



UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU

Wydział Chemii

Zakład Chemii Produktów Naturalnych

Anna Dominika Janas

Synteza i ustalenie korelacji struktura-aktywność biologiczna nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane ramiona sacharydowe.

PROMOTOR

prof. dr hab. Piotr Przybylski

PROMOTOR POMOCNICZY

dr Krystian Pyta

Poznań, 2021

Praca doktorska wykonana w ramach projektu finansowanego przez:



NARODOWE CENTRUM NAUKI

OPUS 10 nr grantu: UMO/2015/19/B/ST5/00231

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi,
Panu prof. dr. hab. Piotrowi Przybylskiemu,
za zaangażowanie i merytoryczną pomoc,
życzliwość oraz umożliwienie
wykonania pracy doktorskiej pod Jego kierunkiem.*

*Dziękuję również za nieoceniony wkład w mój rozwój naukowy
oraz opiekę naukową na wszystkich etapach studiów.*

*Serdecznie dziękuję Promotorowi Pomocniczemu,
Panu Doktorowi Krystianowi Pycie,
za nieocenioną pomoc, poświęcony czas, cenne wskazówki
oraz wiedzę przekazaną podczas wykonywania pracy doktorskiej,
bez których nie udałooby mi się tak sprawnie wykonać mojej pracy.*

*Dziękuję bardzo również Natalii
za wszelką pomoc, wsparcie, motywację
i dobre słowo w ciężkich chwilach.*

*Bardzo dziękuję Rodzicom, Siostrze i Dziadkom
za wiarę we mnie i moje możliwości,
ogromne wsparcie i pomoc w dążeniu do celu.
Dzięki Wam jestem w tym miejscu, w którym chciałam być.*

*Dziękuję bardzo również Mateuszowi
za ogromne wsparcie, motywację
i dobre słowo w chwilach zwątpienia.*

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów i symboli	1
I Cel pracy	3
II Antybiotyki makrolidowe	5
1. Podział makrolidów	6
1.1 Podział według Bryskier'a	6
1.2 Podział według Omury	9
1.3 Podział kliniczny	10
2. Mechanizm działania	13
3. Oporność bakterii na makrolidy	16
III Antybiotyki makrolidowe 14-członowe	17
1. Odkrycie i struktura erytromycyny	17
2. Biosynteza erytromycyny	18
3. Chemiczna stabilność i modyfikacje erytromycyny	24
4. Synteza klarytromycyny	26
5. Struktura erytromycyny, jako przykładowego 14-członowego antybiotyku makrolidowego i jej molekularny mechanizm działania.	28
6. Modyfikacje chemiczne erytromycyny i klarytromycyny wraz z ich aktywnością przeciwbakteryjną	32
6.1 Modyfikacje w obrębie kladynozy	33
6.2 Modyfikacje w pozycji C(3)	35
6.3 Modyfikacje w obrębie dezoaminy	39
6.4 Modyfikacje w pozycji C(6)	41
6.5 Modyfikacje w pozycji C(9)	42
6.6 Modyfikacje w pozycji C(10)	43
6.7 Modyfikacje w pozycji C(11)	44
6.8 Modyfikacje w pozycji C(12)	44
6.9 Modyfikacje w pozycji C(11)-C(12)	45
IV Antybiotyki makrolidowe 15-członowe	49
1. Synteza azytromycyny	49
2. Chemiczna stabilność azytromycyny	50
3. Struktura 15-członowych antybiotyków makrolidowych i ich molekularny mechanizm działania	52
4. SAR dla modyfikacji chemicznych azytromycyny	57
4.1 Modyfikacje w obrębie kladynozy	57
4.2 Modyfikacje w obrębie dezoaminy	60
4.3 Modyfikacje w pozycji C(6)	62

Spis treści

4.4 Modyfikacje w pozycji N(9a)	63
4.7 Modyfikacje w pozycji C(11)	65
4.9 Modyfikacje w pozycji C(11)-C(12)	67
V Dipolarna cykloaddycja Huisgena	68
1. Reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena jako przykład reakcji chemii „click”	68
2. Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena katalizowanej jonami miedzi(I)	69
2.1 Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji zaproponowany przez Sharplessa i współpracowników	69
2.2 Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji zaproponowany przez Maarseveena i współpracowników	71
VI Czwartorzędowe sole amoniowe	72
1. Synteza czwartorzędowych soli amoniowych	72
2. Stabilność i reaktywność czwartorzędowych soli amoniowych	72
2.1 Eliminacja Hofmanna	72
2.2 Degradacja Emde	73
2.3 Przegrupowanie Sommeleta-Hausera	74
2.4 Przegrupowanie Stevensa	74
3. Zastosowanie czwartorzędowych soli amoniowych	75
VII Wyniki i dyskusja	78
1. Pochodne azytromycyny modyfikowane w pozycji C(2') dezozaminy	80
1.1 Synteza 3-OH azytromycyny	82
1.2 Synteza 3-OH azytromycyny z przyłączoną funkcją alkinową	100
1.3 Synteza nowych pochodnych z wykorzystaniem reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena	105
1.4 Specyficzny przykład pochodnych modyfikowanych w pozycji C(2') – związki hybrydowe	113
2. Pochodne azytromycyny modyfikowane w pozycji C(3') dezozaminy	126
2.1 Synteza azytromycyny podstawionej grupą acetylową w pozycji C(2')	127
2.2 Synteza pochodnych N-alkilowanych w części dezozaminy	129
3. Pochodne klarytromycyny modyfikowane w pozycji C-3' dezozaminy	142
3.1 Synteza związków alkilowych	142
4. Pochodne klarytromycyny	151
4.1 Synteza α,β -nienasyconej klarytromycyny	152
4.2 Przygotowanie α,β -nienasyconej klarytromycyny utlenionej w pozycji C(3) z acetylowaną grupą hydroksylową O(2')H, jako platformy do dalszych przekształceń	165
4.3 Synteza związków hybrydowych z udziałem pochodnej klarytromycyny	177
4.4 Synteza nowej platformy gotowej do dalszych modyfikacji	188
5. Tabele przesunięć chemicznych	217

6. Ocena potencjału przeciwbakteryjnego nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych oraz modelowanie ich oddziaływań w tunelu rybosomalnym	282
Cytotoksyczność najbardziej aktywnych soli AZM i CLA wobec zdrowej linii komórkowej	293
VIII Część eksperymentalna	295
1. Stosowane metody badawcze	295
1.1 Analiza elementarna	295
1.2 Rozdział chromatograficzny	295
1.3 Spektroskopia FT-IR	296
1.4 Spektroskopia NMR	296
1.5 Obliczenia teoretyczne i modelowanie w tunelu rybosomalnym	296
1.6 Badania aktywności przeciwbakteryjnej	297
1.7 Badania cytotoksyczności	298
1.8 Wyznaczenie clogP oraz rozpuszczalności	299
1.9 Badanie rentgenowskie kryształu	300
2. Synteza nowych pochodnych azytromycyny	300
Generalna procedura syntezy AZM-2 – AZM-19:	301
Generalna procedura syntezy AZM-21 – AZM-39:	305
Generalna procedura syntezy AZM-40 – AZM-42:	310
Generalna procedura syntezy AZM-43 – AZM-44:	311
3. Synteza nowych pochodnych klarytromycyny	312
Generalna procedura syntezy CLA-1 – CLA-6:	312
4. Synteza nowych hybrydowych pochodnych z udziałem kolchicineiny	316
IX Podsumowanie	319
Streszczenie w języku polskim	321
X Literatura	322
XI Kopie widm ^1H i ^{13}C NMR oraz FT-IR otrzymanych pochodnych	341
Kopie widm ^1H i ^{13}C NMR	341
Kopie widm FT-IR	403

Wykaz stosowanych skrótów i symboli

δ – przesunięcie chemiczne w NMR; drgania zginające w FT-IR

J – stała sprzężenia

ν – drgania rozciągające

Ac – grupa acetylowa

ACN – acetonitryl

ATR – ang. Attenuated Total Reflectance – technika w spektroskopii podczerwieni wykorzystująca zjawisko osłabionego całkowitego odbicia promieniowania podczerwonego

COSY – ang. Correlation Spectroscopy – dwuwymiarowa technika korelacyjna pozwalająca na korelowanie sygnałów pochodzących od jąder tego samego pierwiastka, oddalonych o nie więcej niż trzy wiązania, a ściślej – takich, które są ze sobą sprzężone

CDI – 1,1'-karbodiimidazol

DCM – dichlorometan, chlorek metylenu

DFT – ang. Density Functional Theory – metoda obliczeń oparta na teorii funkcjonałów gęstości

DMF – dimetyloformamid

DMSO – dimetylosulfotlenek

ESI – ang. ElectroSpray Ionization – spektrometria mas z jonizacją polegającą na rozpylaniu cieczy zawierającej badaną substancję, pod ciśnieniem atmosferycznym

FT-IR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

HMBC – ang. Heteronuclear Multiple Bond Coherence - heterojądrowa korelacja ($^1\text{H-X}$) dalekiego zasięgu – dwuwymiarowa technika pozwalająca na korelowanie sygnałów pochodzących od jąder różnych pierwiastków, oddalonych o wiele wiązań

HPLC – ang. High-Performance Liquid Chromatography – wysokosprawna chromatografia cieczowa

HSQC – ang. Heteronuclear Single Quantum Correlation – technika pozwalająca na korelowanie sygnałów protonów z sygnałami jąder innego pierwiastka (heterojądra) na jednym widmie; korelowane jądra odległe są o jedno wiązanie

Me – grupa metylowa

MIC – minimalne stężenie wywołujące inhibicje

NCS – *N*-chlorosukcynoimid, *N*-chloroimid kwasu bursztynowego

NOESY – ang. Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy – homojądrowa technika wielowymiarowa, stosowana głównie pomiędzy protonami, umożliwiająca określenie ich wzajemnego położenia w przestrzeni, wykorzystująca efekt NOE – powodujący zmianę intensywności sygnałów

Ph – grupa fenylowa

PKS – syntaza poliketydowa

PTC – ang. Peptidyl Transferase Center – centrum peptydylotransferazy

SAR – ang. Structure–Activity Relationship – zależność pomiędzy strukturą chemiczną cząsteczki a jej aktywnością biologiczną

TEA - trietyloamina

THF – tetrahydrofuran

TMS – tetrametylosilan

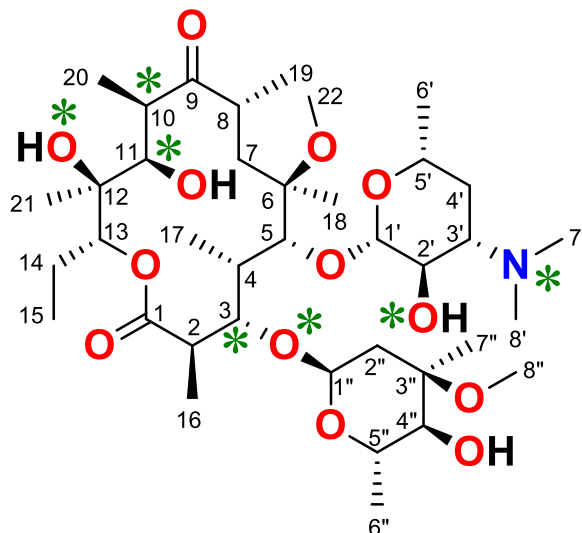
t_R – ang. Retention time – wielkość równa ilości czasu potrzebnego do przejścia przez całą długość fazy rozdzielczej określonego składnika analizowanej mieszaniny

I Cel pracy

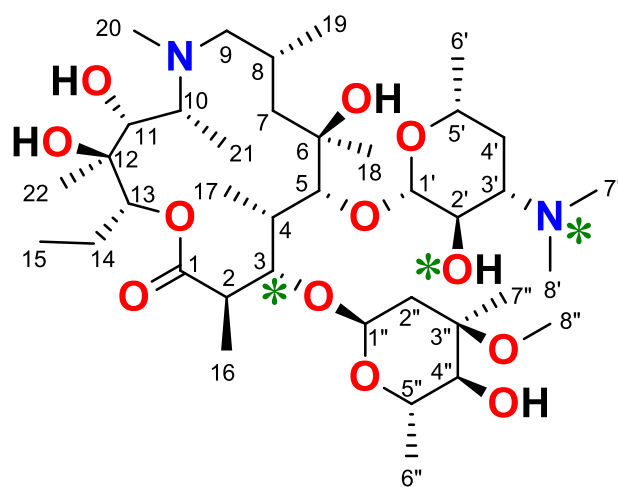
Antybiotyki makrolidowe, tuż obok antybiotyków β -laktamowych, stanowią coraz większą i stale poszerzającą się grupę antybiotyków najczęściej wykorzystywanych w praktyce ambulatoryjnej. Stanowią one grupę leków pierwszego wyboru stosowanych przeciwko wielu chorobom zakaźnym wywoływanym bakteriami Gram-dodatnimi oraz niektórymi Gram-ujemnymi. Używa się ich głównie do zwalczania chorób górnych i dolnych dróg oddechowych. Mechanizm działania antybiotyków makrolidowych opiera się na hamowaniu procesu translacji, czyli biosyntezy białek w tunelu rybosomalnym, w rejonie dużej podjednostki 50S rybosomu. Ze względu na szybko postępującą oporność bakterii na stosowane w medycynie makrolidy, m.in. erytromycynę, klarytromycynę i azytromycynę, niezbędne jest stałe poszukiwanie nowych antybiotyków o ulepszonych właściwościach farmakologicznych, tj. np. o obniżonej toksyczności. Związki te zawierają zarówno podstawniki cukrowe, jak i makrocykliczne pierścienie, które stanowią doskonałą platformę do projektowania alternatywnych antybiotyków, wykazujących poprawione parametry fizykochemiczne oraz korzystny stosunek aktywności przeciwbakteryjnej względem toksyczności.

Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zsyntezowanie nowych pochodnych 14- i 15-członowych laktonowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane, tj. zmodyfikowane ramiona cukrowe. Dodatkowo, jednym z celów była funkcjonalizacja aglikonu klarytromycyny oraz ocena jej przydatności (na podstawie analizy konformacji) dla dalszych zastosowań w poszukiwaniu nowych antybiotyków. Na podstawie analizy spektroskopowej, z wykorzystaniem technik 1D i 2D NMR oraz FT-IR, ważnym było również ustalenie struktur i konformacji nowo otrzymanych produktów. Istotnym elementem pracy było ustalenie korelacji struktura – aktywność biologiczna, tzw. SAR (Structure Activity Relationship), poprzez konfrontacje wyznaczonych parametrów fizykochemicznych otrzymanych pochodnych wraz ze sposobem ich wiązania w tunelu rybosomalnym oraz otrzymanymi danymi odnośnie aktywności przeciwbakteryjnej.

Klarytromycyna



Azytromycyna

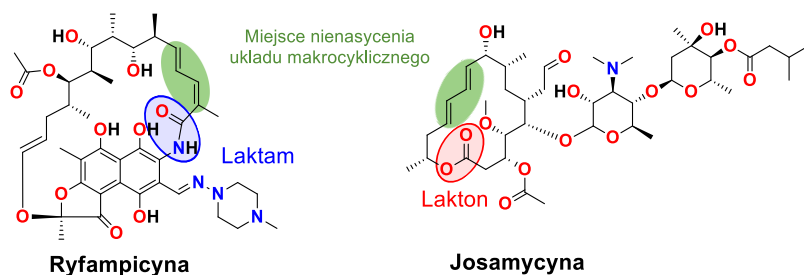


* - miejsce modyfikacji

II Antybiotyki makrolidowe

W 1957 roku amerykański noblista – Robert Woodward – wprowadził termin „makrolidy”, jako skrót od makrolaktonowych antybiotyków glikozydowych, czyli klasy produktów naturalnych złożonych z makrocyklicznych laktonów, do których przyłączony jest co najmniej jeden podstawnik deoksycukrowy.¹ Produkowane są one jako wtórne metabolity, głównie przez bakterie Gram-dodatnie z rzędu *Actinomycetales*. Pierwszy związek należący do grupy makrolidów odkryto w 1950 roku – była to pikromycyna. Następnie odkryto erytromycynę, będącą pierwszym laktonowym antybiotykiem makrolidowym, który znalazł kliniczne zastosowanie we współczesnej medycynie.² Obecnie termin „makrolidy” używany jest w znacznie szerszym znaczeniu i obejmuje on zarówno związki zawierające ugrupowania laktonowe, jak również te, które posiadają grupy laktamowe w swojej strukturze.³ Częstym wspólnym motywem strukturalnym makrolidów laktonowych i laktamowych jest obecność miejsc nienasycenia układu makrocyklicznego (Rysunek 1).

Makrolidy stanowią bardzo dużą grupę związków wśród antybiotyków o działaniu bakteriostatycznym lub bakteriobójczym, stosowanych przeciwko wielu szczepom bakteryjnym Gram-dodatnim oraz Gram-ujemnym, tj. m.in. *Bordetella pertussis* i *Legionella pneumophila*. Dodatkowo wykazują one działanie przeciwzapalne, przeciwmalaryczne, a w niektórych przypadkach również przeciwnowotworowe.^{3–12} Używane są do zwalczania infekcji powodujących stany chorobowe u ludzi i zwierząt od ponad sześćdziesięciu lat. Zainteresowanie naukowców syntezowaniem nowych alternatywnych pochodnych makrolidów laktonowych sięga lat 60-tych XX wieku i jest nieprzerwane do dziś, ze względu na szybko rozwijającą się oporność bakterii na te antybiotyki.^{3,5,11,13}



Rysunek 1. Antybiotyki z grupy makrolidów laktamowych (na przykładzie ryfampicyny) oraz makrolidów laktonowych (na przykładzie josamycyny) wraz z zaznaczonymi miejscami nienasycenia układu makrocyklicznego.

1. Podział makrolidów

Istnieje wiele możliwych kryteriów podziału makrolidów laktonowych. Z chemicznego punktu widzenia wyróżniamy podział ze względu na wielkość makrocyklicznego pierścienia (aglikonu) lub rodzaj podstawnika sacharydowego przyłączonego do aglikonowego pierścienia.³ Z kolei z klinicznego punktu widzenia makrolidy dzielimy na trzy różne grupy: makrolidy pierwszej, drugiej i trzeciej generacji.¹³

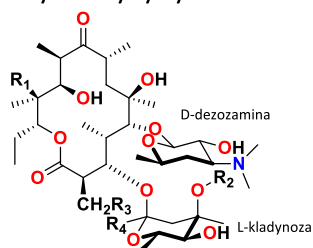
1.1 Podział według Bryskier'a

Jednym z podstawowych podziałów strukturalnych związków należących do grupy makrolidów jest system wprowadzony przez A. Bryskier'a. Klasyfikacja ta opiera się na uporządkowaniu związków według wielkości ich pierścienia i pochodzenia. Bryskier, wraz ze współpracownikami, wyróżnił dwie grupy związków: makrolidy naturalne, a wśród nich związki o 14- i 16-członowych pierścieniach laktonowych (*Rysunek 2*), oraz makrolidy półsyntetyczne, podzielone dalej na związki o 14-, 15- i 16-członowych makrocyklicznych pierścieniach (*Rysunek 3*).¹⁴ Podział ten nie jest ostatecznie rozstrzygający o przynależności związków do danej grupy, uwzględnia jedynie makrocykle o 14- – 16-członowych pierścieniach, zawierających ugrupowanie laktonowe do których przyłączony jest podstawnik sacharydowy. Powyższy sposób pogrupowania tej klasy antybiotyków laktonowych pomija związki posiadające pierścienie aglikonowe mniejsze, na przykład methymycynę¹⁵ bądź większe – amfoterycynę B¹⁶ oraz makrolidy nieposiadające podstawników sacharydowych takie jak oligomycyna A^{17,18} (*Rysunek 4*).

Makrolidy naturalne

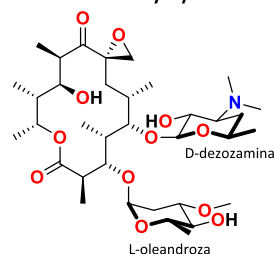
o 14-członowych pierścieniach

erytromycyny

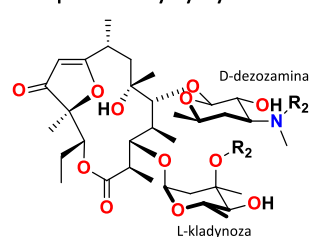


- A $R_1=OH; R_2=CH_3; R_3=H; R_4=H;$
 B $R_1=H; R_2=CH_3; R_3=H; R_4=H;$
 C $R_1=OH; R_2=H; R_3=H; R_4=H;$
 D $R_1=H; R_2=H; R_3=H; R_4=H;$
 E $R_1=OH; R_2=CH_3; R_3-O-R_4;$
 F $R_1=OH; R_2=CH_3; R_3=OH; R_4=H;$

oleandomycyna



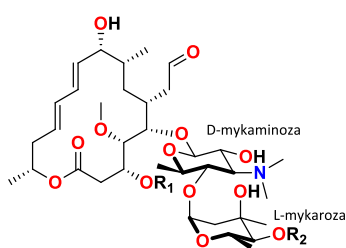
sporeamycyny



- A $R_1=CH_3; R_2=CH_3;$
 B $R_1=H; R_2=CH_3;$
 C $R_1=CH_3; R_2=H;$

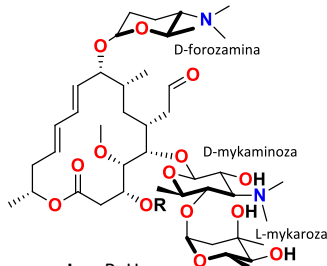
o 16-członowych pierścieniach

leukomycyny



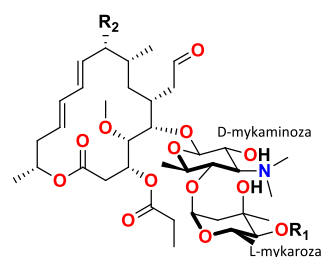
- A₁ $R_1=H; R_2=COCH_2CH(CH_3)_2;$
 A₃ $R_1=COCH_3; R_2=COCH_2CH(CH_3)_2;$
 A₄ $R_1=COCH_3; R_2=COCH_2CH_2CH_3;$
 A₅ $R_1=H; R_2=COCH_2CH_2CH_3;$
 A₆ $R_1=COCH_3; R_2=COCH_2CH_3;$
 A₇ $R_1=H; R_2=COCH_2CH_3;$
 A₈ $R_1=COCH_3; R_2=COCH_3;$
 A₉ $R_1=H; R_2=COCH_3;$
 A₁₀ $R_1=COCH_3; R_2=H;$
 A₁₁ $R_1=H; R_2=H;$
 A₁₂ $R_1=COCH_3; R_2=COCH_2(CH_2)_3CH_3;$
 A₁₃ $R_1=H; R_2=COCH_2(CH_2)_3CH_3;$
 A₁₄ $R_1=COCH_3; R_2=CO(CH_2)_2CH(CH_3)_2;$
 A₁₅ $R_1=H; R_2=CO(CH_2)_2CH(CH_3)_2;$

spiramycyny



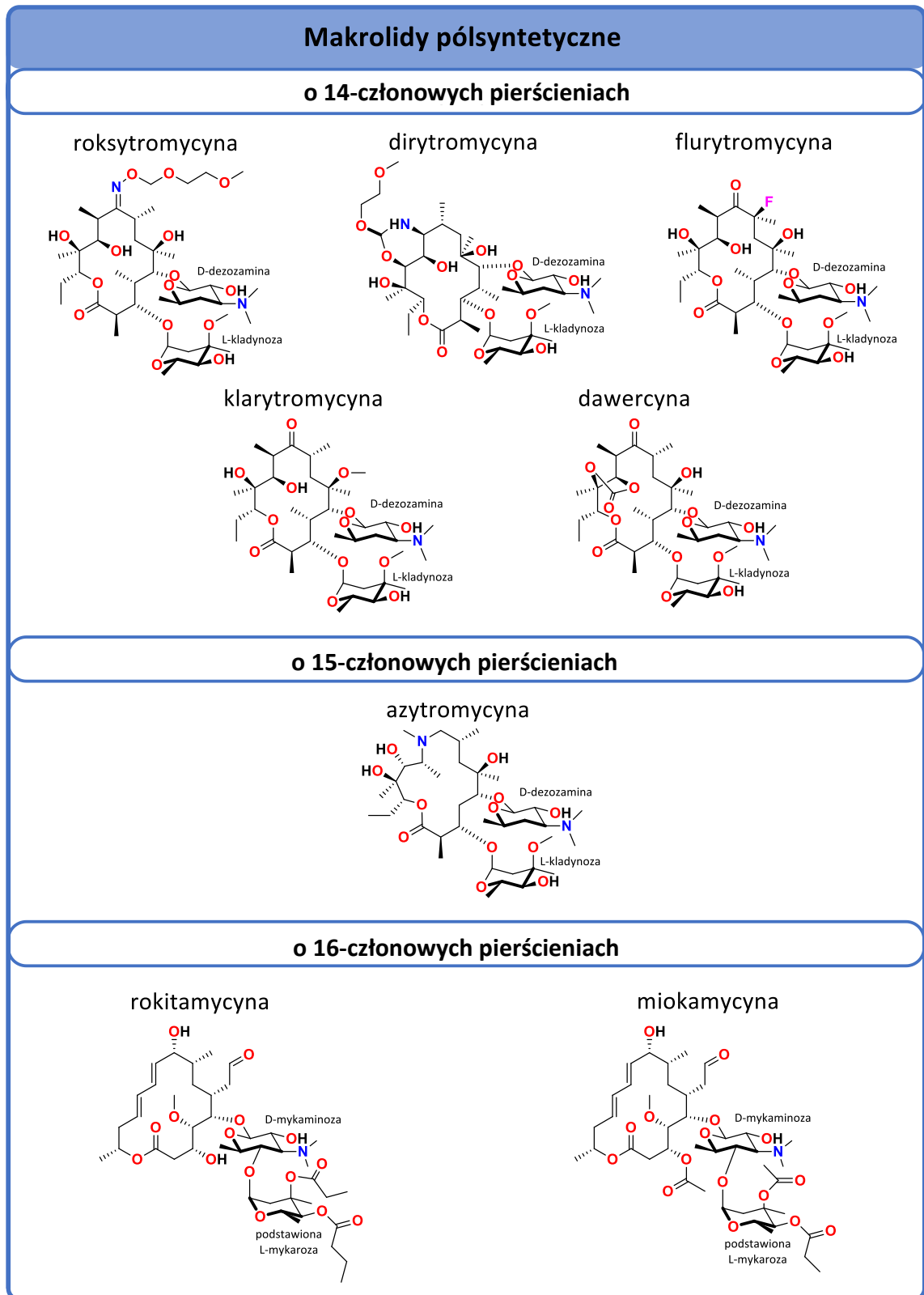
- I $R=H;$
 II $R=COCH_3;$
 III $R=COCH_2CH_3;$

midekamycyny

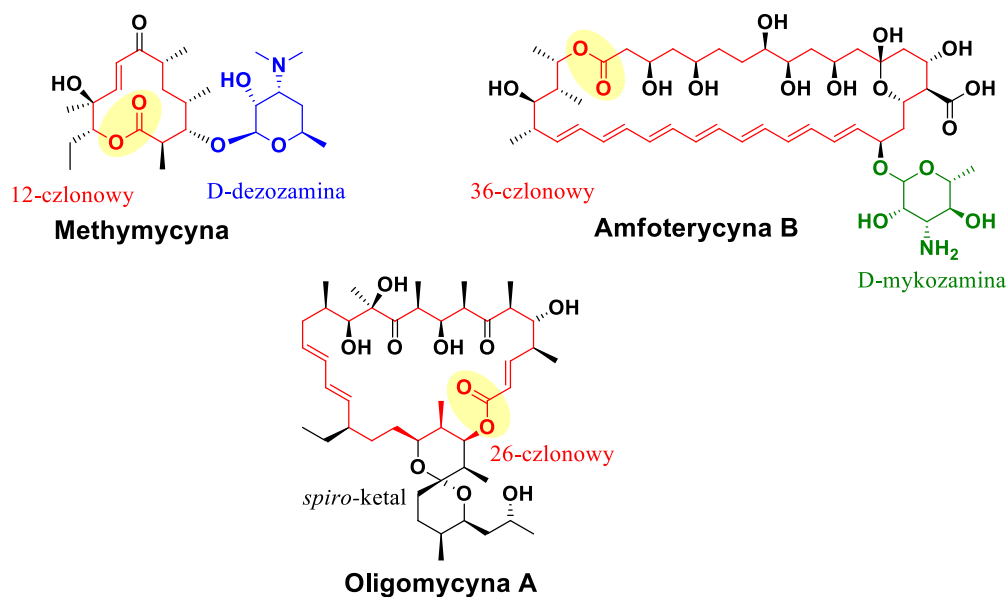


- A₁ $R_1=COCH_2CH_3; R_2=OH;$
 A₂ $R_1=COCH_2CH_2CH_3; R_2=OH;$
 A₃ $R_1=COCH_2CH_3; R_2=O;$
 A₄ $R_1=COCH_2CH_2CH_3; R_2=O;$

Rysunek 2. Podział laktonowych makrolidów naturalnych.



Rysunek 3. Podział laktonowych makrolidów półsyntetycznych.



Rysunek 4. Przykłady laktonowych antybiotyków makrolidowych: posiadających pierścienie makrolidowe o różnej wielkości - methymycyna o 12-członowym aglikonie i amfoterycyna B o 36-członowym aglikonie; zawierających *spiro-ketal* w swojej strukturze – oligomycyna A.

1.2 Podział według Omury

Ze względu na fakt, że dotychczasowy podział pomijał wiele związków należących do grupy makrolidowych antybiotyków laktonowych, K. Shiomi i S. Omura wprowadzili odmienny sposób klasyfikacji makrolidów, oparty na podziale według źródła pochodzenia związków, uwzględniając jednocześnie ich różną budowę.⁵ Podział ten jest uniwersalny i ma zastosowanie dla większości związków naturalnych z grupy makrolidów. Wykorzystanie organizmów produkujących dany makrolid jako kryterium podziału uniemożliwia jednakże przyporządkowanie wielu związków półsyntetycznych i syntetycznych do jakiegokolwiek z grup.

Makrolidy klasyfikowane są na sześć grup związków biosyntezy i izolowanych z:

1. bakterii *Actinomyces*:
 - a) makrolidy o pierścieniach 8-10-, 12-, 14-18-, 20-48-członowych,
 - b) makrolidy polienowe,
 - c) makrodiolidy i makrotetrolidy,
 - d) makrolidy laktamowe;
2. bakterii, wliczając *Myxobacteria*:
 - a) makrolidy o 8-35-członowych pierścieniach,

- b) makrolidy trienowe,
 - e) makrodiolidy i makrotriolidy,
 - c) makrolidy laktamowe i makrolidy zawierające oksazole;
3. grzybów:
- a) makrolidy o 8-16-członowych pierścieniach,
 - b) cytochalazyny,
 - c) makrodiolidy, makrotriolidy i makropentalidy;
4. roślin i porostów:
- a) makrolidy wyizolowane z porostów,
 - b) makrolidy o 8-19-członowych pierścieniach, wyizolowane z roślin,
 - c) makrodiolidy i makrotriolidy wyizolowane z roślin;
5. owadów:
- a) makrolidy o 10-39-członowych pierścieniach,
 - b) azamakrolidy;
6. inne makrolidy:
- a) makrolidy wyizolowane z glonów i bezkręgowców,
 - b) makrolidy wyizolowane z kręgowców.

1.3 Podział kliniczny

Z klinicznego punktu widzenia makrolidy zostały podzielone na trzy grupy: antybiotyki pierwszej, drugiej i trzeciej generacji. Klasyfikacja ta opiera się na różnicowaniu związków według ich pochodzenia. Ten sposób podziału jest najbardziej uniwersalny, gdyż obejmuje zarówno związki pochodzenia naturalnego – takie makrolidy zaliczane są do pierwszej generacji – jak również związki półsyntetyczne, zaliczane do drugiej i trzeciej generacji.¹³

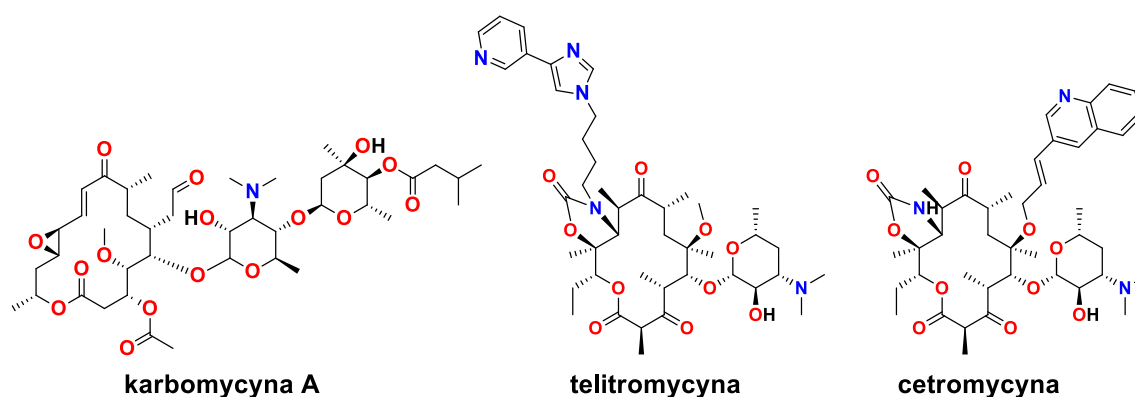
Antybiotykami makrolidowymi pierwszej generacji, dopuszczonymi do użytku klinicznego, były następujące produkty naturalne: erytromycyna A, spiramycyna, midekamycyna A1, leukomycyna A₃ (Rysunek 2) oraz karbomycyna (Rysunek 5). Związki te zostały wyizolowane jako produkty fermentacji. Wykazywały one bardzo wysoką aktywność przeciwbakteryjną przeciwko bakteriom Gram-dodatnim. Stosowane były początkowo w leczeniu chorób skóry wywoływanych przez bakterie *Staphylococcus aureus* oraz *Staphylococcus epidermidis*.¹³ W latach 60-tych XX wieku antybiotyki te wprowadzono do leczenia zakażeń górnych i dolnych dróg oddechowych, powodowanych

głównie przez bakterie *Staphylococcus pneumoniae* i *Staphylococcus pyogenes*. Znalazły one również zastosowanie w leczeniu chorób takich jak: legionelozę, boreliozę, kiłę, błonica, krztusiec oraz choroby wywoływane przez *Mycoplasma pneumoniae*. Niektóre z antybiotyków były również stosowane przeciwko szczepom Gram-ujemnym, tj.: *Haemophilus influenzae* czy *Pasturella multocida*.¹³

Makrolidy pierwszej generacji były skuteczne i dobrze tolerowane przez ludzki organizm. Przykładowo, stosowanie erytromycyny prowadziło jedynie do niewielkich skutków ubocznych, takich jak gorzki smak w ustach czy skurcze żołądka, co było spowodowane przekształcaniem się jej - w kwaśnym środowisku panującym w żołądku – w produkt naśladujący działanie motyliny – hormonu stymulującego skurcze przewodu pokarmowego.¹⁹ Pomimo tego, że stosowanie tych antybiotyków było problematyczne (krótki okres półtrwania i niewielka biodostępność przy stosowaniu doustnym, czego konsekwencją było kilkukrotne podawanie leków dziennie), były one stosowane przez ponad 25 lat. W niektórych krajach Ameryki Łacińskiej, Azji i Afryki są one stosowane do dnia dzisiejszego, ze względu na relatywnie niskie koszty produkcji.¹³

Niestabilność chemiczna antybiotyków, niska biodostępność oraz efekty uboczne ich stosowania, były głównymi przyczynami dla których podjęto poszukiwania nowych związków o ulepszonych właściwościach. Opracowano i wprowadzono do użytku pięć nowych pochodnych erytromycyny: klarytromycynę, dirytromycynę, roksytromycynę, flurytromycynę i azytromycynę (Rysunek 3). Przeprowadzone modyfikacje w pozycji C(6) lub C(9) uniemożliwiały wewnątrzcząsteczkowe hemiketalizacje, co wzmacniało ich odporność na inaktywację w kwaśnym środowisku. Dodatkowo wykazywały one zwiększoną, w stosunku do antybiotyków pierwszej generacji, biodostępność po doustnym podaniu i wydłużony okres półtrwania, dzięki czemu możliwa była redukcja dawek do 1-2 dziennie.²⁰ Antybiotyki drugiej generacji charakteryzowały się zwiększoną lipofilowością, co wpływało z kolei na ich zwiększoną wchłanianiałość do tkanek oraz aktywność biologiczną wobec szczepu *H. influenzae*.²¹ Poszukiwania i syntezy makrolidów drugiej generacji oparte były na potrzebie odkrycia związków charakteryzujących się poszerzonym spektrum działania i zwiększoną aktywnością przeciwbakteryjną. Otrzymane związki wyróżniały się polepszonymi właściwościami farmakokinetycznymi, jednakże nie wykazywały znacząco wyższej aktywności biologicznej.

Makrolidy trzeciej generacji były odpowiedzią naukowców na szybko narastającą oporność bakterii wobec dostępnych antybiotyków pierwszej i drugiej generacji. W 2001 roku przeprowadzono badania które ujawniły, że 23% szczepów *S. pneumoniae* jest opornych na ich działanie.²² Charakterystyczne dla antybiotyków trzeciej generacji było wprowadzenie grupy ketonowej w pozycji C(3), która zastąpiła podstawnik cukrowy. Modyfikacja ta wpłynęła na wzrost stabilności chemicznej w środowisku kwaśnym oraz zwiększenie aktywności biologicznej, szczególnie wobec szczepu bakterii *S. pneumoniae*.³ Wśród najbardziej znanych antybiotyków trzeciej generacji wyróżniamy cetromycynę oraz telitromycynę (Rysunek 5), która była klinicznie wykorzystywanym antybiotykiem przez ostatnich kilkanaście lat. Oba te makrolidy powstały w wyniku chemicznego przekształcenia 14-członowego związku – klarytromycyny.¹³ Wyróżniają się one, w badaniach *in vitro*, wysoką aktywnością przeciwko makrolidopornym szczepom *S. pneumoniae*.^{23,24} W przeciwieństwie do pozostałych antybiotyków makrolidowych, klasyfikowanych głównie jako wykazujące właściwości bakteriostatyczne, ketolidy charakteryzują się działaniem bakteriobójczym wobec szczepom *S. pneumoniae* oraz *H. influenzae*, zależnym od stężenia związku.²⁵ Zarówno telitromycyna, jak i cetromycyna, mimo indywidualnych różnic w parametrach farmakokinetycznych, mają porównywalną skuteczność w badaniach zarówno na zwierzętach, jak i na ludziach. Różnią się one skutecznością w badaniach *in vitro* przeciwko szczepom *S. pyogenes*, wykazującym konstytutywną makrolidową oporność (MLS_B) – telitromycyna wykazuje brak aktywności, w przeciwieństwie do cetromycyny.²⁶



Rysunek 5. Karbomycyna A jako przykład antybiotyku I generacji oraz antybiotyki III generacji – telitromycyna i cetromycyna.

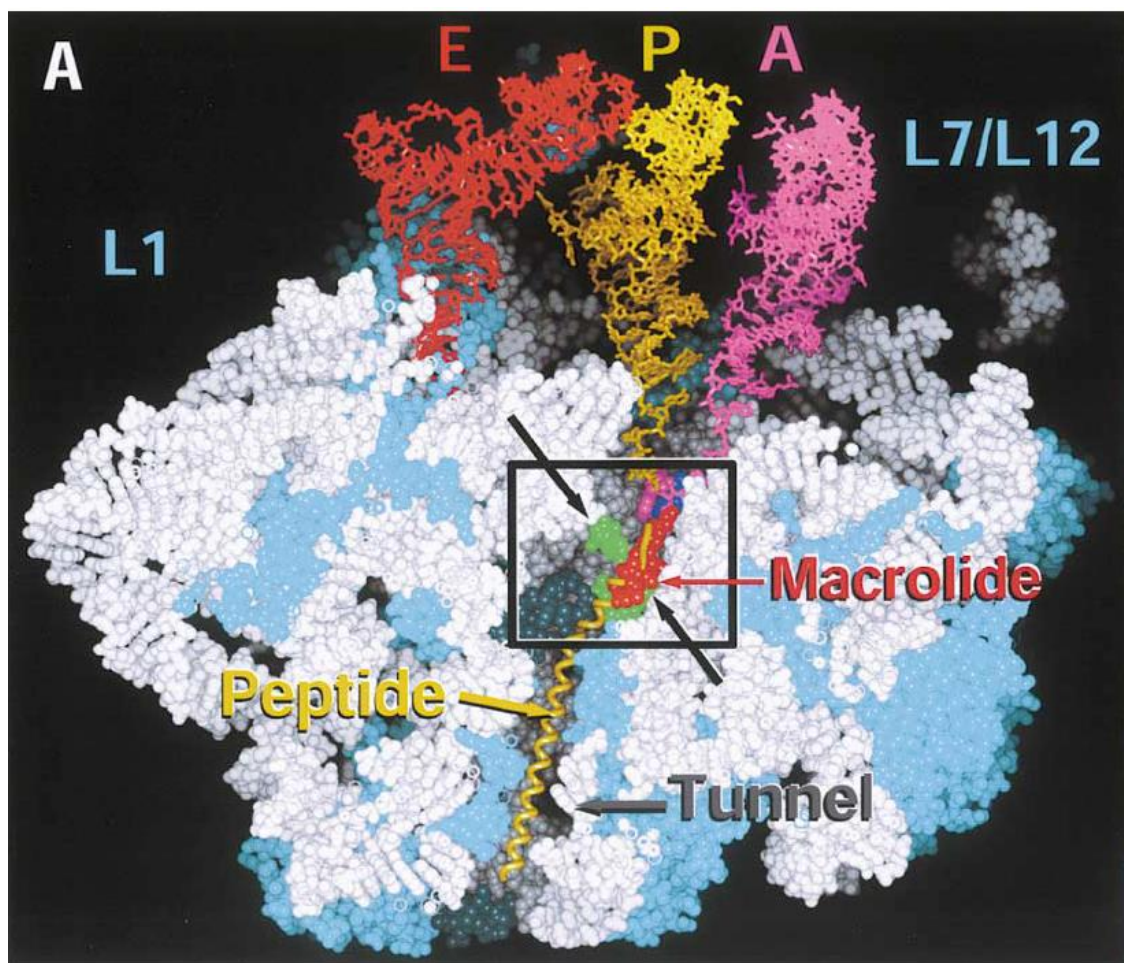
2. Mechanizm działania

Mechanizm działania antybiotyków makrolidowych opiera się na inhibicji syntezy białek bakteryjnych poprzez odwracalne związanie się w tunelu rybosomalnym z dużą podjednostką (50S) rybosomu, co wpływa na zahamowanie translacji białka. Dokładne badania wykazały, że podczas wiązania antybiotyku z dużą podjednostką rybosomu bakteryjnego dochodzi do interakcji ze składnikiem 23S RNA. Na ich podstawie ustalono również, że makrolidy przyłączają się w regionie domeny V rybosomu, w centrum peptydylotransferazy (PTC).¹³ Początkowe badania zakładały, że działanie makrolidu na komórkę bakteryjną powoduje nadmierną akumulację peptydylo-tRNA, czego skutkiem jest przedwczesne usuwanie leku z rybosomu.²⁷ Dokładne ustalenie nukleotydowej sekwencji rybosomalnego RNA i białek, za pomocą metody footprinting, umożliwiło identyfikację miejsc w rybosomie z którymi bezpośrednio oddziałują makrolidy.²⁸ Eksperyment wykazujący bezpośrednie interakcje pomiędzy podjednostką 23S rRNA a antybiotykami makrolidowymi był możliwy wówczas, gdy zabezpieczono nukleotydy w rybosomalnym RNA przed chemicznymi modyfikacjami spowodowanymi wiązaniem dodanych związków do oczyszczonych rybosomów. Tak więc wykazano, że wszystkie makrolidy, ketolidy, linkozamidy oraz streptograminy B zabezpieczają nukleotydy 2058-2062 w V domenie, a tylozyna dodatkowo zabezpiecza nukleotyd A752 w II domenie.²⁹ Nukleotyd A752 zabezpieczany jest również przez cetrymocyne i telitromocyne.³⁰ Eksperyment ten, wraz z dokładnym określeniem miejsc w podjednostce 23S rRNA nadających oporność przeciw enzymatycznym modyfikacjom i mutacjom, umożliwił dokładne określenie miejsca do którego przyłączają się makrolidy w rybosomalnej podjednostce 50S *H. marismortui*.¹³ Powyżej podane nukleotydy charakterystyczne są dla konkretnego szczepu bakteryjnego. Badania wykazały, że sekwencje nukleotydów o innych kodach, występujące w innych szczepach bakterii, posiadają analogicznie właściwości, zatem mechanizm działania jest dla nich taki sam.

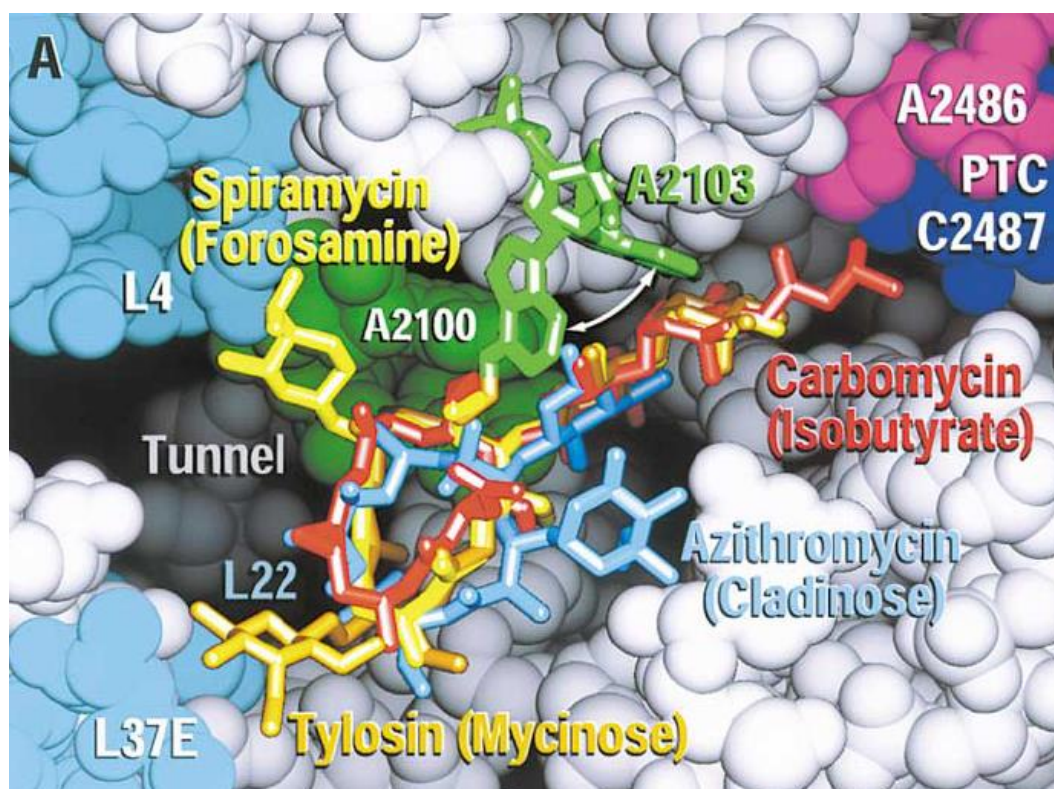
Szczegółowy mechanizm działania antybiotyków makrolidowych został poznany dzięki przeprowadzeniu badań strukturalnych cząsteczki antybiotyku przyłączonej do rybosomu. Badania połączeń rybosom-makrolid, w rozdzielczości $>3\text{\AA}$, wyjaśniły wiele hipotez dotyczących dokładnego sposobu działania antybiotyków. Kilka różnych grup badawczych³¹⁻³⁴ przeprowadziło, metodą rentgenografii strukturalnej, badania budowy

przestrzennej podjednostki 50S, wyizolowanej z *Haloarcula marismortui* i *Deinococcus radiodurans*, w obecności makrolidów, ketolidów i streptogramin.

Hansen wraz ze współpracownikami wyizolowali kryształy karbomycyny A, spiramycyny, tylozyny i azytromycyny związane z dużą podjednostką rybosomu *H. marismortui*, w wyniku wcześniejszego umieszczenia kryształów podjednostki rybosomalnej w roztworze zawierającym te antybiotyki (Rysunek 6).³² Badania strukturalne uwidocznily miejsce wiązania antybiotyków w tunelu rybosomalnym. Wykazano, że laktonowe makrolidy wiążą się w tunelu rybosomalnym, w miejscu znajdującym się pomiędzy pętlą peptydylotransferazy a przewężeniem w tunelu, w okolicach podjednostek białkowych L4 i L22, zamykając jego światło.³² Antybiotyki makrolidowe wprowadzone do tunelu rybosomalnego, w zależności od rodzaju i budowy, wiążą się w różny sposób z odpowiednimi nukleotydami poprzez wiązania wodorowe czy kowalencyjne oraz oddziaływania hydrofobowe.



Rysunek 6. Struktura krystalograficzna przedstawiająca umiejscowienie makrolidu w jednostce rybosomalnej. Tworzący się peptyd oznaczony jest kolorem żółtym, makrolid – czerwonym. Na zielono zaznaczone są natomiast zasady, które wiążą makrolid.³²



Rysunek 7. Miejsce dokowania antybiotyków makrolidowych w tunelu rybosomalnym dużej podjednostki 50S. Czerwonym kolorem zaznaczono karbomycinę A, pomarańczowym – tylozynę, żółtym – spiramycynę, a błękitnym – azytromycynę.³²

Miejsce oddziaływania antybiotyku makrolidowego z rybosomem zbudowane jest głównie przez nukleotydy 23S rRNA (nukleotydy domeny V: 2058 i 2059³⁵ oraz częściowo z domeny II i IV) znajdujące się u ujścia tunelu, oddalonym o 10 – 15 Å od peptydylotransferazy. Związanie makrolidów z podjednostką rybosomalną blokuje elongację łańcucha polipeptydowego, w wyniku jego zetknięcia z antybiotykiem, co może nastąpić na etapie tworzenia 1., 2., 3., itd., wiązania peptydowego.¹³

Badania strukturalne wykazały, że przyłączenie cząsteczki antybiotyku do podjednostki rybosomu jest wystarczające by zablokować proces biosyntezy łańcucha peptydowego (od drugiego do szóstego wiązania peptydowego).¹³ Badania przeprowadzone przez grupę Tensona potwierdziły z kolei wcześniejszą hipotezę, według której makrolidowe antybiotyki nie tylko blokują dalszy wzrost łańcucha polipeptydowego, ale również powodują dysocjację peptydylo-tRNA z rybosomów.³⁶ Oddysocjowane cząsteczki peptydylo-tRNA akumulują się w komórce, co z kolei wpływa na zmniejszenie ilości wolnych tRNA i wywołuje efekt toksyczny.^{37,38}

3. Oporność bakterii na makrolidy

Powszechne stosowanie antybiotyków makrolidowych, pomimo ich dużej skuteczności, stało się kłopotliwe. Obecność antybiotyków i ich metabolitów w środowisku stanowi poważny problem wpływający na ludzkość, gdyż oporność szczepów *S. aureus* na erytromycynę zaobserwowano już w tym samym roku, w którym dopuszczono ją do klinicznego zastosowania.³⁹ Geny odpowiedzialne za oporność wobec makrolidów zostały odnalezione we wszystkich Gram-dodatnich szczepach, na które stosowane były antybiotyki. Badania wykazały, że geny oporności obecne są w bakteriach *Streptomyces*, które produkują te antybiotyki. Główny mechanizm oporności bakterii na makrolidy polega na modyfikacjach, które zakłócają molekularne rozpoznanie pomiędzy cząsteczką antybiotyku a docelowym miejscem działania w rybosomie.^{40–46} Zmiany prowadzące do słabszego wiązania leku w bakteryjnych rybosomach przeprowadzane są poprzez:

- kowalencyjne modyfikacje antybiotyku, między innymi poprzez hydrolizę laktonu bądź podstawników cukrowych, poprzez regioselektywną glikozylację albo poprzez fosforylacje lub acetylacje grup hydroksylowych;
- modyfikacje miejsca aktywnego antybiotyku, poprzez mutacje pojedynczych nukleotydów oraz chemiczną modyfikację zasad azotowych nukleotydów, na przykład takich jak *N*-metylacja zasad występujących w 23S rRNA (geny *erm*) lub mutacje pojedynczych aminokwasów występujących w białkowych podjednostkach L4 i L22;

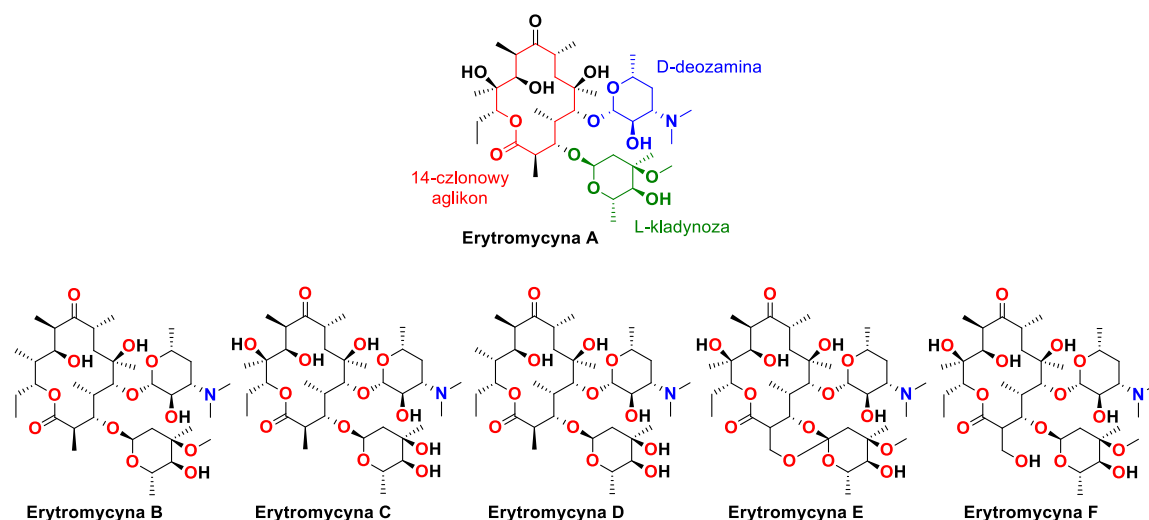
Inne mechanizmy oporności polegają na „wyptywie” makrolidów z komórki bakteryjnej (tzw. *efflux*), poprzez aktywację przez nią genów oporności (geny *mef*), oraz poprzez nadprodukcję miejsca docelowego działania makrolidu, czy wiązania antybiotyku w innych strukturach subkomórkowych.^{47–49} Wiele stosowanych klinicznie antybiotyków, między innymi klindamycyna (półsyntetyczny antybiotyk z grupy linkozamidów, który blokuje miejsce-A i miejsce-P w peptydylotransferazie), streptogramina A i B (naturalne antybiotyki wiążące się do peptydylotransferazy) oraz chloramfenikol (antybiotyk blokujący miejsce-A) współdzielą miejsce działania na rybosomach z makrolidami.^{36,50–53} Wielolekowa oporność, która pojawia się w infekcjach bakteryjnych, stanowi zatem duży problem nie tylko w odniesieniu do makrolidów laktonowych, ale też dla innych leków.

III Antybiotyki makrolidowe 14-członowe

1. Odkrycie i struktura erytromycyny

Erytromycyna (ERY) została wyizolowana po raz pierwszy w 1949 roku, w firmie farmaceutycznej Eli Lilly, w wyniku zakrojonej na szeroką skalę akcji poszukiwania nowych antybiotyków. Pozyskano ją z gleby zebranej przez Abelardo B. Aguilar'a, filipińskiego naukowca. W wyniku badań, przeprowadzanych przez J. M. McGuire, udało się wyizolować z niej erytromycynę, jako produkt fermentacji bakterii *Actinomycetes: Sacharopolyspora erythreus* (obecnie klasyfikowanych jako *Streptomyces erythreus*).^{54,55} Erytromycyna izolowana z bakterii występuje jako kompleks 6 związków: erytromycyny A, B, C, D, E i F, z których erytromycyna A jest głównym składnikiem antybiotyku zwanego Erytromycyną (Rysunek 8).⁵⁶

Erytromycyna zbudowana jest z wielopodstawionego, 14-członowego pierścienia laktonowego (zwanego erytronolidem), do którego przyłączone są dwa podstawniki cukrowe: wiązaniem α -glikozydowym – L-kladynoza w pozycji C(3) oraz wiązaniem β -glikozydowym – D-deozamina w pozycji C(5).⁵⁷ Erytromycyna posiada pięć grup hydroksylowych, wpływających na właściwości hydrofilowe związku. Z kolei obecność podstawnika *N,N*-dimetyloaminowego, przyłączonego do deozaminy, nadaje erytromycynie lekko zasadowe właściwości.⁵⁸ Aglikon erytromycyny posiada 10 centrów stereogenicznych, co czyni ją bardzo dobrym substratem do syntezy nowych związków, gdyż stereochemia w tej cząsteczce istotnie wpływa na przebieg reakcji chemicznych.⁵⁹



Rysunek 8. Ogólny schemat budowy erytromycyny A wraz z innymi erytromycynami składającymi się na kompleks erytromycyn.

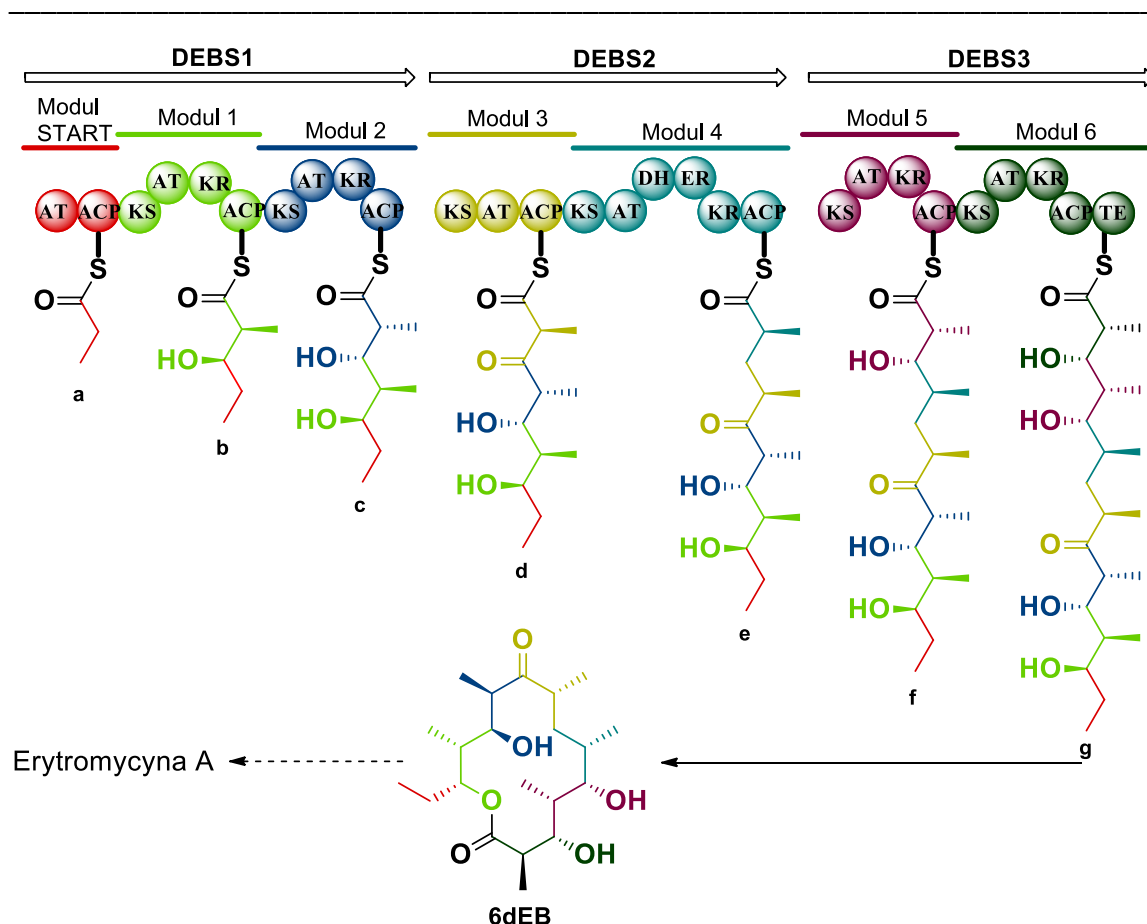
2. Biosynteza erytromycyny

Biosynteza antybiotyków makrolidowych przebiega odmiennymi ścieżkami biochemicznych przekształceń, jednakże niezależnie od związku można wyróżnić te same trzy etapy: synteza pierścienia aglikonowego, synteza podstawników sacharydowych oraz podstawników przyłączonych bezpośrednio do pierścienia. Geny odpowiedzialne za biosyntezę aglikonu, deoksycukrów oraz odpowiednich podstawników skupione są w jednym miejscu. Ustalenie w latach 90. XX wieku dokładnych sekwencji nukleotydowych tych genów umożliwiło zrozumienie procesu biosyntezy makrolidów.¹³

Biosynteza aglikonu przebiega jako proces modułowej biosyntezy poliketydowej (Rysunek 9). Aglikon makrolidu złożony jest z poliketydów, które są łączone przez sukcesywną kondensację dekarboksylacyjną małych tioestrów karboksyacyli, w sposób przypominający biosyntezę kwasów tłuszczowych. Każdy etap syntezy jest zaprogramowany w taki sposób, by ustalić jednostkę acylową, przyłączaną do wydłużającego się łańcucha, oraz zdefiniować stopień redukcji związku β -karbonylowego, otrzymanego w wyniku reakcji kondensacji. Programowanie to jest przeprowadzane przez syntazę poliketydową (PKS), która katalizuje każdy etap łączenia elementów tworzącego się pierścienia aglikonowego. Poszczególne etapy reakcji enzymatycznych przeprowadzane są przez odrębne enzymy z grupy syntazy poliketydowej i polegają one na stopniowym wydłużaniu łańcucha acylowego przyłączonego, poprzez wiązanie tioestrowe, do enzymu.

Makrolidowa syntaza poliketydowa to duży, wielofunkcyjny polipeptyd, posiadający ponad 30 miejsc enzymatycznych. Wszystkie miejsca, które związane są z kondensacją i cyklem redukcji związków β -karbonylowych, występują w ciągłej sekwencji liniowej, określanej modułem. W każdym module znajdują się domeny, czyli obszary enzymatyczne, które również uporządkowane są w sekwencji liniowej, jednakże rozdzielone są one międzydomenowymi odstępami.¹³

Domenę KS stanowi około 550 aminokwasów. Koduje ona syntetazę β -ketoacetylo-ACP – enzym katalizujący kondensacje pomiędzy wzrastającym łańcuchem acylowym (przyłączonym wiązaniem tioestrowym do Cys-173 podstawnika KS), a jednostką rozszerzającą, ściśle związaną z domeną ACP, czyli białkowym nośnikiem grup acylowych, poprzez wiązanie tioestrowe z grupą prostetyczną 4-fosfopantoteinową.⁶⁰



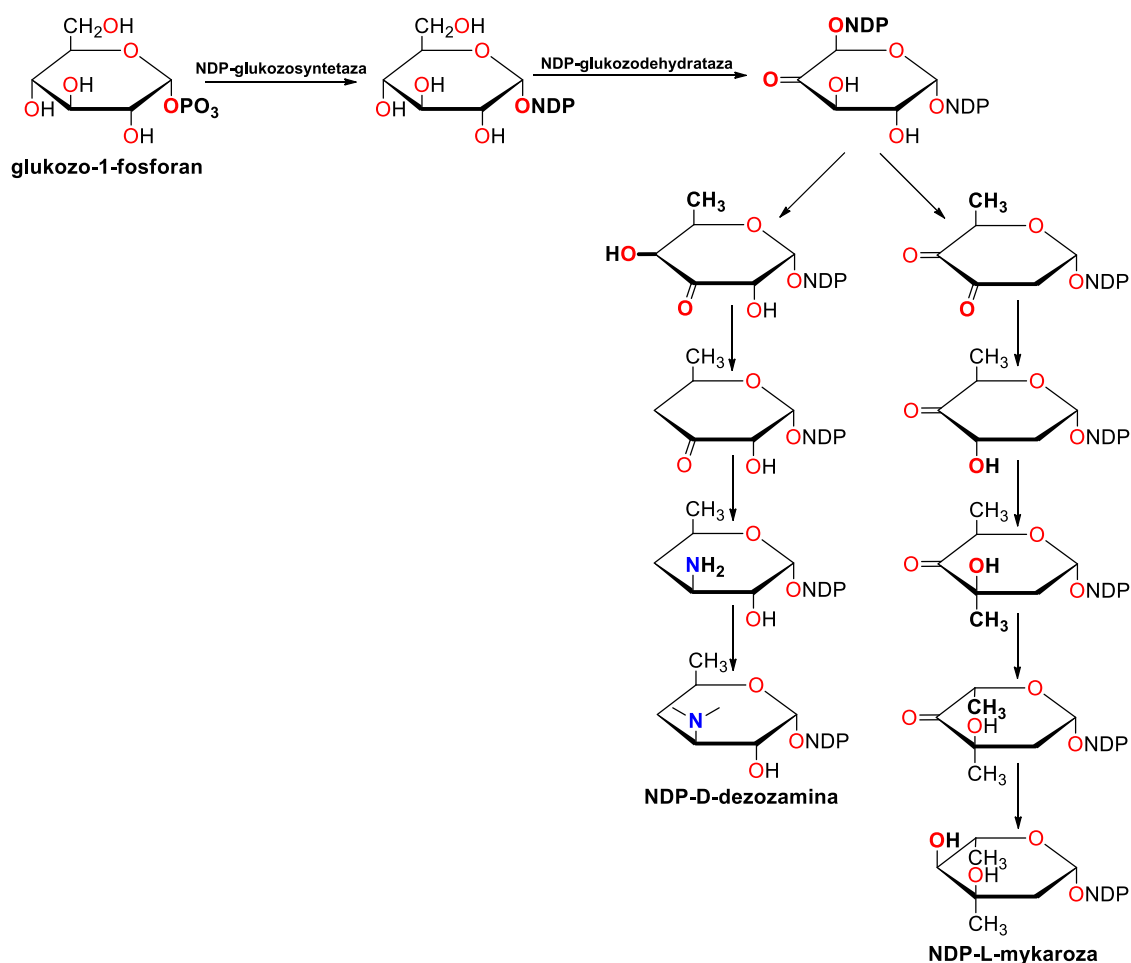
Rysunek 9. Szlak biosyntezy wraz ze sposobem ułożenia domen syntetazy poliketydowej w procesie biosyntezy **6dEB**, prekursora erytromycyny. Użyte skróty: **ACP** – białkowy nośnik grup acylowych; **AT** – acetylotransferaza; **DH** – dehydrataza; **ER** – reduktaza enolowa; **KR** – β -ketoreduktaza; **KS** – syntetaza β -ketoacylo-CoA; **TE** – tioesteraza.¹³

Domena AT zbudowana jest z około 300 aminokwasów. Koduje ona acetylotransferazę – enzym łączący, wiązaniem estrowym, wydłużającą jednostkę acetylo-CoA z resztą Ser w miejscu aktywnym GHSxG i przenosi je do ACP w celu dalszego połączenia z powstającym łańcuchem acylowym.¹³ Wszystkie moduły z których zbudowana jest syntaza poliketydowa zawierają domeny KS, AT oraz ACP. Pozostałe domeny określają zakres w jakim związek β -karbonylowy, produkowany w reakcji kondensacji, zostaje redukowany. Domena KR koduje β -ketoreduktazę. Jeśli jest ona nieobecna bądź uległa mutacji, grupy β -ketonowe nie są przekształcane w dalszych etapach. Jeżeli natomiast jest ona obecna, grupy β -ketonowe są redukowane do grup hydroksylowych, których stereochemia jest ustalona również przez tę domenę.^{61,62} Domena DH koduje dehydratazę, która odpowiedzialna jest za usuwanie grup β -OH oraz protonu z atomu węgla α , pozostawiając α,β -nienasycone wiązanie podwójne. Z kolei domena ER, kodująca

reduktazę enoilową, redukuje podwójne wiązania *trans* do ugrupowania β -metylenowego. Wszystkie moduły makrolidowej syntazy poliketydowej zawierają również domenę TE, która koduje tioesterazę. Znajduje się ona przy C-końcu ostatniego modułu, który powoduje uwolnienie łańcucha poliketydowego z PKS i jego ostateczną cyklizację. Taka tioesteraza nazywana jest TE-I.¹³ Moduły te mogą również zawierać odrębny gen kodujący krótko-łańcuchową tioesterazę TE-II, która odgrywa rolę w biosyntezie makrolidów poprzez usuwanie uszkodzonych związków pośrednich, które zostały wytworzone w wyniku niepoprawnych reakcji dekarboksylacji wzrastającej cząsteczki.^{63,64}

Syntaza poliketydowa erytromycyny, nazywana również syntazą 6-dEB lub w skrócie DEBS, była pierwszą syntazą poliketydową zidentyfikowaną poprzez dokładne zsekwencjonowanie odpowiednich genów.^{65,66} Geny kodujące PKS, odpowiedzialne za tworzenie pierścienia aglikonowego erytromycyny, zostały zgrupowane w sześć modułów ([Rysunek 9](#)). Składa się ona z trzech polipeptydów: DEBS1 – stanowiący moduł startowy oraz moduły 1 i 2, DEBS2 – moduły 3 i 4 oraz DEBS3 – moduły 5 i 6. Proces działania modułowej syntazy poliketydowej erytromycyny polega na otrzymaniu jej prekursora – 6-dEB – poprzez sukcesywną kondensację jednej cząsteczki propionianu i sześciu cząsteczek metylomalonianu, a następnie jego dalszym przekształceniu.¹³ Proces ten rozpoczyna się od przyłączenia cząsteczki propionilo-CoA, przez domenę AT modułu startowego, a następnie przeniesienia jej na sąsiadującą domenę ACP ([a](#), [Rysunek 9](#)). Następnie cząsteczka propionilo-CoA zostaje przeniesiona na domenę KS modułu 1. Wszystkie domeny AT modułów 1-6 przyłączają i transportują enancjomer (2S) metylomalonylo-CoA do odpowiadających domen ACP (po drugiej, piątej i szóstej reakcji kondensacji musi następować proces epimeryzacji grupy α -metylowej, ale mechanizm ten nie jest znany).⁶⁷ Po pierwszej reakcji kondensacji następuje reakcja redukcji grupy β -karbonylowej, katalizowana przez domenę KR pierwszego modułu, prowadząca do otrzymania produktu przejściowego ([b](#), [Rysunek 9](#)). Powstały łańcuch acylowy jest następnie transportowany na domenę KS modułu 2, zachodzi reakcja kondensacji metylomalonylo-CoA na ACP-2, która generuje triketyd, którego grupa β -karbonylowa jest redukowana przez domenę KR-2 ([c](#), [Rysunek 9](#)). Następny etap polega na przeniesieniu powstającego łańcucha acylowego z domeny ACP-2 polipeptydu DEBS1, na domenę KS-3 polipeptydu DEBS2. Odpowiednie rozpoznanie sekwencji znajdujących

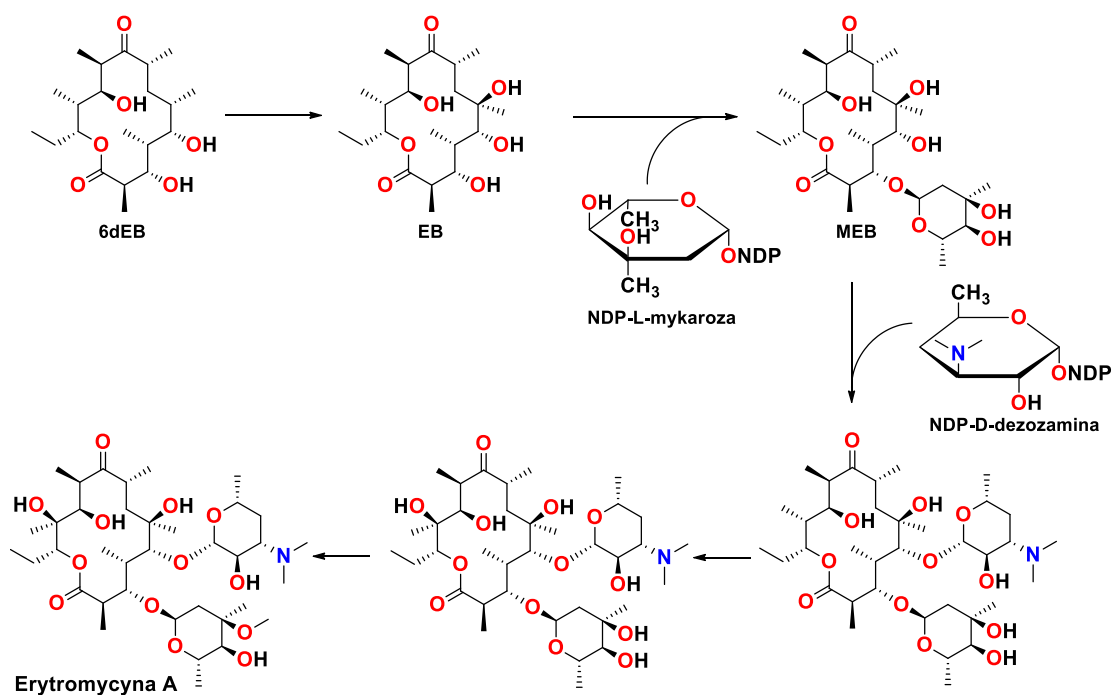
się na początku i końcu podjednostek PKS zapewnia odpowiednie połączenie zapobiegające nieprawidłowemu budowaniu łańcucha.^{68,69} Moduł 3 zawiera sekwencję przypominającą domenę KR, ale z braku miejsca wiązania jest ona niefunkcjonalna. Z tego powodu, β -karbonylowa grupa tworzącego się tetraketydu (**d**, [Rysunek 9](#)) nie jest dalej przekształcana i staje się ona grupą ketonową w pozycji C(9) tworzącego się aglikonu erytromycyny. Po czwartej reakcji kondensacji, domeny KR, DH oraz ER, przetwarzają grupę β -karbonylową w grupę metylenową (**e**, [Rysunek 9](#)) w pozycji C(7) 6-dEB. Po piątej i szóstej kondensacji zachodzi tylko ketoredukcja, w wyniku której powstają grupy hydroksylowe w pozycji C(5) oraz C(3) pierścienia aglikonowego. Następnie po reakcji redukcji grupy β -karbonylowej z heptoketydu, domena TE zwalnia łańcuch (**g**, [Rysunek 9](#)) z PKS i umożliwia nukleofilowy atak grupy hydroksylowej, znajdującej się przy atomie węgla C(13), na karbonylowy atom węgla C(1), powodując powstanie makrolaktonu.¹³



Rysunek 10. Kompleksowa ścieżka biosyntezy deoksycukrów wykorzystywanych w syntezie erytromycyny.¹³

Geny odpowiedzialne za biosyntezę deoksycukrów przyłączonych do makrolidów zostały dokładnie zbadane dla wielu różnych antybiotyków, zarówno o 14- jak i 16-członowych pierścieniach makrolidowych.⁷⁰⁻⁷⁵ Na podstawie tych badań możliwe było stworzenie ścieżki biosyntezy cukrów. Przenośnikiem cząsteczek cukrów podczas syntezy jest cząsteczka NDP – difosforan nukleozydowy. Wszystkie deoksycukry wytwarzane są na drodze przekształceń z 4-keto-6-deoksy-D-glukozy, która jest produktem pośrednim, powstałym z glukozy-1-fosforanu. Przekształcenia tego cukru, powstałe w wyniku działania odpowiednich enzymów, prowadzą do otrzymania mykarozy (a z niej, w wyniku dalszych przekształceń, kladynozy) i dezozaminy, według schematu przedstawionego na [Rysunku 10](#).

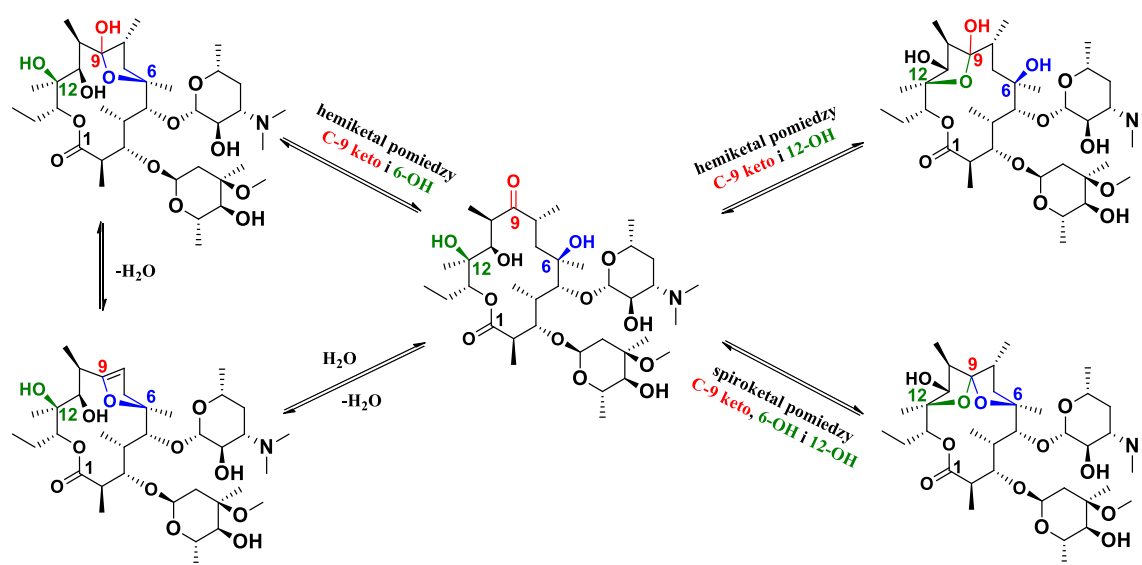
Ostatnim etapem biosyntezy erytromycyny jest modyfikacja post-poliketydowa. Utworzony w wyniku biosyntezy aglikon antybiotyku makrolidowego zostaje odpowiednio przekształcony poprzez reakcje glikozylacji, utleniania, redukcji oraz acylowania. Na tym etapie może też zostać przekształcony podstawnik deoksycukrowy. Poszczególne antybiotyki mają uporządkowaną sekwencję reakcji prowadzącą do utworzenia końcowego związku. Ścieżka reakcyjna prowadząca do otrzymania erytromycyny przedstawiona jest na [Rysunku 11](#). Została ona określona poprzez identyfikację związków produkowanych na różnych etapach tej ścieżki.⁷⁶ W pierwszej kolejności, aglikon jest hydroksylowany w pozycji C(6), a następnie w wyniku reakcji glikozylacji w pozycji C(3) zostaje przyłączona cząsteczka mykarozy, która występuje w postaci anomeru α . Kolejnym etapem jest przyłączenie w pozycji C(5) cząsteczki dezozaminy wiązaniem β -glikozydowym. Następnie, w pozycji C(12), następuje kolejna reakcja hydroksylacji. Ostatnim etapem jest metylacja grupy hydroksylowej cząsteczki mykarozy w pozycji C(3'') oraz przekształcenie jej w kladynozę. Opisane powyżej przekształcenia prowadzą do otrzymania z cząsteczki 6-dEB – cząsteczki erytromycyny A.¹³



Rysunek 11. Modyfikacja post-poliketydowa w biochemicznej ścieżce biosyntezy erytromycyny.¹³

3. Chemiczna stabilność i modyfikacje erytromycyny

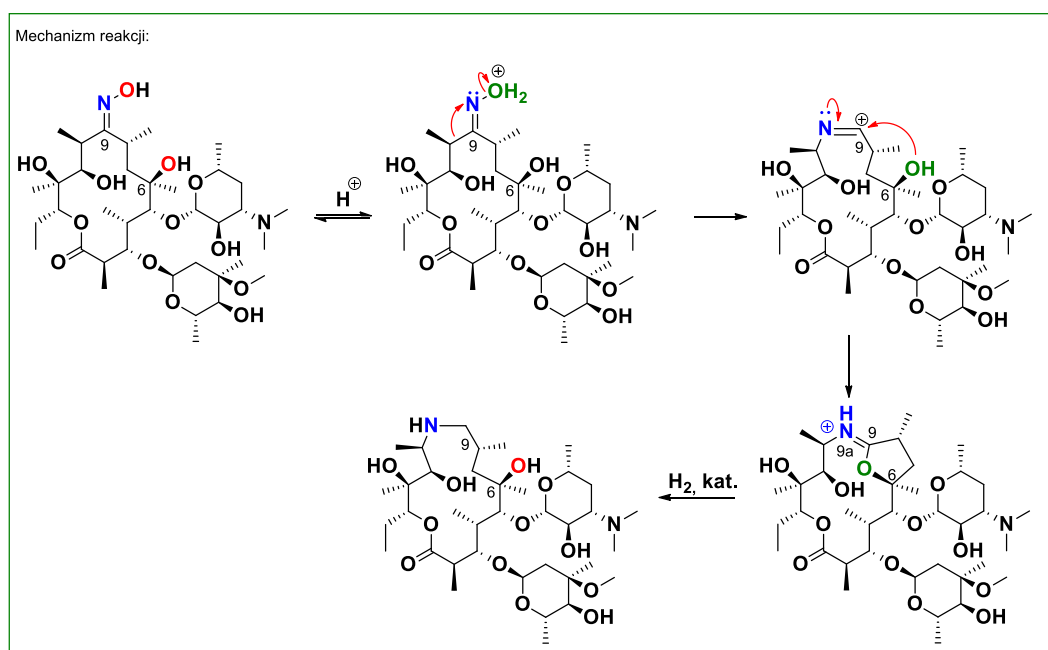
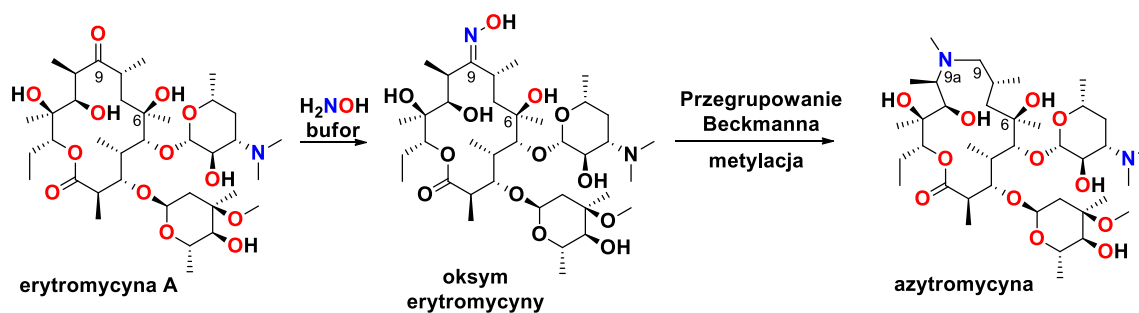
Zakwalifikowanie danego makrolidu z grupy laktonowych jako antybiotyku stosowanego klinicznie, wiąże się z wypełnieniem szeregu różnych kryteriów. Poza bardzo dobrymi właściwościami przeciwbakteryjnymi, tj. szerokim profilem aktywności biologicznej zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych, powinien on wykazywać: zredukowaną – względem wątroby i nerek – toksyczność, niski potencjał wywoływania reakcji alergicznych, zrównoważoną lipofilowość i rozpuszczalność w wodzie, wysoką wydajność wiązania się w tunelu rybosomalnym oraz wysoką stabilność chemiczną.^{50,77–83} To właśnie z powodu stabilności chemicznej stosowanie erytromycyny jest problematyczne. Makrolid ten, w środowisku kwaśnym, ulega równowagowym, wewnątrzcząsteczkowym ketalizacjom (**Rysunek 12**). Reakcje te prowadzą do rozległych zmian konformacyjnych, powodując osłabienie wydajności wiązania makrolid-rybosom. Wynikiem tego jest spadek lub całkowity brak aktywności biologicznej.^{84,85}



Rysunek 12. Wewnątrzcząsteczkowe równowagi erytromycyny zachodzące w kwaśnym środowisku.

W celu zapobiegania przekształceniom erytromycyny w środowisku kwaśnym oraz zwiększenia aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepom Gram-dodatnim, przeprowadzone zostały modyfikacje podstawowego szkieletu erytromycyny. A w aktywnych miejscach, między innymi przy ketonie w pozycji C(9) oraz grupach hydroksylowych przyłączonych do atomów węgla C(6) i C(12). W taki sposób utworzono

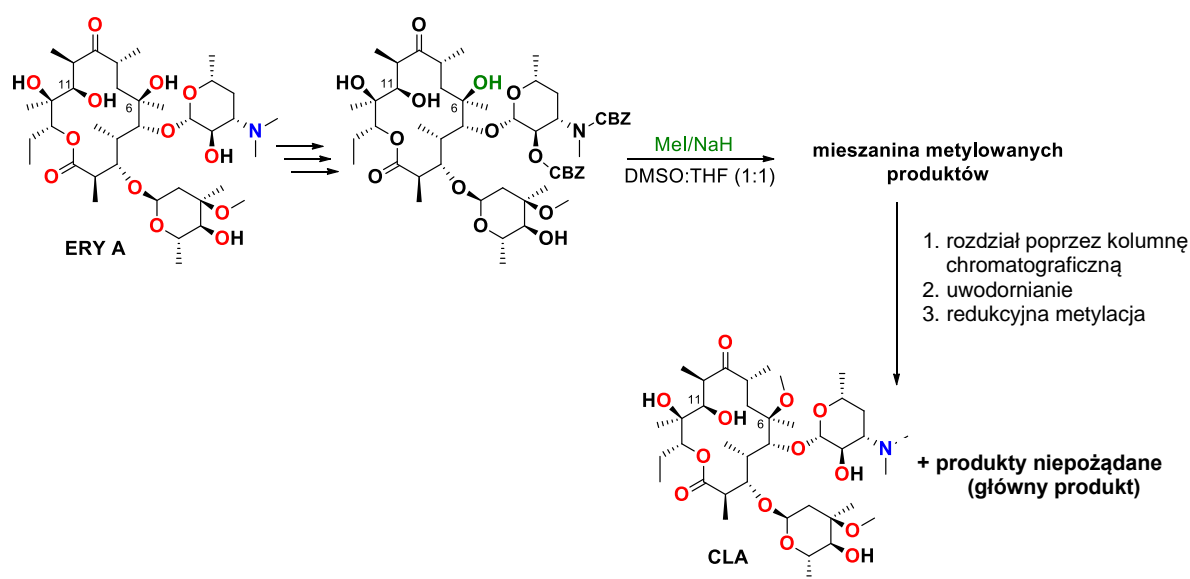
wiele nowych półsyntetycznych antybiotyków makrolidowych, które charakteryzowały się zwiększonym spektrum aktywności przeciwbakteryjnej (również wobec szczepów Gram-ujemnych) oraz były lepiej tolerowane przy podaniu pacjentom.⁸⁵ Przykładowo, wprowadzając grupę metoksylową w pozycji C(6) otrzymano klarytromcyne. Azytromycynę zsyntezowano poprzez ekspansję pierścienia laktonowego w wyniku przeprowadzenia reakcji przegrupowania Beckmanna, a następnie metylacji atomu azotu (Schemat 1). Ketolidy z kolei, takie jak telitromycyna, otrzymano w wyniku reakcji alkilowania i dekladonyzacji, połączonej z utlenieniem grupy hydroksylowej w pozycji C(3) oraz wewnątrzcząsteczkowej reakcji addycji 1,4-Michael'a powstałego karbaminianu do α,β -nienasyconego ketonu w pozycji C(9).^{11,86} Te nowe, półsyntetyczne antybiotyki makrolidowe, w porównaniu do erytromycyny, są relatywnie bardziej stabilne w panującym w żołądku środowisku kwaśnym, oraz mogą być podawane w mniejszych dawkach i przez krótszy czas terapii.⁸⁵



Schemat 1. Schemat przedstawiający syntezę azytromycyny z oksymu erytromycyny poprzez przegrupowanie Beckmanna, wraz z mechanizmem reakcji.

4. Synteza klarytromycyny

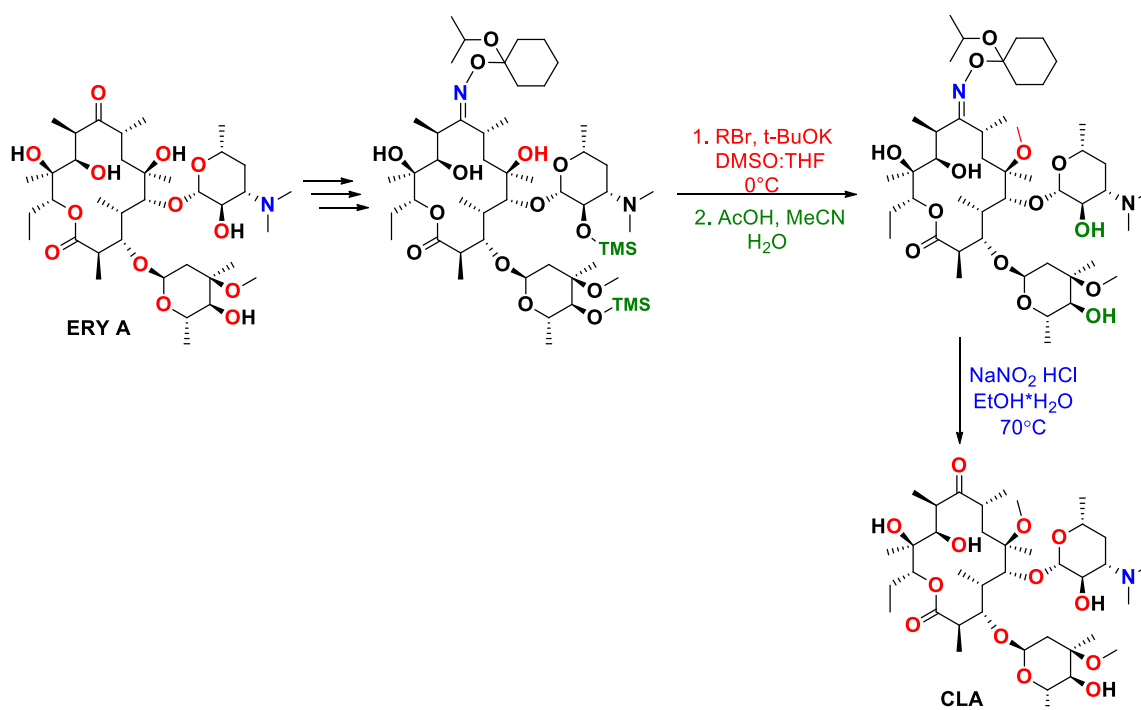
Klarytromycyna (**CLA**), czyli 6-*O*-metyloerytromycyna A, została zsyntezowana w celu uniknięcia problemu ketalizacji w warunkach kwaśnych. Z tego powodu przekształcono grupę hydroksylową, znajdującą się w pozycji C(6), w grupę eterową – eter metylowy. Procedura, z pozoru trywialna, okazała się problematyczna. Antybiotyk ten posiada pięć grup hydroksylowych, zatem selektywne alkiłowanie tylko jednej, konkretnej grupy, bez dokonywania zmian na pozostałych, było wyzwaniem. Pierwszą regioselektywną alkilację przeprowadził Watanabe wraz z grupą naukowców, prowadząc reakcję metylacji wcześniej przygotowanej pochodnej erytromycyny A (**Schemat 2**).⁸⁷ Proces ten obejmował następnie rozdział chromatograficzny pożądanego produktu od mieszaniny produktów metylowanych w różnych pozycjach. Głównym problemem tej procedury była regioselektywność reakcji metylacji, która preferencyjnie zachodziła w pozycji 11-OH, a nie w pożądaney 6-OH.



Schemat 2. Schemat syntezy klarytromycyny.

Po wielu próbach reakcji, w które został włożony znaczny wysiłek, oraz zmianie parametrów takich jak stosowanie różnych grup ochronnych, rozpuszczalników, zasad i związków metylujących, udało się naukowcom opracować wydajną, wysoce selektywną procedurę reakcji metylacji. Ulepszona ścieżka syntetyczna prowadząca do otrzymania klarytromycyny (**Schemat 3**) obejmowała kilka kluczowych etapów.^{88,89} Pierwszym z nich było przekształcenie erytromycyny A w oksym, w pozycji C(9), celem uniknięcia tworzenia wewnętrznych acetałów. Drugim etapem było zabezpieczenie grup hydroksylowych,

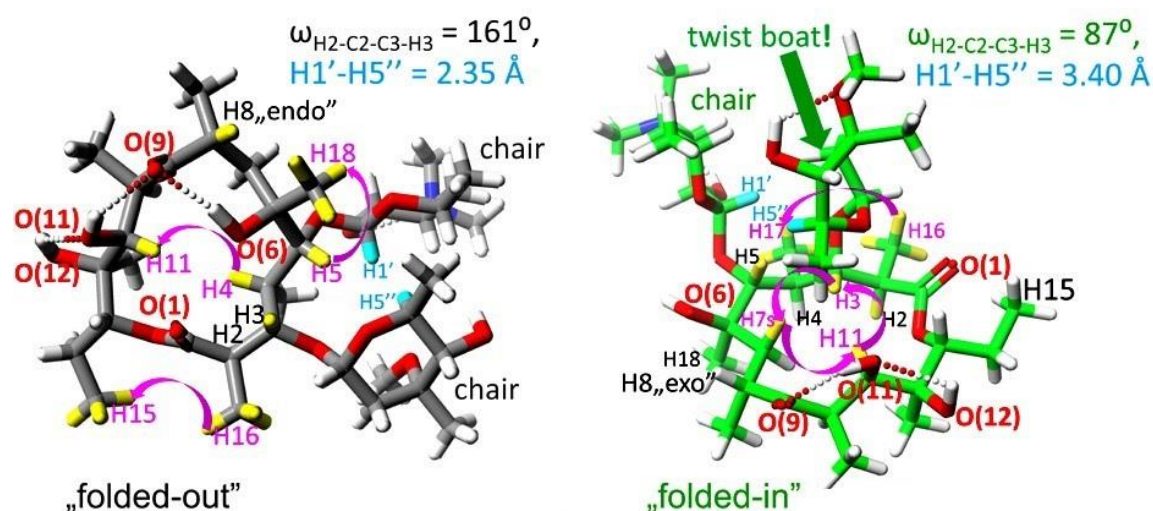
znajdujących się przy atomach węgla C(2') oraz C(4''), poprzez założenie trimetylosililowych grup ochronnych. Następnie przeprowadzono właściwą reakcję alkirowania w pozycji C(6). Kolejnym krokiem było zdjęcie grup ochronnych z pozostałych grup hydroksylowych, co prowadziło do otrzymania 9-oksymu 6-O-metyloerytromycyny A. Kończącym etapem syntezy klarytromycyny było zdjęcie blokady oksymowej, prowadzące do ostatecznego, pożądanego produktu (**CLA**, Schemat 3). Metoda ta jest obecnie powszechnie używana do produkcji leków makrolidowych na dużą skalę przez firmy farmaceutyczne.



Schemat 3. Ścieżka syntetyczna prowadząca do otrzymania klarytromycyny.

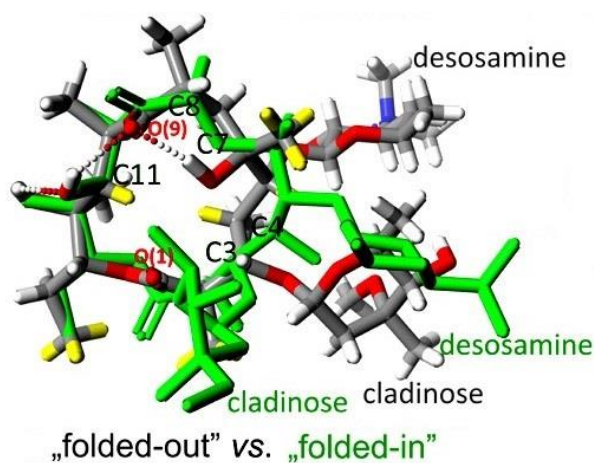
5. Struktura erytromycyny, jako przykładowego 14-członowego antybiotyku makrolidowego i jej molekularny mechanizm działania.

J. R. Everett i J. W. Tyler oraz J. Barber, wraz ze współpracownikami, postulowali, że antybiotyki makrolidowe o 14-członowych pierścieniach występują w dwóch różnych konformacjach, nazywanych z j. angielskiego „folded-in” oraz „folded-out”.^{90–92} Dokładna analiza wyników badań spektroskopii nuklearnego rezonansu jądrowego (NMR) potwierdziła, że zarówno erytromycyna A, jak i klarytromycyna, występują głównie w nisko-energetycznych konformacjach „folded-out” (Rysunek 13), w których proton H(8) nie wykazuje kontaktów, na widmie ^1H - ^1H NOESY, z protonami H(4) oraz H(11), natomiast obecne są silne kontakty pomiędzy protonami H(4)-H(11) (2,7 Å), H(5)-(18) (2,4-3,6 Å) oraz H(15)-H(16) (3,2-4,2 Å).^{92,93} W tej konformacji, kąt dwuścienny $\omega_{\text{H2-C2-C3-H3}}$ wynosi ok. 160° , przy stałej sprzężenia $^3J_{\text{H2-H3}} = 10$ Hz.⁹⁴ Badania Miroshyk’a i jego współpracowników wykazały, że erytromycyna A i klarytromycyna występują głównie w konformacji „folded-out”, ze względu na niższe naprężenie pierścienia aglikonu.⁹⁵ Drugą charakterystyczną dla antybiotyków o 14-członowych pierścieniach makrolidowych jest konformacja „folded-in” (Rysunek 13). Charakterystyczne dla tej konformacji jest występowanie silnych kontaktów pomiędzy protonami H(3), H(8) oraz H(11), które znajdują się wewnątrz pierścienia



Rysunek 13. Struktura makrolidu o 14-członowym pierścieniu (na przykładzie erytromycyny) w dwóch konformacjach: „folded-out” (szara, obliczona) oraz „folded-in” (zielona, na podstawie struktury PDB 1JZY⁹⁷). Różowymi strzałkami oznaczone są kluczowe kontakty ^1H - ^1H występujące w widmie NMR – NOESY i ROESY. Na rysunku przedstawione są kąty dwuścienne (ω) oraz odległość pomiędzy częściami sacharydowymi H1' – H5'' wyznaczona w angstrmach (Å). Struktury antybiotyków zostały obliczone metodą MOG-PM6 i B88 LYP (GGA)-DFT.⁹⁴

aglikonowego oraz znajdują się w odległości 2,2 – 2,4 Å od siebie.^{96,97} Bliskość tych protonów wynika ze zmiany konformacji wewnątrz pierścienia laktonowego, we fragmencie C(2) – C(7). Powyższy układ przestrzenny między protonami jest możliwy przez zmniejszenie kąta dwuściennego $\omega_{\text{H}_2\text{-C}_2\text{-C}_3\text{-H}_3}$ z ok. 160° do ok 90-100°, przy stałej sprzężenia $^3J_{\text{H}_2\text{-H}_3} = 2\text{-}3$ Hz. Takie ułożenie pierścienia powoduje zwiększenie odległości pomiędzy kladynozą a dezozaminą, z H(1')-H(5'') ~ 2,4 Å (przy konformacji „folded-out”) do H(1')-H(5'') ~ 3,5 Å (przy konformacji „folded-in”).⁹⁴ Nasza analiza wykazała, że dla kompleksu erytromycyny A z rybosomem bardziej korzystna jest wysokoenergetyczna konformacja „folded-in” (Rysunek 13)⁹⁴. Konformacja ta cechuje się występowaniem dwóch stref: hydrofilowej i hydrofobowej. Część bardziej hydrofilowa zlokalizowana jest powyżej pierścienia aglikonowego i obejmuje fragment z ketonem w pozycji C(9), laktam przy atomie węgla C(1), grupy hydroksylowe w pozycji C(6), C(11) i C(12) oraz części cukrowe. Część hydrofobowa (pod aglikonem) wyznaczona jest przez podstawniki alkilowe. W takiej strukturze „folded-in” kladynozą, podczas wiązania w tunelu rybosomalnym, przyjmuje nietypową strukturę skręconej łódki. Porównując obie struktury, „folded-in” wraz z „folded-out” (Rysunek 14), można zauważyć, że obie konformacje są stabilizowane przez tworzące się wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe, w których akceptorem jest atom tlenu grupy ketonowej w pozycji C(9).⁹⁴ W odróżnieniu od konformacji „folded-in”, konformacja „folded-out” jest stabilizowana przez dodatkowe wiązanie wodorowe pomiędzy protonem z grupy hydroksylowej znajdującej się przy atomie węgla C(6) a grupą ketonową.⁹⁴

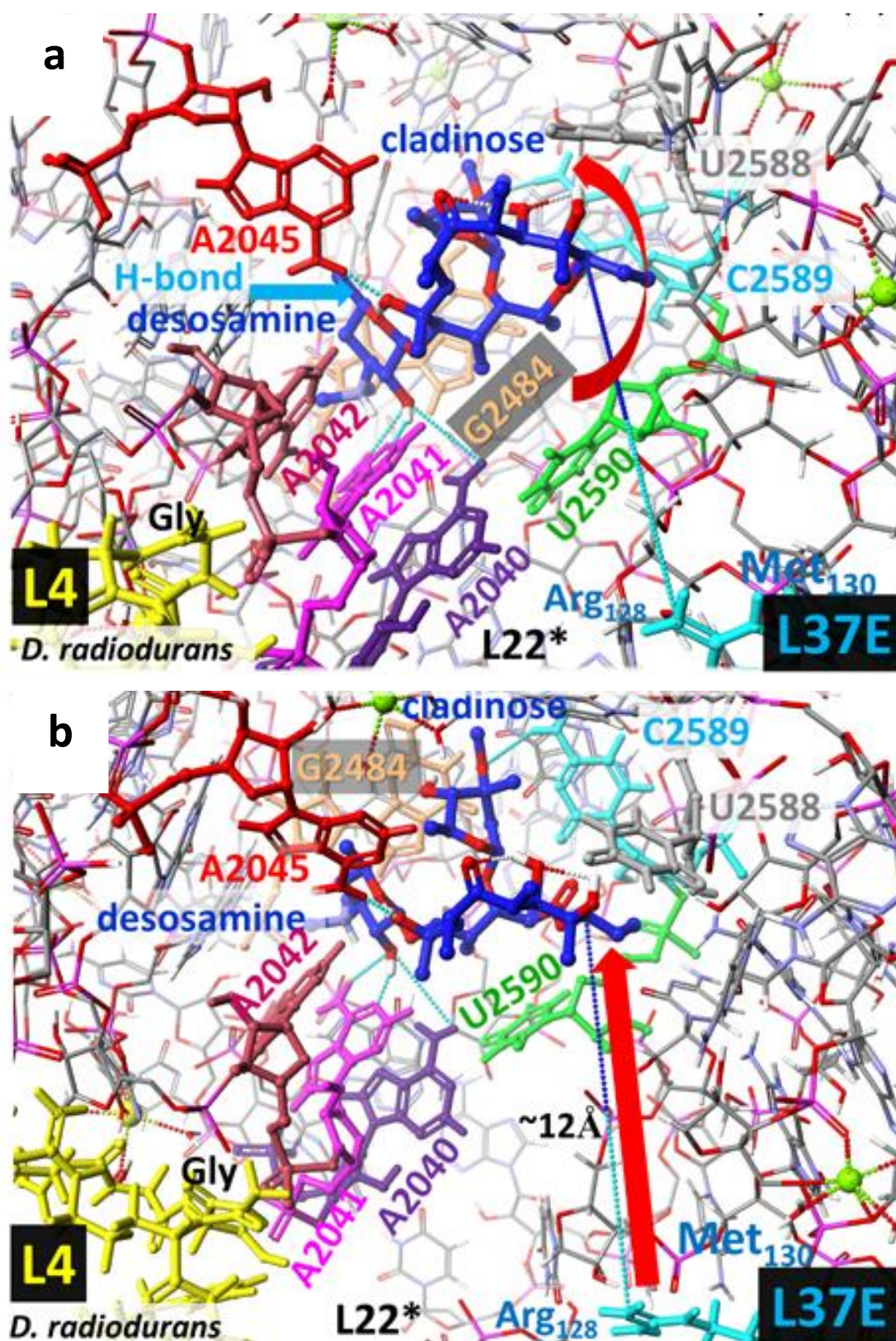


Rysunek 14. Struktura makrolidu o 14-członowym pierścieniu w konformacji „folded-in” (zielona, na podstawie struktury PDB 1JZY⁹⁷) oraz „folded-out” (szara, obliczona) nałożone na siebie. Struktury antybiotyku zostały obliczone metodą MOG-PM6 i B88 LYP (GGA)-DFT oraz przedstawione za pomocą pakietu obliczeniowego Scigress.⁹⁴

Dokładne poznanie dominującej struktury antybiotyku jest niezbędne dla ustalenia jego sposobu działania i zoptymalizowania aktywności biologicznej. Badania fizykochemiczne przeprowadzone na przykładzie klarytromycyny wykazały, że konformacja związku wpływa w znaczący sposób na jego lipofilowość, na to jak przenika przez błony biologiczne oraz na jego zdolność kumulowania się w komórkach.^{98,99}

Jak wspomniano w [Rozdziale II.2](#), antybiotyki makrolidowe o 14- – 16-członowych pierścieniach wiążą się w tunelu rybosomalnym różnych szczepów bakterii, a ich sposób działania opiera się na blokowaniu procesu translacji na różnych etapach. Taki sposób działania jest niezależny od wielkości pierścienia aglikonowego.¹⁰⁰ Antybiotyki makrolidowe mają powinowactwo do tunelu rybosomalnego ze względu na fakt, że ich miejsce wiązania znajduje się w okolicach pętli peptydylotransferazy. Antybiotyki te mogą wiązać się w tunelu rybosomalnym w zróżnicowany sposób, w zależności od różnego ułożenia ich pierścieni względem światła tunelu rybosomalnego i podjednostek białkowych L4, L22 oraz L37E w bakteryjnym rybosomie ([Rysunek 15](#)).⁹⁴ Stałymi punktami orientacyjnymi mogą być podjednostki białkowe użyte w celu określenia dokładnego miejsca wiązania makrolidu.^{51,101–105}

Sposób wiązania się antybiotyków makrolidowych o 14-członowych pierścieniach, takich jak erytromycyna, klarytromycyna czy telitromycyna różni się od tych o 15- czy 16-członowych pierścieniach.⁹⁴ Pierścień aglikonowy antybiotyków 14-członowych jest ułożony prawie prostopadle do osi tunelu rybosomalnego. Konfiguracja ta, zakrywająca światło tunelu, jest stabilizowana przez międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe pomiędzy grupą aminową z adenylanu A2045 z 23S rRNA a grupą hydroksylową O(6)H erytromycyny. Ułożenie cząsteczki antybiotyku w tunelu rybosomalnym *D. radiodurans* jest głównie utrzymane przez interakcje z U2590 i G2484 oraz ze stosem adenylanów stabilizowanych oddziaływaniami elektronowymi typu π - π „stacking”: A2040, A2041 i A2041, z 23S RNA ([Rysunek 15](#)). Kiedy erytromycyna nie zwiąże się kowalencyjnie w tunelu, aglikon zostanie odsunięty od podjednostki L37E i L4, nie tworząc żadnych interakcji z nimi, czego wynikiem jest brak aktywności ([Rysunek 15](#)). Kieszeń, w której wiąże się jeden z deoksycukrów erytromycyny, kladynoza, zbudowany jest z nukleotydów G2484, C2589 oraz U2588, które są w bliskim kontakcie z grupami hydroksylowymi przyłączonymi do aglikonu w pozycji C(11) i C(12).⁹⁴

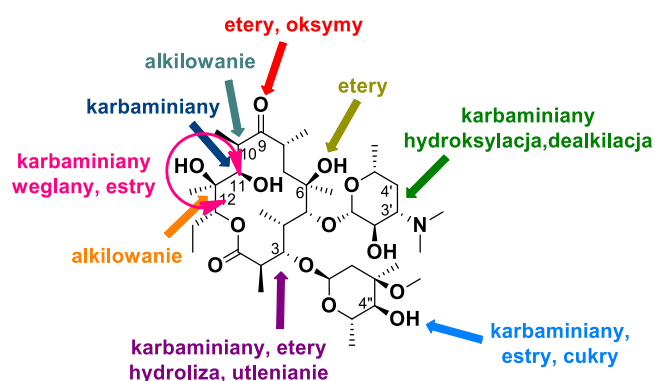


Rysunek 15. Odzworowanie modelu wiązania makrolidu 14-członowego (na przykładzie erytromycyny) w dwóch różnych projekcjach: **a** – wzdłuż tunelu rybosomalnego, równoległe do osi, w kierunku pętli PTC, zasłoniętej przez nukleotyd A2045 (zaznaczony na czerwono); **b** – prostopadłe do osi tunelu, z perspektywy nukleotydów A2045.⁹⁴

6. Modyfikacje chemiczne erytromycyny i klarytromycyny wraz z ich aktywnością przeciwbakteryjną

Od momentu wprowadzenia na rynek farmaceutyczny antybiotyków makrolidowych zaobserwowano lawinowo narastającą oporność bakterii przez niewłaściwe użycie tych farmaceutyków. Kształtowanie się tej oporności stanowiło bodziec, zarówno dla wielu naukowców, jak i firm farmaceutycznych, do syntezy nowych, ulepszonych na drodze modyfikacji chemicznych, antybiotyków makrolidowych. Od ponad 60 lat, naukowcy prześcigają się w tworzeniu nowych antybiotyków, które charakteryzowałyby się jeszcze lepszymi właściwościami antibakteryjnymi, przeciwwgrzybicznymi, a czasem nawet przeciwnowotworowymi, w zestawieniu z ulepszonymi parametrami farmakokinetycznymi. Przez lata powstały w tej dziedzinie tysiące prac opisujące starania naukowców z całego świata, a zainteresowanie badaniami nad antybiotykami makrolidowymi mimo tego wciąż wzrasta. Modyfikacje tych związków zostały przeprowadzone niemalże w każdej pozycji. Obejmowały one zarówno mniejsze modyfikacje, jak również znaczną reorganizację niektórych fragmentów związku. Publikacji naukowych dotyczących syntezy pochodnych antybiotyków makrolidowych jest tak dużo, że nie sposób wszystkich zacytować (Scopus – ponad 4,5 tys. artykułów). Z tego powodu powstało również wiele artykułów przeglądowych podejmujących tematy modyfikacji, sposobu wiązania antybiotyków czy ich aktywności biologicznej.^{3,5,6,10,11,13,94}

Miejsce i rodzaj przeprowadzanych modyfikacji antybiotyków o 14-członowych pierścieniach aglikonowych przedstawione zostały na [Rysunku 16](#). W tym rozdziale zaprezentowałam kluczowe modyfikacje przeprowadzone w ostatnim dziesięcioleciu i zilustrowałam je na wybranych przykładach związków.

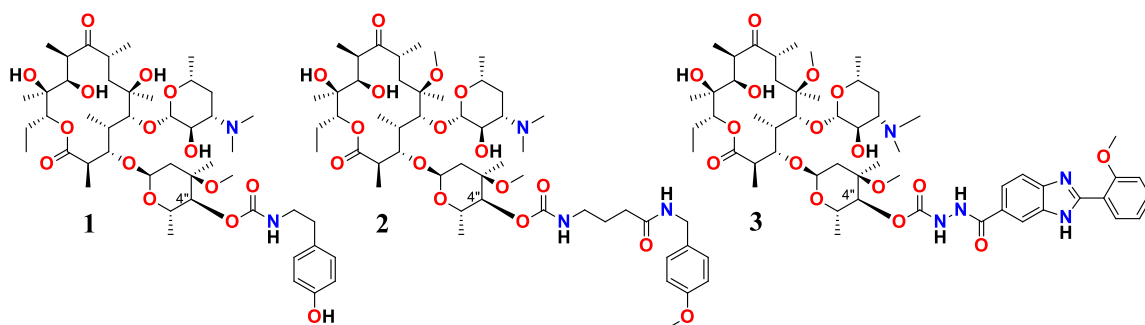


Rysunek 16. Miejsce i rodzaj przeprowadzanych przykładowych modyfikacji antybiotyków o 14-członowych pierścieniach.

6.1 Modyfikacje w obrębie kładynozy

Kładynoza, sacharyd przyłączony do aglikonu przy atomie węgla C(3), posiada w pozycji C(4'') wolną grupę hydroksylową. To właśnie w obrębie tej grupy przeprowadzane były wszystkie modyfikacje dokonywane na tym podstawniku cukrowym. Poprzez tworzone wiązania karbaminianowe, estrowe czy glikozydowe, przyłączane były do struktury makrolidu podstawniki o różnym charakterze – zarówno hydrofobowe, jak i hydrofilowe.

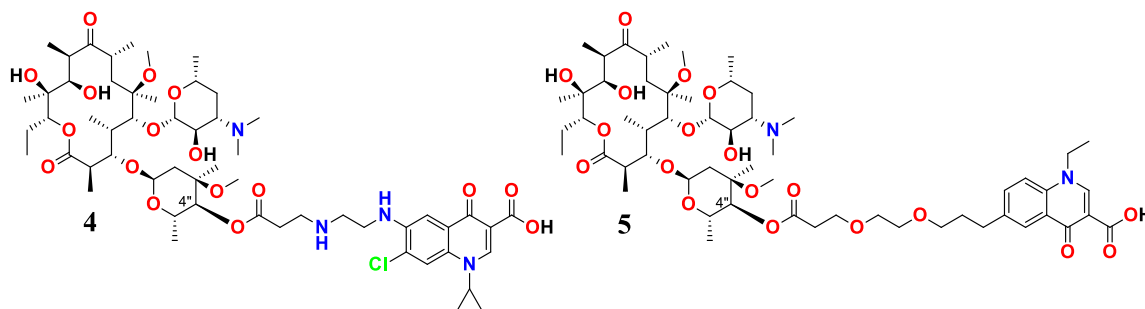
Przyłączenie za pomocą wiązania karbaminianowego podstawnika aromatycznego, takiego jak ugrupowanie benzytowe czy fenetylowe, w pozycji C(4'') ulepszyło właściwości lipofilowe antybiotyku utrzymując wartości aktywności przeciwbakteryjnej na porównywalnym poziomie do aktywności erytromycyny i azytromycyny (**1**, Rysunek 17).¹⁰⁶ Z kolei wprowadzenie w tej samej pozycji, również za pomocą wiązania karbaminianowego, podstawników aromatycznych poprzez długie łańcuch alkilowy zakończony grupą amidową, skutkowało wzrostem aktywności biologicznej względem standardowych antybiotyków (**2**, Rysunek 17).¹⁰⁷ Specyficznym przykładem modyfikacji było wprowadzenie, za pomocą bis-hydrazydowych łączników, podstawionych benzimidazolowych pierścieni (**3**, Rysunek 17).^{108,109} Modyfikacje te spowodowały czterokrotny wzrost aktywności wobec szczepu *S. pneumoniae* A22072 względem klasycznych antybiotyków makrolidowych.



Rysunek 17. 4''-O-karbamoilowe pochodne 14-członowych antybiotyków makrolidowych.

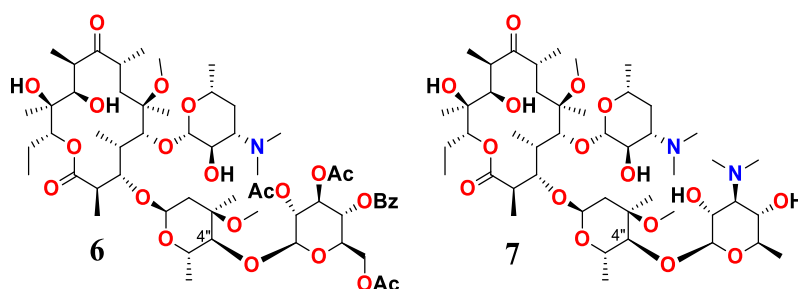
W pozycji C(4''), za pomocą wiązania estrowego, wprowadzono zmodyfikowane podstawniki chinolonowe, będące zakończeniem długich diaminoalkilowych (**4**, Rysunek 18)¹¹⁰ lub oksalkilowych (**5**, Rysunek 18)^{111,112} łańcuchów, których długość wpływała istotnie na właściwości biologiczne. Wy tłumaczeniem takiej obserwacji było to, że wraz ze wzrostem długości podstawnika alkilowego wzrastała lipofilowość i, w konsekwencji,

aktywność przeciwbakteryjna. Badania wykazały, że ugrupowanie chiolonowe pozytywnie wpływa na akumulację związków w bakteryjnych rybosomach, choć model wiązania nie jest do tej pory całkowicie wyjaśniony.¹¹³



Rysunek 18. Przykłady estrowych pochodnych klarytromycyny z wprowadzonymi podstawnikami chinolonowymi.

Modyfikacje przeprowadzone na kladynozie w pozycji C(4'') obejmowały również wydłużenie podstawnika cukrowego poprzez przyłączenie, za pomocą wiązania glikozydowego, kolejnej grupy sacharydowej. Wprowadzenie dodatkowej grupy cukrowej, w której wszystkie grupy hydroksylowe zostały zablokowane (**6**, Rysunek 19), skutkowało wyraźnie znaczącym spadkiem aktywności biologicznej względem podstawowych antybiotyków.^{114,115} Ten fakt można wytłumaczyć słabszym wiązaniem się tych makrolidów w tunelu rybosomalnym, biorąc pod uwagę dominujący model wiązania dla makrolidów zawierających kladynozę.⁹⁴ Również przyłączenie w pozycji C(4'') dodatkowego podstawnika – dezozaminy z wolnymi grupami hydroksylowymi (**7**, Rysunek 19) – spowodowało spadek aktywności, lecz nie tak drastyczny jak w przypadku związków z zablokowanymi grupami¹¹⁶.



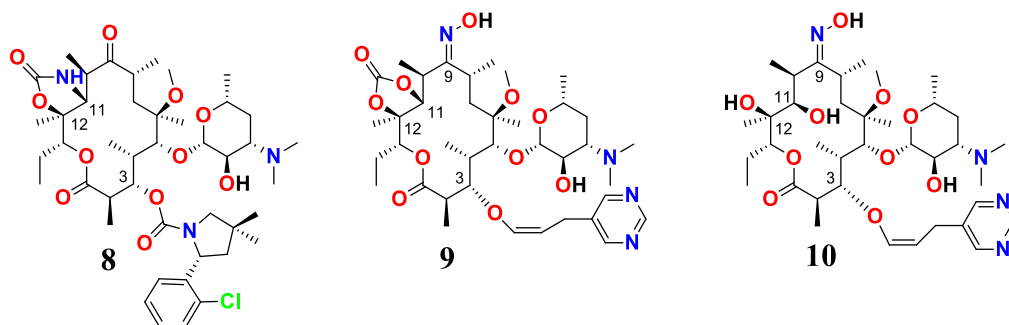
Rysunek 19. 14-członowe makrolidy modyfikowane w pozycji C-4'' poprzez wprowadzenie podstawników cukrowych.

6.2 Modyfikacje w pozycji C(3)

W celu dokładnego zbadania wpływu obecności kladynozy w cząsteczce antybiotyku makrolidowego na aktywność biologiczną związku, przeprowadzono badania polegające na jej usunięciu, a następnie funkcjonalizowaniu pozycji C(3) aglikonu. Początkowo przeprowadzono reakcję hydrolizy cukru, by następnie za pomocą wiązań karbaminianowych lub eterowych przyłączyć podstawnik do powstałej wolnej grupy hydroksylowej.

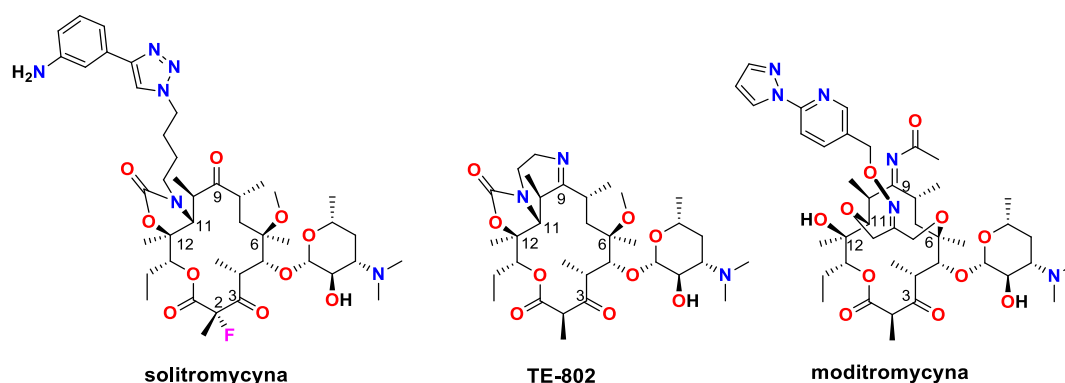
Magee wraz ze współpracownikami przeprowadzili modyfikację klarytromycyny, polegającą na zastąpieniu kladynozy aryloowo podstawioną pirolidyną, przyłączoną za pomocą karbaminianu, z jednoczesnym zablokowaniem – również poprzez karbaminian – grup hydroksylowych w pozycji C(11) i C(12) (**8**, [Rysunek 20](#)).¹¹⁷ Otrzymali oni w ten sposób pochodną, której wartość aktywności wobec opornego szczepu *S. pneumoniae* 1243-00 MLS_B była nawet ok. 4200 razy lepsza w porównaniu z aktywnością klarytromycyny. Analiza modelu kompleksu związek-rybosom wykazała, że bardzo istotną rolę w wiązaniu tego typu pochodnych klarytromycyny odgrywają obecne oddziaływania typu π - π pomiędzy wprowadzonym aromatycznym pierścieniem w pozycji C(3) a nukleozymem G2484 rybosomu. Oddziaływania te zapewniają stabilizację związku w miejscu wiązania w tunelu rybosomalnym.

Modyfikacje w pozycji C(3) 14-członowych antybiotyków laktonowych, poprzez wiązanie eterowe ([Rysunek 20](#)), zostały przeprowadzone przez zespół Liang'a.^{118,119} Przyłączyli oni do aglikonu nienasycony łącznik zakończony heterocyklicznym podstawnikiem, w obecności blokady oksymowej chroniącej karbonyl w pozycji C(9). W celu sprawdzenia dodatkowego wpływu wolnych grup hydroksylowych na aktywność biologiczną tych związków przeprowadzono modyfikacje, w których w jednym związku założono blokadę węglanową przy atomach C(11) i C(12) (**9**, [Rysunek 20](#)), a w drugim pozostawiono te grupy bez modyfikacji (**10**, [Rysunek 20](#)). Związek **9** wykazywał wyższą aktywność wobec *S. pneumoniae*, ale niższą wobec *S. aureus*, w przeciwieństwie do pochodnej **10**, która z kolei osiągnęła lepsze wartości aktywności przeciw *S. aureus*, a gorsze przeciwko szczepowi *S. pneumoniae*.



Rysunek 20. Pochodne antybiotyków o 14-członowym pierścieniu laktonowym modyfikowane w pozycji C(3) aglikonu.

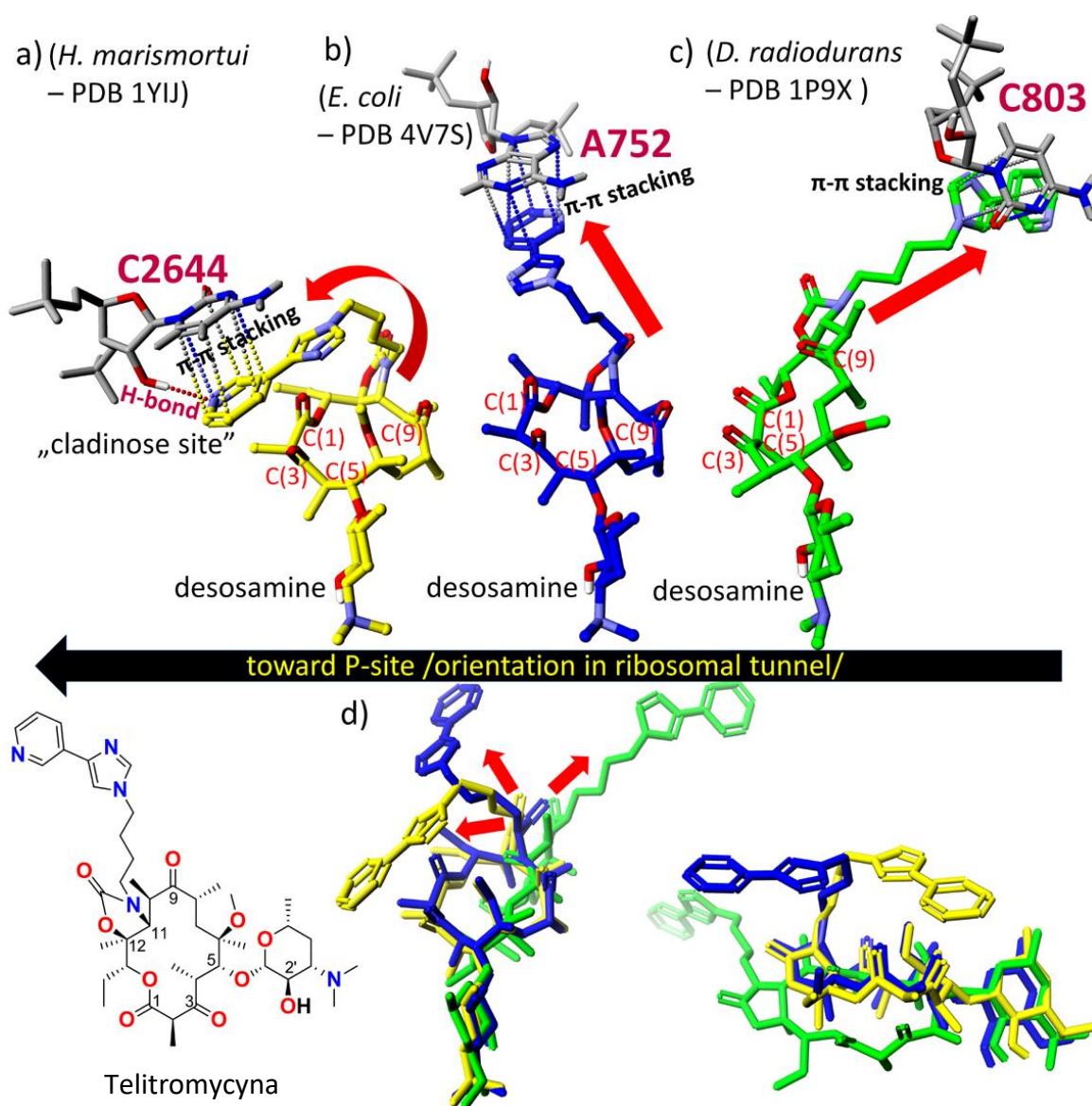
Specyficzną formą modyfikacji 14-członowych makrolidów laktonowych w pozycji C(3) są antybiotyki trzeciej generacji – ketolidy. Powstały one w wyniku reakcji hydrolizy cukru, a następnie utlenieniu wolnej grupy hydroksylowej do ketonu. Typowymi przedstawicielami ketolidów są związki takie jak: telitromycyna i cetromycyna (Rysunek 5) oraz solitromycyna, TE-802 i moditromycyna (Rysunek 21). Pomimo, że nie posiadają cząsteczki kladynozy w swojej strukturze, wykazują one wysoką aktywność przeciwbakteryjną, gdyż ich ramiona wydłużone są w pozycjach C(6), C(9), C(11) i C(12) poprzez obecność ugrupowań, tj.: karbaminian, eter czy oksym. Takie modyfikacje ketolidów umożliwiają skuteczne przenikanie poprzez bakteryjne błony komórkowe, akumulację w wysokim stężeniu w bakteryjnych komórkach oraz korzystny model wiązania w tunelu rybosomalnym.^{58,120–122}



Rysunek 21. Przykłady antybiotyków III generacji – ketolidów.

Ciekawym i bardzo ważnym spostrzeżeniem dla tej grupy związków jest to, że mogą one w różny sposób wiązać się w tunelu rybosomalnym ze względu na możliwą odmienną reorientację podstawnika przyłączonego do karbaminianu w pozycji C(11)-C(12). Na Rysunku 22 przedstawiłam możliwe sposoby wiązania antybiotyku

ketolidowego na przykładzie telitromycyny. Aromatyczny podstawnik przyłączony za pomocą łącznika do karbaminianu w pozycji C(11)-C(12) jest zorientowany i stabilizowany w zależności od docelowego szczepu bakteryjnego. I tak, w przypadku *H. marismortui* pierścień pirydynowy wiąże się z nukleotydem C2644 za pomocą wiązań wodorowych i oddziaływań π - π elektronowych.^{97,123,124} W przypadku szczepu *E.coli* oddziaływania π - π elektronowe łączą pierścień imidazolowo-pirydynowy z adenylanem A752.^{51,101,125} Natomiast w szczepie bakteryjnym *D. radiodurans* w oddziaływaniach π - π elektronowych bierze udział pierścień imidazolowy podstawnika i bakteryjny nukleotyd C803.³³ Z powodu różnic w sposobie ułożenia podstawnika, w przypadku ketolidów, zależność struktura-aktywność (SAR) jest bardziej złożona niż dla innych typów makrolidów. Złożoność ta wynika z tego, że przyłączone do karbaminianu ramię, posiadające imidazolowo-pirydynowe zakończenie, może oddziaływać z różnymi obszarami tunelu. Podstawnik ten może być kierowany w głąb tunelu w stronę miejsca-P (*H. marismortui*), może być zorientowany w przeciwnym kierunku (*D. radiodurans*) lub umieszczony między tymi dwoma pozycjami poprzez zmianę konformacji łącznika alkilowego (*E.coli*). Podczas gdy konformacje aglikonu telitromycyny w rybosomach *H. marismortui* i *E. coli* są podobne, konformacja telitromycyny w rybosomie *D. radiodurans* wykazuje prostopadłą orientację względem światła tunelu, jak pokazano na [Rysunku 22](#).

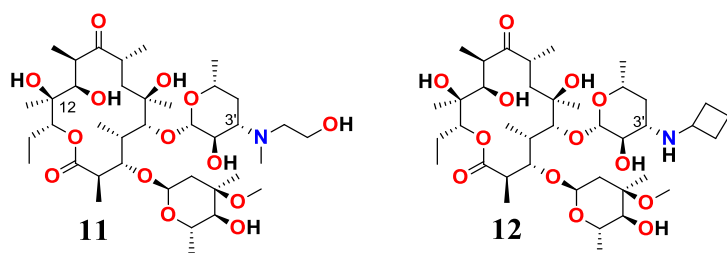


Rysunek 22. Modele różnych konformerów telitromycyny wraz z kluczowymi nukleotydami stabilizującymi ramię przyłączone do węgla w pozycji C(11)-C(12), wyekstrahowane z różnych bakteryjnych kompleksów: a) z *Haloarcula marismortui*⁹⁷, b) z *Escherichia coli*⁵¹, c) z *Deinococcus radiodurans*³³; struktury trzech konformacji telitromycyny zostały nałożone na siebie i przedstawione z perspektywy dezozaminy oraz od strony atomów węgla C(1) – C(3) aglikonu (d). Modele wzajemnych oddziaływań π - π między kluczowymi nukleotydami, a ramieniem antybiotyków zostały przedstawione z wykorzystaniem pakietu Scigress.⁹⁴

6.3 Modyfikacje w obrębie deozaminy

Rozważając molekularny mechanizm działania 14-członowych antybiotyków makrolidowych zauważono, że obecność deozaminy jest niezbędna dla wiązania się tych związków w tunelu rybosomalnym. Sacharyd ten jest zaangażowany w tworzące się wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe i hydrofobowe oddziaływania, niezależnie od wielkości i sposobu ułożenia pierścienia makrocyklicznego.⁹⁴ Mimo tego, naukowcy podjęli próby modyfikacji w tym obrębie poprzez wymianę podstawnika metylowego grupy *N,N*-dimetyloaminowej w pozycji C(3'), czy poprzez wprowadzenie podstawnika w pozycji C(4').

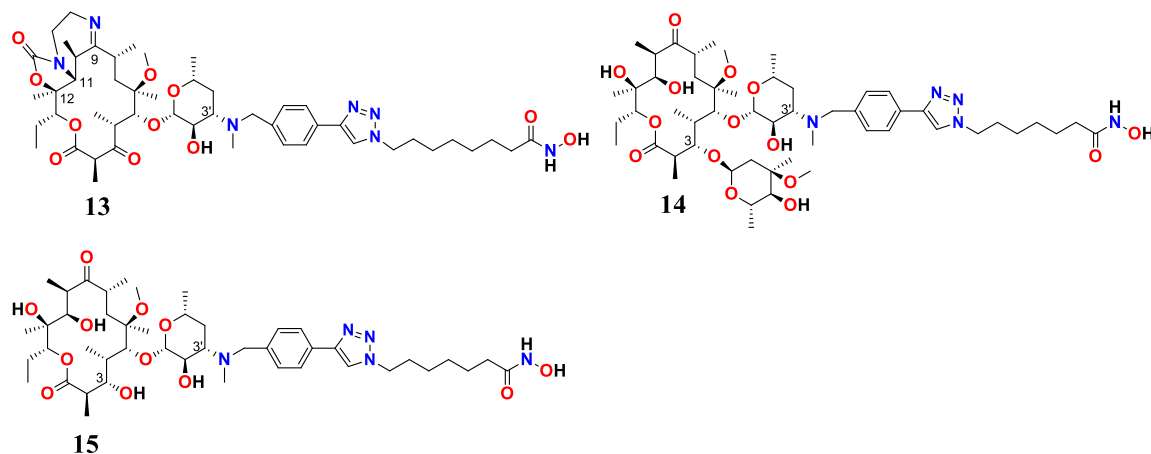
Liu wraz ze współpracownikami zsyntezowali pochodne erytromycyny, w których grupa *N,N*-dimetyloaminowa deozaminy została zastąpiona inną trzecio- lub drugorzędową aminą (**11** i **12**, Rysunek 23).¹²⁷ Modyfikacje te poprawiły skuteczność erytromycyny jako agonisty receptora motyliny i jej możliwości zastosowania w infekcjach żołądkowo-jelitowych. Z kolei aktywność biologiczna nowych pochodnych wobec testowanego szczepu *S. pneumoniae* ATCC 6301 była relatywnie niska.



Rysunek 23. Pochodne erytromycyny modyfikowane na atomie azotu deozaminy.

Modyfikacje na atomie azotu z wprowadzeniem triazolowego motywu przeprowadził Oyelere wraz z grupą naukowców.^{128–130} Zsyntezowali oni pochodne ketolidowe, posiadające w miejscu jednej grupy metylowej podstawnika *N,N*-dimetyloaminowego arylo-triazolowo-alifatyczne ramiona zakończone kwasem hydroksymowym (**13**, Rysunek 24). Związki te dodatkowo posiadały zablokowane grupy hydroksylowe przy atomach węgla C(11) i C(12) poprzez karbaminian, który połączony był mostkiem etylenowym z iminą w pozycji C(9). Pochodne te wykazywały właściwości przeciwmalaryczne i przeciw pasożytnicze. Dodatkowo wykorzystywane mogą być jako inhibitory deacetylaz histonów w mechanizmach kontroli ekspresji genów. Grupa Oyelere'a zsyntezowała również pochodne, które posiadały wolne grupy hydroksylowe

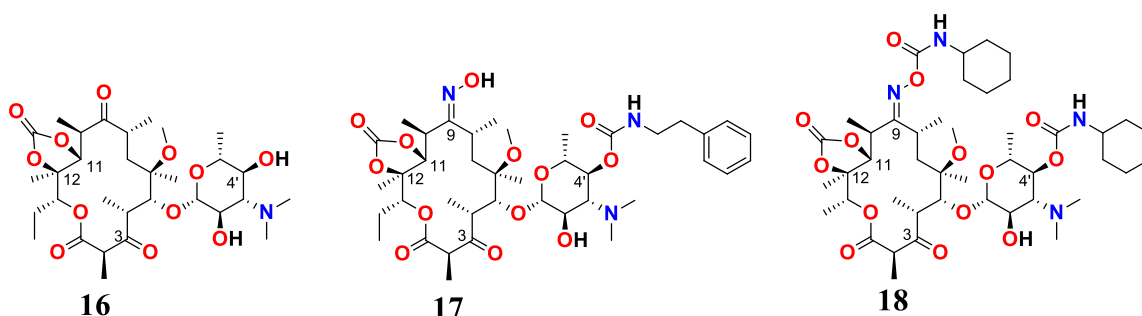
przy atomach węgla C(11) i C(12) oraz grupę karbonylową w pozycji C(9), a w pozycji C(3) posiadały kladynozę (**14**, Rysunek 24) lub grupę hydroksylową (**15**, Rysunek 24). Badania biologiczne oraz dokowanie tych związków wykazały, że wszystkie tego typu pochodne są silnymi inhibitorami HDAC1 i HDAC2 na poziomie nanomolowym.



Rysunek 24. Pochodne klarytromycyny modyfikowane na atomie azotu dezozaminy z wykorzystaniem reakcji cykloadycji Huisgena.

Lei wraz z grupą naukowców przeprowadził modyfikacje dezozaminy w pozycji C(4').^{131,132} Otrzymali oni ketolidy, posiadające blokadę w postaci węgla przyłączonego do atomów węgla C(11) i C(12), zawierające 4'-O-podstawioną dezozaminę. Synteza związków polegała na usunięciu tego sacharydu, a następnie wstawieniu innego – mykaminozy – poprzez reakcję glikozylacji (**16**, Rysunek 25). Wymiana podstawnika cukrowego skutkowała wzrostem aktywności przeciwbakteryjnej, co tłumaczone było większymi możliwościami oddziaływań pomiędzy zmodyfikowanym makrolidem, a nukleotydami występującymi w pętli peptydylotransferazy. Przeprowadzili oni też syntezę pochodnych, w których zmodyfikowali grupę hydroksylową w pozycji C(4') mykaminozy poprzez przyłączenie podstawnika aromatycznego, bądź cykloalkanu, za pomocą wiązania karbaminianowego, przy jednoczesnym wprowadzeniu oksymu w pozycji C(9) (**17** i **18**, Rysunek 25). Analizując aktywność biologiczną pochodnych, z wprowadzonym nowym sacharydem, można zauważyć, że podstawienie grupy hydroksylowej w mykaminozie skutkuje obniżeniem właściwości przeciwbakteryjnych związków, niezależnie od budowy ich aglikonu – w tym przypadku od blokady grup hydroksylowych w pozycji C(11) i C(12), obecności karbonylu w pozycji C(3) oraz oksymu przy atomie węgla C(9). Dodatkowo obecność obszernych podstawników przyłączonych

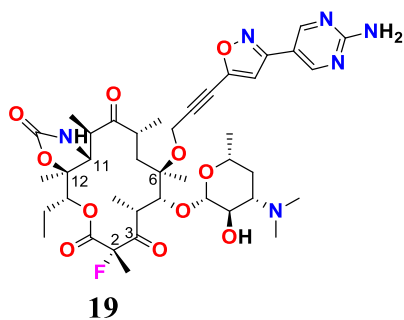
do oksymu jeszcze bardziej obniżyła potencjał biologiczny, co skutkowało zanikiem aktywności biologicznej.



Rysunek 25. Pochodne ketolidów modyfikowane w pozycji C(4') dezozaminy.

6.4 Modyfikacje w pozycji C(6)

Modyfikacje przeprowadzane przy atomie węgla w pozycji C(6) obejmowały przyłączenie podstawnika poprzez wiązanie eterowe, wykorzystujące wolną grupę hydroksylową znajdującą się w tej pozycji. Przykładem takiego przekształcenia była przeprowadzona przez Sugimoto i współpracowników modyfikacja erytromycyny prowadząca do przyłączenia cząsteczki propargilu jako motywu strukturalnego.¹³³ W wyniku następczej reakcji sprzęgania Sonogashiry, z odpowiednimi jodkami, powstały pochodne o sztywnych łącznikach, zawierających nienasycone wiązanie potrójne, zakończone 1,2-oksazolem, z przyłączonym heteroaromatycznym podstawnikiem. Dodatkowo w pozycji C(2) wprowadzono atom fluoru zmieniając tym samym właściwości związku. Otrzymano w ten sposób pochodną (**19**, Rysunek 26), której aktywność wobec wrażliwych na erytromycynę szczepów *S. pneumoniae* była 10-krotnie większa niż dla wzorcowej klarytromycyny oraz nawet 100-16000-krotnie wyższa wobec szczepów *S. pneumoniae* opornych na erytromycynę.

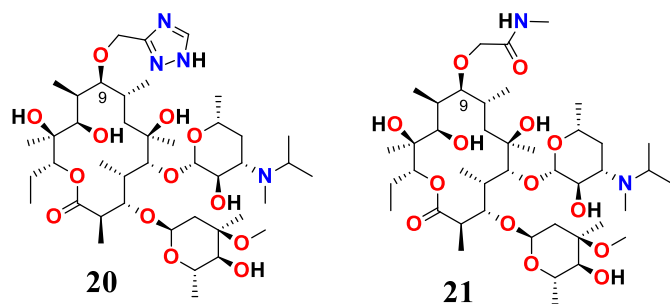


Rysunek 26. Pochodna o 14-członowym pierścieniu laktonowym, modyfikowana w pozycji C(6) aglikonu, jednocześnie z podstawionym atomem fluoru w pozycji C(2).

6.5 Modyfikacje w pozycji C(9)

Początkowo głównym motywem przeprowadzania modyfikacji w pozycji C(9) aglikonu było założenie blokady na reaktywną grupę karbonylową. Podstawniki przyłączano poprzez oksymy, rzadziej poprzez wiązanie eterowe. Zauważono, że wprowadzenie długich łączników zakończonych heteroaromatycznymi pierścieniami zwiększa aktywność biologiczną pochodnych makrolidowych. Wynika to z faktu, że długie i często sztywne ramiona wprowadzone w tej pozycji wymuszają lekko zmienioną orientację podstawnika, co z kolei implikuje ich odmienny sposób wiązania w tunelu rybosomalnym.¹³⁴

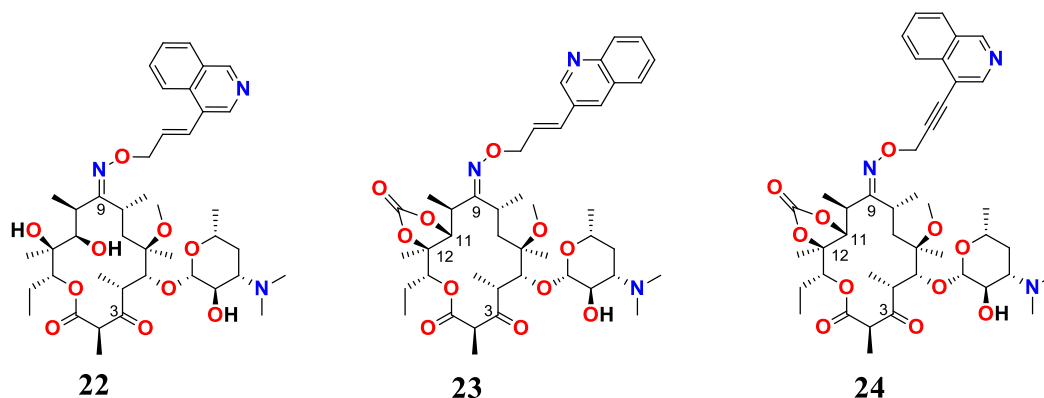
Modyfikacje poprzez wiązanie eterowe zostały przeprowadzone przez Shaw'a i jego współpracowników.^{135–137} Zastąpili oni keton łącznikiem eterowym zakończonym triazolowym pierścieniem (**20**, Rysunek 27) oraz *N*-metyloamidem (**21**, Rysunek 27). Pomimo, że związki te nie wykazywały aktywności biologicznej wobec szczepu bakteryjnego *S. pneumoniae* (MIC wynosił 128 µg/ml), mogą one działać jako agonista motyliny – hormonu odpowiedzialnego za regulację aktywności motorycznej w przewodzie pokarmowym.



Rysunek 27. Przykłady eterowych pochodnych erytromycyny modyfikowanych w pozycji C(9).

Modyfikacje polegające na rozbudowywaniu antybiotyku w pozycji C(9) poprzez oksym przeprowadzane były przez różne grupy naukowców, z zastosowaniem wielu zróżnicowanych reakcji i przekształceń. Nam wraz ze współpracownikami zsyntezowali 9-*O*-arylopropenyloksymowe pochodne klarytromycyny wykorzystując do tego reakcję Hecka (**22**, Rysunek 28).¹³⁸ Otrzymane przez nich pochodne wykazywały wysoką aktywność przeciwko szczepom *S. pneumoniae* oraz *S. pyogenes* (wartości MIC wynosiły 0,06 µg/ml). Podobne modyfikacje przeprowadziła grupa naukowców której przewodził Liang.^{134,139–141} Otrzymali oni również związki z przyłączonym sztywnym, oksymowym

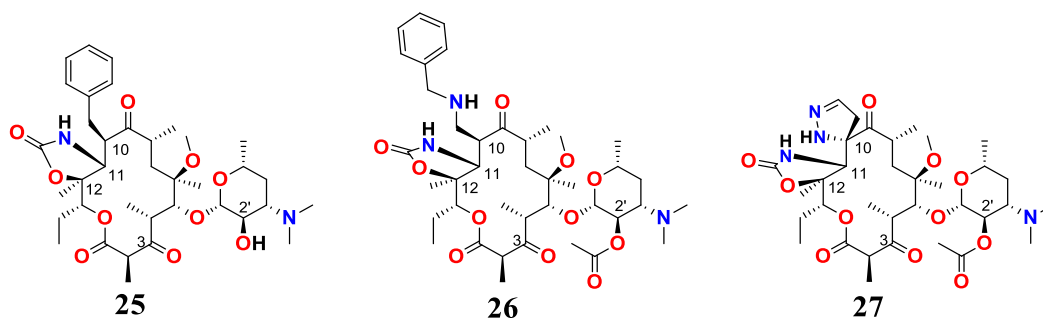
ramieniem, zakończonym heterocyklicznymi podstawnikami oraz równoczesną blokadą węglanową, założoną na grupach hydroksylowych w pozycji C(11) i C(12) (**23** i **24**, Rysunek 28). Wyniki badań mikrobiologicznych wykazały, że w tym przypadku blokada ta wpłynęła negatywnie na aktywność, pogarszając ją względem aktywności związku o wolnych grupach hydroksylowych. Z kolei zwiększenie sztywności ramienia, poprzez zastąpienie wiązania podwójnego wiązaniem potrójnym, spowodowało wzrost aktywności m.in. wobec szczepów *S. pneumoniae* i *S. aureus*.



Rysunek 28. Przykłady pochodnych ketolidowych modyfikowanych w pozycji C(6) z wykorzystaniem reakcji Hecka.

6.6 Modyfikacje w pozycji C(10)

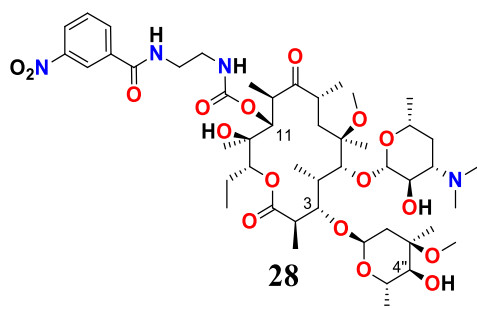
Stereoselektywne modyfikacje przy atomie węgla C(10) przeprowadzane były stosunkowo rzadko. Undheim wraz z zespołem wprowadzili w tę pozycję podstawnik alkilowy, podstawioną aminę oraz *spiro*-pyrazolinylowy podstawnik, przy jednoczesnym założeniu blokad karbamoilowych na grupy hydroksylowe przyłączone do atomów węgla C(11) i C(12) (**25** - **27**, Rysunek 29).¹⁴² Nowatorskie podejście syntetyczne, wykorzystujące octan allilu lub *egzo*- α,β -nienasycony keton jako produkty przejściowe, umożliwiło powstanie tych nowych pochodnych w wyniku reakcji substytucji allilowej oraz reakcji addycji 1,4-Michael'a. Związki te wykazały ciekawe właściwości przeciwbakteryjne w stosunku do aktywności klarytromycyny. W przypadku szczepu *S. pneumoniae* aktywność ta była dwukrotnie wyższa, a w przypadku *S. aureus* – nawet 32-krotnie.



Rysunek 29. Przykłady pochodnych antybiotyków 14-członowych, stereoselektywnie modyfikowanych w pozycji C(10).

6.7 Modyfikacje w pozycji C(11)

Modyfikacje przeprowadzane w pozycji C(11) obejmowały wprowadzenie do cząsteczki klarytromycyny, poprzez wiązanie karbaminianowe, łańcuchów alkilowych zakończonych aromatycznymi podstawnikami (**28**, Rysunek 30). Taką syntezę przeprowadził Guo wraz ze współpracownikami, uzyskując pochodne o niewielkich właściwościach przeciwbakteryjnych.¹⁴³ Związki te okazały się być aktywne jedynie wobec szczepów *S. pyogenes* w zakresie wartości MIC = 0,03 µg/ml.

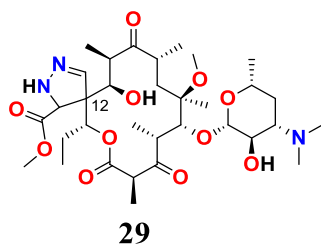


Rysunek 30. Przykład pochodnej klarytromycyny z wprowadzonym objętościowym podstawnikiem w pozycji C(11).

6.8 Modyfikacje w pozycji C(12)

Grupa hydroksylowa znajdująca się przy atomie węgla C(12) jest stosunkowo rzadko wykorzystywana do przeprowadzania pojedynczych modyfikacji. Mimo tego, Hu wraz ze współpracownikami wprowadzili podstawnik *spiro*-hydrazonowy, bezpośrednio przyłączony do aglikonu klarytromycyny z grupą karbonylową w pozycji C(3) (**29**, Rysunek 31).¹⁴⁴ Otrzymali oni pochodne, których aktywność wobec *S. pneumoniae* wprawdzie zmalała, lecz wobec szczepu *S. aureus* 26001 wzrosła dwukrotnie względem wartości wyznaczonych dla klarytromycyny. Te nowe pochodne wykazywały również

potencjał biologiczny wobec szczepu *H. influenza* na poziomie porównywalnym do wzorcowych antybiotyków.

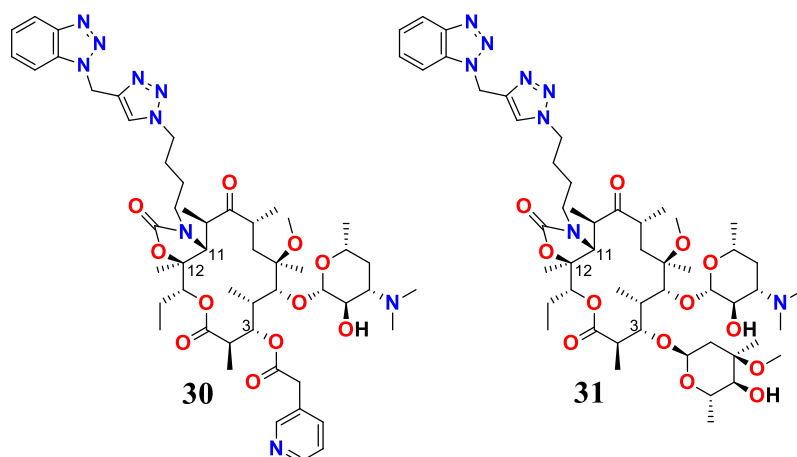


Rysunek 31. Pochodna ketolidowa z przyłączonym *spiro* podstawnikiem w pozycji C(12).

6.9 Modyfikacje w pozycji C(11)-C(12)

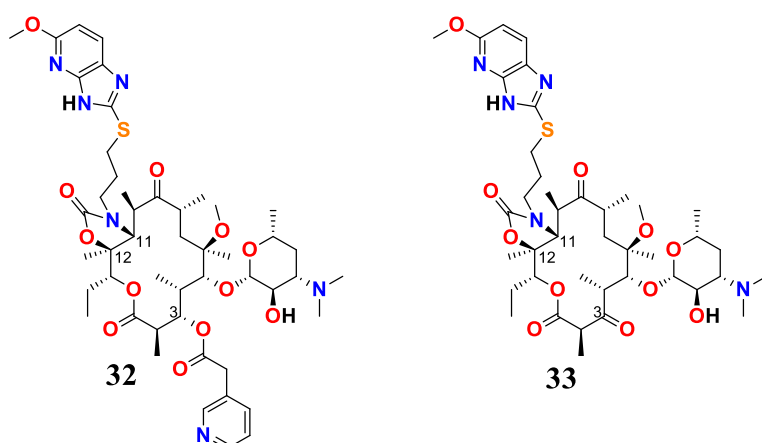
W ostatnich latach chemiczne przekształcenia obejmujące wiązanie razem grup hydroksylowych O(11)H i O(12)H aglikonu z wykorzystaniem zróżnicowanych ugrupowań chemicznych, często przy jednoczesnym usuwaniu kladynozy, stały się najbardziej popularnymi modyfikacjami prowadzącymi do uzyskania związków o zwiększonej aktywności biologicznej. Inspiracją dla przeprowadzania tego typu syntez była niezwykle wysoka aktywność przeciwbakteryjna makrolidów trzeciej generacji, takich jak telitromycyna czy solitromycyna, które takie mostki posiadają w swojej strukturze. Modyfikacje obejmujące te pozycje polegają na połączeniu atomu węgla C(11), wraz z grupą hydroksylową przy atomie węgla C(12) za pomocą karbaminianu, który następnie może być modyfikowany w różnoraki sposób.

W celu zbadania wpływu kladynozy na aktywność telitromycynowych pochodnych, Pereira i Fernandes zsyntezowali związki połączone mostkiem karbaminianowym w pozycji C(11) i C(12), do którego przyłączony był alkilowy łącznik zakończony aromatyczno-triazolowym podstawnikiem.¹⁴⁵ Różniły się one między sobą jedynie obecnością podstawnika w pozycji C(3). Związki, które w miejscu kladynozy posiadały podstawnik acetoksyłowy z przyłączoną metylopirydyną (**30**, Rysunek 32), wykazały dwukrotnie większą aktywność od tych, które zawierały sacharyd (**31**, Rysunek 32), przy czym osiągnęły one aktywność zbliżoną do klarytromycyny.



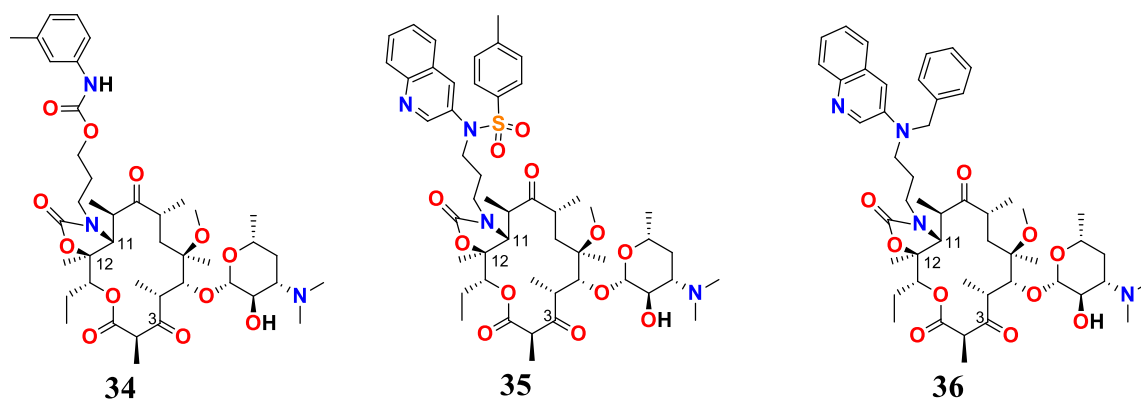
Rysunek 32. Przykładowe pochodne antybiotyków o 14-członowych pierścieniach modyfikowane w pozycji C(11)-C(12) z wykorzystaniem reakcji Huisgena.

Shan i współpracownicy zbadali z kolei różnicę w aktywności przeciwbakteryjnej związków, które posiadały łącznik zawierający atom siarki, zakończony heterocyklem.¹⁴⁶ Sprawdzili równocześnie jak obecność ugrupowania acetoksylogo z przyłączoną metylopirydyną w pozycji C(3) (**32**, Rysunek 33), a jak występowanie w tym miejscu karbonylu (**33**, Rysunek 33), wpływa na potencjał przeciwbakteryjny takich produktów. Związki te posiadały aktywność biologiczną na poziomie porównywalnym do telitromycyny, a w przypadku szczepów *S. pneumoniae* oraz *S. pyogenes* nawet dwukrotnie większą. Autorzy tłumaczyli ten wzrost aktywności faktem, że atom siarki obecny w strukturze łącznika może ulegać utlenieniu, co z kolei pozytywnie wpływa na lipofilowość grupy kotwiczącej w tunelu rybosomalnym.



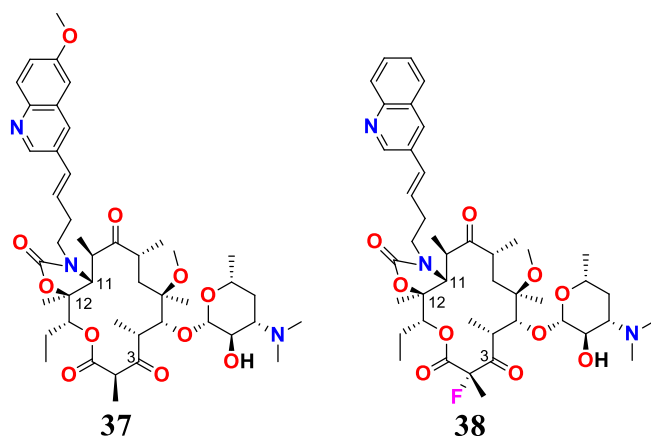
Rysunek 33. Przykładowe pochodne antybiotyków o 14-członowym aglikonie, posiadające w pozycji C(11)-C(12) podstawnik siarkowo – imidazo[4,5-b]pirydynyłowy.

Zespół naukowców pod kierownictwem Lei'ego otrzymał nowe związki, w których zmienił chemiczną naturę łącznika, wprowadzając ugrupowanie karbaminianowe zamiast tioeteru.¹⁴⁷ Otrzymali oni pochodne (**34**, Rysunek 34), których aktywność przeciwbakteryjna była zbliżona do aktywności azytromycyny. Ten sam zespół opisał procedurę uzyskania nowych związków zawierających telitromycynowo-podobne rozgałęzione ramiona przyłączone do karbaminianu w pozycji C(11)-C(12).¹⁴⁸ Nowe pochodne (**35** i **36**, Rysunek 34) wykazywały słabsze wyniki aktywności biologicznej wobec standardowych szczepów, w porównaniu do produktów z grupą karbaminianową. Jednakże w przypadku, gdy przyłączony podstawnik do ramienia karbaminianowego w pozycji C(11)-C(12) zwierzał w swojej strukturze trzeciorzędowy atom azotu z przyłączonymi podstawnikami aromatycznymi, odnotowano wyraźny wzrost aktywności wobec szczepu *M. scarlatinae* (wartość MIC na poziomie 0,03 µg/ml) względem pochodnych zawierających w swojej strukturze grupę sulfonamidową.



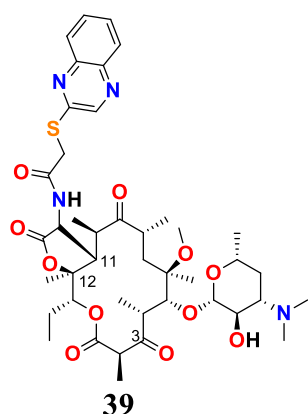
Rysunek 34. Przykładowe pochodne ketolidów posiadające rozbudowane podstawniki przyłączone do mostków karbaminianowych obecnych w pozycji C(11)-C(12).

Lei wraz ze współpracownikami skonstruowali pochodne, których karbaminianowa grupa mostkująca, łącząca atomy węgla C(11) i C(12), była rozbudowana usztywnionym ramieniem zakończonym heterocyklicznym podstawnikiem (**37**, Rysunek 35).^{149,150} Aktywność tego typu ketolidów znacznie wzrosła wobec szczepów takich, jak: *S. aureus*, *S. epidermidis* czy *M. catarrhalis*, osiągając wartość MIC równą 0,015 µg/ml. Usunięcie grupy metoksylowej z podstawnika chinolinowego wraz z jednoczesnym wprowadzeniem atomu fluoru w pozycji C(2) (**38**, Rysunek 35) nie spowodowało wyraźnych zmian w aktywności biologicznej wobec wymienionych szczepów, która pozostała na porównywalnym poziomie.



Rysunek 35. Przykładowa ketolidowa (**37**) i fluoroketolidowa (**38**) pochodna posiadająca nienasycony chinolinowy podstawnik przyłączony do karbaminianu w pozycji C(11)-C(12) aglikonu.

Nietypowe modyfikacje w pozycji C(11)-C(12) przeprowadziła grupa naukowców kierowana przez Pavlović'a.¹⁵¹ Otrzymali oni pochodne zawierające ramiona amidowo-tioeterowo-arylowe, które przyłączone były do połączonych mostkiem atomów węgla C(11) i C(12), z nietypowym dla tych modyfikacji brakiem ugrupowania karbaminianowego (**39**, Rysunek 36). Bliskość ugrupowania laktonowego i grupy amidowej miały niekorzystny wpływ na aktywność wobec szczepów *S. aureus* oraz *S. pyogenes*. Mimo tego, pochodne te posiadały relatywnie wysoką aktywność wobec szczepu *H. influenzae*, osiągając wartość dwu-, a nawet czterokrotnie wyższą niż azytromycyna i telitromycyna.

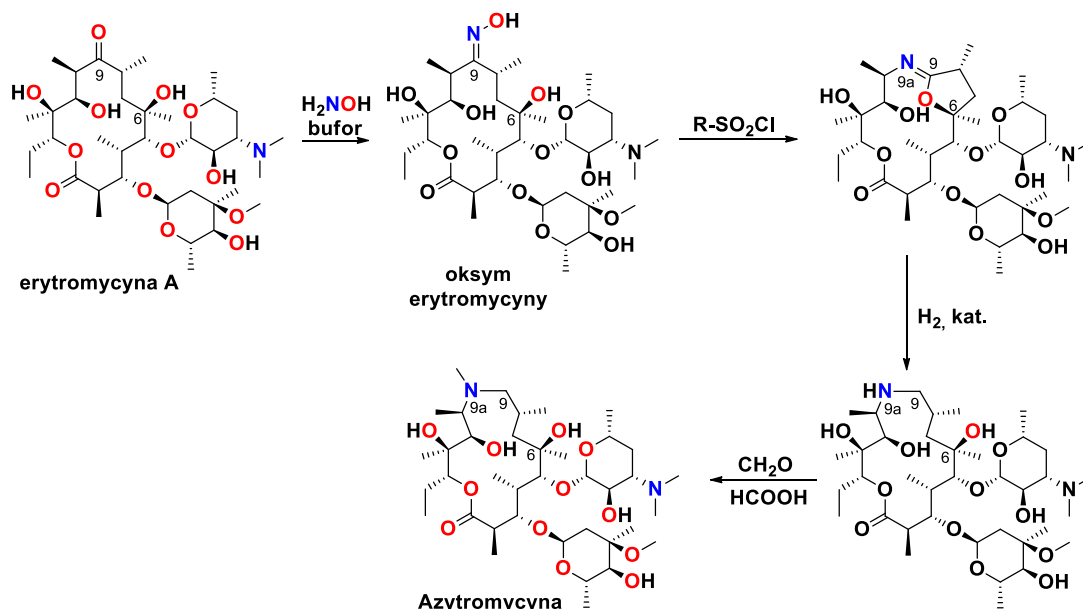


Rysunek 36. Przykład pochodnej posiadającej tioeterowy łącznik zakończony heterocyklicznym podstawnikiem, przyłączony do aglikonu poprzez nietypowy mostek w pozycji C(11)-C(12).

IV Antybiotyki makrolidowe 15-członowe

1. Synteza azytromycyny

Azytromycyna (**AZM**) jest antybiotykiem drugiej generacji, charakteryzującym się szerszym spektrum aktywności biologicznej i większą stabilnością w porównaniu do erytromycyny.^{152,153} Należy ona do klasy półsyntetycznych, 15-członowych antybiotyków makrolidowych – zwanych azalidami, ze względu na obecność dodatkowego atomu azotu w pierścieniu laktonowym. Antybiotyk ten, tak jak klarytromycyna, został zsyntezowany jako alternatywne rozwiązanie w odpowiedzi na problem ketalizacji, która zachodzi w środowisku kwaśnym i występowała przy stosowaniu erytromycyny klinicznie. Azytromycyna po raz pierwszy została otrzymana przez grupę naukowców z firmy farmaceutycznej PLIVA w 1980 roku.^{154,155} Powstała ona w wyniku przeprowadzenia reakcji przegrupowania Beckmanna na wcześniej przygotowanym substracie – C(9)-oksymie erytromycyny A, który był wyjściowym substratem również dla wielu innych pochodnych (**Schemat 4**). W antybiotyku tym, problematyczna grupa ketonowa, przy atomie węgla C(9), została zastąpiona przez grupę aminometylową.^{156,157} W rezultacie otrzymany został związek 9-deoksy-9a-aza-9a-homoerytromycyna A, nazwany azytromycyną.



Schemat 4. Schemat przedstawiający proces syntetyczny prowadzący do przekształcenia erytromycyny A w azytromycynę.

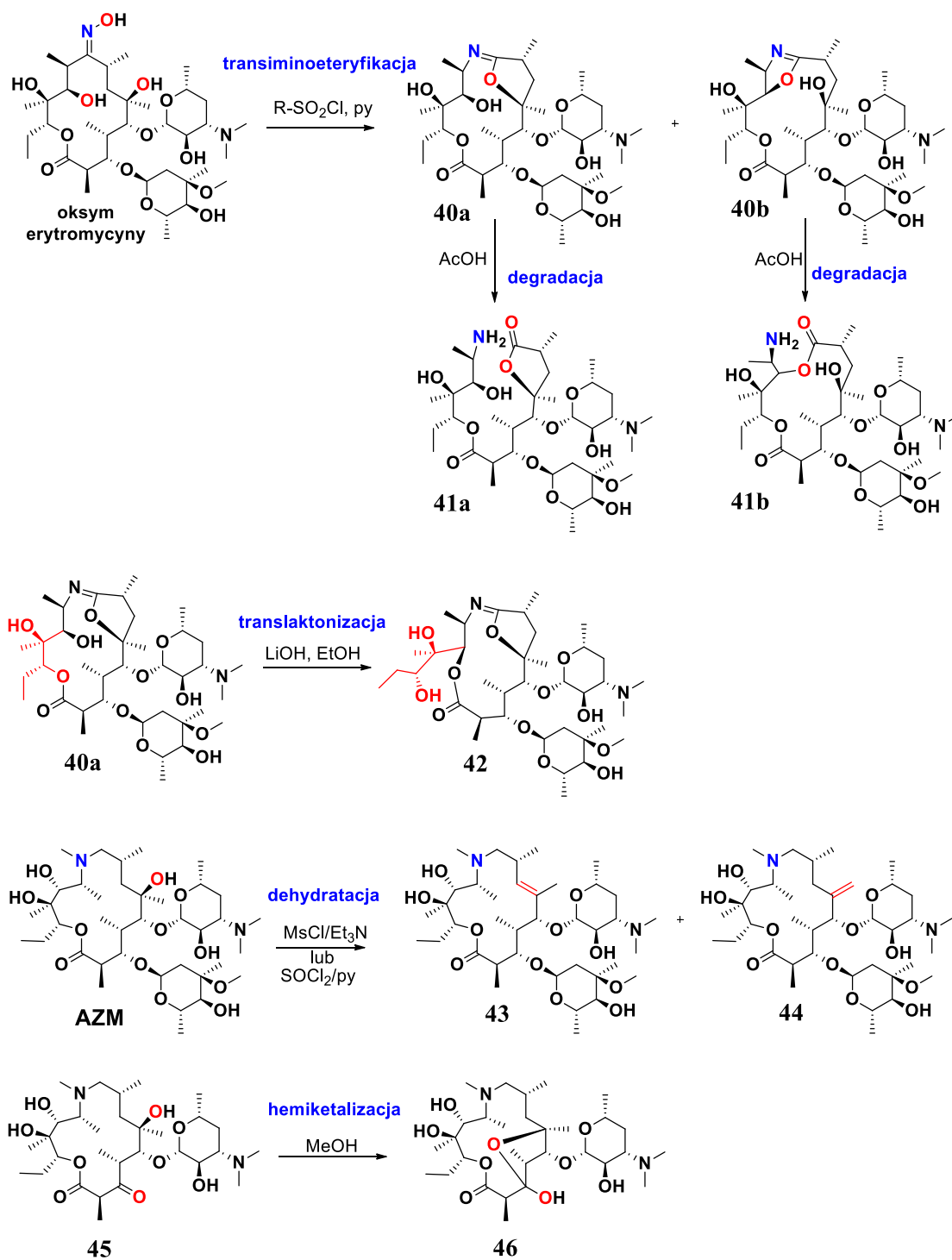
2. Chemiczna stabilność azytromycyny

Erytromycyna A, stosowana klinicznie, została zastąpiona przez pochodną – azytromycynę, która wykazuje szersze spektrum aktywności biologicznej oraz, co było najważniejsze, nie ulega ketalizacji w środowisku kwaśnym. Nie jest ona jednak w pełni odporna i ulega chemicznym przekształceniom. Zarówno azalidy, jak i oksymy erytromycyny, są wrażliwe na różne przekształcenia wewnątrzcząsteczkowe, takie jak hemiketalizacja, *trans*-iminoeteryfikacja oraz translaktonizacja, prowadzące do kontrakcji pierścienia makrocyclicznego i dehydratacji.^{158–161} Na Schemacie 5 przedstawiono różne możliwe wewnątrzcząsteczkowe reakcje, które mogą zachodzić w środowisku kwaśnym lub zasadowym.

Kluczową reakcją, prowadzącą do otrzymania azalidu jest synteza *O*-sulfonylowej pochodnej oksymu 9(*E*)-erytromycyny A. Reakcję oksymu 9(*E*)-erytromycyny A przeprowadzono z chlorkiem benzosulfonylowym w środowisku zasadowym, co prowadziło do otrzymania niespodziewanego produktu jakim był erytromycyno-6,9-imino-eter (**40a**, Schemat 5). W warunkach kwaśnych otrzymane iminoetery ulegają degradacji, w wyniku czego powstają związki o otwartych pierścieniach zawierające grupę laktonową, estrową oraz wolną aminę (**41a**, Schemat 5), oraz związki makrolidowe zawierające w swojej strukturze dwa laktony i pierwszorzędową grupę aminową (**41b**, Schemat 5).^{159,162} Z kolei w warunkach zasadowych aktywowana zostaje grupa hydroksylowa O(12)H iminoeteru (**40a**) i dochodzi do nukleofilowego ataku na grupę laktonową, czego wynikiem jest kontrakcja pierścienia, i z 15-członowego makrolidu powstaje antybiotyk o 13-członowym aglikonie (**42**, Schemat 5).¹⁶³

Azytromycyna poddana działaniu chlorku tionylu w zasadowych warunkach ulega dehydratacji. Reakcja ta prowadzi do otrzymania nietypowych produktów **43** i **44** (Schemat 5) zawierających nienasycone wiązania podwójne w swojej strukturze.¹⁵⁸

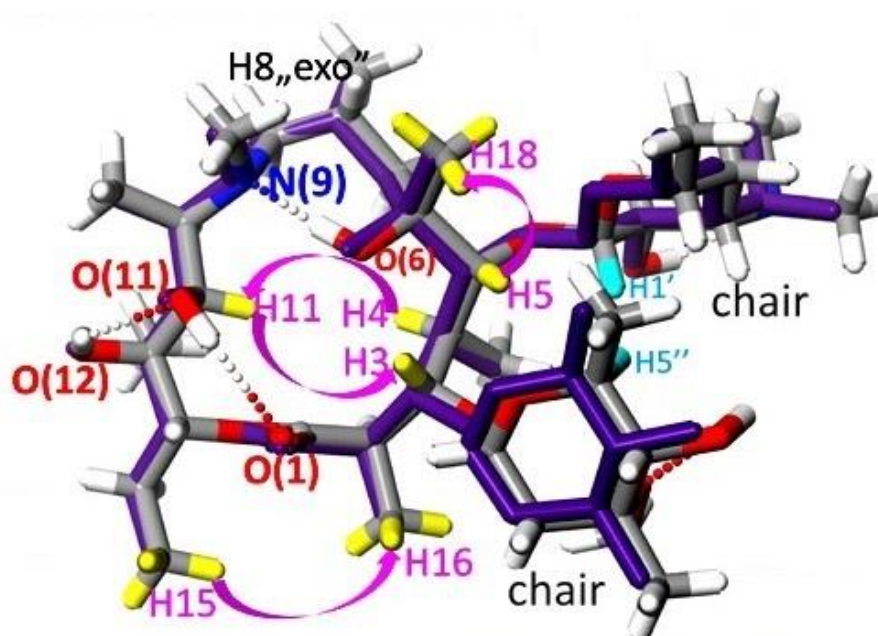
Azytromycyna, ze względu na brak występowania w swojej strukturze grupy ketonowej, nie ulega procesowi hemiketalizacji. Jednakże poddanie jej reakcji hydrolizy cukru – kładynozy – oraz reakcji utlenienia powstałej w pozycji C(3) grupy hydroksylowej, prowadzi do otrzymania produktu **45** (Schemat 5). Pochodna ta, przy zastosowaniu odpowiednich warunków kwaśnych, ulega reakcji hemiketalizacji (**46**, Schemat 5).¹⁶¹



Schemat 5. Przykładowe wewnątrzcząsteczkowe reakcje, którym ulega azytromycyna w środowisku kwaśnym lub zasadowym.

3. Struktura 15-członowych antybiotyków makrolidowych i ich molekularny mechanizm działania

Azytromycyna, jak i również homoerytromycyny, ze względów energetycznych, niezależnie od tego, czy występują w kryształach, czy tworzą kompleks z rybosomem, preferują konformacje 3-*endo* „folded-out” (Rysunek 37).^{92,97,164} Ten rodzaj konformacji jest konformacją pośrednią pomiędzy typowymi „folded-in” oraz „folded-out” oraz jest specyficzny tylko dla tego rodzaju azalidów – inne makrolidy, np. erytromycyna czy klarytromycyna, nie występują w takiej konformacji. Potwierdzeniem faktu, że jest ona pośrednią konformacją pomiędzy „folded-in”, a „folded-out” jest specyficzna wartość kąta dwuściennego $\omega_{\text{H2-C2-C3-H3}}$ która wynosi około 122° przy stałej sprzężenia $^3J_{\text{H2-H3}} = 4\text{--}5\text{ Hz}$.⁹⁴



3 vs. 3-ribosome
„3-*endo* folded-out”

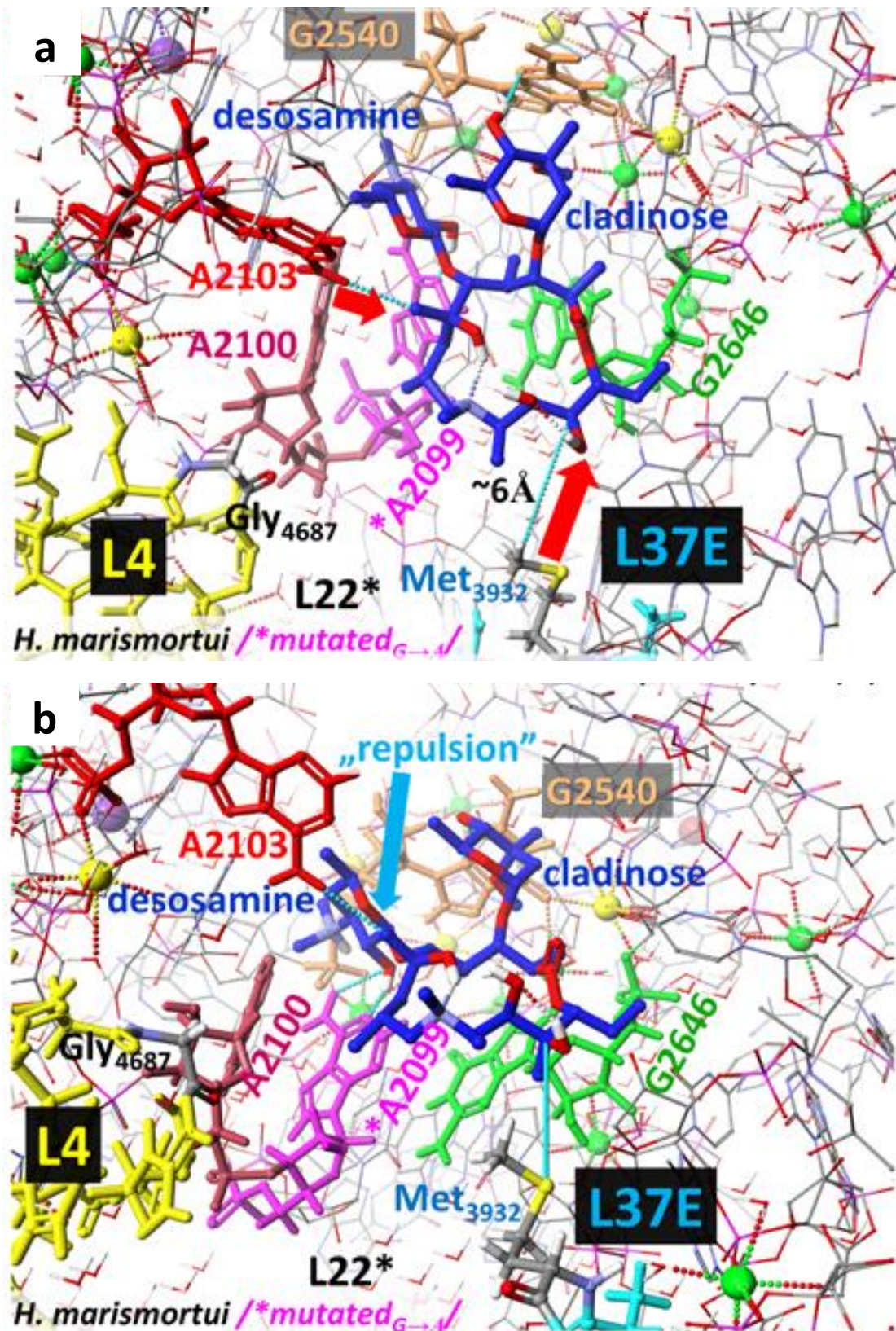
$$\omega_{\text{H2-C2-C3-H3}} = 122^\circ, \text{H1}'\text{-H5}'' = 2.31 \text{ \AA}$$

Rysunek 37. Struktura makrolidu o 15-członowym pierścieniu (na przykładzie azytromycyny) w konformacji 3-*endo* „folded-out” (szara, obliczona), stabilizowanej wewnątrzcząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi, nałożona na konformację występującą w tunelu rybosomalnym (fioletowa, wycięta z kompleksu rybosom-antybiotyk, PDB 1YHQ⁹⁷). Różowymi strzałkami oznaczone są kluczowe kontakty $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ występujące w widmie NMR – NOESY i ROESY. Na rysunku przedstawione są kąty dwuściennne (ω) oraz odległość pomiędzy częściami sacharydowymi H1' – H5'' wyznaczona w angstrmach (Å). Struktury antybiotyków zostały obliczone metodą MOG-PM6 i B88 LYP (GGA)-DFT przedstawione za pomocą pakietu Scigress.⁹⁴

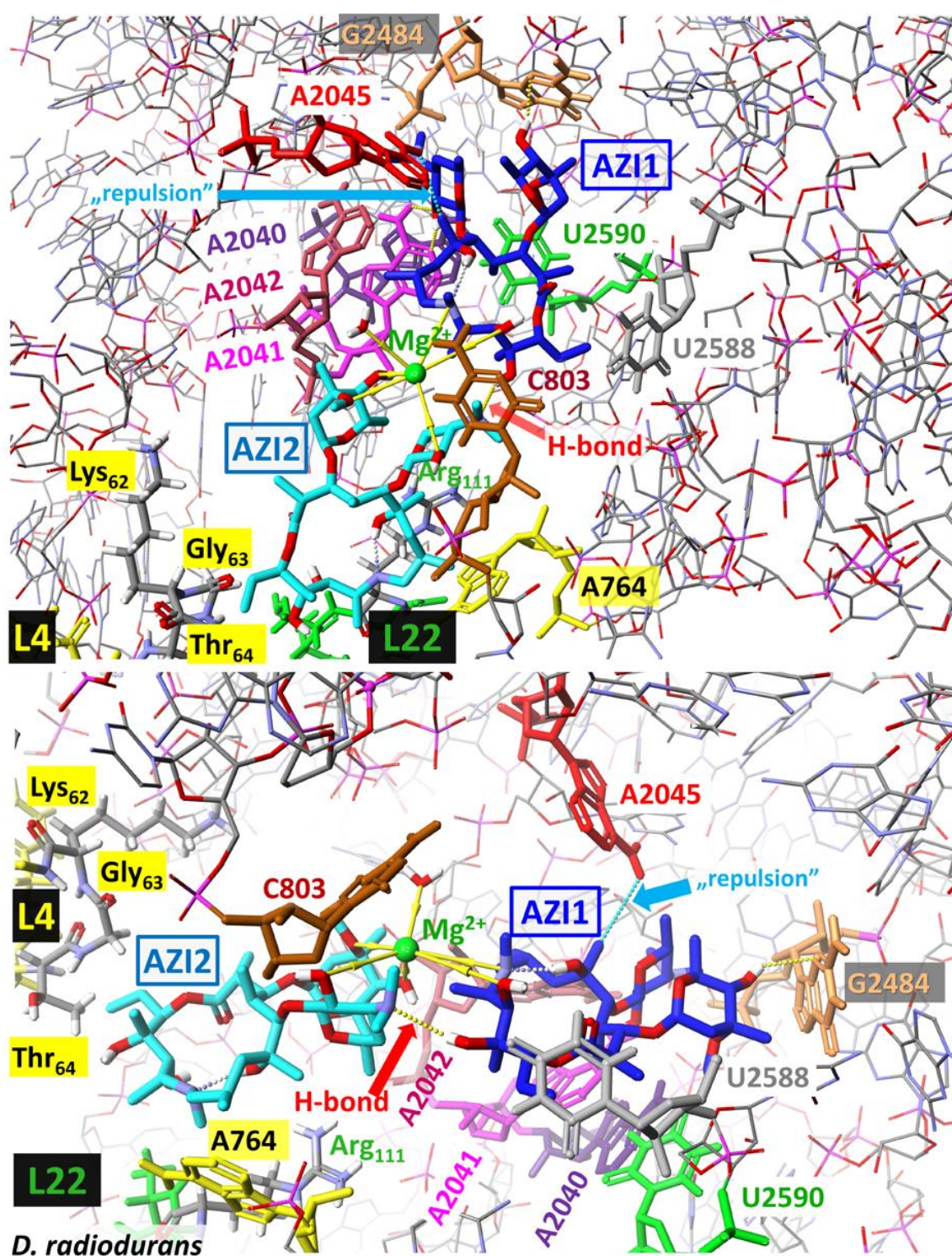
Pomimo tej różnicy, odległości pomiędzy protonami H(3)-H(11) i H(4)-H(11) oraz specyficzne ułożenie przestrzenne podstawników cukrowych, są zbliżone do tych, które występują w konformacji „folded-out” struktury erytromycyny i klarytromycyny. Występowanie azytromycyny w najkorzystniejszej energetycznie konformacji 3-*endo* „folded-out” zostało potwierdzone przez liczne badania za pomocą 1D i 2D NMR.

Jak wspomniano już w poprzednich rozdziałach, antybiotyki makrolidowe o 14- – 16-członowych pierścieniach wiążą się w tunelu rybosomalnym różnych szczepów bakterii, a ich sposób działania opiera się na blokowaniu procesu translacji na różnych etapach. Taki sposób działania jest niezależny od wielkości pierścienia aglikonowego.¹⁰⁰ O ile sposób działania antybiotyków jest taki sam, to ich model wiązania jest inny, w zależności od wielkości pierścienia aglikonowego.

Antybiotyki makrolidowe o 15-członowych pierścieniach wykazują nieco zmienione miejsce i model wiązania w tunelu rybosomalnym od makrolidów 16-członowych, mimo, że ich orientacja względem światła tunelu jest bardzo zbliżona (Rysunek 38). Ze względu na brak w strukturze azytromycyny grupy, która mogłaby się kowalencyjnie związać z adenylanem A2103, następuje odpychanie między grupą aminową z A2103, a grupą metylową przyłączoną do atomu węgla w pozycji C(6) azytromycyny. Wynikiem tego odpychania jest przemieszczenie cząsteczki antybiotyku dalej od adenylanu A2103 i podjednostki białkowej L4, jeśli porównamy tę orientację do orientacji aglikonu spiramycyny – odległość azytromycyny do Met₃₉₃₂ osiąga około 6 Å, a spiramycyny około 4 Å. Azytromycyna przylega do podjednostek białkowych tworzących ściany tunelu rybosomalnego. Przyłączona do niej dezozamina jest skierowana wzdłuż osi tunelu, natomiast kladynoza zajmuje przestrzeń w pobliżu guanylanu G2540, który stanowi nukleotyd blokujący część peptydylową w rybosomie. Dezozamina, będąca stosunkowo krótkim podstawnikiem cukrowym przyłączonym w pozycji C(5) aglikonu, skierowana jest w stronę peptydylowej części rybosomu. Z powodu przemieszczenia azytromycyny od światła tunelu, tworzy się tam przestrzeń, w której umożliwiające jest tylko wstępne i ograniczone do trzeciego wiązania, wydłużenie powstającego łańcucha peptydowego podczas translacji.⁹⁴ Proces ten jest blokowany dopiero przy tworzeniu od czwartego do ósmego wiązania peptydowego, a nie jak np. w 16-członowych antybiotykach przy utworzeniu pierwszego lub drugiego wiązania peptydowego.^{32,165}



Rysunek 38. Odwzorowanie modelu wiązania makrolidu 15-członowego (na przykładzie azytromycyny) w dwóch różnych projekcjach na podstawie struktury PDB 1YHQ⁹⁷: **a** – wzdłuż tunelu rybosomalnego, równoległe do osi, w kierunku pętli PTC, zastąpionej przez nukleotyd A2045 (zaznaczony na czerwono); **b** – prostopadle do osi tunelu, z perspektywy nukleotydów A2045.⁹⁴



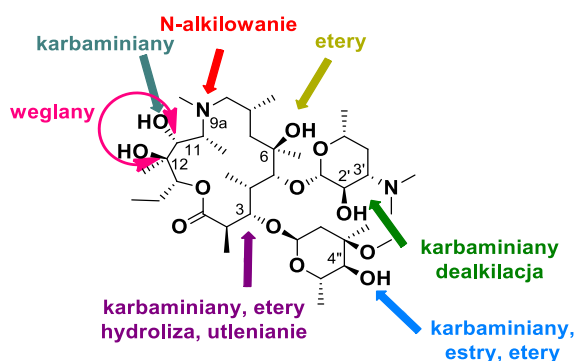
Rysunek 39. Dwie projekcje nietypowej struktury kompleksu 2:1 formowanego pomiędzy dwoma cząsteczkami azytromycyny (AZI1 i AZI2), a podjednostką bakteryjną 50S pochodzącą z *D. radiodurans*. Rzut przedstawiony u góry rysunku pochodzi z perspektywy A2045, a dolny rzut – ze strony U2588. Dokowanie modeli zostało zoptymalizowane na podstawie koordynatów atomowych pobranych ze struktury krystalograficznej kompleksu PDB 1NWY^{96, 94}

Azytromycyna, wiążąc się z rybosomem *D. radiodurans*, w przeciwieństwie do antybiotyków o 14- czy 16-członowych pierścieniach makrolidowych potrafi tworzyć nietypowe kompleksy w stosunku 2:1 (Rysunek 39).⁹⁶ W takim kompleksie dwie cząsteczki azytromycyny (**AZI1** oraz **AZI2**), które umieszczone są blisko siebie, wiążą się kooperatywnie z tunelem rybosomalnym. Połączone są one między sobą wiązaniem wodorowym pomiędzy atomem azotu z grupy *N,N*-dimetylowej z dezozaminy cząsteczki **AZI2** a protonem z grupy hydroksylowej O(12)H cząsteczki **AZI1**. Dodatkowo obie cząsteczki, **AZI1** i **AZI2**, równocześnie koordynują wspólny kation Mg^{2+} . Cząsteczka **AZI1** zaangażowana jest w klasyczny model wiązania, podczas gdy cząsteczka **AZI2** przesuwa się w kierunku podjednostek białkowych L4 i L22, jednocześnie blokując wyjście tunelu dla powstających w wyniku translacji białek z bakteryjnego rybosomu. Model wiązania dwóch cząsteczek azytromycyny do jednego rybosomu bakteryjnego, z jedoczesnym bliskim kontaktem pomiędzy podjednostkami L4 i L22, a cząsteczką **AZI2**, tłumaczy częściowo dlaczego aminokwasy z tych białkowych podjednostek są celem mutacji podczas osiągnięcia przez bakterie lekooporności.⁹⁴

4. SAR dla modyfikacji chemicznych azytromycyny

Jak wspomiano już wcześniej, wzrost oporności bakterii wobec antybiotyków stawał się szybko narastającym problemem niemalże od momentu wprowadzenia ich na rynek farmaceutyczny. Wraz ze wzrostem oporności bakterii wzrósł też poziom zainteresowania naukowców badaniami nad tą grupą związków. Rezultatem są setki publikacji dotyczące badań nad antybiotykami azalidowymi oraz ich modyfikacjami o ulepszonych właściwościach.

Miejsce i rodzaj przeprowadzanych modyfikacji antybiotyków o 15-członowych pierścieniach aglikonowych przedstawione zostały na [Rysunku 40](#). W tym rozdziale zaprezentowane zostały kluczowe modyfikacje, które przeprowadzone były w ostatnim dziesięcioleciu oraz zilustrowane wybrane przykłady związków.



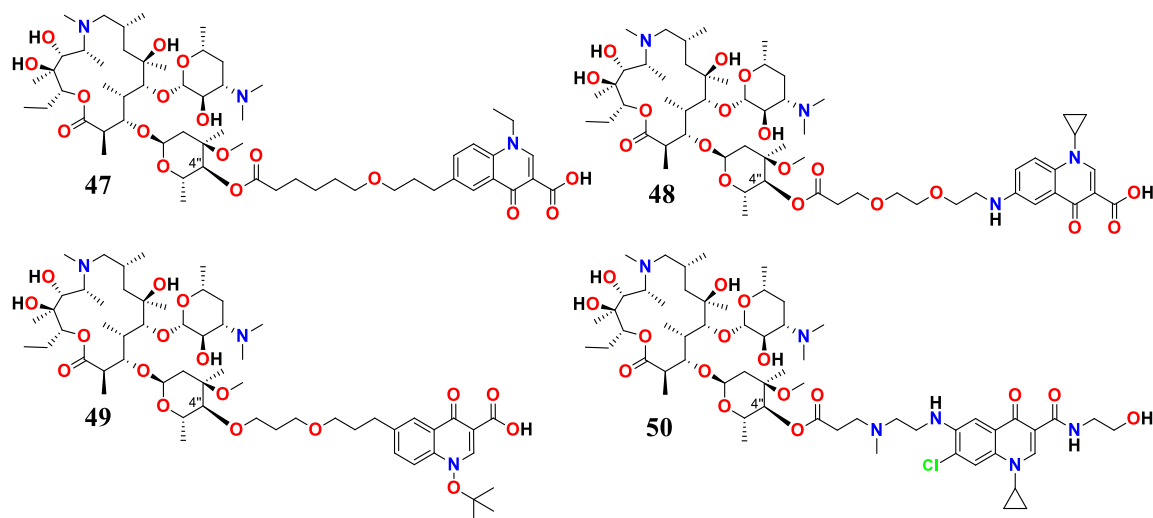
Rysunek 40. Miejsce i rodzaj przeprowadzanych przykładowych modyfikacji antybiotyków o 15-członowych pierścieniach.

4.1 Modyfikacje w obrębie kladynozy

Analogicznie do modyfikacji przeprowadzonych na antybiotykach o 14-członowych pierścieniach, przekształcenia chemiczne dokonane na kladynozie, przyłączonej do 15-członowego aglikonu, były przeprowadzone w obrębie grupy hydroksylowej w pozycji C(4'').

Hybrydowe pochodne, łączące aza-makrolid wraz z *N*-podstawioną cząsteczką chinolonu poprzez eterowy lub aminowy łącznik przyłączony do kladynozy wiązaniem eterowym lub estrowym, zostały otrzymane przez chorwackich naukowców.^{111,166–169} *N*-etylowy (**47**, [Rysunek 41](#)) oraz *N*-cyklopropylowy (**48**, [Rysunek 41](#)) podstawnik w części chinolonu, w przeciwieństwie do podstawnika *N*-*O*-*tert*-butylowego (**49**, [Rysunek 41](#)),

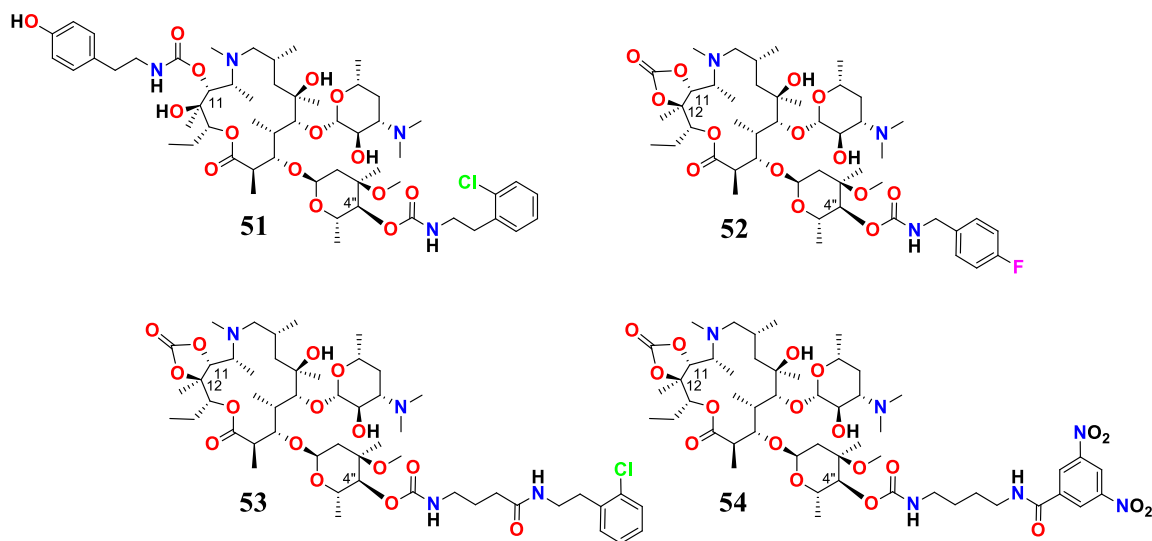
niezależnie od struktury łącznika oksa-alkilowego, nadaje cząsteczce dobrą biodostępność oraz zapewnia wysoką aktywność przeciwko szczepom bakteryjnym *H. influenzae*. Z kolei to właśnie ten ostatni związek wykazał najwyższą aktywność przeciwko szczepom *S. aureus* i *S. pyogenes*, osiągając wartości MIC takie, jak dla wzorcowych antybiotyków: azytromycyny i klarytromycyny. Natomiast wprowadzenie łącznika zawierającego *N*-metylowany atom azotu, zakończonego chinolonowym podstawnikiem z przyłączonym atomem chloru oraz grupą amidową (**50**, Rysunek 41), znacząco obniżyło aktywność przeciwbakteryjną związku.



Rysunek 41. Przykładowe pochodne azytromycyny z wprowadzonymi podstawnikami poprzez łączniki mono-eterowe (**47** i **49**) i di-eterowe (**48**) oraz łącznik zawierający atom azotu (**50**).

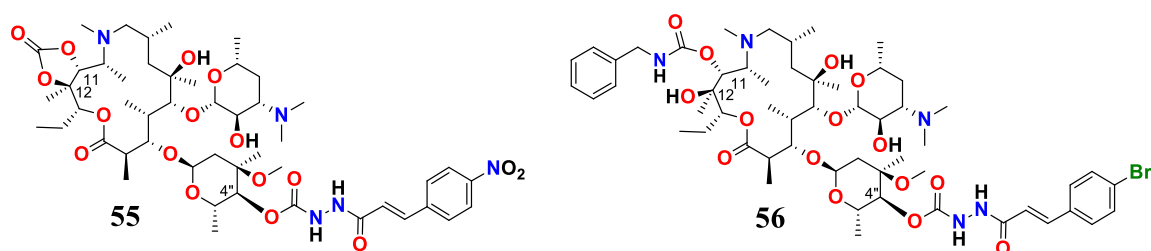
Analogicznie do makrolidów o 14-członowych pierścieniach, również na aza-makrolidach przeprowadzono modyfikacje polegające na funkcjonalizacji kładynozy 4''-*O*-karbamoilowymi podstawnikami. Ma i współpracownicy, poprzez karbaminian, wprowadzili podstawniki aromatyczne do struktury cukru (**51** - **54**, Rysunek 42).¹⁷⁰ Związek, który w pozycji C(12) dodatkowo został rozbudowany o podstawnik fenetylowy (**52**), wykazał 32-krotnie wyższą aktywność wobec szczepu *S. pneumoniae* B1 od analogu posiadającego blokadę węglanową w pozycji C(11)-C(12) (**51**), osiągając wartość MIC wynoszącą 0,25 µg/ml (wartość dla klarytromycyny wynosi 64 µg/ml). Badania naukowców wykazały, że wydłużenie podstawnika poprzez 4''-*O*-karbamoilowe ramię oraz równoczesna obecność węglanu w pozycji C(11)-C(12) zwiększa znacząco aktywność azalidów wobec szczepu *S. pneumoniae* AB11.¹⁷¹⁻¹⁷³ Otrzymane związki (**53** i **54**) z kolei

okazały się być mniej aktywne od standardowych makrolidów na wszystkie inne testowane szczepy bakteryjne.



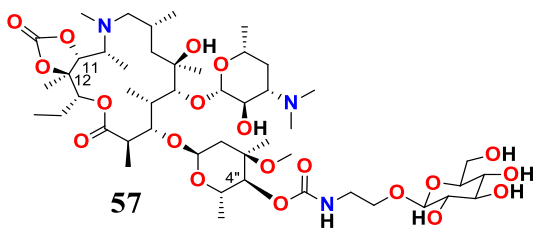
Rysunek 42. Karbamoilowe pochodne azytromycyny z wprowadzonymi podstawnikami aromatycznymi w pozycji C(4'') kładynozy oraz podstawnikiem w pozycji C(11) (**51**) lub blokadą węglanową w pozycji C(11)-C(12) (**52-54**).

Specyficznym przykładem modyfikacji związków zawierających rozbudowane ramiona 4''-O-karbamoilowe była synteza pochodnych posiadających ramiona zawierające łączniki bis-hydrazydowe, funkcjonalizowane aromatycznymi podstawnikami.¹⁷⁴ Pochodne te, zawierające w swojej strukturze wiązania podwójne (**55** i **56**, **Rysunek 43**), niezależnie od rodzaju podstawnika obecnego w pozycji C(11) i C(12) nie wykazywały wysokiej aktywności przeciwbakteryjnej.



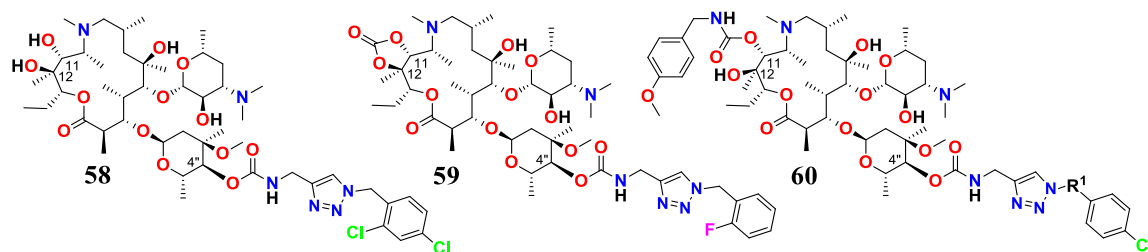
Rysunek 43. Pochodne azytromycyny posiadające wiązanie podwójne w strukturze hydrazydowego łącznika zakończonego aromatycznym podstawnikiem.

Z kolei wstawienie sacharydowego podstawnika do przyłączonego 4''-O-karbamoilowego łącznika (**57**, **Rysunek 44**) poprawiło nieznacznie potencjał przeciwbakteryjny związku wobec szczepu bakterii Gram-ujemnej – *E. coli*.¹⁷⁵



Rysunek 44. Pochodna azytromycyny z przyłączonym w pozycji C(4'') łącznikiem karbamoilowo-alkilowym zakończonym cząsteczką sacharydu.

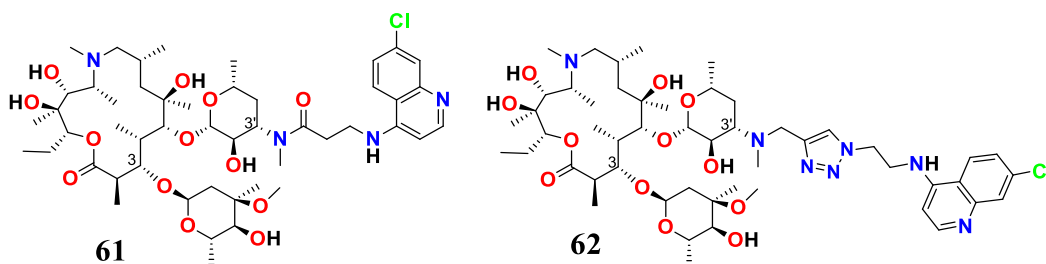
Azalidy posiadające właściwości przeciwbakteryjne wobec szczepu bakteryjnego *E. coli* zostały również otrzymane przez Ma i współpracowników.¹⁷⁶ Otrzymali oni związki, w których do aglikonu w pozycji C(4''), poprzez wiązanie karbaminianowe, przyłączony był podstawnik aromatyczny wraz z pierścieniem triazolowym zsyntezowanym w wyniku reakcji cykloadycji Huisgena (**58** - **60**, Rysunek 45). Najbardziej aktywne okazały się związki podstawione dodatkowo grupą aromaticzną przyłączoną przez karbaminian w pozycji C(11) aglikonu (**60**). Pochodne te wykazały aktywność wyższą zarówno od klarytromycyny, jak i azytromycyny, na szczepy Gram-dodatnie i Gram-ujemne. Mniej aktywne okazały się być związki posiadające wolne grupy hydroksylowe w pozycji C(11) i C(12) (**58**), a aktywność związków posiadających w tym miejscu blokadę węglanową (**59**) była najniższa.



Rysunek 45. Pochodne azytromycyny posiadające podstawniki karbamoilowo-triazolowo-aromatyczne w pozycji C(4'').

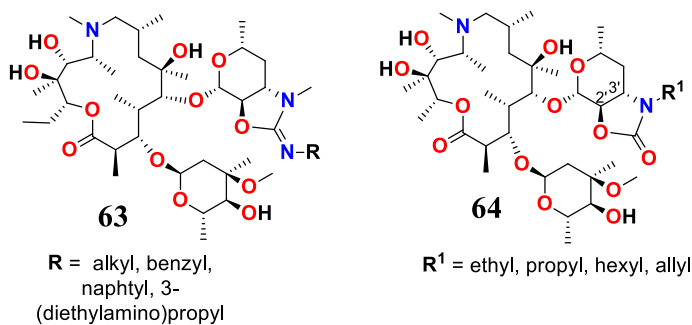
4.2 Modyfikacje w obrębie dezozaminy

Dezozaminowy atom azotu 15-członowych antybiotyków makrolidowych, analogicznie do 14-członowych makrolidów, był również poddawany modyfikacjom. Perić i współpracownicy przyłączyli do niego chloro-chinolinowe podstawniki (**61**, Rysunek 46).¹⁷⁷ Pochodne te wykazały obniżoną aktywność przeciwbakteryjną, osiągnęły natomiast bardzo wysoką aktywność antymalaryczną przeciwko szczepom *P. falciparum* (opornym i wrażliwym) na poziomie nanomolowym.



Rysunek 46. Pochodne azytromycyny posiadające zmodyfikowaną grupę *N,N*-dimetylową z przyłączonym podstawnikiem chinolonowym.

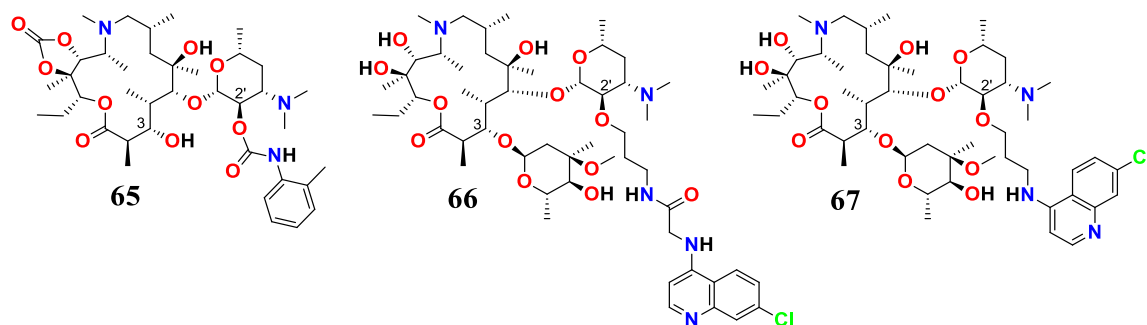
Powyższe pochodne otrzymane przez zespół Perić'a były stabilne chemicznie i nie posiadały elektrofilowego podstawnika w pobliżu grupy hydroksylowej przyłączonej do atomu węgla C(2'). Z kolei Bosnar wraz z grupą naukowców wykorzystali tę grupę do utworzenia nowych, specyficznych pochodnych.¹⁷⁸ Przeprowadzili oni proces syntetyczny, w którym usunęli grupę metylową przyłączoną do atomu azotu na dezoaminie, a następnie wykorzystując elektrofilowe właściwości izocyjanianu otrzymali pochodne posiadające *N*-podstawione-2'-*O*,3'-*N*-karbonimidolowe mostki (**63**, Rysunek 47). Związki te nie wykazywały aktywności biologicznej wobec testowanych szczepów bakteryjnych. Podobne związki, zawierające *N*-metylo- i hydroksylo-*O*(2')*H* mostki (**64**, Rysunek 47), otrzymał Kragol wraz ze współpracownikami.¹⁷⁹ Również były one nieaktywne.



