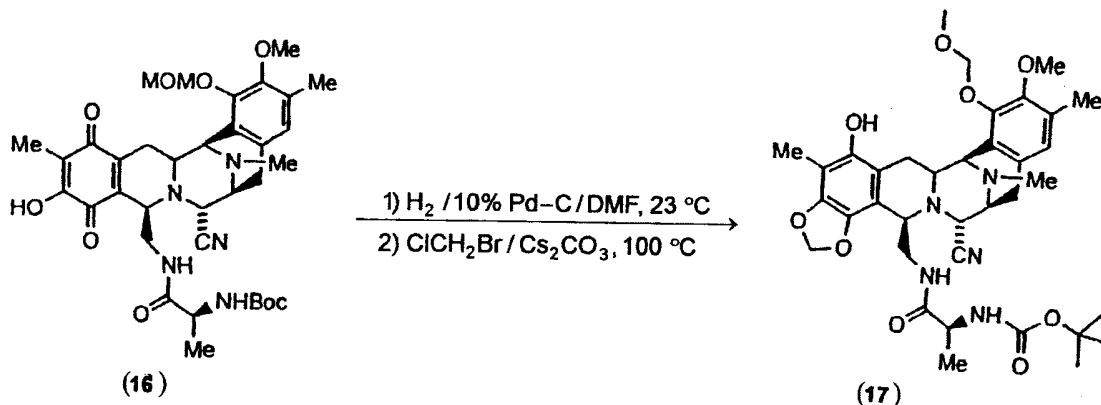
Rf: 0,48 (CH₃CN:H₂O 7:3, RP-C18).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,73 (s, 1H), 5,43 (bs, 1H), 5,16 (s, 2H), 4,54 (bs, 1H), 4,26 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 4,04 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,84 (bs, 1H), 3,80 až 3,64 (m, 1H), 3,58 (s, 3H), 3,41 až 3,39 (m, 1H), 3,22 až 3,06 (m, 5H), 2,49 (d, J = 18,6 Hz, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,30 až 2,25 (m, 1H), 2,24 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,45 až 1,33 (m, 1H), 1,19 (s, 9H), 1,00 (brd, J = 6,6 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 184,9, 180,9, 172,6, 154,7, 151,3, 149,1, 148,6, 144,7, 132,9, 131,3, 129,8, 124,5, 123,7, 117,3, 116,8, 99,1, 79,4, 59,8, 58,6, 57,7, 56,2, 55,6, 54,9, 54,5, 41,6, 40,1, 28,0, 25,3, 24,4, 18,1, 15,7, 8,0

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{35}H_{45}N_5O_9$: 679,7, naměřená $(M+H)^+$: 680,3.

Příklad 4



K odplyněnému roztoku sloučeniny **16** (1,8 g, 2,64 mmol) v DMF (dimethylformamid) (221 ml) se přidá 10% Pd/C (360 mg) a směs se míchá po dobu 45 min ve vodíkové atmosféře (atmosférický tlak). Reakční směs se přefiltruje v argonové atmosféře přes celit do baňky obsahující bezvodý Cs_2CO_3 (2,58 g, 7,92 mmol). Poté se ke směsi přidá bromchlormethan (3,40 ml, 52,8 mmol), baňka se uzavře a směs se při teplotě 100 °C míchá po dobu 2 hodin. Reakční směs se ochladí, přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH_2Cl_2 . Organická vrstva se zakonzentruje a vysuší síranem sodným, což vede ke vzniku sloučeniny **17** ve formě hnědého oleje, který se bez dalšího čištění použije v následujícím kroku.

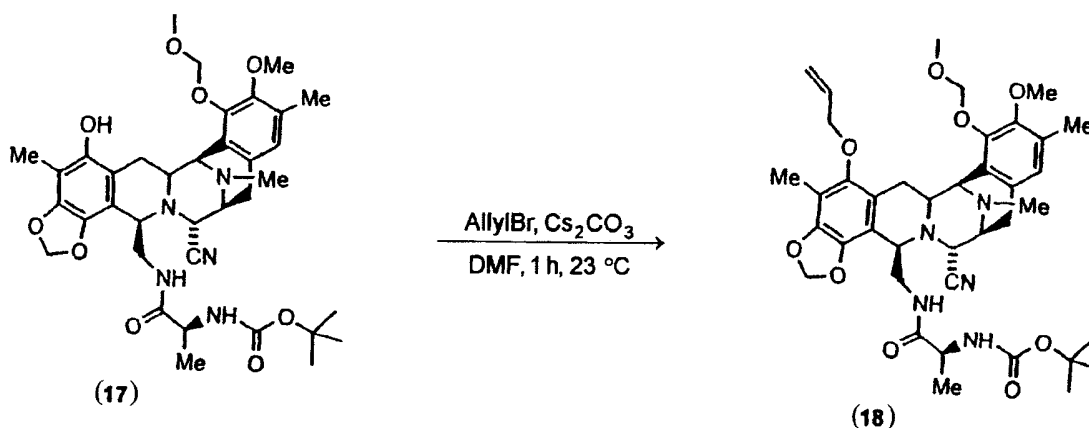
Rf: 0,36 (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:5).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,68 (s, 1H), 6,05 (bs, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,40 (bs, 1H), 5,31 až 5,24 (m, 2H), 4,67 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,19 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,07 (bs, 1H), 4,01 (bs, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,67 (s, 3H), 3,64 až 2,96 (m, 5H), 2,65 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,01 až 1,95 (m, 1H), 1,28 (s, 9H), 0,87 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 172,1, 162,6, 154,9, 149,1, 145,7, 135,9, 130,8, 130,7, 125,1, 123,1, 117,8, 100,8, 99,8, 76,6, 59,8, 59,2, 57,7, 57,0, 56,7, 55,8, 55,2, 49,5, 41,6, 40,1, 36,5, 31,9, 31,6, 29,7, 28,2, 26,3, 25,0, 22,6, 18,2, 15,8, 14,1, 8,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{36}H_{47}N_5O_9$: 693,34, naměřená $(M+H)^+$: 694,3.

Příklad 5



Do baňky obsahující roztok sloučeniny **17** (1,83 g, 2,65 mmol) v DMF (13 ml) se při teplotě 0 °C přidá Cs₂CO₃ (2,6 g, 7,97 mmol) a allylbromid (AllylBr) (1,15 ml, 13,28 mmol). Výsledná směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1 hodiny. Reakční směs se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH₂Cl₂. Organická vrstva se vysuší síranem sodným a zakoncentruje se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, CHCl₃:ethylacetát 1:4), což vede ke vzniku sloučeniny **18** (1,08 mg, 56 %) ve formě bílé pevné látky.

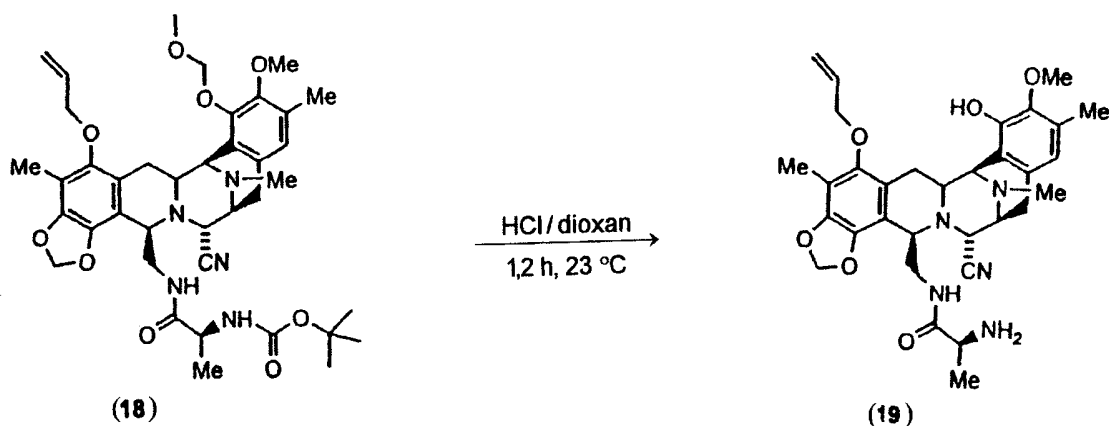
Rf: 0,36 (CHCl₃:ethylacetát 1:3).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,70 (s, 1H), 6,27 až 6,02 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,83 (s, 1H), 5,37 (dd, J₁ = 1,01 Hz, J₂ = 16,8 Hz, 1H), 5,40 (bs, 1H), 5,25 (dd, J₁ = 1,0 Hz, J₂ = 10,5 Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,91 (bs, 1H), 4,25 až 4,22 (m, 1H), 4,21 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,14 až 4,10 (m, 1H), 4,08 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,00 (bs, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,59 (s, 3H), 3,56 až 3,35 (m, 2H), 3,26 až 3,20 (m, 2H), 3,05 až 2,96 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18 Hz, 1H), 2,63 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,91 až 1,80 (m, 1H), 1,24 (s, 9H), 0,94 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 172,0, 154,8, 148,8, 148,6, 148,4, 144,4, 138,8, 133,7, 130,9, 130,3, 125,1, 124,0, 120,9, 117,8, 117,4, 112,8, 112,8, 112,6, 101,1, 99,2, 73,9, 59,7, 59,3, 57,7, 56,9, 56,8, 56,2, 55,2, 40,1, 34,6, 31,5, 28,1, 26,4, 25,1, 22,6, 18,5, 15,7, 14,0, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₉H₅₁N₅O₉: 733,4, naměřená M+H⁺: 734,4.

Příklad 6



K roztoku sloučeniny **18** (0,1 g, 0,137 mmol) v dioxanu (2 ml) se přidá směs HCl/dioxan (1,46 ml) o koncentraci HCl 4,2 mmol/l (4,2 M) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1,2 hodiny. Reakční směs se rychle ochladí na teplotu 0 °C nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje se ethylacetátem (2 x 70 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným a zakoncentrují se ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **19** (267 mg, 95 %) ve formě bílé pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících reakcích.

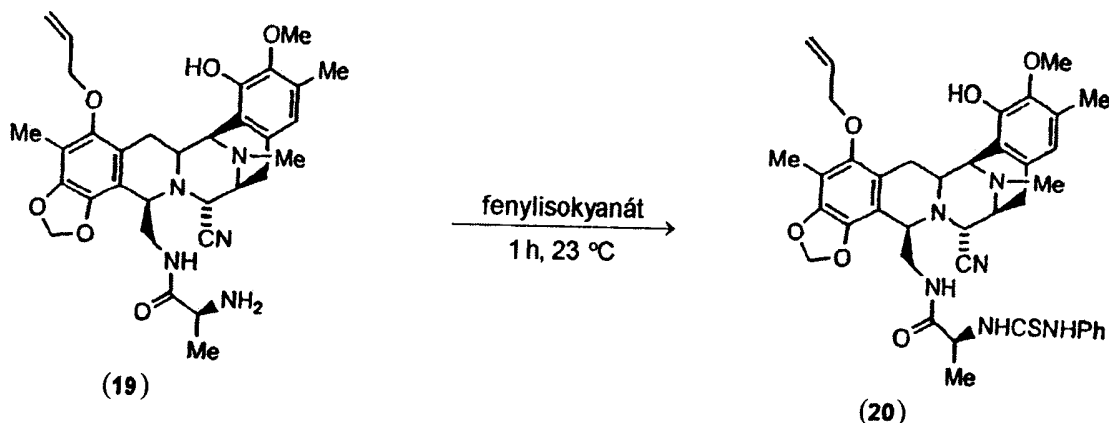
Rf: 0,17 (SiO₂, ethylacetát:methanol 10:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,49 (s, 1H), 6,12 až 6,00 (m, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,34 (dd, J₁ = 1,0 Hz, J₂ = 17,4 Hz, 1H), 5,25 (dd, J = 1,0 Hz, J = 10,2 Hz, 1H), 4,18 až 3,76 (m, 5H), 3,74 (s, 3H), 3,71 až 3,59 (m, 1H), 3,36 až 3,20 (m, 4H), 3,01 až 2,90 (m, 1H), 2,60 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,97 až 1,86 (m, 1H), 0,93 (d, J = 8,7 Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 175,5, 148,4, 146,7, 144,4, 142,4, 138,9, 133,7, 131,3, 128,3, 120,8, 117,9, 117,4, 113,8, 112,4, 101,1, 74,2, 60,5, 59,1, 56,5, 56,1, 56,3, 56,0, 55,0, 50,5, 41,6, 39,5, 29,5, 26,4, 24,9, 21,1, 15,5, 9,33.

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

Příklad 7



K roztoku sloučeniny **19** (250 mg, 0,42 mmol) v CH_2Cl_2 (1,5 mmol) se přidá fenylišothiokyanát (0,3 ml, 2,51 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1 hodiny. Reakční směs se zakoncentruje ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **20** (270 mg, 87 %) ve formě bílé pevné látky.

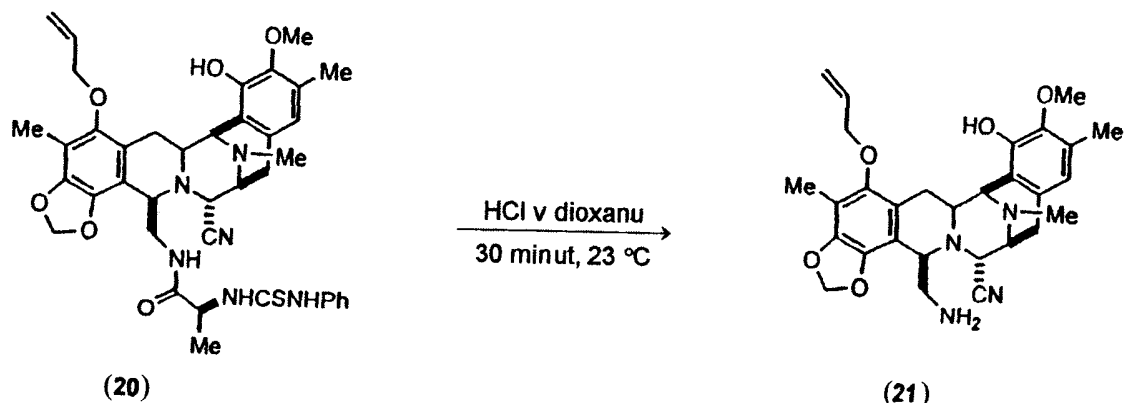
Rf: 0,56 (CHCl_3 :ethylacetát 1:4).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,00 (bs, 1H), 7,45 až 6,97 (m, 4H), 6,10 (s, 1H), 6,08 až 6,00 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,82 (s, 1H), 5,40 (dd, $J = 1,5$ Hz, $J = 17,1$ Hz, 1H), 3,38 (bs, 1H), 5,23 (dd, $J = 1,5$ Hz, $J = 10,5$ Hz, 1H), 4,42 až 4,36 (m, 1H), 4,19 až 4,03 (m, 5H), 3,71 (s, 3H), 3,68 až 3,17 (m, 4H), 2,90 (dd, $J = 7,8$ Hz, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,57 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 1,90 (dd, $J = 12,3$ Hz, $J = 16,5$ Hz, 1H), 0,81 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 178,4, 171,6, 148,6, 146,8, 144,3, 142,7, 138,7, 136,2, 133,6, 130,7, 129,8, 126,6, 124,2, 124,1, 120,9, 120,5, 117,7, 117,4, 116,7, 112,6, 112,5, 101,0, 74,0, 69,9, 59,0, 57,0, 56,2, 56,1, 55,0, 53,3, 41,4, 39,7, 26,3, 24,8, 18,3, 15,5, 9,2.

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

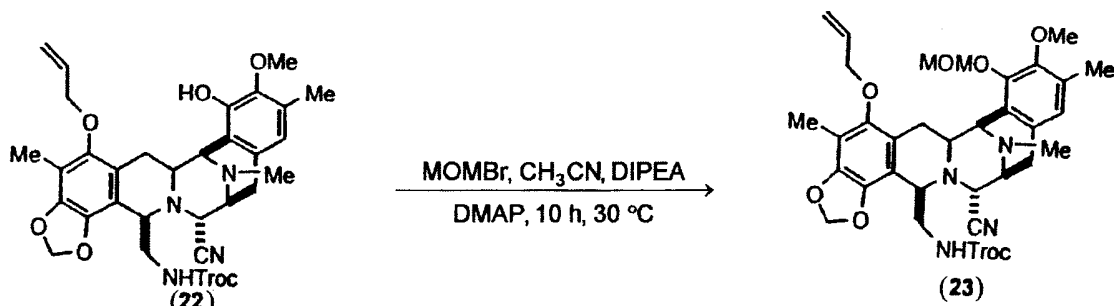
Příklad 8



^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 154,3, 148,5, 146,7, 144,5, 142,8, 139,0, 133,8, 130,7, 128,7, 121,3, 120,8, 117,8, 117,7, 116,8, 112,7, 101,2, 77,2, 74,3, 60,7, 59,9, 57,0, 56,4, 55,3, 43,3, 41,7, 31,6, 26,4, 25,3, 22,6, 15,9, 14,1, 9,4.

5 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_7$: 694,17, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 695,2.

Příklad 10



10 K roztoku sloučeniny **22** (0,32 g, 0,46 mmol) v CH_3CN (2,33 ml) se při teplotě $0\text{ }^\circ\text{C}$ přidá diisopropylethylamin (1,62 ml, 9,34 mmol), brommethylether (0,57 ml, 7,0 mmol) a dimethylaminopyridin (6 mg, 0,046 mmol). Směs se udržuje při teplotě $30\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 hodin. Reakční směs se poté naředí dichlormethanem (30 ml) a převede se do vodného roztoku HCl (10 ml) $\text{pH} = 5$. Organická vrstva se vysuší síranem sodným a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **23** (0,304 g, 88 %) ve formě bílé porézní pevné látky.

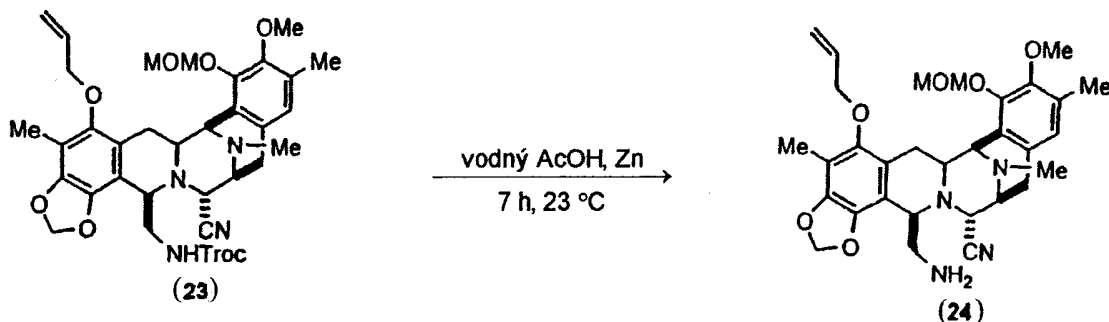
Rf: 0,62 (hexan:ethylacetát 1:3)

20 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,73 (s, 1H), 6,10 (m, 1H), 5,94 (d, $J = 1,5\text{ Hz}$, 1H), 5,88 (d, $J = 1,5\text{ Hz}$, 1H), 5,39 (dq, $J_1 = 1,5\text{ Hz}$, $J_2 = 17,1\text{ Hz}$, 1H), 5,26 (dq, $J_1 = 1,8\text{ Hz}$, $J_2 = 10,2\text{ Hz}$, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,61 (d, $J = 12\text{ Hz}$, 1H), 4,55 (t, $J = 6,6\text{ Hz}$, 1H), 4,25 (d, $J = 12\text{ Hz}$, 1H), 4,22 až 4,11 (m, 4H), 4,03 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,38 až 3,21 (m, 5H), 3,05 (dd, $J_1 = 8,1\text{ Hz}$, $J_2 = 18\text{ Hz}$, 1H), 2,65 (d, $J = 18\text{ Hz}$, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,79 (dd, $J_1 = 12,3\text{ Hz}$, $J_2 = 15,9\text{ Hz}$, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 154,3, 148,6, 148,4, 144,5, 139,0, 133,6, 130,6, 130,1, 125,07, 124,7, 124,0, 121,1, 117,7, 112,6, 101,2, 99,2, 77,2, 74,4, 74,1, 59,8, 59,8, 57,7, 57,0, 56,8, 56,68, 55,3, 43,2, 41,5, 26,4, 25,2, 15,9, 9,3.

30 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_8$: 738,20, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 739,0.

Příklad 11



K suspenzi sloučeniny **23** (0,304 mg, 0,41 mmol) v 90% vodném roztoku kyseliny octové (4 ml) se přidá práškový zinek (0,2 g, 6,17 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 7 hodin. Směs se přefiltruje přes podložku z celitu, která se promyje CH_2Cl_2 . Organická vrstva se promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (15 ml) (pH = 9) a vysuší se síranem sodným. Rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku, což vede ke vzniku sloučeniny **24** (0,191 g, 83 %) ve formě bílé pevné látky.

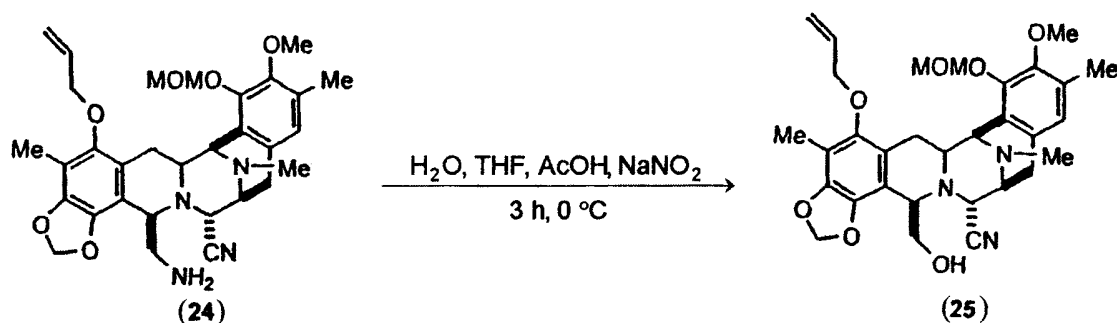
Rf: 0,3 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,68 (s, 1H), 6,09 (m, 1H), 5,90 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,83 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,39 (dq, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 17,1$ Hz, 1H), 5,25 (dq, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,22 až 4,09 (m, 3H), 3,98 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,37 až 3,17 (m, 3H), 3,07 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,71 (m, 2H), 2,48 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 148,5, 148,2, 144,3, 138,7, 133,7, 130,7, 129,9, 125,0, 123,9, 121,3, 117,9, 117,5, 113,6, 112,0, 101,0, 99,2, 74,0, 59,8, 59,7, 58,8, 57,6, 57,0, 56,2, 55,2, 44,2, 41,5, 31,5, 26,4, 25,6, 22,5, 16,7, 14,0, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6$: 562,66, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 563,1.

Příklad 12



25

K roztoku sloučeniny **24** (20 mg, 0,035 mmol) ve H_2O (0,7 mmol) a THF (tetrahydrofuranu) (0,7 mmol) se při teplotě 0 °C přidá NaNO_2 (12 mg, 0,17 mmol) a 90% vodný roztok AcOH (0,06 ml) a směs se při teplotě 0 °C míchá po dobu 3 hodin. Poté se směs naředí CH_2Cl_2 (5 ml), organická vrstva se promyje vodou (1 ml), vysuší se síranem sodným a zakonzcentruje se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **25** (9,8 mg, 50 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,34 (hexan:ethylacetát 1:1).

35

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,71 (s, 1H), 6,11 (m, 1H), 5,92 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,87 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,42 (dq, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 17,1$ Hz, 1H), 5,28 (dq, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,26 až 4,09 (m, 3H), 4,05 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,97 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,67 až 3,32 (m, 4H), 3,58 (s, 3H), 3,24 (dd, $J_1 = 2,7$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 3,12 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,51 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,83 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H).

40

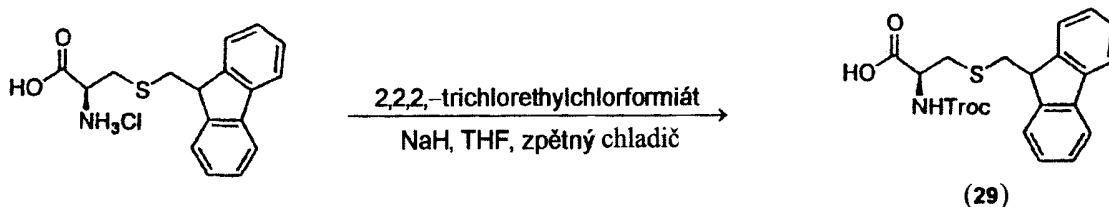
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 148,7, 148,4, 138,9, 133,7, 131,1, 129,4, 125,1, 123,9, 120,7, 117,6, 117,5, 113,2, 112,3, 101,1, 99,2, 74,0, 63,2, 59,8, 59,7, 57,9, 57,7, 57,0, 56,5, 55,2, 41,6, 29,6, 26,1, 25,6, 22,6, 15,7, 9,2.

45

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{31}H_{37}N_3O_7$: 563,64, naměřená $(M+H)^+$: 564,1.

Příklad 13

5



K suspenzi hydridu sodného (354 mg, 8,86 mmol) v THF (40 ml) se při teplotě 23 °C přidá výchozí látka (2,0 g, 5,90 mmol). K této suspenzi se při teplotě 23 °C přidá allylchloroformiátem (1,135 ml, 8,25 mmol) a suspenze se poté pod zpětným chladičem vaří po dobu 3 hodin. Suspenze se ochladí, přefiltruje, pevný zbytek se promyje ethylacetátem (100 ml) a filtrát se zakoncentruje. Olejovitý zbytek se naředí hexanem (100 ml) a při teplotě 4 °C se nechá stát přes noc. Rozpouštědlo se oddělí dekantací a ke světle žluté kaši se přidá CH_2Cl_2 (20 ml) a vysráží se hexanem (100 ml). Po uplynutí 10 minut se rozpouštědlo opět oddělí dekantací. Postup se opakuje dokud nevznikne bílá pevná látka. Bílá pevná látka se přefiltruje a vysuší, což vede ke vzniku sloučeniny **29** (1,80 g, 65 %) ve formě bílé pevné látky.

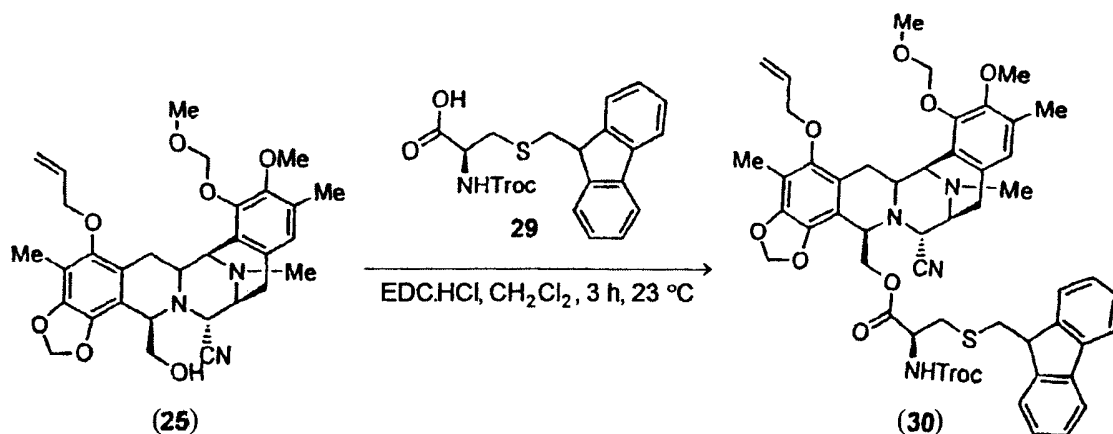
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,74 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,30 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 5,71 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,73 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,59 (m, 1H), 4,11 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,17 (dd, J = 6,0 Hz, J = 2,7 Hz, 2H), 3,20 (dd, J = 5,4 Hz, J = 2,1 Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 173,6, 152,7, 144,0, 139,7, 137,8, 126,0, 125,6, 123,4, 118,3, 73,4, 52,4, 45,5, 35,8, 33,7.

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{20}H_{18}Cl_3NO_4S$: 474,8, naměřená $(M+Na)^+$: 497,8.

Příklad 14

30



Směs sloučeniny **25** (585 mg, 1,03 mmol) a sloučeniny **29** (1,47 mg, 3,11 mmol) se azeotropicky destiluje s bezvodým toluenem (3 x 10 ml). K roztoku sloučeniny **25** a sloučeniny **29** v bezvodém CH_2Cl_2 (40 ml) se při teplotě 23 °C přidá DMAP (633 mg, 5,18 mmol) a EDC.HCl (1,3-dimethylaminopropyl-3-ethylkarbodiimidhydrochlorid) (994 mg, 5,18 mmol). Reakční směs se

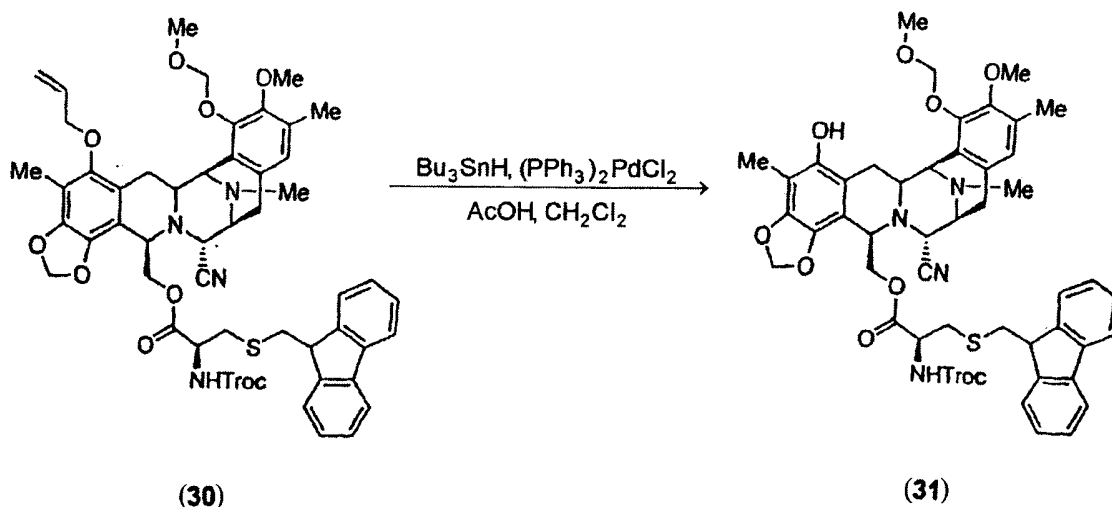
při teplotě 23 °C míchá po dobu 3 hodin. Směs se rozdělí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se promyje CH_2Cl_2 (50 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným, přefiltrují a zakoncentrují se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (ethylacetát:hexan 1:3), což vede ke vzniku sloučeniny **30** (1,00 g, 95 %)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,72 (m, 2H), 7,52 (m, 2H), 7,38 (m, 2H), 7,28 (m, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,03 (m, 1H), 5,92 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,79 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,39 (m, 1H), 5,29 (dq, $J = 10,3$ Hz, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,73 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,66 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,36 až 3,96 (m, 9H), 3,89 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,55 (s, 3H), 3,33 (m, 1H), 3,20 (m, 2H), 2,94 (m, 3H), 2,59 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,83 (dd, $J = 16,0$ Hz, $J = 11,9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169,7, 154,0, 148,8, 148,4, 145,7, 144,5, 140,9, 139,0, 133,7, 130,9, 130,6, 127,6, 127,0, 124,8, 124,6, 124,1, 120,8, 119,9, 118,2, 117,7, 117,3, 112,7, 112,1, 101,3, 99,2, 74,7, 73,9, 64,4, 59,8, 57,7, 57,0, 56,8, 55,4, 53,3, 46,7, 41,4, 36,5, 34,7, 31,5, 26,4, 24,9, 22,6, 15,7, 14,0, 9,1.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{51}\text{H}_{53}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 1020,4, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 1021,2.

Příklad 15



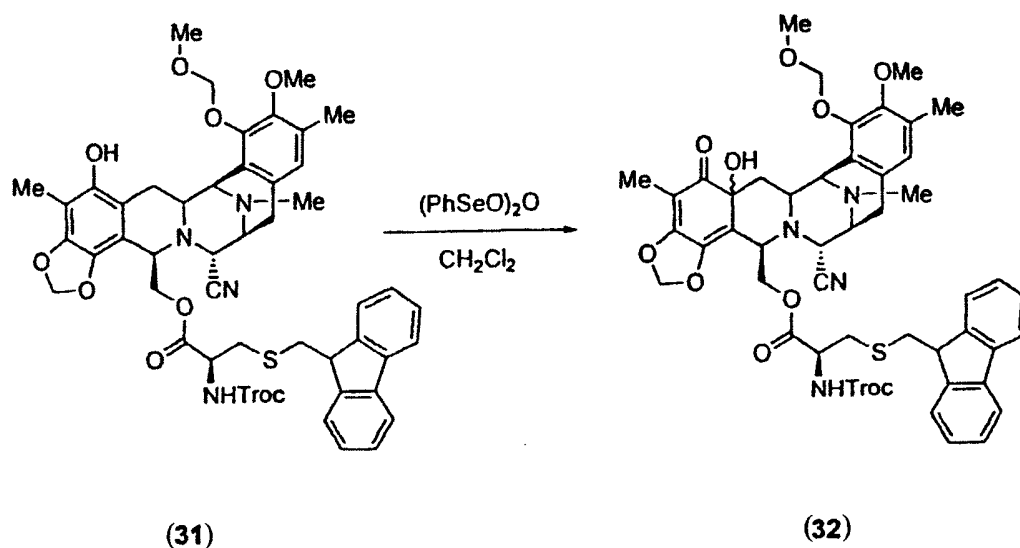
K roztoku sloučeniny **30** (845 mg, 0,82 mmol), kyseliny octové (500 mg, 8,28 mmol) a dichlorbis(trifenylfosfin) palladnatý $((\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2)$ (29 mg, 0,04 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (20 ml) se při teplotě 23 °C po kapkách přidá tributylstanniumhydrid (Bu_3SnH) (650 mg, 2,23 mmol). Reakční směs se při této teplotě probubláváním míchá po dobu 15 min. Zbytek se rychle ochladí vodou (50 ml) a extrahuje se CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a zakoncentruje se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (ethylacetát:hexan s gradientem 1:5 až 1:3), což vede ke vzniku sloučeniny **31** (730 mg, 90 %) ve formě světle krémově žluté pevné látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,72 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,37 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 6,65 (s, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,74 (s, 1H), 5,36 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,32 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,75 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,48 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,08 (m, 4H), 3,89 (m, 1H), 3,86 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,38 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 3,02 až 2,89 (m, 4H), 2,67 (s, 1H), 2,61 (s, 1H), 2,51 (dd, $J = 14,3$ Hz, $J = 4,5$ Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,83 (m, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 168,2, 152,5, 148,1, 146,2, 144,4, 144,3, 143,3, 139,6, 134,6, 129,7, 129,6, 126,2, 125,6, 123,4, 123,3, 121,6, 118,5, 116,3, 110,7, 110,2, 105,1, 99,4, 98,5, 75,2, 73,3, 61,7, 58,4, 57,9, 56,3, 56,1, 55,1, 54,7, 53,9, 51,9, 45,2, 40,1, 35,6, 33,3, 24,8, 23,3, 14,5, 7,3.

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

Příklad 16



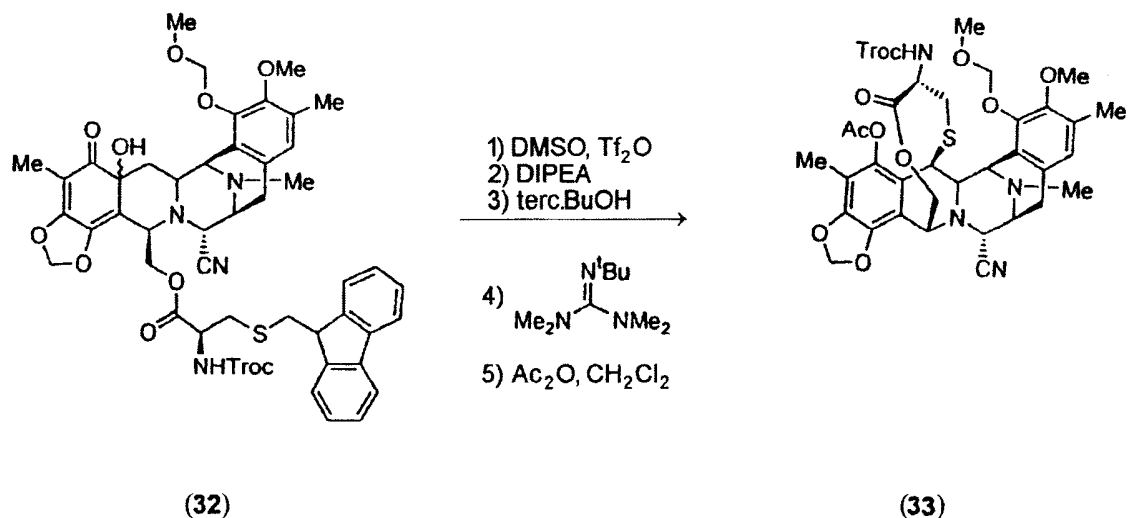
K roztoku sloučeniny **31** (310 mg, 0,32 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (15 ml) se při teplotě -10°C pomocí kanyly přidá 70% roztok anhydridu kyseliny benzenselenové ($(\text{PhSeO})_2\text{O}$) (165 mg, 0,32 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (7 ml), přičemž tato teplota se udržuje. Reakční směs se při teplotě -10°C míchá po dobu 5 minut. Při této teplotě se ke směsi přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhlčitanu sodného (30 ml). Vodná vrstva se promyje CH_2Cl_2 (40 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným, přefiltrují a zakoncentrují. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (ethylacetát:hexan s gradientem 1:5 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **32** (287 mg, 91 %, HPLC 91,3 %) ve formě světle krémově žluté pevné látky tvořené dvěma izomery (65:35), které se použijí v následujícím kroku.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (směs izomerů) 7,76 (m, 4H), 7,65 (m, 4H), 7,39 (m, 4H), 7,29 (m, 4H), 6,62 (s, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,79 až 5,63 (m, 6H), 5,09 (s, 1H), 5,02 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,99 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,80 až 4,63 (m, 6H), 4,60 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,38 (d, $J = 12,8$ Hz, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,27 (dd, $J = 12,8$ Hz, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,16 až 3,90 (m, 10H), 3,84 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 3,33 až 2,83 (m, 14H), 2,45 až 2,18 (m, 2H), 2,21 (s, 6H), 2,17 (s, 6H), 1,77 (s, 6H), 1,67 (m, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (směs izomerů) 168,6, 168,4, 158,6, 154,8, 152,8, 152,5, 147,3, 147,2, 146,8, 144,1, 144,0, 140,8, 139,7, 137,1, 129,8, 129,3, 128,4, 128,7, 126,5, 125,5, 123,7, 123,6, 123,5, 123,4, 122,2, 121,3, 118,3, 115,8, 115,5, 110,2, 106,9, 103,5, 103,2, 100,1, 99,6, 97,9, 97,7, 93,8, 73,4, 70,9, 69,2, 64,9, 62,5, 59,3, 58,9, 58,4, 56,7, 56,3, 56,2, 55,4, 55,2, 55,1, 54,9, 54,7, 54,3, 54,1, 53,8, 52,8, 45,5, 40,5, 40,0, 39,8, 35,8, 35,5, 33,9, 33,7, 30,1, 28,8, 24,2, 24,1, 21,2, 14,5, 14,4, 12,7, 6,0, 5,7.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{48}\text{H}_{49}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 996,3, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 997,2.

