

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE



**Metaloproteināžu HDAC un ADAM potenciālo inhibitoru iegūšana  
un ar to saistīta sintēzes metožu izveide**

PROMOCIJAS DARBS

Autors: Anna Ņikitjuka

Darba vadītājs: *Dr. Chem.*, prof. A. Jirgensons

RĪGA 2019

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Organiskās sintēzes institūtā laika posmā no 2007. gada līdz 2019. gadam.

Darbs sastāv no ievada, 3 nodaļām, secinājumiem, literatūras saraksta, 5 pielikumiem.

Darba forma: disertācija ķīmijas nozarē, organiskās ķīmijas apakšnozarē.

Darba zinātniskais vadītājs: *Dr. chem.*, prof. Aigars Jirgensons

Darba recenzenti:

- 1) prof., *Dr. chem.* Ē. Bizdēna (RTU)
- 2) *Dr. chem.* V. Liepiņš (SIA "Bapeks")
- 3) prof., *Dr. chem.* E. Sūna (LU Ķīmijas nozares promocijas padomes recenzents).

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2019. gada 18. jūnijā plkst. 16:00, Latvijas Universitātes, Ķīmijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē, Jelgavas ielā 1.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU Ķīmijas zinātņu nozares promocijas padomes priekšsēdētājs \_\_\_\_\_ /*Edgars Sūna*/  
(paraksts)

Promocijas padomes sekretāre \_\_\_\_\_ /*Vita Rudoviča*/  
(paraksts)

© Latvijas Universitāte, 2019

© Anna Nīkitjuka, 2019

## ANOTĀCIJA

**Metaloproteināžu HDAC un ADAM potenciālo inhibitoru iegūšana un ar to saistīta sintēzes metožu izveide.** Ņikitjuka A., zinātniskais vadītājs *Dr. Chem.*, prof. A. Jirgensons. Promocijas darbs 155 lappuses, 76 attēli, 31 tabula, 113 literatūras avoti, 5 pielikumi. Latviešu valodā.

Darbā ir apkopota literatūra par dizintegrīna un metaloproteināzēm (ADAM), histona deacetilāzes (HDAC) lomu organismā un pašlaik zināmiem tās inhibitoriem. Sintezēti vairāki aziridīnoksīmu funkciju saturoši Vorinostata struktūranalogi. Iegūti dažādi benzosultāma cikla hidroksāmskābju atvasinājumi. Veikta iegūto savienojumu bioloģiskās aktivitātes datu analīze. Promocijas darba pētījuma rezultātā ir izstrādātas jaunas skābes jutīgas aizsarggrupas, kuru efektivitāte pierādīta hidroksāmskābju un sulfonamīdu sintēzē.

ADAM METALOPROTEINĀZE, HISTONA DEACETILĀZE, AZIRIDĪN-1-ILOKSĪMI, SULFONAMĪDI, HIDROKSILAMĪNS, PRENIL- UN 2-METILPRENIL- AIZSARGGRUPAS.

## ANNOTATION

**Synthesis of the potential metalloproteinases HDAC and ADAM inhibitors and the development of related synthetic methods.** Nikitjuka A., supervisor Dr. Chem., prof. A. Jirgensons. PhD thesis. 155 pages, 76 figures, 31 table, 113 literature references, 5 appendices. In Latvian.

PhD thesis summarizes the literature about disintegrin and metalloproteinase (ADAM) and histone deacetylase (HDAC), their role in organism and known-to-date inhibitors. Aziridinoxime moiety containing Vorinostat structural analogues were synthesized. Various benzosultam cycle hydroxamic acid derivatives were obtained. The biological activity data of obtained products was analyzed. The acid-labile protecting groups efficient in the synthesis of hydroxamic acids and sulfonamides were developed in the frame of PhD project.

ADAM METALLOPROTEINASE, HISTONE DEACETYLASE, AZIRIDIN-1-YLOXIMES, SULFONAMIDES, HYDROXYLAMINE, PRENYL- AND 2-METHYLPRENYL- PROTECTING GROUPS.



## SATURA RĀDĪTĀJS

Apzīmējumu saraksts.....	6
Ievads.....	8
1. Literatūras apskats .....	12
1.1 ADAM grupas metaloproteināzes .....	12
1.2 Histona deacetilāze .....	19
1.3 (Aziridīn-1-il)karbaldehīdoksīmu sintēze un ķīmiskās īpašības.....	23
2. Rezultātu izvērtējums .....	38
2.1 Aziridīnoksīmu saturošu inhibitoru sintēze .....	38
2.2 ADAM10 un ADAM17 inhibitoru sintēze .....	45
2.3 Hidroksāmskābju sintēze, izmantojot skābes jutīgo O-2-metilprenilaizsarggrupu .....	54
2.4 2-Metilprenil- un prenilgrupas izmantošana sulfonamīdu aizsardzībai un to stabilitātes pētījumi.....	63
3. Eksperimentālā daļa.....	72
Secinājumi .....	97
Literatūras saraksts .....	99
Pateicība .....	106
Pielikumi.....	108
1.pielikums <i>Synthesis of Novel [1-Aziridinyl-(hydroxyimino)methyl]arenes and Their Cytotoxic activity</i> .....	109
2.pielikums <i>Synthesis and Biological Evaluation of Aziridin-1-yl Oxime-based Vorinostat Analogs as Anticancer Agents</i> .....	118
3.pielikums <i>Synthesis of Hydroxamic Acid by Using the Acid Labile O-2-Methylprenyl Protecting Group</i> .....	130
4.pielikums <i>Methylprenyl and Prenyl Protection for Sulfonamides</i> .....	134
5.pielikums <i>Synthesis, Chemical and Biological Properties of Aziridine-1-Carbaldehyde Oximes</i> .....	139

## APZĪMĒJUMU SARAKSTS

**Ac** – acetil-  
**acac** – acetilacetons  
**ADAM10,17** – dizintegrīna un metaloproteināze  
**AEŠH** – augstas efektivitātes šķidrums hromatogrāfija  
**Ala** – alanīns  
**Asn** – asparagīns  
**Bn** – benzil-  
**Boc** – *tert*-butiloksikarbonil-  
**BPO** – benzoilperoksīds  
**nBu** – *n*-butil-  
**tBu** – *tert*-butil-  
**b/ū** – bezūdens  
**Bz** – benzoil-  
**CAN** – cērija (IV) amonija nitrāts  
**Cbz** – beziloksikarbonil-  
**CDI** – karbonildiimidazols  
**Cys** – cisteīns  
 $\Delta$  – vārīšanās temperatūra  
**DCM** – dihlormetāns  
**DDQ** – 2,3-dihlor-5,6-diciano-1,4-benzohinons  
**DIBAL-H** – diizobutilalumīnija hidrīds  
**DIPEA** – diizopropiletīlamīns  
**DMB** – 2,4-dimetoksibenzil-  
**DMEDA** – 1,2-dimetiletīlēndiamīns  
**DMBA** – dimetilbenzilamīds  
**DMF** – *N,N*-dimetilformamīds  
**DMSO** – dimetilsulfoksīds  
**DNS** – dezoksiribonukleīnskābe  
**dppp** – 1,3-*bis*(difenilfosfīn)propāns  
**DPPA** – difenilfosforilazīds  
**EDCI** – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimīds  
**EGF** – epidērmiskais augšanas faktors  
**Et** – etil-  
**HATU** – *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-triazol-[4,5-*b*]piridīn-1-ilmetilēn]-*N*-metilmetānamīna heksafluorfosfāta *N*-oksīds  
**HAT** – histona acetiltransferāze  
**HDAC** – histona deacetilāze  
**HOBt** – *N*-hidroksibenzotriazols  
**IBCF** – izobutilhlorformiāts  
**Ile** – izoleicīns  
**ist.t.** – istabas temperatūra  
**KMR** – kodolmagnētiskās rezonanses spektroskopija  
**konc.** – koncentrēts  
**LAH** – litija alumīnija hidrīds  
**Leu** – leicīns  
**Lys** – lizīns

**Me** – metil-  
**MePre** – 2-metilprenil-  
**MMP** – matricas metaloproteināze  
**mol%** – mola procenti  
**Ms** – metānsulfonil-  
**NBS** – *N*-bromsukcīnimīds  
**NCS** – *N*-hlorsukcīnimīds  
**NIS** – *N*-jodsukcīnimīds  
**NOESY** – kodola *Overhauser* efekta spektroskopija  
**NOE** - kodola *Overhauser* efekts  
**pies.ūd. šķ.** – piesātināts ūdens šķīdums  
**PCC** – piridīnija hlorhromāts  
**PE** – petrolēteris  
**Ph** – fenil-  
**Pr** – propil-  
**Pre** – prenil-  
**PSH** – planslāņu hromatogrāfija  
**Py** – piridīns  
**RNS** – ribonukleīnskābe  
**SAHA** – suberoilaniīda hidroksāmskābe  
***p*-TSA** – *p*-toluolsulfonskābe  
**TEA** – trietilamīns  
**TES** – trietilsilāns  
**TFA** – trifluoretiķskābe  
**Tf** – trifluormetānsulfonil-  
**THF** – tetrahidrofurāns  
**THP** – tetrahidropirān-2-il-  
**TMB** – 2,4,6-trimetoksibenzil-  
**TMS** – trimetilsilil-  
**Ts** – *p*-toluolsulfonil-  
**Tyr** – tirozīns  
**UEŠH** – ultra-augstas efektivitātes šķidrums hromatogrāfija  
**UV** – ultravioletais starojums  
**Val** – valīns  
**vol%** – tilpuma procenti

## IEVADS

Ļaundabīgie audzēji ir sabiedrības veselības problēma visā pasaulē un arī Latvijā. Kā liecina statistika, pēdējos desmit gados saslimstība ar onkoloģiskajām slimībām Latvijā palielinājusies vairāk nekā par 20%.<sup>1</sup> Vēža ārstēšana ir sarežģīta un tai nepieciešama multidisciplināra pieeja. Neraugoties uz progresu ķirurģijā un radioterapijā, sistemātiskās ķīmijterapijas koncepcija paliek arvien aktuālāka. Lielākajai daļai pašlaik izmantoto farmakoloģisko preparātu vēža ārstēšanai piemīt zema selektivitāte, kas nozīmē letālu iedarbību gan uz ļaundabīgiem, gan uz normāliem audiem. Cīņā ar onkoloģiskām slimībām galvenais mērķis ir izstrādāt bioloģiski aktīvus savienojumus, kas ļautu efektīvi un selektīvi cīnīties ar ļaundabīgiem audzējiem, neietekmējot veselās šūnas. Pateicoties pēdējo gadu pētījumiem ir noskaidroti vairāki kancerogēnēzes procesi, kas palīdz identificēt jaunus molekulārus mērķus un attīstīt mērķtiecīgu ķīmijterapiju, kuras pamatuzdevums ir iedarboties uz specifiskiem molekulāriem mērķiem (pārsvarā proteīniem) iesaistītiem audzēju augšanā vai progresijā.<sup>2</sup>

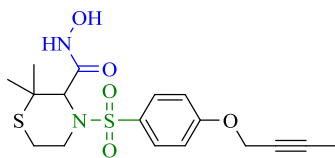
Pašlaik medicīnas ķīmijā liela uzmanība tiek pievērsta metaloproteīniem un to aktivitātes modulatoriem (inhibitoriem). Daudzi no tiem tiek izvirzīti kā jauni terapeitiskie mērķi cīņā par cilvēka veselību. Lielākā daļa no metaloproteīniem ir cinka saturošie enzīmi (pašlaik ir pazīstami vairāk kā 300 pārstāvji).<sup>3</sup> Konstatēts, ka cinka saturošie enzīmi ir iesaistīti vairākos patofizioloģiskajos un patoģenētiskajos procesos.

Promocijas darba ietvaros aplūkotas divas dažādas enzīmu grupas – transmembrānu ADAM10 un ADAM17, kā arī histona deacetilāze (HDAC). Minētajiem enzīmiem aktīvajā enzīmu domēnā atrodas cinka atoms. ADAM grupas enzīmi piedalās šūnas virsmas proteīnu nošķelšanas procesos, tiem ir svarīga loma šūnas adhēzijas regulēšanā, migrēšanā un signālu pārraidē.<sup>4</sup> HDAC kopā ar histona acetiltransferāzēm (HAT) regulē histonu acetilēšanas-deacetilēšanas procesu šūnā. Minēto procesu nepareiza regulēšana ir galvenais onkoloģisko šūnu veidošanās un proliferēšanas cēlonis.

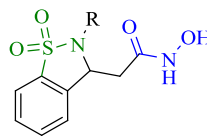
Kā **promocijas darba mērķi** mēs izvēlējamies izpētīt aziridīnilamīdoksīmu funkciju kā hidroksāmskābes funkcijas bioizostēru HDAC inhibitoros un izveidot jaunus potenciālus cinka saturošu enzīmu ADAM10/17 inhibitorus. Lai īstenotu izvirzīto mērķi, bija nepieciešams atrast citotoksisku savienojumu klases, kas būtu spējīgas saistīties ar cinka saturošo apgabalu.<sup>5</sup>

Balstoties uz literatūras datiem, secinājām, ka sulfonamīdu hidroksāmskābju atvasinājumiem piemīt augsta inhibitoru aktivitāte uz ADAM17,<sup>6,7</sup> turklāt savienojums **TMI-1**

(1) tiek virzīts klīnisko pētījumu II fāzē. Par iespējamo ADAM10/17 inhibitoru savienojumu klasi izvirzījām benzosultāma cikla hidroksāmskābju atvasinājumus ar vispārīgo struktūru **2**.

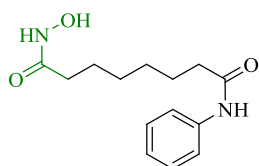


**TMI-1 (1)**

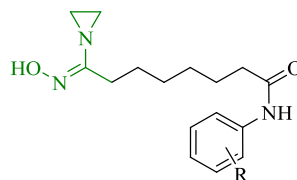


**2** (R = alkinil, heteroaril)

Šī darba ietvaros mēs veicām ne tikai hidroksāmskābes grupu saturošo savienojumu sintēzi, bet arī kā potenciālus HDAC inhibitorus izvirzījām Vorinostata (**3**) analogus (**4**), kuros hidroksāmskābes funkcija ir aizvietota ar amīdoksīma funkciju. Aziridīnu saturošu amīdoksīmu atvasinājumu pretvēža aktivitāte tika pierādīta arī citos Latvijas Organiskās sintēzes institūta veiktajos pētījumos.<sup>8</sup>



**Vorinostats (3)**



**4**

Lai sasniegtu izvirzīto mērķi, tika formulēti šādi **darba uzdevumi**:

- 1) analizēt literatūras datus par dizintegrīnu un metaloproteināzēm (ADAM10 un ADAM17), kā arī histona deacetilāzes (HDAC) inhibitoriem, to darbības mehānismu un klasifikāciju;
- 2) aplūkot amīdoksīmu iegūšanas reakcijas un izstrādāt metodes šādu grupu ievadīšanai mērķa savienojumos;
- 3) attīstīt benzosultāma ciklu saturošu hidroksāmskābju sintēzes metodes;
- 4) sintezēt un raksturot jaunu savienojumu grupu ar dažādiem propargilgrupas aizvietotājiem, kā arī ievadīt struktūrā **2** heterocikliskus aizvietotājus;
- 5) pierādīt mono- un diaizsargāta hidroksilamīna izmantošanas efektivitāti sintēzē, izmantojot būvbloku pieeju;
- 6) iegūt Vorinostata-tipa aziridīnoksīmu saturošus struktūranalogus
- 7) veikt sintezēto savienojumu struktūras aktivitātes likumsakarību izpēti.

Promocijas darba **zinātniskā novitāte**:

- attīstītas jaunas sintēzes metodes aziridīnoksīmu saturošu Vorinostata analogu iegūšanai, kā arī izpētītas šīs savienojumu klases atvasināšanas iespējas;
- realizēta jauna pieeja benzosultāmciklu saturošo hidroksāmskābju iegūšanai, izmantojot būvbloku stratēģiju;
- izstrādātas jaunas hidroksāmskābju un sulfonamīdu aizsarggrupas (prenil- un 2-metilprenil-), attīstītas to iegūšanas metodes, izpētīts sintētiskais pielietojums un aizsarggrupu stabilitāte.

Darba **praktiskā nozīme** ir formulējama sekojoši: rezultātā tiek iegūti un raksturoti jauni potenciāli cinku saturošu enzīmu inhibitori; ir izdarīti secinājumi par struktūras-aktivitātes kopsakarībām; pierādīta jaunas aizsarggrupas efektivitāte kā *O*-aizsarggrupa hidroksāmskābju sintēzē; paplašināts sulfonamīdu zināmais aizsarggrupu klāsts ar divām jaunām skābes jutīgām aizsarggrupām (prenil- un 2-metilprenil-).

Promocijas darba rezultāti ir apspriesti 9 starptautiskās zinātniskās konferencēs.

#### **Promocijas darba rezultātu aprobācija:**

##### ***Zinātniskās publikācijas***

1. Nikitjuka A.; Nekrasova A.; Jirgensons A. *Methylprenyl and Prenyl Protection for Sulfonamides*; Synlett **2015** (No.26.), 183-186.
2. Nikitjuka A.; Shestakova I.; Romanchikova N.; Jirgensons A. *Synthesis and biological evaluation of aziridin-1-yl oxime-based vorinostat analogs as anticancer agents*; Chem. Heterocycl. Comp. (Engl. Ed.) **2015**, vol.51, 647-657.
3. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *Synthesis, chemical and biological properties of aziridine-1-carbaldehyde oximes (Minireview)*; Chem. Heterocycl. Comp. (Engl. Ed.) **2014**, Vol.49, 1544-1559.
4. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *Synthesis of Hydroxamic Acids by Using the Acid Labile O-2-Methylprenyl Protecting Group*. Synlett. **2012**, (No. 20), 2972-2974.
5. Grigorjeva A.; Jirgensons A.; Domracheva I.; Yashchenko E.; Shestakova I.; Andrianov V.; Kalvinsh I. *Synthesis of novel [1-aziridinyl-(hydroxyimino)methyl]arenes and their cytotoxic activity*; Chem. Heterocycl. Comp. (Engl. Ed.) **2009**, Vol.45, 161-168

##### ***Konferenču tēzes***

1. Nikitjuka A.; Nekrasova A.; Jirgensons A. *Acid-labile Methylprenyl Protection for Sulfonamides*, Balticum Organicum Syntheticum, 6.-9. jūnijs, **2014**, Viļņa, Lietuva, stenda referāta balva

2. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *The Development of Original Anti-Cancer Agents*. 33th Edition of the European School of Medicinal Chemistry (ESMEC) – ESMEC stipendijas balva, 7.-12. jūlijs, **2013**, Urbīno, Itālija, stenda referāts
3. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *Synthesis and Biological Evaluation of Aziridin-1-yl Oximes as Potential Antitumor Agents*. XVth International Conference Heterocycles in Bio-organic Chemistry, 27.-30. maijs, **2013**, Rīga, Latvija, stenda referāts.
4. Nekrasova A.; Nikitjuka A. *The Study of the Possible Utility of 2-Methylprenyl Protective Group*, LU, Ķīmijas fakultāte, **2013**, Rīga, Latvija.
5. Nekrasova A.; Nikitjuka A. (darba vadītājs) *2-Methylprenyl Group as Acid Labile Alcohol Protection*, Materials of the 8th Paul Walden Symposium on Organic Chemistry, 13.-14. maijs, **2013**, Rīga, Latvija, stenda referāts.
6. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *The Use of 2-Methylprenyl Protective Group in Organic Synthesis*. Latvian University 71. Scientific Conference, Organic Chemistry Section, 22. februāris, **2013**, Rīga, Latvija, mutiskais referāts.
7. Nikitjuka A.; Jirgensons A.; Stebele K.; Sjakste N. *Synthesis and Structure-Activity Relations of Aziridin-1-yl Oximes as antitumor Agents*, XXII EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, 2.-6. septembris, **2012**, Berlīne, Vācija, stenda referāts.
8. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *The synthesis of ADAM10 and ADAM17 Inhibitors*, Materials of the 7th Paul Walden Symposium on Organic Chemistry, 13.-14 maijs, **2011**, Rīga, Latvija, stenda referāts.
9. Nikitjuka A.; Jirgensons A. *Synthesis of Suberic Acid Based Aziridin-1-yl Oximes and Their Analogues as Novel Antitumor Agents*, 1st RSC/SGC Symposium on Chemical Biology for Drug Discovery, 8.-9. decembris, **2009**, Oksforda, Lielbritānija, stenda referāts.

# LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1 ADAM grupas metaloproteināzes

Promocijas darba ietvaros daļu no pētījumiem veltījām cilvēka ADAM (**a disintegrin and metalloproteinase** - dizintegrīna un metaloproteināze) grupas enzīmu ADAM10 un ADAM17 inhibitoru izveidei. Vairāki pēdējo gadu pētījumi parāda, ka ADAM grupas enzīmi ir potenciāli bioloģiskie mērķi pretvēža terapijā, it īpaši krūts un plaušu vēža ārstniecībā.<sup>9</sup> Literatūras apskatā ir sniegts pārskats par ADAM uzbūvi, patofizioloģisko lomu audzēju attīstībā<sup>10</sup> un pašlaik zināmajiem inhibitoriem.

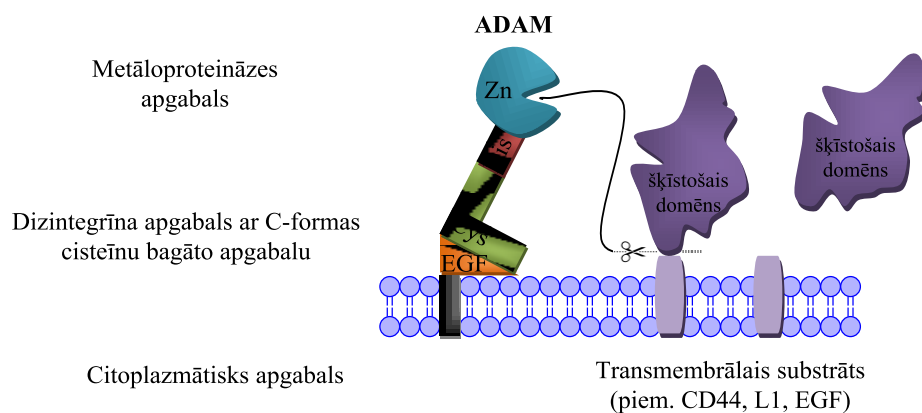
Apkopojot informāciju par ADAM grupas metaloproteināzēm jāatzīmē, ka visplašāk izpētītie ADAM metaloproteināzes pārstāvji ir ADAM10 un ADAM17.<sup>11</sup> *Ito et al* savā apskatrakstā uzsver, ka ADAM10 un ADAM17 metaloproteināžu pamatfunkcija ir bioloģiski aktīvu ligandu proteolītiska nošķelšana no šūnas virsmas, tādā veidā ietekmējot funkcionāli dažādas signalizācijas molekulas, ieskaitot augšanas faktorus, citokīnus, adhēzijas molekulas u.c.<sup>12</sup> Jau 1997. g. *Black et al* npublicēja datus par ADAM17 nepieciešamību embrionālajā attīstībā, kā arī vēlāk parādījās dati par ADAM10 iesaisti imūnsistēmā un kaulu veidošanās procesā.<sup>13</sup>

**ADAM metaloproteināzes raksturojums un struktūra.** ADAM ir transmembrāno proteīnu grupa, kas piedalās šūnas fenotipa regulēšanā ietekmējot šūnas adhēziju, migrāciju, proteolīzi un signālu pārraidi. Tās pieder pie daudzapgabalu cinka(II)-saturušo endopeptidāžu - *metzincin* apakšgrupas, kuru pieskaita pie M12 adamalizīna proteīnāzes apakšgrupas.<sup>14</sup> Cilvēka genomā ir konstatētas 25 ADAM proteīnāzes.<sup>15,16</sup> Literatūrā bieži vien tām tiek piešķirti divi vai vairāki nosaukumi, taču visplašāk pielieto "ADAM" nomenklatūru.

ADAM proteīni tiek sintezēti endoplazmātiskajā tīklā.<sup>17</sup> ADAM kā proteīni sastāv no aptuveni 750 aminoskābēm un tiem raksturīgi noteikti apgabali (domēni), kuri saglabājas visos pārstāvjos.<sup>4,18</sup> ADAM sastāv no ārpusšūnas apgabala, kurā ietilpst N-gala proapgabals un metaloproteināzes apgabals (Zn), dizintegrīna apgabals (Dis), cisteīniem bagāts apgabals (Cys), EGF apgabals un transmembrānais apgabals (TM). ADAM izraisītā transmembrāno proteīnu nošķelšana atbrīvo šķīstošo ārpus šūnas domēnu, kas iesaistās tālākā šūnu regulēšanā un signālu pārraidē (1.1. att.).



- N-gala proapgabals – cisteīna atlikums, kas atrodas šajā apgabalā, koordinējas ar cinka atomu, kā rezultātā metaloproteināzes apgabals tiek uzturēts neaktīvā konformācijā. Tas tiek nošķelts ar furīna tipa enzīmiem.
- Metaloproteināzes apgabals – aktīvais centrs satur cinka un ūdens atomus, kuri koordinējas ar trim histidīna atlikumiem un ir nepieciešami hidrolītiskai proteīnu šķelšanai. Aktīvajam centram ir raksturīga cinka helatējoša nemainīga aminoskābju secība – HE<sub>exx</sub>H<sub>xx</sub>G<sub>xx</sub>H (viena burta kodētais pieraksts, x - jebkuru aminoskābju atlikums) un metionīna atlikums, kas veido 1,4-β-metionīna pagriezienu (*met-turn*) spirāles aktīvajā centrā.
- Dizintegrīna apgabals – ir aptuveni 90 aminoskābju saturošs domēns. 90.gados, kad identificēja zīdītāju ADAM, tika izvirzīta hipotēze, ka dotais dizintegrīna apgabals saistās ar integrīnu. Pašlaik ir pierādīts, ka ārpusšūnas dizintegrīna apgabals mijiedarbojas ar integrīna apgabalu un stingri ietekmē šūnas adhēziju un šūnas-šūnas mijiedarbību.
- Cisteīniem bagāts un EGF-līdzīgs apgabals – šī apgabala loma nav līdz galam izprasta, bet vairāki autori uzskata, ka cisteīns kopā ar dizintegrīna apgabalu piedalās katalītiskās aktivēšanas regulēšanā un proapgabalu nošķelšanā.
- Citoplazmatiskais apgabals – šis apgabals mainās gan pēc aminoskābju skaita, gan aminoskābju secības. Citoplazmatiskais apgabals aktīvi piedalās proteīnāzes funkcijas regulēšanā, atbildot uz iekšmolekulāriem signāliem (signalizācija iekšpuse-ārpuse). Tas, savukārt, neizslēdz to lomu signalizācijā ārpusē-iekšpuse, kad ārpusšūnas apgabals saistās ar substrātu.



### 1.1 att. Piedāvātā ADAM apgabalu struktūra

Takeda un līdzautori 2006. gadā piedāvāja metaloproteināzes/dizintegrīna/cisteīniem bagātu apgabalu (MDC) arhitektūru, lai izskaidrotu molekulāro mehānismu ADAM substrātu atpazīšanas procesā.<sup>19</sup> Viņi secināja, ka MDC apgabali veido C-formas struktūru, kur cisteīniem

bagātais apgabals ir vērsts uz metaloproteināzes apgabala katalītisko pusi. Cisteīniem bagātais apgabals ietver hipermainīgo reģionu (HRV), kas būtiski atšķiras visiem ADAM proteināžu grupas pārstāvjiem. Autori uzsver, ka hipermainīgais reģions spēlē nozīmīgu lomu substrāta piesaistīšanas procesā.

**Enzīmi ADAM10, ADAM17 un vēzis – kopīgais un atšķirīgais.** Atšķirībā no citām ADAM proteināzēm, ADAM10 un ADAM17 nesatur EGF-līdzīgu apgabalu un šīs proteīnāzes nošķeļ ārpusšūnas apgabalu tieši pie šūnas membrānas (*juxtamembrane cleavage*), atbrīvojot šķīstošo ektodomēnu no šūnas virsmas.<sup>20</sup> Metaloproteināzes ADAM10 un ADAM17 (saukts arī kā TACE - audzēju nekrozes faktora  $\alpha$ -konvertējošais enzīms) uzrāda novērojamu ietekmi uz fizioloģiskiem un patofizioloģiskiem procesiem. No agrīnas attīstības līdz pilnīgai nobriešanai ADAM10 un ADAM17 ir sastopamas vairākos audos un tiek ekspresētas neironos, vaskulārajās šūnās, leukocītos un audzēju šūnās. Jāatzīmē, ka palielināta ADAM17 ekspresija ir novērojama vairākos vēža tipos: krūšu, smadzeņu, resnās zarnas, nieru, aknu, olnīcu, prostatas un aizkuņģa dziedzera audzējos. Pārmērīga ADAM10 ekspresija tiek konstatēta resnās zarnas, kuņģa, prostatas, olnīcu vēžos un leukēmijā. Ļoti iespējams, ka abas metaloproteināzes modulē audzēju progresiju, ietekmējot atšķirīgus šūnas ceļus.<sup>21</sup> Mērķtiecīga metaloproteināžu ADAM10 vai ADAM17 izslēgšana no peles genoma viennozīmīgi pierādīja abu proteīnāžu nepieciešamību normālajos fizioloģiskajos procesos.<sup>15,22</sup>

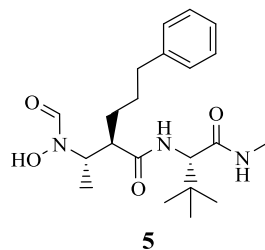
ADAM17 jeb TACE selektīvi pārvērš membrānsaistīto pro-TNF- $\alpha$  par TNF- $\alpha$  šķīstošo formu. TNF- $\alpha$  (jeb TNF) ir proteīns, kas ietekmē dažādus regulējošos procesus: šūnas izdzīvošanu, proliferēšanu un apoptozi. TNF spēj aktivizēt kodola faktoru kB (NF-kB) signalizācijas ceļu, kas ir galvenais šūnas izdzīvošanas signāls (pret-apoptozes signāls), kā arī TNF aktivizē c-Jun N-terminālās kināzes (JNK) signālceļu, kura aktivēšana veicina šūnas nāvi. Tādējādi, no vienas puses, TNF var izraisīt pretvēža īpašības, inducējot audzēju šūnas nāvi, bet, no otras puses, TNF stimulē proliferēšanu, migrēšanu un angiogēnēzi vairākām vēžu šūnām, kas ir rezistenti pret TNF apoptozes signāliem.<sup>23,24</sup> Bereta un līdzautori izvirzīja hipotēzi, ka vairākās šūnās, kurās ADAM10 un ADAM17 ir ekspresētas līdzīgā daudzumā, ADAM17 aktivitāte attiecībā pret TNF dominē salīdzinājumā ar ADAM10. Turklāt, šūnās ar samazinātu ADAM17 līmeni (specifiskās inhibēšanas dēļ), ADAM10 pārņem TNF konvertāzes lomu. ADAM17 nepietiekamības gadījumā ADAM10 ieslēdz proTNF šķelšanas spēju. Tas nozīmē, ka ADAM10 TNF konvertāzes spēju jāņem vērā, mēklējot specifiskus, terapeitiskus ADAM17 inhibitorus.<sup>25</sup>

ADAM17 spēj atbrīvot dažādus endogēnos ligandus, tajā skaitā: transformējošo augšanas faktoru (TGF)- $\alpha$ , amfiregulīnu, epiregulīnu un heparīnu saistošo epidermisko augšanas faktoru (HB-EGF) un TNF. ADAM17 inhibitori varētu būt ļoti noderīgi to audzēju formu ārstēšanai, kuras ir atkarīgas no EGFR/Her-2 signāliem, kā arī TNF inducētām disfunkcijām. Savukārt, ADAM10 metaloproteināze no membrānas virsmas atbrīvo ne tikai betacelulīnu (*betacellulin*) un EGF ārpusšūnas apgabalus, bet arī Her2/ErbB2. ADAM10 inhibitori varētu spēlēt nozīmīgu lomu audzēju šūnās, kurās ir novērojama EGFR/ErbB1 vai/un Her4/ErbB4 receptoru disregulācija.

*Le Gall* grupa, pētot membrānas proteīnu ADAM10 un ADAM17 nošķelšanas pamatmehānismu, konstatēja, ka TGF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  proteīnu atbrīvošana ir atkarīga tikai no ADAM17. Savukārt, ADAM10 var piedalīties arī ADAM17 substrātu nošķelšanā no šūnu virsmas. ADAM10 ir identificēts kā alternatīvs enzīms ADAM17 substrātu šķelšanai tādos gadījumos, kad ADAM17 tiek izslēgts vai inhibēts.<sup>26</sup>

**ADAM10, ADAM17 un duālie ADAM10/17 inhibitori.** Vēža ārstēšana ar ADAM inhibitoriem var izrādīties ļoti efektīva, jo tas var ietekmēt vēža šūnas proliferēšanu un invāziju. Jāatzīmē, ka ADAM grupas enzīmu strukturālā līdzība ar vairākām matricas metaloproteināzēm (MMP, *matrix metalloproteinase*) substrāta piesaistīšanās apgabalā rada grūtības specifisku ADAM inhibitoru izveidošanā. Zināmas vismaz četras potenciālas pieejas, kas ļauj bloķēt ADAM proteīnāzes aktivitāti: mazmolekulārie sintētiskie inhibitori, monoklonālās antivielas, attīrītas vai sintētiskas ADAM proapgabala formas un modificētas dabiskās inhibitoru formas (TIPS, *tissue inhibitors of metalloproteinase*).<sup>27</sup> Talāk apskatīsim tikai sintētiskus mazmolekulārus ADAM10, ADAM17, tajā skaitā duālus ADAM10/17 inhibitorus, kas ir nonākuši līdz klīniskiem pētījumiem vai/un tiek izmantoti kā mūsdienu pretvēža preparāti. Lielākā daļa no zināmajiem inhibitoriem ir hidroksāmskābi saturošie savienojumi, kas saistās ar ADAM metaloproteināzes apgabalā esošo cinka jonu.<sup>28</sup>

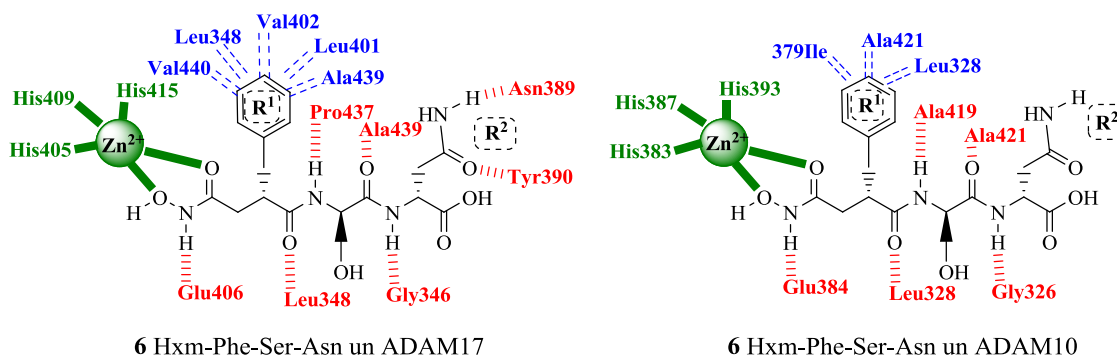
GI254023X (**5**) (1.2. att.) ir plaši izpētīts ADAM10 inhibitors ar 100 reizes augstāku selektivitāti pret ADAM10 *vis-à-vis* ADAM17. Inhibitors **5** bloķē IL-6 receptoru veidošanu, kā arī transmembrānā proteīna CX3CL1 un CX3CL16 nošķelšanu.<sup>29</sup>



### 1.2. att. G1254023X inhibitora (5) struktūra

Konstatēts, ka krūšu vēža šūnu līnijas gadījumā, inhibitora **5** iedarbības rezultātā notiek šūnu migrācijas, invāzijas un proliferēšanas samazināšanās. Turklāt karcinomas un melanomas šūnu līnijas gadījumā ADAM10 inhibēšana ar **5** strauji samazina šūnu augšanu un migrāciju. Pašlaik tas ir vienīgais selektīvais ADAM10 inhibitors, kura pretvēža aktivitāte bija testēta tikai *in vitro*.

Zhong grupa publicēja pētījumu, kurā, pēc plašas hidroksāmskābju bibliotēkas skrīninga, tika identificēts jauns peptīdiskais ADAM17 inhibitors Hxm-Phe-Ser-Asn (**6**) (1.3. att.) ar augstāku ADAM17 receptoraistību.<sup>30</sup>



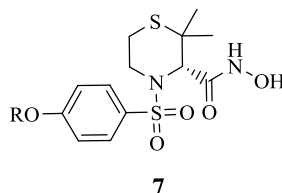
kompleksējošā mijiedarbība, ūdeņraža saites, hidrofobā mijiedarbība

### 1.3. att. ADAM17 un ADAM10 katalītiskā apgabala modelētā kompleksa struktūra ar selektīvo peptīdisko inhibitoru Hxm-Phe-Ser-Asn (6), un LigPlot programmas aprēķinātās nekovalentās mijiedarbības

Pēc iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka ADAM17 un ADAM10 inhibitoru-receptoru saistības apgabali ir ļoti līdzīgi, katram ir divas kompleksējošās mijiedarbības ar cinka jonu. R<sup>1</sup> ir telpisks, aromātisks aizvietotājs, kas ievietojas katalītiskajā kabatā, veidojot hidrofobas un *van der Waals* mijiedarbības ar Val440, Leu348, Val401, Leu401 un Ala439 metaloproteināzes ADAM17 gadījumā. ADAM10 katalītiskā kabata ir lielāka, un ligands **6** veido vājas, nepolāras saites ar Leu328, Ala421 un Ile379. Aspargīna atlikums (R<sup>2</sup>) veido stipras ūdeņraža saites ar ADAM17 Asn389 un Tyr390. Savukārt inhibitora **6** R<sup>2</sup> apgabals neiesaistās specifiskās

mijiedarbības ar ADAM10 katalītisko kabatu. Minētās inhibitora **6** receptora mijiedarbības atšķirības ļāva iegūt 7 reizes lielāku inhibitorās aktivitātes selektivitāti pret ADAM17.

2001. gadā *Levin* un līdzautori publicēja pirmos datus par metaloproteināzes inhibitoriem, kas saturēja sulfonamīdu fragmentu.<sup>7,31</sup> Vēlāk pētījumos tika pierādīta svarīga loma attālumam starp sulfonamīda slāpekli un cinka atomu helatējošo hidroksāmskābes grupu. Šī propargilgrupas fragmentu (R) saturošā hidroksāmskābju **7** (1.4. att.) sērija uzrādīja augstu aktivitāti arī uz ADAM17 (1.1. tabula).



1.4. att. Potenciāla inhibitora **7** struktūra

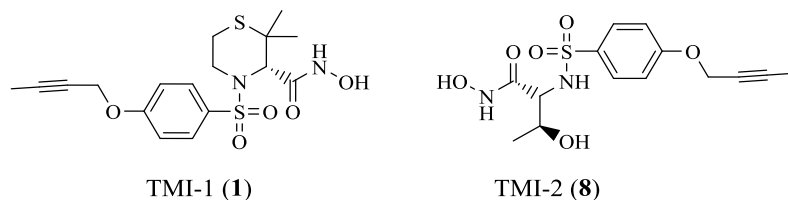
1.1.tabula

Sulfonamīdu saturošu hidroksāmskābju aizvietotāji un metaloproteināžu inhibitora **7a-h** aktivitāte

Savienojums	R	ADAM17 (IC <sub>50</sub> , nM)	MMP1 (IC <sub>50</sub> , nM)	MMP13 (IC <sub>50</sub> , nM)
<b>1</b> (TMI-1)	-CH <sub>2</sub> C≡CCH <sub>3</sub>	8	7	3
<b>7a</b> (TMI-5)	-CH <sub>2</sub> CCCH <sub>2</sub> OH	20	33	8
<b>7b</b>	CH <sub>2</sub> C≡CH	19	1	1
<b>7c</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> C≡CH	32	2	1
<b>7d</b>	-CH <sub>2</sub> CHCHCH <sub>3</sub>	35	7	2
<b>7e</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	42	7	9
<b>7f</b>	-CH <sub>2</sub> C≡C(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	62	35	14
<b>7g</b>	-CH <sub>2</sub> C≡C(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OH	40	159	86
<b>7h</b>	-CH <sub>2</sub> C≡C(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> OH	53	101	17

Ar šīs savienojumu klases inhibitoru TMI-1 (**1**) tiek veikti II fāzes klīniskie pētījumi un tas tiek uzskatīts par labāko duālo inhibitoru, kas iedarbojas uz ADAM17, MMP1/2/13 ar IC<sub>50</sub> vērtībām 8.4 nM, 6.6 nM, 4.7 nM un 3.0 nM attiecīgi. Apratastats (TMI-5, **7a**) līdzīgi kā TMI-1 (**1**) ir tiomorfolīna atvasinājums, kur propargilgrupa R modificēta tā, lai uzlabotu savienojumu šķīdību. Neskatoties uz augstu aktivitāti *in vitro* (IC<sub>50</sub> = 0.44 μM), TMI-5 (**7a**) savienojuma pētīšana tika pārtraukta II klīniskajā fāzē nepietiekošas *in vivo* efektivitātes dēļ.

2004. gadā Zhang grupa izveidoja TMI-1 **1** lineāro *NH*-sulfonamīdu hidroksāmskābes analogu TMI-2 **8** (1.5. att.), kas uzrādīja ļoti augstu ADAM17 inhibitoro aktivitāti un selektivitāti pret MMP-1,-7,-9,-14 (1.2. tabula).<sup>32</sup>



1.5. att. Potenciālo inhibitoru **1** un **8** struktūras

1.2. tabula

TMI-1 un TMI-2 enzimatiskā skrīninga rezultāti *in vitro*

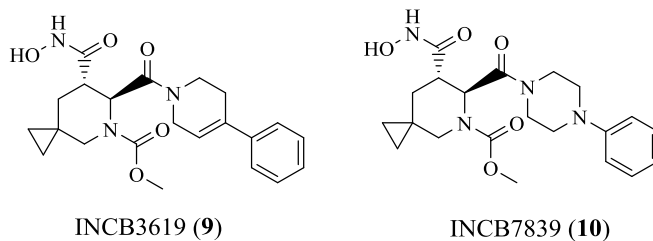
Inhibitors	ADAM17 (IC <sub>50</sub> , nM)	ADAM10 (IC <sub>50</sub> , nM)	MMP1 (IC <sub>50</sub> , nM)	MMP13 (IC <sub>50</sub> , nM)
TMI-2 ( <b>8</b> )	2	1090	2471	96
TMI-1 ( <b>1</b> )	3,5	-	7	3

Selektīvais ADAM17 inhibitors TMI-2 **8** (WAY-18022, PF-5480090) dzīvnieku modeļos neizraisa balsta un kustības sistēmas sindromu (*musculoskeletal syndrome*), kas ir raksturīga blakne MMP inhibitoriem. Pētījumi uz krūšu vēža līnijām uzrādīja, ka inhibitors **8** bloķē EGFR un TGF- $\alpha$  atbrīvošanu, kā arī samazinās šūnu invāziju un proliferēšanas līmeni atkarībā no šūnu tipa. TMI-2 **8** efektivitāte uzlabojās kombinācijā ar zināmiem HER2 inhibitoriem (neratinibs, afatinibs).

Viens no padziļināti pētītiem ADAM grupas inhibitoriem ir INCB3619 **9** (1.6. att.), kas ir otrās paaudzes orāli aktīva, mazmolekulāra, nepeptīdiska molekula ar spēju inhibēt HER proteīnus. Duālais ADAM10/17 inhibitors INCB3619 **9** samazina gan heregulīna (HER), gan amfiregulīna (AR), gan TGF- $\alpha$ , gan HB-EGF nošķelšanu. Salīdzinājumā ar citiem pētītiem metaloproteināzes inhibitoriem, **9** ir selektīvs uz ADAM10 un ADAM17, bet tas uzrāda arī zināmu aktivitāti uz vairākām MMP ģimenes metaloproteināzēm, piemēram, MMP2 un MMP12 (1.3. tabula).<sup>33</sup>

INCB3619 **9** analogs INCB7839 **10** (1.6. att.) ir vienīgais ADAM10/17 duālais inhibitors, kura efektivitāte ir klīniski pārbaudīta uz HER2-pozitīvu krūšu vēža tipu. Pētījumos tika konstatēts, ka INCB3619 (**9**) administrēšanas laikā samazinās EGFR/HER ligandu (piemēram, HER2) nošķelšana no šūnas virsmas. Rezultātā samazinās šķīstoša HER2 veidošanās devas

atkarīgā veidā, nenovēro balsta un kustības sistēmas traucējumus un ādas izsitumus, kas ir raksturīgs anti-EGFR terapijas blakusefekts.



1.6. att. Potenciālo inhibitoru 9 un 10 struktūras

1.3. tabula

Inhibitoru 9 un 10 aktivitāte uz ADAM metaloproteināzēm

Receptors	ADAM10	ADAM17	ADAM9	ADAM33	MMP1	MMP2	MMP12
INCB3619 (IC <sub>50</sub> , nM)	22	14	>5000	1026	>5000	35	17
INCB7839 (IC <sub>50</sub> , nM)	19	43	>5000	-	>5000	131	1724

ADAM10 un ADAM17 metaloproteināzes pamatfunkcija organismā ir to receptoru nošķelšana no šūnu virsmas, kuri ir iesaistīti vairākos šūnu cikla bioloģiski nozīmīgos procesos. Palielināta ADAM ekspresija ir novērota vairākos vēža tipos, kā arī citu saslimšanu gadījumos (astma, reimatoidālais artrīts). Pēdējos gados ir aprakstīti daži selektīvie ADAM10 un ADAM17 sintētiskie inhibitori. Lielākā daļa no tiem satur hidroksamāta funkciju, kas helatē cinka jonu aktīvajā receptora kabatā.

### 1.2 Histona deacetilāze

Promocijas darba ietvaros kā potenciālu mērķi pretvēža terapijai izvirzījām zīdītāja cinku saturošu histona deacetilāzi (HDAC). Šis enzīms ir iesaistīts histona acilēšanā, veicinot hromatīna konformācijas izmaiņas, tādā veidā ietekmējot gēnu ekspresiju.<sup>34</sup> HDAC deacilē arī nehistona tipa substrātus: transkripcijas kofaktorus, šaperonus, DNS labošanas, replikācijas un rekombinācijas regulatorus. HDAC disregulēšana un mutēšana ir tieši saistīta ar ļaundabīgu audzēju attīstību, apoptozi, angiogēnēzi un šūnu invāziju.

2009. Gadā *Finnin et al* npublicēja datus par histona deacetilāzes homologa (35% sekvenču homologija ar zīdītāju HDACI/II klasēm) saistīšanu ar inhibitoru **3**.<sup>35</sup> Kopš tā laika tika npublicēti vairāki apskatraksti gan par HDAC ekspresiju ļaundabīgos audzējos,<sup>36,37</sup> gan par

potenciāliem inhibitoriem un to klasifikāciju,<sup>38,39</sup> gan par iespējamo selektīvo HDAC izoformu nomākšanu.<sup>40,41</sup>

Turpmākajā literatūras apskata nodaļā ir sniegts pārskats par HDAC struktūru, tā klasifikācija un funkcionālais mehānisms. Pievērsta uzmanība HDAC enzīmu lomai ļaundabīgu audzēju attīstībā, kā arī aprakstīti pašlaik zināmie HDAC inhibitori.

***Histona deacetilāzes raksturojums.*** Histona deacetilāze (HDAC) ir enzīms, kurš iesaistīts hromatīna remodelēšanā, kā arī piedalās epiģenētiskajā gēnu ekspresijas regulēšanā. HDAC funkcija ir acetil- grupas nošķelšana, padarot iespējamu RNS-polimerāzes un kofaktoru pieejamību DNS struktūrai.<sup>40,42</sup> Augsts histona līmenis ir saistīts ar palielinātu transkripcijas aktivitāti, savukārt, zems acetilēšanas līmenis norāda uz gēna ekspresijas nomākšanu.<sup>43</sup>

Eikariotu šūnās transkripciju ietekmē DNS sapakošanas veids. DNS parasti atrodas cieši sapakotā stāvoklī, lai novērstu transkripcijas faktoru pieejamību. Augsti organizētu un dinamisku proteīna-DNS kompleksu sauc par hromatīnu.<sup>44</sup> Hromatīna pamatsubvienība ir nukleosoma, kurai ir oktamēra struktūra (to veido kodola četri histona proteīni, H3/H4 un H2A/H2B tetramēri) un tai apkārt atrodas 146 DNS nukleotīdu pāri. Nukleosomas savā starpā tiek savienotas ar histona proteīnu H1 un veido „nukleosomu diegu”- hromatīnu. Gēnu transkripcijas procesā notiek nukleosomu modifikācija, kā rezultātā DNS struktūra kļūst pieejamāka piesaistīšanās proteīniem. Ar nukleosomas modifikāciju saprot DNS metilēšanu, fosforilēšanu vai kodola histona acetilēšanu/deacetilēšanu.<sup>42</sup>

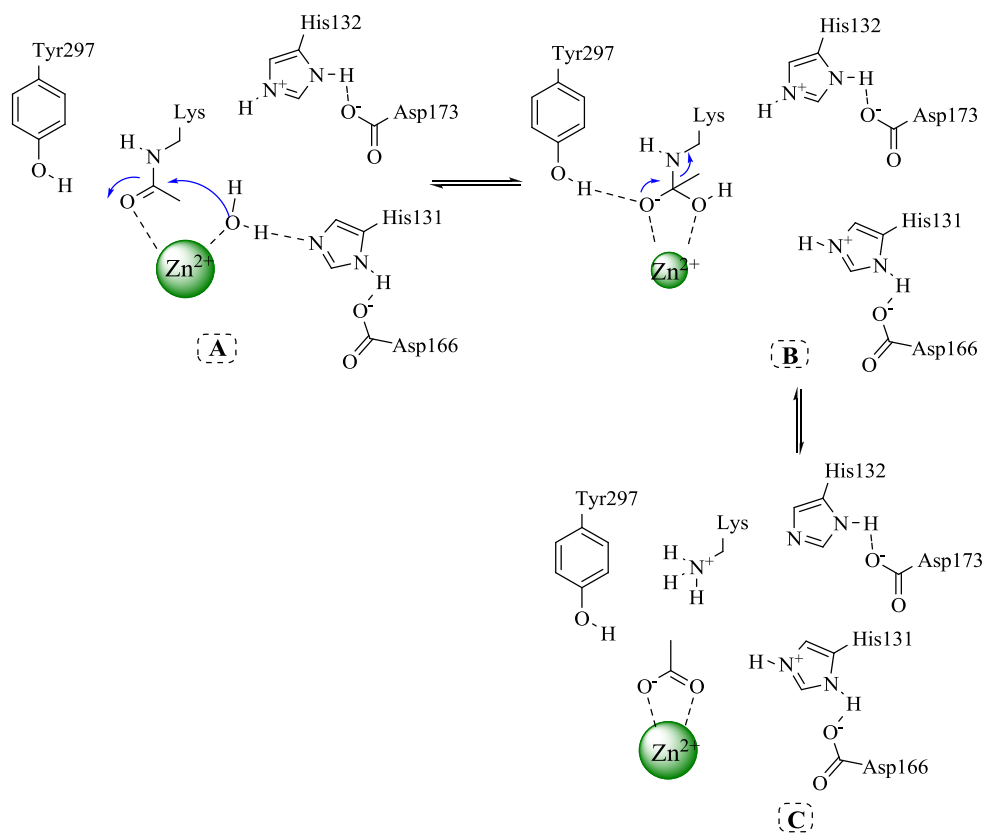
HDAC katalītiskais apgabals ir veidots no aptuveni 350 aminoskābēm. Piesaistīšanās (aktīvais) apgabals sastāv no mazliet izliektas cauruļveida kabatas ar paplašinātu dobumu. Acetilgrupas nošķelšana notiek caur lādiņu pārnese sistēmu, kas sastāv no diviem blakus esošiem histidīna atlikumiem, diviem aspartātiem un tirozīna atlikuma.

Svarīga komponente lādiņu pārnese sistēmā ir  $Zn^{2+}$  jons, kas atrodas katalītiskās kabatas dobumā. Histonu acetilēšana ir domāta histonu pozitīvu lādiņu neutralizēšanai un mijiedarbības pavājināšanai ar negatīvi lādēto DNS. Deacetilēšanas rezultātā atveras hromatīna struktūra, kas atvieglo transkripcijas faktoru piesaistīšanos un sekojošu gēnu transkripciju, turklāt HDAC regulē *post*-transkripcijas acetilēšanu daudziem ne-histona proteīniem, ieskaitot transkripcijas faktoros, šaperonus un signalizācijas molekulas.<sup>45</sup>

*Finnin* grupa konstatēja,<sup>35</sup> ka *in vitro* attīrīta HDAC homologa deacetilāzes aktivitāte ir atkarīga no  $Zn^{2+}$  joniem. Jāpiemin, ka deacetilāzes aktivitāte nav izteikta  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  un  $Mn^{2+}$  kofaktoru klātienē. Nedaudz HDAC deacetilāzes aktivitāte ir novērojama pēc homologa



inkubēšanas ar  $\text{Co}^{2+}$ . Pētījuma autori piedāvāja iespējamo HDLC (*histone deacetylase like protein*) katalītiskās aktivitātes mehānismu. Histona deacetilāzes līdzīgajā proteīnā (HDLC) cinka atomam apkārt ir divi histidīna-asparagīnskābes atlikumi (His131-Asp166 un His132-Asp173), tirozīna atlikums (Tyr297) un cinks, kas ir koordinēts ar divām asparagīnskābēm (Asp258, Asp168) un vienu histidīnu (His170). Minētā struktūra ir raksturīga visām cinku-saturošām histona deacetilāzēm. Piedāvātajā lizīna deacetilēšanas mehānismā (1.7. att.) cinks ir helatēts ar ūdens molekulu un acetil-lizīnu. Pēc nukleofilā ūdens uzbrukuma karbonilgrupai (A), veidojas acetilanjons, kas ir stabilizēts ar divām cinka-skābekļa nekovalentajām saitēm, kā arī veido ūdeņraža saiti ar Tyr297 hidroksilgrupu (B). Pēdējā stadijā šķeļas - starpprodukta oglekļa-slāpekļa saite, veidojot acetāta anjoni un protonētu lizīnu (C).



### 1.7. att. Piedāvātais deacilēšanas mehānisms

Literatūrā ir piedāvāti arī citi deacilēšanas mehānismi. Piemēram, *Vanommelaeghe et al* uzskata, ka His131 ir protonēts ar ūdens molekulu. Tyr297 veido ūdeņraža saiti ar atlikušo hidroksīdanjoni, kas uzbrūk lizīna karbonilgrupai. Hidroksilgrupas ierosināta mehānisma koncepcija ir apšaubāma, jo veidojas liela lādiņu starpība (-2), kas nav raksturīga cinku saturošām

proteināzēm.<sup>46</sup> *Corminboeuf et al* piedāvātā deacilēšanas mehānisma atslēgas stadija ir ūdens molekulas nukleofīlais uzbrukums, ko atvieglo His132 spēja piesaistīt ūdens molekulas protonu. Pārejas stāvoklis ir stabilizēts ar diviem His-Asp atlikumiem un Tyr297.<sup>47</sup>

Kodola histona acetilēšanas homeostāze tiek regulēta ar histona acetiltransferāzi (HAT) – enzīmu, kura darbība ir pretēja histona deacetilāzes darbībai. Līdzsvars starp histona acetilēšanu un deacetilēšanu veselās šūnās ir labi noregulēts. Tiek uzskatīts, ka disbalanss acetilēšanas procesā var izraisīt vēža attīstību izmainītas hromatīna struktūras un gēnu transkripcijas disregulācijas dēļ.<sup>36</sup>

***Histona deacetilāzes inhibitori.*** Pārmērīgs histona deacilēšana līmenis asociējas ar vēža patoloģiju, veicinot audzēju regulējošo gēnu apspiešanu. HDAC inhibitori (HDACi) sekmē acilēto histonu līmeņa palielināšanos, kas no jauna ierosina hromatīna atkarīgus procesus (proliferēšanu, šūnu ciklu kontroli u.c.). Izmaiņas HDAC gēnu ekspresijā, to disregulēšana vai mutēšana ir saistīta ar ļaundabīgo audzēju attīstību.<sup>48</sup> Vairāku HDAC (I, II un IV) modificēta ekspresija ir novērota dažādos vēža tipos. HDAC gēnu izslēgšana, it īpaši HDAC1,-2,-3 un -6, vairākos vēža tipos (zarnu, krūšu, plaušu un leukēmijā) ierosina apoptozi un šūnu cikla apstādināšanu. Tas pierāda, ka HDAC aktivitātei ir atslēgas funkcija šūnu izdzīvošanas kapacitātē, ietekmējot audzēju nomākšanas faktoros.<sup>49</sup>

Literatūrā aprakstītie histona deacetilāzes inhibitori tiek klasificēti atkarībā no ķīmiskās struktūras: hidroksāmskābes (Trihostatīns A, Vorinostats, Oksamflatīns, Tubacīns), cikliskie tetrapeptīdi (Apicidīns, Romidepsīns), benzamīdi (Entinostats, Mocetinostats), alifātiskās karbonskābes (Valproāts, Butirāts) un epoksiketoni (Trapoksīns).<sup>50</sup> Zināms, ka hidroksāmskābes saturošie inhibitori ir aktīvi pret vairākiem HDAC tipiem (plašas iedarbības inhibitori), savukārt, benzamīdi un cikliskie tetrapeptīdi ir selektīvi tikai pret dažiem HDAC tipiem (izoformas selektīvie inhibitori).

Visplašāk izpētītie ir hidroksāmskābes funkciju saturošie HDAC neselektīvie inhibitori. Trihostatīns A tiek izmantots tikai laboratorijas eksperimentos augstās toksicitātes dēļ. Vorinostats un Belinostats pašlaik tiek izmantots T-limfomas ārstēšanā. Citi hidroksāmskābes klases inhibitori (piem., Resminostats, Abeksinostats) pašlaik ir klīnisko pētījumu etapā. Mainot dažādas farmakofora daļas, var panākt HDACi selektivitāti pret noteiktām HDAC izoformām un palielināt inhibitoru pretvēža efektivitāti.

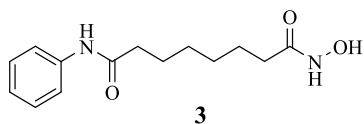
Imitējot dabisko substrātu (acetilēta lizīna atlikums), HDACi uzbūve atbilst vispārīgam farmakoforam (1.8. att.). Tas ietver virsmas atpazīšanas daļu (cap), kas caur savienojošo

elementu (SE) piesaistīts pie aktīvajā kabatā izvietotā linkera un cinku saistošās grupas (CSG), kas helatē aktīvajā kabatā esošo cinka jonu ( $Zn^{2+}$ ).



### 1.8. att. Vispārīgs HDACi farmakofors

Plašāk literatūrā ir aprakstīts Vorinostats (**3**, 1.9. att., suberoilanolīda hidroksāmskābe SAHA vai Zolinza), kurš ir pirmais HDAC klīniski testētais inhibitors. Tam piemīt nanomolāra aktivitāte ( $IC_{50} < 86$  nM), un kopš 2006. gada tiek klīniski izmantots ādas T šūnas limfomas ārstēšanai. Vorinostats ir mazmolekulāra ( $M=264$ ) lineārā hidroksāmskābe, kas inhibē HDAC aktivitāti un tādējādi panāk acilēto histonu akumulēšanu. Rezultātā tiek bloķēta šūnu proliferēšana un inhibēta audzēju augšana. Tas ir plaša spektra HDAC izoformu inhibitors (I un II klases HDAC enzīmi).



### 1.9. att. Vorinostata struktūra

Kristāliska HDLP- $Zn^{2+}$ -SAHA kompleksa rentgenstruktūra parāda, ka hidroksāmskābes funkcija koordinējas ar cinku caur karbonil- un hidroksilgrupām, veidojot penta-koordinētu  $Zn^{2+}$  kompleksu. Hidroksāmskābes grupa arī veido ūdeņraža saites ar diviem histidīna atlikumiem un Tyr297 hidroksilgrupu. Vorinostata linkeris ( $sp^2$  hibridizēta C6 alkilķēde) ievietojas caurules tipa hidrofobā kabatas apgabalā, veidojot vājas *van der Waals* mijiedarbības ar HDAC katalītiskās kabatas virsmu.

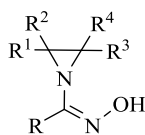
Vorinostats inhibē šūnu proliferēšanu vairāku vēža šūnu līnijās: prostatas, krūšu, olnīcu, karcinomas u.c. Vorinostats inhibē audzēju augšanu peļu modeļos *in vivo*, administrējot preparātu gan orāli, gan parenterāli. Labi rezultāti novēroti prostatas, krūšu, plaušu vēža, leukēmijas un dažādu tipa karcinomu ārstēšanā.

### 1.3 (Aziridīn-1-il)karbaldehīdoksīmu sintēze un ķīmiskās īpašības

Viens no promocijas darba virzieniem ir veltīts aziridīnsaturošu oksīmu sintēzei. Literatūras avotos šī tēma nav plaši aprakstīta, tāpēc uzskatām, ka ir svarīgi apkopot un sistematizēt visu zināmo informāciju.

(Aziridīn-1-il)karbaldehīdoksīmus ar vispārīgo struktūru **11** (1.10. att.) literatūrā sauc arī

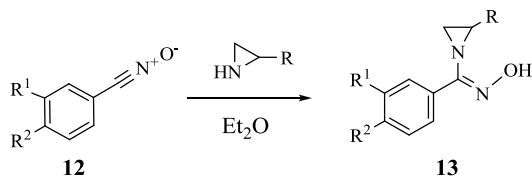
par aziridīn-1-iloksīmiem, aziridīnoksīmiem un/vai 1-aziridīn-1-hidroksimidoilatsinājumiem. Neskatoties uz to, ka aziridīn-1-iloksīmu sintēze un to transformācijas nav plaši aprakstītas, literatūrā minētie piemēri liecina par šīs savienojumu klases potenciālu dažādu heterociklisku savienojumu sintēzē. Jāpiemin, ka vairākiem aziridīnoksīmiem piemīt ievērojama citotoksiskā aktivitāte, kas ļauj uzskatīt šo savienojumu klasi par perspektīvu pretvēža aģentu izveidošanai.



