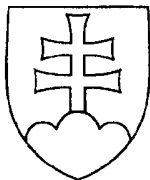


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285647

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. (2006):

A61K 31/427
A61K 31/4164
A61K 31/4427
C07D 417/00
C07D 493/00
A61P 35/00
A61P 43/00

- (21) Číslo prihlášky: **1971-2000**
(22) Dátum podania prihlášky: **21. 6. 1999**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **3. 5. 2007**
Vestník ÚPV SR č.: **5/2007**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **09/102 602**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **22. 6. 1998**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **11. 9. 2001**
Vestník ÚPV SR č.: **09/2001**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **20. 4. 2007**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP99/04287**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO99/67252**

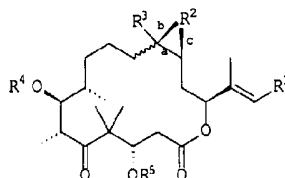
(73) Majiteľ: **NOVARTIS AG, Basel, CH;**
THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE, La Jolla, CA, US;

(72) Pôvodca: **Nicolaou Kyriacos Costa, La Jolla, CA, US;**
King Nigel Paul, Hitchin, Hertfordshire, GB;
Finlay Maurice Raymond Verschoyle, Macclesfield, Cheshire, GB;
He Yun, Carlsbad, CA, US;
Roschangar Frank, Chapel Hill, NC, US;
Vourloumis Dionisios, San Diego, CA, US;
Vallberg Hans, Huddinge, SE;
Bigot Antony, Paris, FR;

(74) Zástupca: **Čechvalová Dagmar, Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Deriváty epotilónu, spôsob ich prípravy, farmaceutická kompozícia s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:
Sú opísané analógy epotilónu všeobecného vzorca (I), kde význam substituentov je opísaný v patentových nárokoch, spôsob ich prípravy, farmaceutická kompozícia s ich obsahom a ich použitie.



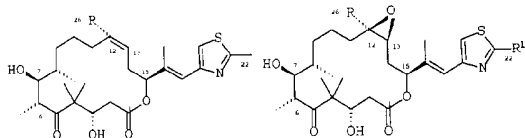
(I)

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka analógov epotilónu, ktoré sú modifikované v postrannom reťazci a spôsobov prípravy týchto zlúčenín, ich použitia pri liečení ochorení alebo pri príprave farmaceutických prostriedkov na liečenie ochorení a tiež nových medziproduktov použitých pri syntéze týchto analógov a nových spôsobov syntézy.

Doterajší stav techniky

Epotilóny 1 až 5 sú prírodné látky, ktoré sú cytotoxické dokonca proti nádorovým bunkám odolným proti paclitaxelu prostredníctvom podpory polymerizácie α - a β -tubulínových podjednotiek a stabilizácie vznikajúcich mikrotubulových štruktúr. Epotilóny nahradí paclitaxel (aktívna látka prostriedku TAXOLTM) v jeho mikrotubulovom väzbovom mieste a je o nich známe, že sú účinnejšie, ako paclitaxel, keď ide o stabilizáciu mikrotubulov.



1: R = H, R¹ = Me: epotilón A
2: R = Me, R¹ = Me: epotilón B
3: R = H, R¹ = CH₂OH: epotilón E

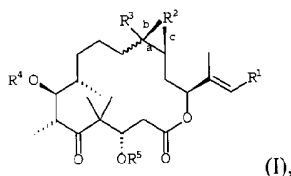
4: R = H: epotilón C
5: R = Me: epotilón D

Žiadané sú analógy epotilónu A a B, ktoré majú vynikajúce farmakologické vlastnosti, najmä jednu alebo viac nasledujúcich vlastností: lepší liečebný index (napríklad väčší rozsah cytotoxických dávok proti napríklad proliferatívnym ochoreniam, bez toho, aby boli toxické k normálnym bunkám), lepšie farmakokinetické vlastnosti, lepšie farmakodynamické vlastnosti, lepšiu rozpustnosť vo vode, lepšiu účinnosť proti typom nádorových buniek, ktoré sú alebo sa stali odolné proti liečeniu jedným alebo viacerými chemoterapeutikami, lepšie vlastnosti uľahčujúce výrobu prostriedkov, napríklad lepšiu rozpustnosť v polárnych rozpúšťadlách, najmä v tých, ktoré obsahujú vodu, lepšiu stabilitu, vhodnú prípravu zlúčenín samotných, lepšiu inhibíciu proliferácie na bunkovej úrovni, vyššiu úroveň stabilizačného vplyvu na mikrotubuly a/alebo špecifické farmakologické profily.

WO 98/25929A opisuje analógy epotilónu a knižnice analógov epotilónov a ich syntézu. Preukázané je, že niekoľko analógov má jedinečnú cytotoxickú aktivitu na indukovanie polymerizácie a stabilizácie mikrotubúl.

Podstata vynálezu

Predložený vynález sa týka nových zlúčenín, ktoré majú jednu alebo viac skôr uvedených výhodných vlastností. Hlavný aspekt podľa predloženého vynálezu sa týka epotilónovej analógnej zlúčeniny všeobecného vzorca (I)



(I),

kde

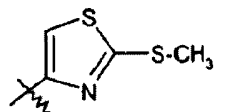
vlnitá väzba znamená, že väzba „a“ je prítomná buď v *cis* alebo *trans* forme;

(i) R² nie je prítomná alebo je atóm kyslíka; „a“ môže byť buď jednoduchá alebo dvojité väzba; „b“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba; a „c“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba s podmienkou, že ak R² je atóm kyslíka, potom „b“ a „c“ sú obidve jednoduché väzby a „a“ je jednoduchá väzba; ak R² nie je prítomná, potom „b“ a „c“ nie sú prítomné a „a“ je dvojité väzba; a ak „a“ je dvojité väzba, potom R², „b“ a „c“ nie sú prítomné;

R³ je vybraná zo skupiny, ktorú tvorí alkylová skupina obsahujúca 1 až 7 atómov uhlíka, najmä metylová skupina, etylová skupina, *n*-propylová skupina, izopropylová skupina, *n*-butylová skupina, izobutylová skupina, *tert*-butylová skupina, *n*-pentylová skupina, *n*-hexylová skupina; skupina -CH=CH₂; -C≡CH; skupina -CH₂F; skupina -CH₂Cl; skupina -CH₂-OH; skupina -CH₂O-alkyl obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina -CH₂-O-CH₃; a skupina -CH₂-S-alkyl obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina -CH₂-S-CH₃;

R⁴ a R⁵ sú nezávisle od seba vybrané zo skupiny, ktorú tvorí atóm vodíka, metylová skupina alebo ochranná skupina, výhodne atóm vodíka; a

R¹ je skupina vzorca



alebo soli zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ak je prítomná skupina tvoriaca soľ.

Ak nie je uvedené inak, majú termíny používané podľa vynálezu skôr alebo ďalej nasledujúce významy:

Nižšia alkylová skupina môže byť lineárna alebo raz alebo viackrát rozvetvená a výhodne obsahuje až vrátane 7 atómov uhlíka, výhodnejšie až vrátane 4 atómov uhlíka. Výhodne je nižšia alkylová skupina metylová skupina, etylová skupina, *n*-propylová skupina, izopropylová skupina, *n*-butylová skupina, izobutylová skupina, *tert*-butylová skupina alebo ďalej *n*-pentylová skupina alebo *n*-hexylová skupina.

Ochrannou skupinou je výhodne štandardná ochranná skupina. Ak je v zlúčenine všeobecného vzorca (I) potrebné chrániť jednu alebo viac iných funkčných skupín, napríklad karboxylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, aminoskupinu, alebo merkaptoskupinu, pretože by sa tieto skupiny nemali zúčastňovať reakcie, použijú sa skupiny, ktoré sa obvykle používajú pri syntéze peptidových zlúčenín a tiež cefalosporínov a penicilínov a tiež derivátov nukleových kyselín a cukrov.

Ochranné skupiny môžu byť vždy prítomné v prekurzoroch a môžu chrániť príslušné skupiny pred nežiaducimi sekundárnymi reakciami, ako je acylácia, eterifikácia, esterifikácia, oxidácia, solvolýza a podobné reakcie. Vlastnosťou ochranných skupín je, že je možné ich ľahko odstrániť, to znamená bez nežiaducich sekundárných reakcií, typicky pomocou solvolýzy, redukcie, fotolýzy alebo tiež enzymovej reakcie, napríklad za podmienok podobných fyziologickým podmienkam a ďalej je ich vlastnosťou to, že nie sú prítomné vo výsledných produktoch. Odborníci pracujúci v tejto oblasti vedia alebo môžu ľahko zistiť, ktoré ochranné skupiny sú vhodné na reakcie uvedené skôr a ďalej.

Chránenie týchto funkčných skupín takými ochrannými skupinami, chrániace skupiny samotné a reakcie na ich odstránenie sú opísané napríklad v štandardne odkazovaných prácach, ako je J.F.W. McOmie, „Protective Groups in Organic Chemistry“, Plenum Press, London a New York 1973, v T.W. Greene, „Protective Groups in Organic Synthesis“, Wiley, New York 1981, v „The Peptides“, diel 3 (vydavatel: E. Gross a J. Meienhofer), Academic Press, London a New York 1981, v „Methoden der organischen Chemie“ (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, štvrté vydanie, diel 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, v H.D. Jakubke a H. Jeschkeit, „Aminosäuren, Peptide, Proteine“ (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, a Basel 1982, a v Jochen Lehmann, „Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate“ (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Zvlášť výhodnými ochrannými skupinami sú skupiny chrániace hydroxylovú skupinu, ako je *tert*-butyldimetylsilylová skupina alebo tritylová skupina.

R^4 a R^5 sú výhodne atóm vodíka.

Väzba označená vlnkou, vychádzajúca z atómu uhlíka nesúceho skupinu R^3 , znamená, že väzba „a“ je prítomná v *trans*- alebo výhodne *cis*- forme.

Soľami sú najmä farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín všeobecného vzorca (I).

Tieto soli vznikajú napríklad ako kyslé adičné soli, výhodne s organickými alebo anorganickými kyselinami, zo zlúčenín všeobecného vzorca (I) obsahujúcich zásaditý atóm dusíka a ide najmä o farmaceuticky prijateľné soli. Vhodnými anorganickými kyselinami sú napríklad halogenovodíkové kyseliny, ako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová alebo kyselina fosforečná. Vhodnými organickými kyselinami sú napríklad karboxylové kyseliny, fosfónové kyseliny, sulfónové kyseliny alebo sulfámové kyseliny, napríklad kyselina octová, kyselina propiónová, kyselina oktánová, kyselina dekanová, kyselina dodekánová, kyselina glykolová, kyselina mliečna, kyselina fumarová, kyselina jantárová, kyselina adipová, kyselina pimelová, kyselina suberová, kyselina azelaová, kyselina jablčná, kyselina vínna, kyselina citrónová, aminokyseliny, ako je kyselina glutámová alebo kyselina aspartová, kyselina maleinová, kyselina hydroxymaleinová, kyselina metylmaleinová, kyselina cyklohexánkarboxylová, kyselina adamantánkarboxylová, kyselina benzoová, kyselina salicylová, kyselina 4-aminosalicylová, kyselina ftalová, kyselina fenylactová, kyselina mandľová, kyselina škoricová, kyselina metán- alebo etánsulfónová, kyselina 2-hydroxyetánsulfónová, kyselina etán-1,2-disulfónová, kyselina benzénsulfónová, kyselina 2-naftálsulfónová, kyselina 1,5-naftalendisulfónová, kyselina 2-, 3- alebo 4-metylbenzénsulfónová, kyselina metylsírová, kyselina etylsírová, kyselina dodecylsírová, kyselina N-cyklohexylsulfámová, kyselina N-metyl-, N-etyl alebo N-propylsulfámová alebo iné organické protónové kyseliny, ako je kyselina askorbová.

Na izoláciu alebo čistenie je možné tiež použiť farmaceuticky neprijateľné soli, napríklad pikráty alebo chloristany. Na terapeutické účely sa používajú len farmaceuticky prijateľné soli alebo voľné zlúčeniny (ak ich je možné vo farmaceutickom prostriedku použiť) a tieto látky sú výhodné.

Vzhľadom na blízky vzťah medzi novými zlúčeninami vo voľnej forme a vo forme solí vrátane solí, ktoré je možné použiť ako medziprodukty, napríklad pri čistení alebo identifikácii nových zlúčenín, sa akýkoľvek odkaz na voľné zlúčeniny uvedený skôr alebo ďalej týka tiež, ak je to

vhodné, zodpovedajúcich solí a naopak.

Termín „približne alebo asi“ v súvislosti s číselnými hodnotami, napríklad „približne dvojnásobný molárny prebytok“ alebo podobne, výhodne znamená, že daná číselná hodnota sa môže odchyliť od daného čísla až o $\pm 10\%$, výhodnejšie až o $\pm 3\%$; najvýhodnejšie je číselná hodnota taká, ako je uvedené.

Zvlášť výhodná je buď zlúčenina všeobecného vzorca (I) alebo jej soľ.

Biologická aktivita

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu použiť na liečenie proliferatívnych ochorení, najmä na rakoviny, ako je rakovina pľúc, najmä nemalobunkový pľúcny karcinóm, rakovina prostaty, čreva, napríklad rakovina konečníka a tračníka, epidermoidné nádory, ako sú nádory hlavy a/alebo krku, alebo rakovina prsníkov, alebo iné rakoviny, ako je rakovina močového mechúra, slinivky brušnej alebo mozgu alebo melanóm vrátane najmä liečenia rakoviny, ktorá je odolná proti mnohým liečivám (napríklad z dôvodu exprese *p*-glykoproteínu = P-gp) a/alebo ktorá nezaberá na liečenie paclitaxelom (napríklad vo forme TAXOL).

Biologické testovanie

Schopnosť zlúčenín podľa predloženého vynálezu blokovat' depolymerizáciu mikrotubulov sa môže preukázať pomocou nasledujúceho testu:

Mikrotubulový test sa uskutočňuje podľa postupu opísaného v literatúre a zisťuje sa pri ňom schopnosť syntetizovaných zlúčenín tvoriť a stabilizovať mikrotubuly. Vykonáva sa tiež štúdia cytotoxicity.

Pri zlúčeninách všeobecného vzorca (I) sa testuje ich schopnosť pôsobiť na hromadenie tubulínu s použitím čisteného tubulínu pomocou testu vyvinutého tak, aby sa zosilneli rozdiely medzi zlúčeninami aktívnejšími, ako Taxol. Ukázalo sa, že zlúčeniny všeobecného vzorca (I) majú vysokú hladinu cytotoxickej a tubulínovej polymerizačnej aktivity v porovnaní s epitolónmi A a B. (Lin a kol., Cancer Chemother. Pharmacol. 38, 136-140 (1996); Rogan a kol., Science 244, 994-996 (1984)).

Fitračný kolorimetrický test

Do skúmavky sa umiestni mikrotubulový proteín (0,25 ml 1 mg/ml) a pridá sa 2,5 μ l testovanej zlúčeniny. Vzorka sa premieša a inkubuje sa 30 minút pri 37 °C. Vzorka 150 μ l sa prevedie do 96 jamkovej hydrofilnej filtračnej doštičky Millipore Multiscreen Durapore s veľkosťou pórov 0,22 μ m, ktorá sa vopred za vákuu premyje 200 μ l pufru MEM. Jamka sa potom premyje 200 μ l pufru MEM. S cieľom zafarbiť naviazaný proteín na doštičke sa na filter na 2 minúty pridá 50 μ l roztoku amidovej černe (0,1 % černe naftol blue (Sigma)/45 % metanol/10 % kyselina octová) a znova sa aplikuje vákuum. Dvakrát sa pridá 200 μ l roztoku odfarbujúceho amidovú čerň (90 % metanol/2 % kyseliny octovej), aby sa odstránilo nenaviazané farbivo. Signál sa kvantifikuje pomocou spôsobu opísaného v Schaffner a Weissmann a kol., Anal. Biochem., 56: 502-514, 1973 nasledujúcim spôsobom: do jamky sa pridá 200 μ l elučného roztoku (25 mM NaOH-0,05 mM EDTA-50 % etanol) a roztok sa po 5 minútach premieša pipetou. Nasleduje 10 minút inkubácie pri teplote miestnosti, do každej jamky 96 jamkovej doštičky sa pridá 150 μ l elučného roztoku a meria sa absorbancia pomocou zariadenia Microplate Reader od spoločnosti Molecular Devices.

Cytotoxická aktivita zlúčenín všeobecného vzorca (I) sa hodnotí pomocou testov cytotoxicity s bunkovými líniami

1A9, 1A9PTX10 (mutant α -tubulínu) a 1A9PTX22 (mutant α -tubulínu). Ako prírodné epitolóny 1 a 2 vykazujú zlúčeniny všeobecného vzorca (I) značnú aktivitu proti zmeneným bunkovým líniam exprimujúcim α -tubulín 1A9PTX10 a 1A9PTX22. Pri zlúčenine všeobecného vzorca (I) sa výhodné hodnoty IC_{50} (koncentrácia, pri ktorej dochádza k polovičnému, ako maximálnemu rastu nádorových buniek v porovnaní s kontrolou bez pridania inhibítora všeobecného vzorca (I)) pohybujú v rozsahu 1 až 1000 nM, výhodne 1 až 200 nM.

Schopnosť zlúčenín podľa predloženej výnálezu inhibovať rast nádoru sa môže preukázať pomocou nasledujúcich testov s nasledujúcimi bunkovými líniami.

Kolorimetrický test cytotoxicity pre skrining protirakovinových liečiv

Použitý kolorimetrický test cytotoxicity je upraveným postupom, ktorý opísal Skehan a kol. (Journal of National Cancer Inst 82: 1107-1112; 1990). Postup ponúka rýchly, citlivý a lacný spôsob merania obsahu celulórného proteínu adherentných a suspenzných kultúr v 96 jamkových mikrotitračných doštičkách. Spôsob je vhodný na *in vitro* výskum protinádorových liekov a používa sa v National Cancer Institute.

Kultúry fixované kyselinou trichlóroctovou sa farbja 30 minút 0,4 % (hmotn./objem) sulforhodamínom B (SRB) rozpusteným v 1 % kyseline octovej. Nenaviazané farbivo sa odstráni štvornásobným premytím 1 % kyselinou octovou a farbivo viazané na proteín sa extrahuje 10 nM nepufrovanou zásadou Tris [tris(hydroxymetyl)aminometán] s cieľom určiť optickú hustotu v zariadení na odčítanie 96 jamkových doštičiek s počítačovým rozhraním. Výsledky testu SRB sú lineárne vzhľadom na počet buniek a hodnoty pre bunkové proteíny meraným pomocou testov podľa Lowry a Bradford pri hustotách v rozsahu od rozptýlenej subkonfluencie do mnohovrstvovej suprakonfluencie. Pomer signálu k šumu pri 564 nm je asi 1,5 pri 1000 bunkách na jamku.