Rysunek 47. Pochodne azytromycyny posiadające mostki spinające grupę hydroksylową w pozycji C(2') z atomem azotu w pozycji C(3').

Antybiotyki azalidowe modyfikowane były też poprzez wprowadzenie podstawnika bezpośrednio w pozycji C(2'). Ma wraz ze współpracownikami zsyntezowali 3-*O*-dekladonyzowane-2'-*O*-karbamoilowe pochodne azytromycyny (**65**, Rysunek 48).¹⁸⁰ Pomimo założenia blokady węglanowej w pozycji C(11)-C(12), usunięcie kladynozy i wprowadzenie podstawnika na grupie hydroksylowej w pozycji C(2') skutkowało obniżeniem aktywności biologicznej otrzymanych związków. Wyjątek stanowił jeden

szcep, *S. pneumoniae* A22072, wobec którego zauważono dwukrotnie wyższą aktywność od azytromycyny. Perić i jego współpracownicy również otrzymali nowe azalidy posiadające w pozycji C(2') eterowo-alkilowy łącznik zakończony chlorochinolinowym podstawnikiem (**66** i **67**, Rysunek 48).¹⁸¹ Związki te okazały się być całkowicie nieaktywne wobec typowych dla makrolidów szczepów bakteryjnych. Ciekawym odkryciem były natomiast ich przeciwmalaryczne właściwości. Pochodne te były 1000-krotnie bardziej aktywne na malarię od azytromycyny.

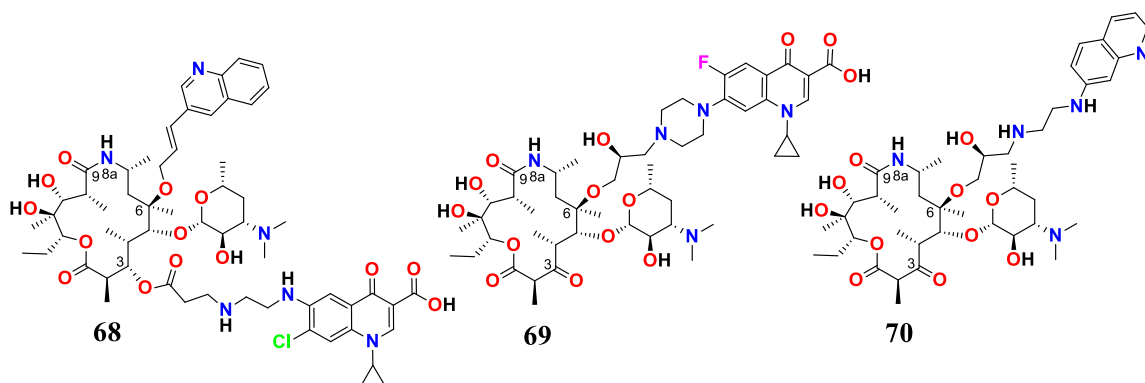


Rysunek 48. Pochodne antybiotyków o 15-członowych pierścieniach posiadające aromatyczne podstawniki wprowadzone na karbaminianowych (**65**) i eterowych (**66** i **67**) łącznikach.

4.3 Modyfikacje w pozycji C(6)

Modyfikacje przeprowadzane przy atomie węgla w pozycji C(6) azalidów, tak jak 14-członowych makrolidów, obejmują przyłączenie podstawnika poprzez stabilne wiązanie eterowe, wykorzystujące wolną grupę hydroksylową znajdującą się w tej pozycji. Pavlović wraz ze współpracownikami zsyntezowali nowe, 15-członowe azalidy posiadające usztywniony wiązaniem podwójnym łącznik w pozycji C(6), zakończony heterocyklem (**68**, Rysunek 49).¹⁸² Dodatkowo pochodne te posiadały w pozycji C(3) aminowy łącznik przyłączony wiązaniem estrowym i zakończony chinolonowym podstawnikiem. Związek ten wykazywał aktywność na poziomie antybiotyku III generacji – telitromycyny. W testach *in-vivo* osiągnął on 4-krotnie wyższą aktywność wobec szczepu *S. aureus* i nawet 6-krotnie wyższą skuteczność przeciw *S. pneumoniae* w porównaniu do klarytromycyny. Ta sama grupa naukowców otrzymała również ketolidowe pochodne homoerytromycyny A, posiadające wysoko sfunkcjonalizowane, eterowe ramiona w pozycji C(6), zakończone heterocyklicznymi podstawnikami (**69** i **70**, Rysunek 49).^{183,184} Otrzymane na drodze wieloetapowej syntezy związki działały bardzo skutecznie na wiele opornych Gram-dodatnich szczepów klinicznych oraz wykazywały wyższą aktywność

od antybiotyków III generacji, takich jak telitromycyna czy cetromycyna, przeciwko szczepom *H. influenzae* i *M. catarrhalis*.

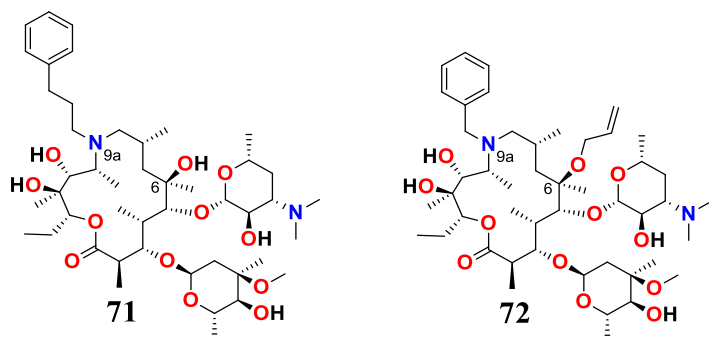


Rysunek 49. Przykłady hybrydowych pochodnych estrowych (**68**) i ketolidowych (**69** i **70**) 8a-azahomoerytromycyny.

4.4 Modyfikacje w pozycji N(9a)

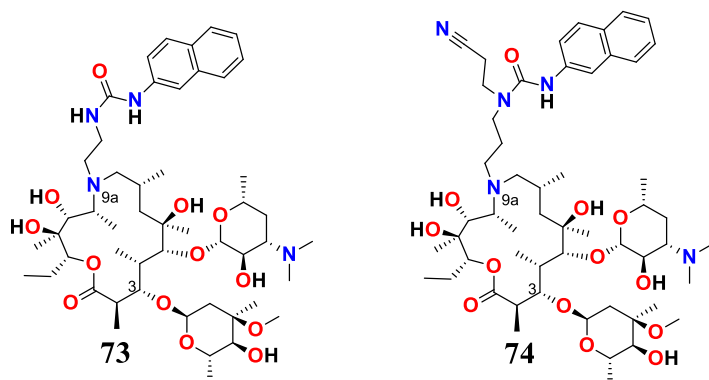
Antybiotyki makrolidowe o 15-członowych pierścieniach, w przeciwieństwie do 14-członowych makrolidów, nie mają grupy ketonowej przyłączonej do atomu węgla w pozycji C(9). Posiadają natomiast atom azotu, który został włączony do pierścienia aglikonowego. Modyfikacje takich azalidów polegają na wydłużeniu ramienia w pozycji N(9a) poprzez wprowadzenie odpowiedniego podstawnika. Zaobserwowano, że modyfikowana w tej pozycji azytromycyna wykazuje aktywność przeciwko pierwotniakom wywołującym malarię.

Khosla i współpracownicy przeprowadzili syntezę dwóch serii *N*-(9a)-podstawionych pochodnych, z których jedna dodatkowo posiadała zablokowaną grupę hydroksylową w pozycji C(6) (**71** i **72**, Rysunek 50).¹⁸⁵ Związki te posiadały zredukowaną aktywność przeciwbakteryjną wobec *B. subtilis*, ale przejawiały aktywność względem *T. gondii*. Zmiana profilu działania z przeciwbakteryjnych na przeciw pasożytnicze antybiotyków została wytłumaczona w oparciu o molekularny model dużej podjednostki rybosomu apikoplastu pasożytniczego. Przyczyną był inny model wiązania antybiotyku do rybosomu w stosunku 2:1, co uniemożliwiało oddziaływanie wprowadzonych podstawników aromatycznych z podjednostką białkową L22.

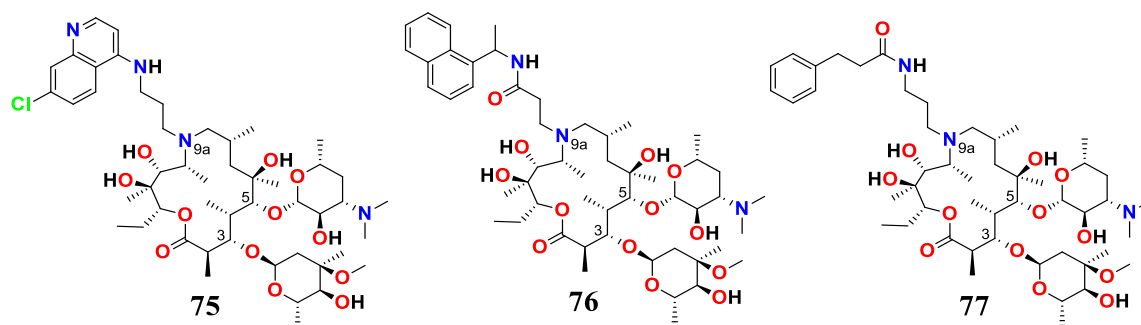


Rysunek 50. Przykłady N(9a)-funkcjonalizowanych pochodnych azalidowych.

Hutinec i Bukvić Krajačić wprowadzili w pozycji N(9a) aglikonu nowe mocznikowe łączniki zakończone aromatycznymi podstawnikami (**73** i **74**, [Rysunek 51](#)).^{186–188} Pochodne wykazywały wysoką aktywność wobec pierwotniakowi wywołującemu malarię, z rodzaju *P. falciparum*. Dodatkowo związki te wykazywały bardzo wysokie wartości cytotoksyczności na poziomie mikromolowym przeciwko linii komórkowej raka wątroby (Hep-G2) oraz ludzkiej białaczki monocytowej (THP-1). Podobne pochodne zsyntezował Perić wraz ze współpracownikami.¹⁸⁹ Otrzymali oni, w wyniku wprowadzenia aminowego lub amidowego łącznika zakończonego arylowym podstawnikiem (**75** - **77**, [Rysunek 52](#)), związki wykazujące dobrą biodostępność, które były nieco bardziej aktywne od pochodnych z mocznikowymi łącznikami. Otrzymane nowe azalidy wykazały wyższą skuteczność w testach *in vivo* i ponad stukrotnie wyższą aktywność od azytromycyny.

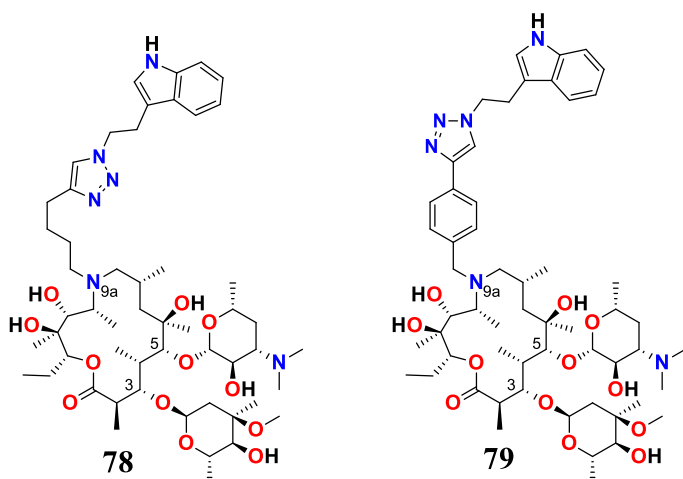


Rysunek 51. Przykłady N(9a)-alkilomocznikowych pochodnych aza-makrolidowych.



Rysunek 52. N(9a)-alkiloaminowe (**75**) i N(9a)-alkiloamidowe (**76** i **77**) pochodne azytromycyny.

Z kolei wprowadzenie przez amerykańskich naukowców, w pozycji N(9a) azytromycyny, alkilowego łącznika zakończonego triazolowo-alkilowo-indolowym podstawnikiem (**78** i **79**, Rysunek 53), doprowadziło do otrzymania nowych pochodnych azalidowych.¹⁹⁰ Związki te, poprzez oddziaływania π - π stabilizujące, pomiędzy cząsteczką indolu, a nukleotidem A751 bakteryjnego rybosomu, blokowały proces translacji.

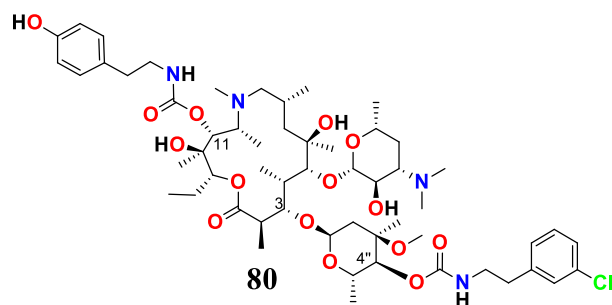


Rysunek 53. Przykłady N(9a)-alkilo-triazolo-indolowych pochodnych antybiotyków 15-członowych.

4.7 Modyfikacje w pozycji C(11)

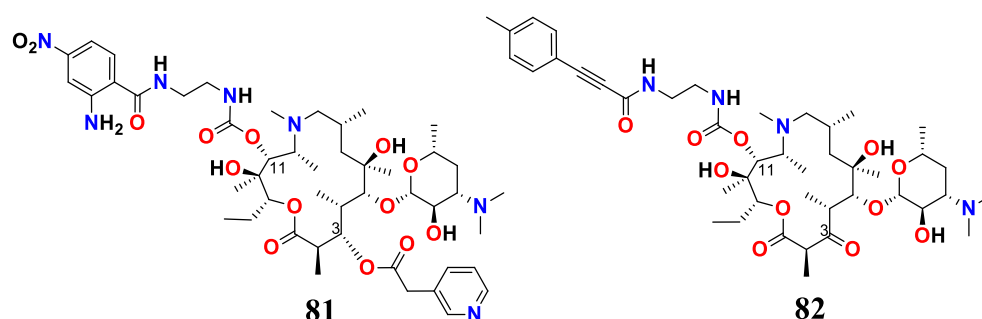
Modyfikacje w pozycji C(11) azytromycyny, przeprowadzone przez Shena i współpracowników, polegały na wprowadzenie do cząsteczki karbaminianowych łączników zakończonych aromatycznymi podstawnikami (**80**, Rysunek 54).¹⁹¹ Otrzymali oni pochodne, które dodatkowo były modyfikowane w pozycji C(4'') kladynozy, poprzez przyłączenie aromatycznego podstawnika na łączniku. Otrzymane związki wykazywały potencjał przeciwbakteryjny na podobnym poziomie do azytromycyny, uzyskały

natomiast 8- i 16-krotnie wyższą aktywność, względem odpowiednio klarytromycyny i azytromycyny, jedynie wobec szczepów *S. pneumoniae* AB11.



Rysunek 54. Pochodna azytromycyny modyfikowana poprzez równoczesne podstawienie karbaminianowych łączników zakończonych aromatycznymi podstawnikami w pozycji C(11) i C(4'').

Ma i współpracownicy zsyntezowali inny typ karbaminianowych pochodnych w pozycji C(11) - posiadających podstawniki zakończone amidowymi pochodnymi (**81**, Rysunek 55) oraz mające usztywnione ramiona zakończone aromatycznymi podstawnikami (**82**, Rysunek 55).^{192,193} Najbardziej aktywna pochodna posiadała w pozycji C(11) karbaminianowo-amidowe ramię zakończone podstawioną grupą fenylową oraz podstawnik pirydynowy przyłączony w pozycji C(3). W testach aktywności przeciwbakteryjnej wykazała takie same wartości wobec szczepu *S. pyogenes* jak klarytromycyna i azytromycyna (MIC = 0,03 µg/ml). Z kolei związek, który posiadał w pozycji C(11) karbaminianowo-amidowe ramię zakończone wiązaniem potrójnym i podstawnik ketonowy przy atomie węgla C(3) (**82**), osiągnął aktywność ośmiokrotnie niższą (MIC = 0,25 µg/ml). Wynik ten wskazuje, że zwiększenie sztywności ramienia przyłączonego w pozycji C(11) nie zwiększa potencjału biologicznego 15-członowych antybiotyków makrolidowych.



Rysunek 55. C(11)-karbaminianowo-amidowe pochodne azalidowe posiadające podstawnik acylowy (**81**) lub keton (**82**) w pozycji C(3).

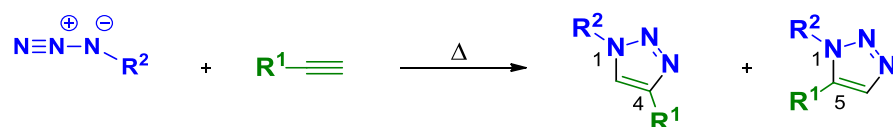
4.9 Modyfikacje w pozycji C(11)-C(12)

Dla 14-członowych antybiotyków makrolidowych modyfikacje w pozycji C(11)-C(12) stanowią podstawę do rozwijania długich karbaminianowych ramion, zakończonych różnymi podstawnikami. Antybiotyki 15-członowe, ze względu na inną budowę pierścienia makrolidowego, nie ulegają takim samym modyfikacjom. Dodatkowo, przez ich odmienny sposób wiązania części aglikonowej w tunelu rybosomalnym, część modyfikacji nie jest przeprowadzana, gdyż nie prowadzą one do uzyskania związków o wyższym potencjale przeciwbakteryjnym. Z tego powodu przekształcenie azytromycyny w pozycji C(11)-C(12) ograniczało się jedynie do założenia blokady węglanowej na dwie grupy hydroksylowe.

V Dipolarna cykloaddycja Huisgena

1. Reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena jako przykład reakcji chemii „click”

1,3-dipolarna cykloaddycja została opisana po raz pierwszy w latach 60. ubiegłego wieku, przez niemieckiego chemika – Rolfa Huisgena.¹⁹⁴ Jest to reakcja chemiczna zachodząca pomiędzy acetylenami a azydkami, prowadząca do utworzenia pięciocząłowego pierścienia triazolowego, podstawionego w pozycji 1,4 lub 1,5 – w zależności od warunków reakcji (Schemat 6). Cykloaddycja ta, obecnie uznawana za jedną z najpopularniejszych reakcji chemii „click”, nie była początkowo zaliczana do tej klasy reakcji.¹⁹⁵ Aby móc zakwalifikować daną reakcję do nurtu chemii „click”, musi ona spełniać następujące założenia: reakcja powinna być modułowa, o szerokim zakresie stosowalności, zachodząca z wysoką wydajnością. Ponadto, reakcja powinna być stereospecyficzną, a powstające produkty uboczne powinny być nieszkodliwe i możliwe do wykorzystania jako substraty innych chemicznych przekształceń. Warunki samej reakcji powinny być możliwie jak najprostsze, jeśli jest taka możliwość – reakcja powinna zachodzić bez użycia rozpuszczalnika, ewentualnie użyty rozpuszczalnik powinien być łatwo usuwalny, a substraty i reagenty – łatwo dostępne.¹⁹⁶ Początkowo klasyczna reakcja 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena nie spełniała powyższej definicji. Odkrycie i zastosowanie przez Meldala¹⁹⁷ i Sharplessa¹⁹⁸ soli miedzi na I stopniu utlenienia jako katalizatora zmieniło tę reakcję, zachodzącą w ciężkich warunkach i prowadzącą do mieszaniny 1,4- i 1,5-regioizomerów, w regioselektywną reakcję, która może być przeprowadzana w krótkim czasie nawet w temperaturze pokojowej. Zastosowanie katalizatora miedziowego w cykloaddycji pomiędzy alkinem a azydkiem spowodowało, że reakcja ta tak bardzo wpasowała się w definicję chemii „click”, że stała się wręcz jej synonimem.¹⁹⁵



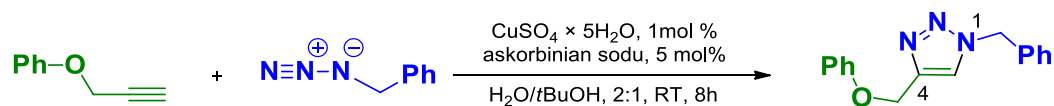
Schemat 6. Schemat reakcji cykloaddycji Huisgena.

2. Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena katalizowanej jonami miedzi(I)

Zastosowanie dodatku soli miedzi na I stopniu utlenienia, jako katalizatora, znacznie usprawniło przebieg reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji. Dodatek ten nie tylko przyspieszył zajście samego procesu i zwiększył jego wydajność, ale również spowodował, że reakcja ta stała się regioselektywna. Badania nad zastosowaniem katalizatora miedziowego przeprowadziła grupa naukowców pod kierownictwem Sharplessa¹⁹⁸. Zaproponowali oni mechanizm przebiegu tejże reakcji na podstawie obliczeń DFT. Następnie Maarseveen wraz ze współpracownikami¹⁹⁹ zaproponowali odmienny sposób przebiegu reakcji.

2.1 Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji zaproponowany przez Sharplessa i współpracowników

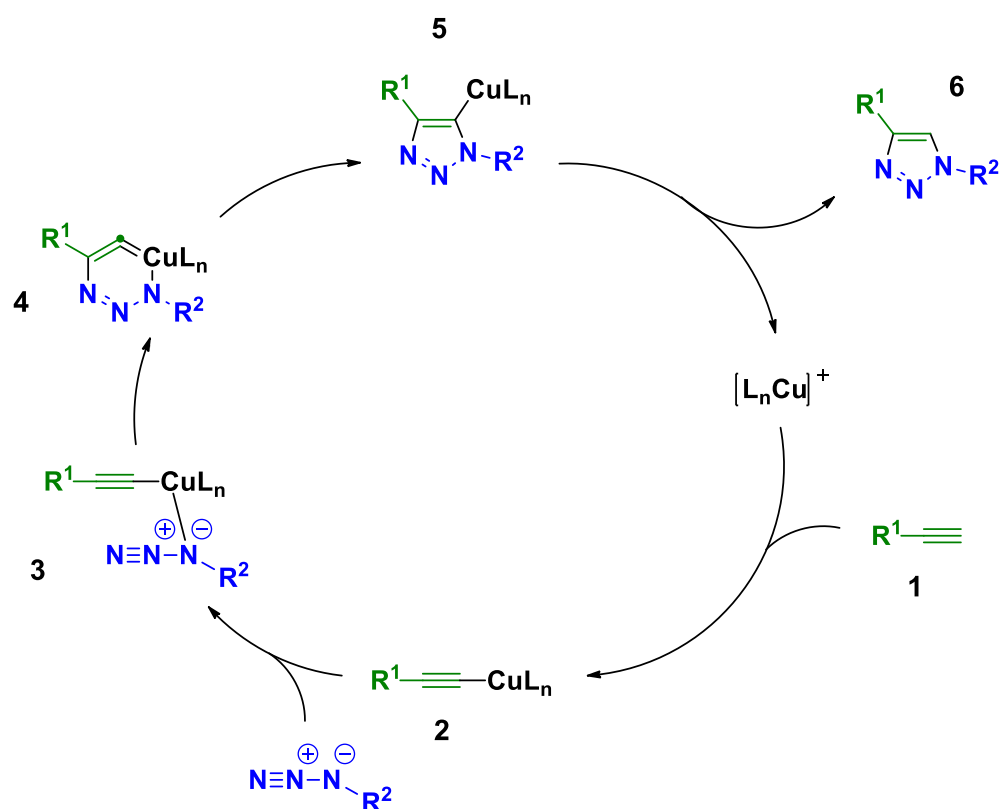
Sharpless wraz ze współpracownikami¹⁹⁸ stosując różne katalizatory miedziowe rozwiązał problem powstawania 1,4- i 1,5-regioizomerów. Przeprowadzili oni badania reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji z zastosowaniem różnych związków miedzi(I), tj.: CuI, CuOTf·C₆H₆ czy [Cu(NCCH₃)₄][PF₆], i zauważyli, że często podczas reakcji z zastosowaniem powyższych soli powstają produkty uboczne. Badania wykazały, że pomimo możliwości bezpośredniego zastosowania soli miedzi na I stopniu utlenienia, bardziej niezawodne i prostsze jest użycie katalizatora tworzonego *in situ* w wyniku redukcji soli miedzi(II). Zastosowanie siarczanu(VI) miedzi(II) wraz z reduktorem, tj. kwasem askorbinowym lub askorbinianem sodu, prowadzi do znakomitych wydajności reakcji tworzenia triazolu (Schemat 7).



Schemat 7. Przykład reakcji 1,3—dipolarnej cykloaddycji Huisgena katalizowanej jonami miedzi (I).

Na podstawie badań eksperymentalnych oraz teoretycznych obliczeń, Sharpless wraz ze współpracownikami zaproponowali mechanizm tej reakcji (Schemat 8). Jako ligand (L) jonów miedzi(I) używany był acetonitryl, pełniący równocześnie rolę rozpuszczalnika

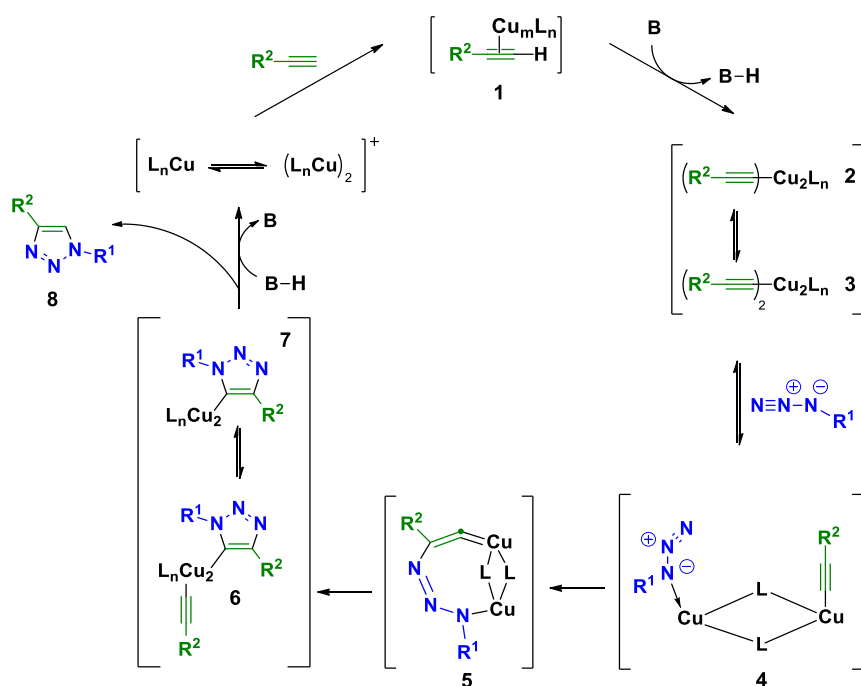
w reakcji cykloaddycji. Cykl reakcyjny rozpoczyna się od utworzenia cząsteczki acetylenku miedzi(I) (**2**) w wyniku zastąpienia jednego ligandu alkinem (**1**). Następnie kolejna cząsteczka ligandu zastępowana jest przez cząsteczkę azydku. Przyłączona zostaje ona do atomu miedzi wiązaniem z atomem azotu znajdującym się najbliżej atomu węgla (**3**). W kolejnym kroku, atom azotu z azydku, znajdujący się najdalej od atomu węgla, atakuje atom węgla C(2) acetylenku tworząc nietypowy produkt pośredni - 6-członowy pierścień cykliczny zawierający w swojej strukturze atom miedzi (**4**). Następnie dochodzi do reakcji przegrupowania, której wynikiem jest kontrakcja z 6- do 5-członowego pierścienia triazolowego z przyłączonym kompleksem miedziowym do atomu węgla C(5) (**5**). W końcowym etapie cyklu następuje odłączenie kompleksu miedź-ligand, co prowadzi do uzyskania pochodnej triazolowej (**6**) z równoczesnym odtworzeniem katalizatora.



Schemat 8. Mechanizm reakcji cykloaddycji Huisgena zaproponowany przez Sharplessa i współpracowników.

2.2 Mechanizm reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji zaproponowany przez Maarseveena i współpracowników

Maarsveen wraz ze współpracownikami¹⁹⁹, na podstawie badań kinetycznych oraz obliczeń matematycznych, zaproponowali inny model wieloetapowego mechanizmu reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji katalizowanej jonami miedzi(I) (Schemat 9). Katalityczny cykl reakcyjny zapoczątkowany zostaje poprzez tworzący się kompleks związku miedzi(I) z alkinem (**1**) w wyniku oddziaływań π . W wodnym roztworze następuje formowanie kompleksu (**2**), który z kolei łatwo przyłącza kolejną cząsteczkę alkinu tworząc nowy kompleks (**3**). Jeden z atomów miedzi aktywuje alkin, z kolei drugi – aktywuje azydek tworząc dimer (**4**). Kompleks w tej postaci wpływa na zwiększenie aktywności acetylenku poprzez zmniejszenie gęstości elektronowej na grupie alkilowej. W wyniku tych zmian możliwy jest nukleofilowy atak atomu węgla C(4) na atom azotu N-3, czego wynikiem jest utworzenie związku cyklicznego (**5**). Następnie, poprzez przeniesienie pary elektronowej, dochodzi do przegrupowania pierścienia i utworzenia produktu przejściowego **6**, który z kolei przekształca się w związek **7**. W wyniku protonacji następuje oddysocjowanie produktu końcowego – triazolu (**8**) z równoczesnym odtworzeniem katalizatora.



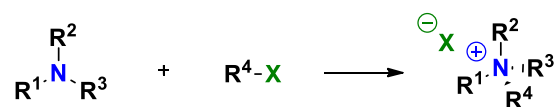
Schemat 9. Mechanizm reakcji cykloaddycji Huisgena zaproponowany przez Maarseveena i współpracowników.

VI Czwartorzędowe sole amoniowe

1. Synteza czwartorzędowych soli amoniowych

Czwartorzędowe sole to specyficzna grupa związków wywodząca się z amin, w której czwartorzędowy jon amoniowy, niezależnie od panującego pH roztworu, zawsze posiada ładunek dodatni.²⁰⁰ Związki te zawierają atom azotu z przyłączonymi czterema alkilowymi bądź aryłowymi podstawnikami.²⁰¹

Metodą syntezy czwartorzędowych soli amoniowych jest reakcja Menshutkina, obecnie znana jako czwartorzędowanie.²⁰² Jest to specyficzna reakcja substytucji typu S_N2 pomiędzy trzeciorzędową aminą, a halogenkiem alkilowym bądź aryłowym (Schemat 10). W 1980 roku Menshutkin opisał wpływ efektu rozpuszczalnika na proces alkilacji trzeciorzędowych amin przez halogenki alkilowe, który jest trochę inny niż w przypadku klasycznych reakcji typu S_N2. Zauważył on, że szybkość reakcji wzrasta drastycznie przy użyciu protycznego rozpuszczalnika polarnego, w przeciwieństwie do standardowej reakcji substytucji nukleofilowej drugiego typu.²⁰³



Schemat 10. Schemat reakcji Menshutkina.

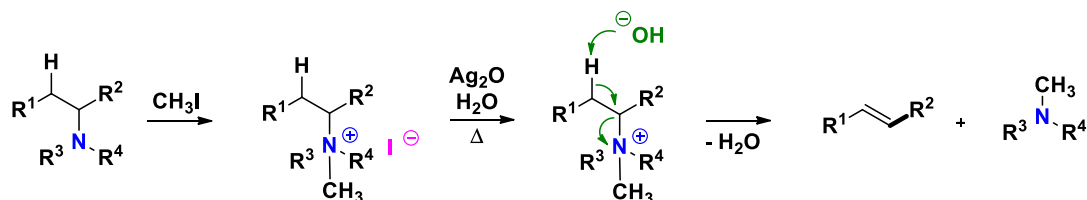
2. Stabilność i reaktywność czwartorzędowych soli amoniowych

Czwartorzędowe sole amoniowe są związkami zazwyczaj trwałymi w środowisku neutralnym i kwasowym, nawet w temperaturze do 150 °C.²⁰⁴ Nie reagują one z silnymi elektrofilami, utleniaczami czy kwasami, jak również z większością nukleofili. W środowisku zasadowym, natomiast, czwartorzędowe sole amoniowe są bardziej podatne na rozpad. W przypadku reakcji z silnymi zasadami ulegają one różnym reakcjom degradacji czy przegrupowaniom, które zostały opisane poniżej.

2.1 Eliminacja Hofmanna

Eliminacja Hofmanna to reakcja w wyniku której amina, ulegając reakcji metylowania z nadmiarem jodometanu, przekształcają się w czwartorzędową sól amoniową, która z kolei po ogrzaniu z tlenkiem srebra (Ag₂O) ulega eliminacji tworząc alken (Schemat 11).^{201,205} W reakcji tej tlenek srebra wymienia w czwartorzędowej soli jon jodkowy na jon hydroksylowy. W wyniku tej wymiany dostarczona zostaje zasada

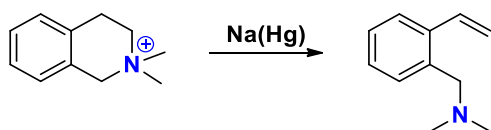
potrzebna do reakcji eliminacji, zachodzącej zgodnie z mechanizmem eliminacji typu E2. W reakcji tej jon hydroksylowy eliminuje proton, a dodatkowo naładowany atom azotu staje się grupą opuszczającą. Głównym produktem eliminacji Hofmanna czwartorzędowych soli amoniowych jest alken mniej podstawiony, powstały niezgodnie z zasadą Zajcewa, w przeciwieństwie do większości produktów eliminacji typu E2.



Schemat 11. Schemat reakcji eliminacji Hofmanna.

2.2 Degradacja Emde

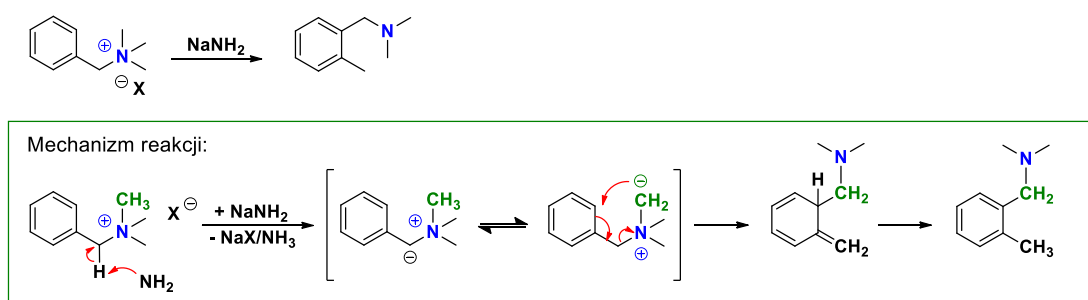
Reakcja degradacji Emde została po raz pierwszy opisana przez niemieckiego chemika Hermanna Emde w 1909 roku i przez wiele lat była ona uważana za jedną z podstawowych reakcji umożliwiających ustalenie struktury wielu alkaloidów.²⁰⁶ Reakcja ta jest metodą redukcji czwartorzędowych soli amoniowych do trzeciorzędowych amin z zastosowaniem amalgamatu sodu jako czynnika redukującego (**Schemat 12**). Reduktor ten nie jest odpowiedni w przypadku redukcji czwartorzędowych soli amoniowych zawierających cztery nasycone grupy alkilowe.²⁰² Redukcja ta może zostać przeprowadzona z zastosowaniem innego czynnika redukującego, np.: trietyloborowodorkiem litu lub roztworem sodu w ciekłym amoniaku²⁰² czy Niklem Raneya^{206,207} – jednakże wówczas nie możemy mówić o redukcji Emde, gdyż termin ten zarezerwowany jest jedynie dla reakcji katalizowanej amalgamatem sodu w roztworze wodnym.



Schemat 12. Przykład reakcji degradacji Emde.

2.3 Przegrupowanie Sommeleta-Hausera

Przegrupowanie Sommeleta-Hausera jest to przegrupowanie, które zachodzi w wyniku reakcji benzyloowych czwartorzędowych soli amoniowych z amidkami. Produktem tej reakcji jest *N,N*-dialkilobenzylamina z podstawioną do pierścienia benzylowego w pozycji *orto* nową grupą alkilową.²⁰² Przegrupowanie to zachodzi z wysoką wydajnością i może być przeprowadzane również w przypadku obecności innych podstawników w pierścieniu.²⁰⁸ Mechanizm tej reakcji przedstawiony jest na [Schemacie 13](#). Reakcja rozpoczyna się od odebrania, przez amidek, najbardziej kwaśnego protonu z benzylowej soli amoniowej i prowadzi do powstawania ylidu. Następnie tworzy się nowy produkt będący w równowadze z ylidem, który to może ulec przegrupowaniu. Mechanizm zgodnie z którym przebiega sam etap przegrupowania Sommeleta-Hausera to [2,3]-sigmatropowe przegrupowanie. Produktem końcowym tej reakcji jest *N,N*-dialkilobenzylamina z podstawioną w pozycji *orto* grupą alkilową.²⁰²

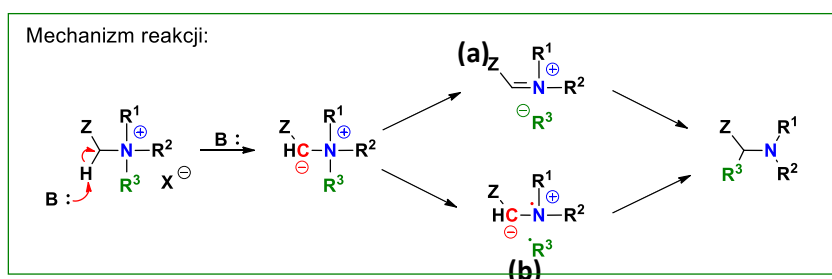
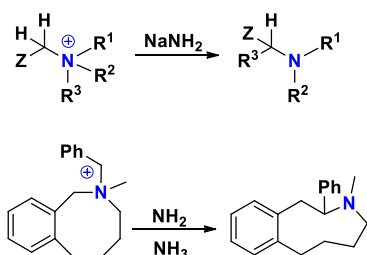


Schemat 13. Przykład przegrupowania Sommeleta-Hausera wraz z mechanizmem reakcji.

2.4 Przegrupowanie Stevensa

Przegrupowanie Stevensa jest reakcją chemiczną w której czwartorzędowe sole amoniowe, w obecności silnej zasady, przekształcane są w trzeciorzędowe aminy zgodnie z mechanizmem 1,2-przegrupowania. By reakcja Stevensa mogła zajść, sole amoniowe muszą spełniać następujący warunek: jeden atom węgla, znajdujący się w bezpośrednim sąsiedztwie atomu azotu, musi mieć przyłączony podstawnik wyciągający elektrony. Reakcja ta ma zastosowanie przy powiększaniu związków cyklicznych poprzez wprowadzanie większej liczby atomów węgla do pierścienia. Przegrupowanie Stevensa zachodzi według specyficznego mechanizmu ([Schemat 14](#)). Kluczową jego reakcją jest powstawanie ylidu po deprotonacji soli amoniowej przez silną zasadę. Deprotonacja ta wspomagana jest przez przyłączoną do związku grupę wyciągającą elektrony.

Następnie wiązanie C–N grupy opuszczającej jest homolitycznie rozszczepiane i tworzy parę rodników **(a)** lub tworzy się para kation-anion **(b)**. Produktem reakcji jest nowa, trzeciorzędowa amina.²⁰²



Schemat 14. Przykład przegrupowania Stevensa wraz ze skróconym mechanizmem reakcji.

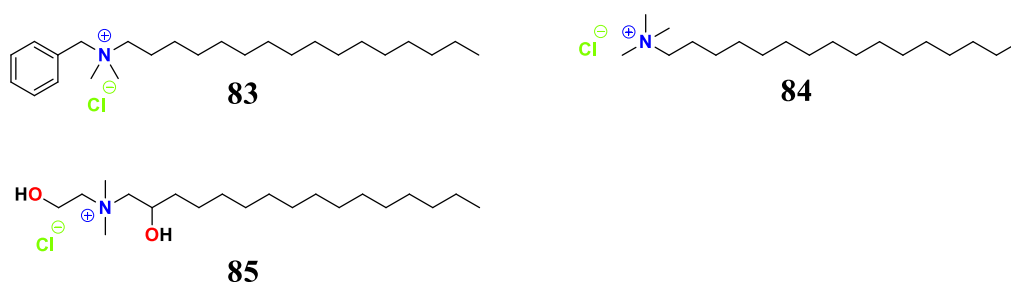
Przegrupowanie Stevensa jest reakcją konkurencyjną do reakcji przegrupowania Sommeleta-Hausera. W przypadku, gdy obie reakcje mogą zachodzić, przegrupowanie Stevensa preferencyjnie zachodzić będzie w wysokich temperaturach, a przegrupowanie Sommeleta-Hausera – w niskich.²⁰⁹

3. Zastosowanie czwartorzędowych soli amoniowych

Czwartorzędowe sole amoniowe, ze względu na swoje ciekawe i użyteczne właściwości, mają bardzo szerokie zastosowanie. Niektóre czwartorzędowe sole amoniowe, szczególnie te o dłuższych łańcuchach, np. chlorek cetalkonium (**83**, [Rysunek 56](#)) wykazują działanie przeciwbakteryjne.²¹⁰ Wykorzystywane są one jako środki odkażające i antyseptyczne w preparatach do dezynfekcji. Niektóre z nich mają również działanie przeciwgrzybiczne i przeciwwirusowe, gdyż mogą one niszczyć błonę komórkową lub otoczkę wirusową.²¹¹

Ze względu na obecność w strukturze atomu azotu o ładunku dodatnim, czwartorzędowe sole amoniowe są skutecznymi środkami antyelektrostatycznymi i wykorzystywane są w przemyśle włókienniczym. Znalazły one głównie zastosowanie

w produktach do zmiękczenia tkanin. Związki te stanowią czwartorzędowe sole amoniowe, do których poprzez wiązania estrowe przyłączone są kwasy tłuszczowe. Należą one do większej grupy związków, zwanej surfaktantami. Ulegają one degradacji w wyniku reakcji hydrolizy.²¹² Dzięki swoim właściwościom bakteriostatycznym, związki te znalazły również zastosowanie w przemyśle kosmetycznym. Po raz pierwszy firma Henkel²¹³ zastosowała, jako dodatki w szamponach i odżywkach do włosów, czwartorzędowe sole amoniowe takie jak np. chlorek cetylotrimetyloamoniowy (**84**, Rysunek 56) czy chlorek 2-hydroksyetylo-(2-hydroksyheksadecylo)-dimetyloamoniowy (**85**, Rysunek 56).

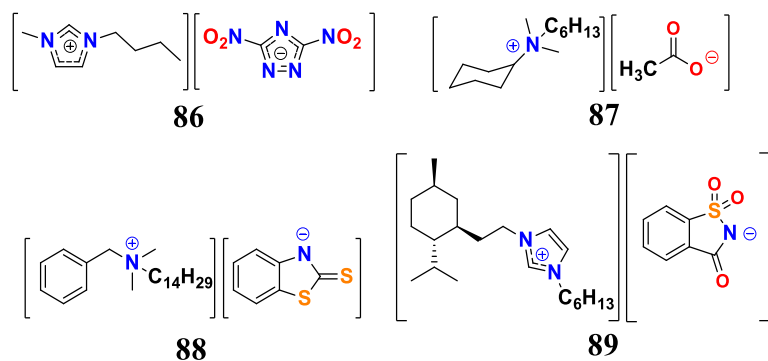


Rysunek 56. Przykłady czwartorzędowych soli amoniowych posiadających zastosowanie w przemyśle kosmetycznym.

W syntezie organicznej czwartorzędowe sole amoniowe mają duże znaczenie. Stosowane są one głównie jako katalizatory przeniesienia międzyfazowego (PTC), które umożliwiają zajście i przyspieszają reakcje prowadzone na granicy faz. Dodatek soli amoniowych w reakcji prowadzonej w układach wodno-organicznych powoduje transport reagentów z jednej fazy do drugiej, prowadząc do wytworzenia produktu reakcji. Stosowanie czwartorzędowych soli amoniowych jako katalizatorów przeniesienia międzyfazowego jest ograniczone warunkami reakcji, gdyż mogą one ulegać degradacji oraz reakcjom eliminacji w silnie zasadowych warunkach, nawet w temperaturze poniżej 70 °C.²¹⁴

Czwartorzędowe sole amoniowe są wykorzystywane również w syntezie organicznej jako medium reakcyjne. Stopiona sól amoniowa zapewnia całkowicie zjonizowane środowisko reakcyjne, relatywnie wolne od jonów solwatujących i asocjujących, które przy zastosowaniu innego rozpuszczalnika mogłyby wpływać na szybkość reakcji.²¹⁴ Dodatkowo niewątpliwą zaletą jest proces oczyszczania i rozdzielania niejonowego produktu organicznego od jonowego medium reakcyjnego, który jest niezwykle łatwy.

Najciekawszym zastosowaniem czwartorzędowych soli amoniowych są ciecze jonowe, których presuksorem były właśnie czwartorzędowe halogenki amoniowe. Ciecze jonowe (ang. Ionic Liquids, ILs) definiuje się jako związki chemiczne o jonowej budowie, charakteryzujące się temperaturą topnienia poniżej 100 °C.²¹⁵ Ta specyficzna właściwość cieczy jonowych wynika najczęściej z różnicy rozmiarów między rozbudowanym kationem organicznym, o asymetrycznej strukturze, a niewielkim anionem nieorganicznym bądź organicznym. Właściwość ta utrudnia znacząco tworzenie jednorodnej sieci krystalicznej, co w znaczący sposób obniża temperaturę krzepnięcia związków.^{216,217} Ciecze jonowe wpisują się w trend „green chemistry”, stosuje się je jako bezpieczniejsze rozpuszczalniki, pozwalają na efektywne wykorzystanie energii oraz stosowane są w reakcjach katalitycznych. Wraz z budową jonową tych związków wiąże się szereg unikatowych właściwości. Do głównych zalet zalicza się między innymi niemalże niemierzalną prężność par, co korzystnie wpływa na bezpieczeństwo przy stosowaniu ich jako rozpuszczalników i eliminuje ich emisję do środowiska.²¹⁸ Związki te charakteryzują się niską palnością i stosunkowo wysoką stabilnością termiczną.²¹⁹ Są one dobrymi przewodnikami prądu i znalazły zastosowanie jako elektrolity (**86**, Rysunek 57).²²⁰ Ciecze jonowe znalazły zastosowanie w przetwórstwie biomasy, ze względu na zdolności rozpuszczania biopolimerów, m.in. celulozy (**87**, Rysunek 57).²²¹ ILs ze względu na zaskakujące właściwości użytkowe stosowane są również jako utrwalacze tkanek miękkich²²², detergenty pokarmowe²²³ czy przyspieszacze wulkanizacji (**88**, Rysunek 57)²²⁴. Ciecze jonowe były również badane pod kątem właściwości ochronnych, znalazły zastosowanie jako efektywne środki ochrony drewna (**89**, Rysunek 57).²²⁵ Doskonale zatem widać, że związki te mają szeroki wachlarz zastosowań, który jest stale powiększany.



Rysunek 57. Przykłady cieczy jonowych znajdujących zastosowanie jako przewodniki prądu (**86**), w przetwórstwie biomasy (**87**), przyspieszacze wulkanizacji (**88**) oraz jako środki ochrony drewna (**89**).

VII Wyniki i dyskusja

W niniejszej pracy przedstawione zostały ścieżki syntetyczne prowadzące do otrzymania nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych o przebudowanych ramionach sacharydowych. Dla 50 nowych otrzymanych związków wykonane zostały testy aktywności przeciwbakteryjnej oraz przeprowadzona została analiza SAR. W rozprawie tej omówione zostały również reakcje prowadzące do utworzenia innowacyjnej, nietypowej, ketolidowej platformy, przygotowanej pod dalsze przekształcenia chemiczne. Przybliżone zostały również metody syntezy trzech nowych hybrydowych połączeń, zsyntezowanych w wyniku połączenia modyfikowanych antybiotyków makrolidowych wraz z podstawioną, wykazującą przeciwnowotworowe właściwości, kolchiceiną.

Wszystkie nowe otrzymane produkty zostały scharakteryzowane spektroskopowo. Przypisanie sygnałów protonowych i węglowych, zarówno wyjściowego antybiotyku, jak również nowo otrzymanych pochodnych, zostało wykonane w oparciu o szczegółową analizę widm dwuwymiarowych ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY. W Tabelach 3 – 12 zostały przedstawione przesunięcia chemiczne ^1H oraz ^{13}C dla **AZM**, **AZM-OH** oraz **AZM-1 – AZM-44**.²²⁶ W Tabelach 13 – 16 zostały przedstawione przesunięcia chemiczne ^1H i ^{13}C dla **CLA**, **CLA-1 – CLA-6**²²⁶ oraz dla **CLA-7 – CLA-14**²²⁸. W Tabelach 17 i 18 przedstawiono natomiast przesunięcia chemiczne dla kolchiceinowego substratu **COL**, **COL-1** i **COL-2** oraz związków hybrydowych **AZM-1-COL-1**, **AZM-1-COL-2** i **CLA-12-COL2**.²²⁷ Ze względu na dużą liczbę danych tabele zostały zamieszczone odpowiednio na stronach: Tabele 3 – 12 - strony 227 – 260; Tabele 13 – 16 - strony 261 – 275; Tabele 17 i 18 - strony 276 – 281. Wszystkie wzory nowych pochodnych, wraz ze wzorami podstawowych antybiotyków, zostały zamieszczone na ostatnich stronach niniejszej rozprawy doktorskiej oraz w załącznikach nr 1 – 3.

Synteza i analiza strukturalna wraz z wynikami aktywności przeciwbakteryjnej oraz ustaleniem modelu dokowania pochodnych w tunelu rybosomalnym, dla związków **AZM-1 – AZM-44** oraz **CLA-1 – CLA-6** zostały opublikowane w czasopiśmie ChemMedChem w artykule „*Synthesis and Antibacterial Activity of New N-Alkylammonium and Carbonate-Triazole Derivatives within Desosamine of 14- and 15-Membered Lactone Macrolides*”.²²⁶ Wykorzystane w niniejszej rozprawie doktorskiej modele wiązań antybiotyków

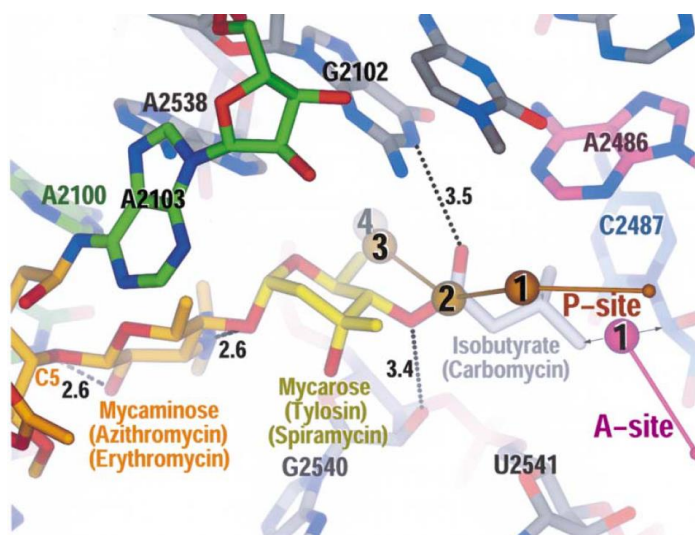
referencyjnych: erytromycyny, azytromycyny i spiramycyny, oraz struktury tych antybiotyków, wraz z określoną ich konformacją i wewnątrzcząsteczkowymi oddziaływaniami, opublikowane zostały w czasopiśmie *European Journal of Medicinal Chemistry* w artykule „*14- and 15-membered Lactone Macrolides and their Analogues and Hybrids: Structure, Molecular Mechanism of Action and Biological Activity*”.⁹⁴ Publikacja opisująca syntezę i strukturę hybrydowych połączeń 14- i 15- członowych modyfikowanych antybiotyków z kolchiceiny, pod tytułem „*Regioselective Functionalization of Colchicine Troponone Ring enabling for Production of New Conjugates with Biological Relevant Molecules*”, jest obecnie w trakcie recenzji.²²⁷ Natomiast publikacja opisująca przekształcenia klarytromycyny i wytworzenie nietypowej platformy do dalszych przekształceń, jest aktualnie w trakcie przygotowania.²²⁸

1. Pochodne azytromycyny modyfikowane w pozycji C(2') deozaminy

Przebudowa ramion sacharydowych laktonowych antybiotyków makrolidowych była głównym celem niniejszej pracy. Modyfikacje w tym obrębie prowadzone były dotychczas przez wiele grup badawczych, czego owocem były setki prac naukowych. W rozdziałach dotyczących modyfikacji chemicznych erytromycyny i klarytromycyny (Dział III, Rozdział 6.1 i 6.3) oraz azytromycyny (Dział IV, Rozdział 4.1 i 4.2), przedstawiłam najnowsze publikacje w tym temacie. Naukowcy przebudowywali ramiona sacharydowe na różne sposoby: wprowadzali podstawniki karbaminianowe^{106,170-174}, estrowe i eterowe^{111,112,166-169}, przyłączali dodatkowe podstawniki cukrowe¹¹⁴⁻¹¹⁶ oraz przebudowywali grupę *N,N*-dimetylową deozaminy poprzez *N*-dealkilację.¹²⁷⁻¹³² Znane są też pojedyncze transformacje, w wyniku których połączono azytromycynę, przez grupę hydroksylową O(2')H, z różnymi estrami, eterami bądź karbaminianami. Jedną z nich dotyczyła wprowadzenia w pozycji C(2') eterowo-alkilowego łącznika o różnej długości, zakończonego chlorochinolinowym podstawnikiem.¹⁸¹ Pomimo niskiej aktywności przeciwbakteryjnej (MIC powyżej 64 µg/ml) związki te wykazywały ponad 1000-krotnie wyższą aktywność przeciwmalaryczną od azytromycyny. Tak niski potencjał przeciwbakteryjny związku wynikał prawdopodobnie z tego, że nie był on dopasowany do tunelu rybosomalnego, który w rejonie tejże grupy hydroksylowej posiada ustawiony w poprzek nukleotyd A2099 (w *H. marismortui*), z którym grupa O(2')H oddziałuje.

Analiza sposobu wiązania cząsteczki azytromycyny w tunelu rybosomalnym ukazała, że możliwe jest skonstruowanie odpowiedniego łącznika, który ominąłby ten nukleotyd i umożliwił efektywne wiązanie antybiotyku, co mogłoby spowodować wzrost aktywności biologicznej. Aby taka sytuacja była prawdopodobna, aglikon antybiotyku musiałby ulec nieznacznej rotacji w tunelu rybosomalnym. Z tego względu koniecznym było usunięcie drugiego deoksycukru – kładynozy – która oddziałując z tunelem rybosomalnym uniemożliwia rotację aglikonu. Postanowiłam zatem przeprowadzić syntezę nowych pochodnych azytromycyny z wolną grupą hydroksylową w pozycji C(3) i posiadających wydłużone ramię deozaminowe. Łącznik ten powinien być zawierając różnicowane strukturalnie podstawniki końcowe, umożliwiające oddziaływanie z nukleotydami obecnymi w tunelu rybosomalnym.

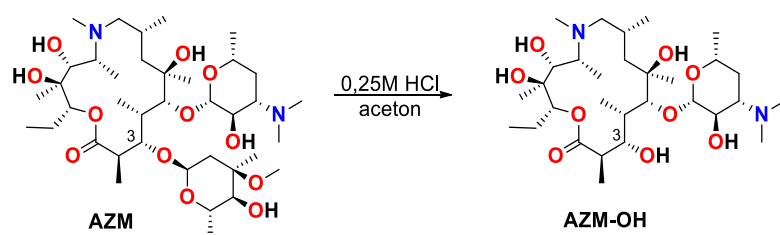
Inspiracją do przeprowadzenia wyżej opisanych modyfikacji antybiotyków 15-członowych był wcześniej opisany przez Hansena model wiązania makrolidów w tunelu rybosomalnym.³² Rysunek 7 (str. 15) przedstawia nałożone na siebie modele różnych antybiotyków makrolidowych w dużej podjednostce bakteryjnej 50S. Z jego analizy wynika, że cukier przyłączony do aglikonu w pozycji C(5) zajmuje tę samą pozycję w świetle tunelu rybosomalnego, zarówno dla azytromycyny, jak i dla karbomycyny A. O ile znajdująca się w pozycji C(5) azytromycyny dezozamina jest stosunkowo krótka, to podstawnik cukrowy karbomycyny jest długi, składa się z dwóch połączonych ze sobą sacharydów dodatkowo zakończonych grupą izobutyrylową. Na Rysunku 58 wyraźnie widać, że ugrupowanie to sięga niemalże centrum peptydylowej transferazy, co wskazuje, że w świetle tunelu rybosomalnego znajduje się przestrzeń o określonej wielkości, w której mógłby zostać ulokowany podstawnik nowej pochodnej. Na podstawie modeli dokowań wyraźnie widać, że istnieje szansa na zaprojektowanie takiego podstawnika przyłączonego do dezozaminy **AZM**, który mógłby „wsunąć” się w tę wolną przestrzeń w tunelu i wiązać z tunelem rybosomalnym za pomocą odpowiednich oddziaływań. Aby było to możliwe, dezozamina z przyłączonym podstawnikiem musiałaby „usiąść” na rybosomie w delikatnie zmieniony sposób, czego wynikiem byłaby rotacja całego antybiotyku w tunelu rybosomalnym. Postanowiłam zatem przeprowadzić modyfikacje w pozycji C(2'), by sprawdzić czy możliwy jest inny, wymuszony sposób wiązania **AZM** w rybosomie.



Rysunek 58. Fragment cząsteczki karbomycyny A w tunelu rybosomalnym, przedstawiający długość trzech podstawników przyłączonych w pozycji C(5) aglikonu: mykaminozy (pomarańczowa), mykarozy (żółta) i grupy izobutyrylowej (szara), w odniesieniu do miejsca-A i miejsca-P pętli peptydylotransferazy oraz jej porównanie do długości podstawników antybiotyków **ERY** i **AZM** oraz tylozyny i spiramycyny.³²

1.1 Synteza 3-OH azytromycyny

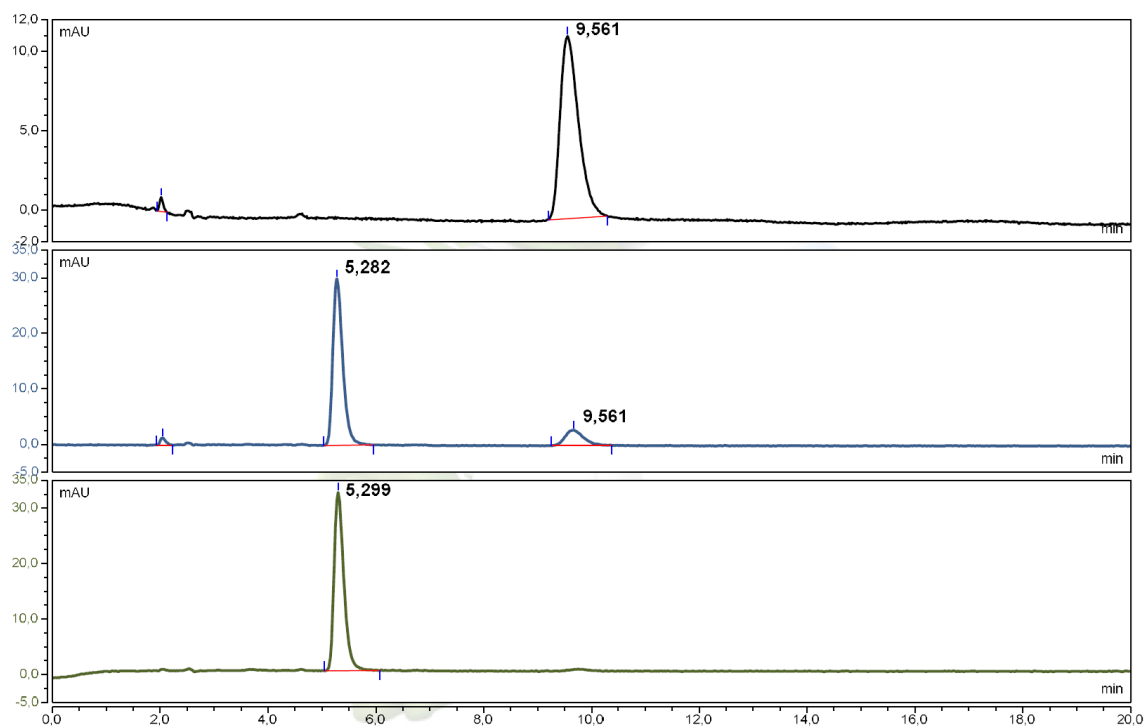
Przeprowadzenie syntezy nowych związków, zgodnie z przedstawionymi wcześniej założeniami, nie byłoby możliwe bez wcześniejszego przygotowania substratów. W tym celu należało najpierw przeprowadzić reakcję hydrolizy cukru – kladynozy, potocznie zwaną w literaturze reakcją „dekladonyzacji”. Reakcja ta jest znana i często wykorzystywana przy syntezie nowych związków. Przeprowadziłam ją stosując 0,25M wodny roztwór kwasu solnego i aceton w stosunku objętościowym 2:5 (Schemat 15).



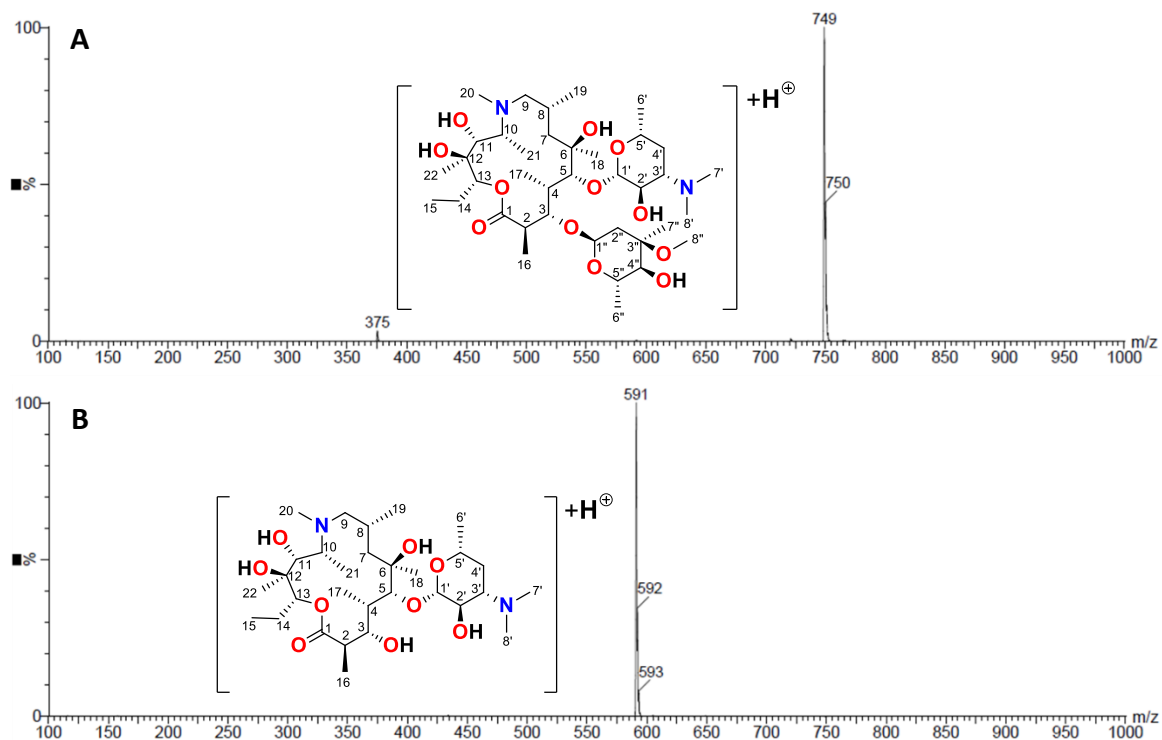
Schemat 15. Schemat przedstawiający syntezę 3-OH azytromycyny (**AZM-OH**).

Na Rysunku 59 przedstawiłam chromatogramy zarejestrowane w trakcie przeprowadzania reakcji. Pik pochodzący od azytromycyny widoczny był o czasie retencji wynoszącym $t_R = 9,56$ min. (Rysunek 59, chromatogram czarny). Po 12 godzinach od rozpoczęcia prowadzenia reakcji, na chromatogramie widoczny był w znacznej przewadze nowy pik o czasie retencji $t_R = 5,28$ min, którego intensywność w miarę prowadzenia reakcji rosła kosztem piku pochodzącego od substratu (Rysunek 59, chromatogram niebieski). Po 18h stał się on pikiem dominującym na chromatogramie (Rysunek 59, chromatogram zielony) i reakcję zakończyłam poprzez zmianę pH roztworu, w wyniku dodania nasyconego roztworu wodorowęglanu sodu. Następnie mieszaninę reakcyjną poddałam oczyszczaniu w celu weryfikacji struktury oczekiwanego produktu. Pierwszych informacji odnośnie struktury otrzymanego produktu dostarczyło widmo ESI-MS zarejestrowane w trybie jonów dodatnich (Rysunek 60, B), w którym widoczny był pik przy wartości $m/z = 591$ [Da]. W widmie ESI-MS substratu – **AZM** (Rysunek 60, A) widoczny był pik przy wartości $m/z = 749$ [Da] i odpowiadał on protonowanej azytromycynie. Różnica wartości pomiędzy pikami pochodzącymi od **AZM** i **AZM-OH** wynosząca 158 [Da] równa była masie molowej kladynozy, zatem wartość ta odpowiadała jonowi pseudomolekularnemu pochodnej **AZM-OH**.

Wyniki i dyskusja

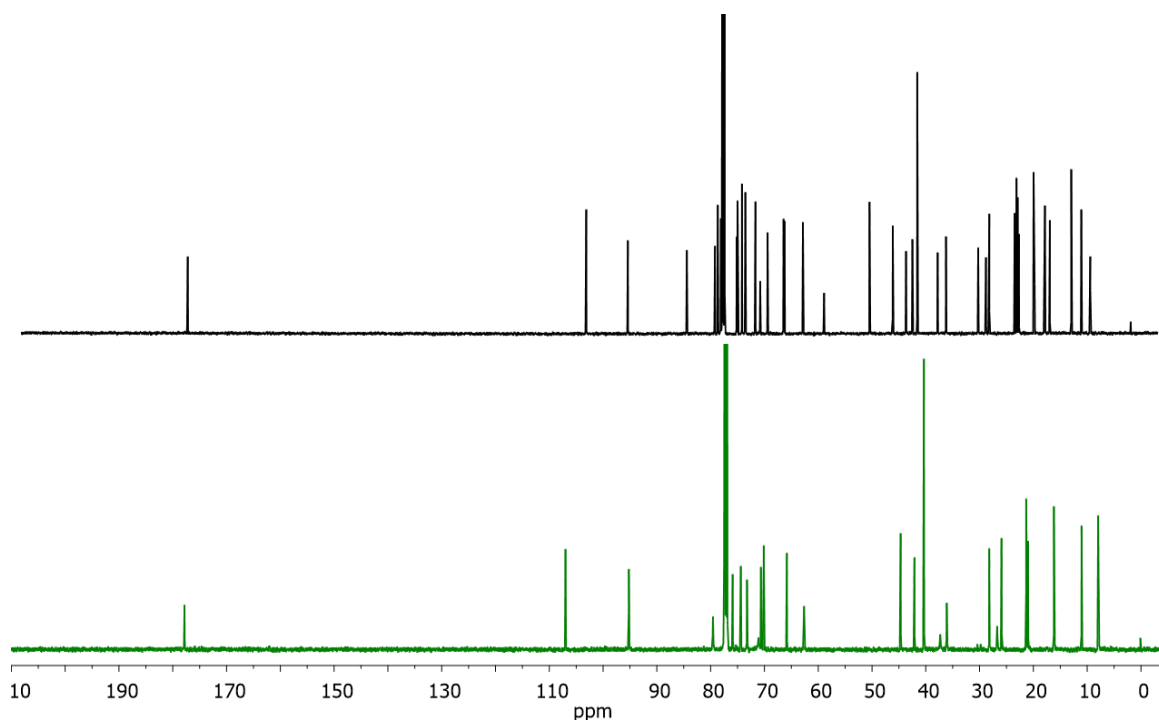


Rysunek 59. Chromatogramy przedstawiające postęp reakcji przekształcenia **AZM** (chromatogram czarny) w **AZM-OH** (chromatogram zielony). Chromatogram niebieski wykonany został w trakcie prowadzenia reakcji i przedstawia mieszaninę reakcyjną po 18h.

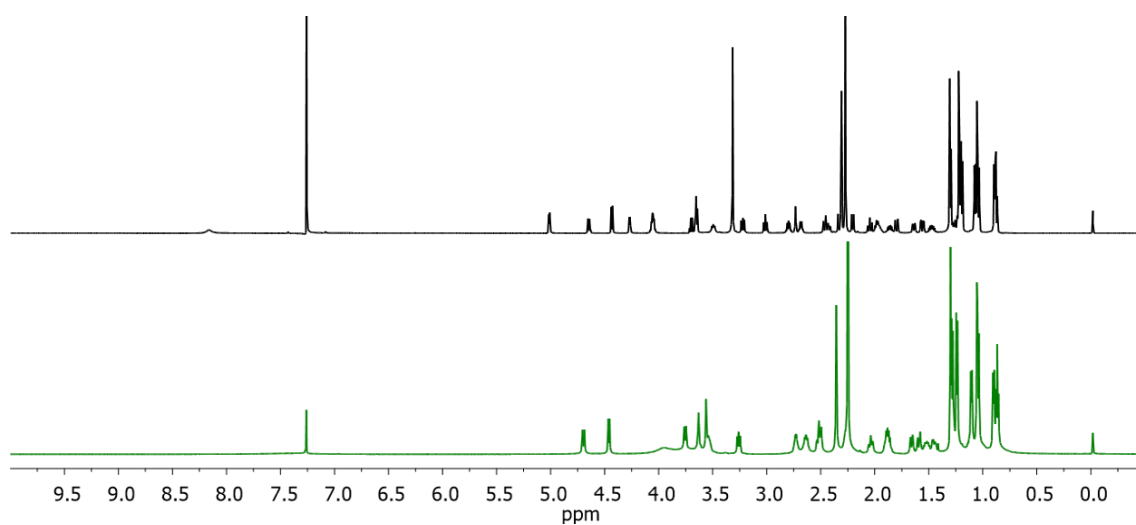


Rysunek 60. Zestawienie widm ESI-MS zarejestrowane w trybie jonów dodatnich dla A) **AZM** oraz B) **AZM-OH**.

Otrzymanie azytromycyny z wolną grupą hydroksylową zostało potwierdzone na podstawie analizy widm 1D i 2D magnetycznego rezonansu jądrowego. W widmie ^{13}C NMR (Rysunek 61) nowego produktu (**AZM-OH**) w całym badanym zakresie zauważyłam zmniejszoną liczbę sygnałów w porównaniu do widma substratu (**AZM**). Analiza porównawcza widm ^1H NMR (Rysunek 62) i ^{13}C NMR (Rysunek 61) dla obu związków (**AZM** i **AZM-OH**) ukazała, że posiadają one różne struktury. Brak jednego cukru uprościł obraz



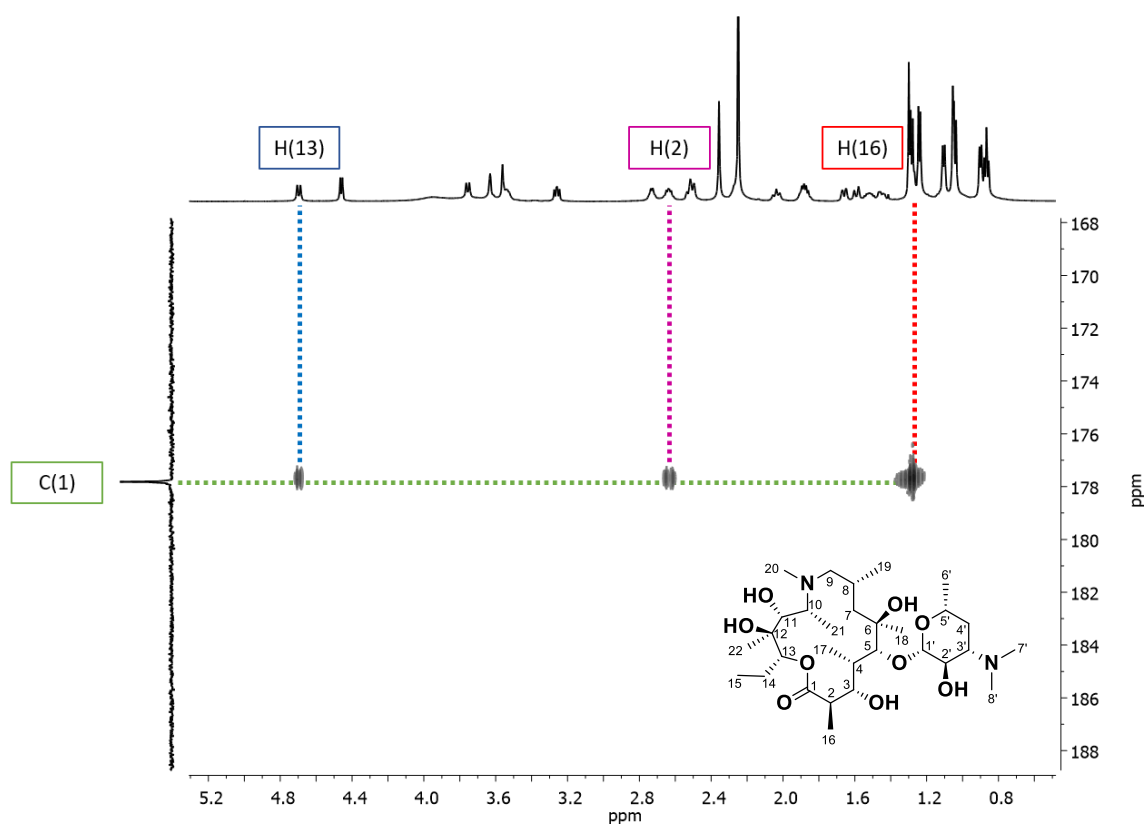
Rysunek 61. Porównanie widm ^{13}C NMR substratu - **AZM** (czarne) oraz produktu - **AZM-OH** (zielone) w całym badanym zakresie.



Rysunek 62. Zestawienie widm ^1H NMR **AZM** (czarne) oraz **AZM-OH** (zielone) w całym badanym zakresie.

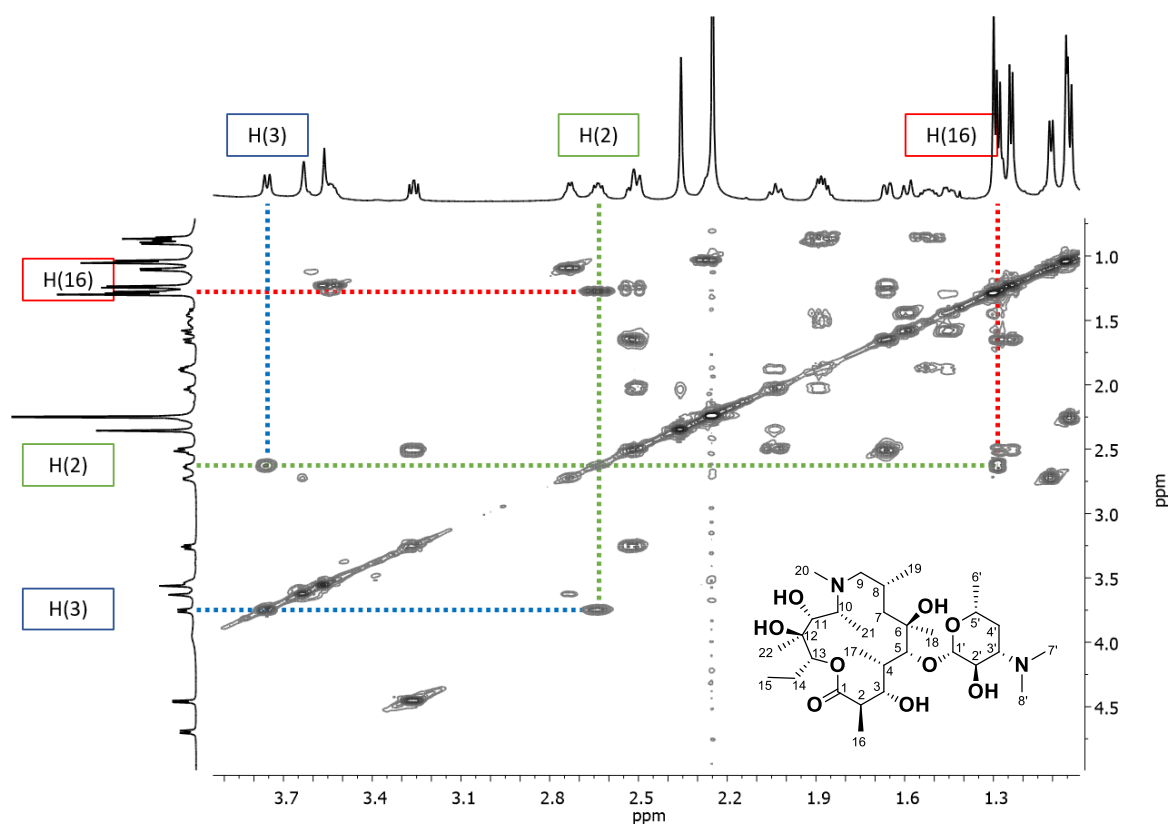
widma. Dodatkowo przesunięcie części sygnałów wynika ze zmian strukturalnych, którym uległ związek. Zatem w celu dokładnego potwierdzenia struktury pochodnej **AZM-OH** konieczne było przypisanie poszczególnych sygnałów obecnych w widmach ^1H NMR i ^{13}C NMR do konkretnych atomów węgla i protonów.

Na podstawie szczegółowej analizy widm dwuwymiarowych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC, możliwe było przypisanie sygnałów dla związku **AZM-OH**. Wszystkie wartości przesunięć chemicznych umieszczone zostały w Tabeli 3 i 4. Najbardziej charakterystyczny sygnał w widmie ^{13}C NMR **AZM-OH** (Rysunek 61), pochodzący od atomu węgla grupy karbonylowej układu laktonowego, przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 177,8$ ppm, przypisałam atomowi węgla C(1). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 63) sygnał ten koreluje z sygnałami od protonów: dubletem kwartetów występującym przy wartości $\delta = 2,64$ ppm, dubletem przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 1,27$ ppm oraz kolejnym dubletem kwartetów, którego wartość przesunięcia chemicznego wynosi $\delta = 4,70$ ppm. Dzięki wykorzystaniu technik dwuwymiarowych, sygnał przy wartości $\delta = 2,64$ ppm został przypisany do protonu H(2). Jest on dubletem kwartetów, o stałych sprzężenia

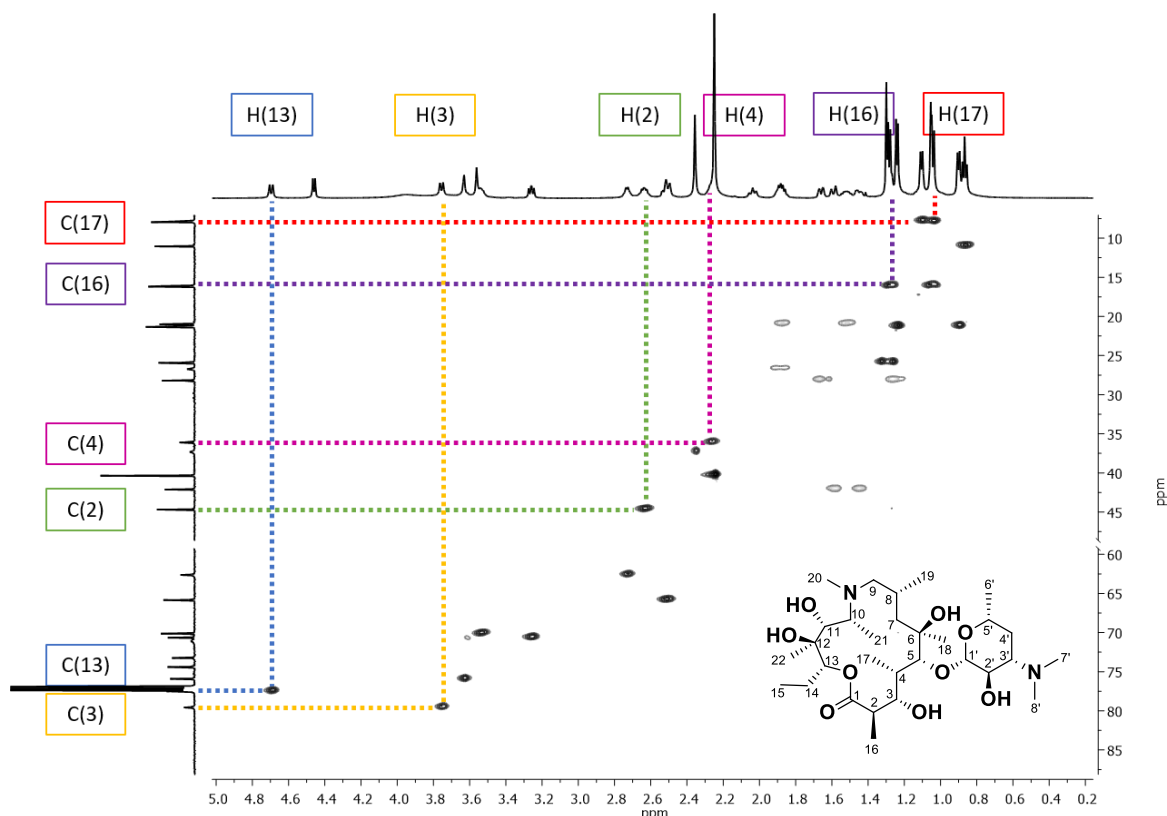


Rysunek 63. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC **AZM-OH** ukazujący korelacje dalekiego zasięgu sygnału węglowego pochodzącego od atomu C(1).

$^3J_{\text{H2-H3}} = 10,3$ Hz i $^3J_{\text{H2-H16}} = 6,8$ Hz. Koreluje on w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 64) z dubletem przy wartości $\delta = 1,27$ ppm o stałej sprzężenia $^3J_{\text{H2-H16}} = 6,7$ Hz, integrowanym na 3H oraz dubletem przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 3,76$ ppm o stałej sprzężenia $^3J_{\text{H2-H3}} = 10,3$ Hz. Sygnały te można było zatem kolejno przypisać do protonów H(16) i protonu H(3). Z kolei sygnał przy wartości $\delta = 4,70$ ppm, korelujący z sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(1), został przypisany do protonu H(13). Znając położenie sygnałów pochodzących od protonów H(2), H(3), H(13) oraz H(16) i położenie sygnału pochodzącego od atomu węgla C(1), możliwa była dalsza interpretacja sygnałów w widmie ^1H NMR i ^{13}C NMR pochodnej **AZM-OH**. Dzięki sprzężeniu spinowo-spinowym przez jedno wiązanie, między atomami węgla a protonami, które obserwowałam w widmie dwuwymiarowym ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 65), możliwe było przypisanie pozycji sygnałów pochodzących od atomów węgla: C(2), C(3), C(13) oraz C(16). Widoczna korelacja pomiędzy sygnałem pochodzącym od protonu H(2) z sygnałem przy wartości $\delta = 44,7$ ppm, umożliwiła przypisanie go do atomu węgla C(2). Sygnał przy wartości $\delta = 79,6$ ppm koreluje

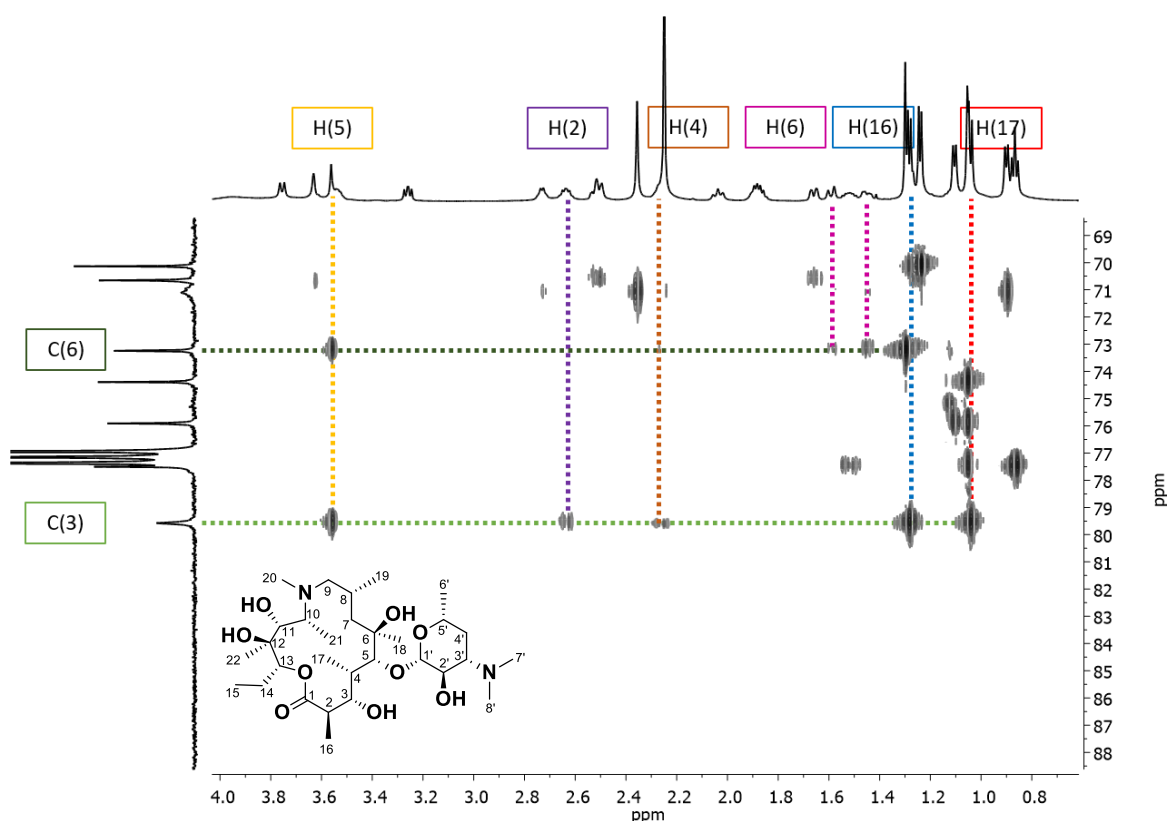


Rysunek 64. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY **AZM-OH** ukazujący korelacje bliskiego zasięgu pomiędzy wybranymi sygnałami protonowymi.



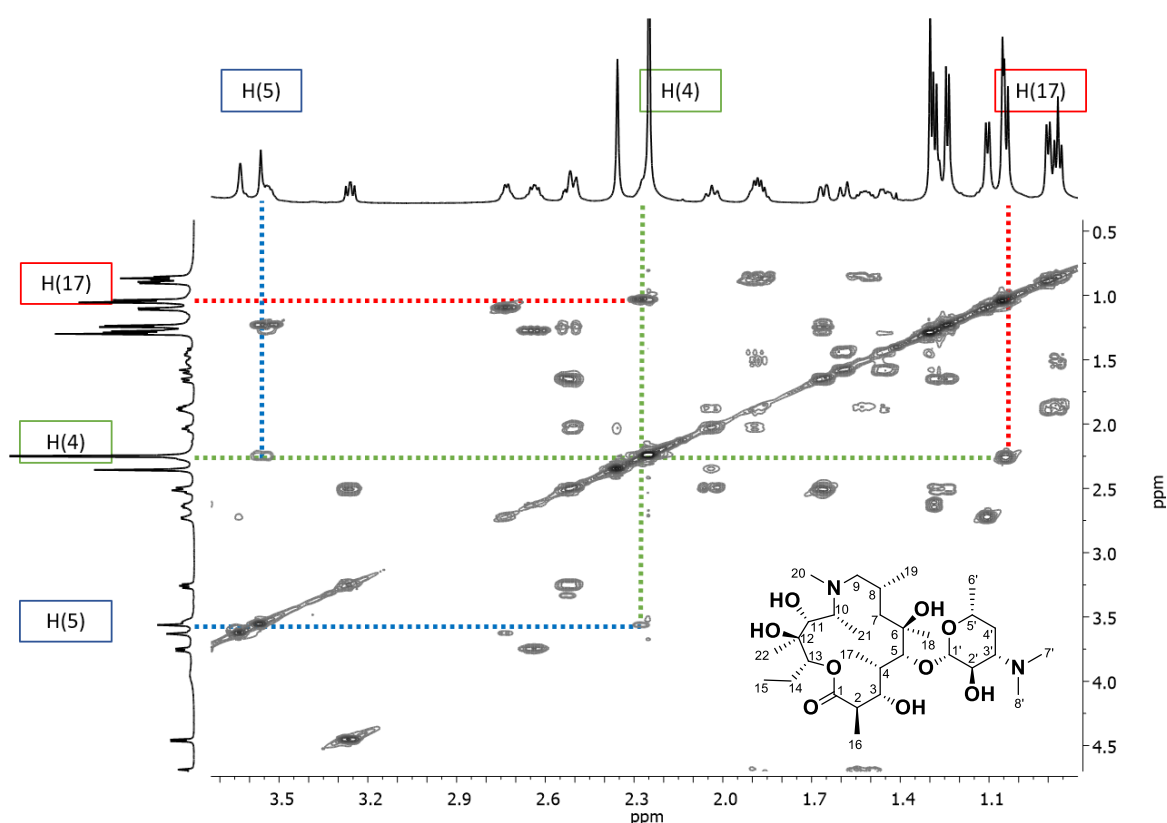
Rysunek 65. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HSQC **AZM-OH** ukazujący korelacje pomiędzy sygnałami węglowymi, a sygnałami protonowymi.

natomiast w widmie z sygnałem przy $\delta = 3,76$ ppm – którego wartość odpowiada przesunięciu chemicznemu protonu H(3) – zatem wartość tą przypisano do atomu węgla C(3). Z kolei korelacja pomiędzy sygnałem przy wartości $\delta = 1,27$ ppm – przypisanym do protonu H(16), a sygnałem przy $\delta = 11,0$ ppm, pozwoliła na przypisanie do atomu węgla C(16). Na **Rysunku 65** widoczna jest również korelacja umożliwiająca przypisanie sygnału pochodzącego od atomu węgla C(13). Dublet dubletów znajdujący się przy wartości przesunięcia chemicznego $\delta = 4,70$ ppm, przypisano na podstawie widma ^1H - ^{13}C HMBC protonowi H(13) (**Rysunek 63**), który sprzęga się z atomem węgla rezonującym przy $\delta = 77,5$ ppm. Zatem pozycja ta została przypisana do atomu węgla C(13). Wykorzystując korelacje widoczne w dwuwymiarowych widmach ^1H - ^1H COSY (**Rysunek 64**) oraz ^1H - ^{13}C HMBC (**Rysunek 66**), możliwe było dokładne określenie czy reakcja hydrolizy zaszła zgodnie z planem. Sygnał przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 3,76$ ppm o stałej sprzężenia $^3J = 10,3$ Hz koreluje jedynie z protonem H(2), dalej następuje odcięcie korelacji. Z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HMBC można zaobserwować korelacje sygnału pochodzącego od atomu węgla C(3) przy $\delta = 79,6$ ppm ze znanymi już sygnałami od protonów przy wartościach:



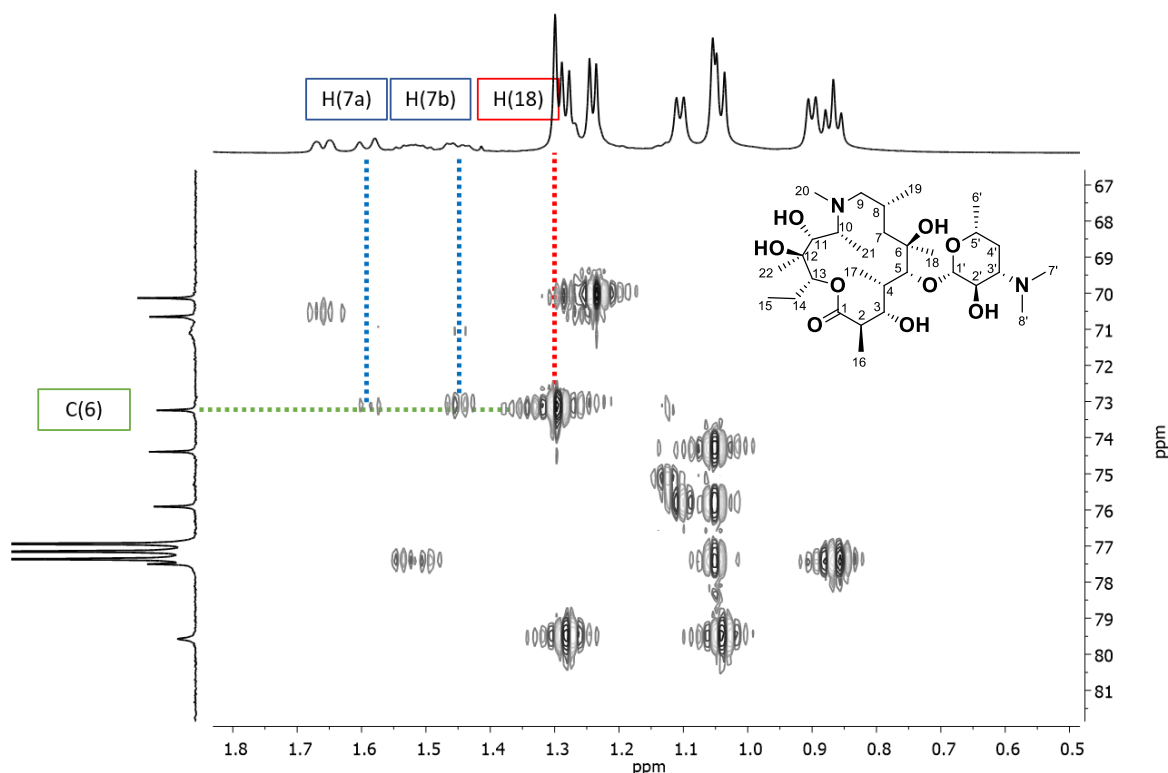
Rysunek 66. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC **AZM-OH** ukazujący korelacje sygnału węglowego C(3) z sygnałami protonowymi.

$\delta = 2,64$ ppm - H(2), $\delta = 1,28$ ppm - H(16) oraz z nowymi przy: $\delta = 3,56$ ppm, $\delta = 2,28$ ppm i $\delta = 1,04$ ppm. Na podstawie korelacji w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 65) pomiędzy sygnałami od tych protonów a sygnałami pochodzącymi od atomów węgla, oraz korelacjami w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 67), udało się przypisać poszczególne sygnały do odpowiednich atomów. I tak, multiplet przy częstotliwości $\delta = 2,28$ ppm, korelujący z atomem węgla o wartości $\delta = 36,1$ ppm, w widmie ^1H - ^1H COSY koreluje z dwoma sygnałami: multipletem przy $\delta = 3,56$ ppm oraz dubletem przy $\delta = 1,05$ ppm o stałej sprzężenia $^3J = 7,5$ Hz. Sygnały te w widmie ^1H - ^{13}C HSQC korelują odpowiednio z sygnałami przy wartościach $\delta = 95,2$ ppm i $\delta = 8,0$ ppm. Biorąc pod uwagę powyższe dane, sygnały można przypisać do następujących atomów węgla i protonów: sygnał przy częstotliwości $\delta = 2,28$ ppm i korelujący z nim sygnał przy $\delta = 36,1$ ppm odpowiadają sygnałom pochodzącym od atomów H(4) oraz C(4), sygnał przy częstotliwości $\delta = 3,56$ ppm i korelujący z nim sygnał przy $\delta = 95,2$ ppm przypisane zostały do atomów H(5) oraz C(5), a sygnał przy częstotliwości $\delta = 1,04$ ppm i korelujący z nim sygnał przy $\delta = 8,0$ ppm – do atomów H(17) oraz C(17). Brak korelacji pomiędzy sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(3) z protonem



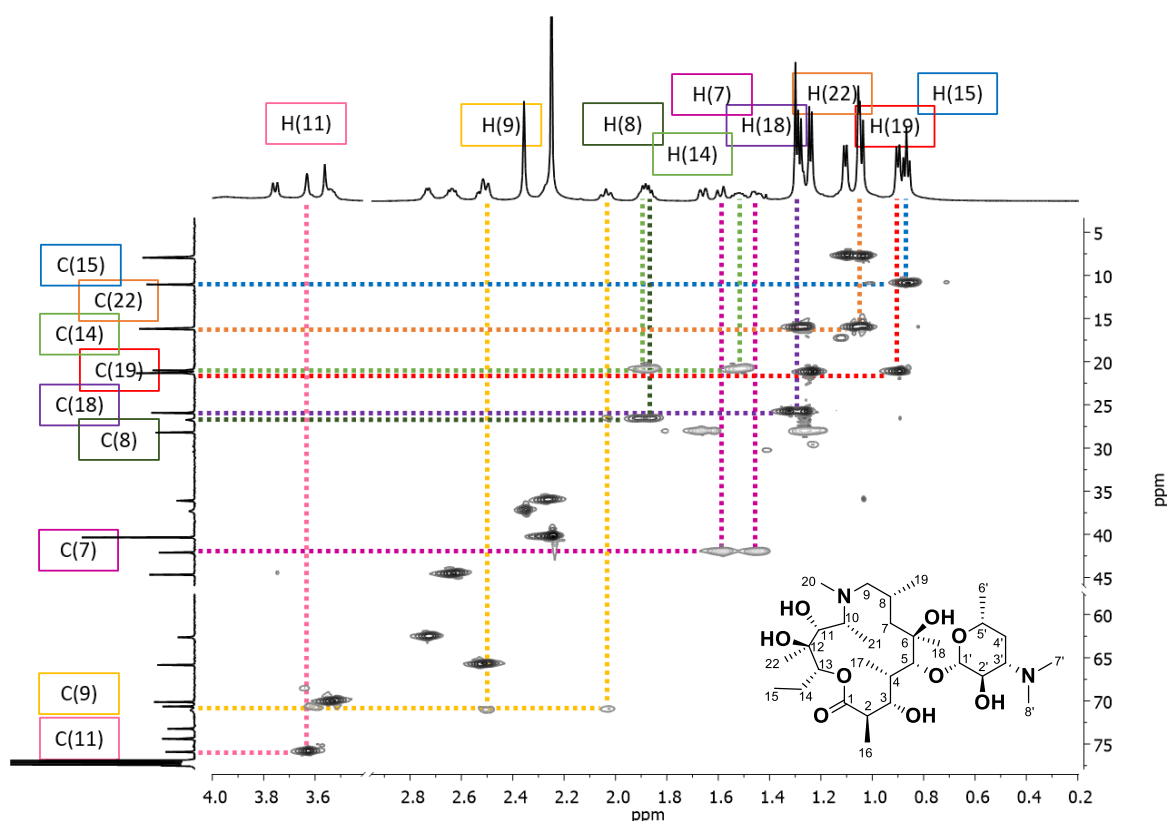
Rysunek 67. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY związku **AZM-OH**.

o wysokiej wartości przesunięcia chemicznego jest bezpośrednim dowodem na to, że reakcja hydrolizy cukru zaszła w sposób planowany. Niewidoczna korelacja w widmie ^1H - ^1H COSY pomiędzy protonem pochodzącym od nowopowstałej grupy hydroksylowej a protonem H(3) wynika z faktu, że sygnały pochodzące od grup hydroksylowych zanikają na skutek wymiany chemicznej ze śladami wody w rozpuszczalniku (CDCl_3). W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 67) sygnał przy $\delta = 3,56$ ppm, przypisany do protonu H(5), koreluje jedynie z sygnałem przy częstotliwości rezonansowej odpowiadającej protonowi H(4). Z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 66) koreluje on sygnałem przy wartości przesunięcia $\delta = 73,2$ ppm, który w widmie ^1H - ^{13}C HSQC nie koreluje z żadnym sygnałem protonowym. Jest to zatem częstość rezonansowa odpowiadająca czwartorzędowemu atomowi węgla i można przypisać ją do atomu C(6). Na podstawie znanej już wartości przesunięcia atomu węgla C(6) można poznać częstość rezonansową kolejnych atomów. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 68) atom węgla C(6) koreluje z singletem przy $\delta = 1,30$ ppm o integracji 3H. Jest to zatem wartość odpowiadająca protonom H(18) izolowanej grupy metylowej. Na podstawie dwuwymiarowego widma ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) przypisano tym protonom odpowiadający im sygnał od atomu węgla przy częstotliwości rezonansowej



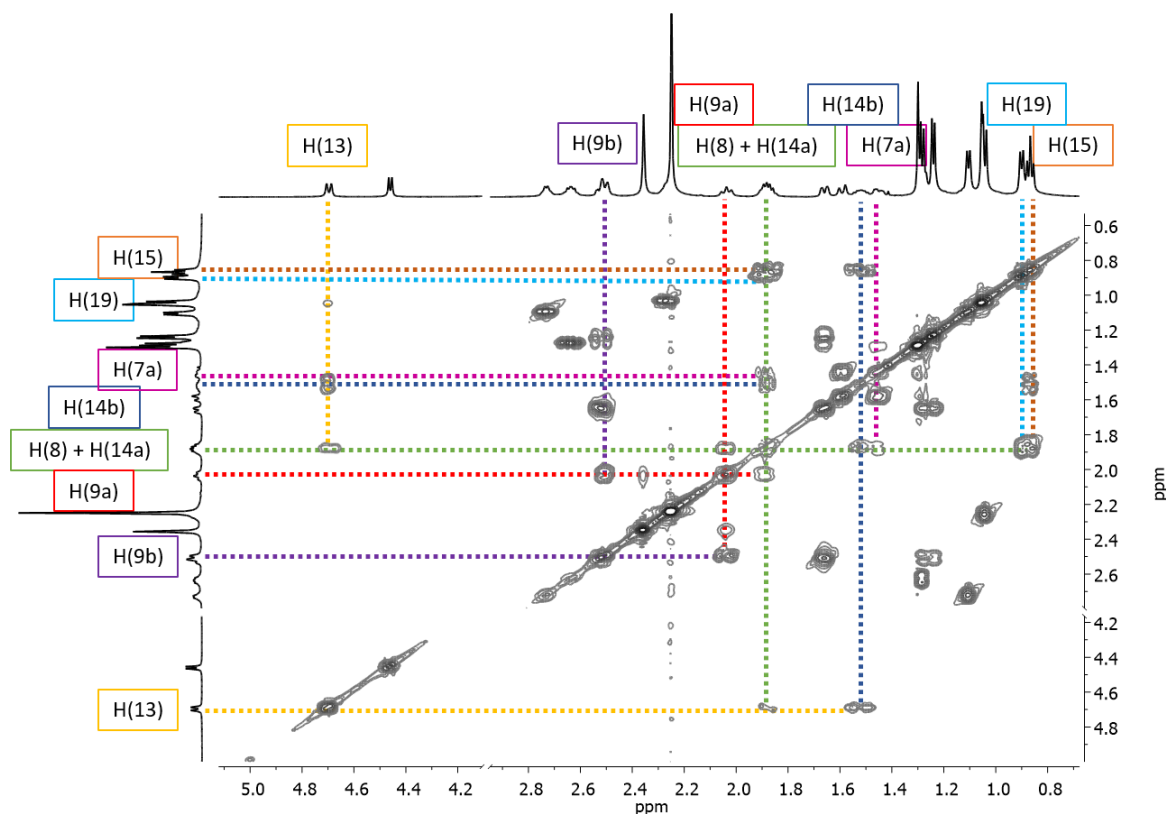
Rysunek 68. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC pochodnej **AZM-OH** przedstawiający korelacje pomiędzy sygnałem węglowym C(6) a korelującymi z nim sygnałami protonowymi.

$\delta = 25,9$ ppm – C(18). Z racji tego, że atom węgla C(6) jest czwartorzędowy, aby móc dalej przypisać sygnały, niezbędne było sprawdzenie w widmie ^1H - ^{13}C HMBC z jakimi nieprzypisanymi jeszcze protonami sprzęga się ten atom węgla. I tak, z przedstawionej na **Rysunku 68** korelacji wynika, że sprzęga się on z dwoma nowymi protonami o wartości rezonansowej $\delta = 1,45$ ppm oraz $\delta = 1,59$ ppm. Pierwszy z nich jest dubletem dubletów o stałych sprzężenia wynoszących 14,2 Hz i 5,4 Hz, a drugi – dubletem o wartości $J = 14,2$ Hz. Z analizy tych wartości wynika, że sprzęgają się one same ze sobą, z geminalną stałą sprzężenia $^2J = 14,2$ Hz, co dowodzi, że przyłączone są one do tego samego atomu węgla. Potwierdzeniem tego faktu były korelacje widoczne w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (**Rysunek 69**), w którym protony przy wartościach przesunięcia $\delta = 1,45$ ppm oraz $\delta = 1,59$ ppm sprzęgają się przez jedno wiązanie w tym samym atomem węgla. Sygnały te przypisałam zatem do protonów i atomu węgla C(7)H₂. Następnie, by znaleźć i móc przypisać sygnał odpowiadający protonom w pozycji C(8), wykorzystano korelacje obecne w widmie ^1H - ^1H COSY (**Rysunek 70**). W widmie tym, proton H(7a) sprzęga się jedynie z protonem, którego sygnał jest multipletem przy wartości przesunięcia chemicznego



Rysunek 69. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **AZM-OH**.

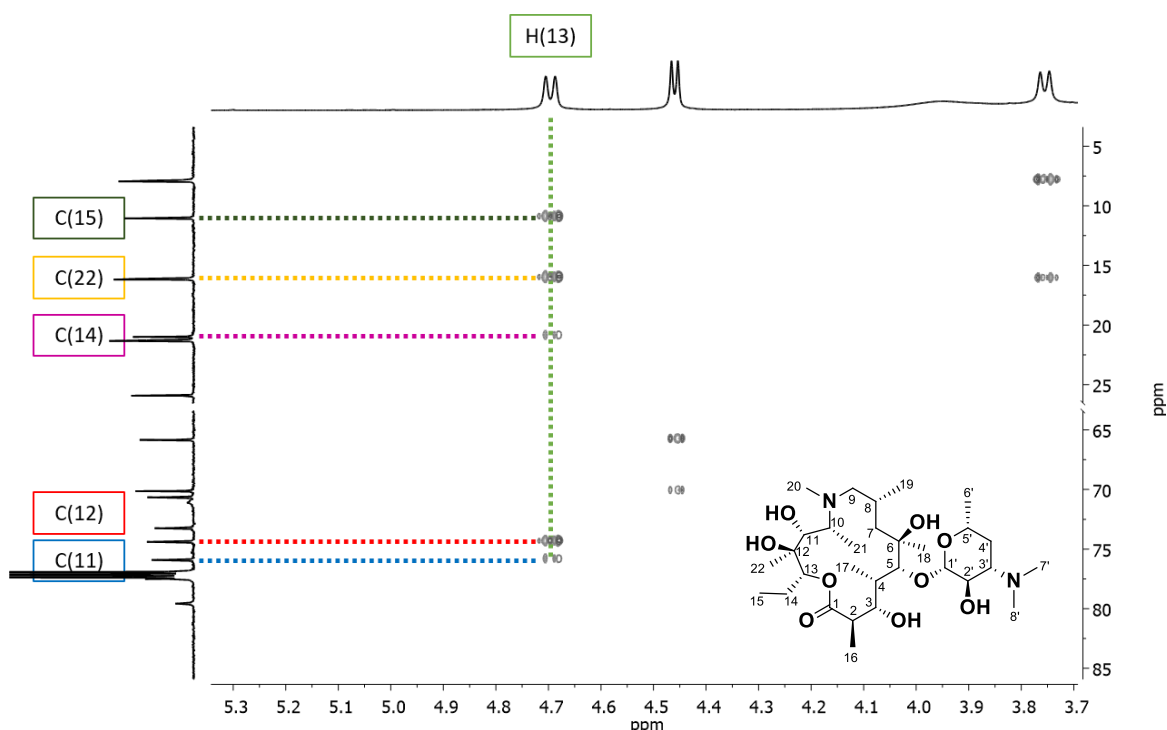
wynoszącej $\delta = 1,87$ ppm, zatem wartość tą przypisano do protonu H(8). Integracja tego sygnału wynosi 2H, a więc nakłada się on na kolejny sygnał, który przypisany jest do innego protonu. Następnie na podstawie korelacji w widmie dwuwymiarowym bliskiego zasięgu ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69), między sygnałem od protonu H(8) i atomu węgla C(8), przypisałam wartość rezonansową dla tego atomu węgla równą $\delta = 26,7$ ppm. W widmie korelacyjnym zauważyłam również, że inny proton (którego sygnał nakłada się z sygnałem od protonu H(8)) sprzęga się z atomem węgla, którego sygnał ma przesunięcie chemiczne $\delta = 21,0$ ppm i nie został on jeszcze przypisany. W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 70) sygnał przy wartości $\delta = 1,87$ ppm koreluje z następującymi nowymi sygnałami przy wartościach: $\delta = 0,87$ ppm, $\delta = 0,90$ ppm, $\delta = 1,52$ ppm, $\delta = 2,04$ ppm oraz $\delta = 2,51$ ppm. Mnogość protonów, którym odpowiadają wymienione przesunięcia jest dodatkowym potwierdzeniem, że multiplet przy częstotliwości rezonansowej wynoszącej $\delta = 1,87$ ppm odpowiada dwóm różnym protonom. Sygnał przy wartości $\delta = 0,90$ ppm koreluje jedynie z sygnałem przypisanym do protonu H(8), a jego integracja wynosi 3H, zatem można przypisać go do protonu H(19). W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) koreluje on z sygnałem o częstotliwości wynoszącej $\delta = 21,3$ ppm, który odpowiada zatem atomowi węgla



Rysunek 70. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY pochodnej **AZM-OH**.

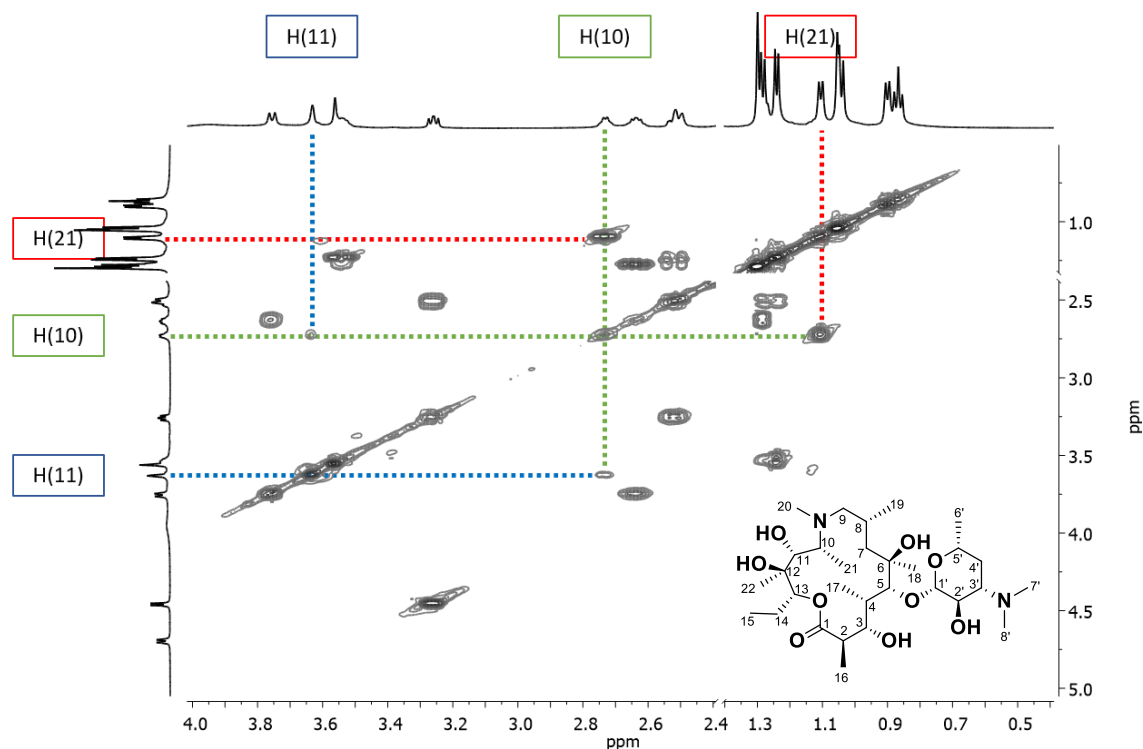
C(19). Z kolei nowe wymienione sygnały przy wartościach przesunięcia chemicznego $\delta = 2,04$ ppm oraz $\delta = 2,51$ ppm, są odpowiednio trypletem o stałej sprzężenia wynoszącej 11,9 Hz i dubletem dubletów – o stałych 12,1 Hz i 3,3 Hz. Z analizy ich integracji i multipletowości wynika, że sprzęgają się one geminalnie, co dowodzi, że muszą się one znajdować przy tym samym atomie węgla, czego potwierdzeniem jest widoczna w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) korelacja pomiędzy sygnałami o wartości przesunięcia chemicznego wynoszącej $\delta = 2,04$ ppm oraz $\delta = 2,51$ ppm, a sygnałem pochodzącym od atomu węgla przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 71,1$ ppm. Sygnały te zostały zatem przypisane odpowiednio do protonów i atomu węgla grupy metylenowej w pozycji C(9). W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 70) wcześniej opisany proton przy wartości $\delta = 1,87$ ppm sprzęga się również z: trypletem o częstotliwości $\delta = 0,87$ ppm i stałej sprzężenia $^3J = 7,3$ Hz, dubletem dubletu kwartetów o częstotliwości $\delta = 1,52$ ppm i stałych sprzężenia: 14,1 Hz, 10,5 Hz i 7,0 Hz, oraz dubletem dubletów o przesunięciu $\delta = 4,70$ ppm i stałych sprzężenia wynoszących 10,9 Hz i 1,7 Hz, który został już przypisany do protonu H(13). Z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) sygnały przy $\delta = 1,52$ ppm i $\delta = 1,87$ ppm korelują z tym samym sygnałem węglowym o przesunięciu $\delta = 21,0$ ppm. Analizując dane dotyczące

przesunięć chemicznych oraz wielkości stałych sprzężeń, sygnały te można przypisać do odpowiadających im atomów. I tak, sygnały o częstotliwości rezonansowej $\delta = 1,52$ ppm i $\delta = 1,87$ ppm przypisać można do protonów H(14), a sygnał $\delta = 21,0$ ppm – do atomu węgla C(14). Z kolei sygnał przy wartości $\delta = 0,87$ ppm – do protonów H(15), a korelujący z nim sygnał w ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) o przesunięciu chemicznym wynoszącym $\delta = 11,0$ ppm – do atomu węgla C(15). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 71) sygnał przypisany do protonu H(13) koreluje z sygnałami pochodzącymi od atomów węgla C(14) i C(15) oraz nowymi sygnałami o częstotliwości $\delta = 16,1$ ppm, $\delta = 74,4$ ppm i $\delta = 75,9$ ppm. Z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 69) sygnały te korelują z następującymi sygnałami pochodzącymi od protonów: $\delta = 16,1$ ppm koreluje z singletem przy częstotliwości $\delta = 1,05$ ppm, który integruje się na trzy protony, sygnał węglowy przy $\delta = 75,9$ ppm koreluje z sygnałem pochodzącym od jednego protonu o przesunięciu chemicznym $\delta = 3,63$ ppm, a sygnał przy częstotliwości $\delta = 74,4$ ppm nie koreluje z żadnym protonowym sygnałem, a więc odpowiada czwartorzędowemu atomowi węgla. Analizując powyższe informacje można dokonać przypisania tych sygnałów do odpowiadających im atomów. I tak, sygnał przy częstotliwości $\delta = 16,1$ ppm i korelujący z nim sygnał $\delta = 1,05$ ppm można przypisać odpowiednio do grupy

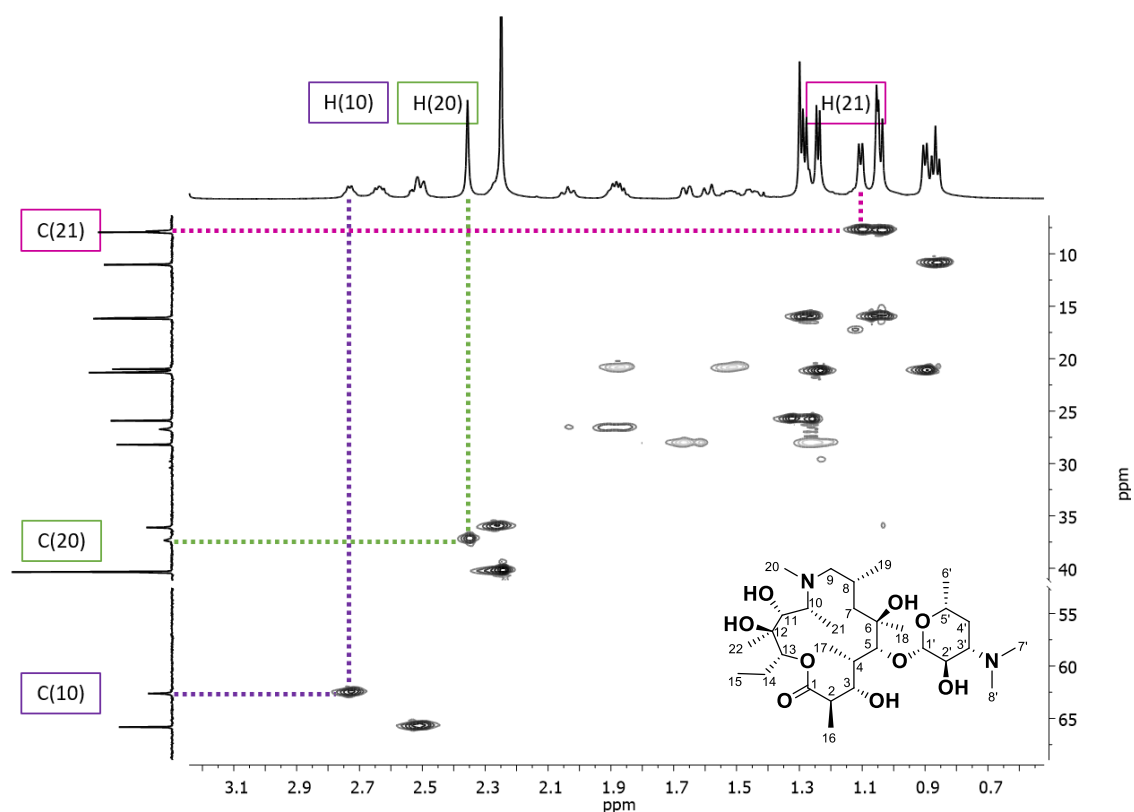


Rysunek 71. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC pochodnej **AZM-OH** przedstawiający korelacje pomiędzy sygnałem protonowym H(13) a korelującymi z nim sygnałami węglowymi.

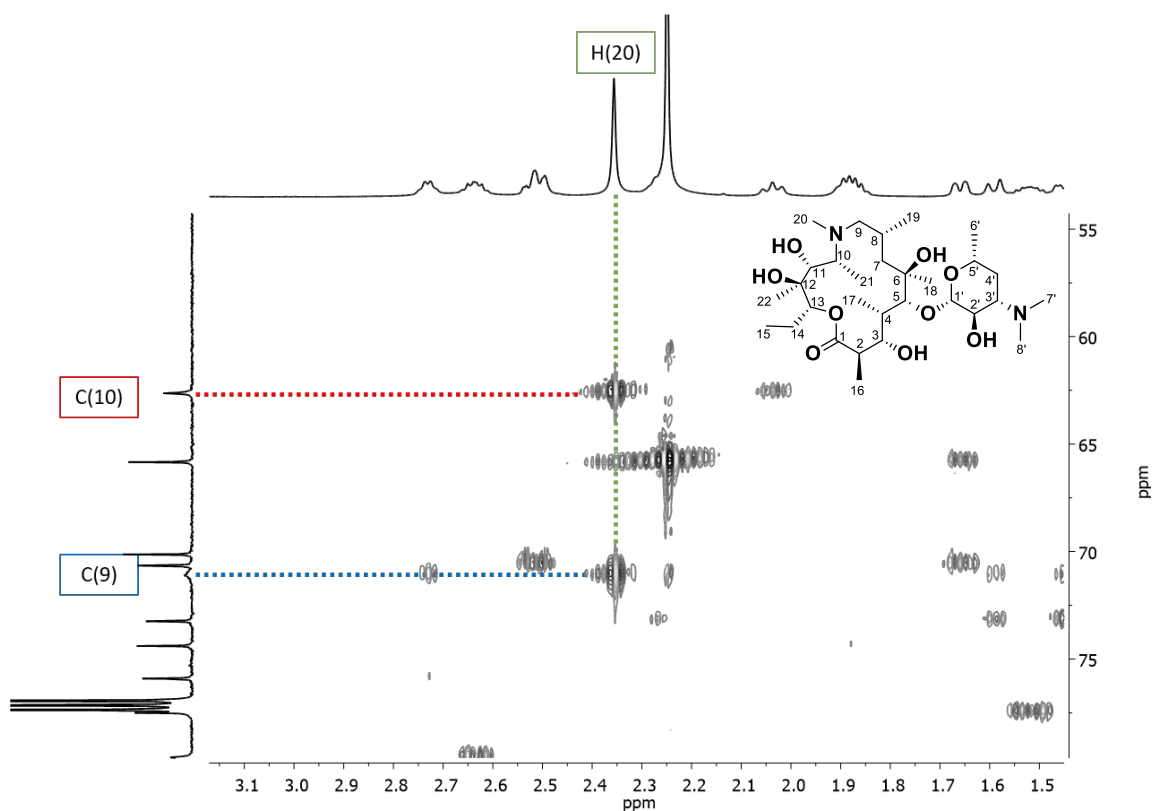
metylowej C(22)H₃. Sygnał o przesunięciu chemicznym $\delta = 74,4$ ppm odpowiada czwartorzędowemu atomowi węgla C(12). Natomiast sygnał przy $\delta = 75,9$ ppm i korelujący z nim sygnał $\delta = 3,63$ ppm – przypisane zostały do atomu węgla C(11) i protonu H(11). Znając już wartości przesunięć chemicznych tych atomów, można dokonać dalszego przypisania pozostałych elementów w pierścieniu makrocyklicznym. W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 72) sygnał odpowiadający protonowi H(11) przy $\delta = 3,63$ ppm koreluje z dubletem kwartetów o przesunięciu chemicznym $\delta = 2,72$ ppm i stałych sprzężenia 6,8 Hz i 1,5 Hz. Ten z kolei, koreluje z dubletem przy częstotliwości $\delta = 1,11$ ppm, o stałej sprzężenia również wynoszącej 6,8 Hz i integracji równej 3H. Zatem sygnał przy $\delta = 2,72$ ppm odpowiada protonowi H(10), a sygnał o częstotliwości $\delta = 1,11$ ppm można przypisać do protonu H(21). W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 73) sygnały te korelują następująco z sygnałami przy $\delta = 62,6$ ppm i $\delta = 7,8$ ppm i odpowiadają kolejno atomowi węgla C(10) i C(21). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 74) widoczna jest wyraźna korelacja pomiędzy sygnałem pochodzącym od atomów węgla C(9) i C(10) a nieprzypisanym, integrowanym na trzy protony, szerszym singletem przy częstotliwości rezonansowej wynoszącej $\delta = 2,36$ ppm.



Rysunek 72. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY produktu **AZM-OH** z zaznaczonymi korelacjami proton-proton bliskiego zasięgu.



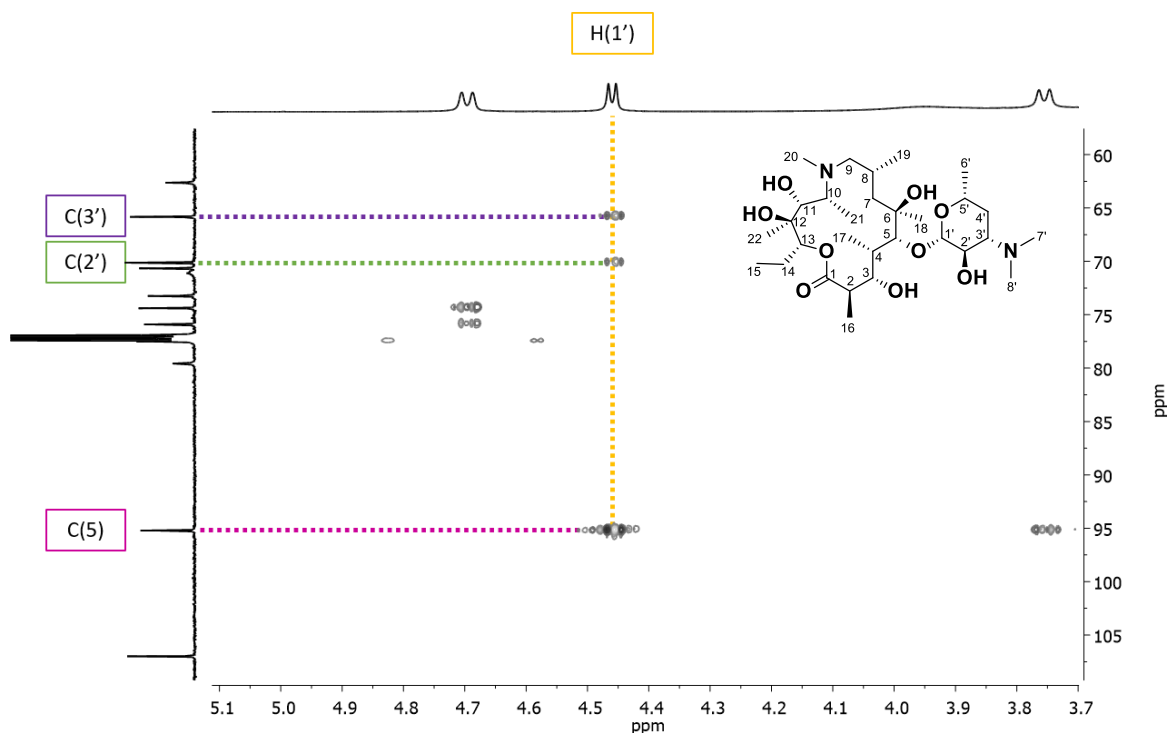
Rysunek 73. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC pochodnej **AZM-OH** ukazujący korelacje pomiędzy sygnałami węglowymi, a protonowymi.



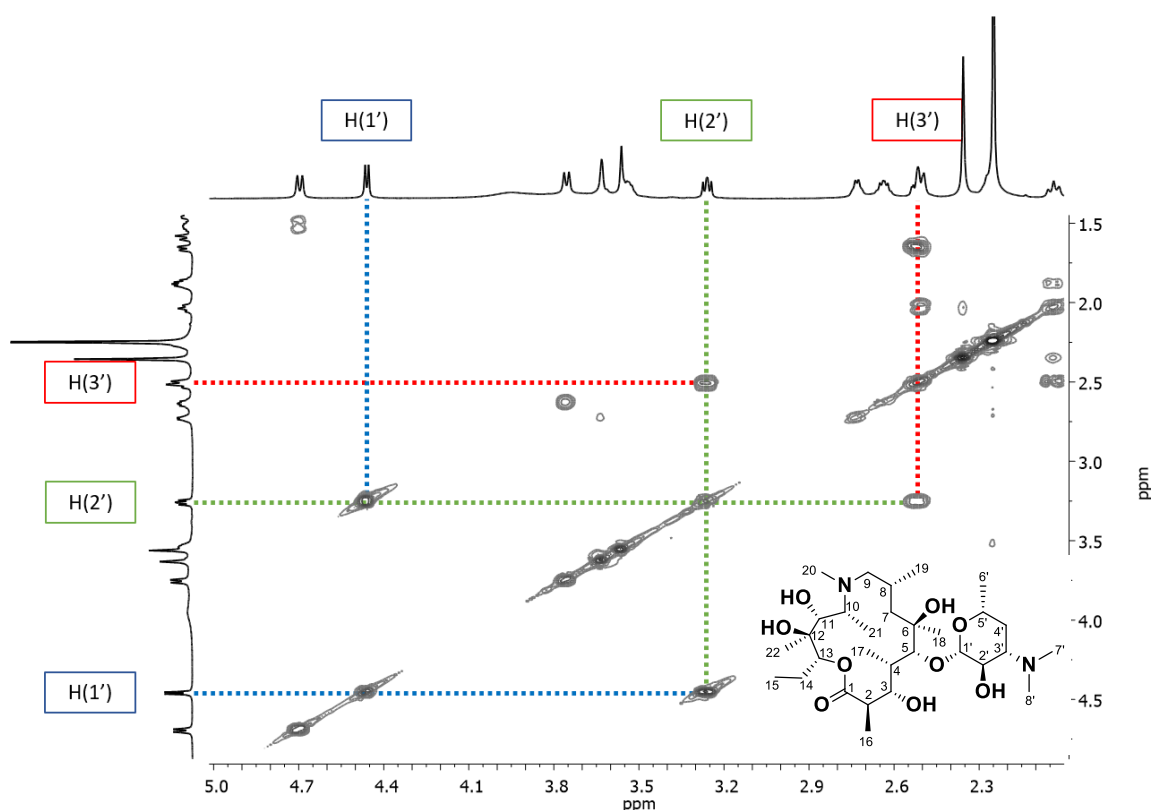
Rysunek 74. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC pochodnej **AZM-OH** ukazujący korelacje protonu H(20) z atomami węgla.

Równocześnie w widmie ^1H - ^1H COSY sygnał ten nie koreluje z żadnym innym sygnałem, a więc jest on izolowany. Analizując położenie, szerokość oraz integracje tego sygnału można wywnioskować, że jest to sygnał pochodzący od grupy metylowej przyłączonej do heteroatomu. Zatem sygnał ten przypisano do protonu H(20). W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 73) koreluje on z sygnałem węglowym przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 37,3$ ppm, więc przypisano go do atomu węgla C(20).

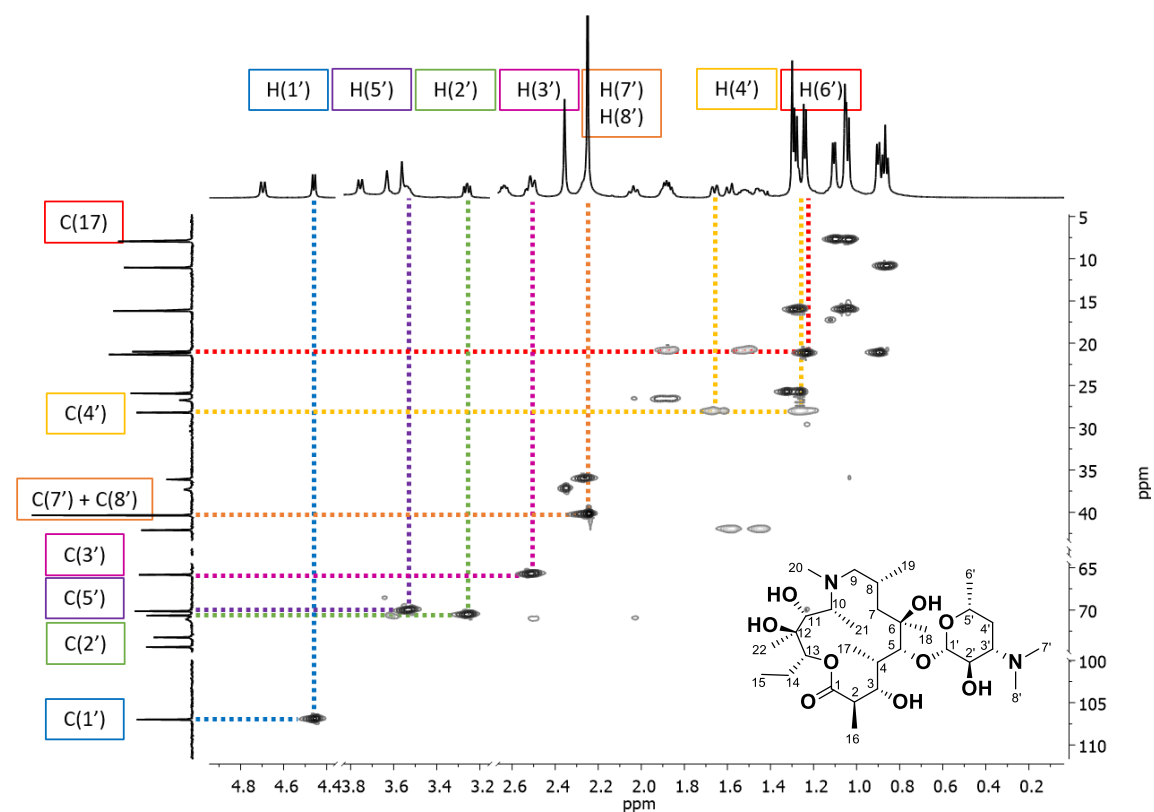
Po ustaleniu przypisania sygnałów ^1H i ^{13}C aglikonu **AZM-OH** należało przeprowadzić dalszą analizę spektroskopową, mającą na celu przypisanie pozostałych sygnałów obserwowanych w widmach 1D **AZM-OH** do odpowiednich jąder atomów z podstawnika cukrowego – dezozaminy. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 75) zaobserwowałam korelacje dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(5), a sygnałem przy wartości $\delta = 4,46$ ppm. Dublet ten, o stałej sprzężenia wynoszącej 7,4 Hz, przypisany został do protonu H(1'). W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 76) sygnał ten koreluje z dubletem dubletów przy częstotliwości $\delta = 3,26$ ppm o stałych sprzężenia 7,6 Hz i 9,9 Hz, który z kolei koreluje z multipletem $\delta = 2,53$ ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 77) te protonowe sygnały korelują z następującymi sygnałami



Rysunek 75. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC pochodnej **AZM-OH** przedstawiający korelacje pomiędzy sygnałami przypisanymi do dezozaminy, a aglikonu.

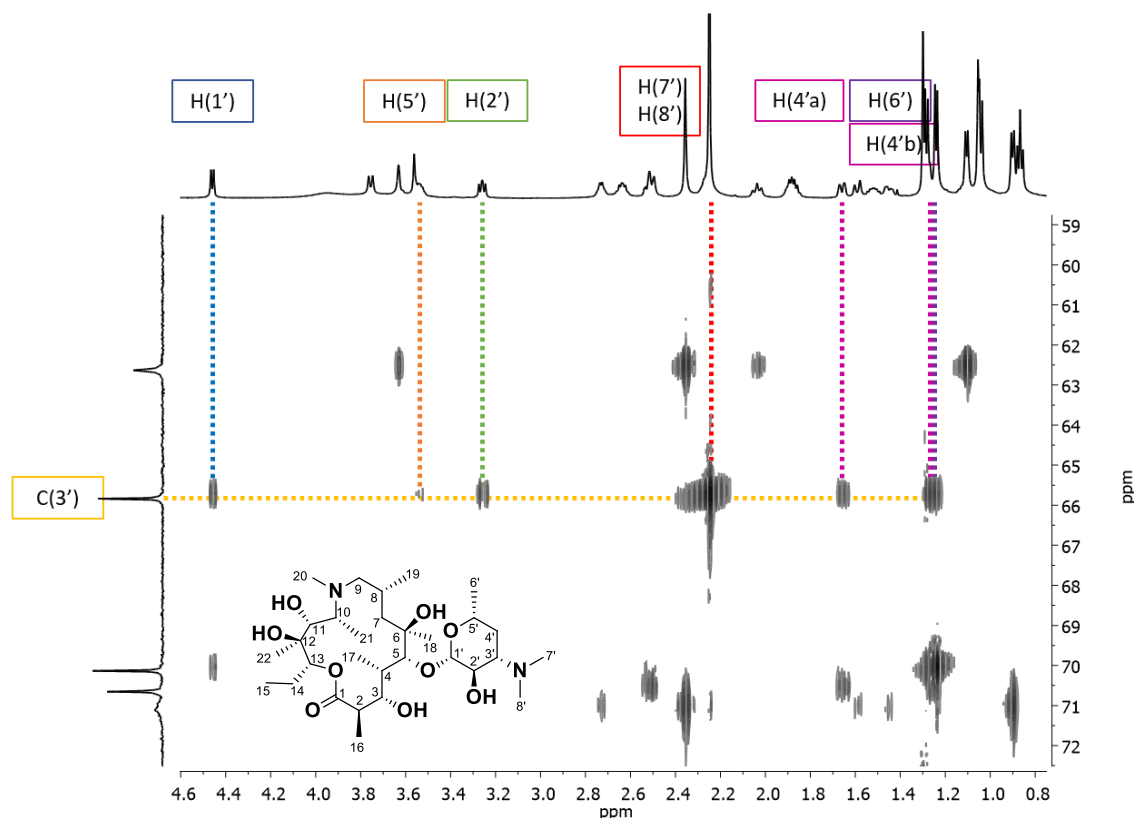


Rysunek 76. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY pochodnej **AZM-OH** z zaznaczonymi korelacjami pomiędzy sygnałami protonowymi w deozaminie.

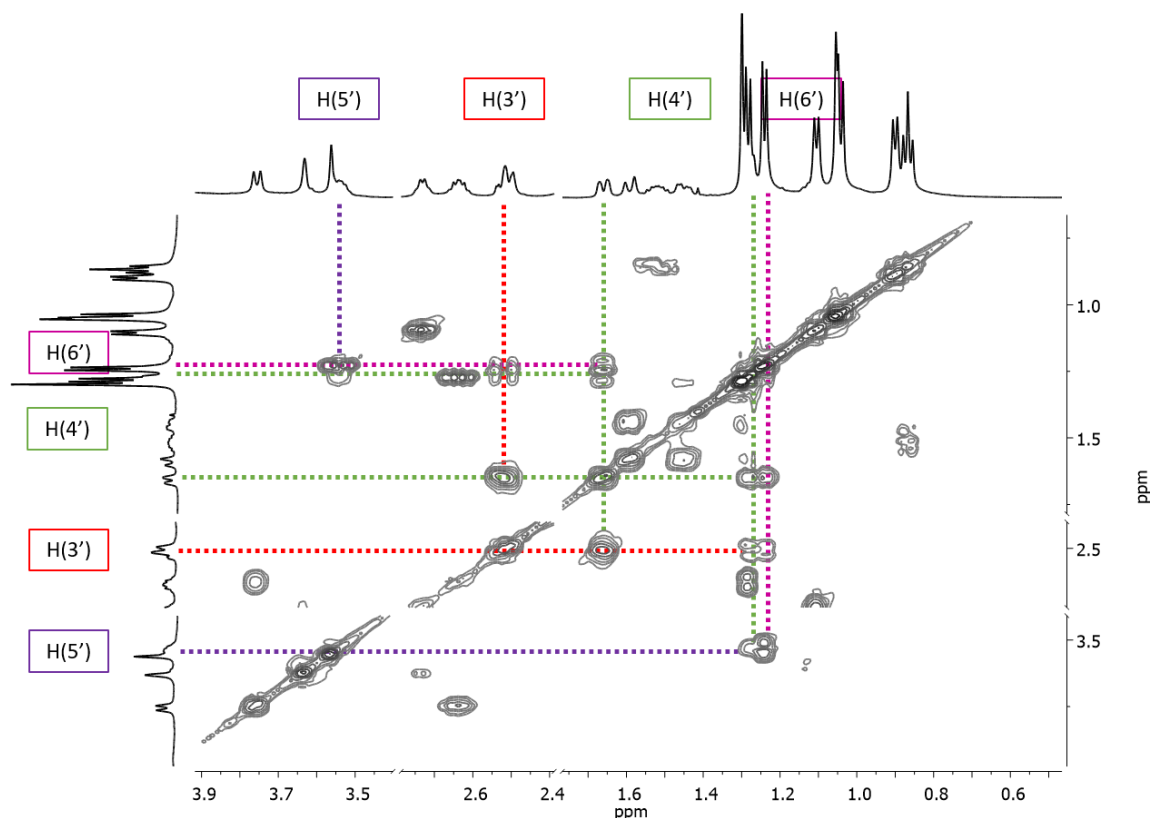


Rysunek 77. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC pochodnej **AZM-OH** z zaznaczonymi korelacjami proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie deozaminy.

węglowymi: sygnał przy $\delta = 4,46$ ppm z sygnałem przy $\delta = 107,0$ ppm, sygnał przy $\delta = 3,26$ ppm z sygnałem $\delta = 70,7$ ppm, a sygnał przy $\delta = 2,53$ ppm z sygnałem węglowym o przesunięciu chemicznym wynoszącym $\delta = 65,8$ ppm. Na podstawie powyższych informacji o położeniu sygnałów w widmach ^1H i ^{13}C NMR, stałych sprzężenia oraz multipletowości, sygnały te przypisano parami do ugrupowań metinowych występujących w dezozaminie odpowiednio: C(1')H, C(2')H i C(3')H. Analiza korelacji dalekiego zasięgu w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 78) wskazała korelacje pomiędzy sygnałem od atomu węgla C(3') a następującymi sygnałami protonowymi: dubletem dubletu dubletów o stałych sprzężenia 12,7 Hz, 3,9 Hz i 1,8 Hz, przy $\delta = 1,66$ ppm, multipletem przy $\delta = 1,27$ ppm, singletem integrowanym na 6 protonów przy $\delta = 2,25$ ppm oraz dubletem dubletu kwartetów przy $\delta = 3,53$ ppm o stałych sprzężenia 12,2 Hz, 6,2 Hz oraz 1,8 Hz. Z kolei w widmie dwuwymiarowym ^1H - ^1H COSY (Rysunek 79) korelacje tych sygnałów ukazały, że sygnał pochodzący od protonu H(3') koreluje z sygnałami przy $\delta = 1,66$ ppm i $\delta = 1,25$ ppm, które z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 77) korelują z tym samym atomem węgla ($\delta = 28,2$ ppm), zatem przypisać je można do protonów H(4'a) i H(4'b), a sygnał węglowy do atomu C(4'). Dalej, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 78) sygnał



Rysunek 78. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC pochodnej **AZM-OH**.



Rysunek 79. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY pochodnej **AZM-OH** przedstawiający korelacje protonowe bliskiego zasięgu w części dezozaminy.

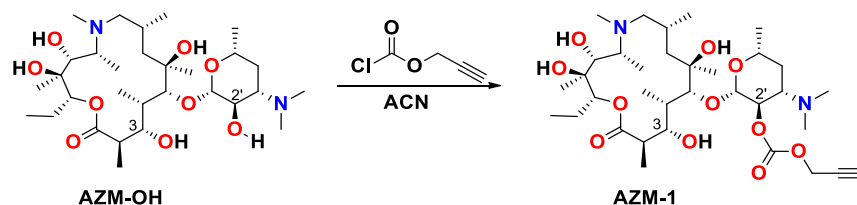
protonu H(4'b) koreluje z sygnałem o przesunięciu chemicznym $\delta = 3,53$ ppm, który z kolei koreluje z nieprzypisanym dubletem o integracji 3H przy przesunięciu $\delta = 1,24$ ppm. Sygnały te można przypisać kolejno do protonów H(5') i H(6'). Ze względu na sprzężenie przez jedno wiązanie protonu H(5') z atomem węgla rezonującym przy $\delta = 70,1$ ppm i sprzężenie protonu z atomem węgla przy $\delta = 21,3$ ppm (Rysunek 77), można przypisać sygnały widoczne w widmie ^{13}C NMR odpowiednio do atomów węgla C(5') i C(6'). Z kolei sygnał protonowy przy $\delta = 2,25$ ppm, korelujący z sygnałem węglowym C(3'), integrowany na 6H, odpowiada dwóm identycznym grupom metylowym, przyłączonym do heteroatomu - atomu azotu. Zatem sygnały te można przypisać do protonów pochodzących od grupy *N,N*-dimetylowej, czyli H(7') i H(8'). W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 77) korelują one z sygnałem węglowym przy $\delta = 40,4$ ppm, więc przypisano go do atomów węgla C(7') i C(8').

Dokładna analiza widm 1D i 2D NMR, potwierdziła, że w wyniku zastosowanych warunków reakcji hydrolizy **AZM**, otrzymany został jedynie jeden produkt - **AZM-OH**, czyli azytromycyna, która w pozycji C(3) posiada grupę hydroksylową. Regioselektywność tej

reakcji wynika z budowy deoksycukrów i ich wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań. Dezozamina, ze względu na obecność w swojej strukturze grupy hydroksylowej i atomu azotu w pobliżu wiązania glikozydowego oraz ze względu na wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe występujące pomiędzy nimi, zdecydowanie trudniej ulega reakcji hydrolizy. Kladynoza, z kolei, z powodu braku wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań, jest na nią bardzo podatna i ulega hydrolizie w pierwszej kolejności. Produkt **AZM-OH**, otrzymany w wyniku tej reakcji, został następnie wykorzystany jako substrat do dalszych przekształceń.

1.2 Synteza 3-OH azytromycyny z przyłączoną funkcją alkinową

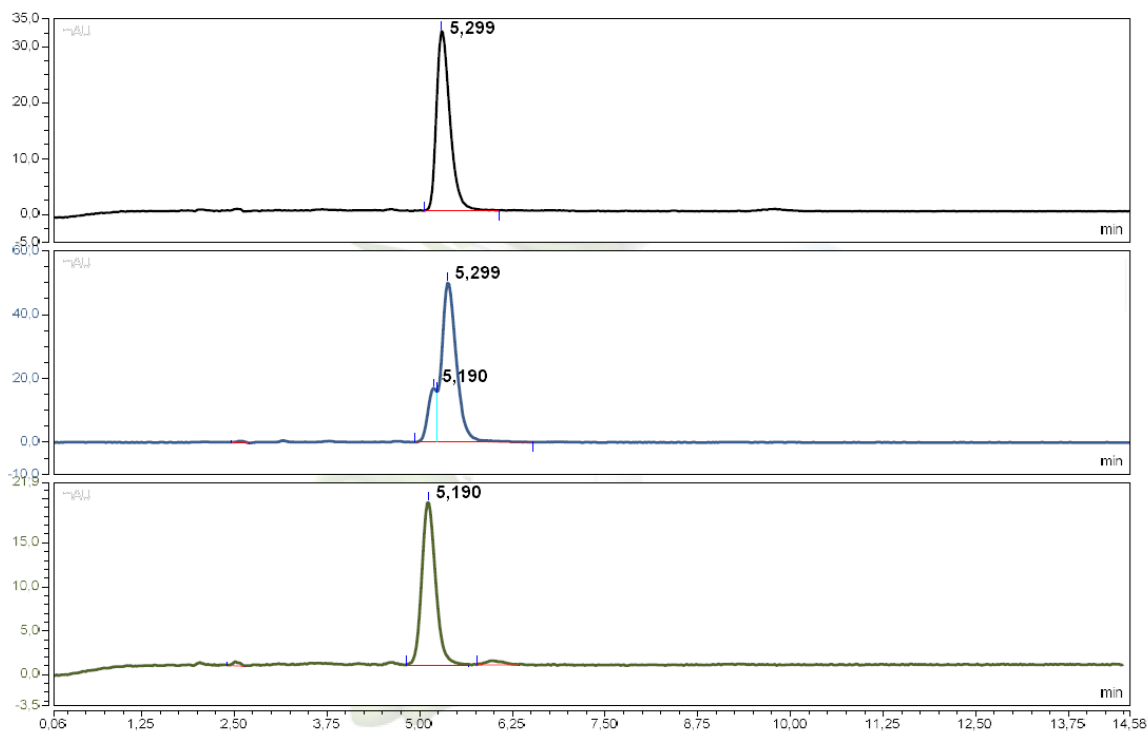
Kolejnym etapem syntezy nowych pochodnych azytromycyny, modyfikowanych przy atomie węgla C(2'), było wprowadzenie w tej pozycji funkcji alkinowej (Schemat 16). Na tym etapie syntezy przeprowadzona została reakcja substytucji nukleofilowej pomiędzy grupą hydroksylową dezozaminy a chloromrówczanem propargilu. Pomimo obecności w strukturze **AZM-OH** aż pięciu grup hydroksylowych, reakcja estryfikacji przebiegała z regioselektywnością równą niemal 100%. Jedynym obserwowanym produktem był mieszany diester kwasu węglowego z podstawnikiem propargilowym i **AZM-OH** podstawionym w pozycji C(2'). Selektywny przebieg reakcji był możliwy dzięki zastosowaniu bardzo łagodnych warunków. Brak aktywatora zasadowego uniemożliwiało zajście reakcji grupom hydroksylowym w cząsteczce **AZM-OH** z wyjątkiem tej w pozycji C(2'). Jej nukleofilowość jest zwiększona dzięki obecności w dezozaminie grupy *N,N*-dimetylowej w pozycji C(3'), która tworząc wiązanie wodorowe z O(2')H, zwiększa gęstość elektronową na atomie tlenu.



Schemat 16. Schemat przedstawiający syntezę produktu **AZM-1**.

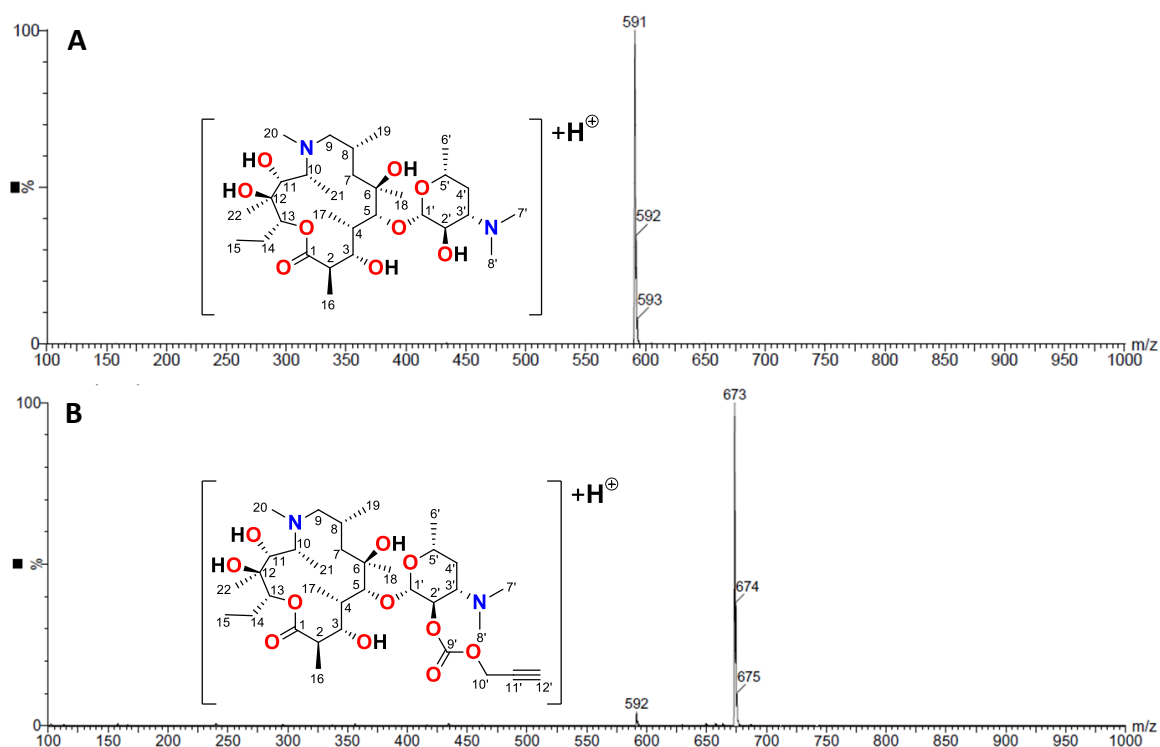
Postęp tej reakcji monitorowany był przy użyciu wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC). Pik pochodzący od **AZM-OH** (Rysunek 80, chromatogram czarny) widoczny był o czasie retencji $t_R = 5,30$ min. Po 1 minucie na

chromatogramie wykonanym z mieszaniny reakcyjnej (Rysunek 80, chromatogram niebieski) zaobserwowałam pojawiający się nowy pik o czasie retencji $t_R = 5,19$ min. Po 15 minutach od rozpoczęcia reakcji na chromatogramie (Rysunek 80, chromatogram zielony) widoczny był już jedynie tenże nowy pik. Reakcję zakończyłam, a mieszaninę reakcyjną poddałam oczyszczeniu i analizie.



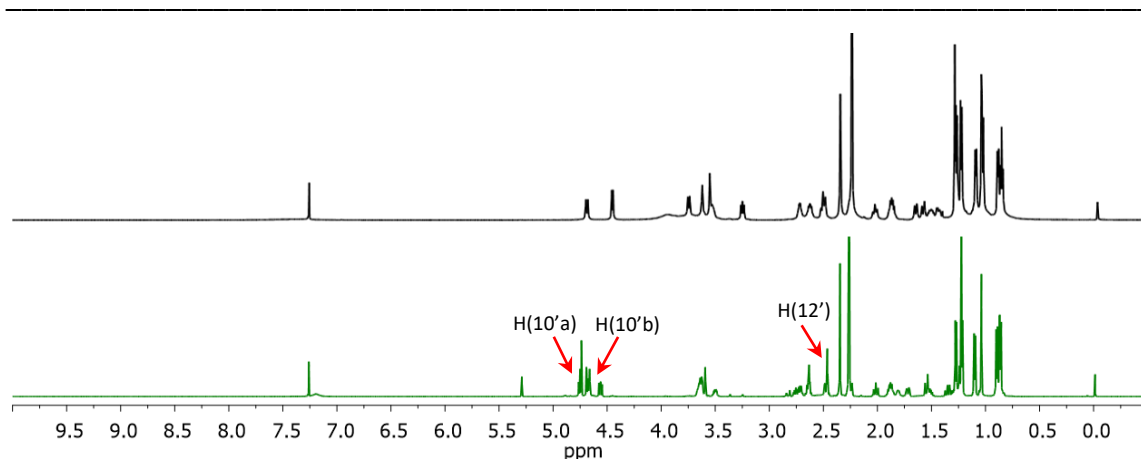
Rysunek 80. Zestawienie chromatogramów przedstawiające przekształcenie substratu **AZM-OH** (czarny) w produkt **AZM-1** (zielony). Chromatogram niebieski ukazuje mieszaninę reakcyjną.

W celu uzyskania pierwszych informacji dotyczących struktury oczekiwanego produktu przeprowadziłam analizę spektroskopową. W widmie ESI-MS (Rysunek 81) nowego produktu **AZM-1**, zarejestrowanym w trybie jonów dodatnich, widoczny był pik przy wartości $m/z = 673$ [Da]. Substratem wyjściowym w tej reakcji była **AZM-OH** o ciężarze cząsteczkowym wynoszącym 590 [Da]. Z kolei ciężar cząsteczkowy użytego chlorku kwasowego wynosił 117 [Da]. Zatem produkt powstający w wyniku reakcji grupy hydroksylowej $O(2')H$ **AZM-OH** z tymże chlorkiem powinien posiadać masę cząsteczkową o 82 [Da] większą, a na widmie powinien pojawić się pik przy wartości $m/z = 673$ [Da]. Wartość ta odpowiadała jonowi pseudomolekularnemu nowej pochodnej **AZM-1**, zatem było to pierwsze potwierdzenie, że mrówczan propargilu został przyłączony do dekladonyzowanej azytromycyny (**AZM-OH**).

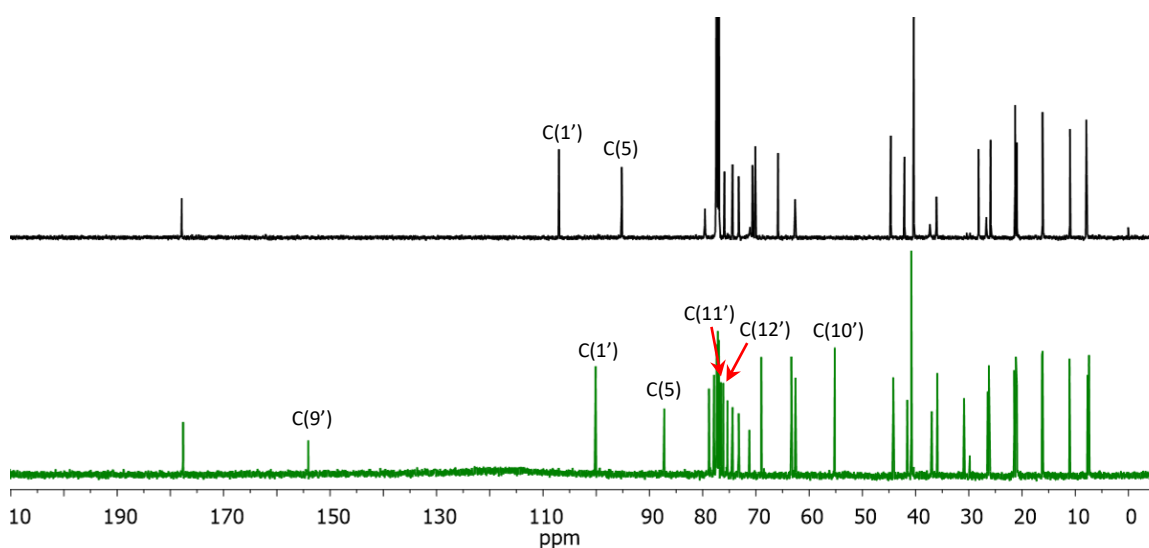


Rysunek 81. Widma masowe ESI MS substratu **AZM-OH** (A) i produktu **AZM-1** (B) wykonane w trybie jonów dodatnich.

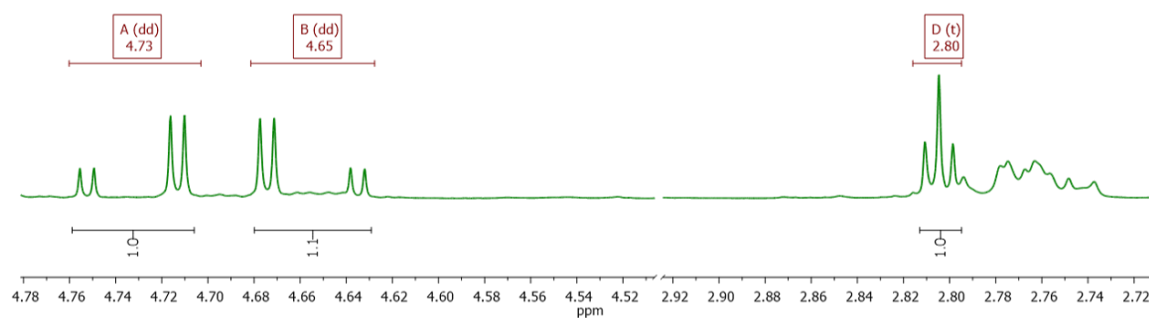
Struktura otrzymanego produktu, podstawionego mrówczanem propargilu, została potwierdzona na podstawie analizy widm jednowymiarowych magnetycznego rezonansu jądrowego. Analizując zestawienie widm ^1H NMR (Rysunek 82) i ^{13}C NMR (Rysunek 83) związków **AZM-OH** i **AZM-1** zaobserwowałam charakterystyczne sygnały pochodzące od wprowadzonej grupy karbonylowej oraz wiązania potrójnego. Dodatkowo zauważyłam lekkie przesunięcie części sygnałów w kierunku niższych wartości ppm, co wynika z delikatnych zmian strukturalnych, którym uległ aglikon azytromycyny. Wobec tego, w celu dokładnego potwierdzenia struktury pochodnej **AZM-1** konieczne było przypisanie poszczególnych sygnałów obecnych w widmach ^1H NMR i ^{13}C NMR do konkretnych atomów węgla i protonów. Dokładne wartości przesunięć chemicznych wszystkich sygnałów widocznych w widmach 1D NMR produktu **AZM-1** przedstawiłam w Tabelach 3 i 4.



Rysunek 82. Zestawienie widm ^1H NMR substratu – **AZM-OH** (czarne) oraz produktu – **AZM-1** (zielone) w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



Rysunek 83. Porównanie widm ^{13}C NMR substratu – **AZM-OH** (czarne) oraz produktu – **AZM-1** (zielone) w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



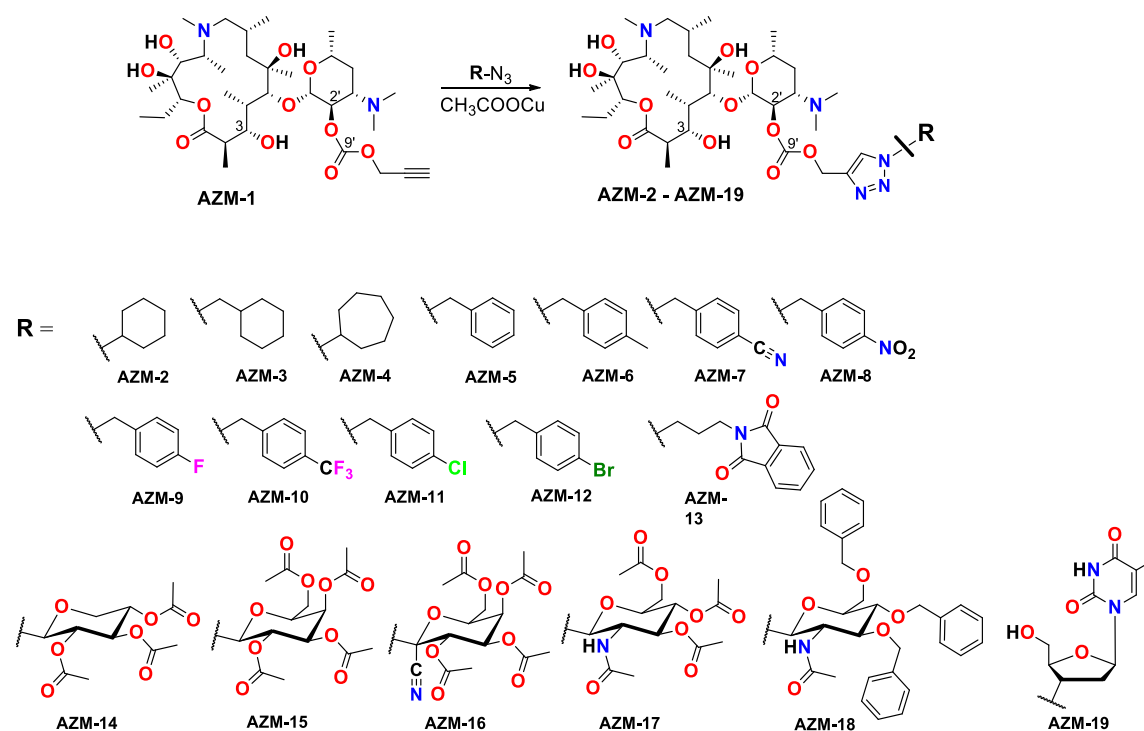
Rysunek 84. Fragment widma ^1H NMR związku **AZM-1** wykonanego w CD_3CN , ukazujący multipletowość sygnałów $\text{H}(10')$ i $\text{H}(12')$.

Analizując widmo protonowe (Rysunek 82) i węglowe (Rysunek 83) można zauważyć pojawienie się charakterystycznych sygnałów, typowych dla przyłączonego ugrupowania propargilowęglanowego. Sygnał przy częstotliwości rezonansowej wynoszącej $\delta = 154,1$ ppm przypisałam do atomu węgla C(9'). Sygnał przy $\delta = 55,2$ ppm odpowiada atomowi węgla grupy metylenowej, zatem przypisany został do atomu węgla C(10'). Pozostałe dwa nowe sygnały widoczne w widmie ^{13}C NMR przy $\delta = 77,4$ ppm i $\delta = 76,6$ ppm są charakterystyczne dla sygnałów pochodzących od atomów węgla przy wiązaniu potrójnym i przypisałam je do atomów C(11') i C(12'). Z kolei w widmie ^1H NMR (Rysunek 82) widoczne są trzy nowe sygnały: dwa dublety dubletów o stałych sprzężenia $^2J = 15,5$ Hz i $^4J = 2,5$ Hz przy przesunięciach chemicznych wynoszących $\delta = 4,75$ ppm i $\delta = 4,68$ ppm (nakładające się z innymi sygnałami) oraz tryplet przy $\delta = 2,46$ ppm i stałej sprzężenia $^4J = 2,5$ Hz. Ze względu na nakładanie się sygnałów, wykonałam widmo tego związku dodatkowo w innym rozpuszczalniku (CD_3CN), by dokładnie przeanalizować multipletowość podstawnika. Widoczny fragment widma na Rysunku 84 przedstawia dwa dublety dubletów o stałych sprzężenia $^2J = 15,5$ Hz i $^4J = 2,5$ Hz. Każdy z tych sygnałów integrował się na 1H i są one charakterystyczne dla protonów pochodzących od grupy metylenowej. Dodatkowo na rysunku widoczny jest też tryplet o stałej sprzężenia $^4J = 2,5$ Hz, również integrowany na 1H, typowy dla protonów grupy metylidynowej. Biorąc pod uwagę powyższe wyniki i porównując je z przesunięciami chemicznymi w widmie wykonanym w CDCl_3 , przypisałam sygnały następująco: dwa dublety dubletów przy częstotliwościach wynoszących $\delta = 4,75$ ppm i $\delta = 4,68$ ppm przypisałam do protonów H(10'), a tryplet przy $\delta = 2,46$ ppm – do protonu H(12').

Dokładna analiza widm jednowymiarowych, wraz z danymi uzyskanymi dzięki innym metodom analitycznym i spektroskopowym, umożliwiła potwierdzenie oczekiwanej struktury produktu. Na drodze reakcji nukleofilowej substytucji do grupy karbonylowej, pomiędzy grupą hydroksylową O(2')H, a chloromrówczanem propargilu, otrzymany został produkt **AZM-1**. Wprowadzenie do cząsteczki azalidu podstawnika terminalnie zakończonego alkinem stworzyło nowe możliwości modyfikacji i rozbudowy tych antybiotyków przez np. reakcję dipolarnej cykloaddycji Huisgena.

1.3 Synteza nowych pochodnych z wykorzystaniem reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena

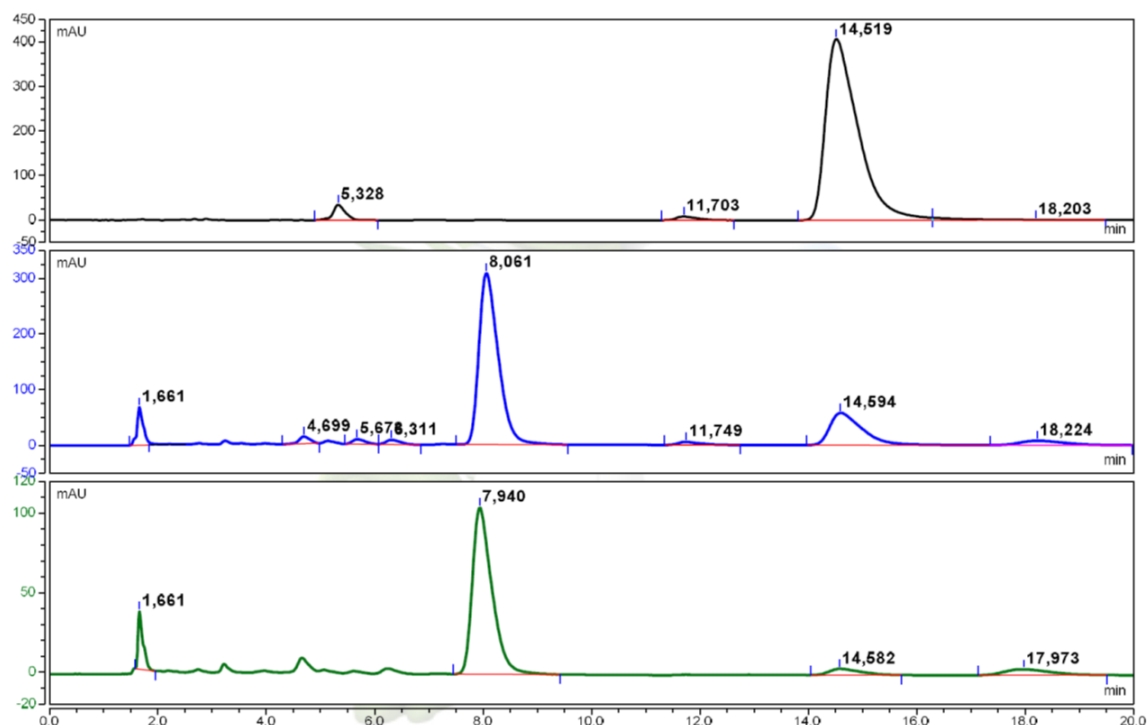
Trzecim etapem syntezy nowych pochodnych azytromycyny, modyfikowanych w pozycji C(2'), było przeprowadzenie reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena, katalizowanej jonami miedzi(I). Reakcja przedstawiona na Schemacie 17, zachodząca między dekladynozowaną azytromycyną z przyłączonym w pozycji C(2') mrówczanem propargilu (**AZM-1**), a odpowiednimi azydkami, prowadziła do utworzenia szeregu nowych i stabilnych pochodnych antybiotyku (**AZM-2 – AZM-19**), posiadających rozbudowane ramię cukrowe.



Schemat 17. Schemat reakcji otrzymywania produktów **AZM-2 – AZM-19** w wyniku reakcji cykloaddycji Huisgena pomiędzy substratem **AZM-1** z funkcją alkinową a odpowiednim azydkiem.

Reakcję cykloaddycji Huisgena prowadzono w temperaturze pokojowej, a jej postęp kontrolowano za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Na Rysunku 85 przedstawiono chromatogramy zarejestrowane w trakcie przeprowadzania reakcji, ukazujące przekształcanie substratu (**AZM-1**) w produkt (na przykładzie produktu **AZM-7**). Pik pochodzący od substratu **AZM-1** widoczny był o czasie retencji $t_R = 5,33$ min, a drugi substrat - bromek benzylu – o $t_R = 14,52$ min.

(Rysunek 85, chromatogram czarny). Piki te stopniowo, w trakcie trwania reakcji, zanikały kosztem pojawiającego się nowego piku o czasie retencji $t_R = 8,06$ min, który pochodził od produktu **AZM-7** (Rysunek 85, chromatogram niebieski). Po 3h stał się on pikiem dominującym na chromatogramie (Rysunek 85, chromatogram zielony) i reakcję zakończono, a następnie mieszaninę reakcyjną poddano oczyszczaniu w celu weryfikacji struktury oczekiwanego produktu.

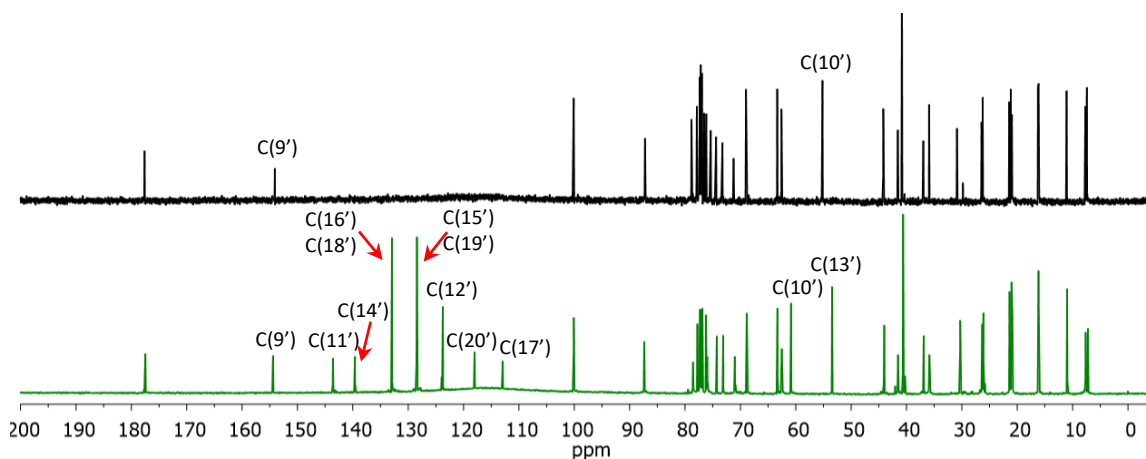


Rysunek 85. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie trwania reakcji cykloaddycji Huisgena, ukazujące: zmieszane ze sobą substraty – **AZM-1** i azydek p-cyjanobenzylu (czarny), mieszaninę reakcyjną (niebieski) oraz powstały w wyniku syntezy produkt **AZM-7** (zielony).

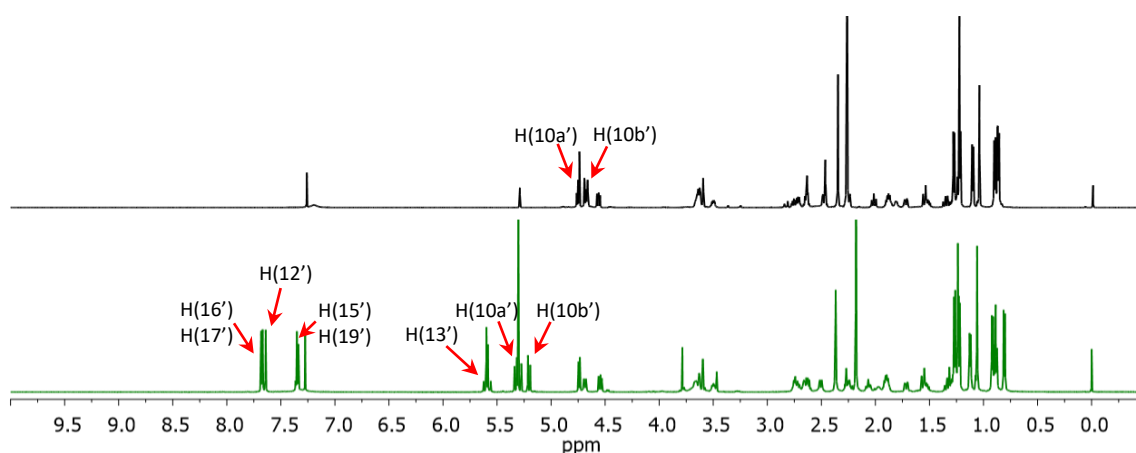
Widmo ESI-MS, zarejestrowane w trybie jonów dodatnich, dostarczyło pierwszych informacji dotyczących struktury otrzymanego związku. W widmie widoczny był pik przy wartości $m/z = 831$ [Da]. Masa cząsteczkowa substratu (**AZM-1**) wynosi 672 g/mol, a masa drugiego substratu – w tym wypadku azydku 4-cyjanobenzylowego – 158 g/mol. Zatem w wyniku reakcji Huisgena powinien powstać produkt o masie cząsteczkowej 830 g/mol. W widmie masowym związku **AZM-7** widoczny był pik o wartości 831 [Da], a więc odpowiadał on jonowi pseudomolekularnemu pochodnej **AZM-7**, co było wstępnym potwierdzeniem otrzymania produktu o zakładanej masie w wyniku reakcji cykloaddycji Huisgena.

Poniższa analiza spektroskopowa została przeprowadzona na przykładzie wybranej pochodnej **AZM-7**, natomiast przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR dla **AZM-2** – **AZM-19**, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, zostały przedstawione w Tabelach 3 – 6.

Analiza widm ^{13}C NMR (Rysunek 86) i ^1H NMR (Rysunek 87) potwierdziła strukturę zakładanego produktu, powstałego wskutek przeprowadzenia reakcji Huisgena. W wyniku tej reakcji struktura pierścienia makrocyklicznego nie uległa zmianie, co ustalono na podstawie dokładnego przypisania sygnałów pochodzących zarówno od aglikonu, jak i dezozaminy, zatem poniżej przedstawiona zostanie jedynie analiza spektroskopowa ramienia przyłączonego w pozycji C(2'). Porównując widmo ^1H NMR substratu (**AZM-1**) z widmem produktu (**AZM-7**) (Rysunek 87), można zaobserwować pojawienie się nowych

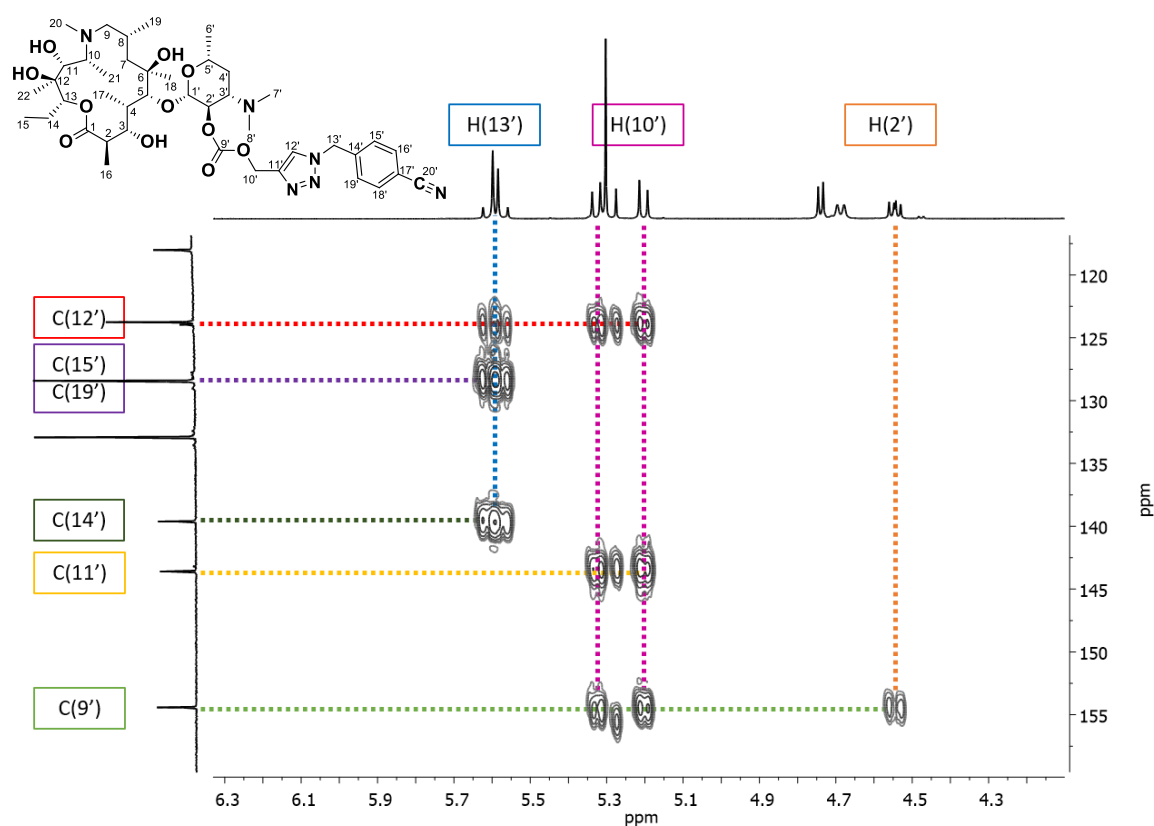


Rysunek 86. Zestawienie widm ^{13}C NMR substratu **AZM-1** (czarne) oraz produktu **AZM-7** (zielone) w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

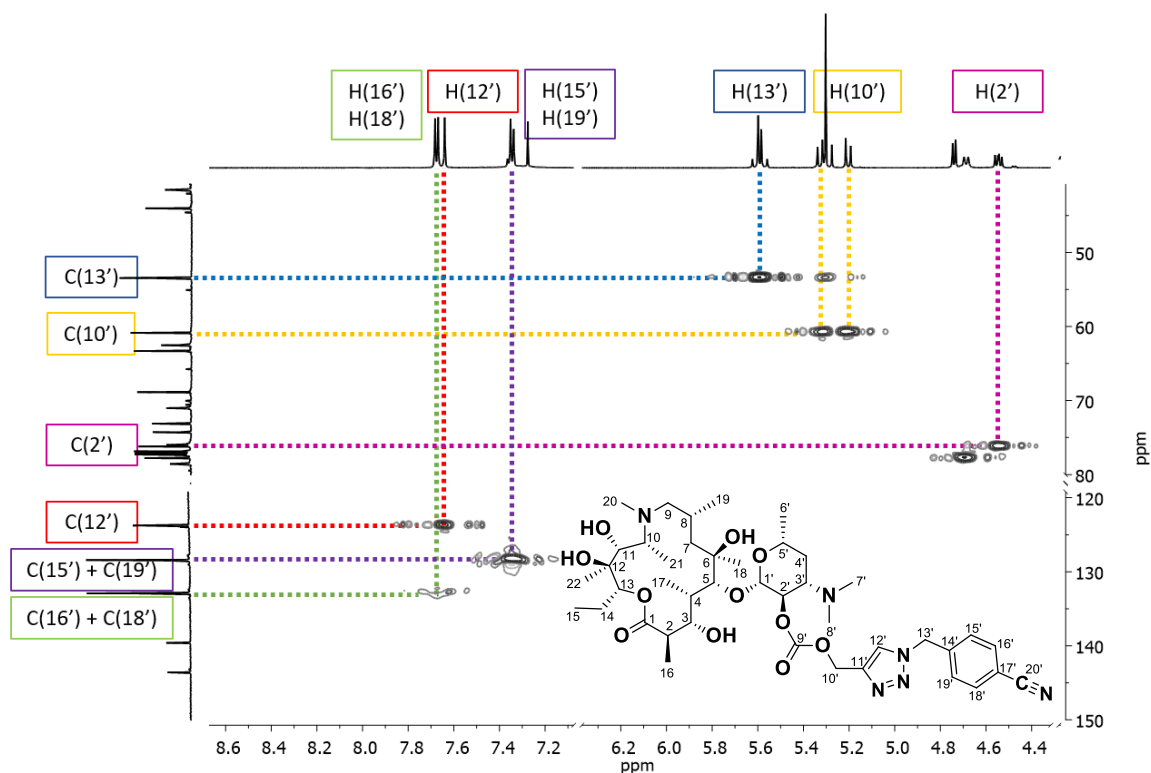


Rysunek 87. Zestawienie widm ^1H NMR substratu **AZM-1** (czarne) oraz produktu **AZM-7** (zielone) w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

sygnałów przy wyższych wartościach >5 ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 88) widoczna jest korelacja sygnału pochodzącego od grupy karbonylowej atomu węgla C(9') z dubletami przy przesunięciu chemicznym $\delta = 5,20$ ppm i $\delta = 5,33$ ppm, wykazującymi „efekt dachowy”, o geminalnej wartości stałej sprzężenia wynoszącej 12,8 Hz. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) protony te sprzęgają się z tym samym atomem węgla, którego sygnał obecny jest przy $\delta = 60,9$ ppm. Sygnał ten został zatem przypisany do atomu węgla C(10'), a korelujące z nim protony przypisano odpowiednio do protonów H(10'a) i H(10'b). Sygnały te w widmie ^1H - ^1H COSY nie korelują z żadnym innym sygnałem, więc aby dokonać dalszego przypisania, konieczne było sprawdzenie korelacji dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałami protonów H(10'), a kolejnymi sygnałami węglowymi. I tak, w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 88) zaobserwowano korelacje z dwoma nowymi sygnałami węglowymi o przesunięciach chemicznych wynoszących $\delta = 143,6$ ppm i $\delta = 123,8$ ppm. Pierwszy z nich w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) nie korelował z żadnym sygnałem protonowym, zatem przypisano go do atomu węgla C(11'), pochodzącego od nowoutworzonego pierścienia triazolowego. Z kolei drugi sygnał węglowy widoczny przy $\delta = 123,8$ ppm w



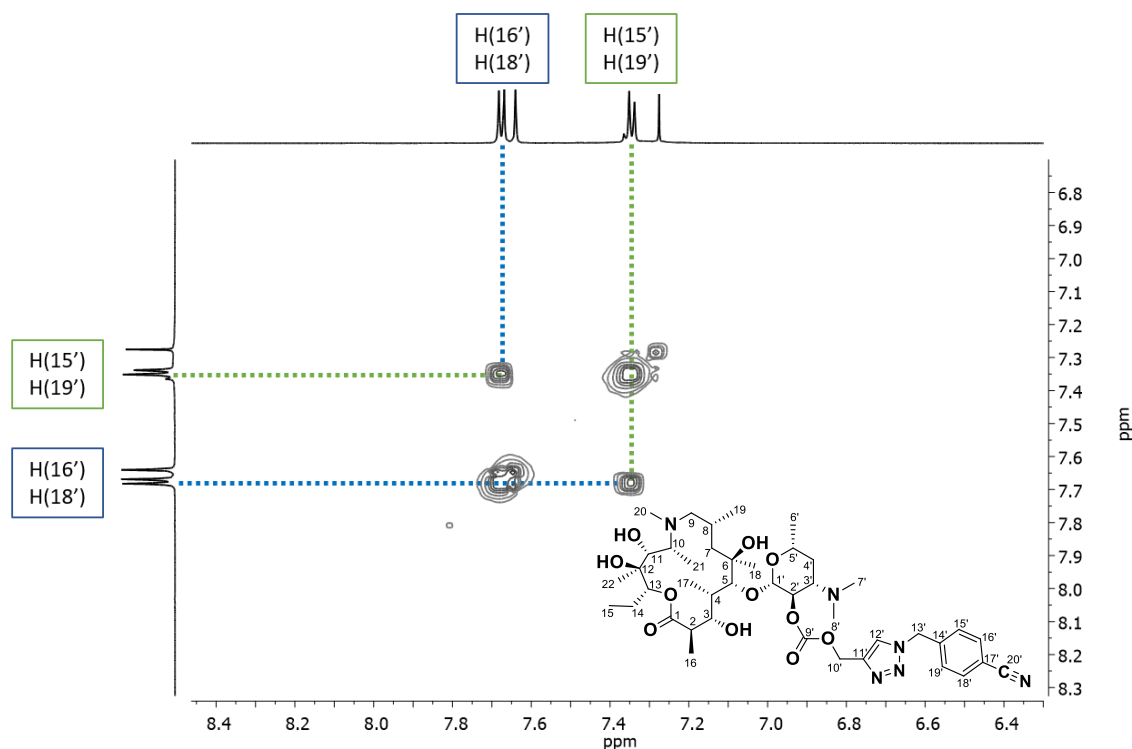
Rysunek 88. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **AZM-7** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego.



Rysunek 89. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HSQC produktu **AZM-7** ukazujące korelacje sygnałów węglowych i protonowych bliskiego zasięgu w nowym podstawniku.

widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) korelował z singletem przy $\delta = 7,64$ ppm, którego integracja wynosiła 1H. Sygnał ten przypisano do protonu H(12') z pierścienia triazolowego, a sygnał węglowy przy przesunięciu $\delta = 123,8$ ppm – do atomu węgla C(12'). Charakterystyczne przesunięcia sygnałów węglowych C(11') i C(12') oraz protonu H(12') były dodatkowym potwierdzeniem utworzenia w wyniku reakcji Huisgena triazolowego pierścienia. W widmie dalekiego zasięgu ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 88) atom węgla C(12') sprzęgał się z dwoma protonami rezonującymi przy $\delta = 5,61$ ppm (d, o stałej sprzężenia 15,3 Hz) i $\delta = 5,57$ ppm (d, o stałej sprzężenia 15,5 Hz). Dodatkowo, dublety od tych protonów charakteryzowały się silnym „efektem dachowym”, co wraz ze zbliżonymi wartościami stałych sprzężenia sugeruje, że protony te sprzęgają się ze sobą przez dwa wiązania. W takim razie należało przypisać je do grupy metylenowej C(13')H₂. Przedstawione założenie zostało potwierdzone przez obecność w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) korelacji omawianych dubletów z tym samym sygnałem węglowym przy wartości przesunięcia $\delta = 53,4$ ppm. Widoczny w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 88) sygnał pochodzący od protonów H(13') korelował z sygnałami węglowymi przy wartości

$\delta = 139,6$ ppm i $\delta = 128,4$ ppm. Pierwszy z nich, w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) nie korelował z żadnym sygnałem protonowym, zatem przypisałam tę wartość przesunięcia chemicznego do czwartorzędowego atomu węgla C(14'). Z kolei drugi sygnał węglowy pochodzący z pierścienia benzyłowego korelował z dubletem przy $\delta = 7,34$ ppm, którego integracja wynosiła 2H. Zatem sygnał przy $\delta = 128,4$ ppm odpowiadał równocześnie atomom węgla C(15') i C(19'), a sygnał przy $\delta = 7,34$ ppm – protonowi H(15') i protonowi H(19'). W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 90) proton ten (dublet) oddziałuje z innym protonem przy $\delta = 7,68$ ppm (dubletem, również integrowanym na 2H), a stała sprzężenia pomiędzy tymi protonami wynosi powyżej 8 Hz. Zatem sygnał ten przypisałam do protonów H(16') i H(18'), które z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) sprzęgały się z atomem węgla przy $\delta = 132,9$ ppm, którego sygnał odpowiadał atomom węgla C(16') i C(18'). Następnie sprawdziłam sprzężenie proton-węgiel dalekiego zasięgu, pochodzące od protonów z pierścienia benzyłowego. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 91) protony H(15') i H(19') sprzęgały się z atomem węgla przy $\delta = 113,0$ ppm, natomiast protony H(16') i H(18') - z atomem węgla przy $\delta = 118,0$ ppm. Sygnały od tych atomów węgla w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 89) nie korelowały z żadnymi sygnałami protonowymi, a więc

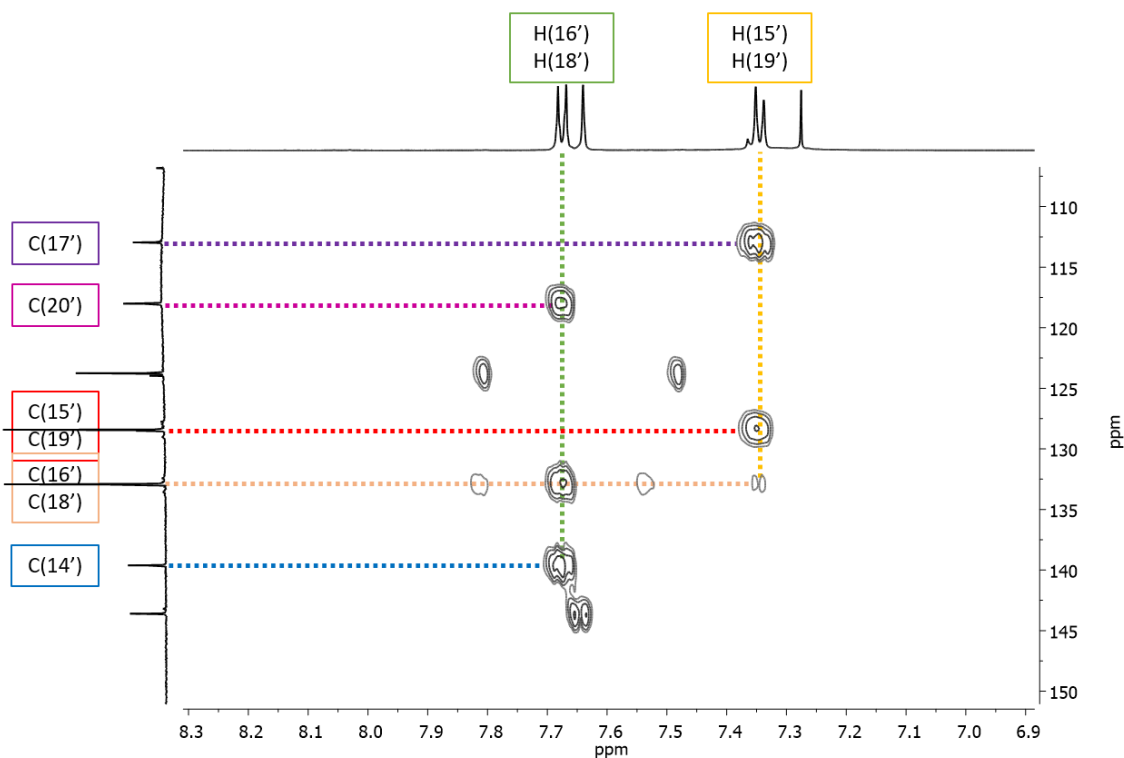


Rysunek 90. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY **AZM-7** przedstawiający korelacje pomiędzy protonami wprowadzonego układu benzyłowego.

można było je przypisać odpowiednio: sygnał przy $\delta = 113,0$ ppm do czwartorzędowego atomu węgla C(17') z pierścienia benzyłowego, a sygnał przy $\delta = 118,0$ ppm do czwartorzędowego atomu węgla C(20') podstawnika nitrylowego. Zauważyłam, że w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 91) sygnały przypisane do protonów H(15') i H(19') korelowały z sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(15') i C(19'), a sygnały przypisane do protonów H(16') i H(18') korelowały z sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(16') i C(18'). Sytuacja ta jest nietypowa, zatem mamy do czynienia z układem spinowym AA'MM'.

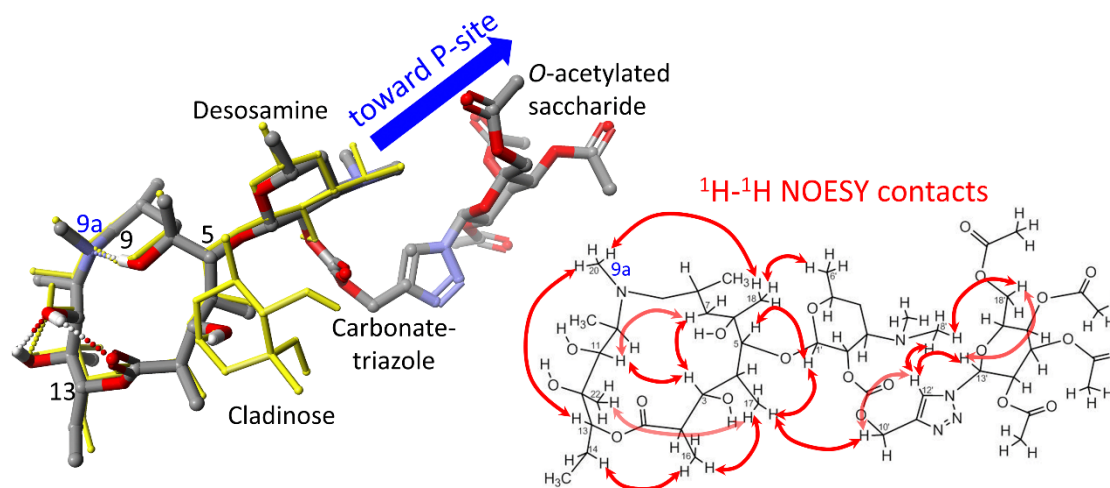
W celu określenia orientacji nowego, wprowadzonego w wyniku reakcji Huisgena podstawnika, przeprowadzona została dokładna analiza widm ^1H - ^1H NOESY. Uzyskane wyniki zostały omówione dla przykładowej pochodnej **AZM-15**. Kluczowe kontakty proton – proton, z punktu widzenia ustalenia konformacji **AZM-15**, zostały zaznaczone na zwizualizowanej strukturze (Rysunek 92), w której można zaobserwować charakterystyczne motywy strukturalne tego typu klasy pochodnych.

Analiza korelacji pomiędzy sygnałami pochodzącymi od protonów w widmie ^1H - ^1H NOESY nowej pochodnej **AZM-15** potwierdza, że przestrzenna budowa pierścienia



Rysunek 91. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC **AZM-7** z zaznaczonymi korelacjami pomiędzy aromatycznymi protonami, a sygnałami węglowymi.

laktonowego nie uległa znaczącej zmianie względem tej w **AZM**, a brak kladynozy w strukturze związku ma niewielki wpływ na konformację aglikonu (**Rysunek 92**). Widoczne korelacje wskazują, że pewne grupy protonów występują po jednej stronie pierścienia, a inne po drugiej, dzieląc cząsteczkę na dwie strefy - bardziej hydrofobową i bardziej hydrofilową. Taka konformacja utrzymywana jest również poprzez system wiązań wodorowych występujących w części pierścienia makrocyklicznego. Obecność kontaktów pomiędzy protonami w widmie ^1H - ^1H NOESY umożliwiła określenie położenia przyłączonego podstawnika względem aglikonu. I tak, wzajemne oddziaływania przez przestrzeń pomiędzy protonami grupy metylowej C(17) H_3 wraz z protonami grupy metylenowej C(10') H_2 potwierdziły stosunkowo bliskie wzajemne położenie tych dwóch części cząsteczki. Z kolei brak korelacji pomiędzy sygnałami z tej samej grupy metylowej, a innymi sygnałami od protonów z przyłączonego podstawnika umożliwił stwierdzenie, że podstawnik oddalony jest od aglikonu i skierowany „wirtualnie” w stronę pętli PTC. Konformacja przedłużonego, przez wiązanie węglanowo-triazolowe, ramienia dezozaminy w nowych tego typu pochodnych azytromycyny (**AZM-2 – AZM-19**) wydawała się być korzystna, biorąc pod uwagę wymogi steryczne tunelu rybosomalnego.



Rysunek 92. Struktura węglanowo-triazolowej pochodnej azytromycyny (**AZM-15**, szara) nałożona na strukturę azytromycyny w kryształach pozyskaną z kompleksu z rybosomem (**AZM**, żółta, PDB 1YHQ⁹⁸), ustalona na podstawie kontaktów pomiędzy protonami, widocznych w widmie ^1H - ^1H NOESY w CDCl_3 ; przedstawiona na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT).²²⁶

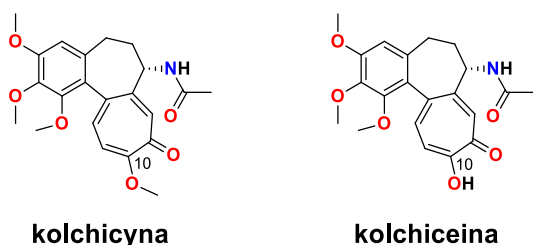
1.4 Specyficzny przykład pochodnych modyfikowanych w pozycji C(2') – związki hybrydowe

Synteza związków hybrydowych stwarza nowe możliwości modyfikacji produktów biologicznie czynnych. Połączenie dwóch różnych, często objętościowych substratów, które wykazują aktywność przeciwbakteryjną, przeciwnowotworową czy przeciwgrzybiczną, może prowadzić do otrzymania związku, którego aktywność będzie wzmocniona i może być on potencjalnie wykorzystywany w farmakologii.

W celu połączenia ze sobą za pomocą łącznika triazolowego dwóch różnych związków o właściwościach biologicznych, niezbędne było odpowiednie przygotowanie substratów do tej reakcji. Za pomocą reakcji dipolarnej cykloaddycji Huisgena podjęłam próbę połączenia pochodnej azytromycynowej, posiadającej przyłączony łącznik zakończony terminalnym alkinem (**AZM-1**), z pochodną kolchicineiny, posiadającą w swojej strukturze grupę azydkową.

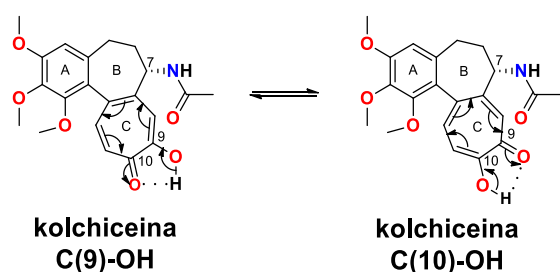
1.4.1 Synteza kolchicineiny z funkcją azydkową

Kolchiceina (**COL**) jest metabolitem naturalnego alkaloidu – kolchicyny (**Rysunek 93**). Alkaloid ten otrzymywany jest z nasion zimowita jesiennego (*Colchicum autumnale*).^{229,230} W latach 60 XX wieku w USA oraz Wielkiej Brytanii kolchicyna została zatwierdzona do leczenia chorób stawów, dny moczanowej, zapalenia osierdza oraz stosowana była jako środek przeciwzapalny w leczeniu gorączki śródziemnomorskiej i choroby Behçeta.^{231,232} Kolchicyna posiada silne, na poziomie nanomolowym, właściwości przeciwnowotworowe i hamuje depolimeryzację tubulin, działając jak typowa trucizna mitotyczna.^{233–235} Jest ona bardzo toksyczna, dawka śmiertelna tego związku wynosi 0,8 mg/kg masy ciała.²³⁶



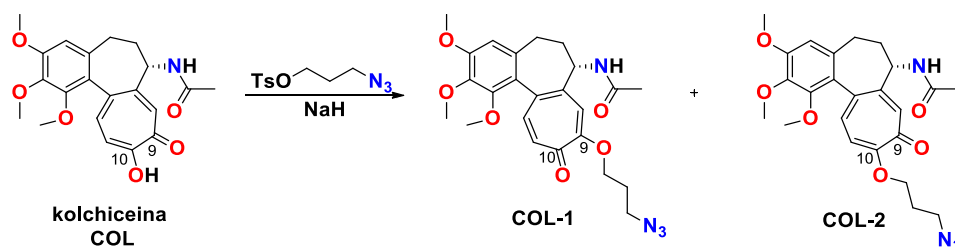
Rysunek 93. Struktura naturalnego alkaloidu – kolchicyny i jej metabolitu – kolchicineiny.

Jak wspomniano na wstępie, produktem powstającym w wyniku metabolizmu kolchicyny jest kolchiceina ([Rysunek 93](#)). Charakteryzuje się ona równocześnie obniżoną aktywnością przeciwnowotworową i polepszonymi właściwościami przeciwgrzybicznymi względem kolchicyny.²³⁷ Jej niewielkie dawki stosowane są w leczeniu wielu schorzeń, jednakże duże ilości mogą wywoływać zaburzenia żołądkowo-jelitowe i przyczyniać się do niewydolności wielonarządowej i uszkodzeń szpiku kostnego.²³⁸ Kolchiceina to alkaloid zbudowany z trzech połączonych ze sobą pierścieni: benzyłowego, cykloheptyłowego oraz tropolonowego. Ulega ona procesowi tautomerizacji keto-enolowej w obrębie pierścienia tropolonowego (C), przyczyniając się do powstania dwóch równowagowych produktów – formy C(9)-OH i formy C(10)-OH ([Schemat 18](#)).²²⁷



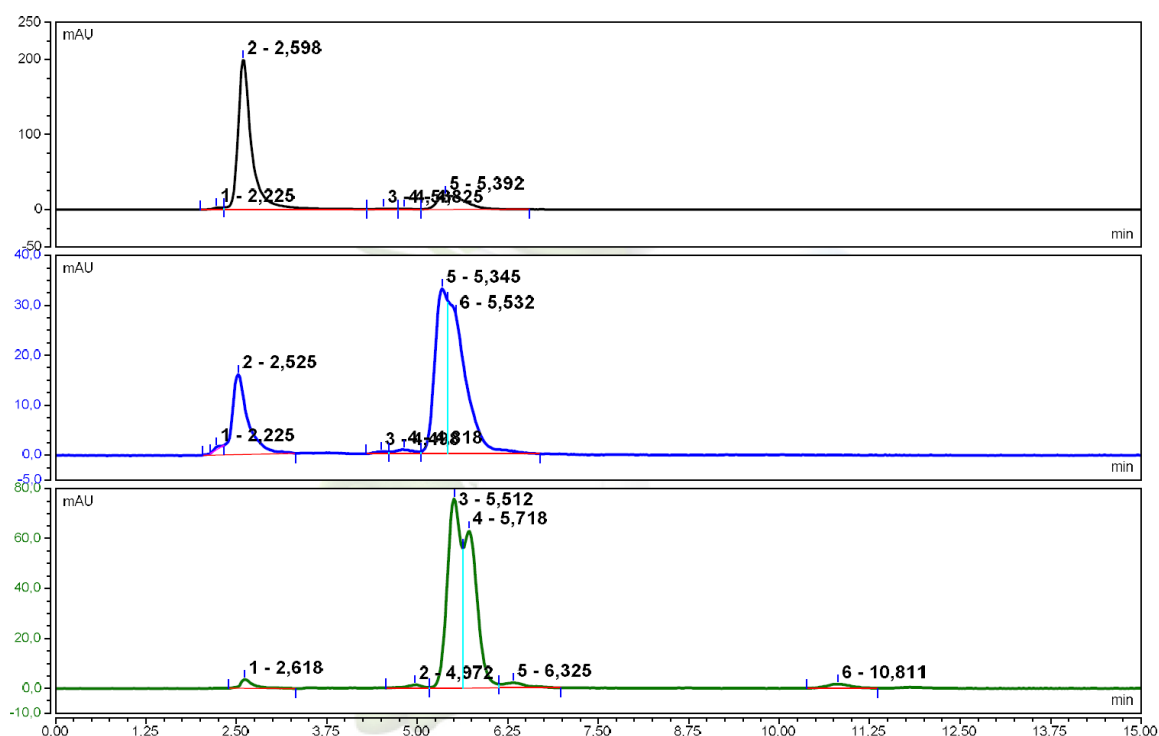
Schemat 18. Schemat przedstawiający proces tautomerizacji zachodzący w szkielecie kolchiceiny.²²⁷

Aby móc przeprowadzić reakcję dipolarnej cykloaddycji Huisgena, niezbędna była odpowiednia funkcjonalizacja substratu – kolchiceiny, poprzez przyłączenie grupy azydkowej. W celu regioselektywnej modyfikacji szkieletu kolchiceiny podjęłam próbę eteryfikacji grupy hydroksylowej pierścienia tropolonowego, wykorzystując do reakcji alkilowy azydek posiadający grupę tosylową ([Schemat 19](#)).



Schemat 19. Schemat przedstawiający syntezę produktów **COL-1** i **COL-2** posiadających przyłączony alkilowy podstawnik zakończony grupą azydkową.