11

#### 1.10. att. Aziridīn-1-iloksīma vispārīgā struktūra

1966. gadā *Rajagopalam* un *Talaty* realizēja 1-arilaziridīnoksīma **13** sintēzi, kurš veidojās benznitrila *N*-oksīdu **12** reakcijā ar etilēn- vai propilēnimīna ekvimolāru daudzumu (1.11. att.), (1.4. tabula).<sup>51</sup>



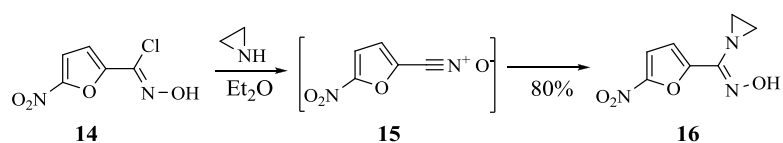
#### 1.11. att. 1-Arilaziridīnoksīma **13** iegūšana no benznitrila *N*-oksīda **12**

1.4. tabula

#### 1-Arilaziridīnoksīma **13** atvasinājumi

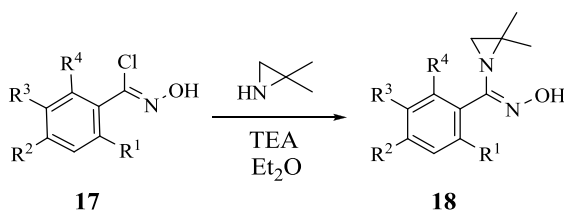
Nr.	Produkts <b>13</b>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1.	<b>a</b>	H	H	Cl
2.	<b>b</b>	H	H	H
3.	<b>c</b>	H	Cl	Cl
4.	<b>d</b>	Me	H	H
5.	<b>e</b>	H	NO <sub>2</sub>	H

(*Z*)-Aziridīn-1-il-(5-nitrofurān-2-il)metanonoksīmu (**16**) *Sasaki* un *Yoshioka* ieguva no (*Z*)-*N*-hidroksi-5-nitrofurān-2-karbimidoilhlorīda (**14**) un aziridīna ēterī pie 0°C (1.12. att.). Autori norāda, ka **14** kalpo kā prekursors reaģētspējīga *N*-oksīda **15** veidošanai.<sup>52</sup>



1.12. att. (Z)-Aziridīn-1-il-(5-nitrofurān-2-il)metanonoksīma (16) sintēze

Johnson *et al* izveidoja efektīvu metodi aziridīn-1-ilbenzaldoksīmu **18** sērijas sintēzei, sākot no hloroksīma **17** (1.13. att.),<sup>53</sup> kā bāzi *N*-oksīda ģenerēšanai *in situ* izmantojot trietilamīnu.<sup>54</sup>



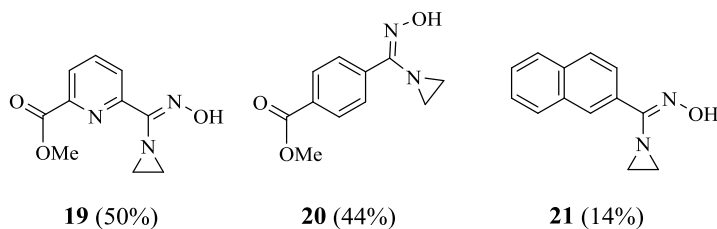
1.13. att. Aziridīn-1-ilbenzaldoksīmu **18** sintēze

1.5. tabula

Aziridīn-1-ilbenzaldoksīmu **18** atvasinājumi

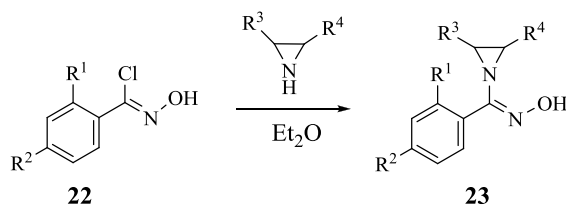
Nr.	Produkts <b>18</b>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	H	H	H	H	64
2.	<b>b</b>	H	Cl	H	H	65
3.	<b>c</b>	H	H	NO <sub>2</sub>	H	72
4.	<b>d</b>	H	NO <sub>2</sub>	H	H	52
5.	<b>e</b>	H	H	H	Cl	90
6.	<b>f</b>	H	Cl	H	Cl	57
7.	<b>g</b>	H	Me	H	H	57
8.	<b>h</b>	Cl	H	H	Cl	93

Līdzīgu pieeju izmantoja Grigorjeva *et al* piridīn-, fenil- un naftalīnsaturošu aziridīn-1-iloksīmu **19-21** iegūšanai no attiecīgiem hloroksīmiem acetonitrilā trietilamīna klātienē (1.14. att.).<sup>8</sup>



1.14. att. Aziridīn-1-iloksīmi **19-21**

Līdzīgi *Cho et al* ieguva aziridīn-1-iloksīmus **23** aizvietoto aziridīnu reakcijā ar aromātisko hloroksīmu **22** (1.15. att.).<sup>55</sup> Aprakstītajā procedūrā kā bāze kalpoja pārākumā ņemtais aziridīns. Izmantojot minēto sintētisko pieeju, produkti **23a-g** iegūti ar labiem un apmierinošiem iznākumiem.



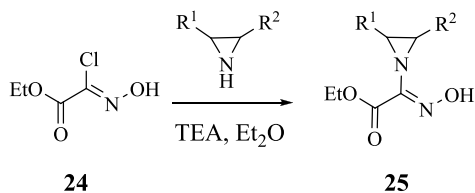
1.15. att. Aziridīn-1-ilbenzaldoksīmu **23** sintēze

1.6. tabula

1-Arilaziridīnoksīma **23** atvasinājumi

Nr.	Produkts <b>23</b>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	H	H	H	Me	66
2.	<b>b</b>	Cl	Cl	H	Me	65
3.	<b>c</b>	H	Br	H	Me	71
4.	<b>d</b>	H	OMe	H	Me	56
5.	<b>e</b>	H	OCH <sub>3</sub>	Me	Ph	67
6.	<b>f</b>	H	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et	H	Me	71
7.	<b>g</b>	H	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et	H	CO <sub>2</sub> Me	35

(Z)-Etil-2-(aziridīn-1-il)-2-(hidroksimīno)acetāta atvasinājumu **25a,b** sintēzi realizēja *Eremeev et al* 1982. gadā (1.16. att.).<sup>56</sup> Kā izejvielu autori izmantoja (Z)-etil-2-hloro-2-(hidroksimīno)acetātu **24**, kas reakcijā ar neaizvietotu vai monoaizvietotu aziridīnu trietilamīna klātienē veidoja produktus **25a,b** ar labiem iznākumiem (54-55%). Līdzīgi *Cho et al* ieguva aziridīn-1-ilanalogus **25c-d** no gliksilskābes esteriem (1.7. tabula).<sup>55</sup>

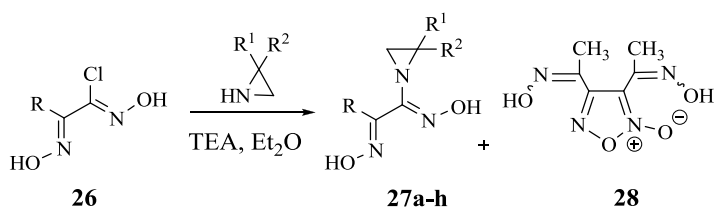


1.16. att. Aziridīn-1-ilanalogu **25** sintēze no gliksilskābes esteriem **24**

Aziridīn-1-iloksīmu **25** atvasinājumi

Nr.	Produkts <b>25</b>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	CONH <sub>2</sub>	H	55
2.	<b>b</b>	H	H	54
3.	<b>c</b>	Me	Ph	71
4.	<b>d</b>	Me	H	81
5.	<b>e</b>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -		62

Literatūrā ir aprakstīta viena reaktora aziridīn-1-ildioksīma **27** sintēze no hlordioksīma **26** reakcijā ar mono-,di- vai neaizvietotu aziridīnu (1.17. att.).<sup>56</sup> Produktus **27a-d,g,h** ieguva bez papildus bāzes pievienošanas reakcijas maisījumam, toties trietilamīna (1.5 ekviv) pievienošana bija nepieciešama savienojumu **27e,f** sintēzei. Sākotnēji no dioksīmiem **26** *in situ* ģenerē nitriloksīdu, kas stājas reakcijā ar aziridīniem. Iegūto dioksīmu **27** iznākumi variē no 40% līdz 60%, atkarībā no aizvietotāja pie aziridīna cikla (1.8. tabula). Autori piemin, ka reakcijā starp metilhloridioksīmu **26** (R=CH<sub>3</sub>) un aziridīn-2-karboksamīdu **27** (R<sup>2</sup>=CONH<sub>2</sub>) kā blakusprodukts veidojas arī furoksāns **28** (**27e:28**=2:1). To skaidro ar elektronatvelkošo grupu saturoša aziridīna mazāku reaģētspēju, kā rezultātā *in situ* ģenerētais nitriloksīds stājas dimerizēšanās reakcijā, veidojot furoksānu.

1.17. att. Aziridīn-1-ilbenzaldoksīma **27** sintēze no hlordioksīma analogiem **26**Aziridīn-1-ilbenzaldoksīma **27** atvasinājumi

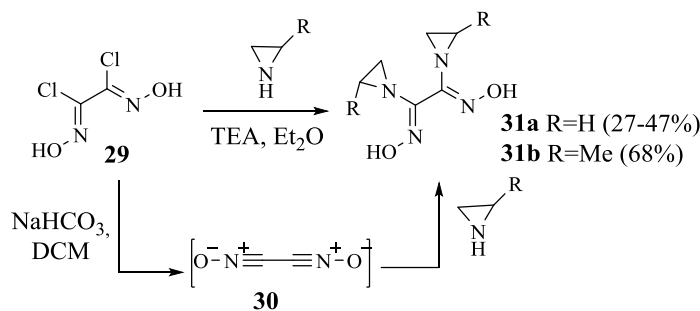
Nr.	Produkts <b>27</b>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	H	H	H	40
2.	<b>b</b>	Me	H	H	59
3.	<b>c</b>	Ph	H	H	45

4.	<b>d</b>	H	H	CONH <sub>2</sub>	53
5.	<b>e</b>	Me	H	CONH <sub>2</sub>	59

1.8. tabulas turpinājums

Nr.	Produkts <b>27</b>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Iznākums, %
6.	<b>f</b>	Ph	H	CONH <sub>2</sub>	53
7.	<b>g</b>	Me	Me	H	74
8.	<b>h</b>	Ph	Me	Me	69

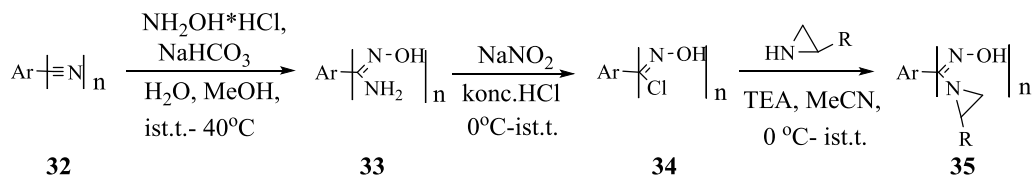
(1Z, 2Z)-1,2-Di(aziridīn-1-il)etān-1,2-diondioksīma **31** sintēzi realizēja no dihlorglioksīma atvasinājuma **29**, un aziridīna, kā bāzi izmantojot trietilamīnu (1.18. att.).<sup>56,57</sup>



1.18. att. Diaziridīn-1-ildioksīma atvasinājumu **31** sintēze no dihlorglioksīma **29**

Musluoglu un Ahsen (1999. gadā) ziņoja par **31a** sintēzi no cianogēna di-*N*-oksīda **30** tā reakcijā ar aziridīnu -40 °C temperatūrā.<sup>58</sup> Cianogēna *N*-dioksīda šķīdums **30** dihlormetānā tika iegūts, sildot (1Z,2Z)-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>2</sup>-dihidroksioksalilimidoildihlorīda **29** suspensiju dihlormetāna un 1M nātrija karbonāta maisījumā. Neskatoties uz cianogēna di-*N*-oksīda stabilitāti pazeminātās temperatūrās, gala savienojuma iznākums bija tikai 27%.<sup>59</sup>

Aziridīn-1-iloksīmu **35** sintēzei kā izejvielas tika izmantoti aromātiskie vai heteroaromātiskie nitrili **32** (1.19. att.). Tie tika pārveidoti par attiecīgiem amīdoksīmiem **33**, kas diazotēšanas reakcijas rezultātā veidoja hloroksīmus **34**, kuri savukārt trietilamīna klātienē veidoja attiecīgos *mono*-, *bis*- vai *tris*-(aziridīn-1-il)oksīmus **35** (1.9. tabula).<sup>8</sup>



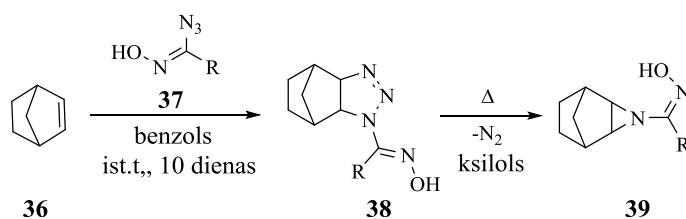
1.19. att. Aziridīn-1-iloksīmu **35** sintēze no aromātiskiem vai heteroaromātiskiem nitriliem **32**



## Mono-, bis- un tris-( aziridīn-1-il)oksīmus 35 atvasinājumi

Nr.	Produkts 35	Ar	R	n
1.	<b>a</b>	hinolīn-2-il	H	1
2.	<b>b</b>	hinolīn-2-il	CO <sub>2</sub> Me	1
3.	<b>c</b>	hinolīn-2-il	CONH <sub>2</sub>	1
4.	<b>d</b>	piridīn-2,6-il	H	2
5.	<b>e</b>	piridīn-2,6-il	CONH <sub>2</sub>	2
6.	<b>f</b>	piridīn-3,5-il	H	2
7.	<b>g</b>	piridīn-2,5-il	H	2
8.	<b>h</b>	piridīn-2,4-il	H	2
9.	<b>i</b>	benz-1,4-il	H	2
10.	<b>j</b>	benz-1,4-il	CONH <sub>2</sub>	2
11.	<b>k</b>	benz-1,3-il	H	2
12.	<b>l</b>	benz-1,3,5-il	H	3
13.	<b>m</b>	furān-2,5-il	H	3
14.	<b>n</b>	Furān-3,4-il	H	2

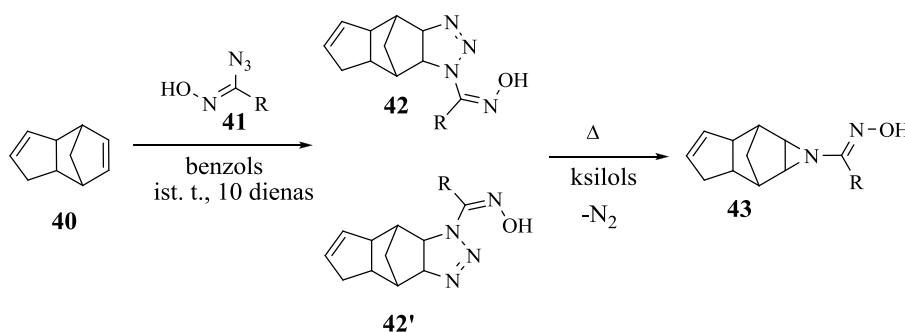
*Plenkiewicz* izstrādāja pavisam atšķirīgu pieeju aziridīn-1-iloksīmu **39** sintēzei. Tā ietvēra norbornēna **36** reakciju ar aromātiskajiem azidoksīmiem **37** (1.20. att.). Rezultātā veidojās triazolīna atvasinājumi **38**, kuri termiski sadalījās par attiecīgiem aziridīn-1-iloksīmiem **39**. Šīs metodes trūkums ir ilgais reakcijas laiks (10 dienas), kas nepieciešams triazolīna **38** iegūšanai ar augstu iznākumu (1.10. tabula). Diemžēl autors nenorāda gala produkta **39** iznākumus.

1.20. att. Aziridīn-1-iloksīmu **39** sintēze no norbornēna **36** un aromātiskiem azidoksīmiem **37**

Aziridīn-1-iloksīma **39** atvasinājumi un iznākumi

Nr.	Produkts <b>39</b>	R	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	Ph <sub>2</sub> CH-	57
2.	<b>b</b>	( <i>p</i> -Tol)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH-	58
3.	<b>c</b>	4-(Tol) <sub>2</sub> CH-	--
4.	<b>d</b>	Ph	--

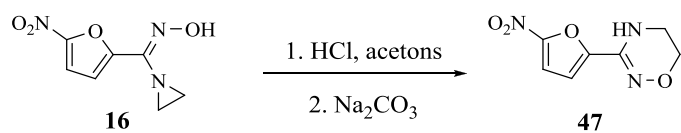
Līdzīgos reakcijas apstākļos diēna **40** reakcija ar azīdoksīmu **41** ļāva selektīvi iegūt ciklopievienošanās produktus **42a-d** kā reģioizomēru maisījumu (1.21. att.). Jāatzīmē, ka azīdoksīmu **41** daudzuma palielināšana (līdz 2 ekviv) reakcijas gaitā neizraisīja dubultciklopievienošanās produktu veidošanos. Karsējot abi ciklopievienošanās izomēri **42** un **42'** sadalījās par aziridīn-1-iloksīmu atvasinājumu **43** (1.11. tabula).

1.21. att. Aziridīn-1-iloksīmu atvasinājumu **43** sintēzeAziridīn-1-iloksīma **43** atvasinājumi un iznākumi

Nr.	Produkts <b>43</b>	R	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	Ph <sub>2</sub> CH-	82
2.	<b>b</b>	( <i>p</i> -Tol) <sub>2</sub> CH-	74
3.	<b>c</b>	Ph	66
4.	<b>d</b>	Ph <sub>2</sub> CH-	64

Literatūrā ir aprakstīta aziridīn-1-iloksīmu **31a** spēja veidot kompleksus ar dažādiem metāliem. Tā 2007. gadā *Johnson et al* publicēja pētījumus par aziridīn-1-iloksīmu

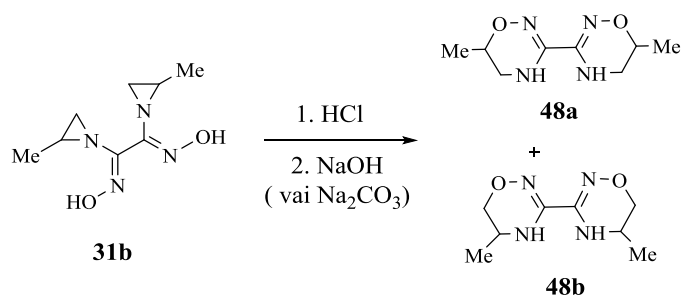




#### 1.24. att. 3-(5-Nitrofurān-2-il)-5,6-dihidro-4H-1,2,4-oksadiazīna 47 sintēze

Savienojumu **47** struktūra tika pierādīta tikai ar elementu analīzes un infrasarkanās spektrometrijas metodēm. Saskaņā ar autoru piedāvāto reakcijas norisi, gala produkta **47** veidošanās notiek sākotnēji uzšķeļot aziridīna ciklu ar skābi, kam seko starpprodukta ciklizēšanās bāzes klātbūtnē.

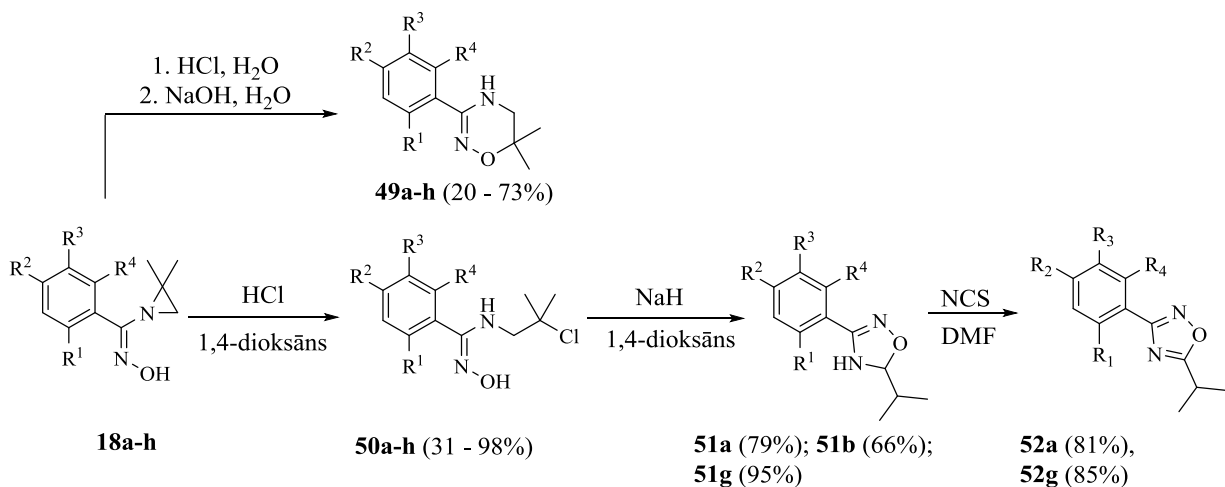
*Eremeev et al* (1982. gadā) ieguva *bis*-1,2,4-oksadiazīnu no aziridīn-1-ilglioksīma **31b** (1.25. att).<sup>8</sup> Reakcijā veidojās divi reģioizomēri **48a** un **48b** ar dažādu metilgrupu novietojumu oksadiazīna ciklā. No tā autori secināja, ka dioksīma **31b** reakcijā ar sālsskābi notiek neselektīva aziridīna cikla uzšķelšana.



#### 1.25. att. *bis*-1,2,4-Oksadiazīna 48a un 48b sintēze

1996. gadā *Johnson et al* publicēja pētījumu par 1,2,4-oksadiazīna veidošanu no 2,2-dimetil-aziridīn-1-iloksīmiem.<sup>53</sup> Atkārtojot *Rajagopalan* un *Talaty*<sup>51</sup> piedāvāto procedūru, autori ieguva vēlamo produktu **49** ar iznākumu mazāku par 1% (1.26. att). Viņi konstatēja, ka zemais reakcijas iznākums ir saistīts ar savienojumu **49** un/vai **50** hidrolīzi par benzoskābi produktu izolēšanas laikā. Apstrādes procedūras modificēšana uzlaboja gala produktu **49** iznākumu līdz 20-73%. *Johnson et al* izpētīja arī pakāpenisko pieeju: aziridīn-1-iloksīmu **18a-h** apstrāde ar HCl dioksānā ļāva iegūt produktus **50a-h** (1.12. tabula). Savienojumu **50b** struktūru pierādīja ar rentģenstruktūras palīdzību. Jāatzīmē, ka starpsavienojuma **50** apstrāde ar NaH dioksānā nodrošināja 4,5-dihidro-1,2,4-oksadiazola **51a,b,g** nevis 5,6-dihidro-4H-1,2,4-oksadiazīnu **49** veidošanos. Raksta autori arī piedāvā iespējamo reakcijas produktu **51** veidošanās mehānismu, tomēr tas ir apšaubāms un ir nepieciešami papildus pētījumi mehānisma noskaidrošanai. Divi 4,5-

dihidro-1,2,4-oksadiazoli **51a,g** tika pakļauti oksidēšanas reakcijai ar NCS DMF šķīdumā, veidojot oksadiazolus **52a,g**.<sup>53</sup>



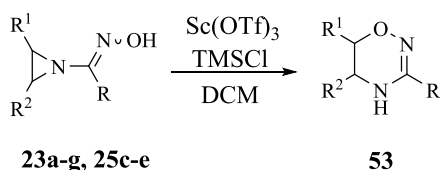
1.26. att. bis-1,2,4-Oksadiazīnu **49a-h** un oksadiazolu **52a,g** sintēze

1.12. tabula

Aziridīn-1-iloksīma **49** atvasinājumi

Nr.	Produkts <b>49</b>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
1.	<b>a</b>	H	H	H	H
2.	<b>b</b>	Cl	H	H	H
3.	<b>c</b>	H	H	NO <sub>2</sub>	H
4.	<b>d</b>	H	NO <sub>2</sub>	H	H
5.	<b>e</b>	H	H	H	Cl
6.	<b>f</b>	H	Cl	H	Cl
7.	<b>g</b>	H	Me	H	H
8.	<b>h</b>	Cl	H	Cl	H

Aziridīn-1-iloksīmi pakļaujas cikla paplašināšanas reakcijām dažādu Luisa skābju iedarbības rezultātā. Tā, piemēram, *Cho et al* publicēja (2006. gadā) ērtu un vieglu viena reaktora 5,6-dihidro-4*H*-1,2,4-oksadiazīna **53** sintēzi ar vidējiem līdz augstiem iznākumiem no aziridīn-1-iloksīmiem **23a-g**, **25c-e** skandija(III) triflāta un TMSCl klātienē (1.27. att, 1.13 tabula).<sup>55</sup>

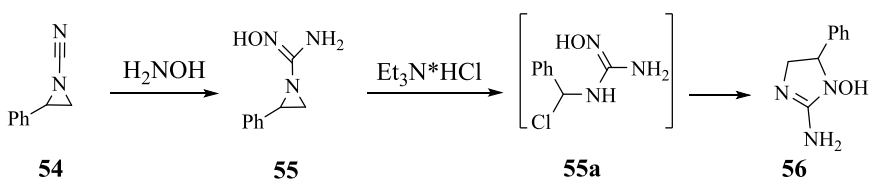


5,6-Dihidro-4H-1,2,4-oksadiazīna **53** atvasinājumi un iznākumi

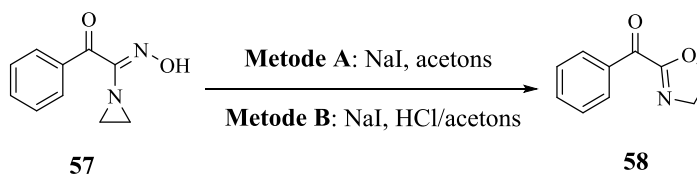
Nr.	Produkts <b>53</b>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Iznākums, %
1.	<b>a</b>	COOEt	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -		45
2.	<b>b</b>	COOEt	Me	H	61
3.	<b>c</b>	Ph	Me	H	69
4.	<b>d</b>	3-Cl,4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	Me	H	72
5.	<b>e</b>	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Me	H	81
6.	<b>f</b>	4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -		42

Autori noskaidroja Luisa skābju Yb(OTf)<sub>3</sub>, AgOTf, Cu(OTf)<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O un Sc(OTf)<sub>3</sub> spēju katalizēt 1,2,4-oksadiazīna **53** veidošanos. Pētījumu rezultāti parādīja, ka tikai Yb(OTf)<sub>3</sub> un Sc(OTf)<sub>3</sub> sekmē ciklizēšanās procesu, tomēr vēlamais produkts veidojās ar zemiem iznākumiem. Iznākumu Sc(OTf)<sub>3</sub> katalizētai reakcijai izdevās uzlabot reakcijas maisījumam pievienojot TMSCl (1.1. ekviv). Šo efektu autori skaidro ar to, ka TMSCl aizsargā hidroksilgrupu un tādējādi neļauj substrātam veidot kompleksu ar Luisa skābi.<sup>55</sup>

Campbell *et al* realizēja selektīvu aziridīn-1-iloksīma **55** iekšmolekulāru ciklizēšanu, veidojot 2-amino-5-fenil-4,5-dihidro-1H-imidazol-1-olu (**56**) (1.28. att.). Aziridīn-1-iloksīmu **55** ģenerēja *in situ* no 2-fenilaziridīn-1-karbonitrila (**54**) tā reakcijā ar hidroksilamīnu. Var pieņemt, ka aziridīna cikla uzšķelšanā ar trietilamīna hidrogēnhlorīdu veidojas starpprodukts **55a**, kurā notiek hidroksiguanidīna funkcijas iekšmolekulāra *N*-alkilēšana. Gala produktu **56** struktūru autori pierādīja tikai ar <sup>1</sup>H-KMR spektriem.<sup>61</sup>

1.28. att. 2-Amino-5-fenil-4,5-dihidro-1H-imidazol-1-olu (**54**) sintēze

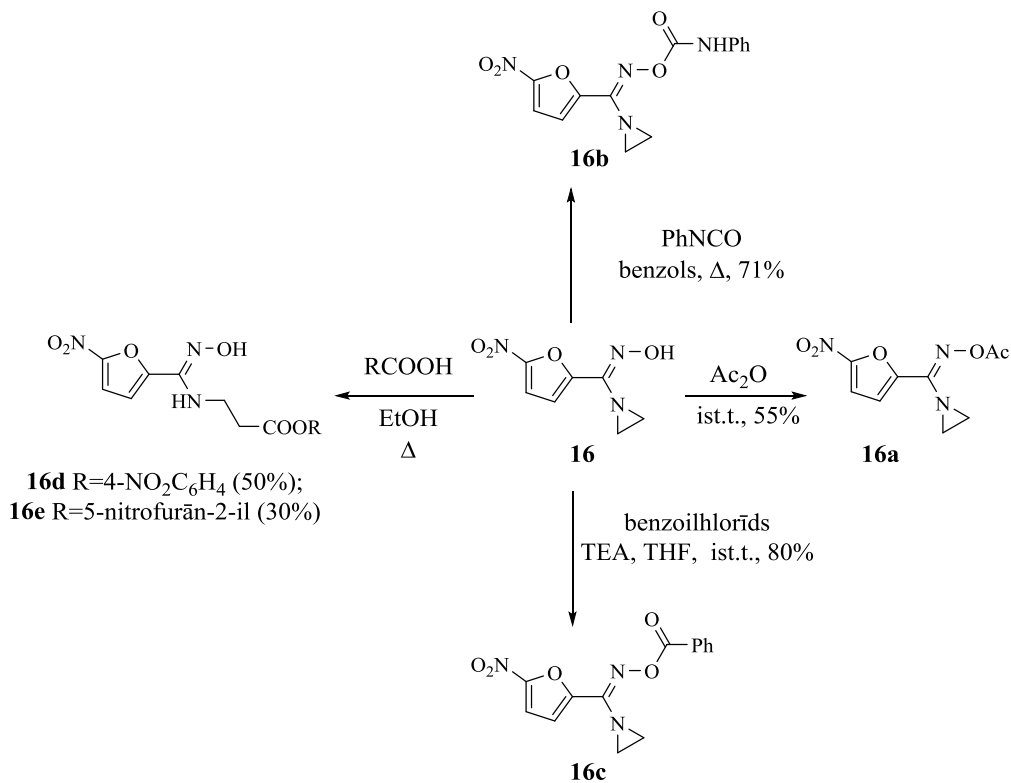
Sasaki un Yoshioka (1971. gadā)<sup>52</sup> publicēja datus par (*Z*)-2-(aziridīn-1-il)-2-(hidroksimīno)-1-feniletanona (**57**) cikla paplašināšanu katalītiska jodīdjonu daudzuma klātienē, kas ļāva iegūt benzoiloksazolīnu **58** ar 22% iznākumu (metode A) (1.29. att.).<sup>62</sup>



### 1.29. att. Benzoiloksazolīna **58** sintēze

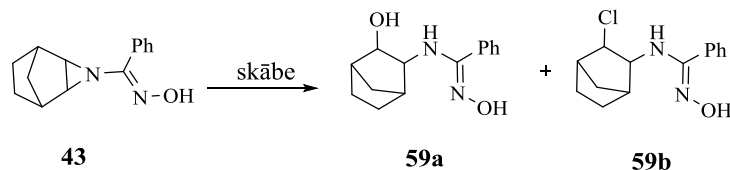
Reakcijas iznākumu izdevās palielināt līdz 60%, izmantojot sāļsskābi acetonā (metode B). Jāpiemin, ka savienojuma **58** struktūra nav pierādīta ar KMR spektroskopiju.

**Aziridīna cikla un aziridīn-1-iloksīma oksīma funkcijas ķīmiskās izmaiņas.** Sasaki un Yoshioka savā darbā pārbaudīja (*Z*)-aziridīn-1-il(5-nitrofurān-2-il)metanonoksīma (**16**) stabilitāti. Autori novēroja, ka aziridīna cikls ir stabils reakcijā ar anilīnu vai *p*-aminotoluolu, pat vārot toluolā 8 h.<sup>52</sup> Iedarbojoties uz aziridīn-1-iloksīmu **16** ar etiķskābes anhidrīdu istabas temperatūrā, ar fenilizocionātu vārošā benzolā vai ar benzoilhlorīdu trietilamīna klātienē, veidojās *O*-atvasināti produkti **16a-c**. Savukārt reakcijā ar 4-nitrobenzoksābi vai 5-nitrofurānkarbonskābi vārošā etanolā izejvielā **16** notika aziridīna cikla uzšķelšana, veidojot produktus **16d** un **16e** ar apmierinošiem iznākumiem. (1.30. att.)



### 1.30. att. Aziridīn-1-iloksīma **16** atvasinājumu iegūšana

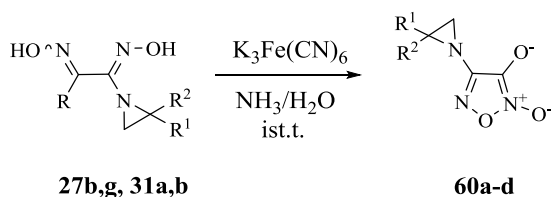
Hidrolītiska aziridīna cikla atvēršanās reakcija tika novērota savienojuma **43** reakcijā ar 2 M sērskābi. Rezultātā veidojās *N'*-hidroksi-*N*-(3-hidroksibiciklo[2.2.1]heptān-2-il)benzimidamīds (**59a**) ar 80% iznākumu (1.31. att.), taču, reakciju veicot atšķaidītā sālsskābē, veidojās produktu **59a** un **59b** maisījums.



skābe: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2M), ar atteci, 1h, **59a** (80%);  
skābe: HCl (10-15%), ist.t., 2h, **59a** (32%) un **59b** (46%).

### 1.31. att. Hidrolītiska aziridīna cikla atvēršana savienojumā **43**

*Eremeev et al* pētīja aziridīn-1-ilglioksīmu **27b,g** un **31a,b** reakciju ar kālija heksacianoferātu amonjaka ūdens šķīdumā (1.32. att.). Šajos apstākļos autori novēroja furoksānu **60a-d** veidošanos (1.14.tabula).<sup>56</sup>



### 1.32. att. Furoksānu **60a-d** atvasinājumu iegūšana

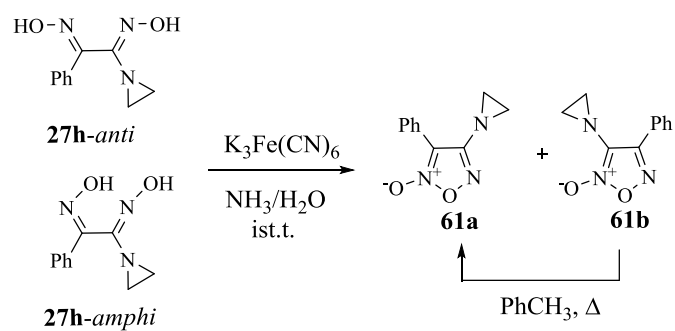
1.14. tabula

Furoksāna **60** atvasinājumi

Nr.	Produkts <b>60</b>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1.	<b>a</b>	aziridīn-1-il	H	H
2.	<b>b</b>	Me	Me	H
3.	<b>c</b>	Me-aziridīn-1-il	Me	H
4.	<b>d</b>	Me	H	H

Divu (aziridīn-1-il)furoksānu reģioizomēru **61a** un **61b** veidošanās ar attiecību 3:1 tika novērota, oksidējot (1*Z*,2*Z*)-1-(aziridīn-1-il)-2-feniletān-1,2-diondioksīmu (**27h**, *anti*) (1.33. att.). Termodinamiski mazāk stabilais izomērs **61b** izomerizējās par savienojumu **61a** vārošā toluolā.





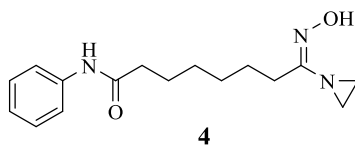
### 1.33. att. Furoksānu **61a** un **61b** iegūšana

Ar nolūku noskaidrot aziridīn-1-ilglioksīmu **27** konfigurācijas ietekmi uz furoksānu **61** izomēru attiecību, autori realizēja oksidēšanu, izmantojot tikai izomēru **27h-amphi**. Rezultātā veidojās abi furoksānu reģioizomēri **61a,b**, kas ir pretrunā ar 1970. gadā publicētajiem *Gagneux* un *Meier* rezultātiem.<sup>63</sup>

# REZULTĀTU IZVĒRTĒJUMS

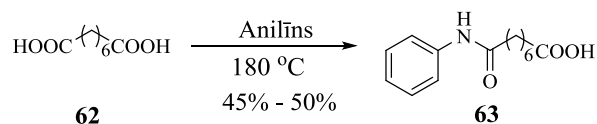
## 2.1 Aziridīnoksīmu saturošu inhibitoru sintēze

Iepriekšējie pētījumi parādīja, ka aziridīnoksīma funkciju saturošiem savienojumiem piemīt augsta citotoksiskā aktivitāte uz dažādam šūnu līnijām, t.s. cilvēka fibrosarkomām.<sup>64</sup> Aziridīnoksīma grupai piemīt strukturāla līdzība ar hidroksāmskābes funkciju, un tā var kompleksēties ar metāla (piemēram, nikelā vai palādijs) joniem (1.22. att.). Mēs izvirzījām hipotēzi, ka aziridīnoksīma grupas kompleksēšanās ar metāla jonu cinka metaloproteināzēs palielinātu aziridīna elektrofilītāti, kas veicinātu cikla atvēršanu ar enzīma nukleofilajām grupām. Tas rosināja mūs izveidot HDAC inhibitora – Vorinostata (**3**) strukturālos analogus (**4**) (2.1. att.), kuros hidroksāmskābe ir aizstāta ar aziridīnoksīma funkciju un pārbaudīt šo savienojumu aktivitāti.



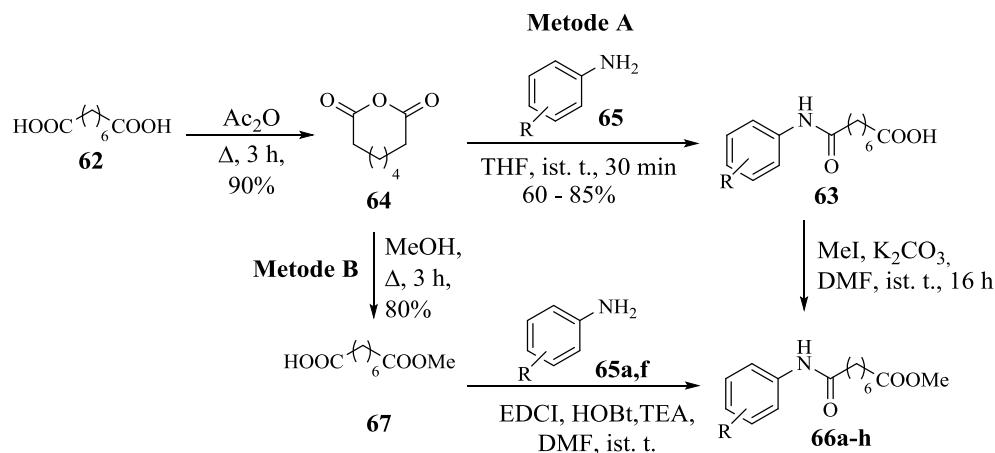
### 2.1. att. Vorinostata strukturālais analogs **4**

Mērķa savienojumu **4** sintēzi sākām no komerciāli pieejamas oktāndikarbonskābes **62**. Sākotnēji starpproduktu – oktāndiskābes monoanilīdu **63** mēģinājām iegūt pēc *Stowell et al* piedāvātās metodes (2.2. att.).<sup>65</sup> Anilīnu kopā ar oktāndiskābi karsējām 180 °C temperatūrā, tā rezultātā veidojās monoanilīda **63** un dianilīda maisījums, kurus atdalījām bāziskās-skābās ekstrakcijas procesā.



### 2.2. att. Monoanilīda **63** sintēze

Tā kā vēlamā starpprodukta **63** iznākums bija ap 50%, nolēmām izmantot *A. Mai* procedūru (2.3. att.).<sup>66</sup> Saskaņā ar to sākumā ieguvām oktāndikarbonskābes anhidrīdu **64**, kuru pakļāvām reakcijai ar anilīnu vai anilīna atvasinājumiem **65** (metode A).



### 2.3. att. Starpproduktu 66a-h sintēze

Šajā reakcijā novērojām monoanilīdu **63** un dianilīdu (ap 10%) veidošanos. Dianilīdi veidoja nogulsnes reakcijās gaitā, tāpēc reakcijas maisījuma filtrēšana ļāva atbrīvoties no nevēlamā blakusprodukta. Vēlami monoamīdi **63** tika iegūti ar labu iznākumu, un tos pakļāvām esterificēšanas reakcijai ar metiljodīdu kālija karbonāta klātienē. 4-Feniloksianilīnam (**65f**) piemīt ļoti vāja šķīdība THF, līdz ar to cikliskā skābes anhidrīda uzšķelšanas reakciju nevarēja veiksmīgi realizēt. Anilīdu **66f** ieguvām pēc modificētas pieejas (Metode B). Tā iekļāva cikliskā anhidrīda **64** uzšķelšanu ar metanolu un tālāku monometilestera **67** reakciju ar 4-feniloksianilīnu (**65f**), izmantojot EDCI, HOBT un TEA. Pēc metodes B ieguvām arī starpproduktu **66a**, kas saturēja neaizvietotu anilīnu (2.1. tabula).

### 2.1. tabula

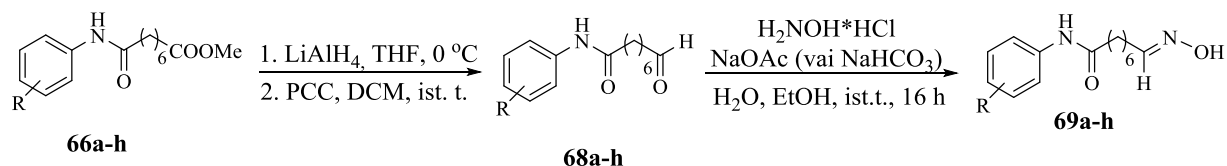
**Oktānamīda estera 66 atvasinājumi**

Nr.	R	Produkts <b>66</b> (iznākums, %)	Metode
1.	H	<b>a</b> (77)	B
2.	4-F	<b>b</b> (40)*	A
3.	4-Me	<b>c</b> (36)*	A
4.	4-Me	<b>d</b> (42)*	A
5.	2,6-Me <sub>2</sub>	<b>e</b> (72)*	A
6.	4-OPh	<b>f</b> (62)	B
7.	4-OEt	<b>g</b> (62)*	A
8.	4-Et	<b>h</b> (23)*	A

\*rēķinot no savienojuma **64**

Iegūtos esterus **66a-h** divu pakāpju sintēzē transformējām par aldehīdiem **68** (2.4. att.). Sākotnēji estera funkciju reducējām par spirtu ar litija alumīnija hidrīdu, kam sekoja oksidēšana

ar piridīnija hlorhromātu (PCC). Aldehīdus **68a-h** pārvērtām par aldoksīmiem **69a-h** reakcijā ar hidroksilamīna hidroģēnhlorīdu nātrija hidroģēnkarbonāta vai nātrija acetāta klātienē ūdens-etanola maisījumā (2.2. tabula).



#### 2.4. att. Aldoksīma atvāsinājumu **69** iegūšana

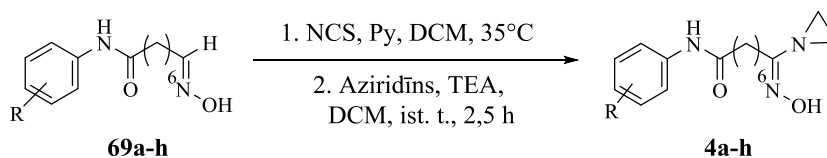
2.2. tabula

Oktānamīda atvasinājumi **68, 69** un to iznākumi

Nr.	R	Produkts <b>68</b> (iznākums, %)*	Produkts <b>69</b> (iznākums, %)
1.	H	<b>a</b> (58)	<b>a</b> (89)
2.	4-F	<b>b</b> (49)	<b>b</b> (56)
3.	4-Me	<b>c</b> (48)	<b>c</b> (74)
4.	4-OMe	<b>d</b> (45)	<b>d</b> (72)
5.	2,6-Me <sub>2</sub>	<b>e</b> (31)	<b>e</b> (86)
6.	4-OPh	<b>f</b> (28)	<b>f</b> (92)
7.	4-OEt	<b>g</b> (20)	<b>g</b> (90)
8.	4-Et	<b>h</b> (66)	<b>h</b> (75)

\*rēķinot no savienojuma **66a-h**

Atslēgas stadija aziridīn-1-il-oksīmu **4** sintēzē ir aziridīna cikla ievadīšana.<sup>67</sup> Lai realizētu šo pārvērtību, vispirms, hlorējot oksīmus ieguvām hidroksimidoilhlorīdus, kurus bez izdalīšanas pakļāvām reakcijai ar trietilamīna pārākumu, lai *in situ* ģenerētu *N*-oksīdu. Aziridīna pievienošana reakcijas maisījumam ļāva mums iegūt mērķa savienojumus **4a-h** ar zemiem vai apmierinošiem iznākumiem (2.5. att., 2.3. tabula). Zemu produktu iznākumu pēdējā stadijā var skaidrot ar aziridīna cikla zemo stabilitāti un tendenci atvērties silikagēla klātienē, kā arī spēju polimerizēties.<sup>68</sup>

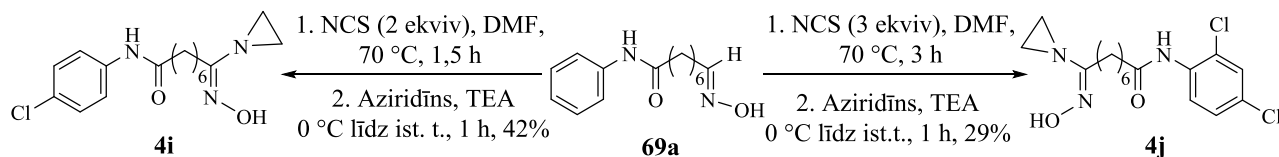


#### 2.5. att. Mērķa savienojumu **4a-h** iegūšana

## Aziridīnamidoksīmu atvasinājumi 4a-h un to iznākumi

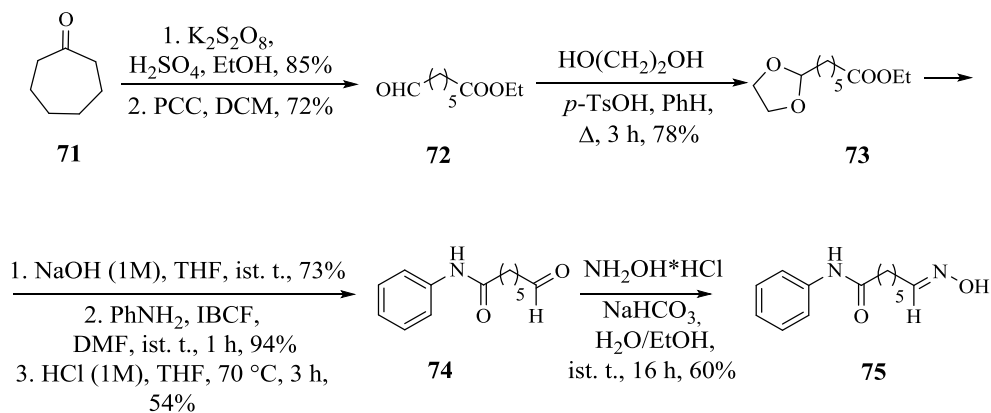
Nr.	R	Produkts <b>4</b> (iznākums, %)
1.	H	<b>a</b> (26)
2.	4-F	<b>b</b> (41)
3.	4-Me	<b>c</b> (11)
4.	4-OMe	<b>d</b> (70)
5.	2,6-Me <sub>2</sub>	<b>e</b> (16)
6.	4-OPh	<b>f</b> (4)
7.	4-OEt	<b>g</b> (42)
8.	4-Et	<b>h</b> (42)

Aldoksīma **69a** hlorēšanas reakciju realizējām DMF, izmantojot *N*-hlorsukcinimīdu (2.6. att.). Pēc aziridīna pievienošanas un produkta izolēšanas, ieguvām mono- vai dihlorētu gala produktu **4i** vai **4j**, atkarībā no izmantotā NCS daudzuma.<sup>69</sup>

2.6. att. Mērķa savienojumu **4i** un **4j** iegūšana

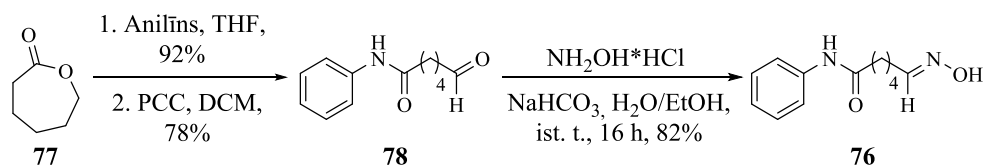
Ar nolūku paplašināt jauniegūto savienojumu klāstu, kas ļautu izdarīt secinājumus par struktūras – aktivitātes likumsakarībām, sintezējām analogus ar dažādu alifātiskās ķēdes garumu, kā arī ieguvām analogus ar aizvietotu aziridīna gredzenu. Analogu sintēzei izmantojām iepriekš izstrādāto stratēģiju, kurā aziridīn-1-iloksīmu funkciju ievadījām pēdējā sintēzes stadijā.

Analogu **70** sintēzi realizējām, sākot no komerciāli pieejamā cikloheptanona **71**, kuru pakļāvām reakcijai ar kālija persulfātu etanolā, sērskābes klātienē.<sup>70</sup> Iegūto 6-hidroksiheptānkarbonskābes esteru **72** oksidējām ar PCC un aldehīda grupu aizsargājām ar 1,3-dioksalāna aizsarggrupu **73**. Bāziskā hidrolīze un tai sekojoša sametināšanās reakcija ar anilīnu, izmantojot jaukto anhidrīdu metodi, un aizsarggrupas nošķelšana skābā vidē ļāva iegūt starpproduktu **74**.<sup>71</sup> Aldehīdam **74** reaģējot ar hidroksilamīnu nātrija hidroģēnkarbonāta klātienē, ieguvām aldoksīmu **75** (2.7. att.).



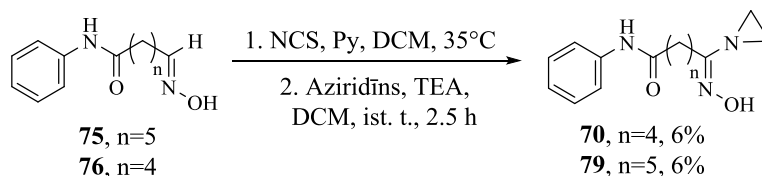
### 2.7. att. Aldoksīma 75 iegūšana

Starpproduktu **76** sintēzi sākām no  $\epsilon$ -kaprolaktona (**77**), kuru uzšķēlām ar anilīnu. Iegūtajā starpsavienojumā spirta funkciju oksidējam ar  $\text{PCC}$  un aldehīdu **78** pārvērtām par aldoksīmu **75** pēc iepriekš aprakstītas procedūras (2.8. att).<sup>72</sup>



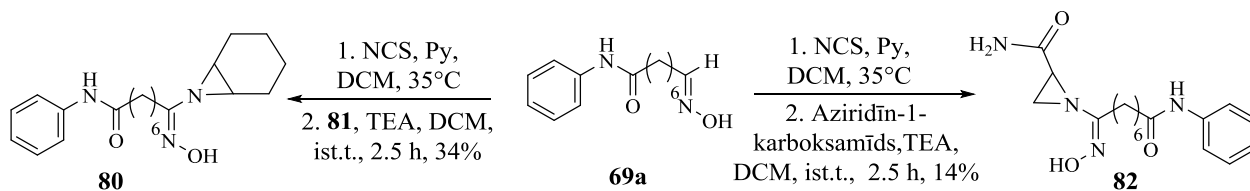
### 2.8. att. Aldoksīma 76 iegūšana

Aldoksīmus **75** un **76** hlorējām ar  $\text{NCS}$  un iegūtos hidroksimidoilchlorīdus *in situ* pārvērtām par nitrila  $N$ -oksīdiem, apstrādājot reakcijas maisījumu ar trietilamīna pārākumu. Pēc aziridīna pievienošanās, izdalījām mērķa savienojumus **70** un **79** ar zemiem iznākumiem (2.9. att.).



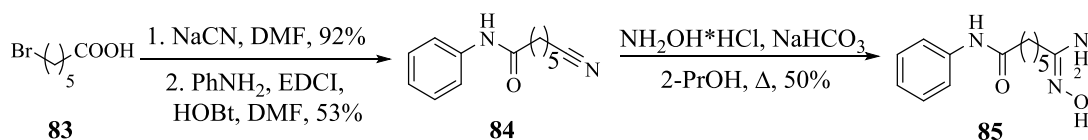
### 2.9. att. Mērķa savienojumu 70 un 79 iegūšana

No literatūras datiem ir zināms, ka aizvietotiem aziridīniem bicikliskās sistēmās ir augstākā stabilitāte vāju nukleofilu klātienē. Analogu **80** ar 7-azabicyklo[4.1.0]heptānu<sup>73,74</sup> **81** aziridīna vietā ieguvām pēc iepriekš iztrādātas pieejas no oksīma **69a**. Līdzīgi ieguvām analogu **82** ar aziridīn-2-karboksamīda grupu (2.10. att.).



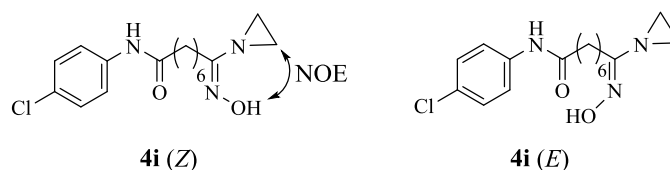
### 2.10. att. Mērķa savienojumu **80** un **82** iegūšana

Struktūras – aktivitātes likumsakarību pētījumiem savienojumu bibliotēku papildinājām ar amīdoksīmu **85**. Tā sintēzi sākām no komerciāli pieejamās 6-bromoheksānskābes (**83**) (2.11. att). Reakcijā ar nātrija cianīdu to transformējām par 6-cianoheksānskābi, kuru tālāk pakļāvām sametināšanas reakcijai ar anilīnu EDCI un HOBt klātienē. Iegūto starpproduktu **84** transformējām par amīdoksīmu **85** ar kvantitatīvu iznākumu, vārot to izopropanolā hidroksilamīna un nātrija karbonāta klātienē.



### 2.11. att. Amīdoksīma **85** iegūšana

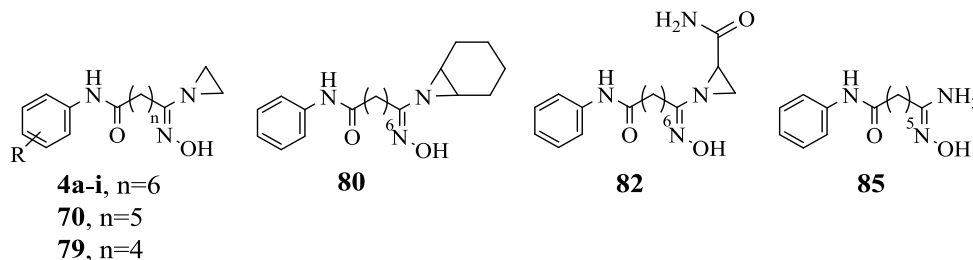
Amīdoksīmi var veidot konfiguracionāli stabilus izomērus<sup>75</sup>. Visi mūsu iegūtie aziridīn-1-iloksīmi **4a-j**, **70** un **79** selektīvi veidojās kā viens izomērs. Lai noskaidrotu tā konfigurāciju, veicām viena izvēlēta savienojuma **4i** konfigurācijas noteikšanu ar 2D-KMR NOESY spektra palīdzību. Saskāņā ar tajā novēroto *NOE* mijiedarbību starp hidroksilprotonu un aziridīna cikla metilēn- grupas protonu, var izdarīt secinājumus par amīdoksīma funkcijas (*Z*)-konfigurāciju (2.12. att.).



### 2.12. att. Aziridīn-1-iloksīma **4i** iespējamās konfigurācijas

Visiem iegūtajiem aziridīn-1-iloksīmu atvasinājumiem **4a-i**, **70**, **79**, **80**, **82** un amīdoksīmam **85** noteicām citotoksisko aktivitāti uz dažādām šūnu līnijām. Salīdzinājumam citotoksiskās aktivitātes tabulā iekļāvām arī Vorinostata **3** citotoksicitātes datus (2.4. tabula).

Vorinostata (**3**) un tā analoģu toksicitāte (LD<sub>50</sub>) un citotoksitāte (IC<sub>50</sub>) savienojumiem **4**, **70**, **79**, **80**, **82** un **85**



Nr.	Savienojums	R	LD <sub>50</sub> , mg/kg * 3T3 (NS)	IC <sub>50</sub> , μM**			
				HT1080		MG22A	
				KV	MTT	KV	MTT
1.	<b>3</b>	-	NT	2.4***	2.4***	NT	NT
2.	<b>4a</b>	H	87	0.6	0.3	1.0	1.0
3.	<b>4b</b>	4-F	92	0.9	0.6	0.6	0.9
4.	<b>4c</b>	4-Me	121	0.8	1.3	3.6	4.6
5.	<b>4d</b>	4-OMe	128	1.0	1.3	2.7	2.7
6.	<b>4e</b>	2,6-Me <sub>2</sub>	482	>10	>10	>10	>10
7.	<b>4f</b>	4-OPh	153	NT	1.0	NT	0.5
8.	<b>4g</b>	4-OEt	233	NT	1.5	NT	3.0
9.	<b>4h</b>	4-Et	146	NT	0.9	NT	0.6
10.	<b>4i</b>	4-Cl	97	0.6	0.6	1.2	0.9
11.	<b>4j</b>	2,4-Cl <sub>2</sub>	358	>10	NT	>10	NT
12.	<b>70</b>	H	220	7.3	3.6	7.3	3.6
13.	<b>79</b>	H	261	3.8	3.8	7.6	7.7
14.	<b>80</b>	-	275	>10	>10	>10	>10
15.	<b>82</b>	-	2191	>10	NT	>10	NT
16.	<b>85</b>	-	873	>10	>10	>10	>10

\*LD<sub>50</sub>, mg/kg - vidēja letālā deva jeb vielas daudzums, kas izraisa nāvi 50% no pārbaudē izmantotajām šūnām;

\*\*IC<sub>50</sub>, μM vielas koncentrācija, kas izraisa nāvi 50% no pārbaudē izmantotajām šūnām;

3T3 - peles embrija fibroblasti, veselas šūnas; HT1080 - cilvēka plaušu fibrosarkoma; MG22A - peles hepatoma. Vizualizācija: NS – neitrālais sarkanais; MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H tetrazolija bromīds; KV- kristālvioletais; NT – nav testēts;

\*\*\*no literatūras <sup>76</sup>

No 2.4. tabulā apkopotajiem bioloģiskās aktivitātes datiem redzams, ka analogi **4a-d** uzrāda



augstu citotoksisko aktivitāti uz audzēja šūnām, kas HT1080 šūnu gadījumā bija nedaudz augstāka par Vorinostatu **3**. Ja alifātiskās ķēdes garums  $n=6$ , tad aizvietotāju ievadīšana anilīna gredzena 4-pozīcijā ļāva saglabāt augstu aktivitāti, kas tikai nedaudz mainās atkarībā no aizvietotāja. Savienojumi **4e**, **4j** ar diviem aizvietotājiem pie fenilfunkcijas bija neaktīvi. Savienojumiem **70** un **79** ar saīsinātu alifātiskās ķēdes garumu  $n=4, 5$  novērojām strauju citotoksiskās aktivitātes kritumu salīdzinājumā ar analogu **4a** ( $n=6$ ). Aizvietotāji pie aziridīna cikla negatīvi ietekmēja gala savienojuma aktivitāti (savienojumi **80** un **82**). Aziridīna cikla aizvietošana ar amidoksīma funkciju (savienojums **85**) padarīja savienojumu pilnīgi neaktīvu (savienojums **70** ar aziridīna funkciju ir aktīvs). Saskaņā ar ICCVAM un NICEATM protokoliem<sup>77</sup> noteicām savienojumu LD<sub>50</sub> uz šūnu kultūras 3T3. Pēc toksicitātes savienojumus **4a-d**, **4f**, **4h** un **4i** klasificējam kā toksiski (LD<sub>50</sub> <25-200 mg/kg), savienojumi **4e**, **4g**, **4j**, **70**, **79**, **80** un **85** ir kaitīgi (LD<sub>50</sub> <200-2000 mg/kg), savukārt, savienojums **82** ir nekaitīgs, jo LD<sub>50</sub> > 2000 mg/kg.

Vairākiem Vorinostata **3** analogiem (**4a,b,d,f,g,h,i**) pārbaudījām histondeacetilāzes (HDAC) inhibēšanas aktivitāti, izmantojot Vorinostatu kā references inhibitoru. Tam nolūkam izmantojām HDAC fluorometrisko šūnu aktivitātes testu (*HDAC FLUOR DE LYS*<sup>®</sup>), kas nodrošina informāciju par deacetilāzes aktivitāti uz dažādām HDAC formām (2.5. tabula).

2.5. tabula

**Aziridīn-1-iloksīmu HDAC inhibitorā aktivitāte**

Nr.	Savienojums	IC <sub>50</sub> , μM, 30 min inkubēšana	IC <sub>50</sub> , μM, 3 h inkubēšana
1.	<b>3</b>	0.1	0.1
2.	<b>4a</b>	61	70
3.	<b>4b</b>	36	37
4.	<b>4d</b>	13	20
5.	<b>4f</b>	32	31
6.	<b>4g</b>	28	30
7.	<b>4h</b>	40	24
8.	<b>4i</b>	177	NT

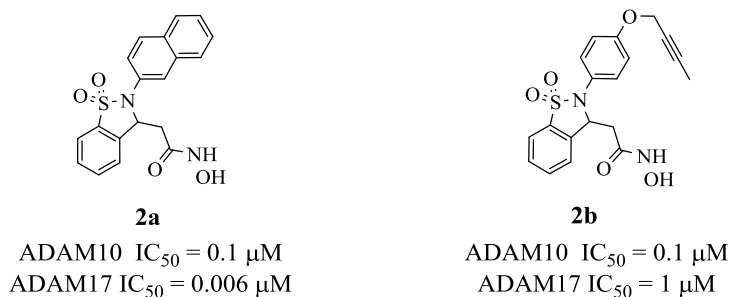
Iegūtie rezultāti parādīja, ka Vorinostata analogu IC<sub>50</sub> vērtības ir ievērojami augstākas par references inhibitoru. Zemā HDAC inhibitorā aktivitāte norāda, ka HDAC nav farmakoloģiskais mērķis, kas atbildīgs par augsto aziridīn-1-iloksīmu citotoksisko aktivitāti.