SRB test poskytuje kalorimetrický výsledok, ktorý je nedeštruktívny, dlho stabilný a viditeľný voľným okom. Poskytuje citlivé meranie cytotoxicity vyvolanej liekom. SRB fluoreskuje pri excitácii laserom pri 488 nm a môže sa merať kvantitatívne na úrovni jednej bunky pomocou statickej fluorescenčnej cytometrie (Skehan a kol., Journal of National Cancer Inst 82: 1107-1112, 1990).

Alternatívne sa účinnosť zlúčenín všeobecného vzorca (I) ako inhibítorov depolymerizácie mikrotubulov môže demonštrovať nasledujúcim spôsobom:

Zásobné roztoky testovaných zlúčenín sa pripravja v dimetylsulfoxide a skladujú sa pri -20 °C. Mikrotubulový proteín sa získa z mozgu ošpanej pomocou dvoch cyklov depolymerizácie/ polymerizácie závislej od teploty, ako je opísané vo Weingarten a kol., Biochemistry 1974; 13: 5529-37. Pracovné zásobné roztoky mikrotubulového proteínu (to znamená tubulínu plus proteínov asociovaných s mikrotubulmi) sa skladujú pri -70 °C. Stupeň polymerizácie mikrotubulového proteínu vyvolanej testovanou zlúčeninou sa meria podľa postupov známych z literatúry (pozri Lin a kol., Cancer Chem. Pharm. 1996; 38: 136-140). V krátkosti sa 5 μ l zásobného roztoku testovanej zlúčeniny vopred zmieša v dvadsaťnásobku požadovanej výslednej koncentrácie so 45 μ l vody pri teplote miestnosti a zmes sa potom umiestni na ľad. Alikvotný diel pracovného zásobného roztoku mikrotubulového proteínu z mozgu ošpanej sa rýchlo roztopí a potom sa zriedi na 2 mg/ml ľadovo studeným 2 x MEM pufrom (200 ml MES, 2 mM EGTA, 2 mM $MgCl_2$, pH 6,7) (MES = 2-morfolinétánsulfónová kyselina, EGTA = etylénglykol-bis-(2-(2-aminoetyl)tetra-

octová kyselina). Polymerizačná reakcia sa potom začne pridaním vždy 50 μ l roztoku mikrotubulového proteínu k testovanej zlúčenine, potom sa vzorka inkubuje vo vodnom kúpeli pri teplote miestnosti. Potom sa reakčná zmes umiestni do Eppendorfovej mikroadstredivky a inkubuje sa ďalších 15 minút pri teplote miestnosti. Vzorky sa potom odstreďujú 20 minút pri 14 000 otáčkach za minútu pri teplote miestnosti, aby sa oddelil polymerizovaný mikrotubulový proteín od nepolymerizovaného. Ako nepriama miera polymerizácie tubulínu sa koncentrácia proteínu v supernatante (ktorý obsahuje zvyšok nepolymerizovaného, rozpustného mikrotubulového proteínu) určí podľa spôsobu Lowry (DC Assay Kit, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) a optická hustota (OD) farebnej reakcie sa určí pri 750 nm pomocou spektrometra (SpectraMax 340, Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Rozdiely v OD medzi vzorkami ošetrovanými testovanou zlúčeninou a kontrolou ošetrovanou vehikulom sa porovnávajú s rozdielmi inkubovaných vzoriek, ktoré obsahujú 25 μ M epitolónu B (pozitívna kontrola). Stupeň polymerizácie, ktorá je vyvolaná testovanou zlúčeninou, je vyjadrený vzhľadom na pozitívnu kontrolu (100 %). Porovnaním niekoľkých koncentrácií sa určí EC_{50} (koncentrácia, pri ktorej dochádza k 50 % maximálnej polymerizácii). Pre zlúčeniny všeobecného vzorca (I) ležia hodnoty EC_{50} výhodne v rozsahu 1 až 200, výhodne 1 až 50 μ M. Vyvolanie polymerizácie tubulínu testovanou zlúčeninou všeobecného vzorca (I) v koncentrácii 5 μ M ako percentuálna hodnota v porovnaní s 25 μ M epitolónu B výhodne leží v rozsahu 50 až 100 %, výhodne 80 až 100 %.

Účinnosť proti nádorovým bunkám sa tiež môže preukázať nasledujúcim spôsobom:

Pripravja sa zásobné roztoky testovanej zlúčeniny všeobecného vzorca (I) (10 mM) v dimetylsulfoxide a skladujú sa pri -20 °C. Ľudské KB-31 (odolné proti mnohým liekom, nadmerne exprimujúce P-gp 170) KB-8511 epidermoidné karcinómové bunky sú od Dr. M. Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, NY, USA) (opis pozri tiež Akiyama a kol., Somat. Cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) a Fojo A. a kol., Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985) - KB-31 a KB-8511 sú obidva deriváty bunkovej línie KB (American Type Culture Collection) a sú to bunky ľudského epidermoidného karcinómu. Bunky KB-31 sa môžu kultivovať v monovrstvách s použitím telacieho séra (M.A.Bioproducts), L-glutamínu (Flow), penicilínu (50 jednotiek/ml) a streptomycínu (50 μ g/ml; Flow); potom sa kultivujú pri rýchlosti zdvojnásobenia asi 22 hodín a relatívna účinnosť ich prichytenia je asi 60 %. KB-8511 je variant odvodený od bunkovej línie KB-31, ktorá sa získa cyklickým spracovaním colchicínom a vykazuje štyridsaťnásobok relatívnej rezistencie proti colchicínu v porovnaní s bunkami KB-31. Bunky sa inkubujú pri 37 °C v inkubátore s 5 % objemovými oxidu uhličitého a pri 80 % relatívnej atmosférickej vlhkosti v MEM- α médiu, ktoré obsahuje ribonukleozidy a dezoxyrbonukleozidy (Gibco BRL), a je doplnené 10 IU penicilínu, 10 μ g/ml streptomycínu a 5 % fetálneho telacieho séra. Bunky sa potom umiestnia v množstve $1,5 \times 10^3$ buniek/jamka do 96 jamkových mikrotitračných doštičiek a inkubujú sa cez noc. Sériové zriedenia testovaných zlúčenín v kultivačnom médiu sa pridávajú v dni 1. Doštičky sa potom inkubujú ďalšie 4 dni, potom sa bunky fixujú s použitím 3,3 % (objemovo) glutaraldehydu, premyjú sa vodou a nakoniec sa farbja 0,05 % (hmotn./objem) metylénovou modrou. Po ďalšom premytí sa farbivo eluuje 3 % kyselinou chlorovodíkovou a meria sa optická hustota pri 665 nm pomocou spektrometra SpectraMax 340 (molecular Devices, Sunnyvale, CA). Hodnoty IC_{50} sa určia pomocou

matematickej korelácie dát do krivky s použitím programu SoftPro 2,0 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) a vzorca $[(OD \text{ ošetrované}) - (OD \text{ východiskový})] / [(OD \text{ kontroly}) - (OD \text{ východiskový})] \times 100$.

Hodnota IC_{50} je definovaná ako koncentrácia testovanej zlúčeniny na konci času inkubácie, ktorá vedie k 50 % počtu buniek v porovnaní s kontrolou bez testovanej zlúčeniny (koncentrácia pri polovičnej, ako maximálnej inhibícii rastu buniek). Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) výhodne vykazujú IC_{50} v rozsahu $0,1 \times 10^{-9}$ až 500×10^{-9} , výhodne $0,1$ až 60 nM.

Porovnávacie testy sa môžu tiež uskutočniť inými nádorovými bunkovými líniami, ako sú A459 (pľúca; ATCC CCL 185), NCIH460 (pľúca), Colo 205 (hrubé črevo; ATCC No. CCL 222); HCT-15 (hrubé črevo; ATCC CCL 225 - ATCC = American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)), HCT116 (hrubé črevo), Du145 (prostata; ATCC No. HTB 81; pozri tiež Cancer Res. 37, 4049-58 [1978]), PC-3M (prostata - derivát necitlivý na hormóny, získaný od Dr. I.J. Fidler (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA) a odvodený od PC-3, čo je bunková línia dostupná od ATCC (ATCC CRL 1435)), MCF-7 (prsník; ATCC HTB 22) alebo MCF-7/ADR (prsník, odolný proti mnohým liekom; opis pozri Blobe G.C. a kol., J. Biol. Chem. (1983), 658664; bunková línia je veľmi odolná (360- až 2400 násobne) k doxorubicínu a Vinca alkaloidom v porovnaní s MDR-7 „prirodzený typ“ buniek), keď sa dosiahnu podobné výsledky, ako s bunkami KB-31 a KB-8511. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) výhodne vykazujú pri týchto testoch IC_{50} v rozsahu $0,1 \times 10^{-9}$ až 500×10^{-9} , výhodne $0,1$ až 60 nM.

Na základe týchto vlastností sú zlúčeniny všeobecného vzorca (I) (to znamená aj ich soli) vhodné na liečenie proliferatívnych ochorení, ako sú najmä nádorové ochorenia vrátane tiež metastáz, ak sú prítomné, napríklad pevných nádorov, ako je nádor pľúc, nádor prsníkov, rakovina konečníka a tračníka, melanóm, nádor mozgu, nádor slinivky brušnej, nádor hlavy a krku, rakovina močového mechúra, neuroblastóm, nádor hltana, alebo tiež proliferatívnych ochorení krviniek, ako je leukémia; alebo ďalej na liečenie iných ochorení, ktoré reagujú na liečbu inhibítorom depolymerizácie mikrotubulov, ako je psoriáza. Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) alebo ich soli sú tiež vhodné na potiahnutie medicínalých implantátov (využitelných pri profylaxii restenózy) (pozri Medzinárodná patentová prihláška WO 99/16416, priorita 29. septembra 1997).

Aktivita zlúčenín podľa predloženého vynálezu *in vivo* sa môže demonštrovať na nasledujúcom živočíšnom modeli:

Samice alebo samci nahých myší BALB/c nu/nu sa držia za sterilných podmienok (10 až 12 myší na kletku typu III) s voľným prístupom ku kŕmeniu a vode. Myši vážia v čase implantácie nádoru 20 až 25 g. Nádory sa myšiam zavedú podkožnou injekciou buniek (minimálne 2×10^6 buniek v $100 \mu\text{l}$ PBS alebo média) (4-8 myší na bunkovú líniu). Vznikajúce nádory sa pred začiatkom liečby sériovo pasážujú minimálne trikrát po sebe. Fragmenty nádorov (asi 25 mg) sa s.c. implantujú do ľavej slabiny živočíchov trokarovou ihlou s veľkosťou 13, pričom je zviera pod anestéziou (Abbot, Švajčiarsko).

Rast nádoru a telesná hmotnosť sa sledujú raz alebo dvakrát týždenne. Všetky liečivá sa podávajú vnútrožilovo (i.v.) a liečenie sa začne vtedy, keď je stredný objem nádoru 100 až 250 mm^3 , v závislosti od typu nádoru. Objemy nádoru sa určia podľa vzorca $(L \times D \times \pi) / 6$ (pozri Cancer Chemother. Pharmacol. 24: 148-154, [1989]). Pri liečení epitolónmi všeobecného vzorca (I) sa mení dávka

a frekvencia podávania. Porovnávacie činidlá sa podávajú podľa vopred určeného optimálneho režimu liečby. Okrem prebiehajúcich zmien v objeme nádorov počas liečby sa protinádorová aktivita vyjadří ako T/C % (stredný rast objemu nádoru liečených zvierat delený stredným rastom nádoru kontrolných zvierat krát 100). Regresia nádoru (%) znamená najmenší stredný objem nádoru v porovnaní so stredným objemom nádoru na začiatku liečby podľa vzorca $\text{Regresia } (\%) = (1 - V_{\text{konec}} / V_{\text{štart}}) \times 100$ (V_{konec} = konečný stredný objem nádoru, $V_{\text{štart}}$ = stredný objem nádoru na začiatku liečby).

Na tomto modeli sa môže testovať inhibičný efekt zlúčeniny podľa predloženého vynálezu na rast napríklad nádorov odvodených od nasledujúcich bunkových línii:

Ľudský kolorektálny adenokarcinómový bunkový kmeň HCT-15 (ATCC CCL 225) je od American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA), a bunky sa kultivujú *in vitro* podľa odporúčania výrobcu. HCT-15 je bunková línia podobná epitelu (Cancer Res. 39: 1020-25 [1979]), ktorá je odolná proti mnohým liekom, pretože exprimuje P-glykoproteín (P-gp, gp170, MDR-1; Anticancer Res. 11: 1309-12 (1991); J. Biol. Chem. 264: 18031-40 [1989]; Int. J. Cancer 1991; 49: 696-703 [1991]) a tiež vďaka rezistenčnému mechanizmu závislému od glutatiónu (Int. J. Cancer 1991; 49: 688-95 [1991]). Bunková línia Colo 205 je tiež bunková línia ľudského karcinómu hrubého čreva (ATCC No. CCL 222; pozri tiež Cancer Res. 38, 1345-55 [1978]), ktorá sa izolovala z ascitickej kvapaliny tekutiny pacienta a vykazuje morfológiu podobnú epitelu a všeobecne sa považuje za citlivú na lieky. Ľudská bunková línia rakoviny prostaty nezávislá od androgénu sa použíja na stanovenie subkutánneho a ortotopického modelu u myší. Ľudský metastatický karcinóm prostaty PC-3M sa získa od Dr. I.J. Fidler (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA) a kultivuje sa v médiu Ham F12K doplnenom 7 % (objemovo) FBS. Bunková línia PC-3M je výsledkom izolácie z metastáz pečene produkovaných nahou myšou po intrasplenickej injekcii buniek PC-3 [ATCC CRL 1435; American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)], a môžu rásť v Eaglovom MEM doplnenom 10 % fetálnym teliacim sérom, pyruvátom sodným, neesenčialnými aminokyselinami, L-glutamínom, dvojnásobným vitamínovým roztokom (Gibco Laboratories, Long Island, N.Y.) a penicilínom-streptomycínom (Flow Laboratories, Rockville, Md.). Bunková línia PC-3M je necitlivá na hormóny (to znamená, že rastie v neprítomnosti androgénov). Bunková línia PC-3 je androgén receptor negatívny, čo je možné predpokladať odvodením PC-3M bunkovej línie. Bunková línia PC-3 je dostupná od ATCC (ATCC CRL 1435) a zodpovedá čistému adenokarcinómu prostaty IV izolovanému zo šesťdesiatdvaročného muža, belocha; bunky vykazujú malú kyslú fosfatázovú a testosterón $5\text{-}\alpha$ -reduktázovú aktivitu. Bunky sú takmer triploid s modálnym počtom 62 chromozómov. Pomocou analýzy Q-pásu nie je možné detegovať žiadne normálne Y chromozómy. Ľudský adenokarcinóm pľúc A549 (ATCC CCL 185; izolovaný ako explantátová kultúra z tkaniva karcinómu pľúc od päťdesiatosemročného muža, belocha); má epiteliálnu morfológiu a môže syntetizovať lecitin s vysokým percentom nenasýtených mastných kyselín s použitím cytidín difosfocholínovej cesty; vo všetkých metafázach sa našiel subtelocentrický markerový chromozóm obsahujúci chromozóm 6 a dlhé ramienko chromozómu 1. Ľudský karcinóm prsníka ZR-75-1 (ATCC CRL 1500; izolovaný z malígnej ascitickej efúzie šesťdesiattriročnej ženy, belošky s infiltrujúcim duktálnym karcinómom); je mamárneho epiteliálneho pôvodu; bunky majú receptory estrogé-

nu a ďalších steroidných hormónov a majú hypertriploidný počet chromozómov. Ľudská epidermálna (ústa) rakovinová bunková línia KB-8511 (P-gp nadmerne exprimujúca bunková línia odvodená od epidermoidného (ústa) KB-31 rakovinového bunkového kmeňa) sa získa od Dr. R.M.Baker, Roswell Park Memorial Institute (Buffalo, N.Y., USA) (opis pozri Akiyama a kol., Somat. Cell. Mol. Genetics 11, 117-126 (1985) a Fojo A., a kol., Cancer Res. 45, 3002-3007 (1985)) a kultivuje sa tak, ako je opísané skôr (Meyer, T., a kol., Int. J. Cancer 43, 851-856 (1989)). KB-8511 bunky, ako bunky KB-31, sú odvodené od bunkovej línie KB (ATCC) a sú to ľudské epidermálne rakovinové bunky; bunky KB-31 sa môžu kultivovať v monovrstve s použitím Eaglovho média modifikovaného Dulbecco (D-MEM) s 10 % fetálnym tel'acím sérom (M.A. Bioproducts), L-glutaminom (Flow), penicilínom (50 jednotiek/ml) a streptomycínom (50 mg/ml (Flow); potom sa kultivujú zdvojnásobujúci čas 22 hodín a ich relatívna pot'ahovacia účinnosť je asi 60 %. KB-8511 je bunková línia odvodená od bunkovej línie KB-31 pomocou cyklov spracovania colchicínom; vykazuje asi štyridsaťnásobok relatívnej rezistencie proti colchicínu v porovnaní s bunkami KB-31; môže sa kultivovať za rovnakých podmienok, ako KB-31.

Rozpustnosť

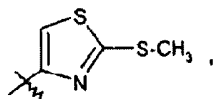
Rozpustnosť vo vode sa určí nasledujúcim spôsobom: zlúčenina všeobecného vzorca (I) alebo jej soľ sa mieša vo vode pri teplote miestnosti, pokiaľ sa už žiadna ďalšia zlúčenina nerozpúšťa (asi 1 hodinu). Zistená rozpustnosť je výhodne 0,01 až 1 % hmotnostné.

V skupinách výhodných zlúčenín všeobecného vzorca (I) uvedených ďalej sa môžu vhodne použiť definície substituentov zo všeobecných definícií uvedených skôr, napríklad s cieľom nahradiť všeobecnejšie definície presnejšími definíciami alebo najmä definíciami označenými ako výhodné.