Příklad 17



5 Reakční baňka se dvakrát vyžihá, několikrát se promyje argonem a udržuje se v argonové atmosféře. K roztoku DMSO (39,1 ml, 0,55 mmol, 5 ekvivalentů) v bezvodém CH_2Cl_2 (4,5 ml) se při teplotě -78°C po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (Tf_2O) (37,3 ml, 0,22 mmol, 2 ekvivalenty). Reakční směs se při teplotě -78°C míchá po dobu 20 minut, poté se pomocí kanyly při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny **32** (110 mg, 0,11 mmol, HPLC 91,3 %)

10 v bezvodém CH_2Cl_2 (1 ml jako hlavní přídavek a 0,5 ml na promytí). Během přidávání se v baňkách udržuje teplota -78°C a barva se změní ze žluté na hnědou. Reakční směs se při teplotě -40°C míchá po dobu 35 minut. Během tohoto časového intervalu se roztok změní ze žluté na tmavě zelenou. Po uplynutí této doby se po kapkách přidá $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (diisopropylethylamin) (153 ml, 0,88 mmol, 8 ekvivalentů), reakční směs se při teplotě 0°C nechá reagovat po dobu 45 minut a během této doby se barva roztoku změní na hnědou. Poté se k reakční směsi po kapkách přidá *tert*-butanol (*tert*-BuOH) (41,6 ml, 0,44 mmol, 4 ekvivalenty) a 2-*tert*-butyl-1,1,3,3-tetramethylguanidin (132,8 ml, 0,77 mmol, 7 ekvivalentů) a směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 40 minut. Po uplynutí této doby se k reakční směsi po kapkách přidá acetanhydrid (104,3 ml, 1,10 mmol, 10 ekvivalentů) a směs se nechá reagovat při teplotě 23°C po více než 1

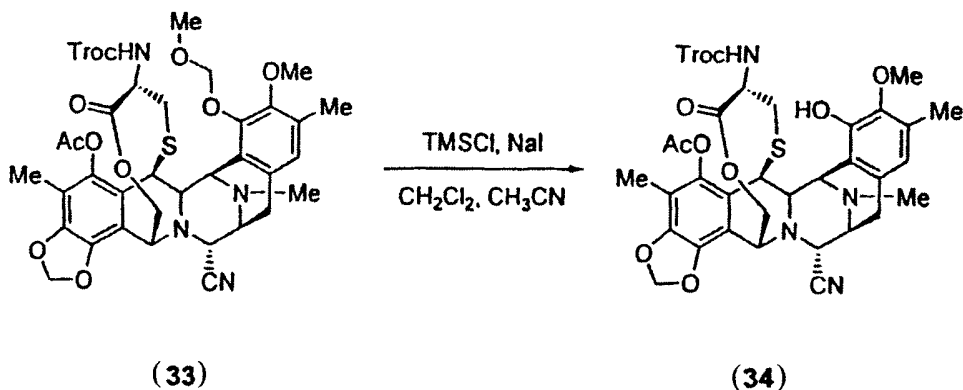
20 hodiny. Poté se reakční směs naředí CH_2Cl_2 (20 ml) a promyje se nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (50 ml), hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) a chloridu sodného (50 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným, přefiltrují a zakoncentrují se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:3 až 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **33** (54 mg, 58 %) ve formě světle žluté pevné látky.

25 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,85 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,20 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,14 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 5,03 (m, 1H), 4,82 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,35 až 4,17 (m, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,45 (m, 2H), 2,91 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,12 (m, 2H), 2,03 (s, 3H).

30 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 168,5, 167,2, 152,7, 148,1, 147,1, 144,5, 139,6, 139,1, 130,5, 129,0, 123,7, 123,5, 123,3, 118,8, 116,5, 112,1, 100,6, 97,8, 73,3, 60,5, 59,4, 59,2, 58,3, 57,6, 57,4, 56,1, 53,3, 53,1, 40,6, 40,0, 31,0, 22,2, 18,9, 14,4, 8,1.

35 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 842,1, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 843,1.

Příklad 18

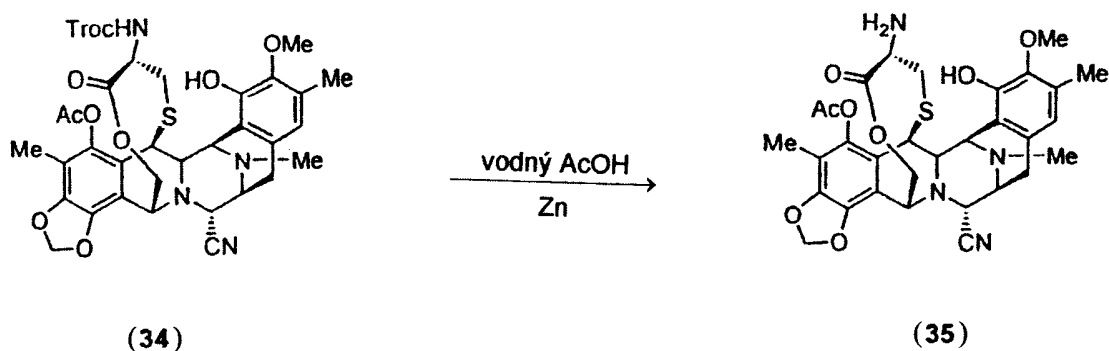


- 5 K roztoku sloučeniny **33** (12 mg, 0,014 mmol) v suchém dichlormethanu (1,2 ml) a pro HPLC použitelném acetonitrilu (1,2 ml) se při teplotě 23 °C přidá jodid sodný (21 mg, 0,14 mmol) a čerstvě předestilovaný (použitím hydridu vápenatého za atmosférického tlaku) trimethylsilylchlorid (TMSCl) (15,4 mg, 0,14 mmol). Reakční směs změní barvu na oranžovou. Po uplynutí 15 minut se roztok naředí dichlormethanem (10 ml) a promyje se čerstvým nasyceným vodným roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (3 x 10 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a zakoncentruje se, což vede ke vzniku sloučeniny **34** (13 mg, kvantitativní) ve formě světle žluté pevné látky, která se použije bez dalšího čištění.

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,85 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,27 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,14 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 5,03 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,82 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,27 (bs, 1H), 4,18 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,44 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 2,91 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,03 (s, 3H).

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

Příklad 19



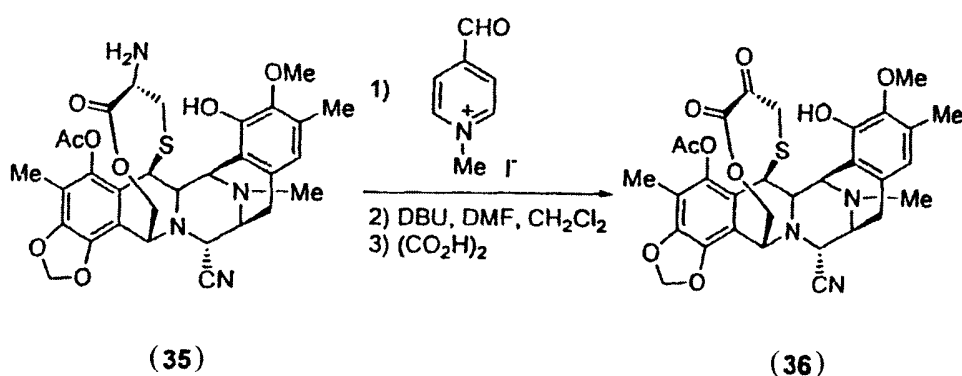
- 25 K roztoku sloučeniny **34** (13 mg, 0,016 mmol) ve směsi kyselina octová/voda (90:10, 1 ml) se při teplotě 23 °C přidá práškový zinek (5,3 mg, 0,081 mmol). Reakční směs se udržuje při teplotě 70 °C po dobu 6 hodin. Po uplynutí této doby se směs ochladí na teplotu 23 °C, naředí se CH_2Cl_2 (20 ml) a promyje se nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (15 ml) a vodným roztokem Et_3N (triethylamin) (15 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a zakoncentruje se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (oxid křemičitý- NH_2 , eluent ethylacetát:hexan s gradientem 0:100 až 50:50), což vede ke vzniku sloučeniny **35** (6,8 mg, 77 % pro dva kroky) ve formě světle žluté pevné látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,51 (s, 1H), 6,03 (dd, $J = 1,3$ Hz, $J = 26,5$ Hz, 2H), 5,75 (bs, 1H), 5,02 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,52 (m, 1H), 4,25 (m, 2H), 4,18 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 4,12 (dd, $J = 1,9$ Hz, $J = 11,5$ Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,40 (m, 2H), 3,26 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 2,88 (m, 2H), 2,30 až 2,10 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,02 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 174,1, 168,4, 147,8, 145,4, 142,9, 140,8, 140,1, 131,7, 130,2, 129,1, 128,3, 120,4, 118,3, 117,9, 113,8, 111,7, 101,7, 61,2, 59,8, 59,2, 58,9, 54,4, 53,8, 54,4, 41,3, 41,5, 34,1, 23,6, 20,3, 15,5, 9,4.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$: 622,7, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 623,2.

Příklad 20



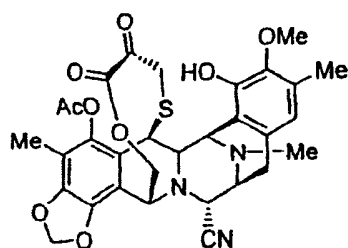
K roztoku N-methylpyridin-4-karboxaldehydjodidu (378 mg, 1,5 mmol) v bezvodém DMF (5,8 ml) se přidá bezvodý toluen (2 x 10 ml), aby se pomocí azeotropické destilace toluenu eliminoval obsah vody. Poté se k tomuto oranžovému roztoku pomocí kanyly při teplotě 23 °C přidá roztok sloučeniny **35** (134 mg, 0,21 mmol), předem upravený bezvodým toluenem (2 x 10 ml), v bezvodém CH_2Cl_2 (destilovaný s CaH_2 , 7,2 ml). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 4 hodin. Po uplynutí této doby se při teplotě 23 °C po kapkách přidá DBU (32,2 μl , 0,21 mmol) a při teplotě 23 °C se míchá po dobu 15 minut. K reakční směsi se přidá čerstvý nasycený vodný roztok kyseliny šťavelové (5,8 ml) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 30 minut. Poté se reakční směs ochladí na teplotu 0 °C a po částech se přidá NaHCO_3 a následně se přidá nasycený vodný roztok NaHCO_3 . Směs se extrahuje Et_2O (diethylether). K vodné vrstvě se přidá K_2CO_3 a směs se extrahuje Et_2O . Organické vrstvy se vysuší MgSO_4 a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (EtOAc :hexan 1:3 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **36** (77 mg, 57 %) ve formě světle žluté pevné látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,48 (s, 1H), 6,11 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H), 6,02 (d, $J = 1,3$ Hz, 1H), 5,70 (bs, 1H), 5,09 (d, $J = 11,3$ Hz, 1H), 4,66 (bs, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,27 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,21 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 4,16 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,54 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 3,42 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 2,88 až 2,54 (m, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

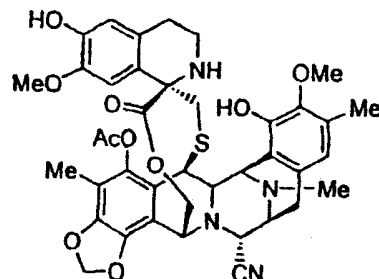
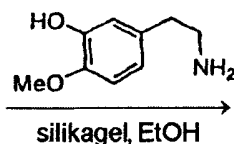
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 186,7, 168,5, 160,5, 147,1, 146,4, 142,9, 141,6, 140,7, 130,4, 129,8, 121,7 (2C), 120,0, 117,8, 117,1, 113,5, 102,2, 61,7, 61,4, 60,3, 59,8, 58,9, 54,6, 41,6, 36,9, 29,7, 24,1, 20,3, 15,8, 14,1, 9,6.

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

Příklad 21



(36)



(Et-770)

- 5 K roztoku sloučeniny **36** (49 mg, 0,08 mmol) a 2-[3-hydroxy-4-methoxyfenyl]ethylaminu (46,2 mg, 0,27 mmol) v ethanolu (2,5 ml) se při teplotě 23 °C přidá silikagel (105 mg). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 14 hodin. Směs se naředí hexanem a prolíje se kolonou na sloupcovou chromatografii (ethylacetát:hexan 1:3 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **ET-770** (55 mg, 90 %) ve formě světle žluté pevné látky.

10

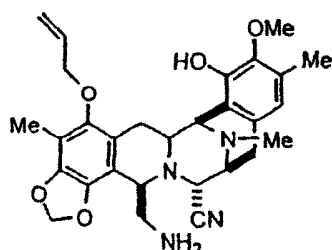
- ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,60 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,02 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 4,57 (bs, 1H), 4,32 (bs, 1H), 4,28 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 4,18 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 4,12 (dd, J = 2,1 Hz, J = 11,5 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,50 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,10 (ddd, J₁ = 4,0 Hz, J₂ = 10,0 Hz, J₃ = 11,0 Hz, 1H), 2,94 (m, 2H), 2,79 (m, 1H), 2,61 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,09 (m, 1H), 2,04 (s, 3H).

15

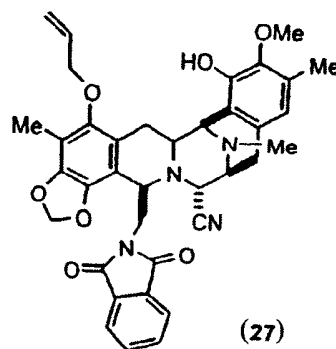
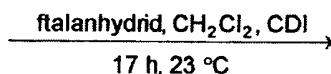
ESI-MS m/z: vypočítaná C₄₀H₄₂N₄O₁₀S: 770,7, naměřená (M+H)⁺: 771,2.

20

Příklad 22



(21)



(27)

- 25 K roztoku sloučeniny **21** (22 mg, 0,042 mmol) v CH₂Cl₂ (0,8 ml) se přidá ftalanhydrid (6,44 mg, 0,042 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 2 hodin. Poté se přidá karbonyldiimidazol (CDI) (1 mg, 0,006 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 7 hodin. Poté se opět přidá karbonyldiimidazol (5,86 mg, 0,035 ml) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 17 hodin. Roztok se naředí CH₂Cl₂ (15 ml) a promyje se HCl (15 ml) o koncentraci 0,1 mmol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **27** (26,4 mg, 96 %) ve formě bílé pevné látky.

30

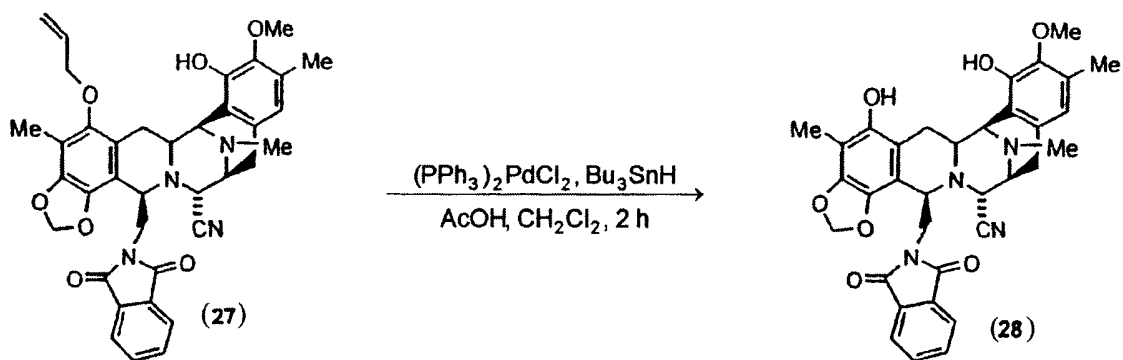
- 35 Rf: 0,58 (ethylacetát).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,73 až 7,64 (m, 4H), 6,40 (s, 1H), 6,12 až 6,01 (m, 1H), 5,63 (s, 1H) 5,58 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,37 (dd, J₁ = 1,8 Hz, J₂ = 17,4 Hz, 1H), 5,23 (dd, J₁ = 1,8 Hz, J₂ = 10,5 Hz, 1H), 5,12 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 4,22 až 4,15 (m, 3H), 4,08 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,59 až 3,55 (m, 2H), 3,35 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,27 až 3,16 (m, 2H), 3,05 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18,3 Hz, 1H), 2,64 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,80 (dd, J₁ = 11,4 Hz, J₂ = 15 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 167,7, 148,9, 146,4, 144,2, 142,6, 139,5, 134,0, 133,5, 132,0, 131,0, 128,3, 123,0, 121,3, 120,9, 118,1, 117,5, 116,8, 113,6, 112,4, 100,8, 74,5, 60,6, 60,5, 57,7, 56,6, 55,6, 55,5, 42,3, 41,7, 26,6, 25,5, 15,9, 9,46.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₇H₃₅N₄O₇: 648,79, naměřená (M+H)⁺: 649,3.

15 Příklad 23



K roztoku sloučeniny **27** (26 mg, 0,041 mmol) v CH₂Cl₂ (11 ml) se při teplotě 23 °C přidá kyselina octová (11 ml), (PPh₃)₂PdCl₂ (2,36 mg) a Bu₃SnH (28 ml, 0,10 mmol). Směs se při této teplotě míchá po dobu 2 hodin a poté se prolíje kolonou na sloupcovou chromatografii (SiO₂, s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **28** (24,7 mg, 99 %) ve formě bílé pevné látky.

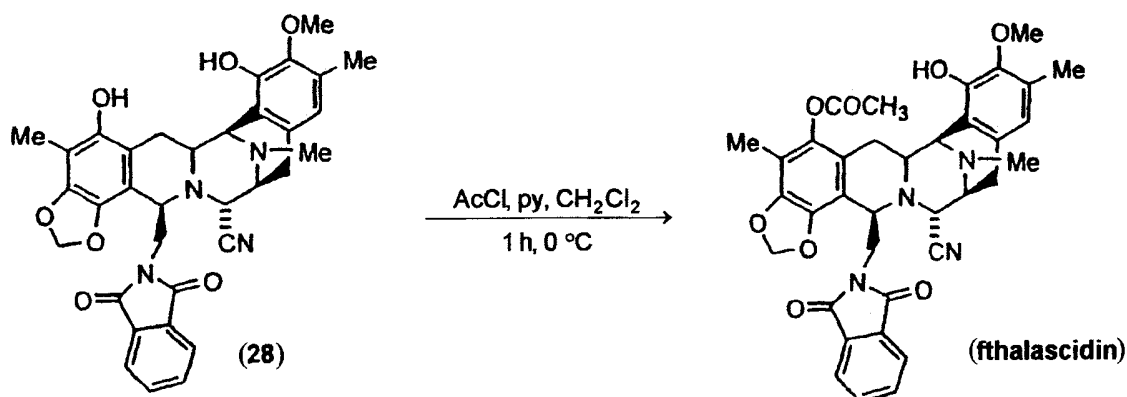
R_f: 0,33 (hexan:ethylacetát 2:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,75 až 7,70 (m, 2H), 7,69 až 7,65 (m, 2H), 6,39 (s, 1H), 5,82 (bs, 1H) 5,50 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,0 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 4,45 (bs, 1H), 4,23 až 4,19 (m, 2H), 4,10 až 4,09 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,60 až 3,48 (m, 2H), 3,36 až 3,33 (m, 1H), 3,26 až 3,20 (m, 1H), 3,14 až 3,08 (m, 1H), 3,98 (d, J = 14,4 Hz, 1H), 2,61 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,85 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 15,3 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 167,8, 146,4, 145,1, 143,9, 142,7, 137,1, 133,5, 131,9, 130,8, 128,4, 122,9, 120,8, 118,0, 116,8, 114,0, 113,4, 106,4, 100,4, 60,6, 60,5, 57,8, 56,6, 55,5, 55,2, 42,6, 41,5, 25,6, 25,5, 15,8, 8,9.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₄H₃₂N₄O₇: 608,6, naměřená (M+H)⁺: 609,2.

Příklad 24



- 5 K roztoku sloučeniny **28** (357 mg, 0,058 mmol) v CH_2Cl_2 (3 ml) se při teplotě $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ přidá acetylchlorid (41,58 ml, 0,58 mmol) a pyridin (47,3 ml, 0,58 ml). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (15 ml) a promyje se HCl (15 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 60:40), což vede ke vzniku fthalascidinu (354 mg, 94 %) ve formě bílé pevné látky.

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

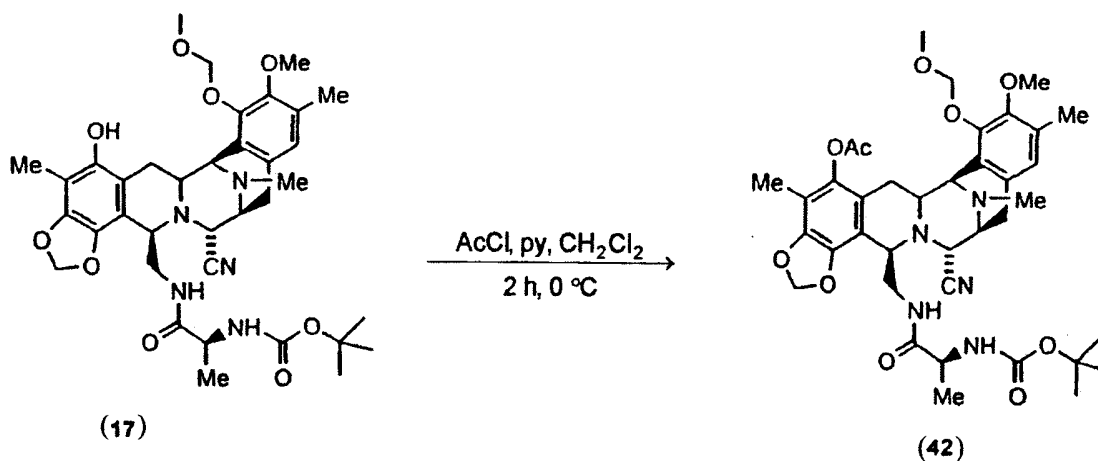
- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,72 až 7,68 (m, 2H), 7,67 až 7,63 (m, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,69 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,64 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,30 (bs, 1H), 4,25 až 4,21 (m, 2H), 4,02 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 3,64 až 3,62 (m, 5H), 3,33 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,21 až 3,16 (m, 1H), 3,02 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,76 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 2,63 (d, $J = 17,7$ Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,73 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz, 1H).

- 20 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 168,5, 167,6, 146,2, 144,2, 142,5, 141,0, 140,5, 133,4, 131,8, 130,7, 128,2, 120,9, 120,8, 117,9, 116,4, 113,6, 101,1, 60,4, 60,0, 57,0, 56,3, 55,6, 55,4, 41,6, 41,5, 26,5, 25,2, 20,2, 15,7, 9,4.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8$: 650, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 651,2.

25

Příklad 25



30

K roztoku sloučeniny **17** (300 mg, 0,432 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) se při teplotě 0 °C přidá acetylchlorid (AcCl) (30,7 ml, 0,432 mmol) a pyridin (34,9 ml, 0,432 mmol). Reakční směs se při této teplotě míchá po dobu 2 hodin, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (15 ml) a promyje se HCl (15 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouští se odstranění destilací za sníženého tlaku, což vede ke vzniku sloučeniny **42** (318 mg, 100 %) ve formě bílé pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících reakcích.

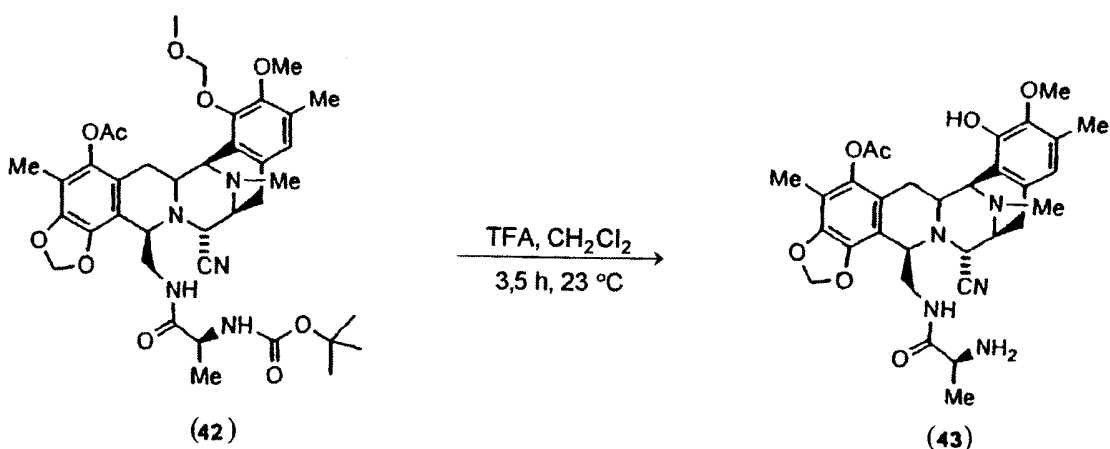
Rf: 0,5 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,66 (s, 1H), 5,93 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,83 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,42 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 5,07 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,98 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,16 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 4,11 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,98 (bs, 1H), 3,73 až 3,61 (m, 2H), 3,64 (s, 3H), 3,52 až 3,48 (m, 1H), 3,50 (s, 3H), 3,33 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 3,17 až 3,14 (m, 1H), 2,97 až 2,87 (m, 1H), 2,75 až 2,70 (d, $J = 16,8$ Hz, 1H), 2,26 (s, 6H), 2,16 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,70 (dd, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 1,33 (s, 9H), 0,59 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 172,0, 168,3, 162,3, 148,2, 144,4, 140,4, 140,2, 130,9, 130,5, 125,3, 123,4, 120,8, 117,6, 112,7, 111,7, 101,4, 99,1, 79,2, 59,5, 58,8, 57,5, 57,4, 56,4, 55,5, 55,0, 41,3, 39,0, 28,2, 26,4, 24,6, 19,9, 18,4, 15,4, 9,1.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{10}$: 735,82, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 736,3.

Příklad 26



K roztoku sloučeniny **42** (318 mg, 0,432 mmol) v CH_2Cl_2 (2,16 ml) se přidá kyselina trifluorotová (TFA) (1,33 ml, 17,30 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 3,5 hodiny. Reakční směs se rychle ochladí na teplotu 0 °C nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje se CH_2Cl_2 (2 x 70 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným a zakonzcentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , ethylacetát:methanol 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **43** (154 mg, 60 %) ve formě bílé pevné látky.

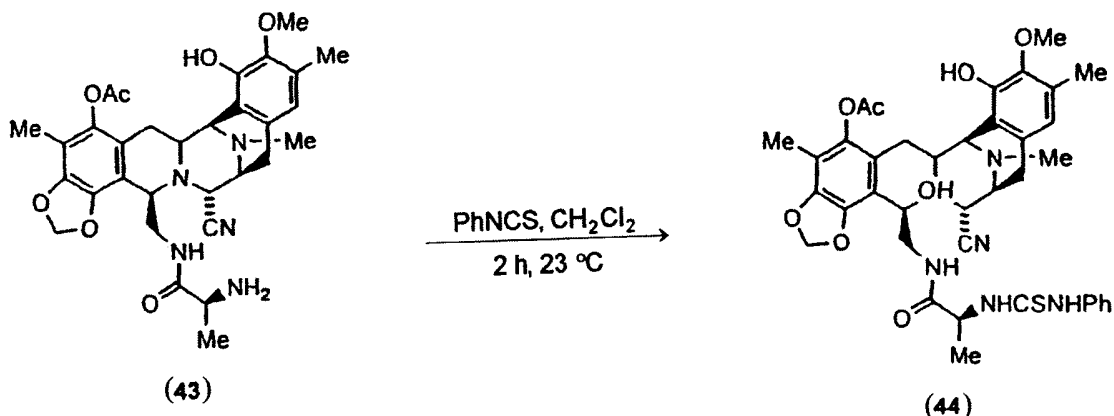
Rf: 0,22 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,47 (s, 1H), 6,22 (bs, 1H), 5,95 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,88 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 4,08 až 4,06 (m, 2H), 4,01 (bs, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,49 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 3,33 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,26 až 3,22 (m, 1H), 2,95 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,80 až 2,76 (m, 2H), 2,58 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,77 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 0,90 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 174,8, 169,0, 146,8, 144,4, 142,8, 140,5, 140,2, 131,1, 128,8, 120,8, 120,5, 117,1, 112,9, 111,6, 101,5, 60,3, 59,0, 56,5, 56,3, 55,6, 55,1, 50,2, 41,6, 39,5, 26,8, 26,3, 24,9, 20,2, 15,4, 9,2.

5 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$: 591,65, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 592,3.

Příklad 27



10 K roztoku sloučeniny **43** (154 mg, 0,26 mmol) v CH_2Cl_2 (1,3 ml) se přidá fenyliizothiokyanát (PhNCS) (186 ml, 1,56 mmol) a směs se při teplotě $23\text{ }^\circ\text{C}$ míchá po dobu 2 hodin. Reakční směs se zakoncentruje ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **44** (120 mg, 63 %) ve formě bílé pevné látky.

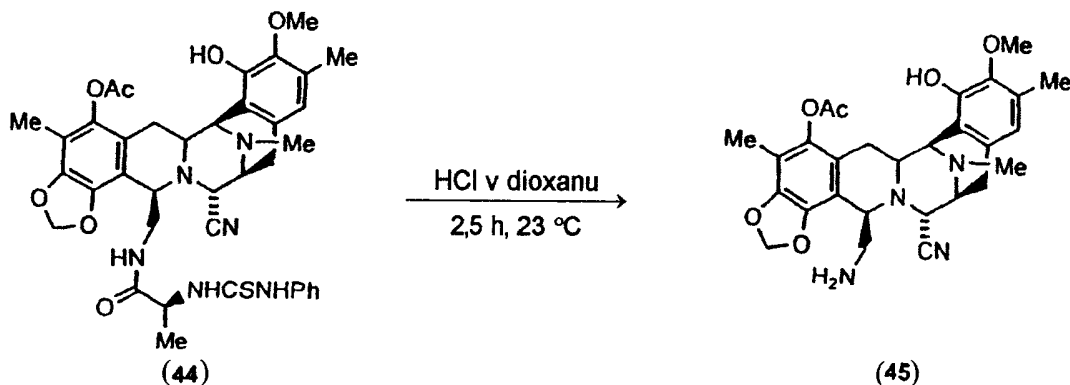
15 Rf: 0,41 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,17 (s, 1H), 7,49 až 7,44 (m, 3H), 7,31 až 7,24 (m, 3H), 7,05 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,98 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,87 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,52 (bs, 1H), 4,54 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,15 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,03 (d, $J = 2,7$ Hz, 2H), 3,80 (bs, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,40 (bs, 1H), 3,32 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,16 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 2,82 až 2,61 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 0,62 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

25 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 178,5, 171,9, 168,7, 146,7, 144,5, 142,6, 140,6, 140,3, 136,3, 131,0, 129,9, 128,9, 126,7, 124,4, 120,9, 120,6, 117,7, 116,6, 112,7, 111,9, 101,4, 60,4, 58,7, 57,5, 56,1, 55,7, 55,1, 53,3, 41,4, 38,8, 26,3, 24,4, 20,2, 18,1, 15,3, 9,2.

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

Příklad 28



K roztoku sloučeniny **44** (120 mg, 0,165 mmol) v dioxanu (0,9 ml) se přidá směs HCl/dioxan (1,8 ml) o koncentraci HCl 5,3 mol/l (5,3 N) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 2,5 hodiny. Ke směsi se poté přidá CH₂Cl₂ (10 ml) a H₂O (5 ml) a organická vrstva se oddělí dekantací. Vodná fáze se při teplotě 0 °C zalkalizuje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (20 ml) (pH = 8) a poté se extrahuje CH₂Cl₂ (2 x 15 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným a zakoncentrují se ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **45** (75 mg, 87 %) ve formě bílé pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících reakcích.

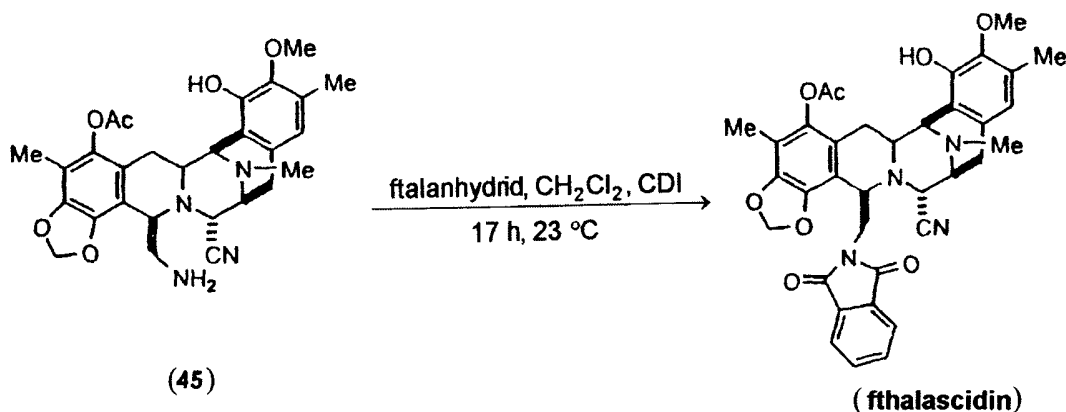
Rf: 0,23 (ethylacetát:methanol 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,43 (s, 1H), 5,94 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,87 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 4,10 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,91 (bs, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,34 až 3,25 (m, 2H), 3,05 (dd, J₁ = 1,8 Hz, J₂ = 8,1 Hz, 1H), 2,80 až 2,73 (m, 3H), 2,46 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,79 (dd, J₁ = 12,6 Hz, J₂ = 16,2 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 168,7, 146,7, 144,4, 142,9, 140,4, 130,4, 128,9, 121,1, 120,8, 117,8, 116,8, 113,6, 111,5, 101,4, 67,6, 60,5, 59,8, 58,4, 56,6, 55,8, 55,3, 43,6, 41,8, 31,3, 25,6, 20,2, 15,6, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₂₈H₃₂N₄O₆: 520,58, naměřená (M+H)⁺: 521,3.

Příklad 29



K roztoku sloučeniny **45** (10 mg, 0,02 mmol) v CH₂Cl₂ (0,4 ml) se přidá ftalanhydrid (2,84 mg, 0,02 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 2 hodin. Poté se přidá karbonyldiimidazol (0,5 mg, 0,003 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 7 hodin. Poté se opět přidá karbonyldiimidazol (2,61 mg, 0,016 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu dalších 17 hodin. Roztok se naředí CH₂Cl₂ (10 ml) a promyje se HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, CH₃CN:H₂O 60:40), což vede ke vzniku fthalascidinu (11,7 mg, 93 %) jako bílé pevné látky.

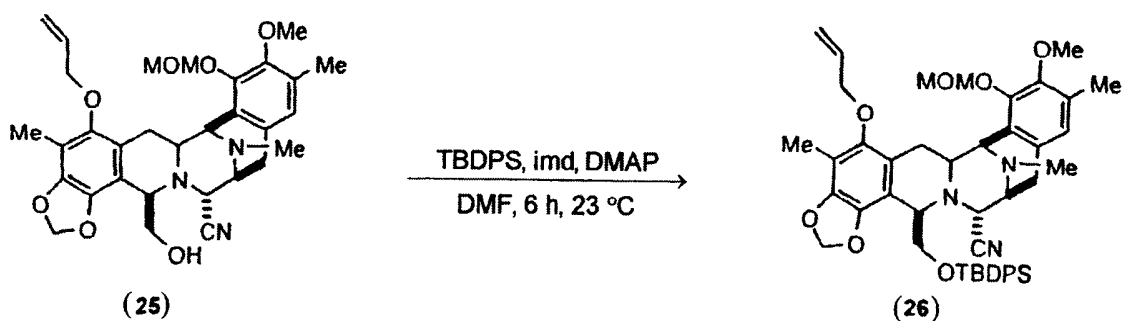
Rf: 0,37 (CH₃CN:H₂O 7:3, RP-18).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,72 až 7,68 (m, 2H), 7,67 až 7,63 (m, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,69 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,64 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,30 (bs, 1H), 4,25 až 4,21 (m, 2H), 4,02 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 3,64 až 3,62 (m, 5H), 3,33 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,21 až 3,16 (m, 1H), 3,02 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18 Hz, 1H), 2,76 (dd, J₁ = 1,8 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 2,63 (d, J = 17,7 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,73 (dd, J₁ = 12,0 Hz, J₂ = 15,3 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 168,5, 167,6, 146,2, 144,2, 142,5, 141,0, 140,5, 133,4, 131,8, 130,7, 128,2, 120,9, 120,8, 117,9, 116,4, 113,6, 101,1, 60,4, 60,0, 57,0, 56,3, 55,6, 55,4, 41,6, 41,5, 26,5, 25,2, 20,2, 15,7, 9,4.

5 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_8$: 650, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 651,2.

Příklad 30



10 K roztoku sloučeniny **25** (18 mg, 0,032 mmol) v DMF (0,05 ml) se při teplotě 0 °C přidá katalyzátor DMAP (0,5 mg, 0,004 mmol), imidazol (Imd) (5 mg, 0,08 mmol) a terc.butyldifenylsilylchlorid (12,5 ml, 0,048 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 6 hodin. Ke směsi se při teplotě 0 °C přidá voda (10 ml) a vodná fáze se extrahuje směsí hexan:ethylacetát 1:10 (2 x 10 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se
15 odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **26** (27 mg, 88 %) ve formě bílé pevné látky.

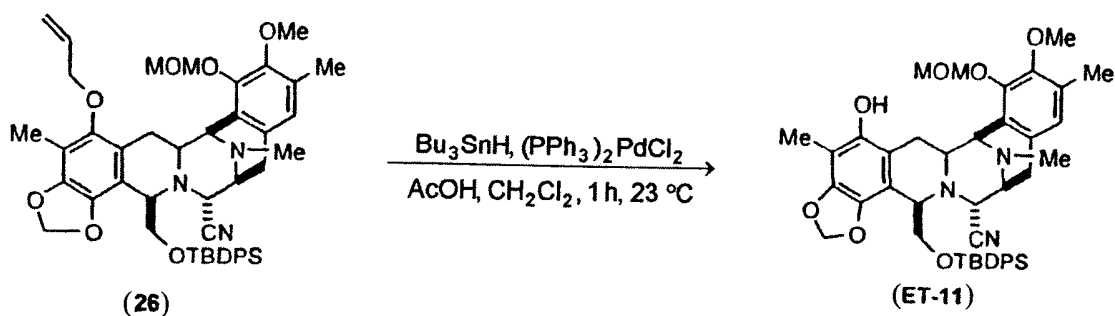
Rf: 0,29 (hexan:ethylacetát 3:1).