## 2.2 ADAM10 un ADAM17 inhibitoru sintēze

Palielināta ADAM ekspresija ir novērota vairākos vēža tipos, astmas, reimotoidālā artrīta u.c. Literatūras apskatā ir aplūkoti bioloģiskie procesi, kas iesaistās ļaundabīgu audzēju

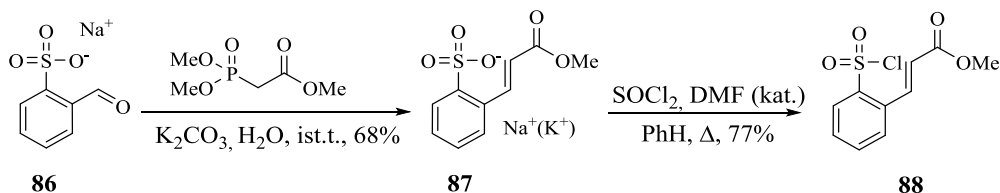
veidošanās procesā. Īpaša uzmanība pievērsta ADAM10 un ADAM17 potenciālam nošķelt ligandus, kas stimulē šūnu proliferāciju, migrāciju un invāziju: *Notch* signālceļu, *EGFR/HER* tipa ligandi un *TNF* faktors.<sup>78</sup>

Mūsu mērķis bija atrast jaunus, patentējamus ADAM10/17 inhibitorus ar augstu selektivitāti attiecībā pret pārējiem ADAM grupas enzīmiem. Iepriekšējos pētījumos mūsu grupā tika izveidota benzosultāma ciklu saturošo hidroksāmskābes analogu sērija, no kuras divus pārstāvjus (**2a** un **2b**) identificējām kā ADAM10/17 inhibitorus.<sup>79</sup> Tos izvirzījām kā perspektīvus bāzes savienojumus struktūras optimizēšanai ar mērķi sasniegt iespējami augstu ADAM10/17 inhibitoro aktivitāti. Darbā gaitā saglabājām neskartu benzosultāma ciklu un cinka jonu helatējošo hidroksāmskābes funkciju (2.13. att.).



### 2.13.att. Struktūras optimizācijai izvēlētie ADAM10/17 inhibitori

Mērķa savienojumu sintēzi sākām no komerciāli pieejamas *O*-formilbenzosulfonskābes nātrija sāls **86**.<sup>80</sup> *Horner-Wadsworth-Emmons* reakcijā ar trimetilfosfonoacetātu ieguvām *O*-(metoksikarboniletenil)benzosulfonskābes sāli **87**. No tā savukārt DMF katalizētā reakcijā ar tionilhlorīda pārākumu ieguvām benzosulfonskābes hlorīdu **88** ar kopējo iznākumu 52% (2.14. att.). Iegūto produktu izmantojām kā būvbloku **2a** un **2b** analogu sērijas izveidošanai.

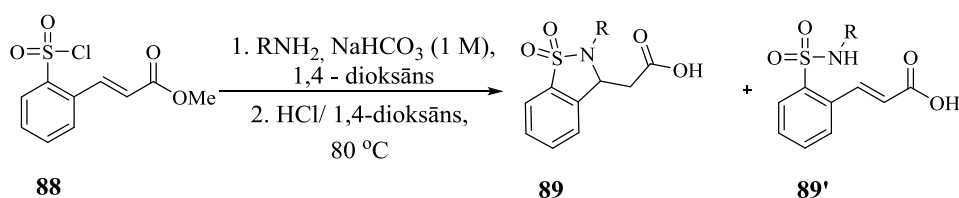


### 2.14. att. Būvbloka 88 sintēze

**Savienojumu 2a analogu sintēze un to ADAM17 inhibitorā aktivitāte.** Lai uzlabotu savienojuma ADAM17 inhibitoro aktivitāti, nolēmām aizstāt naftalīna sistēmu ar dažādiem heterocikliem: hinolīnu, benzofurānu, benzotiazolu un hinoksalīnu, kas varētu radīt papildus

mijiedarbību ar enzīma aktīvajā centrā esošajiem aminoskābju atlikumiem. Mērķa savienojuma **2a** analogu iegūšanu realizējam trīs pakāpju sintēzē: benzosulfonskābes hlorīda reakcija ar heteroaromātiskiem amīniem, estera grupas skābā hidrolīze un hidroksāmskābes funkcijas ievadīšana.

Benzosulfonskābes hlorīdu **88** pakļāvam reakcijai ar izvēlētajiem heterocikliskajiem amīniem 1,4-dioksāna un 1 M NaHCO<sub>3</sub> ūdens šķīduma maisījumā. Rezultātā veidojās vaļējā un cikliskā produktu maisījums **89** un **89'**, kā arī novērojām daļēju estera funkcijas hidrolīzi. Iegūto produktu maisījumu bez papildus attīrīšanas pakļāvam estera grupas skābai hidrolīzei (2.15. att.). Iegūto savienojumu iznākumi apkopoti 2.6 tabulā.



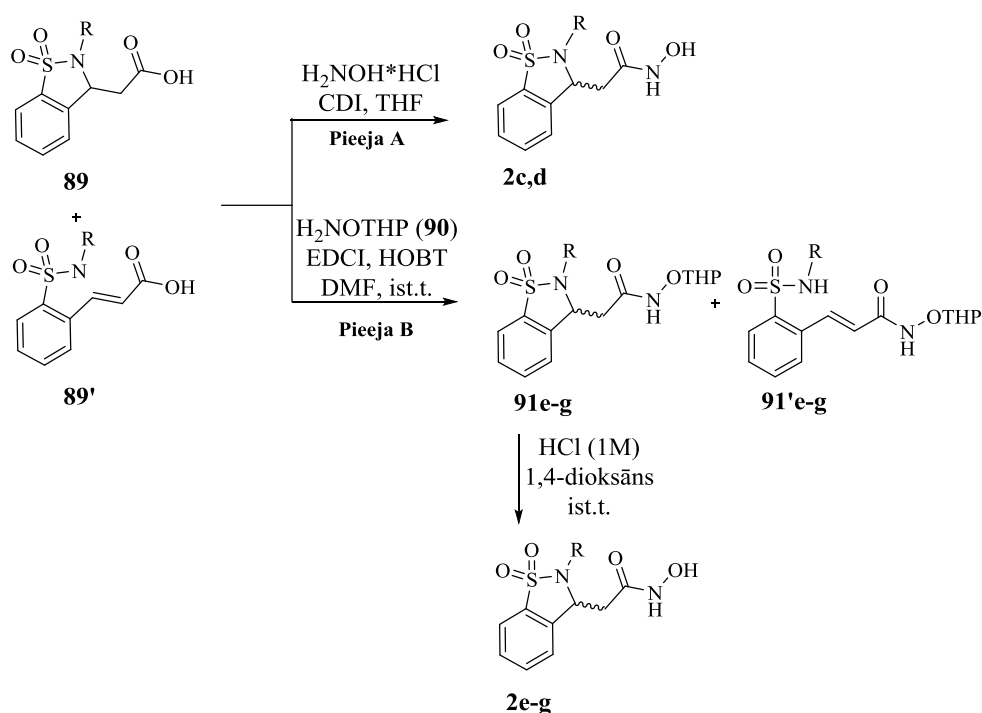
2.15. att. Benzosulfonskābes **88** hlorīda reakcija ar dažādiem amīniem

2.6. tabula

Sulfonamīdu **89**, **89'** atvasinājumi un to iznākumi

Nr.	Savienojums	R	Iznākums, %
1.	<b>89c</b>		23
2.	<b>89d</b>		25
3.	<b>89e</b>		33
4.	<b>89f</b>		47
5.	<b>89g</b>		36

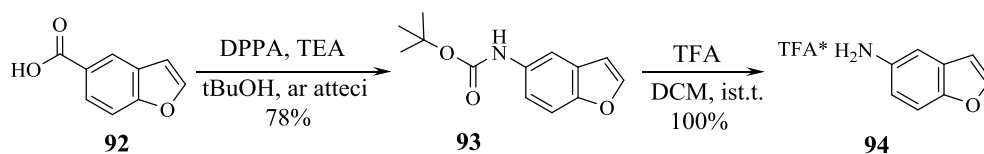
Iegūtos skābes atvasinājumus aktivējam ar karbonildiimidazola (CDI) pārākumu (3 ekvīvi) sausā THF (Pieeja A, 2.16. att.). Reakcijā ar hidroksilamīnu ieguvām hidroksāmskābes **2c** un **2d**.<sup>81</sup>



#### 2.16. att. Hidroksāmskābes atvasinājumu **2c-g** iegūšanas ceļš

Par alternatīvu pieeju (Pieeja B, 2.16 att.) vēlamo mērķa savienojumu **2e-g** iegūšanai izvirzījām literatūrā zināmu metodi, izmantojot *O*-tetrahidro-2*H*-pirān-2-ilhidroksilamīnu (THPO-NH<sub>2</sub>, **90**).<sup>79</sup> Savienojumu **91e-g** sintēzi veicām DMF, izmantojot EDCI un HOBT kā aktivēšanas reaģentus sametināšanai ar *O*-THP aizsargātu hidroksilamīnu. Iegūtos monoaizsargātus hidroksāmskābes izomērus atdalījām ar kolonnu hromatogrāfiju. Reakcija notika ar vidējiem iznākumiem, 24% (**2e**), 51% (**2f**) un 24% (**2g**). Aizsarggrupas noņemšanu realizējām skābā vidē istabas temperatūrā (2.16. att.).

Savienojumu **2f** sintēzei nepieciešamo amīnu ieguvām no komerciāli pieejamas karbonskābes, izmantojot *Curtius* reakciju (2.17. att.). Skābi **92** suspendējām *t*BuOH un pievienojām difenilfosforilazīdu (DPPA) un TEA, rezultātā ieguvām Boc-aizsargātu amīnu **93**. Produktu **93** apstrādājām ar trifluoretiķskābi istabas temperatūrā un iegūto reakcijas produktu **94** izmantojām kā būvbloku savienojumu **89f** iegūšanai saskaņā ar iepriekšminētajām (2.15. un 2.16. att.) metodēm.

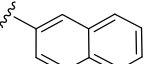
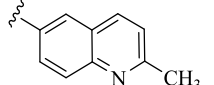
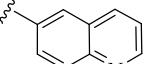
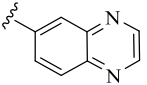
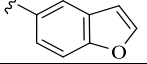
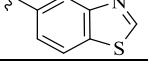


#### 2.17. att. Savienojuma **94** sintēzes ceļš

Savienojumiem **2c-g** noteicām ADAM17 inhibitoro aktivitāti (2.7. tabula). Aktīvākie šīs sērijas savienojumi bija **2d**, **2f** un **2g**, kas inhibēja ADAM17 mikromolārā koncentrācijā. Parējie šīs sērijas pārstāvji **2c** un **2e** bija neaktīvi (NA). Uzrādītā aktivitāte iegūtās sērijas savienojumiem bija zemāka kā lidersavienojumam **2a**. Tas lika domāt, ka naftalīna cikla apmaiņa pret vienu vai divu heteroatomu saturošu ciklu negatīvi ietekmē inhibitoru piesaisti aktīvajā enzīma apgabalā. Ņemot vērā, ka iegūtie savienojumi neuzrādīja daudzsološu ADAM17 inhibitoro aktivitāti, tie netika pārbaudīti uz ADAM10 un pētījumus šajā sērijā pārtraucām.

2.7. tabula

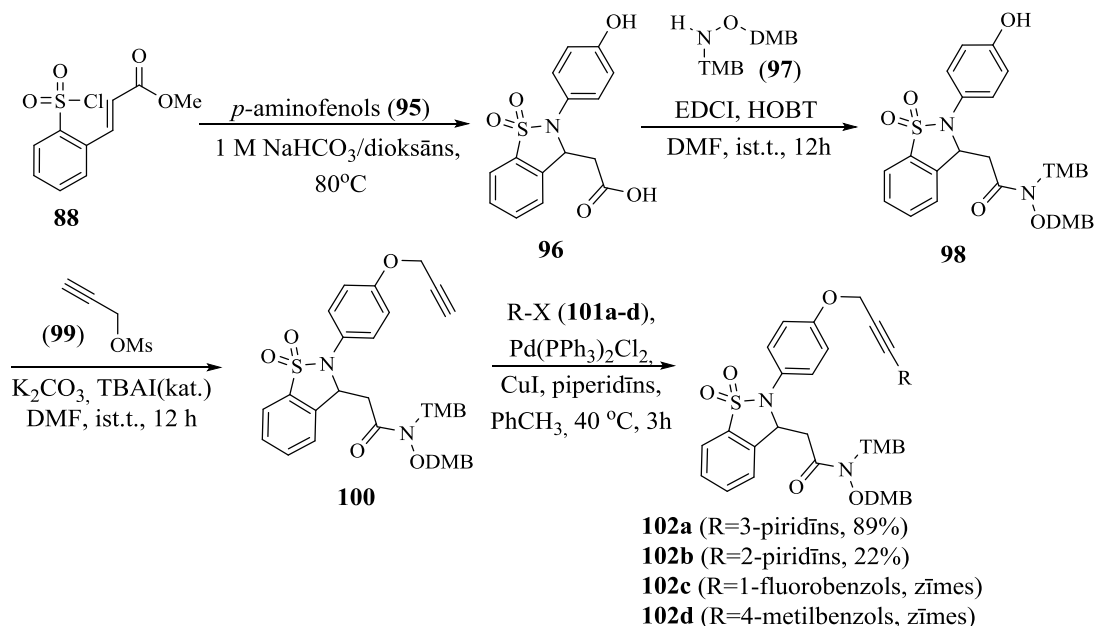
Mērķa savienojuma **2a,c-g** bioloģiskā aktivitāte uz ADAM17

Nr.	Savienojums	R	IC <sub>50</sub> , ADAM17, μM
1.	<b>2a</b>		1
2.	<b>2c</b>		NA
3.	<b>2d</b>		32
4.	<b>2e</b>		NA
5.	<b>2f</b>		5
6.	<b>2g</b>		55

**Inhibitora 2 analoģu sintēze un ADAM10/17 inhibitorā aktivitāte.** Balstoties uz literatūras datiem, secinājām, ka, modificējot lidersavienojuma **2b** butīnilgrupu, var panākt lielāku selektivitāti uz ADAM grupas enzīmiem.<sup>27</sup> Tāpēc izveidojām savienojuma **2b** analoģu sēriju, pie butīnilgrupas terminālā oglekļa ievadot aromātiskus/heteroaromātiskus kā arī alkoksiaizvietotājus.

Sākotnēji arilbutīnilgrupu saturošu analoģu sintēzei izvēlējāmies pieeju, kas balstās uz būvbloka **100** *Sonogashira* sametināšanu ar arilhalogenīdiem (2.18 att.). Šim nolūkam veicām sulfonskābes hlorīda **88** reakciju ar *p*-aminofenolu **95** NaHCO<sub>3</sub> (1M)/dioksāna maisījumā paaugstinātā temperatūrā, iegūstot starpproduktu **96**. Iegūto skābi pārvērtām par *N,O*-diaizsargātu hidroksāmskābi **98** reakcijā ar *N,O*-diaizsargātu hidroksilamīnu **97**, EDCI un HOBT klātienē DMF. *N,O*-Diaizsargāta hidroksāmskābes funkcija savienojumā **98** nodrošināja selektīvu hidroksilgrupas alkilēšanu ar mezilpropargilspirtu **99** nākošajā sintēzes stadijā, neskarot hidroksāmskābes *NH* vai *OH* grupas (pK<sub>a</sub> 8-10).<sup>82</sup> *N,O*-Diaizsargātu hidroksilamīnu **97** sintēzi

realizējām pēc literatūrā aprakstītās metodes.<sup>83</sup> Hidroksāmskābes aizsarggrupu izvēli pamatojām ar to, ka dimetoksibenzil- un trimetoksibenzilgrupas pēc *Barlaam* grupas publicētajiem datiem, nošķel ar atšķaidītu trifluoretiķskābi (10 vol%), kas ir svarīgi skābes jutīgu substrātu klātienē. Eksperimentāli piemeklējām labākos alkilēšanas reakcijas apstākļus *N,O*-diaizsargātās hidroksāmskābes **98** modificēšanai. Izmantojām K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 ekviv) un katalītisku tetrabutilamonija jodīda daudzumu (TBAI, 20%), kas krietni paātrināja reakcijas norisi un veicināja produkta **100** veidošanos ar augstu iznākumu.

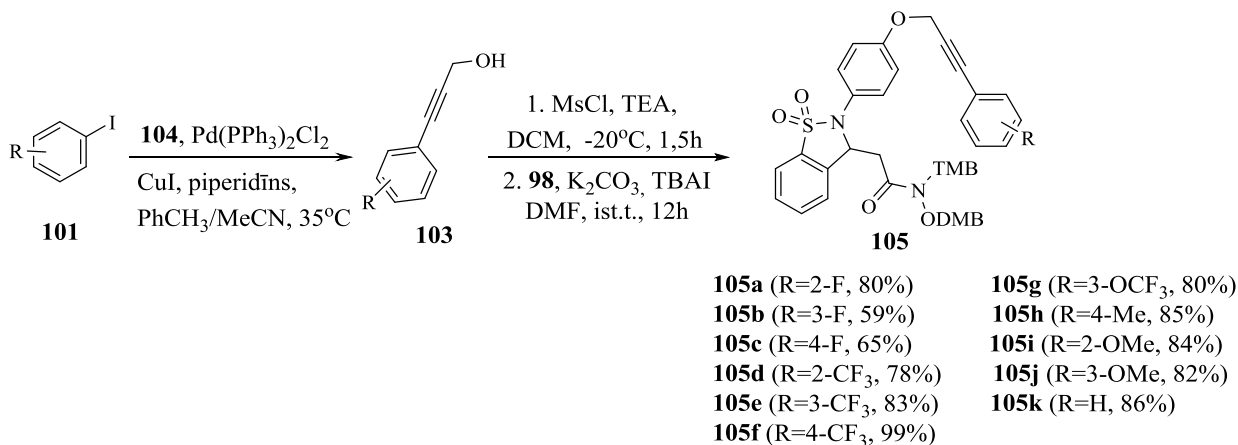


#### 2.18. att. Līdersavienojuma **2b** analogu sintēze, izmantojot *N,O*-diaizsargātu hidroksilamīnu (**97**)

Būvbloka **100** palādija katalizēta sametināšanas reakcija bija veiksmīga tikai ar 3-jodpiridīnu (**101a**), kad vēlamo produktu **102a** ieguvām ar 89% iznākumu. Sametināšanās reakcijas apstākļos ar 2-brompiridīnu (**101b**) mēs novērojām savienojuma **98** veidošanos, izejvielas **100** zīmes, kā arī citus neidentificētus blakusproduktus, bet vēlamais produkts **102b** veidojās tikai ar 22% iznākumu. Piperidīns ir pietiekoši stipra bāze ( $pK_a=11$ ), kas iespējams veicināja propargilētera nošķelšanu dotajos reakcijas apstākļos. Reakcijās ar citiem ariljodīdiem, piemēram, 1-fluoro-2-jodbenzolu (**101c**) vai 1-jodo-4-metilbenzolu (**101d**), saskaņā ar ŠH-MS datiem, veidojās tikai zīmes no produkta.

Tā kā iepriekš aprakstītā sintētiskā stratēģija neattaisnojās, izveidojām alternatīvu pieeju, kas ietvēra fenola būvbloka **98** alkilēšanu ar propargilarilatvasinājumiem **103** (2.19. att.).

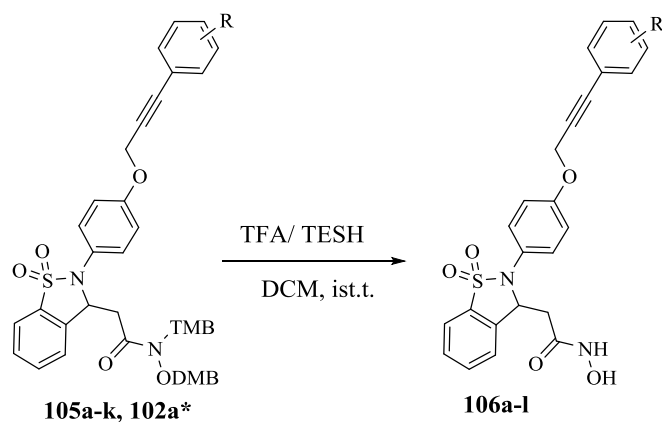
Vajadzīgos aizvietotājus pie propargilgrupas ievadijām *Sonogashira* sametināšanās reakcijā starp 2-propīn-1-olu (**104**) un komerciāli pieejamiem arilhalogēniem **101**



### 2.19. att. Mērķa savienojuma 2b analoģu sintēze

*Sonogashira* sametināšanās reakciju realizējām toluola/acetoniitrila maisījumā Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> katalizatora klātbūtnē piperidīna pārākumā (2 ekviv) un izdalījām produktus **103** ar labiem iznākumiem (74-99%). Tālāk iegūtus propargilspirta atvasinājumus pakļāvam reakcijai ar metānsulfonskābes hlorīdu bāzes klātienē. *O*-Mezilētais spirts kalpoja kā alkilējošais aģents reakcijā ar būvbloku **98**, veidojot starpproduktus **105** (2.19. att.).

Aizsarggrupas nošķelšana starpproduktos **105a-k** bija problemātisks posms mērķa savienojuma **2b** atvasinājumu sintēzē. Vairākos gadījumos iegūtās hidroksāmskābes nebija iespējams attīrīt no reakcijas blakusproduktiem. Aizsarggrupas nošķelšanas reakcijā novērojām *N*-TMB-hidroksāmskābes veidošanos. Pēc literatūras datiem ir zināms, ka *N*-mono aizsargātas hidroksāmskābes ir ļoti stabilas un grūti pakļaujas nošķelšanas reakcijai pat izmantojot tīru TFA.<sup>82</sup> Konstatējām, ka palielinot reakcijas laiku, attiecība starp neaizsargāto hidroksāmskābi un *N*-mono aizsargāto produktu nemainās un paliek 1:2 attiecīgi. Eksperimentējot ar reakcijas apstākļiem, novērojām, ka trietilsilāna (TESH) pievienošana lielā pārākumā (4 ekviv) pozitīvi ietekmē produkta **106** iznākumu (2.20. att., 2.8. tabula). Tā, piemēram, izejvielas **105h** gadījumā reakcijā bez TESH pievienošanas ieguvām produktu **106h** un mono aizsargātas hidroksāmskābes maisījumu, bet ar TESH piedevu tika iegūta 92% tīra hidroksāmskābe **106h**. Izmantojot procedūru ar TESH piedevu, sekmīgi izdevās iegūt tikai 6 hidroksāmskābes no 11 prekursoriem **105a-k**.



2.20. att. *N,O*-Diaizsargāto hidroksāmskābju **102a**, **105a-k** aizsarggrupas nošķelšanas reakcija

2.8. tabula

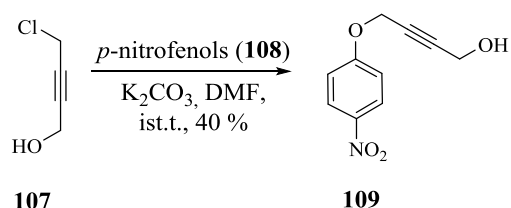
**Gala produktu **106** aizvietotāji un iznākumi**

Nr.	R	Savienojums <b>106</b> (iznākums, %)
1.	2-F	<b>106a</b> (-) <sup>a</sup>
2.	3-F	<b>106b</b> (-) <sup>a</sup>
3.	4-F	<b>106c</b> (-) <sup>a</sup>
4.	2-CF <sub>3</sub>	<b>106d</b> (77%)
5.	3-CF <sub>3</sub>	<b>106e</b> (64%)
6.	4-CF <sub>3</sub>	<b>106f</b> (-) <sup>a</sup>
7.	3-OCF <sub>3</sub>	<b>106g</b> (33%)
8.	4-Me	<b>106h</b> (54%)
9.	2-OMe	<b>106i</b> (-)
10.	3-OMe	<b>106j</b> (74%)
11.	H	<b>106k</b> (48%)
12.	<b>-(102a)</b>	<b>106l</b> (42%)

<sup>a</sup> gala produkta tīrība zemāka par 70%

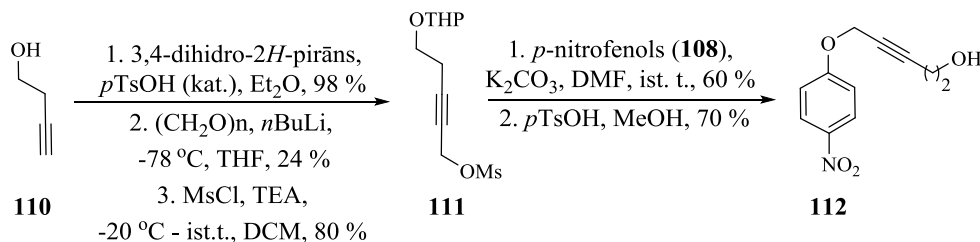
Lai iegūtu analogu **109**, pirmajā sintēzes stadijā alkilējām *para*-nitrofenolu (**108**) ar komerciāli pieejamo 5-hloropent-3-īn-1-olu (**107**) (2.21. att). Reakcija notika ar apmierinošu iznākumu.





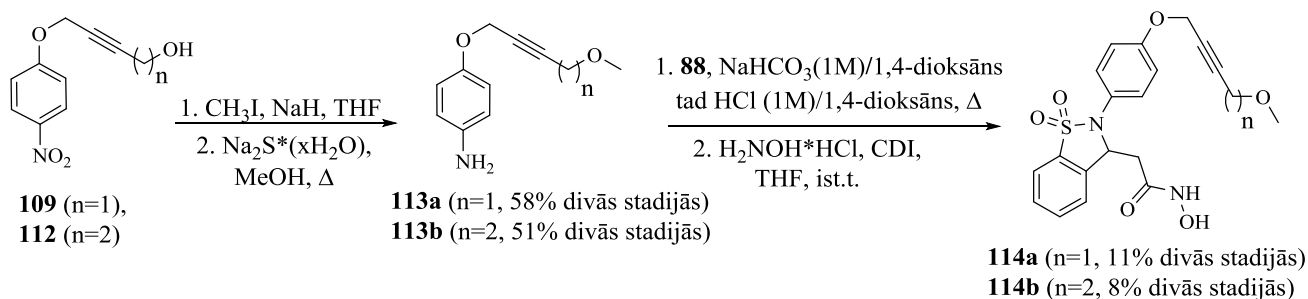
### 2.21. att. Substrāta 109 sintēze

*p*-Nitrofenola analogu **112** sintēzi realizējam no komerciāli pieejamā but-3-īn-1-ola (**110**) (2.22. att.). Hidroksilgrupu pārvērtām par tetrahidropiranilēteri maigi skābos apstākļos ar kvantitatīvu iznākumu. Iegūto produktu pakļāvēm hidroksimetilēšanas reakcijai pēc literatūrā aprakstītas metodes.<sup>84</sup> Hidroksilgrupu iegūtajā starpproduktā pārvērtām par metilsulfonāta (mezil-) atvasinājumu **111**. Veicām *p*-nitrofenola (**108**) alkilēšanas reakciju ar iegūto starpproduktu **111** un sekmīgi nošķēlām aizsarggrupu skābos apstākļos.



### 2.22. att. *p*-Nitrofenola atvasinājuma 112 sintēze

*p*-Nitrofenola analogos (**109**, **112**) brīvo hidroksilgrupu transformējam par metilēteri un nitro- grupu reducējam par amīnu ar nātrija sulfīda nonahidrātu. Rezultātā ieguvām anilīna atvasinājumus **113a,b**, kurus kondensējam ar benzosulfonskābes hlorīdu **88** pēc iepriekš aprakstītās procedūras (2.23. att.). Iegūto karbonskābi pakļāvēm sametināšanās reakcijai ar hidroksilamīna hidrogēnhlorīdu karbodiimidazola klātienē.



### 2.23. att. Inhibitora 2b analogu 114a,b sintēze ar metoksialkil-aizvietotājiem pie butīnīlgrupas

Tā kā izejvielas konversija bija kvantitatīva, zudumi, visticamāk, radās reakcijas produktu izdalīšanas un attīrīšanas gaitā.

Šī savienojumu sērija uzrādīja augstāku ADAM17 inhibēšanas spēju salīdzinājumā ar savienojuma **2a** analogiem. Taču to inhibitorā aktivitāte ir vismaz 10 reizes zemāka par inhibitora **2b** aktivitāti (2.9. tabula). Aktīvākais šīs sērijas savienojums bija savienojums **106k**, kas saturēja fenilpropargilgrupu, tomēr tā aktivitāte ir salīdzināma ar analogiem **106g,h**, kuri fenilgrupā saturēja aizvietotāju 3- vai 4- pozīcijā. 3-Pozīcijas aizvietotāja modifikācija (savienojumi **106e,j**) praktiski neietekmēja inhibēšanas aktivitāti, toties 2-vietā aizvietota analoga **106d** gadījumā bija novērojams aktivitātes kritums. Savienojumu **114a** un **114b** alkilķēdes pagarinājums par vienu metilēngrupu neietekmēja savienojumu aktivitāti. Tā kā iegūtā analoģu sērija ir ar zemāku aktivitāti salīdzinājumā ar izejas inhibitoru **2b**, tā netika pārbaudīta uz ADAM10 un pētījumi šajā sērijā tika pārtraukti.

2.9. tabula

**Mērķa savienojuma 2b analogi un ADAM17 aktivitāte**

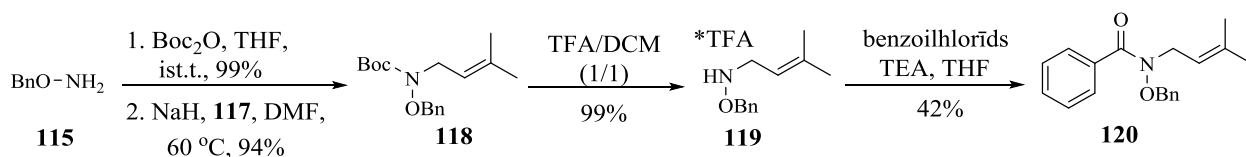
Nr.	Savienojums	IC <sub>50</sub> ADAM17 (μM)
1.	<b>2b</b>	0.006
2.	<b>106d</b>	2.40
3.	<b>106e</b>	0.34
4.	<b>106g</b>	0.15
5.	<b>106h</b>	0.41
6.	<b>106j</b>	0.15
7.	<b>106k</b>	0.079
8.	<b>106l</b>	0.44
9.	<b>114a</b>	0.34
10.	<b>114b</b>	0.14

### 2.3 Hidroksāmskābju sintēze, izmantojot skābes jutīgo *O*-2-metilprenilaizsarggrupu

Viens no promocijas darba uzdevumiem bija hidroksāmskābes saturošu savienojumu sintēze, kas ir aprakstīta iepriekšējā nodaļā. Šo savienojumu sintēzes gaitā saskārāmies ar nepieciešamību pēc efektīvas hidroksāmskābes ievadīšanas metodes, kas ļautu vispirms iegūt aizsargātu hidroksāmskābi, ko, pirms aizsarggrupas nošķelšanas, varētu viegli attīrīt ar tiešās fāzes hromatogrāfiju.

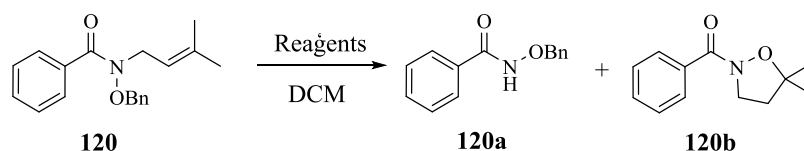
Kā darba mērķi sākotnēji izvirzījām jaunu diaizsargātu hidroksilamīna izveidi, kur hidroksilamīna *N*-aizsardzībai tiek izmantota prenilgrupa, kas ir plaši pielietota spirtu<sup>85</sup> un karbonskābju aizsargāšanai,<sup>86</sup> bet retāk amīnu aizsardzībai.<sup>87</sup> Pēc literatūras datiem ir zināms, ka

prenilaizsarggrupu var nošķelt, izmantojot dažādas Luisa skābes (piemēram,  $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ ,<sup>88</sup>  $\text{TiCl}_4$ ,<sup>89</sup>  $\text{ZrCl}_4$ ,<sup>86</sup>  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ <sup>87</sup>), stipras bāzes vai Pd katalizatorus. Kā šķelšanas blakusprodukts veidojas stabils, gaistošs diēns – izoprēns (t.virš.=34 °C). Lai noskaidrotu prenilgrupas efektivitāti, izvēlējamies *N*-prenil-*O*-benzil-hidroksāmskābes aizsarggrupu kombināciju. Modeļsubstrāta **120** sintēzi sākām no komerciāli pieejamiem *O*-benzilhidroksilamīna **115** un di-*t*-butildikarbonāta **116**. Iegūto starpproduktu deprotonējām ar stipru bāzi un alkilējām ar prenilbromīdu **117**. Iegūto produktu **118** pēc *Boc*-grupas nošķelšanas transformējām par *N*-prenil-*O*-benzilhidroksilamīnu **119**, kuru pakļāvam reakcijai ar benzoskābes hlorīdu TEA pārākumā (2.24. att.).



#### 2.24. att. *O*-Benzil-*N*-prenil-diaizsargāto hidroksāmskābes **114** iegūšanas ceļš

Iegūto *O*-benzil-*N*-prenil-diaizsargāto hidroksāmskābi **120** mēs pakļāvam vairākiem prenilgrupas nošķelšanas reakcijas apstākļiem (2.25. att., 2.10. tabula). Konstatējām, ka hidroksāmskābe **120** ir stabila dažādu Luisa skābju klātienē ( $\text{Fe}(\text{acac})_2$ ;  $\text{Fe}(\text{OAc})_2$ ;  $\text{CuCl}_2$ ;  $\text{ZnCl}_2$ ;  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ ), reducējošos un oksidējošos apstākļos ( $\text{ZnCl}_2/\text{NaBH}_4$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_2)_6$ ;  $\text{I}_2/\text{Zn}$ ), kā arī Brensteda skābes klātienē ( $\text{AcCl}/\text{MeOH}$ ).



#### 2.25. att. Prenilgrupas šķelšanas apstākļu izpēte un iespējamo produktu veidošanās

2.10. tabula

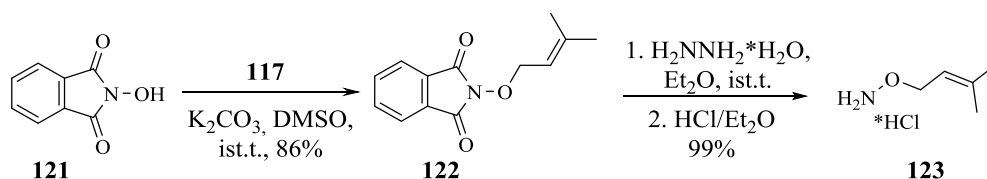
Prenilgrupas šķelšanas reakcijas apstākļi un reakcijas produktu iznākumi

Nr.	Reaģents	<b>120a</b> (izolētais iznākums, %)	<b>120b</b> (izolētais iznākums, %)
1.	$\text{AlCl}_3$ (1 ekviv)	-	66
2.	$\text{FeCl}_3$ (15 mol%)	-	60
3.	DDQ (1.2 ekviv)	58	-

Izmantojot stipras Luisa skābes tādas kā  $\text{AlCl}_3$  vai  $\text{FeCl}_3$ , novērojām, ka pamatā veidojas produkts B (66% un 60%) un citi neidentificēti reakcijas produkti. Toties, izmantojot 2,3-dihloro-

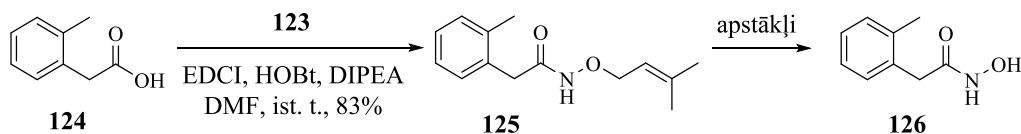
5,6-diciāno-1,4-benzohinonu (DDQ),<sup>85</sup> veidojās vēlamais produkts **120a** ar 58% iznākumu. Iegūtie rezultāti lika mums domāt par DDQ kā iespējamo *N*-prenilgrupas nošķelšanas reaģentu. Tomēr variējot DDQ daudzumu (1.0 – 3.0 ekviv) un izmantojot dažādas reakcijas piedevas (H<sub>2</sub>O, HOAc, KHSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>) un šķīdinātājus (MeOH, toluols, DMF, THF, EtOAc), mums neizdevās uzlabot produkta **120a** iznākumu. Balstoties uz šiem rezultātiem, izvirzīto prenilgrupu kā hidroksāmskābes *N*-aizsarggrupu atzinām par nederīgu.

Savus pētījumus turpinājām mono-aizsargātu hidroksāmskābju sintēzes metožu izveidei, kur prenilgrupa tiek izmantota kā *O*-aizsarggrupa. Hidroksāmskābes konstruēšanai nepieciešamo *O*-prenilhidroksilamīnu **123** izdevās iegūt *N*-hidroksiftalimīda **121** alkilēšanas reakcijā ar prenilbromīdu **117** un tai sekojošu ftalimīda šķelšanu ar hidrazīnu. Iegūto hidroksilamīnu pārvērtām par hidrogēnhlorīdu **123**, kas bija viegli uzglabājams, stabils, pulverveida savienojums (2.26 att.).



#### 2.26.att. *O*-Prenilhidroksilamīna hidrogēnhlorīda **123** iegūšana

Modeļsubstrāta konstruēšanai izmantojām toluoletiķskābi (**124**), kuru sametinājām ar *O*-prenilhidroksilamīnu **123** EDCI, HOBt un DIPEA klātienē (2.27 att.). Iegūto monoaizsargāto hidroksāmskābi **125** pakļāvām dažādiem reakcijas apstākļiem, iegūtie rezultāti ir apkopoti 2.11. tabulā.



#### 2.27. att. Modeļsubstrāta **124** iegūšana un aizsarggrupas noņemšana

2.11. tabula

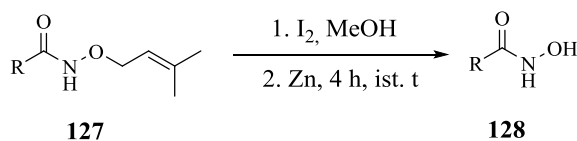
#### Prenilgrupas šķelšanas reakcijas apstākļu pētījums

Nr.	Reakcijas apstākļi	ŠH-MS rezultāti
1.	CAN (1.2 ekviv), MeCN/H <sub>2</sub> O, ist.t., 12 h	stabils
2.	CeCl <sub>3</sub> , NaI, MeCN, ist. t., 12 h	stabils
3.	TsOH, MeOH, ist. t., 12 h	stabils

Nr.	Reakcijas apstākļi	ŠH-MS rezultāti
4.	AcOH, H <sub>2</sub> O, THF, ist. t., 12 h	stabils
5.	HCl/1,4-dioksāns, ist. t., 12 h	stabils
6.	[Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] (5 mol%), DMBA, MeOH, 24 h ar attecī	stabils
7.	FeCl <sub>3</sub> (10 mol%), DCM, ist.t., 12 h	Produktu maisījums
8.	BF <sub>3</sub> *Et <sub>2</sub> O (1 ekviv), DCM, ist.t., 4 h	Produktu maisījums
9.	DDQ (1.2 ekviv), DCM/H <sub>2</sub> O, ist.t., 12 h	Produktu maisījums ( <b>126</b> saturs 7%)
10.	TFA (10 mol%), DCM, ist.t., 12 h	Produktu maisījums ( <b>126</b> saturs 13%)
11.	TMSOTf (10 mol%), DCM, ist.t., 12h	Produktu maisījums ( <b>126</b> saturs 31%)
12.	I <sub>2</sub> ; Zn, MeOH, ist.t., 12 h	Produkts <b>126</b> 100% (izolētais iznākums 80%)

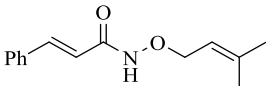
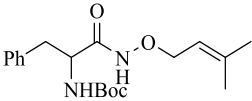
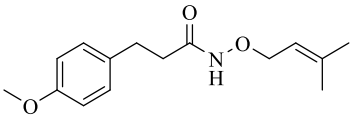
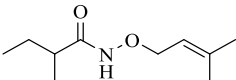
*O*-Prenilaizsargāta hidroksāmskābe **125** ir stabila vairāku šķelšanas aģentu klātienē. Piemēram, oksidējošo aģentu klātienē (1. un 2. ieraksts), skābes klātienē (3.-5. ieraksts) un *Tsuji-Trost* reakcijas apstākļos (6. ieraksts). Luisa skābes klātienē (7. un 8. ieraksts) veidojas produktu maisījums, kuru mēs neidentificējām. Konstatējam, ka, izmantojot DDQ (9. ieraksts),<sup>85</sup> 12 h laikā veidojas 7% vēlamā produkta **126**, arī TFA vai TMSOTf (10. un 11. ieraksts) klātienē novērojām produkta veidošanos attiecīgi 13% un 31% pēc ŠH-MS datiem. Pilnīgu izejvielas konversiju par produktu **126** sasniedzām, izmantojot kristālisko jodu un cinku (12. ieraksts). Sākotnēji aizsargāto hidroksāmskābi **125** apstrādājām ar jodu metanolā, veidojot jodētu starpsavienojumu. (LC-MS dati liecināja, ka reakcijas gaitā notiek prenilgrupas jodēšana). To apstrādājām ar cinku un reakcijas maisījumu filtrējām caur celītu. Pēc filtrāta ietvaicēšanas, ieguvām tīru vēlamu produktu **126** ar 80% iznākumu.

Metode ar I<sub>2</sub>/Zn/MeOH<sup>90,91</sup> sistēmu *O*-prenilgrupas aizsardzības nošķelšanai hidroksāmskābēs likās daudzsoļa. Tāpēc, lai izpētītu substrātu klāstu, sintezējām dažādas *O*-prenilaizsargātas hidroksāmskābes **127** (R=Ar, alkil), kuras pakļāvām nošķelšanas reakcijai (2.28. att.). Iegūtie dati ir apkopoti 2.12. tabulā.



2.28. att. Aizsarggrupas nošķelšanas reakcija

Prenilgrupas šķelšanas reakcija ( $I_2/Zn/MeOH$ ) uz dažādiem substrātiem

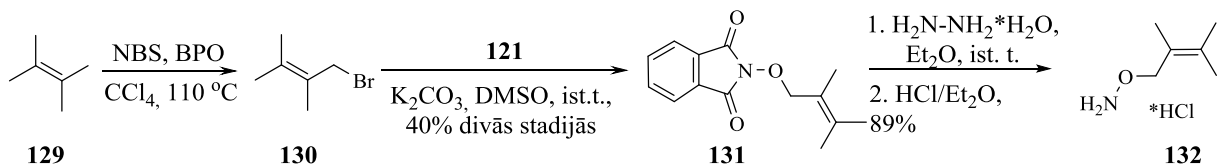
Nr.	Produkts	<i>O</i> -Prenilaizsargāta hidroksāmskābe	<b>128</b> iznākums, %
1.	<b>128a</b>		Produktu maisījums
2.	<b>128b</b>		Produktu maisījums
3.	<b>128c</b>		45
4.	<b>128d</b>		40

Diemžēl izvirzītā metode nav efektīva nepiesātinātu un *N*-Boc aizsargātu substrātu klātienē (1. un 2. ieraksts). Strukturāli vienkāršāku substrātu gadījumā iznākumi bija zemi (3. un 4. ieraksts). Balstoties uz iegūtajiem datiem, secinājām, ka metodei ir būtiski substrātu klāsta ierobežojumi, tāpēc darbu pie *O*-prenilgrupas izmantošanas hidroksāmskābes aizsardzībai pārtraucām.

Mēs pievērsām uzmanību 2,3-dimetilbut-2-ēn-1-ilgrupai (2-metilprenilgrupai), kas, pēc mūsu domām, varētu būt labilāka vāji skābos apstākļos, pateicoties metilgrupas karbkatjonu stabilizējošam efektam.<sup>92</sup> Turklāt 2-metilprenilgrupa atbilstu vairākām ērtas aizsarggrupas prasībām: a) to atvasinājumi ir viegli raksturojami <sup>1</sup>H-KMR-spektros (neievada jaunu stereocentru); b) tā ir stabila attīrīšanās procesā; c) nošķelšanas blakusprodukti ir viegli atdalāmi no pamatprodukta. 2-Metilprenilgrupa līdz šim nav plaši apskatīta literatūrā. Tā izmantota tikai kā alil-tipa spirtu aizsarggrupa, kuru var nošķelt radikāļu tipa reakcijā.<sup>93,94</sup>

*O*-Metilprenilhidroksilamīna **132** sintēzei izmantojām līdzīgu metodi, kuru pielietojām *O*-prenilhidroksilamīna **123** iegūšanai. Tā kā alkilējošais reaģents **130** nav komerciāli pieejams, tā sintēzi realizējām, bromējot 2,3-dimetilbut-2-ēnu (**129**) ar NBS.<sup>95</sup> Šajā pārvērtībā dibenzoilperoksīds (BPO) kalpoja kā radikāļu iniciators un *N*-bromosukcinimīds (NBS) kā broma avots. Reakcijas laikā veidojās arī dibromētie produkti, tāpēc sākotnēji vēlamo produktu **130** atdalījām no piemaisījumiem ar destilācijas palīdzību. Iegūtais iznākums bija salīdzināms ar literatūrā minēto iznākumu (iegūts: 54%, lit.: 64%). Turpmākajā sintēzes gaitā *N*-hidroksiftalimīdu (**121**) pakļāvām reakcijai ar 1-bromo-2,3-dimetilbut-2-ēnu (**130**) kālija

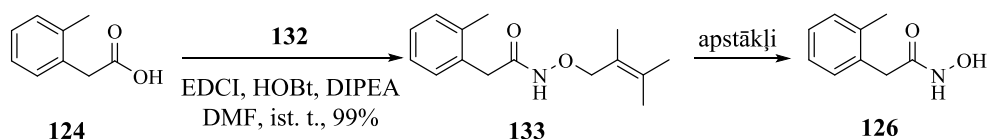
karbonāta klātienē, kam sekoja ftalimīda šķelšana ar hidrazīnu. Iegūto amīnu pārvērtām par hidrogēnhlorīda sāli **132** (2.29. att.).



### 2.29. att. *O*-Metilprenilhidroksilamīna **132** hidrogēnhlorīda sintēzes shēma

Tā kā minētais alilbromīda atvasinājums **130** ir ļoti gaistošs (iespējams, ka vielas zudumi rodas arī izdalīšanas un attīrīšanas procesā) un tam piemīt stipras lakratora īpašības, nolēmām starpproduktu neizolēt un reakcijas maisījumu pakļaut *N*-hidroksiftalimīda (**121**) alkilēšanai. Pēc reakcijas maisījuma apstrādes un attīrīšanas uz silikagēla, vēlamo produktu **131** divu pakāpju sintēzē izdevās iegūt ar 40% iznākumu (2.29 att.).

Kā modeļsubstrātu *O*-metilprenilgrupas nošķelšanas apstākļu izpētei no karbonskābes **124** un hidroksilamīna **132** ieguvām aizsargāto hidroksāmskābi **133** (2.30. att.). Pārbaudītie aizsarggrupas šķelšanas reakcijas apstākļi un rezultāti ir apkopoti 2.13. tabulā.



### 2.30. att. Aizsargātas hidroksāmskābes **133** un hidroksāmskābes **126** sintēze

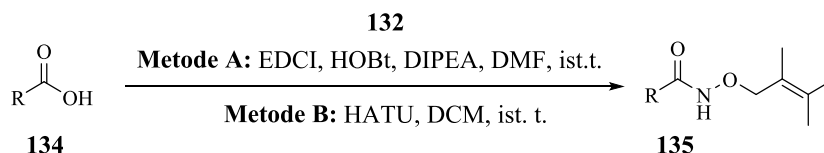
2.13. tabula

#### *O*-Metilprenilgrupas šķelšanas reakcijas apstākļu pētījums

Nr.	Reakcijas apstākļi	Rezultāti (ŠH-MS)
1.	DDQ (1.2 ekviv), DCM/H <sub>2</sub> O, ist.t., 12 h	Produktu maisījums
2.	AcCl, MeOH, ist.t., 12 h	Produktu maisījums
3.	TMSOTf (5 vol%), DCM, ist.t., 12h	Produktu maisījums
4.	FeCl <sub>3</sub> (100 mol%), DCM, ist.t., 12 h	Produktu maisījums
5.	I <sub>2</sub> , Zn, MeOH, ist.t., 12 h	Produktu maisījums
6.	[Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] (5 mol%), MeOH, ist.t., 48 h vai 4 h, vārot ar atteci	Stabils
7.	TBAF (200 mol%), THF, ist.t., 24 h	Stabils
8.	NaOH (1 M), THF, ist.t., 12 h	Stabils
9.	TFA (10 vol%), DCM, ist.t., 1,5 h	<b>126</b> (99% izolētais iznākums)

*O*-2-Metilprenilhidroksāmskābe **133** nav stabila DDQ klātienē (1. ieraksts), Brensteda (2. ieraksts) un Luisa skābju TMSOTf vai FeCl<sub>3</sub> (3. un 4. ieraksts) klātienē. Minēto reaģentu gadījumā veidojās produktu maisījums ar zemu produkta **126** saturu. Atšķirībā no prenilaizsargātas hidroksāmskābes **125**, I<sub>2</sub>/Zn/DCM sistēma (5. ieraksts) nebija efektīva 2-metilprenilgrupas nošķelšanai. 2-Metilprenilgrupa ir stabila Pd(0) katalizētās reakcijās, fluorīdjonu un stipras bāzes klātienē (6., 7. un 8. ieraksts attiecīgi). Daudzsološus rezultātus aizsardzības nošķelšanai substrātā **133** uzrādīja TFA (9. ieraksts). Pilnīga izejvielas konversija tika sasniegta 1,5 h laikā, rezultātā veidojot tīru hidroksāmskābi **126**.

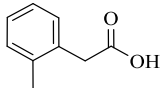
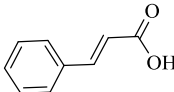
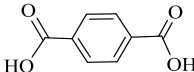
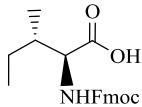
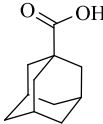
Substrātu klāsta izpētei ieguvām strukturāli atšķirīgas *O*-2-metilprenilaizsargātas hidroksāmskābes **135** karbonskābju **134** sametināšanas reakcijā ar hidroksilamīna atvasinājumu **132**, kā sametināšanas reaģentus izmantojot EDCI (metode A) vai HATU (metode B) (2.31. att., 2.14. tabula).



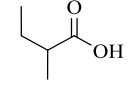
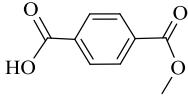
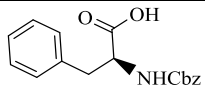
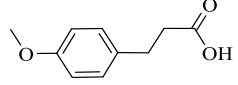
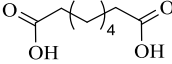
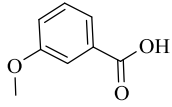
### 2.31. att. Aizsargātas hidroksāmskābes **135** sintēze

2.14. tabula

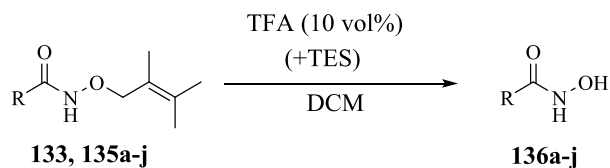
#### Substrātu klāsts *O*-2-metilprenilgrupas aizsargātu hidroksāmskābju **133** iegūšanai

Nr.	Karbonskābe <b>134</b>	Sametināšanas metode	Produkts, iznākums, %
1.		A	<b>133</b> , 99
2.		A	<b>135a</b> , 95
3.		B	<b>135b</b> , 90
4.		B	<b>135c</b> , 98
5.		A	<b>135d</b> , 93



Nr.	Karbonskābe <b>134</b>	Sametināšanas metode	Produkts, iznākums, %
6.		B	<b>135e</b> , 92
7.		A	<b>135f</b> , 83
8.		A	<b>135g</b> , 96
9.		A	<b>135h</b> , 88
10.		B	<b>135i</b> , 93
11.		A	<b>135j</b> , 83

Optimizējot šķelšanas reakcijas apstākļus, mēs konstatējām, ka 10 vol% TFA šķīdums dihlormetānā ļauj sasniegt pilnu izejvielas **135** konversiju pieņemamā laika intervālā (1,5 h – 3 h) un produkts **136** veidojas ar augstu tīrību (2.32. att.). Iegūto produktu tīrību pārbaudījām ar AEŠH un KMR analīzēm. Gadījumos, kad iegūtās hidroksāmskābes **136** tīrība nebija apmierinoša, reakcijas maisījumam pievienojām TES (10 vol%). TES pievienošana ievērojami uzlaboja gala produkta tīrību, jo saistīja reakcijas laikā veidoto butāndiēnilkatjonu. Iegūtie rezultāti ir apkopoti 2.15. tabulā.



2.32. att. Substrātiem **133**, **135a-j** aizsarggrupas šķelšanas reakcija

## Substrātu 133 aizsarggrupas nošķelšanas reakcijas rezultāts

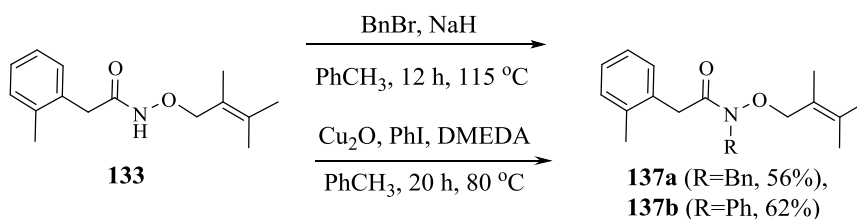
Nr.	Substrāts	Laiks, h	136 tīrība %, (AEŠH)
1.	<b>133</b>	1,5	<b>136a</b> , 99
2.	<b>135a</b>	3	<b>136b</b> , 97
3.	<b>135b</b>	2	<b>136c</b> , 92
4.	<b>135c</b>	2,5	<b>136d</b> , 96
5.	<b>135d</b>	1,5	<b>136e</b> , 88
6.	<b>135e</b>	2	<b>136f</b> , 97
7.	<b>135f</b>	2	<b>136g</b> , 94
8.	<b>135g</b>	2	<b>136h</b> , 99
9.	<b>135h</b>	1,5 1,5*	<b>136i</b> , 38 91*
10.	<b>135i</b>	3	-
11.	<b>135j</b>	1,5 3*	<b>136j</b> , 88 91*

\*Reakcijas maisījumam pievienots TES 10 vol%

Analizējot rezultātus aizsarggrupas nošķelšanai no hidroksāmskābju atvasinājumiem **133** un **135a-j**, varam secināt, ka *O*-2-metilprenilgrupa ir piemērota hidroksāmskābes aizsardzībai. Reakcijā tika iegūtas hidroksāmskābes **136** ar augstu tīrību bez papildus attīrīšanas. Metode strādā aktivētas dubultsaites klātienē (2. ieraksts); to var izmantot dihidroksāmskābes **136c** iegūšanai (3. ieraksts); tā ir savietojama ar *Fmoc* un *Cbz* aizsarggrupām (4. un 8. ieraksts), ir efektīva gan aromātiskās, gan alifātiskās sistēmās (1.-3., 7.-9., 11. un 4.-6., attiecīgi). Substrāta **135i** gadījumā gala produktu neizdevās iegūt aizsargātās hidroksāmskābes ļoti zemās šķīdības dihlormetānā dēļ (10. ieraksts). Šķīdinātāja daudzuma vai/un TFA daudzuma (līdz 20 vol%) palielināšana neuzlaboja reakcijas iznākumu.

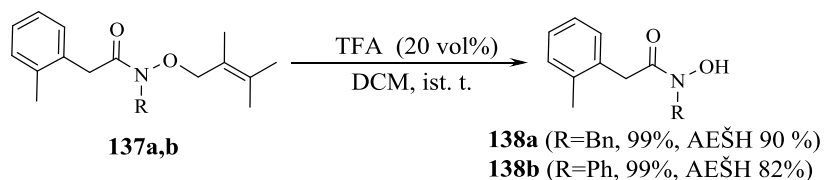
*O*-2-Metilprenilaizsarggrupas stabilitāti un efektivitāti pierādījām arī hidroksāmskābju atvasinājumu **133** alkilēšanas reakcijā ar benzilbromīdu un vara katalizētā *N*-arilēšanas reakcijā ar jodbenzolu (2.33. att.). Alkilēšanu realizējām deprotonējot hidroksāmskābi **133** ar NaH un pievienojot benzilbromīdu nelielā pārākumā. Pēc reakcijas maisījuma apstrādes izolējām produktu **137a** ar 56% iznākumu. Substrāta **133** *N*-arilēšanu veicām pēc literatūrā aprakstītas metodes, izmantojot Cu<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMEDA reaģentu sistēmu toluolā.<sup>96</sup> Vēlamā produkta **137b**

iznākums bija 60%, lai gan literatūrā minētā piemērā *O*-alilaizsargātās hidroksāmskābes *N*-arilēšana notika ar 96%. Pazeminātu reakcijas iznākumu varam skaidrot ar stēriski vairāk apgrūtināto *NH* funkciju metilprenilaizvietotā hidroksāmskābē **133**.



### 2.33. att. Hidroksāmskābes atvasinājuma **133** *N*-alkilēšanas un *N*-arilēšanas reakcija

Abus *N*-modificētos produktus **137a,b** pakļāvām *O*-2-metilprenilgrupas nošķelšanas reakcijai (2.34. att.). Pilnīgu izejvielas konversiju, izmantotojot TFA (20 vol%) šķīdumu dihlorometānā, sasniedzām pēc 1,5 h un 7 h substrātu **137a** un **137b** gadījumos, attiecīgi. *N*-Arilēta substrāta gadījumā nošķelšanas reakcija notika salīdzinoši lēni, to var skaidrot ar pazeminātu elektronu blīvumu uz slāpekļa, kas savukārt apgrūtinā hidroksāmskābes protonēšanu.



### 2.34. att. Substrātu **137a,b** aizsarggrupu šķelšanas reakcija

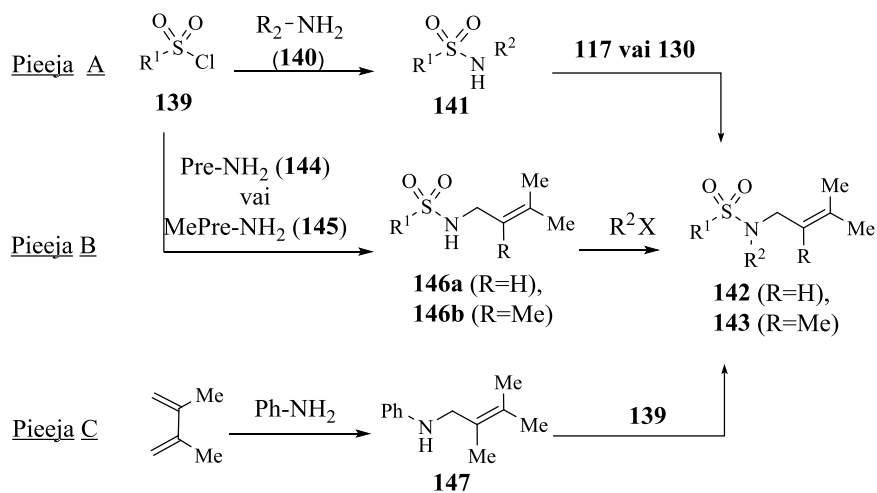
Varam apgalvot, ka mūsu izstrādātais *O*-2-metilprenilhidroksilamīns (**132**) ir vērtīgs prekursors hidroksāmskābju sintēzē. Tas ir iegūstams divu pakāpju transformācijā, sākot no komerciāli pieejamiem reaģentiem, ir stabils sāls formā un to var uzglabāt vairākus mēnešus (vismaz 3). *O*-2-Metilprenilaizsargātās hidroksāmskābes ir viegli raksturojamas KMR spektros, jo neievada jaunu stereocentru. Piedāvātā aizsarggrupa ir stabila pārejas metālu katalizētās reakcijās, bāziskā vidē, kā arī paaugstinātā temperatūrā.

## 2.4 2-Metilprenil- un prenilgrupas izmantošana sulfonamīdu aizsardzībai un to stabilitātes pētījumi

Metaloproteināžu inhibitoru sintēzes gaitā (2.2. nodaļa) parādījās nepieciešamība pēc efektīvas sulfonamīdu aizsardzības. Literatūrā zināmās dažādas sulfonamīdu aizsarggrupas: *tert*-butil-,<sup>97-99</sup> benzil-,<sup>100,101</sup> difenilmetil-,<sup>102</sup> 4-metoksibenzil-,<sup>103</sup> 2,4-dimetoksibenzil-,<sup>104</sup> 2,4,6-trimetoksibenzil-<sup>105</sup> un alilgrupām.<sup>106,107</sup> Līdz ar to būtu nepieciešams paplašināt sulfonamīdu

aizsardzības klāstu ar grupu, ko var viegli ievadīt un nošķelt maigos reakcijas apstākļos, veidojot gaistošus blakusproduktus. Prenil- tipa aizsarggrupas tiek pielietotas spirtu, karbonskābju un hidroksāmskābju sintēzēs. Savā darbā mēs nolēmām izpētīt 2-metilprenil- (MePre) un prenil- (Pre) grupu efektivitāti sulfonamīdu aizsardzībai.

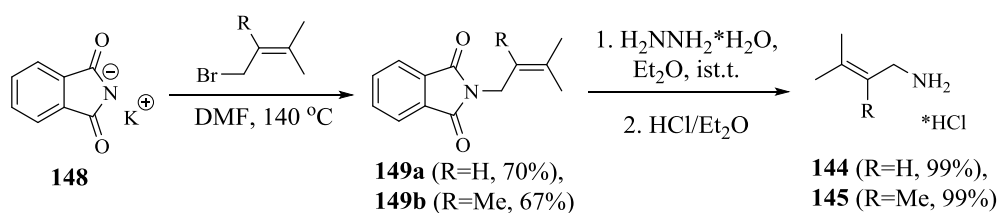
Balstoties uz literatūras analīzi par *N*-alkilētu sulfonamīdu iegūšanu, konstatējam, ka prenil- un 2-metilprenil-aizsargātus sulfonamīdus **142** (R=H) un **143** (R=Me) ir iespējams iegūt, izmantojot dažādas sintētiskās pieejas (2.35. att.).



### 2.35. att. Dažādas pieejas sulfonamīdu **142** un **143** iegūšanai

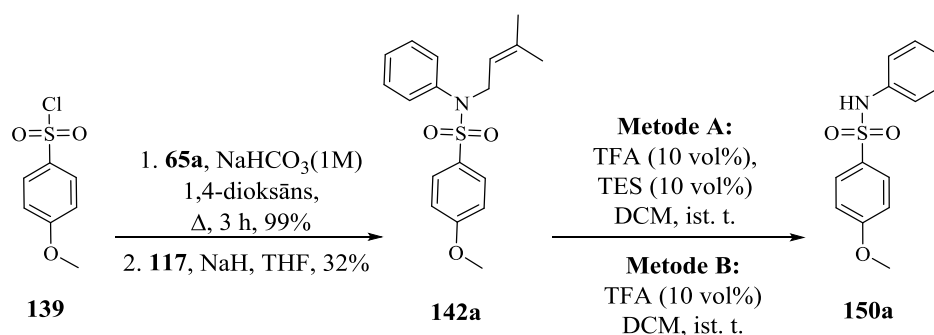
Sulfonamīdus **141** var iegūt no sulfonilhlorīdiem **139** un amīniem **140**, pēc tam tos alkilējot ar prenilbromīdu **117** vai 2-metilprenilbromīdu **130** veido trešajos sulfonamīdus **142** un **143** (pieeja A). Otrējos sulfonamīdus **146a,b** var iegūt sulfonilhlorīdu **139** reakcijā ar prenil- vai metilprenilamīnu **144** vai **145** attiecīgi. Iegūtos starpsavienojumus var alkilēt vai arilēt (pieeja B). Savukārt palādija katalizētas hidroaminēšanas reakcijas rezultātā var iegūt *N*-(2-metilprenil)anilīnu **147**.<sup>108</sup> To pakļaujot reakcijai ar **139**, var iegūt trešējo sulfonamīdu (pieeja C).