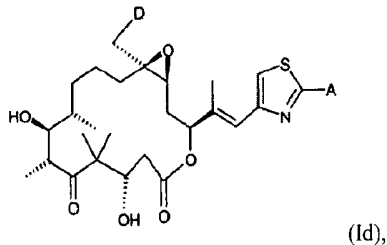
Predložený vynález sa výhodne týka zlúčenín všeobecného vzorca (I), kde

R^2 je neprítomná alebo je atóm kyslíka; „a“ môže byť buď jednoduchá alebo dvojité väzba; „b“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba; a „c“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba s podmienkou, že ak R^2 je atóm kyslíka, potom „b“ a „c“ sú obidve jednoduché väzby a „a“ je jednoduchá väzba; ak R^2 je neprítomná, potom „b“ a „c“ sú neprítomné a „a“ je dvojité väzba; a ak „a“ je dvojité väzba, potom R^2 , „b“ a „c“ nie sú prítomné; R^3 je skupina vybraná zo skupiny, ktorú tvorí nižšia alkylóva skupina, najmä metylová skupina, etylová skupina, *n*-propylová skupina, izopropylová skupina, *n*-butylová skupina, izobutylová skupina, *tert*-butylová skupina, *n*-pentylová skupina, *n*-hexylová skupina; skupina $-CH=CH_2$; skupina $-C=CH$; skupina $-CH_2F$; skupina $-CH_2Cl$; skupina $-CH_2OH$; skupina $-CH_2O$ -alkyl obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-CH_2O-CH_3$; a skupina $-CH_2S(alkyl)$ obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-CH_2S-CH_3$; R^4 a R^5 sú nezávisle od seba vybrané zo skupiny, ktorú tvorí atóm vodíka, metylová skupina alebo ochranná skupina, výhodne atóm vodíka; a

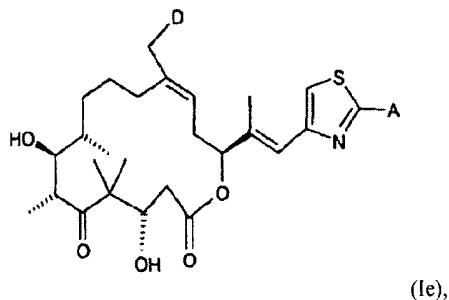
R^1 je skupina vzorca



alebo ich solí, ak je prítomná skupina schopná tvoriť soľ. Predložený vynález sa najvýhodnejšie týka tiež zlúčenín všeobecného vzorca (Id)



kde A je etylová skupina, fluórmetylová skupina, metoxyskupina, metyltioskupina alebo etenylová skupina (skupina $-CH=CH_2$) a D je atóm vodíka, atóm fluóru, hydroxylová skupina alebo metylová skupina, najmä atóm vodíka. Predložený vynález sa najvýhodnejšie týka tiež zlúčenín všeobecného vzorca (Ie)



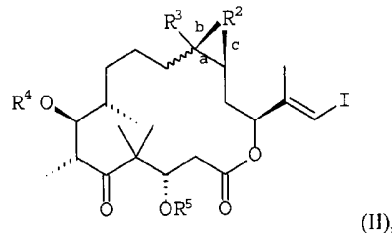
kde A je etylová skupina, fluórmetylová skupina, metoxyskupina, metyltioskupina alebo etenylová skupina (skupina $-CH=CH_2$) a D je atóm vodíka, atóm fluóru, hydroxylová skupina alebo metylová skupina.

Predložený vynález sa najvýhodnejšie týka zlúčenín všeobecného vzorca (I) uvedených v príkladoch alebo ich farmaceuticky prijateľných solí, ak je prítomná jedna alebo viac skupín schopných tvoriť soli.

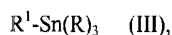
Najvýhodnejšie sa predložený vynález týka zlúčenín vybraných zo skupiny, ktorú tvorí zlúčenina 18b (pozri príklad 2) a zlúčenina 19b (pozri príklad 2) alebo ich farmaceuticky prijateľné soli, ak je prítomná jedna alebo viac skupín schopných tvoriť soľ.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu syntetizovať s použitím spôsobov, ktoré sú analogické známym spôsobom, výhodne pomocou spôsobu, ktorý sa vyznačuje tým, že sa

a) reaguje jodid všeobecného vzorca (II)

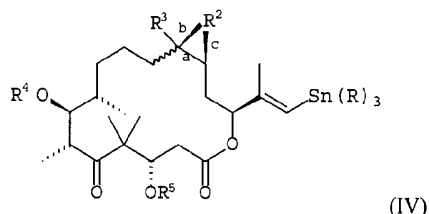


kde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , a, b a c a vlnitá väzba majú významy definované pre zlúčeniny všeobecného vzorca (I), so zlúčeninou všeobecného vzorca (III)



kde R^1 má význam definovaný pre všeobecný vzorec (I) a R je nižšia alkylová skupina, najmä metylová skupina alebo *n*-butylová skupina alebo

b) reaguje zlúčenina cínu všeobecného vzorca (IV),



(IV)

kde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , a, b a c a vlnitá väzba majú významy definované pre zlúčeninu všeobecného vzorca (I), s jodidom všeobecného vzorca (V)



kde R^1 má význam definovaný pre všeobecný vzorec (I); a, ak je to potrebné, vznikajúca zlúčenina všeobecného vzorca (I) sa prevedie na inú zlúčeninu všeobecného vzorca (I), vznikajúca voľná zlúčenina všeobecného vzorca (I) sa prevedie na soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a/alebo vznikajúca soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa prevedie na voľnú zlúčeninu všeobecného vzorca (I) alebo na inú soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a/alebo sa stereoizomérom zmes zlúčenín všeobecného vzorca (I) rozštiepi na zodpovedajúce izoméry.

Podrobný opis výhodných podmienok spôsobu

Vo všetkých východiskových látkach sa, ak je to potrebné, môžu funkčné skupiny, ktoré sa nezúčastňujú reakcie, chrániť ochrannými skupinami, najmä štandardnými ochrannými skupinami. Ochranné skupiny, spôsob ich zavádzania a ich odštiepenie sú odborníkom pracujúcim v tejto oblasti známe a sú opísané napríklad v odkazoch uvedených skôr.

Reakcia a): Reakcia ((výhodne upravená) Stilleho kondenzácia) sa výhodne uskutočňuje za štandardných podmienok; výhodnejšie sa reakcia uskutočňuje

(i) vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad v toluéne, pri zvýšenej teplote, najmä 90 až 100 °C, výhodne s prebytkom zlúčeniny cínu všeobecného vzorca (III), výhodne v molárnom prebytku 1,1 až 3, napríklad 1,5 až 2; a v prítomnosti katalytického množstva, výhodne 1 až 30 %, výhodnejšie 5 až 10 %, $Pd(PPh_3)_4$; alebo

(ii) vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad dimetylformamide (DMF), pri teplote 10 až 40 °C, najmä pri 25 °C, výhodne s prebytkom zlúčeniny cínu všeobecného vzorca (III), výhodne v molárnom prebytku 1,1 až 3, napríklad 1,5 až 2,3; v prítomnosti katalytického množstva, výhodne 10 až 50 %, najmä 20 až 30 %, $Pd(MeCN)_2Cl_2$.

Alternatívne podmienky tejto kondenzácie zahŕňajú tiež použitie nasledujúcich činidiel a/alebo podmienok:

(iii) 2-tiofénkarboxylát meďný, N-metyl-2-pyrolidín, (iv) $PdCl_2(MeCN)_2$ (kat.), dimetylformamid, 50 až 150 °C (s alebo bez pridania terciárnej zásady), (v) $Pd(PPh_3)_4/CuI$ (kat.), dimetylformamid, 50 až 150 °C (s alebo bez pridania terciárnej zásady).

Reakcia b): Reakcia (zlepšená Stilleho kondenzácia) sa výhodne uskutočňuje za štandardných podmienok; výhod-

nejšie sa reakcia uskutočňuje vo vhodnom rozpúšťadle, najmä v dimetylformamide, pri teplote 50 až 100 °C, výhodne 80 až 85 °C, výhodne s prebytkom jodidu všeobecného vzorca V, v prítomnosti katalytického množstva $AsPh_3$, výhodne 0,4 ekvivalentov, CuI , výhodne asi 0,1 ekvivalentu a $PdCl_2(MeCN)_2$, výhodne 0,2 ekvivalentu.

Zvlášť výhodne sa reakcia uskutočňuje za podmienok uvedených v príkladoch.

Konverzia zlúčenín/solí

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa môžu previesť na iné zlúčeniny všeobecného vzorca (I) pomocou štandardných alebo nových postupov.

Napríklad zlúčenina všeobecného vzorca (I), kde R^2 nie je prítomná, b a c nie sú prítomné a a je dvojité väzba a ostatné skupiny sú také, ako je opísané pre zlúčeniny všeobecného vzorca (I), sa môže previesť na zodpovedajúci epoxid, kde R^2 je atóm kyslíka a b a c sú prítomné a a je jednoduchá väzba. Výhodne sa epoxidácia uskutočňuje v prítomnosti (+)-dietyl-D-tartrátu ((+)-DET) (výhodne asi 0,5 ekvivalentu), $Ti(i-PrO)_4$ (výhodne asi 0,5 ekvivalentu), *tert*-butylhydroperoxidu (výhodne asi 2,2 ekvivalentu) a molekulových sít, najmä 4A molekulových sít, vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad dichlórmetáne a prípadne alkáne, ako je dekán, pri nízkej teplote, výhodne -78 až 0 °C, najmä -40 °C;

alebo v prítomnosti peroxidu vodíka (výhodne 30 ekvivalentov), acetonitrilu (výhodne asi 60 ekvivalentov), zásady, najmä hydrogenuhličitanu draselného (výhodne asi 10 ekvivalentov) vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad alkohole, výhodne metanole, výhodne pri teplote 10 až 40 °C, napríklad 25 °C.

Zlúčenina všeobecného vzorca (I), kde R^3 je hydroxymetylová skupina, sa môže previesť na zlúčeninu všeobecného vzorca (I), kde R^3 je fluórmetylová skupina, napríklad reakciou s DAST (výhodne 1,05 až 1,4 ekvivalentu) vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad dichlórmetáne, pri nízkej teplote, výhodne -95 až 0 °C, najmä -78 °C. DAST je dietylamínosulfurtrifluorid.

Zlúčenina všeobecného vzorca (I), kde R^3 je jódmetylová skupina, sa môže previesť na zlúčeninu všeobecného vzorca (I), kde R^3 je metylová skupina, napríklad pomocou reakcie s kyanoborohydridom (výhodne 10 ekvivalentov) v HMPA (hexametylfosfortriamid) pri zvýšenej teplote, napríklad 40 až 45 °C.

Ďalšie konverzie sa môžu uskutočniť pomocou známych postupov, ktoré sú opísané napríklad v Medzinárodnej patentovej prihláške WO 98/25929, ktorá je tu uvedená formou odkazu.

Soli zlúčeniny všeobecného vzorca (I) obsahujúce skupinu schopnú tvoriť soľ sa môžu pripraviť známymi postupmi. Kyslé adičné soli zlúčenín všeobecného vzorca (I) sa teda môžu pripraviť reakciou s kyselinou alebo vhodným ionexovým činidlom.

Soli sa môžu obvykle previesť na voľné zlúčeniny napríklad reakciou s vhodným zásaditým činidlom, napríklad s uhličitanom alkalického kovu, hydrogenuhličitanom alkalického kovu, hydroxidom alkalického kovu, typicky s uhličitanom draselným alebo hydroxidom sodným.

Vznikajúca voľná zlúčenina sa môže potom, ak je to potrebné, previesť na iné soli tak, ako je opísané pri tvorbe solí z voľných zlúčenín.

Stereoizomérmie zmesi, napríklad zmesi diastereomérov, sa môžu rozdeliť na zodpovedajúce izoméry známym spôsobom, pomocou vhodnej separačnej metódy. Diastereomérmie zmesi sa môžu napríklad rozdeliť na jednotlivé diastereomérmie pomocou frakčnej kryštalizácie, chromatografie,

delenia rozpúšťadiel a pomocou podobných spôsobov. Delenie sa môže uskutočňovať buď na úrovni východiskovej zlúčeniny alebo samotnej zlúčeniny všeobecného vzorca (I). Enantioméry sa môžu rozdeliť cez vznik diastereomérnych solí, napríklad prípravou solí s enantioméne čistou chirálnou zlúčeninou, alebo pomocou chromatografie, napríklad HPLC, s použitím chromatografických substrátov s chirálnymi ligandmi.

Východiskové látky

Východiskové látky a medziprodukty sú odborníkom v tejto oblasti známe, komerčne dostupné a/alebo sa pripravujú podľa postupov, ktoré sú odborníkom v tejto oblasti známe alebo pomocou analogických postupov.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (II) a všeobecného vzorca (III) sa môžu napríklad syntetizovať podľa postupov opísaných v Medzinárodnej patentovej prihláške WO 98/25929, ktorá je tu uvedená ako odkaz, alebo analogicky spôsobom uvedeným v príkladoch.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (IV) je možné pripraviť reakciou príslušných zlúčenín všeobecného vzorca (II), napríklad zlúčeniny všeobecného vzorca (II) s $(R)_6Sn_2$, kde R je nižšia alkylová skupina, najmä metylová skupina alebo *n*-butylová skupina, v prítomnosti vhodnej dusíkatej zásady, napríklad Hünigovej zásady, a v prítomnosti katalytického množstva (výhodne 0,1 ekvivalentu) $Pd(PPh_3)_4$ vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad v toluéne, pri zvýšenej teplote, napríklad 30 až 90 °C, najmä 80 až 85 °C.

Jodidy všeobecného vzorca (V) sú známe a môžu sa získať podľa postupov opísaných v literatúre alebo sú komerčne dostupné. Napríklad 2-jód-6-metylpyridín sa môže získať podľa postupu opísaného v Klei, E., Teuben, J.H., J. Organomet. Chem. 1981, 214, 53-64; 2-jód-5-metylpyridín podľa postupu opísaného v Talik, T., Talik, Z., Rozc. Chem., 1968, 42, 2061-76; a 2-jód-4-metylpyridín podľa postupu opísaného v Talik, T., Talik, Z., Rozc. Chem., 1968, 42, 2061-76, Yamamoto, Y., Yanagi, A., Heterocycles 1981, 16, 1161-4 alebo Katritzki, A.R., Eweiss, N.F., Nie, P.-L., JCS, Perkin Trans I 1979, 433-5. Zodpovedajúce zlúčeniny všeobecného vzorca (V) substituované hydroxymetylovou skupinou sú dostupné napríklad oxidáciou metylovej skupiny jodidov uvedených skôr pomocou oxidu seleničitého a následnou redukciou napríklad $NaBH_4$ alebo DIBALH aldehydu alebo oxidáciou metylovej skupiny, pričom vzniká kyselina (napríklad manganistanom draselným) a následnou redukciou esteru, napríklad DIBALom.

Výhodne sa môžu nové alebo tiež známe východiskové látky a medziprodukty pripraviť podľa spôsobov (alebo analogicky), ako je opísané v príkladoch, keď sa množstvá, teploty a podobne pri príslušných reakciách môžu upraviť napríklad v rozsahu $\pm 99\%$, výhodne $\pm 25\%$ a môžu sa použiť ďalšie vhodné rozpúšťadlá a činidlá.

Predložený vynález sa týka tiež všetkých nových medziproduktov, najmä tých, ktoré sú uvedené v príkladoch. Farmaceutické prípravky

Predložený vynález sa týka tiež použitia zlúčeniny všeobecného vzorca (I) na výrobu farmaceutickej kompozície na použitie proti proliferatívnemu ochoreniu, ktoré je definované skôr; alebo farmaceutickej kompozície na liečenie uvedeného proliferatívneho ochorenia obsahujúcej zlúčeninu podľa predloženého vynálezu a farmaceuticky prijateľný nosič.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa ďalej označujú ako aktívne zložky alebo látky.

Predložený vynález sa týka tiež farmaceutických kompozícií obsahujúcich aktívnu zložku, ktorá je definovaná skôr, na liečenie proliferatívneho ochorenia, ktoré je najmä

definované skôr, a prípravy farmaceutických kompozícií na túto liečbu.

Predložený vynález sa týka tiež farmaceutickej kompozície, ktorá je vhodná na podávanie teplokrvným živočíchom, najmä človeku, na liečenie proliferatívnych ochorení, ktoré sú definované skôr, obsahujúcej také množstvo aktívnej látky, ktoré je účinné na liečenie uvedeného proliferatívneho ochorenia, spolu s najmenej jedným farmaceuticky prijateľným nosičom. Farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu sú vhodné na enterálne podávanie, ako je nazálne, rektálne alebo orálne podávanie alebo výhodne parenterálne podávanie, ako je medzisvalové alebo vnútrožilové podávanie teplokrvným živočíchom (človeku alebo živočíchovi), a obsahujú účinné množstvo farmakologicky aktívnej zložky samotnej alebo v kombinácii s významným množstvom farmaceuticky prijateľného nosiča. Dávka aktívnej zložky závisí od druhu teplokrvného živočicha, telesnej hmotnosti, veku a individuálnom stave, individuálnych farmakokinetických vlastnostiach, ochorení, ktoré sa má liečiť a spôsobu podávania; dávkou je výhodne jedna z výhodných dávok definovaných ďalej a ak sa uvažuje pediatrické použitie, táto dávka sa upraví.

Farmaceutické kompozície obsahujú 0,0002 až 95 %, najmä (napríklad v prípade infúzných roztokov, ktoré sú pripravené na použitie) 0,0001 až 0,02 % alebo (v prípade infúzných koncentrátov) asi 0,1 až 95 %, výhodne 20 až 90 %, aktívnej zložky (v každom prípade hmotnostne). Farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu môžu byť napríklad v jednotkových dávkovacích formách, ako sú formy ampúl, floriel, čapíkov, dražé, tabliet alebo toboliiek. Farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu sa pripravujú pomocou spôsobov, ktoré sú odborníkom v tejto oblasti známe, napríklad pomocou obvyklého rozpúšťania, lyofilizácie, miešania, granulácie alebo spôsobov poťahovania.

Výhodne sa používajú roztoky a tiež suspenzie aktívnej zložky a najmä izotonické vodné roztoky alebo suspenzie. Ak je to možné, napríklad v prípade lyofilizovaných kompozícií, ktoré obsahujú aktívnu zložku samotnú alebo spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom, napríklad manitolom, pripravujú sa tieto roztoky pred použitím. Farmaceutické kompozície sa môžu sterilizovať a/alebo môžu obsahovať prísady, napríklad konzervačné látky, stabilizátory, zvlhčujúce činidlá a/alebo emulgačné činidlá, solubilizéry, soli regulujúce osmotický tlak a/alebo pufré a pripravujú sa známymi postupmi, napríklad pomocou bežného rozpúšťania alebo pomocou lyofilizačných postupov. Uvedené roztoky môžu obsahovať látky regulujúce viskozitu, ako je sodná soľ karboxymetylcelulózy, karboxymetylcelulóza, dextrans, polyvinylpyrrolidón alebo želatína.

Suspenzie v oleji obsahujú ako olejovú zložku rastlinné, syntetické alebo polosyntetické oleje, ktoré sa bežne používajú na injekčné účely. Ako príklady je možné uviesť najmä kvapalné estery mastných kyselín, ktoré obsahujú ako kyselinovú zložku mastnú kyselinu s dlhým reťazcom obsahujúcim 8 až 22, najmä 12 až 22 atómov uhlíka, napríklad kyselinu laurovú, kyselinu tridecyllovú, kyselinu myristovú, kyselinu pentadecyllovú, kyselinu palmitovú, kyselinu margarovú, kyselinu stearovú, kyselinu arachidovú, kyselinu behénovú alebo zodpovedajúce nenasýtené kyseliny, napríklad kyselinu olejovú, kyselinu elaidovú, kyselinu erukovú, kyselinu brasidovú alebo kyselinu linolénovú, ak je to potrebné, spolu s antioxidantmi, napríklad vitamínom E, betakaroténom alebo 3,5-diterc-butyl-4-hydroxytoluénom. Alkoholová zložka týchto esterov mastných kyselín obsahuje maximálne 6 atómov uhlíka a je to mono- alebo polyhydroxyalkohol, napríklad mono-, di- alebo tri-

hydroxyalkohol, napríklad metanol, etanol, propanol, butanol alebo pentanol alebo ich izoméry, ale najmä glykol alebo glycerol.

