



MD/EP 3615544 T2 2023.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3615544 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07D 515/22 (2006.01.01)
A61P 35/00 (2006.01.01)
A61K 31/4995 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2020 0225 (22) Data de depozit: 2018.04.27 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 18720255.1, 2018.04.27 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3615544, 2020.03.04 (31) Numărul cererii prioritare: 17382228; 17382497 (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2017.04.27; 2017.07.26 (33) Țara cererii prioritare: EP; EP	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 08/2023, 2023.08.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 12/2023, 2023.03.22 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 04/2020, 2020.04.30
(71) Solicitant: PHARMA MAR S.A., ES (72) Inventatori: CUEVAS MARCHANTE Maria del Carmen, ES; FRANCESCH SOLLOSO Andres, ES; MARTINEZ BARRASA Valentin, ES (73) Titular: PHARMA MAR S.A., ES (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Compuși antitumorali

(57) Rezumat:

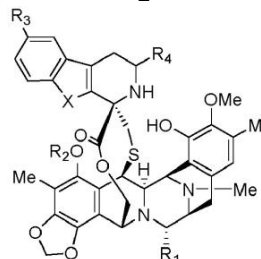
1

Compus cu formula generală I, în care X, R1-R4 au diverse semnificații, pentru utilizare în tratamentul cancerului.

Revendicări: 17

Figuri: 67

2



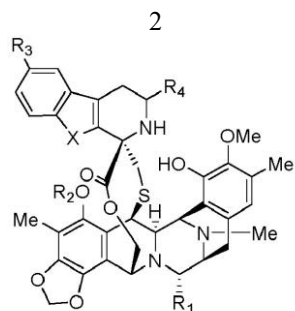
MD/EP 3615544 T2 2023.08.31

(54) Antitumoral compounds**(57) Abstract:**

1
A compound of general formula I,
wherein X, R1-R4 take various meanings, for
use in the treatment of cancer.

Claims: 17

Fig.: 67



Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENTIEI**

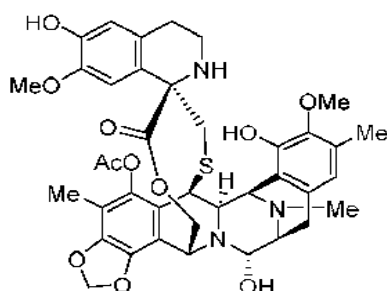
5

Prezenta invenție se referă la analogi sintetici ai ecteinascidinelor, în special ai ecteinascidinei 736 (ET-736), la compoziții farmaceutice care îi conțin, la procedee pentru prepararea acestora și la utilizarea lor ca agenți antitumorali.

10

STADIUL TEHNICII

Ecteinascidinele sunt agenți antitumorali extrem de puternici izolați din tunicatul marin *Ecteinascidia turbinata*. Unul dintre acești compuși, ET-743 cu formula:

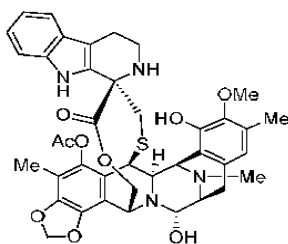


15

este utilizat ca medicament anticancer, sub denumirea comună internațională trabectedin (INN), pentru tratamentul pacienților cu sarcom de țesut moale (STS) metastatic și avansat după eșecul antraciclinelor și ifosfamidei sau care nu pot primi astfel de agenți și pentru tratamentul cancerului ovarian sensibil la platina, recidivat în combinație cu doxorubicină lipozomală pegilată.

20

Ecteinascidina 736 (ET-736) a fost descoperită pentru prima dată de Rinehart și este caracterizată printr-o unitate de tetrahydro-β-carboline în locul unității de tetrahydroizochinolină găsită mai uzual în compușii de ecteinascidină izolați din surse naturale; Vezi de exemplu Sakai și colab., Proc. Natl. Acad. Sci. SUA 1992, vol. 89, 11456-11460.

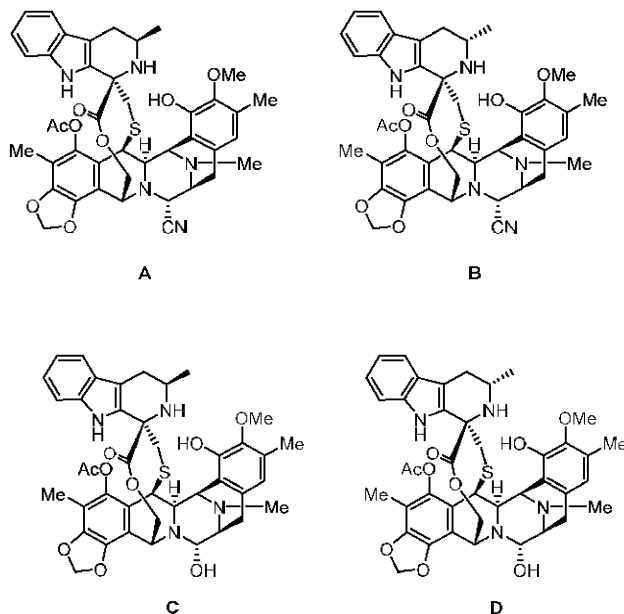
**ET-736**

25

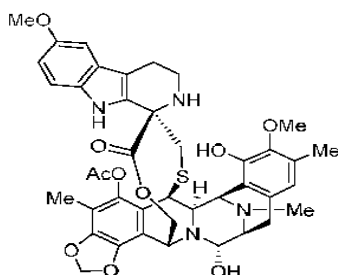
Brevetul US nr. 5149804 descrie Ecteinascidina 736 (ET-736), izolată din tunicatul de Caraibe ca *Ecteinascidia turbinata* și structura acestuia. ET-736 protejează șoarecii *in vivo* la concentrații foarte scăzute împotriva limfomului P388, melanomului B16 și carcinomului pulmonar Lewis.

WO03014127 descrie mai mulți analogi sintetici ai ET-736 și activitatea lor citotoxică împotriva celulelor tumorale. În special, WO03014127 descrie compușii **A** până la **D** împreună cu activitatea lor citotoxică împotriva unui grup de linii celulare canceroase.

30



WO2011/147828 descrie procedee de preparare pentru fabricarea compușilor de ecteinascidină.
 5 Un alt compus descris în această cerere de brevet, **PM01183**, se află în prezent în studii clinice pentru tratamentul cancerului. **PM01183** are următoarea structură chimică:



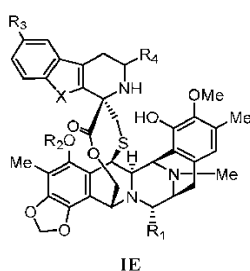
10 **PM01183** a demonstrat o activitate foarte puternică *in vitro* împotriva liniilor celulare tumorale solide și nesolide, precum și o activitate *in vivo* semnificativă în diverse linii celulare tumorale umane, xenogrefate la șoareci, precum cele pentru cancerul de sân, rinichi și ovarian. **PM01183** exercită efectele sale anticancerigene prin modificarea covalentă a guaninelor în canalul minor ADN care, în cele din urmă dau naștere la ruperea dublu-catenară a ADN-ului, oprirea fazei S și apoptoza în celulele canceroase.

15 Deși s-au obținut rezultate pozitive în aplicațiile clinice în chimioterapie, cercetarea în domeniul compușilor ecteinascidinei este încă deschisă pentru a identifica noi compuși cu caracteristici optime de activitate, selectivitate față de tumoră, cu o toxicitate sistemică redusă și/sau proprietăți farmacocinetice îmbunătățite.

20 DESCRIEREA PE SCURT A INVENȚIEI

Într-un prim aspect al prezentei invenții este furnizat un compus cu formula **IC** sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau ester al acestuia:

25 în care:



IE

X este -NH-;

R₁ este -OH sau -CN;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

5 R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

10 R^c este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit.

Într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizată o compoziție farmaceutică care cuprinde un compus conform prezentei invenții și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

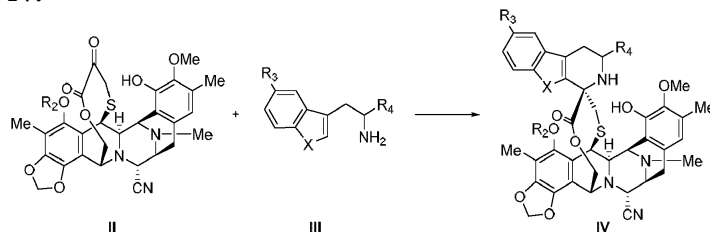
15 Încă într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizată o formă de dozare care cuprinde o compoziție farmaceutică conform prezentei invenții.

Încă într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizat un compus, o compoziție farmaceutică sau o formă de dozare conform prezentei invenții pentru utilizare ca medicament.

20 Încă într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizat un compus, o compoziție farmaceutică sau o formă de dozare conform prezentei invenții pentru utilizare în tratamentul cancerului.

Încă într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizat un kit care cuprinde o cantitate eficientă din punct de vedere terapeutic dintr-un compus conform prezentei invenții și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic. Kitul este destinat utilizării în tratamentul cancerului.

25 Încă într-un alt aspect al prezentei invenții, este furnizat un procedeu pentru obținerea compușilor cu formula **IC** sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau ester al acestuia; cuprinzând etapa de reacție a unui compus cu formula **II** cu un compus cu formula **III** pentru a da un compus cu formula **IV**:



în care (în măsura în care este permis de către posibilele grupări substituente):

30 X este -NH- ;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

35 R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^c este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit.

40

Procedeeul poate include etapa suplimentară de înlocuire a grupării ciano din compusul cu formula IV cu o grupare hidroxi pentru a da un compus cu formula **IC** în care R₁ este OH.

SCURTĂ DESCRIERE A FIGURILOR

45

Figura 1. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

Figura 2. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

50 **Figura 3.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

Figura 4. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H526 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

Figura 5. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H82 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

Figura 6. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

5 **Figura 7.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC-27 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S**.

Figura 8. Evaluarea diametrului total tumoral al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**.

10 **Figura 9.** Evaluarea diametrului total tumoral al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**.

Figura 10. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**.

Figura 11. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**.

15 **Figura 12.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**.

Figura 13. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**.

20 **Figura 14.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**.

Figura 15. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**.

Figura 16. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC-27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**.

25 **Figura 17.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC-27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**.

Figura 18. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

30 **Figura 19.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

Figura 20. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

Figura 21. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H526 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

35 **Figura 22.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H82 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

Figura 23. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

40 **Figura 24.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC-27 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**.

Figura 25. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**.

Figura 26. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**.

45 **Figura 27.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**.

Figura 28. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**.

50 **Figura 29.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**.

Figura 30. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**.

Figura 31. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**.

55 **Figura 32.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**.

Figura 33. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**.

Figura 34. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC-27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**.

Figura 35. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

5 **Figura 36.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

Figura 37. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

10 **Figura 38.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H526 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

Figura 39. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H82 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

Figura 40. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

15 **Figura 41.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC27 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**.

Figura 42. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

Figura 43. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

20 **Figura 44.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

Figura 45. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H526 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

25 **Figura 46.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H82 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

Figura 47. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

Figura 48. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC27 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**.

30 **Figura 49.** Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 50. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 51. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 52. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

35 **Figura 53.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 54. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 55. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **ET-736** și **32**.

Figura 56. Evaluarea diametrului total al tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**.

40 **Figura 57.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**.

Figura 58. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**.

Figura 59. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**.

45 **Figura 60.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**.

Figura 61. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo, **12-S** și **12-R**.

Figura 62. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo și **4-S**.

Figura 63. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor DU-145 la șoarecii tratați cu placebo și **4-S**.

Figura 64. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor 22Rv1 la șoarecii tratați cu placebo și **4-S**.

50 **Figura 65.** Evaluarea volumului tumoral al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo și **39-S**.

Figura 66. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor DU-145 la șoarecii tratați cu placebo și **39-S**.

Figura 67. Evaluarea volumului tumoral al tumorilor 22Rv1 la șoarecii tratați cu placebo și **39-S**.

DESCRIEREA DETALIATĂ A EXEMPLELOR DE REALIZARE PREFERATE

55

Următoarele se aplică la toate aspectele prezentei invenții:

În compușii prezentei invenții, grupările alchil pot fi ramificate sau neramificate și, de preferință, au de la 1 până la aproximativ 12 atomi de carbon. O altă clasă mai preferată de grupări alchil are de la 1 până la aproximativ 6 atomi de carbon. Chiar mai preferate sunt grupările alchil având 1, 2, 3 sau 4 atomi de

carbon. Metil, etil, *n*-propil, izopropil și butil, inclusiv *n*-butil, izobutil, *sec*-butil și *tert*-butil sunt grupări alchil în special preferate în compușii prezentei invenții.

În compușii prezentei invenții, grupările alchenil pot fi ramificate sau neramificate, au una sau mai multe duble legături și de la 2 până la aproximativ 12 atomi de carbon. O altă clasă mai preferată de grupări alchenil are de la 2 până la aproximativ 6 atomi de carbon. Chiar mai preferate sunt grupările alchenil având 2, 3 sau 4 atomi de carbon. Etenil, 1-propenil, 2-propenil, 1-metiletenil, 1-butenil, 2-butenil și 3-butenil sunt grupări alchenil în special preferate în compușii prezentei invenții.

În compușii prezentei invenții, grupările alchinil pot fi ramificate sau neramificate, au una sau mai multe legături triple și de la 2 până la aproximativ 12 atomi de carbon. O altă clasă mai preferată de grupări alchinil are de la 2 până la aproximativ 6 atomi de carbon. Chiar mai preferate sunt grupările alchinil având 2, 3 sau 4 atomi de carbon.

Grupările aril adecvate în compușii prezentei invenții includ compușii cu ciclu simplu și multiplu, inclusiv compuși cu cicluri multiple care conțin grupări aril separate și/sau condensate. Grupările aril tipice conțin de la 1 până la 3 cicluri separate și/sau condensate și de la 6 până la aproximativ 18 atomi de carbon. De preferință, grupările aril conțin de la 6 până la aproximativ 10 atomi de carbon în ciclu. Grupările aril preferate în mod special au inclus fenil substituit sau nesubstituit, naftil substituit sau nesubstituit, bifenil substituit sau nesubstituit, fenantril substituit sau nesubstituit și antril substituit sau nesubstituit.

Grupările heterociclice adecvate includ grupări heteroaromatice și heteroalicyclice conținând de la 1 până la 3 cicluri separate și/sau condensate și de la 5 până la aproximativ 18 atomi în ciclu. De preferință, grupările heteroaromatice și heteroalicyclice conțin de la 5 până la aproximativ 10 atomi în ciclu, cel mai preferabil 5, 6 sau 7 atomi în ciclu. Grupările heteroaromatice adecvate în compușii prezentei invenții conțin unul, doi sau trei heteroatomi aleși dintre atomi de N, O sau S și includ, de exemplu, cumarinil incluzând 8-cumarinil, chinolil incluzând 8-chinolil, izochinolil, piridil, pirazinil, pirazolil, pirimidinil, furil, pirolil, tienil, tiazolil, izotiazolil, triazolil, tetrazolil, izoxazolil, oxazolil, imidazolil, indolil, izoindolil, indazolil, indolizininil, ftalazinil, pteridil, purinil, oxadiazolil, tiadiazolil, furazanil, piridazinil, triazinil, cinolinil, benzimidazolil, benzofuranil, benzofurazanil, benzotiofenil, benzotiazolil, benzoxazolil, chinazolinil, chinoxalinil, naftiridinil și furopiridil. Grupările heteroalicyclice adecvate în compușii prezentei invenții conțin unul, doi sau trei heteroatomi aleși dintre N, O sau S și includ, de exemplu, pirolidinil, tetrahidrofuranil, tetrahidrotienil, tetrahidrotiopiranil, piperidil, morfolinil, tiomorfolinil, tiofanil, piperazinil, azetidil, oxtanil, tietanil, homopiperidil, oxepanil, tiepanil, oxazeolinil, diazepinil, tiazepinil, 1,2,3,6-tetrahidropiridinil, 2-pirolinil, 3-pirolinil, indolinil, 2*H*-piranil, 4*H*-piranil, dioxanil, 1,3-dioxolanil, pirazolinil, ditianil, ditiolanil, dihidropiranil, dihidrotienil, dihidrofuranil, pirazolidinil, imidazolinil, imidazolidinil, 3-azabicyclo[3.1.0]hexil, 3-azabicyclo[4.1.0]heptil, 3*H*-indolil și chinolizininil.

Grupările menționate mai sus pot fi substituite la una sau mai multe poziții disponibile cu una sau mai multe grupări adecvate, cum ar fi OR', =O, SR', SOR', SO₂R', NO₂, NHR', NR'R', =N-R', NHCOR', N(COR')₂, NHSO₂R', NR'C(=NR')NR'R', CN, halogen, COR', COOR', OCOR', OCONHR', OCONR'R', CONHR', CONR'R', OH protejat, amino protejat, SH protejat, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit, aril substituit sau nesubstituit și grupare heterociclică substituită sau nesubstituită, în care fiecare dintre grupările R' este aleasă în mod independent din grupul constând din hidrogen, OH, NO₂, NH₂, SH, CN, halogen, COH, COalchil, CO₂H, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit, aril substituit sau nesubstituit și grupare heterociclică substituită sau nesubstituită. Acolo în care astfel de grupări sunt ele însele substituite, substituenții pot fi aleși din lista de mai sus. În plus, acolo în care există mai multe grupări R' pe un substituent, fiecare R' poate fi identic sau diferit.

În compușii din prezenta invenție, substituenții halogen includ F, Cl, Br și I.

ermenii "sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic" și "ester" se referă la oricare sare sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic care, la administrare la pacient, este capabil să furnizeze (direct sau indirect) un compus așa cum este descris aici. Totuși, se va aprecia că săruri neacceptabile din punct de vedere farmaceutic de asemenea sunt în sfera invenției deoarece acestea pot fi utile în prepararea sărurilor acceptabile din punct de vedere farmaceutic. Prepararea sărurilor poate fi realizată prin metode cunoscute în domeniu.

De exemplu, sărurile acceptabile din punct de vedere farmaceutic ale compușilor furnizați aici sunt preparate din compușii de bază, care conțin un fragment bazic sau acid, prin procedee chimice convenționale. În general, astfel de săruri sunt preparate, de exemplu, prin reacția acidului sau bazei libere a acestor compuși cu o cantitate stoechiometrică de bază sau acid adecvat în apă sau într-un solvent organic sau într-un amestec al ambelor. În general, mediile neapoase cum ar fi eterul, acetatul de etil,

etanolul, 2-propanolul sau acetonitrilul sunt preferate. Exemple de săruri de adiție cu acid includ săruri de adiție cu acid mineral, cum ar fi, de exemplu, clorhidrat, bromhidrat, iodhidrat, sulfat, azotat, fosfat și săruri de adiție cu acid organic, cum ar fi, de exemplu, acetat, trifluoracetat, maleat, fumarat, citrat, oxalat, succinat, tartrat, malat, mandelat, metansulfonat și *p*-toluensulfonat. Exemple de săruri de adiție

5 alcaline includ săruri anorganice, cum ar fi, de exemplu, săruri de sodiu, potasiu, calciu și amoniu 11743329-1 și săruri alcaline organice, cum ar fi, de exemplu, etilendiamina, etanolamina, săruri de *N,N*-dialchilnetanolamină, trietanolamină și aminoacizi bazici.

Compușii conform invenției pot fi sub formă cristalină sau amorfă fie compuși liberi, fie solvați (de exemplu, hidrați) și se intenționează ca toate formele să fie în sfera prezentei invenții. Metodele de

10 solvatare sunt în general cunoscute în domeniu.

Este posibilă stereoizomeria cu privire la atomii de carbon asimetrici cu stereochimie nespecificată, prin urmare, în astfel de cazuri, atomii de carbon asimetrici pot avea configurație (R) sau (S). Toți diastereomerii generați de o configurație specifică a unor astfel de atomi de carbon asimetrici în combinație cu alți atomi de carbon asimetrici prezenți în moleculă și amestecurile acestora sunt

15 considerați a fi în sfera prezentei invenții. Este de asemenea posibilă și stereoizomeria legată de dubla legătură (izomerie geometrică), prin urmare, în unele cazuri, molecula ar putea exista ca (*E*)-izomer sau (*Z*)-izomer. Dacă molecula conține mai multe legături duble, fiecare legătură dublă va avea propria sa stereoizomerie, care ar putea fi aceeași sau diferită de stereoizomeria celorlalte legături duble ale moleculei. Mai mult, compușii la care se face referire aici pot exista ca atropoizomeri. Stereoizomerii

20 individuali care includ diastereoizomerii, izomerii geometrice și atropoizomerii compușilor la care se face referire aici și amestecurile acestora sunt în sfera prezentei invenții.

În plus, compușii la care se face referire aici pot exista în forme marcate izotopic. Toate sărurile, esterii și formele marcate izotopic acceptabile farmaceutic ale compușilor la care se face referire aici, precum și amestecurile acestora, sunt considerate în sfera prezentei invenții.

25

Formele protejate ale compușilor dezvăluiți aici sunt considerate în sfera prezentei invenții. Grupările protectoare adecvate sunt bine cunoscute de un specialist în domeniu. O trecere generală în revistă a grupărilor protectoare din chimia organică este oferită de Wuts, PGM și Greene TW în *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Ed. a 4-a, Editura Wiley-Interscience și de către Kocienski PJ în *Protecting Groups*, Ed. a III-a, Georg Thieme Verlag. Aceste referințe oferă secțiuni despre grupările de

30 protecție pentru grupările OH, amino și SH.

În sfera prezentei invenții, o grupare protectoare OH este definită a fi fragmentul legat de O care rezultă din protecția OH prin formarea unei grupări OH protejate adecvate. Exemple de astfel de grupări OH protejate includ eteri, eteri sililici, esterii, sulfonați, sulfenați și sulfinați, carbonați și carbamați. În cazul eterilor, gruparea protectoare pentru OH poate fi aleasă dintre metil, metoximetil, metiltiometil, (fenildimetilsilil)metoximetil, benziloximetil, *p*-metoxibenziloximetil, [(3,4-dimetoxibenzil)oxi]metil, *p*-nitrobenziloximetil, *o*-nitrobenziloximetil, [(*R*)-1-(2-nitrofenil)etoxi]metil, (4-metoxifenoxi)metil, guaiacolmetil, [(*p*-fenilfenil)oxi]metil, *t*-butoximetil, 4-penteniloximetil, siloximetil, 2-metoxietoximetil, 2-cianoetoximetil, bis(2-cloretoxi)metil, 2,2,2-tricloretoxiometil, 2-(trimetilsilil)etoximetil, mentoximetil, *O*-bis(2-acetoxi-etoxi)metil, tetrahidropirani, fluor tetrahidropirani, 3-bromotetrahidropirani, tetrahidrotiopirani, 1-metoxiciclohexil, 4-metoxitetrahidropirani, 4-metoxitetrahidrotiopirani, 4-metoxihidrotiopirani, *S,S*-dioxid, 1-[(2-clor-4-metil)-fenil]-4-metoxipiperidin-4-il, 1-(2-fluorfenil)-4-metoxipiperidin-4-il, 1-(4-clorfenil)-4-metoxipiperidin-4-il, 1,4-dioxan-2-il, tetrahidrofuranil, tetrahidrotiofuranil, 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidro-7,8,8-trimetil-4,7-metanobenzofuran-2-il, 1-etoxietil, 1-(2-cloretoxi)etil, 2-hidroxietil, 2-bromoetil, 1-[2-(trimetilsilil)etoxi]etil, 1-metil-1-metoxietil, 1-metil-1-benziloxietil, 1-metil-1-benziloxi-2-fluoretel, 1-metil-1-fenoxietil, 2,2,2-tricloretil, 1,1-dianisil-2,2,2-tricloretil, 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-fenilizopropil, 1-(2-cianoetoxi)etil, 2-trimetilsililetil, 2-(benziltio)etil, 2-(fenilselenil)etil, *t*-butil, ciclohexil, 1-metil-1'-ciclopropilmetil, alil, prenil, cinamil, 2-fenalil, propargil, *p*-clorofenil, *p*-metoxifenil, *p*-nitrofenil, 2,4-dinitrofenil, 2,3,5,6-tetrafluor-4-(trifluormetil)fenil, benzil, *p*-metoxibenzil, 3,4-dimetoxibenzil, 2,6-dimetoxibenzil, *o*-nitrobenzil, *p*-nitrobenzil, pentadienilnitrobenzil, pentadienilnitropiperoni, halobenxil, 2,6-diclorbenzil, 2,4-diclorbenzil, 2,6-difluorbenzil, *p*-cianobenxil, benzil fluor, 4-fluoralcoxibenzil, trimetilsililxilil, *p*-fenilbenzil, 2-fenil-2-propil, *p*-acilaminobenxil, *p*-azidobenxil, 4-azido-3-clorobenxil, 2-trifluormetilbenzil, 4-trifluormetilbenzil, *p*-(metilsulfinil)benzil, *p*-siletanilbenzil, 4-acetoxibenzil, 4-(2-trimetilsilil)etoximetoxibenzil, 2-naftilmetil, 2-picolil, 4-picolil, 3-metil-2-picolil *N*-oxid, 2-chinolinilmetil, 6-metoxi-2-(4-metilfenil)-4-chinolinilmetil, 1-pirenilmetil, difenilmetil, 4-metoxidifenilmetil, 4-fenildifenilmetil, *p,p'*-dinitrobenzhidril, 5-dibenzosuberil, trifenilmetil, tris(4-*t*-butilfenil)metil, α -naftildifenilmetil, *p*-metoxi-fenildifenilmetil, di(*p*-metoxifenil)fenilmetil, tri(*p*-metoxifenil)metil, 4-(4'-bromfenaciloxi)fenildifenilmetil, 4,4',4''-tris(4,5-dicloroftalimidofenil)metil, 4,4',4''-tris(levulinoiloxifenil)metil, 4,4',4''-tris(benzoil-oxifenil)metil, 4,4'-dimetoxi-3''-[*N*-(imidazolilmetil)]trilit, 4,4'-dimetoxi-3''-[*N*-(imidazolil-etil)carbamoil]trilit, bis(4-

35

40

45

50

55

metoxifenil)-1'-pirenilmetil, 4-(17-tetrabenzo [*a,c,g,i*] fluorenilmetil)-4,4"-dimetoxitritil, 9-antril, 9-(9-fenil)xantenil, 9-feniltioxantil, 9-(9-fenil-10-oxo)antril, 1,3-benzoditiolan-2-il, 4,5-bis(etoxicarbonil)-[1,3]-dioxolan-2-il, benzizo-tiazolil S,S-dioxid. În cazul eterilor sililici, gruparea protectoare pentru OH poate fi aleasă dintre trimetilsilil, trietilsilil, triizopropilsilil, dimetilizopropilsilil, dietilizopropilsilil, dimetilhexilsilil, 2-norbornildimetilsilil, *t*-butildimetilsilil, *t*-butildifenil-silil, tribenzilsilil, tri-*p*-xililsilil, trifenilsilil, difenilmethylsilil, di-*t*-butilmethylsilil, bis(*t*-butil)-1-pirenilmetoxisilil, tris(trimetilsilil)silil, (2-hidroxitiril)dimetilsilil, (2-hidroxitiril)diizo-propilsilil, *t*-butil-metoxifenilsilil, *t*-butoxidifenilsilil, 1,1,3,3-tetraizopropil-3-[2-(trifenil-metoxi)etoxi] disiloxan-1-il și silil fluor. În cazul esterilor, gruparea protectoare pentru OH împreună cu atomul de oxigen al OH neprotejat de care este atașat formează un ester care poate fi ales dintre formiat, benzoilformiat, acetat, cloracetat, dicloracetat, tricloracetat, tricloracetamidat, trifluoracetat, metoxiacetat, trifenilmetoxiacetat, fenoxiacetat, *p*-clorofenoxiacetat, fenilacetat, difenilacetat, 3-fenilpropionat, propanoil tip lanț bisfluor, 4-pentenoat, 4-oxopentanoat, 4,4-(etilenditio)pentanoat, 5[3-bis(4-metoxifenil)hidroximetilfenoxi]levulinat, pivaloat, 1-adamantoat, crotonat, 4-metoxicrotonat, benzoat, *p*-fenilbenzoat, 2,4,6-trimetilbenzoat, 4-bromobenzoat, 2,5-difluorobenzoat, *p*-nitrobenzoat, picolinat, nicotinat, 2-(azidometil)benzoat, 4-azido-butirat, (2-azidometil) fenilacetat, 2-[[trilitio]oxi]metil]benzoat, 2-[[4-metoxitritilio]oxi]metil]benzoat, 2-[[metil(trilitio)amino]metil]benzoat, 2-[[4-metoxitritil]tio]metil-amino]metil]benzoat, 2-(aliloxi)fenilacetat, 2-(preniloximetil)benzoat, 6-(levuliniloxi-metil)-3-metoxi-2-nitrobenzoat, 6-(levuliniloximetil)-3-metoxi-4-nitrobenzoat, 4-benziloxibutirat, 4-trialchilsililoxi-butirat, 4-acetoxi-2,2-dimetilbutirat, 2,2-dimetil-4-pentenoat, 2-iodobenzoat, 4-nitro-4-metilpentanoat, *o*-(dibromometil)benzoat, 2-formilbenzensulfonat, 4-(metiltio-metoxi)butirat, 2-(metiltiometoximetil)benzoat, 2-(cloracetoximetil)benzoat, 2-[(2-cloracetoxi)etil]benzoat, 2-[2-(benziloxi)etil]benzoat, 2-[2-(4-metoxibenzil-oxi)etil]benzoat, 2,6-diclor-4-metilfenoxiacetat, 2,6-diclor-4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenoxiacetat, 2,4-bis(1,1-dimetilpropil)fenoxiacetat, clorodifenil-acetat, izobutirat, monosuccinoat, (*E*)-2-metil-2-butenoat, *o*-(metoxicarbonil)benzoat, α -naftoat, azotat, *N,N,N',N'*-tetrametilfosforodiamidat de alchil și 2-clorobenzoat. În cazul sulfonaților, sulfenaților și sulfinaților gruparea protectoare pentru OH împreună cu atomul de oxigen al OH neprotejat de care este atașat formează un sulfonat, sulfenat sau sulfinați care pot fi aleși dintre sulfat, alilsulfonat, metansulfonat, benzilsulfonat, tosilat, 2-[(4-nitrofenil)etil]sulfonat, 2-trifluormetilbenzensulfonat, 4-monometoxitritilsulfenat, 2,4-dinitrofenilsulfenat de alchil, 2,2,5,5-tetrametilpirolidin-3-on-1-sulfinat și dimetilfosfinotioil. În cazul carbonaților, gruparea protectoare pentru OH împreună cu atomul de oxigen al OH neprotejat de care este atașat formează un carbonat care poate fi ales dintre carbonat de metil, carbonat de metoximetil, carbonat de 9-fluorenilmetil, carbonat de etil, carbonat de bromoetil, carbonat de 2-(metiltiometoxi)etil, carbonat de 2,2,2-tricloretil, carbonat de 1,1-dimetil-2,2,2-tricloretil, carbonat de 2-(trimetilsilil)etil, carbonat de 2-[dimetil(2-naftilmetil)silil] etil, carbonat de 2-(fenilsulfonil)etil, carbonat de 2-(trifenilfosfonio)etil, carbonat de *cis*-[4-[(metoxitritil)sulfenil]oxi]tetrahidrofuran-3-il]oxi, carbonat de izobutil, carbonat de *t*-butil, carbonat de vinil, carbonat de alil, carbonat de cinamil, carbonat de propargil, carbonat de *p*-clorofenil, carbonat de *p*-nitrofenil, carbonat de 4-etoxi-1-naftil, carbonat de 6-bromo-7-hidroxycumarin-4-ilmetil, carbonat de benzil, carbonat de *o*-nitrobenzil, carbonat de *p*-nitrobenzil, carbonat de *p*-metoxibenzil, carbonat de 3,4-dimetoxibenzil, carbonat de antrachinon-2-ilmetil, carbonat de 2-dansilietil, carbonat de 2-(4-nitrofenil)etil, carbonat de 2-(2,4-dinitrofenil)etil, carbonat de 2-(2-nitrofenil)propil, carbonat de 2-(3,4-metilendioxi-6-nitrofenil)propil, carbonat de 2-ciano-1-feniletil, carbonat de 2-(2-piridil)amino-1-feniletil, carbonat de 2-[*N*-metil-*N*-(2-piridil)]amino-1-feniletil, carbonat de fenacil, carbonat de 3',5'-dimetoxibenzoină, ditiocarbonat de metil și tiocarbonat de *S*-benzil. Și în cazul carbamaților, gruparea protectoare pentru OH împreună cu atomul de oxigen al OH neprotejat de care este atașat formează un carbamat care poate fi ales dintre tiocarbamat de dimetil, carbamat de *N*-fenil și carbamat de *N*-metil-*N*-(*o*-nitrofenil).

În sfera prezentei invenții, o grupare de protecție amino este definită a fi fragmentul *N*-legat care rezultă din protecția grupării amino prin formarea unei grupări amino adecvate protejate. Exemple de grupări amino protejate includ carbamați, uree, amide, sisteme heterociclice, *N*-alchilamine, *N*-alchenilamine, *N*-alchinilamine, *N*-arilamine, imine, enamine, derivați *N*-metal, derivați *N*-*N*, derivați *N*-*P*, derivați *N*-*Si* și derivați *N*-*S*. În cazul carbamaților, gruparea protectoare pentru gruparea amino împreună cu gruparea amino la care aceasta este atașată formează un carbamat care poate fi ales dintre carbamat de metil, carbamat de etil, carbamat de 9-fluorenilmetil, carbamat de 2,6-di-*t*-butil-9-fluorenilmetil, carbamat de 2,7-bis(trimetilsilil)fluorenilmetil, carbamat de 9-(2-sulfo)fluorenilmetil, carbamat de 9-(2,7-dibrom)fluorenilmetil, carbamat de 17-tetrabenzo[*a,c,g,i*]fluorenilmetil, carbamat de 2-clor-3-indenilmetil, carbamat de benz[*f*]inden-3-ilmetil, carbamat 1,1-dioxobenzo[*b*]-tiofen-2-ilmetil, carbamat de 2-metilsulfonil-3-fenil-1-prop-2-enil, carbamat de 2,7-di-*t*-butil-[9,(10,10-dioxo-10,10,10,10-tetrahidrotioxantil)]metil, carbamat de 2,2,2-tricloretil, carbamat 2-trimetilsililetal, carbamat de (2-fenil-2-

trimetilsilil)etil, carbat de 2-fenilet, carbat de 2-cloret, carbat de 1,1-dimetil-2-haloetil, carbat de 1,1-dimetil-2,2-dibromoetil, carbat de 1,1-dimetil-2,2,2-tricloret, carbat de 2-(2'-piridil)etil, carbat de 2-(4'-piridil)etil, carbat de 2,2-bis(4'-nitrofenil)etil, carbat de 2-[(2-nitrofenil)ditio]-1-fenilet, carbat de 2-(*N,N*-diciclohexil-carboxamido)etil, carbat de *t*-butil, carbat de fluor BOC, carbat de 1-adamant, carbat de 2-adamant, carbat de 1-(1-adamant)-1-metilet, carbat de 1-metil-1-(4-bifenil)etil, carbat de 1-(3,5-di-*t*-butilfenil)-1-metilet, carbat de triizopropilsililoxi, carbat de vinil, carbat de alil, carbat de prenil, carbat de 1-izopropilalil, carbat de cinamil, carbat de 4-nitrocinamil, carbat de 3-(3'-piridil)prop-2-enil, carbat de hexadienil, carbat de propargil, biscarbat de 1,4-but-2-inil, carbat de 8-chinolit, carbat de *N*-hidroxipiperidinil, ditiocarbat de alchil, carbat de benzil, carbat de 3,5-di-*t*-butilbenzil, carbat de *p*-metoxibenzil, carbat de *p*-nitrobenzil, carbat de *p*-bromobenzil, carbat de *p*-clorobenzil, carbat de 2,4-diclorobenzil, carbat de 4-metilsulfinilbenzil, carbat de 4-trifluormetilbenzil, carbat de fluorobenzil, carbat de 2-naftilmetil, carbat de 9-antrilmetil, carbat de difenilmetil, carbat de 4-fenilacetoxibenzil, carbat de 4-azidobenzil, carbat de 4-azido-metoxibenzil, carbat de *m*-clor-*p*-aciloxibenzil, carbat de *m*-cloro-*p*-aciloxibenzil, carbat de *p*-(dihidroxiboril)-benzil, carbat de 5-benzizoxazolilmetil, carbat de 2-(trifluormetil)-6-cromonilmetil, carbat de 2-metiltioetil, carbat de 2-metilsulfonilmetil, carbat de 2-(*p*-toluensulfonil)etil, carbat de 2-(4-nitrofenilsulfonil)etil, carbat de 2-(2,4-dinitrofenilsulfonil)etil, carbat de 2-(4-trifluormetilfenilsulfonil)etil, carbat de [2-(1,3-ditianil)]metil, carbat de 2-fosfonioetil, carbat de 2-[fenil(metil)sulfonio]etil, carbat de 1-metil-1-(trifenilfosfonio)etil, de 1,1-dimetil-2-cianoetil, carbat 2-dansilietil, carbat de 2-(4-nitrofenil)etil, carbat de 4-metiltiofenil, carbat de 2,4-dimetiltiofenil, carbat de *m*-nitrofenil, carbat de 3,5-dimetoxibenzil, carbat de 1-metil-1-(3,5-dimetoxifenil)etil, carbat de α -metilnitro-piperonil, carbat de *o*-nitrobenzil, carbat de 3,4-dimetoxi-6-nitrobenzil, carbat de fenil(*o*-nitrofenil)metil, carbat de 2-nitrofenilet, carbat de 6-nitroveratril, carbat de 4-metoxifenacil, carbat de 3',5'-dimetoxibenzoin, carbat de 9-xantenilmetil, carbat de *N*-metil-*N*-(*o*-nitrofenil), carbat de *t*-amil, carbat de 1-metilciclobutil, carbat de 1-metilciclohexil, carbat de 1-metil-1-ciclopropilmetil, carbat de ciclobutil, carbat de ciclopentil, carbat de ciclohexil, carbat de izobutil, carbat de izobornil, carbat de ciclopropilmetil, carbat de *p*-deciloxibenzil, carbat de diizopropilmetil, carbat de 2,2-dimetoxi-carbonilvinil, carbat de *o*-(*N,N*-dimetilcarboxamido)benzil, carbat de 1,1-dimetil-3-(*N,N*-dimetil-carboxamido)propil, carbat de butinil, carbat de 1,1-dimetilpropinil, carbat de 2-iodoetil, carbat de 1-metil-1-(4'-piridil)etil, carbat de 1-metil-1-(*p*-fenilazofenil)etil, carbat de *p*-(*p*-metoxifenilazo)benzil, carbat de *p*-(fenilazo)benzil, carbat de 2,4,6-trimetilbenzil, carbat de izonicotinil, carbat de 4-(trimetilamoniu)benzil, carbat de *p*-cianobenzil, carbat de di(2-piridil)metil, carbat de 2-furanilmetil, carbat de fenil, carbat de 2,4,6-tri-*t*-butilfenil carbat, carbat de 1-metil-1-fenilet și tiocarbat de *S*-benzil. În cazul ureelor, grupările protectoare pentru gruparea amino pot fi alese dintre fenotiazinil-(10)-carbonil, *N*-*p*-toluensulfonilaminocarbonil, *N*-fenilaminotiocarbonil, 4-hidroxifenilaminocarbonil, 3-hidroxitriptaminocarbonil și *N*-fenilaminotiocarbonil. În cazul amidelor, gruparea protectoare pentru amino împreună cu gruparea amino la care este atașată formează o amidă care poate fi aleasă dintre formamidă, acetamidă, cloracetamidă, trichloracetamidă, trifluoracetamidă, fenilacetamidă, 3-fenilpropanamidă, pent-4-enamidă, picolinamidă, 3-piridilcarboxamidă, *N*-benzoil-fenilalanil amidă, benzamidă, *p*-fenilbenzamidă, *o*-nitrofenilacetamidă, 2,2-dimetil-2-(*o*-nitrofenil) acetamidă, *o*-nitrofenoxiacetamidă, 3-(*o*-nitrofenil)propanamidă, 2-metil-2-(*o*-nitrofenoxi) propanamidă, 3-metil-3-nitrobutanamidă, *o*-nitrocinamidă, *o*-nitrobenzamidă, 3-(4-*t*-butil-2,6-dinitrofenil)-2,2-dimetilpropanamidă, *o*-(benzoiloxi-metil)benzamidă, 2-(acetoximetil) benzamidă, 2-[(*t*-butildifenilsiloxi)metil]benzamidă, 3-(3',6'-dioxo-2',4',5'-trimetilciclohexa-1',4'-dien)-3,3-dimetilpropionamidă, *o*-hidroxi-*trans*-cinamidă, 2-metil-2-(*o*-fenilazofenoxi)propanamidă, 4-clorbutanamidă, aceto-acetamidă, 3-(*p*-hidroxifenil)propanamidă, (*N*'-ditiobenziloxycarbonil-amino) acetamidă și *N*-acetilmetioninamidă. În cazul sistemelor heterociclice, gruparea protectoare pentru gruparea amino împreună cu gruparea amino la care este atașată formează un sistem heterociclic care poate fi ales dintre 4,5-difenil-3-oxazolin-2-onă, *N*-ftalimidă, *N*-dicloroftalimidă, *N*-tetracloroftalimidă, *N*-4-nitroftalimidă, *N*-tiodiglicolil, *N*-ditiassuccinimidă, *N*-2,3-difenilmaleimidă, *N*-2,3-dimetilmaleimidă, *N*-2,5-dimetil-pirol, *N*-2,5-bis(triizopropilsiloxi)pirol, aduct de *N*-1,1,4,4-tetrametildisililazaciclopentan, *N*-1,1,3,3-tetra-metil-1,3-disilaisoindolină, *N*-difenilsilildietilenă, *N*-5-substituit-1,3-dimetil-1,3,5-triazaciclo-hexan-2-onă, *N*-5-substituit-1,3-benzil-1,3,5-triazaciclo-hexan-2-onă, 3,5-dinitro-4-piridonă 1-substituită și 1,3,5-dioxazină. În cazul în care *N*-alchil-, *N*-alchenil-, *N*-alchinil- sau *N*-arilamine din care gruparea protectoare pentru gruparea amino poate fi aleasă dintre *N*-metil, *N*-*t*-butil, *N*-alil, *N*-prenil, *N*-cinamil, *N*-fenilalil, *N*-propargil, *N*-metoximetil, *N*-[2-(trimetilsilil)etoxi]metil, *N*-3-acetoxipropil, *N*-cianometil, *N*-2-azanorbornen, *N*-benzil, *N*-4-metoxibenzil, *N*-2,4-dimetoxibenzil, *N*-2-hidroxibenzil, *N*-

ferocenilmetil, *N*-2,4-dinitrofenil, *o*-metoxifenil, *p*-metoxifenil, *N*-9-fenilfluorenil, *N*-fluorenil, *N*-2-picolilamină *N'*-oxid, *N*-7-metoxicumar-4-ilmetil, *N*-difenilmetil, *N*-bis(4-metoxifenil)metil, *N*-5-dibenzosuberil, *N*-trifenilmetil, *N*-(4-metilfenil)-difenilmetil și *N*-(4-metoxifenil)difenilmetil. În cazul iminelor, gruparea protectoare pentru gruparea amino poate fi aleasă dintre *N*-1,1-dimetiltiometilen, *N*-benziliden, *N*-*p*-metoxibenziliden, *N*-difenilmetilen, *N*-[2-piridil]mesitil]metilen, *N*-(*N'*,*N'*-dimetilaminometilen), *N*-(*N'*,*N'*-dibenzilaminometilen), *N*-(*N'*-*t*-butilamino-metilen), *N*,*N'*-izopropiliden, *N*-*p*-nitro-benziliden, *N*-saliciliden, *N*-5-clorosaliciliden, *N*-(5-clor-2-hidroxifenil)fenilmetilen, *N*-ciclohexiliden și *N*-*t*-butiliden. În cazul enaminelor, gruparea protectoare pentru gruparea amino poate fi aleasă dintre *N*-(5,5-dimetil-3-oxo-1-ciclohexenil), *N*-2,7-diclor-9-fluorenilmetilen, *N*-1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)etil, *N*-(1,3-dimetil-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trioxopirimidin-5-iliden)-metil, *N*-4,4,4-trifluor-3-oxo-1-butenil și *N*-(1-izopropil-4-nitro-2-oxo-3-pirolin-3-il). În cazul derivaților *N*-metal, gruparea protectoare pentru gruparea amino poate fi aleasă dintre *N*-boran, ester *N*-difenilborinic, ester *N*-dietilborinic, *N*-9-borabicyclononan, ester *N*-difluorborinic și acid 3,5-bis(trifluormetil)fenilboronic; și, de asemenea, inclusiv *N*-fenil(pentacarbonilcrom)carbenil, *N*-fenil(pentacarbonil-tungsten)carbenil, *N*-metil(penta-carbonilcromiu)carbenil, *N*-metil(pentacarboniltungsten)carbenil, *N*-chelate de cupru, *N*-chelate de zinc și un derivat 18-coroană-6. În cazul derivaților *N*-*N*, gruparea protectoare pentru gruparea amino împreună cu gruparea amino la care este atașată formează un derivat *N*-*N* care poate fi ales dintre *N*-nitroamino, *N*-nitrozoamino, *N*-oxid amină, azidă, derivat de triazen și *N*-trimetilsililmetil-N-benzilhidrazină. În cazul derivaților *N*-*P*, gruparea protejată pentru gruparea amino împreună cu gruparea amino la care este atașată formează un derivat *N*-*P* care poate fi ales dintre difenilfosfinamidă, dimetiltiofosfinamidă, difeniltiofosfinamidă, dialchil fosforamidat, dibenzil fosforamidat, difenil fosforamidat și iminotrifenilfosforan. În cazul derivaților *N*-*Si* gruparea protectoare pentru NH₂ poate fi aleasă dintre *t*-butildifenilsilil și trifenilsilil. În cazul derivaților *N*-*S* gruparea amino protejată poate fi aleasă dintre derivații *N*-sulfenil sau *N*-sulfonil. Derivații de *N*-sulfenil pot fi aleși dintre benzensulfenamidă, 2-nitrobenzensulfenamidă, 2,4-dinitrobenzensulfenamidă, penta-clorbenzensulfenamidă, 2-nitro-4-metoxibenzensulfenamidă, trifenilmetilsulfen-amidă, 1-(2,2,2-trifluoro-1,1-difenil)etil-sulfenamidă și *N*-3-nitro-2-piridinsulfenamidă. Derivații *N*-sulfonil pot fi aleși dintre metansulfonamidă, trifluormetansulfonamidă, *t*-butilsulfonamidă, benzilsulfonamidă, 2-(trimetilsilil)etan sulfonamidă, *p*-toluensulfon-amidă, benzensulfonamidă, *o*-anisilsulfonamidă, 2-nitrobenzensulfonamidă, 4-nitrobenzensulfonamidă, 2,4-dinitrobenzensulfonamidă, 2-naftalensulfonamidă, 4-(4',8'-dimetoxinaftilmetil)benzensulfonamidă, 2-(4-metilfenil)-6-metoxi-4-metilsulfon-amidă, 9-antracensulfonamidă, piridin-2-sulfonamidă, benzotiazol-2-sulfonamidă, fenacilsulfonamidă, 2,3,6-trimetil-4-metoxibenzensulfonamidă, 2,4,6-trimetoxibenzen-sulfon-amidă, 2,6-dimetil-4-metoxibenzensulfonamidă, pentametilbenzensulfon-amidă, 2,3,5,6-tetrametil-4-metoxibenzensulfonamidă, 4-metoxibenzensulfonamidă, 2,4,6-trimetilbenzen-sulfonamidă, 2,6-dimetoxi-4-metilbenzensulfonamidă, 3-metoxi-4-*t*-butilbenzensulfonamidă și 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonamidă.

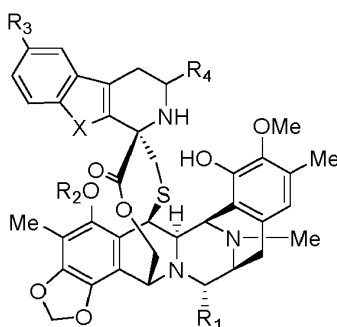
În sfera prezentei invenții, o grupare protectoare pentru SH este definită ca fiind fragmentul legat la S care rezultă din protecția grupării SH prin formarea unei grupări SH protejate adecvate. Exemple de astfel de grupări SH protejate includ tioeteri, disulfuri, tioeteri sililici, tioesteri, tiocarbonați și tiocarbamați. În cazul tioeterilor, gruparea protectoare pentru SH poate fi aleasă dintre S-alchil, S-benzil, S-*p*-metoxibenzil, S-*o*-hidroxibenzil, S-*p*-hidroxibenzil, S-*o*-acetoxibenzil, S-*p*-acetoxibenzil, S-*p*-nitrobenzil, S-*o*-nitrobenzil, S-2,4,6-trimetilbenzil, S-2,4,6-trimetoxibenzil, S-4-picolil, S-2-picolil-*N*-oxid, S-2-chinolinilmetil, S-9-antrilmetil, S-9-fluorenilmetil, S-xantenil, S-ferocenilmetil, S-difenilmetil, S-bis(4-metoxifenil)metil, S-5-dibenzosuberil, S-trifenilmetil, 4-metoxitritil, S-difenil-4-piridilmetil, S-fenil, S-2,4-dinitrofenil, S-2-chinolil, S-*t*-butil, S-1-adamantil, S-metoximetil, S-izobutoximetil, S-benziloximetil, S-1-etoxietil, S-2-tetrahidropirani, S-benziltiometil, S-feniltiometil, S-acetamidometil (Acm), S-trimetilacetamidometil, S-benzamidometil, S-aliloxycarbonil-amino-metil, S-*N*-[2,3,5,6-tetrafluor-4-(*N'*-piperidino)-fenil-*N*-aliloxycarbonilaminometil, S-ftalimido-metil, S-fenilacetamidometil, S-acetilmetil, S-carboximetil, S-cianometil, S-(2-nitro-1-fenil)etil, S-2-(2,4-dinitrofenil)etil, S-2-(4'-piridil)etil, S-2-cianoetil, S-2-(trimetilsilil)etil, S-2,2-bis(carboetoxi)etil, S-(1-*m*-nitrofenil-2-benzoil)etil, S-2-fenilsulfoniletil, S-1-(4-metilfenil-sulfonil)-2-metilprop-2-il și S-*p*-hidroxifenacil. În cazul disulfurilor, gruparea SH protejată poate fi aleasă dintre disulfura de S-etil, disulfura de S-*t*-butil, disulfură de S-2-nitrofenil, disulfură de S-2,4-dinitrofenil, disulfură de S-2-fenilazofenil, disulfură de S-2-carboxifenil și disulfură de S-3-nitro-2-piridil. În cazul tioeterilor sililici, gruparea protectoare pentru SH poate fi aleasă din lista grupărilor de mai sus pentru protecția OH cu eteri sililici. În cazul tioesterilor, gruparea protectoare pentru SH poate fi aleasă dintre S-acetil, S-benzoil, S-2-metoxiizobutiril, S-trifluoracetil, S-*N*-[[*p*-bifenilil]-izopropiloxi]carbonil]-*N*-metil-*y*-aminotiobutirat și S-*N*-(*t*-butoxicarbonil)-*N*-metil-*y*-aminotiobutirat. În cazul grupării protectoare tiocarbonat pentru SH poate fi aleasă

dintre S-2,2,2-tricloretoxicarbonil, S-t-butoxicarbonil, S-benziloxicarbonil, S-*p*-metoxibenziloxicarbonil și S-fluorenilmetilcarbonil. În cazul tiocarbamatului, gruparea SH protejată poate fi alesă dintre S-(*N*-etilcarbammat) și S-(*N*-metoximetilcarbammat).

Menționarea acestor grupări nu trebuie interpretată ca o limitare a sferei invenției, deoarece acestea au fost menționate ca o simplă ilustrare a grupărilor de protecție pentru grupările OH, amino și SH, dar alte grupări care au funcția menționată pot fi cunoscute de către un specialist în domeniu și trebuie să se înțeleagă că sunt de asemenea cuprinse în prezenta invenție.

Pentru a prezenta o descriere mai concisă, unele dintre expresiile cantitative date aici nu sunt calificate cu termenul „aproximativ”. Se înțelege că, indiferent dacă termenul „aproximativ” este utilizat în mod explicit sau nu, fiecare cantitate dată aici este menită să se refere la valoarea dată reală și, de asemenea, este menită să se refere la aproximarea unei astfel de valori date care s-ar deduce în mod rezonabil, bazat pe cunoștințele unui specialist în domeniu, inclusiv echivalente și aproximări datorate condițiilor experimentale și/sau de măsurare pentru o asemenea de valoare dată.

Într-un exemplu de realizare, compusul este un compus cu formula **IC** sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau ester al acestuia:



IC

în care:

X este -NH-;

R₁ este -OH sau -CN;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

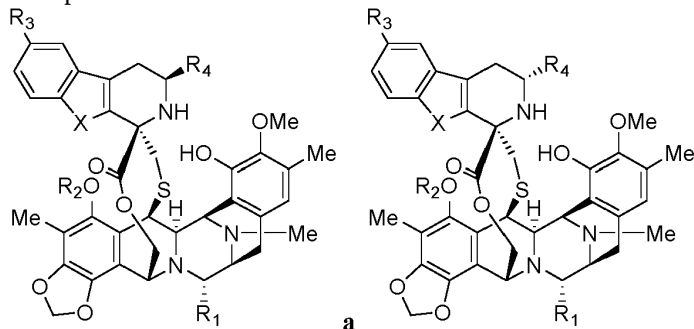
R₄ este ales dintre -CH₂OH și CH₂OC(=O)R^c;

R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^c este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit.

Compușii preferați dintre compușii cu formula **IC** sunt cei cu formula generală **a** sau **b** sau o sare sau ester acceptabile din punct de vedere farmaceutic ai acestora:



Compușii preferați este de notat că au formula generală a sau b, R₄ nu poate fi hidrogen.

Alți compuși preferați includ compușiii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb** în care:

R_1 este -OH;

și X ; R_2 ; R_3 ; R_4 ; R^a ; R^b ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușiii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

- 5 R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ în care R^a este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. În special preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit și *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil; și X ; R_1 ; R_3 ; R_4 ; R^b ; și R^c sunt definiți mai sus.

- 10 Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

R_3 este hidrogen sau o grupare $-OR^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit și *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R_3 este hidrogen și metoxi, hidrogenul fiind cea mai preferată grupare R_3 ;

și X ; R_1 ; R_2 ; R_4 ; R^a ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb** în care:

- 20 R_4 este ales dintre $-CH_2OH$ și $-CH_2OC(=O)R^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**, în care R^c este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. În special preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit și *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 este $-CH_2OH$;

- 25 și X ; R_1 ; R_2 ; R_3 ; R^a ; și R^b sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușiii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_1 este -OH;

și R_2 ; R_3 ; R_4 ; R^a ; R^b și R^c sunt definiți ca mai sus.

- 30 Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit și *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

și R_1 ; R_3 ; R_4 ; R^b ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

- 40 R_3 este hidrogen sau o grupare $-OR^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit și *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R_3 este hidrogen sau metoxi, hidrogenul fiind cea mai preferată grupare R_3 ;

- 45 și R_1 ; R_2 ; R_4 ; R^a ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_4 este ales dintre $-CH_2OH$ și $-CH_2OC(=O)R^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**, în care R^c este un alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, *sec*-butil substituit sau nesubstituit sau *tert*-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 este $-CH_2OH$;

- 55 și R_1 ; R_2 ; R_3 ; R^a ; și R^b sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_1 este -OH;

R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

și R_3 ; R_4 ; R^b și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_1 este -OH;

R_3 este hidrogen sau o grupare $-OR^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R_3 este hidrogen și metoxi, hidrogenul fiind cea mai preferată grupare R_3 ;

și R_2 ; R_4 ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_1 este -OH;

R_4 este ales dintre $-CH_2OH$ și $-CH_2OC(=O)R^c$ pentru compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 este $-CH_2OH$;

și R_2 ; R_3 ; R^a ; și R^b sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

R_3 este hidrogen sau o grupare $-OR^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferabil R_3 este hidrogen și metoxi, hidrogenul fiind cel mai preferat pentru gruparea R_3 ;

și R_1 ; R_4 ; și R^c sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

R_4 este ales dintre $-CH_2OH$ și $-CH_2OC(=O)R^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 poate fi $-CH_2OH$;

și R_1 ; R_3 ; și R^b ; sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R_3 este hidrogen sau o grupare $-OR^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și

tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_3 este hidrogen și metoxi, hidrogen fiind cel mai preferat pentru gruparea R_3 .

R_4 este ales dintre $-\text{CH}_2\text{OH}$ și $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R^c este metil. R_4 cel mai preferat este $-\text{CH}_2\text{OH}$;

și R_1 ; R_2 ; și R^a ; sunt definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este $-\text{NH}-$;

R_1 este $-\text{OH}$;

R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

R_3 este hidrogen sau o grupare $-\text{OR}^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R_3 sunt hidrogen și metoxi, hidrogenul fiind cea mai preferată grupare R_3 ; și R_4 ; și R^c sunt cei definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este $-\text{NH}-$;

R_1 este $-\text{OH}$;

R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

R_4 este ales dintre $-\text{CH}_2\text{OH}$ și $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$;

și R_3 ; și R^b sunt cei definiți mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este $-\text{NH}-$;

R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; unde R^a este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R_2 este acetil;

R_3 este hidrogen sau o grupare $-\text{OR}^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**, în care R^b este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R_3 este hidrogen și metoxi, hidrogenul fiind cel mai preferat R_3 ;

R_4 este ales dintre $-\text{CH}_2\text{OH}$ și $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c este un alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$;

și R_1 este definit mai sus.

Alți compuși preferați includ compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

X este -NH-;

R₁ este -OH;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^a este un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R₂ este acetil;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^b este un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R₃ sunt hidrogen și metoxi, cel mai preferat R₃ fiind hidrogen;

R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R₄ este -CH₂OH.

Următorii substituenți preferați (în care sunt premise grupările substituente posibile) se aplică la compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**:

în compușii prezentei invenții, în special preferat R₁ este -OH.

În compușii prezentei invenții, în special preferat R₂ este o grupare -C(=O)R^a în care R^a este un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. În special preferat R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R₂ este acetil.

În compușii prezentei invenții, în special preferat R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b în care R^b este un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. Deosebit de preferat R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Mai preferat R₃ sunt hidrogen și metoxi, cel mai preferat R₃ fiind hydrogen.

În compușii prezentei invenții, în special preferat R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c în care R^c un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. În special preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R₄ este -CH₂OH.

În compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**, R₄ în special preferat este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**; în care R^c este un alchil C₁-C₆ substituit sau nesubstituit. În special preferat R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, n-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, n-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și tert-butil substituit sau nesubstituit. Cel mai preferat R^c este metil. Cel mai preferat R₄ este -CH₂OH.

Sunt în special preferați compușii cu formula **ICa** în care R₄ este -CH₂OH sau -CH₂OC(=O)R^c.

În compușii prezentei invenții X este -NH-.

Compușii conform prezentei invenții sunt:

- Compușii cu formula generală **IC**, **ICa** și **ICb**, în care:

R₄ este ales dintre -CH₂OH sau -CH₂OC(=O)R^c.

Fiind în special preferați compușii cu formula **ICa** și/sau compușii în care R₄ este -CH₂OH.

Compușii în special preferați conform prezentei invenții includ:

- Compușii cu formula **ICa** și/sau compușii în care R₄ este -CH₂OH.

- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care

R₂ este o grupare -C(=O)R^a pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**;

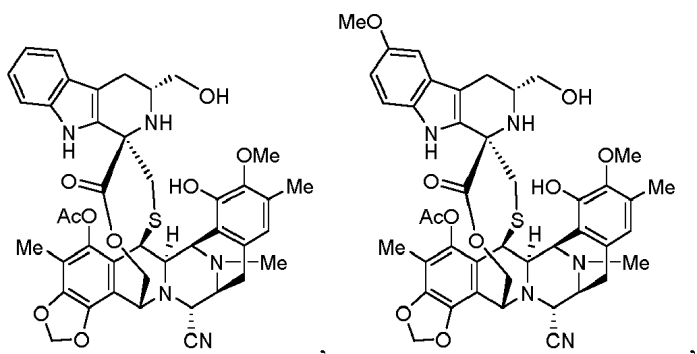
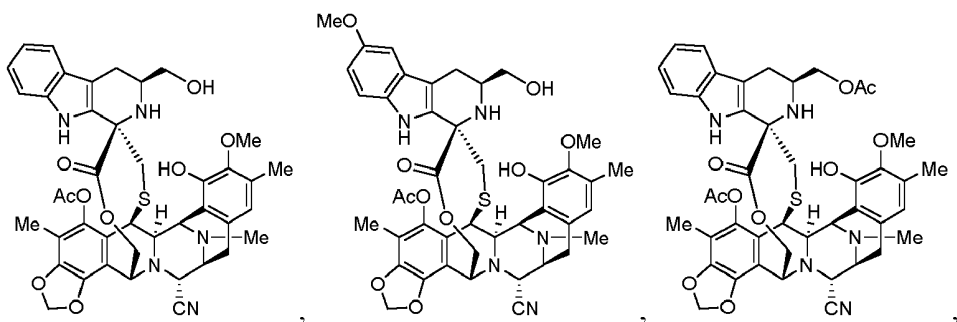
R_4 este ales dintre $-\text{CH}_2\text{OH}$ și $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$.

R^a este ales dintre hidrogen și alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit;

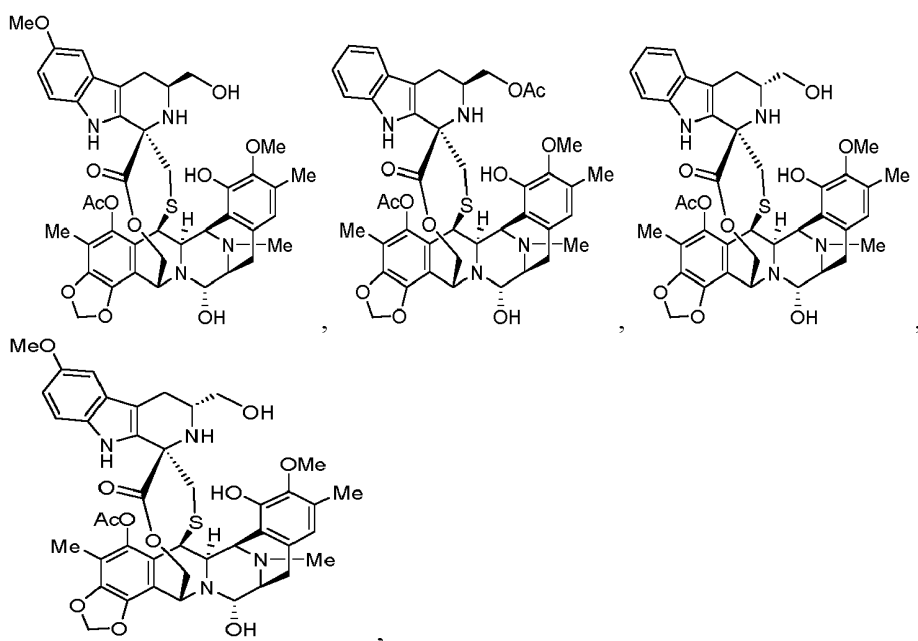
R^b este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit și

R^c este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit.

- 5 Fiind mai preferați compușii cu formula **ICa** și/sau compușii în care R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$.
Compușii mai preferați conform prezentei invenții includ
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
X este $-\text{NH}-$;
 R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
- 10 R_3 este hidrogen sau o grupare $-\text{OR}^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$;
 R^a este ales dintre hidrogen și alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit; și
 R^b este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit.
Fiind în special mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- 15 - Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
 R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
 R_3 este hidrogen sau o grupare $-\text{OR}^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$;
 R^a este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit; și
- 20 R^b este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit.
Fiind în special mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
X este $-\text{NH}-$;
 R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
- 25 R_3 este hidrogen sau o grupare $-\text{OR}^b$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**;
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^c$;
 R^a este ales dintre hidrogen și alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit;
 R^b este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit și
 R^c este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit.
- 30 Compușii cu formula **ICa** fiind mai preferați.
Compușii mai preferați în special conform prezentei invenții includ:
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
X este $-\text{NH}-$;
 R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
- 35 R_3 este hidrogen sau metoxi pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**;
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$ și
 R^a este alchil $\text{C}_1\text{-C}_6$ substituit sau nesubstituit.
Fiind chiar mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
- 40 R_2 este o grupare $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^a$ pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** ;
 R_3 este hidrogen sau metoxi pentru compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb**;
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$ și
 R^a este ales dintre metil, etil, n-propil, izopropil și butyl, inclusiv n-butil, sec-butil, izobutil și tert-butil.
Fiind chiar mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- 45 Compușii chiar mai preferați conform prezentei invenții includ:
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
 R_2 este acetil;
 R_3 este hidrogen; și
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$.
- 50 Fiind cei mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- Compușii cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** în care
 R_1 este $-\text{OH}$;
 R_2 este acetil;
- 55 R_3 este hidrogen; și
 R_4 este $-\text{CH}_2\text{OH}$.
Fiind cei mai preferați compușii cu formula **ICa**.
- Un compus conform prezentei invenții cu formula:



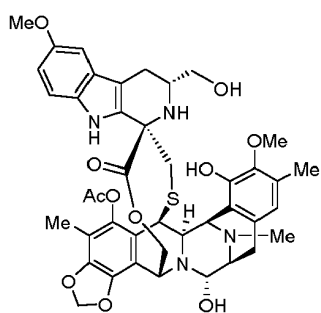
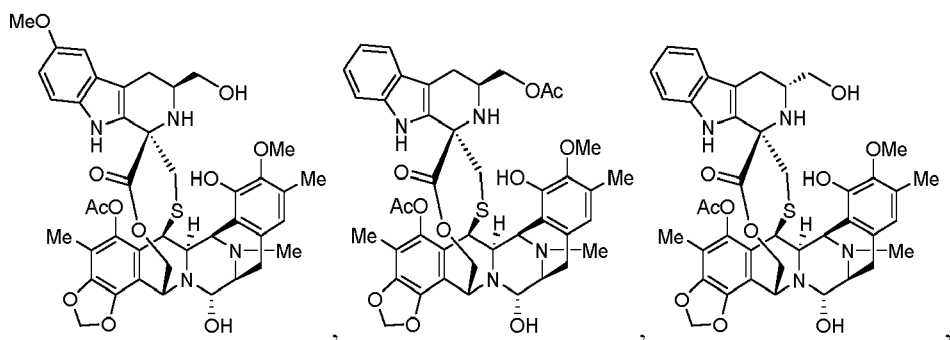
5



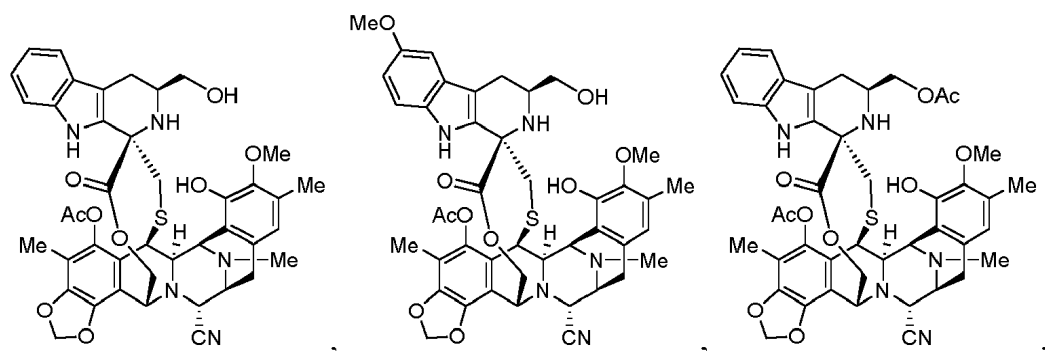
sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic a acestora.

10

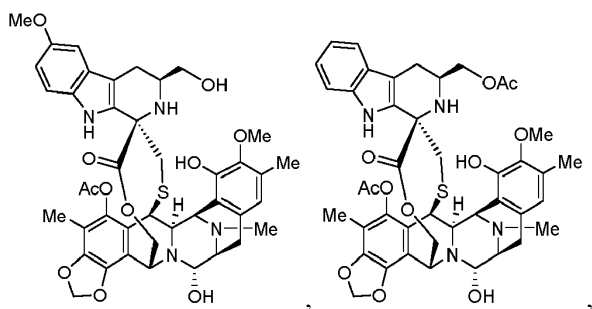
În special este preferat un compus cu formula:



- 5 sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic a acestora.
Un compus conform prezentei invenții cu formula:

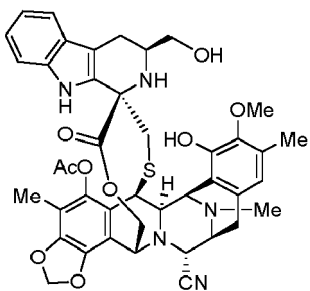


10



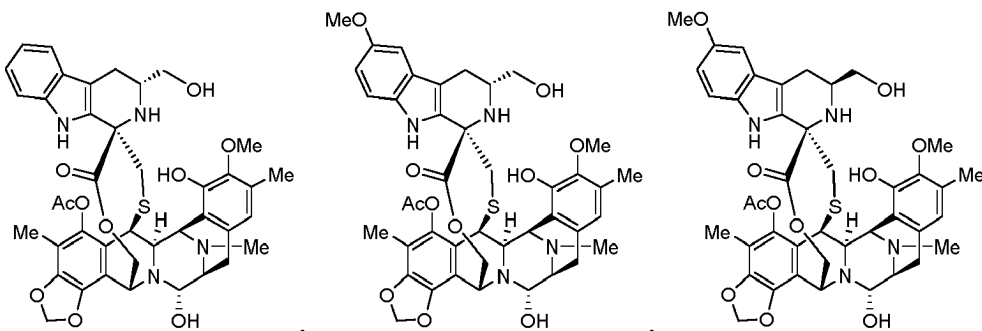
sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic a acestora.

În special preferat este un compus cu formula:



sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic a acestora.

5 Fiind mai preferat un compus cu formula:



sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic a acestora.

10 În exemple de realizare preferate suplimentare, preferințele descrise mai sus pentru diferiți substituenți sunt combinate. Prezenta invenție se referă, de asemenea, la astfel de combinații de substituții preferate (în care sunt permise posibile grupări substituente) în compușii cu formula IC, ICa și ICb conform prezentei invenții.

15 O caracteristică importantă a compușilor descriși mai sus este bioactivitatea lor și în special activitatea lor citotoxică. În această privință, s-a descoperit în mod surprinzător că compușii prezentei invenții prezintă o activitate antitumorală îmbunătățită, așa cum este prezentată în exemplele 27 și 29 până la 40.

20 **Compoziții care cuprind un compus cu formula IC, ICa și IC conform invenției și utilizări ale acestuia**

Într-un alt exemplu de realizare a prezentei invenții, este furnizată o compoziție farmaceutică care cuprinde un compus conform prezentei invenții și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic. Exemplele de formă de administrare includ fără limitare orală, topică, parenterală, sublinguală, rectală, vaginală, oculară și intranasală. Administrarea parenterală include injecții subcutanate, tehnici de injecție intravenoasă, intramusculară, intrasternală sau de perfuzie. De preferință, compozițiile sunt administrate parenteral. Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi formulate astfel încât să permită unui compus conform prezentei invenții să fie biodisponibil la administrarea compoziției la un animal, de preferință uman. Compozițiile pot lua forma uneia sau mai multor unități de dozare, în care, de exemplu, o tabletă poate fi o singură unitate de dozare și un recipient al unui compus conform prezentei invenții poate conține compusul în formă lichidă sau sub formă de aerosoli și poate conține un o singură sau mai multe unități de dozare.

Purtătorul sau vehiculul acceptabil din punct de vedere farmaceutic poate fi sub formă de particule, astfel încât compozițiile sunt, de exemplu, sub formă de tabletă sau pulbere. Purtătorii pot fi lichide, compozițiile fiind, de exemplu, un sirop oral sau un lichid injectabil. În plus, purtătorii pot fi gazeți sau lichizi, astfel încât să furnizeze o compoziție de aerosoli utilă, de exemplu, în administrarea prin inhalare. Pulberile pot fi, de asemenea, utilizate pentru forme de dozare pentru inhalare. Termenul "purtător" se referă la un diluant, adjuvant sau excipient, cu care este administrat compusul conform prezentei invenții. Astfel de purtători farmaceutici pot fi lichide, cum ar fi apa și uleiuri, inclusiv cele de origine petrolieră, animală, vegetală sau sintetică, cum ar fi uleiul de arahide, uleiul de soia, uleiul mineral, uleiul de susan și altele asemenea. Purtătorii pot fi ser fiziologic, gumă de salcâm, gelatină, pastă

de amidon, talc, cheratină, silice coloidală, uree, dizaharide și altele asemenea. În plus, se pot utiliza agenți auxiliari, stabilizatori, de îngroșare, lubrifianți și coloranți. Într-un exemplu de realizare, atunci când sunt administrate unui animal, compușii și compozițiile conform prezentei invenții și purtătorii acceptabili farmaceutic sunt sterili. Apa este un purtător preferat atunci când compușii conform prezentei invenții sunt administrați intravenos. Soluțiile saline și soluțiile apoase de dextroză și glicerol pot fi, de asemenea, folosite ca purtători lichizi, în special pentru soluțiile injectabile. Purtătorii farmaceutici adecvați includ, de asemenea, excipienți cum ar fi amidon, glucoză, lactoză, zaharoză, gelatină, malț, orez, făină, cretă, silicagel, stearat de sodiu, monostearat de glicerol, talc, clorură de sodiu, lapte degresat anhidru, glicerol, propilenglicol, apă, etanol și altele asemenea. Compozițiile prezente, dacă se dorește, pot conține, de asemenea, cantități minore de agenți de umectare sau de emulsionare sau agenți de tamponare a pH-ului.

Atunci când este destinată administrării orale, compoziția este, de preferință, în formă solidă sau lichidă, în care formele semisolide, semilichide, suspensie și gel sunt incluse în formele considerate aici fie solide, fie lichide.

Sub formă de compoziție solidă pentru administrare orală, compoziția poate fi formulată sub formă de pulbere, granulă, tabletă comprimată, pilulă, capsulă, gumă de mestecat, napolitană sau o formă similară. O astfel de compoziție solidă conține de obicei unul sau mai mulți diluanți inerti. În plus, pot fi prezenți unul sau mai mulți pentru următoarele: lianți cum ar fi carboximetilceluloza, etilceluloza, celuloza microcristalină sau gelatina; excipienți cum ar fi amidon, lactoză sau dextrine, agenți de dezintegrare cum ar fi acid alginic, alginat de sodiu, amidon de porumb și alții asemenea; lubrifianți cum ar fi stearat de magneziu; agenți de alunecare cum ar fi dioxidul de siliciu coloidal; agent de îndulcire cum ar fi zaharoza sau zaharina; un agent de aromatizare cum ar fi aroma de mentă, salicilat de metil sau portocale; și un colorant.

Când compoziția este sub formă de capsulă (de exemplu, o capsulă de gelatină), aceasta poate conține, în plus față de materialele de tipul de mai sus, un purtător lichid cum ar fi polietilenglicol, ciclodextrine sau un ulei gras.

Compoziția poate fi sub formă de lichid, de exemplu, un elixir, sirop, soluție, emulsie sau suspensie. Lichidul poate fi util pentru administrare orală sau pentru administrare prin injectare. Atunci când este destinată administrării orale, o compoziție poate cuprinde unul sau mai mulți dintre un agent de îndulcire, conservanți, colorant/colorant și amplificator de aromă. Într-o compoziție pentru administrare prin injectare, pot fi de asemenea incluse unul sau mai mulți dintre un surfactant, conservant, agent de umectare, agent de dispersie, agent de suspendare, tampon, stabilizator și agent izotonic.

Calea preferată de administrare este administrarea parenterală incluzând, dar fără a se limita la, intradermică, intramusculară, intraperitoneală, intravenoasă, subcutanată, intranasală, epidurală, intracerebrală, intraventriculară, intratecală, intravaginală sau transdermică. Modul preferat de administrare este lăsat la discreția medicului și va depinde parțial de locul afecțiunii medicale (cum ar fi situsul cancerului). Într-un exemplu de realizare mai preferat, compușii conform prezentei invenții sunt administrați intravenos. Se preferă să se utilizeze timpi de perfuzie de până la 24 de ore, mai preferabil 1 până la 12 ore, cel mai preferat fiind 1 până la 6 ore. Timpii de perfuzie scurți care permit efectuarea tratamentului fără o ședere peste noapte într-un spital sunt de dorit în special. Cu toate acestea, perfuzia poate dura 12 până la 24 de ore sau chiar mai mult dacă este necesar. Perfuzia poate fi efectuată la intervale adecvate de exemplu, de 1 până la 4 săptămâni.

Compozițiile lichide ale invenției, dacă sunt soluții, suspensii sau alte forme similare, pot include, de asemenea, unul sau mai multe dintre următoarele: diluanți sterili, cum ar fi apa pentru injecție, soluție salină, de preferință ser fiziologic, soluție Ringer, clorură de sodiu izotonică, uleiuri fixe cum ar fi mono sau digliceride sintetice, polietilenglicoli, glicerină sau alți solvenți; agenți antibacterieni cum ar fi alcool benzilic sau metilparaben; și agenți pentru ajustarea tonicității, cum ar fi clorura de sodiu sau dextroza. O compoziție parenterală poate fi inclusă într-o fiolă, o seringă de unică folosință sau un flacon cu doze multiple din sticlă, plastic sau alt material. Soluția salină fiziologică este un adjuvant preferat.

Cantitatea de compus conform prezentei invenții care este eficientă în tratamentul unei anumite tulburări sau afecțiuni va depinde de natura tulburării sau afecțiunii și poate fi determinată prin tehnici clinice standard. În plus, testele *in vitro* sau *in vivo* pot fi utilizate opțional pentru a ajuta la identificarea intervalelor optime de dozare. Doza precisă care trebuie utilizată în compoziții va depinde, de asemenea, de calea de administrare și de gravitatea bolii sau tulburării și ar trebui să fie decisă în funcție de judecata medicului și de circumstanțele fiecărui pacient.

Compozițiile cuprind o cantitate eficientă dintr-un compus al prezentei invenții astfel încât se va obține o doză adecvată. Doza corectă a compușilor va varia în funcție de formularea particulară, modul de aplicare și locul său particular, gazda și boala care este tratată, de exemplu, cancer și, dacă da, ce tip de tumoare. Alți factori precum vârsta, greutatea corporală, sexul, dieta, timpul de administrare, rata de

excreție, starea gazdei, combinațiile de medicamente, sensibilitățile de reacție și severitatea bolii trebuie luați în considerare. Administrarea poate fi efectuată continuu sau periodic în doza maximă tolerată.

În mod tipic, cantitatea este de cel puțin aproximativ 0,01% dintr-un compus din prezenta invenție și poate cuprinde cel puțin 80% din greutatea compoziției. Când este destinată administrării orale, această cantitate poate varia de la aproximativ 0,1% până la aproximativ 80% în greutate din compoziție. Compozițiile orale preferate pot cuprinde de la aproximativ 4% până la aproximativ 50% din compusul prezentei invenții în greutatea compoziției.

Compozițiile preferate ale prezentei invenții sunt preparate astfel încât o unitate de dozare parenterală să conțină de la aproximativ 0,01% până la aproximativ 10% în greutate din compusul prezentei invenții. Unitatea de dozare parenterală mai preferată conține aproximativ 0,5 % până la aproximativ 5 % în greutate compus din prezenta invenție.

Pentru administrare intravenoasă, compoziția este adecvată pentru doze de la aproximativ 0,1 mg/kg până la aproximativ 250 mg/kg din greutatea corporală a animalului, de preferință de la aproximativ 0,1 mg/kg și aproximativ 20 mg/kg din greutatea corporală a animalului, și mai preferabil de la aproximativ 1 mg/kg până la aproximativ 10 mg/kg din greutatea corporală a animalului.

Compusul prezentei invenții poate fi administrat pe orice cale convenabilă, de exemplu prin perfuzie sau injectare în bolus, prin absorbție prin căptușeli epiteliale sau mucocutanate.

În exemple de realizare specifice, poate fi de dorit să se administreze unul sau mai mulți compuși ai prezentei invenții sau compoziții locale, în zona care este necesar tratament. Într-un exemplu de realizare, administrarea poate fi prin injectare directă la locul (sau locul anterior) al unui cancer, tumoră sau țesut neoplazic sau pre-neoplazic.

Administrarea pulmonară poate fi, de asemenea, utilizată, de exemplu, prin utilizarea unui inhalator sau nebulizator și formulare cu un agent de aerosolizare sau prin perfuzie într-un surfactant pulmonar fluorocarbon sau sintetic. În anumite variante de realizare, compusul prezentei invenții poate fi formulat ca supozitor, cu liganți și purtători tradiționali, cum ar fi trigliceride.

Compozițiile prezente pot lua forma de soluții, suspensii, emulsii, tablete, pastile, pelete, capsule, capsule care conțin lichide, pulberi, formulări cu eliberare susținută, supozitoare, emulsii, aerosoli, spray-uri, suspensii sau orice altă formă adecvată pentru utilizare. Alte exemple de purtători farmaceutici adecvați sunt descrise în "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin.

Compozițiile farmaceutice pot fi preparate folosind o metodologie bine cunoscută în domeniul farmaceutic. De exemplu, o compoziție destinată a fi administrată prin injectare poate fi preparată prin combinarea unui compus din prezenta invenție cu apă sau alt diluant adecvat fiziologic, cum ar fi soluție salină tamponată cu fosfat, astfel încât să formeze o soluție. Se poate adăuga un surfactant pentru a facilita formarea unei soluții sau suspensii omogene.

Compozițiile preferate conform prezentei invenții includ:

- Compoziții farmaceutice care cuprind un compus al prezentei invenții și o dizaharidă. Dizaharidele preferate în mod special sunt alese dintre lactoză, trehaloză, zaharoză, maltoză, izomaltoză, celobioză, izozaharoză, izotrehaloză, turanoză, melibioză, gentiobioză și amestecuri ale acestora.
- Compoziții farmaceutice liofilizate care cuprind un compus al prezentei invenții și o dizaharidă. Dizaharidele preferate în mod special sunt alese dintre lactoză, trehaloză, zaharoză, maltoză, izomaltoză, celobioză, izozaharoză, izotrehaloză, turanoză, melibioză, gentiobioză și amestecuri ale acestora.

Raportul dintre substanța activă și dizaharidă în exemplele de realizare ale prezentei invenții este determinat în funcție de solubilitatea dizaharidei și, atunci când formularea este liofilizată, de asemenea, în funcție de liofilitatea dizaharidei. Se are în vedere că acest raport substanță activă: dizaharidă (greut/greut) poate fi de aproximativ 1:10 în unele exemple de realizare, aproximativ 1:20 în alte exemple de realizare, aproximativ 1:50 în încă alte exemple de realizare. Se are în vedere că alte exemple de realizare au astfel de rapoarte în intervalul de la aproximativ 1:5 până la aproximativ 1:500 și încă alte exemple de realizare au astfel de rapoarte în intervalul de la aproximativ 1:10 până la aproximativ 1:500.

Compoziția care cuprinde un compus din prezenta invenție poate fi liofilizată. Compoziția care cuprinde un compus conform prezentei invenții este prezentată de obicei într-o fiolă care conține o cantitate menționată dintr-un astfel de compus.

S-a descoperit că compușii prezentei invenții și compozițiile prezentei invenții sunt deosebit de eficiente în tratamentul cancerului.

Astfel, așa cum s-a descris mai devreme, prezenta invenție furnizează un compus sau o compoziție pentru utilizare în tratamentul cancerului și, mai preferabil, un cancer ales dintre cancerul pulmonar, inclusiv cancerul pulmonar fără celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de colon, cancerul de sân, cancer de pancreas, sarcom, cancer ovarian, cancer de prostată și cancer gastric.

Astfel, compușii și compozițiile conform prezentei invenții sunt utili pentru inhibarea înmulțirii sau proliferării unei celule tumorale sau a unei celule canceroase sau pentru tratarea cancerului la un animal.

Compușii și compozițiile conform prezentei invenții prezintă o activitate excelentă în tratamentul cancerelor cum ar fi cancerul pulmonar, inclusiv cancerul pulmonar fără celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de colon, cancerul de sân, cancerul pancreasului, sarcomul, cancerul ovarian, cancerul de prostată, și cancer gastric. Cele mai preferate tipuri de cancer sunt selectate dintre cancerul pulmonar incluzând cancerul pulmonar fără celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de sân, cancerul de pancreas și cancerul colorectal.

În prezenta cerere, prin "cancer" se înțelege a include tumori, neoplazii și orice altă boală malignă având drept cauză țesut sau celule maligne.

Termenul „tratare”, așa cum este utilizat aici, dacă nu se indică altfel, înseamnă inversarea, atenuarea, ușurarea sau inhibarea progresului bolii sau stării la care se aplică un astfel de termen sau unul sau mai multe simptome ale unei astfel de tulburări sau stări. Termenul "tratament", așa cum este utilizat aici, dacă nu se indică altfel, se referă la actul de a trata, deoarece "tratare" este definit imediat mai sus.

Compușii și compozițiile conform prezentei invenții pot fi administrate la un animal care a suferit și o intervenție chirurgicală ca tratament pentru cancer. Într-un exemplu de realizare a prezentei invenții, tratamentul suplimentar este radioterapia.

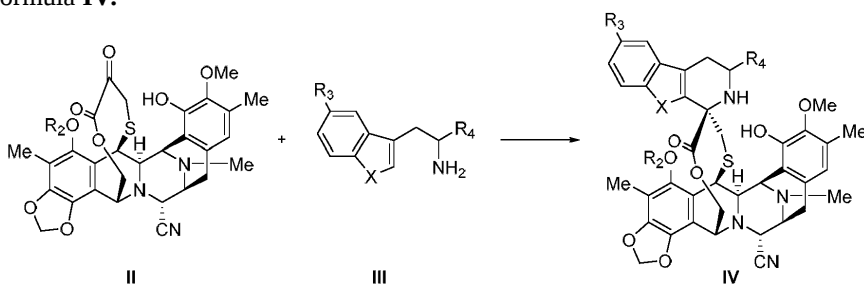
Într-un exemplu de realizare specific al prezentei invenții, compusul sau compoziția conform prezentei invenții este administrată concomitent cu radioterapia. Într-un alt exemplu de realizare specific, terapia cu radiații este administrată înainte sau după administrarea compusului sau compoziției prezentei invenții, de preferință cel puțin o oră, trei ore, cinci ore, 12 ore, o zi, o săptămână, o lună, mai mult de preferință câteva luni (de exemplu, până la trei luni) înainte sau după administrarea unui compus sau compoziție din prezenta invenție.

Orice protocol de radioterapie poate fi utilizat în funcție de tipul de cancer care urmează a fi tratat. De exemplu, dar fără limitare, se pot administra radiații cu raze X; în special, megavoltaj de înaltă energie (radiația de energie mai mare de 1 MeV) poate fi utilizat pentru tumorile profunde, iar fasciculul de electroni și radiația cu raze X cu ortovoltaj pot fi utilizate pentru cancerurile de piele. De asemenea, pot fi administrați radioizotopi care emit raze gamma, cum ar fi izotopi radioactivi de raniu, cobalt și alte elemente.

Într-un alt exemplu de realizare a prezentei invenții, este furnizat un kit care cuprinde o cantitate eficientă terapeutică dintr-un compus conform prezentei invenții și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

Într-un exemplu de realizare, kitul conform acestui exemplu de realizare este pentru utilizare în tratamentul cancerului și, mai preferabil, un cancer ales dintre cancerul pulmonar, inclusiv cancerul pulmonar cu celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de colon, cancerul de sân, cancerul de pancreas, sarcom, cancer ovarian, cancer de prostată și cancer gastric.

Într-un alt exemplu de realizare a prezentei invenții, este furnizat un procedeu pentru obținerea unui compus cu formula **IC**, **ICa** și **ICb** sau o sare acceptabilă farmaceutic sau ester al acestuia, care cuprinde etapa de reacție a unui compus cu formula **II** cu un compus cu formula **III** pentru a da un compus cu formula **IV**:



în care (în care este permis de posibilele grupări substituente):

X este -NH-;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

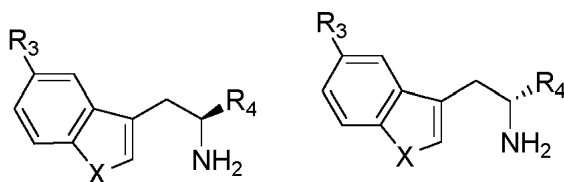
R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C_1-C_{12} substituit sau nesubstituit, alchenil C_2-C_{12} substituit sau nesubstituit, alchinil C_2-C_{12} substituit sau nesubstituit;
și R^c este ales dintre alchil C_1-C_{12} substituit sau nesubstituit, alchenil C_2-C_{12} substituit sau nesubstituit, alchinil C_2-C_{12} substituit sau nesubstituit.

5

Procedee preferate conform prezentei invenții includ:

- Un procedeu care utilizează un compus cu formula **II** în care:
 R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ în care R^a este alchil C_1-C_{12} substituit sau nesubstituit. Mai preferat în special R^a este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Mai preferat R^a este o grupare alchil substituită sau nesubstituită aleasă dintre metil, etil, *n*-propil, izopropil și butil, inclusiv *n*-butil, *sec*-butil, izobutil și *tert*-butil, metil fiind cea mai preferată grupare R^a .
- Un procedeu în care compusul cu formula **III** este ales dintr-un compus cu formula **IIIa** și **IIIb**:



15

IIIa**IIIb**

.....
în care

X este -NH-;

R_3 este ales dintre hidrogen și OR^b în care R^b este alchil C_1-C_{12} substituit sau nesubstituit. În special preferat R^b este un alchil C_1-C_6 substituit sau nesubstituit. Mai preferat R^b este o grupare alchil substituită sau nesubstituită aleasă dintre metil, etil, *n*-propil, izopropil și butil, inclusiv *n*-butil, *sec*-butil, izobutil și *tert*-butil. Mai preferat R^3 este hidrogen sau metoxi. Cel mai preferat R^3 este hidrogen.
 R^4 este $-CH_2OH$.

20

- Un procedeu care utilizează un compus cu formula **III**, **IIIa** sau **IIIb** în care R_4 este $-CH_2OH$

Fiind preferat un procedeu care utilizează un compus cu formula **IIIa** sau **IIIb** în care R_4 este așa cum este definit mai sus.

Fiind mai preferat un procedeu care utilizează un compus cu formula **IIIa** în care R_4 este așa cum este definit mai sus.

25

EXEMPLE

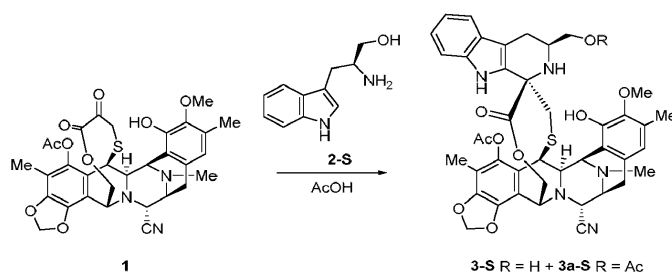
Compusul 1 a fost preparat așa cum este descris în Exemplul 20 din WO 01/87895.

Compușii de referință **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, **F**, **ET-736** și **PM01183** au fost preparați așa cum este descris în WO 03/014127 (Compușii **19**, **18**, **44**, **43**, **2,1**, **26** și respectiv **27**).

30

Exemplul 1.

A)



35

La o soluție de **1** (0,5 g, 0,80 mmol) în acid acetic (20 mL, 0,04 M) s-a adăugat L-triptofanol (**2-S**) (533 mg, 3,0 mmol, Sigma-Aldrich). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 16 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de $NaHCO_3$ și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 , s-au filtrat și s-au concentrat în vid. Cromatografia rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) a dat compușii **3-S** (616 mg, 97%) și **3a-S** (12 mg, 2%).

3-S

R_f = 0,50 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 7,71 (s, 1 H), 7,36 (dd, *J* = 7,9, 1,0 Hz, 1 H), 7,27 (dd, *J* = 8,2, 0,9 Hz, 1 H), 7,13 (ddd, *J* = 8,3, 7,0, 1,2 Hz, 1 H), 7,03 (ddd, *J* = 8,0, 7,0, 1,0 Hz, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,26 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,04 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,14 (dd, *J* = 11,7, 1,2 Hz, 1 H), 4,60 (s, 1 H), 4,41 (s, 1 H), 4,36-4,24 (m, 2H), 4,21 (d, *J* = 2,7 Hz, 1 H), 3,82 (s, 3H), 3,52 (s, 1 H), 3,50-3,47 (m, 1 H), 3,45 (dq, *J* = 8,4, 2,2 Hz, 1 H), 3,35 (t, *J* = 10,1 Hz, 1 H), 3,01-2,78 (m, 5H), 2,62 (dd, *J* = 15,3, 4,7 Hz, 1 H), 2,41 (s, 1 H), 2,38 (s, 3H), 2,37-2,31 (m, 1 H), 2,28 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,06 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 794,2 (M+H)⁺.

3a-S

R_f = 0,70 (Hexan:EtOAc, 1:1).

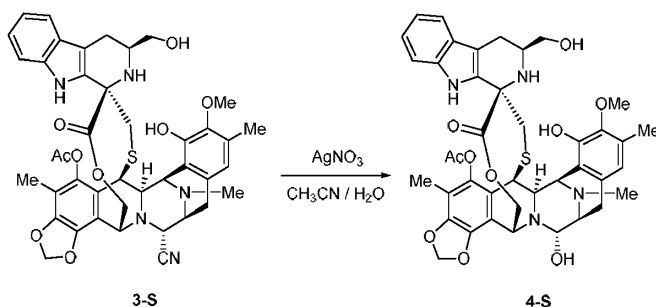
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7,83 (s, 1 H), 7,38 (dt, *J* = 7,9, 0,9 Hz, 1 H), 7,25 (dt, *J* = 8,3, 0,9 Hz, 1 H), 7,11 (ddd, *J* = 8,2, 7,1, 1,2 Hz, 1 H), 7,02 (ddd, *J* = 8,0, 7,0, 1,0 Hz, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,24 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,03 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,79 (s, 1 H), 5,13 (d, *J* = 11,7 Hz, 1 H), 4,60 (s, 1 H), 4,39 (s, 1 H), 4,36-4,22 (m, 3H), 4,17-4,09 (m, 1 H), 3,91 (dd, *J* = 10,5, 8,6 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3H), 3,51-3,41 (m, 2H), 3,04-2,92 (m, 3H), 2,72 (dd, *J* = 15,1, 4,0 Hz, 1H), 2,54-2,41 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,35-2,30 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,21-2,16 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,12 (s, 3H); 2,05 (s, 3H).

¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): δ 171,2, 170,7, 168,6, 147,5, 145,8, 143,0, 141,1, 140,4, 135,6, 130,1, 129,5, 126,7, 122,2, 121,2, 120,9, 119,4, 118,4, 118,2, 113,6, 113,5, 110,9, 110,0, 109,1, 102,1, 91,4, 67,2, 63,4, 61,3, 60,4, 59,7, 59,1, 54,8, 54,6, 47,7, 42,0, 41,6, 31,6, 24,0, 22,6, 24,0, 21,0, 15,9, 14,2, 9,7.

ESI-MS *m/z*: 836,2 (M+H)⁺. (M+H)⁺.

B)

B)



La o soluție de 3-S (616 mg, 0,77 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 51 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (3,40 g, 23,3 mmol). După 3 ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat sub vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da 4-S (471 mg, 78%).

R_f = 0,50 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

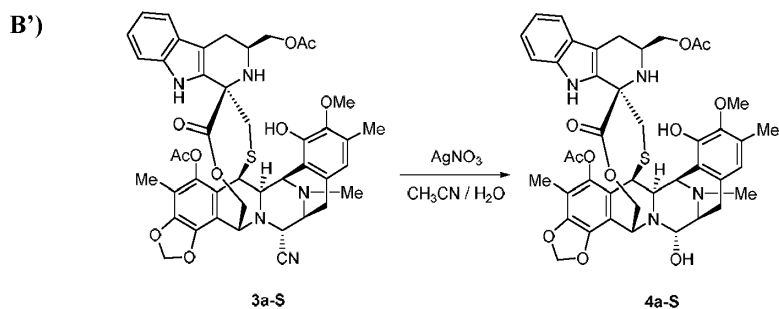
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7,71 (s, 1 H), 7,36 (dd, *J* = 7,8, 1,1 Hz, 1 H), 7,26 (dd, *J* = 7,8, 1,1 Hz, 1 H), 7,12 (ddd, *J* = 8,2, 7,0, 1,2 Hz, 1 H), 7,03 (ddd, *J* = 8,0, 7,1, 1,0 Hz, 1 H), 6,64 (s, 1 H), 6,23 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 6,01 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,25 (d, *J* = 11,4 Hz, 1 H), 4,92 (s, 1 H), 4,52 (br s, 3H), 4,22 (dd, *J* = 11,4, 2,2 Hz, 1 H), 4,19 (s, 1 H), 3,83 (s, 3H), 3,54 (br s, 2H), 3,35 (t, *J* = 10,2 Hz, 1 H), 3,26 (s, 1 H), 3,01-2,93 (m, 3H), 2,88 (br s, 3H), 2,63 (dd, *J* = 15,2, 4,8 Hz, 1 H), 2,38 (s, 3H), 2,36-2,31 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃): δ 171,9, 168,6, 147,5, 145,4, 142,9, 141,2, 140,7, 135,5, 130,4, 126,8, 122,3, 122,0, 121,3, 119,4, 118,4, 115,2, 112,8, 111,0, 110,0, 109,6, 101,8, 81,9, 76,8, 65,2, 62,8, 62,5, 60,4, 58,1, 57,9, 55,9, 55,1, 53,4, 51,6, 41,8, 41,3, 39,6, 24,1, 23,8, 20,5, 15,8, 9,7.

ESI-MS *m/z*: 767,3 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z* 767,2788 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₃N₄O₉S: 767,2745).

B')



La o soluție de **3a-S** (30 mg, 0,035 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 2,4 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (180 mg, 1,07 mmol). După 3 ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **4a-S** (24 mg, 83%).

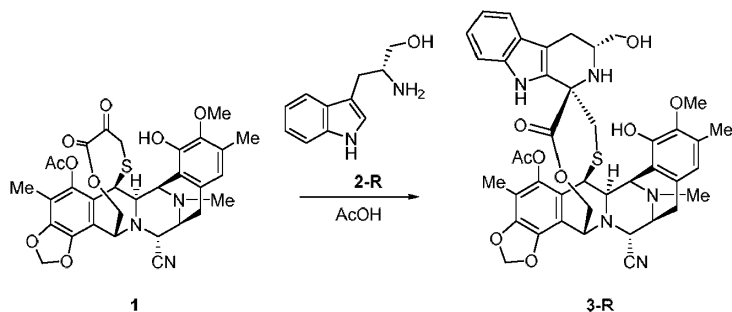
R_f = 0,60 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,81 (s, 1 H), 7,37 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,30-7,21 (m, 1 H), 7,06 (dddt, *J* = 34,7, 8,0, 7,1, 1,1 Hz, 2H), 6,63 (s, 1 H), 6,22 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 6,02 (dd, *J* = 12,9, 1,4 Hz, 1 H), 5,74 (s, 1 H), 5,25-5,21 (m, 1 H), 4,89 (d, *J* = 8,7 Hz, 1 H), 4,55-4,45 (m, 2H), 4,30-4,18 (m, 1 H), 4,14 (dd, *J* = 10,5, 4,2 Hz, 1 H), 4,00-3,88 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,56-3,44 (m, 2H), 3,23 (d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 2,95 (d, *J* = 15,7 Hz, 2H), 2,87-2,78 (m, 2H), 2,71 (dd, *J* = 15,0, 3,9 Hz, 1 H), 2,48 (dd, *J* = 15,1, 9,6 Hz, 1 H), 2,37 (s, 3H), 2,35-2,29 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,22-2,16 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,03 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 809,2 (M-H₂O+H)⁺.

Exemplul 2

A)



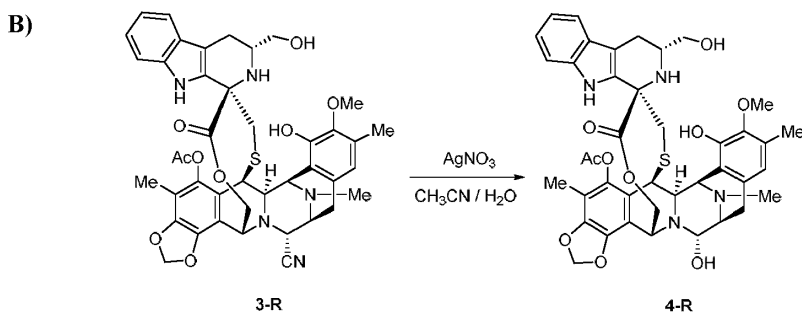
La o soluție de **1** (0,5 g, 0,80 mmol) în acid acetic (20 mL, 0,04 M) s-a adăugat D-triptofanol (**2-R**) (533 mg, 3,0 mmol, Sigma-Aldrich). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 16 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Cromatografia rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) a dat compusul **3-R** (479 mg, 75%).

R_f = 0,44 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,61 (s, 1 H), 7,39 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,29 (d, *J* = 9,6 Hz, 1 H), 7,12 (t, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 7,03 (t, *J* = 7,3 Hz, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 6,25 (s, 1 H), 6,03 (s, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,04 (d, *J* = 11,7 Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,37 (s, 1 H), 4,32-4,25 (m, 1 H), 4,22 (d, *J* = 2,7 Hz, 1 H), 4,19-4,09 (m, 1 H), 3,82 (s, 3H), 3,77 (s, 1 H), 3,64 (d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 3,49-3,41 (m, 2H), 3,02-2,90 (m, 2H), 2,60-2,52 (m, 2H), 2,45 (d, *J* = 14,7 Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,22-2,14 (m, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,10 (m, 3H).

ESI-MS *m/z*: 794,3 (M+H)⁺.

B)



La o soluție de **3-R** (479 mg, 0,60 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 40 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (3,03 g, 18,1 mmol). După 3 ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și s-au concentrat sub vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține **4-R** (428 mg, 91%).

R_f = 0,45 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

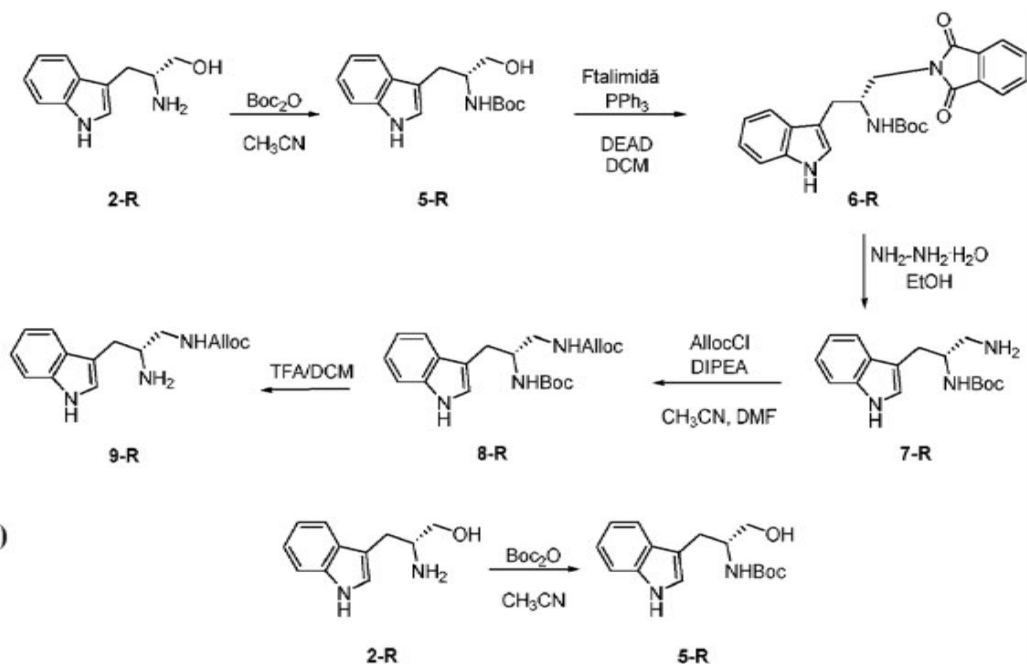
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,62 (s, 1 H), 7,39 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,28 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,11 (ddd, *J* = 8,2, 7,0, 1,2 Hz, 1 H), 7,02 (ddd, *J* = 7,9, 7,1, 1,0 Hz, 1 H), 6,61 (s, 1 H), 6,22 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,99 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,73 (s, 1 H), 5,17 (dd, *J* = 11,5, 1,2 Hz, 1 H), 4,86 (s, 1 H), 4,56-4,47 (m, 2H), 4,17 (dd, *J* = 5,1, 1,6 Hz, 1 H), 4,08 (dd, *J* = 11,5, 2,1 Hz, 1 H), 3,81 (s, 3H), 3,78 (d, *J* = 3,8 Hz, 1 H), 3,64 (dd, *J* = 10,8, 3,8 Hz, 2H), 3,51 (d, *J* = 5,1 Hz, 1 H), 3,48-3,43 (m, 2H), 3,24 (d, *J* = 8,6 Hz, 1 H), 3,00-2,80 (m, 2H), 2,57 (s, 1 H), 2,55-2,43 (m, 1 H), 2,40 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,19-2,12 (m, 1 H), 2,16 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): δ 171,8, 168,6, 147,6, 145,4, 143,0, 141,3, 140,7, 136,0, 131,1, 130,0, 129,6, 126,6, 122,1, 121,6, 121,2, 119,4, 118,4, 115,6, 112,9, 111,1, 110,6, 101,8, 81,7, 65,8, 62,7, 61,8, 60,4, 60,3, 57,9, 57,8, 56,1, 55,0, 52,1, 42,2, 41,3, 41,1, 23,8, 23,4, 20,5, 15,7, 9,8.

ESI-MS *m/z*: 767,6 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 767,2799 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₃N₄O₉S: 767,2745).

Exemplul de referință 3. Prepararea *N*-[(*R*)-(2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)propil)]carbamatului de alil (**9-R**)



La o soluție de D-tryptofanol (**2-R**) (2,0 g, 10,4 mmoli) în CH₃CN (42 mL, 4 mL/mmol) s-a

adăugat dicarbonat de di-terț-butil (4,6 g, 20,8 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 3 ore și s-a concentrat în vid. Cromatografia rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH de la 99:1 la 85:15) obținându-se **5-R** (2,2 g, 73%).

R_f = 0,5 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,13 (s, 1 H), 7,67 (dd, *J* = 7,8, 1,1 Hz, 1 H), 7,38 (dd, *J* = 8,1, 1,3 Hz, 1 H), 7,29-7,10 (m, 2H), 7,06 (s, 1 H), 4,82 (s, 1 H), 4,00 (s, 1 H), 3,71 (dd, *J* = 11,0, 3,8 Hz, 1 H), 3,62 (dd, *J* = 11,0, 5,5 Hz, 1 H), 3,01 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H), 2,14 (s, 1 H), 1,44 (s, 9H).

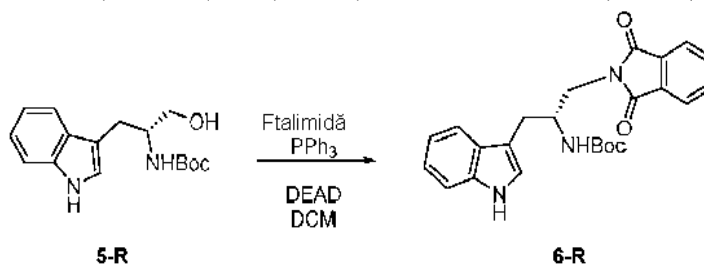
B)

La o soluție de **5-R** (2,4 g, 8,2 mmol) în CH₂Cl₂ (50 mL, 6 mL/mmol) s-au adăugat ftalimidă (2,7 g, 18,2 mmol), trifenilfosfină (4,8 g, 18,2 mmol) și amestecul a fost răcit la 0°C. O soluție de azodicarboxilat de dietil în CH₂Cl₂ (25 mL, 3 mL/mmol) s-a adăugat timp de 15 min. Reacția a fost agitată la 23°C timp de 16 ore, s-a concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **6-R** (3,3 g, 96%).

R_f = 0,7 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹HRMN(400 MHz, CDCl₃): δ 8,50 (s, 1 H), 7,81 (dd, *J* = 5,5, 3,1 Hz, 2H), 7,66 (dd, *J* = 5,6, 3,2

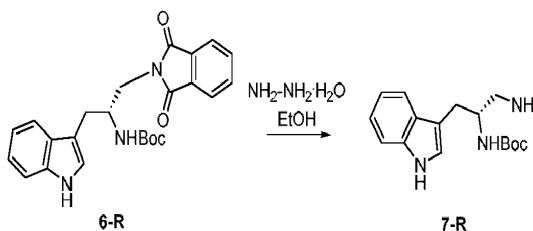
B)



Hz, 2H), 7,60 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,19-7,04 (m, 3H), 4,81 (s, 1 H), 4,40 (s, 1 H), 3,83 (dd, *J* = 13,9, 3,7 Hz, 1 H), 3,72 (dd, *J* = 13,9, 9,9 Hz, 1 H), 3,08-3,01 (m, 2H), 1,23 (s, 9H).

C)

C)



La o soluție de **6-R** (3,25 g, 7,74 mmol) în etanol (231 mL, 30 mL/mmol) s-a adăugat hidrazină monohidrat (37 mL, 774 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat timp de 2,25 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (EtOAc:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50) s-a obținut **7-R** (2,15 g, 96%).

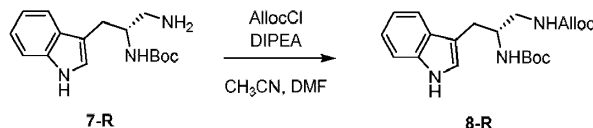
R_f = 0,2 (EtOAc:CH₃OH, 6:4).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,60 (d, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,33 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,13-7,04 (m, 2H), 7,05-6,96 (m, 1 H), 4,02-3,94 (m, 1 H), 2,99-2,87 (m, 3H), 2,78 (dd, *J* = 13,1, 9,7 Hz, 1 H), 1,39 (s, 9H).

ESI-MS *m/z*: 290,2 (M+H)⁺.

D)

D)



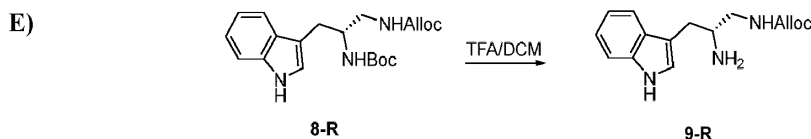
La o soluție de **7-R** (2,15 g, 7,4 mmol) în CH₃CN (74 mL, 10 mL/mmol) și DMF (7,4 mL, 1 mL/mmol) s-a adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (1,06 mL, 5,9 mmol) și cloroformiat de alil (7,9 mL, 74 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 16 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc, s-a adăugat NH₄Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a se obține **8-R** (1,69 g, 61%).

R_f = 0,4 (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,25 (s, 1 H), 7,62 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,35 (dd, $J = 8,1, 0,9$ Hz, 1 H), 7,16 (dddd, $J = 27,8, 8,0, 7,0, 1,1$ Hz, 2H), 7,04 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 5,90 (ddt, $J = 17,3, 10,7, 5,6$ Hz, 1 H), 5,34-5,22 (m, 1 H), 5,20 (dt, $J = 10,5, 1,4$ Hz, 1 H), 5,12 (s, 1 H), 4,82 (s, 1 H), 4,55 (dq, $J = 5,4, 1,7$ Hz, 2H), 4,02 (s, 1 H), 3,35 (dt, $J = 10,0, 4,7$ Hz, 1 H), 3,21 (s, 1 H), 2,95 (ddd, $J = 21,6, 15,4, 9,1$ Hz, 2H), 1,42 (s, 9H).

ESI-MS m/z : 274.3 ($\text{M-Boc}+\text{H}$) $^+$.

E)



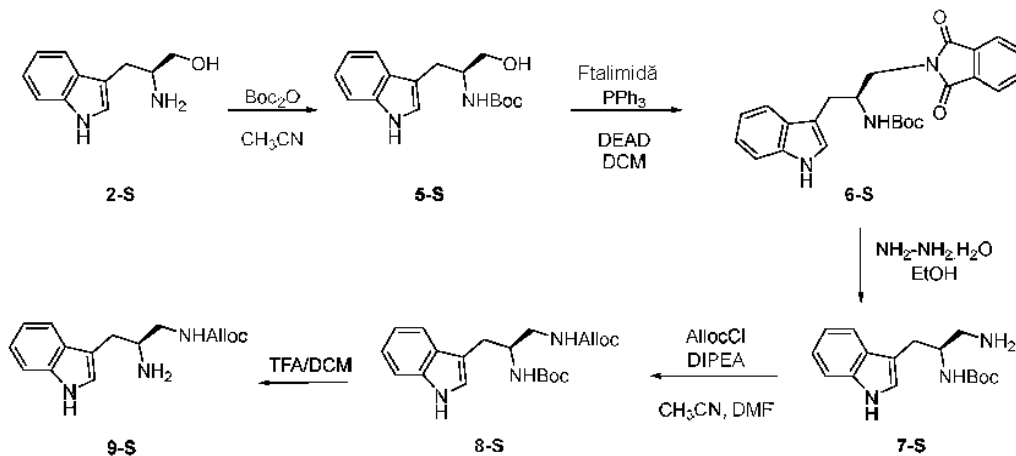
La o soluție de **8-R** (1.30 g, 3,50 mmol) în CH_2Cl_2 (58 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoroacetic (30 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 1,5 ore, s-a concentrat în vid pentru a se obține **9-R** brut care a fost folosit în etapele următoare fără purificare ulterioară.

$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

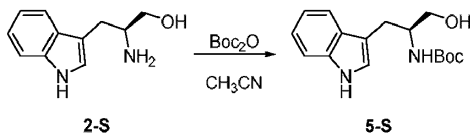
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,95 (s, 1 H), 7,53 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,36 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,17 (s, 1 H), 7,09 (t, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 7,03 (t, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 5,87 (ddt, $J = 16,4, 10,8, 5,6$ Hz, 1 H), 5,34-5,13 (m, 2H), 4,50 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,62 (bs, 1 H), 3,42 (dd, $J = 14,9, 3,9$ Hz, 1 H), 3,36-3,20 (m, 1 H), 3,11-3,00 (m, 2H).

ESI-MS m/z : 274.3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Exemplul de referință 4. Prepararea *N*-[(*S*)-(2-amino-3-(1*H*-indol-3-il)propil)]carbamatului de alil (**9-S**)



A)



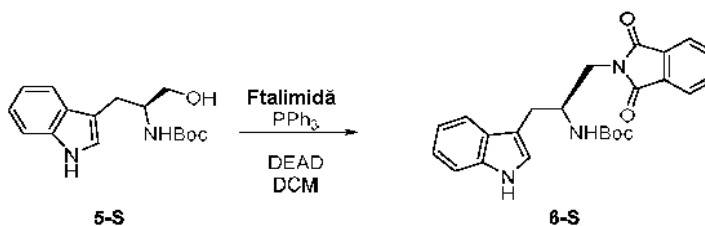
La o soluție de L-triptofanol (**2-S**) (2,0 g, 10,4 mmoli) în CH_3CN (42 mL, 4 mL/mmol) s-a adăugat dicarbonat de di-*tert*-butil (4,6 g, 20,8 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat timp de 3 ore la 23°C și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) s-a obținut **5-S** (2,24 g, 73%).

$R_f = 0,5$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,10 (s, 1 H), 7,65 (dd, $J = 7,8, 1,1$ Hz, 1 H), 7,37 (dd, $J = 8,1, 1,3$ Hz, 1 H), 7,23-7,11 (m, 2H), 7,06 (s, 1 H), 4,81 (s, 1 H), 3,99 (s, 1 H), 3,70 (dd, $J = 11,0, 3,8$ Hz, 1 H), 3,61 (dd, $J = 11,0, 5,5$ Hz, 1 H), 3,00 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,01 (s, 1 H), 1,42 (s, 9H).

B)

B)



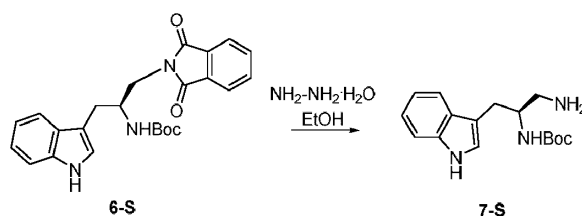
La o soluție de 5-S (1,2 g, 4,13 mmol) în CH₂Cl₂ (24,8 mL, 6 mL/mmol) s-a adăugat ftalimidă (1,33 g, 9,1 mmol), trifenilfosfină (2,4 g, 9,1 mmol) și amestecul a fost răcit la 0°C. O soluție de azodicarboxilat de dietil (3 mL, 10,32 mmol) în CH₂Cl₂ (12,4 mL, 3 mL/mmol) a fost adăugat timp de 15 min. Reacția a fost agitată la 23°C timp de 16 ore și s-a concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține 6-S (2,8 g, >100%).

R_f = 0,7 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,49 (s, 1 H), 7,80 (dd, *J* = 5,4, 3,1 Hz, 2H), 7,66 (dd, *J* = 5,6, 3,2 Hz, 2H), 7,60 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,34 (d, *J* = 8,0 Hz, 1 H), 7,21-7,04 (m, 3H), 4,74 (s, 1 H), 4,42 (s, 1 H), 3,83 (dd, *J* = 13,9, 3,7 Hz, 1 H), 3,72 (dd, *J* = 13,9, 9,9 Hz, 1 H), 3,10-3,01 (m, 2H), 1,23 (s, 9H).

C)

C)



La o soluție de 6-S (0,86 g, 2,07 mmol) în etanol (72 mL, 36 mL/mmol) s-a adăugat hidrazină monohidrat (10 mL, 207 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat timp de 2,25 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (EtOAc:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50) s-a obținut 7-S (1,0 g, 84%).

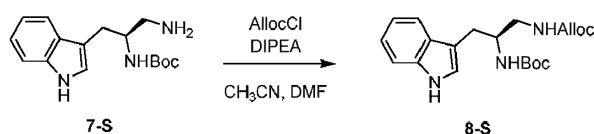
R_f = 0,2 (EtOAc:CH₃OH, 6:4).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,61 (d, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,35 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,13-6,97 (m, 2H), 7,09 (s, 1 H), 4,06-3,96 (m, 1 H), 3,01-2,76 (m, 4H), 1,38 (s, 9H).

ESI-MS *m/z*: 290,3 (M+H)⁺.

D)

D)



La o soluție de 7-S (0,95 g, 3,3 mmol) în CH₃CN (33 mL, 10 mL/mmol) și DMF (3,3 mL, 1 mL/mmol) s-au adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (0,5 mL, 2,6 mmol) și cloroformiat de alil (3,5 mL, 33 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 20 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc, s-a adăugat NH₄Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a se obține 8-S (0,88 g, 73%).

R_f = 0,5 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,17 (s, 1 H), 7,63 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,20 (dd, *J* = 8,1, 0,9 Hz, 1 H), 7,13 (dddd, *J* = 27,8, 8,0, 7,0, 1,1 Hz, 2H), 7,06 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 5,90 (ddt, *J* = 17,3, 10,7, 5,6 Hz, 1H), 5,31-5,18 (m, 2H), 5,09 (s, 1H), 4,80 (s, 1H), 4,59-4,52 (m, 2H), 4,03 (s, 1H), 3,37 (dt, *J* = 10,0, 4,7 Hz, 1 H), 3,21 (s, 1 H), 3,05-2,87 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

ESI-MS *m/z*: 274,3 (M-Boc+H)⁺.

