LIBLICE 2006 – DODATKY

KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SOLI LUPANOVÝCH TRITERPENOIDŮ

BIEDERMANN D.[a], **ŠAREK J.**[a], **HAJDÚCH M.**[b] **a SVOBODOVÁ X.**[b]

[a] *Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2;* [b] *Laboratoř experimentální medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc;* [c] *I.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00 Praha 5*
david.biedermann@gmail.com

Naše výzkumná skupina se již delší dobu věnuje výzkumu derivátů přírodních triterpenoidů lupanového a oleananového typu s významnou cytotoxickou aktivitou[1]. V nedávno publikovaných pracích[2,3] byly formulovány základní farmakofory a obecné vlastnosti derivátu, u kterého lze očekávat signifikantní cytotoxickou aktivitu. Další stěžejní publikace[4] přinesla klíčové poznatky o molekulárním mechanismu účinku betulinů, přičemž jako primární cíl byl identifikován cytochrom C. V rámci studia cytotoxické aktivity vysoce hydrofilních terpenoidních derivátů jsme se proto zaměřili též na přípravu kvartérních amoniových solí.

Kvartérní amoniové soli byly připraveny ve vysokých výtěžcích reakcí triterpenických halogenidů s příslušnými terciárními aminy. Získaná série 16 nových kvartérních solí je nyní předmětem testování *in vitro* cytotoxické aktivity proti nádorové linii CEM na pracovišti LEM. Struktury všech připravených látek byly potvrzeny spektrálními daty (NMR, IČ, MS).

Chemikálie a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, derivatizační činidla a testování cytotoxické aktivity bylo financováno z grantu MPO FT-TA/027.

LITERATURA

1. Šarek J., Klinot J., Bražinová S., Džubák P., Klinotová E., Nosková V., Křeček V., Kořínková G., Thomson J. O., Janošťáková A., Wang S., Parsons S., Fischer P. M., Zhelev N. Z., Hajdúch M.: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
2. Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J.: Nat. Prod. Rep. *23*, 394 (2006).
3. Urban M.: *Dizertační práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha, 2005.
4. Dzubak P., Sarek J., Anzenbacher P., Masek V., Novak P., Havlicek V., Vydra D., Hajduch M.: submitted in PNAS.

DERIVATIZACE LUPANOVÝCH HYDROXY-DERIVÁTŮ S ANTIVIRÁLNÍ A CYTOTOXICKOU AKTIVITOU

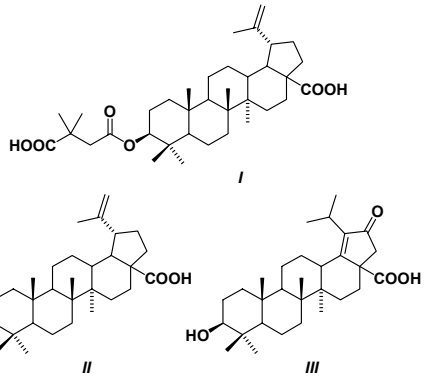
T. KUBELKA[a], **J. ŠAREK**[a], **I. TIŠLEROVÁ**[a], **M. HAJDÚCH**[b] **a X. SVOBODOVÁ**[c]

[a] *Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha;* [b] *Laboratoř experimentální medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20, Olomouc;* [c] *I.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00, Praha 5*
haad@seznam.cz

V návaznosti na studium protinádorové aktivity terpenoidů[1] na našem pracovišti byl v nedávné době zahájen také výzkum anti-HIV aktivity triterpenoidních derivátů. Zaměřili jsme se zejména na přípravu terpenických hemiesterů typu ***I***, u kterých je anti-HIV aktivita již známa[2,3].

Výchozími sloučeninami pro derivatizace byly kyselina betulinová ***II*** a 21-oxokyselina ***III***, které jsou na našem pracovišti k dispozici v dostatečném množství[4]. Pro přípravu hemiesterů bylo využito acylační reakce pomocí anhydridů nižších dikyselin. Nenasycené produkty budou dále podrobeny oxidačním reakcím např. ozonizacím s cílem získat výše oxidované hydrofilní deriváty.

Připravené sloučeniny jsou nyní předmětem testů na *in vitro* anti-HIV a cytotoxickou aktivitu vůči nádorové linii CEM. Struktury všech připravených sloučenin byly jednoznačně potvrzeny spektrálními metodami.