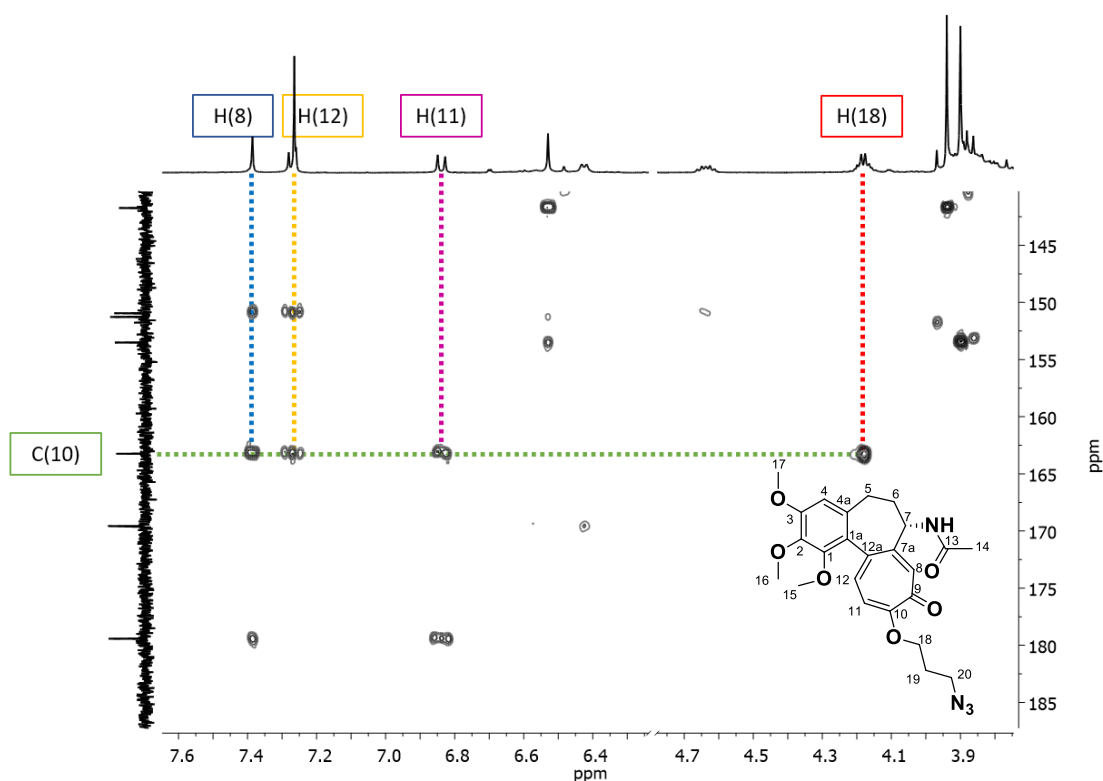
Atak nukleofilowy wolnej pary elektronowej grupy hydroksylowej, zaktywowanej wodorkiem sodu, na cząsteczkę 4-metylobenzenosulfonianu 3-azydopropylu, spowodował przyłączenie jej z równoczesnym odejściem 4-metylobenzenosulfonianu, jako grupy łatwo odchodzącej. Ze względu na zachodzący proces tautomerizacji keto-enolowej, utworzone zostały alternatywne produkty posiadające przyłączony łącznik alkilowy, zakończony azydkiem. Postęp tej reakcji i utworzenie obu produktów zaobserwowałam na chromatogramach wykonywanych w trakcie prowadzenia reakcji. (Rysunek 94). Pik pochodzący od substratu widoczny był o $t_R = 2,60$ min, na chromatogramie wykonanym po 1 godzinie od rozpoczęcia reakcji (Rysunek 94, chromatogram czarny). Po 24h skontrolowałam reakcję ponownie i zauważyłam powstanie dwóch pików o $t_R = 5,34$ i $t_R = 5,53$ (Rysunek 94, chromatogram niebieski). W momencie, w którym na chromatogramie nie obserwowałam już pików od substratu (Rysunek 94, chromatogram zielony), zakończyłam reakcję, a następnie oczyściłam mieszaninę reakcyjną i podjęłam próby weryfikacji struktur obu nowo otrzymanych produktów.



Rysunek 94. Zestawienie chromatogramów wykonanych w trakcie reakcji substytucji nukleofilowej 4-metylobenzenosulfonianu 3-azydopropylu do **COL** ukazujące: mieszaninę reakcyjną po 1h (czarny), mieszaninę reakcyjną po 24h (niebieski) oraz powstałą w wyniku syntezy mieszaninę produktów **COL-1** i **COL-2** (zielony).

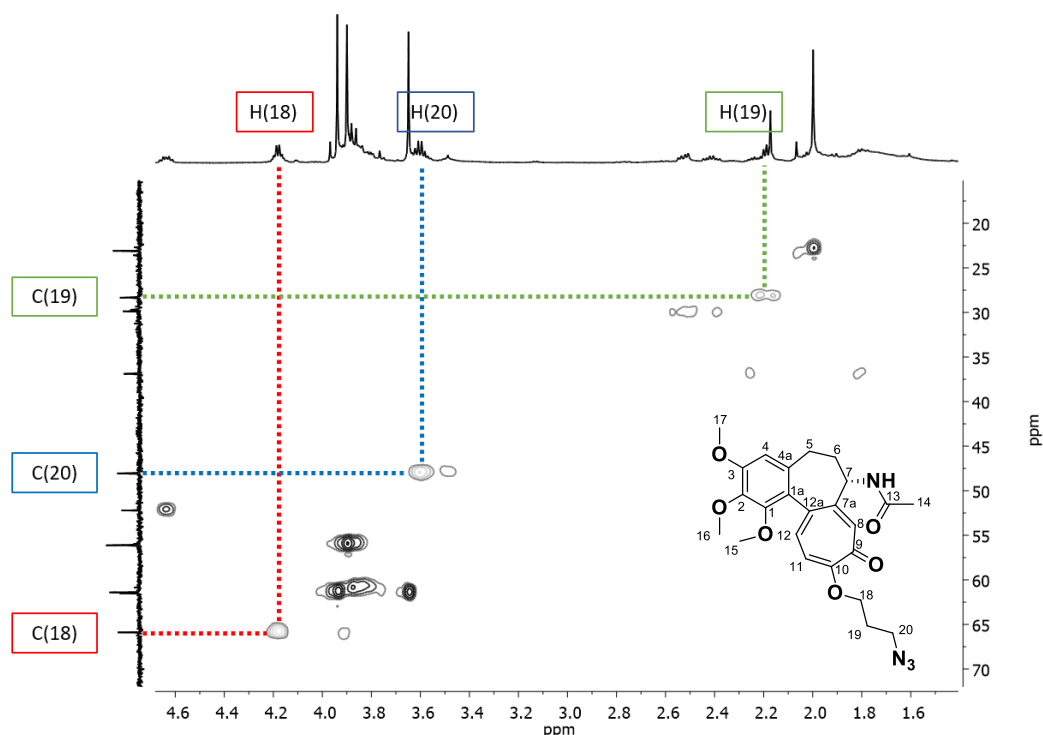
Analizę spektroskopową obu związków (**COL-1** i **COL-2**) przeprowadziłam w celu dokładnego ustalenia struktur otrzymanych produktów. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY zostały przedstawione w Tabelach 17 i 18.

Wstępna analiza widm ^1H NMR i ^{13}C NMR otrzymanego produktu oraz konfrontacja wartości przesunięć chemicznych sygnałów, ze znanymi literaturowo wartościami przesunięć dla cząsteczki kolchicineiny²³⁷ umożliwiła potwierdzenie otrzymania oczekiwanego produktu, powstałego w skutek przeprowadzenia reakcji substytucji nukleofilowej. Z kolei szczegółowa analiza widm dwuwymiarowych, przeprowadzona na przykładzie produktu **COL-2**, potwierdziła jego strukturę i miejsce przyłączenia podstawnika alkilowego zakończonego grupą azydkową. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC **COL-2** (Rysunek 95) widoczna jest korelacja pomiędzy sygnałem przy $\delta = 163,4$ ppm, przypisanym do atomu węgla C(10), a multipletem, pochodzącym od dwóch protonów, przy przesunięciu chemicznym $\delta = 4,19$ ppm. Multiplet ten, z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 96), koreluje z sygnałem węglowym przy $\delta = 66,0$ ppm, a w widmie ^1H - ^1H COSY

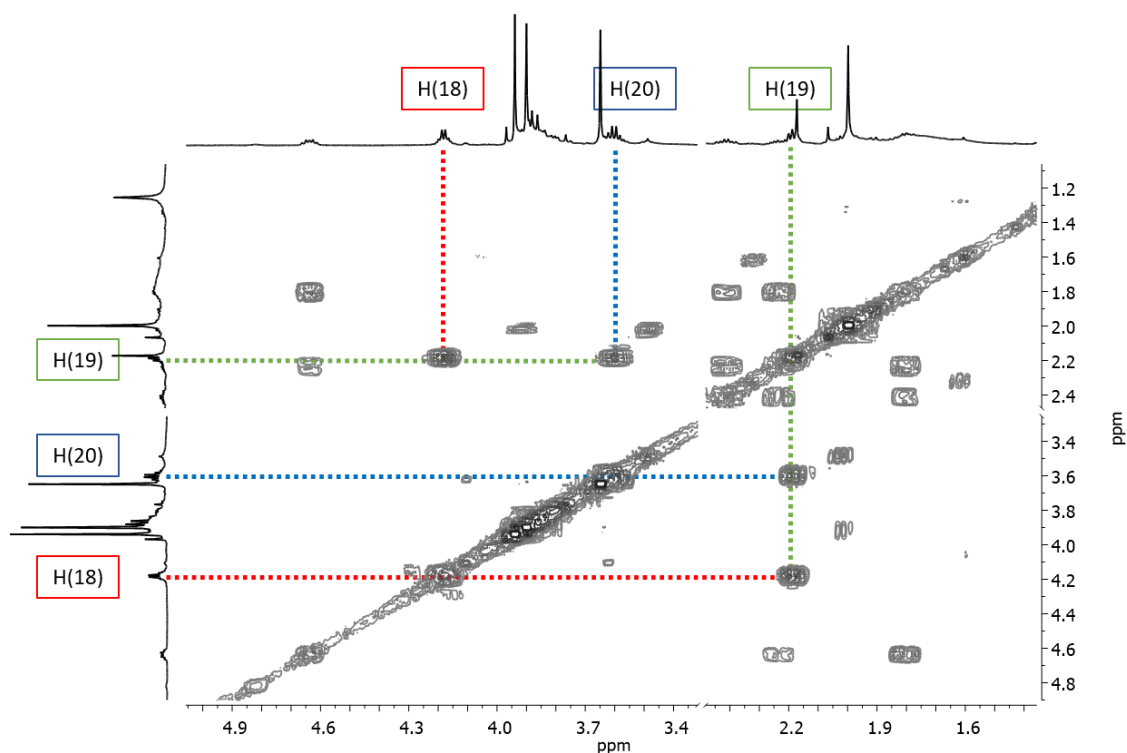


Rysunek 95. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **COL-2** przedstawiający korelacje pomiędzy sygnałami tropolonowymi, a sygnałem od grupy metylowej wprowadzonego podstawnika (H(18)).

(Rysunek 97) - z jednym nowym sygnałem przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 2,19$ ppm. Zatem sygnał przy $\delta = 4,19$ ppm przypisałam protonowi H(18), a korelujący z nim sygnał węglowy ($\delta = 66,0$ ppm) – atomowi węgla C(18). Nowy sygnał, który pojawił się w widmie produktu **COL-2**, przy $\delta = 2,19$ ppm, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 97) korelował ze znanym już sygnałem pochodzącym od protonu H(18) oraz nowym sygnałem przy $\delta = 3,60$ ppm. Przypisałam go zatem do protonu H(19), a ten nowy – do protonu H(20), gdyż nie korelował on z żadnym innym sygnałem protonowym w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 97). Dodatkowo jego wysoka wartość przesunięcia chemicznego, typowa dla protonów znajdujących się w pobliżu heteroatomu, sugerowała, że sygnał ten odpowiada grupie metylenowej przyłączonej do podstawnika azydkowego. Następnie, na podstawie korelacji występujących w widmie proton-węgiel bliskiego zasięgu, przypisałam protonom H(19) i H(20) odpowiadające im sygnały węglowe. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 96) proton przypisany do H(19) sprzęgał się z atomem węgla przy wartości $\delta = 28,1$ ppm, a H(20) – z atomem węgla przy wartości $\delta = 48,0$ ppm. Zatem przypisałam je kolejno do atomów węgla C(19) i C(20).



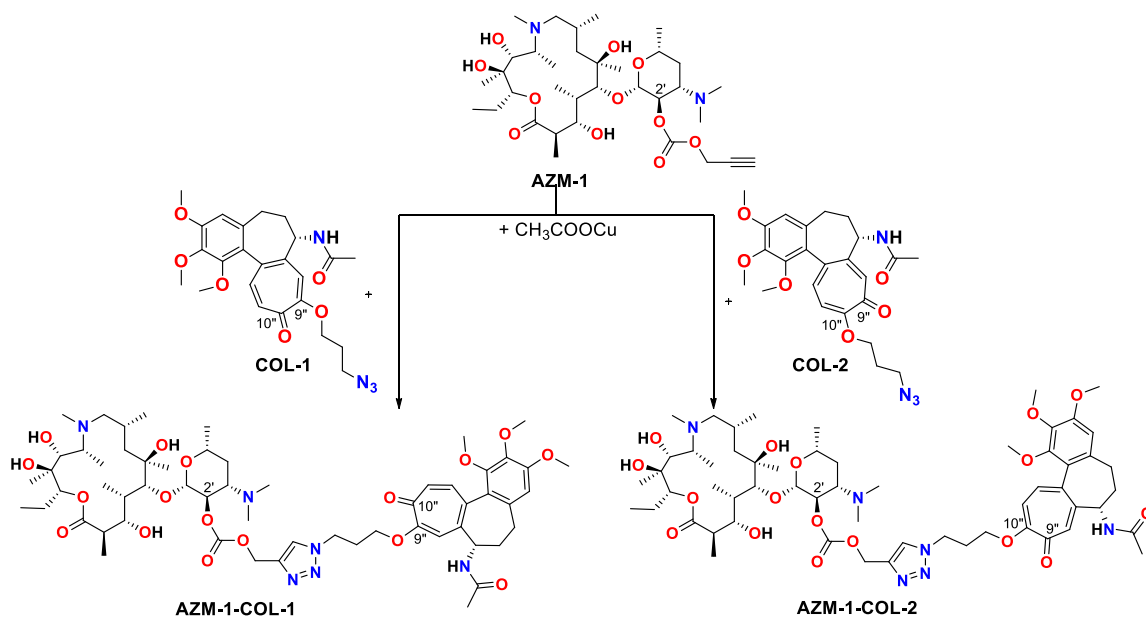
Rysunek 96. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HSQC produktu **COL-2** ukazujący korelacje sygnałów węglowych i protonowych bliskiego zasięgu w nowym podstawniku.



Rysunek 97. Fragment widma ^1H - ^1H COSY **COL-2** przedstawiający korelacje pomiędzy protonami wprowadzonego podstawnika alkilowego zakończonego grupą azydkową.

1.4.2 Reakcja Huisgena pomiędzy COL-1 i COL-2 a AZM-1

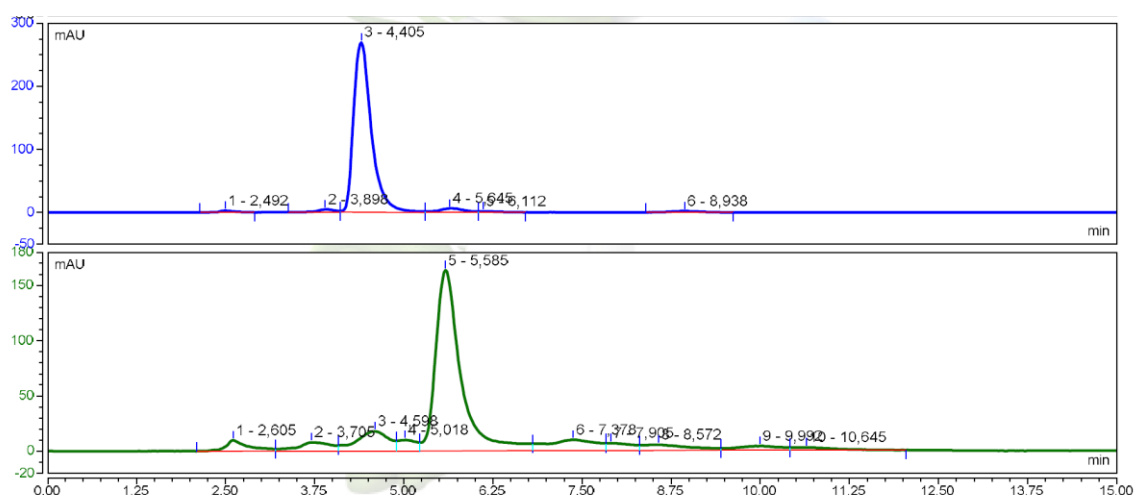
Dysponując odpowiednio przygotowanymi substratami, przeprowadziłam dwie reakcje 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena, katalizowanej jonami miedzi(I), prowadzące do otrzymania nowych, hybrydowych połączeń pomiędzy azytromycyną, a kolchiceiną (Schemat 20). W obu reakcjach jednym z substratów była azytromycyna z przyłączonym w pozycji C(2') mrówczanem propargilu (**AZM-1**), z kolei substratem posiadającym ugrupowanie azydkowe były kolejno **COL-1** i **COL-2**. W przeciwieństwie do opisanych w poprzednim rozdziale reakcji Huisgena, synteza tych hybryd wymagała zastosowania innych, łagodniejszych warunków. Reakcje prowadzone były w temperaturze pokojowej, bez użycia metanolu jako rozpuszczalnika, gdyż jego zastosowanie prowadziło do reakcji alkoholizy i utraty przyłączonego ugrupowania węglanowego w pozycji C(2').



Schemat 20. Schemat reakcji otrzymywania produktów **AZM-1-COL-1** i **AZM-1-COL-2** w wyniku reakcji cykloaddycji Huisgena pomiędzy substratem **AZM-1** z funkcją alkinową, a odpowiednim azydkiem – **COL-1** lub **COL-2**.

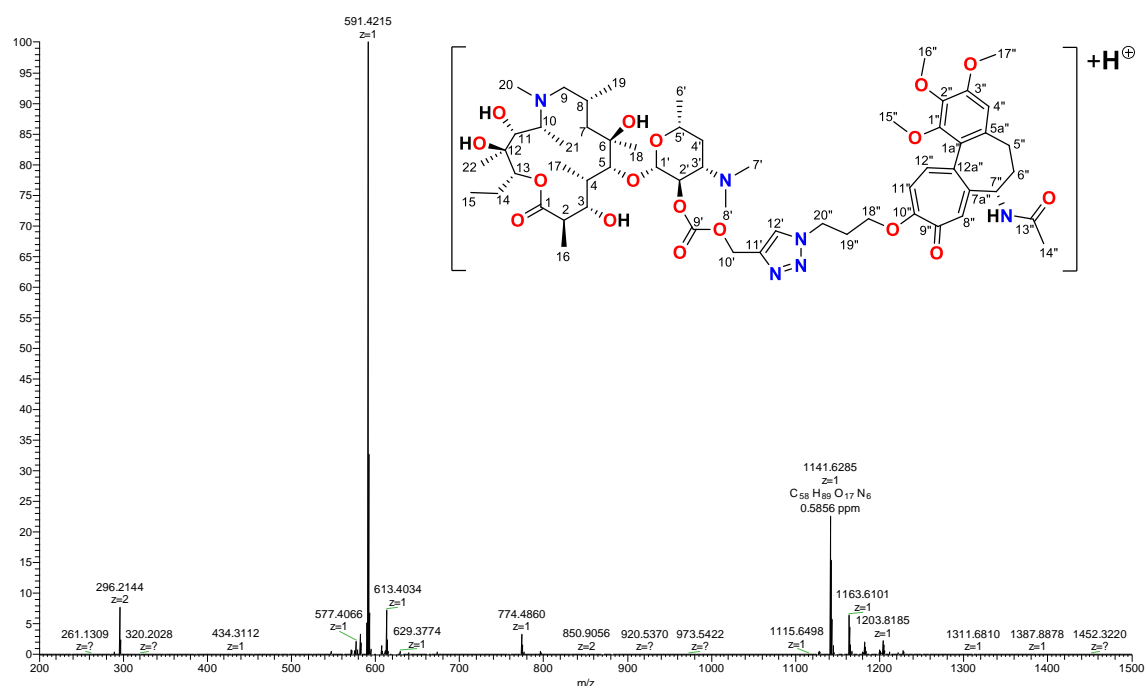
Na [Rysunku 98](#) przedstawiłam chromatogramy zarejestrowane w trakcie przeprowadzania reakcji, ukazujące przekształcanie substratu (**AZM-1**) w produkt – na przykładzie związku **AZM-1-COL-2**. Ze względu na charakterystyczną dla pierścienia tropolonowego długość fali przy której występuje maksimum absorpcji (347 nm), analiza chromatografów była prostsza. Na chromatogramie mieszaniny reakcyjnej przed dodatkiem katalizatorów ([Rysunek 98](#), chromatogram niebieski), wykonanym przy długości fali 347 nm, widoczny był jedynie pik odpowiadający substratowi **COL-2** o czasie retencji $t_R = 4,40$ min. Po 3h zauważyłam stopniowy zanik intensywności tego piku na rzecz tworzącego się nowego piku o czasie retencji $t_R = 5,58$ min. Nowy pik widoczny przy tej charakterystycznej długości fali odpowiadał produktowi, który w swojej strukturze musiał posiadać układ tropolonowy, zatem założyłam, że jest to pik pochodzący od oczekiwanego produktu hybrydowego. Analogiczne obserwacje zostały odnotowane przy prowadzeniu reakcji pomiędzy **AZM-1** a **COL-1**. W momencie, w którym na chromatogramie nie obserwowałam już substratu ([Rysunek 98](#), chromatogram zielony) zakończyłam reakcję, a następnie oczyściłam mieszaninę reakcyjną i podjęłam próby weryfikacji struktury nowo otrzymanych produktów.

Wyniki i dyskusja



Rysunek 98. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie trwania reakcji cykloaddycji Huisgena: przed dodaniem katalizatora, ukazujący zmieszane ze sobą substraty – **AZM-1** i **COL-2** (niebieski chromatogram), oraz powstały w wyniku syntezy produkt **AZM-1-COL-2** (zielony chromatogram).

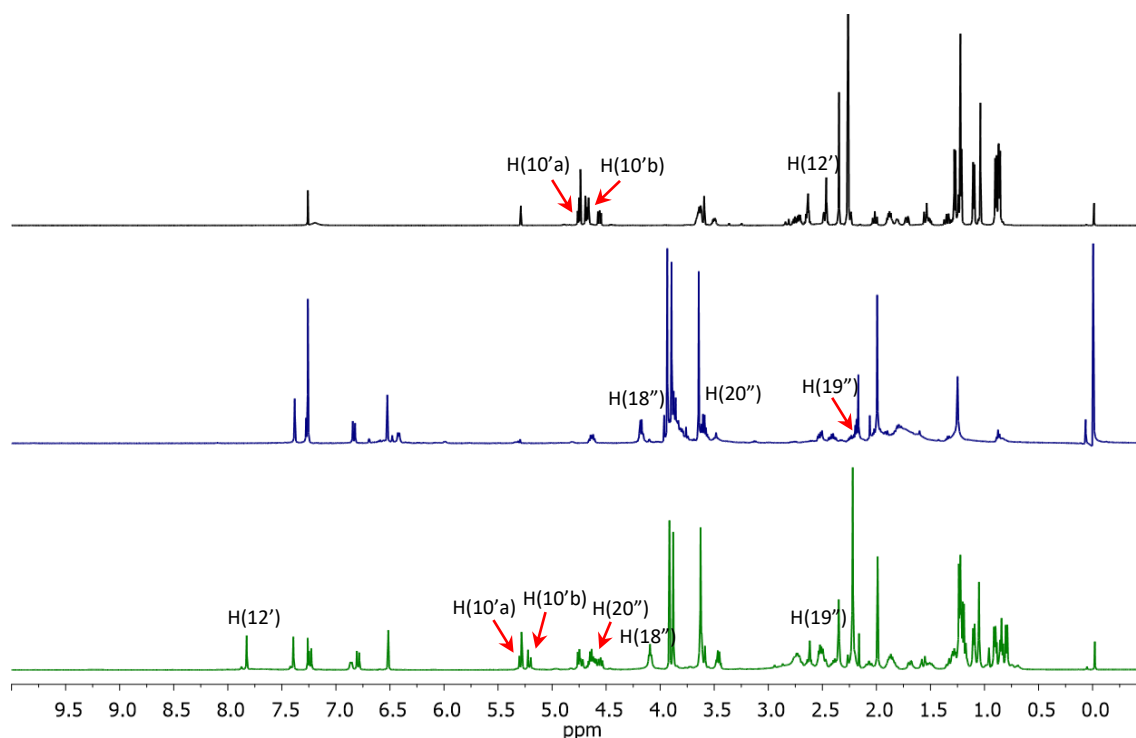
Pierwszych informacji dotyczących struktury dostarczyła analiza widm HR MS, wykonanych w trybie jonów dodatnich (**Rysunek 99**). W widmach masowych obu nowych produktów hybrydowych obecny był pik przy wartości $m/z = 1141$ [Da], który odpowiada jonom pseudomolekularnym pochodnych **AZM-1-COL-1** i **AZM-1-COL-2**. Uzyskanie pików o masie odpowiadającej masom oczekiwanych produktów było wstępnym potwierdzeniem pomyślnego zajścia reakcji cykloaddycji Huisgena.



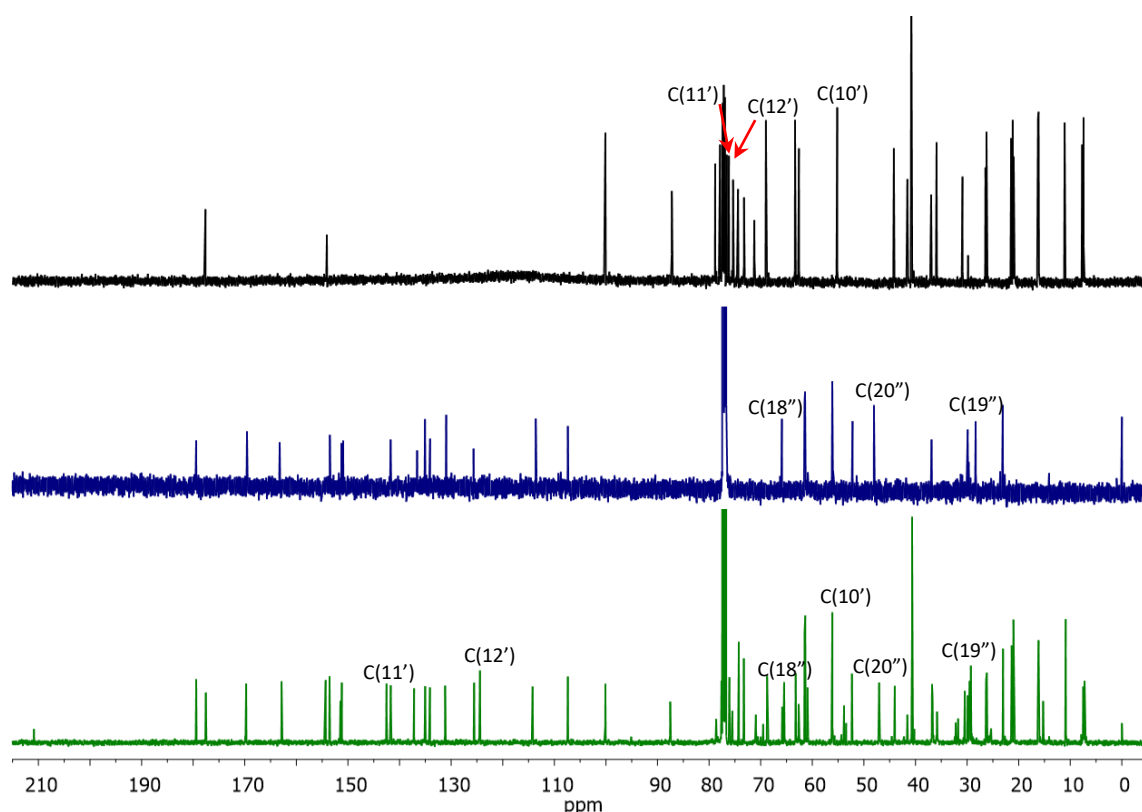
Rysunek 99.Widmo HR MS wykonane w trybie jonów dodatnich dla **AZM-1-COL-2**.

Poniższa analiza spektroskopowa została przeprowadzona na przykładzie pochodnej **AZM-1-COL-2**, natomiast przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR dla produktu **AZM-1-COL-1** i **AZM-1-COL-2**, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, zostały przedstawione w Tabelach 17 i 18.

Wstępna analiza widm ^1H NMR (Rysunek 100) i ^{13}C NMR (Rysunek 101) potwierdziła strukturę oczekiwanego produktu triazolowego. W wyniku połączenia poprzez pierścień triazolowy dwóch substratów, zarówno struktura pierścienia makrocyklicznego, jak i szkieletu kolchiceiny, nie uległy zmianie, co ustaliłam na podstawie dokładnego przypisania sygnałów. Zmiany, jakie można zauważyć w widmie nowego produktu występują w obrębie łączników pomiędzy pierścieniem triazolowym a szkieletami związków wyjściowych. Wynika to z nowo utworzonego połączenia alkinu z azydkiem w pięcioczłonowy pierścień zawierający 3 atomy azotu, co z kolei powodowało zmiany w pozycjach sygnałów przypisanych do poszczególnych atomów w tym rejonie cząsteczki. Poniższą analizę spektroskopową, potwierdzającą otrzymanie hybrydowego połączenia, przeprowadziłam szczegółowo dla tego fragmentu cząsteczki.

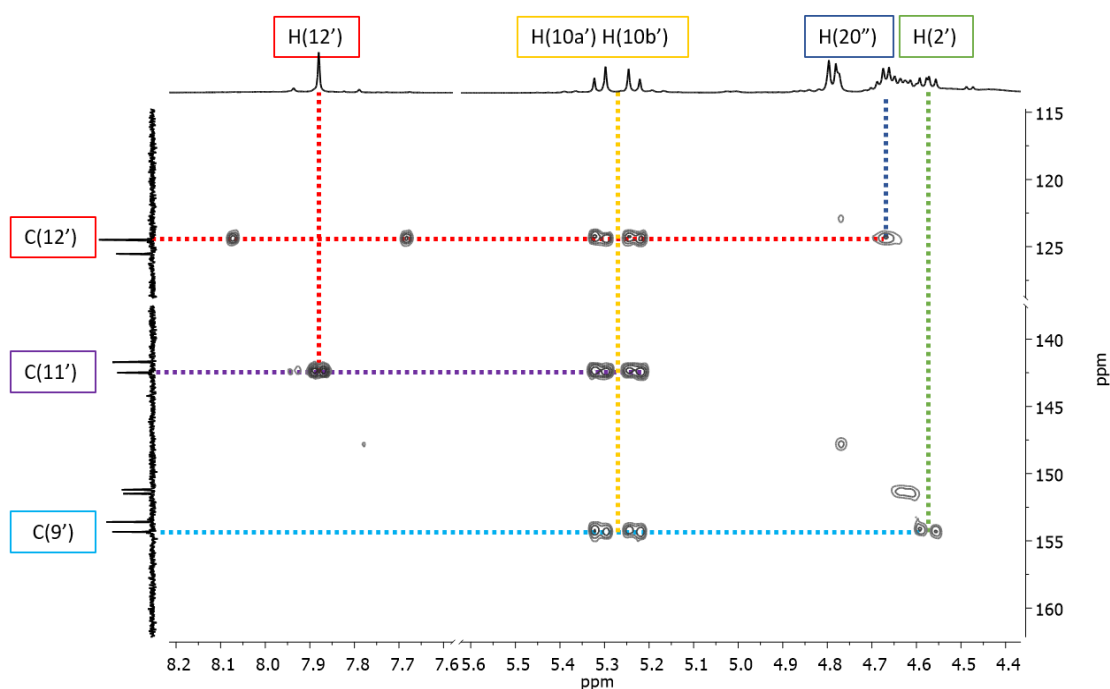


Rysunek 100. Zestawienie widm ^1H NMR substratów: **AZM-1** (czarne) i **COL-2** (niebieskie) oraz produktu **AZM-1-COL-2** (zielone) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



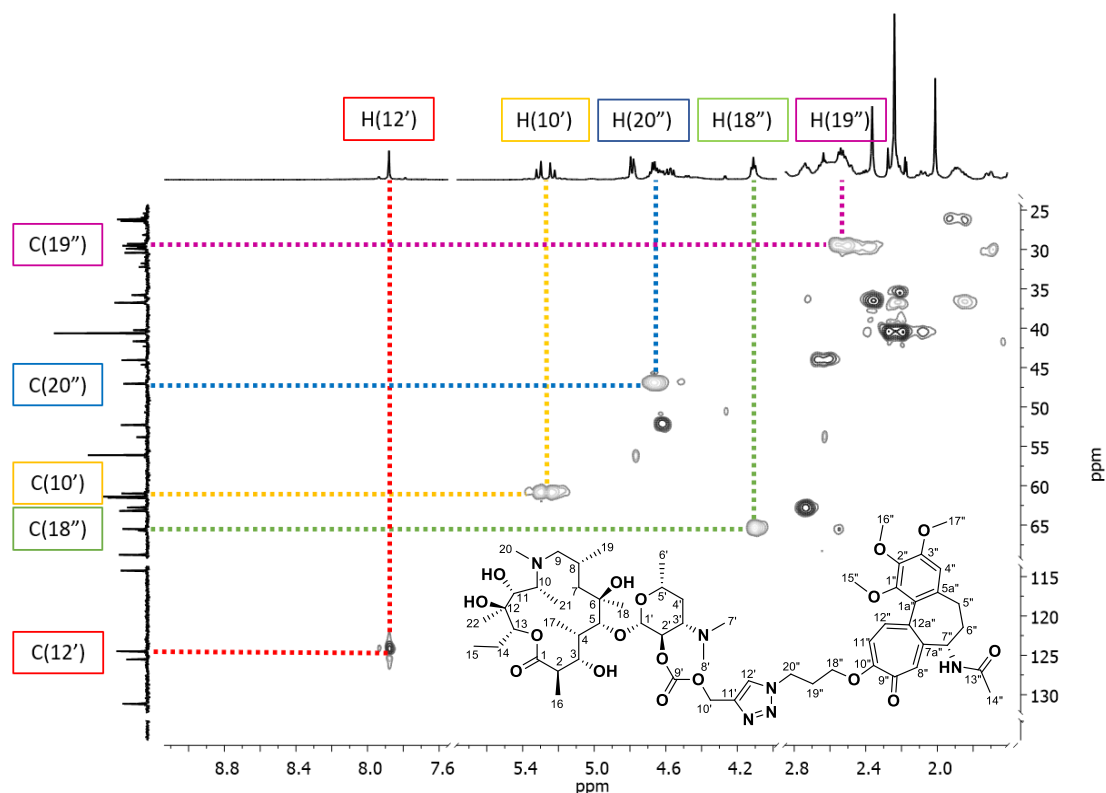
Rysunek 101. Zestawienie widm ^{13}C NMR substratów: **AZM-1** (czarne) i **COL-2** (niebieskie) oraz produktu **AZM-1-COL-2** (zielone) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

Porównując widma substratów **AZM-1** i **COL-2** z widmem produktu **AZM-1-COL-2**, można zauważyć, że liczba sygnałów w widmie produktu znacząco wzrosła i, zarówno w widmie węglowym, jak i protonowym, zaobserwowałam pojawienie się nowych niskopoloowych sygnałów, charakterystycznych dla układów: benzylowych, tropolonowych i triazolowych. W widmie ^1H NMR ([Rysunek 100](#)) widoczny jest dublet dubletów przy $\delta = 4,55$ ppm, przypisany do protonu H(2') dezoaminy, który w widmie ^1H - ^{13}C HMBC ([Rysunek 102](#)) koreluje z sygnałem węglowym przy przesunięciu chemicznym $\delta = 154,4$ ppm. Z kolei w widmie ^1H - ^{13}C HSQC ten sygnał węglowy nie koreluje z żadnym sygnałem protonowym i należało przypisać go do karbonylowego atomu węgla C(9'). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC ([Rysunek 102](#)) sygnał od C(9') koreluje z dwoma dubletami przy przesunięciu chemicznym $\delta = 5,29$ ppm i $\delta = 5,21$ ppm, wykazującymi „efekt dachowy”, o stałych sprzężenia wynoszących 12,6 Hz. Oba te protony, w widmie ^1H - ^{13}C HSQC ([Rysunek 103](#)) sprzęgają się z tym samym atomem węgla, którego sygnał widoczny jest przy wartości przesunięcia $\delta = 61,0$ ppm, został on zatem przypisany do atomu węgla C(10'). Sprzęgające się natomiast z nim protony, z geminalną stałą sprzężenia $^2J = 12,6$ Hz, a nieoddziałujące z żadnym innym



Rysunek 102. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **AZM-1-COL-2** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego.

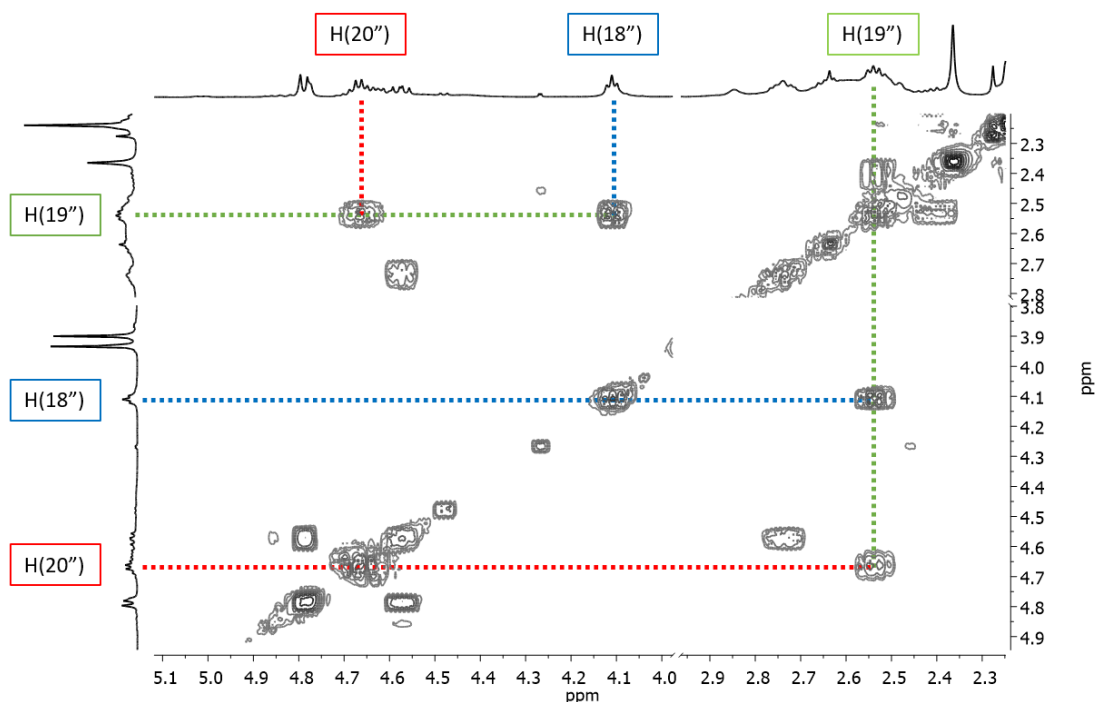
protonem (w widmie ^1H - ^1H COSY brak dodatkowych korelacji), przypisano odpowiednio do protonów H(10'a) i H(10'b). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 102) sygnały pochodzące od tych protonów korelują z dwoma nowymi sygnałami węglowymi o przesunięciach chemicznych wynoszących $\delta = 142,6$ ppm i $\delta = 124,5$ ppm. Pierwszy z nich w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 103) nie koreluje z żadnym protonem i odpowiada czwartorzędowemu atomowi węgla, drugi koreluje z singletem przy wartości $\delta = 7,82$ ppm. Na podstawie tych informacji sygnał przy $\delta = 142,6$ ppm przypisałam do atomu węgla C(11'), a sygnał przy $\delta = 124,5$ ppm i odpowiadający mu sygnał protonowy przy $\delta = 7,82$ ppm – do atomu węgla C(12') i protonu H(12'). Charakterystyczne wartości przesunięć sygnałów węglowych C(11') i C(12') oraz protonu H(12') są dodatkowym potwierdzeniem struktury fragmentu triazolowego. W widmie dalekiego zasięgu ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 102) sygnał przypisany do atomu węgla C(12') koreluje z multipletem przy wartości $\delta = 4,67$ ppm, o integracji 2H. Ten sygnał z kolei, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 104) koreluje z multipletem, o integracji 2H, przy $\delta = 2,54$ ppm, który dalej koreluje z kolejnym, również integrowanym na 2H, multipletem przy $\delta = 4,09$ ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 103) widoczne są plamki korelacyjne od następujących par: 47,2 ppm i 4,67 ppm, 29,4 ppm i 2,54 ppm oraz 65,6 ppm i 4,09 ppm, które odpowiednio przypisałam do grup metylenowych C(20'')H₂,



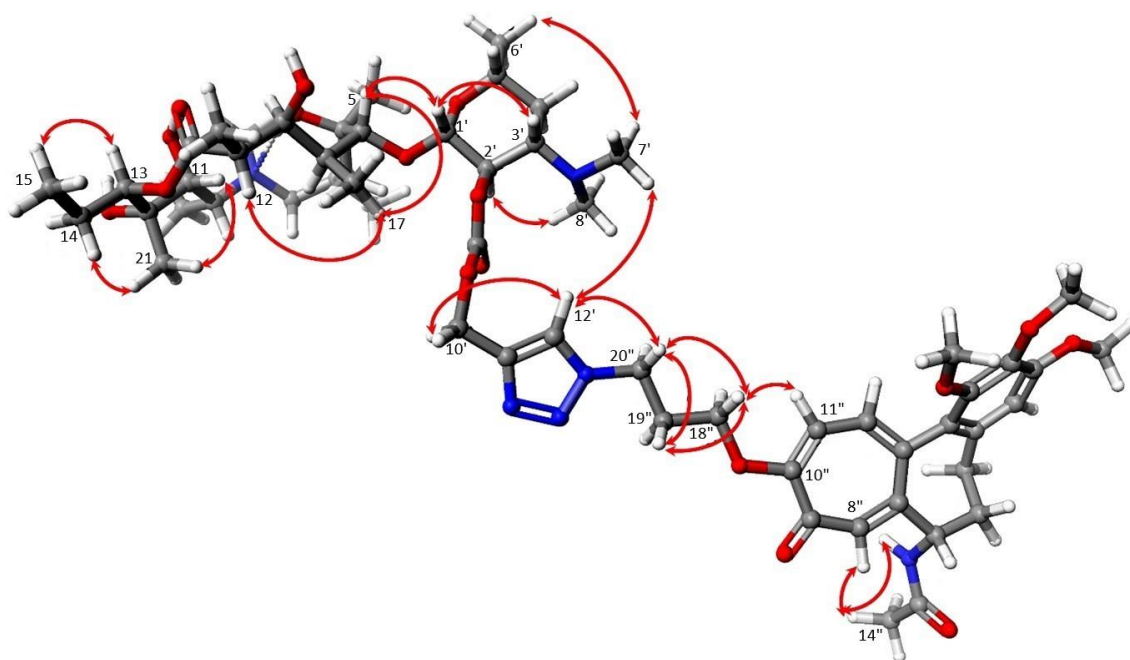
Rysunek 103. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **AZM-1-COL-2** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego łączącego szkielety dwóch substratów.

$\text{C}(19'')\text{H}_2$ oraz $\text{C}(18'')\text{H}_2$. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 102) sygnał od protonu $\text{H}(18'')$ koreluje najsilniej z sygnałem węglowym przy $\delta = 163,0$ ppm, który odpowiada atomowi węgla $\text{C}(10'')$ pierścienia tropolonowego. Powyższa analiza widm 2D NMR stanowi bezpośrednie potwierdzenie, że szkielet azytromycyny połączony jest ze szkieletem kolchiceiny za pomocą łącznika triazolowego i posiada on oczekiwaną strukturę.

W celu określenia wzajemnej orientacji przestrzennej przyłączonego szkieletu kolchiceiny, względem aglikonu **AZM**, przeprowadziłam analizę kontaktów widocznych w widmach ^1H - ^1H NOESY, na przykładzie pochodnej **AZM-1-COL-2** (Rysunek 105).²²⁷ Szczegółowa analiza kontaktów ^1H - ^1H w obrębie aglikonu umożliwiła stwierdzenie, że sam pierścień tego azalidu przyjmuje konformację charakterystyczną dla tego typu antybiotyków makrolidowych. Wprowadzony łącznik triazolowy pozostaje w stosunkowo bliskim kontakcie z grupą *N,N*-dimetylową znajdującą się na dezozaminie, jednakże kieruje on nowy podstawnik w przeciwną stronę. W widmie ^1H - ^1H NOESY związku **AZM-1-COL-2** nie zaobserwowałam żadnych kontaktów pomiędzy obiema częściami hybrydy, są one od siebie maksymalnie odsunięte, co uniemożliwia ich wzajemną interakcję.



Rysunek 104. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **AZM-1-COL-2** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego.



Rysunek 105. Struktura produktu **AZM-1-COL-2** – hybrydy pochodnej azytromycyny i kolchiceiny, z zaznaczonymi (za pomocą czerwonych strzałek) kluczowymi kontaktami proton-proton ^1H - ^1H NOESY na zoptymalizowanej metodą B88 LYP (GGA) DFT strukturze (pakiet Scigress)^{126, 227}.

2. Pochodne azytromycyny modyfikowane w pozycji C(3') dezozaminy

Dezozaminę uważa się za kluczowy element dla rozpoznania molekularnego pomiędzy makrolidem, a miejscem jego wiązania, zlokalizowanym w pętli peptydylotransferazy.⁹⁴ Naukowcy podejmujący temat badań SAR w kontekście syntezy nowych pochodnych laktonowych antybiotyków makrolidowych, przeprowadzili stosunkowo mało modyfikacji w pozycji C(3') dezozaminy. Dotychczas wszystkie literaturowo znane modyfikacje na grupie *N,N*-dimetylowej dezozaminy obejmowały dealkilację i wprowadzenie innego typu podstawnika na atom azotu^{127–130,177} Aktywność biologiczna tych związków, w zależności od długości przyłączonego podstawnika, z reguły znacznie spadała względem aktywności antybiotyków wzorcowych. Zauważono natomiast, że modyfikacje w tym rejonie często poprawiają skuteczność makrolidów jako agonistów receptora motyliny i zwiększają możliwości zastosowania ich w infekcjach żołądkowo-jelitowych.

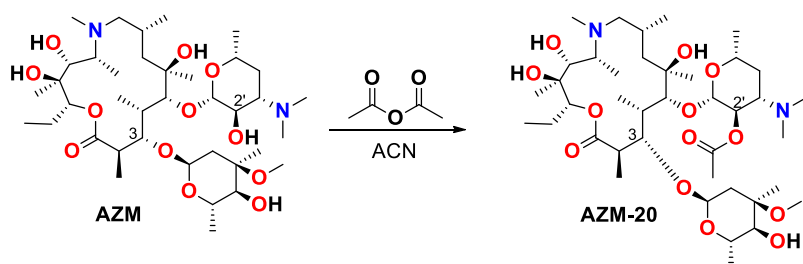
Analizując literaturę dotyczącą pochodnych z przeorganizowanym podstawnikiem w pozycji C(3') azalidów zauważyłam, że nie podjęto do tej pory próby modyfikacji grupy *N,N*-dimetylowej z jednoczesnym przekształceniem związku w czwartorzędową sól amoniową. Przekształcenie azytromycyny i jej pochodnych w sole znacznie polepszyłyby ich właściwości hydrofilowe, ułatwiając transport antybiotyku do miejsca docelowego. Jednocześnie, przyłączenie odpowiedniego podstawnika do atomu azotu grupy *N,N*-dimetylowej mogłoby ułatwić wiązanie związku w tunelu rybosomalnym poprzez dodatkowe oddziaływania. Analizując model wiązania azalidów zauważyłam, że wprowadzenie podstawnika mającego atomy węgla o hybrydyzacji *sp* i *sp*² może prowadzić do poprawy stabilizacji makrolidów w tunelu rybosomalnym poprzez oddziaływania typu π - π .

Postanowiłam zatem przeprowadzić syntezę nowych analogów azalidów poprzez reakcję alkilowania atomu azotu w części cukrowej. Tworząc czwartorzędowe sole amoniowe azytromycyny i jej pochodnych, wybierałam substraty o zróżnicowanej budowie, by przebadać wpływ struktury podstawnika na aktywność biologiczną nowych związków i na tej podstawie ustalić preferowany kierunek modyfikacji oraz zaproponować sposób wiązania tego typu pochodnych z określeniem miejsca wiązania makrolidów. Reakcje alkilowania przeprowadziłam równoległe na trzech substratach: azytromycynie

(**AZM**), 3-OH azytromycynie (**AZM-OH**) oraz azytromycynie podstawionej grupą acetylową w pozycji C(2') (**AZM-20**), by dodatkowo sprawdzić jaki wpływ na potencjał biologiczny ma nie tylko odpowiednio modyfikowany atom azotu części cukrowej, ale również modyfikacja aglikonu.

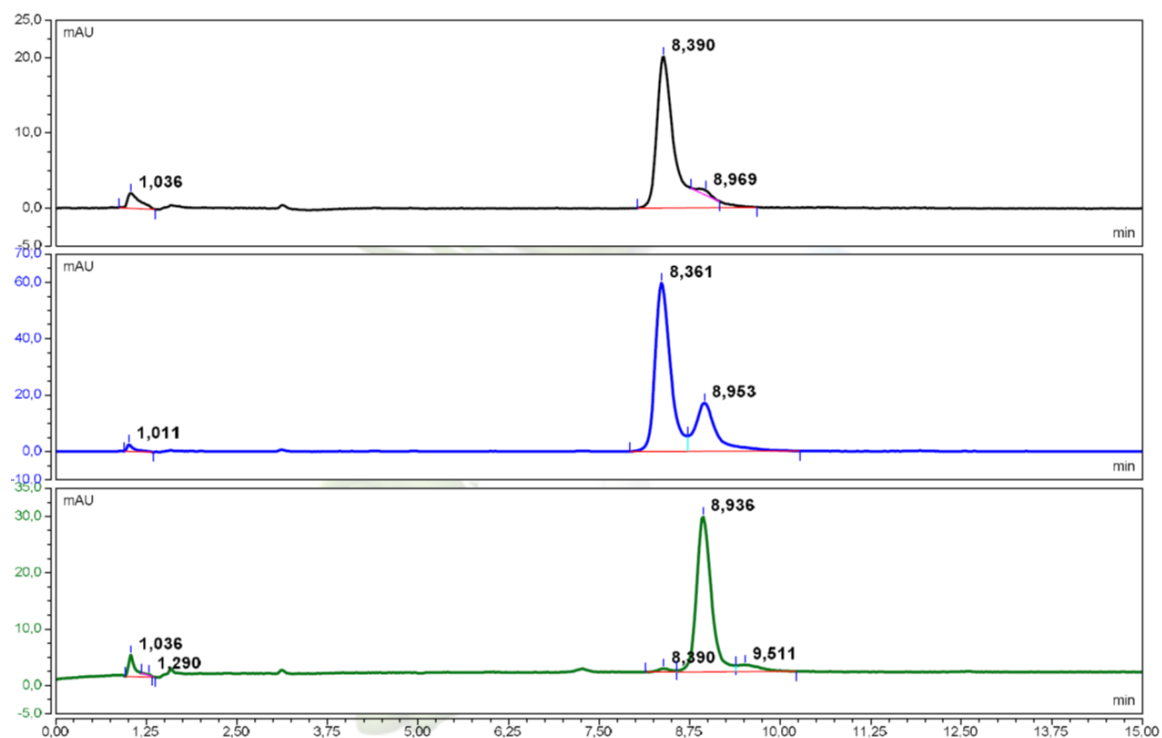
2.1 Synteza azytromycyny podstawionej grupą acetylową w pozycji C(2')

W celu porównania wpływu struktury **AZM**, **AZM-OH** i **AZM-20** na ich aktywność biologiczną po reakcji alkilowania grupy *N,N*-dimetylowej, najpierw musiałam otrzymać pochodną **AZM** z acetylowaną grupą hydroksylową w pozycji C(2') (**AZM-20**). Reakcję substytucji nukleofilowej do karbonylowego atomu węgla pomiędzy azytromycyną (**AZM**), a bezwodnikiem octowym prowadziłam w bezwodnym acetonitrylu, jako rozpuszczalniku, w temperaturze pokojowej, przez 24h. Łagodne warunki tej reakcji pozwoliły, podobnie jak było w przypadku syntezy pochodnej **AZM-1**, otrzymać tylko jeden pożądany regioizomer acetylowanej azytromycyny.



Schemat 21. Schemat reakcji przedstawiający reakcję blokowania wolnej grupy hydroksylowej O(2')H azytromycyny.

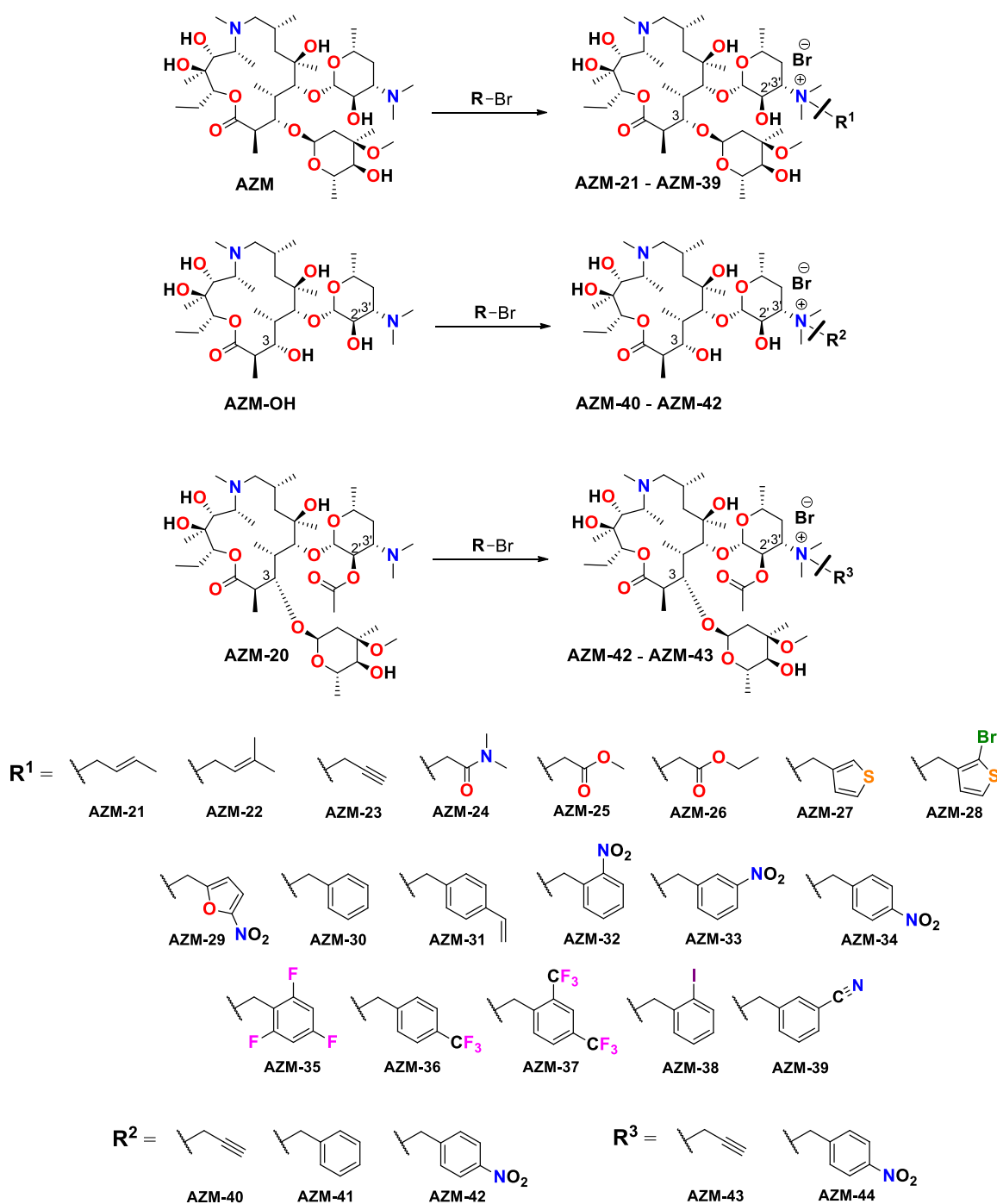
Na [Rysunku 106](#) przedstawione zostały chromatogramy zarejestrowane w trakcie prowadzenia reakcji, na których widać jej postęp. Pik widoczny o czasie retencji $t_R = 8,89$ min, pochodzący od substratu (**AZM**) stopniowo, wraz z upływem czasu zanikał, kosztem tworzącego się nowego piku o czasie retencji $t_R = 8,95$ min, który odpowiadał tworzącemu się produktowi **AZM-20** ([rysunek 106](#), chromatogram czarny i niebieski). Po 24 godzinach widoczny na chromatogramie był już jedynie pik pochodzący od produktu ([rysunek 106](#), chromatogram zielony), zatem reakcję zakończyłam, a mieszaninę reakcyjną oczyściłam i przygotowany w ten sposób produkt był gotowy do kolejnego etapu.



Rysunek 106. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie trwania reakcji acetytacji grupy hydroksylowej O(2')H **AZM**, ukazujące: substrat – **AZM** po dodaniu bezwodnika octowego (czarny), mieszaninę reakcyjną po 5h (niebieski) oraz powstały w wyniku syntezy produkt **AZM-20** (zielony).

2.2 Synteza pochodnych *N*-alkilowanych w części dezozaminy

Jak wspomniano wcześniej, reakcję alkirowania atomu azotu dezozaminy przeprowadziłam niezależnie na trzech substratach: azytromycynie (**AZM**), dekladonyzowanej azytromycynie (**AZM-OH**) oraz azytromycynie podstawionej grupą acetoksyłową w pozycji C(2') (**AZM-20**) (Schemat 22).

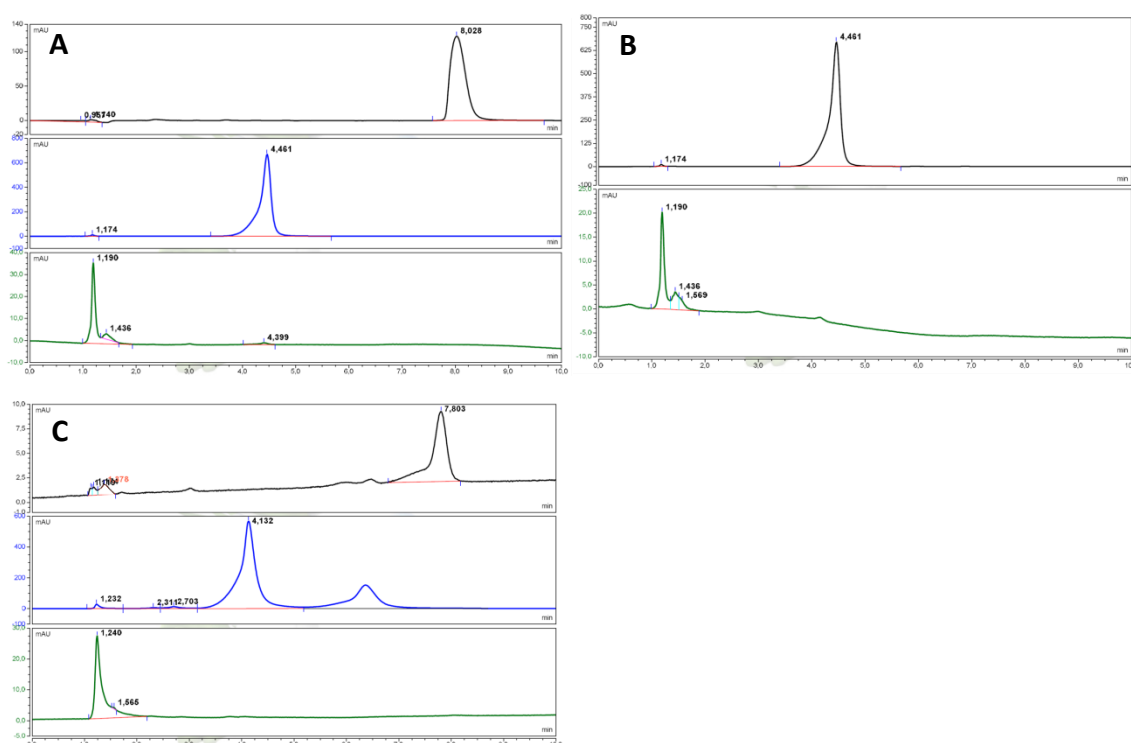


Schemat 22. Schemat przedstawiający syntezę produktów **AZM-21 – AZM-44** w wyniku reakcji *N*-alkilowania na dezozaminy.

Wyzwaniem syntetycznym był wybór odpowiednich warunków reakcji, gdyż w cząsteczce azytromycyny możliwe są dwa miejsca *N*-alkilowania: atom azotu z grupy *N,N*-dimetylowej dezoaminy oraz atom azotu znajdujący się w aglikonie w pozycji 9a. Zastosowane przeze mnie warunki reakcji pozwoliły na przeprowadzenie jej w sposób regioselektywny i otrzymanie jedynie produktów alkilowanych na atomie azotu w części cukrowej. Częściowo fakt ten można wyjaśnić strukturą azytromycyny w roztworze. W widmach ¹H NMR najwyższą wartość przesunięcia chemicznego, spośród wszystkich grup hydroksylowych w **AZM**, zarejestrowano dla sygnału protonowego pochodzącego od grupy O(6)H (ok. 7,7 ppm). Z kolei w widmach FT-IR pochodnych, najbardziej przesunięte ku czerwieni pasmo, o częstotliwości ok. 2600 cm⁻¹, zostało przypisane drganiom rozciągającym $\nu_{\text{O(6)H}}$. Uzyskane wyniki spektroskopowe ukazują, że w strukturze azytromycyny i pochodnych, grupa hydroksylowa O(6)H jest najsilniej związana wodorowo. Biorąc pod uwagę fakt, że aglikonowy atom azotu (N9a) jest akceptorem protonu w wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym z grupą hydroksylową O(6)H, jak wynika z analizowanych konformerów azytromycyny⁹⁴, zmniejszenie jego nukleofilowości sprzyjało regioselektywności w reakcjach podstawień nukleofilowych, zachodzących w części cukrowej.

Reakcje *N*-alkilowania **AZM**, **AZM-OH** oraz **AZM-20** prowadziłam w możliwie bezwodnych warunkach, stosując odwodniony acetonitryl jako rozpuszczalnik oraz czterokrotny nadmiar odpowiedniego bromku. Większość syntez prowadziłam w temperaturze pokojowej, a ich postęp kontrolowałam za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Na [Rysunku 107](#) przedstawiłam chromatogramy zarejestrowane w trakcie przeprowadzania przykładowych reakcji pomiędzy **AZM** (A) i **AZM-OH** (B) a bromkiem benzylu oraz **AZM-20** (C) a bromkiem *p*-nitrobenzylowym. Chromatogramy oznaczone na niebiesko ukazują stan w kolbie reakcyjnej po dodaniu bromku do substratów. I tak, w przypadku reakcji tworzenia **AZM-30** i **AZM-41** ([Rysunek 107](#), A i B), duży pik o czasie retencji $t_R = 4,46$ min. pochodził od bromku benzylu i poprzez silną absorpcję przy badanej długości fali (220 nm) przyćmiewał intensywnością piki pochodzące od **AZM** ($t_R = 8,02$ min) i **AZM-OH** ($t_R = 5,29$ min). Z tego powodu, by badać postęp zachodzącej reakcji, niezbędne było pozbycie się bromku, w badanej za pomocą HPLC próbce, poprzez kilkukrotne odmywanie heksanem pobranej z reakcji próbki. W momencie, w którym obserwowałam całkowite przekształcenie **AZM** i **AZM-OH**

w produkt o czasie retencji $t_R = 1,19$ min. w obu przypadkach (Rysunek 107, A i B, chromatogramy zielone), reakcję zakończyłam i powstały produkt poddałam oczyszczaniu. Analogiczny schemat potępowania zastosowałam przy syntezie **AZM-44** (Rysunek 107, C). Również w tym przypadku, intensywność pików pochodzących od bromku *p*-nitrobenzylowego ($t_R = 4,14$ min) znacznie przewyższała tę pochodzącą od **AZM-20** ($t_R = 7,80$ min), więc i tu musiałam każdorazowo oczyszczać próbkę przed badaniem stanu reakcji za pomocą HPLC. Reakcję zakończyłam, a jej produkt oczyściłam w momencie, gdy na chromatogramie (Rysunek 107, C, chromatogram zielony) obserwowałam jedynie pik o czasie retencji $t_R = 1,24$ min, pochodzący od nowego produktu.

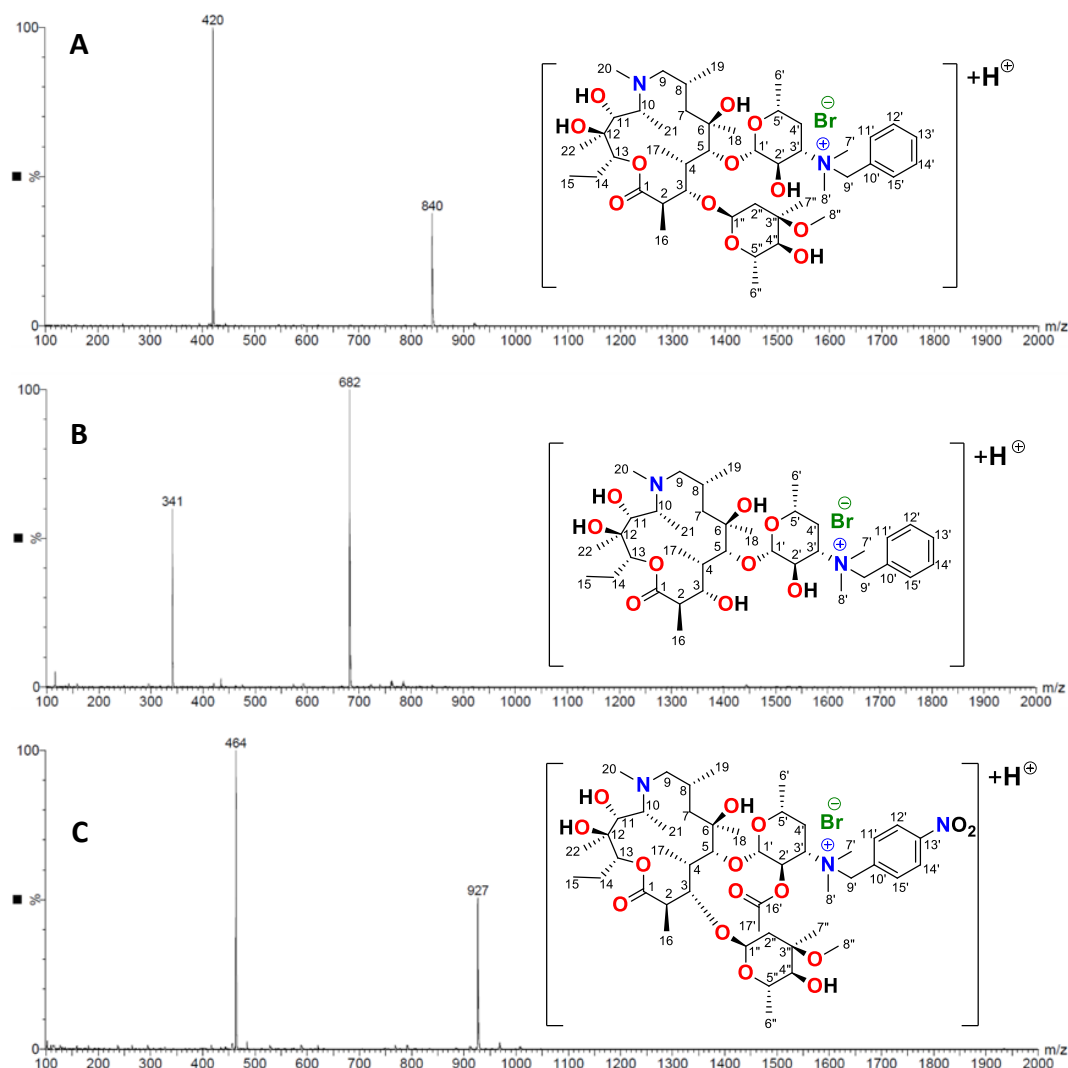


Rysunek 107. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie trwania reakcji *N*-alkilowania prowadzące do otrzymania produktów: A - **AZM-30** B - **AZM-41** oraz C - **AZM-44**. Chromatogramy czarne ukazują substraty (A - **AZM**, B - **AZM-OH**, C - **AZM-20**), niebieskie – mieszaniny reakcyjne, a zielone - otrzymane produkty.

Zaskakującym było, że niezależnie od czasu retencji substratów wykorzystanych do reakcji, pik pochodzący od produktu powstałego w reakcji *N*-alkilowania znajdował się praktycznie zawsze w tym samym miejscu na chromatogramie. Wynika to prawdopodobnie z przekształcenia cząsteczki w sól amoniową, co drastycznie zmieniało jej właściwości hydrofilowe i wywoływało sytuację, w której produkty były praktycznie nierozróżnialne przy stosowanych przeze mnie różnych fazach w HPLC.

Niezależnie od stosowanego eluentu, w przypadku użycia kolumny przeznaczonej do pracy na fazach odwróconych (RPLC), zawsze otrzymywałam ten sam wynik: uzyskane przeze mnie produkty praktycznie nie oddziaływały z fazą stacjonarną i eluowały z kolumny bardzo szybko i tylko nieznacznie się różnicowały. Zatem niezbędne było przeprowadzenie dalszych badań.

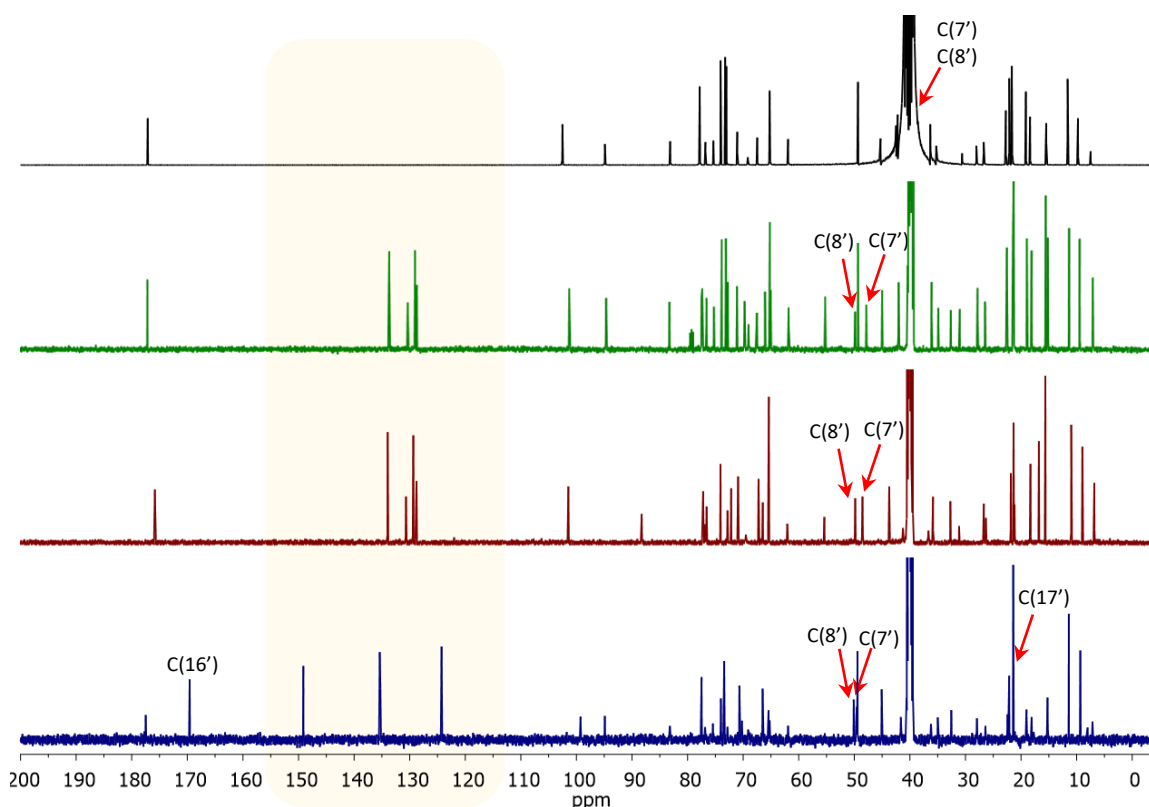
Widma ESI-MS ([Rysunek 108](#)), zarejestrowane w trybie jonów dodatnich, dostarczyły pierwszych informacji dotyczących struktur otrzymanych związków. Widoczne w nich dominujące piki przy 840 [Da] dla **AZM-30**, 682 [Da] dla **AZM-41** czy 927 [Da] dla **AZM-44** odpowiadały jonom pseudomolekularnym oczekiwanych pochodnych, co wraz ze zmianą właściwości z hydrofobowych cząsteczek na hydrofilowe, było wstępnym potwierdzeniem otrzymania produktów reakcji *N*-alkilowania – czwartorzędowych soli amoniowych **AZM**, **AZM-OH** i **AZM-20**.



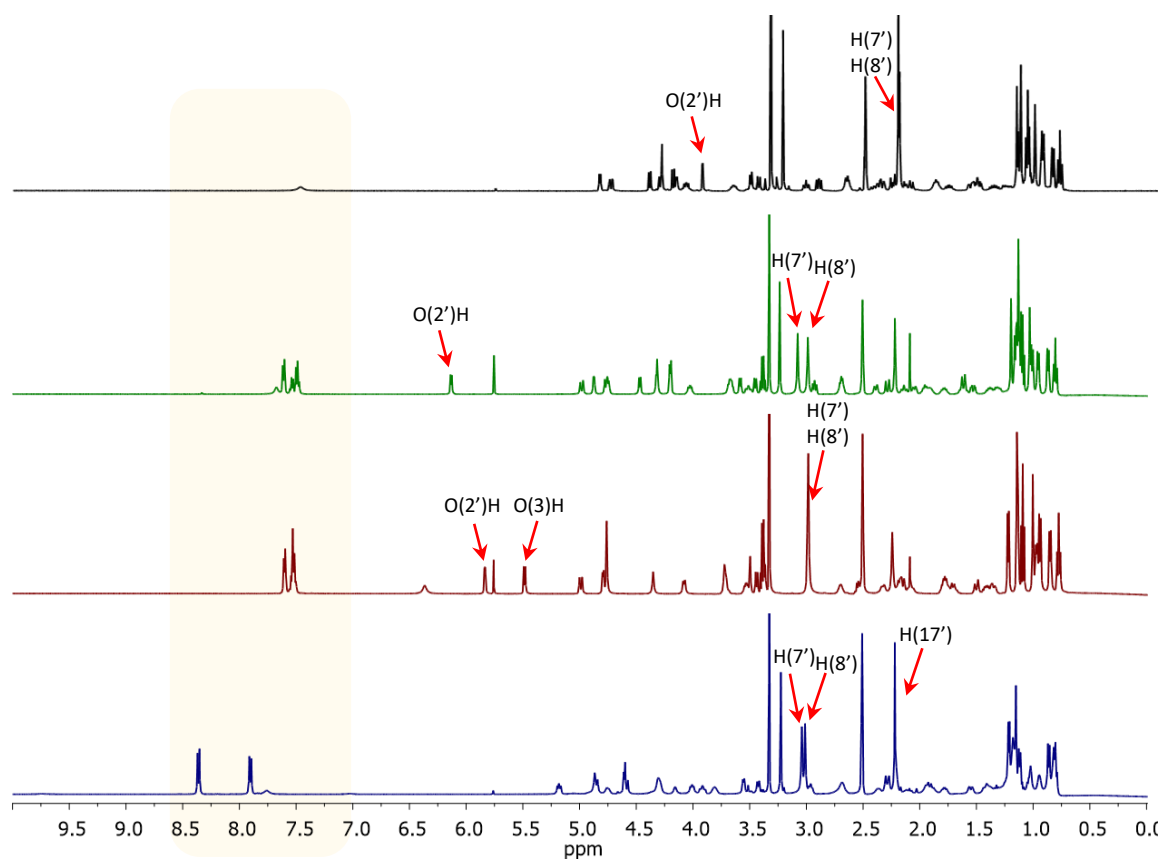
Rysunek 108. Zestawienie widm ESI MS wykonanych w trybie jonów dodatnich dla produktów: A - **AZM-30**, B - **AZM-41** oraz C - **AZM-44**.

Poniżej przedstawiona została skrócona, wstępna analiza spektroskopowa dla wybranych pochodnych: **AZM-30**, **AZM-41** i **AZM-44** natomiast przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR wszystkich pochodnych **AZM-21** – **AZM-44**, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, zostały przedstawione w [Tabelach 7 - 12](#).

Analiza widm ^1H NMR i ^{13}C NMR pochodnych **AZM-30**, **AZM-41** i **AZM-44** potwierdziła strukturę przewidywanych produktów. Zarówno w widmie węglowym ([Rysunek 109](#)), jak i protonowym ([Rysunek 110](#)) produktów widoczne są charakterystyczne sygnały w zakresie typowym dla związków aromatycznych, pochodzące od wprowadzonego podstawnika benzyloвого. W widmie ^{13}C NMR wszystkich otrzymanych produktów reakcji *N*-alkilowania, zauważyłam znaczne przesunięcie sygnałów pochodzących od atomów C(7') oraz C(8') i ich różnicowanie.



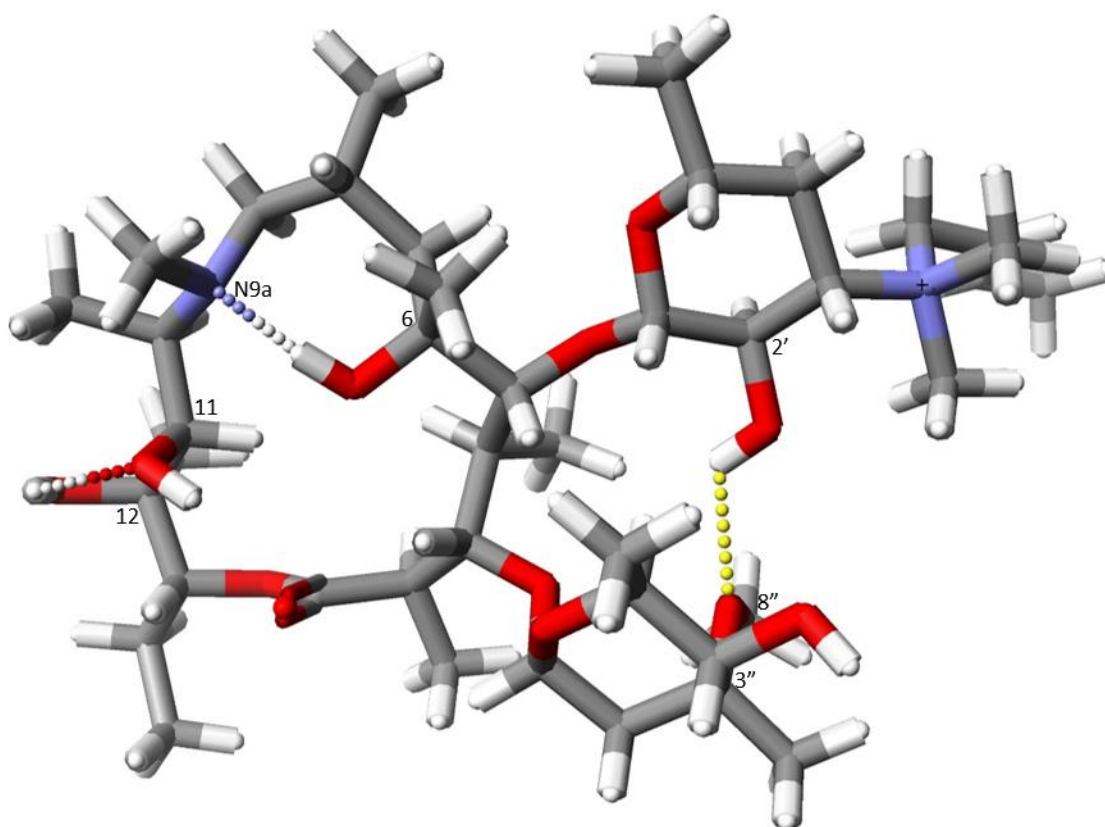
Rysunek 109. Zestawienie widm ^{13}C NMR dla **AZM** (czarne), **AZM-30** (zielone) **AZM-41** (bordowe) i **AZM-44** (niebieskie) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami. Na widmach zaznaczone zostały również sygnały aromatyczne (żółte podświetlenie).



Rysunek 110. Zestawienie widm ¹H NMR dla **AZM** (czarne), **AZM-30** (zielone) **AZM-41** (bordowe) i **AZM-44** (niebieskie) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami. Na widmach zaznaczone zostały również sygnały aromatyczne (żółte podświetlenie).

Wartości przesunięć chemicznych sygnałów pochodzących od obu tych atomów w substratach wynosiły ok. $\delta = 40$ ppm, natomiast w produktach ich częstość rezonansowa była wyższa, sygnały były oddzielone, a ich wartość wynosiła ok. $\delta = 49$ ppm i $\delta = 47$ ppm. Ten sam trend zaobserwowałam w przypadku sygnałów protonowych pochodzących od H(7') i H(8') – przesunięcia chemiczne z wartości wynoszących ok. $\delta = 2,20$ ppm, wzrosły do wartości z przedziału $\delta = 2,90 - 3,10$ ppm (Rysunek 110). Różnicowanie się sygnałów pochodzących od grup metylowych C(7')H₃ i C(8')H₃ wynika z diastereotopowości tych grup, powstałej ze względu na zmianę otoczenia chemicznego będącej rezultatem przyłączenia podstawnika. W przypadku pochodnych **AZM-21** – **AZM-39**, w których substratem była **AZM**, zaobserwowałam bardzo silne przesunięcie w kierunku niskopolowym charakterystycznego sygnału pochodzącego od protonu z grupy hydroksylowej O(2')H (z $\delta = 3,93$ ppm na powyżej $\delta = 6,10$ ppm). Wzrost wartości

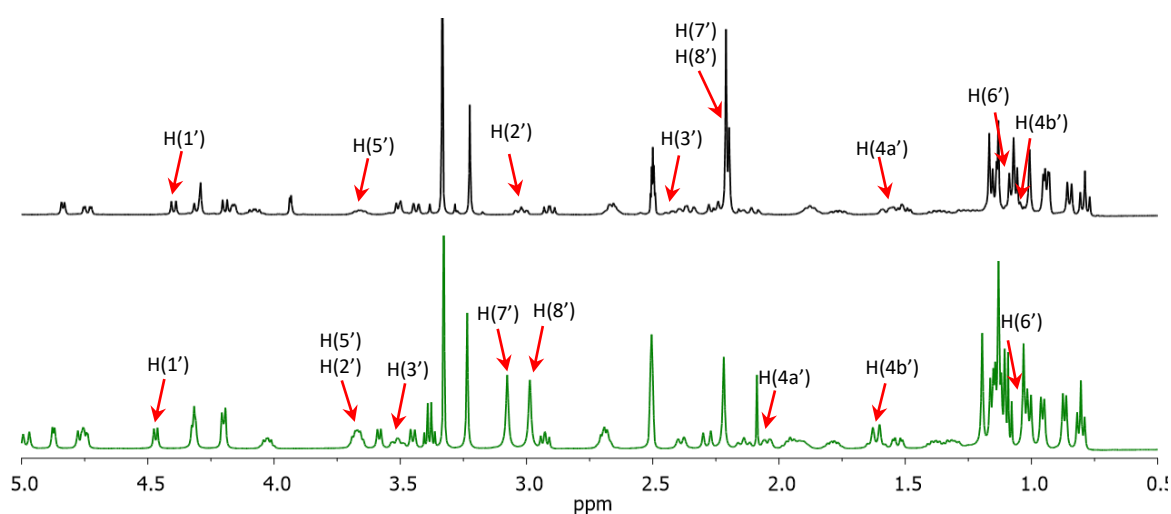
przesunięcia chemicznego tego protonu wynika z faktu, że proton ten uczestniczy w innym wiązaniu wodorowym ([Rysunek 111](#)). W cząsteczce **AZM** proton grupy hydroksylowej O(2')H wiąże się wodorowo z atomem azotu grupy *N,N*-dimetylowej, przyłączonej w pozycji C(3'). W wyniku przebiegu reakcji *N*-alkilowania, atom azotu traci wolną parę elektronową i nie może wiązać się wodorowo z protonem z grupy O(2')H. Wówczas, proton ten, wiąże się z atomem tlenu z grupy metoksylovej OC(8'')H₃, obecnej w kladynozie w pozycji C(3''), co powoduje zmianę konformacji i silne przesunięcie sygnału pochodzącego od protonu z grupy hydroksylowej O(2')H w kierunku wyższych wartości ppm. Z kolei dla produktów **AZM-40** – **AZM-42** sygnał pochodzący od tej grupy hydroksylowej widoczny jest przy przesunięciu chemicznym wynoszącym powyżej $\delta = 5,80$ ppm, obok sygnału pochodzącego od protonu grupy hydroksylowej O(3)H, który widoczny jest przy ok. $\delta = 5,50$ ppm. W widmach ¹H NMR produktów **AZM-43** i **AZM-44**, brak jest sygnału pochodzącego od protonu z grupy hydroksylowej O(2')H. Widoczny jest



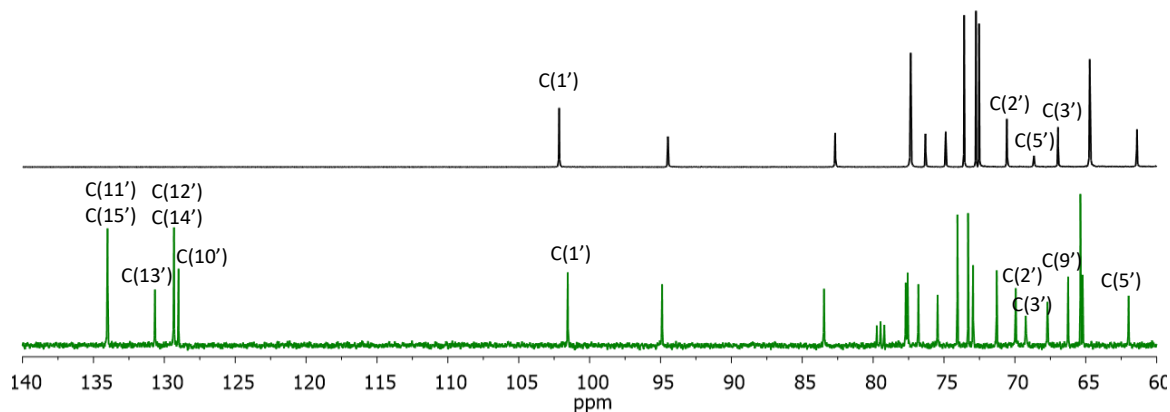
Rysunek 111. Struktura *N*-alkilowanej pochodnej azytromycyny **AZM-21**, zwizualizowana na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT)¹²⁶. Na żółto zaznaczone zostało wiązanie wodorowe występujące pomiędzy protonem grupy hydroksylowej O(2')H, a atomem tlenu pochodzącego z grupy metoksylovej kladynozy.²²⁶

natomiast (na przykładzie **AZM-44**) charakterystyczny sygnał integrujący się na 3H, przy $\delta = 2,13$ ppm, pochodzący od grupy metylowej wprowadzonego podstawnika acetylowego H(17'). W widmie węglowym, z kolei, pojawia się sygnał niskopolowy od atomu węgla grupy karbonylowej C(16') o typowym, dla tego rodzaju ugrupowań, przesunięciu chemicznym wynoszącym $\delta = 169,1$ ppm (*Rysunek 109*) oraz wysokopolowy sygnał przy $\delta = 21,7$ ppm, od C(17').

W celu dokładnego potwierdzenia miejsca przyłączenia podstawnika alkilowego przeprowadziłam szczegółową analizę widm ^1H NMR i ^{13}C NMR dla przykładowej pochodnej *N*-alkilowej – **AZM-30**. Zauważyłam, że pozycje sygnałów w widmach 1D NMR zarówno od protonów i atomów węgla aglikonu, jak i kladynozy, dla pochodnych *N*-alkilowych, nie uległy znaczącym przesunięciom, w przeciwieństwie do części sygnałów przypisanych do atomów dezozaminy (*Rysunek 112* i *113*). Zatem, w następującym opisie skupiłam się tylko na fragmencie tego cukru.

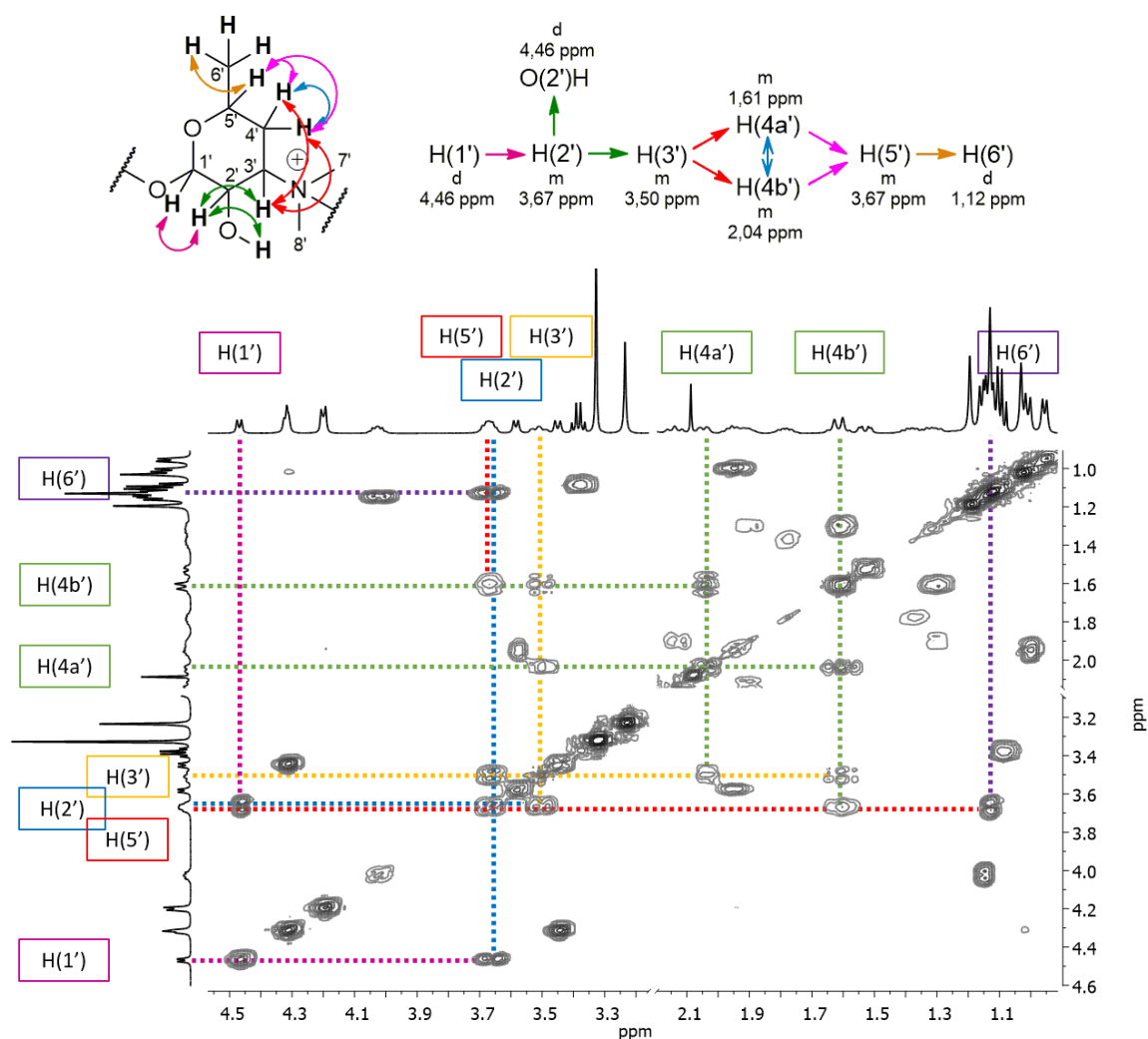


Rysunek 112. Zestawienie widm ^1H NMR dla **AZM** (czarne) i **AZM-30** (zielone) zakresie 0,5 – 5,0 ppm – zakresie w którym występują sygnały pochodzące od atomów dezozaminy.



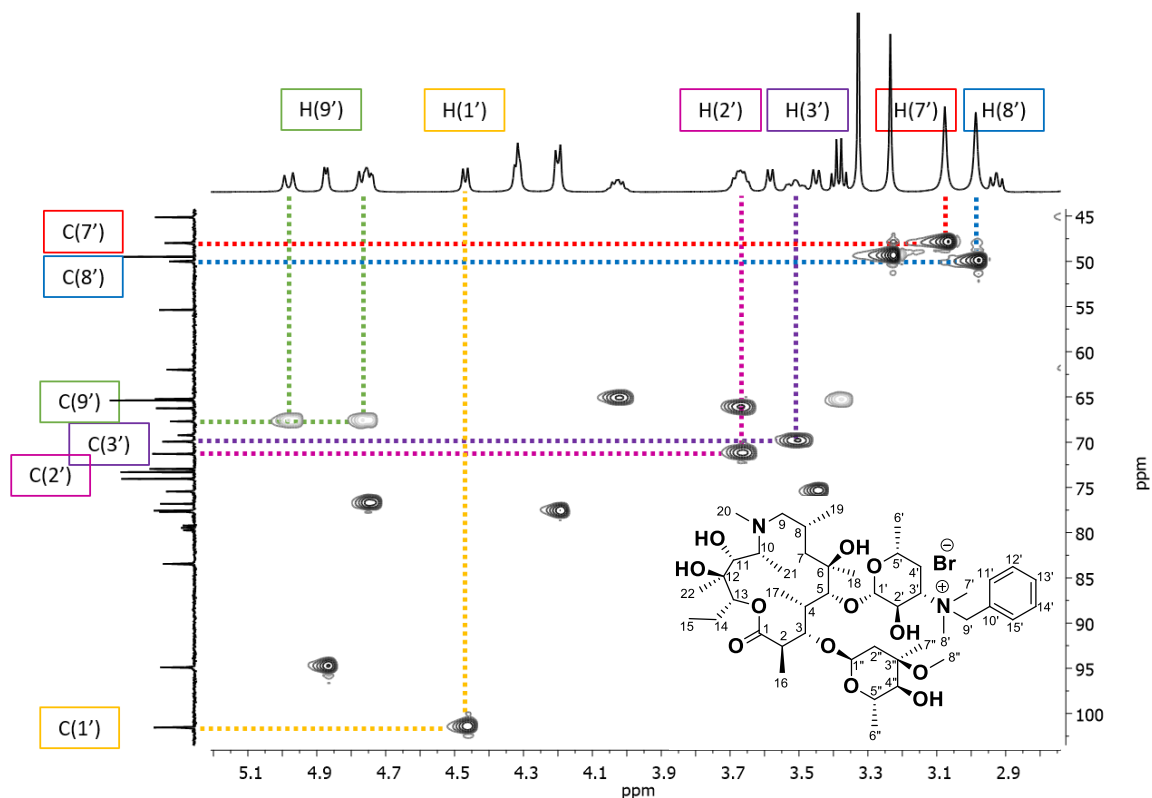
Rysunek 113. Zestawienie widm ^{13}C NMR dla **AZM** (czarne) i **AZM-30** (zielone) zakresie 60 - 140 ppm – zakresie w którym występują sygnały pochodzące od atomów dezozaminy.

Zarówno w widmie węglowym, jak i protonowym, obecne są sygnały o charakterystycznej, typowej dla sygnałów pochodzących od anomerycznego atomu węgla C(1') ($\delta = 101,1$ ppm) oraz przyłączonego do niego protonu H(1') ($\delta = 4,46$ ppm), wartości przesunięcia chemicznego. Sygnał pochodzący od tego protonu, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 114), koreluje z multipletem ($\delta = 3,67$ ppm), który to dalej koreluje z dwoma sygnałami – dubletem ($\delta = 6,13$ ppm) oraz multipletem ($\delta = 3,50$ ppm), który w tym samym widmie 2D koreluje z kolejnymi dwoma sygnałami ($\delta = 1,61$ ppm i $\delta = 2,04$ ppm). Oba te sygnały, w widmie korelacyjnym proton-proton bliskiego zasięgu, korelują z multipletem ($\delta = 3,67$ ppm), który następnie koreluje z dubletem integrowany na 3H ($\delta = 1,12$ ppm), niekorelującym już dalej z żadnym innym sygnałem. Na podstawie zarejestrowanego systemu sprzężeń pomiędzy protonami, przypisałam im odpowiednie wartości przesunięć chemicznych (Rysunku 114). Z kolei na podstawie korelacji widocznych w widmie dwuwymiarowym ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 115) przypisałam sygnałom protonowym korelujące z nimi sygnały pochodzące od atomów węgla. Tak oto sygnał przy $\delta = 70,8$ ppm przypisałam do atomu węgla C(2'), przy $\delta = 69,5$ ppm – do C(3'), ten przy $\delta = 32,3$ ppm pochodził od atomu węgla C(4), sygnał przy $\delta = 65,8$ ppm do C(5'), a przy $\delta = 20,9$ ppm – do C(6'). W taki sposób możliwe było przypisanie sygnałów pochodzących zarówno od atomów węgla, jak i protonów, w szkieletcie cukru dezozaminy. Następnie, by poznać dalszą strukturę związku i potwierdzić, że reakcja alkilowania zaszła w pozycji atomu azotu, przestudiowałam korelacje widoczne w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 116) pomiędzy sygnałem węglowym przypisanym do C(3'), a nieprzypisanymi dotychczas sygnałami protonowymi. Zauważyłam, że sygnał węglowy C(3') koreluje z dwoma nowymi

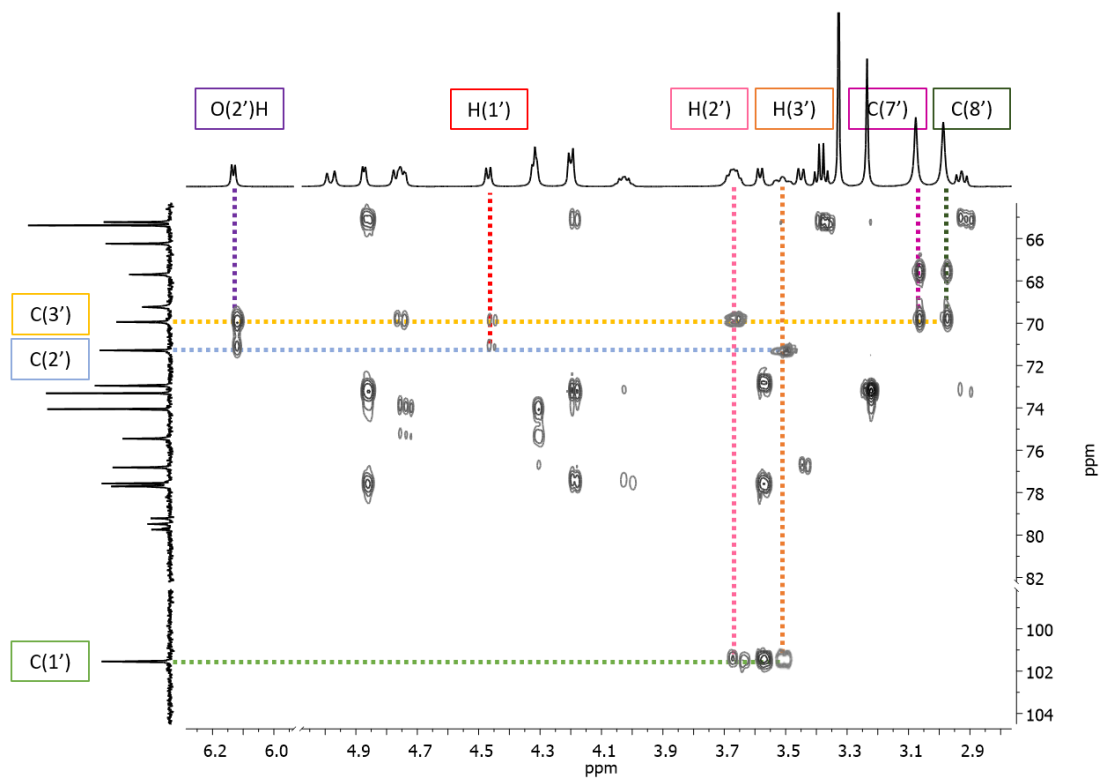


Rysunek 114. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **AZM-30** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie charakterystycznym dla sygnałów pochodzących od protonów dezozaminy wraz ze schematem przypisania wartości przesunięć chemicznych.

izolowanymi singletami przy $\delta = 3,07$ ppm i $\delta = 2,98$ ppm, integrowanymi na 3H każdy, które nie korelowały z żadnym sygnałem protonowym w widmie ^1H - ^1H COSY. Sygnały o tak wysokich wartościach przesunięcia chemicznego są charakterystyczne dla podstawników znajdujących się przy heteroatomie, musiały one zatem pochodzić od grup metylowych podstawnika *N,N*-dimetylowego. Dodatkowym potwierdzeniem był fakt, że korelowały one w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 115) z sygnałami węglowymi o wysokich, jak na grupy metylowe, wartościach przesunięć chemicznych – odpowiednio z sygnałem przy $\delta = 47,5$ ppm i przy $\delta = 49,5$ ppm. Przypisałam je zatem parami do odpowiednich atomów: sygnały przy $\delta = 3,07$ ppm i $\delta = 47,5$ ppm do atomów H(7') i C(7'), a sygnały przy $\delta = 2,98$ ppm i $\delta = 49,5$ ppm – do H(8') i C(8').

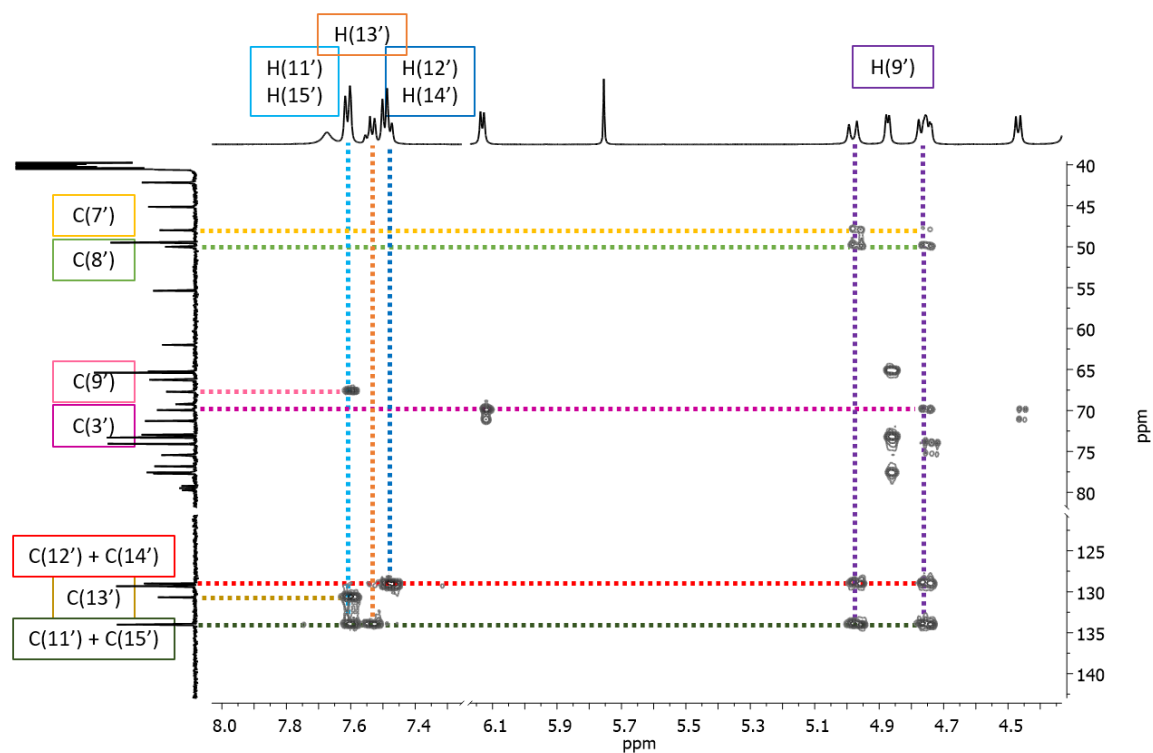


Rysunek 115. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **AZM-30** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu w fragmencie dezinaminy.



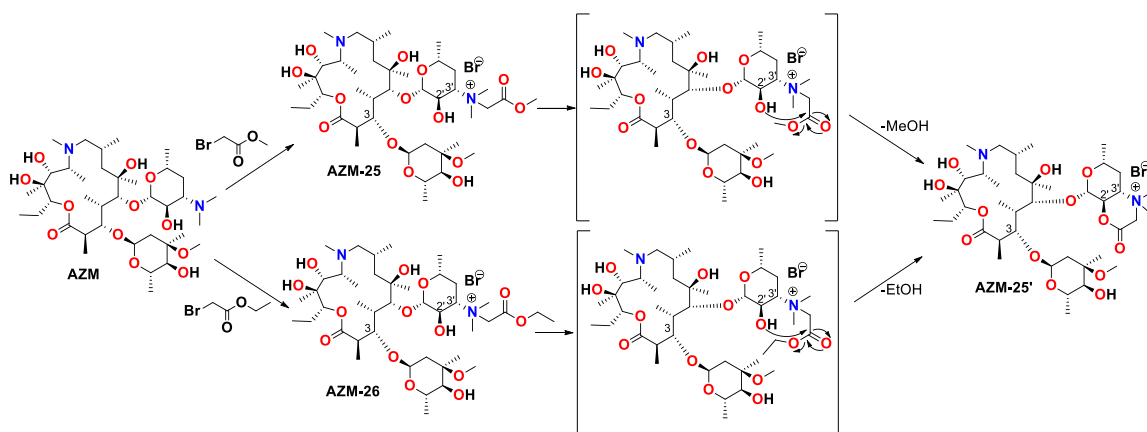
Rysunek 116. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **AZM-30** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu w fragmencie dezinaminy.

W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 117) zarówno sygnał przypisany do atomu węgla C(7'), jak i C(8'), korelował z dwoma sygnałami: przy $\delta = 4,98$ ppm i $\delta = 4,75$ ppm. Oba te sygnały są dubletami, o charakterystycznym układzie „dachowym” i sprzęgają się geminalnie ze sobą, ze stałą sprzężenia $^2J = 12,5$ Hz, a zatem pochodzą od protonów grupy metylenowej nowowprowadzonego podstawnika (H(9'a) i (H(9'b)). Potwierdzenie tego faktu znalazłam analizując widmo ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 115), w którym oba te protony sprzęgają się z tym samym atomem węgla przy częstotliwości rezonansowej wynoszącej $\delta = 67,2$ ppm. Dodatkowym dowodem weryfikującym poprawność przypisania tych sygnałów jest fakt, że sygnał przy $\delta = 4,75$ ppm korelował w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 117) z sygnałem węglowym pochodzącym od atomu węgla C(3'). Zatem sygnał węglowy przy $\delta = 67,2$ ppm przypisałam do atomu C(9'). Analizując dalej korelacje widoczne w tym dwuwymiarowym widmie można zaobserwować, że sygnały pochodzące od atomów H(9') i C(9') korelują z aromatycznymi sygnałami węglowymi, pochodzącymi od pierścienia fenylowego podstawnika. Tym samym jest to ostateczne potwierdzenie, że zsyntezowany, na drodze reakcji alkilowania atomu azotu dezozaminy, produkt **AZM-30** posiadał oczekiwaną strukturę.



Rysunek 117. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **AZM-30** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałami przypisanymi do dezozaminy, a sygnałami pochodzącymi od nowego podstawnika.

Taką szczegółową analizę spektroskopową przeprowadziłam dla wszystkich pochodnych **AZM-21** – **AZM-44**, by dokładnie potwierdzić strukturę produktów otrzymanych w wyniku reakcji *N*-alkilowania. Spośród wszystkich prób syntezy, reakcje tworzenia dwóch produktów zaszły w odmienny i zaskakujący sposób. W przypadku użycia bromków, które zakończone były grupą estrową, podczas tworzenia czwartorzędowych soli *N*-alkiloamoniowych, nastąpiła nieoczekiwana cyklizacja. Przy syntezie produktu **AZM-25** i **AZM-26**, równocześnie tworzył się nowy, bicykliczny laktonowy produkt uboczny **AZM-25'** – bazujący na strukturze morfolinonu (Schemat 23). Niestety ze względu na skrajnie polarny charakter tych związków, nie udało rozdzielić się mieszaniny produktów: **AZM-25** od **AZM-25'** i **AZM-26** od **AZM-25'**, za pomocą klasycznej chromatografii kolumnowej.²²⁶



Schemat 23. Schemat przedstawiający nieoczekiwaną cyklizację, która zaszła w trakcie syntezy pochodnej **AZM-25** i **AZM-26**, czego wynikiem było utworzenie związku **AZM-25'**.

3. Pochodne klarytromycyny modyfikowane w pozycji C-3' dezozaminy

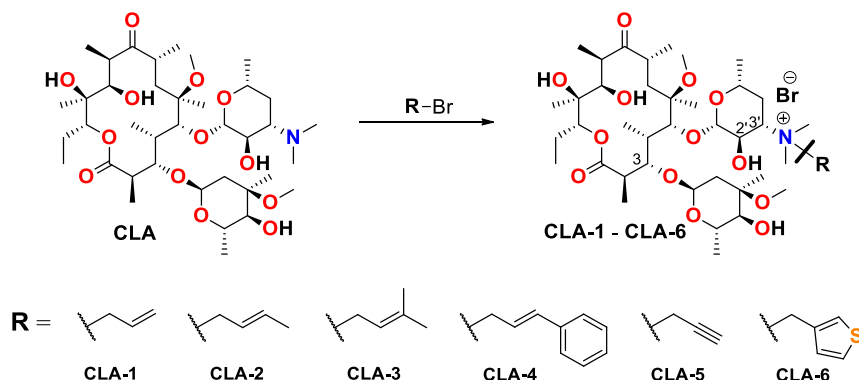
Po przestudiowaniu prac naukowych obejmujących antybiotyki makrolidowe o 14-członowych pierścieniach i ich pochodne, ustaliłam, że podobnie jak w przypadku azalidów, przeprowadzanych było niewiele modyfikacji w pozycji C(3') dezozaminy. Jak wspomniałam już wcześniej, w [Rozdziale 2](#), jedyne znane literaturowo pochodne, powstałe wskutek modyfikacji grupy *N,N*-dimetylowej, otrzymane zostały w wyniku reakcji zastąpienia jednego z alkilowych podstawników innym, np. o bardziej złożonej strukturze¹²⁷ lub jej dalszym modyfikacjom i wydłużaniem podstawnika.^{128–130}

Podczas studiowania literatury dotyczącej makrolidów o 14-członowych pierścieniach laktonowych zauważyłam, analogicznie jak w przypadku azalidów, że nikt nie podjął próby modyfikacji grupy *N,N*-dimetylowej z jednoczesnym przekształceniem związku w czwartorzędową sól amoniową. Postanowiłam zatem przeprowadzić syntezę nowych, *N*-alkilowych pochodnych klarytromycyny. Wprowadzenie hydrofobowego podstawnika z jednoczesnym przekształceniem związku w sól i wprowadzeniem ładunku dodatniego na atomie azotu, mogłoby ułatwić transport antybiotyku w komórkach, ze względu na polepszenie właściwości hydrofilowych oraz jednocześnie ułatwić wiązanie związku w tunelu rybosomalnym, poprzez wytworzenie dodatkowych oddziaływań. Model dokowania fragmentu sacharydowego (dezozaminy) dla 14-, jak i 15-członowych antybiotyków jest bardzo podobny, zatem również w tym przypadku wprowadzenie podstawnika mającego atomy węgla o hybrydyzacji *sp* i *sp*² miało prowadzić do poprawy stabilizacji makrolidów w tunelu rybosomalnym poprzez dodatkowe oddziaływania π - π .

3.1 Synteza związków alkilowych

W przypadku syntezy *N*-alkilowych pochodnych **CLA**, w przeciwieństwie do *N*-alkilowych pochodnych **AZM**, nie było niebezpieczeństwa otrzymania alternatywnego regioizomeru, gdyż w strukturze **CLA** obecny jest tylko jeden atom azotu ([Schemat 24](#)). Syntezując czwartorzędowe sole amoniowe wybrałam odpowiednie bromki jako substraty, posiadające w swojej strukturze układy allilowe, grupę propargilową i metylotiofen, w celu przetestowania ich aktywności biologicznej i wpływu na sposób wiązania się makrolidowego antybiotyku w pętli PTC. Reakcje *N*-alkilowania **CLA** prowadziłam w możliwie bezwodnych warunkach, stosując osuszony acetonitryl jako rozpuszczalnik oraz czterokrotny nadmiar odpowiedniego bromku. Syntezy te, jak

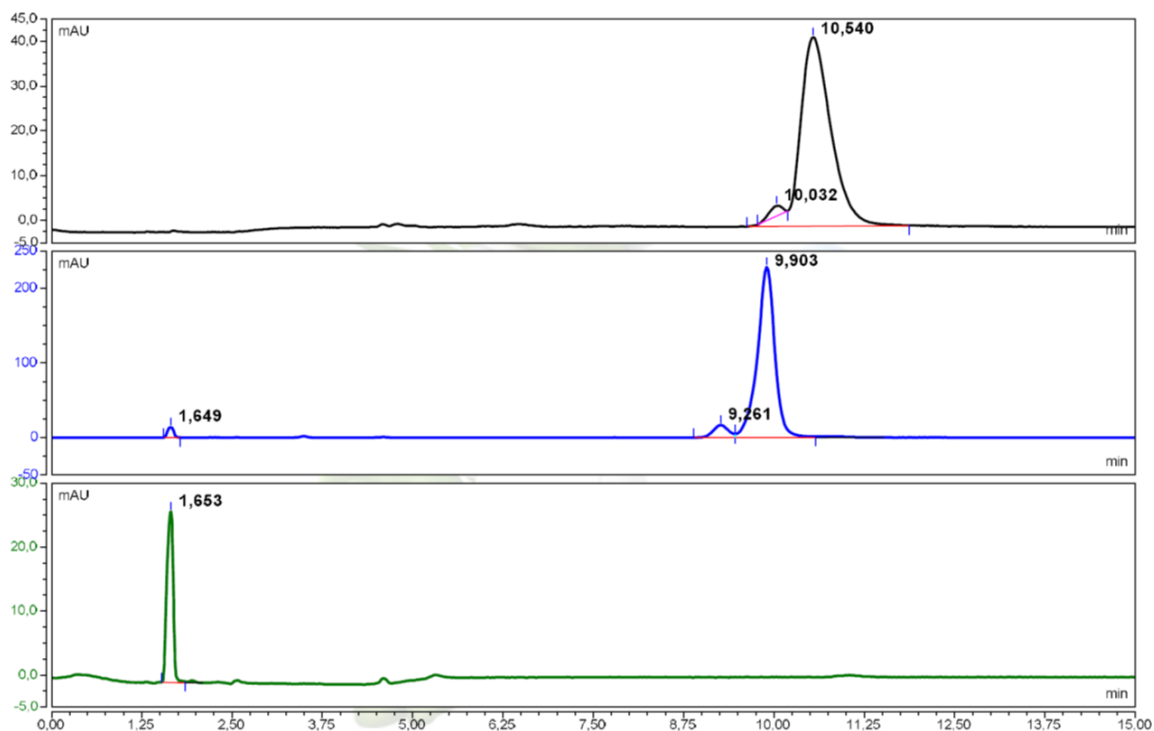
w przypadku *N*-alkilowych pochodnych **AZM**, prowadziłam w temperaturze pokojowej, a ich postęp kontrolowałam za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Na [Rysunku 118](#) przedstawiłam chromatogramy zarejestrowane w trakcie prowadzenia reakcji przekształcania substratu (**CLA**) w produkt, na przykładzie tworzenia związku **CLA-2**.



Schemat 24. Schemat przedstawiający syntezę produktów **CLA-1 – CLA-6** w wyniku reakcji *N*-alkilowania dezoazaminy **CLA**.

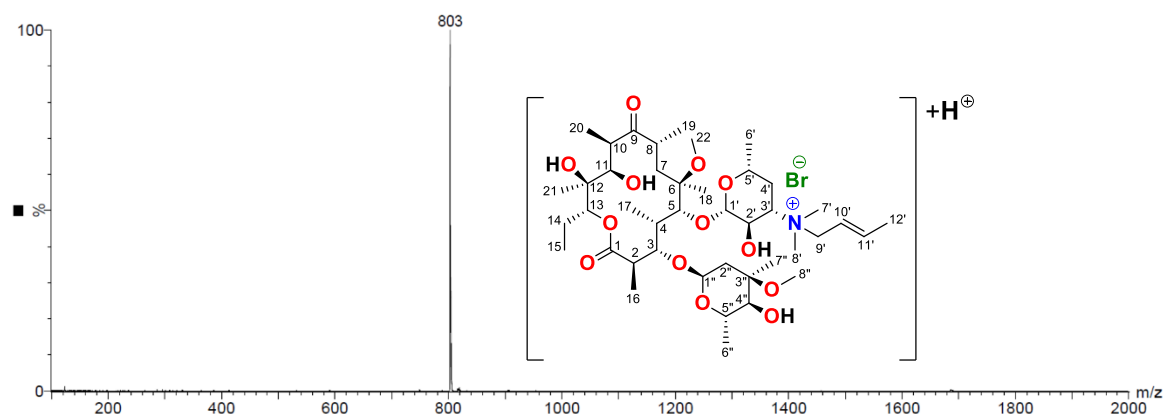
Na chromatogramie mieszaniny reakcyjnej ([Rysunek 118](#), chromatogram niebieski), wykonanej od razu po zmieszaniu substratów, widoczny był pik o czasie retencji $t_R = 9,90$ min, pochodzący od użytego reagenta jakim był bromek krotynu. Ze względu na wysoką absorpcję tego związku przy badanej długości fali (220 nm), pik odpowiadający klarytromycynie o czasie retencji $t_R = 10,54$ min. ([Rysunek 118](#), chromatogram czarny) nie był widoczny. Zatem, by móc określić stopień przereagowania, musiałam przed badaniem na HPLC, tak jak w przypadku związków *N*-alkilowych na **AZM**, każdorazowo przygotowywać próbkę w celu pozbycia się nadmiaru bromku. Gdy na chromatogramie obserwowałam już jedynie pik pochodzący od nowego produktu ([Rysunek 118](#), chromatogram zielony) o czasie retencji $t_R = 1,65$ min, reakcję zakończyłam a następnie oczyściłam produkt i poddałam go dalszym badaniom. W przypadku *N*-alkilowych pochodnych **CLA** również zauważyłam, że niezależnie od syntezowanego produktu (**CLA-1 – CLA-6**), jego czas retencji był niemalże jednakowy, co można wytłumaczyć bardzo silną zmianą właściwości lipofilowych cząsteczki, co prowadziło do mniejszego różnicowania tych związków na kolumnie chromatograficznej.

Wyniki i dyskusja



Rysunek 118. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie prowadzenia reakcji *N*-alkilowania dezozaminy **CLA**, ukazujące: substrat (**CLA**) przed reakcją (czarny), mieszaninę reakcyjną po 1h (niebieski) oraz powstały w reakcji produkt **CLA-2** (zielony).

Pierwszych informacji dotyczących struktury dostarczyła analiza widma ESI-MS, wykonanego w trybie jonów dodatnich. W widmie masowym nowo otrzymanego produktu znajdował się pik przy wartości $m/z = 803$ [Da], który odpowiadał jonowi pseudomolekularnemu cząsteczki **CLA-2** (Rysunek 119) i wstępnie potwierdzał pomyślny przebieg reakcji alkilowania.

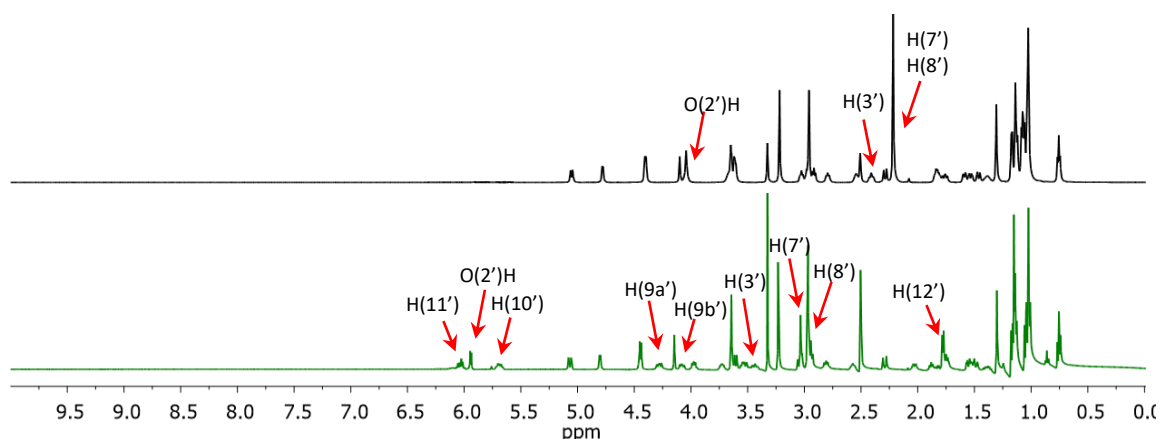


Rysunek 119. Widmo ESI MS próbki **CLA-2** zarejestrowane w trybie jonów dodatnich.

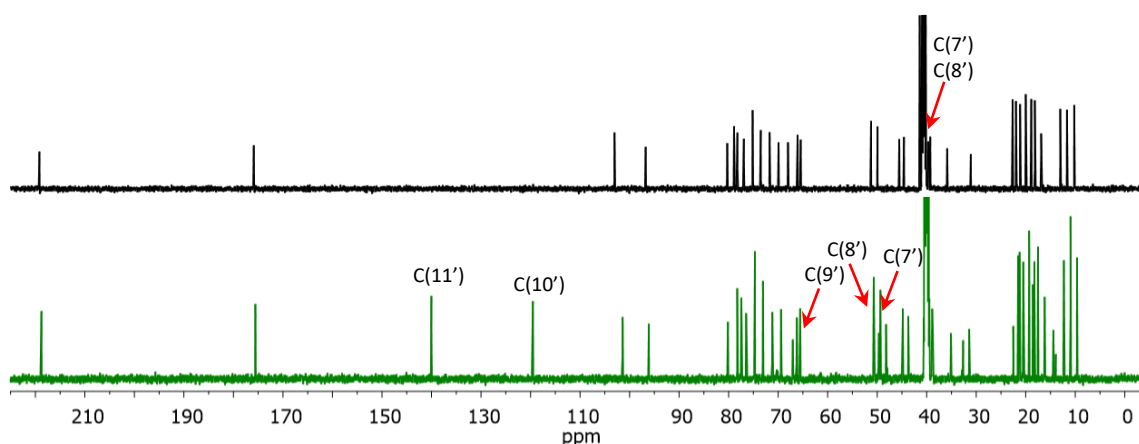
Następnie przeprowadziłam analizę jednowymiarowych widm magnetycznego rezonansu jądrowego. Poniżej przedstawiona została szczegółowa analiza

spektroskopowa dla przykładowej pochodnej **CLA-2**, natomiast przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR wszystkich pochodnych **CLA-1** – **CLA-6**, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, zostały przedstawione w Tabelach 13 i 14.

Ze wstępnej oceny widm ^1H NMR (Rysunek 120) i ^{13}C NMR (Rysunek 121) pochodnej **CLA-2** wywnioskowałam, że zarówno sygnały pochodzące od protonów i atomów węgla aglikonu i kladynozy cząsteczki **CLA-2** nie uległy znaczącym przesunięciom, w przeciwieństwie do części sygnałów pochodzących od atomów dezozaminy, więc skupiłam się tylko na części sacharydowej. Analizując widmo ^{13}C NMR produktu zaobserwowałam pojawienie się dwóch nowych sygnałów w zakresie charakterystycznym dla występowania wiązań nienasyconych, które potwierdziły przyłączenie podstawnika krotylowego do **CLA**. Ustalenie dokładnego miejsca przyłączenia nowego podstawnika było możliwe dzięki szczegółowej analizie NMR-owskiej.

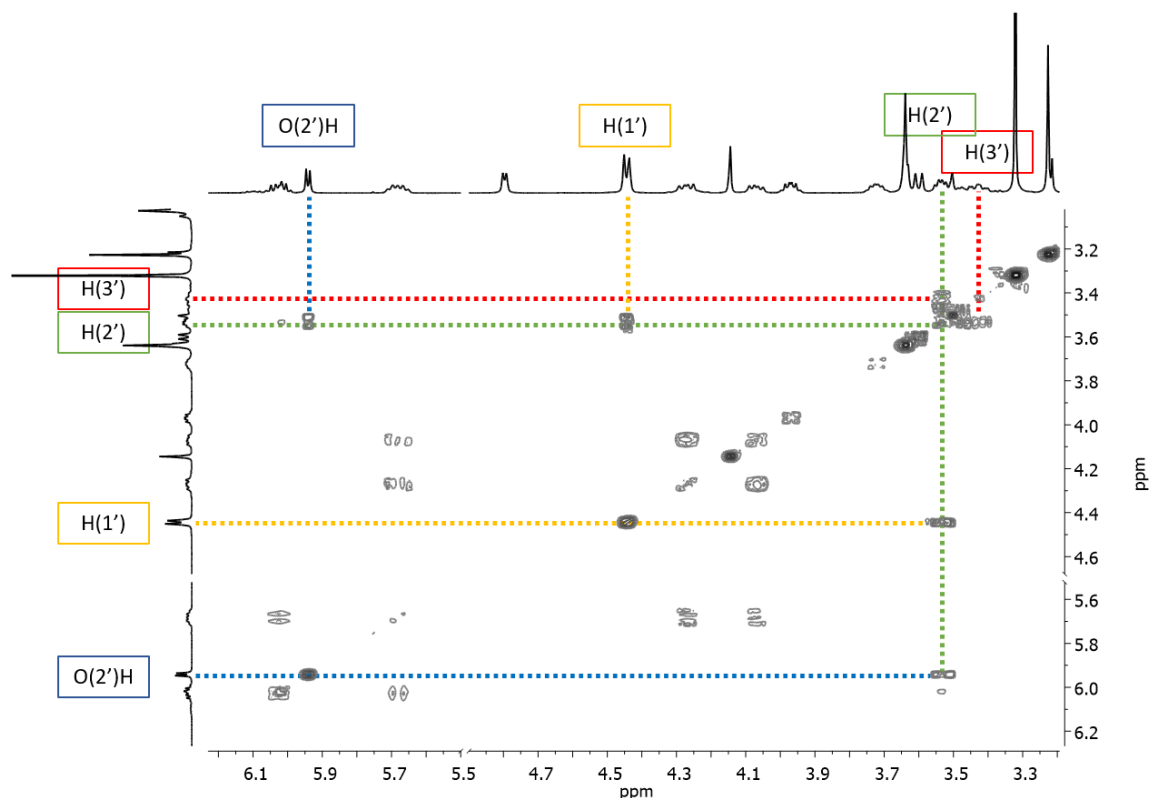


Rysunek 120. Zestawienie widm ^1H NMR dla **CLA** (czarne) i **CLA-2** (zielone), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

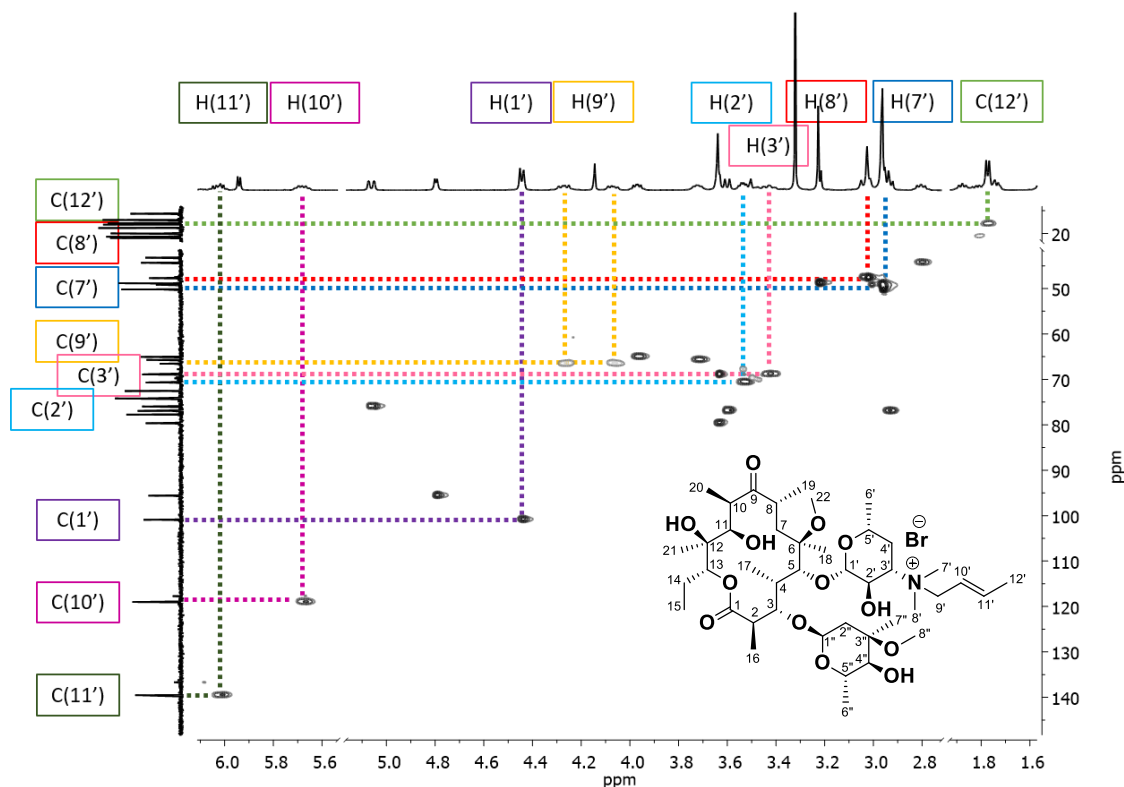


Rysunek 121. Zestawienie widm ^{13}C NMR dla **CLA** (czarne) i **CLA-2** (zielone), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

Widoczny w widmie ^1H NMR (Rysunek 120) sygnał przy przesunięciu chemicznym $\delta = 4,45$ ppm, pochodzący od protonu $\text{H}(1')$, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 122) korelował jedynie z multipletem o częstości rezonansowej $\delta = 3,53$ ppm, zatem przypisano go do protonu $\text{H}(2')$. Sygnał od $\text{H}(2')$ korelował z dwoma nowymi sygnałami: dubletem integrowanym na 1H przy $\delta = 5,94$ ppm oraz dubletem dubletu dubletów przy $\delta = 3,43$ ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 123) wymienione wyżej sygnały korelują z następującymi sygnałami węglowymi: sygnał przypisany do $\text{H}(2')$ koreluje z sygnałem przy $\delta = 70,7$ ppm, ten przy $\delta = 3,43$ ppm z sygnałem $\delta = 68,9$ ppm, z kolei dublet przy $\delta = 5,94$ ppm nie koreluje z żadnym. Na tej podstawie dublet ten przypisałam do protonu grupy hydroksylowej $\text{O}(2')\text{H}$, a sygnały przy $\delta = 3,43$ ppm i $\delta = 68,9$ ppm odpowiednio do protonu $\text{H}(3')$ i atomu węgla $\text{C}(3')$. Pozostały wymieniony sygnał przy $\delta = 70,7$ ppm przypisany został przeze mnie do atomu węgla $\text{C}(2')$. Następnie, by poznać dalszą strukturę cząsteczki, sprawdziłam z jakimi sygnałami protonowymi w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 124) koreluje sygnał przypisany do atomu węgla $\text{C}(3')$. W widmie dwuwymiarowym proton – węgiel dalekiego zasięgu zauważyłam, że koreluje on z dwoma

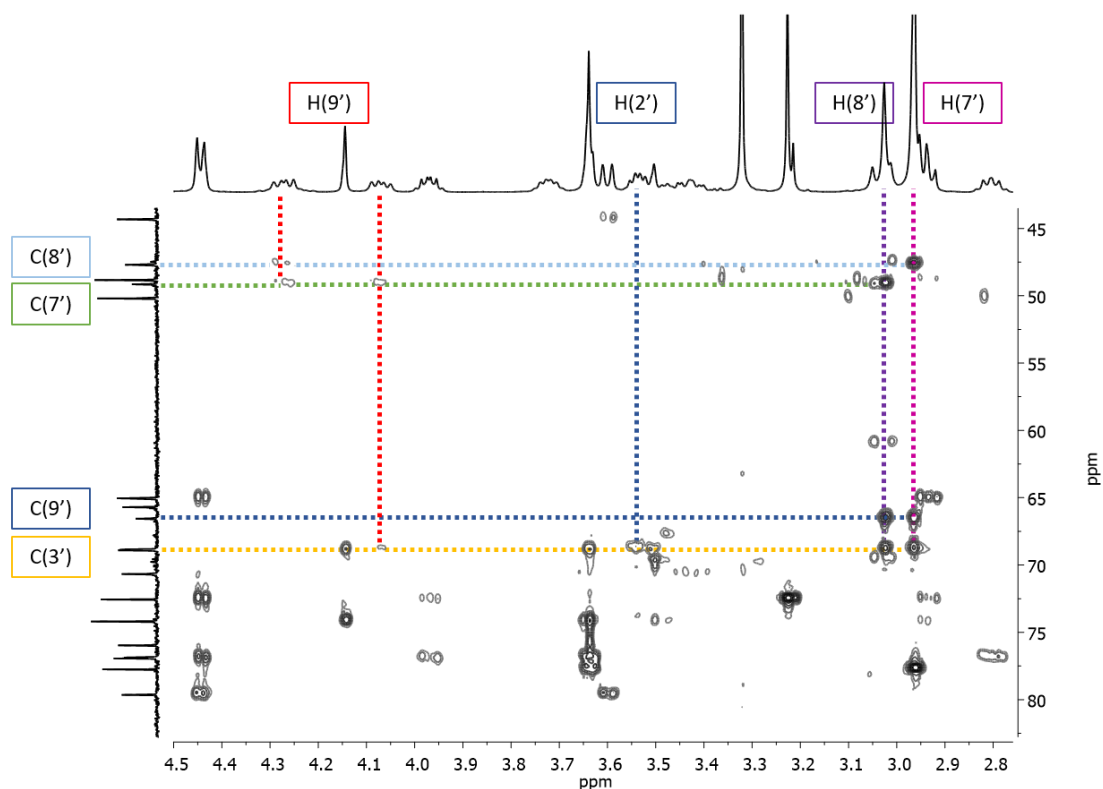


Rysunek 122. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-2** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu w fragmencie charakterystycznym dla sygnałów pochodzących od atomów dezozaminy.

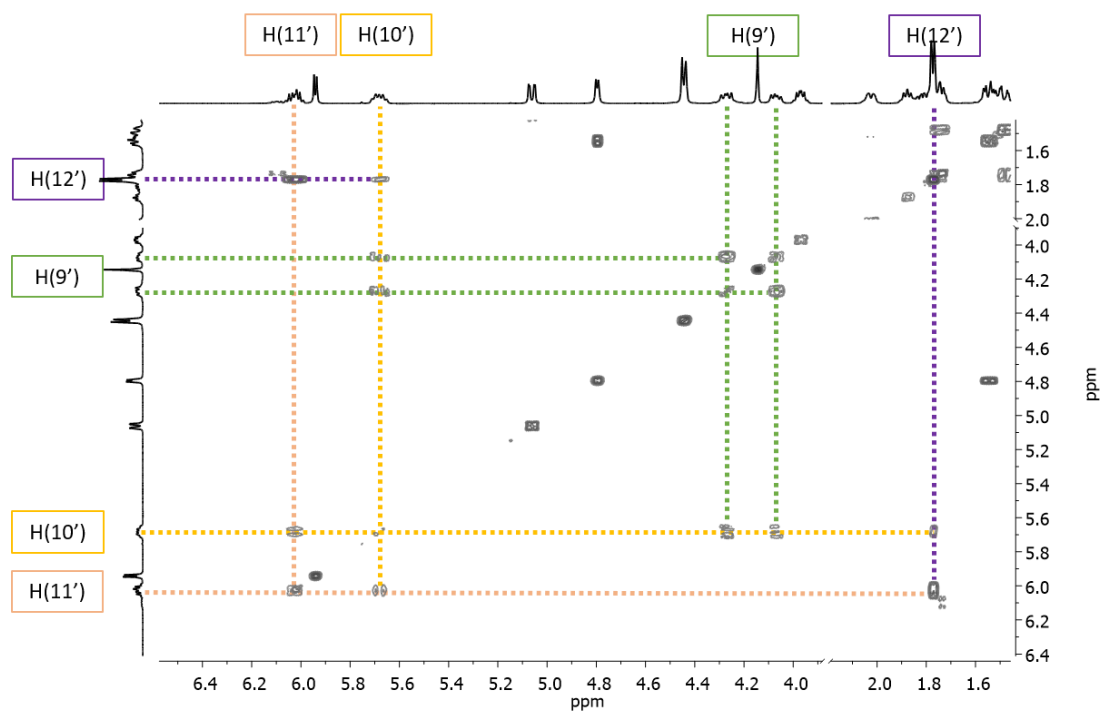


Rysunek 123. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-2** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie dezozaminy wraz z przyłączonym nowym podstawnikiem.

singletami, integrowanymi na 3H, przy przesunięciu $\delta = 3,03$ ppm i $\delta = 2,97$ ppm oraz z dubletem dubletów przy $\delta = 4,07$ ppm, który pochodził od jednego protonu. Singlety te, pochodzące od izolowanych grup metylowych przypisałam odpowiednio do protonów H(7') oraz H(8'). Na podstawie analizy widma ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 123) sygnał przy $\delta = 47,7$ ppm, korelujący z singletem przy $\delta = 3,03$ ppm przypisałam do atomu węgla C(7'), a sygnał przy $\delta = 49,2$ ppm, korelujący z singletem przy $\delta = 2,97$ ppm – do atomu C(8'). Pozostały sygnał, dublet dubletów przy $\delta = 4,07$ ppm, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 125) korelował z kolejnym dubletem dubletów przy $\delta = 4,28$ ppm, również integrowanym na 1H, z geminalną stałą sprzężenia wynoszącą $^2J = 12,7$ Hz. Na tej podstawie, sygnały te, przypisałam do protonów H(9'). Dodatkowym potwierdzeniem był fakt, że sygnały te, w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 123), korelują z jednym, tym samym sygnałem od atomu węgla, który przypisałam do C(9'). Sygnały od protonów H(9') korelują w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 123) z multipletem przy częstotliwości rezonansowej $\delta = 5,68$ ppm, który w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 123) koreluje z sygnałem węglowym o wysokim przesunięciu chemicznym $\delta = 119,1$ ppm, co sugeruje, że jest to sygnał od atomu węgla



Rysunek 124. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-2** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałami przypisanymi do dezozaminy, a sygnałami pochodzącymi od nowego podstawnika.



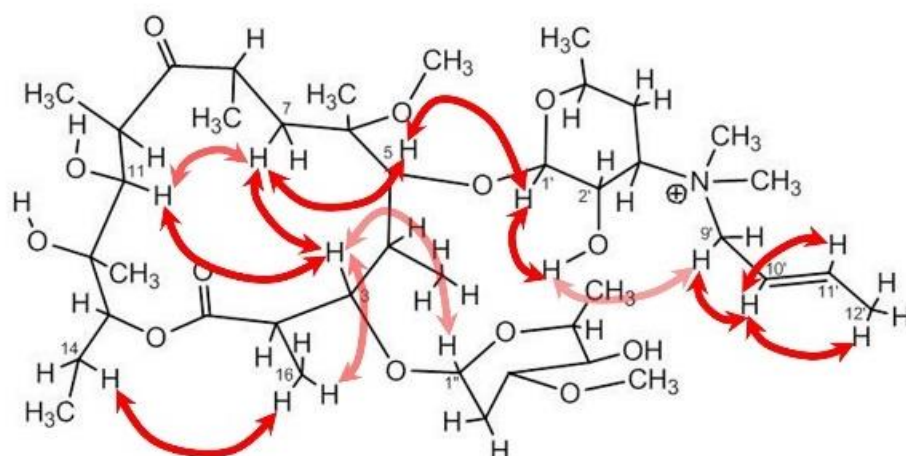
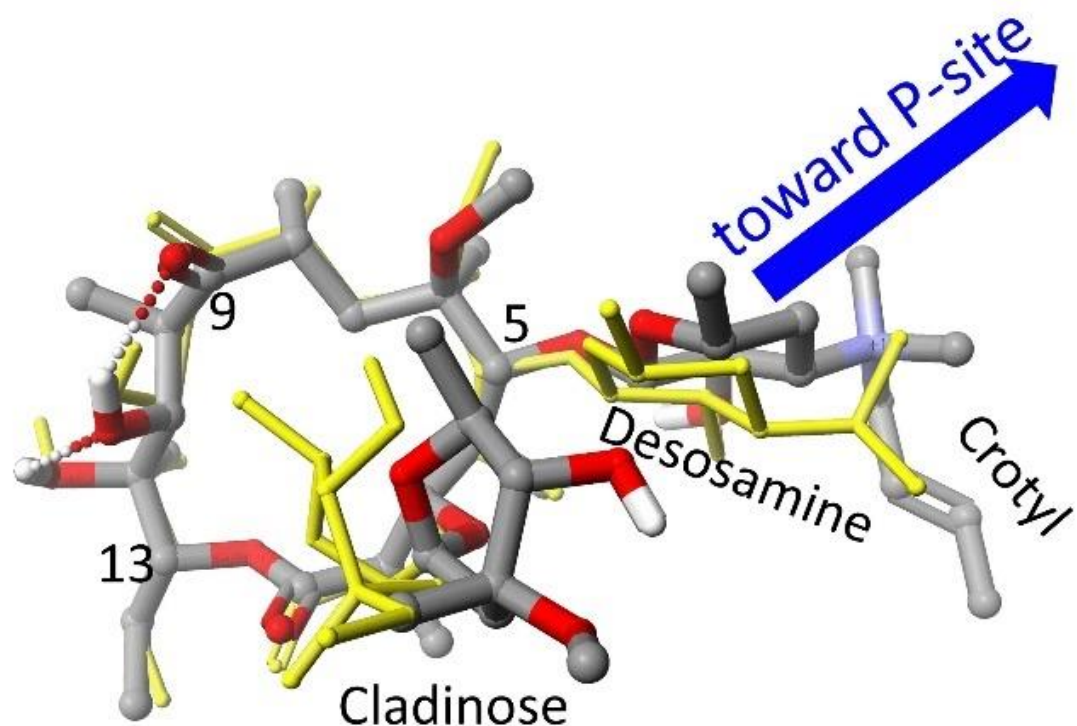
Rysunek 125. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-2** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu ukazujący korelacje w obrębie wprowadzonego nowego podstawnika.

przy wiązaniu podwójnym. Na tej podstawie sygnały te przypisałam do metylenowej grupy w pozycji 10'. Sygnał od H(10'), w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 125) korelował z multipletem przy $\delta = 6,02$ ppm, który dalej korelował z sygnałem integrowanym na 3H, przy przesunięciu chemicznym $\delta = 1,77$ ppm. Sygnał o wysokim przesunięciu chemicznym przypisałam do protonu H(11'). Z kolei sygnał przy $\delta = 1,77$ ppm, o integracji 3H, pochodził od grupy metylowej, zatem przypisałam go do protonu H(12'). Na podstawie korelacji w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 123), ustaliłam, że sygnał przy $\delta = 139,6$ ppm należy przypisać do atomu węgla C(11'), a sygnał przy $\delta = 18,1$ ppm – do C(12').

Powyższa analiza korelacji widm 2D NMR jest wystarczającym potwierdzeniem, że podstawnik krotylowy przyłączony został w reakcji alkilowania do atomu azotu dezozaminy, a produkt **CLA-2** posiada oczekiwaną strukturę.

Znając dokładną strukturę produktu **CLA-2** postanowiłam określić orientację nowego podstawnika, wprowadzonego w wyniku reakcji *N*-alkilowania. W tym celu przeprowadziłam analizę sprzężeń spinowo - spinowych protonów, na podstawie obserwacji kontaktów w widmach ^1H - ^1H NOESY. Analiza ta została wykonana dla przykładowej pochodnej **CLA-2**. Kontakty proton - proton zostały zaznaczone na strukturze (Rysunek 126), w której można zaobserwować charakterystyczne motywy strukturalne tego typu klasy pochodnych. Wykonane badania strukturalne pochodnej **CLA-2** dowodzą, że struktura pierścienia laktonowego nie uległa znaczącej zmianie względem konformacji aglikonu **CLA** (Rysunek 126). Konformacja jest zachowana, dzieląca cząsteczkę na dwie strefy - bardziej hydrofobową i bardziej hydrofilową, oraz typowa dla makrolidów o 14-członowych pierścieniach laktonowych. Taka struktura utrzymywana jest między innymi poprzez system wiązań wodorowych występujących w części pierścienia makrocyclicznego. Analiza widm NMR wyraźnie wykazała, że w przypadku soli *N*-alkiloamoniowych klarytromycyny, nowo wprowadzony podstawnik przy atomie azotu znajduje się po tej samej stronie co kladynoza. Analiza kontaktów pomiędzy protonami w widmie ^1H - ^1H NOESY umożliwiła określenie dokładnego położenia przyłączonego podstawnika względem aglikonu. I tak, wzajemne sprzężenie przez przestrzeń pomiędzy protonem grupy metylowej w pozycji C(9') a protonem grupy hydroksylowej O(2')H potwierdziło, że podstawnik ten skierowany jest w stronę kladynozy, a nie jak w przypadku omawianych w Rozdziale 1.3 pochodnych azytromycyny – gdzie zachowany był kierunek ramienia. Taka orientacja podstawnika wskazuje, że jest on ustawiony prostopadle

do światła tunelu rybosomalnego. Zatem spodziewanym było, że przyłączenie w wyniku reakcji *N*-alkilowania krótkich, nienasyconych podstawników może wzmocnić wiązanie zmodyfikowanego antybiotyku w rybosomie bakteryjnym poprzez oddziaływania π - π elektronowe z nukleotydami obecnymi w strukturze tunelu rybosomalnego.



Rysunek 126. Struktura *N*-alkilowanej pochodnej klarytromycyny (**CLA-2**, szara) nałożona na strukturę klarytromycyny w kryształach pozyskaną z kompleksu z rybosomem (CLA, żółta, PDB 1J5A⁹⁶), ustalona na podstawie kontaktów pomiędzy protonami, widocznych w widmie ^1H - ^1H NOESY w DMSO-d_6 , przedstawiona na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT)^{126, 226}.

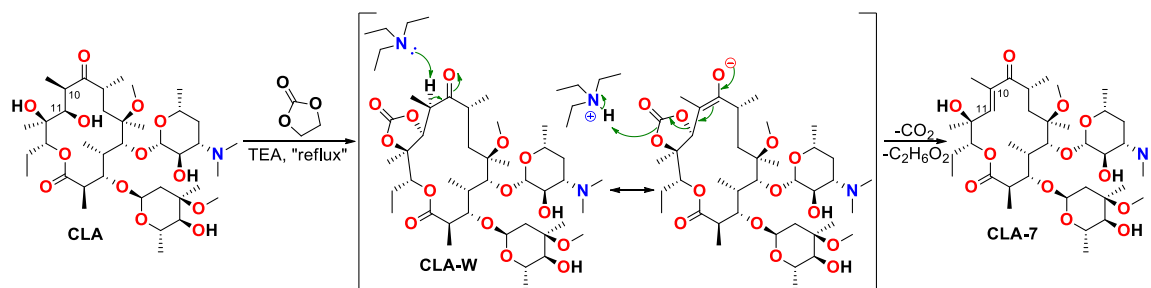
4. Pochodne klarytromycyny

W poprzednich rozdziałach omówione zostały nowe pochodne azytromycyny i klarytromycyny, w których bezpośrednio modyfikowane były części cukrowe. Modyfikacje tego typu były podstawowym celem niniejszej rozprawy doktorskiej. Prowadziły one do otrzymania antybiotyków o 14- i 15-członowych pierścieniach laktonowych z przebudowanymi ramionami sacharydowymi.

W tym rozdziale, natomiast, omówione zostało inne podejście syntetyczne, celem którego było stworzenie alternatywnej platformy do dalszej rozbudowy i modyfikacji potencjalnie aktywnych przeciwbakteryjnie związków o 14-członowych pierścieniach laktonowych. Transformacje syntetyczne nowych związków dokonane były na przeciwległej stronie pierścienia aglikonowego względem tych, omówionych we wcześniejszych rozdziałach. Zgodnie z założeniem, polegać one miały na wprowadzeniu w pozycji C(11) i C(12), 14-członowego ketolidu, mostka karbaminianowego z przyłączonym krótkim łącznikiem zakończonym podstawnikiem gotowym do dalszych modyfikacji. Tego typu pochodne znane są ze swoich bardzo dobrych właściwości przeciwbakteryjnych i zaliczane są do antybiotyków makrolidowych III generacji.¹³ Związki które zaplanowałam zsyntezować, miały różnić się od tych istniejących długością łącznika oraz zakończeniem ramienia.

4.1 Synteza α,β -nienasyconej klarytromycyny

Synteza klarytromycyny posiadającej α,β -nienasycony keton w swojej strukturze była niezbędnym elementem kolejnych przekształceń. Związek ten był substratem wyjściowym do wszystkich dalszych przeprowadzanych przez mnie modyfikacji, zatem niezbędne było dokładne określenie konfiguracji nowo utworzonego wiązania podwójnego oraz struktury – konformacji całego aglikonu z α,β -nienasyconym ketonem.

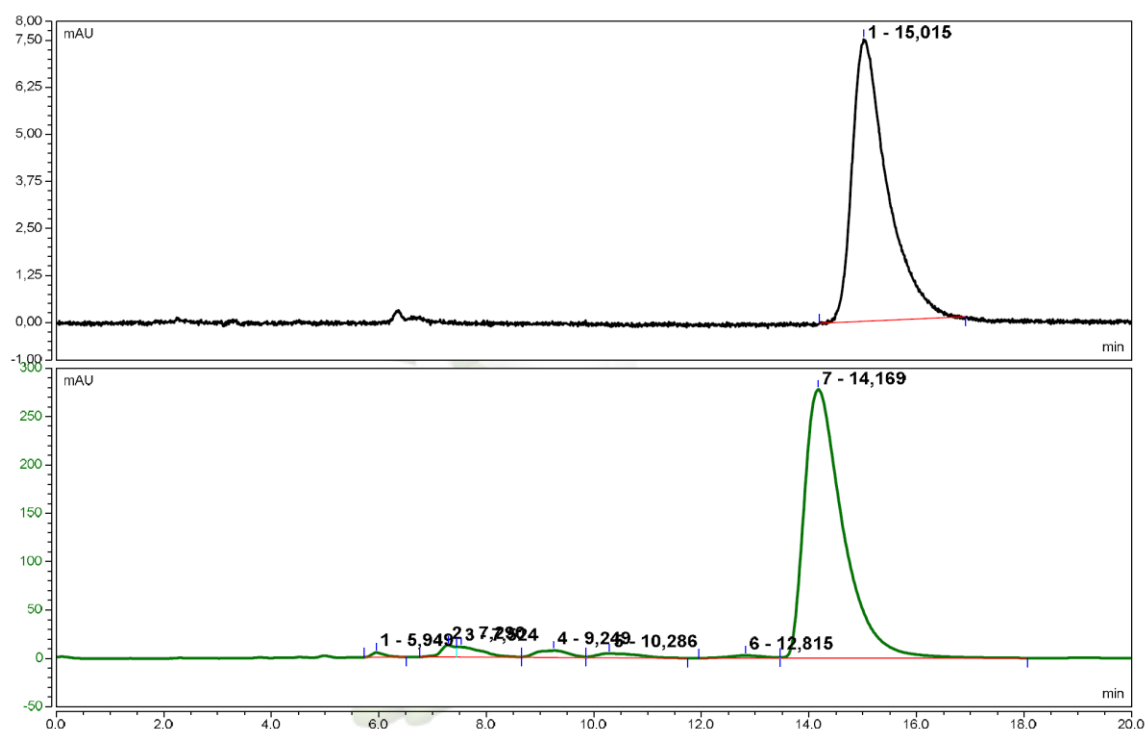


Schemat 25. Schemat przedstawiający syntezę prowadzącą do otrzymania klarytromycyny z nienasyconym wiązaniem.

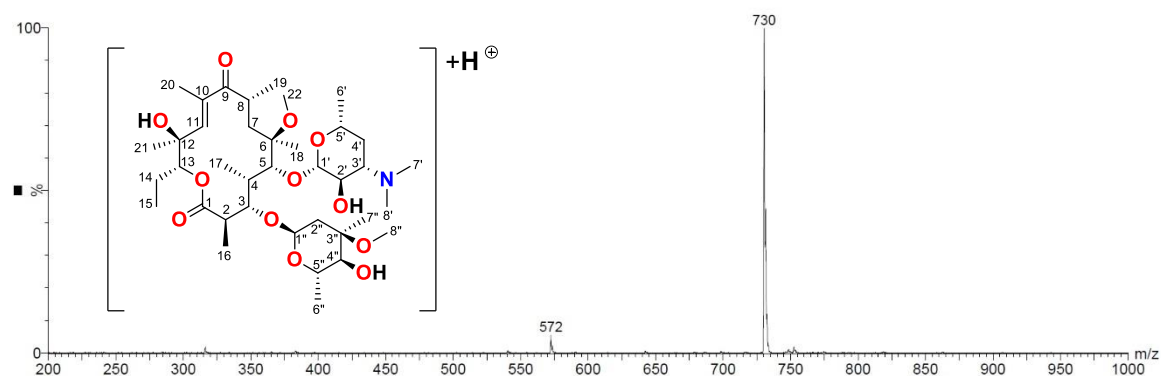
W celu otrzymania powyższego produktu **CLA-7**, przeprowadziłam reakcję pomiędzy klarytromycyną, a węglanem etylenu w zasadowym środowisku (Schemat 25). Na wstępie należy podkreślić, że omawiana reakcja wymagała bardzo rygorystycznych warunków i niezbędne było właściwe przygotowanie substratów. Kluczem było odwodnienie wszystkich reagentów biorących udział w reakcji i wykorzystanie inertnego gazu – argonu, w przeciwnym wypadku nie obserwowałam jakiegokolwiek konwersji substratu. Reakcja dehydratacji **CLA** prowadzona była przez około 8 godzin we wrzącej trietyloaminie jako rozpuszczalniku, a więc w stosunkowo „agresywnych” warunkach. W pierwszym etapie syntezy **CLA-7** dochodzi do transestryfikacji w wyniku, której węglan etylenu jest przekształcany w odpowiedni węglan klarytromycyny (**CLA-W**). W tworzenie tego związku zaangażowane były grupy hydroksylowe w pozycji O(11)H i O(12)H, a produktem ubocznym reakcji był glikol etylenowy. Produkt pośredni dehydratacji klarytromycyny nie był przez mnie izolowany i w zastosowanych warunkach reakcji uległ przekształceniu na drodze dekarboksylacji, w wyniku eliminacji E1cB, w pożądany produkt **CLA-7**.

Na Rysunku 127 przedstawiłam chromatogramy wykonane przed i po reakcji prowadzącej do otrzymania klarytromycyny posiadającej α,β -nienasycony keton (**CLA-7**). Pik pochodzący od substratu (**CLA**) widoczny był o czasie retencji wynoszącym

$t_R = 15,05$ min. (Rysunek 127, chromatogram czarny). Po 8 godzinach od rozpoczęcia prowadzenia reakcji, na chromatogramie obserwowałam już jedynie nowy pik o czasie retencji $t_R = 14,17$ min. (Rysunek 127, chromatogram zielony). Następnie reakcję zakończyłam, a otrzymany produkt poddałam oczyszczaniu i późniejszej weryfikacji jego struktury.



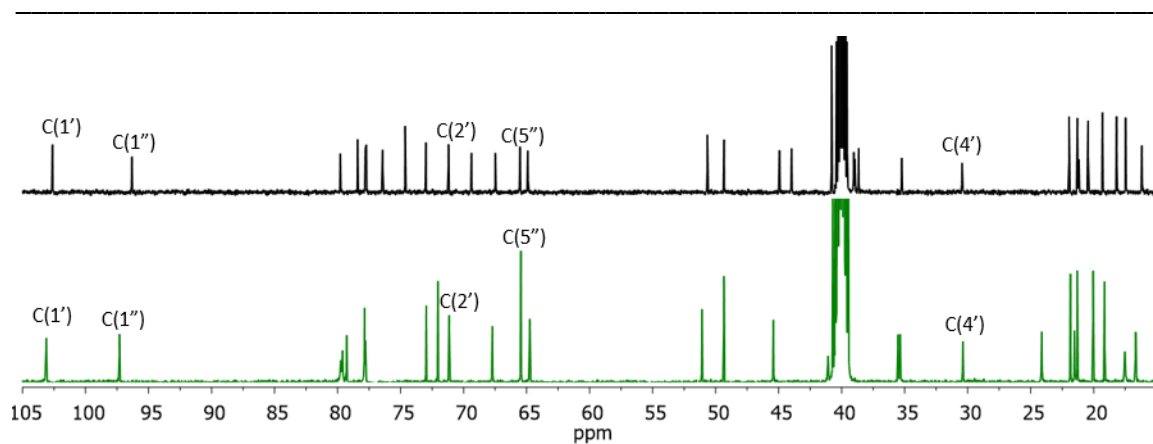
Rysunek 127. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie prowadzenia reakcji przekształcenia **CLA** (czarny) w produkt - klarytomycynę posiadającą α,β -nienasycony keton **CLA-7** (zielony).



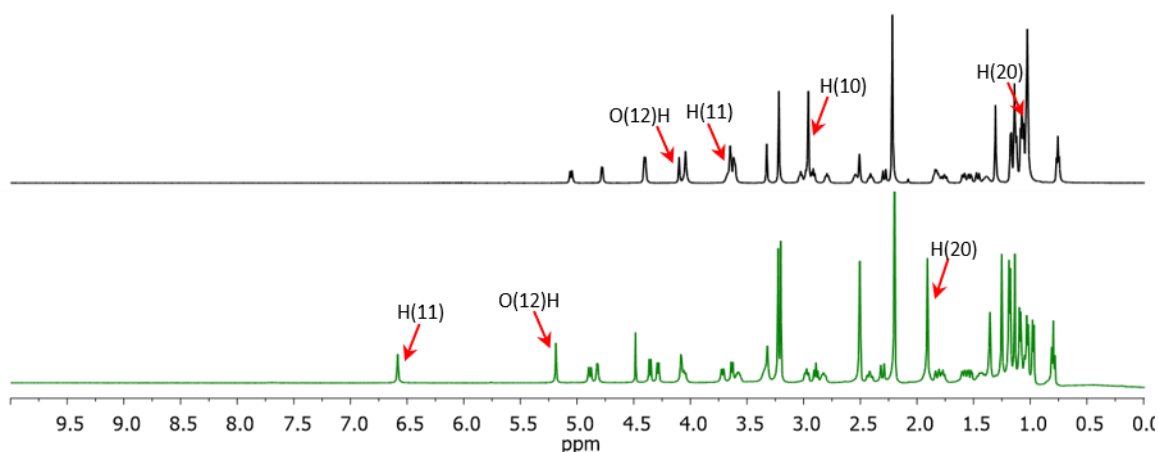
Rysunek 128. Widmo ESI MS wykonane w trybie jonów dodatnich dla produktu **CLA-7**.

Pierwszych informacji dotyczących struktury otrzymanego w tej reakcji produktu, dostarczyła analiza widma ESI MS zarejestrowanego w trybie jonów dodatnich (Rysunek 128). W widmie tym widoczny jest pik przy wartości $m/z = 730$ [Da]. Masa molowa protonowanej klarytromycyny wynosi 749 [Da]. W wyniku syntezy produktu **CLA-7**, z cząsteczki **CLA** eliminowana została grupa hydroksylowa i utworzyło się wiązanie nienasycone. Masa protonowanego produktu powinna więc być o 19 [Da] mniejsza i wynosić 730 [Da], czyli dokładnie tyle ile wynosiła masa jonu pseudomolekularnego pochodnej **CLA-7**. Wynik ten dowodzi, że doszło do eliminacji jednej z grup hydroksylowych z cząsteczki **CLA**.

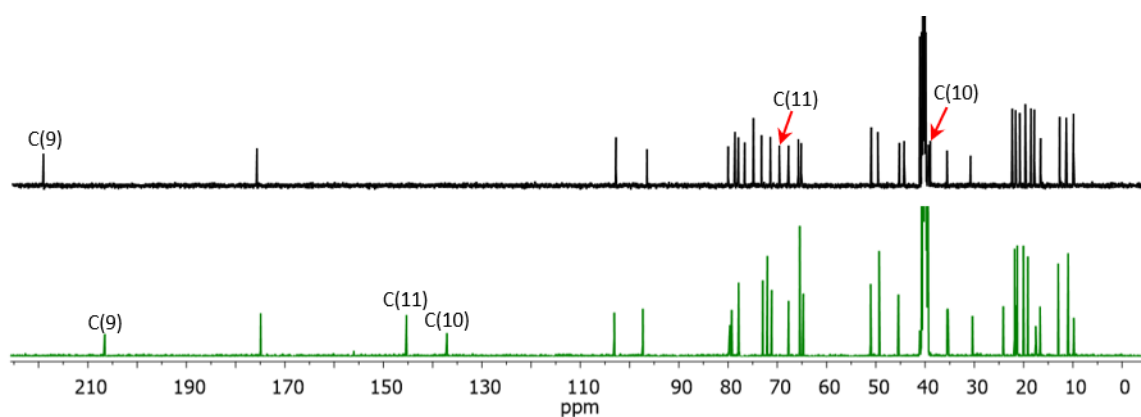
Po wstępnej analizie porównawczej zestawionych widm 1D NMR **CLA** i pochodnej **CLA-7** można było wyraźnie zauważyć, że wartości przesunięć chemicznych dla sygnałów od protonów i atomów węgla (Rysunek 129) kładynozy oraz dezozaminy są zbliżone, w przeciwieństwie do praktycznie wszystkich sygnałów protonowych (Rysunek 130) i węglowych (Rysunek 131) obserwowanych dla aglikonu, które uległy zmianie. Obserwacje te wskazują, że przebudowanie struktury 14-członowego makrolidu w niewielkim fragmencie cząsteczki, pociągnęło za sobą daleko idące konsekwencje i zmianie uległa konformacja całego aglikonu. W cząsteczce **CLA** nie ma wiązań nienasyconych C=C, więc w widmie ^{13}C NMR brak jest jakichkolwiek sygnałów w przedziale 120-140 ppm. Natomiast w widmie ^{13}C NMR produktu (**CLA-7**), zaobserwowałam pojawienie się dwóch charakterystycznych sygnałów pochodzących od nienasyconego wiązania, które potwierdzają pomyślną reakcję eliminacji jednej z grup hydroksylowych. W celu ustalenia położenia nowopowstałego wiązania podwójnego, przeanalizowałam zestawienia widm ^{13}C NMR i FT-IR zarejestrowanych dla **CLA** i **CLA-7**. W widmie ^{13}C NMR **CLA** najbardziej niskopolowym sygnałem ($\delta = 218,7$ ppm) jest ten przypisany do karbonylowego atomu węgla ugrupowania ketonowego w pozycji C(9). W strukturze tego związku obecne jest również ugrupowanie laktonowe, a sygnał tego karbonylowego atomu węgla widoczny jest przy wartości $\delta = 175,3$ ppm. W widmie produktu reakcji eliminacji w zakresie charakterystycznym dla grup karbonylowych również widoczne są dwa sygnały. Jeden przy wartości $\delta = 174,5$ ppm, a drugi przy $\delta = 206,1$ ppm. Położenie pierwszego z nich jest porównywalne z pozycją sygnału od karbonylowego atomu węgla C(1) **CLA**, w związku z czym został on przypisany analogicznie do atomu węgla C(1) w cząsteczce **CLA-7**. Z kolei różnica w wartości δ dla ketonowego atomu węgla C(9) **CLA**



Rysunek 129. Zestawienie widm ^{13}C NMR dla **CLA** (czarne) i **CLA-7** (zielone), w zakresie charakterystycznym dla sygnałów pochodzących od deoksycukrów, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

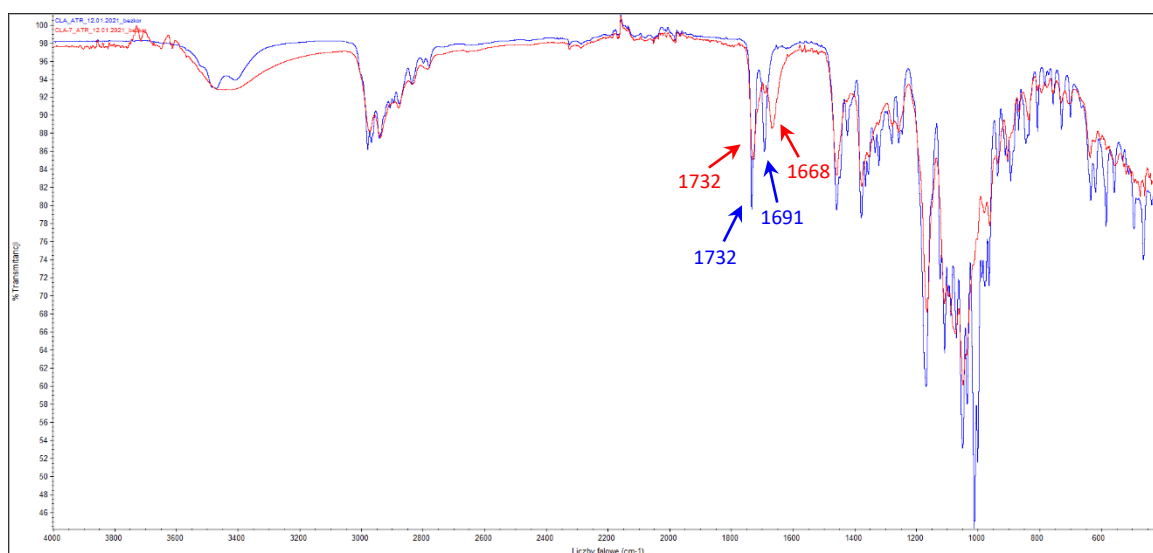


Rysunek 130. Zestawienie widm ^1H NMR dla **CLA** (czarne) i **CLA-2** (zielone), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



Rysunek 131. Zestawienie widm ^{13}C NMR dla **CLA** (czarne) i **CLA-7** (zielone), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

i **CLA-7** wynosząca 12,6 ppm wyraźnie wskazuje, że atom ten jest sprzężony z układem nienasyconym – w tym przypadku z utworzonym wiązaniem podwójnym. Podobne obserwacje można poczynić porównując widma wykonane w podczerwieni (**Rysunek 132**). W widmie substratu **CLA** widoczne są dwa charakterystyczne pasma od drgań rozciągających $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{lakton}}$ przy 1732 cm^{-1} i $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{keton}}$ przy 1691 cm^{-1} . W widmie **CLA-7** pasmo od drgań rozciągających grupy karbonylowej laktonu nie zmienia swojego położenia (1732 cm^{-1}), z kolei pozycja pasma od drgań rozciągających $\nu(\text{C}=\text{O})$ grupy karbonylowej ketonu ulega przesunięciu w kierunku niższych liczb falowych do 1668 cm^{-1} . Wynik ten potwierdza sprzężenie grupy ketonowej z wiązaniem podwójnym. Co więcej w widmie FT-IR produktu **CLA-7** niewidoczne jest jedno z pasm od drgań $\nu(\text{OH})$.

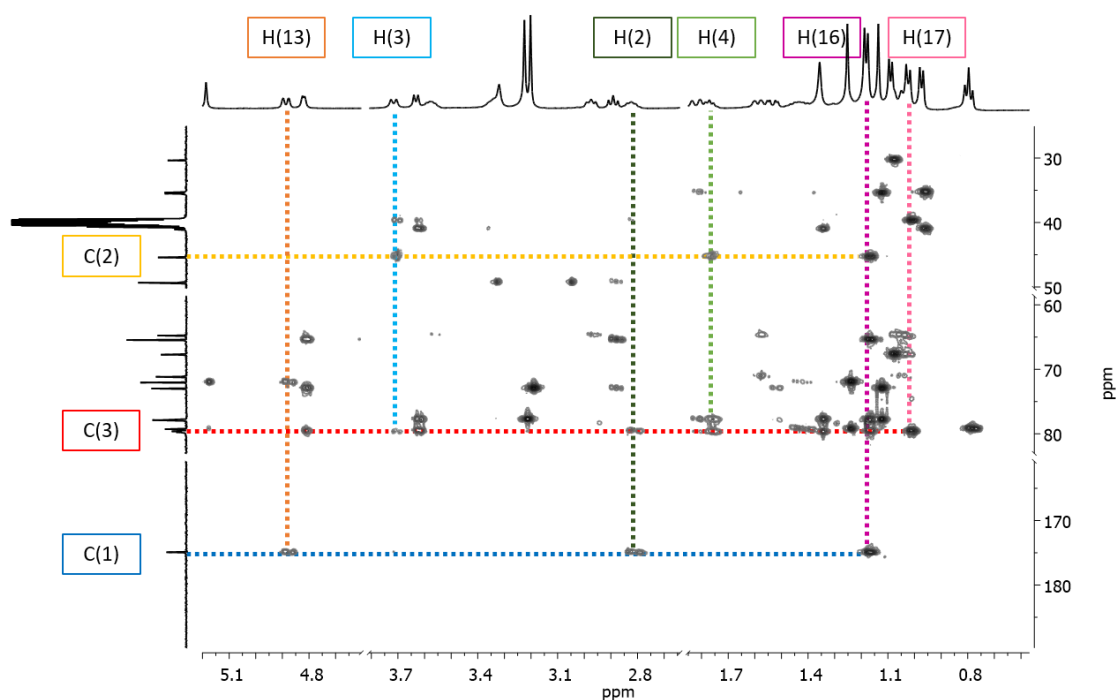


Rysunek 132. Zestawienie widm FT-IR związków **CLA** (widmo niebieskie) i **CLA-7** (widmo czerwone) w zakresie $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ z zaznaczonymi wartościami omawianych pasm.

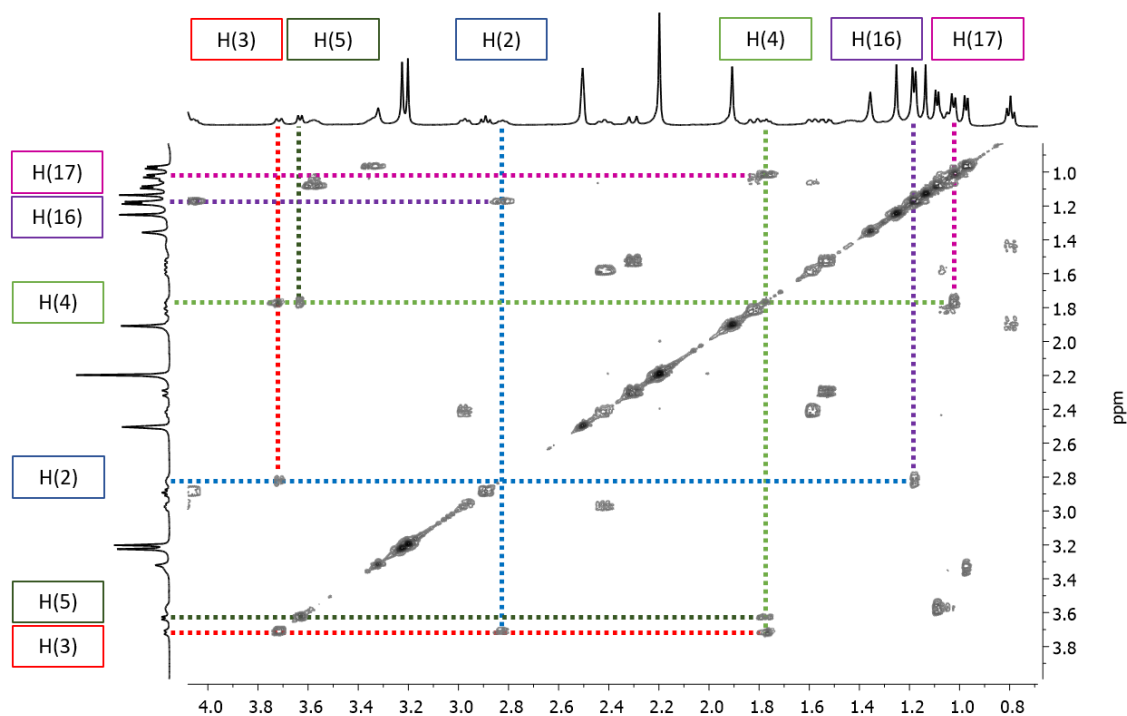
W dalszej kolejności przeprowadziłam szczegółową analizę spektroskopową produktu **CLA-7**. Omówienie jednoznacznego potwierdzenia struktury **CLA-7** przedstawiłam poniżej, a przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC oraz $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC oraz $^1\text{H}-^1\text{H}$ NOESY, przedstawione zostały w **Tabelach 15** i **16**.

W widmie $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC (**Rysunek 133**) charakterystyczny sygnał laktonowego atomu węgla C(1) korelował z trzema sygnałami: dubletem dubletów przy $\delta = 4,88\text{ ppm}$ o integracji 1H, dubletem kwartetów przy $\delta = 2,82\text{ ppm}$ o integracji 1H oraz dubletem przy $\delta = 1,18\text{ ppm}$ o integracji 3H. Analizując integrację oraz multipletowość tych sygnałów przypisałam je następująco do protonów H(13), H(2) oraz H(16). Potwierdzenie słuszności

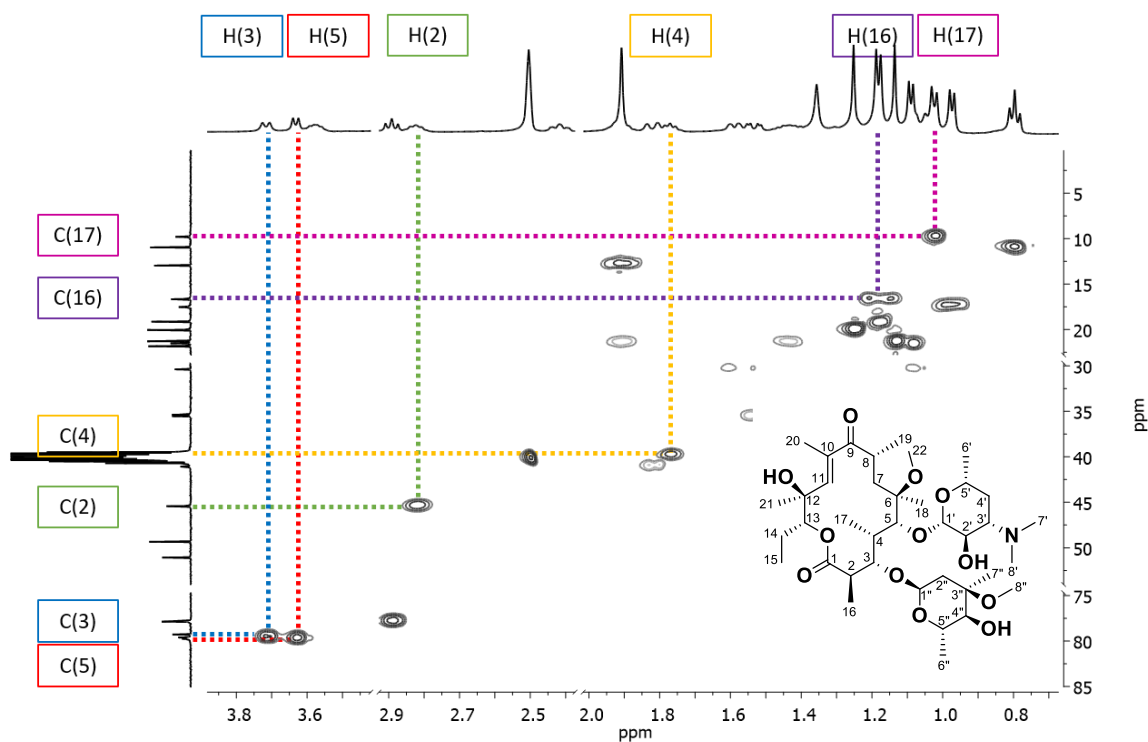
tego przypisania znalazłam analizując korelacje pomiędzy sygnałami protonowymi w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 134). Na podstawie korelacji występujących pomiędzy sygnałami pochodzącymi od protonów i odpowiadających im atomów węgla w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 135) ustaliłam przesunięcia chemiczne dla atomów węgla C(2), C(3) i C(16). I tak, sygnał przy $\delta = 16,2$ ppm przypisałam do atomu węgla C(16), sygnał przy $\delta = 44,9$ ppm do C(2), a ten przy $\delta = 3,71$ ppm – do C(3). Aby poznać wartości przesunięć chemicznych dalszych atomów w aglikonie, przeanalizowałam korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałem przypisanym do atomu węgla C(2), a nowymi, nieprzypisanymi dotychczas sygnałami od protonów. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 133), sygnał ten koreluje z multipletem przy $\delta = 1,77$ ppm (integracja 1H) oraz dubletem przy $\delta = 1,02$ ppm (integracja 3H). Przypisanie tych sygnałów do odpowiednich protonów było możliwe po przeanalizowaniu korelacji występujących w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 134). Przypisany sygnał do H(3) korelował z tym przy $\delta = 1,77$ ppm, który to z kolei korelował z dwoma kolejnymi sygnałami: dubletem przy $\delta = 1,02$ ppm i dubletem przy $\delta = 3,63$ ppm (integracja 1H). Na tej podstawie przypisałam je do odpowiednich protonów: sygnał przy $\delta = 1,77$ ppm do H(4), ten przy $\delta = 1,02$ ppm do H(17), a sygnał od protonu rezonującego przy $\delta = 3,63$ ppm – do protonu H(5). W dalszej



Rysunek 133. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałami w części aglikonu

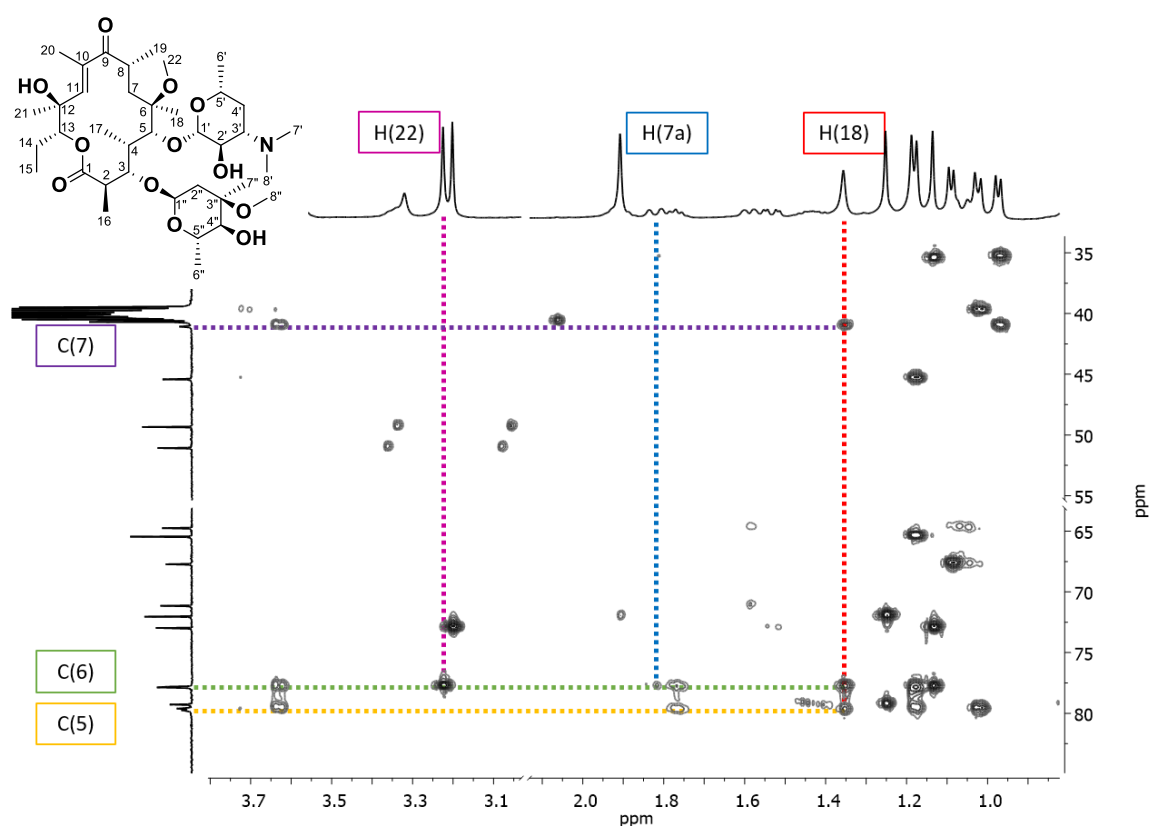


Rysunek 134. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie charakterystycznym dla sygnałów pochodzących od atomów aglikonu



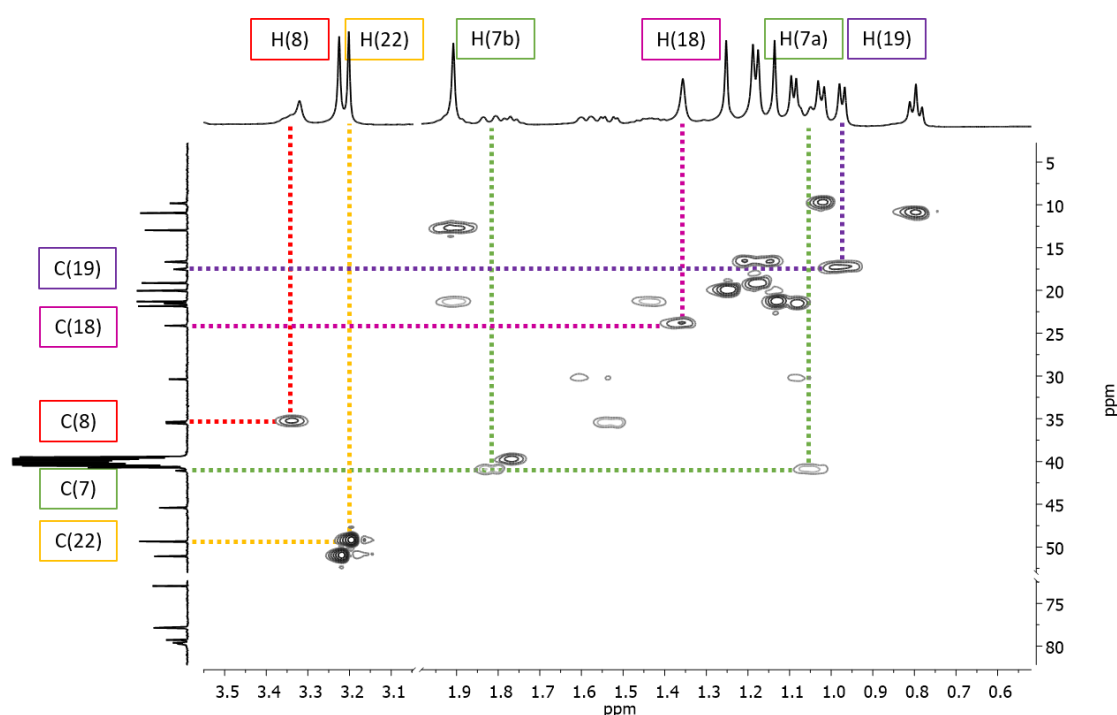
Rysunek 135. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie pierścienia aglikonowego.

kolejności, wykorzystując informacje zawarte w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 135) przypisałam pozycje sygnałów od atomów węgla: $\delta = 39,2$ ppm do C(4), $\delta = 9,3$ ppm do C(17) i $\delta = 79,3$ ppm do C(5). Brak możliwości sprzężenia spinowo-spinowego protonu H(5) z innym protonem niż H(4) spowodował, że aby móc przypisać następne sygnały pochodzące od aglikonu, koniecznym było wykorzystanie korelacji przez wiele wiązań bazując na sygnałach od grupy metinowej C(5)H. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 136) sygnał pochodzący od C(5) koreluje z dwoma sygnałami przy $\delta = 1,35$ ppm i $\delta = 3,22$ ppm. Sygnały te są singletami integrującymi się niezależnie na 3H, a zatem są to izolowane grupy metylowe. Biorąc pod uwagę powyższe obserwacje i strukturę aglikonu **CLA** ustaliłam, że sygnał o niższej wartości ppm należy przypisać do protonów grupy metylowej C(18)H₃, a drugi sygnał – o charakterystycznej wartości przesunięcia chemicznego, typowej w przypadku obecności w sąsiedztwie heteroatomu takiego jak atom tlenu – do protonów grupy metoksylowej OC(22)H₃. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 136) protony obu grup metylowych sprzęgają się z atomem węgla o częstotliwości rezonansowej $\delta = 77,3$ ppm, a sygnał pochodzący od H(18) dodatkowo koreluje z sygnałem od atomu węgla przy $\delta = 40,6$ ppm.

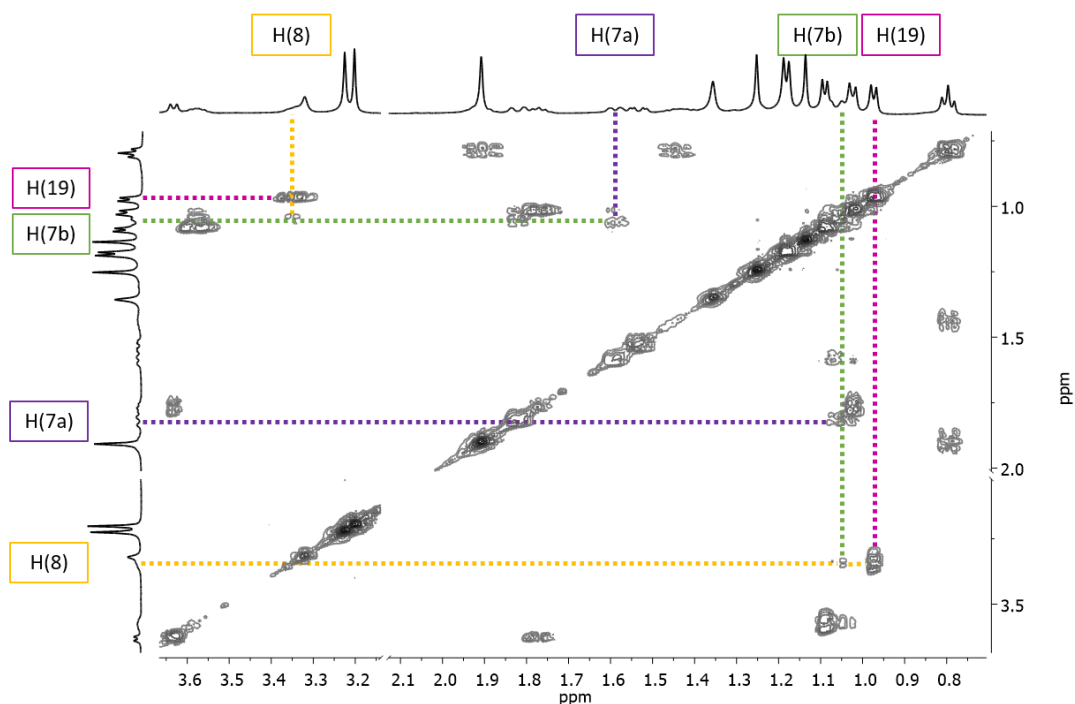


Rysunek 136. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu występujące w aglikonie.

Biorąc pod uwagę fakt, że grupa metylowa i metoksylova przyłączone są do tego samego atomu węgla C(6), oraz że kolejnym ugrupowaniem w strukturze aglikonu jest grupa metylenowa C(7)H₂, to sygnał przy $\delta = 77,3$ ppm należy przypisać do czwartorzędowego atomu węgla C(6), a sygnał węglowy przy $\delta = 40,6$ ppm do atomu węgla C(7). Potwierdzeniem poprawności przypisania tych sygnałów jest brak sprzężenia spinowo-spinowego przez jedno wiązanie atomu węgla C(6) z jakimkolwiek protonem oraz sprzężenie atomu C(7) z dwoma protonami rezonującymi przy $\delta = 1,82$ ppm i $\delta = 1,06$ ppm (Rysunek 137). Każdy z tych sygnałów integrowany jest na 1H, co dowodzi, że sygnały te pochodzą od protonów grupy metylenowej. Dalszą analizę spektroskopową prowadziłam z wykorzystaniem korelacji widocznych w widmie ¹H-¹H COSY (Rysunek 138). Sygnał od protonu H(7) ($\delta = 1,06$ ppm) koreluje z multipletem przy $\delta = 3,36$ ppm (integracja 1H), który to dalej koreluje z dubletem o przesunięciu równym $= 0,97$ ppm (integracja 3H). Przypisałam zatem te sygnały kolejno do protonów H(8) i H(19), a na podstawie widma ¹H-¹³C HSQC (Rysunek 137) sygnały przy $\delta = 34,9$ ppm i $\delta = 17,1$ ppm przypisałam odpowiednio do atomów C(8) i C(19).

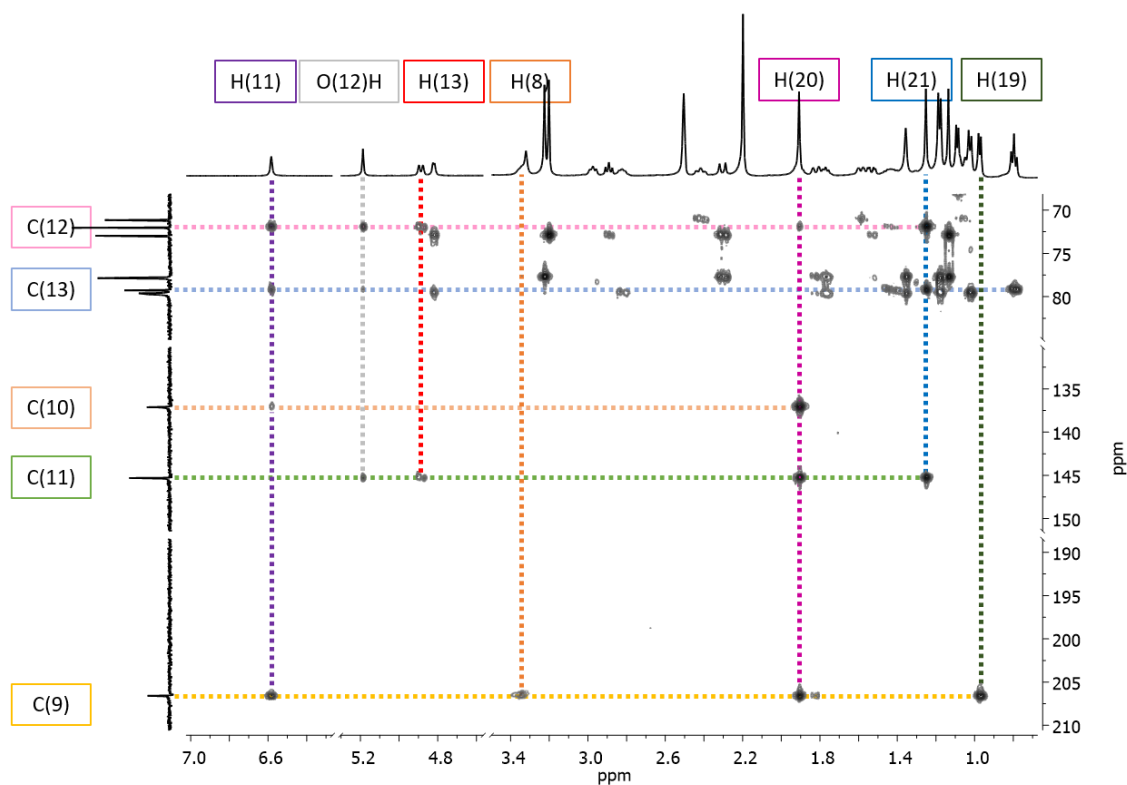


Rysunek 137. Fragment widma ¹H-¹³C HSQC produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu w zakresie charakterystycznym dla sygnałów pochodzących od atomów aglikonu.

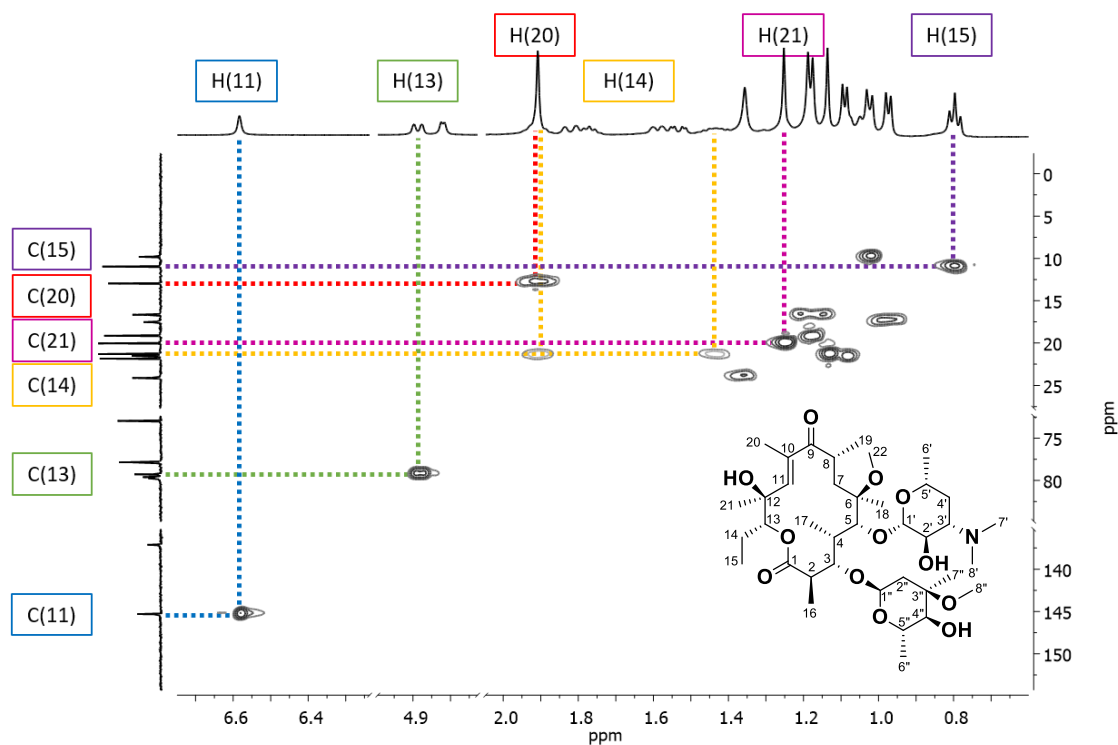


Rysunek 138. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu w aglikonie.

We wstępnej analizie, na podstawie widm ^{13}C NMR i FT-IR ustaliłam, że grupa ketonowa $\text{C}(9)=\text{O}$ jest sprzężona z nowoutworzonym wiązaniem podwójnym, co skutkowało znacznym przesunięciem się pozycji sygnału od karbonylowego atomu węgla $\text{C}(9)$. Potwierdzeniem poprawności przypisania tego sygnału jest obecność jego korelacji z sygnałami $\text{H}(8)$ i $\text{H}(19)$ (Rysunek 138). Po dehydratacji **CLA**, proton $\text{H}(11)$ jest przyłączony do atomu węgla o hybrydyzacji sp^2 , co potwierdza fakt, że jest to najbardziej odślaniany sygnał w widmie ^1H NMR **CLA-7** ($\delta = 6,58$ ppm – singlet). Proton ten sprzęga się przez trzy wiązania z karbonylowym atomem węgla $\text{C}(9)$, który dodatkowo sprzęga się z trzema protonami o przesunięciu chemicznym $\delta = 1,90$ ppm (singlet), które przypisałam do protonów grupy metylowej $\text{C}(20)\text{H}_3$. Wysoka wartość przesunięcia chemicznego tej grupy metylowej w porównaniu do wartości zarejestrowanej w widmie **CLA** ($\delta = 1,02$ ppm) wskazuje, że również jest ona przyłączona do atomu węgla o hybrydyzacji sp^2 . Korzystając z widm HMBC (Rysunek 139) i HSQC (Rysunek 140) ustaliłam, że sygnał od atomu węgla $\text{C}(10)$ ma wartość $\delta = 136,7$ ppm, a sygnał od atomu węgla $\text{C}(11)$ ma wartość $\delta = 144,8$ ppm. Wszystkie powyższe dane jednoznacznie dowodzą, że w reakcji **CLA** z węglanem etylenu



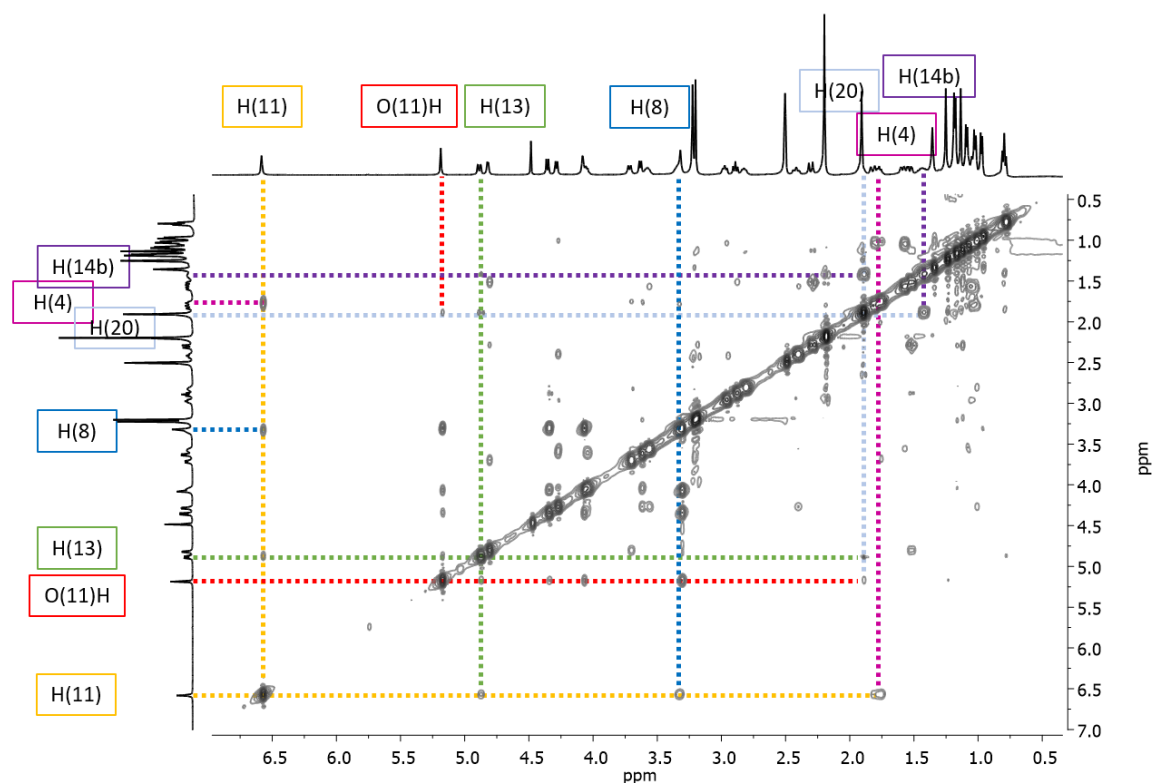
Rysunek 139. Fragment widma dwuwymiarowego ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu występujące w aglikonie.



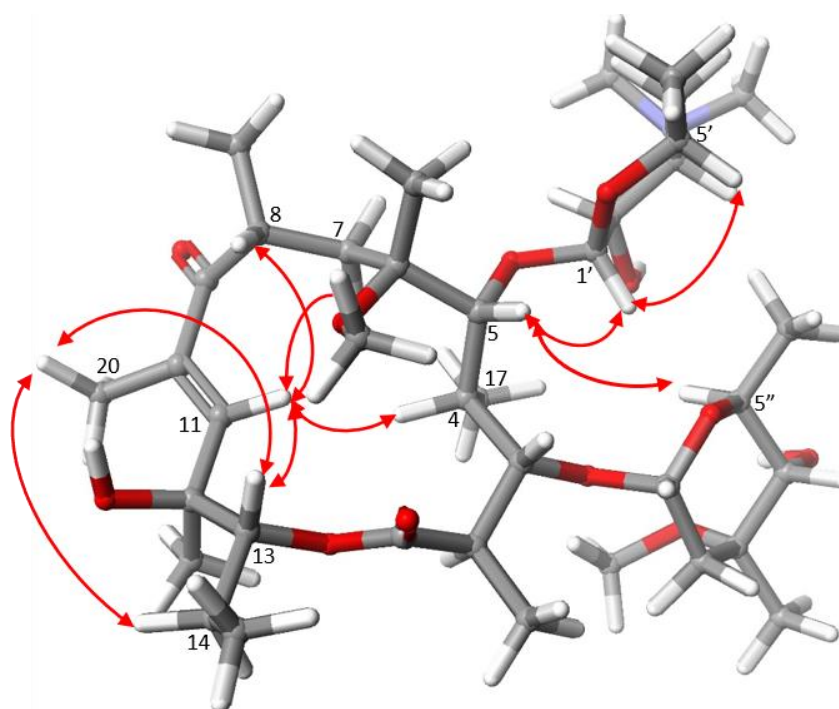
Rysunek 140. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-7** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu.

w środowisku zasadowym sumarycznie doszło do eliminacji cząsteczki wody [grupy hydroksylowej H(11) i protonu H(10)] i utworzenia α,β -nienasyconego ketonu. W analogiczny sposób przypisałam odpowiednie sygnały ^1H i ^{13}C widoczne w widmach 1D NMR **CLA-7** dla pozostałej części aglikonu. Dane te znajdują się w [Tabelach 15 i 16](#).

Powyzsza przeprowadzona analiza przesunięć chemicznych oraz multipletowości i integracji sygnałów udowodniła, że w wyniku reakcji klarytromycyny z węglanem etylenu otrzymany został produkt **CLA-7** – klarytromycyna posiadająca α,β -nienasycony keton w swojej strukturze. W celu ustalenia konformacji związku **CLA-7**, niezbędne było przeanalizowanie spinowo-spinowych sprzężeń dalekiego zasięgu protonów. Badanie to przeprowadziłam na podstawie analizy kontaktów w widmach ^1H - ^1H NOESY, które powstają w wyniku przenoszenia spinów przez przestrzeń pomiędzy protonami znajdującymi się blisko siebie. Rozważane były cztery możliwe warianty przestrzennej budowy produktu **CLA-7**: (*Z*)-*s-cis*, (*Z*)-*s-trans*, (*E*)-*s-cis* oraz (*E*)-*s-trans*. W celu wykazania konformacji otrzymanego produktu, niezbędne było dokładne prześledzenie korelacji występujących w widmie ^1H - ^1H NOESY. Poniżej przedstawiłam fragment widma z zaznaczonymi jedynie kluczowymi korelacjami, które bezpośrednio pochodziły od protonów w okolicy wiązania podwójnego i umożliwiły określenie jego konformacji. W widmie ^1H - ^1H NOESY ([Rysunek 141](#)) sygnał pochodzący od protonu znajdującego się bezpośrednio przy wiązaniu podwójnym – H(11) – koreluje z sygnałami H(4), H(7a), H(8) i H(13). Z kolei sygnał pochodzący od grupy metylowej przyłączonej do tego samego wiązania podwójnego – H(20) – koreluje również z sygnałami H(13) i dodatkowo z H(14b). Na podstawie tych głównych korelacji określiłam, że produkt **CLA-7** ma konformację (*E*)-*s-trans*. Kluczowe kontakty proton – proton zostały zaznaczone na najbardziej korzystnej energetycznie strukturze, w lokalnym minimum energetycznym (metoda DFT B88-LYP, [Rysunek 142](#)).



Rysunek 141. Widmo dwuwymiarowe ^1H - ^1H NOESY produktu **CLA-7** przedstawiające kluczowe korelacje pomiędzy protonami umożliwiające określenie konformacji



Rysunek 142. Najbardziej korzystna energetycznie struktura klarytromycyny (-2446,55 a.u.) posiadającej α,β -nienasycony keton (**CLA-7**) ustalona na podstawie kontaktów pomiędzy protonami, widocznych w widmie ^1H - ^1H NOESY w DMSO-d_6 , przedstawiona na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT)^{126, 228}

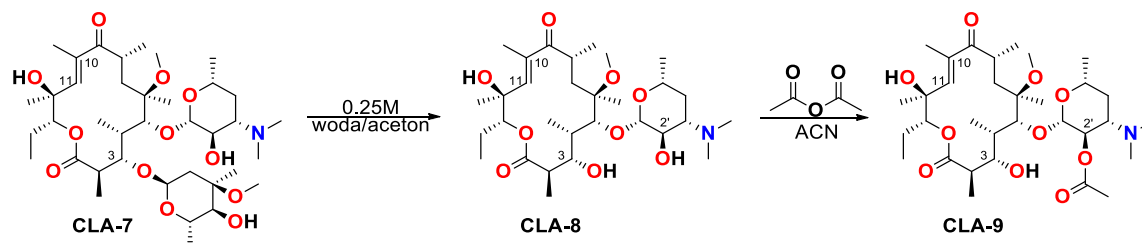
4.2 Przygotowanie α,β -nienasyconej klarytromycyny utlenionej w pozycji C(3) z acetylowaną grupą hydroksylową O(2')H, jako platformy do dalszych przekształceń

Analizując doniesienia literaturowe, zauważyłam, że bardzo często w syntezie aktywnych biologicznie pochodnych 14-członowych antybiotyków substratem wyjściowym do dalszych modyfikacji jest utleniona w pozycji C(3) klarytromycyna, posiadająca α,β -nienasycone wiązanie przy ketonie oraz zablokowaną grupę hydroksylową O(2')H. To właśnie taki ketolid był prekursorem telitromycyny, antybiotyku stosowanego w leczeniu zapalenia górnych i dolnych dróg oddechowych u dorosłych, wywołanych przez bakterie odporne na powszechnie stosowane w farmakoterapii antybiotyki. Zhydrolizowanie L-kladynozy i zastąpienie powstałej grupy hydroksylowej ketonem, indukuje zmianę konformacji, umożliwiając ruch cząsteczki i jej odmienne dopasowanie się w tunelu rybosomalnym poprzez zwiększoną labilność konformacyjną pierścienia aglikonowego. Zauważono, że zmiana tego ugrupowania sprawia, że otrzymany związek nie jest indukującym oporność bakterii wobec szczepów MLS_B. Dodatkowo również, klarytromycyna utleniona w pozycji C(3) wykazuje mniejszą siłę działania, prawdopodobnie ze względu na utratę interakcji (wiązań i oddziaływań) wiążących ten antybiotyk poprzez kladynozę w tunelu rybosomalnym.¹³

Synteza α,β -nienasyconej klarytromycyny utlenionej w pozycji C(3) z acetylowaną grupą hydroksylową O(2')H, ze względu na poruszone powyżej problemy, służyła jedynie wytworzeniu związku, który stanowił platformę do dalszych przekształceń.