Injekčné alebo infúzne kompozície sa pripravujú bežným spôsobom za sterilných podmienok; to isté platí o zavádzaní kompozícií do ampúl alebo flietok a uzatváraní nádob.

Výhodný je infúzny prostriedok obsahujúci aktívnu zložku a farmaceuticky prijateľné organické rozpúšťadlo. Farmaceuticky prijateľné organické rozpúšťadlo používané v prostriedku podľa predloženého vynálezu sa môže vybrať zo všetkých organických rozpúšťadiel, ktoré sú odborníkom v tejto oblasti známe. Výhodne je rozpúšťadlo vybrané z alkoholov, napríklad absolútny etanol alebo etanolu a vody, výhodnejšie 70 % etanol, polyetylén glykol 300, polyetylén glykol 400, polypropylén glykol alebo N-metylpyrrolidón, najvýhodnejšie polypropylén glykol alebo 70 % etanol alebo polyetylén glykol 300.

Aktívna zložka môže byť výhodne v kompozícii prítomná v koncentrácii asi 0,01 až 100 mg/ml, výhodnejšie 0,1 až 100 mg/ml, ešte výhodnejšie 1 až 10 mg/ml (najmä v infúzných koncentrátoch).

Aktívna zložka sa môže použiť ako čistá látka alebo ako zmes s inou aktívnou látkou. Keď sa aktívna látka použije v čistej forme, výhodne sa použije v koncentrácii 0,01 až 100, výhodnejšie 0,05 až 50, ešte výhodnejšie 1 až 10 mg/ml (toto číslo sa týka najmä infúzneho koncentráta, ktorý sa pred použitím riedi, pozri ďalej).

Tieto prostriedky sa výhodne skladujú vo flietkách alebo v ampuliach. Typicky sú flietky alebo ampuly sklenené, napríklad z borokremičitého skla alebo zo skla obsahujúceho oxid vápenatý a hydroxid sodný. Flietky alebo ampuly môžu mať akýkoľvek bežne používaný objem, výhodne sú dostatočne veľké na to, aby sa do nich vošlo 0,5 až 5 ml kompozície. Prostriedky sú stabilné počas skladovania 12 až 24 mesiacov pri teplote najmenej 2 až 8 °C.

Prostriedky sa musia pred podávaním aktívnej látky pacientovi riediť vodným médiom vhodným na vnútrožilové podávanie.

Infúzny roztok musí mať výhodne rovnaký alebo v podstate rovnaký osmotický tlak ako telesná tekutina. Vodné médium teda výhodne obsahuje izotonické činidlo, ktoré upravuje osmotický tlak infúzneho roztoku na rovnakú alebo v podstate rovnakú hodnotu, ako má telesná kvapalina.

Izotonické činidlo sa môže vybrať zo všetkých takých činidiel, ktoré sú odborníkom v tejto oblasti známe, ako je napríklad manitol, dextróza, glukóza a chlorid sodný. Izotonickým činidlom je výhodne glukóza alebo chlorid sodný. Izotonické činidlo sa môže používať v množstve, ktoré upraví osmotický tlak infúzneho roztoku na rovnaký alebo v podstate rovnaký, ako má telesná kvapalina. Presné potrebné množstvá sa môžu určiť pomocou bežných pokusov a budú závisieť od zloženia infúzneho roztoku a povahy izotonického činidla. Výber príslušného izotonického činidla sa uskutočňuje s ohľadom na vlastnosti aktívneho činidla.

Koncentrácia izotonického činidla vo vodnom médiu bude závisieť od povahy príslušného použitého izotonického činidla. Keď sa použije glukóza, výhodne sa použije koncentrácia 1 až 5 % hmotn./objem, výhodnejšie 5 % hmotn./objem. Ak je izotonickým činidlom chlorid sodný, výhodne sa použije množstvo až 1 % hmotn./objem, najmä 0,9 % hmotn./objem.

Infúzny prostriedok sa môže riediť vodným médiom. Množstvo vodného média použitého ako rozpúšťadlo sa vyberie podľa požadovanej koncentrácie aktívnej látky

v infúznom roztoku. Infúzny roztok sa výhodne pripraví zmiešaním infúzneho koncentráta z flietky alebo ampuly so skôr uvedeným vodným médiom, pričom sa získa objem 20 ml až 200 ml, výhodne 50 ml až 100 ml.

Infúzne roztoky môžu obsahovať iné prísady bežne používané v prostriedkoch, ktoré sa majú podávať vnútrožilovo. Prísady zahŕňajú antioxidanty. Infúzne roztoky sa môžu pripraviť zmiešaním prostriedku z ampuly alebo flietky s vodným médiom, napríklad 5 % (hmotn./objem) roztokom WFI alebo najmä 0,9 % roztokom chloridu sodného vo vhodnej nádobe, napríklad v infúznom vrecku alebo fľaške. Hneď ako sa infúzny roztok pripraví, výhodne sa ihneď alebo v krátkom čase (napríklad do 6 hodín) použije. Nádoby, v ktorých sa udržiavajú infúzne roztoky, sa môžu vybrať z bežných nádob, ktoré nereagujú s infúznym roztokom. Vhodné sú sklenené nádoby vyrobené z typov skla uvedených skôr, aj keď môže byť výhodné použiť plastové nádoby, napríklad plastové infúzne vrecká.

Predložený vynález sa týka tiež spôsobov liečenia teplokrvných živočíchov, najmä človeka, ktorý potrebuje takú liečbu, najmä liečenia proliferatívnych ochorení, keď tento spôsob zahŕňa podávanie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli uvedenému teplokrvnému živočíchovi, najmä človeku, v množstve, ktoré je dostatočné na uvedenú liečbu, najmä účinné proti uvedenému proliferatívne ochoreniu.

Dávkovacie formy sa môžu vhodne podávať vnútrožilovo v dávkach 0,01 mg až 100 mg/m² aktívnej látky, výhodne 0,1 až 20 mg/m² aktívnej látky. Presná potrebná dávka a trvanie podávania bude závisieť od závažnosti ochorenia, stavu pacienta a režimu podávania. Dávka sa môže podávať denne alebo výhodne v intervaloch niekoľkých dní alebo týždňov, napríklad týždenne alebo každé tri týždne. Pretože sa dávka môže podávať vnútrožilovo, odporúčaná dávka a koncentrácia v krvi sa môže určiť presne na základe bežných *in vivo* a *in vitro* postupov.

Farmaceutické kompozície na orálne podávanie sa môžu získať zmiešaním aktívnej látky s pevnými nosičmi, ak je to potrebné, granuláciou vznikajúcej zmesi a spracovaním zmesi (ak je to potrebné, po pridaní vhodných prísad) do tabliet, jadier dražé alebo toboliek. Je možné ich tiež umiestniť do plastových nosičov, ktoré umožňujú, aby aktívna zložka difundovala alebo sa uvoľnila vo vopred určenom množstve.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu použiť samotné alebo v kombinácii s inými farmaceuticky účinnými látkami, napríklad s inými chemoterapeuticky účinnými látkami, ako sú klasické cytostatiká. V prípade kombinácií s inou chemoterapeuticky účinnou látkou sa pripravujú spôsobom opísaným skôr fixné kombinácie dvoch alebo viacerých zložiek alebo dvoch alebo viacerých nezávislých prostriedkov (napríklad v súprave obsahujúcej jednotlivé zložky) alebo sa iné chemoterapeutiká použijú v štandardných prostriedkoch, ktoré sú na trhu a sú odborníkom v tejto oblasti známe a zlúčenina podľa predloženého vynálezu a akékoľvek iné chemoterapeutikum sa podáva v intervaloch, ktoré umožňujú spoločný, adičný alebo výhodne synergický vplyv na liečenie nádoru.

Nasledujúce príklady sú určené na ilustráciu predloženého vynálezu a v žiadnom prípade neobmedzujú jeho rozsah.

Príklady uskutočnenia vynálezu

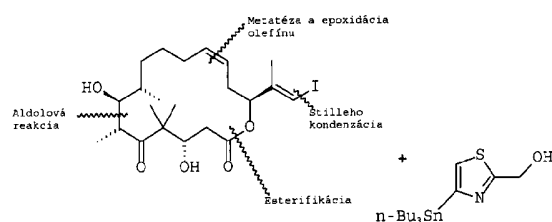
Príklad 1

Totálna syntéza epotilónu E a príbuzných analógov s modifikovaným postranným reťazcom prostredníctvom stratégie založenej na Stilleho kondenzačnej reakcii

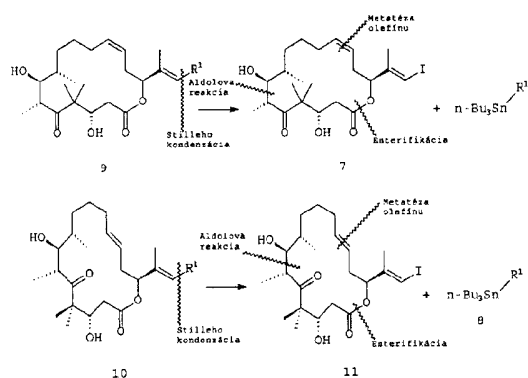
Prvá totálna syntéza epotilónu E (3) sa uskutočňuje pomocou postupu, ktorého kľúčovým krokom je Stilleho kondenzácia (Stille a kol., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1986, 25, 508-524; Farina a kol. J. Org. React. 1997, 50, 1-65) medzi vinyljodidom 7 a tiazolovou skupinou (8h, schéma 2a). Jadro makrolaktónového fragmentu 7, ktoré sa pripraví uzatvorením kruhu pomocou metatézie olefinu (RCM), sa potom použije na zabezpečenie vhodného a flexibilného prístupu rôznym analógom epotilónu 9 modifikovaným v postrannom reťazci na biologické testovanie (schéma 2b). RCM reakcia použitá na prípravu zlúčeniny 7 tiež poskytuje *trans*-makrolaktón 11 (schéma 2b), ktorý slúži ako alternatívny templát pre Stilleho kondenzačnú reakciu, poskytuje ďalšie skupiny analógov 10.

Schéma 2

a) retrosyntetická analýza a stratégia totálnej syntézy epotilónu E



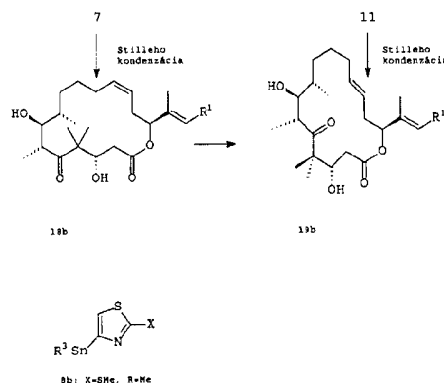
b) Analógy epotilónu C (9) v postrannom reťazci a ich $\Delta^{12,13}$ *trans* izomér (10)



Chemická syntéza potrebných vinyljodidov 7 a 11 je opísaná v Medzinárodnej patentovej prihláške WO 98/25929.

Stanánovi kondenzační partneri používaní pri Stilleho kondenzácii sú uvedení v schéme 3.

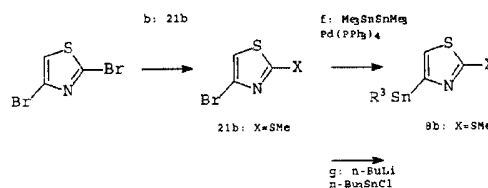
Schéma 3



Stilleho kondenzácia: Postup A: 2,0 ekvivalentu zlúčeniny 8, 5-10 % molárnych $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, toluén, 90-100 °C, 15-40 minút, 39-88 %; postup B: 2,0-2,2 ekvivalentu zlúčeniny 8, 20-30 % molárnych $\text{Pd}(\text{MeCN})_2\text{Cl}_2$, dimetylformamid, 25 °C, 12-33 hodín, 49-94 %.

Kondenzační partneri 8b sa pripravujú z ľahko dostupného 2,4-dibrómtiazolu 20 cez monobromidy 21 tak, ako je uvedené v schéme 4 a 5.

Schéma 4



Priprava A) stanánu 8b. Činidlá a podmienky: (b) 3,0 ekvivalentu NaSM, etanol, 25 °C, 2 hodiny, 92 %; (d) 13 ekvivalentov hydroxidu sodného, etanol, 25 °C, 30 hodín, 91 %; (e) 13 ekvivalentov hydroxidu sodného, metanol, 25 °C, 16 hodín, 82 %; (f) 5-10 ekvivalentov $\text{Me}_3\text{SnSnMe}_3$, 5-10 % molárnych $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, toluén, 80-100 °C, 0,5 - 3 hodiny, 81 - 100 %; (g) 1,1 ekvivalentu n-BuLi, 1,2 ekvivalentu n-Bu₃SnCl, 78 až 25 °C, 30 minút, 98 %.

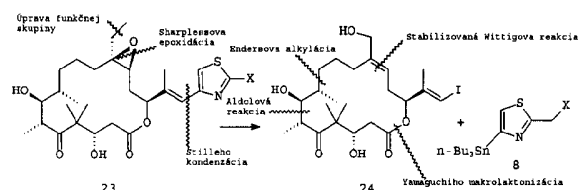
Sulfid 21b sa získa vo výťažku 92 % nahradením 2-bromového substituentu zlúčeniny 20 trimetylovou skupinou s použitím tiometoxidu sodného (etanol, 25 °C). Bromid 21b sa potom prevedie na požadovaný trimetylstanán 8b pomocou hexametyldicinu za katalýzy paládiom [$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, toluén, 80 - 100 °C].

Po príprave nevyhnutných zložiek sa našiel kritický krok Stilleho kondenzácie. Ukázalo sa, že sú vhodné dve alternatívne skupiny reakčných podmienok (schéma 3). Postup A zahŕňa zahrievanie toluénového roztoku požadovaného vinyljodidu (7 alebo 11) s vhodným stanánom 8 v prítomnosti katalytického množstva $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ pri teplote 80-100 °C 15-40 minút. Tento postup sa použije na kondenzáciu stanánu.

Totálna syntéza sa dokončí epoxidáciou pomocou *in situ* generovanej metylperoxykarboximidovej kyseliny (peroxid vodíka, hydrogenuhličitan sodný, acetonitril, metanol, 25 °C; Chaudhuri a kol., J. J. Org. Chem. 1982, 47, 5196-5198) a vzniká epotilón E (3) (66 % vzhľadom na 50 % konverziu), ktorý má rovnaké fyzikálne charakteristiky (¹H NMR, [α]_D), ako je uvedený v literatúre.

Postup pomocou Stilleho reakcie teda poskytuje ľahký prístup k rôznym analógom epotilónu B (2) modifikovaným v postrannom reťazci, tak na C-26, ako v postrannom reťazci. Retrosyntetická analýza analógov epotilónu, ktoré majú tieto dvojité modifikácie, je uvedená v schéme 6b a vyžaduje prípravu kritického fragmentu 24 s vinyljodidovým jadrom. Predpokladá sa, že makrolaktonizačný prístup podobný tomu, ktorý sa používa pri tejto syntéze epotilónu B a rôznych analógov epotilónu, je na tento cieľ najvhodnejší.

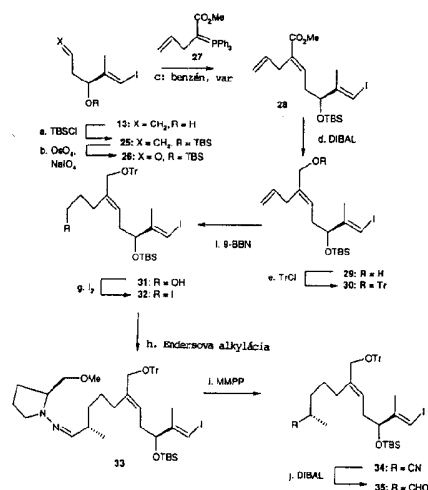
Schéma 6b



Ilustrácia retrosyntetickej analýzy analógov epotilónu, ktoré majú modifikovaný C-26 a skupiny v postrannom reťazci.

Syntéza začína od vinyljodidu 13 (schéma 7) použitého pri príprave epotilónu E a príbuzných analógov (schéma 3).

Schéma 7



Stereoselektívna syntéza aldehydu 35. Činidlá a podmienky: (a) 1,7 ekvivalentu TBSCl, 2,8 ekvivalentu imidazolu, dimetylformamid, 0 až 25 °C, 7 hodín, 84 %; (b) i. 1,0 % molárneho oxidu osmičelého, 1,1 ekvivalentu NMO, THF/*tert*-BuOH:H₂O (5 : 5 : 1), 0 až 25 °C, 13 hodín, 89 %; ii. 6,0 ekvivalentu NaIO₄, MeOH : H₂O (2 : 1), 0 °C, 30 minút, 92 %; (c) 2,4 ekvivalentu 27, benzén, var, 1,2 hodiny, 98 %; (d) 3,0 ekvivalentu DIBAL, tetrahydrofurán, -78 °C, 2,5 hodiny, 100 %; (e) 1,4 ekvivalentu TrCl, 1,7 ekvivalentu 4-DMAP, dimetylformamid, 80 °C, 21 hodín, 95 %; (f) 1,4 ekvivalentu 9-BBN, tetrahydrofurán, 0 °C, 9 hodín; potom 3N vodný hydroxid sodný a 30 % peroxid vodíka, 0 °C, 1 hodina, 95 %; (g) 2,6 ekvivalentu 12, 5,0 ekvivalentu imidazolu, 2,5 ekvivalentu Ph₃P, Et₂O:MeCN (3:1), 0 °C, 45 minút, 97 %; (h) 1,3 ekvivalentu SAMP hydrazónu propiónaldehydu; 1,4 ekvivalentu LDA, tetrahydrofurán, 0 °C, 16 hodín; potom 100 °C a pridá sa 1,0 ekvivalentu 32 v tetrahydrofuráne, -100 až -20 °C, 20 hodín, 71 %; (i) 2,5 ekvivalentu MMPP, Me-

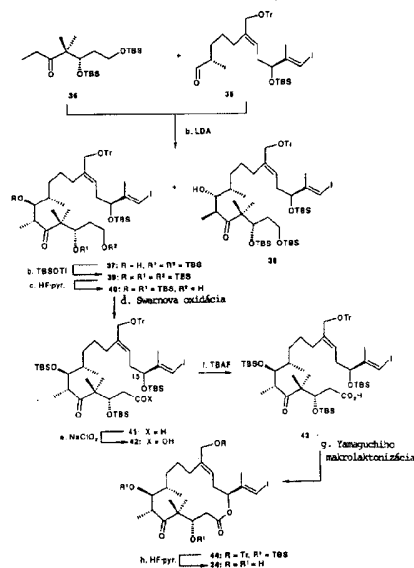
OH:fosfátový pufor pH 7 (1 : 1), 0 °C, 3,5 hodiny, 89 %; (j) 3,0 ekvivalentu DIBAL, toluén, -78 °C, 1 hodina, 88 %. 9-BBN = 9-bora-bicyklo-[3,3,1]nonán; DIBAL = diizobutylaluminiumhydrid; 4-DMAP = 4-dimetylaminopyridín; LDA = lítiumdi-izopropylamid; NMO = N-oxid 4-metylmorfolínu; SAMP = (S)-(-)-1-amino-2-(metoxymetyl)pyrrolidín; MMPP = hořečnatá soľ monoperoxyftalovej kyseliny.