20 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,61 až 7,58 (m, 2H), 7,42 až 7,28 (m, 8H), 6,71 (s, 1H), 6,19 až 6,02 (m, 1H), 5,78 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,64 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,40 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 17,1$ Hz, 1H), 5,27 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,45 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,24 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,17 až 4,06 (m, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,64 (dd, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz, 1H), 3,59
25 (s, 3H), 3,42 až 3,21 (m, 4H), 3,10 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 17,7$ Hz, 1H), 2,70 (d, $J = 17,7$ Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,08 až 1,89 (m, 1H), 0,87 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 148,5, 148,3, 148,1, 144,0, 139,0, 135,6, 135,4, 133,8, 133,1, 132,6, 130,5, 130,3, 129,6, 129,4, 127,5, 127,4, 125,1, 124,3, 121,6, 118,5, 117,5, 112,9, 111,7,
30 100,8, 99,2, 74,0, 67,7, 61,5, 59,6, 59,0, 57,7, 57,1, 55,4, 41,6, 29,6, 26,6, 25,5, 18,8, 15,8, 9,2.

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

35 Příklad 31



K roztoku sloučeniny **26** (7 mg, 0,0087 mmol) v CH_2Cl_2 (0,15 ml) se při teplotě 23 °C přidá kyselina octová (2,5 ml, 0,044 mmol), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (0,5 mg, $6,96 \times 10^{-4}$ mmol) a Bu_3SnH (3,5 ml, 0,013 mmol). Reakční směs se při této teplotě míchá po dobu 1 hodiny. Roztok se naředí směsí hexan:ethylacetát 5:1 (0,5 ml) a prolíje se kolonou na rychlou sloupcovou chromatografii (SiO_2 , hexan:ethylacetát s gradientem 5:1 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **ET-11** (5 mg, 75 %) ve formě bílé pevné látky.

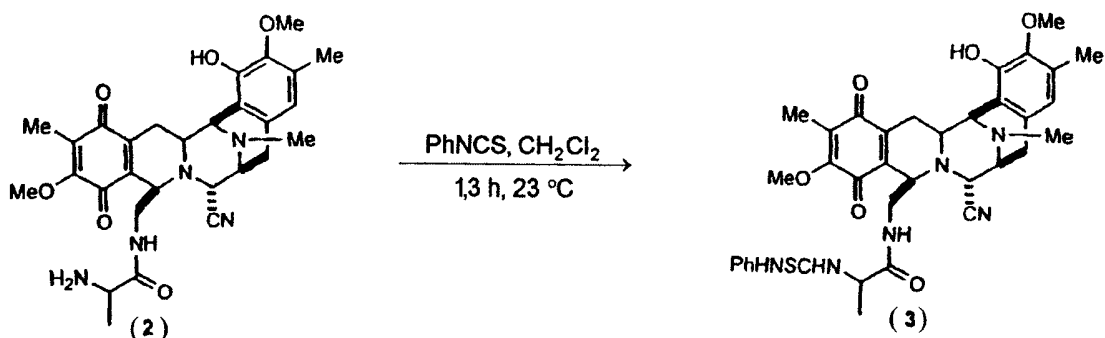
Rf: 0,36 (hexan:ethylacetát 5:1, oxid křemičitý).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,56 (m, 2H), 7,41 až 7,25 (m, 8H), 6,67 (s, 1H), 5,72 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 5,58 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,38 (d, $J = 5,75$ Hz, 1H), 5,16 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,68 (dd, $J_1 = 2,1$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, 1H), 3,38 až 3,26 (m, 3H), 3,11 (dd, $J_1 = 2,5$ Hz, $J_2 = 15,7$ Hz, 1H), 3,01 (dd, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 17,9$ Hz, 1H), 2,70 (d, $J = 17,9$ Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,89 (dd, $J_1 = 12,1$ Hz, $J_2 = 15,7$ Hz, 1H), 0,9 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 149,0, 147,4, 145,3, 144,3, 136,3, 135,7, 135,4, 133,2, 130,9, 130,5, 129,6, 129,5, 127,5, 125,0, 118,6, 112,5, 112,1, 105,7, 100,5, 99,8, 68,5, 61,5, 59,7, 58,8, 57,7, 56,9, 56,5, 55,4, 41,7, 26,6, 26,2, 25,5, 18,9, 15,8, 14,2, 8,7.

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

Příklad 32



Roztok sloučeniny **2** (3,0 g, 5,46 mmol) a fenylisothiokyanátu (3,92 ml, 32,76 mmol) v CH_2Cl_2 (27 ml) se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1,5 hodiny. Reakční směs se rozdělí mezi CH_2Cl_2 (10 ml) a H_2O (5 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a zakonzcentruje se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 2:3), což vede ke vzniku sloučeniny **3** (3,29 g, 88 %) ve formě žluté pevné látky.

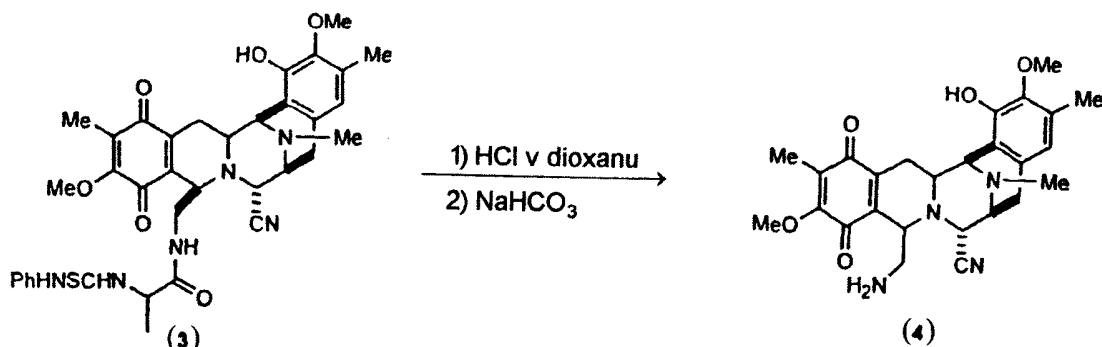
Rf: 0,27 (ACN: H_2O 3:2, RP-C18).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,77 (bs, 1H), 7,42 až 7,11 (m, 5H), 6,65 (d, 1H), 6,29 (s, 1H), 5,6 až 5,5 (m, 1H), 4,19 až 4,14 (m, 2H), 4,08 (d, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,87 až 3,65 (m, 6H), 3,77 (s, 3H), 3,37 až 2,98 (m, 8H), 2,50 (d, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,96 (d, 1H), 1,87 (s, 3H), 1,81 až 1,75 (m, 1H), 0,96 (d, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 185,7, 180,9, 178,9, 172,0, 155,7, 147,1, 143,2, 142,4, 136,0, 135,1, 130,5, 129,9, 129,3, 128,5, 126,9, 124,4, 120,2, 117,4, 116,3, 77,1, 60,9, 58,6, 56,2, 55,8, 55,0, 54,6, 53,5, 41,7, 40,3, 25,1, 24,5, 18,4, 15,8, 8,7.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 684,8, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 685,2.

Příklad 33



- 5 Roztok sloučeniny 3 (0,143 g, 0,208 mmol) ve směsi HCl/dioxan (150 ml) o koncentraci HCl 6,5 mmol/l (6,5 M) se při teplotě 23 °C míchá po dobu 6 hodin. K reakční směsi se poté přidá toluen (3 ml) a organická vrstva se oddělí dekantací. Zbytek se rozdělí mezi nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (3 ml) a CHCl_3 (3 x 3 ml). Organické vrstvy se vysuší a zakoncentrují se, což vede ke vzniku směsi sloučeniny 4 a 6 (4:6 90:10), která při stání pomalu cyklizuje na sloučeninu 6.

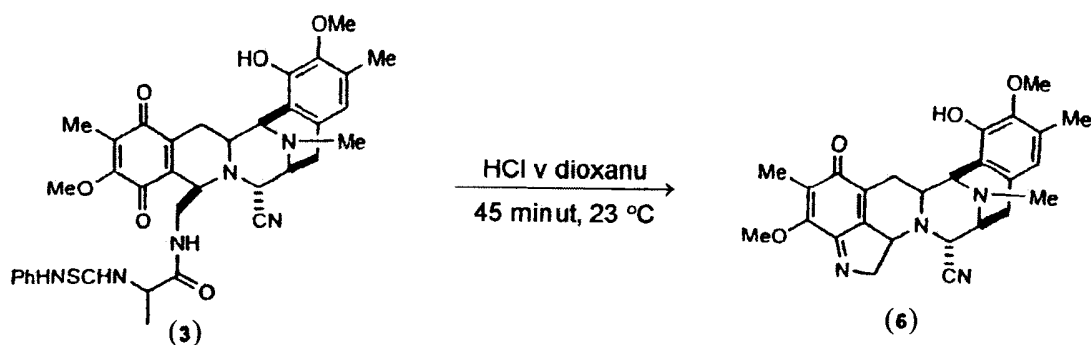
Rf: 0,4 (ethylacetát:methanol 5:1, oxid křemičitý).

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,45 (s, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,02 (d, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,79 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,35 (m, 1H), 3,20 až 3,00 (m, 3H), 2,87 (d, 1H), 2,75 (d, 1H), 2,43 (d, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 1,93 (s, 3H), 1,72 až 1,5 (m, 3H).

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

20

Příklad 34



- 25 Roztok sloučeniny 3 (0,143 g, 0,208 mmol) ve směsi HCl/dioxan (150 ml) o koncentraci HCl 6,5 mmol/l (6,5 M) se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1 hodiny. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , ethylacetát:methanol:triethylamin 100:25:0,1), což vede ke vzniku směsi sloučeniny 6 (83 %) ve formě žluté pevné látky.

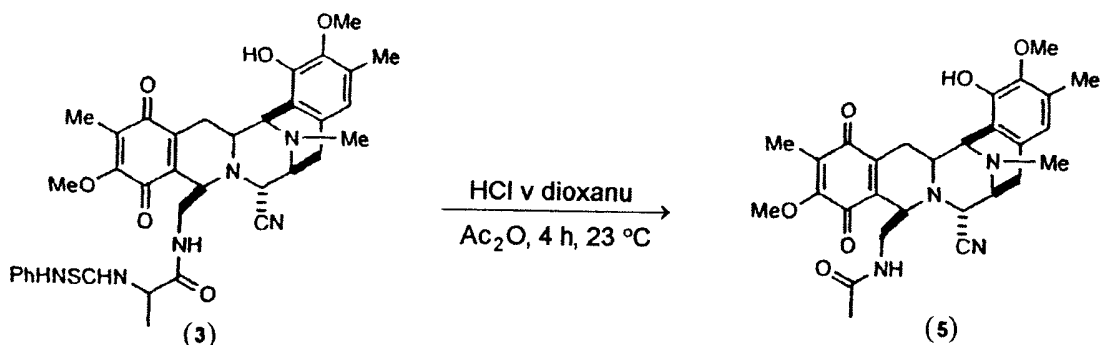
- 30 Rf: 0,26 (ACN:H₂O 3:2, RP-C18).

- 35 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 6,46 (s, 1H), 5,9 (bs, 1H), 4,67 (dd, $J = 18,3$ Hz, $J = 7,8$ Hz, 1H), 4,24 (d, 1H), 4,16 (s, 3H), 3,93 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,8 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,45 (m, 2H), 3,08 (dd, $J = 17,9$ Hz, $J = 3,6$ Hz, 1H), 2,78 (m, 1H), 2,55 (d, 1H), 2,3 (m, 1H), 2,3 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,90 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 186,2, 162,1, 154,9, 146,9, 145,3, 143,0, 130,1, 129,4, 128,1, 125,0, 121,4, 116,4, 116,2, 66,6, 60,7, 60,7, 60,1, 59,6, 58,8, 55,6, 54,9, 41,9, 25,3, 24,7, 15,7, 8,9.

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

Příklad 35



10 K roztoku sloučeniny **3** (2,38 g, 3,47 mmol) v dioxanu (5 ml) se přidá HCl o koncentraci 5,3 mol/l (5,3 M) v dioxanu (34 ml) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 45 minut. Poté se ke směsi přidá Ac_2O (51 ml, 539,5 mmol) a míchá se po dobu 4 hodin. Reakční směs se ochladí na teplotu 0 °C a při této teplotě se rozdělí mezi nasycený vodný roztok Na_2CO_3 (300 ml) a ethylacetát (300 ml). Organická fáze se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a zakoncentruje se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem CH_2Cl_2 až CH_2Cl_2 :-ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **5** (1,75 g, 97 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,53 (ACN: H_2O 3:2, RP-C18).

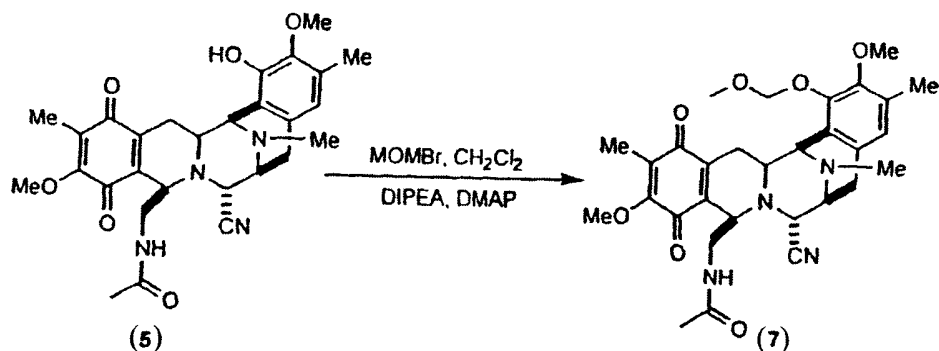
20 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,51 (s, 1H), 5,98 (bs, 1H), 4,84 (dd, 1H), 4,17 (d, 1H), 4,00 (d, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,85 (bs, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,70 (d, 1H), 3,23 (m, 1H), 3,11 (dd, 1H), 3,09 (m, 1H), 2,93 (m, 2H), 2,44 (d, 1H), 3,67 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,60 až 1,50 (m, 2H), 1,29 (s, 3H).

25 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 185,9, 180,8, 169,9, 160,2, 156,2, 147,0, 143,1, 140,4, 136,1, 130,6, 129,6, 127,9, 120,4, 117,2, 61,0, 60,7, 58,6, 56,1, 55,7, 55,1, 54,3, 41,8, 41,1, 25,7, 23,9, 22,2, 15,7, 8,7.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6$: 520,6, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 521,1.

30

Příklad 36



K roztoku sloučeniny **5** (1,75 g, 3,36 mmol) v CH_2Cl_2 (17 ml) se při teplotě 0°C přidá diisopropylethylamin (11,71 ml, 67,23 mmol), DMAP (20 mg, 0,17 mmol) a brommethylether (4,11 ml, 50,42 mmol). Po uplynutí 6 hodin se při teplotě 23°C reakční směs rozdělí mezi CH_2Cl_2 (50 ml) a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (25 ml). Organická vrstva se vysuší síranem sodným a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **7** (1,32 g, 70 %) ve formě žluté pevné látky.

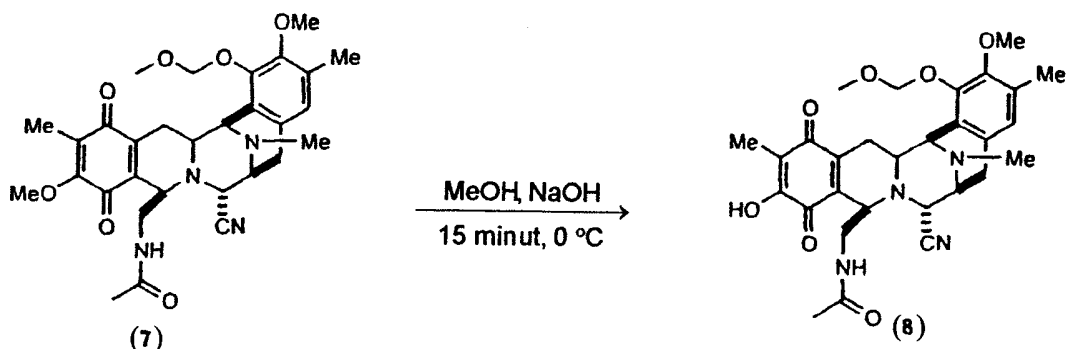
Rf: 0,34 (ACN: H_2O 3:2, RP-C18).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,74 (s, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,82 (m, 1H), 4,22 (d, 1H), 4,00 (s, 3H), 4,0 (m, 1H), 3,83 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,4 (m, 1H), 3,2 až 2,95 (m, 6H), 2,43 (d, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,89 (s, 3H), 1,5 až 1,4 (m, 2H), 1,31 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 185,9, 180,7, 169,6, 156,2, 148,9, 148,5, 140,3, 136,2, 131,3, 130,1, 127,7, 124,6, 123,7, 117,3, 99,5, 99,2, 60,9, 59,7, 58,8, 57,7, 56,4, 55,7, 55,0, 54,2, 51,0, 41,0, 40,5, 25,5, 23,9, 22,3, 19,3, 15,6, 14,6, 8,6.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_7$: 564,6, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 565,3.

Příklad 37



K roztoku sloučeniny **7** (0,37 g, 0,65 mmol) v methanolu (74 ml) se při teplotě 0°C přidá hydroxid sodný (130 ml) o koncentraci 1 mol/l (1 M). Reakční směs se míchá po dobu 15 minut a poté se rychle ochladí na teplotu 0°C HCl o koncentraci 6 mol/l (6 M) na pH = 5. Reakční směs se extrahuje ethylacetátem (3 x 50 ml), organické vrstvy se vysuší síranem sodným a zakonzentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **8** (232 mg, 65 %) ve formě žlutého oleje.

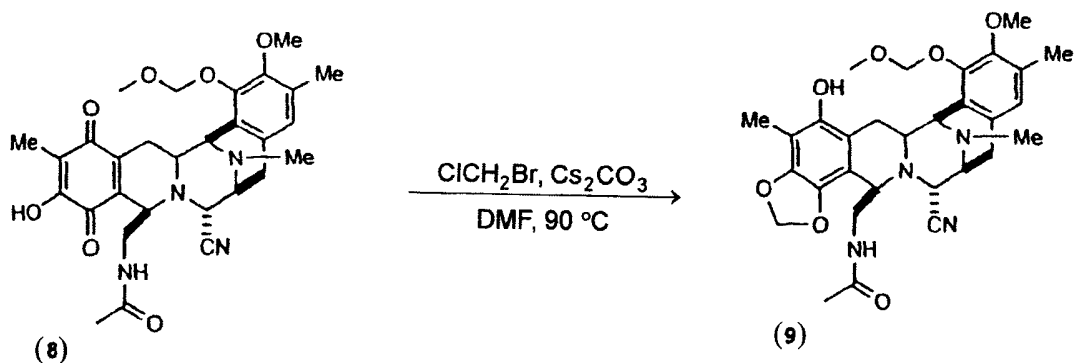
Rf: 0,5 (ACN: H_2O 3:2, RP-C18).

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

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 185,3, 180,6, 175,9, 170,1, 151,5, 148,9, 148,6, 143,3, 133,7, 131,5, 129,9, 124,7, 123,5, 117,1, 117,0, 99,2, 59,8, 58,7, 57,8, 56,3, 55,3, 54,9, 54,3, 41,5, 40,7, 29,6, 25,5, 24,4, 22,2, 20,7, 15,7, 8,0.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_7$: 550,6, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 551,2.

Příklad 38



- 5 K odplyněnému roztoku sloučeniny **8** (240 mg, 0,435 mmol) v DMF (30 ml) se přidá 10% Pd/C (48 mg) a reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny ve vodíkové atmosféře (atmosférický tlak). Reakční směs se přefiltruje, jako bezbarvý roztok, v argonové atmosféře přes podložku z celitu do baňky obsahující bezvodý Cs_2CO_3 (240 mg, 0,739 mmol). Poté se ke směsi přidá bromchlor-
- 10 hodin. Reakční směs se ochladí, přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH_2Cl_2 . Organická vrstva se zakoncentruje a vysuší síranem sodným, což vede ke vzniku sloučeniny **9** ve formě hnědého oleje, který se bez dalšího čištění použije v následujícím kroku.

Rf: 0,36 (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:5).

15

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,71 (s, 1H), 5,89 (d, 1H), 5,81 (d, 1H), 5,63 (bs, 1H), 5,33 (d, 1H), 5,17 (d, 1H), 4,97 (m, 1H), 4,20 (d, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,65 (s, 6H), 3,59 až 3,47 (m, 4H), 3,37 až 3,27 (m, 2H), 3,14 až 2,97 (m, 2H), 2,62 (d, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,72 (m, 1H), 1,36 (s, 3H).

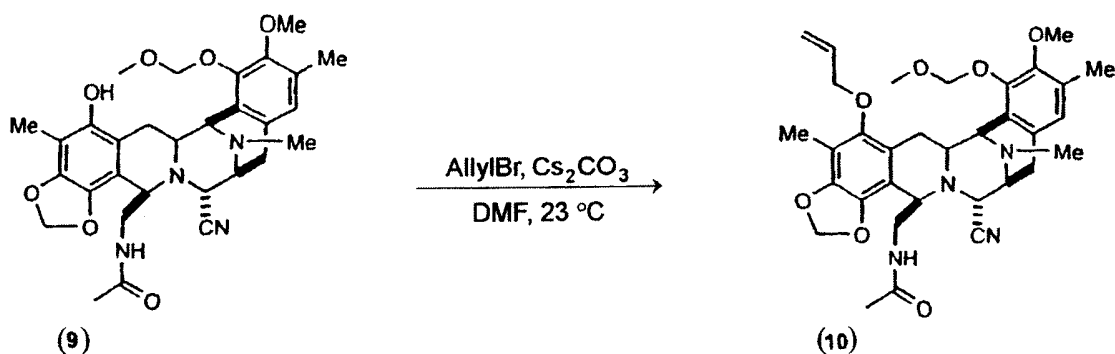
20

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169,8, 149,1, 147,4, 145,5, 136,2, 130,9, 130,8, 125,0, 122,9, 117,7, 112,6, 111,8, 106,4, 100,8, 99,8, 59,8, 58,9, 57,7, 56,6, 56,4, 55,5, 55,2, 41,6, 40,1, 29,6, 25,9, 25,0, 22,6, 15,6, 8,8.

25

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{SiN}_4\text{O}_7$: 564,6, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 565,3.

Příklad 39



30

- Do baňky obsahující sloučeninu **9** (245 mg, 0,435 mmol) v DMF (4 ml) se při teplotě 0 °C přidá uhličitán cesný (425 mg, 1,30 mmol) a allylbromid (376 ml, 4,35 mmol) a směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1 hodiny. Reakční směs se přefiltruje přes podložku z celitu a rozdělí se
- 35 mezi CH_2Cl_2 (25 ml) a H_2O (10 ml). Organická fáze se vysuší síranem sodným, zakoncentruje se

destilací za sníženého tlaku a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , CHCl_3 :ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **10** (113 mg, 43 %) ve formě žlutého oleje.

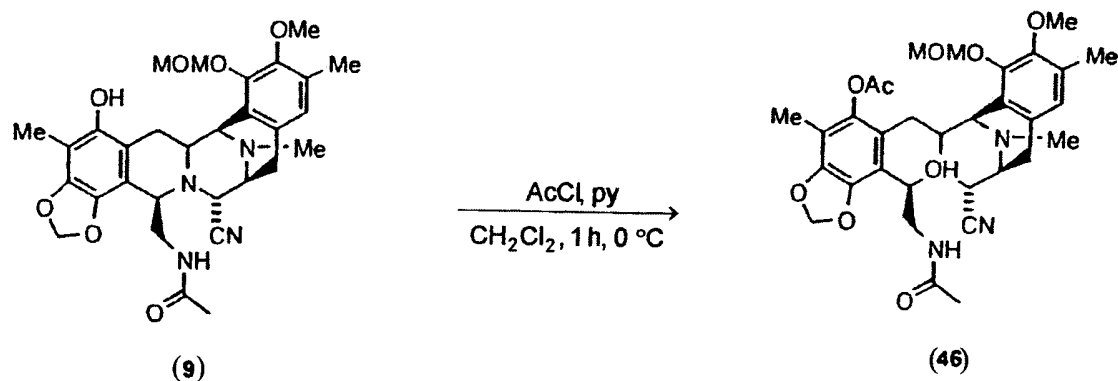
Rf: 0,36 (hexan:ethylacetát 1:5).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,74 (s, 1H), 6,3 až 6,0 (m, 1H), 5,94 (d, 1H), 5,87 (d, 1H), 5,43 až 5,36 (m, 2H), 5,22 (s, 2H), 5,00 (m, 1H), 4,22 (m, 1H), 4,17 až 4,01 (m, 1H), 3,98 (m, 2H), 3,71 až 3,67 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,62 až 3,51 (m, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,39 až 3,37 (m, 1H), 3,31 až 3,26 (m, 3H), 3,09 (dd, 1H), 2,56 (d, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,24 až 2,10 (m, 1H), 1,82 až 1,73 (m, 1H), 1,24 (bs, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169,4, 148,8, 148,3, 139,1, 133,7, 130,9, 130,3, 125,2, 120,2, 117,7, 113,1, 112,6, 101,3, 99,3, 74,1, 59,7, 59,3, 57,8, 57,0, 56,1, 56,1, 55,2, 41,6, 41,0, 40,9, 29,7, 26,3, 22,5, 15,6, 9,3.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_7$: 604,7, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 605,3.

Příklad 40



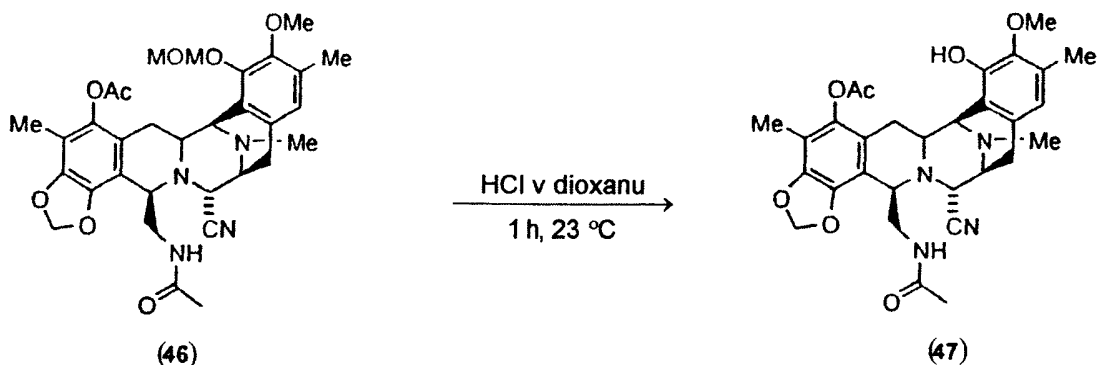
K roztoku sloučeniny **9** (22 mg, 0,039 mmol) v CH_2Cl_2 (0,2 ml) se při teplotě 0°C přidá acetylchlorid (2,79 ml, 0,039 mmol) a pyridin (3,2 ml, 0,039 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku, což vede ke vzniku sloučeniny **46** (22 mg, 93 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,4 (hexan:ethylacetát 1:5).

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

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

Příklad 41



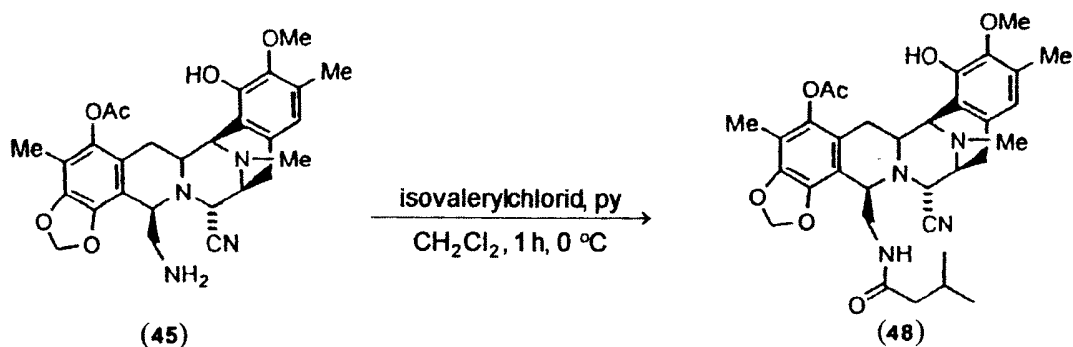
5 K roztoku sloučeniny **46** (8 mg, 0,013 mmol) v dioxanu (0,1 ml) se při směs HCl/dioxan (0,5 ml) o koncentraci HCl 5,3 mol/l (5,3 N) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1 hodiny. Poté se roztok naředí CH₂Cl₂ (5 ml) a promyje se HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku, což vede ke vzniku sloučeniny **47** (5 mg, 70 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,4 (hexan:ethylacetát 1:5).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,51 (s, 1H), 5,97 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 4,97 (bs, 1H), 4,11 (bs, 1H), 4,04 až 4,02 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,65 (d, J = 2,1 Hz, 2H), 3,56 až 3,30 (m, 2H), 3,04 (dd, J₁ = 7,5 Hz, J₂ = 18 Hz, 1H), 2,80 (d, J = 14,4 Hz, 1H), 2,59 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,76 (dd, J₁ = 12,0 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H), 1,33 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

20 ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₀H₃₄N₄O₇: 562,61, naměřená (M+H)⁺: 563,3.

Příklad 42



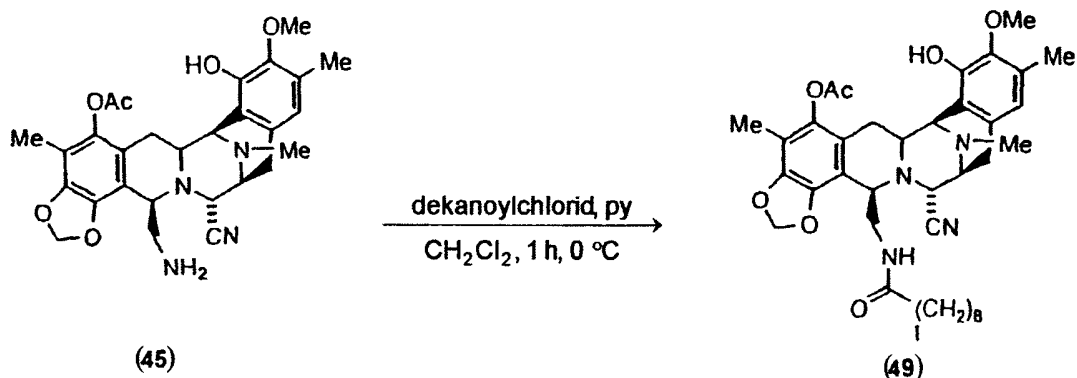
25 K roztoku sloučeniny **45** (10 mg, 0,0192 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) se při teplotě 0 °C přidá isovalerylchlorid (2,34 ml, 0,0192 mmol) a pyridin (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH₂Cl₂ (5 ml) a promyje HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **48** (11 mg, 95 %) ve formě bílé pevné látky.

35 Rf: 0,12 (hexan:ethylacetát 1:2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,50 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5m75 (s, 1H), 5,02 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,10 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,06 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,02 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,76 až 3,71 (m, 1H), 3,86 až 3,28 (m, 3H), 3,04 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,3$ Hz, 1H), 2,78 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 2,55 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 2,32 (s, 6H), 2,26 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,84 až 1,68 (m, 2H), 1,36 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 2,32 (s, 6H), 2,26 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,84 až 1,68 (m, 2H), 1,36 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 0,69 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,62 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

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

Příklad 43



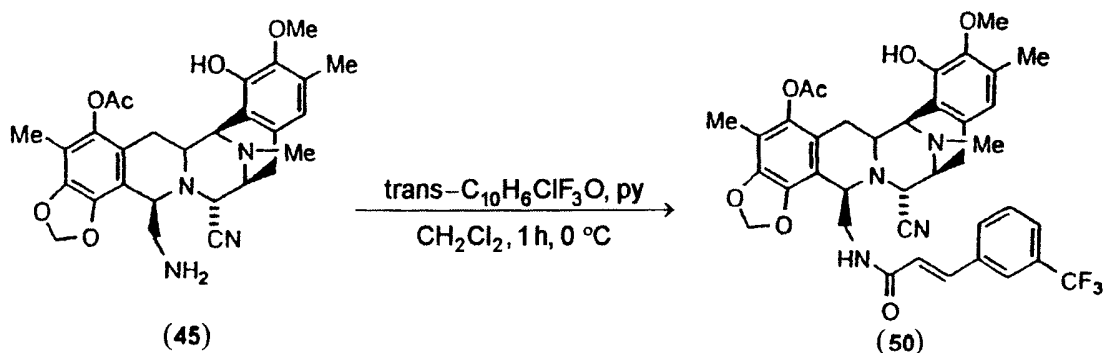
K roztoku sloučeniny **45** (10 mg, 0,0192 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě $0\text{ }^\circ\text{C}$ přidá isovalerylchlorid (3,98 ml, 0,0192 mmol) a pyridin (1,55 ml, 0,0192 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (5 ml) a promyje HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **49** (12,4 mg, 96 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,7 (ethylacetát:methanol 10:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,50 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,73 (s, 1H), 5,08 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,10 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,65 až 3,61 (m, 1H), 3,40 až 3,27 (m, 3H), 3,03 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,6$ Hz, 1H), 2,78 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 2,57 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,79 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 16,5$ Hz, 1H), 1,73 až 1,42 (m, 4H), 1,33 až 1,18 (m, 10H), 1,03 (m, 2H), 0,87 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H).

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

Příklad 44



K roztoku sloučeniny **45** (14,5 mg, 0,0278 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0°C přidá *trans*-3-trifluormethylcinnamoylchlorid (4,76 ml, 0,0278 mmol) a pyridin (2,55 ml, 0,0278 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (5 ml) a promyje HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **50** (18,7 mg, 94 %) ve formě bílé pevné látky.

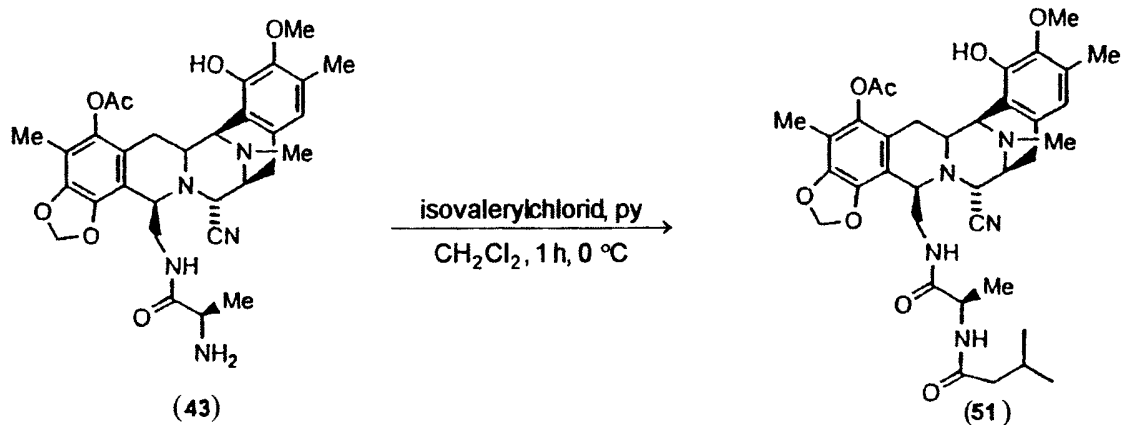
Rf: 0,64 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,74 až 7,55 (m, 4H), 7,23 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 6,34 (s, 1H), 6,12 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 6,07 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,96 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 4,39 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,07 až 4,05 (m, 1H), 3,81 (bs, 1H), 3,46 až 3,51 (m, 3H), 3,42 (s, 3H), 3,09 (brd, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,94 až 2,85 (m, 2H), 2,74 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,38 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,80 (s, 3H), 1,84 až 1,75 (m, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 168,7, 165,3, 146,5, 144,7, 142,6, 140,6, 138,0, 135,9, 131,0, 130,9, 129,1, 128,6, 125,8, 125,7, 124,5, 124,4, 122,7, 121,2, 117,8, 116,5, 113,0, 112,0, 101,7, 60,4, 59,1, 56,5, 56,4, 55,6, 55,3, 41,8, 40,3, 26,6, 25,1, 20,3, 15,4, 9,3.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{38}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_7$: 718,72, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 719,3.

Příklad 45



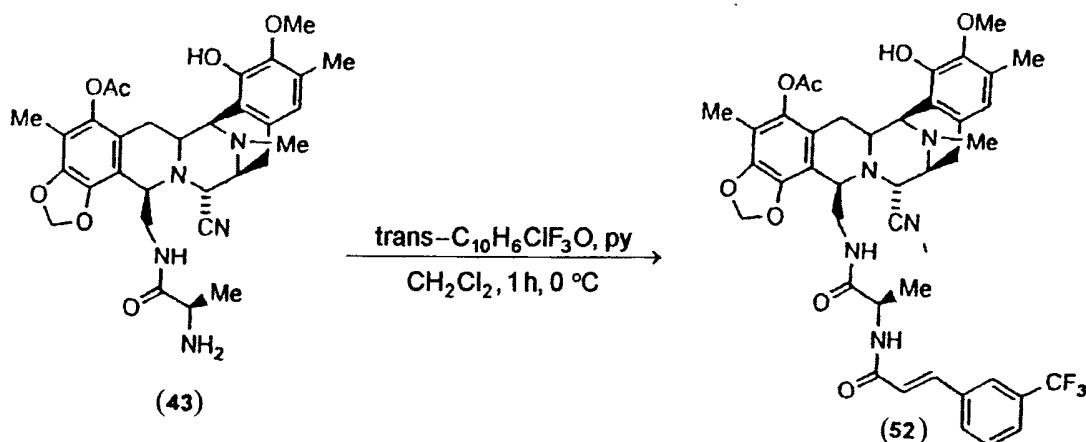
K roztoku sloučeniny **43** (33 mg, 0,0557 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) se při teplotě 0°C přidá isovalerylchlorid (6,79 ml, 0,0557 mmol) a pyridin (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (5 ml) a promyje se HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **51** (34 mg, 91 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,09 (hexan:ethylacetát 1:2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,46 (s, 1H), 6,10 (bs, 1H), 5,99 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,90 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,30 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,10 až 4,05 (m, 3H), 3,81 (bs, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,54 (bs, 1H), 3,38 až 3,36 (m, 1H), 3,29 až 3,21 (m, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,95 až 1,90 (m, 3H), 0,87 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,76 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{36}H_{45}N_5O_8$: 675,77, naměřená $(M+H)^+$: 676,3.