E)

E)



La o soluție de **8-S** (0.875 g, 2,3 mmol) în CH_2Cl_2 (38 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoroacetic (19 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 2 ore, s-a concentrat în vid pentru a da **9-S** brut care a fost folosit în etapele următoare fără purificare ulterioară.

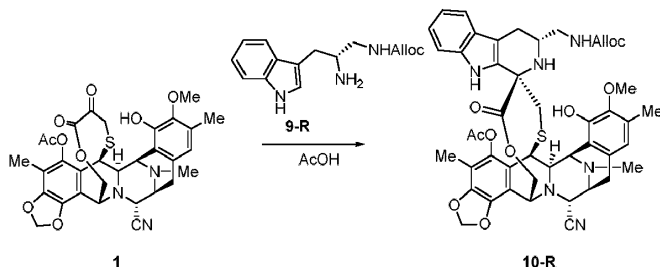
$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,56 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,37 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,21 (s, 1 H), 7,13 (t, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 7,05 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,94 (ddt, $J = 16,4, 10,8, 5,6$ Hz, 1 H), 5,34-5,16 (m, 2H), 4,56 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H), 3,60 (bs, 1H), 3,43 (dd, $J = 14,9, 3,9$ Hz, 1 H), 3,37-3,31 (m, 1 H), 3,14-2,99 (m, 2H).

ESI-MS m/z : 274,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Exemplul de referință 5

A)



La o soluție de **1** (1,45 g, 2,33 mmol) în acid acetic (58 mL, 0,08 M) s-au adăugat **9-R** (0.95 g, 3,50 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 18 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) s-a obținut compusul **10-R** (1,3 g, 64%).

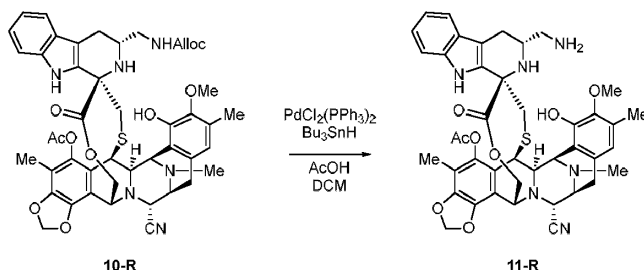
$R_f = 0,5$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,66 (s, 1 H), 7,36 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,27 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,10 (ddd, $J = 8,3, 7,0, 1,3$ Hz, 1 H), 7,01 (td, $J = 7,5, 7,0, 1,0$ Hz, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,23 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,01 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 5,99-5,89 (m, 1H), 5,79 (s, 1H), 5,44-5,21 (m, 2H), 5,14-4,99 (m, 2H), 4,63 (ddd, $J = 7,3, 4,4, 1,5$ Hz, 2H), 4,36 (s, 1 H), 4,33-4,24 (m, 1 H), 4,29-4,26 (m, 1 H), 4,21 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H), 4,19-4,13 (m, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,56 (s, 1 H), 3,48-3,43 (m, 3H), 3,27 (dt, $J = 13,2, 4,0$ Hz, 1 H), 3,04-2,88 (m, 2H), 2,56 (dd, $J = 15,2, 3,8$ Hz, 1 H), 2,49-2,35 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 877,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



La o soluție de **10-R** (600 mg, 0,68 mmol) în CH_2Cl_2 (12 mL, 18 mL/mmol) s-a adăugat diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (77 mg, 0,1 mmol) și acid acetic (0,4 mL, 6,8 mmol). S-a adăugat hidrură de tributilstaniu (1,1 mL, 4,08 mmol) la 0°C, amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 0,5 ore și s-a concentrat în vid. Produsul brut obținut a fost diluat cu EtOAc, s-a adăugat soluție apoasă saturată de NH_4Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost

uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și EtOAc: CH_3OH , de la 100:1 la 1:100) s-a obținut **11-R** (440 mg, 82%).

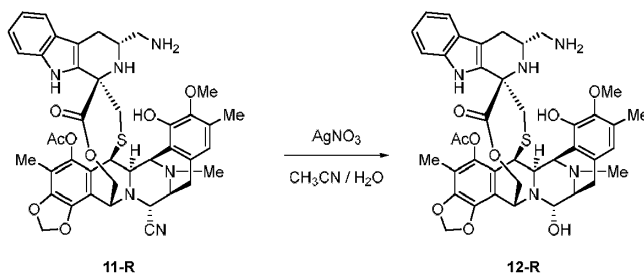
$R_f = 0,5$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,64 (s, 1 H), 7,38 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,11 (ddt, $J = 8,3, 7,0, 1,4$ Hz, 1 H), 7,03 (ddt, $J = 8,3, 7,0, 1,4$ Hz, 1 H), 6,58 (s, 1 H), 6,24 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 6,02 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 5,02 (d, $J = 11,8$ Hz, 1 H), 4,63 (s, 1 H), 4,36 (s, 1 H), 4,28 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 4,21 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 4,16 (s, 1 H), 3,80 (s, 3H), 3,51-3,39 (m, 4H), 3,32-3,13 (m, 3H), 2,95 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 2,89-2,76 (m, 2H), 2,73-2,57 (m, 1H), 2,42 (d, $J = 14,8$ Hz, 1 H), 2,36 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,09 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 793,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

C)

C)



La o soluție de **11-R** (850 mg, 1,07 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 70 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (3,64 g, 21,4 mmol). După 17 ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **12-R** (553 mg, 66%).

$R_f = 0,3$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7,60 (s, 1 H), 7,38 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,28 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,11 (ddt, $J = 8,3, 7,1, 1,2$ Hz, 1 H), 7,02 (ddt, $J = 8,3, 7,1, 1,2$ Hz, 1 H), 6,58 (s, 1 H), 6,22 (s, 1 H), 6,00 (s, 1 H), 5,16 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,87 (s, 1 H), 4,54 (s, 1 H), 4,51 (d, $J = 3,3$ Hz, 1 H), 4,17 (d, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 4,07 (dd, $J = 11,3, 2,2$ Hz, 1 H), 3,81 (s, 3H), 3,52 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 3,24 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 2,99-2,78 (m, 4H), 2,66 (dd, $J = 14,9, 3,5$ Hz, 1 H), 2,49-2,39 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,28 (m, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,21-2,16 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

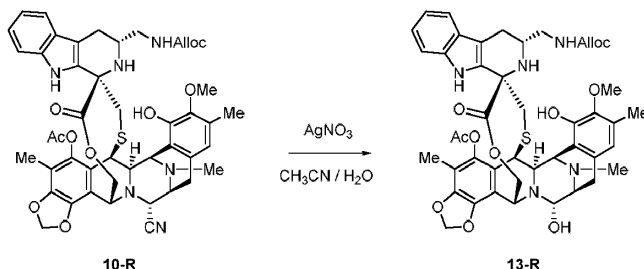
^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 171,7, 169,4, 148,7, 145,9, 143,7, 141,4, 140,9, 136,9, 130,8, 130,0, 129,7, 126,0, 121,4, 121,0, 119,7, 119,1, 118,4, 117,5, 114,9, 110,8, 107,5, 106,4, 102,1, 91,3, 63,2, 60,0, 59,0, 58,6, 55,3, 54,6, 52,7, 52,4, 48,4, 45,8, 42,5, 40,2, 24,5, 23,2, 19,2, 15,0, 8,2.

ESI-MS m/z : 766,2 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 766,2972 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{41}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}^+$: 766,2905).

C')

C')



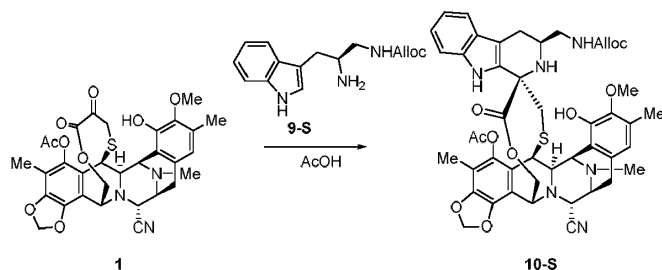
La o soluție de **10-R** (700 mg, 0,8 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 87,5 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (2,66 g, 16 mmol). După 20 ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **13-R** (438 mg, 63%).

$R_f = 0,40$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,64 (s, 1 H), 7,37 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,32-7,20 (m, 1 H), 7,11 (t, $J = 7,7$ Hz, 1 H), 7,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,21 (s, 1 H), 6,05-5,90 (m, 1 H), 5,99 (s, 1 H), 5,75 (d, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 5,40-5,07 (m, 4H), 4,88 (d, $J = 14,7$ Hz, 1 H), 4,68-4,50 (m, 3H), 4,28-4,13 (m, 1 H), 4,08 (dt, $J = 11,4, 2,4$ Hz, 1 H), 3,83 (s, 3H), 3,68-3,40 (m, 4H), 3,37-3,19 (m, 2H), 2,98-2,79 (m, 2H), 2,59-2,36 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,10-2,16 (m, 1 H), 2,08 (s, 3H).
ESI-MS m/z : 850,3 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

Exemplul de referință 6

A)



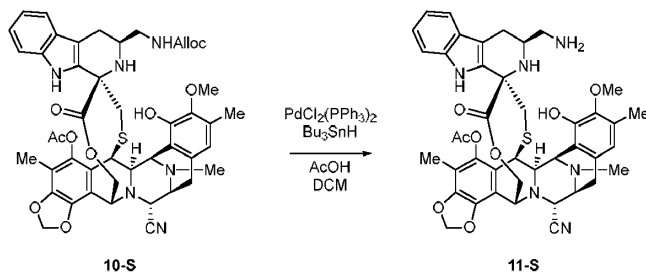
La o soluție de **1** (955 mg, 1,5 mmol) în acid acetic (37,5 mL, 0,08 M) s-a adăugat **9-S** (627 mg, 2,29 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 18 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. A fost adăugată o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) s-a obținut compusul **10-S** (756 mg, 58%).

$R_f = 0,4$ (Hexan: EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,78 (s, 1 H), 7,36 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,24 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,10 (ddd, $J = 8,3, 7,0, 1,3$ Hz, 1 H), 7,01 (td, $J = 7,5, 7,0, 1,0$ Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 6,23 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,01 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,07-5,93 (m, 1 H), 5,82 (s, 1 H), 5,41-5,19 (m, 2H), 5,1 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,66 (dt, $J = 5,9, 1,3$ Hz, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,37 (s, 1 H), 4,33-4,20 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,46 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H), 3,22-3,13 (m, 1 H), 3,11-2,88 (m, 4H), 2,66 (dd, $J = 15,2, 4,2$ Hz, 1 H), 2,51 (dd, $J = 15,3, 6,0$ Hz, 1 H), 2,43-2,32 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 877,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)



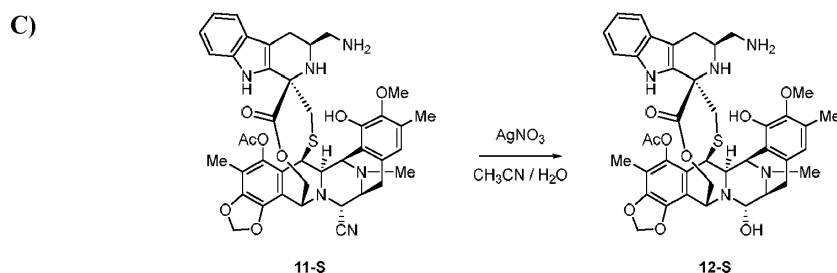
La o soluție de **10-S** (650 mg, 0,72 mmol) în CH_2Cl_2 (13,3 mL, 18 mL/mmol) s-a adăugat diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (83 mg, 0,11 mmol) și acid acetic (0,42 mL, 7,4 mmol). S-a adăugat hidru de tributilstaniu (1,2 mL, 4,4 mmol) la 0°C, amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 0,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și EtOAc: CH_3OH , de la 100:1 la 1:100) s-a obținut **11-S** (445 mg, 78%).

$R_f = 0,5$ (CH_2Cl_2 : CH_3OH , 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,74 (s, 1 H), 7,36 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,26 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,12 (ddd, $J = 8,3, 7,0, 1,4$ Hz, 1 H), 7,02 (ddt, $J = 8,3, 7,0, 1,4$ Hz, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,26 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 6,04 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 5,12 (d, $J = 11,8$ Hz, 1 H), 4,59 (s, 1 H), 4,42 (s, 1 H), 4,36-4,17 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,51-3,39 (m, 3H), 2,98-2,75 (m, 4H), 2,69-2,60 (m, 2H), 2,47 (d, $J = 16,1$ Hz, 1 H), 2,38 (s, 3H), 2,35-2,17 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 793,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

C)



La o soluție de **11-S** (435 mg, 0,55 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 38,5 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (1,84 g, 11 mmol). După 24 de ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **12-S** (152 mg, 35%).

R_f = 0,2 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

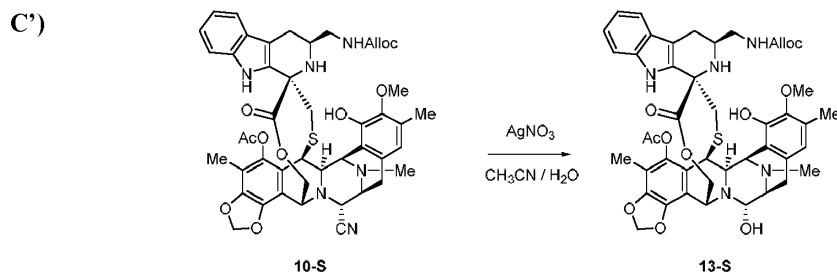
¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 7,34 (dd, *J* = 7,7, 1,5 Hz, 1 H), 7,28 (dd, *J* = 7,7, 1,5 Hz, 1 H), 7,04 (ddt, *J* = 8,2, 7,0, 1,1 Hz, 1 H), 6,95 (ddt, *J* = 8,2, 7,0, 1,2 Hz, 1 H), 6,55 (s, 1 H), 6,31-6,25 (m, 1 H), 6,15-6,05 (m, 1 H), 5,31 (d, *J* = 11,4 Hz, 1 H), 4,91 (s, 1 H), 4,64 (s, 1 H), 4,40-4,19 (m, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,64 (d, *J* = 5,2 Hz, 1 H), 3,44 (d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 3,03-2,85 (m, 4H), 2,85-2,65 (m, 2H), 2,59 (d, *J* = 15,6 Hz, 1 H), 2,52-2,39 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

¹³C RMN (126 MHz, CD₃OD): δ 171,4, 169,3, 148,6, 145,8, 143,5, 141,2, 140,8, 136,5, 131,2, 130,3, 129,5, 126,3, 121,6, 121,2, 119,8, 119,4, 118,6, 117,5, 114,9, 111,0, 107,5, 107,4, 102,2, 91,1, 63,5, 60,5, 59,2, 58,5, 55,3, 54,7, 53,4, 52,7, 48,6, 44,7, 42,7, 39,9, 24,3, 23,4, 19,2, 15,1, 8,2.

ESI-MS *m/z*: 766,2 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 766,2958 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₄N₅O₈S: 766,2905).

C')



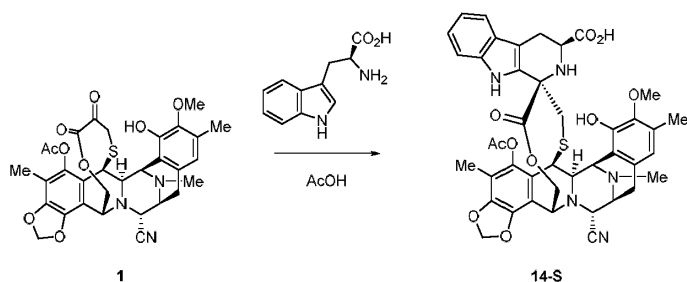
La o soluție de **10-S** (5 mg, 0,006 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 0,5 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (29 mg, 0,17 mmol). După 20 de ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și s-au concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **13-S** (5 mg, 100%).

R_f = 0,40 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,75 (s, 1 H), 7,37 (d, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,32-7,20 (m, 1 H), 7,12 (t, *J* = 7,7 Hz, 1 H), 7,02 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 6,84 (s, 1 H), 6,24 (s, 1 H), 6,08-5,97 (m, 1 H), 6,01 (s, 1 H), 5,87 (s, 1 H), 5,42-5,19 (m, 1 H), 4H), 4,88 (s, 1H), 4,69-4,65 (m, 2H), 4,58 (s, 1H), 4,28-4,13 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,68-3,40 (m, 2H), 3,24-3,15 (m, 2H), 3,08-2,90 (m, 2H), 2,73-2,57 (m, 2H), 2,53-2,37 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,10-2,16 (m, 1 H), 2,03 (s, 3H). ESI-MS *m/z*: 850,3 (M-H₂O+H)⁺.

Exemplul de referință 7. Prepararea compușilor de referință **14-S** și **15-S**

A)



La o soluție de **1** (50 mg, 0,08 mmol) în acid acetic (1 mL, 0,08 M) s-a adăugat L-triptofan (50 mg, 0,24 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 17 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. A fost adăugată o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 80:20) s-a obținut compusul **14-S** (58 mg, 90%).

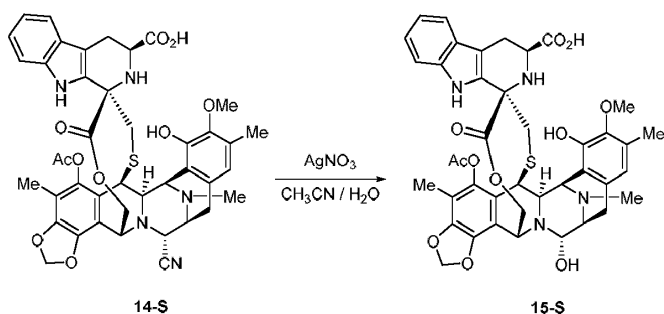
R_f = 0,20 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 10:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,77 (s, 1 H), 7,39 (d, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,25 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,13 (ddd, *J* = 8,2, 7,0, 1,2 Hz, 1 H), 7,04 (td, *J* = 7,5, 7,1, 1,0 Hz, 1 H), 6,56 (s, 1 H), 6,24 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 6,03 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,15 (d, *J* = 11,7 Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,43 (s, 1 H), 4,35 (dd, *J* = 11,7, 2,1 Hz, 1 H), 4,28 (dd, *J* = 5,2, 1,6 Hz, 1 H), 4,20 (s, 1 H), 3,78 (s, 3H), 3,52-3,41 (m, 4H), 3,07-2,88 (m, 2H), 2,91-2,80 (m, 2H), 2,42-2,21 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 808,6 (M+H)⁺.

B)

B)



La o soluție de **14-S** (52 mg, 0,066 mmol) în CH₃CN:H₂O (2:1, 4,5 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (164 mg, 1,45 mmol). După 20 de ore la 23 °C, un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃ s-a adăugat, s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 30 de minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 70:30) obținându-se **15-S** (18 mg, 35%).

R_f = 0,15 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,76 (s, 1 H), 7,40 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,25 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,14 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 7,04 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 6,58 (s, 1 H), 6,23 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 6,01 (d, *J* = 1,3 Hz, 1 H), 5,28 (d, *J* = 12,7 Hz, 1 H), 4,95 (s, 1 H), 4,53 (s, 1 H), 4,28 (dd, *J* = 11,4, 2,0 Hz, 1 H), 4,21 (s, 1 H), 3,80 (s, 3 H), 3,58 (s, 1 H), 3,52-3,47 (m, 2 H), 3,28 (s, 1 H), 3,03 (dd, *J* = 15,8, 5,2 Hz, 1 H), 2,91-2,82 (m, 3H), 2,44 (d, *J* = 15,4 Hz, 1 H), 2,36 (s, 3H), 2,35-2,31 (m, 1 H), 2,28 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,03 (s, 3H).

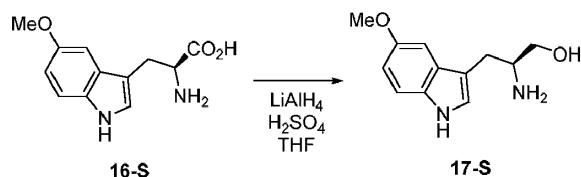
¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): δ 173,7, 171,2, 168,7, 147,5, 145,7, 142,8, 141,2, 140,8, 135,6, 129,8, 126,3, 122,8, 121,5, 121,2, 119,9, 118,6, 117,7, 115,0, 111,1, 101,9, 81,5, 66,8, 62,9, 60,4, 57,9, 55,8, 55,1, 52,3, 42,3, 41,3, 38,3, 31,9, 29,4, 28,9, 24,5, 24,0, 23,8, 22,7, 20,5, 16,0, 9,7.

ESI-MS *m/z*: 781,6 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 781,2610 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₁N₄O₁₀S: 781,2538).

Exemplul 8.

A) Prepararea (S)-5-metoxi-triptofanolului (**17-S**)



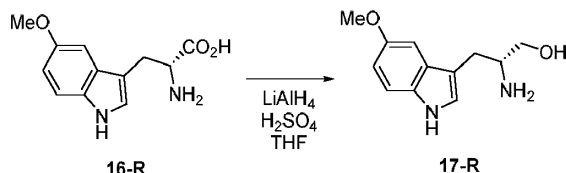
La o soluție de LiAlH_4 (23,4 mL, 1,0 M în THF, 23,4 mmol) la -40°C a fost adăugat cu grijă H_2SO_4 (0,31 mL, 5,57 mmol) și o suspensie de 5-metoxi-L-triptofan (**16-S**) (1,0 g, 4,26 mmol, Chem-Impex) în THF (13,4 mL, 0,3 M). Amestecul de reacție a fost lăsat să evolueze la 23°C , s-a încălzit timp de 3 ore la 80°C și 18 ore la 23°C . După răcire la -21°C amestecul de reacție a fost stins cu grijă cu NaOH 2N până la pH bazic. S-a adăugat EtOAc și amestecul s-a filtrat prin Celită® și s-a spălat cu CH_3OH . Produsul brut a fost concentrat în vid pentru a da **17-S** brut care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 4:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,19 (dt, $J = 8,8, 0,7$ Hz, 1 H), 7,06-7,00 (m, 2H), 6,72 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1 H), 3,77 (s, 3H), 3,63-3,48 (m, 1 H), 3,42-3,33 (m, 1 H), 3,17-3,06 (m, 1 H), 2,86 (ddt, $J = 14,3, 6,1, 0,8$ Hz, 1 H), 2,66 (dd, $J = 14,3, 7,5$ Hz, 1 H).

ESI-MS m/z : 221,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B) Prepararea (R)-5-metoxi-triptofanolului (**17-R**)



La o soluție de LiAlH_4 (11,7 mL, 1,0 M în THF, 11,7 mmol) la -40°C a fost adăugat cu grijă H_2SO_4 (0,31 mL, 5,75 mmol) și o suspensie de 5-metoxi-D-triptofan (**16-R**) (0,5 g, 2,13 mmol, Aldrich) în THF (6,7 mL, 0,3 M). Amestecul de reacție a fost lăsat să evolueze la 23°C , s-a încălzit timp de 3,5 ore la 80°C și 18 ore la 23°C . S-a răcit la -21°C , amestecul de reacție a fost stins cu grijă cu NaOH 2N până la pH bazic. S-a adăugat EtOAc și amestecul s-a filtrat prin Celită® și s-a spălat cu CH_3OH . Produsul brut a fost concentrat în vid pentru a da **17-R** ca produs brut, care a fost utilizat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

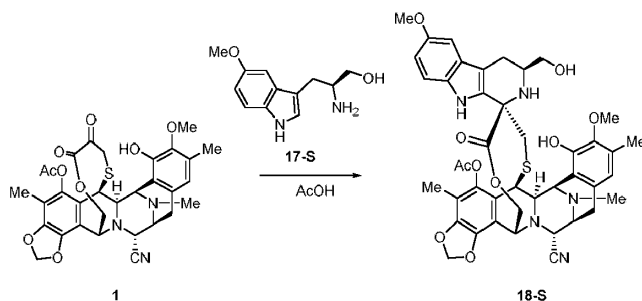
$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 4:1).

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,20 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 7,06-6,96 (m, 2H), 6,71 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1 H), 3,75 (s, 3H), 3,62-3,52 (m, 1 H), 3,37 (dd, $J = 10,8, 7,0$ Hz, 1 H), 3,09 (br s, 1 H), 2,82 (dd, $J = 14,3, 5,9$ Hz, 1 H), 2,62 (dd, $J = 14,4, 7,6$ Hz, 1 H).

ESI-MS m/z : 221,6 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Exemplul 9

A)



La o soluție de **1** (530 mg, 0,85 mmol) în acid acetic (10,6 mL, 0,08 M) s-a adăugat **17-S** (469 mg, 2,13 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 18 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 .

Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) s-a obținut compusul **18-S** (420 mg, 60%).

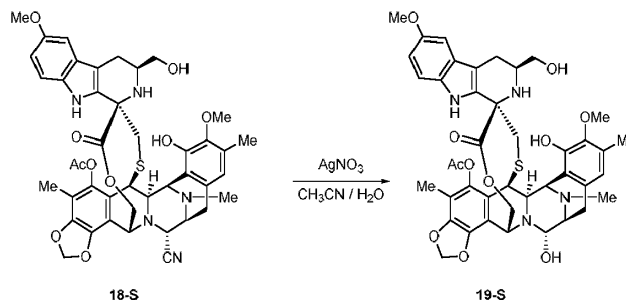
$R_f = 0,3$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,13 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 6,80 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,66 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1 H), 6,51 (s, 1 H), 6,27 (s, 1 H), 6,11 (s, 1 H), 5,21 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,67 (s, 1 H), 4,49-4,29 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,47 (t, $J = 5,8$ Hz, 3H), 3,37 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 3,01-2,81 (m, 2H), 2,75 (d, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 2,66 (dd, $J = 15,1, 4,1$ Hz, 1 H), 2,55-2,35 (m, 4H), 2,34 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 824,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



La o soluție de **18-S** (420 mg, 0,519 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 36 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (2,60 g, 15,3 mmol). După 3 ore la 23 °C, amestecul de reacție a fost stins cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) pentru a obține **19-S** (250 mg, 60%).

$R_f = 0,45$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 7,15 (dd, $J = 8,9, 0,6$ Hz, 1 H), 6,82 (dd, $J = 2,4, 0,6$ Hz, 1 H), 6,68 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1 H), 6,54 (s, 1 H), 6,27 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 6,08 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 5,30 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,34 (dd, $J = 11,4, 2,0$ Hz, 1H), 4,31-4,27 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,66-3,58 (m, 1H), 3,55-3,45 (m, 2H), 3,42 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 2,93-2,73 (m, 3H), 2,68 (dd, $J = 15,1, 4,2$ Hz, 1 H), 2,54 (d, $J = 15,4$ Hz, 1 H), 2,42 (dd, $J = 15,1, 10,1$ Hz, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

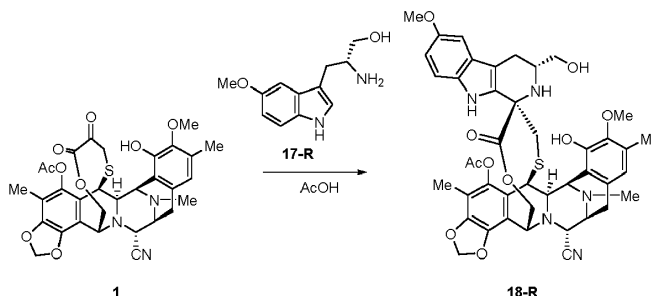
^{13}C RMN (126 MHz, CD_3OD): δ 172,7, 170,8, 155,1, 149,9, 147,2, 145,0, 142,6, 142,2, 133,1, 132,4, 132,1, 131,3, 128,1, 122,5, 121,6, 120,3, 116,4, 113,0, 112,9, 111,4, 109,0, 103,6, 100,8, 92,5, 66,6, 65,0, 61,7, 60,4, 59,9, 56,7, 56,1, 54,8, 54,1, 51,7, 44,1, 41,3, 30,7, 25,4, 24,7, 20,6, 16,3, 9,5.

ESI-MS m/z : 798,1 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 797,2899 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ 797,2851).

Exemplul 10

A)

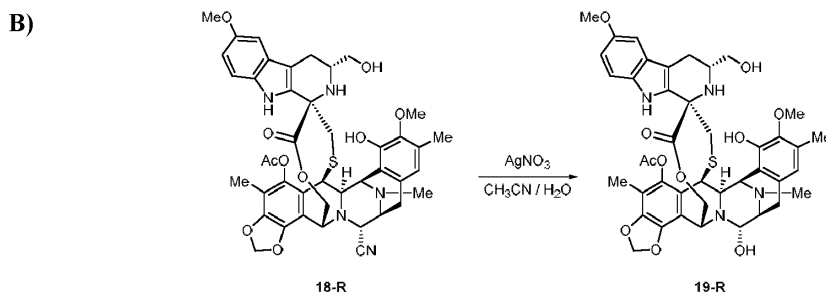


La o soluție de **1** (311 mg, 0,50 mmol) în acid acetic (6,25 mL, 0,08 M) s-a adăugat **17-R** (220 mg, 1,0 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 18 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) s-a obținut compusul **18-R** (280 mg, 68%).

$R_f = 0,3$ (Hexan: EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,53 (s, 1 H), 7,18 (d, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,82 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,78 (dd, $J = 8,6, 2,3$ Hz, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 6,23 (s, 1 H), 6,02 (s, 1 H), 5,76 (s, 1 H), 5,04 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,36 (s, 1 H), 4,28 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 4,24-4,09 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,64 (s, 1 H), 3,47-3,40 (m, 3H), 3,01-2,90 (m, 2H), 2,53 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,45-2,41 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,22-2,14 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 3H). ESI-MS m/z : 824,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)



La o soluție de **18-R** (330 mg, 0,40 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 28 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (2,04 g, 12,0 mmol). După 3 ore la 23°C , reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și s-au concentrat in vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține **19-R** (224 mg, 69%).

$R_f = 0,44$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

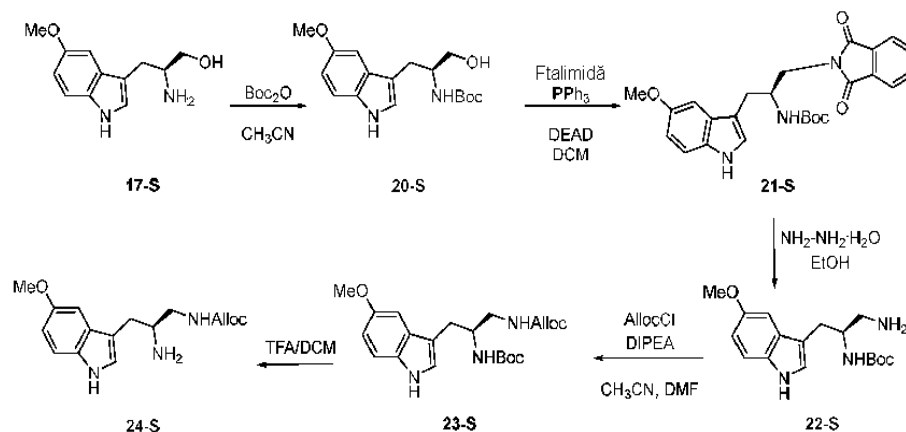
^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 7,14 (dd, $J = 8,8, 0,5$ Hz, 1 H), 6,83 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 6,68 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1 H), 6,59 (s, 1 H), 6,26 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,07 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 5,21 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,68-4,55 (m, 1 H), 4,32-4,25 (m, 2H), 4,12 (dd, $J = 11,5, 2,1$ Hz, 1 H), 3,75 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,60 (d, $J = 5,2$ Hz, 1 H), 3,57-3,45 (m, 3H), 3,41 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 2,97-2,83 (m, 3H), 2,73 (dd, $J = 15,0, 3,4$ Hz, 1 H), 2,69 (d, $J = 14,9$ Hz, 1 H), 2,34 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,20 (dd, $J = 15,1, 10,4$ Hz, 1 H), 2,12 (s, 3H), 2,11-2,08 (m, 1 H), 2,05 (s, 3H).

^{13}C RMN (126 MHz, CD_3OD): δ 173,0, 170,8, 155,0, 149,8, 147,3, 145,0, 142,8, 142,3, 133,5, 133,1, 132,2, 132,1, 130,5, 127,8, 122,5, 121,7, 120,0, 116,4, 113,5, 112,9, 111,4, 110,2, 103,5, 100,9, 92,6, 66,8, 64,5, 61,3, 60,4, 60,0, 56,8, 56,1, 55,9, 54,1, 44,1, 41,3, 25,6, 24,5, 20,6, 16,2, 9,6.

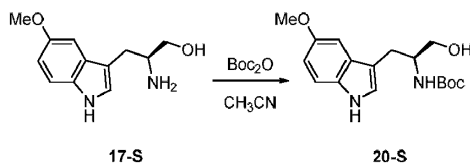
ESI-MS m/z : 797,4 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 797,2896 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ 797,2851).

Exemplul de referință 11. Prepararea *N*-[(*S*)-2-amino-3-(5-metoxi-1*H*-indol-3-il)propil]carbamatului de alil (**24-S**)



A)

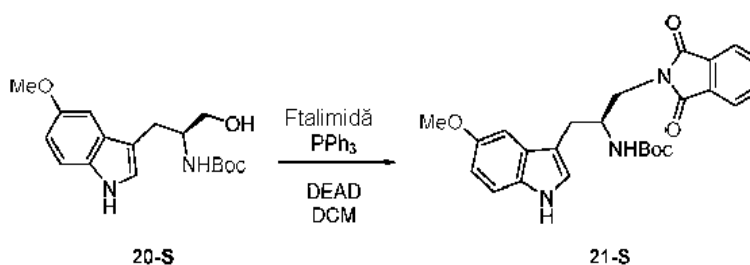


La o soluție de **17-S** (6,9 g, 31,4 mmol) în CH₃CN (126 mL, 4 mL/mmol) s-a adăugat dicarbonat de di-*tert*-butil (13,7 g, 62,8 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 5,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) s-a obținut **20-S** (4,5 g, 45%).

$R_f = 0,6$ (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,04 (s, 1 H), 7,25 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,10 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,03 (s, 1 H), 6,87 (dd, $J = 8,8$, 2,5 Hz, 1 H), 4,83 (s, 1 H), 3,98 (s, 1 H), 3,87 (s, 3H), 3,73-3,58 (m, 2H), 2,96 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,42 (s, 9H).

B)

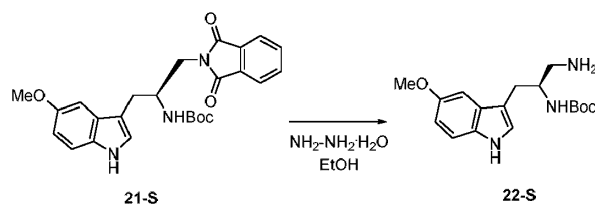


La o soluție de **20-S** (4,5 g, 14 mmol) în CH₂Cl₂ (84 mL, 6 mL/mmol) s-a adăugat ftalimidă (4,5 g, 30,9 mmol), trifenilfosfină (8,1 g, 30,9 mmol) și amestecul s-a răcit la 0°C. S-a adăugat o soluție de 40% azodicarboxilat de dietil în CH₂Cl₂ (10,4 mL, 35 mmol) timp de 15 min. Reacția a fost agitată la 23°C timp de 18 ore și s-a concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține **21-S** (5,8 g, 92%).

$R_f = 0,55$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,48 (s, 1 H), 7,78 (dd, $J = 5,5$, 3,1 Hz, 2H), 7,69-7,61 (m, 2H), 7,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 7,06 (dd, $J = 18,5$, 2,4 Hz, 2H), 6,81 (dd, $J = 8,8$, 2,4 Hz, 1 H), 4,87 (s, 1 H); 4,39 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,83-3,66 (m, 2H), 2,98 (d, $J = 6,1$ Hz, 2H), 1,20 (s, 9H).

C)



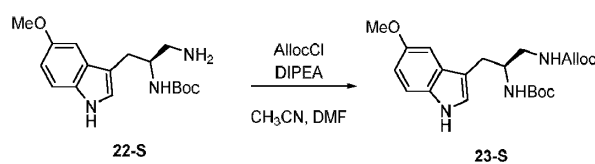
La o soluție de **21-S** (6,29 g, 14 mmol) în etanol (420 mL, 30 mL/mmol) s-a adăugat hidrazină monohidrat (61,1 mL, 1260 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat timp de 2 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50) s-a obținut **22-S** (4,2 g, 95%).

$R_f = 0,1$ (CH₂Cl₂:CH₃OH, 8:2).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,22 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 7,12 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,06 (s, 1 H), 6,76 (dd, $J = 8,8$, 2,4 Hz, 1 H), 4,06-3,97 (m, 1 H), 3,82 (s, 3H), 3,06-2,82 (m, 4H), 1,37 (s, 9H).

D)

D)



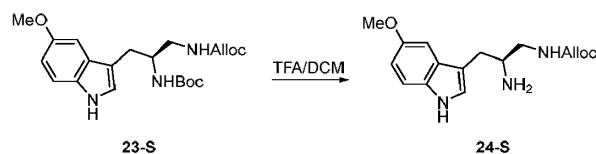
La o soluție de **22-S** (4.0 g, 12,52 mmol) în CH₃CN (125 mL, 10 mL/mmol) și DMF (12 mL, 1 mL/mmol) s-au adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (1,8 mL, 10 mmol) și cloroformiat de alil (13,3 mL, 125 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 5 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc și NH₄Cl s-a adăugat și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a obține **23-S** (2.65 g, 52%).

R_f = 0,5 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,11 (s, 1 H), 7,28-7,20 (m, 1 H), 7,04 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H), 6,85 (dd, *J* = 8,9, 2,4 Hz, 1 H), 5,97-5,82 (m, 1 H), 5,33-5,24 (m, 1 H), 5,19 (dt, *J* = 10,4, 1,3 Hz, 1 H), 5,11 (s, 1 H), 4,82 (s, 1 H), 4,55 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 4,01 (s, 1 H), 3,86 (s, 3H), 3,37 (d, *J* = 13,7 Hz, 1 H), 3,21 (s, 1 H), 2,89 (dd, *J* = 14,5, 7,0 Hz, 1 H), 1,41 (s, 9H).

E)

E)



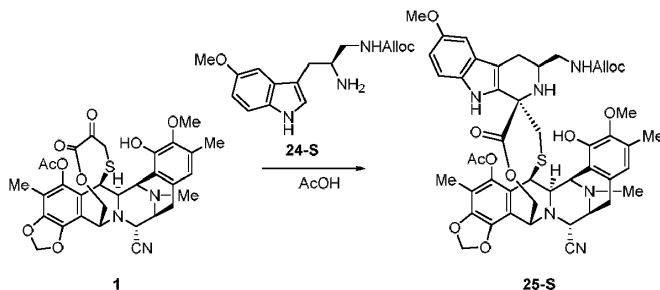
La o soluție de **23-S** (2,60 g, 6,44 mmol) în CH₂Cl₂ (106 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoracetic (54 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 1,5 ore și s-a concentrat în vid pentru a da **24-S** (3,9 g, 100%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 8,27 (s, 1 H), 7,25 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1 H), 7,10 (s, 1 H), 6,96 (d, *J* = 2,3 Hz, 1 H), 6,87 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1 H), 5,81 (ddt, *J* = 16,3, 10,9, 5,7 Hz, 1 H), 5,23 (dd, *J* = 19,3, 13,6 Hz, 2H), 4,49 (d, *J* = 5,9 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,81-3,55 (m, 1 H), 3,62-3,39 (m, 2H), 3,08 (qd, *J* = 15,1, 7,3 Hz, 2H).

Exemplul de referință 12

A)



La o soluție de **1** (120 mg, 0,19 mmol) în acid acetic (6 mL, 0,08 M) s-a adăugat **24-S** (117 mg, 0,35 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 18 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. A fost adăugată o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) se obține compusul **25-S** (95 mg, 54%).

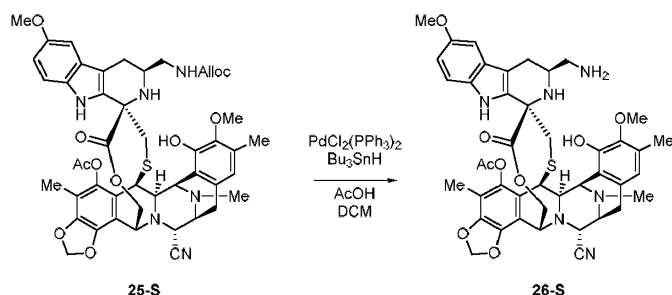
R_f = 0,4 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,64 (s, 1 H), 7,14 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 6,80 (s, 1 H), 6,77 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 6,68 (s, 1 H), 6,24 (s, 1 H), 6,03 (s, 1 H), 6,02-5,93 (m, 1 H), 5,76 (s, 1 H), 5,38 (d, *J* = 10,5 Hz, 1 H), 5,26 (d, *J* = 10,5 Hz, 1 H), 5,11 (d, *J* = 11,7 Hz, 1 H), 4,66 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 4,57 (s, 1H), 4,37 (s, 1H), 4,33-4,19 (m, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,46 (s, 2H), 3,17 (s, 1 H), 3,10-2,90 (m, 3H), 2,68-2,45 (m, 2H), 2,38-2,33 (m, 1 H), 2,32 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,04 (s, 2H).

ESI-MS *m/z*: 907,1 (M+H)⁺.

B)

B)



La o soluție de **25-S** (90 mg, 0,1 mmol) în CH_2Cl_2 (2 mL, 18 mL/mmol) s-au adăugat diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (12 mg, 0,1 mmol) și acid acetic (0,056 mL, 0,99 mmol). S-a adăugat hidru de tributilstaniu (0,16 mL, 0,60 mmol) la 0 °C, amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 0,5 ore și s-a concentrat în vid. După Cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și EtOAc:CH₃OH, de la 100:1 la 1:100) s-a obținut **26-S** (75 mg, 92%).

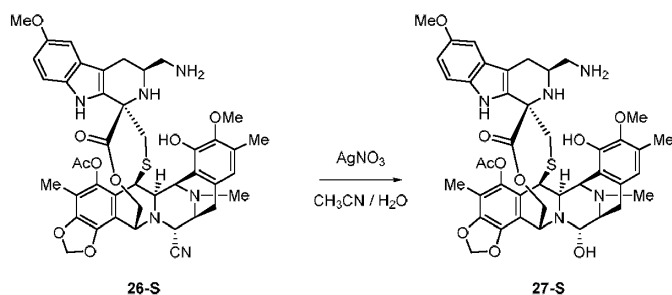
$R_f = 0,25$ (CH_2Cl_2 :CH₃OH, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,62 (s, 1 H), 7,15 (d, $J = 9,3$ Hz, 1 H), 6,81-6,76 (m, 2H), 6,72 (s, 1 H), 6,25 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 6,03 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 5,12 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,41 (s, 1 H), 4,36-4,24 (m, 2H), 4,20 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 3,82 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,44 (dd, $J = 22,0$, 7,1 Hz, 2H), 3,08-2,78 (m, 4H), 2,73-2,64 (m, 2H), 2,41-2,22 (m, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,25-2,15 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 823,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

C)

C)



La o soluție de **26-S** (70 mg, 0,085 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39: 1, 6 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (335 mg, 1,7 mmol). După 18 ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH_2Cl_2 :CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **27-S** (23 mg, 33%).

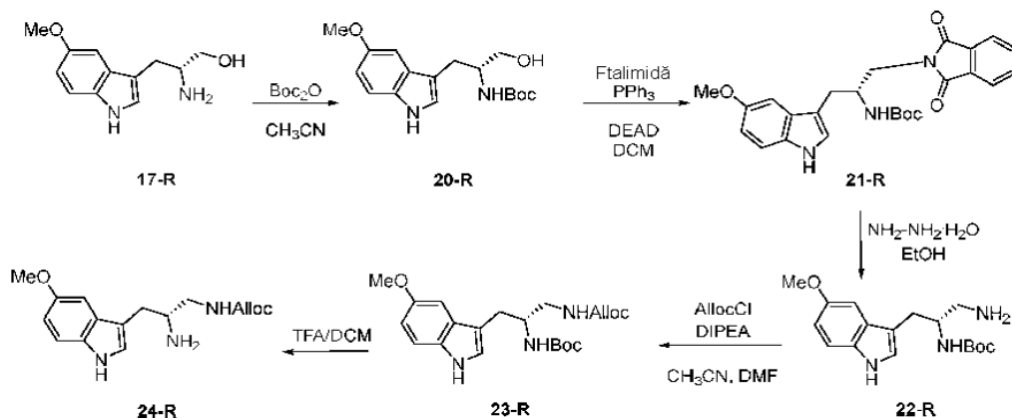
$R_f = 0,2$ (CH_2Cl_2 :CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,62 (s, 1 H), 7,15 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 6,78 (s, 1 H), 6,75 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 6,21 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 6,01 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 5,78 (s, 1 H), 5,22 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,90 (s, 1 H), 4,58-4,42 (m, 3H), 4,29-4,10 (m, 2H), 3,84-3,80 (m, 1 H), 3,83 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,53-3,48 (m, 2H), 3,22 (d, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 3,12 (s, 1 H), 3,02 (d, $J = 12,8$ Hz, 1 H), 2,89-2,64 (m, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,42-2,34 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,03 (s, 3H). ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃): δ 172,1, 168,7, 154,0, 147,6, 145,6, 143,0, 141,2, 140,8, 131,6, 130,6, 129,6, 127,1, 121,8, 120,9, 118,4, 115,2, 112,5, 111,8, 101,8, 100,2, 81,5, 62,6, 60,6, 58,0, 57,8, 56,0, 55,8, 55,0, 42,3, 41,4, 31,9, 29,7, 27,8, 26,9, 25,6, 24, 0, 22,7, 20,5, 16,0, 14,1, 13,6, 9,7.

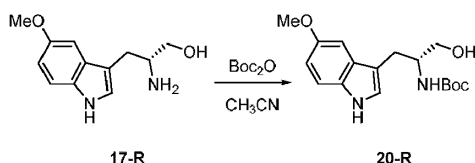
ESI-MS m/z : 796,3 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 796,3062 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$]⁺ (Calculat pentru C₄₂H₄₆N₅O₉S 796,3011).

Exemplul de referință 13. Prepararea *N*-[(*R*)-2-amino-3-(5-metoksi-1*H*-indol-3-il)propil]carbamatului de alil (24-R)



A)



5

La o soluție de **17-R** (2.35 g, 10,7 mmol) în CH_3CN (43 mL, 4 mL/mmol) s-a adăugat dicarbonat de di-*tert*-butil (4,67 g, 21,4 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 2,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) s-a obținut **20-R** (1,7 g, 50%).

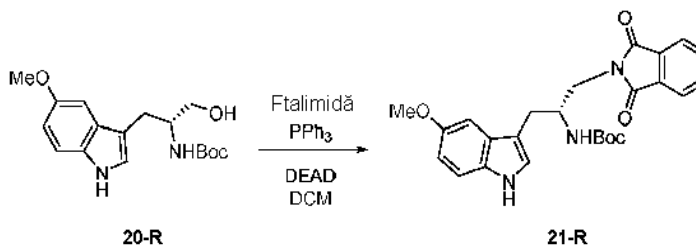
10

$R_f = 0,6$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,05 (s, 1 H), 7,25 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 7,09 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,02 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,86 (dd, $J = 8,8$, 2,4 Hz, 1 H), 4,83 (s, 1 H), 3,98 (s, 1 H), 3,87 (s, 3H), 3,69 (td, $J = 9,2$, 7,5, 5,3 Hz, 1 H), 3,61 (dd, $J = 10,9$, 5,6 Hz, 1 H), 2,95 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,42 (s, 9H).

B)

B)



15

La o soluție de **20-R** (1.7 g, 5,3 mmol) în CH_2Cl_2 (32 mL, 6 mL/mmol) s-au adăugat ftalimidă (1,72 g, 11,7 mmol), trifenilfosfină (3,06 g, 11,7 mmol) și amestecul s-a răcit la 0°C. O soluție de 40% azodicarboxilat de dietil în CH_2Cl_2 (4,0 mL, 13,2 mmol) a fost adăugată timp de 15 min. Reacția a fost agitată la 23°C timp de 16 ore și s-a concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține **21-R** (2,0 g, 84%).

20

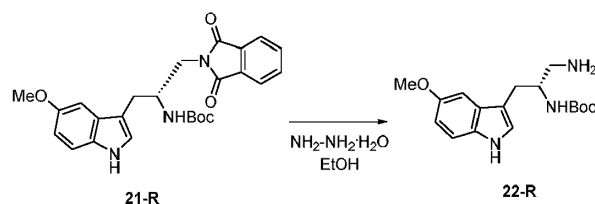
$R_f = 0,45$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 8,31 (s, 1 H), 7,80 (dd, $J = 5,4$, 3,0 Hz, 2H), 7,67 (dd, $J = 5,4$, 3,0 Hz, 2H), 7,30-7,12 (m, 2H), 7,08 (dd, $J = 15,2$, 2,4 Hz, 1 H), 6,84 (dd, $J = 8,8$, 2,4 Hz, 1 H), 4,85 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 4,43 (q, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 3,86 (s, 3H), 3,83-3,68 (m, 2H), 3,01 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 1,22 (s, 9H).

25

C)

C)



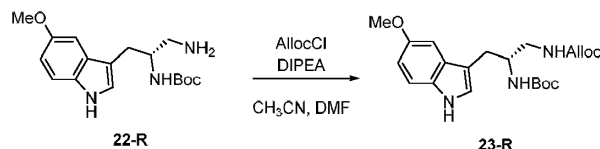
La o soluție de **21-R** (2,0 g, 4,45 mmol) în etanol (133 mL, 30 mL/mmol) s-a adăugat hidrazină monohidrat (21,6 mL, 445 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat timp de 2 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50) s-a obținut **22-R** (1,15 g, 81%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 8:2).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,21 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 7,12 (s, 1 H), 7,05 (s, 1 H), 6,75 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 3,95 (ddd, *J* = 10,7, 8,7, 5,4 Hz, 1 H), 3,82 (s, 3H), 2,98-2,79 (m, 3H), 2,75 (dd, *J* = 13,1, 9,4 Hz, 1 H), 1,37 (s, 9H).

D)

D)



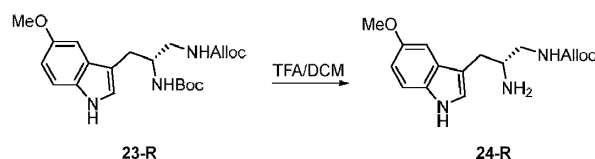
La o soluție de **22-R** (1.1 g, 3,4 mmol) în CH₃CN (3,4 mL, 1 mL/mmol) și DMF (3,4 mL, 10 mL/mmol) s-au adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (0,5 mL, 2,7 mmol) și clorocformat de alil (3,7 mL, 34 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 19 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc și s-a adăugat NH₄Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a se obține **23-R** (0,95 g, 69%).

R_f = 0,5 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,55 (s, 1 H), 7,20 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 7,05 (s, 1 H), 6,98-6,87 (m, 1 H), 6,82 (dt, *J* = 8,8, 1,8 Hz, 1H), 5,96-5,81 (m, 1H), 5,37-5,22 (m, 2H), 5,22-5,14 (m, 1H), 5,02-4,97 (m, 1H), 4,60-4,47 (m, 2H), 4,00 (s, 1 H), 3,84 (s, 3H), 3,31 (s, 1 H), 3,19 (s, 1 H), 2,88 (td, *J* = 14,5, 13,3, 5,9 Hz, 2H), 1,40 (s, 9H).

E)

E)



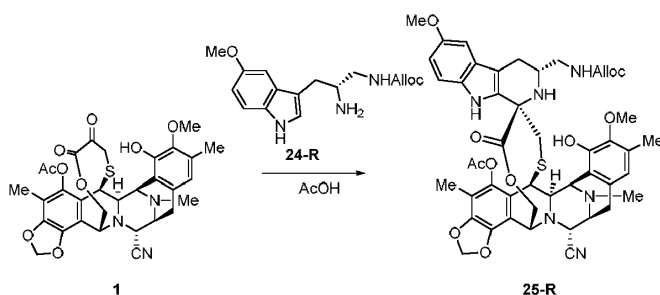
La o soluție de **23-R** (0,94 g, 2,3 mmol) în CH₂Cl₂ (39 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoracetic (19 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23 °C timp de 1,5 ore și s-a concentrat în vid pentru a da **24-R** (0,72 g, 100%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,27 (d, *J* = 8,8, 1 H), 7,18 (s, 1 H), 7,04 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 6,80 (ddd, *J* = 8,8, 2,4, 0,9 Hz, 1 H), 5,95 (ddt, *J* = 16,4, 10,8, 5,5 Hz, 1 H), 5,32 (d, *J* = 17,1 Hz, 1 H), 5,20 (d, *J* = 10,5 Hz, 1 H), 4,60-4,53 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,59 (dt, *J* = 11,4, 5,5 Hz, 1 H), 3,47-3,30 (m, 2H), 3,13-2,94 (m, 2H).

Exemplul de referință 14

A)



La o soluție de **1** (0.71 g, 1.14 mmol) în acid acetic (45 mL, 0.08 M) s-a adăugat **24-R** (0.54 mg, 1.8 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 7 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. A fost adăugată o soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) s-a obținut compusul **25-R** (670 mg, 65%).

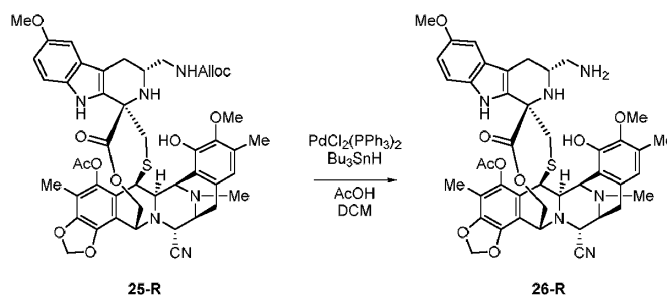
R_f = 0.4 (Hexan: EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7.52 (s, 1 H), 7.17 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.83-6.73 (m, 2H), 6.61 (s, 1 H), 6.23 (d, *J* = 1.0 Hz, 1 H), 6.02 (d, *J* = 1.0 Hz, 1 H), 6.05-5.89 (m, 1 H), 5.75 (s, 1 H), 5.44-5.30 (m, 1 H), 5.25 (d, *J* = 10.4 Hz, 1 H), 5.13-4.99 (m, 2H), 4.71-4.59 (m, 2H), 4.36 (s, 1 H), 4.30-4.07 (m, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.61-3.53 (m, 1 H); 3.48-3.41 (m, 3H), 3.26 (dt, *J* = 13.3, 3.8 Hz, 1 H), 3.04-2.88 (m, 2H), 2.52 (dd, *J* = 14.9, 3.7 Hz, 1 H), 2.46-2.35 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.16 (s, 3H), 2.12-2.02 (m, 1H), 2.09 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 907,3 (M+H)⁺.

B)

B)



La o soluție de **25-R** (745 mg, 0.82 mmol) în CH₂Cl₂ (15 mL, 18 mL/mmol) s-a adăugat diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (92 mg, 0.1 mmol) și acid acetic (0.47 mL, 8.2 mmol). S-a adăugat hidru de tributilstaniu (1.33 mL, 4.9 mmol) la 0 °C, amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 0.75 h și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și EtOAc:CH₃OH, de la 100:1 la 1:100) s-a obținut **26-R** (680 mg, >100%).

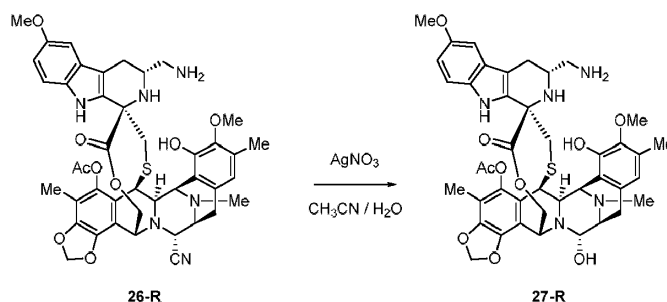
R_f = 0.25 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7.57 (s, 1 H), 7.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.85-6.72 (m, 2H), 6.57 (s, 1 H), 6.21 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H), 6.00 (d, *J* = 1.3 Hz, 1 H), 5.05-4.97 (m, 1 H), 4.63 (s, 1 H), 4.35 (s, 1 H), 4.31-4.09 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 1 H), 3.50-3.40 (m, 3H), 3.24 (dq, *J* = 9.9, 5.3 Hz, 1 H), 2.95 (s, 1 H), 2.91-2.75 (m, 2H), 2.62 (dd, *J* = 14.8, 3.6 Hz, 1 H), 2.43-2.28 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.22-2.14 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.08 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 823,3 (M+H)⁺.

C)

C)



La o soluție de **26-R** (660 mg, 0,80 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 56 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (2,70 g, 16,0 mmol). După 16,5 ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 minute, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) obținându-se **27-R** (271 mg, 42%).

$R_f = 0,1$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,46 (s, 1 H), 7,16 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 6,83 (s, 1 H), 6,72 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 6,58 (s, 1 H), 6,20 (d, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 5,99 (d, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 5,76 (s, 1 H), 5,15 (d, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 4,86 (s, 1 H), 4,52 (m, 2H), 4,17 (d, $J = 5,3$ Hz, 1 H), 4,07 (d, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 3,80 (s, 3H), 3,78 (s, 3H), 3,55-3,43 (m, 2H), 3,32-3,20 (m, 2H), 3,01-2,82 (m, 4H), 2,68-2,59 (m, 1 H), 2,44-2,31 (m, 1 H), 2,38 (s, 3H), 2,30-2,19 (m, 1 H), 2,26 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

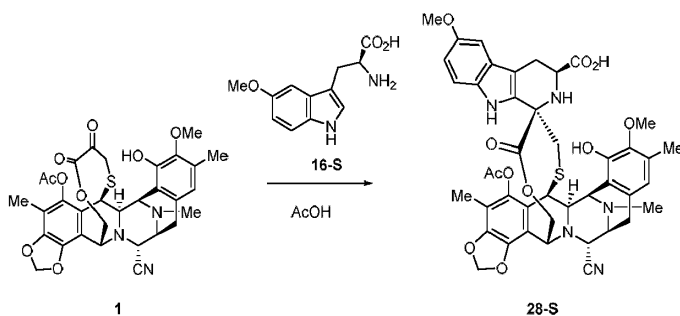
^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 171,7, 171,3, 153,8, 153,3, 148,0, 147,6, 145,4, 145,4, 143,1, 141,3, 140,7, 131,6, 131,4, 131,2, 129,3, 126,8, 121,6, 120,9, 118,3, 115,6, 112,2, 111,8, 101,8, 100,2, 81,7, 63,5, 63,1, 61,7, 58,0, 57,8, 56,1, 55,8, 55,0, 42,2, 42,1, 41,4, 41,0, 25,1, 23,8, 20,5, 16,0, 9,7.

ESI-MS m/z : 796,3 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 796,3045 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_9\text{S}$ 796,3011).

Exemplul de referință 15. Prepararea compușilor de referință **28-S** și **29-S**.

A)



La o soluție de **1** (450 mg, 0,72 mmol) în acid acetic (9 mL, 0,08 M) s-a adăugat **16-S** (675 mg, 2,88 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 52°C timp de 3 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. O soluție apoasă saturată de NaHCO_3 a fost adăugată și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și s-au concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 80:20) s-a obținut compusul **28-S** (400 mg, 66%).

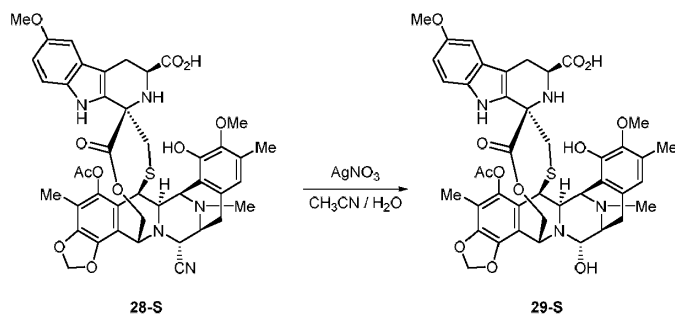
$R_f = 0,35$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 10:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,65 (s, 1 H), 7,15 (d, $J = 8,7$ Hz, 1 H), 6,85-6,76 (m, 2H), 6,57 (s, 1 H), 6,25 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,04 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 5,16 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,62 (s, 1 H), 4,44 (s, 1 H), 4,35 (dd, $J = 11,7, 2,0$ Hz, 1 H), 4,29 (dd, $J = 5,2, 1,6$ Hz, 1 H), 4,22 (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H), 3,80 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,52-3,43 (m, 3H), 3,02-2,81 (m, 4H), 2,41-2,31 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 838,6 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



La o soluție de **28-S** (400 mg, 0,48 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (2:1, 33 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (1,20 g, 7,16 mmol). După 16 ore la 23 °C, s-a adăugat un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 30 de minute și s-

a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 70:30) obținându-se **29-S** (179 mg, 45%).