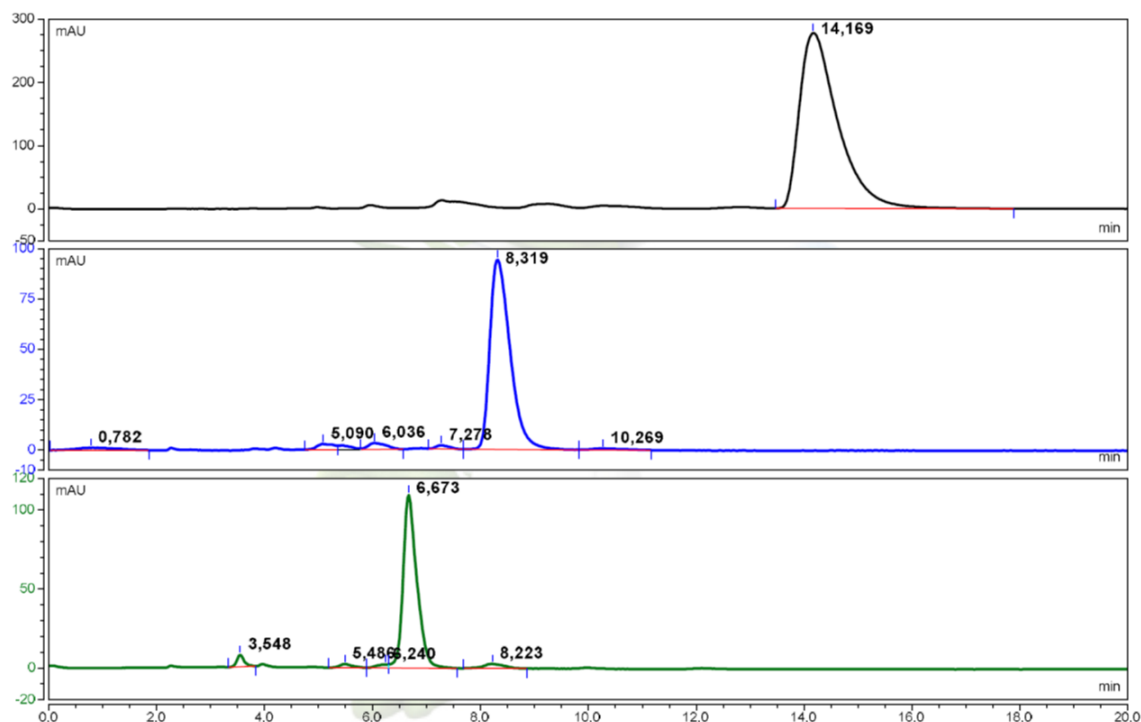
Na [Schemacie 26](#) zaprezentowałam strategię prowadzącą do uzyskania 3-okso klarytromycyny posiadającej wiązanie podwójne sprzężone z ketonem w pozycji C(9) oraz zablokowaną grupę hydroksylową O(2')H. Zastosowane podejście syntetyczne składało się z sekwencji trzech reakcji: pierwszą reakcją była kwasowa, hydrolityczna dekladonyzacja (**CLA-8**), drugą – regioselektywna acetylacja grupy hydroksylowej O(2')H (**CLA-9**), a ostatnią – utlenianie II-rzędowej grupy hydroksylowej O(3)H do ugrupowania ketonowego (**CLA-10**).

4.2.1 Synteza α,β -nienasyconej 3-OH klarytromycyny z acetylowaną grupą hydroksylową O(2')H



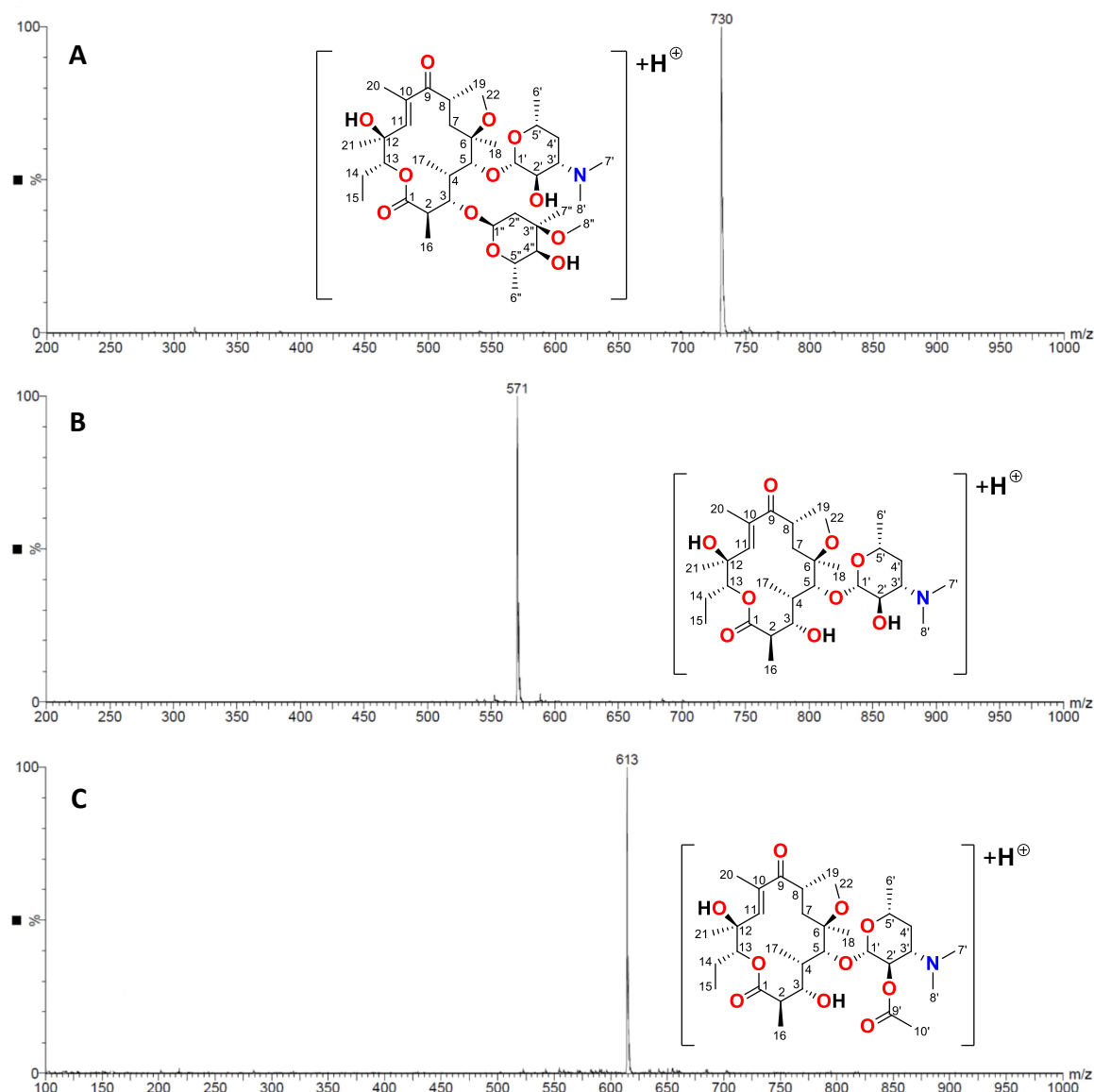
Schemat 26. Schemat przedstawiający reakcję dekladonyzacji α,β -nienasyconej klarytromycyny (**CLA-7**), prowadzącą do otrzymania produktu **CLA-8**, który następnie w wyniku reakcji acetylacji grupy hydroksylowej O(2')H przekształca się w produkt **CLA-9**.

Reakcję selektywnej hydrolizy kwasowej podstawnika sacharydowego – w tym przypadku kładynozy – prowadziłam przez 24 godziny, poddając α,β -nienasyconą klarytromycynę (**CLA-7**) działaniu 0,25M wodnego roztworu kwasu solnego i acetonu w stosunku objętościowym 4:1. Na [Rysunku 143](#) przedstawiałam chromatogramy zarejestrowane przed dodaniem kwasu do substratu (chromatogram czarny) oraz po 24 godzinach prowadzenia reakcji (chromatogram niebieski). Pik pochodzący od substratu **CLA-7** widoczny był o czasie retencji $t_R = 14,17$ min. Po 24 godzinach od rozpoczęcia reakcji, zarejestrowałam całkowicie nowy pik, o czasie retencji $t_R = 8,4$ min, który przypisałam do produktu. Następnie reakcję zakończyłam poprzez dodatek do mieszaniny reakcyjnej chlorku metylenu i wielokrotne odmywanie warstwy organicznej roztworem wodorowęglanu sodu. Po wyizolowaniu produktu **CLA-8** z warstwy organicznej przystąpiłam do kolejnego etapu syntezy. Przed przystąpieniem do reakcji utleniania powstałej II-rzędowej grupy hydroksylowej w pozycji C(3) niezbędne było zablokowanie obecnej w cząsteczce drugiej grupy hydroksylowej w pozycji C(2') o tej samej rzędowości, która byłaby również podatna na reakcję utlenienia ([Schemat 26](#)). W tym celu produkt **CLA-8** poddałam reakcji regioselektywnej acetylacji, poprzez dodatek bezwodnika octowego w środowisku bezwodnego acetonitrylu (regioselektywność procesu acylowania grupy hydroksylowej dezosaminy została omówiona w [Dziale VII, Rozdziale 1.2](#) na przykładzie syntezy produktu **AZM-1**). Reakcję tę prowadziłam 18 godzin, aż do całkowitego przekształcenia substratu w produkt. Analizując chromatogramy wykonywane w czasie reakcji zauważyłam powstanie nowego produktu. Po 18 godzinach od rozpoczęcia reakcji na chromatogramie ([Rysunek 143](#), chromatogram zielony) widoczny był już jedynie pik odpowiadający nowemu produktowi o $t_R = 6,67$ min.



Rysunek 143. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie prowadzenia reakcji przekształcenia **CLA-7** (czarny) w produkt – 3-OH klarytomycynę posiadającą α,β -nienasycony keton **CLA-8** (niebieski), a następnie dalej w produkt **CLA-9** z zablokowaną poprzez acetyl, grupą hydroksylową O(2')H (zielony).

W celu uzyskania pierwszych informacji dotyczących przebiegu syntezy oraz struktury oczekiwanych produktów, przeprowadziłam analizę spektrometryczną. Na [Rysunku 144](#) przedstawiłam zestawienie widm ESI MS produktów **CLA-8** (B) i **CLA-9** (C) wraz z widmem substratu **CLA-7** (A). Jon pseudomolekularny związku **CLA-7**, który był substratem w tych przekształceniach, wynosi 730 [Da]. Hydroliza cząsteczki kladynozy obniża masę produktu o 159 [Da], a więc pik pochodzący od produktu w powinien posiadać masę 571 [Da]. Wartość ta odpowiadała jonowi pseudomolekularnemu nowego produktu **CLA-8**, który widoczny był w widmie MS ([Rysunek 144](#), B), zatem było to potwierdzenie, że reakcja hydrolizy zaszła selektywnie i uległ niej tylko jeden podstawnik cukrowy – kladynoza. Z kolei przyłączenie grupy ochronnej – acetylu – do cząsteczki **CLA-8** powinno zwiększyć jej masę o 42 [Da]. Masa powstałego produktu powinna zatem wynosić 612 [Da], czyli dokładnie o jeden mniej od masy jonu pseudomolekularnego cząsteczki **CLA-9**.

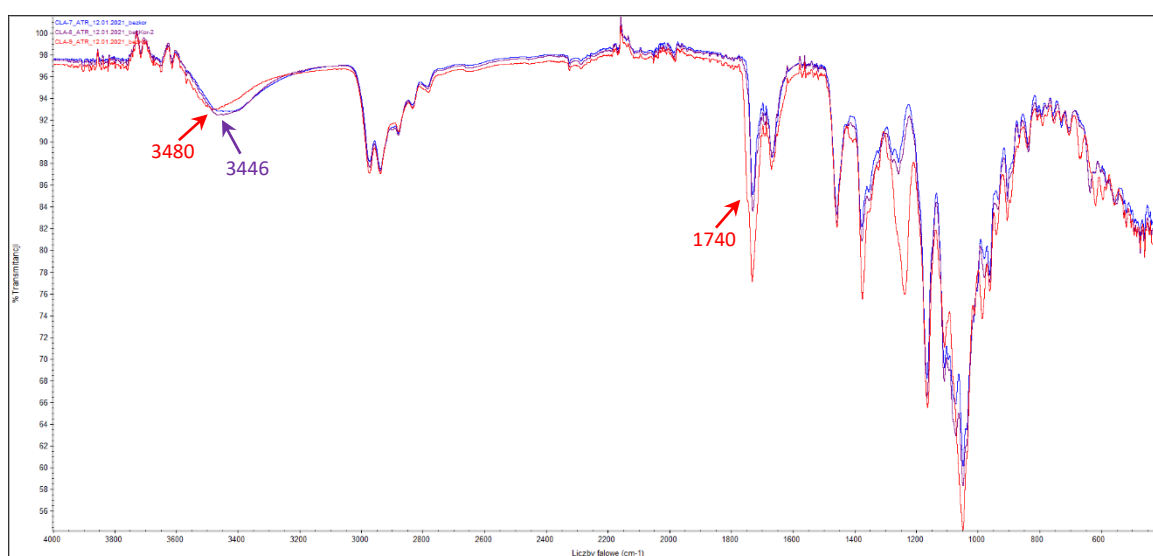


Rysunek 144. Zestawienie widm ESI MS wykonanych w trybie jonów dodatnich dla substratu A) **CLA-7** oraz produktów: B) **CLA-8** oraz C) **CLA-9**.

Struktury otrzymanych związków potwierdziłam dzięki analizie danych otrzymanych z zarejestrowanych widm FT-IR (ATR) oraz ¹H i ¹³C NMR. W przypadku **CLA-8** więcej informacji dostarczyły widma 1D NMR, niż te wykonane w podczerwieni. Ma to związek z brakiem, patrząc na struktury **CLA-7** i **CLA-8**, znaczących zmian w typie i liczbie charakterystycznych grup funkcyjnych, których pasma absorpcji mogłyby pełnić swoistą sondę. Po reakcji dekladonyzacji **CLA** nie zmienia się liczba grup hydroksylowych, a zmiany w widmie produktu względem substratu są niewielkie. W widmach ¹H i ¹³C NMR **CLA-8** najistotniejszą zmianą potwierdzającą proces dekladonyzacji jest brak odpowiednich

sygnałów pochodzących od tego podstawnika sacharydowego oraz przesunięcie się sygnałów od grupy metinowej C(3)H w stronę niższych wartości ppm (Tabele 15 i 16).

Po reakcji acetylowania grupy hydroksylowej O(2')H w widmie FT-IR **CLA-9** (Rysunek 145) pojawia się dodatkowe pasmo pochodzące od drgań rozciągających karbonylowej grupy acetoksylowej przy 1740 cm^{-1} , z jednoczesnym osłabieniem intensywności pasma pochodzącego od drgań rozciągających grup hydroksylowych przy 3480 cm^{-1} , które w **CLA-8** występowało przy częstotliwości 3446 cm^{-1} . W widmach 1D NMR pojawiły się natomiast trzy charakterystyczne sygnały od wprowadzonego podstawnika: $\delta = 2,03\text{ ppm}$ [H(10')], $\delta = 21,5\text{ ppm}$ [C(10')] i $\delta = 169,9\text{ ppm}$ [C(9')] (Tabele 15 i 16).

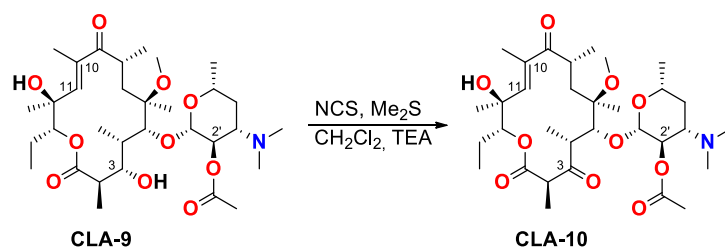


Rysunek 145. Zestawienie widm FT-IR związków **CLA-7** (widmo niebieskie), **CLA-8** (widmo fioletowe) i **CLA-9** (widmo czerwone) w zakresie $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ z zaznaczonymi wartościami omawianych pasm.

Na podstawie powyższych danych uzyskanych z analizy chromatogramów, widm masowych i spektroskopowych FT-IR oraz 1D NMR, ustaliłam, że synteza produktu **CLA-8**, a następnie **CLA-9**, zaszła zgodnie z oczekiwaniami. Otrzymany został produkt – 3-OH klarytromycyna posiadająca α,β -nienasycone wiązanie przy ketonie oraz zablokowaną grupę hydroksylową O(2')H, który był gotowy do reakcji utleniania.

4.2.2 Reakcja utlenienia grupy hydroksylowej O(3)H produktu CLA-9

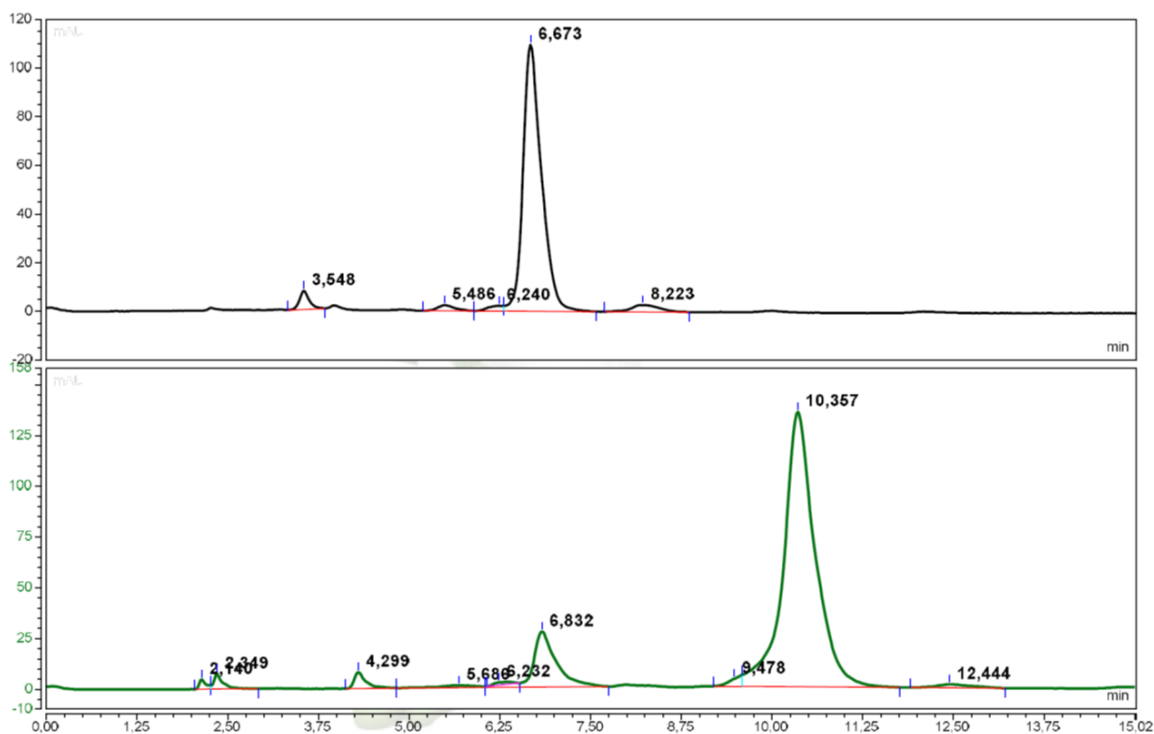
Selektywne utlenienie jednej grupy hydroksylowej w cząsteczce modyfikowanej klarytromycyny **CLA-9** było możliwe tylko ze względu na wcześniejsze modyfikacje struktury **CLA**. Grupa hydroksylowa O(2')H została acetylowana, grupa O(11)H wyeliminowana, a grupa O(12)H jest trzeciorzędowym alkoholem, a więc nie może ulec tej reakcji. W celu przekształcenia grupy hydroksylowej w pozycji C(3) w keton wykorzystałam metodę utleniania Kim-Coreya (Schemat 27). W metodzie tej, podobnie jak w metodzie Swerna, alkohole utleniane są do odpowiednich związków karbonylowych poprzez wykorzystanie aktywowanej cząsteczki DMSO. W reakcji Kim-Coreya rolę utleniacza pełni *N*-chloroimid kwasu bursztynowego [*N*-chlorosukcynoimid (NCS)] a swego rodzaju „kofaktorem” przenoszącym elektrony jest siarczek dimetylu.



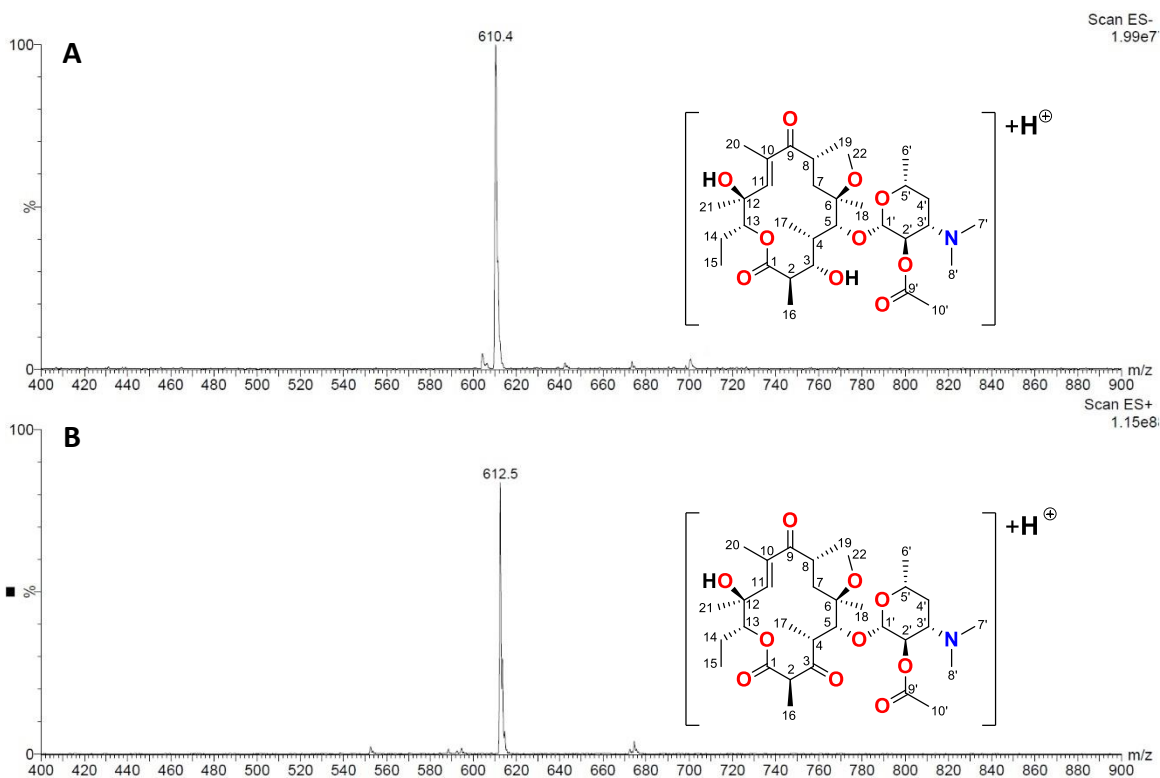
Schemat 27. Schemat reakcji utlenienia Kim-Coreya prowadzący do otrzymania produktu **CLA-10**.

Syntezę tę prowadziłam przez 6 godzin w temperaturze -20 °C w bezwodnych warunkach, z odpowiednio przygotowanymi substratami i odwodnionymi rozpuszczalnikami, w atmosferze argonu. W przypadku tej reakcji niezwykle ważna była kolejność dodawania substratów, jak i czas pomiędzy ich wkraplaniem. Po 30 minutach od dodania ostatniej porcji roztworu **CLA-9** w chlorku metylenu, wkropliłam trietyloaminę, a następnie pozostawiłam mieszaninę do momentu uzyskania na chromatogramie produktu **CLA-10** (Rysunku 146). Na chromatogramie wykonanym przed reakcją widoczny był pik o czasie retencji $t_R = 6,67$ min, który odpowiada związkowi **CLA-9** (chromatogram czarny). Z kolei na drugim chromatogramie, wykonanym po 6 godzinach, zaobserwowałam pojawienie się, kosztem substratu, nowego piku o czasie retencji $t_R = 10,36$ min, który przypisałam do produktu **CLA-10** (chromatogram zielony). Następnie zakończyłam reakcję, a mieszaninę reakcyjną oczyściłam. Wyizolowany przy pomocy chromatografii kolumnowej produkt, poddałam analizie spektroskopowej w celu potwierdzenia jego struktury.

Wyniki i dyskusja



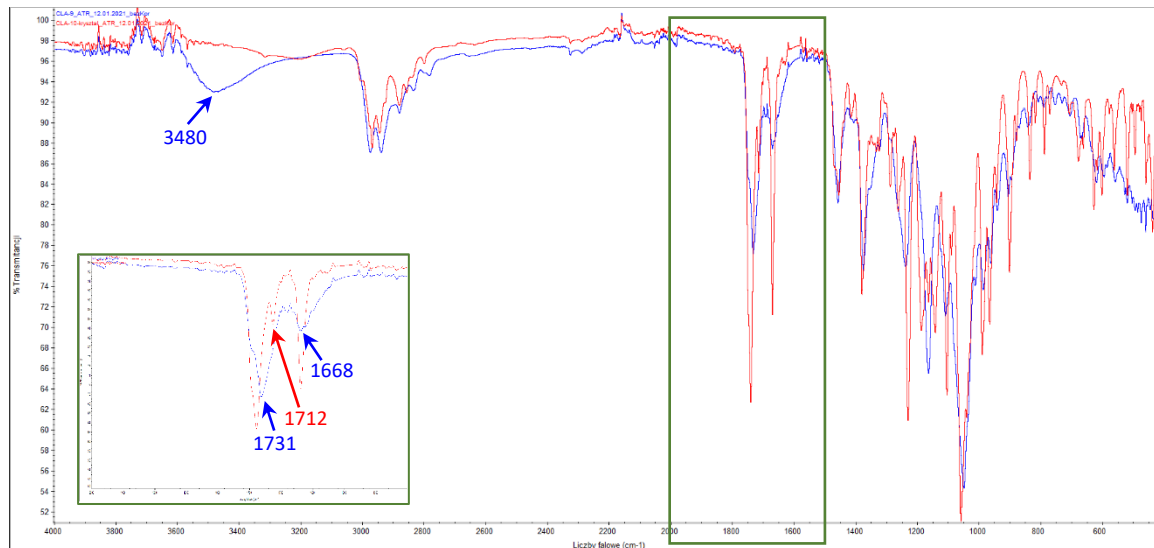
Rysunek 146. Zestawienie chromatogramów wykonanych przed prowadzeniem reakcji, ukazujący substrat **CLA-9** (czarny), i po jej zakończeniu – przedstawiający otrzymany produkt **CLA-10** (zielony).



Rysunek 147. Zestawienie widm ESI MS wykonanych w trybie jonów dodatnich (A) i jonów ujemnych (B) dla produktu **CLA-10**.

Masa molowa substratu **CLA-9** równa jest 613,4 [g/mol] i w przypadku utlenienia alkoholu do ketonu następuje obniżenie masy związku o 2 jednostki, zatem masa molowa **CLA-10** wynosi 611,4 [Da]. W widmach ESI(+) i ESI(-) MS (**Rysunek 147**) widoczne były piki, odpowiednio o masie $m/z = 612,5$ [Da] i $m/z = 610,4$ [Da]. Oba piki pseudomolekularne w widmach ESI MS stanowią potwierdzenie otrzymania związku o pożądanej masie.

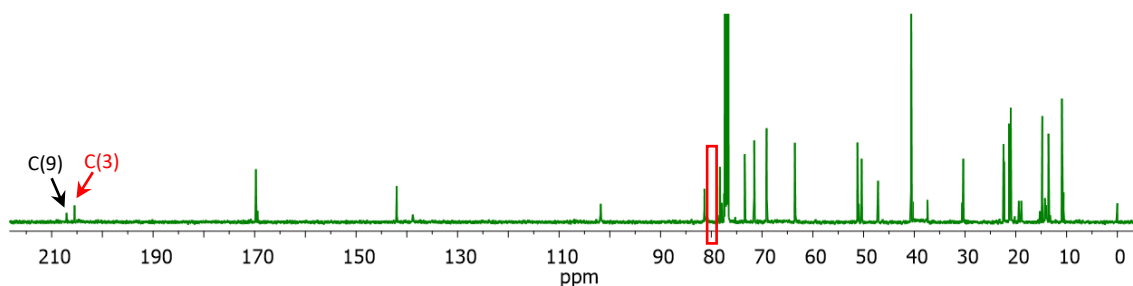
Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane z widm masowych, postanowiłam w pierwszej kolejności jako metodę analizy powstałego produktu wykorzystać spektroskopię w podczerwieni. Porównując widma FT-IR **CLA-9** i **CLA-10** można zauważyć znaczne różnice w rejonach $3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ i $1800 - 1600 \text{ cm}^{-1}$. W strukturze substratu **CLA-9** obecne są trzy grupy karbonylowe oraz dwie grupy hydroksylowe. W widmie FT-IR (**Rysunek 148**, widmo niebieskie) widoczne są charakterystyczne pasma odpowiadające drganiom rozciągającym $\nu(\text{C}=\text{O})$ przy 1731 cm^{-1} i 1668 cm^{-1} oraz drganiom rozciągającym $\nu(\text{O}-\text{H})$ przy 3480 cm^{-1} . Natomiast w widmie **CLA-10** (**Rysunek 148**, widmo czerwone) zanika pasmo od drgań rozciągających $\nu(\text{O}-\text{H})$ i pojawia się nowe pasmo przy 1712 cm^{-1} , które należy przypisać do drgań rozciągających $\nu(\text{C}=\text{O})$ grupy karbonylowej nowoutworzonego ketonu w pozycji C(3).



Rysunek 148. Zestawienie widm FT-IR związków **CLA-9** (widmo niebieskie) i **CLA-10** (widmo czerwone) w zakresie $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ z ukazaniem dodatkowo rozszerzonym zakresem $2000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ (zielona ramka), z zaznaczonymi wartościami omawianych pasm.

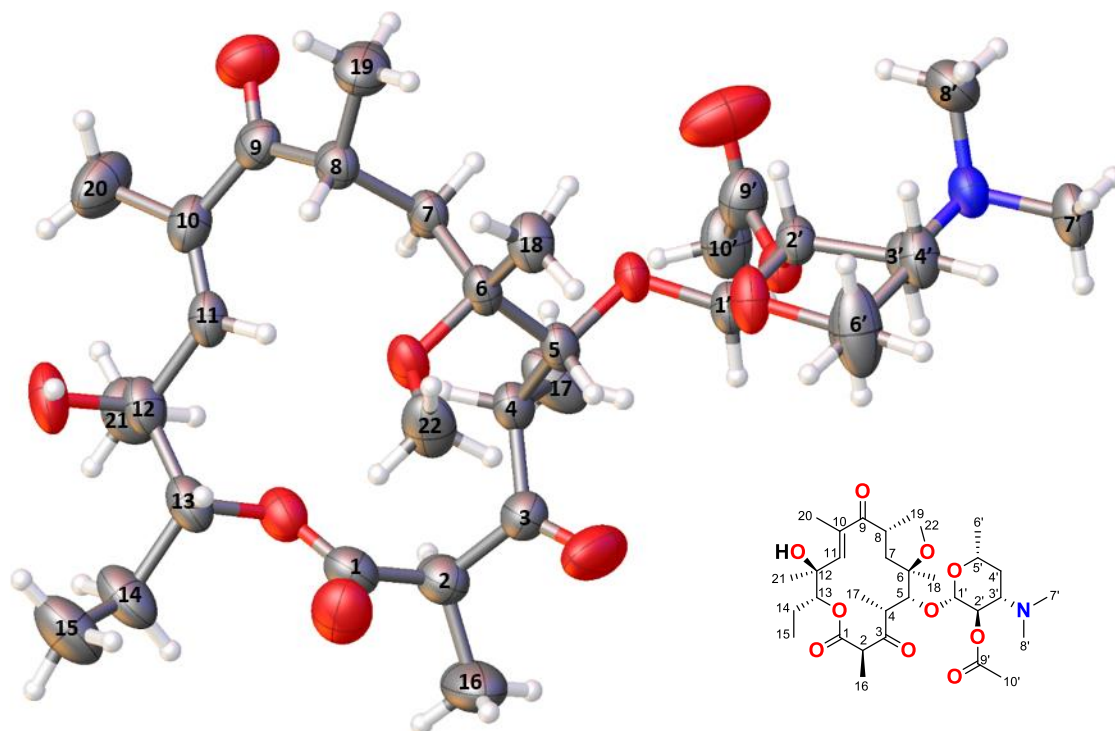
Wyciągnięte powyżej wnioski odnośnie pomyślnego przeprowadzenia reakcji utleniania **CLA-9** zostały potwierdzone analizą widm węglowego i protonowego

magnetycznego rezonansu jądrowego produktu **CLA-10** (Tabele 15 i 16). Najważniejszym dowodem otrzymania grupy karbonylowej C(3)=O jest pojawienie się w widmie węglowym (Rysunek 149) drugiego sygnału powyżej 200 ppm, o wartości przesunięcia chemicznego $\delta = 204,6$ ppm. Sygnał ten przypisałam zatem do atomu węgla C(3), i jest on silnie przesunięty (o ponad 120 ppm) w kierunku wysokich wartości ppm w odniesieniu do sygnału od analogicznego atomu węgla w widmie **CLA-9** ($\delta = 79,2$ ppm). Efekt „odstania” związany jest ze zmianą charakteru grupy funkcyjnej w pozycji C(3) z grupy alkoholowej na ketonową. Porównanie widm 1D NMR pochodnych zawierających w swojej strukturze w pozycji C(9) nienasycony keton ukazuje, że ten fragment aglikonu dla pochodnych **CLA-7** – **CLA-9** jest praktycznie identyczny. Co więcej, nawet zmiana hybrydyzacji z sp^3 na sp^2 w aglikonie [C(3)] nie wpływa na jego globalną konformację. Należało zatem założyć, że wzajemna orientacja ugrupowań: laktonowego i α,β -nienasyconego ketonu przyjmuje ustawienie *anti* względem płaszczyzny aglikonu, jak zostało to zaprezentowane na podstawie widm ^1H - ^1H NOESY dla pochodnej **CLA-7**.



Rysunek 149. Widmo ^{13}C NMR pochodnej **CLA-10** (zielone), w całym badanym zakresie, z zaznaczonym na czerwono nowym sygnałem pochodzącym od atomu węgla C(3) oraz zakreślonym na czerwono miejscem, gdzie sygnał ten występował w widmie substratu **CLA-9**.

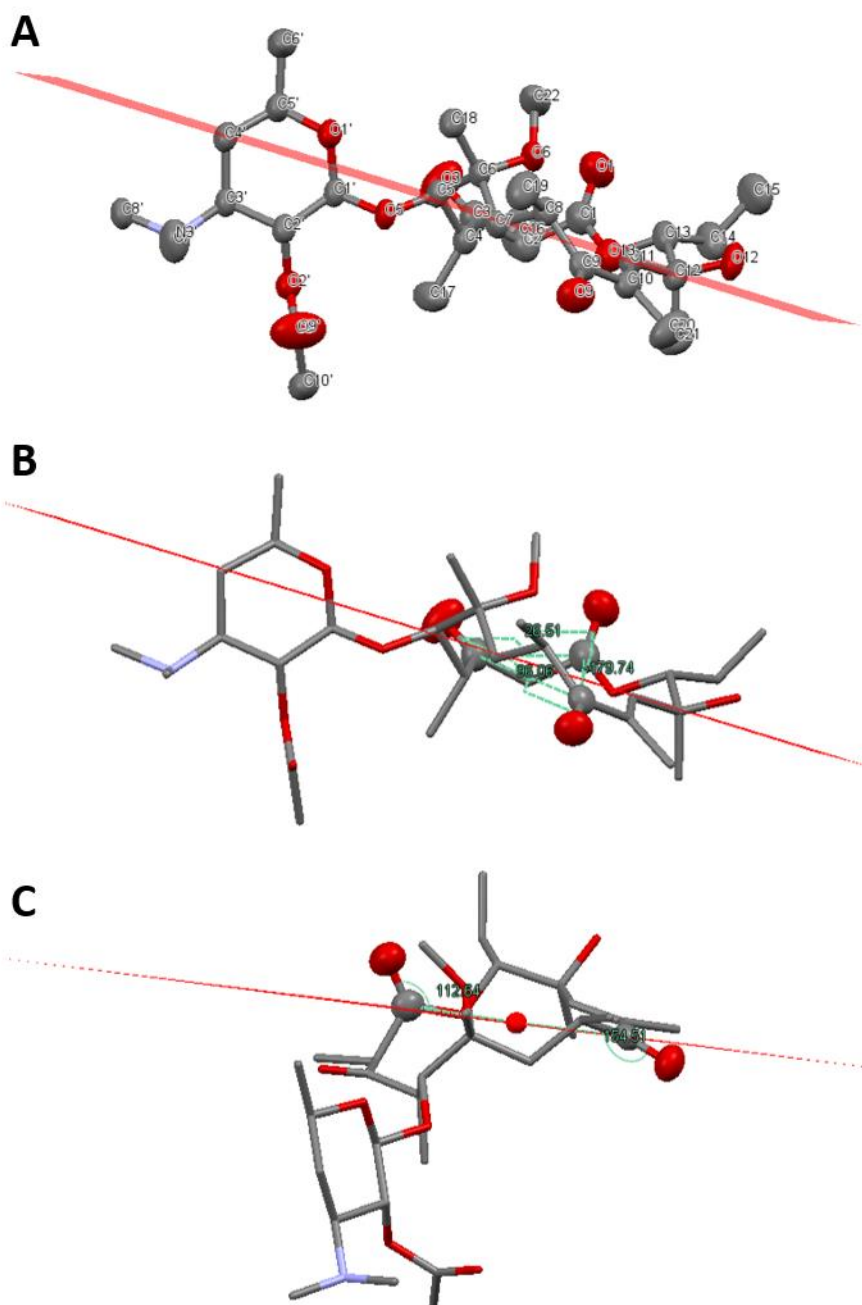
Celem potwierdzenia struktury **CLA-10**, przeprowadziłam próbę krystalizacji otrzymanej pochodnej z wykorzystaniem acetonitrylu jako rozpuszczalnika. Proces krystalizacji wykonałam wykorzystując klasyczną metodę, w której do 150 mg wstępnie oczyszczonego produktu dodawałam małymi porcjami acetonitryl, aż do całkowitego rozpuszczenia osadu we wrzącym rozpuszczalniku. Otrzymaną mieszaninę pozostawiłam następnie w temperaturze pokojowej do ostudzenia roztworu i wytrącenia kryształów. Po przesączeniu otrzymanego osadu krystalicznego uzyskałam 50 mg kryształów **CLA-10**. Na Rysunku 150 przedstawiona została struktura związku **CLA-10** w kryształach.²²⁸ W celu omówienia orientacji poszczególnych grup funkcyjnych w aglikonie, jak i podstawników



Rysunek 150. Struktura związku **CLA-10** w kryształach.²²⁸

przyłączonych do pierścienia laktonowego, niezbędne było wyznaczenie umownej płaszczyzny pierścienia aglikonowego. Płaszczyzna ta została ustalona na podstawie pozycji wszystkich atomów wchodzących w skład aglikonu, z pominięciem protonów i bez uwzględniania podstawników (**Rysunek 151 A**). Przecina ona pierścień laktonowy na pół w ten sposób, że atomy O(13), C(12), C(11), C(7) i C(5) tworzą jej powierzchnię. Warto podkreślić, że wcześniejsze wnioski odnośnie struktury **CLA-10** w roztworze były w zgodzie ze strukturą określoną w kryształach. Ugrupowanie α,β -nienasyconego ketonu przyjmuje konformację *s-trans*, a wiązanie podwójne ma konfigurację *E*. Dzięki otrzymaniu kryształu pochodnej **CLA-10** i poznania jej struktury w kryształach, możliwe było dokładne ustalenie wzajemnych pozycji grup karbonylowych obecnych w tym związku. Karbonylowe ugrupowanie ketonowe C(3)=O przecinane jest przez płaszczyznę aglikonu w ten sposób, że atom tlenu znajduje się, w zaprezentowanej projekcji, ponad płaszczyznę pierścienia laktonowego, podobnie jak karbonylowa grupa laktonu. Z kolei atom węgla C(3) zlokalizowany jest poniżej umownej płaszczyzny aglikonu wraz z grupą ketonową C(9)=O. Wynik ten jest zgodny z wcześniejszymi obserwacjami ukazującymi, że ugrupowania C(1)=O i C(3)=O przyjmują ustawienie *anti* i znajdują się po przeciwnych stronach pierścienia aglikonowego. Dokładana analiza wykazała, że kąty torsyjne ugrupowań

karbonylowych względem siebie wynoszą odpowiednio: $179,74^\circ$ dla $C(1)=O$ i $C(9)=O$ z kątem rozwarcia równym $138,13^\circ$; $96,06^\circ$ dla $C(3)=O$ i $C(9)=O$ i ich wzajemne ustawienie jest niemal prostopadłe; $26,51^\circ$ dla $C(1)=O$ i $C(3)=O$, a więc są one mniej więcej zorientowane w tym samym kierunku (**Rysunek 151 B i C**). Warto podkreślić, że powyżej płaszczyzny aglikonu znajdują się: atom węgla $C(6)$ wraz z grupą metylową i metoksyłową,



Rysunek 151. Zestawienie trzech projekcji wyznaczonej struktury krystalograficznej pochodnej **CLA-10**: **A** – z wrysowaną umowną płaszczyzną; **B** – z wrysowaną płaszczyzną, ukazująca wartości kątów torsyjnych ugrupowań karbonylowych; **C** - z wrysowaną płaszczyzną, ukazująca wartości kątów odchylenia ugrupowań karbonylowych.²²⁸

C(8) wraz z grupą metylową, grupa hydroksylowa O(12)H i atom węgla C(13) wraz z grupą etylową. Natomiast poniżej płaszczyzny pierścienia laktonowego znajdują się: atom węgla C(2) wraz z grupą metylową, atom węgla C(4) wraz z grupą metylową, glikozydowy atom tlenu O(5), atom węgla C(10) wraz z grupą metylową i grupa metylowa C(21)H₃. Z kolei podstawnik sacharydowy – dezozamina – ustawiony jest prostopadle do płaszczyzny aglikonu w ten sposób, że na powierzchni płaszczyzn umiejscowiony jest atom węgla C(4'), powyżej powierzchni atomy O(1') i C(5'), a poniżej atomy C(1')-C(3').

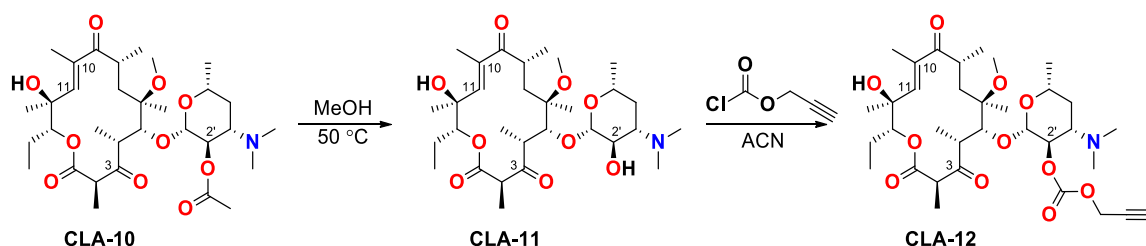
4.3 Synteza związków hybrydowych z udziałem pochodnej klarytromycyny

Będąc w posiadaniu gotowej platformy do rozbudowy – pochodnej **CLA-10**, postanowiłam otrzymać hybrydy zbudowane ze szkieletu makrolidowego oraz analogu alkaloidu - kolchiceiny. Tak, jak w przypadku hybrydowej pochodnej azytromycyny opisanej w [Rozdziale 1.4](#), do tego celu zdecydowałam się wykorzystać dobrze już znaną reakcję dipolarnej cykloadycji Huisgena. Również w tym przypadku użyłam zmodyfikowanej pochodnej **COL** posiadającej funkcję azydkową (**COL-2**), natomiast terminalną grupę alkinową postanowiłam dołączyć do podstawnika sacharydowego α,β -nienasyconego i utlenionego w pozycji C(3) szkieletu makrolidowego.

4.3.1 Synteza pochodnej klarytromycyny z funkcją alkinową

Planując syntezę produktu z przyłączoną grupą alkinową, który miał być dalej wykorzystany do reakcji Huisgena ze związkiem **COL-2**, postanowiłam przygotować go na wzór pochodnej azytromycyny, użytej do otrzymania omówionego już wcześniej związku hybrydowego ([Rozdział 1.4.2](#)).

W celu odtworzenia procedury syntetycznej prowadzącej do otrzymania **AZM-1** należało odblokować grupę hydroksylową znajdującą się w pozycji C(2') w **CLA-10**, a następnie przeprowadzić, opisaną wcześniej w [Rozdziale 1.2](#), reakcję acylacji tej grupy hydroksylowej z użyciem chloromrówczanu propargilu ([Schemat 28](#)).

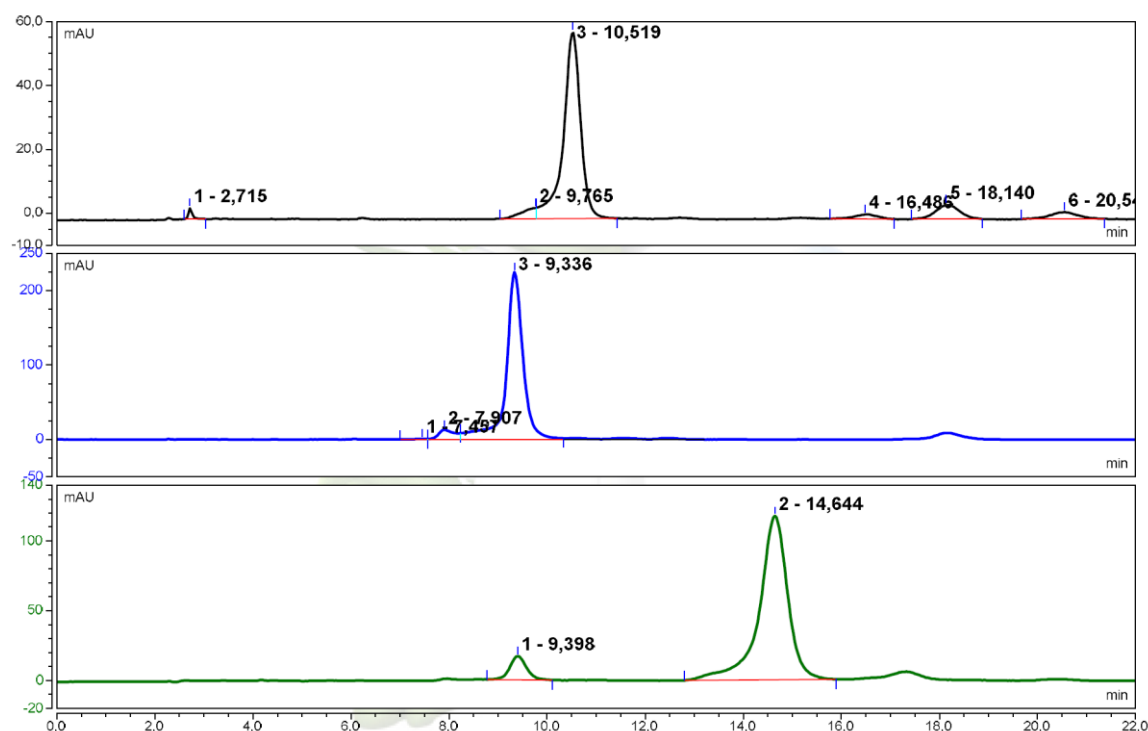


Schemat 28. Schemat przedstawiający syntezę produktu **CLA-12** - α,β -nienasyconej, utlenionej w pozycji C(3) klarytromycyny z funkcją alkinową w pozycji O(2')H.

W wyniku reakcji transestryfikacji z wykorzystaniem metanolu, odblokowałam grupę hydroksylową O(2')H. Reakcję tę prowadziłam przez 24 godziny w temperaturze 50 °C, a jej postęp badałam wykorzystując do tego celu metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Na [Rysunku 152](#) przedstawiłam zestawienie

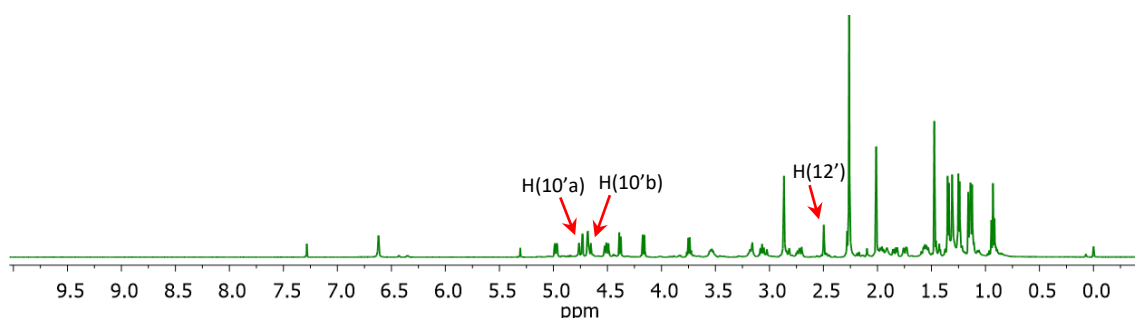
chromatogramu wykonanego przed reakcją (chromatogram czarny) oraz po reakcji transestryfikacji (chromatogram niebieski). Pik o czasie retencji $t_R = 10,52$ min. pochodził od substratu **CLA-10**, a widoczny po 24 godzinach pik o $t_R = 9,34$ min. odpowiadał nowemu produktowi - **CLA-11**.

Z powodu całkowitej konwersji substratu w produkt, przystąpiłam do kolejnego etapu, mianowicie reakcji wprowadzenia funkcji alkinowej w pozycji C(2'). W tym celu przeprowadziłam reakcję substytucji nukleofilowej, pomiędzy grupą hydroksylową dezozaminy, a chloromrówczanem propargilu. Po 10 minutach od rozpoczęcia reakcji, na otrzymanym chromatogramie zaobserwowałam pojawienie się nowego pik o czasie retencji $t_R = 14,64$ min. (Rysunek 152, chromatogram zielony), który przyrastał kosztem pik o $t_R = 9,34$ min, pochodzącego od substratu (**CLA-11**). W momencie, w którym na chromatogramie obserwowałam jedynie nowy pik, reakcję zakończyłam i oczyściłam, a następnie przeprowadziłam analizę spektroskopową powstałego produktu **CLA-12**.

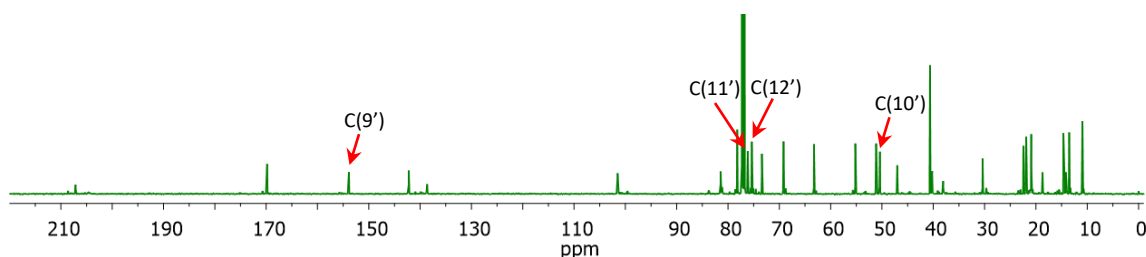


Rysunek 152. Zestawienie chromatogramów wykonanych dla substratu **CLA-10** (czarny), pośredniego produktu **CLA-11** (niebieski) oraz końcowego produktu **CLA-12** (zielony).

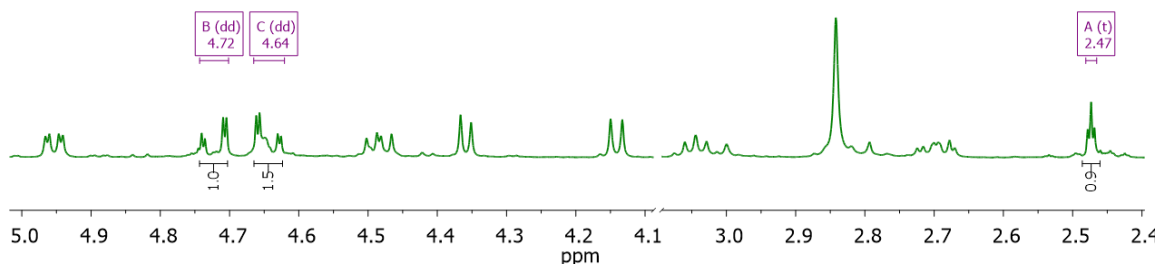
W celu potwierdzenia struktury otrzymanego produktu, podstawionego mrówczanem propargilu, przeprowadziłam analizę widm jednowymiarowych magnetycznego rezonansu jądrowego. Badając przesunięcia chemiczne w widmie ^1H NMR (Rysunek 153) i ^{13}C NMR (Rysunek 154) związku **CLA-12**, zaobserwowałam pojawienie się charakterystycznych sygnałów, które pochodziły od wprowadzonej grupy karbonylowej oraz wiązania potrójnego. W celu dokładnego potwierdzenia struktury tej nowej pochodnej **CLA-12** konieczne było przypisanie poszczególnych sygnałów obecnych w widmach ^1H NMR i ^{13}C NMR do konkretnych atomów węgla i protonów. Wyniki te przedstawiłam w Tabelach 15 i 16.



Rysunek 153. Widmo ^1H NMR produktu **CLA-12** w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



Rysunek 154. Widmo ^{13}C NMR produktu **CLA-12** w całym badanym zakresie z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



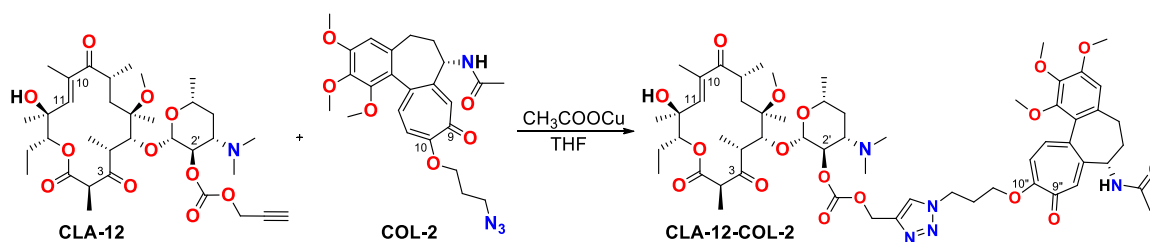
Rysunek 155. Fragment widma ^1H NMR produktu **CLA-12**, rozszerzony w zakresie ukazującym multipletowość sygnałów H(10') i H(12').

Analizując widmo protonowe ([Rysunek 153](#)) i węglowe ([Rysunek 154](#)), zauważyłam pojawienie się charakterystycznych sygnałów, typowych dla karbonylowego atomu węgla grupy węglanowej i propargilowych atomów węgla. Sygnał przy częstotliwości rezonansowej wynoszącej $\delta = 154,0$ ppm przypisałam do atomu węgla C(9'). Sygnał przy $\delta = 55,3$ ppm odpowiada atomowi węgla grupy metylenowej, zatem przypisany został do atomu węgla C(10'). Pozostałe dwa nowe sygnały widoczne w widmie ^{13}C NMR przy $\delta = 77,2$ ppm i $\delta = 76,3$ ppm są charakterystyczne dla sygnałów pochodzących od atomów węgla przy wiązaniu potrójnym i przypisałam je kolejno do atomów C(11') i C(12'). W widmie ^1H NMR widoczne są natomiast trzy nowe sygnały: dwa dublety dubletów o stałych sprzężenia $^2J = 15,5$ Hz i $^4J = 2,4$ Hz, przy przesunięciach chemicznych wynoszących $\delta = 4,72$ ppm i $\delta = 4,64$ ppm oraz tryplet przy $\delta = 2,47$ ppm i stałej sprzężenia $^4J = 2,4$ Hz ([Rysunek 155](#)). Pierwszy dublet dubletów integrował się na 1H, drugi na 1,5H, ze względu na nakładanie się sygnałów, a tryplet z kolei na 0,9H. Zarówno wartość przesunięcia chemicznego tego trypletu, jak i jego integracji, były typowe dla protonów grupy metylidynowej. Zatem sygnał ten przypisałam go do protonu H(12'). Z kolei korelujące z nim dwa dublety dubletów przypisałam do protonów grupy metylenowej H(10').

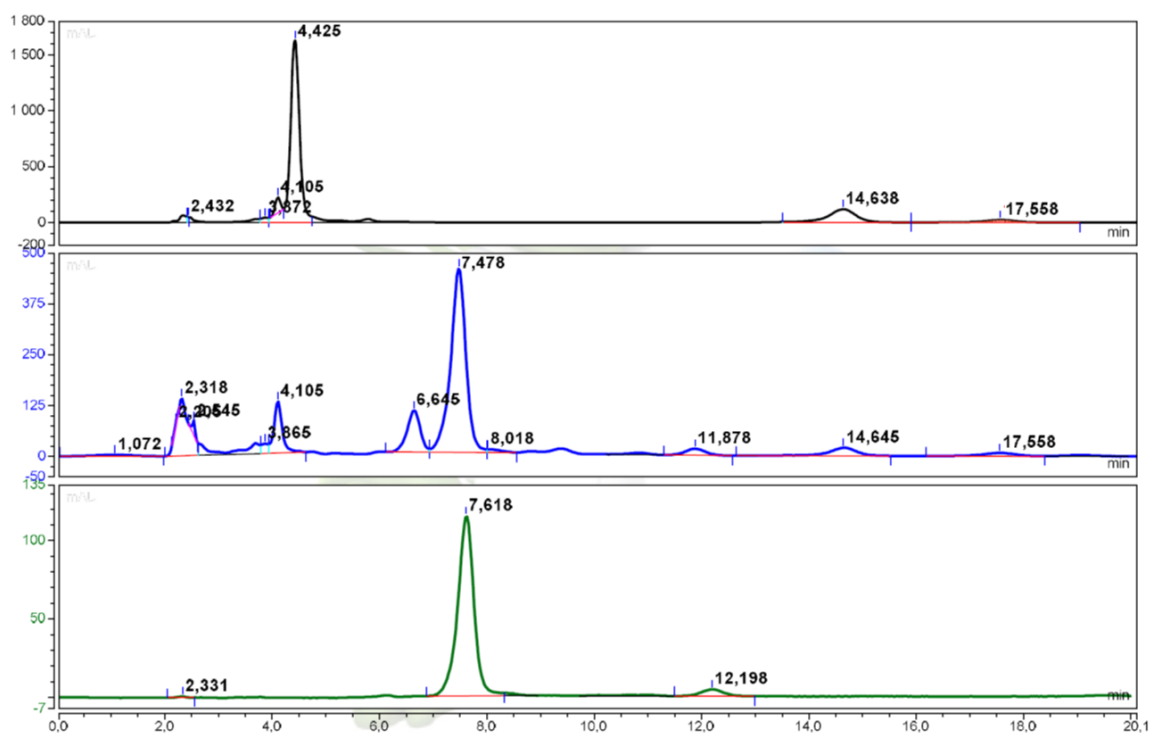
Powyższa analiza widm jednowymiarowych umożliwiła potwierdzenie oczekiwanej struktury produktu. Na drodze reakcji nukleofilowej substytucji do grupy karbonylowej, pomiędzy grupą hydroksylową O(2')H substratu **CLA-11**, a chloromrówczanem propargilu, otrzymany został produkt **CLA-12** posiadający terminalne wiązanie potrójne.

4.3.2 Reakcja Huisgena pomiędzy COL-2 a CLA-12

Dysponując odpowiednio przygotowanymi substratami, przeprowadziłam reakcję 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena, katalizowanej jonami miedzi(I), której produktem był nowy, hybrydowy związek triazolowy pełniący funkcję łącznika pochodnej klarytromycyny z analogiem kolchiceiny ([Schemat 29](#)). Podobnie jak, w przypadku połączeń hybrydowych z azytromycyną, synteza tych hybryd wymagała zastosowania łagodniejszych warunków. Reakcja prowadzona była w temperaturze pokojowej, bez użycia metanolu jako rozpuszczalnika, gdyż jego zastosowanie prowadziło do reakcji alkoholizy i utraty przyłączonego ugrupowania węglanowego w pozycji C(2').



Schemat 29. Schemat syntezy produktu hybrydowego **CLA-12-COL-2** w wyniku reakcji cykloaddycji Huisgena pomiędzy substratem **CLA-12** z funkcją alkinową, a azydkiem **COL-2**.



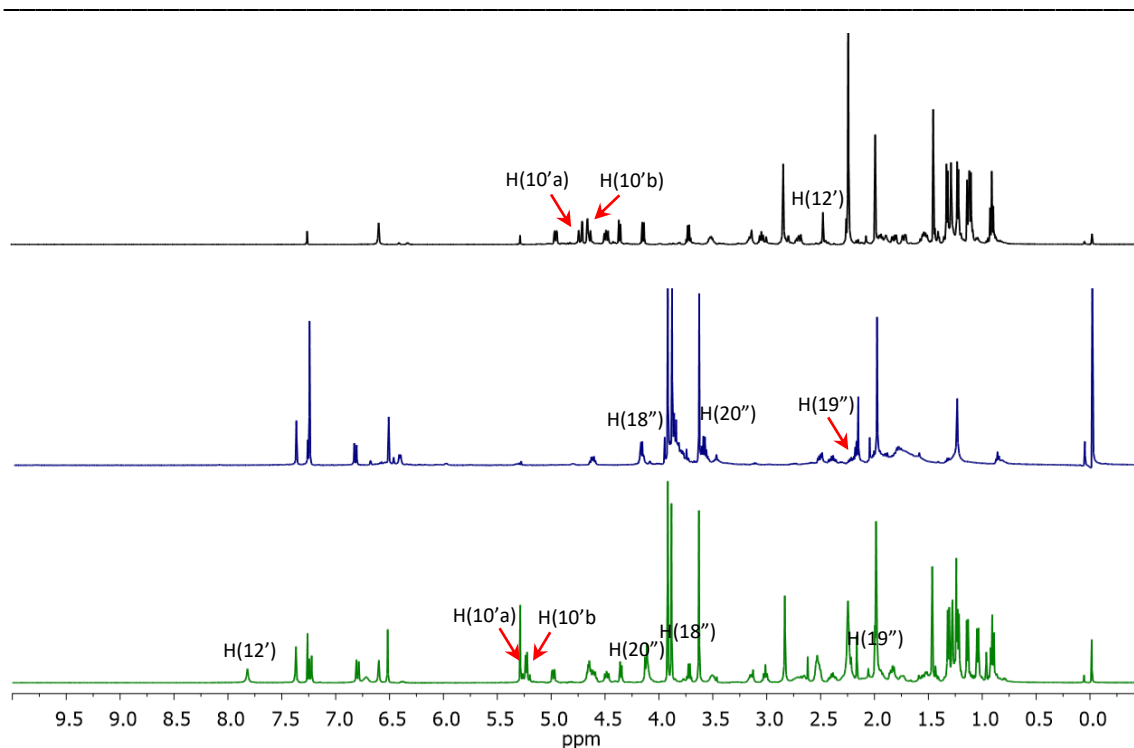
Rysunek 156. Zestawienie chromatogramów wykonanych w czasie trwania reakcji cykloaddycji Huisgena: przed dodaniem katalizatorów (czarny chromatogram), ukazujące zmieszane ze sobą substraty – **CLA-12** i **COL-2** (niebieski chromatogram) oraz powstały w wyniku syntezy produkt **CLA-12-COL-2** (zielony chromatogram).

Na **Rysunku 156** przedstawiłam chromatogramy zarejestrowane przed rozpoczęciem reakcji (chromatogram czarny), w trakcie przeprowadzania syntezy, ukazujący przekształcanie substratu (**CLA-12**) w produkt **CLA-12-COL-2** (chromatogram niebieski) oraz po jej zakończeniu (chromatogram zielony). Na chromatogramie mieszaniny reakcyjnej przed dodatkiem katalizatorów widoczny jest pik odpowiadający substratowi **COL-2** o czasie retencji $t_R = 4,42$ min. oraz pik przy $t_R = 14,63$ min, który pochodzi od drugiego substratu – **CLA-12**. Po 4 godzinach zauważyłam znaczny zanik

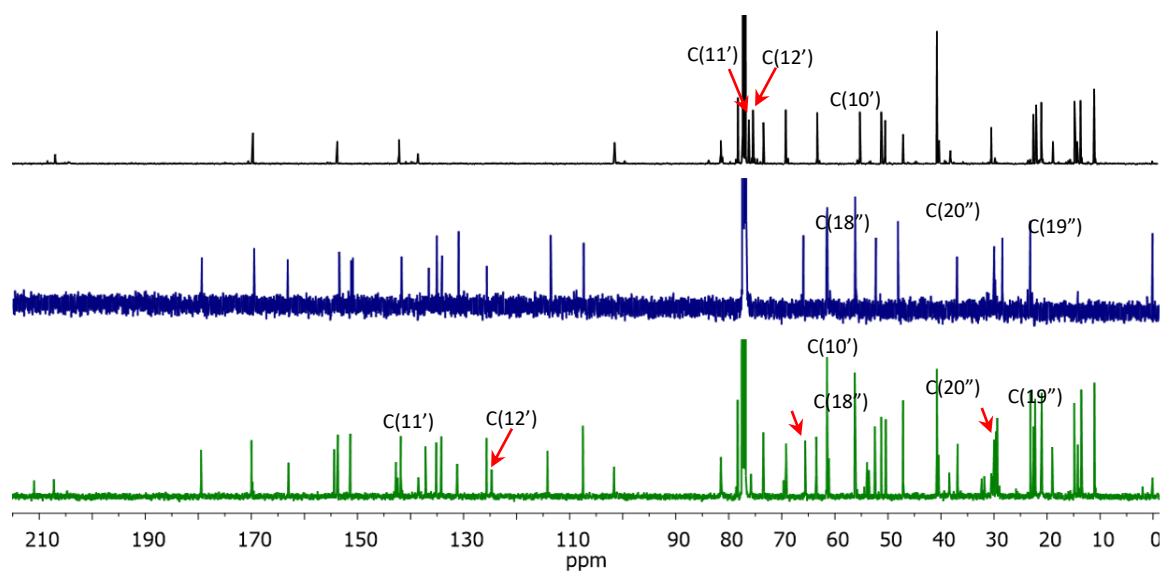
intensywności tego piksu na rzecz nowego, o czasie retencji $t_R = 7,49$ min. Ten nowy pik widoczny był również na chromatogramie zarejestrowanym z detekcją przy $\lambda = 347$ nm, która jest charakterystyczna dla układów tropolonowych, zatem założyłam, że jest to pik pochodzący od oczekiwanego produktu hybrydowego. W momencie, w którym na chromatogramie nie obserwowałam już piksu pochodzącego od substratu, zakończyłam reakcję, a następnie oczyściłam mieszaninę reakcyjną i podjęłam próbę weryfikacji struktury nowo otrzymanego produktu hybrydowego.

Poniżej przeprowadziłam analizę spektroskopową fragmentu produktu **CLA-12-COL-2**, natomiast dokładne przesunięcia chemiczne ^1H NMR i ^{13}C NMR ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, zostały przedstawione w Tabelach 17 i 18.

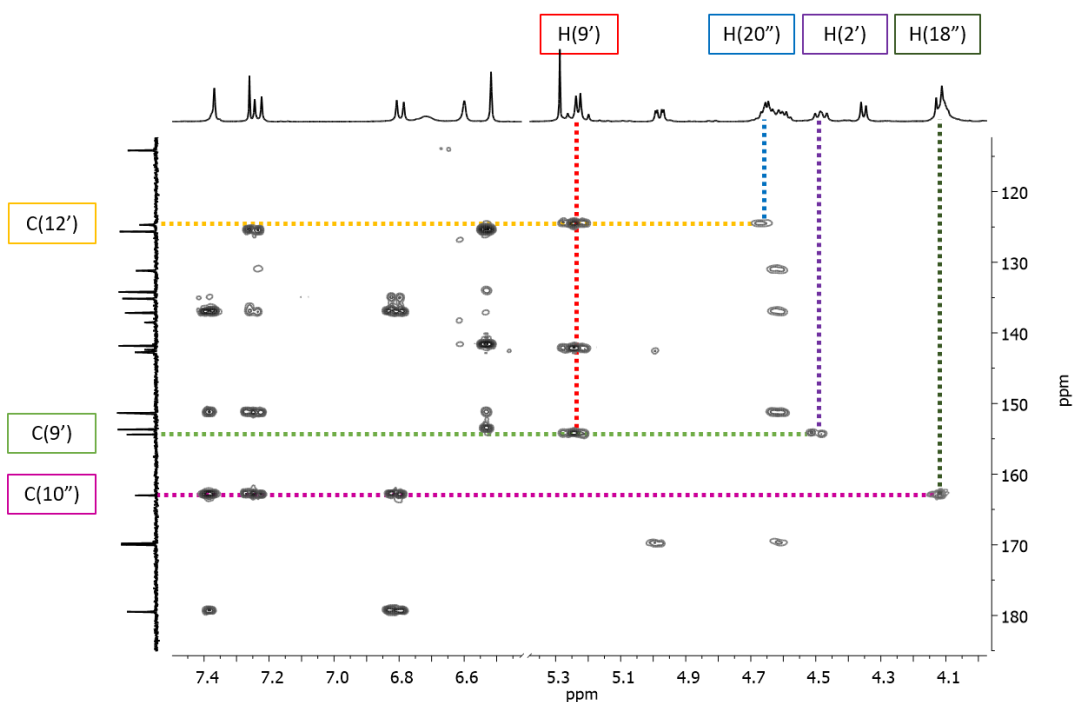
Początkowa analiza widm ^1H NMR (Rysunek 157) i ^{13}C NMR (Rysunek 158) umożliwiła stwierdzenie, że reakcja Huisgena zaszła zgodnie z oczekiwaniami. Porównując widma substratów **CLA-12** i **COL-2** z widmem produktu **CLA-12-COL-2** (Rysunek 157 i 158) zauważyłam, że w wyniku połączenia poprzez pierścień triazolowy dwóch substratów, zarówno struktura pierścienia makrocyklicznego, jak i szkieletu kolchiceiny, nie uległa znacznym zmianom. Zmiany w nowym produkcie, które natomiast można zauważyć, to różnice w przesunięciach chemicznych: sygnałów tworzących pierścień triazolowy (przed reakcją alkin) oraz sygnałów od mostka łączącego ugrupowanie triazolowe z częścią sacharydowo-aglikonową i tropolonową. Charakterystyczny sygnał przy przesunięciu chemicznym $\delta = 154,4$ ppm, przypisany do karbonylowego atomu węgla typowego dla węglanów – C(9'), koreluje w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 159) z sygnałem przypisanym do protonu H(2'), oraz dwoma dubletami przy przesunięciu chemicznym $\delta = 5,25$ ppm i $\delta = 5,21$ ppm integrowanymi na 1H, wykazującymi „efekt dachowy”, o stałych sprzężenia wynoszących 12,6 Hz. Oba te protony, w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 160), korelują z tym samym sygnałem węglowym, widocznym przy wartości przesunięcia $\delta = 61,1$ ppm, zatem został on przypisany do atomu węgla C(10'). Z kolei korelujące z nim protony, sprzęgające się ze sobą geminalnie, ze stałą sprzężenia $^2J = 12,6$ Hz, ale niekorelujące z żadnym innym sygnałem w widmie ^1H - ^1H COSY, przypisano odpowiednio do protonów H(10'a) i H(10'b).



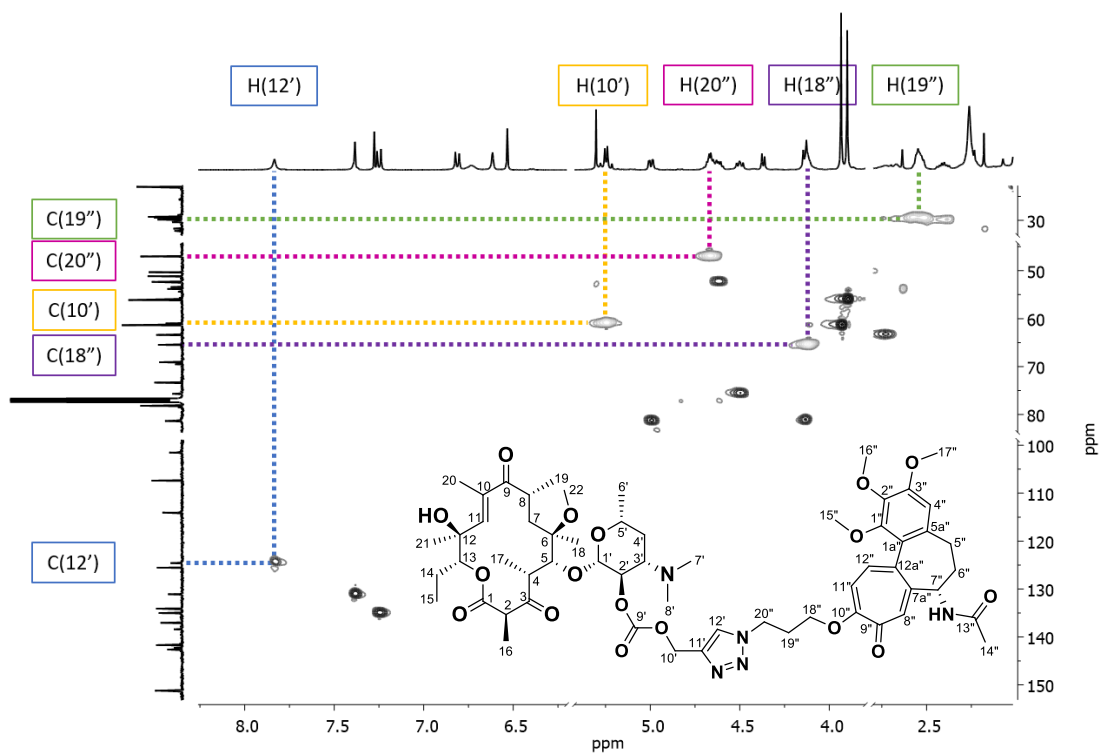
Rysunek 157. Zestawienie widm ^1H NMR substratów: **CLA-12** (czarne) i **COL-2** (niebieskie) wraz z widmem produktu **CLA-12-COL-2** (zielone) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



Rysunek 158. Zestawienie widm ^{13}C NMR substratów: **CLA-12** (czarne) i **COL-2** (niebieskie) wraz z widmem produktu **CLA-12-COL-2** (zielone) w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

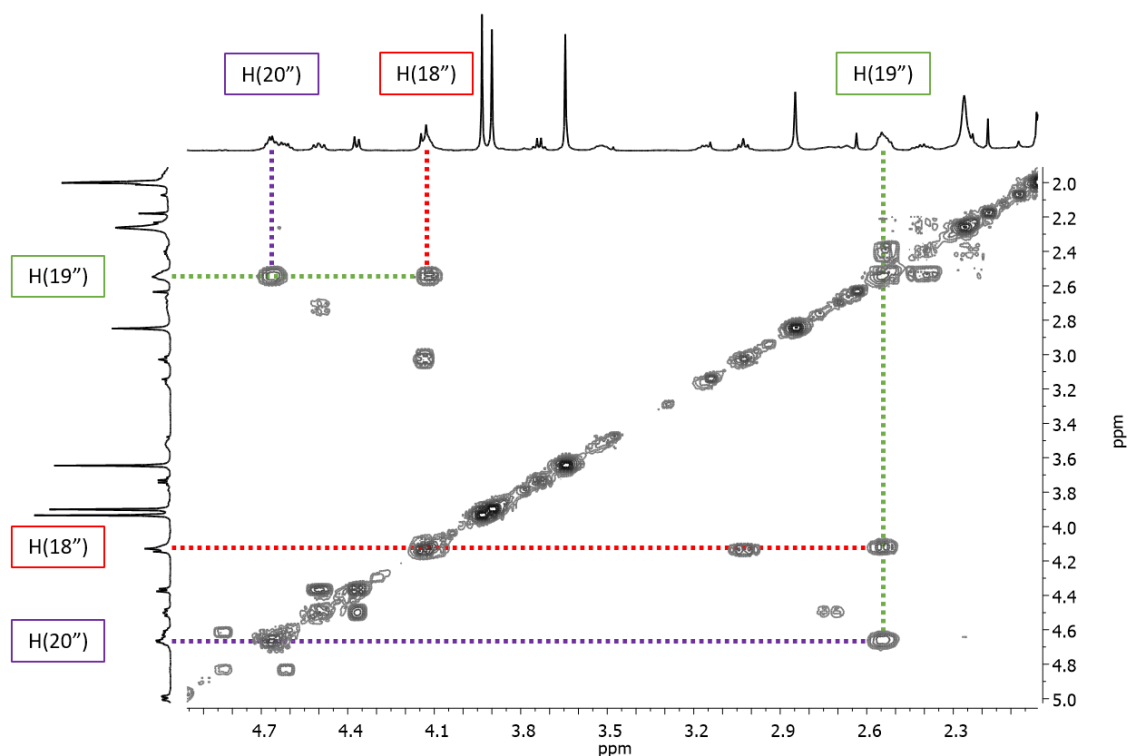


Rysunek 159. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-12-COL-2** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego.



Rysunek 160. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-12-COL-2** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego łączącego szkielety dwóch substratów.

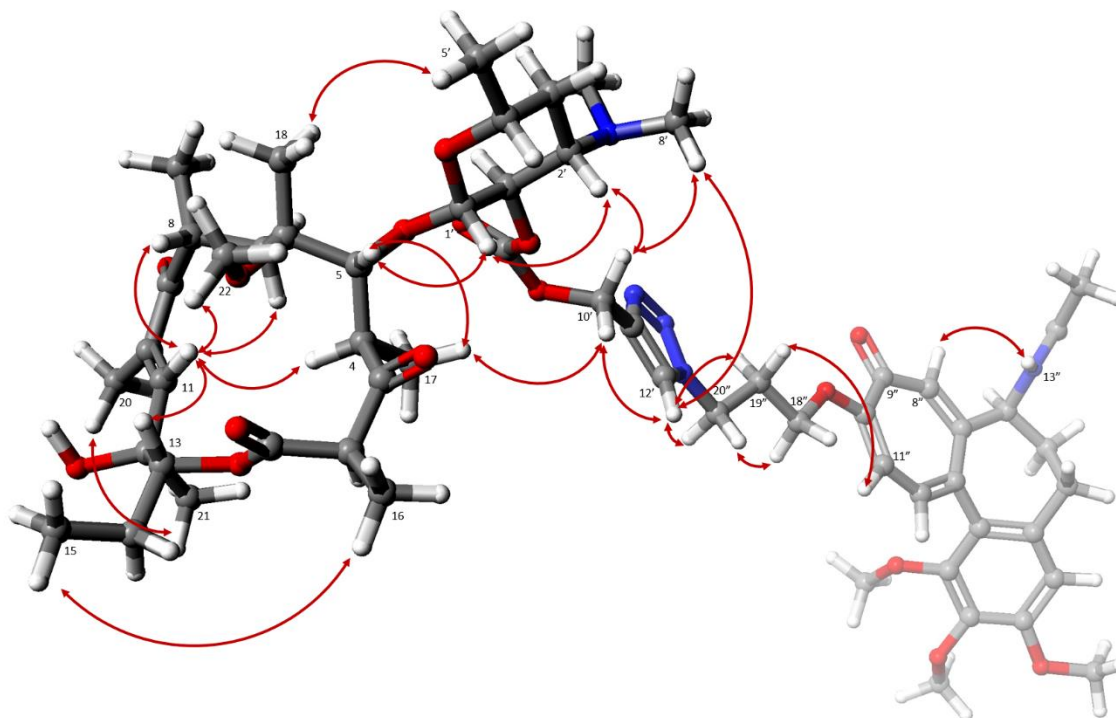
Sygnaly pochodzące od tych protonów korelują w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 159) z dwoma kolejnymi sygnałami węglowymi o przesunięciach chemicznych wynoszących $\delta = 142,4$ ppm i $\delta = 124,7$ ppm. Podczas gdy pierwszy z nich w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 160) nie koreluje z żadnym protonem i odpowiada czwartorzędowemu atomowi węgla, drugi koreluje z singletem, o częstotliwości rezonansowej $\delta = 7,82$ ppm. Na tej podstawie, sygnał przy częstotliwości $\delta = 142,4$ ppm przypisałam do atomu węgla C(11'), a sygnał przy $\delta = 124,7$ ppm i odpowiadający mu sygnał protonowy przy $\delta = 7,82$ ppm – odpowiednio do atomu węgla C(12') i protonu H(12'). Sygnaly węglowe C(11') i C(12') oraz proton H(12') posiadają charakterystyczne dla fragmentu triazolowego wartości przesunięć chemicznych i należy traktować je jako swoiste potwierdzenie utworzenia łącznika z pierścieniem triazolowym. W widmie dalekiego zasięgu ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 159) sygnał przypisany do atomu węgla C(12') koreluje z multipletem przy wartości $\delta = 4,65$ ppm, o integracji 2H. Ten z kolei, w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 161) koreluje z multipletem, również integrowanym na 2H, o wartości $\delta = 2,52$ ppm, który dodatkowo koreluje jeszcze z multipletem przy $\delta = 4,10$ ppm, również pochodzącym od dwóch



Rysunek 161. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-12-COL-2** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie utworzonego łącznika triazolowego.

protonów. Wymienione sygnały protonowe, w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 160), korelują odpowiednio z sygnałami przy przesunięciach chemicznych $\delta = 47,2$ ppm, $\delta = 29,4$ ppm oraz $\delta = 65,6$ ppm. Sygnały te przypisałam więc parami: sygnał przy $\delta = 4,65$ ppm i $\delta = 47,2$ ppm odpowiednio do protonu H(20'') i atomu węgla C(20''), sygnał przy $\delta = 2,52$ ppm i $\delta = 29,4$ ppm – do protonu H(19'') i atomu węgla C(19''), a sygnał przy $\delta = 4,10$ ppm wraz z korelującym z nim sygnałem przy $\delta = 65,6$ ppm – do H(18'') i C(18''). Ten ostatni, w widmie ^1H - ^1H COSY, nie koreluje już z żadnym innym sygnałem, więc konieczne było sprawdzenie sprzężenia proton-węgiel dalekiego zasięgu, by upewnić się, że łącznik ten jest przyłączony do atomu węgla C(10''). Korelacja ta, w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 159), była widoczna. Sygnał protonowy H(18'') najsilniej koreluje z sygnałem węglowym przy $\delta = 163,0$ ppm, który odpowiada atomowi węgla C(10'') pierścienia tropolonowego. Powyższa analiza stanowi bezpośrednie potwierdzenie, że szkielet klarytromycyny został połączony ze szkieletem kolchiceiny za pomocą łącznika triazolowego i posiada on oczekiwaną strukturę.

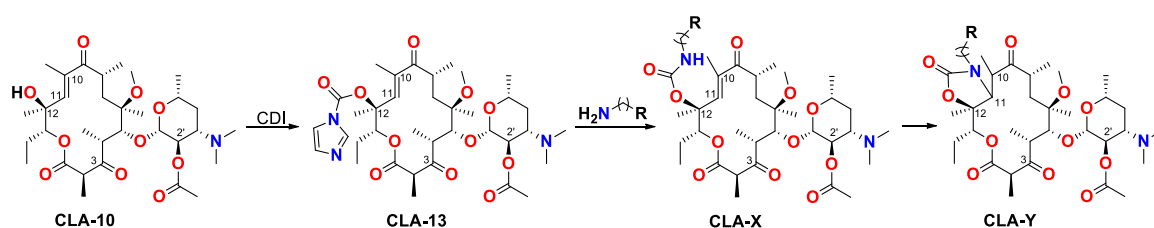
W celu określenia orientacji przyłączonego szkieletu kolchiceiny względem aglikonu modyfikowanej klarytromycyny, przeprowadziłam analizę sprzężeń spinowo-spinowych protonów przez przestrzeń, na podstawie obserwacji kontaktów w widmach ^1H - ^1H NOESY. Kontakty proton-proton zostały zaznaczone czerwonymi strzałkami na obliczonej metodą DFT B88 LYP strukturze (Rysunek 162).²²⁷ Analiza kontaktów protonowych w obrębie aglikonu umożliwiła stwierdzenie, że pierścień makrolidowy produktu **CLA-12-COL-2** przyjmuje konformację charakterystyczną dla tego typu układów, bardzo zbliżoną dla konformacji **CLA-7**. Fragment cząsteczki zawierający wiązanie podwójne pozostał niezmienny, a więc związek ten posiadał konformację (*E*)-*s-trans*. Wyprowadzony łącznik triazolowy, pomimo tego, że uzyskał nieco inną orientację względem dezozaminy w porównaniu do wcześniej otrzymanej pochodnej **AZM-1-COL-2** (hybrydy z azytromycyną), znajdował się w stosunkowo bliskim kontakcie z grupą *N,N*-dimetylową obecną w części cukrowej. Łącznik ten kieruje przyłączoną cząsteczkę kolchiceiny w poprzek, a nie wzdłuż, jak w przypadku produktu **AZM-1-COL-2**, względem cząsteczki modyfikowanej klarytromycyny. W widmie ^1H - ^1H NOESY produktu **CLA-12-COL-2** nie zaobserwowałam żadnych kontaktów pomiędzy szkieletami obu antybiotyków, są one od siebie maksymalnie odsunięte.



Rysunek 162. Struktura produktu **CLA-12-COL-2** – hybrydy pochodnej azytromycyny i kolchiceiny, z zaznaczonymi kluczowymi kontaktami proton-proton ^1H - ^1H NOESY; metoda B88 LYP (GGA) DFT (pakiet Scigress)^{126,227}.

4.4 Synteza nowej platformy gotowej do dalszych modyfikacji

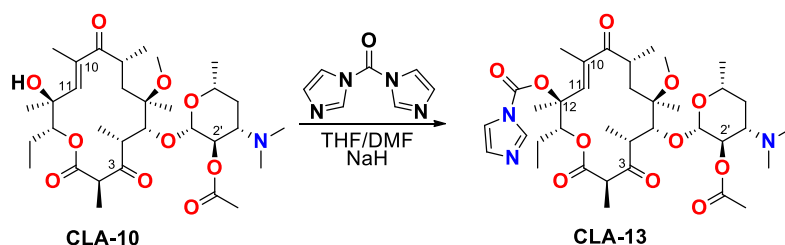
Analizując wiele doniesień naukowych zauważyłam, że najbardziej aktywnymi związkami spośród 14-członowych laktonowych makrolidów są te, posiadające układ bicykliczny składający się z 3-oksoaglikonu spiętego karbaminianem w pozycjach C(11)-C(12) (**CLA-Y**, Schemat 30). Pięcic członowy cykliczny karbaminian otrzymywany jest z pochodnej zawierającej w swojej strukturze α,β -nienasycony keton (**CLA-10**) poprzez przyłączenie w pierwszym etapie do grupy O(12)H karbimidazolu (**CLA-13**). Następnie, w wyniku reakcji nukleofilowego podstawienia imidazolu I-rzędową aminą powstaje karbaminian (**CLA-X**), który na drodze reakcji addycji 1,4 typu Michaela z nienasyconym ketonem ulega domknięciu, w wyniku którego powstaje produkt bicykliczny (**CLA-Y**). Wprowadzanie sztywnego podstawnika na labilnym łączniku przyłączonym do atomu N(11) karbaminianu kompensuje utratę aktywności związaną z usunięciem kladynozy, gdyż podstawnik ten bierze udział w nowych oddziaływaniach z nukleotydami tunelu rybosomalnego znajdującymi się po przeciwnej stronie.⁹⁴ Te nowe oddziaływania dodatkowo stabilizują tego typu modyfikowane antybiotyki makrolidowe w miejscu ich wiązania ze szkieletem rybosomalnym i dzięki temu wpływają na wzrost aktywności przeciwbakteryjnej. Takie podejście, prowadzi do otrzymania produktów o aktywności biologicznej porównywalnej z aktywnością wyjściowych makrolidów. Postanowiłam zatem częściowo podjąć tę ścieżkę syntetyczną, z jednoczesną próbą odejścia od schematycznych modyfikacji i wytworzeniem oryginalnego produktu, który mógłby stanowić alternatywną platformę do dalszej rozbudowy. W tym celu konieczne było przygotowanie substratu **CLA-13** umożliwiającego tego typu modyfikacje aglikonu.



Schemat 30. Schemat otrzymywania nowych, bicyklicznych pochodnych klarytromycyny (**CLA-Y**), posiadających w pozycji N(11) podstawnik na labilnym łączniku.

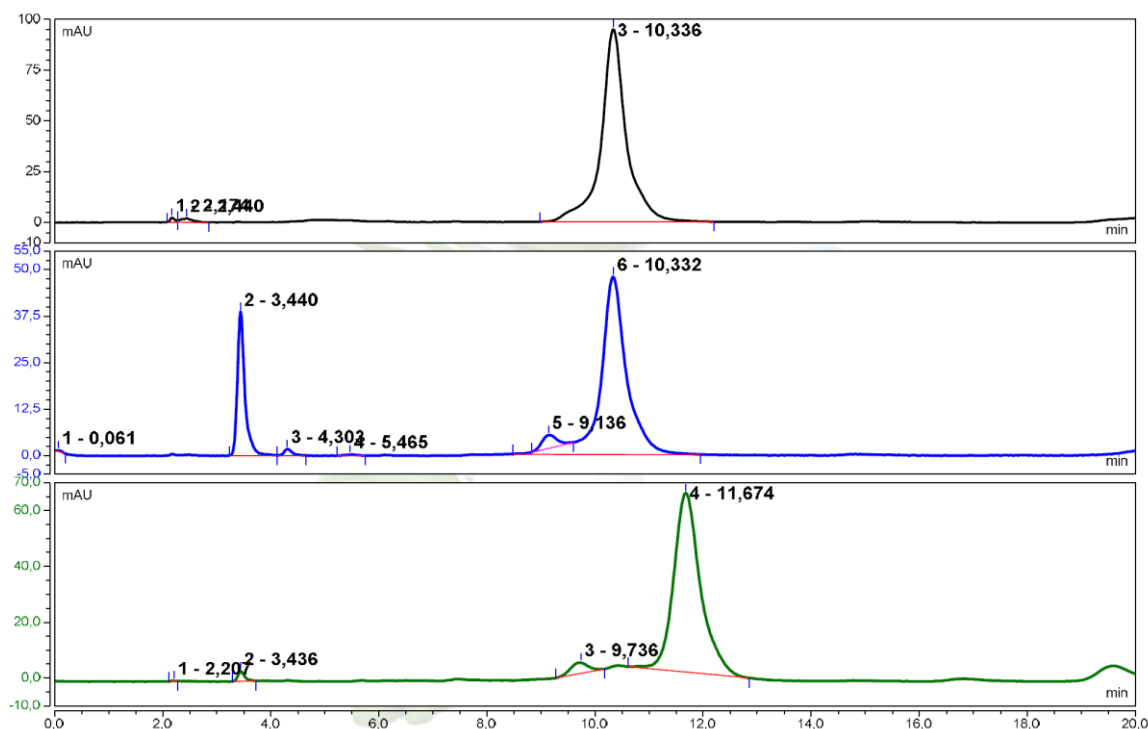
4.4.1 Przygotowanie pochodnej klarytromycyny z przyłączonym podstawnikiem karboimidazolowym

W celu wprowadzenia podstawnika karboimidazolowego do cząsteczki zmodyfikowanej klarytromycyny przeprowadziłam reakcję substytucji nukleofilowej (Schemat 31), którą prowadziłam w bezwodnych warunkach, w mieszaninie rozpuszczalników: THF i DMF w stosunku objętościowym 3:1. Jako substrat w tej reakcji wykorzystałam wcześniej przygotowany, na drodze czteroetapowej syntezy, produkt **CLA-10**. Wolna para elektronowa, aktywowanej za pomocą NaH grupy hydroksylowej O(12)H, wykonała nukleofilowy atak na karbonylowy atom węgla 1,1'-karbonylodiimidazolu (CDI) z jednoczesnym przyłączeniem karbimidazolu i odejściem jednej cząsteczki imidazolu, jako grupy łatwo odchodzącej.



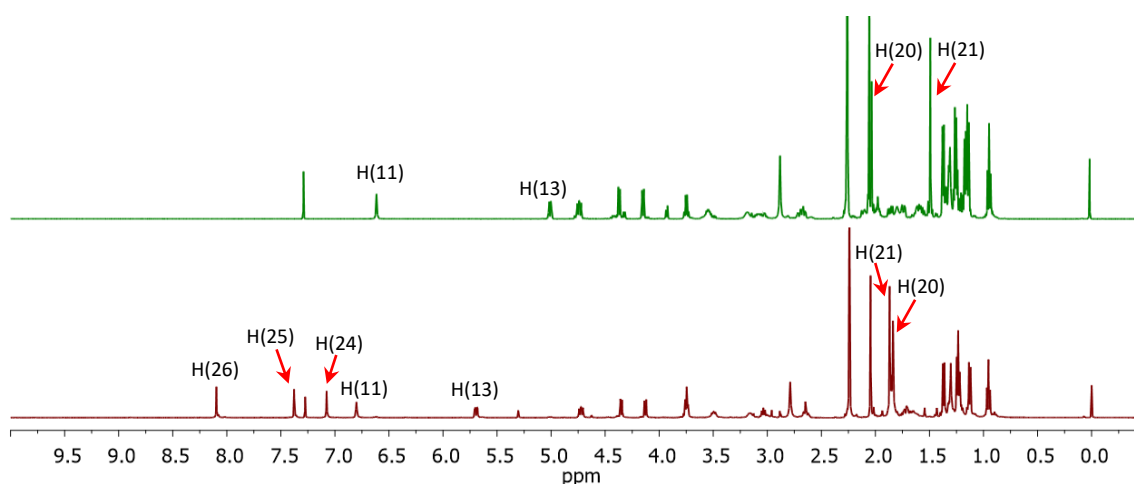
Schemat 31. Schemat syntezy produktu **CLA-13** z przyłączonym podstawnikiem karboimidazolowym w pozycji C(12).

Reakcję prowadziłam przez 1 godzinę, a jej przebieg kontrolowałam za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Na [Rysunku 163](#) przedstawiłam zestawienie chromatogramów wykonanych przed dodaniem (chromatogram czarny) i po 1 minucie od dodania CDI do reakcji (chromatogram niebieski) oraz po reakcji podstawienia karboimidazolu (chromatogram zielony). Na chromatogramie mieszaniny reakcyjnej widoczny był pik o czasie retencji $t_R = 10,34$ min. pochodzący od substratu **CLA-10** oraz pik o $t_R = 3,44$ min, który odpowiada drugiemu substratowi – CDI. Po godzinie wykonałam kontrolną analizę i zauważyłam, że na otrzymanym chromatogramie nie było pików od **CLA-10**, natomiast pojawił się nowy, o czasie retencji $t_R = 11,67$ min, który przypisałam powstałemu produktowi **CLA-13**. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną oczyściłam, w celu pozbycia się nieorganicznych resztek użytego aktywatora oraz uwolnionego w reakcji imidazolu, a następnie przystąpiłam do analizy spektroskopowej powstałego produktu.

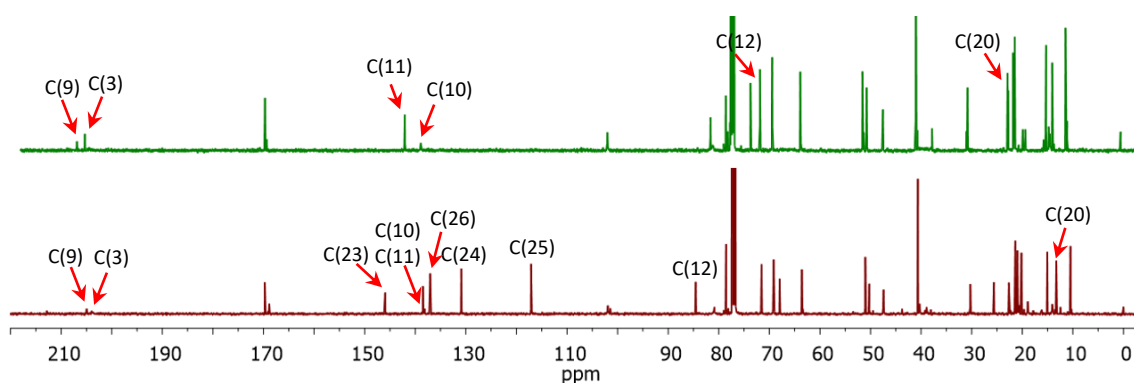


Rysunek 163. Zestawienie chromatogramów przedstawiających: substrat **CLA-10** (czarny chromatogram), mieszaninę reakcyjną 1 minutę po dodaniu substratów **CLA-10** i CDI (niebieski chromatogram) oraz powstały w wyniku syntezy produkt **CLA-13** (zielony chromatogram).

Aby potwierdzić strukturę otrzymanego produktu, przeprowadziłam analizę widm jedno- i dwuwymiarowych magnetycznego rezonansu jądrowego. Badając przesunięcia chemiczne w widmie ^1H NMR (Rysunek 164) i ^{13}C NMR (Rysunek 165) związku **CLA-13**, zaobserwowałam pojawienie się charakterystycznych sygnałów, które pochodziły od wprowadzonego karbaminianowego atomu węgla oraz atomów węgla wiązań podwójnych z cząsteczki imidazolu. Wobec tego, w celu dokładnego potwierdzenia struktury pochodnej **CLA-13** konieczne było przypisanie poszczególnych sygnałów obecnych w widmach ^1H NMR i ^{13}C NMR do konkretnych atomów węgla i protonów. Dokładne wartości przesunięć chemicznych, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, przedstawiłam w Tabelach 15 i 16.



Rysunek 164. Zestawienie widm ^1H NMR **CLA-10** (zielone) i **CLA-13** (bordowe), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

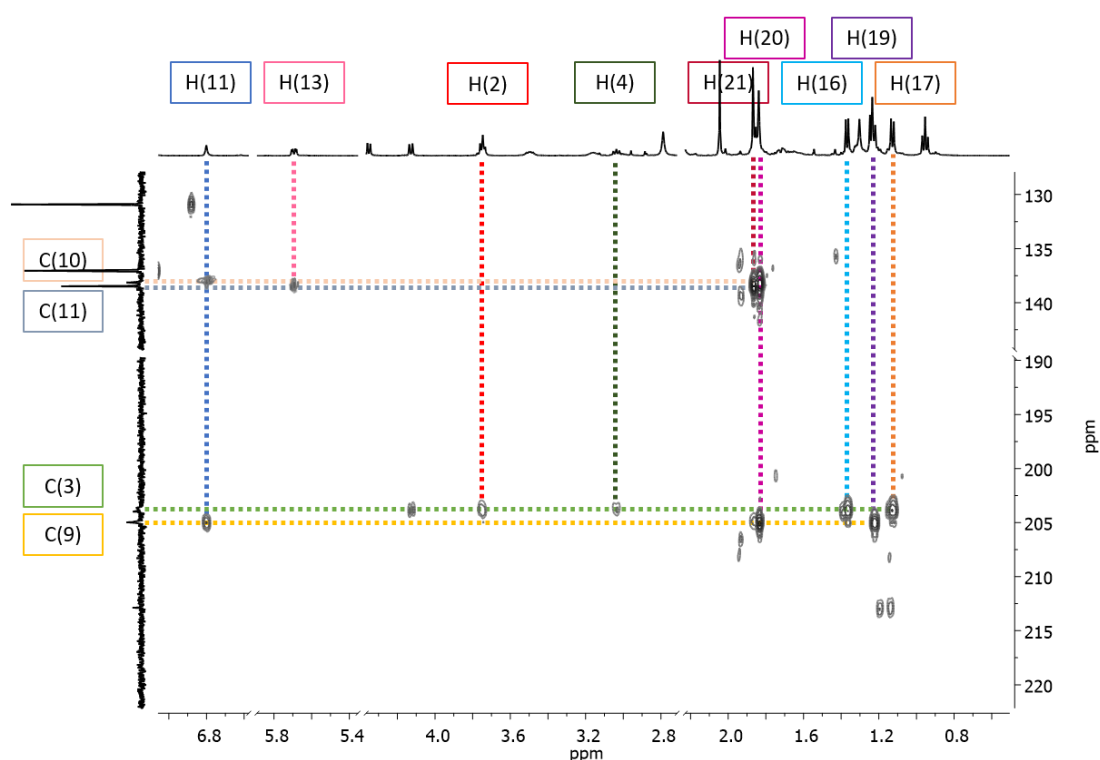


Rysunek 165. Zestawienie widm ^{13}C NMR **CLA-10** (zielone) i **CLA-13** (bordowe), w całym badanym zakresie, z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

Porównując przesunięcia chemiczne sygnałów widocznych w widmach 1D NMR zauważyłam, że położenie sygnałów od deoksycukru (deozaminy) nie uległy znaczącym zmianom, a zatem ten fragment cząsteczki nie uległ żadnym modyfikacjom. Z kolei wprowadzenie nowego podstawnika w pozycji C(12) spowodowało widoczne zmiany w częstościach rezonansowych, nie tylko tego atomu węgla, ale również indukowało je w przypadku atomów znajdujących się w jego bliskim sąsiedztwie. Pozostała część pierścienia aglikonowego pozostała bez zmian. Z tego powodu, w poniższej szczegółowej analizie częstości rezonansowych skupiłam się jedynie na zmienionym fragmencie, obejmującym lewą część cząsteczki, od atomu węgla C(9) do C(15) wraz z podstawnikami przyłączonymi w tym rejonie.

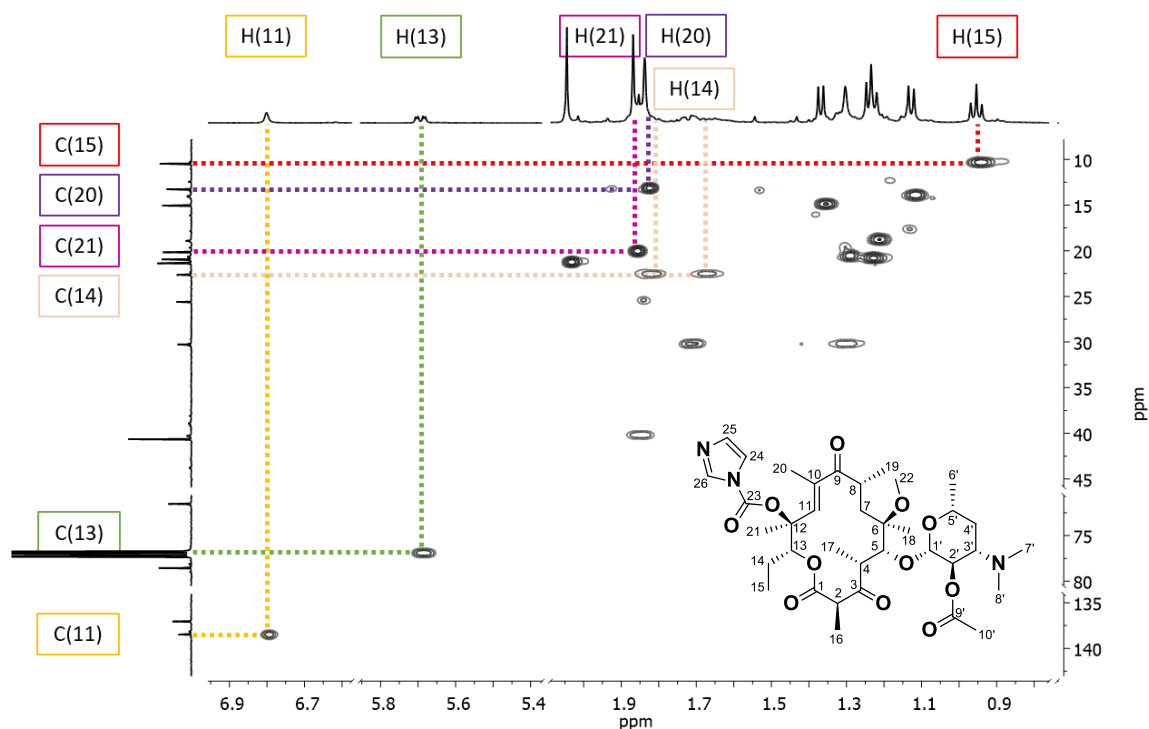
W widmie ^{13}C NMR (Rysunek 165), w zakresie charakterystycznym dla grup karbonylowych, widoczne są cztery sygnały pochodzące od karbonylowych atomów węgla

przy wartościach $\delta = 205,1$ ppm, $\delta = 204,1$ ppm oraz $\delta = 169,9$ ppm i $\delta = 169,0$ ppm. O ile dwa ostatnie sygnały odpowiadają karbonylowym atomom węgla przyłączonym do tlenu (lakton, ester), to dwa pierwsze są charakterystyczne dla ketonów. By poprawnie przypisać sygnał pochodzący od atomu węgla C(9), w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 166) prześledziłam korelacje i otoczenie obu sygnałów od ketonowych atomów węgla. Zauważyłam, że sygnał przy wartości przesunięcia chemicznego $\delta = 204,1$ ppm koreluje z sygnałami przypisanymi do protonów H(2) i H(4), z kolei sygnał przy $\delta = 205,1$ ppm – z sygnałami protonowymi H(8) i H(19). Na podstawie tych korelacji można założyć, że to właśnie sygnał przy wartości $\delta = 205,1$ ppm pochodzi od karbonylowego atomu węgla C(9), zatem przypisałam mu tą wartość. W dwuwymiarowym widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 166) zaobserwowałam również jego korelacje z kolejnymi dwoma nowymi sygnałami protonowymi: singletem przy przesunięciu $\delta = 1,82$ ppm integrowanym na 3H oraz singletem przy $\delta = 6,78$ ppm integrowanym na 1H. Sygnały te, tak jak w substracie, posiadały wysokie wartości δ , co potwierdziło, że zarówno proton, jaki i grupa metylowa przyłączone są do atomu węgla o hybrydyzacji sp^2 . W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 167)

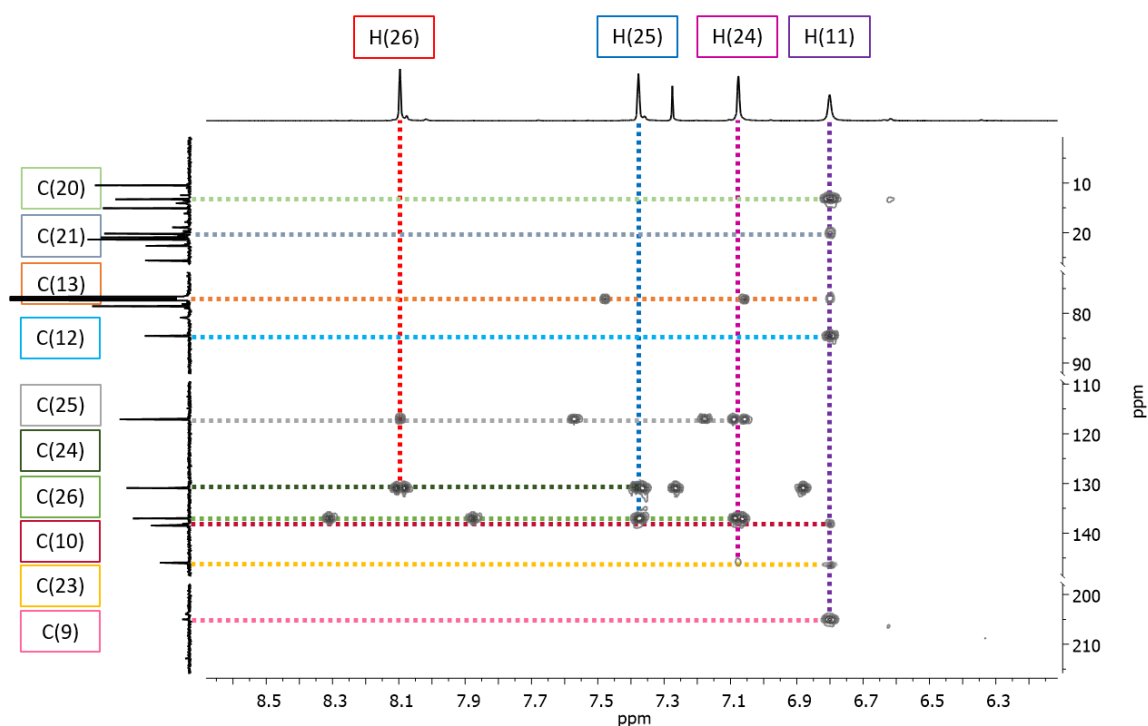


Rysunek 166. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu pomiędzy sygnałami pochodzącymi od karbonylowych atomów węgla, a protonami.

sygnał przy przesunięciu $\delta = 1,82$ ppm korelował z sygnałem od atomu węgla przy $\delta = 13,4$ ppm, a singlet przy $\delta = 6,78$ ppm – z sygnałem $\delta = 138,6$ ppm. Przypisałam je zatem następująco: sygnał przy przesunięciu $\delta = 1,82$ ppm wraz z sygnałem przy $\delta = 13,4$ ppm – do protonu H(20) i atomu węgla C(20), a sygnał przy $\delta = 6,78$ ppm wraz z $\delta = 138,6$ ppm – do H(11) i C(11). Pozostały sygnał węglowy, o wysokiej wartości częstości rezonansowej wynoszącej $\delta = 138,3$ ppm (charakterystycznej dla atomu węgla z wiązania nienasyconym), korelujący w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 166) z sygnałem pochodzącym od H(11) i H(20) i dodatkowo nie korelujący z żadnym protonem w widmie ^1H - ^{13}C HSQC, przypisałam do atomu węgla C(10). Wartości przesunięć sygnałów pochodzących od protonów H(11) i H(20) oraz atomów węgla C(10), C(11) i C(20) były potwierdzeniem utrzymanego w cząsteczce **CLA-13** wiązania podwójnego, pomiędzy atomami węgla C(10) a C(11). Jednakże niższe przesunięcie chemiczne sygnału węglowego C(11) wynosząca $\delta = 138,6$ ppm w produkcie **CLA-13**, względem wartości tego atomu w substracie **CLA-10** ($\delta = 142,3$ ppm) sugerowało, że w pobliżu tej pozycji nastąpiła istotna zmiana w strukturze cząsteczki. Zatem w celu ustalenia dokładnej struktury, przeanalizowałam korelacje



Rysunek 167. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu we fragmencie aglikonu.

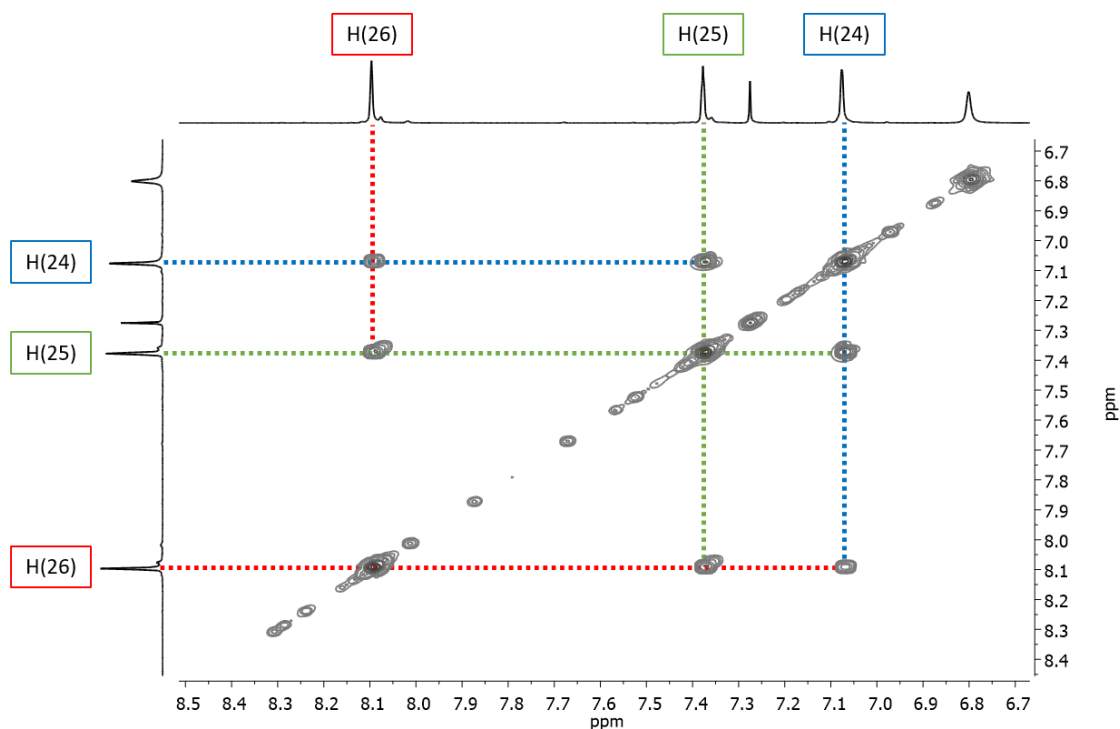


Rysunek 168. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu.

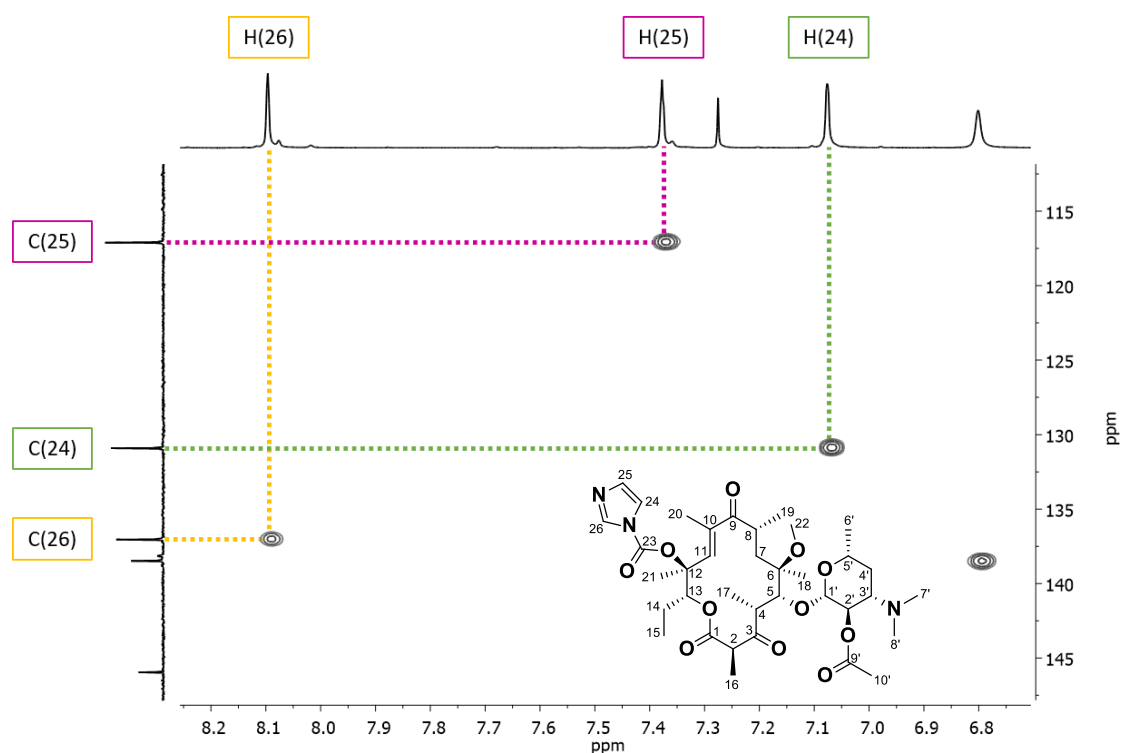
pomiędzy sygnałem od protonu H(11), a sygnałami węglowymi. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 168), sygnał przy przesunięciu chemicznym $\delta = 6,78$ ppm koreluje z nowymi sygnałami węglowymi przy: $\delta = 146,1$ ppm, $\delta = 84,7$ ppm, $\delta = 77,2$ ppm i $\delta = 20,3$ ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC zarówno sygnał o częstotliwości rezonansowej $\delta = 146,1$ ppm, jak i $\delta = 84,7$ ppm, nie koreluje z żadnym sygnałem protonowym, natomiast sygnał przy $\delta = 20,3$ ppm koreluje z singletem integrowanym na 3H, przy $\delta = 1,85$ ppm, pochodzącym od grupy metylowej, a sygnał przy $\delta = 77,2$ ppm koreluje z dubletem dubletów przy $\delta = 5,68$ ppm (Rysunek 167). Sygnały te przypisałam więc odpowiednio do atomów C(21) i H(21) oraz do atomów grupy metinowej C(13)H. Z kolei sygnał przy $\delta = 84,7$ ppm, pochodzący od czwartorzędowego atomu węgla, przypisałam do atomu C(12). Przypisanie nowego sygnału od atomu węgla o częstotliwości rezonansowej $\delta = 146,1$ ppm, możliwe było po sprawdzeniu z jakimi protonami sprzęga się on w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 168). Ustaliłam, że sprzęga się on jedynie z jednym protonem, którego sygnał jest dubletem przy przesunięciu chemicznym $\delta = 7,06$ ppm. Tak wysoka wartość δ typowa jest dla układów aromatycznych – w tym przypadku ugrupowania imidazolowego – a więc sygnał ten

odpowiada karbonylowemu atomowi węgla C(23) powstałego karbaminianu. Sygnał przy $\delta = 7,06$ ppm w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 168) koreluje z sygnałem przy $\delta = 117,2$ ppm i 137,2 ppm, a w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 169) z sygnałem przy $\delta = 7,36$ ppm i $\delta = 8,08$ ppm. Te trzy wymienione sygnały protonowe o wysokich wartościach przesunięć chemicznych pochodzą od protonów z pierścienia imidazolowego i przypisałam je następująco: sygnał przy $\delta = 7,06$ ppm do H(24), przy $\delta = 7,36$ ppm do H(25), a sygnał o częstotliwości $\delta = 8,08$ ppm do H(26). Na podstawie korelacji w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 170) przypisałam wartości przesunięć chemicznych odpowiadające atomom węgla. Sygnał przy $\delta = 131,0$ ppm przypisałam do C(24), przy $\delta = 117,2$ ppm do C(25), a ten o przesunięciu równym $\delta = 137,2$ ppm – do atomu węgla C(26).

Przypisanie powyższych sygnałów o wysokich wartościach, które korelowały w widmie dwuwymiarowym dalekiego zasięgu pośrednio z sygnałem pochodzącym od aglikonu, jest dowodem na to, że cząsteczka karboimidazolu została przyłączona w wyniku reakcji substytucji nukleofilowej. By poznać całkowitą budowę cząsteczki, pozostało już jedynie przypisać brakujące wartości do etylowego podstawnika w pozycji



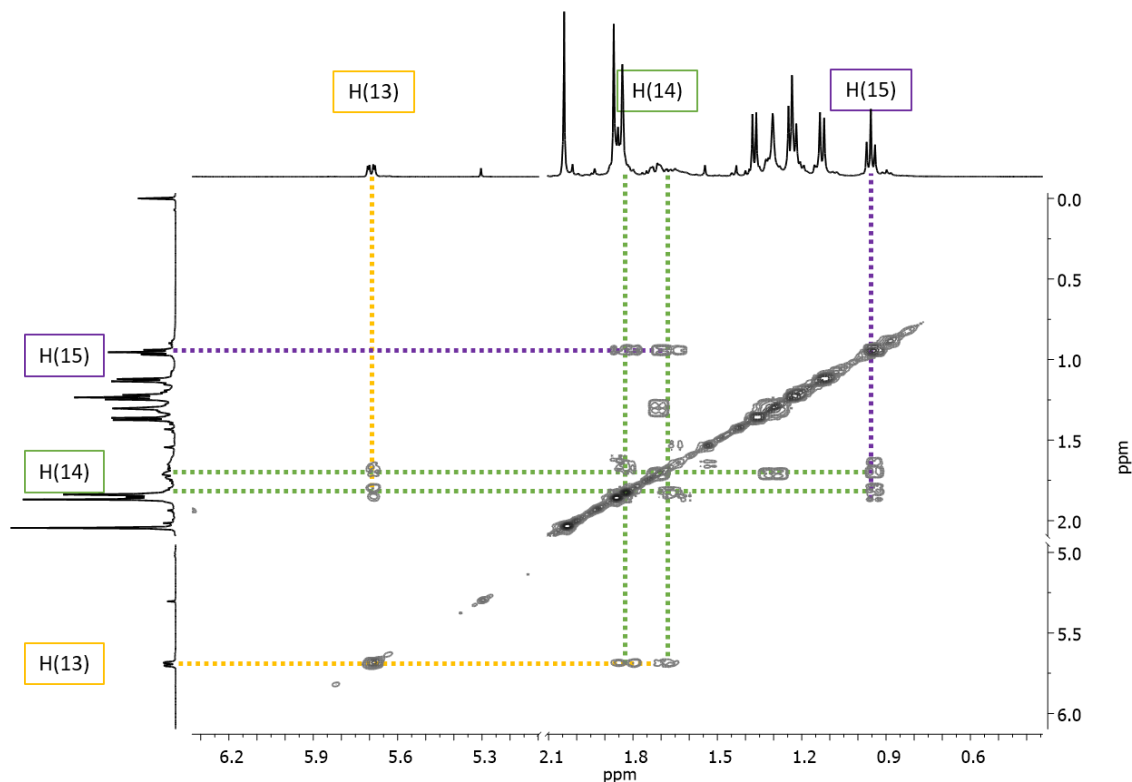
Rysunek 169. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie przyłączonego podstawnika karboimidazolowego.



Rysunek 170. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie przyłączonego podstawnika karboimidazolowego.

C(13). Wartości tych sygnałów również uległy przesunięciu w kierunku wyższych częstotliwości w stosunku tych, obserwowanych w substracie. Przypisany już wcześniej proton H(13) w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 171) sprzęga się ze stałą sprzężenia $J = 10,7$ Hz z protonami rezonującymi przy $\delta = 1,64$ ppm i przy $\delta = 1,79$ ppm. Sygnały te są multipletami i w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 167) zaobserwowałam, że korelują one z tym samym sygnałem węglowym przy $\delta = 22,8$ ppm, a więc pochodzą od grupy metylenowej C(14) H_2 . Korelujący z nimi w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 171) tryplet przy częstotliwości $\delta = 0,94$ ppm przypisałam zatem do protonu H(15), a na podstawie korelacji widocznej w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 167), sygnał przy $\delta = 10,6$ ppm, w widmie węglowym, do atomu C(15).

Powyzsza analiza przesunięć chemicznych oraz multipletowości i integracji sygnałów udowodniła, że w wyniku reakcji **CLA-10** z CDI, otrzymany został produkt **CLA-13**, z przyłączonym podstawnikiem karboimidazolowym w pozycji C(12).

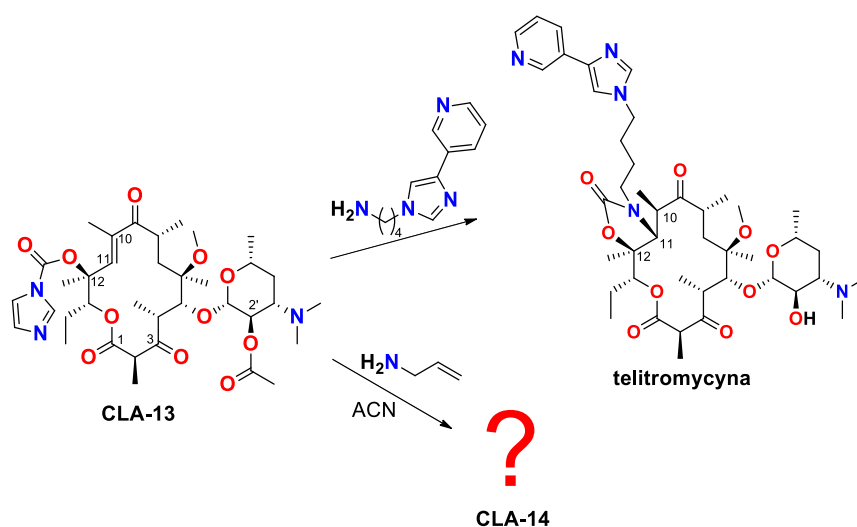


Rysunek 171. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-13** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu we fragmencie podstawnika etylowego.

4.4.1 Reakcja z odpowiednią aminą jako klucz do osiągnięcia nietypowej struktury

Telitromycyna jest znanym, szeroko stosowanym antybiotykiem wykazującym szczególne właściwości przeciwbakteryjne w stosunku do bakterii Gram-dodatnich wywołujących infekcje górnych i dolnych dróg oddechowych. Jest ona sztandarowym przykładem ketolidów zawierających w swojej strukturze karbaminianowo-aglikonowy układ bicykliczny z długimi łącznikami alifatycznymi zakończonymi układami aromatycznymi i/lub heteroaromatycznymi. Substratem wyjściowym do tego typu analogów telitromycyny jest związek **CLA-13**, który w wyniku reakcji z odpowiednimi aminami pierwszorzędowymi prowadził do otrzymania pożądaných produktów (Schemat 32). Zostało ich już jednak zsyntezowanych tak wiele, że trudno dokonać w tym temacie nowatorskiego odkrycia. Zdecydowałam się zatem na zastosowanie odmiennego podejścia i utworzenia w pierwszej kolejności nietypowej platformy do dalszych modyfikacji, w porównaniu ze znanymi makrolidami laktonowymi III-generacji. Zamiast użycia typowych do tej klasy pochodnych amin, postanowiłam przeprowadzić reakcję

z aminą o krótkim łańcuchu węglowym, niskiej temperaturze wrzenia i posiadającej w swojej strukturze grupę funkcyjną, którą można wykorzystać do dalszych modyfikacji (Schemat 32).

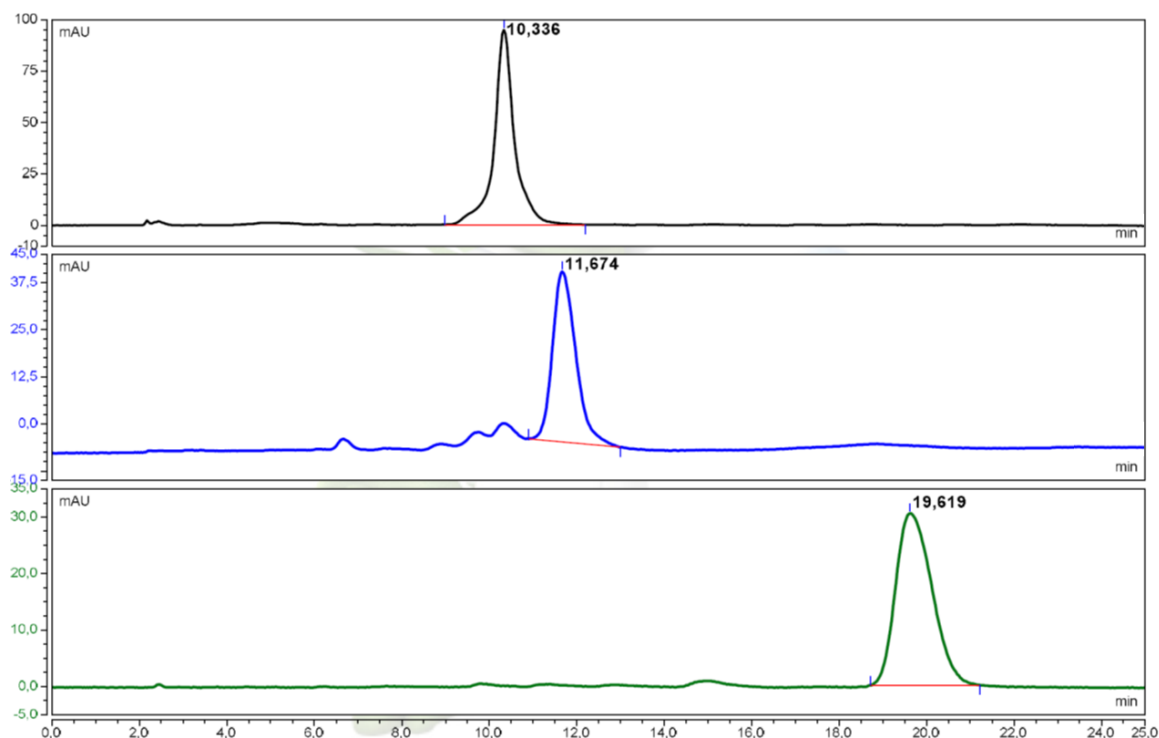


Schemat 32. Schemat przedstawiający proces syntezy telitromycyny oraz pochodnej klarytromycyny **CLA-14**.

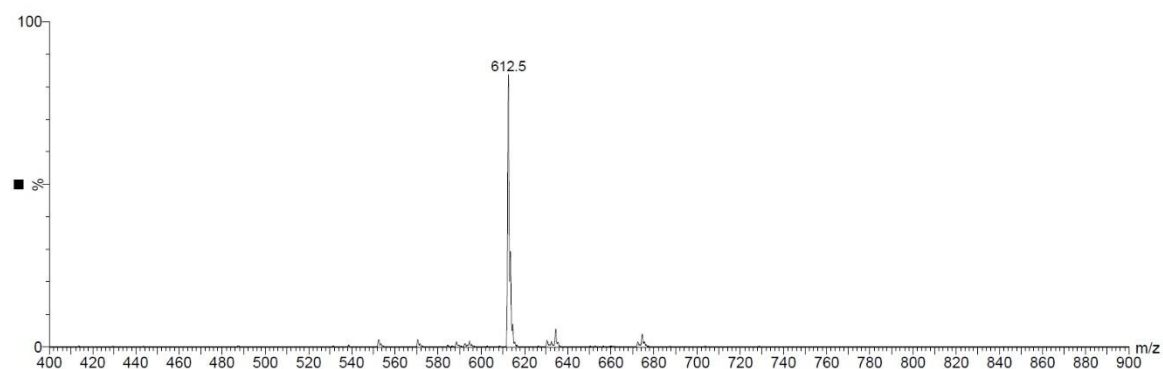
Próbie reakcji otrzymania karbaminianowej pochodnej z ugrupowaniem allilowym początkowo prowadziłam w warunkach literaturowych – w temperaturze pokojowej w stosunku stechiometrycznym 1:5 **CLA-13** do alliloaminy. Po 48 godzinach brak było zmian na chromatogramie, więc przez kolejne 48 godzin prowadziłam reakcję w 50 °C w naczyniu Schlenka. Niestety po tym czasie również nie pojawił się na chromatogramie nowy pik, który mógłby świadczyć o postępie reakcji. Postanowiłam więc obniżyć energię aktywacji reakcji poprzez zwiększenie stosunku aminy do **CLA-13** (10-krotny nadmiar), co nie przyniosło spodziewanego rezultatu, w związku z czym podniosłam temperaturę w układzie reakcyjnym do 90 °C. Prowadzenie reakcji w tak agresywnych warunkach było możliwe dzięki wykorzystaniu szczelnie zamkniętego naczynia Schlenka. Dzięki temu, pomimo przegrzania rozpuszczalnika, jego pary znajdowały się wciąż wewnątrz naczynia reakcyjnego, a więc mogło dochodzić do kontaktu substratu **CLA-13** z aminą. Ze względu na utrzymywane specyficzne warunki reakcji, dopiero po 40 godzinach prowadzenia syntezy zbadałam mieszaninę reakcyjną.

Na chromatogramie wykonanym z mieszaniny reakcyjnej (chromatogram niebieski), przed podniesieniem temperatury do 90 °C, widoczny był pik o czasie retencji $t_R = 11,07$ min, który pochodzi od substratu **CLA-13** (Rysunek 172). Z kolei na

chromatogramie wykonanym po 40 godzinach (chromatogram zielony), zaobserwowałam brak pików pochodzącego od substratu i pojawienie się nowego, o czasie retencji $t_R = 19,62$ min, który przypisałam do produktu **CLA-14**. Pík pochodzący od otrzymanego nowego produktu posiadał zaskakująco długi czas retencji, zatem wywnioskowałam, że musiała zajść jakaś nietypowa reakcja, która zmieniła właściwości produktu, zatem przeprowadziłam badania spektroskopowe aby ustalić strukturę tego produktu.



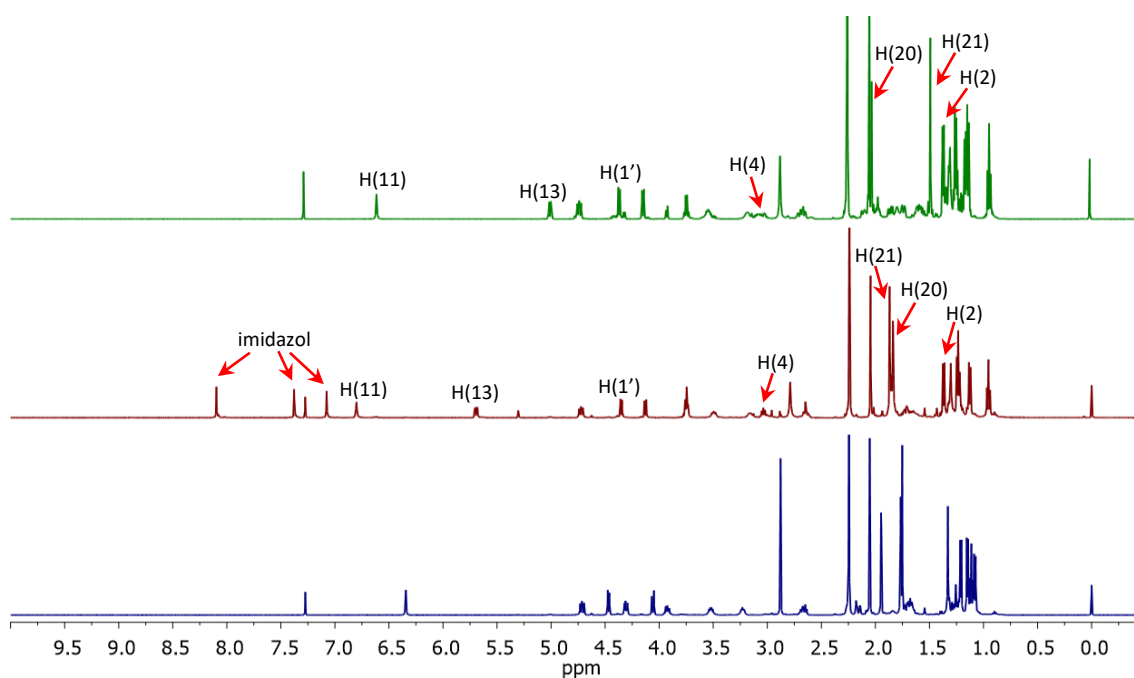
Rysunek 172. Zestawienie chromatogramów przedstawiających: **CLA-10** (chromatogram czarny), substrat **CLA-13** (niebieski chromatogram) oraz powstały na drodze reakcji produkt **CLA-14** (zielony chromatogram).



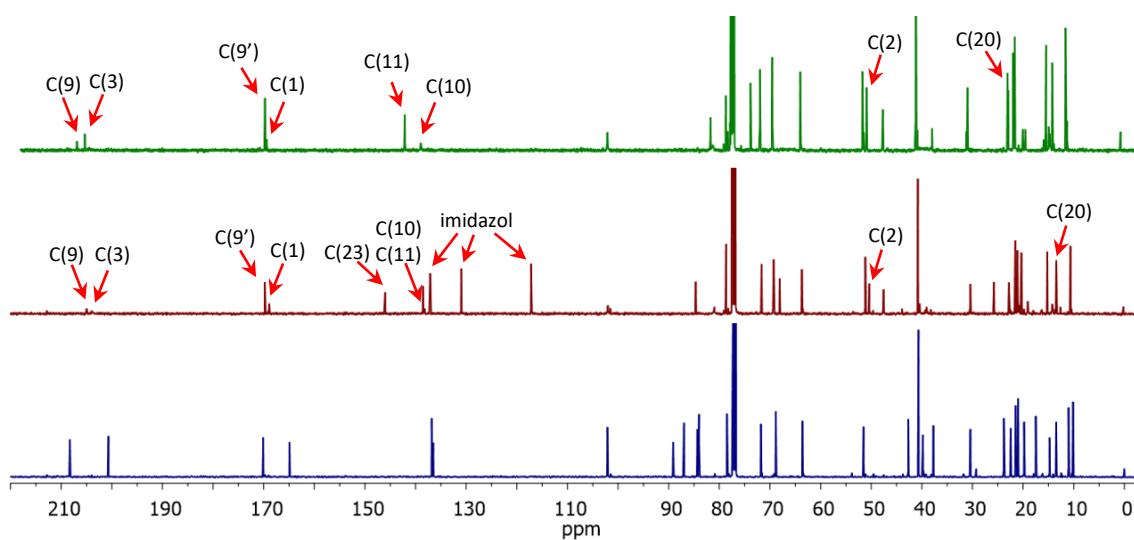
Rysunek 173. Widmo ESI MS związku **CLA-14** wykonane w trybie jonów dodatnich.

W widmie ESI MS wykonanym w trybie jonów dodatnich ([Rysunek 173](#)) widoczny był pik o masie 612,5 [Da]. Jon pseudomolekularny substratu **CLA-13** wynosił 706,5 [Da], nastąpił zatem widoczny spadek masy produktu, a więc jakiś element cząsteczki musiał zostać z niej wyeliminowany. Różnica mas pomiędzy protonowanym substratem, a protonowanym produktem wynosiła 94 [Da], a więc dokładnie tyle, ile wynosi masa jonu karboimidazolowego. Dodatkowo, widoczny w widmie pik posiada identyczną masę, jaką posiadał jon pseudomolekularny produktu **CLA-10**. Sugerowałoby to, że w wyniku reakcji z alliloaminą substrat **CLA-13** przekształciłby się ponownie w produkt **CLA-10**. Biorąc pod uwagę powyższe dane jasnym jest, że otrzymałam nowy, inny związek niż **CLA-10**, ale o takim samym wzorze sumarycznym, który oznaczyłam jako **CLA-14**. Zatem, by poznać strukturę tego nowego produktu, konieczne było przeprowadzenie analizy FT-IR oraz jedno- i dwuwymiarowych widm magnetycznego rezonansu jądrowego.

Analiza danych spektrometrycznych ukazała, że w cząsteczce **CLA-14** brak jest ugrupowania karboimidazolowego i uretanowego – oczekiwanego produktu reakcji tego karbimidazolu z alliloaminą. Potwierdzeniem tego faktu jest brak odpowiednich sygnałów od podstawnika imidazolowego i ugrupowania karbonylowego, obecnych w widmach 1D **CLA-13**, w widmach 1D NMR produktu **CLA-14** ([Rysunek 174](#) i [175](#)). Z kolei, porównując ze sobą widma ^1H i ^{13}C NMR związków o identycznym składzie: **CLA-14** i **CLA-10**, wyraźnie widać, że w tych przypadkach mamy do czynienia z różnymi obrazami spektroskopowymi, co potwierdza tak znaczne różnice w zaobserwowanych czasach retencji na chromatogramach. Porównanie samych pozycji sygnałów oraz ich liczby w określonych zakresach spektralnych (zmiany w położeniu sygnałów od karbonylowych i winylowych atomów węgla oraz przesunięcie się jednego niskopolowego sygnału $\delta < 50$ ppm do wartości $\delta > 60$ ppm z jednoczesnymi przesunięciami innych sygnałów) sugerowała, że doszło do zmian w obrębie grup funkcyjnych lub/i zamiany konformacyjnej. Wobec tego, w celu dokładnego potwierdzenia struktury pochodnej **CLA-14**, konieczne było przypisanie poszczególnych sygnałów obecnych w widmach ^1H NMR i ^{13}C NMR do konkretnych atomów węgla i protonów. Dokładne wartości przesunięć chemicznych, ustalone na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC oraz ^1H - ^1H NOESY, przedstawiłam w [Tabelach 15](#) i [16](#).



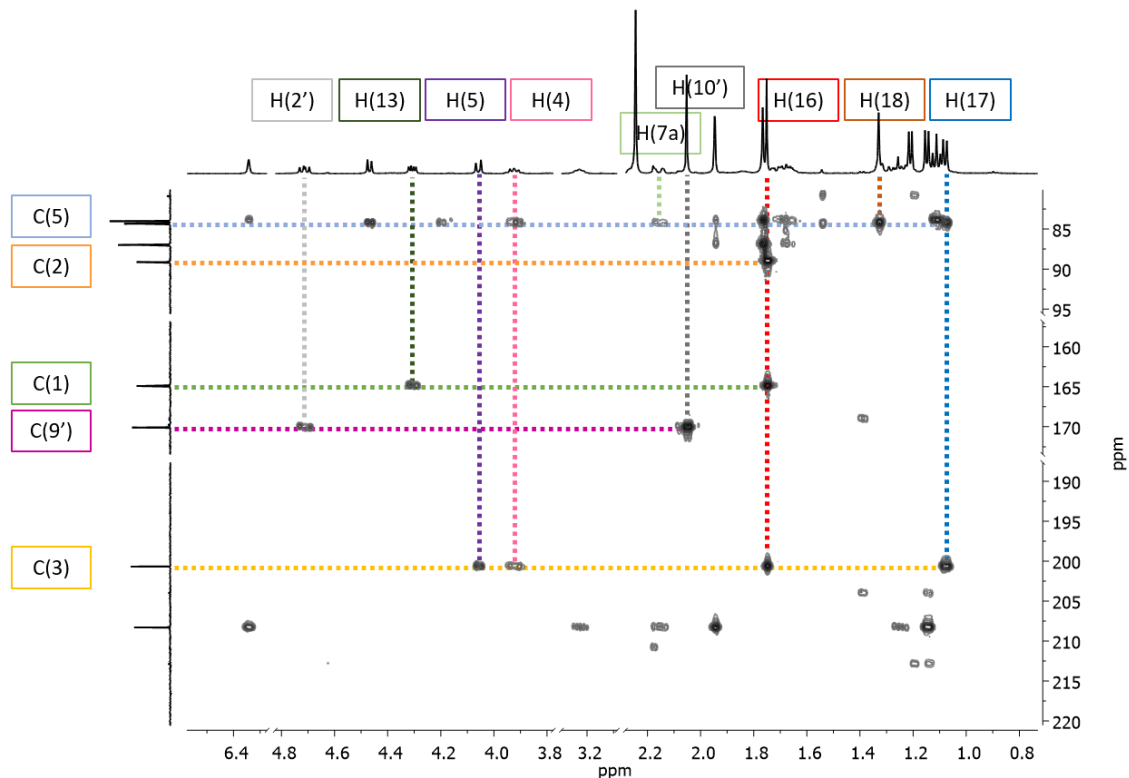
Rysunek 174. Zestawienie widm ^1H NMR produktów: **CLA-10** (zielone), **CLA-13** (bordowe) i **CLA-14** (niebieskie), wraz z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



Rysunek 175. Zestawienie widm ^{13}C NMR produktów: **CLA-10** (zielone), **CLA-13** (bordowe) i **CLA-14** (niebieskie), wraz z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

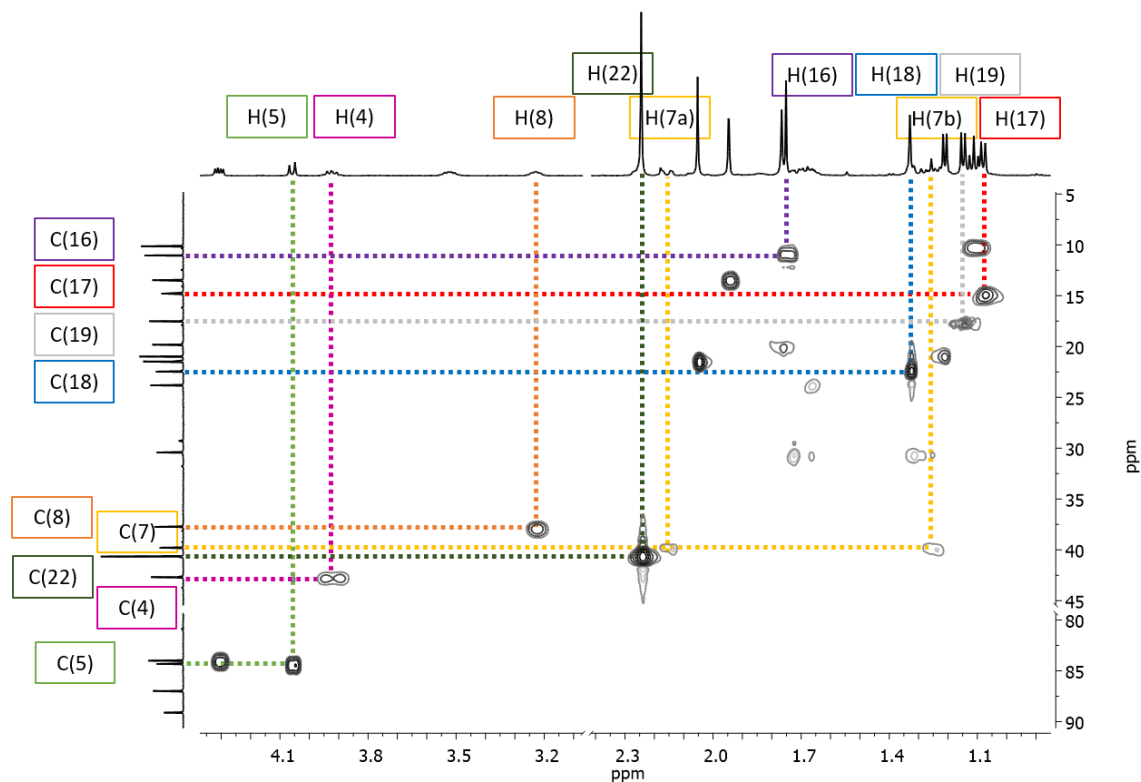
W widmie ^{13}C NMR (**Rysunek 175**) widoczne są cztery sygnały pochodzące od karbonylowego atomu węgla przy częstotliwości $\delta = 208,4$ ppm, $\delta = 200,8$ ppm oraz $\delta = 170,2$ ppm i $\delta = 165,0$ ppm. O ile dwa pierwsze sygnały są charakterystyczne dla ketonów, to kolejne dwa sygnały, o częstotliwości przesuniętej w kierunku niższych wartości, są charakterystyczne dla karbonylowego atomu węgla przyłączonego do heteroatomu (tlenu). Jeden z tych sygnałów pochodził zatem od karbonylowego atomu węgla C(1)

pochodzącego od laktonu, a drugi – od grupy acetylowej przyłączonej do dezoaminy przez atom tlenu pozycji O(2'). By poprawnie przypisać wartości przesunięć do tych atomów, niezbędne było prześledzenie ich korelacji z sąsiednimi protonami. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 176) sygnał o wyższej wartości ($\delta = 170,2$ ppm) koreluje z sygnałami pochodzącymi od protonów przypisanych do dezoaminy, a więc pochodzi on od podstawnika acetylowego. Z tego powodu, sygnał przy wartości $\delta = 165,0$ ppm przypisałam do atomu węgla C(1), pochodzącego od grupy laktonowej. Następnie przeprowadziłam analizę korelacji pomiędzy tym sygnałem, a znajdującymi się w jego sąsiedztwie sygnałami protonowymi. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 176) zauważyłam, że koreluje on z dubletem dubletów przy $\delta = 4,29$ ppm, który przypisałam do H(13) i singletem przy $\delta = 1,74$ ppm, integrowanym na 3H, który koreluje z kolejnym karbonylowym sygnałem węglowym, przy $\delta = 200,8$ ppm. Singlet ten pochodzi od grupy metylenowej i przypisałam go protonom H(16). Analizując wartość przesunięcia chemicznego tych protonów ($\delta = 1,74$ ppm) w produkcie, zauważyłam znaczne przeniesienie sygnału w kierunku wyższych częstotliwości, w porównaniu z przesunięciem

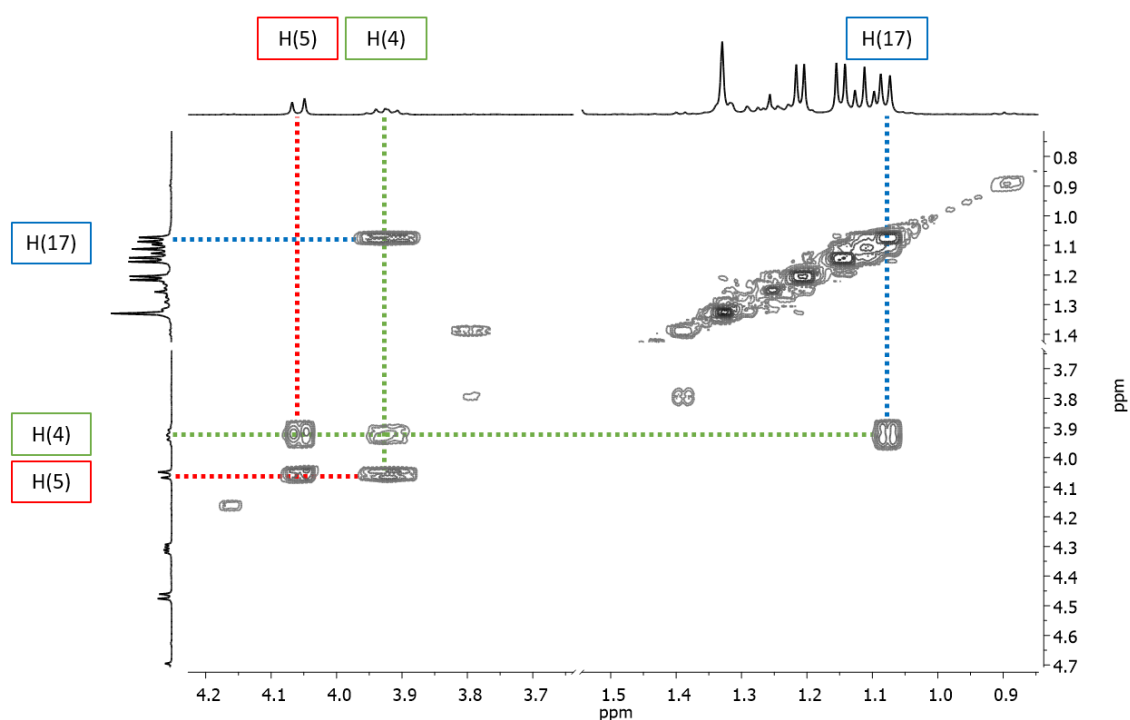


Rysunek 176. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu.

w substracie **CLA-13** ($\delta = 1,35$ ppm). Dodatkowo ten odpowiadający trzem protonom sygnał w substracie **CLA-13** był dubletem przypisanym do protonów H(16), które sprzęgały się z protonem H(2). W widmie produktu **CLA-14** natomiast, sygnał ten jest izolowanym singletem, nie korelującym w widmie ^1H - ^1H COSY z żadnym sygnałem protonowym. Dane te sugerują, że podstawnik metylenowy przyłączony jest do aglikonu przy atomie węgla nie posiadającym protonu. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 176) sygnały od protonów tej grupy korelowały z sygnałem węglowym przy wartości $\delta = 89,3$ ppm, którą przypisałam do atomu węgla C(2). Na podstawie korelacji w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 177), sygnał przy $\delta = 11,2$ ppm przypisałam do atomu węgla C(16). Następnie przeanalizowałam korelacje występujące pomiędzy sygnałem karbonylowym C(3), a nowymi, kolejnymi sygnałami protonowymi. I tak, zauważyłam, że koreluje on z dubletem kwartetów przy $\delta = 3,91$ ppm i dwoma dubletami: przy $\delta = 1,07$ ppm i $\delta = 4,04$ ppm. W kolejnym kroku, sprawdziłam korelacje pomiędzy tymi sygnałami w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 178). Sygnał przy wartości przesunięcia $\delta = 3,91$ ppm, w widmie dwuwymiarowym proton-proton bliskiego zasięgu korelował z dwoma pozostałymi, zatem został przypisany

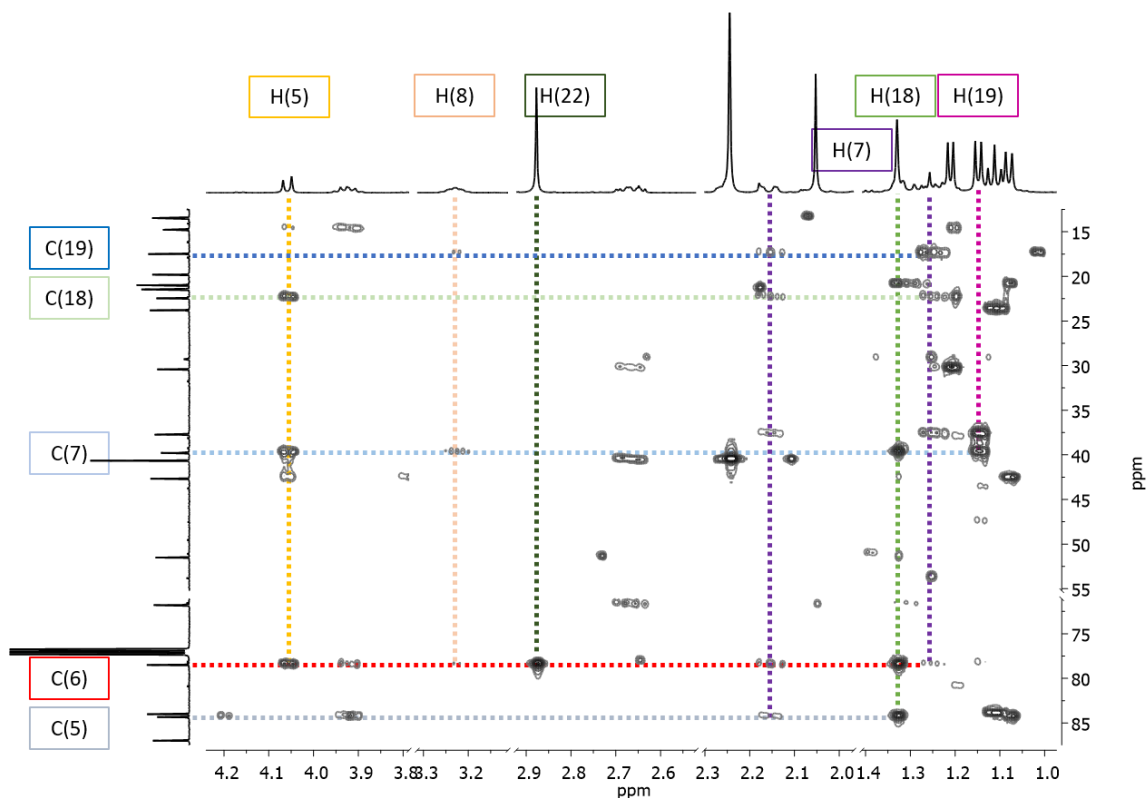


Rysunek 177. Fragment widma ^1H - ^{13}C HSQC produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu.



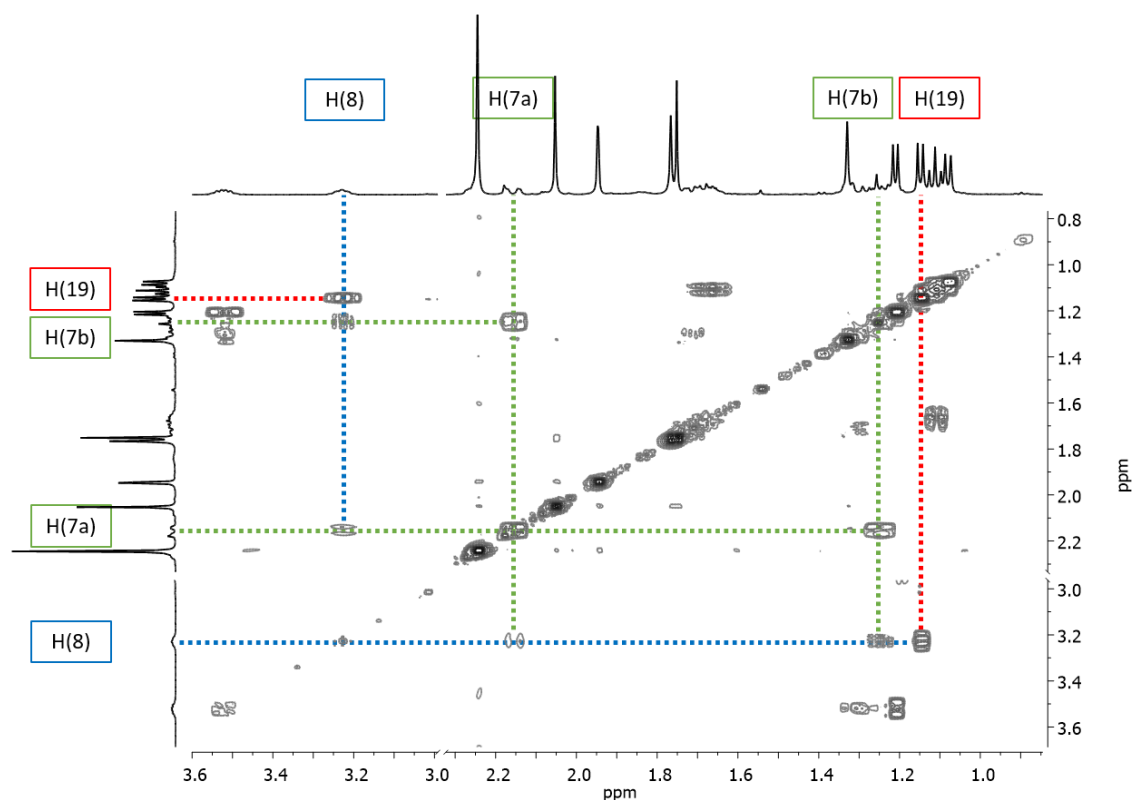
Rysunek 178. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu.

do protonu H(4). Dublet przy $\delta = 1,07$ ppm integrowany na 3H przypisałam do protonów grupy metylowej H(17), a ten przy $\delta = 4,04$ ppm, integrowany na 1H, do H(5). Następnie przeanalizowałam korelacje obecne w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 177) powyższych sygnałów, by móc przypisać korelujące z nimi sygnały węglowe. Tak oto, sygnał przy $\delta = 84,1$ ppm przypisałam do C(13), ten przy $\delta = 14,9$ ppm – do C(17), o częstotliwości $\delta = 42,5$ ppm do atomu C(4), a przy $\delta = 84,5$ ppm – do C(5). Ze względu na to, że sygnał przypisany do H(5) w widmie ^1H - ^1H COSY nie korelował z żadnym dodatkowym protonem, by móc przypisać następne sygnały, w kolejnym kroku sprawdziłam korelacje dalekiego zasięgu pomiędzy nim, a sygnałami węglowymi. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 179) proton H(5) korelował z nowymi sygnałami przy $\delta = 78,6$ ppm, $\delta = 39,9$ ppm oraz $\delta = 22,6$ ppm. Sygnały te w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 177) korelowały następująco: sygnał przy $\delta = 39,9$ ppm z dwoma sygnałami od protonów przy $\delta = 1,24$ ppm i $\delta = 2,14$ ppm, integrowanymi na 1H każdy, zatem przypisałam je odpowiednio do grupy metylowej C(7)H₂, sygnał przy $\delta = 22,6$ ppm z singletem integrowanym na 3H, przy przesunięciu $\delta = 1,32$ ppm, więc przypisałam je, z kolei, do grupy metylenowej C(18)H₃. Sygnał przy



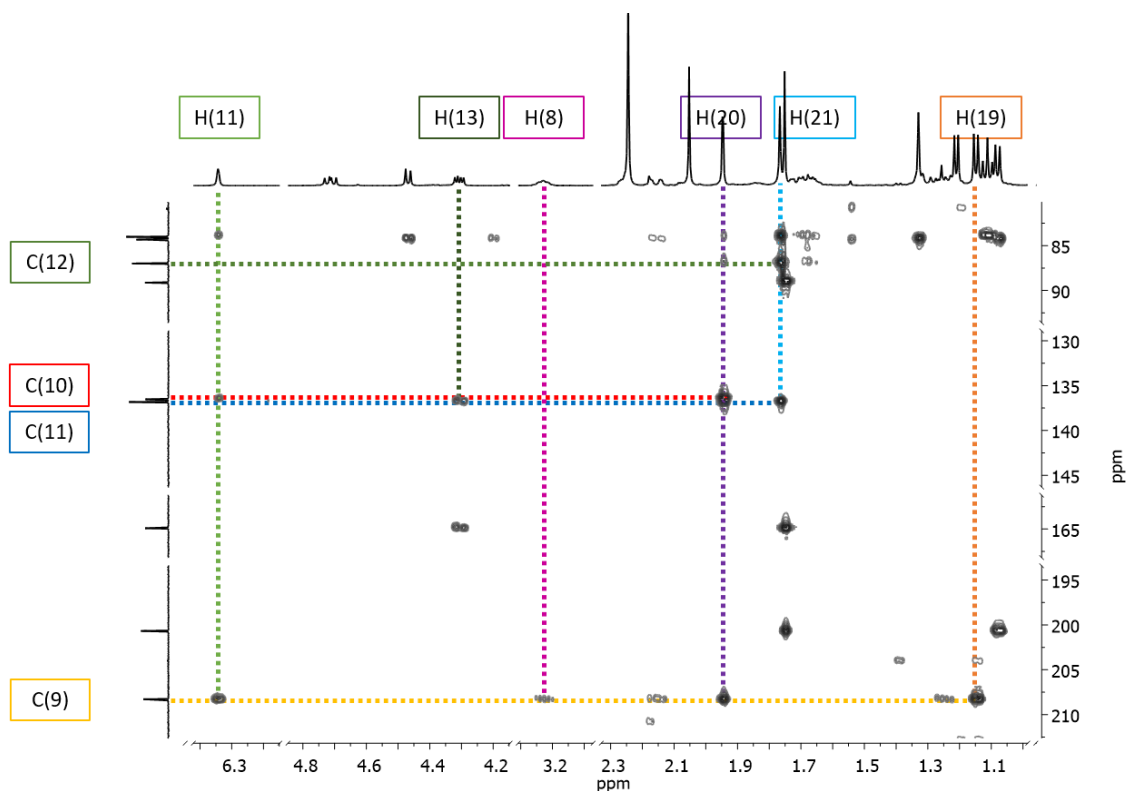
Rysunek 179. Fragment widma ^1H - ^{13}C HMBC produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu.

$\delta = 78,6$ ppm, w tym dwuwymiarowym widmie, nie korelował z żadnym sygnałem protonowym. Pochodził on zatem od czwartorzędowego atomu węgla i przypisałam go do atomu węgla C(6). W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 179) zauważyłam natomiast, że koreluje on z sygnałem od protonów o wysokim przesunięciu chemicznym wynoszącym $\delta = 2,86$ ppm, integrowanym na 3H, który w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 177) korelował dalej z sygnałem przy $\delta = 51,6$ ppm. Na tej podstawie przypisałam go atomom grupy metoksylovej C(22)H₃. Następnie sprawdziłam sprzężenia proton-proton bliskiego zasięgu od przypisanych protonów H(7). W widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 180), sygnały przypisane do H(7) korelują z multipletem przy $\delta = 3,22$ ppm, który to dalej koreluje z dubletem o przesunięciu wynoszącym $\delta = 1,13$ ppm. Przypisałam je kolejno do protonów H(8) i H(19). W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 177) sygnały te korelowały następująco z sygnałami węglowymi przy $\delta = 37,9$ ppm i $\delta = 17,6$ ppm, które przypisałam odpowiednio do atomów C(8) i C(19). Protony H(8) i H(19), w widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 181), sprzęgają się z atomem węgla o wysokim, charakterystycznym dla karbonylovego atomu węgla, przesunięciu chemicznym wynoszącym $\delta = 208,4$ ppm. Sygnał ten przypisałam

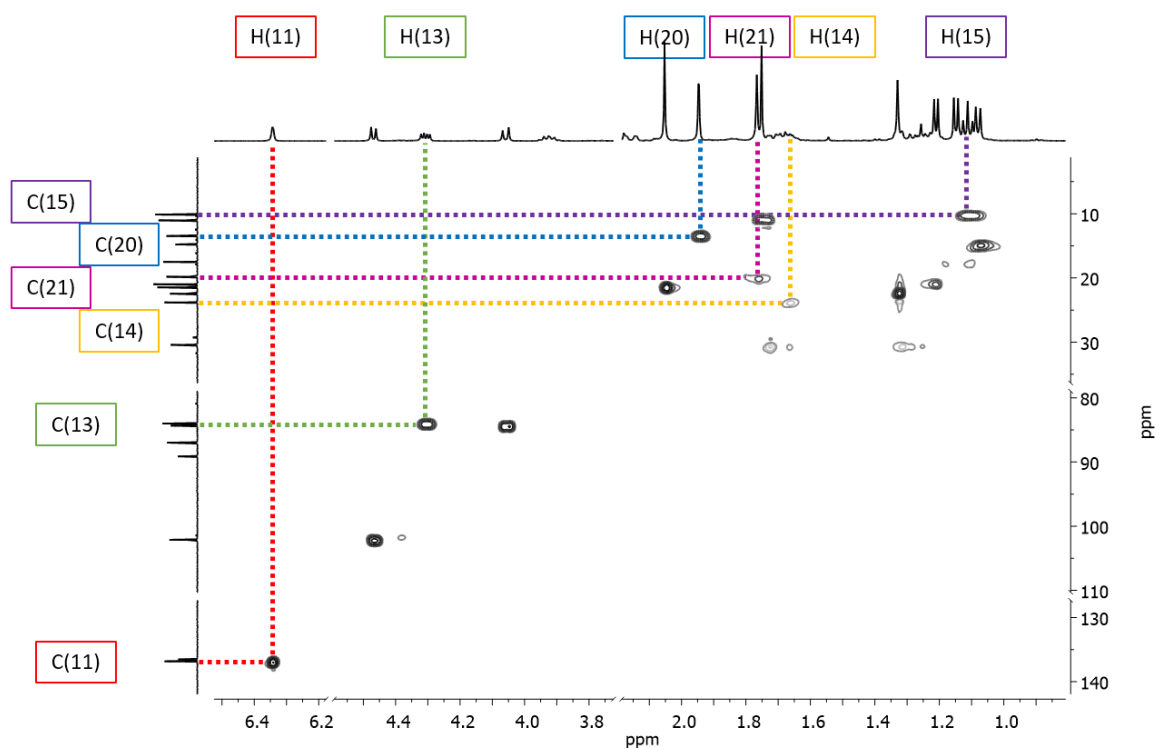


Rysunek 180. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu.

zatem do atomu węgla C(9). W tym samym widmie dwuwymiarowym zaobserwowałam również korelacje tego sygnału z kolejnymi dwoma nowymi sygnałami protonowymi: singletem przy przesunięciu $\delta = 1,93$ ppm integrowanym na 3H oraz singletem przy $\delta = 6,33$ ppm integrowanym na 1H. Sygnały te, tak jak w substracie, posiadały wysokie przesunięcia chemiczne, co potwierdziło, że znajdują się one w okolicy wiązania podwójnego. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 182) sygnał przy przesunięciu $\delta = 1,93$ ppm korelował z sygnałem węglowym przy $\delta = 13,6$ ppm, a singlet przy $\delta = 6,33$ ppm – z sygnałem $\delta = 138,6$ ppm. Przypisałam je zatem parami następująco do protonu H(20) i atomu węgla C(20) oraz do protonu H(11) i atomu węgla C(11). Pozostały sygnał węglowy, o wysokiej wartości częstości rezonansowej wynoszącej $\delta = 136,6$ ppm (charakterystycznej dla atomu węgla z wiązania nienasyconego), dodatkowo nie korelujący z żadnym protonem w widmie ^1H - ^{13}C HSQC, przypisałam do atomu węgla C(10). W celu sprawdzenia jak wygląda dalsza część struktury, przeanalizowałam korelacje pomiędzy sygnałem węglowym C(11), a sygnałami pochodzącymi od protonów. W widmie ^1H - ^{13}C HMBC (Rysunek 181) sygnał od atomu C(11) koreluje się z nowym sygnałem protonowym – singletem integrowanym na

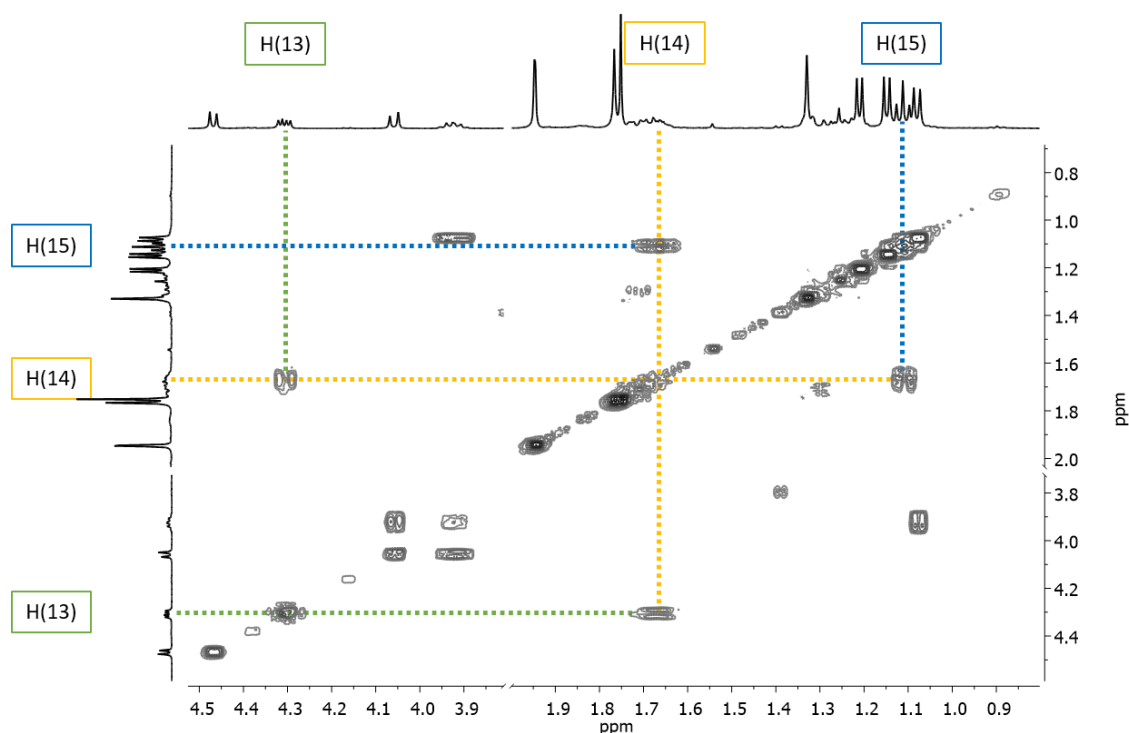


Rysunek 181. Fragment widma ¹H-¹³C HMBC produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-węgiel dalekiego zasięgu.

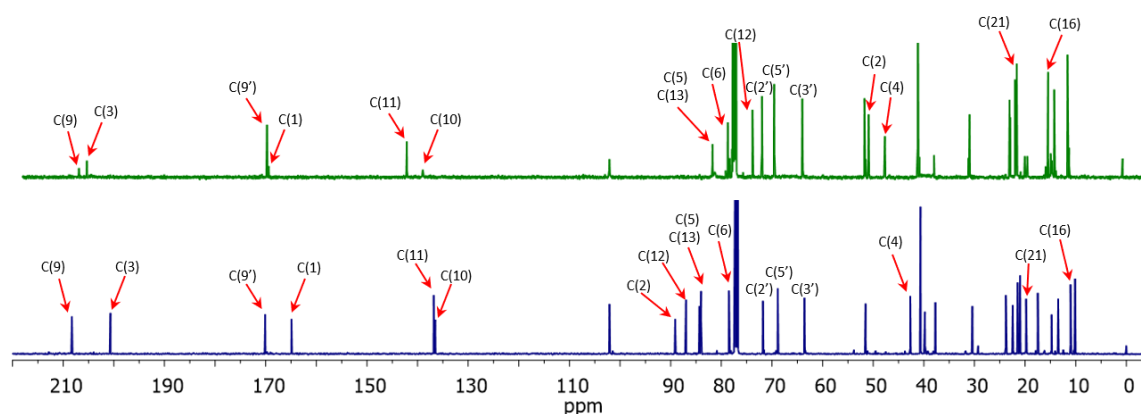


Rysunek 182. Fragment widma ¹H-¹³C HSQC produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-węgiel bliskiego zasięgu.

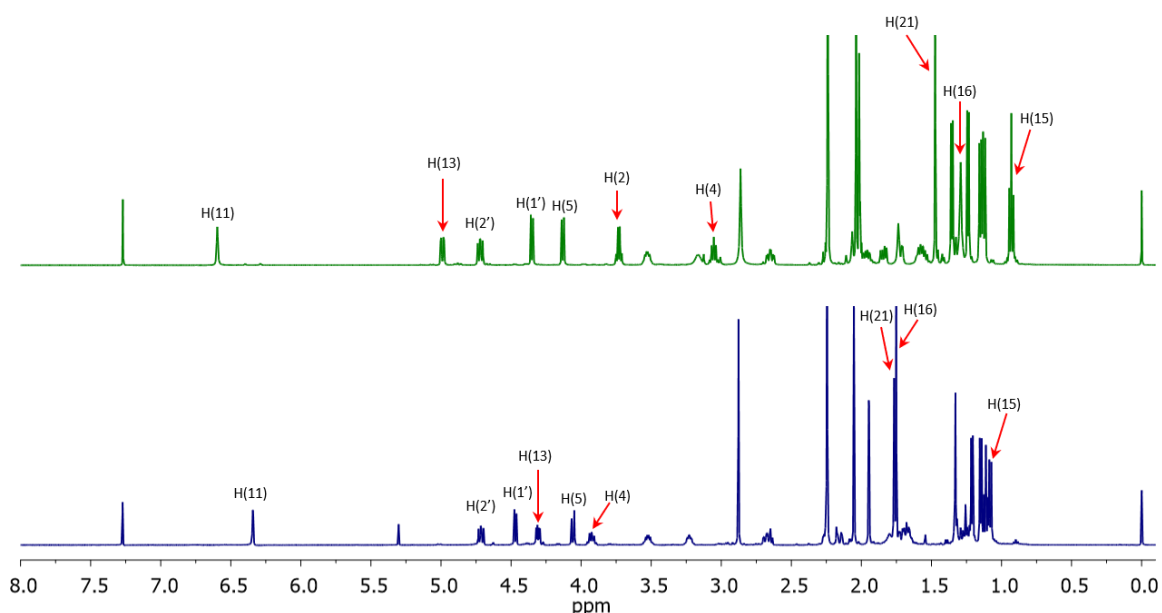
3H przy $\delta = 1,75$ ppm. Przypisałam go do protonu H(21), a korelujący z nim sygnał w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 182) przy $\delta = 19,9$ ppm do atomu węgla C(21). Proton H(21) sprzęgał się (Rysunek 181) z czwartorzędowym atomem węgla (w widmie ^1H - ^{13}C HSQC brak odpowiednich korelacji) o przesunięciu chemicznym $\delta = 87,1$ ppm, więc ten sygnał węglowy przypisałam do atomu C(12). Następnie sprawdziłam sprzężenia w dwuwymiarowym widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 183), pomiędzy protonem przypisanym wcześniej do H(13), a kolejnymi, nowymi protonami. W widmie tym, sygnał H(13) koreluje z multipletem przy $\delta = 1,68$ ppm i $\delta = 1,64$ ppm. W widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 182) zaobserwowałam, że sygnały te korelują z tym samym sygnałem węglowym przy $\delta = 23,9$ ppm, a więc pochodzą od grupy metylenowej i przypisałam je do atomów C(14)H₂. Korelujący z nimi w widmie ^1H - ^1H COSY (Rysunek 183) tryplet przy częstotliwości $\delta = 1,11$ ppm przypisałam zatem do protonu H(15), a sygnał przy $\delta = 10,3$ ppm w widmie węglowym do atomu węgla C(15), na podstawie korelacji widocznej w widmie ^1H - ^{13}C HSQC (Rysunek 181).



Rysunek 183. Fragment widma ^1H - ^1H COSY produktu **CLA-14** ukazujący korelacje proton-proton bliskiego zasięgu.



Rysunek 184. Zestawienie widm ^{13}C NMR związków **CLA-10** (zielone) i **CLA-14** (niebieskie) z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.



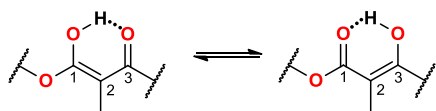
Rysunek 185. Zestawienie widm ^1H NMR związków **CLA-10** (zielone) i **CLA-14** (niebieskie) z zaznaczonymi kluczowymi sygnałami.

Po przypisaniu widocznych w widmach 1D NMR sygnałów do konkretnych protonów i atomów węgla (Rysunek 184 i 185), mogłam zaproponować strukturę otrzymanego związku **CLA-14**. W Tabelach 1 i 2 przedstawiłam różnice wartości przesunięć chemicznych dla poszczególnych atomów **CLA-10** i **CLA-14**. Najważniejsza różnica widoczna jest dla ugrupowania metinowego C(2)H, dla którego obserwowane są największe zmiany spektroskopowe. Po pierwsze, w widmie ^{13}C NMR **CLA-14** atom węgla C(2) jest silnie odślaniany, w porównaniu ze swoim odpowiednikiem w strukturze **CLA-10**. Zmiana wartości δ dla sygnału od tego atomu węgla wynosi aż 38 ppm, z wartości

51,3 ppm dla **CLA-10** do 89,3 ppm dla **CLA-14**. Po drugie, ten sygnał węglowy w widmie ^1H - ^{13}C HSQC nie korelował z żadnym protonem, a więc w widmie ^1H NMR nie ma sygnału od protonu H(2), czego dowodem jest multipletowość sygnału od protonów grupy metylowej przyłączonej do atomu węgla C(2), który jest singletem. Po trzecie, jak zostało zasygnalizowane we wstępnej analizie, zmianie uległy pozycje sygnałów od karbonylowych atomów węgla dla **CLA-14**, w porównaniu z **CLA-10**. Największe różnice zaobserwowałam dla atomów C(1) i C(3), które uległy znacznemu przesunięciu odpowiednio o 4,9 ppm i 3,8 ppm w kierunku niższych wartości przesunięcia chemicznego. Biorąc pod uwagę powyższe dane ustaliłam, że tak wysoka wartość przesunięcia chemicznego dla atomu węgla C(2) i brak protonu H(2) w strukturze **CLA-14**, możliwa jest tylko w przypadku uzyskania przez ten atom węgla hybrydyzacji sp^2 . Dodatkowo, analiza zmian w wartościach δ dla atomów węgla C(1) i C(3) ukazuje, że w przypadku pochodnej **CLA-14** mamy do czynienia z tautomerią keto-enolową w układzie 1,3. Co więcej, jest to wybitnie nietypowa sytuacja, w której otrzymałam dwie „zamrożone”, kanoniczne struktury tautomeryczne, dla których nie występowała ustalona równowaga, charakterystyczna jak w przypadku innych ketoestrów, zawierających w swojej strukturze ugrupowania w pozycji 1,3.²³⁹ Różnice w przesunięciach chemicznych w tym układzie dla **CLA-10** i **CLA-14** mogą wynikać z występowania w formie keto-enolowej struktur rezonansowych, które uśredniają pozycje sygnałów węglowych dla **CLA-14**. Jednakże, biorąc pod uwagę wartości przesunięć chemicznych atomów węgla C(1), C(2) i C(3) dla kanonicznych struktur rezonansowych (**Rysunek 186 A**), i porównując je z wartościami teoretycznymi (wyznaczonymi na podstawie obliczeń programu MestReNova), w tym konkretnym przypadku, w strukturze **CLA-14**, mamy do czynienia z dość nietypową sytuacją, w której w utworzeniu enolu udział bierze karbonylowa grupa estrowa (lakton), a nie ketonowa – tak jak ma to miejsce w przypadku np. acetylooctanu etylu.²⁴⁰ Analizując równowagi dla układu 1,3-dioksaketonowego w **CLA-14** sytuacja ta jest niestandardowa i musi wynikać z braku możliwości utworzenia wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego O(1)-H•••O(3) oraz być może z jakiejś formy stabilizacji powstałego enolu. Obserwacja ta zatem wskazuje, że w przypadku pochodnej **CLA-14** układ enolowy przyjmuje konfigurację *s-trans*, która uniemożliwia utworzenie bardzo silnego wiązania wodorowego w tego typu układach (**Rysunek 184 B**).

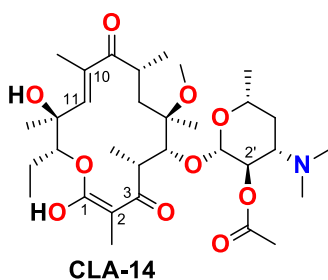
Układ modelowy (MestReNova)

A



$\delta = 163,4$ ppm	C(1)	$\delta = 169,1$ ppm
$\delta = 91,5$ ppm	C(2)	$\delta = 107,7$ ppm
$\delta = 200,4$ ppm	C(3)	$\delta = 177,9$ ppm

B

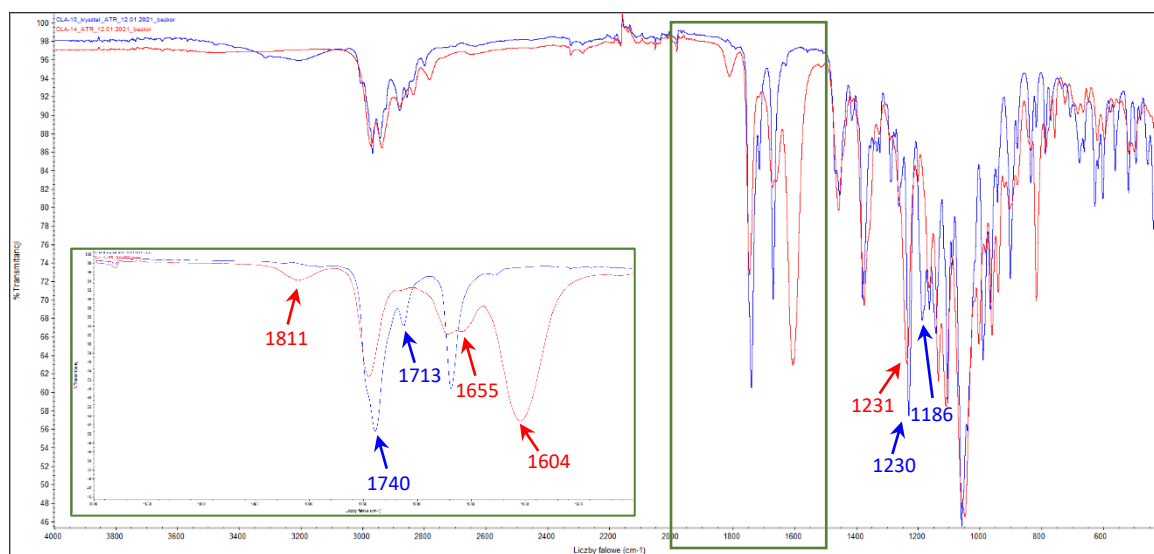


C(1)	$\delta = 165,0$ ppm
C(2)	$\delta = 89,3$ ppm
C(3)	$\delta = 200,8$ ppm

Rysunek 186. A - Kanoniczne keto-enolowe struktury rezonansowe związku **CLA-14** wraz z podanymi wartościami przesunięć chemicznych, wyznaczonymi na podstawie obliczeń programu MestReNova; **B** – wzór produktu **CLA-14** otrzymanego w wyniku reakcji **CLA-13** z alliloaminą w specjalnych warunkach, wraz z przypisanymi przesunięciami chemicznymi.

Obecność układu enolowego jest doskonale widoczna również w widmie FT-IR pochodnej **CLA-14**. Na **Rysunku 187** zestawiałam ze sobą widma pochodnych: **CLA-10** i **CLA-14**. Największe zmiany widoczne są w zakresie charakterystycznym dla drgań rozciągających grup karbonylowych. W widmie związku **CLA-14** pojawia się intensywne pasmo przy częstotliwości 1604 cm^{-1} , które pochodzi od drgań rozciągających grupy karbonylowej $\nu(\text{C}=\text{O})$ wchodzącej w skład sprzężonego układu enolowego. W przypadku widma związku **CLA-10**, pasmo drgań rozciągających $\nu(\text{C}=\text{O})$ od grupy karbonylowej $\text{C}(3)=\text{O}$ widoczne jest przy częstotliwości 1713 cm^{-1} . Przesunięcie tego pasma absorpcji w kierunku niższych częstotliwości, dla pochodnej **CLA-14**, spowodowane jest sprzężeniem grupy karbonylowej $\text{C}(3)=\text{O}$ z enolem i możliwymi strukturami rezonansowymi, w które mogą być zaangażowane atomy tlenu O(1) i O(13). Zanik pasma pochodzącego od drgań rozciągających laktonowego ugrupowania karbonylowego $\text{C}(1)=\text{O}$, które dla **CLA-10** widoczne jest przy 1740 cm^{-1} , jest dodatkowym dowodem występowania układu

enolowego w strukturze **CLA-14**. Obecność w widmie **CLA-14** pasma od drgań rozciągających $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{C}(1)=\text{C}(2)}$ przy 1655 cm^{-1} potwierdza zmianę formy tautomerycznej, do której doszło w wyniku reakcji alliloaminy z **CLA-13**. Nowopowstałe pasmo przy częstotliwości 1811 cm^{-1} związane jest ze strukturą enolową w układzie 1,3-ketolaktanu i jest wynikiem drgań kombinacyjnych, które mają miejsce dla całego układu enolowego sprzężonego z grupą karbonylową. Zmiany widoczne są również w rejonie charakterystycznym dla drgań grupowych, w które zaangażowane są wiązania pojedyncze C-O. W widmie **CLA-10** obecne są dwa charakterystyczne pasma od drgań tego typu przy 1230 cm^{-1} od podstawnika acetoksylogowego i przy 1186 cm^{-1} od ugrupowania laktonowego. Natomiast w widmie **CLA-14** odpowiednie pasmo od drgań grupowych podstawnika w pozycji C(2') nadal jest obecne, a brak jest z kolei pasma charakterystycznego dla grupy laktonowej, co potwierdza zmianę form tautomerycznej i fakt zaangażowania w utworzenie struktury enolowej grupy karbonylowej laktonu, a nie ketonowej $\text{C}(3)=\text{O}$.



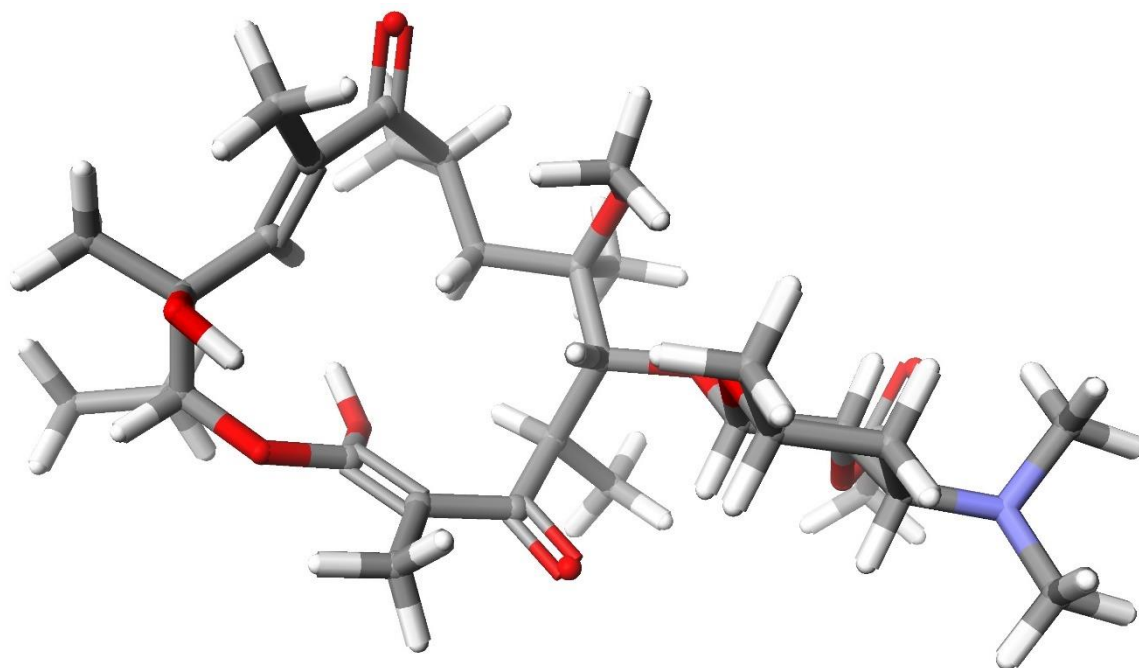
Rysunek 187. Zestawienie widm FT-IR związków **CLA-10** (widmo niebieskie) i **CLA-14** (widmo czerwone) w zakresie $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$ z ukazaniem dodatkowo rozszerzonym zakresem $2000 - 1500\text{ cm}^{-1}$ (zielona ramka), z zaznaczonymi wartościami omawianych pasm.

Obecność tautomeru keto-enolowego w układzie 1,3 powinna wpłynąć na zmianę właściwości fizykochemicznych całej cząsteczki, tj. spowodować zwiększenie polarności związku, a tym samym jego czas retencji powinien ulec skróceniu, lub nieznacznej zmianie. Wynik uzyskany z analizy HPLC sugeruje jednak, że doszło do drastycznej zmiany polarności **CLA-14** w stosunku do **CLA-10** w kierunku zwiększenia hydrofobowości, a zatem należało ustalić przyczynę takiej zmiany charakteru związku. Pojawienie się w strukturze **CLA-14** tautomeru keto-enolowego w układzie 1,3 powoduje powstanie dodatkowych naprężeń w pierścieniu makrocyklicznym. Można zatem założyć, że w wyniku zmian konformacyjnych, mających na celu uzyskanie najkorzystniejszej energetycznie struktury **CLA-14**, doszło do ekspozycji grupy „laktenolowej” w stronę otoczenia grup o charakterze hydrofobowym.

Aby ustalić konformację **CLA-14**, w pierwszej kolejności postanowiłam sprawdzić, w którym rejonie aglikonu doszło do największych zmian. Wykorzystałam w tym celu różnice wartości przesunięć chemicznych dla poszczególnych atomów **CLA-10** i **CLA-14** (Tabela 1 i 2). Z analizy danych zawartych w Tabeli 1 wynika, że dla atomu węgla C(12) zaszły bardzo duże zmiany, różnica w wartościach δ równa jest 13,3 ppm. Tak silny efekt odsłaniania atomu węgla C(12), biorąc pod uwagę, że nie doszło w tym fragmencie cząsteczki do żadnych zmian konstytucyjnych ani tautomerycznych, możliwy jest do zrealizowania tylko i wyłącznie poprzez zmianę ułożenia w przestrzeni atomu węgla C(12). Hydrofobowy charakter **CLA-14** wskazuje, że grupa hydroksylowa O(12)H lokuje się pomiędzy grupami hydrofobowymi aglikonu, uniemożliwiającymi jej oddziaływanie międzycząsteczkowe i jest ona izolowana. Z kolei nowopowstała grupa hydroksylowa w pozycji C(1) skierowana jest do wnętrza układu makrocyklicznego i również jest izolowana od czynników zewnętrznych.

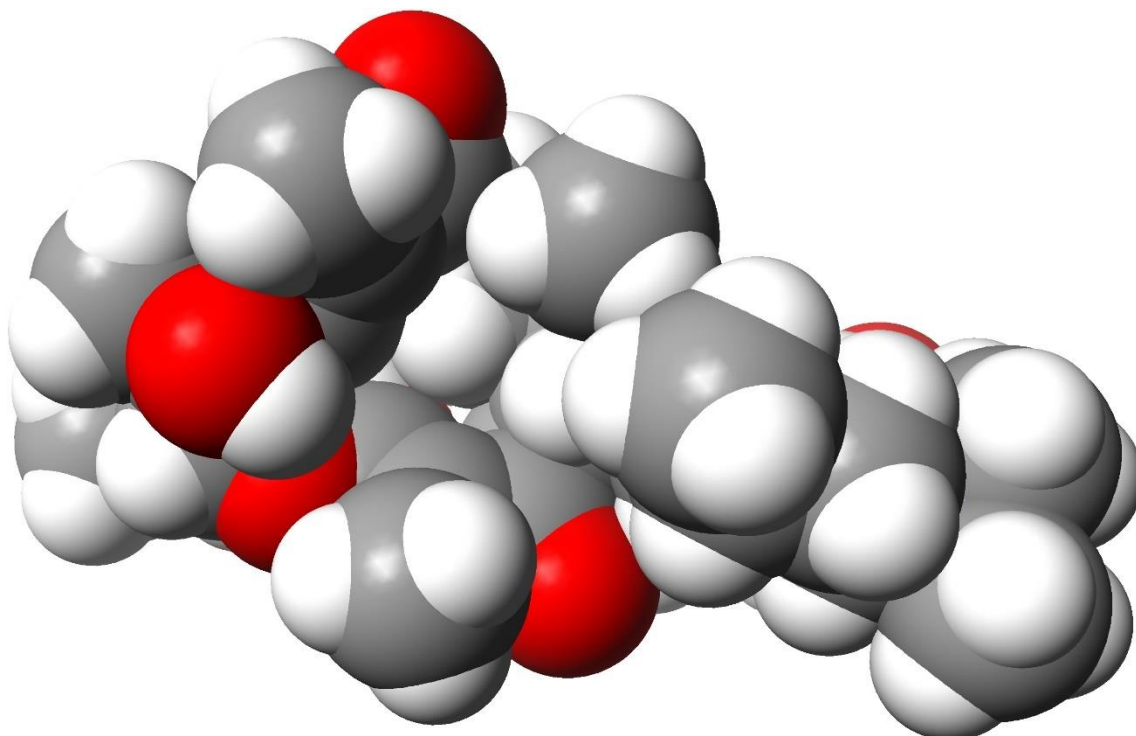
Obliczona struktura produktu **CLA-14** przedstawiona została na Rysunku 188. Układ enolowy sprzężony z ugrupowaniem ketonowym C(3)=O zaprezentowany jest zgodnie z obserwacjami poczynionymi z analizy spektroskopowej i przyjmuje konformację *s-trans* z grupą hydroksylową skierowaną w stronę środka aglikonu. Podobne obserwacje zauważyłam w przypadku grupy hydroksylowej O(12)H, która w porównaniu ze strukturą krystalograficzną związku **CLA-10**, ustawiona jest w kierunku pierścienia aglikonowego i stabilizuje się elektrostatycznie z atomem tlenu O(13) [odległość O(12)-O(13)= 2,77 Å; kąt O(12)-H...O(13) = 110,9°]. Pojawienie się sprzężonego układu enolowego

spowodowało również zmianę względnej orientacji grupy karbonylowej C(3)=O i α,β -nienasyconego ketonu C(9)=O. Drugi układ uległ „odbiciu” względem płaszczyzny pierścienia laktonowego i w strukturze **CLA-14** obie grupy karbonylowe ustawione są po tej samej stronie aglikonu. W widmie ^{13}C NMR pochodnej **CLA-14** pozycja sygnału pochodzącego od atomu węgla C(9) jest nieznacznie przesunięta w stronę wyższych wartości ppm (wzrosła o 1,1 ppm), a wartości przesunięcia chemicznego dla atomów węgla wiązania podwójnego są niższe, co szczególnie dotyczy atomu węgla C(11) (spadek o 5,2 ppm). Zmiany te wynikają z częściowego rozprężenia układu α,β -nienasyconego ketonu: kąt torsyjny O(9)=C(9)–C(10)=C(11) wynosi $152,4^\circ$. Oznacza to, że grupa karbonylowa jest odchylona od płaszczyzny wiązania podwójnego o ok. 28° . Brak idealnego nakładania się orbitali typu p w sprzężonym układzie nienasyconym powoduje „osłabienie” efektu rezonansowego, który jest odpowiedzialny za ekranowanie atomu węgla C(9) i „odstanie” atomów węgla wiązania podwójnego w porównaniu z analogicznymi atomami związku **CLA-10**, szczególnie atomu C(11). Podobną obserwację wskazującą częściowe rozprężenie grupy karbonylowej z wiązaniem C(10)=C(11), można wnioskować na podstawie pozycji pasma od drgań rozciągających grupy karbonylowej C(9)=O, które występuje przy częstotliwości nieco wyższej dla pochodnej **CLA-14**.



Rysunek 188. Przewidywana, najbardziej korzystna energetycznie struktura pochodnej **CLA-14** (-2058,46 a.u.) zwizualizowana na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT)^{126, 228}.

Zmiany właściwości lipofilowych **CLA-14** wynikają zatem ze sposobu relaksacji powstałych naprężeń po utworzeniu tautomeru keto-enolowego i uzyskaniu przez **CLA-14** takiej konformacji, która „eksponuje” hydrofobowe ugrupowania alkilowe na zewnątrz cząsteczki z jednoczesnym „chowaniem” grup hydrofilowych do wnętrza pierścienia aglikonowego, co było doskonale odzwierciedlone w obliczonej strukturze **CLA-14** (Rysunek 189).



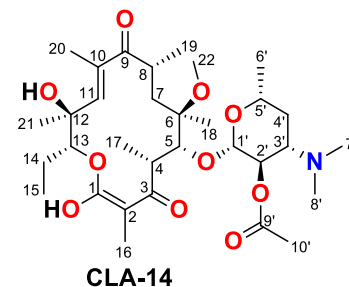
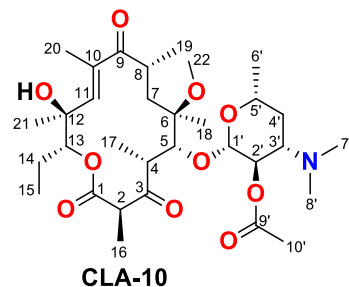
Rysunek 189. Model cząsteczkowy ustalonej struktury pochodnej **CLA-14**, zwizualizowany na podstawie teoretycznych obliczeń metodą DFT (B88 LYP/GGA/DFT)^{126, 228}

Tabela 1. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] dla pochodnych **CLA-10** i **CLA-14** wraz z obliczoną różnicą (Δ) pomiędzy nimi.

	C(1)	C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	C(7)	C(8)	C(9)	C(10)	C(11)	C(12)	C(13)	C(14)	C(15)	C(16)	C(17)	C(18)	C(19)	C(20)	C(21)	C(22)
CLA-10	169,9	51,3	204,6	47,3	81,1	78,5	40,3	38,6	207,2	139,0	142,1	73,8	81,5	22,6	11,1	14,9	14,1	21,1	19,1	13,7	22,1	50,5
CLA-14	165,0	89,3	200,8	42,5	84,5	78,6	39,9	37,9	208,4	136,6	136,9	87,1	84,1	23,9	10,3	11,2	14,9	22,6	17,6	13,6	19,9	51,6
Δ	-4,9	38	-3,8	-4,8	3,4	0,1	-0,4	-0,7	1,2	-2,4	-5,2	13,3	2,6	1,3	-0,8	-3,7	0,8	1,5	-1,5	-0,1	-2,2	1,1

Tabela 2. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] dla pochodnych **CLA-10** i **CLA-14** wraz z obliczoną różnicą (Δ) pomiędzy nimi.

	H(2)	H(4)	H(5)	H(7a)	H(7b)	H(8)	H(11)	H(13)	H(14a)	H(14b)	H(15)	H(16)	H(17)	H(18)	H(19)	H(20)	H(21)	H(22)
CLA-10	3,72	3,04	4,12	1,82	1,51	3,15	6,59	4,98	1,95	1,55	0,92	1,34	1,11	1,28	1,14	2,01	1,46	2,85
CLA-14	-	3,91	4,04	2,14	1,24	3,22	6,33	4,29	1,68	1,64	1,11	1,74	1,07	1,32	1,13	1,93	1,75	2,86
Δ	Brak sygnału!	0,87	-0,08	0,32	-0,27	0,07	-0,26	-0,69	-0,27	0,09	0,19	0,4	-0,04	0,04	-0,01	-0,08	0,29	0,01



5. Tabele przesunięć chemicznych

Tabela 3. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla **AZM** i **AZM-OH** oraz pochodnych **AZM-1** – **AZM-9** w CDCl_3 .