Příklad 46



- 5 K roztoku sloučeniny **43** (33 mg, 0,0557 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) se při teplotě 0°C přidá *trans*-3-trifluormethylcinnaoylchlorid (9,52 ml, 0,0557 mmol) a pyridin (4,5 ml, 0,0557 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (5 ml) a promyje se HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:ethylacetát 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **52** (40 mg, 92 %) ve formě bílé pevné látky.
- 10

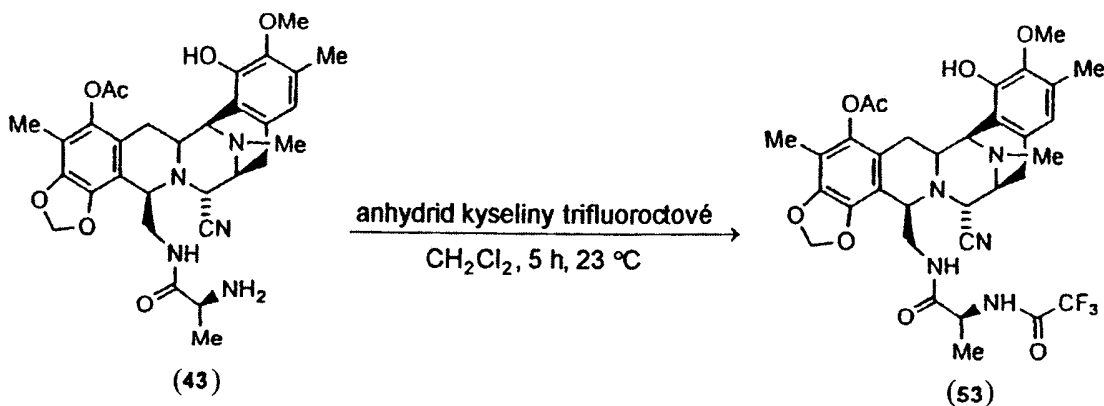
Rf: 0,21 (hexan:ethylacetát 1:2).

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,74 až 7,47 (m, 4H), 6,49 (s, 1H), 6,40 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 6,00 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,90 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,47 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 4,12 až 4,09 (m, 3H), 3,93 (bs, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,59 až 3,58 (m, 1H), 3,38 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,29 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,3$ Hz, 1H), 2,79 až 2,78 (m, 1H), 2,65 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,29 (s, 6H), 2,28 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 1,84 až 1,80 (m, 1H), 0,85 až 0,84 (m, 3H).

- 20 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 171,9, 168,8, 164,4, 146,9, 144,6, 143,0, 140,5, 140,5, 139,3, 135,7, 131,1, 131,0, 129,4, 129,1, 126,0, 124,1, 124,0, 122,4, 121,1, 120,7, 120,6, 117,7, 116,9, 112,8, 112,0, 101,6, 60,6, 59,3, 57,1, 56,3, 55,9, 55,2, 49,0, 41,7, 49,9, 26,5, 25,1, 20,2, 18,4, 15,7, 9,3.

- 25 ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{41}H_{42}F_3N_5O_8$: 789,8, naměřená $(M+H)^+$: 790,3.

Příklad 47



K roztoku sloučeniny **43** (10 mg, 0,0169 mmol) v CH₂Cl₂ (0,2 ml) se při teplotě 23 °C přidá anhydrid kyseliny trifluoroctové (2,38 µl, 0,0169 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 5 hodin, poté se roztok naředí CH₂Cl₂ (5 ml) a promyje se HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát 3:2), což vede ke vzniku sloučeniny **53** (10,7 mg, 93 %) ve formě bílé pevné látky.

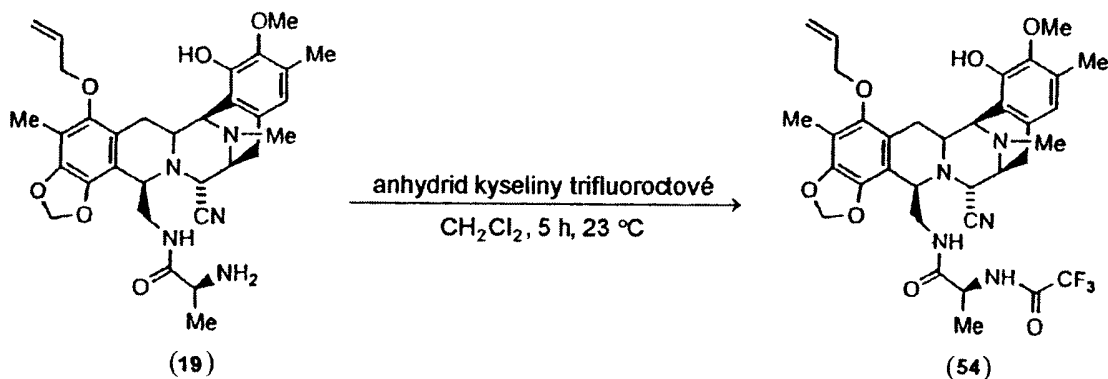
Rf: 0,57 (ethylacetát:methanol 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 6,45 (s, 1H), 6,00 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,87 (bs, 1H), 5,32 (bs, 1H), 4,12 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 4,08 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 3,78 až 3,56 (m, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,40 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,25 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,00 (dd, J₁ = 8,4 Hz, J₂ = 18,0 Hz, 1H), 2,77 (dd, J₁ = 2,1 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H), 2,68 (d, J = 18,6 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,75 (dd, J₁ = 11,4 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H), 0,69 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,1, 168,6, 147,0, 144,6, 143,0, 140,6, 140,4, 131,0, 129,4, 120,9, 120,7, 117,6, 116,8, 112,4, 112,1, 101,6, 60,5, 59,0, 57,1, 56,3, 55,6, 55,2, 48,7, 41,6, 39,4, 26,5, 24,9, 20,2, 17,8, 15,4, 9,2.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₃H₃₆F₃N₅O₈: 687,63, naměřená (M+H)⁺: 688,66.

Příklad 48



K roztoku sloučeniny **19** (11 mg, 0,0169 mmol) v CH₂Cl₂ (0,2 ml) se při teplotě 23 °C přidá anhydrid kyseliny trifluoroctové (2,38 µl, 0,0169 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 5 hodin, poté se roztok naředí CH₂Cl₂ (5 ml) a promyje se HCl (3 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:ethylacetát 3:2), což vede ke vzniku sloučeniny **54** (10,7 mg, 93 %) ve formě bílé pevné látky.

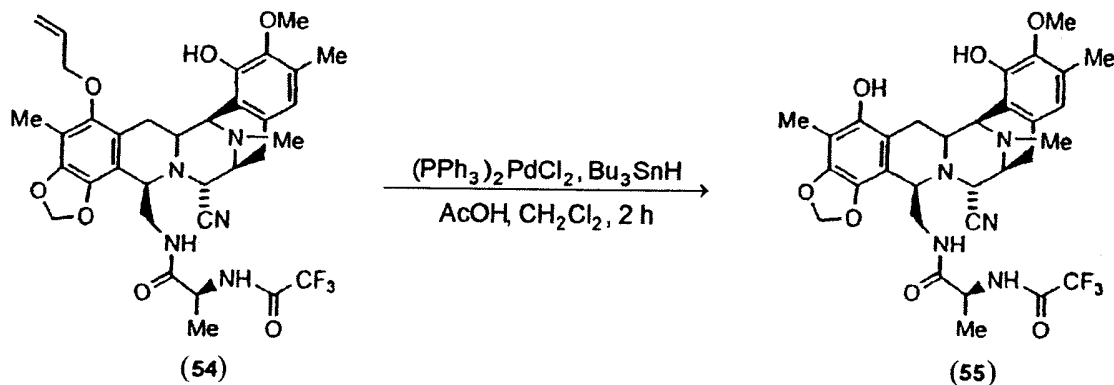
Rf: 0,6 (ethylacetát:methanol 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,33 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,04 (m, 1H), 5,95 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,84 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,32 (m, 2H), 5,21 (m, 1H), 4,11 (m, 4H), 3,73 (s, 3H), 3,64 (m, 2H), 3,51 (m, 1H), 3,37 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,22 (m, 2H), 3,03 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18,3 Hz, 1H), 2,60 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,86 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 16,2 Hz, 1H), 0,82 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,0, 156,0, 148,4, 147,1, 144,3, 143,0, 138,7, 133,8, 130,5, 129,4, 120,6, 120,4, 117,6, 117,5, 117,0, 113,5, 112,5, 112,4, 101,1, 74,1, 66,8, 60,4, 59,3, 56,9, 56,6, 56,3, 55,4, 48,7, 41,6, 40,1, 26,2, 25,0, 17,6, 15,4, 9,1.

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

Příklad 49



- 10 K roztoku sloučeniny **54** (100 mg, 0,415 mmol) v CH_2Cl_2 (4 ml) se při teplotě 23 °C přidá kyselina octová (40 ml), $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$ (8,4 mg, 0,012 mmol) a Bu_4SnH (157 ml, 0,56 mmol). Reakční směs se při dané teplotě míchá po dobu 2 hodin a poté se prolije kolonou na rychlou sloupcovou chromatografii (SiO_2 , s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **55** (90 mg, 96 %) ve formě bílé pevné látky.

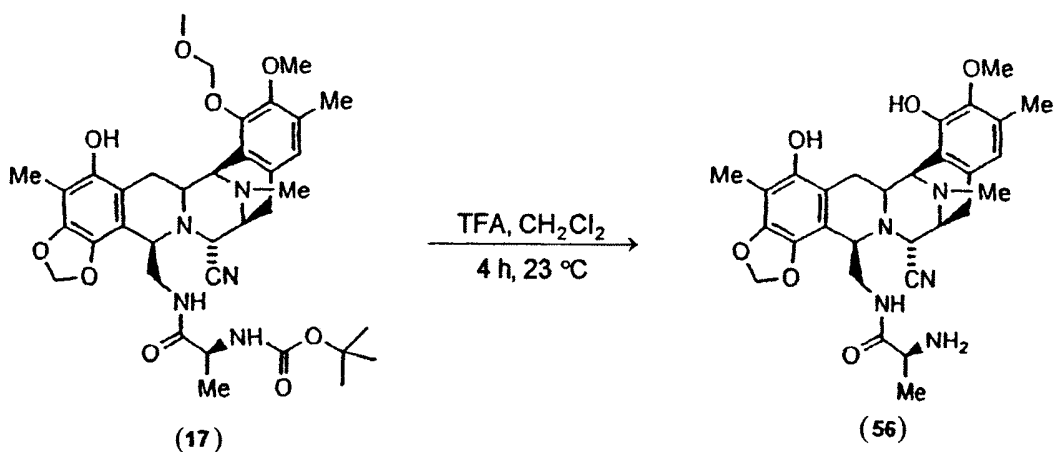
Rf: 0,6 (hexan:ethylacetát 1:2).

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,55 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 5,90 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,82 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,37 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,15 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,04 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,66 až 3,53 (m, 2H), 3,37 až 3,31 (m, 2H), 3,19 až 3,15 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 3,08 až 3,00 (m, 2H), 2,56 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,91 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 0,84 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

- 25 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,1, 156,3, 147,3, 144,9, 144,4, 143,3, 136,7, 130,7, 129,3, 120,6, 117,6, 117,4, 114,4, 112,1, 107,7, 101,0, 85,8, 60,5, 59,3, 56,5, 56,4, 56,2, 55,2, 48,9, 41,6, 40,9, 25,7, 25,3, 18,0, 15,6, 8,7.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$: 645,63, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 646,2.

Příklad 50



K roztoku sloučeniny **17** (200 mg, 0,288 mmol) v CH_2Cl_2 (1,44 ml) se přidá kyselina trifluorotová (888 ml, 11,53 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 4 hodin. Reakční směs se rychle ochladí na teplotu 0 °C nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) a extrahuje se ethylacetátem (2 x 70 ml). Organické vrstvy se vysuší síranem sodným a zakoncentrují se ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **56** (147 mg, 93 %) ve formě bílé pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících reakcích.

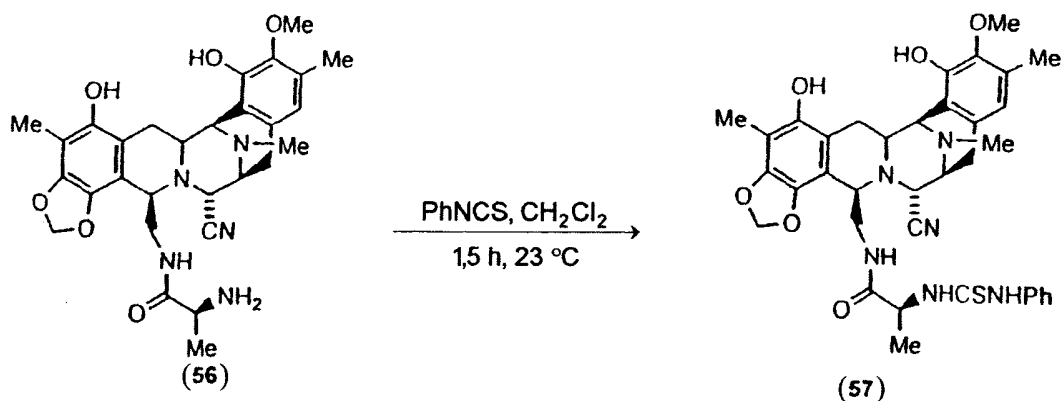
Rf: 0,6 (ethylacetát:methanol 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 6,48 (s, 1H), 5,88 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 5,81 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 4,35 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,15 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 3,99 až 3,98 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,52 až 2,96 (m, 7H), 2,68 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,24 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,85 (dd, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 0,91 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 173,2, 149,1, 145,6, 144,9, 138,0, 132,2, 130,6, 121,4, 119,6, 117,4, 114,3, 109,2, 102,5, 82,3, 60,4, 58,4, 58,3, 57,8, 56,6, 50,1, 42,3, 41,6, 27,8, 26,2, 19,5, 15,5, 9,8.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_6$: 549,62, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 550,3.

Příklad 51



K roztoku sloučeniny **56** (10 mg, 0,018 mmol) v CH_2Cl_2 (0,4 ml) se přidá fenylisothiokyanát (13 ml, 0,109 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 1,5 hodiny. Směs se zakoncentruje ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem hexan až hexan:ethylacetát 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **57** (8 mg, 65 %) ve formě bílé pevné látky.

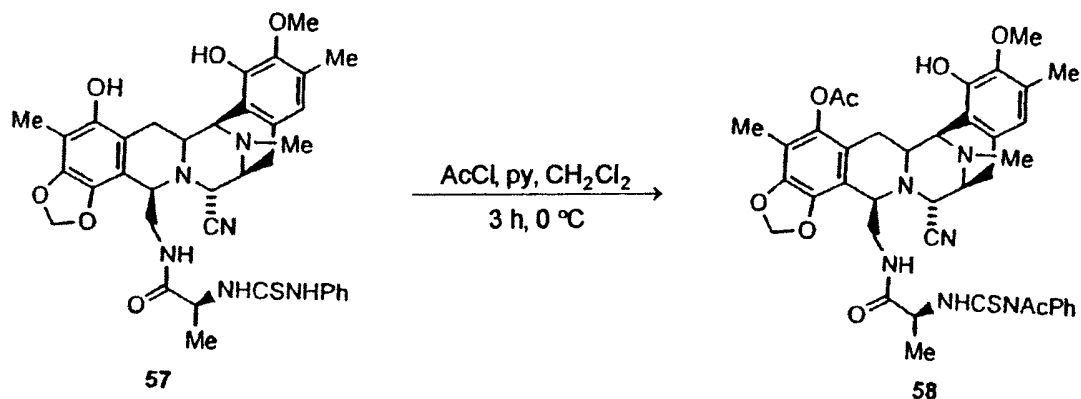
Rf: 0,57 (ethylacetát:methanol 10:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,88 (bs, 1H), 7,41 až 7,36 (m, 2H), 7,27 až 7,22 (m, 1H), 7,02 až 7,00 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 6,71 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,17 (bs, 1H), 5,93 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,83 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,55 (bs, 1H), 5,20 až 5,17 (m, 1H), 4,16 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 4,05 (bs, 1H), 4,02 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,75 až 3,71 (m, 1H), 3,35 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 3,28 až 3,19 (m, 2H), 3,12 až 2,97 (m, 2H), 2,50 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,15 až 2,09 (dd, $J_1 = 11,4$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,95 (s, 3H), 0,88 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 178,5, 171,7, 147,2, 145,0, 144,3, 143,3, 137,0, 135,7, 130,6, 130,4, 129,6, 127,5, 124,3, 120,6, 117,7, 117,2, 115,3, 112,1, 108,3, 100,9, 60,9, 59,5, 56,7, 56,5, 56,2, 55,2, 54,1, 41,7, 41,1, 26,3, 25,4, 18,5, 15,8, 9,0.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}$: 684,81, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 685,3.

Příklad 52



- 5 K roztoku sloučeniny **57** (45 mg, 0,065 mmol) v CH_2Cl_2 (0,5 ml) se při teplotě $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ přidá acetylchlorid (4,67 ml, 0,065 mmol) a pyridin (5,3 ml, 0,065 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 3 hodin, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 40:60), což vede ke vzniku sloučeniny **58** (14 mg, 28 %) ve formě bílé pevné látky.

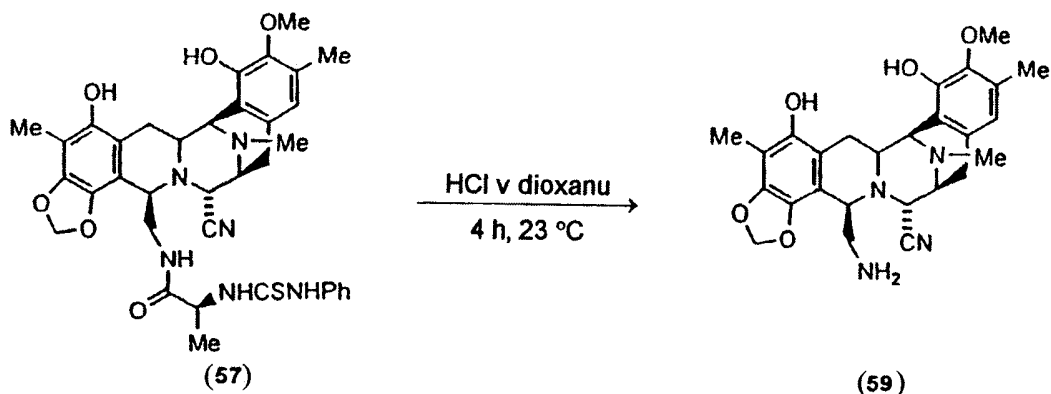
Rf: 0,34 ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 7:15).

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 11,90 (d, $J = 6,6\text{ Hz}$, 1H), 7,45 až 7,40 (m, 3H), 7,18 až 7,15 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 6,00 (d, $J = 1,2\text{ Hz}$, 1H), 5,89 (d, $J = 1,2\text{ Hz}$, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,37 (t, $J = 4,8\text{ Hz}$, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,23 (bs, 1H), 4,07 (bs, 2H), 3,85 až 3,75 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,46 až 3,41 (m, 2H), 3,24 až 3,20 (m, 1H), 3,00 až 2,95 (m, 1H), 2,87 až 2,75 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,85 (dd, $J_1 = 11,4\text{ Hz}$, $J_2 = 15,6\text{ Hz}$, 1H), 1,66 (s, 3H), 0,82 (d, $J = 6,0\text{ Hz}$, 3H).

- 20 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 182,6, 174,3, 171,0, 146,6, 144,6, 142,7, 142,3, 140,7, 140,2, 131,3, 129,8, 129,3, 128,9, 128,8, 121,5, 120,4, 117,3, 116,6, 112,8, 112,0, 111,3, 101,5, 60,5, 59,0, 57,6, 56,2, 55,9, 55,3, 55,1, 41,6, 39,4, 27,8, 26,5, 24,8, 20,2, 17,1, 15,5, 9,3.

- 25 ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 768,88, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 769,2.

Příklad 53



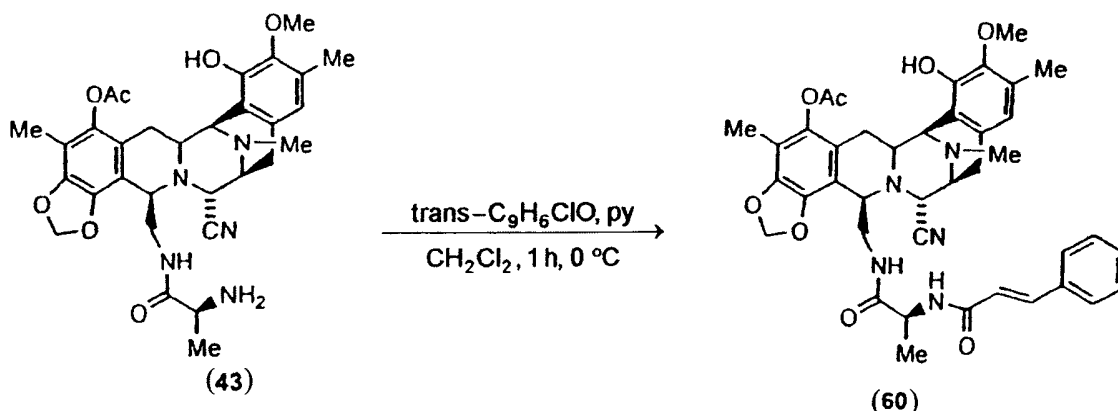
K roztoku sloučeniny **57** (130 mg, 0,189 mmol) v dioxanu (1 ml) se přidá směs HCl/dioxan (1,87 ml) o koncentraci HCl 5,3 mol/l (5,3 N) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 4 hodin. Poté se k této reakční směsi přidá CH₂Cl₂ (15 ml) a H₂O (10 ml) a organická vrstva se oddělí dekantací. Vodná fáze se při teplotě 0 °C zalkalizuje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (60 ml) (pH = 8) a poté se extrahuje ethylacetátem (2 x 50 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným a zakoncentrují se ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **59** (63 mg, 70 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,15 (ethylacetát:methanol 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,67 (s, 1H), 5,99 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,10 (bs, 1H), 4,32 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,25 (dd, J₁ = 3,6 Hz, J₂ = 9,3 Hz, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,71 až 3,64 (m, 2H), 3,50 (dd, J₁ = 2,4 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H), 3,42 až 3,37 (m, 2H), 3,16 (dd, J₁ = 3,6 Hz, J₂ = 12,9 Hz, 1H), 2,57 (dd, J₁ = 9,3 Hz, J₂ = 12,9 Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,91 (dd, J₁ = 12,0 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H).

ESI-MS m/z: vypočítaná C₂₆H₃₀N₄O₅: 478,5, naměřená (M+H)⁺: 479,3.

Příklad 54



K roztoku sloučeniny **43** (20 mg, 0,0338 mmol) v CH₂Cl₂ (0,3 ml) se při teplotě 0 °C přidá cinnamoylchlorid (5,63 mg, 0,0338 mmol) a pyridin (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH₂Cl₂ (10 ml) a promyje se HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:MeOH 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **60** (22 mg, 90 %) ve formě bílé pevné látky.

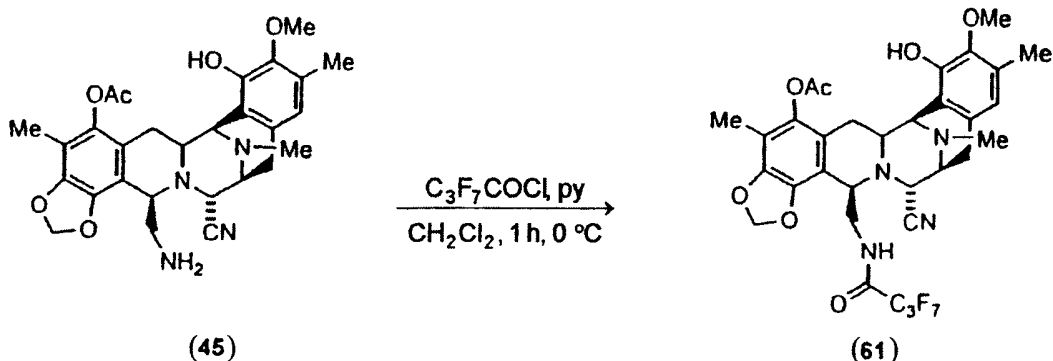
Rf: 0,56 (EtOAc:MeOH 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,51 (s, 1H), 7,50 až 7,47 (m, 2H), 7,36 až 7,35 (m, 2H), 6,43 (s, 1H), 6,36 (brd, J = 15,9 Hz, 2H), 6,01 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,90 (brd, J = 1,5 Hz, 2H), 5,42 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,12 až 4,07 (m, 3H), 3,96 až 3,95 (m, 1H), 3,73 (bs, 3H), 3,58 (bs, 2H), 3,39 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 3,25 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,0 (dd, J₁ = 7,5 Hz, J₂ = 17,7 Hz, 1H), 2,78 (d, J = 15,9 Hz, 1H), 2,67 (d, J = 16,5 Hz, 1H), 2,29 (s, 6H), 2,23 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,82 (dd, J₁ = 11,4 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 0,83 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 172,0, 165,0, 146,9, 144,6, 143,1, 141,0, 140,5, 134,8, 131,0, 129,7, 129,1, 128,8, 127,8, 125,5, 123,8, 123,0, 121,1, 120,5, 117,7, 116,9, 112,8, 112,0, 101,9, 60,6, 59,2, 57,1, 56,4, 55,9, 55,3, 48,8, 41,7, 40,0, 26,5, 25,1, 20,3, 18,5, 15,7, 9,3.

ESI-MS m/z: vypočítává $C_{40}H_{43}N_5O_8$: 721,8, naměřená $(M+H)^+$: 722,3.

Příklad 55



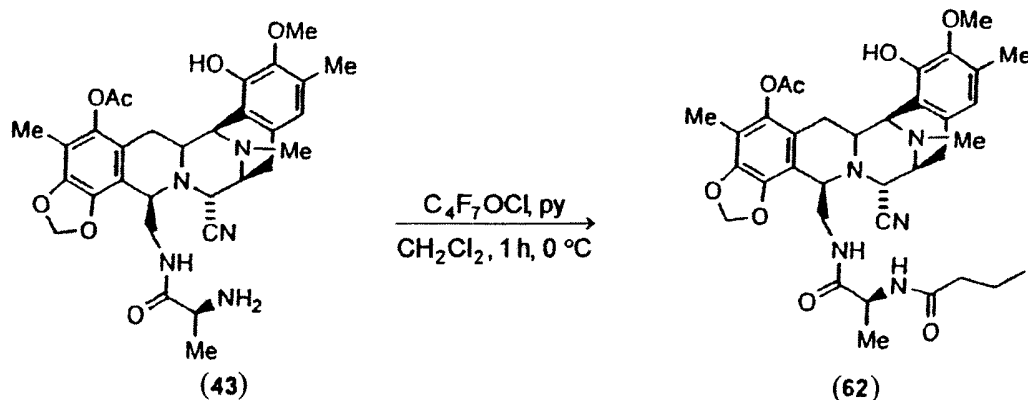
K roztoku sloučeniny **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0 °C přidá heptafluorbutyrylchlorid (5,44 mg, 0,0364 mmol) a pyridin (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje se HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:MeOH 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **61** (11,7 mg, 45 %) ve formě bílé pevné látky.

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

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,46 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,93 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,72 (bs, 1H), 4,13 až 4,11 (m, 2H), 4,0 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,98 až 3,96 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,39 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,39 až 3,28 (m, 2H), 3,09 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,80 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H), 2,46 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,32 (s, 6H), 2,21 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 16,2$ Hz, 1H).

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{32}H_{31}F_7N_4O_7$: 716,6, vypočítaná $(M+H)^+$: 717,2.

Příklad 56



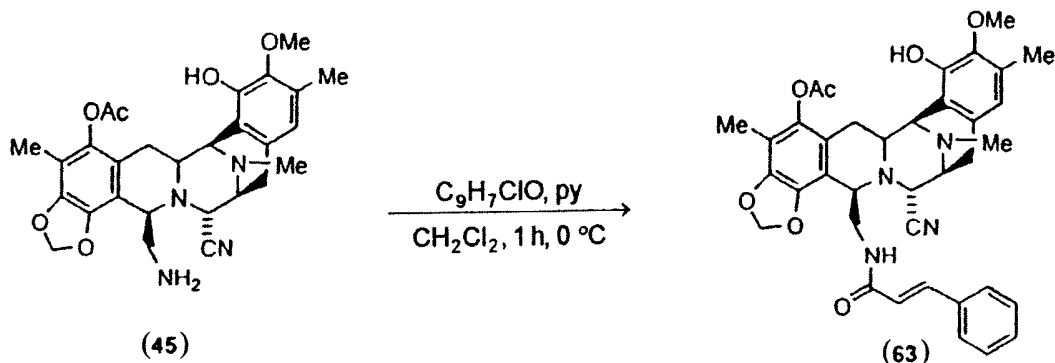
K roztoku sloučeniny **43** (24 mg, 0,004 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0 °C přidá butyrylchlorid (4,15 ml, 0,04 mmol) a pyridin (3,28 ml, 0,04 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje se HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:MeOH 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **62** (24 mg, 90 %) ve formě bílé pevné látky.

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

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,47 (s, 1H), 6,10 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 6,0 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,86 (bs, 1H), 5,31 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,11 až 4,06 (m, 3H), 3,85 až 3,81 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,59 až 3,53 (m, 2H), 3,38 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,27 až 3,22 (m, 1H), 3,0 (dd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 17,4$ Hz, 1H), 2,79 (d, $J = 15,3$ Hz, 1H), 2,63 (d, $J = 17,7$ Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,58 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 0,89 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 0,76 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_8$: 661,64, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 662,30.

Příklad 57



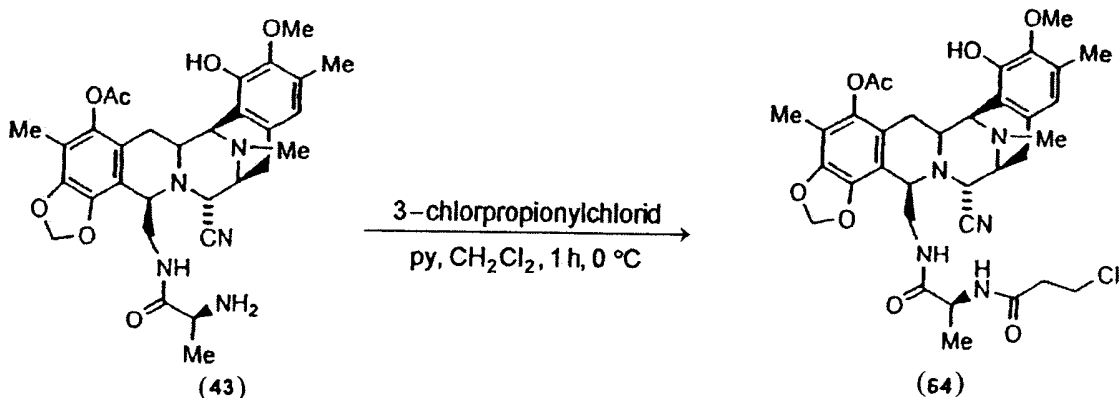
K roztoku sloučeniny **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0°C přidá cinnamoylchlorid (6,06 mg, 0,0364 mmol) a pyridin (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje se HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:MeOH 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **63** (20,1 mg, 85 %) ve formě bílé pevné látky.

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

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,39 až 7,29 (s, 5H), 6,42 (s, 1H), 6,01 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,92 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,73 (bs, 1H), 5,24 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,12 až 4,08 (m, 3H), 3,66 až 3,64 (m, 2H), 3,58 (bs, 3H), 3,36 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 3,29 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,98 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18$ Hz, 1H), 2,33 (s, 6H), 2,29 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,84 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H).

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_7$: 650,72, naměřená $(\text{M}+\text{H})^+$: 651,2.

Příklad 58

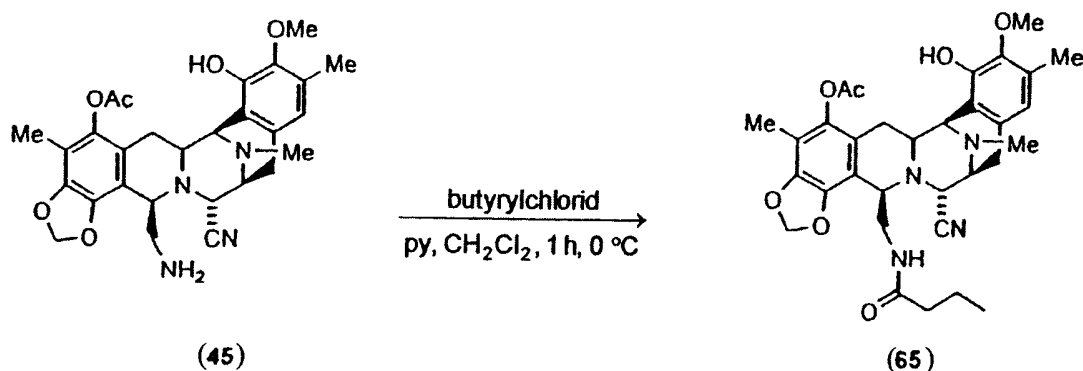


K roztoku sloučeniny **43** (20 mg, 0,0338 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0°C přidá 3-chlorpropionylchlorid (3,22 ml, 0,0338 mmol) a pyridin (2,73 ml, 0,0338 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **64** (20,5 mg, 89 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,32 ($\text{EtOAc}:\text{hexan}$ 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,48 (s, 3H), 6,28 (m, 1H), 5,99 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,86 (bs, 1H), 5,31 (m, 1H), 4,08 až 4,07 (m, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,72 až 3,53 (m, 5H), 3,39 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,24 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,00 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 18,0$ Hz, 1H), 2,79 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H), 2,50 (t, $J = 6,3$ Hz, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,0 (s, 3H), 1,79 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 14,8$ Hz, 1H), 0,81 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H).

Příklad 59



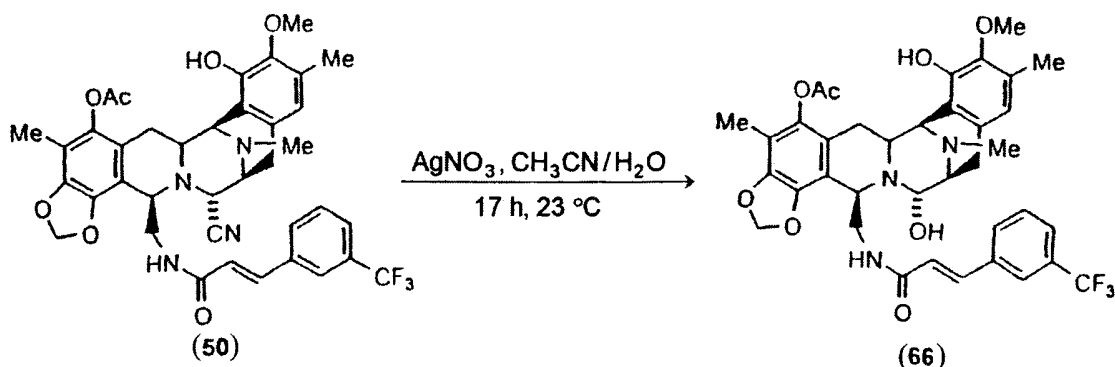
K roztoku sloučeniny **45** (19 mg, 0,0364 mmol) v CH_2Cl_2 (0,3 ml) se při teplotě 0°C přidá butyrylchlorid (3,78 mg, 0,0364 mmol) a pyridin (2,95 ml, 0,0364 mmol). Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny, poté se roztok naředí CH_2Cl_2 (10 ml) a promyje HCl (5 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Organická vrstva se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 20:1), což vede ke vzniku sloučeniny **65** (19 mg, 87 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,60 ($\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 5:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,50 (s, 1H), 5,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,01 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,10 až 4,09 (m, 1H), 4,06 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,03 až 4,02 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,67 až 3,60 (m, 1H), 3,42 až 3,35 (m, 2H), 3,29 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,02 (dd, $J_1 = 7,8$ Hz, $J_2 = 17,7$ Hz, 1H), 2,79 (d, $J = 14,1$ Hz, 1H), 2,56 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 1,78 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,63 (s, 3H), 1,53 až 1,46 (m, 2H), 1,28 až 1,16 (m, 2H), 0,68 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

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

Příklad 60



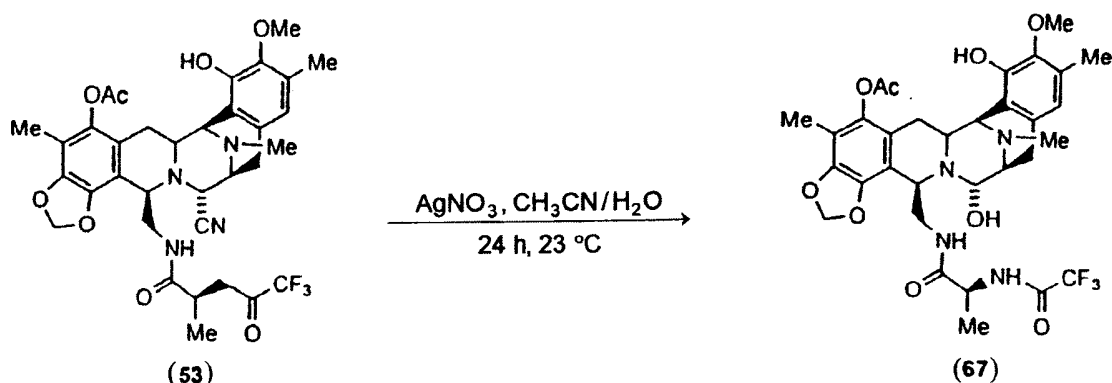
K roztoku sloučeniny **50** (31,7 mg, 0,044 mmol) ve směsi $\text{CH}_2\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO_3 (225 mg, 1,32 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 17 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO_3 (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **66** (16 mg, 51 %) ve formě bílé pevné látky.

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

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,66 až 7,42 (m, 4H), 7,20 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 5,97 (b, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,90 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,76 (bs, 1H), 5,28 (bs, 1H), 4,54 (bs, 1H), 4,42 (bs, 1H), 4,00 (bs, 1H), 3,68 až 3,57 (m, 4H), 3,47 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 2,74 (d, $J = 17,1$ Hz, 1H), 2,48 (d, $J = 18,6$ Hz, 1H), 2,32 (s, 6H), 2,28 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,76 (dd, $J_1 = 12,0$ Hz $J_2 = 16,2$ Hz, 1H).

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_8$: 709, naměřená ($\text{M}^+ - 17$): 692,3.

Příklad 61



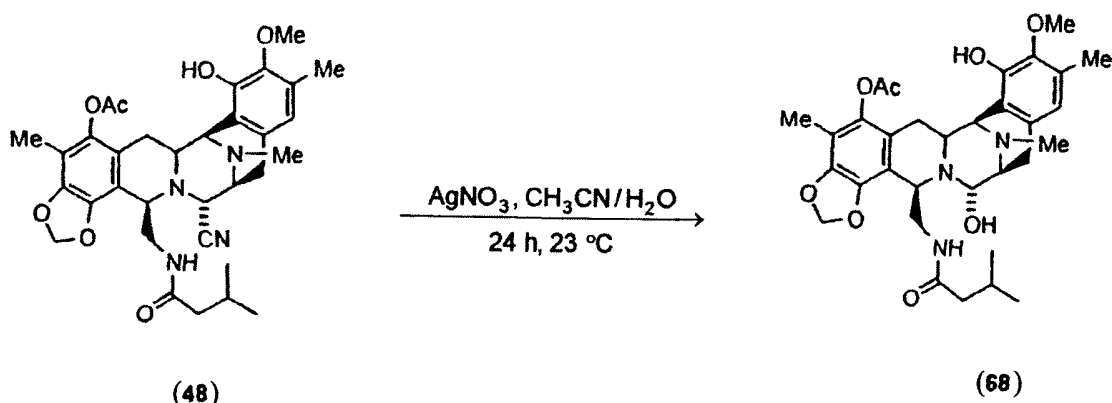
K roztoku sloučeniny **53** (57 mg, 0,0828 mmol) ve směsi $\text{CH}_2\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO_3 (650 mg, 3,81 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 24 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO_3 (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **67** (28 mg, 50 %) ve formě bílé pevné látky.