$R_f = 0,25$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ 7,17 (d, $J = 8,9$ Hz, 1 H), 6,83 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,70 (dd, $J = 8,9, 2,4$ Hz, 1 H), 6,66 (s, 1 H), 6,29 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 6,10 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 5,32 (d, $J = 11,6$ Hz, 1 H), 4,65 (s, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,48 (s, 1 H), 4,38 (dd, $J = 11,7, 2,1$ Hz, 1 H), 3,75 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,41-3,35 (m, 1 H), 3,16-2,91 (m, 5H), 2,71 (dd, $J = 15,3, 11,4$ Hz, 2H), 2,54 (s, 1H), 2,42-2,36 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).

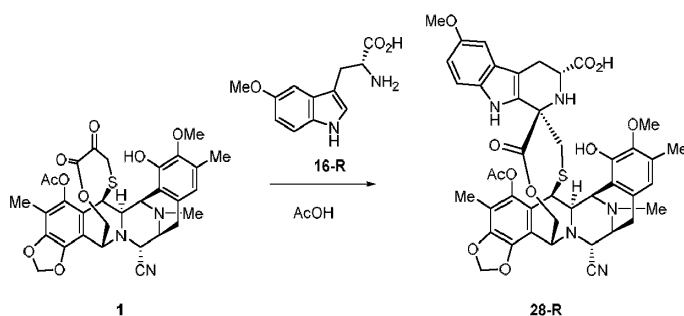
^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3): δ 171,3, 170,6, 155,2, 149,8, 147,5, 145,4, 142,8, 142,4, 133,0, 131,8, 130,0, 128,0, 122,2, 121,8, 115,5, 113,9, 113,3, 113,2, 111,4, 109,1, 103,8, 100,9, 91,6, 65,4, 61,9, 60,3, 59,4, 57,1, 56,4, 56,2, 55,2, 53,4, 43,7, 40,8, 38,3, 30,7, 26,4, 24,7, 20,4, 16,5, 9,6.

ESI-MS m/z : 811.3 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 811,2682 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ 811,2644).

Exemplul de referință 16. Prepararea compuşilor de referință **28-R** și **29-R**

A)



La o soluție de **1** (50 mg, 0,08 mmol) în acid acetic (1 mL, 0,08 M) s-a adăugat **16-R** (66 mg, 0,3 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 6 ore și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 80:20) s-a obținut compusul **28-R** (50 mg, 75%).

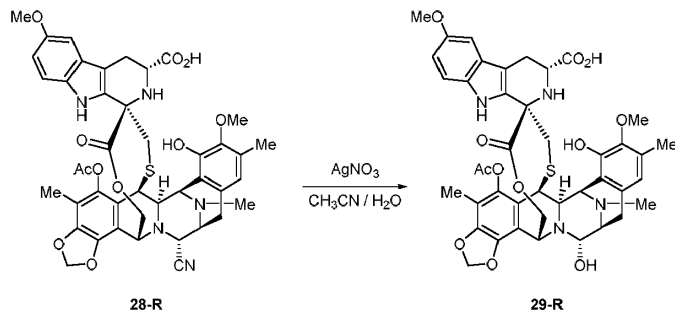
$R_f = 0,20$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 10:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 7,63 (s, 1 H), 7,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 6,81 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,77 (dd, $J = 8,8, 2,3$ Hz, 1 H), 6,56 (s, 1 H), 6,21 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 6,00 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 5,77 (s, 1 H), 5,00 (d, $J = 11,8$ Hz, 1 H), 4,63 (s, 1 H), 4,35 (s, 1 H), 4,27 (d, $J = 5,0$ Hz, 1 H), 4,22 - 4,04 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,48 - 3,40 (m, 2H), 3,00 (dd, $J = 15,3, 4,8$ Hz, 1 H), 2,92 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,71 (dd, $J = 15,3, 10,1$ Hz, 1 H), 2,46 (d, $J = 14,9$ Hz, 1 H), 2,34 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,21 (d, $J = 15,0$ Hz, 1 H), 2,15 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 838.8 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



[0368] La o soluție de **28-R** (50 mg, 0,06 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (2:1, 4,2 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (304 mg, 1,80 mmol). După 3 ore la 23°C , s-a adăugat un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 30 de minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și

concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ de la 99:1 la 70:30) obținându-se **29-R** (30 mg, 60%).

$R_f = 0,15$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): 7,68 (s, 1 H), 7,14 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 6,80 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,76 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1 H), 6,57 (s, 1 H), 6,17 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 5,95 (d, $J = 1,3$ Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,12 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,85 (s, 1 H), 4,56 - 4,46 (m, 2H), 4,17 (s, 1 H), 4,10 (dd, $J = 9,9, 4,9$ Hz, 1 H), 4,05 (dd, $J = 11,4, 2,0$ Hz, 1 H), 3,78 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,51 (s, 1H), 3,48 - 3,42 (m, 2H), 3,23 (s, 1H), 3,00 (dd, $J = 15,3, 4,9$ Hz, 1 H), 2,90 - 2,77 (m, 2H), 2,71 (dd, $J = 15,2, 9,9$ Hz, 1 H), 2,48 (d, $J = 14,6$ Hz, 1 H), 2,34 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,20 (d, $J = 14,6$ Hz, 1 H), 2,14 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

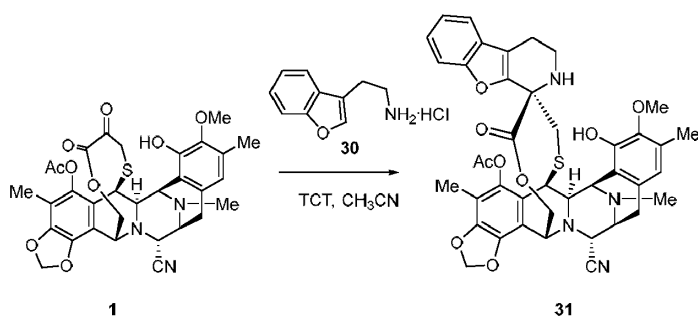
^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3): 175,6, 171,0, 168,7, 154,1, 147,3, 145,6, 143,1, 141,3, 140,8, 131,1, 130,4, 126,5, 121,9, 121,5, 121,3, 115,5, 112,9, 112,7, 112,0, 109,1, 101,9, 100,2, 81,5, 62,8, 61,7, 60,4, 57,9, 57,8, 56,0, 55,8, 54,8, 53,4, 42,5, 41,2, 40,3, 29,7, 24,6, 23,8, 20,5, 15,9, 9,8.

ESI-MS m/z : 811,6 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 811,2687 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{S}$ 811,2644).

Exemplul de referință 17.

A)



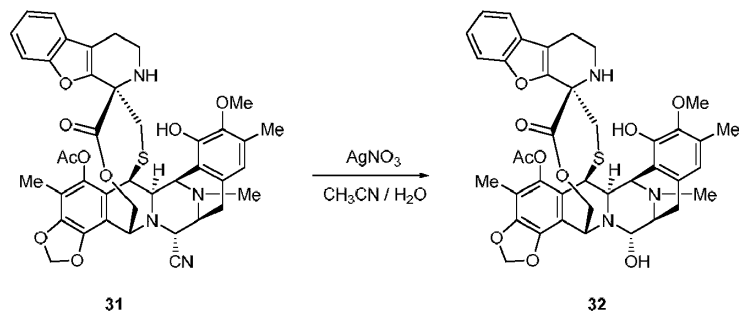
La o soluție de compus **1** (2,0 g, 3,21 mmol) în acetonitril (200 ml, 0,01 M) s-a adăugat clorhidrat de 2-benzofuran-3-il-etilamină (**30**) (1,90 g, 9,65 mmol, Sigma Aldrich) și clorură cianurică (TCT) (200 mg, 10%). Amestecul de reacție a fost agitat la 85 °C timp de 24 de ore și apoi s-a adăugat soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{Hexan}:\text{EtOAc}$, de la 9:1 la 1:9) s-a obținut compusul **31** (1,95 g, 79%).

$R_f = 0,5$ ($\text{Hexan}:\text{EtOAc}$, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,38-7,36 (m, 2H), 7,19-7,10 (m, 2H), 6,64 (s, 1 H), 6,20 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 6,05 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 5,76 (s, 1 H), 5,05 (d, $J = 11,7$ Hz, 1 H), 4,54 (s, 1 H), 4,33-4,24 (m, 2H), 4,23-4,16 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,49-3,38 (m, 2H), 3,28-3,21 (m, 1H), 3,06-2,78 (m, 5H), 2,57-2,50 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,21 (m, 3H), 2,08 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 765,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)



La o soluție de compus **31** (380 mg, 0,49 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 25 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (1,30 g, 7,45 mmol). După 5 ore la 23 °C, s-a adăugat un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține compusul **32** (175 mg, 47%).

$R_f = 0,40$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

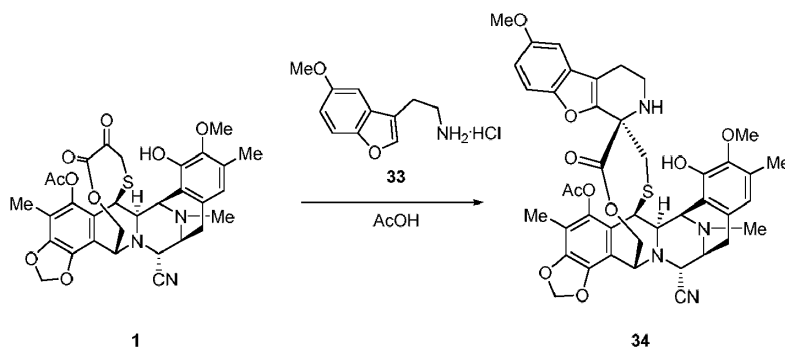
^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,35 (ddd, $J = 10,7, 7,6, 1,1$ Hz, 2H), 7,14 (dtd, $J = 19,7, 7,3, 1,3$ Hz, 2H), 6,65 (s, 1 H), 6,16 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 6,01 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,15 (dd, $J = 11,5, 1,2$ Hz, 1 H), 4,80 (s, 1 H), 4,48 (d, $J = 3,2$ Hz, 1 H), 4,44 (s, 1 H), 4,20-4,06 (m, 2H), 3,81 (s, 1 H), 3,50 (d, $J = 18,8$ Hz, 1H), 3,30 (ddd, $J = 12,6, 7,9, 5,1$ Hz, 1 H), 3,22 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 2,99 (d, $J = 17,9$ Hz, 1 H), 2,84 (dd, $J = 19,2, 12,0$ Hz, 3H), 2,59-2,49 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,21-2,14 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,06 (s, 3H).

^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3): δ 171,2, 168,7, 154,4, 150,0, 147,9, 145,5, 142,9, 140,9, 140,8, 131,3, 129,0, 127,7, 123,7, 122,2, 121,2, 120,8, 118,9, 118,3, 115,5, 113,5, 111,7, 101,7, 82,1, 62,7, 61,7, 60,3, 57,8, 57,4, 55,9, 55,0, 42,2, 41,3, 39,7, 38,2, 29,7, 23,7, 21,3, 20,6, 15,9, 9,7. ESI-MS m/z : 738,6 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

(+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 756,2654 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$ 756,2585).

Exemplul de referință 18.

A)



La o soluție de **1** (500 mg, 0,80 mmol) în acid acetic (10 mL, 0,08 M) s-a adăugat clorhidrat de 2-(5-metoxibenzofuran-3-il)-etilamină (**33**) (Diverchim, ref: DW04590) (444 mg, 1,60 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 6 zile și apoi acidul acetic a fost evaporat. S-a adăugat o soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, 1:1) se obținut **34** (270 mg, 43%).

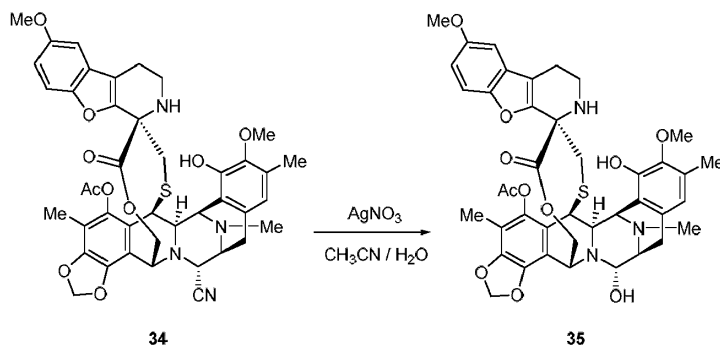
$R_f = 0,3$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 6,80-6,73 (m, 2H), 6,63 (s, 1 H), 6,18 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,03 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 5,78 (s, 1 H), 5,03 (dd, $J = 11,5, 1,3$ Hz, 1 H), 4,52 (s, 1 H), 4,29 (s, 1 H), 4,26 (dd, $J = 4,7, 1,5$ Hz, 1H), 4,23-4,16 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,78 (s, 3H), 3,46-3,43 (m, 1H), 3,43-3,37 (m, 1H), 3,24 (s, 1 H), 3,03 (d, $J = 18,0$ Hz, 1 H), 2,91 (dd, $J = 17,9, 9,2$ Hz, 1 H), 2,87-2,72 (m, 2H), 2,53-2,47 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,06 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 795,8 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



La o soluție de **34** (345 mg, 0,43 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39: 1, 30 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (2,20 g, 13,0 mmol). După 3 ore la 23 °C, s-a adăugat un amestec 1: 1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și s-au

concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a se obține **35** (175 mg, 51%).

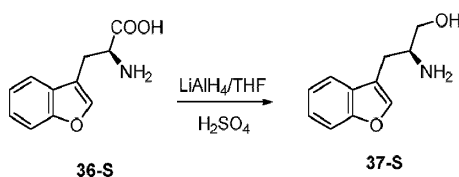
R_f = 0,35 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD): δ 7,27 (d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 6,90 (d, *J* = 2,6 Hz, 1 H), 6,80 (dd, *J* = 9,0, 2,6 Hz, 1 H), 6,57 (s, 1 H), 6,23 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H), 6,05 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H), 5,23 (d, *J* = 11,5 Hz, 1 H), 4,27-4,08 (m, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,63 (d, *J* = 14,1 Hz, 2H), 3,40-3,34 (m, 2H), 2,93-2,87 (m, 5H), 2,80 (d, *J* = 15,5 Hz, 1 H), 2,57-2,54 (m, 2H), 2,34 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,05 (s, 3H).

¹³C RMN (126 MHz, CD₃OD): δ 171,9, 170,6, 157,5, 147,0, 145,0, 142,3, 141,0, 132,2, 131,1, 129,1, 122,2, 120,9, 120,2, 116,3, 115,1, 114,0, 112,7, 111,4, 103,5, 102,7, 92,9, 62,0, 60,3, 59,8, 59,4, 56,5, 56,2, 56,0, 54,0, 43,8, 41,2, 40,7, 30,8, 30,3, 28,7, 24,5, 21,6, 20,6, 16,2, 9,6. ESI-MS *m/z*: 768,6 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 768,2630 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₂N₃O₁₀S 768,2585).

Exemplul de referință 19

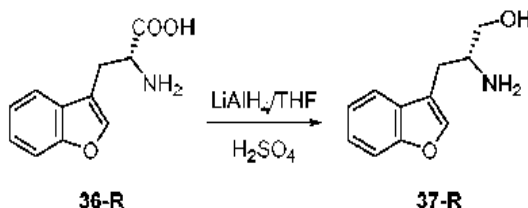


La o soluție de LiAlH₄ (148 mL, 1,0 M în THF, 148 mmol) la -40 °C a fost adăugat cu grijă H₂SO₄ (7,14 mL, 72,9 mmol) și o suspensie de acid (S)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propanoic (**36-S**) (preparat așa cum este descris în Tetrahedron Asymmetry 2008, 19, 500-511) (5,54 g, 26,9 mmol) în THF (85 mL, 0,003 M). Amestecul de reacție a fost lăsat să evolueze la 23 °C, încălzit la 80 °C timp de 3 ore și 18 ore la 23 °C. După ce s-a răcit la -21 °C amestecul de reacție a fost stins cu grijă cu NaOH 2N până la pH bazic. S-a adăugat EtOAc și amestecul s-a filtrat prin Celită® și s-a spălat cu CH₃OH. Produsul brut a fost concentrat în vid pentru a da compusul **37-S** (3,93 g, >100%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 4:1).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,67 - 7,62 (m, 1 H), 7,61 (s, 1 H), 7,51 - 7,41 (m, 1 H), 7,34 - 7,18 (m, 2H), 3,69 - 3,48 (m, 1 H), 3,44 (dd), *J* = 10,8, 6,6 Hz, 1 H), 3,18 (dtd, *J* = 7,4, 6,4, 4,6 Hz, 1 H), 2,88 (ddd, *J* = 14,4, 6,1, 1,0 Hz, 1 H), 2,68 (ddd, *J* = 14,4, 7,5, 0,9 Hz, 1 H).

Exemplul de referință 20



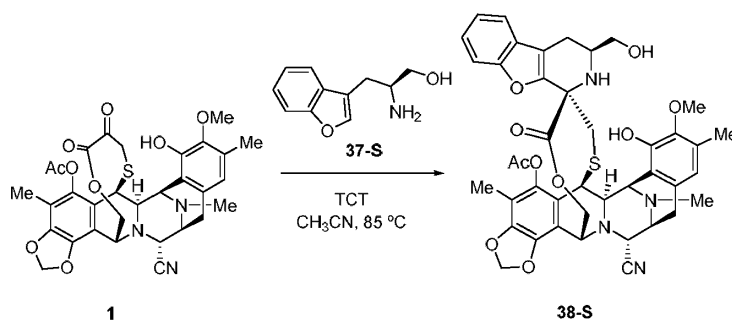
La o soluție de LiAlH₄ (118 mL, 1,0 M în THF, 118 mmol) la -40 °C a fost adăugat cu grijă H₂SO₄ (3,1 mL, 57,8 mmol) și o suspensie de acid (R)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propanoic (**36-R**) (preparat așa cum este descris în Tetrahedron Asymmetry 2008, 19, 500-511) (4,4 g, 21,4 mmol) în THF (67,4 mL, 0,003 M). Amestecul de reacție a fost lăsat să evolueze la 23 °C, s-a încălzit la 80 °C timp de 3 ore și 18 ore la 23 °C. Răcit la -21 °C amestecul de reacție a fost stins cu grijă cu NaOH 2N până la pH bazic. S-a adăugat EtOAc și amestecul s-a filtrat prin Celită® și s-a spălat cu CH₃OH. Produsul brut a fost concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15, Silice amină) s-a produs compusul **37-R** (2,77 g, 68%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 4:1).

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,63 - 7,52 (m, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,46 - 7,33 (m, 1 H), 7,21 (dtd, *J* = 19,9, 7,3, 1,3 Hz, 2H), 3,57 (dd, *J* = 10,7, 4,6 Hz, 1 H), 3,42 (dd, *J* = 10,8, 6,6 Hz, 1 H), 3,15 (dtd, *J* = 7,6, 6,3, 4,6 Hz, 1 H), 2,84 (ddd, *J* = 14,4, 6,0, 1,0 Hz, 1 H), 2,64 (ddd, *J* = 14,4, 7,5, 0,9 Hz, 1 H).

Exemplul de referință 21

A)



La o soluție de compus **1** (850 mg, 1,36 mmol) în CH₃CN (136 mL, 0,01 M) s-au adăugat (S)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propan-1-ol (**37-S**) (1,30 g, 6,83 mmol și clorură de cianură (TCT) (170 mg, 20%). Amestecul de reacție a fost agitat la 85 °C timp de 24 de ore și apoi a fost adăugată soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 9:1 la 1:9) se obține compusul **38-S** (750 mg, 69%).

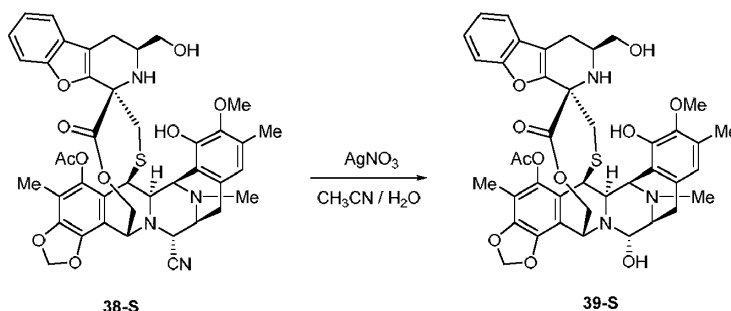
R_f = 0,25 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39 - 7,33 (m, 1 H), 7,33 - 7,29 (m, 1 H), 7,20 (ddd, *J* = 8,3, 7,2, 1,4 Hz, 1 H), 7,14 (td, *J* = 7,4, 1,0 Hz, 1 H), 6,61 (s, 1 H), 6,21 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,06 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 5,74 (s, 1 H), 5,08 (d, *J* = 11,2 Hz, 1 H), 4,58 (s, 1 H), 4,37 (s, 1 H), 4,32 - 4,23 (m, 2H), 4,19 (d, *J* = 2,7 Hz, 1 H), 3,81 (s, 3H), 3,52 - 3,41 (m, 3H), 3,36 - 3,29 (m, 1 H), 3,13 (d, *J* = 9,8 Hz, 1 H), 3,00 - 2,81 (m, 3H), 2,57 (dd, *J* = 15,7, 4,9 Hz, 1 H), 2,50 (d, *J* = 15,2 Hz, 1 H), 2,37 (s, 3H), 2,31 - 2,25 (m, 1 H), 2,29 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,10 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 2,05 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 795.2 (M)⁺.

B)

B)



La o soluție de compus **38-S** (890 mg, 1,12 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 75 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (4,70 g, 28,0 mmol). După 18 ore la 23 °C, un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃ s-a adăugat, s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, filtrat și concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **39-S** (500 mg, 57%).

R_f = 0,30 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

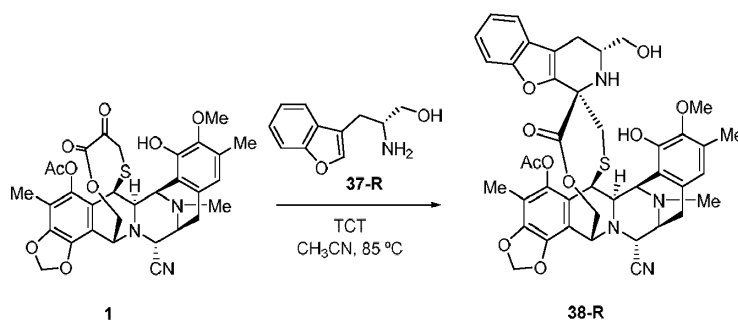
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,38 - 7,33 (m, 1 H), 7,33 - 7,28 (m, 1 H), 7,23 - 7,16 (m, 1 H), 7,16 - 7,09 (m, 1 H), 6,62 (s, 1 H), 6,18 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,03 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 5,71 (s, 1 H), 5,19 (d, *J* = 11,2 Hz, 1 H), 4,85 (s, 1 H), 4,49 (s, 2H), 4,24 - 4,10 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,54 (d, *J* = 4,9 Hz, 1 H), 3,49 (d, *J* = 2,3 Hz, 3H), 3,33 (t, *J* = 10,1 Hz, 2H), 3,22 (s, 1 H), 2,98 (s, 1 H), 2,84 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,62 - 2,53 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,30 - 2,24 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃): δ 172,0, 170,7, 156,1, 150,6, 149,9, 147,1, 145,0, 142,4, 142,2, 132,0, 131,4, 128,7, 125,5, 123,8, 122,6, 121,6, 120,1, 116,5, 114,4, 112,3, 103,5, 92,6, 66,0, 65,1, 62,2, 60,4, 59,7, 56,6, 56,1, 54,8, 54,1, 51,6, 44,0, 41,3, 38,3, 30,8, 24,8, 20,6, 16,3, 9,6. ESI-MS *m/z*: 768.2 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 768,2652 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₂N₃O₁₀S 768,2585)

Exemplul de referință 22.

A)



La o soluție de compus **1** (100 mg, 0,16 mmol) în CH₃CN (16 mL, 0,01 M) s-a adăugat (*R*)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propan-1-ol (**37-R**) (307 mg, 1,6 mmol) și clorură cianurică (TCT) (40 mg, 40%). Amestecul de reacție a fost agitat la 85 °C timp de 44 de ore și apoi s-a adăugat soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 9:1 la 1:9) s-a obținut compusul **38-R** (95 mg, 75%).

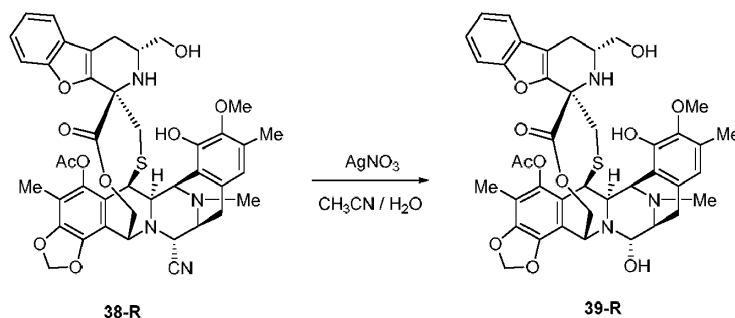
R_f = 0,3 (Hexan:EtOAc, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,42 - 7,27 (m, 2H), 7,28 - 7,09 (m, 2H), 6,58 (s, 1 H), 6,20 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,05 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 5,79 (s, 1 H), 5,00 (d, *J* = 11,4 Hz, 1 H), 4,59 (s, 1 H), 4,34 (s, 1 H), 4,31 - 4,16 (m, 4H), 3,80 (s, 3H), 3,79 - 3,76 (m, 1 H), 3,63 (s, 1 H), 3,54 - 3,40 (m, 4H), 2,99 - 2,87 (m, 2H), 2,68 (d, *J* = 15,0 Hz, 1 H), 2,56 - 2,47 (m, 1 H), 2,38 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 795,2 (M+H)⁺.

B)

B)



La o soluție de compus **38-R** (95 mg, 0,11 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 11 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (601 mg, 3,58 mmol). După 18 ore la 23 °C, un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃ s-a adăugat, s-a agitat timp de 15 min, s-a diluat cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **39-R** (66 mg, 70%).

R_f = 0,3 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

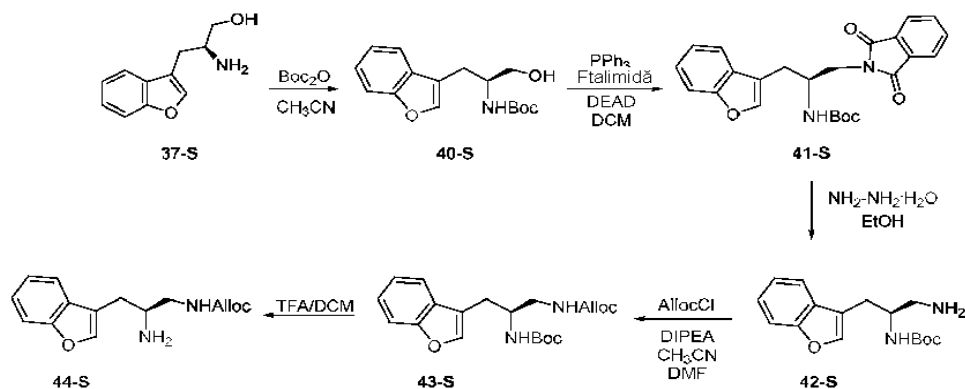
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39 - 7,31 (m, 2H), 7,23 - 7,07 (m, 2H), 6,59 (s, 1 H), 6,17 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 6,01 (d, *J* = 1,4 Hz, 1 H), 5,75 (s, 1 H), 5,12 (dd, *J* = 11,3, 1,2 Hz, 1 H), 4,84 (s, 1 H), 4,56 - 4,43 (m, 2H), 4,19 - 4,07 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,83 - 3,74 (m, 1H), 3,66 - 3,51 (m, 3H), 3,24 (s, 1H), 2,99 - 2,79 (m, 2H), 2,75 - 2,64 (m, 1H), 2,59 - 2,43 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,07 (s, 3H).

¹³C RMN (101 MHz, CD₃OD): δ 170,5, 169,1, 154,9, 148,9, 148,5, 145,7, 143,6, 141,1, 140,8, 130,6, 129,9, 127,1, 124,5, 122,4, 122,4, 121,2, 120,3, 118,7, 118,2, 115,1, 113,6, 110,9, 102,1, 91,1, 65,0, 63,3, 60,2, 59,0, 58,4, 55,4, 54,5, 52,7, 52,3, 42,5, 38,7, 29,4, 23,5, 23,2, 19,1, 14,8, 8,3.

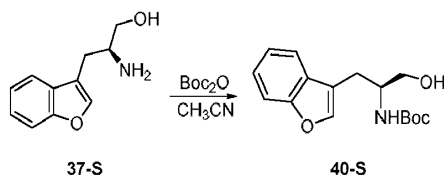
ESI-MS *m/z*: 768,2 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 767,2628 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₂N₃O₁₀S 768,2585).

Exemplul de referință 23. Prepararea *N*-[(*S*)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propil]carbamatului de alil (**44-S**).



A)



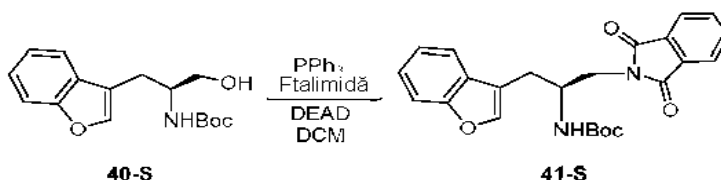
La o soluție de compus **37-S** (1.0 g, 5,22 mmol) în CH₃CN (21 mL, 4 mL/mmol) s-a adăugat di-
 tert-dicarbonat de butil (2,28 g, 10,4 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 2 ore și s-a
 concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) s-a obținut
 compusul **40-S** (0,5 g, 33%).

R_f = 0,7 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,64 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,49 (s, 1 H), 7,46 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H),
 7,36 - 7,19 (m, 2H), 4,94 (s, 1 H), 3,98 (s, 1 H), 3,71 - 3,56 (m, 2H), 2,93 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,41 (s,
 9H).

B)

B)



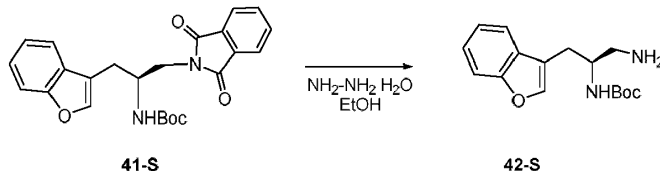
La o soluție de compus **40-S** (0.5 g, 1,71 mmol) în CH₂Cl₂ (11 mL, 6 mL/mmol) s-a adăugat
 ftalimidă (0,55 g, 3,77 mmol), trifenilfosfină (0,99 g, 3,77 mmol) și amestecul s-a răcit la 0°C. O soluție
 de 40% azodicarboxilat de dietil în CH₂Cl₂ (1.26 mL, 4,29 mmol) a fost adăugată timp de 15 min. Reacția
 a fost agitată la 23°C timp de 18 ore, concentrată în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin
 cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 99:1 la 40:60) pentru a da compusul **41-S** (0.68 g, 94%).

R_f = 0,8 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,89 - 7,79 (m, 2H), 7,83 - 7,62 (m, 2H), 7,65 - 7,55 (m, 2H),
 7,49 - 7,42 (m, 1H), 7,33 - 7,20 (m, 2H), 4,83. d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 4,39 (ddt, *J* = 12,1, 6,3, 2,9 Hz, 1 H),
 3,88 - 3,70 (m, 2H), 2,96 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,24 (s, 9H).

C)

C)



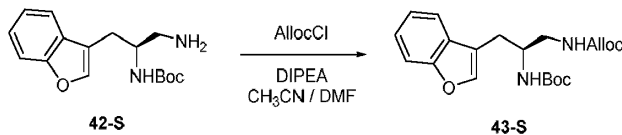
La o soluție de compus **41-S** (345 mg, 0,82 mmol) în etanol (25 mL, 30 mL/mmol) s-a adăugat
 hidrazină monohidrat (3,6 mL, 73,8 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat
 timp de 2 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50)
 s-a obținut compusul **42-S** (233 mg, 98%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 8:2).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,62 (d, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 7,49 - 7,42 (m, 2H), 7,33 - 7,18 (m, 2H), 4,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 3,91 (s, 1 H), 2,91 - 2,76 (m, 3H), 2,67 (dd, $J = 13,1, 6,8$ Hz, 1 H), 1,25 (s, 9H).

D)

D)



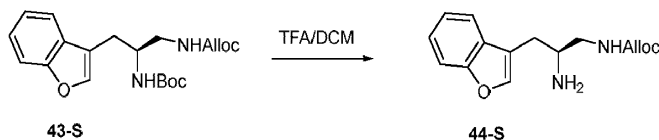
La o soluție de compus **42-S** (280 mg, 0,96 mmol) în CH_3CN (10 mL, 10 mL/mmol) și DMF (16 mL, 1 mL/mmol) s-a adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (0,14 mL, 0,77 mmol) și cloroformat de alil (1,02 mL, 9,64 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 2 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc și s-a adăugat NH_4Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a da compusul **43-S** (445 mg, >100%).

$R_f = 0,5$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,60 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,52 - 7,43 (m, 2H), 7,34 - 7,20 (m, 2H), 5,90 (ddt, $J = 16,4, 10,8, 5,6$ Hz, 1 H), 5,32 - 5,17 (m, 2H), 4,93 - 4,86 (m, 1 H), 4,56 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 4,08 - 3,98 (m, 1 H), 3,40 - 3,21 (m, 2H), 2,88 (m, 2H), 1,25 (s, 9H).

E)

E)

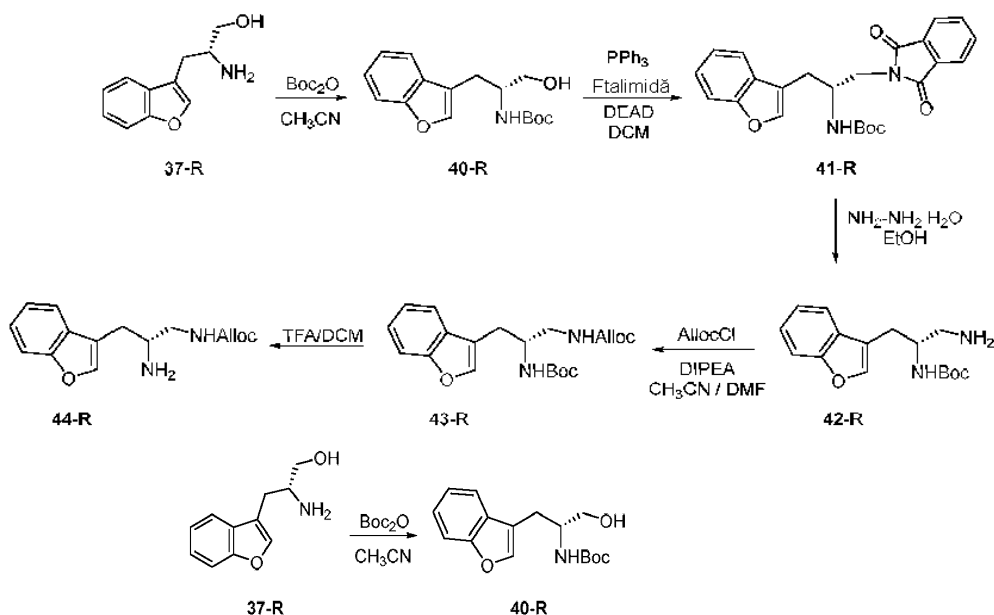


La o soluție de compus **43-S** (160 mg, 0,43 mmol) în CH_2Cl_2 (8 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoracetic (4 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 1,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH_2Cl_2 : CH_3OH , de la 100:1 la 50:50) s-a obținut compusul **44-S** (175 mg, >100%).

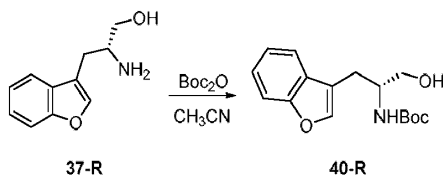
$R_f = 0,2$ (CH_2Cl_2 : CH_3OH , 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,72 (s, 1 H), 7,64 (dt, $J = 8,4, 0,9$ Hz, 1 H), 7,49 (dt, $J = 8,4, 0,9$ Hz, 1 H), 7,37 - 7,22 (m, 2H), 5,94 (ddt, $J = 16,3, 10,7, 5,5$ Hz, 1 H), 5,32 (dq, $J = 17,3, 1,7$ Hz, 1 H), 5,19 (dq, $J = 10,6, 1,5$ Hz, 1 H), 4,56 (dt, $J = 5,7, 1,5$ Hz, 2H), 3,56 (qd, $J = 7,0, 4,4$ Hz, 1 H), 3,46 - 3,32 (m, 1 H), 3,32 - 3,24 (m, 1 H), 3,03 (dd, $J = 14,8, 6,9$ Hz, 1 H), 2,91 (ddd, $J = 14,8, 7,1, 0,9$ Hz, 1 H).

Exemplul de referință 24. Prepararea *N*-[(*R*)-2-amino-3-(benzofuran-3-il)propil]carbamatului de alil (**44-R**).



A)



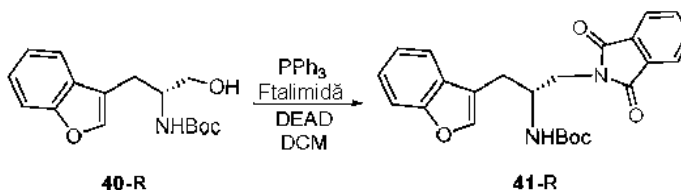
La o soluție de compus **37-R** (2.75 g, 14,4 mmol) în CH₃CN (58 mL, 4 mL/mmol) s-a adăugat di-*tert*-dicarbonat de butil (6,27 g, 28,76 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 2,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **40-R** (3,7 g, 88%).

R_f = 0,6 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,64 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,52 - 7,43 (m, 2H), 7,35 - 7,20 (m, 2H), 4,85 (d, *J* = 8,2 Hz, 1 H), 4,00 (bs, 1 H), 3,69 (dd, *J* = 11,0, 4,0 Hz, 1 H), 3,62 (dd, *J* = 10,9, 5,1 Hz, 1 H), 2,94 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,42 (s, 9H).

B)

B)



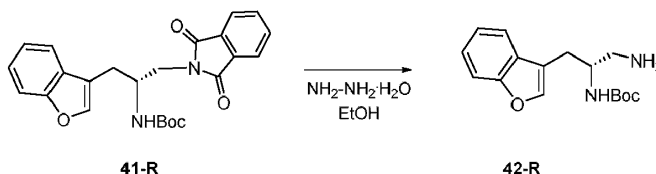
La o soluție de compus **40-R** (3.7 g, 12,7 mmol) în CH₂Cl₂ (76 mL, 6 mL/mmol) s-au adăugat ftalimidă (4,1 g, 28 mmol), trifenilfosfină (7,3 g, 28 mmol) și amestecul s-a răcit la 0°C. O soluție de 40% azodicarboxilat de dietil în CH₂Cl₂ (9,4 mL, 31,7 mmol) a fost adăugată timp de 15 min. Reacția a fost agitată la 23°C timp de 16 ore, s-a concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **41-R** (4.05 g, 76%).

R_f = 0,8 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,67 - 7,68 (m, 4H), 7,61 (d, *J* = 7,5 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,46 (d, *J* = 7,5 Hz, 1 H), 7,27 (dtd, *J* = 17,2, 7,3, 1,4 Hz, 2H), 4,84 (d, *J* = 9,0 Hz, 1 H), 4,46 - 4,30 (m, 1 H), 3,89 - 3,66 (m, 2H), 2,97 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,24 (s, 9H).

C)

C)



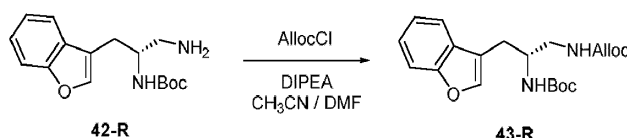
La o soluție de compus **41-R** (4,0 g, 9,5 mmol) în etanol (285 mL, 30 mL/mmol) s-a adăugat hidrazină monohidrat (41,5 mL, 856 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C într-un tub sigilat timp de 2 ore și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 100:1 la 50:50) pentru a da compusul **42-R** (2,2 g, 80%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 8:2).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,60 (d, *J* = 7,5 Hz, 1 H), 7,45 (s, 1 H), 7,44 (d, *J* = 7,1 Hz, 1 H), 7,25 (dtd, *J* = 18,8, 7,3, 1,3 Hz, 2H), 4,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 3,98 - 3,78 (m, 1 H), 2,90 - 2,77 (m, 2H), 2,65 (dd, *J* = 13,1, 7,0 Hz, 1 H), 1,40 (s, 9H).

D)

D)



La o soluție de compus **42-R** (2.2 g, 7,6 mmol) în CH₃CN (76 mL, 10 mL/mmol) și DMF (7,6 mL, 1 mL/mmol) s-au adăugat *N,N*-diizopropiletilamină (1,1 mL, 6,08 mmol) și cloroforiat de alil (8,05 mL, 76 mmol). Reacția a fost agitată la 23 °C timp de 7 ore. Amestecul a fost diluat cu EtOAc și s-a adăugat NH₄Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduul obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100) pentru a da compusul **43-R** (2.3 g, 81%).

R_f = 0,7 (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,60 (d, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 7,52 - 7,43 (m, 2H), 7,34 - 7,20 (m, 2H), 5,90 (ddt, $J = 17,3, 10,8, 5,6$ Hz, 1 H), 5,29 (d, $J = 17,2$, 1 H), 5,20 (d, $J = 10,4$, 1 H), 5,10 (t, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 4,86 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 4,56 (d, $J = 5,4$, 2H), 4,08 - 3,97 (m, 1 H), 3,36 (dt, $J = 10,7, 4,7$ Hz, 1 H), 3,30 - 3,23 (m, 1 H), 2,87 (td, $J = 14,8, 6,5$ Hz, 2H), 1,41 (s, 9H).

5

E)

E)



La o soluție de compus **43-R** (1,32 g, 3,52 mmol) în CH_2Cl_2 (60 mL, 16,6 mL/mmol) s-a adăugat acid trifluoroacetic (30 mL, 8,3 mL/mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la 23°C timp de 1,5 ore și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, de la 100:1 la 50:50) pentru a da compusul **44-R** (0,90 g, 94%).

10

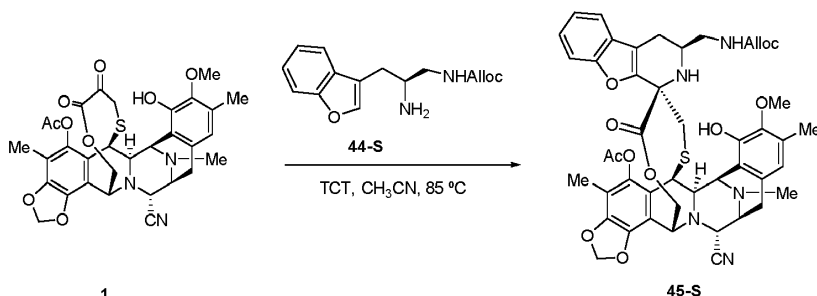
$R_f = 0,2$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$, 9:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,75 (s, 1 H), 7,69 - 7,61 (m, 1 H), 7,54 - 7,46 (m, 1 H), 7,39 - 7,24 (m, 2H), 5,95 (ddt, $J = 16,3, 10,8, 5,5$ Hz, 1 H), 5,32 (dd, $J = 17,3, 1,8$ Hz, 1 H), 5,24 - 5,16 (m, 1 H), 4,57 (dt, $J = 5,7, 1,5$ Hz, 2H), 3,68 (qd, $J = 7,1, 4,2$ Hz, 1 H), 3,48 (dd, $J = 14,8, 4,2$ Hz, 1 H), 3,42 - 3,30 (m, 1 H), 3,14 - 2,95 (m, 2H).

15

Exemplul de referință 25

A)



20

La o soluție de compus **1** (750 mg, 1,2 mmol) în CH_3CN (120 mL, 0,01 M) s-au adăugat compusul **44-S** (1370 mg, 6 mmol) și clorură cianurică (TCT) (184 mg, 20%). Amestecul de reacție a fost agitat la 85°C timp de 23 de ore și apoi s-a adăugat soluție apoasă saturată de NaHCO_3 și amestecul a fost extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 9:1 la 1:9) s-a obținut compusul **45-S** (755 mg, 72%).

25

$R_f = 0,36$ (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,38 - 7,28 (m, 2H), 7,23 - 7,08 (m, 2H), 6,67 (s, 1 H), 6,19 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,09 - 5,95 (m, 1 H), 6,04 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 5,92 (s, 1 H), 5,80 (s, 1 H), 5,44 - 5,34 (m, 1 H), 5,26 (dq, $J = 10,4, 1,3$ Hz, 1 H), 5,08 (dd, $J = 11,4, 1,1$ Hz, 1 H), 4,70 - 4,63 (m, 2H), 4,56 (s, 1 H), 4,34 (s, 1 H), 4,31 - 4,18 (m, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,50 - 3,39 (m, 2H), 3,24 - 3,15 (m, 1 H), 3,00 (dt, $J = 12,2, 6,0$ Hz, 2H), 2,95 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 2,60 (dd, $J = 15,4, 4,5$ Hz, 2H), 2,44 (dd, $J = 15,6, 5,2$ Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,25 - 2,20 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 2,12 (s, 1H), 2,04 (s, 3H).

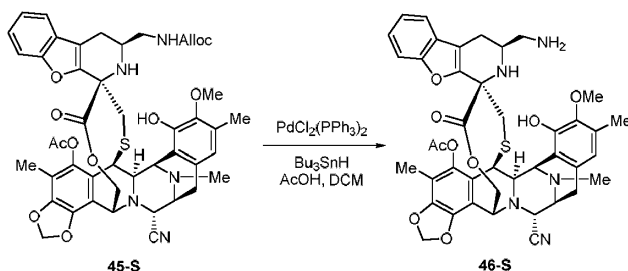
30

ESI-MS m/z : 878,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

35

B)



La o soluție de compus **45-S** (750 mg, 0,85 mmol) în CH_2Cl_2 (15,3 mL, 18 mL/mmol) s-a adăugat diclorură de bis(trifenilfosfină)paladiu(II) (96 mg, 0,14 mmol) și acid acetic (0,5 mL, 8,5 mmol).

S-a adăugat hidrură de tributii staniu (1,4 mL, 5,1 mmol) la 0 °C, iar amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 30 minute și a fost concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 100:1 la 1:100) pentru a da compusul **46-S** (430 mg, 64%).

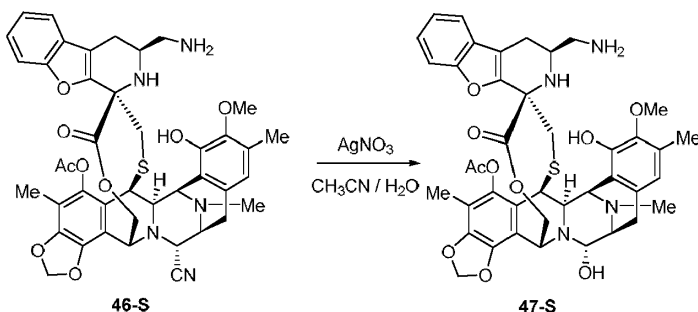
R_f = 0,3 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 1:1).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,37 - 7,29 (m, 2H), 7,22 - 7,11 (m, 2H), 6,57 (s, 1 H), 6,21 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 6,06 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 5,07 (d, *J* = 11,5 Hz, 1 H), 4,57 (s, 1 H), 4,37 (s, 1 H), 4,29 - 4,23 (m, 2H), 4,14 (s, 1 H), 3,79 (s, 3H), 3,50 - 3,47 (m, 2H), 3,38 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 2,95 - 2,71 (m, 4H), 2,68 - 2,52 (m, 2H), 2,51 - 2,38 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,33 - 2,26 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,17 - 2,08 (m, 1 H), 2,10 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

ESI-MS *m/z*: 794,3 (M+H)⁺.

C)

C)



La o soluție de compus **46-S** (550 mg, 0,7 mmol) în CH₃CN:H₂O (1,39:1, 49 ml, 0,015 M) s-a adăugat AgNO₃ (2,4 g, 14 mmol). După 16 ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO₃, agitată timp de 15 minute, diluată cu CH₂Cl₂, s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-au filtrat și s-au concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH₂Cl₂:CH₃OH, de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **47-S** (53 mg, 10%).

R_f = 0,1 (CH₂Cl₂:CH₃OH, 9:1).

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 7,36 (d, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,33 (d, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 7,23 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 7,16 (t, *J* = 7,4 Hz, 1 H), 6,77 (s, 1 H), 6,20 (s, 1 H), 6,04 (s, 1 H), 5,92 (s, 1 H), 5,20 (d, *J* = 11,1 Hz, 1 H), 4,90 (s, 1 H), 4,50 (s, 1 H), 4,46 - 4,39 (m, 1 H), 4,25 (d, *J* = 11,1 Hz, 1 H), 4,20 (s, 1 H), 3,84 (s, 3H), 3,81 (d, *J* = 4,2 Hz, 1 H), 3,58 (s, 1 H), 3,40 - 3,14 (m, 3H), 2,90 (t, *J* = 13,0 Hz, 1 H), 2,76 (m, 3H), 2,50 (s, 3H), 2,46 - 2,37 (m, 1 H), 2,32 - 2,26 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,04 (s, 3H).

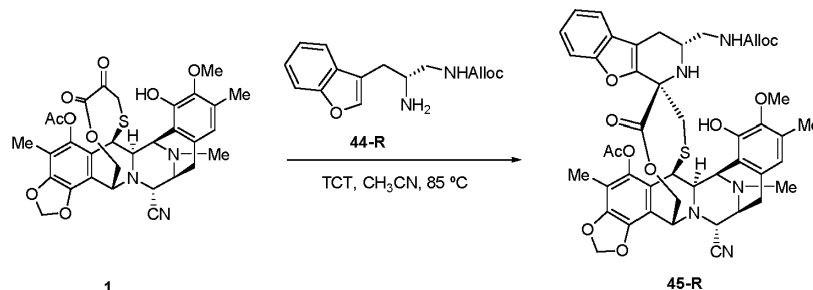
¹³C RMN (126 MHz, CD₃OD): δ 170,5, 169,2, 154,6, 149,1, 148,7, 145,7, 143,5, 141,0, 140,9, 131,2, 129,6, 126,9, 124,4, 122,5, 121,4, 119,7, 118,7, 115,9, 112,7, 111,0, 110,7, 102,1, 91,2, 63,5, 61,2, 59,2, 58,5, 55,3, 54,7, 53,4, 52,7, 43,3, 42,5, 39,9, 36,9, 29,3, 24,1, 23,6, 19,1, 15,0, 8,2.

ESI-MS *m/z*: 767,2 (M-H₂O+H)⁺.

(+)-HR-ESI-TOF-MS *m/z*: 767,2794 [M-H₂O+H]⁺ (Calculat pentru C₄₁H₄₃N₄O₉S 767,2745).

Exemplul de referință 26.

A)



La o soluție de compus **1** (621 mg, 1 mmol) în CH₃CN (100 mL, 0,01 M) s-au adăugat compusul **44-R** (825 mg, 3 mmol) și clorură de cianură (TCT) (248 mg, 40%). Amestecul de reacție a fost agitat la 85 °C timp de 66 de ore și apoi s-a adăugat soluție apoasă saturată de NaHCO₃ și amestecul a fost extras cu CH₂Cl₂. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na₂SO₄ anhidru, s-a filtrat și s-a concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 9:1 la 1:9) se obține compusul **45-R** (530 mg, 58%).

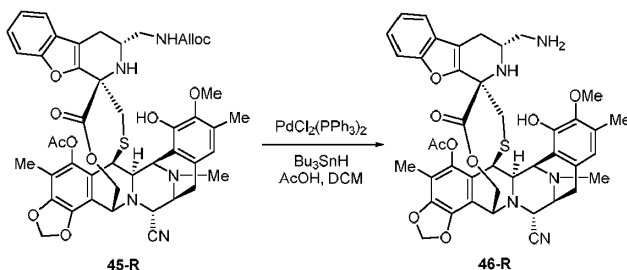
R_f = 0,4 (Hexan:EtOAc, 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,42 - 7,28 (m, 2H), 7,23 - 7,08 (m, 2H), 6,60 (s, 1 H), 6,20 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,04 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,01 - 5,92 (m, 1 H), 5,77 (s, 1 H), 5,44 - 5,20 (m, 2 H), 5,09 (s, 1 H), 5,04 - 4,96 (m, 1 H), 4,71 - 4,55 (m, 2H), 4,34 (s, 1 H), 4,30 - 4,18 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,53 (dd, $J = 10,2, 4,4$ Hz, 1 H), 3,46 (m, 2H), 3,50 - 3,40 (m, 1 H), 3,03 - 2,87 (m, 2H), 2,67 (d, $J = 15,0$ Hz, 1 H), 2,47 (dd, $J = 15,6, 3,7$ Hz, 1 H), 2,40 - 2,32 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,19 - 2,12 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 2,09 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 878,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

B)

B)



La o soluție de compus **45-R** (552 mg, 0,63 mmol) în CH_2Cl_2 (11,3 mL, 18 mL/mmol) s-a adăugat diclorură de bis(trifenilfosfin)paladiu(II) (70,7 mg, 0,1 mmol) și acid acetic (0,36 mL, 6,3 mmol). S-a adăugat hidrură de tributilstaniu (1,02 mL, 3,8 mmol) la 0 °C și amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 0,5 ore și concentrat în vid. Produsul brut obținut a fost diluat cu EtOAc, s-a adăugat soluție apoasă saturată de NH_4Cl și amestecul a fost extras cu EtOAc. Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. După cromatografie rapidă (Hexan:EtOAc, de la 100:1 la 1:100 și EtOAc: CH_3OH , de la 100:1 la 1:100) s-a obținut compusul **46-R** (423 mg, 85%).

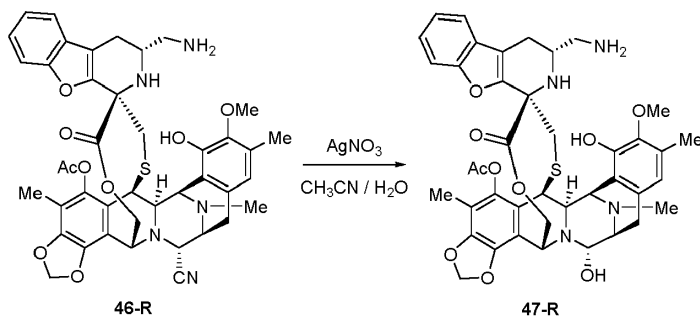
$R_f = 0,3$ (CH_2Cl_2 : CH_3OH , 1:1).

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 7,45 - 7,28 (m, 2H), 7,23 - 7,08 (m, 2H), 6,56 (s, 1 H), 6,19 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 6,05 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 4,98 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,59 (s, 1 H), 4,34 (s, 1 H), 4,27 (dd, $J = 5,1, 1,7$ Hz, 1 H), 4,22 - 4,16 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,49 - 3,39 (m, 2H), 3,31 (dq, $J = 9,8, 5,5, 4,5$ Hz, 2H), 2,95 (s, 1 H), 2,83 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,74 - 2,51 (m, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,32 - 2,21 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,06 (s, 3H).

ESI-MS m/z : 794,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

C)

C)



La o soluție de compus **46-R** (412 mg, 0,52 mmol) în $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1,39:1, 36 mL, 0,015 M) s-a adăugat AgNO_3 (1,76 g, 10,4 mmol). După 22 de ore la 23 °C, reacția a fost stinsă cu un amestec 1:1 de soluții apoase saturate de NaCl și NaHCO_3 , agitată timp de 15 minute, diluată cu CH_2Cl_2 , s-a agitat timp de 5 minute și s-a extras cu CH_2Cl_2 . Straturile organice combinate au fost uscate pe Na_2SO_4 anhidru, s-au filtrat și concentrat în vid. Reziduu obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (CH_2Cl_2 : CH_3OH , de la 99:1 la 85:15) pentru a da compusul **47-R** (175 mg, 43%).

$R_f = 0,1$ (CH_2Cl_2 : CH_3OH , 9:1).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7,34 (dd, $J = 11,1, 7,9$ Hz, 2H), 7,22 - 7,07 (m, 2H), 6,57 (s, 1 H), 6,17 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 6,01 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 5,11 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 4,84 (s, 1 H), 4,53 - 4,47 (m, 2H), 4,21 - 4,07 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,56 (d, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 3,43 (s, 1 H), 3,24 (d, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 2,98 - 2,78 (m, 4H), 2,72 - 2,58 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,35 - 2,27 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,08 (s, 3H).

^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 170,6, 169,1, 155,0, 148,8, 145,6, 143,7, 141,1, 140,8, 130,9, 129,7, 126,9, 124,2, 122,1, 119,6, 118,9, 115,0, 113,2, 112,5, 111,0, 102,1, 91,3, 63,3, 60,4, 59,0, 58,4, 55,3, 54,6, 52,6, 51,1, 44,9, 42,4, 39,8, 38,7, 29,4, 24,0, 23,2, 191, 15,0, 8,3.

ESI-MS m/z : 767,2 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$) $^+$.

5 (+)-HR-ESI-TOF-MS m/z : 767,2806 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}$] $^+$ (Calculat pentru $\text{C}_{41}\text{H}_{43}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ 767,2745).

Exemplul 27. Bioteste *in vitro* pentru detectarea activității antitumorale

10 Scopul acestui test este de a evalua *in vitro* activitatea citostatică (capacitatea de a întârzia sau opri creșterea celulelor tumorale) sau citotoxică (capacitatea de a ucide celulele tumorale) a probelor testate.

LINII CELULARE

Denumire	Nr. ATCC	Specie	Țesut	Caracteristici
A549	CCL-185	uman	pămâni	carcinom pulmonar (NSCLC)
HT29	HTB-38	uman	colon	adenocarcinom colorectal
MDA-MB-231	HTB-26	uman	sân	adenocarcinom mamar
PSN1	CRM-CRL-3211	uman	pancreas	adenocarcinomul pancreasului
PC-3	CRL-1435	uman	prostata	adenocarcinom de prostată
22Rv1	CRL-2505	uman	prostata	carcinom de prostată

EVALUAREA ACTIVITĂȚII CITOTOXICE UTILIZÂND TESTE COLORIMETRICE SBR ȘI MTT

20 Un test colorimetric, folosind reacția sulforhodaminei B (SRB) a fost adaptat pentru a oferi o măsurare cantitativă a creșterii și viabilității celulelor (urmând tehnica descrisă de Skehan și colab. J. Natl. Cancer Inst. 1990, 82, 1107-1112). Un alt test colorimetric bazat pe reducerea bromurii de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliu (MTT) la un formazan violet a fost, de asemenea, utilizat pentru a evalua activitatea antiproliferativă (urmând tehnica descrisă de Mosmann și colab. J. Immunol. Meth. 1983, 65, 55-63).

25 Aceste forme de teste folosesc microplăci de cultură celulară cu 96 de godeuri, conform standardelor Institutului Național American de Standarde și ale Societății pentru Automatizare și Screening de Laboratoare (ANSI SLAS 1-2004 (R2012) 10/12/2011). Toate liniile celulare utilizate în acest studiu au fost obținute din Colecția Americană de Cultură de Tip (ATCC) și derivă din diferite tipuri de cancer uman.