Chemikálie a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, derivatizační činidla byla financována z grantu MPO FT-TA/027.

LITERATURA

1. Šarek J. et al.: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
2. Huang L. et al.: Bioorg. Med. Chem. *14*, 2279 (2006).
3. Robinson G. N. et al.: Novel betulin derivatives, preparation thereof and use. PCT Int. Patent Appl. WO 2006053255, 18 May 2006.
4. Hajduch M., Sarek J.: Triterpenoid derivatives. PCT Int. Patent Appl. WO 0190136, 23 May 2001.

PŘÍPRAVA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH TRITERPENOIDŮ SYNTÉZOU C-C VAZEB

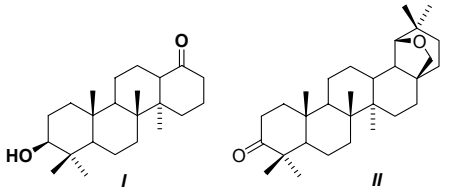
L. MARKOVÁ[a], J. ŠAREK[a], P. DŽUBÁK[b], M. HAJDÚCH[b], I. TIŠLEROVÁ[a] a M. SVOBODA[c]

[a] Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha; [b] Laboratoř experimentální medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc; [c] I.Q.A., a.s., Jindřicha Plachty 16, 150 00, Praha 5
lmarko@email.cz

V rámci studia závislosti cytotoxické aktivity na struktuře derivátů, realizovaném na našem pracovišti[1], jsme otevřeli novou kapitolu − přípravu semisyntetických derivátů triterpenoidů syntézou C-C vazeb.

Jako výchozí materiál pro syntézy byly použity dobře dostupné terpenické ketony[1] (např. ***I***, ***II***), na které byly adovány různé nukleofily např. Grignardova činidla, trimethylsilylkyanid a acetylid lithný. Získané adiční produkty obsahují polární funkční skupiny a násobné vazby, které jsou prokázanými farmakofory cytotoxické aktivity[2]. Dále jsme ketony podrobili též Wittigově reakci a Pettersonově methylenaci, s cílem získat reaktivní sloučeniny s exocy-klickými dvojnými vazbami. U některých exomethylenových sloučenin byla navíc v minulosti nalezena vysoká cytotoxicita[1−3]. Získané nenasycené deriváty budou dále podrobeny oxidačním a degradačním reakcím, s cílem získat funkcionalizované hydrofilní deriváty.

Připravené sloučeniny, jsou nyní předmětem testování *in vitro* cytotoxické aktivity vůči nádorové linii T-lymfoblastické leukémie. Struktury všech připravených sloučenin byly jednoznačně potvrzeny spektrálními daty.



Testování cytotoxické aktivity, chemikálie a rozpouštědla byly financovány z grantu MPO FT-TA/027.

LITERATURA

1. Šarek J. et al.: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
2. Mukherjee R. et al.: Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, *6*, 271 (2006).
3. M. Hajduch, J. Sarek: Triterpenoid derivatives. PCT Int. Patent Appl. WO0190046, 23 May 2001.

ŠTĚPENÍ DVOJNÝCH VAZEB TRITERPENOIDŮ A JEHO ANOMÁLIE

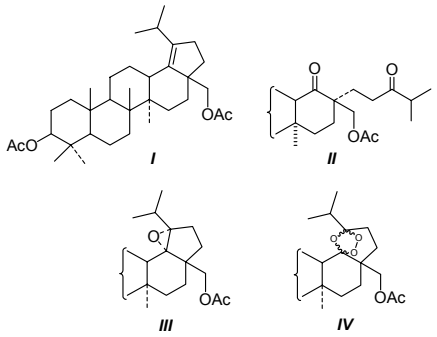
J. ŠAREK[a], O. ŠTĚPÁNEK[a], M. KVASNICA[a], K. VRANKOVÁ[a], D. BIEDERMANN[a], L. MARKOVÁ[a], M. VLK[a], P. SPÁČILOVÁ[a], T. KUBELKA[a], X. SVOBODOVÁ[b] a M. SVOBODA[b]

[a] Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha; [b] I.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00 Praha 5
jan.sarek@gmail.com

Štěpení dvojných vazeb v přírodních látkách jako jsou terpenoidy nebo steroidy bývalo v minulosti doménou použití ozonu[1]. Ozonolýza objevená roku 1840 Christianem Friedrichem Schönbeinem sloužila hlavně jako prostředek k určování chemické struktury komplikovaných přírodních látek[1]. V současné době je štěpení dvojných vazeb v organických substrátech prováděno se syntetickými záměry a je možné pro něj využít i další alternativní činidla, např. oxid rutheničelý[2].