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

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,47 (s, 1H), 5,97 (s, 1H), 5,88 (s, 1H), 5,35 (bs, 1H), 4,51 (bs, 1H), 4,41 (bs, 1H), 4,12 až 4,05 (m, 1H), 4,00 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,64 (bs, 1H), 3,46 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 3,34 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 3,18 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 2,95 (dd, J₁ = 8,4 Hz, J₂ = 18,3 Hz, 1H), 2,70 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 2,48 (d, J = 17,7 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,68 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 0,86 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₂H₃₇F₃N₄O₉: 678,66, naměřená (M⁺-17): 661,2.

Příklad 62

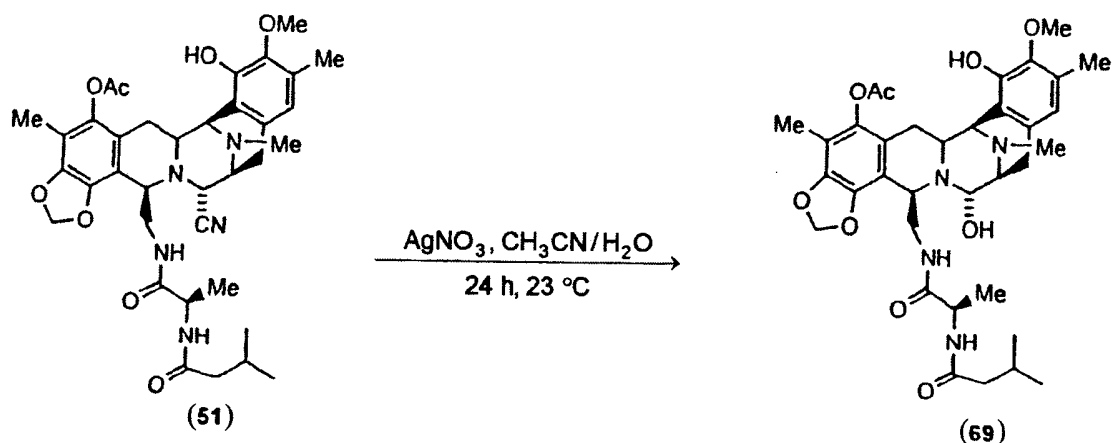


K roztoku sloučeniny **48** (32 mg, 0,0529 mmol) ve směsi CH₃CN/H₂O (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO₃ (270 mg, 1,58 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 24 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO₃ (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH₂Cl₂ (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:MeOH 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **68** (18 mg, 56 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,40 (EtOAc:MeOH 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,50 (s, 1H), 5,95 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,88 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,23 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,45 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,38 (s, 1H), 4,01 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,41 až 3,37 (m, 1H), 3,17 až 3,15 (m, 1H), 2,96 (dd, J₁ = 7,8 Hz, J₂ = 18,0 Hz, 1H), 2,70 (d, J = 15,3 Hz, 1H), 2,40 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 2,30 (s, 6H), 2,27 (s, 3H), 1,76 až 1,65 (m, 1H), 1,35 až 1,25 (m, 2H), 0,89 až 0,82 (m, 1H), 0,69 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,58 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

Příklad 63

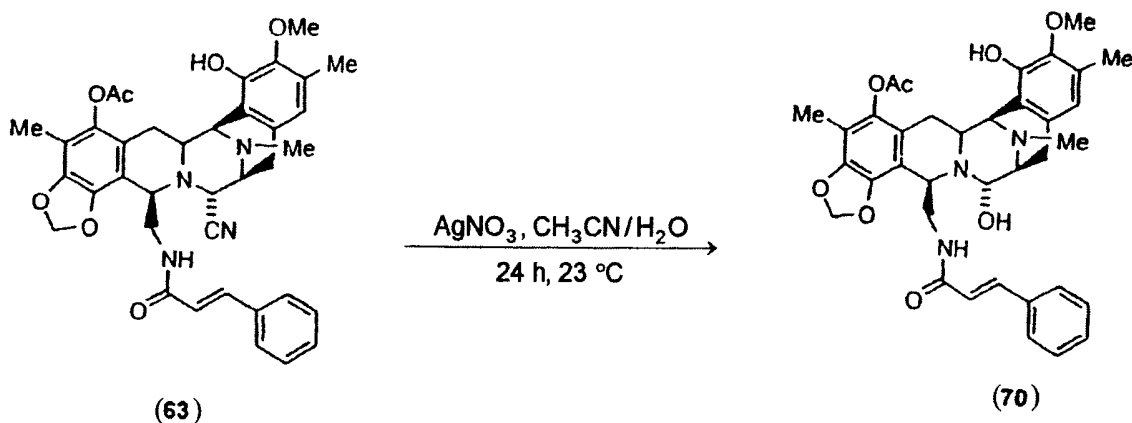


K roztoku sloučeniny **51** (27 mg, 0,04 mmol) ve směsi CH₃CN/H₂O (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO₃ (204 mg, 1,19 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 24 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO₃ (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH₂Cl₂ (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:MeOH 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **69** (10 mg, 38 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,38 (EtOAc:MeOH 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,48 (s, 1H), 6,16 (bs, 1H), 5,98 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,89 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,33 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,11 až 4,09 (m, 1H), 4,00 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,41 až 3,32 (m, 3H), 3,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 2,94 (dd, J₁ = 8,4 Hz, J₂ = 18,3 Hz, 1H), 2,70 (d, J = 14,4 Hz, 1H), 4,45 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,00 až 1,85 (m, 3H), 1,73 (m, 1H), 0,87 (d, J = 6,3 Hz, 6H).

Příklad 64

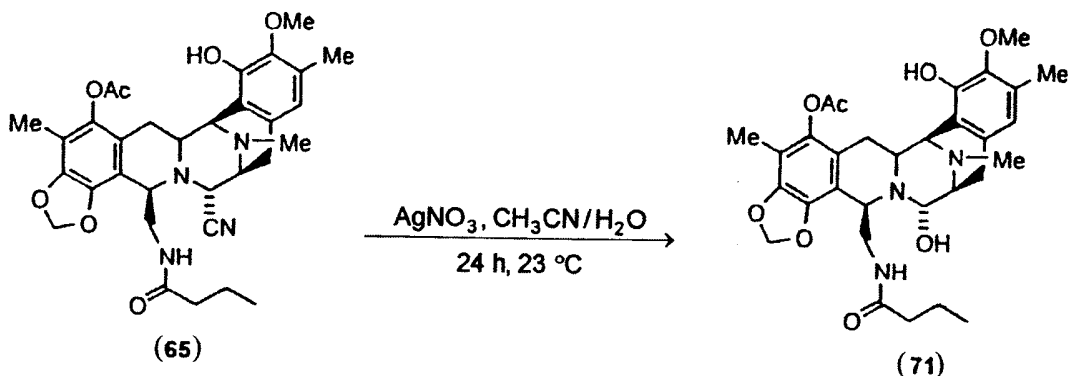


K roztoku sloučeniny **63** (15 mg, 0,023 mmol) ve směsi CH₃CN/H₂O (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO₃ (118 mg, 0,691 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 24 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO₃ (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH₂Cl₂ (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:MeOH 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **70** (20,1 mg, 85 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,43 (EtOAc:MeOH 5:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,38 až 7,28 (m, 5H), 6,48 (s, 1H), 5,98 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,75 (bs, 1H), 5,38 (brd, 1H), 5,30 (bs, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,02 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 3,78 až 3,65 (m, 5H), 3,46 až 3,40 (m, 2H), 3,17 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 2,94 (dd, J₁ = 7,8 Hz, J₂ = 17,7 Hz, 1H), 2,73 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 2,45 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 2,31 (s, 6H), 2,28 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,77 (dd, J₁ = 12,0 Hz, J₂ = 15,3 Hz, 1H).

Příklad 65



- 5 K roztoku sloučeniny **65** (25 mg, 0,042 mmol) ve směsi $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1,5 ml/0,5 ml) se přidá AgNO_3 (215,56 mg, 1,269 mmol) a reakční směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 24 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0°C přidá roztok solanky (10 ml) a nasycený vodný roztok NaHCO_3 (10 ml) a směs se míchá po dobu 15 minut, poté se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se CH_2Cl_2 (20 ml). Roztok se dekantuje a organická vrstva se vysuší a zakoncentruje ve vakuu. Zby-
- 10 tek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **71** (16 mg, 65 %) ve formě bílé pevné látky.

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

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,50 (s, 1H), 5,95 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,78 (s, 1H), 5,19 (bs, 1H), 4,45 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 4,37 (bs, 1H), 4,11 (brd, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,01 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 3,76 (s, 1H), 3,71 až 3,69 (m, 1H), 3,49 až 3,35 (m, 1H), 3,24 (d, $J = 13,5$ Hz, 1H), 3,15 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 2,95 (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 17,7$ Hz, 1H), 2,70 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 2,40 (d, $J = 18,0$ Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,75 až 1,66 (m, 1H), 1,52 až 1,17 (m, 2H),
- 20 0,66 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Fermentační postupy

25 Příklad A

- Inokulační médium YMP3 obsahující 1 % glukózu, 0,25 % hovězí extrakt, 0,5 % bacto-pepton, 0,25 % NaCl , 0,8 % CaCO_3 se inokuluje 0,1% zmraženým vegetativním kmenem mikroorganismů, kmen A2-2 *Pseudomonas fluorescens*, a inkubuje se při teplotě 27°C v rotační třepačce (250 otáček za minutu). Po uplynutí 30 hodin inkubace se inokulační kultura přidá do míchaného fermentoru s médiem obsahujícím 2% dextrózu, 4% mannitol, 2% vysušené pivovarské droždí (kvasinky) (*Vitalevor*[®] *Biolum*, *Belgium*), 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,04% KH_2PO_4 , 0,8% KCl , 0,001% FeCl_3 , 0,1% L-Tyr (tyrozin), 0,8% CaCO_3 , 0,05% PPG-2000, 0,2% silikon proti pění (ASSAF-100, RHODIA UK). Sterilizace se provádí při teplotě 122°C po dobu 30 minut. Objemový poměr mezi inokulem a médiem je 2 % objemová. Od 0 hodiny do 16 hodiny se udržuje teplota 27°C a od 16 hodiny do konce přípravy (41 hodin) se udržuje teplota 24°C . Tlak rozpuštěného kyslíku se udržuje maximálně na hodnotě 25 %. Hodnota pH se udržuje na 6,0 pomocí zředěné kyseliny sírové od 28 hodiny až do konce přípravy. Přetlak se udržuje na hodnotě 50 kPa (0,5 bar). Od 16 hodiny do konce přípravy (běží po dobu 2 dní) se přidává 1% mannitol nebo sorbitol a 2% mannitol nebo sorbitol v případě, že fermentační příprava probíhá po dobu 3 dní.
- 35
- 40

Po uplynutí 41 hodin nebo 64 hodin se fermentační kultivační půda buď extrahuje, což vede k získání safracinu B nebo upraví KCN, což vede k získání kyanosafracinu B.

Příklad B

Získání kyanosafracinu B ze surového extraktu.

- 5 Čištěním nebo filtrací při pH 6 se z fermentační kultivační půdy odstraní pevné látky. Takto vyčištěná kultivační půda se upraví na pH 9,5 zředěným hydroxidem sodným a dvakrát se extrahuje ethylacetátem, methylenchloridem nebo butylacetátem v objemovém poměru 2:1. Extrakce se provádí v míchané nádobě po dobu 20 minut, teplota směsi se udržuje na 8 až 10 °C. Vzniklé fáze se oddělí na kapalina–kapalina odstředivce. Organická fáze se vysuší bezvodým nebo zmrazeným síranem sodným a poté se přefiltruje, aby se odstranil led. Tato organická fáze (ethylacetátová vrstva) se odpařuje dokud nevznikne olejovitý surový extrakt.

Příklad C

- 15 Získání kyanosafracinu B z vyčištěné kultivační půdy.

- Čištěním nebo filtrací při pH 6 se z fermentační kultivační půdy odstraní pevné látky. Takto vyčištěná kultivační půda se upraví na pH 3,9 koncentrovanou kyselinou octovou. K vyčištěné kultivační půdě se přidá 0,5 gramu KCN v litru a za míchání se při teplotě 20 °C inkubuje po dobu 1 hodiny. Poté se teplota sníží na 15 °C a pH se upraví na 9,5 zředěným hydroxidem sodným a dvakrát se extrahuje ethylacetátem v objemovém poměru 2:1,5. Extrakce se provádí v míchané nádobě po dobu 20 minut, teplota směsi se udržuje na 8 až 10 °C. Vzniklé fáze se oddělí na kapalina–kapalina odstředivce. Organická fáze se vysuší bezvodým nebo zmrazeným síranem sodným. Tato organická fáze (ethylacetátová vrstva) se odpařuje, dokud nevznikne olejovitý surový extrakt. Tento extrakt se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, ethylacetát:methanol s gradientem 20:1 až 10:1 až 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **2** ve formě světle žluté pevné látky.

- 30 R_f: 0,55 (ethylacetát:methanol 5:1), dále t_R = 19,9 MIN [HPLC, Delta Pack C4, 5 μm, 300 Å, 150 x 3 mm, λ = 215 nm, průtok = 0,7 ml/min, teplota = 50 °C, s gradientem CH₃CN: vodný NaOAc (10 mmol/l (10 mM)) 85 až 70 % (20 minut)].

- 35 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,54 (dd, J₁ = 4,4 Hz, J₂ = 8,4 Hz, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,12 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,04 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,87 (bs, 1H), 3,65 (ddd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 8,7 Hz, J₃ = 9,9 Hz, 1H), 3,35 (brd, J = 8,4 Hz, 1H), 3,15 až 2,96 (m, 4H), 2,92 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 2,47 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,64 (ddd, J₁ = 2,7 Hz, J₂ = 11,1 Hz, J₃ = 14,1 Hz, 1H), 0,79 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

- 40 ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 186,0 (q), 175,9 (q), 156,2 (q), 146,8 (q), 142,8 (q), 140,7 (q), 136,6 (q), 130,5 (q), 128,8 (q), 127,0 (q), 120,5 (s), 117,4 (q), 116,5 (q), 60,8 (t), 60,4 (s), 58,7 (t), 56,2 (s), 55,7 (s), 54,8 (s), 54,8 (s), 54,4 (s), 50,0 (s), 41,6 (t), 39,8 (d), 25,2 (d), 24,4 (d), 21,2 (t), 15,5 (t), 8,4 (t).

- 45 ESI–MS m/z: vypočítaná C₂₉H₃₅N₅O₆: 549,6, naměřená (M+Na)⁺: 572,3.

Příklad D

- 50 Médium (50 l) obsahující dextrózu (2 %), mannitol (4 %), vysušené pivovarské droždí (kvasinky) (2 %), síran amonný (1 %), hydrogenfosforečnan draselný (0,04 %), chlorid draselný (0,8 %), hexahydrát chloridu železitého (0,001 %), L–tyrosin (0,1 %), uhličitan vápenatý (0,8 %), polypropylenglykol 2000 (0,05 %) a ASSAF 1000 (0,2 %) proti pění se nalije do sterilizovaného fermentoru s celkovou kapacitou 75 l, inokuluje se inokulační kulturou (2 %) kmenu A2–2
- 55 (FERM BP–14) a za stálého míchání se při teplotě 27 °C až 24 °C po dobu 64 hodin provádí

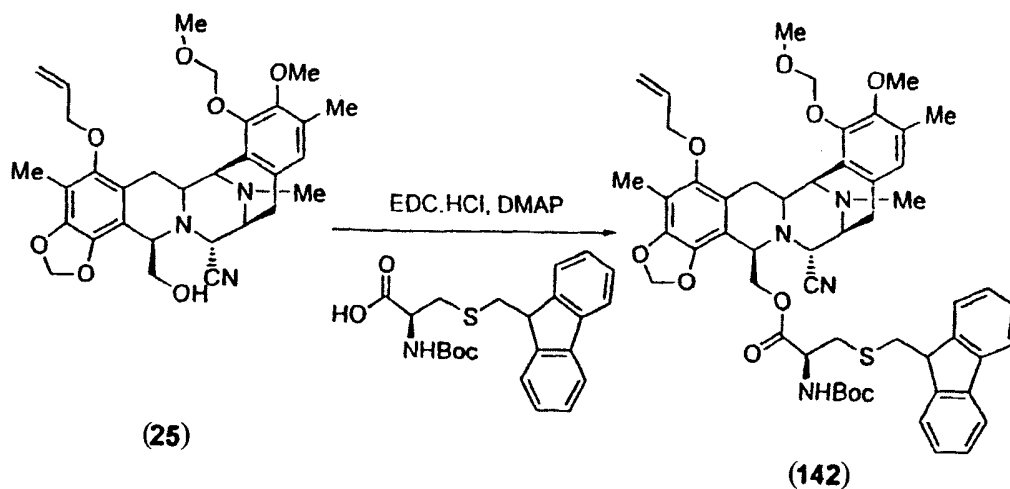
provzdušňovaná kultivace (provzdušňování 75 l/min a míchání 350 otáček za minutu (350 rpm) až 500 otáček za minutu (500 rpm). Hodnota pH se udržuje automatickým dávkováním zředěné kyseliny sírové od 27 hodiny do konce přípravy. Od 16 hodiny do konce přípravy se přidává 2% mannitol. V kultivačním médiu (45 l), po odstranění buněk odstředěním, se pH upraví na hodnotu 9,5 zředěným hydroxidem sodným a médium se dvakrát extrahuje 25 litry ethylacetátu. Směs se při teplotě 8 °C míchá po dobu 20 minut. Vzniklé fáze se oddělí na kapalina–kapalina odstředivce. Organická fáze se zmrazí na teplotu –20 °C, přefiltrují se, aby se odstranil led, a odpařují se, dokud nevznikne 40 g tmavého olejovitého surového extraktu. Po vnesení kyanoskupiny a vyčištění se získají 3 gramy kyanosafračinu B.

Příklad E

Médium (50 l) obsahující dextrózu (2 %), mannitol (4 %), vysušené pivovarské droždí (kvasinky) (2 %), síran amonný (1 %), hydrogenfosforečnan draselný (0,02 %), chlorid draselný (0,2 %), hexahydrát chloridu železitého (0,001 %), L-tyrosin (0,1 %), uhličitan vápenatý (0,8 %), polypropylenglykol 2000 (0,05 %) a ASSAF 1000 (0,2 %) proti pění se nalije do sterilizovaného fermentoru s celkovou kapacitou 75 l, inokuluje se inokulační kulturou (2 %) kmenu A2–2 (FERM BP–14) a za stálého míchání se při teplotě 27 °C až 24 °C po dobu 41 hodin provádí provzdušňovaná kultivace (provzdušňování 75 l/min a míchání 350 otáček za minutu (350 rpm) až 500 otáček za minutu (500 rpm). Hodnota pH se udržuje automatickým dávkováním zředěné kyseliny sírové od 28 hodiny do konce přípravy. Od 16 hodiny do konce přípravy se přidává 1% mannitol. V kultivačním médiu (45 l), po odstranění buněk odstředěním, se pH upraví na hodnotu 3,9 přidavkem 200 ml koncentrované kyseliny octové. Přidá se 25 gramů 97% kyanidu sodného a při teplotě 20 °C se míchá po dobu 1 hodiny a poté se pH upraví na 9,5 přidavkem 1500 ml 10% roztoku hydroxidu sodného. Poté se extrahuje 35 litry ethylacetátu. Směs se při teplotě 8 °C míchá po dobu 20 minut. Vzniklé fáze se oddělí na kapalina–kapalina odstředivce. Organická fáze se vysuší bezvodým síranem sodným a odpařuje se, dokud nevznikne 60 g tmavého olejovitého surového extraktu.

Chromatografií se získá 4,6 gramů kyanosafračinu B.

Příklad 66



K roztoku sloučeniny **25** (7,83 g, 0,0139 mmol) a komerčně dostupného Boc–Cys (Fm) derivátu (Bachem) (8,33 g, 35,04 mmol) v dichlormethanu (535 ml) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá dimethylaminopyridin (4,28 g, 35,04 mmol) a 1–[3–(dimethylamino)propyl]–3–ethylkarbodiimidhydrochlorid (6,66 g, 35,04 mmol). Směs se při teplotě 23 °C

míchá po dobu 2,5 hodiny. Reakční směs se rychle ochladí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (500 ml), organická fáze se oddělí a vodná vrstva se zpětně extrahuje dichlormethanem (250 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a odpaří do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethyl-
 5 acetát:hexan s gradientem 1:4 až 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **142** (12,21 g, 93 %) ve formě světle žluté pevné látky.

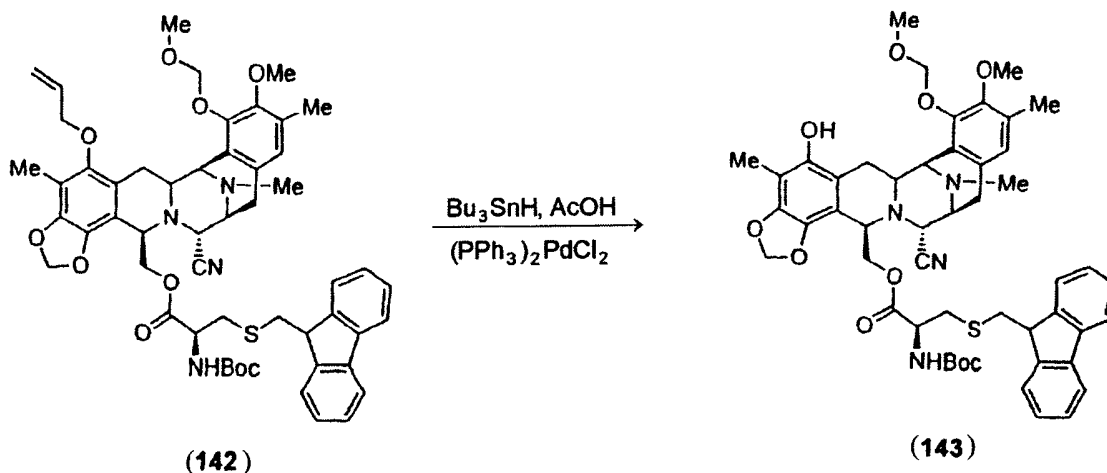
Rf: 0,35 (hexan:EtOAc 1:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,72 (d, J = 7,3, 2,7 Hz, 2H), 7,55 (dd, J₁ = 14,6 Hz, J₂ = 7,6 Hz, 2H), 7,40 až 7,34 (m, 2H), 7,30 až 7,24 (m, 2H), 6,63 (s, 1H), 6,08 až 5,99 (m, 1H), 5,91 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,80 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,39 (dd, J₁ = 17,3 Hz, J₂ = 1,7 Hz, 1H), 5,24 (dd, J₁ = 10,5 Hz, J₂ = 1,7 Hz, 1H), 5,09 (AB, J = 4,48 Hz, 2H), 5,07 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,34 až 4,29 (m, 2H), 4,17 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 4,16 až 4,04 (m, 4H), 4,02 až 3,96 (m, 2H), 3,93 (t, J = 5,3 Hz, 1H),
 15 3,70 (s, 3H), 3,56 (s, 3H), 3,32 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,23 až 3,17 (m, 2H), 3,0 až 2,89 (m, 3H), 2,65 až 2,57 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,76 (dd, J₁ = 16,3 Hz, J₂ = 12,7 Hz, 1H), 1,45, 1,44 (s, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,9, 155,3, 148,9, 148,6, 146,1, 146,0, 144,7, 141,2, 141,1, 139,4, 134,0, 131,0, 130,1, 127,8, 127,2, 125,2, 125,0, 124,3, 121,3, 121,2, 120,1, 118,1, 117,6, 112,9, 101,4, 99,5, 80,3, 74,2, 65,6, 60,4, 60,1, 57,9, 57,4, 57,2, 57,1, 56,9, 55,6, 53,2, 47,0, 41,8, 41,7, 36,7, 35,3, 28,5, 26,6, 25,3, 15,9, 9,4.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₅₃H₆₀N₄O₁₀S: 945,13, naměřená (M+1)⁺: 946,3.

Příklad 67



K roztoku sloučeniny **142** (12,01 g, 0,0127 mmol) v dichlormethanu (318 ml) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá dichlorbis(trifenylfosfin) palladnatý (0,71 g, 1,015 mmol) a kyselina octová (3,6 ml 0,176 mol). Poté se ke směsi po kapkách přidá tributylstanniumhydrid (10,27 ml, 0,037 mol). Směs se míchá při teplotě 23 °C po dobu 10 minut.
 35 Reakční směs se přefiltruje přes sloupec silikagelu spojený hexanem. Zbytek se promyje směsí ethylacetátu a hexanu s gradientem 1:4, 1:1 až 7:3, což vede ke vzniku sloučeniny **143** (10,89 g, 95 %) ve formě žluté pevné látky.

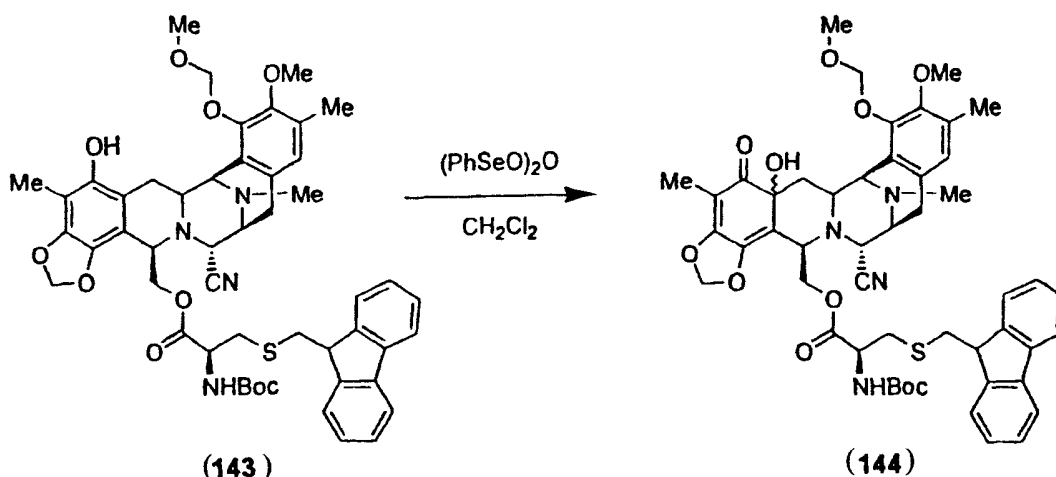
Rf: 0,25 (hexan:EtOAc 2:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,72 (d, $J = 7,6$, 2H), 7,61 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 7,52 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,37 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,28 (m, 2H), 6,63 (s, 1H), 5,87 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,76 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,58 (bs, 1H), 5,31 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,17 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,91 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,17 až 4,06 (m, 4 až 6H), 3,85 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,34 (brd, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,23 (brd, $J = 11,2$ Hz, 1H), 3,06 (brd, $J = 12,9$ Hz, 1H), 3,04 až 2,86 (m, 3H), 2,65 až 2,54 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 1,94 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 11,5$ Hz, $J_2 = 15,8$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 175,3, 170,5, 154,9, 149,1, 147,6, 145,9, 145,8, 145,7, 144,5, 140,9, 140,8, 136,1, 130,9, 127,4, 126,9, 124,3, 124,7, 122,9, 119,7, 117,6, 112,3, 111,4, 106,6, 100,7, 99,7, 80,0, 64,2, 60,3, 59,8, 57,6, 57,0, 56,5, 56,4, 55,2, 52,7, 46,7, 46,5, 41,4, 41,3, 36,9, 36,6, 34,9, 28,2, 26,0, 24,9, 20,9, 20,7, 15,7, 14,1, 8,5.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{50}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$: 905,5, naměřená $(M+1)^+$: 906,3.

Příklad 68



K roztoku sloučeniny **143** (10 g, 0,011 mol) v bezvodém dichlormethanu (185 ml) se při teplotě -10°C (teplota lázně -15°C) přidá roztok anhydridu kyseliny benzenselenové (5,7 g, 0,011 mol) v bezvodém dichlormethanu (185 ml), což vede k úplnému rozpuštění bílých částíček přítomných v roztoku. Při této teplotě se reakční směs míchá po dobu 10 minut. Reakční směs se naředí dichlormethanem (200 ml) a při teplotě -10°C se přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická fáze se oddělí, vysuší síranem sodným, přefiltruje se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:1, 3:2, 7:3 až 4:1), což vede ke vzniku sloučeniny **144** (9,34 g, 92 %) ve formě žluté pevné látky. Chromatograficky vyčištěná pevná látka se rozpustí v dichlormethanu (250 ml), přidá se aktivní uhlí (3,3 g) a suspenze se míchá při teplotě 23°C po dobu 1 hodiny. Směs se přefiltruje přes podložku z celitu a promyje se dichlormethanem (80 ml). Rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku při teplotě 25 až 30°C , což vede ke vzniku sloučeniny **144** (8,96 g, 88 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,30 a 0,25 (směs izomerů, hexan:EtOAc 1:1).

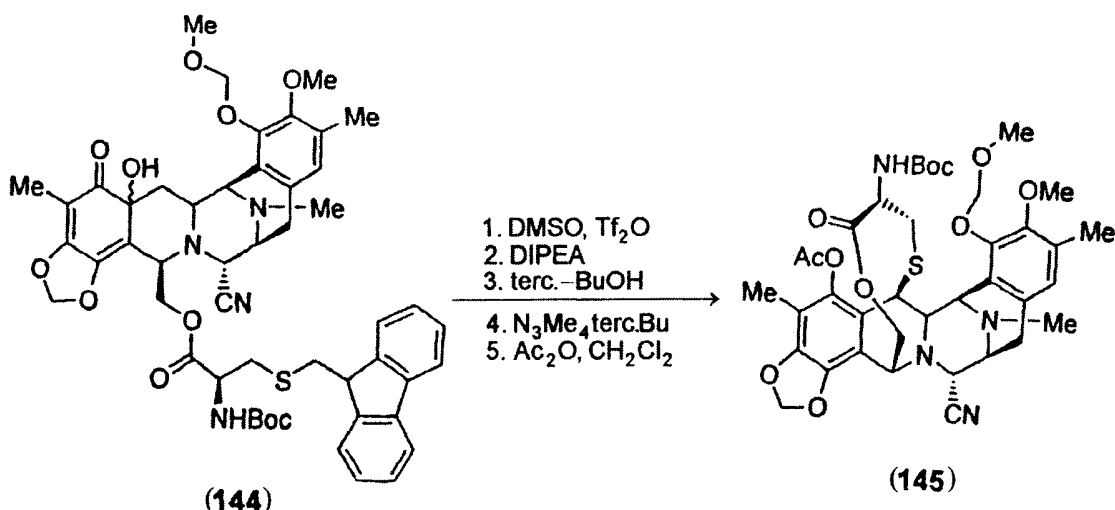
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (směs izomerů): δ 7,73 až 7,61 (m, 4H), 7,37 až 7,30 (m, 4H), 6,62 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 5,72 (s, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,55 (bs, 1H), 5,34 (m, 2H), 5,08 (AB sist., $J_{AB} = 6,7$ Hz, 1H), 5,00 (AB sist., $J_{AB} = 5,9$ Hz, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,38 (dd, $J_1 = 4,9$ Hz, $J_2 = 12,9$ Hz, 1H), 4,21 (dd, $J_1 = 6,3$ Hz, $J_2 = 12,9$ Hz, 1H), 4,11 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,02 (m, 3H), 3,87 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,72 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,49 (s,

3H), 3,27 (m, 1H), 3,15 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 6,2$ Hz, 2H), 3,07 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 2,94 (m, 4H), 2,86 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,08 (dd, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 13,9$ Hz, 1H), 1,77 (s, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,43 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) (směs izomerů): δ 200,6, 171,2, 160,4, 155,6, 148,9, 148,8, 148,3, 145,9, 145,8, 141,3, 141,2, 138,7, 130,9, 127,9, 127,4, 127,3, 125,3, 125,1, 124,2, 120,1, 117,1, 111,9, 108,5, 105,0, 104,7, 101,7, 101,3, 99,5, 99,4, 80,5, 72,5, 70,8, 60,5, 60,1, 58,4, 58,0, 57,9, 56,9, 56,8, 56,3, 55,9, 55,5, 55,4, 53,8, 53,7, 47,1, 42,0, 41,8, 41,5, 37,4, 37,3, 35,6, 35,5, 28,5, 25,8, 25,7, 16,1, 16,0, 7,7, 7,3.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 921,3, naměřená $(M+1)^+$: 922,3.

Příklad 69



K roztoku sloučeniny DMSO (3,44 ml) v bezvodém dichlormethanu (396 ml) se v argonové atmosféře při teplotě -78°C přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (3,27 ml, 19,45 mmol) a směs se při této teplotě míchá po dobu 20 minut. Poté se ke směsi při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny 144 (8,92 g, 9,6 mmol) v bezvodém dichlormethanu (124 ml) a reakční směs se v argonové atmosféře míchá při teplotě -40°C po dobu 30 minut. Ke směsi se dále přidá diisopropylethylamin (13,5 ml, 73,43 mmol) a směs se v argonové atmosféře při teplotě 0°C míchá po dobu 45 minut. Ke směsi se dále přidá terc.butanol (3,65 ml, 38,6 mmol) a terc.butyltetramethylguanidin ($\text{N}_3\text{Me}_4\text{,tert.Bu}$) (11,6 ml, 67,46 mmol) a směs se v argonové atmosféře při teplotě 23°C míchá po dobu 1 hodiny. Reakční směs se naředí dichlormethanem (250 ml) a přidá se nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická vrstva se oddělí a následně promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (500 ml) a poté nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (500 ml). Organická vrstva se oddělí, vysuší síranem sodným, přefiltruje se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku při teplotě 25 až 30°C . Zbytek ve formě pevné látky se čistí rychle sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:4 až 2:3), což vede ke vzniku sloučeniny 145 (4,99 g, 68 %) ve formě žluté pevné látky.

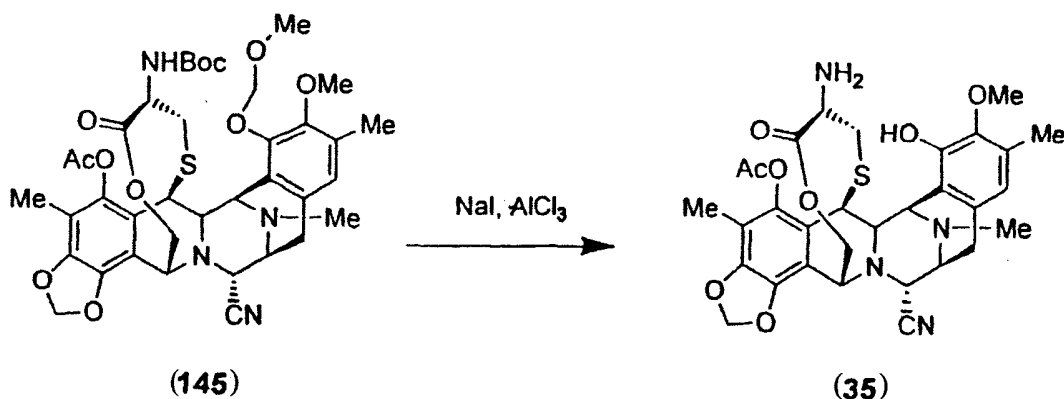
Rf: 0,44 (hexan:EtOAc 3:2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (směs izomerů): δ 6,79 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 6,00 (s, 1H), 5,20 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 5,14 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,02 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,33 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,25 (bs, 1H), 4,18 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,17 (dd, $J_1 = 1,3$ Hz, $J_2 = 11,7$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,42 (m, 2H), 2,93 (m, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,09 (m, 1H), 2,05 (s, 3H), 1,45 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 207,3, 170,9, 168,8, 149,8, 148,6, 146,0, 141,1, 140,7, 131,7, 130,6, 125,1, 120,6, 118,3, 113,7, 102,2, 99,4, 80,0, 61,6, 60,4, 59,8, 59,4, 59,2, 57,7, 55,0, 54,7, 54,0, 41,9, 41,6, 33,1, 31,8, 28,7, 23,9, 20,6, 16,1, 14,3, 9,8.

- 5 ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 766,86, naměřená $(\text{M}+1)^+$: 767,3.

Příklad 70



10

K roztoku sloučeniny **145** (1,0 g, 1,3 mmol) v acetonitrilu (50 ml) a dichlormethanu (25 ml) se při teplotě 23 °C přidá jodid sodný (1,52 g, 10,01 mmol). Směs se ochladí na teplotu 0 °C a po částech za udržování teploty na 0 °C se přidá chlorid hlinitý (1,33 g, 10,01 mmol). Reakční směs se při teplotě 0 °C míchá po dobu 2,5 hodiny. Reakční směs se naředí dichlormethanem (25 ml) a přidá se nasycený vodný roztok vinanu draselného (100 ml). Vodná fáze se oddělí a extrahuje se dichlormethanem (2 x 75 ml). Nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (50 ml) se přidá k vodné fázi, která se dále extrahuje dichlormethanem (2 x 50 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku při teplotě nižší než 25 °C. Zbytek ve formě pevné látky se čistí sloupcovou chromatografií na amino-silikagelu (eluent ethylacetát:hexan), což vede ke vzniku sloučeniny **35** (487 mg, 60 %) ve formě žluté pevné látky. Experimentální data sloučeniny **35** byla již dříve popsána v PCT/GB00/01 852.

15

20

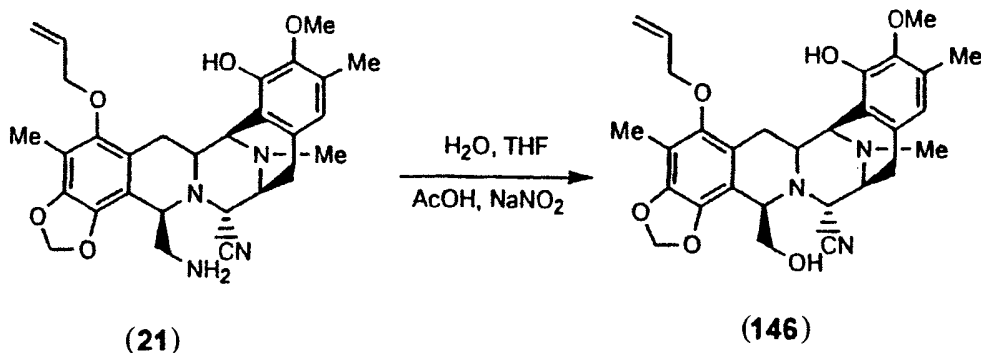
Sloučenina **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

25

Cesta 2

Příklad 71

30



Roztok sloučeniny **21** (9,84 g, 18,97 mmol) v THF (569 ml) a H_2O (285 ml) se v ledové lázni ochladí na teplotu 0 °C. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá NaNO_2 (1,96 g, 28,45 mmol) a

90% vodný roztok AcOH (18,97 ml, 0,33 mol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 18 hodin. Po ochlazení reakční směsi na teplotu 0 °C se přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (300 ml, alkalické pH) a dichlormethan (500 ml). Po extrakci se vodná fáze dále extrahuje dichlormethanem (2 x 300 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek ve formě pevné látky se rozpustí v MeOH (379 ml) a při teplotě 0 °C se přidá NaOH (38 ml) o koncentraci 1 mol/l (1 M). Směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 4 hodin. Po naředění EtOAc (600 ml) při teplotě 0 °C se organická vrstva promyje vodou (400 ml) a nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (100 ml, alkalické pH). Po extrakci se vodná fáze dále extrahuje EtOAc (3 x 300 ml). Organické extrakty se vysuší Na₂SO₄, přefiltrují se a zakonzcentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:EtOAc s gradientem 3:1 až 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **146** (4,55 g, 46 %) ve formě bílé pevné látky.