30 Celulele A549, HT29, MDA-MB-231 și PSN1 au fost menținute în Mediul Eagle Modificat Dulbecco (DMEM), în timp ce celulele PC-3 și 22Rv1 au fost menținute în Mediul Roswell Park Memorial Institute (RPMI). Toate liniile celulare au fost suplimentate cu 10% ser fetal bovin (FBS), 2 mM L-glutamină, 100 U/ml penicilină și 100 U/ml streptomycină la 37 °C, 5% CO_2 și 98% umiditate. Pentru experimente, celulele au fost recoltate din culturi subconfluente folosind tripsinizare și resuspendate în mediu proaspăt înainte de numărare și placare.

35 Celulele A549, HT29, MDA-MB-231 și PSN1 au fost însămânțate pe plăci de microtitrare cu 96 de godeuri, la 5000 de celule pe godeu în alicote de 150 μL și lăsate să se atașeze la suprafața plăcii timp de 18 ore (peste noapte) în mediu fără medicament. După aceea, o placă martor (netratată) a fiecărei linii celulare a fost fixată (așa cum este descris mai jos) și utilizată pentru valoarea de referință de timp zero. Plăcile de cultură au fost apoi tratate cu compuși de testare (alicote de 50 μL de soluții stoc 4X în mediu de cultură complet plus 4% DMSO) folosind zece diluții în serie 2/5 (concentrații variind de la 10 la 0,003 $\mu\text{g/mL}$) și culturi triplicate (concentrația 1% finală în DMSO). După 72 de ore de tratament, efectul antitumoral a fost măsurat utilizând metodologia SRB: pe scurt, celulele au fost spălate de două ori cu PBS, fixate timp de 15 minute în soluție de glutaraldehidă 1% la temperatura camerei, clătite de două ori în PBS și colorate în soluție de SRB 0,4% timp de 30 min la temperatura camerei. Celulele au fost apoi clătite de mai multe ori cu soluție de acid acetic 1% și uscate la aer la temperatura camerei. SRB a fost apoi extras în soluție de bază trizma 10 mM și absorbanta a fost măsurată într-un cititor de plăci spectrofotometric automat la 490 nm.

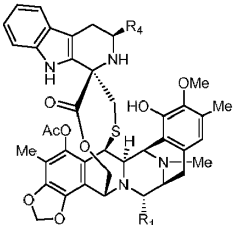
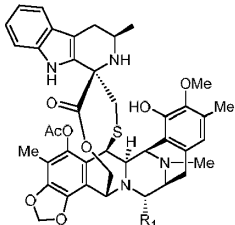
Un număr adecvat de celule PC-3 și 22Rv1, pentru a atinge o densitate celulară finală în test, variind de la 5.000 la 15.000 de celule per godeu, în funcție de linia celulară, au fost însămânțate în plăci cu 96 de godeuri și lăsate să stea în mediu de cultură timp de 24 de ore la 37°C sub 5% CO₂ și 98% umiditate. Apoi, s-au adăugat compuși sau DMSO în mediu de cultură pentru a atinge un volum final de 200 μL și concentrația dorită a compusului într-un interval care acoperă zece diluții seriale 2/5 începând de la 0,1 μg/mL în 1% (vol/vol) DMSO. În acest moment, un set de „plăci de control timp zero” tratate cu 1% (vol/vol) DMSO au fost prelucrate cu MTT, așa cum este descris mai jos. Restul plăcilor au fost incubate timp de 72 de ore în condițiile de mediu menționate mai sus. Ulterior, 50 μL dintr-o soluție MTT de 1 mg/mL în mediu de cultură au fost adăugate în godeuri și incubate timp de 6-8 ore la 37°C pentru a permite generarea de cristale de formazan. Mediul de cultură a fost apoi îndepărtat și 100 μL de DMSO pur s-au adăugat în fiecare godeu pentru a dizolva produsul formazan într-o soluție colorată a cărei absorbanță la 540 nm a fost în cele din urmă măsurată într-un cititor de etichete multiplăci PolarStar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Germania).

Efectele asupra creșterii și supraviețuirii celulelor au fost estimate prin aplicarea algoritmului NCI (Boyd MR și Paull KD. Drug Dev. Res. 1995, 34, 91-104). Valorile obținute în culturi în trei exemplare au fost ajustate prin regresie neliniară la o curbă logistică cu patru parametri prin analiză de regresie neliniară. Au fost calculați trei parametri de referință (conform algoritmului NCI menționat anterior) prin interpolarea automată a curbelor obținute printr-o astfel de potrivire: GI₅₀ = concentrația de compus care produce 50% inhibare a creșterii celulare, în comparație cu culturile martor; TGI = inhibarea totală a creșterii celulare (efect citostatic), în comparație cu culturile martor și LC₅₀ = concentrația compusului care produce 50% efect citotoxic net de distrugere a celulelor).

Tabelele 1-7 ilustrează datele despre activitatea biologică a compușilor prezentei invenții împreună cu activitatea biologică a compușilor de referință. Tabelele 8-9 furnizează date despre activitatea biologică a mai multor compuși ai invenției în comparație cu analogii lor cu o grupare de acid carboxilic. Compuși

3-S, 3a-S, 3-R, 4-S, 4a-S, 4-R, 18-S, 18-R, 19-S și 19-R sunt doar compuși conform prezentei invenții din tabelele 1-9. Alți compuși precum compușii A, B, E, F, ET-736, PM01183, 14-S, 15-S, 28-S, 28-R, 29-S, și 29-R, nu fac parte din prezenta invenție.

Tabel 1. Activitate biologică (Molar)

Compus					Compus de referință							
												
3-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH												
3a-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OAc												
10-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc												
11-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂					A R ₁ = CN							
4-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH					C R ₁ = OH							
4a-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OAc												
12-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂												
13-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc												
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1	PC-3	22Rv1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	3-S	4.03E-	2.77E-	4.91E-	9.95E-			A	8.36E-09	7.71E-09	7.07E-09	1.29E-08

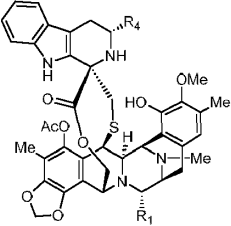
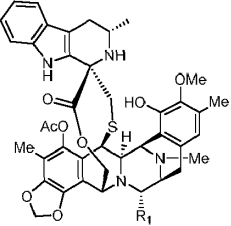
MD/EP 3615544 T2 2023.08.31

61

	Compus					Compus de referință										
		10	10	10	10											
TGI		6.17E-10	>1.26E-07	5.29E-10	1.64E-09				8.87E-09	8.36E-09	9.38E-09	1.54E-08				
LC50		>1.26E-07	>1.26E-07	6.17E-10	>1.26E-07				>1.29E-07	>1.29E-07	1.41E-08	1.93E-08				
GI50	3a-S	3.11E-09	2.99E-09	2.87E-09	2.15E-09				C							
TGI		3.23E-09	3.23E-09	3.59E-09	3.59E-09											
LC50		>1.20E-07	>1.20E-07	4.90E-09	1.20E-08											
GI50	10-S	2.05E-08	1.14E-08	4.79E-09	7.64E-09											
TGI		3.08E-08	1.25E-08	8.44E-09	1.25E-08											
LC50		7.53E-08	>1.14E-06	1.60E-08	2.39E-08											
GI50	11-S	8.45E-09	3.41E-09	2.27E-09	3.28E-09											
TGI		2.65E-08	>1.26E-07	3.41E-09	4.54E-09											
LC50		>1.26E-07	>1.26E-07	6.43E-09	8.07E-09											
GI50	4-S	1.27E-09	1.27E-09	1.22E-09	1.78E-09	8.08E-10	3.58E-10						2.73E-08	2.08E-08	2.60E-08	3.64E-08
TGI		1.40E-09	1.40E-09	2.55E-09	2.29E-09								6.63E-08	2.34E-08	5.46E-08	4.42E-08
LC50		>1.27E-07	>1.27E-07	6.50E-09	3.44E-09								>1.30E-07	>1.30E-07	>1.30E-07	6.50E-08
GI50	4a-S	3.99E-09	3.14E-09	3.39E-09	3.02E-09											
TGI		6.17E-09	3.39E-09	5.44E-09	3.27E-09											
LC50		>1.21E-07	>1.21E-07	1.00E-08	3.51E-09											
GI50	12-S	2.04E-08	4.85E-09	5.23E-09	3.44E-09											
TGI		5.61E-08	8.42E-09	8.42E-09	5.49E-09											
LC50		>1.28E-07	>1.28E-07	1.53E-08	1.21E-08											
GI50	13-S	1.15E-08	1.15E-08	1.15E-08	1.96E-08											

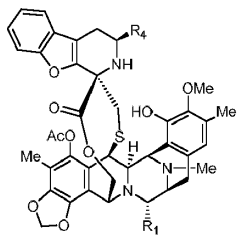
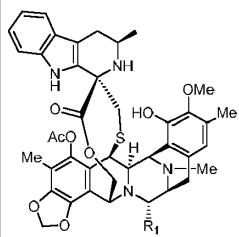
	Compus				Compus de referință		
TGI		1.61E-08	1.27E-08	1.27E-08	2.88E-08		
LC₅₀		2.42E-08	>1.15E-06	1.38E-08	4.61E-08		

Tabel 2. Activitate biologică (Molar)

	Compus					Compus de referință				
										
	3-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH									
	10-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc									
	11-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂					B R ₁ = CN				
	4-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH					D R ₁ = OH				
	12-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂									
	13-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc									
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI₅₀	3-R	4.03E-10	2.77E-10	2.77E-10	3.90E-10	B	2.06E-08	8.48E-09	9.00E-09	1.93E-08
TGI		5.79E-10	>1.26E-07	5.04E-10	6.05E-10		2.19E-08	9.13E-09	1.67E-08	2.06E-08
LC₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	1.25E-09	>1.26E-07		>1.29E-07	>1.29E-07	3.47E-08	2.31E-08
GI₅₀	10-R	3.76E-09	3.08E-09	2.85E-09	2.62E-09					
TGI		5.93E-09	>1.14E-07	4.33E-09	3.88E-09					
LC₅₀		>1.14E-07	>1.14E-07	7.18E-09	6.61E-09					
GI₅₀	11-R	1.77E-09	1.39E-09	1.01E-09	1.39E-09					
TGI		4.54E-09	>1.26E-07	1.51E-09	1.89E-09					
LC₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	2.65E-09	>1.26E-07					
GI₅₀	4-R	1.27E-09	1.26E-09	1.27E-09	4.59E-10	D	1.25E-08	1.03E-08	9.88E-09	2.08E-08

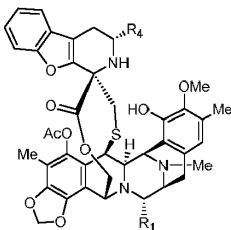
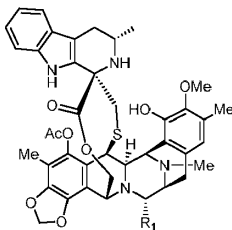
Compus						Compus de referință				
TGI		1.40E-09	1.40E-09	1.40E-09	8.54E-10		2.86E-08	2.34E-08	1.95E-08	2.21E-08
LC₅₀		> 1.27E-07	>1.27E-07	1.53E-09	2.55E-09		>1.30E-07	>1.30E-07	5.33E-08	2.47E-08
GI₅₀	12-R	1.40E-09	5.74E-10	3.19E-10	4.98E-10					
TGI		2.93E-09	1.10E-09	6.76E-10	1.22E-09					
LC₅₀		1.22E-08	2.93E-09	1.40E-09	>1.28E-07					
GI₅₀	13-R	7.26E-09	6.91E-09	4.95E-09	2.88E-09					
TGI		7.72E-09	7.60E-09	7.95E-09	3.11E-09					
LC₅₀		>1.15E-07	>1.15E-07	1.38E-08	3.46E-09					

Tabel 3. Activitate biologică (Molar)

Compus							Compus de referință					
												
38-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH							A R ₁ = CN					
45-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc												
46-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂												
39-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH							C R ₁ = OH					
47-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂												
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1	PC-3	22Rv1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	38-S	8.05E-09	4.53E-09	2.52E-09	5.03E-09			A	8.36E-09	7.71E-09	7.07E-09	1.29E-08
TGI		8.55E-09	7.05E-09	4.28E-09	8.18E-09				8.87E-09	8.36E-09	9.38E-09	1.54E-08
LC ₅₀		9.44E-09	>1.26E-07	7.80E-09	1.51E-08				>1.29E-07	>1.29E-07	1.41E-08	1.93E-08
GI ₅₀	45-S	1.82E-08	1.82E-08	1.71E-08	1.94E-08							
TGI		1.94E-08	1.94E-08	2.16E-	2.62E-							

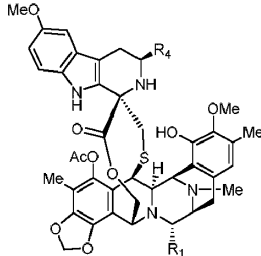
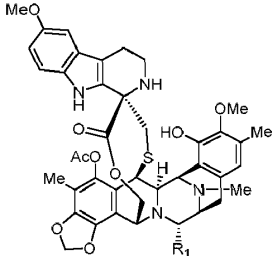
	Compus							Compus de referință				
	LC ₅₀			08	08							
		2.16E-08	>1.14E-07	2.96E-08	3.64E-08							
GI ₅₀	46-S	8.19E-09	2.77E-09	3.65E-09	3.15E-09							
TGI		2.14E-08	6.17E-09	6.80E-09	4.79E-09							
LC ₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	1.26E-08	9.20E-09							
GI ₅₀	39-S	4.84E-09	3.94E-09	3.44E-09	8.02E-09	2.78E-09	4.81E-10	C	2.73E-08	2.08E-08	2.60E-08	3.64E-08
TGI		8.27E-09	6.74E-09	7.13E-09	1.02E-08				6.63E-08	2.34E-08	5.46E-08	4.42E-08
LC ₅₀		1.65E-08	>1.27E-07	1.78E-08	1.27E-08				>1.30E-07	>1.30E-07	>1.30E-07	6.50E-08
GI ₅₀	47-S	1.40E-08	4.33E-09	6.24E-09	5.99E-09							
TGI		2.80E-08	6.75E-09	9.68E-09	8.54E-09							
LC ₅₀		>1.27E-07	>1.27E-07	1.66E-08	1.27E-08							

Tabel 4. Activitate biologică (Molar)

Compus						Compus de referință				
										
38-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH										
45-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc										
46-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂						B R ₁ = CN				
39-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH						D R ₁ = OH				
47-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂										
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	38-R	6.54E-10	5.41E-10	4.53E-10	6.54E-10	B	2.06E-08	8.48E-09	9.00E-09	1.93E-08
TGI		1.04E-09	5.91E-10	8.43E-10	9.94E-10		2.19E-08	9.13E-09	1.67E-08	2.06E-08

Compus						Compus de referință				
LC ₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	2.01E-09	1.76E-09		>1.29E-07	>1.29E-07	3.47E-08	2.31E-08
GI ₅₀	45-R	1.82E-08	1.25E-08	9.57E-09	1.06E-08					
TGI		1.94E-08	2.28E-08	1.94E-08	1.94E-08					
LC ₅₀		2.39E-08	>1.14E-07	4.33E-08	3.76E-08					
GI ₅₀	46-R	1.51E-09	1.21E-09	1.23E-09	9.95E-10					
TGI		2.77E-09	1.39E-09	1.39E-09	1.51E-09					
LC ₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	1.51E-09	2.65E-09					
GI ₅₀	39-R	2.67E-10	2.93E-10	2.04E-10	3.65E-10	D	1.25E-08	1.03E-08	9.88E-09	2.08E-08
TGI		4.33E-10	6.24E-10	5.98E-10	5.73E-10		2.86E-08	2.34E-08	1.95E-08	2.21E-08
LC ₅₀		>1.27E-07	>1.27E-07	2.80E-09	1.06E-09		>1.30E-07	>1.30E-07	5.33E-08	2.47E-08
GI ₅₀	47-R	2.04E-09	8.03E-10	5.99E-10	1.40E-09					
TGI		3.82E-09	1.40E-09	1.17E-09	2.04E-09					
LC ₅₀		1.40E-08	>1.27E-07	2.55E-09	3.31E-09					

Tabel 5. Activitate biologică (Molar)

Compus	Compus de referință
	
18-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH	
25-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc	E R ₁ = CN
26-S R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂	
19-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH	PM01183 R ₁ = OH
27-S R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂	

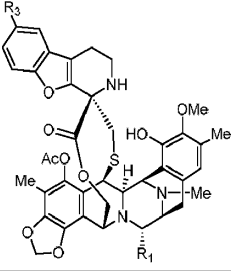
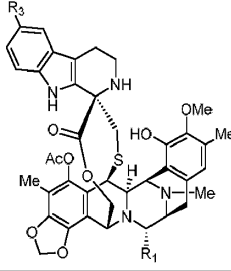
Compus						Compus de referință				
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	18-S	1.70E-09	1.21E-09	1.21E-09	9.59E-10	E	3.28E-09	3.15E-09	2.27E-09	2.77E-09
TGI		3.03E-09	1.34E-09	1.34E-09	1.34E-09		3.40E-09	3.40E-09	3.78E-09	4.53E-09
LC ₅₀		>1.21E-07	>1.21E-07	1.58E-09	>1.21E-07		4.41E-09	>1.26E-07	7.43E-09	8.94E-09
GI ₅₀	25-S	7.17E-09	7.17E-09	5.84E-09	6.84E-09					
TGI		7.61E-09	7.72E-09	9.04E-09	9.26E-09					
LC ₅₀		>1.10E-07	>1.10E-07	1.54E-08	1.43E-08					
GI ₅₀	26-S	1.12E-08	2.79E-09	1.34E-09	3.04E-09					
TGI		2.19E-08	3.16E-09	1.94E-09	3.28E-09					
LC ₅₀		>1.22E-07	>1.22E-07	3.89E-09	3.52E-09					
GI ₅₀	19-S	3.07E-09	1.35E-09	1.96E-09	2.95E-09	PM 01183	3.31E-09	1.91E-09	2.29E-09	3.19E-09
TGI		3.31E-09	1.60E-09	3.31E-09	3.19E-09		3.57E-09	4.46E-09	3.95E-09	3.95E-09
LC ₅₀		>1.23E-07	>1.23E-07	1.10E-08	>1.23E-07		>1.27E-07	>1.27E-07	1.02E-08	5.73E-09
GI ₅₀	27-S	6.02E-09	1.23E-09	1.19E-09	1.97E-09					
TGI		1.12E-08	1.35E-09	1.23E-09	2.83E-09					
LC ₅₀		>1.23E-07	>1.23E-07	1.35E-09	4.55E-09					

Tabel 6. Activitate biologică (Molar)

Compus					Compus de referință				
18-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ OH					PM01183 R ₁ = OH				
25-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NHAlloc									
26-R R ₁ = CN, R ₄ = -CH ₂ NH ₂									
19-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ OH									
27-R R ₁ = OH, R ₄ = -CH ₂ NH ₂									
A549		HT29	MDA-	PSN1	A549		HT29	MDA-	PSN1

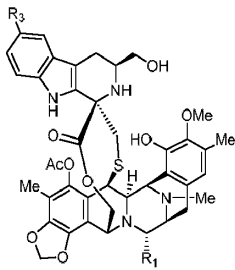
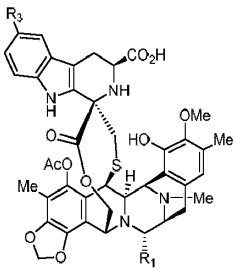
				MB-231					MB-231	
GI₅₀	18-R	1.21E-09	1.21E-09	1.21E-09	5.70E-10	E	3.28E-09	3.15E-09	2.27E-09	2.77E-09
TGI		1.34E-09	1.34E-09	1.34E-09	1.06E-09		3.40E-09	3.40E-09	3.78E-09	4.53E-09
LC₅₀		>1.21E-07	>1.21E-07	1.46E-09	>1.21E-07		4.41E-09	>1.26E-07	7.43E-09	8.94E-09
GI₅₀	25-R	1.32E-09	1.54E-09	1.21E-09	1.21E-09					
TGI		2.43E-09	2.76E-09	2.54E-09	2.32E-09					
LC₅₀		9.92E-09	>1.10E-07	8.38E-09	6.73E-09					
GI₅₀	26-R	1.94E-09	7.29E-10	1.17E-09	9.72E-10					
TGI		3.40E-09	1.58E-09	1.22E-09	1.70E-09					
LC₅₀		>1.22E-07	>1.22E-07	1.46E-09	3.52E-09					
GI₅₀	19-R	1.47E-09	1.72E-09	1.23E-09	1.23E-09	PM0 1183	3.31E-09	1.91E-09	2.29E-09	3.19E-09
TGI		3.56E-09	1.72E-09	1.35E-09	1.35E-09		3.57E-09	4.46E-09	3.95E-09	3.95E-09
LC₅₀		>1.23E-07	>1.23E-07	>1.23E-07	1.47E-09		>1.27E-07	>1.27E-07	1.02E-08	5.73E-09
GI₅₀	27-R	2.09E-09	5.04E-10	3.07E-10	6.39E-10					
TGI		3.93E-09	5.53E-10	5.41E-10	1.17E-09					
LC₅₀		1.01E-08	>1.23E-07	8.60E-10	2.46E-09					

Tabel 7. Activitate biologică (Molar)

Compus	Compus de referință
	
31 R ₁ = CN, R ₃ = H	F R ₁ = CN, R ₃ = H

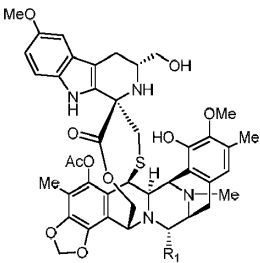
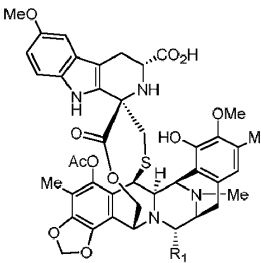
		Compus				Compus de referință				
		32 R ₁ = OH, R ₃ = H				ET-736 R ₁ = OH, R ₃ = H				
		34 R ₁ = CN, R ₃ = OMe				E R ₁ = CN, R ₃ = OMe				
		35 R ₁ = OH, R ₃ = OMe				PM01183 R ₁ = OH, R ₃ = OMe				
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	31	1.96E-08	1.05E-08	8.89E-09	6.80E-09	F	3.80E-08	2.09E-08	1.96E-08	3.27E-08
TGI		2.09E-08	1.57E-08	1.70E-08	1.57E-08		7.20E-08	2.36E-08	3.40E-08	6.02E-08
LC ₅₀		2.35E-08	> 1.31E-07	3.53E-08	4.31E-08		> 1.31E-07	> 1.31E-07	7.33E-08	1.07E-07
GI ₅₀	32	6.88E-09	6.88E-09	4.76E-09	6.09E-09	ET-736	2.25E-08	2.12E-08	2.12E-08	3.97E-08
TGI		>1.32E-08	>1.32E-08	1.05E-08	8.34E-09		4.77E-08	2.25E-08	2.52E-08	5.96E-08
LC ₅₀		>1.32E-08	>1.32E-08	>1.32E-08	1.20E-08		>1.32E-07	>1.32E-07	4.77E-08	1.02E-07
GI ₅₀	34	5.91E-08	5.41E-08	4.53E-08	5.41E-08	E	3.28E-09	3.15E-09	2.27E-09	2.77E-09
TGI		8.05E-08	8.55E-08	7.67E-08	5.91E-08		3.40E-09	3.40E-09	3.78E-09	4.53E-09
LC ₅₀		>1.26E-07	1.25E-07	1.12E-07	>1.26E-07		4.41E-09	>1.26E-07	7.43E-09	8.94E-09
GI ₅₀	35	8.14E-09	7.89E-09	4.58E-09	6.24E-09	PM01183	3.31E-09	1.91E-09	2.29E-09	3.19E-09
TGI		8.78E-09	8.65E-09	8.27E-09	9.03E-09		3.57E-09	4.46E-09	3.95E-09	3.95E-09
LC ₅₀		>1.27E-07	>1.27E-07	1.65E-08	1.40E-08		>1.27E-07	>1.27E-07	1.02E-08	5.73E-09

Tabel 8. Activitate biologică (Molar)

Compus	Compus de referință
	
3-S R ₁ = CN, R ₃ = H	14-S R ₁ = CN, R ₃ = H
4-S R ₁ = OH, R ₃ = H	15-S R ₁ = OH, R ₃ = H

Compus						Compus de referință				
18-S R ₁ = CN, R ₃ = OMe						28-S R ₁ = CN, R ₃ = OMe				
19-S R ₁ = OH, R ₃ = OMe						29-S R ₁ = OH, R ₃ = OMe				
		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1		A549	HT29	MDA-MB-231	PSN1
GI ₅₀	3-S	4.03E-10	2.77E-10	4.91E-10	9.95E-10	14-S	>1.24E-07	1.21E-07	5.45E-08	>1.24E-07
TGI		6.17E-10	>1.26E-07	5.29E-10	1.64E-09		>1.24E-07	>1.24E-07	1.13E-07	>1.24E-07
LC ₅₀		>1.26E-07	>1.26E-07	6.17E-10	>1.26E-07		>1.24E-07	>1.24E-07	>1.24E-07	>1.24E-07
GI ₅₀	4-S	1.27E-09	1.27E-09	1.22E-09	1.78E-09	15-S	>1.25E-06	3.00E-07	1.63E-07	2.38E-07
TGI		1.40E-09	1.40E-09	2.55E-09	2.29E-09		>1.25E-06	5.13E-07	2.13E-07	4.63E-07
LC ₅₀		>1.27E-07	>1.27E-07	6.50E-09	3.44E-09		>1.25E-06	9.14E-07	2.75E-07	8.39E-07
GI ₅₀	18-S	1.70E-09	1.21E-09	1.21E-09	9.59E-10	28-S	4.89E-07	2.51E-07	1.67E-07	2.51E-07
TGI		3.03E-09	1.34E-09	1.34E-09	1.34E-09		>1.19E-06	3.46E-07	2.51E-07	3.94E-07
LC ₅₀		>1.21E-07	>1.21E-07	1.58E-09	>1.21E-07		>1.19E-06	6.33E-07	3.94E-07	6.92E-07
GI ₅₀	19-S	3.07E-09	1.35E-09	1.96E-09	2.95E-09	29-S	6.15E-07	3.62E-07	2.17E-07	3.86E-07
TGI		3.31E-09	1.60E-09	3.31E-09	3.19E-09		>1.21E-06	5.31E-07	3.74E-07	5.07E-07
LC ₅₀		>1.23E-07	>1.23E-07	1.10E-08	>1.23E-07		>1.21E-06	8.32E-07	6.88E-07	6.88E-07

Tabel 9. Activitate biologică (Molar)

Compus					Compus de referință				
									
18-R R ₁ = CN					28-R R ₁ = CN				
19-R R ₁ = OH					29-R R ₁ = OH				
	A549	HT29	MDA-	PSN1		A549	HT29	MDA-	PSN1

Compus						Compus de referință				
				MB-231					MB-231	
GI ₅₀	18-R	1.21E-09	1.21E-09	1.21E-09	5.71E-10	28-R	1.67E-07	3.10E-08	1.91E-08	2.15E-08
TGI		1.34E-09	1.34E-09	1.34E-09	1.06E-09		3.58E-07	3.34E-08	3.22E-08	3.58E-08
LC ₅₀		>1.21E-07	>1.21E-07	1.46E-09	>1.21E-07		>1.19E-06	>1.19E-06	9.19E-08	6.68E-08
GI ₅₀	19-R	1.47E-09	1.72E-09	1.23E-09	1.23E-09	29-R	9.05E-08	3.02E-08	1.69E-08	3.02E-08
TGI		3.56E-09	1.72E-09	1.35E-09	1.35E-09		1.93E-07	3.26E-08	2.77E-08	3.14E-08
LC ₅₀		>1.23E-07	>1.23E-07	>1.23E-07	1.47E-09		>1.21E-06	>1.21E-06	1.57E-07	3.50E-08

Compușii prezentei invenții s-au dovedit a avea potență mărită *in vitro*, în comparație cu compușii de referință. Aceasta demonstrează că compușii conform prezentei invenții prezintă o citotoxicitate mărită față de celulele canceroase și sunt utili în tratamentul cancerului.

5

Exemplul 28. Determinarea MTD și MTMD

Pentru toate experimentele au fost utilizați șoareci femele CD-1 sau Athymic Nude-Fox1 nu/nu (Envigo). Animalele (N=10/cușcă) au fost introduse în cuști ventilate individual (Sealsafe Plus[®], Techniplast S.P.A.), pe parcursul unui ciclu lumină-întuneric de 12 ore la 21-23 °C și 40-60% umiditate. Șoarecilor li s-a permis accesul liber la dieta standard iradiată pentru rozătoare (Tecklad 2914C) și apă sterilizată. Animalele au fost aclimatizate timp de cinci zile înainte de a fi identificate individual prin tatuaj. Protocoalele pentru animale au fost revizuite și aprobate conform comitetelor regionale de îngrijire și utilizare a animalelor instituționale.

10

15

Șoarecii au fost alocați aleatoriu în grupuri experimentale și administrați intravenos, o dată pentru determinarea MTD (Doza maximă tolerată) sau o administrare pe săptămână timp de trei săptămâni consecutive, pentru studiul de determinare MTMD (Doza maximă tolerată). Animalelor li s-au administrat formulare albă sau compus dizolvat în formula experimentală la diferite concentrații. Volumul administrat a fost întotdeauna de 10 ml/kg. Odată administrate, animalele au fost monitorizate pentru semne clinice de toxicitate sistemică, modificări ale greutateii corporale și mortalitate până la 14 zile după administrare.

20

Rezultatele MTD sunt însumate în **Tabelul 10** în care compușii C, D și 32 nu fac parte din invenție.

25

Tabel 10

Compus	Traseu Program /	Doze (mg/Kg)	MTD (mg/kg)
4-S	iv / SD	0,00, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	1,0
4-R			0,25
19-S			0,5
19-R		0,00, 0,10, 0,15, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	0,15
Compus C		0,00, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 3,00, 4,00, 5,00	3,0
Compus D		0,00, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00, 6,00, 8,00	0,5

Compus	Traseu Program / Doze (mg/Kg)	MTD (mg/kg)
32	0,00, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	0,5

Rezultatele **MTMD** sunt rezumate în **Tabelul 11** în care doar compușii 4-S, 4-R, 19-S și 19-R din Tabelul 11 sunt conform invenției.

5 Tabel 11

Compus	Traseu / Program	Doze (mg/Kg)	MTMD (mg/kg)
4-S	iv / Q7dx3	0,00, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25	1,25
4-R		0,00, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30	0,30
12-S		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	0,25
12-R		0,00, 0,010, 0,025, 0,050, 0,075, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	0,05
19-S		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75	0,75
19-R		0,00, 0,025, 0,075, 0,10, 0,15	0,15
Compus C		0,0, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0	3,0
Compus D		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75	0,5
32		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75	0,5
35		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75	0,25
39-S		0,00, 0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	1,25
47-R		0,00, 0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 2,00, 2,50, 5,00	0,1
ET-736		0,00, 0,10, 0,25, 0,50, 0,75	0,5
PM01183		0,00, 0,14, 0,18	0,18
iv, intravenos			
Q7dx3, trei doze cumulate administrate săptămânal.			

Exemple 29-40. Xenogrefe *in vivo*

- 10 Au fost utilizați șoareci nu/nu femele atimici (Harlan Laboratories Models, S.L. Barcelona, Spania sau Envigo, Spania) pentru toate experimentele. Animalele au fost introduse în cuști ventilate individual Sealsafe® Plus, Techniplast S.P.A.), până la zece pe cușcă pe un ciclu de 12 ore lumină-întuneric la 21-23 °C și 40-60 % umiditate. Șoarecii au avut acces liber la dieta standard iradiată pentru rozătoare (Tecklad 2914C) și apă sterilizată. Animalele au fost aclimatizate timp de cel puțin 5 zile înainte de implantarea tumorii cu o suspensie de celule tumorale.

15

LINII CELULARE

Denumire	Nr. ATCC	Nr ECCC*	Specie	Țesut	Caracteristici
HT1080	CCL-121	-	uman	conjunctiv	Fibrosarcom
MDA-MB-231	HTB-26	-	uman	sanului	Adenocarcinom mamar
H460	HTB-177	-	uman	plămân, revărsat pleural	NSCLC
A2780	-	93112519	uman	ovarian	Carcinom ovarian

Denumire	Nr. ATCC	Nr ECCC*	Specie	Țesut	Caracteristici
HGC27	-	94042256	uman	gastric	Carcinom gastric
H526	CRL-5811	-	uman	plămâni	SCLC
H82	HTB-175	-	uman	plămâni	SCLC
PC3	CLR-1435	-	uman	prostată; derivat din situs metastatic: os	Adenocarcinom de prostată
DU145	HTB-81		uman	prostată; derivat din situs metastatic: creier	Carcinom de prostată
22Rv 1	CRL-2505		uman	prostată	Carcinom de prostată
* Colecția europeană de culturi celulare					

Celulele HT1080 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în Minimum Essential Medium Eagle (MEME) (Sigma-Aldrich, Co). Fiecare animal a fost implantat ortotopic în mușchiul gastrocnemian printr-o injecție intramusculară folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc la vârsta de 4-6 săptămâni, cu 10×10⁶ Celule HT1080, suspendate în mediu fără ser, fără antibiotice.

Celulele MDA-MB-231 au fost menținute *in vitro* la 37°C cu 5% CO₂ în Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile la atingerea confluentei. Fiecare animal a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 7,5×10⁶ celule MDA-MB-231 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele H460 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în mediu Dulbecco's Modified Eagle's (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile după atingerea confluentei. Fiecare animal a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ celule H460 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele A2780 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile după atingerea confluentei. Fiecare animal a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 10×10⁶ celule A2780 suspendate în 0,05 ml de soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele HGC27 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în mediu Dulbecco modificat Iscove (Sigma Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile la atingerea confluentei. Fiecare animal a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ celule HGC-27 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences), 50% mediu fără ser sau antibiotice.

Celulele H526 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în mediu RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele H526 au fost crescute sub formă de suspensie și menținute prin adăugarea de mediu proaspăt, pe măsură ce densitatea celulară crește, la fiecare 2 până la 3 zile. În fiecare săptămână, cultura a fost restabilită prin centrifugarea suspensiei cu resuspensie ulterioară în mediu proaspăt la o concentrație de 1 x 10⁵ celule/ml. Fiecare animal a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ celule H526 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele H82 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5% CO₂ în mediu RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele H82 au fost crescute sub formă de suspensie și menținute prin adăugarea de mediu proaspăt, pe măsură ce densitatea celulară crește, la fiecare 2 până la 3 zile. În fiecare săptămână, cultura a fost restabilită prin centrifugarea suspensiei cu resuspensie ulterioară în mediu proaspăt, la o concentrație de 1 x 10⁵ celule/ml. Animalele au fost implantate subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ celule H82, suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele PC3 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5 % CO₂ în mediu RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile la atingerea confluenței. Fiecare șoarece femelă atimic a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 3×10⁶ celule PC3 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® Matrix (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice. În acest model, în loc de masculi, au fost folosite animale femele, deoarece creșterea PC-3 nu este dependentă de hormoni.

Celulele DU-145 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5 % CO₂ în mediu RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile la atingerea confluenței. Fiecare șoarece mascul atimic a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ Celule DU-145 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® Matrix (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Celulele 22Rv1 au fost menținute *in vitro* la 37 °C cu 5 % CO₂ în mediu RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, Co). Celulele de cultură au fost trecute la fiecare 3 până la 5 zile la atingerea confluenței. Fiecare șoarece mascul atimic a fost implantat subcutanat (pe flancul drept folosind un ac 26G și o seringă de 1 cc) la vârsta de 4-6 săptămâni cu 5×10⁶ celule 22Rv1 suspendate în 0,05 ml dintr-o soluție constând din 50% Matrigel® Matrix (Corning Incorporated Life Sciences) și mediu 50% fără ser sau antibiotice.

Tolerabilitatea tratamentului a fost evaluată prin monitorizarea evoluției greutății corporale, a semnelor clinice de toxicitate sistemică, precum și a dovezilor de afectare locală la locul injectării.

În studiile de xenogrefă cu linie celulară HT1080:

- Măsurătorile diametrului total (tumoră + picior) au fost determinate folosind un șubler digital (Fowler Sylvac, S235PAT). Acest diametru total și greutatea corporale ale animalelor au fost măsurate de 2-3 ori pe săptămână începând din prima zi de tratament (ziua 0).

- Atunci când diametrul total a atins o lungime de aproximativ 7,0-8,0 mm, șoarecii au fost alocați aleatoriu în grupurile de tratament și cele martor (N = 8-10/grup) în funcție de greutatea corporală și măsurătorile tumorii, folosind software NewLab Oncology (versiunea 2.25.06.00).

- Pentru evaluarea eficacității antitumorale a fost utilizată comparația dintre diametrul total median (tumoră + picior) în grupurile de tratament cu diametrul total median (tumoră + picior) în grupul de control.

- Animalele au fost eutanasiate când diametrul total al picioarelor a ajuns la circa 18 mm.

În studiile de xenogrefă cu alte linii celulare:

- Volumul tumorii a fost calculat folosind ecuația $(a \cdot b^2)/2$, în care a: lungimea (diametrul cel mai lung) și b: lățimea (diametrul cel mai scurt) au fost măsurate în mm utilizând șublerul digital (Fowler Sylvac, S235PAT). Dimensiunile tumorii și greutatea corporale au fost înregistrate de 2-3 ori pe săptămână începând din prima zi de tratament.

- Când tumorile au ajuns la circa 150-250 mm³, animalele purtătoare de tumori (N = 8-10/grup) au fost alocate aleatoriu în grupurile de tratament, pe baza greutății corporale și a măsurătorilor tumorii utilizând NewLab Oncology Software (versiunea 2.25.06.00).

- Pentru evaluarea eficacității antitumorale a fost utilizată comparația dintre volumul tumoral median al grupurilor tratate și al grupului de control.

- Animalele au fost eutanasiate când tumorile lor au ajuns la circa 2000 mm³ și/sau a fost observată necroză severă.

Tratamentele care produc >20% letalitate și/sau 20% pierdere netă în greutate corporală au fost considerate toxice.

Tabelele și figurile însumează datele obținute din grupuri experimentale complete, adică acele grupuri care păstrează numărul inițial de animale, n = 8-10. Totuși, odată ce primul animal este sacrificat din cauza unei lungimi a tumorii > 18 mm sau a unei dimensiuni a tumorii > 2000 mm³, grupul experimental va fi considerat incomplet. Prin urmare, datele generate ulterior zilei de sacrificiu și ulterior nu vor fi prezentate (adică nici în tabele, nici în figuri).

Exemplul 29. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui 4-S și 12-S (referință) în mai multe modele de xenogrefă

4-S, 12-S (de referință), și compusul C au fost furnizate sub formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de

dozare. Dozele administrate de **4-S**, **12-S** (de referință) și compus **C** au fost 1,25 mg/kg, 0,25 mg/kg și, respectiv, 3,0 mg/kg.

A fost furnizat placebo sub formă de turtă liofilizată cu conținut de 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, **4-S**, **12-S** (de referință), și Compus **C**, precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

Exemplul 29a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-S** și **12-S** (de referință) în xenogrefe de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a lui **4-S** și **12-S** (de referință) cu activitate antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

Tabelul 12 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 1.

Tabel 12

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	7,5	7,5	7,5	7,5
2,0	9,4	8,8	7,7	8,2
5,0	11,4	9,0	8,3	8,6
7,0	12,1	9,6	8,8	9,5
9,0	13,2	10,2	8,4	10,0
12,0	14,5	10,2	8,4	11,2
14,0	15,2	11,2	9,6	11,7
16,0	15,9	12,4	10,0	12,7
19,0	18,0	13,3	10,4	13,5
21,0		15,2	12,1	14,4
23,0		18,0	12,7	16,5
27,0			13,5	15,2
30,0			15,6	16,4
33,0			18,0	

Exemplul 29b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-S** și **12-S** (de referință) în xenogrefele de sân uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a lui **4-S** și **12-S** (de referință) cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 13 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 2.

Tabel 13

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	149,4	149,4	150,6	150,2
2,0	240,0	217,1	197,3	229,9

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
5,0	325,1	281,3	250,9	290,5
7,0	407,8	338,6	265,0	398,2
9,0	514,8	385,1	272,5	508,9
12,0	648,1	400,4	270,6	602,5
14,0	799,0	436,9	281,3	751,0
16,0	1002,5	585,7	293,6	977,7
19,0	1233,9	774,7	322,1	1252,6
21,0	1539,1	965,9	324,4	1560,7
23,0	2006,5	1215,2	326,6	2005,9
26,0	2027,7	1503,2	398,8	2066,2
28,0		1785,3	501,8	
30,0		2037,1	654,8	
33,0			856,7	
35,0			1147,1	
37,0			1635,9	

Exemplul 29c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-S** și **12-S** (de referință) în xenogrefele tumorale pulmonare umane.

5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compușilor **4-S** și **12-S** (de referință) cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer pulmonar uman. Aceste modele corespund cancerului pulmonar fără celule mici (linia celulară H-460) și cancerului pulmonar cu celule mici (liniile celulare H526 și H82).

10 **Tabelul 14** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 3.

Tabel 14

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	187,4	186,1	185,9	186,0
2,0	577,5	395,4	310,9	460,5
5,0	1352,0	665,9	634,6	922,4
7,0	1642,9	929,5	959,1	1252,1
9,0	2025,0	1063,7	1064,9	1409,4
12,0		1436,5	1421,0	1531,7
14,0		2025,0	1845,5	2025,0
16,0		2025,0	2025,0	

15 **Tabelul 15** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 4.

Tabel 15

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	217,2	217,9	211,8	212,7
2,0	410,7	262,4	279,0	412,7
4,0	778,5	108,3	98,8	637,9
7,0	1083,2	129,8	56,7	968,5
9,0	1371,0	85,9	62,5	1250,3
11,0	1782,0	52,3	32,0	1568,0
14,0	2025,0	54,1	18,0	2025,0
16,0		47,3	32,0	
21,0		4,0	4,0	
28,0		4,0	4,0	
35,0		4,0	4,0	
42,0		62,5	4,0	
49,0		53,5	4,0	

Tabelul 16 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, compus C, 4-S și 12-S (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 5.

5

Tabel 16

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	171,6	170,5	168,3	174,0
2,0	439,4	265,3	215,2	360,1
5,0	1024,7	488,7	253,6	899,7
7,0	1422,0	760,0	341,4	1398,6
9,0	1923,8	899,5	349,4	1847,6
12,0	2025,0	1038,5	436,4	2089,7
14,0		1213,4	516,0	
16,0		1256,4	521,8	
19,0		1741,5	560,9	
21,0		1878,8	627,7	
23,0		2057,0	690,9	
26,0			953,4	
28,0			847,1	
30,0			1067,5	
33,0			1200,6	
35,0			1257,7	
37,0			1497,7	
41,0			2014,2	

Exemplul 29d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compușilor 4-S și 12-S (de referință) în xenogrefele tumorale ovariene umane.

10

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-S** și **12-S** (de referință) cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

- 5 **Tabelul 17** raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 6.

Tabel 17

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	169,5	169,6	168,3	168,5
2,0	317,5	206,3	150,6	262,1
5,0	758,9	372,7	175,9	628,6
7,0	1351,9	607,6	317,7	976,3
9,0	1675,8	696,2	281,9	1387,5
12,0	2025,0	855,6	372,1	1666,0
14,0		1293,9	709,2	2025,0
16,0		1683,5	870,9	
19,0		2137,5	1235,4	
21,0			1453,3	
23,0			1666,0	
26,0			2025,0	

- 10 **Exemplul 29e.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **4-S** și **12-S** (de referință) în xenogrefele tumorale gastrice umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-S** și **12-S** (de referință) cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

- 15 Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 18 raportează creșterea volumului tumorii la tumorile HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C**, **4-S** și **12-S** (de referință). Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 7.

Tabel 18

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)			
	Martor	Compus C	4-S	12-S
0,0	200,7	195,0	194,8	196,6
2,0	429,0	391,0	358,6	411,9
5,0	835,5	578,6	515,3	834,1
7,0	1256,5	708,2	589,2	1176,6
9,0	1602,2	937,7	779,4	1531,6
12,0	2040,7	1169,5	980,8	2030,2
14,0		1496,8	1153,3	
16,0		1690,6	1346,2	
19,0		2004,0	1643,4	
21,0			2004,7	

- 20 **Exemplul 30.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-R** în mai multe modele de xenogrefă. Compusul **4-R** a fost furnizat în flacoane liofilizate. Turta de **4-R** a fost reconstituită cu apă

pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/mL. Soluția stoc de **4-R** a fost diluată în continuare în soluție de dextroză 5% pentru injectare până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **4-R** a fost de 0,30 mg/kg.

Compusul **D** a fost furnizat în formă de flacoane cu substanță medicamentoasă. Fiecare flacon a fost reconstituit întâi prin dizolvare totală în DMSO și apoi cu adăugare de Kolliphor ELP (BASF)/etanol absolut (1:1, vol/vol) la o concentrație de 0,8 mg/mL. S-au făcut diluții suplimentare cu o soluție tampon de lactat (pH = 4,0) până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de compus **D** a fost de 0,5 mg/kg.

PM01183 a fost furnizat sub formă de flacoane de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,2 mg/mL. S-au făcut diluții ulterioare cu soluție injectabilă de glucoză 5% sau clorură de sodiu 0,9% la concentrațiile formulării de dozare. Doza administrată a fost de 0,18 mg/kg.

Placebo a fost furnizat sub formă de turtă liofilizată conținând 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, **4-R**, Compusul **D** și **PM01183** precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

Exemplul 30a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-R** în xenogrefele de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-R** și a Compusului **D** cu activitate antitumorală a **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

Tabelul 19 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 8.

Tabel 19

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	4-R
0	8,1	8,1	8,1
2	11,2	9,7	8,6
7	13,6	11,2	8,7
9	15,2	12,3	9,0
14	16,9	14,6	9,3
18	18,1	15,6	10,3
21		15,1	11,5
23		16,3	13,3
25		18,0	15,8
28			18,0

Tabelul 20 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 9.

Tabel 20

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	Compus D
0	7,8	7,7	7,7
2	11,0	9,2	9,5
5	14,0	9,8	8,8

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	Compus D
7	15,0	12,2	8,7
9	18,0	12,6	9,4
12		13,1	9,4
14		14,6	10,1
16		14,5	10,9
19		15,0	11,2
21		18,0	12,1
23			13,0
26			15,0
28			18,0

Exemplul 30b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui 4-R în xenogrefele de sân uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-R** și Compusului **D** cu activitatea antitumorală a **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul de tumoră utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 21 raportează evaluarea volumului de tumoră mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 10.

Tabel 21

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	4-R
0	130,6	129,3	129,3
7	230,7	189,0	151,9
14	422,2	230,1	164,1
21	687,7	305,9	136,8
28	1114,9	535,8	195,9
35	1555,3	819,7	294,2
42	2138,5	962,7	494,4
49		1301,3	843,8
52		2199,4	1042,5

Tabelul 22 raportează evaluarea volumului tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 11.

Tabel 22

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	Compus D
0	129,2	129,6	129,5
7	284,0	185,9	147,9
14	564,3	290,8	186,4
21	686,0	337,9	136,5
28	1068,6	507,4	290,7

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	Compus D
35	1359,4	796,1	431,7
42	1533,7	1062,5	770,1
49	1653,1	1416,3	970,0
56	2029,3	1673,3	1461,9
63	2060,8	1811,9	1526,4

Exemplul 30c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **4-R** în xenogrefele tumorale pulmonare umane.

- 5 Scopul acestui studiu a constat în a compara activitatea antitumorală a compusului **4-R** și Compusului **D** cu activitatea antitumorală a **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer pulmonar uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară H-460.

- 10 **Tabelul 23** raportează evaluarea volumului tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 12.

Tabel 23

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	4-R
0	156,2	156,7	155,5
2	290,9	227,3	223,3
7	1323,8	940,4	737,8
9	1816,9	1210,3	861,0
11	2120,9	1433,8	1102,9
14		1529,5	1638,0
16			2028,6

- 15 **Tabelul 24** raportează evaluarea volumului tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compusul **D**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 13.

Tabel 24

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	Compus D
0	205,2	204,5	203,4
2	508,0	418,1	367,3
7	1355,8	1004,0	792,0
9	1682,1	1211,3	854,6
12	1938,6	1515,4	1026,7
14	2275,9	1633,3	1175,8
16		1723,9	1322,1
19		2112,3	1581,1
21		2409,4	1789,3
23			1966,5
26			2080,7

Exemplul 30d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **4-R** în xenogrefele tumorale ovariene umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-R** și Compusului **D** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 25 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 14.

Tabel 25

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	4-R
0	172,8	175,5	175,2
5	896,6	671,2	611,4
7	1415,3	1048,9	1036,5
12	2205,3	2020,3	1992,0
14			2165,3

Tabelul 26 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compusul **D**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 15.

Tabel 26

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	Compus D
0	189,4	191,2	190,1
3	588,5	454,5	319,6
5	1086,0	772,1	514,4
7	1428,6	1161,5	897,4
10	2077,1	1615,6	1239,8
12	2163,1	1703,0	1656,2
14		2029,3	1951,7
17			2121,7
19			2068,6

Exemplul 30e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **4-R** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-R** și Compusului **D** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 27 raportează creșterea volumului tumorii a tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **4-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 16.

Tabel 27

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	4-R
0	174,6	171,6	173,0
2	319,1	317,5	266,8

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	4-R
5	632,5	404,0	370,7
7	1046,0	485,7	418,5
9	1359,1	604,6	627,8
12	1863,8	760,8	713,5
14	2115,0	789,6	837,0
16		719,5	867,1
19		895,9	1040,2
21		1051,3	1229,8
26		1901,2	1784,5
28		2028,9	2073,6

Tabelul 28 raportează creșterea volumului tumorii a tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și Compus **D**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 17.

5 **Tabel 28**

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	Compus D
0	142,3	169,5	157,4
2	286,5	372,4	327,6
5	527,7	474,1	439,6
7	821,4	571,8	418,7
9	1130,9	787,9	567,9
12	1547,8	951,1	537,0
14	1868,5	1064,4	654,6
16	1887,0	1346,1	672,4
19	2162,3	1691,8	843,0
21		1920,0	842,7
23		2011,4	963,7
26		2102,2	1203,3
28			1589,7
30			1777,6
33			2146,2

Exemplul de referință 31. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **12-R** în mai multe modele de xenogrefă.

10 Compusul **12-R** a fost furnizat sub formă de fiole de liofilizare. Compus turtă de **12-R** a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/mL. Soluția stoc **12-R** a fost diluată în continuare în soluție de dextroză 5% pentru injectare până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **12-R** a fost de 0,05 mg/kg.

15 Compusul **D** a fost furnizat sub formă de flacoane cu substanță medicamentoasă. Fiecare flacon a fost reconstituit mai întâi prin dizolvare totală în DMSO și apoi cu adăugare de Kolliphor ELP (BASF)/etanol absolut (1:1, vol/vol) la o concentrație de 0,8 mg/mL. S-au făcut diluții suplimentare cu o soluție tampon de lactat (pH = 4,0) până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de compus **D** a fost de 0,5 mg/kg.

Placebo a fost furnizat sub formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, **12-R**, Compusul **D** precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână, timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

Exemplul de referință 31a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul lui **12-R** în xenogrefe de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **12-R** cu activitatea antitumorală a Compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

Tabelul 29 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 18.

Tabel 29

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	7,5	7,5	7,5
2,0	9,4	8,2	8,9
5,0	11,4	7,5	8,8
7,0	12,1	7,4	9,5
9,0	13,2	8,1	9,5
12,0	14,5	7,9	11,0
14,0	15,2	7,7	11,7
16,0	15,9	8,8	12,9
19,0	18,0	10,2	13,5
21,0		11,2	15,5
23,0		12,2	18,0
27,0		13,2	
30,0		14,6	
33,0		16,3	
35,0		18,0	

Exemplul de referință 31b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **12-R** în xenogrefele de sân uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **12-R** cu activitatea antitumorală a Compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 30 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 19.

Tabel 30

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	149,4	149,6	149,8
2,0	240,0	217,2	223,0
5,0	325,1	284,5	296,1
7,0	407,8	310,0	378,3
9,0	514,8	325,5	472,7
12,0	648,1	268,4	609,9

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
14,0	799,0	237,7	782,5
16,0	1002,5	261,2	972,4
19,0	1233,9	251,3	1211,0
21,0	1539,1	219,9	1463,4
23,0	2006,5	221,8	1756,5
26,0	2027,7	245,5	2028,6
28,0		320,3	
30,0		401,6	
33,0		545,8	
35,0		629,2	
37,0		670,7	
40,0		669,9	
42,0		696,3	
44,0		798,1	
47,0		857,7	

Exemplul de referință 31c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **12-R** în xenogrefele tumorale pulmonare umane.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **12-R** cu activitatea antitumorală a Compusului **D** prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer pulmonar uman. Aceste modele corespund cancerului pulmonar fără celule mici (linia celulară H460 și cancerului pulmonar cu celule mici (liniile celulare H526 și H82).

- 10 **Tabelul 31** raportează evaluarea volumului tumorilor H460 la șoareci tratați cu placebo, Compus **D** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 20.

Tabel 31

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	187,4	187,2	187,0
2,0	577,5	329,7	410,7
5,0	1352,0	559,4	796,7
7,0	1642,9	756,5	1167,9
9,0	2025,0	971,9	1360,3
12,0		1370,9	1666,0
14,0		1626,8	2025,0
16,0		2025,0	

- 15 **Tabelul 32** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**. Rezultatele sunt prezentate de asemenea în Figura 21.

Tabel 32

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	217,20	216,1	214,20

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
2,0	410,70	240,9	404,50
4,0	778,50	99,3	680,50
7,0	1083,20	56,7	995,20
9,0	1371,00	62,5	1290,50
11,0	1782,00	62,5	1568,00
14,0	2025,00	32,0	2025,00
16,0		4,0	
21,0		4,0	
28,0		4,0	
35,0		4,0	
42,0		4,0	
49,0		4,0	

Tabelul 33 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **12-R**. Rezultatele sunt prezentate de asemenea în Figura 22.

5 **Tabel 33**

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	171,60	169,4	170,50
2,0	439,40	340,6	381,40
5,0	1024,70	443,3	793,20
7,0	1422,00	496,2	1187,20
9,0	1923,80	614,1	1699,30
12,0	2025,00	665,5	2125,60
14,0		1041,6	
16,0		1151,2	
19,0		1516,7	
21,0		1748,0	

Exemplul de referință 31d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **12-R** în xenogrefele tumorale ovariene umane.

- 10 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **12-R** cu activitatea antitumorală a Compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman. Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 34 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, Compus **D** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 23.

15

Tabel 34

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	169,5	168,8	169,6
2,0	317,5	225,7	302,8

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
5,0	758,9	256,6	786,5
7,0	1351,9	473,8	1113,3
9,0	1675,8	633,6	1490,6
12,0	2025,0	822,8	2025,00
14,0		1129,3	2025,00
16,0		1198,6	
19,0		1649,6	
21,0		2025,0	

Exemplul de referință 31e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **12-R** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **12-R** cu activitatea antitumorală a Compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 35 raportează creșterea volumului tumorii la tumorile HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, Compus **D** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 24.

10 **Tabel 35**

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	Compus D	12-R
0,0	200,7	194,0	193,3
2,0	429,0	324,2	413,3
5,0	835,5	561,6	809,1
7,0	1256,5	504,2	1261,5
9,0	1602,2	584,2	1589,5
12,0	2040,7	767,7	2017,9
14,0		1056,8	2034,9
16,0		1440,2	
19,0		1717,9	
21,0		2043,4	

Exemplul 32. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** în mai multe modele de xenogrefă

- 15 Compusul **19-S** a fost furnizat sub formă de flacoane liofilizate. Turta de compus **19-S** a fost reconstituită cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/mL. Soluția stoc de **19-S** a fost diluată în continuare în soluție de dextroză 5 % pentru injectare până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **19-S** a fost de 0,75 mg/kg.

- 20 Compusul **PM01183** a fost furnizat sub formă de flacoane de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,2 mg/ml. Soluția stoc de **PM01183** a fost diluată în continuare în soluție de glucoză 5% pentru injectare la concentrațiile formulării de dozare. Doza administrată a fost de 0,18 mg/kg.

Placebo a fost furnizat sub formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

- 25 În aceste experimente, compusul **19-S** și **PM01183**, precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

Exemplul 32a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** în xenogrefele de fibrosarcom uman.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **19-S** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

În **Tabelul 36** se raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 25.

10 **Tabel 36**

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	19-S
0	8,4	8,4	8,2
2	10,9	9,8	8,4
5	14,8	9,7	7,8
7	15,9	11,4	9,5
9	18,0	12,7	9,9
12		13,7	10,7
14		14,6	11,3
16		15,5	11,9
19		15,6	13,4
21		18,0	14,4
23			18,0

Exemplul 32b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

- 15 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **19-S** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 37 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 26.

20

Tabel 37

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
0	132,6	134,3	133,6
4	194,1	177,2	157,2
7	248,2	186,3	142,6
11	377,6	250,7	133,9
14	461,3	266,1	117,3
18	679,2	327,7	79,3
21	753,2	391,0	89,2
25	909,2	493,1	120,6
28	1090,7	627,3	144,4
32	1433,4	789,0	246,1
36	1887,5	1022,0	419,3
39	1785,2	1294,2	593,7

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
42	2081,5	1643,3	945,9
46	2137,5	1658,9	985,3
49		1938,0	1211,5
53			1324,3
56			1703,9
60			1793,3
63			1603,0
70			2324,2

Exemplul 32c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** în xenogrefele de cancer pulmonar uman.

5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **19-S** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer pulmonar uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară H-460.

Tabelul 38 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H-460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 27.

10

Tabel 38

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
0	197,0	196,3	196,9
2	529,5	457,0	364,0
4	1057,4	861,5	624,9
7	1582,5	1280,2	966,5
9	2094,8	1424,9	1078,2
11		1969,9	1449,0
14			1761,5

Exemplul 32d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** (de referință) în xenogrefele tumorale ovariene umane.

15

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **19-S** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 39 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 28.

20

Tabel 39

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
0	163,4	163,6	164,4
2	287,1	235,5	187,9
4	568,7	463,2	205,4
7	1211,3	986,3	513,6
9	1633,7	1451,4	650,6

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
11	2047,8	2062	659,8
14			1236,2
18			1575,9
23			1895,7
25			2177,0

Exemplul 32e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-S** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **19-S** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 40 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-S**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 29.

Tabel 40

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-S
0	178,3	177,6	181,5
2	409	395,6	404,6
5	907,4	572,4	600,3
7	1283,6	766,6	660,3
9	1664	950,7	787,5
14	2102,8	1199,4	864,4
16		1353,1	882,4
19		1294,3	925,2
21		1335,1	893,6
23		1320,3	874,4
26		1364,5	932,1
30		1671,9	1547,8
33		2009,2	2020,4

Exemplul 33. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-R** în mai multe modele de xenogrefă

Compusul **19-R** a fost furnizat în formă de flacoane liofilizate. Turta de **19-R** a fost reconstituită cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/mL. Soluția stoc de **19-R** a fost diluată în continuare în soluție de dextroză 5 % pentru injectare până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **19-R** a fost de 0,15 mg/kg.

Compusul **PM01183** a fost furnizat în formă de flacoane de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,2 mg/ml. Soluția stoc de **PM01183** a fost diluată în continuare în soluție de glucoză 5% pentru injectare la concentrațiile formulării de dozare. Doza administrată a fost de 0,18 mg/kg.

Compusul placebo a fost furnizat în formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, compusul **19-R** și **PM01183**, precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână, timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

- 5 **Exemplul 33a.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-R** în xenogrefe de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **19-R** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

- 10 Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

Tabelul 41 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT-1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 30.

Tabel 41

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	19-R
0	8,4	8,4	8,3
2	10,9	9,8	9,4
5	14,8	9,7	8,0
7	15,9	11,4	7,2
9	18,0	12,7	7,8
12		13,7	7,8
14		14,6	8,4
16		15,5	8,2
19		15,6	11,3
21		18,0	12,2
23			13,3
26			15,2
28			18,0

15

Exemplul 33b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-R** în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **19-R** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

20

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 42 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 31.