Naše práce se zaměřila na srovnání výsledků štěpení dvojných vazeb v nenasycených lupanových derivátech (např. ***I***) ozonolýzou s redukčním zpracováním dimethylsulfidem a *in situ* generovaným oxidem rutheničelým a testování cytotoxické aktivity získaných produktů. Bylo zjištěno, že výše oxidované nenasycené deriváty jsou často vůči působení ozonu zcela inertní[3], kdežto působením oxidu rutheničelého dochází k jejich „korektnímu“ štěpení[2]. V některých případech byly ozonolýzou získány nečekané produkty, např. z olefinu ***I*** byl ozonolýzou místo očekávaného diketonu ***II*** získán epoxid ***III*** a stabilní ozonid ***IV***.

Připravené sloučeniny jsou nyní předmětem testů na *in vitro* cytotoxickou aktivitu vůči nádorové linii CEM. Struktury všech připravených sloučenin byly jednoznačně potvrzeny spektrálními metodami.



Chemikálie a rozpouštědla byla financována z grantu MPO FT-TA/027.

LITERATURA

1. Ruzicka L. et al.: Helv. Chim. Acta, *28*, 1628 (1945).
2. Šarek J. et al.: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
3. Štěpánek O.: Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2006.

PŘÍPRAVA GLYKALŮ A JEJICH VYUŽITÍ PŘI SYNTÉZE 2-DEOXYGLYKOSIDŮ LUPANOVÝCH TRITERPENOIDŮ

P. SPÁČILOVÁ[a], J. ŠAREK[a], I. TIŠLEROVÁ[a], X. SVOBODOVÁ[b] a M. HAJDÚCH[c]

[a] Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2; [b] I.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00, Praha 5; [c] Laboratoř experimentální medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc pavla.spacilova@gmail.com

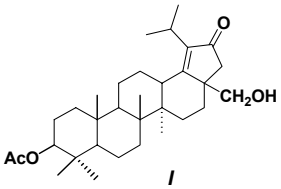
Betulininy, triterpenoidní sloučeniny připravené na našem pracovišti, prokázaly již v minulosti řadu zajímavých biologických účinků[1], především cytotoxických ($IC_{50} < 10$ μmol l^{-1}). V souvislosti s tímto výzkumem byly zjištěny ne zcela ideální farmakologické vlastnosti těchto derivátů. Především se jedná o rozpustnost v médiích založených na vodné bázi a s ní související orální dostupnost. Proto jsou v současnosti hledány takové modifikace účinných derivátů, které by vedly k výrazně lepším farmakologickým vlastnostem těchto derivátů.

Glykosidy jsou typickým příkladem přírodní prodrug. Navíc je z literatury[2] známo, že podávání 2-deoxyglukosy spolu s konvenčními cytostatiky (paclitaxel, adriamycin) vede k potenciaci cytotoxických účinků.

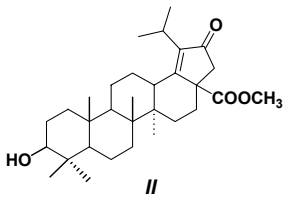
V rámci této práce byly připraveny acetylované 2-deoxyglukosidy a 2-deoxygalaktosidy adicí příslušných acetylovaných glykalů na triterpenoidní hydroxyderiváty – hydroxyketon ***I*** a methyl-ester ***II***. Z těchto 2-deoxyglykosidů byly Zemplénovou deacetylací připraveny volné 2-deoxyglykosidy.[3]

Připravené sloučeniny jsou nyní předmětem testů na *in vitro* cytotoxickou aktivitu vůči nádorové linii CEM. Struktury všech nově připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.

Chemikálie a rozpouštědla byla financována z grantu MPO FT-TA/027.