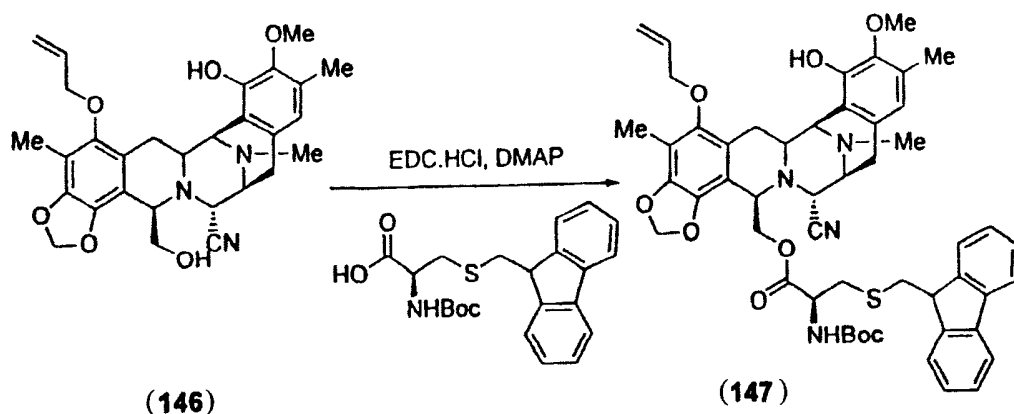
Rf: 0,33 (hexan:EtOAc 1:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,48 (s, 1H), 6,15 až 6,02 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,86 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,39 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 17,1 Hz, 1H), 5,26 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 10,5 Hz, 1H), 4,24 až 4,15 (m, 3H), 4,04 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,97 (t, J = 3,3 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,64 (dt, J₁ = 3,3 Hz, J₂ = 11,1 Hz, 1H), 3,43 (dd, J₁ = 3,3 Hz, J₂ = 10,5 Hz, 1H), 3,38 až 3,34 (m, 2H), 3,31 (t, J = 2,7 Hz, 1H), 3,22 (dd, J₁ = 2,4 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 3,10 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18,3 Hz, 1H), 2,49 (d, J = 18,3 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,88 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 15,9 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 148,6, 146,7, 144,4, 143,0, 138,9, 133,9, 130,2, 129,1, 121,1, 120,9, 117,7, 117,4, 116,8, 113,3, 112,3, 101,1, 74,3, 63,7, 60,6, 60,1, 58,1, 56,9, 56,7, 55,4, 41,7, 26,2, 25,7, 15,7, 9,3.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₂₉H₃₃N₃O₆: 519,59, naměřená (M+1)⁺: 520,5.

Příklad 72



K roztoku sloučeniny **146** (47,35 g, 0,091 mol) a komerčně dostupného Boc-Cys (Fm) derivátu (Bachem) (54,6 g, 0,137 mol) v dichlormethanu (2,8 l) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C po kapkách po dobu 1,5 hodiny přidává dimethylaminopyridin (5,6 g, 0,046 mol) a 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylkarbodiimidhydrochlorid (43,6 g, 0,227 mol). Směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu více než 1 hodiny. Reakce se rychle ochladí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (1 l) a organická fáze se oddělí. Vodná vrstva se zpětně extrahuje dichlormethanem (2 x 500 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent

ethylacetát:hexan s gradientem 1:4 až 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **147** (74,3 g, 93 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,5 (hexan:EtOAc 1:1).

5

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,73 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,63 až 7,55 (m, 2H), 7,39 až 7,35 (m, 2H), 7,29 až 7,25 (m, 2H), 6,41 (s, 1H), 6,07 až 5,97 (m, 1H), 5,92 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,80 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 5,34 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 17,4$ Hz, 1H), 5,23 (dd, $J_1 = 1,8$ Hz, $J_2 = 10,5$ Hz, 1H), 5,04 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,32 až 4,29 (m, 1H), 4,13 až 3,91 (m, 9H), 3,72 (s, 3H), 3,31 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,26 až 3,17 (m, 2H), 2,96 až 2,87 (m, 3H), 2,68 až 2,54 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,83 (dd, $J_1 = 12,6$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

10

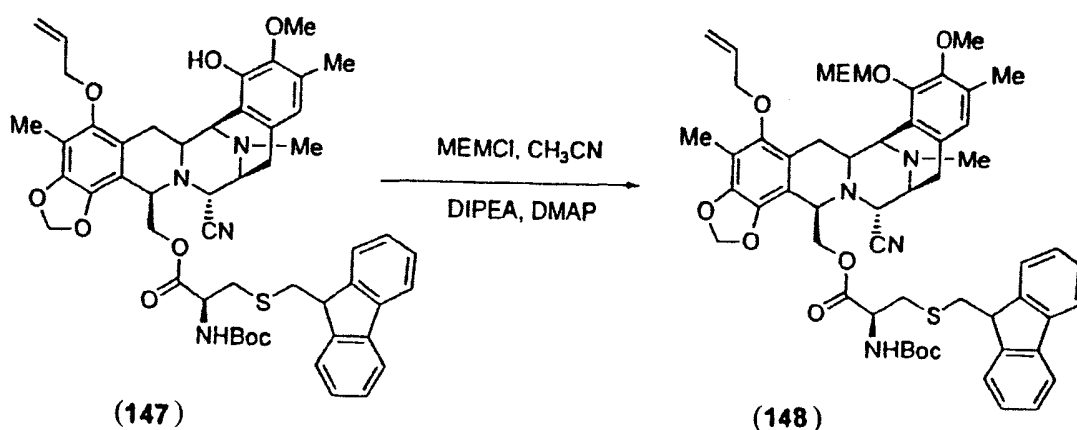
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,9, 155,4, 149,0, 147,1, 146,2, 146,0, 144,7, 143,0, 141,1, 139,4, 134,1, 131,5, 129,1, 127,8, 127,2, 125,0, 121,3, 120,9, 120,1, 118,2, 117,6, 117,2, 112,9, 112,4, 101,4, 80,3, 76,6, 74,4, 65,3, 61,0, 60,4, 57,4, 56,9, 56,7, 55,6, 53,0, 46,9, 41,8, 36,7, 35,3, 31,8, 28,5, 26,6, 25,2, 22,9, 16,0, 9,5.

15

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

20

Příklad 73



K roztoku sloučeniny **147** (0,562 g, 0,624 mol) v CH_3CN (3,12 ml) se při teplotě 0 °C přidá MEMCI (1,07 ml, 9,36 mmol), DIPEA (2,17 ml, 12,48 mmol) a DMPA (0,0076 g, 0,06 mmol). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 5,5 hodiny. Reakční směs se naředí CH_2Cl_2 (50 ml) a extrahuje se HCl (50 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Vodná fáze se znovu extrahuje CH_2Cl_2 (50 ml). Organické fáze se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakonzentrují se ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (CH_2Cl_2 :EtOAc 10:1, 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **148** (539 mg, 87 %) ve formě bílé pevné látky.

30

Rf: 0,50 (CH_2Cl_2 :EtOAc 6:1).

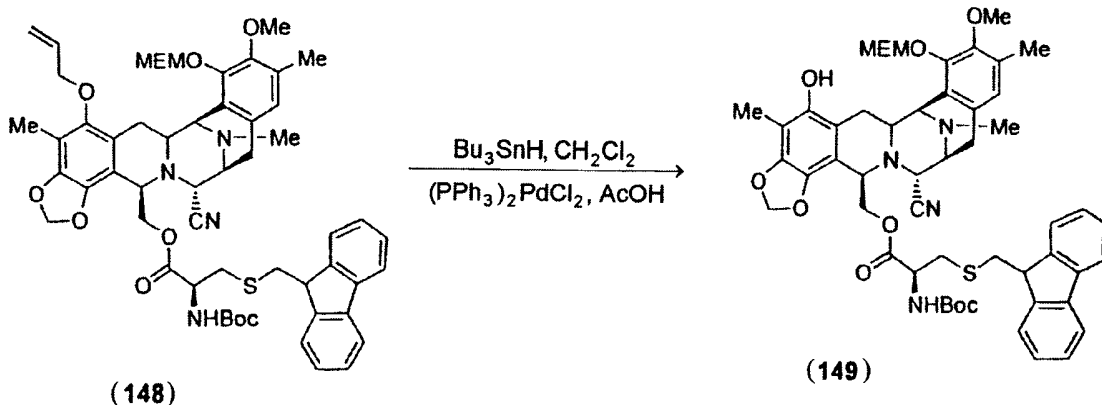
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,73 až 7,71 (m, 2H), 7,57 (dd, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz, 2H), 7,40 až 7,34 (m, 2H), 7,29 až 7,26 (m, 2H), 6,62 (s, 1H), 6,08 až 5,99 (m, 1H), 5,91 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,79 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,35 (dd, $J_1 = 1,2$ Hz, $J_2 = 17,1$ Hz, 1H), 5,23 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,21 (bs, 1H), 5,13 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,04 (brd, $J = 9$ Hz, 1H), 4,33 až 4,29 (m, 2H), 4,16 až 3,90 (m, 8H), 3,85 až 3,78 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,60 až 3,55 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,31 (brd, $J = 8,1$ Hz, 1H), 3,21 až 3,17 (m, 2H), 2,98 až 2,88 (m, 3H), 2,64 až 2,56 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,75 (dd, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,6$ Hz, 1H), 1,47 (s, 9H).

40

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,5, 155,0, 148,6, 148,5, 148,2, 145,77, 145,6, 144,4, 140,8, 140,7, 139,0, 133,6, 130,7, 130,5, 127,4, 126,9, 124,8, 124,6, 123,8, 120,8, 119,7, 117,8, 117,2, 122,5, 111,9, 101,0, 98,1, 80,0, 77,4, 77,0, 76,6, 73,8, 71,6, 69,2, 65,0, 60,2, 60,0, 59,8, 59,0, 56,8, 56,7, 56,6, 55,2, 52,7, 52,7, 46,6, 41,3, 36,2, 34,9, 29,6, 28,2, 26,3, 24,9, 15,6, 14,1, 9,0.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{50}\text{H}_{64}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 988,4, naměřená $(M+1)^+$: 989,3.

Příklad 74



K roztoku sloučeniny **148** (38,32 g, 0,039 mol) v dichlormethanu (1 l) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá dichlorbis(trifenylfosfin) palladatý (2,17 g, 0,0031 mol) a kyselina octová (11,1 ml, 0,195 mol). Poté se ke směsi po kapkách přidá tributylstanniumhydrid (36,5 ml, 0,136 mol). Směs se ke směsi po kapkách přidá tributylstanniumhydrid (36,5 ml, 0,136 mol). Směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 15 minut. Reakční směs se přefiltruje přes sloupec silikagelu spojený hexanem. Zbytek se promyje směsí ethylacetátu a hexanu s gradientem 0:100, 1:4, 1:3, 2:5, 2:3, 1:1, 2:1, 3:1 až 100:0, což vede ke vzniku sloučeniny **149** (35,07 g, 95 %) ve formě bílé pevné látky.

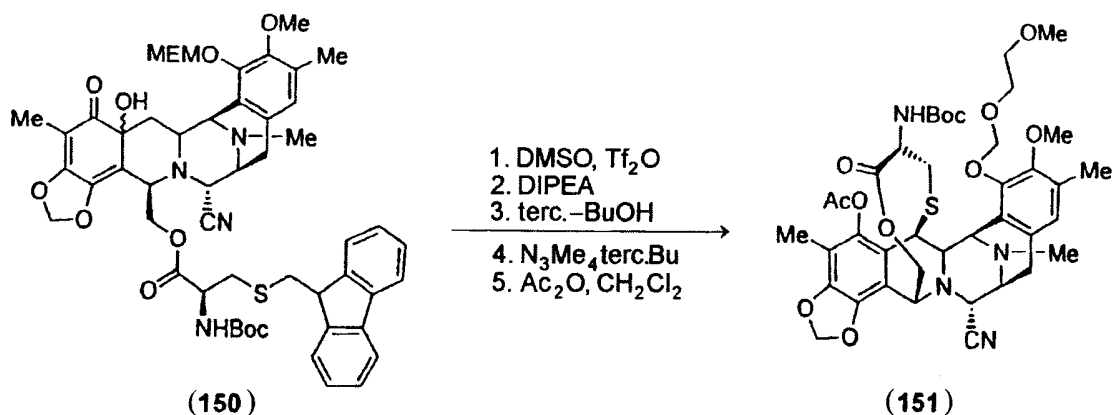
Rf: 0,25 (hexan:EtOAc 2:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,74 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,63 až 7,53 (m, 2H), 7,39 až 7,34 (m, 2H), 7,30 až 7,27 (m, 2H), 6,62 (s, 1H), 5,87 (m, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,69 (bs, 1H), 5,37 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 5,23 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,96 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,44 (brd, $J = 8,7$ Hz, 1H), 4,18 až 3,70 (m, 11H), 3,69 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 3,34 až 3,18 (m, 3H), 2,99 až 2,88 (m, 3H), 2,63 až 2,58 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,78 (dd, $J_1 = 12,9$ Hz, $J_2 = 15,63$ Hz, 1H), 1,41 (s, 9H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,8, 155,2, 149,0, 148,0, 146,2, 146,0, 144,8, 141,1, 136,4, 131,3, 131,2, 127,8, 127,2, 125,1, 125,0, 123,2, 120,0, 118,1, 112,6, 111,6, 107,2, 101,0, 98,9, 98,8, 80,3, 71,8, 69,8, 64,9, 60,6, 60,2, 59,2, 57,1, 56,9, 55,5, 53,0, 47,0, 46,9, 41,8, 37,0, 35,3, 28,5, 26,2, 25,2, 21,9, 21,3, 16,1, 14,4, 9,0.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$: 948,4, naměřená $(M+1)^+$: 949,3.

Příklad 76



- 5 Reakční baňka se dvakrát vyžihá, několikrát se propláchne argonem a udržuje se v argonové atmosféře. K roztoku DMSO (385,0 μ l) v bezvodém CH_2Cl_2 (42 ml) se při teplotě -78°C po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (366,5 μ l, 2,16 mmol). Reakční směs se při teplotě -78°C míchá po dobu 20 minut. Poté se pomocí kanyly (doba přidávání 5 min) při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny **150** (1 g, 1,03 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (10 ml jako hlavní přídavek a 5 ml na promytí). Během přidávání se v baňkách udržuje teplota -78°C a barva se změní ze žluté na hnědou. Reakční směs se při teplotě -40°C míchá po dobu 35 minut. Během tohoto časového intervalu se roztok změní ze žluté na tmavě zelenou. Po uplynutí této doby se po kapkách přidá $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (1,51 ml, 9,55 mmol) a reakční směs se při teplotě 0°C nechá stát po dobu 45 minut a během této doby se barva roztoku změní na hnědou. Poté se k reakční směsi po kapkách přidá *tert*.BuOH (409,5 μ l, 4,33 mmol) a *tert*.butyltetramethyl-guanidin (1,31 ml, 7,61 mmol) a reakční směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 40 minut. Po uplynutí této doby se k reakční směsi po kapkách přidá acetanhydrid (1,03 ml, 10,89 mmol) a reakční směs se nechá reagovat při teplotě 23°C po dobu více než 1 hodiny. Poté se reakční směs naředí CH_2Cl_2 (25 ml) a promyje se nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (50 ml), NaHCO_3 (50 ml) a NaCl (50 ml).
- 10
- 15
- 20 Organické vrstvy se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakoncentrují se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (vnitřní průměr 2,0 cm, výška náplně oxidu křemičitého 9,0 cm, eluent ethylacetát:hexan s gradientem 20:80, 30:70 až 40:60), což vede ke vzniku sloučeniny **151** (832,6 mg, 99 %) ve formě bílé pevné látky.
- 25 $R_f = 0,48$ (hexan:EtOAc 3:2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,78 (s, 1H), 6,09 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,99 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,32 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,19 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,01 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 4,62 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,50 (bs, 1H), 4,34 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,28 (dd, $J_1 = 2,4$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, 1H), 4,24 (s, 1H), 4,17 (m, 2H), 3,90 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,58 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 3,42 až 3,37 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,91 (m, 2H), 2,36 až 2,08 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,44 (s, 9H).

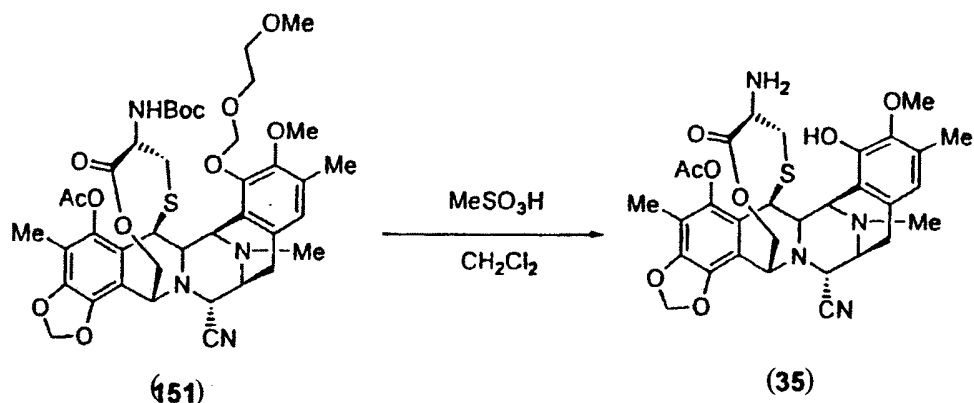
30

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,9, 168,9, 168,0, 155,4, 149,8, 148,6, 146,0, 141,1, 140,6, 131,6, 131,1, 130,6, 129,0, 125,1, 120,6, 118,3, 102,2, 98,4, 79,9, 71,9, 69,4, 651,6, 60,4, 59,8, 59,4, 59,2, 54,9, 54,7, 54,0, 41,6, 30,6, 29,1, 28,7, 23,9, 23,2, 20,6, 16,1, 14,2, 11,2, 9,8.

35

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

Příklad 77



- 5 K roztoku sloučeniny **151** (2,9 g, 3,57 mmol) v CH_2Cl_2 (120 ml) se při teplotě 23 °C přidá MeSO_3H (1,4 ml, 21,46 mmol). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 30 minut a po uplynutí této doby se ke směsi při teplotě 0 °C přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (200 ml). Organická fáze se oddělí, vysuší síranem sodným, přefiltruje se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethyl-
 10 acetát:hexan s gradientem 0:1 až 1:0), což vede ke vzniku sloučeniny **35** (1,43 g, 64 %) ve formě světle žluté pevné látky. Experimentální data sloučeniny **35** byla již dříve popsána v PCT/GB00/-01 852.

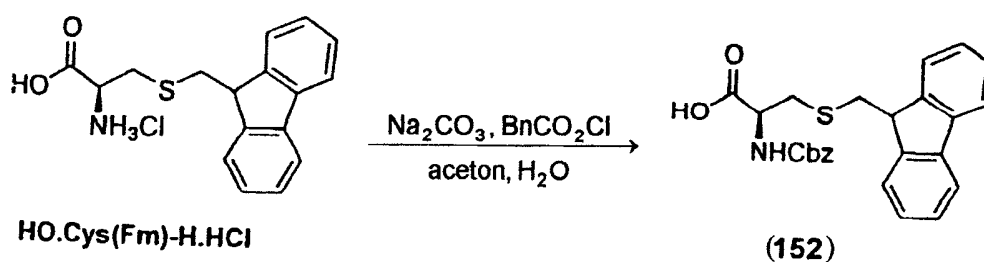
15 Sloučenina **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

Cesta 3

První krok této cesty (přeměna sloučeniny **21** na sloučeninu **146**) byl popsán výše v příkladu 71.

20

Příklad 78



- 25 K roztoku komerčně dostupného OH-Cys(Fm)-H-HCl (Bachem) (40 g, 0,119 mol) v acetonu (500 ml) a vodě (500 ml) se při teplotě 0 °C přidá roztok Na_2CO_3 (238 ml) o koncentraci 1 mol/l (1 M) a BnCO_2Cl (18,7 ml, 0,131 mol). Reakční směs se míchá při teplotě 60 °C po dobu 30 minut, směs se rychle ochladí HCl o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N) a extrahuje se etherem (3 x 400 ml). Organická fáze se oddělí, vysuší se síranem hořečnatým, přefiltruje se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek ve formě pevné látky se rozpustí ve směsi EtOAc/ CH_2Cl_2 1:1, vysráží se hexanem a nechá se při teplotě 4 °C reagovat přes noc. Poté se suspenze přefiltruje,
 30 pevná látka se promyje hexanem (200 ml) a filtrát se vysuší ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **152** (50,16 g, 97 %) ve formě bílé pevné látky.

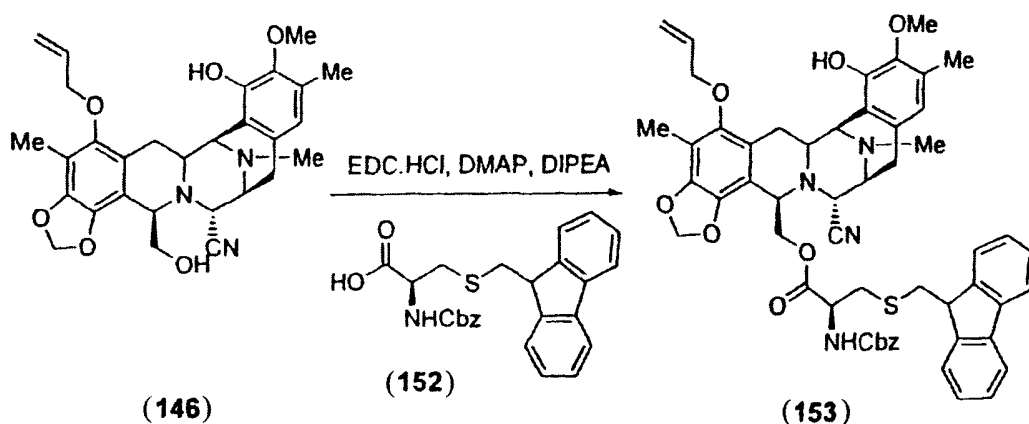
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 10,66 (bs, 1H), 7,74 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,69 až 7,64 (m, 2H), 7,62 až 7,29 (m, 9H), 5,97 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,14 (bs, 2H), 4,70 až 4,64 (m, 1H), 4,09 až 4,05 (m, 1H), 3,12 až 3,09 (m, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 175,2, 155,9, 145,5, 141,0, 135,8, 128,5, 128,2, 128,1, 127,5, 127,0, 124,7, 119,8, 84,8, 67,3, 46,8, 37,0.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S}$: 433,52, naměřená $(\text{M}+1)^+$: 434,4.

10

Příklad 79



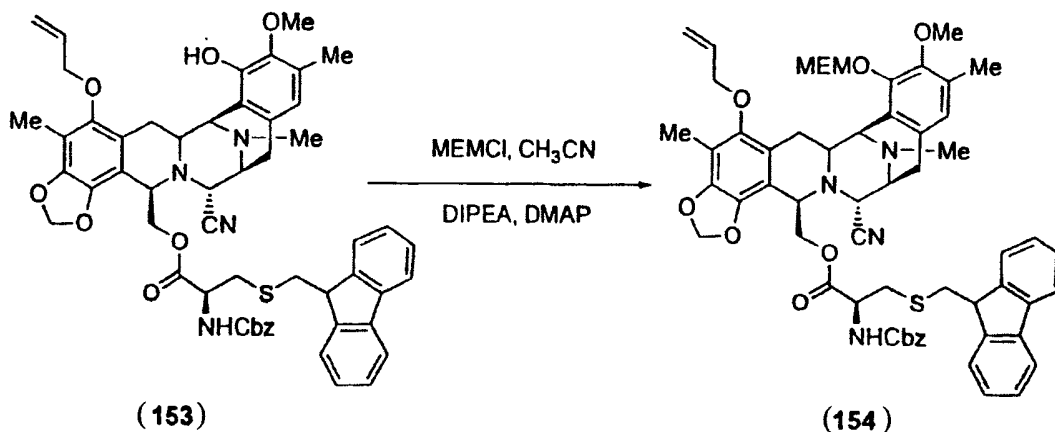
K roztoku sloučeniny **146** (10 g, 19,2 mmol) a sloučeniny **152** (12,5 g, 28,8 mmol) v dichlormethanu (800 ml) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 0°C po kapkách po dobu 1 hodiny přidává dimethylaminopyridin (705 mg, 5,77 mmol), 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylkarbodiimidhydrochlorid (9,2 g, 48,1 mmol) a diisopropylethylamin (7,4 ml, 42,3 mmol). Směs se při teplotě 23°C míchá po dobu více než 1,5 hodiny. Reakce se rychle ochladí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (600 ml). Organická fáze se oddělí a opět promyje nasyceným vodným roztokem chloridu amonného (500 ml) a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (500 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ 4:1), což vede ke vzniku sloučeniny **153** (13,89 g, 77 %) ve formě světle žluté pevné látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,74 až 7,72 (m, 2H), 7,61 až 7,53 (m, 2H), 7,37 až 7,24 (m, 9H), 6,39 (s, 1H), 6,09 až 5,96 (m, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,84 (s, 1H), 5,78 (s, 1H), 5,34 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 17,4$ Hz, 1H), 5,32 (bs, 1H), 5,24 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, 1H), 5,17 až 5,07 (m, 2H), 4,40 (dd, $J_1 = 3,6$ Hz, $J_2 = 10,8$ Hz, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,18 až 4,01 (m, 6H), 3,92 (brt, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,30 až 3,19 (m, 3H), 2,99 až 2,85 (m, 3H), 2,65 (dd, $J_1 = 4,5$ Hz, $J_2 = 14,4$ Hz, 1H), 2,55 (d, $J = 18,3$ Hz, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,86 (dd, $J_1 = 11,7$ Hz, $J_2 = 15,9$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 170,2, 155,6, 148,6, 146,8, 145,7, 145,6, 144,3, 142,6, 140,7, 139,0, 133,7, 131,1, 128,8, 128,4, 128,1, 128,0, 127,4, 126,9, 124,7, 124,6, 121,0, 120,5, 119,7, 117,8, 117,3, 116,8, 112,5, 112,0, 101,0, 74,1, 67,0, 64,7, 60,7, 59,9, 57,0, 56,6, 56,3, 55,2, 53,1, 46,5, 41,4, 36,4, 34,8, 26,2, 24,8, 15,6, 9,2.

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{54}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$: 934,36, naměřená $(\text{M}+1)^+$: 935,4.

Příklad 80



K roztoku sloučeniny **153** (13,89 g, 14,85 mmol) v CH_3CN (74,3 ml) se při teplotě 0°C přidá MEMCl (25,4 ml, 223 mmol), DIPEA (52 ml, 297 mmol) a DMAP (0,181 g, 0,15 mmol). Směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 5 hodin. Reakční směs se naředí CH_2Cl_2 (400 ml) a extrahuje se HCl (300 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Vodná fáze se znovu extrahuje CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). Organická fáze se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakonzentrují se ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , CH_2Cl_2 :EtOAc 10:1, 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **154** (13,47 g, 88 %) ve formě bílé pevné látky.

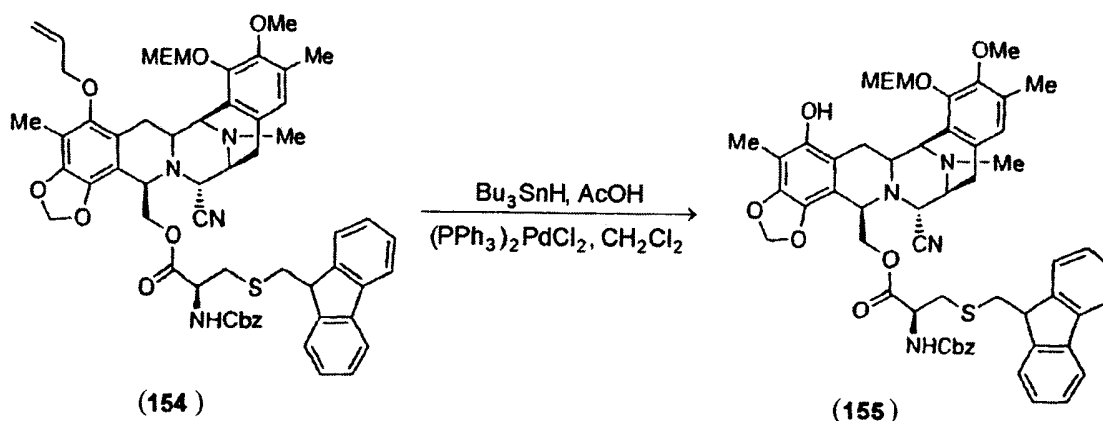
Rf: 0,27 (CH_2Cl_2 :EtOAc 6:1).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,73 až 7,70 (m, 2H), 7,58 až 7,50 (m, 2H), 7,38 až 7,22 (m, 9H), 6,59 (s, 1H), 6,08 až 5,98 (m, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,35 (d, $J = 17,1$ Hz, 1H), 5,31 až 5,28 (m, 1H), 5,23 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,13 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,12 až 5,05 (m, 2H), 4,37 až 4,29 (m, 2H), 4,15 až 3,77 (m, 9H), 3,68 (s, 3H), 3,58 až 3,55 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,30 až 3,27 (m, 1H), 3,21 až 3,16 (m, 2H), 2,96 až 2,84 (m, 4H), 2,64 až 2,58 (m, 1H), 2,55 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,75 (dd, $J_1 = 12,3$ Hz, $J_2 = 16,2$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 171,9, 170,2, 155,5, 148,7, 148,6, 148,3, 145,8, 145,7, 144,5, 142,1, 140,9, 139,1, 136,1, 133,8, 130,8, 130,5, 128,5, 128,3, 128,1, 127,6, 127,0, 124,9, 124,7, 123,9, 122,2, 120,9, 119,8, 117,8, 117,3, 112,6, 112,0, 101,1, 98,2, 74,0, 71,7, 69,3, 67,1, 65,1, 60,1, 59,8, 59,0, 56,9, 56,8, 56,7, 55,3, 53,3, 46,7, 41,4, 36,5, 35,0, 31,6, 29,7, 26,4, 25,0, 22,6, 15,7, 14,1, 9,2.

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

Příklad 81

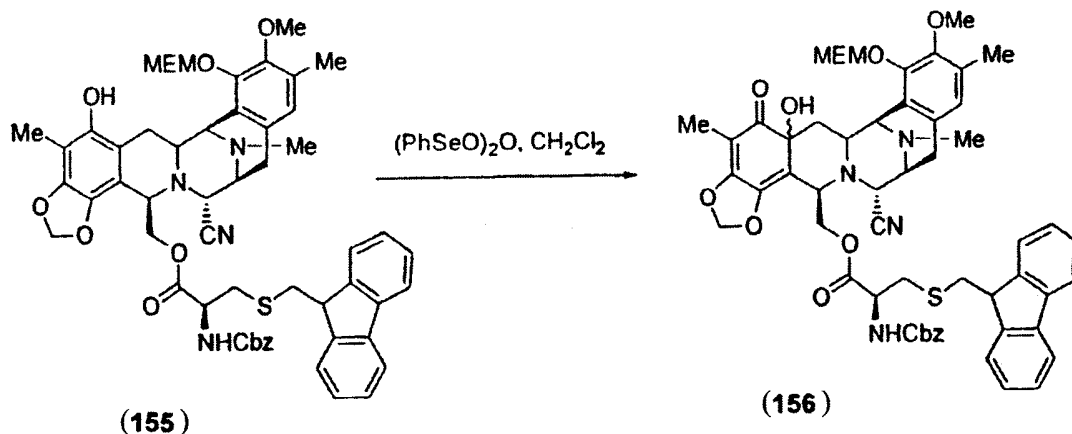


K roztoku sloučeniny **154** (20,84 g, 0,02 mmol) v dichlormethanu (530 ml) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá dichlorbis(trifenylfosfin) palladnatý (1,14 g, 1,63 mmol) a kyselina octová (11,64 ml, 0,2 mol). Poté se ke směsi po kapkách přidá tributylstanniumhydrid (27,44 ml, 0,1 mol). Směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 15 minut. Reakční směs se přefiltruje přes sloupec silikagelu spojený hexanem. Zbytek se promyje směsí ethylacetátu a hexanu s gradientem 1:4, 1:1, 3:2 až 7:3, což vede ke vzniku sloučeniny **155** (18,78 g, 94 %) ve formě světle žluté pevné látky.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,71 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,59 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,41 až 7,23 (m, 9H), 6,60 (s, 1H), 5,87 (bs, 2H), 5,74 (s, 1H), 5,40 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 5,33 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 5,18 (d, J = 9 Hz, 1H), 5,09 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,97 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,56 (dd, J₁ = 3 Hz, J₂ = 11,1 Hz, 1H), 4,19 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 4,16 až 3,87 (m, 9H), 3,66 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 3,32 až 3,20 (m, 3H), 2,96 až 2,87 (m, 3H), 2,62 až 2,54 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,82 (dd, J₁ = 13,2 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,0, 155,4, 149,0, 147,5, 145,7, 145,6, 144,4, 140,8, 135,9, 130,9, 128,4, 128,1, 128,0, 127,4, 126,9, 124,7, 124,6, 122,7, 119,7, 117,7, 112,4, 111,4, 100,6, 98,7, 71,5, 69,4, 67,0, 64,9, 63,9, 59,7, 59,6, 58,8, 57,0, 56,5, 56,4, 55,1, 54,9, 53,1, 52,5, 46,5, 41,4, 36,8, 34,9, 25,8, 24,7, 15,7, 8,7.

Příklad 82

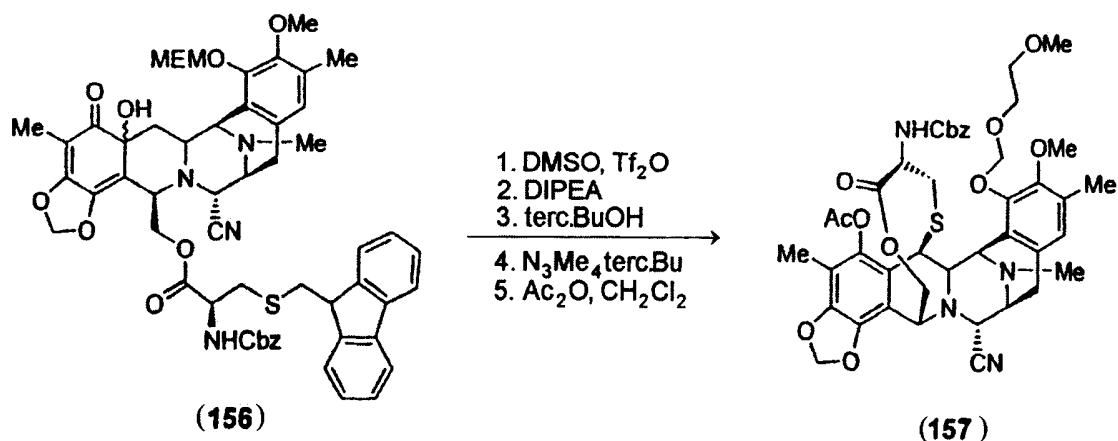


K roztoku sloučeniny **155** (18,5 g, 18,82 mmol) v bezvodém dichlormethanu (530 ml) se při teplotě -10 °C (teplota lázně -15 °C) po kapkách přidá roztok anhydridu kyseliny benzenselenové (9,68 g, 18,82 mmol) v bezvodém dichlormethanu (290 ml), což vede k úplnému rozpuštění bílých částíček přítomných v roztoku. Při této teplotě se reakční směs míchá po dobu 10 minut. Reakční směs se rychle ochladí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (600 ml). Organická fáze se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:1, 3:2, 7:3 až 4:1), což vede ke vzniku sloučeniny **156** (17,62 g, 88 %) ve formě světle žluté pevné látky.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (směs izomerů): δ 7,73 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,63 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,40 až 7,29 (m, 9H), 6,59 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,66 (s, 1H), 5,58 (s, 1H), 5,56 (s, 1H), 5,23 (d, J = 6 Hz, 1H), 5,15 až 5,05 (m, 4H), 4,76 až 4,68 (m, 1H), 4,64 až 4,55 (m, 1H), 4,40 až 4,37 (m, 1H), 4,15 až 3,68 (m, 8H), 3,60 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 3,25 až 2,78 (m, 7H), 2,38 až 2,24 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,09 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,58 (s, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná C₅₅H₅₈N₄O₁₂S: 999,13, naměřená (M+1)⁺: 1000,0.

Příklad 83



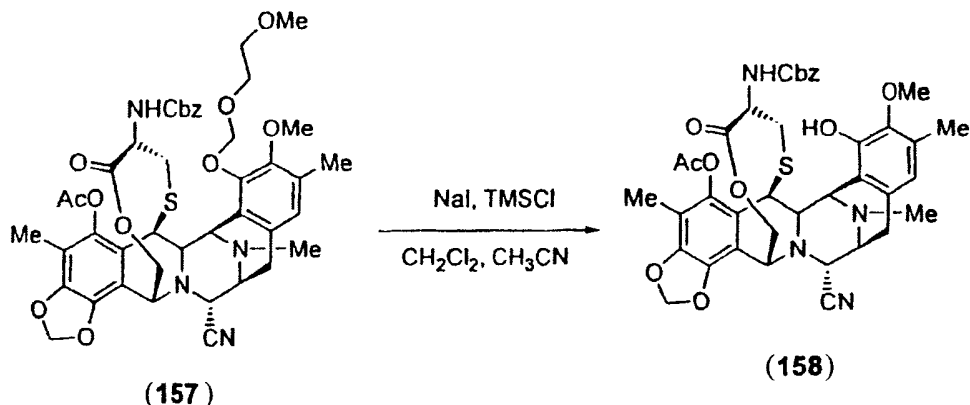
- 5 Reakční baňka se dvakrát vyžihá, několikrát se propláchne argonem a udržuje se v argonové atmosféře. K roztoku DMSO (1789 μ l) v bezvodém CH₂Cl₂ (20 ml) se při teplotě -78°C po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (169 μ l, 1 mmol). Reakční směs se při teplotě -78°C míchá po dobu 20 minut. Poté se pomocí kanyly (dobu přidávání 5 min) při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny **156** (0,5 g, 0,5 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (4 ml) jako hlavní
- 10 přísadek a 1,5 ml na promytí). Během přidávání se v baňkách udržuje teplota -78°C a barva se změní ze žluté na hnědou. Reakční směs se při teplotě -40°C míchá po dobu 35 minut. Během tohoto časového intervalu se roztok změní ze žluté na tmavě zelenou. Po uplynutí této doby se po kapkách přidá ¹Pr₂NEt (0,7 ml, 4,42 mmol) a reakční směs se při teplotě 0°C nechá stát po dobu 45 minut a během této doby se barva roztoku změní na hnědou. Poté se k reakční směsi po kapkách přidá *tert*.BuOH (189 μ l, 2 mmol) a *tert*.butyltetramethylguanidin (0,6 ml, 3,49 mmol) a směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 40 minut. Po uplynutí této doby se k reakční směsi po kapkách přidá acetanhydrid (0,47 ml, 4,97 mmol) a směs se nechá reagovat při teplotě 23°C po dobu více než 1 hodiny. Poté se reakční směs naředí CH₂Cl₂ (15 ml) a promyje se nasyceným
- 15 vodným roztokem NH₄Cl (25 ml), NaHCO₃ (25 ml) a NaCl (25 ml). Organické vrstvy se vysuší Na₂SO₄, přefiltrují se a zakoncentrují se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (vnitřní průměr 2,0 cm, výška náplně oxidu křemičitého 9 cm, eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:4, 1:3, 1:2 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **157** (128 mg, 30 %) ve formě světle žluté pevné látky.