25

Tabel 42

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-R
0	132,6	134,3	132,5
4	194,1	177,2	189,3
7	248,2	186,3	151,9
11	377,6	250,7	167,5
14	461,3	266,1	152,6
18	679,2	327,7	162,2

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-R
21	753,2	391,0	201,2
25	909,2	493,1	208,5
28	1090,7	627,3	274,8
32	1433,4	789,0	355,8
36	1887,5	1022,0	513,8
39	1785,2	1294,2	793,7
42	2081,5	1643,3	1012,2
46	2137,5	1658,9	1188,5
49		1938,0	1380,7
53			1568,0
56			1862,6
60			2129,4

Exemplul 33c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-R** (de referință) în xenogrefele tumorale pulmonare umane.

5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **19-R** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer pulmonar uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară H-460.

10 **Tabelul 43** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 32.

Tabel 43

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-R
0	197,0	196,3	196,8
2	529,5	457,0	418,7
4	1057,4	861,5	697,2
7	1582,5	1280,2	911,7
9	2094,8	1424,9	1111,5
11		1969,9	1281,3
14			1478,7
16			1594,0

15 **Exemplul 33d.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **19-R** (de referință) în xenogrefele tumorale ovariene umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **19-R** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

20 Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 44 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 33.

Tabel 44

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-R
0	163,4	163,6	162,8
2	287,1	236,5	212,9
4	568,7	463,2	368,5
7	1211,3	986,3	841,3
9	1633,7	1451,4	1138,9
11	2047,8	2062,0	1519,9
14			2056,0

Exemplul 33e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul **19-R** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **19-R** cu activitatea antitumorală a compusului **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

- 10 **Tabelul 45** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor HGC-27 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **19-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 34.

Tabel 45

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	19-R
0	178,3	177,6	182,0
2	409,0	395,6	414,9
5	907,4	572,4	735,0
7	1283,6	766,6	901,2
9	1664,0	950,7	1048,1
14	2102,8	1199,4	1293,9
16		1353,1	1488,8
19		1294,3	1668,3
21		1335,1	1845,0
23		1320,3	2025,0
26		1364,5	
30		1671,9	
33		2009,2	

- 15 **Exemplul de referință 34.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul **39-S** în mai multe modele de xenogrefă.

Compusul **39-S** și **C** au fost furnizați sub formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Dozele administrate de **39-S** și **C** au fost 1,25 și, respectiv, 3 mg/Kg.

- 20 A fost furnizat placebo sub formă de flacoane cu produs liofilizat. Fiecare flacon (zaharoză 200 mg + fosfat diacid de potasiu 13,6 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5) a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile (2 ml). S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5%.

- 25 În aceste experimente, compusul **39-S** și compusul **C**, precum și placebo, au fost administrate intravenos într-un program săptămânal la un volum de 10 ml/Kg.

Exemplul de referință 34a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **39-S** în xenogrefe de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a evalua activitatea antitumorală a compusului **39-S** prin comparație cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

Tabelul 46 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 35**.

Tabel 46

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	39-S	Compus C
0	7,5	7,5	7,5
2	9,4	7,9	8,8
5	11,4	6,4	9,0
7	12,1	6,8	9,6
9	13,2	6,9	10,2
12	14,5	6,6	10,2
14	15,2	6,4	11,2
16	15,9	6,8	12,4
19	18,0	7,0	13,3
21		7,0	15,2
23		8,5	18,0
27		10,8	
30		12,5	
33		14,3	
35		15,3	
37		18,0	

Exemplul de referință 34b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **39-S** în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **39-S** și compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 47 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 36**.

Tabel 47.

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	149,4	151,0	149,4
2	240,0	209,3	217,1
5	325,1	290,9	281,3
7	407,8	301,8	338,6
9	514,8	300,8	385,1
12	648,1	278,7	400,4
14	799,0	249,7	436,9
16	1002,5	243,6	585,7

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
19	1233,9	248,3	774,7
21	1539,1	250,0	965,9
23	2006,5	260,3	1215,2
26	2027,7	304,9	1503,2
28		337,1	1785,3
30		451,3	2037,1
33		584,1	
35		683,4	
37		784,7	
40		937,4	
42		1060,5	
44		1170,5	
47		1112,9	
49		1138,6	
51		1283,2	
54		1415,1	
56		1518,7	
58		1728,5	
61		2017,9	

Exemplul de referință 34c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **39-S** în xenogrefele de cancer pulmonar uman.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **39-S** cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer pulmonar uman. Aceste modele corespund cancerului pulmonar fără celule mici (linia celulară H-460) și cancerului pulmonar cu celule mici (liniile celulare H526 și H82).

- 10 **Tabelul 48** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și compus **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 37**.

Tabel 48

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	187,4	187,8	186,1
2	577,5	314,4	395,4
5	1352,0	584,1	665,9
7	1642,9	831,2	929,5
9	2025,0	841,0	1063,7
12		1008,0	1436,5
14		1309,8	2025,0
16		1470,0	2025,0
19		2025,0	

Tabelul 49 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 38**.

5 **Tabel 49**

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	217,2	214,5	217,9
2	410,7	260,3	262,4
4	778,5	80,0	108,3
7	1083,2	46,2	129,8
9	1371,0	32,0	85,9
11	1782,0	32,0	52,3
14	2025,0	4,0	54,1
16		4,0	47,3
21		4,0	4,0
28		4,0	4,0
35		4,0	4,0
42		4,0	62,5
49		4,0	53,5
56		4,0	70,0
63		4,0	132,3
70		4,0	368,5
77		4,0	465,8
84		4,0	107,4
91		4,0	130,0
98		4,0	4,0
105		4,0	4,0
112		4,0	4,0
119		4,0	4,0
126		4,0	4,0
133		4,0	4,0
140		4,0	4,0
147		4,0	4,0
165		4,0	4,0
175		4,0	4,0
191		4,0	4,0
205		4,0	4,0

Tabelul 50 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 39**.

Tabel 50.

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	171,6	170,3	170,5
2	439,4	325,2	265,3
5	1024,7	430,8	488,7
7	1422,0	466,2	760,0
9	1923,8	544,3	899,5
12	2025,0	640,3	1038,5
14		711,2	1213,4
16		802,7	1256,4
19		916,0	1741,5
21		1047,2	1878,8
23		1189,1	2057,0
26		1497,2	
28		1741,8	
30		1731,7	
33		2029,4	

Exemplul de referință 34d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **39-S** în xenogrefele tumorale ovariene umane.

5

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **39-S** cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 51 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 40**.

10

Tabel 51

Zi	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	169,5	170,5	169,6
2	317,5	206,5	206,3
5	758,9	163,4	372,7
7	1351,9	298,6	607,6
9	1675,8	317,4	696,2
12	2025,0	378,2	855,6
14		668,5	1293,9
16		853,5	1683,5
19		1415,5	2137,5
21		1519,2	
23		1666,0	
30		2025,0	

Exemplul de referință 34e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **39-S** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

15

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **39-S** cu activitatea antitumorală a compusului **C** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 52 raportează creșterea volumului tumorii a tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, compus **C** și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 41**.

Tabel 52

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	39-S	Compus C
0	200,7	195,6	195,0
2	429,0	356,3	391,0
5	835,5	469,7	578,6
7	1256,5	467,8	708,2
9	1602,2	575,2	937,7
12	2040,7	611,1	1169,5
14		637,3	1496,8
16		690,4	1690,6
19		701,8	2004,0
21		697,4	1741,4
23		715,5	2056,4
26		898,1	
28		1163,4	
30		1409,3	
33		1450,5	
35		1708,5	
37		1804,4	
40		2075,2	

Exemplul de referință 35. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **47-R** în mai multe modele de xenogrefă.

Compusul **47-R** a fost furnizat sub formă de fiole liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **47-R** a fost de 0,1 mg/Kg.

Compusul **D** a fost furnizat sub formă de substanță medicamentoasă sub formă de pulbere. Fiecare flacon a fost reconstituit mai întâi prin dizolvare totală în DMSO (Fisher) și apoi adăugare de Kolliphor ELP (BASF)/etanol absolut (Merk) (1:1, vol/vol) la o concentrație de 0,8 mg/mL. S-au făcut diluții suplimentare cu o soluție tampon de lactat (pH = 4,0) până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de Compus **D** a fost de 0,5 mg/Kg.

Placebo a fost furnizat sub formă de flacoane cu produs liofilizat. Fiecare flacon (zaharoză 200 mg + fosfat diacid de potasiu 13,6 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5) a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile (2 ml). S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5%.

În aceste experimente, compusul **47-R** și compusul **D**, precum și placebo, au fost administrate intravenos pe un program săptămânal la un volum de 10 ml/Kg.

Exemplul de referință 35a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul **47-R** în xenogrefe de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a evalua activitatea antitumorală a compusului **47-R** prin comparație cu activitatea antitumorală a compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT1080.

- 5 **Tabelul 53** raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 42**.

Tabel 53

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	47-R	Compus D
0	7,5	7,5	7,5
2	9,4	8,9	8,2
5	11,4	10,1	7,5
7	12,1	10,5	7,4
9	13,2	11,5	8,1
12	14,5	13,5	7,9
14	15,2	13,9	7,7
16	15,9	14,6	8,8
19	18,0	18,0	10,2
21			11,2
23			12,2
27			13,2
30			14,6
33			16,3
35			18,0

- 10 **Exemplul de referință 35b.** Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **47-R** în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului **47-R** și compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

- 15 Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 54 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în **Figura 43**.

Tabel 54

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	149,4	150,5	149,6
2	240,0	225,3	217,2
5	325,1	323,2	284,5
7	407,8	405,0	310,0
9	514,8	495,9	325,5
12	648,1	594,1	268,4
14	799,0	769,5	237,7
16	1002,5	1009,5	261,2
19	1233,9	1298,0	251,3

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
21	1539,1	1580,7	219,9
23	2006,5	2006,5	221,8
26	2027,7	2032,1	245,5
28			320,3
30			401,6
33			545,8
35			629,2
37			670,7
40			669,9
42			696,3
44			798,1
47			857,7
49			870,7
51			925,8
54			1005,4
56			1064,2
58			1235,6
61			1367,8
63			1553,7
65			2017,9

Exemplul de referință 35c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **47-R** în xenogrefe de cancer pulmonar uman.

- 5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **47-R** cu activitatea antitumorală a compusului **D** prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer pulmonar uman. Aceste modele corespund cancerului pulmonar fără celule mici (linia celulară H-460) și cancerului pulmonar cu celule mici (liniile celulare H526 și H82).

- 10 **Tabelul 55** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 44**.

Tabel 55

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	187,4	185,8	187,2
2	577,5	508,1	329,7
5	1352,0	979,3	559,4
7	1642,9	1280,0	756,5
9	2025,0	1543,1	971,9
12		1764,0	1370,9
14		1845,5	1626,8
16			2025,0

Tabelul 56 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 45**.

Tabel 56

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	217,2	211,5	216,1
2	410,7	367,9	240,9
4	778,5	583,7	99,3
7	1083,2	941,7	56,7
9	1371,0	1305,2	62,5
11	1782,0	1484,7	62,5
14	2025,0	2025,0	32,0
16			4,0
21			4,0
28			4,0
35			4,0
42			4,0
49			4,0
56			4,0
63			4,0
70			4,0
77			4,0
84			4,0
91			4,0
98			4,0
105			4,0
112			4,0
119			4,0
126			4,0
133			4,0
140			4,0
147			4,0
165			4,0
175			4,0
191			4,0
205			4,0

5

Tabelul 57 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și compus **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în **Figura 46**.

Tabel 57.

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	171,6	169,0	169,4

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
2	439,4	371,6	340,6
5	1024,7	888,8	443,3
7	1422,0	1314,2	496,2
9	1923,8	1811,0	614,1
12	2025,0	2055,4	665,5
14			1041,6
16			1151,2
19			1516,7
21			1748,0

Exemplul 35d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul **47-R** în xenogrefele tumorale ovariene umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **47-R** cu activitatea antitumorală a compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 58 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoareci tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 47**.

Tabel 58

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	169,5	170,6	168,8
2	317,5	280,6	225,7
5	758,9	653,9	256,6
7	1351,9	848,7	473,8
9	1675,8	1569,1	633,6
12	2025,0	1764,0	822,8
14		1666,0	1129,3
16		2025,0	1198,6
19			1649,6
21			2025,0

Exemplul de referință 35e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului **47-R** în xenogrefele tumorale gastrice umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **47-R** cu activitatea antitumorală a compusului **D** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 59 raportează creșterea volumului tumorii a tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, compus **D** și **47-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în **Figura 48**.

Tabel 59

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
0	200,7	194,0	194,0
2	429,0	359,4	324,2

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	47-R	Compus D
5	835,5	774,8	561,6
7	1256,5	1155,4	504,2
9	1602,2	1474,7	584,2
12	2040,7	1870,2	767,7
14		2031,3	1056,8
16		2075,2	1440,2
19			1717,9
21			2043,4

Exemplul de referință 36. Studii *in vivo* pentru a determina efectul 32 în mai multe modele de xenogrefă.

Au fost furnizați compușii 32 și ET-736 în formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de compus 32 și ET-736 a fost de 0,5 mg/Kg.

A fost furnizat Placebo sub formă de produs liofilizat. Fiecare flacon (zaharoză 200 mg + fosfat diacid de potasiu 13,6 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5) a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile (2 ml). S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5%.

În aceste experimente, compusul 32 și ET-736, precum și placebo, au fost administrate intravenos la un program săptămânal la un volum de 10 ml/Kg.

Exemplul de referință 36a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 32 în xenogrefele de fibrosarcom uman.

Scopul acestui studiu a fost de a evalua activitatea antitumorală a compusului 32 prin comparație cu activitatea antitumorală a compusului ET-736 prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT-1080,

Tabelul 60 raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 49.

Tabel 60

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	32	ET-736
0	7,5	7,5	7,4
2	9,4	8,9	8,3
5	11,4	8,2	7,1
7	12,1	8,8	7,6
9	13,2	10,0	7,4
12	14,5	8,8	7,0
14	15,2	10,8	7,1
16	15,9	11,8	7,4
19	18,0	12,0	8,4
21		14,0	8,6
23		13,8	10,0
27		13,6	10,9
30		15,5	13,2

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	32	ET-736
33		18,0	14,3
35			15,2
37			15,8
40			16,6
42			18,0

Exemplul de referință 36b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 32 în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 32 și ET-736 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 61 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 50.

Tabel 61

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	149,4	150,2	150,0
2	240,0	233,6	237,7
5	325,1	310,6	302,1
7	407,8	386,1	364,9
9	514,8	437,5	404,6
12	648,1	493,4	395,4
14	799,0	560,3	398,3
16	1002,5	649,5	447,2
19	1233,9	853,0	485,0
21	1539,1	1017,5	536,3
23	2006,5	1263,2	669,8
26	2027,7	1487,7	778,9
28		1726,6	1046,1
30		1892,6	1315,9
33		2082,8	1664,9
35			2007,7

Exemplul de de referință 36c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 32 (de de referință) în xenogrefele de cancer pulmonar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 32 și ET-736 prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer pulmonar uman. Aceste modele corespund cancerului pulmonar fără celule mici (linia celulară H-460) și cancerului pulmonar cu celule mici (liniile celulare H526 și H82).

Tabelul 62 prezintă evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 51.

Tabel 62

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	187,4	183,9	185,8
2	577,5	455,2	457,8
5	1352,0	784,8	732,8
7	1642,9	837,4	930,1
9	2025,0	1044,3	1207,2
12	2025,0	1452,4	1568,0
14		1845,5	1845,5
16		2025,0	2025,0

Tabelul 63 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H526 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 52.

5

Tabel 63

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	217,2	212,1	213,5
2	410,7	277,3	240,5
4	778,5	127,0	97,2
7	1083,2	95,0	48,8
9	1371,0	63,1	62,5
11	1782,0	62,5	62,5
14	2025,0	62,5	47,3
16		62,5	32,0
21		4,0	4,0
28		4,0	4,0
35		55,3	4,0
42		85,3	4,0
49		185,6	4,0
56		169,1	4,0
63		62,5	4,0
70		88,9	4,0
77		280,6	4,0
84		694,2	199,8
91		1150,9	786,5

Tabelul 64 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H82 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 53.

10

Tabel 64

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	171,6	171,6	170,0

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
2	439,4	309,4	334,4
5	1024,7	485,0	539,4
7	1422,0	708,4	836,4
9	1923,8	972,6	1013,1
12	2025,0	1101,6	1290,9
14		1339,6	1648,0
16		1430,3	
19		1885,7	

Exemplul de referință 36d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 32 în xenogrefele tumorale ovariene umane.

5 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 32 și ET-736 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 65 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, compusul ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 54.

10

Tabel 65

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	169,5	168,6	168,8
2	317,5	262,9	251,2
5	758,9	572,7	382,6
7	1351,9	997,5	676,1
9	1675,8	1359,9	959,4
12	2025,0	1715,0	1241,5
14		2025,0	1582,7
16		2025,0	1646,4
19			1845,5
21			2025,0

Exemplul de referință 36e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 32 în xenogrefele tumorale gastrice umane.

15

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 32 și ET-736 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 66 raportează creșterea volumului tumorii la tumorile HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, ET-736 și 32. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 55.

20

Tabel 66

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
0	200,7	194,8	195,9
2	429,0	386,3	359,2

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	32	ET-736
5	835,5	551,3	537,6
7	1256,5	579,2	553,5
9	1602,2	665,8	604,7
12	2040,7	701,1	627,4
14		814,5	648,0
16		959,9	687,6
19		1312,4	760,0
21		1626,8	792,4
23		1737,3	818,9
26			1026,1
28			1354,9

Exemplul de referință 37. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în mai multe modele de xenogrefă.

5 **Compusul 35** a fost furnizat sub formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată **de compus 35** a fost 0,25 mg/Kg.

10 **PM01183** a fost furnizat sub formă de flacoane de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții ulterioare cu soluție injectabilă de glucoză 5% sau clorură de sodiu 0,9% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **PM01183** a fost 0,18 mg/Kg.

15 Placebo a fost furnizat sub formă de flacoane cu produs liofilizat, fiecare flacon (zaharoză 200 mg + fosfat diacid de potasiu 13,6 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5) a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile (2 mL). S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5%.

În acest experiment, compusul **35** și **PM01183**, precum și placebo au fost administrate intravenos pe un program săptămânal la un volum de 10 ml/Kg.

20 **Exemplul de referință 37a. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în xenogrefele de fibrosarcom uman.**

Scopul acestui studiu a fost de a evalua activitățile antitumorale ale compusului **35** și **PM01183** prin utilizarea unui model de xenogrefă de sarcom uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară HT-1080.

25 **Tabelul 67** raportează evaluarea diametrului total (tumoră + picior) a tumorilor HT1080 la șoarecii tratați cu placebo, **PM01183** și **35**. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 56.

Tabel 67

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	35
0	8,4	8,4	8,3
2	10,9	9,8	9,4
5	14,8	9,7	8,7
7	15,9	11,4	8,0
9	18,0	12,7	9,9
12		13,7	11,4
14		14,6	12,5

Zile	Diametru total (tumoare + picior) (mm)		
	Martor	PM01183	35
16		15,5	13,2
19		15,6	14,6
21		18,0	15,7
23			18,0

Exemplul de referință 37b. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în xenogrefe de adenocarcinom mamar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 35 și PM01183 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de sân uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară MDA-MB-231.

Tabelul 68 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor MDA-MB-231 la șoarecii tratați cu placebo, PM01183 și 35. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 57.

Tabel 68

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	35	PM01183
0	132,6	132,7	134,3
4	194,1	193,6	177,2
7	248,2	179,1	186,3
11	377,6	276,7	250,7
14	461,3	286,0	266,1
18	679,2	384,5	327,7
21	753,2	436,8	391,0
25	909,2	554,3	493,1
28	1090,7	647,0	627,3
32	1433,4	817,5	789,0
36	1887,5	1156,7	1022,0
39	1785,2	1387,6	1294,2
42	2081,5	1595,3	1643,3
46	2137,5	1689,9	1658,9
49		2044,2	1938,0

Exemplul de referință 37c. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în xenogrefele de cancer pulmonar uman.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 35 și PM01183 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer pulmonar uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară H460.

Tabelul 69 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor H460 la șoarecii tratați cu placebo, PM01183 și 35. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 58.

Tabel 69

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	35
0	197,0	196,3	197,2

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	35
2	529,5	457,0	415,3
4	1057,4	861,5	750,8
7	1582,5	1280,2	1242,3
9	2094,8	1424,9	1536,3
11		1969,9	1728,7
14			2080,9

Exemplul de referință 37d. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în xenogrefele tumorale ovariene umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 35 și PM01183 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer ovarian uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost A2780.

Tabelul 70 raportează evaluarea volumului tumorilor A2780 la șoarecii tratați cu placebo, PM01183 și 35. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 59.

Tabel 70

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	PM01183	35
0	163,4	163,6	163,6
2	287,1	236,5	189,9
4	568,7	463,2	284,3
7	1211,3	986,3	606,4
9	1633,7	1451,4	946,9
11	2047,8	2062,0	1394,2
14			2067,7

Exemplul de referință 37e. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 35 în xenogrefele tumorale gastrice umane.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitățile antitumorale ale compusului 35 și PM01183 prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer gastric uman.

Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost HGC27.

Tabelul 71 raportează creșterea în volum a tumorilor HGC27 la șoarecii tratați cu placebo, PM01183 și 35. Aceste rezultate sunt prezentate de asemenea în Figura 60.

Tabel 71

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	35	PM01183
0	178,3	182,3	177,6
2	409,0	382,2	395,6
5	907,4	610,8	572,4
7	1283,6	775,5	766,6
9	1664,0	988,0	950,7
12	1692,4	1005,6	972,0
14	2102,8	1531,7	1199,4

Zile	Volumul median al tumorii (mm ³)		
	Martor	35	PM01183
16		1866,3	1353,1

Exemplul de referință 38. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compușilor 12-S și 12-R în xenogrefele de prostată umană.

- 5 Compușii **12-S** și **12-R** au fost furnizați sub formă de fiole liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Dozele administrate **de compuși 12-S și 12-R** au fost 0,25 mg/kg și, respectiv, 0,05 mg/kg.
- 10 A fost furnizat placebo sub formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.
- În aceste experimente, compușii **12-S** și **12-R**, precum și placebo, au fost administrați intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.
- Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compușilor **12-S** și **12-R** prin utilizarea unui model de xenogrefă de cancer de prostată uman.
- 15 Modelul tumoral utilizat în acest studiu a fost linia celulară PC-3.
- Tabelul 72** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo, **12-S** și **12-R**. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 61.

Tabel 72

Volumul median al tumorii (mm ³)			
Zile	Martor	12-R	12-S
0	128,0	129,0	128,0
2	149,6	136,2	141,5
4	197,0	144,2	143,7
7	250,9	172,2	183,9
11	291,6	183,6	208,1
14	326,5	205,2	270,7
16	361,9	256,0	286,3
18	397,0	325,7	336,1
21	476,9	322,2	357,1
23	506,1	407,8	400,8
25	526,7	419,9	443,6
29	593,6	459,1	523,4
32	769,5	512,1	652,6
35	875,3	579,2	689,7
37	900,0	613,8	692,2
39	977,8	764,1	726,9
42	1061,5	785,0	823,7
44	1463,4	845,5	864,2
46	1612,8	748,0	1182,8
49	1809,2	808,7	1219,2
51	2030,9	855,8	1331,9
56		1125,2	1335,2

Exemplul 39. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 4-S în xenogrefele de prostată umană.

Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului **4-S** prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer de prostată uman. Aceste modele corespund liniilor celulare PC-3, DU-145 și 22Rv1.

Compusul 4-S a fost furnizat sub formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de 4-S a variat în funcție de studiu, fiind de 1,25 mg/Kg când modelul tumoral era PC-3, 1,00 mg/Kg când modelul tumoral era DU-145 și 0,75 mg/Kg când tumora era modelul era 22Rv1, respectiv.

Placebo a fost furnizat sub formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, **4-S** precum și placebo au fost administrate intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

Tabelul 73 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo și **4-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 62.

Tabel 73

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	4-S
0	140,5	141,3
2	178,6	130,7
4	233,1	147,6
7	284,6	157,7
9	331,7	200,9
11	433,7	192,8
14	500,4	210,8
16	570,8	255,5
18	680,3	261,1
21	850,1	282,4
23	928,5	382,2
25	915,7	451,6
28	1187,5	611,1
30	1270,1	762,3
32	1327,1	821,6
35	1373,6	1045,6

Tabelul 74 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor DU-145 la șoarecii tratați cu placebo și **4-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 63.

Tabel 74

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	4-S
0	127,4	126,2
3	180,9	102,4
5	248,8	119,5
7	320,4	149,5

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	4-S
10	384,6	216,8
12	441,0	181,4
14	519,6	237,7
17	601,0	204,4
19	660,8	210,9
24	740,7	300,0
26	798,6	378,4
28		587,0
31		650,3

Tabelul 75 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor 22Rv1 la șoarecii tratați cu placebo și 4-S. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 64.

5 **Tabel 75**

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	4-S
0	174,6	173,6
3	307,2	70,3
5	511,5	63,1
7	739,1	76,7
10	955,2	49,1
12	1286,1	59,8
14	1385,8	74,9
17	1791,1	55,1
19	2025,0	64,9
24		138,4
26		186,9
28		242,0
31		392,5
33		561,8
35		799,3
38		1107,0
40		1426,4
42		1685,5
45		2025,0

Exemplul de referință 40. Studii *in vivo* pentru a determina efectul compusului 39-S în xenogrefele de prostată umană.

10 Scopul acestui studiu a fost de a compara activitatea antitumorală a compusului 39-S prin utilizarea a trei modele diferite de xenogrefă de cancer de prostată uman. Aceste modele corespund liniilor celulare PC-3, DU-145 și 22Rv1.

Compusul 39-S a fost furnizat sub formă de flacoane liofilizate de produs liofilizat. Fiecare flacon a fost reconstituit cu apă sterilă pentru preparate injectabile la o concentrație de 0,5 mg/ml. S-au

făcut diluții suplimentare cu soluție injectabilă de dextroză 5% până la concentrația formulării de dozare. Doza administrată de **39-S** a variat în funcție de studiu, fiind de 1,25 mg/Kg când modelul tumoral a fost PC-3, 1,00 mg/Kg când modelul tumoral a fost DU-145 și respectiv 0,75 mg/Kg când modelul tumoral a fost 22Rv1,

5 Placebo a fost furnizat sub formă de turtă liofilizată care conține 100 mg zaharoză + fosfat diacid de potasiu 6,8 mg + acid fosforic q.s. pH 3,8-4,5 care a fost reconstituit cu apă pentru perfuzie.

În aceste experimente, compusul **39-S**, precum și placebo, au fost administrate intravenos o dată pe săptămână timp de 3 săptămâni consecutive, în Zilele 0, 7 și 14, ori de câte ori a fost posibil.

10 **Tabelul 76** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor PC-3 la șoarecii tratați cu placebo și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 65.

Tabel 76

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	39-S
0	181,9	182,3
2	254,8	222,6
4	308,7	244,0
7	344,5	269,3
9	396,8	295,8
11	439,2	315,0
14	542,7	356,9
16	619,0	388,0
18	721,3	400,1
21	908,1	503,3
23	1039,1	556,0
25	1117,0	579,6
28	1232,3	694,9
30	1778,6	811,1
32	2018,1	1027,1
35		1194,3
37		1495,0
39		1710,7
42		2066,2

15 **Tabelul 77** raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor DU-145 la șoarecii tratați cu placebo și **39-S**. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 66.

Tabel 77

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	39-S
0	156,8	179,9
2	198,3	199,9
4	253,9	222,2
7	325,8	340,5
9	385,1	354,1
11	462,2	349,7
14	483,8	429,1

Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	39-S
16	599,0	454,8
18	664,0	449,7
21	816,9	517,5
23	861,3	568,5
25	977,9	629,4
28	973,6	775,7

Tabelul 78 raportează evaluarea volumului tumoral mediu al tumorilor 22Rv1 la șoarecii tratați cu placebo și 39-S. Aceste rezultate sunt prezentate și în Figura 67.

5 **Tabel 78**

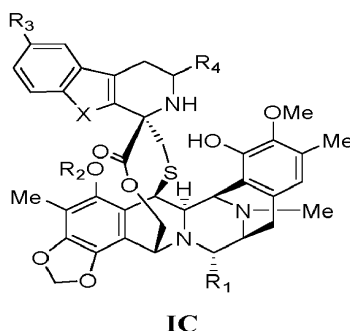
Volumul median al tumorii (mm ³)		
Zile	Martor	39-S
0	174,6	173,5
3	307,2	93,0
5	511,5	96,8
7	739,1	115,2
10	955,2	108,2
12	1286,1	128,4
14	1385,8	155,6
17	1791,1	173,4
19	2025,0	210,2
24		358,8
26		456,5
28		645,2
31		1049,5
33		1439,4
35		2025,0

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- WO-A1-03/014127
- WO-A1-2011/147828

(57) Revendicări:

1. Compus cu formula **IC** sau o sare sau ester ale acestuia acceptabile din punct de vedere farmaceutic:



în care:

X este -NH- ;

R₁ este -OH sau -CN;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

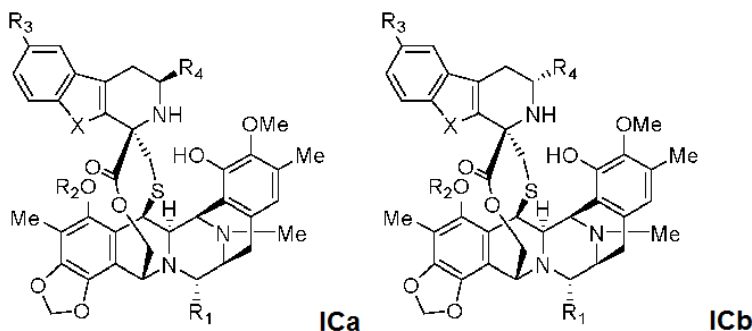
R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit; și

R^c este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit.

2. Compus conform revendicării 1 ales cu formula **ICa** sau **ICb** sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau ester al acestuia:



în care:

X este -NH-;

R₁ este -OH sau -CN;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a ;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

R^a este ales dintre hidrogen, alchil C_1 - C_{12} substituit sau nesubstituit, alchenil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit și alchinil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C_1 - C_{12} substituit sau nesubstituit, alchenil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit și alchinil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit; și

R^c este ales dintre alchil C_1 - C_{12} substituit sau nesubstituit, alchenil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit și alchinil C_2 - C_{12} substituit sau nesubstituit.

3. Compus conform revendicării 1 sau 2 în care R_4 este ales dintre $-CH_2OH$ și

$-CH_2OC(=O)R^c$ în care R^c este alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit; preferabil în care R^c este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și terț-butil substituit sau nesubstituit; mai preferabil în care R^c este metil.

4. Compus conform oricăreia dintre revendicările 1 la 3 în R_4 este $-CH_2OH$.

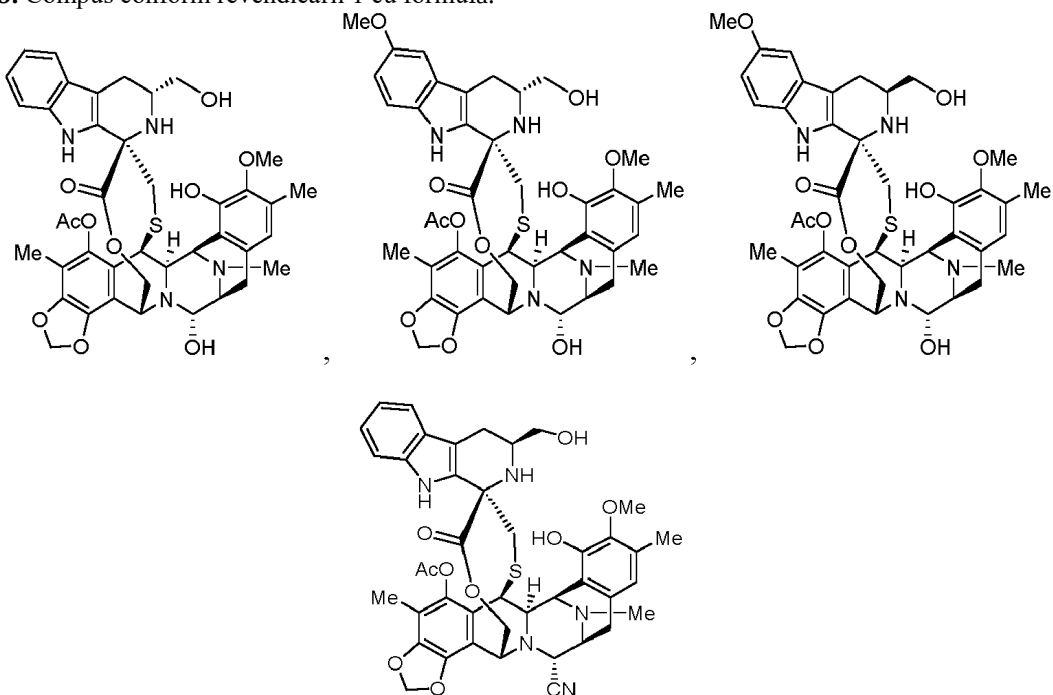
5. Compus conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 4, în care R_1 este $-OH$.

6. Compus conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 5, în care R_2 este o grupare $-C(=O)R^a$ în care R^a este alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit; de preferință în care R^a este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și terț-butil substituit sau nesubstituit; preferabil în care R_2 este acetil.

7. Compus conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 6, în care R_3 este hidrogen sau $-OR^b$ în care R^b este alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit; de preferință în care R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și terț-butil substituit sau nesubstituit; preferabil în care R_3 este hidrogen.

8. Compus conform revendicării 7 în care R_3 este $-OR^b$ în care R^b este alchil C_1 - C_6 substituit sau nesubstituit; de preferință în care R^b este ales dintre metil substituit sau nesubstituit, etil substituit sau nesubstituit, *n*-propil substituit sau nesubstituit, izopropil substituit sau nesubstituit, *n*-butil substituit sau nesubstituit, izobutil substituit sau nesubstituit, sec-butil substituit sau nesubstituit și terț-butil substituit sau nesubstituit; preferabil în care R_3 este metoxi.

9. Compus conform revendicării 1 cu formula:



sau o sare acceptabilă din punct de vedere farmaceutic sau ester al acestora.

10. Compus conform oricăreia dintre revendicările 1 la 9, în care sarea este aleasă dintre clorhidrat, bromhidrat, iodhidrat, sulfat, azotat, fosfat, acetat, trifluoracetat, maleat, fumarat, citrat, oxalat, succinat, tartrat, malat, mandelat, metansulfonat, *p*-toluensulfonat, sodiu, potasiu, calciu, amoniu, etilendiamină, etanolamină, N,N-dialchilenetanolamină, trietanolamină și aminoacizi bazici.

11. Compoziție farmaceutică care cuprinde un compus conform oricăreia dintre revendicările de la 1 la 10 sau o sare sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic al acestuia și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

12. Formă de dozare care cuprinde o compoziție farmaceutică conform revendicării 11.

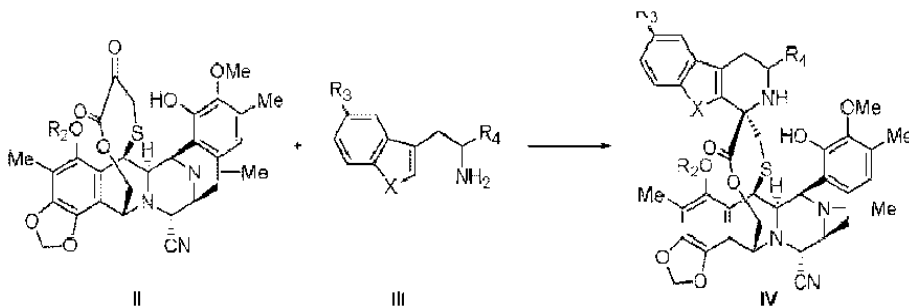
13. Compus conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 10 sau o sare sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic al acestuia sau o compoziție conform revendicării 11 sau o formă de dozare conform revendicării 12 pentru utilizare ca medicament.

14. Compus conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 10 sau o sare sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic al acestuia, o compoziție conform revendicării 11 sau o formă de dozare conform revendicării 12, pentru utilizare în tratamentul cancerului.

15. Compus, compoziție sau formă de dozare pentru utilizare conform revendicării 14, în care cancerul este ales dintre cancerul pulmonar, inclusiv cancerul pulmonar fără celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de colon, cancerul colorectal, cancerul de sân, cancerul de pancreas, sarcomul, cancerul ovarian, cancerul de prostată și cancerul gastric; de preferință, în care cancerul este ales dintre cancerul pulmonar incluzând cancerul pulmonar fără celule mici și cancerul pulmonar cu celule mici, cancerul de sân, cancerul de pancreas și cancerul colorectal.

16. Procedeu pentru obținerea unui compus definit în oricare dintre revendicările de la 1 la 10 sau a unei sări sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic al acestuia:

care cuprinde etapa de reacție a unui compus cu formula **II** cu un compus cu formula **III** pentru a da un compus cu formula **IV**:



în care (unde este permis de către posibilele grupări substituente):

X este -NH-;

R₂ este o grupare -C(=O)R^a;

R₃ este hidrogen sau o grupare -OR^b;

R₄ este ales dintre

R₄ este ales dintre -CH₂OH și -CH₂OC(=O)R^c;

R^a este ales dintre hidrogen, alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit;

R^b este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit; și

R^c este ales dintre alchil C₁-C₁₂ substituit sau nesubstituit, alchenil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit și alchinil C₂-C₁₂ substituit sau nesubstituit

și opțional cuprinzând etapa ulterioară de înlocuire a grupării ciano din compusul cu formula IV cu o grupare hidroxi pentru a se obține un compus cu formula **IC**, în care R₁ este OH.

17. Kit care cuprinde o cantitate eficace terapeutică dintr-un compus conform oricăreia dintre revendicările 1 la 10 sau o sare sau ester acceptabil din punct de vedere farmaceutic al acestuia și un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic; kitul cuprinzând, în mod opțional, instrucțiuni de utilizare a compusului în tratamentul cancerului și, mai preferabil, a unui cancer ales dintre cancerul pulmonar, inclusiv cancerul pulmonar cu celule mici și cancerul pulmonar fără celule mici, cancerul de colon, cancerul de sân, cancerul de pancreas, sarcomul, cancerul ovarian, cancerul de prostată, cancerul colorectal și cancerul gastric.