Prenilamīnu **144** un 2-metilprenilamīnu **145**, kas nepieciešami pieejas B realizēšanai ieguvām *Gabriel* sintēzē, alkilējot kālija ftalimīdu **148** ar attiecīgajiem bromīdiem **117** un **130**, kam sekoja ftalimīdu **149a,b** šķelšana ar hidrazīnu (2.36. att.).



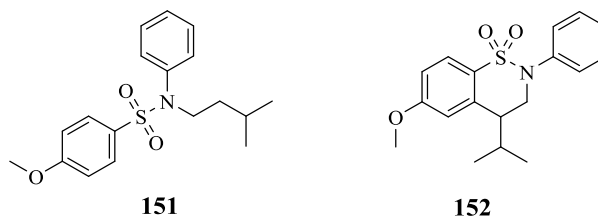
### 2.36. att. Prenilamīna hidrogenhlorīda (**144**) un 2-metilprenilamīna hidrogenhlorīda (**145**) sintēze

Ar nolūku pārbaudīt prenilgrupas izmantošanas iespējas sulfonamīdu aizsardzībai, sākotnēji ieguvām modeļsubstrātu **142a**, izmantojot pieeju A (2.35. att.). Prenilgrupas šķelšanu veicām TFA šķīdumā gan trietilsilāna klātienē (metode A), gan bez tā pievienošanas (metode B) (2.37. att.).



### 2.37. att. Modeļsubstrāta **142a** sintēze un aizsarggrupas šķelšanas reakcija

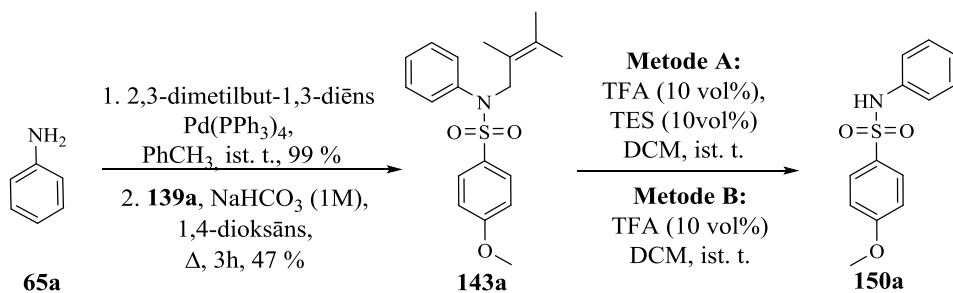
Prenilgrupas šķelšanas mēģinājumā trietilsilāna klātienē novērojām prenilgrupas reducēšanu, veidojot kā blakusproduktu *N*-izopentilsulfonamīdu (**151**) (~10%). Bez trietilsilāna piedevas notika konkurējoša *Friedel-Crafts* alkilēšana, veidojot blakusproduktu **152** (~40%) saskaņā ar reakcijas maisījuma <sup>1</sup>H-KMR spektra datiem (2.38. att.).



### 2.38. att. Aizsarggrupas šķelšanas reakcijas blakusprodukti **151** un **152**

2-Metilprenilgrupas efektivitāti sulfonamīdu aizsardzībā pierādījām, izmantojot līdzīgu modeļsubstrātu **143a**. Tā sintēzi realizējām pēc *Hartwig* grupas izstrādātās hidroaminēšanas metodes no anilīna **65a**, kuras rezultātā ieguvām *N*-2-metilprenilanilīnu ar kvantitatīvu iznākumu. Produktu pakļāvām reakcijai ar 4-metoksifenilsulfonilhlorīdu **139a**, NaHCO<sub>3</sub> (1M) un dioksāna

maisījumā. Reakcijas produkts veidojās ar vidēju iznākumu 47%. Līdzīgi prenilaizsarggrupas gadījumam, 2-metilprenilgrupas šķelšanu veicām TFA šķīdumā trietilsilāna klātienē (metode A) un bez tā pievienošanas (metode B) (2.39. att.).



### 2.39. att. Modeļsubstrāta 143a sintēze un aizsarggrupas šķelšanas reakcija

Konstatējām, ka pilnīga izejvielas konversija tika sasniegta 2h laikā. Abos gadījumos (metode A un metode B) ieguvām tīru *N*-fenilsulfonamīdu **150a** ar gandrīz kvantitatīvu iznākumu. Blakusproduktu veidošanos reakcijas gaitā nenovērojām.

Veicām plašāku substrāta klāsta izpēti gan prenil-, gan 2-metilprenilaizsardzības nošķelšanai sulfonamīdos, izmantojot šķelšanas reakcijas apstākļus: TFA (10 vol%), TES (6 ekviv), substrāta koncentrācija dihlorometānā 0.1M. Izmantotā pieeja substrātu **142**, **143** sintēzei un aizsarggrupas šķelšanas iznākumi apkopoti 2.16. tabulā. Produktus **150** izolējām, ietvaicējot reakcijas maisījumu. Produktus **142a-c,d**, **143k-m** (2.,4.,6.,9.,20.-21. ieraksts) attīrījām ar kolonnas hromatogrāfijas palīdzību. Dažu substrātu gadījumā **143f,g,k,m** (10.,12.,20. un 22. ieraksts) izmantojām lielāku TFA daudzumu (25 vol%), kas ļāva saīsināt aizsarggrupas nošķelšanas reakcijas laiku.

2.16. tabula

### 142 un 143 atvasinājumu iegūšana, aizsarggrupas nošķelšanas reakcijas laiks un izolētais iznākums

Nr.	Savienojumi <b>142</b> (R=H); <b>143</b> (R=Me)	Substrāta <b>142</b> un <b>143</b> iegūšanas pieeja	Reakcijas laiks, produkta <b>150</b> iznākums
1.		<b>143a</b> C	20 min, <b>150a</b> , 99%
2.		<b>142a</b> A	60 min, <b>150a</b> , 89%
Nr.	Savienojumi <b>142</b> (R=H); <b>143</b> (R=Me)	Substrāta <b>142</b> un <b>143</b> iegūšanas pieeja	Reakcijas laiks, produkta <b>150</b> iznākums
3.		<b>143b</b> C	20 min, <b>150b</b> , 99%
4.		<b>142b</b> A	60 min, <b>150b</b> , 72%

## 2.16. tabulas turpinājums

Nr.	Savienojumi <b>142</b> (R=H); <b>143</b> (R=Me)	Substrāta <b>142</b> un <b>143</b> iegūšanas pieeja	Reakcijas laiks, produkta <b>150</b> iznākums
5.		<b>143c</b> A	45 min, <b>150c</b> , 99%
6.		<b>142c</b> A	12 h, <b>150c</b> , 76%
7.		<b>143d</b> A	60 min, <b>150d</b> , 99%
8.		<b>143e</b> B	45 min, <b>150e</b> , 99%
9.		<b>142e</b> B	60 min, <b>150e</b> , 78%
10.		<b>143f</b> B	60 min, <b>150f</b> , 99%
11.		<b>142f</b> B	60 min, produktu maisījums
12.		<b>143g</b> B	90 min, <b>150g</b> , 99%
13.		<b>142g</b> B	90 min, produktu maisījums
14.		<b>143h</b> B	60 min, <b>150h</b> , 99%
15.		<b>142h</b> B	12 h, produktu maisījums
16.		<b>143i</b> A	12 h, produktu maisījums
17.		<b>142i</b> A	10 h, produktu maisījums
18.		<b>143j</b> A	12 h, <b>150j</b> , 99%
19.		<b>142j</b> A	12 h, produktu maisījums
20.		<b>143k</b> A	12 h, <b>150k</b> , 92%
21.		<b>143l</b> A	60 min, <b>150l</b> , 91%
22.		<b>143m</b> A	90 min, <b>150m</b> , 94%

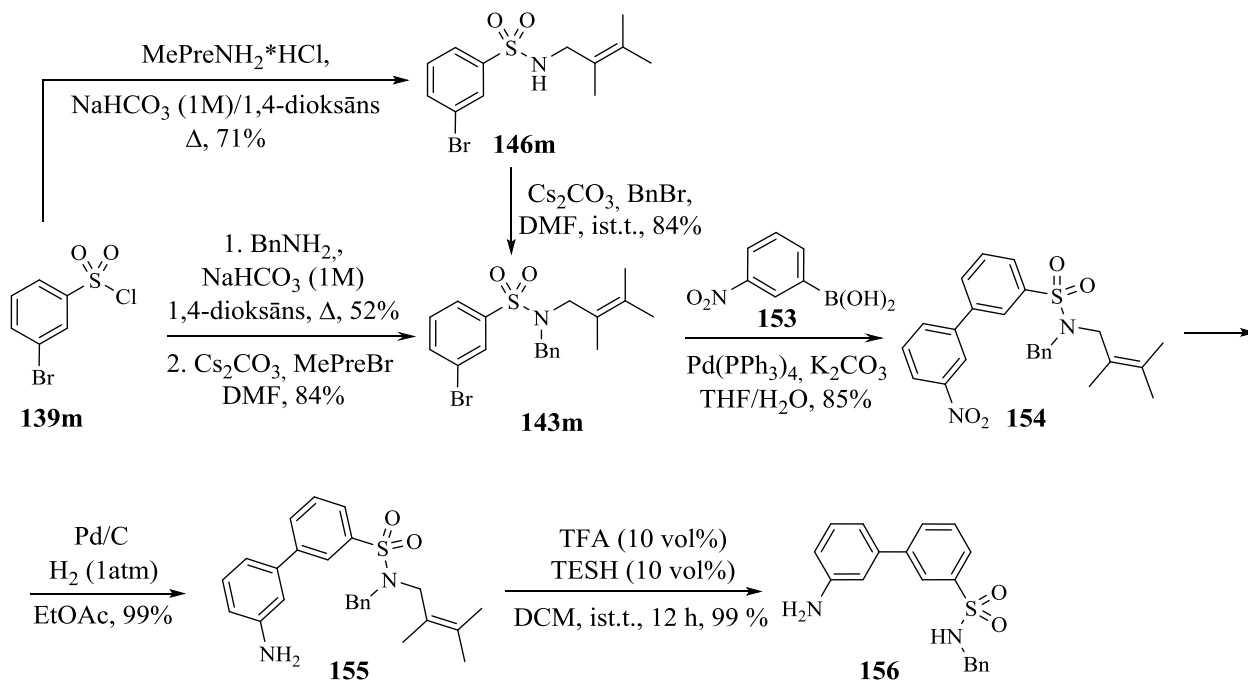
2-Metilprenilsulfonamīdu aizsardzību viegli varēja nošķelt aromātisku, heteroaromātisku un alifātisku aizvietotāju saturošu sulfonamīdu gadījumā. Rezultātā ieguvām vēlamus produktus **150** ar augstiem iznākumiem. Izņēmums ir *N*-*t*Bu-aizvietots sulfonamīds **143i** un **142i**, kurā notika abu grupu nošķelšana (16. un 17. ieraksts). Savukārt prenilgrupas šķelšana skābos





metilprenilgrupas reducēšanu (2. ieraksts). 2-Metilprenilgrupa nav stabila arī  $\text{Pd}(\text{OH})_2$  klātienē etanolā atmosfēras  $\text{H}_2$  spiedienā. Savukārt prenilgrupa substrātā **142c** neuzrādīja stabilitāti nevienā no pārbaudītajiem katalītiskās hidrogenēšanas apstākļiem (1-3. ieraksts). Stipras Luisa skābes, kā  $\text{BCl}_3$ , substrātā **143c** inducēja 2-metilprenilgrupas šķelšanu kopā ar benzilgrupu (4. ieraksts), arī *t*Bu grupu savienojumā **143i** (6. ieraksts). Rezultātā ieguvām pirmējos sulfonamīdus ar augstiem iznākumiem. Savukārt, selektīvu benzilgrupas šķelšanu  $\text{BCl}_3$  klātienē realizējam prenilaizsargātam sulfonamīdam **142i** ar labiem iznākumiem (6. ieraksts).  $\text{FeCl}_3$  klātienē novērojam pilnīgu izejvielas konversiju par neidentificējamiem reakcijas blakus produktiem gan 2-metilprenil-, gan prenilaizsargātiem sulfonamīdiem **142c**, **143c** (5. ieraksts). Sulfonamīds **142a** bija stabils NIS un DDQ klātienē (7. un 8. ieraksts). Selektīvu alilgrupas šķelšanu substrātā **142e**, **143e** veiksmīgi realizējam  $\text{Ni}(0)$  katalizatora un DIBAL-H klātienē (9. ieraksts) (2.17. tabula).

2-Metilprenilgrupas stabilitāti pierādījām *Suzuki-Miyaura* sametināšanās reakcijas apstākļos: aizsargāts 3-bromfenilsulfonamīds **143m**, kurš tika iegūts kā aprakstīts iepriekš, stājas reakcijā ar 3-nitrofenilborskābi **153**  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  klātienē, kā katalizatoru izmantojot  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (2.41. att.). Tas ļāva iegūt starpsavienojumu **154** ar augstu iznākumu. Nitrogrupas reducēšanu realizējam palādija katalizētos apstākļos udeņraža atmosfērā. Iegūtajam anilīna atvasinājumam **155** nošķēlām 2-metilprenilgrupu, izmantojot TFA un TES. Produktu **156** ieguvām ar kvantitatīvu iznākumu un augstu tīrību pēc reakcijas maisījuma ietvaicēšanas.

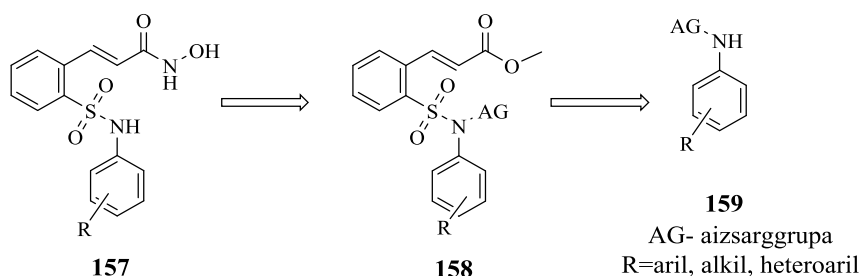


2.41. att. Sulfonamīda **156** iegūšana

Mēs parādījam, ka 2-metilprenilaizsarggrupa var tikt pielietota kā sulfonamīdu skābes jutīga aizsardzība. Skābes katalizētas šķelšanas rezultātā veidojas gaistošie blakusprodukti un mērķa savienojums ir iegūstams ar augstu tīrības pakāpi uzreiz pēc reakcijas maisījuma ietvaicēšanas. 2-Metilprenilgrupa ir stabila Pd/C- katalizētas hidrogenēšanas reakcijā 1 atm, *Suzuki-Miyaura* reakcijas apstākļos, Ni(0) katalizētās reakcijās un oksidējošo aģentu klātienē (piem., NIS, DDQ). Prenilaizsarggrupa arī var tikt izmantota sulfonamīdu aizsardzībā, toties novērojama dažādu blakusproduktu veidošanās aizsarggrupas šķelšanas reakcijas gaitā, un iespējamo substrātu klāsts ir ierobežots.

**Metilprenilaizsargātas hidroksāmskābes un sulfonamīda funkcijas izmantošana ADAM inhibitoru konstruēšanā.** ADAM inhibitoru izveidošanas projekta ietvaros bija nepieciešams izstrādāt sintēzes metodes sulfonamīdu saturošu nepiesātinātu hidroksāmskābju **157** iegūšanai, kas ir sultāmsaturošo inhibitoru **2** un **106** virknes tautomēri (2.42. att).

Lai realizētu izvirzīto uzdevumu, izmantojām jau iepriekš izstrādāto sintētisko ceļu sultāmhidroksāmskābes iegūšanai. Tā kā ir nepieciešams izvairīties no sulfonamīda **158** *aza-Michael* pievienošanās pie aktivētas dubultsaites reakcijā starp benzosulfonskābes hlorīda un arilamīnu **159**, jāizvēlas piemērota aizsarggrupa sulfonamīdam, kura būtu stabila sintēzes gaitā.

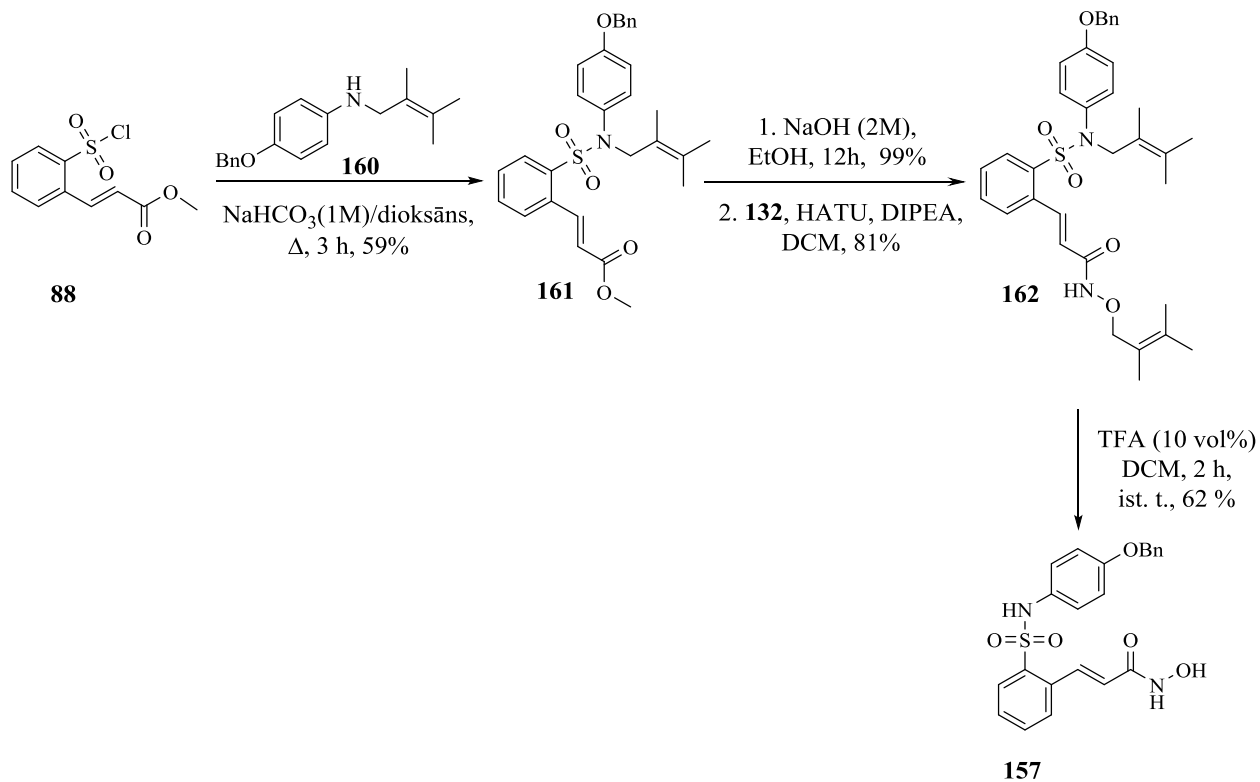


2.42. att. Potenciālo ADAM10/17 inhibitoru virknes tautomēru **157** vispārīgā struktūra un iegūšanas pieeja

Analizējot literatūrā zināmās sulfonamīda aizsarggrupas: *tert*-butil, benzil, difenilmetil, 4-metoksibenzil, 2,4-dimetoksibenzil, 2,4,6-trimetoksibenzil un alil, secinājām, ka lielākā daļa no tām nav piemērotas mērķa savienojumu **157** iegūšanai. Tā, benzil- un difenilmetilgrupas šķelšana notiek palādija katalizētā hidrogenēšanā, kas nav savietojama ar mūsu substrātu. 4-Metoksibenzil-, 2,4-dimetoksibenzil- vai 2,4,6-trimetoksibenzilgrupas nošķelšanas blakusprodukti varētu traucēt iegūt galaproduktu ar pietiekošu tīrību. Alilgrupas nošķelšana notiek DIBAL-H parākumā, (dppp)NiCl<sub>2</sub> katalizatora klātienē, kas nav savietojami ar hidroksāmskābes funkciju. *Tert*-butilgrupa vai mūsu izveidotā 2-metilprenilgrupa varētu būt piemērota sulfonamīda aizsarggrupa produktu **157** iegūšanai. Sulfonamīda konstruēšanai

nepieciešamā anilīna būvbloka aizsargāšanai izvēlējamies jau iepriekš aprakstīto 2-metilprenilgrupu.

Anilīna būvbloku **160** pakļāvām reakcijai ar sulfonilhorīdu **88** NaHCO<sub>3</sub> (1M) un dioksāna maisījumā, veidojot sulfonamīdu **161**.



#### 2.43. att. Sulfonamīda **157** iegūšana

Iegūtā sulfonamīda estera funkciju hidrolizējām bāziskos apstākļos paaugstinātā temperatūrā un hidrolīzes produktu sametinājām ar **132**, izmantojot HATU un DIPEA. Diaizsargāto produktu **162** pakļāvām nošķelšanas reakcijai, rezultātā iegūstot sulfonamīdu saturošo hidroksāmskābi **157** ar labu iznākumu. Varam apgalvot, ka izstrādātā pieeja piemērota plašai šīs savienojumu sērijas analoģu izveidošanai.

## EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

### *Vispārējā informācija*

Reakcijām nepieciešamie reaģenti iegādāti no ķīmisko vielu piegādātājiem (*Acros, Alfa Aesar, Apollo Scientific, Fluorochem*) un lietoti bez papildus attīršanas.

Plānslāņa hromatogrāfijai lietotas Silica gel F254(Merck) sorbenta plāksnes. Produktu detektēšanai izmantots UV starojums (viļņa garums 254 nm) un/vai attīstīšana KMnO<sub>4</sub> šķīdumā (1,5 g KMnO<sub>4</sub>, 10 g K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 150 ml H<sub>2</sub>O, 2,5 ml 5% NaOH).

Kolonnu hromatogrāfijai izmantots silikagels: Silicagel 0,035 – 0,070 mm (Merck) un etilacetāta, petrolētera un dihlormetāna eluentu sistēmas.

Šķīdinātāji žāvēti un attīrīti pēc standarta procedūras, sauss THF, toluols, dietilēteris un dihlormetāns attīrīti ar MBraun-SPS 800.

<sup>1</sup>H un <sup>13</sup>C KMR spektri uzņemti ar 200, 300 un 400 MHz spektrometriem. Ķīmiskās nobīdes (δ) norādītas miljonajās daļās (m.d.), izmantojot šķīdinātāju kā standartu.

Masspektru uzņemšanai, vielu tīrību noteikšanai un reakciju gaitas novērošanai izmantots ŠH/MS vai UEŠH/MS. Analīzes veiktas ar *Waters Acquity*, kolonna: *Acquity UPLC BEH-C18* (2,1 mm × 50 mm, poru izmērs: 1,7 μm, (30,0 ± 5,0) °C); gradients: 0,01 % TFA ūdens šķīdums/MeCN=(90/10) % līdz (10/ 90) %; plūsmas ātrums: 0,5 mL/min; analīzes ilgums: 8 min.; detektors: PDA (fotodiodes matrica), 220-320 nm, SQ detektors ar elektronizsmidzināšanas jonu avotu.

Elementanalīze veikta ar CARLO ERBA firmas iekārtu.

Galaproduktu tīrības noteiktas ar UEŠH/MS, ŠH/MS vai/un ar AEŠH (*Apollo C18* , 4.6 x 150 mm, kustīgā fāze -MeCN - 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, gradients 15 min, 5/95-95/5, plūsmas ātrums 1.0 ml/min, parauga koncentrācija 0.2 mg/ml, UV detektors (210 un 254 nm) testiem nodotas vielas, kuru tīrība bija 85+ %.

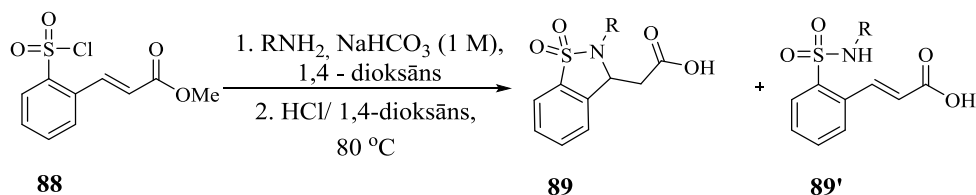
### *Azīdīnoksīmu saturošu inhibitoru sintēze*

Savienojumu **4**, **63**, **66-70**, **73-75**, **79**, **80**, **82**, **85** sintēze un raksturojums ir publicēti [2. Pielikums].

Savienojumi **64**,<sup>66</sup> **72**,<sup>70</sup> **78**,<sup>109</sup> **81**,<sup>73,74</sup> **85**<sup>110</sup> iegūti pēc literatūrā aprakstītām sintēzes metodēm.

## ADAM10 un ADAM17 inhibitoru sintēze

Savienojumi iegūti **86**, **87** pēc literatūrā aprakstītām sintēzes metodēm.<sup>79</sup>



**Vispārīgā procedūra A heteroarilaizvietota analoga 89 iegūšanai:** Pie attiecīgā amīna (1 ekviv) šķīduma 1,4-dioksānā (1mmol/5mL), pievienoja 3-(2-hlorsulfonylphenil)akrilskābes metilesteri (1 ekviv) un NaHCO<sub>3</sub> (1M, 3 ekviv). Reakcijas maisījumu sildīja 80 °C 3h-12h (reakcijas gaitu kontrolē ar PSH un/vai UEŠH). Pēc pilnīgas izejvielas konversijas reakcijas maisījumu atdzēsēja līdz istabas temperatūrai. Reakcijas maisījumam pievienoja ūdeni (20 mL) un veica ekstrakciju ar EtOAc (2x20mL). Organiskās fāzes apvienoja un mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu (2x50mL). Organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (b/ū), filtrēja, ietvaicēja. Atlikumu izšķīdināja dioksānā un pievienoja 1M HCl. Reakcijas maisījumu sildīja 80 °C temperatūrā 3h - 24h. Reakcijas maisījumu atdzēsēja līdz ist.t. un ietvaicēja. Atlikumu apstrādāja ar acetoniļtrilu un filtrēja radušās nogulsnes (**89c** un **89d** gadījumā) vai atlikumu izšķīdināja EtOAc (20 mL) un pievienoja 5% NaOH ūd.šķ. Ūdens fāzi atdalīja un paskābināja ar KHSO<sub>4</sub> (5% ūd. šķ.) līdz pH=2-3. Produktu ekstrahēja ar EtOAc, organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (b/ū), filtrēja un ietvaicēja, lai iegūtu savienojumus **89e**, **89f** un **89g**.

### 2-(2-(2-Metilhinolīn-6-il)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)etiķskābe (**89c**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras A, reakcijas maisījumu vārīja 7h, 23% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.91 (s, 3H), 2.96 (dd, 2H, *J*=14.7, 4.9 Hz), 5.98 (dt, 1H, *J*=5.1, 3.9 Hz), 7.73 – 8.37 (m, 8H), 8.89 (d, 1H, *J*=7.8 Hz) m.d.

### 2-(1,1-Dioksido-2-(hinolīn-6-il)-2,3,-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)etiķskābe (**89d**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras A, reakcijas maisījumu vārīja 4h, 25% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.96 (dd, 2H, *J*= 14.7, 4.7 Hz), 5.98 (dt, 1H *J*=4.7, 1.6 Hz), 7.69 – 7.91 (m, 4H), 8.02-8.34 (m, 4H), 8.84 (dd, 1H, *J*=3.9, 8.6 Hz), 9.13 (dd, 1H, *J*=2.4 un 1.6 Hz) m.d.

### 2-(1,1-Dioksido-2-(hinoksalīn-6-il)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)etiķskābe (**89e**)

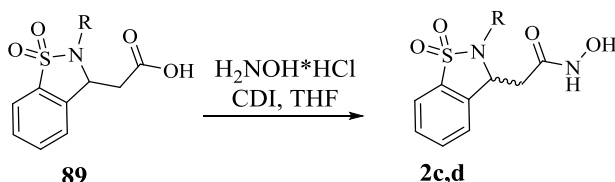
Iegūts pēc vispārīgās procedūras A, reakcijas maisījumu vārīja 10h, 33% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.78 (dd, 2H, *J*=10.6, 3.9 Hz), 6.02 (dd, 1H, *J*=8.2, 3.9 Hz), 7.70-7.76 (m, 2H), 7.82-7.90 (m, 2H), 8.02-8.08 (m, 2H), 8.22 (d, 1H, *J*=8.9 Hz), 8.94 (d, 1H, *J*=1.9 Hz), 8.98 (d, 1H, *J*=1.9 Hz) m.d.

2-(2-(Benzofurān-5-il)1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)etiķskābe (**89f**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras A, reakcijas maisījumu vārīja 24h, 47% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.80 (dd, 2H, *J*=14.6, 4.3 Hz), 5.62 (dd, 1H, *J*=4.3, 3.9 Hz), 7.02-7.07 (m, 1H), 7.40-7.45 (m, 1H), 7.65-7.82 (6H, m), 7.97 (d, 1H, *J*=7.4 Hz) m.d.

2-(2-(Benz[*d*]tiazol-5-il)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)etiķskābe (**89g**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras A, reakcijas maisījumu vārīja 16h, 36% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.78 (dd, 2H, *J*=14.7, 4.2 Hz), 5.72 (dd, 1H, *J*= 4.3, 3.5 Hz); 7.64-7.71(m, 3H), 7.79 (dt, 1H, *J*=6.7, 0.8 Hz), 7.94-8.00 (m, 1H), 8.14-8.18 (m 1H), 8.28 (d, 1H, *J*=1.96 Hz), 9.80 (s, 1H) m.d.



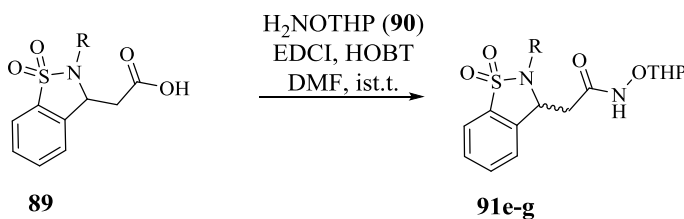
**Vispārīgā procedūra B hidroksāmskābes sintēzei:** Attiecīgās skābes **89** (1 ekviv) šķīdumam sausā THF (1mmol/2mL) pievienoja CDI (3 ekviv) un maisīja 2h ist. t. argona atmosfērā, tad pievienoja hidroksilamīna hidrogēnhlorīdu (3 ekviv) un turpināja maisīt 12h ist.t. Reakcijas maisījumu ietvaicēja, atlikumu pārkristalizēja no MeCN/H<sub>2</sub>O maisījuma, produktu žāvēja 50 °C virs P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

*N*-Hidroksi-2(2-(2-metilhinolīn-6-il)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)acetamīds (**2c**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras B, 35% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, δ): 2.54 (dd, 1H, *J*=14.7, 7.9 Hz), 2.74 (3H, s), 2.82 (dd, 1H, *J*=14.6, 5.0 Hz), 5.89 (dd, 1H, *J*=7.9, 5.0 Hz), 7.49 (d, 1H, *J*=8.5 Hz), 7.67-7.75 (m, 3H), 7.81 (td, 2H, *J*=7.6, 1.2 Hz), 7.88-7.97 (m, 2H), 8.29 (d, 1H, *J*=8.5 Hz) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 168.2, 160.9, 146.7, 138.2, 137.8, 135.5, 134.7, 134.0, 131.2, 130.0, 128.1, 126.0, 124.3, 123.5, 122.3, 101.4, 59.7, 38.5, 24.6 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 384; AEŠH tīrība 92.5%.

2-(1,1-Dioksido-2-(hinolīn-6-il)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroksiacetamīds (**2d**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras B, 31% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, δ): 2.45 (dd, 1H, *J*=14.7, 7.9 Hz), 2.74(dd, 1H, *J*=14.7, 5.0 Hz), 5.84 (dd, 1H, *J*=8.0, 4.9 Hz), 7.49 (dd, 1H, *J*=8.4, 4.3 Hz), 7.59-7.67 (m, 2H), 7.68-7.75 (m, 1H), 7.82 (dt, 1H, *J*= 7.7, 1.7 Hz), 7.90 (dd, 1H, *J*=9.1, 2.5 Hz), 7.96 (d, 1H, *J*=2.5 Hz), 8.04 (d, 1H, *J*=9.1 Hz), 8.28-8.35 (m, 1H), 8.77 (dd, 1H, *J*=4.3, 1.7 Hz) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 168.2, 151.4, 146.8, 138.2, 135.0, 134.8, 131.7, 131.2, 130.9, 130.4, 127.7, 126.1, 123.4, 122.9, 122.3, 86.8, 59.6, 38.4 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 370; AEŠH tīrība 87%.



**Vispārīgā procedūra C *O*-aizsargātas hidroksāmskābes iegūšanai:** Attiecīgās skābes **89** šķīdumam DMF (1mmol/1mL), pievienoja NH<sub>2</sub>OTHP (1,5 ekviv), HOBT (1,3 ekviv) un EDCI (1,5 ekviv). Maisīja istabas temperatūrā argona atmosfērā 12h. Reakcijas maisījumu apstrādāja ar ūdeni (20 mL) un produktu ekstrahēja ar EtOAc (2x20 mL). Organiskās fāzes apvienoja un mazgāja ar ūdeni (3x40 mL), tad organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Produktu attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents EtOAc.

2-(1,1-Dioksido-2-(hinoksalīn-6-il)-2,3-dihidrobenz[d]izotiazol-3-il)-*N*-((tetrahydro-2*H*-pirān-2-il)oksi)acetamīds (**91e**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras C, 24% iznākums. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.43-1.89 (m, 6H, pārklājās ar ūdens signālu), 2.53-2.62 (m, 1H), 2.99-3.16 (m, 1H), 3.47-3.60 (m, 1H), 3.68-3.89 (m, 1H), 4.91 (s, 1H), 5.90-6.01 (m, 1H), 7.62-7.74 (m, 3H), 7.88-7.92 (m, 1H), 8.00-8.25 (m, 1H), 8.80-8.88 (m, 2H) m.d.

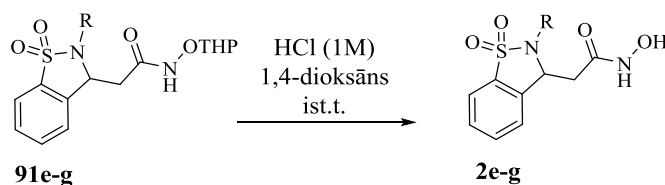
2-(2-(Benzofurān-5-il)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobena[d]izotiazol-3-il)-*N*-((tertahydro-2*H*-pirān-2-il)oksi)acetamīds (**91f**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras C, 51 % iznākums. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):1.40-1.63 (m, 6H), 2.50-2.10 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.32-3.50 (m, 2H, pārklājās ar ūdens

signālu), 4.83 (m, 1H), 5.59-5.67 (m, 1H), 7.05 (dt, 1H,  $J = 2.2, 1.1$  Hz), 7.39-7.49 (m, 1H), 7.65-7.86 (m, 5H), 7.92-8.00 (m, 1H), 8.10 (dd, 1H,  $J = 2.2, 1.0$  Hz),  $\delta$  11.05 (s, 1H) m.d.

2-(2-(Benz[d]tiazol-5-il)-1,1-dioksido-2,3-dihydrobenz[d]izotiazol-3-il)-N-((tetrahydro-2H-pirān-2-il)oksi)acetamīds (91g)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras C, 24% iznākums, dzeltena eļļa.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.48-1.79 (m, 6H), 2.47-2.58 (m, 1H), 2.79-2.89 (m, 1H), 3.61-3.95 (m, 2H), 4.60 (s, 1H), 5.67-5.78 (m, 1H), 7.57-7.70 (m, 4H), 7.86-7.91 (m, 1H), 8.12-8.22 (m, 2H), 9.02 (s, 1H) m.d.



**Tetrahidropirāna nošķelšanas vispārīgā procedūra D:** *O*-THP aizsargāto hidroksāmskābi (0,4 mmol) izšķīdināja dioksānā (4 mL), pievienoja HCl (1M, 3 ekviv), maisīja ist.t. 4-12h. Pēc pilnīgas aizsarggrupas nošķelšanas, reakcijas maisījumam pievienoja pies.  $\text{NaHCO}_3$  (5 mL) un turpināja maisīt 5 min, tad produktu ekstrahēja ar EtOAc (10 mL). Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (b/ū), filtrēja, ietvaicēja. Atlikumu pārkristalizēja no  $\text{Et}_2\text{O}$ .

2-(1,1-Dioksido-2-(hinoksalīn-6-il)-2,3-dihydrobenz[d]izotiazol-3-il)-N-hidroksiacetamīds (2e)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras D, 33 % iznākums.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 2.42-2.50 (m, 1H, pārklājās ar DMSO signālu), 2.78 (dd, 1H,  $J = 10.6, 3.9$  Hz), 6.07 (dd, 1H,  $J = 8.2, 3.9$  Hz), 7.69-7.76 (m, 2H), 7.82-7.89 (m, 1H); 8.04-8.08 (m, 2H), 8.23 (d, 1H,  $J = 8.9$  Hz), 8.89 (pl. s, 1H), 8.94 (dd, 1H,  $J = 1.9$  Hz), 8.98 (d, 1H,  $J = 1.9$  Hz), 10.50 (pl s, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  371; AEŠH tīrība 89%.

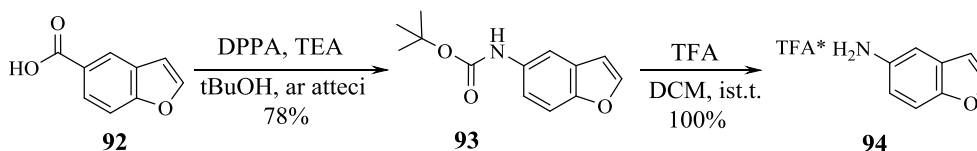
2-(2-(Benzofurān-5-il)-1,1-dioksido-2,3-dihydrobenz[d]izotiazol-3-il)-N-hidroksiacetamīds (2f)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras D, 48% iznākums, bezkrāsaina, amorfa viela.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 2.38 (dd, 1H,  $J = 14.7, 8.4$  Hz), 2.60 (dd, 1H,  $J = 14.7, 4.4$  Hz), 5.61 (dd, 1H,  $J = 8.4, 4.4$  Hz), 7.06 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 7.44 (dd, 1H,  $J = 8.8, 2.2$  Hz), 7.62-7.84 (m, 5H), 7.98 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 8.10 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 8.87 (pl s, 1H), 10.49 (pl s, 1H) m.d.;  $^{13}\text{C}$ -KMR (101 Hz): 165.0, 153.3, 147.4, 136.9, 133.7, 133.3, 129.8, 128.9, 128.2, 124.9, 123.8, 121.1, 120.3, 112.3, 106.9, 59.2, 36.5 m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  359; AEŠH tīrība 99%.



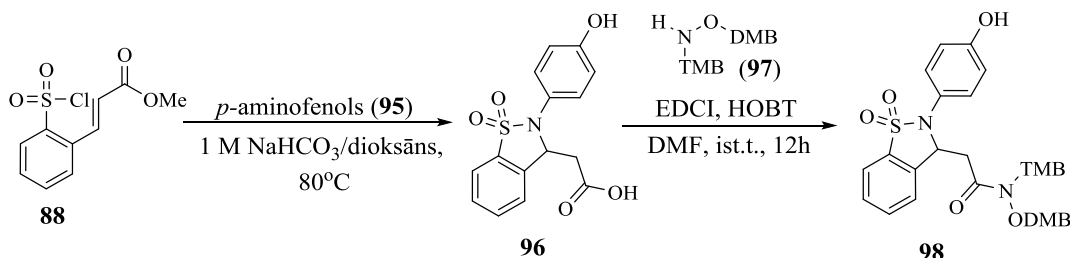
### 2-(2-(Benz[d]tiazol-5-il)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[d]izotiazol-3-il)-N-hidroksiacetamīds (2g)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras D, 43% iznākums, bezkrāsaina, amorfa viela.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 2.39-2.45 (m, 1H, pārklājās ar DMSO signālu), 5.72 (dd, 1H,  $J=4.3, 3.5$  Hz), 7.64-7.71(m, 3H), 7.79 (dt, 1H,  $J=6.7, 0.8$  Hz), 7.97 (d, 1H,  $J=7.8$  Hz), 8.16 (d, 1H,  $J=9.0$  Hz), 8.28 (d, 1H,  $J=1.96$  Hz), 8.83 (pl s, 1H), 9.82 (pl s, 1H), 10.46 (pl s, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  376; AEŠH tīrība 94%.



### Benzofurān-5-amīna TFA sāls (94)

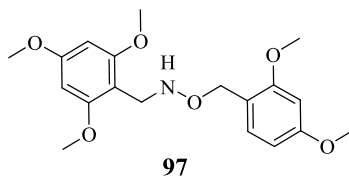
1,3-Benzotiazol-6-karbonskābi (2,80 mmol, 0,5 g, 1 ekviv) suspendēja *t*BuOH (10 mL), maisīja 50 °C temperatūrā, pievienoja DPPA (3,9 mmol, 0,85 mL, 1,4 ekviv) un TEA (4,20 mmol, 0,58 mL, 1,5 ekviv). Reakcijas maisījumu sildīja ar ateci 90 °C 7h, tad atdzesēja līdz ist. t. un ietvaicēja. Iegūto eļļaino produktu attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (1/1). Iznākums 77% bezkrāsaina, amorfa viela.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.54 (s, 9H), 6.71 (s, 1H), 7.13 (dd, 1H,  $J=8.8, 2.3$  Hz), 7.25-7.28 (m, 1H), 7.38-7.41 (m, 1H), 7.59 (d, 1H,  $J=2.2$  Hz), 7.74 (pl s, 1H) m.d. Savienojumu **93** (540 mg, 2,01 mmol) izšķīdināja DCM (2 mL) un pievienoja TFA (2 mL, 50 vol%). Reakcijas maisījumu maisīja 2h ist.t. (PSH kontrole). Ietvaicēja, pievienoja  $\text{Et}_2\text{O}$  un filtrēja radušās nogulsnes. Iegūtais iznākums 98%, bezkrāsaina, amorfa viela.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 6.40 (pl s, 2H), 6.64 (s, 1H), 7.01 (dt, 1H,  $J=8.7, 2.1$  Hz), 7.27-7.37 (m, 2H), 7.54-7.57 (m, 1H) m.d.



### 2-(2-(4-Hidroksifenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[d]izotiazol-3-il)etiķskābe (96)

Pie *p*-aminofenola (12 mmol, 1,32 g, 1 ekviv) šķīduma dioksānā (48 mL) pievienoja  $\text{NaHCO}_3$  (1M, 48 mL, 4 ekviv) un 3-(2-hlorsulfonilfenil)akrilskābes metilesteri (**88**, 12 mmol, 1,92 g,

1 ekviv). Reakcijas maisījumu sildīja ar atteci 10h, tad atdzesēja līdz ist.t., pievienoja 5% KHSO<sub>4</sub> ūdens šķīdumu līdz pH=2-3, ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja un mazgāja ar ūdeni, pies. NaCl šķīdumu, tad žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 59%, amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.76 (m, 2H), 5.39 (t, 1H, *J*=5.1 Hz), 6.83 (d, 2H, *J*=8.8 Hz), 7.27 (d, 2H, *J*=8.9 Hz), 7.63-7.82 (m, 3H), 7.94 (s, 1H), 9.77 (pl s, 1H) m.d.

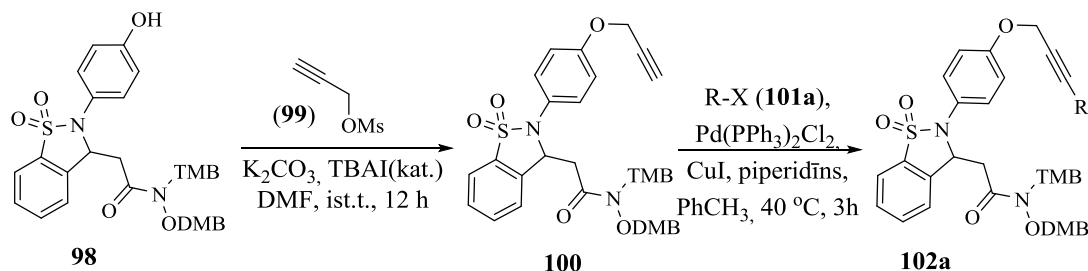


O-(2,4-Dimetoksibenzil)-N-(2,4,6-trimetoksibenzil)hidroksilamīns (97)

Savienojums **97** iegūts pēc literatūrā aprakstītās sintēzes metodes<sup>83</sup>.

N-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-hidroksifenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[d]izotiazol-3-il)-N-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (98)

Izejvielas **96** (800 mg, 2,40 mmol, 1 ekviv) šķīdumam sausā DMF (12 mL) pievienoja HOBT (3,12 mmol, 0,42 g, 1,3 ekviv), TMBNHODMB (**97**) (3,60 mmol, 1,31 g, 1,5 ekviv) un EDCI (3,60 mmol, 0,69 g, 1,5 ekviv) argona atmosfērā. Reakciju maisīja 16h ist.t., tad pievienoja ūdeni (20 mL) un produktu ekstrahēja ar EtOAc (2x20 mL). Organisko fāzi atdalīja, atkārtoti mazgāja ar ūdeni (2x20 mL) un ar pies. NaCl šķīdumu. (20 mL). Organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Atlikumu pārkristalizēja no Et<sub>2</sub>O, iegūstot 1,360 g, 73% bezkrāsainu amorfū vielu. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.42-2.83 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.56 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.72-3.83 (m, 9H), 4.44 (s, 2H), 4.79 (dd, 2H, *J*=107.4, 13.7, Hz), 5.43 (d, 1H, *J*=8.1 Hz), 6.24 (s, 1H), 6.34-6.39 (m, 2H), 6.78-6.90 (m, 4H), 7.25 (d, 2H, *J*=8.3 Hz), 7.51 (d, 1H, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.63-7.74 (m, 2H), 7.93 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 9.75 (s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 170.3, 169.5, 161.4, 160.9, 159.6, 159.1, 157.3, 137.5, 133.8, 133.2, 132.6, 129.7, 129.1, 124.4, 124.2, 120.9, 116.2, 114.3, 104.4, 103.1, 98.0, 90.5, 70.4, 59.8, 58.9, 55.7, 55.3, 55.2, 54.9, 36., 35.7 m.d. ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 665.



*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-prop-2-*in*-1-iloksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]-izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (**100**)

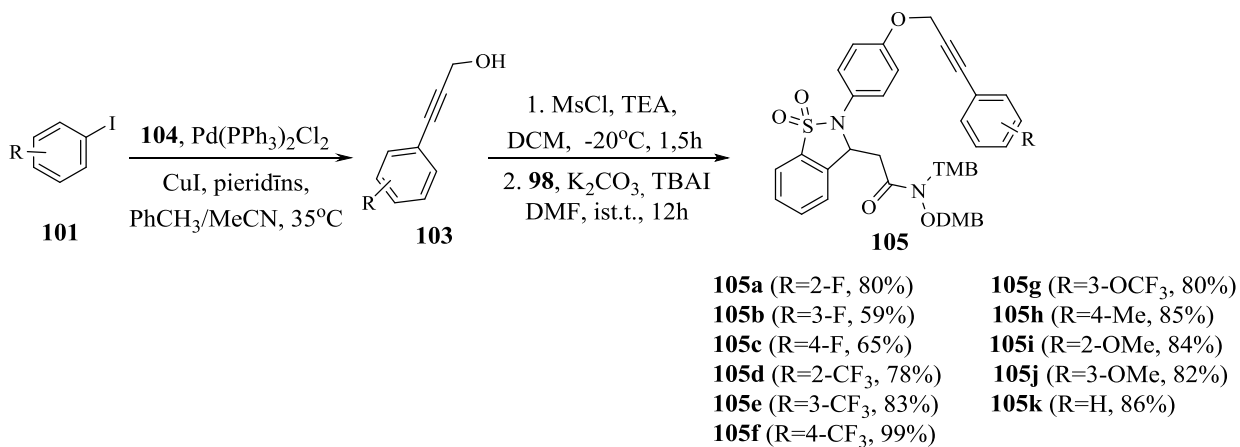
Būvbloka **98** (0,5 mmol, 0,33 g, 1 ekviv) šķīdumam sausā DMF (5 mL) pievienoja K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 mmol, 0,28 g, 4 ekviv) un TBAI (kat.), maisīja 15 min un pievienoja **99** (0,55 mmol, 0,07 g, 1,1 ekviv). Reakcijas maisījumu turpināja maisīt 16h ist.t. argona atmosfērā, tad pievienoja ūdeni (20 mL), filtrēja radušās nogulsnes, kuras mazgāja ar lielu ūdens daudzumu. Iegūto produktu žāvēja pazeminātā spiedienā pie 40°C. Iznākums 59%, iedzeltena, amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.47 (t, 1H, *J*=2.4 Hz), 2.61-2.70 (m, 1H), 2.80-2.86 (m, 1H), 3.53 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.69-3.77 (m, 9H), 4.46 (s, 2H), 4.63 (d, 2H, *J*=2.5 Hz), 4.77-5.05 (m, 5H), 5.56 (dd, 1H, *J*=10.3, 2.9 Hz), 6.06 (s, 2H), 6.11-6.14 (m, 1H), 6.19 (dd, 1H, *J*=8.2, 2.4 Hz), 6.74 (d, 1H, *J*=8.2 Hz), 6.91-6.98 (m, 2H), 7.30-7.37 (m, 2H), 7.43-7.51 (m, 3H), 7.70-7.78 (m, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 170.9, 161.9, 160.1, 159.8, 156.9, 138.1, 134.2, 133.1, 132.9, 129.3, 127.8, 127.7, 125.2, 120.2, 116.2, 114.9, 104.3, 103.9, 98.2, 90.5, 78.4, 77.4, 76.0, 71.2, 58.9, 56.3, 55.9, 55.5, 55.4, 55.2, 37.2, 36.8 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 704.

*N*-(2,4-Dimetoksifenetil)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(piridīn-3-il)prop-2-*in*-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (**102a**)

3-Jodpiridīna **101a**(0,22 mmol, 0,05 g, 1 ekviv) šķīdumam sausā toluolā (2 mL) argona atmosfērā pievienoja CuI (3 mg, 6 mol%), piperidīnu (0,44 mmol, 0,04 mL, 2 ekviv) un Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (5 mg, 3mol%). Reakcijas maisījumu maisīja 10 min un tad pievienoja propargilētera **100** (0.24 mmol, 0.17 g, 1.1 ekviv) šķīdumu toluolā (1 mL), turpināja maisīt 40 °C temperatūrā 3h. Reakcijas maisījumu ietvacēja un attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (1/1). Iznākums 70%, bezkrāsaina, amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.73 (dd, 1H, *J*=17.0, 3.0 Hz), 2.93 (dd, 1H, *J*=17.0, 10.2 Hz), 3.59 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.75-3.84 (m, 9H), 4.52 (s, 2H), 4.86-5.10 (m, 4H), 5.64 (dd, 1H, *J*=10.2, 3.0 Hz), 6.12 (s, 2H), 6.16-6.29 (m, 2H), 6.79 (d, 1H, *J*=8.2 Hz), 7.04-7.09 (m, 2H), 7.39-7.47 (m, 2H), 7.50-7.57 (m, 4H), 7.71-7.83 (m, 2H), 8.56 (s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 170.9, 161.9, 161.4, 160.2, 159.5, 156.9, 152.3, 149.2, 139.0, 136.9, 134.1, 133.0, 132.8, 129.3, 127.7, 125.1, 121.2, 116.1, 114.9, 104.2, 103.9, 98.1, 90.5, 87.2, 84.2, 71.1, 58.9, 56.9, 55.8, 55.5, 55.3, 55.2, 37.3 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 780.

Prop-2-*in*-1-ilmetānsulfonāts (**99**)

Ieguva pēc literatūrā aprakstītas procedūras, <sup>1</sup>H KMR spektrs atbilst literatūras datiem.<sup>111</sup>



Savienojumu **103a,d,f,i** sintēze un raksturojums atrodams publikācijā.<sup>112</sup>

**Vispārīgā procedūra E produkta 103 atvasinājumu sintēzei:** ariljodīda atvasinājumu **101** (1 ekviv), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mol%), CuI (6 mol%) un piperidīnu (2 ekviv) suspendēja sausā toluolā argona atmosfērā. Reakcijas maisījumam pievienoja propargilspirtu (**104**, 1,1 ekviv) un turpināja maisīt pie 40 °C 2 – 4,5 h (PSH kontrole). Reakcijas maisījumu atdzesēja līdz ist.t., ietvaicēja un attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc.

### 3-(3-Fluorofenil)prop-2-īn-1-ols (**103b**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju veica ist.t., 3h, eluents - PE/EtOAc (2/1). Iznākums 22%, brūna eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.64 (t, 1H, J=6.0 Hz), 4.50 (d, 2H, J=6.0 Hz), 6.96-7.32 (m, 4H) m.d.

### 3-(4-Fluorofenil)prop-2-īn-1-ols (**103c**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju maisīja 3h, eluents - PE/EtOAc (4/1). Iznākums 98%, brūna eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.68 (pl s, 1H), 4.51 (s, 2H), 6.94-7.07 (m, 2H), 7.36-7.47 (m, 2H) m.d.

### 3-(3-(Trifluorometil)fenil)prop-2-īn-1-ols (**103e**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju veica ist.t., 3h, eluents - PE/EtOAc (4/1). Iznākums 98%, bezkrāsaina amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.69 (pl s, 1H daļēji pārklājas ar ūdens signālu), 4.50 (s, 2H), 7.40-7.48 (m, 1H), 7.53-7.63 (m, 2H), 7.70 (s, 1H) m.d.

3-(3-(Trifluorometoksi)fenil)prop-2-īn-1-ols (103g)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju veica 36 °C, 2,5h eluentu sistēma - PE/EtOAc (1/1). Reakcijas iznākums 74%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 4.31 (s, 2H), 7.35-7.56 (m, 4H) m.d.

3-(*p*-Tolil)prop-2-īn-1-ols (103h)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju veica 36 °C, 3,5h, eluentu sistēma - PE/EtOAc (1/1). Iznākums 91%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.65 (t, 1H, *J*=5.9 Hz), 2.35 (s, 3H), 4.31 (d, 2H, *J*=5.9 Hz), 6.89-7.07 (m, 2H), 7.34 (m, 2H) m.d.

3-(3-Metoksifenil)prop-2-īn-1-ols (103j)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras E, reakciju veica 36 °C, 3h, eluentu sistēma - PE/EtOAc (1/1). Iznākums 95%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 3.78 (s, 3H), 4.48(s, 2H), 7.10-7.16 (m, 1H), 7.31-7.41 (m, 3H) m.d.

**Vispārīgā procedūra F produkta 105 atvasinājumu sintēzei:** propargilspirta atvasinājuma **103** (1 ekviv) šķīdumam sausā DCM (1 mmol/2 mL) pievienoja TEA (1,2 ekviv), maisīja 15 min ist. t., reakcijas maisījumu atdzesēja līdz -20°C (acetons/sausais ledus) un piepilināja MsCl (1.1 ekviv). Tad reakcijas maisījumam ļāva atsilt līdz ist. t. un pievienoja ūdeni (30 mL), atdalīja organisko fāzi un to mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu (30 mL). Organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Produktu detektēja ar ŠH-MS un lika nākamajā reakcijā bez papildus pierādīšanas un attīrīšanas. Mezilēto produktu (1.4 ekviv), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4 ekviv) un TBAI (kat.) suspendēja sausā DMF (1 mmol/5 mL), maisīja 15 min, tad pievienoja būvbloku **98**. Reakciju maisīja 16h ist.t., tad pievienoja ūdeni (20 mL) un filtrēja radušās nogulsnes vai ekstrahēja reakcijas maisījumu ar EtOAc, organisko fāzi atdalīja, mazgāja ar ūdeni, žāvēja ar Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Iegūto maisījumu pēc vajadzības attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-((3-(2-fluorofenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobena[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (105a)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja 50 °C. Iznākums 80%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.45-2.84 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.50 (s, 3H), 3.62-3.78 (m, 12H), 4.44 (s, 2H), 4.60-4.89 (m, 2H),

5.10 (s, 2H), 5.57 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz), 6.20 (s, 2H), 6.30-6.41 (m, 2H), 6.81 (d, 1H,  $J=8.1$  Hz), 7.12-7.77 (m, 11H), 7.91-8.01(m, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  798.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-((3-(3-fluorfenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105b**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja 40 °C. Iznākums 59%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 2.43-2.85 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.53 (s, 3H), 3.64-3.80 (m, 12H), 4.44 (s, 2H), 4.60-4.90 (m, 2H), 5.09 (s, 2H), 5.48-5.62 (m, 1H), 6.16-6.41 (m, 4H), 6.75-6.81 (m, 1H), 7.10-7.57 (m, 8H), 7.65-7.78 (m, 3H), 7.91-7.98 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  798.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-((3-(4-fluorfenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105c**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja vakuumā 50 °C. Iznākums 65%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 2.44-2.85 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.52 (s, 3H), 3.62-3.78 (m, 12H), 4.43 (s, 2H), 4.61-4.93 (m, 2H), 5.08 (s, 2H), 5.51-5.60 (m, 1H), 6.20 (s, 2H), 6.31-6.40 (m, 2H), 6.81 (d, 1H,  $J=8.1$  Hz), 7.09-7.27 (m, 4H), 7.36-7.60 (m, 5H), 7.66-7.75 (m, 2H), 7.95 (d, 1H,  $J=7.0$ Hz) m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$ 798.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(2-(trifluormetil)fenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105d**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja vakuumā 50 °C. Iznākums 78%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 2.45-2.80 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.53 (s, 3H), 3.64-3.78 (m, 12H), 4.43 (s, 2H), 4.61-4.96 (m, 2H), 5.14 (s, 2H), 5.52-5.61 (m, 1H), 6.21 (s, 2H), 6.30-6.40 (m, 2H), 6.77-6.84 (m, 1H), 7.13-7.44 (m, 5H), 7.49-7.81 (m, 6H) , 7.91-7.98 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  848.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(3-(trifluormetil)fenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105e**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja vakuumā 40 °C. Iznākums 83%.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.67-2.77 (m,

1H), 2.88-2.98 (m, 1H), 3.59 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.74-3.84 (m, 9H), 4.52 (s, 2H), 4.74-5.10 (m, 4H), 5.64 (dd, 1H,  $J=10.1, 2.9$  Hz), 6.13 (s, 2H), 6.17-6.29 (m, 2H), 6.76-6.84 (m, 1H), 7.06 (d, 2H,  $J=8.6$  Hz), 7.36-7.49 (m, 3H), 7.51-7.58 (m, 4H), 7.62-7.71 (m, 1H), 7.77-7.84 (m, 1H), 8.00 (pl s, 1H) m.d.; m.d.;  $^{13}\text{C}$ -KMR (101 Hz): 170.9, 161.8, 161.5, 160.1, 159.4, 156.9, 137.9, 134.1, 132.9, 132.8, 132.3, 132.2, 132.0 (kv,  $J=10.4, 8.7$  Hz), 129.3, 128.7, 128.6, 127.7 (kv,  $J=12.9, 9.1$  Hz), 127.6, 125.1, 121.1, 116.2, 116.1, 114.9, 104.2, 103.9, 98.1, 90.5, 71.1, 58.9, 56.7, 55.8, 55.5, 55.4, 55.3, 55.2, 37.4, 36.7 m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  848.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(4-(trifluorometil)fenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105f**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja 50 °C. Iznākums 99%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ): 2.45-2.82 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.50 (s, 3H), 3.62-3.83 (m, 12H), 4.43 (s, 2H), 4.57-4.91 (m, 2H), 5.12 (s, 2H), 5.50-5.60 (m, 1H), 6.16-6.37 (m, 4H), 6.74-6.86 (m, 1H), 7.13-7.76 (m, 9H), 7.88-7.98 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  849.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(3-(trifluormetiloksi)fenil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105g**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja 50 °C. Iznākums 80%, brūna, cieta viela.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.73 (dd, 1H,  $J=17.2, 3.0$  Hz), 2.94 (dd, 1H,  $J=17.2, 10.2$  Hz), 3.60 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.75-3.84 (m, 9H), 4.53 (s, 2H), 4.88-5.11 (m, 4H), 5.64 (dd, 1H,  $J=10.2, 2.9$  Hz), 6.12 (s, 2H), 6.18-6.21 (m, 1H), 6.26 (dd, 1H,  $J=8.2, 2.4$  Hz), 6.79 (d, 1H,  $J=8.2$  Hz), 7.02-7.10 (m, 2H), 7.17-7.20 (m, 1H), 7.29-7.45 (m, 5H), 7.50-7.58 (m, 3H), 7.79-7.84 (m, 1H) m.d.;  $^{13}\text{C}$ -KMR (101 Hz): 171.0, 161.9, 161.5, 160.2, 159.5, 156.9, 149.1, 138.0, 134.2, 133.1, 132.8, 130.5, 129.9, 129.3, 127.7, 125.1, 124.3, 124.1, 121.8, 121.6, 121.4, 121.1 (kv,  $J=240, 188$  Hz), 116.2, 114.9, 104.2, 103.9, 98.1, 90.5, 95.9, 85.1, 71.2, 58.9, 56.9, 55.8, 55.5, 55.4, 55.2, 37.3, 36.7 m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  864.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-(*p*-tolil)prop-2-ĭn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamĭds (**105h**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu izekstrahēja no reakcijas maisījuma ar EtOAc un attīrĭja ar kolonnu hromatogrāfĭju, eluents PE/EtOAc (2/1). Iznākums 85%, brūna, amorfa viela.

<sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.29 (s, 3H), 2.44-2.85 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.52 (s, 3H), 3.60-3.83 (m, 12H), 4.44 (s, 2H), 4.60-4.92 (m, 2H), 5.06 (s, 2H), 5.50-5.62 (m, 1H), 6.21 (s, 2H), 6.29-6.41 (m, 2H), 6.81 (d, 6H, *J*=8.1 Hz), 7.11-7.21 (m, 4H), 7.30-7.45 (m, 4H), 7.49-7.58 (m, 1H), 7.63-7.76 (m, 2H), 7.90-7.97 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 794.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-((3-(2-metoksifenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (**105i**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu ekstrahēja ar EtOAc. Iznākums 84%, balta, amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.44-2.83 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.53 (s, 3H), 3.64-3.82 (m, 15H), 4.44 (s, 2H), 4.61-4.92 (m, 2H), 5.07 (s, 2H), 5.54-5.61 (m, 1H), 6.23 (s, 2H), 6.28-6.41 (m, 2H), 6.76-7.21 (m, 6H), 7.32-7.45 (m, 4H), 7.62-7.74 (m, 2H), 7.91-7.98 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 810.