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	2,80 (m, 1H)	2,64 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,3$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,64 (m, 1H)	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,6$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,6$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,9$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,6$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,9$	2,63 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,63 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,9$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,6$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$
3	4,27 (m, 1H)	3,76 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,3$	3,36 (m, 1H)	3,64 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,6$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=11,4$	3,65 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=8,8$	3,65 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=9,6$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,9$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,3$	3,65 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,4$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=8,4$
4	1,98 (m, 1H)	2,28 (m, 1H)	2,27 (m, 1H)	2,23 (m, 1H)	2,27 (m, 1H)	2,24 (m, 1H)	2,24 (m, 1H)	2,24 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,24 (m, 1H)
5	3,65 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,7$	3,56 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,2$	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,8$	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,5$	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,6$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,2$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,7$	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,4$	3,60 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,5$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,2$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,6$
6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7	1,80 (d, 1H) $^2J=14,6$	1,59 (d, 1H) $^2J=14,2$ 1,45 (d, 1H) $^2J=14,1$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=5,4$	1,55 (d, 1H) $^2J=14,5$	1,56 (d, 1H) $^2J=13,9$	1,62 (m, 1H)	1,56 (d, 1H) $^2J=14,1$	1,55 (d, 1H) $^2J=14,2$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,3$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,6$	1,55 (d, 1H) $^2J=14,1$	1,55 (d, 1H) $^2J=14,9$
	1,27 (m, 1H)	1,25 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,25 (m, 1H)	1,25 (m, 1H)	1,25 (m, 1H)	1,27 (m, 1H)	1,26 (m, 1H)	1,26 (m, 1H)	1,25 (m, 1H)	1,26 (m, 1H)
8	1,96 (m, 1H)	1,87 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
9	2,46 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{H9-H8}=2,2$	2,51 (m, 1H)	2,51 (m, 1H)	2,49 (dd, 1H) $^2J=12,3$ $^3J_{H9-H8}=3,0$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{H9-H8}=2,9$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{H9-H8}=2,9$	2,49 (dd, 1H) $^2J=12,3$ $^3J_{H9-H8}=2,9$	2,51 (dd, 1H) $^2J=12,1$ $^3J_{H9-H8}=2,8$	2,51 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{H9-H8}=2,8$	2,49 (dd, 1H) $^2J=12,0$ $^3J_{H9-H8}=2,5$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{H9-H8}=3,0$
	2,04 (t, 1H) $^2J=11,7$	2,04 (t, 1H) $^2J=11,5$	2,03 (t, 1H) $^2J=11,9$	2,04 (t, 1H) $^2J=11,9$	2,06 (t, 1H) $^2J=12,4$	2,05 (t, 1H) $^2J=11,6$	2,06 (t, 1H) $^2J=11,8$	2,06 (t, 1H) $^2J=11,8$	2,07 (t, 1H) $^2J=11,8$	2,05 (t, 1H) $^2J=11,7$	2,06 (t, 1H) $^2J=11,9$
10	2,68 (dq, 1H) $^3J_{H10-H21}=6,9$ $^3J_{H10-H11}=1,8$	2,73 (dq, 1H) $^3J_{H10-H21}=6,8$ $^3J_{H10-H11}=1,5$	2,71 (dq, 1H) $^3J_{H10-H21}=7,0$ $^3J_{H10-H11}=1,9$	2,72 (m, 1H)	2,72 (d, 1H) $^3J_{H10-H21}=6,5$	2,73 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)
11	3,66 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,62 (m, 1H)	3,62 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,62 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,61 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
13	4,65 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-H14a}=2,7$	4,70 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,9$ $^3J_{H13-H14a}=1,7$	4,67 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,9$ $^3J_{H13-H14a}=1,4$	4,70 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,8$ $^3J_{H13-H14a}=1,2$	4,68 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,6$ $^3J_{H13-H14a}=1,1$	4,70 (d, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,4$	4,68 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,8$ $^3J_{H13-H14a}=1,4$	4,70 (d, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,6$	4,69 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,6$ $^3J_{H13-H14a}=1,6$	4,68 (d, 1H) $^3J_{H13-H14b}=9,9$	4,69 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,8$ $^3J_{H13-H14a}=1,4$
14	1,86 (ddq, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,1$	1,87 (m, 1H) 1,52 (ddq, 1H) $^2J=14,1$ $^3J_{H14a-H13}=10,5$ $^3J_{H14a-H15}=7,0$	1,88 (ddq, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=1,8$	1,89 (m, 1H)	1,87 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	1,87 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (ddq, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H14a-H15}=7,4$ $^3J_{H14a-H13}=1,7$	1,89 (m, 1H)	1,90 (ddq, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14a-H15}=7,6$ $^3J_{H14a-H13}=1,9$
	1,53 (ddq, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{H14a-H13}=10,0$ $^3J_{H14a-H15}=7,2$	1,51 (m, 1H)	1,52 (m, 1H)	1,52 (m, 1H)	1,53 (m, 1H)	1,52 (m, 1H)	1,54 (m, 1H)	1,52 (m, 1H)	1,52 (m, 1H)	1,51 (m, 1H)	1,53 (m, 1H)

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
15	0,88 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,87 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,87 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,88 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,88 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,88 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,89 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,88 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,5$ $^3J_{H15-H14b}=7,5$	0,89 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,87 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,89 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$
16	1,19 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,7$	1,28 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,7$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,78$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,26 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,25 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,27 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$
17	1,04 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	1,04 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	0,88 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	0,71 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	0,77 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	0,74 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	0,78 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	0,80 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	0,81 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	0,79 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,4$	0,78 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$
18	1,31 (s, 3H)	1,30 (s, 3H)	1,22 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,22 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)
19	0,89 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,90 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,90 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$	0,91 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$	0,91 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,90 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,91 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$
20	2,31 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,35 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,37 (s, 3H)	2,37 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,37 (s, 3H)	2,35 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)
21	1,07 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,8$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=7,0$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,8$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,8$	1,12 (d, 3H) $^3J_{H21-H10}=6,9$
22	1,05 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	1,04 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)
1'	4,43 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,3$	4,46 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,4$	4,74 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,7$	4,75 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,75 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,75 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,74 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,74 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$
2'	3,22 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,2$ $^3J_{H2'-H1'}=7,3$	3,26 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=9,9$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,3$ $^3J_{H2'-H1'}=7,7$	4,54 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,55 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,55 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,54 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,4$ $^3J_{H2'-H1'}=7,7$	4,54 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,5$ $^3J_{H2'-H1'}=7,6$

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
3'	2,43 (ddd, 1H) $^3J_{H3'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H3'-H2'}=10,3$ $^3J_{H3'-H4a'}=4,0$	2,53 (m, 1H)	2,75 (ddd, 1H) $^3J_{H3'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H3'-H2'}=10,7$ $^3J_{H3'-H4a'}=4,4$	2,75 (m, 1H)	2,76 (m, 1H)	2,76 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	2,70 (m 1H)	2,71 (ddd, 1H) $^3J_{H3'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H3'-H2'}=10,7$ $^3J_{H3'-H4a'}=4,5$	2,71 (dd, 1H) $^3J_{H3'-H2'}=10,5$ $^3J_{H3'-H4a'}=4,2$	2,71 (m, 1H)
4'	1,64 (ddd, 1H) $^2J=12,6$ $^3J_{H4a'-H3'}=3,8$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,8$ 1,22 (m, 1H)	1,66 (ddd, 1H) $^2J=12,7$ $^3J_{H4a'-H3'}=3,9$ $^3J_{H4a'-H5'}=2,0$ 1,27 (m, 1H)	1,73 (ddd, 1H) $^2J=12,8$ $^3J_{H4a'-H3'}=4,3$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,7$ 1,34 (d, 1H) $^2J=12,7$	1,77 (m, 1H) 1,35 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,35 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,35 (m, 1H)	1,70 (ddd, 1H) $^2J=12,5$ $^3J_{H4a'-H3'}=4,0$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,5$ 1,35 (d, 1H) $^2J=12,4$	1,71 (m, 1H) 1,35 (d, 1H) $^2J=12,5$	1,72 (ddd, 1H) $^2J=12,6$ $^3J_{H4a'-H3'}=4,0$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,3$ 1,34 (d, 1H) $^2J=12,4$	1,70 (ddd, 1H) $^2J=12,7$ $^3J_{H4a'-H3'}=4,3$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,4$ 1,35 (d, 1H) $^2J=12,5$	1,71 (ddd, 1H) $^2J=12,7$ $^3J_{H4a'-H3'}=4,1$ $^3J_{H4a'-H5'}=1,6$ 1,32 (m, 1H)
5'	3,49 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,0$ $^3J_{H5'-H6'}=6,0$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,8$	3,53 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,0$ $^3J_{H5'-H6'}=6,2$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,8$	3,51 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,2$ $^3J_{H5'-H6'}=5,9$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,5$	3,51 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,4$ $^3J_{H5'-H6'}=6,3$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,8$	3,51 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H5'-H6'}=6,1$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,6$	3,51 (m, 1H)	3,49 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H5'-H6'}=6,1$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,8$	3,49 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,0$ $^3J_{H5'-H6'}=6,3$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,6$	3,49 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,1$ $^3J_{H5'-H6'}=6,1$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,49 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,0$ $^3J_{H5'-H6'}=6,2$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,50 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ $^3J_{H5'-H6'}=6,0$ $^3J_{H5'-H4a'}=1,8$
6'	1,21 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,24 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,23 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,23 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,3$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,21 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$
7'	2,27 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)	2,16 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)
8'	2,27 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)	2,16 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)	2,17 (s, 3H)
9'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
10'	---	---	4,75 (dd, 1H) ${}^2J=15,5$ ${}^4J_{H10a'-H12'}=2,5$	5,28 (d, 1H) ${}^2J=12,6$	5,31 (d, 1H) ${}^2J=12,7$	5,29 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,29 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,32 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,33 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,32 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,30 (d, 1H) ${}^2J=12,8$
			4,68 (dd, 1H) ${}^2J=15,6$ ${}^4J_{H10b'-H12'}=2,5$	5,26 (d, 1H) ${}^2J=12,7$	5,24 (d, 1H) ${}^2J=12,7$	5,25 (d, 1H) ${}^2J=12,7$	5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,9$	5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$
11'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
12'	---	---	2,46 (t, 1H) ${}^4J_{H12'-H10a'}=2,5$ ${}^4J_{H12'-H10b'}=2,5$	7,64 (s, 1H)	7,59 (s, 1H)	7,63 (s, 1H)	7,54 (s, 1H)	7,61 (s, 1H)	7,64 (s, 1H)	7,65 (s, 1H)	7,56 (s, 1H)
13'	---	---	---	4,43 (tt, 1H) ${}^3J_{H13'-H14b'}=11,7$ ${}^3J_{H13'-H18b'}=11,7$ ${}^3J_{H13'-H18a'}=3,8$ ${}^3J_{H13'-H18a'}=3,8$	4,17 (d, 1H) ${}^2J=2,8$	4,65 (m, 1H)	5,54 (d, 1H) ${}^2J=14,8$	5,62 (d, 1H) ${}^2J=15,3$	5,61 (d, 1H) ${}^2J=15,3$	5,66 (d, 1H) ${}^2J=15,5$	5,52 (d, 1H) ${}^2J=14,9$
				4,15 (d, 1H) ${}^2J=2,6$	4,15 (d, 1H) ${}^2J=2,6$		5,48 (d, 1H) ${}^2J=14,8$	5,56 (d, 1H) ${}^2J=15,2$	5,57 (d, 1H) ${}^2J=15,5$	5,61 (d, 1H) ${}^2J=15,6$	5,46 (d, 1H) ${}^2J=14,9$
14'	---	---	---	2,19 (m, 1H)	1,94 (m, 1H)	2,17 (m, 1H)	---	---	---	---	---
				1,72 (m, 1H)		1,96 (m, 1H)					

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
15'	---	---	---	1,93 (m, 1H) 1,47 (m, 1H)	1,50 (m, 1H) 0,99 (m, 1H)	1,83 (m, 1H) 1,59 (m, 1H)	7,26 (m, 1H)	7,37 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H16'}=8,0$	7,34 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H16'}=8,1$	7,40 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H16'}=8,8$	7,25 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H16'}=8,6$
16'	---	---	---	1,78 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,24 (m, 1H)	1,71 (m, 1H) 1,64 (m, 1H)	7,37 (m, 1H)	7,64 (d, 1H) ${}^3J_{H16'-H15'}=8,1$	7,68 (d, 1H) ${}^3J_{H16'-H15'}=8,3$	8,23 (d, 1H) ${}^3J_{H16'-H15'}=8,8$	7,07 (d, 1H) ${}^3J_{H16'-H15'}=8,6$
17'	---	---	---	1,93 (m, 1H) 1,47 (m, 1H)	1,60 (m, 2H)	1,71 (m, 1H) 1,64 (m, 1H)	7,36 (m, 1H)	---	---	---	---
18'	---	---	---	2,19 (m, 1H) 1,72 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,24 (m, 1H)	1,83 (m, 1H) 1,59 (m, 1H)	7,37 (m, 1H)	7,64 (d, 1H) ${}^3J_{H18'-H19'}=8,1$	7,68 (d, 1H) ${}^3J_{H18'-H19'}=8,3$	7,40 (d, 1H) ${}^3J_{H18'-H19'}=8,8$	7,07 (d, 1H) ${}^3J_{H18'-H19'}=8,6$
19'	---	---	---	---	1,50 (m, 1H) 0,99 (m, 1H)	2,17 (m, 1H) 1,96 (m, 1H)	7,26 (m, 1H)	7,37 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,0$	7,34 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,1$	8,23 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,8$	7,25 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,6$
20'	---	---	---	---	---	---	---	2,25 (s, 3H)	---	---	---
1"	5,01 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H''}=4,6$	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

H	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
2"	2,33 (d, 1H) ${}^2J=15,3$ 1,56 (dd, 1H) ${}^2J=15,1$ ${}^3J_{H2"-H1"}=4,9$	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3"	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4"	3,01 (t, 1H) ${}^3J_{H4"-H5"}=9,8$ ${}^3J_{H4"-OH}=9,8$	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
5"	4,06 (dq, 1H) ${}^3J_{H5"-H4"}=12,3$ ${}^3J_{H5"-H6"}=6,2$	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
6"	1,30 (d, 3H) ${}^3J_{H6"-H5"}=6,6$	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7"	1,22 (s, 3H)	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
8"	3,31 (s, 3H)	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
O(3)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
O(6)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
O(11)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
O(12)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
O(2')H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

* - wymienne ze śladami wody obecnymi w układzie

Tabela 4. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla **AZM** i **AZM-OH** oraz pochodnych **AZM-1** – **AZM-9** w CDCl_3 .

C	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
1	178,6	177,8	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	177,5	177,6	177,6
2	45,1	44,7	44,2	44,2	44,2	44,2	44,2	44,1	44,0	44,2	44,1
3	78,8	79,6	78,8	78,9	78,9	79,0	78,9	78,8	78,6	78,8	78,8
4	41,4	36,1	35,9	35,8	35,9	35,9	35,9	35,9	35,9	35,9	35,9
5	84,1	95,2	87,2	88,1	87,9	88,2	87,9	87,8	87,4	87,7	87,8
6	73,7	73,2	73,2	73,2	73,2	73,2	73,2	73,2	73,1	73,2	73,2
7	42,6	42,1	42,6	41,7	41,7	41,7	41,7	41,6	41,5	41,7	41,7
8	26,9	26,7	26,5	26,4	26,5	26,4	26,5	26,4	26,3	26,5	26,4
9	70,2	71,1	71,2	71,2	71,2	71,3	71,2	71,2	71,0	71,2	71,2
10	62,1	62,6	62,6	62,7	62,7	62,7	62,6	62,6	62,5	62,7	62,6
11	74,7	75,9	75,6	75,9	76,1	76,0	76,1	76,2	76,0	76,0	76,0
12	74,5	74,4	74,4	74,4	74,4	74,4	74,4	74,4	74,3	74,4	74,4
13	77,7	77,5	77,9	77,7	77,9	77,8	77,9	77,8	77,8	77,9	77,8
14	21,3	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	20,9	21,0	21,0
15	11,4	11,0	11,1	11,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,0	11,1	11,1
16	15,4	16,2	16,3	16,2	16,3	16,3	16,3	16,3	16,2	16,3	16,3
17	9,4	8,0	7,4	7,1	7,2	7,2	7,2	7,3	7,2	7,3	7,3
18	27,5	25,9	26,2	26,2	26,2	26,2	26,1	26,2	26,1	26,3	26,2
19	22,1	21,3	21,5	21,4	21,5	21,5	21,5	21,5	21,4	21,5	21,5
20	36,6	37,3	37,0	36,9	37,0	37,0	37,0	37,0	36,9	37,0	37,0
21	7,8	7,8	7,7	7,7	7,8	7,7	7,7	7,7	7,6	7,7	7,8
22	16,3	16,1	16,1	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,1	16,2	16,2
1'	103,1	107,0	100,1	100,5	100,5	100,6	100,4	100,3	100,1	100,3	100,3
2'	71,3	70,7	76,2	76,2	76,3	76,2	76,3	76,2	76,2	76,3	76,2
3'	65,8	65,8	63,3	63,4	63,5	63,5	63,5	63,4	63,3	63,4	63,4
4'	29,0	28,1	30,9	30,6	30,7	30,6	30,7	30,6	30,3	30,4	30,5
5'	68,8	70,1	69,0	68,9	69,0	69,0	69,0	69,0	68,8	69,0	69,0

C	AZM	AZM-OH	AZM-1	AZM-2	AZM-3	AZM-4	AZM-5	AZM-6	AZM-7	AZM-8	AZM-9
6'	21,7	21,3	21,2	21,1	21,2	21,2	21,1	21,1	21,0	21,2	21,1
7'	40,5	40,4	40,8	40,8	40,8	40,8	40,7	40,7	40,6	40,8	40,7
8'	40,5	40,4	40,8	40,8	40,8	40,8	40,7	40,7	40,6	40,8	40,7
9'	---	---	154,1	154,6	154,6	154,6	154,3	154,5	154,4	154,5	154,5
10'	---	---	55,2	61,2	61,2	61,2	61,1	61,1	60,9	61,0	61,1
11'	---	---	77,4	142,2	142,6	142,4	143,3	143,1	143,6	143,8	143,4
12'	---	---	76,6	121,5	124,1	121,5	123,5	123,4	123,8	123,9	123,4
13'	---	---	---	60,2	56,7	62,7	54,4	54,2	53,4	53,3	53,6
14'	---	---	---	33,7	38,9	35,8	134,5	131,4	139,6	141,5	130,4 (d) ⁴ J=3,3
15'	---	---	---	25,2	30,6	24,4	128,2	128,3	128,4	128,7	130,1 (d) ³ J=8,4
16'	---	---	---	25,2	25,6	27,9	129,3	129,9	132,9	124,5	116,3 (d) ² J=21,8
17'	---	---	---	25,2	26,2	27,9	129,0	139,0	113,0	148,2	163,0 (d) ¹ J=248,6
18'	---	---	---	33,6	25,6	24,4	129,3	129,9	132,9	124,5	116,3 (d) ² J=21,8
19'	---	---	---	---	30,6	35,8	128,2	128,3	128,4	128,7	130,1 (d) ³ J=8,4
20'	---	---	---	---	---	---	---	21,3	118,0	---	---
1"	95,3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2"	35,1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3"	73,0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4"	78,3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
5"	65,6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
6"	18,5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7"	21,5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
8"	49,5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Tabela 5. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **AZM-10 – AZM-19** w CDCl_3 .

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	2,61 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,62 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,63 (m, 1H)	2,63 (m, 1H)	2,64 (m, 1H)	2,65 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,5$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,9$	2,63 (m, 1H)	2,66 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,4$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,9$	2,66 (dq, 1H) $^3J_{\text{H2-H3}}=10,4$ $^3J_{\text{H2-H16}}=6,8$	2,62 (m, 1H)
3	3,64 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,6$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=8,7$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=7,1$	3,66 (m, 1H)	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,5$	3,67 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,7$	3,67 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,5$	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=10,7$	3,65 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)
4	2,23 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,26 (m, 1H)	2,27 (m, 1H)	2,27 (m, 1H)	2,27 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	2,24 (m, 1H)
5	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,4$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,7$	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,6$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,0$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,4$	3,61 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,6$	3,60 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,7$	3,60 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=1,6$	3,62 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)
6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7	1,55 (d, 1H) $^2J=14,1$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,4$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,4$	1,56 (d, 1H) $^2J=13,9$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,4$	1,59 (d, 1H) $^2J=14,2$	1,57 (d, 1H) $^2J=14,0$	1,59 (d, 1H) $^2J=14,2$	1,59 (d, 1H) $^2J=14,3$	1,59 (d, 1H) $^2J=13,8$
	1,27 (m, 1H)	1,26 (m, 1H)	1,26 (m, 1H)	1,28 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)
8	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,88 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)
9	2,48 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,8$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,9$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,9$	2,50 (m, 1H)	2,48 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=3,0$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,3$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,9$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,8$	2,50 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H9-H8}}=2,9$	2,49 (d, 1H) $^2J=10,9$	2,50 (m, 1H)
	2,05 (t, 1H) $^2J=11,9$	2,06 (t, 1H) $^2J=11,8$	2,06 (t, 1H) $^2J=11,8$	2,07 (m, 1H)	2,06 (m, 1H)	2,09 (t, 1H) $^2J=12,4$	2,07 (m, 1H)	2,09 (t, 1H) $^2J=12,2$	2,09 (m, 1H)	2,06 (t, 1H) $^2J=11,8$
10	2,72 (m, 1H)	2,73 (m, 1H)	2,73 (m, 1H)	2,76 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)	2,76 (m, 1H)	2,74 (m, 1H)
11	3,61 (m, 1H)	3,63 (d, 1H)	3,63 (d, 1H)	3,62 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,66 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
		³ J _{H11-H10} =5,7	³ J _{H11-H10} =5,7							
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
13	4,68 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,7 ³ J _{H13-H14a} =1,1	4,69 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,7 ³ J _{H13-H14a} =1,3	4,69 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,7 ³ J _{H13-H14a} =1,3	4,67 (d, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,0	4,67 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,8 ³ J _{H13-H14a} =1,4	4,71 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,8 ³ J _{H13-H14a} =1,3	4,70 (m, 1H)	4,71 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,8 ³ J _{H13-H14a} =1,3	4,72 (d, 1H) ³ J _{H13-H14b} =9,8	4,70 (d, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,7
14	1,88 (ddq, 1H) ² J=14,8 ³ J _{H14a-H15} =7,4 ³ J _{H14a-H13} =1,7 1,50 (m, 1H)	1,90 (m, 1H) 1,53 (m, 1H)	1,90 (m, 1H) 1,53 (m, 1H)	1,88 (m, 1H) 1,51 (m, 1H)	1,90 (m, 1H) 1,51 (m, 1H)	1,92 (m, 1H) 1,53 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,9 ³ J _{H14b-H15} =7,1	1,98 (m, 1H) 1,51 (m, 1H)	1,92 (m, 1H) 1,54 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,9 ³ J _{H14b-H15} =7,1	1,89 (m, 1H) 1,54 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,9 ³ J _{H14b-H15} =7,1	1,88 (m, 1H) 1,54 (m, 1H)
15	0,87 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,89 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,89 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,86 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,3 ³ J _{H15-H14b} =7,3	0,87 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,3 ³ J _{H15-H14b} =7,3	0,87 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,5 ³ J _{H15-H14b} =7,5	0,87 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,86 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,5 ³ J _{H15-H14b} =7,5	0,84 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,85 (t, 3H) ³ J _{H15-H14a} =7,4 ³ J _{H15-H14b} =7,4
16	1,25 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,27 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,27 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,26 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,9	1,26 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,27 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,26 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,26 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,23 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,26 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8
17	0,78 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,4	0,78 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,78 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,78 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,81 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,87 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,6	0,84 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,86 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,6	0,78 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,5	0,84 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =6,8
18	1,22 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,24 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)
19	0,90 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,91 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,8	0,91 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,8	0,91 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,9	0,91 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,93 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,92 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,93 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,93 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,0	0,91 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,9
20	2,35 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,35 (s, 3H)	2,37 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,37 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)	2,36 (s, 3H)
21	1,10 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,11 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,11 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,9	1,12 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,6	1,11 (d, 3H) ³ J _{H21-H10} =6,7
22	1,05 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	1,07 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	1,07 (s, 3H)	1,07 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
1'	4,73 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,74 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,73 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,76 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,76 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,76 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,76 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,77 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,5$
2'	4,53 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,54 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,54 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,55 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,57 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,7$	4,56 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,56 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,7$	4,56 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,60 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,4$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$
3'	2,69 (m 1H)	2,73 (m, 1H)	2,73 (m, 1H)	2,72 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	2,71 (m, 1H)	2,72 (m, 1H)	2,71 (m, 1H)	2,71 (m, 1H)	2,72 (m, 1H)
4'	1,69 (ddd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,4$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,7$ 1,35 (m, 1H)	1,71 (ddd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,3$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,6$ 1,34 (m, 1H)	1,71 (ddd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,3$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,6$ 1,34 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,34 (m, 1H)	1,71 (ddd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,9$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,7$ 1,34 (m, 1H)	1,72 (ddd, 1H) ${}^2J=12,5$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,2$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,6$ 1,35 (m, 1H)	1,72 (ddd, 1H) ${}^2J=12,8$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,3$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,7$ 1,34 (m, 1H)	1,72 (ddd, 1H) ${}^2J=12,6$ ${}^3J_{H4a'-H3'}=4,2$ ${}^3J_{H4a'-H5'}=1,7$ 1,35 (m, 1H)	1,67 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,74 (m, 1H) 1,35 (m, 1H)
5'	3,48 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,2$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,0$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,8$	3,49 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,1$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,49 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,1$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,50 (m, 1H)	3,49 (m, 1H)	3,49 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,1$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,6$	3,49 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,0$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,1$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=2,2$	3,49 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,1$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,47 (ddq, 1H) ${}^3J_{H5'-H4b'}=12,3$ ${}^3J_{H5'-H6'}=6,2$ ${}^3J_{H5'-H4a'}=1,7$	3,52 (m, 1H)
6'	1,21 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,3$	1,22 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,18 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,0$
7'	2,14 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,20 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)
8'	2,14 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,18 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,20 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)
9'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
10'	5,31 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,19 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,30 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,30 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,20 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,29 (d, 1H) ${}^2J=12,7$ 5,22 (d, 1H) ${}^2J=12,6$	5,37 (d, 1H) ${}^2J=13,6$ 5,19 (d, 1H) ${}^2J=12,8$	5,38 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,16 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	5,37 (d, 1H) ${}^2J=13,1$ 5,20 (d, 1H) ${}^2J=13,0$	5,38 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,16 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	5,31 (d, 1H) ${}^2J=12,6$ 5,13 (d, 1H) ${}^2J=12,6$	5,30 (d, 1H) ${}^2J=12,8$ 5,19 (d, 1H) ${}^2J=12,8$

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
11'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
12'	7,59 (s, 1H)	7,56 (s, 1H)	7,56 (s, 1H)	7,82 (s, 1H)	7,84 (s, 1H)	7,95 (s, 1H)	7,99 (s, 1H)	7,95 (s, 1H)	7,90 (s, 1H)	7,81 (s, 1H)
13'	5,61 (d, 1H) ² J=15,3 5,55 (d, 1H) ² J=15,2	5,51 (d, 1H) ² J=15,0 5,46 (d, 1H) ² J=14,9	5,51 (d, 1H) ² J=15,0 5,46 (d, 1H) ² J=14,9	3,76 (m, 2H)	5,77 (d, 1H) ³ J _{H13'-H14'} =8,8	5,87 (d, 1H) ³ J _{H13'-H14'} =9,3	---	6,17 (d, 1H) ³ J _{H13'-H14'} =10,0	5,94 (d, 1H) ³ J _{H13'-H14'} =9,8	6,17 (t, 1H) ³ J _{H13'-H14a'} =6,5 ³ J _{H13'-H14b'} =6,5
14'	---	---	---	2,33 (m, 2H)	5,37 (t, 1H) ³ J _{H14'-H13'} =8,7 ³ J _{H14'-H15'} =8,7	5,52 (dd, 1H) ³ J _{H14'-H15'} =10,2 ³ J _{H14'-H13'} =9,4	5,75 (d, 1H) ³ J _{H14'-H15'} =10,7	5,38 (dd, 1H) ³ J _{H14'-H15'} =10,2 ³ J _{H14'-H13'} =9,4	4,27 (dd, 1H) ³ J _{H14'-H15'} =10,0 ³ J _{H14'-H13'} =9,8	3,00 (m, 1H) 2,97 (m, 1H)
15'	7,36 (d, 1H) ³ J _{H15'-H16'} =8,0	7,20 (d, 1H) ³ J _{H15'-H16'} =8,5	7,14 (d, 1H) ³ J _{H15'-H16'} =8,4	4,40 (m, 2H)	5,41 (t, 1H) ³ J _{H15'-H14'} =9,2 ³ J _{H15'-H16'} =9,2	5,26 (dd, 1H) ³ J _{H15'-H14'} =10,3 ³ J _{H15'-H16'} =3,4	5,43 (dd, 1H) ³ J _{H15'-H14'} =10,7 ³ J _{H15'-H16'} =3,2	4,53 (dd, 1H) ³ J _{H15'-H14'} =10,8 ³ J _{H15'-H16'} =3,4	4,03 (dd, 1H) ³ J _{H15'-H14'} =10,1 ³ J _{H15'-H16'} =8,6	5,45 (m, 1H)
16'	7,63 (d, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =8,1	7,35 (d, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =8,5	7,51 (d, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =8,4	---	5,13 (ddd, 1H) ³ J _{H16'-H17b'} =10,3 ³ J _{H16'-H15'} =9,2 ³ J _{H16'-H17a'} =5,7	5,56 (dd, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =3,2 ³ J _{H16'-H17'} =0,7	5,64 (dd, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =3,2 ³ J _{H16'-H17'} =1,3	5,38 (dd, 1H) ³ J _{H16'-H15'} =3,2 ³ J _{H16'-H17'} =0,7	3,84 (dd, 1H) ³ J _{H16'-H17'} =9,7 ³ J _{H16'-H15'} =8,5	4,41 (m, 1H)
17'	---	---	---	---	4,29 (dd, 1H) ² J=11,6 ³ J _{H17a'-H16'} =5,6 3,59 (dd, 1H) ² J=11,7 ³ J _{H17b'-H16'} =10,3	4,24 (ddd, 1H) ³ J _{H17'-H18b'} =7,0 ³ J _{H17'-H18a'} =6,1 ³ J _{H17'-H16'} =1,1	4,63 (dd, 1H) ³ J _{H17'-H18'} =6,1 ³ J _{H17'-H16'} =1,0	4,09 (m, 1H)	3,79 (ddd, 1H) ³ J _{H17'-H16'} =9,8 ³ J _{H17'-H18a'} =3,6 ³ J _{H17'-H18b'} =1,8	3,99 (dd, 1H) ² J=12,4 ³ J _{H17a'-H16'} =2,3 3,74 (dd, 1H) ² J=12,5 ³ J _{H17b'-H16'} =2,4
18'	7,63 (d, 1H)	7,35 (d, 1H)	7,51 (d, 1H)	7,75 (dd, 1H)	---	4,19 (dd, 1H)	4,28 (dd, 1H)	4,21 (dd, 1H)	3,75 (dd, 1H)	---

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
	${}^3J_{H18'-H19'}=8,1$	${}^3J_{H18'-H19'}=8,5$	${}^3J_{H18'-H19'}=8,4$	${}^3J_{H18'-H19'}=5,5$ ${}^4J_{H18'-H20'}=3,0$		${}^2J=11,4$ ${}^3J_{H18a'-H17'}=6,0$ 4,11 (dd, 1H) ${}^2J=11,4$ ${}^3J_{H18b'-H17'}=6,9$	${}^2J=11,6$ ${}^3J_{H18a'-H17'}=6,7$ 4,17 (dd, 1H) ${}^2J=11,6$ ${}^3J_{H18b'-H17'}=6,7$	${}^2J=11,4$ ${}^3J_{H18a'-H17'}=6,3$ 4,14 (dd, 1H) ${}^2J=11,4$ ${}^3J_{H18b'-H17'}=6,8$	${}^2J=10,9$ ${}^3J_{H18a'-H17'}=3,8$ 3,70 (dd, 1H) ${}^2J=11,0$ ${}^3J_{H18b'-H17'}=1,5$	
19'	7,36 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,0$	7,20 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,5$	7,14 (d, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=8,4$	7,86 (dd, 1H) ${}^3J_{H19'-H18'}=5,5$ ${}^4J_{H19'-H21'}=3,0$	2,07 (s, 3H)	---	---	---	4,55 (d, 1H) ${}^2J=12,1$ 4,47 (d, 1H) ${}^2J=12,1$	---
20'	---	---	---	7,86 (dd, 1H) ${}^3J_{H20'-H21'}=5,5$ ${}^4J_{H20'-H18'}=3,0$	---	2,05 (s, 3H)	2,07 (s, 3H)	2,05 (s, 3H)	---	---
21'	---	---	---	7,75 (dd, 1H) ${}^3J_{H21'-H20'}=5,5$ ${}^4J_{H21'-H19'}=3,0$	2,05 (s, 3H)	---	---	---	7,32 (m, 1H)	7,39 (s, 3H)
22'	---	---	---	---	---	2,22 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	7,29 (m, 1H)	1,93 (d, 3H) ${}^3J_{H22'-H21'}=1,1$
23'	---	---	---	---	1,88 (s, 3H)	---	---	---	7,14 (dd, 1H) ${}^3J_{H23'-H22'}=7,4$ ${}^3J_{H23'-H24'}=7,4$ ${}^3J_{H23'-H21'}=1,8$ ${}^3J_{H23'-H25'}=1,8$	---
24'	---	---	---	---	---	2,01 (s, 3H)	2,03 (s, 3H)	2,01 (s, 3H)	7,29 (m, 1H)	---
25'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,32 (m, 1H)	---
26'	---	---	---	---	---	1,89 (s, 3H)	1,01 (s, 3H)	1,72 (s, 3H)	4,84 (d, 1H)	---

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
									² J=10,8 4,61 (d, 1H) ² J=10,8	
27'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
28'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,32 (m, 1H)	---
29'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,29 (m, 1H)	---
30'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,19 (dd, 1H) ³ J _{H30'-H29'} =7,4 ³ J _{H30'-H31'} =7,4 ³ J _{H30'-H28'} =1,8 ³ J _{H30'-H32'} =1,8	---
31'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,29 (m, 1H)	---
32'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,32 (m, 1H)	---
33'	---	---	---	---	---	---	---	---	4,87 (d, 1H) ² J=11,6 4,70 (d, 1H) ² J=11,6	---
34'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
35'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,32 (m, 1H)	---
36'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,29 (m, 1H)	---
37'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,19 (dd, 1H) ³ J _{H37'-H36'} =7,4 ³ J _{H37'-H38'} =7,4 ³ J _{H37'-H35'} =1,8	---

H	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19	
									³ J _{H37'-H39'} =1,8		
38'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,29 (m, 1H)	---	
39'	---	---	---	---	---	---	---	---	7,32 (m, 1H)	---	
40'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
41'	---	---	---	---	---	---	---	---	1,63 (s, 3H)	---	
O(3)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
O(6)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
O(11)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
O(12)H	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
N(14')H	---	---	---	---	---	---	---	---	5,86 (d, 1H) ³ J _{H14'-NH} =9,4	5,86 (d, 1H) ³ J _{H14'-NH} =9,4	---

* - wymienne ze śladami wody obecnymi w układzie

Tabela 6. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **AZM-10 – AZM-19** w CDCl_3 .

C	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
1	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	177,6	177,7	177,7	177,5
2	44,1	44,2	44,2	44,2	44,2	44,1	44,1	44,2	44,1	44,2
3	78,8	78,8	78,8	78,9	78,9	78,8	78,8	78,8	78,8	78,8
4	35,9	35,9	35,9	36,0	35,9	35,9	35,9	36,0	36,0	36,0
5	87,7	87,8	87,8	87,9	87,7	87,5	87,5	87,5	87,4	87,8
6	73,2	73,2	73,2	73,3	73,2	73,3	73,2	73,4	73,4	73,4
7	41,7	41,7	41,7	41,7	41,7	41,7	41,6	41,6	41,6	41,8
8	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5	26,5
9	71,2	71,2	71,2	71,2	71,2	71,2	71,1	71,1	71,1	71,2
10	62,6	62,7	62,7	62,7	62,6	62,6	62,6	62,6	62,7	62,8
11	76,0	76,0	76,0	76,0	76,1	76,0	76,1	75,7	75,7	75,8
12	74,4	74,4	74,4	74,4	74,4	74,3	74,3	74,4	74,4	74,4
13	77,9	77,9	77,9	77,9	77,9	77,8	77,9	77,8	77,8	77,8
14	21,0	21,0	21,0	21,2	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0
15	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
16	16,2	16,3	16,3	16,3	16,3	16,2	16,3	16,3	16,3	16,3
17	7,3	7,3	7,3	7,2	7,3	7,3	7,3	7,3	7,4	7,4
18	26,2	26,2	26,2	26,3	26,3	26,2	26,2	26,3	26,3	26,3
19	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5
20	37,0	37,0	37,0	37,0	37,0	37,0	37,0	37,0	37,0	36,9
21	7,7	7,8	7,8	7,8	7,8	7,7	7,8	7,6	7,6	7,6
22	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,2	16,3	16,3	16,2
1'	100,3	100,3	100,3	100,5	100,3	100,2	100,1	100,1	100,1	100,4
2'	76,3	76,3	76,3	76,3	76,4	76,4	76,5	76,2	76,2	76,2
3'	63,4	63,4	63,4	63,5	63,5	63,5	63,5	63,5	63,4	63,4
4'	30,4	30,5	30,5	30,7	30,6	30,5	30,3	30,7	30,7	30,1
5'	69,0	69,0	69,0	69,0	69,0	69,0	69,0	68,9	68,9	69,0
6'	21,1	21,2	21,2	21,0	21,2	21,1	21,2	21,1	21,1	21,2
7'	40,7	40,7	40,7	40,9	40,8	40,7	40,8	40,8	40,8	40,7

C	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
8'	40,7	40,7	40,7	40,9	40,8	40,7	40,8	40,8	40,8	40,7
9'	154,5	154,5	154,5	154,5	154,4	154,6	154,5	154,4	154,4	154,5
10'	61,0	61,1	61,1	61,1	60,8	60,9	60,7	60,8	60,9	61,7
11'	143,6	143,4	143,4	142,7	143,4	143,4	144,1	143,1	142,6	143,1
12'	123,7	123,5	123,5	124,2	122,1	122,3	122,2	123,0	123,3	124,0
13'	53,7	53,6	53,6	48,1	86,5	86,5	86,8	86,2	86,2	89,4
14'	138,5	135,1	133,5	29,7	70,6	68,1	69,3	55,4	55,3	37,6
15'	128,3	129,5	129,8	35,1	72,1	70,9	68,4	71,2	81,4	70,8
16'	126,3 (d) ³ J=3,8	129,5	132,5	168,4	68,5	67,0	66,2	68,0	78,2	85,4
17'	131,3 (q) ² J=32,8	133,0	123,2	132,0	65,7	74,2	74,4	74,0	78,1	61,0
18'	126,3 (d) ³ J=3,8	129,5	132,5	123,6	170,0	61,3	60,7	61,5	68,5	150,6
19'	128,3	129,5	129,8	134,4	20,7	170,4	170,2	170,4	73,7	163,8
20'	123,4 (q) ¹ J=235,5	---	---	134,4	169,8	20,7	20,7	20,7	137,8	111,5
21'	---	---	---	123,6	20,7	170,0	169,7	170,0	128,6	137,9
22'	---	---	---	132,0	160,0	20,7	20,7	20,7	128,0	12,6
23'	---	---	---	168,4	20,3	166,9	169,5	166,9	127,9	---
24'	---	---	---	---	---	20,6	20,5	20,6	128,0	---
25'	---	---	---	---	---	169,1	168,4	169,4	128,6	---
26'	---	---	---	---	---	20,3	20,4	20,3	75,1	---
27'	---	---	---	---	---	---	111,1	---	137,8	---
28'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,6	---
29'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,0	---
30'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,1	---
31'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,0	---
32'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,6	---
33'	---	---	---	---	---	---	---	---	75,2	---
34'	---	---	---	---	---	---	---	---	138,1	---

C	AZM-10	AZM-11	AZM-12	AZM-13	AZM-14	AZM-15	AZM-16	AZM-17	AZM-18	AZM-19
35'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,7	---
36'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,2	---
37'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,2	---
38'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,2	---
39'	---	---	---	---	---	---	---	---	128,7	---
40'	---	---	---	---	---	---	---	---	170,7	---
41'	---	---	---	---	---	---	---	---	23,1	---

Tabela 7. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla antybiotyku **AZM** oraz pochodnych **AZM-21 – AZM-29** w DMSO-d_6 .

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	2,69 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)
3	4,19 (dd, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=4,8$ $^3J_{\text{H3-H4}}=1,8$	4,15 (m, 1H)	4,15 (m, 1H)	4,15 (m, 1H)	4,12 (m, 1H)	4,18 (m, 1H)	4,18 (m, 1H)	4,19 (m, 1H)	4,18 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H4}}=3,0$	4,18 (m, 1H)
4	1,91 (m, 1H)	1,93 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,94 (m, 1H)	1,95 (m, 1H)	1,95 (m, 1H)
5	3,54 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,2$	3,53 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,9$	3,56 (m, 1H)	3,53 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,9$	3,52 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=5,9$	3,57 (m, 1H)	3,57 (m, 1H)	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,1$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,0$	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,3$
6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7	1,56 (d, 1H) $^2J=14,4$ 1,29 (dd, 1H) $^2J=14,4$ $^3J_{\text{H7-H8}}=7,2$	1,75 (m, 1H) 1,27 (m, 1H)	1,56 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,58 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,59 (m, 1H) 1,26 (m, 1H)	1,60 (m, 1H) 1,27 (m, 1H)	1,60 (m, 1H) 1,27 (m, 1H)	1,50 (d, 1H) $^2J=14,8$ 1,29 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=7,9$	1,61 (d, 1H) $^2J=14,6$ 1,33 (m, 1H)	1,60 (m, 1H) 1,38 (m, 1H)
8	1,91 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,93 (m, 1H)
9	2,38 (dd, 1H)	2,38 (m, 1H)	2,37 (d, 1H)	2,36 (m, 1H)	2,38 (m, 1H)	2,38 (m, 1H)	2,38 (m, 1H)	2,38 (d, 1H)	2,39 (d, 1H)	2,37 (m, 1H)

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
	$^2J=12,0$ $^3J_{H9a-H8}=7,7$ 2,13 (dd, 1H) $^2J=12,0$ $^3J_{H9b-H8}=1,8$	2,12 (t, 1H) $^2J=11,7$	$^2J=12,5$ 2,12 (m, 1H)	2,12 (m, 1H)	2,13 (m, 1H)	2,13 (m, 1H)	2,13 (m, 1H)	$^2J=11,8$ 2,13 (t, 1H) $^2J=11,7$	$^2J=12,1$ 2,14 (m, 1H)	2,14 (m, 1H)
10	2,69 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,65 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)
11	3,48 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=6,0$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=7,6$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,42 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,42 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
13	4,77 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=9,6$ $^3J_{H13-Ha}=2,7$	4,76 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,75 (m, 1H)	4,75 (m, 1H)	4,74 (m, 1H)	4,80 (m, 1H)	4,80 (m, 1H)	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,2$ $^3J_{H13-Ha}=2,8$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,0$ $^3J_{H13-Ha}=2,8$	4,76 (d, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,0$
14	1,80 (ddq, 1H) $^2J=14,1$ $^3J_{H14a-H13}=9,6$ $^3J_{H14a-H15}=7,2$ 1,40 (ddq, 1H) $^2J=14,1$ $^3J_{H14b-H13}=9,6$ $^3J_{H14b-H15}=2,7$	1,78 (m, 1H) 1,37 (ddq, 1H) $^2J=14,7$ $^3J_{H14b-H13}=10,3$ $^3J_{H14b-H15}=7,4$	1,78 (m, 1H)	1,79 (m, 1H)	1,79 (m, 1H)	1,77 (m, 1H)	1,77 (m, 1H)	1,78 (dq, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,37 (ddd, 1H) $^2J=14,2$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,79 (dq, 1H) $^2J=15,2$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,2$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,79 (dq, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,6$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
15	0,82 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,2$ $^3J_{H15-H14b}=7,2$	0,79 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,79 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,79 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,79 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,81 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,5$ $^3J_{H15-H14b}=7,5$
16	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,8$	1,09 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,09 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,3$	1,09 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,04 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,1$	1,08 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,08 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,4$
17	0,98 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,8$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,2$	1,02 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,7$	1,02 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,7$	0,94 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,1$	0,94 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,1$	0,94 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,1$	0,99 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	0,98 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,7$	0,98 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$
18	1,20 (s, 3H)	1,17 (s, 3H)	1,17 (s, 3H)	1,17 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,20 (s, 3H)	1,20 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,20 (s, 3H)	1,20 (s, 3H)
19	0,88 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,85 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,85 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,5$	0,85 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,5$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,0$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,1$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,88 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$
20	2,23 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,20 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)
21	0,97 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,93 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$	0,93 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,2$	0,93 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,2$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,5$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=8,6$	0,92 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=8,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,98 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,5$
22	1,04 (s, 3H)	1,01 (s, 3H)	1,04 (s, 3H)	1,04 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,04 (s, 3H)
1'	4,43 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,2$	4,46 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,45 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,9$	4,44 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,9$	4,42 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,60 (m, 1H)	4,60 (m, 1H)	4,44 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,50 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,7$	4,45 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,8$
2'	3,05 (ddd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,2$ $^3J_{H2'-H1'}=7,2$	3,58 (m, 1H)	3,54 (m, 1H)	3,55 (m, 1H)	3,56 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	4,94 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)	3,62 (m, 1H)

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
	$^3J_{H2'-OH}=2,4$									
3'	2,43 (ddd, 1H) $^3J_{H3'-H2'}=12,6$ $^3J_{H3'-H4'b}=10,2$ $^3J_{H3'-H4'a}=3,9$	3,43 (m, 1H)	3,45 (m, 1H)	3,45 (m, 1H)	3,54 (m, 1H)	3,48 (m, 1H)	3,48 (m, 1H)	3,44 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,55 (m, 1H)
4'	1,61 (ddd, 1H) $^2J=12,0$ $^3J_{H4'b-H3'}=3,9$ $^3J_{H4'-H5'}=1,8$ 1,08 (m, 1H)	2,01 (dd, 1H) $^3J_{H4a'-H3'}=10,5$ $^3J_{H4a'-H5'}=3,8$ 1,50 (m, 1H)	2,03 (d, 1H) $^3J_{H4a'-H3'}=10,2$ 1,56 (m, 1H)	2,03 (d, 1H) $^3J_{H4a'-H3'}=10,2$ 1,56 (m, 1H)	2,01 (dd, 1H) $^3J_{H4a'-H3'}=10,5$ $^3J_{H4a'-H5'}=3,9$ 1,59 (m, 1H)	2,28 (m, 1H) 1,67 (m, 1H)	2,28 (m, 1H) 1,90 (m, 1H)	2,04 (dd, 1H) $^3J_{H4b'-H3'}=10,8$ $^3J_{H4b'-H5'}=4,1$ 1,58 (d, 1H) $^3J_{H4b'-H3'}=10,4$	2,15 (m, 1H) 1,67 (m, 1H)	2,03 (m, 1H) 1,60 (d, 1H) $^2J=12,7$
5'	3,68 (ddq, 1H) $^3J_{H5'-H4'b}=11,4$ $^3J_{H5'-H6'}=6,0$ $^3J_{H5'-H14'a}=1,8$	3,72 (m, 1H)	3,74 (m, 1H)	3,74 (m, 1H)	3,77 (m, 1H)	3,70 (m, 1H)	3,70 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,74 (m, 1H)	3,71 (m, 1H)
6'	1,10 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=7,0$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,5$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=7,0$	1,22 (m, 3H)	1,22 (m, 3H)	1,15 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,4$	1,25 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,4$
7'	2,24 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	3,26 (s, 3H)	3,28 (s, 3H)	3,28 (s, 3H)	2,99 (s, 3H)	3,06 (s, 3H)	3,14 (s, 3H)
8'	2,24 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	3,01 (s, 3H)	3,01 (s, 3H)	3,25 (s, 3H)	3,30 (s, 3H)	3,30 (s, 3H)	3,07 (s, 3H)	3,06 (s, 3H)	3,15 (s, 3H)

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
9'	---	4,30 (m, 1H)	4,26 (dd, 1H) ${}^2J=12,6$ ${}^3J_{H9a'-H10'}=8,4$	4,60 (dd, 1H) ${}^2J=16,3$ ${}^4J_{H9a'-H11'}=2,5$	4,83 (d, 1H) ${}^2J=15,8$	4,36 (m, 1H)	4,36 (m, 1H)	4,98 (d, 1H) ${}^2J=12,6$	4,89 (d, 1H) ${}^2J=12,6$	5,12 (d, 1H) ${}^2J=14,0$
		4,14 (m, 1H)	4,17 (dd, 1H) ${}^2J=13,0$ ${}^3J_{H9a'-H10'}=8,2$	4,53 (dd, 1H) ${}^2J=16,1$ ${}^4J_{H9b'-H11'}=2,6$	4,53 (d, 1H) ${}^2J=16,1$	4,30 (m, 1H)	4,30 (m, 1H)	4,73 (d, 1H) ${}^2J=12,1$	4,64 (d, 1H) ${}^2J=13,1$	5,07 (d, 1H) ${}^2J=14,0$
10'	---	5,69 (m, 1H)	5,42 (t, 1H) ${}^3J_{H10'-H9a'}=7,4$ ${}^3J_{H10'-H9b'}=7,4$	---	---	---	---	---	---	---
11'	---	6,03 (dq, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=13,4$ ${}^3J_{H11'-H10'}=6,6$	---	4,18 (t, 1H) ${}^4J_{H11'-H9a'}=2,4$ ${}^4J_{H11'-H9b'}=2,4$	2,86 (s, 3H)	3,80 (m, 1H)	---	7,30 (dd, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=5,0$ ${}^4J_{H11'-H13'}=1,3$	7,27 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=5,6$	7,10 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=3,8$
12'	---	1,77 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=7,9$	1,75 (s, 3H)	---	2,93 (s, 3H)	---	---	7,70 (dd, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=5,0$ ${}^4J_{H12'-H13'}=2,9$	7,79 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=5,7$	7,76 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=3,8$
13'	---	---	1,82 (s, 3H)	---	---	---	---	7,85 (dd, 1H) ${}^3J_{H13'-H12'}=3,0$ ${}^4J_{H13'-H11'}=1,2$	---	---
1''	4,87 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=5,0$	4,86 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,86 (m, 1H)	4,86 (m, 1H)	4,83 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,87 (m, 1H)	4,87 (m, 1H)	4,86 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,87 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=4,2$	4,88 (d, 1H) ${}^3J_{H1''-H2b''}=4,8$

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
2"	2,29 (d, 1H) ² J=15,0	2,27 (d, 1H) ² J=15,0	2,27 (d, 1H) ² J=15,0	2,27 (d, 1H) ² J=15,0	2,26 (d, 1H) ² J=15,0	2,27 (d, 1H) ² J=15,2	2,27 (d, 1H) ² J=15,2	2,28 (d, 1H) ² J=15,0	2,29 (d, 1H) ² J=15,0	2,28 (d, 1H) ² J=15,1
	1,53 (dd, 1H) ² J=15,0 ³ J _{H2''-H1''} =5,0	1,56 (d, 1H) ² J=14,5	1,54 (m, 1H)	1,54 (m, 1H)	1,53 (dd, 1H) ² J=14,8 ³ J _{H2''-H1''} =4,9	1,53 (d, 1H) ² J=14,5	1,53 (d, 1H) ² J=14,5	1,52 (dd, 1H) ² J=15,1 ³ J _{H2''-H1''} =5,1	1,54 (dd, 1H) ² J=14,9 ³ J _{H2''-H1''} =4,6	1,54 (dd, 1H) ² J=15,2 ³ J _{H2''-H1''} =5,1
3"	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4"	2,94 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,0 ³ J _{H4''-OH} =7,8	2,94 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,6 ³ J _{H4''-OH} =7,6	2,94 (m, 1H)	2,94 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,4 ³ J _{H4''-OH} =7,6	2,95 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,5 ³ J _{H4''-OH} =7,2	2,95 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,4 ³ J _{H4''-OH} =7,3	2,95 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,4 ³ J _{H4''-OH} =7,3	2,92 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,5 ³ J _{H4''-OH} =7,4	2,95 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,5 ³ J _{H4''-OH} =7,5	2,95 (dd, 1H) ³ J _{H4''-H5''} =9,3 ³ J _{H4''-OH} =6,9
5"	4,10 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =9,0 ³ J _{H5''-H6''} =6,6	4,02 (m, 1H)	4,02 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =9,4 ³ J _{H5''-H6''} =6,4	4,02 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =9,4 ³ J _{H5''-H6''} =6,4	4,01 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =12,3 ³ J _{H5''-H6''} =6,2	4,00 (m, 1H)	4,00 (m, 1H)	4,01 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =9,2 ³ J _{H5''-H4''} =6,1	4,02 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =12,4 ³ J _{H5''-H4''} =6,4	4,03 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =9,4 ³ J _{H5''-H4''} =6,2
6"	1,18 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,0	1,14 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,14 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,14 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,15 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,0	1,17 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,3	1,17 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,3	1,13 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,16 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,4	1,17 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,3
7"	1,12 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,13 (s, 3H)	1,16 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)
8"	3,25 (s, 3H)	3,25 (s, 3H)	3,24 (s, 3H)	3,24 (s, 3H)	3,21 (s, 3H)	3,23 (s, 3H)	3,23 (s, 3H)	3,21 (s, 3H)	3,27 (s, 3H)	3,23 (s, 3H)
6-OH	7,47 (s, 1H)	7,66 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,68 (s, 1H)	7,62 (s, 1H)	7,81 (s, 1H)	7,81 (s, 1H)	7,68 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)
11-OH	4,29 (d, 1H) ³ J _{H11-OH} =6,0	4,30 (d, 1H) ³ J _{H11-OH} =6,0	4,30 (m, 1H)	4,30 (d, 1H) ³ J _{H11-OH} =6,0	4,32 (m, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,31 (d, 1H) ³ J _{H11-OH} =8,0	4,30 (d, 1H) ³ J _{H11-OH} =8,4	4,32 (m, 1H)

H	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
12-OH	4,30 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,32 (s, 1H)	4,32 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)
2'-OH	3,93 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=2,4$	5,84 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,4$	5,84 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,4$	5,88 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,4$	5,80 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=4,0$	5,76 (bs, 1H)	---	6,06 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,5$	6,12 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,0$	6,12 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,1$
4''-OH	4,16 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,8$	4,23 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,6$	4,27 (m, 1H)	4,23 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,6$	4,32 (m, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,32 (m, 1H)	4,20 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,6$	4,21 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,5$	4,26 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,0$

Tabela 8. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] dla antybiotyku **AZM** oraz pochodnych **AZM-21 – AZM-29** w DMSO- d_6 .

C	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
1	178,7	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1
2	46,3	44,6	44,6	44,5	44,5	44,5	44,5	44,7	44,7	44,6
3	79,0	77,3	77,3	77,3	77,2	77,2	77,2	77,2	77,3	77,1
4	43,2	41,6	41,6	41,5	41,5	41,4	41,4	41,7	41,6	41,6
5	84,3	83,4	83,4	83,4	83,3	83,5	83,5	83,0	83,3	82,9
6	74,2	72,4	72,4	72,4	72,4	72,3	72,3	72,5	72,5	72,8
7	43,5	41,7	41,6	41,6	41,7	41,6	41,6	41,7	41,7	41,6
8	27,7	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1
9	70,3	68,7	68,7	68,7	68,7	68,6	68,6	68,7	68,7	68,7
10	63,0	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,6
11	76,5	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0
12	75,3	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6
13	78,0	76,3	76,3	76,3	76,3	76,4	76,4	76,3	76,3	76,3
14	22,6	20,9	21,0	21,0	20,9	20,7	20,7	20,9	20,9	20,9
15	12,5	10,9	11,0	10,9	11,0	10,9	10,9	10,9	11,0	11,0
16	16,4	14,8	14,8	14,8	14,7	14,8	14,8	14,8	14,8	14,7
17	10,7	9,2	9,1	9,1	9,2	8,6	8,6	9,0	9,1	9,0
18	29,0	27,4	27,5	27,4	27,4	27,4	27,4	27,5	27,5	27,4
19	23,7	22,1	22,2	22,2	22,2	22,1	22,1	22,2	22,0	22,1
20	37,4	35,7	35,8	35,7	35,8	35,7	35,7	35,7	35,7	35,8
21	8,4	6,7	6,7	6,7	6,7	6,6	6,6	6,7	6,7	6,8
22	19,3	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
1'	103,8	101,1	101,1	101,1	101,1	98,3	98,3	101,1	101,2	100,9
2'	72,9	70,6	70,6	70,6	70,4	74,5	74,5	70,7	70,8	70,7
3'	66,4	69,1	69,8	69,7	69,5	66,5	66,5	69,1	71,7	70,5

C	AZM	AZM-21	AZM-22	AZM-23	AZM-24	AZM-25	AZM-25'	AZM-27	AZM-28	AZM-29
4'	32,2	32,2	32,4	32,3	32,2	29,7	29,7	32,2	32,6	32,3
5'	68,6	65,7	65,7	65,7	65,6	66,0	66,0	65,8	65,8	65,7
6'	23,1	20,9	21,0	21,0	21,1	20,9	20,9	20,9	21,0	21,0
7'	41,9	49,2	49,1	49,1	50,7	52,9	54,9	49,7	50,3	50,2
8'	41,9	47,7	47,1	47,1	49,8	46,7	53,9	47,4	47,8	74,5
9'	---	66,6	62,8	55,2	63,8	59,5	52,9	62,2	59,9	60,0
10'	---	119,1	112,3	72,9	164,0	165,3	160,1	128,9	118,8	146,6
11'	---	139,5	145,8	83,1	36,1	53,9	---	130,7	131,4	120,3
12'	---	18,1	26,1	---	35,1	---	---	127,5	129,0	113,1
13'	---	---	18,4	---	---	---	---	131,9	128,4	153,8
1"	96,1	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4	94,4
2"	36,3	34,5	34,5	34,5	34,6	34,6	34,6	34,5	34,5	34,6
3"	74,4	72,9	72,9	72,9	72,9	72,8	72,8	72,8	72,8	72,8
4"	79,0	77,1	77,1	77,1	77,2	77,1	77,1	77,1	77,1	77,1
5"	66,4	64,8	64,8	64,7	64,7	64,8	64,8	64,7	64,8	64,7
6"	20,0	18,5	18,4	18,4	18,5	18,6	18,6	18,6	18,5	18,5
7"	22,6	21,0	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1
8"	50,4	48,8	48,7	48,7	48,6	49,0	49,0	49,1	49,0	48,9

Tabela 9. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **AZM-30 – AZM-38** w DMSO- d_6 .

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)
3	4,20 (m, 1H)	4,19 (m, 1H)	4,17 (m, 1H)	4,20 (m, 1H)	4,21 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=7,4$	4,16 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H4}}=6,1$	4,19 (m, 1H)	4,17 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H2}}=4,7$	4,18 (d, 1H) $^3J_{\text{H3-H4}}=4,7$
4	1,96 (m, 1H)	1,95 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,94 (m, 1H)	1,95 (m, 1H)	1,96 (m, 1H)	1,97 (m, 1H)
5	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,0$	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,1$	3,56 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,9$	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,1$	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,0$	3,56 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,0$	3,57 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=7,0$	3,58 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,9$	3,56 (d, 1H) $^3J_{\text{H5-H4}}=6,9$
6	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7	1,61 (m, 1H) 1,31 (dd, 1H) $^2J=14,7$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=8,0$	1,61 (m, 1H) 1,32 (m, 1H)	1,59 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,60 (m, 1H) 1,32 (m, 1H)	1,61 (m, 1H) 1,31 (dd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=7,8$	1,60 (d, 1H) $^2J=14,3$ 1,30 (dd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=8,2$	1,62 (m, 1H) 1,31 (m, 1H)	1,61 (d, 1H) $^2J=14,3$ 1,32 (m, 1H)	1,60 (d, 1H) $^2J=14,3$ 1,31 (dd, 1H) $^2J=14,1$ $^3J_{\text{H7b-H8}}=7,7$
8	1,92 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,91 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)	1,92 (m, 1H)
9	2,38 (d, 1H) $^2J=11,8$	2,38 (d, 1H) $^2J=11,6$	2,38 (d, 1H) $^2J=11,7$	2,38 (d, 1H) $^2J=11,8$	2,38 (d, 1H) $^2J=11,8$	2,38 (dd, 1H) $^2J=12,5$	2,38 (d, 1H) $^2J=12,0$	2,39 (dd, 1H) $^2J=12,2$	2,39 (d, 1H) $^2J=11,2$

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
	2,13 (d, 1H) $^2J=11,7$	2,12 (d, 1H) $^2J=11,7$	2,15 (d, 1H) $^2J=11,7$	2,14 (d, 1H) $^2J=11,7$	2,13 (t, 1H) $^2J=11,6$	$^3J_{H9-H8}=2,7$ 2,12 (d, 1H) $^2J=12,1$	2,14 (t, 1H) $^2J=11,7$	$^3J_{H9-H8}=2,6$ 2,14 (t, 1H) $^2J=11,7$	2,12 (t, 1H) $^2J=11,7$
10	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,68 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)	2,69 (m, 1H)
11	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,3$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,6$	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,3$	3,44 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$	3,45 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,4$	3,46 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,2$	3,46 (d, 1H) $^3J_{H11-H10}=8,3$
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---
13	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,8$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,6$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,0$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,74 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,0$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,8$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,0$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,76 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,9$	4,75 (dd, 1H) $^3J_{H13-H14b}=10,1$ $^3J_{H13-Ha}=2,8$
14	1,78 (ddq, 1H) $^2J=14,7$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,37 (ddd, 1H) $^2J=14,4$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,78 (ddq, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,9$ 1,37 (m, 1H)	1,78 (ddq, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{H14a-H15}=7,6$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,34 (ddd, 1H) $^2J=14,3$ $^3J_{H14b-H13}=10,0$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,78 (dqd, 1H) $^2J=15,2$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,5$ $^3J_{H14b-H13}=10,2$ $^3J_{H14b-H15}=7,4$	1,78 (ddq, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,3$ $^3J_{H14b-H13}=10,0$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,77 (dqd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{H14a-H15}=7,4$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,2$ $^3J_{H14b-H13}=10,0$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,78 (dqd, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,7$ 1,38 (ddd, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,78 (dqd, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H14a-H15}=7,4$ $^3J_{H14a-H13}=2,6$ 1,39 (ddd, 1H) $^2J=14,3$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,2$	1,79 (dqd, 1H) $^2J=14,4$ $^3J_{H14a-H15}=7,5$ $^3J_{H14a-H13}=2,8$ 1,39 (ddd, 1H) $^2J=14,3$ $^3J_{H14b-H13}=10,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,3$

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
15	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,81 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,81 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$
16	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,0$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,2$	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,4$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,6$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,6$	1,09 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,4$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,7$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$
17	1,00 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,6$	1,01 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,8$	0,98 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	1,02 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$	1,00 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,6$	0,96 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,2$	1,00 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,6$	0,98 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,8$	0,99 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,6$
18	1,19 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,17 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)	1,21 (s, 3H)	1,19 (s, 3H)
19	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$	0,86 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$
20	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)
21	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,96 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,96 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$
22	1,03 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)
1'	4,46 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,46 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,50 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=5,8$	4,45 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,47 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,51 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,47 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,54 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,6$	4,55 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,7$
2'	3,67 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)	3,70 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)	3,77 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,73 (m, 1H)	3,70 (m, 1H)
3'	3,50 (m, 1H)	3,51 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)	3,48 (m, 1H)	3,52 (m, 1H)	3,66 (m, 1H)	3,50 (m, 1H)	3,75 (m, 1H)	3,75 (m, 1H)

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
4'	2,04 (m, 1H)	2,04 (d, 1H) ${}^3J_{H4b'-H3'}=11,3$	2,15 (m, 1H)	2,23 (d, 1H) ${}^3J_{H4b'-H3'}=11,0$	2,06 (m, 1H)	2,17 (d, 1H) ${}^3J_{H4b'-H3'}=10,9$	2,05 (dd, 1H) ${}^3J_{H4b'-H3'}=10,9$ ${}^3J_{H4b'-H5'}=4,1$	2,30 (d, 1H) ${}^2J=11,7$	2,25 (m, 1H)
	1,61 (m, 1H)	1,62 (m, 1H)	1,66 (d, 1H) ${}^3J_{H4b'-H3'}=11,1$	1,66 (m, 1H)	1,61 (m, 1H)	1,67 (d, 1H) ${}^2J=11,9$	1,60 (m, 1H)	1,71 (d, 1H) ${}^2J=11,7$	1,71 (m, 1H)
5'	3,67 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,74 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)	3,77 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,79 (m, 1H)	3,77 (m, 1H)
6'	1,12 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,6$	1,12 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,17 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,15 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,14 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,6$	1,18 (m, 3H)	1,15 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,6$	1,20 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,4$	1,20 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$
7'	2,98 (s, 3H)	2,98 (s, 3H)	2,95 (s, 3H)	3,05 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	2,99 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	3,04 (s, 3H)	3,13 (s, 3H)
8'	3,07 (s, 3H)	3,07 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	3,11 (s, 3H)	3,09 (s, 3H)	2,99 (s, 3H)	3,10 (s, 3H)	3,05 (s, 3H)	3,02 (s, 3H)
9'	4,98 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	4,87 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	5,40 (d, 1H) ${}^2J=13,2$	5,10 (d, 1H) ${}^2J=12,4$	5,03 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	5,57 (d, 1H) ${}^2J=13,6$	5,03 (d, 1H) ${}^2J=12,3$	4,87 (d, 1H) ${}^2J=13,4$	5,07 (d, 1H) ${}^2J=13,1$
	4,75 (dd, 1H) ${}^2J=11,8$	4,75 (dd, 1H) ${}^2J=11,8$	5,01 (d, 1H) ${}^2J=13,2$	4,91 (d, 1H) ${}^2J=12,4$	4,92 (dd, 1H) ${}^2J=12,3$	5,31 (d, 1H) ${}^2J=13,4$	4,86 (d, 1H) ${}^2J=12,0$	4,43 (d, 1H) ${}^2J=13,7$	4,73 (d, 1H) ${}^2J=13,3$
10'	---	---	---	---	---	---	---	---	---
11'	7,61 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=7,0$	7,57 (m, 1H)	7,84 (m, 1H)	8,53 (s, 3H)	7,88 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=8,4$	---	7,83 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=8,3$	8,10 (d, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=8,1$	7,70 (dd, 1H) ${}^3J_{H11'-H12'}=7,8$ ${}^4J_{H11'-H13'}=1,7$

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
12'	7,48 (t, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=7,4$ ${}^3J_{H12'-H13'}=7,4$	7,57 (m, 1H)	7,84 (m, 1H)	---	8,33 (t, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=8,3$	7,44 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=8,9$	7,87 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=8,3$	8,25 (d, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=8,4$	7,54 (td, 1H) ${}^3J_{H12'-H11'}=7,6$ ${}^3J_{H12'-H13'}=7,6$ ${}^4J_{H12'-H14'}=1,3$
13'	7,54 (t, 1H) ${}^3J_{H13'-H12'}=7,3$ ${}^3J_{H13'-H14'}=7,3$	---	7,84 (m, 1H)	8,40 (dd, 1H) ${}^3J_{H13'-H12'}=8,3$ ${}^4J_{H13'-H15'}=1,6$	---	---	---	---	7,27 (td, 1H) ${}^3J_{H13'-H12'}=7,6$ ${}^3J_{H13'-H14'}=7,6$ ${}^4J_{H12'-H11'}=1,6$
14'	7,48 (t, 1H) ${}^3J_{H14'-H13'}=7,4$ ${}^3J_{H14'-H15'}=7,4$	7,57 (m, 1H)	8,15 (d, 1H) ${}^3J_{H14'-H13'}=7,4$	7,80 (t, 1H) ${}^3J_{H14'-H13'}=8,0$ ${}^3J_{H14'-H15'}=8,0$	8,33 (t, 1H) ${}^3J_{H14'-H15'}=8,3$	7,43 (d, 1H) ${}^3J_{H14'-H15'}=8,9$	7,87 (d, 1H) ${}^3J_{H14'-H15'}=8,3$	8,23 (s, 1H)	8,09 (dd, 1H) ${}^3J_{H14'-H15'}=8,0$ ${}^4J_{H14'-H12'}=1,3$
15'	7,61 (t, 1H) ${}^3J_{H15'-H14'}=7,0$ ${}^3J_{H15'-H16'}=7,0$	7,57 (m, 1H)	---	8,05 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H16'}=7,7$	7,88 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H14'}=8,4$	---	7,83 (d, 1H) ${}^3J_{H15'-H14'}=8,3$	---	---
16'	---	6,79 (dd, 1H) ${}^3J_{H16'-H17a'}=17,6$ ${}^3J_{H16'-H17b'}=10,6$	---	---	---	---	---	---	---
17'	---	5,94 (d, 1H) ${}^3J_{H17'a-H16'}=17,7$ 5,38 (d, 1H) ${}^3J_{H17b'-H16'}=11,0$	---	---	---	---	---	---	---

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
1"	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,7$	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,7$	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	---	---	---	---
2"	2,28 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,52 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{H2''-H1''}=5,0$	2,28 (d, 1H) $^2J=14,9$ 1,53 (dd, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H2''-H1''}=5,1$	2,28 (d, 1H) $^2J=15,1$ 1,51 (dd, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	2,26 (d, 1H) $^2J=15,1$ 1,52 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{H2''-H1''}=5,0$	2,29 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,53 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	---	---	---	---
3"	---	---	---	---	---	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=5,0$	4,88 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=5,1$	4,88 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,9$
4"	2,92 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,4$	2,92 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,5$ $^3J_{H4''-OH}=7,4$	2,96 (m, 1H)	2,92 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,2$	2,92 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,3$	2,28 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,55 (dd, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	2,28 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,53 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	2,29 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,55 (dd, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	2,29 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,55 (dd, 1H) $^2J=14,5$ $^3J_{H2''-H1''}=5,0$
5"	4,02 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,4$ $^3J_{H5''-H4''}=6,2$	4,01 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,4$ $^3J_{H5''-H4''}=6,2$	4,04 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,5$ $^3J_{H5''-H4''}=6,4$	4,02 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,3$ $^3J_{H5''-H4''}=6,2$	4,03 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,6$ $^3J_{H5''-H6''}=6,4$	---	---	---	---

H	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
6"	1,15 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,2$	1,15 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,2$	1,15 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,2$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,8$	1,15 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,1$	2,95 (m, 1H)	2,99 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,3$	2,97 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,5$ $^3J_{H4''-OH}=7,4$	2,95 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,5$ $^3J_{H4''-OH}=7,6$
7"	1,13 (s, 3H)	1,12 (s, 3H)	1,16 (s, 3H)	1,10 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)	4,02 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,5$ $^3J_{H5''-H6''}=6,3$	4,02 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,4$ $^3J_{H5''-H6''}=6,2$	4,06 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,3$ $^3J_{H5''-H6''}=6,3$	4,02 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,3$ $^3J_{H5''-H6''}=6,2$
8"	3,23 (s, 3H)	3,23 (s, 3H)	3,26 (s, 3H)	3,14 (s, 3H)	3,24 (s, 3H)	1,18 (m, 3H)	1,14 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,6$	1,18 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,3$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,8$
6-OH	7,66 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	1,19 (s, 3H)	1,12 (s, 3H)	1,16 (s, 3H)	1,18 (s, 3H)
11-OH	4,31 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,3$	4,32 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,3$	4,30 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,2$	4,31 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=11,9$	4,30 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,4$	3,28 (s, 3H)	3,21 (s, 3H)	3,28 (s, 3H)	3,30 (s, 3H)
12-OH	4,31 (s, 1H)	4,37 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	4,32 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)	---	---	---	---
2'-OH	6,13 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,4$	6,22 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,4$	6,11 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=4,2$	6,21 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,5$	6,16 (d, 1H) $^3J_{H2''-OH}=5,5$	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)	7,67 (s, 1H)
4''-OH	4,20 (m, 1H)	4,23 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,4$	4,23 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,4$	4,22 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,4$	4,19 (m, 1H)	4,30 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=7,2$	4,31 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=7,9$	4,31 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,3$	4,31 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,2$

Tabela 10. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **AZM-30 – AZM-38** w DMSO-d_6 .

C	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
1	177,1	177,2	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1	177,1
2	44,7	44,7	44,6	44,6	44,7	44,7	44,7	44,6	44,6
3	77,2	77,3	77,1	77,1	77,3	77,3	77,3	77,3	77,3
4	41,7	41,7	41,6	41,7	41,7	41,6	41,7	41,6	41,6
5	83,0	83,0	83,2	82,8	83,2	83,4	83,1	83,4	83,5
6	72,5	72,5	72,5	72,5	72,5	72,5	72,5	72,5	72,5
7	41,7	41,7	41,6	41,7	41,7	41,6	41,7	41,7	41,7
8	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1
9	68,8	68,8	68,7	68,7	68,7	68,7	68,7	68,7	68,7
10	61,5	61,6	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5
11	75,0	75,1	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0	75,0
12	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6
13	76,3	76,3	76,3	76,3	76,4	76,4	76,3	76,4	76,4
14	20,9	21,0	20,9	20,9	20,9	21,0	20,9	21,0	20,9
15	10,9	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,9	11,0	11,0
16	14,8	14,9	14,8	14,7	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8
17	9,0	9,1	9,1	9,0	9,2	9,1	9,1	9,1	9,2
18	27,5	27,5	27,4	27,4	27,5	27,5	27,5	27,5	27,5
19	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
20	35,7	35,8	35,8	35,7	35,7	35,7	35,7	35,7	35,8
21	6,7	6,8	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
22	17,7	17,8	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7	17,7
1'	101,1	101,1	101,1	101,0	101,1	101,2	101,1	101,2	101,2
2'	70,8	70,8	70,8	70,7	70,7	71,0	70,7	70,4	70,3
3'	69,5	69,4	73,5	70,1	70,7	73,1	70,1	74,7	73,9

C	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
4'	32,3	32,3	32,2	32,3	32,4	32,0	32,3	32,3	32,7
5'	65,8	65,8	65,7	65,7	65,7	65,8	65,8	65,8	65,8
6'	20,9	21,0	21,0	20,9	20,9	20,9	20,9	21,0	21,0
7'	49,5	49,6	50,1	49,6	49,7	49,5	49,7	50,5	50,9
8'	47,5	47,6	47,1	47,6	47,9	45,3	47,8	47,2	47,9
9'	67,2	67,2	60,9	65,8	65,5	67,8	66,1	61,7	68,0
10'	128,5	133,9	133,6	130,4	135,6	102,5 (d) ³ J=4,0	134,4	131,1	141,1
11'	133,5	126,5	132,2	128,4	135,0	164,3 (d) ¹ J=250,1	133,1	138,2	132,2
12'	128,8	128,0	136,7	147,9	123,7	101,7 (d) ² J=25,7	125,7	129,5	131,4
13'	130,2	138,8	125,8	125,0	148,5	163,1 (d) ¹ J=261,6	130,2 (q) ² J=31,8	132,1 (q) ² J=32,6	128,7
14'	128,8	128,0	121,5	130,4	123,7	101,5 (d) ² J=24,3	125,6	124,7	135,2
15'	133,5	126,5	151,1	139,8	135,0	164,3 (d) ¹ J=250,1	133,1	129,4 (q) ² J=30,1	105,3
16'	---	135,9	---	---	---	---	123,9 (q) ¹ J=272,9	123,5 (q) ¹ J=272,3	---
17'	---	116,3	---	---	---	---	---	123,5 (q) ¹ J=272,3	---
1''	94,4	94,4	94,4	94,4	94,5	94,5	94,4	94,4	94,5
2''	34,5	34,5	34,6	34,6	34,6	34,6	34,5	34,5	34,6
3''	72,8	72,8	72,8	72,8	72,9	72,8	72,8	72,9	72,8
4''	77,1	77,1	77,3	77,1	77,1	77,1	77,1	77,1	77,2
5''	64,7	64,7	64,8	64,7	64,8	64,8	64,7	64,8	64,8
6''	18,6	18,6	18,5	18,6	18,5	18,5	18,5	18,5	18,5

C	AZM-30	AZM-31	AZM-32	AZM-33	AZM-34	AZM-35	AZM-36	AZM-37	AZM-38
7"	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1
8"	49,0		49,0	48,8	49,0	48,9	49,0	48,8	48,9

Tabela 11. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] pochodnych **AZM-39 – AZM-44** w DMSO-d_6 .

H	AZM-39	AZM-40	AZM-41	AZM-42	AZM-43	AZM-44
1	---	---	---	---	---	---
2	2,69 (m, 1H)	2,51 (m, 1H)	2,54 (m, 1H)	2,54 (dq, 1H) $^3J_{\text{H}_2\text{-H}_3}=10,4$ $^3J_{\text{H}_2\text{-H}_{16}}=6,6$	2,69 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)
3	4,21 (m, 1H)	3,34 (m, 1H)	3,37 (m, 1H)	3,38 (m, 1H)	4,10 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_3\text{-H}_2}=4,7$	4,15 (m, 1H)
4	1,96 (m, 1H)	2,15 (q, 1H) $^3J_{\text{H}_4\text{-H}_{17}}=7,6$	2,18 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_4\text{-H}_{17}}=7,7$	2,19 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_4\text{-H}_{17}}=7,6$	1,92 (m, 1H)	1,94 (m, 1H)
5	3,55 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_5\text{-H}_4}=7,0$	3,46 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_5\text{-H}_4}=1,8$	3,49 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_5\text{-H}_4}=1,7$	3,49 (m, 1H)	3,51 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_5\text{-H}_4}=6,1$	3,55 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_5\text{-H}_4}=6,7$
6	---	---	---	---	---	---
7	1,62 (m, 1H) 1,33 (m, 1H)	1,47 (d, 1H) $^2J=14,1$ 1,32 (dd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{\text{H}_{7b}\text{-H}_8}=5,5$	1,50 (d, 1H) $^2J=14,2$ 1,35 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}_{7b}\text{-H}_8}=5,4$	1,49 (d, 1H) $^2J=14,1$ 1,35 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H}_{7b}\text{-H}_8}=5,7$	1,39 (d, 1H) $^2J=14,3$ 1,22 (m, 1H)	1,42 (d, 1H) $^2J=14,9$ 1,24 (m, 1H)
8	1,92 (m, 1H)	1,77 (m, 1H)	1,77 (m, 1H)	1,77 (m, 1H)	1,88 (m, 1H)	1,90 (m, 1H)
9	2,39 (d, 1H) $^2J=12,2$ 2,14 (m, 1H)	2,31 (dd, 1H) $^2J=11,8$ $^3J_{\text{H}_9\text{-H}_8}=3,4$ 2,05 (m, 1H)	2,32 (d, 1H) $^2J=12,2$ 2,07 (m, 1H)	2,33 (dd, 1H) $^2J=12,2$ $^3J_{\text{H}_9\text{-H}_8}=3,4$ 2,13 (t, 1H) $^2J=12,4$	2,36 (d, 1H) $^2J=11,5$ 2,10 (m, 1H)	2,35 (m, 1H) 2,10 (m, 1H)
10	2,69 (m, 1H)	2,68 (q, 1H) $^3J_{\text{H}_{10}\text{-H}_{121}}=6,9$	2,69 (q, 1H) $^3J_{\text{H}_{10}\text{-H}_{121}}=7,1$	2,69 (q, 1H) $^3J_{\text{H}_{10}\text{-H}_{121}}=6,9$	2,65 (m, 1H)	2,67 (m, 1H)
11	3,45 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,3$	3,42 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,3$	3,43 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,3$	3,44 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,3$	3,41 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,1$	3,42 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{11}\text{-H}_{10}}=8,7$
12	---	---	---	---	---	---
13	4,75 (m, 1H)	4,97 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}_{13}\text{H}_{14b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}_{13}\text{-H}_{14a}}=2,3$	4,98 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}_{13}\text{-H}_{14b}}=11,1$	4,99 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}_{13}\text{-H}_{14b}}=11,0$	4,78 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}_{13}\text{-H}_{14b}}=10,1$	4,74 (d, 1H) $^3J_{\text{H}_{13}\text{-H}_{14b}}=10,8$

H	AZM-39	AZM-40	AZM-41	AZM-42	AZM-43	AZM-44
			$^3J_{H13-H14a}=2,3$	$^3J_{H13-H14a}=2,3$	$^3J_{H13-Ha}=2,8$	
14	1,79 (m, 1H) 1,39 (m, 1H)	1,77 (m, 1H) 1,40 (dq, 1H) $^3J_{H14b-H13}=11,1$ $^3J_{H14b-H15}=7,1$	1,77 (m, 1H) 1,41 (m, 1H)	1,77 (m, 1H) 1,41 (m, 1H)	1,79 (m, 1H) 1,35 (m, 1H)	1,77 (m, 1H) 1,34 (m, 1H)
15	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,5$ $^3J_{H15-H14b}=7,5$	0,76 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,77 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,3$ $^3J_{H15-H14b}=7,3$	0,77 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,79 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,80 (t, 3H) $^3J_{H15-H14a}=7,4$ $^3J_{H15-H14b}=7,4$
16	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,6$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,1$	1,13 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,8$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=6,2$	1,10 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,5$	1,11 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,1$
17	1,00 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,7$	0,88 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,2$	0,94 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,3$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=8,0$	0,82 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,9$	0,85 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,5$
18	1,20 (s, 3H)	1,12 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)	1,16 (s, 3H)	1,21 (s, 3H)
19	0,87 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,8$	0,84 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,85 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,84 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	0,79 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,6$	0,82 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,0$
20	2,21 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,24 (s, 3H)	2,24 (s, 3H)	2,19 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)
21	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,6$	0,95 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,96 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,5$	0,96 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,2$	0,93 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$	0,94 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,7$
22	1,02 (s, 3H)	0,98 (s, 3H)	1,00 (s, 3H)	1,00 (s, 3H)	1,00 (s, 3H)	1,01 (s, 3H)
1'	4,45 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,74 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,79 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,9$	4,79 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,8$	4,60 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,8$	4,60 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,2$
2'	3,68 (m, 1H)	3,55 (m, 1H)	3,72 (m, 1H)	3,72 (m, 1H)	5,02 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=10,1$ $^3J_{H2'-H1'}=6,8$	5,17 (dd, 1H) $^3J_{H2'-H3'}=9,8$ $^3J_{H2'-H1'}=6,6$
3'	3,50 (m, 1H)	3,70 (m, 1H)	3,53 (m, 1H)	3,53 (m, 1H)	3,97 (m, 1H)	3,92 (ddd, 1H) $^3J_{H3'-H4b'}=11,8$ $^3J_{H3'-H2'}=9,7$ $^3J_{H3'-H4a'}=4,5$
4'	2,20 (m, 1H)	2,11 (m, 1H)	2,15 (d, 1H)	2,11 (d, 1H)	2,10 (m, 1H)	2,28 (m, 1H)

H	AZM-39	AZM-40	AZM-41	AZM-42	AZM-43	AZM-44
	1,62 (m, 1H)	1,62 (d, 1H) $^3J_{H4b'-H3'}=11,9$	$^3J_{H4a'-H3'}=12,2$ 1,69 (m, 1H)	$^3J_{H4a'-H3'}=12,6$ 1,70 (m, 1H)	1,79 (d, 1H) $^3J_{H4b'-H3'}=12,4$	1,90 (d, 1H) $^3J_{H4b'-H3'}=11,8$
5'	3,68 (m, 1H)	3,55 (m, 1H)	3,71 (m, 1H)	3,72 (m, 1H)	3,88 (m, 1H)	3,81 (q, 1H) $^3J_{H5'-H6'}=7,4$
6'	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,20 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,22 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,1$	1,21 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,19 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=5,9$	1,21 (d, 3H) $^3J_{H6'-H5'}=6,2$
7'	3,10 (s, 3H)	3,12 (s, 3H)	2,98 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	3,08 (s, 3H)	3,00 (s, 3H)
8'	3,05 (s, 3H)	3,20 (s, 3H)	2,98 (s, 3H)	3,04 (s, 3H)	3,11 (s, 3H)	3,05 (s, 3H)
9'	5,03 (d, 1H) $^2J=12,4$ 4,82 (d, 1H) $^2J=12,4$	4,61 (dd, 1H) $^2J=16,3$ $^4J_{H9a'-H11'}=2,5$ 4,55 (dd, 1H) $^2J=16,1$ $^4J_{H9b'-H11'}=2,6$	4,76 (s, 2H)	4,94 (d, 1H) $^2J=12,5$ 4,88 (d, 1H) $^2J=12,4$	4,48 (dd, 1H) $^2J=16,6$ $^4J_{H9a'-H11'}=2,5$ 4,26 (dd, 1H) $^2J=16,0$ $^4J_{H9b'-H11'}=2,5$	4,85 (d, 1H) $^2J=12,6$ 4,58 (d, 1H) $^2J=12,2$
10'	---	---	---	---	---	---
11'	7,94 (d, 1H) $^3J_{H11'-H12'}=7,9$	4,07 (m, 1H)	7,60 (dd, 1H) $^3J_{H11'-H12'}=7,4$ $^4J_{H11'-H13'}=1,6$	7,91 (d, 1H) $^3J_{H11'-H12'}=8,4$	4,18 (t, 1H) $^4J_{H11'-H9a'}=2,4$ $^4J_{H11'-H9b'}=2,4$	7,90 (d, 1H) $^3J_{H11'-H12'}=8,4$
12'	7,72 (t, 1H) $^3J_{H12'-H11'}=7,8$ $^3J_{H12'-H13'}=7,8$	---	7,52 (m, 1H)	8,35 (d, 1H) $^3J_{H12'-H11'}=8,4$	---	8,35 (d, 1H) $^3J_{H12'-H11'}=8,6$
13'	8,03 (d, 1H) $^3J_{H13'-H12'}=7,8$	---	7,52 (m, 1H)	---	2,13 (s, 3H)	---
14'	---	---	7,52 (m, 1H)	8,35 (d, 1H) $^3J_{H14'-H15'}=8,4$	---	8,35 (d, 1H) $^3J_{H14'-H15'}=8,6$
15'	8,09 (s, 1H)	---	7,60 (dd, 1H) $^3J_{H15'-H14'}=7,4$ $^4J_{H15'-H13'}=1,6$	7,91 (d, 1H) $^3J_{H15'-H14'}=8,4$	---	7,90 (d, 1H) $^3J_{H15'-H16'}=8,4$
16'	---	---	---	---	---	---
17'	---	---	---	---	---	2,21 (s, 3H)

H	AZM-39	AZM-40	AZM-41	AZM-42	AZM-43	AZM-44
1"	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,7$	---	---	---	4,87 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,8$	4,84 (d, 1H) $^3J_{H1''-H2b''}=4,7$
2"	2,27 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,54 (dd, 1H) $^2J=15,1$ $^3J_{H2''-H1''}=4,9$	---	---	---	2,27 (d, 1H) $^2J=15,0$ 1,54 (dd, 1H) $^2J=15,0$ $^3J_{H2''-H1''}=5,0$	2,28 (m, 1H) 1,54 (dd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{H2''-H1''}=4,7$
3"	---	---	---	---	---	---
4"	2,93 (m, 1H)	---	---	---	2,95 (dd, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=9,5$ $^3J_{H4''-OH}=7,2$	2,96 (d, 1H) $^3J_{H4''-H5''}=8,2$
5"	4,03 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,5$ $^3J_{H5''-H6''}=6,5$	---	---	---	4,02 (m, 1H)	4,00 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,2$ $^3J_{H5''-H6''}=6,2$
6"	1,14 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,3$	---	---	---	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,7$	1,18 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,7$
7"	1,13 (s, 3H)	---	---	---	1,14 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)
8"	3,21 (s, 3H)	---	---	---	3,27 (s, 3H)	3,22 (s, 3H)
3-OH	---	5,46 (d, 1H) $^3J_{H3-OH}=6,6$	5,48 (d, 1H) $^3J_{H3-OH}=6,6$	5,51 (d, 1H) $^3J_{H3-OH}=6,7$	---	---
6-OH	7,68 (s, 1H)	6,32 (s, 1H)	6,36 (s, 1H)	6,34 (s, 1H)	7,72 (s, 1H)	7,75 (s, 1H)
11-OH	4,32 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,4$	4,06 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,2$	4,07 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,1$	4,08 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=8,2$	4,28 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=9,0$	4,30 (m, 1H)
12-OH	4,33 (s, 1H)	4,34 (s, 1H)	4,35 (s, 1H)	4,35 (s, 1H)	4,30 (s, 1H)	4,31 (s, 1H)
2'-OH	6,20 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,5$	5,73 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=4,8$	5,83 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=3,7$	5,88 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=3,8$	---	---
4'-OH	4,21 (m, 1H)	---	---	---	4,36 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,3$	4,30 (m, 1H)

Tabela 12. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] dla pochodnych AZM-39 – AZM-44 w DMSO- d_6 .

C	AZM-39	AZM-40	AZM-41	AZM-42	AZM-43	AZM-44
1	177,2	175,4	175,4	175,4	176,9	177,0
2	44,6	43,2	43,2	43,3	44,5	44,6
3	77,1	76,7	76,7	76,8	77,0	77,0
4	41,2	35,3	35,4	35,4	44,1	41,2
5	82,8	87,5	87,8	88,0	83,0	82,7
6	72,5	72,3	72,3	72,3	72,1	72,5
7	41,8	40,7	40,8	40,8	44,0	41,1
8	26,1	25,9	25,9	25,9	25,9	26,0
9	68,7	69,0	69,0	69,0	68,4	68,5
10	61,5	61,1	61,6	61,6	61,4	61,4
11	75,0	76,4	76,4	76,4	75,0	75,0
12	73,6	73,6	73,6	73,6	73,6	73,5
13	76,3	76,1	76,1	76,1	76,4	76,4
14	20,9	20,7	20,7	20,7	20,9	20,9
15	11,0	10,5	10,5	10,5	10,9	10,9
16	14,7	16,3	16,3	16,3	14,7	14,8
17	9,0	8,4	8,5	8,5	8,9	8,9
18	27,4	26,2	26,2	26,2	27,4	27,5
19	22,2	21,4	21,4	21,4	22,0	22,0
20	35,7	36,2	36,2	36,2	35,7	35,7
21	6,7	6,3	6,3	6,3	6,7	6,7
22	17,7	17,8	17,8	17,8	17,6	17,6
1'	101,0	100,7	101,0	101,0	98,8	98,8
2'	70,2	70,3	70,4	70,4	70,1	70,2
3'	69,9	71,1	71,7	72,0	68,6	69,7
4'	32,3	32,4	32,2	32,2	32,0	32,1
5'	65,8	66,6	66,8	66,7	65,9	66,0
6'	21,1	20,8	20,8	20,9	20,9	20,9
7'	49,8	49,3	49,4	49,8	50,0	49,6
8'	47,6	49,0	48,1	48,3	49,1	47,6
9'	66,1	55,2	66,0	64,6	55,9	65,0
10'	138,2	72,9	128,3	135,5	83,9	134,8
11'	137,1	83,1	133,5	135,1	73,0	134,9
12'	130,1	---	128,9	123,7	169,0	123,8
13'	130,1	---	130,2	148,5	21,6	148,7
14'	112,8	---	128,9	123,7	---	123,8
15'	113,8	---	133,5	135,1	---	134,9
16'	118,2	---	---	---	---	169,1
17'	---	---	---	---	---	21,7
1''	94,4	---	---	---	94,4	94,4
2''	34,5	---	---	---	34,5	34,5
3''	72,8	---	---	---	72,3	72,9
4''	77,1	---	---	---	77,1	77,0

5"	64,7	---	---	---	64,9	64,7
6"	18,6	---	---	---	18,5	18,5
7"	21,1	---	---	---	21,1	20,9
8"	49,0	---	---	---	49,0	49,0

Tabela 13. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla antybiotyku **CLA** oraz pochodnych **CLA-1 – CLA-6** w DMSO-d_6 .

H	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
1	---	---	---	---	---	---	---
2	2,79 (m, 1H)	2,81 (dq, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}3}=9,6$ $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=7,3$	2,80 (m, 1H)	2,80 (m, 1H)	2,81 (dq, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}3}=9,3$ $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=7,2$	2,81 (m, 1H)	2,83 (m, 1H)
3	3,61 (m, 1H)	3,60 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}3-\text{H}2}=9,6$ $^3J_{\text{H}3-\text{H}4}=1,4$	3,58 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	3,62 (m, 1H)
4	1,82 (m, 1H)	1,89 (t, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,3$	1,88 (t, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,5$	1,88 (t, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,3$	1,89 (t, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,3$	1,87 (q, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,4$	1,90 (t, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,5$
5	3,60 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	3,68 (m, 1H)
6	---	---	---	---	---	---	---
7	1,75 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H}7\text{aH}8}=10,5$ 1,46 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}7\text{b}-\text{H}8}=3,2$	1,75 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}7\text{aH}8}=10,1$ 1,49 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}7\text{b}-\text{H}8}=3,3$	1,77 (m, 1H)	1,73 (m, 1H)	1,76 (dd, 1H) $^2J=14,7$ $^3J_{\text{H}7\text{aH}8}=10,0$ 1,50 (m, 1H)	1,74 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H}7\text{aH}8}=10,4$ 1,49 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}7\text{b}-\text{H}8}=3,1$	1,78 (dd, 1H) $^2J=14,6$ $^3J_{\text{H}7\text{aH}8}=10,1$ 1,52 (m, 1H)
8	2,54 (m, 1H)	2,58 (ddq, 1H) $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{a}}=10,2$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}19}=7,2$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{b}}=3,5$	2,57 (m, 1H)	2,57 (m, 1H)	2,58 (m, 1H)	2,56 (ddq, 1H) $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{a}}=10,3$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}19}=6,9$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{b}}=3,2$	2,59 (ddq, 1H) $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{a}}=10,9$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}19}=7,2$ $^3J_{\text{H}8-\text{H}7\text{b}}=3,4$
9	---	---	---	---	---	---	---
10	2,97 (m, 1H)	2,96 (m, 1H)	2,95 (m, 1H)	2,94 (m, 1H)	2,95 (m, 1H)	2,95 (m, 1H)	2,95 (m, 1H)
11	3,64 (m, 1H)	3,65 (m, 1H)	3,60 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	3,67 (m, 1H)	3,66 (m, 1H)
12	---	---	---	---	---	---	---
13	5,05 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,0$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,06 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,2$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,06 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,06 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,07 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,06 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$	5,07 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14\text{b}}=11,1$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}a}=2,4$

H	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
14	1,81 (m, 1H) 1,38 (ddd, 1H) $^2J=14,0$ $^3J_{H14b}$ $H13=11,0$ $^3J_{H14b}$ $H15=6,4$	1,82 (ddd, 1H) $^2J=14,2$ $^3J_{H14a}$ $H15=7,5$ $^3J_{H14a}$ $H13=2,3$ 1,38 (m, 1H)	1,82 (m, 1H) 1,38 (m, 1H)	1,81 (m, 1H) 1,38 (dq, 1H) $^3J_{H14b}$ $H13=11,2$ $^3J_{H14b}$ $H15=7,2$	1,82 (m, 1H) 1,39 (dq, 1H) $^3J_{H14b}$ $H13=11,1$ $^3J_{H14b}$ $H15=7,2$	1,81 (m, 1H) 1,38 (m, 1H)	1,83 (m, 1H) 1,39 (dq, 1H) $^3J_{H14b}$ $H13=11,1$ $^3J_{H14b}$ $H15=7,1$
15	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,75 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$	0,76 (t, 1H) $^3J_{H15}$ $H14a=7,4$ $^3J_{H15}$ $H14b=7,4$
16	1,12 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,6$	1,13 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,3$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H16}$ $H2=7,0$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H16}$ $H2=7,1$	1,13 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,2$	1,13 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,2$	1,14 (d, 3H) $^3J_{H16-H2}=7,2$
17	1,03* (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,3$	1,05 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,0$	1,05 (d, 3H) $^3J_{H17}$ $H4=7,2$	1,05 (d, 3H) $^3J_{H17}$ $H4=7,1$	1,04 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,8$	1,05 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=7,0$	1,07 (d, 3H) $^3J_{H17-H4}=6,9$
18	1,30 (s, 3H)	1,30 (s, 3H)	1,30 (s, 3H)	1,30 (s, 3H)	1,31 (s, 3H)	1,29 (s, 3H)	1,31 (s, 3H)
19	1,07 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,4$	1,03 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,1$	1,03 (d, 3H) $^3J_{H19}$ $H8=7,0$	1,03 (d, 3H) $^3J_{H19}$ $H8=6,8$	1,06 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,0$	1,03 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=7,0$	1,06 (d, 3H) $^3J_{H19-H8}=6,9$
20	1,03* (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=7,3$	1,01 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=7,0$	1,01 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=7,0$	1,01 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=7,2$	1,04 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=6,8$	1,01 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=8,0$	1,04 (d, 3H) $^3J_{H20}$ $H10=6,0$
21	1,02 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	1,02 (s, 3H)	1,06 (s, 3H)
22	2,95 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,96 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,96 (s, 3H)	2,98 (s, 3H)
1'	4,39 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,45 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=6,9$	4,43 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ $H2'=6,7$	4,44 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ $H2'=7,0$	4,47 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,48 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$	4,43 (d, 1H) $^3J_{H1'-H2'}=7,0$
2'	3,02 (t, 1H) $^3J_{H2'-H1'}=7,5$	3,56 (m, 1H)	3,53 (m, 1H)	3,54 (m, 1H)	3,56 (m, 1H)	3,53 (m, 1H)	3,66 (m, 1H)

H	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
3'	2,40 (dq, 1H) ${}^3J_{H1''}$ $H2''=10,9$ ${}^3J_{H1''-H2''}=3,8$	3,46 (ddd, 1H) ${}^3J_{H3'}$ $H4'=12,0$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=10,3$ ${}^3J_{H1'-H2'}=4,1$	3,43 (ddd, 1H) ${}^3J_{H3'}$ $H4'=12,4$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=10,2$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=4,1$	3,45 (ddd, 1H) ${}^3J_{H3'}$ $H4'=12,3$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=10,5$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=4,1$	3,50 (m, 1H)	3,49 (m, 1H)	3,44 (ddd, 1H) ${}^3J_{H3'}$ $H4'=12,4$ ${}^3J_{H1'}$ $H2'=10,9$ ${}^3J_{H1'-H2'}=3,8$
4'	1,58 (m, 1H) 1,06 (m, 1H)	2,05 (m, 1H) 1,58 (m, 1H)	2,03 (m, 1H) 1,73 (m, 1H)	2,03 (m, 1H) 1,60 (m, 1H)	2,07 (m, 1H) 1,60 (m, 1H)	2,08 (m, 1H) 1,59 (m, 1H)	2,06 (m, 1H) 1,60 (d, 1H) ${}^3J_{H4b'}$ $H3'=12,4$
5'	3,67 (m, 1H)	3,71 (m, 1H)	3,72 (m, 1H)	3,73 (m, 1H)	3,72 (m, 1H)	3,79 (m, 1H)	3,66 (m, 1H)
6'	1,06 (d, 1H) ${}^3J_{H6''-H5''}=7,3$	1,15 (d, 1H) ${}^3J_{H6''-H5''}=6,1$	1,13 (d, 1H) ${}^3J_{H6'}$ $H5'=7,0$	1,14 (d, 1H) ${}^3J_{H6'}$ $H5'=7,1$	1,15 (d, 1H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,15 (d, 1H) ${}^3J_{H6'-H5'}=7,0$	1,14 (d, 1H) ${}^3J_{H6'-H5'}=7,2$
7'	2,21 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	2,97 (s, 3H)	2,96 (s, 3H)	3,08 (s, 3H)	3,10 (s, 3H)	2,99 (s, 3H)
8'	2,21 (s, 3H)	3,06 (s, 3H)	3,03 (s, 3H)	3,02 (s, 3H)	3,11 (s, 3H)	3,15 (s, 3H)	3,06 (s, 3H)
9'	---	4,30 (dd, 1H) ${}^2J=12,8$ ${}^3J_{H9a'}$ $H10'=7,4$ 4,17 (dd, 1H) ${}^2J=12,7$ ${}^3J_{H9b'}$ $H10'=6,9$	4,28 (dd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H9a'}$ $H10'=7,8$ 4,07 (dd, 1H) ${}^2J=12,6$ ${}^3J_{H9b'}$ $H10'=7,1$	4,25 (dd, 1H) ${}^2J=13,2$ ${}^3J_{H9a'}$ $H10'=8,2$ 4,18 (dd, 1H) ${}^2J=13,1$ ${}^3J_{H9b'}$ $H10'=7,8$	4,56 (dd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H9a'}$ $H10'=7,5$ 4,31 (dd, 1H) ${}^2J=12,9$ ${}^3J_{H9b'}$ $H10'=7,2$	5,22 (dd, 1H) ${}^2J=16,0$ ${}^4J_{H9a'}$ $H11'=2,3$ 4,78 (dd, 1H) ${}^2J=17,2$ ${}^4J_{H9b'}$ $H11'=2,8$	4,98 (d, 1H) ${}^2J=12,6$ 4,73 (d, 1H) ${}^3J_{H9b'}$ $H11'=12,5$
10'	---	6,08 (ddt, 1H) ${}^3J_{H10'}$ $H11b'=17,0$ ${}^3J_{H10'}$ $H11a'=10,2$ ${}^3J_{H10'}$ $H9a'=7,0$ ${}^3J_{H10'}$ $H9b'=7,0$	5,68 (m, 1H)	5,42 (m, 1H)	6,49 (dt, 1H) ${}^3J_{H10'}$ $H11'=15,3$ ${}^3J_{H10'}$ $H9a'=7,4$ ${}^3J_{H10'}$ $H9b'=7,4$	---	---

H	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
11'	---	5,64 (dd, 1H) $^3J_{H11a'}$ - $H_{10'}$ =10,2 $^3J_{H11a'}$ - $H_{11b'}$ =1,8 5,60 (dd, 1H) $^3J_{H11b'}$ - $H_{10'}$ =16,9 $^3J_{H11a'}$ - $H_{11b'}$ =1,7	6,02 (m, 1H)	---	6,87 (d, 1H) $^3J_{H11'}$ - $H_{10'}$ =15,6	4,09 (t, 1H) $^4J_{H11'}$ - $H_{9a'}$ =2,4 $^4J_{H11'}$ - $H_{9a'}$ =2,4	7,29 (dd, 1H) $^3J_{H11'}$ - $H_{12'}$ =4,9 $^3J_{H11'}$ - $H_{13'}$ =1,3
12'	---	---	1,77 (d, 1H) $^3J_{H12'}$ - $H_{11'}$ =5,9	1,75 (s, 3H)	---	---	7,71 (dd, 1H) $^3J_{H12'}$ - $H_{11'}$ =5,0 $^3J_{H12'}$ - $H_{13'}$ =2,9
13'	---	---	---	1,82 (s, 3H)	7,55 (m, 1H)	---	7,85 (dd, 1H) $^3J_{H13'}$ - $H_{12'}$ =2,8 $^3J_{H13'}$ - $H_{11'}$ =1,3
14'	---	---	---	---	7,40 (m, 1H)	---	---
15'	---	---	---	---	7,36 (m, 1H)	---	---
16'	---	---	---	---	7,40 (m, 1H)	---	---
17'	---	---	---	---	7,55 (m, 1H)	---	---
1"	4,77 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,0	4,80 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,0	4,80 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,0	4,80 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,1	4,79 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,0	4,80 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =4,7	4,80 (d, 1H) $^3J_{H1'}$ - $H_{2b'}$ =5,0
2"	2,28 (d, 1H) 2J =15,1 1,53 (dd, 1H) 2J =15,1 $^3J_{H2'-H1'}$ =5,0	2,29 (d, 1H) 2J =15,0 1,56 (m, 1H)	2,29 (d, 1H) 2J =15,0 1,55 (m, 1H)	2,29 (d, 1H) 2J =15,0 1,56 (m, 1H)	2,25 (d, 1H) 2J =15,1 1,57 (m, 1H)	2,29 (d, 1H) 2J =15,0 1,54 (dd, 1H) 2J =15,2 $^3J_{H2'-H1'}$ =5,2	2,29 (d, 1H) 2J =15,0 1,54 (m, 1H)
3"	---	---	---	---	---	---	---
4"	2,91 (m, 1H)	2,94 (dd, 1H)	2,93 (m, 1H)	2,93 (m, 1H)	2,92 (dd, 1H)	2,93 (m, 1H)	2,93 (dd, 1H)

H	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
		$^3J_{H4''-H5''}=9,6$ $^3J_{H4''-OH}=7,3$			$^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,6$		$^3J_{H4''-H5''}=9,4$ $^3J_{H4''-OH}=7,2$
5''	4,04 (m, 1H)	3,97 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=9,2$ $^3J_{H5''-H6''}=6,1$	3,97 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=9,4$ $^3J_{H5''-H6''}=6,1$	3,97 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=9,4$ $^3J_{H5''-H6''}=6,1$	3,96 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=9,3$ $^3J_{H5''-H6''}=6,1$	3,97 (dq, 1H) $^3J_{H5''-H4''}=12,1$ $^3J_{H5''-H6''}=6,0$	3,97 (m, 1H)
6''	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,0$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,2$	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,1$	1,17 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,1$	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,0$	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,1$	1,16 (d, 3H) $^3J_{H6''-H5''}=6,1$
7''	1,13 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,15 (s, 3H)	1,09 (s, 3H)	1,14 (s, 3H)	1,13 (s, 3H)
8''	3,21 (s, 3H)	3,22 (s, 3H)	3,23 (s, 3H)	3,22 (s, 3H)	3,10 (s, 3H)	3,24 (s, 3H)	3,20 (s, 3H)
11-OH	3,64 (m, 1H)	3,64 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=4,6$	3,60 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=9,6$	3,64 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=9,4$	3,64 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=6,3$	3,64 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=7,5$	3,62 (d, 1H) $^3J_{H11-OH}=10,1$
12-OH	4,09 (s, 1H)	4,15 (s, 1H)	4,14 (s, 1H)	4,15 (s, 1H)	4,15 (s, 1H)	4,14 (s, 1H)	4,15 (s, 1H)
2'-OH	4,39 (d, 1H) $^3J_{H4'-OH}=7,0$	5,97 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,4$	5,94 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,4$	5,99 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,2$	6,01 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,0$	6,06 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,2$	6,18 (d, 1H) $^3J_{H2'-OH}=5,4$
4''-OH	4,04 (m, 1H)	4,42 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,4$	4,44 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,4$	4,47 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,3$	4,37 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,6$	4,54 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,0$	4,43 (d, 1H) $^3J_{H4''-OH}=7,0$

Tabela 14. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] dla antybiotyku **CLA** oraz pochodnych **CLA-1 – CLA-6** w DMSO-d_6 .

C	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
1	175,3	175,1	175,1	175,1	175,1	175,1	175,2
2	44,5	44,4	44,4	44,3	44,4	44,3	44,4
3	77,3	77,0	77,0	77,0	77,0	77,0	77,0
4	38,6	38,5	38,4	38,5	38,5	38,4	38,5
5	79,3	79,7	79,7	79,7	79,7	79,7	79,4
6	77,9	77,8	77,8	77,8	77,8	77,7	77,8
7	38,5	38,3	38,3	38,3	38,3	38,2	38,3
8	43,5	43,2	43,2	43,2	43,2	43,3	43,2
9	218,7	218,3	218,3	218,3	218,3	218,3	218,3
10	38,2	38,4	38,4	38,4	38,4	38,3	38,5
11	68,9	69,7	68,9	68,9	69,0	69,5	69,0
12	74,2	74,2	74,2	74,2	74,2	74,2	74,2
13	76,0	76,0	76,0	76,0	76,0	76,0	76,0
14	20,7	20,8	20,8	20,8	20,8	20,7	20,7
15	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5
16	15,7	15,7	15,7	15,7	15,7	15,7	15,7
17	9,0	9,2	9,2	9,1	9,2	9,2	9,1
18	20,0	20,0	20,0	20,0	20,1	20,0	20,1
19	17,7	17,7	17,8	17,8	17,8	17,8	17,8
20	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8
21	17,0	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1
22	50,2	50,2	50,2	50,2	50,2	50,2	50,3
1'	102,2	100,9	100,9	101,0	101,0	100,7	101,0
2'	70,7	70,7	70,7	70,8	70,8	70,7	70,8
3'	64,4	68,9	68,9	68,9	69,0	68,9	68,8
4'	30,0	32,2	32,2	32,3	32,2	32,3	32,1
5'	67,0	65,7	65,7	65,8	65,8	65,7	65,9
6'	21,5	21,1	21,0	21,1	21,0	21,1	21,1
7'	40,3	49,5	49,2	49,0	49,6	50,0	49,6
8'	40,3	48,1	47,7	47,1	47,8	47,6	47,5
9'	---	66,7	66,6	62,7	67,2	56,2	62,2
10'	---	126,4	119,1	112,2	117,0	83,3	128,9
11'	---	127,7	139,6	145,8	135,3	73,0	130,7
12'	---	---	18,1	26,1	140,8	---	127,5
13'	---	---	---	18,4	127,1	---	131,9
14'	---	---	---	---	128,7	---	---
15'	---	---	---	---	128,9	---	---
16'	---	---	---	---	128,7	---	---
17'	---	---	---	---	127,1	---	---
1''	95,6	95,7	95,6	95,6	95,6	95,6	95,7
2''	34,8	34,6	34,6	34,6	34,6	34,6	34,6
3''	72,5	72,6	72,6	72,6	72,5	72,6	72,6
4''	77,3	77,0	76,9	76,9	76,9	76,7	76,9

C	CLA	CLA-1	CLA-2	CLA-3	CLA-4	CLA-5	CLA-6
5"	65,0	65,1	65,1	65,1	65,1	65,0	65,1
6"	18,8	18,8	18,8	18,8	18,8	18,9	18,9
7"	20,8	20,7	20,8	20,8	20,6	20,8	20,7
8"	48,9	48,9	48,9	48,8	48,8	49,0	49,2

Tabela 15. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla antybiotyku **CLA** oraz pochodnych **CLA-7 – CLA-14** w DMSO- d_6 lub/i CDCl_3 .

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl_3)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl_3)	CLA-12 (CDCl_3)	CLA-13 (CDCl_3)	CLA-14 (CDCl_3)	CLA-14 (DMSO)
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
2	2,79 (m, 1H)	2,87 (m, 1H)	2,82 (dq, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}3}=14,1$ $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=7,0$	2,54 (m, 1H)	2,54 (m, 1H)	3,72 (q, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=6,9$	3,72 (q, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=6,8$	3,73 (m, 1H)	---	---
3	3,61 (m, 1H)	3,97 (d, 1H) $^3J_{\text{H}3-\text{H}2}=8,6$	3,71 (d, 1H) $^3J_{\text{H}3-\text{H}2}=10,1$	3,41 (m, 1H)	3,41 (m, 1H)	---	---	---	---	---
4	1,82 (m, 1H)	1,92* (m, 1H)	1,77 (t, 1H) $^3J_{\text{H}7-\text{H}17}=7,5$	1,78 (m, 1H)	1,78 (m, 1H)	3,04 (p, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,5$	3,04 (m, 1H)	3,01 (m, 1H)	3,91 (dq, 1H) $^3J_{\text{H}4-\text{H}5}=9,4$ $^3J_{\text{H}4-\text{H}17}=7,3$	3,81 (m, 1H)
5	3,61* (m, 1H)	3,66 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=7,7$	3,63 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=7,7$	3,74 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=3,8$	3,74 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=3,8$	4,12 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=8,2$	4,14 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=8,4$	4,11 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=8,6$	4,04 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=9,4$	3,91 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=9,4$
6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
7	1,75 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=10,5$ 1,46 (dd, 1H) $^2J=14,8$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=3,2$	2,04 (dd, 1H) $^2J=14,9$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=4,3$ 1,39* (m, 1H)	1,82 (dd, 1H) $^2J=14,7$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=3,0$ 1,06 (d, 1H) $^2J=13,0$	1,69 (m, 1H) 1,20 (m, 1H)	1,69 (m, 1H) 1,20 (m, 1H)	1,82 (dd, 1H) $^2J=14,4$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=6,9$ 1,51 (m, 1H)	1,81 (dd, 1H) $^2J=14,4$ $^3J_{\text{H}7-\text{H}8}=6,3$ 1,51 (m, 1H)	1,84 (m, 1H) 1,62 (m, 1H)	2,14 (m, 1H) 1,24 (m, 1H)	2,03 (m, 1H) 1,02 (m, 1H)
8	2,54 (m, 1H)	3,30* (m, 1H)	3,36 (m, 1H)	3,28 (m, 1H)	3,28 (m, 1H)	3,15 (m, 1H)	3,15 (m, 1H)	3,15 (m, 1H)	3,22 (m, 1H)	3,24 (m, 1H)

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl ₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl ₃)	CLA-12 (CDCl ₃)	CLA-13 (CDCl ₃)	CLA-14 (CDCl ₃)	CLA-14 (DMSO)
9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
10	2,97 (m, 1H)	---	---	---	---	---	---	---	---	---
11	3,64 (m, 1H)	6,62 (s, 1H)	6,58 (s, 1H)	6,49 (s, 1H)	6,49 (s, 1H)	6,59 (s, 1H)	6,60 (s, 1H)	6,78 (s, 1H)	6,33 (s, 1H)	6,33 (s, 1H)
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
13	5,05 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =11,0 ³ J _{H13-H14a} =2,4	5,00 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,5 ³ J _{H13-H14a} =2,6	4,88 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,7 ³ J _{H13-H14a} =2,4	4,90 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,5 ³ J _{H13-H14a} =2,3	4,90 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,5 ³ J _{H13-H14a} =2,3	4,98 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =9,8 ³ J _{H13-H14a} =2,9	4,95 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =9,7 ³ J _{H13-H14a} =2,9	5,68 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =9,9 ³ J _{H13-H14a} =2,9	4,29 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =9,2 ³ J _{H13-H14a} =4,5	4,53 (dd, 1H) ³ J _{H13-H14b} =10,5 ³ J _{H13-H14a} =3,2
14	1,82 (m, 1H) 1,38 (ddd, 1H) ² J=14,0 ³ J _{H14b-H13} =11,0 ³ J _{H14b-H15} =6,4	1,92* (m, 1H) 1,50 (ddt, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H15} =7,3 ³ J _{H14b-H13} =2,9	1,90* (m, 1H) 1,43 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,6 ³ J _{H14b-H15} =7,2	1,87 (m, 1H) 1,43 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,4 ³ J _{H14b-H15} =7,3	1,87 (m, 1H) 1,43 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H13} =10,4 ³ J _{H14b-H15} =7,3	1,95 (ddd, 1H) ² J=14,4 ³ J _{H14b-H15} =7,5 ³ J _{H14b-H13} =2,9 1,55 (ddd, 1H) ² J=14,3 ³ J _{H14b-H13} =9,9 ³ J _{H14b-H15} =7,3	1,94 (ddd, 1H) ² J=14,2 ³ J _{H14b-H15} =7,5 ³ J _{H14b-H13} =2,9 1,54 (m, 1H)	1,79 (m, 1H) 1,67 (m, 1H)	1,68 (m, 1H) 1,64 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,56 (m, 1H)
15	0,75 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,90 (d, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,3	0,79 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,79 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,79 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,92 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,90 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,4	0,94 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,5	1,11 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,3	1,01 (t, 1H) ³ J _{H15-H14b} =7,5
16	1,12 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =7,6	1,24 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,9	1,18 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,4	1,16 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,7	1,16 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,7	1,34 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,9	1,32 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,35 (d, 3H) ³ J _{H16-H2} =6,8	1,74 (s, 3H)	1,64 (s, 3H)
17	1,03 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,3	1,09 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,4	1,02 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,3	0,86 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,3	0,86 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,3	1,11 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,4	1,11 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,4	1,11 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,4	1,07 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,2	0,97 (d, 3H) ³ J _{H17-H4} =7,0

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl ₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl ₃)	CLA-12 (CDCl ₃)	CLA-13 (CDCl ₃)	CLA-14 (CDCl ₃)	CLA-14 (DMSO)
18	1,30 (s, 3H)	1,39 (s, 3H)	1,35 (s, 3H)	1,21 (s, 3H)	1,21 (s, 3H)	1,28 (s, 3H)	1,28 (s, 3H)	1,29 (s, 3H)	1,32 (s, 3H)	1,26 (s, 3H)
19	1,07 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,4	1,14 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,7	0,97 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,3	1,00 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,6	1,00 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,6	1,14 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,8	1,13 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,8	1,21 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =7,6	1,13 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,6	1,03 (d, 3H) ³ J _{H19-H8} =6,5
20	1,03 (d, 3H) ³ J _{H20-H10} =7,3	2,00 (s, 3H)	1,90 (s, 3H)	1,91 (s, 3H)	1,91 (s, 3H)	2,01 (s, 3H)	1,99 (s, 3H)	1,82 (s, 3H)	1,93 (s, 3H)	1,87 (s, 3H)
21	1,02 (s, 3H)	1,40 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	1,46 (s, 3H)	1,45 (s, 3H)	1,85 (s, 3H)	1,75 (s, 3H)	1,76 (s, 3H)
22	2,95 (s, 3H)	3,22 (s, 3H)	3,22 (s, 3H)	3,07 (s, 3H)	3,07 (s, 3H)	2,85 (s, 3H)	2,84 (s, 3H)	2,77 (s, 3H)	2,86 (s, 3H)	2,79 (s, 3H)
23	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	7,06 (d, 3H) ³ J _{H24-H25} =1,7	---	---
25	---	---	---	---	---	---	---	7,36 (t, 3H) ³ J _{H25-H26} =1,5	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	8,08 (d, 3H) ³ J _{H26-H25} =1,1	---	---
1'	4,39 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,0	4,35 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,2	4,28 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,2	4,29 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,5	4,44 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,7	4,34 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,6	4,36 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,6	4,34 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,6	4,45 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,6	4,44 (d, 1H) ³ J _{H1"-H2"} =7,7
2'	3,02 (t, 1H) ³ J _{H2"-H1"} =7,5	3,18 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,3 ³ J _{H2"-H1"} =7,2	2,97 (ddd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,1 ³ J _{H2"-H1"} =7,3 ³ J _{H2"-H1"} =2,4	2,99 (m, 1H)	4,50 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6	4,71 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6	4,48 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6	4,71 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6	4,70 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6	4,50 (dd, 1H) ³ J _{H2"-H3"} =10,5 ³ J _{H2"-H1"} =7,6

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl ₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl ₃)	CLA-12 (CDCl ₃)	CLA-13 (CDCl ₃)	CLA-14 (CDCl ₃)	CLA-14 (DMSO)
3'	2,40 (dq, 1H) ³ J _{H1''-H2''} =10,9 ³ J _{H1''-H2''} =3,8	2,42 (ddd, 1H) ³ J _{H2''-H3''} =10,3 ³ J _{H2''-H1''} =7,2	2,42 (ddd, 1H) ³ J _{H2''-H3''} =12,1 ³ J _{H2''-H3''} =10,0 ³ J _{H2''-H1''} =4,0	2,44 (ddd, 1H) ³ J _{H2''-H3''} =12,1 ³ J _{H2''-H3''} =10,0 ³ J _{H2''-H1''} =4,1	2,75 (ddd, 1H) ³ J _{H2''-H3''} =12,1 ³ J _{H2''-H3''} =10,5 ³ J _{H2''-H1''} =4,3	2,64 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	2,63 (m, 1H)	2,65 (m, 1H)	2,75 (ddd, 1H) ³ J _{H2''-H3''} =12,1 ³ J _{H2''-H3''} =10,5 ³ J _{H2''-H1''} =4,3
4'	1,58 (d, 1H) ² J=11,5 1,06 (m, 1H)	1,63 (ddd, 1H) ² J=12,8 ² J=2,1 ² J=4,1 1,18 (m, 1H)	1,59 (m, 1H) 1,06 (d, 1H) ² J=13,0	1,61 (m, 1H) 1,11 (d, 1H) ² J=13,0	1,75 (m, 1H) 1,19 (m, 1H)	1,71 (m, 1H) 1,29 (m, 1H)	1,72 (m, 1H) 1,30 (m, 1H)	1,70 (m, 1H) 1,31 (m, 1H)	1,70 (m, 1H) 1,29 (m, 1H)	1,75 (m, 1H) 1,19 (m, 1H)
5'	3,67 (m, 1H)	3,46 (dq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =10,2 ³ J _{H5''-H6''} =6,0 ³ J _{H5''-H4''} =4,8	3,58 (m, 1H)	3,42 (m, 1H)	3,59 (ddq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =12,4 ³ J _{H5''-H6''} =6,1 ³ J _{H5''-H4''} =1,8	3,52 (m, 1H)	3,51 (m, 1H)	3,48 (m, 1H)	3,51 (m, 1H)	3,59 (ddq, 1H) ³ J _{H5''-H4''} =12,4 ³ J _{H5''-H6''} =6,1 ³ J _{H5''-H4''} =1,8
6'	1,06 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =7,3	1,21 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,09 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =5,9	1,13 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,2	1,17 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,23 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,22 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,23 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,4	1,20 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1	1,17 (d, 3H) ³ J _{H6''-H5''} =6,1
7'	2,21 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,19 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,14 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,24 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,14 (s, 3H)
8'	2,21 (s, 3H)	2,26 (s, 3H)	2,19 (s, 3H)	2,21 (s, 3H)	2,14 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,24 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,23 (s, 3H)	2,14 (s, 3H)
9'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
10'	---	---	---	---	1,96 (s, 3H)	2,03 (s, 3H)	4,72 (dd, 1H) ² J=15,5 ⁴ J _{H2''-H1''} =2,4	2,03 (s, 3H)	2,04 (s, 3H)	1,96 (s, 3H)

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl ₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl ₃)	CLA-12 (CDCl ₃)	CLA-13 (CDCl ₃)	CLA-14 (CDCl ₃)	CLA-14 (DMSO)
							4,64 (dd, 1H) ² J=15,5 ⁴ J _{H2''-H1''} =2,4			
11'	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
12'	---	---	---	---	---	---	2,47 (t, 1H) ⁴ J _{H6''-H5''} =2,4	---	---	---
1''	4,77 (d, 1H) ³ J _{H1'-H2b'} =5,0	4,85 (d, 1H) ³ J _{H1'-H2b'} =4,8	4,82 (d, 1H) ³ J _{H1'-H2b'} =4,8	---	---	---	---	---	---	---
2''	2,28 (d, 1H) ² J=15,1 1,53 (dd, 1H) ² J=15,1 ³ J _{H2'-H1'} =5,0	2,36 (d, 1H) ² J=15,2 1,57 (dd, 1H) ² J=15,2 ³ J _{H2'-H1'} =4,9	2,30 (d, 1H) ² J=15,1 1,53 (dd, 1H) ² J=15,0 ³ J _{H2'-H1'} =4,9	---	---	---	---	---	---	---
3''	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
4''	2,91 (m, 1H)	3,00 (d, 1H) ³ J _{H4'-H5'} =9,2	2,89 (t, 1H) ³ J _{H4'-H5'} =8,2	---	---	---	---	---	---	---
5''	4,04* (m, 1H)	4,02 (dd, 1H) ³ J _{H5'-H4''} =9,3 ³ J _{H5'-H6'} =6,2	4,05 (m, 1H)	---	---	---	---	---	---	---

H	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl ₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl ₃)	CLA-12 (CDCl ₃)	CLA-13 (CDCl ₃)	CLA-14 (CDCl ₃)	CLA-14 (DMSO)
6"	1,16 (d, 3H) ³ J _{H6'-H5'} =6,0	1,28 (d, 3H) ³ J _{H6'-H5'} =6,2	1,18 (d, 3H) ³ J _{H6'-H5'} =6,4	---	---	---	---	---	---	---
7"	1,13 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,13 (s, 3H)	---	---	---	---	---	---	---
8"	3,21 (s, 3H)	3,30 (s, 3H)	3,20 (s, 3H)	---	---	---	---	---	---	---
3-OH	---	---	---	5,08 (d, 1H) ³ J _{H3-OH} =6,5	5,09 (d, 1H) ³ J _{H3-OH} =6,5	---	---	---	---	---
11-OH	3,64 (m, 1H)	---	---	---	---	---	---	---	---	---
12-OH	4,09 (s, 1H)	*	5,18 (s, 1H)	5,19 (s, 1H)	5,21 (s, 1H)	*	*	---	*	*
2'-OH	4,39 (d, 1H) ³ J _{H2'-OH} =7,0	*	4,08 (m, 1H)	4,34 (m, 1H)	4,36 (m, 1H)	---	---	---	---	---
4"-OH	4,04 (m, 1H)	*	5,35 (d, 1H) ³ J _{H4"-OH} =8,2	---	---	---	---	---	---	---

* - wymienne ze śladami wody obecnymi w układzie

Tabela 16. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla antybiotyku **CLA** oraz pochodnych **CLA-7 – CLA-14** w DMSO- d_6 lub/i CDCl_3 .

C	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl_3)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl_3)	CLA-12 (CDCl_3)	CLA-13 (CDCl_3)	CLA-14 (CDCl_3)	CLA-14 (DMSO)
1	175,3	175,4	174,5	175,3	175,3	169,9	169,9	169,0	165,0	164,6
2	44,5	45,2	44,9	44,1	44,1	51,3	51,3	51,2	89,3	87,4
3	77,3	79,3	79,1	75,1	75,1	204,6	204,6	204,1	200,8	195,7
4	38,6	40,5	39,2	38,5	38,5	47,3	47,1	47,5	42,5	41,9
5	79,3	80,0	79,3	81,8	81,8	81,1	81,3	81,1	84,5	83,6
6	77,9	78,6	77,4	77,9	77,9	78,5	78,3	78,6	78,6	77,7
7	38,5	40,5	40,6	38,9	38,9	40,3	40,3	40,4	39,9	39,8
8	43,5	37,5	34,9	35,2	35,2	38,6	38,2	39,1	37,9	36,4
9	218,7	207,5	206,1	206,4	206,4	207,2	207,3	205,1	208,4	207,0
10	38,2	138,9	136,7	136,9	136,9	139,0	138,8	138,3	136,6	134,9
11	68,9	142,5	144,8	143,8	143,8	142,1	142,3	138,6	136,9	137,5
12	74,2	73,5	71,6	71,7	71,7	73,8	73,5	84,7	87,1	87,6
13	76,0	80,3	78,8	78,8	78,8	81,5	81,6	77,2	84,1	83,8
14	20,7	22,3	21,0	21,0	21,0	22,6	22,0	22,8	23,9	22,9
15	10,5	10,7	10,5	10,5	10,5	11,1	11,1	10,6	10,3	9,8
16	15,7	15,7	16,2	15,9	15,9	14,9	14,8	15,2	11,2	11,1
17	9,0	9,7	9,3	8,4	8,4	14,1	14,3	14,1	14,9	14,5
18	20,0	22,4	23,7	22,6	22,6	21,1	21,1	21,1	22,6	22,6
19	17,7	18,8	17,1	17,2	17,2	19,1	18,8	19,1	17,6	17,1
20	11,8	13,4	12,5	12,7	12,7	13,7	13,6	13,4	13,6	12,8
21	17,0	21,0	19,6	19,7	19,7	22,1	22,0	20,3	19,9	18,8
22	50,2	50,8	50,6	49,5	49,5	50,5	50,5	50,4	51,6	51,3
23	---	---	---	---	---	---	---	146,1	---	---
24	---	---	---	---	---	---	---	131,1	---	---

C	CLA (DMSO)	CLA-7 (CDCl₃)	CLA-7 (DMSO)	CLA-8 (DMSO)	CLA-9 (DMSO)	CLA-10 (CDCl₃)	CLA-12 (CDCl₃)	CLA-13 (CDCl₃)	CLA-14 (CDCl₃)	CLA-14 (DMSO)
25	---	---	---	---	---	---	---	117,2	---	---
26	---	---	---	---	---	---	---	137,2	---	---
1'	102,2	103,2	102,6	103,3	101,3	101,9	101,6	102,1	102,2	101,3
2'	70,7	71,0	70,7	70,5	62,2	71,7	75,5	71,7	71,9	62,2
3'	64,4	65,6	64,3	64,6	71,4	63,7	63,4	63,7	63,7	71,4
4'	30,0	28,8	29,9	30,6	29,8	30,5	30,5	30,4	30,5	29,8
5'	67,0	69,0	67,3	68,2	68,3	69,2	69,3	69,3	69,0	68,3
6'	21,5	21,5	21,4	21,2	20,8	21,1	21,0	21,1	21,1	20,8
7'	40,3	40,4	40,2	40,4	40,2	40,8	40,7	40,8	40,8	40,2
8'	40,3	40,4	40,2	40,4	40,2	40,8	40,7	40,8	40,8	40,2
9'	---	---	---	---	169,1	169,9	154,0	169,9	170,2	169,1
10'	---	---	---	---	20,9	21,5	55,3	21,5	21,6	20,9
11'	---	---	---	---	---	---	77,2	---	---	---
12'	---	---	---	---	---	---	76,3	---	---	---
1''	95,6	96,5	96,8	---	---	---	---	---	---	---
2''	34,8	35,2	35,1	---	---	---	---	---	---	---
3''	72,5	72,7	72,5	---	---	---	---	---	---	---
4''	77,3	78,1	77,4	---	---	---	---	---	---	---
5''	65,0	65,8	65,0	---	---	---	---	---	---	---
6''	18,8	18,7	18,7	---	---	---	---	---	---	---
7''	20,8	21,7	20,8	---	---	---	---	---	---	---
8''	48,9	49,6	48,9	---	---	---	---	---	---	---

Tabela 17. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^1H NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **COL** w CD_3CN oraz **COL-1** i **COL-2** oraz hybryd **AZM-1-COL-1**, **AZM-1-COL-2** i **CLA-2COL-2** w CDCl_3 .

H	COL	COL-1	COL-2	AZM-1-COL-1	AZM-1-COL-2	CLA-12-COL-2
1	---	---	---	---	---	---
2	---	---	---	2,62 (m, 1H)	2,62 (m, 1H)	3,72 (q, 1H) $^3J_{\text{H}2-\text{H}16}=6,8$
3	---	---	---	3,64 (m, 1H)	3,64 (m, 1H)	---
4	---	---	---	2,24 (m, 1H)	2,25 (m, 1H)	3,04 (m, 1H)
5	---	---	---	3,59 (m, 1H)	3,59 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=1,8$	4,12 (d, 1H) $^3J_{\text{H}5-\text{H}4}=8,7$
6	---	---	---	---	---	---
7	---	---	---	1,56 (d, 1H) $^2J=14,4$	1,56 (d, 1H) $^2J=14,3$	1,85 (m, 1H)
				1,27 (m, 1H)	1,28 (m, 1H)	1,53 (m, 1H)
8	---	---	---	1,89 (m, 1H)	1,89 (m, 1H)	3,15 (m, 1H)
9	---	---	---	2,48 (m, 1H)	2,51 (m, 1H)	---
				2,05 (m, 1H)	2,07 (t, 1H) $^2J=11,9$	
10	---	---	---	2,72 (m, 1H)	2,70 (m, 1H)	---
11	---	---	---	3,62 (m, 1H)	3,63 (m, 1H)	6,60 (s, 1H)
12	---	---	---	---	---	---
13	---	---	---	4,72 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14b}=10,8$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}14a}=1,4$	4,73 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14b}=10,3$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}14a}=1,4$	4,98 (dd, 1H) $^3J_{\text{H}13-\text{H}14b}=9,8$ $^3J_{\text{H}13-\text{H}14a}=2,8$
14	---	---	---	1,88 (m, 1H)	1,86 (m, 1H)	1,85 (m, 1H)
				1,51 (m, 1H)	1,51 (m, 1H)	1,56 (m, 1H)

H	COL	COL-1	COL-2	AZM-1- COL-1	AZM-1- COL-2	CLA-12- COL-2
15	---	---	---	0,85 (t, 1H) ${}^3J_{H15-H14b}=7,5$	0,84 (t, 1H) ${}^3J_{H15-H14b}=7,4$	0,91 (t, 1H) ${}^3J_{H15-H14b}=7,8$
16	---	---	---	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H16-H2}=7,2$	1,23 (d, 3H) ${}^3J_{H16-H2}=7,4$	1,31 (d, 3H) ${}^3J_{H16-H2}=6,9$
17	---	---	---	0,81 (d, 3H) ${}^3J_{H17-H4}=7,4$	0,80 (d, 3H) ${}^3J_{H17-H4}=7,4$	1,04 (d, 3H) ${}^3J_{H17-H4}=7,3$
18	---	---	---	1,22 (s, 3H)	1,23 (s, 3H)	1,28 (s, 3H)
19	---	---	---	0,90 (d, 3H) ${}^3J_{H19-H8}=7,2$	0,90 (d, 3H) ${}^3J_{H19-H8}=7,0$	1,14 (d, 3H) ${}^3J_{H19-H8}=6,7$
20	---	---	---	2,35 (s, 3H)	2,35 (s, 3H)	1,98 (s, 3H)
21	---	---	---	1,10 (d, 3H) ${}^3J_{H21-H10}=6,8$	1,10 (d, 3H) ${}^3J_{H21-H10}=7,0$	1,46 (s, 3H)
22	---	---	---	1,04 (s, 3H)	1,05 (s, 3H)	2,83 (s, 3H)
1'	---	---	---	4,76 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,5$	4,75 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,6$	4,35 (d, 1H) ${}^3J_{H1'-H2'}=7,5$
2'	---	---	---	4,56 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,5$	4,55 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,5$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$	4,48 (dd, 1H) ${}^3J_{H2'-H3'}=10,2$ ${}^3J_{H2'-H1'}=7,6$
3'	---	---	---	2,72 (m, 1H)	2,75 (m, 1H)	2,71 (m, 1H)
4'	---	---	---	1,71 (m, 1H)	1,69 (m, 1H)	1,74 (m, 1H)
5'	---	---	---	1,31 (m, 1H)	1,34 (m, 1H)	1,30 (m, 1H)
6'	---	---	---	3,48 (m, 1H)	3,46 (m, 1H)	3,50 (m, 1H)
7'	---	---	---	1,20 (d, 1H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,2$	1,22 (d, 1H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,0$	1,22 (d, 3H) ${}^3J_{H6'-H5'}=6,1$
8'	---	---	---	2,21 (s, 3H)	2,22 (s, 3H)	2,25 (s, 3H)
9'	---	---	---	---	---	---

H	COL	COL-1	COL-2	AZM-1-COL-1	AZM-1-COL-2	CLA-12-COL-2
10'	---	---	---	5,34 (d, 1H) $^2J=12,8$	5,29 (d, 1H) $^2J=12,7$	5,25 (d, 1H) $^2J=12,6$
				5,18 (d, 1H) $^2J=12,8$	5,21 (d, 1H) $^2J=12,6$	5,21 (d, 1H) $^2J=12,6$
11'	---	---	---	---	---	---
12'	---	---	---	7,83 (s, 1H)	7,82 (s, 1H)	7,82 (s, 1H)
1"	---	---	---	---	---	---
1a"	---	---	---	---	---	---
2"	---	---	---	---	---	---
3"	---	---	---	---	---	---
4"	6,74 (s, 1H)	6,56 (s, 1H)	6,53 (s, 1H)	6,55 (s, 1H)	6,51 (s, 1H)	6,52 (s, 1H)
4a"	---	---	---	---	---	---
5"	2,55 (m, 1H) 2,15 (m, 1H)	2,51 (dd, 1H) $^2J = 12,7$ $^3J_{H5, H6} = 5,7$ 2,37 (td, 1H) $^2J = 12,7$ $^3J_{H5, H6} = 12,7$ $^3J_{H5, H6} = 6,8$ Hz,	2,52 (dd, 1H) $^2J=13,4$ $^3J_{H5b, H6a} = 6,3$ 2,40 (td, 1H) $^2J = 13,1$ Hz, $^3J_{H5a, H6a} = 13,1$ Hz, $^3J_{H5a, H6b} = 6,6$ Hz,	2,50 _{ax} (m, 1H) 2,34 _{eq} (m, 1H)	2,40 _{ax} (td, 1H) $^2J=13,5$ $^3J_{H5ax-H6ax}=13,5$ $^3J_{H5ax-H6eq}=6,8$ 2,51 _{eq} (dd, 1H) $^2J=13,2$ $^3J_{H5eq-H6ax}=6,6$	2,39 _{ax} (m, 1H) 2,52 _{eq} (m, 1H)
6"	2,25 (m, 1H) 2,09 (m, 1H)	2,29 (m, 1H) 2,00 (m, 1H)	2,27 (m, 1H) 1,84 (m, 1H)	1,99 _{eq} (m, 1H) 2,29 _{ax} (m, 1H)	1,84 _{eq} (m, 1H) 2,26 _{ax} (m, 1H)	1,83 _{eq} (m, 1H) 2,22 _{ax} (m, 1H)
7"	4,41 (m, 1H)	4,59 (dt, 1H) $^3J_{H6b, H7} = 12,3$ $^3J_{H6a, H7} = 6,2$ $^3J_{H7, NH} = 6,2$	4,63 (dt, 1H) $^3J_{H6b, H7} = 12,4$ $^3J_{H6a, H7} = 6,5$ $^3J_{H7, NH} = 6,5$	4,62 (m, 1H)	4,63 (m, 1H)	4,60 (m, 1H)
7a"	---	---	---	---	---	---

H	COL	COL-1	COL-2	AZM-1-COL-1	AZM-1-COL-2	CLA-12-COL-2
8"	7,51 (s, 1H)	7,10 (s, 1H)	7,44 (s, 1H)	7,15 (s, 1H)	7,39 (s, 1H)	7,37 (s, 1H)
9"	---	---	---	---	---	---
10"	---	---	---	---	---	---
11"	7,25 (d, 1H) ${}^3J_{H11''-H12''}$ =7,5	7,12 (d, 1H) ${}^3J_{H11,H12}$ = 12,9	6,84 (d, 1H) ${}^3J_{H11''-H12''}$ =10,8	7,11 (d, 1H) ${}^3J_{H11-H12}$ =12,8	6,79 (d, 1H) ${}^3J_{H11-H12}$ =10,8	6,80 (d, 1H) ${}^3J_{H11''-H12''}$ =10,8
12"	7,48 (d, 1H) ${}^3J_{H12''-H11''}$ =10,3	7,40 (d, 1H) ${}^3J_{H11,H12}$ = 12,8	7,28 (d, 1H) ${}^3J_{H12''-H11''}$ =10,7	7,40 (d, 1H) ${}^3J_{H12-H11}$ =12,8	7,23 (d, 1H) ${}^3J_{H12-H11}$ =10,7	7,23 (d, 1H) ${}^3J_{H12''-H11''}$ =10,7
12a"	---	---	---	---	---	---
13"	---	---	---	---	---	---
14"	1,94 (s, 3H)	2,04 (s, 3H)	1,99 (s, 3H)	2,02 (s, 3H)	1,99 (s, 3H)	1,99 (s, 3H)
15"	3,59 (s, 3H)	3,65 (s, 3H)	3,64 (s, 3H)	3,64 (s, 3H)	3,63 (s, 3H)	3,64 (s, 3H)
16"	3,82 (s, 3H)	3,92 (s, 3H)	3,94 (s, 3H)	3,91 (s, 3H)	3,91 (s, 3H)	3,92 (s, 3H)
17"	3,87 (s, 3H)	3,89 (s, 3H)	3,90 (s, 3H)	3,88 (s, 3H)	3,88 (s, 3H)	3,88 (s, 3H)
18"	---	4,22 (dt, 1H) 2J = 9,9 ${}^3J_{H18, H19}$ = 6,3 4,14 (dt, 1H) 2J = 9,8 ${}^3J_{H18, H19}$ = 5,9	4,19 (m, 2H)	4,09 (m, 1H) 4,17 (m, 1H)	4,09 (m, 2H)	4,10 (m, 2H)
19"	---	2,13 (m, 2H)	2,19 (m, 2H)	2,53 (m, 2H)	2,54 (m, 2H)	2,52 (m, 2H)
20"	---	3,57 (m, 2H)	3,60 (m, 2H)	4,67 (m, 2H)	4,67 (m, 2H)	4,65 (m, 2H)
C(7)-NH	7,65 (d, 1H) ${}^3J_{H7''-NH}$ =4,4	6,68 (d, 1H) ${}^3J_{H7''-NH}$ =6,3	6,94 (d, 1H) ${}^3J_{H7''-NH}$ =6,9	7,12 (d, 1H) ${}^3J_{H7-NH}$ =7,2	6,86 (d, 1H) ${}^3J_{H7-NH}$ =7,0	6,73 (m, 1H)

Tabela 18. Przesunięcia chemiczne zarejestrowane w widmach ^{13}C NMR [ppm] i stałe sprzężeń J [Hz] dla pochodnych **COL**, **COL-1** i **COL-2** oraz hybryd **AZM-1-COL-1**, **AZM-1-COL-2** i **CLA-2COL-2** w CDCl_3 .

H	COL	COL-1	COL-2	AZM-1-COL-1	AZM-1-COL-2	CLA-12-COL-2
1	---	---	---	177,6	177,7	169,8
2	---	---	---	44,1	44,1	51,3
3	---	---	---	78,7	78,7	204,6
4	---	---	---	35,9	35,9	47,2
5	---	---	---	87,4	87,6	81,4
6	---	---	---	73,3	73,4	78,3
7	---	---	---	41,7	41,7	40,4
8	---	---	---	26,4	26,4	38,4
9	---	---	---	71,1	71,0	207,2
10	---	---	---	62,8	62,7	138,5
11	---	---	---	75,7	75,6	142,7
12	---	---	---	74,3	74,3	73,5
13	---	---	---	77,8	77,7	81,5
14	---	---	---	21,0	21,0	22,3
15	---	---	---	11,0	11,0	11,1
16	---	---	---	16,3	16,3	14,9
17	---	---	---	7,4	7,3	14,2
18	---	---	---	26,3	26,3	21,1
19	---	---	---	21,5	21,5	19,0
20	---	---	---	36,9	36,9	13,6
21	---	---	---	7,6	7,6	22,3
22	---	---	---	16,3	16,3	50,4
1'	---	---	---	100,0	100,2	101,6
2'	---	---	---	76,3	76,2	75,8
3'	---	---	---	63,3	63,3	63,5
4'	---	---	---	30,3	30,5	30,4
5'	---	---	---	68,9	68,8	69,2
6'	---	---	---	21,1	21,2	21,0
7'	---	---	---	40,7	40,8	40,8
8'	---	---	---	40,7	40,8	40,8
9'	---	---	---	154,5	154,4	154,4
10'	---	---	---	60,9	61,0	61,1
11'	---	---	---	142,9	142,6	142,4
12'	---	---	---	124,7	124,5	125,7
1''	151,04	151,1	151,3	151,1	151,3	151,3
1a''	126,37	125,9	125,8	126,0	125,7	125,7
2''	141,74	141,7	141,8	141,7	141,8	141,8
3''	154,39	153,8	153,6	153,8	153,7	153,7
4''	108,44	107,5	107,5	107,6	107,5	107,5
4a''	135,75	134,8	134,3	134,9	134,2	134,2
5''	30,03	30,0	30,0	29,4	30,0	30,0

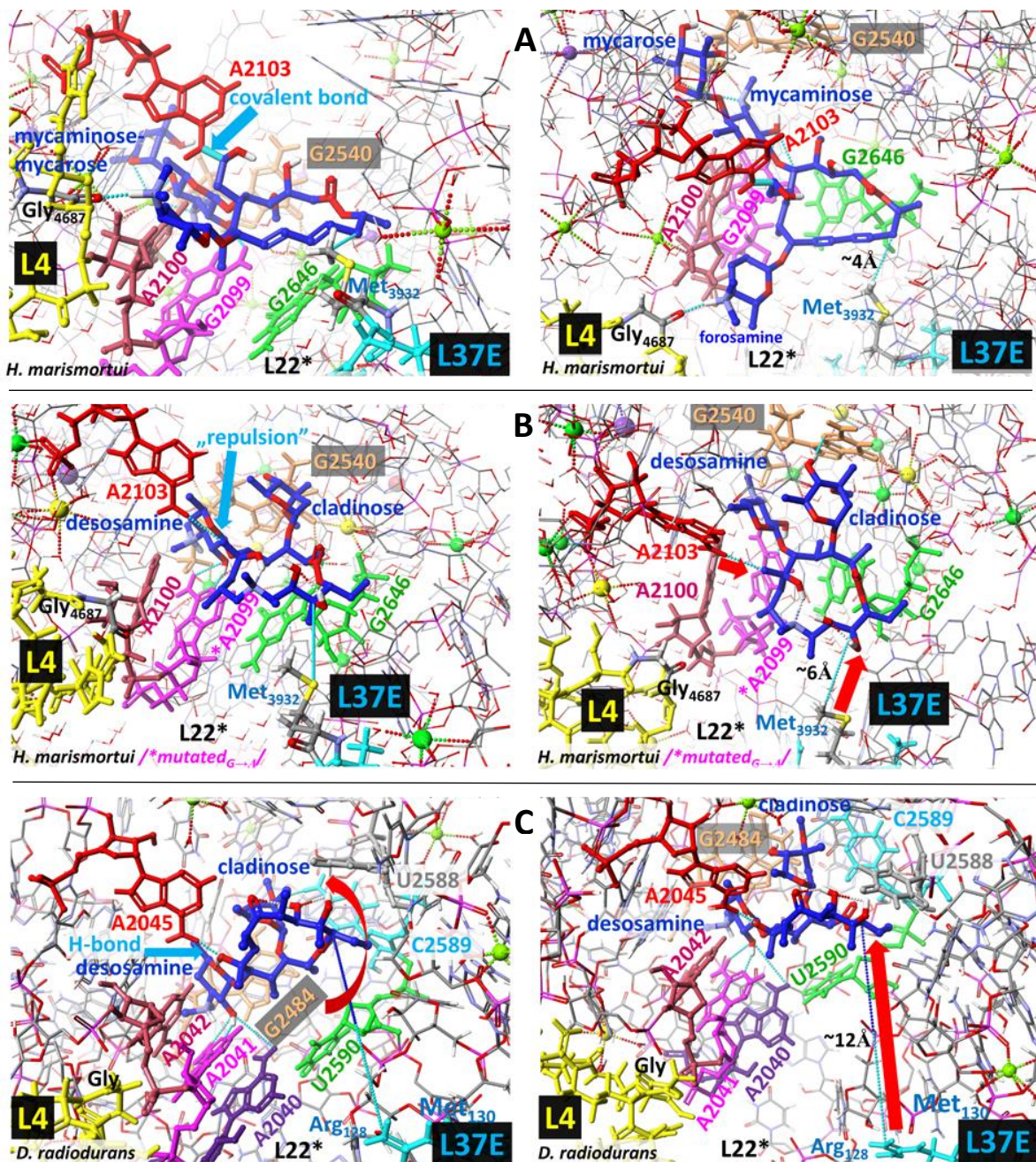
6"	37,87	38,5	36,9	38,3	36,8	36,8
7"	53,53	53,0	52,4	52,9	52,4	52,5
7a"	151,31	143,9	151,4	143,3	151,6	151,4
8"	124,85	111,8	131,1	113,3	131,3	131,2
9"	172,94	163,1	179,6	162,8	179,6	179,5
10"	168,43	179,5	163,4	179,7	163,0	163,0
11"	118,20	134,4	113,8	134,6	114,3	114,2
12"	142,30	141,3	135,2	141,4	135,1	135,1
12a"	136,24	135,1	136,8	135,7	137,3	137,3
13"	171,23	169,9	169,8	170,2	169,8	170,0
14"	22,77	23,0	23,2	22,9	23,1	23,1
15"	61,62	61,6	61,7	61,6	61,6	61,6
16"	61,30	61,5	61,5	61,5	61,5	61,5
17"	56,53	56,2	56,3	56,2	56,2	56,2
18"	---	66,8	66,0	65,7	65,6	65,6
19"	---	28,5	28,5	29,2	29,4	29,4
20"	---	48,2	48,2	47,2	47,2	47,2

6. Ocena potencjału przeciwbakteryjnego nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych oraz modelowanie ich oddziaływań w tunelu rybosomalnym

Niezależnie od wielkości pierścienia makrocyklicznego, sposób działania antybiotyków makrolidowych opiera się na blokowaniu procesu translacji na różnym etapie, poprzez ich wiązanie w tunelu rybosomalnym różnych szczepów bakteryjnych. Z kolei sposób w jaki antybiotyki te wiążą się zależy jest zarówno od wielkości, jak i ułożenia ich pierścienia względem tunelu rybosomalnego i podjednostek białkowych L4, L22 oraz L37E ([Rysunek 190](#)). Wspólną cechą powinowactwa makrolidów laktonowych do tunelu rybosomalnego jest lokalizacja ich miejsca wiązania w pobliżu pętli peptydylotransferazy (PTC). Dzięki danym strukturalnym dostarczonym przez biologów molekularnych i chemików medycznych, znane są pewne punkty orientacyjne, pomocne w ustaleniu dokładnego miejsca wiązania poszczególnych makrolidów.^{51,101–105} Dla wyjaśnienia potencjału biologicznego antybiotyków, kluczowe jest zrozumienie budowy makrolidów laktonowych, gdyż ich konformacja ma niezwykle istotny wpływ na lipofilowość oraz akumulację w komórkach.^{98,99,241}

Orientacja względem światła tunelu rybosomalnego antybiotyków makrolidowych o 15-członowych pierścieniach laktonowych jest bardzo zbliżona do ułożenia 16-członowych antybiotyków, jednakże wykazują one lekko zmienione miejsce wiązania, a za stabilizację antybiotyku odpowiadają inne nukleotydy. Z kolei sposób wiązania 14-członowych makrolidów jest zupełnie inny – odwrócony i zorientowany prawie prostopadle do osi tunelu, w porównaniu z azalidami.⁹⁴ Dokładne modele wiązania obu antybiotyków **ERY** i **AZM** w tunelu rybosomalnym omówione zostały w [Rozdziałach 3](#) w [Dziale III](#) oraz [Dziale IV](#).

Na [Rysunku 180](#) przedstawione zostało porównanie sposobów wiązania antybiotyków o 14-, 15- i 16-członowych pierścieniach makrocyklicznych w tunelu rybosomalnym. Pomimo istotnych różnic w sposobie wiązania tych makrolidów, porównanie to umożliwia dostrzeżenie wspólnego fragmentu strukturalnego tych antybiotyków, mianowicie jednostkę sacharydową bezpośrednio przyłączoną w pozycji C(5) aglikonu – deozaminę. Cukier ten zakotwiczony jest w tunelu rybosomalnym w tym samym miejscu względem PTC i stabilizowany poprzez identyczne oddziaływanie, to jest



Rysunek 190. Projekcje różnych modeli wiązania laktonowych makrolidów o różnej wielkości pierścienia aglikonowego: **A** – spiramycyny; **B** – AZM; **C** – ERY, przedstawione w dwóch projekcjach: lewa - wzdłuż tunelu rybosomalnego, równoległe do osi, w kierunku pętli PTC, zasłoniętej przez nukleotyd (zaznaczony na czerwono); prawa - prostopadle do osi tunelu, z perspektywy nukleotydów A2103 (*H. marismortui*) lub A2045 (*D. radiodurans*). Modele zbudowane zostały na podstawie koordynatów pozyskanych ze struktury rentgenowskiej kompleksu antybiotyk-rybosom (PDB 1KD1³³, 1YHQ⁹⁸ i 1JZY⁹⁷) oraz poprzez optymalizację interakcji pomiędzy antybiotykiem a tunelem rybosomalnym na podstawie obliczeń wykonanych metodami MM3 i MOG-PM6 (Scigress)¹²⁶. Białkowa podjednostka L22* została pominięta dla lepszej przejrzystości, oddziaływania międzycząsteczkowe pomiędzy odpowiednimi solami (oznaczonymi granatowym kolorem) a rybosomem, oznaczone są jasno niebieskimi kropkami. Kluczowe nukleotydy zaangażowane w interakcje antybiotyk-rybosom zostały oznaczone analogicznymi kolorami dla różnych szczepów bakterii.⁹⁴

wiązanie wodorowe pomiędzy atomem wodoru grupy hydroksylowej O(2')H, a konserwatywną adenozyną: A2099 w *H. marismortui* (dla 15-członowych antybiotyków) lub A2041 w *D. radiodurans* (dla 14-członowych makrolidów), budującą ścianę tunelu. Zatem niezależnie od rozmiaru aglikonu i jego orientacji względem światła tunelu rybosomalnego, dezozamina jest zorientowana na rybosomie w analogiczny sposób.^{32,96,97}

Badania aktywności przeciwbakteryjnej przeprowadzone zostały zarówno dla pochodnych azytromycyny modyfikowanych w pozycji C(2') (**AZM-2 – AZM-19**), oraz soli *N*-alkiloamoniowych azytromycyny (**AZM-21 – AZM-30** i **AZM-32 – AZM-44**) i klarytromycyny (**CLA-1 – CLA-6**). Związki te przebadano przeciwko następującym szczepom bakterii Gram-dodatnich: *S. aureus* (ATCC, MRS_A i MLS_B), *S. epidermidis* (ATCC), *E. faecalis* (ATCC), *S. pneumoniae* (ATCC, kliniczne, kliniczne-śluzowe), *S. pyogenes* (ATCC, kliniczne) oraz *S. mitis/oralis* (kliniczne), w zakresie stężeń MIC (minimalnego stężenia wywołującego inhibicję) od 64 do 0,03 µg/ml. Wyniki aktywności dla związków **AZM-2 – AZM-19**, wraz z danymi dla antybiotyków referencyjnych: erytromycyny (**ERY**), klarytromycyny (**CLA**) oraz azytromycyny (**AZM**) przedstawiłam w [Tabeli 19](#). Natomiast zebrane wyniki aktywności dla związków **AZM-21 – AZM-30** i **AZM-32 – AZM-44** oraz **CLA-1 – CLA-6**, wraz z danymi dla antybiotyków referencyjnych: erytromycyny (**ERY**), klarytromycyny (**CLA**) oraz azytromycyny (**AZM**) przedstawiłam w [Tabelach 20 i 21](#), wraz z eksperymentalnie wyznaczonymi wartościami rozpuszczalności [mg/ml] i lipofilowości (clogP) oraz wartościami lipofilowości wyznaczonymi matematycznie.

Analizując wartości aktywności przeciwbakteryjnej pochodnych azytromycyny modyfikowanej w pozycji C(2') **AZM-2 – AZM-19** zauważyłam, że wszystkie posiadają wartość MIC > 64 µg/ml, a więc są one nieaktywne wobec badanych szczepów ([Tabela 19](#)). Niestety brak jakiegokolwiek aktywności tych węglanowo-triazolowych analogów azytromycyny wskazuje, że nadmierna ekspansja ramienia dezozaminy przez bardzo duże podstawniki nie wpływa pozytywnie na reorientację laktonowego aglikonu w celu lepszego dopasowania ramienia do miejsca-P tunelu rybosomalnego. Hydroliza kładynozy, przeprowadzona by umożliwić tę reorientację, osłabiła wiązanie związków **AZM-2 – AZM-19** w tunelu rybosomalnym, poprzez utratę dodatkowych oddziaływań pomiędzy tym deoksycukrem, a nukleotydami budującymi ścianę tunelu. Dodatkowo, wynik ten potwierdza również ogromne znaczenie dostępności wolnej, niczym nie podstawionej grupy hydroksylowej O(2')H dezozaminy, dla skutecznego międzycząsteczkowego

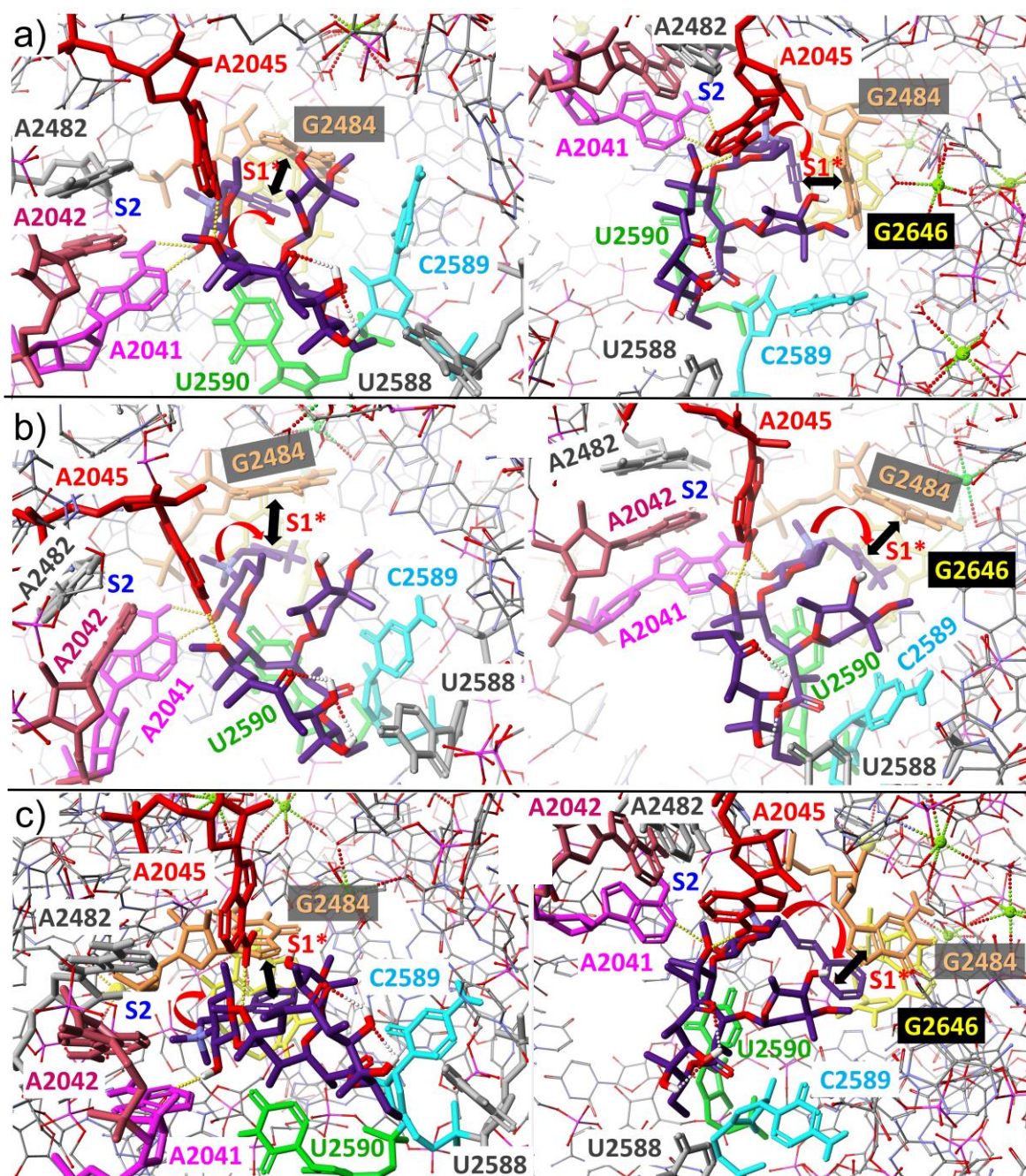
wiązania wodorowego makrolidu z atomem azotem nukleotydu A2099 (w przypadku *H. marismortui*) lub A2041 (w przypadku *D. radiodurans*) w tunelu rybosomalnym.

Analiza danych biologicznych soli *N*-alkiloamoniowych klarytromycyny i azytromycyny ukazała natomiast, że wprowadzenie podstawików przy atomie azotu wpływa korzystnie na właściwości przeciwbakteryjne związków, w stosunku do modyfikacji przeprowadzanych w pozycji C(2') (Tabela 20). Dodatkowo, dane te dowodzą, że nowo wprowadzone podstawniki znacznie lepiej wpływają na aktywność biologiczną 14-członowych analogów **CLA** (**CLA-2**, **CLA-3**, **CLA-5**, **CLA-6**), w porównaniu do analogicznych pochodnych **AZM** o 15-członowych pierścieniach aglikonowych (**AZM-21**, **AZM-22**, **AZM-23**, **AZM-27**) (Tabela 20). Dodatkowo wykazano, że w przypadku bromków *N*-alkiloamoniowych obecność stosunkowo małych podstawników przy atomie azotu *N,N*-dimetylowej grupy, tj.: propargilu (**AZM-23**, **AZM-40**, **AZM-43**) allilu (**CLA-1**), krotylu (**AZM-21**, **CLA-2**) czy dimetyloallilu (**AZM-22**, **CLA-3**), niezależnie od wielkości aglikonu, wpływa na znaczące obniżenie parametrów lipofilowości ($clogP = -1,94 - 0,6$; Tabela 20) i doskonałą rozpuszczalność w wodzie ($S_{H_2O} = 4,42 - 41,2$ mg/ml; Tabela 20). Przykładowe porównanie parametrów $clogP$ i rozpuszczalności w wodzie dla pochodnych **AZM** i **CLA** posiadających ten sam przyłączony podstawnik (na przykładzie podstawnika dimetyloallilowego - **AZM-22** i **CLA-3**) ukazało, że produkt **CLA-3** jest znacznie bardziej aktywny przeciwbakteryjnie, posiada porównywalnie niekorzystną wartości $clogP$ i 4-krotnie niższą rozpuszczalność w wodzie, w stosunku do odpowiednika o 15-członowym pierścieniu - **AZM-22**. Mimo niższych wartości $clogP$, zarówno sole *N*-alkiloamoniowe **AZM**, jak i **CLA**, wykazują wyższe wartości S_{H_2O} niż antybiotyki **AZM** i **CLA**. Na podstawie analizy danych można wnioskować, że wprowadzenie nowych podstawników przyłączonych do atomu azotu dezozaminy zdecydowanie poprawiła rozpuszczalność związków w wodzie ($S_{H_2O} > 2$ mg/ml) kosztem zmniejszonej lipofilowości ($clogP \sim 0$), w porównaniu z antybiotykami referencyjnymi (S_{H_2O} **AZM** i **CLA** $\sim 0,3$ mg/ml; $clogP \sim 2,8$). Na podstawie parametrów fizykochemicznych (Tabela 20) wyznaczonych dla analogów **AZM** zawierających kladynozę (**AZM-40**, **AZM-41**, **AZM-42**; odpowiednio $clogP = -0,5; 0,5; -1,9$) oraz nieposiadających tego deoksycukru (**AZM-23**, **AZM-30**, **AZM-34**; odpowiednio $clogP = 0,3; 0,3; -1$) stwierdzono, że obecność tego sacharydu w strukturze nowootrzymanyh soli jedynie nieznacznie zwiększa ich lipofilowość. Porównanie danych biologicznych dla otrzymanych soli *N*-alkiloamoniowych: zawierających kladynozę

(**AZM-21 – AZM-39**), niezawierających kładynozy w strukturze (**AZM-40 – AZM-42**), oraz tych posiadających zarówno kładynozę, jak i również podstawnik acetoksyłowy w pozycji C(2') (**AZM-43, AZM-44**), ukazuje, że brak kładynozy oraz obecność podstawnika w pozycji C(2') znacznie obniżają potencjał przeciwbakteryjny związku (MIC > 64 µg/ml). Wykonane testy mikrobiologiczne dowiodły również, że zarówno otrzymane przeze mnie nowe *N*-alkiloamoniowe sole **AZM** i **CLA**, jak również niemodyfikowane antybiotyki (**AZM** i **CLA**) nie wykazują aktywności wobec szczepów *S. aureus* MRSA i MSLB (Tabela 21).

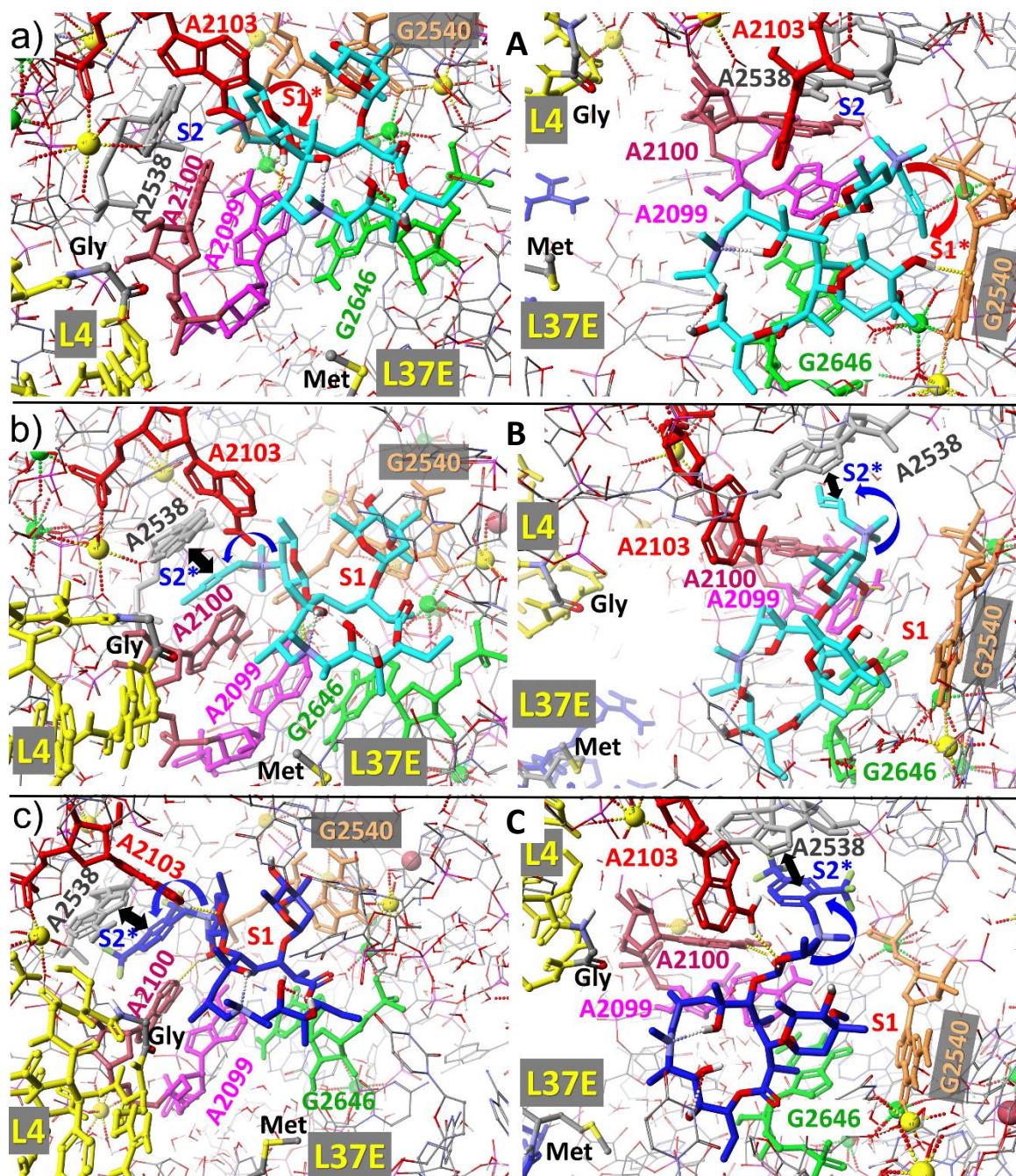
Dane zebrane w Tabeli 20 ukazują, że spośród wszystkich badanych *N*-alkiloamoniowych soli, najbardziej aktywne przeciwbakteryjnie są te, posiadające 14-członowy aglikon. Dokładna analiza zależności aktywności od struktury, przeprowadzona dla tych nowych pochodnych **CLA** wskazała, że najniższe wartości MIC obserwowane są dla związków, które posiadały nienasycone i realatywnie małe podstawniki (**CLA-1 – CLA-3** i **CLA-5**). Aktywność biologiczna tych pochodnych jest porównywalna, bądź nieznacznie niższa niż aktywność **AZM** i **CLA**. Warto zauważyć, że w przypadku pochodnej **CLA-2** i **CLA-5** wartości MIC są równe 0,25 lub 0,5 µg/ml wobec szczepu *S. pneumoniae* ATCC 49619 i szczepom klinicznym, oraz szczepom klinicznym *S. pyogenes* i ATCC 19615. Najniższą, a więc zarazem najbardziej korzystną, wartość MIC odnotowano dla pochodnej zawierającej podstawnik propargilowy (**CLA-5**) wobec szczepu klinicznego *S. pyogenes* (MIC= 0,25 µg/ml). Jednakże pomimo tego, że wartość ta była najlepsza spośród wszystkich uzyskanych w testach biologicznych, była ona 4-krotnie niższa niż aktywność **CLA**. Związek **CLA-2**, natomiast, wykazał identyczną, taką samą jak **ERY**, **CLA** i **AZM**, wartość MIC wobec szczepu klinicznego *S. pneumoniae*, wynoszącą 0,5 µg/ml, pomimo mniej korzystnych wartości lipofilowości i przy znacząco wyższej rozpuszczalności w wodzie. Rozważając jedynie niekorzystne wartości clogP dla tego typu związków, oraz wartości rozpuszczalności w wodzie wiodących pochodnych: **CLA-5** (clogP= -1,19; S_{H_2O} = 10,87) i **CLA-2** (clogP= -0,56; S_{H_2O} = 4,42), które są podobne dla wszystkich innych pochodnych tej klasy, trudno jest wyjaśnić fakt, że mają one lepsze działanie przeciwbakteryjne względem pozostałych związków. Zatem, by wyjaśnić najwyższą aktywność biologiczną dwóch pochodnych **CLA-5** i **CLA-2** spośród wszystkich *N*-alkiloamoniowych soli **CLA**, należy rozważyć inny, bardzo istotny aspekt. Otóż obok parametrów fizykochemicznych pochodnych, kluczowym czynnikiem jest sposób ich wiązania z molekularnym „target” (Rysunek 191). Dokowanie otrzymanych przeze mnie

różnych soli *N*-alkiloamoniowych **CLA** w tunelu rybosomalnym wykazało, że nowo przyłączony podstawnik na atomie azotu dezoaminy jest umieszczony blisko nukleotydu G2484 - „strażnika tunelu” w rybosomach bakteryjnych (kolor pomarańczowy, miejsce S1*, [Rysunek 191a-c](#)), i bierze udział w oddziaływaniach π - π z tym nukleotydem. Energie wiązania w tunelu rybosomalnym (ΔH_f°) ([Tabela 22](#)) obliczone dla kluczowych pochodnych wskazują, że największe zyski energetyczne występują przy wiązaniu soli **CLA** zawierających mniejsze podstawniki ($\Delta H_f^\circ >$ dla **CLA-5** > **CLA-1** > **CLA-2**). Analiza wiązania otrzymanych pochodnych ukazała również, że wprowadzenie podstawników na atomie azotu dezoaminy, zawierających w swojej strukturze atomy węgla o hybrydyzacji *sp* jest nieco korzystniejsze energetycznie, ze względu na ich bardziej efektywne oddziaływanie z nukleotydem G2484, niż wprowadzanie tych o hybrydyzacji *sp*². Zatem analiza oddziaływań soli **CLA** w tunelu rybosomalnym uwidoczniała ważny parametr, tj. długość i objętość podstawnika przyłączonego do atomu azotu, wpływający na efektywność wiązania związków w tunelu rybosomalnym. Jak pokazano na [Rysunku 191](#), związki zawierające alkin (**CLA-5**, [a](#)) i krotyl (**CLA-2**, [b](#)) tworzą kompleksy z rybosomami, które stabilizowane są oddziaływaniami π - π z nukleotydem G2484 bez żadnych dodatkowych zmian konformacyjnych. Z kolei obecność bardziej objętościowego podstawnika w strukturze związku **CLA-4** ([Rysunek 191c](#)), implikuje niekorzystną zmianę konformacyjną w nukleotydzie G2484 w celu dopasowania się do oddziaływań typu π - π „stacking”. Ten wynik wraz z obliczonym zyskiem energetycznym tworzenia kompleksów z rybosomami jest zgodny z różnicami w wartościach K_D obserwowanych dla **CLA-5** i **CLA-2** ($K_{D \text{ CLA-5}} < K_{D \text{ CLA-2}}$).^{242–245,226} Powyższe wyniki dokowania pochodnych w tunelu są zgodne z wynikami testów przeciwbakteryjnych. Mianowicie, pochodne *N*-alkiloamoniowe **CLA** zawierające mniej podstawione i nienasycone podstawniki na dezoaminie, tj.: allil (**CLA-1**), krotyl (**CLA-2**), dimetyloallil (**CLA-3**) i alkin (**CLA-5**), są zdecydowanie bardziej aktywne wobec szczepu *S. pneumoniae* ATCC 49619 (MIC= 0,5-2 $\mu\text{g/ml}$) i klinicznego szczepu *S. pyogenes* (MIC= 0,25-16 $\mu\text{g/ml}$), niż pochodne zawierające objętościowe lub/i dłuższe podstawniki, takie jak **CLA-4** czy **CLA-6** (MIC *S.pneumoniae* ATCC49619= 8 $\mu\text{g/ml}$ i MIC_{*S.pyogenes*} kliniczny= 8-32 $\mu\text{g/ml}$). Ciekawym było, że w przypadku *N*-alkiloamoniowych analogów **CLA**, jedynie związek **CLA-1** wykazywał potencjał przeciwbakteryjny wobec szczepu *E. faecalis* ATCC 29212 (MIC= 32 $\mu\text{g/ml}$), równy aktywności **AZM**.



Rysunek 191. Modele wiązania *N*-alkiloamoniowych soli CLA w tunelu rybosomalnym *D. radiodurans*: a) – CLA-5; b) – CLA-2 i c) – CLA-4. Rysunki po lewej stronie przedstawiają rzut od strony A2045, natomiast po prawej – rzut od strony U2588. Modele zbudowane zostały na podstawie koordynatów pozyskanych ze struktury rentgenowskiej kompleksu CLA-rybosom (PDB 1J5A)⁹⁷ oraz poprzez optymalizację interakcji pomiędzy antybiotykiem a tunelem rybosomalnym na podstawie obliczeń wykonanych metodami MM3 i MOG-PM6 (Scigress)¹²⁶. Oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe pomiędzy odpowiednimi solami (oznaczonymi fioletowym kolorem) a rybosomem, oznaczone są jasno żółtymi kropkami. S1* i S2* są oznaczeniami rozważanych, alternatywnych miejsc wiązania.²²⁶

Porównując aktywność biologiczną antybiotyków laktonowych o 15-członowych pierścieniach laktonowych można było zauważyć, że są one mniej aktywne od tych, posiadających 14-członowy pierścień aglikonowy. Najbardziej aktywna sól *N*-alkiloamoniowa **AZM** – **AZM-37** – wykazywała potencjał przeciwbakteryjny w zakresie MIC= 2-64 µg/ml wobec szczepów *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* i *S. mitis/oralis*. Aktywność ta była jednakże wciąż co najmniej 4-krotnie niższa, niż w przypadku antybiotyków referencyjnych **ERY**, **CLA** i **AZM** (Tabela 20). Nasuwa się zatem pytanie, dlaczego obecność małych, mniej obszernych podstawników przyłączonych do atomu azotu dezozaminy nie przyczynia się do tak dobrych wartości aktywności przeciwbakteryjnej soli **AZM**, jak w przypadku soli **CLA**. Porównanie parametrów fizykochemicznych, tj.: $\log P$ i S_{H_2O} , pomiędzy solami **CLA CLA-2** i **CLA-3** a solami o 15-członowym aglikonie: **AZM-21** i **AZM-22**, wskazuje, że sole **AZM** wykazują 4-krotnie lepszą rozpuszczalność w wodzie i nieco niższą lipofilowość, w porównaniu do ich odpowiedników o 14-członowych pierścieniach. Niższą aktywność przeciwbakteryjną pochodnych **AZM-21** i **AZM-22** (w porównaniu do **CLA-2** i **CLA-3**), przede wszystkim można wyjaśnić mniej wydajnym energetycznie sposobem wiązania analogów **AZM** (w porównaniu do analogów **CLA**) w tunelu rybosomalnym. W świetle opisywanych wcześniej, w niniejszej rozprawie, odmiennych modeli wiązania 14- i 15-członowych antybiotyków laktonowych w tunelu rybosomalnym^{32,94,96}, również w przypadku ich soli *N*-alkilowych można było spodziewać się różnic w sposobie ich dokowania. Dane literaturowe wskazują, że 15-członowy pierścień aglikonowy **AZM** jest zorientowany równolegle, podczas gdy 14-członowy pierścień **CLA** zorientowany jest prostopadle, do światła tunelu rybosomalnego. Różnica ta implikuje dwie możliwe orientacje wprowadzonego podstawnika na atomie azotu pochodnych **AZM**: dokowanie w miejscu S1* - w pobliżu nukleotydu G2540 oraz dokowanie w miejscu S2* - przy stosie adenylanów A2099-A2100-A2538 (Rysunek 192), przy stałej orientacji aglikonu i cukrów. Obliczony energetyczny zysk wiązania związków **AZM-21** i **AZM-37**, w zależności od miejsca wiązania, różni się od siebie znacząco (Tabela 22). Przedstawia się następująco: zysk energetyczny podstawnika przyłączonego do *N*-alkiloamoniowego związku **AZM-37** w miejscu S2* > **AZM-21** – w miejscu S2* > **AZM-21** – w miejscu S1* > **AZM-37** w miejscu S1*. Powyższe analizy teoretyczne wskazują, że dokowanie małych podstawników w miejscach S1* i S2* dla związku **AZM-21** jest niemalże energetycznie równoważne, podczas gdy dokowanie objętościowego



Rysunek 192 Modele wiązania *N*-alkiloamoniowych soli **AZM** w tunelu rybosomalnym *H. marismortui*: **A** – **AZM-21** zadokowany w miejscu S1*, **B** – **AZM-21** zadokowany w miejscu S2* i **C** – **AZM-37** zadokowany w miejscu S2*. Rysunki po lewej stronie przedstawiają rzut od strony A2103, natomiast po prawej – rzut ze strony przeciwnej, od stosu adenylanów A2099/A2100/A2538. Modele zbudowane zostały na podstawie koordynatów pozyskanych ze struktury rentgenowskiej kompleksu **AZM**-rybosom (PDB 1YHQ)⁹⁸ oraz poprzez optymalizację interakcji pomiędzy antybiotykiem a tunelem rybosomalnym na podstawie obliczeń wykonanych metodami MM3 i MOG-PM6 (*Scigress*)¹²⁶. Oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe pomiędzy odpowiednimi solami (oznaczonymi bładoniebieskim /granatowym kolorem) a rybosomem, oznaczone są żółtymi kropkami. S1* i S2* są oznaczeniami rozważanych, alternatywnych miejsc wiązania.²²⁶

podstawnika przyłączonego w pozycji atomu azotu deozaminy, realizowane może być wyłącznie w miejscu S2*. Energetyczny zysk z wiązania pochodnej **AZM-37** w miejscu S2* jest nieco wyższy, niż w przypadku wiązania w miejscu S1*, co zgodne jest z obserwowanymi wartościami aktywności przeciwbakteryjnej obu tych pochodnych. Dodatkowo również, energetyczny zysk wiązania przykładowej soli **AZM (AZM-21)** na rybosomie jest znacząco niższy niż ten obliczony dla soli **CLA** (odpowiednika soli 15-członowej, związku **CLA-2**), co również zgodne jest z obserwowaną, niższą aktywnością soli **AZM** względem pochodnych **CLA**.

Tabela 19. Aktywność przeciwbakteryjna dla pochodnych **AZM-2 – AZM-19**, wyznaczona jako wartości MIC podane w µg/ml, wraz z wynikami aktywności antybiotyków wzorcowych **ERY, CLA i AZM**.²²⁶

	MIC µg/mL (Minimalne stężenie hamujące)								
	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 700677	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>S. aureus</i> MLSB	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. epidermidis</i> ATCC 49134
ERY	0,125	8	0,0625	8	-	-	-	-	-
CLA	0,125	2	0,03125	4	>64	>64	0,25	0,25	0,25
AZM	0,25	16	0,125	32	>64	>64	1	1	1
AZM-2	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-3	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-4	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-5	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-6	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-7	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-8	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-9	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-10	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-11	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-12	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-13	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-14	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-15	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-16	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-17	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-18	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-19	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64

Tabela 20. Aktywność przeciwbakteryjna dla pochodnych **AZM-21 – AZM-30** i **AZM-32 – AZM-44**, wyznaczona jako wartości MIC podane w µg/ml, wraz z wynikami aktywności antybiotyków wzorcowych **ERY, CLA** i **AZM**, wspólnie z eksperymentalnie wyznaczonymi wartościami rozpuszczalności (S_{H_2O} , mg/ml) oraz wartościami lipofilowości wyznaczonymi eksperymentalnie ($clogP_e$) oraz obliczonych za pomocą programu Mollinspiration ($clogP_o$).²²⁶

związki	MIC µg/mL (minimalne stężenie hamujące)								Rozp. S_{H_2O} [mg/mL]	Lipofilowość	
	<i>S. pneumoniae</i>				<i>S. pyogenes</i>		<i>S. mitis/</i> <i>oralis</i>	<i>E.</i> <i>faecalis</i>		[$clogP_e$]	[$clogP_o$] ^a
	ATCC 49619	ATCC 700677	kliniczny	kliniczny- śluzowy	ATCC 19615	kliniczny	kliniczny	ATCC 29212			
ERY	0,125	8	0,5	>64	0,0625	0,0625	0,125	8	0,525	---	2,28
CLA	0,125	2	0,5	>64	0,03125	0,0625	0,03125	4	<0,310	---	2,90
AZM	0,25	16	0,5	>64	0,125	0,125	0,125	32	0,363	---	2,73
AZM-21	4	>64	32	>64	4	32	>64	>64	18,05	-0,69	-0,36
AZM-22	8	>64	32	>64	16	>64	>64	>64	17,21	-0,03	0,42
AZM-23	4	>64	---	---	2	---	---	>64	35,31	-1,83	-1,09
AZM-24	64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	---	---	-2,34
AZM-25	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	---	---	-1,39
AZM-26	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	---	---	-1,39
AZM-27	>64	>64	64	>64	>64	>64	>64	>64	16,54	-0,44	-0,07
AZM-28	>64	>64	64	>64	>64	>64	>64	>64	---	---	0,86
AZM-29	16	>64	16	>64	8	16	16	>64	---	---	-0,32
AZM-30	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	16,71	0,06	0,34
AZM-32	32	>64	>64	>64	32	16	32	>64	---	---	0,25
AZM-33	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	---	---	0,28
AZM-34	32	>64	---	---	4	---	---	>64	---	---	0,30
AZM-35	64	>64	64	>64	32	>64	32	>64	---	---	0,69
AZM-36	64	>64	64	>64	64	>64	64	>64	3,05	0,15	1,24
AZM-37	4	64	>64	>64	2	2	16	>64	2,16	-0,04	2,06
AZM-38	64	>64	64	>64	64	>64	64	>64	---	---	1,38
AZM-39	>64	>64	32	>64	>64	32	>64	>64	---	---	0,07
AZM-40	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	41,20	-0,30	-1,94
AZM-41	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	---	---	-0,50
AZM-42	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	---	---	-0,54
AZM-43	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	---	---	-0,39
AZM-44	>64	>64	---	---	>64	---	---	>64	---	---	1,01
CLA-1	2	16	2	>64	0,5	16	16	32	8,33	---	-0,43
CLA-2	1	>64	0,5	>64	0,5	1	1	>64	4,42	-0,56	-0,18
CLA-3	2	>64	1	>64	1	2	2	>64	4,36	-0,17	0,60
CLA-4	8	32	8	>64	4	32	32	>64	3,61	---	1,27
CLA-5	0,5	64	>64	>64	1	0,25	8	>64	10,87	-1,19	-0,92
CLA-6	8	>64	4	>64	4	8	4	>64	2,82	-0,20	0,10

Tabela 21. Aktywność przeciwbakteryjna dla pochodnych **AZM-23**, **AZM-34** oraz **AZM-40** – **AZM-44**, wyznaczona jako wartości MIC podane w $\mu\text{g/ml}$, wraz z wynikami aktywności antybiotyków wzorcowych **CLA** i **AZM**.²²⁶

	MIC $\mu\text{g/ml}$ (minimalne stężenie hamujące)				
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>
	MLSB	MRSA	ATCC 6538	ATCC 12228	ATCC 49134
CLA	>64	>64	0,25	0,25	0,25
AZM	>64	>64	1	1	1
AZM-23	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-34	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-40	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-41	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-42	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-43	>64	>64	>64	>64	>64
AZM-44	>64	>64	>64	>64	>64

Tabela 22. Energie wiązania w tunelu rybosomalnym (ΔH_f°) obliczone dla wybranych pochodnych.²²⁶

Związek	ΔH_f° [kcal/mol]	
	S1*	S2*
AZM-21	-15,21	-17,22
AZM-37	-6,94	-18,64
CLA-1	-37,75	---
CLA-2	-35,12	---
CLA-4	23,97	---
CLA-5	-41,18	---

Cytotoksyczność najbardziej aktywnych soli AZM i CLA wobec zdrowej linii komórkowej

Dla wybranych, najbardziej aktywnych przeciwbakteryjnie, nowych *N*-alkilowych soli amoniowych **AZM** (**AZM-21** i **AZM-37**) oraz **CLA** (**CLA-1**, **CLA-2**, **CLA-4** i **CLA-5**), wykonane zostały badania cytotoksyczności na zdrowej linii komórkowej ludzkich fibroblastów skóry (HDF). Wyniki, wyrażone jako stężenie μM dla IC_{50} , przedstawione zostały w Tabeli 23. Analiza wyników ukazała, że niezależnie od wielkości pierścienia aglikonowego badanych soli, wykazywały one niższą cytotoksyczność w porównaniu z antybiotykami referencyjnymi **ERY**, **CLA** i **AZM**. Najbardziej aktywne przeciwbakteryjnie

pochodne (**CLA-2** i **CLA-5**) oraz pochodna **CLA-1** wykazywały około 3-krotnie niższą cytotoksyczność dla zdrowej linii komórkowej ($IC_{50} \sim 70 \mu M$) w stosunku do cytotoksyczności **CLA** ($IC_{50} \sim 20 \mu M$), z kolei najniższą cytotoksyczność odnotowano dla pochodnej **CLA-4** ($IC_{50} = 98,14 \mu M$), której potencjał przeciwbakteryjny nie był zbyt wysoki. Jak wspomniano już wcześniej, sole *N*-alkilowe 15-członowych antybiotyków laktonowych (na przykładzie **AZM-21**) charakteryzują się gorszą aktywnością przeciwbakteryjną niż odpowiadające im analogiczne sole o 14-członowych pierścieniach (**CLA-2**). Wynik ten zgodny jest z uzyskanymi niższymi wartościami cytotoksyczności dla soli **AZM** niż dla soli **CLA**, które w przypadku związku **AZM-21** i **AZM-37** są odpowiednio 6- i 8-krotnie niższe niż dla standardowego antybiotyku **AZM**.

Dane pochodzące z badań cytotoksyczności, wraz z wcześniejszymi omawianymi wynikami testów przeciwbakteryjnych ukazują, że czwartorzędowanie atomu azotu dezozaminy **CLA** z krótkimi, stosunkowo nierozgałęzionymi i nienasyconymi podstawnikami wpływa nie tylko na utrzymanie aktywności przeciwbakteryjnej na istotnym poziomie, ale również na obniżenie cytotoksyczności wobec zdrowej linii komórkowej (HDF), w porównaniu do antybiotyków referencyjnych.

Tabela 23. Wartości IC_{50} dla wybranych pochodnych **AZM** i **CLA**, wraz z wynikami antybiotyków referencyjnych **ERY**, **CLA** i **AZM**, wyznaczone dla normalnych linii komórkowych (HDF) wyrażone w stężeniu $\mu M \pm SD$.²²⁶

HDF (<i>Human Dermal Fibroblasts</i>)	
związek	Cytotoksyczność $IC_{50} [\mu M]$
ERY	$26,19 \pm 0,21$
CLA	$20,02 \pm 0,34$
AZM	$21,94 \pm 0,52$
AZM-21	$121,69 \pm 0,98$
AZM-37	$171,11 \pm 1,02$
CLA-1	$73,43 \pm 0,54$
CLA-2	$72,03 \pm 1,37$
CLA-4	$98,14 \pm 0,92$
CLA-5	$67,11 \pm 0,75$

VIII Część eksperymentalna

1. Stosowane metody badawcze

1.1 Analiza elementarna

Analizę elementarną nowych pochodnych azytromycyny i klarytromycyny oraz związków hybrydowych powstałych z połączenia pochodnych kolchicineiny z pochodnymi laktonowych antybiotyków makrolidowych, wykonano przy użyciu aparatu Vario El III (Elementar Analyzer, Niemcy).

1.2 Rozdział chromatograficzny

Rozdział chromatograficzny HPLC przeprowadzony był z użyciem aparatu Dionex Ultimate 3000 wyposażonego w pompę gradientową LPG-3400 SD, termostat TCC-3000S oraz detektor UV-Vis Dionex VWD-3400Rs i Autosampler. Do rozdziałów chromatograficznych użyte zostały różne metody:

Metoda HPLC 1: użyto kolumnę C18 150 × 4,6 mm (5 μm, pokrycie węglem 11%, pH: 1 do 11). Szybkość przepływu wynosiła 1 ml/min, przy objętości nastrzyku 10 μl. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę: H₂O:CH₃CN:bufor w stosunku 10:40:50, jako bufor zastosowano 0,01 M roztwór octanu amonu w mieszaninie woda/acetonitryl (1:1, v/v). Długość fali detekcji, przy której wykonane zostały chromatogramy wynosiła λ_{max}= 220 nm. Metodę tą wykorzystano dla pochodnych **AZM-1 – AZM-19**.

Metoda HPLC 2: użyto kolumnę C18 250 x 4,6 mm (5 μm, pokrycie węglem 17%, pH: 2 do 13). Szybkość przepływu wynosiła 0,75 ml/min, przy objętości nastrzyku 5 μl. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę: H₂O:CH₃CN:bufor w stosunku 10:65:25, jako bufor zastosowano 0.1% wodny roztwór NH₄OH. Długość fali detekcji, przy której wykonane zostały chromatogramy wynosiła λ_{max}= 220 nm, λ_{max}= 260 nm oraz λ_{max}= 341 nm. Metodę tą wykorzystano dla pochodnych **AZM-20 – AZM-44, CLA-1 – CLA-6, COL-1 – COL-2** oraz **AZM-1-COL-1, AZM-1-COL-2 i CLA-12-COL-2**.

Metoda HPLC 3: użyto kolumnę C18 250 x 4,6 mm (5 μm, pokrycie węglem 17%, pH: 2 do 13). Szybkość przepływu wynosiła 0,75 ml/min, przy objętości nastrzyku 5 μl. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę: H₂O:CH₃CN:bufor w stosunku 20:55:25, jako bufor zastosowano 0.1% wodny roztwór NH₄OH. Długość fali detekcji, przy której wykonane

zostały chromatogramy wynosiła $\lambda_{\max}= 220$ nm oraz $\lambda_{\max}= 260$ nm. Metodę tą wykorzystano dla pochodnych **CLA-7 – CLA-14**.

1.3 Spektroskopia FT-IR

Widma FT-IR nowych otrzymanych pochodnych wykonane zostały z pastylki KBr (1,8 mg/200 mg) lub/i techniką ATR (z kryształem diamentu), przy użyciu aparatu Nicolet *iS50* FT-IR (Thermo, Nicolet, US) wyposażonego w detektor DTGS oraz dwukolumnowy generator osuszonego powietrza (Parker, Balston, US); rozdzielczość 1 cm^{-1} , NSS= 150, zakres $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Użyto funkcji apodyzacji Happ'a-Genzel'a.

1.4 Spektroskopia NMR

Widma ^1H i ^{13}C NMR referencyjnych antybiotyków: **AZM** i **CLA**, oraz wszystkich otrzymanych związków: **AZM-OH**, **AZM-1 – AZM-44**, **CLA-1 – CLA-14**, **COL-1**, **COL-2** oraz **AZM-1-COL-1**, **AZM-1-COL-2** i **CLA-12-COL-2**, wykonano w CDCl_3 i/lub DMSO-d_6 , stosując TMS jako wzorzec wewnętrzny. Pomiarów te wykonano przy użyciu aparatów: Bruker Avance III Spektrometry 600 MHz ($T= 293\text{ K}$, częstotliwość 600,08 MHz dla widm ^1H i 150,454 MHz dla widm ^{13}C), Bruker Avance III 500 MHz ($T= 293\text{ K}$, częstotliwość 500,25 MHz dla widm ^1H i 125,79 MHz dla widm ^{13}C) i Agilent VNMRS 400 MHz ($T= 293\text{ K}$, częstotliwość 402,65 MHz dla widm ^1H i 101,26 MHz dla widm ^{13}C). Poprawność przypisania sygnałów w widmach ^1H i ^{13}C NMR została zweryfikowana na podstawie dwuwymiarowych widm korelacyjnych: $^1\text{H}\text{--}^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H}\text{--}^1\text{H}$ NOESY, $^1\text{H}\text{--}^{13}\text{C}$ HSQC i $^1\text{H}\text{--}^{13}\text{C}$ HMBC.

1.5 Obliczenia teoretyczne i modelowanie w tunelu rybosomalnym

Obliczenia DFT struktur antybiotyków i ich pochodnych, przeprowadzone zostały z wykorzystaniem programu Scigress FJ.2.4. EU 3.1.9 127¹²⁶. Do wykonania modelu do półempirycznych obliczeń wycięto ze struktury krystalograficznej, wokół miejsca wiązania w pobliżu nukleotydu A2045 (w przypadku *D. radiodurans*) lub A2103 (w przypadku *H. marismortui*), sześciąt o wymiarach $50\text{Å} \times 50\text{Å} \times 50\text{Å}$. Przed dokowaniem antybiotyków, odpowiednie modele rentgenowskie bakteryjnych rybosomów opisane dla szczepów *H. marismortui*⁹⁶ i *D. radiodurans*⁹⁷, zostały wzbogacone o protony i kationy metali, tj. jonów Na^+ i Mg^{2+} .

Dodatkowo, wszystkie atomy w układach zostały sparametryzowane (hybrydyzacja, ładunek formalny). Następnie, wstępnie określone na podstawie widm 2D NMR, skonfrontowanych z obliczeniami metodą B88-LYP (GGA) DFT, struktury pochodnych azytromycyny oraz klarytromycyny zostały zadokowane w tunelu rybosomalnym na wcześniej określonych współrzędnych aglikonowych, pozyskanych ze struktur krystalograficznych **CLA** i **AZM** z bakteryjnymi rybosomami.^{96,97} Struktura kompleksu makrolid-rybosom została zoptymalizowana poprzez wzajemne dopasowanie antybiotyku makrolidowego i nukleotydów miejsca wiązania (w pobliżu pętli PTC) tunelu rybosomalnego wstępnie przez metodę MM3, a dopiero później metodą MO-G PM6. W obliczeniach MO-G PM6, z gradientem energii nie przekraczającym 5 kcal/mol, zastosowano algorytm dla dużych cząsteczek. W wyniku optymalizacji antybiotyku, zawierającego wprowadzony podstawnik na dezozaminie, w tunelu rybosomalnym za pomocą obliczeń metodą MO-G PM6, znalezione zostały dwa porównywalne energetycznie miejsca wiązania: S1* - w pobliżu nukleotydu G2484 w *D. radiodurans* i G2540 w *H. marismortui*, oraz S2* - stos adenylanów A2041-A2042-A2482 (w *D. radiodurans*) i A2099-A2100-A2538 (w *H. marismortui*). Wyniki półempirycznych obliczeń MO-G PM6 (ΔH_f° , energie wiązania równe zyskowi energetycznemu pomiędzy związanym i niezwiązanym makrolidem z tunelem rybosomalnym) oraz odpowiednie modele dokowania zostały ukazane w niniejszej pracy.

1.6 Badania aktywności przeciwbakteryjnej

Do oznaczenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej nowych pochodnych azytromycyny i klarytromycyny wykorzystano szczepy drobnoustrojów wzorcowych i klinicznych Gram-dodatnich ziarniaków: *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *S. pneumoniae* ATCC 700677, *S. pneumoniae* kliniczny, *S. pneumoniae* kliniczny-śluzowy, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *S. pyogenes* kliniczny, *Streptococcus mitis/oralilis* kliniczny, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* MRSA (metycylinooporny *Staphylococcus aureus*), *S. aureus* MLSB (oporny na makrolidy, linkozamidy i paciorkowce z grupy B), *S. aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 oraz *S. epidermidis* ATCC 49134. Wykorzystane mikroorganizmy uzyskane zostały z ATCC (*American Type Culture Collection*) lub zostały pozyskane z Zakładu Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej na Uniwersytecie Medycznego im. Karola

Marcinkowskiego w Poznaniu (MRSA, MLSB i szczepy kliniczne). Wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC, $\mu\text{g/ml}$) określono niezależnie dla związków referencyjnych: **ERY, CLA, AZM** oraz nowo zsyntezowanych pochodnych: **AZM-2 – AZM-30, AZM-32 – AZM-44 i CLA-1 – CLA-6**, zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Mikrobiologii Klinicznej i Chorób Zakaźnych (EUCAST, *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), przy użyciu metody seryjnych mikrorozcieńczeń, na polistyrenowych płytkach z bulionem Mueller Hinton (MHB, Beckton Dickinson) i, w zależności od szczepu, 5% krwią końską jako pożywką. Naważki związków o odpowiednich masach rozpuszczono w DMSO (POCH, Gliwice), a następnie rozcieńczono w sterylnym MHB, lub MHB z 5% krwią końską, do uzyskania wymaganego stężenia. Stężenia roztworów badanych związków w medium obejmowały zakres 64 – 0,03125 $\mu\text{g/ml}$. Następnie, do serii rozcieńczonych związków dodano przygotowane odpowiednio bulionowe hodowle bakterii. Końcowe inokulum badanych organizmów dodanych do rozcieńczonych związków wynosiło około $5,0 \times 10^5$ cfu/ml (*Colony Forming Units / ml*; jednostek tworzących kolonie na 1 mililitr związku). Minimalne stężenie hamujące (MIC) określono po 18 ± 2 h inkubacji w temperaturze 35 ± 1 °C, zgodnie z zaleceniami EUCAST. Dane MIC uzyskane w trakcie badań przedstawione zostały w Tabelach 19 - 21.

1.7 Badania cytotoksyczności

Komórki ludzkich fibroblastów skóry (HDF), zdrowej linii komórkowej, hodowano w medium DMEM. Do pożywki tej dodano 10% roztwór płodowej surowicy bydlęcej, 1% roztwór L-glutaminy i 1% roztwór penicyliny/streptomycyny. Linie komórkową inkubowano w 37 °C, w wilgotnej atmosferze (90% RH) zawierającej 5% CO₂. Optymalna gęstość posiewu linii komórkowej wynosiła 5×10^4 . Linia komórkowa pochodziła z *The European Collection of Cell Cultures* (ECACC) i dostarczona została przez Sigma-Aldrich. Do badania cytotoksyczności zastosowano kolorymetryczny test barwienia białek SRB (Sigma-Aldrich) opracowany przez National Cancer Institute (USA) do przeciwnowotworowych badań przesiewowych *in vitro* w celu oszacowania liczby komórek, poprzez wprowadzenie czułego wskaźnika całkowitej zawartości białka w komórce, który jest liniowy w stosunku do gęstości komórkowej. Hodowlę komórek jednowarstwowych poddano działaniu trypsyny, a liczbę komórek doprowadzono do ilości

5×10^4 . Do każdej z 96 mikropłytek titracyjnych dodano 0,1 ml rozcieńczonej zawiesiny komórek, zawierającej około 10 tysięcy komórek. Po 24 godzinach, gdy utworzyła się częściowa monowarstwa, przemyto ją supernatantem, a następnie do mikropłytek dodano po 100 μ l związków o sześciu różnych stężeniach (0,1, 0,2, 1, 2, 10 i 20 μ M).

Badane związki **AZM-21**, **AZM-37**, **CLA-1**, **CLA-2**, **CLA-4** oraz **CLA-5** rozpuszczono w 100 μ l DMSO (zawierającym 10% wody). Zawartość DMSO nie przekraczała 0,1%, gdyż stwierdzono, że to stężenie nie jest toksyczne dla linii komórkowej. Komórki poddano działaniu pochodnych przez 72 godziny w 37 °C w wilgotnej atmosferze (90% RH) zawierającej 5% CO². Następnie dodano 25 μ l 50% kwas trichlorooctowy i płytki inkubowano przez godzinę w 4 °C. Następnie mikropłytki przemyto wodą destylowaną w celu usunięcia śladów pożywki i wysuszono na powietrzu. Do osuszonych płytek dodano 100 μ l 0,4% sulforodaminy B i pozostawiono na 30 minut w temperaturze pokojowej. Niezwiązany barwnik usunięto przez szybkie przemywanie 1% kwasem octowym, a następnie pozostawiono na noc do wyschnięcia.

Gęstość optyczną mierzono przy 490 nm. Wszystkie eksperymenty cytotoksyczności przeprowadzono trzykrotnie. Przeżycie komórek mierzono jako procent absorbancji w porównaniu do próby kontrolnej. Wyniki badań cytotoksyczności nowych soli *N*-alkiloamoniowych **AZM** i **CLA** przedstawiono w Tabeli 23.

1.8 Wyznaczenie $\log P$ oraz rozpuszczalności

Antybiotyki referencyjne **ERY**, **CLA** i **AZM** oraz pochodne **AZM-21 – AZM-23**, **AZM-27**, **AZM-30**, **AZM-36**, **AZM-37**, **AZM-40**, **CLA-2**, **CLA-3**, **CLA-5**, **CLA-6** zostały rozpuszczone w wodzie destylowanej (pH=7, T=25 °C). Krzywe kalibracyjne zostały wyznaczone poprzez pomiar absorbancji jako funkcji ich stężenia za pomocą spektrofotometru Jenway 7205 UV/vis. Analityczna długość fali do wyznaczenia krzywych kalibracji $A_f(c)$ oraz stężenia C_{CH_2O} i $C_{oktanol}$, na podstawie pomiarów UV/vis, wynosiła $\lambda_{max} = 210$ nm. W celu wyznaczenia $\log P_{exp}$ znane ilości związków **ERY**, **CLA** i **AZM** oraz **AZM-21 – AZM-23**, **AZM-27**, **AZM-30**, **AZM-36**, **AZM-37**, **AZM-40**, **CLA-2**, **CLA-3**, **CLA-5**, **CLA-6** zostały rozpuszczone w 10 ml oktanolu, następnie dodano do nich 10 ml wody. Mieszanina została wstrząśnięta, a następnie intensywnie mieszana przez godzinę i rozdzielona. Wyznaczenie stężenia związku w warstwie wodnej odbyło się na podstawie pomiarów absorbancji. Wartości $\log P_{exp}$ obliczone zostały według następującego równania: $\log P_{exp} = \log(C_{oktanol}/C_{CH_2O})$,

a wyniki umieszczone zostały w Tabeli 20. W celu wyznaczenia rozpuszczalności związków w wodzie destylowanej, odważono znane ilości **ERY**, **CLA** i **AZM** oraz pochodne **AZM-21 – AZM-23**, **AZM-27**, **AZM-30**, **AZM-36**, **AZM-37**, **AZM-40**, **CLA-1 – CLA-6**, a następnie dodawano odpowiednie ilości wody (po 0,02 ml) cały czas mieszając roztwór. Wartości rozpuszczalności dla badanych związków zawarte są w Tabeli 20.

1.9 Badanie rentgenowskie kryształu

Eksperyment dyfrakcyjny dla pochodnej CLA-10 przeprowadzony został w temperaturze pokojowej, za pomocą dyfraktometru Oxford Diffraction SuperNova z promieniowaniem Cu K α .

Komórka elementarna: $P2_1$

$a = 13,1837(2)$ $\alpha = 90^\circ$

$b = 8,63620(10)$ $\beta = 107,884(2)^\circ$

$c = 15,6798(3)$ $\gamma = 90^\circ$

2. Synteza nowych pochodnych azytromycyny

AZM-OH: Azytromycynę (100.0 mg, 0.13 mmol) rozpuszczono w 5 ml acetonu, a następnie dodano 2 ml 0,25 M HCl. Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze 25 °C przez 24 h. Po tym czasie, w celu zakończenia reakcji, dodano 2 ml nasyconego roztworu NaHCO₃. Następnie, do kolby dodano octan etylu i przemyto trzykrotnie nasyconym roztworem NaHCO₃. Warstwę octanu etylu odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (75 mg, 95%). HPLC: $t_R = 5,33$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₃₀H₅₈N₂O₉: obliczona C= 60,99%, H= 9,90%, N= 4,74%; zmierzona C= 61,00%, H= 9,89%, N= 4,73%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 590,6142; ¹H i ¹³C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-1: **AZM-OH** (75 mg, 0,13 mmol) rozpuszczono w 5 ml acetonitrylu, a następnie dodano chloromrówczan propargilu (37 μ l, 0,39 mmol). Reakcję prowadzono przez 30 minut, w temperaturze pokojowej, intensywnie mieszając. Następnie, po tym czasie mieszaninę odparowano na wyparce, a otrzymane ciało stałe rozpuszczono w 50 ml DCM i przemyto trzykrotnie 50 ml nasyconego roztworu NaHCO₃. Warstwę organiczną odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (80 mg, 94%). HPLC: $t_R = 5,20$ min.

(Metoda 1); Analiza elementarna C₃₄H₆₀N₂O₁₁: obliczona C= 60,69%, H= 8,99%, N= 4,16%; zmierzona C= 60,71%, H= 8,96%, N= 4,17%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 672,4197;

¹H i ¹³C NMR (Tabela 3 i 4).

Generalna procedura syntezy AZM-2 – AZM-19:

AZM-1 (80 mg, 0,12 mmol) rozpuszczono w 4 ml mieszaniny THF/MeOH w stosunku objętościowym 3:1, a następnie dodano odpowiedni azydek (0,15 mmol): azydocykloheksan (**AZM-2**), azydometrykloheksan (**AZM-3**), azydocykloheptan (**AZM-4**), azydometrylobenzen (**AZM-5**), 1-(azydometylo)-4-metylobenzen (**AZM-6**), 4-(azydometylo)benzonitryl (**AZM-7**), 1-(azydometylo)-4-nitrobenzen (**AZM-8**), 1-(azydometylo)-4-fluorobenzen (**AZM-9**), 1-(azydometylo)-4-(trifluorometylo)benzen (**AZM-10**), 1-(azydometylo)-4-chlorobenzen (**AZM-11**), 1-(azydometylo)-4-bromobenzen (**AZM-12**), 2-(3-azydopropylo)izoindolino-1,3-dion (**AZM-13**), azydek 2,3,4-tri-*O*-acetylo-β-D-ksylopiranozyli (**AZM-14**), tetraoctan 1-azydo-1-deoksy-β-D-galaktopiranozydu (**AZM-15**), cyjanek 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-1-azydo-1-deoksy-α-D-galaktopiranozyli (**AZM-16**), azydek 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetylo-2-deoksy-β-D-glukopiranozyli (**AZM-17**), azydek 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-benzylo-2-deoksy-β-D-glukopiranozyli (**AZM-18**) i 3'-azydo-3'-dezoksytymidyna (**AZM-19**). Następnie dodano 20 mg (0,15 mmol) CH₃COOCu(I) oraz 40 mg (0,22 mmol) kwasu askorbinowego. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 1 – 8 h, a następnie odparowano na wyparce. Otrzymany produkt rozpuszczono w EtOAc i trzykrotnie przemywano nasyconym roztworem NaHCO₃. Warstwę organiczną odparowano do sucha, a otrzymane produkty oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując mieszaninę DCM:MeOH w stosunku od 60:1 do 10:1 (w zależności od produktu) jako eluent. Pochodne **AZM-2 – AZM-19** otrzymano w postaci białego proszku.

AZM-2: (33,5 mg, 35%) HPLC: t_R= 6,91 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₀H₇₁N₅O₁₁: obliczona C= 62,20%; H= 8,97%; N= 8,78%; zmierzona C= 62,23%; H= 8,99%; N= 8,79%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 797,5224; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3429 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2637 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1751 cm⁻¹ ν(C₉=O), 1713 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1263 cm⁻¹ ν(C-O), 1170 cm⁻¹ ν(C-O), 1112 cm⁻¹ ν(C-O) 1045 cm⁻¹, ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-3: (35,6 mg, 37%) HPLC: $t_R = 7,12$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{73}N_5O_{11}$: obliczona C= 60,64%; H= 9,06%; N= 8,62%; zmierzona C= 60,67%; H= 9,04%; N= 8,63%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 811,5324$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3426 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1751 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1712 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1045 cm^{-1} , $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-4: (33,7 mg, 39%) HPLC: $t_R = 7,72$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{73}N_5O_{11}$: obliczona C= 60,64%; H= 9,06%; N= 8,62%; zmierzona C= 60,65%; H= 9,07%; N= 8,60%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 811,5321$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3427 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1112 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1045 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-5: (47,6 mg, 50%) HPLC: $t_R = 6,50$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{67}N_5O_{11}$: obliczona C= 61,10%; H= 8,38%; N= 8,69%; zmierzona C= 61,11%; H= 8,40%; N= 8,71%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 805,4840$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3434 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2635 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1721 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1498 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1455 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1283 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1170 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1112 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-6: (47,6 mg, 48%) HPLC: $t_R = 6,70$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{42}H_{69}N_5O_{11}$: obliczona C= 61,52%; H= 8,48%; N= 8,54%; zmierzona C= 61,51%; H= 8,49%; N= 8,56%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 819,4998$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3429 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1455 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1078 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1046 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-7: (41,3 mg, 42%) HPLC: $t_R = 7,94$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{42}H_{66}N_6O_{11}$: obliczona C= 60,70%; H= 8,01%; N= 10,11%; zmierzona C= 60,74%; H= 8,03%; N= 10,12%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 830,4791$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3447 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 2230 cm^{-1} $\nu(C\equiv N)$; 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1455 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1046 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-8: (45,4 mg, 49%) HPLC: $t_R = 7,80$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{66}N_6O_{13}$: obliczona C= 57,87%; H= 7,82%; N= 9,88%; zmierzona C= 57,90%; H= 7,74%; N= 9,90%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 850,4690$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3430 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1714 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1523 cm^{-1} $\nu(NO_2)$; 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1347 cm^{-1} $\nu(NO_2)$; 1262 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1045 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-9: (41,3 mg, 43%) HPLC: $t_R = 8,40$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{66}FN_5O_{11}$: obliczona C= 59,76%; H= 8,07%; F= 2,31%; N= 8,50%; zmierzona C= 59,80%; H= 8,09%; F= 2,32%; N= 8,51%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 823,4747$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3434 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2638 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1262 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1046 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1005 cm^{-1} $\nu(C-F)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 3 i 4).

AZM-10: (51,2 mg, 50%) HPLC: $t_R = 9,40$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{42}H_{66}F_3N_5O_{11}$: obliczona C= 57,72%; H= 7,61%; F= 6,52%; N= 8,01%; zmierzona C= 57,74%; H= 7,60%; F= 6,51%; N= 5,16%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 873,4711$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3434 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2635 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1753 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1714 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1326 cm^{-1} $\nu(CF_3)$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1046 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-11: (41,8 mg, 42%) HPLC: $t_R = 8,30$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{66}ClN_5O_{11}$: obliczona C= 58,59%; H= 7,92%; Cl= 4,22%; N= 8,33%; zmierzona C= 58,62%; H= 7,89%; Cl= 4,21%; N= 8,32%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 839,4450$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3430 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1714 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1494 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1263 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1113 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1046 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 794 cm^{-1} $\nu(C-Cl)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-12: (34,5 mg, 33%) HPLC: $t_R = 8,42$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $C_{41}H_{66}BrN_5O_{11}$: obliczona C= 55,65%; H= 7,52%; Br= 9,03%; N= 7,91%; zmierzona C= 55,65%; H= 7,53%; Br= 9,00%; N= 7,90%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 883,3942$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3444 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1752 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1490 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$,

1263 cm⁻¹ ν(C-O), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1113 cm⁻¹ ν(C-O), 1046 cm⁻¹ ν(C-O), 794 cm⁻¹ ν(C-Br); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-13: (33,1 mg, 31%) HPLC: t_R = 9,58 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₅H₇₀N₆O₁₃: obliczona C = 59,85%; H = 7,81%; N = 9,31%; zmierzona C = 59,82%; H = 7,83%; N = 9,33%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 902,5012; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3440 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2636 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1768 cm⁻¹ ν(C=O); 1752 cm⁻¹ ν(C₉=O), 1713 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1490 cm⁻¹ ν(C=C), 1457 cm⁻¹ ν(C=C), 1263 cm⁻¹ ν(C-O), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1113 cm⁻¹ ν(C-O), 1046 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-14: (41,5 mg, 36%) HPLC: t_R = 5,35 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₅H₇₅N₅O₁₈: obliczona C = 55,49%; H = 7,76%; N = 7,19%; zmierzona C = 55,50%; H = 7,78%; N = 7,20%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 973,5107; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3444 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2637 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1750 cm⁻¹ ν(C₉=O) + ν(C₁=O)_{lakton} + ν(C=O)_{acetyl}, 1457 cm⁻¹ ν(C=C), 1247 cm⁻¹ ν((C=O)-O), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1098 cm⁻¹ ν(C-O), 1046 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-15: (38,4 mg, 31%) HPLC: t_R = 5,25 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₈H₇₉N₅O₂₀: obliczona C = 55,11%; H = 7,61%; N = 6,69%; zmierzona C = 55,10%; H = 7,63%; N = 6,70%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1045,5318; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3491 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2637 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1756 cm⁻¹ ν(C₉=O) + ν(C₁=O)_{lakton} + ν(C=O)_{acetyl}, 1457 cm⁻¹ ν(C=C), 1255 cm⁻¹ ν((C=O)-O), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1098 cm⁻¹ ν(C-O), 1046 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-16: (29,2 mg, 23%) HPLC: t_R = 5,21 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₉H₇₈N₆O₂₀: obliczona C = 54,94%; H = 7,34%; N = 7,85%; zmierzona C = 54,95%; H = 7,32%; N = 7,86%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1070,5271; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3485 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 2248 cm⁻¹ ν(C≡N); 1756 cm⁻¹ ν(C₉=O) + ν(C₁=O)_{lakton} + ν(C=O)_{acetyl}, 1456 cm⁻¹ ν(C=C), 1258 cm⁻¹ ν((C=O)-O), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1098 cm⁻¹ ν(C-O), 1046 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-17: (18,6 mg, 15%) HPLC: t_R = 5,16 min. (Metoda 1); Analiza elementarna C₄₈H₈₀N₆O₁₉: obliczona C = 55,16%; H = 7,71%; N = 8,04%; zmierzona C = 55,18%; H = 7,72%; N = 8,03%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1044,5478; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3434 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O_{2'}-H)+ν(O_{4''}-H), 2636 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1752 cm⁻¹ ν(C₉=O) +

$\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}} + \nu(\text{C}=\text{O})_{\text{acetyl}}$, 1676 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{amid}}$, 1546 cm^{-1} $\delta(\text{C}-\text{N})_{\text{amid}}$, 1457 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1258 cm^{-1} $\nu((\text{C}=\text{O})-\text{O})$, 1169 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1098 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1046 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-18: (35,2 mg, 25%) HPLC: $t_{\text{R}} = 7,39$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $\text{C}_{63}\text{H}_{92}\text{N}_6\text{O}_{16}$: obliczona C= 63,62%; H= 7,80%; N= 7,07%; zmierzona C= 63,61%; H= 7,82%; N= 7,06%; HR-MALDI-TOF $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1188,6571$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3418 cm^{-1} $\nu(\text{O}_{11}-\text{H})+\nu(\text{O}_{12}-\text{H})+\nu(\text{O}_{2'}-\text{H})+\nu(\text{O}_{4''}-\text{H})$, 2637 cm^{-1} $\nu(\text{O}_6-\text{H})$, 1752 cm^{-1} $\nu(\text{C}_9=\text{O})$, 1713 cm^{-1} $\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}}$, 1676 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{amid}}$, 1548 cm^{-1} $\delta(\text{C}-\text{N})_{\text{amid}}$, 1454 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1260 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$, 1169 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1098 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1046 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-19: (23,4 mg, 21%) HPLC: $t_{\text{R}} = 5,78$ min. (Metoda 1); Analiza elementarna $\text{C}_{44}\text{H}_{73}\text{N}_7\text{O}_{15}$: obliczona C= 56,24%; H= 7,83%; N= 10,43%; zmierzona C= 56,22%; H= 7,81%; N= 10,42%; HR-MALDI-TOF $[\text{M}+\text{H}]^+ = 939,5165$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 5 i 6).