25 Rf: 0,37 (hexan:EtOAc 3:2)

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,73 (bs, 5H), 6,66 (s, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,30 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,17 (d, J = 6 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,83 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,34 až 4,17 (m, 7H), 3,90 až 3,87 (m, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,65 až 3,56 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,89 až 2,90 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,15 až 2,04 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).

ESI-MS m/z: vypočítaná C₄₃H₄₈N₄O₁₂S: 844,93, naměřená (M+1)⁺: 845,8.

Příklad 84



- 5 K roztoku sloučeniny **157** (100 mg, 0,118 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) a v CH_3CN (2 ml) se při teplotě 0°C přidá NaI (71 mg, 0,472 mmol) a TMSCl (60 μl , 0,472 mmol). Směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 50 minut, reakce se rychle ochladí vodou (30 ml) a extrahuje se CH_2Cl_2 (2 x 20 ml). Organické fáze se postupně promyjí nasyceným vodným roztokem NaCl (20 ml) a nasyceným vodným roztokem dithioničitanu sodného (20 ml), vysuší se Na_2SO_4 , přefiltrují se a za-
- 10 koncentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan 1:4, 1:2 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **158** (62 mg, 70 %) ve formě bílé pevné látky.

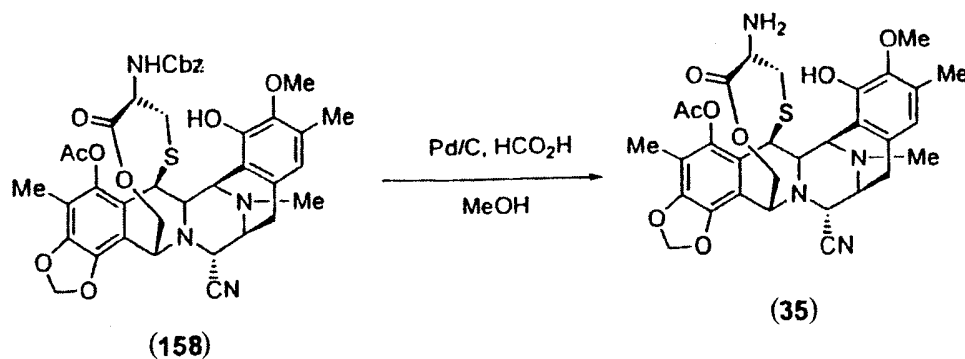
Rf: 0,21 (hexan:ethylacetát 1:1).

- 15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,36 (bs, 5H), 6,44 (s, 1H), 6,07 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,97 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,81 (bs, 1H), 5,10 až 5,00 (m, 3H), 4,82 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,49 (bs, 1H), 4,35 až 4,30 (m, 1H), 4,21 až 4,17 (m, 2H), 4,16 až 4,14 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,41 až 3,36 (m, 2H), 2,88 až 2,85 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,24 až 2,03 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

- 20 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): 170,5, 168,8, 155,9, 148,3, 146,0, 143,1, 141,2, 140,6, 136,6, 130,6, 130,0, 128,8, 128,7, 128,5, 121,0, 120,3, 118,3, 118,2, 113,7, 113,6, 102,2, 67,2, 61,5, 60,8, 60,3, 59,6, 59,5, 54,8, 54,7, 54,1, 41,9, 41,6, 32,9, 23,9, 20,8, 15,5, 9,8.

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

Příklad 85



30

K roztoku sloučeniny **158** (100 mg, 0,132 mmol) v MeOH (6,8 ml) se při teplotě 23°C přidá HCO_2H (360 μl) a 10% Pd/C (140 mg, 0,132 mmol) a reakční směs se míchá po dobu 15 minut. Poté se k reakční směsi přidá toluen (7 ml) a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku. Azeotro-

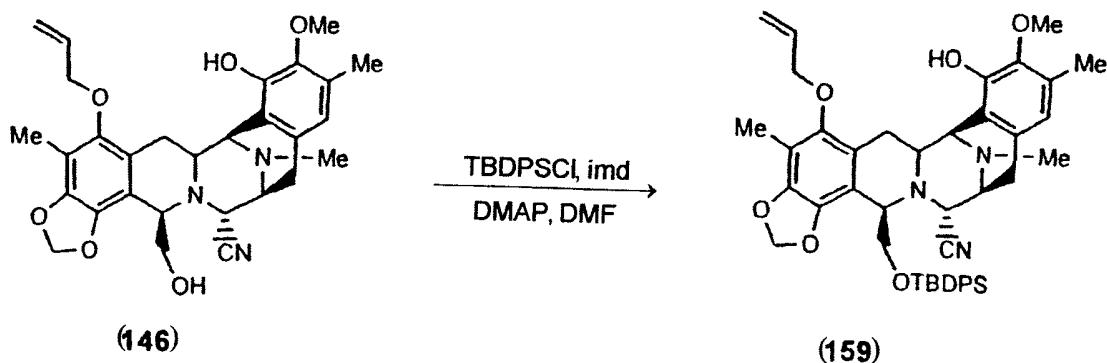
pická destilace s toluenem se třikrát opakuje. Zbytek se naředí dichlormethanem (15 ml) a přidá se nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (15 ml). Vodná fáze se oddělí a extrahuje se dichlormethanem (2 x 10 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií na amino-silikagelu (eluent ethylacetát:hexan s gradientem 1:2, 1:1 až 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **35** (57 mg, 70 %) ve formě žluté pevné látky. Experimentální data sloučeniny **35** byla již dříve popsána v PCT/GB00/01 852.

Sloučenina **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

Cesta 4

První krok této cesty (přeměna sloučeniny **21** na sloučeninu **146**) byl popsán výše v příkladu 71.

Příklad 86



K roztoku sloučeniny **146** (18 mg, 0,032 mmol), katalyzátoru DMAP, imidazolu (5 mg, 0,08 mmol) v DMF (0,005 ml) se při teplotě 0 °C přidá terc.butyldifenylsilylchlorid (12,5 µl, 0,048 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 4 hodin. Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá voda (30 ml) a směs se extrahuje směsí hexan:ethylacetát 1:10 (2 x 40 ml). Organická fáze se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, hexan:EtOAc 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **159** (27 mg, 88 %) ve formě bílé pevné látky.

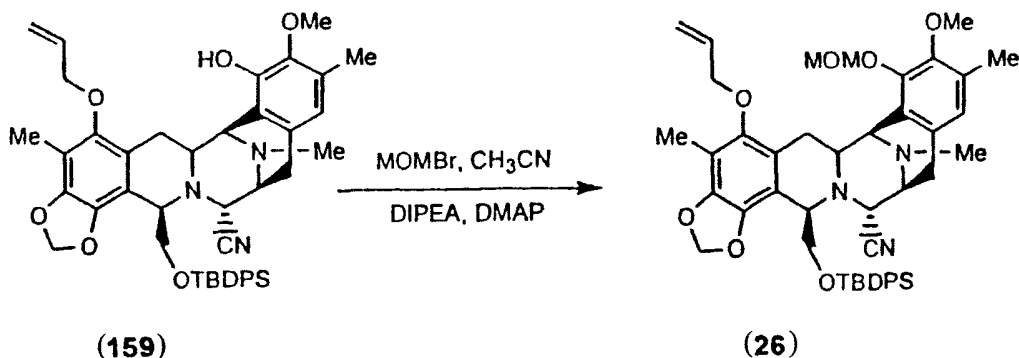
Rf: 0,29 (hexan:EtOAc 3:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,72 až 7,41 (m, 2H), 7,40 až 7,20 (m, 8H), 6,46 (s, 1H), 6,16 až 6,00 (m, 1H), 5,77 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,71 (s, 1H), 5,63 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 5,24 (dd, J₁ = 1,2 Hz, J₂ = 17,1 Hz, 1H), 5,23 (dd, J₁ = 1,2 Hz, J₂ = 10,2 Hz, 1H), 4,18 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,13 až 4,00 (m, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,63 (dd, J₁ = 2,4 Hz, J₂ = 7,5 Hz, 1H), 3,39 až 3,19 (m, 4H), 2,99 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 18,0 Hz, 1H), 2,68 (d, J = 17,7 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,99 (dd, J₁ = 12,6 Hz, J₂ = 16,3 Hz, 1H), 0,89 (s, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 148,3, 146,6, 144,0, 142,5, 139,0, 135,7, 135,4, 133,9, 133,6, 132,2, 131,2, 129,5, 129,4, 128,3, 127,5, 127,4, 121,8, 120,9, 118,7, 117,3, 117,2, 112,9, 111,7, 100,8, 74,2, 68,0, 61,6, 60,6, 60,3, 59,0, 57,4, 56,7, 55,4, 41,7, 29,6, 26,6, 26,5, 25,5, 18,9, 15,8, 9,3.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₄₅H₅₁N₃O₆Si: 757,9, naměřená (M+1)⁺: 758,4.

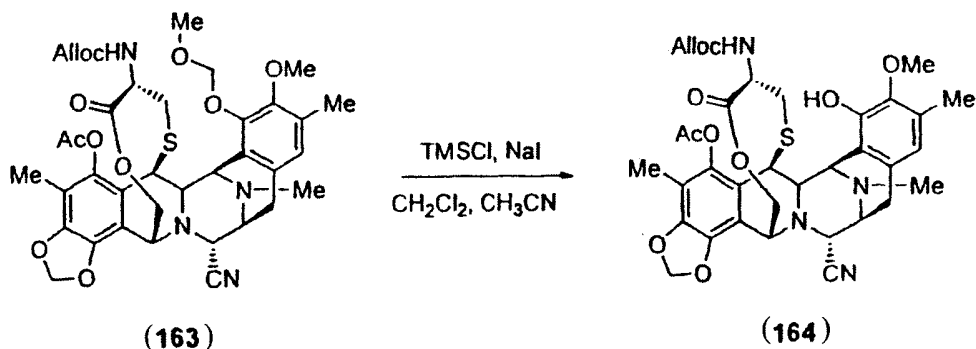
Příklad 87



5 K roztoku sloučeniny **159** (2,4 g, 3,17 mmol) v CH_3CN (16 ml) se při teplotě 0°C přidá MOMBr (2,6 ml, 31,75 mmol), DIPEA (8,3 ml, 47,6 mmol) a DMAP (16 mg, 0,127 mmol). Reakční směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 6 hodin. Reakční směs se naředí CH_2Cl_2 (50 ml) a extrahuje se HCl (50 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 N). Vodná fáze se znovu extrahuje CH_2Cl_2 (50 ml). Organické fáze se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakoncentrují se ve vakuu a zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , CH_2Cl_2 :EtOAc 15:1, 5:1), což vede ke vzniku sloučeniny **26** (1,78 g, 70 %) ve formě bílé pevné látky. Experimentální data sloučeniny **26** byla již dříve popsána v PCT/GB00/01 852.

15 Experimentální postupy přípravy Meziproduktu **11**, sloučeniny **160**, **161**, **162** a **163** jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

Příklad 88



20 K roztoku sloučeniny **163** (15,8 g, 0,02 mol) v bezvodém CH_2Cl_2 (250 ml) a v acetonitrilu (300 ml) se v argonové atmosféře při teplotě 23°C přidá NaI (31,5 g, 0,21 mol) a CITMS (čerstvě predestilovaný s CaH_2 , 26,7 ml, 0,21 mol). Reakční směs se míchá po dobu 40 minut. Poté se reakční směs rozdělí mezi CH_2Cl_2 (200 ml) a vodu (300 ml). Organická vrstva se promyje nasyceným vodným roztokem NaCl (2 x 300 ml). Organická fáze se vysuší Na_2SO_4 , přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (eluent ethylacetát:hexan 2:3), což vede ke vzniku sloučeniny **164** (10,74 g, 76 %) ve formě světle žluté pevné látky.

30 Rf: 0,25 (hexan:EtOAc 3:2).9

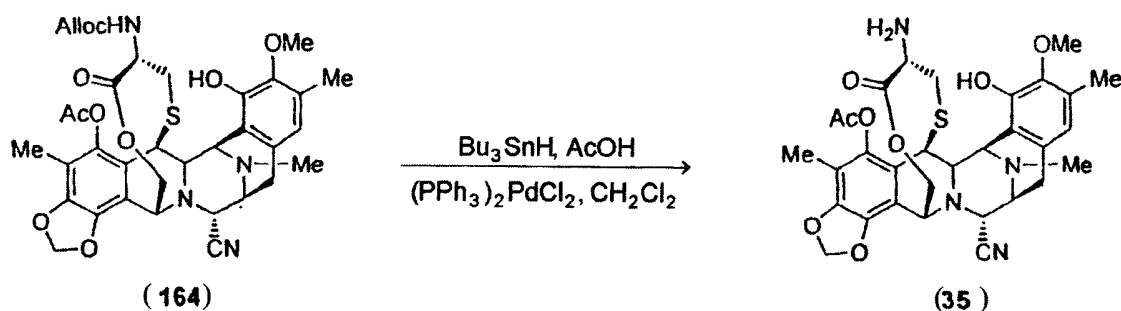
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,57 (s, 1H), 6,08 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 5,96 až 5,85 (m, 1H), 5,76 (bs, 1H), 5,30 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 17,3$ Hz, 1H), 5,23 (dd, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, 1H), 5,00 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 4,81 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,58 až 4,45 (m, 3H),

4,34 až 4,28 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 4,17 až 4,00 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,40 až 3,38 (m, 2H), 2,91 až 2,85 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,24 až 2,23 (m, 2H), 2,19 (s, 3H), 2,02 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,1, 168,4, 155,2, 148,0, 145,5, 142,8, 140,7, 140,1, 132,7, 130,2, 129,6, 120,7, 119,9, 117,8, 113,3, 101,9, 65,5, 61,0, 60,4, 59,9, 59,2, 59,0, 54,3, 53,6, 41,5, 41,2, 32,6, 29,5, 23,5, 20,4, 15,6, 9,4.

ESI-MS m/z: vypočítání C₃₅H₃₈N₄O₁₀S: 706,76, naměřená (M+1)⁺: 707,2.

Příklad 89



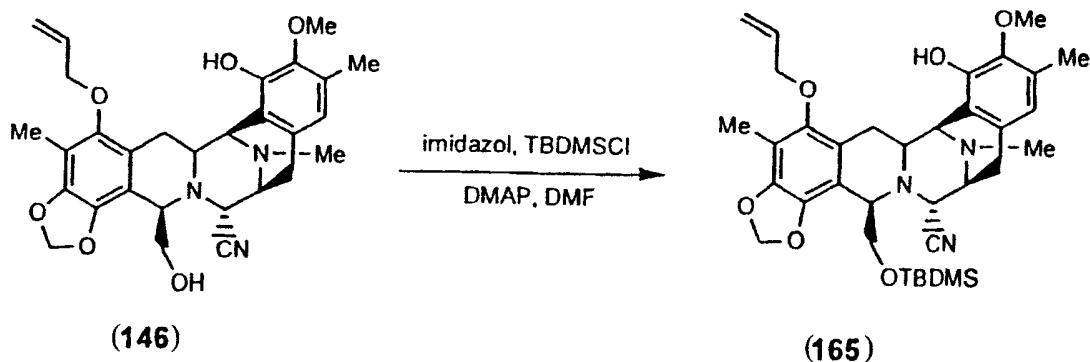
K roztoku sloučeniny **164** (2 g, 2,85 mol) v dichlormethanu (142 ml) se za stálého míchání v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá dichlorbis(trifenylfosfin) palladnatý (0,2 g, 0,28 mmol) a kyselina octová (0,65 ml, 11,4 mmol). Poté se ke směsi po kapkách po dobu 25 minut přidává tributylstanniumhydrid (4,51 ml, 17,02 mmol). Po přidavku Bu₃SnH se směs při teplotě 23 °C míchá po dobu více než 20 minut. Reakční směs se přefiltruje přes sloupec silikagelu spojený hexanem. Zbytek se promyje směsí ethylacetátu a hexanu s gradientem 1:2 až 15:1, což vede ke vzniku sloučeniny **35** (1,38 g, 78 %). Experimentální data sloučeniny **35** byla již dříve popsána v PCT/GB00/01 852.

Sloučenina **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

Cesta 5

První krok této cesty (přeměna sloučeniny **21** na sloučeninu **146**) byl popsán výše v příkladu 71.

Příklad 90



K roztoku sloučeniny **146** (8,72 g, 16,78 mmol) v DMF (20,1 ml) se při teplotě 0 °C přidá imidazol (3,43 g, 50,34 mmol), terc.butyldimethylchlorsilan (7,58 ml, 50,34 mmol) a DMAP (0,2 g, 1,7 mmol). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 3,5 hodiny, poté se reakční směs rychle ochladí vodou (100 ml) a extrahuje se směsí EtOAc/Hex 1:3 (2 x 75 ml). Organické fáze

se promyjí HCl (50 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 M) a vodná fáze se opět extrahuje směsí EtOAc/hexan 1:3 (40 ml). Organické fáze se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a zakoncentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (hexan:EtOAc 10:1, 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **165** (9,85 g, 93 %) ve formě bílé pevné látky.

5

Rf: 0,39 (hexan:EtOAc 2:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,43 (s, 1H), 6,15 až 6,03 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,84 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 5,41 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 17,1 Hz, 1H), 5,26 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 10,5 Hz, 1H), 4,44 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,20 až 4,08 (m, 3H), 3,97 (dd, J₁ = 2,7 Hz, J₂ = 8,1 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,61 (dd, J₁ = 2,71 Hz, J₂ = 9,9 Hz, 1H), 3,18 (brd, J = 8,7 Hz, 1H), 3,22 až 3,16 (m, 2H), 2,99 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 17,4 Hz, 1H), 2,65 (d, J = 17,4 Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,89 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 0,8 (s, 9H), -0,05 (s, 3H), -0,09 (s, 3H).

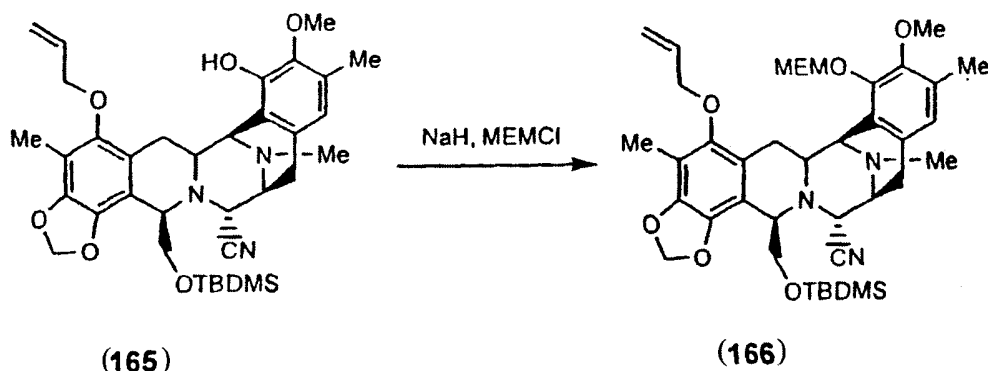
15

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 148,2, 146,5, 143,8, 142,4, 138,9, 133,8, 131,0, 128,0, 121,5, 120,4, 118,4, 117,1, 112,8, 111,6, 100,7, 74,0, 68,2, 61,5, 60,2, 58,6, 57,1, 56,5, 55,2, 41,3, 26,2, 25,4, 25,2, 20,6, 17,8, 15,3, 13,8, 9,0, -3,9, -6,0.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₅H₄₇N₃O₆Si: 633,85, naměřená (M+1)⁺: 634,2.

20

Příklad 91



K roztoku sloučeniny **165** (7,62 g, 12,02 mmol) v THF (87,64 ml) a H₂O (0,24 ml) se při teplotě -6 °C přidá MEMCl (2,33 g, 20,43 mmol). Během 45 minut se ke směsi po částech přidává 60% NaH (0,72 g, 18,03 mmol) a při této teplotě se směs míchá po dobu 1,5 hodiny. Reakční směs se rychle ochladí vodou (150 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). Organické fáze se vysuší Na₂SO₄, přefiltrují se a zakoncentrují se ve vakuu, což vede ke vzniku sloučeniny **166** (8,69 g, 100 %) ve formě bílé pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících krocích.

30

Rf: 0,24 (hexan:EtOAc 2:1).

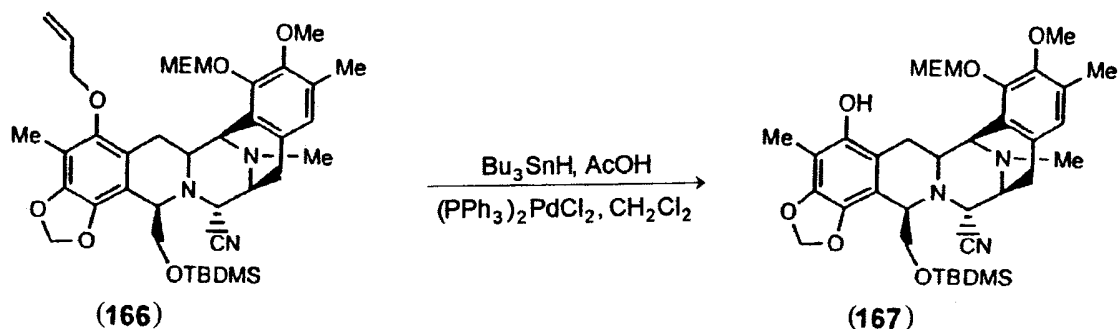
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,64 (s, 1H), 6,16 až 6,05 (m, 1H), 5,92 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,85 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,41 (dd, J₁ = 1,51 Hz, J₂ = 17,1 Hz, 1H), 5,29 až 5,24 (m, 2H), 5,14 (d, J = 6 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,21 až 4,06 (m, 3H), 4,01 až 3,95 (m, 2H), 3,88 až 3,82 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,64 až 3,57 (m, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,29 (brd, J = 7,5 Hz, 1H), 3,25 až 3,15 (m, 2H), 3,00 (dd, J₁ = 8,1 Hz, J₂ = 17,4 Hz, 1H), 2,65 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,82 (dd, J₁ = 12 Hz, J₂ = 15,6 Hz, 1H), 0,79 (s, 9H), -0,06 (s, 3H), -0,11 (s, 3H).

40

¹³C NM (75 MHz, CDCl₃): δ 148,4, 148,1, 144,1, 139,2, 133,9, 130,9, 130,8, 130,2, 128,8, 125,1, 124,2, 121,5, 118,8, 117,45, 113,0, 111,9, 101,0, 98,2, 74,1, 71,7, 69,3, 68,3, 61,7, 59,6, 59,0, 58,9, 57,3, 57,1, 55,5, 41,6, 29,7, 26,4, 25,8, 25,5, 25,4, 15,7, 9,2, -5,6, -5,6.

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{39}H_{55}N_3O_8Si$: 721,3, naměřená $(M+1)^+$: 722,3.

Příklad 92



K roztoku sloučeniny **166** (10,76 g, 14,90 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (275 ml) se v argonové atmosféře při teplotě 23 °C přidá $(PPh_3)_2PdCl_2$ (837 mg, 1,19 mmol), kyselina octová (4,26 ml, 74,5 mmol) a tributylstanniumhydrid (11,85 ml, 44,7 mmol). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 15 min (TLC EtOAc/hexan 1:1, bez obsahu výchozích látek). Ke směsi se přidá hexan (100 ml) a směs se prolíje kolonou na rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:hexan s gradientem 0:100, 1:4, 2:3 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **167** (9,95 g, 98 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,42 (hexan:EtOAc 3:7).

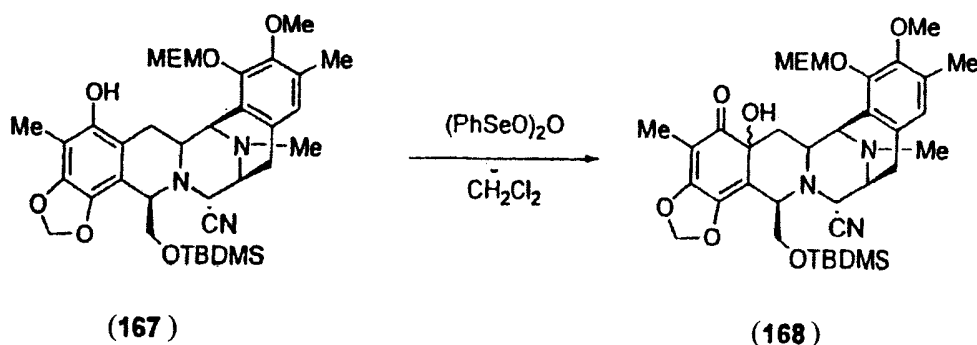
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,63 (s, 1H), 5,89 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 5,79 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 5,76 (m, 1H), 5,38 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,23 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,17 (dd, $J_1 = 1,95$ Hz, $J_2 = 6,05$ Hz, 1H), 4,11 (dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 12,5$ Hz, 1H), 4,01 až 3,92 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,67 (m, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,29 (m, 1H), 3,24 až 3,13 (m, 3H), 2,99 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 17,5$ Hz, 1H), 2,67 (d, $J = 17,5$ Hz, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,80 (dd, $J_1 = 11,2$ Hz, $J_2 = 14,9$ Hz, 1H), 0,82 (s, 9H), 0,03 (s, 3H), -0,07 (s, 3H).

^{13}C NM (75 MHz, $CDCl_3$): δ 148,4, 147,3, 145,5, 144,1, 136,2, 134,9, 134,8, 130,9, 130,2, 124,8, 123,1, 118,6, 112,8, 112,1, 106,2, 100,4, 98,4, 71,5, 69,2, 68,9, 61,7, 59,6, 58,7, 58,6, 56,9, 56,6, 55,3, 41,5, 29,5, 25,7, 25,3, 17,9, 15,5, 8,7, -5,7, -5,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná $C_{36}H_{51}N_3O_8Si$: 681,89, naměřená $(M+1)^+$: 682,3.

HPLC: Podmínky: Sloupec: Symetrie C18, mobilní fáze AcN-fosfátový pufr 25 mmol/l (25 mM), pH = 5, izokratická eluce AcN (65 %) po 5 minutách s gradientem AcN 65 až 92 % za 31 minut, $\varnothing$ 0,6 ml/min, t^a 40 °C. Retenční čas 27,89 minut. HPLC čistota 89,62 %.

Příklad 93



K roztoku sloučeniny **167** (9,95 g, 14,6 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (300 ml) se po kapkách v argonové atmosféře při teplotě -15°C přidá roztok anhydridu kyseliny benzenselenové (7,51 g, 14,6 mmol, čistota činidla 70 %) v bezvodém CH_2Cl_2 (120 ml), což vede k úplnému rozpuštění bílých částíček přítomných v roztoku. Při teplotě -15°C se reakční směs míchá po dobu 15 minut (TLC EtOAc/hexan 1:1, bez obsahu výchozích látek). K reakční směsi se při této teplotě přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (500 ml). Organická fáze se oddělí a vodná fáze se extrahuje CH_2Cl_2 (500 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , s gradientem 2:3 až 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **168** (9,86 g, 97 %) ve formě žluté pevné látky.

Rf: 0,33 (hexan:EtOAc 3:7).

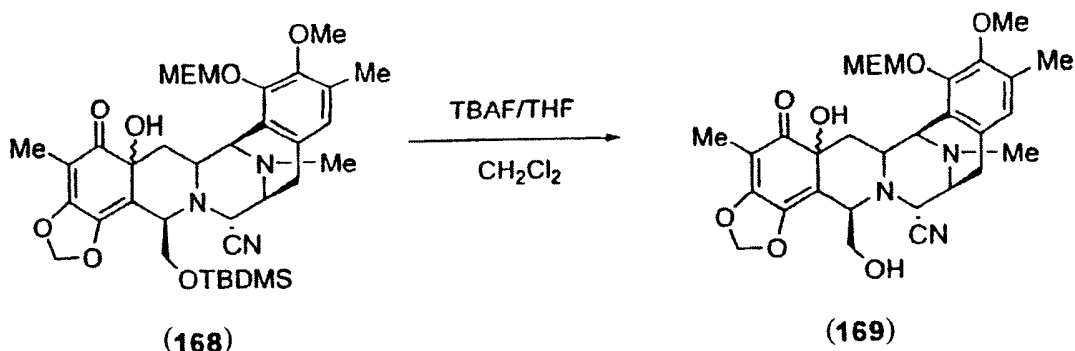
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (poměr izomerů 3:2): δ 6,59 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,68 (s, 1H), 5,63 (s, 1H), 5,19 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 5,09 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 5,07 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 5,00 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 4,40 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,27 (d, $J = 2,44$ Hz, 1H), 4,22 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 3,95 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H), 3,86 až 3,75 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,72 až 3,68 (m, 2H), 3,65 (m, 2H), 3,54 (s, 3H), 3,50 (m, 3H), 3,31 (s, 3H), 3,29 (s, 3H), 3,24 (m, 1H), 3,09 (dt, $J = 3,2$ Hz, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,02 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 2,92 (m, 2H), 2,48 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,43 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,03 (m, 2H), 1,73 (s, 3H), 1,71 (s, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,77 (s, 9H), 0,04 (s, 3H), 0,02 (s, 3H).

^{13}C NM (75 MHz, CDCl_3): δ 200,5, 197,2, 159,8, 157,7, 148,4, 148,2, 147,7, 140,0, 137,6, 130,5, 130,2, 129,9, 129,4, 124,9, 124,7, 124,0, 122,7, 117,1, 116,9, 113,4, 110,8, 103,9, 103,8, 101,0, 100,4, 97,8, 72,8, 71,3, 69,7, 68,9, 68,8, 65,4, 64,1, 60,2, 59,9, 59,3, 59,1, 59,0, 58,6, 58,5, 56,8, 56,5, 56,2, 55,5, 54,9, 54,8, 42,5, 41,1, 40,9, 35,8, 25,6, 25,5, 25,4, 25,3, 20,6, 17,9, 17,8, 15,5, 15,3, 13,8, 7,0, 6,7, -5,7, -6,0, -6,1.

ESI-MS m/z: vypočítaná $\text{C}_{36}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}$: 697,89, naměřená $(\text{M}+1)^+$: 698,8.

HPLC: Podmínky: Sloupec: Symetrie C18, mobilní fáze AcN-fosfátový pufr 25 mmol/l (25 mM), pH = 5, s gradientem AcN 30 až 100 % za 50 minut. $\varnothing$ 1,2 ml/min, t^a 40°C . Retenční čas 30,70 minut a 30,95 minut (dva izomery). HPLC čistota 60,77 % a 31,99 %.

Příklad 94



K roztoku sloučeniny **168** (16,38 g, 23,47 mmol) v bezvodém THF (727 ml) o koncentraci 0,03 mol/l (0,03 M) se po kapkách při teplotě 23°C přidá roztok TBAF v THF (59 ml, 59 mmol) o koncentraci 1 mol/l (1 M). Reakční směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 45 minut. Poté se reakční směs rozdělí mezi nasycený vodný roztok NaCl (850 ml) a CH_2Cl_2 (950 ml). Obě vrstvy se oddělí a organická fáze se vysuší bezvodým Na_2SO_4 , přefiltruje se a zakonzcentruje se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:hexan s gradi-

entem 40:60, 50:50, 70:30, 90:10 až 100:0), což vede ke vzniku sloučeniny **169** (12,17 g, 89 %) ve formě světle žluté pevné látky.

Rf: 0,1 (hexan:EtOAc 3:7).

5

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (poměr izomerů 3:2): δ 6,63 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,62 (s, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,18 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 5,08 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 5,01 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 4,22 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 4,09 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,00 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 3,87 až 3,64 (m, 6H), 3,55 (s, 3H), 3,51 až 3,44 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,29 (s, 3H), 3,26 (m, 1H), 3,18 (dt, $J_1 = 2,9$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, 1H), 2,94 (m, 4H), 2,50 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,02 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,69 (s, 3H).

10

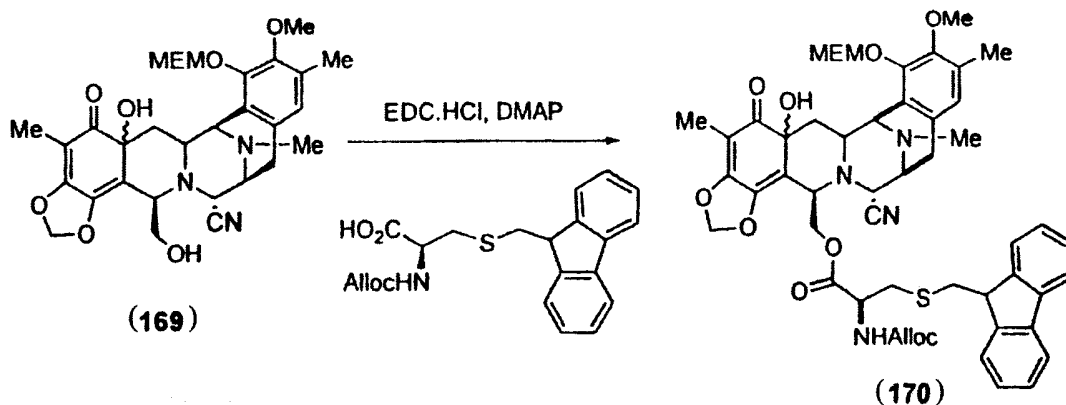
^{13}C NM (75 MHz, CDCl_3): δ 200,2, 200,1, 159,6, 158,5, 148,5, 148,4, 148,1, 147,9, 140,5, 137,4, 130,9, 130,4, 130,1, 130,0, 125,1, 124,9, 123,8, 122,7, 116,9, 116,6, 113,3, 110,7, 104,5, 103,9, 101,4, 100,7, 98,1, 97,9, 71,9, 71,5, 71,4, 70,1, 69,0, 69,0, 62,0, 60,1, 59,5, 58,7, 58,5, 58,1, 57,4, 56,9, 56,8, 56,4, 55,9, 55,1, 55,0, 41,3, 41,0, 36,1, 31,3, 25,3, 25,2, 22,4, 15,6, 15,5, 13,8, 7,0, 6,8.

15

ESI-MS m/z : vypočítaná $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_9$: 583,63, naměřená $(\text{M}+1)^+$: 584,2.

20

Příklad 95



25

K roztoku sloučeniny **169** (11,49 g, 19,69 mmol) a Alloc-Cys-(Fm) (11,32 g, 29,53 mmol) (jeho příprava je uvedena v Kruse, C. H., Holden, K. G., *J. Org. Chem.*, 1985, 50, pp. 2792–2794) v bezvodém CH_2Cl_2 (688 ml) se při teplotě 23 °C přidá DMAP (2,4 g, 19,69 mmol) a EDC.HCl (9,44 g, 49,22 mmol). Poté se ke směsi při teplotě 0 °C přidá DIPEA (5,14 ml, 29,53 mmol) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 3 hodin. Reakční směs se postupně promývá nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (500 ml), NaCl (400 ml) a NH_4Cl (2 x 300 ml). Organická vrstva se vysuší Na_2SO_3 (500 ml), NaCl (400 ml) a NH_4Cl (2 x 300 ml). Organická vrstva se vysuší Na_2SO_4 , přefiltruje se a zakonzcentruje se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc:hexan s gradientem 1:1, 6:4 až 7:3), což vede ke vzniku sloučeniny **170** (14,76 g, 79 %) ve formě světle žluté pevné látky.

35

Rf: 0,31 a 0,40 (směs izomerů) (hexan:EtOAc 3:7).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,74 (d, $J = 7,6$ Hz, 4H), 7,63 (dd, $J = 7,0$ Hz, $J = 15,3$ Hz, 4H), 7,38 (t, $J = 7,3$ Hz, 4H), 7,29 (m, 4H), 6,61 (s, 1H), 6,54 (s, 1H), 5,89 (m, 2H), 5,73 (s, 1H), 5,70 (s, 1H), 5,69 (s, 1H), 5,62 (s, 1H), 5,55 (m, 1H), 5,32 (d, $J = 15,1$ Hz, 1H), 5,23 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 5,22 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H), 5,14 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,13 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 5,07 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 4,68 (m, 1H), 4,56 (m, 4H), 4,51 (m, 2H), 4,38 (dd, $J_1 = 4,5$ Hz, $J_2 = 12,6$ Hz, 1H), 4,22

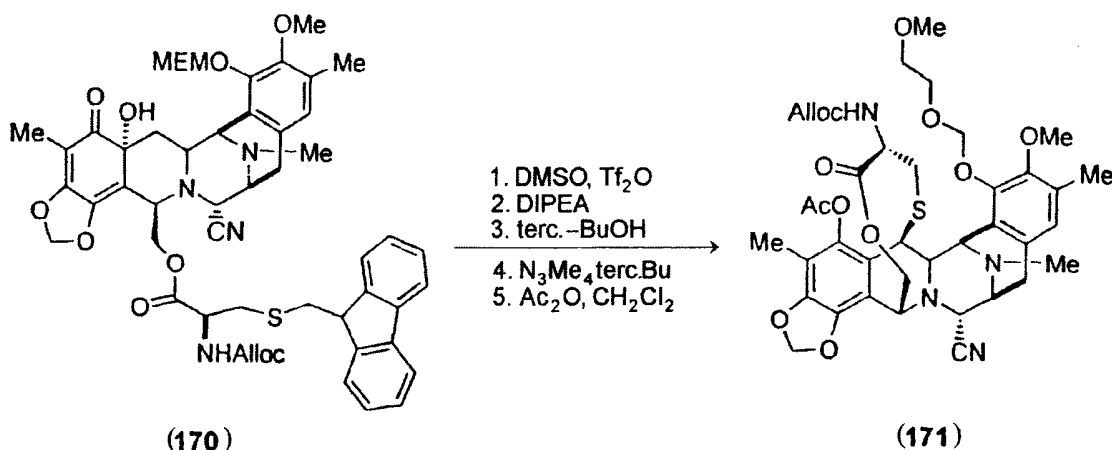
40

(dd, $J_1 = 6,2$ Hz, $J_2 = 11,1$ Hz, 1H), 4,14 až 3,88 (m, 12H), 3,83 (s, 3H), 3,79 až 3,69 (m, 4H), 3,61 (s, 3H), 3,56 (m, 4H), 3,39 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 3,23 (m, 2H), 3,16 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,07 (d, $J = 6,1$ Hz, 2H), 3,00 až 2,81 (m, 6H), 2,46 až 2,34 (m, 4H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,07 (m, 1H), 1,83 (dd, $J_1 = 9,5$ Hz, $J_2 = 15,1$ Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,77 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 200,3, 198,4, 170,3, 160,0, 158,1, 148,7, 148,7, 148,5, 148,2, 145,6, 145,6, 145,5, 142,2, 141,1, 141,0, 141,0, 138,5, 132,4, 132,3, 131,1, 130,6, 130,1, 129,8, 128,8, 127,6, 127,1, 127,1, 125,1, 125,0, 124,8, 124,7, 124,7, 124,0, 122,7, 119,9, 118,1, 118,0, 117,2, 116,8, 111,6, 108,3, 104,8, 104,5, 101,5, 101,0, 98,2, 98,2, 72,3, 71,7, 71,7, 70,6, 69,3, 69,2, 66,4, 66,0, 66,0, 65,5, 63,8, 60,8, 60,2, 59,8, 59,0, 58,9, 58,1, 56,8, 56,6, 56,5, 56,3, 56,1, 55,7, 55,3, 55,2, 53,9, 46,9, 41,9, 41,4, 41,2, 37,2, 36,9, 35,4, 31,5, 29,6, 25,6, 25,4, 22,6, 15,8, 15,7, 14,1, 7,3, 7,0.