Chránenie allylickej hydroxylovej skupiny (TBSCl, imidazol, dimetylformamid, 0 až 25 °C) poskytne silyléter 25 (84 %), ktorý sa prevedie na aldehyd 26 pomocou dvoj-krokovej sekvencie dihydroxylácie-glykolové štiepenie (oxid osmičelý, NMO, THF/*tert*-BuOH:H₂O 0 až 25 °C; potom jodistan sodný, MeOH/H₂O, 0 °C, 82 % po dvoch krokoch). Stereokontrolovaná Wittigova reakcia so stabilizovaným ylidom 27 (benzén, var; Marshall a kol. J. Org. Chem. 1986, 51, 1735-1741; Bestmann a kol. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1965, 4, 645-660) poskytne ester 28 ako jeden geometrický izomér vo výťažku 98 %. Redukciou tejto zlúčeniny (DIBAL, tetrahydrofurán, -78 °C) sa získa alkohol 29, ktorý je chránený ako trifenylmetylový (tritylový) derivát 30 (TrCl, 4-DMAP, dimetylformamid, 70 °C, 95 %).

Opracovanie výslednej olefinickej skupiny sa potom dosiahne selektívnou hydroboráciou-oxidáciou a získa sa alkohol 31 (9-BBN, tetrahydrofurán, 0 °C; potom hydroxid sodný, peroxid vodíka, 0 °C), ktorý sa potom prevedie na diiodid 32 (I₂, imidazol, Ph₃P, 0 °C) v celkovom výťažku 92 %. Zavedenie C8 stereocentra sa potom uskutoční podľa Enderovho alkylačného postupu (SAMP hydrazón propiónaldehydu, LDA, tetrahydrofurán, 0 °C; potom -100 °C a pridá sa 32 v tetrahydrofuráne; Enders a kol. Asymmetric Synthesis 1984; Morrison, J.D., Ed.; Academic Press, Orlando, Vol. 3, str. 275-339; ďakujeme Prof. Endersovi za láskavé venovanie SAMP) a vzniká SAMP hydrazónu 33 vo výťažku 71 %. Prevedenie na nitril 34 (MMPP, MeOH/fosfátový pufor pH 7,0 °C, 89 %) a redukcia (DIBAL, toluén, -78 °C) poskytne požadovaný aldehyd 35 vo výťažku 88 %.

Transformácia aldehydu 35 na požadované makrolidné jadro epotilónu 24 je zhrnutá v schéme 8.

Schéma 8



Stereoselektívna syntéza vinyljodidu 24. Činidlá a podmienky: (a) 1,45 ekvivalentu LDA, tetrahydrofurán, -78 °C, potom 1,4 ekvivalentu 36 v tetrahydrofuráne, -78 °C, 1,5 hodiny potom; -40 °C, 0,5 hodiny; potom 1,0 ekvivalentu 35 v tetrahydrofuráne pri -78 °C (kombinovaný výťažok 66 %, pomer 37 : 38 asi 1,5 : 1); (b) 3,2 ekvivalentu TBSOTf, 4,3 ekvivalentu 2,6-lutidínu, dichlórmetán, -20 až 0 °C, 2,5 hodiny, 90 %; (c) HF.pyr. v pyridíne, tetrahydrofurán, 0 °C, 3 hodiny, 84 %; (d) 2,0 ekvivalentu (COCl)₂, 4,0 ekvivalentu dimetylsulfoxidu, 6,0 ekvivalentu trietylamínu, dichlórmetán, -78 až 0 °C, 1,5 hodiny, 98 %; (e) 5,0 ekvivalentu NaClO₂, 75 ekvivalentov 2-metyl-2-buténu, 2,5 ekvivalentu NaH₂PO₄, *tert*-BuOH : H₂O (4,5 : 1), 25 °C, 40 minút, 100 %; (f) 6,0 ekvivalentu TBAF, tetrahydrofurán, 0 až 25 °C, 19 hodín, 95 %; (g) 6,0 ekvivalentu trietylamínu, 2,4 ekvivalentu 2,4,6-trichlórbenzoylchloridu, tetrahydrofurán, 0 °C, 1,5 hodiny; potom sa pridá roztok 2,2 ekvivalentu 4-DMAP v toluéne (0,005 M vzhľadom na 43), 75 °C, 2,5 hodiny, 84 %; (h) 25 % objemovo HF.pyr. v tetrahydrofuráne 0 až 25 °C, 15 hodín, 86 %. TBAF = tetranbutylamóniumfluorid.

Aldolová reakcia ketónu 36, používaná skôr pri syntéze epitolónu B a podobných analógov (LDA, tetrahydrofurán, -78 až -40 °C) a aldehydu 35, poskytne alkoholy 37 a 38 s celkovým výťažkom 66 %, s miernou selektivitou na požadovaný 6R, 7S diastereoizomér (37). Separácia a silylácia (TBSOTf, 2,6-lutidín, dichlórmetán, -20 až 0 °C) správneho aldolového produktu 37 poskytne *tris*-silyléter 39 vo výťažku 90 %. Selektívne odstránenie primárnej silyléterovej ochrannnej skupiny (HF.pyr. v pyridín/tetrahydrofurán, 0 °C) poskytne alkohol 40 (84 %), ktorý sa oxiduje na kyselinu 42 cez aldehyd 41 pomocou dvojkrokového postupu [Swern; potom NaClO₂, 2-metyl-2-butén, NaH₂PO₄, *tert*-BuOH/H₂O, 25 °C, 98 % po dvoch krokoch]. Odstránenie kremíkovej ochrannnej skupiny na C15 (TBAF, tetrahydrofurán, 0 až 25 °C) poskytne hydroxykyselinu 43 (95 %) a je to základ pre proces makrolidizácie. Tento kľúčový krok sa uskutoční za podmienok Yamaguchiho reakcie (2,4,6-trichlórbenzoylchlorid, trietylamín, tetrahydrofurán; potom sa pridá roztok 4-DMAP v toluéne, 0,005 M, 75 °C; Inanaga a kol., Bull. Chem. Soc. Jpn. 1979, 52, 1989; Mulzer a kol. Synthesis 1992, 215-228; Nicolaou a kol., Chem. Eur. J. 1996, 2, 847-868) a získa sa chránené jadro epitolónu 44 vo výťažku 84 %. Syntéza kľúčového vinyljodidového medziproduktu 24 sa dokončí úplným odstránením ochranných skupín (HF.pyr., tetrahydrofurán, 0 až 25 °C, 86 %).

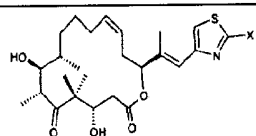
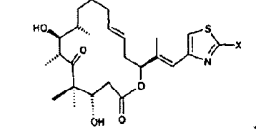
Stilleho kondenzačný postup sa potom použije na pripojenie požadovanej heterocyklickej skupiny k medziproduktu 24.

Chémia opísaná v tomto príklade spočíva v Stilleho kondenzačnom prístupe, pomocou ktorého sa z obvyklého makrolidového medziproduktu pripraví rad analógov epitolónu s rôznym postranným reťazcom alebo postranným reťazcom aj polohou C26.

Príklad 2

Vzorce zlúčenín podľa predloženého vynálezu

Tabuľka: Vzorce zlúčenín podľa predloženého vynálezu

Číslo	Zlúčenina
4	 18b: X = SMe
8	 19b: X = SMe

Príklad 3

Výsledky biologických testov

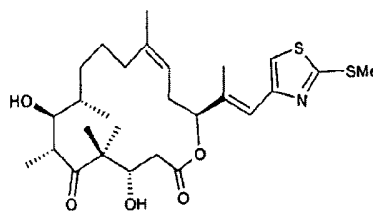
Podľa spôsobov opísaných skôr meria sa inhibícia depolymerizácie tubulínu zlúčeninou všeobecného vzorca (I) pomocou mikrotubulov z mozgu ošípaných, v porovnaní s 25 μM epitolónu B; bunkové testy sú analogické testom opísaným skôr pre bunky KB-31.

Príklad 4

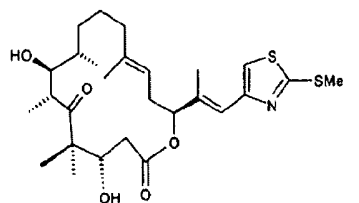
Ďalšie zlúčeniny všeobecného vzorca (I)

Analogickým spôsobom, ako je opísané skôr alebo ďalej, sa pripravujú nasledujúce zlúčeniny všeobecného vzorca (I):

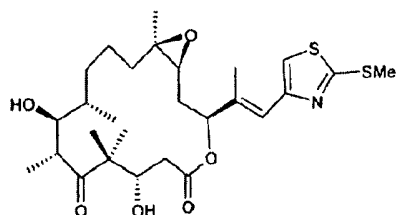
Príklad 4 (i)



Príklad 4 (ii)



Príklad 4 (ix)



Syntetické postupy

Všeobecne: všetky reakcie sa (ak nie je uvedené inak) uskutočňujú v atmosfére argónu so suchými, čerstvo destilovanými rozpúšťadlami za bezvodých podmienok. Tetrahydrofurán (THF) a dietyléter (éter) sa destilujú zo zmesi sodíka a benzofenónu, a dichlórmetán (CH_2Cl_2), benzén (PhH) a toluén z hydridu vápenatého. Bezvodé rozpúšťadlá sa získajú tiež ich filtráciou cez komerčne dostupné kolóny s aktivovanou alumínou. Ak nie je uvedené inak, výtazky sa týkajú chromatograficky a spektroskopicky (^1H NMR) homogénnych látok. Ak nie je uvedené inak, všetky roztoky použité pri spracovaní sú nasýtené. Ak nie je uvedené inak, všetky činidlá sa kupujú v najvyššej komerčne dostupnej kvalite a používajú sa bez čistenia. Všetky reakcie sa sledujú pomocou chromatografie na tenkej vrstve na silikagelových doskách 0,25 mm od E. Merck (60F-254) s použitím UV svetla ako vizualizačného činidla a 7 % etanolického roztoku fosfomolybdénovej kyseliny alebo *p*-anizaldehydu a tepla ako vyvíjacieho činidla. Na veľmi rýchlu kolónovú chromatografiu sa používa silikagél E. Merck (60, veľkosť častíc 0,040 až 0,063 mm). Separácia pomocou preparatívnej tenkovrstvovej chromatografie sa uskutočňuje na silikagelových doskách 0,25, 0,50 alebo 1 mm od E. Merck (60F-254). NMR spektrá sa zaznamenávajú na prístroji Bruker DRX-600, AMX-500, AMX-400 alebo AC-250 a kalibrujú sa s použitím zvyškového nedeuterovaného rozpúšťadla ako vnútorného štandardu. Pre multiplicity sa používajú nasledujúce skratky: s singlet; d dublet; t triplet; kv kvartet; m multiplet; pás niekoľko prekryvajúcich sa signálov; š široký. IČ spektrá sa zaznamenávajú na spektrometri Perkin-Elmer 1600 série FT-IR. Optická otáčavosť sa zaznamenáva na polarimetri Perkin-Elmer 241. Vysoko rozlíšené hmotnostné spektrá (HRMS) sa zaznamenávajú na hmotnostnom spektrometri VG ZAB-ZSE za podmienok odstreľovania rýchlymi atómami (FAB).

cis-Makrolaktón diol 7 ilustrovaný v schéme 3

K roztoku 305 mg (0,491 mmol) jodidu 16 v 8,2 ml (0,06 M) tetrahydrofuránu sa pri 25 °C pridá 2,7 ml HF.pyr. a získaný roztok sa mieša pri tejto teplote 27 hodín. Reakčná zmes sa rozloží opatrným pridaním 100 ml nasýteného vodného roztoku hydrogenuhlíčitánu sodného a 100 ml etylacetátu k zmesi a získaný dvojfázový systém sa 2 hodiny mieša pri 25 °C. Extrakt sa potom rozdelia a organická vrstva sa premyje 100 ml nasýteného vodného roztoku hydrogenuhlíčitánu sodného a 100 ml solanky a potom sa suší nad síranom sodným. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 20 až 50 % etylacetátu v hexáne) sa získa 208 mg (84 %) diolu 7. $R_f = 0,21$ (silikagél, 25 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{25} -53,1$ (c 1,37, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3499 (š), 2930, 1732, 1688, 1469, 1379, 1259, 1149, 1093, 1048, 1006, 732 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,43 (s, 1H, $\text{ICH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 5,44 (ddd, $J=10,5$, 10,5, 4,5 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,34 (dd, $J=9,5$, 2,0 Hz, 1H, CHOCO), 5,32 (ddd, $J=10,5$, 10,5, 5,5 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 4,07 (ddd, $J=11,0$, 6,0, 3,0 Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,73 (ddd, $J=2,5$, 2,5, 2,5 Hz, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,10 (kvd, $J=7,0$, 2,5 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,84 (d, $J=2,5$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CHOHCH}(\text{CH}_3)$), 2,66 (ddd, $J=15,0$, 9,5, 9,5 Hz, 1H, $=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,51 (dd, $J=15,5$, 11,0 Hz, 1H, CH_2COO), 2,42 (dd, $J=15,5$, 3,0 Hz, 1H, CH_2COO), 2,35 (d, $J=6,0$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_3\text{CHOH}$), 2,21-2,12 (m, 2H), 2,05-1,97 (m, 1H), 1,88 (s, 3H, $\text{ICH}=\text{CCH}_3$), 1,76-1,70 (m, 1H), 1,70-1,62 (m, 1H), 1,32 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,10 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

1,35-1,05 (m, 3H), 0,99 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{IO}_5$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$) 639,0584, nájdené 639,0557.

trans-Makrolaktón diol 11 ilustrovaný v schéme 3

Roztok 194 mg (0,313 mmol) jodidu 17 v 5,2 ml (0,06 M) tetrahydrofuránu reaguje s 1,7 ml HF.pyr. podľa postupu opísaného na prípravu zlúčeniny 7 a po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 20 až 50 % etylacetátu v hexáne) sa získa 134 mg (85 %) diolu 11. $R_f = 0,16$ (silikagél, 25 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{25} -20,0$ (c 1,15, chloroform); IČ (film) $\nu_{\max}$ 3478, 2930, 1732, 1693 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,37 (d, $J=1,5$ Hz, 1H, ICHCHCH_3), 5,35 (ddd, $J=14,5$, 7,0, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,24 (ddd, $J=14,5$, 7,0, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,17 (dd, $J=6,5$, 3,5 Hz, 1H, CHOCO), 4,41 (dd, $J=8,0$, 3,5 Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OTBS})$), 3,85 (šs, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,38 (šs, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,18 (kvd, $J=7,0$, 6,5 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,68-2,34 (m, 4H), 2,44 (s, 3H, CH_3Ar), 2,19-2,11 (m, 1H), 1,96 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C}=\text{CH}$), 1,99-1,93 (m, 1H), 1,67-1,52 (m, 2H), 1,48-1,42 (m, 1H), 1,31-0,99 (m, 2H), 1,22 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,14 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,09 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,02 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2), 0,84 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3(\text{CH}_3)_2$), 0,08 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{IO}_5$ ($\text{M} + \text{Cs}^+$) 639,0584, nájdené 639,0606.

2-Tiometyl-4-brómtiazol 21b uvedený v schéme 4

82 mg (0,34 mmol, 1,0 ekvivalentu) 2,4-Dibrómtiazolu 20 sa rozpustí v 2,3 ml (0,15 M) etanolu a reaguje so 75 mg (1,02 mmol, 3,0 ekvivalentu) tiomoxidu sodného. Reakčná zmes sa mieša 2 hodiny pri 25 °C, pričom sa skončenie reakcie stanoví pomocou ^1H NMR. Zmes sa naleje do 5 ml vody a dvakrát sa extrahuje 5 ml éteru. Spojené organické frakcie sa sušia nad síranom horečnatým, rozpúšťadlá sa odparia a zvyšok sa čistí pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 5 % etylacetátu v hexáne) a získa sa 77 mg (92 %) 2-tiometyl-4-brómtiazolu 21b. $R_f = 0,58$ (silikagél, 10 % etylacetátu v hexáne); IČ (film) $\nu_{\max}$ 3118, 2926, 1459, 1430, 1388, 1242, 1040, 966, 876, 818 cm^{-1} ; ^1H NMR, 500 MHz deuterochloroform) δ 7,07 (s, 1H, ArH), 2,69 (s, 3H, SCH_3); GC/MS (EI), vypočítané pre $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNS}_2$ (M^+) 209/211, nájdené 209/211.

2-Tiometyl-4-trimetylstanyltiazol 8b ilustrovaný v schéme 3

K roztoku 51 mg (0,24 mmol, 1,0 ekvivalentu) brómtiazolu 21b v 4,9 ml (0,1 M) odplyneného toluénu sa pridá 498 μl (2,4 mmol, 10 ekvivalentov) hexametyldicinu a 14 mg (0,012 mmol, 0,05 ekvivalentov) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ a reakčná zmes sa 3 hodiny zahrieva na 80 °C. Potom sa reakčná zmes ochladí na 25 °C a po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 5 % trietylaminu v hexáne) sa získa 71 mg (100 %) stanánu 8b. $R_f = 0,67$ (silikagél; vopred spracovaný Et_3N , 10 % etylacetátu); IČ (film) $\nu_{\max}$ 2981, 2924, 1382, 1030, 772 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,25 (s, 1H, ArH), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 0,32 (s, 9H, $\text{Sn}(\text{CH}_3)_3$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NS}_2\text{Sn}$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 295,9588, nájdené 295,9576.