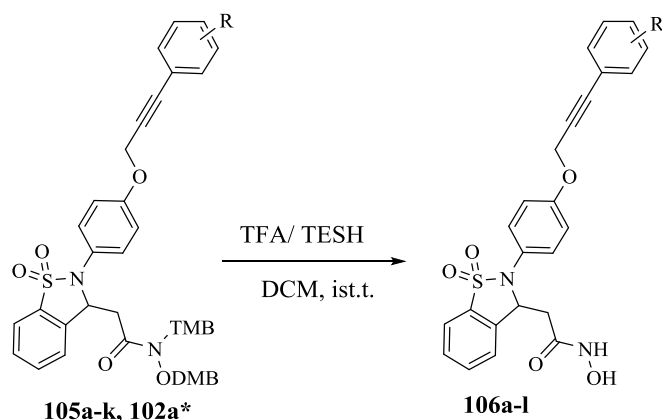
*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(2-(4-((3-(3-metoksifenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (**105j**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu ekstrahēja ar EtOAc un attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (2/1). Iznākums 82%, iedzeltena amorfa viela. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.44-2.84 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.52 (s, 3H), 3.64-3.82 (m, 15H), 4.44 (s, 2H), 4.61-4.92 (m, 2H), 5.07 (s, 2H), 5.52-5.60 (m, 1H), 6.24 (s, 2H), 6.28-6.41 (m, 2H), 6.76-7.21 (m, 6H), 7.32-7.45 (m, 4H), 7.60-7.70 (m, 2H), 7.92-7.98 (m, 1H) m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 810.

*N*-((2,4-Dimetoksibenzil)oksi)-2-(1,1-dioksido-2-(4-((3-fenilprop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-(2,4,6-trimetoksibenzil)acetamīds (**105k**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras F. Produktu filtrēja pēc ūdens pievienošanas, nogulsnes mazgāja ar ūdeni un žāvēja vakuumā 50 °C. Iznākums 86%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.44-2.84 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.54 (s, 3H), 3.65-3.78 (m, 12H), 4.45 (s, 2H), 4.79 (d, 2H, *J*=13.7 Hz), 5.09 (s, 2H), 5.56 (dd, 1H, *J*=9.7, 3.4 Hz), 6.22 (s, 2H), 6.31-6.38 (m, 2H), 6.81 (d, 1H, *J*=8.1 Hz), 7.18 (d, 2H, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.35-7.57 (m, 8H), 7.62-7.78 (m, 2H), 7.95 (d, 1H, *J*=7.6 Hz) m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 780.





**Vispārīgā metode G aizsarggrupu noņemšanai.** *N,O*-diaizsargāto hidroksāmskābi **105** (1 ekviv) izšķīdināja sausā DCM (1mmol/1mL), piepilināja TFA (10 vol%) un pievienoja TESH (4 ekviv). Maisīja ist. t., novēroja reakcijas krāsas maiņu. Reakcijas gaitu un produktu veidošanos apstiprināja ar PSH un ŠH/MS. Reakcijas maisījumu ietvaicēja un produktu pārkristalizēja no dietilētera vai attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents DCM/MeOH (10/1). Gala produktu tīrību noteica ar AEŠH.

2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-(2-(trifluormetil)fenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroksiacetamīds (**106d**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 77%. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.43-2.51 (m, 1H), 2.68-2.77 (m, 1H), 4.94 (s, 2H), 5.33-5.45 (m, 1H), 7.06 (d, 2H, *J*=8.1 Hz), 7.33-7.67 (m, 9H), 7.78 (d, 1H, *J*=7.1 Hz), 8.07 (pl s, 1H), 8.87 (pl s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 166.8, 157.7, 136.0, 134.5, 134.4, 133.4, 131.8 (kv, *J*=60.4, 30 Hz), 131.6, 130.1, 128.9, 128.7, 127.0, 125.6 (kv, *J*=10.0m 5.1 Hz), 124.5, 123.4 (kv, *J*=540, 270 Hz), 121.7, 120.3, 116.3, 85.1, 83.2, 59.4, 56.8, 37.1 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 517; AEŠH tīrība 98%.

2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-(3-(trifluormetil)fenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroksiacetamīds (**106e**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 64%, eļļains produkts. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.47 (dd, 1H, *J*=14.0, 7.2 Hz), 2.65-2.78 (m, 1H), 4.89 (s, 2H), 5.32-5.50 (m, 1H), 7.04 (d, 2H, *J*=8.1 Hz), 7.30-7.63 (m, 8H), 7.64-7.81 (m, 2H), 9.00 (pl s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 166.8, 157.7, 136.0, 135.2, 134.3, 133.5, 131.1 (kv, *J*=65.0, 32.7 Hz), 130.1, 129.1, 129.0, 128.7 (kv, *J*=6.7, 2.7

Hz), 127.1, 125.5 (kv,  $J=7.8, 3.9$  Hz), 124.5, 123.6 (kv,  $J=540, 270$  Hz), 123.1, 121.6, 116.3, 86.1, 85.1, 59.6, 56.8, 37.2 m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  517; AEŠH tīrība 87%.

2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-(3-(trifluormetiloksi)fenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]-izotiazol-3-il)-*N*-hidroxiacetamīds (106g)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 33%.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.40-2.52 (m, 1H), 2.63-2.76 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 5.33-5.40 (m, 1H), 6.99-7.23 (m, 3H), 7.28-7.47 (m, 6H), 7.48-7.58 (m, 2H), 7.72-7.80 (m, 1H), 8.20 (pl s, 1H), 9.01 (pl s, 1H) m.d.;  $^{13}\text{C}$ -KMR (101 Hz): 166.8, 157.7, 149.1, 138.2, 136.2, 134.2, 133.5, 131.6, 130.4, 130.0, 129.2, 128.9, 127.2, 127.1, 124.5, 124.3, 124.0, 120.7 (kv,  $J=170, 60$  Hz), 116.3, 86.0, 84.9, 59.6, 56.9, 37.3 m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  533; AEŠH tīrība 96%.

2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-(*p*-tolil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroxiacetamīds (106h)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 54%.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 2.31 (m, 4H), 2.54 (dd, 1H,  $J=14.0, 4.0$  Hz), 5.07 (s, 2H), 5.48 (dd, 1H,  $J=8.0, 4.0$  Hz), 7.02 (d, 2H,  $J=9.0$  Hz), 7.15-7.21 (m, 3H), 7.35 (d, 2H,  $J=8.0$  Hz), 7.45 (d, 1H,  $J=9$  Hz), 7.62 (d, 1H,  $J=7.0$  Hz), 7.65-7.74 (m, 1H), 7.79 (dt, 1H,  $J=7.0, 1.0$  Hz), 7.95 (d, 1H,  $J=8.0$  Hz), 8.89 (pl s, 1H), 10.51 (pl s, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[M+1]^+$  463; AEŠH tīrība 97%.

*N*-Hidroksi-2-(2-(4-((3-(3-metoksifenil)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)acetamīds (106j)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 74%.  $^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.53 (dd, 1H,  $J=14.1, 7.9$  Hz), 2.72-2.81 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 4.87 (s, 2H), 5.36-5.48 (m, 1H), 6.78-6.86 (m, 1H), 6.89-6.92 (m, 1H), 6.95-7.00 (m, 1H), 7.05 (d, 2H,  $J=8.9$  Hz), 7.13-7.18 (m, 1H), 7.32-7.39 (m, 3H), 7.52-7.63 (m, 2H), 7.80 (d, 1H,  $J=7.5$  Hz), 8.06 (pl s, 1H), 8.48 (pl s, 1H) m.d.;  $^{13}\text{C}$ -KMR (101 Hz): 166.5, 161.2, 157.1, 136.2, 136.0, 134.2, 131.5, 132.4, 130.1, 128.7, 128.4, 128.3, 124.5, 121.7, 121.4, 120.3, 116.5, 114.2, 86.1, 84.2, 59.4, 55.4, 37.4 m.d. ŠH/MS  $[M+1]^+$  479; AEŠH tīrība 97%.

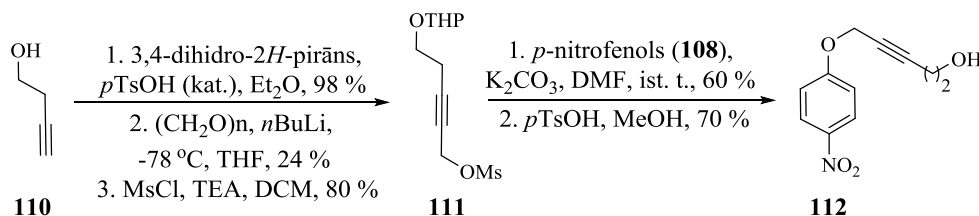
2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-fenilprop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroksiacetamīds (**106k**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pēc ietvaicēšanas attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju. Iznākums 48%. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.37-2.48 (m, 1H), 2.62-2.71 (m, 1H), 4.87 (s, 2H), 5.33 (dd, 1H, *J*=8.1, 4.3 Hz), 7.02 (d, 2H, *J*=8.1 Hz), 7.27-7.54 (m, 10H), 7.74 (d, 1H, *J*=6.9 Hz), 8.24 (pl s, 1H), 9.12 (pl s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 166.9, 157.7, 136.1, 134.2, 131.9, 130.0, 129.0, 128.9, 128.5, 128.4, 124.5, 122.1, 121.6, 116.3, 90.5, 87.7, 83.5, 59.6, 57.1, 55.8, 37.2 m.d. ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 449; AEŠH tīrība 91%.

2-(1,1-Dioksido-2-(4-((3-(piridīn-3-il)prop-2-īn-1-il)oksi)fenil)-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)-*N*-hidroksiacetamīds (**106l**)

Iegūts pēc vispārīgās procedūras G. Produktu pārkristalizēja no Et<sub>2</sub>O. Iznākums 42%. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>, δ): 2.48 (dd, 1H, *J*=14.6, 7.6 Hz), 2.70 (dd, 1H, *J*=14.6, 4.9 Hz), 5.05 (s, 2H), 5.51-5.58 (m, 1H), 7.17 (d, 2H, *J*=8.1 Hz), 7.38-7.54 (m, 3H), 7.58-7.80 (m, 3H), 7.83-7.91 (m, 2H), 8.47-8.55 (m, 1H), 8.60 (s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 168.3, 158.7, 152.7, 149.6, 140.8, 138.2, 135.6, 134.5, 130.9, 130.1, 128.6, 125.9, 125.1, 122.1, 121.4, 116.9, 89.0, 84.2, 60.8, 57.3, 38.4 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 450; ASŠH tīrība 91%.

Savienojuma **109** sintēze un KMR raksturojums.<sup>79</sup>



5-((Tetrahydro-2H-piran-2-il)oksi)pent-2-īn-1-ilmetānsulfonāts (**111**)

3-Butīnola **110** (20 mmol, 1,51 mL, 1 ekviv) šķīdumam dietilēterī (40 mL) pievienoja *p*TsOH (kat.) un 3,4-dihidro-2H-pirānu (80 mmol, 7,30 mL, 4 ekviv) pie 0 °C. Reakcijas maisījumu lēni atsildīja līdz ist.t., turpināja maisīt 20h un ietvaicēja. Atlikumu apstrādāja ar dietilēteri, radušās nogulsnes filtrēja, un filtrātu ietvaicēja. Iznākums 3,62 g, 98%, bezkrāsaina eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.47-1.75 (m, 6H), 1.97 (t, 1H, *J*=2.7 Hz), 2.50 (td, 2H, *J*=7.0, 2.7 Hz), 3.48-3.63 (m, 2H), 3.78-3.91 (m, 2H), 4.62-4.66 (m, 1H) m.d.

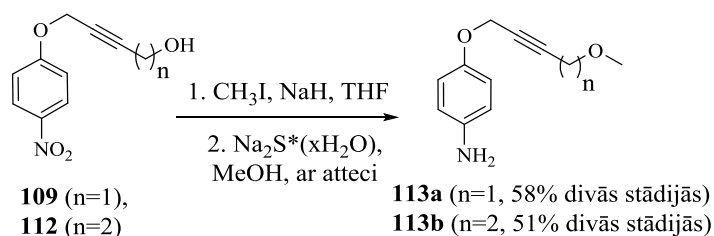
*O*-THP-Aizsargātu 3-butīnolu (15 mmol, 2,4 g, 1 ekviv) izšķīdināja sausā THF (1mmol/5mL), piepilināja *n*-BuLi (1,6M, 16,5 mmol, 11 mL, 1,1 ekviv) pie 0 °C, maisīja 30 min un pievienoja paraformaldehīdu (90 mmol, 2,9 g, 6 ekviv). Reakcijas maisījumu lēni atsildīja līdz ist.t., turpināja maisīt 3h un tad pievienoja pies. NH<sub>4</sub>Cl šķīdumu. Organisko fāzi atdalīja, ūdens fāzi mazgāja ar dietilēteri. Apvienotās organiskās fāzes mazgāja ar 1% HCl, pies. NaHCO<sub>3</sub> šķīdumu, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Produktu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents EtOAc/MeOH (10/1). Iznākums 0,85 g, 24%, dzeltena eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.41-1.70 (m, 6H), 2.47-2.58 (m, 2H), 3.43-3.60 (m, 2H), 3.77-3.92 (m, 2H), 4.20-4.29 (m, 2H), 4.62-4.66 (m, 1H) m.d.

Iegūto produktu (1,6 mmol, 0,3 g, 1 ekviv) izšķīdināja sausā DCM (16 mL), pievienoja TEA (1,9 mmol, 0,27 mL, 1,2 ekviv) un atzdesēja reakcijas maisījumu līdz -20 °C. Tad lēni piepilināja MsCl (1,8 mmol, 0,14 mL, 1,1 ekviv) un atstāja maisīties 1,5 h pie -20 °C. Reakcijas maisījumu lēni atsildīja līdz ist.t. un pievienoja ūdeni (30 mL), produktu ekstrahēja ar DCM (2x20 mL), organiskās fāzes apvienoja, mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu (20 mL), žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 340 mg, 80%, brūna eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.41-1.73 (m, 6H), 2.49-2.61 (m, 2H), 3.12 (s, 3H), 3.46-3.62 (m, 2H), 3.74-3.91 (m, 2H), 4.59-4.65 (m, 1H), 4.80-4.83 (m, 2H) m.d.

#### 5-(4-Nitrofenoksi)pent-3-īn-1-ols (112)

Produktu **111** (1,3 mmol, 0,34 g, 1 ekviv), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 ekviv) suspendēja sausā DMF (1mmol/5 mL), maisīja 15 min un pievienoja *p*-nitrofenolu (**108**, 1,56 mmol, 0,22 g, 1,2 ekviv). Reakciju maisīja 16h ist.t., tad pievienoja ūdeni (20 mL) un produktu ekstrahēja ar EtOAc (2x20 mL). Organiskās fāzes apvienoja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Maisījumu attīrīja ar kolonnu hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (4/1). Iznākums 0,23 g, 61%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.41-1.73 (m, 6H), 2.46-2.60 (m, 2H), 3.44-3.63 (m, 2H), 3.70-3.92 (m, 2H), 4.58-4.66 (m, 1H), 4.81-4.88 (m, 2H), 6.91 (d, 2H, *J*=9.1 Hz), 8.17 (d, 2H, *J*=9.1 Hz) m.d.

*p*-Nitrofenola atvasinājumu (1,4 mmol, 0,4 g, 1 ekviv) izšķīdināja MeOH (14 mL), pievienoja *p*TsOH (kat.) un turpināja maisīt 20h ist.t. Reakcijas maisījumu ietvaicēja, atlikumu suspendēja ūdenī (20 mL) un ekstrahēja ar dietilēteri (40 mL). Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Iznākums 0,21 g, 70%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.51 (tt, 2H, *J*=6.3, 2.2 Hz), 3.72 (t, 2H, *J*=6.4 Hz), 4.79 (t, 2H, *J*=2.2 Hz), 6.97-7.10 (m, 2H), 8.14-8.25 (m, 2H) m.d.

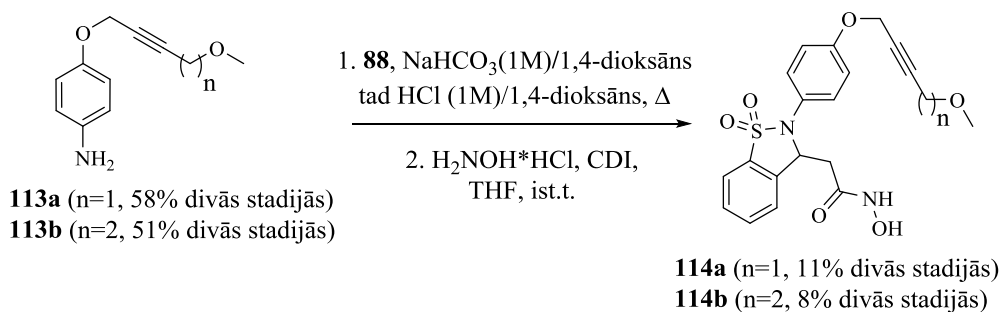


#### 4-((4-Metoksibut-2-īn-1-il)oksi)anilīns (**113a**)

Izejvielu **109** (1,93 mmol, 0,4 g, 1 ekviv) izšķīdināja sausā THF (20 mL), piebēra NaH (60% suspensija eļļā, 2,3 mmol, 0,09 g, 1,2 ekviv) un turpināja maisīt 1h ist.t. argona atmosfērā. MeI (2,3 mmol, 0,14 mL, 1,2 ekviv) lēni piepilināja reakcijas maisījumam, turpināja maisīt 16h ist.t. Reakcijas beigās maisījumam pievienoja ūdeni (20 mL) un ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Iznākums 0,43 g, 98%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 3.36 (s, 3H), 4.13 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 7.05 (d, 2H, *J*=9.0 Hz), 8.22 (d, 2H, *J*=9.0 Hz) m.d. Iegūto produktu (1.9 mmol, 0.43 g, 1 ekviv) kopā ar Na<sub>2</sub>S\*9H<sub>2</sub>O (7,8 mmol, 1,9 g, 4 ekviv) suspendēja MeOH (20 mL) un reakcijas maisījumu sildīja ar ateci 4 h. Tad atdzesēja līdz ist.t., pievienoja ūdeni (40 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (3x20 mL). Organiskās fāzes apvienoja un paskābināja ar HCl (1M). Ūdens fāzi atdalīja un pievienoja NaHCO<sub>3</sub> pies. šķīdumu līdz pH=8, produktu ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (b/ū), filtrēja un ietvaicēja. Iznākums 0,22 g, 59%, zaļa eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 3.36 (s, 3H), 3.48 (pl s, 2H), 4.13 (s, 2H), 4.65 (s, 2H), 6.60-6.84 (m, 4H) m.d.

#### 4-((5-Metoksipent-2-īn-1-il)oksi)anilīns (**113b**)

Iegūts pēc analogijas ar **113a**. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.42-2.57 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, *J*=6.7 Hz), 4.67 (s, 2H), 6.92-7.02 (m, 2H), 7.38-7.50 (m, 2H) m.d.



#### N-Hidroksi-2-(2-(4-((4-metoksibut-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[d]izotiazol-3-il)acetamīds (**114a**)

Pie *p*-aminofenola atvasinājuma **113a** (1,15 mmol, 0,22 g, 1 ekviv) šķīduma dioksānā (12 mL) pievienoja 1M NaHCO<sub>3</sub> (3,5 mL, 4 ekviv) un 3-(2-hlorsulfonilfenil)akrilskābes metilesteri **88** (1,15 mmol, 0,3 g, 1 ekviv). Reakcijas maisījumu sildīja ar atteci 4h, tad atdzesēja līdz ist.t., pievienoja ūdeni (20 mL), ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (b/ū), filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 0.43 g, 90%, brūna eļļa. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.70-2.95 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 4.15 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 5.36-5.47 (m, 1H), 7.05 (d, 2H, *J*=8.9 Hz), 7.39-7.52 (m, 3H), 7.59-7.69 (m, 2H), 7.85-7.91 (m, 1H) m.d.

Iegūto produktu (1 mmol, 0.43 g) suspendēja dioksānā, pievienoja HCl (konc.) un vārīja ar atteci 2h. Reakcijas maisījumu atdzesēja līdz ist.t., ietvaicēja dioksānu un atlikumu suspendēja ūdenī (20 mL). Produktu ekstrahēja ar EtOAc (2x20 mL). Organiskās fāzes apvienoja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (b/ū), filtrēja un ietvaicēja. Produktu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents EtOAc. Iznākums 0,4 g, 97%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.75-2.95 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 4.14 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.41 (t, 1H, *J*=6.0 Hz), 7.01-7.08 (m, 2H), 7.40-7.73 (m, 5H), 7.85-7.92 (m, 1H) m.d.

Iegūto skābi (0,5 mmol, 0,2 g, 1 ekviv) izšķīdināja sausā THF (5 mL), pievienoja CDI (1,5 mmol, 0.24 g, 3 ekviv) un maisīja 2h ist. t. argona atmosfērā. Tad pievienoja hidroksilamīna hidrogēnhlorīdu (2 mmol, 0,14 g, 4 ekviv) un turpināja maisīt 12h ist.t. Reakcijas maisījumu ietvaicēja, atlikumu pārkristalizēja no heksāna. Iznākums 0,04 g, 19%.

<sup>1</sup>H KMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.30-2.62 (m, 2H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.31 (s, 3H), 4.15 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 5.49 (dd, 1H, *J*=4.3, 3.9 Hz), 7.11 (d, 2H, *J*=9.0 Hz), 7.43 (d, 2H, *J*=9.0 Hz), 7.62 (d, 2H, *J*=7.8 Hz), 7.72-7.80 (m, 1H), 7.95 (d, 1H, *J*=7.8 Hz), 8.89 (pl s, 1H), 10.50 (pl s, 1H) m.d.; <sup>13</sup>C-KMR (101 Hz): 168.4, 158.9, 138.1, 135.7, 134.4, 131.0, 130.2, 128.5, 125.9, 122.3, 117.2, 84.3, 82.4, 75.2, 74.9, 60.7, 60.4, 57.8, 57.0, 38.3 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 417; AEŠH tīrība 90%.

*N*-Hidroksi-2-(2-(4-((5-metoksipent-2-īn-1-il)oksi)fenil)-1,1-dioksido-2,3-dihidrobenz[*d*]izotiazol-3-il)acetamīds (**114b**)

Pie *p*-aminofenola atvasinājuma **113b** (0,5 mmol, 0,10 g, 1 ekviv) šķīduma dioksānā (5 mL) pievienoja 1M NaHCO<sub>3</sub> (2,0 mL, 4 ekviv) un 3-(2-hlorsulfonilfenil)akrilskābes metilesteri (**88**, 0,5 mmol, 0,13 g, 1 ekviv). Reakcijas maisījumu vārīja ar atteci 4h., tad atdzesēja līdz ist.t., pievienoja ūdeni (20 mL), ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 0,16 g, 74%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.34-2.46 (m, 2H),

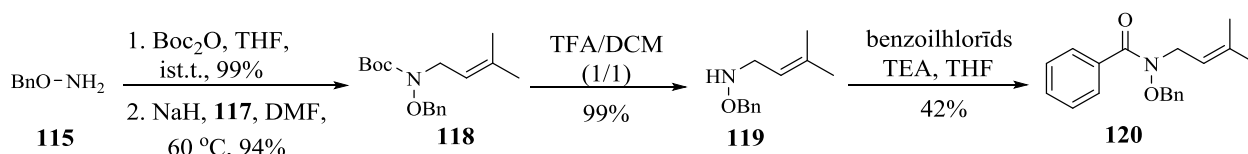
2.59-2.86 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.34-3.42 (m, 2H), 3.46 (s, 3H), 4.57 (s, 2H), 5.30 (t, 1H,  $J=6.2$  Hz), 6.93 (d, 2H,  $J=8.9$  Hz), 7.27-7.59 (m, 5H), 7.72-7.80 (m, 1H) m.d.

Iegūto produktu (0,36 mmol, 0,16 g) suspendēja dioksānā, pievienoja HCl (konc.) un sildīja ar atteci 20 h. Reakcijas maisījumu atdzesēja līdz ist.t., ietvaicēja dioksānu un atlikumu suspendēja MeCN (20 mL). Radušās nogulsnes filtrēja (neizreaģējusī izejviela) filtrātu ietvaicēja. Iznākums 0,14 g, 93%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 2.46-2.56 (m, 2H), 2.80-2.91 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.50-3.55 (m, 2H), 4.71 (s, 2H), 5.38-5.46 (m, 1H), 6.99-7.06 (m, 2H), 7.39-7.68 (m, 5H), 7.85-7.91 (m, 1H) m.d.

Iegūto skābi (0,2 mmol, 0,07 g, 1 ekviv) izšķīdināja sausā THF (5 mL), pievienoja CDI (0,6 mmol, 0,08 g, 3 ekviv) un maisīja 2h ist. t. argona atmosfērā. Tad pievienoja hidroksilamīna hidrogēnhlorīdu (0,8 mmol, 0,05 g, 4 ekviv) un turpināja maisīt 12 h ist.t. Reakcijas maisījumu ietvaicēja, atlikumu pārkristalizēja no heksāna. Iznākums 11%.

$^1\text{H}$  KMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ ): 2.28-2.62 (m, 4H, pārklājās ar DMSO signālu), 3.24 (s, 3H), 3.41 (t, 2H,  $J=6.3$  Hz), 4.81 (s, 2H), 5.49 (dd, 1H,  $J=7.2, 3.9$  Hz), 7.08 (d, 2H,  $J=9.0$  Hz), 7.42 (d, 2H,  $J=9.0$  Hz), 7.61 (d, 2H,  $J=8.2$  Hz), 7.78 (dt, 1H,  $J=6.7, 0.8$  Hz), 7.95 (d, 1H,  $J=7.8$  Hz), 8.88 (pl s, 1H), 10.50 (pl s, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  431; AEŠH tīrība 77%.

### Hidroksāmskābju sintēze, izmantojot skābes jutīgo *O*-2-metilprenilaizsarggrupu



#### *t*Butil (benziloksi)(3-metilbut-2-ēn-1-il)karbamāts (**118**)

*O*-Benzilhidroksilamīnu **115** (10 mmol, 1,23 mL, 1 ekviv) izšķīdināja sausā THF un pievienoja  $\text{Boc}_2\text{O}$ . Reakciju maisīja 20 h ist.t., ietvaicēja, atlikumam pievienoja ūdeni (50 mL) un ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 2 g, 90%. Iegūto produktu suspendēja sausā DMF (18 mL), pievienoja NaH (60% dispersiju minerāleļļā) (10,8 mmol, 0,43 g, 1,2 ekviv) un maisīja 30 min, tad lēni pievienoja prenilbromīdu (**117**, 9,9 mmol, 1,2 mL, 1,1 ekviv) un reakcijas maisījumu sildīja  $60^\circ\text{C}$  16 h. Reakcijas maisījumu atdzesēja, pievienoja ūdeni (40 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (2x40 mL). Organiskās fāzes apvienoja, mazgāja ar ūdeni, žāvēja virs  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 2,45 g, 94%, eļļa.

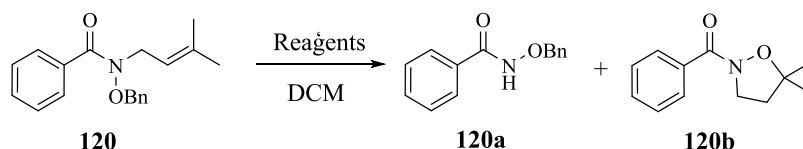
$^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.50 (s, 9H), 1.65 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 3.99 (d, 2H,  $J=7.4$  Hz), 4.82 (s, 2H), 5.24-5.37 (m, 1H), 7.47 – 7.30 (m, 5H) m.d.

#### *O*-Benzil-*N*-(3-metilbut-2-ēn-1-il)hidroksilamīns (**119**)

*N,O*-Diaizsargāta hidroksilamīna (**118**, 8,3 mmol, 2,44 g) šķīdumam sausā DCM (10 mL) pievienoja TFA. Maisīja 1,5 h, tad reakcijas maisījumu ietvaicēja, lai iegūtu vēlamu produktu **119** ar 99% iznākumu.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.66 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 3.99 (d, 2H,  $J=7.4$  Hz), 4.82 (s, 2H), 5.24-5.37 (m, 1H), 7.47 – 7.30 (m, 5H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  192.

#### *N*-(Benziloksi)-*N*-(3-metilbut-2-ēn-1-il)benzamīds (**120**)

*N*-Prenil-*O*-benzil-aizsargāto hidroksilamīnu (**119**, 9 mmol, 2 g, 1 ekviv) piepilināja benzoilhlorīda (18 mmol, 2 mL, 2 ekviv) un TEA (36 mmol, 4,8 mL, 4 ekviv) šķīdumam sausā DCM 0 °C temperatūrā. Reakcijas maisījumu lēni atsildīja līdz ist.t., maisīja 2 h, pievienoja ūdeni (100 mL) un ekstrahēja ar DCM. Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (b/ū), filtrēja, ietvaicēja. Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (10/1). Iznākums 42%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.67 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 4.33 (d, 2H,  $J=7.4$  Hz), 4.68 (s, 2H), 5.32-5.42 (m, 1H), 7.01-7.11 (m, 2H), 7.28-7.32 (m, 1H), 7.34-7.52 (m, 4H), 7.58-7.68 (m, 2H), 8.07-8.14 (m, 1H) m.d.



#### *N*-(Benziloksi)benzamīds (**120a**)

*N,O*-Diaizsargātas hidroksāmskābes **120** (0,2 mmol, 0,05 g, 1 ekviv) šķīdumam DCM (2 mL) pievienoja ūdeni (0,2 mL) un DDQ (0,24 mmol, 0,05 g, 1,2 ekviv). Reakciju maisīja 12h (PSH kontrole). Reakcijas maisījumu filtrēja, filtrātam pievienoja pies.  $\text{NaHCO}_3$  šķīdumu, ekstrahēja ar DCM (2x10 mL). Organiskās fāzes apvienoja, žāvēja virs  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrēja, ietvaicēja. Iznākums 24 mg, 58%.  $^1\text{H}$  KMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5.03 (s, 2H), 7.30-7.71 (m, 10H), 8.71 (pl s, 1H) m.d.; ŠH/MS  $[\text{M}+1]^+$  228.

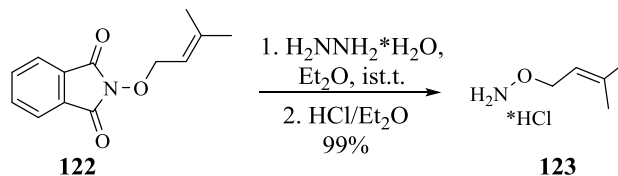
#### (5,5-Dimetilizoksazolidīn-2-il)(fenil)metanons (**120b**)

*N,O*-Diaizsargātas hidroksāmskābes **120** (0,2 mmol, 0,05 g, 1 ekviv) šķīdumam sausā DCM (2 mL) pievienoja  $\text{FeCl}_3$  (15 mol%) un maisīja ist.t. argona atmosfērā 16h. Reakcijas maisījumu ietvaicēja, atlikumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (2/1). Iznākums 25



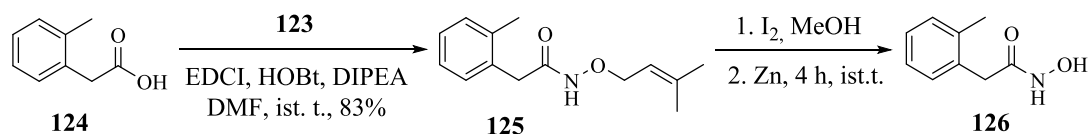
mg, 60%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.26 (s, 6H), 2.07-2.17 (m, 2H), 3.93-4.04 (m, 2H), 7.37-7.45 (m, 3H), 7.74-7.82 (m, 2H) m.d.

Savienojuma **122** sintēze un KMR raksturojums.<sup>113</sup>



#### O-(3-Metilbut-2-ēn-1-il)hidroksilamīna hidrogēnhlorīds (**123**)

O-Prenilhidroksifitalimīda **122** (2 mmol, 0,46 g) šķīdumam dietilēterī (10 mL) pievienoja hidrazīna hidrātu (2,4 mmol, 0,12 mL, 1,2 ekviv). Maisīja 12h, tad reakcijas maisījumu filtrēja caur silikagēlu (eluents Et<sub>2</sub>O) un filtrātam piepilināja HCl/Et<sub>2</sub>O. Nogulsnes filtrēja un žāvēja gaisā. Iznākums 0,27 g, 99%. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.68 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 4.51 (d, 2H, *J*=7.4 Hz), 5.27-5.32 (m, 1H), 10.94 (pl s, 2H) m.d.



#### N-((3-Metilbut-2-ēn-1-il)oksi)-2-(*o*-tolil)acetamīds (**125**)

*o*-Toliletiķskābes (**124**, 1,3 mmol, 0,19 g, 1 ekviv) šķīdumam sausā DMF (5 mL) pievienoja **123** (1,3 mmol, 0,18 g, 1 ekviv), DIPEA (2,6 mmol, 0,42 mL, 2 ekviv), HOBt (1,4 mmol, 0,19 g, 1,1 ekviv) un EDCI (1,4 mmol, 0,27 g, 1,1 ekviv) argona atmosfērā un maisīja 20h. Reakcijas maisījumam pievienoja ūdeni (20 mL), ekstrahēja ar EtOAc (2x15 mL), organiskās fāzes apvienoja un mazgāja ar lielu ūdens daudzumu. Organisko fāzi žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (4/1). Iznākums 0.24 g, 83%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.59 (s, 3H), 1.69 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.29 (s, 2H), 4.25 (d, 2H, *J*=7.2 Hz), 5.25-5.36 (m, 1H), 7.05-7.23 (m, 4H), 11.08 (pl s, 2H) m.d.

#### N-Hidroksi-2-(*o*-tolil)acetamīds (**126a**)

O-Aizsargāto hidroksāmskābi (**125**, 0,21 mmol, 0,05 g, 1 ekviv) izšķīdināja metanolā (4 mL) un pievienoja I<sub>2</sub> (0,57 mmol, 0,15 g, 2,7 ekviv), turpināja maisīt 1h, tad pievienoja Zn pulveri (1,26 mmol, 0,08 g, 6 ekviv). Pēc 12 h reakcijas maisījumu ietvaicēja, uzlēja DCM, filtrēja. Filtrātam pievienoja ūdeni un organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja un ietvaicēja. Iznākums

28 mg, 80%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 2.33 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 7.19-7.27 (m, 4H, daļēji pārklājās ar šķīdinātāju signālu) m.d.

Savienojumus **127a-d** sintezēja pēc analogijas ar **125**.

*N*-((3-Metilbut-2-ēn-1-il)oksi)kanēlamīds (**127a**)

Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (4/1). Iznākums 51%.

<sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.66 (s, 3H), 1.74 (s, 3H), 4.25-4.41 (m, 2H), 5.28-5.41 (m, 1H), 6.35-6.50 (d, 1H, *J*=15.8 Hz), 7.30-7.65 (m, 6H), 11.19 (s, 1H) m.d.

*t*Butil (1-(((3-metilbut-2-ēn-1-il)oksi)amino)-1-okso-3-fenilpropān-2-il)karbamāts (**127b**)

Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (4/1). Iznākums 58%.

<sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.30 (s, 9H), 1.62 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 3.89-4.24 (m, 4H), 5.18-5.30 (m, 1H), 7.00-7.12 (m, 1H), 7.15-7.33 (m, 5H), 7.95 (s, 1H), 11.06 (s, 1H) m.d.

3-(4-Metoksifenil)-*N*-((3-metilbut-2-ēn-1-il)oksi)propānamīds (**127c**)

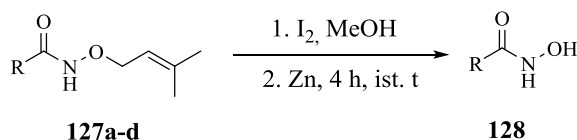
Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents EtOAc. Iznākums 52%. <sup>1</sup>H

KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 1.61 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 2.19 (t, 2H, *J*=7.7 Hz), 2.72 (t, 2H, *J*=7.7 Hz), 3.70 (s, 3H), 4.18 (d, 2H, *J*=7.1 Hz), 5.18-5.34 (m, 1H), 6.82 (d, 2H, *J*=8.4 Hz), 7.02 (d, 2H, *J*=8.0 Hz), 10.81 (s, 1H) m.d.

2-Metil-*N*-((3-metilbut-2-ēn-2-il)oksi)butānamīds (**127d**)

Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (1/1). Iznākums 70%.

<sup>1</sup>H KMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 0.78 (t, 3H, *J*=1.4 Hz), 0.96 (d, 3H, *J*=1.4 Hz), 1.23-1.34 (m, 1H), 1.41-1.51 (m, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 4.20-4.29 (m, 2H), 5.31 (tdt, 1H, *J*=5.6, 2.8, 1.4 Hz), 10.80 (s, 1H) m.d.



Savienojumus **127c,d** sintezēja pēc analogijas ar **126**

*N*-Hidroksi-3-(4-metoksifenil)propānamīds (**128c**)

Iznākums 45%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.14-2.26 (m, 2H), 2.69-2.76 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 6.80-6.87 (m, 2H), 7.08-7.12 (m, 2H), 10.33 (s, 1H) m.d.

### N-hidroksi-2-metilbutānamīds (127d)

Iznākums 40%. <sup>1</sup>H KMR (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ): 0.80 (t, 3H, *J*=1.4 Hz), 1.02 (d, 3H, *J*=1.4 Hz), 1.23-1.34 (m, 1H), 1.41-1.51 (m, 1H), 10.82 (s, 1H) m.d.

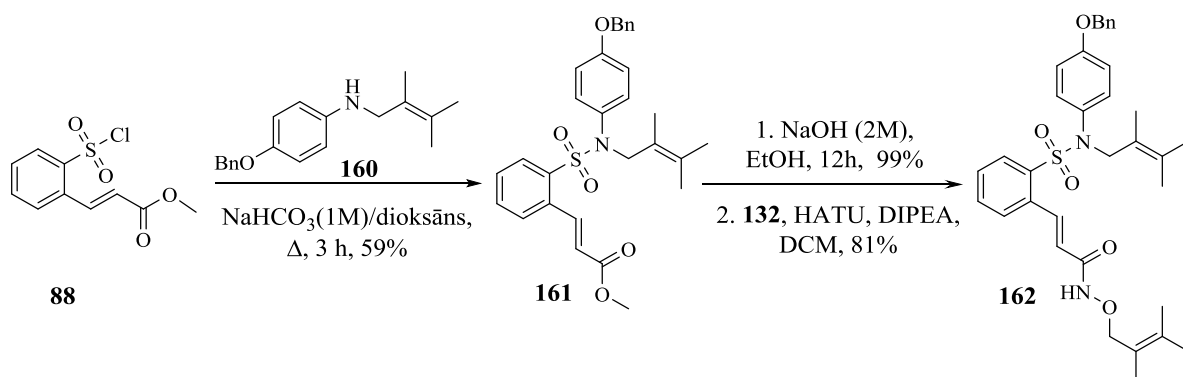
Savienojumu **133**, **135-138** sintēze un raksturojums ir publicēti [3. Pielikums].

### *2-Metilprenil- un prenilgrupas izmantošana sulfonamīdu aizsardzībai*

Savienojumu **142-145**, **149a,b**, **150**, **154-156** sintēze un raksturojums ir publicēti [4. Pielikums].

### *Metilprenilaizsargātas hidroksāmskābes un sulfonamīda funkcijas izmantošana*

#### *ADAM inhibitoru konstruēšanā*

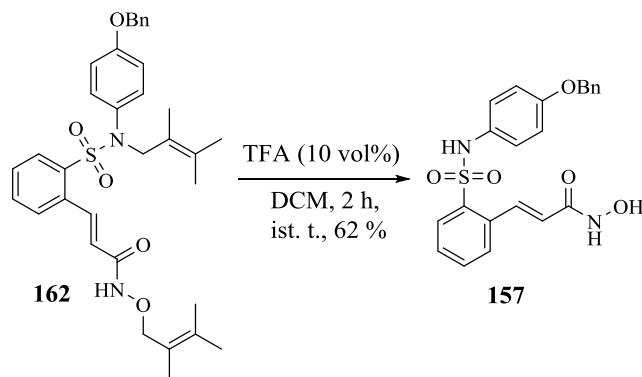


### Metil-(E)-3-(2-(N-(4-(benziloksi)fenil)-N-(2,3-dimetilbut-2-ēn-1-il)sulfamoil)fenil)akrilāts (161)

Pie savienojuma **160** (0.3 mmol, 0.09 g, 1 ekviv) šķīduma dioksānā (2 mL) pievienoja NaHCO<sub>3</sub> (1M, 2mL) un 3-(2-hlorsulfonilfenil)akrilskābes metilesteri (**88**, 0.3 mmol, 0.09 g, 1 ekviv). Reakcijas maisījumu sildīja 3h pie 80 °C, tad atdzesēja līdz ist. un produktu ekstrahēja ar EtOAc. Organisko fāzi atdalīja un mazgāja ar ūdeni, pies. NaCl šķīdumu, tad žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja. Reakcijas maisījumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (8/1). Iznākums 59%, <sup>1</sup>H KMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.31 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 4.17 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 6.20 (d, 1H, *J*=15.9 Hz), 6.99 – 6.73 (m, 4H), 7.48 – 7.28 (m, 6H), 7.66 – 7.48 (m, 2H), 7.90 (dd, 1H, *J*=7.9, 1.4 Hz) 8.30 (d, 1H, *J*=15.9 Hz) m.d.

### (E)-3-(2-(N-(4-(benziloksi)fenil)-N-(2,3-dimetilbut-2-ēn-1-il)sulfamoil)fenil)-N-((2,3-dimetilbut-2-ēn-1-il)oksi)akrilamīds (162)

Metilakrilātu **161** (0,17 mmol, 0,08 g, 1 ekviv) izšķīdināja EtOH (4 mL) un pievienoja NaOH (1M, 1 mL). Maisīja istabas temperatūrā 16h. Reakcijas maisījumu ietvaicēja un ekstrahēja ar EtOAc un KHSO<sub>4</sub> (5% šķīdumu). Organisko fāzi atdalīja, žāvēja virs Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrēja, ietvaicēja, lai iegūtu amorfo produktu ar kvantitatīvu iznākumu. <sup>1</sup>H KMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.30 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 4.18 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 6.18 (d, 1H, *J*=15.8 Hz), 6.95 – 6.72 (m, 4H), 7.46-7.29 (m, 6H), 7.67 – 7.47 (m, 2H), 7.89 (d, 1H, *J*=7.8 Hz), 8.35 (d, 1H, *J*=15.9 Hz), m.d. Iegūtas skābes (0.09 g, 0,17 mmol, 1 ekviv) šķīdumam sausā DCM (4 mL) pievienoja HATU (0,1 g, 0,26 mmol, 1,5 ekviv), *O*-metilprenilhidroksilamīnu **132** (0,27 g, 0,18 mmol, 1,1 ekviv) un DIPEA (0,03 mL, 0,34 mmol, 2 ekviv) argona atmosfērā. Reakciju maisīja 1h ist.t., tad ietvaicēja un atlikumu attīrīja ar kolonnas hromatogrāfiju, eluents PE/EtOAc (2/1). Iznākums 81%, dzeltena eļļa. <sup>1</sup>H KMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 1.22 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.64-1.73 (m, 9H), 4.10 (s, 2H), 4.37 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 6.67 (m, 2H), 6.88 (d, 2H, *J*=8.8 Hz), 7.22-7.58 (m, 8H), 7.80-7.84 (m, 2H), 8.04 (s, 1H) m.d.; 158.5, 158.3, 137.4, 136.7, 134.9, 134.5, 132.9, 132.4, 131.4, 130.9, 129.4, 128.7, 128.3, 128.2, 127.6, 122.3, 121.9, 114.8, 70.2, 53.3, 30.1, 21.2, 21.1, 20.6, 20.1, 17.5, 16.8 m.d.; ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 590.

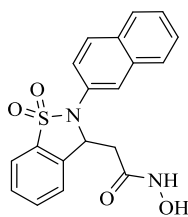


(*E*)-3-(2-(*N*-(4-(benziloksi)fenil)sulfamoil)fenil)-*N*-hidroksiakrilamīds (**157**)

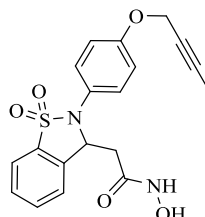
Aizsargāto hidroksāmskābi **162** (12 mg, 0.02) izšķīdināja sausā DCM (1mL), piepilināja TFA (10 vol%). Pilnu izejvielas konvēršiju novēroja pēc 2h. Reakcijas produktu veidošanos apstiprināja ar PSH un ŠH/MS. Reakcijas maisījumu ietvaicēja un produktu pākristalizēja no ūdens. Iznākums: 62%, 5.2 mg. ŠH/MS [M+1]<sup>+</sup> 425.

## SECINĀJUMI

1. Promocijas darba rezultātā iegūti 16 jaunie, iepriekš nezināmi aziridīn-1-il oksīma atvasinājumi.
2. Iegūtie aziridīn-1-iloksīma atvasinājumi **4a-c** uzrāda augstāku citotoksisko aktivitāti salīdzinājumā ar strukturālo analogu Vorinostatu.
3. Aziridīn-1-iloksīmu (**4a,b,d,f,g,h,i**) zemā HDAC inhibitorā aktivitāte liecina, ka HDAC nav farmakoloģiskais mērķis, kas atbildīgs par augsto iegūto savienojumu (**4a,b**) citotoksisko aktivitāti.
4. Aziridīn-1-iloksīmu Vorinostata (**3**) analogiem tika konstatēta izteikta struktūras-aktivitātes korelācija. Novērots būtisks citotoksiskās aktivitātes kritums savienojumiem ar saīsinātu alifātiskās ķēdes garumu ( $n=4, 5$ ) un analogiem ar aizvietotājiem pie aziridīna cikla (**80, 82**).
5. Iegūtie ADAM10/17 inhibitori (14 jaunie savienojumi) neuzrādīja augstāku inhibitoro aktivitāti par savienojumiem **2a** un **2b**. Tā naftalīna cikla apmaiņa inhibitorā **1** pret vienu vai divus heteroatomus saturošu ciklu negatīvi ietekmēja savienojumu **2c-2g** aktivitāti. Aktīvākais inhibitora **2b** analogs bija savienojums **106k**, kas metilpropargilgrupas vietā saturēja fenilpropargilgrupu. Savukārt, aizvietotāju ievadīšana fenilgredzenā vai propargilgrupas pagarināšana par vienu vai diviem oglekļa atomiem būtiski neietekmēja, vai arī pazemināja savienojuma aktivitāti salīdzinājumā ar izejas inhibitoru **2b**.



**2a**



**2b**

6. Izveidots *O*-2-metilprenilhidroksilamīns hidrogēnhlorīds kā reaģents *O*-aizsargātu hidroksāmskābju iegūšanai. Hidroksāmskābju *O*-metilprenilaizsardzība ir stabila (pārejas metālu katalizētās reakcijās, bāziskā vidē, paaugstinātā temperatūrā) un viegli raksturojama KMR spektros. Minētās priekšrocības ļauj cerēt uz *O*-2-metilprenilhidroksilamīna plašu pielietojumu hidroksāmskābju sintēzē.
7. Paplašināts sulfonamīdu aizsarggrupu klāsts ar 2-metilprenil- un prenil-grupām, ko var nošķelt maigos reakcijas apstākļos, veidojot gaistošus blakusproduktus.

8. Izstrādātas dažādas pieejas 2-metilprenil- un prenilgrupas ievadīšanai sulfonamīdos, kas ļauj iegūt trešējos sulfonamīdus ar plašu aizvietotāju daudzveidību.
9. 2-Metilprenilsulfonamīdu aizsarggrupu viegli var nošķelt aromātisku, heteroaromātisku un alifātisku aizvietotāju saturošu sulfonamīdu gadījumā, veidojot otrējos sulfonamīdus ar augstiem iznākumiem.
10. Eksperimentāli salīdzinot 2-metilprenil- un prenilgrupas stabilitāti dažādos reakcijas apstākļos (Luisa skābes, hidrogenēšana, NIS u.c.), var secināt, ka tās ir efektīvas aizsarggrupas, kas nenoliedzami paplašina zināmo sulfonamīdu aizsarggrupu arsenālu.

## LITERATŪRAS SARAKSTS

- (1) Statistika un pētījumi - Slimību profilakses un kontroles centrs <https://www.spkc.gov.lv/lv/statistika-un-petijumi/> (skatīts 20.02.2019.).
- (2) Widakowich, C.; de Azambuja, E.; Gil, T.; Cardoso, F.; Dinh, P.; Awada, A.; Piccart-Gebhart, M. Molecular Targeted Therapies in Breast Cancer: Where Are We Now? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **2007**, *39* (7), 1375–1387.
- (3) McCall K.A., Huang C.-C., Fierke C.A. Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes. *J Nutr* **2000**, *130*, 1437s-1446s.
- (4) Reiss, K.; Saftig, P. The “a Disintegrin and Metalloprotease” (ADAM) Family of Sheddases: Physiological and Cellular Functions. *Semin Cell Dev Biol* **2009**, *20* (2), 126–137.
- (5) Meanwell, N. A. Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (8), 2529–2591.
- (6) Levin, J. I.; Chen, J. M.; Laakso, L. M.; Du, M.; Du, X.; Venkatesan, A. M.; Sandanayaka, V.; Zask, A.; Xu, J.; Xu, W.; et al. Acetylenic TACE Inhibitors. Part 2: SAR of Six-Membered Cyclic Sulfonamide Hydroxamates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, *15* (19), 4345–4349.
- (7) Levin, J. I.; Chen, J. M.; Laakso, L. M.; Du, M.; Schmid, J.; Xu, W.; Cummons, T.; Xu, J.; Jin, G.; Barone, D.; et al. Acetylenic TACE Inhibitors. Part 3: Thiomorpholine Sulfonamide Hydroxamates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, *16* (6), 1605–1609.
- (8) Grigorjeva, A.; Jirgensons, A.; Domracheva, I.; Yashchenko, E.; Shestakova, I.; Andrianov, V.; Kalvinsh, I. Synthesis of Novel [1-Aziridinyl-(Hydroxyimino)Methyl]Arenes and Their Cytotoxic Activity. *Chem Heterocycl Comp* **2009**, *45* (2), 161–168.
- (9) Rossello, A.; Nuti, E.; Maresca, A. ADAMs and ADAMTs Selective Synthetic Inhibitors. In *Drug Design of Zinc-Enzyme Inhibitors*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009; pp 591–645.
- (10) Duffy, M. J.; McKiernan, E.; O'Donovan, N.; McGowan, P. M. Role of ADAMs in Cancer Formation and Progression. *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15* (4), 1140–1144.
- (11) Gooz, M. ADAM-17: The Enzyme That Does It All. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **2010**, *45* (2), 146–169.
- (12) Kato, T.; Hagiyaama, M.; Ito, A. Renal ADAM10 and 17: Their Physiological and Medical Meanings. *Front Cell Dev Biol* **2018**, *6*.
- (13) Murphy, G. The ADAMs: Signalling Scissors in the Tumour Microenvironment. *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8* (12), 929–941.
- (14) Edwards, D. R.; Handsley, M. M.; Pennington, C. J. The ADAM Metalloproteinases. *Molecular Aspects of Medicine* **2009**, *29* (5), 258–289.
- (15) Weber, S.; Saftig, P. Ectodomain Shedding and ADAMs in Development. *Development* **2012**, *139* (20), 3693–3709.
- (16) Shiomi, T.; Lemaître, V.; D'Armiento, J.; Okada, Y. Matrix Metalloproteinases, a Disintegrin and Metalloproteinases, and a Disintegrin and Metalloproteinases with Thrombospondin Motifs in Non-Neoplastic Diseases. *Pathol Int* **2010**, *60* (7), 477–496.
- (17) Seals, D. F.; Courtneidge, S. A. The ADAMs Family of Metalloproteases: Multidomain Proteins with Multiple Functions. *Genes Dev.* **2003**, *17* (1), 7–30.
- (18) Saftig, P.; Reiss, K. The “A Disintegrin And Metalloproteases” ADAM10 and ADAM17: Novel Drug Targets with Therapeutic Potential? *European Journal of Cell Biology* **2011**, *90* (6), 527–535.

- (19) Takeda, S.; Igarashi, T.; Mori, H.; Araki, S. Crystal Structures of VAP1 Reveal ADAMs' MDC Domain Architecture and Its Unique C-Shaped Scaffold. *EMBO J* **2006**, *25* (11), 2388–2396.
- (20) Edwards, D. R.; Handsley, M. M.; Pennington, C. J. The ADAM Metalloproteinases. *Mol. Aspects Med.* **2008**, *29* (5), 258–289.
- (21) Mochizuki, S.; Okada, Y. ADAMs in Cancer Cell Proliferation and Progression. *Cancer Sci.* **2007**, *98* (5), 621–628.
- (22) van Tetering, G.; Vooijs, M. Proteolytic Cleavage of Notch: “HIT and RUN.” *Curr Mol Med* **2011**, *11* (4), 255–269.
- (23) Wajant, H.; Pfizenmaier, K.; Scheurich, P. Tumor Necrosis Factor Signaling. *Cell Death Differ.* **2003**, *10* (1), 45–65.
- (24) Wang, X.; Lin, Y. Tumor Necrosis Factor and Cancer, Buddies or Foes? *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, *29* (11), 1275–1288.
- (25) Mezyk-Kopeć, R.; Bzowska, M.; Stalińska, K.; Chełmicki, T.; Podkalicki, M.; Jucha, J.; Kowalczyk, K.; Mak, P.; Bereta, J. Identification of ADAM10 as a Major TNF Sheddase in ADAM17-Deficient Fibroblasts. *Cytokine* **2009**, *46* (3), 309–315.
- (26) Le Gall, S. M.; Bobé, P.; Reiss, K.; Horiuchi, K.; Niu, X.-D.; Lundell, D.; Gibb, D. R.; Conrad, D.; Saftig, P.; Blobel, C. P. ADAMs 10 and 17 Represent Differentially Regulated Components of a General Shedding Machinery for Membrane Proteins Such as Transforming Growth Factor Alpha, L-Selectin, and Tumor Necrosis Factor Alpha. *Mol. Biol. Cell* **2009**, *20* (6), 1785–1794.
- (27) DasGupta, S.; Murumkar, P. R.; Giridhar, R.; Yadav, M. R. Current Perspective of TACE Inhibitors: A Review. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17* (2), 444–459.
- (28) Duffy M. J., Crown J., Mullooly M. ADAM10 and ADAM17: New Players in Trastuzumab Resistance. *Oncotarget* **2014**, *5* (20), 10963.
- (29) Hundhausen, C.; Misztela, D.; Berkhout, T. A.; Broadway, N.; Saftig, P.; Reiss, K.; Hartmann, D.; Fahrenholz, F.; Postina, R.; Matthews, V.; et al. The Disintegrin-like Metalloproteinase ADAM10 Is Involved in Constitutive Cleavage of CX3CL1 (Fractalkine) and Regulates CX3CL1-Mediated Cell-Cell Adhesion. *Blood* **2003**, *102* (4), 1186–1195.
- (30) Wang, Z.; Wang, L.; Fan, R.; Zhou, J.; Zhong, J. Molecular Design and Structural Optimization of Potent Peptide Hydroxamate Inhibitors to Selectively Target Human ADAM Metallopeptidase Domain 17. *Comput Biol Chem* **2016**, *61*, 15–22.
- (31) Levin, J. I.; Du, M. T.; DiJoseph, J. F.; Killar, L. M.; Sung, A.; Walter, T.; Sharr, M. A.; Roth, C. E.; Moy, F. J.; Powers, R.; et al. The Discovery of Anthranilic Acid-Based MMP Inhibitors. Part 1: SAR of the 3-Position. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11* (2), 235–238.
- (32) Zhang, Y.; Xu, J.; Levin, J.; Hegen, M.; Li, G.; Robertshaw, H.; Brennan, F.; Cummons, T.; Clarke, D.; Vansell, N.; et al. Identification and Characterization of 4-[[4-(2-Butynyloxy)Phenyl]Sulfonyl]-N-Hydroxy-2,2-Dimethyl-(3S)Thiomorpholinecarboxamide (TMI-1), a Novel Dual Tumor Necrosis Factor-Alpha-Converting Enzyme/Matrix Metalloprotease Inhibitor for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *309* (1), 348–355.
- (33) Zhou, B.-B. S.; Peyton, M.; He, B.; Liu, C.; Girard, L.; Caudler, E.; Lo, Y.; Baribaud, F.; Mikami, I.; Reguart, N.; et al. Targeting ADAM-Mediated Ligand Cleavage to Inhibit HER3 and EGFR Pathways in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Cell* **2006**, *10* (1), 39–50.



- (34) Hesham, H. M.; Lasheen, D. S.; Abouzid, K. A. M. Chimeric HDAC Inhibitors: Comprehensive Review on the HDAC-Based Strategies Developed to Combat Cancer. *Medicinal Research Reviews* **2018**, *38* (6), 2058–2109.
- (35) Finnin, M. S.; Donigian, J. R.; Cohen, A.; Richon, V. M.; Rifkind, R. A.; Marks, P. A.; Breslow, R.; Pavletich, N. P. Structures of a Histone Deacetylase Homologue Bound to the TSA and SAHA Inhibitors. *Nature* **1999**, *401* (6749), 188–193.
- (36) Eckschlager, T.; Plch, J.; Stiborova, M.; Hrabeta, J. Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Drugs. *Int J Mol Sci* **2017**, *18* (7).
- (37) Ropero, S.; Esteller, M. The Role of Histone Deacetylases (HDACs) in Human Cancer. *Molecular Oncology* **2007**, *1* (1), 19–25.
- (38) Roche, J.; Bertrand, P. Inside HDACs with More Selective HDAC Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *121*, 451–483.
- (39) Dokmanovic, M.; Clarke, C.; Marks, P. A. Histone Deacetylase Inhibitors: Overview and Perspectives. *Molecular Cancer Research* **2007**, *5* (10), 981–989.
- (40) Banerjee, S.; Adhikari, N.; Amin, S. A.; Jha, T. Histone Deacetylase 8 (HDAC8) and Its Inhibitors with Selectivity to Other Isoforms: An Overview. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *164*, 214–240.
- (41) Pan, H.; Cao, J.; Xu, W. Selective Histone Deacetylase Inhibitors. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2012**, *12* (3), 247–270.
- (42) De Ruijter, A. J. M.; Van Gennip, A. H.; Caron, H. N.; Kemp, S.; Van Kuilenburg, A. B. P. Histone Deacetylases (HDACs): Characterization of the Classical HDAC Family. *Biochemical Journal* **2003**, *370* (3), 737–749.
- (43) Manal, M.; Chandrasekar, M. J. N.; Gomathi Priya, J.; Nanjan, M. J. Inhibitors of Histone Deacetylase as Antitumor Agents: A Critical Review. *Bioorganic Chemistry* **2016**, *67*, 18–42.
- (44) Olins, D. E.; Olins, A. L. Chromatin History: Our View from the Bridge. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2003**, *4* (10), 809–814.
- (45) Eberharter, A.; Becker, P. B. Histone Acetylation: A Switch between Repressive and Permissive Chromatin. *EMBO Rep* **2002**, *3* (3), 224–229.
- (46) Vanommeslaeghe, K.; Proft, F. D.; Loverix, S.; Tourwé, D.; Geerlings, P. Theoretical Study Revealing the Functioning of a Novel Combination of Catalytic Motifs in Histone Deacetylase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13* (12), 3987–3992.
- (47) Corminboeuf, C.; Hu, P.; Tuckerman, M. E.; Zhang, Y. Unexpected Deacetylation Mechanism Suggested by a Density Functional Theory QM/MM Study of Histone-Deacetylase-like Protein. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (14), 4530–4531.
- (48) New, M.; Olzscha, H.; La, N. T. HDAC Inhibitor-Based Therapies: Can We Interpret the Code? *Mol Oncol* **2012**, *6* (6), 637–656.
- (49) West, A. C.; Johnstone, R. W. New and Emerging HDAC Inhibitors for Cancer Treatment. *J Clin Invest* **2014**, *124* (1), 30–39.
- (50) Gryder, B. E.; Sodji, Q. H.; Oyelere, A. K. Targeted Cancer Therapy: Giving Histone Deacetylase Inhibitors All They Need to Succeed. *Future Medicinal Chemistry* **2012**, *4* (4),
- (51) Rajagopalan, P.; Talaty, C. N. A New Synthesis of 1,2,4-Oxadiazine Derivatives from 1-Aroylaziridine Oximes. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (21), 5048–5049.
- (52) Sasaki, T.; Yoshioka, T. Studies on Heteroaromaticity. XXIX. Synthesis and Reactions of 1-(5-Nitro-2-Furoyl)Aziridine Oxime. *BCSJ* **1969**, *42* (2), 556–558.
- (53) Johnson, J. E.; Nwoko, D.; Hotema, M.; Sanchez, N.; Alderman, R.; Lynch, V. Rearrangement Reactions of Aziridinylbenzaldoximes. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1996**, *33* (6), 1583–1592.