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

Příklad 96



Reakční baňka se dvakrát vyžihá, několikrát se propláchne argonem a udržuje se v argonové atmosféře. K roztoku DMSO (5,4 ml) v bezvodém CH_2Cl_2 (554 ml) se při teplotě -78°C po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (5,11 ml, 30,4 mmol). Reakční směs se při teplotě -78°C míchá po dobu 20 minut. Poté se pomocí kanyly při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny **170** (14,43 g, 15,2 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (188 ml). Během přidávání se v baňkách udržuje teplota -78°C a barva reakční směsi je žlutá. Reakční směs se při teplotě -40°C míchá po dobu 35 minut. Během tohoto časového intervalu se roztok změní ze žluté na tmavě zelenou. Po uplynutí této doby se po kapkách přidá $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ (21,2 ml, 121,6 mmol) a reakční směs se při teplotě 0°C nechá stát po dobu 45 minut. Během této doby se barva roztoku změní na bledě hnědou. Poté se k reakční směsi po kapkách přidá $\text{tert.}\text{BuOH}$ (5,8 ml, 60,8 mmol) a $\text{tert.}\text{butyltetra-methylguanidin}$ (18,3 ml, 106,4 mmol) a reakční směs se míchá při teplotě 23°C po dobu 40 minut. Po uplynutí této doby se k reakční směsi po kapkách přidá acetanhydrid (14,34 ml, 152 mmol) a směs se nechá reagovat při teplotě 23°C po dobu více než 1 hodiny. Poté se reakční směs naředí CH_2Cl_2 (38 ml) a promyje se nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (500 ml), NaHCO_3 (500 ml) a NaCl (500 ml). Organické vrstvy se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakoncentrují se. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , EtOAc :hexan s gradientem 3:7 až 4:6), což vede ke vzniku sloučeniny **171** (6,24 g, 52 %) ve formě světle žluté pevné látky.

Rf: 0,38 (hexan:EtOAc 1:1).

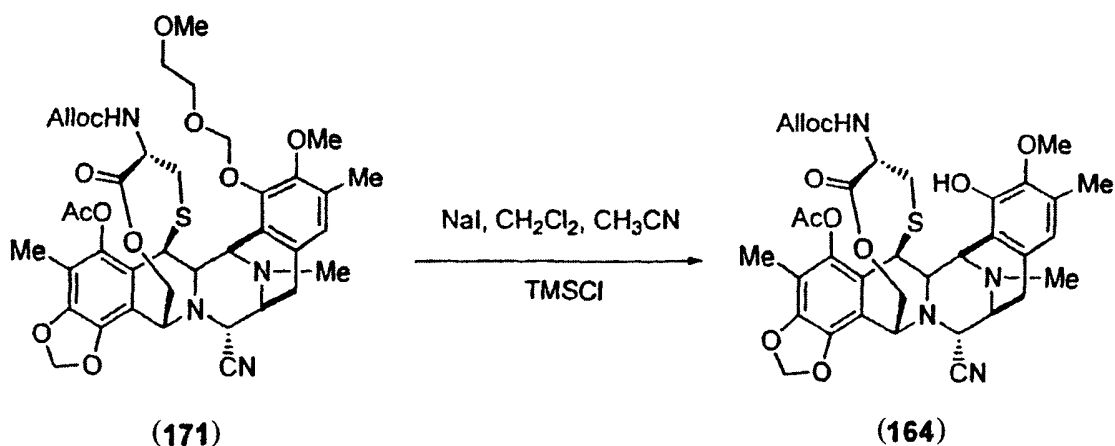
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,78 (s, 1H), 6,07 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,92 (m, 1H), 5,32 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 5,31 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 17,1 Hz, 1H), 5,23 (dd, J₁ = 1,5 Hz, J₂ = 10,4 Hz, 1H), 5,19 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 5,01 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 4,81 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 4,53 až 4,51 (m, 3H), 4,35 až 4,27 (m, 2H), 4,24 (s, 1H), 4,18 až 4,13 (m, 2H), 3,94 až 3,84 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,58 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 3,43 až 3,37 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 2,91 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,36 až 2,06 (m, 2H), 2,02 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,23, 168,49, 155,26, 149,62, 148,26, 145,63, 140,85, 140,24, 132,74, 131,60, 130,11, 124,89, 124,70, 120,14, 117,89, 117,84, 113,21, 101,89, 98,03, 92,67, 71,60, 69,04, 65,70, 61,20, 60,35, 59,36, 59,01, 58,89, 54,71, 54,42, 53,79, 41,53, 41,19, 32,68, 29,53, 23,57, 20,26, 15,62, 9,45.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₃₉H₄₆N₄O₁₂S: 794,87, naměřená (M+1)⁺: 796, (M+23)⁺ 817.

HPLC: Podmínky: Sloupec: Symetrie C18, mobilní fáze AcN-fosfátový pufr (pH = 5), s gradientem 45 až 65 % za 15 minut a 65 až 90 % za 36 minut. Ø 0,8 ml/min, t^a 40 °C. Retenční čas 19,374 minuty. HPLC čistota 83,17 %.

Příklad 97



K roztoku sloučeniny **171** (2,26 g, 2,85 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (74 ml) a acetonitrilu (74 ml) se při teplotě 0 °C přidá NaI (3,42 g, 22,8 mmol) a TMSCl (čerstvě předestilovaný s CaH₂) (2,6 ml, 22,8 mmol) a reakční směs se míchá po dobu 35 minut. K reakční směsi se při této teplotě přidá nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (150 ml). Organická fáze se oddělí a vodná fáze se extrahuje CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). Organické extrakty se vysuší síranem sodným, přefiltrují se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku, což vede ke vzniku sloučeniny **164** (2,4 g, 100 %) jako světle žluté pevné látky, která se bez dalšího čištění použije v následujících reakcích. Experimentální data sloučeniny **164** byla již dříve popsána v příkladu 88.

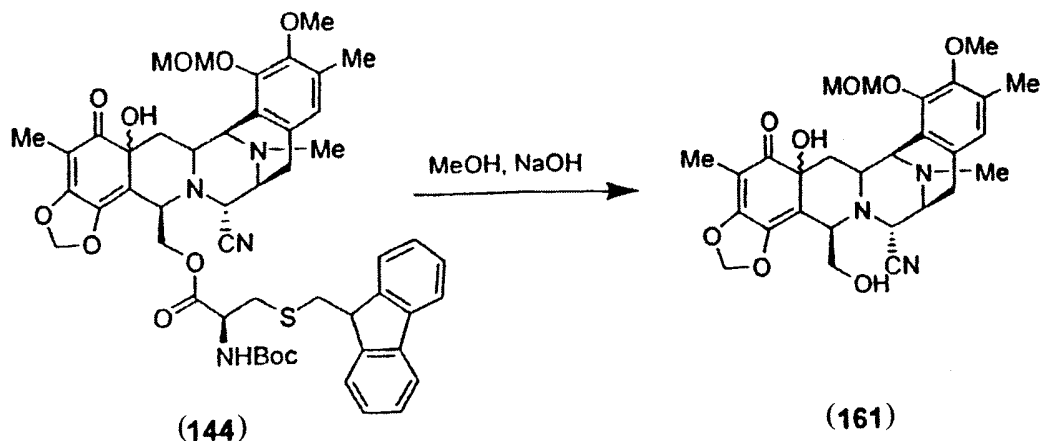
Přeměna sloučeniny **164** na sloučeninu **35** byla již dříve popsána v příkladu 89.

Meziprodukty **35**, **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/-01 852.

Cesta 6

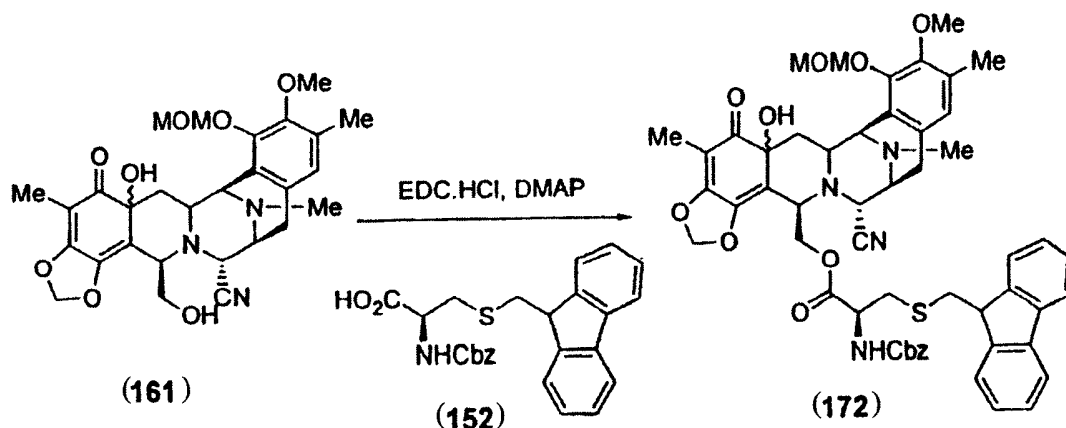
Příklad 98

5



K roztoku sloučeniny **144** (7 g, 7,6 mmol) v MeOH (140 ml) se přidá NaOH (15,1 ml) o koncentraci 0,1 mol/l (0,1 M) a reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 10 minut. K reakční směsi se přidá nasycený vodný roztok NH₄Cl (100 ml). Organická fáze se oddělí a promyje se 5% HCl dokud se barva nezmění na žlutou. Organický extrakt se vysuší síranem sodným, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:hexan s gradientem 0:1, 1:3, 1:2, 1:1, 1:1 až 3:1), což vede ke vzniku sloučeniny **161** (3,76 g, 85 %). Experimentální data sloučeniny **116** byla již dříve popsána v patentu US 5 721 362.

Příklad 99



20

K roztoku sloučeniny **161** (200 mg, 0,37 mmol) a cysteinu **152** (240 mg, 0,55 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (20 ml) se při teplotě 23 °C přidá DMAP (110 mg, 0,925 mmol) a EDC-HCl (170 mg, 0,925 mmol) a reakční směs se při této teplotě míchá po dobu 1,5 hodiny. Reakční směs se postupně promývá nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ (15 ml), NaCl (15 ml) a NH₄Cl (2 x 10 ml). Organická vrstva se vysuší Na₂SO₄, přefiltruje se a zakoncentruje se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:hexan s gradientem 1:4 až 1:2), což vede ke vzniku sloučeniny **172** (285 mg, 80 %) ve formě bílé pevné látky.

30

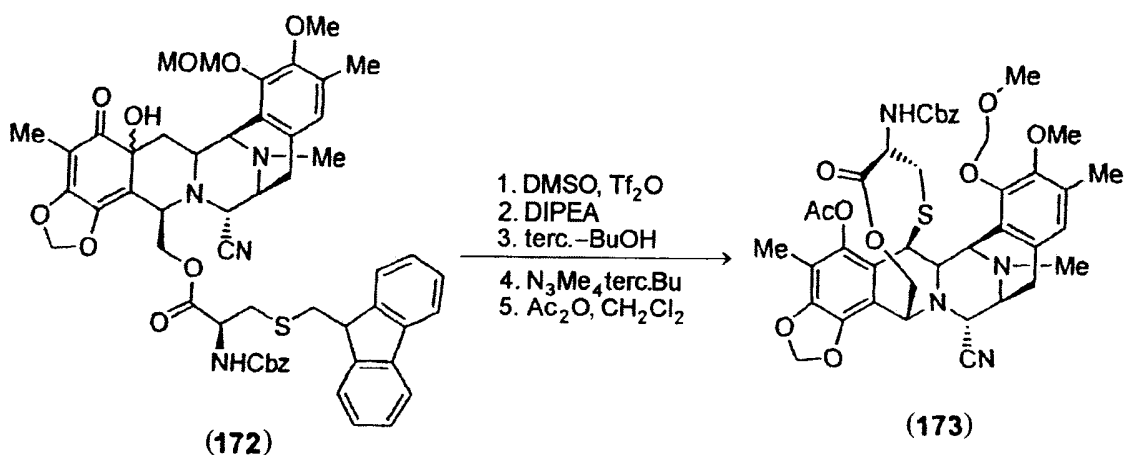
Rf: 0,3 (hexan:EtOAc 2:1).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,73 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,59 až 7,57 (m, 2H), 7,40 až 7,28 (m, 9H), 6,60 (s, 1H), 5,69 (s, 1H), 5,65 (s, 1H), 5,54 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,11 až 5,08 (m, 4H), 4,52 až 4,4,49 (m, 1H), 4,21 až 3,90 (m, 6H), 3,83 (s, 3H), 3,49 (s, 3H), 3,21 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 3,09 až 2,90 (m, 6H), 2,41 (d, J = 18 Hz, 1H), 2,34 až 2,31 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 1,88 až 1,83 (m, 1H), 1,77 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 198,7, 170,5, 158,4, 155,9, 148,9, 148,8, 145,8, 142,5, 141,3, 136,2, 131,4, 130,0, 128,8, 128,6, 128,4, 127,9, 127,3, 125,3, 125,0, 124,9, 123,0, 120,1, 117,5, 108,5, 104,8, 101,7, 99,5, 70,8, 67,4, 60,5, 57,8, 57,0, 56,5, 56,0, 55,5, 47,1, 41,6, 37,4, 37,1, 31,8, 25,8, 22,8, 15,9, 14,3, 7,6.

ESI-MS m/z : vypočítaná $C_{53}H_{54}N_4O_{11}S$: 954,35, naměřená $(M+23)^+$: 977,8.

15 Příklad 100



Reakční baňka se dvakrát vyžihá, několikrát se propláchne argonem a udržuje se v argonové atmosféře. K roztoku DMSO (977 μ l) v bezvodém CH_2Cl_2 (118 ml) se při teplotě -78°C po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethansulfonové (930 μ l, 5,5 mmol). Reakční směs se při teplotě -78°C míchá po dobu 20 minut. Poté se pomocí kanyly (doba přidávání 5 min) při teplotě -78°C přidá roztok sloučeniny **172** (2,63 g, 2,75 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (26 ml jako hlavní přídavek a 13 ml na promytí). Během přidávání se v obou baňkách udržuje teplota -78°C a barva reakční směsi se změní ze žluté na hnědou. Reakční směs se při teplotě -40°C míchá po dobu 35 minut. Během tohoto časového intervalu se roztok změní ze žluté na tmavě zelenou. Po uplynutí této doby se po kapkách přidá Pr_2NEt (3,48 ml, 22 mmol) a reakční směs se při teplotě 0°C nechá stát po dobu 45 minut, během této doby se barva roztoku změní na hnědou. Poté se k reakční směsi po kapkách přidá tert.BuOH (1,04 ml, 11 mmol) a $\text{tert.butyltetramethylguanidin}$ (3,31 ml, 19,25 mmol) a reakční směs se při teplotě 23°C míchá po dobu 40 minut. Po uplynutí této doby se k reakční směsi po kapkách přidá acethydrid (2,6 ml, 27,5 mmol) a směs se nechá reagovat při teplotě 23°C po dobu více než 1 hodiny. Poté se reakční směs naředí CH_2Cl_2 (70 ml) a postupně promyje nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (180 ml), NaHCO_3 (180 ml) a NaCl (180 ml). Organické vrstvy se vysuší Na_2SO_4 , přefiltrují se a zakoncentrují se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO_2 , hexan:EtOAc s gradientem 4:1, 3:1 až 2:1), což vede ke vzniku sloučeniny **173** (1,145 g, 52 %) ve formě bílé pevné látky.

Rf: 0,31 (hexan:EtOAc 3:2).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,37 (bs, 5H), 6,67 (s, 1H), 6,08 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,99 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 5,19 až 5,00 (m, 4H), 4,82 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 4,49 (bs, 1H), 4,32 až 4,15 (m, 5H),

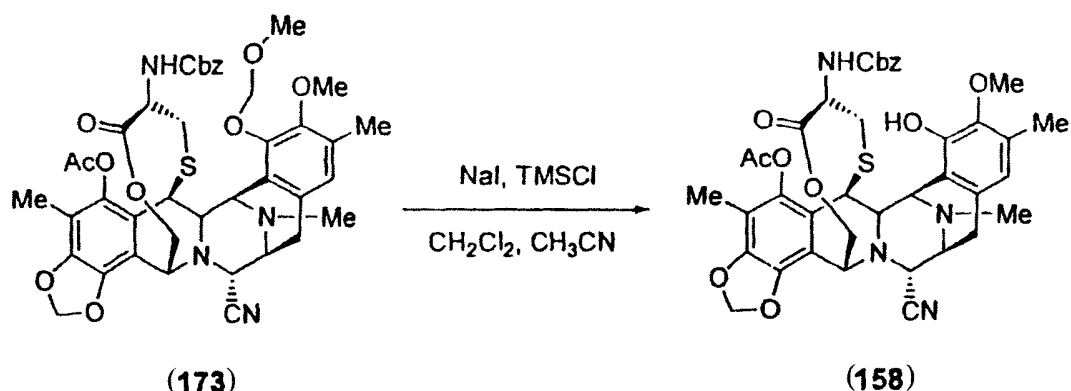
3,67 (s, 3H), 3,55 (s, 3H), 3,44 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 3,39 (d, J = 6 Hz, 1H), 2,90 až 2,87 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,15 až 2,07 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 170,6, 168,8, 155,8, 149,9, 148,5, 145,0, 141,2, 140,6, 136,6, 132,0, 130,4, 128,8, 128,7, 128,5, 125,2, 124,9, 120,5, 118,2, 113,7, 113,6, 102,2, 99,4, 67,2, 61,6, 60,7, 59,7, 59,3, 57,6, 55,1, 54,8, 54,2, 41,9, 41,6, 33,0, 29,9, 23,9, 20,6, 15,6, 9,8.

ESI-MS m/z: vypočítaná C₄₁H₄₄N₄O₁₁S: 800,87, naměřená (M+23)⁺ 823,7.

10

Příklad 101



K roztoku sloučeniny **173** (100 mg, 0,125 mmol) v CH₂Cl₂ (2 ml) a CH₃CN (2 ml) se při teplotě 0 °C přidá NaI (75 mg, 0,5 mmol) a TMSCl (63 μl, 0,5 mmol). Reakční směs se při teplotě 23 °C míchá po dobu 50 minut, poté se směs rychle ochladí vodou (30 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (2 x 20 ml). Organické fáze se postupně promyjí nasyceným vodným roztokem NaCl (20 ml) a dithioničitanem sodným (20 ml), vysuší se Na₂SO₄, přefiltrují se a zakoncentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí rychlou sloupcovou chromatografií (SiO₂, EtOAc:hexan s gradientem 1:4, 1:2 až 1:1), což vede ke vzniku sloučeniny **158** (66 mg, 70 %) ve formě bílé pevné látky. Experimentální data sloučeniny **158** byla již dříve popsána v příkladu 19.

Přeměna sloučeniny **158** na sloučeninu **35** byla již dříve popsána v příkladu 85.

25

Meziprodukty **36**, **ET-770** a **ET-743** se připraví postupy, které jsou popsány v PCT/GB00/01 852.

Rf: 0,21 (hexan:EtOAc 1:1).

30

Odkazy na literaturu

European Patent 309 477.

US Patent 5 721 362.

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

Martinez, E. J., Owa, T., Schreiber, S. L. and Corey, E. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 3496–3501.

Japanese Kokai JP-A2 59/225 189.

Japanese Kokai JP-A2 60/084 288.

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

40

- Remers, W. A., In *The Chemistry of Antitumor Antibiotics*, Vol. 2, Wiley, New York, 1988, pp. 93–118.
- Gulavita, N. K., Scheuer, P. J., Desilva E. D. Abst. Indo–United States Symp. on Bioactive Compounds from Marine Organisms, Goa, India, Feb. 23–27, 1989, p. 28.
- 5 Arai, T., Takahashi, K., Kubo, A., *J. Antibiot.*, 1977, 30, 1015–1018.
- Arai, T., Takahashi, K., Nakahara, S., Kubo, A., *Experientia*, 1980, 36, 1025–1028.
- Mikami, Y., Takahashi, K., Yazawa, K., Hour-Young, C., Arai, T., Saito, N., Kubo, A., *J. Antibiot.*, 1988, 41, 734–740.
- Arai, T., Takahashi K., Ishiguro, K., Yazawa, K., *J. Antibiot.*, 1980, 33, 951–960.
- 10 Yazawa, K., Takahashi, K., Mikami, Y., Arai, T., Saito, N., Kubo, A., *J. Antibiot.*, 1986, 39, 1639–1650.
- Arai, T., Yazawa, K., Takahashi, K., Maeda, A., Mikami, Y., *Antimicrob. Agent Chemother.* 1985, 28, 5–11.
- Takahashi, K., Yazawa, K., Kishi, K., Mikami, Y., Arai, T., Kubo, A., *J. Antibiot.*, 1982, 35,
- 15 196–201.
- Yazawa, K., Asaoka, T., Takahashi, K., Mikami, Y., Arai, T., *J. Antibiot.*, 1982, 35, 915–917.
- Frincke, J. M., Faulkner, D. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, 104, 265–269.
- He, H.–Y., Faulkner, D. J., *J. Org. Chem.*, 1989, 54, 5822–5824.
- Kubo, A., Saito, N., Kitahara, Y., Takahashi, K., Tazawa, K., Arai, T., *Chem. Pharm. Bull.*, 1987,
- 20 35, 440–442.
- Trowitzsch–kienast, W., Irschik, H., Reichenback, H., Wray, V., Höfle, G., *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 475–481.
- Ikeda, Y., Idemoto, H., Hirayama, F., Yamamoto, K., Iwao, K., Asano, T., Munakata, T., *J. Antibiot.*, 1983, 36, 1279–1283.
- 25 Asaoka, T., Yazawa, K., Mikami, Y., Arai, T., Takahashi, K., *J. Antibiot.*, 1982, 35, 1708–1710.
- Lown, J. W., Hanstock, C. C., Joshua, A. V., Arai, T., Takahashi, K., *J. Antibiot.*, 1983, 36, 1184–1194.
- Munakata et al., United States Patent 4 400 752, 1984.
- Y. Ikeda et al., the Journal of Antibiotics., VOL XXXVI, N° 10, 1284, 1983.
- 30 Cooper, R., Unger, S., The Journal of Antibiotics. VOL XXXVIII, N° 1, 1985.
- Corey et al., United States Patent 5 721 362, 1998.
- Corey et al., *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 118, pp. 9202–92034, 1996.
- Proc. Natl. acad. Sci., USA, Vol. 96, pp. 3496–3501, 1999.

35

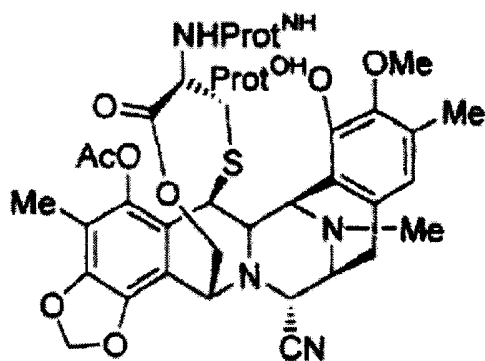
Průmyslová využitelnost

Sloučeniny tohoto vynálezu se používají pro výrobu farmaceutických prostředků, které se používají při léčbě karcinomů jako je leukémie, rakovina plic, rakovina tlustého střeva, rakovina ledvin

40 a melanom.

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Způsob výroby ecteinascidinové sloučeniny, vyznačující se tím, že obě chránicí skupiny ze sloučeniny A



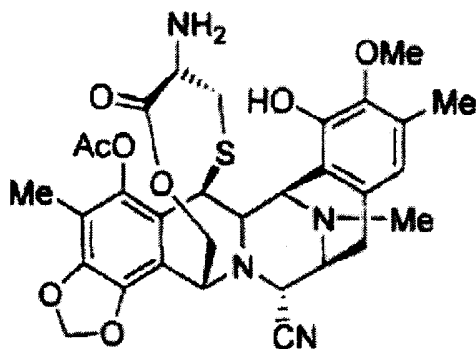
(A),

10 kde Prot^{NH} je amin chránicí skupina,

kde Prot^{OH} je hydroxyl chránicí skupina.

se odstraní v jediném kroku za vzniku sloučeniny α -aminolaktonu vzorce 35

15

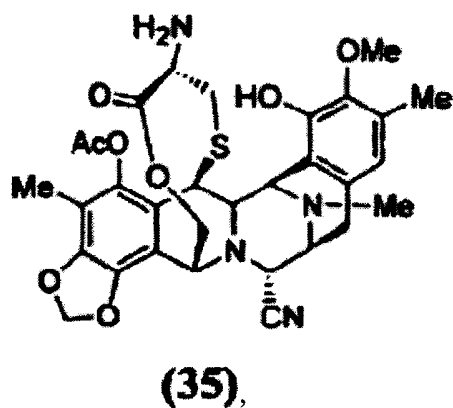


(35),

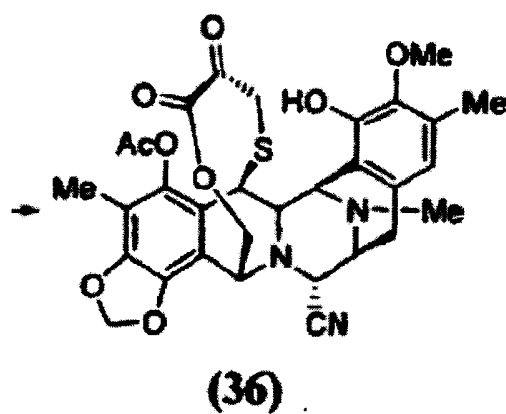
20 2. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že Prot^{NH} je t-butyloxykarbonyl a Prot^{OH} je methoxymethyl.

3. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že Prot^{NH} je t-butyloxykarbonyl a Prot^{OH} je methoxyethoxymethyl.

25 4. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že zahrnuje další krok oxidace α -aminolaktonu vzorce (35)

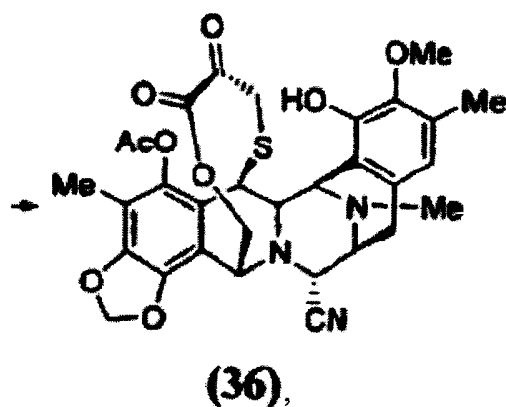


transaminací na odpovídající α -ketolakton vzorce 36



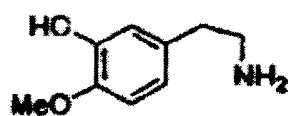
5

5. Způsob podle nároku 4, vyznačující se tím, že zahrnuje podrobení α -ketolaktonu vzorce 36



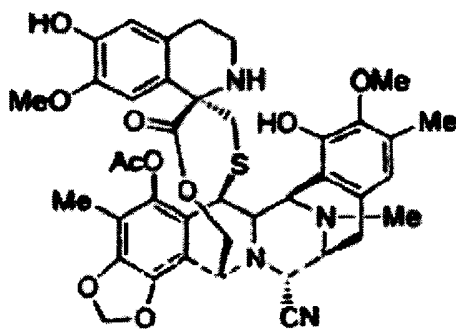
10

Pictet-Spenglerové reakci za přítomnosti aminu vzorce



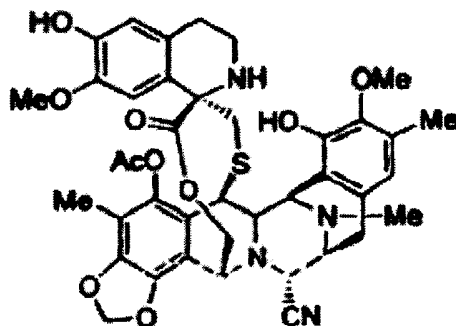
15

za stereospecifického vytvoření spirotetrahydroisochinolinové sloučeniny Et770

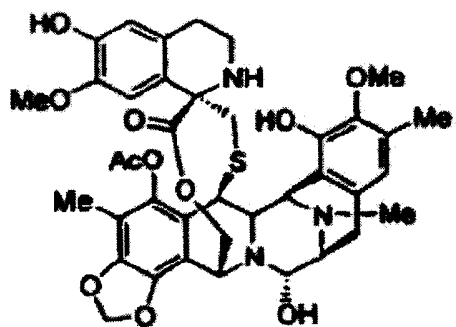
**(Et770)**

6. Způsob podle nároku 5, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že zahrnuje další krok nahrazení nitrilu na C-21 u sloučeniny Et770

5

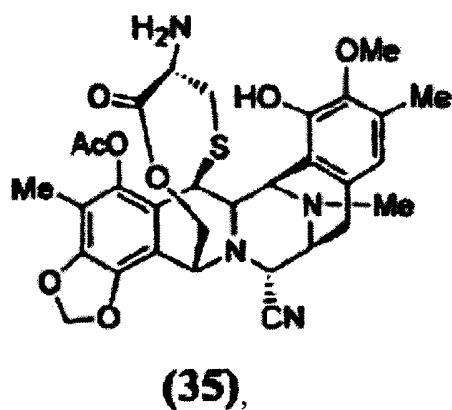
**(Et770),**

hydroxylem za vzniku Et743

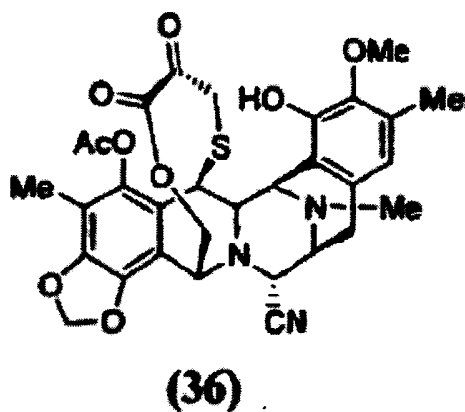
**(Et743)**

10

7. Způsob výroby ecteinascidinové sloučeniny, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že se při kroku způsobu oxiduje α -aminolakton vzorce 35

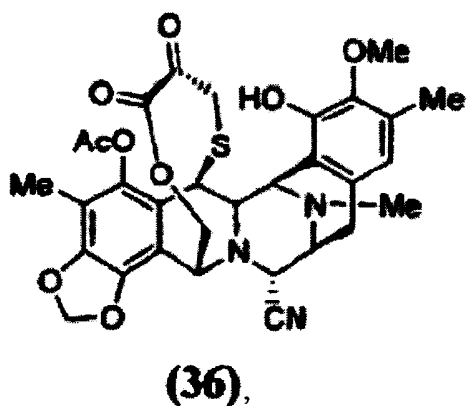


transmitací na odpovídající α -ketolakton vzorce 36



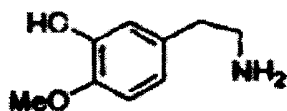
5

8. Způsob podle nároku 7, vyznačující se tím, že zahrnuje podrobení α -ketolaktonu vzorce 36



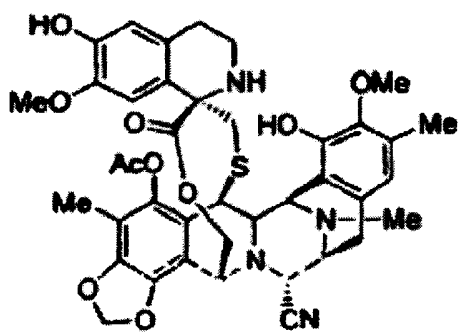
10

Pictet–Spenglerové reakci za přítomnosti aminu vzorce



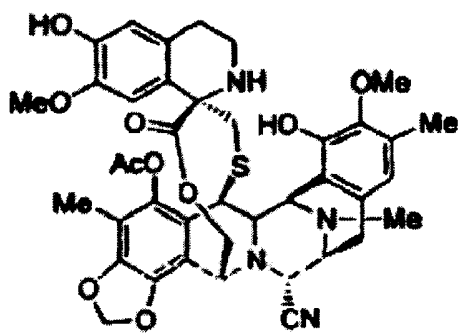
15

za stereospecifického vytvoření spirotetrahydroisochinolinové sloučeniny Et770

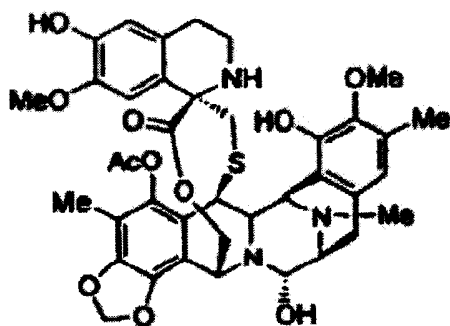
**(Et770)**

9. Způsob podle nároku 8, vyznačující se tím, že zahrnuje další krok nahrazení nitrilu na C-21 u sloučeniny Et770

5

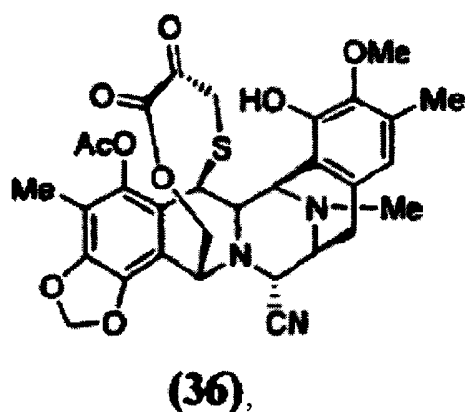
**(Et770),**

hydroxylem za vzniku Et743

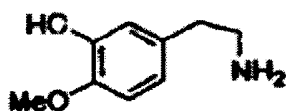
**(Et743)**

10

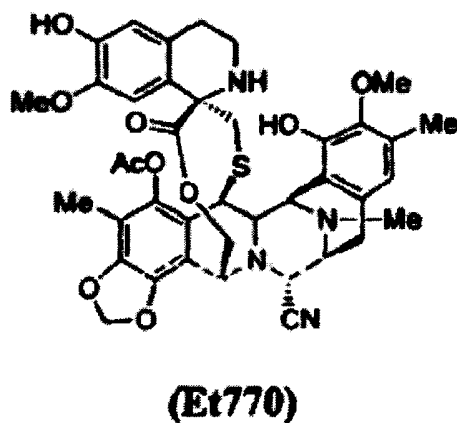
10. Způsob výroby ecteinascidinové sloučeniny, vyznačující se tím, že se při kroku způsobu podrobí α -ketolakton vzorce 36



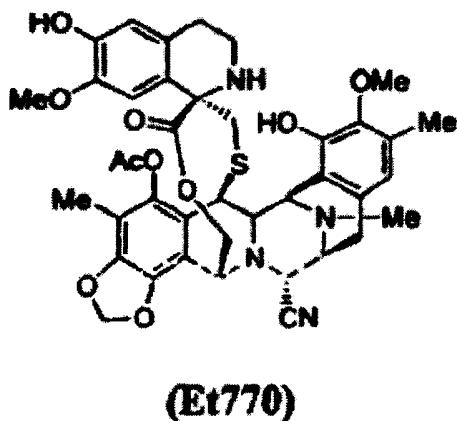
Pictet–Spenglerové reakci za přítomnosti aminu vzorce



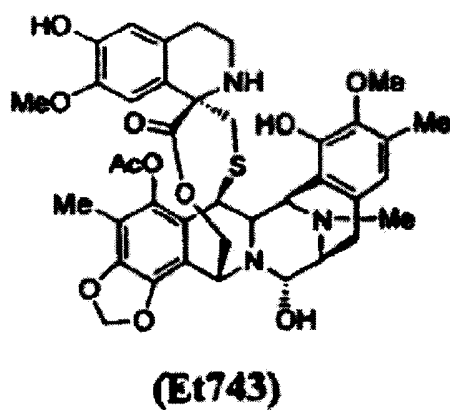
za stereospecifického vytvoření spirotetrahydroisochinolinové sloučeniny Et770



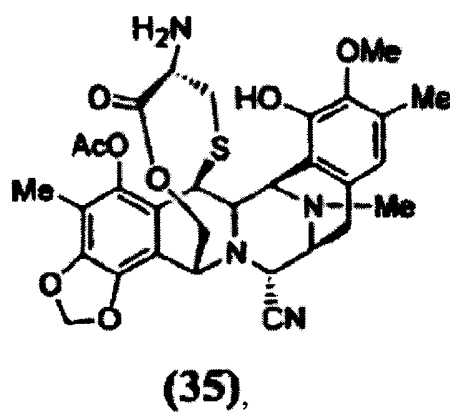
11. Způsob podle nároku 10, vyznačující se tím, že zahrnuje další krok nahrazení nitrilu na C-21 u sloučeniny Et770



hydroxylem za vzniku Et743



12. α -Aminolakton vzorce 35

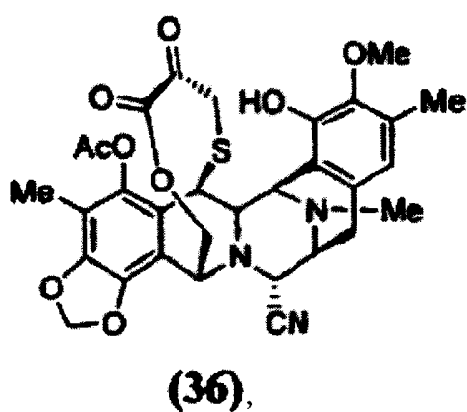


5

jako meziprodukt způsobu podle nároků 1, 4 a 7.

13. α -Ketolakton vzorce 36

10



jako meziprodukt způsobu podle nároků 4, 5, 7, 8 a 10.

15

Konec dokumentu

20