I



II

LITERATURA
1. Šarek J. et al: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
2. Maschek G. et al: Cancer Res. *64*, 31 (2004).
3. Spáčilová P.: *Bakalářská pr*áce. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2006.

PŘÍPRAVA SELEKTIVNĚ ZNAČENÝCH BETULININŮ

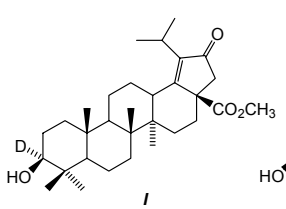
M. VLK[a], J. ŠAREK[a], L. MARKOVÁ[a], I. TIŠLEROVÁ[a], M. HAJDÚCH[b] a M. SVOBODA[c]

[a] Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta,Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; [b] Laboratoř experimentální medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc; [c] I.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00 Praha 5 vlkmartin@volny.cz

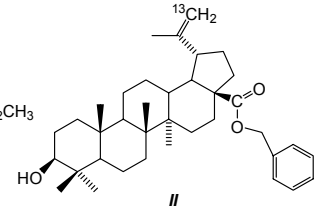
Betulininy[1] jsou v naší skupině studovány pro svou významnou protinádorovou aktivitu. Pro provedení metabolických studií a též pro mapování inkorporace betulininů do biomolekul v tkáňových kulturách a jejich následnou detekci bylo nezbytné připravit od nejúčinnějších z nich selektivně značené deriváty[2]. Pro účely metabolických studií bylo značení prováděno pomocí izotopů ^{2}H, ^{13}C a ^{15}N, pro studium inkorporace byly použity izotopy ^{3}H a ^{14}C.

V rámci této práce byly připraveny tritiem, deuteriem nebo ^{13}C značené deriváty, např. ***I***, ***II***. Rovněž byly přisunuty některé klíčové meziprodukty pro další syntézy značených sloučenin.

Připravené sloučeniny již byly dodány na pracoviště LEM v Olomouci k dalšímu zkoumání. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



I



II

Činidla a rozpouštědla byla financována z grantu MPO FT-TA/027. Děkujeme doc. L. Lešetickému za poskytnutí některých značených činidel pro syntézy.

LITERATURA
1. Šarek J. et al.: J. Med. Chem. *46*, 5402 (2003).
2. Tietze L. F. et al.: Liebigs Ann. Chem. *1991*, 1245.

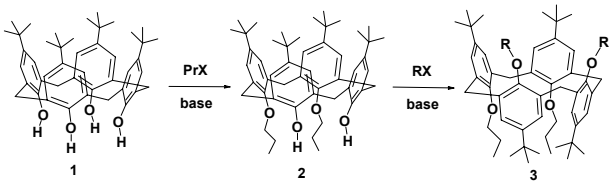
SYNTHESIS AND APPLICATION OF THE *1,2-ALTERNATE* CALIX[4]ARENE DERIVATIVES

ALEXANDRA BÍLÁ, JAN BUDKA, MICHAELA POJAROVÁ, IVAN STIBOR, and PAVEL LHOTÁK

Institute of Organic Chemistry, ICT Prague, Technická 5, Prague 6
Alexandra.Bila@vscht.cz

Calix[n]arenes represent a large family of compounds, used in supramolecular, medicinal and material chemistry[1]. The unique structure of calixarenes enables to build receptors for anions, cations and neutral molecules on calixarene scaf-

fold. The smallest one, calix[4]arene, can be stabilised in four different conformers. Three of them, *cone*, *partial cone* and *1,3-alternate*, can be prepared in one step reaction in relatively good yields. This work is focused on the last one, least-available *1,2-alternate* conformer.



Our synthesis of the *1,2-alternate* conformer ***3*** starts from *proximally* dialkylated calix[4]arene ***2***, whose preparation from basic calix[4]arene ***1*** was described in literature[2]. The transformation of the derivative ***2*** to ***3*** (R = propyl, hexyl, benzyl, X = Br, I) was carried out under various reaction conditions (different bases, molar ratio of reactants, temperature, reaction time etc…). After optimalization, the yield achieved 80 % of the *1,2-alternate* calix [4]arene. The *1,2-alternate* derivatives prepared by our method will be used for construction of unique-shaped receptors for various guests.