AZM-20: Azytromycynę (100.0 mg, 0.13 mmol) rozpuszczono w 5 ml acetonitrylu, a następnie dodano bezwodnik octowy (0,26 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze 25 °C przez 24 h. Po tym czasie zawartość kolby odparowano, a powstały osad rozpuszczono w octanie etylu i trzykrotnie przemyto nasyconym roztworem NaHCO_3 . Warstwę octanu etylu odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (101,5 mg, 96%). HPLC: $t_{\text{R}} = 8,93$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $\text{C}_{40}\text{H}_{74}\text{N}_2\text{O}_{13}$: obliczona C= 60,74%; H= 9,43%; N= 3,54%; zmierzona C= 60,76%; H= 9,41%; N= 3,55%; HR-MALDI-TOF $[\text{M}+\text{H}]^+ = 790,5191$.

Generalna procedura syntezy AZM-21 – AZM-39:

AZM (100 mg, 0,13 mmol) rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu, a następnie dodano odpowiedni bromek (0,52 mmol): bromek krotylu (**AZM-21**), bromek 3,3-dimetyloallilu (**AZM-22**), bromek propargilu (**AZM-23**), 2-bromo-*N,N*-dimetyloacetamid (**AZM-24**), bromooctan metylu (**AZM-25**), bromooctan etylu (**AZM-26**), 3-(bromometylo) tiofen (**AZM-27**), 2-bromo-3-(bromometylo)tiofen (**AZM-28**), 2-(bromometylo)-5-nitrofuran (**AZM-29**), bromek benzylu (**AZM-30**), 1-(bromometylo)-4-winylobenzen (**AZM-31**), bromek 2-nitrobenzylu (**AZM-32**), bromek 3-nitrobenzylu (**AZM-33**), bromek 4-nitrobenzylu (**AZM-34**), bromek 2,4,6-trifluorobenzylu (**AZM-35**), bromek

4-(trifluorometylo)benzylu (**AZM-36**), 1-(bromometylo)-2,4-bis(trifluorometylo)benzen (**AZM-37**), bromek 2-jodobenzylu (**AZM-38**) oraz 3-(bromometylo)benzonitryl (**AZM-39**). Mieszaniny mieszano w temperaturze pokojowej przez 2-24 godziny. Następnie mieszaninę reakcyjną odparowano do sucha, rozpuszczono w 2 ml DCM, a powstały roztwór wkroplono do 50 ml heksanu. Otrzymany osad przesączono i wysuszono pod próżnią. Pochodne **AZM-21** – **AZM-39** otrzymano w postaci białego proszku.

AZM-21: (115,5 mg, 98%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{42}H_{79}BrN_2O_{12}$: obliczona C= 57,07%; H= 9,01%; Br= 9,04%; N= 3,17%; zmierzona C= 57,11%; H= 9,02%; Br= 9,01%; N= 3,21%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 882,4823$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3348 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 2638 cm^{-1} $\nu(O_6\text{-H})$, 1728 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1665 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-22: (115,0 mg, 96%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{43}H_{81}BrN_2O_{12}$: obliczona C= 57,51%; H= 9,09%; Br= 8,90%; N= 3,12%; zmierzona C= 57,53%; H= 9,04%; Br= 8,91%; N= 3,16%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 896,4986$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3338 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 2635 cm^{-1} $\nu(O_6\text{-H})$, 1728 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1666 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-23: (113,4 mg, 98%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{41}H_{75}BrN_2O_{12}$: obliczona C=56,74%; H=8,71%; Br=9,21%; N=3,23%; zmierzona C=56,75%; H=8,70%; Br=9,19%; N=3,20%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 866,4503$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3392 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6\text{-H})$, 2125 cm^{-1} $\nu(C\equiv C)$, 1727 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-24: (108,6 mg, 89%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{42}H_{80}BrN_3O_{13}$: obliczona C= 55,13%; H= 8,81%; Br= 8,73%; N= 4,59%; zmierzona C= 55,15%; H= 8,79%; Br= 8,71%; N= 4,62%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 913,4887$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3402 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6\text{-H})$, 1727 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1657 cm^{-1} $\nu(C=O)_{\text{amid}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-25: (54,1 mg, 45%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{41}H_{77}BrN_2O_{14}$: obliczona C= 54,60%; H= 8,60%; Br= 8,86%; N= 3,11%; zmierzona C= 54,59%; H= 8,62%; Br= 8,83%; N= 3,14%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 900,4558$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3402 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1766 cm^{-1} $\nu(C=O)$, 1728 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-25': (46,4 mg, 40%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{40}H_{73}BrN_2O_{13}$: obliczona C= 55,23%; H= 8,46%; Br= 9,19%; N=3,22%; zmierzona C= 55,24%; H= 8,47%; Br= 9,18%; N= 3,20%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 869,9169$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3397 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1766 cm^{-1} $\nu(C=O)$, 1728 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-27: (117,2 mg, 95%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{43}H_{77}BrN_2O_{12}S$: obliczona C= 55,77%; H= 8,38%; Br= 8,63%; N= 3,03%; S=3,46%; zmierzona C= 55,77%; H= 8,38%; Br= 8,63%; N= 3,03%; S= 3,46%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 924,4381$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3388 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2635 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1727 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-28: (124,6 mg, 93%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{43}H_{76}Br_2N_2O_{12}S$: obliczona C= 51,39%; H= 7,62%; Br= 15,90%; N= 2,79%; S=3,19%; zmierzona C= 51,40%; H= 7,62%; Br= 15,89%; N= 2,81%; S= 3,18%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 1004,3465$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1727 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 795 cm^{-1} $\nu(C-Br)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-29: (109,5 mg, 87%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{43}H_{76}BrN_3O_{15}$: obliczona C= 54,08%; H= 8,02%; Br= 8,37%; N= 4,40%; zmierzona C= 54,108%; H= 8,03%; Br= 8,36%; N= 4,41%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 953,4460$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1725 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1504 cm^{-1} $\nu(NO_2)$; 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1352 cm^{-1} $\nu(NO_2)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 7 i 8).

AZM-30: (116,5 mg, 95%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{45}H_{79}BrN_2O_{12}$: obliczona C= 58,75%; H= 8,65%; Br= 8,69%; N= 3,04%; zmierzona C= 58,76%; H= 8,67%; Br= 8,67%; N= 3,05%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 918,4816$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo $3380\text{ cm}^{-1} \nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, $26376\text{ cm}^{-1} \nu(O_6\text{-H})$, $1727\text{ cm}^{-1} \nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, $1456\text{ cm}^{-1} \nu(C=C)$, $1169\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$, $1065\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-31: (105,5 mg, 91%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{47}H_{81}BrN_2O_{12}$: obliczona C= 59,67%; H= 8,63%; Br= 8,45%; N= 2,94%; zmierzona C= 59,67%; H= 8,65%; Br= 8,44%; N= 2,95%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 946,0562$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-32: (105,5 mg, 92%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{45}H_{78}BrN_3O_{14}$: obliczona C= 56,02%; H= 8,15%; Br= 8,28%; N= 4,35%; zmierzona C= 56,01%; H= 8,14%; Br= 8,28%; N= 4,34%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 963,4676$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo $3397\text{ cm}^{-1} \nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, $265\text{ cm}^{-1} \nu(O_6\text{-H})$, $1727\text{ cm}^{-1} \nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, $1533\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1457\text{ cm}^{-1} \nu(C=C)$, $1347\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1169\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$, $1065\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-33: (110,5 mg, 86%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{45}H_{78}BrN_3O_{14}$: obliczona C= 56,02%; H= 8,15%; Br= 8,28%; N= 4,35%; zmierzona C= 56,01%; H= 8,14%; Br= 8,28%; N= 4,34%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 963,4676$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo $3396\text{ cm}^{-1} \nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, $2637\text{ cm}^{-1} \nu(O_6\text{-H})$, $1726\text{ cm}^{-1} \nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, $1534\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1457\text{ cm}^{-1} \nu(C=C)$, $1352\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1169\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$, $1065\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-34: (114,4 mg, 89%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{45}H_{78}BrN_3O_{14}$: obliczona C= 56,02%; H= 8,15%; Br= 8,28%; N= 4,35%; zmierzona C= 56,01%; H= 8,14%; Br= 8,28%; N= 4,34%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 963,4676$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo $3388\text{ cm}^{-1} \nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, $2635\text{ cm}^{-1} \nu(O_6\text{-H})$, $1726\text{ cm}^{-1} \nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, $1527\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1457\text{ cm}^{-1} \nu(C=C)$, $1348\text{ cm}^{-1} \nu(\text{NO}_2)$, $1169\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$, $1065\text{ cm}^{-1} \nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-35: (99,8 mg, 77%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{45}H_{76}BrF_3N_2O_{12}$: obliczona C= 55,49%; H= 7,86%; Br= 8,20%; F= 5,85%; N= 2,88%;

zmierzona C= 55,50%; H= 7,86%; Br= 8,21%; F= 5,83%; N= 2,90%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 972,4534; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3386 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O₂'-H)+ν(O₄'-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1726 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1457 cm⁻¹ ν(C=C), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1065 cm⁻¹ ν(C-O), 1001 cm⁻¹ ν(C-F); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-36: (109,2 mg, 83%) HPLC: t_R= 1,96 min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₆H₇₈BrF₃N₂O₁₂: obliczona C= 55,92%; H= 7,98%; Br= 8,09%; F= 5,77%; N= 2,84%; zmierzona C= 55,94%; H= 8,00%; Br= 8,08%; F= 5,76%; N= 2,82%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 986,4690; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O₂'-H)+ν(O₄'-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1726 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1460 cm⁻¹ ν(C=C), 1280 cm⁻¹ ν(CF₃), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1065 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-37: (113,9 mg, 81%) HPLC: t_R= 1,96 min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₇H₇₇BrF₆N₂O₁₂: obliczona C= 53,46%; H= 7,35%; Br= 7,57%; F= 10,79%; N= 2,65%; zmierzona C= 53,48%; H= 7,33%; Br= 7,57%; F= 10,80%; N= 2,64%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1054,4564; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O₂'-H)+ν(O₄'-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1727 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1460 cm⁻¹ ν(C=C), 1325 cm⁻¹ ν(CF₃), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1065 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-38: (115,6 mg, 83%) HPLC: t_R= 1,96 min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₅H₇₈BrIN₂O₁₂: obliczona C= 51,68%; H= 7,52%; Br= 7,54%; I= 12,13%; N= 2,68%; zmierzona C= 51,70%; H= 7,51%; Br= 7,52%; I= 12,12%; N= 2,69%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1044,3783; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O₂'-H)+ν(O₄'-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 1727 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1460 cm⁻¹ ν(C=C), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1065 cm⁻¹ ν(C-O), 640 cm⁻¹ ν(C-I); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 9 i 10).

AZM-39: (110,7 mg, 88%) HPLC: t_R= 1,96 min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₆H₇₈BrN₃O₁₂: obliczona C= 58,46%; H= 8,32%; Br= 8,46%; N= 4,45%; zmierzona C= 58,48%; H= 8,31%; Br= 8,46%; N= 4,46%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 943,4769; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3393 cm⁻¹ ν(O₁₁-H)+ν(O₁₂-H)+ν(O₂'-H)+ν(O₄'-H), 2635 cm⁻¹ ν(O₆-H), 2232 cm⁻¹ ν(C≡N); 1727 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{lakton}, 1460 cm⁻¹ ν(C=C), 1169 cm⁻¹ ν(C-O), 1065 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 11 i 12).

Generalna procedura syntezy AZM-40 – AZM-42:

AZM-OH (100 mg, 0,17 mmol) rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu, a następnie dodano odpowiedni bromek (0,68 mmol): bromek propargilu (**AZM-40**), bromek benzylu (**AZM-41**), bromek 4-nitrobenzylu (**AZM-42**). Mieszaniny mieszano w temperaturze pokojowej przez 4-6 godzin. Następnie mieszaninę reakcyjną odparowano do sucha, rozpuszczono w 2 ml DCM, a powstały roztwór wkroplono do 50 ml heksanu. Otrzymany osad przesączono i wysuszono pod próżnią. Pochodne **AZM-40 – AZM-42** otrzymano w postaci białego proszku.

AZM-40: (105,6 mg, 88%) HPLC: $t_R = 1,95$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{33}H_{61}BrN_2O_9$: obliczona C= 55,98%; H= 8,66%; Br= 11,26%; N= 3,95%; zmierzona C= 55,96 %; H= 8,62%; Br= 11,24%; N= 3,97%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 708,3565$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo $3290 - 3494\text{ cm}^{-1}$ $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2636 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 2132 cm^{-1} $\nu(C\equiv C)$, 1720 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1466 cm^{-1} $\delta(C-H)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 11 i 12).

AZM-41: (105,3 mg, 83%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{37}H_{65}BrN_2O_9$: obliczona C= 58,33%; H= 8,60%; Br= 10,49%; N= 3,68%; zmierzona C= 58,31%; H= 8,63%; Br= 10,52%; N= 3,70%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 760,3889$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3345 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2637 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1760 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 11 i 12).

AZM-42: (107,8 mg, 79%) HPLC: $t_R = 1,96$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{37}H_{64}BrN_3O_{11}$: obliczona C= 55,08%; H= 8,00%; Br= 9,90%; N= 5,21%; zmierzona C= 55,06%; H= 8,01%; Br= 9,89%; N= 5,19%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 805,3731$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3345 cm^{-1} $\nu(O_{11}-H)+\nu(O_{12}-H)+\nu(O_{2'}-H)+\nu(O_{4''}-H)$, 2638 cm^{-1} $\nu(O_6-H)$, 1712 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1527 cm^{-1} $\nu(NO_2)$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1347 cm^{-1} $\nu(NO_2)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 11 i 12).

Generalna procedura syntezy AZM-43 – AZM-44:

AZM (100 mg, 0,13 mmol) rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu, następnie dodano bezwodnik octowy (37 μ l, 0,39 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszając pozostawiono w temperaturze pokojowej na 18 godzin. Następnie, mieszaninę odparowano na wyparce, a otrzymany osad rozpuszczono w 50 ml octanu etylu i przemyto trzykrotnie 50 ml nasyconego roztworu NaHCO₃. Organiczną warstwę odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe **AZM-20** (98,5 mg, 93%). Następnie, tak przygotowany substrat **AZM-20** rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu i dodano odpowiedni bromek (0,50 mmol): bromek propargilu (**AZM-43**), bromek 4-nitrobenzylu (**AZM-44**). Mieszaniny reakcyjne mieszano w temperaturze pokojowej przez 24-36 godzin. Następnie odparowano je do sucha, rozpuszczono w 2 ml DCM, a powstały roztwór wkroplono do 50 ml heksanu. Otrzymany osad przesączono i wysuszono pod próżnią. Pochodne **AZM-43 – AZM-44** otrzymano w postaci białego proszku.

AZM-43: (88,1 mg, 78%) HPLC: $t_R = 1,98$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₃H₇₇BrN₂O₁₃: obliczona C= 56,76%; H= 8,53%; Br= 8,78%; N= 3,08%; zmierzona C= 56,78%; H= 8,51%; Br= 8,81%; N= 3,06%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 908,4611; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3405 cm⁻¹ ν (O₁₁-H)+ ν (O₁₂-H)+ ν (O_{2'}-H)+ ν (O_{4''}-H), 2638 cm⁻¹ ν (O₆-H), 2126 ν (C \equiv C), 1752 cm⁻¹ ν (C=O)_{acetyl}, 1730 cm⁻¹ ν (C₁=O)_{lakt}, 1212 cm⁻¹ ν (C-O), 1169 cm⁻¹ ν (C-O), 1065 cm⁻¹ ν (C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 11 i 12).

AZM-44: (92,6 mg, 74%) HPLC: $t_R = 1,98$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna C₄₇H₈₀BrN₃O₁₅: obliczona C= 56,05%; H= 8,01%; Br= 7,93%; N= 4,17%; zmierzona C= 56,10%; H= 8,03%; Br= 7,91%; N= 4,16%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 1005,4778; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3406 cm⁻¹ ν (O₁₁-H)+ ν (O₁₂-H)+ ν (O_{2'}-H)+ ν (O_{4''}-H), 2637 cm⁻¹ ν (O₆-H), 2126 cm⁻¹ ν (C \equiv C), 1749 cm⁻¹ ν (C=O)_{acetyl}, 1729 cm⁻¹ ν (C₁=O)_{lakt}, 1527 cm⁻¹ ν (NO₂), 1457 ν (C=C), 1347 cm⁻¹ ν (NO₂), 1211 cm⁻¹ ν (C-O), 1169 cm⁻¹ ν (C-O), 1065 cm⁻¹ ν (C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 11 i 12).

3. Synteza nowych pochodnych klarytromycyny

Generalna procedura syntezy CLA-1 – CLA-6:

CLA (100 mg, 0,13 mmol) rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu, a następnie dodano odpowiedni bromek (0,52 mmol): bromek allilu (**CLA-1**), bromek krotyle (**CLA-2**), bromek 3,3-dimetyloallilu (**CLA-3**), 3-bromo-1-fenyl-1-propen (**CLA-4**), bromek propargilu (**CLA-5**) i 3-(bromometylo)tiofen (**CLA-6**). Mieszaniny reakcyjne mieszano w temperaturze pokojowej przez 2-16 godzin. Następnie odparowano je do sucha, rozpuszczono w 2 ml DCM, a powstały roztwór wkroplono do 50 ml heksanu. Otrzymany osad przesączono i wysuszono pod próżnią. Pochodne **CLA-1 – CLA-6** otrzymano w postaci białego proszku.

CLA-1: (102,0 mg, 88%) HPLC: $t_R = 1,65$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{41}H_{74}BrNO_{13}$: obliczona C= 56,67%; H= 8,58%; Br= 9,20%; N= 1,61%; zmierzona C= 56,66%; H= 8,59%; Br= 9,21%; N= 1,59%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 867,4344$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3407 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 1730 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1690 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1065 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-2: (110,7 mg, 94%) HPLC: $t_R = 1,65$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{42}H_{76}BrNO_{13}$: obliczona C= 57,13%; H= 8,68%; Br= 9,05%; N= 1,59%; zmierzona C= 57,14%; H= 8,70%; Br= 9,03%; N= 1,61%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 881,4513$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3415 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 1733 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1689 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1169 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1075 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-3: (108,8 mg, 91%) HPLC: $t_R = 1,65$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{43}H_{78}BrNO_{13}$: obliczona C= 57,58%; H= 8,76%; Br= 8,91%; N= 1,56%; zmierzona C= 57,60%; H= 8,75%; Br= 8,92%; N= 1,57%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 895,4657$; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3413 cm^{-1} $\nu(O_{11}\text{-H})+\nu(O_{12}\text{-H})+\nu(O_{2'}\text{-H})+\nu(O_{4''}\text{-H})$, 1730 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1689 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1170 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1076 cm^{-1} $\nu(C-O)$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-4: (117,2 mg, 93%) HPLC: $t_R = 1,66$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{47}H_{78}BrNO_{13}$: obliczona C= 59,73%; H= 8,32%; Br= 8,46%; N= 1,48%; zmierzona C=

59,74%; H= 8,30%; Br= 8,44%; N= 1,49%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 943,4657; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3430 cm^{-1} $\nu(\text{O}_{11}\text{-H})+\nu(\text{O}_{12}\text{-H})+\nu(\text{O}_{2'}\text{-H})+\nu(\text{O}_{4''}\text{-H})$, 1732 cm^{-1} $\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}}$, 1689 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1460 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1170 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$, 1076 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-5: (108,6 mg, 94%) HPLC: $t_{\text{R}}= 1,65$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $\text{C}_{41}\text{H}_{72}\text{BrNO}_{13}$: obliczona C= 56,80%; H= 8,37%; Br= 9,22%; N= 1,62%; zmierzona C= 56,79%; H= 8,35%; Br= 9,21%; N= 1,62%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 865,4187; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3429 cm^{-1} $\nu(\text{O}_{11}\text{-H})+\nu(\text{O}_{12}\text{-H})+\nu(\text{O}_{2'}\text{-H})+\nu(\text{O}_{4''}\text{-H})$, 2125 cm^{-1} $\nu(\text{C}\equiv\text{C})$, 1732 cm^{-1} $\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}}$, 1689 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1170 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$, 1076 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-6: (109,8 mg, 89%) HPLC: $t_{\text{R}}= 1,66$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $\text{C}_{43}\text{H}_{74}\text{BrNO}_{13}\text{S}$: obliczona C= 55,83%; H= 8,05%; Br= 8,65%; N= 1,52%; S= 3,47%; zmierzona C= 55,81%; H= 8,05%; Br= 8,65%; N= 1,52%; S= 3,46%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 923,4064; FT-IR (pastylka KBr): szerokie pasmo 3428 cm^{-1} $\nu(\text{O}_{11}\text{-H})+\nu(\text{O}_{12}\text{-H})+\nu(\text{O}_{2'}\text{-H})+\nu(\text{O}_{4''}\text{-H})$, 1732 cm^{-1} $\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}}$, 1689 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1170 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$; 1076 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 13 i 14).

CLA-7: Klarytromycynę (250 mg, 0,33 mmol) rozpuszczono w 10 ml odwodnionej i przedestyloowanej trietyloaminy, a następnie dodano świeżo przedestylowany węgiel etylenowy (133 μl , 2 mmol). Wszystkie czynności wykonywane były w przepływie inertnego gazu (Ar). Reakcję prowadzono w temperaturze $110\text{ }^\circ\text{C}$ pod chłodnicą zwrotną przez 12 godzin. Po tym czasie mieszaninę odparowano na wyparce, a otrzymaną kleistą, ciemnożółtą maź rozpuszczono w octanie etylu i pięciokrotnie przemyto nasyconym roztworem NaHCO_3 . Warstwę organiczną odparowano do sucha, a następnie rozpuszczono w 3 ml DCM, a powstały roztwór wkroplono do 50 ml heksanu. Otrzymany osad przesączono i wysuszono pod próżnią. Otrzymano kremowe ciało stałe (231 mg, 95%). HPLC: $t_{\text{R}}= 14,17$ min. (Metoda 3); Analiza elementarna $\text{C}_{38}\text{H}_{67}\text{NO}_{12}$: obliczona C= 62,53%, H= 9,35%, N= 1,92%; zmierzona C= 62,54%, H= 9,36%, N= 1,90%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 729,4663; FT-IR (ATR): szerokie pasmo przy 3446 cm^{-1} $\nu(\text{O}_{12}\text{-H})+\nu(\text{O}_{2'}\text{-H})+\nu(\text{O}_{4''}\text{-H})$, 1733 cm^{-1} $\nu(\text{C}_1=\text{O})_{\text{lakton}}$, 1668 cm^{-1} $\nu(\text{C}_9=\text{O})$, 1258 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$, 1165 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$, 1051 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$, 1011 cm^{-1} $\nu(\text{C-O})$; ^1H i ^{13}C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-8: **CLA-7** (230 mg, 0,31 mmol) rozpuszczono w 5 ml acetonu i dodano 20 ml 0,25 M HCl. Reakcję prowadzono przez 18 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie, do kolby reakcyjnej dodano 10 ml nasyconego roztworu NaHCO₃. Następnie, zawartość kolby przeniesiono do rozdzielcza, dodano 50 ml octanu etylu i przemyto trzykrotnie nasyconym roztworem NaHCO₃. Warstwę organiczną odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (175 mg, 97%). HPLC: t_R = 8,32 min. (Metoda 3); Analiza elementarna C₃₀H₅₃NO₉: obliczona C = 63,02%, H = 9,34%, N = 2,45%; zmierzona C = 63,01%, H = 9,33%, N = 2,47%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 571,7431; FT-IR (ATR): szerokie pasmo przy 3446 cm⁻¹ ν(O₃-H) + ν(O₁₂-H) + ν(O₂'-H); 1729 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{laktone}, 1668 cm⁻¹ ν(C₉=O), 1257 cm⁻¹ ν(C-O), 1163 cm⁻¹ ν(C-O), 1070 cm⁻¹ ν(C-O), 1047 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-9: **CLA-8** (170 mg, 0,30 mmol) rozpuszczono w 5 ml bezwodnego acetonitrylu, następnie dodano bezwodnik octowy (55 μl, 0,60 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszając pozostawiono w temperaturze pokojowej na 18 godzin. Następnie, zawartość kolby odparowano na wyparce, a otrzymany osad rozpuszczono w 50 ml octanu etylu i przemyto trzykrotnie 50 ml nasyconego roztworu NaHCO₃. Organiczną warstwę odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (175 mg, 95%). HPLC: t_R = 6,67 min. (Metoda 3); Analiza elementarna C₃₂H₅₅NO₁₀: obliczona C = 62,62%, H = 9,03%, N = 2,28%; zmierzona C = 62,63%, H = 9,04%, N = 2,30%; HR-MALDI-TOF [M+H]⁺ = 613,3826; FT-IR (ATR): szerokie pasmo przy 3480 cm⁻¹ ν(O₃-H) + ν(O₁₂-H); 1740 cm⁻¹ ν(C₉'=O)_{acetyl}, 1731 cm⁻¹ ν(C₁=O)_{laktone}, 1668 cm⁻¹ ν(C₉=O), 1236 cm⁻¹ ν(C-O), 1162 cm⁻¹ ν(C-O), 1107 cm⁻¹ ν(C-O), 1047 cm⁻¹ ν(C-O); ¹H i ¹³C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-10: Odparowany trzykrotnie z bezwodnego DCM *N*-chlorosukcynoimid (NCS) (60 mg, 0,45 mmol) rozpuszczono w 3 ml bezwodnego CH₂Cl₂ i chłodzono przez 5 minut w łaźni lodowej o temperaturze -20 °C. Następnie dodano siarczek dimetylu (Me₂S) (45 μl, 0,61 mmol) i mieszano przez 15 minut w łaźni lodowej o temperaturze -20 °C. Po tym czasie wkroplono rozpuszczony w 3 ml bezwodnego DCM, trzykrotnie odparowany z bezwodnego DCM, związek **CLA-9** (170 mg, 0,28 mmol). Reakcję mieszano przez 35 minut utrzymując temperaturę łaźni lodowej w granicach -15 – -20 °C. Po 35 minutach dodano trietyloaminę (TEA) (45 μl, 0,60 mmol) i pozostawiono mieszaninę reakcyjną do czasu, aż zawartość łaźni lodowej osiągnęła temperaturę +15 °C (ok. 4,5 godziny). Następnie zawartość kolby odparowano, pozostawiając ok. 1ml cieczy. Roztwór ten

dodano do 50 ml eteru dietylowego, a następnie przemyto pięciokrotnie wodą. Warstwę organiczną odparowano do sucha, uzyskując kleisty produkt, który następnie oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując mieszaninę DCM:aceton w stosunku 4:1 jako eluent. Produkt **CLA-10** otrzymano w postaci białego proszku (73,2 mg, 43%). HPLC: $t_R = 10,36$ min. (Metoda 3); Analiza elementarna $C_{32}H_{53}NO_{10}$: obliczona C= 62,83%, H= 8,73%, N= 2,29%; zmierzona C= 62,85%, H= 8,72%, N= 2,30%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 611,3669$; FT-IR (ATR): 1739 cm^{-1} $\nu(C_9=O)_{\text{acetyl}}$, 1731 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_3=O)$, 1669 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1229 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1162 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1102 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1057 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-11: **CLA-10** (70 mg, 0,11 mmol) rozpuszczono w 5 ml metanolu i pozostawiono mieszając na 18 godzin w temperaturze $35\text{ }^\circ\text{C}$. Po tym czasie zawartość kolby odparowano, a otrzymany osad rozpuszczono w 50 ml octanu etylu i przemyto trzykrotnie 50 ml nasyconego roztworu NaHCO_3 . Organiczną warstwę odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (62,5 mg, 96%). HPLC: $t_R = 9,34$ min. (Metoda 3); Analiza elementarna $C_{30}H_{51}NO_9$: obliczona C= 63,24%, H= 9,02%, N= 2,46%; zmierzona C= 63,25%, H= 9,04%, N= 2,46%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 569,3564$;

CLA-12: **CLA-11** (60 mg, 0,10 mmol) rozpuszczono w 5 ml acetonitrylu, a następnie dodano chloromrówczan propargilu (21 μl , 0,20 mmol). Reakcję prowadzono przez 30 minut, w temperaturze pokojowej, intensywnie mieszając. Następnie, po tym czasie mieszaninę odparowano na wyparce, a otrzymane ciało stałe rozpuszczono w 50 ml DCM i przemyto trzykrotnie 50 ml nasyconego roztworu NaHCO_3 . Warstwę organiczną odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (62,5 mg, 91%). HPLC: $t_R = 14,64$ min. (Metoda 3); Analiza elementarna $C_{34}H_{53}NO_{11}$: obliczona C= 62,65%, H= 8,20%, N= 2,15%; zmierzona C= 62,64%, H= 8,22%, N= 2,16%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 651,3619$; FT-IR (pastylka KBr): 3479 cm^{-1} $\nu(O_{12}'-H)$, 3059 cm^{-1} $\nu(=CH)$, 2974 cm^{-1} $\nu(C-H)$, 2128 cm^{-1} $\nu(C\equiv C)$, 1747 cm^{-1} $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}} + \nu(C_3=O) + \nu(C_9=O) + \nu(C_{31}=O)$, 1457 cm^{-1} $\nu(C=C)$, 1259 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1165 cm^{-1} , 1056 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-13: **CLA-10** (70 mg, 0,11 mmol) rozpuszczono w 4 ml mieszaniny bezwodnych rozpuszczalników THF i DMF w stosunku 3:1. Następnie do mieszaniny dodano 1,1'-karbonyldiimidazol (CDI) (46,5 mg, 0,28 mmol) i wodorek sodu (NaH) (7 mg, 29 mmol). Po godzinie do mieszaniny dodano 1 ml wody destylowanej, a następnie

mieszaninę tę rozcieńczono w 30 ml eteru dietylowego i przemyto trzykrotnie wodą. Organiczną warstwę odparowano do sucha i otrzymano białe ciało stałe (79 mg, 97%). HPLC: t_R = 11,67 min. (Metoda 3); Analiza elementarna $C_{36}H_{55}N_3O_{11}$: obliczona C= 61,26%, H= 7,85%, N= 5,95%; zmierzona C= 61,27%, H= 7,86%, N= 5,96%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 705,3837; FT-IR (ATR): 1745 cm^{-1} $\nu(C_9=O)_{\text{acetyl}}$ + $\nu(C_{23=O})_{\text{acetyl}}$ + $\nu(C_1=O)_{\text{lakton}}$, 1713 cm^{-1} $\nu(C_3=O)$, 1673 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1238 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1159 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1093 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1056 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 15 i 16).

CLA-14: **CLA-13** (75 mg, 0,105 mmol) odparowano trzykrotnie z bezwodnego CH_2Cl_2 i rozpuszczono w 3 ml mieszaniny bezwodnego acetonitrylu, a następnie dodano alliloaminę (40 μ l, 0,53 mmol). Mieszaninę reakcyjną pozostawiono w temperaturze pokojowej przez 48 godzin intensywnie mieszając. Po tym czasie przeniesiono mieszaninę do szczelnego naczynia Schlenka i prowadzono reakcję przez kolejne 48 godzin w temperaturze 50 °C. Następnie do układu dodano alliloaminę (80 μ l, 1,06 mmol) i podniesiono temperaturę do 90 °C. Po 40 godzinach zawartość kolby odparowano, a otrzymane ciało stałe rozpuszczono w 50 ml DCM i przemyto trzykrotnie 50 ml wody. Warstwę organiczną odparowano do sucha, uzyskując produkt, który następnie oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując mieszaninę DCM:aceton w stosunku 3:1 jako eluent. Produkt **CLA-14** otrzymano w postaci białego proszku (47 mg, 72%). HPLC: t_R = 18,49 min. (Metoda 3); Analiza elementarna $C_{32}H_{53}NO_{10}$: obliczona C= 62,83%, H= 8,73%, N= 2,29%; zmierzona C= 62,82%, H= 8,73%, N= 2,30%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+$ = 611,3669; FT-IR (ATR): 1811 cm^{-1} pasmo kombinacyjne, 1744 cm^{-1} $\nu(C_9=O)_{\text{acetyl}}$, 1655 cm^{-1} $\nu(C=C)_{C(1)=C(2)}$, 1604 cm^{-1} $\nu(C_9=O)$, 1235 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1162 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1133 cm^{-1} $\nu(C-O)$, 1057 cm^{-1} $\nu(C-O)$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 15 i 16).

4. Synteza nowych hybrydowych pochodnych z udziałem kolchiceiny

COL-1 i **COL-2:** Kolchiceinę (150,0 mg, 0,39 mmol) rozpuszczono w 15 ml toluenu i dodano 1-[(3-azydopropano)sulfonylo]-4-metylobenzen (495 mg, 1,95 mmol), a następnie K_2CO_3 (157,5 mg, 1,17 mmola). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze 70 °C przez 24 godziny. Po tym czasie dodano eter dietylowy i dwukrotnie przemyto wodą destylowaną. Warstwę organiczną odparowano do sucha, a otrzymane produkty **COL-1** i **COL-2** oczyszczono i oddzielono od siebie wykorzystując metodę chromatografii

kolumnowej, stosując mieszaninę DCM:aceton w stosunku 4:1 jako eluent. Produkty **COL-1** i **COL-2** otrzymano w postaci żółtych proszków.

COL-1: (97,5 mg, 51%) HPLC: $t_R = 5,51$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{24}H_{28}N_4O_6$: obliczona C= 61,53%; H= 6,02%; N= 11,96%; zmierzona C= 61,55%; H= 6,02%; N= 11,95%; HR-MALDI-TOF $[M+Na]^+ = 491,1901$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 17 i 18).

COL-2: (78,4 mg, 41%) HPLC: $t_R = 5,72$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{24}H_{28}N_4O_6$: obliczona C= 61,53%; H= 6,02%; N= 11,96%; zmierzona C= 61,51%; H= 6,03%; N= 11,98%; HR-MALDI-TOF $[M+Na]^+ = 491,1901$; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 17 i 18).

AZM-1-COL-1: Związek **COL-1** (70 mg, 0,17 mmol) rozpuszczono w 3 ml THF i do roztworu dodano 110 mg **AZM-1** (0,16 mmol). Następnie dodano 8,85 mg (0,07 mmol) $CH_3COOCu(I)$ oraz 45 mg (0,25 mmol) kwasu askorbinowego. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 2 godziny, po tym czasie odparowano na wyparce. Otrzymany produkt rozpuszczono w 25 ml EtOAc i trzykrotnie przemywano nasyconym roztworem $NaHCO_3$. Warstwę organiczną odparowano do sucha, a otrzymany produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując mieszaninę aceton:*i*-propanol w stosunku 3,5:1 jako eluent. Produkt **AZM-1-COL-1** otrzymano w postaci białego proszku (44 mg, 23%). HPLC: $t_R = 5,46$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{58}H_{88}N_6O_{17}$: obliczona C= 61,03%, H= 7,77%, N= 7,36%; zmierzona C= 61,08%, H= 7,76%, N= 7,35%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 1141,3493$; FT-IR (pastylka KBr): $\nu(O3'-H)+\nu(O11'-H)+\nu(O12'-H)$ – szerokie pasmo przy 3420 cm^{-1} ; $\nu(N-H)_{amid}$ - 3293 cm^{-1} ; $\nu(=CH)$ - 3063 cm^{-1} ; $\nu(C-H)$ - 2938 cm^{-1} ; 2876 cm^{-1} ; $\nu(O6-H)$ - 2637 cm^{-1} ; $\nu(C31'=O)+\nu(C1'=O)_{laktone}$ - 1752 cm^{-1} ; $\nu(C=O)_{amid}$ - 1661 cm^{-1} ; $\nu(C=C)_{ar}$ - 1612 cm^{-1} ; $\delta(N-H)_{amid}$ - 1560 cm^{-1} ; $\nu(C=C)$ - 1457 cm^{-1} ; $\nu(C-O)$ - 1263 cm^{-1} ; $\nu(C-O)$ - $1170, 1097\text{ cm}^{-1}$. 1H i ^{13}C NMR (Tabela 17 i 18).

AZM-1-COL-2: Związek **COL-2** (70 mg, 0,17 mmol) rozpuszczono w 3 ml THF i do roztworu dodano 110 mg **AZM-1** (0,16 mmol). Następnie dodano 8,84 mg (0,07 mmol) $CH_3COOCu(I)$ oraz 48 mg (0,27 mmol) kwasu askorbinowego. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 3 godziny, po tym czasie odparowano na wyparce. Otrzymany produkt rozpuszczono w 25 ml EtOAc i trzykrotnie przemywano nasyconym roztworem $NaHCO_3$. Warstwę organiczną odparowano do sucha, a otrzymany produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując mieszaninę aceton:*i*-propanol w stosunku 3:1 jako

eluent. Produkt **AZM-1-COL-2** otrzymano w postaci białego proszku (46 mg, 25%). HPLC: $t_R = 5,58$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{58}H_{88}N_6O_{17}$: obliczona C= 61,03%, H= 7,77%, N= 7,36%; zmierzona C= 61,05%, H= 7,76%, N= 7,35%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 1141,6240$; FT-IR (pastylka KBr): $\nu(O3'-H)+\nu(O11'-H)+\nu(O12'-H)$ – szerokie pasmo przy 3414 cm^{-1} ; $\nu(N-H)_{\text{amid}} - 3293\text{ cm}^{-1}$; $\nu(=CH) - 3059\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-H) - 2937\text{ cm}^{-1}$; 2876 cm^{-1} ; $\nu(O6-H) - 2641\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C31'=O)+\nu(C1'=O)_{\text{lakton}} - 1751\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=O)_{\text{amid}} - 1661\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=C)_{\text{ar}} - 1614\text{ cm}^{-1}$; $\delta(N-H)_{\text{amid}} - 1558\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=C) - 1459\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-O) - 1259\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-O) - 1171\text{ cm}^{-1}$, 1096 cm^{-1} ; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 17 i 18).

CLA-12-COL-2: Związek **COL-2** (70 mg, 0,17 mmol) rozpuszczono w 3 ml THF i do roztworu dodano 100 mg **CLA-12** (0,15 mmol). Następnie dodano 8,84 mg (0,07 mmol) $CH_3COOCu(I)$ oraz 48 mg (0,27 mmol) kwasu askorbinowego. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 5 godzin, po tym czasie odparowano na wyparce. Otrzymany produkt rozpuszczono w 25 ml EtOAc i trzykrotnie przemywano nasyconym roztworem $NaHCO_3$. Warstwę organiczną odparowano do sucha, a otrzymany produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej, stosując aceton eluent. Produkt **AZM-1-COL-2** otrzymano w postaci białego proszku (43 mg, 21%). HPLC: $t_R = 7,62$ min. (Metoda 2); Analiza elementarna $C_{58}H_{81}N_5O_{17}$: obliczona C= 62,18%, H= 7,29%, N= 6,25%; zmierzona C= 62,18%, H= 7,29%, N= 6,25%; HR-MALDI-TOF $[M+H]^+ = 1119,5627$; FT-IR (pastylka KBr): $\nu(O12'-H) - 3397\text{ cm}^{-1}$; $\nu(N-H)_{\text{amid}} - 3293\text{ cm}^{-1}$; $\nu(=CH) - 3059\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-H) - 2941\text{ cm}^{-1}$; 2868 cm^{-1} ; $\nu(C1'=O)_{\text{lakton}}+\nu(C3'=O)+\nu(C9'=O)+\nu(C31'=O) - 1752\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=O)_{\text{amid}} - 1663\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=C)_{\text{ar}} - 1614\text{ cm}^{-1}$; $\delta(N-H)_{\text{amid}} - 1552\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C=C) - 1457\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-O) - 1257\text{ cm}^{-1}$; $\nu(C-O) - 1172\text{ cm}^{-1}$, 1095 cm^{-1} ; 1H i ^{13}C NMR (Tabela 17 i 18).

IX Podsumowanie

Do najważniejszych osiągnięć w ramach niniejszej pracy zaliczyć można:

1. Syntezę 50 pochodnych antybiotyków makrolidowych, w tym: 18 nowych węglanowo-triazolowych analogów azytromycyny oraz 23 nowych soli *N*-alkiloamoniowych azytromycyny i 6 nowych soli *N*-alkiloamoniowych klarytromycyny oraz 3 pochodne hybrydowe.
2. Ustalenie struktur pochodnych **AZM-1 – AZM-44** i **CLA-1 – CLA-6** oraz hybryd **AZM-1-COL-1**, **AZM-1-COL-2** i **CLA-12-COL-2**, na podstawie analizy spektroskopowej, z wykorzystaniem technik: ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H NOESY, ^1H - ^{13}C HSQC i ^1H - ^{13}C HMBC, FT-IR, ESI-MS i modelowania molekularnego jedną z metod DFT oraz wykazanie obecności oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych stabilizujących te struktury.
3. Wykorzystanie obecności wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań do regioselektywnej modyfikacji azytromycyny (reaktywność tylko jednego z dwóch atomów azotu).
4. Wykazanie, że przyłączony do dezoaminy *N*-alkilowy podstawnik 15-członowych makrolidowych soli amoniowych ma możliwość przyjęcia dwóch alternatywnych orientacji w tunelu rybosomalnym (S1* i S2*), co zostało wykorzystane w wyjaśnieniu różnic w aktywności przeciwbakteryjnej tego typu makrolidów.
5. Otrzymanie kryształu pochodnej **CLA-10** i ustalenie jej konformacji, z jednoczesnym potwierdzeniem konfiguracji wiązania podwójnego i konformacji układu makrolaktonowego.
6. Ustalenie struktury pochodnej **CLA-14** z wykorzystaniem technik: ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H NOESY, ^1H - ^{13}C HSQC i ^1H - ^{13}C HMBC i FT-IR i DFT oraz wyjaśnienie zaskakującej wysokiej hydrofobowości tej pochodnej.
7. Ustalenie warunków przekształcania tautomeru 1,3-diokso **CLA-10** w stabilny tautomer enolowy – **CLA-14** (nowa forma „laktenolowa”).
8. Ustalenie, że nowe sole *N*-alkiloamoniowe **AZM** i **CLA** (**CLA-1**, **CLA-2**, **CLA-5**) wykazują niższą cytotoksyczność od wzorcowych antybiotyków **CLA** i **AZM**, przy zachowaniu istotnej aktywności przeciwbakteryjnej.

9. Zaproponowanie modelu dokowania nowych pochodnych *N*-alkilowych w tunelu rybosomalnym *H. marismortui* i *D. radiodurans* z dużej podjednostki rybosomalnej 50S z wykorzystaniem metody MOG-MP6.
10. Ustalenie, że najbardziej aktywne sole *N*-alkiloamoniowe 14-członowej klarytromycyny są zaangażowane w energetycznie najkorzystniejsze oddziaływania π - π stackingowe z nukleotydem G2450 tunelu rybosomalnego.
11. Ustalenie, że wprowadzenie rozbudowanego podstawnika w pozycji C(2') dezozaminy **AZM** (**AZM-2** – **AZM-19**), nie skutkuje wzrostem aktywności przeciwbakteryjnej. Pośrednio można zatem wnioskować, że reorientacja dezozaminy z podstawioną grupą hydroksylową O(2')H w tunelu rybosomalnym nie jest faworyzowana dla tego typu pochodnych.
12. Ustalenie zależności pomiędzy strukturą nowo otrzymanych pochodnych makrolidowych a ich aktywnością przeciwbakteryjną i cytotoksycznością oraz skorelowanie tych wyników z wyznaczonymi parametrami fizykochemicznymi (clogP i rozpuszczalność w wodzie).

Streszczenie w języku polskim

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zsyntezowanie nowych pochodnych 14- i 15-członowych laktonowych antybiotyków makrolidowych, zawierających przebudowane ramiona sacharydowe oraz funkcjonalizacja aglikonu klarytromycyny i ocena jej przydatności do dalszych zastosowań w poszukiwaniu nowych antybiotyków. W wyniku pracy otrzymano 50 nowych pochodnych, w tym 18 węglanowo-triazolowych analogów azytromycyny otrzymanych w wyniku reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena, 23 nowe sole *N*-alkiloamoniowe azytromycyny, 6 nowych soli *N*-alkiloamoniowych klarytromycyny oraz 3 związki hybrydowe powstałe w wyniku połączenia modyfikowanych antybiotyków makrolidowych z alkaloidem – kolchiceiną. Dodatkowo, przeprowadzono również syntezę nowego związku o nietypowej strukturze, stanowiącego alternatywną platformę do dalszej transformacji. Wszystkie struktury nowych pochodnych zostały ustalone na podstawie analizy spektroskopowej, z wykorzystaniem technik: ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H NOESY, ^1H - ^{13}C HSQC i ^1H - ^{13}C HMBC, FT-IR, ESI-MS oraz modelowania molekularnego jedną z metod DFT. Ustalona została zależność pomiędzy strukturą nowo otrzymanych pochodnych a ich aktywnością przeciwbakteryjną i cytotoksycznością. Dodatkowo wyniki te zostały skorelowane z wyznaczonymi parametrami fizykochemicznymi, tj. z clogP i rozpuszczalnością w wodzie oraz modelem wiązania tych antybiotyków w tunelu rybosomalnym.

X Literatura

- (1) Woodward, R. B. Struktur und Biogenese der Makrolide. *Angewandte Chemie* **1957**, *69* (1–2), 50–58. <https://doi.org/10.1002/ange.19570690109>.
- (2) Brockmann, H.; Henkel, W. *Chem. Ber.* **1951**, *84*, 284.
- (3) Przybylski, P. Modifications and Biological Activity of Natural and Semisynthetic 16-Membered Macrolide Antibiotics. *Current Organic Chemistry* **2011**, *15* (3), 328–374. <https://doi.org/10.2174/138527211794072588>.
- (4) Sassa, K.; Mizushima, Y.; Fujishita, T.; Oosaki, R.; Kobayashi, M. Therapeutic Effect of Clarithromycin on a Transplanted Tumor in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, *43* (1), 67–72. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.1.67>.
- (5) Omura, S. *Macrolide Antibiotics: Chemistry, Biochemistry, and Practice, Second Edition*, Second Edition.; Elsevier: Academic Press Inc., San Diego, London, 2002.
- (6) Zuckerman, J. M.; Qamar, F.; Bono, B. R. Review of Macrolides (Azithromycin, Clarithromycin), Ketolids (Telithromycin) and Glycylcyclines (Tigecycline). *Med. Clin. North Am.* **2011**, *95* (4), 761–791, viii. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.03.012>.
- (7) Miura, T.; Kurihara, K.; Furuuchi, T.; Yoshida, T.; Ajito, K. Novel 16-Membered Macrolides Modified at C-12 and C-13 Positions of Midecamycin A1 and Miokamycin. Part 1: Synthesis and Evaluation of 12,13-Carbamate and 12-Arylalkylamino-13-Hydroxy Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16* (7), 3985–4002. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.01.027>.
- (8) Wilson, D. W.; Goodman, C. D.; Sleebs, B. E.; Weiss, G. E.; de Jong, N. W.; Angrisano, F.; Langer, C.; Baum, J.; Crabb, B. S.; Gilson, P. R.; McFadden, G. I.; Beeson, J. G. Macrolides Rapidly Inhibit Red Blood Cell Invasion by the Human Malaria Parasite, Plasmodium Falciparum. *BMC Biol* **2015**, *13*. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0162-0>.
- (9) Klich, K.; Pyta, K.; Kubicka, M. M.; Ruzkowski, P.; Celewicz, L.; Gajecka, M.; Przybylski, P. Synthesis, Antibacterial, and Anticancer Evaluation of Novel Spiramycin-Like Conjugates Containing C(5) Triazole Arm. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (17), 7963–7973. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00764>.
- (10) Arsic, B.; Barber, J.; Čikoš, A.; Mladenovic, M.; Stankovic, N.; Novak, P. 16-Membered Macrolide Antibiotics: A Review. *International Journal of Antimicrobial Agents* **2018**, *51* (3), 283–298. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.05.020>.
- (11) Arsic, B.; Novak, P.; Barber, J.; Rimoli, M. G.; Kragol, G.; Sodano, F. *Macrolides: Properties, Synthesis and Applications*, 1 edition.; De Gruyter: Berlin, Boston, 2018. <https://doi.org/10.1515/9783110515756>.
- (12) Gaillard, T.; Madamet, M.; Tsombeng, F. F.; Dormoi, J.; Pradines, B. Antibiotics in Malaria Therapy: Which Antibiotics except Tetracyclines and Macrolides May Be Used against Malaria? *Malar. J.* **2016**, *15* (1), 556. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1613-y>.
- (13) Katz, L.; Ashley, G. W. Translation and Protein Synthesis: Macrolides. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (2), 499–528. <https://doi.org/10.1021/cr030107f>.
- (14) Bryskier, A.; Agouridas, C.; Gasc, J. C. *Macrolides, Chemistry, Pharmacology and Clinical Uses*; Oxford: England, 1993.
- (15) Oh, H.-S.; Xuan, R.; Kang, H.-Y. Total Synthesis of Methymycin. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7* (21), 4458–4463. <https://doi.org/10.1039/B911200F>.

-
- (16) Flores-Romero, J. D.; Rodríguez-Lozada, J.; López-Ortiz, M.; Magaña, R.; Ortega-Blake, I.; Regla, I.; Fernández-Zertuche, M. Multigram Scale Synthesis of A21, A New Antibiotic Equally Effective and Less Toxic than Amphotericin B. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20* (8), 1529–1532. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.6b00211>.
- (17) Lysenkova, L. N.; Turchin, K. F.; Korolev, A. M.; Dezhenkova, L. G.; Bekker, O. B.; Shtil, A. A.; Danilenko, V. N.; Preobrazhenskaya, M. N. Synthesis and Cytotoxicity of Oligomycin A Derivatives Modified in the Side Chain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (11), 2918–2924. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.03.081>.
- (18) Salim, A. A.; Tan, L.; Huang, X.-C.; Cho, K.-J.; Lacey, E.; Hancock, J. F.; Capon, R. J. Oligomycins as Inhibitors of K-Ras Plasma Membrane Localisation. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (2), 711–715. <https://doi.org/10.1039/C5OB02020D>.
- (19) Itoh, Z.; Nakaya, M.; Suzuki, T.; Arai, H.; Wakabayashi, K. Erythromycin Mimics Exogenous Motilin in Gastrointestinal Contractile Activity in the Dog. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **1984**, *247* (6), G688–G694. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1984.247.6.G688>.
- (20) Rodvold, K. A. Clinical Pharmacokinetics of Clarithromycin. *Clin Pharmacokinet* **1999**, *37* (5), 385–398. <https://doi.org/10.2165/00003088-199937050-00003>.
- (21) Nakagawa, Y.; Itai, S.; Yoshida, T.; Nagai, T. Physicochemical Properties and Stability in the Acidic Solution of a New Macrolide Antibiotic, Clarithromycin, in Comparison with Erythromycin. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1992**, *40* (3), 725–728. <https://doi.org/10.1248/cpb.40.725>.
- (22) Sahm, D. F.; Karlowsky, J. A.; Kelly, L. J.; Critchley, I. A.; Jones, M. E.; Thornsberry, C.; Mauriz, Y.; Kahn, J. Need for Annual Surveillance of Antimicrobial Resistance in *Streptococcus Pneumoniae* in the United States: 2-Year Longitudinal Analysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2001**, *45* (4), 1037–1042. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.1037-1042.2001>.
- (23) Bonnefoy, A.; Guitton, M.; Delachaume, C.; Priol, P. L.; Girard, A.-M. In Vivo Efficacy of the New Ketolide Telithromycin (HMR 3647) in Murine Infection Models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2001**, *45* (6), 1688–1692. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1688-1692.2001>.
- (24) Bonnefoy, A.; Le Priol, P. Antibacterial Activity of Telithromycin (HMR 3647) in Relation to in Vitro Simulated Human Plasma Kinetics. *J Antimicrob Chemother* **2001**, *47* (4), 471–473. <https://doi.org/10.1093/jac/47.4.471>.
- (25) Yassin, H. M.; Dever, L. L. Telithromycin: A New Ketolide Antimicrobial for Treatment of Respiratory Tract Infections. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2001**, *10* (2), 353–367. <https://doi.org/10.1517/13543784.10.2.353>.
- (26) Shortridge, V. D.; Zhong, P.; Cao, Z.; Beyer, J. M.; Almer, L. S.; Ramer, N. C.; Doktor, S. Z.; Flamm, R. K. Comparison of In Vitro Activities of ABT-773 and Telithromycin against Macrolide-Susceptible and -Resistant *Streptococci* and *Staphylococci*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, *46* (3), 783–786. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.3.783-786.2002>.
- (27) Menninger, J. R.; Otto, D. P. Erythromycin, Carbomycin, and Spiramycin Inhibit Protein Synthesis by Stimulating the Dissociation of Peptidyl-TRNA from Ribosomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1982**, *21* (5), 811–818. <https://doi.org/10.1128/AAC.21.5.811>.
- (28) Moazed, D.; Noller, H. F. Chloramphenicol, Erythromycin, Carbomycin and Vernamycin B Protect Overlapping Sites in the Peptidyl Transferase Region of 23S

- Ribosomal RNA. *Biochimie* **1987**, *69* (8), 879–884. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(87\)90215-X](https://doi.org/10.1016/0300-9084(87)90215-X).
- (29) Poulsen, S. M.; Kofoed, C.; Vester, B. Inhibition of the Ribosomal Peptidyl Transferase Reaction by the Mycarose Moiety of the Antibiotics Carbomycin, Spiramycin and Tylosin¹ Edited by D. E. Draper. *Journal of Molecular Biology* **2000**, *304* (3), 471–481. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4229>.
- (30) Hansen, L. H.; Mauvais, P.; Douthwaite, S. The Macrolide–Ketolide Antibiotic Binding Site Is Formed by Structures in Domains II and V of 23S Ribosomal RNA. *Molecular Microbiology* **1999**, *31* (2), 623–631. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01202.x>.
- (31) Ban, N.; Nissen, P.; Hansen, J.; Moore, P. B.; Steitz, T. A. The Complete Atomic Structure of the Large Ribosomal Subunit at 2.4 Å Resolution. *Science* **2000**, *289* (5481), 905–920. <https://doi.org/10.1126/science.289.5481.905>.
- (32) Hansen, J. L.; Ippolito, J. A.; Ban, N.; Nissen, P.; Moore, P. B.; Steitz, T. A. The Structures of Four Macrolide Antibiotics Bound to the Large Ribosomal Subunit. *Mol. Cell* **2002**, *10* (1), 117–128.
- (33) Berisio, R.; Harms, J.; Schluenzen, F.; Zarivach, R.; Hansen, H. A. S.; Fucini, P.; Yonath, A. Structural Insight into the Antibiotic Action of Telithromycin against Resistant Mutants. *Journal of Bacteriology* **2003**, *185* (14), 4276–4279. <https://doi.org/10.1128/JB.185.14.4276-4279.2003>.
- (34) Harms, J. M.; Schlünzen, F.; Fucini, P.; Bartels, H.; Yonath, A. Alterations at the Peptidyl Transferase Centre of the Ribosome Induced by the Synergistic Action of the Streptogramins Dalfopristin and Quinupristin. *BMC Biol* **2004**, *2* (1), 4. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-2-4>.
- (35) Pfister, P.; Jenni, S.; Poehlsgaard, J.; Thomas, A.; Douthwaite, S.; Ban, N.; Böttger, E. C. The Structural Basis of Macrolide–Ribosome Binding Assessed Using Mutagenesis of 23S rRNA Positions 2058 and 2059. *Journal of Molecular Biology* **2004**, *342* (5), 1569–1581. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.07.095>.
- (36) Tenson, T.; Lovmar, M.; Ehrenberg, M. The Mechanism of Action of Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Reveals the Nascent Peptide Exit Path in the Ribosome. *Journal of Molecular Biology* **2003**, *330* (5), 1005–1014. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(03\)00662-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(03)00662-4).
- (37) Tenson, T.; Herrera, J. V.; Kloss, P.; Guarneros, G.; Mankin, A. S. Inhibition of Translation and Cell Growth by Minigene Expression. *Journal of Bacteriology* **1999**, *181* (5), 1617–1622.
- (38) Heurgué-Hamard, V.; Dinçbas, V.; Buckingham, R. H.; Ehrenberg, M. Origins of Minigene-Dependent Growth Inhibition in Bacterial Cells. *The EMBO Journal* **2000**, *19* (11), 2701–2709. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.11.2701>.
- (39) Haight, T. H.; Finland, M. Resistance of Bacteria to Erythromycin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **1952**, *81* (1), 183–188. <https://doi.org/10.3181/00379727-81-19816>.
- (40) Morisaki, N.; Hashimoto, Y.; Furihata, K.; Yazawa, K.; Tamura, M.; Mikami, Y. Glycosylative Inactivation of Chalcomycin and Tylosin by a Clinically Isolated *Nocardia Asteroides* Strain. *Journal of Antibiotics* **2001**, *54* (2), 157–165. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.157>.

-
- (41) Franceschi, F.; Kanyo, Z.; Sherer, E. C.; Sutcliffe, J. Macrolide Resistance from the Ribosome Perspective. *Current Drug Targets - Infectious Disorders* **2004**, *4* (3), 177–191. <https://doi.org/10.2174/1568005043340740>.
- (42) Poehlsaard, J.; Douthwaite, S. The Bacterial Ribosome as a Target for Antibiotics. *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3* (11), 870–881. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1265>.
- (43) Sothiselvam, S.; Liu, B.; Han, W.; Ramu, H.; Klepacki, D.; Atkinson, G. C.; Brauer, A.; Remm, M.; Tenson, T.; Schulten, K.; Vázquez-Laslop, N.; Mankin, A. S. Macrolide Antibiotics Allosterically Predispose the Ribosome for Translation Arrest. *PNAS* **2014**, *111* (27), 9804–9809. <https://doi.org/10.1073/pnas.1403586111>.
- (44) Shigemura, K.; Osawa, K.; Miura, M.; Tanaka, K.; Arakawa, S.; Shirakawa, T.; Fujisawa, M. Azithromycin Resistance and Its Mechanism in *Neisseria Gonorrhoeae* Strains in Hyogo, Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2015**, *59* (5), 2695–2699. <https://doi.org/10.1128/AAC.04320-14>.
- (45) Gomes, C.; Martínez-Puchol, S.; Palma, N.; Horna, G.; Ruiz-Roldán, L.; Pons, M. J.; Ruiz, J. Macrolide Resistance Mechanisms in Enterobacteriaceae: Focus on Azithromycin. *Crit. Rev. Microbiol.* **2017**, *43* (1), 1–30. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2015.1136261>.
- (46) Golkar, T.; Zieliński, M.; Berghuis, A. M. Look and Outlook on Enzyme-Mediated Macrolide Resistance. *Front Microbiol* **2018**, *9*, article 1942. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01942>.
- (47) Leclercq, R.; Courvalin, P. Resistance to Macrolides and Related Antibiotics in *Streptococcus Pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **2002**, *46* (9), 2727–2734. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.9.2727-2734.2002>.
- (48) Maravić, G. Macrolide Resistance Based on the Erm-Mediated RRNA Methylation. *Current Drug Targets - Infectious Disorders* **2004**, *4* (3), 193–202. <https://doi.org/10.2174/1568005043340777>.
- (49) Sun, J.; Deng, Z.; Yan, A. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Mechanisms, Physiology and Pharmacological Exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2014**, *453* (2), 254–267. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.05.090>.
- (50) Yonath, A. Antibiotics Targeting Ribosomes: Resistance, Selectivity, Synergism, and Cellular Regulation. *Annual Review of Biochemistry* **2005**, *74*, 649–679. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.74.082803.133130>.
- (51) Dunkle, J. A.; Xiong, L.; Mankin, A. S.; Cate, J. H. D. Structures of the *Escherichia Coli* Ribosome with Antibiotics Bound near the Peptidyl Transferase Center Explain Spectra of Drug Action. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2010**, *107* (40), 17152–17157. <https://doi.org/10.1073/pnas.1007988107>.
- (52) Leclercq, R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clin Infect Dis* **2002**, *34* (4), 482–492. <https://doi.org/10.1086/324626>.
- (53) Nikaido, H. Multidrug Resistance in Bacteria. *Annu Rev Biochem* **2009**, *78*, 119–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>.
- (54) McGuire, J. M.; Bunch, R.; Anderson, R.; Boaz, H.; Flynn, E.; Powell, H.; Smith, J. Ilotycin, a New Antibiotic. *Antibiot Chemother (Northfield)* **1952**, *2* (6), 281–283.
- (55) Forfar, J. O.; Maccabe, A. F. Erythromycin - A Review. *Antibiotics and Chemotherapy* **1957**, *4*, 115–157. <https://doi.org/10.1159/000386635>.
- (56) Schönfeld, W.; Kirst, H. A. *Macrolide Antibiotics*; Birkhäuser, 2012.

- (57) Harris, D. R.; Mcgeachin, S. G.; Mills, H. H. THE STRUCTURE AND STEREOCHEMISTRY OF ERYTHROMYCIN A. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *11*, 679–685. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)90018-2](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)90018-2).
- (58) Kaneko, T.; Dougherty, T. J.; Magee, T. V. 7.18 - Macrolide Antibiotics. In *Comprehensive Medicinal Chemistry II*; Taylor, J. B., Triggle, D. J., Eds.; Elsevier: Oxford, 2007; pp 519–566. <https://doi.org/10.1016/B0-08-045044-X/00219-4>.
- (59) Jelić, D.; Antolović, R. From Erythromycin to Azithromycin and New Potential Ribosome-Binding Antimicrobials. *Antibiotics (Basel)* **2016**, *5* (3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics5030029>.
- (60) Jacobsen, J. R.; Hutchinson, C. R.; Cane, D. E.; Khosla, C. Precursor-Directed Biosynthesis of Erythromycin Analogs by an Engineered Polyketide Synthase. *Science* **1997**, *277* (5324), 367–369. <https://doi.org/10.1126/science.277.5324.367>.
- (61) Reid, R.; Piagentini, M.; Rodriguez, E.; Ashley, G.; Viswanathan, N.; Carney, J.; Santi, D. V.; Hutchinson, C. R.; McDaniel, R. A Model of Structure and Catalysis for Ketoreductase Domains in Modular Polyketide Synthases. *Biochemistry* **2003**, *42* (1), 72–79. <https://doi.org/10.1021/bi0268706>.
- (62) Caffrey, P. Conserved Amino Acid Residues Correlating With Ketoreductase Stereospecificity in Modular Polyketide Synthases. *ChemBioChem* **2003**, *4* (7), 654–657. <https://doi.org/10.1002/cbic.200300581>.
- (63) Heathcote, M. L.; Staunton, J.; Leadlay, P. F. Role of Type II Thioesterases: Evidence for Removal of Short Acyl Chains Produced by Aberrant Decarboxylation of Chain Extender Units. *Chemistry & Biology* **2001**, *8* (2), 207–220. [https://doi.org/10.1016/S1074-5521\(01\)00002-3](https://doi.org/10.1016/S1074-5521(01)00002-3).
- (64) Kim, B. S.; Cropp, T. A.; Beck, B. J.; Sherman, D. H.; Reynolds, K. A. Biochemical Evidence for an Editing Role of Thioesterase II in the Biosynthesis of the Polyketide Pikromycin. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (50), 48028–48034. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207770200>.
- (65) Donadio, S.; Staver, M. J.; McAlpine, J. B.; Swanson, S. J.; Katz, L. Modular Organization of Genes Required for Complex Polyketide Biosynthesis. *Science* **1991**, *252* (5006), 675–679. <https://doi.org/10.1126/science.2024119>.
- (66) Cortes, J.; Haydock, S. F.; Roberts, G. A.; Bevitt, D. J.; Leadlay, P. F. An Unusually Large Multifunctional Polypeptide in the Erythromycin-Producing Polyketide Synthase of *Saccharopolyspora erythraea*. *Nature* **1990**, *348* (6297), 176–178. <https://doi.org/10.1038/348176a0>.
- (67) Marsden, A. F.; Caffrey, P.; Aparicio, J. F.; Loughran, M. S.; Staunton, J.; Leadlay, P. F. Stereospecific Acyl Transfers on the Erythromycin-Producing Polyketide Synthase. *Science* **1994**, *263* (5145), 378–380. <https://doi.org/10.1126/science.8278811>.
- (68) Gokhale, R. S.; Tsuji, S. Y.; Cane, D. E.; Khosla, C. Dissecting and Exploiting Intermodular Communication in Polyketide Synthases. *Science* **1999**, *284* (5413), 482–485. <https://doi.org/10.1126/science.284.5413.482>.
- (69) Wu, N.; Cane, D. E.; Khosla, C. Quantitative Analysis of the Relative Contributions of Donor Acyl Carrier Proteins, Acceptor Ketosynthases, and Linker Regions to Intermodular Transfer of Intermediates in Hybrid Polyketide Synthases. *Biochemistry* **2002**, *41* (15), 5056–5066. <https://doi.org/10.1021/bi012086u>.
- (70) Salas, J. A.; Méndez, C. Biosynthesis Pathways for Deoxysugars in Antibiotic-Producing Actinomycetes: Isolation, Characterization and Generation of Novel

- Glycosylated Derivatives. *MMB* **2005**, *9* (2), 77–85. <https://doi.org/10.1159/000088838>.
- (71) Rawlings, B. J. Type I Polyketide Biosynthesis in Bacteria (Part A—Erythromycin Biosynthesis). *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18* (2), 190–227. <https://doi.org/10.1039/B009329G>.
- (72) Gaisser, S.; Böhm, G. A.; Cortés, J.; Leadlay, P. F. Analysis of Seven Genes from the EryAI–EryK Region of the Erythromycin Biosynthetic Gene Cluster in *Saccharopolyspora Erythraea*. *Mol Gen Genet* **1997**, *256* (3), 239–251. <https://doi.org/10.1007/s004380050566>.
- (73) Salah-Bey, K.; Doumith, M.; Michel, J.-M.; Haydock, S.; Cortés, J.; Leadlay, P. F.; Raynal, M.-C. Targeted Gene Inactivation for the Elucidation of Deoxysugar Biosynthesis in the Erythromycin Producer *Saccharopolyspora Erythraea*. *Mol Gen Genet* **1998**, *257* (5), 542–553. <https://doi.org/10.1007/s004380050680>.
- (74) Summers, R. G.; Donadio, S.; Staver, M. J.; Wendt-Pienkowski, E.; Hutchinson, C. R.; Katz, L. Sequencing and Mutagenesis of Genes from the Erythromycin Biosynthetic Gene Cluster of *Saccharopolyspora Erythraea* That Are Involved in L-Mycarose and D-Desosamine Production. *Microbiology*, **1997**, *143* (10), 3251–3262. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-10-3251>.
- (75) Chen, H.; Zhao, Z.; Hallis, T. M.; Guo, Z.; Liu, H. Insights into the Branched-Chain Formation of Mycarose: Methylation Catalyzed by an (S)-Adenosylmethionine-Dependent Methyltransferase. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (3), 607–610. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010202\)40:3<607::AID-ANIE607>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010202)40:3<607::AID-ANIE607>3.0.CO;2-8).
- (76) Katz, L.; Donadio, S. Polyketide Synthesis: Prospects for Hybrid Antibiotics. *Annu. Rev. Microbiol.* **1993**, *47*, 875–912. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.47.100193.004303>.
- (77) Dunn, C. J.; Barradell, L. B. Azithromycin. A Review of Its Pharmacological Properties and Use as 3-Day Therapy in Respiratory Tract Infections. *Drugs* **1996**, *51* (3), 483–505. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651030-00013>.
- (78) Zeitlinger, M.; Wagner, C. C.; Heinisch, B. Ketolides—the Modern Relatives of Macrolides: The Pharmacokinetic Perspective. *Clin Pharmacokinet* **2009**, *48* (1), 23–38. <https://doi.org/10.2165/0003088-200948010-00002>.
- (79) Ma, C.; Ma, S. Various Novel Erythromycin Derivatives Obtained by Different Modifications: Recent Advance in Macrolide Antibiotics. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2010**, *10*, 272–286. <https://doi.org/doi.org/10.2174/138955710791331025>.
- (80) Ma, S.; Jiao, B.; Ju, Y.; Zheng, M.; Ma, R.; Liu, L.; Zhang, L.; Shen, X.; Ma, C.; Meng, Y.; Wang, H.; Qi, Y.; Ma, X.; Cui, W. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel Clarithromycin Derivatives with C-4'' Elongated Arylalkyl Groups against Macrolide-Resistant Strains. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (2), 556–566. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.035>.
- (81) Zhou, Y.; Wang, J.; Gu, Z.; Wang, S.; Zhu, W.; Aceña, J. L.; Soloshonok, V. A.; Izawa, K.; Liu, H. Next Generation of Fluorine-Containing Pharmaceuticals, Compounds Currently in Phase II–III Clinical Trials of Major Pharmaceutical Companies: New Structural Trends and Therapeutic Areas. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (2), 422–518. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00392>.

- (82) Fernandes, P.; Martens, E.; Bertrand, D.; Pereira, D. The Solithromycin Journey—It Is All in the Chemistry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2016**, *24* (24), 6420–6428. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.08.035>.
- (83) Fernandes, P.; Martens, E.; Pereira, D. Nature Nurtures the Design of New Semi-Synthetic Macrolide Antibiotics. *The Journal of Antibiotics* **2017**, *70* (5), 527–533. <https://doi.org/10.1038/ja.2016.137>.
- (84) Agouridas, C.; Denis, A.; Auger, J.-M.; Benedetti, Y.; Bonnefoy, A.; Bretin, F.; Chantot, J.-F.; Dussarat, A.; Fromentin, C.; D'Ambrières, S. G.; Lachaud, S.; Laurin, P.; Le Martret, O.; Loyau, V.; Tessot, N. Synthesis and Antibacterial Activity of Ketolides (6-O-Methyl-3-Oxoerythromycin Derivatives): A New Class of Antibacterials Highly Potent Against Macrolide-Resistant and -Susceptible Respiratory Pathogens. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (21), 4080–4100. <https://doi.org/10.1021/jm980240d>.
- (85) Pal, S. A Journey across the Sequential Development of Macrolides and Ketolides Related to Erythromycin. *Tetrahedron* **2006**, *62* (14), 3171–3200. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.11.064>.
- (86) Ma, Z.; Nemoto, P. A. Discovery and Development of Ketolides as a New Generation of Macrolide Antimicrobial Agents. *Curr. Med. Chem. - Anti-Infective Agents* **2002**, *1*, 15–34. <https://doi.org/10.2174/1568012023355027>.
- (87) Morimoto, S.; Takahashi, Y.; Watanabe, Y.; Omura, S. Chemical Modification of Erythromycins. *J. Antibiot.* **1984**, *37* (2), 187–189. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.37.187>.
- (88) Morimoto, S.; Adachi, T.; Matsunaga, T.; Kashimura, M.; Asaka, T.; Watanabe, Y.; Sota, K.; Sekiuchi, K. Erythromycin A Derivatives. US4990602A, February 5, 1991.
- (89) Clark, R. F.; Ma, Z.; Wang, S.; Griesgraber, G.; Tufano, M.; Yong, H.; Li, L.; Zhang, X.; Nilius, A. M.; Chu, D. T. W.; Or, Y. S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 6-O-Substituted Erythromycin A Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, *10* (8), 815–819. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)00106-2](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)00106-2).
- (90) Everett, J. R.; Tyler, J. W. The Conformational Analysis of Erythromycin A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1987**, *0* (11), 1659–1667. <https://doi.org/10.1039/P29870001659>.
- (91) Everett, J. R.; Tyler, J. W. The Conformational Analysis of Three Derivatives of Erythromycin A: (9S)-9-Hydroxy-9-Deoxyerythromycin A, (9S)-9,11-O-Isopropylidene-9-Deoxyerythromycin A, and (9S)-Erythromycylamine A by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Molecular Modelling. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1988**, *0* (3), 325–337. <https://doi.org/10.1039/P29880000325>.
- (92) Awan, A.; Brennan, R. J.; Regan, A. C.; Barber, J. The Conformations of the Macrolide Antibiotics Erythromycin A, Azithromycin and Clarithromycin in Aqueous Solution: A ¹H NMR Study. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, *0* (8), 1645–1652. <https://doi.org/10.1039/B003000G>.
- (93) Bertho, G.; Ladam, P.; Gharbi-Benarous, J.; Delaforge, M.; Girault, J.-P. Solution Conformation of Methylated Macrolide Antibiotics Roxithromycin and Erythromycin Using NMR and Molecular Modelling. Ribosome-Bound Conformation Determined by TRNOE and Formation of Cytochrome P450-Metabolite Complex. *International Journal of Biological Macromolecules* **1998**, *22* (2), 103–127. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00005-1](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00005-1).

- (94) Janas, A.; Przybylski, P. 14- and 15-Membered Lactone Macrolides and Their Analogues and Hybrids: Structure, Molecular Mechanism of Action and Biological Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *182*, 111662. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111662>.
- (95) Miroshnyk, I.; Mirza, S.; Zorky, P. M.; Heinämäki, J.; Yli-Kauhaluoma, J.; Yliruusi, J. A New Insight into Solid-State Conformation of Macrolide Antibiotics. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16* (1), 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.09.044>.
- (96) Schlünzen, F.; Zarivach, R.; Harms, J.; Bashan, A.; Tocilj, A.; Albrecht, R.; Yonath, A.; Franceschi, F. Structural Basis for the Interaction of Antibiotics with the Peptidyl Transferase Centre in Eubacteria. *Nature* **2001**, *413* (6858), 814. <https://doi.org/10.1038/35101544>.
- (97) Tu, D.; Blaha, G.; Moore, P. B.; Steitz, T. A. Structures of MLSBK Antibiotics Bound to Mutated Large Ribosomal Subunits Provide a Structural Explanation for Resistance. *Cell* **2005**, *121* (2), 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.005>.
- (98) Koštrun, S.; Munic Kos, V.; Matanović Škugor, M.; Palej Jakopović, I.; Malnar, I.; Dragojević, S.; Ralić, J.; Alihodžić, S. Around the Macrolide – Impact of 3D Structure of Macrocycles on Lipophilicity and Cellular Accumulation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *133*, 351–364. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.056>.
- (99) Stepanić, V.; Žiher, D.; Gabelica-Marković, V.; Jelić, D.; Nunhuck, S.; Valko, K.; Koštrun, S. Physicochemical Profile of Macrolides and Their Comparison with Small Molecules. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *47* (1), 462–472. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.11.016>.
- (100) Kannan, K.; Kanabar, P.; Schryer, D.; Florin, T.; Oh, E.; Bahroos, N.; Tenson, T.; Weissman, J. S.; Mankin, A. S. The General Mode of Translation Inhibition by Macrolide Antibiotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, *111* (45), 15958–15963. <https://doi.org/10.1073/pnas.1417334111>.
- (101) Bulkley, D.; Innis, C. A.; Blaha, G.; Steitz, T. A. Revisiting the Structures of Several Antibiotics Bound to the Bacterial Ribosome. *PNAS* **2010**, *107* (40), 17158–17163. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008685107>.
- (102) LeTourneau, N.; Vimal, P.; Klepacki, D.; Mankin, A.; Melman, A. Synthesis and Antibacterial Activity of Desosamine-Modified Macrolide Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22* (14), 4575–4578. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.110>.
- (103) Arenz, S.; Ramu, H.; Gupta, P.; Berninghausen, O.; Beckmann, R.; Vázquez-Laslop, N.; Mankin, A. S.; Wilson, D. N. Molecular Basis for Erythromycin-Dependent Ribosome Stalling during Translation of the ErmBL Leader Peptide. *Nature Communications* **2014**, *5*, 3501. <https://doi.org/10.1038/ncomms4501>.
- (104) Wekselman, I.; Zimmerman, E.; Davidovich, C.; Belousoff, M.; Matzov, D.; Krupkin, M.; Rozenberg, H.; Bashan, A.; Friedlander, G.; Kjeldgaard, J.; Ingmer, H.; Lindahl, L.; Zengel, J. M.; Yonath, A. The Ribosomal Protein UL22 Modulates the Shape of the Protein Exit Tunnel. *Structure* **2017**, *25* (8), 1233–1241.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.06.004>.
- (105) Pawlowski, A. C.; Stogios, P. J.; Koteva, K.; Skarina, T.; Evdokimova, E.; Savchenko, A.; Wright, G. D. The Evolution of Substrate Discrimination in Macrolide Antibiotic

- Resistance Enzymes. *Nature Communications* **2018**, *9* (1), 112. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02680-0>.
- (106) Qi, Y.; Jiao, B.; Ma, X.; Cui, W.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 4''-O-Carbamoyl Erythromycin-A Derivatives. *Archiv der Pharmazie* **2010**, *343* (8), 458–464. <https://doi.org/10.1002/ardp.200900288>.
- (107) Ma S.; Wei P.; Ma X.; Cong C.; Wang Y. 4''-O-carbamate clarithromycin derivative with electron withdrawing group substituted terminal, preparation method for intermediate of derivative and application of derivative. CN102584919B, December 10, 2014.
- (108) Qi, Y.; Ma, R.; Li, X.; Hu, Y.; Ma, S.; Cong, C.; Ma, X.; Cui, W. Novel Clarithromycin Analogs with C-4'' 2-Arylbenzimidazolyl Bishydrazide Side Chain: Synthesis and Antibacterial Evaluation. *Letters in Drug Design and Discovery* **2011**, *8*, 966–971. <https://doi.org/10.2174/157018011797655269>.
- (109) Cong, C.; Wang, H.; Hu, Y.; Liu, C.; Ma, S.; Li, X.; Cao, J.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 4''-O-Benzimidazolyl Clarithromycin Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (7), 3105–3111. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.04.004>.
- (110) Fajdetić, A.; Čipčić Paljetak, H.; Lazarevski, G.; Hutinec, A.; Alihodžić, S.; Đerek, M.; Štimac, V.; Andreotti, D.; Šunjić, V.; Berge, J. M.; Mutak, S.; Dumić, M.; Lociuro, S.; Holmes, D. J.; Maršić, N.; Eraković Haber, V.; Spaventi, R. 4''-O-(ω -Quinolylamino-Alkylamino)Propionyl Derivatives of Selected Macrolides with the Activity against the Key Erythromycin Resistant Respiratory Pathogens. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (17), 6559–6568. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.049>.
- (111) Kapić, S.; Čipčić Paljetak, H.; Alihodžić, S.; Antolović, R.; Eraković Haber, V.; Jarvest, R. L.; Holmes, D. J.; Broskey, J. P.; Hunt, E. 6-Alkylquinolone-3-Carboxylic Acid Tethered to Macrolides Synthesis and Antimicrobial Profile. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (17), 6569–6577. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.048>.
- (112) Škugor, M. M.; Štimac, V.; Palej, I.; Lugarić, Đ.; Paljetak, H. Č.; Filić, D.; Modrić, M.; Đilović, I.; Gembarovski, D.; Mutak, S.; Eraković Haber, V.; Holmes, D. J.; Ivezić-Schoenfeld, Z.; Alihodžić, S. Synthesis and Biological Activity of 4''-O-Acyl Derivatives of 14- and 15-Membered Macrolides Linked to ω -Quinolone-Carboxylic Unit. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (17), 6547–6558. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.050>.
- (113) Munić Kos, V.; Koštrun, S.; Fajdetić, A.; Bosnar, M.; Kelnerić, Ž.; Stepanić, V.; Eraković Haber, V. Structure–Property Relationship for Cellular Accumulation of Macrolones in Human Polymorphonuclear Leukocytes (PMNs). *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2013**, *49* (2), 206–219. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.02.019>.
- (114) Xu, P.; Chen, X.; Liu, L.; Jin, Z.; Lei, P. A New Series of Macrolide Derivatives with 4''-O-Saccharide Substituents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20* (18), 5527–5531. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.072>.
- (115) Zhao, Z.-H.; Zhu, D.; Zhang, X.-X.; Luo, Z.-G.; Lei, P.-S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 4''-O-Desosaminyl Clarithromycin Derivatives with 11, 12-Arylalkyl Side Chains. *Journal of Asian Natural Products Research* **2019**, *21* (7), 610–618. <https://doi.org/10.1080/10286020.2018.1462341>.
- (116) Zhu, D.; Xu, Y.; Liu, Y.; Chen, X.; Zhao, Z.; Lei, P. Synthesis of 4''-O-Desosaminyl Clarithromycin Derivatives and Their Anti-Bacterial Activities. *Bioorganic &*

- Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (23), 6274–6279. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.09.083>.
- (117) Magee, T. V.; Han, S.; McCurdy, S. P.; Nguyen, T.-T.; Granskog, K.; Marr, E. S.; Maguire, B. A.; Huband, M. D.; Chen, J. M.; Subashi, T. A.; Shanmugasundaram, V. Novel 3-O-Carbamoyl Erythromycin A Derivatives (Carbamolides) with Activity against Resistant Staphylococcal and Streptococcal Isolates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (6), 1727–1731. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.067>.
- (118) Liang, J.-H.; Wang, Y.-Y.; Wang, H.; Li, X.-L.; An, K.; Xu, Y.-C.; Yao, G.-W. Synthesis and Antibacterial Activities of a Novel Alkylide: 3-O-(3-Aryl-2-Propargyl) and 3-O-(3-Aryl-2-Propenyl) Clarithromycin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20* (9), 2880–2883. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.03.038>.
- (119) Liang, J.-H.; Li, X.-L.; Wang, H.; An, K.; Wang, Y.-Y.; Xu, Y.-C.; Yao, G.-W. Structure–Activity Relationships of Novel Alkylides: 3-O-Arylalkyl Clarithromycin Derivatives with Improved Antibacterial Activities. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *49*, 289–303. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.01.023>.
- (120) Dinos, G. The Macrolide Antibiotic Renaissance. *British journal of pharmacology* **2017**, *174*. <https://doi.org/DOI:10.1111/bph.13936>.
- (121) Guo Y.; Chen Y.; Ba M.; Wang L. Applications of azithromycin and telithromycin in anti-Ebola virus infection. CN105362284A, March 2, 2016.
- (122) Pereira, D. E.; Schneider, S. E.; Deo, K. Processes for Preparing Fluoroketolides. US20180044365A1, February 15, 2018.
- (123) Crowe-McAuliffe, C.; Graf, M.; Huter, P.; Takada, H.; Abdelshahid, M.; Nováček, J.; Murina, V.; Atkinson, G. C.; Hauryliuk, V.; Wilson, D. N. Structural Basis for Antibiotic Resistance Mediated by the Bacillus Subtilis ABCF ATPase VmlR. *PNAS* **2018**, *115* (36), 8978–8983. <https://doi.org/10.1073/pnas.1808535115>.
- (124) Eyal, Z.; Matzov, D.; Krupkin, M.; Wekselman, I.; Paukner, S.; Zimmerman, E.; Rozenberg, H.; Bashan, A.; Yonath, A. Structural Insights into Species-Specific Features of the Ribosome from the Pathogen Staphylococcus Aureus. *PNAS* **2015**, *112* (43), E5805–E5814. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517952112>.
- (125) Svetlov, M. S.; Vázquez-Laslop, N.; Mankin, A. S. Kinetics of Drug-Ribosome Interactions Defines the Cidalty of Macrolide Antibiotics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, *114* (52), 13673–13678. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717168115>.
- (126) *Scigress Package FJ 2.6 /EU 3.1.9./ 2008-2019*; Fujitsu, Japan.
- (127) Liu, Y.; Li, Y.; Chen, Y.; Zheng, H.; Claypool, M.; Myles, D. C.; Carreras, C. W. 9-Dihydroerythromycins as Non-Antibiotic Motilin Receptor Agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20* (19), 5658–5661. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.030>.
- (128) Mwakwari, S. C.; Guerrant, W.; Patil, V.; Khan, S. I.; Tekwani, B. L.; Gurard-Levin, Z. A.; Mrksich, M.; Oyelere, A. K. Non-Peptide Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors Derived from Tricyclic Ketolide Skeleton. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (16), 6100–6111. <https://doi.org/10.1021/jm100507q>.
- (129) Tapadar, S.; Fathi, S.; Raji, I.; Omesiete, W.; Kornacki, J. R.; Mwakwari, S. C.; Miyata, M.; Mitsutake, K.; Li, J.-D.; Mrksich, M.; Oyelere, A. K. A Structure–Activity Relationship of Non-Peptide Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors and Their Anti-Proliferative and Anti-Inflammatory Activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, *23* (24), 7543–7564. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.10.045>.

- (130) Oyelere, A. K.; Chen, P. C.; Guerrant, W.; Mwakwari, S. C.; Hood, R.; Zhang, Y.; Fan, Y. Non-Peptide Macrocyclic Histone Deacetylase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (2), 456–468. <https://doi.org/10.1021/jm801128g>.
- (131) Chen, X.; Xu, P.; Xu, Y.; Liu, L.; Liu, Y.; Zhu, D.; Lei, P. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Modified 5-O-Desosamine Ketolides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22* (24), 7402–7405. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.10.064>.
- (132) Xu, Y.; Chen, X.; Zhu, D.; Liu, Y.; Zhao, Z.; Jin, L.; Liu, C.; Lei, P. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Modified 5-O-Mycaminose 14-Membered Ketolides. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *69*, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.08.023>.
- (133) Sugimoto, T.; Shimazaki, Y.; Manaka, A.; Tanikawa, T.; Suzuki, K.; Nanaumi, K.; Kaneda, Y.; Yamasaki, Y.; Sugiyama, H. Synthesis and Antibacterial Activity of 6-O-(Heteroaryl-Isoxazolyl)Propynyl 2-Fluoro Ketolides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22* (17), 5739–5743. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.06.092>.
- (134) Liang, J.-H.; Lv, W.; Li, X.-L.; An, K.; Cushman, M.; Wang, H.; Xu, Y.-C. Synthesis and Antibacterial Activity of 9-Oxime Ether Non-Ketolides, and Novel Binding Mode of Alkylides with Bacterial RRNA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (5), 1387–1393. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.070>.
- (135) Liu, Y.; Li, Y.; Myles, D. C.; Claypool, M.; Carreras, C. W.; Shaw, S. J. 9-Dihydroerythromycin Ethers as Motilin Agonists—Developing Structure–Activity Relationships for Potency and Safety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (21), 7651–7658. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.08.035>.
- (136) Shaw, S. J.; Chen, Y.; Zheng, H.; Fu, H.; Burlingame, M. A.; Marquez, S.; Li, Y.; Claypool, M.; Carreras, C. W.; Crumb, W.; Hardy, D. J.; Myles, D. C.; Liu, Y. Structure–Activity Relationships of 9-Substituted-9-Dihydroerythromycin-Based Motilin Agonists: Optimizing for Potency and Safety. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6851–6859. <https://doi.org/10.1021/jm901107f>.
- (137) Liu, Y.; Carreras, C. W.; Claypool, M.; Myles, D. C.; Shaw, S. J. The Role of the 4''-Hydroxyl on Motilin Agonist Potency in the 9-Dihydroerythromycin Series. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (12), 3712–3714. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.078>.
- (138) Nam, G.; Kim, Y. S.; Choi, K. I. Synthesis and Antibacterial Activity of New 9-O-Arylpropenyloxime Ketolides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20* (8), 2671–2674. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.01.153>.
- (139) Liang, J.-H.; Dong, L.-J.; Wang, H.; An, K.; Li, X.-L.; Yang, L.; Yao, G.-W.; Xu, Y.-C. Synthesis and Antibacterial Activities of 6-O-Methylerythromycin A 9-O-(3-Aryl-2-Propenyl) Oxime Ketolide, 2,3-Enol Ether, and Alkylide Analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45* (9), 3627–3635. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.05.008>.
- (140) Liang, J.-H.; An, K.; Lv, W.; Cushman, M.; Wang, H.; Xu, Y.-C. Synthesis, Antibacterial Activity and Docking of 14-Membered 9-O-(3-Arylalkyl) Oxime 11,12-Cyclic Carbonate Ketolides. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *59*, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.10.054>.
- (141) Han, X.; Lv, W.; Guo, S.-Y.; Cushman, M.; Liang, J.-H. Synthesis and Structure–Activity Relationships of Novel 9-Oxime Acylides with Improved Bactericidal

- Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, *23* (19), 6437–6453. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.08.020>.
- (142) Anwar, H. F.; Andrei, M.; Undheim, K. Synthesis of Clarithromycin Ketolides Chemically Modified at the Unreactive C10-Methyl Group. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25* (8), 2313–2326. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.02.041>.
- (143) Ma S.; Guo Z.; Shen Y.; Guo L. 11-o- clarithromycin arylalkyl carbamate derivatives and their preparation and use. CN104844671A, July 4, 2017.
- (144) Hu, L.; Lan, P.; Song, Q.-L.; Huang, Z.-J.; Sun, P.-H.; Zhuo, C.; Wang, Y.; Xiao, S.; Chen, W.-M. Synthesis and Antibacterial Activity of C-12 Pyrazolanyl Spiro Ketolides. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45* (12), 5943–5949. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.09.060>.
- (145) Pereira, D.; Fernandes, P. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 4-Aryl-[1,2,3]-Triazole Containing Macrolides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (1), 510–513. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.10.091>.
- (146) Shan, L.-X.; Sun, P.-H.; Guo, B.-Q.; Xu, X.-J.; Li, Z.-Q.; Sun, J.; Zhou, S.; Chen, W.-M. Synthesis and Antibacterial Activities of Acylide Derivatives Bearing an Aryl-Tetrazolyl Chain. *Drug design, development and therapy* **2014**, *8*, 1515–1525. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S65673>.
- (147) Zheng, Z.; Du, D.; Cao, L.; Liu, J.; Chen, X. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 11-[3-[(Arylcarbamoyl)Oxy]Propylamino]-11-Deoxy-6-O-Methyl-3-Oxoerythromycin A 11-N,12-O-Cyclic Carbamate Derivatives. *The Journal of Antibiotics* **2016**, *69* (11), 811–817. <https://doi.org/10.1038/ja.2016.42>.
- (148) Lei P.; Zhao Z. Erythromycin A ketolide antibiotics derivative, preparation method and application containing quinoline substituent group. CN105524132B, July 2, 2019.
- (149) Zhao, Z.; Zhang, X.; Jin, L.; Yang, S.; Lei, P. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Ketolides with 11,12-Quinoylalkyl Side Chains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2018**, *28* (14), 2358–2363. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.06.039>.
- (150) Zhao Z.; Lei P. Erythromycin A ketone antibiotic derivative and preparation method and application thereof. CN107129514A, September 5, 2017.
- (151) Pavlović, D.; Mutak, S.; Andreotti, D.; Biondi, S.; Cardullo, F.; Paio, A.; Piga, E.; Donati, D.; Lociuoro, S. Synthesis and Structure–Activity Relationships of α -Amino- γ -Lactone Ketolides: A Novel Class of Macrolide Antibiotics. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5* (10), 1133–1137. <https://doi.org/10.1021/ml500279k>.
- (152) Peters, D. H.; Friedel, H. A.; McTavish, D. Azithromycin. *Drugs* **1992**, *44* (5), 750–799. <https://doi.org/10.2165/00003495-199244050-00007>.
- (153) Duran, J. M.; Amsden, G. W. Azithromycin: Indications for the Future? *Expert Opinion on Pharmacotherapy* **2000**, *1* (3), 489–505. <https://doi.org/10.1517/14656566.1.3.489>.
- (154) Kobrehel, G.; Radobolja, G.; Tamburasev, Z.; Djokic, S. 11-Aza-10-Deoxo-10-Dihydroerythromycin A and Derivatives Thereof as Well as a Process for Their Preparation. US4328334A, May 4, 1982.
- (155) Kobrehel, G.; Djokic, S. 11-Methyl-11-Aza-4-O-Cladinosyl-6-O-Desosaminy-15-Ethyl-7,13,14-Trihydroxy-3,5,7,9,12,14-Hexamethyl-Oxacyclopentadecane-2-One and Derivatives Thereof. US4517359A, May 14, 1985.

- (156) Djokić, S.; Kobrehel, G.; Lazarevski, G.; Lopotar, N.; Tamburašev, Z.; Kamenar, B.; Nagl, A.; Vicković, I. Erythromycin Series. Part 11. Ring Expansion of Erythromycin A Oxime by the Beckmann Rearrangement. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, No. 0, 1881–1890. <https://doi.org/10.1039/P19860001881>.
- (157) Bright, G. M.; Nagel, A. A.; Bordner, J.; Desai, K. A.; Dibrino, J. N.; Nowakowska, J.; Vincent, L.; Watrous, R. M.; Sciavolino, F. C.; English, A. R.; Retsema, J. A.; Anderson, M. R.; Brennan, L. A.; Borovoy, R. J.; Cimochoowski, C. R.; Faiella, J. A.; Girard, A. E.; Girard, D.; Herbert, C.; Manousos, M.; Mason, R. SYNTHESIS, IN VITRO AND IN VIVO ACTIVITY OF NOVEL 9-DEOXO-9a-AZA-9a-HOMOERYTHROMYCIN A DERIVATIVES; A NEW CLASS OF MACROLIDE ANTIBIOTICS, THE AZALIDES. *J. Antibiot.* **1988**, *41* (8), 1029–1047. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.41.1029>.
- (158) Jones, A. B.; Acton, J. J.; Doss, G. A. Selectivity in the Dehydration of 15-Membered Azalides. *Tetrahedron Letters* **1993**, *34* (31), 4913–4916. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)74044-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)74044-5).
- (159) Wilkening, R. R.; Ratcliffe, R. W.; Doss, G. A.; Bartizal, K. F.; Graham, A. C.; Herbert, C. M. The Synthesis of Novel 8a-Aza-8a-Homoerythromycin Derivatives via the Beckmann Rearrangement of (9z)-Erythromycin a Oxime. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1993**, *3* (6), 1287–1292. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)80333-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)80333-9).
- (160) Wilkening, R. R.; Ratcliffe, R. W.; Doss, G. A.; Mosley, R. T.; Ball, R. G. Novel Transannular Rearrangements of Azalide Iminoethers. *Tetrahedron* **1997**, *53* (50), 16923–16944. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(97\)10172-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)10172-7).
- (161) Mutak, S. Azalides from Azithromycin to New Azalide Derivatives. *J. Antibiot.* **2007**, *60* (2), 85–122. <https://doi.org/10.1038/ja.2007.10>.
- (162) Lazarevski, G.; Kobrehel, G.; Metelko, B.; Duddeck, H. Ring Opening Reactions of 6-Deoxy-9-Deoxy-9a-Aza-9a-Homoerythromycin A 6, 9-Cyclic Imino Ether. *J. Antibiot.* **1996**, *49* (10), 1066–1069. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.49.1066>.
- (163) Kirst, H. A. Structural Modification of Macrolide Antibiotics. In *Recent Progress in the Chemical Synthesis of Antibiotics*; Lukacs, G., Ohno, M., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1990; pp 39–63. https://doi.org/10.1007/978-3-642-75617-7_2.
- (164) Novak, P.; Barber, J.; Čikoš, A.; Arsic, B.; Plavec, J.; Lazarevski, G.; Tepeš, P.; Košutić-Hulita, N. Free and Bound State Structures of 6-O-Methyl Homoerythromycins and Epitope Mapping of Their Interactions with Ribosomes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17* (16), 5857–5867. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.07.013>.
- (165) Mankin, A. S. Macrolide Myths. *Curr. Opin. Microbiol.* **2008**, *11* (5), 414–421. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.08.003>.
- (166) Fajdetić, A.; Vinter, A.; Paljetak, H. Č.; Padovan, J.; Jakopović, I. P.; Kapić, S.; Alihodžić, S.; Filić, D.; Modrić, M.; Košutić-Hulita, N.; Antolović, R.; Schoenfeld, Z. I.; Mutak, S.; Haber, V. E.; Spaventi, R. Synthesis, Activity and Pharmacokinetics of Novel Antibacterial 15-Membered Ring Macrolones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (8), 3388–3397. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.05.002>.
- (167) Jakopović, I. P.; Kragol, G.; Forrest, A. K.; Frydrych, C. S. V.; Štimac, V.; Kapić, S.; Škugor, M. M.; Ilijaš, M.; Paljetak, H. Č.; Jelić, D.; Holmes, D. J.; Hickey, D. M. B.; Verbanac, D.; Eraković Haber, V.; Alihodžić, S. Synthesis and Properties of Macrolones Characterized by Two Ether Bonds in the Linker. *Bioorganic &*

- Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (17), 6578–6588. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.07.007>.
- (168) Kapić, S.; Čipčić Paljetak, H.; Palej Jakopović, I.; Fajdetić, A.; Ilijaš, M.; Štimac, V.; Brajša, K.; Holmes, D. J.; Berge, J.; Alihodžić, S. Synthesis of Macrolones with Central Piperazine Ring in the Linker and Its Influence on Antibacterial Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19* (23), 7281–7298. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.07.010>.
- (169) Paljetak, H. Č.; Verbanac, D.; Padovan, J.; Dominis-Kramarić, M.; Kelnerić, Ž.; Perić, M.; Banjanac, M.; Ergović, G.; Simon, N.; Broskey, J.; Holmes, D. J.; Haber, V. E. Macrolones Are a Novel Class of Macrolide Antibiotics Active against Key Resistant Respiratory Pathogens In Vitro and In Vivo. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2016**, *60* (9), 5337–5348. <https://doi.org/10.1128/AAC.00524-16>.
- (170) Ma, S.; Jiao, B.; Liu, Z.; Wang, H.; Xian, R.; Zheng, M.; Lou, H. Synthesis and Antibacterial Activity of 4'',11-Di-O-Arylalkylcarbamoyl Azithromycin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19* (6), 1698–1701. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.092>.
- (171) Ma, C.; Liu, Z.; Song, H.; Jiang, R.; He, F.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 11,12-Cyclic Carbonate Azithromycin 4''-O-Carbamate Derivatives. *The Journal of Antibiotics* **2010**, *63* (1), 3–8. <https://doi.org/10.1038/ja.2009.108>.
- (172) Ma, X.; Zhang, L.; Wang, R.; Cao, J.; Liu, C.; Fang, Y.; Wang, J.; Ma, S. Novel C-4'' Modified Azithromycin Analogs with Remarkably Enhanced Activity against Erythromycin-Resistant *Streptococcus Pneumoniae*: The Synthesis and Antimicrobial Evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (10), 5196–5205. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.001>.
- (173) Li, X.; Ma, S.; Yan, M.; Wang, Y.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel 11,4''-Disubstituted Azithromycin Analogs with Greatly Improved Activity against Erythromycin-Resistant Bacteria. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *59*, 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.11.028>.
- (174) Yan, M.; Ma, X.; Dong, R.; Li, X.; Zhao, C.; Guo, Z.; Shen, Y.; Liu, F.; Ma, R.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of 4''-O-(Trans-β-Arylacrylamido)Carbamoyl Azithromycin Analogs. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *103*, 506–515. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.020>.
- (175) Zhang, L.; Chai, X.; Wang, B.; Yu, S.; Hu, H.; Zou, Y.; Zhao, Q.; Meng, Q.; Wu, Q. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Azithromycin Glycosyl Derivatives as Potential Antibacterial Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (18), 5057–5060. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.07.042>.
- (176) Wang, Y.; Cong, C.; Chai, W. C.; Dong, R.; Jia, L.; Song, D.; Zhou, Z.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 4''-O-(1-Aralkyl-1,2,3-Triazol-4-Methyl-Carbamoyl) Azithromycin Analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2017**, *27* (16), 3872–3877. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.06.044>.
- (177) Starčević, K.; Pešić, D.; Toplak, A.; Landek, G.; Alihodžić, S.; Herreros, E.; Ferrer, S.; Spaventi, R.; Perić, M. Novel Hybrid Molecules Based on 15-Membered Azalide as Potential Antimalarial Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *49*, 365–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.01.039>.
- (178) Bosnar, M.; Kragol, G.; Koštrun, S.; Vujasinović, I.; Bošnjak, B.; Bencetić Mihaljević, V.; Marušić Ištuk, Z.; Kapić, S.; Hrvačić, B.; Brajša, K.; Tavčar, B.; Jelić, D.; Glojnarčić, I.; Verbanac, D.; Čulić, O.; Padovan, J.; Alihodžić, S.; Eraković Haber, V.; Spaventi, R.

- N'-Substituted-2'-O,3'-N-Carbonimidoyl Bridged Macrolides: Novel Anti-Inflammatory Macrolides without Antimicrobial Activity. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (13), 6111–6123. <https://doi.org/10.1021/jm300356u>.
- (179) Jakopović, I. P.; Krajačić, M. B.; Škugor, M. M.; Štimac, V.; Pešić, D.; Vujasinović, I.; Alihodžić, S.; Paljetak, H. Č.; Kragol, G. Novel Desosamine-Modified 14- and 15-Membered Macrolides without Antibacterial Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2012**, *22* (10), 3527–3530. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.03.076>.
- (180) Yan, M.; Ma, R.; Jia, L.; Venter, H.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 3-O-Descladinisylazithromycin Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *127*, 874–884. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.065>.
- (181) Pešić, D.; Starčević, K.; Toplak, A.; Herreros, E.; Vidal, J.; Almela, M. J.; Jelić, D.; Alihodžić, S.; Spaventi, R.; Perić, M. Design, Synthesis, and in Vitro Activity of Novel 2'-O-Substituted 15-Membered Azalides. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (7), 3216–3227. <https://doi.org/10.1021/jm201676t>.
- (182) Pavlović, D.; Kimmins, S.; Mutak, S. Synthesis of Novel 15-Membered 8a-Azahomoerythromycin A Acylides: Consequences of Structural Modification at the C-3 and C-6 Position on Antibacterial Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *125*, 210–224. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.022>.
- (183) Pavlović, D.; Mutak, S. Synthesis and Structure–Activity Relationships of Novel 8a-Aza-8a-Homoerythromycin A Ketolides. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (15), 5868–5880. <https://doi.org/10.1021/jm100711p>.
- (184) Pavlović, D.; Fajdetić, A.; Mutak, S. Novel Hybrids of 15-Membered 8a- and 9a-Azahomoerythromycin A Ketolides and Quinolones as Potent Antibacterials. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (24), 8566–8582. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.10.024>.
- (185) Lee, Y.; Choi, J. Y.; Fu, H.; Harvey, C.; Ravindran, S.; Roush, W. R.; Boothroyd, J. C.; Khosla, C. Chemistry and Biology of Macrolide Antiparasitic Agents. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (8), 2792–2804. <https://doi.org/10.1021/jm101593u>.
- (186) Hutinec, A.; Rupčić, R.; Žihher, D.; Smith, K. S.; Milhous, W.; Ellis, W.; Ohrt, C.; Schönfeld, Z. I. An Automated, Polymer-Assisted Strategy for the Preparation of Urea and Thiourea Derivatives of 15-Membered Azalides as Potential Antimalarial Chemotherapeutics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19* (5), 1692–1701. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.01.030>.
- (187) Bukvić Krajačić, M.; Perić, M.; Smith, K. S.; Ivezić Schönfeld, Z.; Žihher, D.; Fajdetić, A.; Kujundžić, N.; Schönfeld, W.; Landek, G.; Padovan, J.; Jelić, D.; Ager, A.; Milhous, W. K.; Ellis, W.; Spaventi, R.; Ohrt, C. Synthesis, Structure–Activity Relationship, and Antimalarial Activity of Ureas and Thioureas of 15-Membered Azalides. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (10), 3595–3605. <https://doi.org/10.1021/jm2001585>.
- (188) Bukvić Krajačić, M.; Dumić, M.; Novak, P.; Cindrić, M.; Koštrun, S.; Fajdetić, A.; Alihodžić, S.; Brajša, K.; Kujundžić, N. Discovery of Novel Ureas and Thioureas of 3-Decladinisyl-3-Hydroxy 15-Membered Azalides Active against Efflux-Mediated Resistant *Streptococcus Pneumoniae*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21* (2), 853–856. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.11.079>.
- (189) Perić, M.; Fajdetić, A.; Rupčić, R.; Alihodžić, S.; Žihher, D.; Bukvić Krajačić, M.; Smith, K. S.; Ivezić-Schönfeld, Z.; Padovan, J.; Landek, G.; Jelić, D.; Hutinec, A.; Mesić, M.; Ager, A.; Ellis, W. Y.; Milhous, W. K.; Ohrt, C.; Spaventi, R. Antimalarial Activity of

- 9a-N Substituted 15-Membered Azalides with Improved in Vitro and in Vivo Activity over Azithromycin. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (3), 1389–1401. <https://doi.org/10.1021/jm201615t>.
- (190) Washington, A. Z.; Tapadar, S.; George, A.; Oyelere, A. K. Exploiting Translational Stalling Peptides in an Effort to Extend Azithromycin Interaction within the Prokaryotic Ribosome Nascent Peptide Exit Tunnel. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, *23* (16), 5198–5209. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.04.078>.
- (191) Ma, S.; Ma, R.; Liu, Z.; Ma, C.; Shen, X. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 15-Membered Macrolide Derivatives: 4''-Carbamate, 11,12-Cyclic Carbonate-4''-Carbamate and 11,4''-Di-O-Arylcarbamoyl Analogs of Azithromycin. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *44* (10), 4010–4020. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.04.030>.
- (192) Jia, L.; Wang, Y.; Wang, Y.; Qin, Y.; Hu, C.; Sheng, J.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel 11-O-Aralkylcarbamoyl-3-O-Descladinosylclarithromycin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2018**, *28* (14), 2471–2476. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.06.006>.
- (193) Jia, L.; Yan, M.; Shen, Y.; Qin, Y.; Qiang, S.; Ma, S. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel 11-O-Carbamoyl Clarithromycin Ketolides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2017**, *27* (16), 3693–3697. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.07.017>.
- (194) Huisgen, R.; Szeimies, G.; Möbius, L. 1,3-Dipolare Cycloadditionen, XXXII. Kinetik Der Additionen Organischer Azide an CC-Mehrfachbindungen. *Chemische Berichte* **1967**, *100* (8), 2494–2507. <https://doi.org/10.1002/cber.19671000806>.
- (195) Amblard, F.; Cho, J. H.; Schinazi, R. F. The Cu(I)-Catalyzed Huisgen Azide-Alkyne 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction in Nucleoside, Nucleotide and Oligonucleotide Chemistry. *Chem Rev* **2009**, *109* (9), 4207–4220. <https://doi.org/10.1021/cr9001462>.
- (196) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie-International Edition* **2001**, *40*, 2004–2021.
- (197) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (9), 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>.
- (198) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angewandte Chemie* **2002**, *114* (14), 2708–2711. [https://doi.org/10.1002/1521-3757\(20020715\)114:14<2708::AID-ANGE2708>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-3757(20020715)114:14<2708::AID-ANGE2708>3.0.CO;2-0).
- (199) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. CuI-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *European Journal of Organic Chemistry* **2006**, *2006* (1), 51–68. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200500483>.
- (200) McNaught, A. D.; Wilkinson, A. *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd Ed. (the “Gold Book”).*; Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
- (201) McMurry, J. *Organic Chemistry International Edition*; Cengage Learning, 2011.

- (202) March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 8th Edition | Wiley <https://www.wiley.com/en-us/March%27s+Advanced+Organic+Chemistry%3A+Reactions%2C+Mechanisms%2C+and+Structure%2C+8th+Edition-p-9781119371793> (accessed Aug 25, 2020).
- (203) Sola, M.; Lledos, A.; Duran, M.; Bertran, J.; Abboud, J. L. M. Analysis of Solvent Effects on the Menshutkin Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (8), 2873–2879.
- (204) Jones, R. A. *Quaternary Ammonium Salts: Their Use in Phase-Transfer Catalysis*; Elsevier, 2000.
- (205) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*; OUP Oxford, 2012.
- (206) Sugawara, S.; Matsuo, H. A Modified Emde Degradation. Reductive Cleavage of Quaternary Ammonium Salts by Raney Nickel. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1958**, *6* (6), 601–607. <https://doi.org/10.1248/cpb.6.601>.
- (207) Sugawara, S.; Matsuo, H. A Modified Emde Degradation Reaction. *Pharmaceutical Bulletin* **1956**, *4* (2), 142–142. <https://doi.org/10.1248/cpb1953.4.142>.
- (208) Jones, G. C.; Beard, W. Q.; Hauser, C. R. Ortho Substitution-Rearrangement and Other Reactions of the Benzyldimethylanilinium Ion by Sodium Amide in Liquid Ammonia. *J. Org. Chem.* **1963**, *28* (1), 199–203. <https://doi.org/10.1021/jo01036a047>.
- (209) Wittig, G.; Streib, H. Zur Erschließung Der Isoindole. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1953**, *584* (1), 1–22. <https://doi.org/10.1002/jlac.19535840102>.
- (210) Jia, Z.; Shen, D.; Xu, W. Synthesis and Antibacterial Activities of Quaternary Ammonium Salt of Chitosan. *Carbohydrate Research* **2001**, *333* (1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(01\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(01)00112-4).
- (211) Cocco, A. R.; de Oliveira da Rosa, W. L.; da Silva, A. F.; Lund, R. G.; Piva, E. A Systematic Review about Antibacterial Monomers Used in Dental Adhesive Systems: Current Status and Further Prospects. *Dental Materials* **2015**, *31* (11), 1345–1362. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.08.155>.
- (212) Hellberg, P.-E.; Bergström, K.; Holmberg, K. Cleavable Surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents* **2000**, *3* (1), 81–91. <https://doi.org/10.1007/s11743-000-0118-z>.
- (213) Hensen, H.; Rutzen, H.; Busch, P.; Stuhmann, D.; Thiele, K. Quaternary Ammonium Compound Hair Conditioners. US4744977A, May 17, 1988.
- (214) Varughese, P. Quarternary Ammonia Salts: Some Recent Applications in Organic Synthesis. *J. Chem. Educ.* **1977**, *54* (11), 666. <https://doi.org/10.1021/ed054p666>.
- (215) MacFarlane, D. R.; Kar, M.; Pringle, J. M. *Fundamentals of Ionic Liquids: From Chemistry to Applications*; John Wiley & Sons, 2017.
- (216) Gorke, J.; Sreinc, F.; Kazlauskas, R. Toward Advanced Ionic Liquids. Polar, Enzyme-Friendly Solvents for Biocatalysis. *Biotechnol Bioproc E* **2010**, *15* (1), 40–53. <https://doi.org/10.1007/s12257-009-3079-z>.
- (217) Huddleston, J. G.; Visser, A. E.; Reichert, W. M.; Willauer, H. D.; Broker, G. A.; Rogers, R. D. Characterization and Comparison of Hydrophilic and Hydrophobic Room Temperature Ionic Liquids Incorporating the Imidazolium Cation. *Green Chem.* **2001**, *3* (4), 156–164. <https://doi.org/10.1039/B103275P>.
- (218) Earle, M. J.; Esperança, J. M. S. S.; Gilea, M. A.; Canongia Lopes, J. N.; Rebelo, L. P. N.; Magee, J. W.; Seddon, K. R.; Widegren, J. A. The Distillation and Volatility of Ionic Liquids. *Nature* **2006**, *439* (7078), 831–834. <https://doi.org/10.1038/nature04451>.

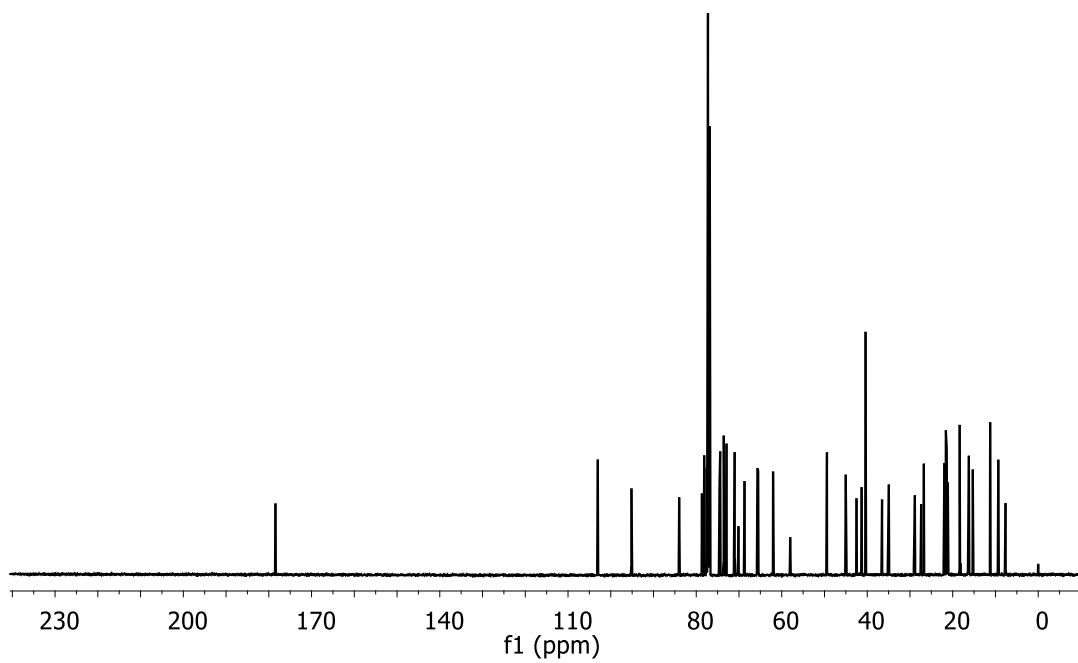
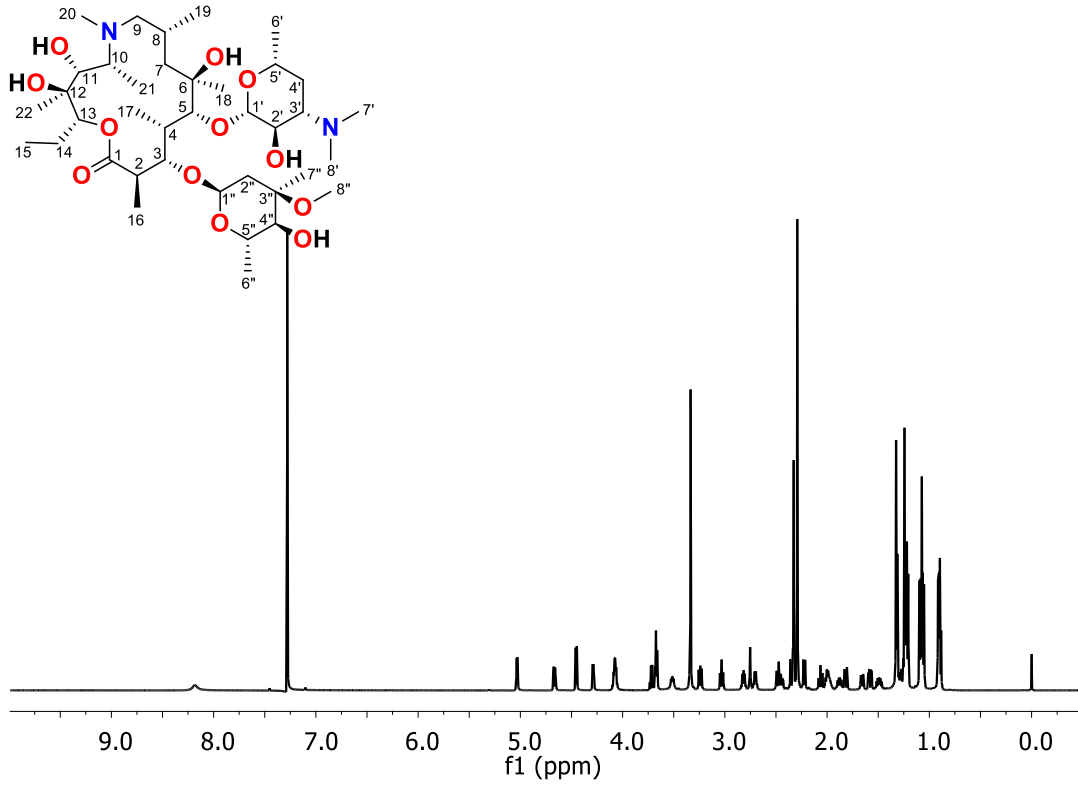
- (219) Ludwig, R. Water: From Clusters to the Bulk. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (10), 1808–1827. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010518\)40:10<1808::AID-ANIE1808>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010518)40:10<1808::AID-ANIE1808>3.0.CO;2-1).
- (220) Katritzky, A. R.; Singh, S.; Kirichenko, K.; Holbrey, J. D.; Smiglak, M.; Reichert, W. M.; Rogers, R. D. 1-Butyl-3-Methylimidazolium 3,5-Dinitro-1,2,4-Triazolate: A Novel Ionic Liquid Containing a Rigid, Planar Energetic Anion. *Chem. Commun.* **2005**, No. 7, 868–870. <https://doi.org/10.1039/B414683B>.
- (221) Pernak, J.; Kordala, R.; Markiewicz, B.; Walkiewicz, F.; Popławski, M.; Fabiańska, A.; Jankowski, S.; Łożyński, M. Synthesis and Properties of Ammonium Ionic Liquids with Cyclohexyl Substituent and Dissolution of Cellulose. *RSC Advances* **2012**, *2* (22), 8429–8438. <https://doi.org/10.1039/C2RA21502K>.
- (222) Pernak, A.; Iwanik, K.; Majewski, P.; Grzymiński, M.; Pernak, J. Ionic Liquids as an Alternative to Formalin in Histopathological Diagnosis. *Acta Histochemica* **2005**, *107* (2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2005.02.003>.
- (223) Pernak, J.; Nawrot, J.; Kot, M.; Markiewicz, B.; Niemczak, M. Ionic Liquids Based Stored Product Insect Antifeedants. *RSC Adv.* **2013**, *3* (47), 25019–25029. <https://doi.org/10.1039/C3RA41716F>.
- (224) Pernak, J.; Walkiewicz, F.; Maciejewska, M.; Zaborski, M. Ionic Liquids as Vulcanization Accelerators. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2010**, *49* (10), 5012–5017. <https://doi.org/10.1021/ie100151n>.
- (225) Feder-Kubis, J.; Zabielska-Matejuk, J.; Stangierska, A.; Przybylski, P.; Jacquemin, J.; Geppert-Rybczyńska, M. Toward Designing “Sweet” Ionic Liquids Containing a Natural Terpene Moiety as Effective Wood Preservatives. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2019**, *7* (18), 15628–15639. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03645>.
- (226) Janas, A.; Pecyna, P.; Gajeka, M.; Bartl, F.; Przybylski, P. Synthesis and Antibacterial Activity of New N-Alkylammonium and Carbonate-Triazole Derivatives within Desosamine of 14- and 15-Membered Lactone Macrolides. *ChemMedChem* **2020**, *15* (16), 1529–1551. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000273>.
- (227) Krystian Pyta; Skrzypczak, N.; Janas, A.; Przybylski, P. Regioselective Functionalization of Colchicine Tropolone Ring as an Attractive Strategy for Designing of New Hybrids with Antibiotics and Biological Relevant Pharmacophores. *under review*.
- (228) Janas, A.; Pyta, K.; Gdaniec, M.; Przybylski, P. Dane Nieopublikowane.
- (229) Nicholls, G. A.; Tarbell, D. S. Colchicine and Related Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75* (5), 1104–1107. <https://doi.org/10.1021/ja01101a028>.
- (230) Yoshida, K.; Hayashi, T.; Sano, K. Colchicine Precursors and the Formation of Alkaloids in Suspension-Cultured *Colchicum Autumnale*. *Phytochemistry* **1988**, *27* (5), 1375–1378. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80197-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80197-3).
- (231) Gasparyan, A. Y.; Ayvazyan, L.; Yessirkepov, M.; Kitas, G. D. Colchicine as an Anti-Inflammatory and Cardioprotective Agent. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* **2015**, *11* (11), 1781–1794. <https://doi.org/10.1517/17425255.2015.1076391>.
- (232) Dasgeb, B.; Kornreich, D.; McGuinn, K.; Okon, L.; Brownell, I.; Sackett, D. L. Colchicine: An Ancient Drug with Novel Applications. *British Journal of Dermatology* **2018**, *178* (2), 350–356. <https://doi.org/10.1111/bjd.15896>.

- (233) Skinner, M.; Anderson, J. J.; Simms, R.; Falk, R.; Wang, M.; Libbey, C. A.; Jones, L. A.; Cohen, A. S. Treatment of 100 Patients with Primary Amyloidosis: A Randomized Trial of Melphalan, Prednisone, and Colchicine versus Colchicine Only. *The American Journal of Medicine* **1996**, *100* (3), 290–298. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)89487-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)89487-9).
- (234) Zhang, T.; Chen, W.; Jiang, X.; Liu, L.; Wei, K.; Du, H.; Wang, H.; Li, J. Anticancer Effects and Underlying Mechanism of Colchicine on Human Gastric Cancer Cell Lines in Vitro and in Vivo. *Biosci Rep* **2019**, *39* (1). <https://doi.org/10.1042/BSR20181802>.
- (235) Naaz, F.; Haider, M. R.; Shafi, S.; Yar, M. S. Anti-Tubulin Agents of Natural Origin: Targeting Taxol, Vinca, and Colchicine Binding Domains. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *171*, 310–331. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.025>.
- (236) Finkelstein, Y.; Aks, S. E.; Hutson, J. R.; Juurlink, D. N.; Nguyen, P.; Dubnov-Raz, G.; Pollak, U.; Koren, G.; Bentur, Y. Colchicine Poisoning: The Dark Side of an Ancient Drug. *Clinical Toxicology* **2010**, *48* (5), 407–414. <https://doi.org/10.3109/15563650.2010.495348>.
- (237) Kurek, J.; Kwaśniewska-Sip, P.; Myszkowski, K.; Cofta, G.; Barczyński, P.; Murias, M.; Kurczab, R.; Śliwa, P.; Przybylski, P. Antifungal, Anticancer, and Docking Studies of Colchicine Complexes with Monovalent Metal Cation Salts. *Chemical Biology & Drug Design* **2019**, *94* (5), 1930–1943. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13583>.
- (238) Liu, X.; Hu, Y.-J.; Chen, B.; Min, L.; Peng, X.-S.; Zhao, J.; Li, S.; Wong, H. N. C.; Li, C.-C. Asymmetric Total Syntheses of Colchicine, β -Lumicolchicine, and Allicolchicinoid N-Acetylcolchinol-O-Methyl Ether (NCME). *Org. Lett.* **2017**, *19* (17), 4612–4615. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b02224>.
- (239) Murray, W. V.; Wachter, M. P. Synthesis and Properties of Aryl-1,3-Dioxo Carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (10), 3424–3426. <https://doi.org/10.1021/jo00297a091>.
- (240) AIST:Spectral Database for Organic Compounds,SDBS https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi (accessed Jan 21, 2021).
- (241) Gh, M. S.; Wilhelm, M. J.; Dai, H.-L. Azithromycin-Induced Changes to Bacterial Membrane Properties Monitored in Vitro by Second-Harmonic Light Scattering. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2018**, *9* (6), 569–574. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00499>.
- (242) Doucet-Populaire, F.; Capobianco, J. O.; Zakula, D.; Jarlier, V.; Goldman, R. C. Molecular Basis of Clarithromycin Activity against Mycobacterium Avium and Mycobacterium Smegmatis. *J Antimicrob Chemother* **1998**, *41* (2), 179–187. <https://doi.org/10.1093/jac/41.2.179>.
- (243) Pestka, S. Binding of [14C]Erythromycin to Escherichia Coli Ribosomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1974**, *6* (4), 474–478. <https://doi.org/10.1128/AAC.6.4.474>.
- (244) Pestka, S.; Lemahieu, R. A. Effect of Erythromycin Analogues on Binding of [14C]Erythromycin to Escherichia Coli Ribosomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1974**, *6* (4), 479–488. <https://doi.org/10.1128/AAC.6.4.479>.
- (245) Goldman, R. C.; Fesik, S. W.; Doran, C. C. Role of Protonated and Neutral Forms of Macrolides in Binding to Ribosomes from Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1990**, *34* (4), 426–431.

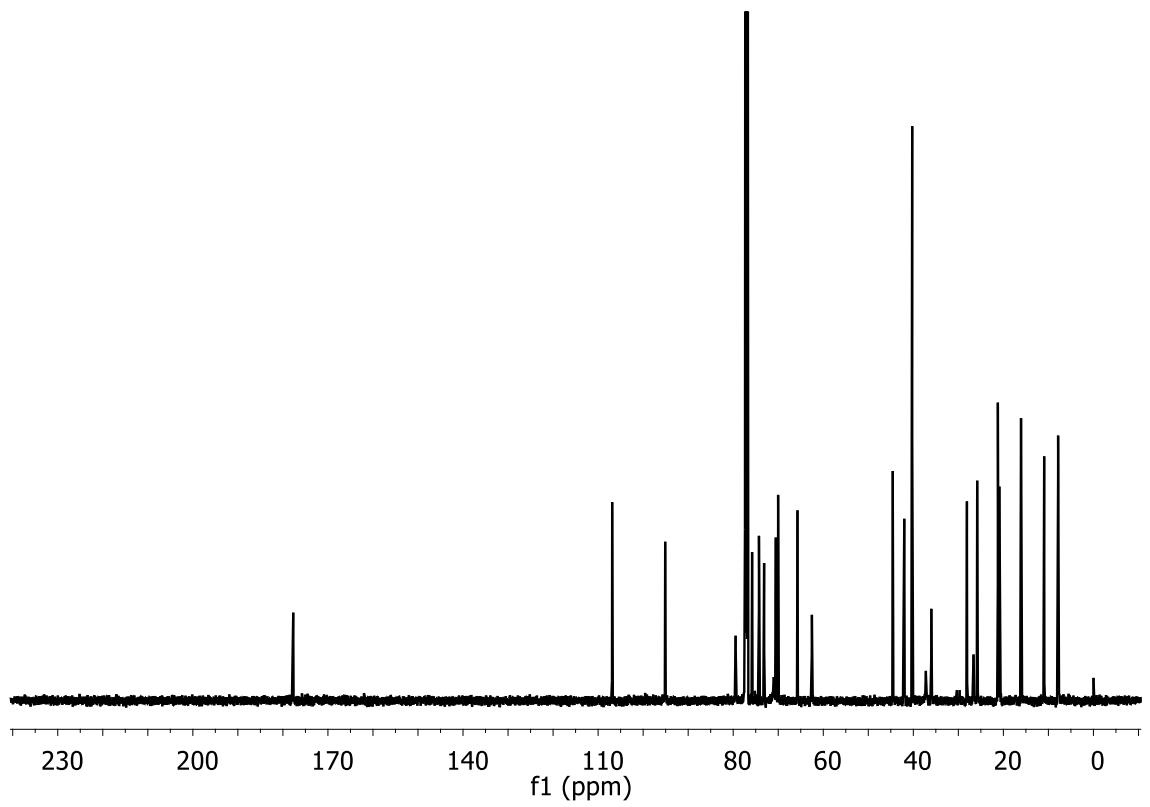
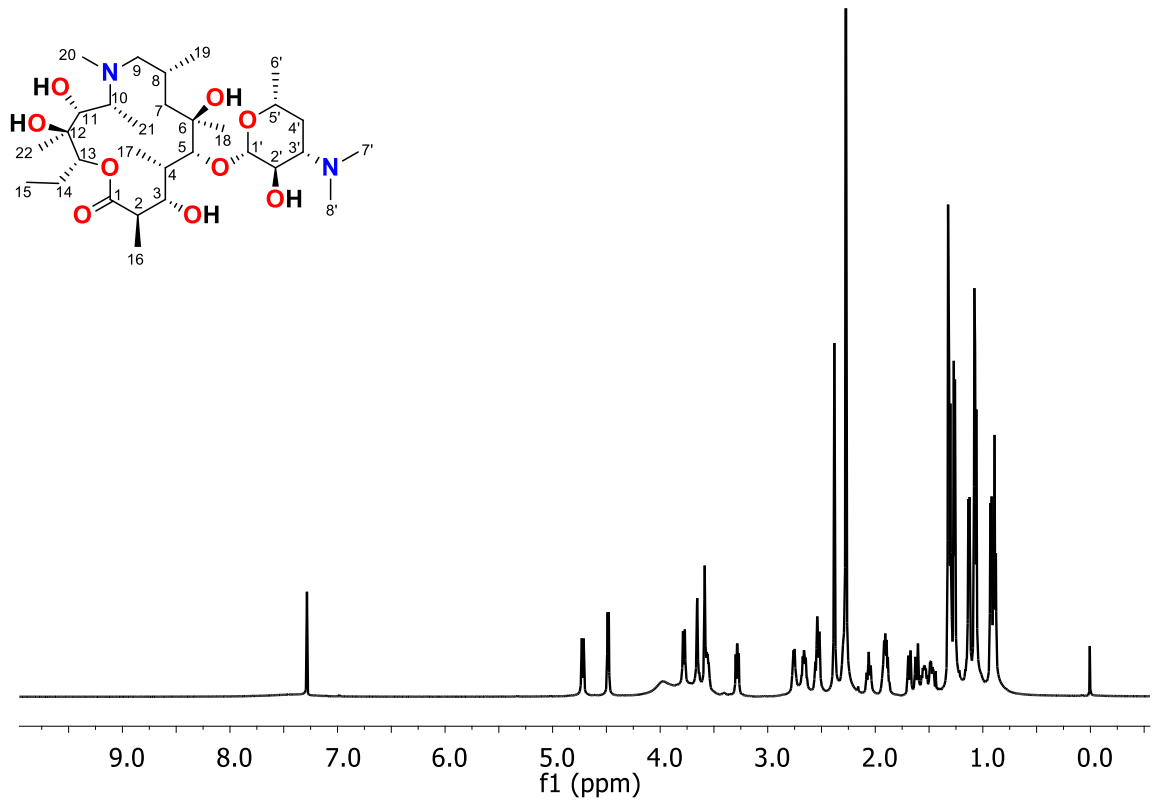
XI Kopie widm ^1H i ^{13}C NMR oraz FT-IR otrzymanych pochodnych

Kopie widm ^1H i ^{13}C NMR

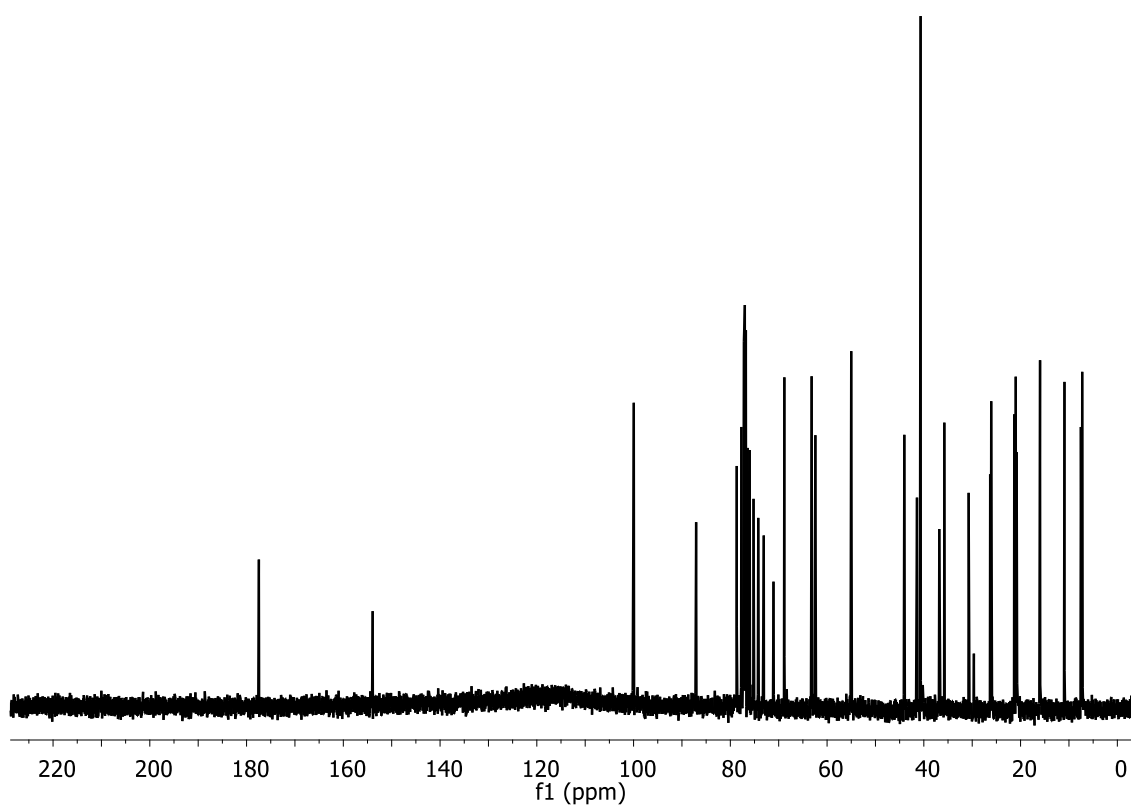
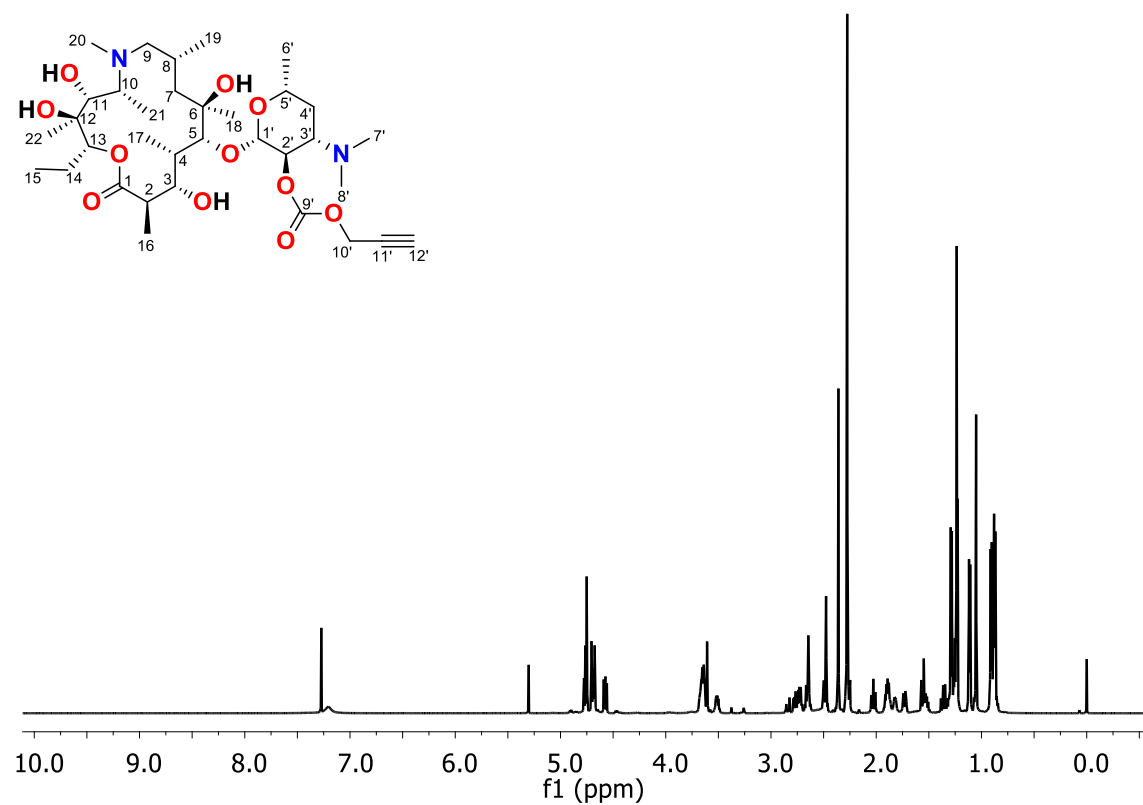
AZM



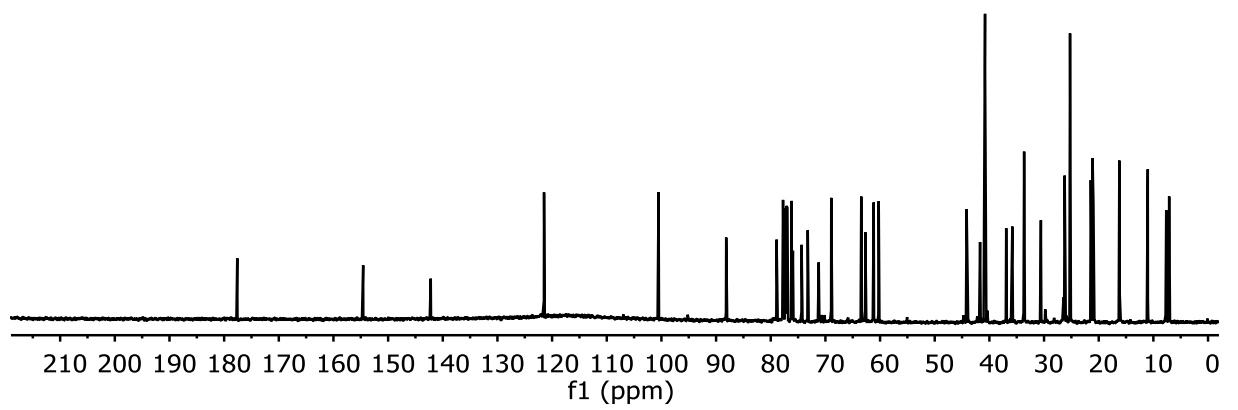
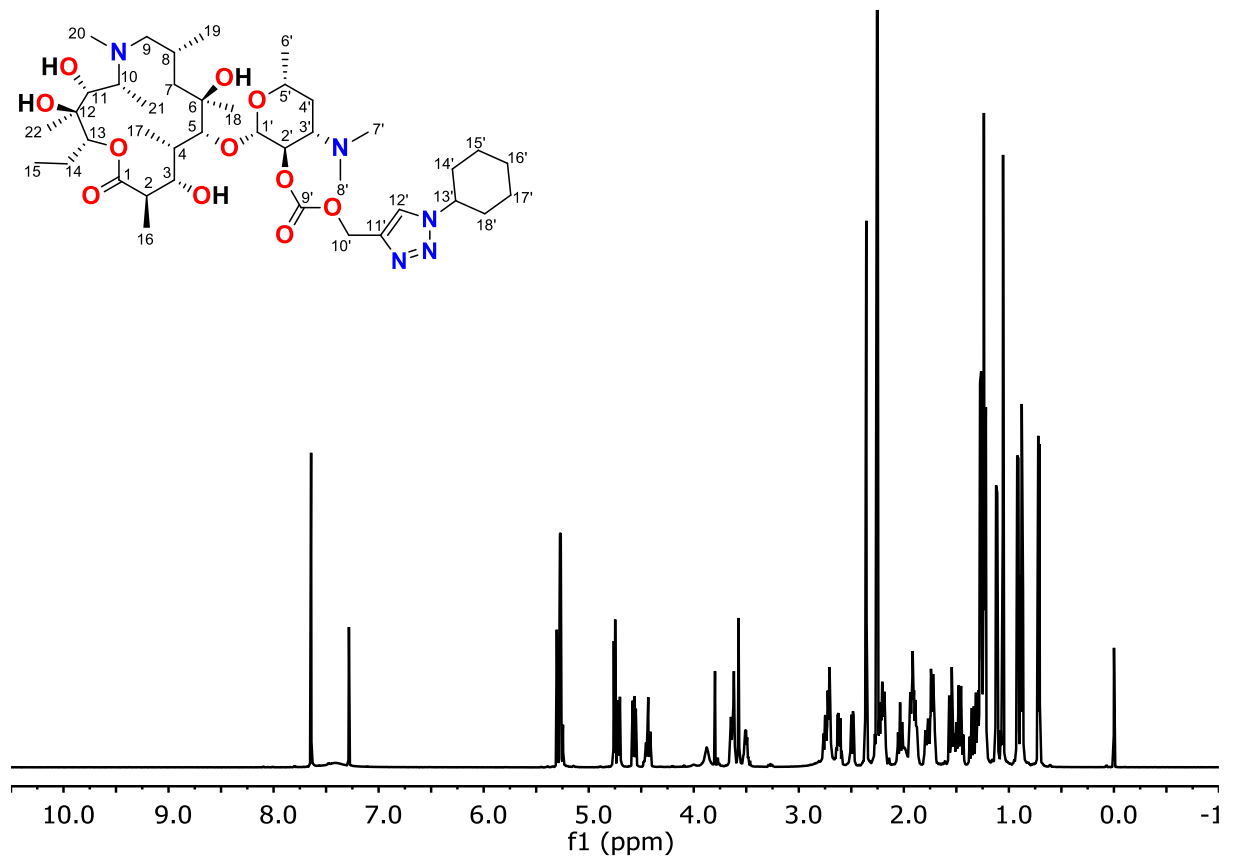
AZM-OH



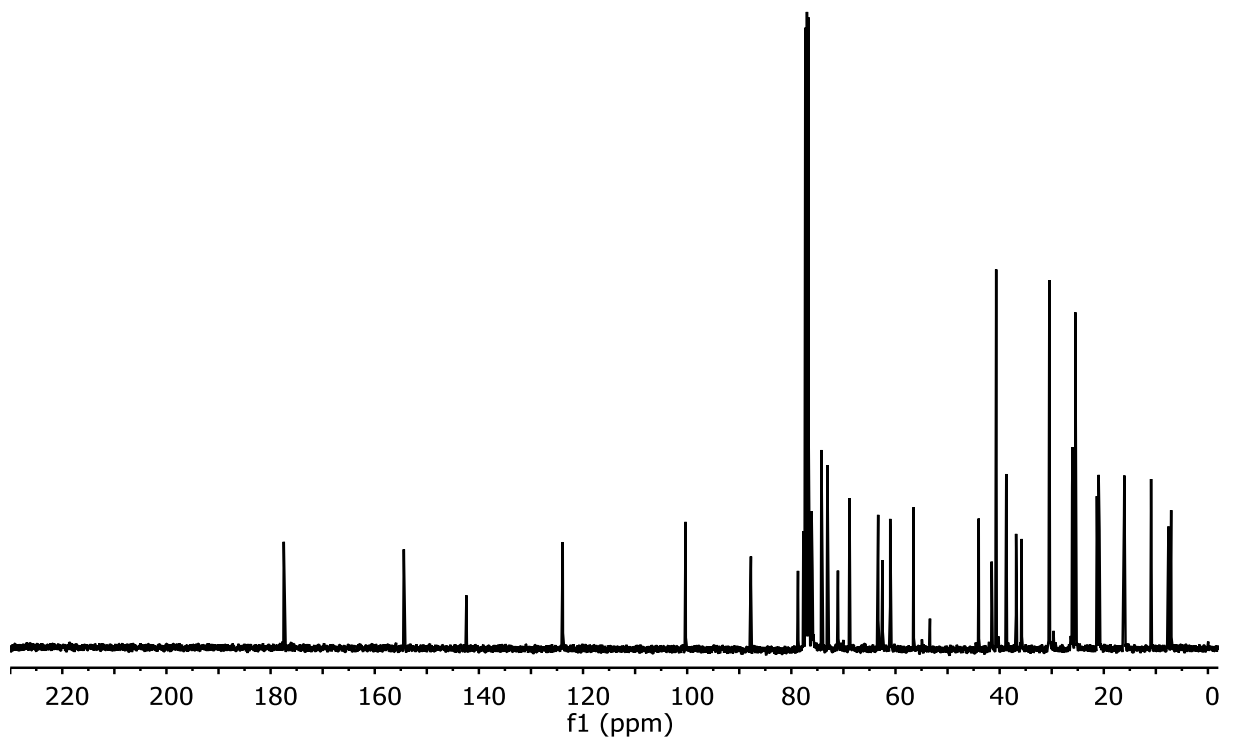
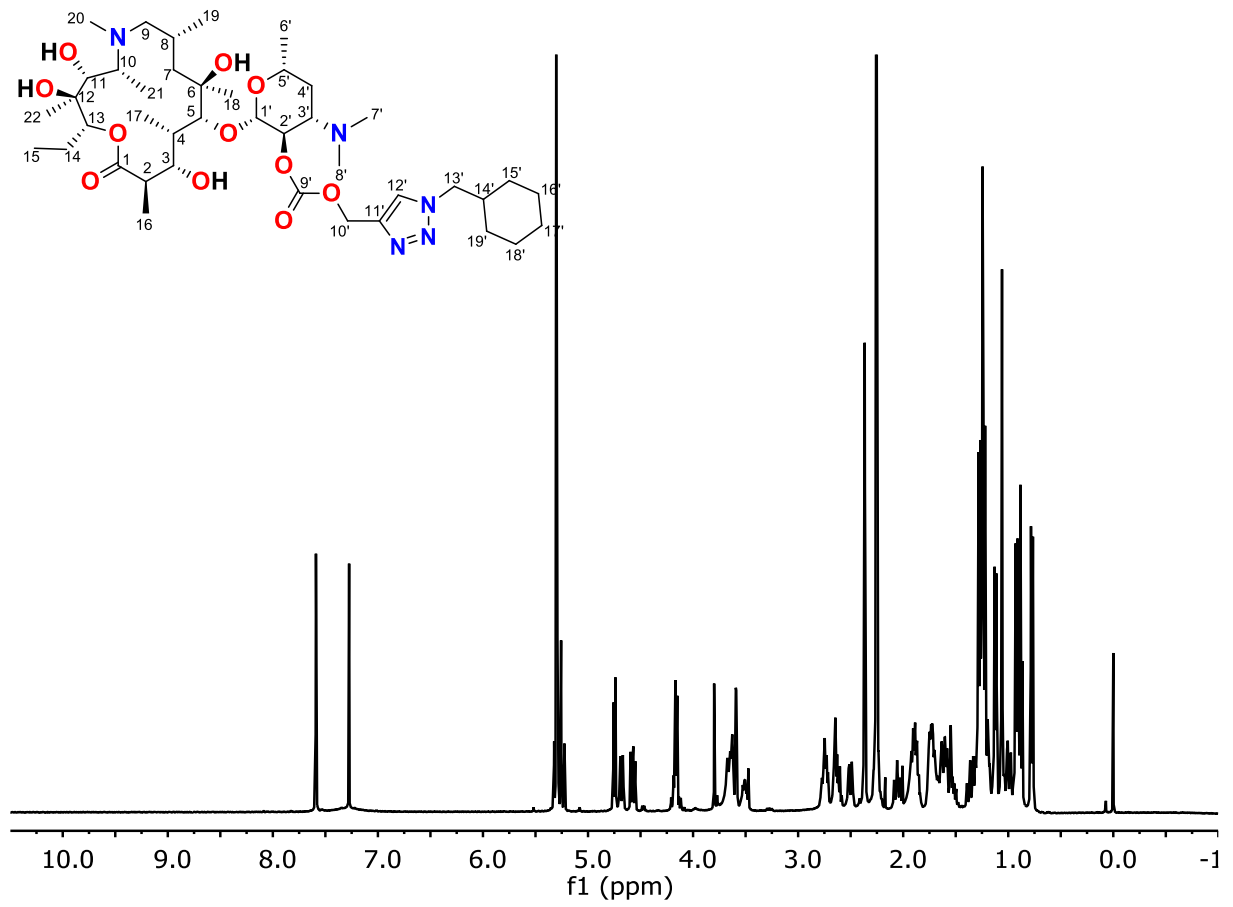
AZM-1



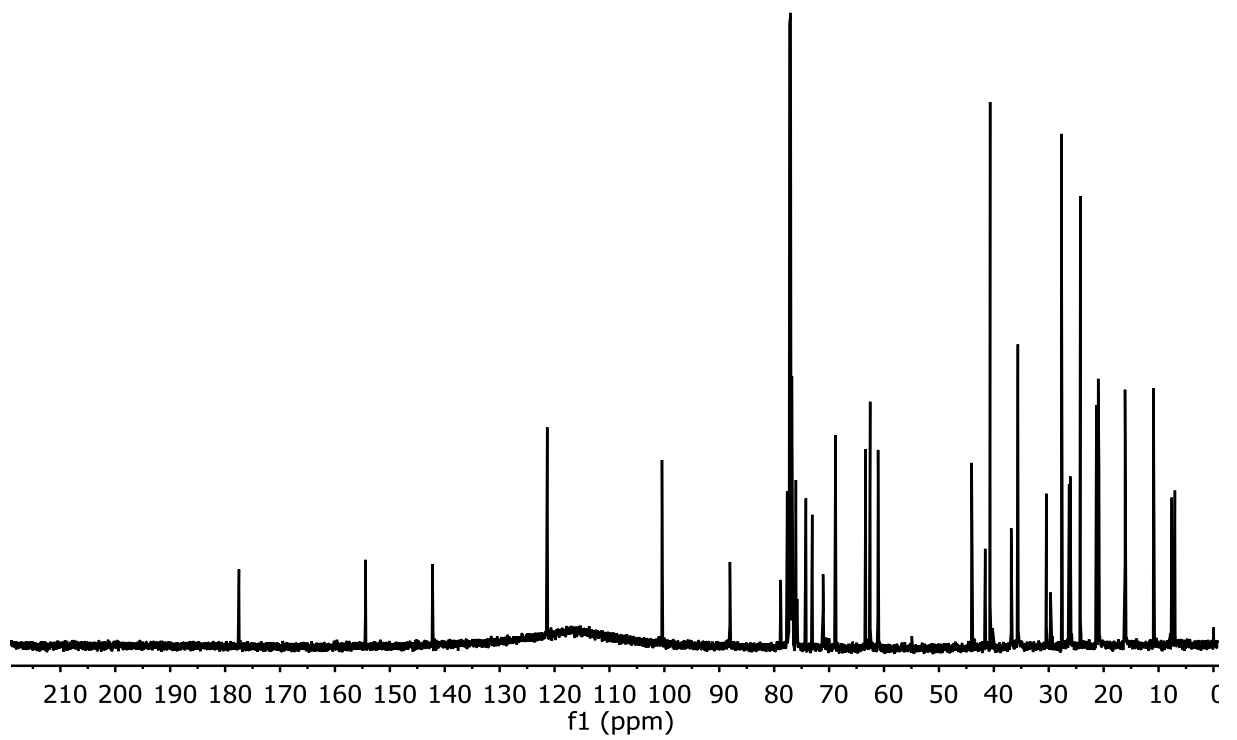
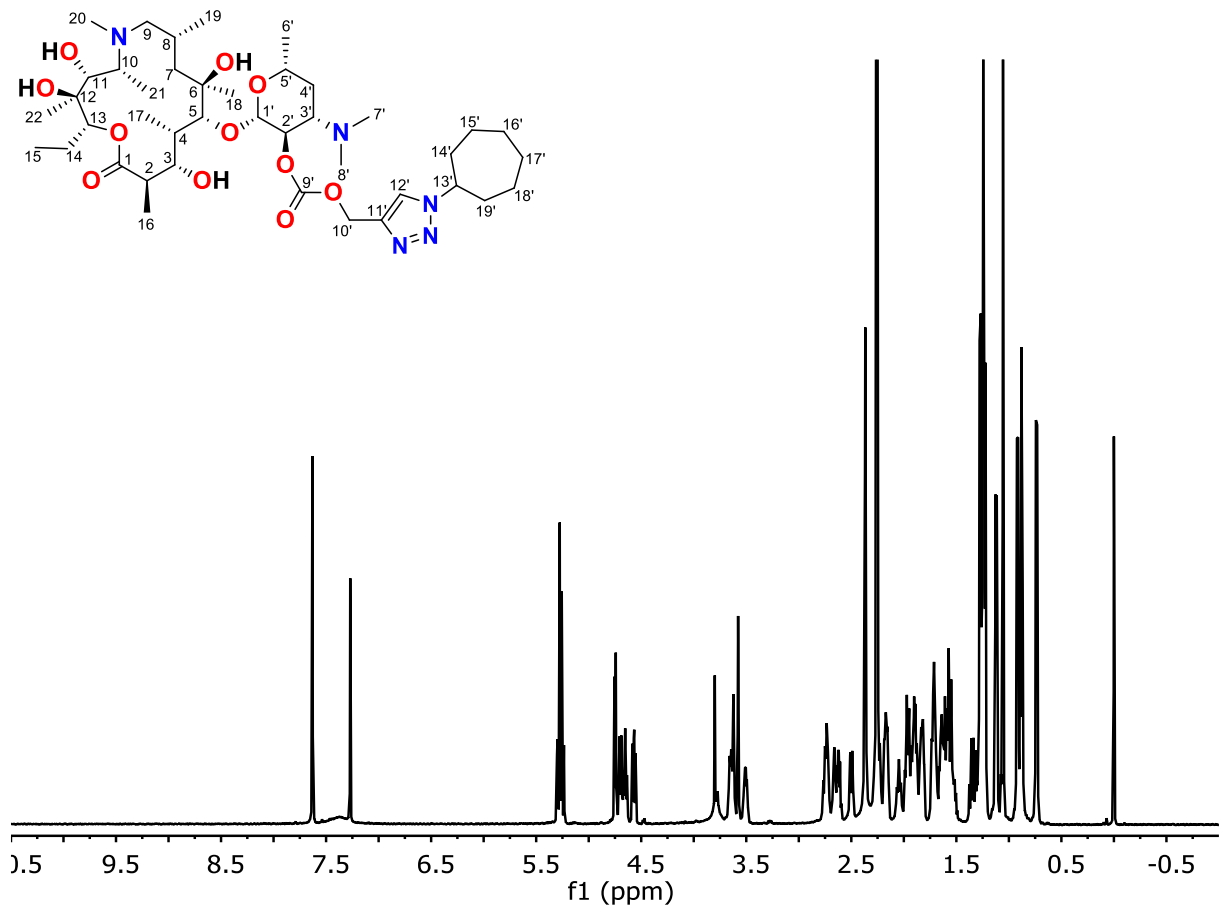
AZM-2



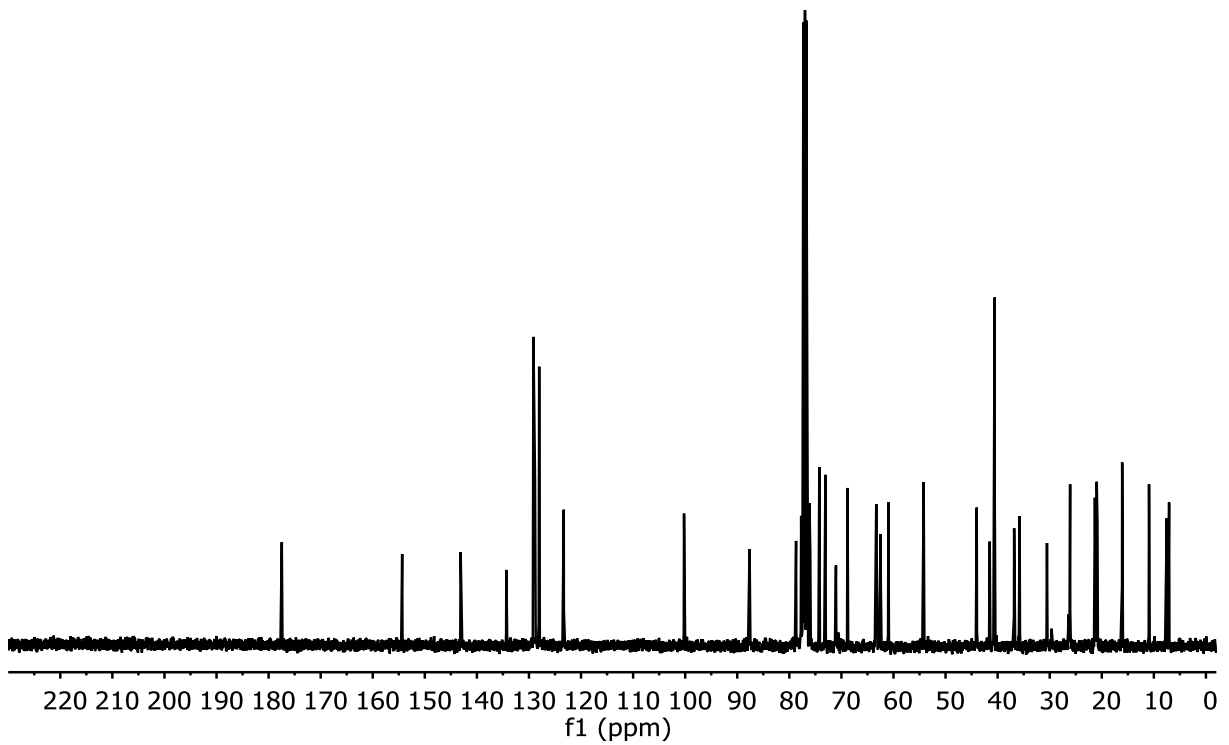
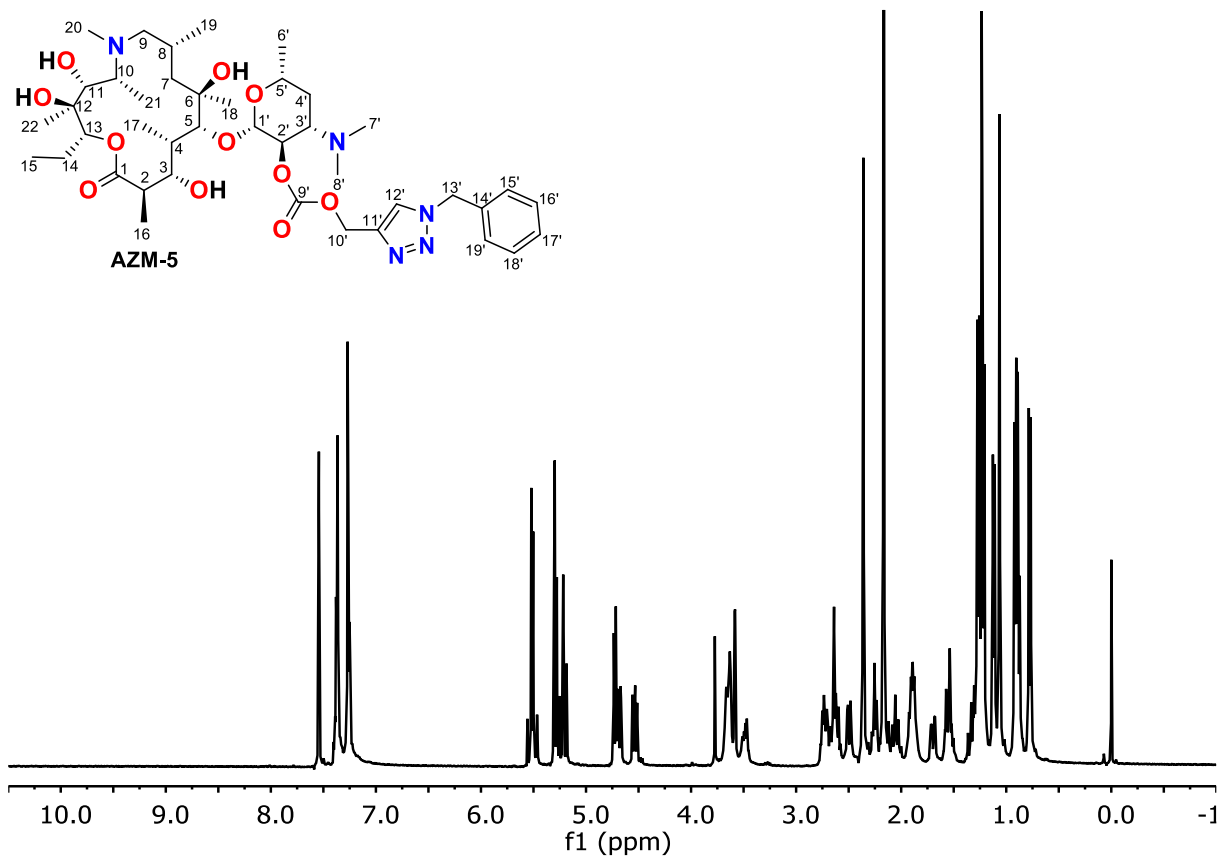
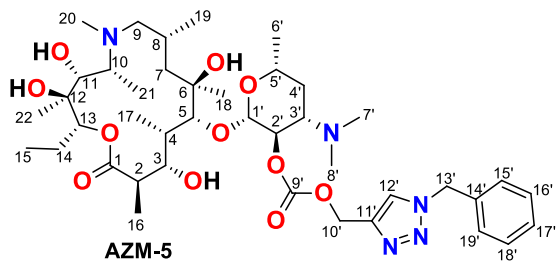
AZM-3



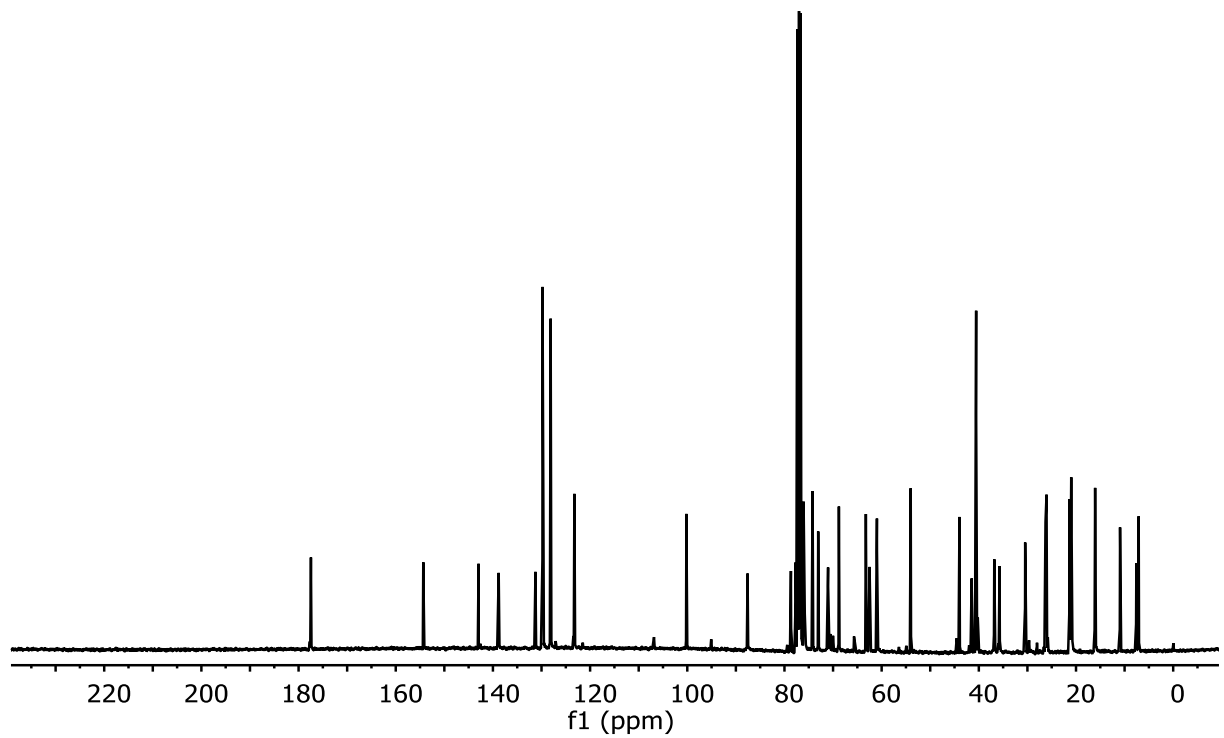
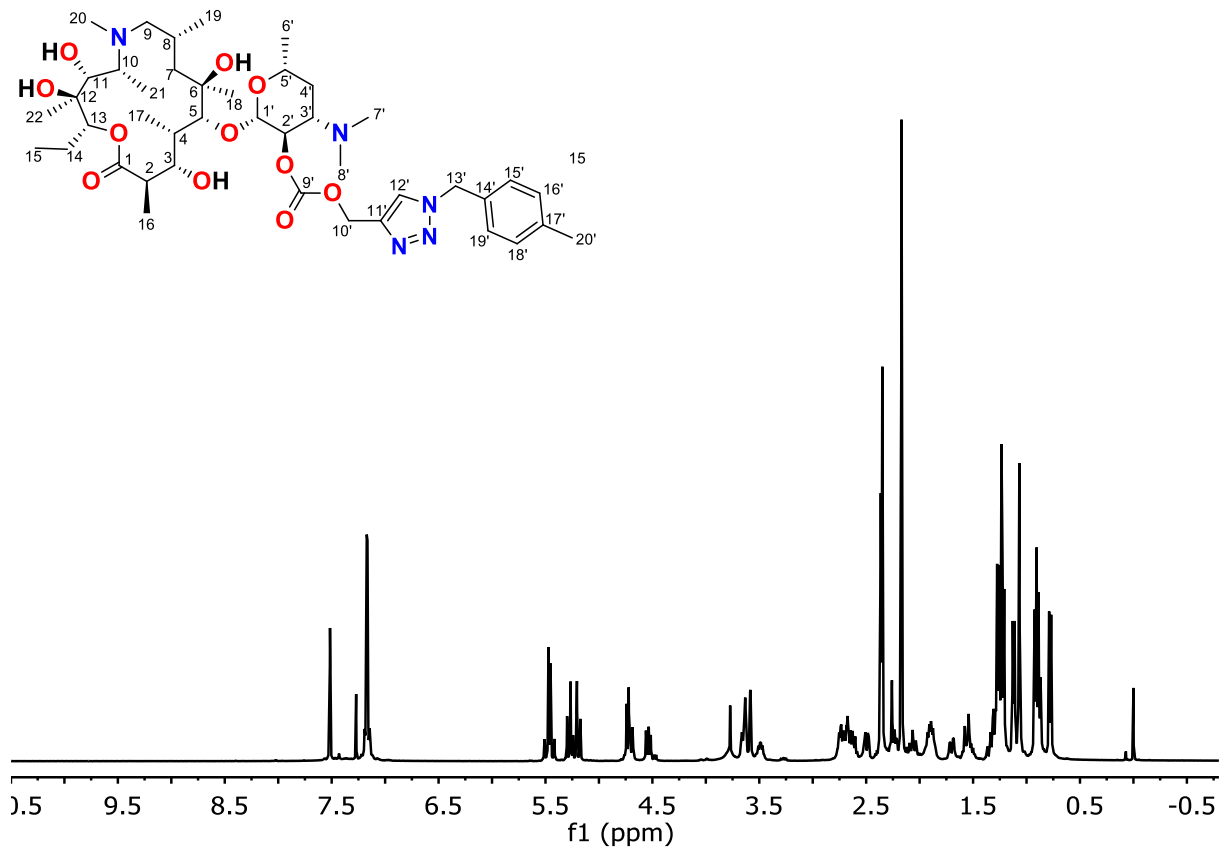
AZM-4



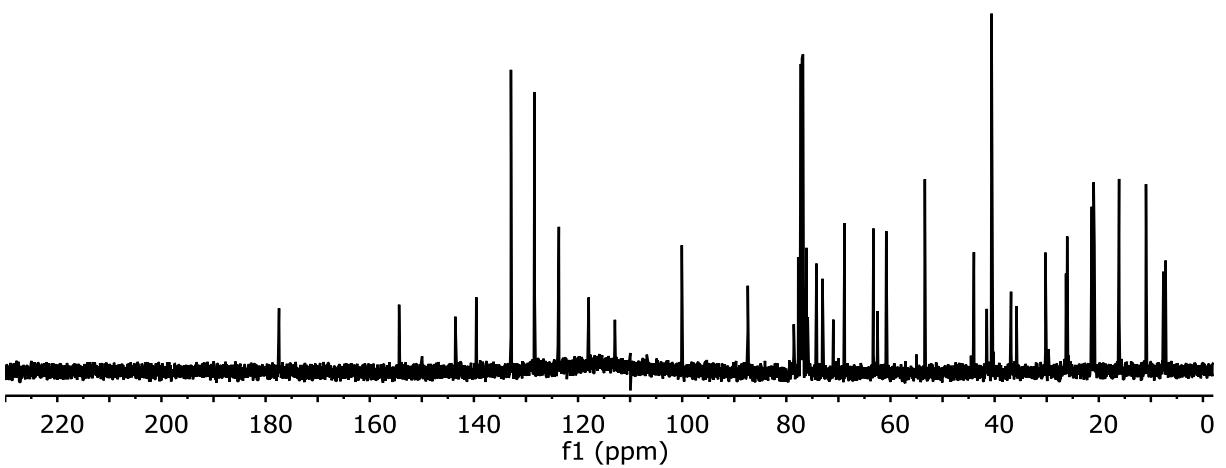
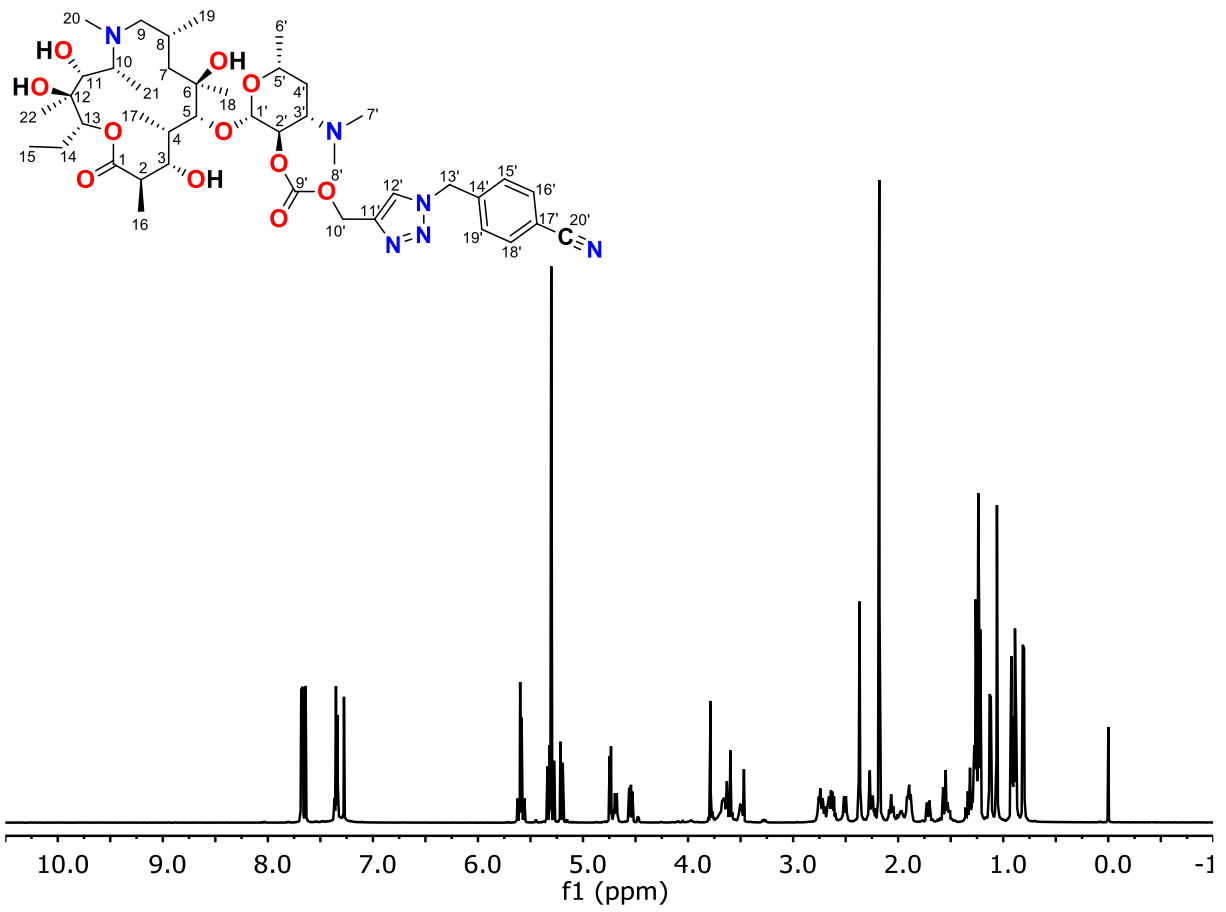
AZM-5



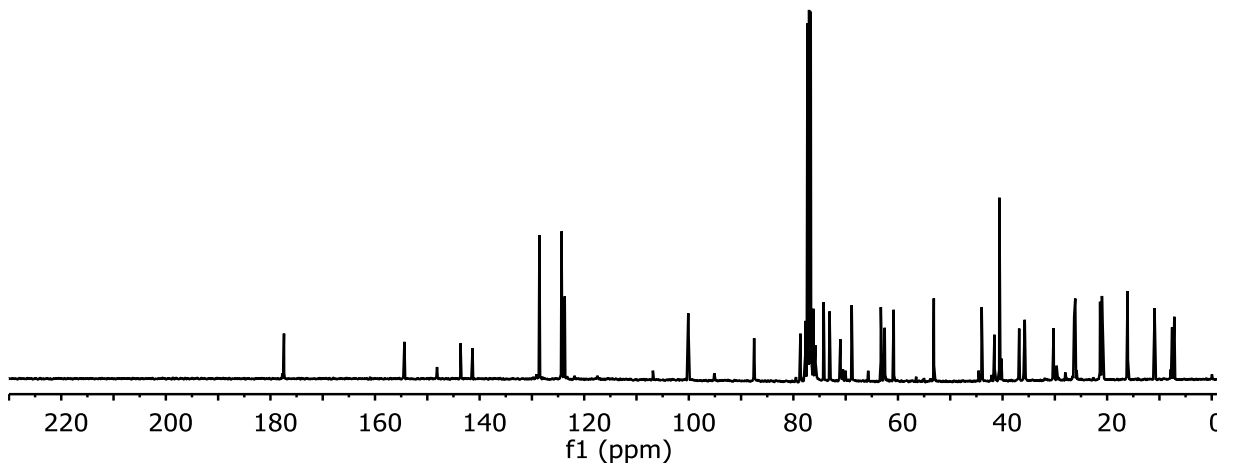
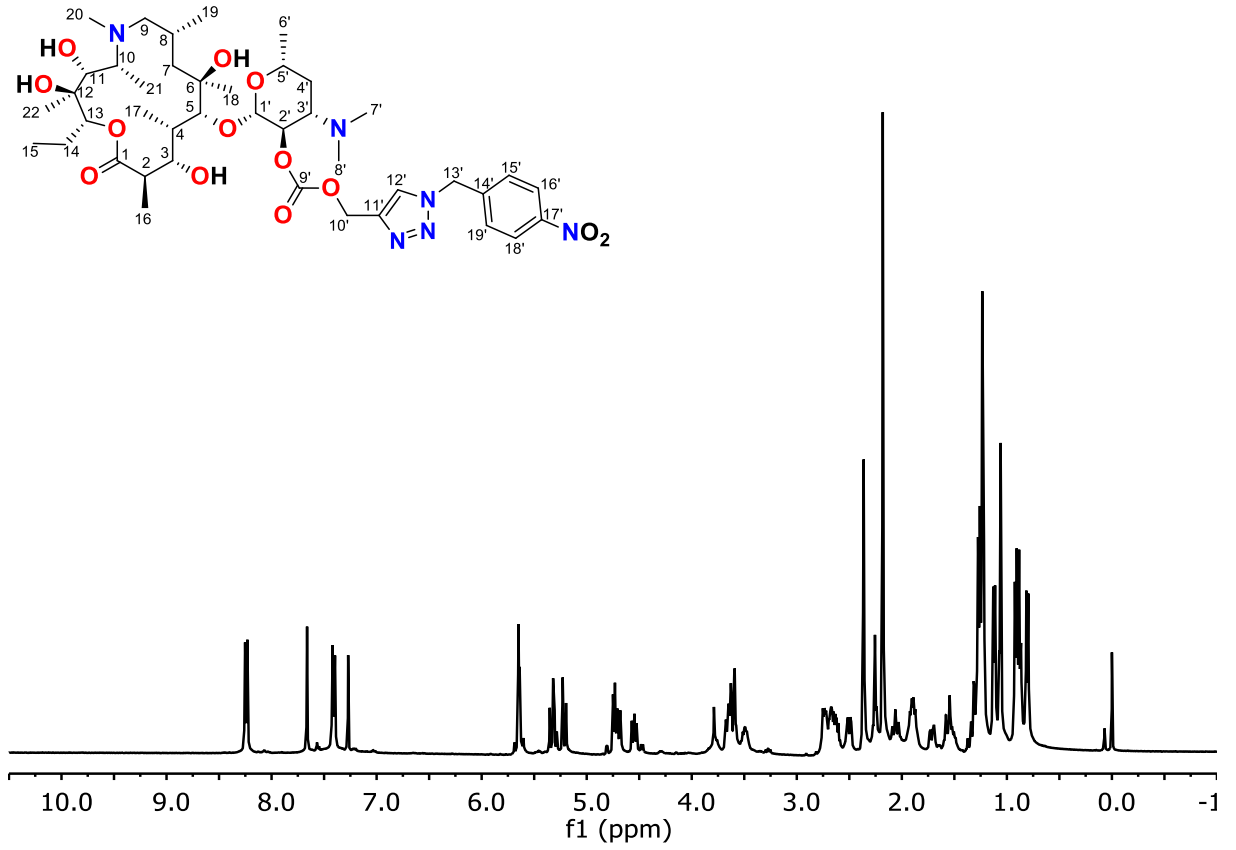
AZM-6



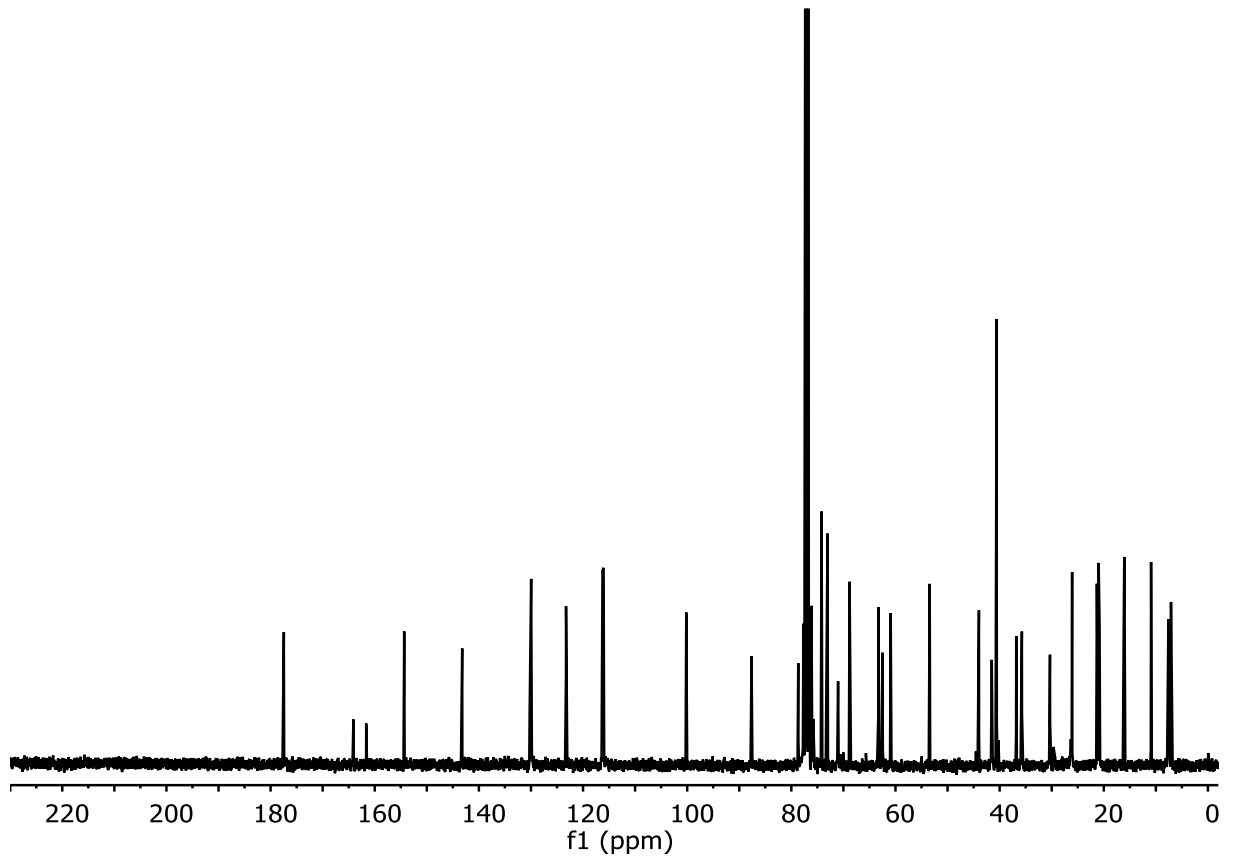
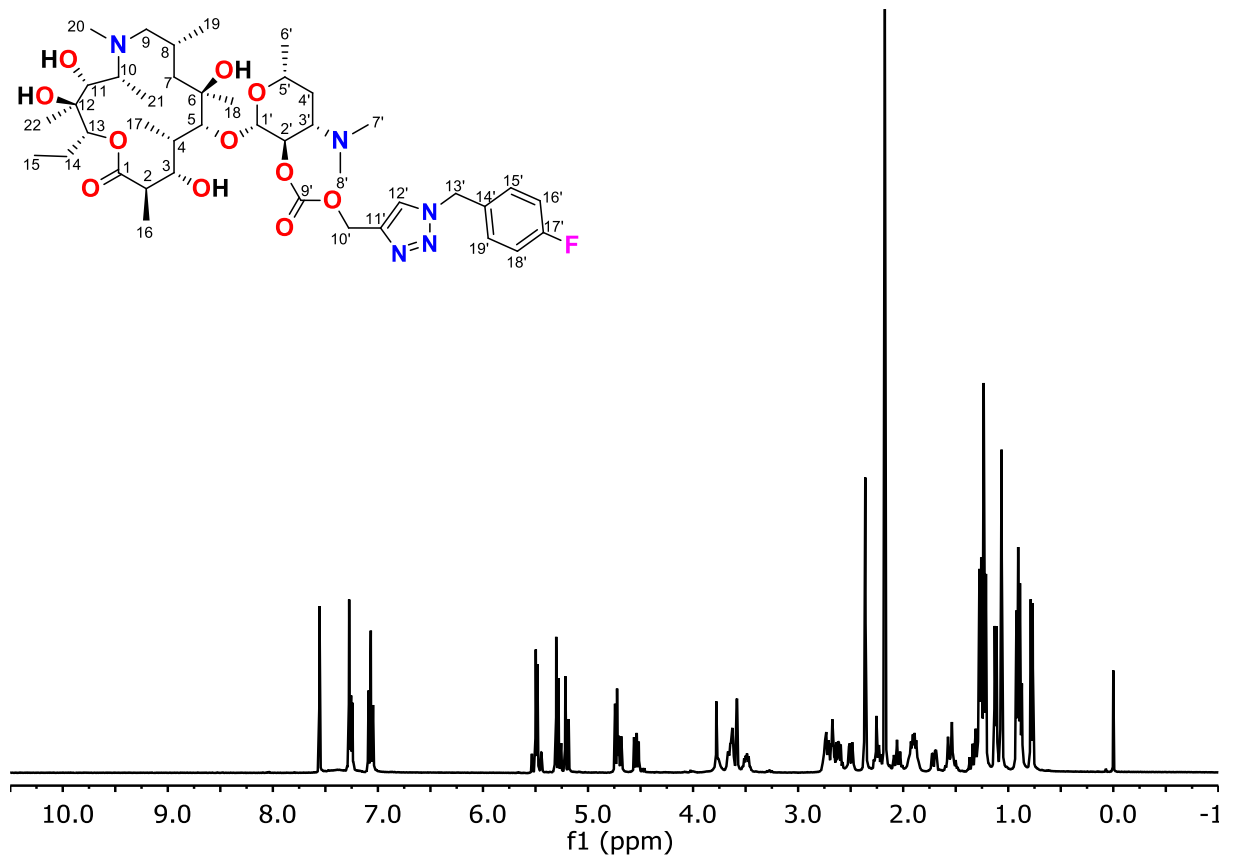
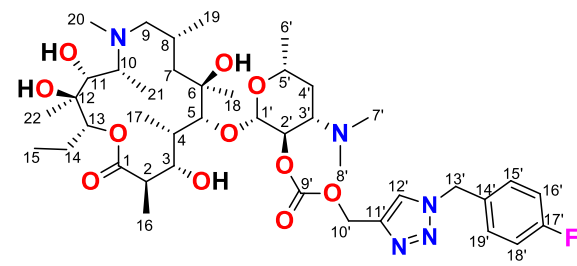
AZM-7



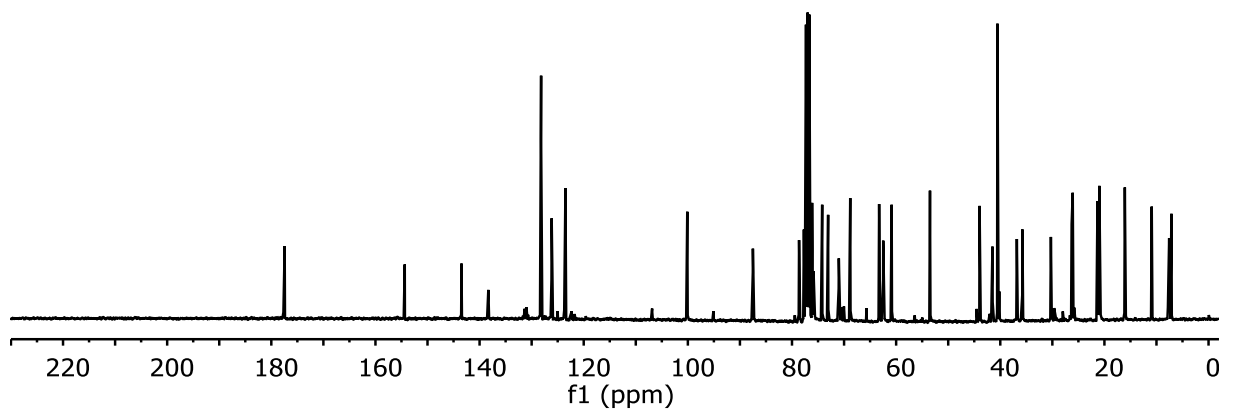
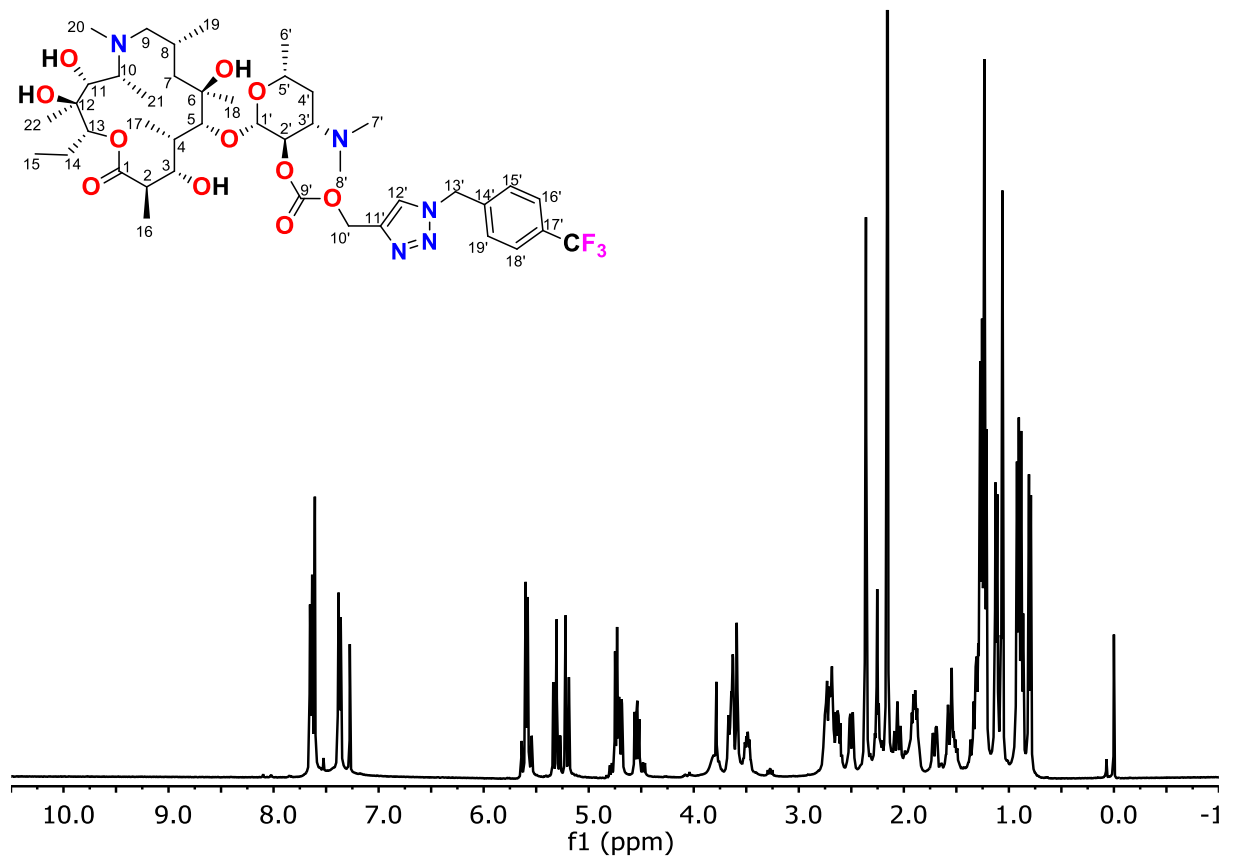
AZM-8



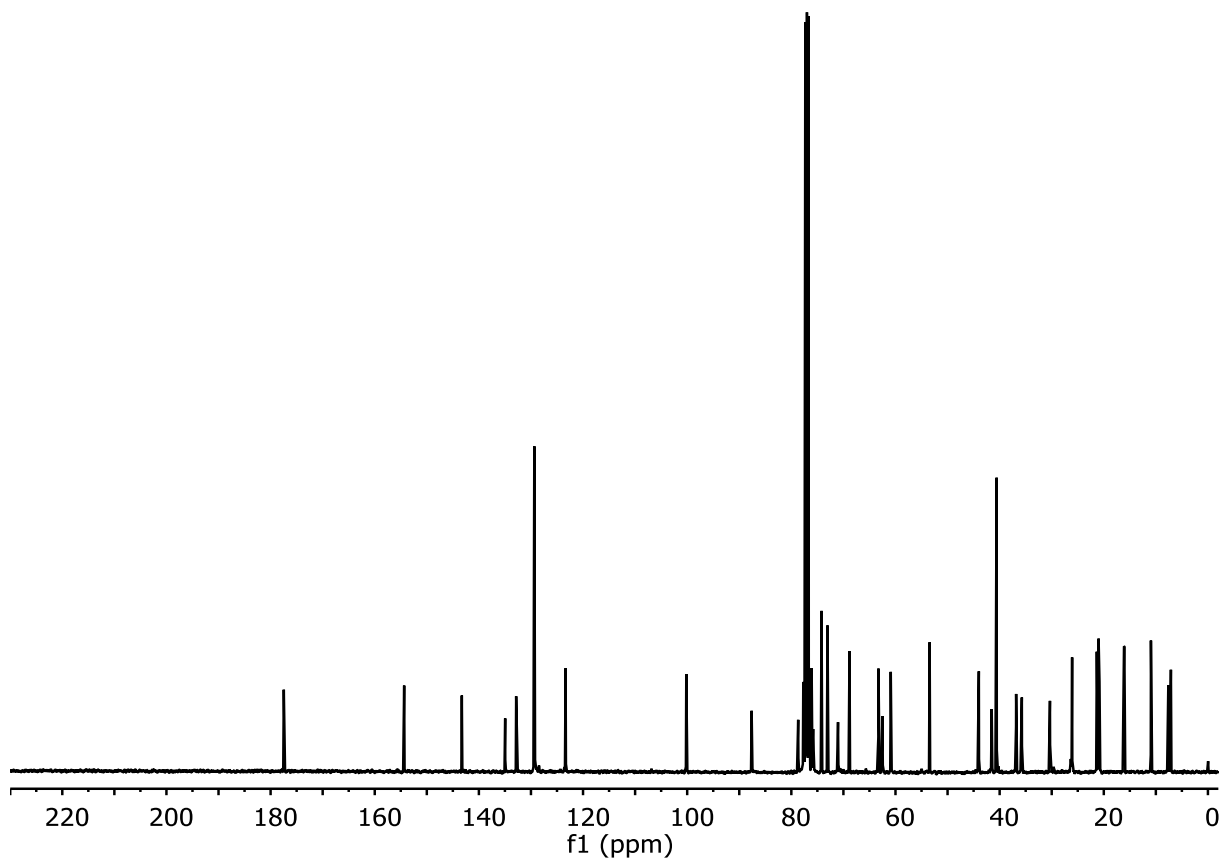
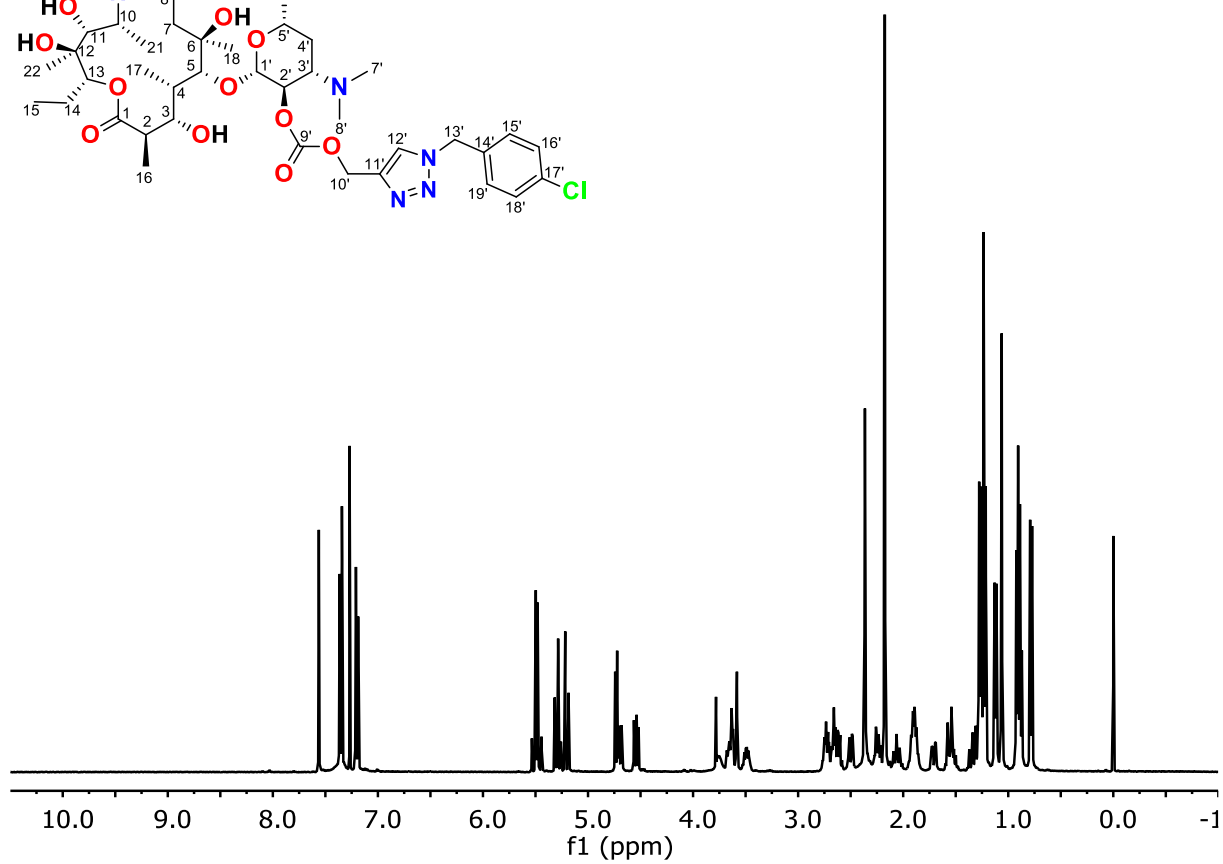
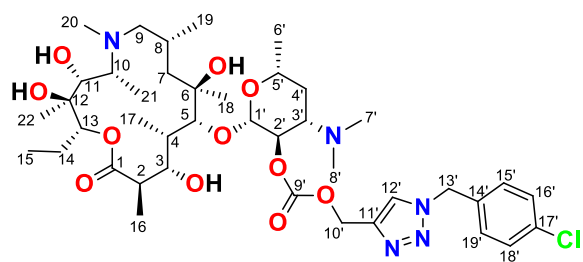
AZM-9



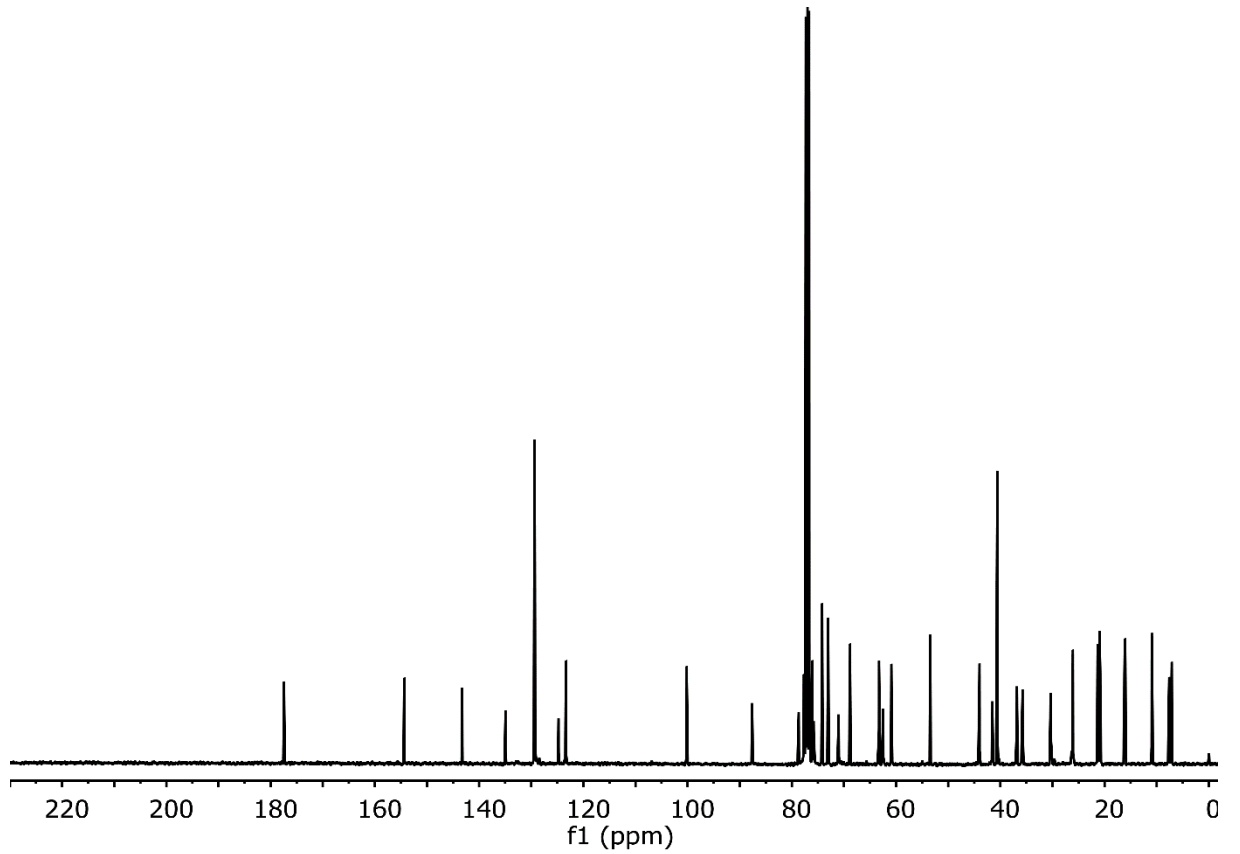
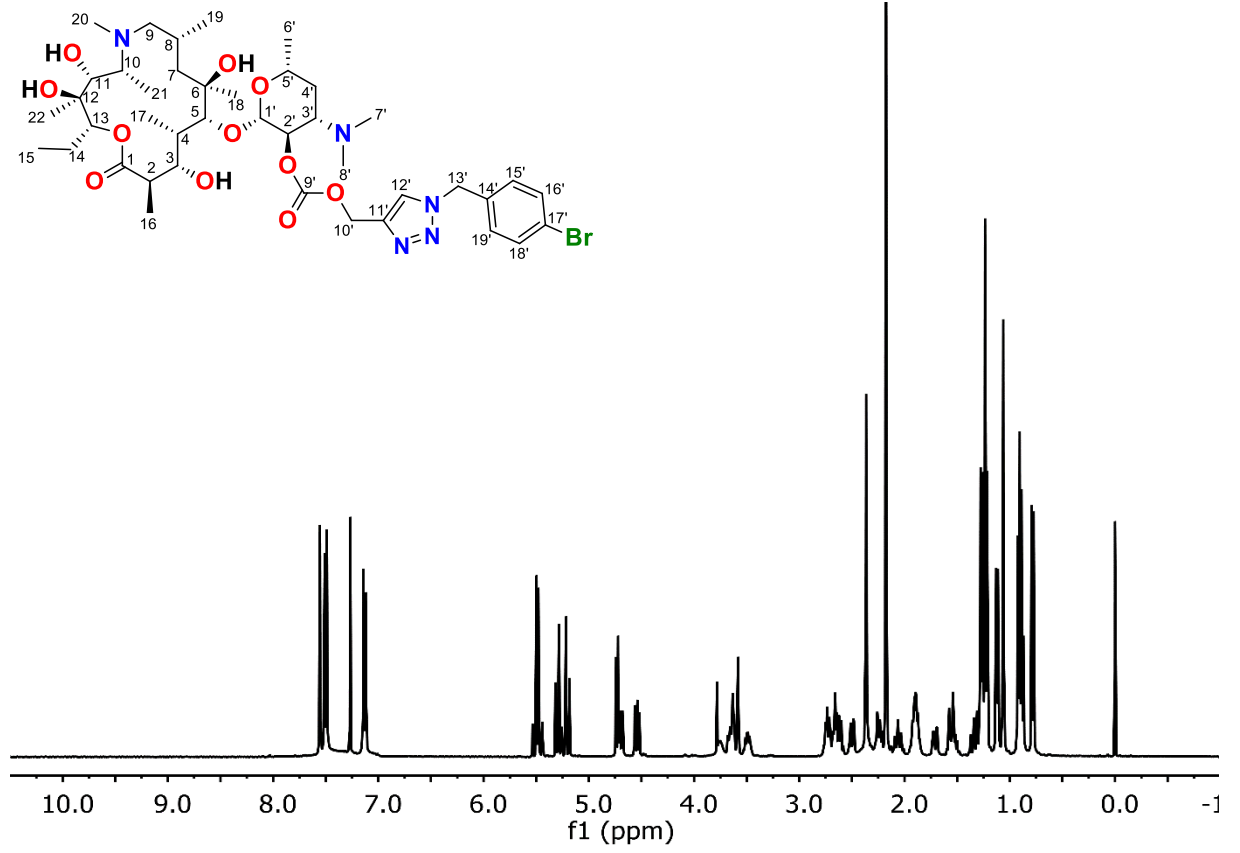
AZM-10