Epitolón E (3) ilustrovaný v schémach 2 a 3

K roztoku 10,0 mg (0,020 mmol, 1,0 ekvivalentu) laktonu 18h v 600 μl (0,03 M) metanolu sa pridá 32 μl (0,606 mmol, 30 ekvivalentov) acetonitrilu, 10 mg (0,102 mmol, 5 ekvivalentov) hydrogenuhlíčitánu sodného a 27 μl (35 % roztok vo vode (hmotnostne), 0,303 mmol,

15 ekvivalentov) peroxidu vodíka a reakčná zmes sa mieša 3 hodiny pri 25 °C. Potom sa pridá ďalších 32 µl (0,606 mmol, 30 ekvivalentov) acetonitrilu, 10 mg (0,102 mmol, 5 ekvivalentov) hydrogenuhlčitanu sodného a 27 µl (35 % (hmotn.) roztok vo vode, 0,303 mmol, 15 ekvivalentov) peroxidu vodíka a miešanie pokračuje ďalšie 3 hodiny. Reakčná zmes sa potom priamo filtruje cez krátky stĺpec silikagélú za elúcie éterom a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Po čistení pomocou preparatívnej tenkovrstvovej chromatografie (250 mm silikagélková doska, 50 % etylacetátu v hexáne) sa získa 5,0 mg (50 % nezreagovanej východiskovej látky 18h a 3,4 mg (33 %) epitolónu E (3). $R_f = 0,56$ (silikagél, 66 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{22} = -27,5$ (c 0,20, chloroform); IČ (film) $\nu_{\max}$ 3413, 2928, 2867, 1731, 1689, 1462, 1375, 1257, 1152, 1061, 978, 756 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,13 (s, 1H, ArH), 6,61 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,46 (dd, $J=8,1$, 2,4 Hz, 1H, CHOCO), 4,94 (d, $J=5,2$ Hz, 2H, CH_2OH), 4,16-4,12 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,82-3,78 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,66 (šs, 1H, OH), 3,23 (kvd, $J=6,8$, 5,2 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 3,04 (ddd, $J=8,1$, 4,5, 4,5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,91 (ddd, $J=7,3$, 4,5, 4,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,61 (t, $J=5,2$ Hz, 1H, CH_2OH), 2,55 (dd, $J=14,7$, 10,4 Hz, 1H, CH_2COO), 2,48 (šs, 1H, OH), 2,45 (dd, $J=14,7$, 3,2 Hz, 1H, CH_2COO), 2,14-2,07 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 2,11 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,91 (ddd, $J=15,1$, 8,1, 8,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 1,78-1,66 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{O})\text{CHCH}_2$), 1,52-1,38 (m, 5H), 1,36 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, 3H, $J=6,8$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,10 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 510,2525, nájdené 510,2539.

cis-Makrolaktón 18b ilustrovaný v schéme 3

Roztok 9,2 mg (0,018 mmol, 1,0 ekvivalentu) vinyljodidu 7, 10,7 mg (0,036 mmol, 2,0 ekvivalentu) stanánu 8b a 2,1 mg (0,0018 mmol, 0,1 ekvivalentu) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ v 180 µl (0,1 M) odplyneného toluénu sa 40 minút zahrieva na 100 °C podľa postupu opísaného na prípravu laktónu 18h. Po čistení pomocou preparatívnej tenkovrstvovej chromatografie (250 mm silikagélková doska, 75 % éteru v hexáne) sa získa 4,1 mg (44 %) makrolaktónu 18b. $R_f = 0,50$ (silikagél, 50 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{22} = -38,6$ (c 0,21, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3444, 2925, 1732, 1682, 1259, 1037, 756 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,99 (s, 1H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 6,52 (šs, 1H, ArH), 5,45 (ddd, $J=10,5$, 10,5, 4,0 Hz, 2H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,39 (ddd, $J=10,5$, 10,5, 4,0 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,29 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, CHOCO), 4,20 (ddd, $J=11,0$, 5,5, 2,5 Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,75-3,73 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,13 (kvd, $J=6,5$, 2,0 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,98 (d, $J=2,0$ Hz, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 2,93 (d, $J=5,5$ Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 2,71 (ddd, $J=15,0$, 10,0, 10,0 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 2,51 (dd, $J=15,5$, 11,5 Hz, 1H, CH_2COO), 2,30 (dd, $J=15,0$, 2,5 Hz, 1H, CH_2COO), 2,28-2,16 (m, 2H), 2,13 (d, $J=1,0$ Hz, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 2,06-1,98 (m, 1H), 1,79-1,60 (m, 2H), 1,40-1,06 (m, 3H), 1,33 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,19 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,09 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,00 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 642,1324, nájdené 642,1345.

trans-Makrolaktón 19b ilustrovaný v schéme 3

Roztok 6,9 mg (0,014 mmol, 1,0 ekvivalentu) vinyljodidu 11, 8,2 mg (0,028 mmol, 2,0 ekvivalentu) stanánu 8b a 1,6 mg (0,0014 mmol, 0,1 ekvivalentu) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ v 140 µl (0,1 M) odplyneného toluénu sa 40 minút zahrieva na 100

°C podľa postupu opísaného na prípravu laktónu 18h. Po čistení pomocou preparatívnej tenkovrstvovej chromatografie (250 mm silikagélková doska, 75 % éteru v hexáne) sa získa 5,0 mg (72 %) makrolaktónu 19b. $R_f = 0,47$ (silikagél, 50 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{22} = -32,9$ (c 0,35, chloroform); IČ (film) $\nu_{\max}$ 3488, 2928, 1728, 1692, 1259, 1036, 800, 757 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,00 (s, 1H, ArH), 6,48 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,53 (ddd, $J=15,0$, 7,5, 7,5 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 5,40 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, CHOCO), 5,39 (ddd, $J=15,0$, 7,5, 7,5 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 4,12 (ddd, $J=11,0$, 2,5, 2,5 Hz, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{CCH}(\text{OH})$), 3,77-3,74 (m, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 3,24 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2$), 3,07 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,70 (s, 3H, SCH_3), 2,61 (d, $J=3,5$ Hz, 1H, $\text{CHOH}(\text{CHCH}_3)$), 2,59-2,44 (m, 5H), 2,19-2,12 (m, 1H), 2,13 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 2,02-1,94 (m, 1H), 1,70-1,55 (m, 2H), 1,48-1,41 (m, 1H), 1,29 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,18 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 1,08 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3CHCH_2); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 642,1324, nájdené 642,1298.

Silyléter 25 ilustrovaný v schéme 7

K roztoku 12,96 g (54,4 mmol, 1,0 ekvivalentu) alkoholu 13 v 180 ml (0,3 M) dimetylformamidu sa pri 0 °C pridá 10,2 g (150,0 mmol, 2,8 ekvivalentu) imidazolu a potom 13,5 g (89,9 mmol, 1,7 ekvivalentu) *tert*-butyldimetylchlórsilánu. Po 7 hodinách pri 25 °C sa rozpúšťadlo odstráni za zníženého tlaku a získaný olej sa extrahuje medzi 200 ml éteru a 200 ml nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho. Vodná vrstva sa extrahuje 200 ml éteru a spojené organické extrakty sa premyjú 500 ml solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 0 až 5 % etylacetátu v hexáne) sa získa 16,03 g (84 %) silyléteru 25 vo forme oleja. $R_f = 0,48$ (hexán); $[\alpha]_D^{22} = -17,5$ (c 1,65, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 2954, 2928, 2857, 1472, 1361, 1278, 1252, 1082, 914, 836, 776, 677 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,15 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,74-5,66 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,03 (šm, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,01 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,16 (dd, $J=6,5$, 6,5 Hz, 1H, CHOH), 2,25 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{-CHCH}_2$), 1,77 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,88 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

Aldehyd 26 ilustrovaný v schéme 7

K roztoku 16,0 g (45,3 mmol, 1,0 ekvivalentu) olefinu 25 v zmesi 206 ml tetrahydrofuránu, 206 ml *tert*-butanolu a 41 ml vody sa pri 0 °C pridá 5,84 g (49,8 mmol, 1,1 ekvivalentu) N-oxidu 4-metylmorfolínu (NMO) a potom 5,2 ml (2,5 % hmotn./objem v *tert*-butanole, 0,453 mmol, 0,01 ekvivalentu) oxidu osmičelého. Zmes sa energicky mieša 13 hodín pri 25 °C a potom sa rozloží pridaním 125 ml nasýteného vodného roztoku siričitanu sodného. Vznikajúci roztok sa mieša 2 hodiny a potom sa extrahuje medzi 150 ml etylacetátu a 150 ml vody. Organická fáza sa oddelí a vodná fáza sa dvakrát extrahuje 200 ml etylacetátu. Spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým, filtrujú sa a rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej chromatografie (silikagél, 50 až 90 % éteru v hexáne) sa získa 1,0 g (6 %) nezreagovanej východiskovej látky a 15,5 g (89 %) požadovaného diolu ako zmesi diastereomérov v pomere približne 1 : 1. $R_f = 0,44$ (silikagél, 50 % etylacetátu v hexáne); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3387, 2952, 2928, 1252, 1080, 837, 777 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,28 a 6,26 (singlety, 1H celkom, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 4,47-4,42 (m, 1H, CHOSi), 3,86-3,76 (m, 1H, CHOH), 3,61-3,55 a 3,49-3,39 (m, 2H

celkom, CH_2OH), 3,33 a 3,15 (2 dublety, $J=2,0$ a 3,5 Hz, 1H celkom, CHOH), 2,46 a 2,45 (triplety, $J=5,5$ a 5,5 Hz, CH_2OH), 1,78 a 1,76 (singlety, 3H celkom), 1,63-1,60 a 1,58-1,53 (m, 2H celkom, CH_2), 0,88 a 0,87 (singlety, 9H celkom, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,08 a 0,07 (singlety, 3H celkom, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 a 0,00 (singlety, 3H celkom, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 409,0672, nájdené 409,0662.

23,3 g (60,2 mmol, 1,0 ekvivalentu) diolov (získaných podľa postupu opísaného skôr) sa rozpustí v zmesi 400 ml metanolu a 200 ml vody a roztok sa ochladí na 0 °C. Potom sa v priebehu 5 minút po častiach pridá 77,2 g (361,1 mmol, 6,0 ekvivalentov) jodistanu sodného a získaná suspenzia sa energicky mieša 30 minút pri 25 °C. Po skončení reakcie sa zmes extrahuje medzi 500 ml dichlórmetánu a 500 ml vody a organická fáza sa oddelí. Vodná fáza sa extrahuje 500 ml dichlórmetánu a spojené organické extrakty sa premyjú 1 litrom solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 17 až 50 % éteru v hexáne) sa získa 19,6 g (92 %) aldehydu 26 vo forme oleja. $R_f = 0,35$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -34,1$ (c 2,8, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 2954, 2928, 2885, 2856, 1728, 1471, 1279, 1254, 1091, 838, 777, 677 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 9,73 (dd, $J=2,5$, 2,5 Hz, 1H, CHO), 6,34 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 4,70 (dd, $J=8,0$, 4,0 Hz, 1H, CHOSi), 2,68 (ddd, $J=16,0$, 8,3, 2,5 Hz, 1H, $(\text{CHO})\text{CH}_2$), 2,44 (ddd, $J=16,0$, 4,0, 2,5 Hz, 1H, $(\text{CHO})\text{CH}_2$), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) 377,0410, nájdené 377,0402.

Metylester 28 ilustrovaný v schéme 7

Zmes 19,6 g (55,2 mmol, 1,0 ekvivalentu) aldehydu 26 a 50,2 g (134,0 mmol, 2,4 ekvivalentu) stabilizovaného ylidu 27 [pripraveného zo 4-brom-1-buténu pomocou: (i) prípravy fosfónovej soli; (ii) prípravy aniónu s KHMDs ; a (iii) rozloženia $\text{MeOC}(\text{O})\text{Cl}$] (pozri Marshall, J.A., a kol., J. Org. Chem. 51, 1735-1741 (1986) a Bestmann, H.J., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1965, 645-60) v 550 ml (0,1 M) benzénu sa 1,5 hodiny zahrieva do varu pod spätným chladičom. Po ochladení na 25 °C sa zmes filtruje a rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 9 až 17 % éteru v hexáne) sa získa 24,5 g (98 %) metylesteru 28. $R_f = 0,37$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3078, 2952, 2920, 2856, 1720, 1462, 1434, 1276, 1253, 1208, 1084, 836, 776, 672 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 6,81 (dd, $J=7,4$, 7,4 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CCOOCH}_3$), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,83-5,75 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,99-4,98 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,96 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,22 (dd, $J=7,5$, 5,1 Hz, 1H, CHOSi), 3,72 (s, 3H, COOCH_3), 3,05 (d, $J=6,0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CO}_2\text{Me})$), 2,40 (ddd, $J=15,0$, 7,5, 7,5 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,33 (ddd, $J=15,0$, 7,5, 5,1 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,77 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,85 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 583,0142, nájdené 583,0159.

Alylalkohol 29 ilustrovaný v schéme 7

24,5 g (54,3 mmol, 1,0 ekvivalentu) metylesteru 28 sa rozpustí v 280 ml tetrahydrofuránu a roztok sa ochladí na -78 °C. V priebehu 50 minút sa pri -78 °C prikvapká 163,0 ml, 1M roztok v dichlórmetáne (163,0 mmol, 3,0 ekvivalentu) DIBAL a reakčná zmes sa mieša ďalších 80 mi-

nút. Reakčná zmes sa rozloží 150 ml nasýteného vodného roztoku tartrátu sodno draselného a získaná zmes sa nechá 15 hodín zahrievať na teplotu miestnosti. Organická vrstva sa oddelí a vodná vrstva sa trikrát extrahuje 250 ml éteru. Spojené organické extrakty sa premyjú 650 ml solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 17 až 50 % éteru v hexáne) sa získa 22,9 g, 100 % alkoholu 29. $R_f = 0,11$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -7,25$ (c 1,6, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3346, 3078, 2954, 2928, 2857, 1637, 1471, 1361, 1276, 1252, 1078, 1005, 836, 775, 674, 558 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 6,16 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,81-5,73 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,45 (dd, $J=6,5$, 6,5 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_2\text{OH}$), 5,03 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,16 (dd, $J=6,5$, 6,5 Hz, 1H, CHOSi), 4,02 (d, $J=4,5$ Hz, 2H, CH_2OH), 2,85 (dd, $J=15,0$, 5,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,84 (dd, $J=15,0$, 5,0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,27 (ddd, $J=15,0$, 6,5, 6,5 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,25 (ddd, $J=15,0$, 6,5, 6,5 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,78 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,88 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 555,0192 nájdené 555,0177.

Trifenylmetyléter 30 ilustrovaný v schéme 7

23,5 g (55,7 mmol, 1,0 ekvivalentu) Alkoholu 29 sa rozpustí v 300 ml (0,15 M) dimetylformamidu a pridá sa 11,3 g (92,5 mmol, 1,7 ekvivalentu) 4-DMAP a 22,1 g (79,3 mmol, 1,4 ekvivalentu) tritylchloridu. Reakčná zmes sa mieša 21 hodín pri 80 °C, ochladí sa na teplotu miestnosti a rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku. Získaný zvyšok sa čistí pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie a získa sa 35,3 g (95 %) požadovaného éteru 30 vo forme oleja. $R_f = 0,88$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} 0,74$ (c 0,3, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3058, 2927, 2854, 1488, 1470, 1448, 1250, 1082, 836, 702, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,45-7,43 (m, 5H, Ph), 7,32-7,21 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,61 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4,87 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 4,19 (dd, $J=6,8$, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,46 (s, 2H, CH_2OTr), 2,78 (dd, $J=15,4$, 6,7 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,73 (dd, $J=15,4$, 6,3 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 2,33 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,31 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 0,87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{IO}_2\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 797,1288 nájdené 797,1309.

Alkohol 31 ilustrovaný v schéme 7

35,3 g (53,1 mmol, 1,0 ekvivalentu) olefinu 30 sa rozpustí v 53 ml (1,0 M) tetrahydrofuránu a roztok sa ochladí na 0 °C. V priebehu 1,5 hodiny sa prikvapká 149 ml (0,5 M roztok v tetrahydrofuráne, 74,5 mmol, 1,4 ekvivalentu) 9-BBN a získaná zmes sa mieša 9 hodín pri 0 °C. Pridá sa 106 ml 3N roztoku hydroxidu sodného (319,0 mmol, 6,0 ekvivalentov), potom 32 ml (30 % hmotnostne roztok vo vode, 319,0 mmol, 6,0 ekvivalentov) vodného peroxidu vodíka. Miešanie pokračuje 1 hodinu pri 0 °C, potom sa reakčná zmes zriedi 500 ml éteru a 500 ml vody. Organická vrstva sa oddelí a vodná vrstva sa dvakrát extrahuje 500 ml éteru. Spojené organické extrakty sa premyjú 1 litrom solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli (9 až 50 % éteru v hexáne) sa získa 34,6 g (95 %) primárneho alkoholu 31. $R_f = 0,54$ (silikagél, 60 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -3,5$ (c 0,2, chloro-

form); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3380, 3058, 3032, 2926, 2855, 1489, 1449, 1278, 1251, 1078, 835, 706, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10H, Ph), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,58 (dd, $J=7,1$, 7,1 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,22 (dd, $J=6,8$, 6,0 Hz, 1H, CHOSi), 3,52 (šm, 2H, CH_2OH), 3,50 (s, 2H, CH_2OTr), 2,33 (dd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,28 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,14 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,46 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 0,90 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 815,1394 nájdené 815,1430.

Jodid 32 ilustrovaný v schéme 7

Roztok 34,6 g (50,73 mmol, 1,0 ekvivalentu) alkoholu 31 v zmesi s 380 ml éteru a 127 ml acetonitrilu sa ochladí na 0 °C. Potom sa pridá 17,3 g (253,7 mmol, 5,0 ekvivalentu) imidazolu a 33,3 g (126,8 mmol, 2,5 ekvivalentu) PPh₃ a zmes sa mieša pokiaľ sa nerozpustia pevné látky. Pridá sa 33,5 g (131,9 mmol, 2,6 ekvivalentu) jódu a zmes sa mieša 45 minút pri 0 °C. Reakčná zmes sa rozloží pridaním 150 ml nasýteného vodného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a vrstvy sa rozdelia. Vodná vrstva sa potom extrahuje dvakrát 250 ml solanky a spojené organické extrakty sa premyjú 750 ml solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 5 až 9 % éteru v hexáne) sa získa 39,2 g (97 %) jodidu 32. R_f = 0,88 (silikagél, 60 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22}$ -2,9 (c 2,6, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3057, 2926, 2855, 1481, 1448, 1251, 1083, 939, 836, 774, 706, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,49-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10H, Ph), 6,23 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,67 (dd, $J=7,2$, 7,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,22 (dd, $J=6,8$, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,51 (s, 2H, CH_2OTr), 3,07 (dd, $J=7,1$, 7,0 Hz, 2H, CH_2I), 2,34 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,25 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, CH_2CHOSi), 2,13 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 1,84 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,75 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 0,90 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{I}_2\text{O}_2\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 925,0411, nájdené 925,0450.