This research was partially supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Centre LC06070)

REFERENCES

1. Gutsche C. D., *Calixarenes; Monograph in Supramolecular Chemistry*, (1989), and Gutsche C. D., *Calixarenes Revisited*, (1998), J. F. Stoddart, Ed.; The Royal Chemical Society of Chemistry, Cambridge, England.
2. Boyko V. I.: J. Incl. Phen. Macro. Chem. *50*, 193 (2004).

SYNTÉZA KONFORMAČNĚ NESTÁLÝCH CALIX[4]ARENŮ A JEJICH INTERAKCE SE STŘÍBRNÝM KATIONTEM

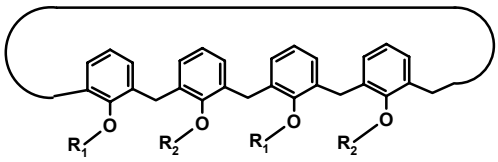
JAN BUDKA[a], JAN SÝKORA[b,c], MICHAELA POJAROVÁ[b], IVANA CÍSAŘOVÁ[d], PAVEL LHOTÁK[a] a IVAN STIBOR[a]

[a] Ústav organické chemie, [b] Ústav chemie pevných látek, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6; [c] Ústav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, Praha 6; [d] Katedra anorganické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 8, Praha 2
Jan.Budka@vscht.cz

V návaznosti na předchozí studie byla zkoumána kation-π interakce mezi s konformačně „mobilními" and „*semi*-mobilními" calix[4]areny a stříbrným kationtem.

Publikované práce[1] a naše předchozí výsledky[2–3] ukázaly, že vhodnými konformacemi calix]4]arenu pro interakci se stříbrným kationtem jsou *pinched cone*, *partial cone* a *1,3-alternate*.

Předkládaný příspěvek popisuje syntézu serie calix[4] arenů substituovaných na spodním okraji alkoxy skupinami v intervalu 4 x MeO- až 4 x PrO. Tyto deriváty obsahují „mobilní" methoxy skupiny, „*semi*-mobilní" ethoxy skupiny



Schema 1
1: R_1=R_2=Me; mobilní
2: R_1=Me, R_2=Et; mobilní
3: R_1=Me, R_2=Pr; mobilní
4: R_1=R_2=Et; *cone, partial cone, 1,3-alternate*
5: R_1=Et, R_2=Pr; *cone, partial cone, 1,3-alternate*

(konformace je stabilní do teploty cca 100 °C), konformačně zcela imobilizované propoxy skupiny a jejich kombinace (Schéma 1). Připravené deriváty byly použity ke komplexačním studiím v roztoku (^{1}H NMR titrace AgTf v $CDCl_3$: CD_3OD 4:1) a krystaly komplexů byly podrobeny rentgenostrukturní analýze. V závislosti na délce alkylového řetězce a konformaci byly zjištěny rozdíly v roztoku a v pevné fázi (různé vazebné mody, rozdílné typy komplexů – od diskrétních komplexů přes dimery až po polymerní řetězce), které budou v přednášce diskutovány.

Tato práce je z části podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (výzkumné centrum LC06070).

LITERATURA

1. Ikeda A., Tsuzuki H., Shinkai S.: J. Chem. Soc., Perkin Trans 2, 2073 (1994).
2. Budka J., Lhoták P., Stibor I., Michlová V., Sýkora J., Císařová I.: Tetrahedron Lett. *43*, 2857 (2002).
3. Budka J., Lhoták P., Stibor I., Sýkora J., Císařová I.: Supramol. Chem. *15*, 353 (2003).

KRYSTALOGRAFICKÁ STUDIE INTERAKCÍ (THIA)CALIX[4]ARENŮ SE STŘÍBRNÝM KATIONTEM

MICHAL HIML[a], JAN BUDKA[a], JAN SÝKORA[b,c], MICHAELA POJAROVÁ[c], IVANA CÍSAŘOVÁ[d], IVAN STIBOR[a] a PAVEL LHOTÁK[a]

[a]Ústav organické chemie, [b]Ústav chemie pevných látek, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6; [c]Ústav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, Praha 6; [d]Katedra anorganické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 8, Praha 2
Michal.Himl@vscht.cz

Práce se zabývá srovnáním krystalických struktur klasických calixarenů a thiacalixarenů při interakcích se stříbrným kationtem.