- (54) Liu, K.-C.; Shelton, B. R.; Howe, R. K. A Particularly Convenient Preparation of Benzohydroximinoyl Chlorides (Nitrile Oxide Precursors). *J. Org. Chem.* **1980**, *45* (19), 3916–3918.
- (55) Cho, S. Y.; Kang, S. K.; Ahn, J. H.; Ha, J. D.; Choi, J.-K. Scandium(III) Triflate–TMSCl Promoted Cyclization of Aziridin-1-Yl Oximes to 5,6-Dihydro-4H-[1,2,4]Oxadiazines. *Tetrahedron Letters* **2006**, *47* (51), 9029–9033.
- (56) Eremeev, A. V.; Piskunova, I. P.; Andrianov, V. G.; Liepin'sh, É. É. Synthesis and Investigation of Aziridino Dioximes. *Chem Heterocycl Compd* **1982**, *18* (4), 369–374.
- (57) Andrianov, V.; Eremeev, A. Synthesis of Haloglyoximes. *Synthetic Communications* **1992**, *22* (3), 453–457.
- (58) Musluoğlu, E.; Ahsen, V. Synthesis and Characterization of 1,2-Bis(Aziridin-N-Yl)Glyoxime and Its Nickel(II), Palladium(II) and Cobalt(II) Complexes. *J. Chem. Res. (S)* **1999**, *0* (2), 142–143.
- (59) Pasinszki, T.; Westwood, N. P. C. Cyanogen Di-N-Oxide (ONCCNO): Gas Phase Generation and a HeI Photoelectron, Photoionization Mass Spectroscopy, Midinfrared, and Ab Initio Study. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (32), 8425–8430.
- (60) Johnson, J. E.; Carvallo, C.; Dolliver, D. D.; Sanchez, N.; Garza, V.; Canseco, D. C.; Eggleton, G. L.; Fronczek, F. R. Bisamidoximes: Synthesis and Complexation with Iron(III). *Aust. J. Chem.* **2007**, *60* (9), 685–690.
- (61) Campbell, M. M.; Campbell, A. C.; Peace, A.; Pick, J.; Woods, G. F. Cyclisation Studies of O-Benzylhydroxyguanidines: Synthesis of N-Hydroxyimidazolines and N-Hydroxypyrimidones. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, *0* (17), 1164–1165.
- (62) Sasaki, T.; Yoshioka, T.; Suzuki, Y. Studies on Heteroaromaticity. XLIV. Reactivities of Benzoyl Cyanide N-Oxide and Some Derivatives Therefrom. *BCSJ* **1971**, *44* (1), 185–189.
- (63) Gagneux, A. R.; Meier, R. Aminofuroxane. 1. Synthese Und Struktur. *Helvetica Chimica Acta* **1970**, *53* (7), 1883–1892.
- (64) Kalvins, I.; Adrianov, V.; Shestakova, I.; Kanepe, I.; Domracheva, I. 1-Aziridino-1-Hydroxyiminomethyl-Derivates, Method for the Production Thereof and Medicaments Containing Said Compounds. US7078418B1, July 18, 2006.
- (65) Stowell, J. C.; Huot, R. I.; Van Voast, L. The Synthesis of N-Hydroxy-N'-Phenyloctanediamide and Its Inhibitory Effect on Proliferation of AXC Rat Prostate Cancer Cells. *J. Med. Chem.* **1995**, *38* (8), 1411–1413.
- (66) Mai, A.; Esposito, M.; Sbardella, G.; Massa, S. A New Facile and Expeditious Synthesis of N-Hydroxy-N'-Phenyloctanediamide, a Potent Inducer of Terminal Cytodifferentiation. *Organic Preparations and Procedures International* **2001**, *33* (4), 391–394.
- (67) Erik Larsen, K.; Torssell, K. B. G. An Improved Procedure for the Preparation of 2-Isloxazolines. *Tetrahedron* **1984**, *40* (15), 2985–2988.
- (68) Anand, R. V.; Pandey, G.; Singh, V. K. Silica Gel Induced Cleavage of Aziridines by Aromatic Amines under Solvent Free Conditions. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43* (22), 3975–3976.
- (69) Kumar, V.; Kaushik, M. P. A Novel One-Pot Synthesis of Hydroximoyl Chlorides and 2-Isloxazolines Using N-Tert-Butyl-N-Chlorocyanamide. *Tetrahedron Letters* **2006**, *47* (9), 1457–1460.
- (70) Canonica, S.; Ferrari, M.; Sisti, M. A Convenient Preparation of Ethyl 7-Bromoheptanoate. *Organic Preparations and Procedures International* **1989**, *21* (2), 253–254.
- (71) Chaudhary, A.; Girgis, M.; Prashad, M.; Hu, B.; Har, D.; Repič, O.; Blacklock, T. J. Using Mixed Anhydrides from Amino Acids and Isobutyl Chloroformate in N-Acylation: A Case Study on the Elucidation of Mechanism of Urethane Formation and Starting Amino Acid

- Liberation Using Carbon Dioxide as the Probe. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (29), 5543–5546.
- (72) Bieliauskas, A. V.; Weerasinghe, S. V. W.; Pflum, M. K. H. Structural Requirements of HDAC Inhibitors: SAHA Analogs Functionalized Adjacent to the Hydroxamic Acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17* (8), 2216–2219.
- (73) Christoffers, J.; Schulze, Y.; Pickardt, J. Synthesis, Resolution, and Absolute Configuration of Trans-1-Amino-2-Dimethylaminocyclohexane. *Tetrahedron* **2001**, *57* (9), 1765–1769.
- (74) Watson, I. D. G.; Styler, S. A.; Yudin, A. K. Unusual Selectivity of Unprotected Aziridines in Palladium-Catalyzed Allylic Amination Enables Facile Preparation of Branched Aziridines. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (16), 5086–5087.
- (75) Johnson, J. E.; Maia, J. A.; Tan, K.; Ghafouripour, A.; Meester, P. D.; Chu, S. S. C. Syntheses and Configurations of Some Heterocyclic Amidoximes. X-Ray Crystal Structure of 3-Phenyl-5,6-Dihydro-2(1H)-Pyrazinone-O-Methyloxime. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1986**, *23* (6), 1861–1868.
- (76) Dai, Y.; Guo, Y.; Curtin, M. L.; Li, J.; Pease, L. J.; Guo, J.; Marcotte, P. A.; Glaser, K. B.; Davidsen, S. K.; Michaelides, M. R. A Novel Series of Histone Deacetylase Inhibitors Incorporating Hetero Aromatic Ring Systems as Connection Units. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13* (21), 3817–3820.
- (77) Smith, R. Regulation (EC) No 764/2008 of the European Parliament and of the Council. In *Core EU Legislation*; Macmillan Education UK: London, 2015; pp 183–186.
- (78) Giebeler, N.; Zigrino, P. A Disintegrin and Metalloprotease (ADAM): Historical Overview of Their Functions. *Toxins (Basel)* **2016**, *8* (4).
- (79) Jirgensons, A.; Leitis, G.; Kalvinsh, I.; Robinson, D.; Finn, P.; Khan, N. Bicyclosulfonyl Acid (Bcsa) Compounds and Their Use as Therapeutic Agents. WO2008142376 (A1), **2008**.
- (80) Rao, B. K.; Hamor, G. H. Anticonvulsants IV: Vinylogs, Alkyl Esters of 2-Sulfamoylcinnamic Acid and Related Compounds. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1969**, *58* (3), 332–334.
- (81) Usachova, N.; Leitis, G.; Jirgensons, A.; Kalvinsh, I. Synthesis of Hydroxamic Acids by Activation of Carboxylic Acids with N,N'-Carbonyldiimidazole: Exploring the Efficiency of the Method. *Synthetic Communications* **2010**, *40* (6), 927–935.
- (82) Pirrung, M. C.; Tumey, L. N.; McClerren, A. L.; Raetz, C. R. H. High-Throughput Catch-and-Release Synthesis of Oxazoline Hydroxamates. Structure-Activity Relationships in Novel Inhibitors of Escherichia Coli LpxC: In Vitro Enzyme Inhibition and Antibacterial Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (6), 1575–1586.
- (83) Barlaam, B.; Hamon, A.; Maudet, M. New Hydroxylamines for the Synthesis of Hydroxamic Acids. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39* (43), 7865–7868.
- (84) Jones, G. B.; Wright, J. M.; Plourde, G. W.; Hynd, G.; Huber, R. S.; Mathews, J. E. A Direct and Stereocontrolled Route to Conjugated Eneidyne. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (9), 1937–1944.
- (85) Vatèle, J.-M. An Efficient and Chemoselective Cleavage of Prenyl Ethers with DDQ. *Synlett* **2002**, *2002* (3), 507–509.
- (86) Suresh Babu, K.; China Raju, B.; Srinivas, P. V.; Madhusudana Rao, J. Highly Efficient and Chemoselective Cleavage of Prenyl Ethers Using ZrCl<sub>4</sub>/NaBH<sub>4</sub>. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (12), 2525–2528.
- (87) Narender, T.; Venkateswarlu, K.; Madhur, G.; Reddy, K. P. Highly Efficient and Selective Deprotection Method for Prenyl, Geranyl, and Phytyl Ethers and Esters Using Borontrifluoride–Etherate. *Synthetic Communications* **2013**, *43* (1), 26–33.

- (88) Sharma, G. V. M.; Ilangovan, A.; Mahalingam, A. K. A Mild and Highly Selective Deprotective Method of Prenyl Ethers Using Ytterbium Triflate. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (24), 9103–9104.
- (89) Tsuritani, T.; Shinokubo, H.; Oshima, K. Highly Selective Cleavage of Prenyl Ethers by Means of a  $\text{TiCl}_4$ - $n\text{-Bu}_4\text{NI}$  Mixed Reagent. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40* (46), 8121–8124.
- (90) Vatèle, J.-M. Iodine in Dichloromethane - A Simple Method for Selective Cleavage of Prenyl Ethers. *Synlett* **2001**, *2001* (12), 1989–1991.
- (91) Vatèle, J.-M. One-Pot Selective Cleavage of Prenyl Carbamates Using Iodine in Methanol Followed by Zinc. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (51), 9127–9129.
- (92) Mayr, H.; Foerner, W.; Schleyer, P. von R. Methyl-Substituted Allyl Cations. A Comparison of Experimental Stability, Rotational Barrier, and Solvolysis Data with Ab Initio Calculations. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (20), 6032–6040.
- (93) Marković, D.; Vogel, P. Allyl, Methallyl, Prenyl, and Methylprenyl Ethers as Protected Alcohols: Their Selective Cleavage with Diphenyldisulfone under Neutral Conditions. *Org. Lett.* **2004**, *6* (16), 2693–2696.
- (94) Marković, D.; Steunenber, P.; Ekstrand, M.; Vogel, P. Polysulfones: Solid Organic Catalysts for the Chemoselective Cleavage of Methyl-Substituted Allyl Ethers under Neutral Conditions. *Chemical Communications* **2004**, No. 21, 2444.
- (95) Clennan, E. L.; Chen, X. Reactions of an Allylic Sulfide, Sulfoxide, and Sulfone with Singlet Oxygen. The Observation of a Remarkable Diastereoselective Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (15), 5787–5792.
- (96) Kukosha, T.; Trufilkina, N.; Belyakov, S.; Katkevics, M. Copper-Catalyzed Cross-Coupling of O-Alkyl Hydroxamates with Aryl Iodides. *Synthesis* **2012**, *44* (15), 2413–2423.
- (97) Graham, S. L.; Scholz, T. H. Preparation and Utility of Dianions from N-Tert-Butylthiophene-2-Sulfonamide. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (13), 4260–4263.
- (98) Wan, Y.; Wu, X.; Kannan, M. A.; Alterman, M. Boron Trichloride as an Efficient and Selective Agent for Deprotection of Tert-Butyl Aryl Sulfonamides. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44* (24), 4523–4525.
- (99) Mahalingam, A. K.; Wu, X.; Wan, Y.; Alterman, M. Scandium Triflate as an Efficient and Recyclable Catalyst for the Deprotection of Tert-Butyl Aryl Sulfonamides. *Synthetic Communications* **2005**, *35* (3), 417–425.
- (100) Burlingham, B. T.; Widlanski, T. S. Synthesis and Reactivity of Polydisulfonimides. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (13), 2937–2945.
- (101) Johnson, D. C.; Widlanski, T. S. A Reversible Safety-Catch Method for the Hydrogenolysis of N-Benzyl Moieties. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45* (46), 8483–8487.
- (102) Poss, M. A.; Reid, J. A. The Use of Diphenylmethyl as a Sulfonamide Protecting Group. *Tetrahedron Letters* **1992**, *33* (48), 7291–7292.
- (103) Morris, J.; Wishka, D. G. Vinyl Sulfonyl Esters and Amides in the Synthesis of Substituted  $\Delta^1$ -Sultams and  $\Delta^1$ -Sultones. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (11), 3549–3556.
- (104) Hill, B.; Liu, Y.; Taylor, S. D. Synthesis of  $\alpha$ -Fluorosulfonamides by Electrophilic Fluorination. *Org. Lett.* **2004**, *6* (23), 4285–4288.
- (105) Videnov, G.; Aleksiev, B.; Stoev, M.; Paipanova, T.; Jung, G. Tmob Side Chain-Protected S-Cysteine- and Homo-S-Cysteinesulfonamides, Their  $N\alpha$ -Protected and  $N\omega$ -Aminoethylated Derivatives. *Liebigs Annalen der Chemie* **1993**, *1993* (9), 941–945.
- (106) Alonso, E.; Ramón, D. J.; Yus, M. Reductive Deprotection of Allyl, Benzyl and Sulfonyl Substituted Alcohols, Amines and Amides Using a Naphthalene-Catalysed Lithiation. *Tetrahedron* **1997**, *53* (42), 14355–14368.

- (107) Taniguchi, T.; Ogasawara, K. Facile and Specific Nickel-Catalyzed de-N-Allylation. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39* (26), 4679–4682.
- (108) Löber, O.; Kawatsura, M.; Hartwig, J. F. Palladium-Catalyzed Hydroamination of 1,3-Dienes: A Colorimetric Assay and Enantioselective Additions. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (18), 4366–4367.
- (109) Choi, S. E.; Weerasinghe, S. V. W.; Pflum, M. K. H. The Structural Requirements of Histone Deacetylase Inhibitors: Suberoylanilide Hydroxamic Acid Analogs Modified at the C3 Position Display Isoform Selectivity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (20), 6139–6142.
- (110) Ghosh S., Lobera M., Pohlhaus D. T., Trump R. P., zhang C., Zuercher W. Compounds and Methods. WO2013/06683A1, **2013**.
- (111) Girard, A.-L.; Lhermet, R.; Fressigné, C.; Durandetti, M.; Maddaluno, J. Influence of the Acetylenic Substituent on the Intramolecular Carbolithiation of Alkynes. *European Journal of Organic Chemistry* **2012**, *2012* (15), 2895–2905.
- (112) Franks, M. A.; Schrader, E. A.; Pietsch, E. C.; Pennella, D. R.; Torti, S. V.; Welker, M. E. Oxathiolene Oxide Synthesis via Chelation-Controlled Addition of Organometallic Reagents to Alkynols Followed by Addition of Sulfur Electrophiles and Evaluation of Oxathiolene Oxides as Anticarcinogenic Enzyme Inducers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13* (6), 2221–2233.
- (113) Deng, J.; Hsung, R. P.; Ko, C. Gassman's Cationic [2 + 2] Cycloadditions Using Temporary Tethers. *Org. Lett.* **2012**, *14* (21), 5562–5565.

## PATEICĪBA

Pateicība zinātniskajam vadītājam prof. Aigaram Jirgenam par sniegtajām konsultācijām darba izstrādes gaitā.

Pateicība Organiskās sintēzes metodoloģijas grupas līdzstrādniekiem par palīdzību, atbalstu un motivāciju promocijas darba izstrādē.

Pateicība I. Šestakovai, I. Romančikovai un biologu grupai par citotoksiskās aktivitātes noteikšanu un par HDAC inhibitorās aktivitātes pētījumiem.

Pateicība Latvijas Organiskās sintēzes institūta Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorijas kolektīvam par KMR spektru uzņemšanu un elementanalīzes veikšanu.

Pateicība Latvijas Organiskās sintēzes institūtam par finansiālo atbalstu.

Выражаю слова благодарности и глубокой признательности своим любимым родителям, Татьяне и Евгению, за поддержку и безграничную помощь на протяжении всех лет учебы.

Promocijas darbs "Metaloproteināžu HDAC un ADAM potenciālo inhibitoru iegūšana un ar to saistīta sintēzes metožu izveide" izstrādāts LU ķīmijas fakultātē, eksperimentālie dati iegūti Latvijas Organiskās sintēzes institūtā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi un izmantoti tikai literatūras sarakstā norādītie informācijas avoti, kā arī iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autore: \_\_\_\_\_/Anna Ņikitjuka/

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Zinātniskais vadītājs: *Dr.chem.*, prof. Aigars Jirgensons

Paraksts: \_\_\_\_\_/Aigars Jirgensons/

Darbs iesniegts

LU Ķīmijas nozares Promocijas padomē: \_\_\_\_\_ (*datums*)

Promocijas sekretāre: Vita Rudoviča \_\_\_\_\_

(*paraksts*)

Darbs aizstāvēts Promocijas padomes sēdē:

2019. gada 18. jūnijā, protokols Nr. \_\_\_\_\_

(*protokola Nr*)

Padomes sekretāre: Vita rudoviča \_\_\_\_\_

(*paraksts*)

## **PIELIKUMI**



**1.pielikums**

**Synthesis of Novel [1-Aziridinyl-(Hydroxyimino)methyl]Arenes and their  
Cytotoxic Activity**

A.Grigorjeva<sup>1\*</sup>, A. Jirgensons<sup>1</sup>, I. Domracheva<sup>1</sup>, E. Yashchenko<sup>1</sup>, I. Shestakova<sup>1</sup>, V.  
Andrianov<sup>1</sup>, and I. Kalvinsh

*Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2009**, Vol. 45 (2), 161-168

**SYNTHESIS OF NOVEL [1-AZIRIDINYL-(HYDROXYIMINO)METHYL]ARENES AND THEIR CYTOTOXIC ACTIVITY**

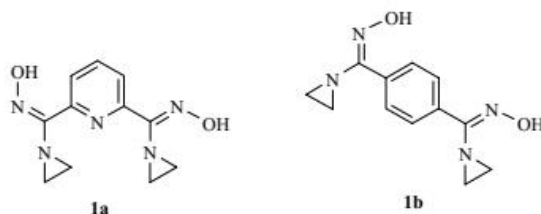
**A. Grigorjeva<sup>1\*</sup>, A. Jirgensons<sup>1</sup>, I. Domracheva<sup>1</sup>, E. Yashchenko<sup>1</sup>,  
I. Shestakova<sup>1</sup>, V. Andrianov<sup>1</sup>, and I. Kalvinsh<sup>1</sup>**

*The synthesis has been developed for novel potential anticancer agents whose structures contain an aziridine amidoxime group. The cytotoxic activity of all of the target compounds on different cell lines are given together with the in vitro IC<sub>50</sub> and LD<sub>50</sub> values found. The most promising anticancer agents were found to be the methyl 4-[1-aziridinyl(hydroxyimino)methyl]benzoate, 1-aziridinyl(2-naphthyl)methanone oxime, and 1-aziridinyl(2-quinoly)methanone oxime.*

**Keywords:** aziridine, amidoximes, hydroxyimidoyl chlorides, oximes, cytotoxic activity.

The development of efficient anticancer preparations is a complex problem in contemporary pharmaceutical chemistry [1]. Problems in cancer medication include especially the emergence of resistance of infected cells against new preparations and also the need to discover substances suppressing the reproduction of cancer infected cells without affecting metabolic processes in the host organism cells [2, 3].

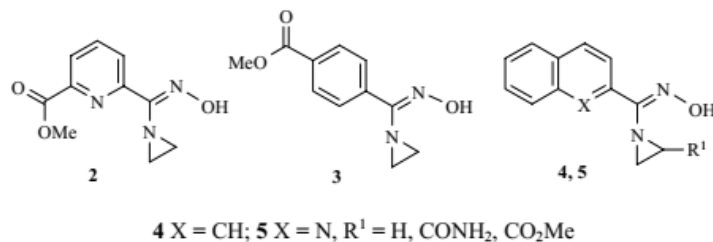
Previously have developed the synthesis of a novel class of cytotoxic agents which contain two functional groups of an amidoxime [4, 5]. There was aziridine-containing amidoxime derivatives due mostly is to their high cytotoxicity and anticancer activity. Selected examples of the most active of these compounds were compounds **1a,b**. However, a limitation of these compounds is the restricted possibility of modification of the



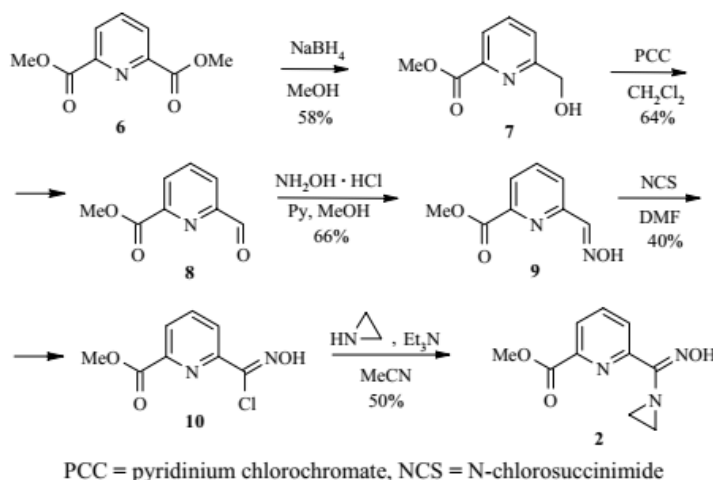
\* To whom correspondence should be addressed, e-mail: anna@osi.lv.

<sup>1</sup>Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga LV-1006, Latvia, e-mail: aigars@osi.lv.

basic structure which hinders the improvement of pharmacokinetic properties of novel compounds. In this connection a search for novel cytotoxic compounds has been carried out. We chose structural analogs of compounds **1a,b** which contain one aziridine amidoxime functional group having the structural formulae **2-5** as synthetic targets (Table 1).



Synthesis of compound **2** was carried out in several steps using dimethyl pyridine-2,6-dicarboxylate **6** as starting material.



Sodium borohydride (ether solution, 3 equivalents) was used to achieve the selective reduction of one of the ester groups in the pyridine-2,6-dicarboxylate **6** and a large quantity of methanol was optimum conditions for preparing compound **7** [6]. Aldehyde **8** was prepared from compound **7** using pyridinium chlorochromate as oxidant.

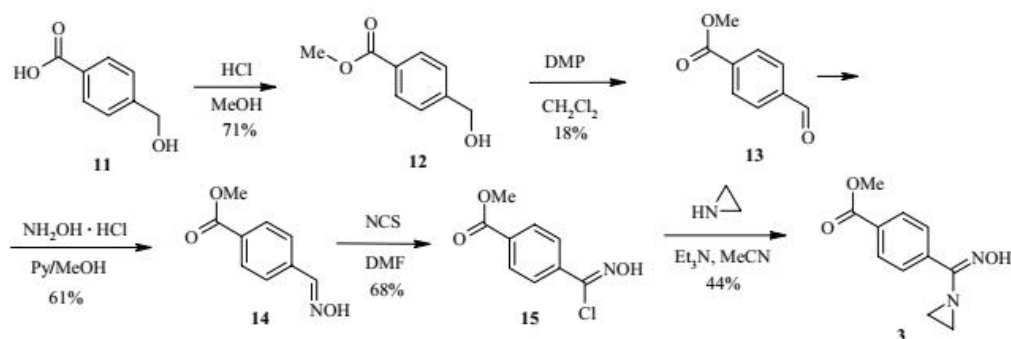
The corresponding oxime **9** was obtained in moderate yield using pyridine as the base. The hydroxyimidoyl chloride **10** was prepared by treating methyl 6-(hydroxyiminomethyl)pyridine-2-carboxylate (**9**) with N-chlorosuccinimide in DMF. The reaction was carried out at temperature slightly increased to 40°C. Reaction of hydroxyimidoyl chloride **10** with aziridine gave the final product methyl 6-[1-aziridinyl(hydroxyimino)methyl]pyridine-2-carboxylate (**2**). Formation of side products was also observed due to instability of the aziridine ring.

Hydrolysis of the methyl ester group in compound **2** was unsuccessful, a full degradation of the aziridine ring occurring under these reaction conditions.

TABLE 1. Characteristics of Compounds 2-5

Compound	Empirical formula	Found, %			mp, °C	Yield, %
		Calculated, %				
		C	H	N		
2	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O	50.68	5.48	17.08	92-96	50
		50.21	5.48	17.56		
3	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	59.85	5.49	12.39	147-151	44
		59.99	5.49	12.72		
4	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O·0.25H <sub>2</sub> O	72.39	5.69	12.83	141-142	14
		72.04	5.81	12.92		
5a	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O·0.2H <sub>2</sub> O	66.34	5.11	19.19	110-112	17
		66.47	5.30	19.38		
5b	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	62.53	4.98	15.01	59-62	36
		61.99	4.83	15.49		
5c	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ·0.2H <sub>2</sub> O	58.64	4.66	20.51	157-159	25
		58.86	4.94	21.12		

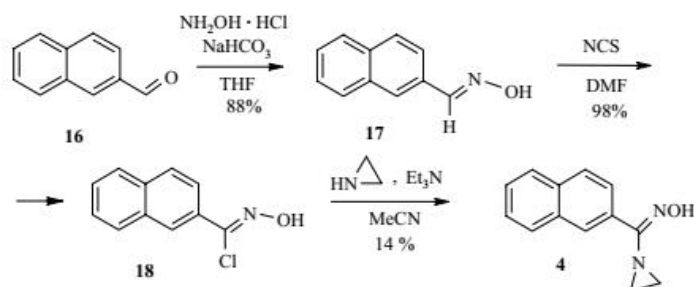
Commercially available 4-hydroxymethylbenzoic acid (**11**) was used as the starting material for the synthesis of **3**. The carboxyl group was first esterified [7] and the product **12** obtained was oxidized by using the Dess-Martin reagent. Further synthesis of compound **3** followed the method reported above for compound **2**.



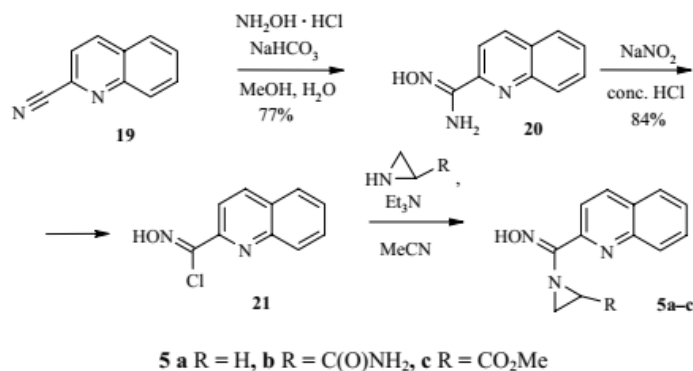
DMP– Dess-Martin reagent

Hydrolysis of the ester group in compound **3** (on attempt to obtain sodium salt) was unsuccessful as in the preceding experiment with ester **2**.

For the preparation of compound **4** the naphthalenecarbaldehyde **16** was treated with hydroxylamine in the presence of sodium bicarbonate in THF solution. Conversion to the hydroxyimidoyl chloride **18** and subsequent reaction with aziridine gave the target compound **4**.



The target compounds **5a-c** were synthesized differently to the method reported above. Reaction of the quinolinecarbonitrile **19** with hydroxylamine in the presence of sodium bicarbonate in acetonitrile solution at room temperature gave the N-hydroxyquinoline-2-carboxamide (**20**) in 77% yield [8].



A subsequent diazotization reaction was carried out under quite rigid conditions treating the amidoxime **20** with sodium nitrite in conc. HCl. The hydroxyimidoyl chloride **21** obtained as a result was separated in a pure state. The product was washed with a large quantity of cold water to remove excess hydrochloric acid. Compound **21** served as the starting material for preparation of the target compounds **5a-c** by using aziridine, the amide or methyl ester of aziridine carboxylic acid as reaction components.

The cytotoxic effect (IC<sub>50</sub>) of the target compounds **2-4**, **5a-c** was tested on monolayer cell lines obtained from the ATCC collection (Tables 2 and 3).

The following cell lines were used: 3T3 – mouse embryonic fibroblasts, HT-1080 – human connective tissue fibrosarcoma, MG-22A – mouse hepatoma, MDA-MB-453s (MDA) – human breast adenocarcinoma, estrogen negative, CCRF S-180II (CCL-8) – mouse sarcoma, monolayer, MCF-7 – human adenocarcinoma, estrogen positive, Caco-2 – human intestinal adenocarcinoma, H9C2 – rat cardiomyocytes, HepG2 – human hepatocyte carcinoma, Capan-2 – human pancreatic adenocarcinoma, PANC-1 – human pancreatic carcinoma, and HPAF-II – human pancreatic carcinoma. The MTT and CV tests were used to investigate the IC<sub>50</sub> cytotoxic effect.

The results of the CV and MTT tests depended on the level of degradation of the membrane structure and/or the degree of suppression of the oxidation-reduction system in the cell. To avoid *in vivo* experiments for determination of the LD<sub>50</sub> *in vitro* test on the cell line 3T3 was used for calculation the LD<sub>50</sub> value. Staining was carried out with Neutral Red as reported in the method "Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods and National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods".

Compound **4** and **5a** were comparable in their efficiency with **1a** and **1b** (for compound **4** the effect is on the Capan-2 line weaker and this may be connected with features of the tumor metabolism). Compound **3** was less effective but also less toxic, its IC<sub>50</sub> is comparable with known preparation. Compound **2** had little effect and compounds **5b** and **5c** were found to be inactive. Compounds **3**, **4**, **5a** could be considered as promising.

## EXPERIMENTAL

<sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on a Varian Mercury VX-200 instrument (200 MHz) using DMSO-d<sub>6</sub> as solvent (compounds **2-4**, **5a-c**, **7-10**, **14**, **15**, **17**, **18**, **20**, **21**) or CDCl<sub>3</sub> (compounds **12** ad **13**) with TMS as

TABLE 2. Cytotoxic Activity\* of the Target Compounds 2-5 and Compounds 1a,b in Various Cell Cultures

Compound	IC <sub>50</sub> , μg/ml	LD <sub>50</sub> , μg/kg	IC <sub>50</sub> , μg/ml													
			3T3		HT-1080		MG22A		MDA		MCF-7		HPC2		Caco-2	
	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT
1a	23	371	0.6	0.2	1	0.8	2	1	3	3	1	0.7	5	5	—	—
1b	50	517	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	1	1	—	—
2	258	1101	41	28	34	34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	418	1233	30	20	22	17	8	9	11	10	10	10	10	10	10	12
4	79	581	3	3	3	2	5	6	2	2	2	2	4	4	3	3
5a	30	384	2	1	2	2	2	2	8	8	2	2	2	2	2	5
5b <sup>a,2</sup>	268	1139	>100	>100	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5c <sup>a,2</sup>	993	1948	>100	>100	>100	>100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* IC<sub>50</sub> is the concentration of the compound killing 50% of the cells; LD<sub>50</sub> is the concentration which kills 50% of animals (in this case LD<sub>50</sub> is the calculated value from experiments carried out on cells); MTT is 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (indicating activity of enzymes in living cells); CV is Crystal Violet dye (staining living cell membranes).

<sup>a,2</sup> Inactive compound, not tested further.

TABLE 3. Cytotoxic activity of the Target Compounds 2-5 and Compounds 1a,b on Various Cell Cultures

Compound	IC <sub>50</sub> , μg/ml											
	MIA-PaCa-2		Capan-2		PANC-1		HPAF-II		HepG2		CCL8	
	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT	CV	MTT
1a	2	0.8	6	6	3	4	0.7	0.5	2	2	1.6	2
1b	2	2	2	1	2	2	1	1	3	4	1	1
2	42	37	88	68	33	50	>100	81	—	—	—	—
3	8	8	12	8	14	8	11	9	7	10	10	10
4	2	2	14	12	3	3	2	3	2	2	2	2
5a	2	2	3	3	2	2	2	2	2	3	3	2

internal standard. The course of the reaction and the purity of the product were monitored using TLC on Kieselgel 60 F<sub>254</sub> plates (Merck) in the system ethyl acetate–hexane in different ratios and visualized using a UV lamp with 254 nm filter. Column chromatography used Kieselgel silica gel (35-70 and 60-200 μm). Melting points were determined on an Optimelt apparatus and are not corrected.

**Methyl 6-Hydroxymethylpyridine-2-carboxylate (7).** Dimethyl pyridine-2,6-dicarboxylate (**6**) (1.95 g, 10 mmol) was dissolved in methanol (100 ml), sodium borohydride (1.13 g, 30 mmol) was added, and the reaction mixture was stirred for 1.5 h at room temperature to reach full conversion of the starting material (TLC monitoring). At the end of the reaction the filtrate was evaporated. The obtained residue was treated with cold water (100 ml) and extracted with chloroform (3×50 ml). The extract was washed with water to give 0.97 g (57%) as colorless crystalline product. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 3.86 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 4.61 (2H, d, *J* = 6, CH<sub>2</sub>OH); 5.56 (1H, t, *J* = 6, CH<sub>2</sub>OH); 7.71 (1H, d, *J* = 7.4, 5-CH pyridine); 7.93-8.04 (2H, m, 3,4-CH pyridine).

**Methyl 6-Formylpyridine-2-carboxylate (8).** Compound **7** (1 g, 6 mmol) was dissolved in dichloromethane (70 ml), pyridinium chlorochromate (1.94 g, 8.98 mmol) was added, and the mixture stirred for 4 h at room temperature (monitored by TLC). The mixture was filtered through Celite and the filtrate evaporated and repeatedly filtered through silica gel. After evaporation, the residue was purified by column chromatography eluting with petroleum ether–ethyl acetate (1:1). Yield 0.63 g (64%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 3.94 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 8.16 (1H, dd, *J* = 1.4 and *J* = 6.2, 3-CH pyridine); 8.25 (1H, t, *J* = 8, 4-CH pyridine); 8.33 (1H, dd, *J* = 1.4 and *J* = 6.0, 5-CH pyridine); 10.02 (1H, s, CHO).

**Methyl 6-(Hydroximinomethyl)pyridine-2-carboxylate (9).** Compound **8** (250 mg, 1.5 mmol) and hydroxylamine hydrochloride (118 mg, 1.7 mmol) were mixed dry, a mixture of pyridine and methanol (1:1) was added, and the reaction mixture was refluxed to completion of the reaction (TLC monitoring), then was evaporated and residue was suspending in dichloromethane and washed with aqueous sodium bicarbonate solution (10 ml saturated sodium bicarbonate + 40 ml water). The organic layer was separated, dried over sodium sulphate, and evaporated. Product yield 0.236 g (66%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 8.02 (3H, s, pyridine); 8.13 (1H, s, CHNOH); 11.87 (1H, s, CHNOH).

**Preparation of Compounds 10, 15, 18 (General Method).** N-Chlorosuccinimide (1.20 mmol) was added to a solution of the starting oxime (1 mmol) in DMF (5 ml). The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature and then held for 1 h at 40°C (for the synthesis of compound **18** the temperature was raised to 80°C). The mixture was cooled and water with ice (50 ml) was added. After cooling, the precipitate was filtered and thoroughly washed with cold water.

**Compound 10.** Yield 55%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 3.91 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 8.08-8.12 (3H, m, pyridine).

**Compound 15.** Yield 68%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 3.87 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 7.99 (4H, dd, *J* = 8.8 and *J* = 1.3, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

**Compound 18.** Yield 98%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 7.60 (2H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 8.06 (5H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 8.35 (1H, s, 1-CH C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 12.53 (1H, s, NOH).

**Methyl 4-Hydroxymethylbenzoate (12).** 4-Hydroxymethylbenzoic acid (**11**) (1.09 g, 6.57 mmol) was dissolved in methanol (30 ml), acidified with HCl (3 ml), and refluxed for 4 h. After cooling, the reaction mixture was neutralized with triethylamine (TEA) to pH 7 and evaporated. The residue obtained was dissolved in dichloromethane (20 ml) and washed with a 5% aqueous solution of sodium bicarbonate (2×20 ml). The organic layer was separated, dried over sodium sulphate, and evaporated. Yield 782 mg (72%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 3.11 (1H, br. s, OH); 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 4.67 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 7.37 (2H, d, *J* = 8, 2,6-CH Ph); 7.95 (2H, d, *J* = 8, 3,5-CH Ph).

**Methyl Formylbenzoate (13).** The Dess-Martin reagent (0.54 ml, 1.7 mmol) was added to a solution of compound **12** (0.264 g, 1.6 mmol) in dichloromethane (10 ml), the reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h, extracted with ether. The organic layer was washed with a saturated solution of sodium bicarbonate and separated. The aqueous layer was repeatedly extracted with ether. The extracts were

combined, washed with saturated sodium chloride solution, and dried over sodium sulphate. Evaporation gave the product which was purified by column chromatography using ethyl acetate–petroleum ether (1:4) as eluent. Yield 49 mg (18%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 3.96 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 7.96 (2H, d, *J* = 8, 2,6-CH Ph); 8.18 (2H, d, *J* = 8, 3,5-CH Ph); 10.09 (1H, s, COH).

**Methyl 4-(Hydroxyiminomethyl)benzoate (14)** was prepared by the method reported above for compound **9**. Yield 61%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 7.73 (2H, d, *J* = 8.8, 2,6-CH Ph); 7.97 (2H, d, *J* = 8.2, 3,5-CH Ph); 8.22 (1H, s, CHNOH); 11.87 (1H, s, NOH).

**2-Naphthalenecarbaldehyde Oxime (17)**. Aqueous sodium bicarbonate solution (3 ml) was added to a solution of compound **16** (312 mg, 2 mmol) in THF (7 ml). After 10 min hydroxylamine hydrochloride (278 mg, 4 mmol) was added. The reaction mixture was held for 12 h at room temperature, extraction was carried out with ethyl acetate, extract dried over sodium sulphate and evaporated. Column chromatography of the mixture obtained gave compound **17** (eluent petroleum ether–ethyl acetate, 1:2). Yield 88%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 7.57 (2H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 7.82 (1H, d, *J* = 8.8, H-4 C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 7.91 (3H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 8.00 (1H, s, H-1 C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 8.29 (1H, s, CHNOH); 11.34 (1H, s, NOH).

**N-Hydroxyquinoline-2-carboxamide (20)**. Hydroxylamine hydrochloride (139 mg, 2 mmol) was dissolved in methanol (15 ml), cooled in an ice bath, and an aqueous solution of sodium bicarbonate (168 mg, 2 mmol/5 ml of water) was added with stirring at room temperature for 30 min. Freshly prepared hydroxylamine solution was added to a solution of the 3-quinolinecarbonitrile (**19**) (308 mg, 2 mmol) in methanol (15 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1.5 h and then for 1.5 h at 40–50°C. The precipitate formed was filtered off and washed with a large amount of water. Yield 77%. <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 5.99 (2H, br. s, NH<sub>2</sub>); 7.62 (1H, dt, *J* = 1.6 and *J* = 7.2, 6-CH quinoline); 7.79 (1H, dt, *J* = 1.4 and 7.2, 7-CH quinoline); 8.01 (3H, dd, *J* = 4.2 and *J* = 7.8, quinoline); 8.33 (1H, d, *J* = 8.6, 8-CH quinoline); 10.21 (1H, s, NOH).

**Quinoline-2-carboximidoyl Chloride (21)**. A solution of compound **20** (280 mg, 1.5 mmol) in conc. HCl (5 ml) was cooled to 0–5°C, an aqueous solution of sodium nitrite (332 mg, 4 mmol/1 ml water) was added and stirred for 1 h at 0–4°C and then at room temperature for 12 h. The precipitate formed was filtered off and dried *in vacuo*. Yield of product 0.26 g (84%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 7.68 (1H, t, *J* = 7.4, 6-CH quinoline); 7.83 (1H, t, *J* = 7.6, 7-CH quinoline); 8.05 (3H, dd, *J* = 6.4 and *J* = 9.4, quinoline); 8.44 (1H, d, *J* = 8.6, 8-CH quinoline); 10.23 (1H, s, NOH).

**Preparation of Target Compounds 2-5 (General Method)**. A mixture of TEA and aziridine in acetonitrile was cooled to 0°C. A suspension of the hydroxyimidoyl chloride in acetonitrile was added (2 ml of solvent for 0.5 mmol of starting material, the reaction being carried out in an inert atmosphere) and the reaction mixture was held for 30 min at the low temperature and then at room temperature until the reaction was complete (TLC monitoring). In some cases a precipitate of triethylamine hydrochloride was formed and this was filtered off. The filtrate was evaporated and the tarry residue was triturated with ether using a glass rod. The precipitated material was filtered off and washed on the filter with a small amount of ether.

**Methyl 6-[1-Aziridinyl(hydroxyimino)methyl]pyridine-2-carboxylate (2)** was prepared from TEA (0.29 ml, 2.1 mmol), aziridine (0.08 ml, 1.6 mmol), and the starting product **10** (113 mg, 0.53 mmol). Yield of compound **2** 70 mg (50%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 2.24 (4H, s, CH<sub>2</sub> aziridine); 3.90 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 8.0 (3H, m, CH pyridine); 10.79 (1H, s, NOH).

**Methyl 4-[1-Aziridinyl(hydroxyimino)methyl]benzoate (3)**. TEA (0.28 ml, 2 mmol), aziridine (0.08 ml, 1.6 mmol), and the starting product **15** (106 mg, 0.5 mmol) were stirred at room temperature for 1 h. Yield of compound **3** 48 mg (44%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 2.21 (4H, s, CH<sub>2</sub> aziridine); 3.86 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 7.80 (2H, d, *J* = 8.6, CH Ph); 7.97 (2H, d, *J* = 8.6, CH Ph); 10.71 (1H, s, NOH).

**1-Aziridinyl(2-naphthyl)methanone Oxime (4)**. TEA (0.56 ml, 4 mmol), aziridine (0.15 ml, 3 mmol), and the starting product **18** (210 mg, 1 mmol) were stirred for 1.5 h at room temperature. Yield of compound **4** 30 mg (14%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm: 2.27 (4H, s, CH<sub>2</sub> aziridine); 7.54 (2H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 7.90 (4H, m, C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 8.21 (1H, s, 1-CH C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>); 10.54 (1H, s, NOH).

167



**1-Aziridinyl(2-quinolyl)methanone Oxime (5a)** TEA (0.56 ml, 4 mmol), aziridine (0.15 ml, 3 mmol), and starting product **21** (207 mg, 1 mmol) were stirred at room temperature for 1 h. Yield of compound **5a** 37 mg (17%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 2.31 (4H, s, CH<sub>2</sub> aziridine); 7.67 (1H, t, *J* = 6.4, 6-CH quinoline); 7.78 (1H, t, *J* = 6.4, 7-CH quinoline); 8.00 (3H, m, quinoline); 8.32 (1H, d, *J* = 8.8, 8-CH quinoline); 10.89 (1H, s, NOH).

**1-[Hydroxyimino(2-quinolyl)methyl]aziridine-2-carboxamide (5b)**. TEA (0.44 ml, 3.2 mmol), aziridinecarboxamide (206 mg, 2.4 mmol), and the starting product **21** (150 mg, 0.8 mmol) were stirred at room temperature for 1.5 h. The product was filtered off, washed with ethyl acetate, and dried *in vacuo*. Yield of compound **5b** 40 mg (25%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 2.50 (2H, CH<sub>2</sub> aziridine, proton signal situated under the solvent signal); 3.02 (1H, dd, *J* = 3.6 and *J* = 1.5, CH aziridine); 7.09 (2H, s, NH<sub>2</sub>); 7.58 (1H, s, CH quinoline); 7.64 (1H, t, *J* = 6.6, CH quinoline); 7.95 (3H, m, CH quinoline); 8.28 (1H, d, *J* = 8.8, 8-CH quinoline); 10.94 (1H, s, NOH).

**Methyl 1-[Hydroxyimino(2-quinolyl)methyl]aziridine-2-carboxylate (5c)** TEA (0.56 ml, 3.2 mmol), methyl aziridine carboxylate (300 mg, 3 mmol) and the starting product **21** (190 mg, 1.0 mmol) were stirred for 3 h at room temperature. After evaporation, the oily product was purified by column chromatography eluting with a mixture of ethyl acetate and petroleum ether (1:1). Yield of compound **5c** 100 mg (36%). <sup>1</sup>H NMR spectrum, δ, ppm (*J*, Hz): 2.67 (1H, d, *J* = 3.4, CH aziridine); 2.73 (1H, d, *J* = 6, CH aziridine); 3.23 (1H, proton signal partly situated under the D<sub>2</sub>O signal, CH aziridine); 3.61 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 7.62 (1H, t, *J* = 6.6, CH quinoline); 7.78 (1H, dt, *J* = 1.4 and *J* = 8, CH quinoline); 7.94 (3H, dd, *J* = 4.2 and *J* = 4.2, CH quinoline); 8.32 (1H, d, *J* = 8.8, 8-CH quinoline); 11.07 (1H, s, NOH).

**Biological Screening.** The cytotoxic properties of the target compounds *in vitro* were determined on 96 well panels using the vital dyes MTT and CV in accordance with methods [9, 10] validated [11].

This work was carried out with the support of the European Regional Development Fund (VPD1/ERAF/CFLA/05/APK/2.5.1/000029/014).

## REFERENCES

1. I. B. Weinstein and A. Joe, *Cancer Res.*, **68**, 3077 (2008).
2. H. Su, L. Altucci, and Q. You, *Mol. Cancer Ther.*, **7**, 1007 (2008).
3. B. A. Teicher, *Clin. Cancer Res.*, **14**, 1610 (2008).
4. A. V. Eremeev, I. P. Piskunova, V. G. Andrianov, and E. E. Liepin'sh, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 488 (1982). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **18**, 369 (1982)].
5. V. G. Andrianov and A. V. Eremeev, *Zh. Org. Khim.*, **27**, 112 (1991).
6. C. Platas-Iglesias, M. Mato-Iglesias, K. Djanashvili, R. N. Muller, L. Vander Elst, J. A. Peters, A. de Blas, and T. Rodriguez, *Chem. Eur. J.*, **10**, 3579 (2004).
7. R. Marsh and M. Bradley, *Tetrahedron*, **53**, 17317 (1997).
8. L. Kalvinsh, V. Andrianov, I. Shestakova, I. Kanepe, and I. Domracheva, WO Pat. 01/21585 A2; *Chem. Abstr.*, **134**, 252268 (2001).
9. D. J. Fast, R. C. Lynch, and R. W. Leu, *J. Leukocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).
10. R. J. Freshney, *Culture of Animal cells. A Manual of Basic Technique*, Wiley-Liss, New York (1944), p. 269.
11. G. A. Veinberg, I. Shestakova, N. Grigan, D. Musel, I. Kanepe, I. Domracheva, V. Grigoryeva, O. Zharkova, I. Turovskis, I. Kalvinsh, A. Strakovs, and E. Lukevics, *Eur. J. Med. Chem.*, **33**, 755 (1998).

## 2. pielikums

### **Synthesis and Biological Evaluation of Aziridin-1-yl Oxime-based Vorinostat Analogues as Anticancer Agents**

Anna Nikitjuka\*, Irina Shestakova, Nadezhda Romanchikova, Aigars Jirgensons

*Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2015**, 51(7), 647–657

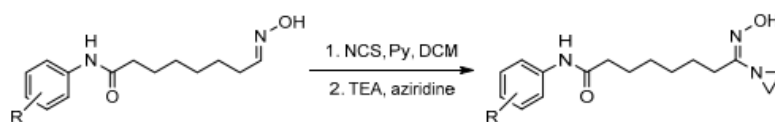
## Synthesis and biological evaluation of aziridin-1-yl oxime-based vorinostat analogs as anticancer agents

Anna Nikitjuka<sup>1\*</sup>, Irina Shestakova<sup>1</sup>, Nadezhda Romanchikova<sup>1</sup>, Aigars Jirgensons<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Latvian Institute of Organic Synthesis,  
21 Aizkraukles St., Riga LV-1009, Latvia; e-mail: anna@osi.lv

Published in Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii,  
2015, 51(7), 647–657

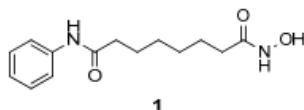
Submitted May 28, 2015  
Accepted June 16, 2015



The suberoyl anilide hydroxamic acid (vorinostat) analogs with the aziridin-1-yl oxime moiety as a possible metal chelating functionality have been synthesized. Their biological activity and stability under physiological conditions have been evaluated. Although some of the synthesized compounds demonstrated high antiproliferative activity against human HT1080 fibrosarcoma (HT1080, IC<sub>50</sub> 0.3–7.7 μM) comparable to vorinostat (HT1080, IC<sub>50</sub> 2.4 μM), they showed only weak histone deacetylase inhibition activity in HeLa cell line extracts.

**Keywords:** aldoxime, aziridin-1-yl oxime, histone deacetylase, hydroximoyl chloride, suberoyl anilide hydroxamic acid, cytotoxic activity.

Vorinostat (suberoyl anilide hydroxamic acid or SAHA) (**1**) is a linear hydroxamic acid compound that is a potent enzyme inhibitor with multiple targets including I and II class histone deacetylase (HDAC). SAHA consists of a chelating group (hydroxamic acid moiety) and six-carbon spacer (connection unit) attached to a hydrophobic group (phenyl). It has been shown that hydroxamic acid moiety of SAHA binds to a zinc ion in the HDAC catalytic site allowing the rest of the molecule to lie along the protein surface with the phenyl ring oriented out of the catalytic pocket.<sup>1</sup>



The aziridin-1-yl oxime group shows high structural similarity with hydroxamic acid. Moreover the aziridin-1-yl oxime moiety has a potential to form a covalent interaction, particularly when activated with zinc ions. Following this idea we aimed to synthesize a small molecule library of SAHA analogs and test their anticancer, as well as HDAC inhibitory activity. It has been already shown that aromatic compounds containing aziridin-1-yl oxime groups show high cytotoxic activity against different cancer cell lines.<sup>2</sup>

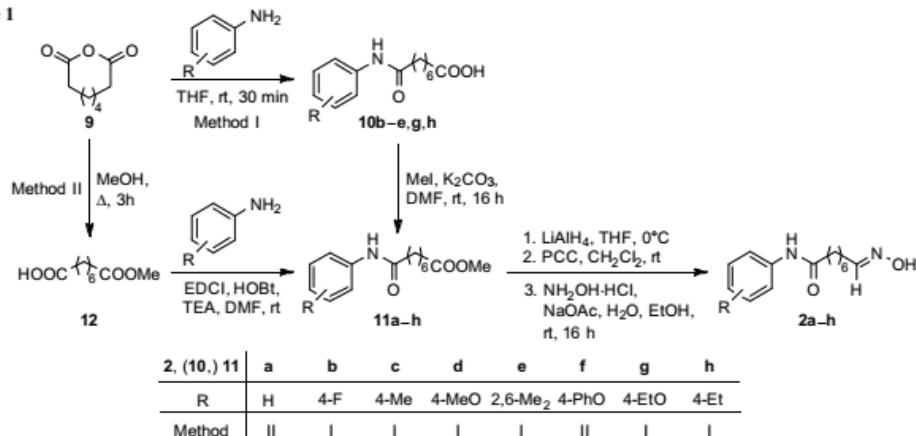
The key intermediates in the described strategy are the aliphatic aldoximes **2a–h**, **3**, and **4**, which were converted to the aziridin-1-yl oximes in a two-step one-pot reaction: formation of hydroximoyl chloride and addition of

*N*-nucleophile (aziridine, aziridine derivative) to the nitrile oxide generated from the hydroximoyl chloride *in situ*. An alternative approach through the appropriate nitrile oxide starting from the corresponding amidoxime has been investigated by us previously.<sup>3</sup> Unfortunately this approach failed to provide nitrile oxides bearing an alkyl moiety.

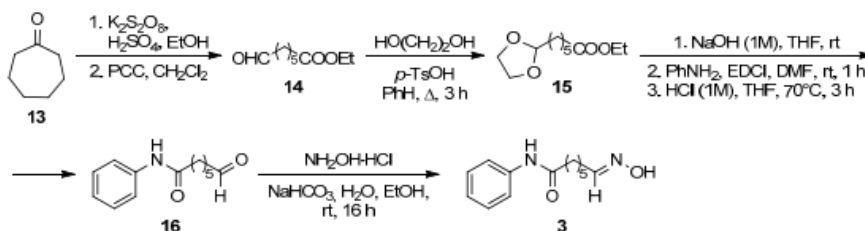
The routes used for synthesis of SAHA analogs **5a–l**, **6–8** are depicted in Schemes 1–7. Our initial attempt to synthesize suberoyl anilide was the condensation of suberic acid with aniline at high temperatures. However, the desired compound was formed in low yield together with by-products. This prompted us to use a different synthetic route proposed by Mai.<sup>4</sup> Thus, suberoyl anhydride (**9**) was obtained in good yields by heating suberic acid with acetic anhydride.<sup>4</sup> Anhydride **9** was treated with aniline or aniline derivatives to afford monoamides **10b–e,g,h** which were converted into the corresponding esters **11b–e,g,h** by reaction with methyl iodide in the presence of potassium carbonate (Scheme 1, Method I). The second approach to prepare intermediates **11** involved the conversion of suberic acid anhydride (**9**) to its monomethyl ester **12** which was coupled with aniline or aniline derivatives using *N*-(3-dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimide (EDCI) (Scheme 1, Method II).

Esters **11a–h** were converted to aldehydes by the reduction of the ester functionality with lithium aluminum hydride (LAH) in THF followed by the oxidation with pyridinium chlorochromate (PCC). The reaction of aldehydes with hydroxylamine hydrochloride in the presence of NaHCO<sub>3</sub> or NaOAc afforded aldoximes **2a–h**.

Scheme 1



Scheme 2



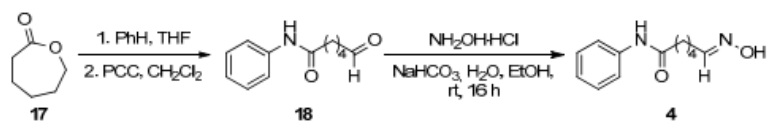
Synthesis of oxime **3** was accomplished by the reaction of cycloheptanone (**13**) with potassium persulfate in ethanol in the presence of sulfuric acid, and the resulting 6-hydroxyheptanoic acid ethyl ester was oxidized with PCC (Scheme 2).<sup>5</sup> The aldehyde group of the obtained intermediate **14** was protected as acetal to give compound **15**. Basic hydrolysis of the ester group and the coupling of the resulting acid with aniline was followed by acetal group cleavage. The resulting aldehyde **16** was successfully converted to aldoxime **3** in the presence of NaHCO<sub>3</sub>.

The synthetic route to the intermediate **4** starting from  $\epsilon$ -caprolactone (**17**) is outlined in Scheme 3. The caprolactone cycle was opened in the reaction with aniline to

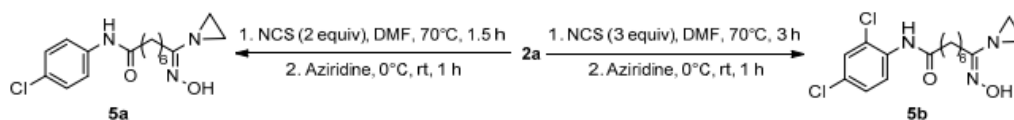
give the anilide alcohol which was subsequently oxidized with PCC to afford aldehyde **18**<sup>6</sup> which was converted to the aldoxime **4**.

Aziridin-1-yl oximes were prepared by chlorination of oximes **2a–h**, **3**, **4**. This provided hydroximoyl chlorides<sup>7</sup> directly converted *in situ* to the nitrile oxide by treatment the reaction mixture with triethylamine in great excess. The following addition of aziridine allowed to obtain final compounds **5a–l** in low or moderate yields (Schemes 4, 5). When *N*-chlorosuccinimide (NCS) in DMF was used for the chlorination of aldoxime **2a**, hydroximoyl chlorides with chlorinated benzene ring were formed. This resulted, after the treatment with aziridine, in monochlorinated product **5a** and dichlorinated product **5b** (Scheme 4).

Scheme 3

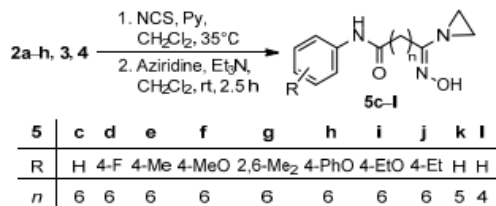


Scheme 4



The formation of hydroximoyl chloride without phenyl ring chlorination was successfully carried out with NCS and catalytic amount of pyridine in chloroform or dichloromethane (Scheme 5).<sup>8</sup>

Scheme 5



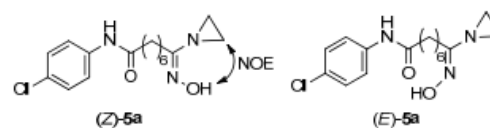
To investigate the structure–activity relationship of aziridin-1-yl oxime moiety, substituted analogs **6** and **7** were prepared following a similar synthetic protocol to that shown in Scheme 4. 7-Azabicyclo[4.1.0]heptane required for the synthesis of compound **6** was obtained according to the procedure described in literature starting from cyclohexene oxide (Scheme 6).<sup>9</sup>

Finally, the synthesis of amidoxime **8** was realized starting from the commercially available 6-bromohexanoic acid (**19**) which was converted to the corresponding 6-cyanohexanoic acid in the reaction with sodium cyanide, followed by the reaction with aniline in the presence of EDCI.<sup>10</sup> Transformation of the nitrile group in compound **20** to amidoxime group by the reaction with hydroxylamine in isopropanol gave the desired product **8** in quantitative yield.

Aziridin-1-yl oxime **5a** was used as a model compound for the investigation of the configuration of oxime. The (*Z*)-configuration of the compound was confirmed by 2D NMR NOESY spectra which showed a NOE between the hydroxyl proton and the aziridine methylene protons (Fig. 1).

The stability of compound **5a** was assessed by HPLC method. These studies indicated that compound **5a** was stable at least 4 h in 0.05 M phosphate buffer solution (pH 7.4, 25°C), however after 24 h, its content in the analyzed solution was 86%, and after 120 h, only 32%.

All synthesized aziridin-1-yl oximes **5a–l**, **6–8**, structural analogs of SAHA, were tested for their cytotoxic activity on different cell lines (mouse embryonic

Figure 1. The *Z*- and *E*-isomers of compound **5a**.

fibroblasts 3T3, human fibrosarcoma HT1080, mouse hepatoma MG22A) using different colorimetric methods (NR – neutral red, MTT – 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, and CV – crystal violet) (Table 1).

Our results demonstrate that there is a difference in cytotoxic activity of compounds bearing diverse substituents at the phenyl moiety. Thus, compounds having doubly substituted phenyl rings **5b,g** are inactive, however, the activities of other SAHA analogs are comparable. A variety of substitution is tolerated at position 4 of the phenyl group when *n* = 6.

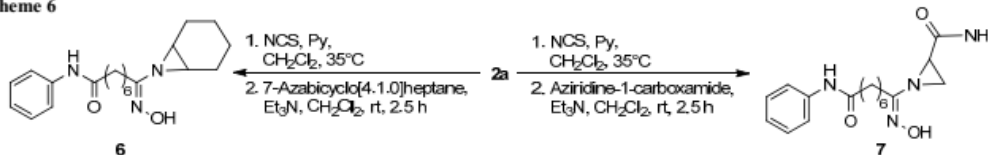
A series of homologous compounds was synthesized with a different length of the spacer unit between phenyl and aziridin-1-yl oxime groups. Thus, compounds **5k,l**, containing five- and four-carbon spacer, respectively, dramatically lost cytotoxic activity in comparison with compound **5c** containing a six-carbon spacer.

The influence of the substitution at the aziridine cycle on the example of compounds **6** and **7** was also examined. The introduction of azabicyclic function (compound **6**) or carboxamide substituent (compound **7**) contributes to the loss of the cytotoxic activity. The aziridine substitution with amidoxime functionality resulted in inactive compound **8**, but it might also be argued that its weak cytotoxic activity resulted from the shorter spacer unit.

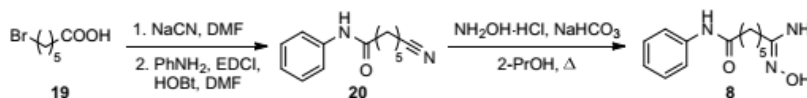
The obtained final compounds can be allocated in one of the four toxicity categories based on their acute oral toxicity properties according to the cut-off criteria established by the current EU regulations.<sup>12</sup> Thus, most of the newly synthesized SAHA analogs **5a,c,d,f,h,j** can be classified as slightly toxic compounds (category 3), while compounds **5b,g,i,k,l**, **6–8** are practically non-toxic (category 4).

Selected SAHA analogs **5a,c,d,f,h–j** were tested for their ability to act as a histone deacetylase inhibitors in Hella extract using SAHA as a reference inhibitor (Table 2).

Scheme 6



Scheme 7



**Table 1.** Cytotoxic effect of SAHA analogs on different monolayer cell lines

Compound	<i>n</i>	R	3T3 LD <sub>50</sub> , mg/kg (NR)	HT1080 IC <sub>50</sub> μ M (CV)	HT1080 IC <sub>50</sub> μ M (MTT)	MG22A IC <sub>50</sub> μ M (CV)	MG22A IC <sub>50</sub> μ M (MTT)
SAHA	6	–	NT*	2.4**	2.4**	NT	NT
5a	6	4-Cl	97	0.6	0.6	1.2	0.9
5b	6	2,4-Cl <sub>2</sub>	358	>10	NT	>10	NT
5c	6	H	87	0.6	0.3	1.0	1.0
5d	6	4-F	92	0.9	0.6	0.6	0.9
5e	6	4-Me	121	0.8	1.3	3.6	4.6
5f	6	4-MeO	128	1.0	1.3	2.7	2.7
5g	6	2,6-Me <sub>2</sub>	482	>10	>10	>10	>10
5h	6	4-PhO	153	NT	1.0	NT	0.5
5i	6	4-EtO	233	NT	1.5	NT	3.0
5j	6	4-Et	146	NT	0.9	NT	0.6
5k	5	H	220	7.3	3.6	7.3	3.6
5l	4	H	261	3.8	3.8	7.6	7.7
6	6	–	275	>10	>10	>10	>10
7	6	–	2191	>10	NT	>10	NT
8	5	–	873	>10	>10	>10	>10

\* NT – not tested.

\*\* See ref.<sup>11</sup>

The results in Table 2 indicate that aziridin-1-yl oxime analogs were inactive in HDAC inhibition test. The synthesized SAHA analogs had significantly lower IC<sub>50</sub> values than SAHA. The poor HDAC inhibition of aziridin-1-yl oximes may indicate that HDAC is not the primary pharmacological target responsible for their biological activity.

In summary, we have synthesized a series of SAHA analogs in which hydroxamic acid moiety is replaced by aziridin-1-yl oxime group. We have shown that some of the obtained compounds exhibit significant antiproliferative activity against the growth of monolayer cell lines including human HT1080 fibrosarcoma. However, all tested compounds are weak inhibitors of HDAC suggesting that aziridin-1-yl oxime analogs of SAHA do not enter

**Table 2.** HDAC inhibition activity of selected aziridin-1-yl oximes

Compound	IC <sub>50</sub> , μ M, 30 min incubation	IC <sub>50</sub> , μ M, 3 h incubation
SAHA	0.1	0.1
5a	177	NT
5c	61	70
5d	36	37
5f	13	20
5h	32	31
5i	28	30
5j	40	24

covalent interaction with zinc atom in the HDAC catalytic pocket. The new enzymatic target of the obtained compound library should be established in the future.

### Experimental

<sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on Varian 400 Mercury (400 MHz), Bruker Fourier 300 (300 MHz), and Varian 200 (200 MHz) spectrometers. <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded on a Varian 400 Mercury spectrometer (100 MHz). The <sup>1</sup>H chemical shifts are given relative to residual proton signal of DMSO-*d*<sub>6</sub> signal (2.50 ppm) or CDCl<sub>3</sub> (7.26 ppm), the <sup>13</sup>C chemical shifts – relative to DMSO-*d*<sub>6</sub> signal (39.5 ppm). Ultra-performance liquid chromatography (UPLC) data were obtained on a Waters mass spectrometer (column Acquity UPLC BEH-C18) using electrospray ionization (ESI) in positive mode. Elemental analysis was performed on a Carlo Erba EA1108 elemental analyzer. Melting points were determined on a Standard Research Systems Optimelt melting point apparatus and were uncorrected. Purification of compounds was performed by flash silica gel chromatography using Merck Kieselgel (230–400 mesh), eluting with ethyl acetate and light petroleum ether in different ratios. Thin-layer chromatography was performed on silica gel and was visualized by staining with KMnO<sub>4</sub> or in UV at 210 or 254 nm. Reagents and starting materials were obtained from commercial sources and used as received.