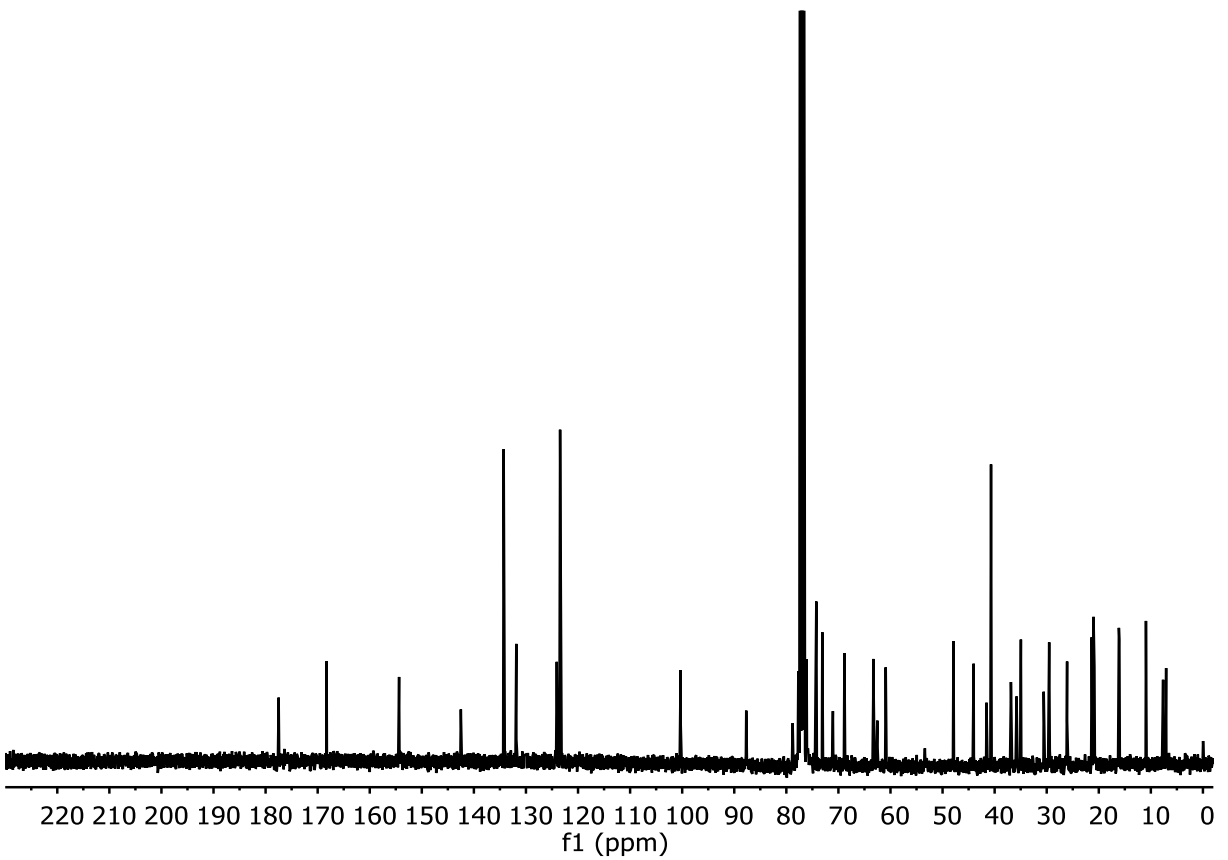
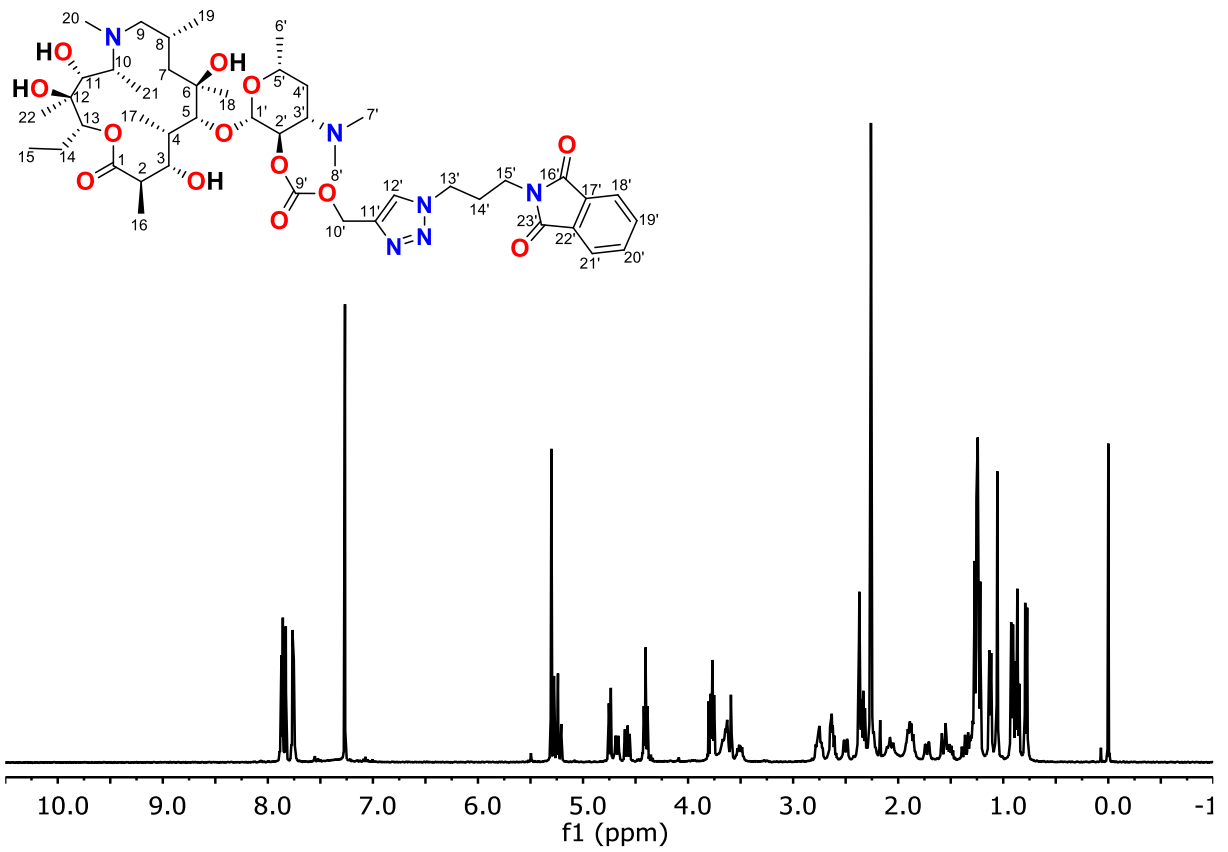
AZM-11



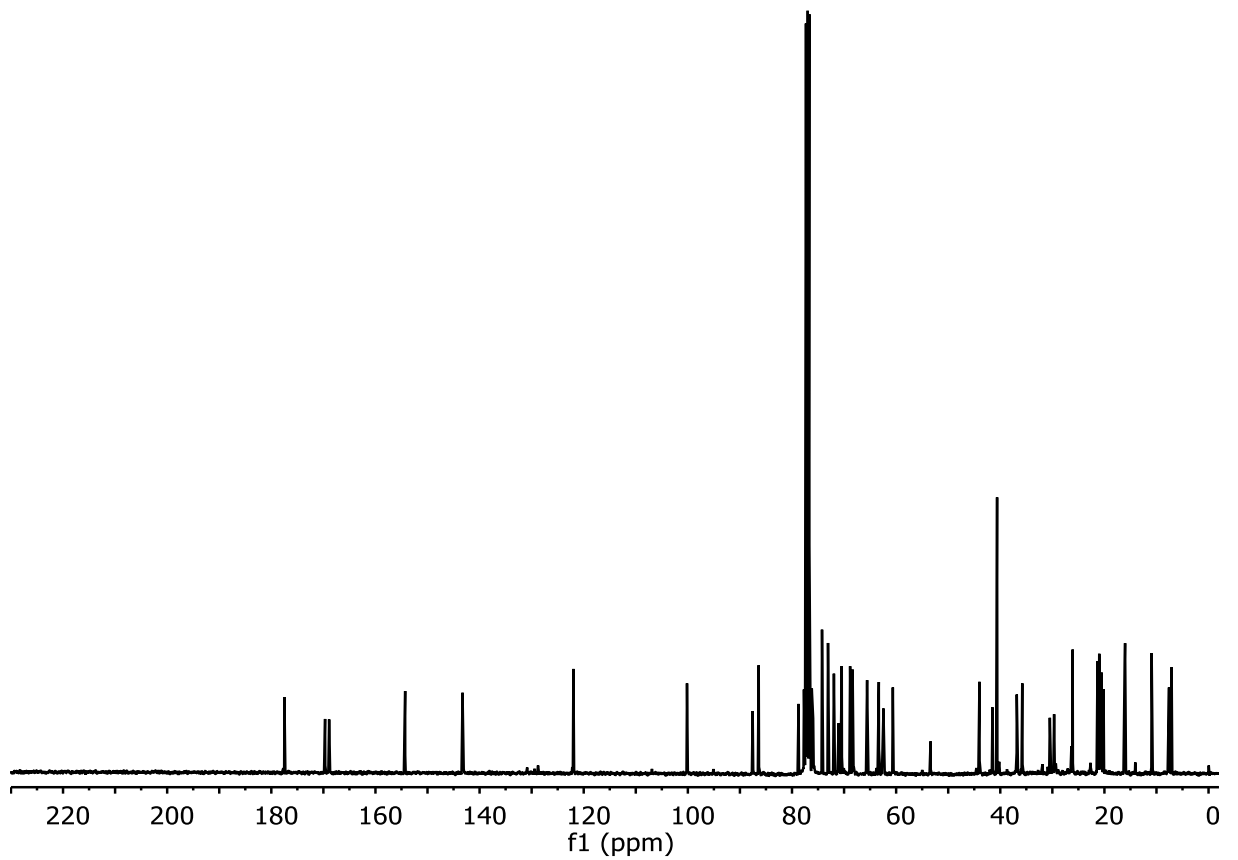
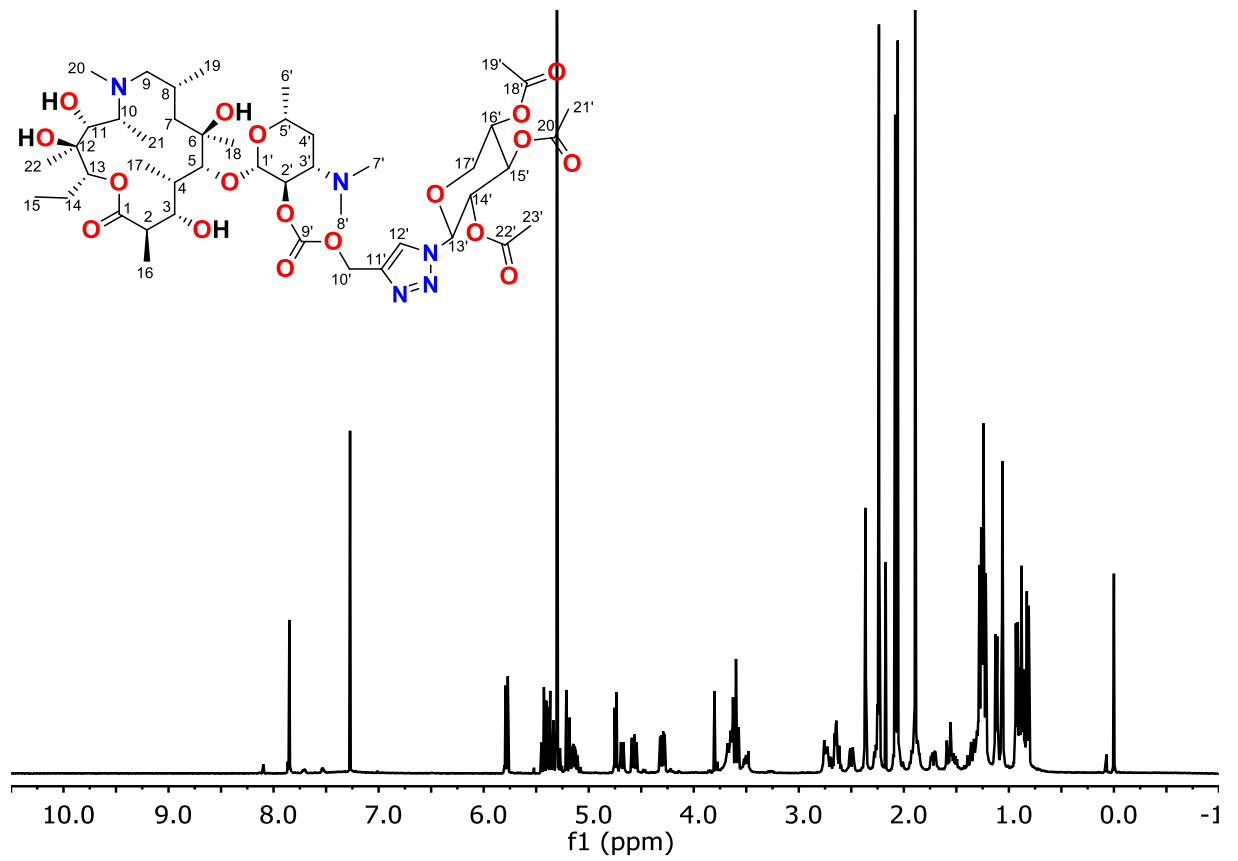
AZM-12



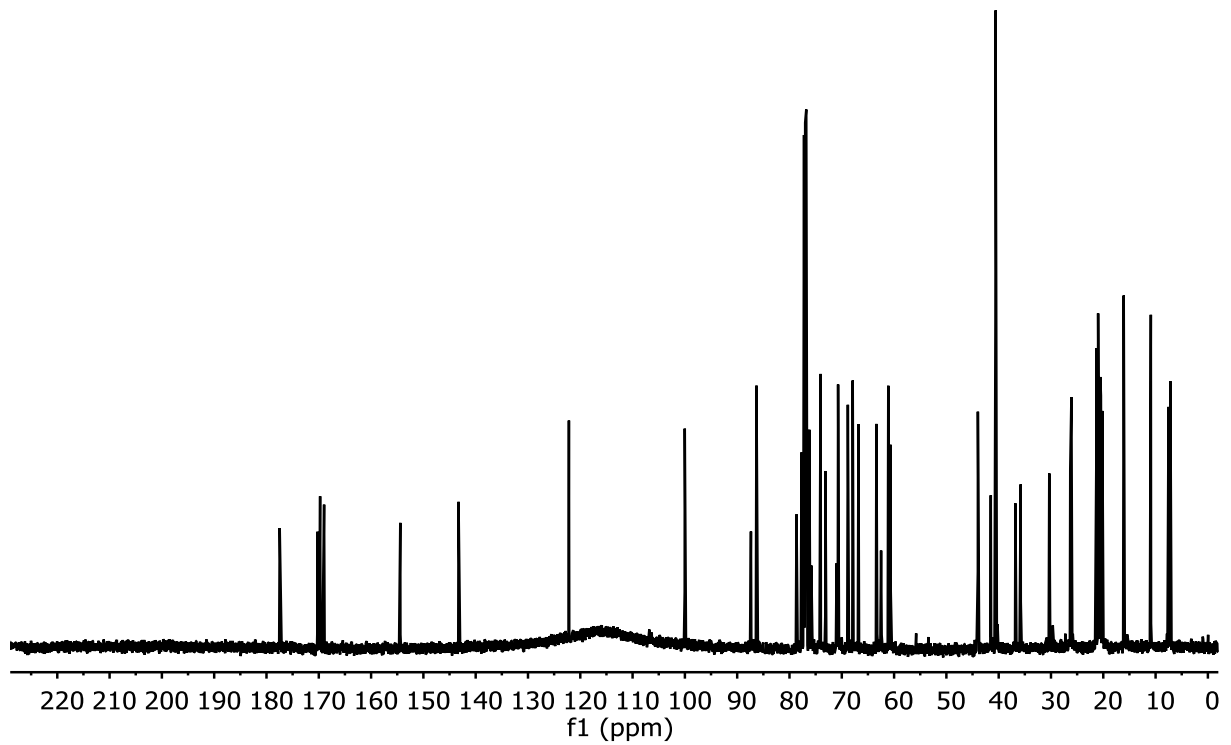
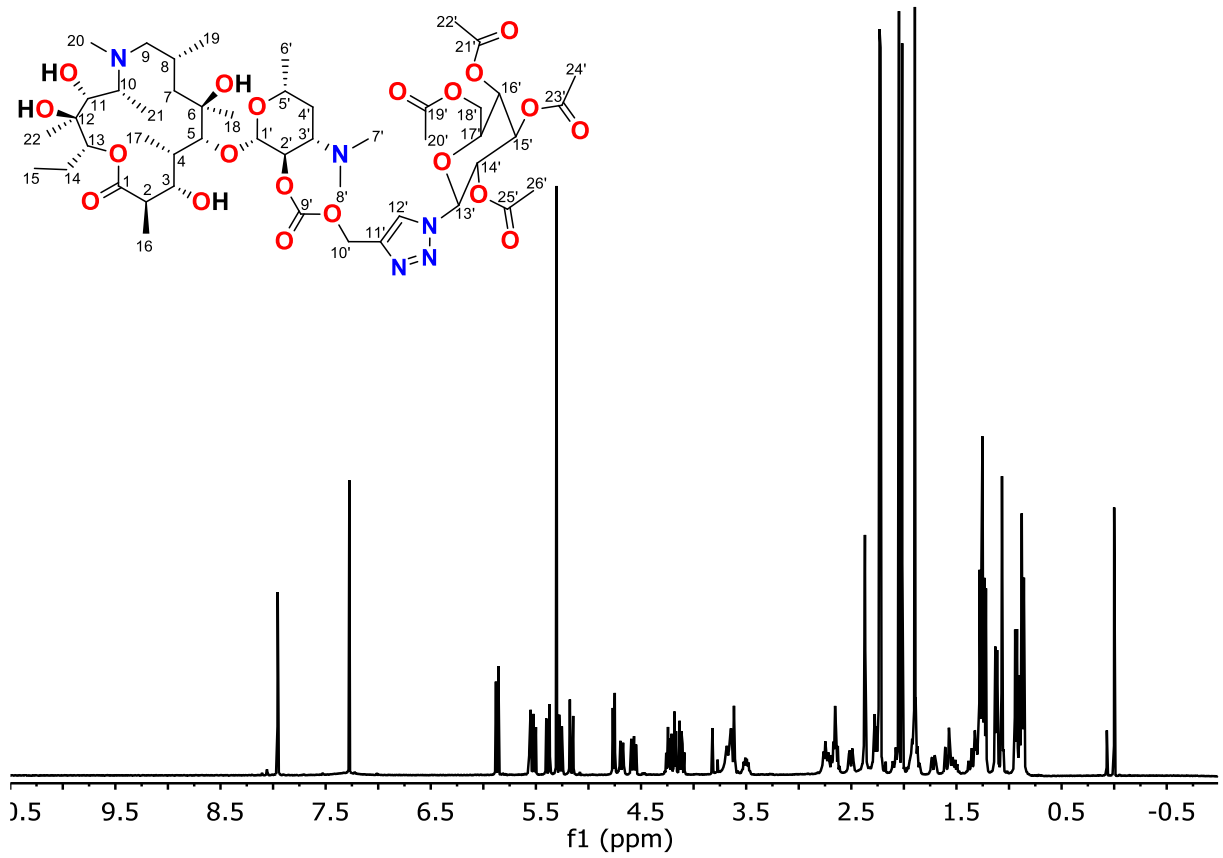
AZM-13



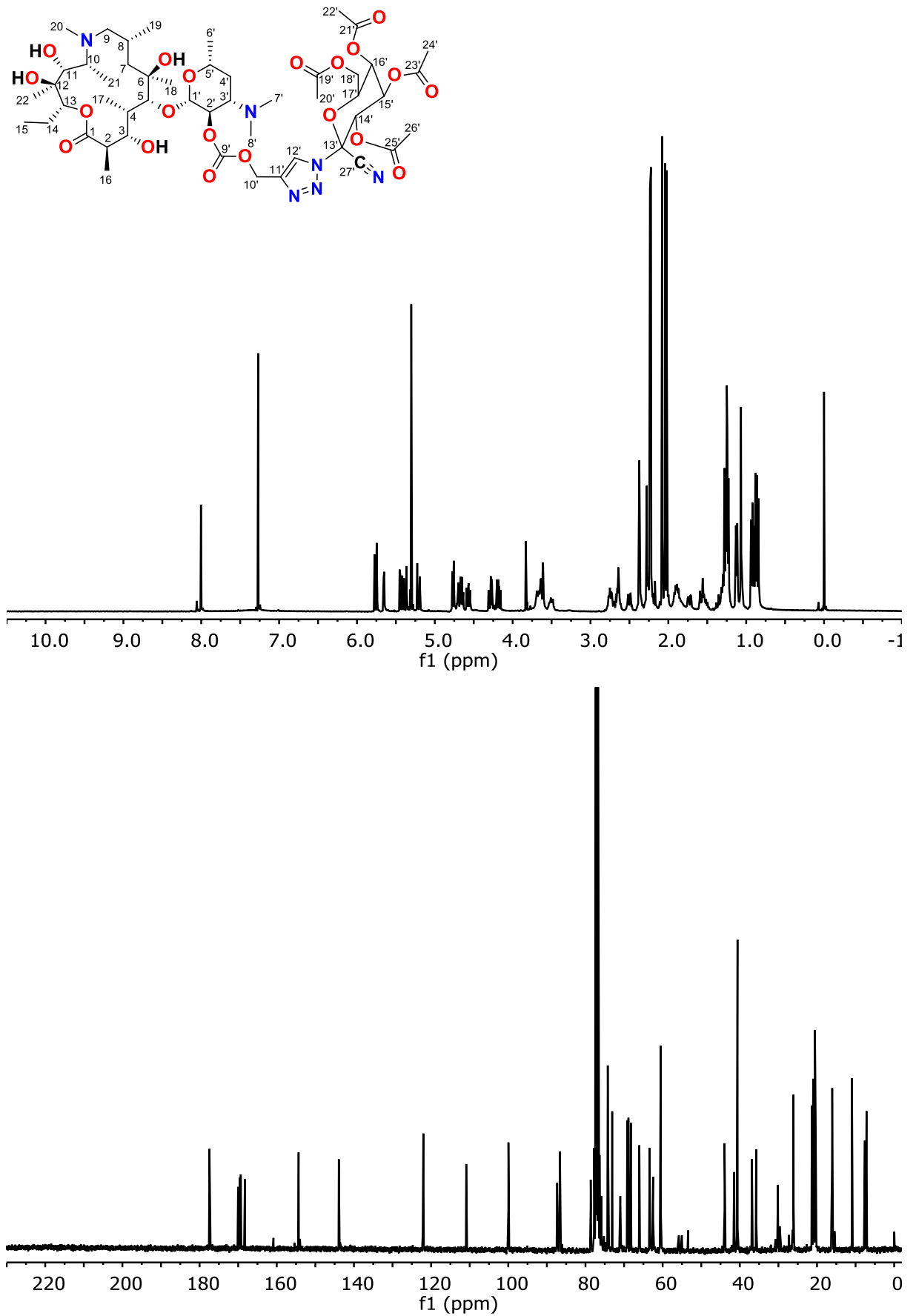
AZM-14



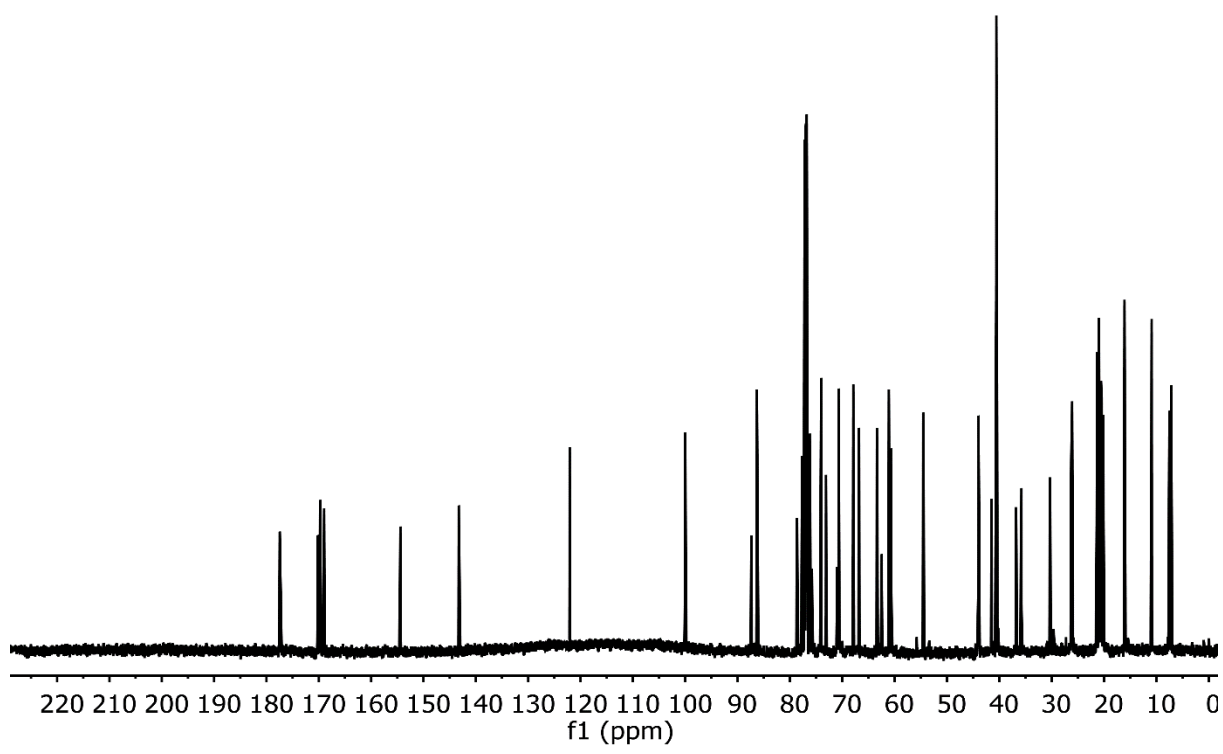
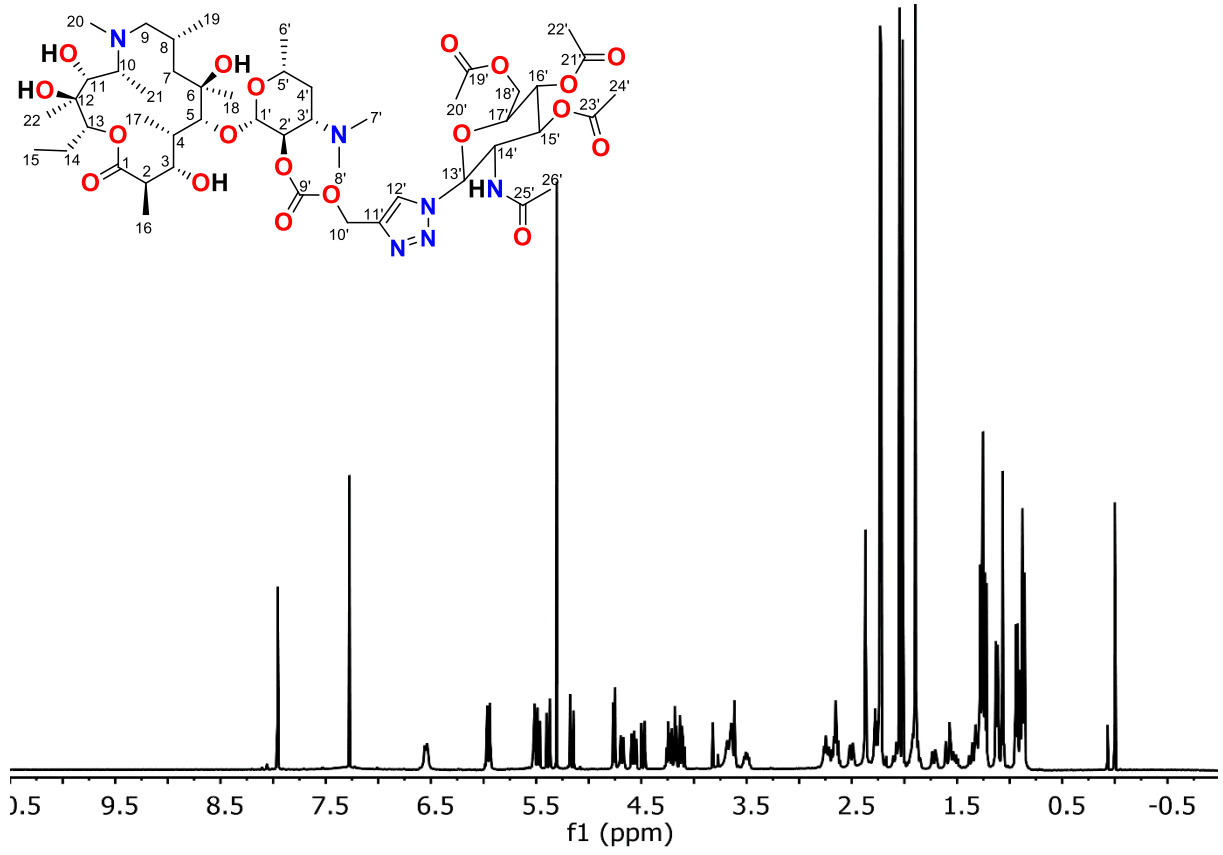
AZM-15



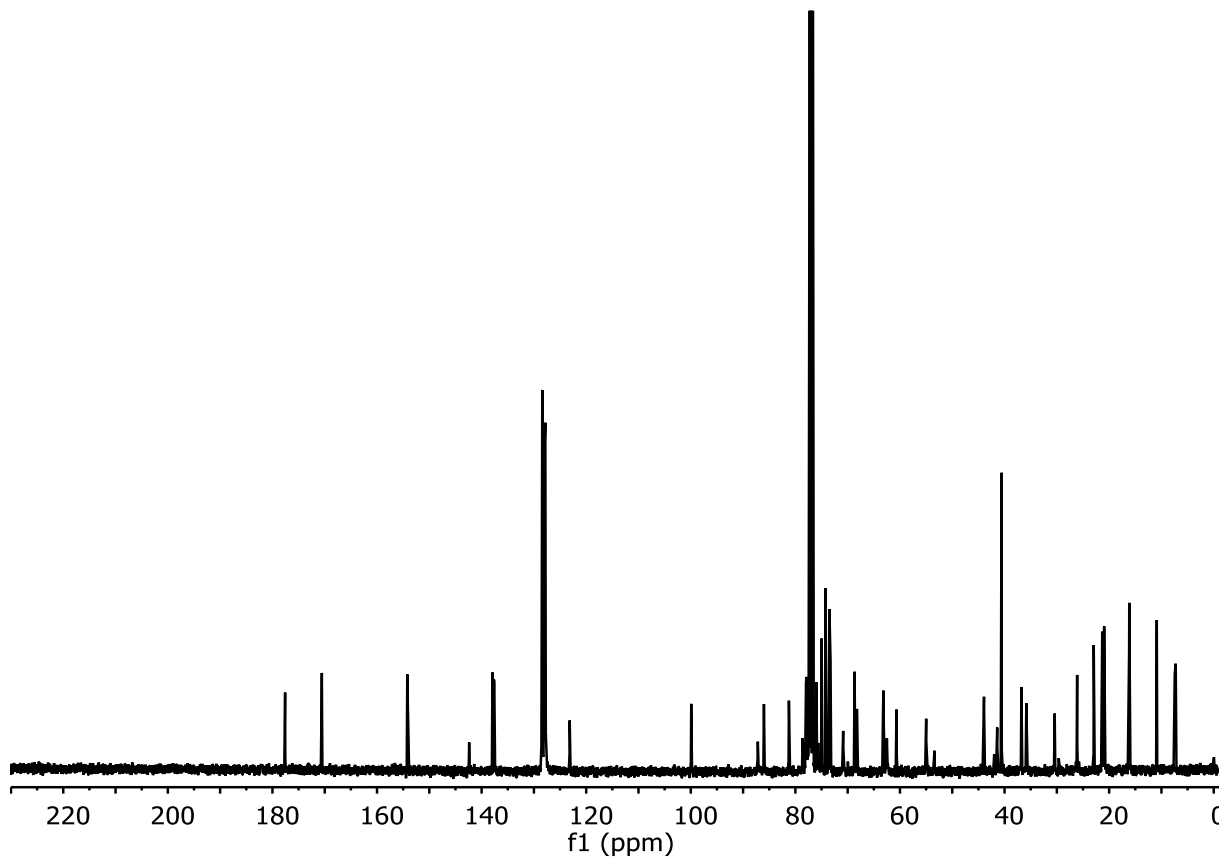
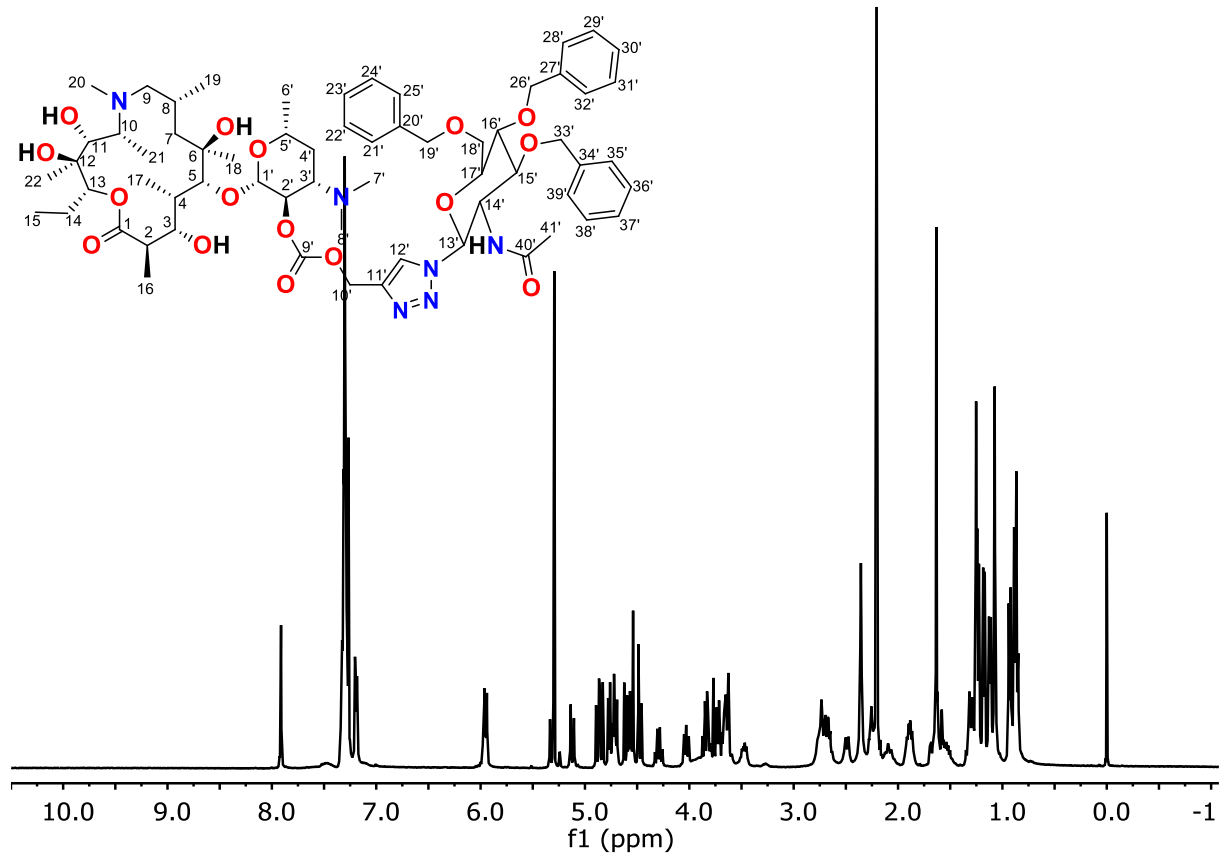
AZM-16



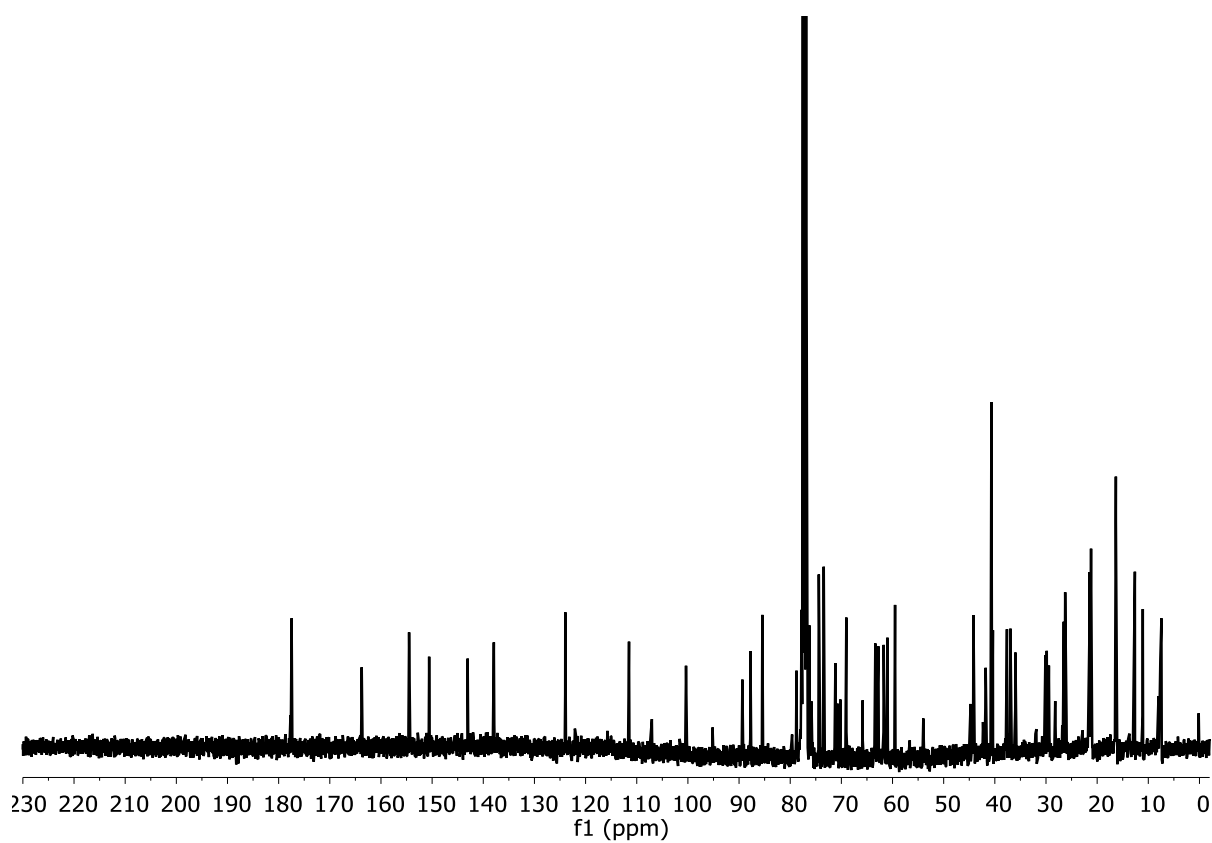
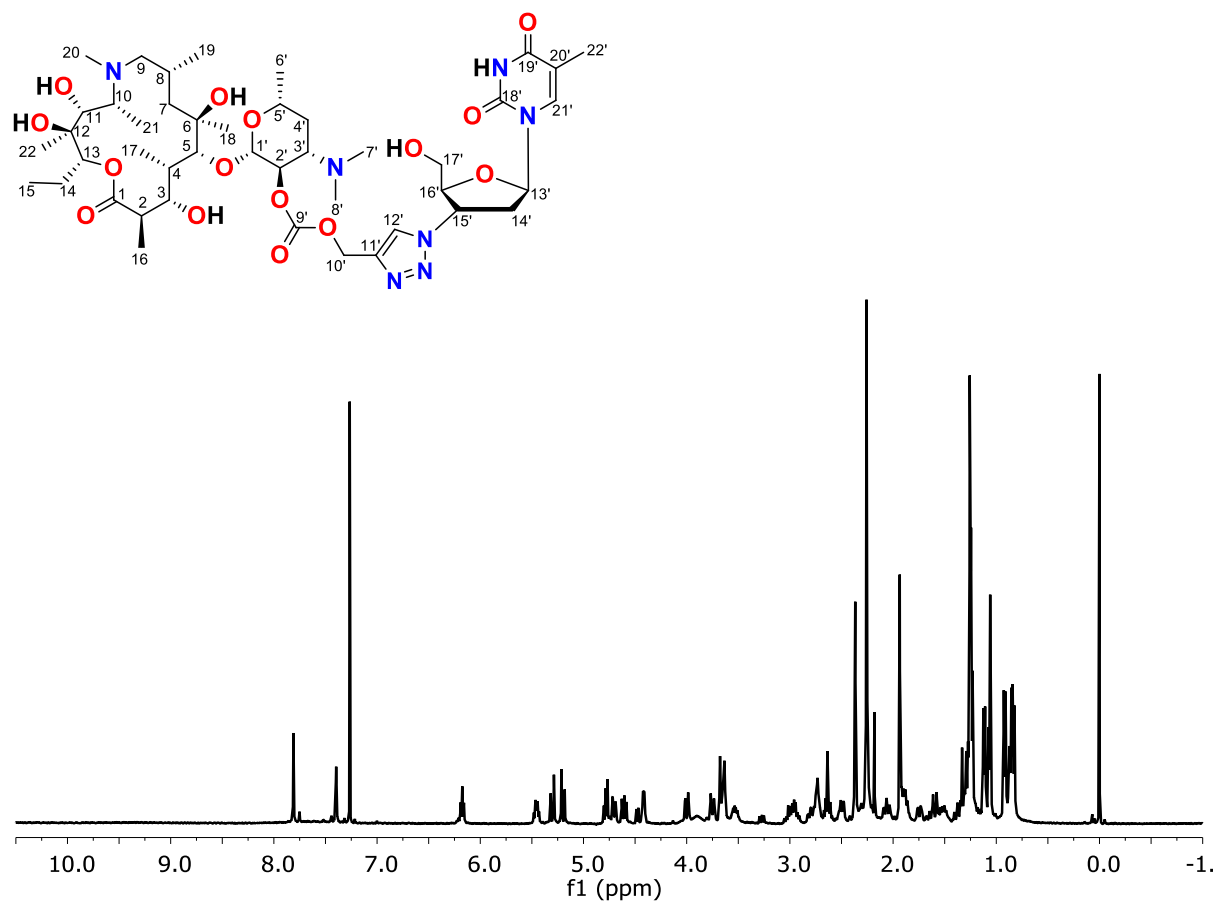
AZM-17



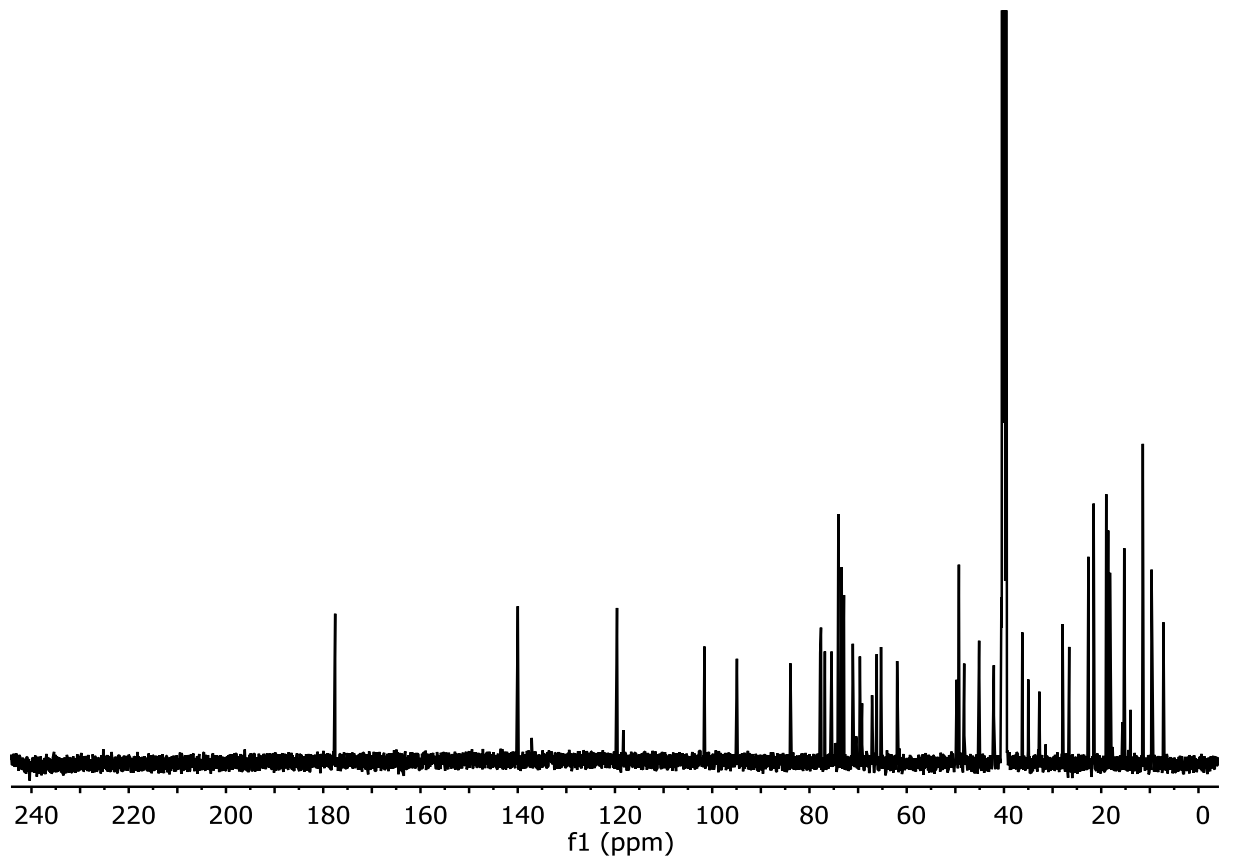
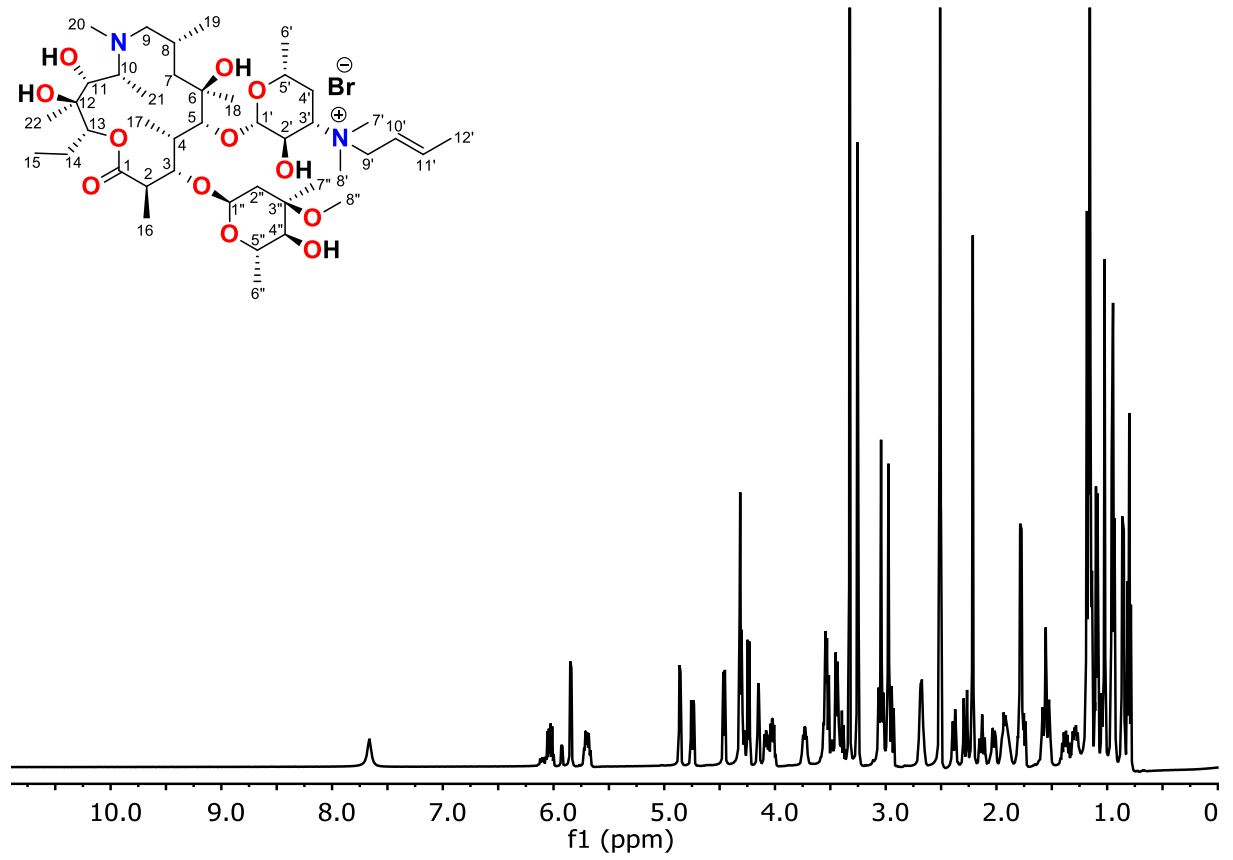
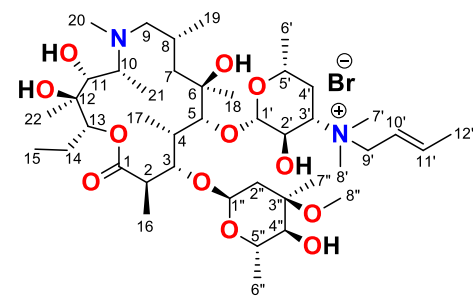
AZM-18



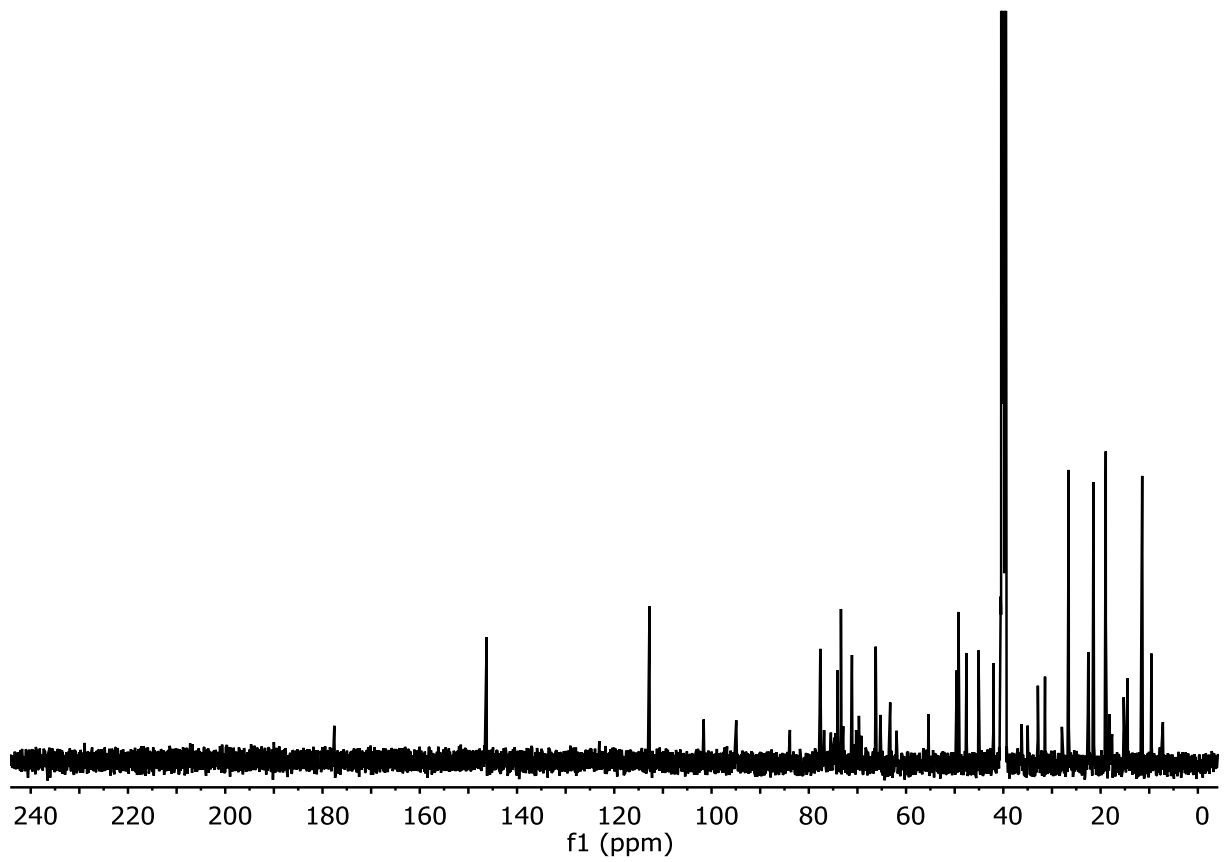
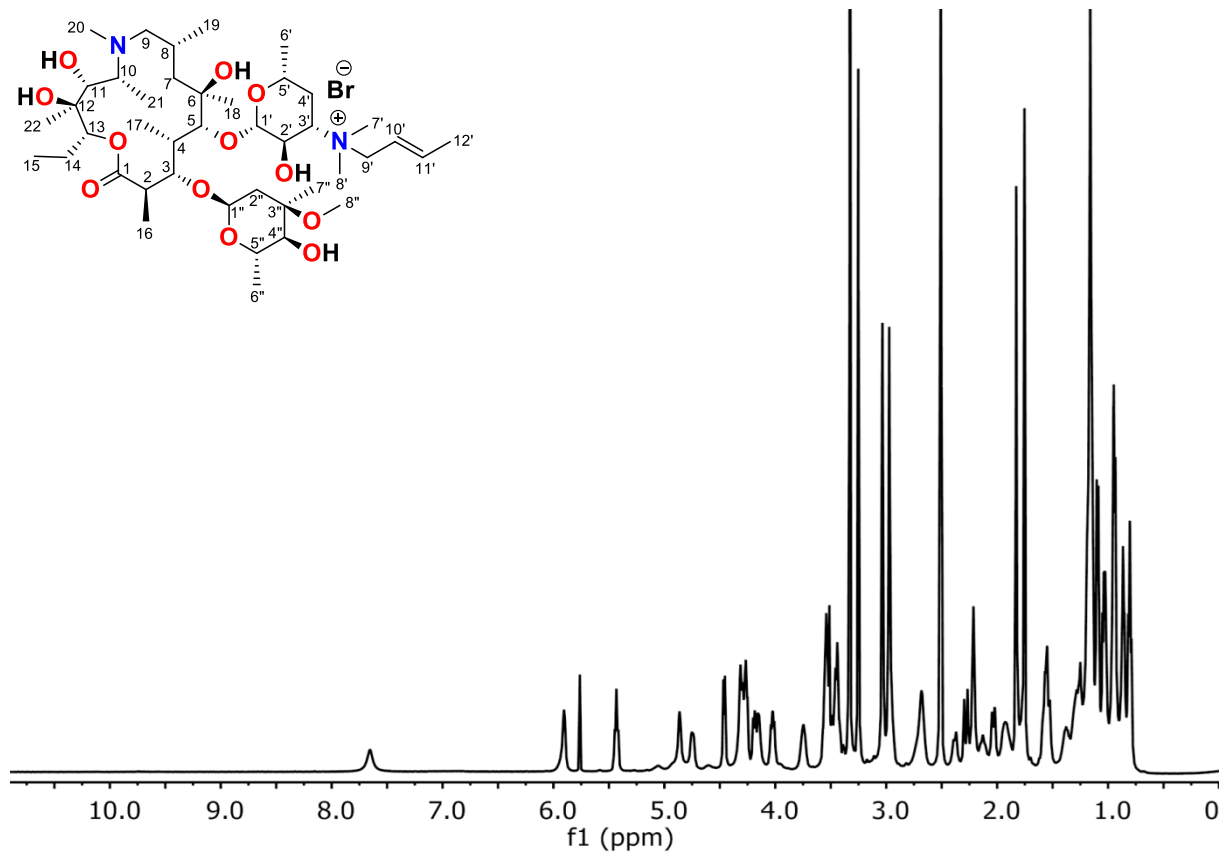
AZM-19



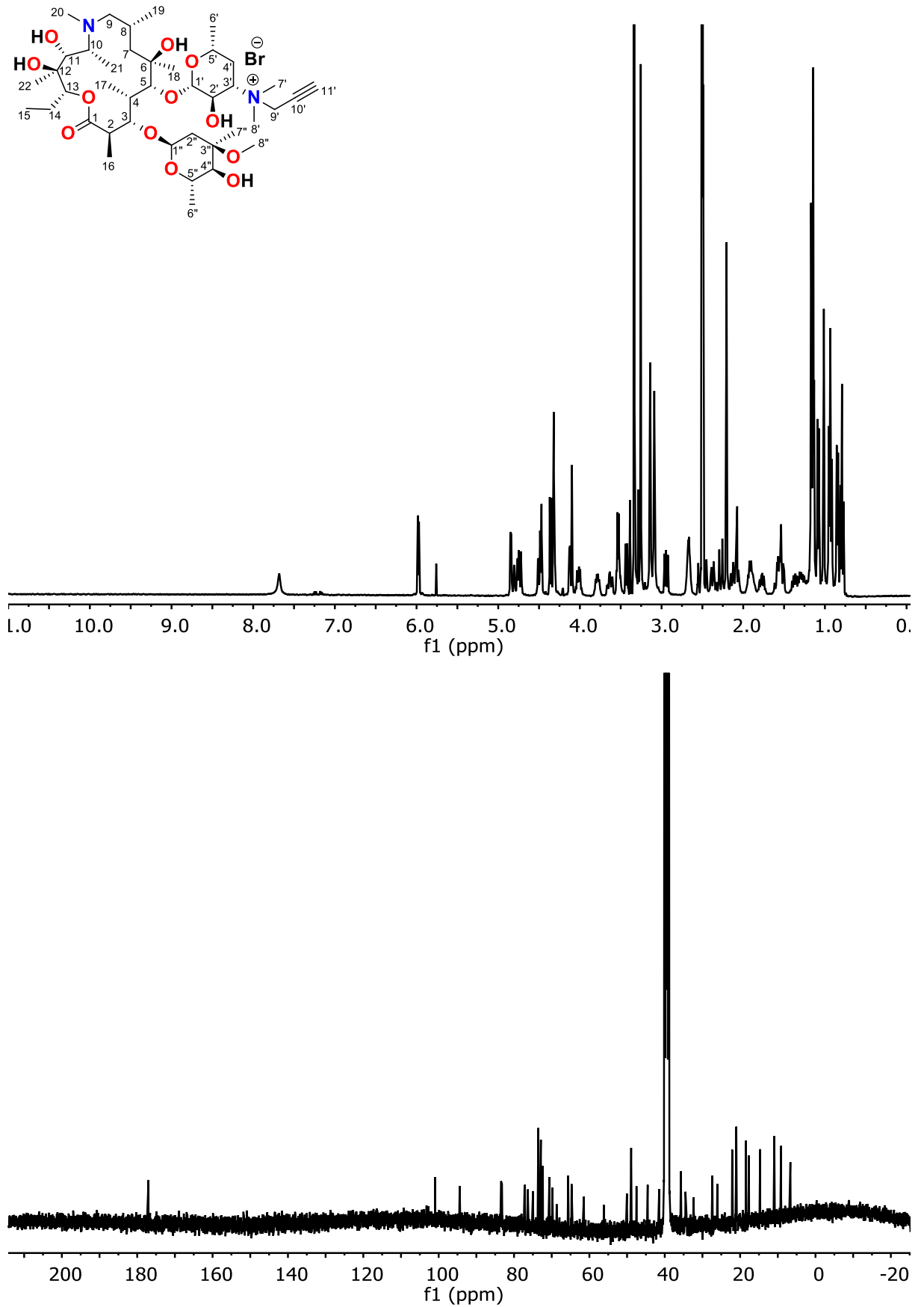
AZM-21



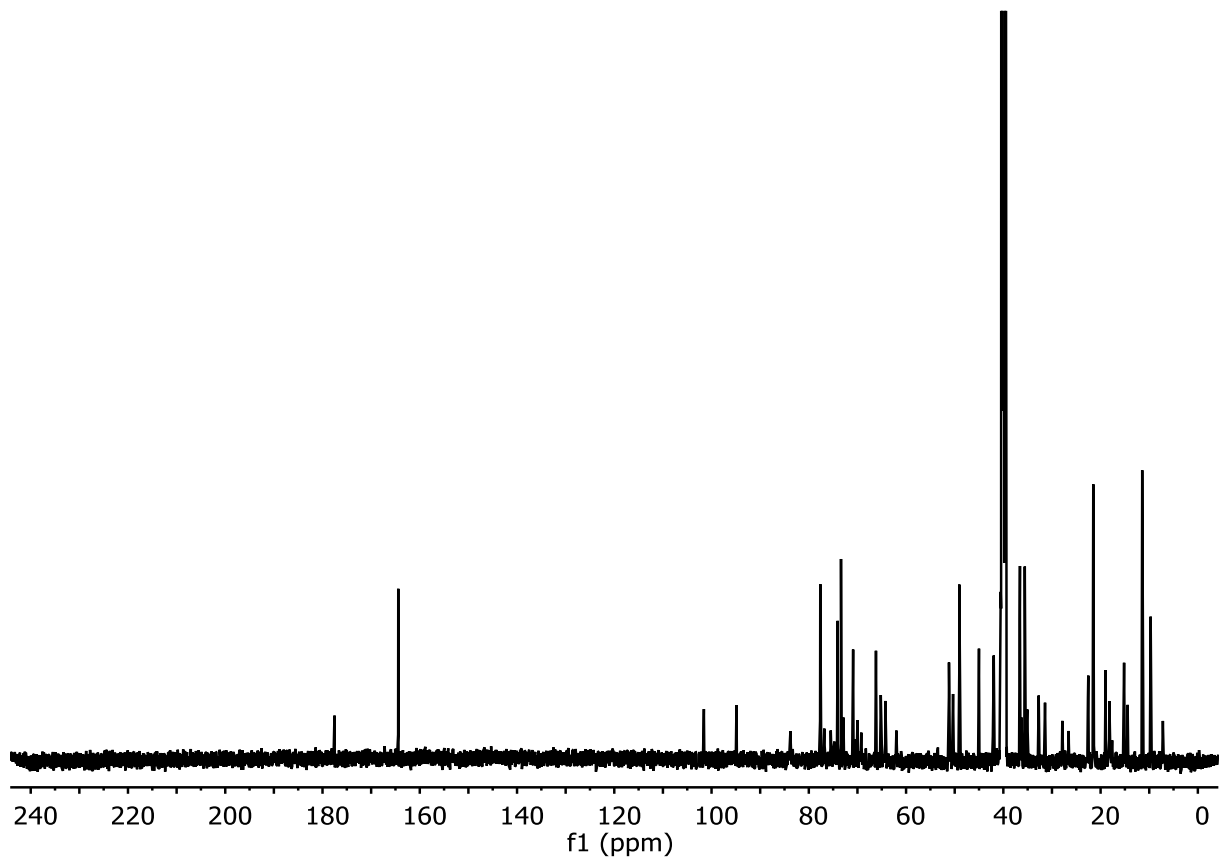
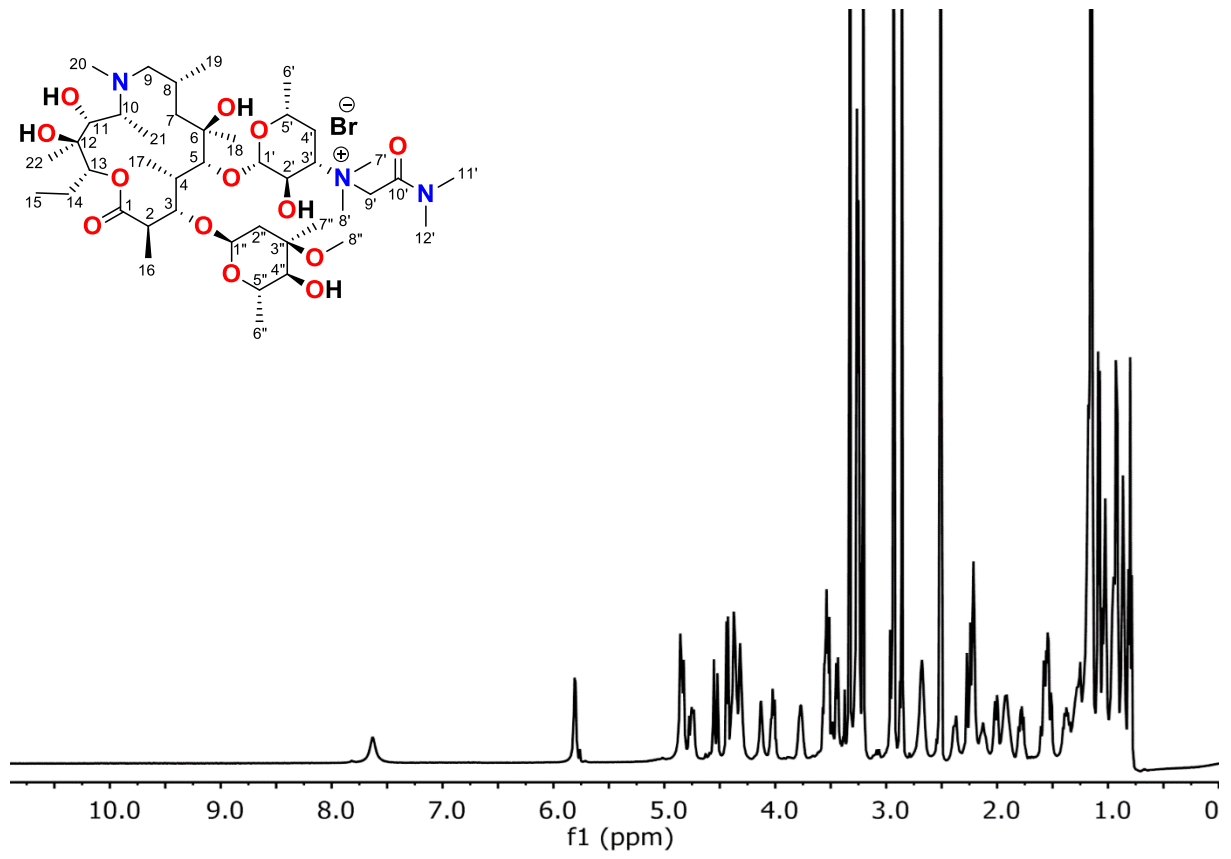
AZM-22



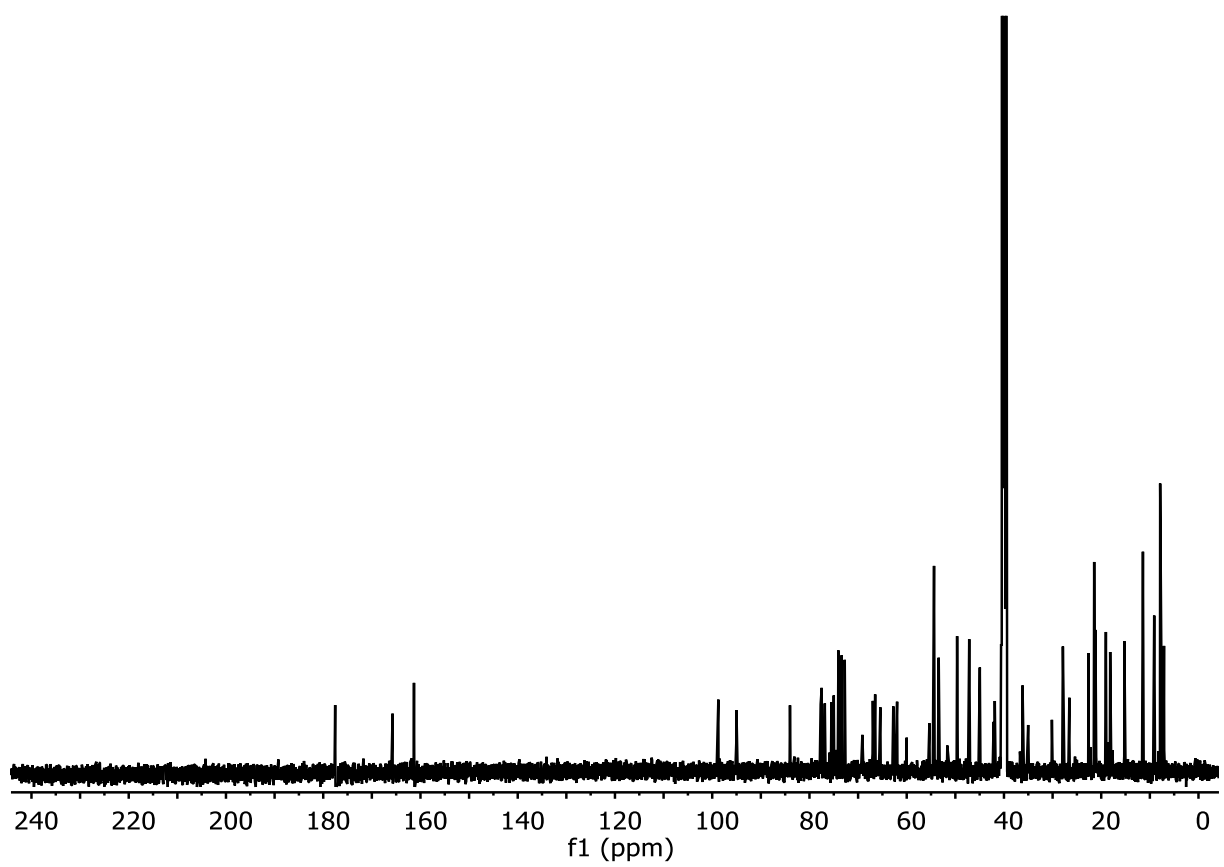
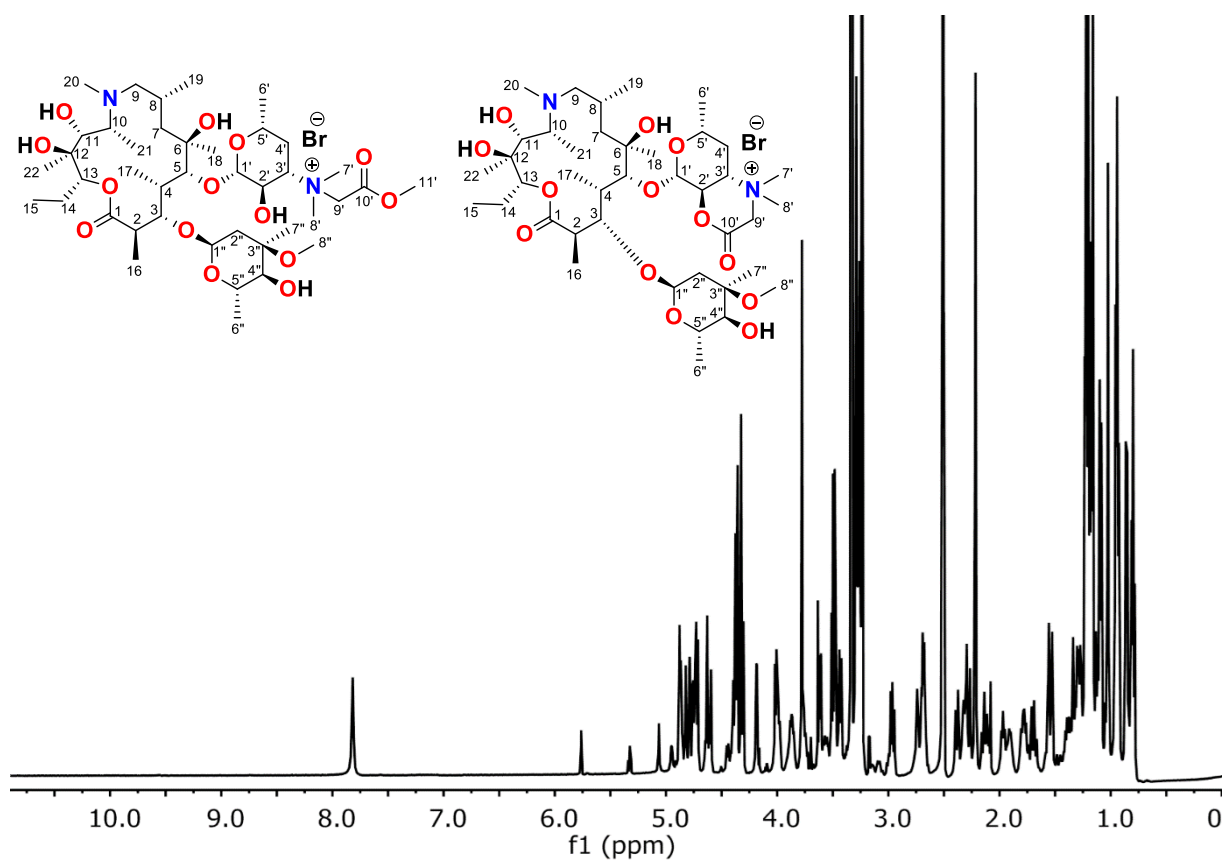
AZM-23



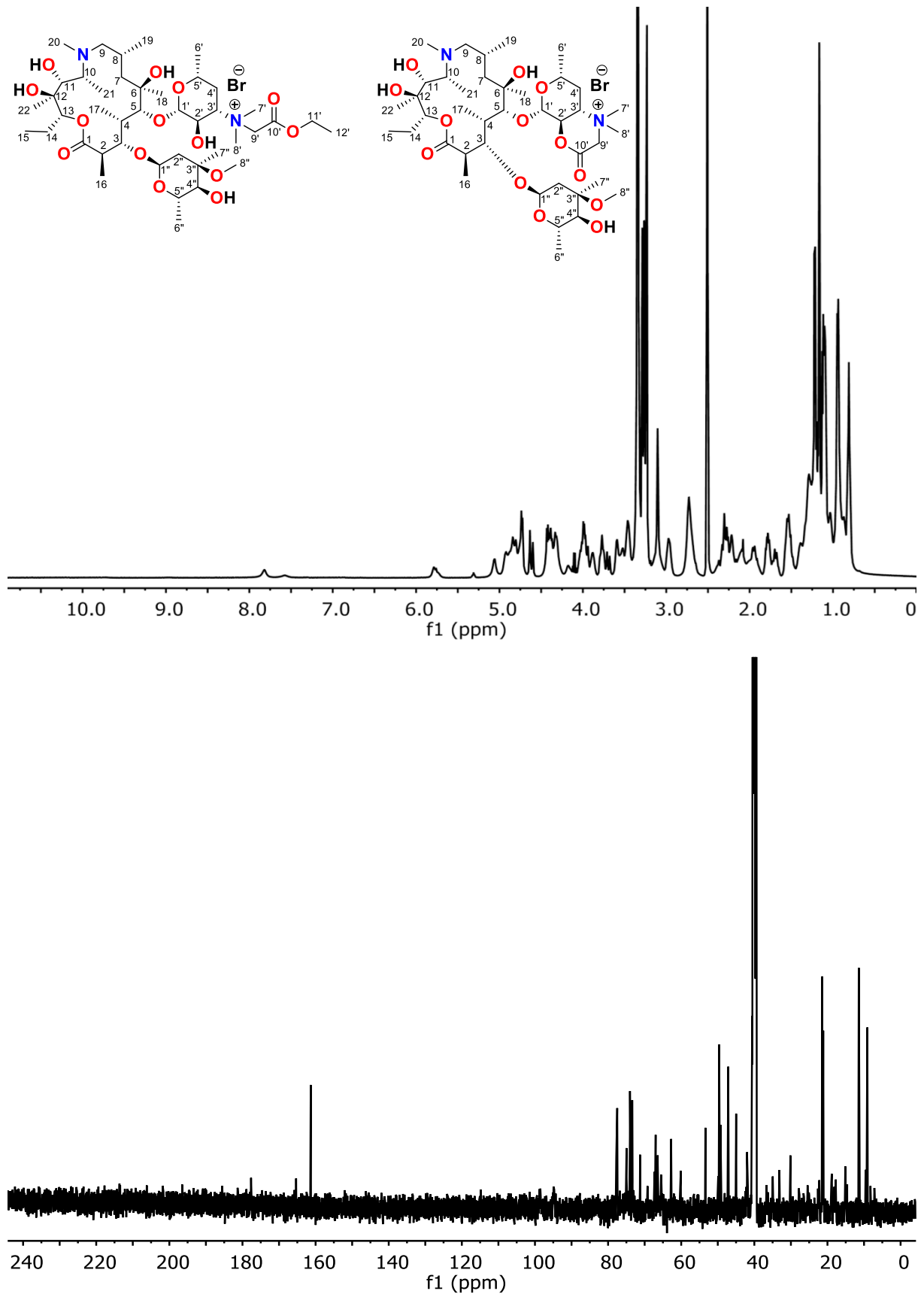
AZM-24



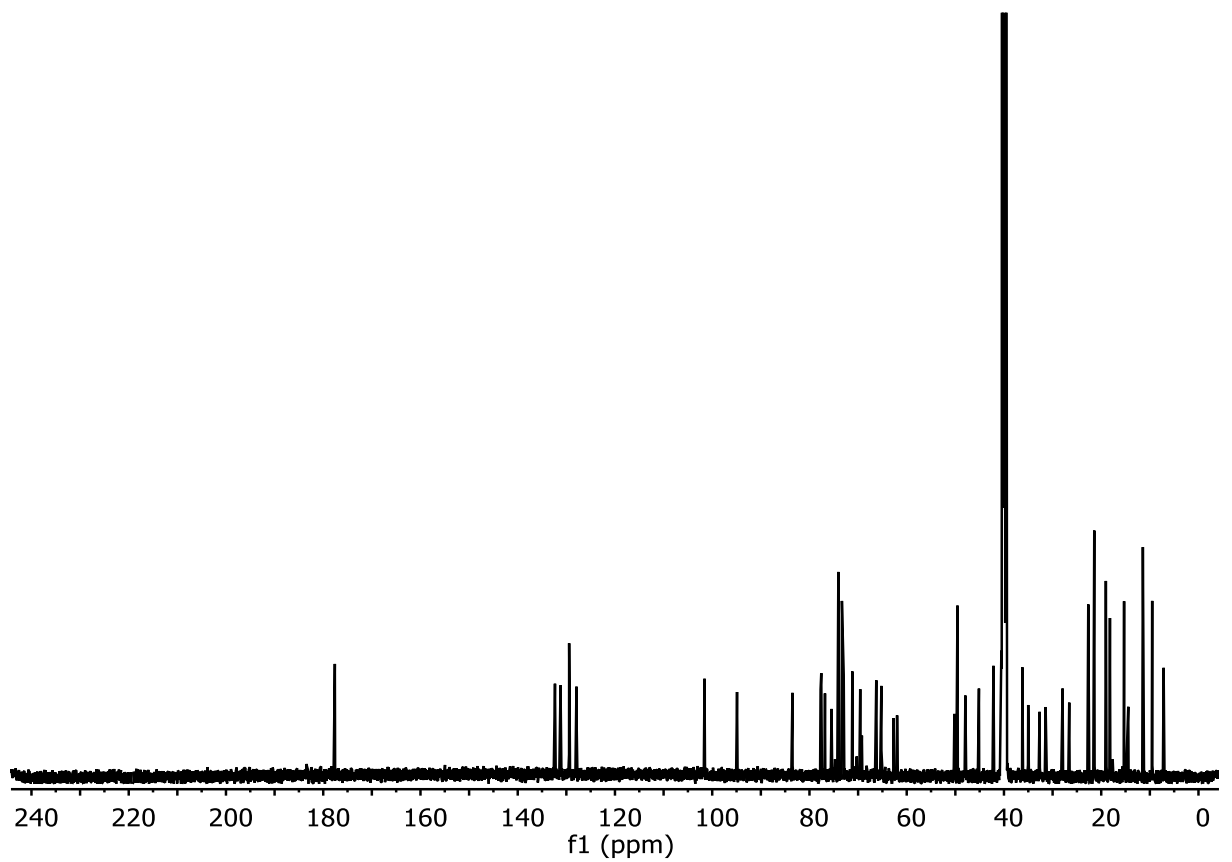
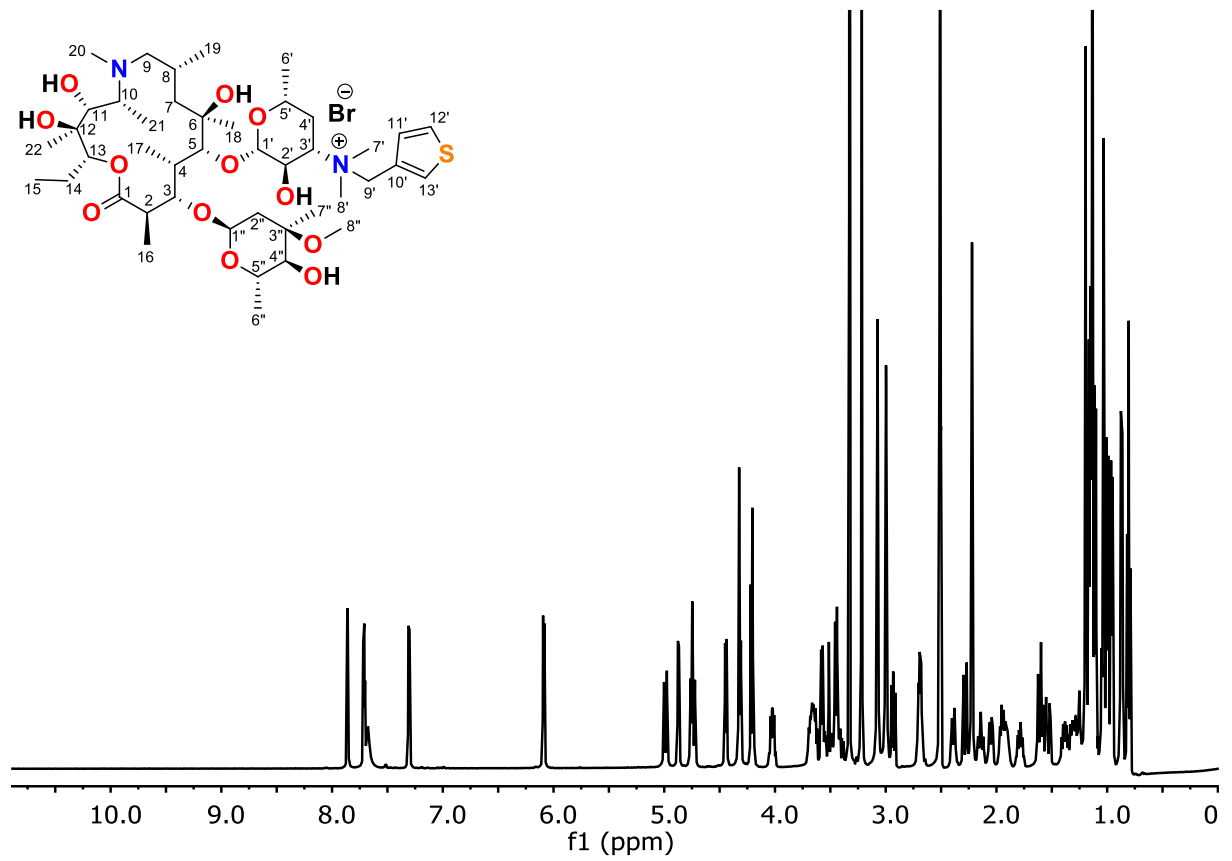
AZM-25 i AZM-25'



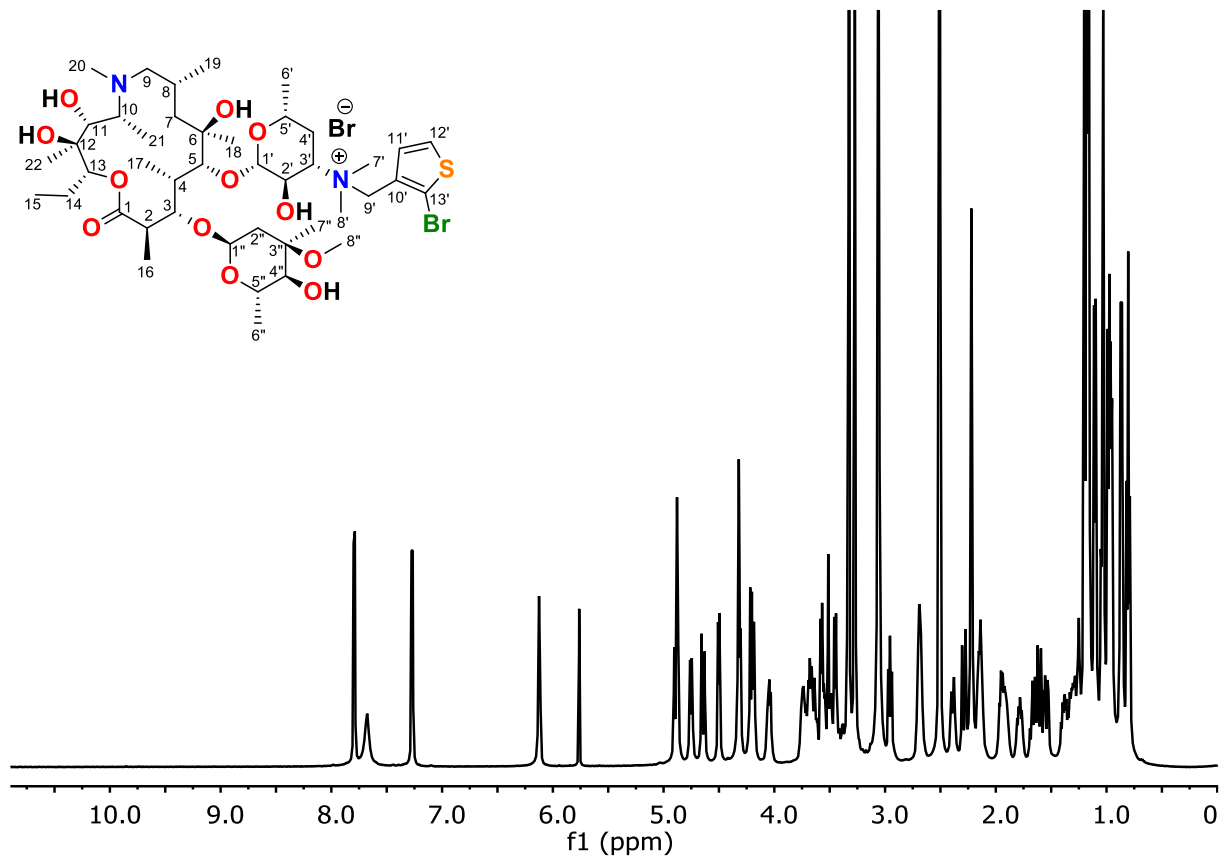
AZM-26 + AZM-25'



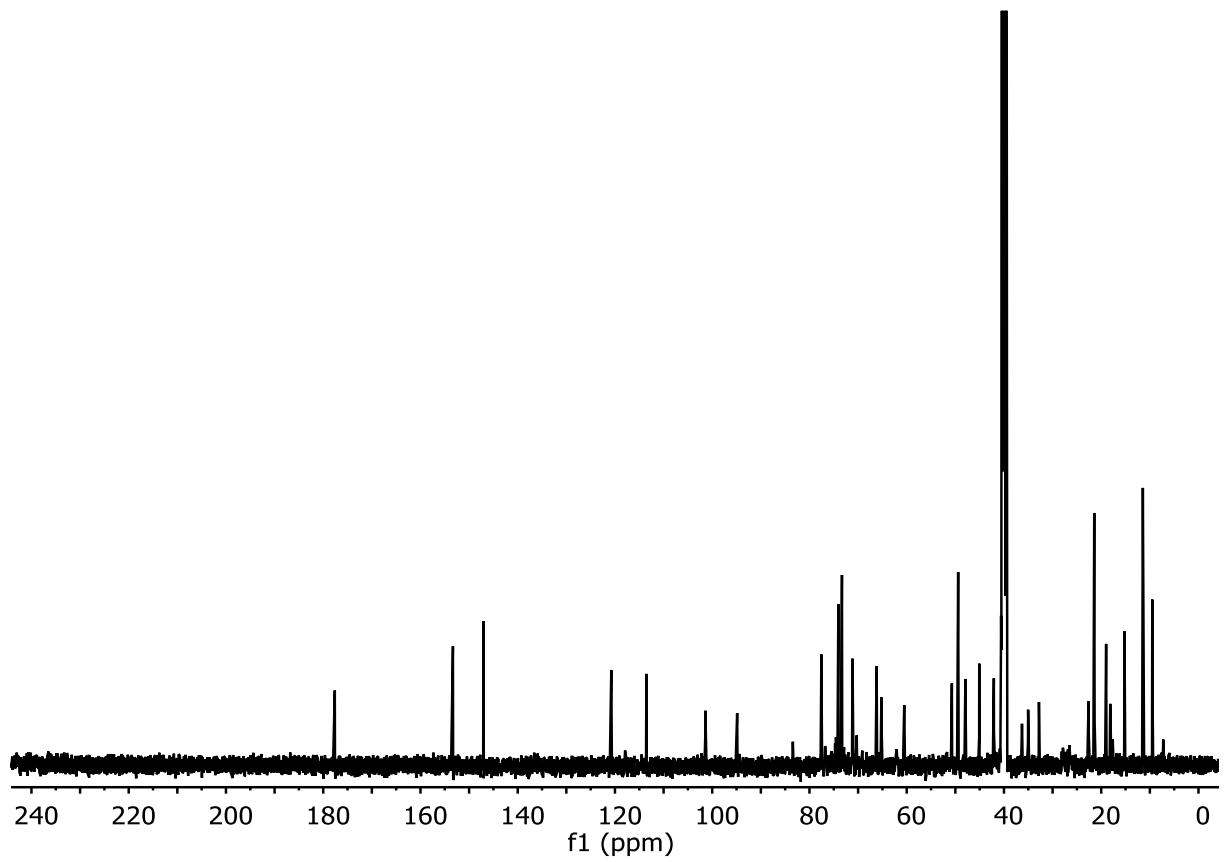
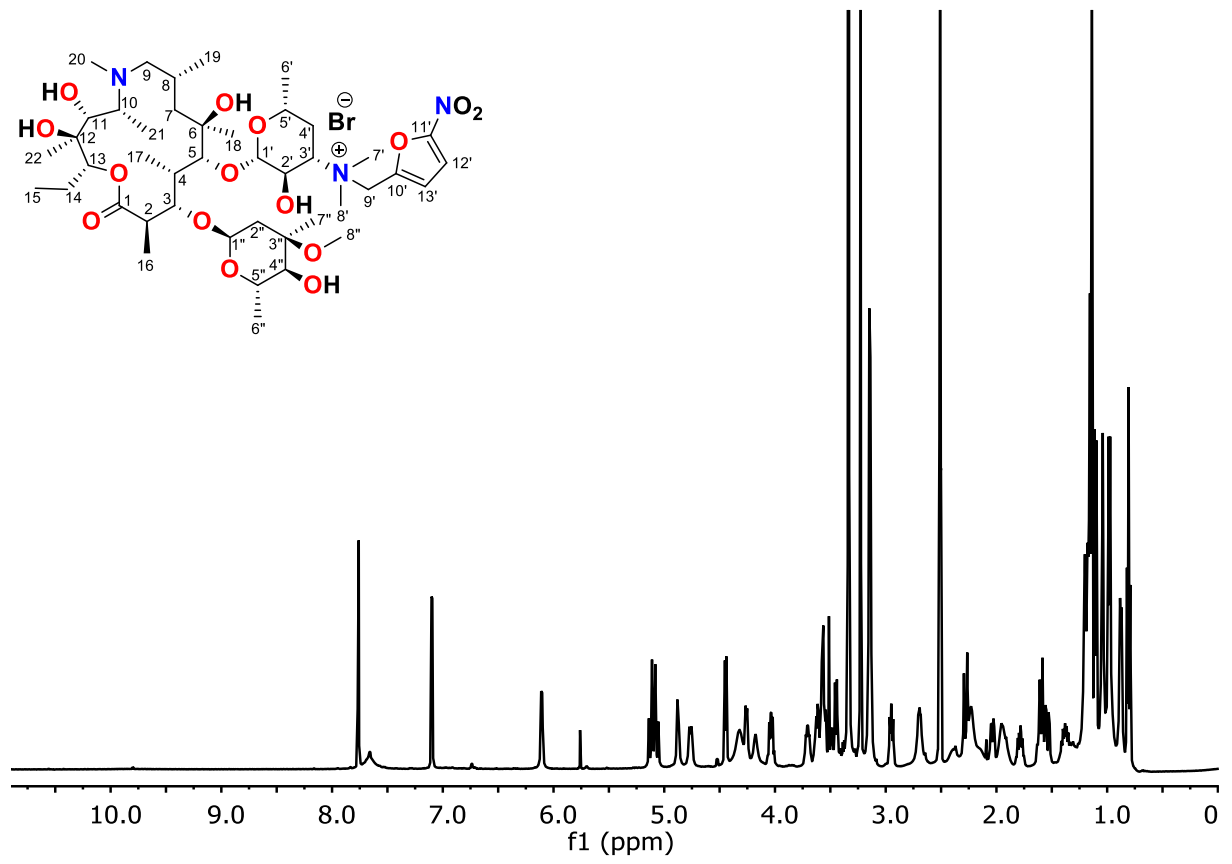
AZM-27



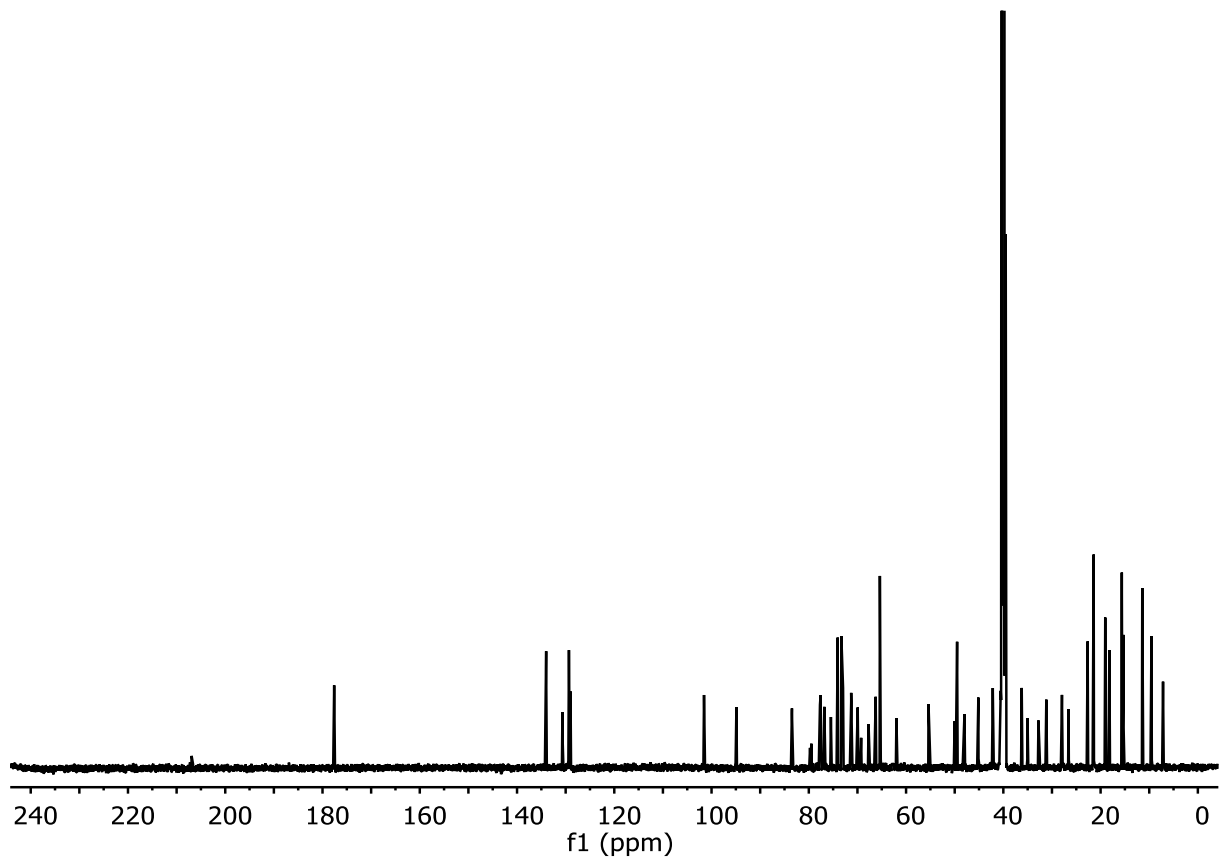
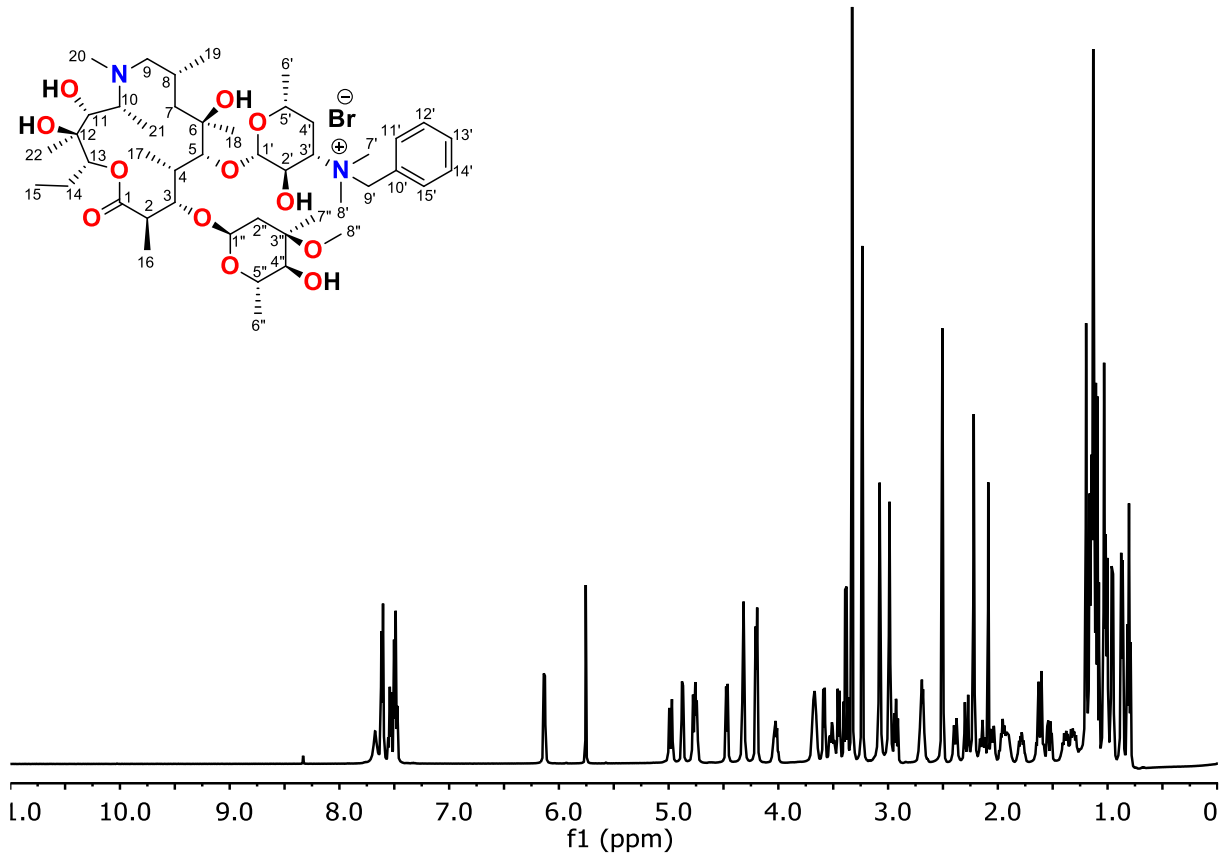
AZM-28



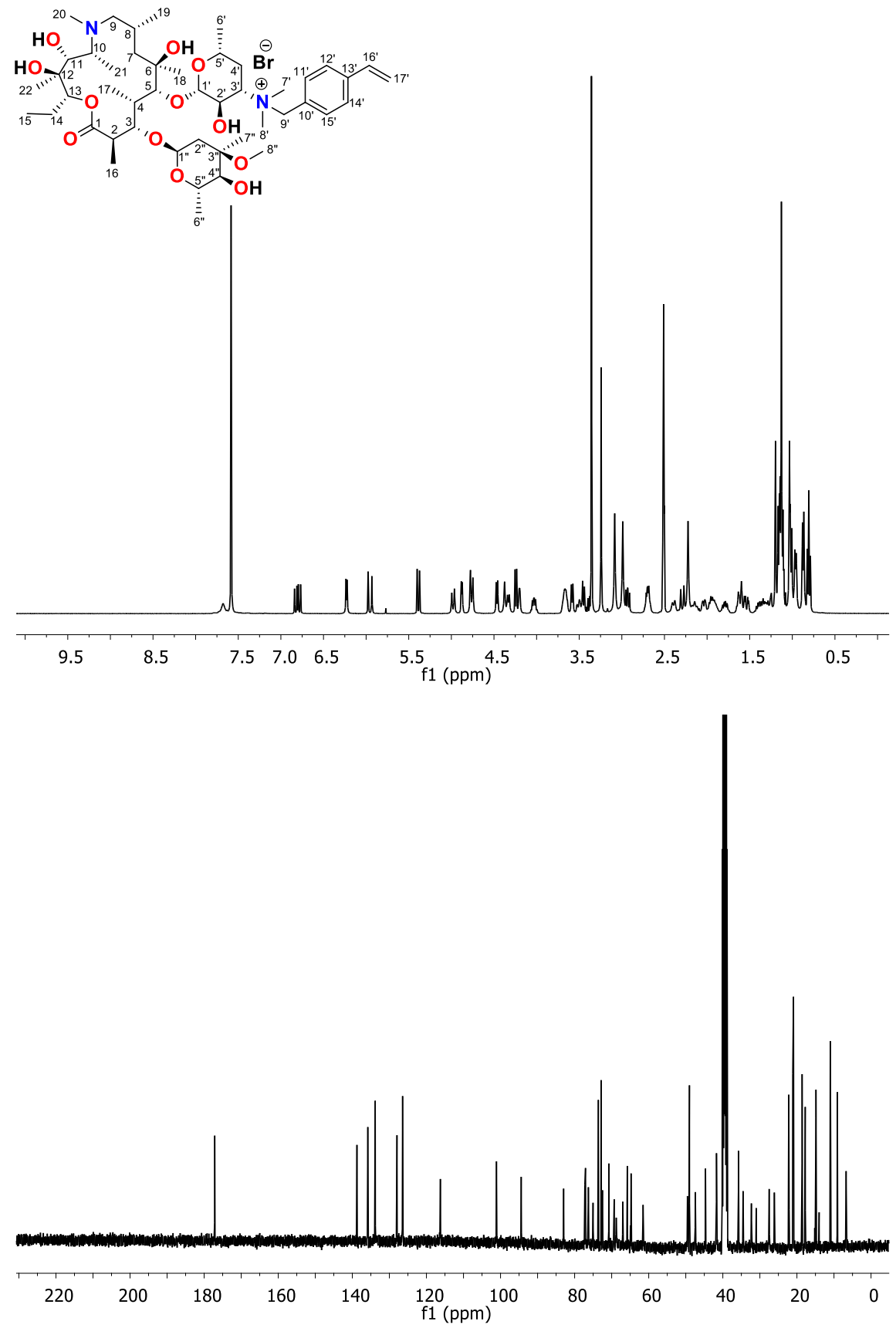
AZM-29



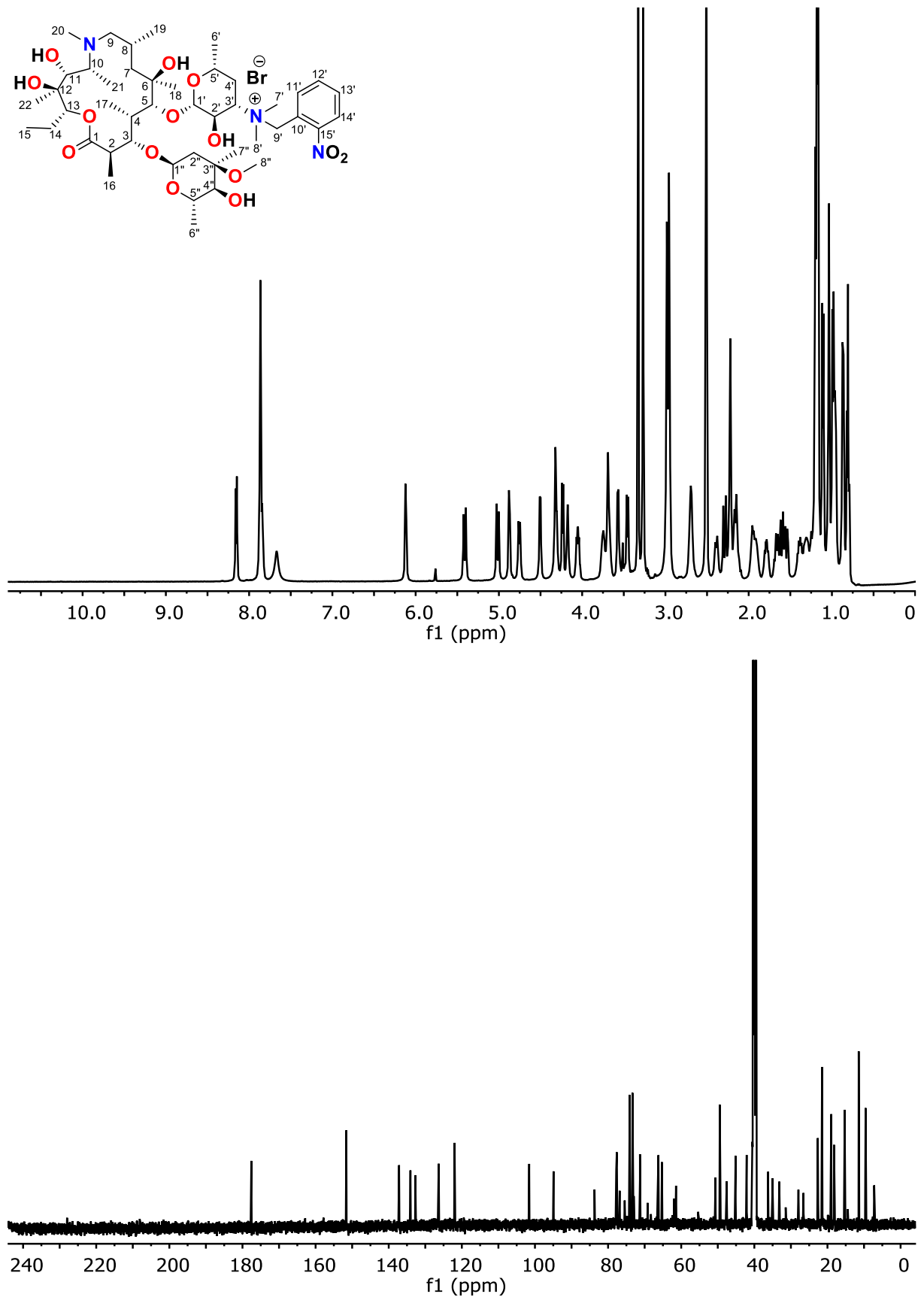
AZM-30



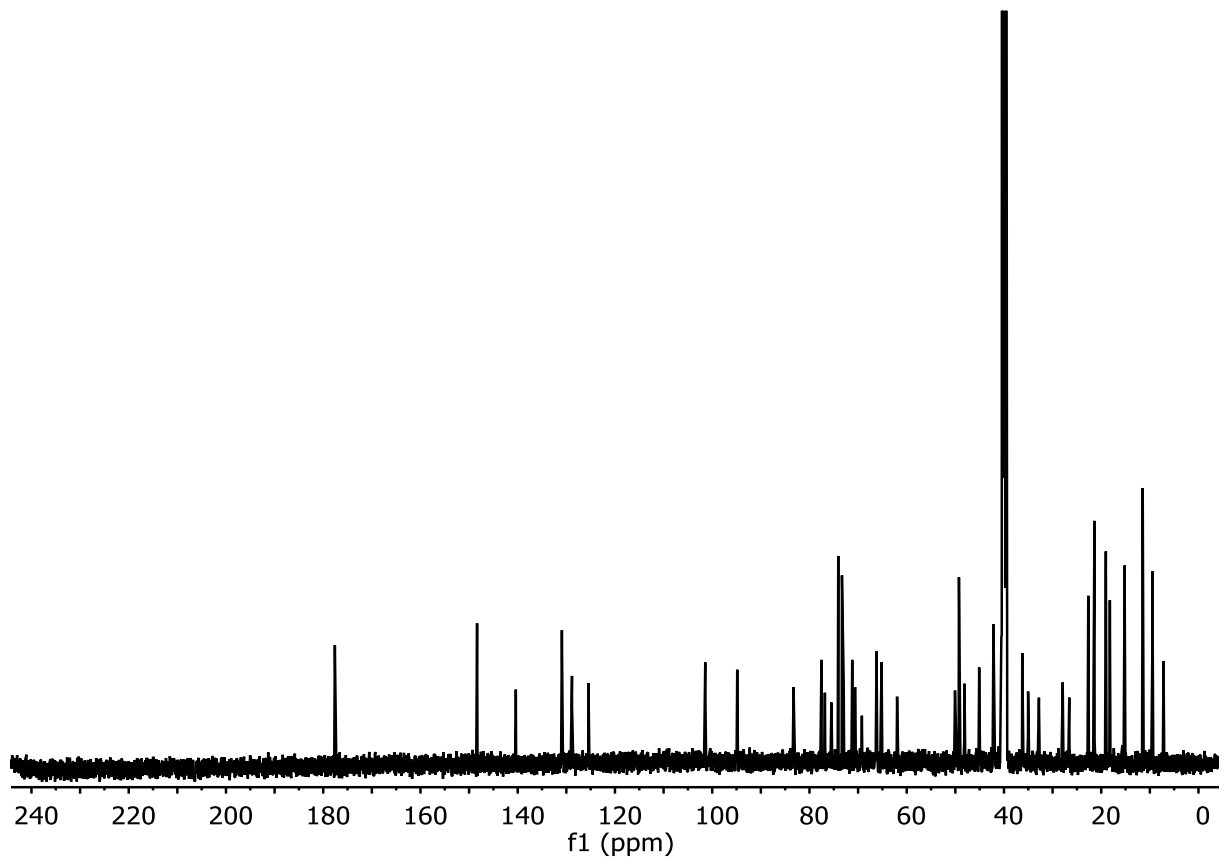
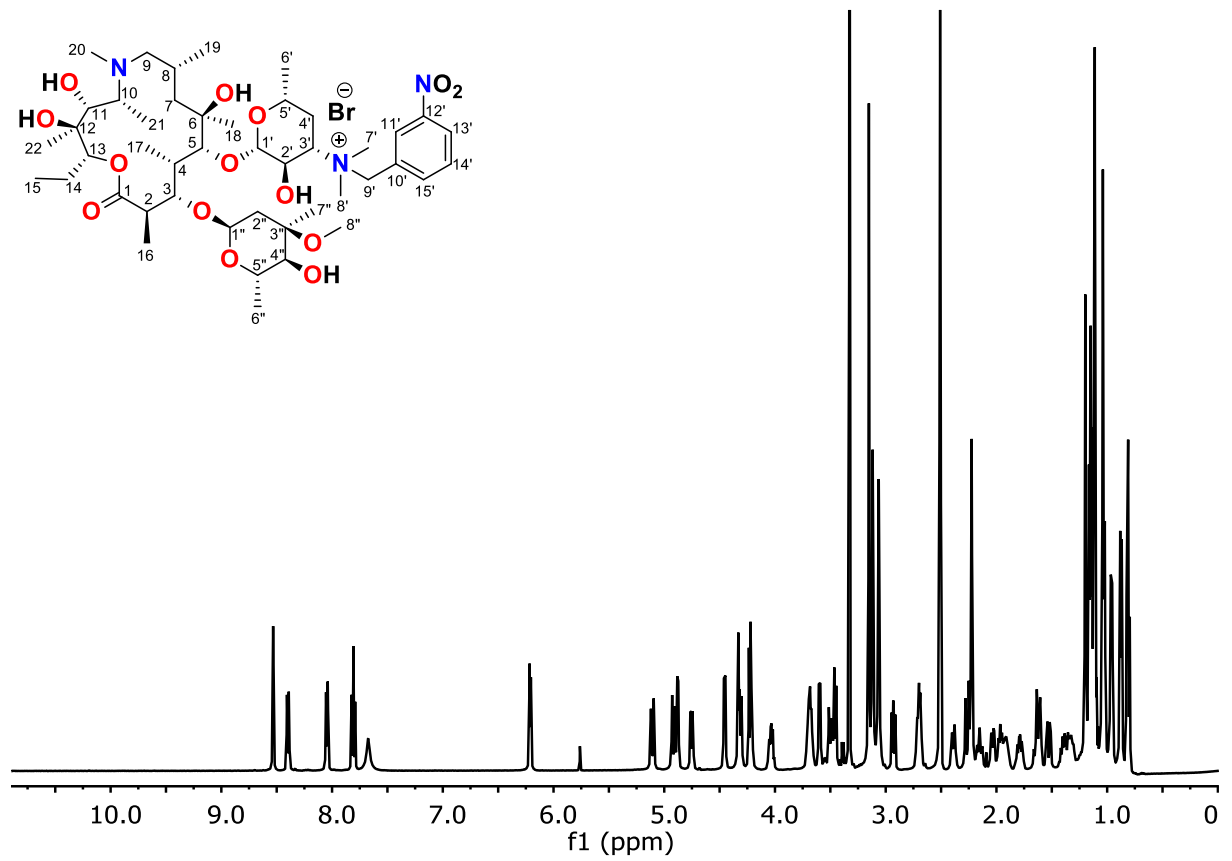
AZM-31



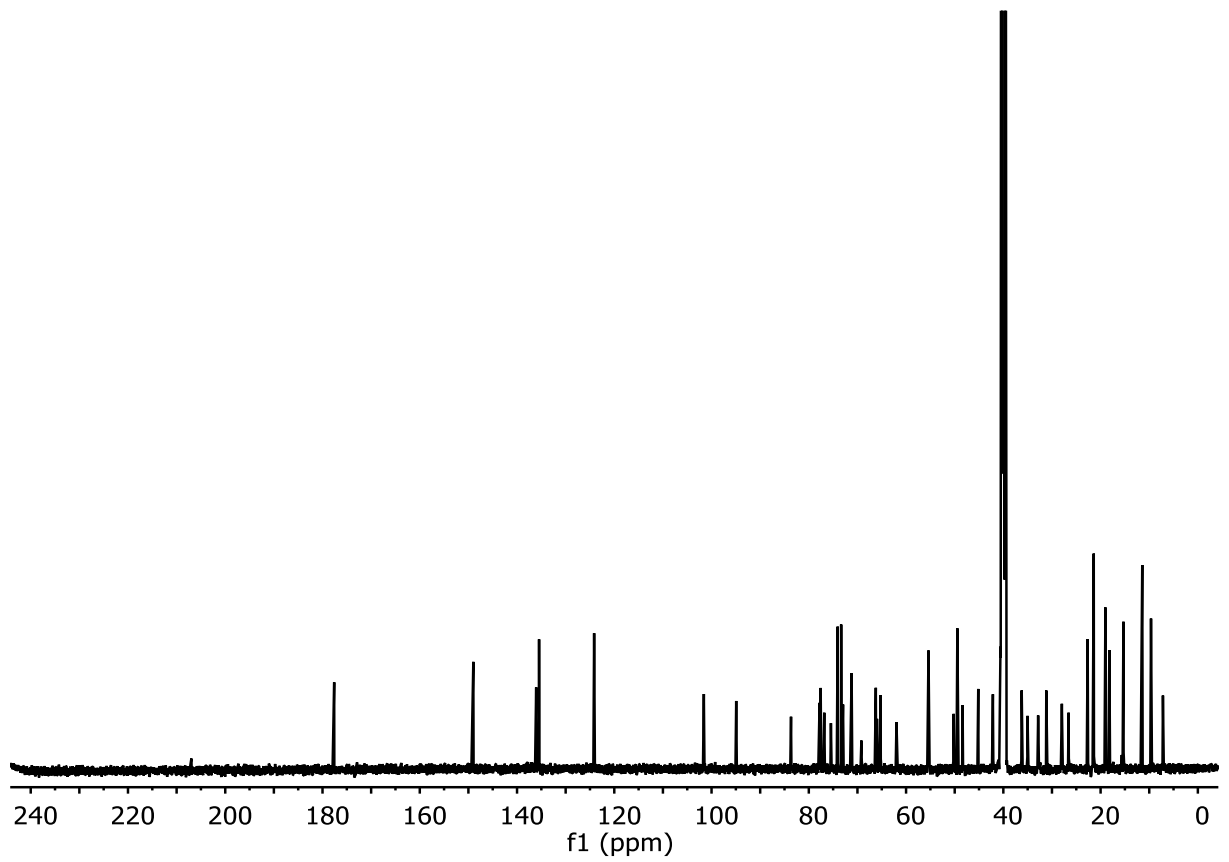
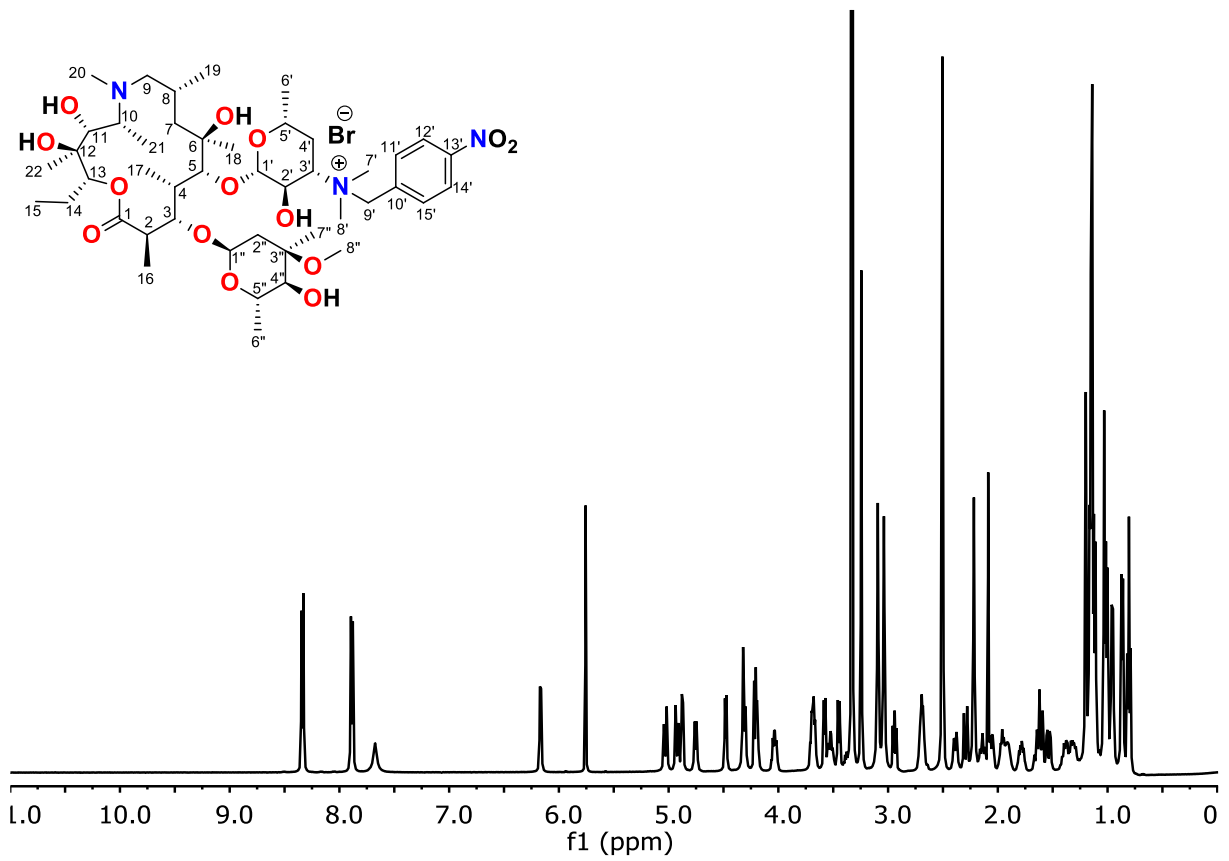
AZM-32



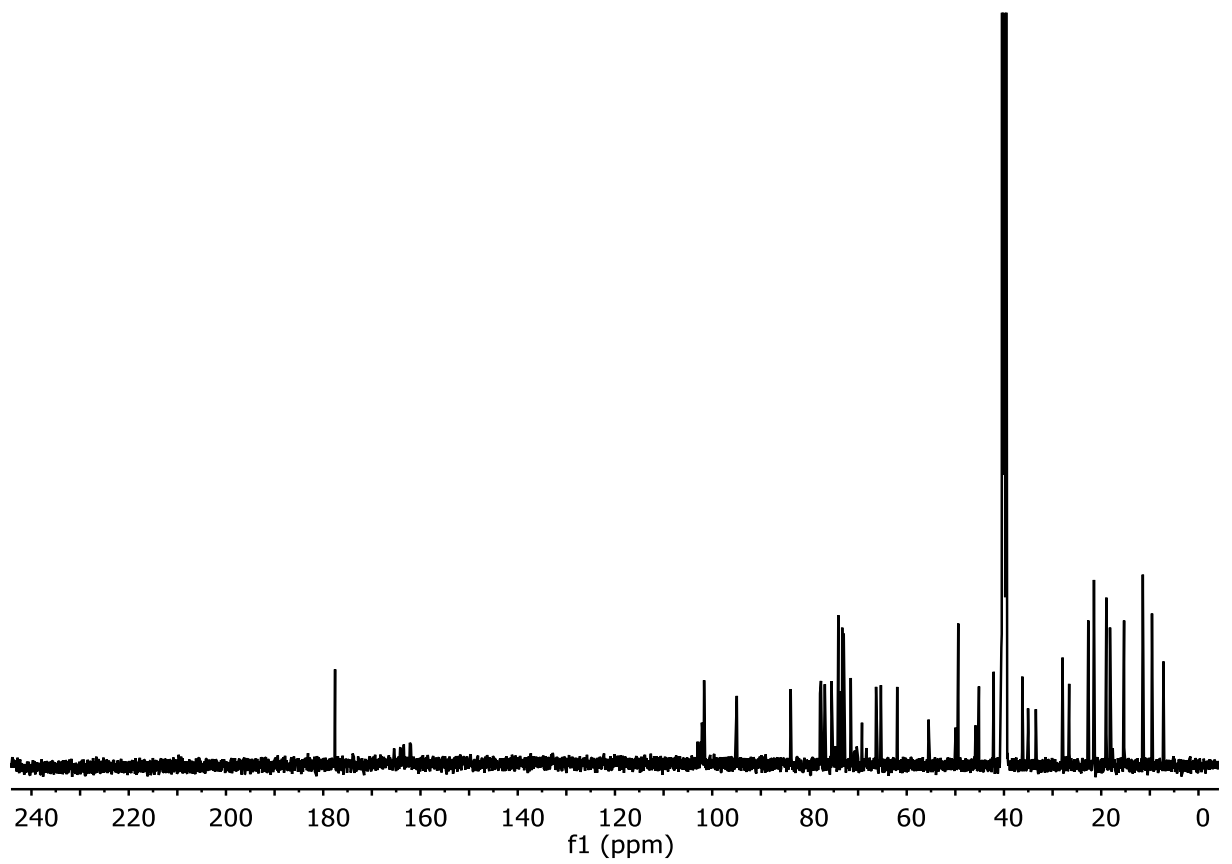
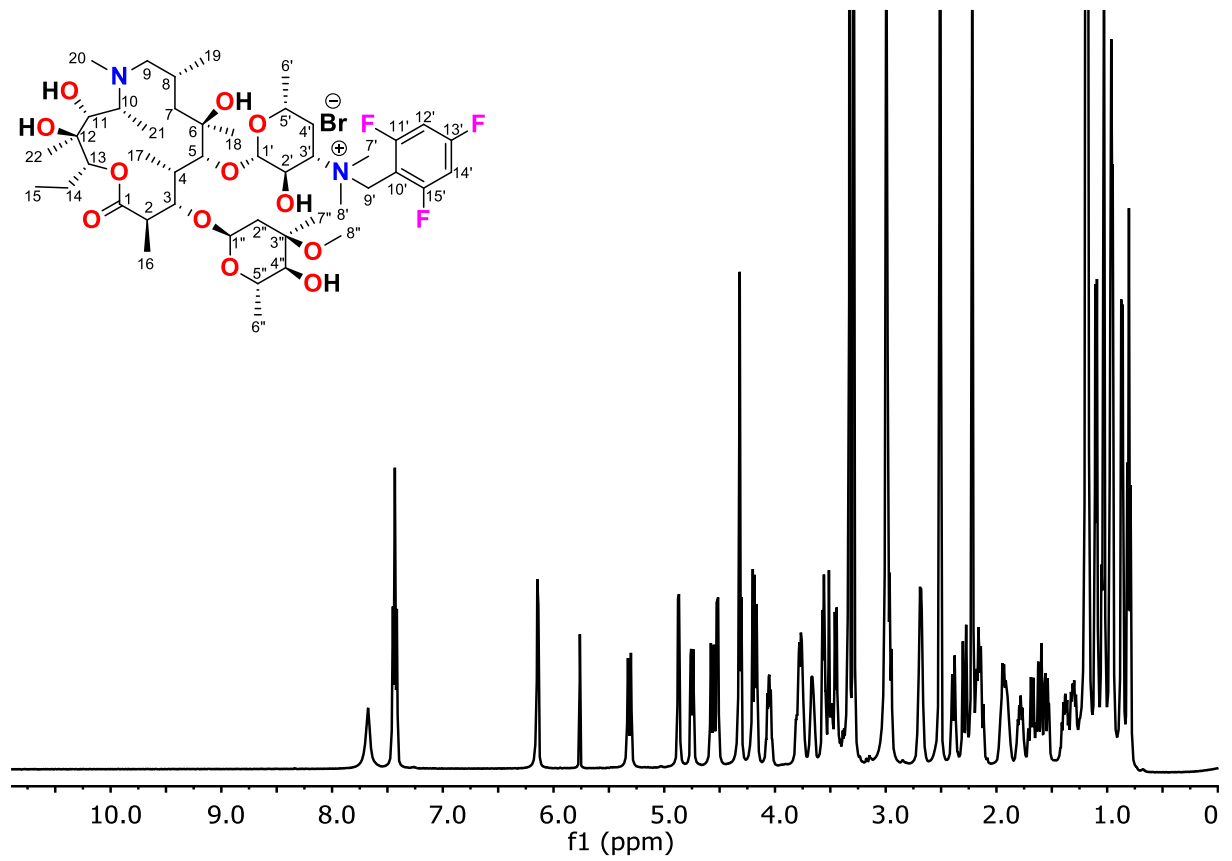
AZM-33



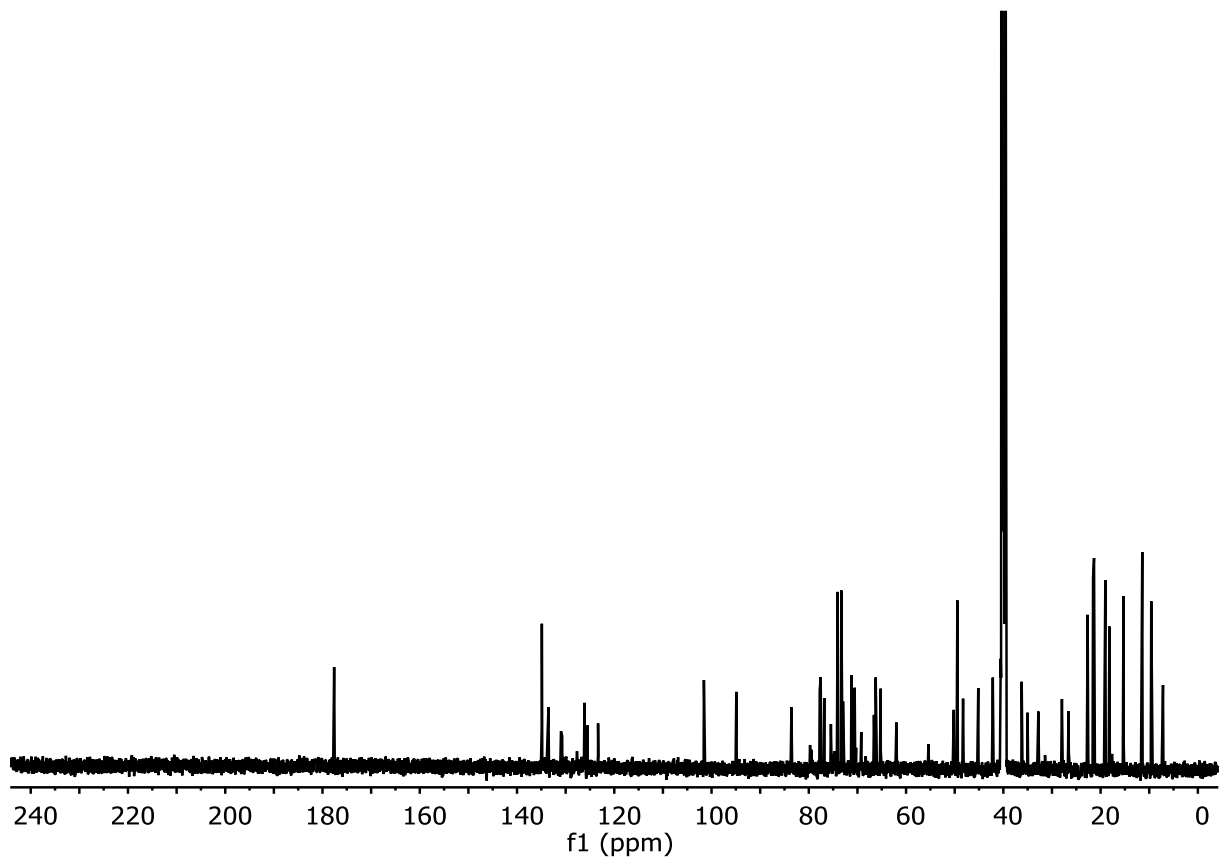
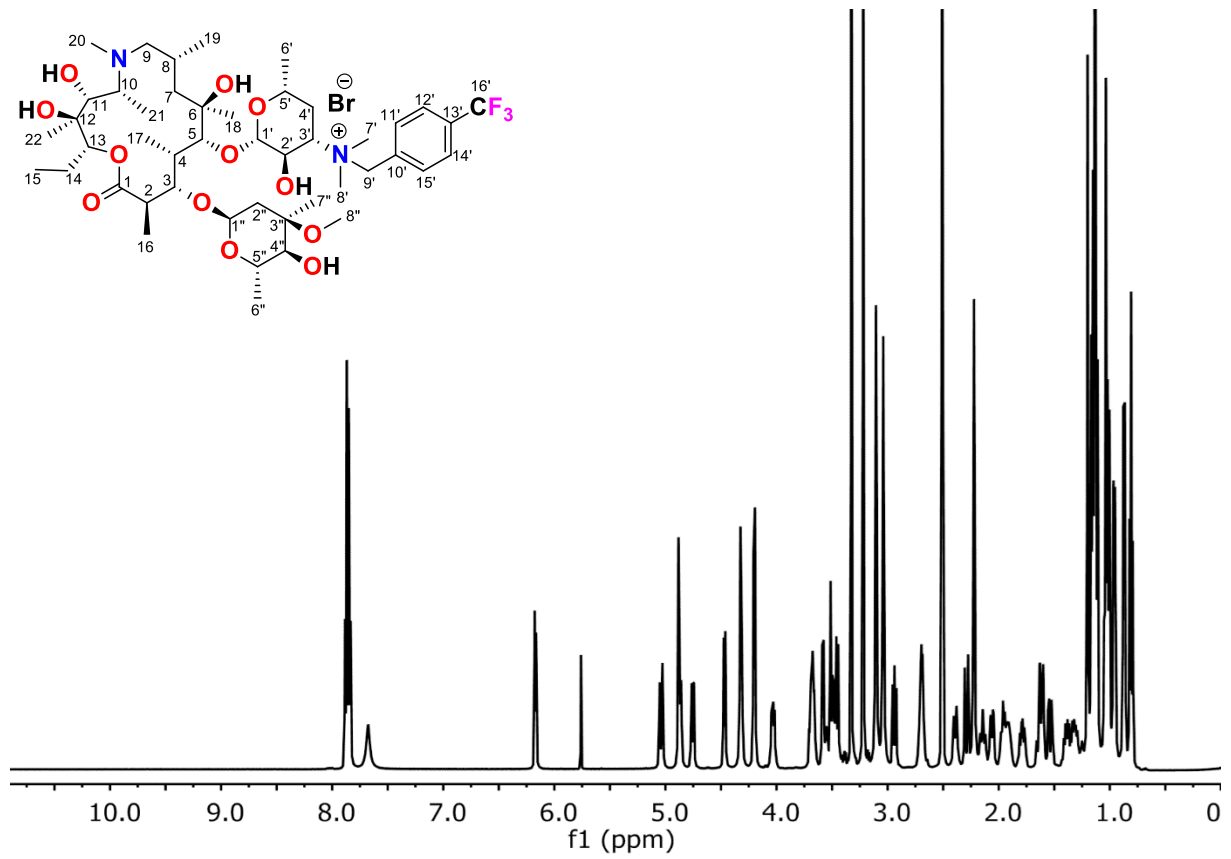
AZM-34



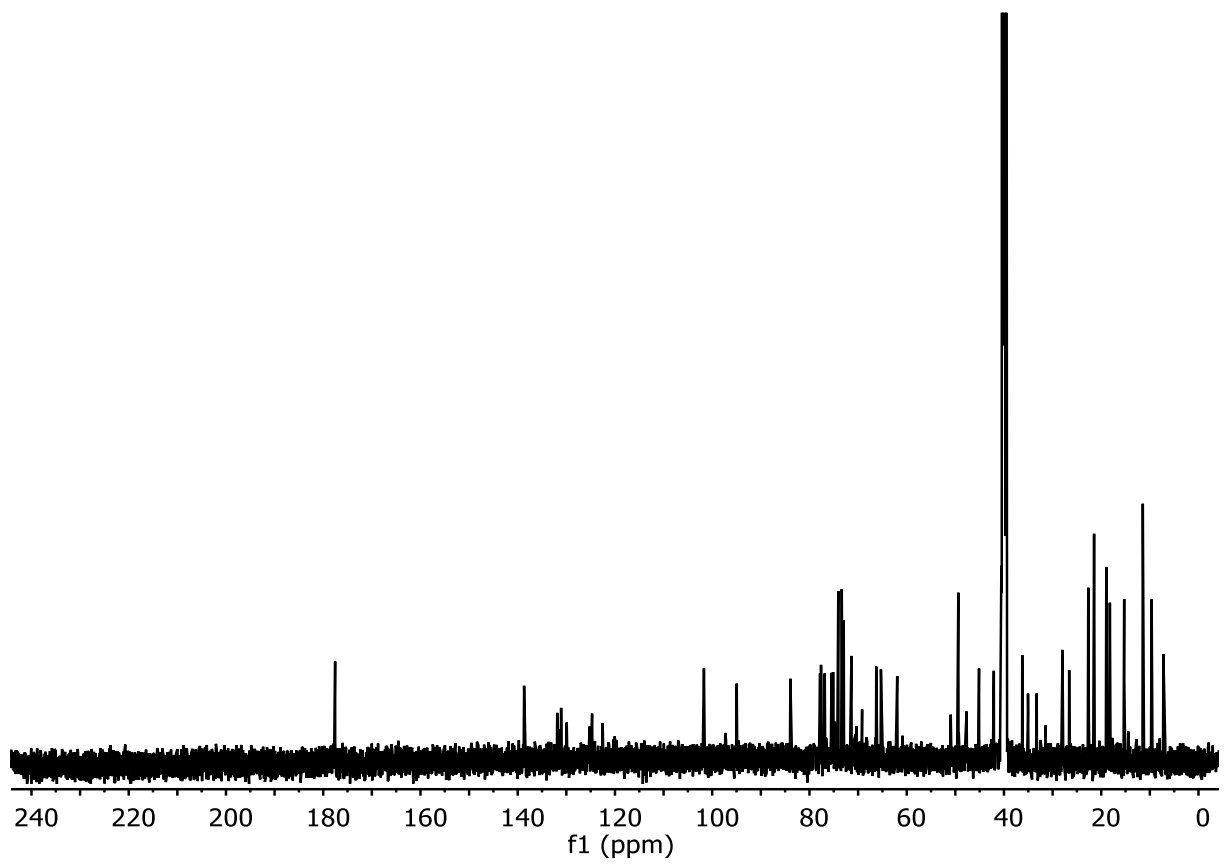
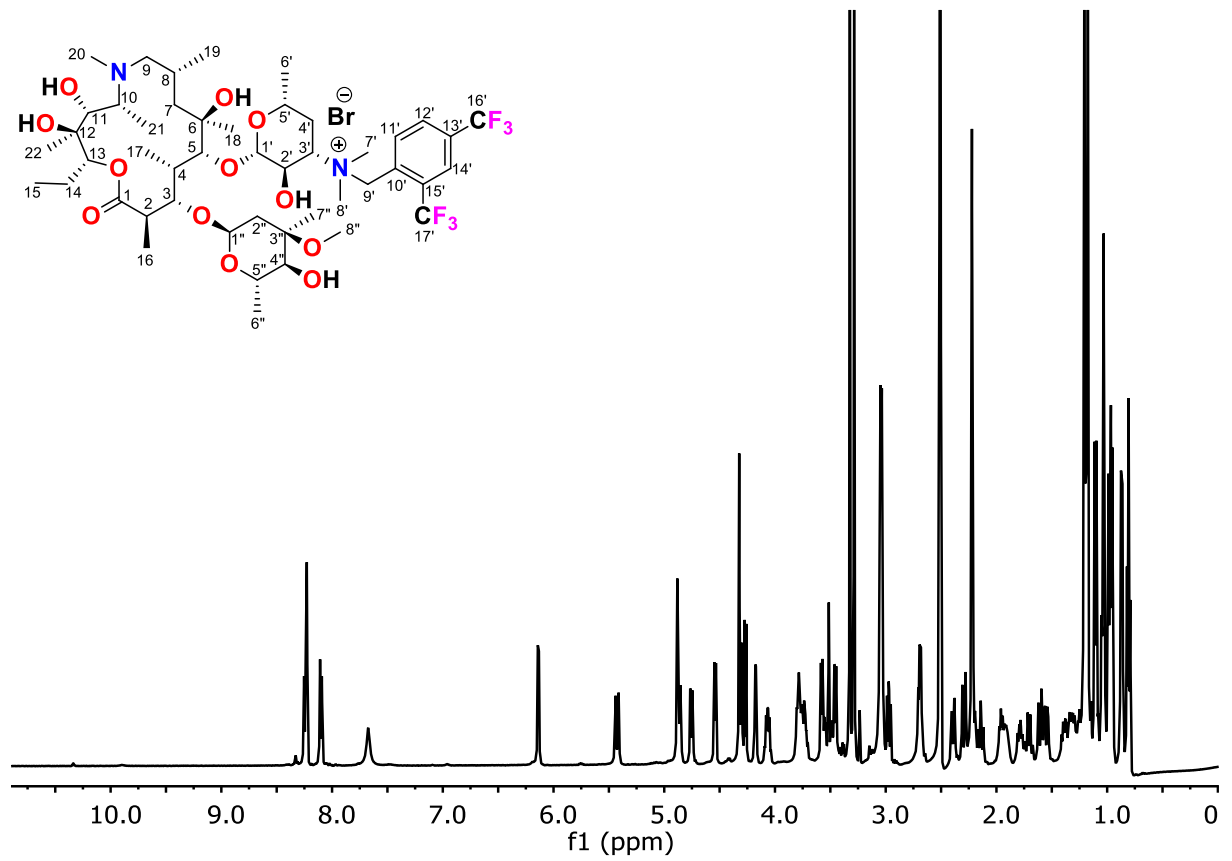
AZM-35



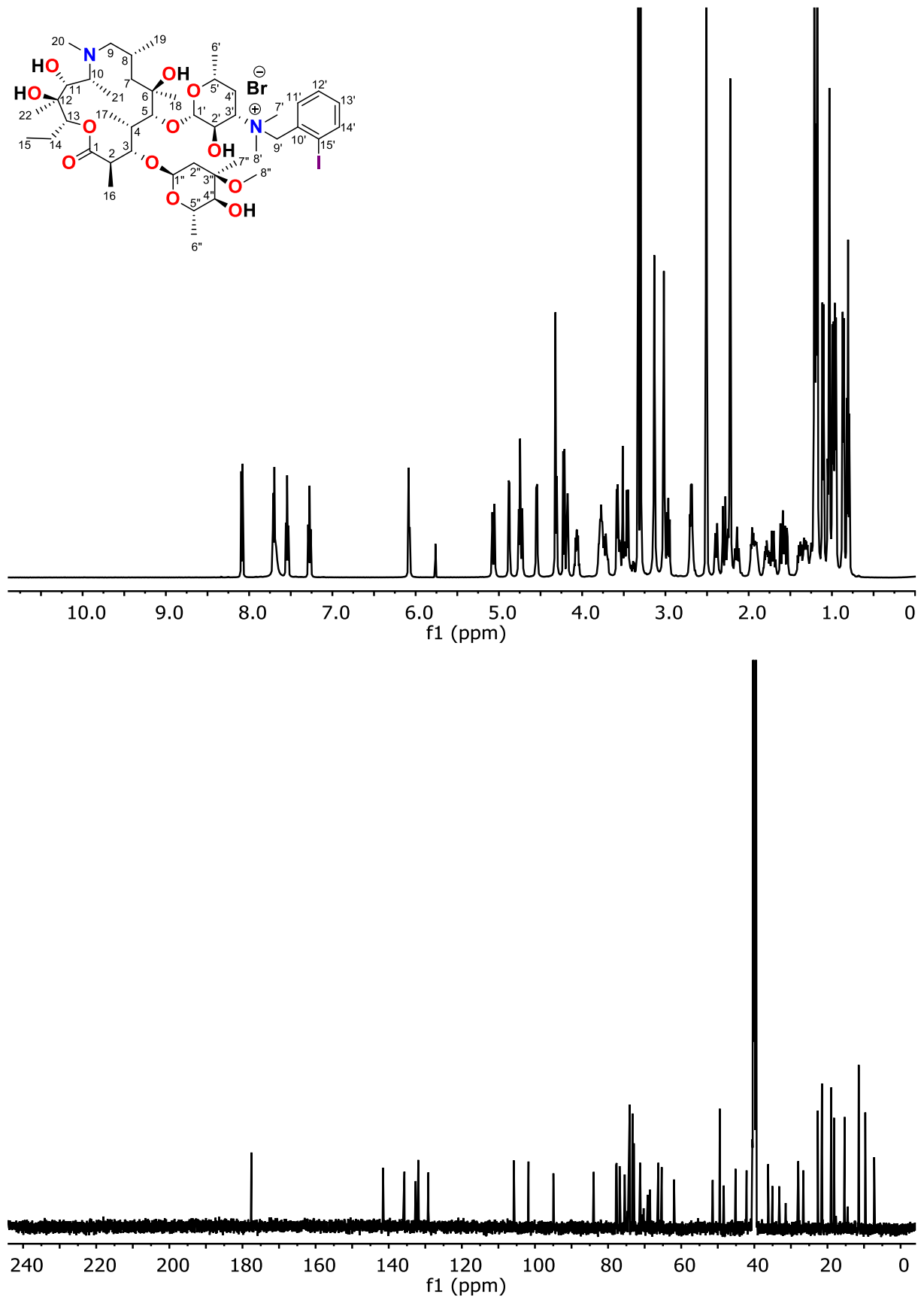
AZM-36



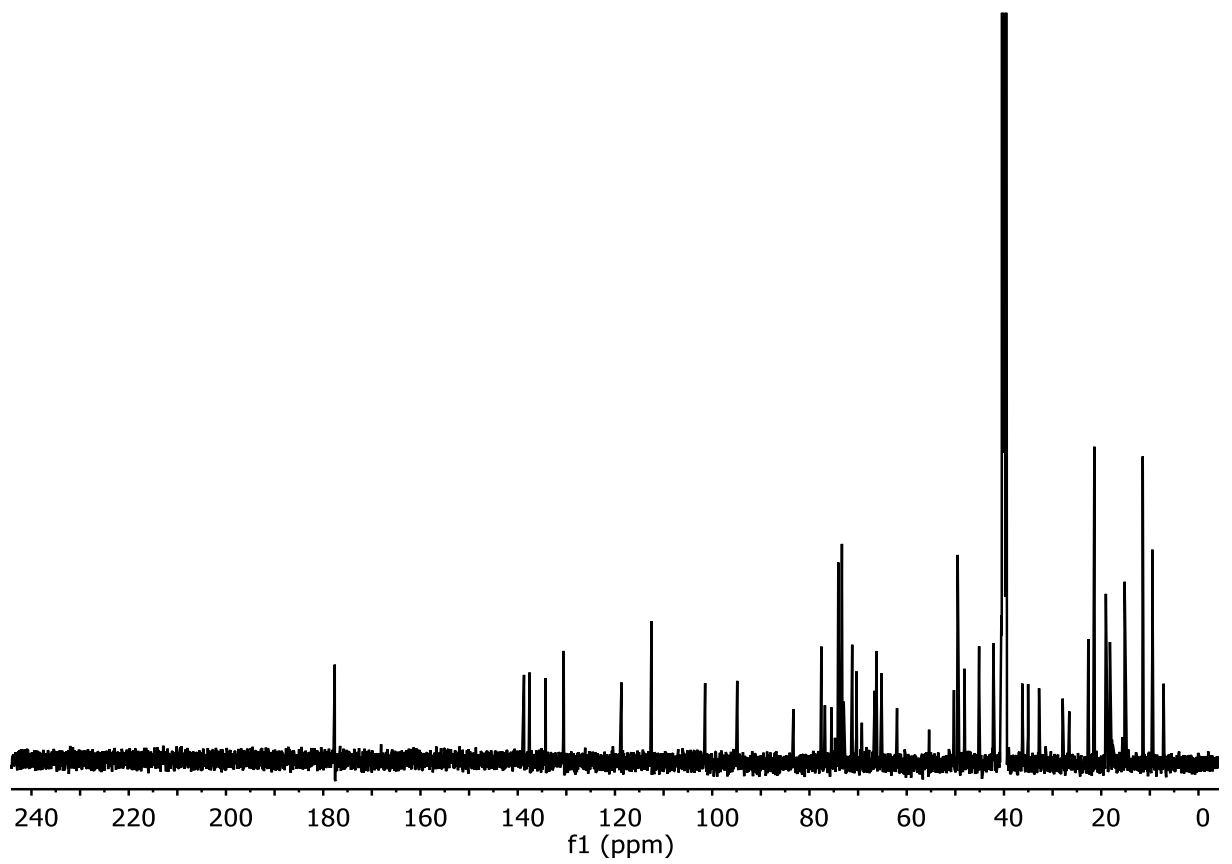
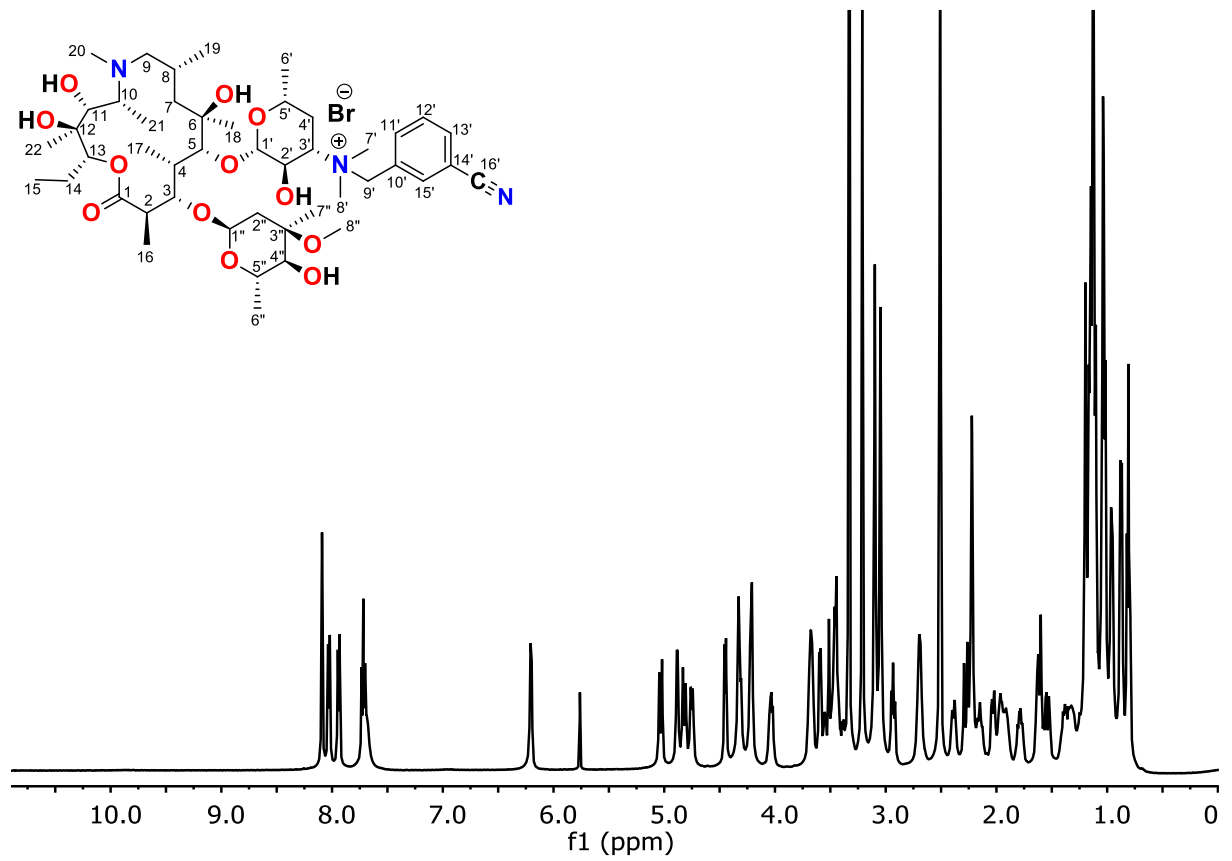
AZM-37



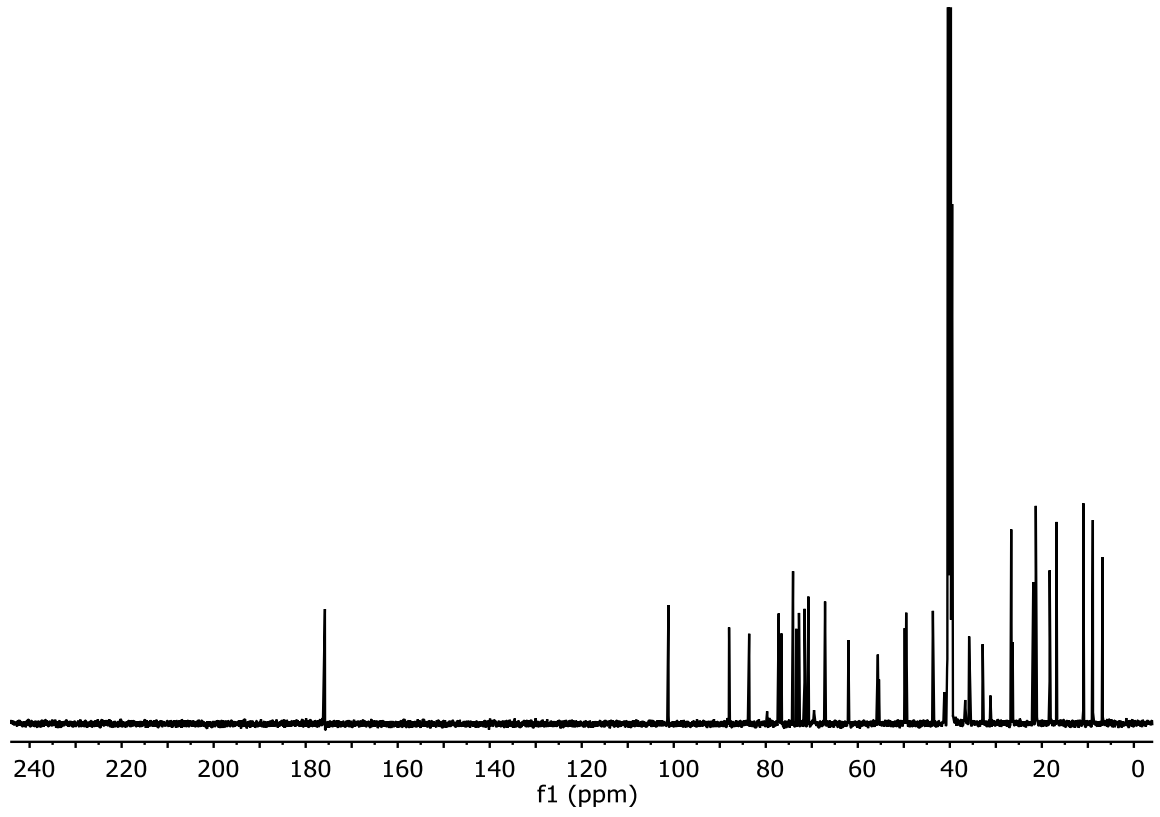
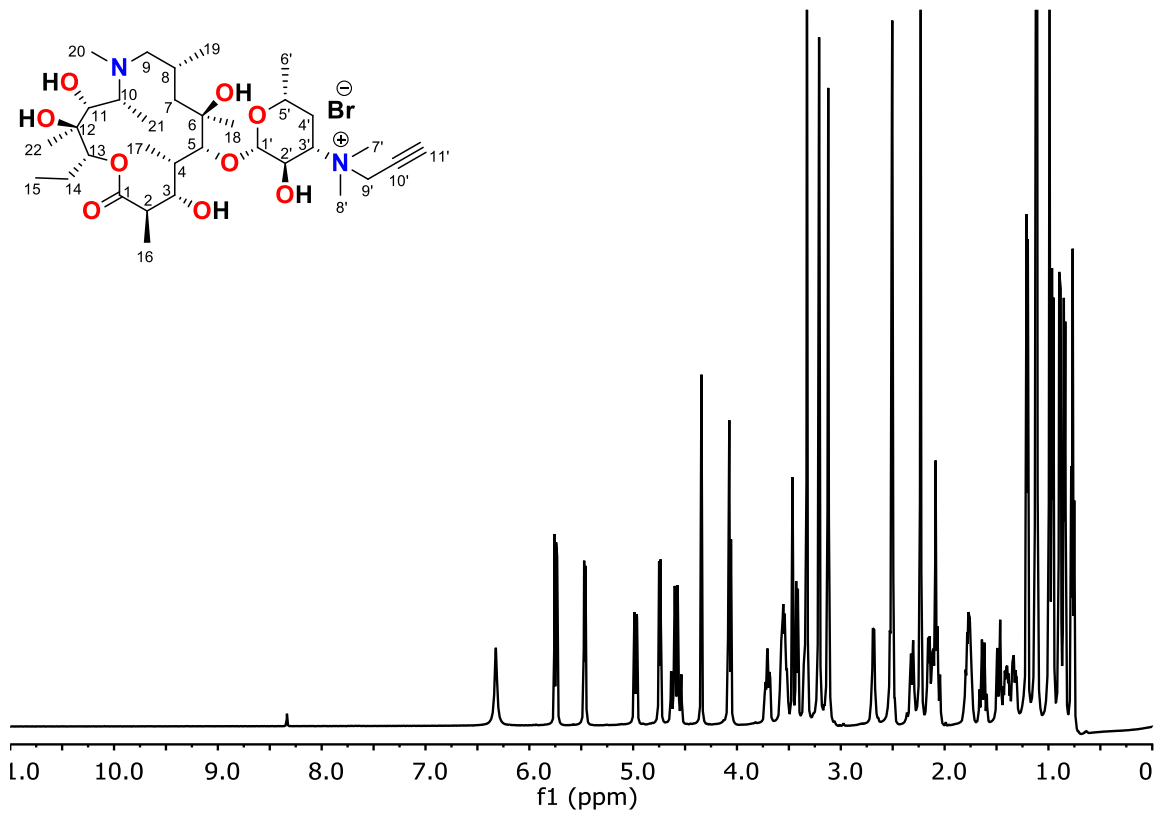
AZM-38



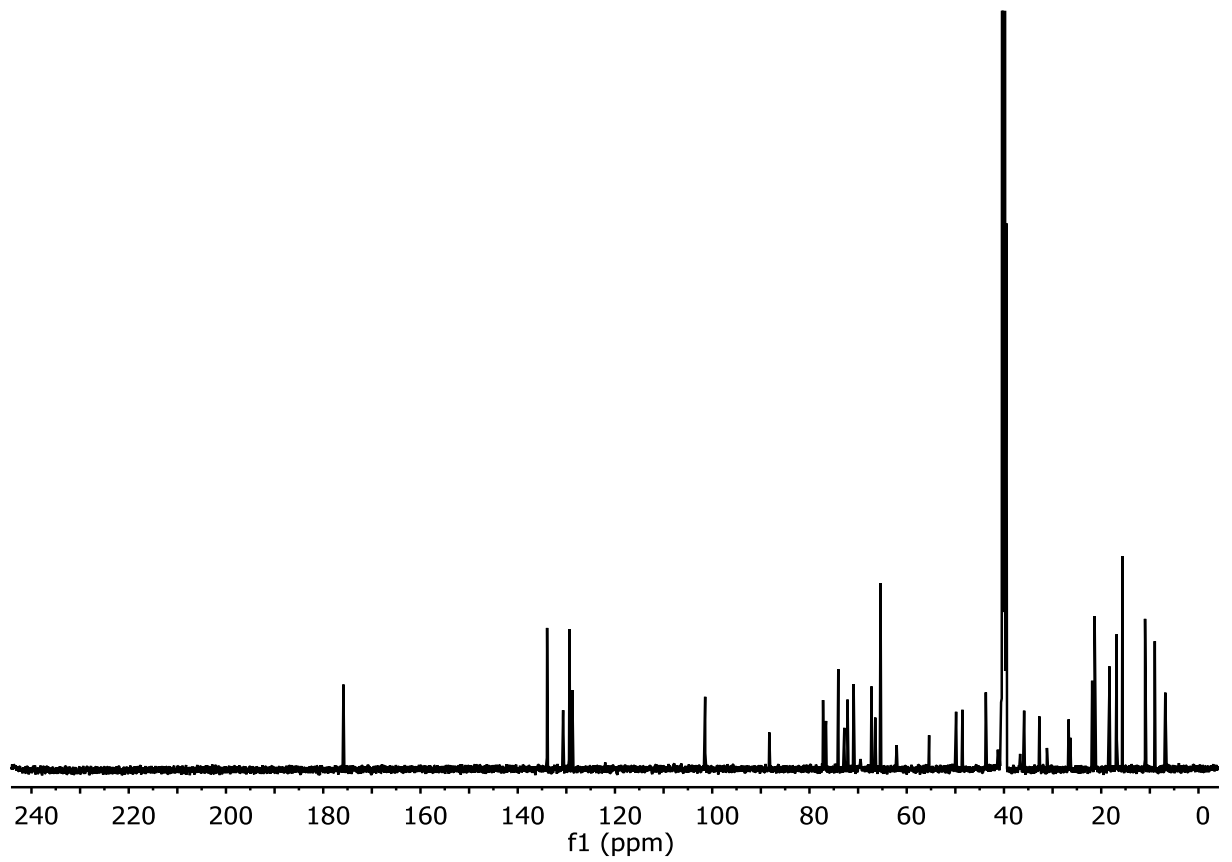
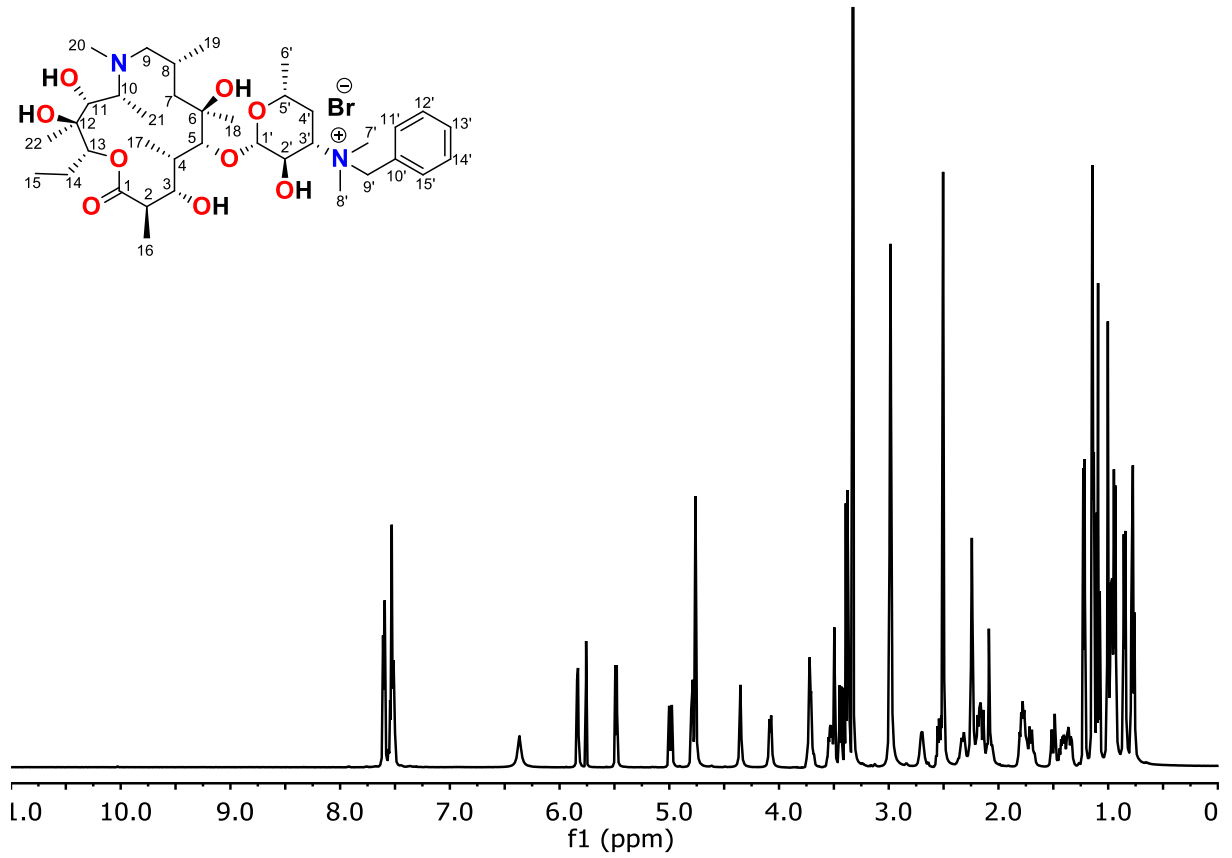
AZM-39



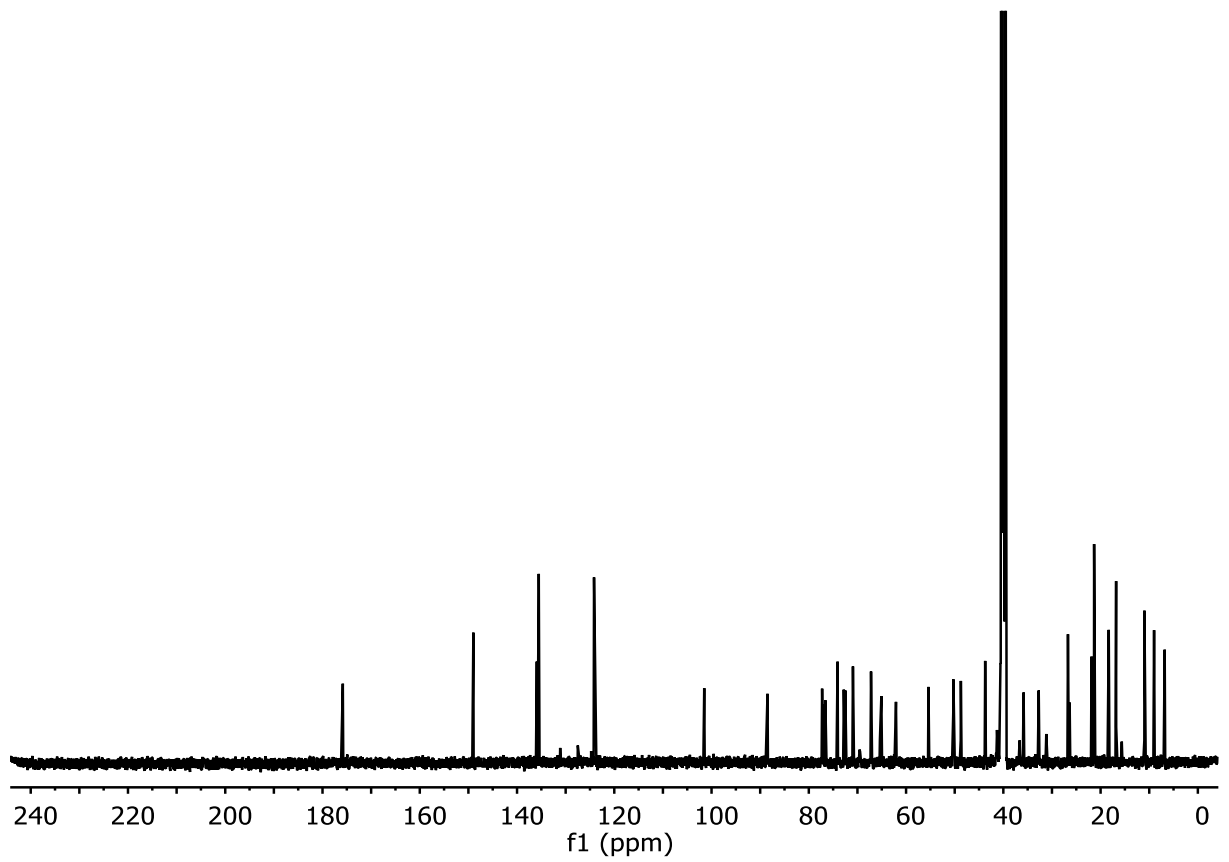
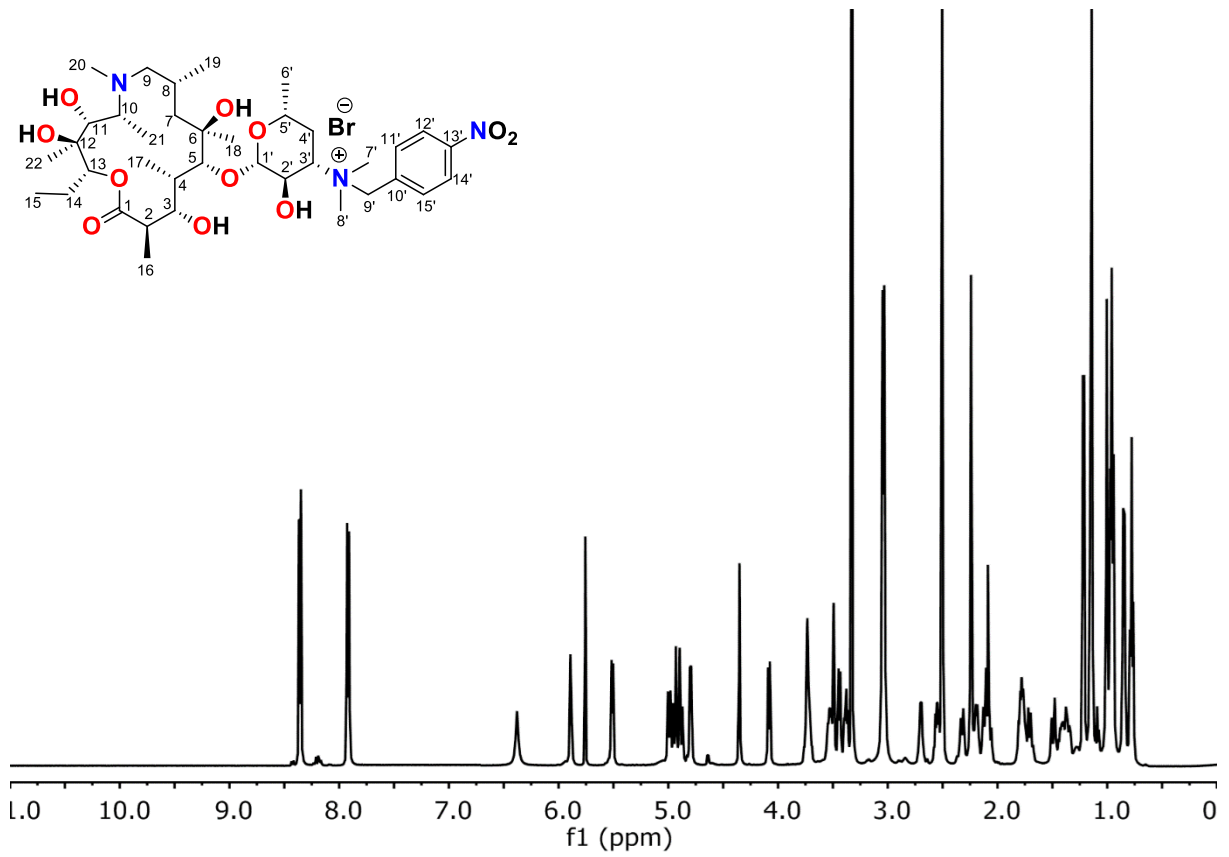
AZM-40



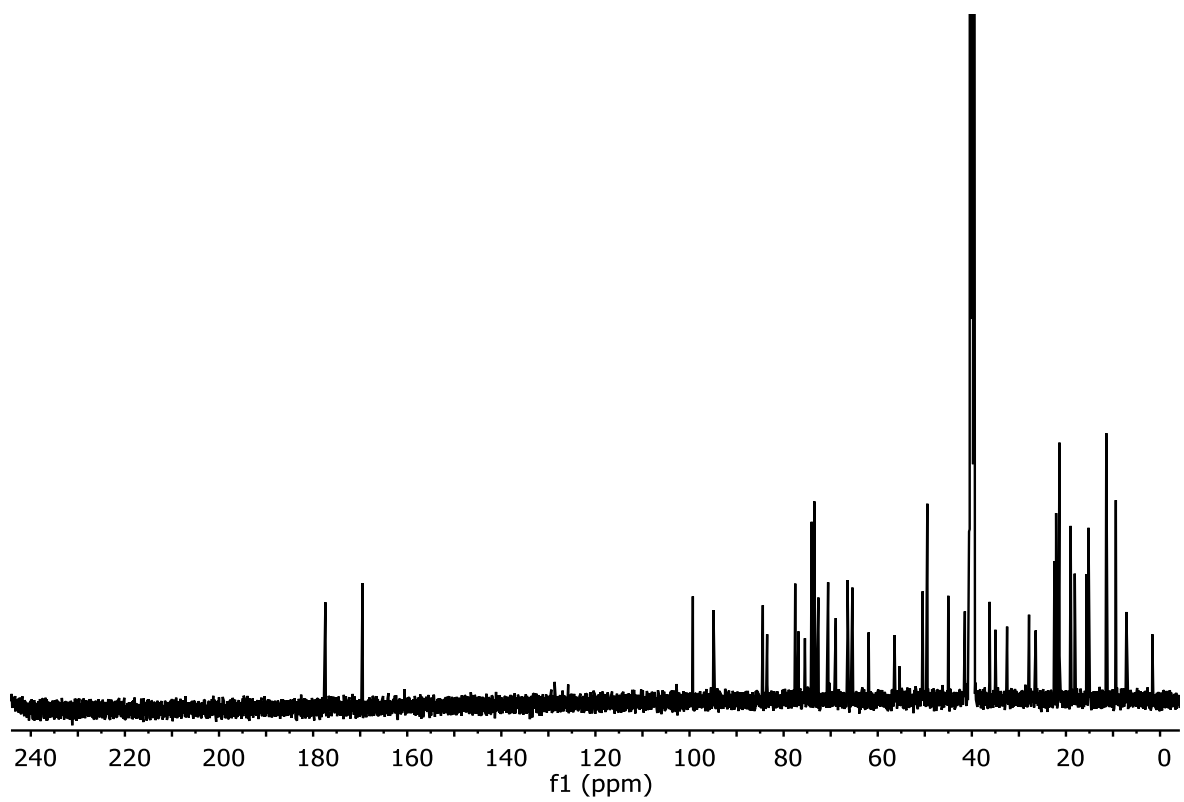
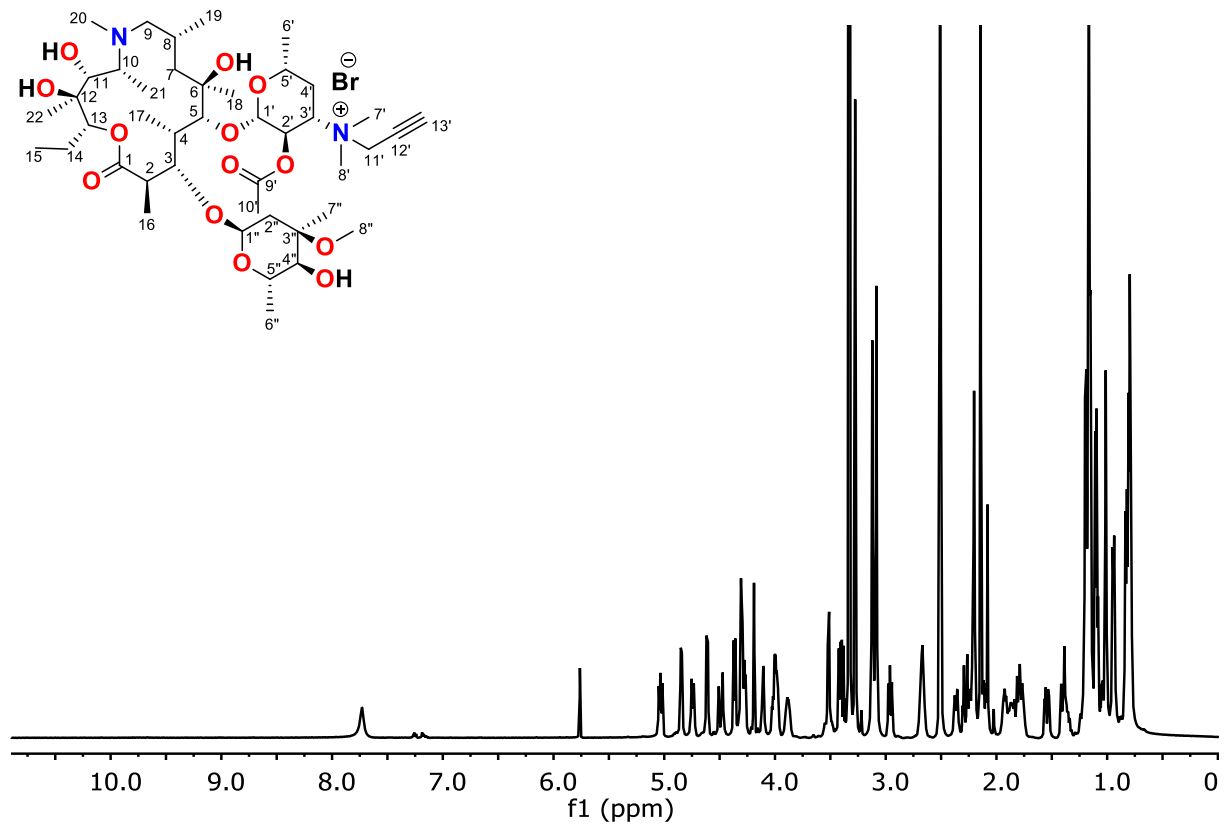
AZM-41



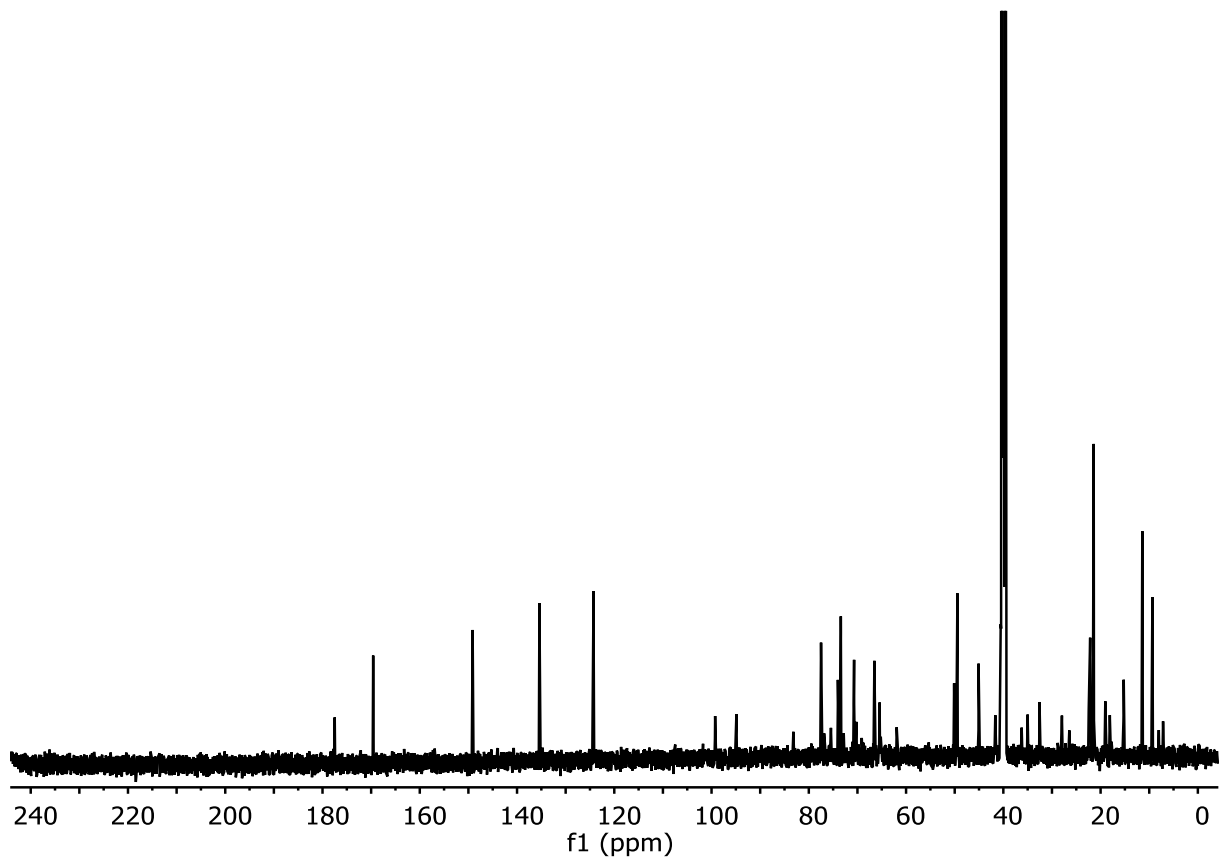
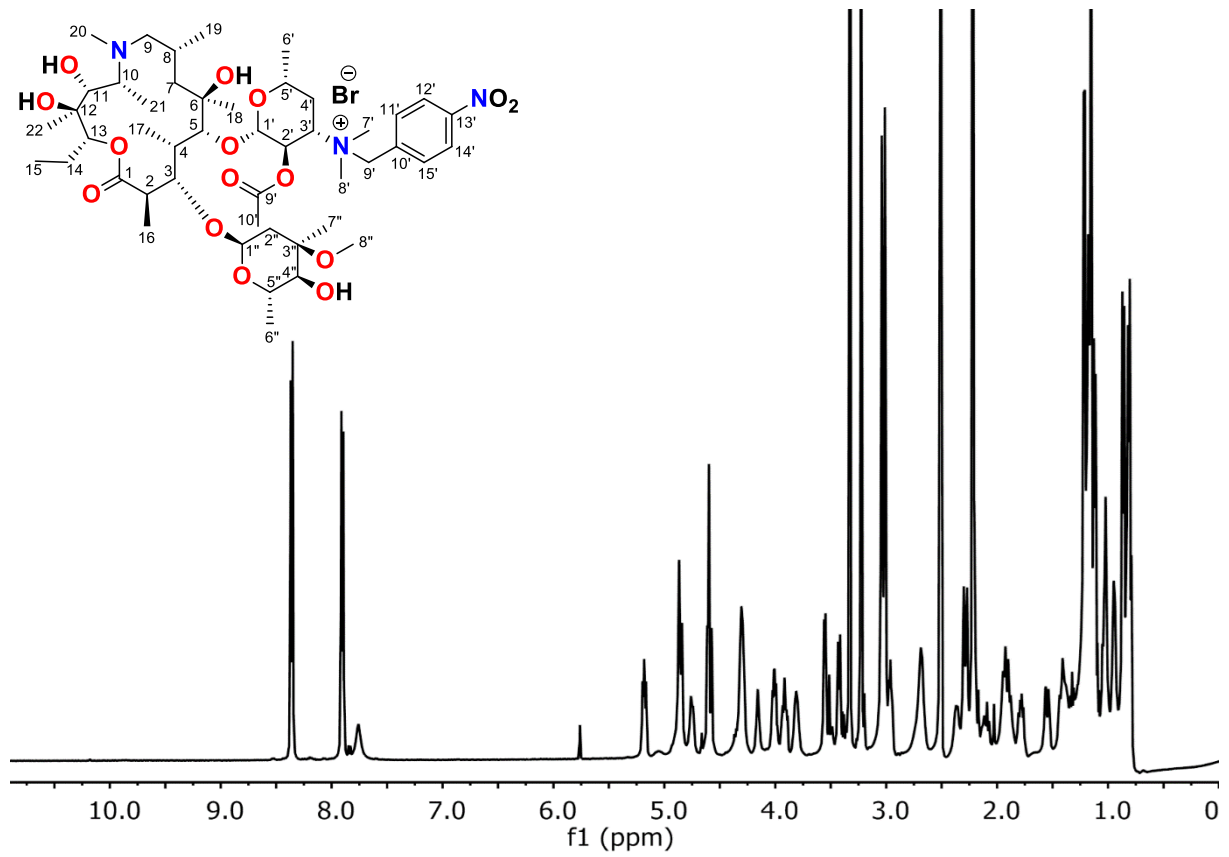
AZM-42



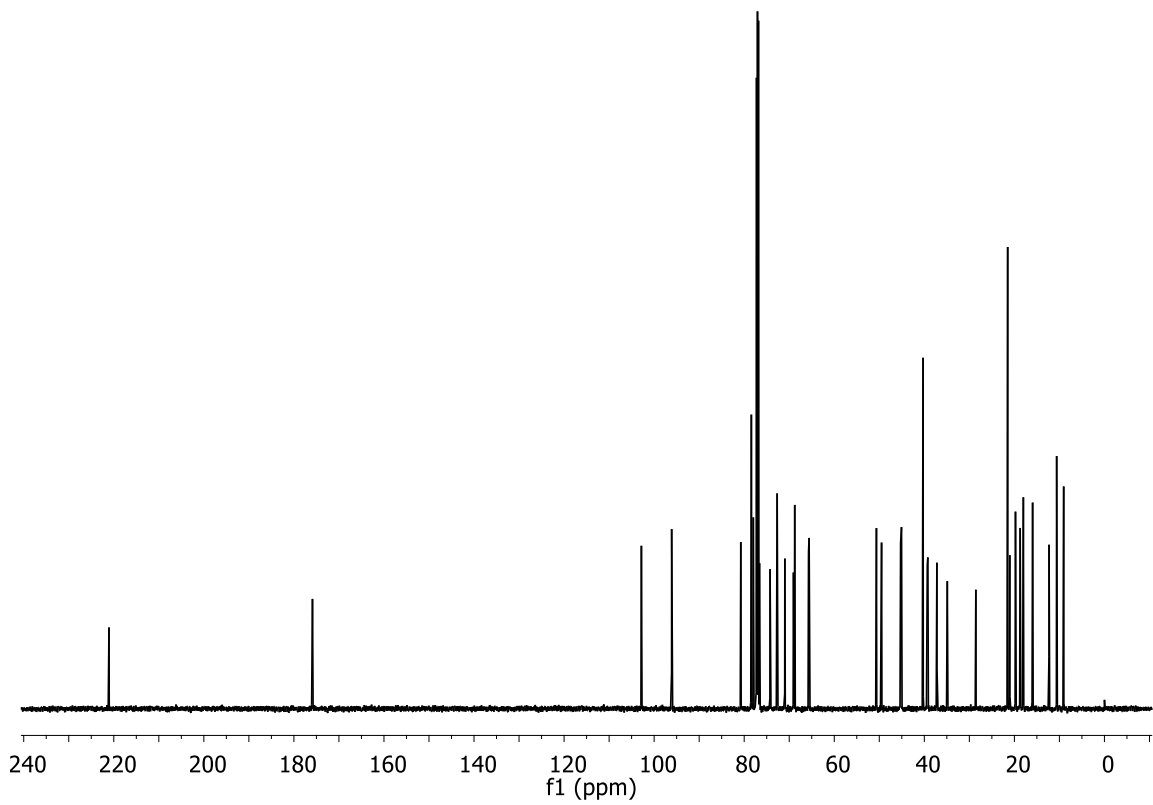
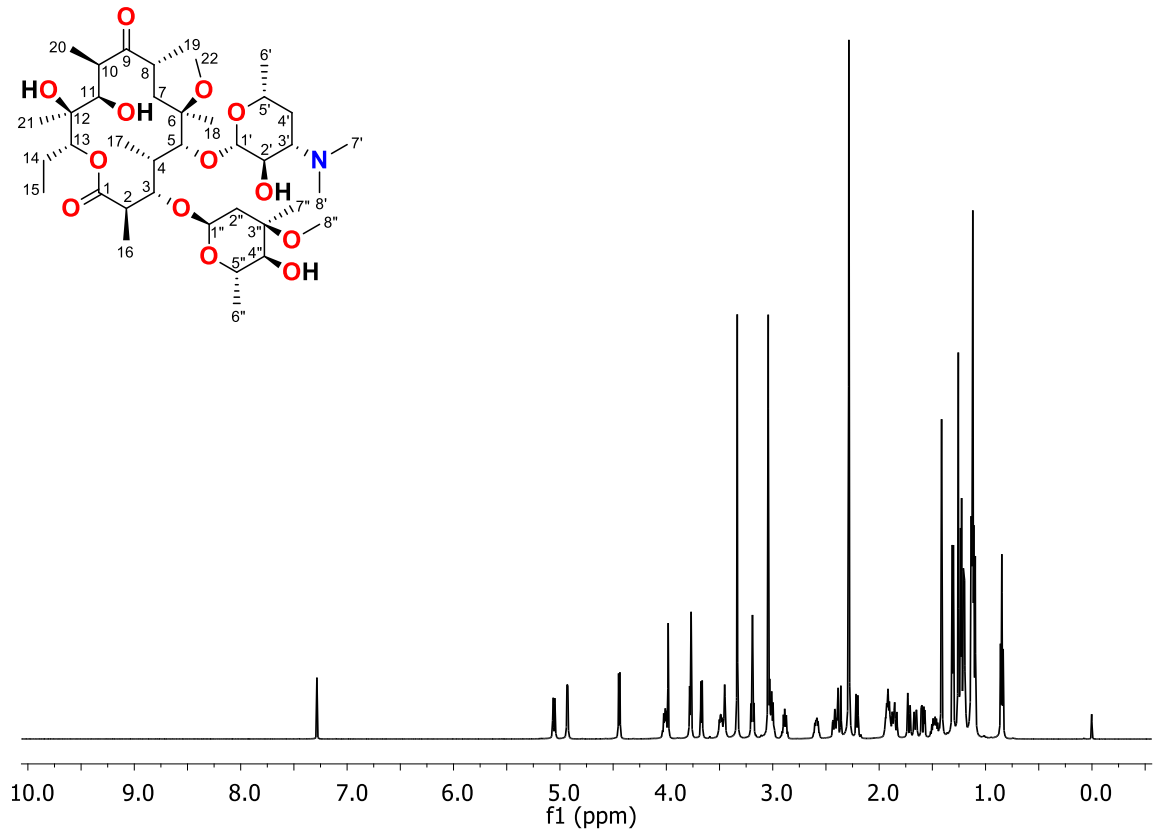
AZM-43



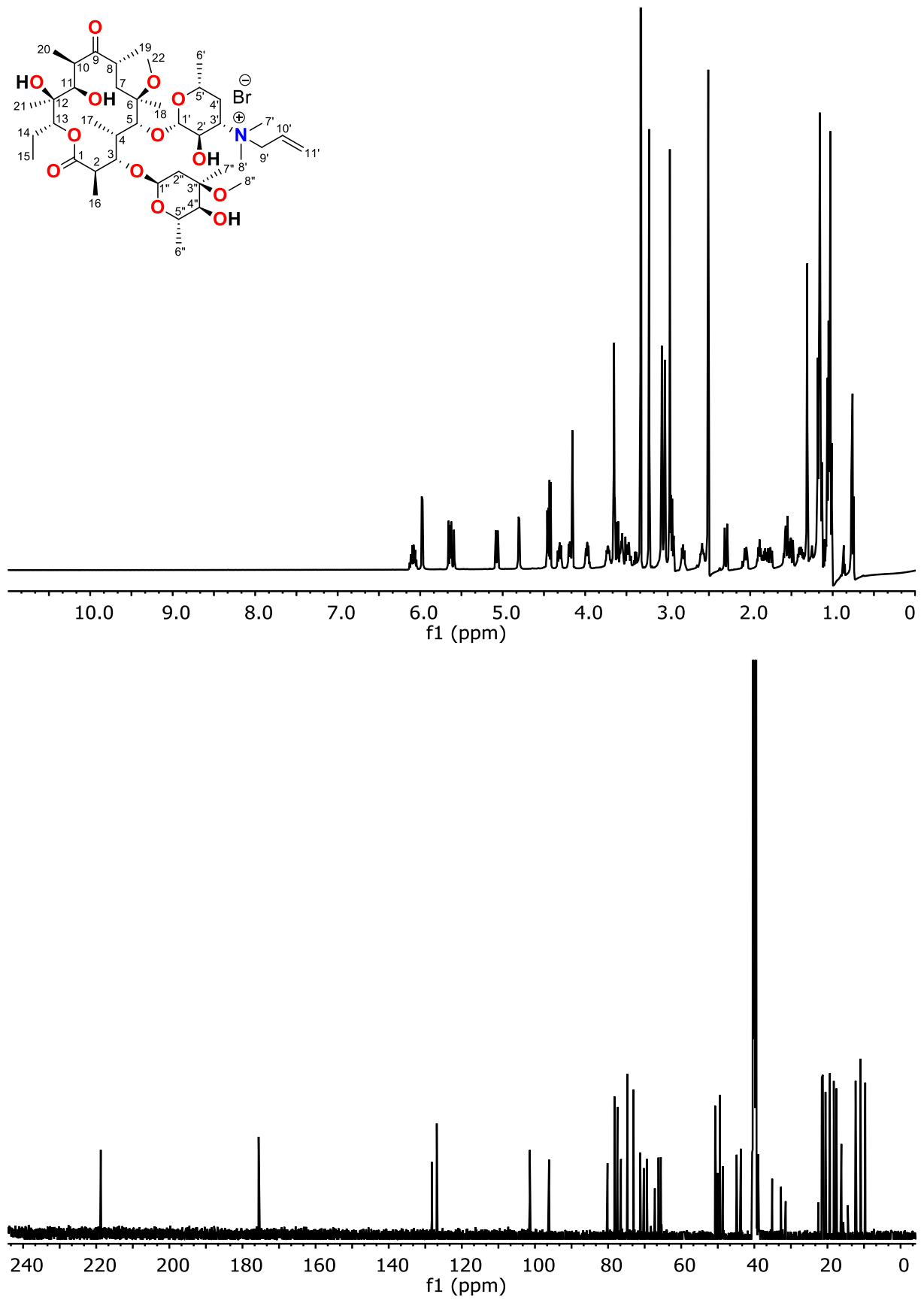
AZM-44



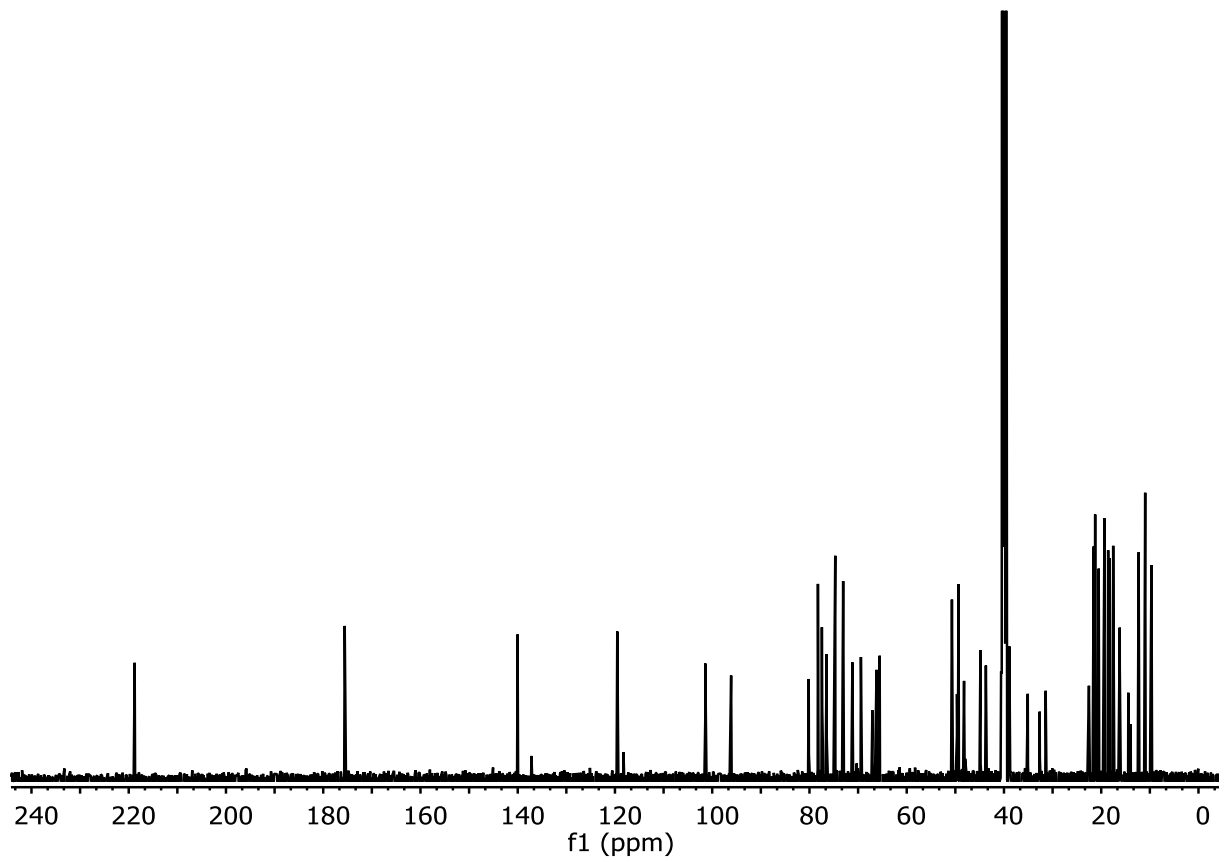
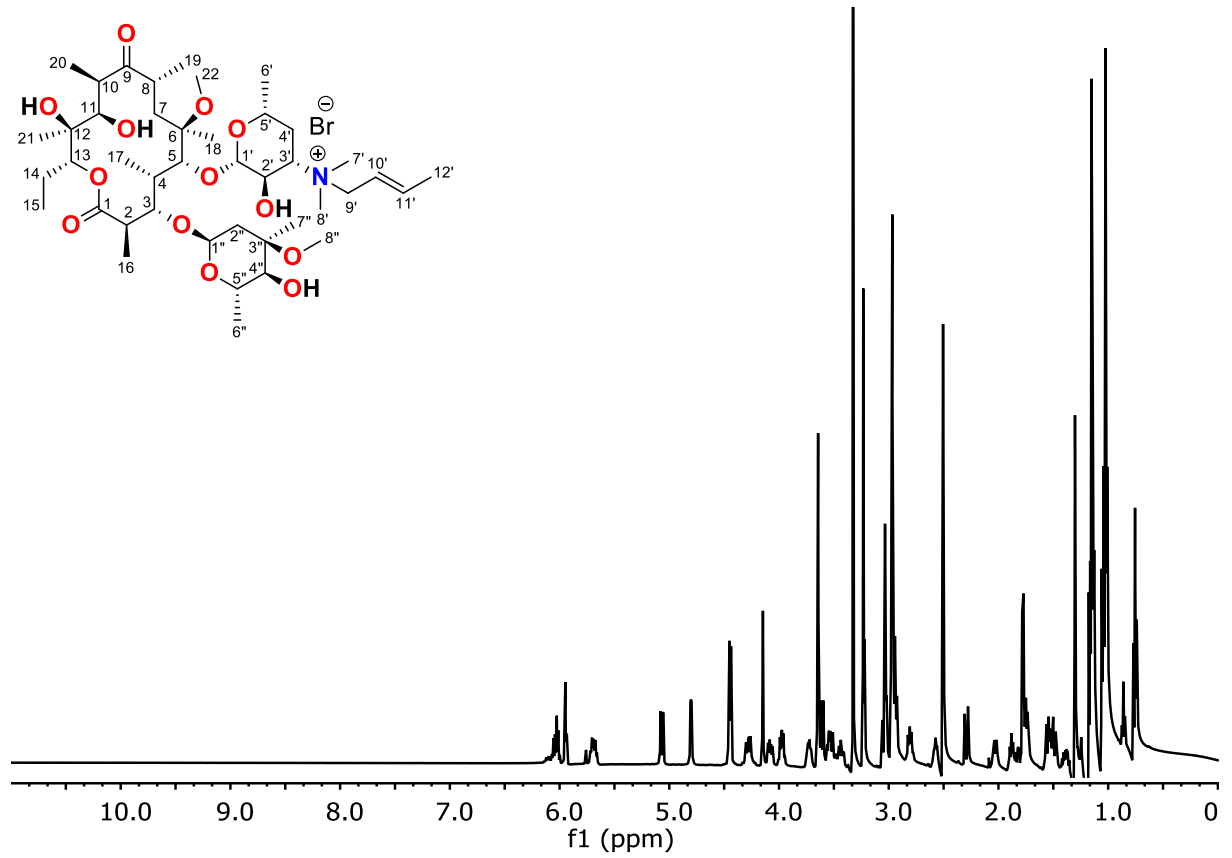
CLA



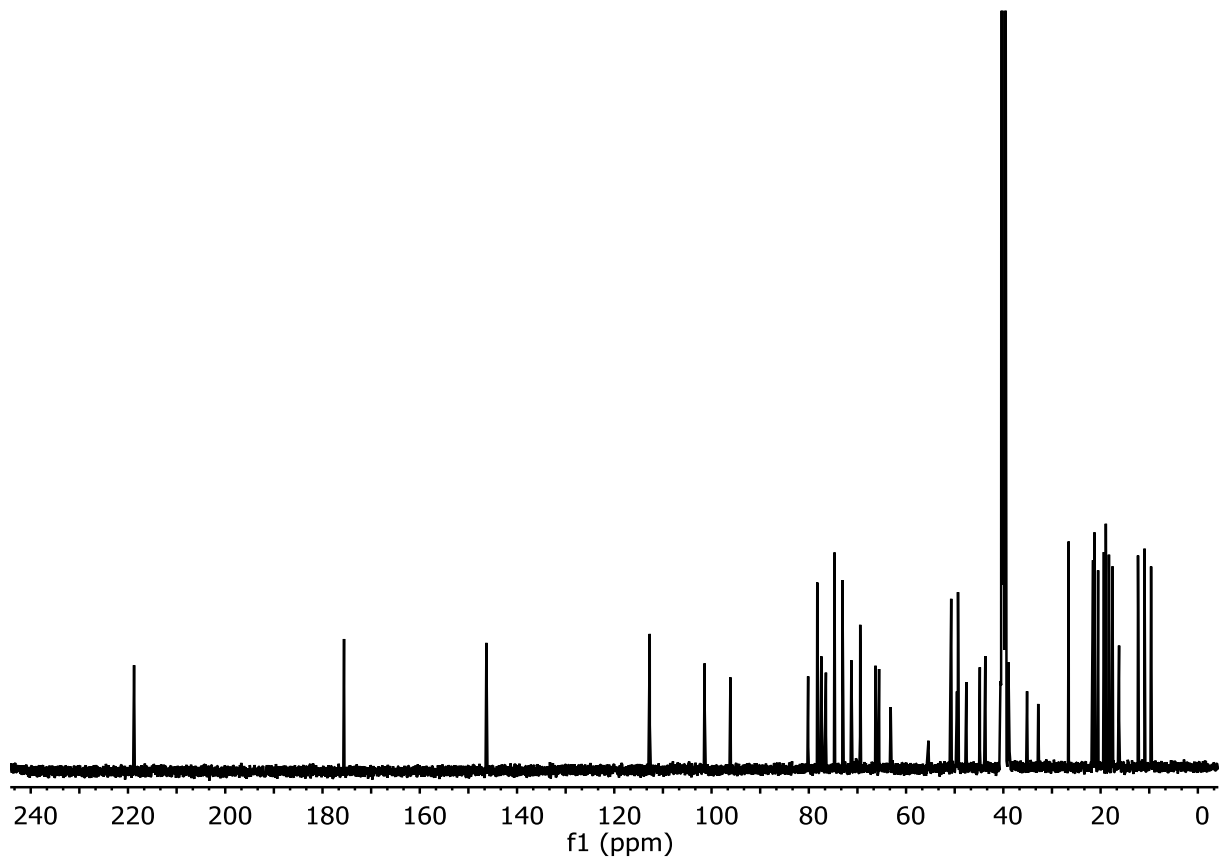
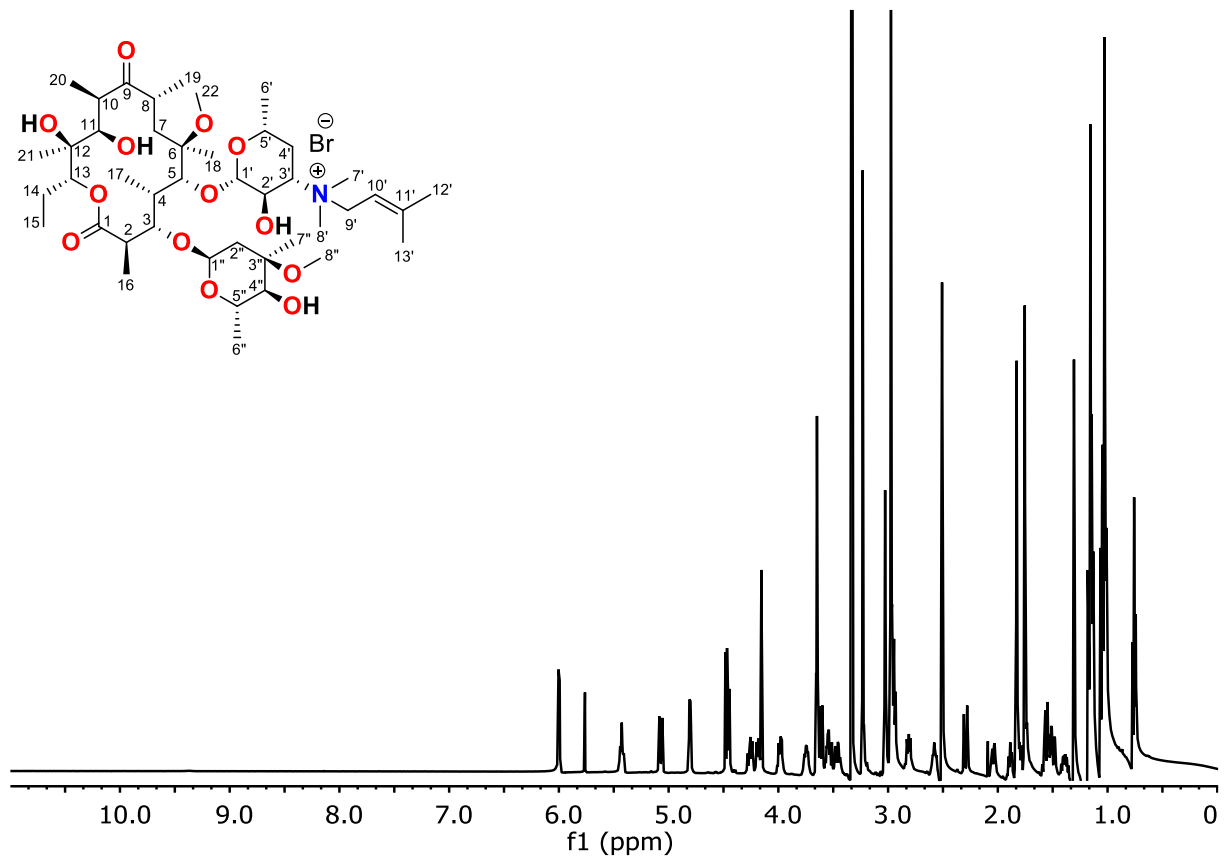
CLA-1



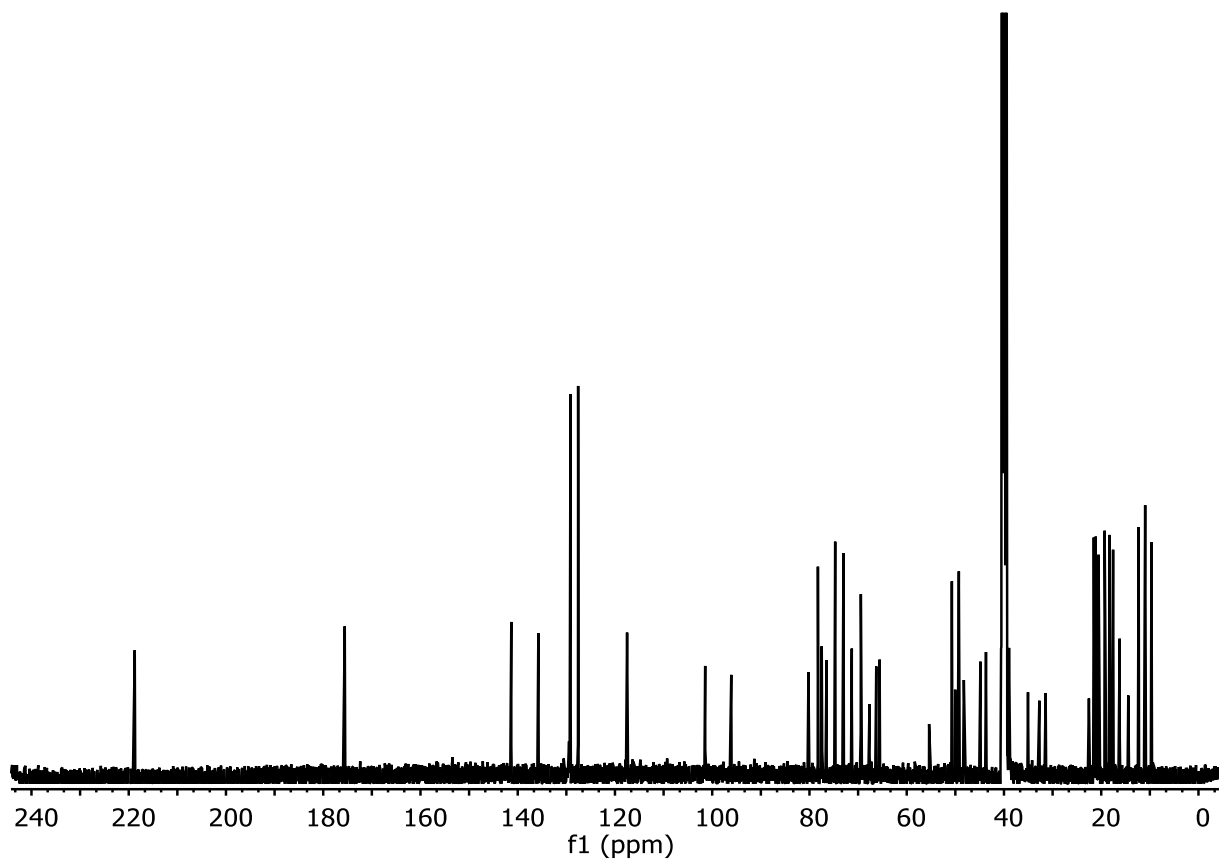
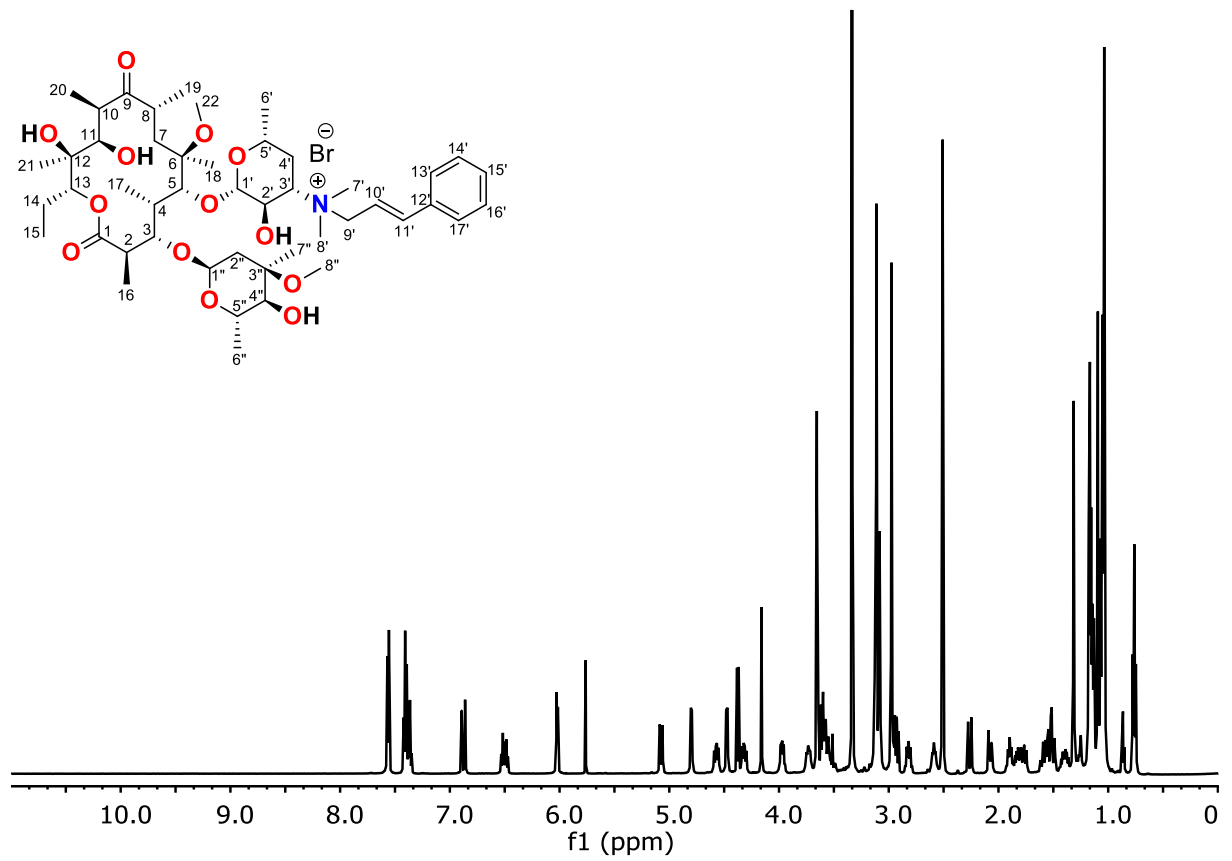
CLA-2