Hydrazón 33 ilustrovaný v schéme 7

5,0 ml (35,28 mmol, 1,4 ekvivalentu) diizopropylamínu sa pri 0 °C pridá k roztoku 22,0 ml (1,6 M roztok v hexáne, 35,28 mmol, 1,4 ekvivalentu) *n*-BuLi v 32 ml tetrahydrofuránu a mieša sa 1 hodinu. K tomuto čerstvo pripravenému roztoku LDA sa pridá 5,6 g (32,76 mmol, 1,3 ekvivalentu) SAMP hydrazónu propiónaldehydu v 16 ml tetrahydrofuránu. Po 16 hodinách miešania sa získaný žltý roztok ochladí na -100 °C a v priebehu 2 hodín sa prikvapká roztok 20,0 g (25,23 mmol, 1,0 ekvivalentu) jodidu 32 v 32 ml tetrahydrofuránu. Zmes sa mieša 20 hodín pri -20 °C a potom sa naleje do 50 ml nasýteného vodného roztoku chloridu amónneho a trikrát sa extrahuje 100 ml éteru. Spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým, filtrujú sa a odparia. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli (5 až 50 % éteru v hexáne) sa získa 15,0 g (71 %) hydrazónu 33 vo forme žltého oleja. R_f = 0,63 (silikagél, 40 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22}$ 22,7 (c 0,2, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3057, 2927, 2854, 1489, 1448, 1251, 1078, 940, 836, 775, 706, 668, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,40 (d, $J=6,5$ Hz, 1H, $\text{N}=\text{CH}$), 6,21 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,50 (dd, $J=7,0$, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,20 (dd, $J=6,0$, 6,0 Hz, 1H, CHOSi), 3,54 (dd, $J=9,2$, 3,5 Hz, 1H, CH_2OCH_3), 3,45 (s, 2H, CH_2OTr),

3,41 (dd, $J=9,5$, 7,0 Hz, 1H, CH_2OCH_3), 3,37 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3,32-3,30 (m, 2H, CH_2N), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,34-2,20 (m, 3H), 2,04-1,95 (m, 1H), 1,98-1,73 (m, 5H), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,38-1,21 (m, 4H), 0,96 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, CHCH_3), 0,89 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{45}\text{H}_{63}\text{IN}_2\text{O}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 967,2707, nájdené 967,2740.

Nitril 34 ilustrovaný v schéme 7

52,4 g horečnatej soli monoperoxyftalovej kyseliny (MMPP.6H₂O, 80 %, 84,8 mmol, 2,5 ekvivalentu) mapp v priebehu 10 minút po častiach pri 0 °C pridá k dobre miešanému roztoku 28,3 g (33,9 mmol, 1,0 ekvivalentu) hydrazónu 33 v zmesi 283 ml metanolu, 100 ml tetrahydrofuránu a 283 ml fosfátového pufru s pH 7. Zmes sa mieša 1,5 hodiny pri 0 °C a potom sa v dvoch dieloch v priebehu 30 minút pridá ďalších 120 ml tetrahydrofuránu, aby sa pomohlo rozpusteniu východiskovej látky. Po ďalšej 1,5 hodine miešania sa reakčná zmes naleje do 750 ml nasýteného vodného roztoku hydrogenuhlčitanu sodného a produkt sa extrahuje 750 ml éteru a potom dvakrát 750 ml etylacetátu. Spojené organické extrakty sa premyjú 1 litrom solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli (9 až 20 % éteru v hexáne) sa získa 21,8 g (89 %) nitrilu 34 vo forme bezfarebného oleja. R_f = 0,44 (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22}$ +2,9 (c 1,2, deuterochloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3057, 2928, 2855, 2238, 1490, 1448, 1252, 1081, 836, 775, 707, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,47-7,45 (m, 5H, Ph), 7,33-7,23 (m, 10H, Ph), 6,22 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,56 (dd, $J=6,8$, 6,8 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,21 (dd, $J=6,8$, 6,8 Hz, 1H, CHOSi), 3,49 (s, 2H, CH_2OTr), 2,48 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 2,29 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,24 (ddd, $J=14,5$, 6,8, 6,8 Hz, 1H, CH_2CHOSi), 2,07 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,58-1,23 (m, 4H), 1,24 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CHCH_3), 0,90 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,0 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{INO}_2\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 852,1710, nájdené 852,1738.

Aldehyd 35 ilustrovaný v schéme 7

7,01 g (9,74 mmol, 1,0 ekvivalentu) Nitrilu 34 sa rozpustí v 195 ml (0,05 M) a ochladí sa na -78 °C. V priebehu 10 minút sa pri -78 °C prikvapká 29,2 ml (1,0 M roztok v toluéne, 29,2 mmol, 3,0 ekvivalentu) DIBAL. Reakčná zmes sa mieša pri -78 °C, pokiaľ sa podľa TLC (asi 1 hodina) reakcia neskončí. Potom sa postupne pridá 10 ml metanolu a 10 ml (1,0N roztok vo vode) kyseliny chlorovodíkovej a zmes sa v priebehu 1 hodiny zahreje na 0 °C. Pridá sa 250 ml éteru a 250 ml vody a vrstvy sa oddelia. Vodná fáza sa dvakrát extrahuje 250 ml éteru a spojené organické extrakty sa premyjú 500 ml solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie (silikagél, 17 až 33 % éteru v hexáne) sa získa 6,18 g (88 %) aldehydu 35 vo forme oleja. R_f = 0,51 (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22}$ +2,0 (c 0,3, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3057, 2927, 2855, 1726, 1490, 1448, 1251, 1081, 836, 775, 707, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 9,51 (d, $J=1,9$ Hz, 1H, CHO), 7,46-7,45 (m, 5H, Ph), 7,32-7,22 (m, 10H, Ph), 6,20 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,54 (dd, $J=7,0$, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$), 4,20 (dd, $J=6,5$, 6,0 Hz, 1H, CHOSi), 3,47 (s, 2H, CH_2OTr), 2,34-2,20 (m, 3H, CH_2CHOSi a $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 2,04 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,82 (s, 3H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 1,66 (m, 1H), 1,30-1,19 (m, 3H),

1,02 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CHCH_3), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{IO}_3\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 855,1707, nájdené 855,1672.

tris-(Silylétery) 37 a 38 ilustrované v schéme 8

Roztok 1,20 g (2,99 mmol, 1,4 ekvivalentu) ketónu 36 (pozri Nicolaou, K.C., a kol., J. Am. Chem. Soc. 119, 7974-91 (1997) v 4,3 ml tetrahydrofuránu sa v priebehu 5 minút pri -78°C prikvapká k čerstvo pripravenému roztoku LDA [424 μl (3,03 mmol, 1,45 ekvivalentu) diizopropylamínu sa pri 0°C pridá k 2,00 ml (1,52 M roztok v hexáne, 3,04 mmol, 1,45 ekvivalentu) *n*-BuLi a po 5 minútach sa pridá 4,3 ml tetrahydrofuránu]. Po 1,5 hodine miešania pri -78°C sa roztok nechá zahriať v priebehu 30 minút na teplotu -40°C . Reakčná zmes sa potom ochladí na -78°C a v priebehu 15 minút sa prikvapká roztok 1,51 g (2,09 mmol, 1,0 ekvivalentu) aldehydu 35 v 12,5 ml tetrahydrofuránu. Získaná zmes sa mieša 1 hodinu pri -78°C a potom sa rozloží prikvapkaním nasýteného vodného roztoku kyseliny octovej (3,1 ml 1 M roztoku v tetrahydrofuráne, 3,10 mmol, 1,5 ekvivalentu). Zmes sa potom zahreje na 25°C a extrahuje sa medzi 25 ml éteru a 25 ml nasýteného roztoku chloridu amónneho. Vodná vrstva sa trikrát extrahuje 25 ml éteru a spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým a odparia sa vo vákuu. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 4 až 20 % éteru v hexáne sa získa 502 mg (42 %) nezreagovaného ketónu, 705 mg (27 %) nežiaduceho aldolového produktu 38 a zmes 1,136 g (podľa ^1H NMR je pomer 37 : 35 približne 9 : 1) požadovaného aldolového produktu 37 a nezreagovaného aldehydu 35 (to znamená výtazok 39 % zlúčeniny 37). Táto zmes sa hneď použije v ďalšom kroku. 37: (hlavný) (získa sa vo forme bezfarebného oleja ako zmes obsahujúca zlúčeninu 35, pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 10 až 17 % etylacetátu v hexáne). $R_f = 0,22$ (silikagél, 10 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -20,2$ (c 0,3, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3486, 2954, 2928, 2856, 1682, 1472, 1448, 1253, 1090, 994, 836, 775, 706, 668, 632 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,45-7,43 (m, 5H, Ph), 7,30-7,19 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,51 (dd, $J=7,0, 6,9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,18 (dd, $J=6,3, 6,2$ Hz, 1H, CHOSi), 3,88 (dd, $J=7,5, 2,6$ Hz, 1H, CHOSi), 3,65 (m, 1H, CH_2OSi), 3,59 (m, 1H, CH_2OSi), 3,46 (d, $J=11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,43 (d, $J=11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,27 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 3,22 (d, $J=9,3$ Hz, 1H, CHOH), 2,32-2,18 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,00 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C})\text{CH}_2\text{OTr}$), 1,80 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,66 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,27 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,19 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,07 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,87 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,86 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,71 (d, $J=6,7$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,10 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,03 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 1257,4692, nájdené 1257,4639. 38: (minoritný) bezfarebný olej; $R_f = 0,38$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -11,9$ (c 2,9, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3501, 2954, 2930, 2856, 1682, 1469, 1254, 1088, 836, 776, 705, 670 cm^{-1} ; ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 7,46-7,44 (m, 5H, Ph), 7,31-7,21 (m, 10H, Ph), 6,21 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,52 (dd, $J=7,0, 6,9$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,20 (dd, $J=6,5, 6,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,88 (dd, $J=7,5, 2,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,67 (m, 1H, CH_2OSi), 3,60 (m, 1H, CH_2OSi), 3,46 (s, 2H, CH_2OTr), 3,30-3,21 (m, 2H, CHOH ,

$\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,30-2,25 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,05-1,93 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,81 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,45 (m, 2H), 1,24 (m, 2H), (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,05 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,92 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,88 (nezreteľný d, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,88 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,11 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,06 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,04 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,01 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{60}\text{H}_{97}\text{IO}_6\text{Si}_3$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$) 1257,4692, nájdené 1257,4749.

tetra-(Silyléter) 39, ktorý je ilustrovaný v schéme 8

1,136 g (0,933 mmol, 1,0 ekvivalentu, zmes s aldehydom 35 približne 9 : 1) Alkoholu 37 sa rozpustí v 5,0 ml dichlórmetánu, ochladí sa na -20°C a reaguje so 470 μl (4,04 mmol, 4,3 ekvivalentu) 2,6-lutidínu a 695 μl (3,03 mmol, 3,2 ekvivalentu) *tert*-butyldimetylsilyltrifluórmetánsulfonátu. Zmes sa potom mieša 2,5 hodiny za pomalého zahrievania na teplotu miestnosti. Reakcia sa potom rozloží 25 ml nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a vodná fáza sa trikrát extrahuje 25 ml éteru. Spojené organické extrakty sa premyjú 250 ml solanky, sušia sa nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 4 až 9 % éteru v hexáne sa získa 1,04 g (90 %) *tetra*-(silyléteru) 39 vo forme bezfarebného oleja. $R_f = 0,91$ (silikagél, 20 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -16,8$ (c 0,7, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3058, 2951, 2856, 1693, 1471, 1253, 1079, 1004, 836, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,46-7,43 (m, 5H, Ph), 7,29-7,19 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd, $J=7,0, 7,0$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 4,18 (dd, $J=6,3, 6,1$ Hz, 1H, CHOSi), 3,85 (dd, $J=7,6, 2,5$ Hz, 1H, CHOSi), 3,70 (dd, $J=6,7, 2,0$ Hz, 1H, CHOSi), 3,67 (ddd, $J=9,6, 4,8, 4,8$ Hz, 1H, CH_2OSi), 3,59 (ddd, $J=9,7, 7,9, 7,9$ Hz, 1H, CH_2OSi), 3,45 (d, $J=11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,2$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,08 (qd, $J=6,8, 6,8$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,27 (ddd, $J=14,4, 7,2, 7,2$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 2,23 (ddd, $J=14,5, 6,2, 6,2$ Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHOSi}$), 1,97 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,79 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,57 (m, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,25 (m, 3H), 1,17 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,01 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,95 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,86 (s, 18H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0,09-0,03 (m, 24H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{66}\text{H}_{111}\text{IO}_6\text{Si}_4$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 1371,5557, nájdené 1371,5523.

Alkohol 40 ilustrovaný v schéme 8

K roztoku 180 g (0,145 mmol) *tetra*-silyl éter 39 v 1,5 ml tetrahydrofuránu sa pri 0°C pridá 1,5 ml HF.pyr. v zmesi pyridín/tetrahydrofurán (pripraveného zo zásobného roztoku obsahujúceho 420 μl HF.pyridínu, 1,14 ml pyridínu a 2,00 ml tetrahydrofuránu) a miešanie pokračuje ďalšiu 1 hodinu pri 0°C . Reakcia sa rozloží opatrným pridaním nasýteného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a produkt sa trikrát extrahuje 25 ml etylacetátu. Spojené organické extrakty sa potom sušia nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou (30 % éteru v hexáne) sa získa 137 mg (84 %) alkoholu 40 vo forme svetlo žltého oleja. $R_f = 0,36$ (silikagél, 40 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -26,0$ (c 0,3, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3422, 2928, 2855, 1690, 1490, 1471, 1448, 1360, 1252, 1086, 1004, 986, 836, 774, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,49 (dd,

$J=7,1, 7,1$ Hz, 1H, $C=CHCH_2$), 4,17 (dd, $J=6,2, 6,0$ Hz, 1H, CHOSi), 4,03 (dd, $J=6,6, 3,7$ Hz, 1H, CHOSi), 3,73 (dd, $J=7,2, 1,7$ Hz, 1H, CHOSi), 3,65 (m, 2H, CH_2OH), 3,45 (d, $J=11,7$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,7$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,06 (kv, $J=6,9, 6,9$ Hz, 1H, $CH_3CH(C=O)$), 2,28 (ddd, $J=14,7, 7,3, 7,3$ Hz, 1H, $C=CHCH_2CHOSi$), 2,22 (ddd, $J=14,7, 6,3, 6,3$ Hz, 1H, $C=CHCH_2CHOSi$), 1,98 (m, 2H, $CH_2C(CH_2OTr)=CH$), 1,79 (s, 3H, $CH=C(CH_3)$), 1,56 (m, 2H), 1,24 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1,03 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,97 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 0,87 (3 singlety, 27H, $Si(CH_3)_3$), 0,81 (d, $J=6,7$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,10 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,04 (s, 9H, $Si(CH_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $C_{60}H_{97}IO_6Si_3$ ($M+Cs^+$), 1257,4692, nájdené 1257,4780.

Aldehyd 41 ilustrovaný v schéme 8

K roztoku 150 μ l (1,72 mmol, 2,0 ekvivalentu) oxalylchloridu v 10 ml dichlórmetánu sa pri teplote $-78^\circ C$ prikvapká 247 μ l (3,48 mmol, 4,0 ekvivalentu) dimetylsulfidu. Po 10 minútach miešania pri teplote $-78^\circ C$ sa prikvapká roztok 960 mg (0,853 mmol, 1,0 ekvivalentu) alkoholu 40 v 10 ml dichlórmetánu. Získaný roztok sa mieša 1 hodinu pri teplote $-78^\circ C$ a potom sa pridá 714 μ l (5,12 mmol, 6,0 ekvivalentu) trietylaminu a reakčná zmes sa nechá 30 minút zahrievať na $25^\circ C$. Pridá sa 30 ml vody a produkt sa extrahuje trikrát 40 ml éteru. Spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým a potom sa odparia za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 17 až 50 % éteru v hexáne sa získa 943 mg (98 %) aldehydu vo forme bezfarebného oleja. $R_f = 0,74$ (silikagél, 40 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -10,8$ (c 0,1, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 2928, 2855, 1728, 1690, 1471, 1448, 1260, 1252, 1085, 987, 836, 774, 706 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 9,74 (dd, $J=2,4, 1,5$ Hz, 1H, CHO), 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $CH=CCH_3$), 5,49 (dd, $J=7,0, 6,8$ Hz, 1H, $C=CHCH_2$), 4,44 (dd, $J=6,3, 5,0$ Hz, 1H, CHOSi), 4,18 (dd, $J=6,9, 6,4$ Hz, 1H, CHOSi), 3,70 (dd, $J=7,2, 1,8$ Hz, 1H, CHOSi), 3,45 (d, $J=11,4$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,4$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,05 (kv, $J=7,0, 7,0$ Hz, 1H, $CH_3CH(C=O)$), 2,49 (ddd, $J=17,0, 4,5, 1,4$ Hz, CH_2CHO), 2,38 (ddd, $J=17,0, 5,4, 2,8$ Hz, 1H, CH_2CHO), 2,27 (ddd, $J=14,0, 7,1, 7,1$ Hz, 1H, $C=CHCH_2CHOSi$), 2,23 (ddd, $J=14,5, 6,5, 6,5$ Hz, 1H, $C=CHCH_2CHOSi$), 1,98 (m, 2H, $CH_2C(CH_2OTr)=CH$), 1,79 (s, 3H, $CH=C(CH_3)$), 1,27 (m, 4H), 1,19 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1,12 (m, 1H), 1,00 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,98 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 0,87 (s, 27H, $Si(CH_3)_3$), 0,80 (d, $J=6,7$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,07 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,00 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $C_{60}H_{95}IO_6Si_3$ ($M+Cs^+$), 1255,4536, nájdené 1255,4561.

Karboxylová kyselina 42 ilustrovaná v schéme 8

K roztoku 943 mg (0,839 mmol, 1,0 ekvivalentu) aldehydu 41 v 38,5 ml *tert*-BuOH a 8,4 ml vody sa pridá 31,5 ml (2M roztok v tetrahydrofuráne, 63,0 mmol, 75 ekvivalentov) 2-metyl-2-buténu a 250 mg (2,08 mmol, 2,5 ekvivalentu) NaH_2PO_4 a potom 380 mg (4,20 mmol, 0,5 ekvivalentu) $NaClO_2$ a získaná zmes sa mieša 40 minút pri $25^\circ C$. Prechavé látky sa odparia vo vákuu a zvyšok sa extrahuje medzi 40 ml etylacetátu a 40 ml solanky a vrstvy sa oddelia. Vodná fáza sa potom trikrát extrahuje 40 ml etylacetátu a spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým a potom sa odparia za zníženého tlaku. Po čis-

tení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 60 % éteru v hexáne sa získa 956 mg (100 %) karboxylovej kyseliny 42 vo forme oleja. $R_f = 0,47$ (silikagél, 40 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -19,6$ (c 0,2, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3389, 2930, 2856, 1711, 1469, 1254, 1085, 988, 835, 775, 705 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,44-7,43 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,19 (s, 1H, $CH=CCH_3$), 5,49 (dd, $J=7,3, 7,1$ Hz, 1H, $C=CHCH_2$), 4,34 (dd, $J=6,4, 3,3$ Hz, 1H, CHOSi), 4,18 (dd, $J=6,2, 6,2$ Hz, 1H, CHOSi), 3,72 (dd, $J=7,2, 1,7$ Hz, 1H, CHOSi), 3,45 (d, $J=11,4$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,41 (d, $J=11,4$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,07 (kv, $J=7,0, 7,0$ Hz, 1H, $CH_3CH(C=O)$), 2,46 (dd, $J=16,3, 3,1$ Hz, 1H, CH_2CO_2H), 2,32-2,18 (m, 3H, CH_2CO_2H a $C=CHCH_2CHOSi$), 1,97 (m, 2H, $CH_2C(CH_2OTr)=CH$), 1,80 (s, 3H, $CH=C(CH_3)$), 1,31-1,19 (m, 5H), 1,19 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1,02 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,99 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 0,87 (s, 27H, $Si(CH_3)_3$), 0,80 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,07 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,03 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,0 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $C_{60}H_{95}IO_7Si_3$ ($M+Cs^+$), 1271,4485, nájdené 1271,4550.