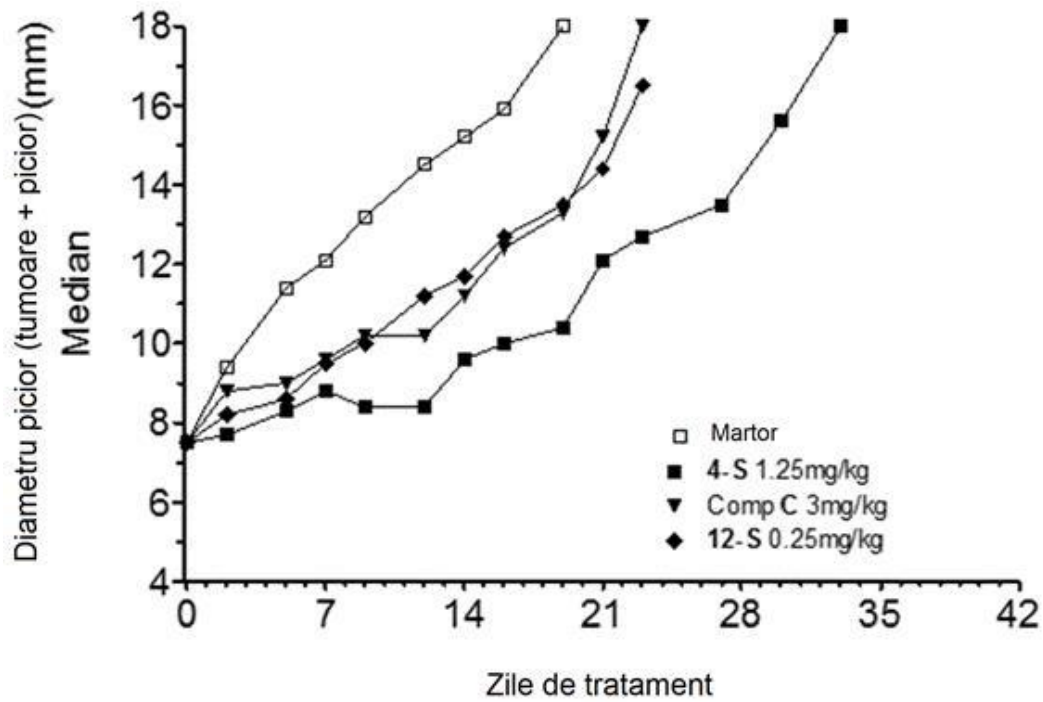


Figura 1

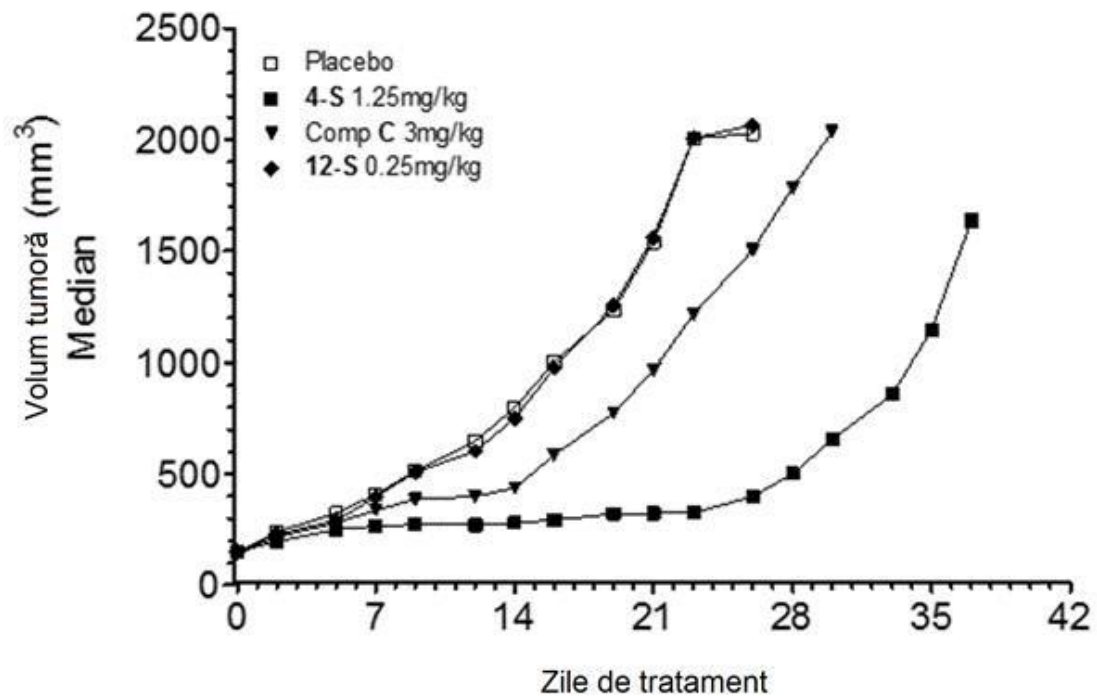


Figura 2

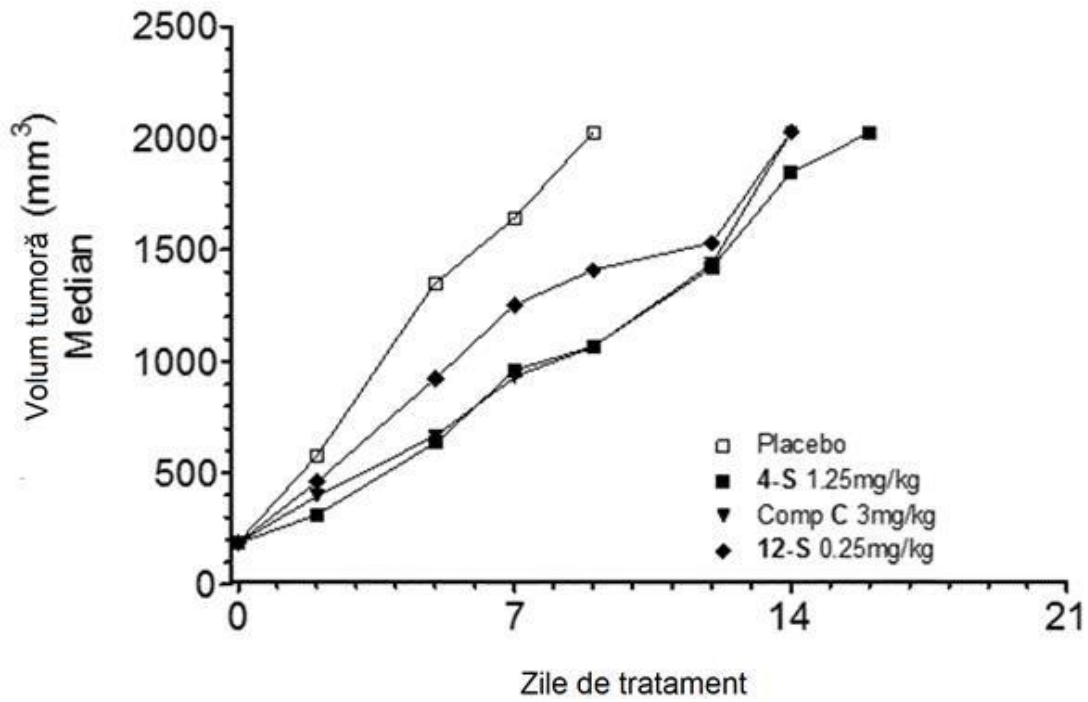


Figura 3

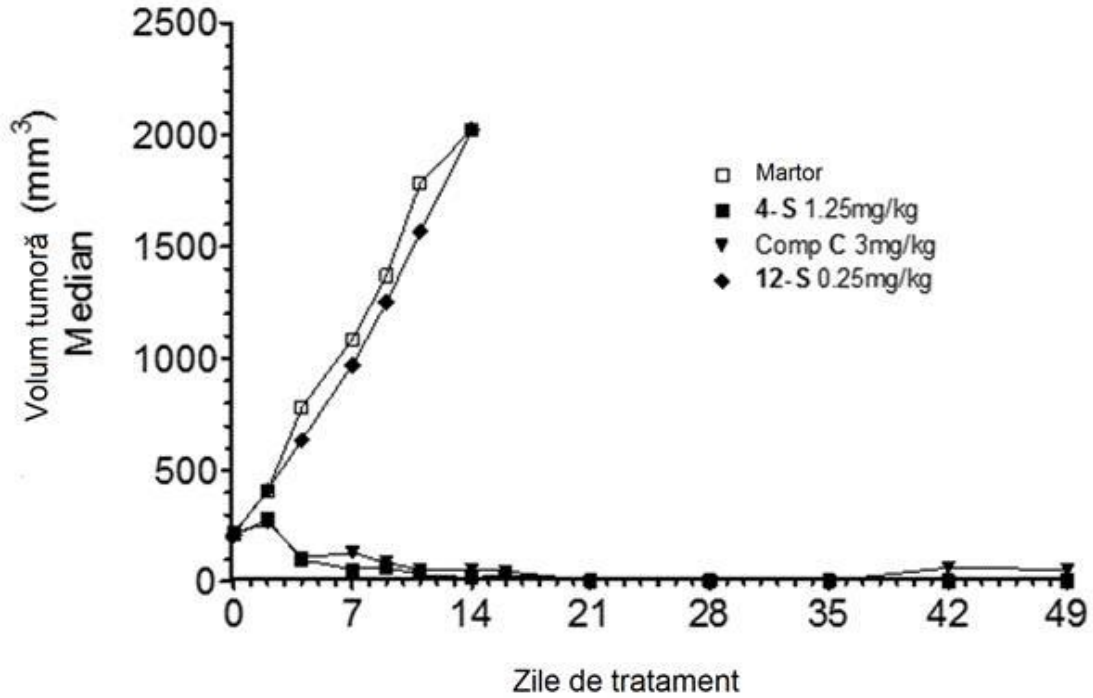


Figura 4

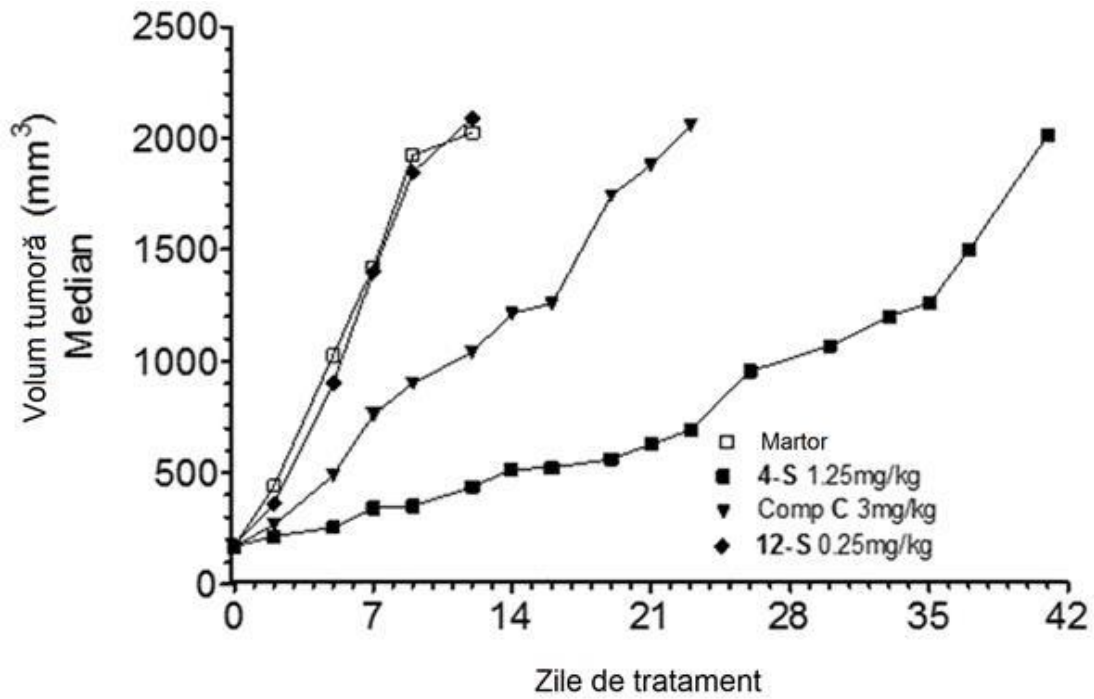


Figura 5

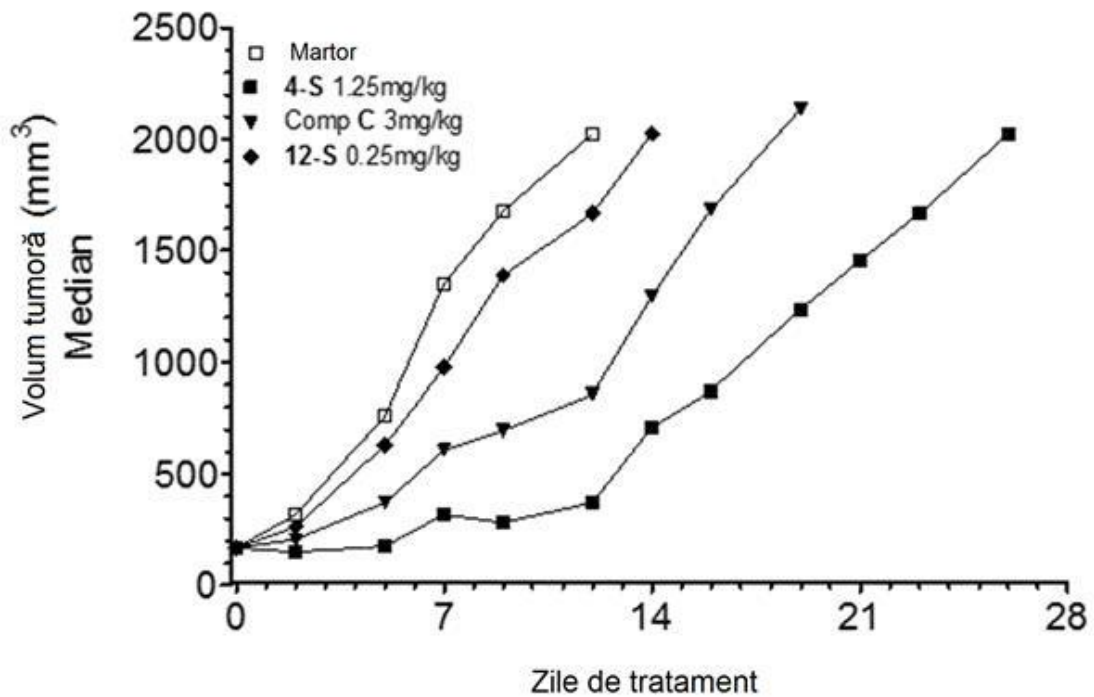


Figura 6

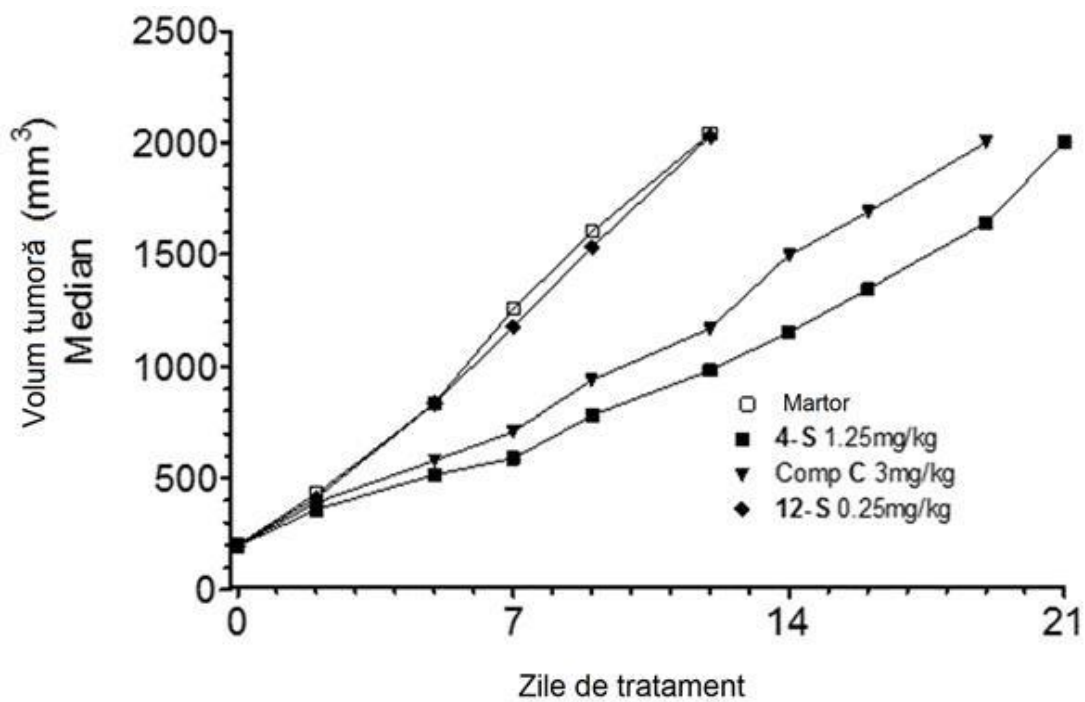


Figura 7

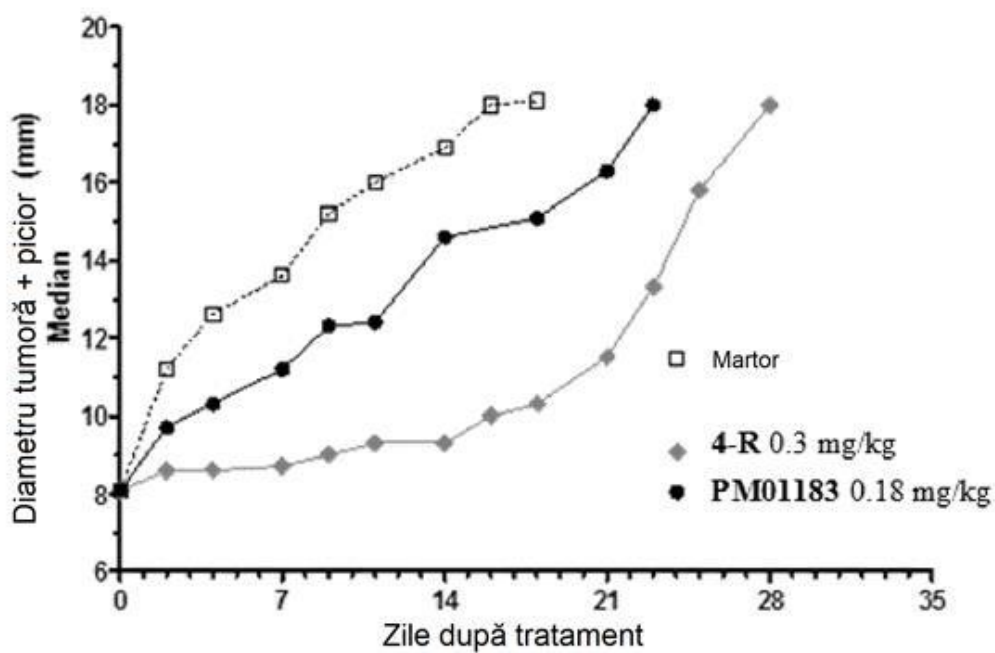


Figura 8

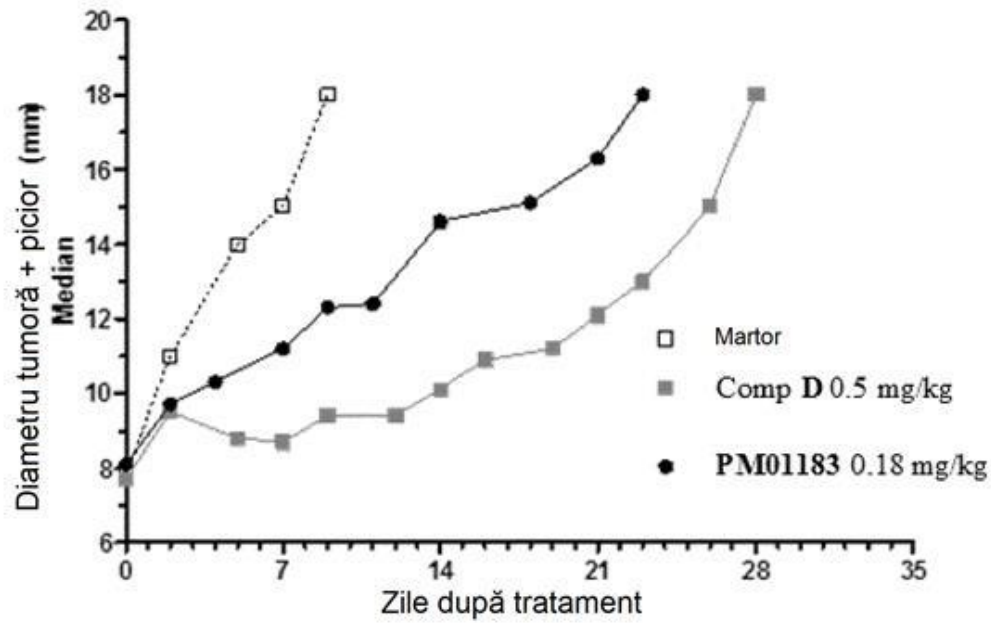


Figura 9

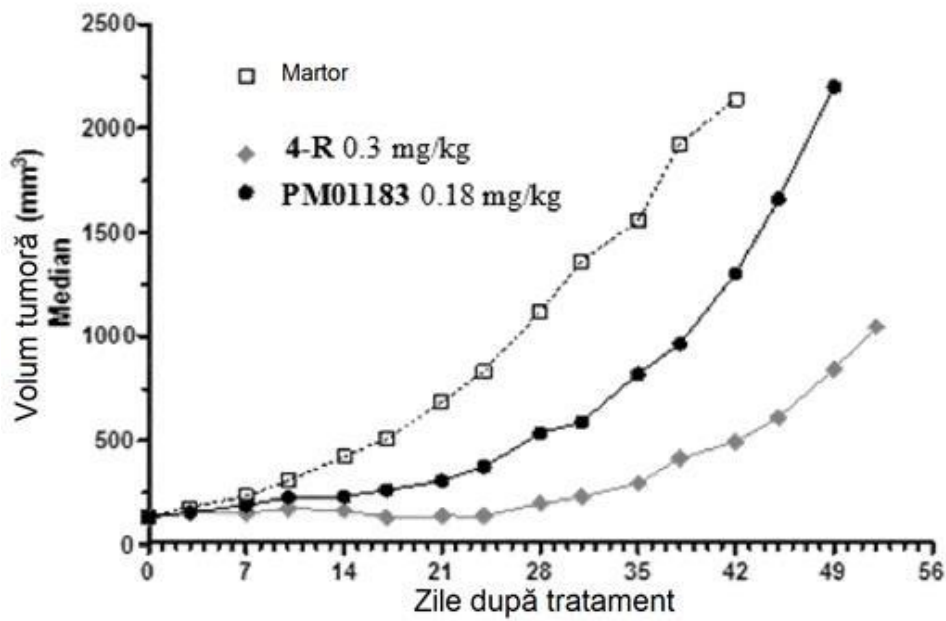


Figura 10

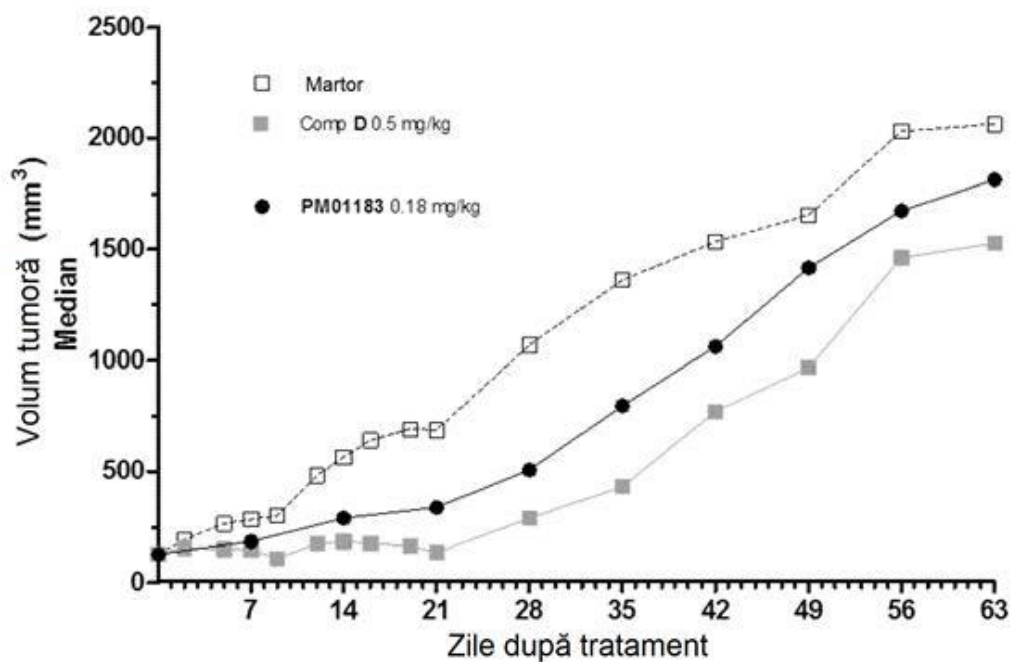


Figura 11

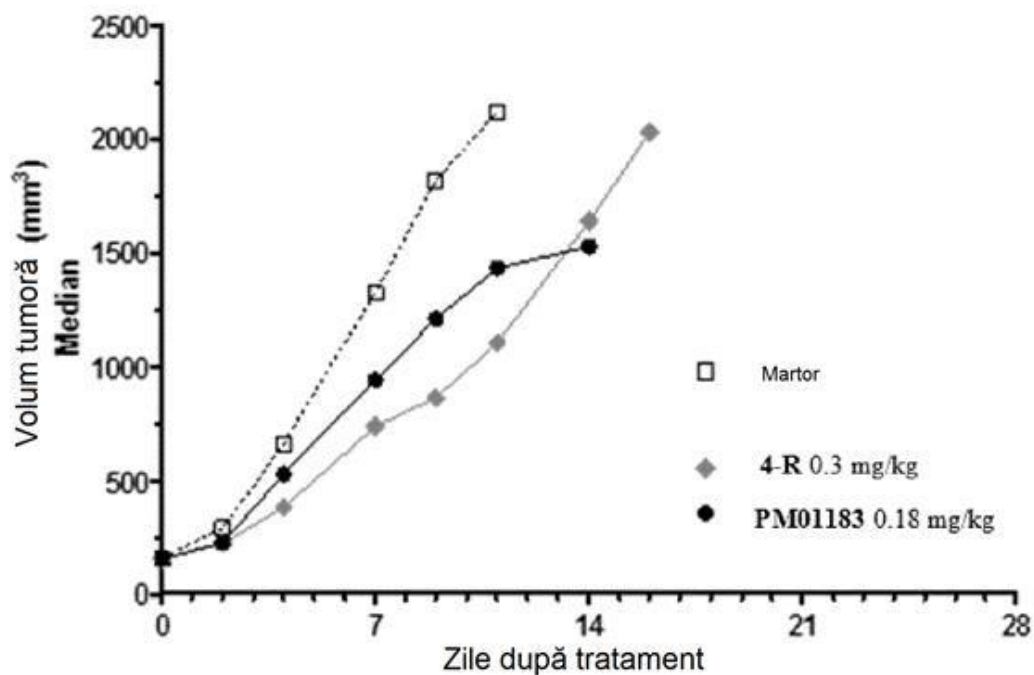


Figura 12

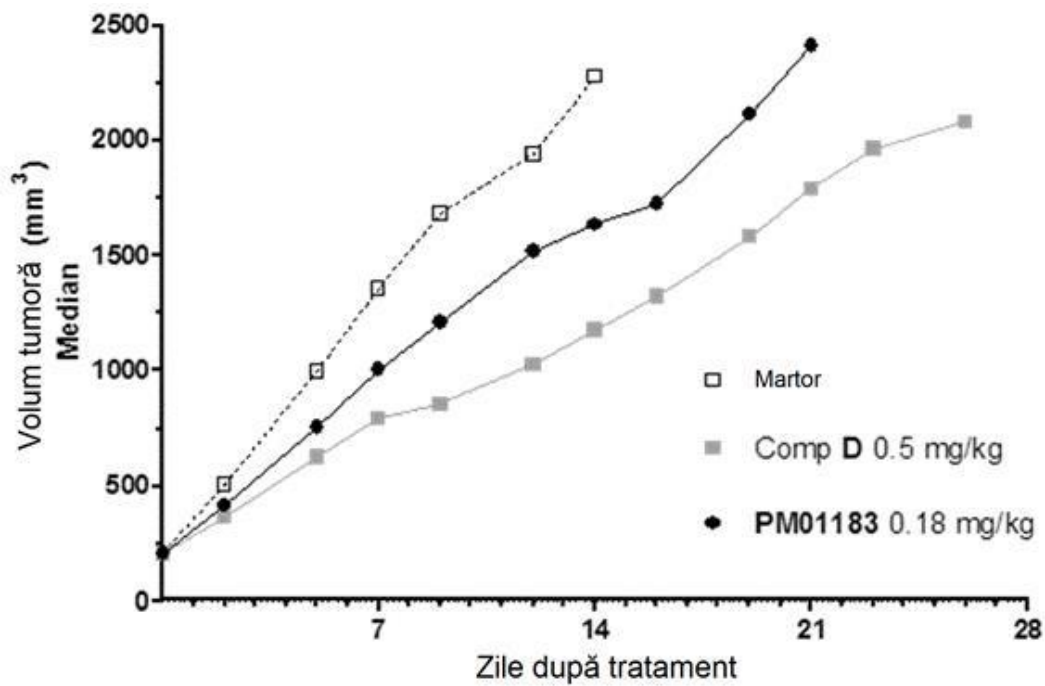


Figura 13

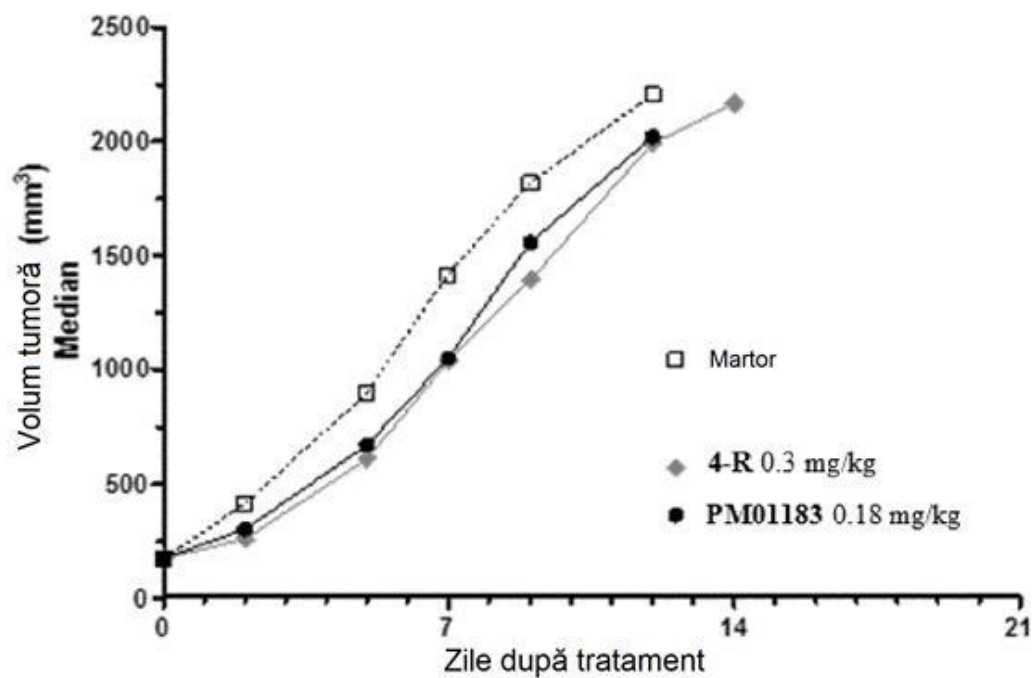


Figura 14

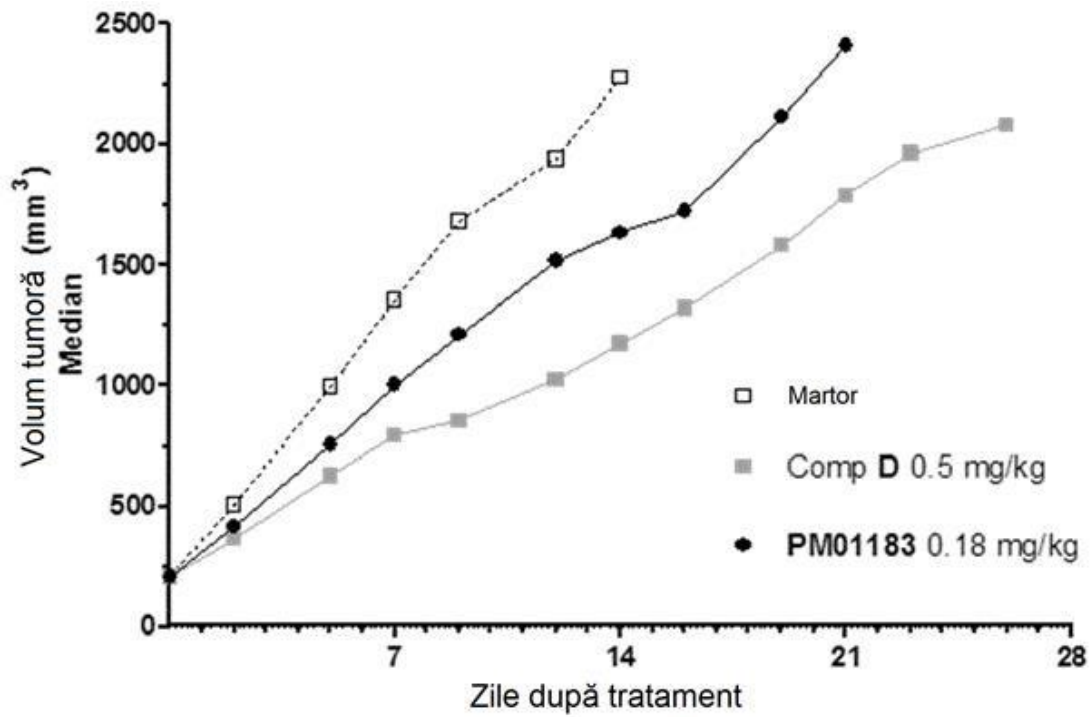


Figura 15

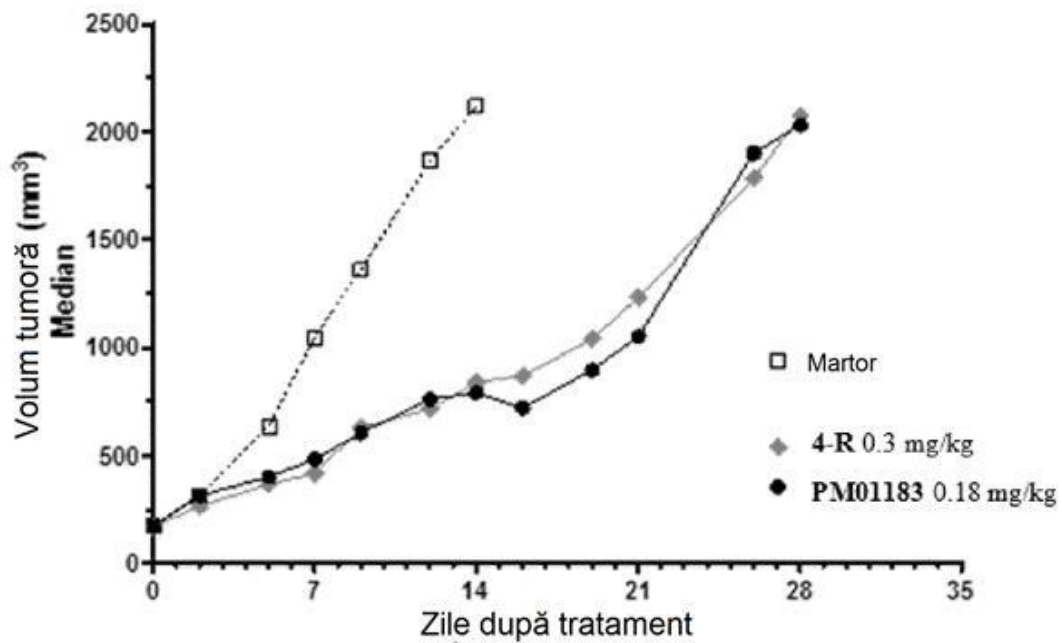


Figura 16

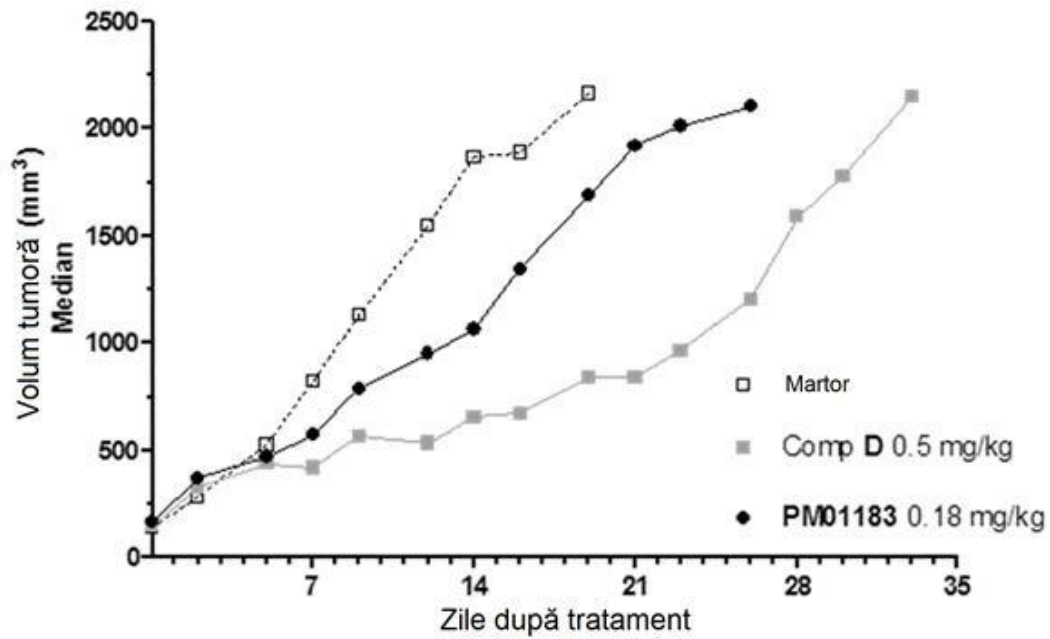


Figura 17

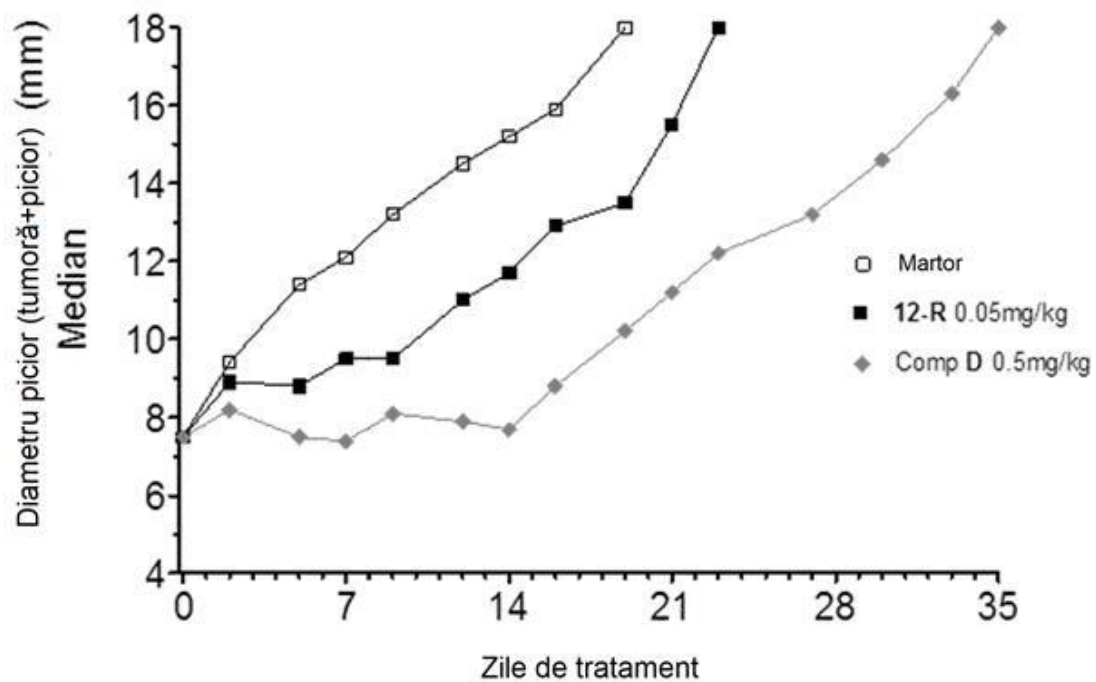


Figura 18

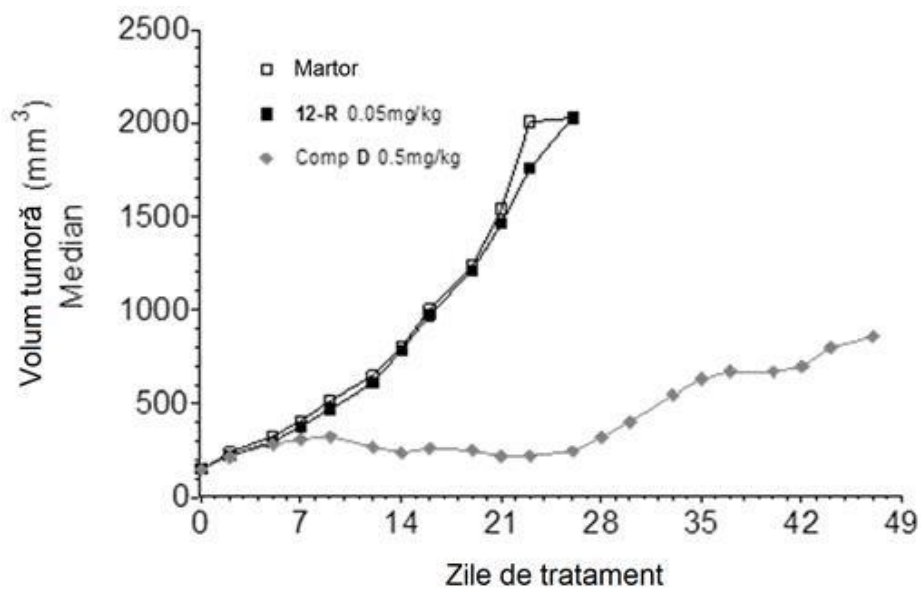


Figura 19

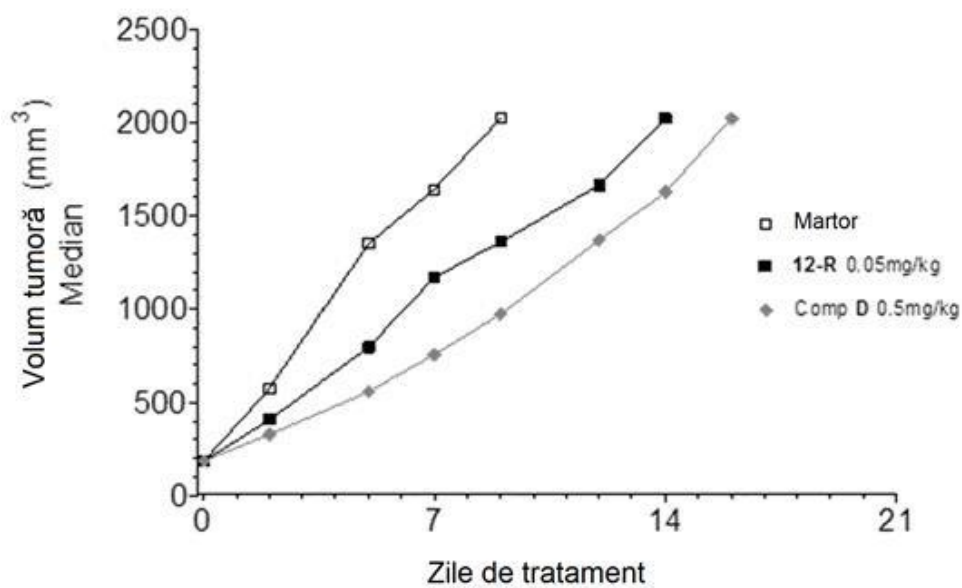


Figura 20

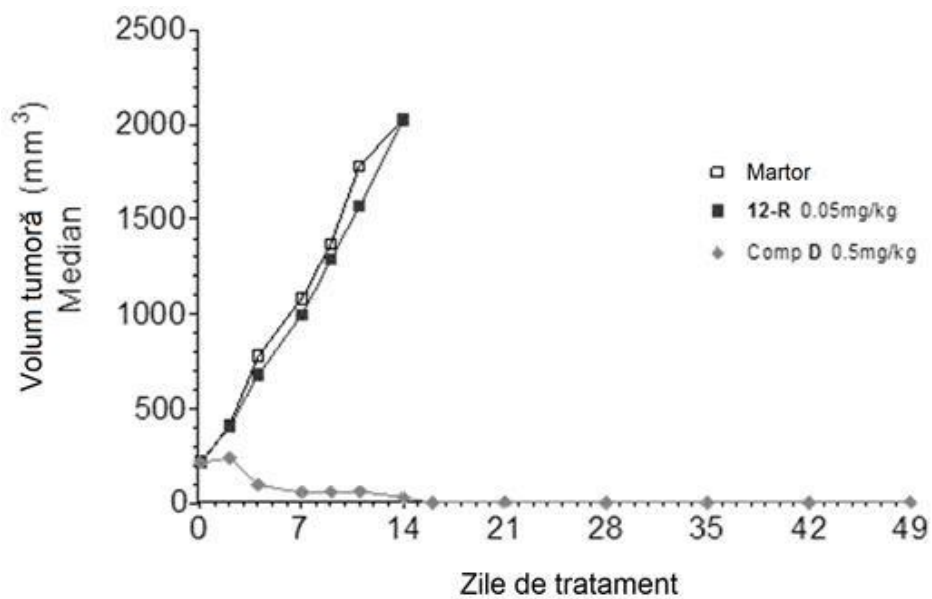


Figura 21

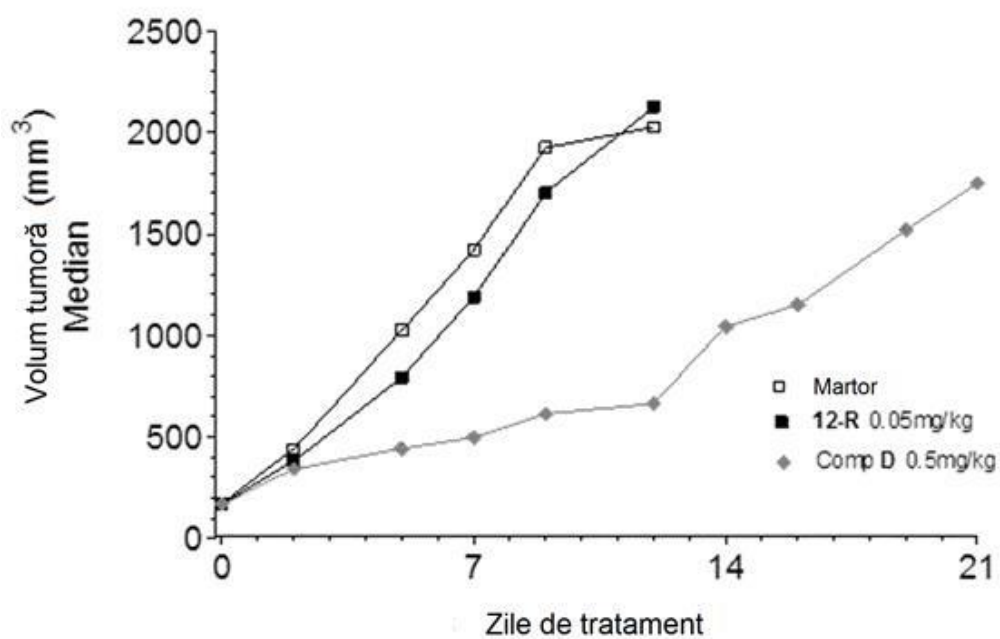


Figura 22

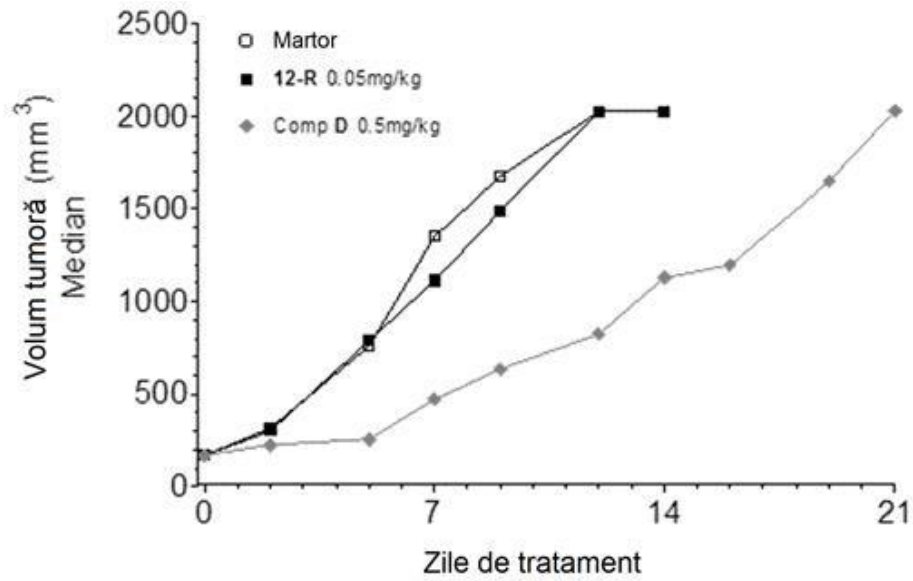


Figura 23

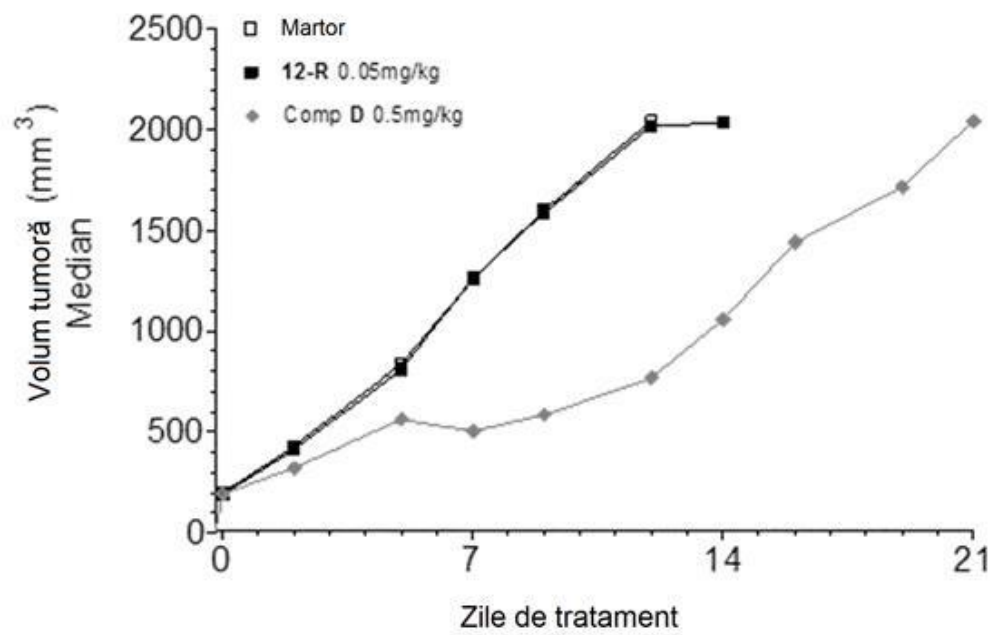


Figura 24

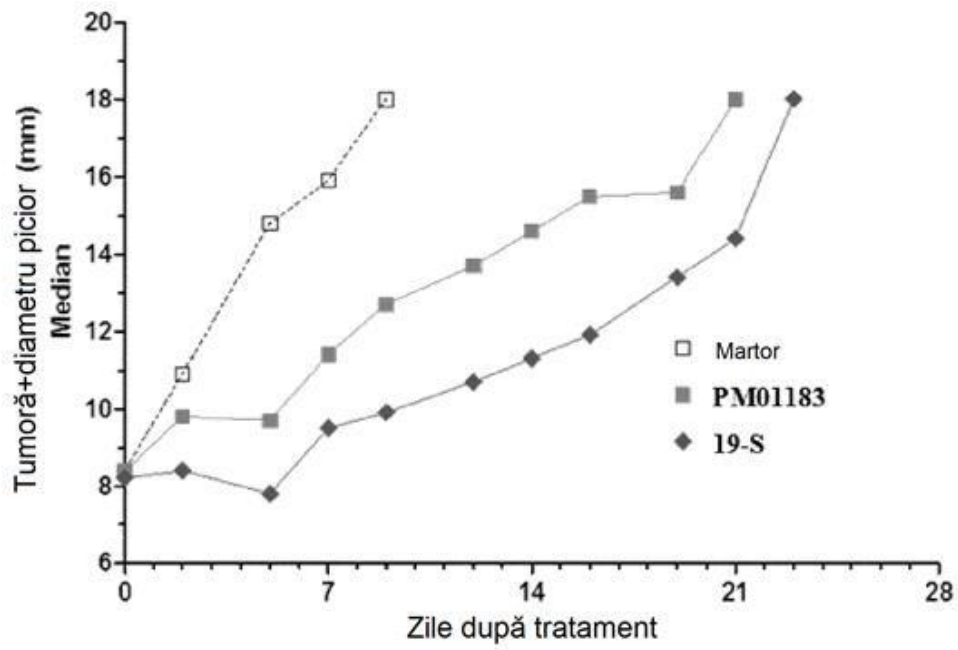


Figura 25

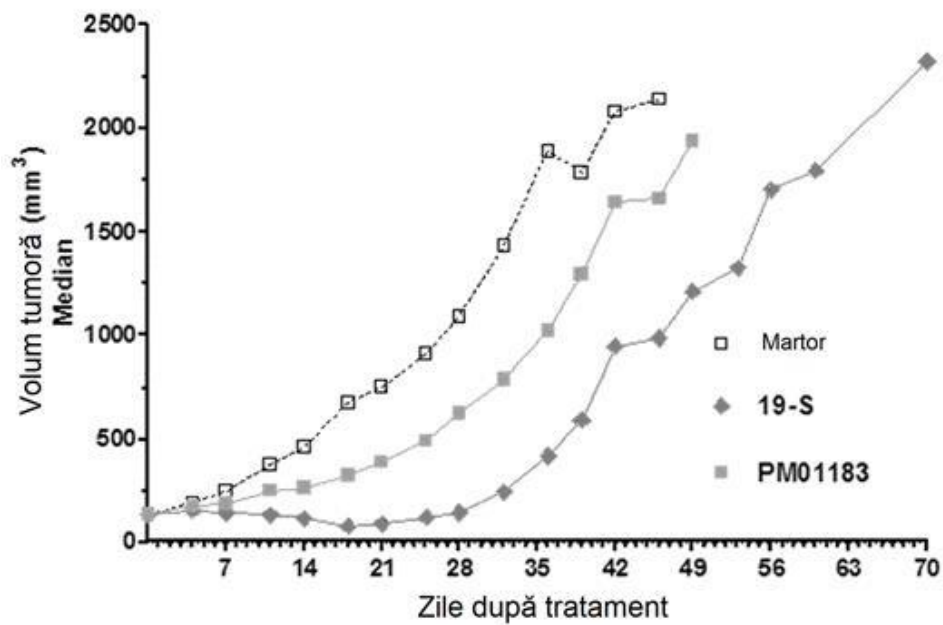


Figura 26

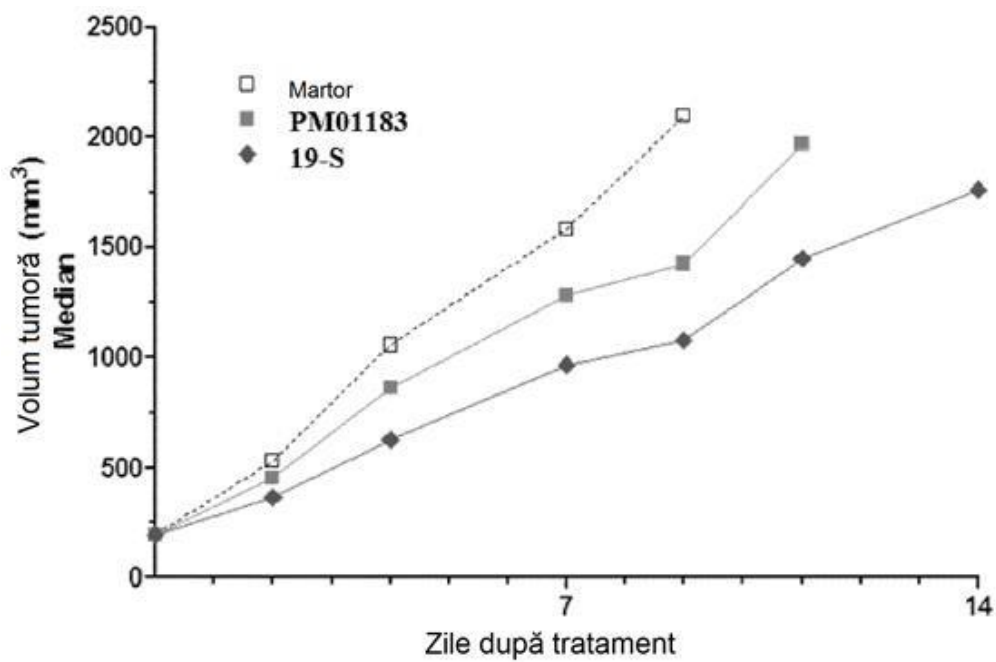


Figura 27

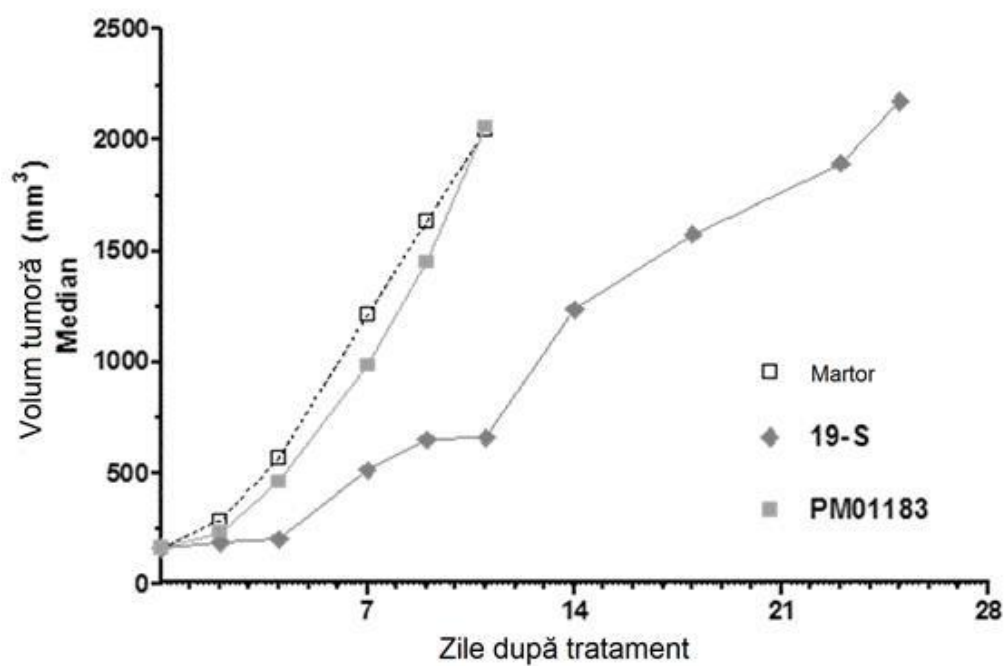


Figura 28

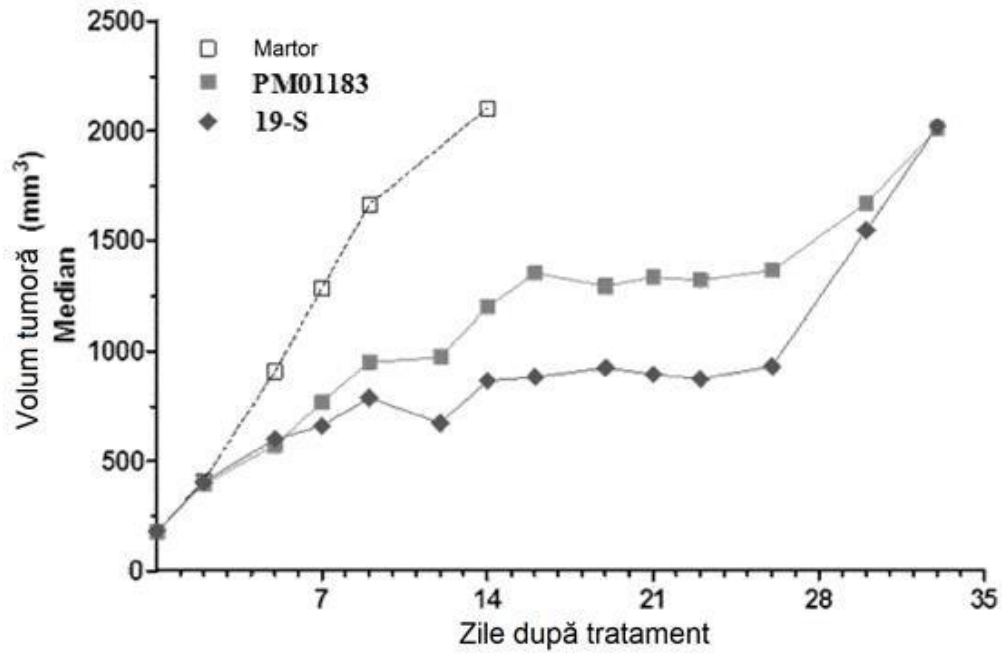


Figura 29

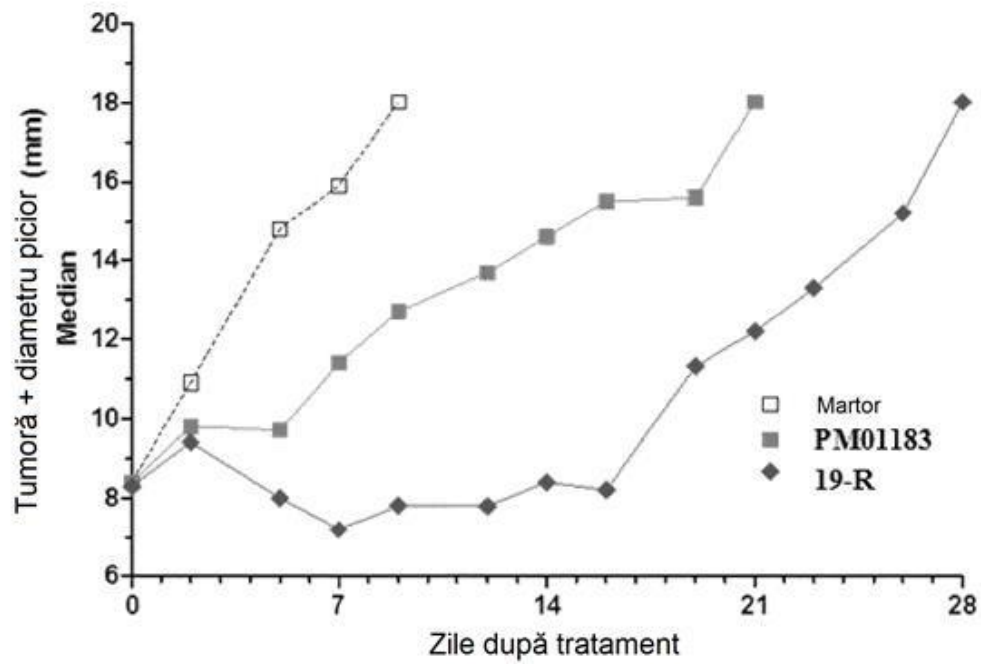


Figura 30

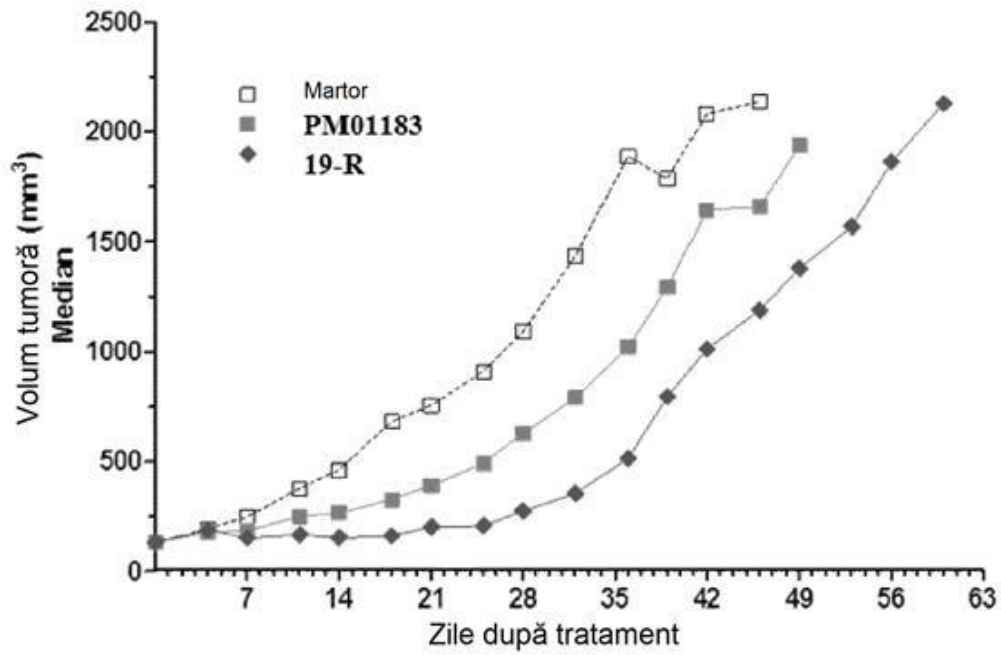


Figura 31

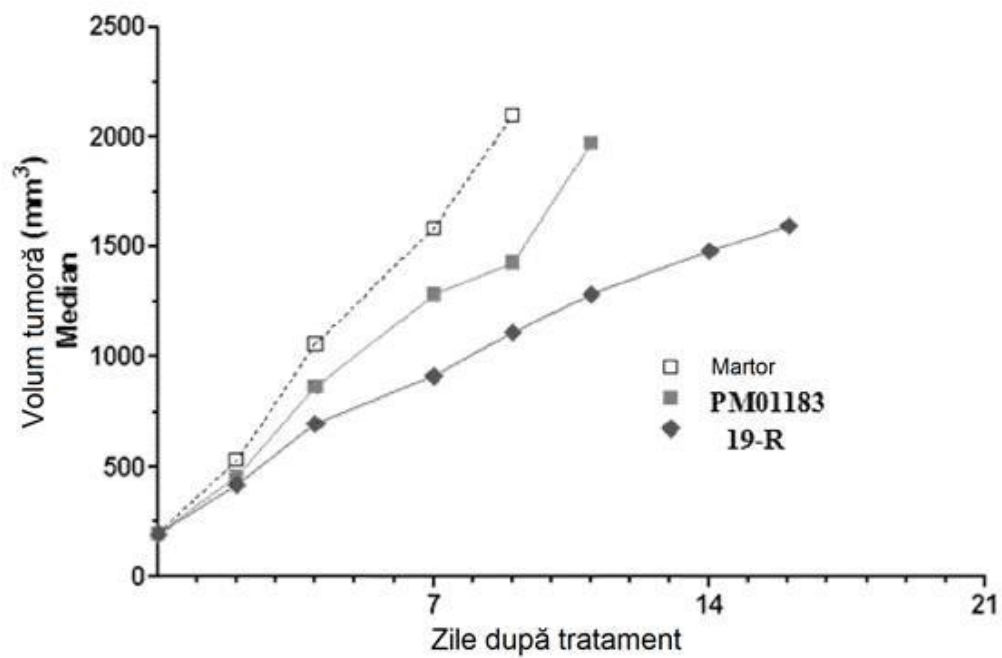


Figura 32

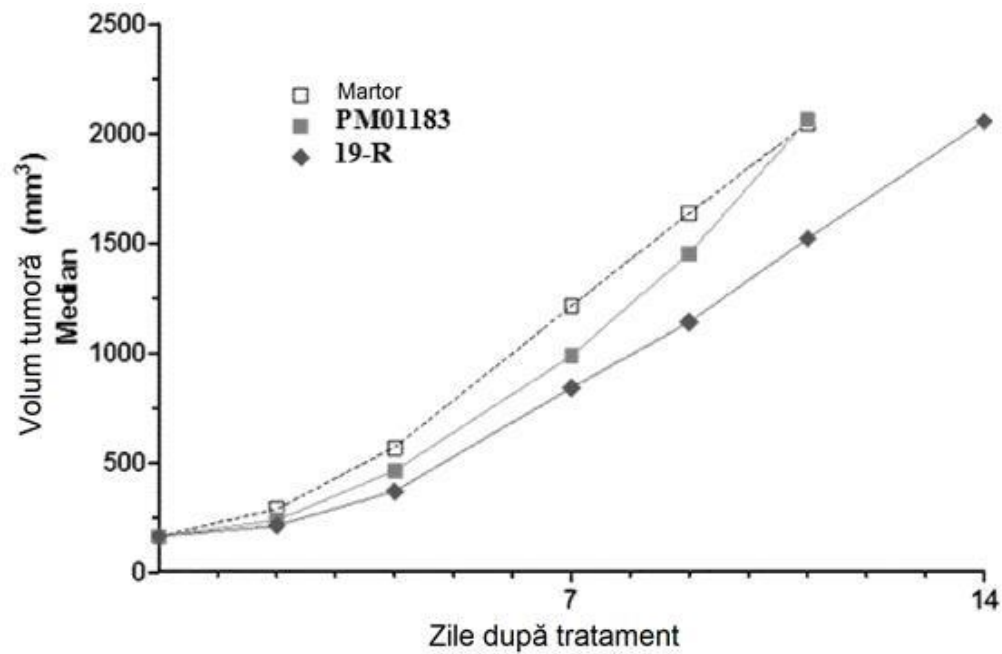


Figura 33

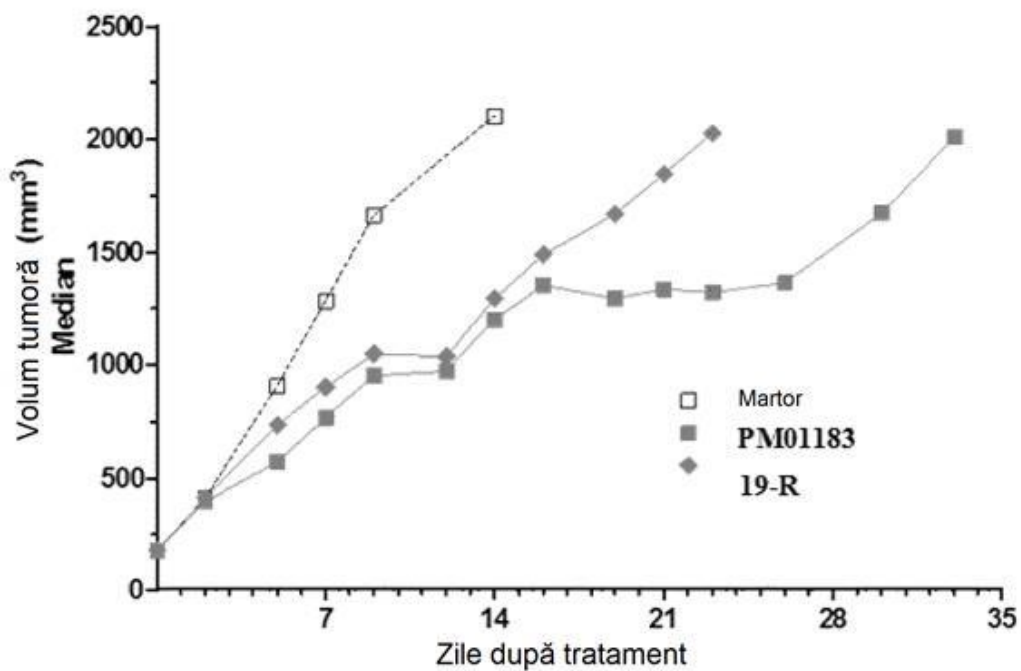