**Synthesis of target compounds 5a–c** was realized starting from intermediate **12** (Method II) as follows.

**8-Methoxy-8-oxooctanoic acid (12).** The solution of compound **9** (2.0 g, 12.8 mmol) in methanol (6.5 ml) was stirred at reflux in pressure tube during 3 h. The reaction mixture was evaporated to dryness and treated with ether. The white precipitate formed was filtered off. Yield 1.92 g (80%). <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.15–1.28 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.37–1.52 (4H, m, HO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.14 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.24 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 3.54 (3H, s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, partially overlapped with water signal); 11.94 (1H, br. s, CO<sub>2</sub>H).

**Methyl 8-oxo-8-(phenylamino)octanoate (11a).** Triethylamine (1.7 ml, 12 mmol, 1.5 equiv), EDCI (2.10 g, 10.4 mmol, 1.3 equiv), and HOBt (1.40 g, 10.4 mmol, 1.3 equiv) were added to a solution of the intermediate **12** (1.38 g, 8 mmol) in DMF (8 ml), followed by the addition of aniline (0.73 g, 8 mmol). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature, treated with water (20 ml), and extracted with AcOEt. The organic phase was washed with water, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated, and evaporated. The residue was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:2). Yield 1.62 g (77%), white amorphous solid. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.19–1.34 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.42–1.62 (4H, m, NH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.21–2.29 (4H, m, NHCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.54 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>); 6.98 (1H, t, *J* = 7.4, H-4 Ph); 7.24 (2H, t, *J* = 7.9, H-3,5 Ph); 7.54 (2H, d, *J* = 7.4, H-2,6 Ph); 9.80 (1H, s, NH).

**8-Hydroxy-*N*-phenyloctanamide.** Lithium aluminumhydride (0.12 g, 3.0 mmol, 1.1 equiv) was slowly added to a solution of intermediate **11a** (0.73 g, 2.8 mmol) in dry THF (14 ml) at 0°C. After the full conversion of the starting material (TLC control), the reaction mixture was treated with methanol (1 ml), evaporated to dryness, then diluted with ethyl acetate, and extracted with water. The organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated. The obtained crude product was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:2, gradient to AcOEt). Yield 0.51 g (79%), white solid. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.21–1.27 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH); 1.34–1.40 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.49–1.56 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 3.29–3.34 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH, partially overlapped with water signal); 4.28 (1H, t, *J* = 5.1, OH); 6.95–7.00 (1H, m, H-4 Ph); 7.22–7.27 (2H, m, H-3,5 Ph); 7.52–7.57 (2H, m, H-2,6 Ph); 9.79 (1H, s, NH).

**8-Oxo-*N*-phenyloctanamide.** A solution of the obtained 8-hydroxy-*N*-phenyloctanamide (0.43 g, 1.8 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (18 ml) was added to a suspension of PCC (0.79 g, 3.7 mmol, 2 equiv) and Celite (0.79 g) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (18 ml). The reaction was stirred until the full conversion of the starting material (TLC control) and filtered through a short silica gel column, eluting with ether. The filtrate was evaporated. Yield 0.32 g (74%), white solid. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.30 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 1.44–1.60 (4H, m, NHC(O)(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.38 (2H, td, *J* = 7.4, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO);

6.98 (1H, t, *J* = 7.4, H-4 Ph); 7.19–7.29 (2H, m, H-3,5 Ph); 7.55 (2H, d, *J* = 7.5, H-2,6 Ph); 9.63 (1H, t, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO); 9.80 (1H, s, NH).

**8-(Hydroxyimino)-*N*-phenyloctanamide (2a).** The obtained 8-oxo-*N*-phenyloctanamide (0.31 g, 1.3 mmol) was dissolved in ethanol (5 ml), and sodium acetate (0.16 g, 2.0 mmol, 1.5 equiv) was added to the solution in one portion followed by the addition of hydroxylamine hydrochloride (0.14 g, 2.0 mmol, 1.5 equiv) solution in water (10 ml). The reaction mixture was stirred for 16 h at room temperature, and the precipitate that formed was filtered off and dried *in vacuo*. Yield 0.29 g (89%), amorphous solid. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.24–1.31 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 1.34–1.41 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.49–1.58 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.15–2.22 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>CHNOH); 6.60 (1H, t, *J* = 5.4, CHNOH); 6.95–7.00 (1H, m, H-4 Ph); 7.20–7.27 (2H, m, H-3,5 Ph); 7.49–7.55 (2H, m, H-2,6 Ph); 9.80 (1H, s, NH); 10.68 (1H, s, NOH).

**(*Z*)-8-(Aziridin-1-yl)-*N*-(4-chlorophenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5a).** Aldoxime **2a** (0.30 g, 1.21 mmol) was dissolved in DMF (3 ml); NCS (0.34 g, 2.54 mmol, 2.1 equiv) was added in one portion. The reaction mixture was kept at 70°C for 1.5 h, then cooled to 0°C, and aziridine (0.78 ml, 15 mmol) was added. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature, stirred for an additional 1 h, diluted with AcOEt, and extracted with water. The organic phase was washed several times with AcOEt, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated, and evaporated at water bath temperature 30°C. The residue was purified by flash chromatography eluting with 5% Et<sub>3</sub>N in AcOEt. Yield 165 mg (42%), white solid, mp 127.5–129°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.19–1.37 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.34–1.68 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.99 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.02–2.09 (2H, m, partially overlapped with aziridine signal, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.27 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 7.31 (2H, d, *J* = 8.9, H-3,5 Ar); 7.59 (2H, d, *J* = 8.9, H-2,6 Ar); 9.49 (1H, s, NOH); 9.94 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.4; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.4; 36.8; 121.0; 126.9; 129.0; 138.8; 156.9 (C=NOH); 171.9 (C=O). Found, %: C 58.40; H 6.70; N 12.60. C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Calculated (with 1.4% H<sub>2</sub>O): C 58.53; H 6.91; N 12.80.

**(*Z*)-8-(Aziridin-1-yl)-*N*-(2,4-dichlorophenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5b).** Aldoxime **2a** (0.50 g, 2 mmol) was dissolved in DMF (10 ml); NCS (0.81 g, 6 mmol, 3 equiv) was added, and the reaction mixture was kept at 70°C for 1 h. An additional amount of NCS (0.27 g, 2 mmol) was added, and reaction mixture was heated for 3 h (full conversion of starting material, TLC control), then cooled to 0°C, and aziridine (0.52 ml, 10 mmol) was added. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature, stirred for an additional 1 h, diluted with AcOEt, and extracted with water. The organic phase was washed several times with AcOEt, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated, and evaporated at water bath temperature 30°C. The residue was treated with ether, and the precipitate that formed was

filtered and dried. Yield 210 mg (29%), white solid, mp 112–114°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.37 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.44–1.63 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 2.02 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.08 (2H, t, *J* = 7.2, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.37 (2H, t, *J* = 7.2, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 7.39 (1H, dd, *J* = 8.8, *J* = 2.3, H Ar); 7.63 (1H, d, *J* = 2.3, H Ar); 7.67–7.74 (1H, m, H Ar); 9.49 (1H, s, NOH); 9.52 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.4; 26.3; 26.6; 28.7; 28.8; 31.3; 36.1; 127.9; 129.3; 129.7; 134.7; 156.9 (C=NOH); 172.1 (C=O). Found, %: C 51.50; H 5.58; N 11.14. C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Calculated (with 4.8% HCl), %: C 51.04; H 5.76; N 11.16.

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-8-(hydroxyimino)-N-phenyloctanamide (5c).** Pyridine (0.1 ml) was added to a solution of NCS (28 mg, 0.2 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml). The solution was stirred for 15 min, then aldoxime **2a** (50 mg, 0.2 mmol) was added, and the stirring was continued at 35°C until the reaction mixture became clear. After cooling to room temperature, aziridine (32 μl, 0.6 mmol, 3 equiv) and triethylamine (58 μl, 0.4 mmol, 2 equiv) were added to the reaction mixture, which was then stirred for 2.5 h at room temperature. The reaction mixture was treated with water and extracted with AcOEt. The organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated at water bath temperature 30°C. The residue was purified by flash chromatography (eluent 5% Et<sub>3</sub>N in AcOEt). Yield 26% (15 mg), white powder, mp 115–117°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.32 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.40–1.62 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.04 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 6.97 (1H, t, *J* = 7.4, H-4 Ph); 7.24 (2H, t, *J* = 7.8, H-3,5 Ph); 7.54 (2H, d, *J* = 7.8, H-2,6 Ph); 9.46 (1H, s, NOH); 9.80 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.5; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.3; 36.8; 119.4; 123.3; 129.0; 139.8; 156.9 (C=NOH); 171.6 (C=O). Found, %: C 65.34; H 8.02; N 13.78. C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Calculated (with 7% AcOEt), %: C 65.57; H 8.09; N 13.49.

**Synthesis of the target compound 5d** was realized starting from intermediate **10b** (Method I) as follows.

**8-[(4-Fluorophenyl)amino]-8-oxooctanoic acid (10b).** 4-Fluorophenylamine (117 μl, 1.2 mmol) was added to a stirred solution of suberic acid anhydride (**9**) (190 mg, 1.2 mmol) in anhydrous THF (12 ml). After stirring at room temperature for 30 min, the solid (bisamide) was filtered off (yield 10–15%), and the filtrate was evaporated. The residue was treated with diethyl ether, and the precipitate was filtered and dried *in vacuo* at room temperature. Yield 190 mg (63%). <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.19–1.26 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 1.39–1.49 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 2.15 (4H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 6.46–6.52 (2H, m, H-3,5 Ar); 6.76–6.82 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.90 (1H, s, NH); 11.92 (1H, br. s, COOH).

**Methyl 8-[(4-fluorophenyl)amino]-8-oxooctanoate (11b).** Anhydrous potassium carbonate (0.552 g, 4 mmol) was added to a stirred solution of intermediate **10b** (0.534 g,

2 mmol) in DMF (2 ml) in one portion, and the mixture was stirred for 30 min. Methyl iodide (75 μl, 1.2 mmol) was then added, and the reaction mixture was stirred for 16 h at room temperature. Then it was diluted with water (20 ml) and extracted with ethyl acetate (2×10 ml). The organic layers were combined and washed with water (2×20 ml) and brine (20 ml), dried over potassium sulfate, filtered, evaporated, and treated with Et<sub>2</sub>O. Yield 0.36 g (64%). <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.18–1.33 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.38–1.66 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.19–2.33 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.56 (3H, s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 7.04–7.16 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.58 (2H, dd, *J* = 9.1, *J* = 5.0, H-2,6 Ar); 9.89 (1H, s, NH).

**Synthesis of aldoxime 2b** was carried out starting from compound **11b** analogously to the synthesis of compound **2a**.

**N-(4-Fluorophenyl)-8-hydroxyoctanamide** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 68%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.18–1.44 (8H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH); 1.48–1.63 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.26 (2H, t, *J* = 7.3, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 3.32–3.36 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH partially overlapped with water signal); 4.32 (1H, t, *J* = 5.2, OH); 7.03–7.17 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.58 (2H, dd, *J* = 9.2, *J* = 5.1, H-2,6 Ar); 9.89 (1H, s, NH).

**N-(4-Fluorophenyl)-8-oxooctanamide** was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:1). Yield 72%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.17–1.36 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 1.42–1.64 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.25 (2H, t, *J* = 7.1, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.39 (2H, t, *J* = 7.1, CH<sub>2</sub>CHO, partially overlapped with DMSO signal); 7.03–7.15 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.57 (2H, dd, *J* = 8.9, *J* = 5.2, H-2,6 Ar); 9.64 (1H, s, CHO); 9.88 (1H, s, NH).

**(4-Fluorophenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (2b)** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 56%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.20–1.45 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 1.48–1.66 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.12–2.32 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 6.61 (1H, t, *J* = 5.0, CHNOH); 7.10 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.57 (2H, dd, *J* = 9.0, *J* = 5.0, H-2,6 Ar); 9.89 (1H, s, NH); 10.70 (1H, s, NOH).

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-N-(4-fluorophenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5d).** Pyridine (0.1 ml) was added to a solution of NCS (25 mg, 0.19 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) and stirred for 15 min. Aldoxime **2b** (50 mg, 0.19 mmol) was then added, and the reaction mixture was heated at 35°C until the reaction mixture became clear. After cooling to room temperature, aziridine (29 μl, 0.57 mmol, 3 equiv) and triethylamine (53 μl, 0.38 mmol, 2 equiv) were added, the stirring was continued for 1.5 h at room temperature. The reaction mixture was treated with water and extracted with AcOEt. The organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated at water bath temperature 30°C. The residue was treated with acetonitrile. Yield 24 mg (41%), white powder, mp 126–128°C (decomp.). <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.33 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.41–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.04 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.24 (2H, t, *J* = 7.4,



$\text{CH}_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 7.04–7.11 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.49–7.63 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.46 (1H, s, NOH); 9.88 (1H, s, NH).  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (100 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 25.4; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.4; 36.8; 115.0 (d,  $J = 22.1$ ); 120.6 (d,  $J = 7.6$ ); 135.6 (d,  $J = 2.3$ ); 156.5; 156.9 (C=NOH); 171.9 (C=O). Found, %: C 62.49; H 7.13; N 12.96.  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_2$ . Calculated (with 5.4% AcOEt), %: C 62.09; H 7.32; N 12.93.

Synthesis of the target compound **5e** was realized starting from intermediate **10c**<sup>1</sup> (Method I) according to the procedure described for compound **5c**.

**Methyl 8-[(4-methylphenyl)amino]-8-oxooctanoate (11c)** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 60%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.16–1.32 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 1.45–1.56 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 2.20 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2.19–2.33 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 3.54 (3H, s,  $\text{COOCH}_3$ ); 7.04 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-3,5 Ar); 7.42 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-2,6 Ar); 9.71 (1H, s, NH).

**8-Hydroxy-N-(4-methylphenyl)octanamide** was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:2). Yield 67%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.20–1.28 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ ); 1.32–1.41 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.48–1.57 (2H, m,  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ ); 2.20 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2.19–2.28 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 3.30–3.36 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OH}$ , partially overlapped with water signal); 4.28 (1H, m, OH); 7.04 (2H, d,  $J = 8.2$ , H-3,5 Ar); 7.33–7.49 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.70 (1H, s, NH).

**N-(4-Methylphenyl)-8-oxooctanamide**. Yield 71%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.19–1.30 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$ ); 1.46–1.56 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CHO}$ ); 2.20 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2.21–2.25 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 2.38 (2H, td,  $J = 7.2$ ,  $J = 1.6$ ,  $\text{CH}_2\text{CHO}$ ); 7.04 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-3,5 Ar); 7.42 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-2,6 Ar); 9.62 (1H, t,  $J = 1.6$ , CHO); 9.70 (1H, s, NH).

**8-(Hydroxyimino)-N-(4-methylphenyl)octanamide (2c)**. Yield 74%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.20–1.35 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CHNOH}$ ); 1.42–1.61 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CHNOH}$ ); 2.15–2.25 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ); 2.19 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 6.60 (1H, t,  $J = 5.2$ ,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ); 7.04 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-3,5 Ar); 7.35 (2H, d,  $J = 8.4$ , H-2,6 Ar); 9.70 (1H, s, NH); 10.67 (1H, s, NOH).

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-8-(hydroxyimino)-N-(4-methylphenyl)octanamide (5e)**. Yield 11%, white powder, mp 111–113°C.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.18–1.35 (m, 4H,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 1.42–1.58 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.01–2.05 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 2.19 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2.23 (2H, t,  $J = 7.5$ ,  $\text{CH}_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 6.99–7.07 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.30–7.47 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.47 (1H, s, NOH); 9.71 (1H, s, NH).  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (100 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm: 20.8 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 25.5; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.3; 36.8; 119.5 (C-3,5 Ar); 129.4 (C-2,6 Ar); 132.2 (C-4 Ar); 137.2 (C-1 Ar); 156.9 (C=NOH); 171.4 (C=O).

Synthesis of the target compound **5f** was realized starting from intermediate **10d**<sup>1</sup> (Method I) according to the procedure described for compound **5c**.

**Methyl 8-[(4-methoxyphenyl)amino]-8-oxooctanoate (11d)** was precipitated from water. Yield 65%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.22–1.28 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 1.44–1.59 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 2.19–2.27 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 3.54 (3H, s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 3.67 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 6.82 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-2,6 Ar); 9.65 (1H, s, NH).

**8-Hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)octanamide** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 59%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.24–1.31 (6H, m,  $(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ ); 1.32–1.41 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.45–1.62 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ); 2.19–2.22 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 3.29–3.50 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OH}$  partially overlapped with water signal); 3.67 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 4.28 (1H, t,  $J = 5.1$ , OH); 6.82 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-2,6 Ar); 9.65 (1H, s, NH).

**N-(4-Methoxyphenyl)-8-oxooctanamide**. Yield 77%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.20–1.30 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$ ); 1.44–1.56 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CHO}$ ); 2.18–2.25 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 2.38 (2H, td,  $J = 7.2$ ,  $J = 1.6$ ,  $\text{CH}_2\text{CHO}$ ); 3.67 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 6.82 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-2,6 Ar); 9.62 (1H, t,  $J = 1.6$ , CHO); 9.65 (1H, s, NH).

**8-(Hydroxyimino)-N-(4-methoxyphenyl)octanamide (2d)**. Yield 72%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.22–1.31 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CHNOH}$ ); 1.34–1.43 (2H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.49–1.58 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ); 2.16–2.25 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ); 3.67 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 6.60 (1H, t,  $J = 5.3$ ,  $\text{CH}_2\text{CHNOH}$ ); 6.82 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-2,6 Ar); 9.66 (1H, s, NH); 10.67 (1H, s, NOH).

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-8-(hydroxyimino)-N-(4-methoxyphenyl)octanamide (5f)**. Yield 70%, white powder, mp 107.5–109°C.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.19–1.33 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 1.42–1.58 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.03 (2H, t,  $J = 7.4$ ,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 2.21 (2H, t,  $J = 7.4$ ,  $\text{CH}_2\text{C}(\text{NC}_2\text{H}_4)\text{NOH}$ ); 3.67 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 6.81 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d,  $J = 9.0$ , H-2,6 Ar); 9.48 (1H, s, NOH); 9.67 (1H, s, NH).  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum (100 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm: 25.6; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.3; 36.7; 55.6 ( $\text{CH}_3\text{OAr}$ ); 114.2 (C-3,5 Ar); 121.1 (C-2,6 Ar); 132.9 (C-1 Ar); 155.4 (C-4 Ar); 156.9 (C=NOH); 171.2 (C=O). Found, %: C 61.67; H 7.70; N 10.61.  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ . Calculated (with 21% AcOEt), %: C 61.90; H 8.16; N 10.31.

Synthesis of the target compound **5g** was realized starting from intermediate **10e**<sup>1</sup> (Method I) according to the procedure described for compound **5c**.

**Methyl 8-[(2,6-dimethylphenyl)amino]-8-oxooctanoate (11e)** was precipitated from water. Yield 85%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm ( $J$ , Hz): 1.24–1.39 (4H, m,  $(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 1.45–1.64 (4H, m,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 2.08 (6H, br. s, 2CH<sub>3</sub>Ar); 2.23–2.31 (4H, m,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 3.54 (3H, s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); 7.01 (3H, s, H-3,4,5 Ar); 9.12 (1H, br. s, NH).

**N-(2,6-Dimethylphenyl)-8-hydroxyoctanamide**. Yield 54%.  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , ppm

(*J*, Hz): 1.20–1.39 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH); 1.46–1.64 (4H, m, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.08 (6H, br. s, 2CH<sub>3</sub>Ar); 2.22 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 3.30–3.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH partially overlapped with water signal); 4.29 (1H, t, *J* = 5.2, OH); 7.01 (3H, s, H-3,4,5 Ar); 9.12 (1H, br. s, NH).

***N*-(2,6-Dimethylphenyl)-8-oxooctanamide**. Yield 58%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.39 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 1.38–1.70 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.07 (6H, br. s, 2CH<sub>3</sub>Ar); 2.24–2.29 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.39 (2H, td, *J* = 7.2, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO); 7.01 (3H, s, H-3,4,5 Ar); 9.12 (1H, br. s, NH); 9.64 (1H, t, *J* = 1.6, CHO).

***N*-(2,6-Dimethylphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (2e)**. Yield 86%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.21–1.49 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 1.55–1.64 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.08 (6H, s, 2CH<sub>3</sub>Ar); 2.15–2.33 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 6.61 (1H, t, *J* = 5.3, CHNOH); 7.01 (3H, s, H-3,4,5 Ar); 9.13 (1H, br. s, NH); 10.68 (1H, s, NOH).

**(*Z*)-8-(Aziridin-1-yl)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5g)**. Yield 16%, amorphous powder, mp 125–126.5°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.40 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.43–1.63 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.08 (6H, s, 2CH<sub>3</sub>Ar); 2.03–2.10 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.27 (2H, t, *J* = 7.3, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 7.01 (3H, s, H-3,4,5 Ar); 9.14 (1H, s, NH); 9.49 (1H, s, NOH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 18.5 (2CH<sub>3</sub>Ar); 25.8; 26.5; 28.7; 28.9; 31.3; 35.8; 39.2; 126.7 (C-4 Ar); 128.0 (C-3,5 Ar); 135.6 (C-2,6 Ar); 135.7 (C-1 Ar); 156.9 (C=NOH); 171.2 (C=O).

**Synthesis of the target compound 5h** was realized starting from intermediate 12 (Method II) according to the procedure described for compound 5a.

**Methyl 8-oxo-8-[(4-phenoxyphenyl)amino]octanoate (11f)**. Yield 62%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO), δ, ppm: 1.21–1.28 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.44–1.58 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 2.23–2.28 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 3.54 (3H, s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.86–6.96 (4H, m, H Ph); 7.00–7.09 (1H, m, H Ph); 7.27–7.36 (2H, m, H Ar); 7.47–7.61 (2H, m, H Ar); 9.84 (1H, br. s, NH).

**8-Hydroxy-*N*-(4-phenoxyphenyl)octanamide** was recrystallized from Et<sub>2</sub>O. Yield 42%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.28 (6H, br. s, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH); 1.33–1.58 (4H, m, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 3.34 (2H, q, *J* = 6.5, CH<sub>2</sub>OH); 4.29 (1H, t, *J* = 5.2, OH); 6.89–6.95 (4H, m, H Ar); 7.03–7.08 (1H, m, H Ar); 7.29–7.35 (2H, m, H Ar); 7.54–7.58 (2H, m, H Ar); 9.84 (1H, br. s, NH).

**8-Oxo-*N*-(4-phenoxyphenyl)octanamide**. Yield 66%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.24–1.31 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 1.46–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.34 (2H, td, *J* = 7.2, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO); 6.90–6.95 (4H, m, H Ar); 7.03–7.08 (1H, m, H Ar); 7.29–7.35 (2H, m, H Ar); 7.54–7.58 (2H, m, H Ar); 9.63 (1H, t, *J* = 1.6, CHO); 9.84 (1H, br. s, NH).

**8-(Hydroxyimino)-*N*-(4-phenoxyphenyl)octanamide (2f)**. Yield 92%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),

δ, ppm (*J*, Hz): 1.24–1.31 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 1.35–1.69 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 2.16–2.27 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 6.60 (1H, t, *J* = 5.3, CHNOH); 6.90–6.94 (4H, m, H Ar); 7.02–7.07 (1H, m, H Ar); 7.29–7.35 (2H, m, H Ar); 7.56 (2H, d, *J* = 8.9, H Ar); 9.84 (1H, br. s, NH); 10.67 (1H, s, NOH).

**(*Z*)-8-(Aziridin-1-yl)-8-(hydroxyimino)-*N*-(4-phenoxyphenyl)octanamide (5h)**. Yield 4%, colorless oil. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.24–1.44 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.54–1.76 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 2.12–2.21 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.17 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.28–2.34 (2H, m, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 6.88–6.99 (4H, m, H Ar); 7.05 (1H, t, *J* = 7.4, H Ar); 7.26–7.31 (2H, m, H Ar) partially overlapped with CDCl<sub>3</sub>; 7.43–7.51 (2H, m, H Ar). The signals of NH and NOH protons are not observed due to exchange with traces of water.

**Synthesis of the target compound 5i** was realized starting from the intermediate 10g (Method I) according to the procedure described for compound 5c.

**8-[(4-Ethoxyphenyl)amino]-8-oxooctanoic acid (10g)**. Yield 73%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.19–1.32 (7H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.40–1.60 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 2.11–2.26 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 3.93 (2H, q, *J* = 6.9, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.80 (2H, dd, *J* = 9.0, *J* = 1.1, H-3,5 Ar); 7.37–7.48 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.64 (1H, br. s, NH); 11.93 (1H, s, CO<sub>2</sub>H).

**Methyl 8-[(4-ethoxyphenyl)amino]-8-oxooctanoate (11g)** was precipitated from water. Yield 85%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.32 (m, 7H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.44–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.08–2.35 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.54 (3H, s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.93 (2H, q, *J* = 6.9, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.80 (2H, dd, *J* = 9.0, *J* = 1.2, H-3,5 Ar); 7.22–7.66 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.64 (1H, br. s, NH).

***N*-(4-Ethoxyphenyl)-8-hydroxyoctanamide** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 47%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.18–1.28 (9H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.32–1.41 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.46–1.64 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.21 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 3.29–3.50 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH partially overlapped with water signal); 3.93 (2H, q, *J* = 7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4.28 (1H, t, *J* = 5.1, OH); 6.71–6.85 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.36–7.47 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.64 (1H, br. s, NH).

***N*-(4-Ethoxyphenyl)-8-oxooctanamide**. Yield 43%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.22–1.30 (7H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.45–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.19–2.22 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.38 (2H, td, *J* = 7.2, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO); 3.93 (2H, q, *J* = 7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.78–6.83 (2H, m, H-3,5 Ar); 7.34–7.48 (2H, m, H-2,6 Ar); 9.62 (1H, s, CHO); 9.64 (1H, br. s, NH).

***N*-(4-Ethoxyphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (2g)**. Yield 90%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.31 (7H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.33–1.42 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.47–1.57 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.15–2.25 (4H, m,

NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 3.93 (2H, q, *J* = 7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.60 (1H, t, *J* = 5.3, CHNOH); 6.80 (2H, d, *J* = 8.9, H-3,5 Ar); 7.43 (2H, d, *J* = 8.4, H-2,6 Ar); 9.64 (1H, s, NH); 10.67 (1H, s, OH).

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-N-(3-ethoxyphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5i)** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 42%, oil with tendency to crystallize, mp 91°C (decomp.). <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.05 (3H, t, *J* = 7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.21–1.33 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.35–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.04 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.21 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 3.93 (2H, q, *J* = 7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 6.80 (2H, d, *J* = 8.9, H-3,5 Ar); 7.43 (2H, d, *J* = 8.4, H-2,6 Ar); 9.46 (1H, s, NOH); 9.65 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 14.8 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 25.8; 26.3; 28.7; 28.9; 31.3; 35.8; 39.2; 58.2 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O); 114.2 (C-3,5 Ar); 121.1 (C-2,6 Ar); 132.9 (C-1 Ar); 155.4 (C-4 Ar); 156.9 (C=NOH); 171.0 (C=O).

**Synthesis of the target compound 5j** was realized starting from intermediate **10h**<sup>1</sup> (Method I) according to the procedure described for compound **5c**.

**Methyl 8-(4-ethylphenyl)amino)-8-oxooctanoate (11h)** was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:2). Yield 23%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.11 (3H, t, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.21–1.29 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H); 1.45–1.57 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.21–2.27 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2.50 (2H, q, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> partially overlapped with DMSO signal); 3.54 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>); 7.07 (2H, d, *J* = 8.5, H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d, *J* = 8.5, H-2,6 Ar); 9.71 (1H, s, NH).

**N-(4-Ethylphenyl)-8-hydroxyoctanamide** was precipitated from Et<sub>2</sub>O. Yield 83%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.11 (3H, t, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.20–1.28 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH); 1.33–1.39 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.49–1.57 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH); 2.23 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.50 (2H, q, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> partially overlapped with DMSO signal); 3.34 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH partially overlapped with water signal); 4.29 (1H, t, *J* = 5.2, OH); 7.07 (2H, d, *J* = 8.5, H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d, *J* = 8.5, H-2,6 Ar); 9.71 (1H, s, NH).

**N-(4-Ethylphenyl)-8-oxooctanamide** was purified by flash chromatography (eluent AcOEt–hexane, 1:4). Yield 79%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.11 (3H, t, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.22–1.29 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 1.42–1.58 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHO); 2.23 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.38 (2H, td, *J* = 7.4, *J* = 1.6, CH<sub>2</sub>CHO); 2.50 (2H, q, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> partially overlapped with DMSO signal); 7.07 (2H, d, *J* = 8.4, H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d, *J* = 8.4, H-2,6 Ar); 9.62 (1H, s, CHO); 9.71 (1H, s, NH).

**N-(4-Ethylphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (2h)**. Yield 75%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.11 (3H, t, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.23–1.31 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CHNOH); 1.32–1.42 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.47–1.59 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.15–2.27 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.50 (2H, q, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> partially overlapped with DMSO signal); 6.60

(1H, t, *J* = 5.4, CHNOH); 7.07 (2H, d, *J* = 8.4, H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d, *J* = 8.4, H-2,6 Ar); 9.71 (1H, s, NH); 10.67 (1H, s, NOH).

**(Z)-8-(Aziridin-1-yl)-N-(4-ethylphenyl)-8-(hydroxyimino)octanamide (5j)** was purified by flash chromatography (eluent 5% Et<sub>3</sub>N in AcOEt). Yield 42%, yellowish oil. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.11 (3H, t, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.18–1.31 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.42–1.58 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.98 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.00–2.06 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.23 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 2.50 (2H, q, *J* = 7.6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> partially overlapped with DMSO signal); 7.07 (2H, d, *J* = 8.2, H-3,5 Ar); 7.44 (2H, d, *J* = 8.2, H-2,6 Ar); 9.46 (1H, s, NOH); 9.72 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 14.8 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>); 25.5; 26.3; 26.6; 28.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 28.8; 28.9; 31.3; 36.8; 119.5 (C-3,5 Ar); 129.4 (C-2,6 Ar); 132.2 (C-4 Ar); 137.2 (C-1 Ar); 156.9 (C=NOH); 171.4 (C=O).

**Synthesis of the target compound 5k** was realized starting from the commercially available cycloheptanone (**13**) as follows.

**Ethyl 6-(1,3-dioxolan-2-yl)hexanoate (15)**. *p*-Toluenesulfonic acid (245 mg, 1.3 mmol, 0.2 equiv) and ethylene glycol (4.26 ml, 77.6 mmol) were added to a solution of ethyl 7-oxoheptanoate (**14**)<sup>5</sup> (1.12 g, 6.5 mmol) in benzene (70 ml). The reaction mixture was stirred at reflux with a Dean–Stark trap for 3 h. Then the reaction mixture was evaporated to dryness. Yield 1.10 g (78%). <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.16 (3H, t, *J* = 7.3, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.23–1.60 (8H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 2.26 (2H, t, *J* = 7.3, C(O)CH<sub>2</sub>); 3.69–3.89 (4H, m, CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 4.02 (2H, q, *J* = 7.3 OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4.69–4.77 (1H, m, CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)).

**6-(1,3-Dioxolan-2-yl)hexanoic acid**. Aqueous NaOH solution (1 M, 4.61 ml) was added to a solution of intermediate **15** (1.06 g, 4.61 mmol) in THF (30 ml). The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and evaporated to dryness to give 710 mg (73%) of white crystalline product which was submitted to the next reaction step without additional purification and characterization.

**6-(1,3-Dioxolan-2-yl)-N-phenylhexanamide**. The crude 6-(1,3-dioxolan-2-yl)hexanoic acid (325 mg, 1.5 mmol) was suspended in DMF (16 ml), and isobutyl chloroformate (223 μl, 1.7 mmol, 1.1 equiv) was added. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature. Aniline (156 μl, 1.7 mmol, 1.1 equiv) was subsequently added dropwise, and the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. Aqueous potassium bisulfate solution (1 M, 50 ml) was added to the reaction mixture, and the product was extracted with AcOEt, the organic phase was washed several times with water, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrated, evaporated. The residue was purified by flash chromatography, eluent AcOEt–hexane, 1:1. Yield 385 mg (94%). <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.20–1.65 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 2.16 (2H, t, *J* = 7.2, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.26 (2H, t, *J* = 7.2, CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 3.63–3.91 (4H, m, CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 4.68–4.78

(1H, m, CH(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)); 6.94–7.04 (1H, m, H-4 Ph); 7.25 (2H, t, *J* = 7.9, H-3,5 Ph); 7.52–7.59 (2H, m, H-2,6 Ph); 9.82 (1H, br. s, NH).

**7-Oxo-N-phenylheptanamide (16).** 6-(1,3-Dioxolan-2-yl)-*N*-phenylhexanamide (385 mg, 1.46 mmol) was dissolved in a mixture of THF (10 ml) and aqueous HCl (1 M, 10 ml). The reaction mixture was stirred for 3 h at 70°C, cooled to room temperature, and extracted with Et<sub>2</sub>O. The organic phase was separated and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated. Yield 185 mg (54%), colorless oil. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.17–1.62 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CHO); 2.10–2.35 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CHO); 6.99 (1H, t, *J* = 7.6, H-4 Ph); 7.25 (2H, t, *J* = 7.8, H-3,5 Ph); 7.55 (2H, d, *J* = 8.2, H-2,6 Ph); 9.63 (1H, s, CHO); 9.82 (1H, br. s, NH).

**7-(Hydroxyimino)-N-phenylheptanamide (3)** was synthesized using the procedure described for the synthesis of compound **2a**, except by using Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> instead of NaOAc. Yield 60%. <sup>1</sup>H NMR spectrum (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.12–1.74 (6H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 2.09–2.32 (4H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CHNOH); 6.59–6.62 (1H, m, CHNOH); 6.97–7.01 (1H, m, H-4 Ph); 7.25 (2H, t, *J* = 7.6, H-3,5 Ph); 7.56 (2H, t, *J* = 7.6, H-2,6 Ph); 9.82 (1H, s, NH); 10.71 (1H, s, NOH).

**(Z)-7-(Aziridin-1-yl)-7-(hydroxyimino)-N-phenylheptanamide (5k)** was synthesized from compound **3** following the procedure for the synthesis of compound **5c** and purified by flash chromatography (eluent 5% Et<sub>3</sub>N in AcOEt). Yield 6%, white powder, mp 131–132°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.35 (2H, m, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.42–1.62 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CN(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.99 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.05 (2H, t, *J* = 7.4, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 6.97 (1H, t, *J* = 7.9, H-4 Ph); 7.24 (2H, t, *J* = 7.9, H-3,5 Ph); 7.54 (2H, d, *J* = 7.6, H-2,6 Ph); 9.46 (1H, s, NOH); 9.80 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.5; 26.4; 26.6; 28.9; 31.3; 36.6; 119.3; 123.3; 129.0; 139.8; 156.9 (C=NOH); 171.6 (C=O). Found %: C 65.46; H 7.63; N 15.60. C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Calculated, %: C 65.43; H 7.69; N 15.26.

**6-(Hydroxyimino)-N-phenylhexanamide (4)** was synthesized from compound **18**<sup>6</sup> using the procedure for the synthesis of compound **2a**, except by using Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> instead of NaOAc. The product was isolated by filtration, dried, and used for the next step without additional purification and characterization.

**(Z)-6-(Aziridin-1-yl)-6-(hydroxyimino)-N-phenylhexanamide (5l)** was synthesized from compound **4** following the procedure for the synthesis of compound **5c** and purified by flash chromatography (eluent 5% Et<sub>3</sub>N in AcOEt). Yield 6%, white powder, mp 128–131°C. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.43–1.65 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 1.99 (4H, s, 2CH<sub>2</sub> aziridine); 2.08 (2H, t, *J* = 7.3, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.27 (2H, t, *J* = 7.3, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)NOH); 6.99 (1H, t, *J* = 7.4, H-4 Ph); 7.24 (2H, t, *J* = 7.8, H-3,5 Ph); 7.54 (2H, d, *J* = 7.8, H-2,6 Ph); 9.48 (1H, s, NOH); 9.81 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.5; 26.3; 26.6; 31.3; 36.8; 119.4; 123.3; 129.0; 139.8; 156.9

(C=NOH); 171.6 (C=O). Found, %: C 63.49; H 7.29; N 15.28. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Calculated (with 8% AcOEt), %: C 63.58; H 7.47; N 14.83.

**(Z)-8-(7-Azabicyclo[4.1.0]heptan-7-yl)-8-(hydroxyimino)-N-phenyloctanamide (6)** was synthesized following the procedure for the synthesis of compound **5c**. Yield 34%, oil. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.07–1.18 (4H, m, 3,4-CH<sub>2</sub> azabicyclo); 1.22–1.35 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>6</sub>H<sub>10</sub>)NOH); 1.43–1.59 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NC<sub>6</sub>H<sub>10</sub>)NOH); 1.63–1.74 (2H, m) and 1.74–1.85 (2H, m, 2,5-CH<sub>2</sub> azabicyclo); 1.97–2.04 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.25 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NC<sub>6</sub>H<sub>10</sub>)NOH); 2.31–2.35 (2H, m, 1,6-CH azabicyclo); 6.94–7.00 (1H, m, H-4 Ph); 7.14–7.28 (2H, m, H-3,5 Ph); 7.54 (2H, dd, *J* = 10.9, *J* = 3.4, H-2,6 Ph); 9.35 (1H, s, NOH); 9.81 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 20.8; 25.5; 26.3; 26.6; 28.8; 28.9; 31.3; 36.8; 39.2; 119.5 (C-4 Ph); 129.4 (C-3,6 Ph); 132.2 (C-2,6 Ph); 137.2 (C-1 Ph); 156.9 (C=NOH); 171.4 (C=O). Mass spectrum, *m/z*: 344 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-[(1Z)-8-Anilino-N-hydroxy-8-oxooctanimidoyl]aziridine-2-carboxamide (7)** was synthesized following the procedure for the synthesis of compound **5c**. Yield 14%, oil. <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.23–1.41 (4H, m, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CN(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>CONH<sub>2</sub>)NOH); 1.44–1.51 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 1.52–1.61 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>CONH<sub>2</sub>)NOH); 1.62–1.73 (2H, m, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.22–2.32 (3H, m, CH<sub>2</sub>CNOH, CH aziridine); 2.37–2.48 (1H, m, CH aziridine); 2.51–2.60 (1H, m, CH aziridine); 6.99–7.07 (1H, m, H-4 Ph); 7.21–7.35 (5H, m, H-3,5 Ph, NH, NH<sub>2</sub> partially overlapped with solvent signal); 7.41–7.47 (2H, m, H-2,6 Ph); 9.10 (1H, s, NOH). Mass spectrum, *m/z*: 333 [M+H]<sup>+</sup>.

**(Z)-7-Amino-7-(hydroxyimino)-N-phenylheptanamide (8).** NaHCO<sub>3</sub> (185 mg, 2.2 mmol, 2.2 equiv) was added to a solution of hydroxylamine hydrochloride (104 mg, 1.5 mmol, 1.5 equiv) in isopropyl alcohol (2.0 ml). The resulting mixture was stirred for 15 min, and compound **20**<sup>10</sup> (216 mg, 1 mmol) was added. The stirring was continued at 80°C for 36 h until the consumption of the starting material. After completion of the reaction, the mixture was cooled to room temperature, precipitate was filtered off, washed with a small amount of water, and dried *in vacuo* to provide product **8** in quantitative yield. White solid, mp 78–80°C (decomp.). <sup>1</sup>H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm (*J*, Hz): 1.33–1.39 (2H, m, CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NH<sub>2</sub>)NOH); 1.53–1.69 (4H, m, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C(NH<sub>2</sub>)NOH); 2.02 (2H, t, *J* = 7.6, NHC(O)CH<sub>2</sub>); 2.35 (2H, t, *J* = 7.4, CH<sub>2</sub>C(NH<sub>2</sub>)NOH); 5.04 (2H, br. s, C(NH<sub>2</sub>)NOH); 7.08 (1H, t, *J* = 7.4, H-4 Ph); 7.34 (2H, t, *J* = 8.2, H-3,5 Ph); 7.65 (2H, d, *J* = 8.2, H-2,6 Ph); 8.75 (1H, s, NOH); 9.91 (1H, s, NH). <sup>13</sup>C NMR spectrum (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, ppm: 25.4; 26.6; 28.7; 31.1; 36.8; 119.4 (C-4 Ph); 123.3 (C-3,6); 129.0 (C-2,6 Ph); 139.8 (C-1 Ph); 153.3 (C(NH<sub>2</sub>)NOH); 171.6 (C=O). Mass spectrum, *m/z*: 250 [M+H]<sup>+</sup>.

**Determination of IC<sub>50</sub> and LD<sub>50</sub>.** Evaluation of anti-cancer activity was performed by examining *in vitro* anti-proliferative effects of the synthesized compounds in monolayer tumor cell lines HT1080 (human connective

tissue fibrosarcoma) and MG22A (mouse hepatosarcoma). The borderline concentration, relevant to the highest tolerated dose, was determined for all target compounds **5a–l**, **6–8** using the 3T3 (mouse Swiss Albino embryo fibroblasts) cell line. All cells were obtained from the ATCC collection. The basal cytotoxicity was used to predict starting doses for *in vivo* acute oral LD<sub>50</sub> values in rodent. Results are summarized in Table 1.

**Measurement of cell viability.** HT1080 and MG22A cells were seeded in 96-well plates in Dulbecco's modified Eagle's (DMEM) medium containing 10% fetal bovine serum, 4 mM L-glutamine, without antibiotics, and cultivated for 72 h by exposure to the different concentrations of compounds. After the incubation with the test compounds, the culture medium was removed, and fresh medium with 0.2 mg/ml MTT was added in each well of the plate. After a further incubation (3 h, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>), the medium with MTT was removed, and 200 µl DMSO was added at once to each sample. The samples were tested at 540 nm on a Tecan multiplate reader Infinite100. The IC<sub>50</sub> was calculated using the program Graph Pad Prism® 3.0.

**Basal cytotoxicity test.** The neutral red uptake assay was performed according to the standard protocol by Stokes et al.<sup>13</sup> Balb/c 3T3 cells (9000 cells/well) were placed into 96-well plates for 24 h in DMEM containing 5% fetal bovine serum and then exposed to the test compounds over a range of eight concentrations (1000, 316, 100, 31, 10, 3, 1 µg/ml) for 24 h. Untreated cells were used as a control. After 24 h, the medium was removed from all plates, and the cells were washed with 200 µl of phosphate buffered saline (PBS) for each well. Afterwards, 250 µl of neutral red solution was added (0.05 mg/ml NR in DMEM 24 h preincubated at 37°C and then filtered before use through 0.22 µm syringe filter). The plates were incubated for 3 h, and the cells were washed three times with PBS. The dye within viable cells was released by extraction with a mixture of acetic acid–ethanol–water, 1:50:49. The absorbance of neutral red was measured using a spectrophotometer multiplate reader (TECAN Infinite M1000) at 540 nm. The optical density (OD) was calculated using the formula: OD (treated cells) × 100/OD (control cells). The IC<sub>50</sub> values were calculated using the program Graph Pad Prism® 3.0. The *in vivo* starting dose is the estimated LD<sub>50</sub> value calculated by inserting the *in vitro* IC<sub>50</sub> value into a regression formula: log LD<sub>50</sub> (mmol/kg) = 0.439 log IC<sub>50</sub> (mmol/l) + 0.621.<sup>14</sup>

**HDAC inhibition activity evaluation** of selected novel compounds **5a**, **6a,b,d,f,g,h** were performed using the HDAC Fluorimetric Assay/Drug Discovery Kit, a Fluor de Lys® Fluorescent Assay System (Enzo Life Sci.), according to the manufacturer's protocol. Aziridin-1-yl oximes **5a,c,d,f,h–j** were dissolved in DMSO to obtain 10 mM solution and diluted to the desired test concentration in

HDAC assay buffer. An aliquot (50 µl) of each solution of the test compounds, as well as the positive control without inhibitor, were added to the wells containing HeLa extract (0.5 µl, except for the blank experiment) and HDAC fluorescent Fluor de Lys® Substrate (250 µM), employing Trichostatin A as a positive control. The HDAC reactions were allowed to proceed for 30 min at 37°C and then stopped by the addition of Fluor de Lys® Developer (50 µl). The well plate was incubated at room temperature for additional 15 min. The relative fluorescent units (RFU) were measured in a Tecan Infinite M1000 reader (excitation and emission wavelength 350 and 460 nm, respectively). The set of the RFU values for four different concentrations of each test compound were used to calculate the relative HDAC inhibitory activity. Calculation of IC<sub>50</sub> was done with the GraphPad Prism 5.03 software (GraphPad Software, La Jolla, CA). All data are the mean of three independent experiments.

## References

- Oger, F.; Lecorgne, A.; Sala, E.; Nardese, V.; Dernay, F.; Chevance, S.; Desravines, D. C.; Aleksandrova, N.; Le Guével, R.; Lorenzi, S.; Beccari, A. R.; Barath, P.; Hart, D. J.; Bondon, A.; Carretoni, D.; Simonneaux, G.; Salbert, G. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1937.
- Nikitjuka, A.; Jirgensons, A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *49*, 1544. [*Khim. Geterotskl. Soedin.* **2013**, 1669.]
- Grigorjeva, A.; Jirgensons, A.; Domracheva, I.; Yashchenko, E.; Shestakova, I.; Andrianov, V.; Kalvinsh, I. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2009**, *45*, 161. [*Khim. Geterotskl. Soedin.* **2009**, 203.]
- Mai, A.; Esposito, M.; Sbardella, G.; Massa, S. *Org. Prep. Proced. Int.* **2001**, *33*, 391.
- Bosone, E.; Farina, P.; Guazzi, G.; Innocenti, S.; Marotta, V.; Valcavi, U. *Synthesis* **1983**, 942.
- Choi, S. E.; Weerasinghe, S. V. W.; Pflum, M. K. H. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6139.
- Liu K.-C.; Shelton B. R.; Howe R. K. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3916.
- Gucma, M.; Golebiewski, W. M. *Synthesis* **2008**, *13*, 1997.
- Fang, Y.-Q.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5660.
- Ghosh, S.; Lobera, M.; Pohlhaus, D. T.; Trump, R. P.; Zhang, C.; Zuercher, W. WO Patent 2013066836.
- Dai, Y.; Guo, Y.; Curtin, M. L.; Li, J.; Pease, L. J.; Guo, J.; Marcotte, P. A.; Glaser, K. B.; Davidsen, S. K.; Michaelides, M. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3817.
- Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling, and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.* <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:1355:EN:PDF>
- Stokes, W. S.; Casati, S.; Strickland, J.; Paris, M. In *Current Protocols in Toxicology*; John Wiley & Sons: New York, 2008, Vol. 36, p. 20.4.1.
- Canonica, S.; Ferrari, M.; Sisti, M. *Org. Prep. Proced. Int.* **1989**, *21*, 253.

### 3.pielikums

## **Synthesis of Hydroxamic Acid by Using the Acid Labile O-2-Methylprenyl Protecting Group**

Anna Nikitjuka, Aigars Jirgensons\*

*Synlett* **2012**, 23, 2972–2974

## Synthesis of Hydroxamic Acids by Using the Acid Labile *O*-2-Methylprenyl Protecting Group

Anna Nikitjuka, Aigars Jirgensons\*

Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga, 1006, Latvia  
Fax +371(754)1408; E-mail: aigars@osi.lv

Received: 01.10.2012; Accepted after revision: 02.11.2012

**Abstract:** Coupling of carboxylic acids with *O*-2-methylprenyl hydroxylamine provided *O*-protected hydroxamic acids, which could be deprotected by treatment with trifluoroacetic acid (TFA) in dichloromethane giving volatile by-products. Protected hydroxamic acids could be *N*-arylated or alkylated followed by deprotection to give *N*-substituted hydroxamic acids.

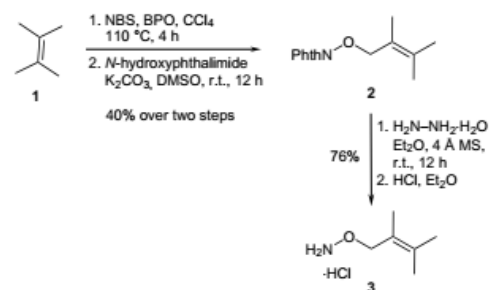
**Key words:** protecting groups, cleavage, carboxylic acids, hydroxamic acids, hydroxylamine

Hydroxamic acids have received particular attention as metalloproteinase inhibitors due to their ability to coordinate with metal ions in the active site of an enzyme.<sup>1</sup> One of the commonly used methods to install the hydroxamic acid functionality involves coupling of a carboxylic acid with an *O*-protected hydroxylamine followed by deprotection of the resulting intermediate. Such an approach avoids diacylation and, in addition, the less polar protected intermediates can be purified prior to deprotection. Nevertheless, currently used protecting groups for hydroxamic acids are often unsuitable due to chemoselectivity problems and formation of by-products in the deprotection step that are difficult to remove. For example, benzyl protection can be used if no other functional group sensitive to hydrogenolysis is present in the molecule<sup>2</sup> and this method may lead to competitive *N*-*O* bond cleavage.<sup>3</sup> By-product removal after deprotection requires chromatography or crystallization of the product if DMB,<sup>4</sup> PMB,<sup>5</sup> Tr<sup>6</sup> or TBS<sup>2b,7</sup> protecting groups are used. THP is a very convenient protection group that gives a water-soluble by-product during acidic deprotection.<sup>8</sup> However, work-up typically involves aqueous extraction, which is not suitable for water-soluble products. Recently, a similar *O*-(1-isobutoxyethyl) protection has been introduced that gives volatile by-products under acidic cleavage conditions.<sup>9</sup> A minor disadvantage of *O*-THP and *O*-(1-isobutoxyethyl) protection is that these groups possess a stereogenic center, which can complicate the NMR spectra.

Our research efforts have focused on developing an alternative *O*-protecting group for hydroxamic acids that could be cleaved to generate volatile by-products. Initially the prenyl group was investigated as a potential acid-labile *O*-protection for hydroxamic acids. However, this group ap-

peared to be stable under relatively mild acid conditions compatible with the hydroxamic acid functionality. Next, we turned our attention to the 2-methylprenyl group, which could be more labile under acidic conditions due to the additional carbenium ion stabilizing effect of the 2-methyl group.<sup>10</sup>

*O*-Methylprenyl hydroxylamine was prepared according to Scheme 1. Radical bromination of 2,3-dimethyl-2-butene (**1**) gave the allylic bromide,<sup>11</sup> which, without purification, was transformed into *N*-hydroxyphthalimide derivative **2**. Intermediate **2** was treated with hydrazine hydrate to give the volatile hydroxylamine, which was isolated by precipitation as the hydrochloride salt **3**.



**Scheme 1** Synthesis of *O*-2-methylprenyl hydroxylamine hydrochloride (**3**)

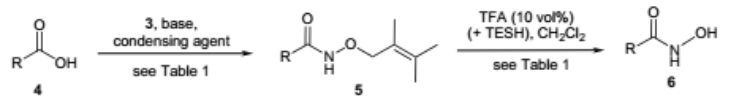
Carboxylic acids **4a–j** (Figure 1) were coupled with hydroxylamine derivative **3** using EDCI (method A) or HATU (method B) to give *O*-2-methylprenyl-protected hydroxamic acids **5a–j** in good yields (Table 1). Screening of cleavage conditions at several TFA concentrations in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> revealed that 10 vol% TFA (method C) gave clean conversion of the protected intermediate **5a** into hydroxamic acid **6a** in a reasonable reaction time (Table 1, entry 1). These conditions were applied to other protected hydroxamic acids **5b–j** to give pure products **6b–h**, without additional purification, according to HPLC and NMR analysis (Table 1, entries 2–8). The only exceptions were protected hydroxamic acids **5i** and **5j**, which gave products **6i** and **6j**, respectively, with lower purity (Table 1, entries 9 and 11). In these cases, addition of TESH (method D) as a cation scavenger improved the purity of the products (Table 1, entries 10 and 12).<sup>12</sup>

*SYNLETT* 2012, 23, 2972–2974

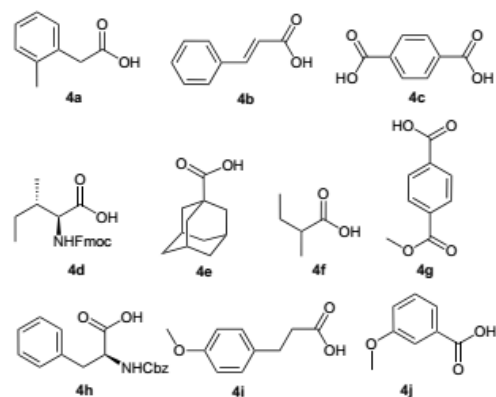
Advanced online publication: 28.11.2012

DOI: 10.1055/s-0032-1317687; Art ID: ST-2012-D0839-L

© Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York

**Table 1** Synthesis of Hydroxamic Acids **6a–j** from Coupling of Carboxylic Acids **4a–j** with Hydroxylamine Derivative **3** and Deprotection


Entry	Substrate	Protection method <sup>a</sup>	Yield of <b>5</b> (%)	Deprotection method <sup>b</sup>	Time (h)	Purity of <b>6</b> (%) <sup>c</sup>
1	<b>4a</b>	A	99	C	1.5	99
2	<b>4b</b>	A	95	C	3	97
3	<b>4c</b>	B	90	C	2	92
4	<b>4d</b>	B	98	C	2.5	96
5	<b>4e</b>	A	93	C	1.5	88 <sup>d</sup>
6	<b>4f</b>	B	92	C	2	97 <sup>d</sup>
7	<b>4g</b>	A	83	C	2	94
8	<b>4h</b>	A	96	C	2	99
9	<b>4i</b>	A	88	C	1.5	38
10				D	1.5	91
11	<b>4j</b>	A	83	C	1.5	88
12				D	3	91

<sup>a</sup> Method A: EDCI, HOBT, DIPEA, DMFA, r.t., 12 h; Method B: HATU, DIPEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 0.5 h;<sup>b</sup> Method C: TFA (10 vol%)/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; Method D: TFA (10 vol%)/TESH (10 vol%)/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.<sup>c</sup> HPLC purity at 254 and 210 nm (the least pure given) if not stated otherwise; quantitative yield by NMR with methylsulfone as internal standard.**Figure 1** Structure of carboxylic acids **4**

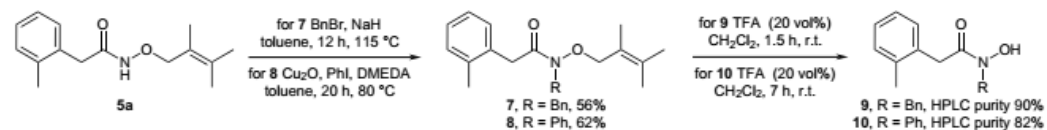
The stability of the *O*-2-methylprenyl-protected hydroxamic acids was also investigated with **5a** under

various reaction conditions (Table 2). Conditions given in entries 1–5 were selected as potential alternative deprotection conditions. However, none of them provided hydroxamic acid **6a** in appreciable yields. The 2-methylprenyl group appeared to be stable to Pd(0) deprotection, fluoride ions and strongly basic aqueous media.

Finally, we demonstrated that *N*-substituted hydroxamic acids can be obtained from their *O*-2-methylprenyl-protected precursors (Scheme 2). Substrate **5a** was alkylated with benzylbromide<sup>13</sup> to give intermediate **7** or arylated with iodobenzene<sup>14</sup> to give intermediate **8**.

Deprotection of compounds **7** and **8** gave hydroxamic acids **9** and **10**. For *O*-protected *N*-phenyl substituted hydroxamic acid **8**, a higher concentration of TFA in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 vol%) was necessary to achieve the cleavage in a reasonable reaction time. This was attributed to lower electron density on the oxygen, which prevented protonation of the hydroxamic acid.

In summary, we have demonstrated that coupling of carboxylic acids with *O*-2-methylprenyl hydroxylamine fol-

**Scheme 2** Synthesis and deprotection of *N*-substituted hydroxamic acids



**Table 2** Deprotection Conditions Investigated for **5a**

Entry	Reaction conditions	LC/MS result
1	DDQ (1.2 equiv), CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O, r.t., 12 h	mixture
2	AcCl, MeOH, r.t., 12 h	mixture
3	I <sub>2</sub> , Zn, MeOH, r.t., 12 h	mixture (14% <b>6a</b> )
4	TMSOTf (5 vol%) CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , r.t., 12 h	mixture (20% <b>6a</b> )
5	FeCl <sub>3</sub> (100 mol%), CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , r.t., 12 h	mixture
6	[Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] (5 mol%), MeOH, r.t., 48 h or reflux 4 h	stable
7	TBAF (2 equiv), THF, r.t., 24 h	stable
8	NaOH (1 M), THF, r.t., 12 h	stable

lowed by deprotection under acidic conditions is an efficient method for the synthesis of hydroxamic acids. *O*-2-Methylprenyl protection may also be useful for the synthesis of other *N*-hydroxy compounds such as *N*-hydroxyamidines and *N*-hydroxyguanidines. This is a topic of further investigation in our group.

#### Acknowledgment

Funding from European Social Fund (No. 2009/0203/IDP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/023) is gratefully acknowledged.

**Supporting Information** for this article is available online at <http://www.thieme-connect.com/ejournals/toc/synlett>. Included are synthetic procedures for compounds **2–10**, their spectroscopic characterization as well as NMR spectra of compounds **2**, **3**, **5a–j**, **6a–j** and **7–10**.

#### References

- (1) For reviews see: (a) Marmion, C. J.; Griffith, D.; Nolan, K. B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 3003. (b) Rao, B. G. *Curr. Pharm. Des.* **2005**, *11*, 295. (c) For a recent application, see: Di Fiore, A.; Maresca, A.; Supuran, C. T.; De Simone, G. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8838.
- (2) For selected references, see: (a) Masaki, M.; Ohtake, J.; Sugiyama, M.; Ohta, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1965**, *38*, 1802. (b) Jung, M.; Brosch, G.; Kolle, D.; Scherf, H.; Gerhauser, C.; Loidl, P. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4669. (c) Kottirsch, G.; Feifel, R.; Neumann, U. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2289.
- (3) Nikam, S. S.; Komberg, B. E.; Johnson, D. R.; Doherty, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 197.
- (4) Barlaam, B.; Hamon, A.; Maudet, M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7865.
- (5) Hou, J.; Li, Z.; Fang, Q.; Feng, C.; Zhang, H.; Guo, W.; Wang, H.; Gu, G.; Tian, Y.; Liu, P.; Liu, R.; Lin, J.; Shi, Y.-K.; Yin, Z.; Shen, J.; Wang, P. G. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3066.
- (6) For selected references, see: (a) Yang, S.-M.; Lagu, B.; Wilson, L. J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8123. (b) Zhu, Z.; Mazzola, R.; Sinning, L.; McKittrick, B.; Niu, X.; Lundell, D.; Sun, J.; Orth, P.; Madison, V.; Guo, Z.; Ingram, R.; Beyer, B. M. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 725. (c) Mwakwari, S. C.; Guerrant, W.; Patil, V.; Khan, S. I.; Tekwani, B. L.; Gurard-Levin, Z. A.; Mrksich, M.; Oyelere, A. K. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6100.
- (7) (a) Holms, J.; Mast, K.; Marcotte, P.; Elmore, L.; Li, J.; Pease, L.; Glaser, K.; Morgan, D.; Michaelides, M.; Davidsen, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2907. (b) Grolla, A. A.; Podesta, V.; Chini, M. G.; Di Micco, S.; Vallario, A.; Genazzani, A. A.; Canonico, P. L.; Bifulco, G.; Tron, G. C.; Sorba, G.; Pirali, T. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2776.
- (8) (a) Ngu, K.; Patel, D. V. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7088. (b) Lai, M.-J.; Huang, H.-L.; Pan, S.-L.; Liu, Y.-M.; Peng, C.-Y.; Lee, H.-Y.; Yeh, T.-K.; Huang, P.-H.; Teng, C.-M.; Chen, C.-S.; Chuang, H.-Y.; Liou, J.-P. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3777.
- (9) Moffat, D.; Patel, S.; Day, F.; Belfield, A.; Donald, A.; Rowlands, M.; Wibawa, J.; Brotherton, D.; Stimson, L.; Clark, V.; Owen, J.; Bawden, L.; Box, G.; Bone, E.; Mortenson, P.; Hardcastle, A.; van Meurs, S.; Eccles, S.; Raynaud, F.; Aherne, W. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8663.
- (10) Mayr, H.; Foerner, W.; Schleyer, P. v. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6032.
- (11) Clennan, E. L.; Chen, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5787.
- (12) Typical procedure for deprotection: To a solution of *O*-protected hydroxamic acid **5i** (33 mg, 0.13 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.6 mL) and triethylsilane (0.26 mL), was added TFA (0.26 mL) in one portion at r.t. The resulting mixture was stirred at r.t. for 90 min. Solvents were evaporated and the reaction mixture was treated several times with Et<sub>2</sub>O and evaporated. The residue was dried in vacuo overnight to give hydroxamic acid **6i** in quantitative yield as colorless crystals. For characterization of compound **6i**, see: Usachova, N.; Leitis, G.; Jirgensons, A.; Kalvins, I. *Synth. Commun.* **2010**, *40*, 927.
- (13) Haslanger, M. F.; Karanewsky, D. S. US4604407 A1, **1986**; *Chem Abstr.* 105: 208613.
- (14) Kukosha, T.; Trufilkina, N.; Belyakov, S.; Katkevics, M. *Synthesis* **2012**, *44*, 2413.

## 4.pielikums

### **Methylprenyl and Prenyl Protection for Sulfonamides**

Anna Nikitjuka, Aleksandra Nekrasova, Aigars Jirgensons\*

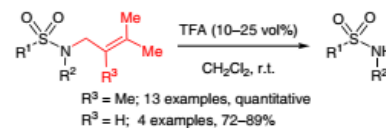
*Synlett* **2015**, 26, 183–186

## Methylprenyl and Prenyl Protection for Sulfonamides

Anna Nikitjuka  
Aleksandra Nekrasova  
Aigars Jirgensons\*

Latvian Institute of Organic Synthesis, Aizkraukles 21, Rīga 1006, Latvia  
aigars@osi.lv

Dedicated to Dr. Valerjans Kauss on the occasion of his 60<sup>th</sup> birthday

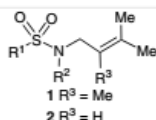


Received: 12.09.2014  
Accepted after revision: 18.10.2014  
Published online: 14.11.2014  
DOI: 10.1055/s-0034-1379428; Art ID: st-2014-d0760-1

**Abstract** 2-Methylprenyl (MePre) is an efficient protection for sulfonamides. The acidic cleavage of this group leads to volatile by-products and the product can be obtained in high purity without additional purification. MePre group is resistant to Pd/C-catalysed hydrogenolysis at 1 atm, Suzuki–Miyaura reaction, Ni(0) catalysis conditions and oxidising reagents such as NIS and DDQ. The prenyl (Pre) group can also be used to protect sulfonamides in certain cases; however, the substrate scope is limited due to the side product formation.