Ve srovnání s klasickými calix[4]areny, kdy stříbrný kation interaguje s calixarenem uvnitř kavity, přítomnost síry umožňuje interakci S-Ag-S mezi jednotlivými molekulami thiacalix[4]arenu. Tyto interakce tvoří zajímavou a v calixarenové chemii dosud nepopsanou koordinační topologii.

Způsobem interakce stříbrného iontu se dá interpretovat také rozdílnost rozložení elektronových hustot na (thia)

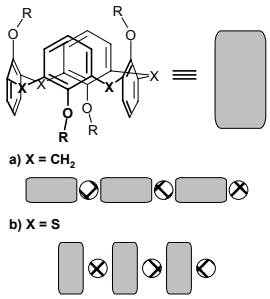


Schéma 1. **Srovnání interakcí thiacalix[4]arenu a calix[4]arenu**

calixarenových skeletech. Zatímco klasické calixareny preferují kation-π interakce s aromatickým systémem kde je stříbrný kation umístěn uvnitř kavity calixarenu a interaguje se dvěma protějšími aromatickými jádry, u thiacalixarenů jsou tyto interakce zanedbány a jsou preferovány interakce s elektronově bohatou sírou, kdy spolu se stříbrným kationtem interagují sirné můstky dvou sousedních thiacalixarenů.

Tato práce je z části podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (výzkumné centrum LC06070).

LITERATURA

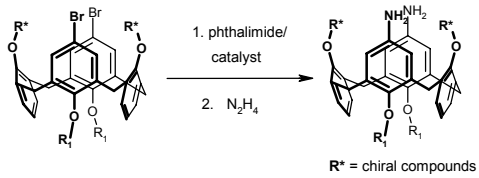
1. Ikeda A., Tsuzuki H., Shinkai S.: J. Chem. Soc., Perkin Trans 2, 2073 (1994).
2. Budka J., Lhoták P., Stibor I., Michlová V., Sýkora J., Císařová I.: Tetrahedron Lett. *43*, 2857 (2002).
3. Budka J., Lhoták P., Stibor I., Sýkora J., Císařová I.: Supramol. Chem. *15*, 353 (2003).
4. Himl M., Sýkora J., Císařová I., Stibor I., Lhoták P.: Org. Biomol. Chem., in press.

NEW SYNTHESIS OF DIAMINOCALIX[4]ARENES IN THE *1,3-ALTERNATE* CONFORMATION

VERONIKA RAINDLOVÁ, MARKÉTA ŠIMÁNOVÁ, MIROSLAV DUDIČ, JAN BUDKA, MARTIN KÁŠ, IVAN STIBOR, and PAVEL LHOTÁK

Department of Organic Chemistry, ICT Prague, Technická 5, Prague 6
Veronika.Raindlova@vscht.cz

Calixarenes are well known, cavity containing, macrocycles, which have found wide utilisation in supramolecular chemistry. They are used as a molecular scaffold for building



more complex receptor recognising cations, anions and neutral compounds. Since the complexations of chiral species are very important phenomenon in nature, we decided to explore ability of some calixarenes to recognise chiral anions.

On the basis of our previous research, which showed the bis-ureido calixarenes in the *1,3-alternate* conformation interact with anions very strongly, we focused on the preparation several receptors of this type.

The synthesis of starting compound, di-aminocalix[4] arene blocked in the *1,3-alternate* conformation, is not easy. The synthetic path involves a few difficulties in purification and the final product was always achieved in very low yield (less than 20%).

The new synthesis starts from relatively easily obtainable di-bromocalix[4]arene in the *1,3-alternate* conformation, which is transformed to di-aminocompound via reaction with phthalimide in the presence of suitable catalyst (Cu, CuI, Cu_2O) and subsequent deprotection by hydrazine[1].

In this work we would like to present the study on new general synthetic procedure of di-aminocalix[4]arene in the *1,3-alternate* conformation, which would increase its availability and help us in our further research.

This research was partially supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Centre LC06070)

REFERENCE

1. Timmerman P.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 2077 (2000).

Sborník abstraktů

Konference
Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii

41. Konference *4. − 6. prosince 2006*