Figura 34

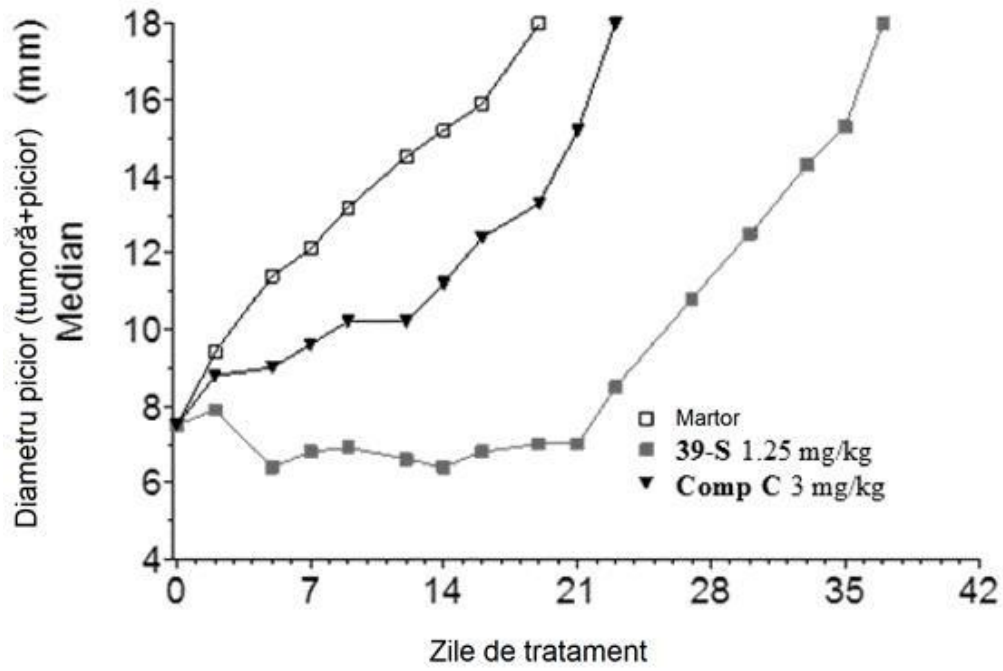


Figura 35

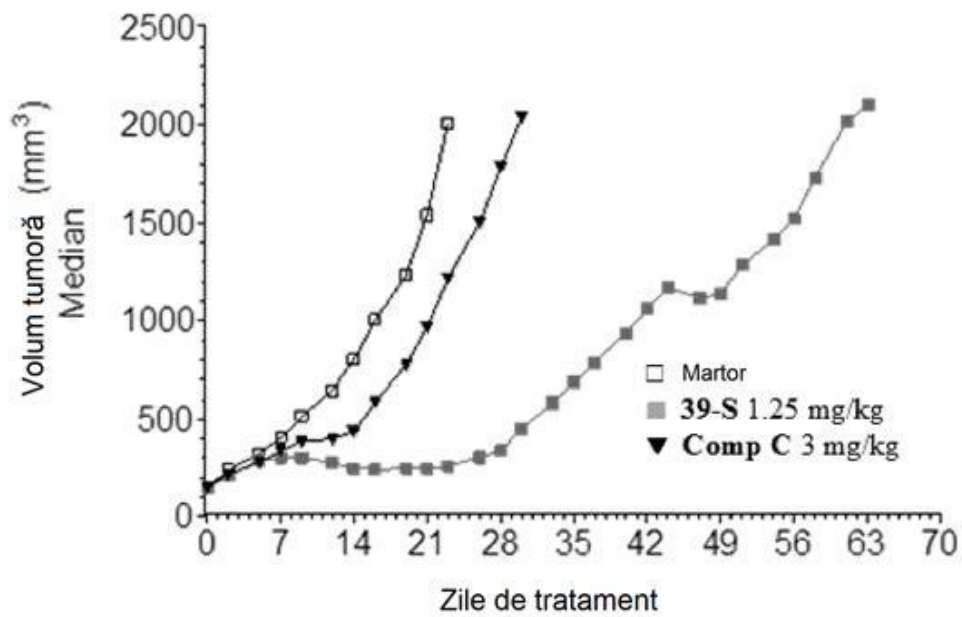


Figura 36

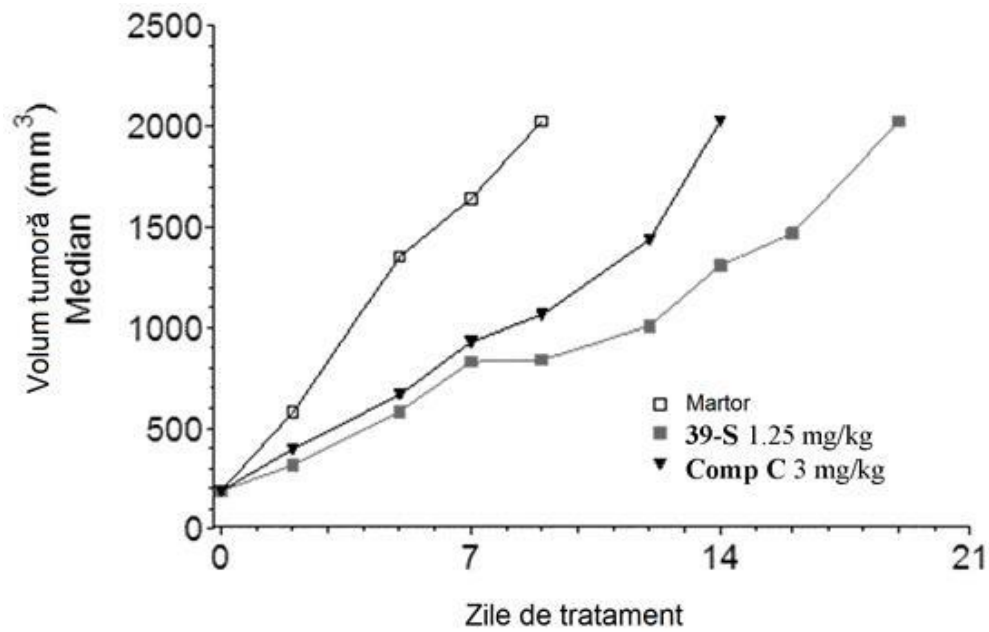


Figura 37

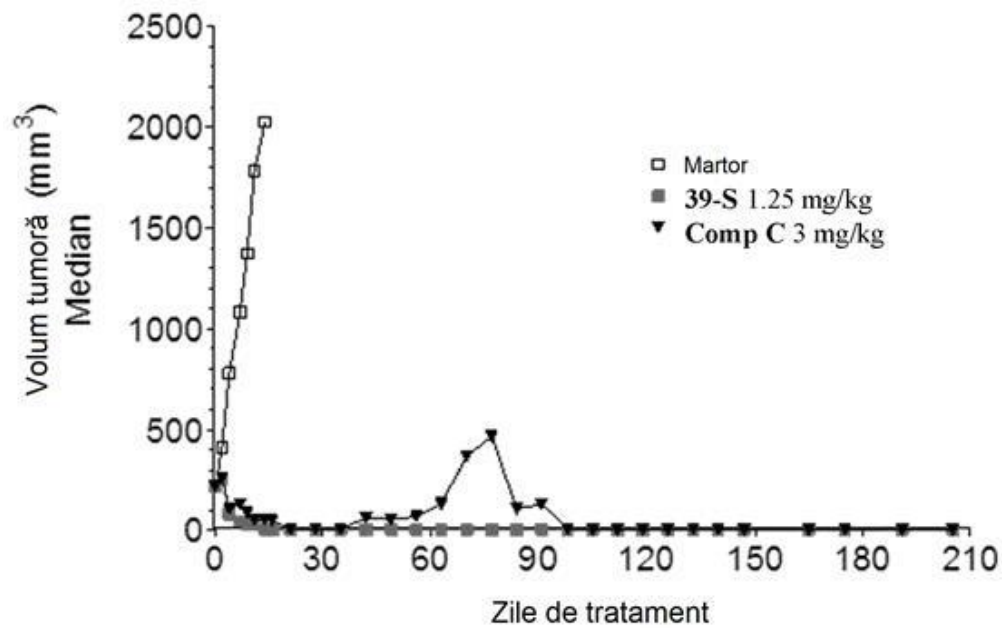


Figura 38

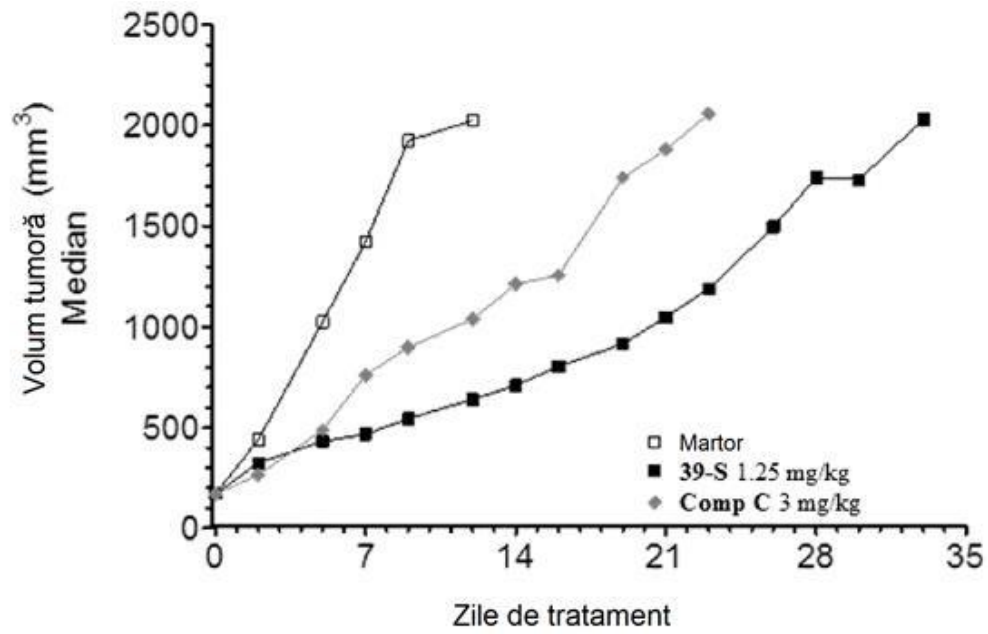


Figura 39

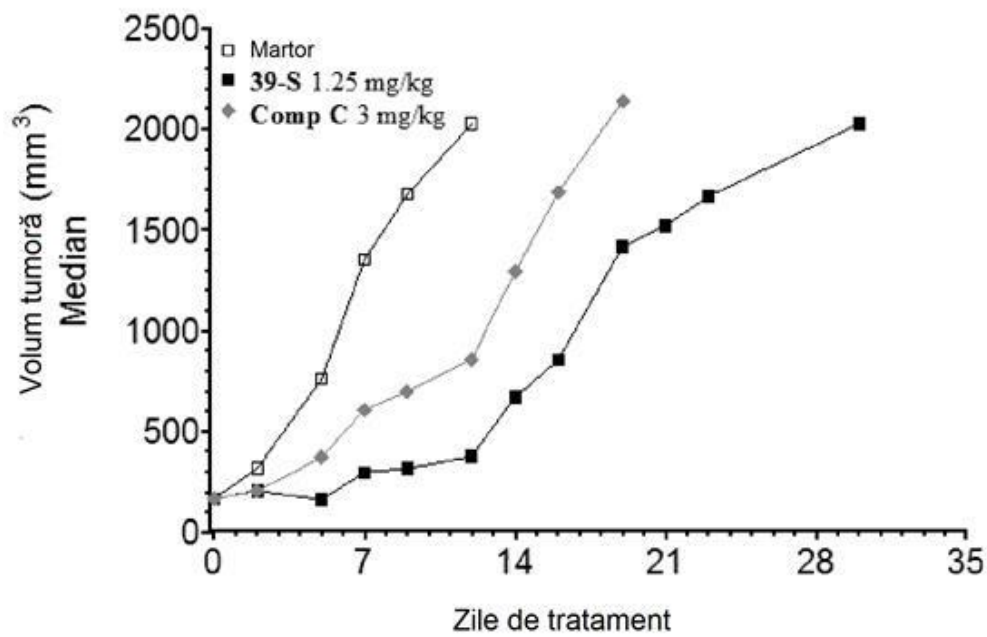


Figura 40

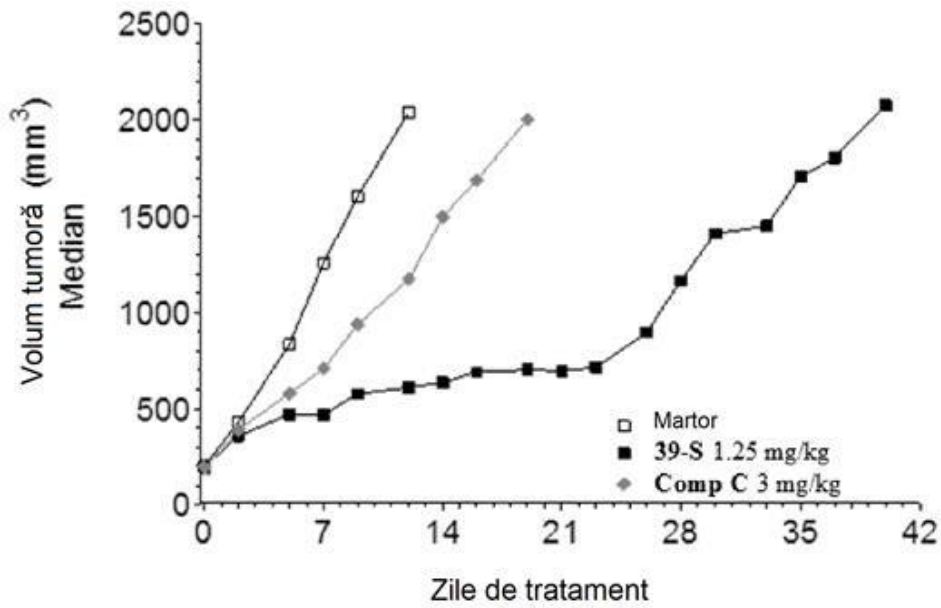


Figura 41

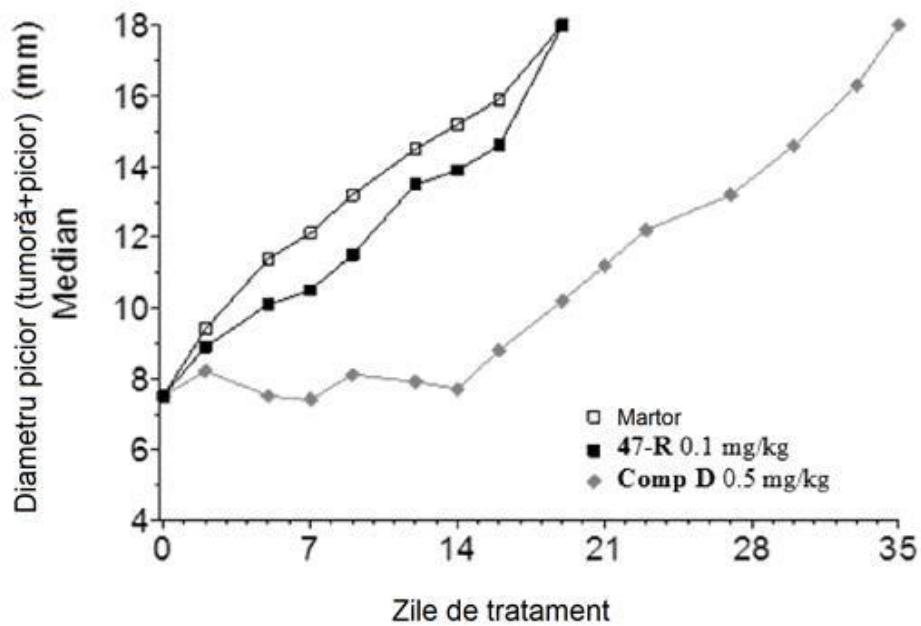


Figura 42

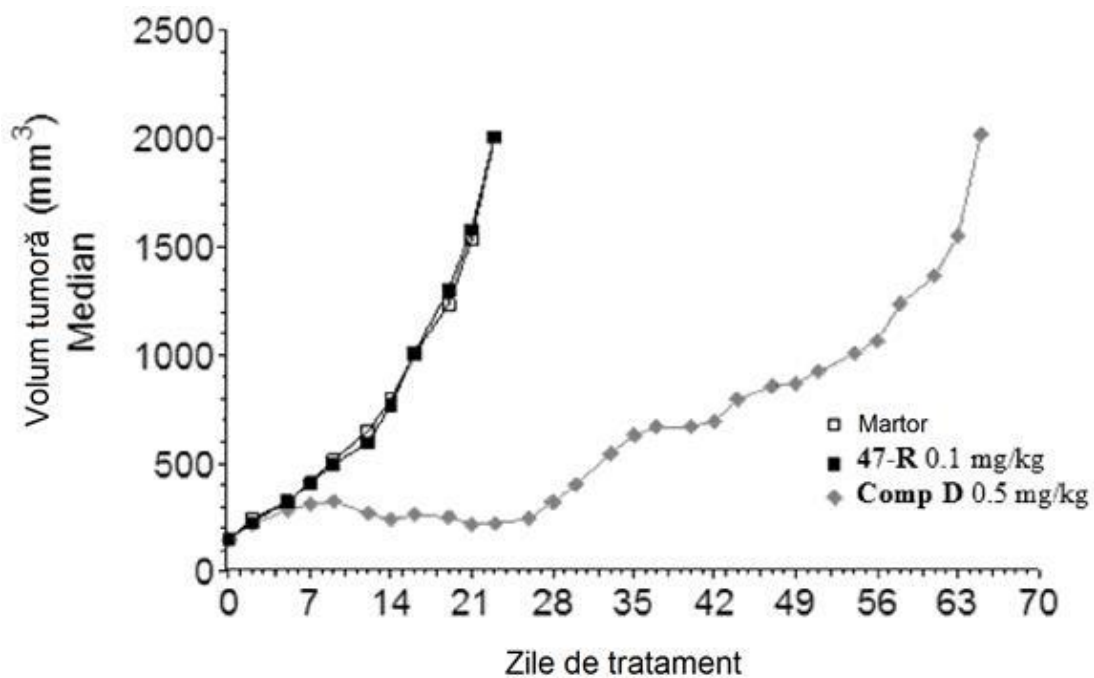


Figura 43

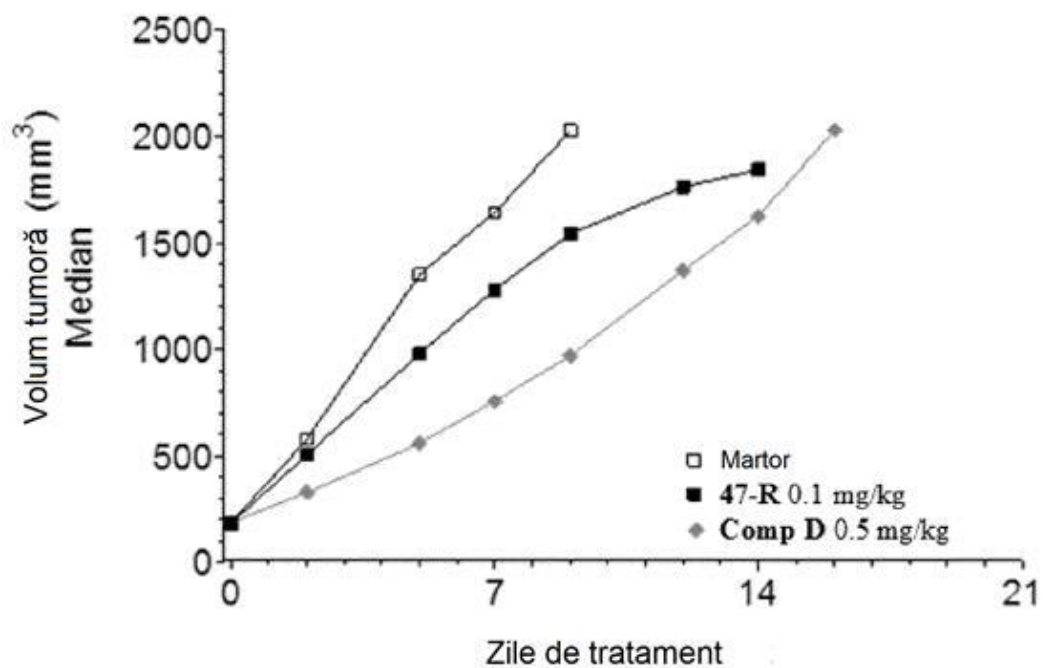


Figura 44

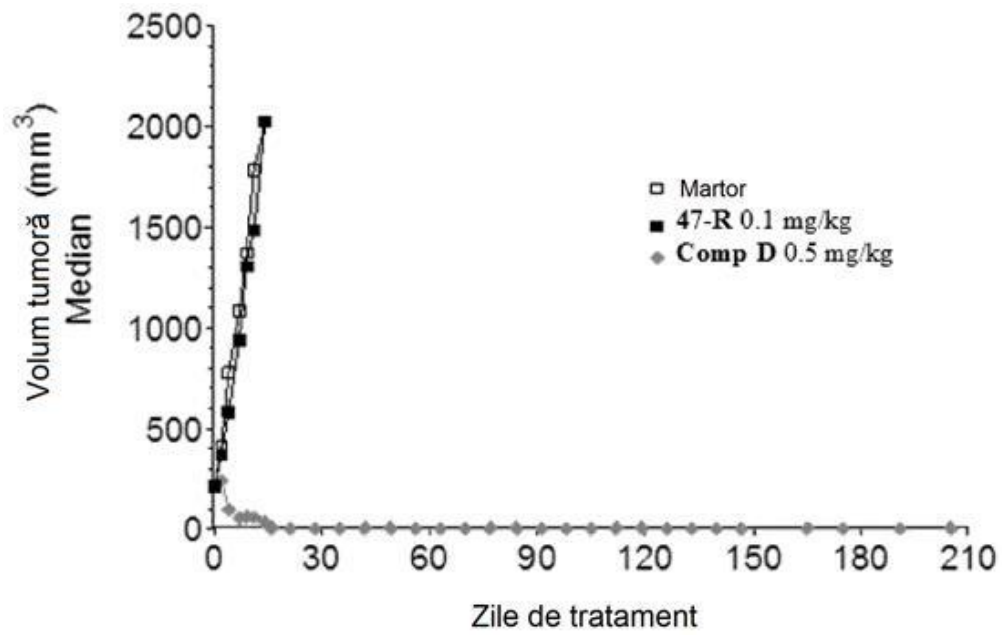


Figura 45

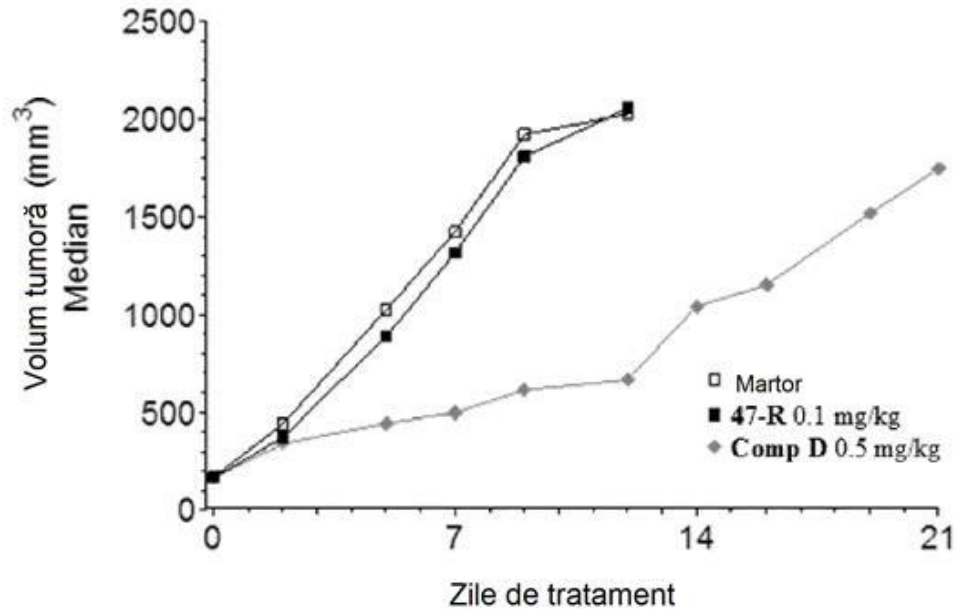


Figura 46

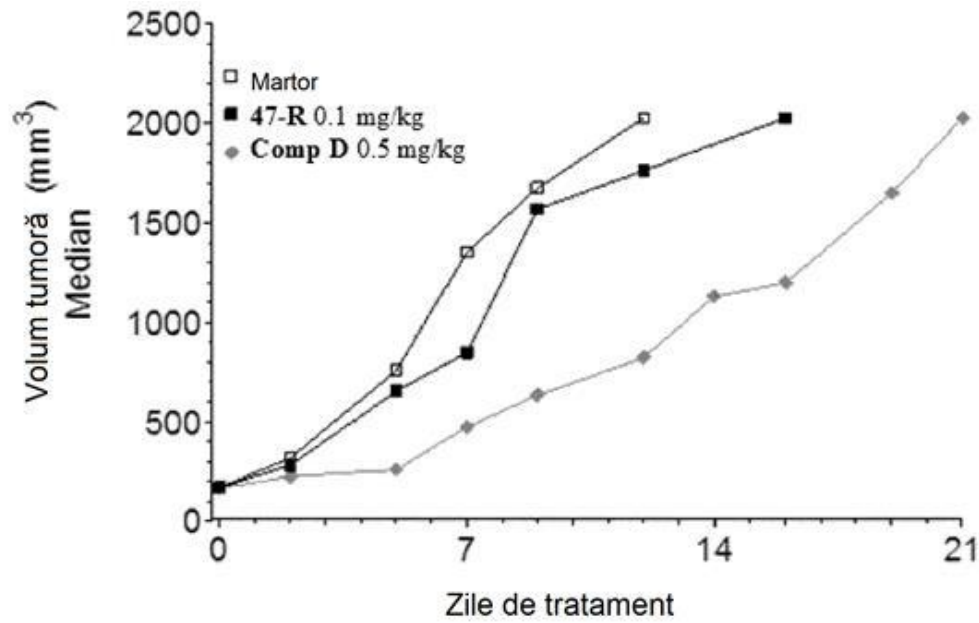


Figura 47

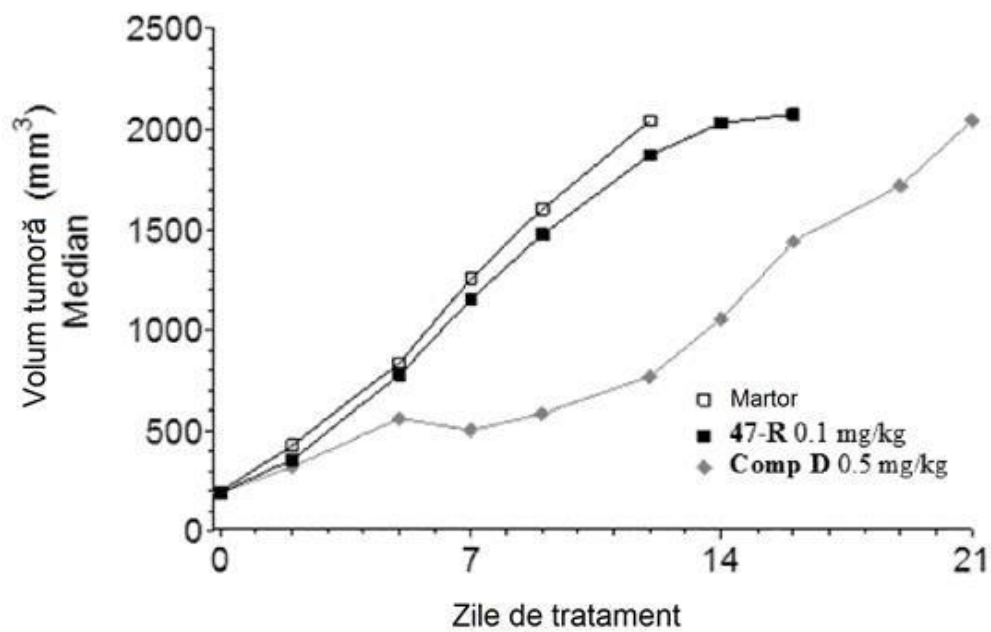


Figura 48

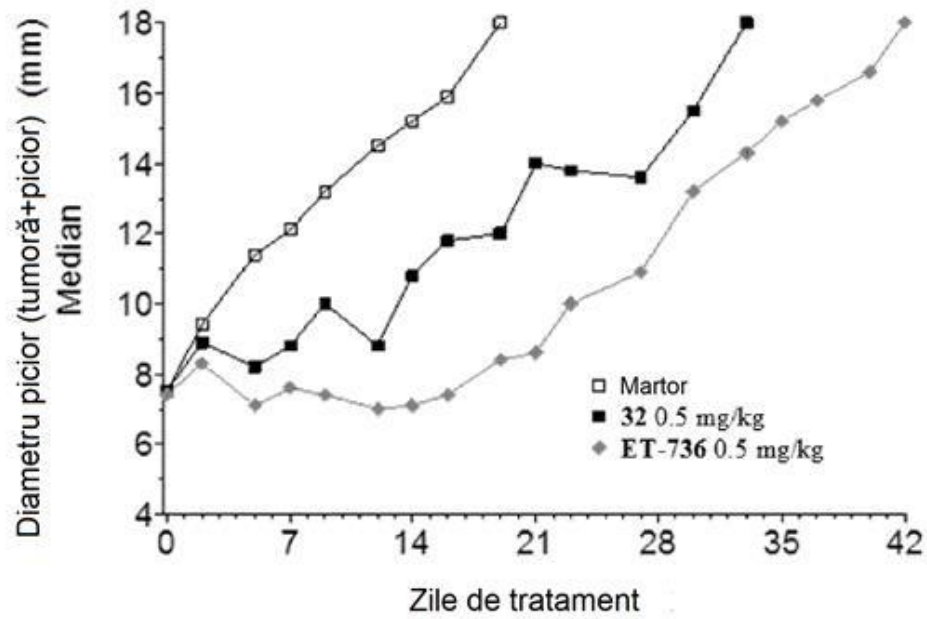


Figura 49

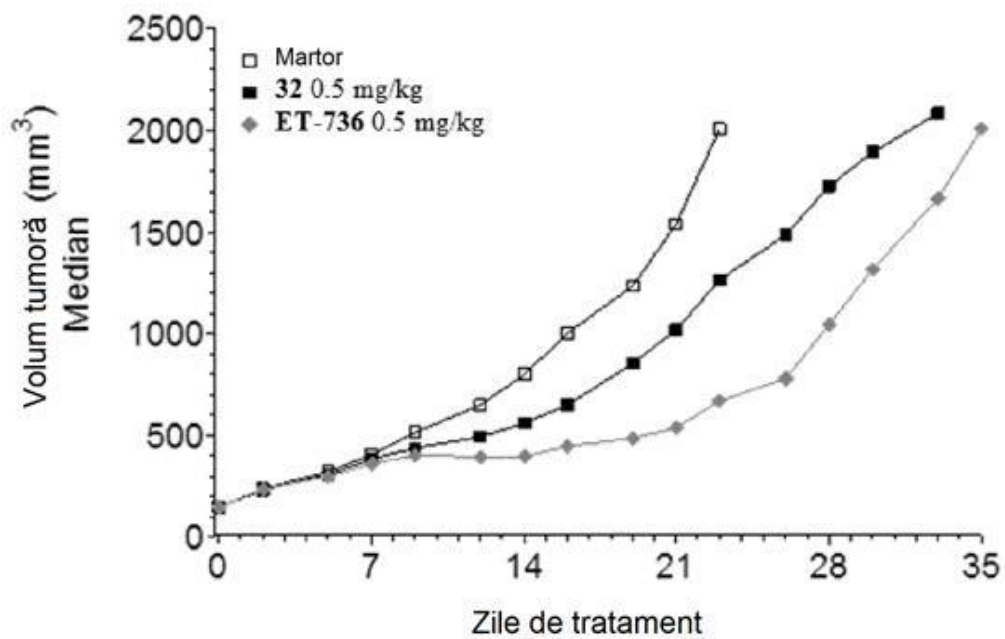


Figura 50

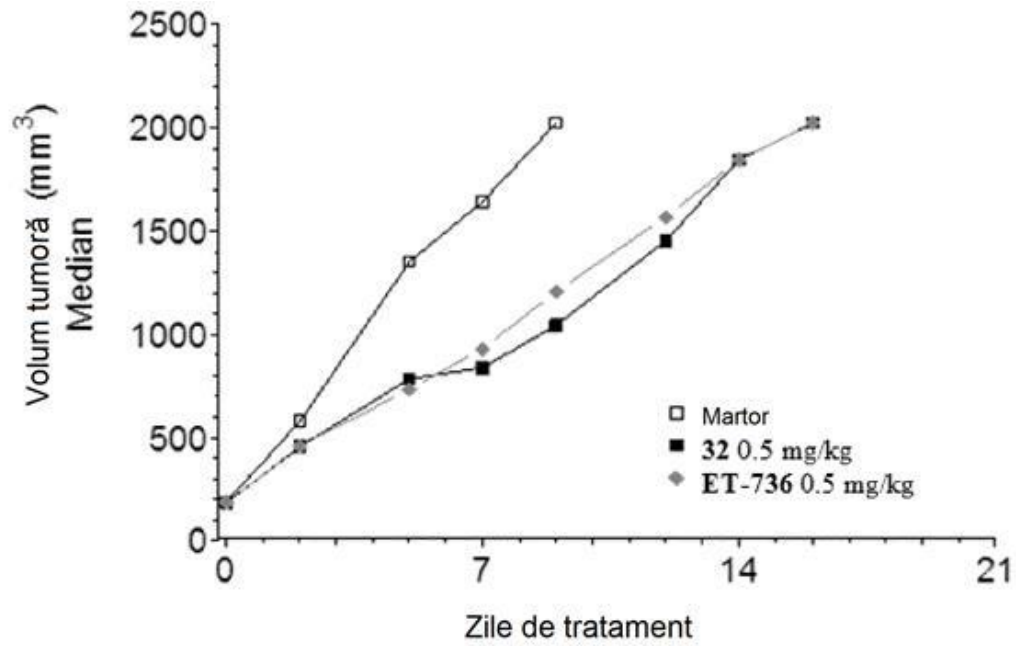


Figura 51

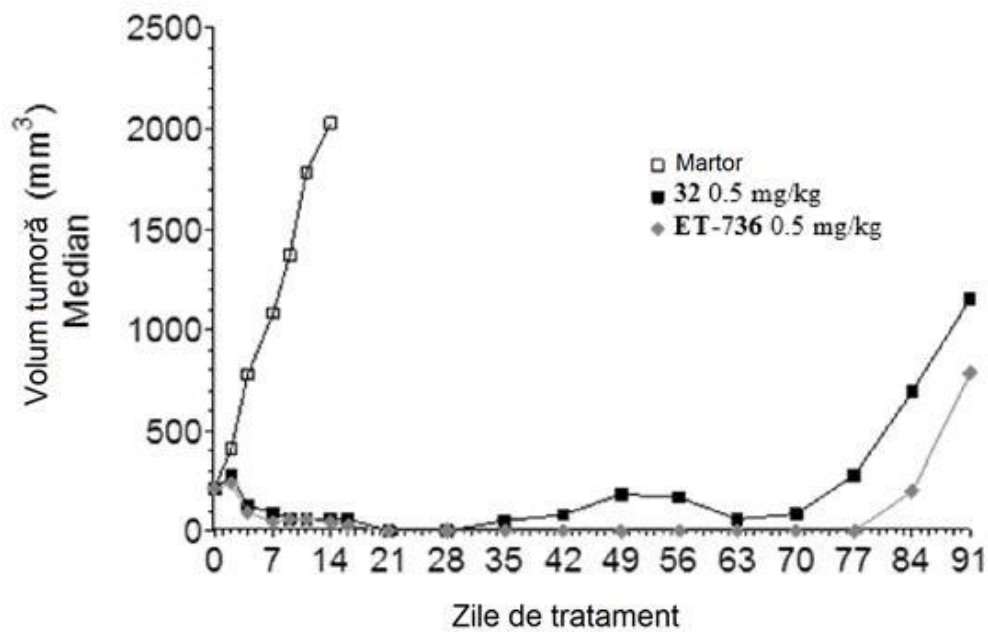


Figura 52

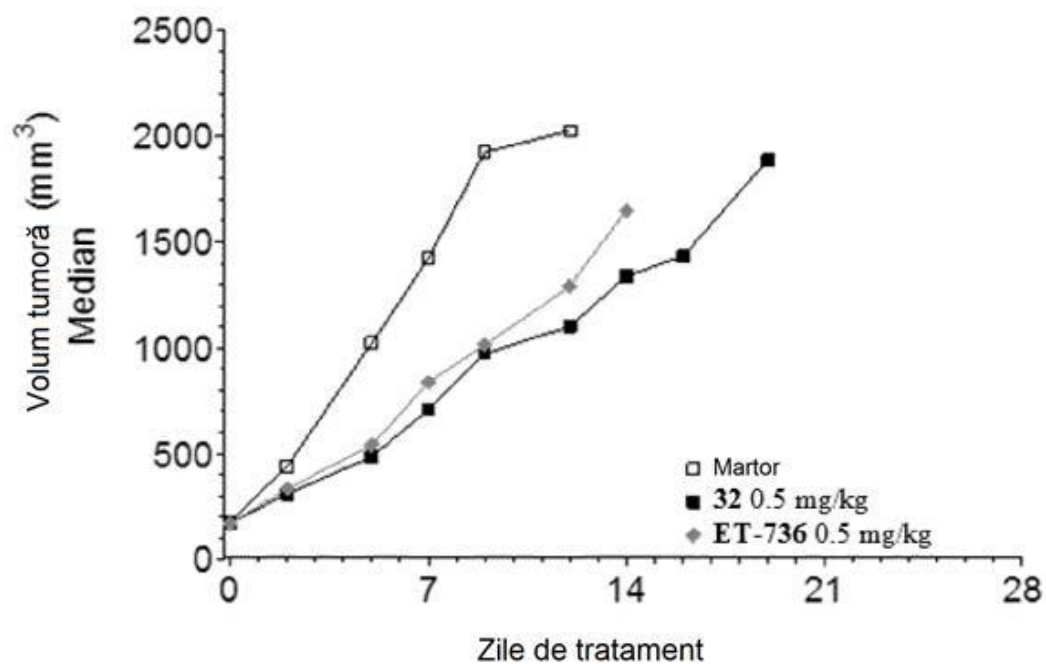


Figura 53

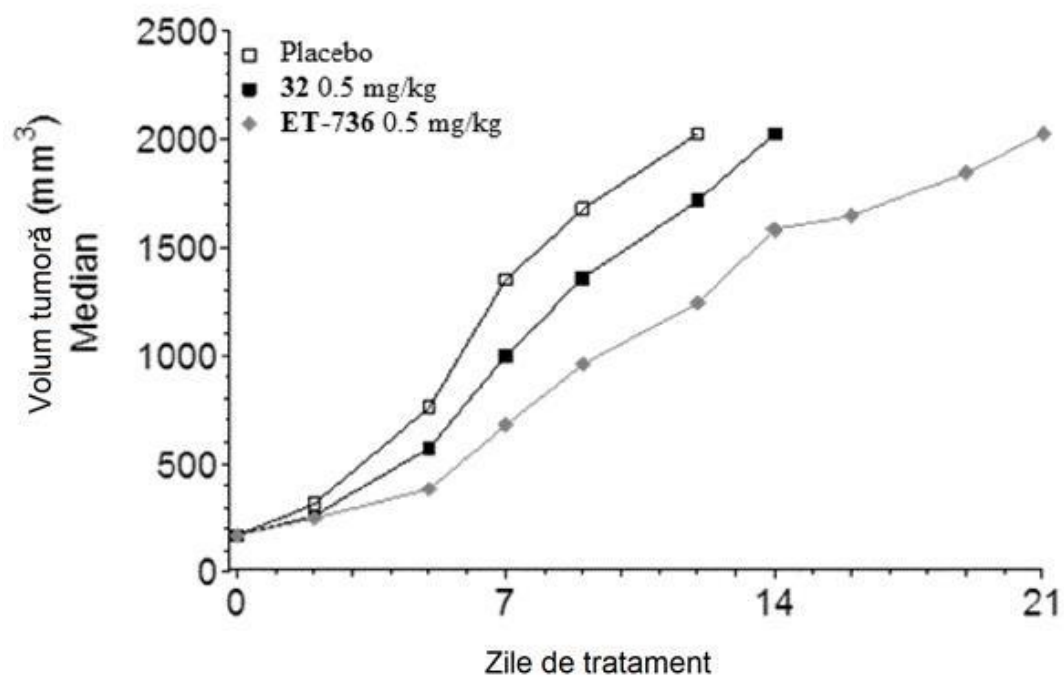


Figura 54

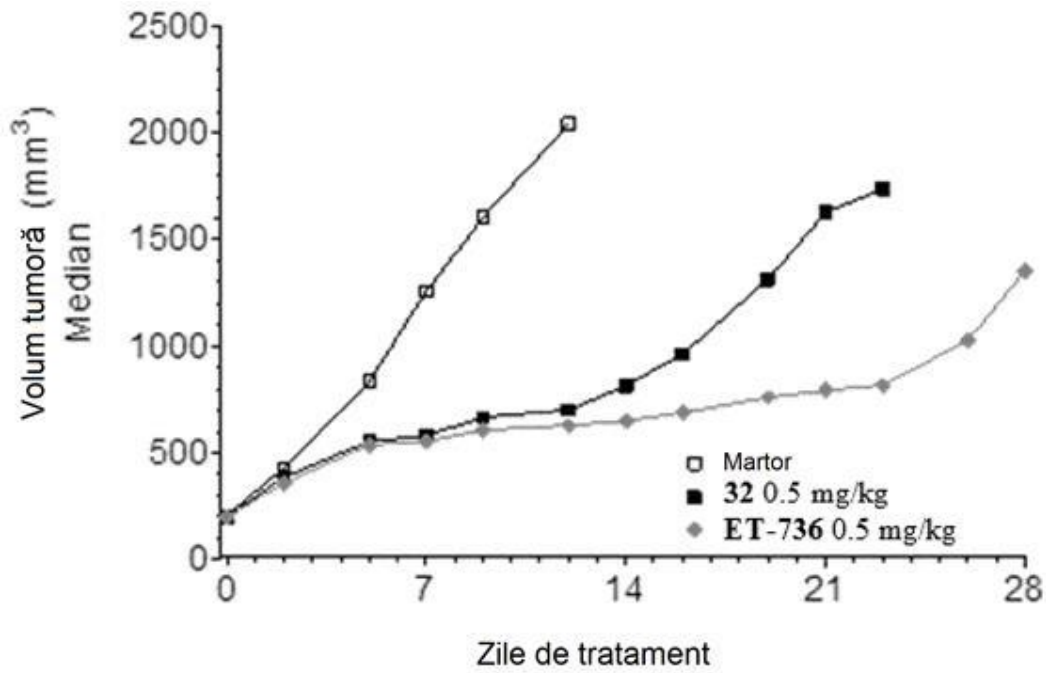


Figura 55

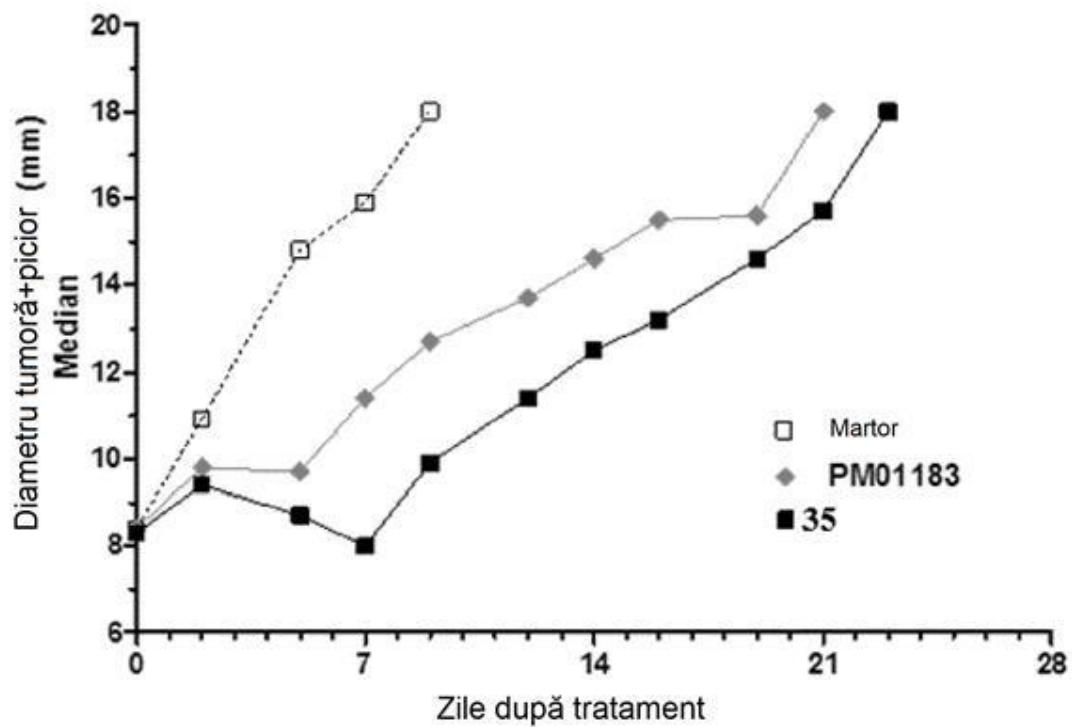


Figura 56

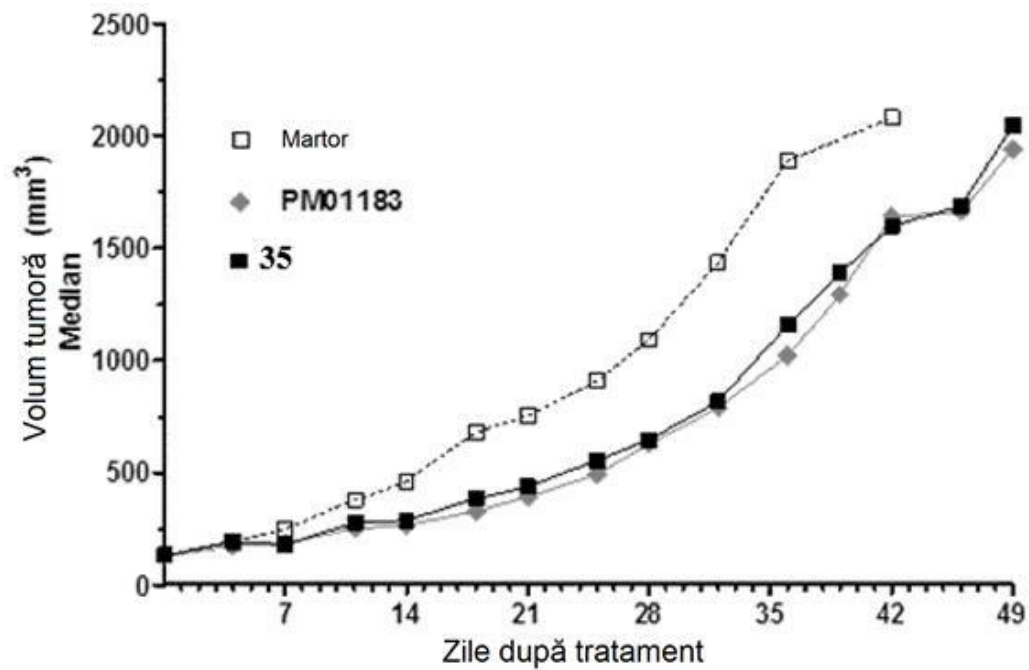


Figura 57

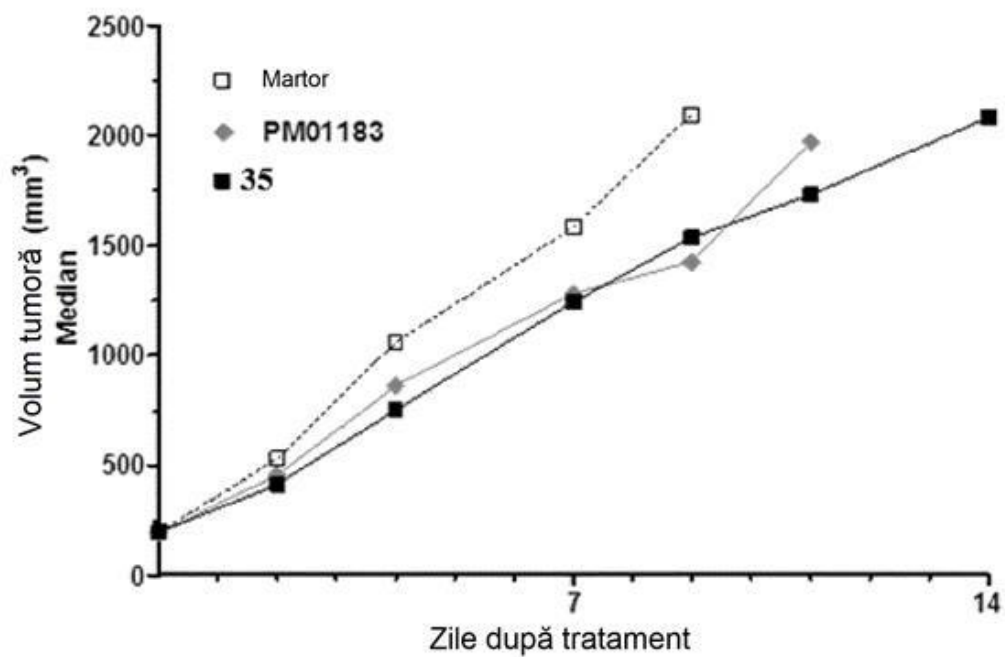


Figura 58

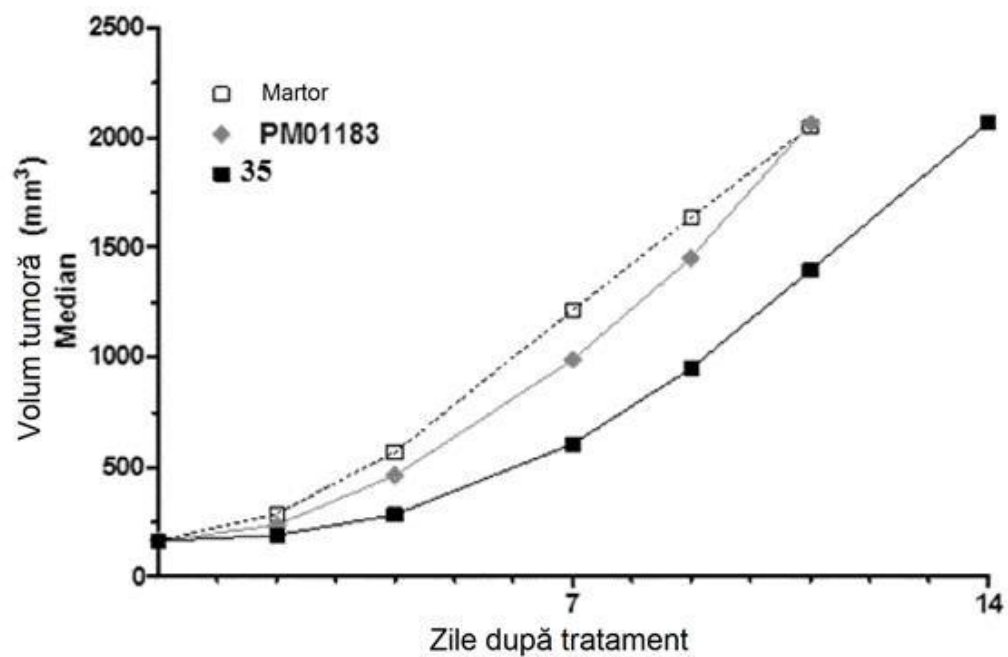


Figura 59

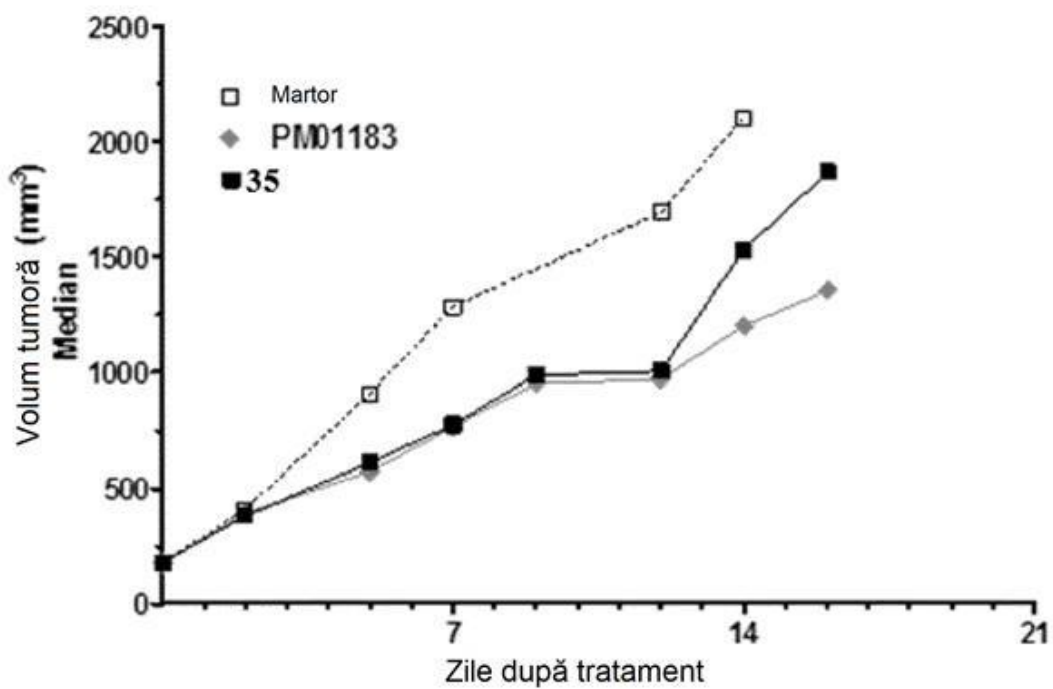


Figura 60

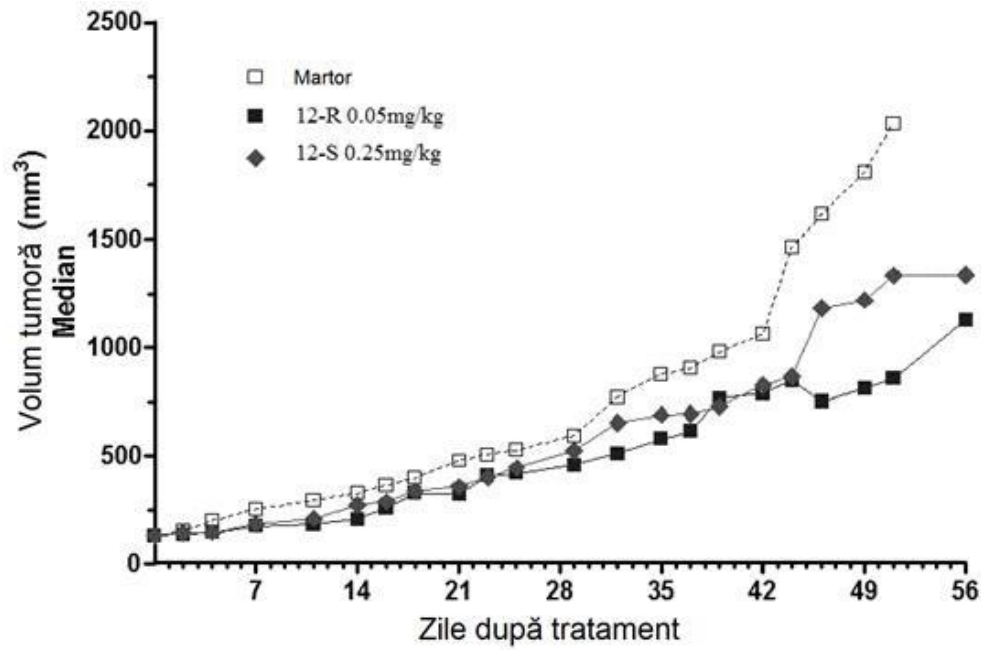


Figura 61

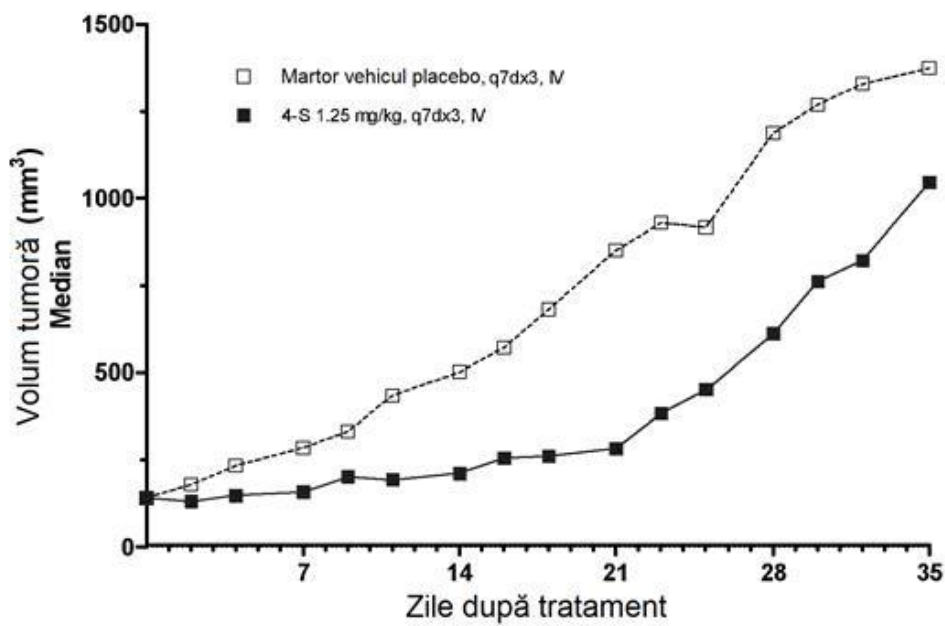


Figura 62

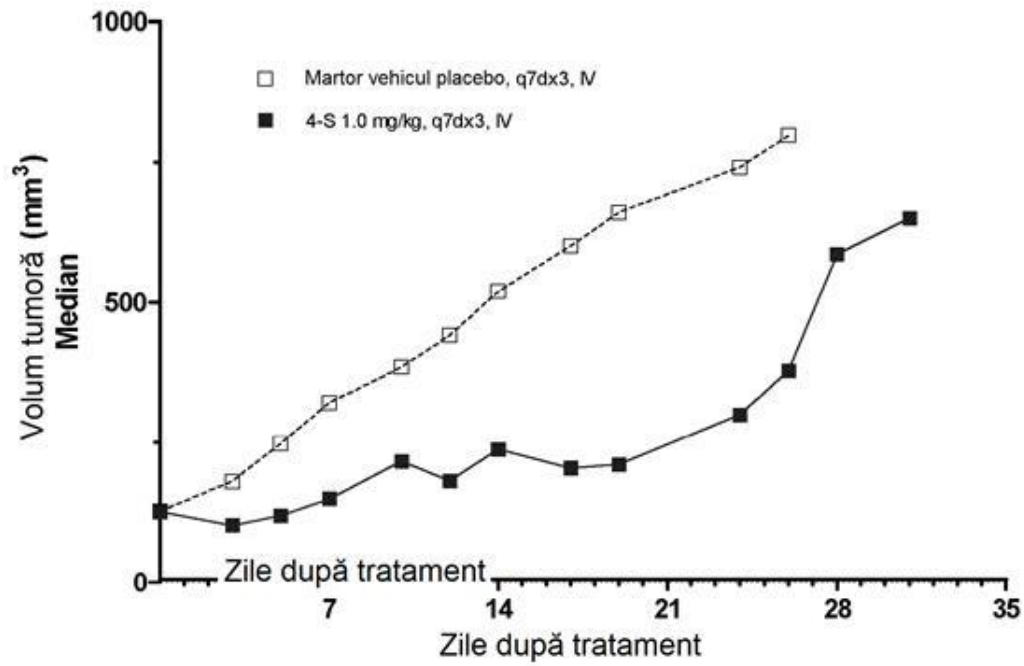


Figura 63

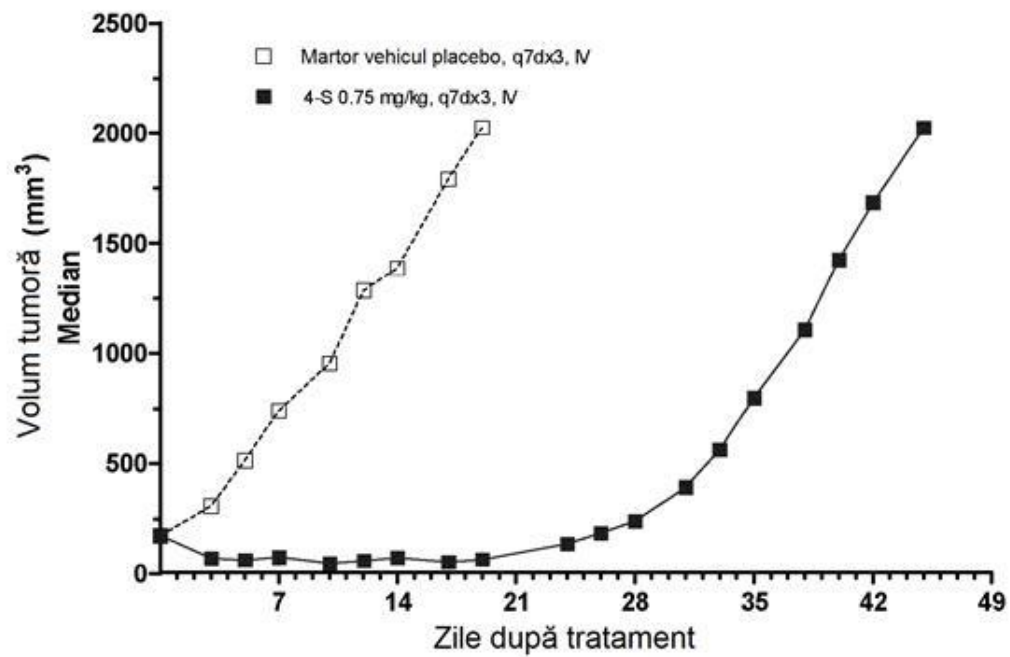


Figura 64

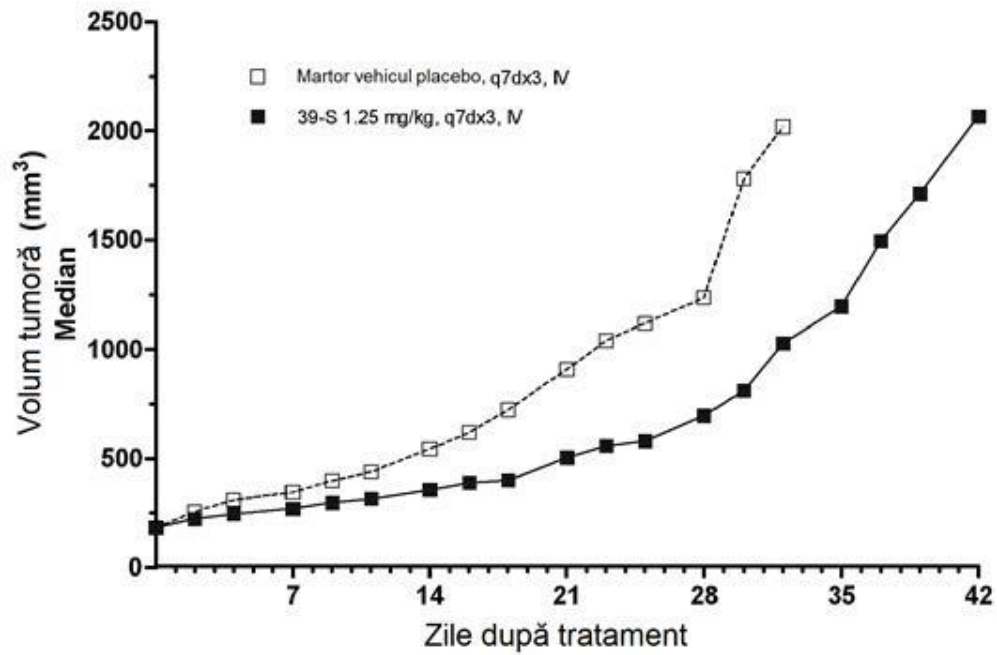


Figura 65

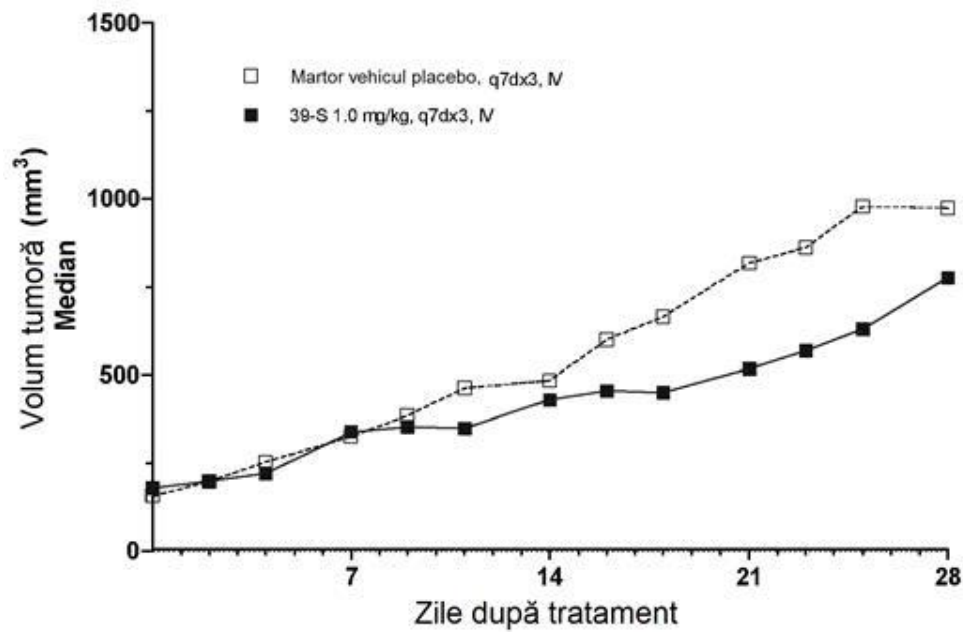


Figura 66

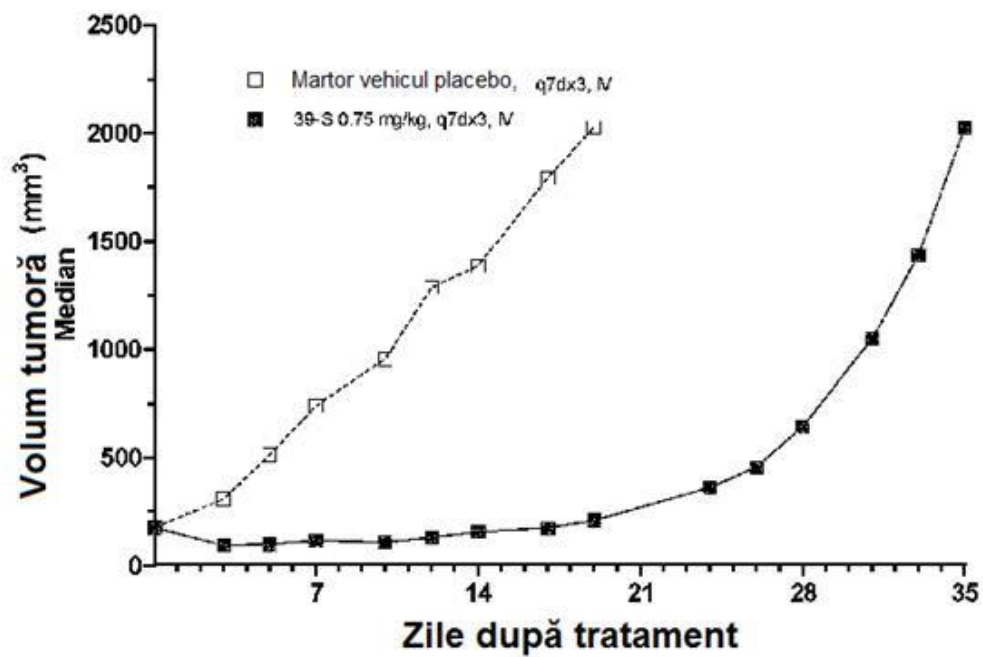


Figura 67