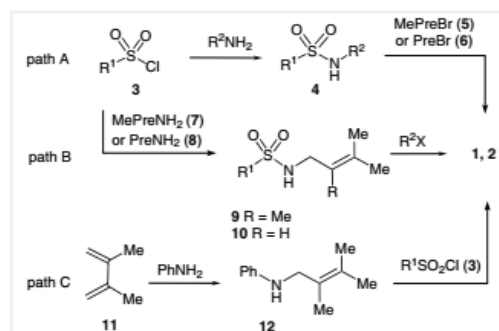
**Key words** sulfonamides, protecting groups, allylation, cations, cleavage

Sulfonamide substructure is often incorporated in pharmacologically active agents.<sup>1,2</sup> This functionality, due to the relative acidity and nucleophilicity in the deprotonated form, may often require protection during the synthesis of complex compounds. Nevertheless, options for sulfonamide protection are limited to a few groups such as *tert*-butyl,<sup>3–5</sup> benzyl,<sup>6,7</sup> diphenylmethyl,<sup>8</sup> 4-methoxybenzyl,<sup>9</sup> 2,4-dimethoxybenzyl,<sup>10</sup> 2,4,6-trimethoxybenzyl<sup>11</sup> and allyl.<sup>12,13</sup> Consequently, there is a need to broaden the arsenal of sulfonamide protection with groups that are easily installed and cleaved under mild conditions generating volatile by-product(s). The prenyl-type protection has been used for alcohols,<sup>14–20</sup> carboxylic acids<sup>14–16</sup> and hydroxamic acids;<sup>21</sup> however, to the best of our knowledge it has not been used to protect sulfonamides. In this article, we report our investigations on the utility of prenyl and 2-methylprenyl as acid-labile sulfonamide protecting groups (Figure 1).



**Figure 1** 2-Methylprenyl (MePre)- and prenyl (Pre)-protected sulfonamides **1** and **2**






















2-Methylprenyl (MePre) and prenyl (Pre) sulfonamides **1** and **2** can be obtained via several routes (Scheme 1, Table 1). Sulfonamides **4** prepared from sulfonyl chlorides **3** and amines can be alkylated with prenyl bromides **5** and **6** (path A). Sulfonamides **9** and **10** obtained from sulfonyl chlorides **3** and *N*-prenylamines **7** and **8** can be alkylated or arylated (path B). *N*-(2-Methylprenyl)anilines **12** prepared via Pd-catalysed hydroamination of dienes **11**<sup>22</sup> can be sulfonylated with sulfonyl chlorides **3** (Path C).



**Scheme 1** Preparation of 2-methylprenyl- and prenyl-protected sulfonamides

Using the protected sulfonamides **1a** and **2a** as model substrates, we found that the cleavage of MePre and Pre groups can be achieved in acidic conditions (10 vol% TFA in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).<sup>23</sup> In the case of substrate **1a**, addition of triethylsilane as a cation scavenger was beneficial to achieve a clean cleavage of the MePre group. The workup required only evaporation of the reaction mixture to provide the product with high purity. In turn, the deprotection of Pre analogue **2a** in the presence of triethylsilane led to the formation of *N*-isopentylsulfonamide as a side product resulting from the Pre group reduction (ca 15%) along with the deprotected sulfonamide (Table 1, entry 2). In the absence of triethylsilane, a considerable amount of competing intramolecular Friedel–Crafts reaction was observed (ca. 40% by NMR of

**Table 1** Proteolytic Deprotection of Sulfonamides **1** and **2**<sup>a</sup>

Entry	Deprotection substrate (synthesis path)		PG	Reaction time, yield
1		<b>1a</b> (C)	MePre	20 min, quantitative
2		<b>2a</b> (A)	Pre	60 min, 72% <sup>b</sup>
3		<b>1b</b> (A)	MePre	45 min, quantitative
4		<b>2b</b> (A)	Pre	12 h, 76% <sup>b</sup>
5		<b>1c</b> (A)	MePre	60 min, quantitative.
6		<b>1d</b> (B)	MePre	45 min, quantitative
7		<b>2d</b> (B)	Pre	60 min, 78% <sup>b</sup>
8		<b>1e</b> (B)	MePre	60 min, quantitative <sup>c</sup>
9		<b>2e</b> (B)	Pre	60 min, mixture of products
10		<b>1f</b> (B)	MePre	90 min, quantitative <sup>c</sup>
11		<b>2f</b> (B)	Pre	90 min, mixture of products
12		<b>1g</b> (B)	MePre	60 min, quantitative
13		<b>2g</b> (B)	Pre	12 h, mixture of products
14		<b>1h</b> (A)	MePre	12 h, mixture of products <sup>d</sup>
15		<b>1i</b> (C)	MePre	20 min, quantitative
16		<b>2i</b> (A)	Pre	60 min, 89% <sup>b</sup>
17		<b>1j</b> (A)	MePre	12 h, quantitative
18		<b>2j</b> (A)	Pre	12 h, mixture of products
19		<b>1k</b> (A)	MePre	12 h, 92% <sup>b,c</sup>
20		<b>1l</b> (A)	MePre	60 min, 91% <sup>b</sup>
21		<b>1m</b> (A)	MePre	90 min, 94% <sup>b,c</sup>

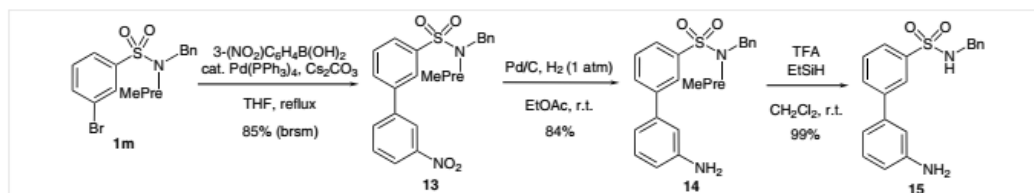
<sup>a</sup> Reaction conditions: TFA (10 vol%), triethylsilane (6 equiv), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> if not stated otherwise.<sup>b</sup> Isolation of the product was achieved by flash chromatography.<sup>c</sup> Amount of TFA used in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was 25 vol%.<sup>d</sup> The main components were the product of MePre group cleavage and primary sulfonamide (1:1); increasing the reaction time led to primary sulfonamide formation (full conversion was observed after 72 h).

crude product). Moreover, a longer reaction time was needed to achieve the complete conversion of Pre-protected sulfonamide **2a** compared to MePre analogue **1a**. The increased lability of MePre group in sulfonamides **1** can be explained by the small positive carbenium ion stabilising effect of the 2-methyl substituent.<sup>24</sup>

The substrate scope for MePre deprotection in sulfonamides **1** appeared to be quite broad. In the case of most examples studied, cleavage of the MePre group was efficiently achieved. An exception was *N*-*t*-Bu-substituted sulfonamide **1h** where the deprotection was accompanied by cleavage of the *t*-Bu group (Table 1, entry 14). For Pre protection the substrate scope was apparently limited: the cleavage of protecting group in sulfonamides **2** was accompanied by side product formation. Only in the case of sulfonamide **2i** did deprotection provide the desired product in high yield (Table 1, entry 15).

The stability of the prenyl-type sulfonamide protection was studied under various conditions used for the cleavage of other protecting groups. Selective O-debenzylation was achieved in the MePre-protected sulfonamide **1b** under catalytic hydrogenation conditions at 1 atm of H<sub>2</sub> (Table 2, entry 1). Notably, these conditions led to a complete saturation of the Pre group in the substrate **2b** (Table 2, entry 2). At the increased pressure, saturation of MePre group also took place in the substrate **1b** (Table 2, entry 3). The MePre-protected sulfonamide **1c** was resistant to NIS and DDQ (Table 2, entries 4 and 5). The allyl group could be selectively cleaved from sulfonamide **1d** under the conditions of Ni(0) catalysis<sup>13</sup> in the presence of MePre group (Table 2, entry 6). Strong Lewis acids such as BCl<sub>3</sub> promoted the cleavage of MePre group together with Bn and *t*-Bu groups in substrates **1b** and **1h** leading to primary sulfonamides in a very high yield (Table 2, entries 7 and 8).

The stability of the MePre group under the Suzuki–Miyaura coupling conditions was demonstrated in the synthesis of biphenyl intermediate **13** from protected bromophenylsulfonamide **1m** (Scheme 2). The MePre group was also stable at the stage of catalytic nitro group reduction in compound **13** to give the aniline intermediate **14**. Finally, the cleavage of the MePre group provided unprotected sulfonamide **15**.



Scheme 2 Stability of MePre in Suzuki–Miyaura coupling and in the reduction of the nitro group

Table 2 Stability Studies of MePre and Pre-Protected Sulfonamides **1** and **2**

Entry	Compound	Conditions	Results (yield of product) <sup>a</sup>
1	<b>1b</b>	Pd/C, H <sub>2</sub> (1 atm), EtOAc	selective O-debenzylation (84%)
2	<b>2b</b>	Pd/C, H <sub>2</sub> (1 atm), EtOAc	O-debenzylation and saturation of Pre group
3	<b>1b</b>	Pd/C, H <sub>2</sub> (6 atm), EtOAc	O-debenzylation and saturation of MePre group
4	<b>1c</b>	NIS, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , r.t.	stable
5	<b>1c</b>	DDQ, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, reflux	stable
6	<b>1d</b>	DIBAL-H, cat. (dppp)NiCl <sub>2</sub> , toluene, r.t.	selective allyl group cleavage (89%)
7	<b>1b</b>	BCl <sub>3</sub> (1.5 equiv), CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , r.t.	MePre and Bn cleavage (98%)
8	<b>1h</b>	BCl <sub>3</sub> (1.1 equiv), CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , r.t.	MePre and <i>t</i> -Bu cleavage (99%)

<sup>a</sup> Isolated yield.

In summary, we have demonstrated that the MePre group can be used as an acid-labile protection for sulfonamides. The acid-promoted cleavage of this protecting group leads to volatile by-products and the product can be obtained in high purity after evaporation of the reaction mixture. MePre group is resistant to Pd/C-catalysed hydrogenolysis at 1 atm, Suzuki–Miyaura reaction, Ni(0) catalysis conditions, and oxidising reagents such as NIS and DDQ. The Pre group can also be used to protect sulfonamides; however, formation of side products is observed in many cases and the substrate scope is limited.

#### Acknowledgment

Funding from EU FP7, programme Health, project NABARSI (Grant agreement no: 601725) is gratefully acknowledged.

#### Supporting Information

Supporting information for this article is available online at <http://dx.doi.org/10.1055/s-0034-1379428>. Included are synthetic procedures for compounds **1a–m**, **2a–j**, **3**, **9**, **10**, **12** and **13–15**, their spectroscopic characterisation as well as NMR spectra of compounds **1a–g**, **1i–j** and **13–15**.

## References and Notes

- (1) Supuran, C. T.; Casini, A.; Scozzafava, A. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 535.
- (2) Supuran, C. T.; Innocenti, A.; Mastrolorenzo, A.; Scozzafava, A. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 189.
- (3) Graham, S. L.; Scholz, T. H. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4260.
- (4) Wan, Y.; Wu, X.; Kannan, M. A.; Alterman, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4523.
- (5) Mahalingam, A. K.; Wu, X.; Wan, Y.; Alterman, M. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 417.
- (6) Burlingham, B. T.; Widlanski, T. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2937.
- (7) Johnson, D. C. II.; Widlanski, T. S. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8483.
- (8) Poss, M. A.; Reid, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7291.
- (9) Morris, J.; Wishka, D. G. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3549.
- (10) Hill, B.; Liu, Y.; Taylor, S. D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4285.
- (11) Videnov, G.; Aleksiev, B.; Stoev, M.; Paipanova, T.; Jung, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, *1993*, 941.
- (12) Alonso, E.; Ramón, D. J.; Yus, M. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 14355.
- (13) Taniguchi, T.; Ogasawara, K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4679.
- (14) Sharma, G. V. M.; Ilangoan, A.; Mahalingam, A. K. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9103.
- (15) Sharma, G. V. M.; Reddy, C. G.; Krishna, P. R. *Synlett* **2003**, *11*, 1728.
- (16) Narender, T.; Venkateswarlu, K.; Madhur, G.; Reddy, K. P. *Synth. Commun.* **2012**, *43*, 26.
- (17) Vatièle, J.-M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5689.
- (18) Tsuritani, T.; Shinokubo, H.; Oshima, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8121.
- (19) Babu, K. S.; Raju, B. C.; Srinivas, P. V.; Rao, A. S.; Kumar, S. P.; Rao, J. D. *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 704.
- (20) Marković, D.; Vogel, P. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2693.
- (21) Nikitjuka, A.; Jirgensons, A. *Synlett* **2012**, *23*, 2972.
- (22) Löber, O.; Kawatsura, M.; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4366.
- (23) **General Procedure for the Cleavage of MePre Group in 1:** To a stirred solution of protected sulfonamide **1** (0.15 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.75 mL) were added triethylsilane (75  $\mu$ L) and TFA (75  $\mu$ L, 10 vol%). The reaction mixture was stirred at r.t. until full conversion of the starting material was observed (see Table 1). The solvent was removed in vacuo and the residue was diluted with Et<sub>2</sub>O and the solvent was then evaporated. Dilution and evaporation was repeated twice more to give the deprotected sulfonamide.
- (24) Mayr, H.; Foerner, W.; von Rague Schleyer, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6032.

**5.pielikums**

**Synthesis, Chemical and Biological Properties of Aziridine-1-Carbaldehyde  
Oximes**

A. Nikitjuka\*\* and A. Jirgensons

*Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2014**, Vol. 49(11), 1544-1559

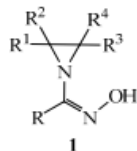
## SYNTHESIS, CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF AZIRIDINE-1-CARBALDEHYDE OXIMES\* (MINIREVIEW)

A. Nikitjuka<sup>1\*\*</sup> and A. Jirgensons<sup>1</sup>

*This review summarizes all the data available up to date from scientific and patent literature regarding synthesis, configurational stability, complexation with metals, chemical and biological properties of aziridine-1-carbaldehyde oxime derivatives.*

**Keywords:** aziridine, aziridin-1-yl oximes, furoxans, nitrile oxides, 1,2,4-oxadiazines, 1,2,4-oxadiazoles, oxazolines, configuration, cytotoxic activity.

Aziridine-1-carbaldehyde oxime derivatives with general structure **1** are also called aziridin-1-yl oximes, aziridine oximes, or 1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl derivatives in the literature. The synthesis and modification of aziridin-1-yl oximes is not widely described; however, several examples demonstrate the potential of this compound class as precursors to different heterocyclic compounds. Another important feature of aziridin-1-yl oximes is their remarkable cytotoxic activity, which makes them attractive as potential anticancer agents.



It is important at this point to summarize the known routes to aziridin-1-yl oximes as well as their chemical and biological properties in order to promote further exploration of this class of compounds. All the data available up to date from scientific and patent literature are summarized in this review.

### SYNTHESIS OF AZIRIDIN-1-YL OXIMES

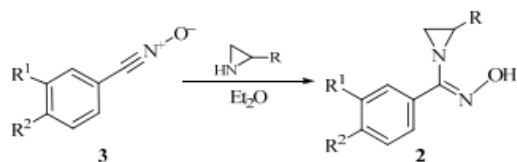
In 1966, Rajagopalam and Talaty for the first time carried out the synthesis of aziridin-1-yl-(aryl)methanone oximes **2**. These were prepared by the reaction of equimolar amounts of ethylen- or propylenimine with benzonitrile *N*-oxides **3** [1].

\*Dedicated to Professor Jānis Stradiņš on the occasion of his 80 birthday.

\*\*To whom correspondence should be addressed, e-mail: anna@osi.lv.

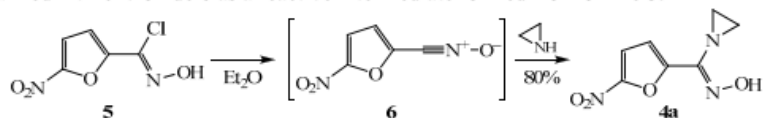
<sup>1</sup>Latvian Institute of Organic Synthesis, 21 Aizkraukles St., Riga LV 1006, Latvia.



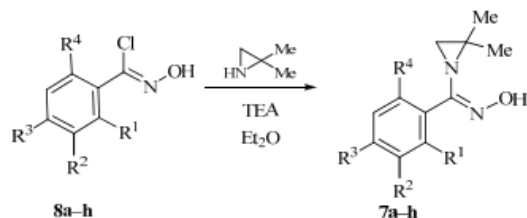


**2 a** R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = Cl; **b** R = R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H; **c** R = H, R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = Cl;  
**d** R = Me, R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H; **e** R = R<sup>2</sup> = H, R<sup>1</sup> = NO<sub>2</sub>

The synthesis of (*Z*)-aziridin-1-yl(5-nitrofur-2-yl)methanone oxime (**4a**) was realized from (*Z*)-*N*-hydroxy-5-nitrofur-2-carbimido-yl chloride (**5**) and aziridine in ether at 0°C by Sasaki and Yoshioka in 1969 [2]. The authors claimed nitrile *N*-oxide **6** as a reactive intermediate formed from oxime **5**.



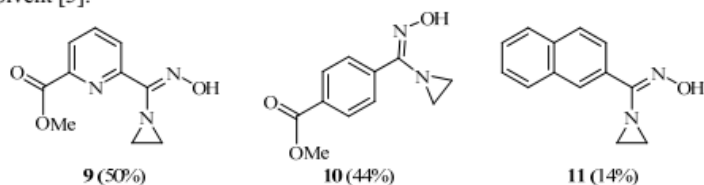
Johnson et al. presented an efficient synthesis of a series of aziridin-1-yl benzaldoximes **7** starting from chloroximes **8** [3]. Triethylamine was used as a base to generate *in situ* the corresponding *N*-oxides from chloroximes **8** [4].



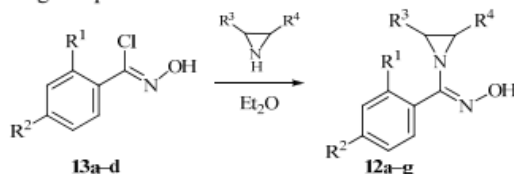
Starting compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Product	Yield, %
<b>8a</b>	H	H	H	H	<b>7a</b>	64
<b>8b</b>	H	Cl	H	H	<b>7b</b>	65
<b>8c</b>	H	NO <sub>2</sub>	H	H	<b>7c</b>	72
<b>8d</b>	H	H	NO <sub>2</sub>	H	<b>7d</b>	52
<b>8e</b>	Cl	H	H	H	<b>7e</b>	90
<b>8f</b>	Cl	H	Cl	H	<b>7f</b>	57
<b>8g</b>	H	H	Me	H	<b>7g</b>	57
<b>8h</b>	Cl	H	H	Cl	<b>7h</b>	nm*

\*nm – The yield was not mentioned in the respective article.

The same approach was used by Grigorjeva et al. to prepare pyridine, benzene, and naphthalene based aziridin-1-yl oximes **9-11** from the corresponding chloroximes. The authors used triethylamine as a base and acetonitrile as a solvent [5].

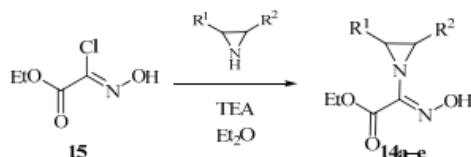


Similarly, Cho et al. prepared aromatic aziridin-1-yl oximes **12** in the reaction of substituted aziridines with aromatic chloroximes **13** derived from the corresponding aldehydes [6]. In the experimental procedure the authors reported no use of an additional base, excepting aziridine. Likely, an excess of aziridine (3 equiv.) served as a base for *N*-oxide generation from the starting molecule **13**. The products **12a-g** were obtained in moderate to good yields by using this procedure.



Starting compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Product	Yield, %
<b>13a</b>	H	H	H	Me	<b>12a</b>	66
<b>13b</b>	Cl	Cl	H	Me	<b>12b</b>	65
<b>13c</b>	H	OMe	H	Me	<b>12c</b>	56
<b>13c</b>	H	OMe	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>		<b>12d</b>	69
<b>13c</b>	H	OMe	Me	Ph	<b>12e</b>	67
<b>13d</b>	H	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et	H	Me	<b>12f</b>	71
<b>13d</b>	H	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et	H	CO <sub>2</sub> Me	<b>12g</b>	35

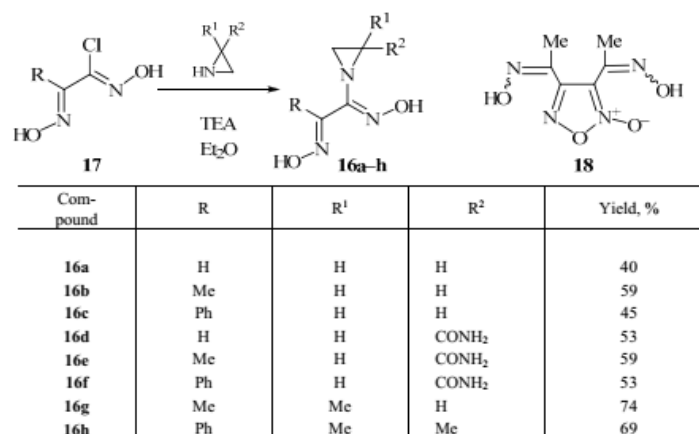
The synthesis of (*Z*)-ethyl 2-(aziridin-1-yl)-2-(hydroxyimino)acetates **14a,b** was achieved for the first time by Eremeev et al. in 1982 [7]. The authors used (*Z*)-ethyl 2-chloro-2-(hydroxyimino)acetate (**15**) as a starting material, which reacted with unsubstituted or monosubstituted aziridines in the presence of triethylamine to give the desired products **14a,b** in good yields. Similarly, Cho et al. prepared analogs of aziridin-1-yl oximes **14c-e** from glyoxylic acid ester **15** [6].



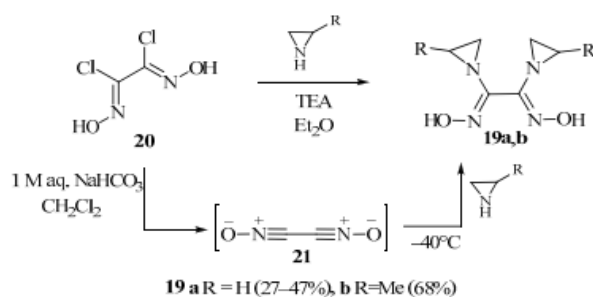
Compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Yield, %
<b>14a</b>	CONH <sub>2</sub>	H	55
<b>14b</b>	H	H	54
<b>14c</b>	Me	Ph	71
<b>14d</b>	Me	H	81
<b>14e</b>		(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	62

A one-pot procedure for the synthesis of aziridin-1-yl dioximes **16** in the reaction of chlorodioxime **17** with mono-, di-, or unsubstituted aziridines has also been described [7]. To obtain products **16a-d,g,h**, no base was used. However, for the preparation of compounds **16e,f** the use of triethylamine (1.5 equiv.) was essential. The yields of novel dioximes **16** varied from 40 to 80% depending on the substituent in the aziridine ring. The process involved *in situ* formation of the corresponding nitrile oxides from dioximes **17** and their subsequent reaction with aziridines. In the reaction of methylchlorodioxime **17** (R = Me) with aziridine-2-carboxamide (R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = CONH<sub>2</sub>), the formation of a side product furoxan **18** was observed in a considerable amount (ratio of compounds **16e/18** is 2:1). This likely was the result of the lower reactivity of the aziridine bearing an electron-withdrawing group that enabled the dimerization of intermediate nitrile oxide into furoxan as the side reaction.

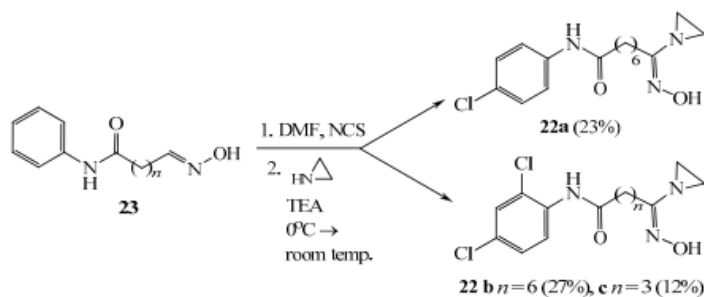
1546



The synthesis of (1*Z*,2*Z*)-1,2-di(aziridin-1-yl)ethane-1,2-dione dioximes **19** was reported by the same group. The procedure involved dichloroglyoxime derivative **20**, obtained by the halogenation of the corresponding glyoxime, aziridine, and 2 equiv. of triethylamine [7, 8].

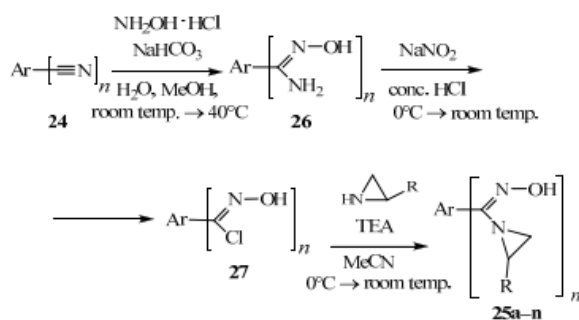


In 1999, Musluoğlu and Ahsen also reported the synthesis of compound **19a** in the reaction of cyanogen bis(*N*-oxide) (**21**) with aziridine at  $-40^{\circ}\text{C}$  [9]. The solution of *N*-oxide **21** in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  was obtained by treating the suspension of (1*Z*,2*Z*)-*N,N'*-dihydroxyethanebis(imidoyl) dichloride (**20**) with a mixture of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and 1 M aq.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Despite the stability of the intermediate **21** at low temperature [10], the yield of the final product was only 27%.



To obtain aliphatic aziridin-1-yl oximes **22**, chloroximes were prepared by chlorination of the corresponding oximes **23** with *N*-chlorosuccinimide (NCS) and these, without isolation, underwent the reaction with aziridine in the presence of triethylamine [11, 12]. Upon using an excess of NCS, the authors observed a concomitant chlorination of the activated aromatic substrate leading to mono- or dichloro derivatives (compounds **22a** or **22b,c**, respectively), depending on the amount of the chlorinating agent [13].

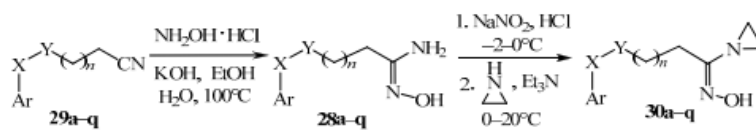
It is worth noting that aromatic or heteroaromatic carbonitriles **24** could be used as starting materials for the synthesis of aziridin-1-yl oximes **25a-n**. Nitriles **24** were converted to the corresponding carboxamide oximes **26**, which by diazotization in hydrochloric acid medium gave chloroximes **27**. These, in turn, in the presence of triethylamine, were converted to the corresponding mono-, bis-, or tris(aziridin-1-yl) oximes **25a-n** [5, 14].



Compound	Ar	R	<i>n</i>	Yield, %
<b>25a</b>	Quinolin-2-yl	H	1	17
<b>25b</b>	Quinolin-2-yl	CO <sub>2</sub> Me	1	36
<b>25c</b>	Quinolin-2-yl	CONH <sub>2</sub>	1	25
<b>25d</b>	Pyridine-2,6-diyl	H	2	60
<b>25e</b>	Pyridine-2,6-diyl	H	2	nm*
<b>25f</b>	Pyridine-3,5-diyl	H	2	nm
<b>25g</b>	Pyridine-2,5-diyl	H	2	nm
<b>25h</b>	Pyridine-2,4-diyl	H	2	nm
<b>25i</b>	Benzene-1,4-diyl	H	2	nm
<b>25j</b>	Benzene-1,4-diyl	CONH <sub>2</sub>	2	nm
<b>25k</b>	Benzene-1,3-diyl	H	2	nm
<b>25l</b>	Benzene-1,3,5-triyl	H	3	nm
<b>25m</b>	Furan-2,5-diyl	H	2	nm
<b>25n</b>	Furan-3,4-diyl	H	2	nm

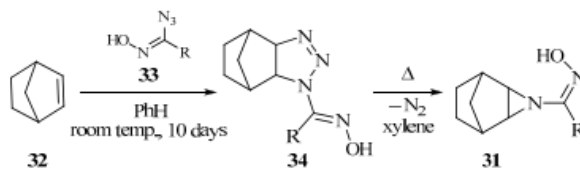
\*nm – The yield was not mentioned in the respective article.

A similar approach involving diazotization of carboxamide oximes **28**, derived from nitriles **29**, was used for the synthesis of aliphatic aziridin-1-yl oximes **30** [11, 12].



Compound	Ar	X	Y	n	Yield, %
30a	Ph	CH <sub>2</sub>	O	4	6
30b	2-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub>	O	3	9
30c	3-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub>	O	4	10
30d	4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub>	O	3	11
30e	Pyridin-2-yl	CH <sub>2</sub>	O	2	15
30f	Pyridin-4-yl	CH <sub>2</sub>	O	3	2
30g	Quinolin-2-yl	CH <sub>2</sub>	O	4	15
30h	Quinolin-4-yl	CH <sub>2</sub>	O	3	13
30i	Pyridin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	2	20
30j	Pyridin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	20
30k	Quinolin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	2
30l	Quinolin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	4	2
30m	Pyrimidin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	2
30n	Pyrimidin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	4	3
30o	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	1	40
30p	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	2	25
30q	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	20

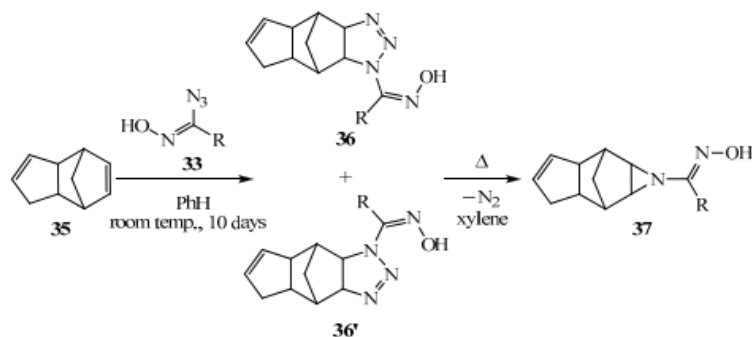
Plenkiewicz developed a completely different synthetic approach towards aziridin-1-yl oximes **31** [15]. Norbornene (**32**) reacted with azidoximes **33**, resulting in triazolines **34** which thermally decomposed to the corresponding aziridin-1-yl oximes **31**. The disadvantage of this method was the long reaction time for the formation of triazolines **34** (10 days); however, it resulted in good to high yields of compounds **34**. The author did not mention the yields of the final reaction step.



R	Yield of compound 34, %	Yield of compound 31, %
Ph	not isolated	57
Ph <sub>2</sub> CH	95	58
<i>p</i> -Tol(Ph)CH	94	nm*
( <i>p</i> -Tol) <sub>2</sub> CH	96	nm

\*nm – The yield was not mentioned in the respective article.

Under the same conditions, reaction of diene **35** with azidoxime **33** gave selectively the addition product **36** [15]. Notably, the use of 2 equiv. of azidoximes **33** did not give the double cycloaddition product.



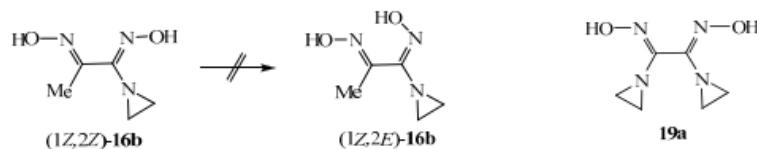
R	Yield of compounds 36/36', %	Yield of compound 37, %
Ph	not isolated	66
Ph <sub>2</sub> CH	82	64
( <i>p</i> -Tol) <sub>2</sub> CH	74	nm*

\*nm – The yield was not mentioned in the respective article.

In the above-mentioned reaction, the formation of two isomeric 1,3-dipolar cycloaddition products **36** and **36'** was proposed. Both isomers gave the same aziridin-1-yl oxime **37** derivatives.

### CONFIGURATIONAL STABILITY OF AZIRIDIN-1-YL OXIMES

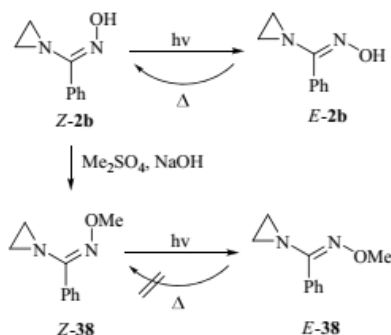
Andrianov and Ereemeev observed exclusive formation of 1-(aziridin-1-yl)propane-1,2-dione dioxime (1*Z*,2*Z*)-**16b** in the reaction of aziridine with chloroxime **17** [16]. In contrast to the analogs – *N,N*-disubstituted amino methylglyoxime derivatives – aziridin-1-yl oxime (1*Z*,2*Z*)-**16b** did not undergo thermal isomerization to oxime (1*Z*,2*E*)-**16b**. In the authors' opinion, the thermodynamic stability of isomer (1*Z*,2*Z*)-**16b** is due to pyramidal configuration of aziridine nitrogen, which shifts methylene groups of aziridine out of the plane of the amidoxime group, thus minimizing their repulsive interaction with OH group.



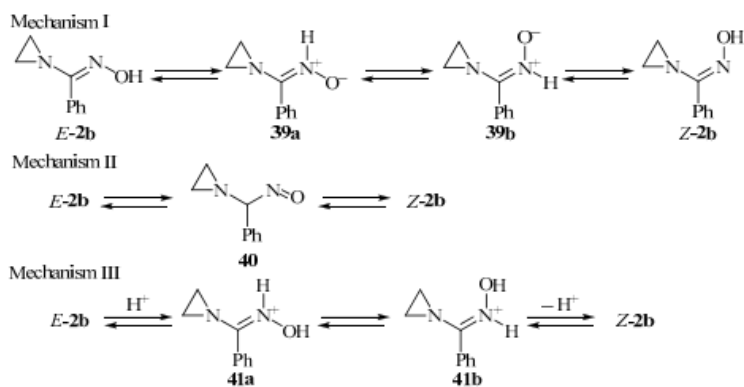
1,2-Di(aziridin-1-yl)ethane-1,2-dione dioxime (**19a**) exists exclusively as the (1*Z*,2*Z*)-isomer (*anti* isomer), which is stable during storage and does not isomerize to the corresponding *amphi* isomers ((1*Z*,2*E*) or (1*E*,2*Z*)) [17].

Johnson et al. investigated the *Z/E* isomerization of aziridin-1-yl oxime **2b** [18]. Pure *Z*-isomer (*Z*-**2b**) was prepared by the reaction of the corresponding chloroxime with aziridine. Ultraviolet irradiation (254 nm) of a benzene solution of compound *Z*-**2b** gave a mixture of both isomers *Z*-**2b** and *E*-**2b**. The configuration of the isomers was assigned by downfield-shifted aziridine methylene group signals in <sup>1</sup>H NMR spectrum of isomer *Z*-**2b** compared to those of isomer *E*-**2b**. To determine the relative stability of isomers *Z*-**2b** and *E*-**2b**, the mixture was heated in CDCl<sub>3</sub> at 100°C. Slow isomerization of *E*-isomer to *Z*-isomer was observed ( $k = 3.5 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ ), indicating that isomer *Z*-**2b** has a thermodynamically more stable structure. It was an interesting

observation that *O*-methyl derivative **Z-38**, prepared from compound **Z-2b**, could be transformed to the mixture of isomers **Z-38** and **E-38** by irradiation; however, thermal isomerization back to isomer **Z-38** was not observed at 100°C for 6 h.



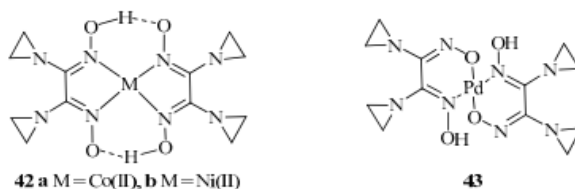
The authors proposed [18] three possible mechanisms for the thermal isomerization of compound **E-2b**. According to mechanism I, the isomerization involves tautomerization to nitron intermediates **39a,b**. Mechanism II involves tautomerization of compound **E-2b** to nitroso intermediate **40**. Mechanism III involves self-protonation of oxime **E-2b** to give cation **41a**, which isomerizes to compound **41b**.



## COMPLEXATION OF AZIRIDIN-1-YL OXIMES WITH METALS

In 2007, Johnson et al. published the results of a study on aziridin-1-yl oxime **2b** complexation with Fe(III) ion [19]. The method of continuous variations (Job's method) was used to determine the stoichiometry of the complex formed by the reaction of compound **2b** with Fe(III). The authors concluded that aziridin-1-yl oxime **2b** could not act as a Fe(III) chelating agent likely because of decreased basicity of the aziridine nitrogen.

Ni(II), Co(II), and Pd(II) complexes were prepared by heating compound **19a** with a metal salt in EtOH. For cations Ni(II) and Co(II), *N,N*-chelated *vic*-dioxime complexes **42a,b** were proposed [9]. However, for the Pd(II), six-membered chelate **43** was suggested, which was formed by coordination of the metal through the N- and O-atoms. This requires the (1*E*,2*Z*)-configuration of 1,2-di(aziridin-1-yl)ethane-1,2-dione dioxime (**19a**). The structure of Ni(II) and Pd(II) complexes was confirmed by <sup>1</sup>H NMR and mass spectroscopy; however, crystallographic X-ray data have not been obtained [9].

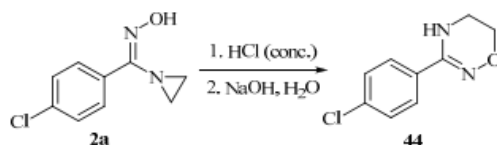


## CHEMICAL PROPERTIES OF AZIRIDIN-1-YL OXIMES

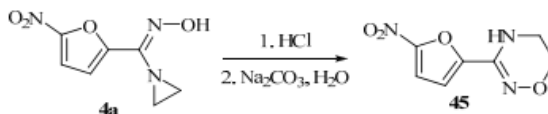
The chemical properties of different types of aziridin-1-yl oximes can be divided into two main groups. The first is modification of the aziridine ring, leading to other heterocyclic systems such as 1,2,4-oxadiazoles, oxazolines, and 1,2,5-oxadiazines. The second group includes either chemical modification of the oxime functionality or cleavage of the aziridine ring, which does not lead to formation of new heterocyclic system.

## SYNTHESIS OF OTHER HETEROCYCLES

In 1966 a new method for the synthesis of 3-(4-chlorophenyl)-5,6-dihydro-4*H*-1,2,4-oxadiazine (**44**) via acid-catalyzed isomerization of (*Z*)-aziridin-1-yl(4-chlorophenyl)methanone oxime **2a** was reported. The reaction proceeded at a short-time heating in concentrated hydrochloric acid followed by treatment with aq. NaOH [1].



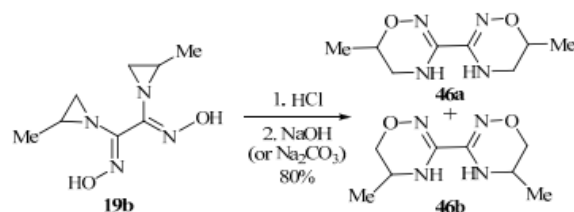
Treatment of compound **4a** with hydrochloric acid in acetone at room temperature for one day resulted in the formation of an oily product, which was subjected to reaction with aqueous sodium carbonate to afford 3-(5-nitrofuran-2-yl)-5,6-dihydro-4*H*-1,2,4-oxadiazine (**45**) in 51% yield [2].



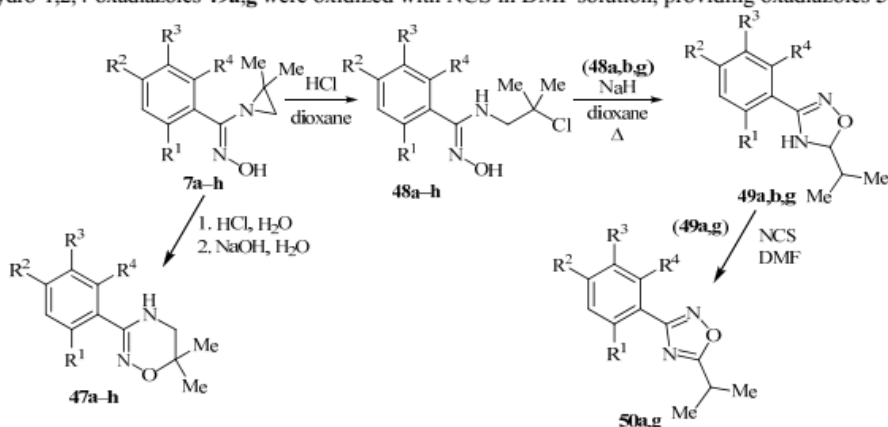
The structure of compound **45** was confirmed only by elemental analysis and infrared spectral data. The authors suggested that the formation of the final product **45** proceeded through two discrete steps: acid cleavage of the aziridine ring and ring closure by the treatment with base.

In 1982, Eremeev et al. achieved formation of bi-1,2,4-oxadiazines from aziridin-1-yl glyoxime **19b** [7]. Two regioisomers **46a,b** having methyl groups in different positions of oxadiazine cycles were formed. The authors concluded that in the reaction of dioxime **19b** with hydrochloric acid, the aziridine ring cleavage occurred nonselectively.





In 1996, Johnson et al. published an investigation on 1,2,4-oxadiazine formation from 2,2-dimethylaziridin-1-yl oximes [3]. Repeating the procedure described by Rajagopalam and Talaty [1], they obtained the desired products **47** in yields less than 1%. They determined that the low yields were due to hydrolysis of compound **47** and/or **48** to benzoic acid during work-up. Slight modification of the work-up improved the yield to 20-73%. A stepwise procedure was also explored. Treatment of aziridin-1-yl oximes **7a-h** with HCl (gas) in dioxane gave products **48a-h**. The structure of compound **48b** was proved by X-ray analysis. Interestingly, treatment of intermediates **48a,b,g** with NaH in dioxane provided 4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles **49a,b,g** and not 5,6-dihydro-4*H*-1,2,4-oxadiazines **47**. The authors provide speculative mechanisms for the formation of products **49**; however, these are questionable, and additional investigations should be done to explain product **49** formation. 4,5-Dihydro-1,2,4-oxadiazoles **49a,g** were oxidized with NCS in DMF solution, providing oxadiazoles **50a,g** [3].

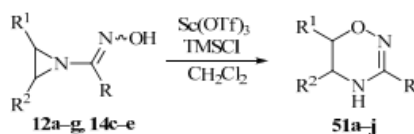


Compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Yield of compound 47, %	Yield of compound 48, %	Yield of compound 49, %	Yield of compound 50, %
<b>7a</b>	H	H	H	H	20	93	79	81
<b>7b</b>	H	Cl	H	H	20	90	66	—
<b>7c</b>	H	NO <sub>2</sub>	H	H	nm*	98	—	—
<b>7d</b>	H	H	NO <sub>2</sub>	H	54	96	—	—
<b>7e</b>	Cl	H	H	H	47	nm	—	—
<b>7f</b>	Cl	H	Cl	H	20	31	—	—
<b>7g</b>	H	H	Me	H	73	91	95	—
<b>7h</b>	Cl	H	H	Cl	45	93	—	85

\*nm – The yield was not mentioned in the respective article.

Aziridin-1-yl oximes can undergo ring expansion in the presence of Lewis acids. Thus, Cho et al., in 2006, reported a convenient and facile one-pot synthesis of 5,6-dihydro-4*H*-1,2,4-oxadiazines **51a-j** from aziridin-1-yl oximes **12a-g**, **14c-e** mediated by scandium(III) triflate in the presence of TMSCl [6].

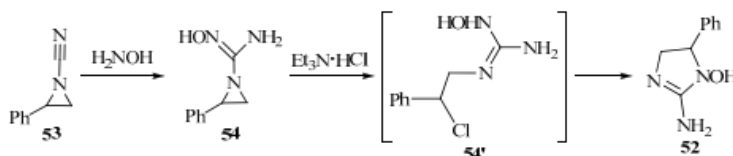
1553



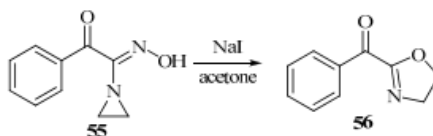
Starting compound	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Product	Yield, %
<b>12a</b>	Ph	Me	H	<b>51a</b>	69
<b>12b</b>	<i>o,p</i> -(Cl) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	Me	H	<b>51b</b>	65
<b>12c</b>	<i>o</i> -(MeO)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	OMe	H	<b>51c</b>	81
<b>12d</b>	<i>o</i> -(MeO)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>		<b>51d</b>	42
<b>12e</b>	<i>o</i> -(MeO)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Me	Ph	<b>51e</b>	56
<b>12f</b>	<i>o</i> -(EtO <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> O)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	Me	<b>51f</b>	77
<b>12g</b>	<i>o</i> -(EtO <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> O)C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub> Me	H	<b>51g</b>	25
<b>14c</b>	EtO <sub>2</sub> C	Me	Ph	<b>51h</b>	56
<b>14d</b>	EtO <sub>2</sub> C	Me	H	<b>51i</b>	61
<b>14e</b>	EtO <sub>2</sub> C	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>		<b>51j</b>	45

The range of Lewis acids, including Yb(OTf)<sub>3</sub>, AgOTf, Cu(OTf)<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, and Sc(OTf)<sub>3</sub>, was screened for their ability to catalyze formation of 1,2,4-oxadiazines **51** using oxime **12f** as a model substrate. In the preliminary experiments, only Yb(OTf)<sub>3</sub> and Sc(OTf)<sub>3</sub> were found to facilitate the cyclization, with unsatisfactory yields, 24% and 45%, respectively. The yield for the Sc(OTf)<sub>3</sub>-catalyzed reaction was improved to 77% by the addition of chlorotrimethylsilane (1.1 equiv.), which presumably temporarily protects the hydroxyl group from the formation of a complex with Lewis acid. The reaction afforded 1,2,4-oxadiazine derivatives **51a-j** in moderate yields [6].

The synthesis of 2-amino-5-phenyl-4,5-dihydro-1*H*-imidazol-1-ol (**52**) was realized by Campbell et al. by chemoselective intermolecular cyclization. 2-Phenylaziridine-1-carbonitrile (**53**) was treated with hydroxylamine, giving oxime **54**. The following ring expansion was effected by triethylamine hydrochloride, presumably *via* intermediate **54'**. The structure of the product **52** was confirmed by the <sup>1</sup>H NMR spectrum [20].



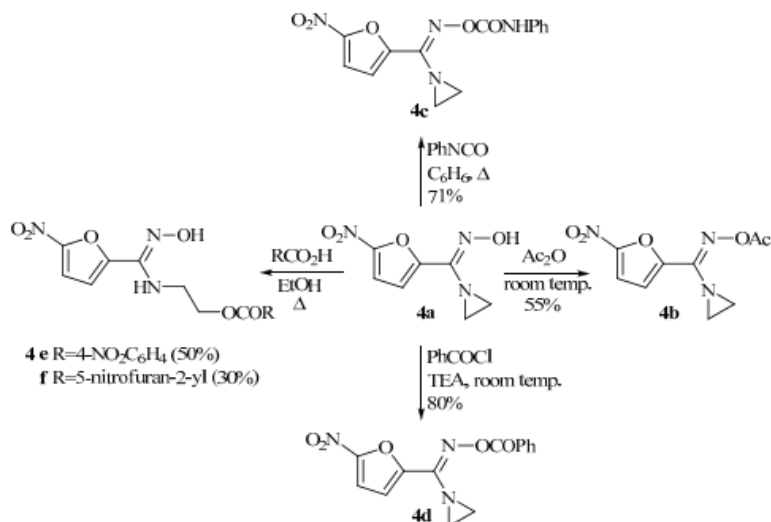
In 1971, Sasaki and Yoshioka reported the ring expansion reaction of (*Z*)-2-(aziridin-1-yl)-2-(hydroxyimino)-1-phenylethanone (**55**) with a catalytic amount of NaI to give benzoyloxazoline **56** in 25% yield [21]. The yield of product **56** was improved up to 60% by treating compound **55** with concentrated HCl in acetone at room temperature.



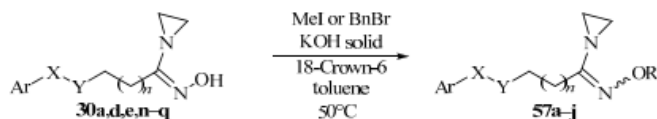
It should be noted that the structure of compound **56** was not proved by NMR spectroscopy. No other examples of such ring expansion have been published so far.

## CHEMICAL MODIFICATION OF THE AZIRIDINE RING AND OXIME FUNCTIONALITY IN AZIRIDIN-1-YL OXIMES

Sasaki and Yoshioka reported a study on the reactivity of (*Z*)-aziridin-1-yl(5-nitrofur-2-yl)methanone oxime (**4a**). They observed that the aziridine ring of this compound is stable in the reaction with aniline or *p*-toluidine, even if the reaction mixture is refluxed in toluene for 8 h [2].



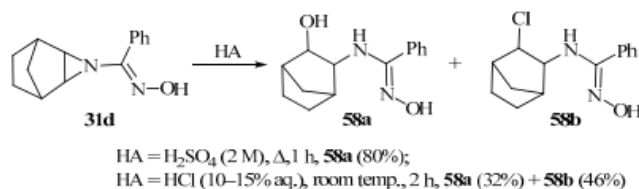
Treatment of compound **4a** with acetic anhydride at room temperature, phenyl isocyanate in refluxing benzene, or with benzoyl chloride in the presence of triethylamine gave the corresponding *O*-acyl derivatives **4b-d**. Treatment of compound **4a** with 4-nitrobenzoic acid or 5-nitrofur-2-carboxylic acid in refluxing ethanol resulted in cleavage of the aziridine ring to form products **4e,f** in satisfactory yields [2].



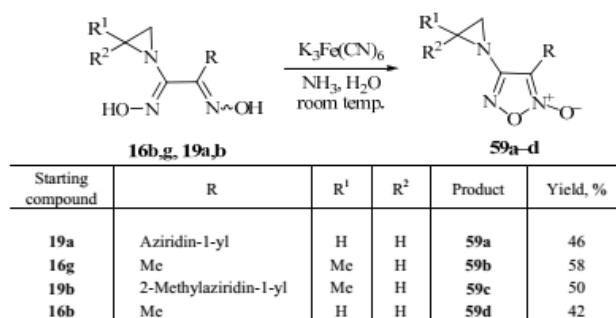
Starting compound	Ar	X	Y	n	R	Product	Yield, %
<b>30a</b>	Ph	CH <sub>2</sub>	O	4	Me	<b>57a</b>	9
<b>30d</b>	4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub>	O	3	PhCH <sub>2</sub>	<b>57b</b>	13
<b>30e</b>	Pyridin-2-yl	CH <sub>2</sub>	O	2	PhCH <sub>2</sub>	<b>57c</b>	72
<b>30n</b>	Pyrimidin-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	4	PhCH <sub>2</sub>	<b>57d</b>	27
<b>30o</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	1	Me	<b>57e</b>	60
<b>30p</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	2	PhCH <sub>2</sub>	<b>57f</b>	42
<b>30q</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	PhCH <sub>2</sub>	<b>57g</b>	50
<b>30o</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	1	Me	<b>57h</b>	13 ( <i>E</i> ), 3 ( <i>Z</i> )
<b>30p</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	2	Me	<b>57i</b>	52 ( <i>E</i> ), 5 ( <i>Z</i> )
<b>30q</b>	Benzothiazol-2-yl	S	CH <sub>2</sub>	3	Me	<b>57j</b>	31 ( <i>E</i> ), 28 ( <i>Z</i> )

*O*-Methylation of aziridin-1-yl oximes with dimethyl sulfate was already shown above for the synthesis of compound **Z-38**. Another example of *O*-alkylation of aziridin-1-yl oximes **30** with methyl iodide or benzyl bromide in the presence of strong solid base and 18-crown-6 was provided by Abele et al. [11, 12]. This gave products of general formula **57** in moderate yields. As indicated by the <sup>1</sup>H NMR spectra, the formation of both isomers *E-57* and *Z-57* was observed upon alkylation of several substrates **57a,b,h-j**. Notably, in the case of compounds **57h-j** the separation of the mixture of *E*- and *Z*-isomers by column chromatography on silica gel was possible.

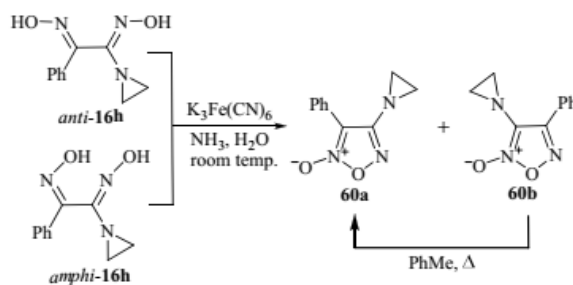
Hydrolytic ring opening reaction was observed in the reaction of compound **31d** with 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to form *N*-hydroxy-*N*-(3-hydroxybicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)benzenecarboximidamide (**58a**) in 80% yield [15]. When the reaction was carried out in diluted hydrochloric acid, a mixture of products **58a,b** was formed.



Eremeev et al. studied the reaction of aziridin-1-yl glyoximes **16b,g** and **19a,b** with potassium ferrocyanide in aqueous ammonia. The formation of corresponding furoxans **59a-d** was observed [7, 16].



The oxidation of (1*Z*,2*E*)-1-(aziridin-1-yl)-2-phenylethane-1,2-dione dioxime (*anti-16h*) resulted in the formation of a mixture of two (aziridin-1-yl)furoxan regioisomers **60a** and **60b** in 3:1 ratio. It was observed that thermodynamically less stable isomer **60b** turned into isomer **60a** in refluxing toluene [7].



To determine the influence of the configuration of starting aziridin-1-yl glyoximes on the ratio of isomeric furoxans, the authors performed the oxidation with (1*Z*,2*Z*)-1-(aziridin-1-yl)-2-phenylethane-1,2-dione dioxime (*amphi*-**16h**). This isomer also gave both furoxan regioisomers **60a,b**, which was in disagreement with results published in 1970 by Gagneux and Meier [22]. The authors concluded that the formation of furoxan isomers did not depend on the configuration of glyoximes **16h**. The formation of furoxans **60a,b** could be explained by the similar oxidation rates of oxime and aziridin-1-yl oxime functionalities, and obviously this difference could not be increased by changing the configuration of oxime.

## BIOLOGICAL ACTIVITY

The use of aziridin-1-yl oxime derivatives for the treatment of tumors or cancerous diseases has recently been investigated [14]. Very high cytotoxic activity was shown in the monolayer cytotoxicity tests on selected cell lines by the derivatives **19a** and **25d,g,i,k,l** (Table 1).

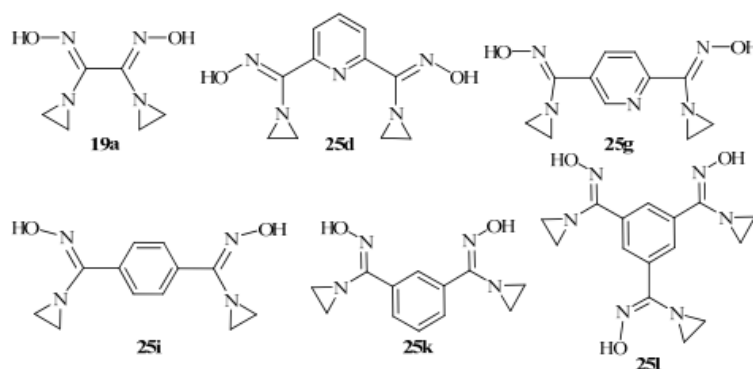


TABLE 1. Cytotoxic Activity of Compounds **19a**, **25d,g,i,k,l**

Cancer cell line	IC <sub>50</sub> µg/ml					
	<b>19a</b>	<b>25d</b>	<b>25g</b>	<b>25i</b>	<b>25k</b>	<b>25l</b>
Colon HT29	0.486	0.117	0.200	0.258	0.329	0.670
Stomach GXF 251L	0.781	0.020	0.717	0.542	1.506	3.964
Lung LXFL 529	0.441	0.027	0.006	0.038	0.063	0.100
Breast 401 NL	0.040	0.207	0.011	0.018	0.060	0.043
Kidney 944 LL	0.923	0.115	0.198	0.348	0.788	0.750
Uterus 1138 L	0.173	0.014	0.034	0.038	0.066	0.111

Several compounds **9-11** and **25a-c** bearing only one aziridin-1-yl functionality were tested for cytotoxic activity on a number of cell lines: human connective tissue fibrosarcoma HT-1080; mouse hepatosarcoma MG-22A; human mammary breast adenocarcinoma, estrogen negative MDA-MB-453S (MDA); mouse sarcoma CCRF S-180 II (CCL-8); human adenocarcinoma, estrogen positive MCF-7; human colon adenocarcinoma Caco-2; rat cardiomyocytes H9C2; human hepatocyte carcinoma HepG2 (Hep); human pancreatic carcinoma MIA-PaCa-2 (MIA); human pancreatic cancer Capan-2; human pancreatic carcinoma PANC-1. The activity of these compounds was compared with the activity of some bis(aziridin-1-yl) oximes. Compounds **11** and **25a** showed slightly weaker, but still comparable, activity with bis(aziridin-1-yl) oximes **25d,i**. Substitution at the aziridine ring considerably decreased the biological activity of compounds **25b,c**. The

LD<sub>50</sub> was determined for compounds (9-11, 25a-c) *in vitro* on mouse embryo fibroblast cell lines 3T3. For the studied compounds, LD<sub>50</sub> varied in the range of 300-600 mg/kg, which corresponds to moderate toxicity [5, 23].

The cytotoxic activity of a limited series of aliphatic analogs of aziridin-1-yl oximes was investigated. Compound **30o** displayed high cytotoxic activity for a number of cell lines. *O*-Methylated oxime derivative **57h** did not lose much of cytotoxic activity compared to oxime **30o**. Small changes in the cytotoxic activity were observed for the separated *E*- and *Z*-isomers of *O*-methyl derivative **57h** (Table 2).

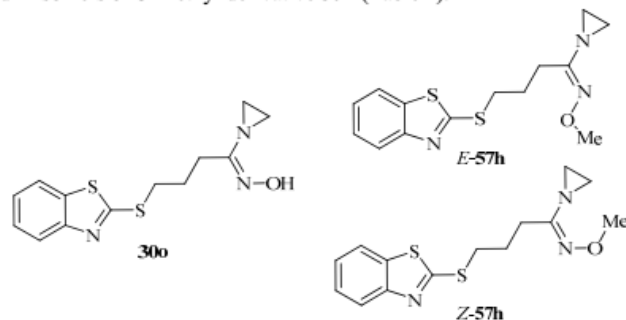


TABLE 2. Cytotoxic activity of compounds **30o**, *E*-**57h**, *Z*-**57h**

Compound	3T3, LD <sub>50</sub> , mg/kg	HT-1080		MG-22A		MDA	
		IC <sub>50</sub> , μg/ml (CV)	IC <sub>50</sub> , μg/ml (MTT)	IC <sub>50</sub> , μg/ml (CV)	IC <sub>50</sub> , μg/ml (MTT)	IC <sub>50</sub> , μg/ml (CV)	IC <sub>50</sub> , μg/ml (MTT)
<b>30o</b>	176	0.2	0.2	0.3	0.3	0.8	0.8
<i>E</i> - <b>57h</b>	184	0.6	0.6	0.5	0.5	—	—
<i>Z</i> - <b>57h</b>	553	3	3	3	3	—	—

The authors have not determined the configuration of the unsubstituted aziridin-1-yl oxime **30o**; therefore, direct comparison of compound **30o** with isomers of compound **57** cannot be done.

This review attempted to combine all available results concerning the synthesis and chemical and biological properties of aziridin-1-yl oximes. However, more efficient methodologies are still required for synthesis of aziridine-1-yl oximes, which will allow one to scale up yields of final products and extend their use in the synthesis of heterocyclic compounds, as well as in medicinal chemistry.

## REFERENCES

1. P. Rajagopalam and C. N. Talaty, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 5048 (1966).
2. T. Sasaki and T. Yoshioka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **42**, 556 (1969).
3. J. E. Johnson, D. Nwoko, M. Hotema, N. Sanchez, R. Alderman, and V. Lynch, *J. Heterocycl. Chem.*, **33**, 1583 (1996).
4. K.-C. Liu, B. R. Shelton, and R. K. Howe, *J. Org. Chem.*, **45**, 3916 (1980).
5. A. Grigorjeva, A. Jirgensons, I. Domracheva, E. Yashchenko, I. Shestakova, V. Andrianov, and I. Kalvinsh, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 203 (2009). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **45**, 161 (2009).]
6. S. Y. Cho, S. K. Kang, J. H. Ahn, J. D. Ha, and J.-W. Choi, *Tetrahedron Lett.*, **47**, 9029 (2006).
7. A. V. Eremeev, I. P. Piskunova, V. G. Andrianov, and E. E. Liepinsh, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 488 (1982). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **18**, 369 (1982).]
8. V. Andrianov and A. Eremeev, *Synth. Commun.*, **22**, 453 (1992).

9. E. Musluoğlu and V. Ahsen, *J. Chem. Res., Synop.*, 142 (1999).
10. T. Pasinszki and N. P. C. Westwood, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8425 (1995).
11. E. Ābele, R. Ābele, V. Bridāne, I. Domračeva, L. Golomba, A. Grigorjeva, E. Jasčenko, A. Jirgensons, I. Kalviņš, and I. Šestakova, LV Pat. Appl. 14080.
12. E. Ābele, R. Ābele, V. Bridāne, I. Domračeva, L. Golomba, A. Grigorjeva, E. Jasčenko, A. Jirgensons, I. Kalviņš, and I. Šestakova, LV Pat. Appl. 14081.
13. K. E. Larsen and K. B. G. Torrsell, *Tetrahedron*, **40**, 2985 (1984).
14. I. Kalvins, V. Andrianov, I. Shestakova, I. Kanepe, and I. Domracheva, US Pat. Appl. 7078418.
15. J. Plenkiewicz, *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. Sci. Chim.*, **XXV**, 19 (1977).
16. V. G. Andrianov and A. V. Eremeev, *Zh. Org. Khim.*, **20**, 150 (1984).
17. V. G. Andrianov and A. V. Eremeev, *Zh. Org. Khim.*, **27**, 112 (1991).
18. J. E. Johnson, J. A. Maia, K. Tan, A. Ghafouripour, P. de Meester, and S. S. C. Chu, *J. Heterocycl. Chem.*, **23**, 1861 (1986).
19. J. E. Johnson, C. Carvallo, D. D. Dolliver, N. Sanchez, V. Garza, D. C. Canseco, G. L. Eggleton, and F. R. Fronczek, *Aust. J. Chem.*, **60**, 685 (2007).
20. M. M. Campbell, A. C. Campbell, A. Peace, J. Pick, and G. F. Woods, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1164 (1985).
21. T. Sasaki, T. Yoshioka, and Y. Suzuki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **44**, 185 (1971).
22. A. R. Gagneux and R. Meier, *Helv. Chim. Acta*, **53**, 1883 (1970).
23. E. Ābele, R. Ābele, V. Bridāne, I. Domračeva, L. Golomba, A. Grigorjeva, E. Jasčenko, A. Jirgensons, I. Kalviņš, and I. Šestakova, LV Pat. Appl. 14082.