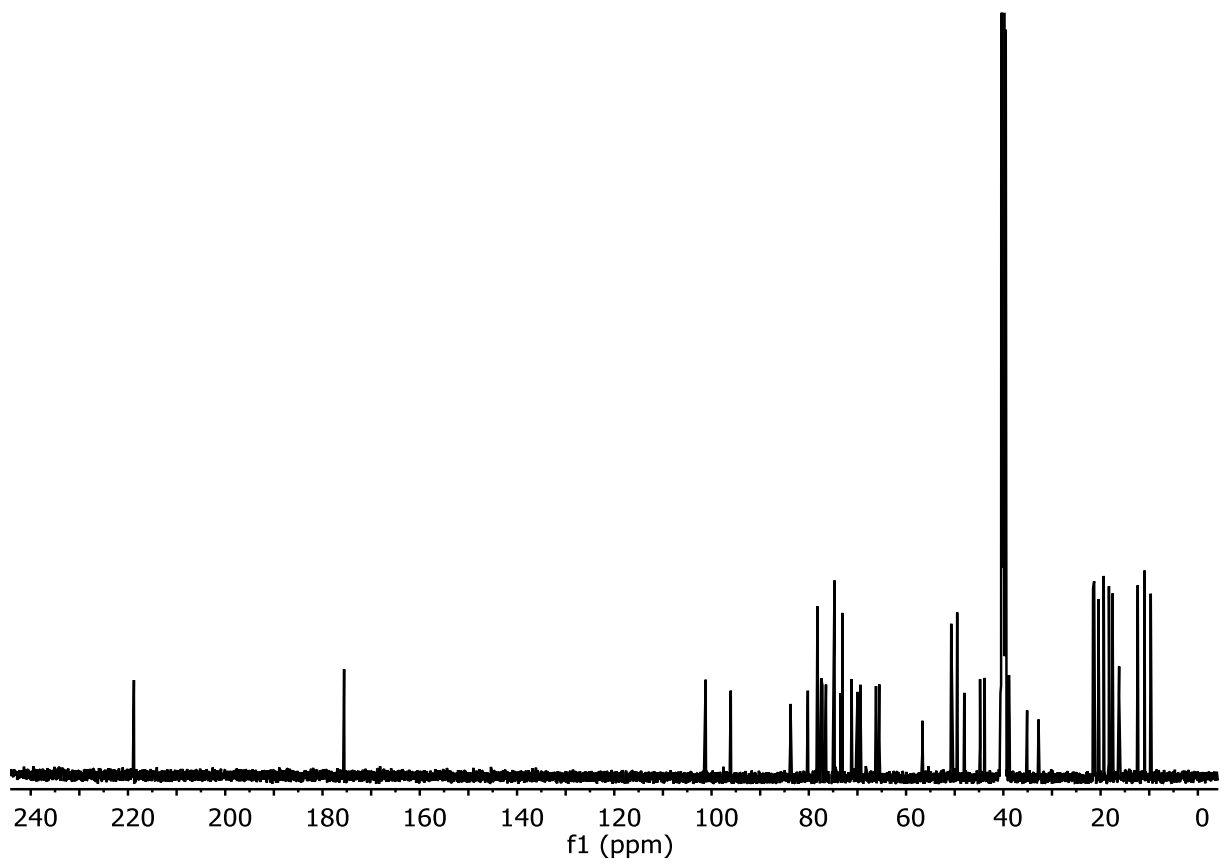
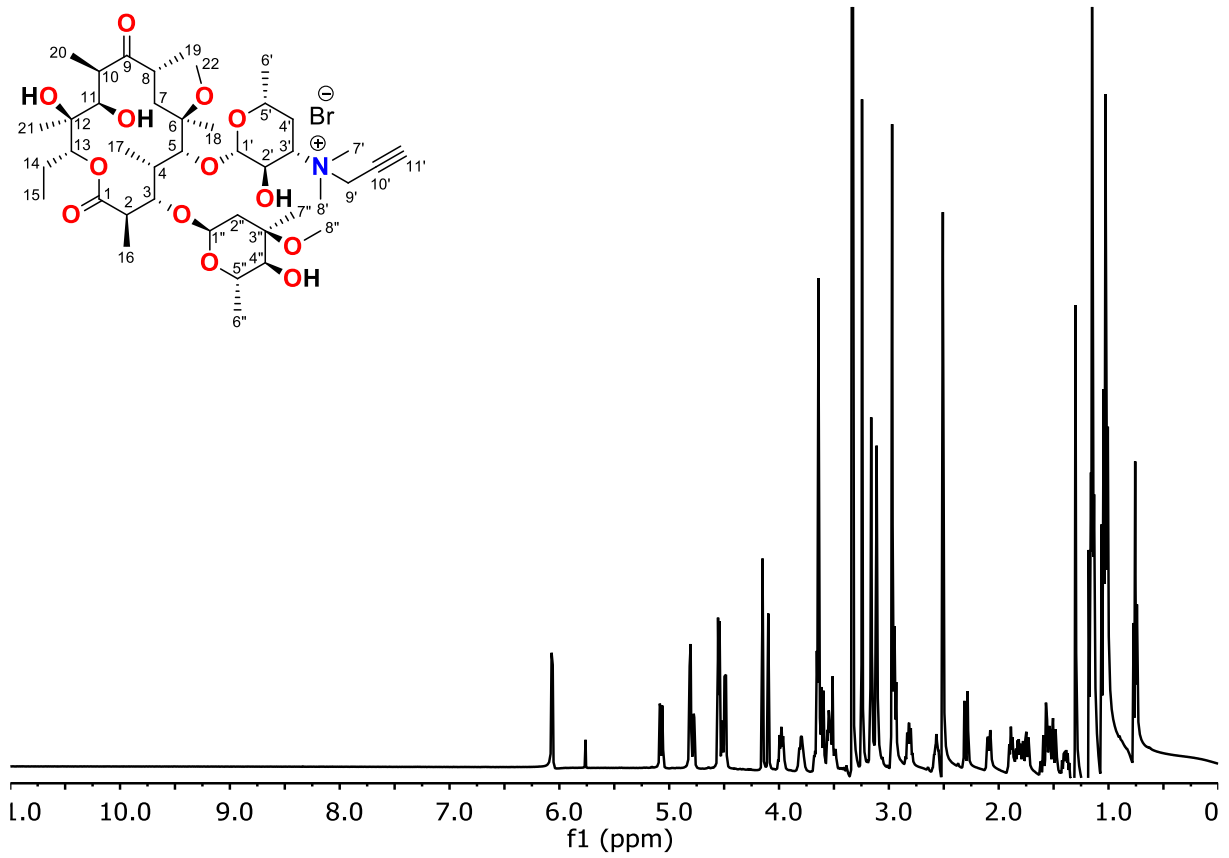
CLA-3



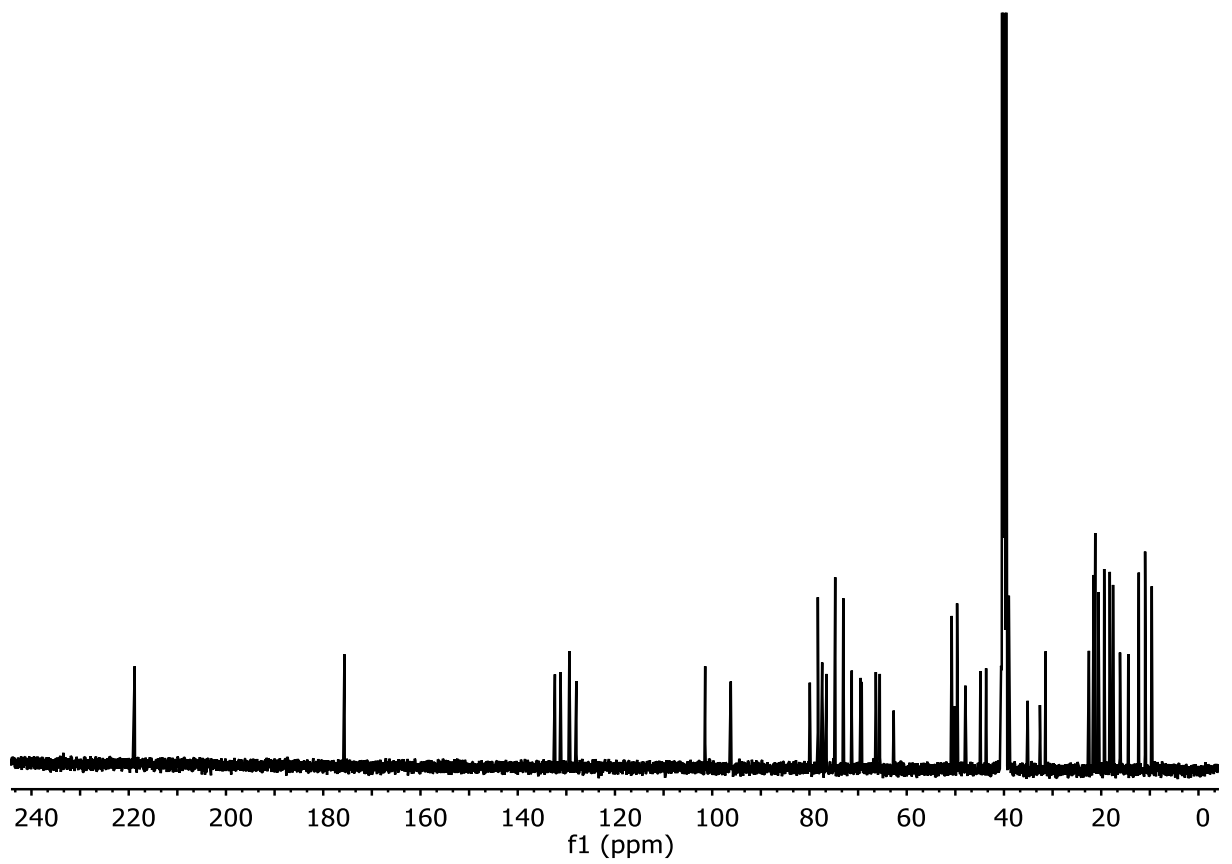
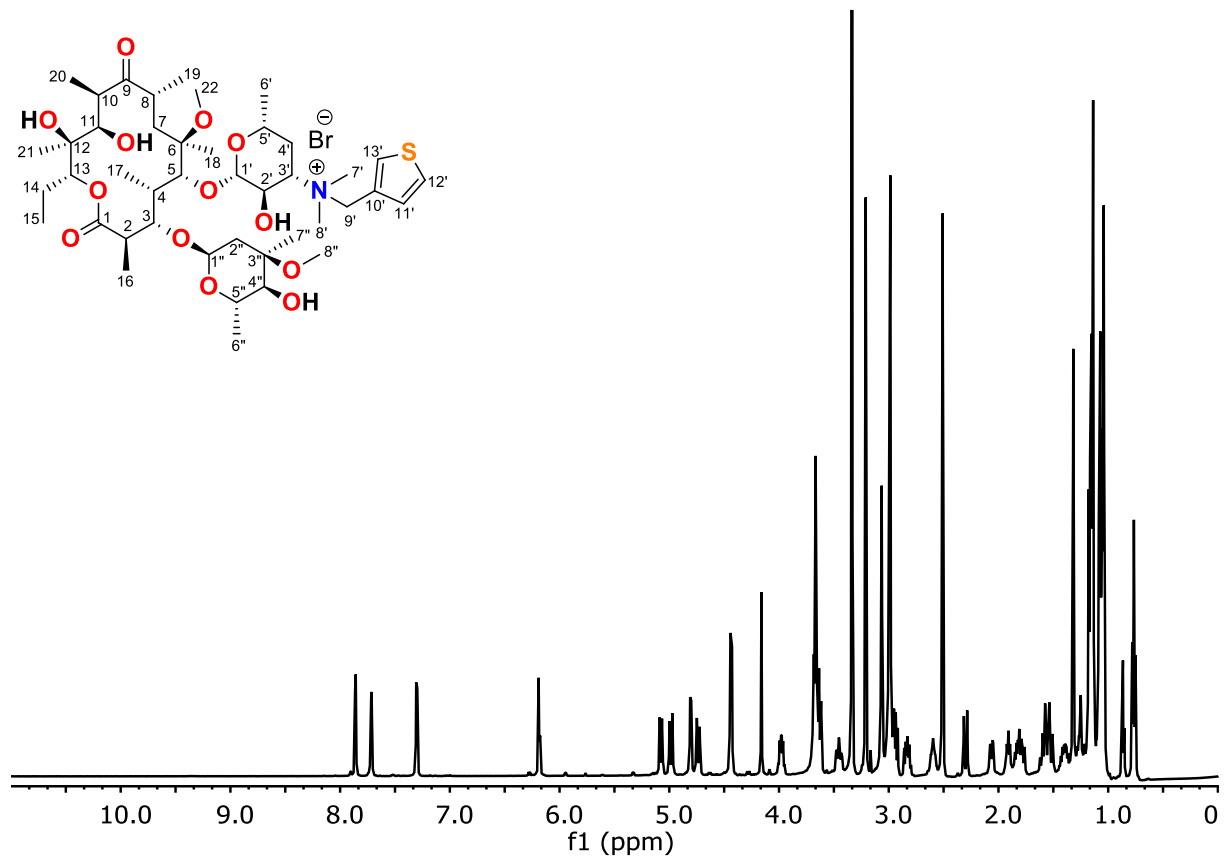
CLA-4



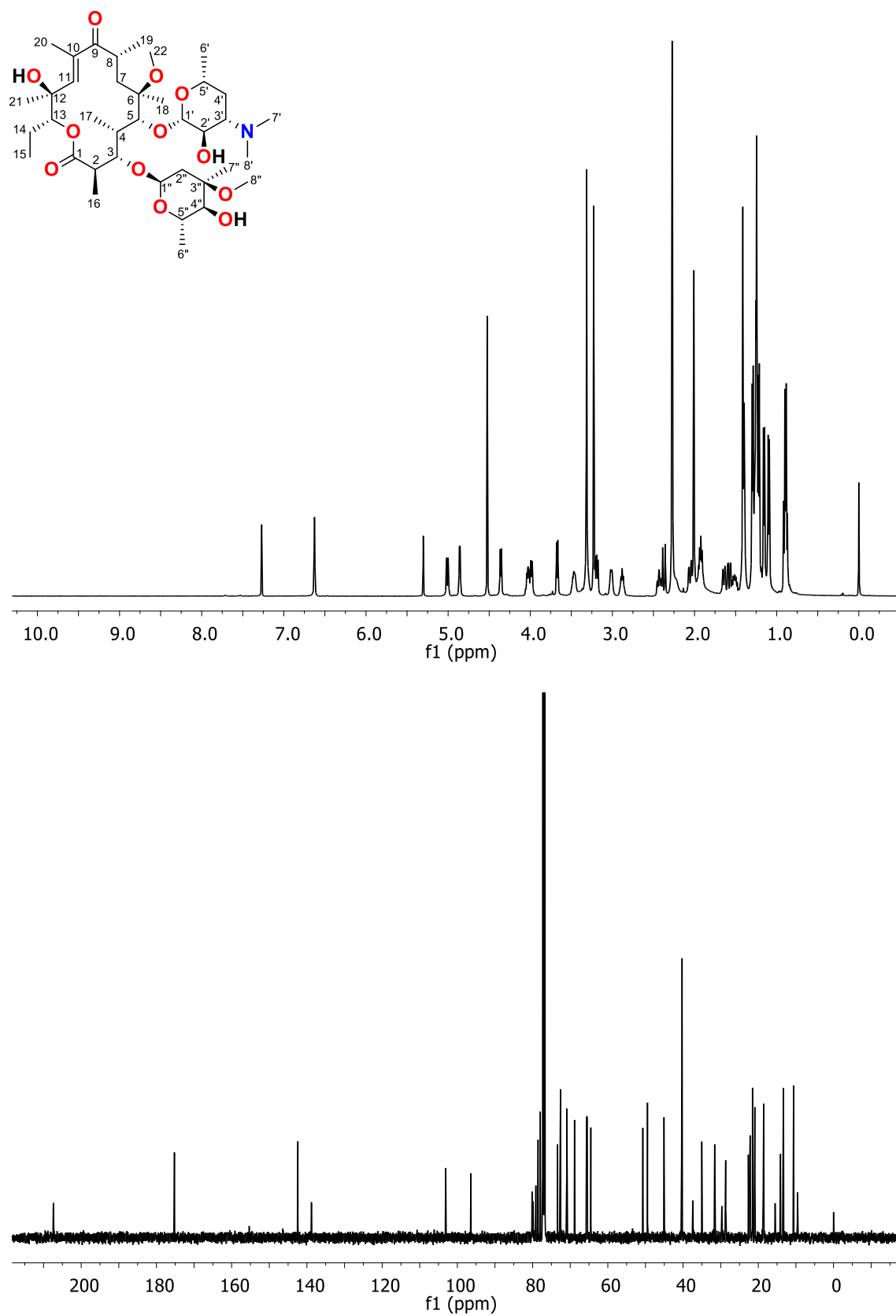
CLA-5



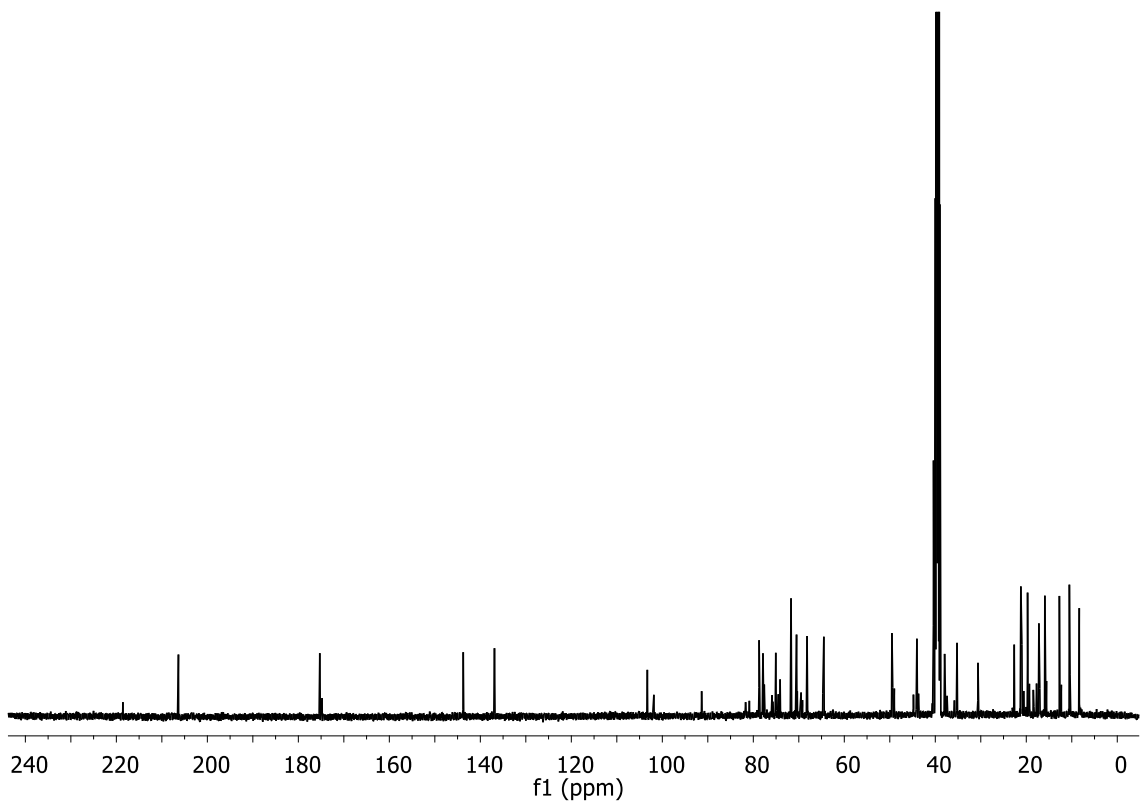
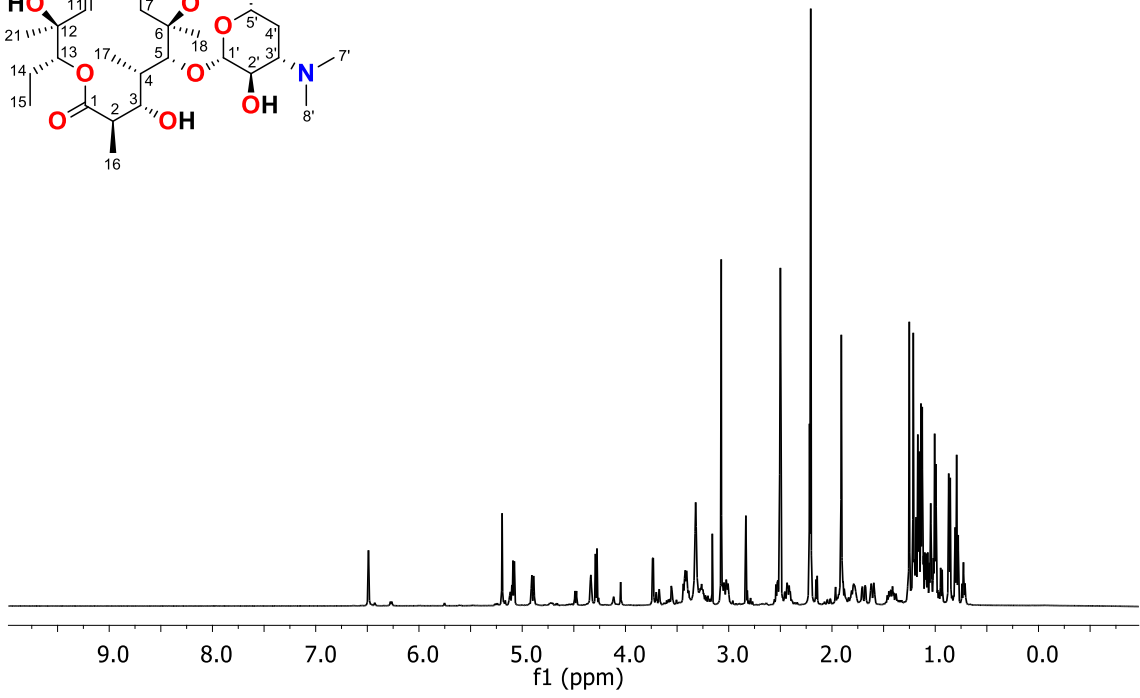
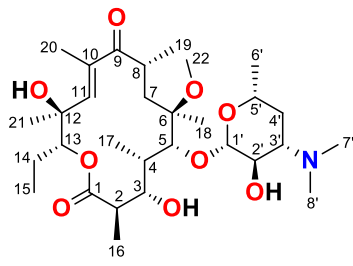
CLA-6



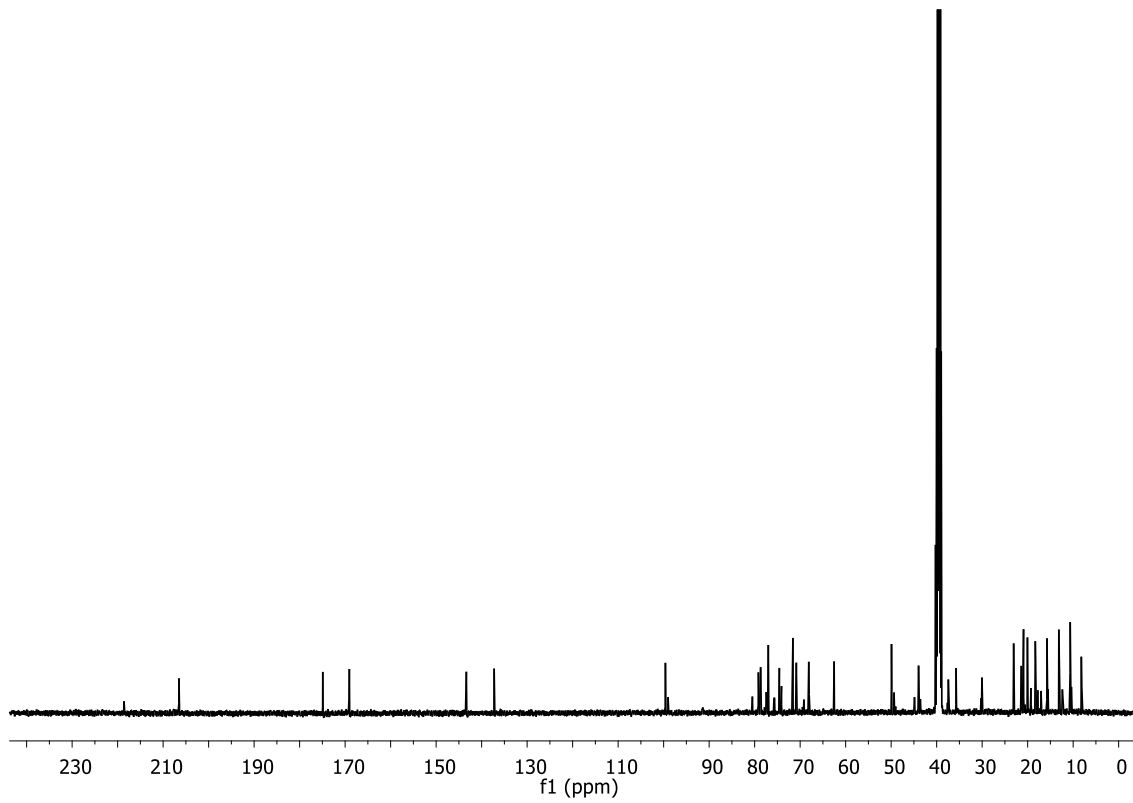
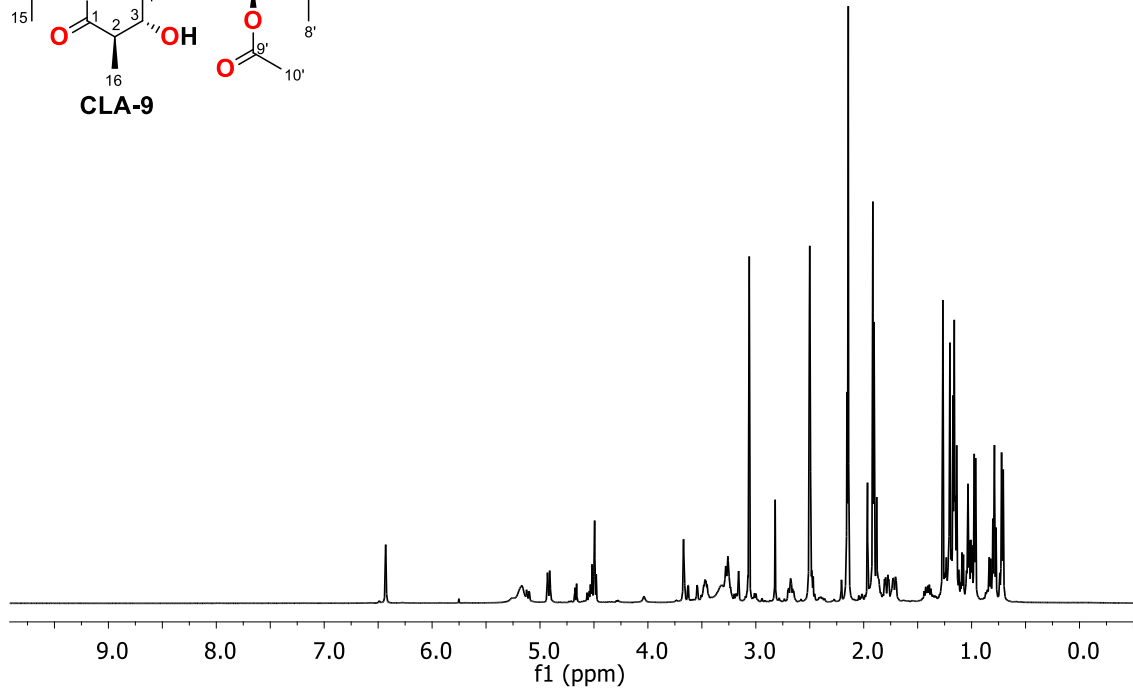
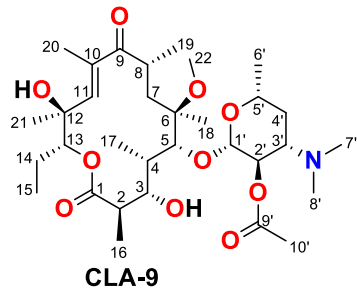
CLA-7



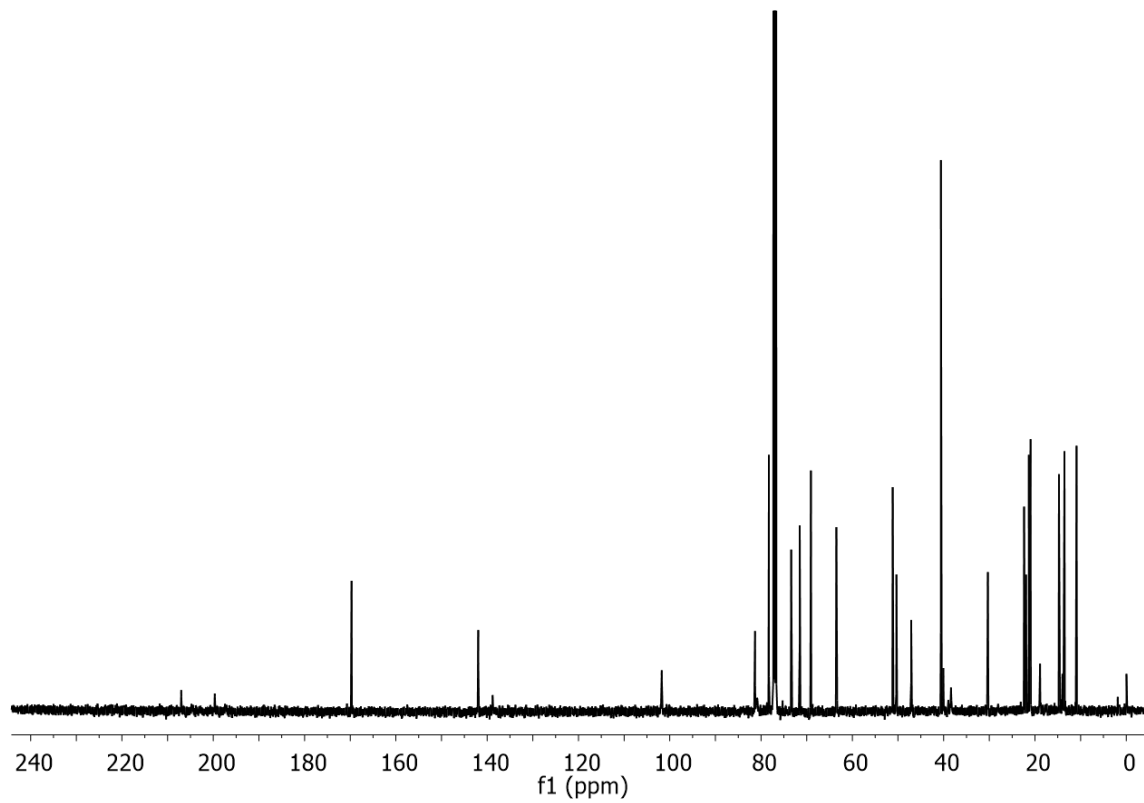
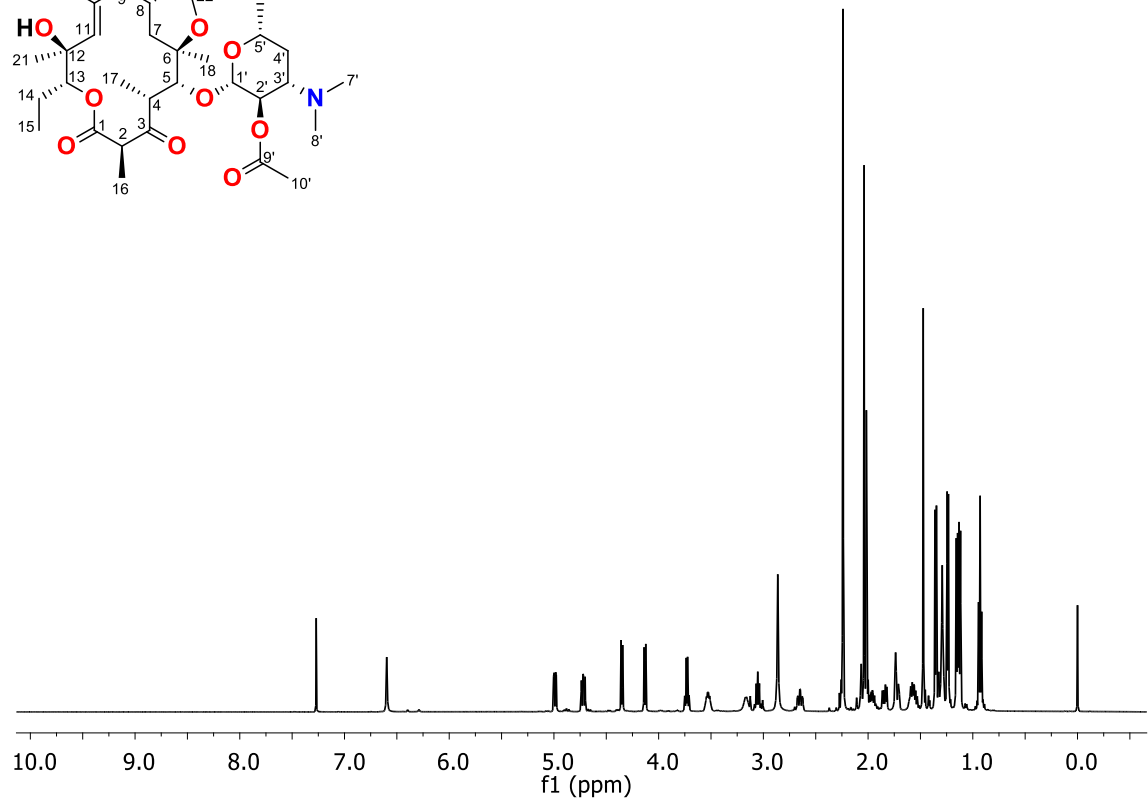
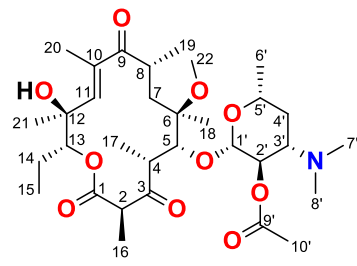
CLA-8



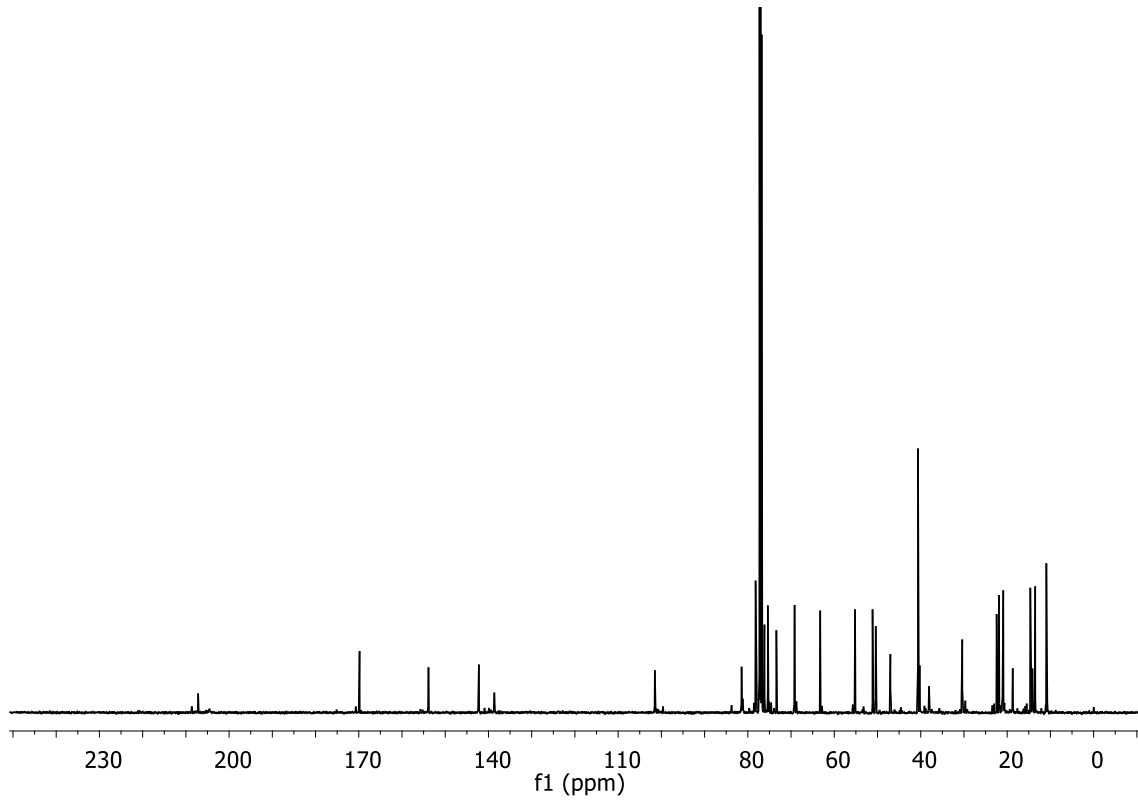
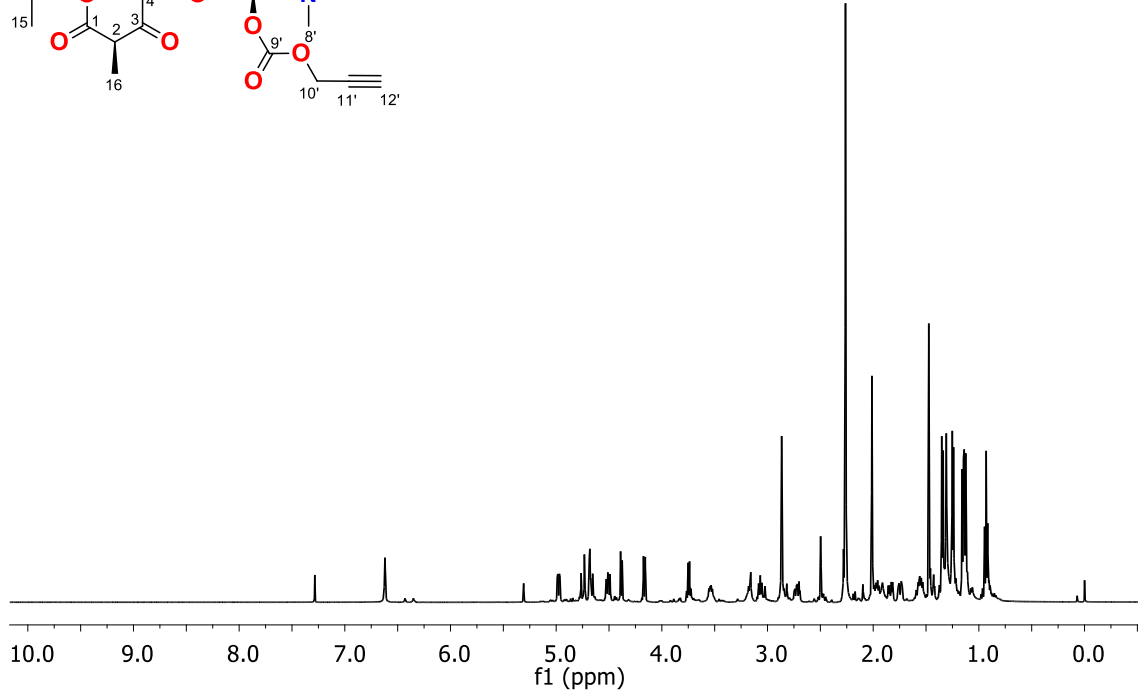
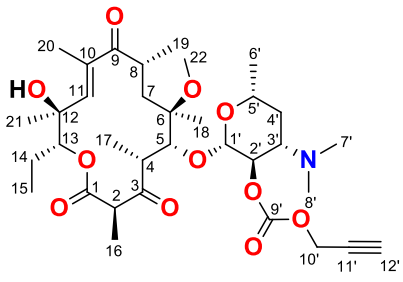
CLA-9



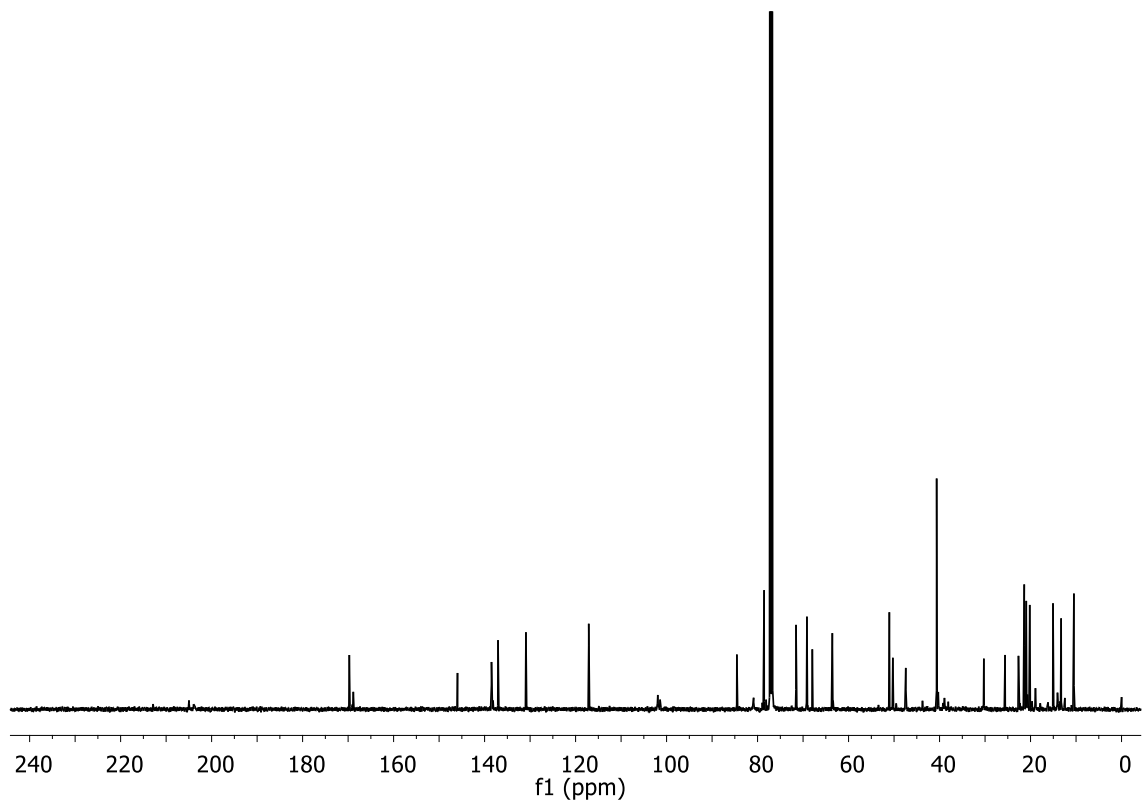
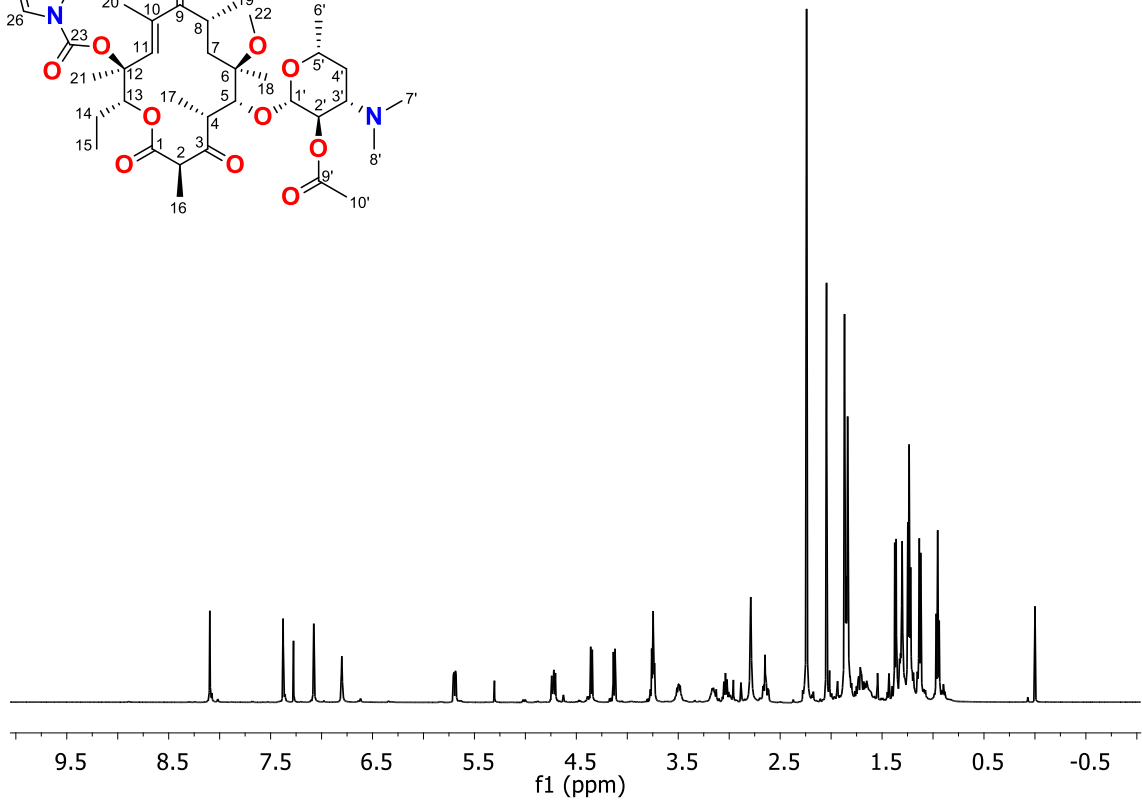
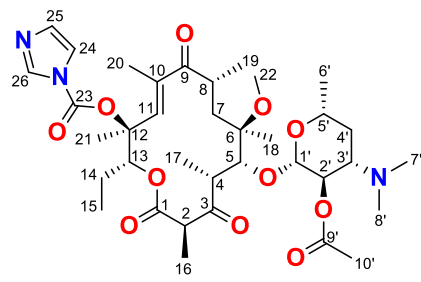
CLA-10



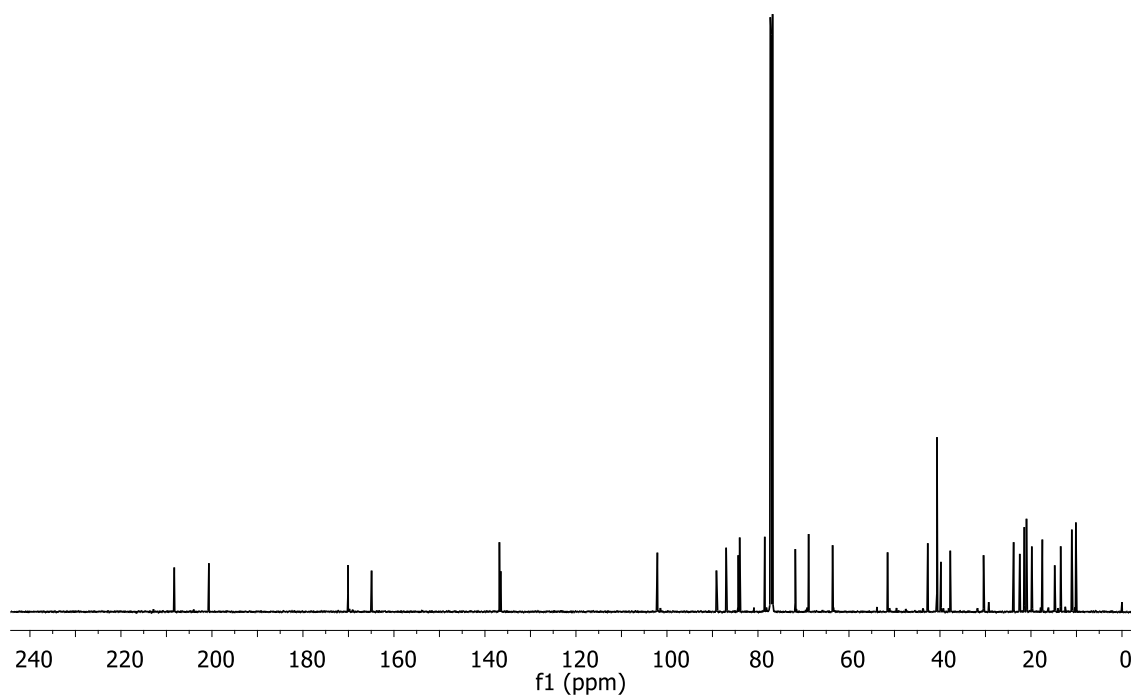
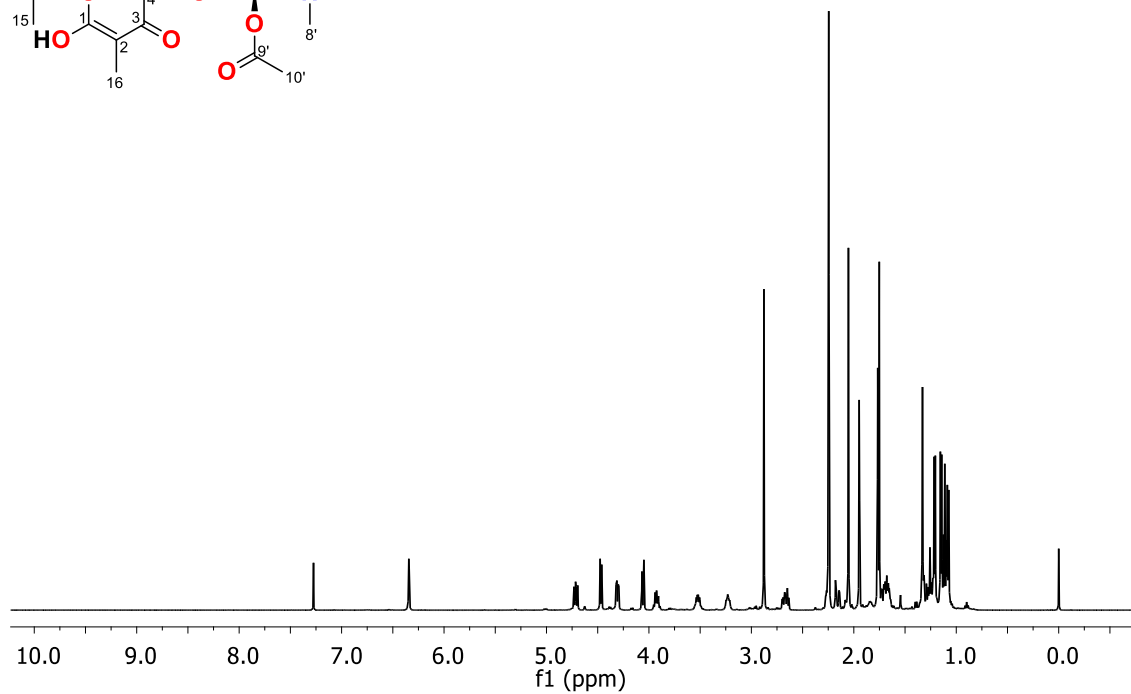
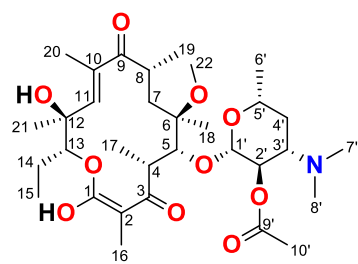
CLA-12



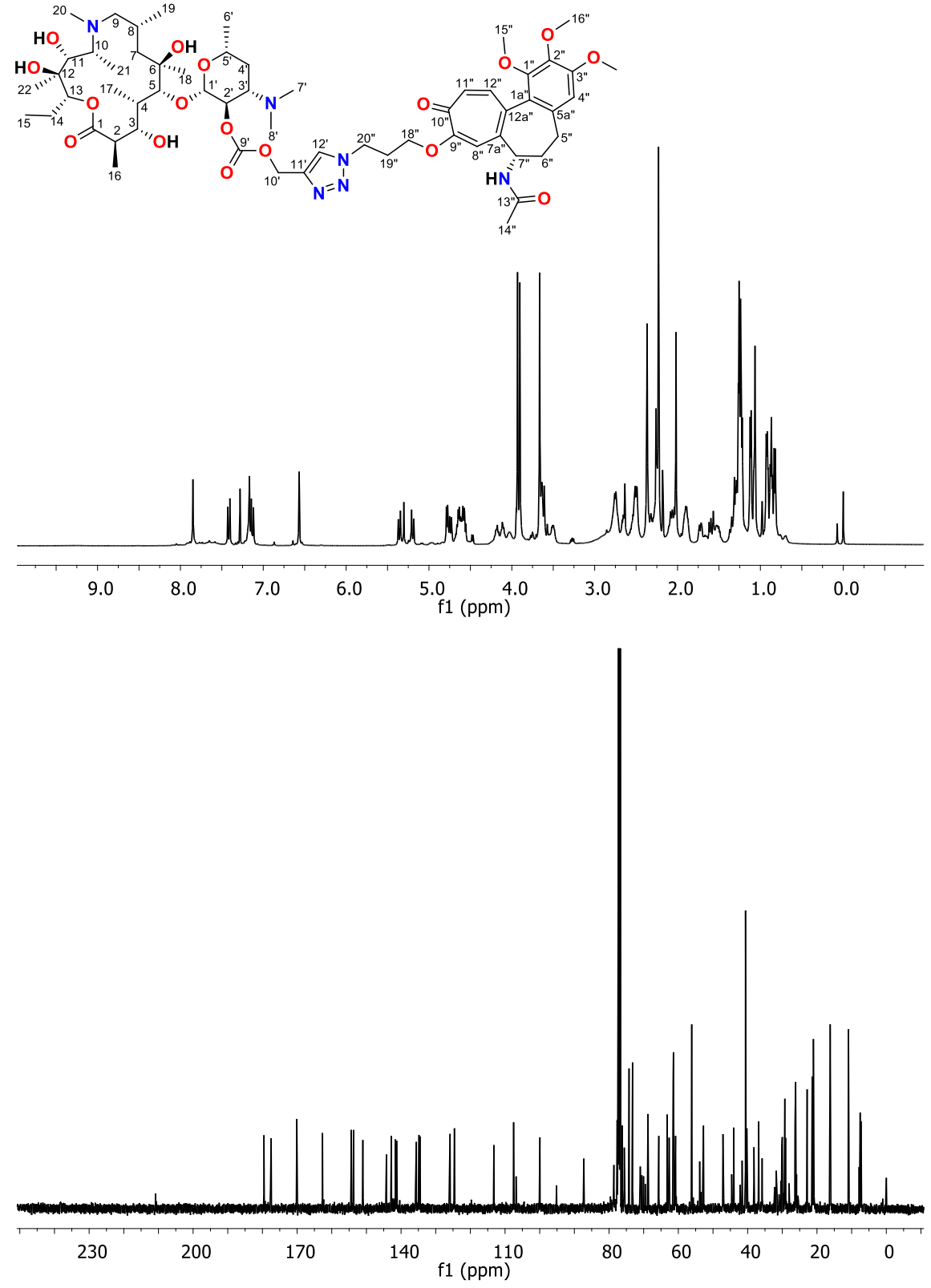
CLA-13



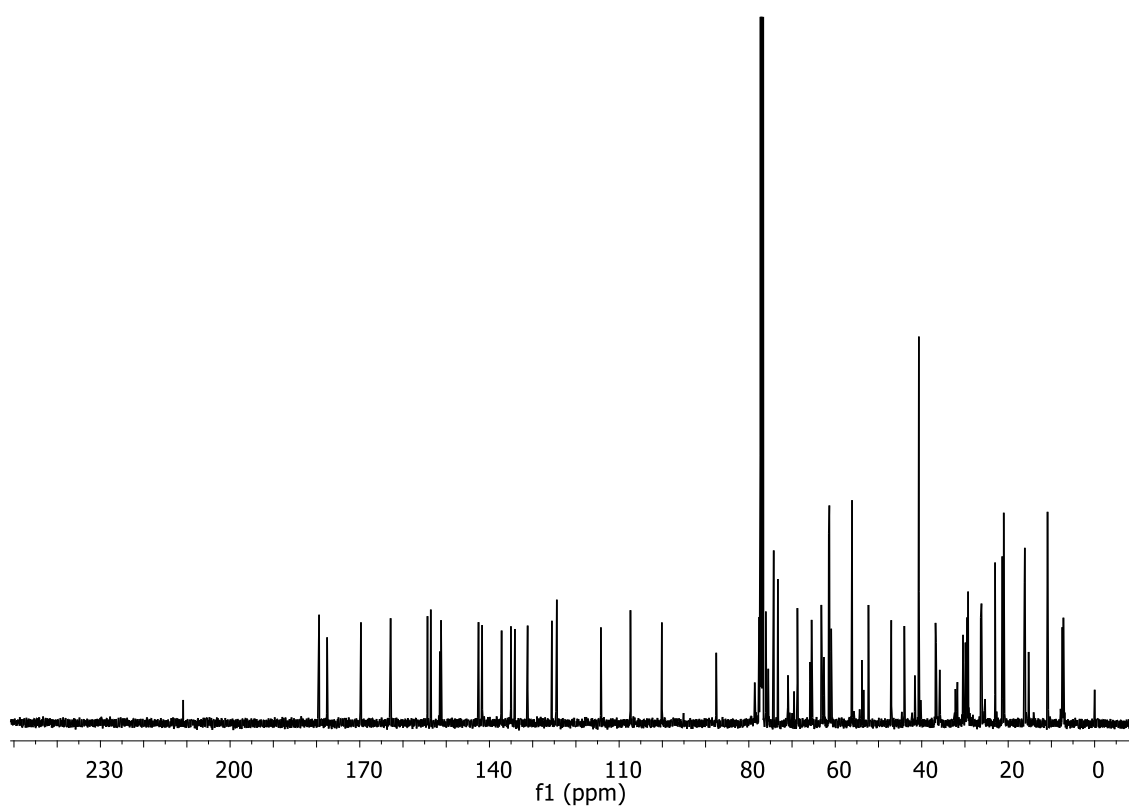
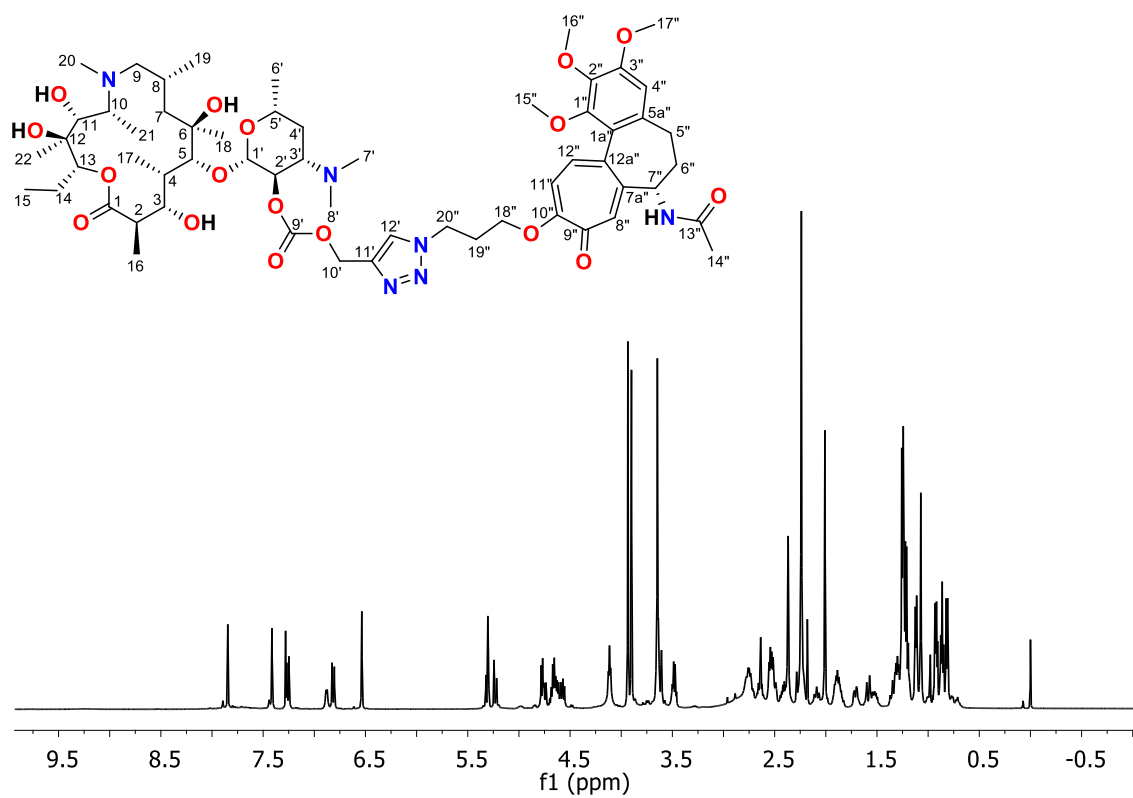
CLA-14



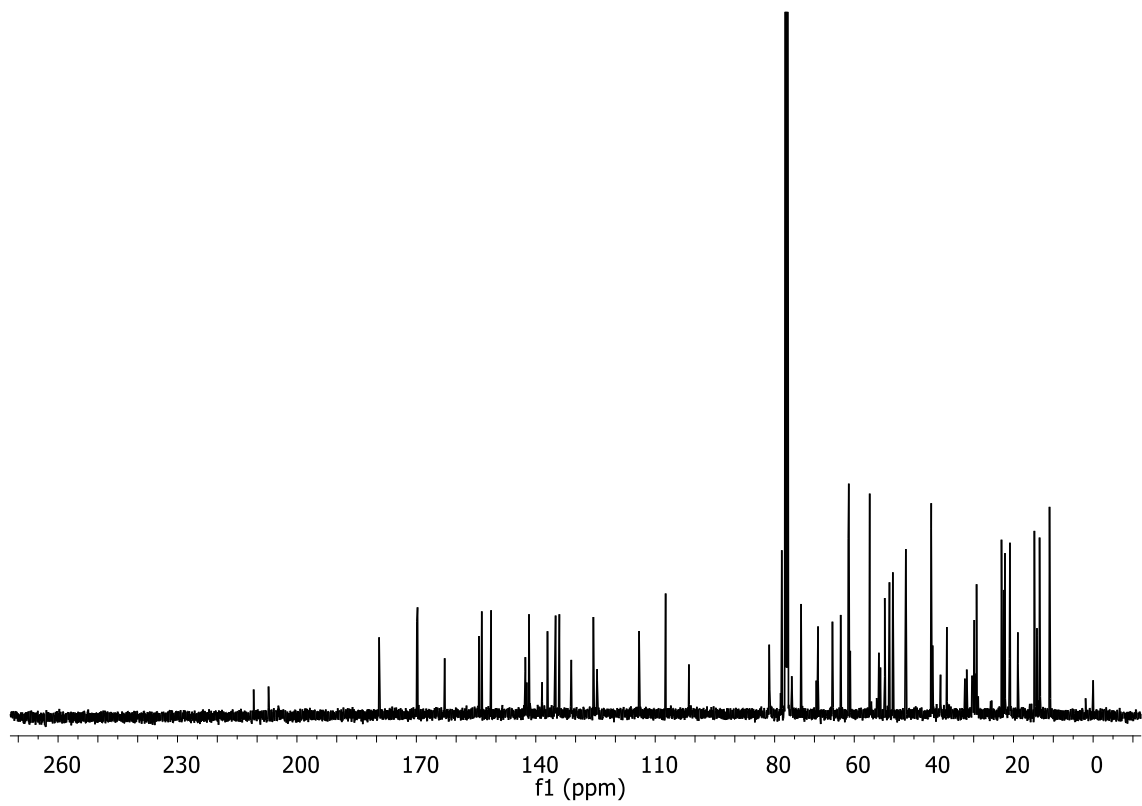
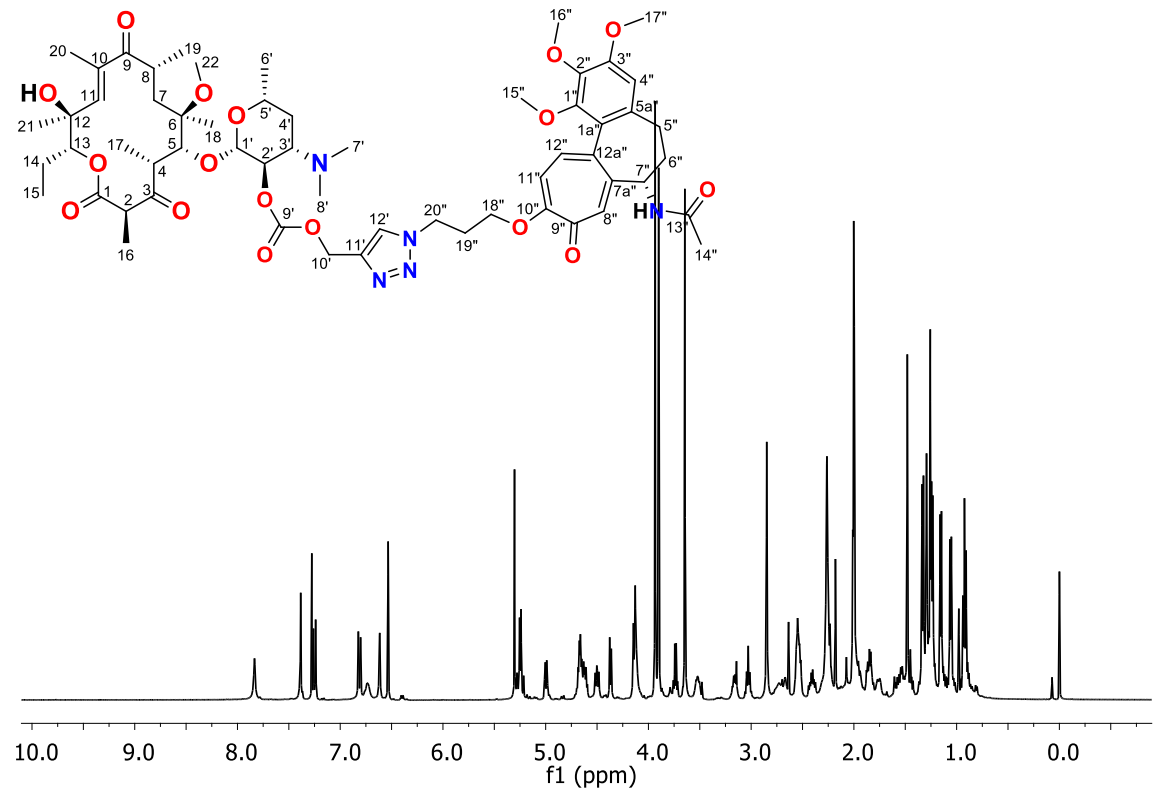
AZM-1-COL-1



AZM-1-COL-2

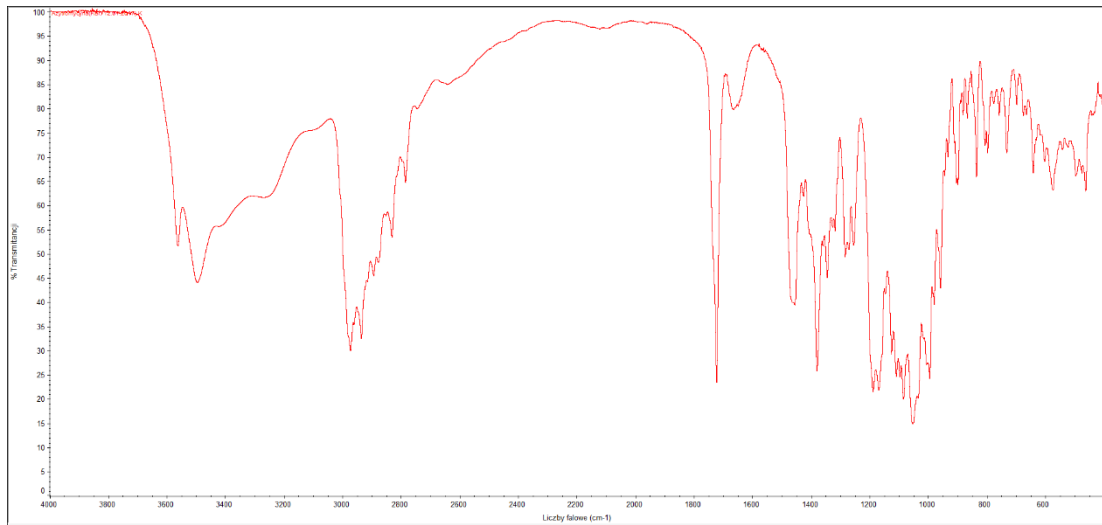


CLA-12-COL-2

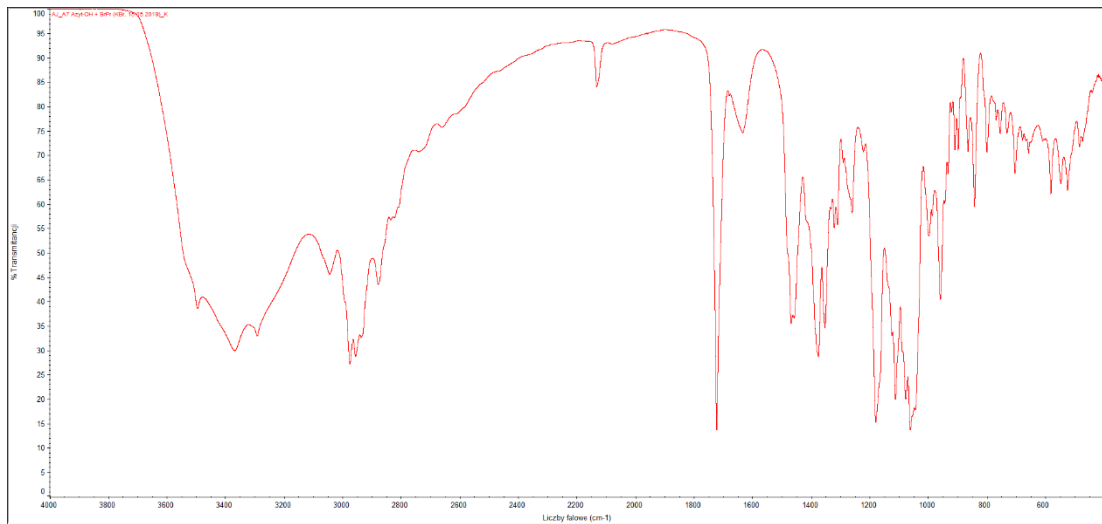


Kopie widm FT-IR

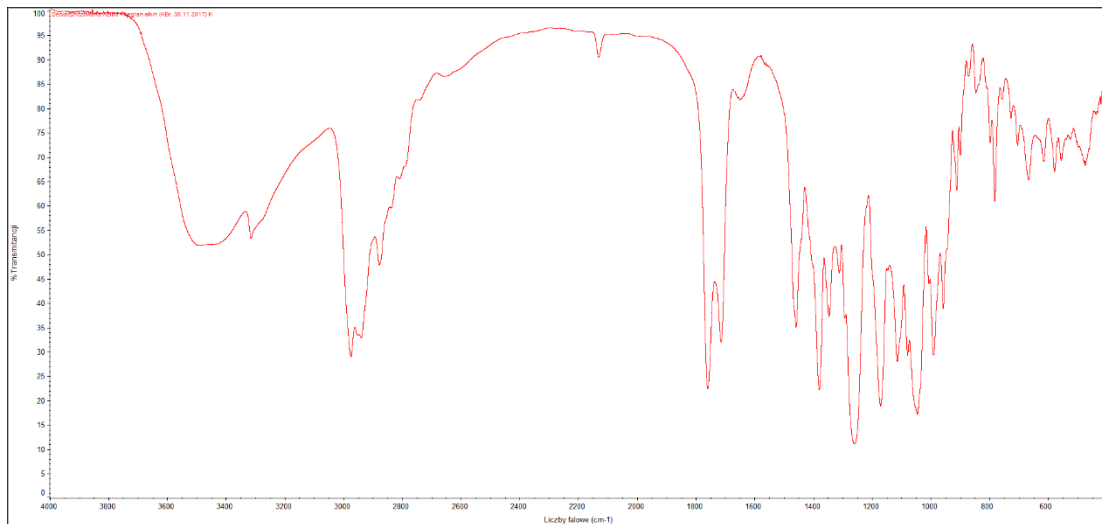
AZM



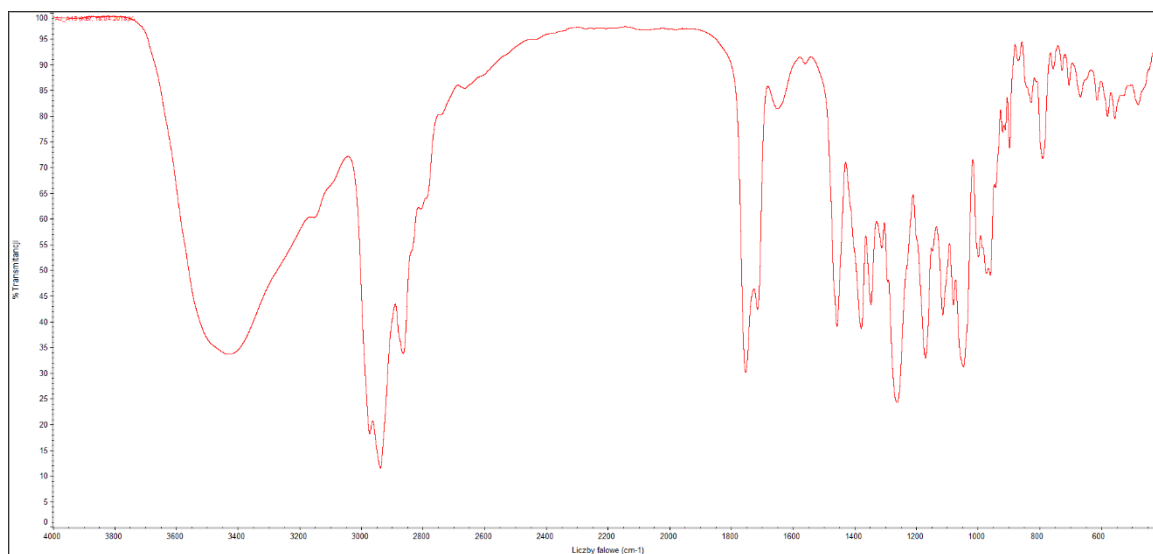
AZM-OH



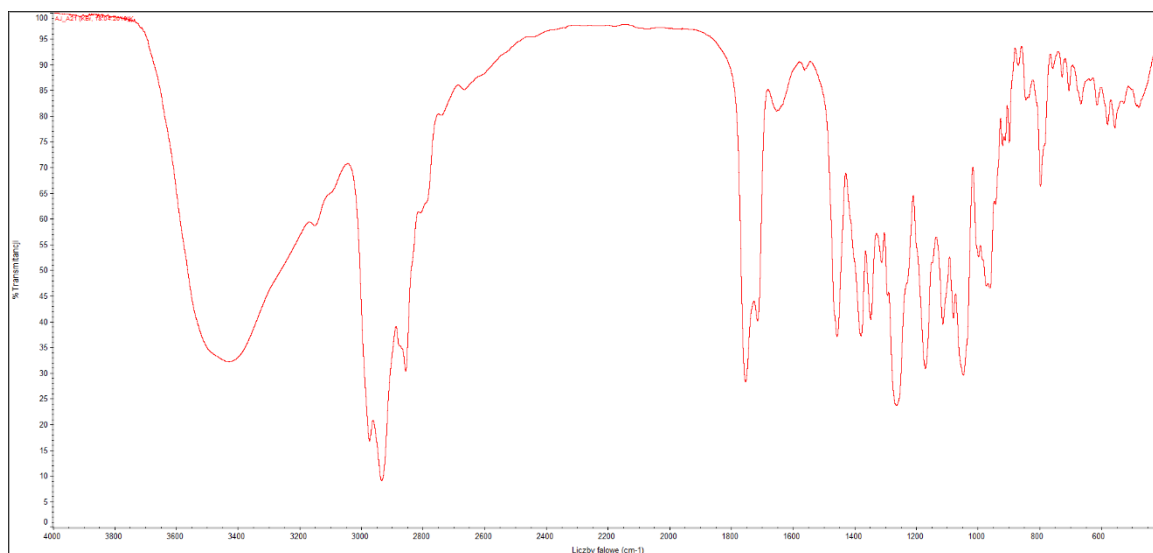
AZM-1



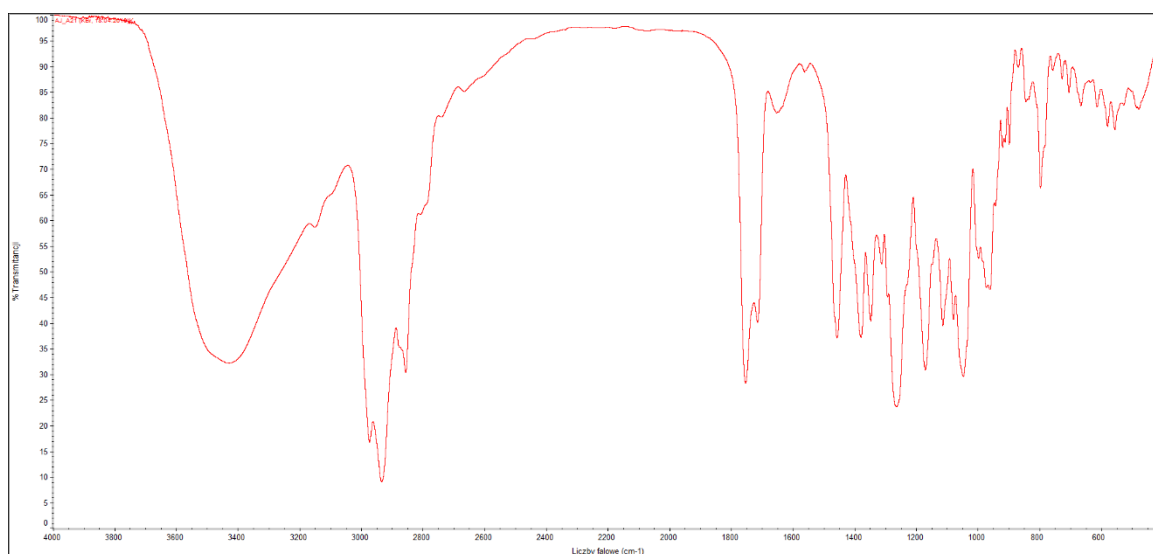
AZM-2



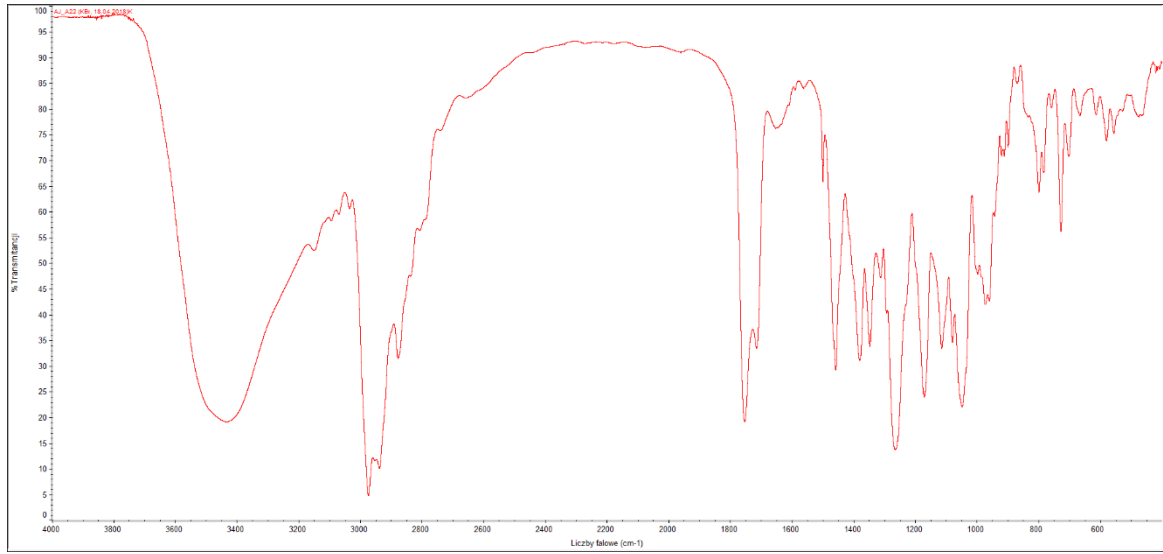
AZM-3



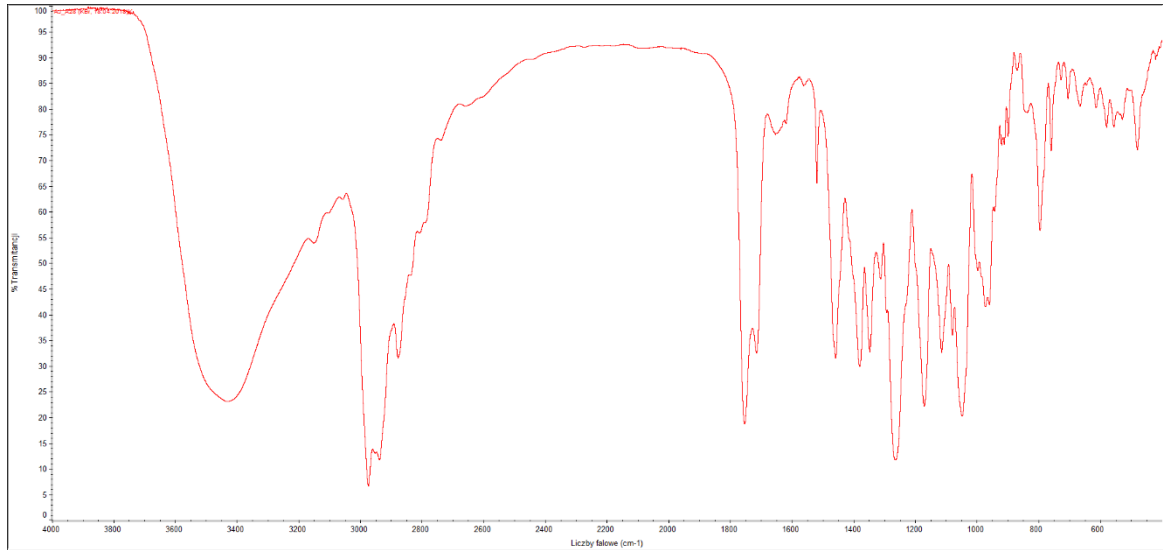
AZM-4



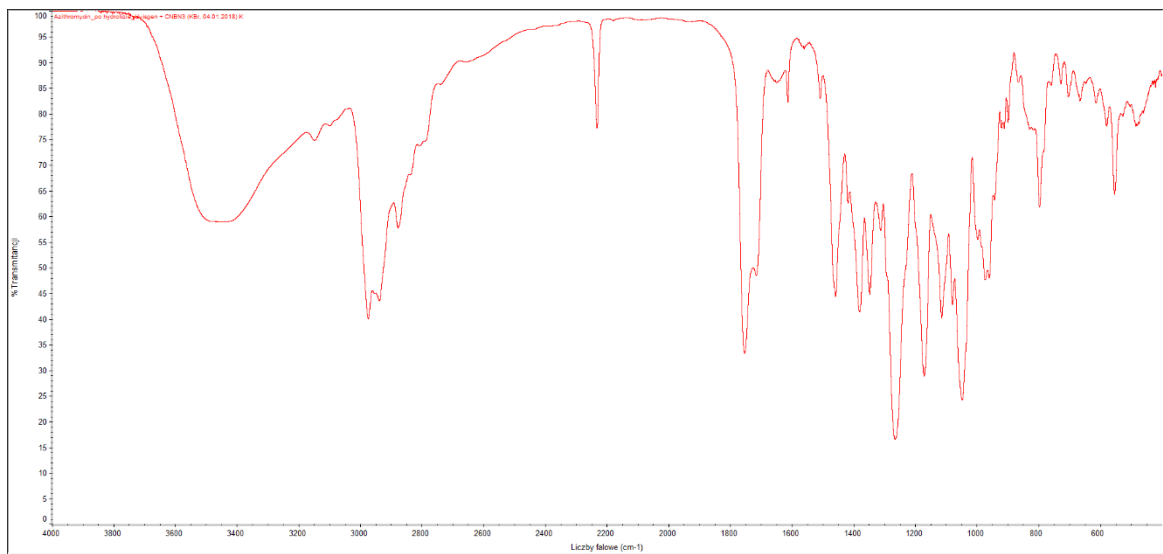
AZM-5



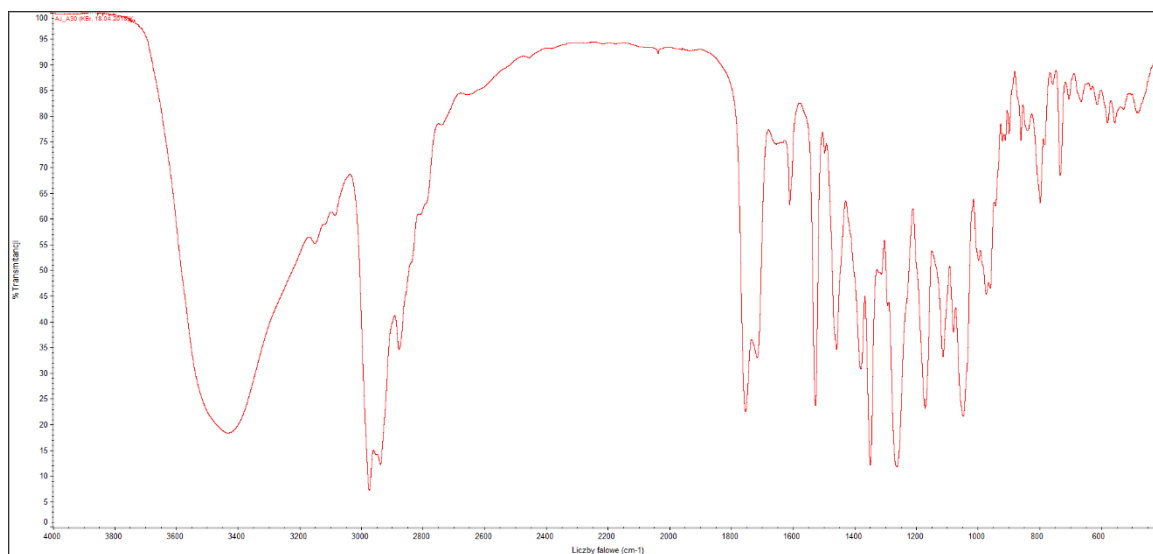
AZM-6



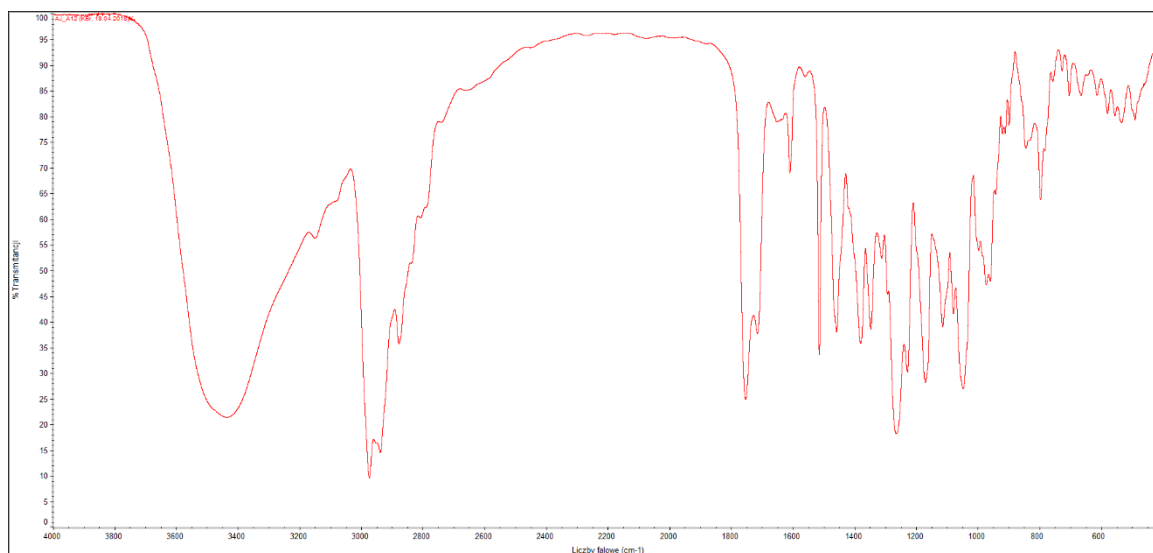
AZM-7



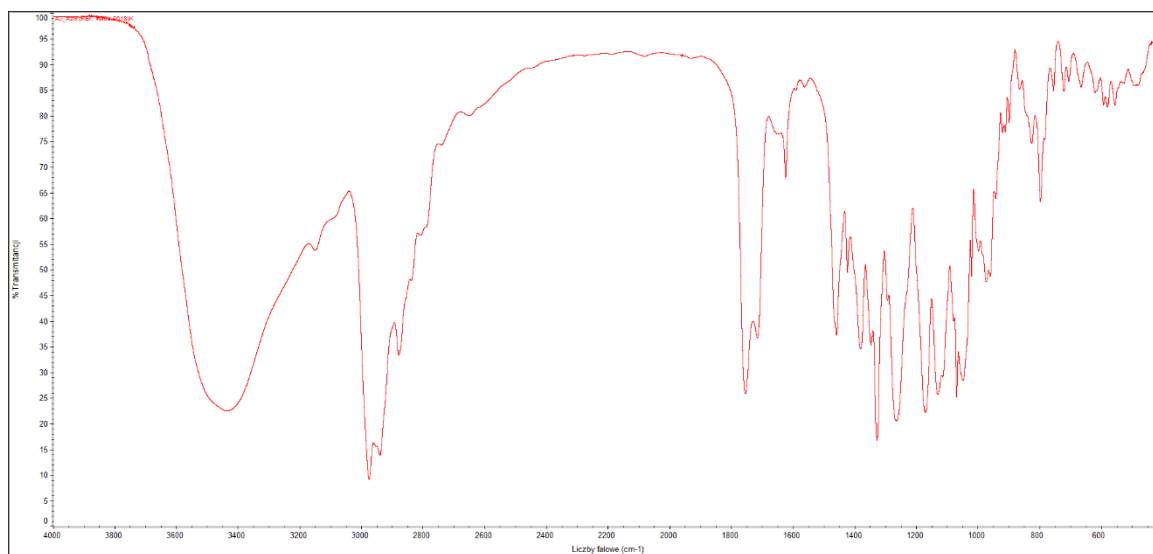
AZM-8



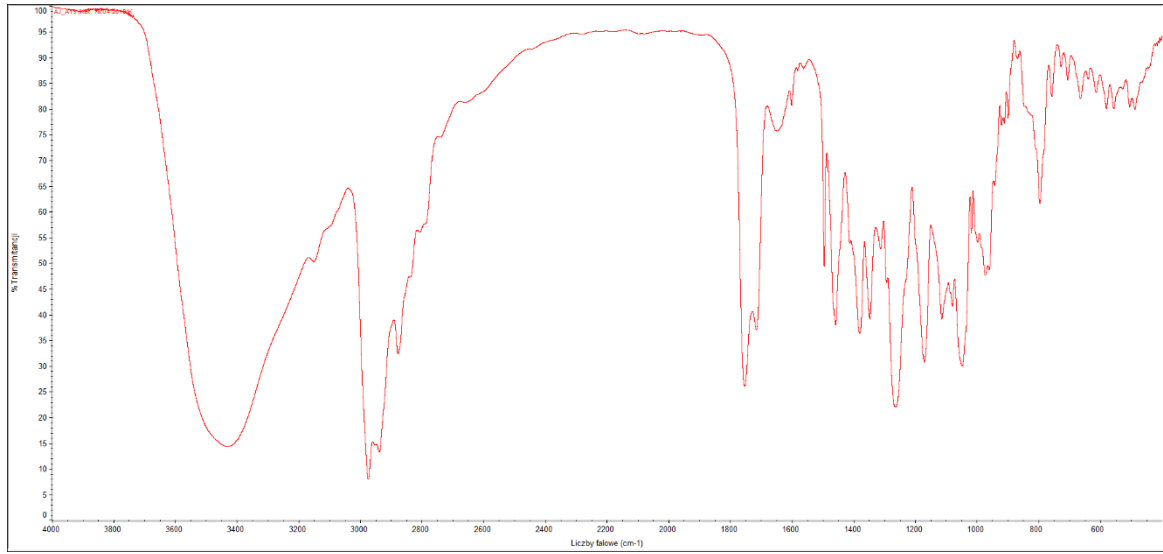
AZM-9



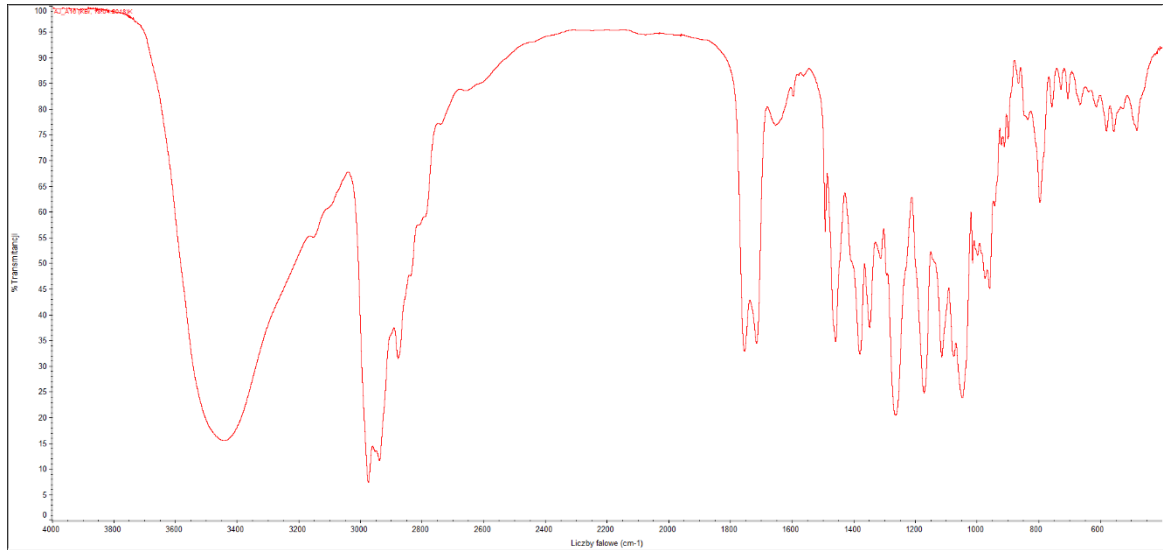
AZM-10



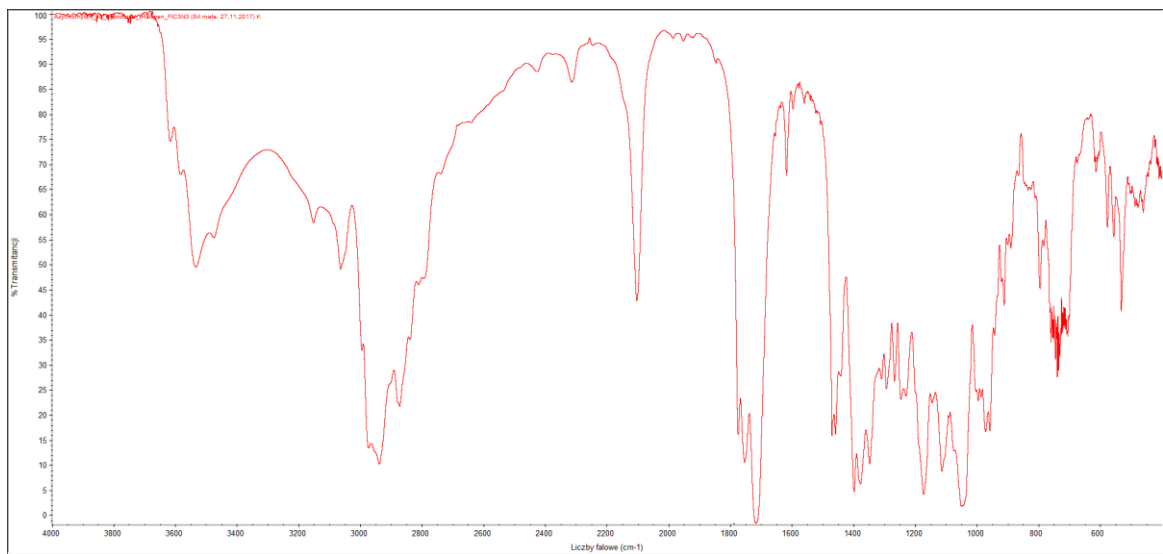
AZM-11



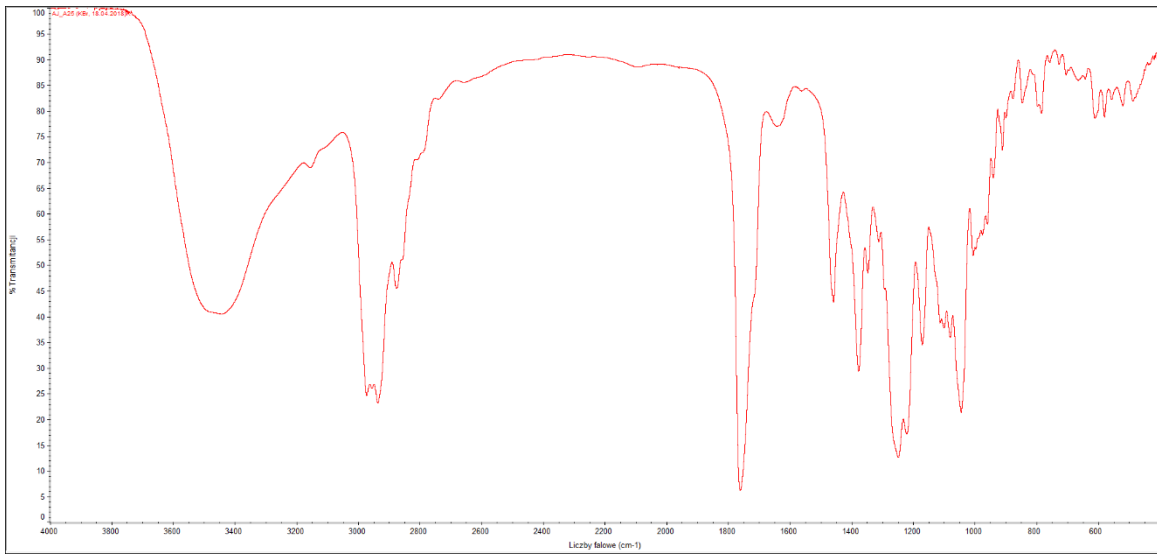
AZM-12



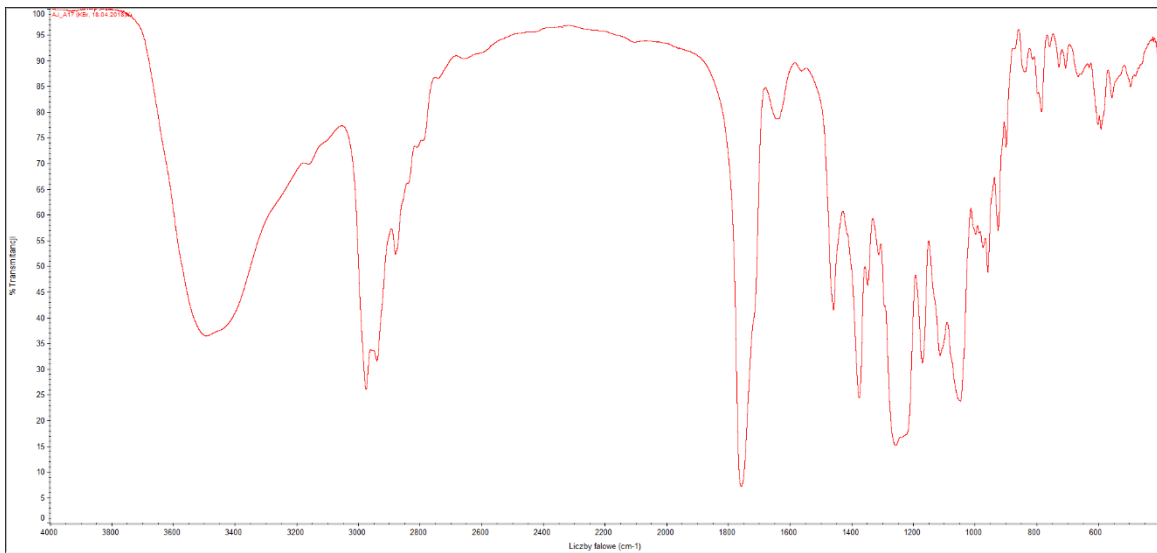
AZM-13



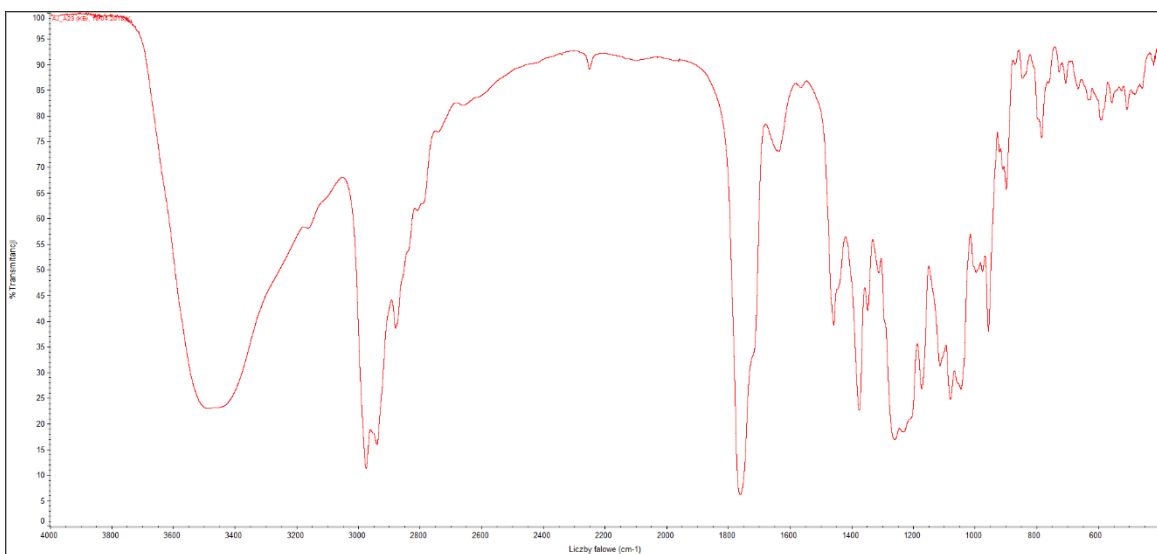
AZM-14



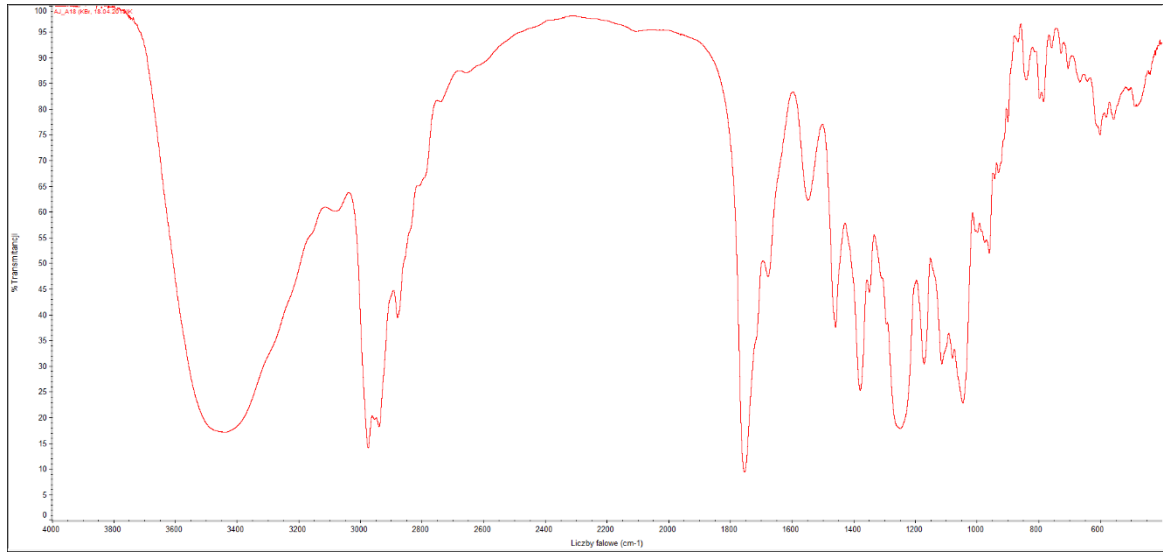
AZM-15



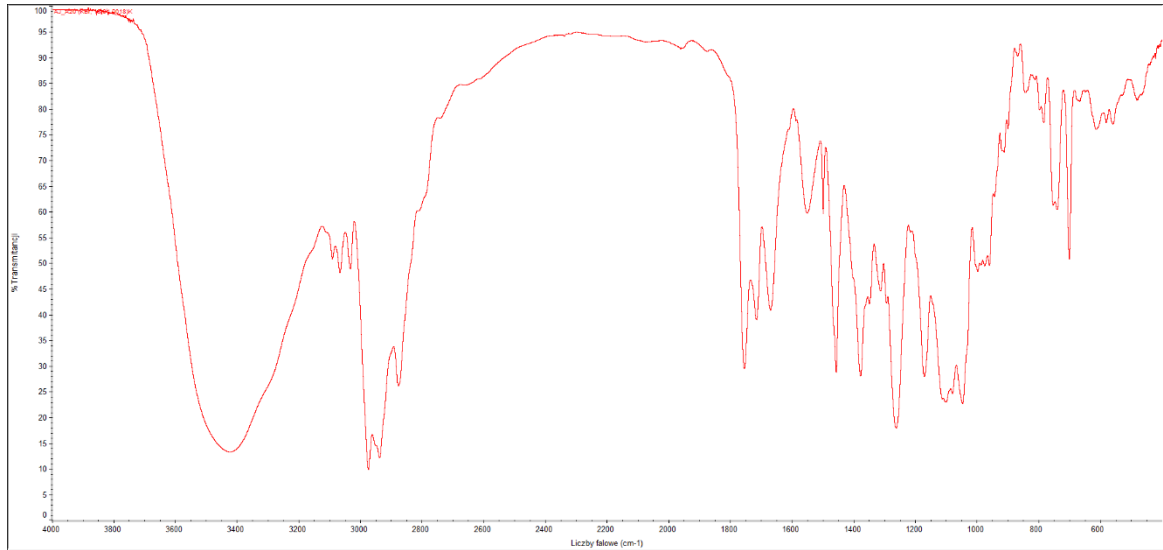
AZM-16



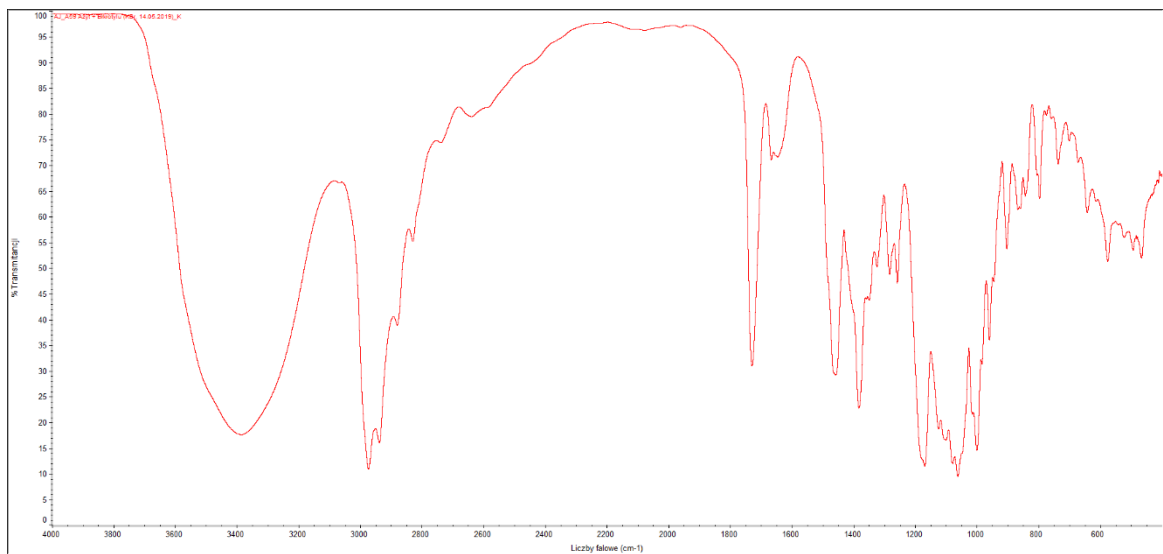
AZM-17



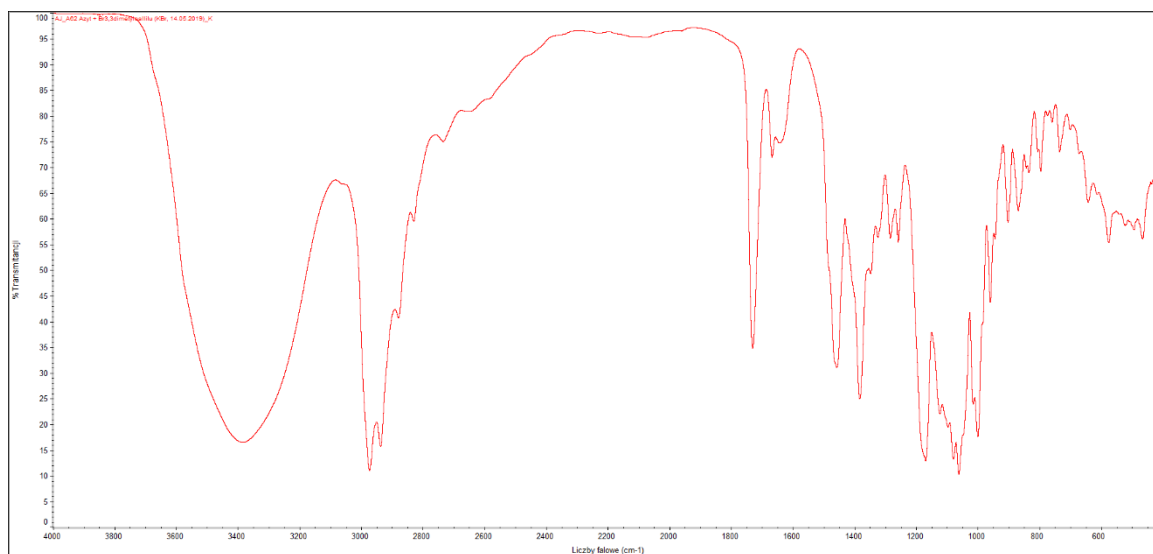
AZM-18



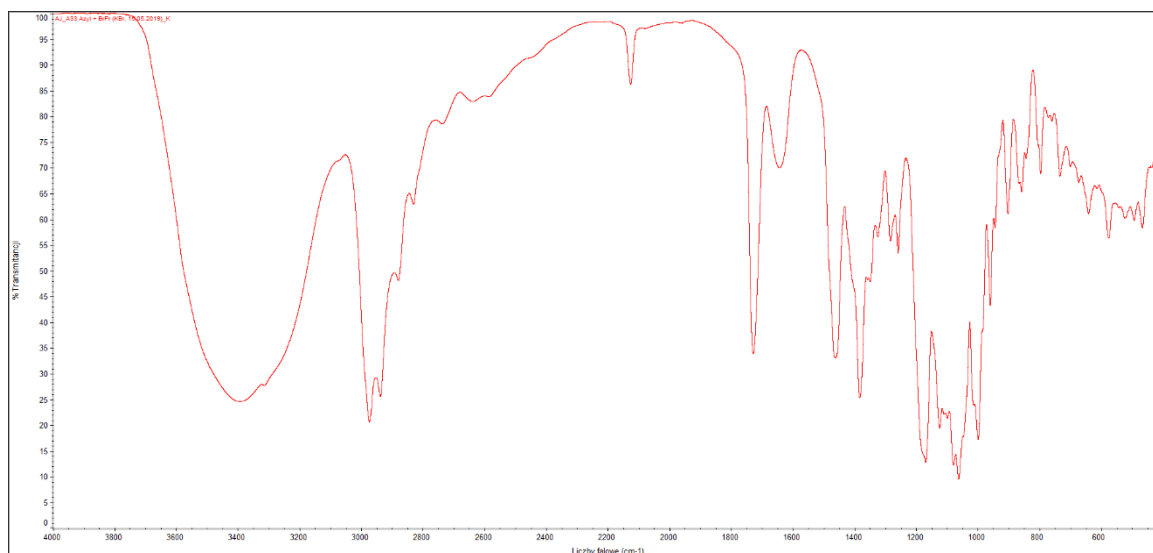
AZM-21



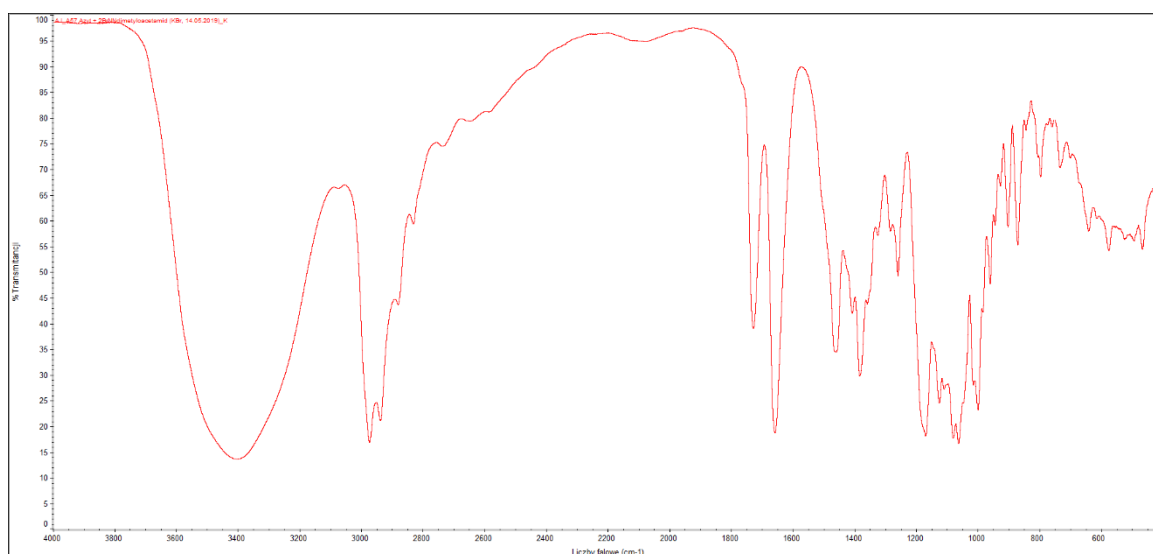
AZM-22



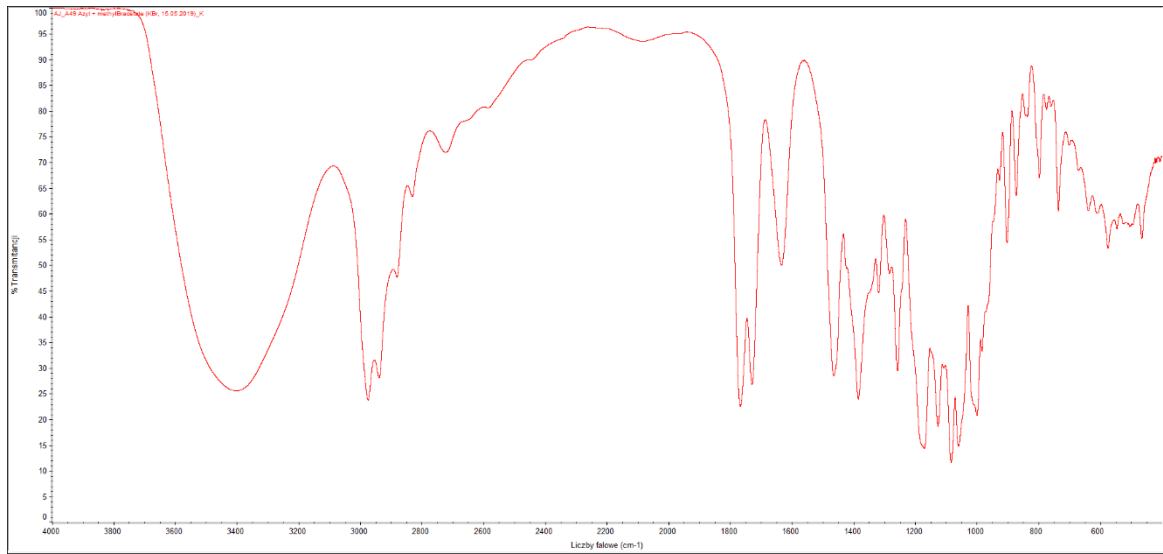
AZM-23



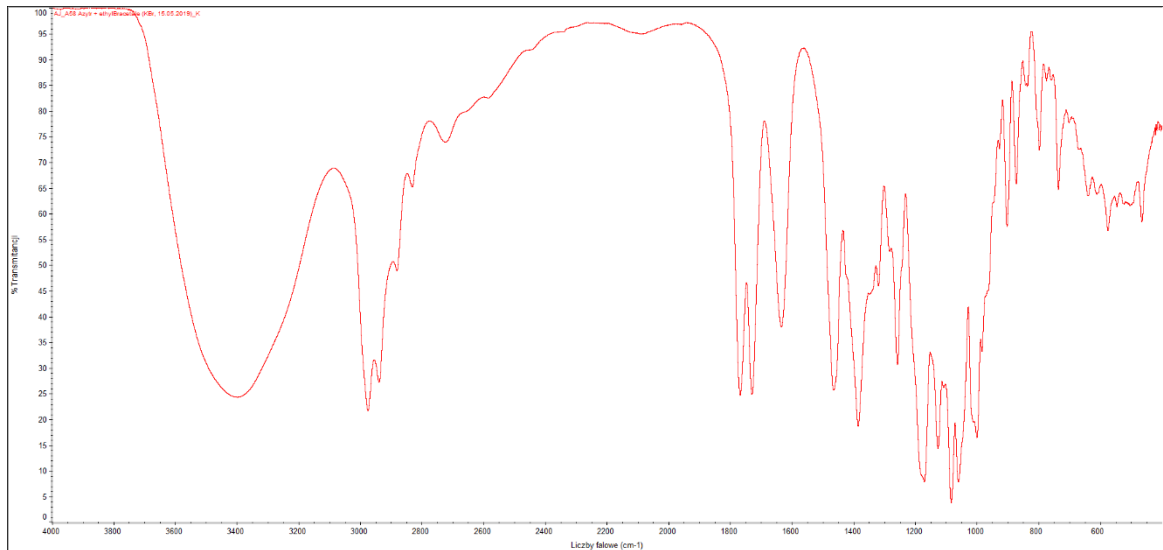
AZM-24



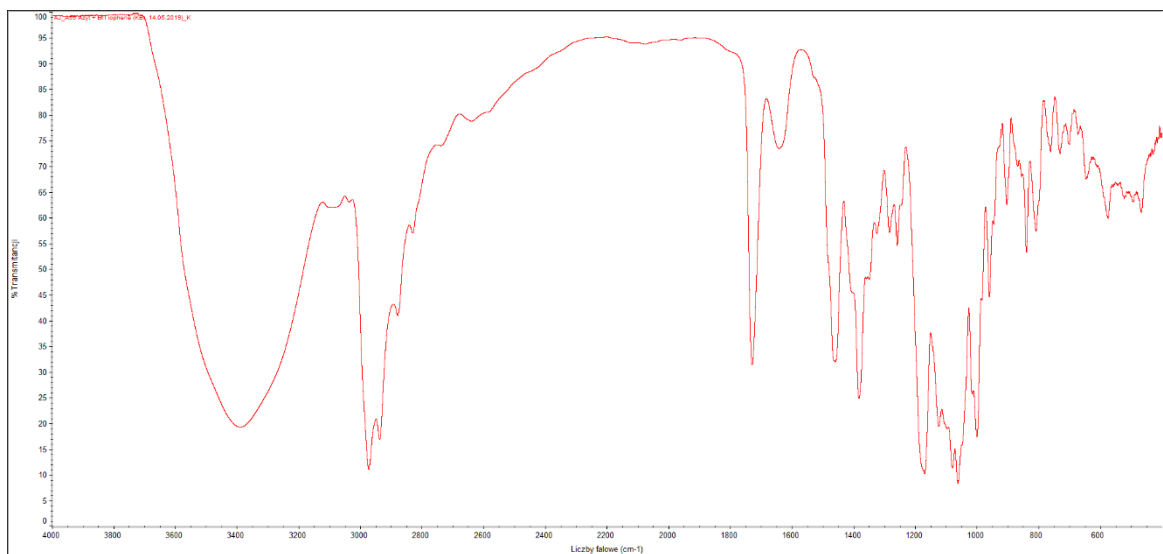
AZM-25 + AZM-25'



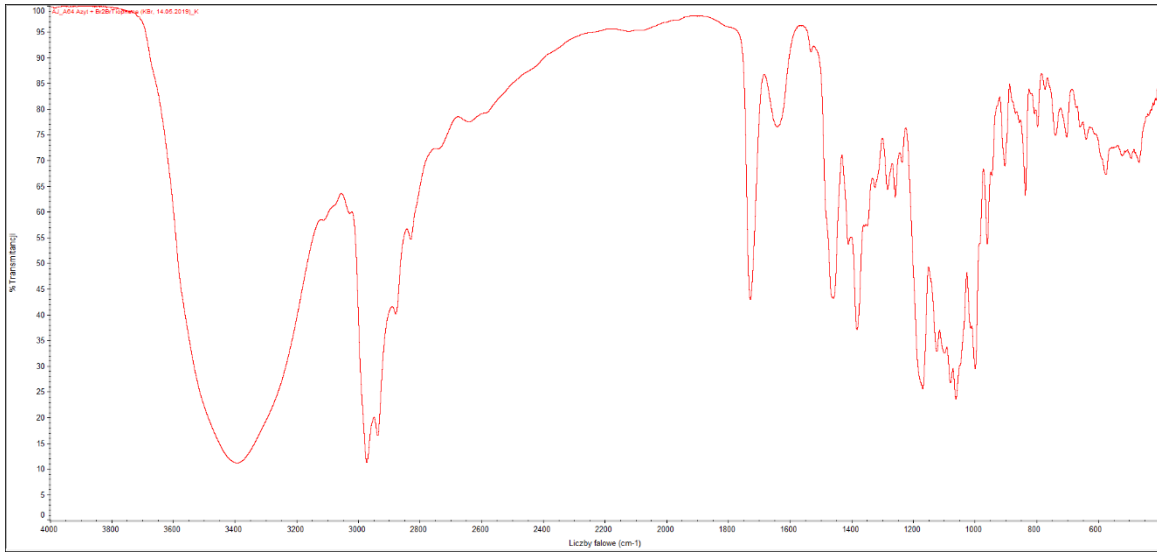
AZM-26 + AZM-25'



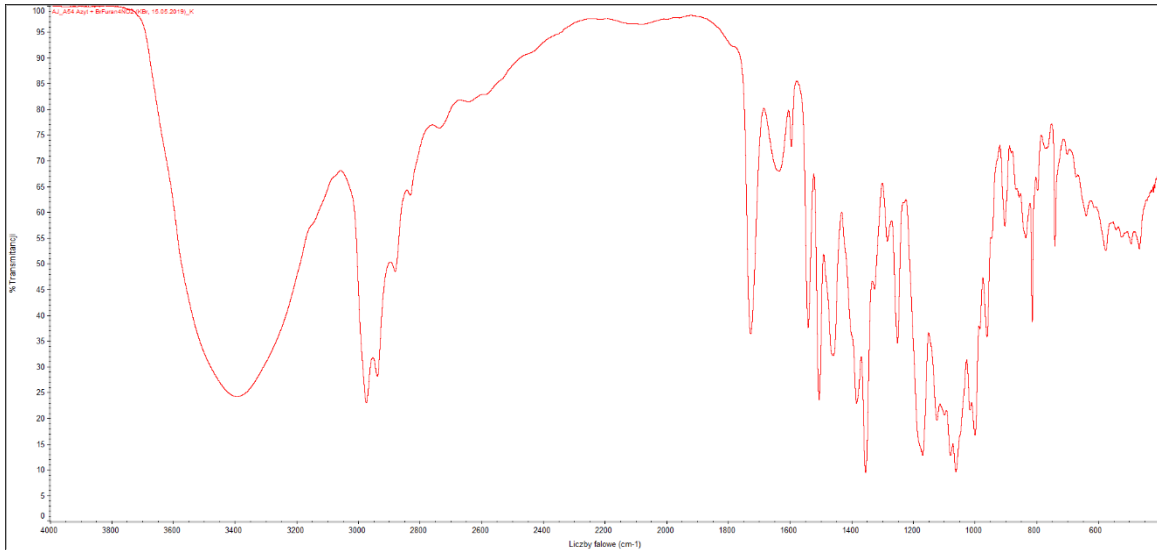
AZM-27



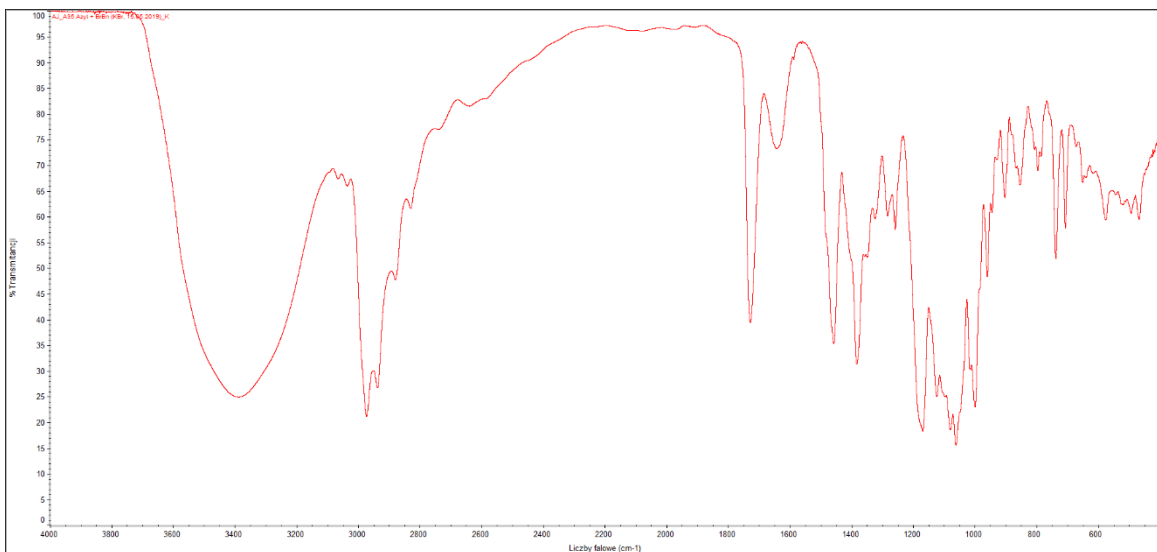
AZM-28



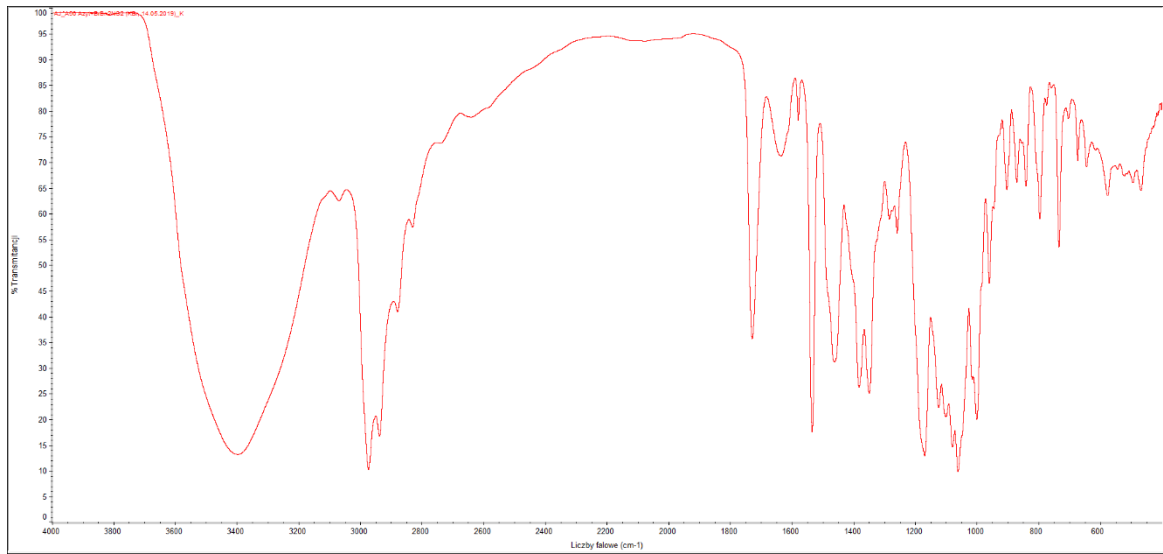
AZM-29



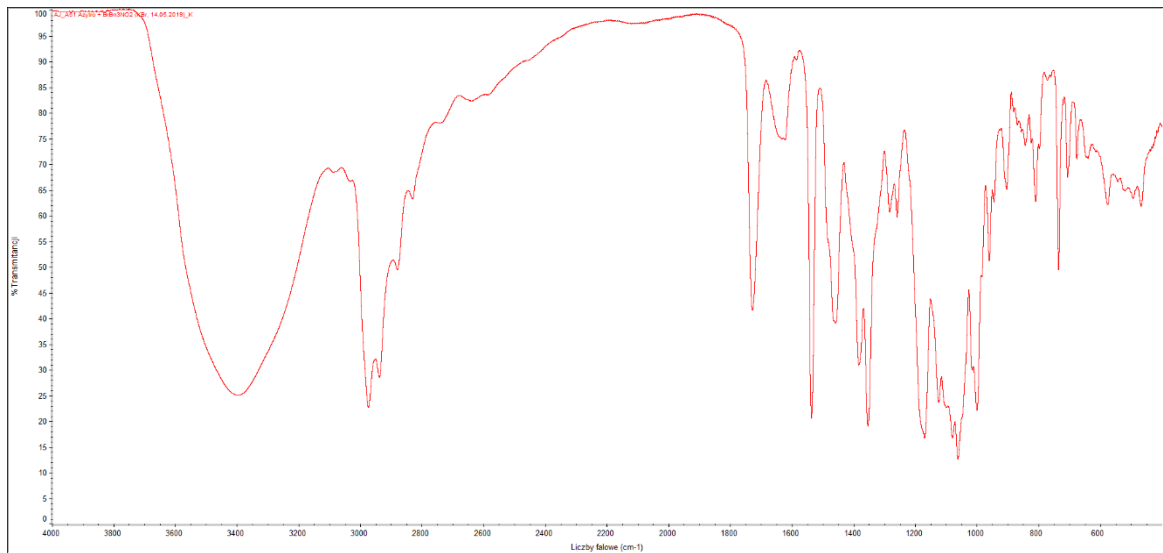
AZM-30



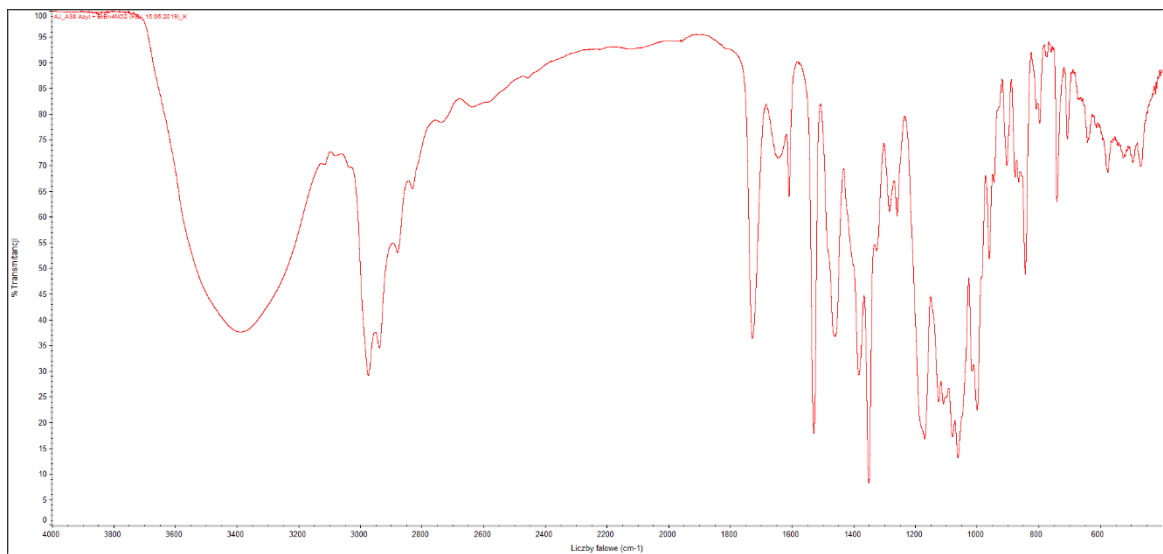
AZM-32



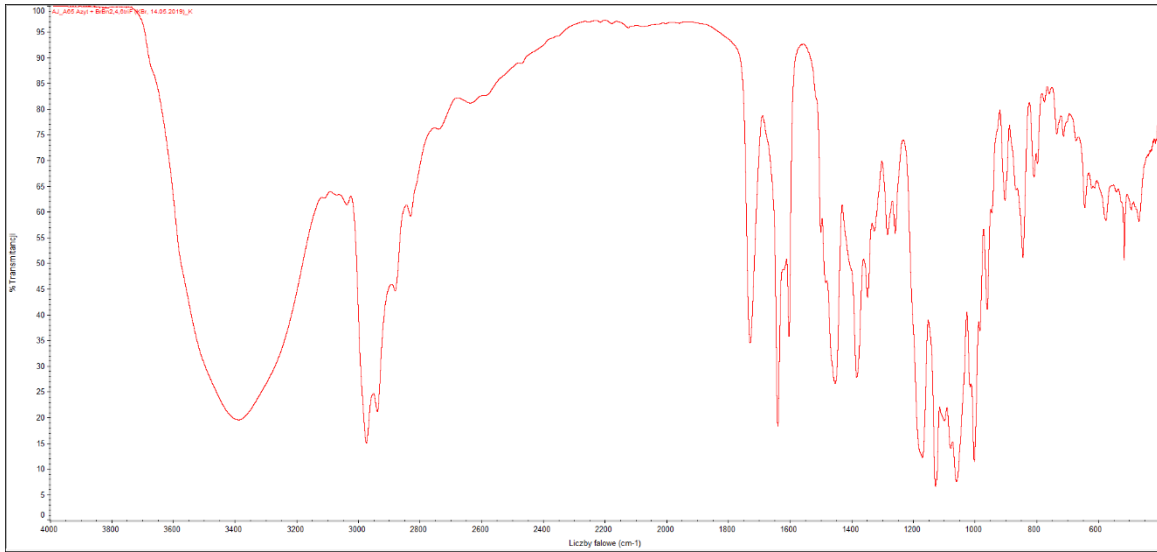
AZM-33



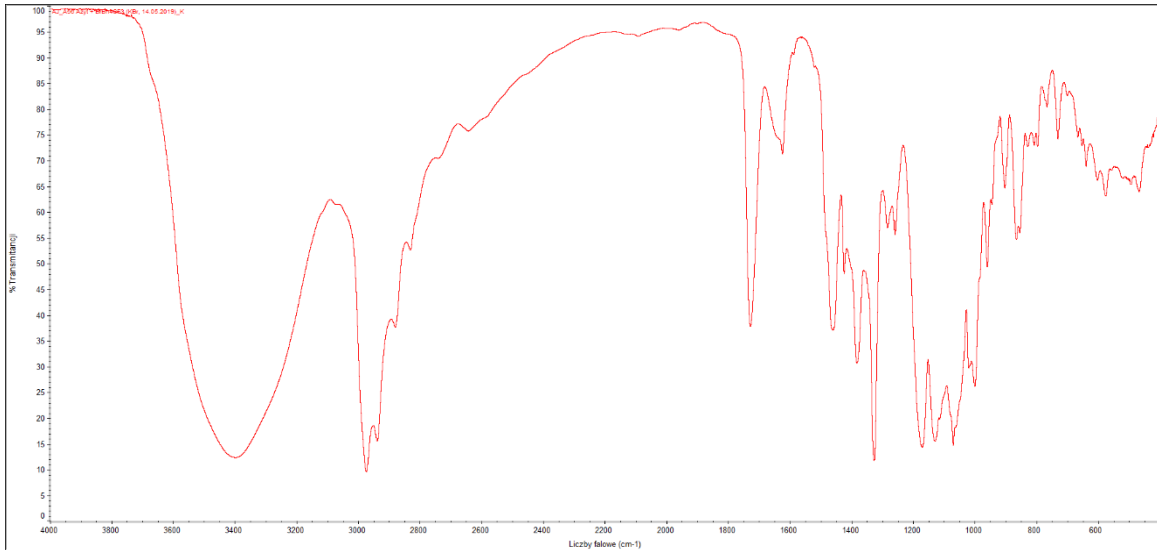
AZM-34



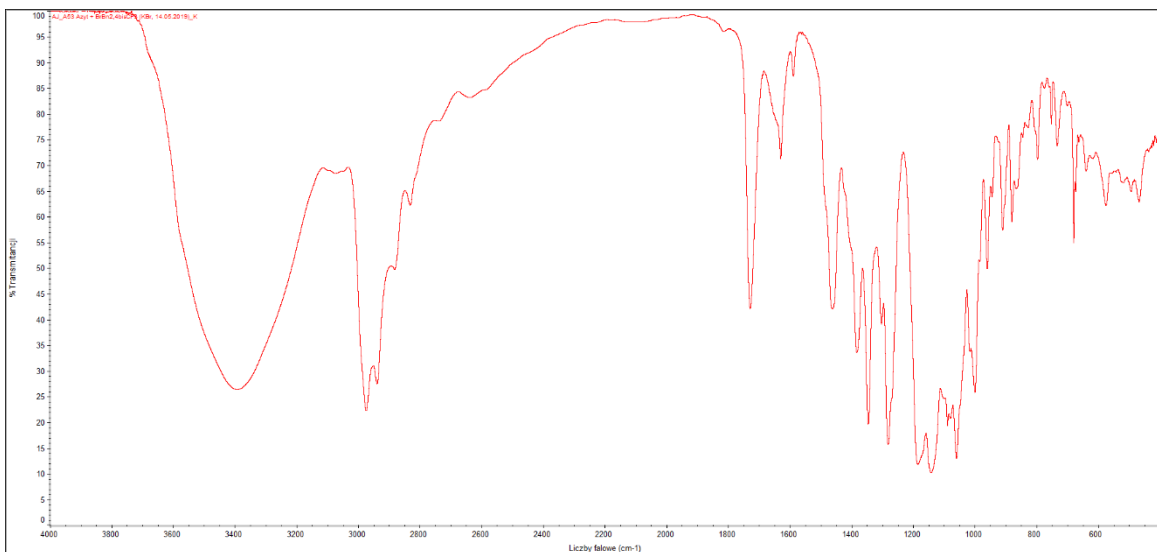
AZM-35



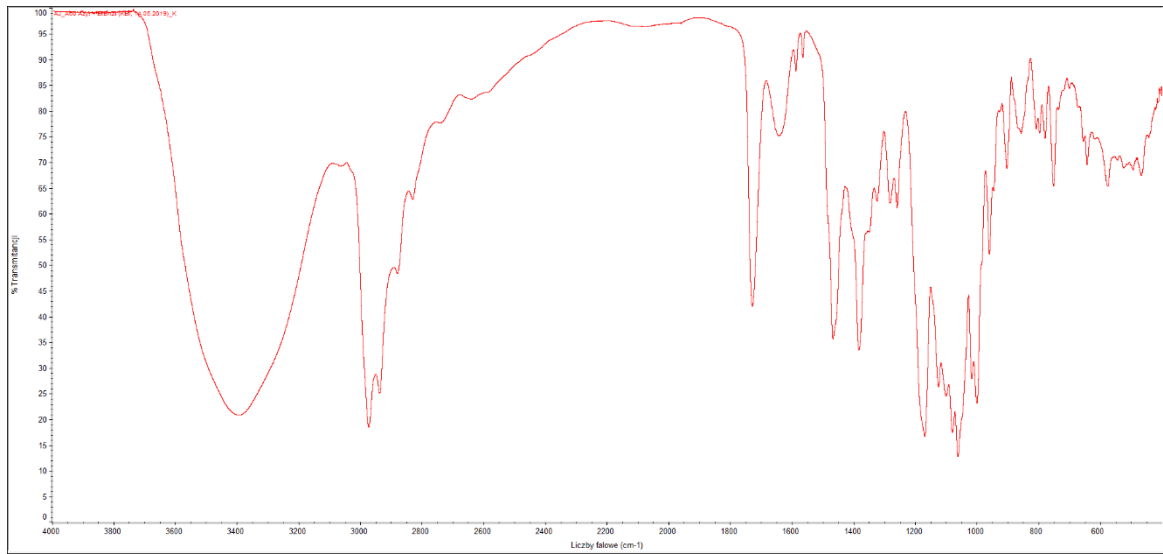
AZM-36



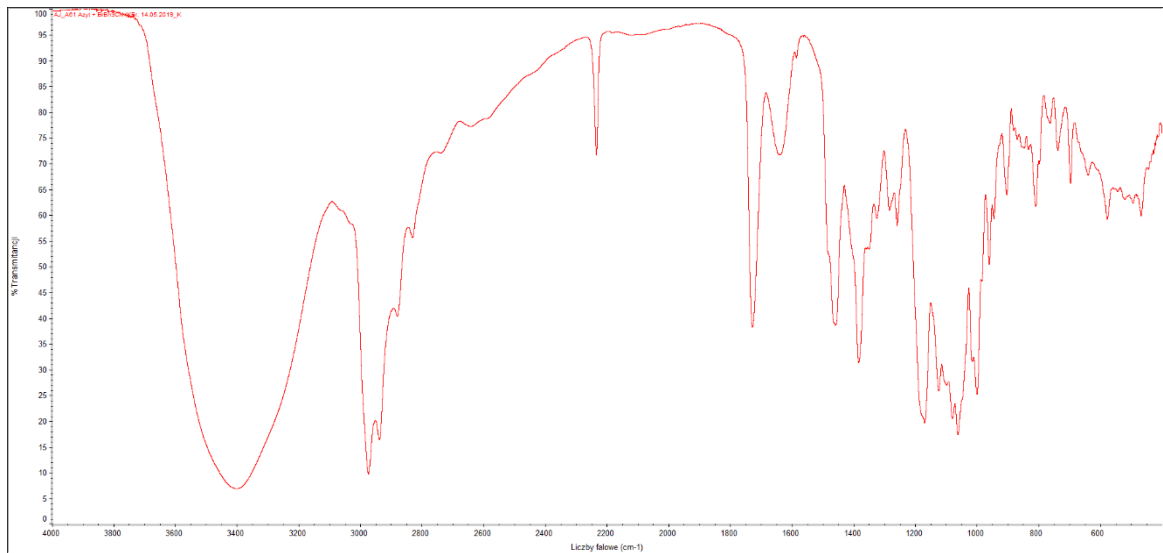
AZM-37



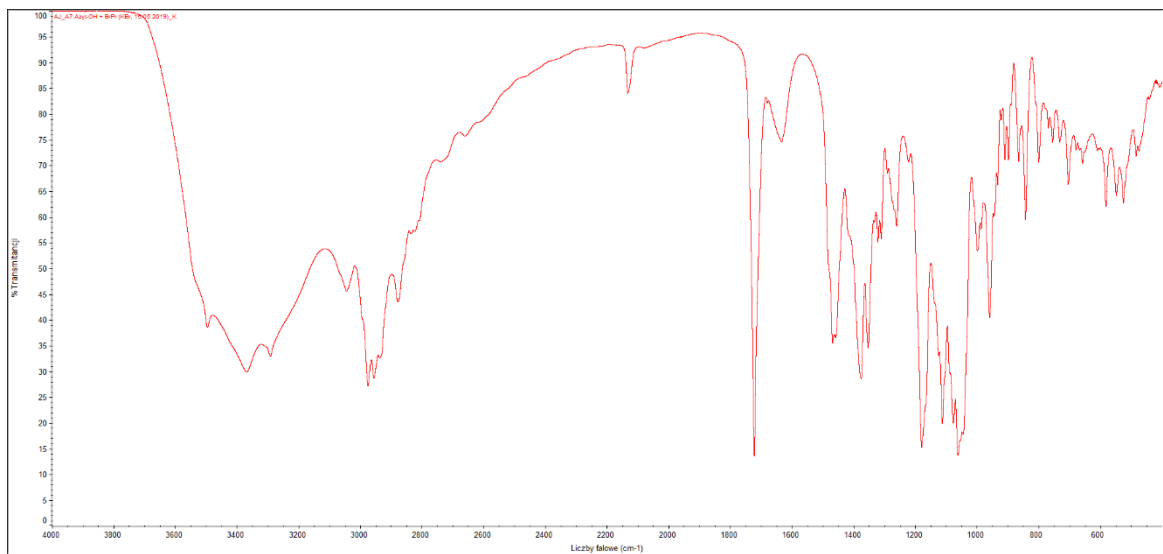
AZM-38



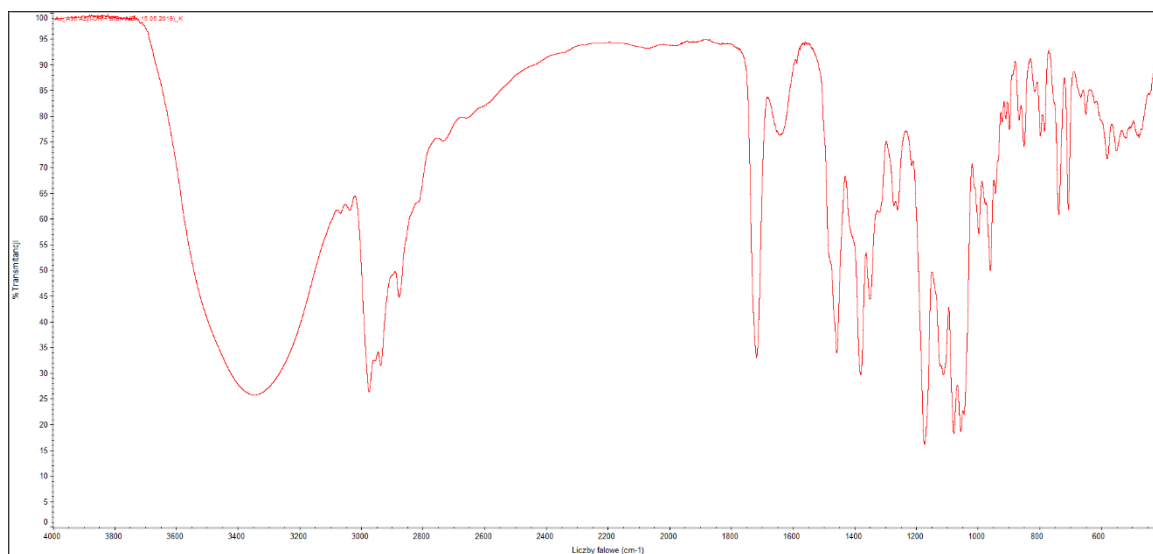
AZM-39



AZM-40



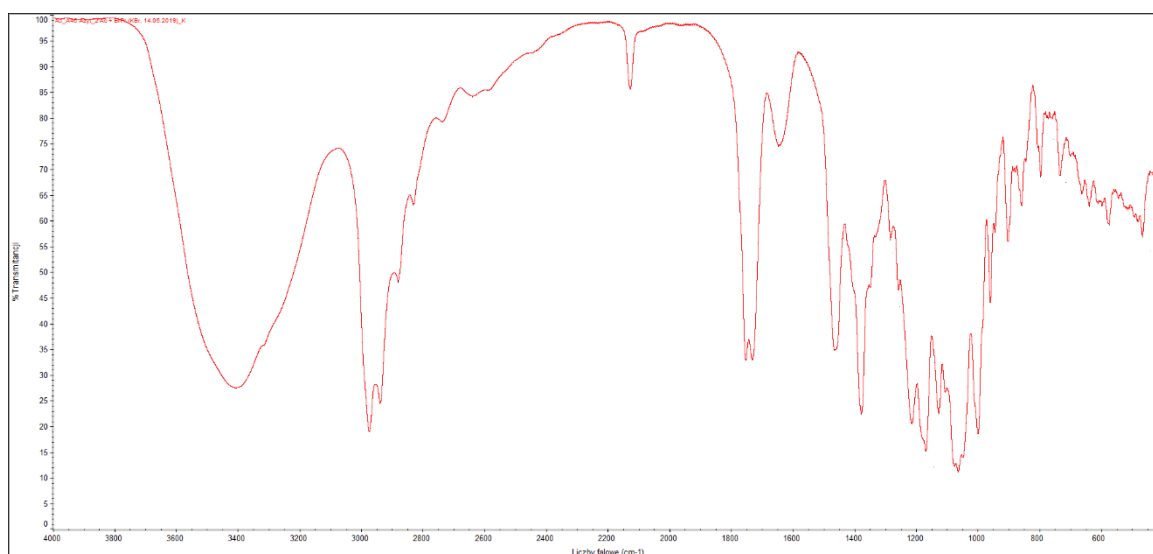
AZM-41



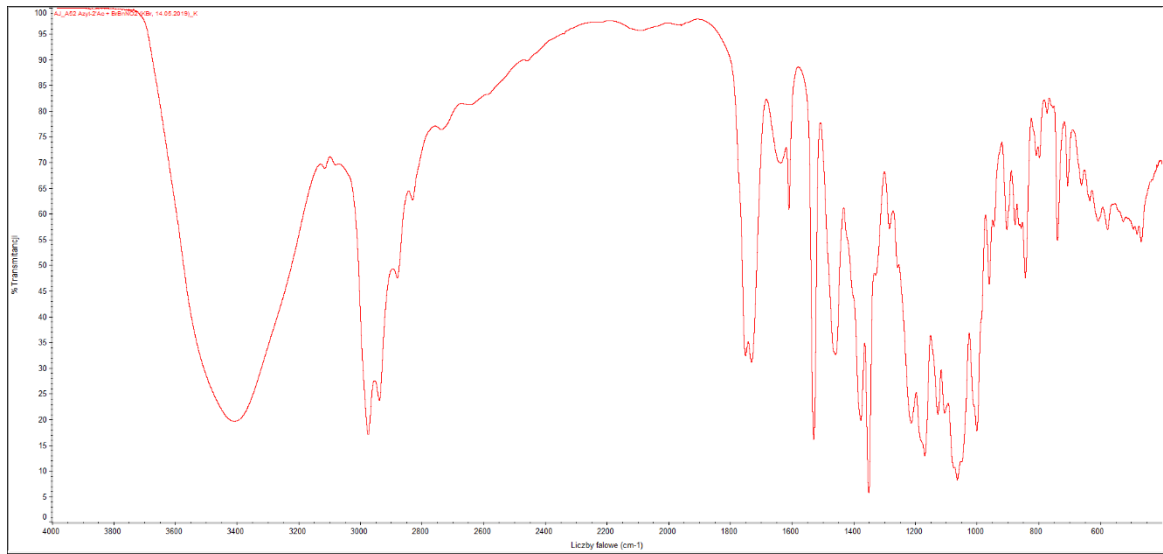
AZM-42



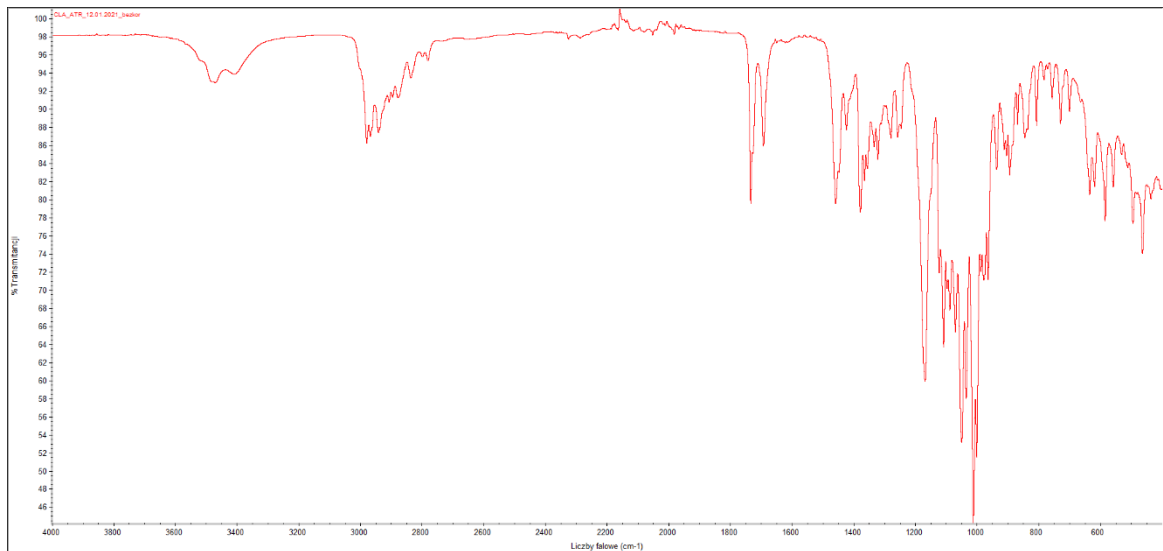
AZM-43



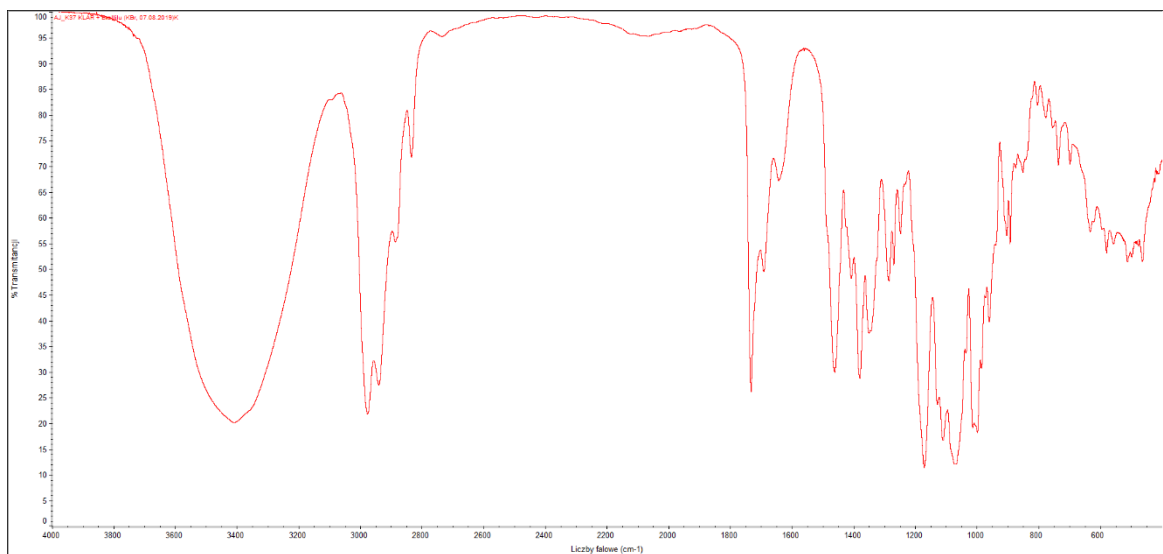
AZM-44



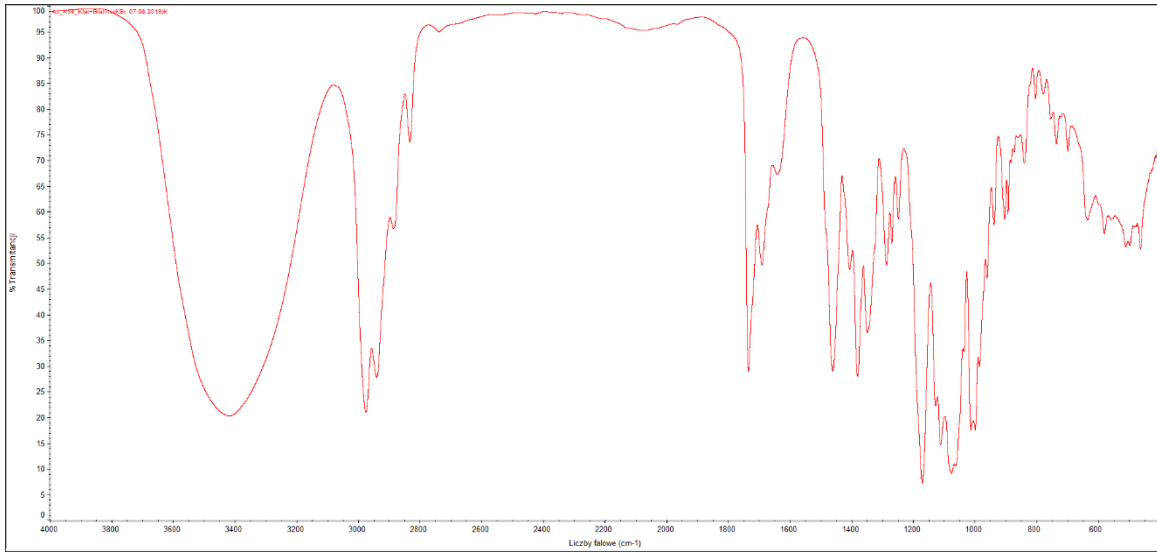
CLA



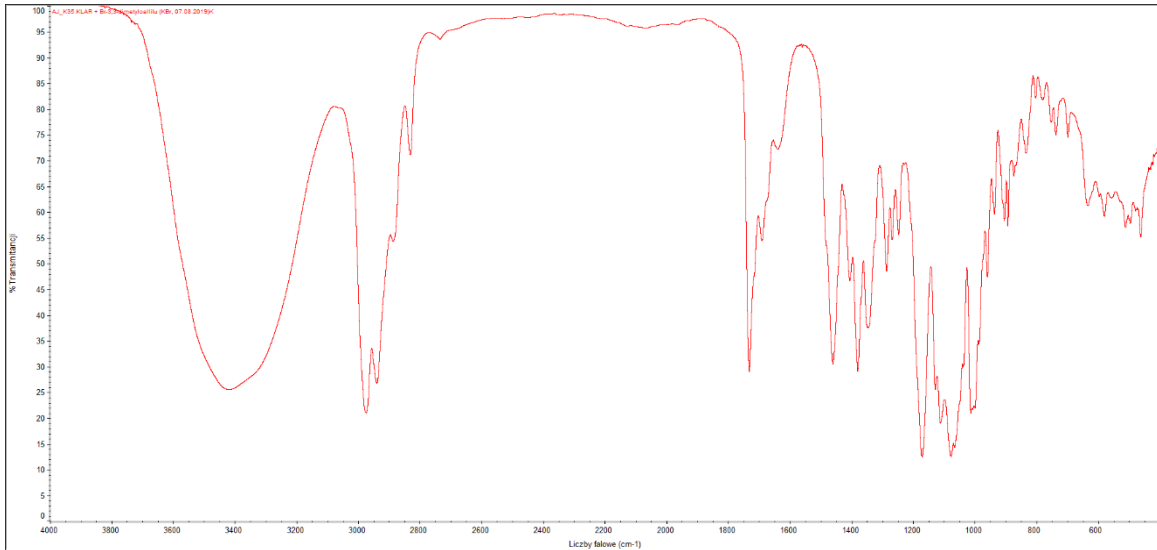
CLA-1



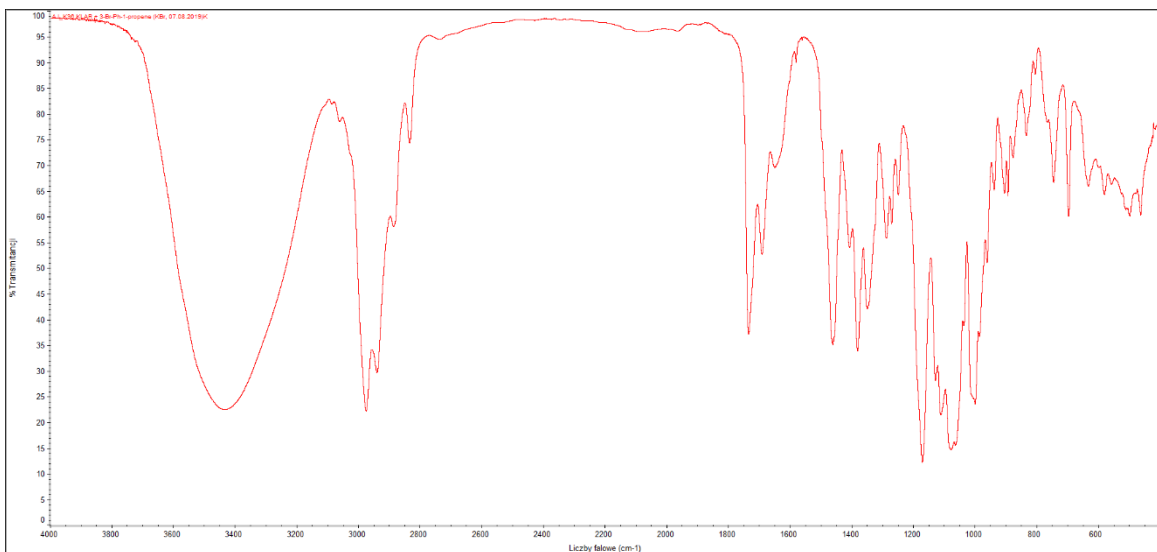
CLA-2



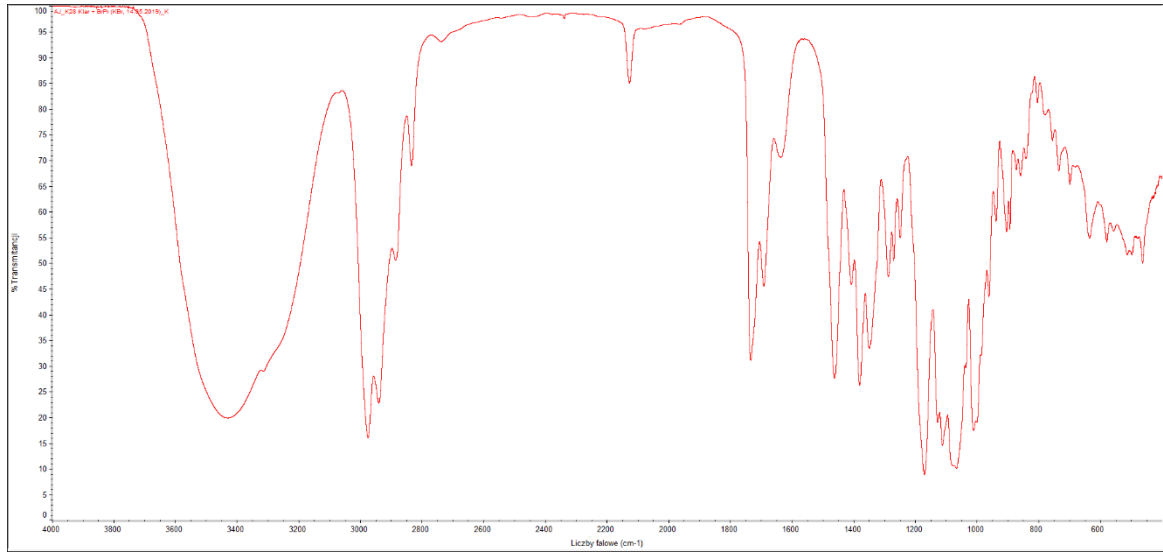
CLA-3



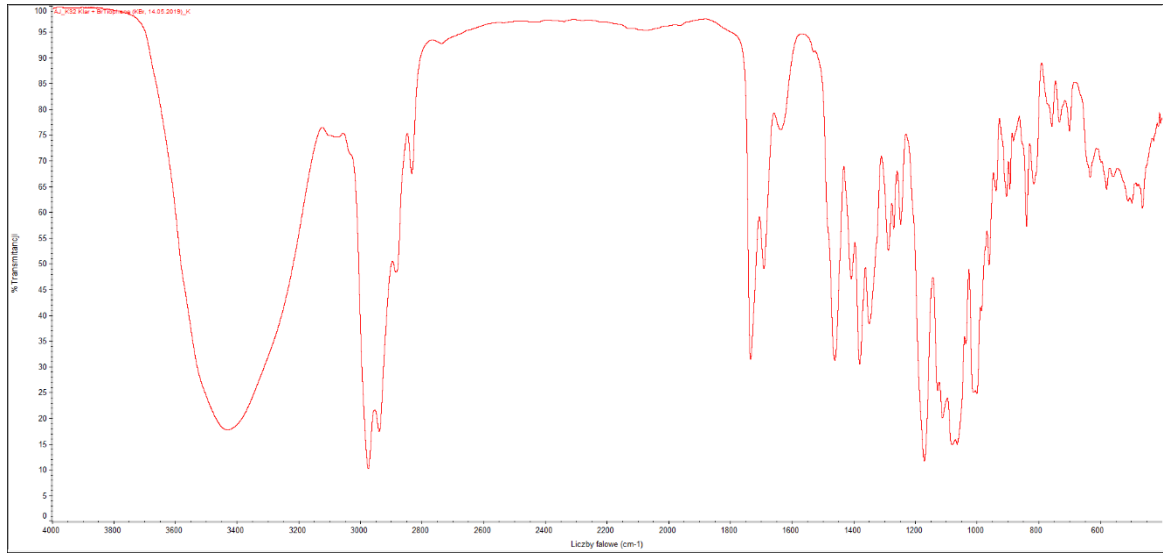
CLA-4



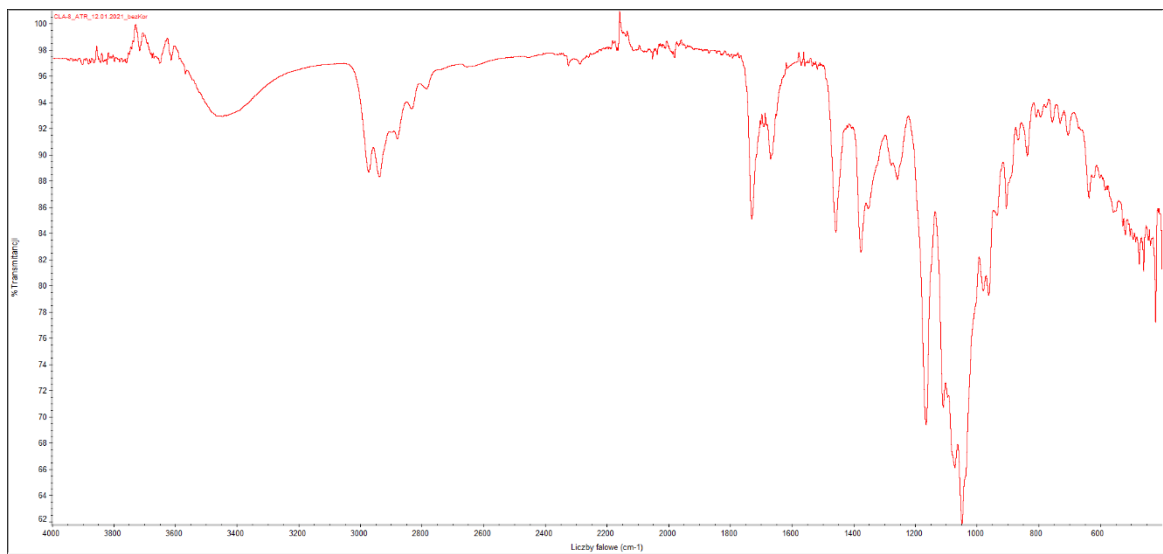
CLA-5



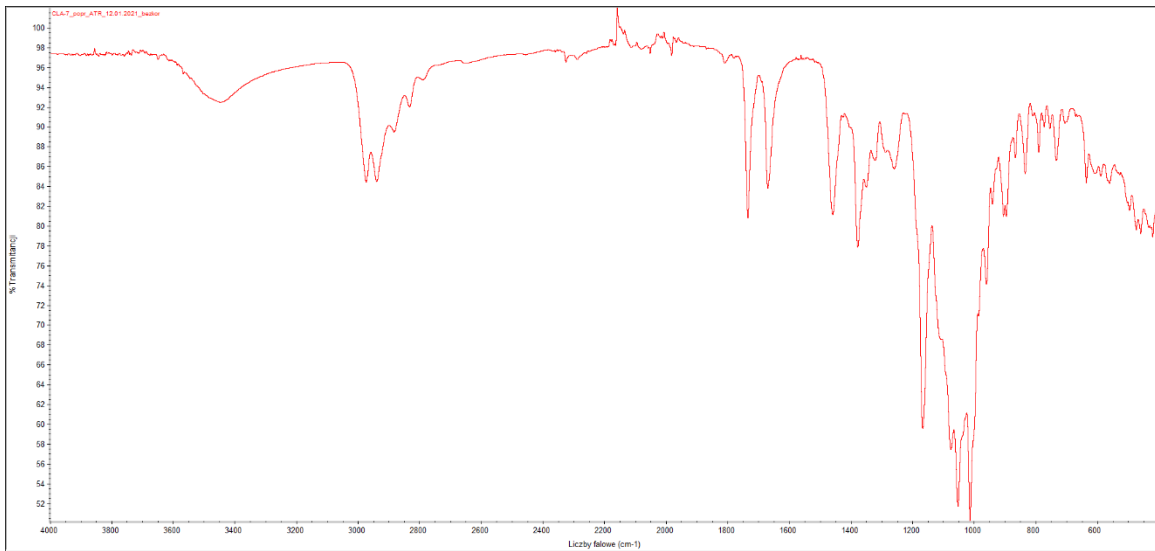
CLA-6



CLA-7



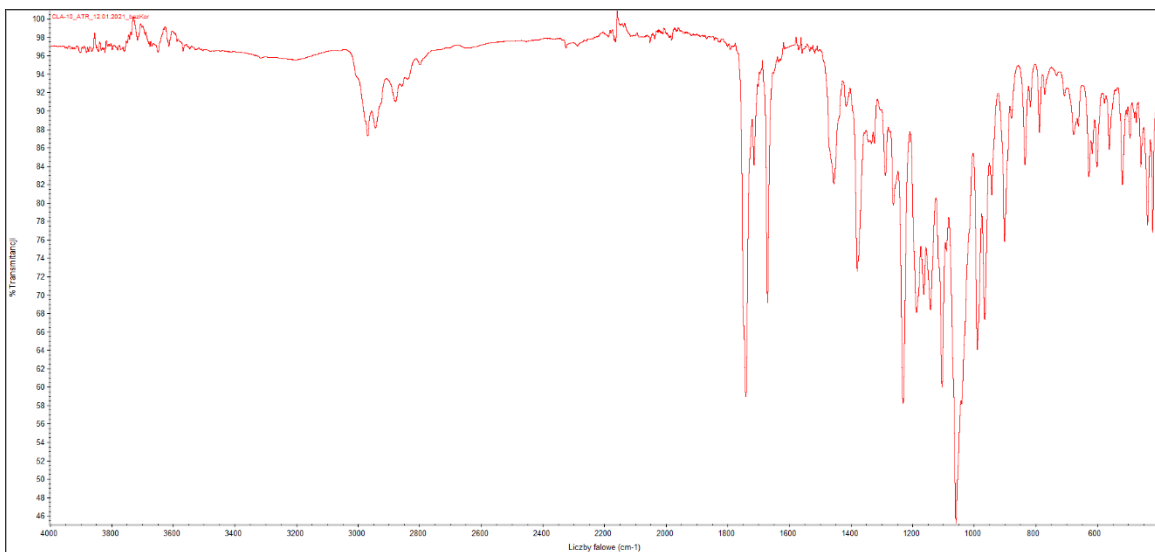
CLA-8



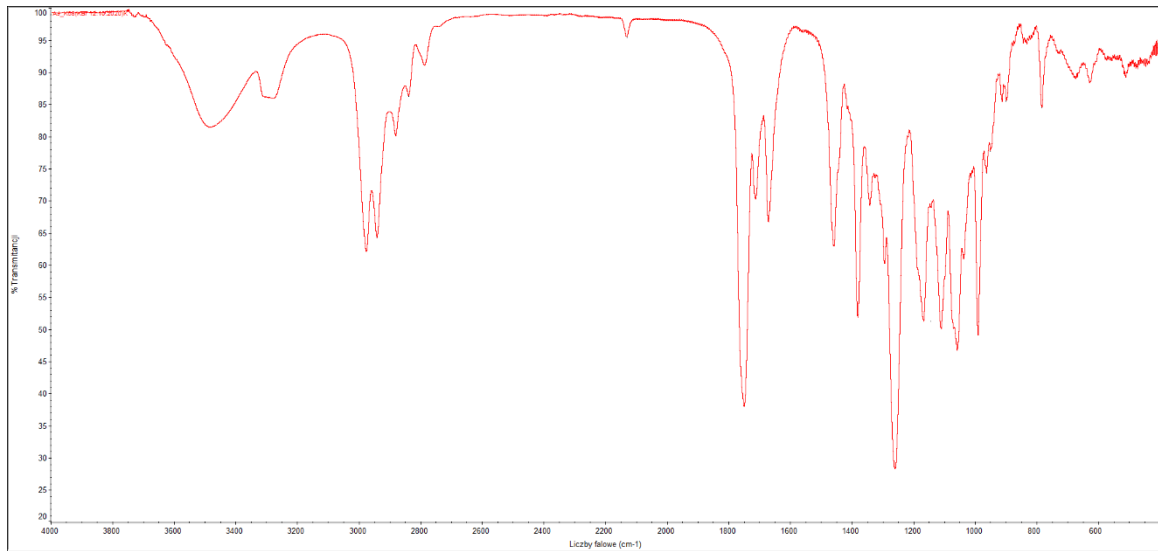
CLA-9



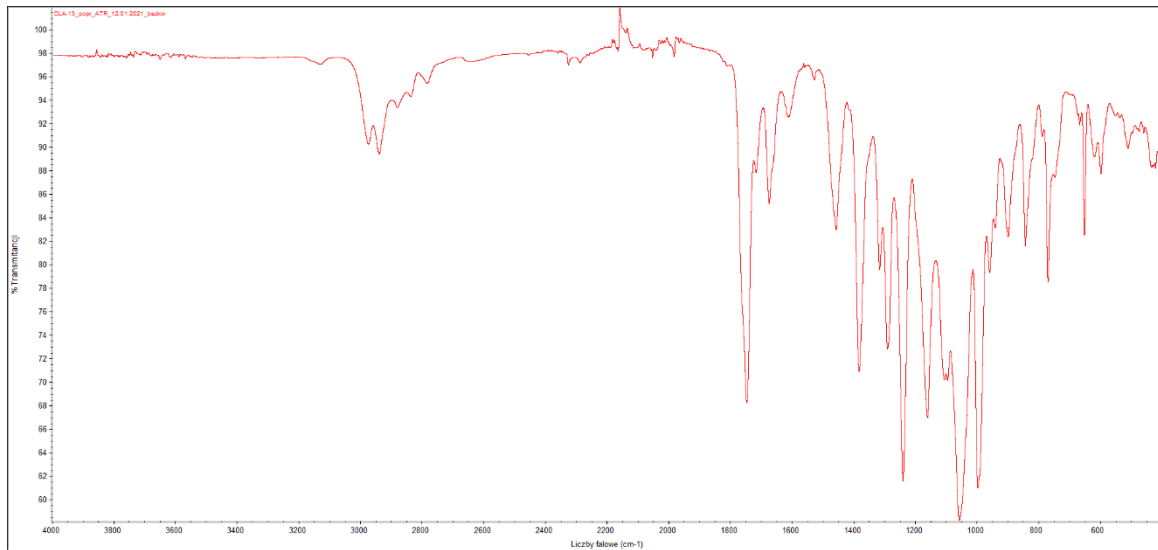
CLA-10



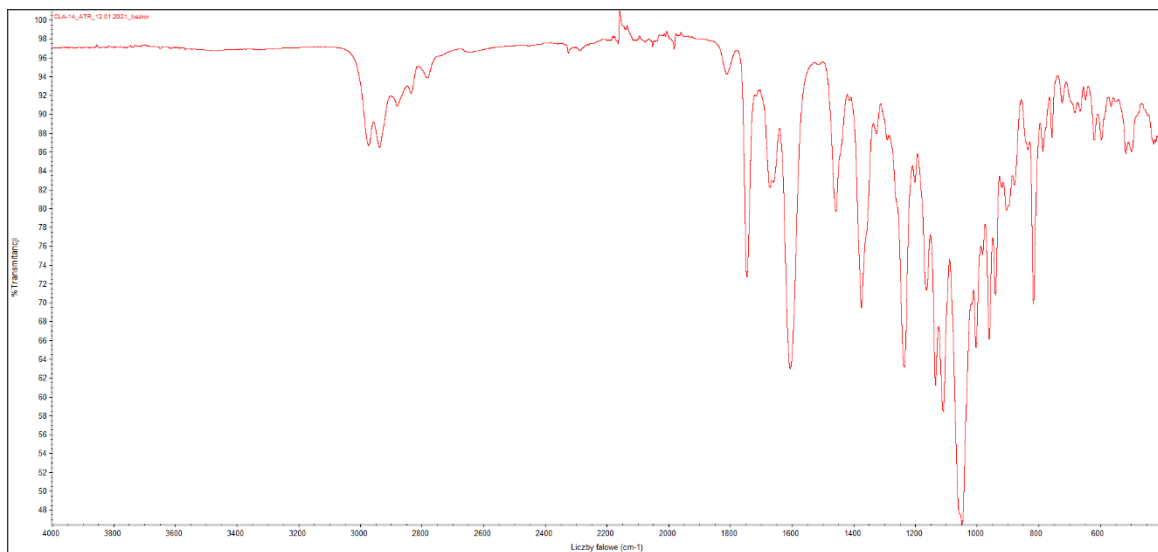
CLA-12



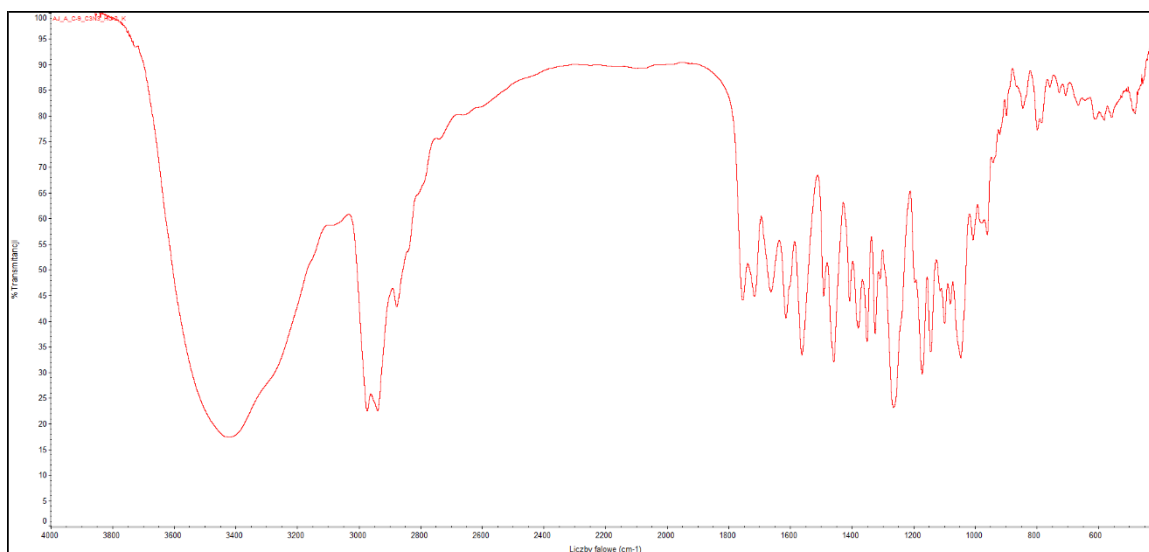
CLA-13



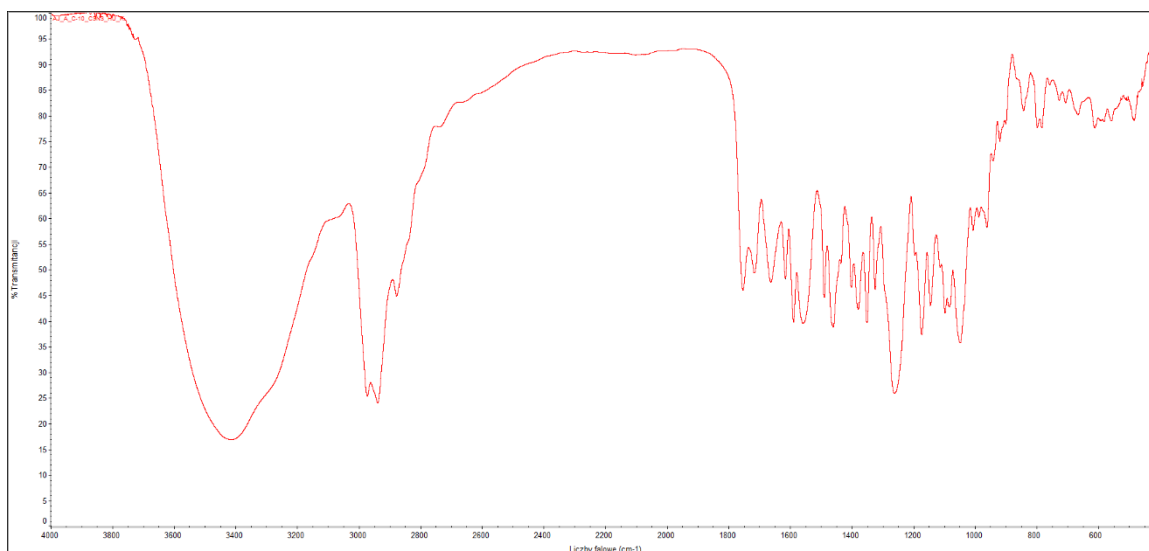
CLA-14



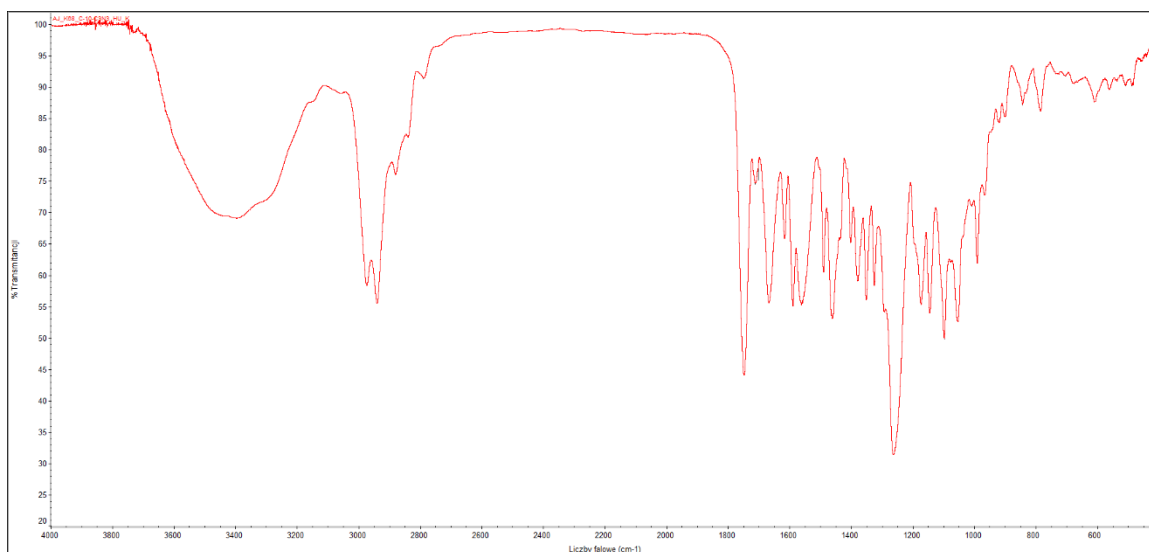
AZM-1-COL-1



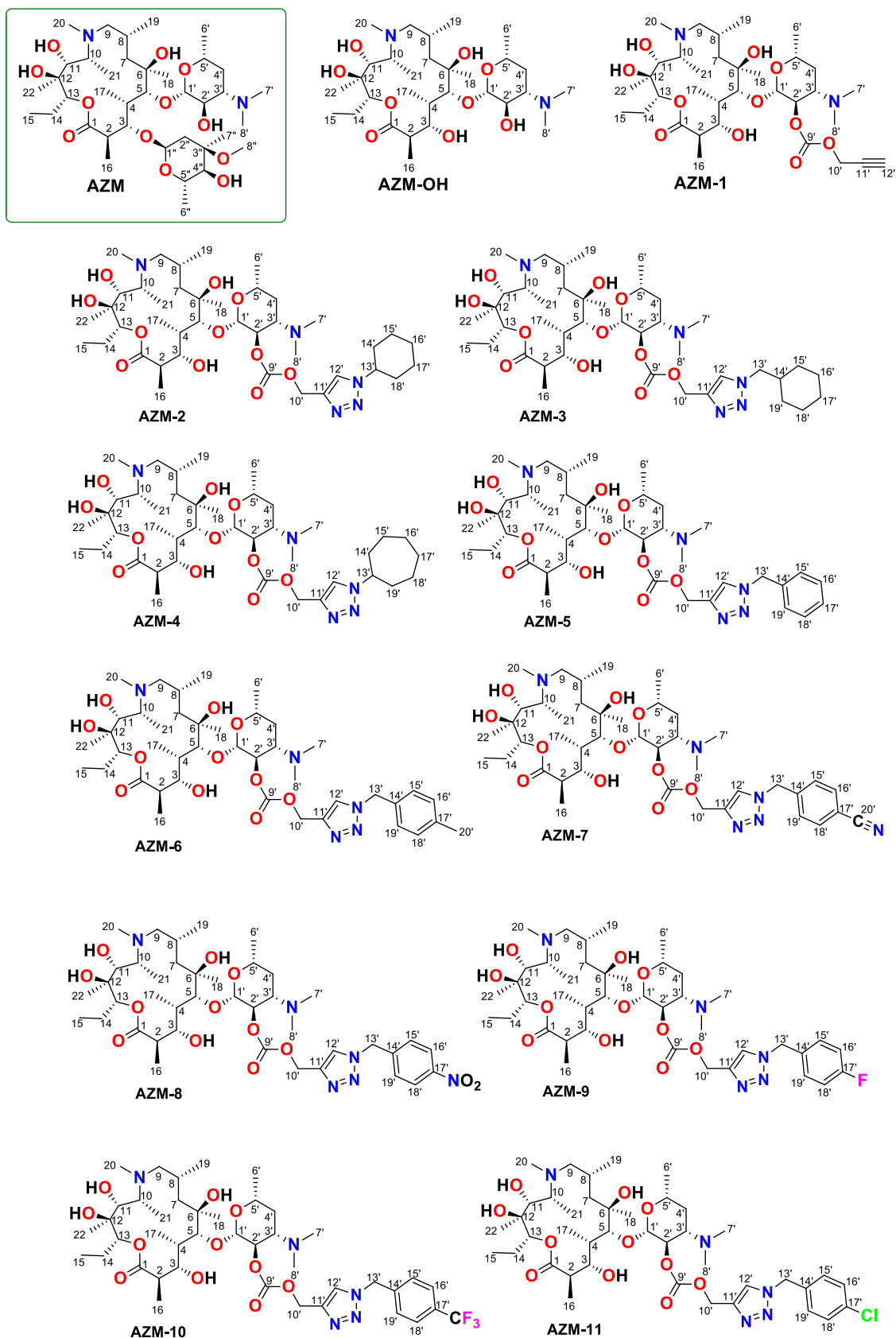
AZM-1-COL-2



CLA-12-COL-2

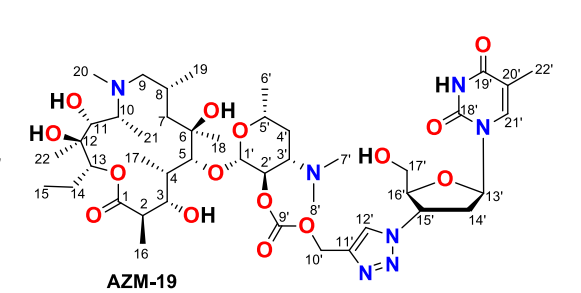
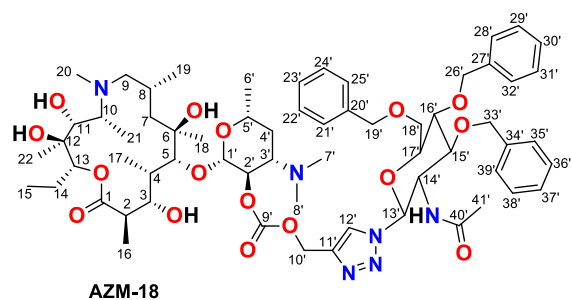
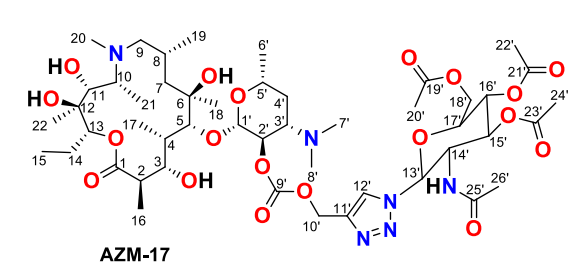
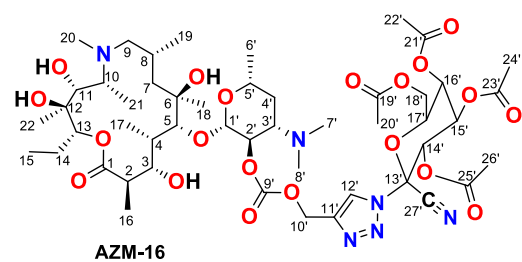
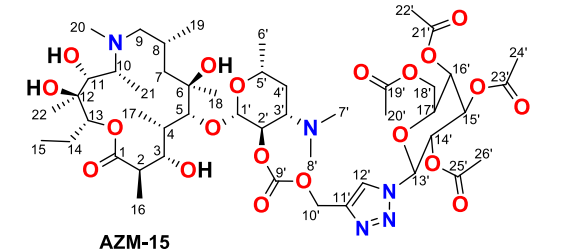
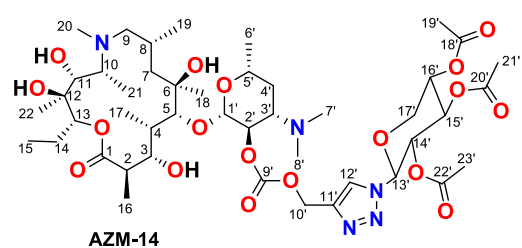
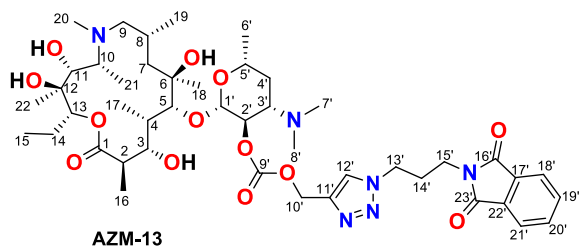
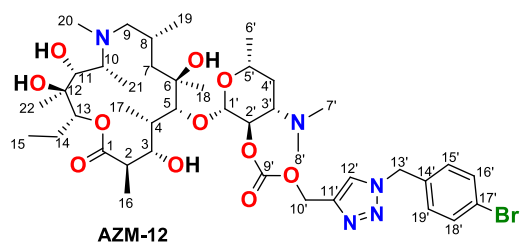


Załącznik 1

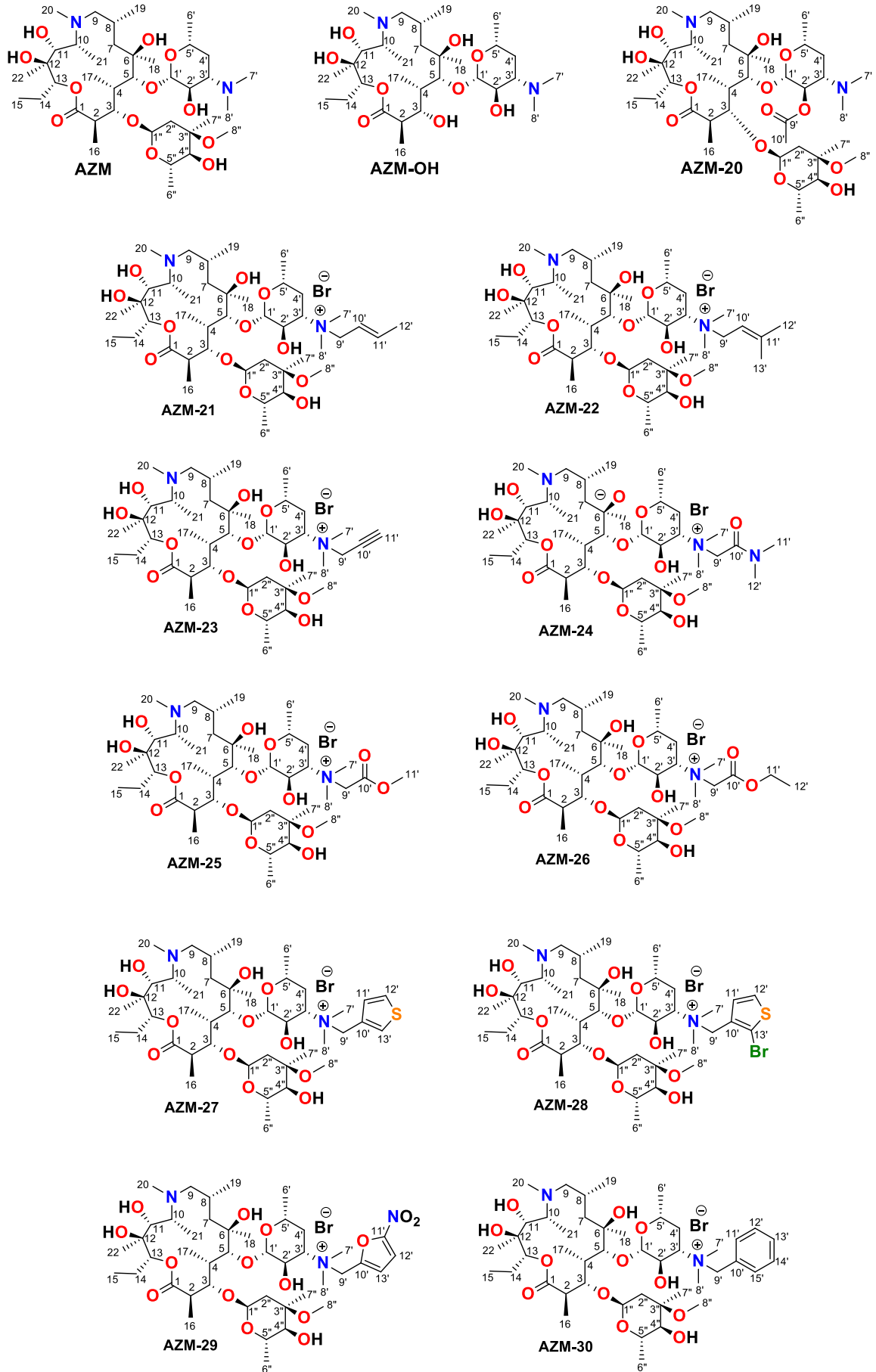


Anna Dominika Janas „Synteza i ustalenie korelacji struktura-aktywność biologiczna nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane ramiona sacharydowe.

Załącznik 1

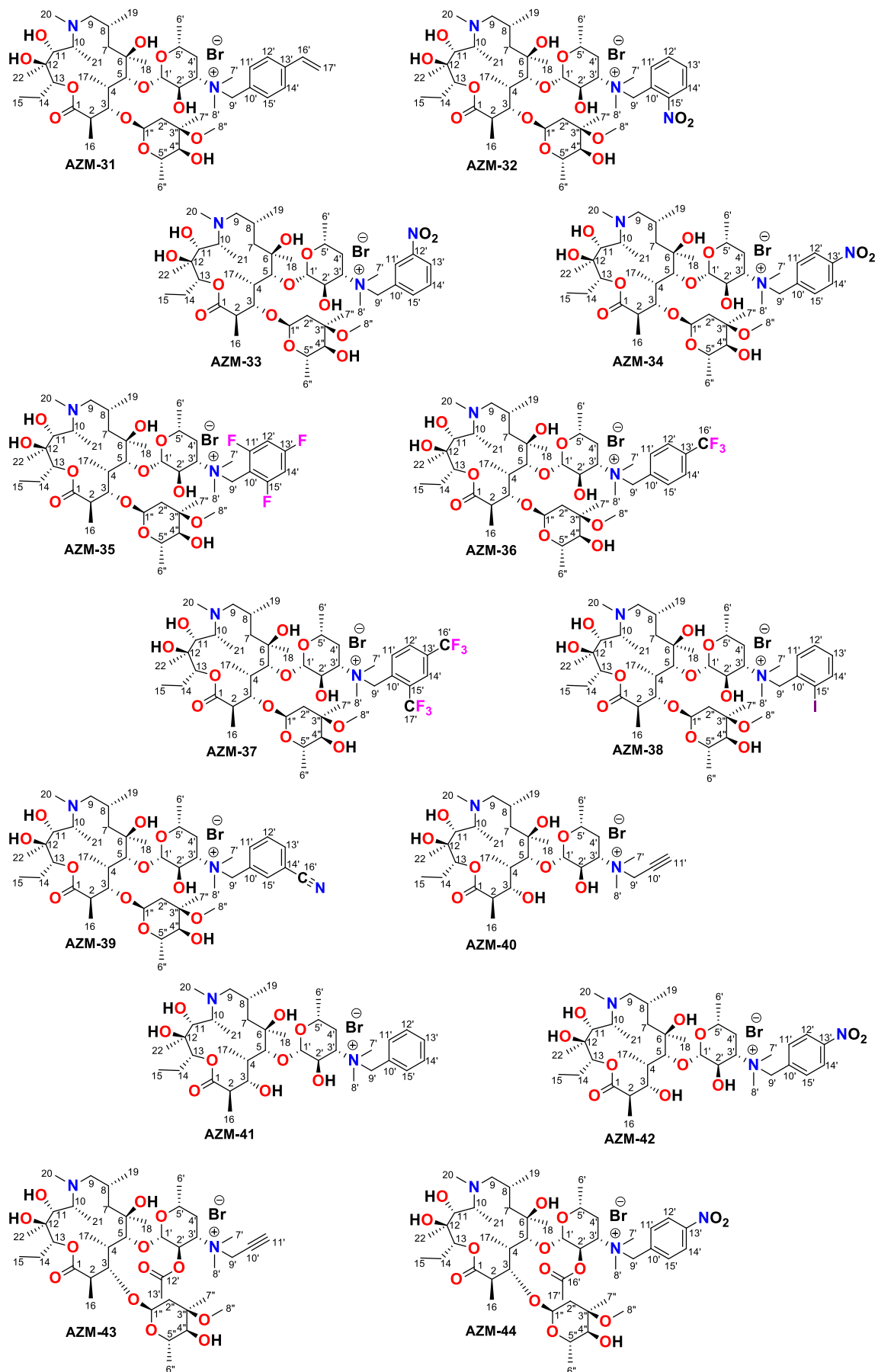


Załącznik 2



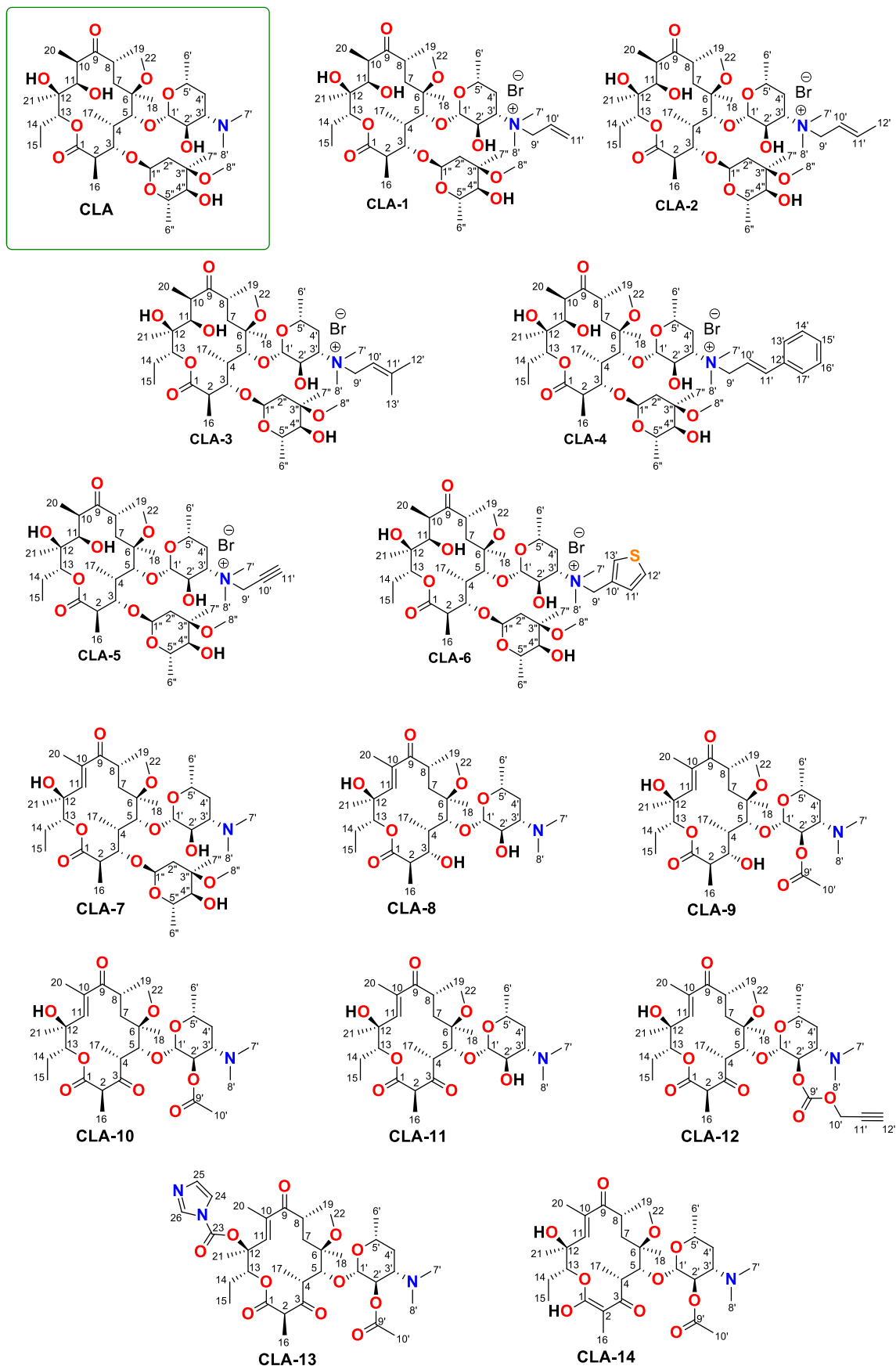
Anna Dominika Janas „Synteza i ustalenie korelacji struktura-aktywność biologiczna nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane ramiona sacharydowe.

Załącznik 2



Anna Dominika Janas „Synteza i ustalenie korelacji struktura-aktywność biologiczna nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane ramiona sacharydowe.

Załącznik 3



Anna Dominika Janas „Synteza i ustalenie korelacji struktura-aktywność biologiczna nowych pochodnych 14- i 15-członowych antybiotyków makrolidowych zawierających przebudowane ramiona sacharydowe.

Załącznik 3