Hydroxykyselina 43 ilustrovaná v schéme 4

Roztok 956 mg (0,839 mmol, 1,0 ekvivalentu) karboxylovej kyseliny 42 v 17 ml tetrahydrofuránu sa pri $0^\circ C$ reaguje s 5,0 ml (1,0 M roztok v tetrahydrofuráne, 5,00 mmol, 6,0 ekvivalentu) TBAF a zmes sa nechá v priebehu 19 hodín zahriať na teplotu miestnosti. Reakcia sa potom rozloží pridaním 40 ml nasýteného roztoku chloridu amónneho a produkt sa trikrát extrahuje 40 ml etylacetátu. Spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 5 % metanolu v dichlórmetáne sa získa 817 mg (95 %) hydroxykyseliny 43 vo forme žltého oleja. $R_f = 0,27$ (silikagél, 5 % metanolu v dichlórmetáne); $[\alpha]_D^{22} -11,4$ (c 0,2, chloroform); IČ (tenký film) ν_{max} 3364, 3057, 2938, 2856, 1712, 1694, 1469, 1254, 1086, 1053, 988, 836, 776, 734, 705 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,43-7,42 (m, 5H, Ph), 7,30-7,21 (m, 10H, Ph), 6,32 (s, 1H, $CH=CCH_3$), 5,46 (dd, $J=7,2, 7,2$ Hz, 1H, $C=CHCH_2$), 4,35 (dd, $J=6,3, 3,2$ Hz, 1H, CHOH), 4,21 (dd, $J=6,4, 6,3$ Hz, 1H, CHOSi), 3,73 (dd, $J=7,3, 1,2$ Hz, 1H, CHOSi), 3,52 (d, $J=12,1$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,48 (d, $J=12,1$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,06 (m, 2H, $CH_3CH(C=O)$, a OH), 2,45 (dd, $J=16,4, 3,0$ Hz, 1H, CH_2CO_2H), 2,35 (m, 2H, $C=CHCH_2CHOH$), 2,29 (dd, $J=16,4, 6,5$ Hz, 1H, CH_2CO_2H), 2,07-1,94 (m, 2H, $CH_2C(CH_2OTr)=CH$), 1,85 (s, 3H, $CH=C(CH_3)$), 1,71 (m, 1H), 1,39 (m, 1H, $CH(CH_3)$), 1,27 (m, 3H), 1,18 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 1,02 (nezreteľný d, 3H, $CH(CH_3)$), 1,02 (s, 3H, $C(CH_3)_2$), 0,87 (s, 18H, $Si(CH_3)_3$), 0,81 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0,09 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,07 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,04 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$), 0,02 (s, 3H, $Si(CH_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $C_{54}H_{81}IO_7Si_2$ ($M+Cs^+$), 1157,3620, nájdené 1157,3669.

Makrolaktón 44 ilustrovaný v schéme 8

K roztoku 1,06 g (1,04 mmol, 1,0 ekvivalentu) hydroxykyseliny 43 v 15 ml (0,07 M) tetrahydrofuránu sa pridá 870 μ l (0,24 mmol, 6,0 ekvivalentu) trietylaminu a 390 μ l (2,50 mmol, 2,4 ekvivalentu) 2,4,6-trichlórbenzoylchloridu. Reakčná zmes sa mieša 1,5 hodiny pri $0^\circ C$ a potom sa pri $75^\circ C$ pomaly v priebehu 2 hodín pridá pomocou ihlovej pumpy roztok 280 mg (2,29 mmol, 2,2 ekvivalentu) 4-DMAP v 208 ml toluénu (0,005 M vzhľadom na zlúčeni-

nu 43). Zmes sa mieša pri tejto teplote ďalších 0,5 hodiny a potom sa odparí za zníženého tlaku. Získaný zvyšok sa filtruje cez krátky stĺpec silikagélu za elúcie zmesou 50 % éteru v hexáne. Po čistení pomocou veľmi rýchlej chromatografie za elúcie zmesou 17 % éteru v hexáne sa získa 877 mg (84 %) makrolaktónu 44 vo forme bezfarebnej peny. $R_f = 0,19$ (10 % éteru v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -7,4$ (c 0,2, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 2929, 2855, 1742, 1695, 1468, 1381, 1253, 1156, 1065, 985, 834, 774, 733, 706 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 7,44-7,42 (m, 5H, Ph), 7,29-7,20 (m, 10H, Ph), 6,39 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,51 (dd, $J=9,5$, 6,8 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 5,07 (d, $J=9,3$ Hz, 1H, CHOCO), 4,02 (d, $J=9,2$ Hz, 1H, CHO-Si), 3,82 (d, $J=8,9$ Hz, 1H, CHOSi), 3,46 (d, $J=11,5$ Hz, 1H, CH_2OTr), 3,42 (d, $J=11,5$ Hz, 1H, CH_2OTr), 2,95 (dkv, $J=8,7$, 7,0 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,72 (m, 2H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$ a CH_2COO), 2,54 (dd, $J=16,2$, 9,7 Hz, 1H, CH_2COO), 2,29 (m, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,12 (dd, $J=14,3$, 5,1 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,98 (m, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OTr})=\text{CH}$), 1,88 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,44-1,23 (m, 5H), 1,18 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,10 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,07 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,92 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,82 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 0,72 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,08 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,05 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), -0,32 (s, 3H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{54}\text{H}_{79}\text{IO}_6\text{Si}_2$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 1139,3514, nájdené 1139,3459.

Triol 24 ilustrovaný v schéme 8

K roztoku 608 mg (0,604 mmol, 1,0 ekvivalentu) makrolaktónu 44 v 45 ml tetrahydrofuránu sa pri 0 °C pridá 15 ml HF.pyr. Získaná zmes sa nechá zahriať v priebehu 15 hodín na 25 °C a potom sa ochladí na 0 °C a opatrne sa rozloží pridaním 50 ml nasýteného vodného roztoku hydrogenuhlíkatu sodného. Produkt sa potom extrahuje trikrát 50 ml etylacetátu a spojené organické extrakty sa sušia nad síranom horečnatým a odparia sa za zníženého tlaku. Po čistení pomocou veľmi rýchlej kolónovej chromatografie na silikagéli za elúcie zmesou 60 % etylacetátu v hexáne sa získa 280 mg (86 %) triolu 24 vo forme bezfarebnej peny. $R_f = 0,32$ (silikagél, 60 % etylacetátu v hexáne); $[\alpha]_D^{22} -32,1$ (c 0,2, chloroform); IČ (tenký film) $\nu_{\max}$ 3413, 2923, 2857, 1731, 1686, 1461, 1379, 1259, 1148, 1046, 737 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, deuterochloroform) δ 6,43 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CCH}_3$), 5,38 (dd, $J=9,7$, 5,4 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2$), 5,29 (dd, $J=8,8$, 1,9 Hz, 1H, CHOCO), 4,08 (m, 1H, CHOH), 4,06 (d, $J=13,0$ Hz, 1H, CH_2OH), 4,00 (d, $J=13,0$ Hz, 1H, CH_2OH), 3,69 (dd, $J=3,5$, 3,4 Hz, 1H, CHOH), 3,12 (kvd, $J=6,9$, 3,1 Hz, 1H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{C}=\text{O})$), 2,76 (šs, 1H, OH), 2,67 (ddd, $J=15,0$, 9,7, 9,7 Hz, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 2,45 (dd, $J=15,4$, 10,6 Hz, 1H, CH_2COO), 2,38 (šs, 1H, OH), 2,33 (dd, $J=15,4$, 3,0 Hz, 1H, CH_2COO), 2,21 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})=\text{CH}$), 2,06 (m, 1H, $\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CHO}$), 1,87 (s, 3H, $\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 1,71 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 1,32 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,29-1,24 (m, 3H), 1,17 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$), 1,08 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 0,99 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$); HRMS (FAB), vypočítané pre $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{IO}_6$ ($\text{M}+\text{Cs}^+$), 669,0689, nájdené 669,0711.

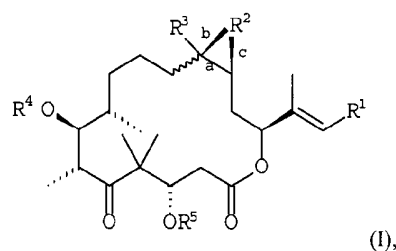
Testy polymerizácie tubulínu a cytotoxicity

Polymerizácia tubulínu sa určí pomocou filtračného kolorimetrického spôsobu, ktorý vyvinul Bollag a je opísaný v Cancer Res. 1995, 55, 2325-2333. Čistený tubulín (1 mg/ml) sa inkubuje 30 minút pri 37 °C v prítomnosti každej zlúčeniny s koncentráciou 20 mM v pufrí MEM [(100 mM 2(N-morfolino)etánsulfónová kyselina, pH 6,75, 1 mM etylénglykolbis(β -aminoetyléter)N,N,N',N'-tetra-

octovej kyseliny a 1 mM MgCl_2]; zmes sa potom filtruje za odstránenia nepolymerizovaného tubulínu pomocou 96 jamkovej hydrofilnej filtračnej doštičky s veľkosťou pórov 0,22 μm Millipore Multiscreen Durapore; odobratý polymerizovaný tubulín sa farbí roztokom amidovej černe a kvantifikuje sa meraním absorbancie zafarbeného roztoku na zariadení Molecular Devices Microplate Reader. Rast všetkých bunkových línií sa hodnotí pomocou kvantifikácie proteínu v 96 jamkovej doštičke tak, ako je opísané skôr. Do každej jamky doštičky sa naočkuje 500 buniek a inkubuje sa pri rôznych koncentráciách epitolónov pri 37 °C vo vlhkej atmosfére v prítomnosti 5 % oxidu uhličitého 4 dni. Po fixácii buniek 50 % trichlóroctovou kyselinou sa meria optická hustota, zodpovedajúce množstvo proteínov v 25 mM roztoku hydroxidu sodného (50 % metanolu : 50 % vody) pri vlnovej dĺžke 564 nm. Hodnota IC_{50} je definovaná ako dávka liečiva potrebná na inhibíciu rastu buniek o 50 %.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčenina všeobecného vzorca (I)



kde

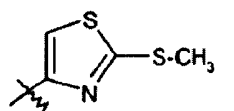
vlnitá väzba znamená, že väzba „a“ je prítomná buď v *cis* alebo *trans* forme;

(i) R^2 nie je prítomná alebo je atóm kyslíka; „a“ môže byť buď jednoduchá alebo dvojité väzba; „b“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba; a „c“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba s podmienkou, že ak R^2 je atóm kyslíka, potom „b“ a „c“ sú obidve jednoduché väzby a „a“ je jednoduchá väzba; ak R^2 nie je prítomná, potom „b“ a „c“ nie sú prítomné a „a“ je dvojité väzba; a ak „a“ je dvojité väzba, potom R^2 , „b“ a „c“ nie sú prítomné;

R^3 je vybraná zo skupiny, ktorú tvorí alkylová skupina obsahujúca 1 až 7 atómov uhlíka, najmä metylová skupina, etylová skupina, *n*-propylová skupina, izopropylová skupina, *n*-butylová skupina, izobutylová skupina, *tert*-butylová skupina, *n*-pentylová skupina, *n*-hexylová skupina; skupina $-\text{CH}=\text{CH}_2$; $-\text{C}\equiv\text{CH}$; skupina $-\text{CH}_2\text{F}$; skupina $-\text{CH}_2\text{Cl}$; skupina $-\text{CH}_2\text{OH}$; skupina $-\text{CH}_2\text{O-alkyl}$ obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-\text{CH}_2\text{O-CH}_3$; a skupina $-\text{CH}_2\text{S-alkyl}$ obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-\text{CH}_2\text{S-CH}_3$;

R^4 a R^5 sú nezávisle od seba vybrané zo skupiny, ktorú tvorí atóm vodíka, metylová skupina alebo ochranná skupina, výhodne atóm vodíka; a

R^1 je skupina vzorca



alebo soľ zlučieniny všeobecného vzorca (I), ak je prítomná skupina tvoriaca soľ.

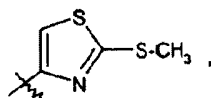
2. Zlúčenina všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1, kde

R^2 je neprítomná alebo je to atóm kyslíka; „a“ môže byť buď jednoduchá alebo dvojité väzba; „b“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba; a „c“ môže byť buď neprítomná alebo je to jednoduchá väzba s podmienkou, že ak R^2 je atóm kyslíka, potom „b“ a „c“ sú obidve jednoduché väzby a „a“ je jednoduchá väzba; ak R^2 nie je prítomná, potom „b“ a „c“ nie sú prítomné a „a“ je dvojité väzba; a ak „a“ je dvojité väzba, potom R^2 , „b“ a „c“ nie sú prítomné;

R^3 je skupina vybraná zo skupiny, ktorú tvorí alkylová skupina obsahujúca 1 až 7 atómov uhlíka, najmä metylová skupina, etylová skupina, *n*-propylová skupina, izopropylová skupina, *n*-butylová skupina, izobutylová skupina, *tert*-butylová skupina, *n*-pentylová skupina, *n*-hexylová skupina; skupina $-CH=CH_2$; skupina $-C=CH$; skupina $-CH_2F$; skupina $-CH_2Cl$; skupina $-CH_2OH$; skupina $-CH_2O$ -alkyl obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-CH_2O-CH_3$; a skupina $-CH_2S$ -alkyl obsahujúca v alkylovej časti 1 až 6 atómov uhlíka, najmä skupina $-CH_2S-CH_3$;

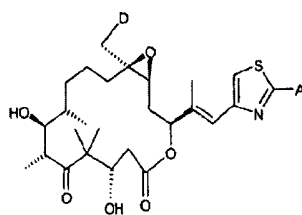
R^4 a R^5 sú nezávisle od seba vybrané zo skupiny, ktorú tvorí atóm vodíka, metylová skupina alebo ochranná skupina, výhodne atóm vodíka; a

R^1 je skupina



alebo jej soľ, ak je prítomná jedna alebo viac skupín schopných tvoriť soľ.

3. Zlúčenina podľa nároku 1 všeobecného vzorca (Id)

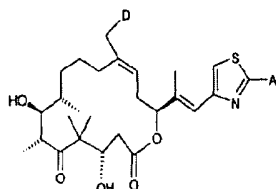


(Id),

kde A je metyltioskupina a

D je atóm vodíka, atóm fluóru, hydroxylová skupina alebo metylová skupina.

4. Zlúčenina podľa nároku 1 všeobecného vzorca (Ie)

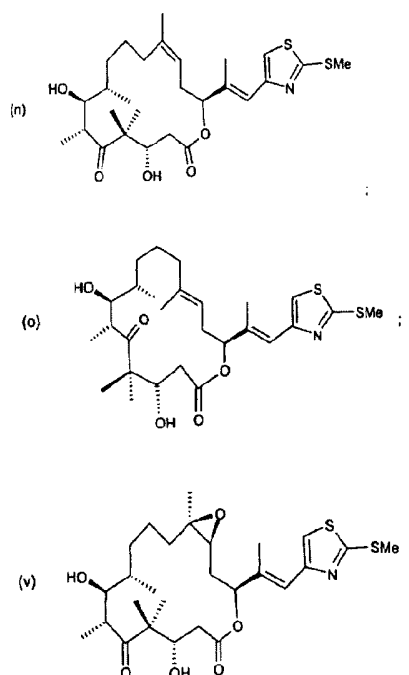


(Ie),

kde A je metyltioskupina a

D je atóm vodíka, atóm fluóru, hydroxylová skupina alebo metylová skupina.

5. Zlúčenina podľa nároku 1, vybraná zo skupiny obsahujúcej zlúčeniny nasledujúcich vzorcov:



alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, ak je prítomná skupina schopná tvoriť soľ.

6. Farmaceutická formulácia, **v y z n a ě u j ú - c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5 a farmaceuticky prijateľný nosič.

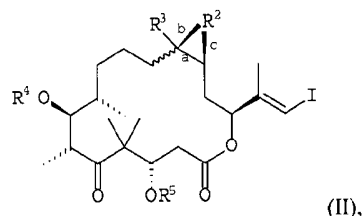
7. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5 na použitie pri liečení proliferatívneho ochorenia.

8. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5 na prípravu liečiva na liečenie proliferatívneho ochorenia.

9. Farmaceutická kompozícia, ktorá je vhodná na podávanie teplokrvnému živočíchu na liečenie proliferatívneho ochorenia, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje množstvo aktívnej zložky zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1, ktoré je účinné na liečenie tohto proliferatívneho ochorenia, spolu s najmenej jedným farmaceuticky prijateľným nosičom.

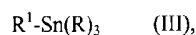
10. Spôsob prípravy zlúčeniny všeobecného vzorca (I) podľa nároku 1, **v y z n a ě u j ú c i s a t ý m**, že sa

a) kondenzuje jodid všeobecného vzorca (II)



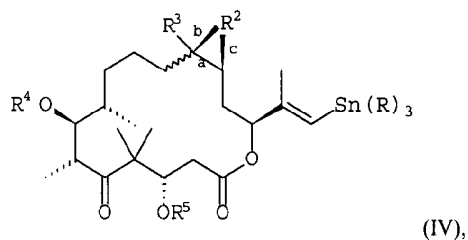
(II),

kde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , a, b a c a vlnitá väzba majú významy definované pre zlúčeninu všeobecného vzorca (I) v nároku 1, so zlúčeninou cínú všeobecného vzorca (III)



kde R^1 má význam definovaný pre všeobecný vzorec (I) a R je alkylová skupina obsahujúca 1 až 7 atómov uhlíka, najmä metylová skupina alebo *n*-butylová skupina alebo

b) sa kondenzuje zlúčenina cínu všeobecného vzorca (IV),



kde R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , a, b a c a vlnitá väzba majú významy definované pre zlúčeninu všeobecného vzorca (I), s jodidom všeobecného vzorca (V)



kde R^1 má význam definovaný pre všeobecný vzorec (I) v nároku 1;

a ak je to potrebné, vznikajúca zlúčenina všeobecného vzorca (I) sa prevedie na inú zlúčeninu všeobecného vzorca (I), vznikajúca voľná zlúčenina všeobecného vzorca (I) sa prevedie na soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a/alebo vznikajúca soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sa prevedie na voľnú zlúčeninu všeobecného vzorca (I) alebo na inú soľ zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a/alebo sa stereoizomérna zmes zlúčenín všeobecného vzorca (I) rozštiepi na zodpovedajúce izoméry.

Koniec dokumentu
